

実験的脳動脈瘤誘発における Hemodynamic Stress の意義および動脈瘤の発生機序

京都大学医学部脳神経外科学教室 (指導: 半田肇教授)

永 田 泉

(原稿受付: 昭和56年9月22日)

Hemodynamic Stress and Developmental Mechanism in Experimental Cerebral Aneurysms in Rats

IZUMI NAGATA

Department of Neurosurgery, Kyoto University Medical School
(Director: Prof. Dr. HAJIME HANDA)

In 1978, HASHIMOTO et al. reported that saccular cerebral aneurysms can be induced in rats treated with unilateral ligation of the common carotid artery, experimental hypertension (DOCA-salt hypertension), and β -amino propionitrile (one of the lathyrogens). It was determined that carotid ligation and hypertension are essential to the production of cerebral aneurysms in rats. The role of carotid ligation in the induction of aneurysms had already been elucidated.

In the present study, the following experiments were done in order to elucidate the developmental mechanism of experimental cerebral aneurysms.

Experiment 1: Role of Hypertension

Cerebral aneurysms were induced in rats treated with unilateral ligation of the common carotid artery and hypertension produced by renal infarction with or without β -aminopropionitrile. Regardless of its type, hypertension combined with carotid ligation played an important role in the development of cerebral aneurysms in rats. Sodium chloride, indispensable for DOCA-salt hypertension, was found not to be essential to the production of cerebral aneurysms when hypertension was induced by renal infarction. However, sodium chloride apparently increased the incidence of the lesion by enhancing systolic hypertension.

Experiment 2: Role of Aging

Ligation of the left common carotid artery was performed in 12-month-old male rats. Cerebral aneurysms developed in 2 of 10 rats approximately 11 months after the operation. The long experimental course made it possible to induce aneurysms in rats only with carotid ligation.

Key words: Experimental cerebral aneurysm, Aging, Hypertension, Scanning electron microscopy, Acid phosphatase.

索引語: 実験的脳動脈瘤, 加齢, 高血圧, 走査電顕, 酸性ホスファターゼ.

Present address: Department of Neurosurgery, Kyoto University Medical School, Sakyo-ku, Kyoto 606, Japan.

These findings suggest that regressive changes of the arterial wall caused by aging is one of the etiological factors in aneurysmal development.

Experiment 3: Initiation and Growth of Experimental Aneurysms

Small evaginations or dilatations of the arteries regarded as early aneurysms were found in 17 out of 45 perfused rats. These early aneurysms and 76 confirmed aneurysms were examined under a dissecting microscope to analyse the relationship between aneurysms and the parent arteries. It was shown that induced cerebral aneurysms could be divided into two types: one is a berry type related to the arterial fork, the other is a lateral or fusiform type unrelated to the fork. Growth pattern of the aneurysm was also presented.

Experiment 4: Pathology of Early Aneurysms

Early aneurysms were examined by light microscopy. These specimens consisted of 3 evaginations arising at the apex of the arterial fork, 4 dilatations of the anterior communicating artery, and 3 evaginations unrelated to the arterial fork.

Common features of the lesions were degenerative changes of the endothelial cell, internal elastic lamina, and medial smooth muscle cell. Degradation of the internal elastic lamina appears to be the primary process in the initiation of experimental cerebral aneurysms.

Experiment 5: Scanning Electron Microscopic Study

The inner surfaces of induced cerebral aneurysms and the branching sites in the circle of Willis were investigated by scanning electron microscopy. Small holes and enlarged gaps at the junction of the endothelial cells were frequently observed in the aneurysms. Other regressive changes of the endothelial cells, such as balloon like protrusions and crater like depressions, were also found. Many leukocytes were observed adhering to the inner surface of aneurysms. At the branching site, where the left (non-ligated side) olfactory artery originated, endothelial cells were disarranged, rounded, and varied in size. Adjacent to the apex, a deep groove was found. The endothelial cells and leukocytes seem to play an important role in the development of experimental cerebral aneurysms.

Experiment 6: Acid Phosphatase Activity of Experimental Aneurysms

Acid phosphatase (Ac-Pase) activity in experimental cerebral aneurysms and the branching sites of the major cerebral artery were histochemically investigated. Strong enzyme activity was observed in the adventitial cells of the aneurysms. The endothelial cells of the aneurysms also showed increased Ac-Pase activity. At the apex of branching sites, Ac-Pase activity was sometimes enhanced in medial smooth muscle cells. The participation of lysosomal enzymes in aneurysmal development was discussed.

Conclusion

Various hemodynamic stresses participate in the development of experimental cerebral aneurysms in rats. Hypertension and aging act as systemic stresses. (Changes of flow pattern in the circle of Willis and the axial flow impingement at the apex are important as focal hemodynamic stresses. The endothelial cells and leukocytes seem to play a distinct role in the initiation of the lesions.

I. はじめに

1978年, 当教室においてラットに頸動脈結紮, 実験的高血圧症, および lathyrogen の一種である β -aminopropionitrile (BAPN) 投与の処置を加えることにより脳動脈瘤を誘発することに成功し, 適当なモデルがなかった人間の脳動脈瘤の成因や治療法の研究にすぐれたモデルを提供した^{7, 8, 9, 12)}. この実験的脳動脈瘤の発生には頸動脈結紮と高血圧が必要条件であり¹¹⁾, 頸動脈結紮の意義に関しては, すでに詳しい検討がなされている¹⁰⁾.

今回, 当初用いられた deoxycorticosterone (DOCA) と食塩による高血圧症の代わりに, 腎梗塞性高血圧症や高令のラットを使って脳動脈瘤の誘発を試み, 脳動脈瘤の発生における, 高血圧や加齢をはじめとする hemodynamic stress の役割を検討した. また初期動脈瘤の観察, 誘発脳動脈瘤の走査電顕的研究, および acid phosphatase 活性の組織化学的研究により, 動脈瘤の発生や増大のメカニズムを検討した.

II. 実験(1): 脳動脈瘤誘発と高血圧症

1. 目的

ラットにおける実験的脳動脈瘤の誘発には, 頸動脈結紮と高血圧症が必要ながすでに明らかにされているが, それらの実験では実験的高血圧症としてまず DOCA-salt 高血圧が使われた^{7, 8)}. 一般に DOCA 等の mineralocorticoid は細胞膜の透過性を亢進させ, 炎症過程を増強すると言われている¹⁵⁾. またラットの実験的高血圧症の実験において DOCA-salt 高血圧症を用いた場合, 他の実験高血圧症に比べて腸間膜動脈の periarteritis nodosa (PN) 様病変の発生頻度が高いと報告されている²¹⁾. 実際, これまでの DOCA-salt 高血圧症を用いた脳動脈瘤誘発実験では腸間膜動脈の PN 様病変が多発し, 多数のラットがこの病変の出血によ

り死亡している^{8, 12)}. 以上のことより, DOCA は高血圧を来すだけでなく, 実験的脳動脈瘤の発生に直接関与する可能性も考えられる. さらに, DOCA-salt 高血圧症に不可欠である食塩自体も血管障害性に働く可能性が報告されている¹⁸⁾.

本実験は, 実験的高血圧症として腎梗塞性高血圧症を用い, DOCA や食塩自体の脳動脈瘤誘発への直接的関与を除外し, 脳動脈瘤発生における高血圧症の役割を明らかにしようとするものである.

2. 材料および方法

6ヶ月令の雄 Sprague-Dawley ラットを使用した. 各ラットは pentobarbital による腹腔麻酔下に手術用顕微鏡を用いて, 左総頸動脈と両側の腎動脈後枝を結紮した²⁰⁾. 動物は Table 1 に示すように, β -aminopropionitrile fumarate (BAPN) と1%食塩水の投与の有無により4群に分けた. Group 1 には通常の実験飼料を与えた. Group 2 には BAPN を0.12%の割合で飼料に混じて与えた. Group 3 には1%食塩水を飲料水として投与した. Group 4 には0.12% BAPN と1%食塩水の両方を与えた. 実験期間は12~16週間であり, 血圧は tail-cuff, autpickup 法により測定した. 実験期間中に死亡したラットは解剖し, 摘出脳を10%ホルマリン液で固定した. 実験終了時まで生存したラットは10%ホルマリン液で灌流固定した. いずれの場合も摘出脳より脳底部の主要動脈を剝離し, 実体顕微鏡下で観察した.

3. 結果

Table 2 に各群の誘発病変と最高血圧を示した. 血圧は食塩水を投与した Group 3, 4 で有意に高かった. Group 1 では17匹中2匹に2個の脳動脈瘤が発生した. いずれも頸動脈結紮側の後大脳動脈近位部 (P1 部) の動脈瘤であった. Group 2 では18匹中10匹に11個の脳動脈瘤が誘発された. 内分けは結紮側 P1 部7個, 前交通動脈部4個であり, 前者のうち4個が破裂して

Table 1. Experiment (1). Treatments for Each Group

Group	Carotid Ligation	Renal Infraction	BAPN	1% NaCl
1	+	+
2	+	+	+	...
3	+	+	...	+
4	+	+	+	+

BAPN = β -aminopropionitrile

Table 2. Experiment (1)
Induced Lesions and Maximal Blood Pressures

Group	No. of Rats	Cerebral Aneurysms	Periarteritis Nodosa	Maximal Blood Pressure* (mmHg)
1	17	2(0)	0	162±3
2(B)	18	11(4)	3(0)	157±3
3(N)	18	11(3)	0	188±3
4(B, N)	19	18(6)	10(3)	191±3

Numbers in parentheses indicate rats that died from rupture of the lesion

* Mean±SE.

B=β-aminopropionitrile; N=1% NaCl

いた。腸間膜動脈のPN様病変は3匹に見られた。Group 3では18匹中11匹に、結紮側P1部9個、前交通動脈部2個の計11個の脳動脈瘤が誘発された。P1部の動脈瘤のうち3個は破裂していた。PN様病変は認められなかった。Group 4では19匹中13匹に18個の脳動脈瘤が発生した。部位は結紮側P1部12個、前交通動脈部3個、脳底動脈1個、非結紮側の内頸動脈分岐点と嗅動脈分枝部に各1個であり、3匹では多発性であった。P1部動脈瘤のうち6個が破裂していた。腸間膜動脈のPN様病変は10匹に見られ、このうち3匹は、この病変からの出血により死亡したものである。

4. 結 論

(1)腎性高血圧症を用いても、頸動脈結紮と組み合わせることにより脳動脈瘤は誘発可能であり、DOCAや食塩の脳動脈瘤誘発への直接的関与は否定された。(2)食塩負荷は腎梗塞性高血圧症を用いた脳動脈瘤誘発に必須ではないが、高血圧を増強することにより脳動脈瘤の発生頻度を高める。(3)BAPNの投与は、脳動脈瘤の誘発頻度を増すが、同時に腸間膜動脈のPN様病変の発生頻度も高めるため、脳動脈瘤モデルとしては、必ずしも良い条件ではないと考えられる。

III. 実験(2): 加齢と実験的脳動脈瘤

1. 目的および方法

実験的脳動脈瘤の誘発には高血圧が必要であることはすでに述べたが、人間の脳動脈瘤の場合高血圧症との関連は報告によりまちまちであり、少くとも明確な関連性は見出されていない^{22, 30, 32, 34}。一方実験(1)における、食塩水を投与しない腎梗塞性高血圧ラット(Group 1)では、血圧がさほど高くないにもかかわらず、

やはり脳動脈瘤が発生することが明らかになった。そこで実験期間を長くし、高令の動物を使えば、頸動脈結紮がもたらす hemodynamic stress の増強が長期間血管に作用し、また加齢により高血圧症と類似の血管変化が期待されることから、高血圧が存在しなくても脳動脈瘤が発生するのではないかとの考えより、次のような実験を行なった。

すなわち、12ヶ月令の雄 Sprague-Dawley ラット10匹に一側総頸動脈の結紮のみを行ない、他の処置を加えずに約1年間飼育した。実験終了時まで生存したラットは10%ホルマリン液で灌流固定し、脳底部の主要動脈を検索した。

2. 結果および結論

Table 3 に各ラットの最高血圧と誘発病変を示した。最高血圧は108~122 mmHg (平均 117±2 mmHg) で

Table 3. Experiment (2)
Induced Lesions and Maximal Blood Pressures

Rat No.	Duration of Exp. (month)	Maximal Blood Pressure (mmHg)	Induced Lesions
1	11	114	—
2	11	120	—
3	11	108	A-COM aneurysm
4	11	122	—
5	11	120	—
6	11	122	Pituitary tumor
7	10	—	L-P1 aneurysm
8	6	—	—
9	9	—	—
10	8	—	Pituitary tumor

あったが、4匹では血圧を確認できなかった。脳動脈瘤は10匹のうち2匹に発生し、いずれも破裂していた。腸間膜動脈のPN様病変は見られなかったが、下垂体腫瘍を2匹に認めた。

すなわち実験期間を延長し、高令の動物を用いれば、高血圧が存在しなくても頸動脈結紮のみで脳動脈瘤が誘発できることが明らかになった。

IV. 実験(3): 実験的脳動脈瘤の発生と増大

1. 目的および方法

実験(1), (2)および橋本らの報告^{8,10,11,12)}でも明らかにラットの実験的脳動脈瘤は種々の処置の組合わせにより誘発可能である。しかし処置や管理の難易、あるいは脳動脈瘤の誘発頻度を考慮し、現在のところ脳動脈瘤モデルとしては一側総頸動脈結紮と腎梗塞性高血圧に食塩を負荷した動物を主に使用し、場合によってはBAPNの投与も併用している。

現在まで実験に用いたモデルラット91匹のうち62匹に76個の脳動脈瘤が誘発された。91匹中45匹の動物は灌流固定したが、この灌流したラットの脳底部動脈において、明らかな脳動脈瘤以外に初期動脈瘤と考えられる血管の evagination や dilatation 17個が15匹に認められた。そこでこれらの初期動脈瘤や種々の大きさの動脈瘤を比較観察し、分類することにより、実験的脳動脈瘤の発生と親動脈との関係および脳動脈瘤の増大過程を検討した。

2. 結 果

76個の脳動脈瘤の発生部位を Table 4 に示した。初期動脈瘤17個の内分けは結紮側(左) P1 部7個、前交通動脈部7個、非結紮側嗅動脈分枝部3個であり、実験的脳動脈瘤の好発部位に一致していた。

左 P1 部の初期動脈瘤としては Fig. 1a に示すように P1 segment の屈曲部を中心に小さな evagination が見られた。これは、後述する前交通動脈部の Type 3 と同様のもので、動脈分岐部とは無関係であり、増大すると Fig. 1b のような lateral aneurysm の形をとる。この段階までは動脈瘤の対側の動脈壁は肉眼的には正常である。さらに動脈瘤が増大すると、Fig. 1c に示すように動脈瘤は血管の全周を巻き込み、spherical あるいは fusiform となり、最終的には Fig. 1d のような巨大動脈瘤となって破裂にいたるものと思われる。

前交通動脈部(A-COM)の初期動脈瘤としては3種類のものが見られた。Type 1 は前交通動脈分岐部の

Table 4. Distribution of Induced Aneurysms

Location	No. of Aneurysm
L-P ₁	54(26)
A-COM	16(4)
R-OLF	1
R-I.C. bifur.	1
L-P ₁ origin	1
Perforator	1
Basilar A.	2

Numbers in parentheses indicate rupture of the lesion

apex に発生する evagination である (Fig. 2)。Type 2 は前交通動脈の一部が全体に dilatation を示すものである (Fig. 3a)。Type 3 は左 P1 部に見られる初期動脈瘤と同様のもので、前交通動脈壁の一部にできる evagination であり、血管分岐部とは無関係である (Fig. 4)。Type 1 の初期動脈瘤は血管分岐部に発生し、人間の脳動脈瘤では最も多い、いわゆる berry type の動脈瘤を形成するものと考えられる。Type 2 はそのまま増大して Fig. 3b のように fusiform type の動脈瘤になり、Type 3 の初期動脈瘤は P1 部の動脈瘤と同様の経過をたどるものと思われる。

右嗅動脈分枝部(R-OLF)に見られた初期動脈瘤は血管分岐部の apex に発生した evagination で、前交通動脈部の Type 1 と同様のものであり、berry type の動脈瘤を形成するものと考えられる。

上記の3ヶ所以外に発生した脳動脈瘤では右内頸動脈分岐部(R-I.C. bifur.) と左 P1 分枝部(L-P1 origin)の動脈瘤は明らかに berry type のものであった (Fig. 5, 6)。Basilar head より出る perforator に発生した動脈瘤は親動脈との関係は明らかでなかった。脳底動脈の動脈瘤の1例は、fenestration 部に発生したもので berry type と考えられたが、他の1例では親動脈との関係は不明であった。

3. 小 括

ラットの実験的脳動脈瘤には、動脈分岐部の apex に発生する berry type の動脈瘤と、分岐部に無関係な lateral あるいは fusiform type の動脈瘤があることが明らかになった。後者の動脈瘤も増大すると外見は saccular な形をとるものがあり、かなりの頻度で出血を来す。

人間の脳動脈瘤では berry type のものが多いとされ³⁰⁾、medial defect の意義を強調する報告者も多い。

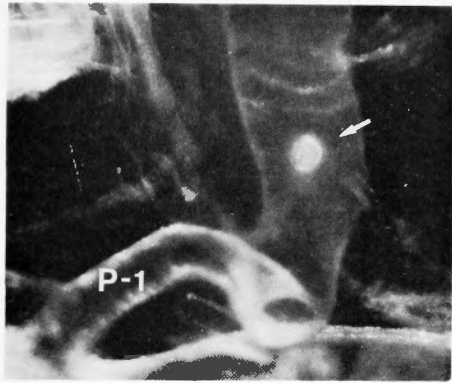


Fig. 1a. A small evagination on the P-1 segment of the posterior cerebral artery (arrow)

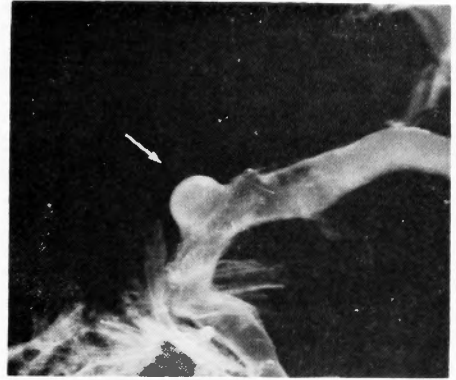


Fig. 1b. A lateral aneurysm on the left P-1 segment (arrow). The arterial wall opposite the aneurysm is macroscopically intact

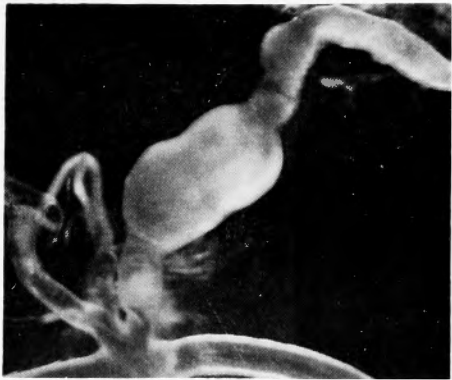


Fig. 1c. A fusiform aneurysm involving the whole circumference of the P-1 segment



Fig. 1d. A huge aneurysm on the P-1 segment

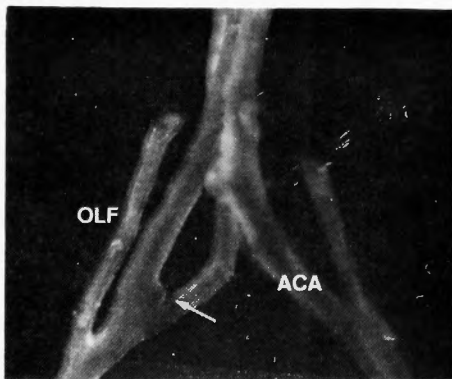


Fig. 2. A small evagination originating at the apex of arterial fork (arrow). OLF: olfactory artery. ACA: anterior cerebral artery

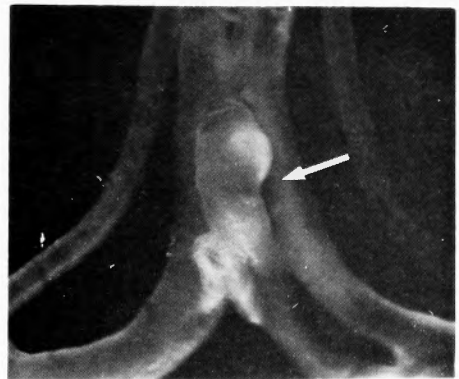


Fig. 3a. A dilatation of the anterior communicating artery (arrow)



Fig. 3b. A fusiform aneurysm of the anterior communicating artery.

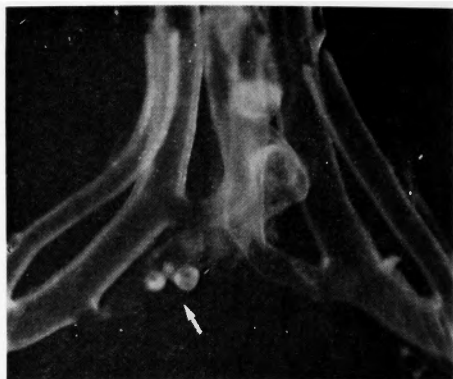


Fig. 4. Small evaginations on the anterior communicating artery (arrow)

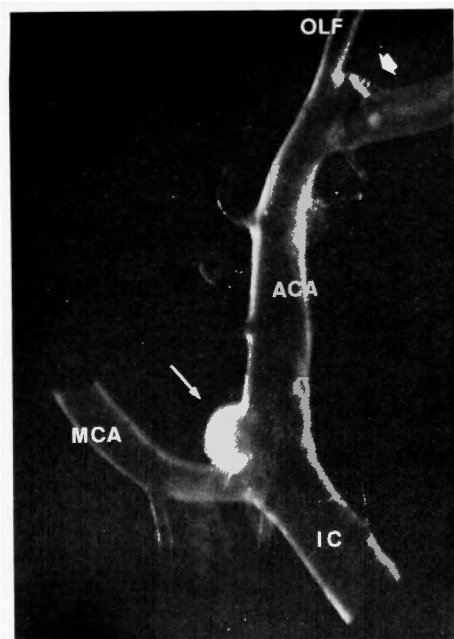


Fig. 5. A berry type aneurysm arising at the bifurcation of the right internal carotid artery (long arrow). Another aneurysm at the branching site where the olfactory artery originated (short arrow). MCA: middle cerebral artery. IC: internal carotid artery.

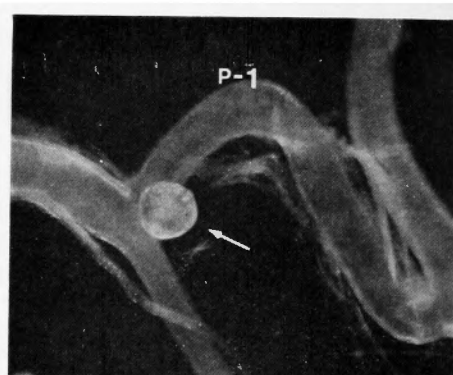


Fig. 6. An aneurysm arising at the branching site where the left posterior cerebral artery originated (arrow).

討を要する問題ではないと思われる。

V. 実験(4): 初期動脈瘤の病理所見

1. 材料および方法

実験(3)で発生した初期動脈瘤のうち、前交通動脈と嗅動脈の分枝部の apex に生じた Type 1 の evagination 3 個、Type 2 の前交通動脈の dilatation 4 個、および前交通動脈と左 P1 部に生じた血管分枝部と無関係な Type 3 の evagination 3 個の計 10 個の初期動脈瘤を用いた。

10%ホルマリン液で灌流固定した初期動脈瘤を水溶性メタクリレート樹脂に包埋し、ultra-microtome で約 1.5μ に薄切した。切片は resorcin. fuchsin 染色液で弾性線維染色を行ない、toluidine blue 液で後染色をして観察した。

しかし人間の場合、灌流固定することは容易ではなく、初期動脈瘤を観察する機会も少ない。このため動脈分枝部に発生したとされる saccular な脳動脈瘤の中にも血管分枝部と無関係に発生したものが含まれている可能性もあり、medial defect の意義も含めて、今後再検

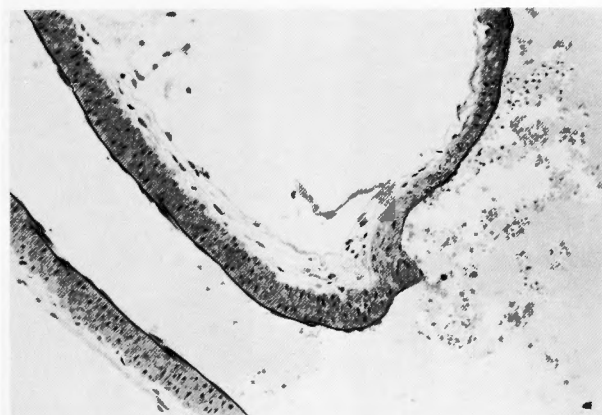


Fig. 7. An evagination originating at the apex of an arterial fork (Type 1) ($\times 100$)

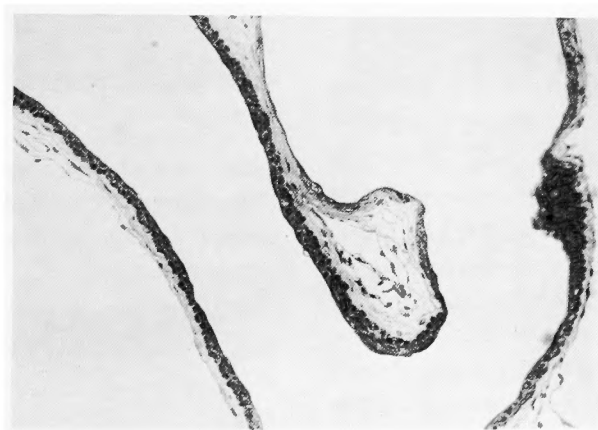


Fig. 8. A dilatation of the anterior communicating artery (Type 2) ($\times 100$)

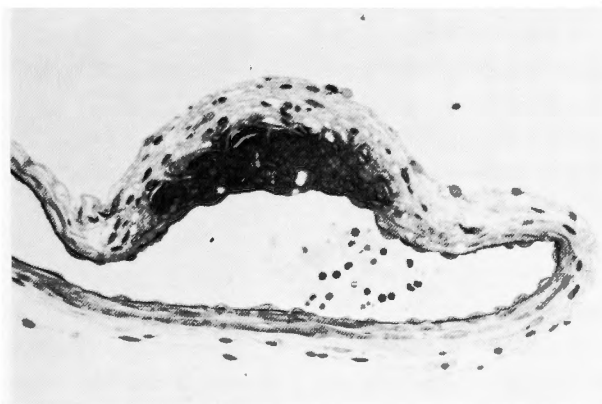


Fig. 9. An evagination originating from the P-1 segment of the left posterior cerebral artery. The internal elastic lamina of the parent artery was also fragmented. (Type 3) ($\cdot 200$)

2. 結 果

Type 1 の evagination は血管分岐部の apex に接し、大きい方の分枝側に発生するのが常であった。組織学的には evagination やその周辺部の内皮細胞に腫大化が見られた。内弾性板は evagination 部で断裂しており、一部消失した例から全く消失した例も認められた。中膜では筋細胞の配列が乱れ、1例では筋層が消失していた。また evagination 部やその近傍の筋細胞には、空胞化や pyknosis を認めた。外膜細胞や結合織は増生していることが多かった (Fig. 7)。Type 2 の dilatation 部においても内皮細胞の腫大や重層化が見られ、内皮下に無構造物質の沉着を見ることもあった。内弾性板は1例では断裂しており、他の3例ではほとんど消失していた。中膜筋層は菲薄化しており、1例ではかなりの範囲にわたって消失していた (Fig. 8)。

Type 3 の血管分岐部と無関係な evagination 部でも内皮細胞の腫大や空胞化を認め、内弾性板もごく一部で残存しているほかは、ほとんど消失していた。しかし evagination への移行部では内弾性板が不規則な形に肥厚している例もあった。また evagination が生じた親動脈においても内弾性板の断裂を認めた。中膜筋層は evagination への移行部で tapering を来し、筋細胞の空胞化や細胞間の拡大が見られた。Evagination 部では筋層は完全に消失していた。Evagination 部には全例に fibrinoid 物質の沈着が見られ、fibrinoid 物質中や、その周辺部には macrophage と思われる細胞を多数認めた。外膜細胞は増生していた (Fig. 9)。

3. 結 論

初期動脈瘤は血管分岐部との関係にかかわらず、ほぼ同様の組織変化を示し、内皮細胞、内弾性板および中膜筋細胞の退行性変化が認められた。これらの変化は、実験的脳動脈瘤における組織変化と基本的に同じものである⁹⁾。Type 3 の血管分岐部に無関係な evagination では組織変化が最も強く、fibrinoid 物質の沈着が著明であった。内弾性板と中膜筋層の消失は動脈瘤形成における重要な変化であるが、初期動脈瘤においては両者は必ずしも平行せず、内弾性板の消失が先行する傾向にあった。内弾性板の断裂は初期動脈瘤が発生した親動脈でも認められることから、動脈瘤の発生においては内弾性板の消失が最も重要な過程ではないかと考えられる。

VI. 実験(5): 実験的脳動脈瘤の走査電顕像

1. 材料および方法

実験(1)の Group 3 と同様の、左総頸動脈と両側腎動脈後枝を結紮し、1%食塩水を投与した雄 Sprague-Dawley ラット13匹を使用した。動物は腹部大動脈より逆行性に挿入したチューブより 0.1 M リン酸緩衝液 (pH 7.4) で調整した 2.5% グルタルアルデヒド液で灌流固定した。実体顕微鏡下で脳底部主要動脈を取り出し、同固定液でさらに浸漬固定し、リン酸緩衝液で洗浄した。その後、動脈瘤、初期動脈瘤および両側の嗅動脈と中大脳動脈の分枝部を切り出し、microscissors で内腔を露出した。再びリン酸緩衝液で洗浄後、1% オスミウム酸液で後固定し、上昇アルコールで脱水後、酢酸イソアミルで置換した。臨界点乾燥の後、金を 150-200Å の厚さにコーティングし、日立 S-450LB 走査型電子顕微鏡で観察した。

2. 結 果

13匹中6匹の左 P1 部に動脈瘤が見出された。1個は破裂動脈瘤であった。また初期動脈瘤である evagination や dilatation が前交通動脈部に4個、左 P1 部に3個認められた。

脳動脈瘤内腔の走査電顕像では、内皮細胞は通常の紡錘形のものから多角形のものまで種々の形を示し、あるものは隆起し、クレーター状陥凹をもつ細胞も観察された。内皮細胞接合部には、しばしば小孔や大きい間隙が見られた (Fig. 10)。時には細い突起を出したり重なり合っている内皮細胞や、動脈瘤壁より剝離にかけて橋状になっている細胞も認められた。

内皮細胞接合部の小孔や間隙には白血球が付着していることが多く、時には変形し突起を出した白血球が、これらの小孔や間隙中に入っている像が見られた。

動脈瘤底部の、特に内皮細胞接合部には、しばしば血小板が層状に付着しており、障害が進んだ部位では内腔全体が血小板、白血球および線維素網でおおわれていた (Fig. 11)。このような血栓形成は破裂動脈瘤で特に著明であった。また大きな動脈瘤の1例において塊状の無構造物が動脈瘤内に見られた。

初期動脈瘤においては内皮細胞の配列が乱れ、時には marginal fold が低いため細胞接合部が不明瞭になっていた。Evagination の数例では、親動脈との移行部で突然内皮細胞の villi が低くなり、数も減少していた。内皮細胞の隆起やクレーター状陥凹、あるいは内



Fig. 10. On the endothelial surface of the aneurysm, holes and gaps were frequently observed at the junction of endothelial cells. Many leukocytes were found adhering to these defects.



Fig. 11. Thick layer of platelets covered the inner surface of the dome of the aneurysm, particularly at the inter-endothelial junction.

皮接合部の小孔や間隙形成も観察されたが、これらの変化は比較的軽度であった。白血球の付着は時々見られたが、血小板や線維素の付着はほとんど認められなかった。

動脈分岐部内腔の変化は頸動脈結紮側と非結紮側で著明な差があった。非結紮側の嗅動脈分岐部の apex では内皮細胞は、配列が乱れ、円形化し、大きさもまちまちであった。Apex に接し、遠位部の前大脳動脈には、ほとんどの例において、深さの差こそあれ、深い溝状の陥凹が形成されていた (Fig. 12)。

一方結紮側の嗅動脈分岐部においては、稀に非結紮側と類似の変化が見られたが、その変化は結紮側に比べ常に軽微であった。中大脳動脈分岐部では、非結紮側の apex で、時に内皮細胞の配列が乱れ、円形化していたが、結紮側では、ほとんど内皮の変化は認められなかった。

2. 結 論

(1) 実験的脳動脈瘤の内皮細胞の変化では、細胞接合部における小孔や間隙の形成が特徴的であり、これらは初期動脈瘤にも見られることから、動脈瘤の発生や増大に関与しているのではないかと考えられた。また非特異的な逆行性変化とされる^{14,17,27)} 内皮細胞の隆起やクレーター状陥凹、あるいは修復過程を示すと思

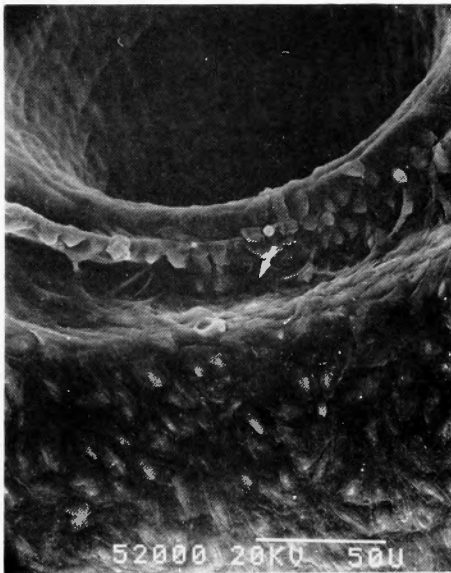


Fig. 12. At the branching site of the olfactory artery on the non-ligated side, endothelial cells at the apex were disarranged, rounded and varied in size. A deep groove adjacent to the apex (arrow) was frequently observed.

われる²⁹⁾ 内皮細胞の重なり合いや細い突起も認められた。

(2)動脈瘤や初期動脈瘤の内腔、特に小孔や間隙が形成された部位には、白血球の付着が見られた。これらの白血球は血管壁に障害性に働いているものと考えられる。

(3)動脈瘤内腔には血栓形成や cellular debris と思われる塊状物が見られ、親動脈の末梢領域に embolism を起こすことが考えられる。

(4)非結紮側の嗅動脈分枝部の apex では内皮細胞は配列が乱れ、円形化しており、動脈瘤の前状態あるいは初期動脈瘤と考えられる溝状の陥凹が認められた。

VII. 実験(6): 実験的脳動脈瘤壁の acid phosphatase 活性

1. 目的

Acid phosphatase (Ac-Pase) は lysosome の marker enzyme であり、細胞中の digestive process を示すものと考えられている。動脈壁の Ac-Pase 活性は高血圧性血管病変部で亢進することが知られており^{36, 38)}、血管壁の退行性変化や増殖性変化との関係が示唆されている³⁸⁾。本実験では実験的脳動脈瘤の発生や増大における lysosomal enzyme の関与を見るため、動脈瘤壁および脳底部主要動脈壁の Ac-Pase 活性を組織化学的に検索した。

2. 材料および方法

左総頸動脈と両側腎動脈後枝を結紮し、1%食塩水

を投与したラット10匹を使用した。コントロールとしては無処置のラット2匹を使用した。動物は冷ホルマリンカルシウム液(pH 7.4)で灌流固定し、カコジル酸緩衝液で洗浄した後、脳動脈瘤と Willis 輪の主要動脈分岐部を水溶性メタリレート樹脂に包埋し、4°C で重合させた。ultra-microtome で約4 μ に薄切した後、azo-naphthol phosphate 法により、Ac-Pase 活性を光顕的に検索した。

3. 結果

脳動脈瘤は前交通動脈部に3個、結紮側 P1 部に7個が誘発された。動脈瘤壁では Ac-Pase 活性は外膜の fibroblast と思われる細胞に強く見られ、fibrinoid 物質が沈着した部位では特に活性が高い傾向にあった。この外膜の Ac-Pase 活性の亢進はすべて動脈瘤で見られた。

動脈瘤の内皮細胞では3例において明らかな Ac-Pase 活性の亢進が見られた。また内皮に付着した白血球にも Ac-Pase 活性を認めた (Fig. 13)。

一方 Willis 輪の動脈分岐部では、非結紮側の嗅動脈および中大脳動脈分枝部の apex 周辺の中膜筋細胞に Ac-Pase 活性を見ることが多かった。1例では嗅動脈分枝部 lateral angle の中腹筋細胞にも Ac-Pase 活性の亢進を認めた。

結紮側やコントロールラットの動脈分岐部では Ac-Pase 活性は見られなかった。

4. 小括

実験的脳動脈瘤壁では主として外膜細胞に強い Ac-Pase 活性が見られた。これは外膜において障害性変

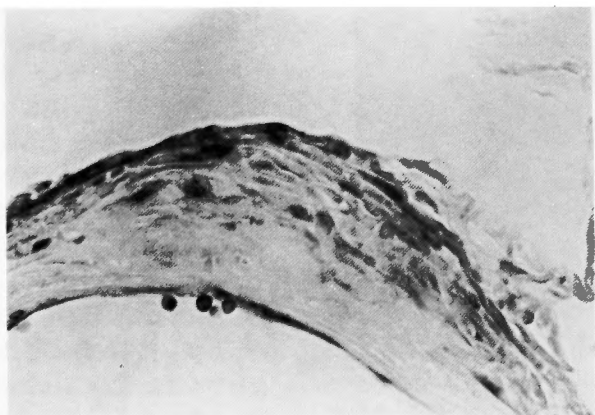


Fig. 13. Increased Ac-Pase activity was found in the adventitial cells and the endothelial cells of the aneurysm. Several leukocytes with AC-Pase activity were also observed adhering to the endothelial surface.

化や修復過程が活発に起っていることを表わし、動脈瘤の増大過程を反映しているのではないかと考えられる。

また動脈瘤の内皮細胞や、非結紮側の嗅動脈と中大脳動脈分枝部 apex の中膜筋細胞に Ac-Pase 活性の亢進が認められた。山田ら³⁹⁾は自然発症高血圧ラットの脳血管の内皮細胞や筋細胞に Ac-Pase 活性の亢進を認め、これらの Ac-Pase は細胞中の digestive process を示すだけでなく、secondary lysosome より放出された lysosomal enzyme が動脈壁に障害性に働く可能性を報告している。脳動脈瘤モデルラットにおいても、内皮細胞や筋細胞の Ac-Pase 活性は、退行性変化を示すだけでなく、動脈壁や、動脈瘤壁に障害性に働くことにより、動脈瘤の発生や増大にも関与している可能性がある。

VIII. 考 察

1978年、橋本らは lathyrogen の一種である BAPN、頸動脈結紮、および実験的高血圧症の処置を加えることにより、ラットの脳動脈瘤誘発に成功した⁷⁾。その後の研究により脳動脈瘤の誘発には頸動脈結紮と高血圧が必要条件であることを明らかにした^{8,11)}。この脳動脈瘤モデルラットでは、頸動脈結紮により Willis 輪の血行動態が変化し、それによる hemodynamic stress の増強が動脈瘤発生の主因子になるとともに動脈瘤の発生部位を規定する^{10,12)}。BAPN は血管の結合織の脆弱化をきたすことにより動脈瘤の発生頻度を高めることが明らかになっている^{8,12)}。

本実験では、橋本らの脳動脈瘤モデルの実験条件を再検討することにより、動脈瘤誘発における高血圧や加齢の役割がさらに明らかになった。また初期動脈瘤の病理所見や、誘発動脈瘤の走査電顕像および acid phosphatase 活性を示した。これらの実験結果をふまえ、脳動脈瘤の発生における種々の hemodynamic stress の意義と脳動脈瘤の発生や増大のメカニズムについて考察する。

1. Hemodynamic stress

実験(1)では、橋本らが当初用いた DOCA-salt 高血圧症の代りに腎梗塞性高血圧症を使っても脳動脈瘤が誘発できることを示した。腎梗塞性高血圧では、食塩を負荷することにより血圧はさらに上昇し、これに伴って脳動脈瘤の発生頻度も増した。この結果は高血圧自体が脳動脈瘤の発生に重要な働きをしていることを

示している。

しかし実験(2)では高血圧も脳動脈瘤誘発に必須の条件ではなく、実験期間を長くして、高令のラットを用いれば、頸動脈結紮だけでも脳動脈瘤が発生することが明らかになった。加齢に伴う血管変化と高血圧症における変化は組織学的に重複しており明確には区別できない³¹⁾。また高令のラットの動脈壁では、高血圧ラットと同様に acid phosphatase や 5'-nucleotidase 等の酵素活性が上昇しており、加齢により高血圧症と同様の血管変化が期待されるとともに、この血管変化は高血圧により加速されるものと考えられている^{1,35)}。実験期間が長いことは単に頸動脈結紮による血行動態の変化が長期間続いたというだけではなく、加齢に伴う動脈壁の退行性変化が、高血圧同様に、動脈瘤の発生に何らかの役割をはたしたものと考えられる。

人間の場合、脳動脈瘤は加齢とともに発生頻度を増す¹⁹⁾。高血圧症との関連については定説はないが、coarctation of aorta や polycystic kidney など高血圧を伴う疾患で脳動脈瘤の合併が多いことが知られている³⁰⁾。これらの事実は人間でも加齢や高血圧による血管変化が脳動脈瘤発生の誘因になっていることを示唆している。

加齢や高血圧に起因する血管変化が脳動脈瘤の誘発に関与しているのは明らかであるが、これだけでは実験的脳動脈瘤は発生せず、現在のところ、頸動脈結紮が必須条件である。頸動脈結紮と脳動脈瘤発生の関係は、橋本らが詳しく報告しており¹⁰⁾、頸動脈結紮により多量の shunt blood flow が生じる部位に動脈瘤が発生する。確かに、一側頸動脈結紮を行なった場合、anastomotic channel である前交通動脈と結紮側 P1 部では、血管撮影でも確かめられたように²⁶⁾、多量の shunt blood flow が生じ、血流量や流速の著明な増大を来していると考えられ、血管径も拡大している。これらの部位では、shunt blood flow による強い hemodynamic stress が主因となり、血管分岐部と無関係な部位にも動脈瘤が発生するものと思われる。

一方、非結紮側の内頸動脈領域の場合、頸動脈結紮による血流の増加率は、前交通動脈や結紮側 P1 部に比べると低い。この非結紮側内頸動脈領域では、動脈瘤は中大脳動脈や嗅動脈の分枝部など血管分岐部の apex のみに認められた(実験(3))。これらの血管分岐部 apex の中膜筋細胞では Ac-Pase 活性が亢進しており、走査電顕像でも内皮細胞の配列の乱れや円形化が見られた。また動脈分岐部の内皮細胞は他の部位に比

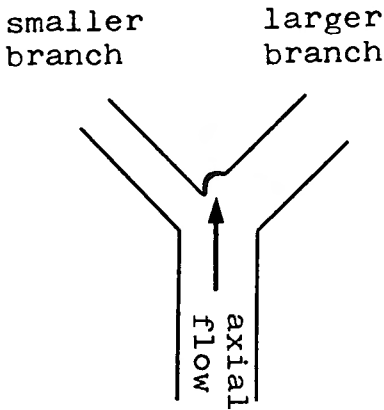


Fig. 14. The early aneurysm at the apex and the axial flow impingement.

べて細胞分裂の頻度が高いことが報告されている³⁷⁾。これらの事実は動脈分岐部の apex には他の部位に比べて強い stress が加わることを示している。動脈分岐部 apex は軸撃の直流を受けるため、周辺部より高い内圧を受け、この圧差は拍動流の場合 water hammer effect によりさらに大きくなることが知られている^{3,4,24)}。実験的脳動脈瘤の発生にも、この分岐部の特殊な hemodynamic stress が関与しているものと考えられる。初期動脈瘤が動脈分岐部の apex に接して、大きい方の分枝側に発生する事実も、軸流の衝突の重要性を示唆している (Fig. 14)。

以上述べたように、実験的脳動脈瘤に関与する hemodynamic stress は単一ではなく、systemic なものと focal なものに分類できるのではないかと考えられる。systemic な stress としては、高血圧や加齢 (加齢に伴う血管変化も hemodynamic stress によるものと考えられる) があり、focal な stress としては、Willis 輪の flow pattern の変化に基づく局所的な血流の増大と動脈分岐部に働く軸流の衝突がある。脳動脈瘤の発生には、人間の場合も含めて、これらの各因子が複数を関与しているのではないかと考えられる。

2. 脳動脈瘤発生のメカニズム

実験的脳動脈瘤の発生における種々の hemodynamic stress の関与は明らかになったが、これらの stress が動脈壁に働いた後、どのようにして動脈瘤が発生するのであろうか。

脳動脈瘤発生においては、初期動脈瘤の病理所見から見ても、組織学的に内弾性板の障害が最も重要な過程と考えられる。内弾性板を構成する弾性線維の de-

gradation には、elastase が作用するが、elastase は隣、白血球、大食細胞および血小板に存在し^{8,16)}、隣由来の elastase は血中にも存在する⁹⁾。

実験的脳動脈瘤では、初期動脈瘤の時期から内皮細胞接合部の小孔や間隙形成を主とする内皮細胞の退行性変化が見られ、白血球の付着も認められる。高血圧ラットでは、内皮細胞間接合の離開や、pinocytosis 亢進による内皮の透過性が亢進することが知られている^{13,33)}。実験的脳動脈瘤で観察される内皮細胞接合部の小孔や間隙は、透過性の亢進に関与しているのではないかと考えられ、内皮下への血漿成分の浸潤を示唆している。すなわち、hemodynamic stress に起因する内皮の透過性の亢進により浸潤した血漿中の隣由来の elastase や、障害された内皮に付着した白血球の elastase が内弾性板を障害することが、動脈瘤発生の第一段階として重要なのではないかと考えられる。

人間の脳動脈瘤壁においても、白血球浸潤、線維素の析出や、ライソソーム様顆粒の存在が観察されており²⁾、実験的脳動脈瘤と同様の発生機序が働いているのではないかと考えられる。

実験的脳動脈瘤の内皮細胞や、非結紮側の嗅動脈、中大脳動脈の分枝部 apex の中膜筋細胞では Ac-Pase 活性が亢進していた。前述のように、内皮細胞や筋細胞の lysosomal enzyme は細胞の退行性変化を表わすだけでなく、隣接する動脈壁に障害性に働く可能性が報告されている³⁹⁾。実験的脳動脈瘤においても、内皮細胞や筋細胞の lysosomal enzyme は、血管壁に障害性に働き、動脈瘤の発生や増大に関与している可能性がある。また中膜筋細胞は elastin を産生しており^{25,29)}、この筋細胞の障害は、内弾性板の修復にも悪影響をおよぼすのであろう。

実験的脳動脈瘤では初期動脈瘤を除いて、内弾性板や中膜筋層はほとんど消失し、動脈瘤壁は主として内皮細胞と外膜細胞で構成されており、壁の張力の発生には主として外膜に関与しているものと考えられる。これらの脳動脈瘤では内腔に白血球のほか、血小板の付着も見られ、内皮細胞の変化も著明である。外膜細胞には強い Ac-Pase 活性が認められ、外膜で障害性変化や修復過程が活発に起っていることを示している。つまり動脈瘤の増大から破裂にいたる過程は主として外膜で起っており、白血球や血小板の proteolytic enzyme や浸潤した血漿成分は外膜にも障害性に働き、この増大過程にも関与しているのではないかと考えられる。

稿を終えるにあたり、御指導、御校閲を賜りました恩師半田 肇教授に深甚の謝意を表します。また終始御指導および御協力いただきました滋賀医科大学病理学教室挟間章忠教授、山田英二助手ならびに京都大学脳神経外科学教室橋本信夫助手に深謝致します。

参 考 文 献

- 1) Amano S, Matsumoto M, Hazama F, Yamada E, Ohkawa K: Histochemical study on 5'-nucleotidase in the cerebrovascular system in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Jpn Circ J* (in press)
- 2) Cajander S, Hassler O: Enzymatic destruction of the elastic lamella at the mouth of cerebral berry aneurysm? *Acta Neurol Scandinav* **53**: 171-181, 1976.
- 3) Crompton MR: Mechanism of growth and rupture in cerebral berry aneurysms. *Brit Med J* **1**: 1138-1142, 1966.
- 4) Forbus WD: On the origin of miliary aneurysms of the superficial cerebral arteries. *Bull Johns Hopkins Hosp* **47**: 239-284, 1930.
- 5) Hall DA: The identification and estimation of elastase in serum and plasma. *Biochem J* **101**: 29-36, 1966.
- 6) Hance AJ, Crystal RG: The connective tissue of lung. *Amer Rev Resp Dis* **112**: 657-711, 1975.
- 7) Hashimoto N, Handa H, Hazama F: Experimentally induced cerebral aneurysms in rats. *Surg Neurol* **10**: 3-8, 1978.
- 8) Hashimoto N, Handa H, Hazama F: Experimentally induced cerebral aneurysms in rats: Part II. *Surg Neurol* **11**: 243-246, 1979.
- 9) Hashimoto N, Handa H, Hazama F: Experimentally induced cerebral aneurysms in rats: Part III. Pathology. *Surg Neurol* **11**: 299-304, 1979.
- 10) Hashimoto N, Handa H, Nagata I, Hazama F: Experimentally induced cerebral aneurysms in rats: Part V. Relation of hemodynamics in the circle of Willis to formation of aneurysms. *Surg Neurol* **13**: 41-45, 1980.
- 11) 橋本信夫, 半田 肇, 永田 泉, 挟間章忠: 実験的脳動脈瘤。実験条件の再検討および成因に関して。 *神経外科* **19**: 999-1003, 1979.
- 12) 橋本信夫: 実験的脳動脈瘤の誘発。 *日外宝* **48**: 667-678, 1979.
- 13) Hazama F, Amano S, Haebara H, Okamoto K: Changes in vascular permeability in the brain of stroke-prone spontaneously hypertensive rats studied with peroxidase as a tracer. *Acta Path Jap* **25**: 565-574, 1975.
- 14) Hazama F, Ozaki T, Amano S: Scanning electron microscopic study of endothelial cells of cerebral arteries from spontaneously hypertensive rats. *Stroke* **10**: 245-252, 1979.
- 15) 伊藤 宏: 薬理学。東京, 光堂, 1971, p. 562.
- 16) Janoff A, Scherer J: Mediators of inflammation in leukocyte lysosomes. IX. Elastolytic activity in granules of human polymorphonuclear leukocytes. *J Exper Med* **128**: 1137-1155, 1968.
- 17) Kawamura J, Gertz SD, Sunaga T, Rennels ML, Nelson E: Scanning electron microscopic observations of the luminal surface of the rabbit common carotid artery subjected to ischemia by arterial occlusion. *Stroke* **5**: 765-774, 1974.
- 18) Koletsky S: Role of salt and renal mass in experimental hypertension. *Arch Pathol* **68**: 11-22, 1959.
- 19) Locksley HB: Report on the cooperative study of intracranial aneurysms and subarachnoid hemorrhage. Section V. Part I. Natural history of subarachnoid hemorrhage, intracranial aneurysms and arteriovenous malformation. *J Neurosurg* **25**: 219-239, 1966.
- 20) Loomis D: Hypertension and necrotizing arteritis in the rat following renal infarction. *Arch Pathol* **41**: 231-268, 1946.
- 21) Masson GMC, Hazard NB, Corcoran AC, Page IH: Experimental vascular disease due to desoxycorticosterone and anterior pituitary factor: II. Comparison of pathologic changes. *Arch Pathol* **49**: 641-664, 1950.
- 22) McCormick WF, Schmalstieg EJ: The relationship of arterial hypertension to intracranial aneurysms. *Arch Neurol* **34**: 285-287, 1977.
- 23) 森 一郎: 高血圧性動脈病変ことに類線維素変性の進展と治癒に関する走査電顕的研究, 両腎動脈を狭窄した高血圧ラットの腸間膜動脈のことに内皮における観察。 *脈管学* **19**: 877-892, 1979.
- 24) 森竹浩三: 脳動脈瘤の成因ならびに増大・破裂機序に関するバイオメカニクスの研究。第2部脳動脈分岐部および脳動脈瘤内の血行力学的研究。 *日外宝* **44**: 108-123, 1975.
- 25) Muir LW, Bornstein P, Ross R: A presumptive subunit of elastic fiber microfibrils secreted by arterial smooth muscle cells in culture. *Eur J Biochem* **64**: 105-114, 1976.
- 26) Nagata I, Handa H, Hashimoto N: Experimentally induced cerebral aneurysms in rats. Part IV. Cerebral angiography. *Surg Neurol* **12**: 419-424, 1979.
- 27) Nelson E, Gertz SD, Rennels ML, Forbes MS, Kawamura J: Scanning and transmission electron microscopic studies of arterial endothelium following experimental vascular occlusion. In "The Cerebral Vessel Wall" edited by J. Cervos-Navarro et al., New York, Raven Press, 1976, 33-39 pp.

- 28) Oka M, Angrist A: Histochemical studies of arteries in high salt hypertension. *Lab Invest* **14**: 1604-1615, 1965.
- 29) Ross R, Klebanoff SJ: The smooth muscle cell. I. In vivo synthesis of connective tissue proteins. *J Cell Biol* **50**: 159-171, 1971.
- 30) Stehbens WE: Intracranial aneurysms. *In Pathology of Cerebral Blood Vessels*, Saint Louis, CV Mosby, 1972. pp. 351-470.
- 31) Stehbens WE: Hemodynamics and disease of systemic blood vessels. *In Hemodynamics and the Blood Vessel Wall* edited by Stehbens WE. Springfield, CC Thomas, 1979, pp. 294-427.
- 32) Sugai M, Shoji M: Pathogenesis of so-called congenital aneurysms of the brain. *Acta Pathol Jpn* **18**: 139-160, 1968.
- 33) Suzuki K, Ookawara S, Ooneda G: Increased permeability of the arteries in hypertensive rats: An electron microscopic study. *Exp Mol Pathol* **15**: 198-208, 1971.
- 34) Walker AE, Allegra GW: The pathology and pathogenesis of cerebral aneurysms. *J Neuro-pathol Exp Neurol* **13**: 248-259, 1954.
- 35) Watanabe M, Yamada E, Hazama F, Nomura T: Acid phosphatase activity in the aorta of spontaneously hypertensive rats and the effect of various antihypertensive drugs. *Atherosclerosis* (in press)
- 36) Wolinsky H, Goldfischer S, Schiller B, Kasak LE: Lysosomes in aortic smooth muscle cells. *Am J Pathol* **73**: 727-732, 1973.
- 37) Wright HP: Endothelial mitosis around aortic branches in normal guinea-pigs. *Nature* **220**: 78-79, 1968.
- 38) Yamada E, Hazama F, Amano S, Hanakita J: Acid phosphatase activity of the brain in SHR. The first report of enzyme histochemical studies of spontaneously hypertensive rat brain. *Jpn Circ J* **43**: 285-292, 1979.
- 39) Yamada E, Hazama F, Amano S, Hanakita J: Cytochemical investigation on acid phosphatase activity in cerebral arteries in spontaneously hypertensive rats. *Jpn Circ J* **44**: 467-475, 1980.