

実験的水頭症における血管構築

岡 伸夫・中田 潤一・遠藤 俊郎・高久 晃・篠原 治道*・森沢 佐歳*

Angioarchitecture in Experimental Hydrocephalus

Nobuo OKA, Jun-ichi NAKADA, Shunro ENDO, Akira TAKAKU,
Harumichi SHINOHARA* and Satoshi MORISAWA*

*Departments of Neurosurgery and *The First Anatomy, Toyama Medical and Pharmaceutical University,
Toyama*

Abstract

Angioarchitecture was investigated by using scanning electron microscopy of microcorrosion casts in 12 hydrocephalic rats and 5 normal control rats to observe changes in the vascular bed of the cerebral mantle in hydrocephalus.

Hydrocephalus was induced by infusion of kaolin into the cisterna magna using puncture through the occipital bone. After injecting polyester resin into the brain vessels from the aortic arch, the head was cut into serial sagittal sections close to the midline to observe the ventricle size. Among the hydrocephalic rats, two showed advanced ventricular size and 10 moderate. Brain tissue, dura mater, cranium and muscle were corroded together to prevent destruction of the microvascular casts. Reduction in the number and caliber of the capillaries in the white matter was the most remarkable change in the hydrocephalic rats. This change increased in proportion to the severity of hydrocephalus. Similar changes were observed in the basal ganglia. Changes in the cortical capillaries were mild, but cortical "palisade" patterns disappeared in some hydrocephalic cases. The crossing and pressing phenomena of the white matter vessels were characteristic, and not seen in the control rats.

Three dimensional consideration of the angioarchitecture by using microvascular casts in rat hydrocephalus is discussed, compared with the microangiographic techniques.

Key words: scanning electron microscopy, hydrocephalus, angioarchitecture, corrosion cast

I はじめに

水頭症の進行に伴い脳外套の厚さは減少するが、菲薄化した脳外套が髄液短絡術により再膨張していくことはすでに知られた事実である。その脳外套の厚さに変化をもたらす病理組織学的な背景は何かという点に関して注目すべきいくつかの研究があり、一般に水頭症においては glia, axon が減少するとともに脳血管床が減少することも脳外套菲薄化の因子の一つとして挙げられてきた。しかし、そ

の脳血管床の減少を形態学的に追究した報告は案外少なく、microangiography による 2, 3 の報告^{3,11)}をみるのみである。

今回我々は、水頭症形成による脳血管床の変化を研究する目的の第一歩として、ラット大槽内にカオリンを注入して作製した水頭症モデルの脳血管に、ポリエステル樹脂を注入することにより血管鋳型標本を作製し、これを走査電子顕微鏡(SEM)を用いて観察し、若干の知見を得たので報告する。

富山医科薬科大学脳神経外科 *同第 1 解剖

Address reprint requests to: N. Oka, M.D., Department of Neurosurgery, Toyama Medical and Pharmaceutical University, 2,630 Sugitani, Toyama 930-01.

受稿 1984年 6月 4日 受理 1985年 3月 22日

II 方 法

水頭症作製は、後頭部より大槽を穿刺する Bouman らの方法²⁾に準じた。体重160～230 g のオス Wistar rat にエーテル麻酔を施し、頭部を剃毛したのち無菌的に約 2 cm の正中縦切開を加えた。ドリルを用いて後頭結節の直上に硬膜まで達する小孔を開けたのち、長さ 3 cm、直径約 1 mm の内筒と外筒よりなる穿刺針を後頭骨に沿って進めると、硬膜より約 7～8 mm で大槽を穿刺することができる (Fig. 1)。内筒を抜去し針を頭蓋骨に固定したのち、チューブをつなぎ髄液の排出を確認し、滅菌したカオリン溶液 (250 mg/ml) 0.05～0.1 ml をゆっくりと注入した。注入後ただちに穿刺針を抜去し、小孔を bone wax で埋め閉創した。カオリン注入後50～60日を経た時点で再びエーテル麻酔下で開胸し、腕頭動脈の右総頸動脈分岐部より遠位部、および左総頸動脈分岐部より遠位部の大動脈弓を結紮し、ただちに左心室を切開した。19 gage エラスト針を大動脈に挿入し、両側頸静脈を切断し、ついで冷却した 5 % グルコースを含む生理食塩水で十分に灌流したのち、120 mmHg の圧で冷却したポリエステル樹脂 (Mercor[®]) をゆっくりと注入した。樹脂が両側頸静脈より十分に流出したのを確認したのち断頭し、皮膚および下顎を除去した。次に試料を 6 % carboxymethyl cellulose に包埋し、側臥位にしヘキサンおよびドライアイスにて -70°C で凍結した。これらの一侧半球を全身用マイクローム (LKB2250, PMV 450MP) を用いほぼ正中まで cutting を行い、その操作中に脳室の大きさから水頭症の程度を判断した (Fig. 2)。水頭症は、程度の差こそあるがほぼ全例に認められた。脳室は、側脳室体部あるいは後角が前角に比し著明に拡大している傾向にあった。

次に腐食・融解を目的として、残りの半球を約 40°C の

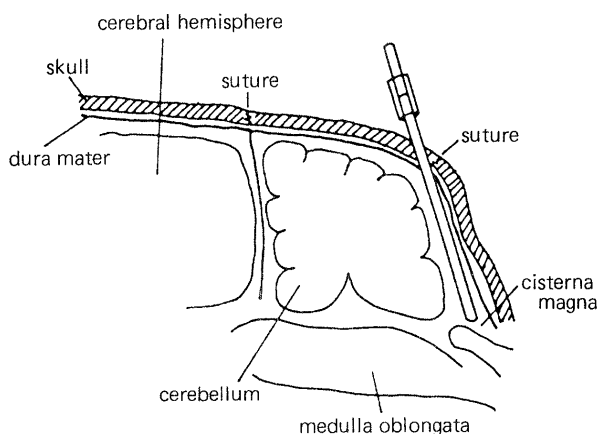


Fig. 1 Schema of cisternal puncture. (Modified from Bouman et al.²⁾)

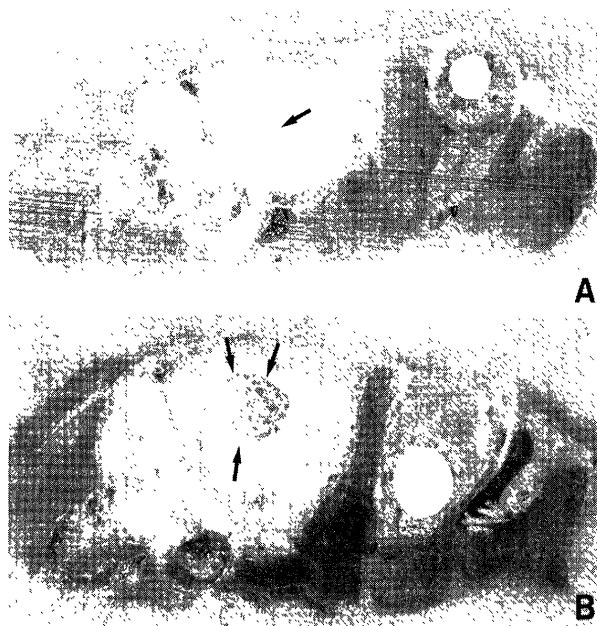


Fig. 2 A: A small ventricle (arrow) can be seen in the sagittal section of the control rat. B: A marked ventricle dilatation (arrows) and the thin cerebral cortex are apparent in the sagittal section of the hydrocephalic rat.

Na₂EDTA 25 mM、水酸化ナトリウム 1 N になるような 2 % トリトン X-100 溶液内に、約 2～3 週間浸漬した。筋肉、頭蓋骨、脳組織を完全に溶解したのち、試料を蒸留水にて十分に洗滌後氷結させ、約 2 日間真空凍結乾燥器を用い水の表面張力を消却した。これにカーボンと白金および金にて蒸着を行い、SEM (MSM 4C-202) にて観察した。その際、試料台に乗せるために鼻部および後頭蓋窩の血管は除去した。

III 対象および観察部位

1. 走査電子顕微鏡観察

対象は水頭症ラット 12 例であり、無処置の正常ラット 5 例を対照群として SEM による観察を行った。水頭症群のうち脳室拡大が著明で脳外套の扁平化をきたすほどの高度なものは 2 例、脳室拡大が明らかに認められるが脳外套の厚さの変化が比較的少ない中等度のものは 10 例であった。

2. 観察部位

観察部位は、前大脳動脈領域と基底核部を中心とし、前者においては前大脳動脈近傍の白質部と灰白質部を観察した。なお、後頭蓋窩の血管は樹脂注入時に椎骨動脈を結紮するため血管への樹脂注入が一樣でないこと、また中大脳動脈領域は試料台との固定の際にその部にペーストを塗り固定したため観察が不十分となることから、この両部位は今回の研究対象から除外した。

IV 結 果

脳組織を腐食・融解した時点では、水頭症群は肉眼的にも対照群に比べ血管が全般に疎であり、主幹動脈もはつき

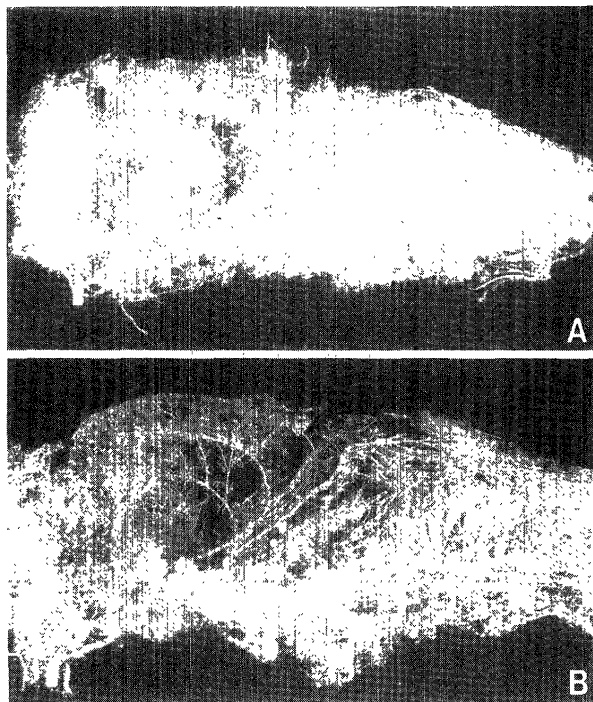


Fig. 3 A: Dense vasculature is seen in the control rat. B: Loose vasculature and marked unrolling of the anterior cerebral artery can be seen in the hydrocephalic rat.

りと認められる傾向にあった。水頭症の程度が高度になるとその傾向は著しくなり、前大脳動脈の unrolling も明瞭に観察された (Fig. 3)。

SEM による観察では、以下のごとき所見を得た。

白質部：対照群において、白質内では $4 \sim 6 \mu\text{m}$ の毛細血管が密に存在していたが (Fig. 4A)，水頭症群では毛細血管は明らかに数が減少しておりその径も約 $3 \sim 4 \mu\text{m}$ と狭小化を示していた (Fig. 4B)。水頭症の程度が進行すると主幹動脈のみが目立ち、毛細血管はきわめて少なくなった (Fig. 4C)。この結果は、観察しえたすべての白質部においてほぼ同様に認められた。

灰白質部：対照群においては、皮質血管は平行に直線状の走行を示すいわゆる“palisade” pattern を呈するが、水頭症群ではこの“palisade” pattern が崩れ蛇行走行を示した例がみられた。しかし、毛細血管などの密度およびその径には対照群と水頭症群との間に大差は認められなかった (Fig. 5)。

基底核部：基底核部においては、対照群では毛細血管が密に存在し、水頭症群では明らかにその数が減少しており、さらに血管は後下方に圧排されていた。なお、両群には血管径の差異は認められなかった (Fig. 6)。

その他：後大脳動脈領域においては、両群の間に血管密度・血管径ともに大差は認められなかった。また、水頭症群において頭頂部の白質内で血管が交叉・圧迫している現象が高率に認められた (Fig. 7)。これはほとんどが動脈と静脈により成り、対照群ではまったく認められなかった。

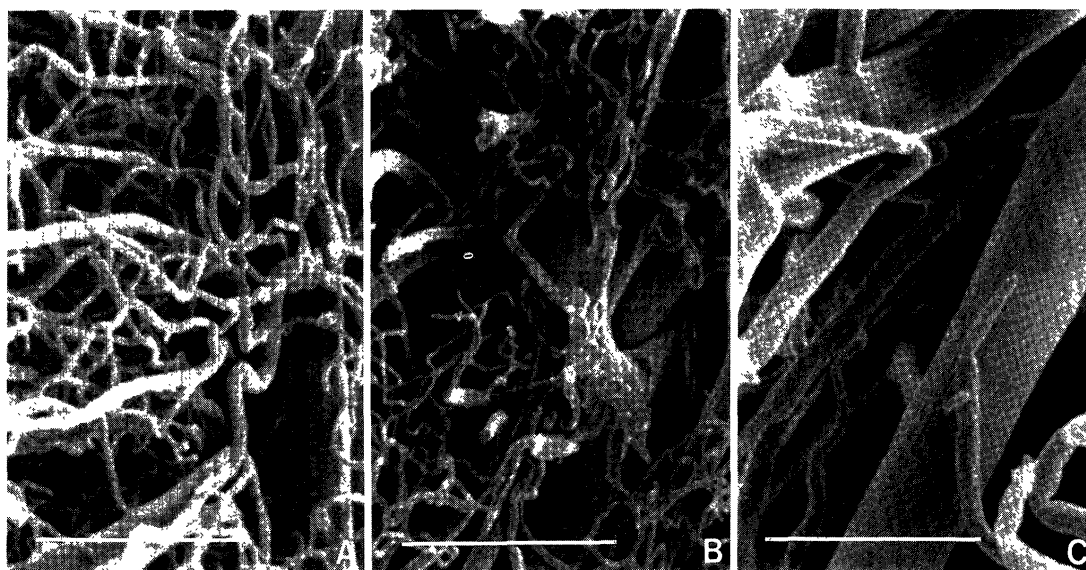


Fig. 4 A: Capillaries of the white matter in the control rat are dense. $\times 200$, Bar= $100 \mu\text{m}$. B: Reduction in the number and caliber of the capillaries is shown in the white matter of the moderate hydrocephalus. $\times 200$, Bar= $100 \mu\text{m}$. C: Capillaries are hardly seen in the white matter of advanced hydrocephalus. $\times 200$, Bar= $100 \mu\text{m}$.

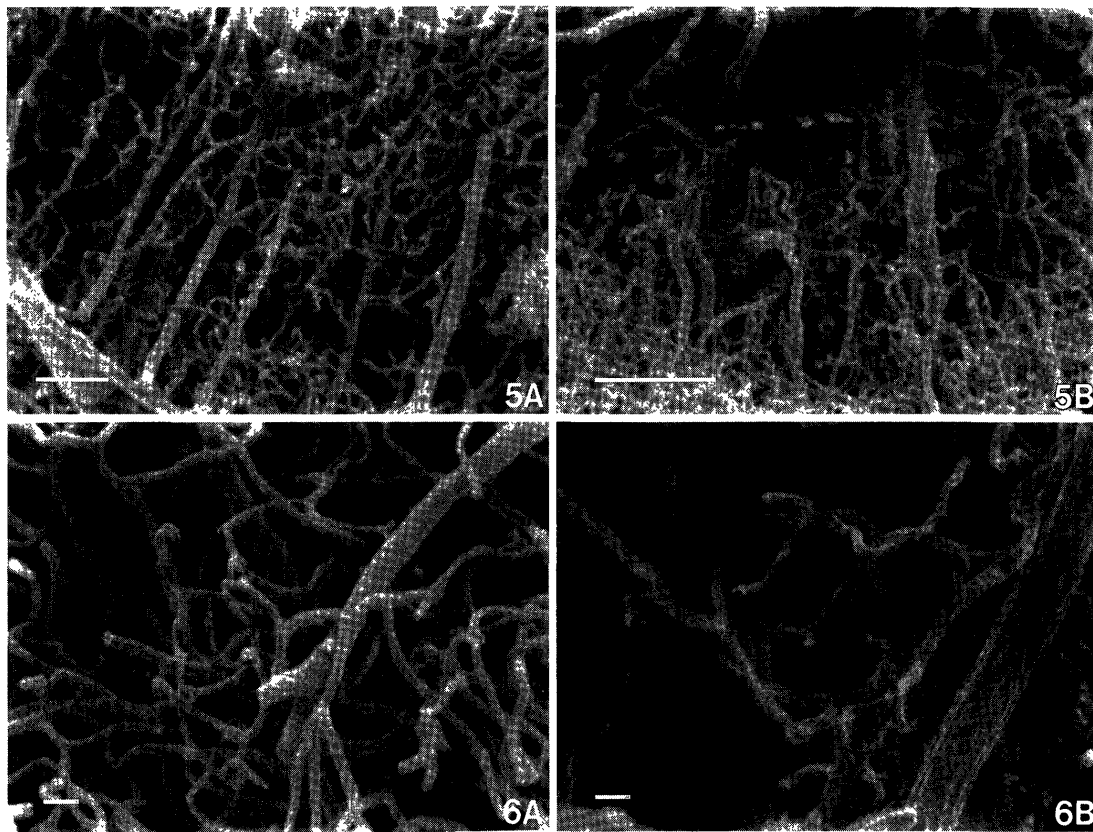


Fig. 5 A: Cortical "palisade" pattern can be seen in the control rat. $\times 70$, Bar=100 μm . B: "Palisade" pattern is tortured in the hydrocephalic rat. $\times 100$, Bar=100 μm .

Fig. 6 A: Capillaries of the basal ganglia in the control rat are dense. $\times 300$, Bar=10 μm . B: Capillaries of the basal ganglia in the hydrocephalic rat are loose, but almost the same as the control ones in the caliber. $\times 300$, Bar=10 μm .

V 考 察

水頭症における血管構築の変化に関する研究は、古くは1929年 Penfield⁵⁾, 1932年 Penfield and Elvidge⁶⁾によりなされている。彼らはヒト水頭症の観察から、水頭症においては髄内の毛細血管床が減少するであろうと考え、血管の消滅は分枝のもっとも末梢より始まり、その原因は血栓あるいはうっ血といった通常の血管閉塞をきたす要因によるのではなく、周囲からの圧迫により血流が妨げられたために生ずるものであろうと推測したが、その事実の証明はない。血管構築に関しては、Bellman¹⁾が報告しているごとく1913年に Pierne Coby により microangiography が用いられて以来いくつかの報告がみられるが、水頭症における血管構築に対しての microangiography の報告は少なく、1964年 Hassler³⁾および1975年 Wozniak ら¹¹⁾によってなされているにすぎない。Hassler³⁾は、白鼠の側脳室へのパラフィン注入により水頭症を作製し、microangiography による手法で観察した。その結果、脳の萎縮部においても毛細血管は正常所見を呈し、脳室辺縁では拡大した脳室に平行

に動脈および静脈の数が増加していると、また萎縮は特に頭頂葉や基底核部で強く瀰漫性に神経細胞が消失していたと述べている。Wozniak ら¹¹⁾は、先天性の Hy-3 マウスを用い microangiography で経時的に血管構築の変化を追っている。彼らは、水頭症の進行過程での最初の変化は血管内径の減少であり、これは白質・灰白質のいずれにも起こり、次に白質での第2・3分枝の血管数が減少ししだいに灰白質にも及び、その後皮質の "palisade" pattern が消失すると述べている。

今回我々は、これら水頭症における血管の変化をより立体的に捉えるために、これまでの microangiography による手法に代え、ポリエステル樹脂による血管鋳型標本作製した。これまで中枢神経系の血管構築は、周囲を骨で覆われているという特殊性により頭部では開頭を必要とするため、特に小動物では脳および血管鋳型を損傷することなく扱うことが困難であった。しかし、今回我々が採用した方法は、標本作製に多少時間はかかるものの頭蓋骨および筋肉が付着したまま融解することができ、この問題を解決したものと考えられる。ラットにおける頭蓋内血管鋳型の報告

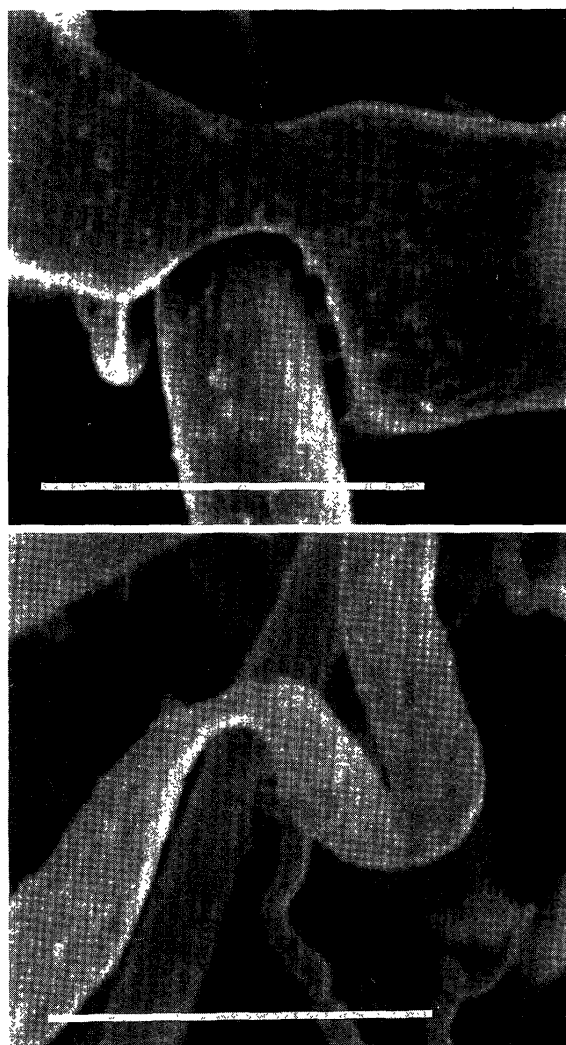


Fig. 7 Crossing and pressing phenomena of the vessels are shown in the white matter of the hydrocephalic rat. $\times 200$, Bar = $100\ \mu\text{m}$.

は数少ないながらも散見される^{4,8,10,12)}が、水頭症ラットにおける脳血管ポリエステル樹脂鋳型標本の報告は渉猟しえた限りでは見当らない。さて、水頭症ラットの脳血管鋳型標本作製の際には、水頭症が確実に存在していたか否かを知る必要がある。小動物ではCTによる脳室の描出が不可能であり、水頭症の確認は難しい。この点を解消するため、我々は脳を凍結後その一側半球を矢状方向に連続切断し、脳室の大きさを確認し、他の一側半球をSEM観察に供した。しかし、SEMを使用する際に試料台に標本の一部を固定する必要があるため、そのため中大脳動脈領域を観察対象からはずさざるを得なかったが、この点は今後検討を要する問題であろう。

結果に関しては、もっとも著明な変化は白質における毛細血管に現れた。水頭症の程度が増すに従い毛細血管径が

減少すると同時にその数も減じ、高度水頭症ではきわめて少数となった。この傾向は基底核部においてもみられたが、その変化は白質に比べ軽度で毛細血管数の減少のみにとどまり、その径にはほとんど変化を認めなかった。ただし、今回の研究では血管数の減少に関し定量的な検討は行っていない。Wozniakら¹¹⁾は、毛細血管ではないが脳血管の変化の原因として、脳圧亢進により髄液あるいは細胞外腔の容積が増大して脳血管を圧迫し、この圧迫により血管が偏位・変形あるいは内径の減少をきたすものとしている。また早くはPenfield and Elvidge⁶⁾が、周囲組織の圧迫により血流が妨げられるために血管が消滅するのであろうと推測している。これに対しHassler³⁾は、拡大した脳室の周囲では動静脈がむしろ増加していると述べているが、その根拠は明らかにしていない。また、microangiographyは手法的には血管の空間における分布をみるのに優れており、標本の厚さが $1,000\ \mu\text{m}$ 以上あれば用いることが可能であるとしている³⁾。一方その欠点として、①注入の際に強い圧が加わり artifactが生ずる可能性があること、②血栓、栓塞、あるいは周囲組織の浮腫などにより閉塞している血管は描出されないこと、③hyperemia, anemiaは表現できないこと、④毛細管と静脈の大部分は描出されないこと、の4点を挙げている³⁾。このうち①と④に関しては、鋳型標本による本法において容易に解決できる問題である。つまり、本法では一定の圧でゆっくりと注入するため artifactが少なく、また静脈からの流出が十分得られるまで行うため毛細管と静脈も描出される。いずれにせよ、今回の研究で観察された白質および基底核部における毛細血管の内径の縮小、あるいは血管数の減少に関しては周囲組織の影響を考慮しなければならないが、これら血管床の変化と脳外套の厚さの増減との関連性は今後さらにその量的な検討が必要と考える。水頭症群の皮質においては、毛細血管の内径および数に著変はなかったものの、皮質と垂直に走行する“palisade” patternが崩れ蛇行走行を呈する例が認められた。これは、水頭症群全例に認められた所見ではなかったが、拡大した脳室により血管が圧排された結果と考えられた。この現象に関しPerezら⁷⁾は、microangiographyを用いたラットの脳浮腫の実験で、血管の蛇行、血管数の減少、および分節的な狭窄が認められたとしており、特に皮質血管の蛇行走行の増大は白質の膨張拡大により圧迫されたためであろうと述べている。なお我々は、特殊な現象として水頭症群の頭頂葉白質内で血管が交叉・圧迫している所見を観察した。これは、動脈と静脈による交叉が多く、対照群ではまったくみられなかったことから、脳圧亢進あるいは脳室拡大による現象と考えた。

以上、実験的水頭症における血管鋳型標本による血管構

築のSEMによる観察では、特に白質において毛細血管の減少が確認されたが、このような場合には白質の微小循環もかなり障害されていることが示唆された。またこの事実、実験的水頭症および水頭症臨床例における脳血流量減少の所見と対応するものであり⁹⁾、きわめて興味深い。この点に関しては、脳外套の菲薄化に血管床がいかに関係するかという問題とともに、水頭症の治療との観点からみてもさらに検討すべきものと考えている。

VI ま と め

水頭症ラットの脳血管にポリエステル樹脂を注入して血管鋳型標本を作製し、SEMにより観察を行った。

1. 水頭症ラットにおける脳血管の変化としては、白質内の毛細血管にもっとも強く血管内径の狭小化と数の減少を認め、水頭症の程度が強くなるほど毛細血管数の減少は著明であった。

2. 基底核部においては、水頭症群で毛細血管数の減少が認められたもののその程度は比較的軽く、血管内径の変化はほとんど認められなかった。

3. 皮質では、毛細血管数・内径ともにほとんど変化は認められなかったが、“palisade” patternの消失した例があった。

4. 水頭症群の白質内で、血管の交叉・圧迫現象が認められた。

5. 以上の事実は、水頭症における脳外套の菲薄化には脳血管床の減少が関係すること、さらにこの毛細血管数の減少によって微小循環も強く障害されることを示唆していた。

本論文の要旨は、第42回日本脳神経外科学会総会(1983年10月、大阪)において発表した。

文 献

- 1) Bellman S: Microangiography. *Acta Radiol* [Suppl] 102: 1-104, 1953
- 2) Bouman HJ, Van Wimersma Greidanus TB: A rapid and simple cannulation technique for repeated sampling of cerebrospinal

- fluid in freely moving rats. *Brain Res Bull* 4: 575-577, 1979
- 3) Hassler O: Angioarchitecture in hydrocephalus. An autopsy and experimental study with the aid of microangiography. *Acta Neuropath (Berlin)* 4: 65-74, 1964
- 4) 中井国雄, 今井治通, 亀井一郎, 板倉 徹, 駒井則彦, 木村 宏, 永井利三郎, 前田敏博: 脳内微小循環とその調節機構に関する研究 — 微細血管樹脂鋳型標本の立体的観察 —. *Neurol Med Chir (Tokyo)* 20: 155-161, 1980
- 5) Penfield W: Cerebral pressure atrophy, in Penfield W (ed): *Proceedings, Association for Research in Nervous and Mental Disease, vol 6. Intracranial Pressure in Health and Disease*. Baltimore, Williams & Wilkins, 1929, pp 346-361
- 6) Penfield W, Elvidge AR: Hydrocephalus and the atrophy of cerebral compression, in Penfield W (ed): *Cytology and Cellular Pathology of the Nervous System*. New York, Hoeber, 1932, pp 1203-1217
- 7) Perez CA, Hodges FJ, Margulis AR: Microangiography in experimental cerebral edema in rats. *Radiology* 82: 529-535, 1964
- 8) Rieke GK, Bowers DE, Penn P: Vascular supply pattern to rat caudatoputamen and globus pallidus: Scanning electron-microscopic study of vascular endocasts of stroke-prone vessels. *Stroke* 12: 840-846, 1981
- 9) 高久 晃, 岡 伸夫, 甲州啓二, 遠藤俊郎: 実験的水頭症における局所脳血流量. 松本 悟(編). 昭和56年度文部省科学研究費研究班「小児水頭症の病態および治療法に関する基礎的臨床的研究」講演集. 1983, pp 23-27
- 10) 埴本勝司, 藤原 潔, 玉木紀彦, 松本 悟: Ethylnitrosourea (ENU)の経胎盤投与による実験的脳腫瘍(第5報) — 透過型及び走査型電顕による微細形態の検討 —. *脳と神* 30: 911-921, 1978
- 11) Wozniak M, McLone DG, Raimondi AJ: Micro- and macrovascular changes as the direct cause of parenchymal destruction in congenital murine hydrocephalus. *J Neurosurg* 43: 535-545, 1975
- 12) 吉田泰二, 生田房弘: 走査および透過電子顕微鏡による中枢神経系微小血管構築の観察 — 脳血管鋳型法について —. 厚生省, 低エネルギー, 低酸素症に基づく脳障害の形態学的生化学的研究, 昭和55年度研究報告書. 1980, pp 114-124

[別刷請求先: 〒930-01 富山市杉谷2,630, 富山医科薬科大学脳神経外科, 岡 伸夫]