

氏 名 (本籍) いま 今 だ 田 りゅう 隆 いち 一

学 位 の 種 類 医 学 博 士

学 位 記 番 号 医 第 1573 号

学 位 授 与 年 月 日 昭 和 59 年 2 月 22 日

学 位 授 与 の 要 件 学 位 規 則 第 5 条 第 2 項 該 当

最 終 学 歴 昭 和 51 年 3 月  
東 北 大 学 医 学 部 医 学 科 卒 業

学 位 論 文 題 目 ネコ脳血管挛縮モデルにおける血管内膜の経時的  
変化，走査電顕的観察

(主 査)

論 文 審 査 委 員 教 授 鈴 木 二 郎 教 授 岩 崎 祐 三

教 授 山 本 敏 行

# 論文内容要旨

## 1. 目的

クモ膜下出血後に発生する脳血管攣縮に伴う血管壁の器質的変化の詳細はいまだ不明である。攣縮による血管内膜の経時的な変化の過程を明らかにするために走査電顕を用いた実験的検討を行った。

## 2. 方法

実験動物には体重3～5 kgの健康な成猫3, 4匹を用いた。sodium pentobarbital 30～50 mg/kgの腹腔内投与で麻酔下に仰臥位に固定し、気管切断後気管内挿管を行い、調節呼吸下に実験を行った。食道を離断し、斜台に付着する深頸筋を剥離し、露出した斜台に0.5×1.5 cm大の骨窓を作成した。手術用顕微鏡下に硬膜を切開して脳底動脈を露出した。クモ膜下腔に径0.2 mmのポリエチレンチューブを挿入留置し、以下このチューブを通じてクモ膜下腔にoxyhemoglobin溶液あるいは髄液近似液を投与した。攣縮の誘発は5.5 mM oxyhemoglobin溶液0.2 mlを投与して行った。溶液は1時間毎に反復注入した。攣縮の程度は手術用顕微鏡にて脳底動脈を写真撮影して血管径を測定し、径の変化の百分率をもって判定した。本実験で攣縮を誘発した16匹は平均30%の持続的な血管収縮が認められた。

oxyhemoglobin溶液による攣縮誘発より1時間後3匹, 6時間後3匹, 12時間後3匹, 24時間後4匹の計16匹の実験を行い、各時間毎に脳底動脈標本を作成した。さらに対照群として無処置正常例5匹, oxyhemoglobin溶液にかえて、調整した髄液近似液(NaCl 6.95 g/L, KCl 0.21 g/L, CaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O 0.17 g/L, MgCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O 0.17 g/L, MgSO<sub>4</sub> 0.04 g/L, NaHCO<sub>3</sub> 1.93 g/L, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O 0.068 g/L, Glucose 0.6 g/L pH 7.4)を毎時間注入し24時間維持した擬手術例3匹を作成した。

血管の固定には灌流固定法を用いた。固定液にはcacodylate buffered 2% paraformaldehyde-2.5% glutalaldehyde液を使用した。脳底動脈を切り出し、直ちに実体顕微鏡下で内膜観察用と凍結割断用とに分割した。内膜観察用試料は血管長軸にほぼ平行に切開を加え、内膜面を露出させた。二者とも同固定液中で2時間固定、さらに1%オスミウム酸液中で2時間の後固定を追加した。エタノール系列で脱水した後、凍結割断用試料はそのまま100%エタノール内で凍結割断し、内膜観察用試料は酢酸イソアミルに置換、二者とも臨界点乾燥にて乾燥した。その後金-パラジウム蒸着を行い、走査電顕にて観察した。

使用したoxyhemoglobin溶液の作成には成猫10匹を用いた。全麻下に股動脈より動脈血をへ

パリン加採血し、遠心して赤血球浮遊液をえた。この赤血球浮遊液を凍結させ、その後室温下で解凍し溶血させた。再び遠心後、上清成分をえた。この上清成分を髄液近似液中で12時間透析して oxyhemoglobin 溶液とした。使用に際しては 5.5 mM の濃度に調整して用いた。

なお、実験操作はすべて無菌的に行い、使用した溶液は milli-pore filter で除菌した。

### 3. 結 果

#### (1) 対 照 群

対照群では整然と配列した表面平滑な内皮細胞を認めた。細胞間結合は密であった。また内弾性板は擬手術例では軽度の迂曲を、無処置正常例では平坦な概観を呈するものが多かった。

#### (2) 攣縮誘発短時間例

誘発後 1, 3 時間の短時間例では内皮細胞はほぼ正常に保たれていたものの、内弾性板は強い迂曲を示し、またそれに伴って一部の内皮細胞が内腔方向に圧出され隆起している所見が認められた。

#### (3) 攣縮誘発後 6 時間例

6 時間例では crater・ballooning 形成、細胞間結合離開などの内皮細胞の変性所見を認めた。また白血球と思われる血液由来細胞の付着を認めるようになった。

#### (4) 攣縮誘発長時間例

誘発後 12, 24 時間の長時間例では内皮細胞の変性所見は一層増強していた。また付着した血液由来細胞の数も増加していた。内皮細胞は全体的に隆起しており、subintimal gap の存在も認められた。しかしながら内膜は依然として単層構造を維持しており、壁在血栓・内膜多層化の出現は認められなかった。

## 審 査 結 果 の 要 旨

脳動脈瘤破裂によるクモ膜下出血に続発する脳血管攣縮は症例の予後に重大な影響をおよぼす病態であるが、その原因物質・発現機序等の詳細はいまだ不明であり、従って治療法も確立されているとはいえない現状にある。

さて、ヒト剖検例の検討から、持続的な脳血管攣縮はその末期において血管壁の器質的変性をもたらすことが既にあきらかにされている。しかるに従来報告では最も重要と思われる器質的変性の経時的過程については充分にあきらかにされているとはいえない。本論文はこの経時的な過程をあきらかにする目的をもったものである。

従来の実験的検討の報告の多くは実験モデルとしてクモ膜下腔に攣縮誘発物質を注入する方法がとられている。これでは攣縮の程度の判定には血管撮影による間接的手段を用いざるをえず、また作成された血管攣縮は一般に軽度である。著者はネコ脳底動脈に oxyhemoglobin を直接投与接触させて攣縮を誘発し、脳底動脈を直視下に観察できるモデルを用いている。このモデルでは誘発された血管攣縮は持続的かつ高度で、より臨床例に相応したものである、と考えられる。また、攣縮誘発物質も塩化バリウム等の非生理的物質によってではなく、臨床例において、血管周囲に存在することが証明されている oxyhemoglobin によった点もすぐれている。

観察手段として著者は走査電顕を用いており、さらに標本の作成にあたっては凍結切断法を併用している。この点は従来にない新しい方法上の特徴となっている。内膜の変化の重要性を著者は強調しているが、結果的に著者の用いた観察方法は検討対象に適したものであったといえよう。

著者は、攣縮誘発後数時間で血管内膜が変性をおこすことを見い出している。脳血管攣縮における血管壁の変性については内膜変化に重点をおくもの、中膜変化に重点をおくものと議論相半ばしているようであるが、著者の指摘は重要であろう。また、白血球が末期において付着することも重要な新しい知見である。白血球の役割については殆んど解明されておらず、今後の新しい展開が待たれるところである。

以上の点で本論文はすぐれており、学位論文としてふさわしいものと考えられる。