

脳梗塞に関する実験的研究 (第7報)

微小血管への電子顕微鏡的アプローチ

柴田 尚武・福嶋 政昭・井上 優・堤 健二・森 和夫

Experimental Cerebral Infarction in the Dog (Part VII)

Electron Microscopic Studies of Microvasculature

Shobu SHIBATA, Masaaki FUKUSHIMA, Masaru INOUE, Kenji TSUTSUMI
and Kazuo MORI

Department of Neurosurgery, Nagasaki University, Nagasaki

Abstract

Experimental cerebral infarction was induced in dogs by injecting one or two silicone rubber cylinders through the cervical internal carotid artery. Twenty-four hours after embolization, the animals were sacrificed and changes of microvessels in the hemispheric infarct were investigated by the electron microscope. In addition to the usual ultrathin sectioning method, the vascular casting method using Mercocox[®] in combination with the cryofracture method, and the freeze-fracture replica method were also used. Gross specimens and histologic sections revealed that massive hemorrhagic areas were localized in the region of basal ganglia and petechial hemorrhages were observed in the corticomedullary junctional region of the affected hemisphere in the middle cerebral artery distribution. In ultrathin sections of arterioles obtained from the infarcted area of the basal ganglia, vacuolations and bleb-formations of the degenerative endothelial cells and smooth muscle cells, and duplications and fragmentations of the basal lamina appeared, while numerous red blood cells and fibrin materials were observed in the dilated subarachnoid space. In vascular casts of these 50 μm diameter arterioles, aneurysm-like dilatations were observed at their bifurcations, where numerous red blood cells and Mercocox[®] massively extravasated through the disrupted wall in the necrotized neuropils. Red blood cells in the dilated subarachnoid space were observed in the ultrathin sections of venules in the corticomedullary junctional region, but the degenerative changes were mild. In vascular casts of venules, leakage of Mercocox[®] was observed around the adventitia. It is suggested that a massive hemorrhagic infarction was caused by the disruption of arterioles in the perforating arterial terminal zone and petechial hemorrhagic infarction was caused by the disruption of venules in the cortical arterial terminal zone. No opening of tight junctions was recognized in the ultrathin sections of capillary endothelial cells in the ischemic cerebral cortex, but pinocytotic vesicles increased. In freeze-fracture replicas of capillary endothelia of both normal and ischemic cerebral cortices, tight junctions were seen as a network of ridges, composed of about 100 \AA particles on the protoplasmic (p) face and grooves on the exoplasmic (e) face. Pinocytotic vesicles were seen as invaginations on the p face and as protrusions on the e face. The average number of pinocytotic vesicles per μm^2 was 7 on the luminal front in the normal cortex and 28 in the ischemic cortex. The size of pinocytotic vesicles was $0.62 \times 10^{-2} \mu\text{m}$ on the p face of the normal cortex and $0.83 \times 10^{-2} \mu\text{m}$ on the p face of the ischemic cortex. It is suggested that pinocytotic vesicles had a more important role in the increase of permeability in the cerebral capillary endothelial cells of the ischemic brain.

Key words: experimental cerebral infarction, electron microscopy, vascular cast, cryofracture, freeze-fracture replica

長崎大学脳神経外科

Address reprint requests to: S. Shibata, M.D., Department of Neurosurgery, Nagasaki University, 7-1 Sakamoto-machi, Nagasaki 852.

受稿 1983年12月23日 受理 1984年5月21日

I はじめに

虚血脳における微小血管の超微形態学的変化については、従来の超薄切片の透過電顕による観察がなされてきたが、方法の限界により十分に解明されたとは言えない。そこで、虚血脳における微小血管構築の変化を三次元レベルにおける立体構築として観察する目的で、メルコックス注入による血管鋳型標本とその凍結割断標本を走査電顕で観察し、バイオレオロジー学的分析を行った。ついで、虚血脳における毛細血管透過性を毛細血管内皮細胞膜面における pinocytotic vesicle や tight junction の形態学的変化として観察する目的で、フリーズ・フラクチャー・レプリカ標本を透過電顕で観察し、画像解析装置を用いて統計的処理を行った。

II 実験方法

1. 脳梗塞犬の作製

10 kg 前後の雑種成犬にネンブタール静脈麻酔(25 mg/kg)下に気管内挿管を行い、自発呼吸のまま頸部傍正中切開を加え、右総頸動脈から内頸動脈へ18 G エラスト外筒(内径1.4 mm, 八光)を挿入し、シリコン円柱(直径1.1 mm, 長さ8 mm)を1ないし2個注入した。

2. 血管鋳型とその凍結割断標本の作製

塞栓24時間後に対側総頸動脈より37°Cヘパリン加生食水1,000 ml, ついで4°C, 1.4% グルタルアルデヒド1,500 ml を注入し150 mmHg で灌流固定後、メチルメタクリレート樹脂(メルコックス)の青色400 ml, 赤色100 ml を50~100 ml/min で注入すると約10分間で樹脂が硬化した。脳はただちに取り出し、-80°Cで数時間凍結したのち5 mm スライスの冠状断を行い、それぞれのスライスを左右4個ずつ、計8個のブロックに分けた。各ブロックを20% NaOH で腐蝕し、流水で洗滌を繰り返したのち乾燥すると血管鋳型ができ、これらを四酸化オスミウムで2日間蒸着後JFC-1100型を用いて金イオン蒸着を行い、血管鋳型標本作製した。また、各ブロックの一部を3%グルタルアルデヒドで固定し、4%タンニン酸導電処理と3%オスミウム酸固定後液体窒素とエタノールを用いて凍結割断を行い、酢酸イソアミル置換後臨界点乾燥し金イオン蒸着を行い、凍結割断標本作製した。両標本はJSM-35Cを用いて走査電顕で観察した。さらに、別の梗塞犬で同様の灌流固定を行ったのち2.5%グルタルアルデヒド前固定、1%オスミウム1時間固定を行い、エタノール脱水、プロピレン置換ののちエポン812に包埋して超薄切片標本作製し、JEM-100B型を用いて透過電顕で観察した。対照として正常犬で同様の3つの標本作製し観察した。



Fig. 1 Brain slice of a dog showing carbon extravasation in a large non-filling area in the right middle cerebral artery distribution including the corticomedullary junction, caudate nucleus and putamen after 24 hours of embolization.

3. フリーズ・フラクチャー・レプリカ標本の作製

塞栓24時間後に脱血後脳を取り出し、3%グルタルアルデヒド、1%パラホルムアルデヒド、0.1 M カコジル酸緩衝液で浸漬固定した。一部は常法に従いエタノール脱水後エポンに包埋し、超薄切片標本作製した。固定後1×1×3 mmの四角柱切片とし、同固定液で2時間の浸漬固定を行い、カコジル酸緩衝液で一晩洗滌し、永結防止のため同緩衝液を含む30%グリセリン液で約1~2時間脱水処理後液体窒素で凍結し、-130°C, 1×10⁻⁶ torr でJEE-5B装置を用いて凍結割断した。割断面に白金パラジウム、カーボンの真空蒸着を行い、ブリーチ液で約1時間組織を溶解し、レプリカ膜を作製した。両標本はJEM-100B型を用いて透過電顕にて観察した。対照として正常犬で同様の2つの標本作製し観察した。

III 結 果

1. 大脳半球大梗塞モデル犬

シリコン円柱塞栓術を施行した165頭のうち中大脳動脈近位部を塞栓できたのは102頭であり、このうち梗塞巣を組織学的に証明できたのは94頭であった。さらに、梗塞巣のうち大脳半球大梗塞、すなわち大脳基底核を含んだ皮質髄質の梗塞巣が3個以上の冠状断あるいは水平断でそれぞれの半球面積の50%以上を占めるもの¹⁸⁾は47頭(50%)であった(Fig. 1)。これら47頭のうち27頭を血管鋳型とその凍



Fig. 2 Electronmicrophotographs of the vascular cast (*upper*, $\times 600$), cryofracture (*middle*, $\times 600$) and ultrathin section (*lower*, $\times 8,000$) showing the artery (A), arteriole (a) and capillary (C) in the normal canine cerebral cortex.

結切断標本に、20頭をレプリカ標本に使用した。

2. 血管鋳型とその凍結切断標本の所見

Fig. 2 上段は正常犬の血管鋳型で、約 $50 \mu\text{m}$ の細動脈は弾力性に富む走行を示し、三次元に分岐し、表面にunclear indentationやring shaped compressionを認めた。中段はその凍結切断で、細動脈にメルコックスが充盈し、円滑な血管壁、tightな血管周囲腔、平滑なneuropilを認めた。下段の超薄切片でも毛細血管の内皮細胞、基底膜、そしてneuropilに異常は認めなかった。

虚血巣内の部位別にみた微小血管の変化は一様でなかつ

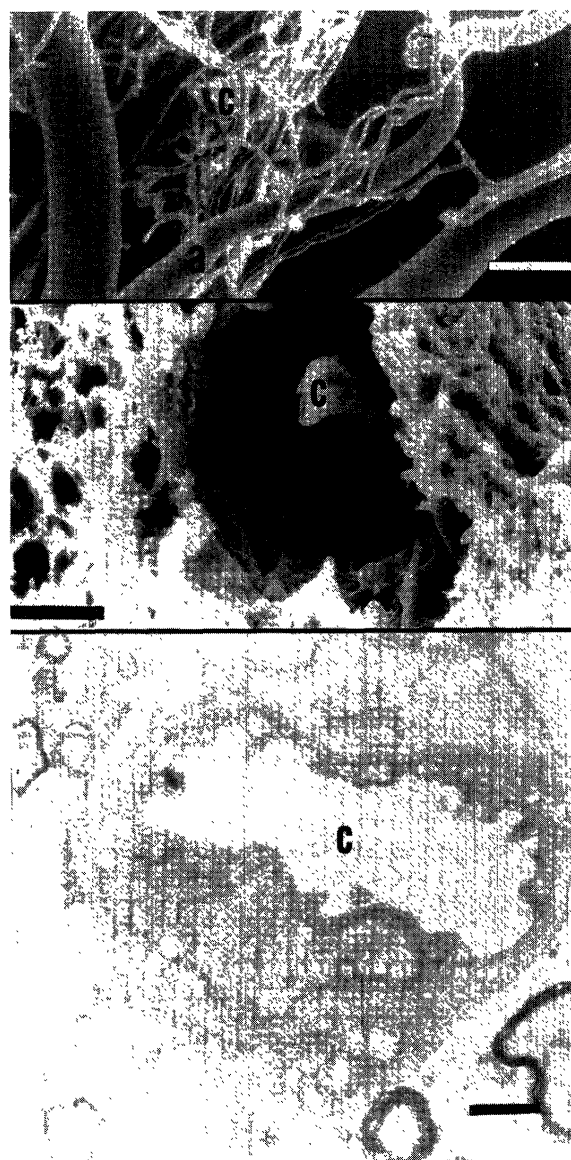


Fig. 3 Vascular cast (*upper*, $\times 600$), cryofracture (*middle*, $\times 600$) and ultrathin section (*lower*, $\times 2,000$) of a capillary (C) showing shrinkage of the capillary and enlarged pericapillary space in the ischemic cortex at 24 hours. a indicates arteriole.

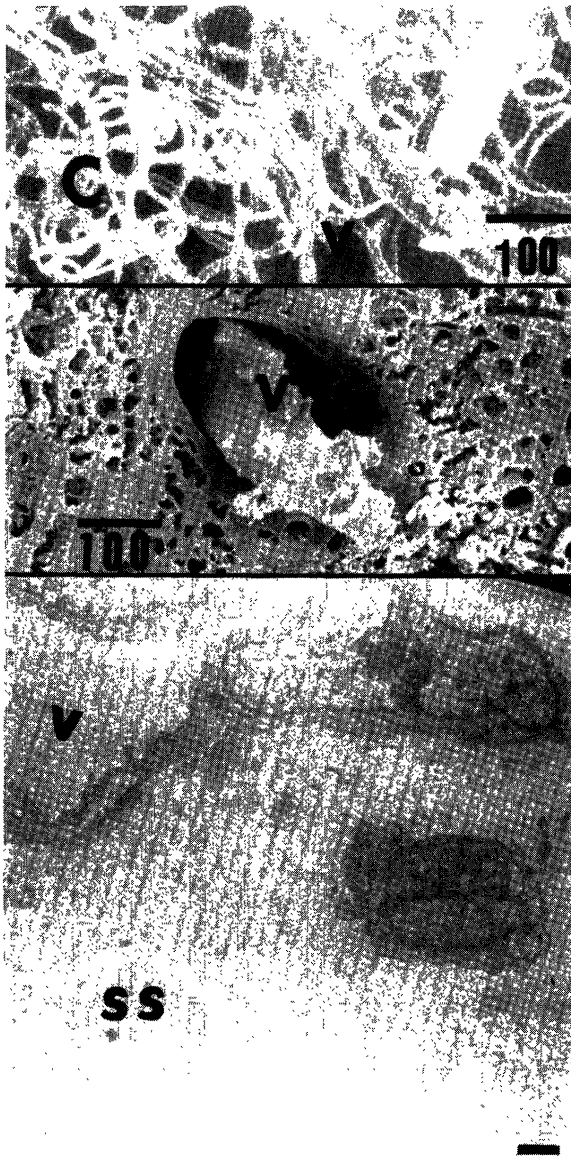


Fig. 4 Vascular cast (*upper*, $\times 600$), cryofracture (*middle*, $\times 600$) and ultrathin section (*lower*, $\times 2,000$) of a venule (V) showing leakage of Mercox[®] around its adventitia and the dilated subarachnoid space (SS) in the ischemic corticomedullary junction at 24 hours. C indicates capillary.

た。Fig. 3 上段は患側皮質の血管鋳型で、細動脈は弾力性を失い、細小化した毛細血管がこれにまわりついており、中段の凍結切断では毛細血管は縮小し、血管周囲腔の著明な拡大と neuropil に多数の空胞を認めた。下段の超薄切片でも毛細血管の luminal surface に folding が増加し、一部では壁菲薄化がみられ、基底膜も膨化し周囲腔に浮腫液が貯留し、その中に cell debris やミエリン鞘が散在していた。Fig. 4 上段は皮髄境界の細静脈で、縮小化して皺状になったものと反対にメルコックスの血管外流出のた

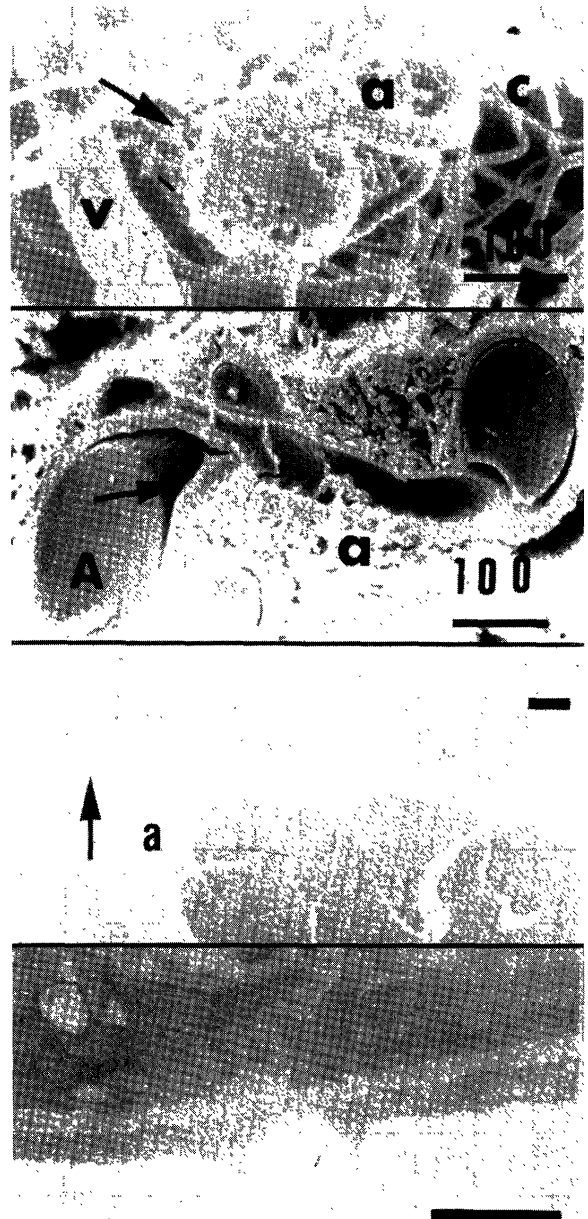


Fig. 5 Vascular cast (*upper*, $\times 600$), cryofracture (*middle*, $\times 600$) and ultrathin section (*lower two*, $\times 2,000$ and $\times 4,000$) of an arteriole (a) showing aneurysmal dilatation at its bifurcation (*upper arrow*), extravasation of numerous red blood cells and Mercox[®] (*middle arrow*) and bleb-formation (*lower arrow*) in the ischemic basal ganglia at 24 hours. V indicates venule; C, capillary.

めコンブ状に拡大したものがみられ、中段の凍結切断でも周囲腔にメルコックスと少数の赤血球がみられた。下段の超薄切片でも同様な部位の細静脈に周囲腔の拡大と赤血球を少数認めた。Fig. 5 上段は大脳基底核の血管鋳型で、細動脈分岐部にメルコックスの動脈瘤様膨隆を認め、中段の凍結切断ではこれらの一部からメルコックスと赤血球が塊状に血管外に流出し、血管周囲は著明な浮腫を示した。下

段の超薄切片でも細動脈の内皮細胞と平滑筋に空胞化と bleb 形成, 基底膜に膨化と断裂を認め, また血管周囲腔の著明な拡大と多数の赤血球, フィブリン塊を認め, 破綻性出血を示した.

3. フリーズ・フラクチャー・レプリカ標本の所見

Fig. 6 は正常犬の皮質毛細血管のレプリカで, 血管内腔に赤血球がみられ, 内皮細胞 P 面に pinocytotic vesicle が陥没としてみられ, その直径は65 nm であった. 内皮細胞

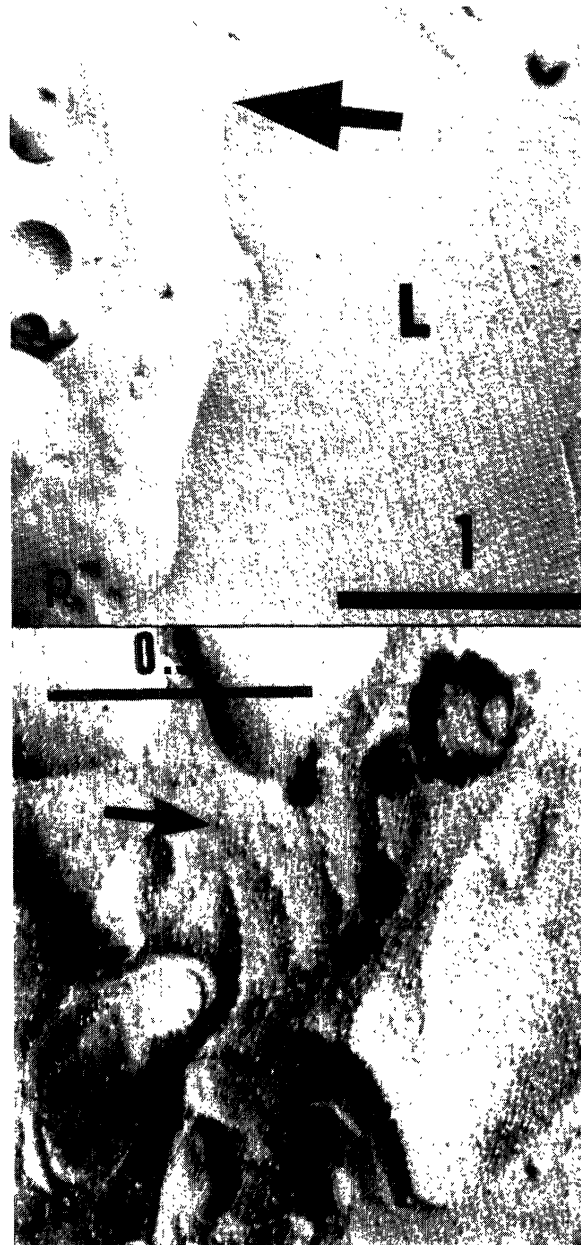


Fig. 6 Electronmicrophotographs of a freeze-fracture replica of the capillary endothelial plasma membrane showing a few pinocytotic vesicles on the luminal (L) front (upper arrow, $\times 10,000$) and a tight junction (lower arrow, $\times 30,000$) in the normal canine cerebral cortex.

接合部における tight junction は, P 面で100 Å の膜内粒子が連続性に配列して5条の strand を形成していた.

Fig. 7 は塞栓24時間後の患側皮質毛細血管で, 左側の超薄切片では内皮細胞の一部で細胞質内の pinocytotic vesicle, および lumen と ablumen 側へ開口している pinocytotic vesicle を認めたが, 明らかな channel 形成はみられなかった. レプリカでは中央の P 面で直径90 nm の pinocytotic vesicle が増加しており, 貫通している像もみられ, 同様に右側の P・E 面でやはり vesicle の増加と多数の膜内粒子がみられた. Fig. 8 は tight junction で, 内皮細胞の overlap がみられるが, 上段の超薄切片で変化を確認することは困難であった. 下段のレプリカでは P 面に ridge な6条の strand を認めるが, 正常に比べて strand を形成する膜内粒子の配列に不連続がみられた.

$1 \mu\text{m}^2$ 当りの毛細血管内皮細胞膜面の vesicle の平均個数は正常犬で7個, 対側で9個であったのに対し, 虚血巣皮質では28個で有意に増加していた (Table 1A). 1個当りの面積は正常犬では P 面で平均 0.62×10^{-2} , E 面で $0.78 \times 10^{-2} \mu\text{m}^2$ であったが, 虚血巣皮質では P 面で 0.83×10^{-2} , E 面で $0.94 \times 10^{-2} \mu\text{m}^2$ とやや増加していた (Table 1B). また, $1 \mu\text{m}^2$ 当りの内皮膜内粒子の平均個数は正常犬の皮質

Table 1 Number (A) and area (B) of pinocytotic vesicles of capillary endothelium of the cerebral cortex in dogs

A		
Cortex	No./ μm^2	
Normal	6.7 ± 0.78 (n=19)	
Contralateral	9.3 ± 2.6 (n=13)	
Infarction	28.3 ± 5.6 (n=17)	
P < 0.01		
B		
Cortex	P face ($10^{-2} \mu\text{m}^2$)	E face ($10^{-2} \mu\text{m}^2$)
Normal	0.62 ± 0.075	0.78 ± 0.062
Ischemic	0.83 ± 0.098	0.94 ± 0.24

P face indicates protoplasmic face; E face, exoplasmic face.

Table 2 Particle density per square micron on plasma membrane of capillary of the cerebral cortex in dogs

Cortex	P face		E face
Normal	$2,168 \pm 574$ (n=5)		$2,050 \pm 424$ (n=2)
Ischemic	$3,811 \pm 1,635$ (n=11)		$3,271 \pm 734$ (n=11)
P < 0.01		P < 0.05	

P face indicates protoplasmic face; E face, exoplasmic face.

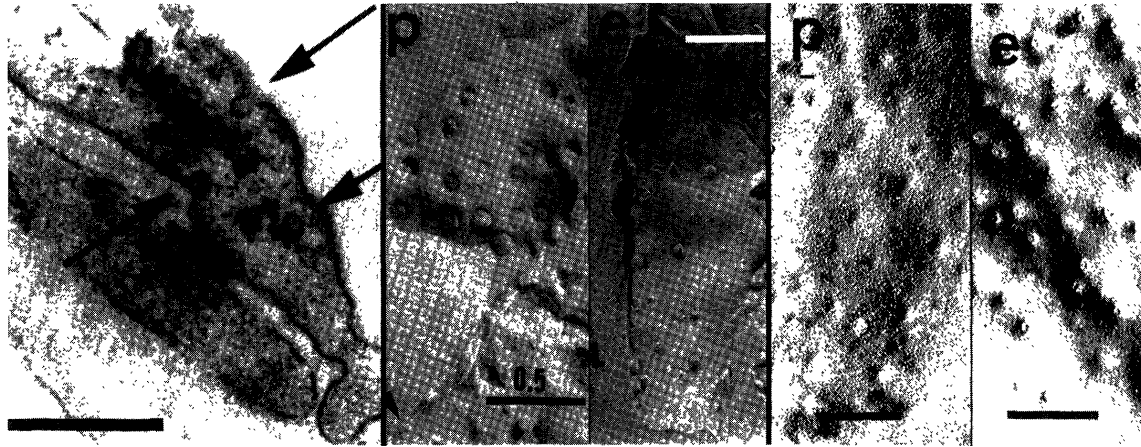


Fig. 7 Ultrathin section (left, $\times 20,000$) and replicas (center two, $\times 20,000$ and $\times 10,000$; right two, $\times 20,000$) showing increased number of pinocytotic vesicles and intramembranous particles on the luminal front (double arrows) and abluminal front (single arrow) or protoplasmic face (p) and exoplasmic face (e) in the ischemic cortex at 24 hours.

毛細血管ではP面で2,168, E面で2,050個であったのに対し, 虚血巣皮質ではP面で3,811, E面で3,271個と有意に増加していた(Table 2).

IV 考 察

1. 血管鑄型とその凍結切断について

急性期大脳半球大梗塞モデル犬では中大脳動脈領域に広範囲に梗塞があり, その中で大脳基底核に塊状出血巣, 皮髄境界に点状出血巣を認めた. 前者は perforating arterial terminal zone に属し, 終末動脈で穿通枝間の吻合がないために, 閉塞により大脳基底核に高度な虚血が生じるだけでなく血管壊死に陥りやすい. したがって, この時点で副血行路の発達や塞栓の migration により再開通が起これば細動脈の破綻が生じて塊状出血を引き起こすと考えられる. 後者は cortical arterial terminal zone に属し, 軟膜動脈のうち脳表は副血行路が良く発達しているが脳内に入ると動脈間に吻合がなく終末動脈であり, したがって虚血は皮質表面よりも内部にいつそう高度に生じ, 表面の余分の血流は虚血部周辺で浮腫による閉塞に至っていない堅固な皮質動脈に流入し, 皮髄境界で動静脈短路を通り, 血管壁の障害がもっとも強い静脈側に流れ込み, この部より漏出性出血, さらに破綻性出血をきたすと考えられる¹⁹⁾.

微小血管構築の観察法としての鑄型走査電子顕微鏡は, 村上¹¹⁾によって開発が進められ, 正常犬脳下垂体やその他の組織で応用されている. また実験胃潰瘍の胃粘膜微循環や実験的網膜下血管新生の研究などへの応用も盛んに行われているが, 脳血管への応用は少なく, Anderson ら¹⁾, Nakai ら¹²⁾, 吉田²⁴⁾の報告が散見されるのみである. ラットの脳動脈では内皮細胞の核が血管内腔へ突出したために

よると思われる多くの明確な楕円形の陥没(nuclear indentation)が規則正しく配列しており, 一方静脈では内皮細胞核の突出が粗で内腔面が平滑となり, 明らかに動脈と区別される. また脳表の動脈は内径 $30\sim 40\ \mu\text{m}$ の穿通枝を多く分岐するが, これらの穿通枝が脳実質内に入ると脳表動脈では認められなかった輪状のくびれ構造(ring shaped compression, sphincter)が認められるようになり, さらに分岐して $15\sim 30\ \mu\text{m}$ の細動脈となるとその傾向は顕著となり, $10\ \mu\text{m}$ 以下の動脈系毛細血管でも認められ, 特に分岐部に著しい. $5\ \mu\text{m}$ の毛細血管には認められないが, 静脈系毛細血管やさらに太い $15\sim 40\ \mu\text{m}$ の細静脈にも頻度は少ないがみられる¹²⁾. Owmann ら¹³⁾は免疫組織蛍光法を用いて収縮蛋白である actin および myosin が動脈および細動脈で強く毛細血管, 細静脈, 静脈で弱く染められたと報告しており, 輪状のくびれ構造の分布と良く一致する. 我々は, 血管鑄型標本はメルコックス注入という人為操作による artifact が加わることで, 血管内腔を反映する所見しか得られないことなどの欠点があるため, これを補う目的で凍結切断による内部表面観察を同時に行い, これら2つの所見を対比して観察した. 24時間後の梗塞巣のうち大脳基底核では約 $50\ \mu\text{m}$ の細動脈の分岐部が破綻して塊状出血を生じており, 一方皮髄境界では細静脈からのメルコックスのコンプ状流出と赤血球漏出を認めた. また皮質の細動脈, 毛細血管は縮小化し弾力性を失い, 収束して直線状に走行し, これらは血流の減少と血管周囲の浮腫による圧迫によって生じると考えられ, このように支持組織をなくした微小血管の走行はバイオレオロジー学的な恒常性を失っており, 必ずしも有効に働いていないことが考えられた. これらの成績については, 著者の一人である堤が詳細な報告を

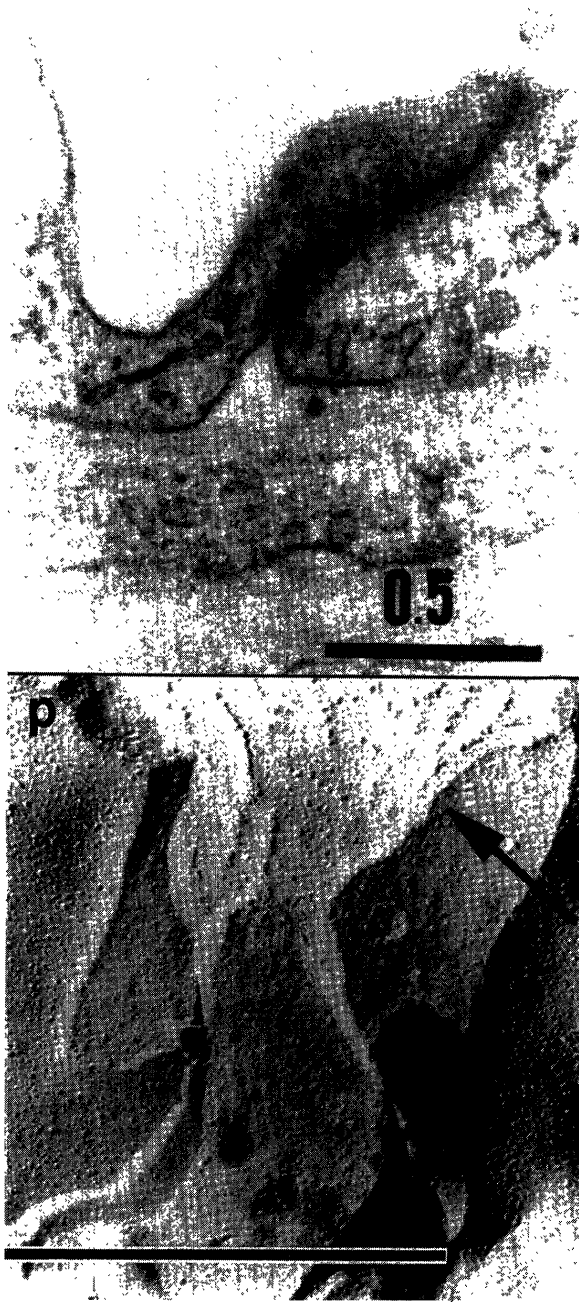


Fig. 8 Ultrathin section (*upper*, $\times 20,000$) and replica (*lower*, $\times 20,000$) of the capillary showing an almost intact tight junction (*arrow*) in the ischemic cortex at 24 hours.

発表する予定である。

2. フリーズ・フラクチャー・レプリカについて

梗塞部皮質の毛細血管において pinocytotic vesicle の数は正常の4倍に、面積も1.3倍に増加した。一方 tight junction では strand を形成する膜内粒子が不連続な配列を示したが、明らかな破綻はみられなかった。以上の所見より、この部における毛細血管透過性亢進は vesicular transport が主役を成すものと考えられた。また、膜内粒

子の増加は膜の生存を意味し、したがって vesicular transport の activity を示唆するものと考えられた。

フリーズ・フラクチャー・レプリカ法では切断面が細胞膜内部を切線方向に通過するので、細胞膜が超薄切片で観察されるような線ではなく面として観察され、pinocytotic vesicle の分布を検討するのに好都合である。Pinocytotic vesicle の分布は、脳毛細血管の luminal front では $5/\mu\text{m}^2$ (ラットの超薄切片¹⁵⁾ とマウスのレプリカ⁴⁾) であるのに対し横隔膜では $78/\mu\text{m}^2$ 、心筋では $89/\mu\text{m}^2$ (ラットの超薄切片およびレプリカ²⁰⁾) である。Tani ら²¹⁾ は、ラットの脳毛細血管内皮細胞膜上の pinocytotic vesicle の数は luminal front ではきわめて少ないが contra-luminal front では $30\sim 40/\mu\text{m}^2$ 観察されることがあると報告している。一方、放射線照射後にラット脳毛細血管内皮細胞の pinocytotic vesicle の数が平均8個から24個に増加したとの報告¹⁶⁾ や、高血圧性脳症を呈するラット⁷⁾ および脳虚血のヒヒ⁶⁾、サル⁸⁾、ラット¹⁴⁾、砂ネズミ²³⁾ で毛細血管内皮細胞の pinocytotic vesicle の増加が観察されたとの報告がある。しかしこれらの報告はすべて超薄切片によるものであり、レプリカによる報告はみあたらない。我々の急性期大脳半球大梗塞モデル犬の虚血巣皮質の毛細血管レプリカにおける pinocytotic vesicle の数は、正常犬で $7/\mu\text{m}^2$ であるのに対し $28/\mu\text{m}^2$ と4倍に増加していた。

脳毛細血管内皮細胞の tight junction の形態は、レプリカでより詳細に観察できる。P面(protoplasmic face)は細胞質側にあつて細胞外腔に向かった面であり、樹枝状に配列した strand が ridge として観察され、E面(exoplasmic face)は反対に細胞外腔側にあつて細胞質に向かった面であり、strand は groove として観察される。細胞間通過の漏れ加減は strand の条数に関係し、また strand を構成する膜内粒子の連続性に関係すると言われる³⁾。たとえば、ネコ⁵⁾、ヒツジ⁹⁾ の脈絡叢や area posterema の毛細血管では内皮細胞に tight junction はあるが strand の配列に不連続性が観察される。しかし、脳虚血における毛細血管の tight junction の変化をレプリカで観察した報告はみあたらない。我々の急性期大脳半球大梗塞モデル犬の虚血巣皮質の毛細血管レプリカにおいては、tight junction は正常犬と比較して strand の条数には変化なく、また strand を構成する膜内粒子が不連続な配列を示したが明らかな破綻はみられなかった。しかし、Mollgard ら⁹⁾ は膜内粒子の連続性を正確に観察するためには双面レプリカ法を用いて P・E面を同時に対で観察することが必要であると述べている。

膜内粒子をレプリカで観察した報告は少なく、ましてや虚血脳毛細血管における報告はみあたらない。わずかに

Arima ら²⁾がマウスの小腸吸収細胞の微毛膜粒子は胎生17日から生後5日までP面で $3,341/\mu\text{m}^2$ 、生後50日で $4,054/\mu\text{m}^2$ と周産期の成長に伴って増加するとし、また Saito ら¹⁷⁾がイヌの大動脈遮断2時間後の虚血心筋細胞膜P面の膜内粒子が常温で $1,810/\mu\text{m}^2$ 、低温で $2,077/\mu\text{m}^2$ であることから低温の保護効果を強調し、さらに Wakayama ら²²⁾が正常人と Duchenne muscular atrophy 患者各8例の赤血球P面の膜内粒子の数を比較し、それぞれ $1,813/\mu\text{m}^2$ と $1,589/\mu\text{m}^2$ で後者に有意の減少を認めると報告しているにすぎない。我々の急性期大脳半球大梗塞モデル犬の虚血巣皮質の毛細血管P面における膜内粒子は正常犬で $2,168/\mu\text{m}^2$ であるのに対し $3,811/\mu\text{m}^2$ と増加しており、このことは膜の生存を意味し、したがって vesicular transport の activity を示唆するものと考えた。これらの成績については、著者の一人である井上が詳細な報告を発表する予定である。

もちろん、ここで報告した内皮細胞間の tight junction と pinocytotic vesicle による輸送という形態学的に把握できる所見のみで血液脳関門の透過性という特異現象を証明できるものではない。たとえば電顕レベルでも、形態学的には捉えられない内皮細胞の膜を通過しての輸送として脂質溶解 (lipid solubility) と担体仲介 (carrier-mediated transport) の2つが考えられている。関門の透過性には膜自体の化学組成または血管内の流量、内圧など多くの因子が関与している訳であり、したがってその現象の解明には形態学のみならず生理生化学的な立場からの総合的究明が必要なことは論を待たないところである。

V 結 語

急性期大脳半球大梗塞モデル犬を用いて、脳血管の超微形態学的変化を超薄切片標本の透過電顕に加え、血管鋳型標本とその凍結割断標本の走査電顕、およびフリーズ・フラクチャー・レプリカ標本の透過電顕で観察した。

1. 中大脳動脈領域に広範囲に虚血巣が認められたが、虚血巣内における微小血管障害は一様でなく、perforating arterial terminal zone である大脳基底核では細動脈から、cortical arterial terminal zone である皮髄境界では細静脈から出血がみられた。

2. 虚血巣皮質の毛細血管において pinocytotic vesicle の数は正常犬の4倍に、面積は1.3倍に増加した。一方 tight junction では、strand を構成する膜内粒子に不連続性がみられたが明らかな破綻はみられなかった。したがって、この部における毛細血管透過性亢進は vesicular transport が主役を成すものと考えられた。

本論文の要旨は、第41回日本臨床電子顕微鏡学会総会(1982年9月、東京)、第8回日本脳卒中学会総会(1983年6月、仙台)、および第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。

なお、本研究は厚生省循環器病研究委託費(56公-8)、および昭和57年度日本脳神経財団研究助成の一部を用いて行われた。

文 献

- 1) Anderson BG, Anderson WD: Scanning electron microscopy of microcorrosion cast: Intracranial and abdominal microvasculature in domestic animals. *Am J Anat* 153: 523-536, 1978
- 2) Arima T, Yamamoto T: A freeze-fracture study on perinatal changes of intramembrane particles in the small intestinal microvilli of the mouse. *Journal of Clinical Electron Microscopy* 15: 675, 1982
- 3) Claude P, Goodenough DA: Fracture faces of zonulae occludentes from tight and leaky epithelia. *J Cell Biol* 58: 390-400, 1973
- 4) Connell CJ, Mercer KL: Freeze-fracture appearance of the capillary endothelium in the cerebral cortex of mouse brain. *Amer J Anat* 140: 595-599, 1974
- 5) Dermietzel R: Junctions in the central nervous system of the cat. IV Interendothelial junctions of cerebral blood vessels from selected areas of the brain. *Cell Tissue Res* 164: 45-62, 1975
- 6) Dodson RR, Aoyagi M, Hartmann A, Tagashira Y: Acute cerebral infarction and hypotension: An ultrastructural study. *J Neuropathol Exp Neurol* 33: 400-407, 1974
- 7) Eto T, Omae T: An electron microscope study of hypertensive encephalopathy in the rat with renal hypertension. *Arch Histol Jap* 33: 133-143, 1971
- 8) Garcia JH, Conger KA, Briggs L: Brain capillaries in acute and subacute regional ischemia, in Cervos-Navarro J, Fritschka E (eds): *Cerebral Microcirculation and Metabolism*. New York, Raven, 1981, pp 83-91
- 9) Mollgard K, Lauritzen B, Saunders NR: Double replica technique applied to choroid plexus from early foetal sheep: Completeness and complexity of tight junctions. *J Neurocytol* 8: 139-149, 1979
- 10) Mollgard K, Saunders NR: Complex tight junctions of epithelial and of endothelial cells in early foetal brain. *J Neurocytol* 4: 453-468, 1975
- 11) 村上宅郎: 微細血管分布機構研究のための鋳型走査電子顕微鏡法. *細胞* 7: 11-19, 1975
- 12) Nakai K, Imai H, Kamei I, Itakura T, Komai N, Kimura H, Nagai T, Maeda T: Microangioarchitecture of rat parietal cortex with special reference to vascular "sphincters": Scanning electron microscopic and dark field microscopic study. *Stroke* 12: 653-659, 1981
- 13) Owmann G, Edvinsson L, Hardebo JE, Groschel-Stewart U, Unsicker K, Walles B: Immunohistochemical demonstration of actin and myosin in brain capillaries. *Acta Neurol Scand [Suppl]* 64:

- 384-385, 1977
- 14) Pettito CK, Pulsinelli WA, Jacobson G, Plum F: Edema and vascular permeability in cerebral ischemia: Comparison between ischemic neuronal damage and infarction. *J Neuropathol Exp Neurol* 41: 423-436, 1982
 - 15) Reese TS, Karnovsky MK: Fine structural localization of a blood-brain barrier to exogenous peroxidase. *J Cell Biol* 34: 207-217, 1967
 - 16) Reyners H, deReyners EG, Jadin JR, Maisin JR: An ultrastructural quantitative method for the evaluation of permeability to horseradish peroxidase of cerebral cortex endothelial cells of the rat. *Cell Tissue Res* 157: 93-99, 1975
 - 17) Saito M, Inoue K, Ootake Y, Ishida T, Anzai T, Muto H, Taira K, Shibasaki S: Freeze-fracture studies on anoxic myocardial sarcolemma. *Journal of Clinical Electron Microscopy* 15: 772-773, 1982
 - 18) 柴田尚武, 堤 健二, 森 和夫, 安永暁生: 脳梗塞に関する実験的研究(第5報) —梗塞巣分類について—. *Neurol Med Chir (Tokyo)* 22: 262-266, 1982
 - 19) 柴田尚武, 安永暁生, 森 和夫: 脳梗塞に関する実験的研究(第1報) —出血性梗塞の発生機序について—. *Neurol Med Chir (Tokyo)* 18 [Part II]: 377-383, 1978
 - 20) Simionescu M, Simionescu N, Ralade GE: Morphometric data on the endothelium of blood capillaries. *J Cell Biol* 60: 128-152, 1974
 - 21) Tani E, Yamagata S, Ito Y: Freeze-fracture of capillary endothelium in rat brain. *Cell Tissue Res* 176: 157-165, 1977
 - 22) Wakayama Y, Hodson A, Bonilla M, Pleasure D, Schotland DL: Freeze-fracture studies of erythrocyte plasma membrane in human neuromuscular disease. *Neurology (Minneapolis)* 29: 670-675, 1979
 - 23) Westergarrd E: Increased permeability of cerebral vessels to horseradish peroxidase induced by ischemia in Mongolian gerbils. *Acta Neuropathol (Berl)* 35: 307-325, 1976
 - 24) 吉田泰二: 実験膠腫内微小血管の立体像 —胎子, 新生仔期の脳血管形成との関連—. *脳と神* 35: 619-627, 1983
- [別刷請求先: 〒852 長崎市坂本町7-1, 長崎大学脳神経外科, 柴田尚武]