

脳動脈瘤の発生，増大における内膜の傷害と 増殖機序に関する実験的研究

京都大学医学部脳神経外科教室（指導：菊池晴彦教授）

姜 裕

〔原稿受付：平成元年10月26日〕

Experimental Study on the Mechanism of Injury and Proliferation of Intima in the Process of Cerebral Aneurysm Development

YOO KANG

Department of Neurosurgery, Faculty of Medicine, Kyoto University
(Director: Prof. Dr. Haruhiko Kikuchi)

Under the hypothesis that cerebral aneurysms develop partly because of defective or decreased healing process at the site of intimal injury, namely at the site of cerebral arterial bifurcation, following experiments were performed.

Experiment (1): Rats were treated with ligation of one common carotid artery and ligation of posterior branches of renal artery on both sides to induce cerebral aneurysms. Three months after the treatment, the contralateral carotid artery was ligated. Two months after the ligation, they were sacrificed and examined under light and electron microscopes. In 7 of 11 bifurcations which developed small cerebral aneurysms, prominent intimal thickening with proliferated smooth muscle cells and collagen was observed in the lumen of aneurysms. In 3 of 7 bifurcations which showed no aneurysmal development, apparent intimal thickening was also found at the site where aneurysms were expected to grow. In the group treated for inducing cerebral aneurysms but not ligated the contralateral carotid artery, none of 12 bifurcations with or without aneurysms showed such intimal thickening.

Experiment (2): Rats were treated for inducing cerebral aneurysms. Three months after the treatment, reserpine was injected (0.75 mg/Kg B.W./day intraperitoneally) for 2 weeks. At the next day of the last injection, they were sacrificed and examined under the light microscope. In 6 of 12 bifurcations which developed small cerebral aneurysms, prominent intimal thickening was observed in the lumen of aneurysms. In 2 of 3 bifurcations which showed no aneurysmal development, apparent intimal thickening was also found at the site where aneurysms were expected to grow. In the group treated for cerebral aneurysms but not injected reserpine, none of 10 bifurcations with or without aneurysms showed such intimal thickening.

Key word: Experimental cerebral aneurysm, Intimal proliferation, Hemodynamic stress, Hypertension, Fibrin stabilizing factor.

索引語：実験的脳動脈瘤，内膜増殖，血行力学的ストレス，高血圧，フィブリン安定化因子

Present address: Department of Neurosurgery, Faculty of Medicine.

Kyoto University, Sakyo-ku, Kyoto, 606, Japan

Experiment (3): Rats were treated for inducing cerebral aneurysms. Two weeks after the treatment, FSF (fibrin stabilizing factor, known as blood coagulation factor XIII) was injected (10 U/100 g B.W./day, intravenously) for 5 days. Twelve days after the start of injection, they were sacrificed and examined under light and electron microscopes. In 11 of 20 bifurcations which developed small cerebral aneurysms, prominent intimal thickening was observed in the lumen of aneurysms. In the most advanced cases, the lumen of aneurysms were completely filled with proliferated smooth muscle cells and collagen. In 5 of 10 bifurcations which showed no aneurysmal development, apparent intimal thickening was found at the site where aneurysms were expected to grow. In the group treated for inducing cerebral aneurysms but not given FSF, none of 15 bifurcations with or without aneurysms showed such intimal thickening.

These results showed that elimination of experimental condition for inducing cerebral aneurysms caused intimal proliferation in the lumen of induced aneurysms or at the site where aneurysms were expected to grow. This, in turn, indicate that intimal proliferation is suppressed by the treatments for inducing aneurysms. And it can be said that cerebral aneurysms develop because of decreased proliferative response at the site of intimal injury.

The experiment (3) showed that FSF caused smooth muscle cell proliferation and accumulation of collagen at the site of induced aneurysms. Although the mechanism is still unclear, this result also indicate that the aneurysm development is strongly related to the response to intimal injury.

はじめに

1978年、橋本らがラットに、1987年モンキーに、脳動脈瘤を誘発することに成功し^{10,11,15,16)}。以後この動物モデルを用いた実験的研究から、初期病変は脳血管分枝部の特定の部位に発生し、動脈硬化性病変同様、内皮細胞傷害を伴う血管壁傷害が脳動脈瘤の発生、増大に密接に関与していることが明らかとなった^{17,22,25,28)}。また血行力学的ストレス、高血圧、結合組織の代謝異常などが脳動脈瘤の発生、増大に重要な意義を有することが示されてきた^{11,12,14,17,27)}。

通常、内皮細胞の変化を伴う血管の傷害部位では硬化性病変すなわち内膜増殖性反応が起こるとされているが^{3,5,8,21,32,33)}、この実験的脳動脈瘤病変ではそのような増殖性変化はほとんど認められず、脳動脈瘤性病変は局所の内膜増殖機構が抑制されていることが一つの要因と考えられる。

本研究では、脳動脈瘤性病変部における内膜修復機構の抑制と発現を動物モデルを用いて確認することを主題とし、また、その機序について検討を加えた。

実験 (1)

ラット脳動脈瘤誘発モデルにおける動脈瘤発生側総頸動脈結紮の効果。

目的

臨床データ及び当教室における動物モデルを用いた

脳動脈瘤発生、増大機序に関するこれまでの数々の研究から、脳動脈瘤の成因として、血行力学的ストレスの役割が注目されてきた^{6,14,17,20,22,34)}。動物モデルにおける動脈瘤性病変部では、内皮細胞の腫大や空胞変性、内弾性板の断裂や消失、また中膜筋層の菲薄化などの退行変性のごく初期の段階より観察されるが^{17,22,25,28)}、内膜の増殖反応はほとんど認められず、内膜の修復機構が抑制されていることが疑われる。

本実験では、ラット脳動脈瘤誘発モデルを用い、動脈瘤発生側の頸動脈を結紮することによって血行力学的ストレスの軽減を図り動脈瘤あるいはその発生部位の内膜における組織学的変化につき検討した。

材料及び方法

7週齢雄 Sprague-Dawley ラット30匹を使用し、それぞれ pentobarbital 麻酔下 (40 mg/Kg, 腹腔内投与) に左総頸動脈結紮と両側腎動脈後枝結紮の脳動脈瘤誘発処置を行った。1週間後より1% NaCl を飲料水として投与した。3ヵ月後これらを実験群 (18匹) と対照群 (12匹) の2群に分け、実験群は pentobarbital 麻酔下で右総頸動脈結紮を行った。2群ともに誘発処置後5ヵ月で pentobarbital 麻酔下で腹部大動脈、下大静脈に 21 g エラスター針を挿入し、まず大動脈より傷血しつつ下大静脈より 0.15 M リン酸緩衝液 (pH 7.4) を注入した。動脈圧が低下した後、大動脈より 0.15 M リン酸緩衝液 (pH 7.4) を注入しつつ下大静脈

より瀉血し、頭部及び上半身を灌流した。その後、0.15 M リン酸緩衝液 (pH 7.4) にて調整した2.5% グルタルアルデヒドで灌流固定を行った。さらに実体顕微鏡下に脳底部主要動脈を剝離し、動脈瘤好発部位の一つである右前大脳動脈 (ACA)/嗅動脈 (OA) 分枝部を切り出し、前述の固定液で24時間浸漬固定した。0.15 M リン酸緩衝液で洗浄後、1% オスミウム酸で後固定を行い、上昇アルコールで脱水し、エポン包埋を行った。ウルトラマイクロームでミクロン切片を作製し、トルイジンブルー液で染色し、光顕的に観察した。また、一部は超薄切片を作製し、酢酸ウラニル、水酸化鉛で染色後透過型電顕 (Hitachi H-600) で観察した。血圧は無麻酔下に tail-cuff auto-pickup plethysmograph 法にて、動脈瘤誘発処置前、灌流固定時に測定した。

結 果

1) 血圧

実験群での動脈瘤誘発処置前、灌流固定時の血圧は順に、 118.6 ± 7.4 mmHg (mean $\pm$ S.D.), 193.2 ± 14.3 mmHg で、対照群では順に 120.2 ± 6.8 mmHg,

194.4 ± 17.6 mmHg で2群間に有意差は認められなかった ($p < 0.01$).

2) ACA/OA 分枝部における組織学的変化

動脈瘤発生に伴う様々な変化を大きく以下の4群に分けた。

Grade IV: 肉眼的に明らかな動脈瘤様膨隆を認めるもの。膨隆部の壁は、おもに結合織によって構成され、内弾性板と中膜筋層は膨隆の起始部において消失、もしくは非薄化しており、動脈瘤壁内では消失している (aneurysm, Fig. 1).

Grade III: 外膜側からはほとんど膨隆として認められないが、組織学的に血管内腔の血管壁内陥入が認められるもの。apical intimal pad は、分枝部頂部から evagination 起始部にわたって、あるいは pad が evagination の壁の一部を構成する形で存在する。内弾性板は intimal pad 内では分裂、断裂し、evagination の近位側起始部から壁内にかけては認められない。さらにその遠位部においても非薄化、断裂している。また中膜筋層は、evagination の起始部で非薄化し、壁内では消失しており、evagination 壁は重に結

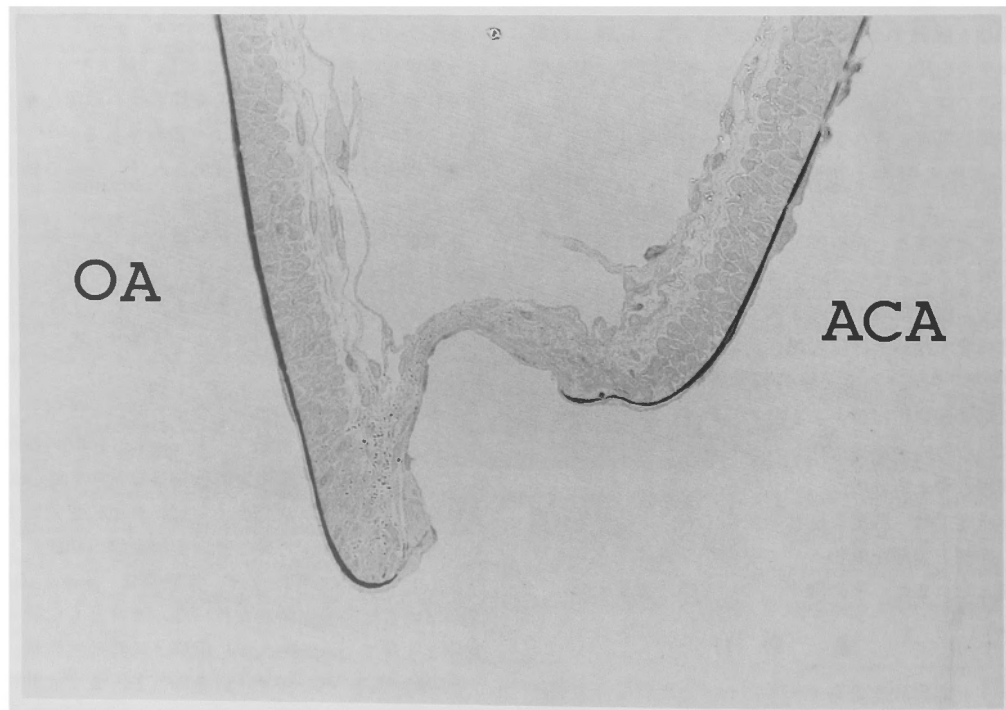


Fig. 1 Aneurysm. An aneurysmal bulge involves apical region including the apical intimal pad. The wall of the bulge is very thin without elastic lamina and muscle layer (control group in Experiment (1), toluidine blue, $\times 400$).

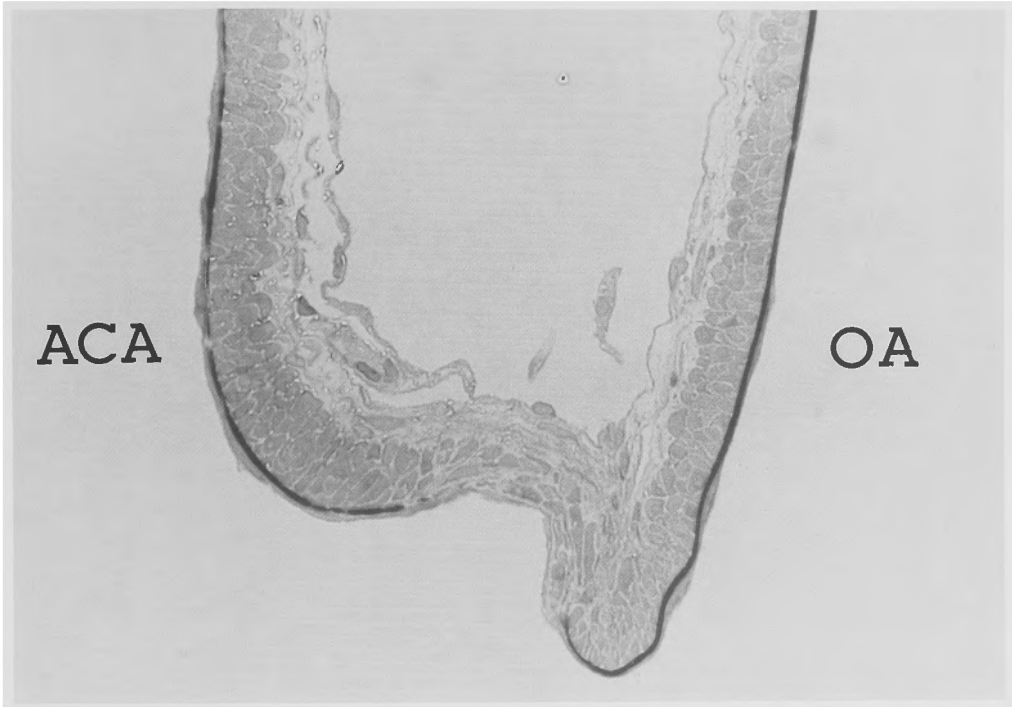


Fig. 2 Small evagination. The intimal pad is partly involved in the wall of the evagination. The medial layer is very thin and the elastic lamina end abruptly at the entrance (control group in Experiment (1), toluidine blue, $\times 400$).

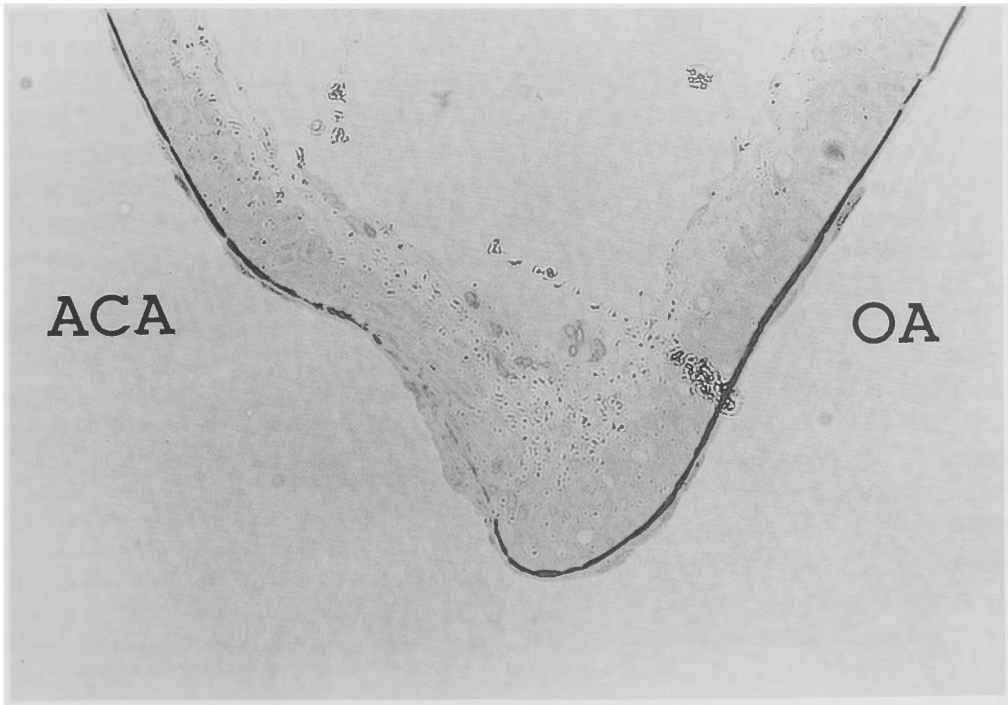


Fig. 3 Depression. The internal elastic lamina is fragmented and the medial laryer is shinned at the depression (control group in Experiment (1), toluidine blue, $\times 400$).

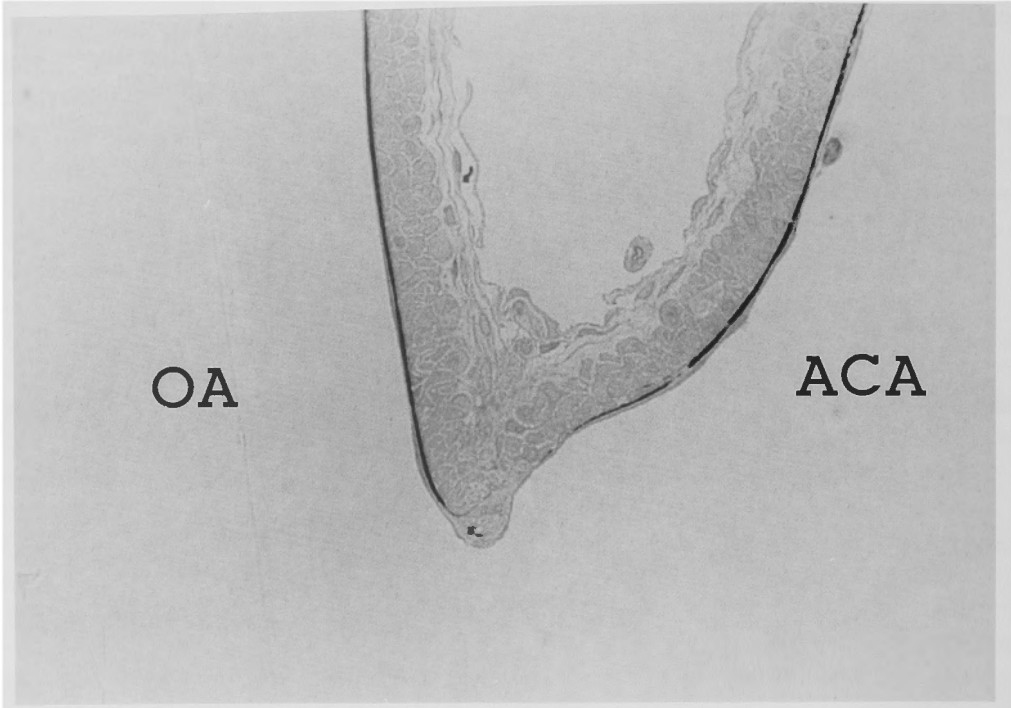


Fig. 4 The internal elastic lamina distal to the intimal pad on the side of ACA is thinned and partly fragmented. Here, the medial muscle layer shows mild degeneration (control group in Experiment (1), toluidine blue, $\times 200$).

合繊によって構成される (small evagination, Fig. 2).
Grade II: apical intimal pad の ACA 側遠位部に血管壁の浅い陥凹が認められるもの。内弾性板は菲薄化、断裂、あるいは部分的に消失しており、中膜筋層は他部におけるよりも菲薄化し、しかも結合繊に富んでいる (depression, Fig. 3).
Grade I: 明らかな陥凹は認められないが、ACA 側 intimal pad に連続する部において内弾性板が菲薄化、断裂しているもの。中膜筋層の変化は認められない (Fig. 4).

1. 対照群

Grade IV, III, II, I の変化は、それぞれ順に 2, 5, 3, 2 例に認めた。明らかな内膜の増殖性変化は 1 例も観察されなかった。Grade IV-I の代表例は Fig. 1-4 に示したごとくである。

2. 実験群

Grade IV, III, II, I の動脈瘤性変化は、それぞれ順に 2, 2, 7, 7 例に認めた。うち Grade IV では 2 例中 1 例, Grade III では 2 例中 2 例に, Grade II では 7 例中 4 例, Grade I では 7 例中 3 例に内膜の増殖

性変化が観察された (Table 1)。すなわち、18例中10例に内膜の増殖性変化が観察され、この内膜増殖は動脈瘤性変化を示す部位及び連続してそのごく近傍に限られていた (Fig. 5, 6)。Fig. 5 のごとく浅い陥凹を示すものでは、増殖した内膜はこの陥凹をあたかも保護するかのよう覆い、また、Fig. 6 のごとく明らかな動脈瘤様陥凹を示すものでは増殖内膜は陥凹部より遠位に連続して、今後動脈瘤の増大に伴って内弾性板の断裂、消失や、中膜筋層の菲薄化が起きてくると考えられる部を覆っていた。透過型電顕による観察ではこ

Table 1 Effect of Carotid Ligation on The Experimentally Induced Cerebral Aneurysms in Rats

	No. of bifurcations			
	Grade IV	III	II	I
Control group	2 (0)	5 (0)	3 (0)	2 (0)
Experimental group	2 (1)	2 (2)	7 (4)	7 (3)

() : number of bifurcations with intimal proliferation

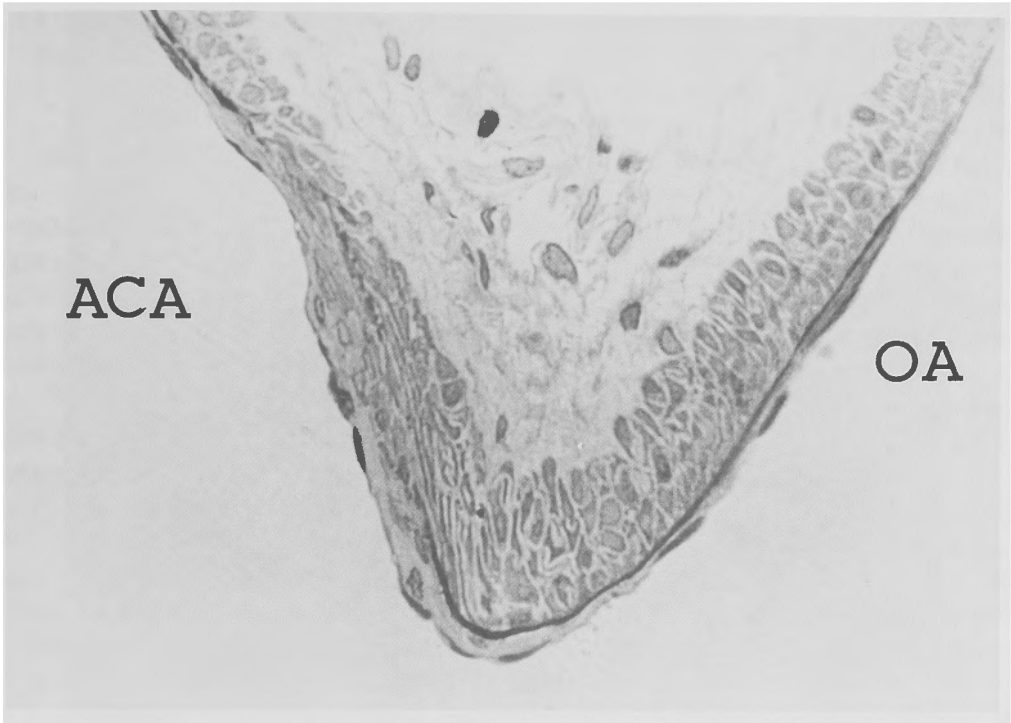


Fig. 5 As in the case of Fig. 3, the internal elastic lamina is thinned and fragmented. In contrast to the case of Fig. 3, intimal proliferation is significant at the site where aneurysm is expected to originate (experimental group in Experiment (1), toluidine blue, $\times 600$).

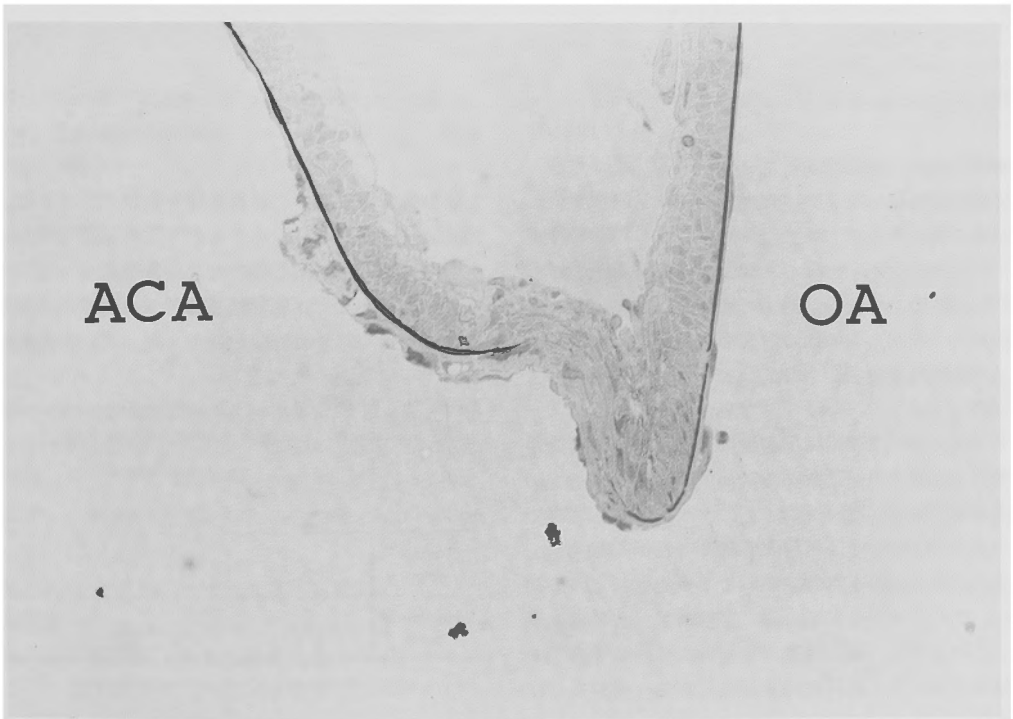


Fig. 6 In contrast to the case of Fig. 1, the lumen of the aneurysm is covered by intimal proliferation (experimental group in Experiment (1), toluidine blue, $\times 200$).

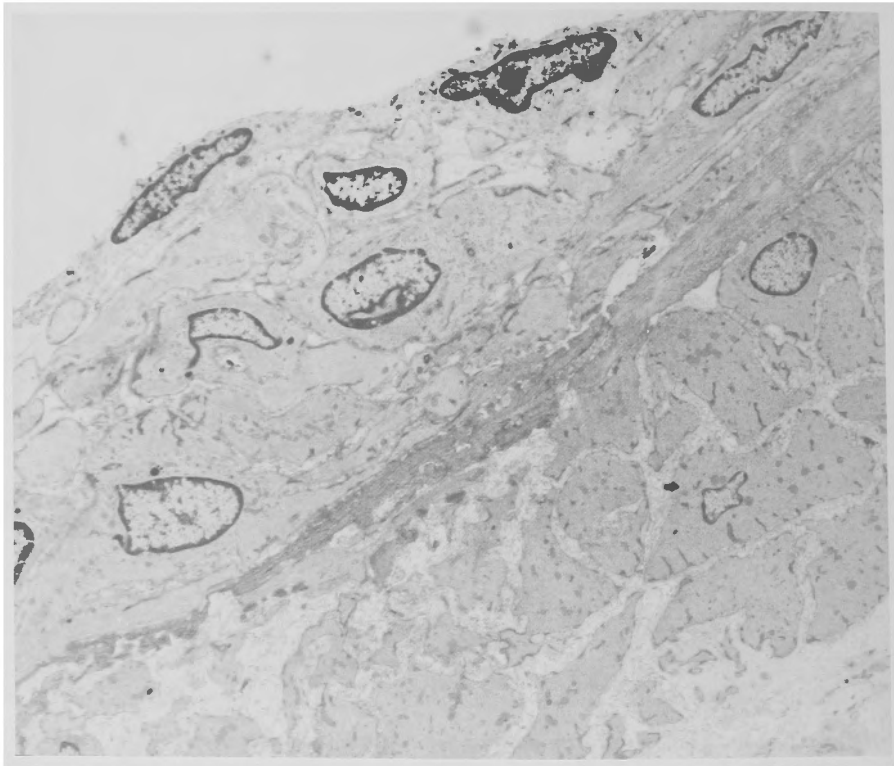


Fig. 7 Transmission electron microscopy of the intimal proliferation. The proliferated intimal is composed of smooth muscle cells of synthetic phenotype and collagen with a small amount of cellular debris (experimental group in Experiment (1), $\times 2500$).

の増殖内膜は、豊富な細胞性成分と多量の膠原線維、及び基底膜様層状構造物により構成されていた。核及び細胞は形状不正で、細胞内小器官が増加し、周辺に多くの dense plaque を持ち、周囲が基底膜で囲まれており、活動性の平滑筋細胞 (synthetic phenotype) と考えられた。また、この部の内皮細胞は膨化、空胞変性などの退行性変化を示していた (Fig. 7)。

結 論

ラットにおいて脳動脈瘤誘発処置3ヵ月後に動脈瘤誘発側（右側）の総頸動脈を結紮することにより、18例中10例で動脈瘤誘発部に内膜の増殖性変化を認めた。この内膜の増殖はおもに活動性の平滑筋細胞 (synthetic phenotype) と膠原線維により構成されていた。また、この部の内皮細胞は退行変性所見が著名であった。このような内膜の増殖は対照群では観察されず、実験群においても動脈瘤誘発部位以外では観察されな

かった。

脳動脈瘤発生側の近位部血管を結紮することにより誘発脳動脈瘤あるいはその初期変化病巣部で明らかな内膜増殖性変化が起こることが明らかとなった。このような増殖性変化は脳動脈瘤誘発モデルである対照群ではまったく認められなかった。従って、頸動脈結紮

Table 2 Effect of Reserpine on The Experimentally Induced Cerebral Aneurysms in Rats

	No. of bifurcations			
	Grade IV	III	II	I
Control group	2 (0)	5 (0)	2 (0)	1 (0)
Experimental group	2 (0)	4 (3)	6 (3)	3 (2)

() : number of bifurcations with intimal proliferation

による血行力学的ストレスの軽減が内膜増殖の原因であると結論される。

実 験 (2)

ラット脳動脈誘発モデルにおける降圧の効果
目 的

この脳動脈瘤誘発モデルにおいて、実験的高血圧症は頸動脈結紮とともに脳動脈瘤誘発のための重要な条件である²⁷⁾。

本実験では高血圧を負荷した状態でラットに脳動脈瘤を誘発した後、降圧による動脈瘤誘発部位への影響を検討した。

材料及び方法

7週齢雄 Sprague-Dawley ラット25匹を使用した。実験(1)同様の動脈瘤誘発処置を行った後、処置後1週間より1%NaClを飲料水として与え、さらに1週間後より0.12%β-aminopropionitrile fumarate (BAPN, 東京化成)を飼料に加えた。ここでラットを2群に分け、15匹を実験群、残り10匹を対照群とした。実験群では、処置後3ヵ月より reserpine (0.75 mg/Kg B.W./day) を2週間連続腹腔内投与し、投与終了翌日実験(1)同様の方法で灌流固定を行った。対照群も同時に灌流固定を行った。

全例右側 ACA/OA 分枝部を切り出し、実験(1)同様の方法でエボン包埋を行った後、顕微鏡観察を行った。

血圧は無麻酔下に tail-cuff autpickup plethysmograph 法にて、動脈瘤誘発処置前、reserpine 投与前、灌流固定時に測定した。

結 果

1) 血圧

実験群での動脈瘤誘発処置前、reserpine 投与開始時、灌流固定時の血圧は順に、① 121.4 ± 5.2 mmHg (mean $\pm$ S.D.), ② 201.4 ± 18.4 mmHg, ③ 125.4 ± 9.4 mmHg であった。また、対照群での処置前、灌流固定時の血圧は順に、④ 119.6 ± 7.5 mmHg, ⑤ 188.2 ± 11.9 mmHg であった。①④, ②⑤間では有意差を認めず、①②, ②③間では有意差が認められた ($p < 0.01$)。すなわち実験群では reserpine によって有意に血圧の低下をみた。

2) ACA/OA 分枝部における組織学的変化

1. 対照群

Grade IV, III, II, I の動脈瘤性変化はそれぞれ2, 5, 2, 1例であった。内膜の増殖性変化を示すもの

は1例も認められなかった。

2. 実験群

Grade IV, III, II, I の動脈瘤性変化はそれぞれ2, 4, 6, 3例であった。Grade III の4例中3例, Grade II の6例中3例, Grade I の3例中2例の計8例に内膜の増殖性変化が観察された (Table 2)。

内膜の増殖形態は、実験(1)におけるもの同様、種々のものがみられた。明らかな陥凹を持つものでは陥凹部より連続して遠位側に向い (Fig. 8), 明らかな陥凹を示さないが内弾性板の消失、中膜筋層の非薄化を示しているものにおいては apical intimal pad より連続し、その非薄化部を覆うものなどが観察された (Fig. 9)。但しその程度は実験(1)におけるものより軽微なものであった。

結 論

高血圧負荷状態のラット脳動脈瘤誘発モデルにおいて、reserpine を用いた降圧を行うことにより、実験

(1) 同様の動脈瘤誘発部位における内膜の増殖が確認された。この内膜増殖は他の部位では観察されず、また対照群においても1例も観察されなかった。

血圧は、実験群において、reserpine 投与後明らかに低下していた。従って、reserpine を用いた降圧により内膜の増殖反応が促進されたと考えられた。

実 験 (3)

ラット脳動脈瘤誘発モデルにおける Fibrin stabilizing factor (FSF, Blood coagulation factor XIII) の効果
目 的

実験(1), (2)において、動脈瘤性病変部における内膜修復機構の発現の可能性が示された。FSFは、血液凝固系の一因子としてだけではなく、一般に創傷治癒促進因子としても知られており、フィブリンの安定化、ファイブロンectinのフィブリンへの結合の促進、線維芽細胞の游走、増殖、フィブリンネットへの結合、コラーゲン産生の促進などの作用があるとされている^{1,2,7,23)}。これまで、動物実験において、皮膚の損傷、骨折等の治癒の促進が確認されている¹⁴⁾。本実験では、脳動脈瘤は脳血管内膜の創傷であり、創傷治癒反応の低下が退行変性主体の脳動脈瘤へと発展するとの仮説のもとに、動脈瘤発生部位での FSF の内膜修復機構への影響につきラット脳動脈瘤誘発モデルを用い検討した。

材料及び方法

7週齢雄 Sprague-Dawley ラット45匹を使用した。



Fig. 8 The aneurysmal lumen is covered by apparent proliferated intimal tissue (experimental group in Experiment (2), toluidine blue, $\times 400$).

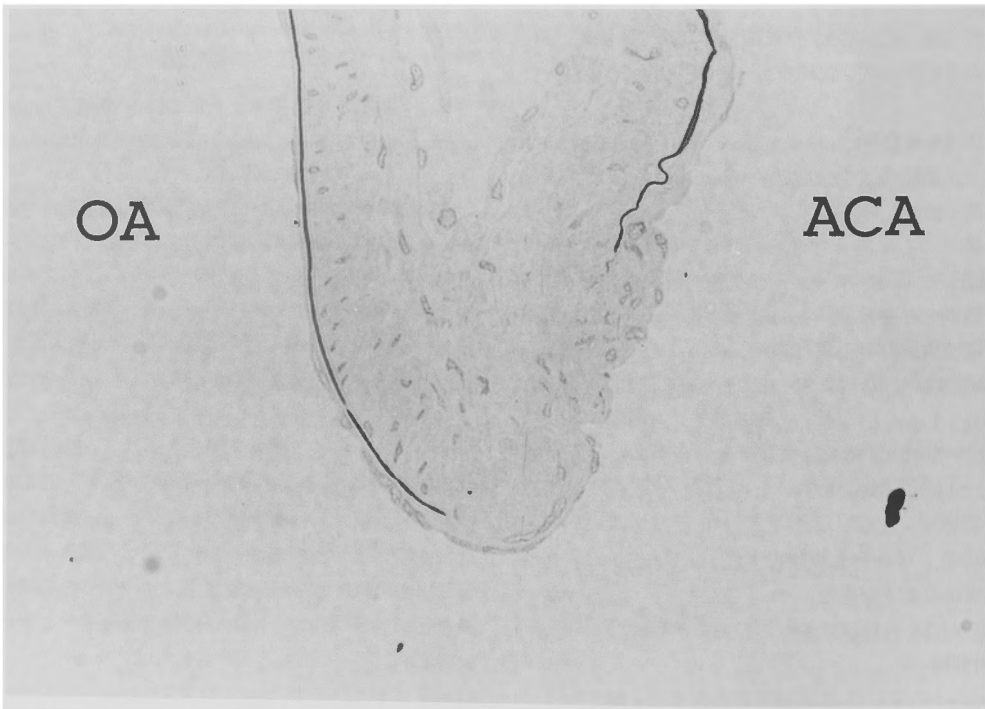


Fig. 9 The internal elastic lamina in the side of apical region and distal to the side of ACA is fragmented and disappeared. Intimal proliferation is significant at the site where aneurysm is expected to originate (experimental group in Experiment (2), toluidine blue, $\times 400$).

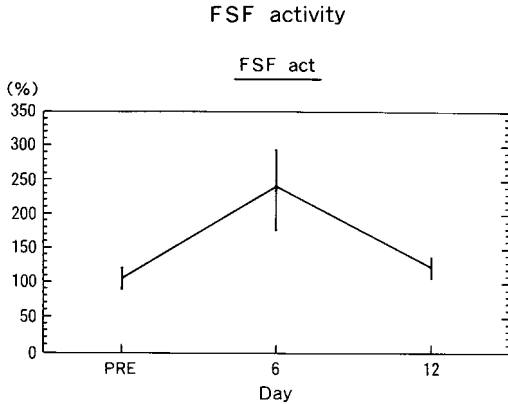


Fig. 10 FSF activity in the group treated with FSF. The activity increase about 2 times at the 6th day from the start of injection.

これらを実験 (1) 同様の脳動脈瘤誘発処置を行った後、1週間後より 1%NaCl を飲料水として与え、2週間後より β -aminopropionitrile fumarate (BAPN, 東京化成) を 0.12% の割合で飼料に混合し投与した。その後これらを実験群 (30匹) と対照群 (15匹) の 2 群に分け、実験群では処置 4 週間後より FSF (10 U / 100 g B.W./day) を連続 5 日間尾静脈より投与し、投与終了 1 週間後に実験群、対照群ともに実験 (1) 同様の方法で灌流固定を行った。2 群すべて、右側 ACA/OA 分枝部を切り出し、実験 (1) 同様の方法でエボン包埋を行い、光顕及び一部は透過型電顕にて観察を行った。

血圧は無麻酔下に tail-cuff autpickup plethysmograph 法にて、動脈瘤誘発処置前、灌流固定時に測定した。

また無処置ラット 10 匹で尾静脈より採血を行い、FSF 濃度をもとめこれをラット正常値とし、実験群において FSF 投与前、投与後、灌流固定時の FSF 濃度を測定した (三菱油化 B.C.L.)。

*FSF (Fibrogammin®; Factor XIII-concentrates, Placental FSF) obtained from Hoechst Japan Limited.

結果

1) 血圧

実験群における誘発処置前、灌流固定時の血圧は順に、 120.6 ± 11.4 mmHg, 192.4 ± 22.8 mmHg で、対照群においては順に、 124.4 ± 8.6 mmHg, 189.6 ± 24.2 mmHg であった。両群間に有意差は認められなかった ($p < 0.01$)。

2) FSF 血中濃度

実験群において、投与前 FSF 血中濃度は正常値域内であったが、投与終了翌日では約 2 倍強の値となっていた。1週間後の灌流固定時ではほぼ正常値域に復していた。(Fig. 10)。

3) ACA/OA 分枝部

1. 対照群

15匹中 Grade IV, III, II, I はそれぞれ 3, 2, 6, 4 例であった。内膜の増殖性変化を示すものは 1 例も観察されなかった。

2. 実験群

30例中 Grade IV, III, II, I はそれぞれ 5, 4, 11, 10 例に認められた。このうち Grade IV では 5 例中 2 例に、Grade III では 4 例中 2 例、Grade II では 11 例中 7 例、Grade I では 10 例中 5 例の計 16 例に動脈瘤誘発部位に内膜の増殖が観察された (Table 3)。この実験群における内膜増殖は、前述の 2 実験群におけるものよりその程度が著明で、明らかな動脈瘤様膨隆を示すものでは、内腔を埋めるような形で増殖を認め、最も著明なものでは内腔はほぼ完全に細胞及び結合組織成分で埋まっていた (Fig. 11, 12)。small evagination を示すものでもやはり内腔はほぼ増殖組織により埋められていた。depression を示すもの、また明らかな陥凹を認めないものでも種々の内膜増殖が認められ、intimal pad に連続あるいは intimal pad を覆って内弾性板の断裂、菲薄部を保護するかのように増殖内膜が観察された (Fig. 13, 14)。動脈瘤誘発部位以外では内膜の増殖性変化は観察されなかった。

透過型電顕では、これら増殖内膜は実験 (1) の実験群同様、形状不正で、細胞内小器官が増加し、細胞膜周辺に多数の dense plaque を持つ、周囲が基底膜で囲まれた細胞と、多量の膠原線維及び基底膜様層状構造物で構成されていた。実験 (1) 同様、これらの細胞は活動性の平滑筋細胞 (synthetic phenotype) と考えられ、またこの部の内皮細胞はやはり実験 (1) 同様

Table 3 Effect of FSF on The Experimentally Induced Cerebral Aneurysms in Rats

	No. of bifurcations			
	Grade IV	III	II	I
Control group	3 (0)	2 (0)	6 (0)	4 (0)
Experimental group	5 (2)	4 (2)	11 (7)	10 (5)

() : number of bifurcations with intimal proliferation

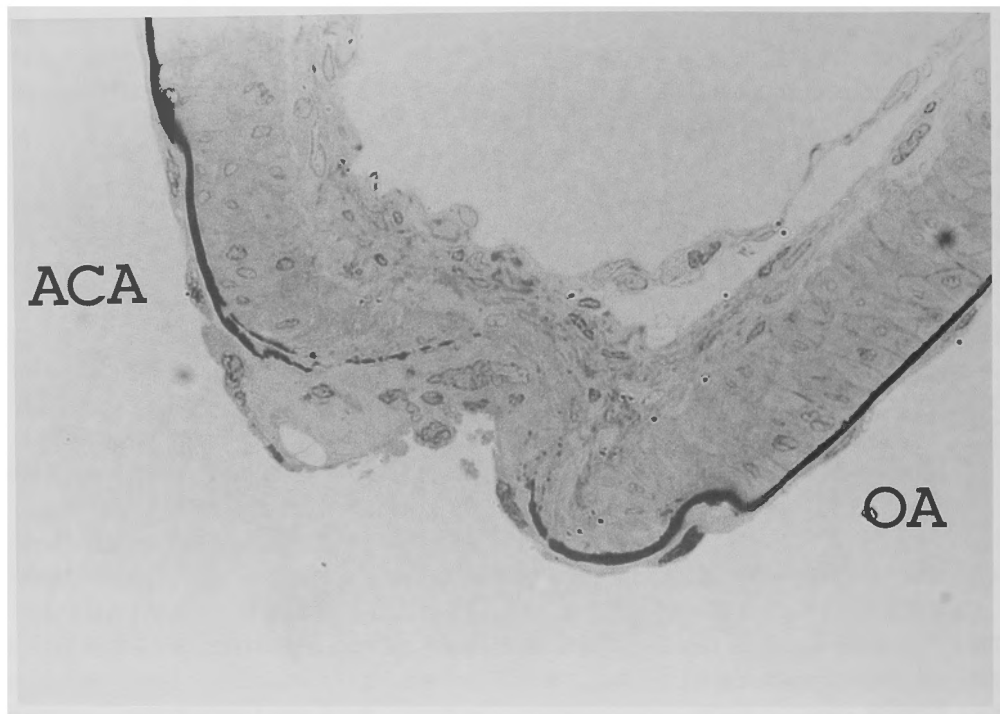


Fig. 11 The original aneurysmal lumen is traced by the fragmented elastic lamina. The lumen of the aneurysm is almost filled with intimal proliferation (experimental group in Experiment (3), toluidine blue, $\times 600$).

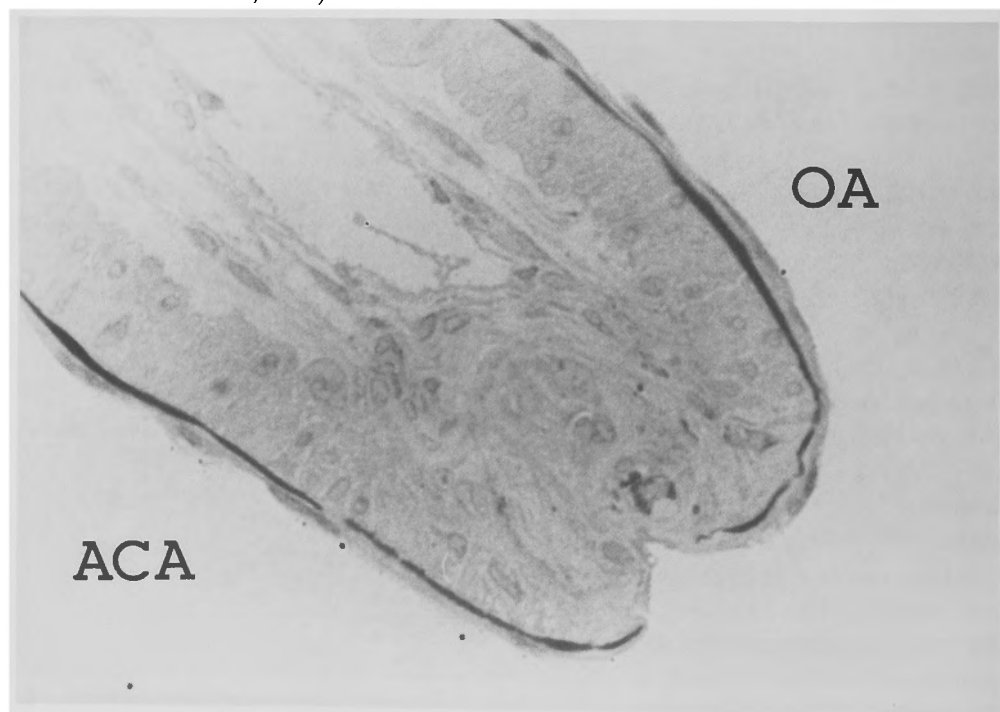


Fig. 12 The aneurysmal lumen is completely obliterated by proliferated tissue (experimental group in Experiment (3), toluidine blue, $\times 600$).

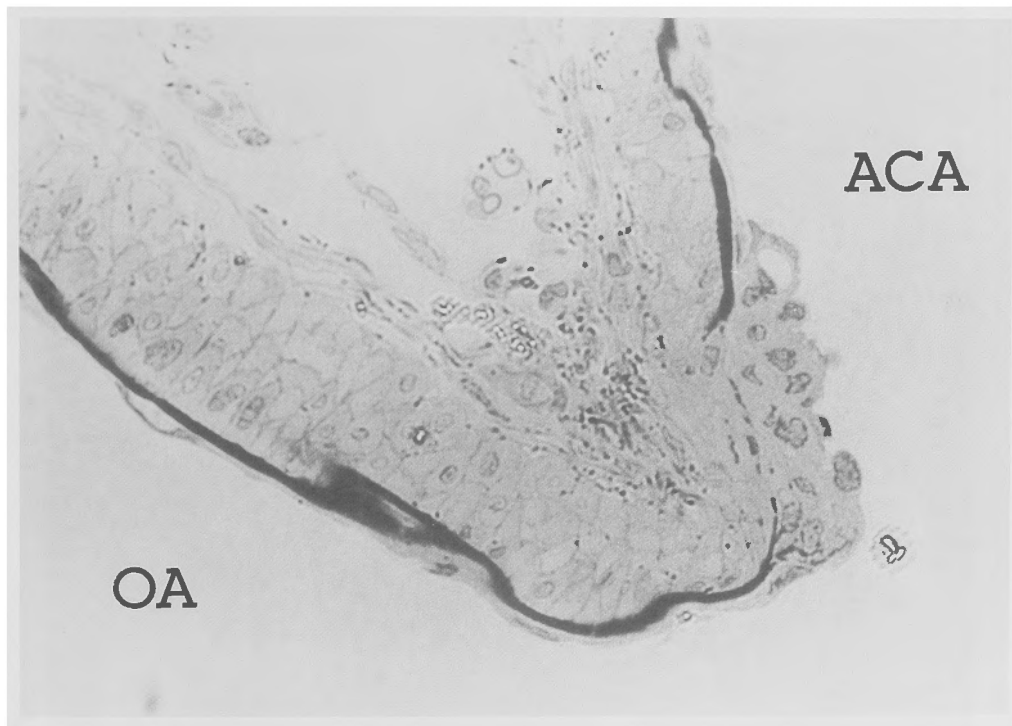


Fig. 13 As in the case of Fig. 3, the internal elastic lamina is thinned and fragmented. In contrast to the case of Fig. 3, intimal proliferation is significant at the site of depression (experimental group in Experiment (3), toluidine blue, $\times 600$).

に、退行変性所見を示していた (Fig.15).

結 論

ラット脳動脈瘤誘発モデルに FSF を投与することにより、30例中16例で動脈瘤誘発部位に内膜の増殖性反応を認めた。著明なものでは動脈瘤内腔がほぼ完全に増殖内膜により埋められていた。この増殖内膜は主に活動性の平滑筋細胞 (synthetic phenotype) と膠原線維により構成されていた。このような内膜増殖は動脈瘤誘発部位にのみ観察され、他の部位では観察されなかった。

非投与群ではこのような内膜増殖は一例も認められなかった。従って、FSF により動脈瘤発生部位における増殖反応が促進されたものと考えられる。

考 察

今回の一連の実験により、動脈瘤病変部においても、通常の血管内膜傷害部位同様に内膜の増殖反応が賦活化され得ることが確認された。

本動物モデルにおいては一側総頸動脈結紮、両側腎動脈後枝結紮 (腎性高血圧), lathyrogen の一種であ

る BAPN の投与の組合せにより、ラット及びモンキーに脳動脈瘤が誘発される^{10,11,15,16}。ラットにおいては非結紮側の内頸動脈分枝部、ACA/OA 分枝部、前交通動脈部、及び結紮側の後大脳動脈近位部が動脈瘤の好発部位となる¹⁴。このうち ACA/OA 分枝部は分枝角度が比較的個体差が少なく、動脈瘤誘発の頻度が高いことから²²、今回の実験に使用した。この部においては誘発処置後、太い分枝側で intimal pad のすぐ遠位側に浅い陥凹や溝がしばしば観察され、同時に内弾性板の断裂、消失、中膜筋層の菲薄化を伴う。

このような変化は動脈瘤の初期病変であることが確認されている^{17,22}。さらに進行したものでは陥凹部は内弾性板や中膜筋層を欠き、おもに薄い結合組織だけとなる。これら、種々の段階での病理学的変化についてはすでに発表されているが^{13,17,18,22,25,28}、この誘発動脈瘤では極めて初期の段階より内皮細胞の退行変性所見が再生所見に比し優位に観察される^{17,25,28}。

一般に、内皮細胞傷害を伴う血管壁の損傷では、内膜における細胞増殖と結合組織の蓄積によって内膜肥厚が起こるとされており^{3,5,8,21,32,33}、このような増殖性

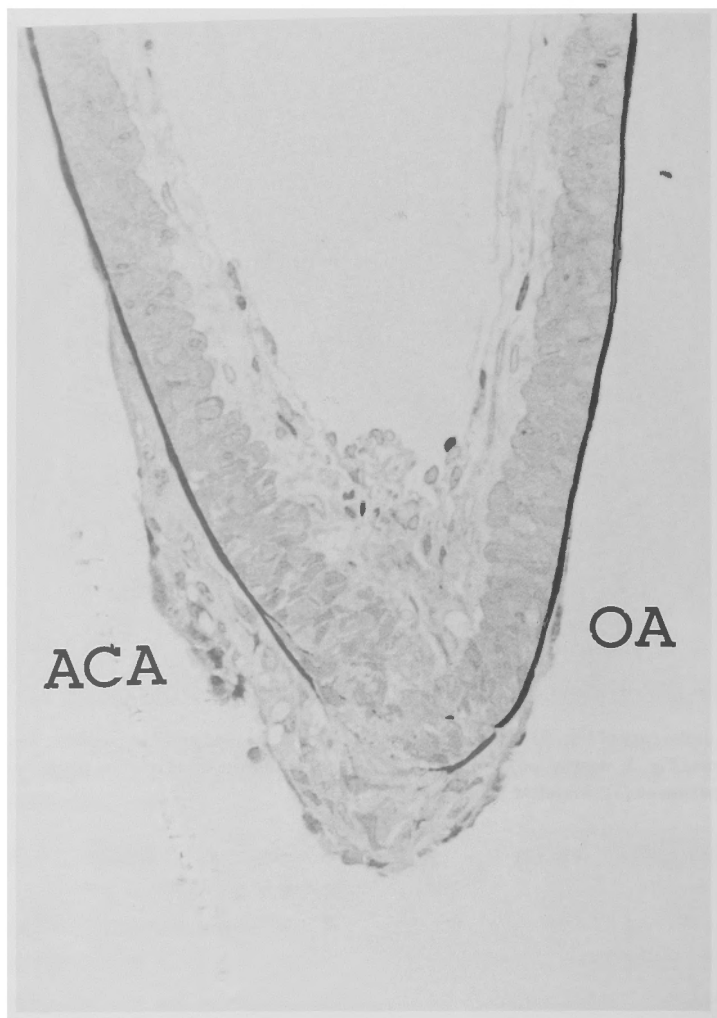


Fig. 14 In contrast to the case of Fig. 4, distal portion of ACA are covered by intimal proliferation which is continuous to apical intimal pad (experimental group in Experiment (3), toluidine blue, $\times 500$).

反応が動脈硬化性病変部の病理学的な特徴とされている^{3,9,29,30,31}). このような動脈硬化性病変にたいし、脳動脈瘤の初期病変では内膜における細胞増殖や結合組織の蓄積はほとんど観察されず、動脈硬化性病変と動脈瘤性病変における血管壁損傷に対する反応の差異から、動脈瘤発生、増大の一因として内膜傷害に対する修復反応すなわち増殖反応が抑制されていることが重要であろうと考えるに至った。

以上のような観点から今回の一連の実験を行ったが、まず実験(1)において動脈瘤誘発側の総頸動脈を結紮することにより、動脈瘤誘発部位に内膜の増殖

反応が18例中10例に観察された。対照群では、このような誘発動脈瘤部での内膜増殖反応は1例も観察されず、このことから血行力学的ストレスの軽減が動脈瘤性病変部に内膜増殖反応を発現させ得ることが確認された。この事実とは逆に、動脈瘤発生部位では血行力学的ストレスによる内膜傷害が損傷治癒反応としての内膜増殖能を凌駕していることを証明するものである。

今回の実験で観察された内膜増殖は、ACA側 intimal pad に連続、あるいは intimal pad を含んで遠位へ伸び、動脈瘤が誘発される部に限られていた。この部位は小島らによって内皮細胞の退行変性が著明な部

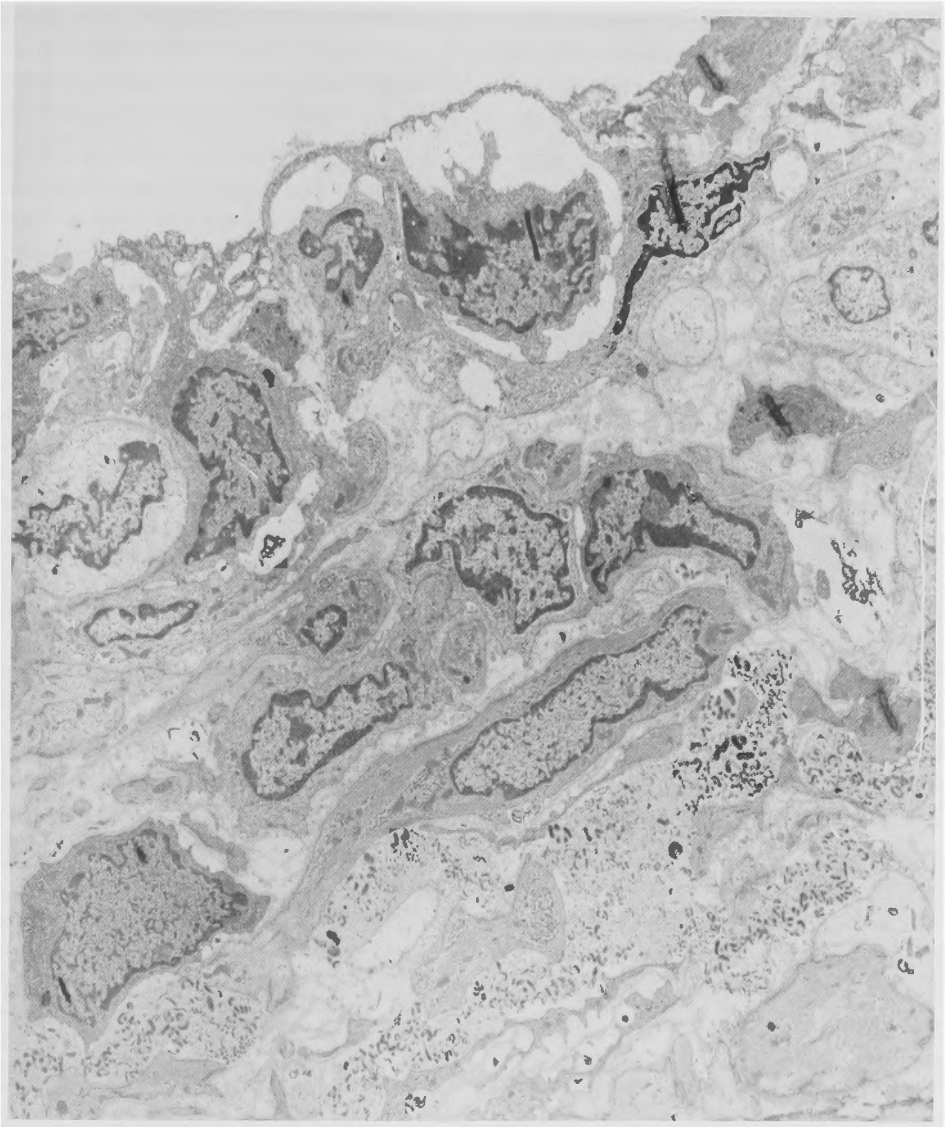


Fig. 15 Transmission electron microscopy of the intimal proliferation of the rats treated with FSF. The proliferated tissue is composed of smooth muscle cells of synthetic phenotype and collagen with a small amount of cellular debris. Swelling and vacuolar degeneration of the endothelial cells are also observed (experimental group in Experiment (3), toluidine blue, $\times 3000$).

位であることが確認されている²⁵⁾。またこの内膜は増殖した活動性の平滑筋細胞 (synthetic phenotype) 及び多量の膠原線維を主とする結合組織で構成されていた。動脈硬化性病変における内膜増殖は同様に活動性の平滑筋細胞によるものであり^{3,9,29-32)}、この点で今回の増殖内膜は動脈硬化性病変における増殖内膜と類似するものである。動脈硬化性病変部における活動性平滑筋

細胞 (synthetic phenotype) の由来については、中膜筋層の収縮性平滑筋細胞 (contractile phenotype) であるとする説が多くみられるが^{3,5,9,21,30-32)}、intimal pad を起源とするという説などもある³⁵⁻³⁷⁾。本実験モデルでは一定の部位に高頻度に内膜肥厚が起こることから、その起源を明らかにするための実験モデルとなり得ると思われる。

実験(2)においては、血圧を低下させることにより15例中8例で動脈瘤誘発部位に内膜増殖が観察された。通常、高血圧による血管壁損傷は内膜肥厚をもたらす。降圧によりその進行が抑えられるが、動脈瘤性病変部では高血圧もその促進因子として働いており、その軽減によって今回の実験でみられたように内膜の増殖が発現されたと考えられる。但し、内膜増殖の程度は実験(1)(3)におけるものよりも軽微なものであった。

実験(3)においてはFSFを投与することにより、動脈瘤誘発部位に実験(1)同様の内膜修復もしくは内膜増殖をもたらすことが確認された。またその増殖反応は頸動脈結紮による場合よりもより著明であった。

FSFは一般に血液凝固第XIII因子として知られているが、創傷治癒促進因子としての作用も多く報告されている^{1,4,24,25}。FSFの作用はフィブリンの安定化^{7,23}が最も重要なものであるが、ファイブロンクテンのフィブリンへの結合、線維芽細胞の游走、増殖、フィブリンネットへの結合、膠原線維産生などを促すとされており^{1,3}、これらが創傷治癒反応に促進的に働くと考えられている。また、皮膚損傷、骨折等の治癒促進が実験的に確認されている^{1,4}。

これまでFSFによる線維芽細胞の増殖は報告されているが平滑筋細胞に対する報告はない。今回の実験により、平滑筋細胞の増殖も促進され得ることが初めて確認された。同時に膠原線維の蓄積も顕著であったが、このような反応は実験(1)、(2)同様動脈瘤誘発部位にのみ限られ、FSFの投与が血管壁損傷における修復過程に強く関与していると考えられる。現時点では推論の域をでないが、FSFは内膜傷害局所においてフィブリンの安定化を促し、フィブリンによる平滑筋細胞の増殖反応を促す¹⁹とともに、フィブリンに結合した血小板からのPDGF(platelet derived growth factor)や内皮細胞からのEDGF(endothel derived growth factor)等の産生、放出を直接、間接的に促進しているのではないかと考えられる。FSF投与による内膜肥厚の促進が動脈瘤発生部位局所におけるFSFの活性低下によるものか、過剰投与が有効なのか、さらに検討を要する。

このように動脈瘤誘発モデルにおいて、血行力学的ストレスの軽減、降圧、創傷治癒促進物質と考えられるFSFの投与という異なった方法で、誘発動脈瘤部で内膜増殖が同様に起こることが確認された。こ

れらの事実はまず血行力学的ストレスの軽減によって、本来存在する再生修復機構が賦活化されることにより内膜増殖が起こったと考えられるとともに、脳動脈瘤の発生が脳動脈瘤誘発のための実験条件の負荷によって、脳血管分枝部における内膜の退行変性と再生修復機構のバランスが退行変性優位へと傾くことが原因であるとの仮説を証明するものである。またFSFの投与による内膜増殖は、第一に脳動脈瘤発生部位においてFSF活性が低下している可能性、第二にFSFの活性増加が内膜損傷部位での内膜増殖を亢進させる可能性などを示唆するものであるが、この点についてはさらに検討が必要である。

ま と め

脳動脈瘤誘発モデルを用いた一連の研究から、脳血管分枝部では内皮細胞の傷害と再生が活発に起こっていると考えられる。脳血管分枝部では常に傷害と再生防御機構のバランスの上にある定常状態が保たれており、後天的要因によってバランスが破綻することにより退行変性優位へと傾き、動脈瘤発生に至ると考えられる。この仮説のもとに本研究では後天的要因の軽減すなわち本動物モデルにおいては頸動脈結紮による血行力学的ストレスの軽減もしくは降圧によって動脈瘤発生部位において内膜増殖が起こることを示した。

またFSFの投与により同様に著明な内膜増殖が動脈瘤部に起こることを示した。これらの事実は、動脈瘤の発生機序として後天的要因すなわち脳動脈瘤誘発のための実験条件によって退行変性優位となることが重要であるとともに、内膜損傷に対する防御的増殖反応が低下あるいは抑制されていることも示唆するものであると考えられる。

稿を終えるにあたり、ご指導、ご校閲を賜りました恩師菊池晴彦教授に深甚なる感謝の意を表します。また終始御示唆及び御指導をいただきました橋本信夫講師ならびに滋賀医科大学第2病理検閲章忠教授に心から謝意を表します。そして実験に多くの御協力をいただいた小島正行博士、金峯博士、京都大学脳神経外科山添直博学兄、ならびに中谷英行学兄に感謝の意を表します。

文 献

- 1) Beck E, Ducker F, Ernst M: The influence of fibrin stabilizing factor on the growth of fibroblasts in vitro and wound healing. *Thromb Diath Haemorrh* 6: 485-491, 1981.
- 2) Bruhn HD, Pohl J: Growth regulation of

- fibroblasts by thrombin, factor XIII and fibronec-
tin. *Klin Wochenschr* 59: 145-146, 1981.
- 3) Campbell GR, Campbell JH: Smooth muscle phenotypic changes in arterial wall homeostasis: Implications for the pathogenesis of atherosclerosis. *Exp Mol Pathol* 42: 139-162, 1985.
 - 4) Claes L, Burri C, Gerngross H, et al: Bone healing stimulated by plasma factor XIII. *Acta Orthop Scand* 56: 57-62, 1985.
 - 5) Clowes AW, Schwartz SM: Significance of quiescent smooth muscle migration in the injured rat carotid artery. *Cir Res* 56: 139-145, 1985.
 - 6) Ferguson GG: Physical factors in the initiation, growth, and rupture of human intracranial saccular aneurysms. *J Neurosurg* 37: 666-677, 1972.
 - 7) Francis CW, Marder VJ: Increased resistance to plasmic degradation of fibrin with highly crosslinked alpha-polymer chains formed at high factor XIII concentrations. *Blood* 71: 1361-1365, 1988.
 - 8) Fry DL: Responses of the arterial wall to certain physical factors. In: *Atherogenesis-Initiating Factors*, Ciba Foundation Symposium, Vol. 12, Academic Scientific Publishers Amsterdam; 1973, pp. 93-125.
 - 9) Gordon D, Schwartz SM: Replication of arterial smooth muscle cells in hypertension and atherosclerosis. *Am J Cardiol* 59: 44A-48A, 1987.
 - 10) Handa H, Hashimoto N, Nagata I, et al: Saccular cerebral aneurysms in rats: A newly developed animal model of the disease. *Stroke* 14: 857-866, 1983.
 - 11) Hashimoto N, Handa H, Hazama F: Experimentally induced cerebral aneurysms in rats. *Surg Neurol* 10: 3-8, 1978.
 - 12) Hashimoto N, Handa H, Hazama F: Experimentally induced cerebral aneurysms in rats. Part II. *Surg Neurol* 11: 243-246, 1979.
 - 13) Hashimoto N, Handa H, Hazama F: Experimentally induced cerebral aneurysms in rats. Part III. *Pathology Surg Neurol* 11: 299-304, 1979.
 - 14) Hashimoto N, Handa H, Nagata I, et al: 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.
 - 15) Hashimoto N, Handa H, Nagata I, et al: Saccular cerebral aneurysms in rats. *Am J Pathol* 110: 397-399, 1983.
 - 16) Hashimoto N, Kim C, Kikuchi H, et al: Experimental induction of cerebral arterial aneurysms in monkeys. *J Neurosurg* 67: 903-905, 1987.
 - 17) Hazama F, Kataoka H, Yamada E, et al: Early changes of experimentally induced cerebral aneurysms in rats. Light microscopic study. *Am J Pathol* 124 : 399-404, 1986.
 - 18) Hazama F, Hashimoto N: An animal model of cerebral aneurysms. *Neuropathol Appl Neurobiol* 13: 77-90, 1987.
 - 19) Ishida T, Tanaka K: Effects of fibrin and fibrinogen degradation products on the growth of rabbit aortic smooth muscle cells in culture. *Atherosclerosis* 44: 161-174, 1982.
 - 20) Kayembe KNT, Sasahara M, Hazama F: Cerebral aneurysms and variations in the circle of Willis. *Stroke* 15: 846-850, 1984.
 - 21) Kádár A, Bjoerkerud S: Arterial remodeling following mechanical injury. The role and nature of smooth muscle cells. *Pathol Res Pract* 180: 342-347, 1985.
 - 22) Kim C, Kikuchi H, Hashimoto N, et al: Involvement of internal elastic lamina in development of induced cerebral aneurysms in rats. *Stroke* 19: 507-511, 1988.
 - 23) Klingemann VH: Interaktionen bei der Bildung eines Fibringerinnsels. *Forsch Med* 103: 276-278, 1985.
 - 24) Knoche H, Schmitt G: Autoradiographische Untersuchungen über den Einfluss des Factors XIII auf die Wundheilung im Tierexperiment. *Arzneim Forsch* 26: 547-551, 1976.
 - 25) Kojima M, Handa H, Hashimoto N, et al: Early changes of experimentally induced cerebral aneurysms in rats: Scanning electron microscopic study. *Stroke* 17: 835-841, 1986.
 - 26) Marktl W, Rudas B: The effect of factor XIII on wound granulation in the rat. *Thromb Diath Hæmorrh* 32: 578-581, 1974.
 - 27) Nagata I, Handa H, Hashimoto N, et al: Experimentally induced cerebral aneurysms in rats. Part VI. Hypertension. *Surg Neurol* 14: 477-479, 1980.
 - 28) Nagata I, Handa H, Hashimoto N, et al: Experimentally induced cerebral aneurysms in rats. Part VII. Scanning electron microscope study. *Surg Neurol* 16: 291-296, 1981.
 - 29) Nilsson J: Smooth muscle cells in the atherosclerotic process. *Acta Med Scand Suppl* 715: 25-31, 1986.
 - 30) Ross R, Glomset JA: The pathogenesis of atherosclerosis (Part 1). *N Engl J Med* 295: 369-377, 1976.
 - 31) Ross R, Glomset JA: The pathogenesis of atherosclerosis (Part 2). *N Engl J Med* 295: 420-425, 1976.
 - 32) Schwartz SM, Reidy MA: Common mechanisms of proliferation of smooth muscle in atherosclerosis and hypertension. *Hum Pathol* 18: 240-247, 1987.
 - 33) Stemerman MB, Speat TH, Pitlick F, et al: In-

- timial healing: The pattern of reendothelialization and intimal thickening. *Am J Pathol* 87: 125-142, 1977.
- 34) Suzuki J, Ohara H: Clinicopathological study of cerebral aneurysms: Origin, rupture, repair and growth. *J Neurosurg* 48: 505-514, 1978.
- 35) Thomas WA, Kim DN: Atherosclerosis as a hyperplastic and/or neoplastic process. *Lab Invest* 48: 245-255, 1983.
- 36) Velican C, Velican D: Intimal thickening in developing coronary arteries and its relevance to atherosclerotic involvement. *Atherosclerosis* 23: 345-355, 1976.
- 37) Velican C, Velican D: The precursors of coronary atherosclerotic plaques in subjects up to 40 years old. *Atherosclerosis* 37: 33-46, 1980.