527 ラット誘発脳動脈瘤内の流れの瘤発生への寄与

Contribution of Cerebral Blood Flow to Aneurysm Initiation

○成嶋啓人 (慶大) 羽方保裕 (慶大) 野村清絵 (東芝メディカルシステムズ)
横田秀夫 (理研) 姫野龍太郎 (理研) 立嶋智 (厚木市立病院) 谷下一夫 (慶大)

Hiroto NARUSHIMA, Keio University, 3-14-1 Hiyoshi, Kohoku-ku, Yokohama
Yasuhiro HAKATA, Keio University, 3-14-1 Hiyoshi, Kohoku-ku, Yokohama
Kiyoe NOMURA, Toshiba Medical Systems Corporation, 1385 Shimoishigami, Otawara
Hideo YOKOTA, RIKEN, 2-1 Hirosawa, Wako
Ryutaro HIMENO, RIKEN, 2-1 Hirosawa, Wako
Satoshi TATESHIMA, Atsugi Public Hospital, 1-16-36 Mizuhiki, Atsugi
Kazuo TANISHITA, Keio University, 3-14-1 Hiyoshi, Kohoku-ku, Yokohama

Key Words: cerebral aneurysm, pathogenesis, wall shear stress

1. はじめに

脳動脈瘤は破裂すると致死率の高いクモ膜下出血を引き起こす。脳動脈瘤の成因に関しては病理学、分子生物学あるいは流体力学などさまざまな観点から解明が図られてきたが、いまだに議論の尽きないところである。以前は、血管壁における中膜欠損などの先天的な要因によると考えられていたが、近年ではむしろ、血流刺激、高血圧症、加齢による動脈硬化など後天的な要因がより重要であると考えられている。

Hashimoto ら^[1]は実験動物脳動脈瘤誘発モデルにおいて、高いせん断応力が脳動脈瘤の発生と関係していると推測しているが、明らかにはなっていない。そこで、本研究ではラットに実験的に脳動脈瘤を誘発し、初期脳動脈瘤を得て、それを基に実形状の拡大モデルを作製した。モデル内の病変部位の流れを Laser Doppler Velocimeter (LDV) および Particle Image Velocimetry (PIV) を用いて測定し、壁面せん断応力 (wall shear stress: WSS) を算出した。また、モデル作製の対象となったラットの脳血管を摘出、組織標本作製して、病変部位における血管壁組織構造を観察し、定量的に評価した。そして、モデル内の流れから算出された WSS と血管壁組織構造の変化の度合いを比較することにより、脳動脈瘤発生における WSS の影響を検討した。

2. 実験方法

2.1 脳動脈瘤の誘発

Hashimoto ら^[1]のラットにおける実験的脳動脈瘤誘発手法に基づき、片側総頸動脈結紮を施したラット (Sprague Dawley, 雄, 5 週齢) に 8 % NaCl, 0.2 % beta-aminopropionitrile を混ぜた飼料と通常の飲料水を与えて 3-6 ヶ月間飼育した。飼育終了時に脳を摘出し、ウィリス動脈輪の前大脳動脈 (anterior cerebral artery: ACA) -嗅動脈 (olfactory artery: OA) 分岐部に動脈瘤ができているかの確認を光学顕微鏡下で行った。

2.2 拡大モデルの作製

ラットの飼育終了時に、心臓からヘパリン添加生理食塩水を灌流後、造影剤として硫酸バリウムゼラチン溶液を注入し、冷却固定後、脳を摘出し 10% 中性緩衝ホルマリン液で固定した。その後、マイクロ CT 装置で脳の断層像 (画像間隔 8 μm) を撮影した。撮影した連続断層像から血管を STL (Stereo Lithography) データとして再構築し、光造形装置を用いて約 40 倍の拡大モデルを作製した。モデルの材質は透明シリコン (屈折率 $n = 1.4096$) とした。

2.3 血管壁組織の観察

CT 撮影後の脳から脳血管 (ACA-OA 分岐部) を切り出し、血管組織のうち特に内弾性板 (internal elastic lamina: IEL) と中膜平滑筋細胞層を観察するためにエラスチカ・ワンギーン染色 (エラスチン: 黒紫, コラーゲン: 赤, 筋繊維: 黄, 核: 黒, 赤血球・細胞質: 黄) をした。組織標本をデジタル顕微鏡で観察した。

2.4 モデル内流れの測定

作動流体として屈折率を調整したグリセリン水溶液を用い、テストセクションに定常流を流した。分岐の流量分配は娘管の断面積比で設定した。レイノルズ数はラット生体内の約 4 倍の値に設定し、最大レイノルズ数 $Re_{\text{max}} = 5$ とした。PIV で分岐部付近の流れの様子を可視化し、また LDV で壁面近傍の流速を測定して WSS を算出した。

3. 結果と考察

3.1 血管壁組織

ACA-OA 分岐部に脳動脈瘤が誘発され、染色した血管組織において、脳動脈瘤の初期病変が観察された (Fig.1)。すなわち、分岐の頂点 (apex: AP) ではなく、少し遠位の ACA 側で内弾性板の断裂および中膜の菲薄化が見られた。これらは Hazama ら^[2]の研究結果と一致している。我々は WSS の値と

比較するために、取得した組織画像から血管壁組織の厚みを定量的に評価した (Fig.2). グラフの横軸は Fig1.b に示した 0 から 1 までの位置である. Fig.2 から病変部位において内弾性板がなくなり、中膜が薄くなっていることが分かる. また、分岐の頂点で血管壁全体の厚みが増し、特に中膜が厚くなっていることが分かる.

Fig.1 Induced cerebral aneurysm

(a) Section of ACA-OA bifurcation, (b) stained vessel tissue.

Fig.2 Thickness of vessel tissues

3.2 モデル内流れ

Fig.3 に PIV で取得した血管分岐部の速度プロファイルを示す. 図中の両矢印は同個体の組織標本において初期病変が観察された部位を示す. Flow divider が病変部位内の OA 側に存在した. このことは, ACA-OA 分岐部の流れを測定した Nakatani ら^[3]の結果と一致し, 分岐の頂点で別れた流れが病変の膨らみに沿って流れることを意味する.

Fig.3 Velocity profile at arterial bifurcation

3.3 WSS と血管壁組織の変化

Fig.1.b 中の 0-1 に対応した位置での WSS の大きさと内弾性板および中膜の厚みを比較した (Fig.4). 組織の厚みは最大値で正規化した. WSS の低い部位と内弾性板が断裂している部位が一致した. この解釈には以下の二通りの考え方ができる. 一つは低せん断の部位から脳動脈瘤が発生するというもので、もう一つは脳動脈瘤が発生し、内腔が膨らむとその部位で低せん断になるということである. 前者の考え方をすると、片側総頸動脈結紮によって起きた局所的な血行力学的負荷の増大により動脈瘤が誘発されるという誘発モデルそのものと矛盾しているように思われる. しかし、総頸動脈結紮による血行力学的負荷は結紮と反対側の分岐部以外の部位でも増加することが予想されるため、低せん断となった脳動脈瘤の発生部位とその他の部位でのせん断応力の差が動脈瘤発生に関係していると考えられる. ただし、今後症例数を増やし、さらなる検討が必要である.

Fig.4 Relationship between WSS and thickness of IEL, SMC

4. まとめ

本研究においてラットに脳動脈瘤を誘発し、その血管壁組織の脳動脈瘤の初期変化を定量的に評価し、拡大モデル内流れの詳細な速度プロファイルおよび WSS を測定・算出することができた. さらに両者を比較することで、低せん断部位において脳動脈瘤が発生する可能性を示唆する結果が得られた.

5. 参考文献

- [1] Hashimoto N, Handa H, Hazama F., Experimentally induced cerebral aneurysms in rats., Surg Neurol. 1978 Jul;10(1):3-8.
- [2] Hazama F, Kataoka H, Yamada E, Kayembe K, Hashimoto N, Kojima M, Kim C., Early changes of experimentally induced cerebral aneurysms in rats. Light-microscopic study., Am J Pathol. 1986 Sep;124(3):399-404.
- [3] Nakatani H, Hashimoto N, Kang Y, Yamazoe N, Kikuchi H, Yamaguchi S, Niimi H., Cerebral blood flow patterns at major vessel bifurcations and aneurysms in rats., J Neurosurg. 1991 Feb;74(2):258-62.