



Title	ラット脳含水率とMagnetization transfer ratio(MTR)との関係-心臓灌流による含水率変化モデルにおける検討-
Author(s)	李, 松柏
Citation	日本医学放射線学会雑誌. 1998, 58(4), p. 142-147
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/19109
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

ラット脳含水率とMagnetization transfer ratio (MTR)との関係 —心臓灌流による含水率変化モデルにおける検討—

李 松柏

三重大学医学部放射線医学教室

Relationship between Water Content and Magnetization Transfer Ratio in the Rat Brain Using a New Cardiac Perfusion Model with Different Osmotic Gradients

Song-Bai Li

We devised a method to make a gradient water content model of the rat brain by perfusing osmotic NaCl solution from the left ventricle. Using this model we measured the water content and magnetization transfer ratio (MTR) of the frontal lobe and the pons as examples of gray and white matter, respectively.

When we perfused five levels of osmotic NaCl solution (0, 0.9, 1.8, 3.6 and 7.2%) to respective groups of four rats, mean water content decreased from 81.5% at 0% to 75.9% at 7.2% NaCl in the frontal lobe and from 74.1% to 61.0% in the pons, while MTR increased from 21.5% to 24.2% in the frontal lobe and from 22.9% to 27.3% in the pons. Thus water content was significantly higher ($p < 0.01$) in the frontal lobe than the pons at each level of NaCl concentration, and MTR was significantly higher in the pons than the frontal lobe ($p < 0.05 \sim 0.01$, except at 0%). Further, the grade of alteration was higher in the pons than the frontal lobe for both water content and MTR. Excellent correlations between MTR and water content were observed with coefficients of -0.75 and -0.82 for the frontal lobe and pons, respectively, and the regression lines showed higher position and slope in the frontal lobe than the pons.

From these results we concluded that the pons is rich in free water of extracellular fluid that moves easily between the myelin sheath, whereas in the frontal lobe, water is so diffusely mingled with membranes and favorable to bound water that the magnetization transfer effect is more effective, yielding a higher MTR for the same water content and showing greater change in MTR for the same change in water content as the pons.

Research Code No. : 503

Key words : Rat, Water content, Magnetization transfer, Brain

Received Jul. 28, 1997; revision accepted Jan. 23, 1998
Department of Radiology, Mie University School of Medicine

はじめに

生体組織構成は大分して二つのシステムからなるといえる。その一つは液体状の水システムであり、他の一つは高分子蛋白・脂肪・炭水化物・核酸などの有形成分システムである。これらの高分子に近接している水分子は高分子のカルボキシル基、アルミ酸基などとの間に化学結合を結成し、結合水となっている。結合水と高分子から離れた水分子(自由水)との間には交差緩和現象が存在するため、その組織構造はmagnetization transfer (MT)技術を利用することによって定量化が可能であると考えられる^{1)~4)}。

しかし、MTに対する含水率の影響はまだ十分に解明されているとはいえない。生体の各組織は単なる高分子と水の割合で区別できるものではなく、構成成分とその成分の構築様式の両面に差があり、種々の細胞や間質等から構成される複雑な構造体である。従来、MT基礎研究のモデルとしてはゼラチンや寒天等のファントムを利用したものが一般的であったが、これらファントムはその高分子の成分が単一であり、生体組織のような膜構造を持たないという欠点があった。また、生体組織モデルである虚血、凍傷、外傷¹⁾、中毒モデル⁵⁾なども既に報告されているが、これらのモデルは病巣が小さいか不均一であり、正確な含水率を測ることは困難である。さらに、浸透圧溶液を生理状態で体内に循環させる含水率変化モデル^{6),7)}の場合には、生理的な調節機序を制御する必要があるが、体内循環容量による制約もあり、含水状態に著しい差を作ることができない。

本研究では、組織学の内灌流固定法を参考に、種々な濃度の食塩水をラット心臓から灌流することにより、組織構造を変えることなく、含水率の異なるモデルを作成する手法を開発した。さらに、この手法を用いてラット脳含水率とMT効果の関連性を検討した。

対象と方法

本実験ではWistar系雄ラット20匹を対象とした。後述の方法により灌流を行い、その直後にラット脳のMR画像を撮像した。MR撮像は前頭葉と橋脳領域を含め、MT効果計測用には3D-SPGR (spoiled gradient recalled acquisition in the steady state)パルス系列を、形態観察用にはFSE (fast spin echo)パルス系列を用いた。その後、脳組織を取り出して前

頭葉と橋脳の含水率をそれぞれ測定した。灌流液は試薬特級塩化ナトリウム(ナカライテスク株式会社 京都)と蒸溜水から0%, 0.9%, 1.8%, 3.6%, 7.2%(W/V)の濃度のものを作成した。使用に際しては温度を30-32°Cに維持し、本研究を進めた。

なお、実験に用いたラットは灌流中に血液が流失し、死亡した。死亡した動物の組織を構成する大分子は、蛋白水解酵素によって、時間に伴って小分子と水などに分解・変性してその構造が崩壊するという自家溶解現象を生じる。この影響を検討するため、0%と7.2%灌流液で灌流直後に固定した2匹と、2時間経ってから固定した2匹の組織像を作成して、灌流2時間後の組織崩壊の有無と前頭葉と橋脳の組織構成の差を光学顕微鏡で観察した。

1. 灌流方法：すべてのラットはネンブタール(50mg/kg)麻酔下にて開腹、開胸して心臓を十分に曝露した上で右心房に切り口を作り、同時に左心室から穿刺針を介して生理食塩水50~60ccを3分間かけて点滴注入し、血液を洗い流した。その後各組のラットをそれぞれの濃度の食塩水150-170ccで10分間灌流した。

2. MR撮像手法：使用装置はGE横河メディカル社所有の実験用MRI装置Signa Advantage(GE社製, 1.5T)である。使用したコイルは3.5 inchサーフェイスコイルである。MR画像はラットの伏臥位、冠状断面を選択した。同一撮影部位においてoff resonanceのMT用RFパルスを照射した場合と照射しなかった場合の3D-SPGR像を2シリーズ撮像した。形態評価にはFSE T2強調画像を1シリーズ撮像した。

3D-SPGR像はいずれもTR/TE/excitation = 65/5/1, Flip angle = 30 degree, matrix = 256×128, FOV = 8cm, slice thickness = 1.5mmとした。MT用RFパルスとしてsinc波形のoff resonanceパルスを用いた。その時のoff resonanceパルスの条件はoff resonance = 1.2 KHz, RF powerはFlip angleに換算して900度である。T2強調画像はTR/TE/excitation = 3000/90/2, Matrix = 256×192, FOV = 8cm, slice thickness = 3mmとした。MTR測定に関心領域はラットの小さい脳とMRIの分解能および含水率測定用に取り出す組織と一致する事等を配慮してFig.1のように設定した。高浸透圧灌流の場合、脳組織が縮小し、脳室、脳裂、脳槽が拡大している(Fig.1, 2)ので、前頭葉を前脳裂を避けて2箇所に分けて測っ

た。MT効果は本研究において同一撮影部位のMT用RFパルスを照射した場合の信号強度(S_{on})と照射しなかった場合の信号強度(S_{off})の差の S_{off} に対する比率をMagnetization transfer ratio (MTR)と定義し、下記の式によって算出した。

$$MTR(\%) = 100 \times (S_{off} - S_{on}) / S_{off}$$

ただし、前頭葉のMTRは2カ所の平均値を取った。

3. 含水率測定：MR撮影後、脳を取り出し、注意深く脳表の脳脊髄液を濾紙で取り除いてから、前頭葉と橋脳をそれぞれ摘出した。摘出したサンプルは電子天秤(Satorius GmbH Goettingen Type 1702, カールツァイス, ドイツ)で、速やかに新鮮重量を測定した。そして、それらの組織を液体窒素で凍結し、freeze dryer (FDU-830, 東京理科機械株式会社)を用いて12時間乾燥した。乾燥した組織は再度重量を測定した。組織の含水率(%)は新鮮重量と乾燥重量の重量差の新鮮重量に対するパーセントで算出した。

4. 組織像の作成：灌流した後に、その穿刺針を抜かないで、その時点および2時間後のラットをSchmechel's固定液300ccで灌流し、内固定した。この固定灌流液は4% paraformaldehyde, 1% glutaraldehyde, 0.2% picric acid, 0.1 mol acetate buffer pH 6.0と2% sucroseからなる⁸⁾。その後、脳組織を取り出して固定液の中に24時間以上浸して更

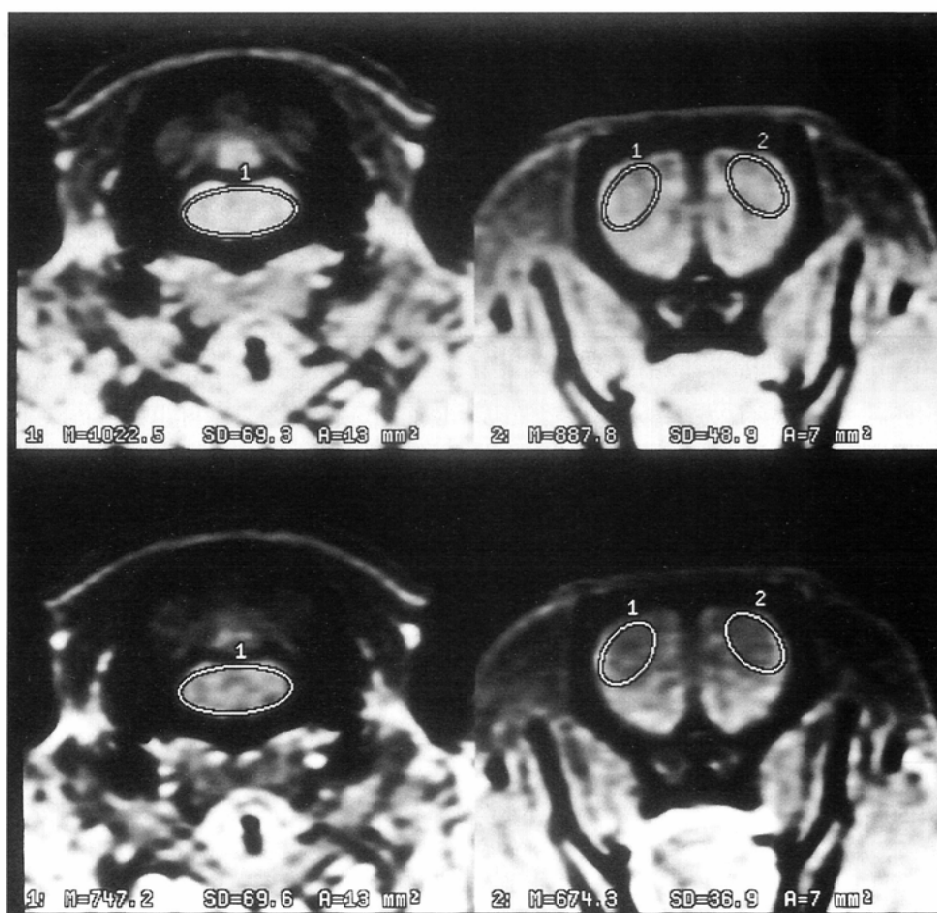


Fig.1 Coronal MR images of rat brain. Elliptic lines shown on the images indicate locations of region of interest (ROI) for measuring the signal intensities. Right and left images demonstrate ROIs over the frontal lobe and the pons, respectively. Lower and upper images are obtained with and without MT-prepared pulses, respectively. In order to avoid the enlarged fissure and the corpus callosum, two ROIs were set over the lateral portion of the frontal lobe.

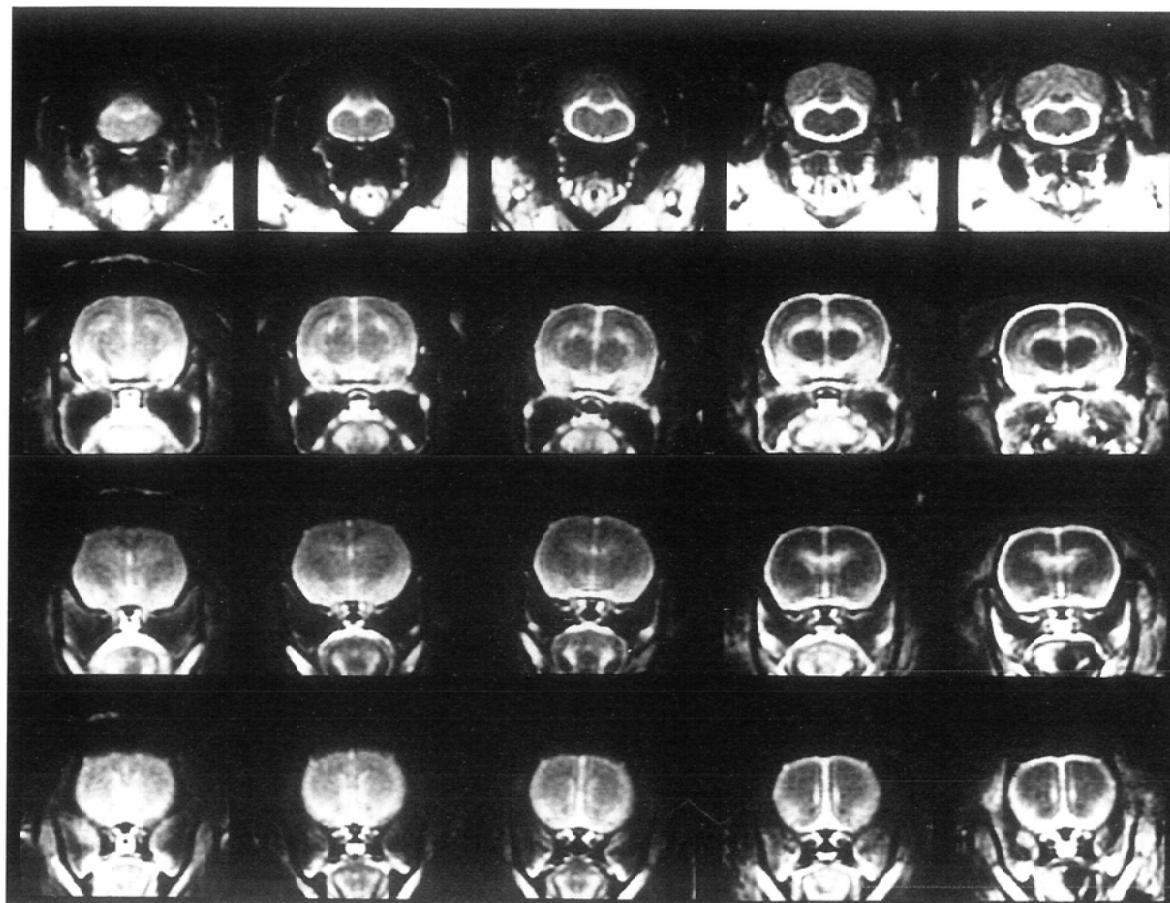


Fig.2 FSE-T2 weighted brain images of rat perfusion models. As the concentration of osmosis solution increased from 0 to 7.2% (arranged from the left row to the right row) it was shown that cisterns, ventricles, and fissures tended to enlarge and the contrast between cerebrospinal fluid and parenchyma tended to increase.

に固定した。これらの標本はパラフィン包埋で10 μ mの切片に切り、髄鞘と神経細胞の同時染色用のLuxol Fast Blue Kernerchtrot法で染色した。

結 果

低, 等, 高浸透圧の食塩水の灌流によって脳組織含水量の変化が観察された。形態的变化ではT2強調画像に示した(Fig. 2)ように, 等浸透圧液灌流群に比して低浸透圧液(蒸留水)灌流群では脳実質が腫脹して脳室, 脳槽, 脳裂が圧迫され, 縮小していた。逆に高浸透圧灌流液群では灌流液が高濃度になるほど脳実質の縮小, 脳室, 脳槽, 脳裂の拡大が著明になった。脳実質と脳脊髄液とのコントラストも灌流液の濃度に依存し, 高濃度になるほど強くなった。

定量的検討における含水率とMTRの測定結果をTable 1に示す。前頭葉と橋脳ともに灌流液が高濃度になるほど含水率が低下し, MTRが上昇した。含水率の低下は前頭葉では81.50%から75.88%まで5.62%の緩やかな変動であるのに対して, 橋脳では74.05から60.99まで13.06%のより急激な変動が見られた。0%濃度を基準にすると前頭葉, 橋脳ともに0.9%濃度以上で有意の差($p < 0.05$)が認められ, 前頭葉では3.6%濃度以上, 橋脳では1.8%濃度以上で著しい有意の差($p < 0.01$)が認められた。また, 各濃度で橋脳は前頭葉に比して著しく有意の低含水率($p < 0.01$)を示した。一方, MTRは

前頭葉の21.49%から24.24%まで2.75%の変化に対して, 橋脳では22.87%から27.34%まで4.47%のやや大きい変動が見られた。有意差検定では前頭葉, 橋脳ともに1.8%濃度以上で有意の差($p < 0.05$)が, 3.6%濃度以上で著しい差($p < 0.01$)が認められた。また, 0.9%以上の濃度で橋脳は前頭葉に比して有意に高値のMTR($p < 0.05 \sim 0.01$)を示した。

Fig.3に前頭葉と橋脳における含水率とMTR値の相関関係を示す。前頭葉と橋脳の両領域ともに両者の間に有意な逆相関関係が見られ, 相関係数(r)は前頭葉と橋脳でそれぞれ $r = -0.75$ ($p < 0.01$)と $r = -0.82$ ($p < 0.01$)であった。なお, 両者の相関関係の直線回帰式は前頭葉の $Y = -0.417 X + 55.728$ に対して橋脳では $Y = -0.3015 X + 45.836$ であり, 後者は前者に比してやや下方に位置し, 傾きが小さかった。これは同じ含水率では前頭葉のMTRが橋脳より高値の傾向があり, また, 一定の含水率の変動に対して前頭葉のMTRの変動の程度が大きいことを示している。

組織像では前頭葉は豊富な神経細胞, グリア細胞とそれらの突起によって占められ, 赤く染められていた。橋部は髄鞘成分が優位に存在し, 青く染められていた(Fig.4 A, B)。すべての標本で光学顕微鏡下では細胞核の境界が鮮明で細胞質の染色が均一であり, 細胞膨化や融解, 脱髄など組織溶解の直接所見は認められなかった。なお, 蒸留水と7.2%食塩水で灌流した標本の同じ領域にも形態的に差は認められなかった。

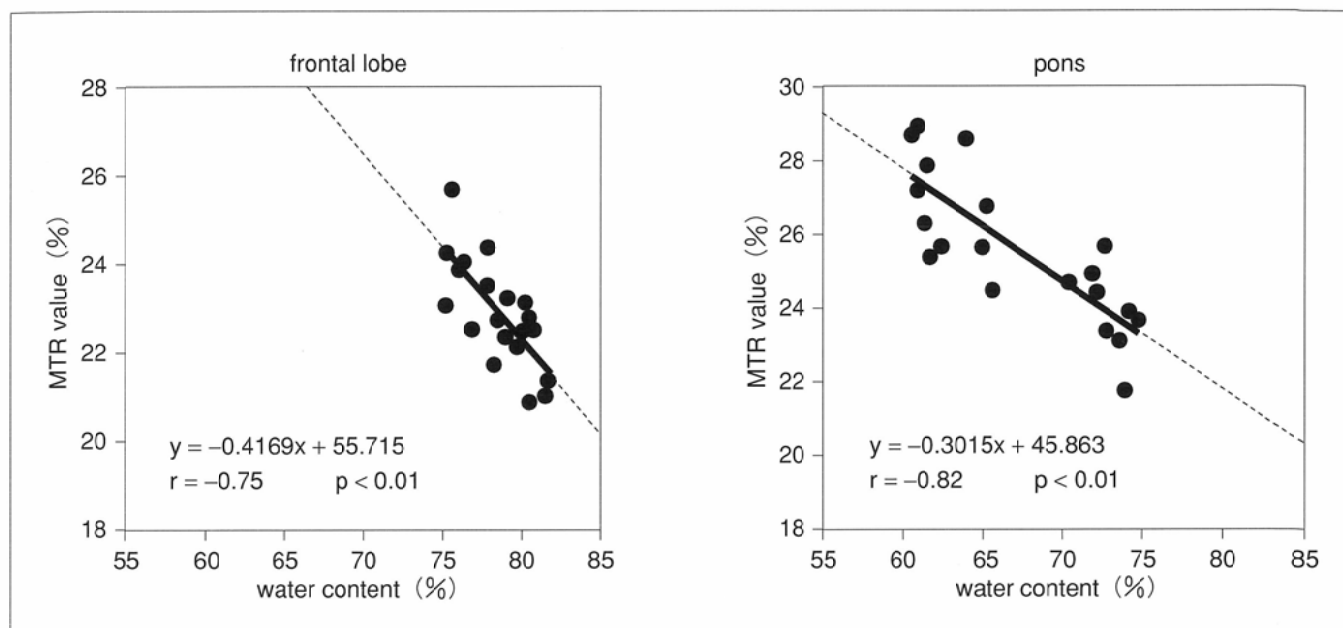


Fig.3 The relationships between the water content and MTR both for the frontal lobe and the pons. The regression line for the frontal lobe is higher in both slope and position than the pons.

考 察

体重の大部分を占めている水とその周囲を取り巻く有形成分で構成されている組織は複雑な水運動と種々のプロトン反応状態を有し、これが種々のMR技術によって描出されていると考えられる。しかし、通常のスピンエコー法とグラディエントエコー法で検出できるものは主として自由水のプロトンの信号であり、組織構造の蛋白などに動きを制限されている結合水がMR信号成分に貢献する割合は多くない。そのため、現状では組織構造に関連する情報が十分に得られない。

Magnetization transfer contrast (MTC)は高分子に結合した水の交差緩和現象を利用して、time of flight (TOF) MR angiographyなどにおけるコントラスト向上に用いられている^{9),10)}新しいMR撮像手法である。同一部位において、MTC効果を起こすoff resonance RFパルスを照射した場合と照射しなかった場合の信号強度比から定量的に算出したMTR値は、組織を構成する高分子と水分子の状態を反映するパラメータとしてその算出と理解が容易である特徴を有し、*in vivo* 検査で組織構造を正確に評価する一つの理想的な固有値であると思われる。

このMT効果を病態評価の新しい定量的パラメータとする報告は既に多く見られる¹¹⁻¹⁴⁾。一般的には白質のMTRは灰白質のMTRより高いとされており、そのメカニズムとしてKucharczykらはmyelinationの程度、cerebroglycosides, phosphatidylcholineとcholesterolの量が重要な役割を果たすと報告している¹¹⁾。また、最近では、正常脳組織の発育に伴うMTR変化についての研究も報告されている。榎本等は新生児、乳児の脳を対象に、白質MTRの月齢に伴う増加は髄鞘形成を反映する事を示した¹²⁾。奥田等は新生児、乳児の視床、内包、放射冠、皮質灰白質を対象に、MTRは脳の発達

に伴って増加するが、その傾向は各部位によって異なることを報告した¹³⁾。以上の研究ではいずれもMTRが組織の構造の違いを反映していると考えられている。

一方、筆者等の研究ではラットの脳発達過程において含水率が低下し、MTRが上昇する結果を得ており、その成績の中で同じ含水率で比較した場合には灰白質成分の多い前頭葉が白質成分の多い橋脚よりMTRが高い傾向があるという知見を得た。従って、含水率がMTRに影響を及ぼしている可能性が高い¹⁴⁾。本論文はこの現象をより明確に示すことを目的に、組織構造を保ったまま含水率を変化させたラット脳モデルを考案し、含水率とMTRの関係について詳細に検討したものである。

本モデルは、手技が簡単で、条件が調節しやすく、明らかな脳含水勾配を作成することができるが、灌流中に動物が死亡するので、死亡後の組織の変化について考慮されなければならない。そのため、本研究では蒸留水及び7.2%食塩水で灌流したラットの灌流直後と灌流後2時間放置後の脳組織像を対比観察した。法医学関連の教科書には人体死後数時間から自家溶解現象が起こりはじめると記載されている。組織的には細胞の膨化、融解、各染色性低下、組織間隙拡大、顆粒状崩壊などが指摘されている。ラットの場合にはこのような自家溶解がいつ発生するのかは不明であるが、本モデルの組織像では、灌流後2時間経過した場合でもそのような自家溶解の所見は認められなかった (Fig.4)。このことは、本研究モデルを用いた場合には灌流後2時間以内であれば組織の構造が保たれており、本研究結果は充分信頼に足るものであると考えられた。また、蒸留水と7.2%食塩水灌流モデルの組織像間で明らかな形態的な差が認められなかったが、これは、本研究で用いた固定法による修正と光学顕微鏡の限界などに起因するものであろうと推測された。

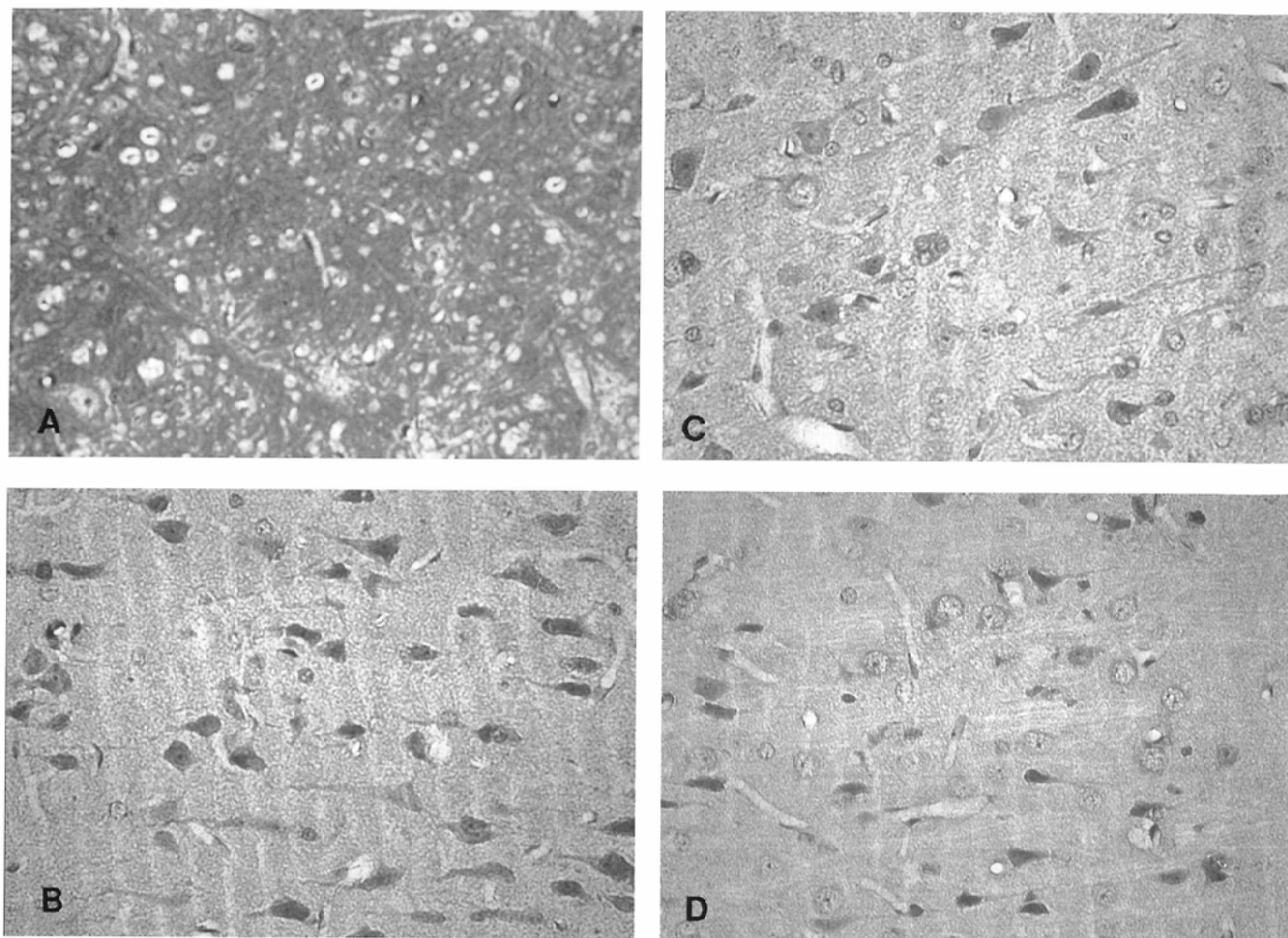


Fig.4 Histologic specimen of rat brain after osmotic perfusion with luxol fast blue kernernechtrot stain. The micrography of the specimen from the pons (A) and the frontal lobe (B) for the hypotonic perfusion model which were fixed immediately after the infusion with distilled water were shown. Also, the specimens from rat frontal lobe for the hypotonic perfusion model (C) and the hypertonic perfusion model with 7.2 % NaCl solution (D) fixed 2 hours after the perfusion were shown for comparison. Note the pons is rich in myelination with blue stain, which is almost absent in the frontal lobe. In addition, there were no autolytic findings in any specimens, such as weakness of nucleus staining, cells swelling or breakdown.

本研究の実験群では0%から7.2%まで計5段階濃度の食塩水灌流液によって各種脳含水状態を作成した(Table)。隣り合う各群の含水率に必ずしも有意の差は認めなかったが、食塩水濃度の上昇に伴う含水率の変動に明かな下降勾配が認められ、また、濃度差が大きい程、両者の有意差が高くなる傾向もあり、本法が含水率の差をつけるのに有効な方法であることが示された。一方、各種含水状態モデルのMTRを測定した結果(Table)、食塩水濃度の上昇とともにMTRが上昇する傾向が観察され、同様に濃度差が大きい程有意差が著しくなる傾向があった。

このモデルにおいては同じ浸透圧灌流液の下では含水率は前頭葉が橋部と比べて有意に高いことが示された(Table)。これは灰白質構造内に水が多いという生理状態と一致している。また、前頭葉と橋部のMTRは含水率の低下とともに上昇した。前研究のラットの成長実験⁽⁴⁾では成長とともに高分子成分も変動していたが、本モデルは高分子成分は一定であり、MTRの決定条件として含水率の関与がより明らかになった。

ところで、同じ浸透圧勾配に対して、含水率の変動は前

頭葉で85.50~75.88%と少なく、橋部で74.05~60.99%と著しかった(Table)。これは橋部は前頭葉より浸透圧による水の移動が容易であることを示唆している。このことを灰白質および白質の構造的な観点から考察すると、灰白質では神経細胞の多数の樹状突起が広がり、それに対応して多数の軸索やグリア細胞の突起があらゆる方向に複雑に組み合わさり、入り込んでいる。一方、白質では同じ種類の神経突起が同じ方向に並んで束を成しており、灰白質とまったく異なる所見を呈する^{(15),(16)}。さらに灰白質では多数のシナプスやその他の接着分子で互いが結合されているに対して、白質ではシナプスはほとんどない⁽¹⁵⁾。これらの解剖学的特徴から、浸透圧によるこれら細胞体および突起を浸す細胞外間質液の移動と毛細血管への流出入は構造の比較的単純な白質でより敏速であり、複雑な灰白質でより緩やかなことが想像され、これは同じ浸透圧勾配負荷に対して前頭葉より橋部で含水率の変動が著しかった成績を支持するものと思われる。

さらに前頭葉と橋部における含水率とMTRの相関関係を見ると、Fig.3に示すように、それらの回帰直線の傾きは前

Table Water content and MTR of rat brains after perfusion with solution of different NaCl concentration (n = 20)

NaCl concentration	No. of cases	means of water content $\pm$ SD (%)			means of MTR $\pm$ SD (%)		
		front lobe	pons	p value	front lobe	pons	p value
0%	4	81.50 $\pm$ 0.50	74.05 $\pm$ 0.51	< 0.01	21.49 $\pm$ 0.75	22.87 $\pm$ 0.89	NS
0.9%	4	79.93 $\pm$ 1.30 *	72.31 $\pm$ 0.46 *	< 0.01	22.37 $\pm$ 0.43	24.37 $\pm$ 0.69	< 0.01
1.8%	4	79.55 $\pm$ 0.71 *	65.84 $\pm$ 3.32 **	< 0.01	22.85 $\pm$ 0.49 *	24.90 $\pm$ 0.53 **	< 0.01
3.6%	4	77.54 $\pm$ 0.77 **	63.13 $\pm$ 1.74 **	< 0.01	23.65 $\pm$ 0.40 **	26.69 $\pm$ 1.86 **	< 0.01
7.2%	4	75.88 $\pm$ 0.51 **	60.99 $\pm$ 0.29 **	< 0.01	24.24 $\pm$ 1.08 **	27.34 $\pm$ 0.59 **	< 0.01

*, **: Statistically significant at $p < 0.05$ and $p < 0.01$ respectively compared to 0 % NaCl concentration.

頭葉では急であり、橋部では緩やかであり、既に報告したラット脳の発育に伴う両組織の関係¹⁴⁾とよく似ていた。これは前頭葉が一定の含水率の変化に対してより高いMTRの変動を伴う性質を有することを示しており、高分子と水分子がより均一に分布し、交差緩和が起こりやすい構造であることを示唆している。

髄鞘化の程度、髄鞘化学成分を研究した Kucharczykらの実験は組織構築が保たれる状態で行われたものではないので、われわれのモデルはこの欠点を補足し、別の面からの組織分析を行う技術を提供するものとなるであろう。

ま と め

本研究ではラット脳の食塩水灌流モデルを用いて、含水率の白質および灰白質におけるMT効果に対する影響を検討

した。その結果、組織の含水率がMTRに大きく影響することが明らかになった。また、同一浸透圧勾配に対する含水率の差から、白質と灰白質ではその組織構造が水移動能の差に大きく関与していることが示唆された。

稿を終えるに際しご指導、ご校閲を賜りました三重大学医学部放射線医学の竹田 寛教授、中川 毅前教授と、直接指導を賜りました京都府立医科大学放射線医学教室の紀ノ定保臣講師に対し深謝いたします。

さらに本研究において組織像作成の御指導を賜りました三重大学法医学教室の福永龍繁教授、菊井悠允先生と実験装置の提供を快諾していただきましたGE横河メディカルシステムの方々に対し深謝致します。

なお、本研究の一部は第56回日本医学放射線学会総会(1997, 横浜)で発表した。

文 献

- Kimura H, David F Meaney, Josegh C McGowan, et al: Magnetization transfer imaging of diffuse axonal injury following experimental brain injury in the pig: characterization by magnetization transfer ratio with histopathologic correlation. Journal of Computer Assisted Tomography 20(4): 540-546, 1996
- Dousset V, Grossman RI, Ramer KN, et al: Experimental allergic encephalomyelitis and multiple sclerosis: lesion characterization with magnetization transfer imaging. Radiology 182: 483-491, 1992
- Prager JM, Rosenblum JD, Huddle DC, et al: The magnetization transfer effect in cerebral infarction. AJNR 15: 1497-1500, 1994
- Tomic MM, Rosenblum JD, Prager JM, et al: Magnetization transfer: a potential method to determine the age of multiple sclerosis lesions. AJNR 15: 1569-1574, 1994
- D Barnes, W Imdonald, P Stofts, et al: Magnetic Resonance Imaging of experimental cerebral oedema. J Neuro Neurosun and Psychi 49(12): 1341-1347, 1986
- Yamaguchi M, Wu S, Ehara K, et al: Cerebral blood flow of rats with water-intoxicated brain edema. Acta Neurochir [Suppl] 60: 190-192, 1994
- A Van Harreveld, H Collewyn, SK Molhotra: water, electrolytes, and extracellular space in hydrated and dehydrated brains. Am J Physiol 210: 251-256, 1966
- Schmechel DE, Brightman MW, Marangos PJ: Neurons switch from non-neuronal enolase to neuron-specific enolase during differentiation. Brain research 190(1): 195-214, 1980
- Wolff SD, Balaban RS: Magnetization transfer imaging: practical aspects and clinical applications. Radiology 192: 593-599, 1994
- Pike GB, Hu BS, Glover GH, et al: Magnetization Transfer Time-of-Flight Magnetic Resonance Angiography. Magn Reson Med 25: 372-379, 1992
- Kucharczyk W, MacDonald PM, Stanisz GJ, et al: Relaxivity and magnetization transfer of white matter at MR imaging: importance of cerebrospinal fluid and pH. Radiology 192: 521-529, 1994
- 榎本京子, 天沼 誠, 松本玲子, 他: 髄鞘形成過程における脳白質・灰白質のMTC(Magnetization Transfer Contrast)の変化. 第23回日本磁気共鳴医学会大会講演抄録集 15: 272, 1995
- Okuda Y, Nakagawa T, Hattori T, et al: Normal Brain Development Assessed with Magnetization Transfer Effects. Abstract in Radiological Society of North America 81th Scientific Assembly and Annual Meeting: 196, 1995
- 李 松柏, 紀ノ定保臣, 奥田康之, 他: ラット脳の発達に伴うMagnetization Transfer Ratioの変化. 日医放会誌 56: 955-960, 1996
- 平野朝雄: 神経病理を学ぶ人のために. 202. 医学書院 東京, 1976
- 牧田登之, 他訳: 組織と器官一走査電顕図譜. 78-80, 学窓社 東京, 1983