脳損傷後の微小血管構築と血管内皮細胞増殖能の変化

新潟大学脳研究所脳神経外科学教室（主任：田中隆一教授）
日 高 俊 彦

Microvascular Architectural Changes and Proliferation of Endothelial Cells Following Cold Injury

Toshihiko HIDAKA

Department of Neurosurgery, Brain Research Institute, Niigata University
(Director: Prof. Ryuichi TANAKA)

Microvacular architectural changes and proliferation of endothelial cells in the rat brain following local cold injury were studied by the cerebrovascular casting method with scanning electron microscopy and by immunohistochemistry using a monoclonal antibody to bromodeoxyuridine (BrdU). At 7 and 14 days after injury, the newly formed vessels at the border of the lesion demonstraed tortuousness, nodular protrusions and anastomoses which were also seen in the active stage of the vascularization of developing fetal rat brain. At 21 days, these feature could hardly be observed and smoothly running microvessels appeared. At 28 days, the microvascular architecture was completely reconstructed, but there were decreased numbers of capillaries and narrowing of them in the marginal zone.

The BrdU labeling index of endothelial cells was elevated from 2 days after injury and reached a peak of 2.0% at 7 days after injury. Labeled endothelial cells disappeared 14 days later. It was suspected that changes in the microvascular architecture were closely related to the proliferation of endothelial cells.

It seems that the process of neovascularization after cold injury resembles that in the developing fetal brain.

Key words: microvascular architecture, cerebrovascular cast, endothelial cell, neovascularization, cold injury
微小血管構築，脳血管鋳型，内皮細胞，新生血管，凍結損傷

Reprint requests to: Toshihiko HIDAKA, Department of Neurosurgery, Kaiho Hospital, Mashiki 2-23-5, Ginowan City, Okinawa, 901-22, JAPAN.

別刷請求先：〒901-22
沖縄県宜野湾市真志喜2丁目23番5号
海邦病院脳神経外科 日 高 俊 彦

I. はじめに

脳損傷後の脳浮腫の修復過程に関して多くの優れた研究[1)2)3)4)]があるが，微小血管系の血管構築について研究した論文[5)]は少ない．病巣周辺部の修復過程に新生血管が出現することはよく知られている[6)7)8)]が，その発生機序や生物学的役割について不明な点が多い．新生血管の血管構築を解明することは損傷部の微小血管系の修復過程を理解する上で不可欠であり，その部の微小循環を考える上でも重要なことと思われる．本研究では脳損傷後の血管構築の変化を経時的に脳血管鋳型法により立体的に観察する一方，血管内皮細胞の増殖能を bromodeoxyuridine（BrdU）をマーカーとした酵素抗体標識法[9)]により検討したので報告する．

II. 実験方法

1. 凍結脳損傷の作製

実験動物には体重 250～300 g の Wistar 系ラットを使用した．2％ハローセン麻酔下に，左頭頂部に径 3

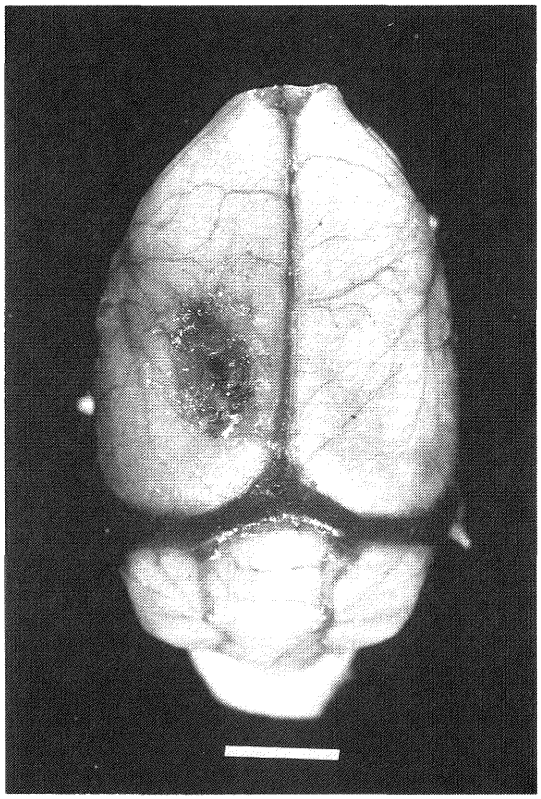


図 1　損傷作製後 7 日目のラット脳　Bar＝5 mm

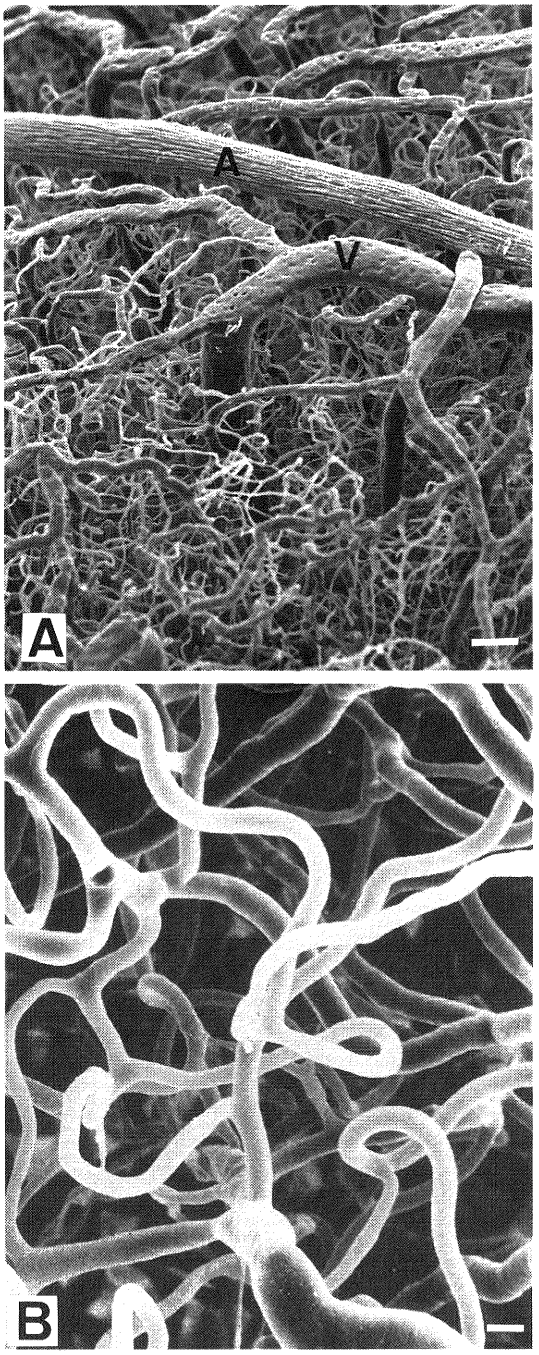


図 2　正常ラット脳血管鋳型標本の走査電子顕微鏡写真
A：脳表（A：動脈，B：静脈）Bar＝50 μm
B：毛細血管　Bar＝10 μm

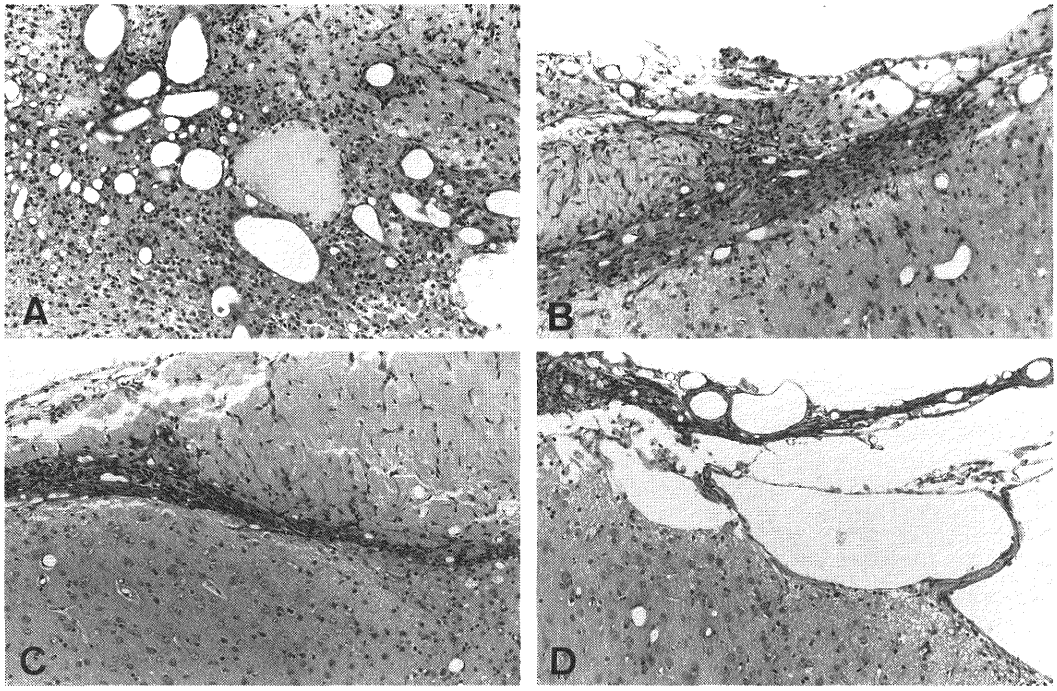


図 3　損傷作製後の冠状断（メチルメタクリレート樹脂注入後）の光顕写真
A：7日目　B：14日目　C：21日目　D：28日目，HE 染色×50

mm の小骨窓を設け，その部位の硬膜にドライアイスを30秒間接触させ，重度かつ均一な凍結脳損傷を作製した．（**図 1**）

2．微小血管構築観察用の鋳型標本作製

損傷作製後7，14，21，28日目に標本作製を行なうこととし，各々5匹ずつを対象とした．標本作製にあたっては，人工呼吸下に開胸を行ない，カニューレを左心室に挿入した後，胸部大動脈を結紮した．そして，右心耳の切断と同時に左心室のカニューレより37℃の生理食塩水で灌流し，体内より血液を洗浄，流出させた．さらに，そのカニューレを大動脈起始部まで進め，37℃の 3 % glutarardehyde を含む 0.1 M リン酸緩衝液（pH 7.4）で灌流固定を行なった．引き続き，動物を冷却させる目的で4℃の同固定液で灌流を続けた．固定後，メチルメタクリレート樹脂（Mercox CL-2R に polymelizer を20対1の割合で混合）を 4～5 ml/min の速度で用手的にカニューレから注入した．樹脂の硬化後，脳を摘出し，損傷部の中心部を冠状断して約 10 mm 厚に切り出した．標本の一部はパラフィン包理後，HE 染色を行ない，光学顕微鏡にて観察した．次に吉田らの方法[10]に準じて，脳切片を20% NaOH 液に24時間浸漬し，次に，2週間かけて 0.5 % NaClO 液にて脳組織を溶解させた．その後，残存脳組織を蒸留水で十分に洗滌，除去し，液体窒素にて急速凍結して，真空乾燥させた．最後に鋳型標本をイオンコーター（IB-3，Eiko）にて白金イオン蒸着し，走査電子顕微鏡（S-450，Hitachi）で観察した．

なお対照群として，正常ラット5匹から同様の血管鋳型標本を作製して，正常の微小血管構築を観察した．

3．血管内皮細胞の増殖能の検討

損傷作製後1，2，3，4，5，6，7，10，14，21，28日目に，各々3～4匹ずつを対象として検討した．全麻下に BrdU（武田薬品）を尾静脈から 40 mg/kg 投与した．1時間後に開胸し，血管鋳型標本作製時と同様に，37℃の生理食塩水で灌流した後，70%エタノールにて灌流固定した．摘出脳をパラフィン包理後，損傷部のレベルで厚さ 6 μm の冠状切片を作製した．これらの切片をキシレンにて脱パラフィンを行ない，2N HCl で30分間室温処理し，ついで，0.1 M $Na_2B_4O_7$ で中和した．内因性ペルオキシダーゼ活性を阻止するため 0.3 % H_2O_2 加メタノールで60分間処理した後，非特異的

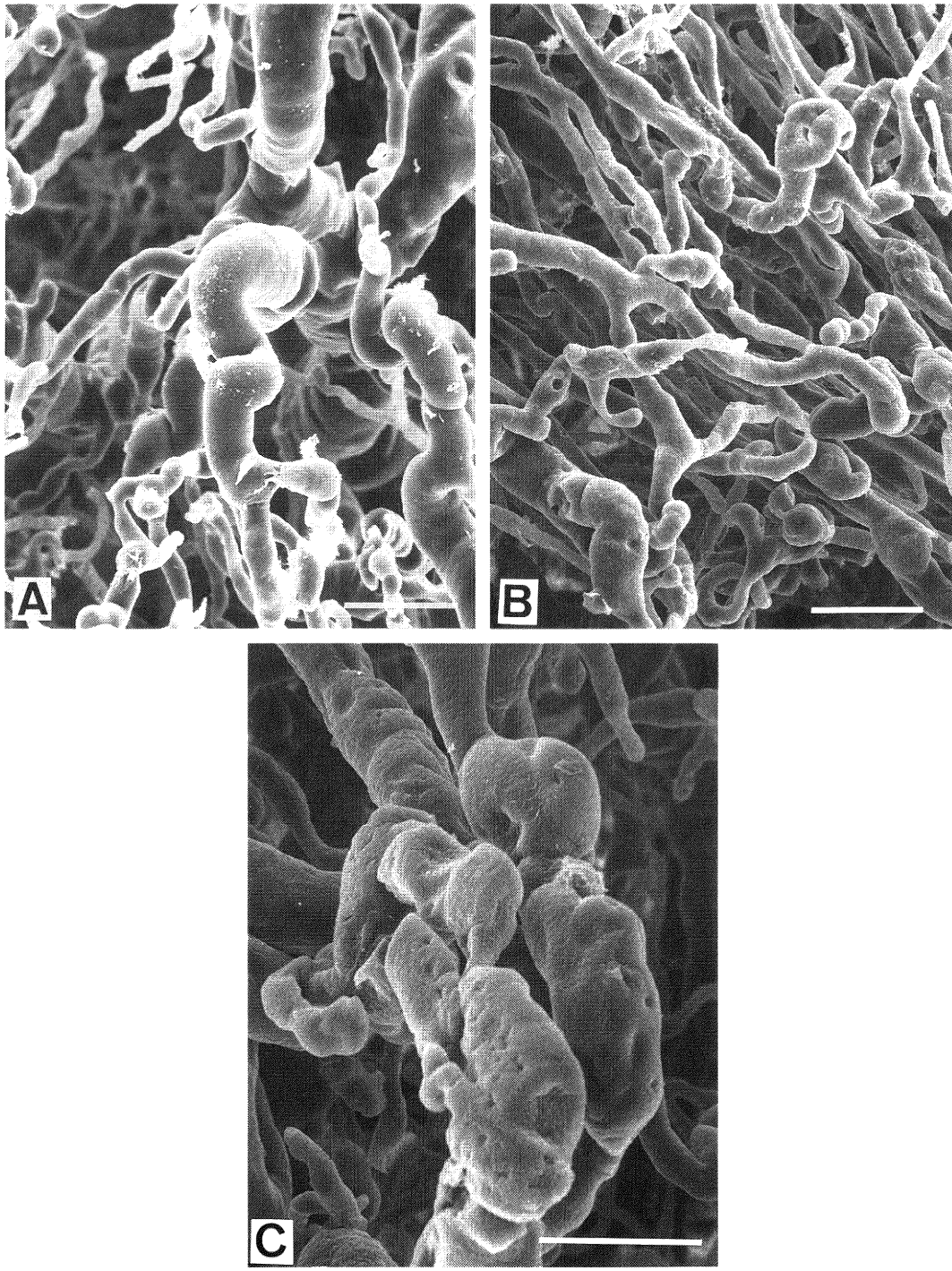


図 4　損傷作製後7日目の脳血管鋳型の走査電子顕微鏡写真
A：脳表部付近の屈曲，拡張した血管　Bar＝50 μm
B：辺縁部の結節状隆起した不規則な血管　Bar＝50 μm
C：辺縁部の吻合した血管　Bar＝50 μm

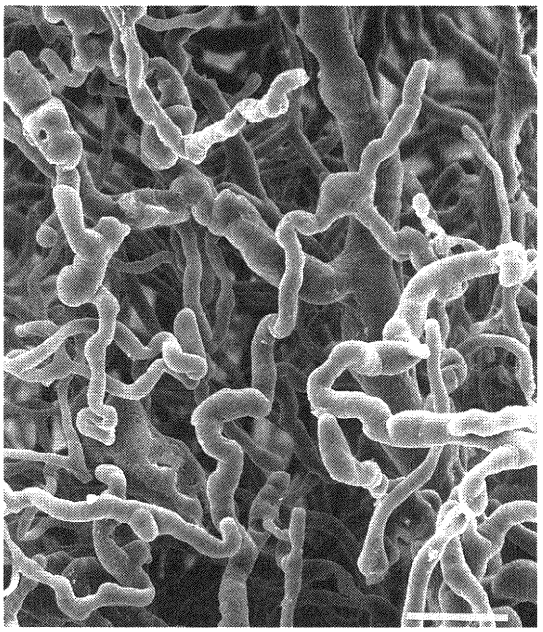


図 5　損傷作製後14日目の脳血管鋳型の走査電子顕微鏡写真　Bar＝50 μm

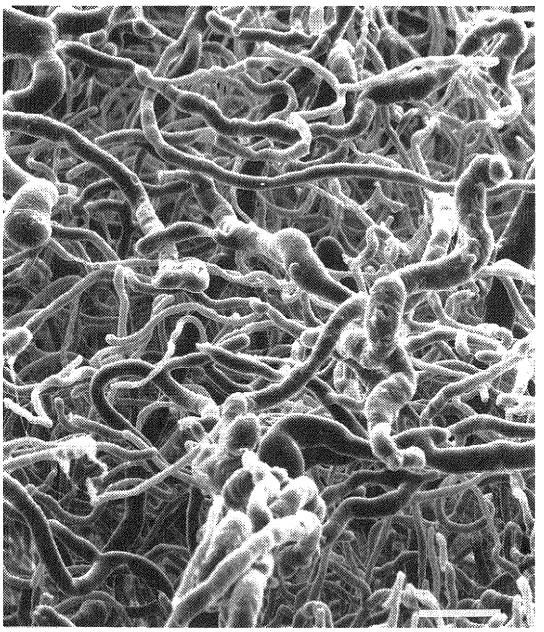


図 6　損傷作製後21日目の脳血管鋳型の走査電子顕微鏡写真　Bar＝50 μm

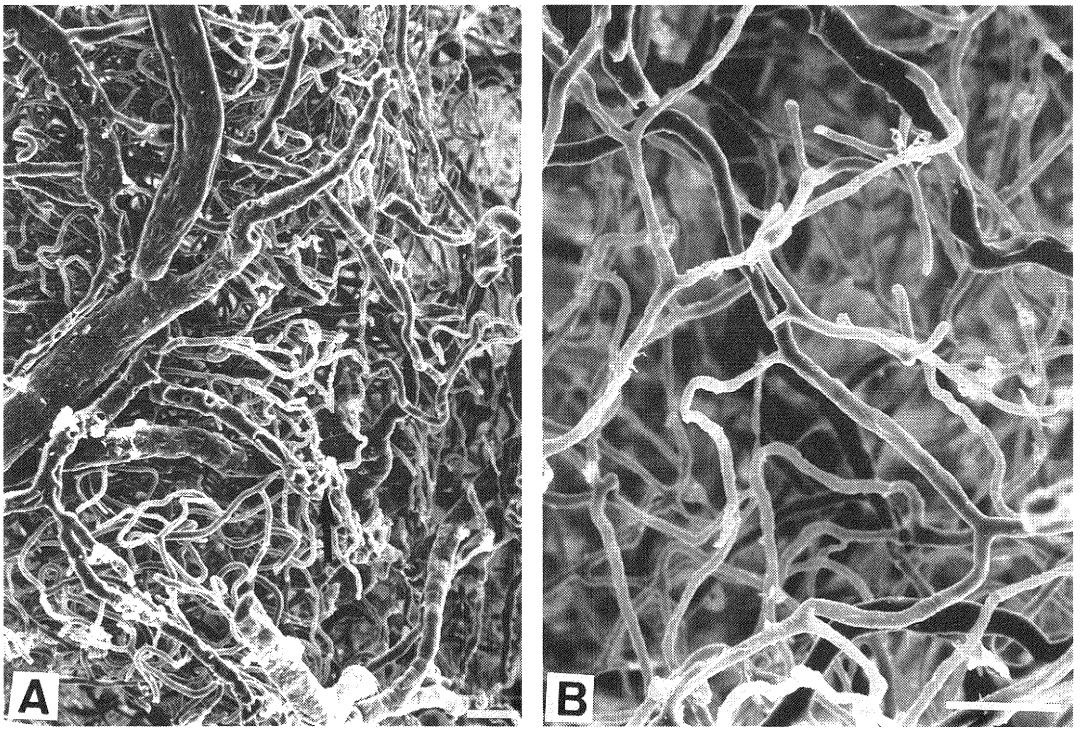


図 7　損傷作製後28日目の脳血管鋳型の走査電子顕微鏡写真
A，B：境界部（←印）の血管　Bar＝50 μm

反応を防ぐため，正常ウマ血清で処理した．一次抗体は，40倍に希釈した抗 BrdU 抗体（Becton Dickinson 社製）を用い，室温で2時間反応させた．二次抗体は200倍に希釈した biotin 化抗マウス抗体（Vector 社製）を用い，室温で30分間反応させた．次に，Avidin-biotin-peroxidase complex（Vector 社製）を30分間反応させ，最後に，3，3′-diaminobenzidine-tetrahydrochrolide にて発色させた．Labeling Index は，500～1,000個の細胞に対する BrdU 標識細胞の割合で表わした．

III．結　　果

1．微小血管構築の変化

正常ラット脳では，動脈は脳表面から垂直に実質へ向かって径 30～40 μm の小動脈を分岐し，皮質で血管叢を形成していた．径 10 μm 以下の毛細血管は小静脈へ流入していた．静脈は深部白質から脳表へ走行し，径 30～70 μm の静脈へ流入していた．動脈の表面は内皮細胞核の内腔への突出による約 5×15 μm 大の明瞭な楕円形の陥凹があり，規則的な配列をしていた．静脈では内皮細胞核の突出は不鮮明な類円形をしており，配列も不規則であった（**図 2-A，2-B**）．

損傷作製後7日目では，光顕標本にて病巣及び周辺部に大小不同の径の異なる血管が多数認められた（**図 3-A**）．血管鋳型標本では，脳表付近に直径 30～40 μm の径が不規則な血管を多数認め，それらは拡張して屈曲や蛇行しながら走行し，動脈か静脈かの判別が困難であった（**図 4-A**）．その他に，病巣及び周辺部に 10 μm 前後の小血管が屈曲，蛇行し，さらに結節状隆起や吻合をした所見を認めた（**図 4-B，4-C**）．

損傷作製後14日目では，光顕標本にて病巣周辺部に大小不同の血管は少数認めたが，その数は7日目より明らかに減少していた（**図 3-B**）．血管鋳型標本では，脳表付近にみられた不規則な異常血管はほぼ消失していたが，病巣周辺部の 10 μm 前後の小血管にはまだ屈曲や蛇行した所見を残していた（**図 5**）．

損傷作製後21日目になると，光顕標本では病巣周辺部の血管の数は減少し，径の不整も少なかった（**図 3-C**）．血管鋳型標本では，病巣周辺部の血管の密度は14日目に比べさらに減少し，10 μm 前後の小血管の内腔は平滑になり，不規則な屈曲や蛇行は減少していた（**図 6**）．

損傷作製後28日目になると，光顕標本では病巣は嚢胞化し，周辺部の血管はほとんど認められなくなった（**図 3-D**）．血管鋳型標本でも病巣周辺部の血管はスムーズな走行をしていたが，血管の密度は非常に低くなり，微

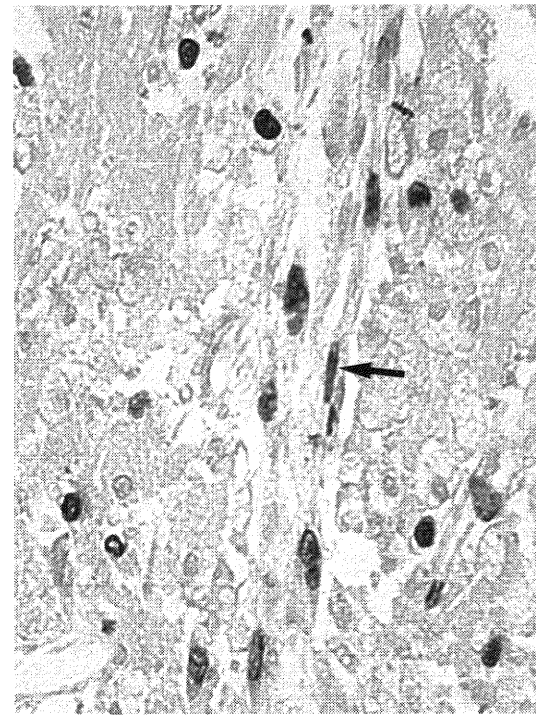


図 8　BrdU にて標識された内皮細胞（←印）（損傷作製後7日目）免疫組織染色×400

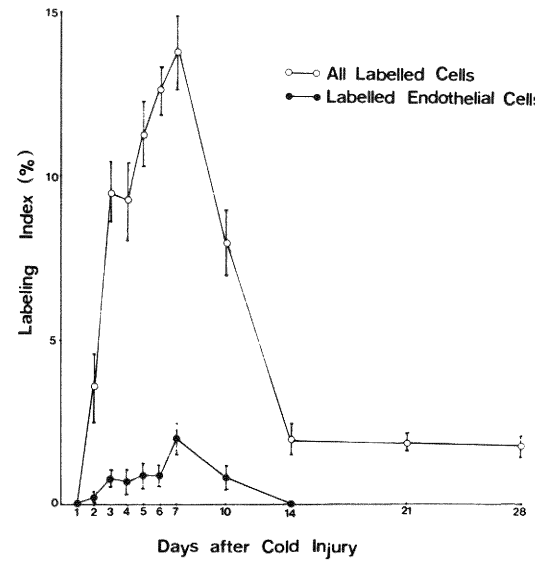


図 9　BrdU にて標識された全細胞と内皮細胞の Labeling Index．（平均値±SD）

小血管の内径はやや狭小化を認めた（図 7-A，7-B）．

2．血管内皮細胞の増殖能

BrdU に標識された細胞（図 8）は，形態学的所見からマクロファージ等の血液由来細胞や神経膠細胞が多数を占めていると考えられたが，2日目から出現して，3日目に急増し，7日目に最高値（LI 14.1％）に達した．その後減少していくが，14日目以後も少数（LI 1.8～2.0％）認められた．微小血管の管腔面に存在し，血管内皮細胞と考えられる細胞の標識は少数ではあるが，2日目から認められて，3日目に増加し，7日目に最高値（LI 2.0％）に達して，14日目には消失していた（図 9）．

IV．考　　察

血管構築の研究には従来 microangiography[11)12)13)] が用いられて来たが，三次元的に詳細に微小血管を観察することは困難であった．一方，血管鋳型法は，微小血管系を立体的に微細に走査電顕を用いて観察できる点で，血管構築の研究には極めて有用である[10)14)15)]．中枢神経系の血管構築の研究にも用いられ，正常脳[10)14)15)16)17)] 脊髄[18)] 及び種々の疾患[5)19)21)22)]，さらに，胎生期の脳や腫瘍の血管形成[17)19)] についても深く研究されている．病巣の修復過程で新生血管が出現することは，これまでに凍結損傷[6)7)8)]，脳梗塞[23)24)25)26)]，外傷創[27)28)] などで認められており，おもにその微小形態やトレーサーに対する透過性に関して研究がなされてきた．しかし，新生血管の血管構築に関する研究は非常に少ない[5)29)]．

脳損傷後の血管構築の修復には二つのタイプが考えられている[5)]．すなわち，(1) 浮腫周囲から既存の血管構築を利用して再現していく場合と，(2) 損傷の強い部位で既存の血管構築から離れて全く異なる新生血管の構築がなされる場合である．透過電顕で観察した Cancilla らの凍結損傷の実験[8)] では，保存された基底膜に沿って損傷3日後より内皮細胞の再生がみられ，5日以降になると tight junction を形成し始め，7日後には正常な血管が再建され，15日ないし35日後には完全治癒すると述べている．(1) の場合は基底膜が保存され，それに沿って損傷3日後から微小血管が新生していくのであろうと考えられる．

一方，基底膜が崩壊された部位では，如何にして血管が再建されていくのであろうか．胎児脳の血管発生において非連続な基底膜の部位で未熟な血管が認められること[30)]，腫瘍の血管新生ではまず基底膜の破壊がおこり血管内皮細胞が遊走していくことが知られている[31)]．損傷作製後7日目に病巣及び周辺部に認められた屈曲，蛇行，結節状隆起や吻合した異常血管は，胎生期の脳や腫瘍内に出現する血管増生像[17)19)] と非常に類似している．吉田ら[29)] は同様な所見は脳梗塞の修復過程でも認められたことを報告している．これらのことから胎生期の脳や腫瘍の血管新生と損傷や脳梗塞の修復過程に認められる血管新生とは，共通した機序を有すると考えられる．

次に，血管構築の修復に関与する細胞の増殖能について検討した．BrdU は thymidine の analogue として DNA 合成に取り込まれるため，抗 BrdU 単一クローン抗体を用いて DNA 合成期の細胞を同定することが可能である[9)32)33)]．損傷作製後3日目に修復に関与する細胞の増殖性が急に活発になるが，損傷後に血液由来細胞が急増し，神経膠細胞が増殖するという報告[3)34)] とよく一致している．血管内皮細胞の増殖は少数であるが，損傷作製後3日目に増加して，7日目に最高値（LI .2％）に達し，14日目には消失していた．この損傷作製後2週間は血管鋳型標本で異常血管が多く認められた期間にほぼ一致する．

新生血管の形成にはいくつかの段階が考えられており[31)]，すなわち基底膜の破壊，血管内皮細胞の遊走と sprout の形成，血管内皮細胞の増殖と基底膜の構築，血流の成立，血管が伸張し，成熟した血管網の形成である．したがって，7日目に認められる異常血管群は sprout が形成され，血管腔が形成されつつある未熟な血管と考えられ，14日以後はこれらの未熟な血管が成熟していく過程のものと考えられる．

新生血管の機能に関しては，これまで HRP の透過性により検討[7)8)] され，損傷後2～3週でトレーサーに対する BBB は獲得されると言われている．さらに，新生血管の成熟過程を，内皮細胞に存在する膜酵素の染色性から検討した佐々木ら[35)] の実験では，梗塞巣の修復過程に出現する新生血管は，当初 alkaline phosphatase や γ-glutamyl transpeptidase 活性を持たないが，少なくともその一部は後にそれぞれ酵素活性を獲得するようになり，それには神経膠細胞との関連が示唆されている．

次に，新生血管による血管構築の推移はどのようになるのであろうか．損傷作製後21，28日目には異常血管は認められなくなり，血管の密度も低くなっており，あたかも新生血管が消退していくようにもみえた．果たして新生血管は成熟化するが大部分は消失していくのか，新生血管は残存するが血管腔が閉塞しているだけなのかの判断は血管鋳型標本のみの検討では困難である．新生血

管の消退は興味深い問題であり，そのメカニズムについてはさらに研究を進める必要がある．

病巣の修復にはいくつかの重要な過程があり，その生物学的意義も指摘されている[3]．すなわち，1）神経細胞変性と星状膠細胞の腫張，2）脳浮腫の出現，3）マクロファージの出現と星状膠細胞の分裂・移動，4）星状膠細胞の再被覆という過程をたどり，治癒に向かって行く．脳浮腫という病態は病巣修復に不可欠な過程であり，細胞の増生や移動運動に必要な細胞外腔として存在し，胎生期の個体形成の機序の再現であると生田ら[3]は考察している．これらのことを考慮すると病巣の修復過程に出現する新生血管も胎生期の血管形成と類似の機序を有し，その成長と分化には血管周囲の環境の変化と密接な関係があると考えられた．

V. ま と め

脳損傷後の修復過程における微小血管構築の変化を，ラットの凍結脳損傷モデルと脳血管鋳型法を用いて走査電子顕微鏡にて経時的に観察した．さらに血管内皮細胞の増殖能について，BrdU をマーカーとした酵素抗体標識法を用いて検討した．

1）脳血管鋳型法では，損傷作製後7，14日目には，病巣及び周辺部に，屈曲，蛇行，さらに結節状隆起や吻合した異常血管を認めた．これらの異常血管は胎生期の脳や脳腫瘍の血管形成に出現する血管像と非常に類似しており，新生血管に共通した血管像と考えられた．その時期は血管内皮細胞の増殖能亢進とも一致していた．

2）損傷作製後21日目の血管鋳型標本では病巣及び周辺部に異常血管は認められなくなり，血管壁の不整も減少していた．血管の密度は，7，14日目に比べ減少していた．28日目になると，病巣周辺部の血管の密度はさらに減少し，微小血管の内径はやや狭小化していた．

3）損傷後の修復過程に出現する血管新生は，胎生期の脳や脳腫瘍の血管新生と類似の機序を有し，その生長や分化には血管周囲の環境の変化と密接な関係があると考えられた．

稿を終えるにあたり，御指導，御校閲を賜わりました田中隆一教授に深甚なる謝意を表わすとともに，御指導頂きました川崎医科大学脳神経外科石井鎮二教授に深謝申し上げます．また，鋳型標本作製において適切な御助言を頂きました弘前大学附属脳・神経疾患研究施設神経病理部門吉田泰二助教授，実験神経病理学教室江川重公技官に深謝致します．さらに，本研究を進めるにあたり絶えず協力して頂きました脳神経外科教室の先生方，上杉清技官，関川和代嬢，木山信子嬢に心から感謝いたします．

参 考 文 献

1) **Reulen, H.J., Tsuyumu, M., Tack, A., Fenske, A.R. and Prioleau, G.R.**: Clearance of edema fluid into cerebrospinal Fluid. A mechanism for resolution of vasogenic brain edema. J Neurosurg, **48**: 754～764, 1978.

2) **Klatzo, I., Chui, E., Fujiwaka, K. and Spatz, M.**: Resolution of vasognic brain edema, in Cevos-Navarro J, Ferszt R (eds): Brain Edema. New York, Reven, 1980, pp 359～373.

3) **Ikuta, F., Yoshida, Y., Oyanagi, S., Takeda, S. and Watabe, K.**: Revised pathophysiology on BBB damage. The edema as an ingeniously provided codition for cell motility and lesion repair. Acta Neuropathol [Suppl] (Berl), **8**: 103～110, 1983.

4) **Vorbrodt, A.W., Lossinsky, A.S., Wisniewski, H.M., Suzuki, R., Yamaguchi, T., Masaoka, H. and Klatzo, I.**: Ultrastructural observations on the transvascular route of protein removal in vasogenic edema. Acta Neuropathol (Berl), **66**: 265～273, 1985.

5) **織田哲至**: 脳損傷後の微小血管構築の経時的観察. Neurol Med Chir (Tokyo), **28**: 230～234, 1988.

6) **Mitchell, J., Weller, R.O. and Evans, H.**: Capillary regeneration following thermal lesion in the mouse cerebral cortex. An ultrastructural study. Acta Neuropathol, **44**: 167～171, 1978.

7) **Mitchell, J., Weller, R.O. and Evans, H.**: Reestablishment of the blood brain barrier to peroxidase following cold injury to mouse cortex. Acta Neuropathol, **46**: 45～49, 1979.

8) **Cancilla, P.A., Frommse, B.S., Kahn, L.E. and DeBault, L.E.**: Regeneration of cerebal microvessels. A morphologic and histochemical study after local freeze injury. Lab Invest, **40**: 74～82, 1979.

9) **Gratzner, H.G.**: Monoclonal antibody to 5-bromo-and 5-iodo-deoxyuridine. A new reagent for detection of DNA replication. Science, **218**:

474～475, 1982.

10) **Yoshida, Y. and Ikuta, F.**: Three-dimensional architecture of cerebral microvessls with a scanning electron microscope. A cerebrovascular casting method for fetal and adult rats. J Cereb Blood Flow Metabol, **4**: 290～296, 1984.

11) **Perez, C.A., Hodges, F.J. and Margulis, A.R.**: Microangiography in experimental cerebral edema in rats. Radiology, **82**: 529～535, 1964.

12) **Ames, A., Wright, R.L., Kowada, M., Thurston, J.M. and Majno, G.**: Cerebral ischemia. The no-reflow phenomenon. Amer J Path, **52**: 437～453, 1968.

13) **Kuroiwa, T., Tsuyumu, M., Takei, H. and Inaba, Y.**: Effect of Nd: YAG and CO_2 lasers on cerebral microvasculature. Study in normal rabbit brain. J Neurosurg, **64**: 128～133, 1986.

14) **中井國雄, 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.

15) **Murakami, T.**: Application of the scanning electoron microscope to the study of the fine distribution of the blood vessels. Arch Histol Jap, **32**: 445～454, 1971.

16) **Fisher, E.D., Lorenzo, A.V., Laldis, W.J., Welch, K., Ofori-Kwaye, S.K., Dorval, B., Hodgens, K.J. and Kerr, D.S.**: Vasculature to the germinal matrix in rabbit pups. J Neurosurg, **64**: 650～656, 1986.

17) **Yoshida, Y., Ikuta, F., Watabe, K. and Nagata, T.**: Developmental microvascular architecture of the rat cerebellar cortex. Anat Embryol (Berl), **171**: 129～138, 1985.

18) **Naka, Y., Itakura, T., Nakai, K., Nakakita, K., Imai, H., Okuno, T. and Kanei, I.N.**: Microangioarchitecture of the feline spinal cord. Three-dimensional observation of blood vessel corrosion cast by scanning electron microscopy, J Nerosurg, **66**: 447～452, 1987.

19) **吉田泰二**: 実験膠腫内微小血管の立体像—胎仔, 新生仔期の脳血管形成との関連—. 脳と神経, **35**: 619～627, 1983.

20) **岡 伸夫, 中田潤一, 遠藤俊郎, 高久 晃, 篠原治道, 森沢左歳**: 実験的水頭症における血管構築. Neurol Med Chir (Tokyo), **25**: 701～706, 1985.

21) **堤 健二**: 脳梗塞に関する実験的研究—血管鋳型走査電顕法を中心に—. Neurol Med Chir (Tokyo), **26**: 595～600, 1986.

22) **佐久田 治, 六川二郎**: 圧迫による脳障害に関する基礎的研究. 脳神経外科, **19**(7): 625～631, 1991.

23) **Calfoun, C.L. and Mottaz, J.H.**: Capillary bed of the rat cerebral cortex. The fine structure in experimental cerebral infarction. Arch Neurol, **15**: 320～328, 1966.

24) **Garcia, J.H., Cox, J.V. and Hudgins, W.R.**: Ultrastructure of the microvasculature in experimental cerebral infarction. Arch Neuropathol, **18**: 273～285, 1971.

25) **三浦妙太**: 実験的脳軟化巣の電顕的解析, Vasogenicな脳内病変の一つのモデルとして. 日本臨床電子顕微鏡学会誌, **5**: 1457～1464, 1973.

26) **Garcia, J.H. and Kamijyo, Y.**: Cerebral infarction. Evolution of histopathological changes after occlusion of a middle cerebralartery in primates. J Neuropathol Exp Neurol, **33**: 408～421, 1974.

27) **Beggs, J.L. and Waggener, J.D.**: Post traumatic vascular regeneration in the spianl cord: The growth sequence and permeability properties to new vessels. Neuropathol Exp Neurol, **37**: 589, 1978.

28) **Persson, L.**: Cellular reacion to small cerebral stab wounds in the rat frontal lobe. Virchows Arch B Cell Path, **22**: 21～37, 1976.

29) **吉田泰二, 生田房弘, 山田光則, 若林孝一**: 実験的脳梗塞における反応性微小血管：成熟脳及び発達期脳血管との関連について. pp 25～34 (厚生省神経疾患, 発達期における脳障害調査研究, 昭和60年度研究報告書, 1986).

30) **Hauw, J.J., Berger, B. and Escourolle, R.**: Electron microscopic study of the developing capillaries of human brain. Acta Neuropathol (Berl), **31**: 229～242, 1975.

31) **Ausprunk, D.H. and Folkman, J.**: Migration and proliferation of endothelial cells in prefomed and newly formed blood vessels during tumor

angiogenesis. Microvasc Res, **14**: 53～65, 1977.

32) **Nagashima, T. and Hoshino, T.**: Rapid detection of S-phase cells by anti-bromodeoxyuridine monoclonal antibody in 9L in brain tumor cells in vitro and in situ. Acta Neuropathol (Berl), **66**: 12～17, 1985.

33) **Yoshimine, T., Ushio, Y., Hayakawa, T., Takemoto, O., Maruno, M. and Mogami, H.**: Growth activity of tumors at different intracranial structures. Immunohistochemical study with bromodeoxyuridine. Acta Neuropathol (Berl), **71**: 15～18, 1986.

34) **Latov, N., Nilaver, G., Zimmerman, E.A., Johnson, W.G., Silverman, A.J., Defendini, R. and Cote, L.**: Fibrillary astrocytes proliferate in response to brain injury. Study combining immunoperoxidase technique for glial fibrillary acidic protein and radioautography of tritiated thymidine. Develop Bio, **172**: 381～384, 1979.

35) **佐々木　修，田中隆一，小池哲雄，皆河崇志**：脳梗塞巣修復過程に発生する新生血管の enzymatic barrier に関する研究．脳と神経，**40**(11)：1037～1043 1988.

（平成4年2月28日受付）