

ミクログリヤの変化よりみたる実験的脳振盪

京都大学医学部外科学教室第1講座 (指導: 荒木千里教授)

若 林 陽 夫

〔原稿受付 昭和36年7月6日〕

THE MICROGLIAL CHANGE IN THE EXPERIMENTAL
CEREBRAL CONCUSSION

by

HARUO WAKABAYASHI

From the First Surgical Division, Kyoto University Medical School
(Director: Prof. Dr. CHISATO ARAKI)

There have been many studies upon the microglial change in the head injury. In most of the reports, however, investigation was performed in cerebral contusion and few studies were done in cerebral concussion.

In the present experiment, after the cerebral concussion was produced in cats, change of microglia and nerve cells was examined in order to know extent of the inflicted external force in the brain in experimental concussion.

EXPERIMENTAL MATERIAL AND METHOD

One hundred and fourteen adult cats weighing about 4 kilograms were used and the operative procedures were performed under intravenous Nembutal anesthesia. The animals were divided into the following four groups.

Group I (Cerebral contusion): After a small craniotomy (1.5×1.5 cm) was made in the parietal region of sixteen cats, the dura mater was opened. Then a small contused wound (0.5×0.5 cm) was produced with a forceps in the cortex.

Group II (Cerebral concussion): Through a small trephine hole made in the parietal region of thirty six animals, a single air-pulse by an air-gun was given in vertical direction to the dura mater.

The animals of the both groups were sacrificed from 30 minutes to 17 days after injury was given and the whole brain was examined histologically.

Group III (Chemical stimulation): The solutions mentioned below (A, B, C and D) were injected into the subarachnoid space in the temporal region of the cats. Each group had three animals.

A: One cc of cat brain extract diluted twelve times.

B: One cc of solution of corrosive sublimate diluted one hundred thousands times.

C: One cc of diluted cat kidney extract.

D: One cc of physiological salt solution.

The brains were examined histologically twelve days after the injection.

Group IV (Cerebral hypoxia): Occlusion of arteries was made in following ways.

A: The common carotid arteries were ligated on both sides simultaneously in three cats.

B: The vertebral artery was cut on one side and the common carotid arteries on both sides in ten animals.

C: The common carotids and vertebrals were ligated simultaneously on both sides in twenty cats.

The brains of the surviving animals were examined histologically twelve days after occlusion was produced.

For the purpose of histological study, NISSL's stain and HORTAGA's silver carbonate method were used in the present investigation. The latter was modified as follows.

(1) After the whole brain was kept in CAJAL's formol-bromide solution (8-16°C) for a week, it was steeped in the following fluid for two days.

40% solution of formalin	30cc
NaHCO ₃	10g
Distilled water	10cc
28% strong ammonia water	25 drops

(2) The frozen sections 15 microns thick, were placed in distilled water containing 5 drops of 40% NaOH solution for few minutes before they were transferred to HORTAGA's strong silver carbonate solution.

The temperature of the solution should be kept between 17 and 20 degrees centigrade in this staining.

RESULTS

Group I (Cerebral contusion)

Change of microglia: Microglia promptly reacted to local injury with swelling of the cytoplasm. In the adjacent part of the contused wound, amoeboid and hypertrophic microglia were found 24 hours after brain injury (Fig. 1). Fat granule cells appeared three to four days later (Fig. 2). In this stage, however, activated microglia cells were not many. The central and adjacent part of the contused wound and of the petechial hemorrhage were occupied by many activated microglia and fat granule cells twelve days after injury.

Group II (Cerebral concussion)

No abnormality was found macroscopically.

Findings of nerve cells: No change was observed in any place except for air-shot region where pyknosis, atrophy, chromatolysis and cellular loss were seen (Fig. 11).

Findings of microglia: No change was noted in the early stage after head injury. However, microglia showed reaction throughout the whole brain 12 days after air-shot. Marked microglial change such as swelling of their cytoplasm, loss of terminal processes and remarkable proliferation was seen in the injured region

and its adjacent part (parietal lobe) (Figs. 15 and 17). In the temporal, occipital lobe and hippocampus on the air-shot side, moderate microglial proliferation was noted. Slight microglial change was found in the frontal lobe on the air-shot side, hypothalamus, basis of the fourth ventricle, also. In the cerebellar cortex on the same side, and the central posterior part of the midbrain, remarkable hypertrophy of microglia was found, although proliferation was slight (Figs. 23 and 27).

Group III (Chemical stimulation)

No abnormality was found macroscopically. Findings of microglia: In cases of cat brain extract introduction (A), marked change was noted throughout the whole cerebral cortex on the injection side. Also in the cases of corrosive sublimate administration (B) same kind of change was seen as in brain extract cases. In the animals injected kidney extract and physiological salt solution, no change was found.

Group IV (Cerebral hypoxia)

All cats survived in the A-group. 50% of the animals died in B-group and none survived in the C-group. No change was observed in the brain macroscopically.

Findings of microglia: No change was noted in the A-group. Slight proliferation and few hypertrophied cells were found in the frontal lobe in the B-group (Fig. 36).

CONCLUSION

(1) The microglial change in cat brain with experimental head injury was examined by modified HORTÉGA's silver carbonate method. In cerebral contusion, microglial change such as swelling of their cytoplasm, loss of terminal process was found in the early stage after trauma was made. In concussion, no abnormality was observed in the early stage. Marked microglial change was seen twelve days after injury, however.

(2) In concussion produced by air-pulse, the most marked microglial changes and proliferation were seen in the air-shot region and its adjacent part (parietal and temporal lobe). In the frontal, occipital lobe, cerebellar cortex particularly on the air-shot side, hippocampus, midline posterior part of the midbrain, basis of the fourth ventricle and hypothalamus, slight microglial change and proliferation were noted, also.

(3) In concussion, microglial change was noted by the modified HORTÉGA's staining method even in the parts where no nerve cell change was seen by NISSI's method.

(4) It seems that microglial change returns to normal after long period of time in concussion.

(5) The reactive change of the microglia to cat brain extract is much more evident than that to kidney extract. It is presumed, therefore, that microglial change in head injury is produced by the stimulation of chemical products out of injured tissue of the central nervous system. Since same kind of microglial change though slight was seen in carotid and vertebral occlusion, it should be considered, that microglial reaction is caused partly by cerebral hypoxia occurring in brain injury.

緒 言

頭部外傷に於てミクログリヤの変化を認めた者は多数あるけれども、その殆んどは脳挫傷についてのもので、脳振盪に於けるものは極めて少ない。私は猫を用いて脳表面に何等肉眼的変化を伴うことのない一過性の意識障害（以下これを実験的脳振盪と呼ぶ）を作成し、その全脳にわたつて Hortega 染色の自家変法によりミクログリヤの変化を追求することによつて外力の作用範囲を窺おうと試みた。

又同時に次の諸点にも検討を試みた。即ち

(1) かかる実験的脳振盪では脳挫傷に比してミクログリヤの変化は極めて軽微なものであると考えられるので、これと対比するために手術的に大脳皮質に挫滅創を作つた猫脳のミクログリヤの変化を同様に銀染色によつて時間的に観察した。（実験Ⅰ）

(2) 実験的脳振盪猫脳の Nissl 染色による神経細胞の変化と銀染色によるミクログリヤの変化とを対比して、前者の変化が認められない所でも後者の変化が認められるかどうかを知ろうとした。（実験Ⅱ）

(3) 頭部外傷に於けるミクログリヤの変化は、損傷された中枢神経組織より生ずる化学的物質の刺激によるものではないかと思われるので、猫脳の抽出液の12倍稀釈液を猫の蜘蛛膜下腔に注入した場合ミクログリヤはどの様に変化するか、又その変化はどの程度のものかをみようとして試みた。（実験Ⅲ）

(4) 頭部外傷において、脳低酸素症がミクログリヤの変化に影響があるかどうか、あるとすればどの程度かを知らうとして猫の頸動脈及び椎骨動脈の結紮実験を行つた。（実験Ⅳ）

第1章 実験動物及び実験方法

(A) 本実験には全て体重3～5kgの強壯な雄又は雌の成熟猫を使用した。

実験Ⅰ（第Ⅰ群）大脳皮質挫滅例：成猫16匹をネブタール麻酔のもとに一側頭頂部に1.5cm×1.5cmの広さの開頭を行ない、同部大脳皮質を0.5cm×0.5cmにわたつてピンセットの先で出血を来さぬ様に注意して挫滅する。これらの猫を術後3時間、6時間、12時間、24時間、4日、6日、12日、17日とそれぞれ飼育してから2匹ずつ脱血死せしめて、これらの全脳にわたつて後述するミクログリヤ鍍銀染色を行い、その変化を追求した。別に8匹の猫をネブタール麻酔をしたのみでそのまま飼育して上記手術例の対照とした。

実験Ⅱ（第Ⅱ群）大脳硬膜上直接空撃例：当教室の長崎が脳振盪作成に用いた方法である。即ち一側頭頂部に正中線より約1cm側方に drill で2.5mm大に円形穿孔し、硬膜上5mmの距離から垂直方向に空撃する。空撃は1回のみで、その際の空撃エネルギーは39,200 ergである。この群の動物は36匹で死亡例はなく全例に2分～3分間の侵害反射の消失をみたが運動失調等の後遺症状は認められなかつた。空撃直後の一時的呼吸停止は全例に於てみられたがその間簡単な用手的人工呼吸を行つた。これらの猫を空撃後0時間、3時間、6時間、12時間、24時間、4日、6日、12日、17日と飼育してそれぞれ一匹ずつ、計9匹を脱血死せしめて、その全脳をアルコール固定、セロイオン包埋を行い、Nissl 染色を行つて神経細胞の変化を追求した。

（第ⅡA群）

残りの27匹も空撃後同様に飼育してそれぞれ3匹ずつ脱血死せしめて直ぐその全脳を Hortega の固定液に浸し、後述するミクログリヤ鍍銀染色によつてその変化を追求した。別に無処置猫9匹をそのまま飼育して、同様に一匹ずつ脱血死せしめ、Nissl 染色とミクログリヤ鍍銀染色とを行つて対照とした。（第ⅡB群）

実験Ⅲ（第Ⅲ群）脳抽出液の稀釈液並びに稀釈昇汞注入例：この群の猫は12匹で3匹ずつ4グループに分けた。即ち最初の3匹（ⅢA群）には一側頭頂部に於てそれぞれ開頭を行い同部蜘蛛膜下腔に猫脳の抽出液の12倍稀釈液1ccを注入し、次の3匹（ⅢB群）には同様に10万倍昇汞水1ccを注入した。その次の3匹（ⅢC群）にも同様に蜘蛛膜下腔に猫の腎臓抽出液の稀釈液を注入した。

残りの3匹（ⅢD群）も全く同様にして生理食塩水1ccを注入して対照とした。脳抽出液の稀釈液作成には、ガラス性ホモゲナイザーによつて脳を完全に挫滅してから生理食塩水を加えて3倍に稀釈し充分均一化し、これを無菌濾紙で濾過して更に3000回転30分の遠心分離器で分離し、その水様透明部分をとり更にこれを生理食塩水で4倍に稀釈した。腎臓抽出液の稀釈液は光電比色計により、脳抽出液の稀釈液と同じ蛋白濃度となる様に稀釈した。手術は全て無菌的に行い、これらの第Ⅲ群全てを12日間飼育した後脱血死せしめ、その全脳にわたつてミクログリヤ鍍銀染色を行つた。

実験Ⅳ（第Ⅳ群）頸動脈並びに椎骨動脈結紮例：頭部外傷におけるミクログリヤの変化の成因に関して、脳低酸素症の影響をみようとして次の実験を行つた。成猫33匹を A, B, C, の3グループに分けて手術を行

つた。

A群：両側総頸動脈を結紮切断せるもの—3匹。

B群：一侧の椎骨動脈を結紮し，更に両側の総頸動脈を結紮切断せるもの—10匹。

C群：両側の椎骨動脈を結紮切断し更に両側の総頸動脈をも結紮切断せるもの—20匹。

B群は更に，一侧椎骨動脈と両側総頸動脈を同時に結紮せるB₁群と，最初に一侧椎骨動脈を結紮し，4日後に2度目の手術で両側総頸動脈を結紮せるB₂群に分

ける。又C群も同様に両側椎骨動脈と両側総頸動脈を同時に結紮したC₁群と，最初両側椎骨動脈を結紮し4日後に更に両側総頸動脈を結紮せるC₂群とに分ける。これらの第IV群の猫を12日間飼育して脱血死せしめ，その全脳にわたつてミクログリヤ鍍銀染色を行つた。その間死亡せる猫は表1に示す如くである。尚手術後は死亡を出来得る限り少くするために補液，栄養剤，強心剤，抗生物質等の注射を適宜に行つた。

表 1

グループ	手術数 (匹数)	死亡数 (術後12日迄)	生存率 (術後12日迄)	備考	
A	3	0	100%		
B	B ₁	5	4	20%	
	B ₂	10	5	50%	
C	C ₁	5	5	0	全例6時間以内に死亡
	C ₂	10	10	0	1例のみ最初の手術後6日間生存

(B) ミクログリヤ鍍銀染色法

私の行つたミクログリヤ鍍銀染色は Hortega のアンモニヤ炭酸銀法に若干改良を加えた方法である。即ち

(1) 猫を脱血死せしめて20分~30分後に脳を傷つけぬ様に取出して新調した Hortega 氏固定液に浸す。Hortega 氏固定液は蒸溜水430ccに臭化アンモニウム10gと中性ホルマリン70ccを溶解せしめた液である。この液に浸した標本は12時間以内に厚さ5mmずつ切つて新しい Hortega 氏固定液に移しかえる。固定液は8~16°Cに保ち，この中に6~8日浸した後標本を次の第2液に移す。

第2液	40%中性ホルマリン	30cc
	重炭酸ソーダ	10g
	蒸溜水	10cc
	28%強アンモニヤ水	25滴

(2) この第2液に浸して同様に8~16°Cに保ち2~7日後に凍結切片(15~20μ)を作り次の要領で染色を行う。

(3) 凍結切片を直に苛性ソーダ加蒸溜水(40%苛性ソーダ5滴を100ccの蒸溜水にとした液)に1~5分浸した後，5%炭酸カリ液に数秒浸し更に蒸溜水で瞬間洗つた後アンモニヤ炭酸銀液に1~3分浸漬せしめる。アンモニヤ炭酸銀液を作るには，10%硝酸銀液

10ccと5%炭酸ソーダ液40ccを混合して生じた黄色の沈澱が丁度溶解する迄強アンモニヤで点滴する。

これに蒸溜水30ccを加えて稀釈する。

(4) 次にアンモニヤ炭酸銀液に浸した切片を水洗することなく，2%中性ホルマリンにて還元する。(10~30分)

(5) その後充分水洗して1%塩化金溶液で30分~60分間鍍金を行う。

(6) 更に水洗してから5%チオ硫酸ソーダ溶液で余分の臭沈着を洗い落とし，再び充分水洗してから，キシロールで脱水し，バルサム封入を行う。尚アンモニヤ炭酸銀液の調合は5°Cで行い，染色中は染色液の温度が17~20°Cに保つ必要がある。試薬は全て国産の最純試薬であるが，水は再蒸溜水でなくても，蒸溜水で充分である。固定液や染色液の温度調整のため私は恒温槽を使用してこの中で染色を行うことによつて如何なる時期に於ても染色可能であつた。

第2章 実験結果

実験I(第I群)結果：挫減近接部のミクログリヤは術後数時間で早くも腫脹し，術後24時間では已にアメーバ状に変形せるものを認める。(Fig. 1) 3~4日後には顆粒細胞が現われるが，この時期には activated microglia の数はあまり多くない，やがて時

間の経過と共にその数を増して5~8日後には脳挫滅場所や小出血の部位の大半が amoeboid stage のミクログリヤや顆粒細胞で満される様になる。(Fig. 2 Fig. 3) 然し此の時期には、脳の壊死破壊産物のため標本は銀の沈着が多く、微細なミクログリヤの突起は未だ鮮明に染色されにくい傾向がある。(Fig. 4) 10~12日後になると、比較的染色良好なミクログリヤの肥厚と著明な増殖がみられる。(Fig. 5~Fig. 9) 即ち挫滅創や小出血巣及びその周囲は広範囲に spider cell stage と amoeboid stage のミクログリヤや顆粒細胞で満され、その中心部は著明に変形しているミクログリヤが多く、中心部から離れるに従いミクログリヤの変形増殖の程度は軽度となる。又同一の標本の中でも挫滅周辺部のミクログリヤは、変形は著明ではないが増殖の著しい部分 (Fig. 7) と、増殖は比較的軽度であるが肥厚の著明な部分とがある。(Fig. 9) 前者の組織像は第ⅡB群の空撃局所近接部の組織像と似ているところがある。

実験Ⅱ(第Ⅱ群)結果:空撃直後のものには硬膜上に空撃局所を中心として約2.0cm×1.5cmにわたつて軽度の出血斑が見られた以外には、全例に於て硬膜下出血や脳出血等の肉眼的変化は全く認められなかつた。

第ⅡA群 神経細胞所見 予想に反して全例に於て出血巣は殆んど認められず、従つて細胞消失も空撃局所に於てのみ軽度に認められるに過ぎない。細胞消失そのものは生存日数と共に拡大する傾向があるが、空撃後12日後と17日後とは殆んど差は認められない。

これに比して一見著明な変化は濃縮性細胞の出現であるがこれも空撃局所にのみ見られるもので、Fig. 11に示す如く不規則な形をとるものが多く、細胞消失とは逆に24時間以内のものに著明である。空撃局所以外の部分には例えば小脳皮質の一部にも少数の濃縮性細胞が見られるが、これは無処置正常猫にも同様にみられるので特別の意味がない。その他空撃局所並びにその近接部に軽度の chromatolysis や神経細胞の atrophic change も見られたが、その他の部分には無処置猫との差は認められない。又 chromatolysis は24時間以後のものに比較的多く見られるけれども一般に大きな神経細胞程変化は軽い様に思われる。

第ⅡB群 ミクログリア所見 空撃4日後迄は殆んど対照の無処置猫との間に差は認め難い。

空撃6日後になつても、無処置猫に比し若干ミクログリヤの染色が良好になつて来る様に思われるが、未だ activated microglia を認める事は稀である。然

しながら空撃後10~12日になると変化は殆んど全脳にわたつて見られる様になる。即ち全般にミクログリヤの染色が一段と良好となり、特に空撃局所及びその近接部は変形せるミクログリヤ、即ち rod cell type のものや amoeboid stage や spider cell stage のミクログリヤの増殖を見ることが出来る。(Fig. 15 Fig. 17) その他空撃側後頭葉、側頭葉、海馬等にも比較的著明な spider cell stage のミクログリヤの増殖を認め、又空射側前頭葉、視床下部、第四脳室底等にも軽度ながらミクログリヤの増殖を認めた。空撃反対側の変化は極めて少く増殖も非常に軽度である。この群の約半数に於て、同側の小脳皮質や中脳中央部背側の一部に、増殖は軽度であるが amoeboid stage の著明に肥厚変形せるミクログリヤを認めることが出来た。(Fig. 27 Fig. 23)

空撃局所並びにその近接部では第Ⅰ群の脳挫滅近接部に見られる様な spider cell stage のミクログリヤの増殖も見られるが、一般に第Ⅰ群に比し変形の程度は軽く、ミクログリヤの形も不規則で且つ rod cell type のものも多い傾向がみられる。此の様な組織像は空撃17日後でも認めることが出来るが、変化は軽度となりミクログリヤの形も比較的正常に近いものが多くなる。

実験Ⅲ(第Ⅲ群)結果:この群の全ての猫脳に脳膜癒着、出血等の肉眼的異常を認めない。

ミクログリア所見 第ⅢA群では、開頭を行つた骨窓部よりやや外側下方を中心に、殆んど開頭側大脳全域に及ぶ大脳皮質深部にミクログリヤの変形増殖がみられる。変化の程度はその中心から離れるに従い軽度となり、開頭反対側大脳皮質や小脳や脳幹部等では変化は殆んどみられなくなる。

実験ⅢBの組織像は第ⅢA群のそれと極めてよく似て居り、その変化の範囲も殆んど一致している。(Fig. 32 Fig. 33) これらの変化の中心部は、ミクログリヤの変形の程度が第Ⅱ群や第Ⅳ群に比し一般に高度であり、特に rod cell type や不規則な病的形態を有するミクログリヤが多くみられる。第ⅢC群や第ⅢD群では無処置猫と比較して優劣の差はみられない。

実験Ⅳ(第Ⅳ群)結果:この群も肉眼的には脳浮腫、梗塞、軟化、出血等の異常は全く認められない。

ミクログリア所見、この群の中でA群は、ミクログリヤ鍍銀染色でも、無処置猫に比し差は全くみとめられない。然しながら、B1群とB2群は共に同じ程度ではあるが極めて軽度のミクログリヤの増殖がみられ、

(Fig. 35) 又非常に稀ではあるが病的に肥厚変形したミクログリヤも認めるところが出来た。(Fig. 36) この様な変化は大脳皮質の前頭葉の方ではつきりしている様に思われる。けれども変化の程度は、第Ⅰ群、第Ⅱ群、第Ⅲ群に比べれば極めて軽度である。

第3章 考察並びに総括

1921年 Hortega が、氏のアンモニヤ炭酸銀法を発表して以来、ミクログリヤ染色法には数多くの変法が発表されているが、その何れも極めて不安定な染色法であり、私もこれらの方法を追試してみたが、家兎の如く比較的ミクログリヤ染色の容易な動物では染色に成功したが猫脳では残念ながらどの方法によつても私の実験に供し得る程明瞭に染色出来なかつた。

然るに脳振盪の如き微細な変化を追求するためには、このミクログリヤ鍍銀染色が充分明瞭に且つ恒常的に染色されなければならない。そこで私は猫脳に於てもミクログリヤが良好に染色されるべく、Hortegaの染色方法を若干改良して、先に述べた染色方法でミクログリヤ鍍銀染色を行い略満足すべき結果を得た。三宅川(1934)は、氏の染色方法で染色された猫脳の正常ミクログリヤの突起は家兎に比し極めて細いので検鏡に際して油浸でなければ見えにくいと述べているが、私の行つた染色方法では400倍の拡大でも正常ミクログリヤの細い突起が明瞭に認められる。

実験的脳振盪作成には種々の方法があるが私は出来る限り脳損傷の少ない脳振盪を作る必要があると思ひ、教室長崎の行つた硬膜上空撃法で実験を行つた。結果は全例に於て脳に肉眼的出血等の異常を認めなかつたこと、又 Nissl 染色でも出血は極めて少く神経細胞の変化も空撃局所以外に殆んど見られなかつたこと、一方臨床的には確実に侵害反射の消失を伴う一過性の意識障害を起し、その後運動失調等の病的所見を全く残さなかつた事等により、略満足すべきものであつたと思われる。

脳損傷後のミクログリヤの態度については、Penfield (1925) は脳損傷後 2~3 日にして已にミクログリヤの変形を認め、Hortega (1939) は12時間後にその変化を認めている。Rand & Courville (1932) は、ミクログリヤは脳損傷後 2~3 時間で早くも swelling をひき起し、やがて次の spider cell stage, amoeboid stage を経て最後に顆粒細胞に変化すると述べている。私も大脳皮質挫減実験で、外傷後24時間で早くも amoeboid stage の変形せるミクログリヤを、又外傷

4日後には顆粒細胞を認めた。しかしながらこれらの変形せるミクログリヤの数は外傷後早期には未だ少く、外傷後4~12日に至つてはじめて私は著明なミクログリヤの変形と増殖をみとめることが出来た。又外傷後4~12日になると脳組織の壊死破壊産物が或程度少くなり、従つて銀染色に際して余分の銀沈着が少くなるので一層鮮明にミクログリヤの変化が見られる様になる。

一方実験的脳振盪猫では脳挫傷に比してミクログリヤの変化は極めて微細なものと思われたが、ミクログリヤ鍍銀染色を行つてみるとやはり外傷後早期に変化を認めることは極めて困難で、外傷後10~12日後に至つて始めて実験的脳振盪猫においてもミクログリヤの著明な変化がみられる様になる。

第Ⅰ群(大脳皮質挫減例)と第Ⅱ群(大脳硬膜上空撃例)のミクログリヤ像を対比してみると、第Ⅰ群のミクログリヤの変化は勿論高度であると云えるが、又第Ⅱ群では未だ変化を認めることが困難な外傷後早期に於ても第Ⅰ群ではミクログリヤの変化がみとめられる。又外傷後12日頃では、第Ⅱ群のミクログリヤの変形は第Ⅰ群に比し形が不規則である。然しながら、ミクログリヤの態度からみて脳挫傷と脳振盪の境界をどこに置かかは問題であるが、第Ⅱ群の空撃局所の組織像はミクログリヤの変形増殖の態度からみても Nissl 染色による神経細胞の変化からみても脳挫傷であると考えられるけれども、空撃局所以外の部分では Nissl 染色によつて脳挫傷と云える変化は認められない。この場合 Nissl 染色によつて、変化が認められない所に於てもミクログリヤ鍍銀染色によつて変化を認め得ると云うことは、ミクログリヤ鍍銀染色が Nissl 染色に比しそれだけ鋭敏であることを示すものである。

次に頭部外傷猫のミクログリヤの変化は、終極的にどうなるかについてであるが、私の行つた実験的脳振盪猫では、空撃12日後からだんだんミクログリヤの変化は軽度となり、空撃3ヵ月後では空撃局所に殆んど正常に近い形のミクログリヤの軽度増殖を認める以外に変化はみとめられなかつた。それで、この程度の外傷猫では長期間を経過すればミクログリヤの変化は、何れはみられなくなると思われる。そしてこれは Courville 等の考えている様に、外傷猫に於て破壊産物や変性産物がある限りミクログリヤの変化が数ヵ月でも数年でもみとめられるものとすれば、脳外傷の程度が高度なる程外傷後長くミクログリヤの変化が認め

られると云うことになると思われる。

次に頭部外傷におけるミクログリヤの変化の成因について述べてみたい。ミクログリヤの食喰能については、Hortega (1921) によつて提唱されて以来多数の学者によつてそれが認められて来た。教室の佐々木は墨汁注入実験を井戸は脂肪剤やカルミンの注入実験を行つてそれを証明している。同様に、外傷脳に於ても、破壊産物や変性産物をミクログリヤが食喰することは、今日殆んど全ての者によつて肯定されている。然しながら私の標本の中に稀ではあるが、脳挫滅や小出血の場所より相当離れた所に於てもミクログリヤの変形を認めた点や、脳挫傷に至らぬ軽度の脳外傷でもミクログリヤの変形を認めた事等から、ミクログリヤは脳組織の破壊産物や変性産物を食喰するのみならず、これよりもつと小さい粒子或は化学的物質によつても変形するのではないかと考えた。そこで行つた実験Ⅲの結果は、脳抽出液の稀釈液はミクログリヤに対して他の臓器のそれよりはるかに強い刺激性を有することを証明した。即ち脳抽出液の12倍稀釈液を蜘蛛膜下腔に注入したところ、食喰細胞は pia mater や大脳皮質表層部に少くむしろ大脳皮質深部に著明に変形増殖せるミクログリヤを認めた。よつて頭部外傷に於けるミクログリヤの変形は、その時傷害された中枢神経組織の中に生じた化学物質が重要な役割を演じていると思われる。

昇汞水注入実験は、長崎によれば、10万倍稀釈昇汞水の脳表面注入は外来傷害因子としては弱力なもので脳実質に見るべき変化を生じないが、その注入された猫脳標本に於て現出された鍍銀線維 (Nauta 氏法) が、この実験的脳振盪猫脳に見られた鍍銀線維とその形態が非常によく似た変性像を示したと云う実験を根拠として、行つたのである。この昇汞水蜘蛛膜下注入実験でもミクログリヤの著明な変化がみられたが、この場合ミクログリヤの変化の原因が昇汞水の直接的刺激であるにせよ、或は昇汞水によつて神経組織が変性を起したための2次的結果であるにせよ、ミクログリヤは神経線維の変性を起す様な化学的刺激によつても、著明な変化を来し得ることを示すものである。

最後に、総頸動脈及び椎骨動脈の結紮実験について述べる。全身の循環血中酸素圧と局所の酸素消費が一定であれば、脳組織酸素圧は脳局所の血流と平行すると考えられるので、脳低酸素症のミクログリヤに対する影響をみるためにこの総頸動脈及び椎骨動脈の結紮実験を行つた。教室の石川が犬で行つた実験によれ

ば、両側総頸動脈と両側椎骨動脈の4動脈を同時に結紮切断した所、その実験動物の80%は24時間以内に死亡し、残りの20%は一週間以上生存した。然しながら私が猫で行つた実験結果は、両側総頸動脈並びに両側椎骨動脈を同時に結紮切断したものは全て24時間以内に死亡し、この4本の動脈の結紮手術を2度に分けて行つたものでも、10例中わずか1例が第2回目の手術後2日生存したのみで他は全て死亡した。この様に猫の生存率が犬よりも低いのは、恐らく willis 氏動脈輪よりも近位で発達している副循環が、犬では猫よりも高度であるからと思われる。然しながら猫でも、この4本の動脈中1本を残し他の3本を結紮切断したものは20~50%が術後1週間以上生存した。この時脳血流低下時の脳組織の酸素圧を測定していないので、どの程度の酸素圧の低下を来しているか不明であるが、臨床的にはやはり実験動物の生命の危機を来す程の脳血流量の低下を来していると思われる。然しながら結果は術後7~12日ではミクログリヤの著明な変化は認められなかつた。たゞ前頭葉皮質で軽度ではあるが、ミクログリヤの増殖と、数は非常に少いが、病的に変形せるミクログリヤを認めた。よつて頭部外傷におけるミクログリヤの変化を論ずる場合に、脳低酸素症の影響を無視するわけには行かないが併しこれは副次的なものに過ぎないようである。

第4章 結 語

(1) Hortega 染色の自家変法により、猫の頭部外傷脳に於けるミクログリヤの変化を追求した。脳挫傷猫脳では外傷後比較的早期からミクログリヤの変化がみられるけれども、実験的脳振盪猫脳では外傷後早期には変化を認め難く、10~12日後に至つて著明な変化がみられる。

(2) 実験的脳振盪猫脳では、外傷後ミクログリヤの変化が殆んど全脳にわたつて広範囲にみられたが、特に著明な変形増殖を認めた所は空撃局所並びにその近接部即ち、空撃側頭頂葉、側頭葉、後頭葉で、その他空撃側の前頭葉、小脳皮質、海馬、及び正中部の中脳、第四脳室底、視床下部等にも軽度の増殖或は変形を認めた。

(3) 実験的脳振盪猫脳に於ては、Nissl 染色による神経細胞の変化がみられない所でも、ミクログリヤ鍍銀染色によつて変化が認められた。即ち私の行つたミクログリヤ鍍銀染色は Nissl 染色より鋭敏であると思える。

(4) 実験的脳振盪猫脳では、変化せるミクログリヤの組織像も長期間を経過すれば正常に復すると思われる。

(5) ミクログリヤは種々の化学的刺激に対して反応するけれども、この中で脳抽出液の稀釈液の刺激は他の臓器のそれに比し一般に高度である。よつて頭部外傷におけるミクログリヤの変化は損傷された中枢神経組織より生ずる化学的物質の刺激によるものと思われるが、尚これには頭部外傷における脳低酸素症の影響も副次的なものではあるが、矢張り一応考慮しなければならぬ。

稿を終るに当り、終始御指導を戴いた恩師荒木千里教授に深謝致します。

参 考 文 献

- 1) Aird, R. B., Strait, L. S., Zeale, D. & Hernoff, M.: Neurophysiological Studies on Cerebral Concussion. *J. Neurosurg.*, **9**, 331, 1952.
- 2) 荒木千里: 頭部外傷に関する吾々の研究二, 三. *医学*, **4**, 8, 1948.
- 3) 荒木千里: 頭部外傷の諸問題. *最新医学*, **3**, 293, 1948.
- 4) 荒木千里: 頭部外傷. *日本外科全書*, **10**, 1, 昭29.
- 5) 荒木千里: 頭部外傷と意識障害. *診療*, **9**, 1, 1956.
- 6) 荒木千里: 頭部外傷による意識障害. *精神神経学雑誌*, **59**, 956, 1957.
- 7) 荒木千里: 頭部外傷による意識障害. *臨床と研究*, **37**, 340, 1960.
- 8) Belezky, W. K.: Über die Rolle der Mesoglia bei akuten nichteitrigen Infektionen des Zentralnervensystems. *Virchows Arch.*, **285**, 494, 1932.
- 9) Cone, W.: Acute pathologic Changes in Neuroglia and in Microglia. *Arch. Neur. & Psychiat.*, **20**, 34, 1928.
- 10) Chason, J. L., Harclay, W. C., Webster, J. E., & Gurdian, E. S.: Alterations in Cell Structure of the Brain associated with Experimental Concussion. *J. of Neurosurg.*, **15**, 135, 1958.
- 11) Campbell, E. U., Kuhlenbeck, H.: Mortal Brain Wounds, A Pathologic Study. *J. Neuropath. and exp. Neurol.*, **9**, 139-149, 1950.
- 12) Carmichael, E. A.: Microglia an Experiment Study in Rabbits after intra cerebral Injection of Blood. *J. Neurol. and Psychopath.*, **9**, 209-221, 1929.
- 13) Creutzfeldt, H. G., u. Metz, A.: Die morphologische und funktionelle Differenzierung der Neuroglia. *Z. f. d. ges. Neurol. u. Psychiat.*, **38**, 416-418, 1924.
- 14) Creutzfeldt, H. G., u. Metz, A.: Ueber Gestalt und Tätigkeit der Hortegazellen bei Pathologischen Uorgängen. *Z. f. d. ges. Neurol. u. Psychiat.*, **106**, 18-53, 1926.
- 15) Dunning, H. S. and J. Furth: Studies on the Relation between Microglia, Histiocytes and Monocytes. *Am. J. path.*, **11**, 895, 1935.
- 16) Denny-Brown, D. & Russel, W. R.: Experimental Cerebral Concussion. *Brain*, **64**, 93, 1941.
- 17) Dewulf, A.: La Microglie normal chez le singe (*Macacus thesus*). *J. Belge de Neurol. et de Psychiat.*, **37**, 341-365, 1937.
- 18) Foltz, E. L., Jenkner, F. L. & Ward, A. A.: Experimental Cerebral Concussion. *J. Neurosurg.*, **10**, 342, 1953.
- 19) 古川哲二: 脳出血及び脳軟化の修復機転. *九神精医 Kyushu N-Psych.*, **3**, 23, 1952.
- 20) Ferraro, A., and Davidoff, L. M.: The Reaction of Oligodendroglia to Injury of the Brain. *Arch. Pathol.*, **6**, 1030, 1928.
- 21) Ferraro, A., and Roizin, L.: Cerebral histologic Changes in acute experimental Inanition in Cats. *J. Neuropath. exp. Neurol.*, **1**: **81**, 1942.
- 22) Glees, P.: Neuroglia Morphology and Function. 69-89, 1955.
- 23) Gaudjian, E. S. & J. E. Webster: Experimental Head Injury with Special Reference to the Mechanical Factors in Acute Trauma. *Surg. Gynec. & Obst.*, **76**, 623, 1943.
- 24) Greenfield, J. G.: Some Observations on Cerebral Injuries. *Proc. Roy. Soc. Med.*, **32**, 129, 1938.
- 25) Hortega, P. del. Rio.: 'Microglia'. In Penfield's Cytology and cellular Pathology of the nervous System. **2**, 483-534, 1932
- 26) Hortega, P. del. Rio and Penfield, W.: Cerebral Cicatrix. Reaction of Neuroglia and Microglia to Brain Wounds. *Johns Hopkins Hosp. Bull.*, **41**, 278-303, 1927.
- 27) Henry, S., Dunning, and Jacob, Furth.: Studies on the Relation between Microglia, Histiocytes, and Monocytes. *The American Journal of Path.* **x1**, 895-120, 1935.
- 28) Ischikawa, K.: On the genesis of Hortegacells. *Fol. Anat. Jap.*, **10**, 229, 1932.
- 29) 石川進: ポーラグラフ法による脳副行循環の研究, 特にその臨床的応用を目的として, *日外宝*, **30**, 303, 1961.
- 30) 井戸信一: 脳内食喰細胞, 特にミクログリヤの

- カルミン食喰の態度について, 日外宝, 28, 416, 1959.
- 31) 井戸信一: 脳内食喰細胞, 特にミクログリヤの脂肪食喰の態度について, 日外宝, 28, 425, 1959.
- 32) Imamura, S.: Microglia in Gliomas. *Fol. Psych. Neur. Jap.*, 8, 99, 1954.
- 33) 猪原清: 電気焼灼に因る家兎大脳皮質の神経組織変化に関する実験的研究. 金大十全会雑誌, 37, 1100, 1932.
- 34) Juba, A.: Untersuchungen über die Entwicklung der Hortegaschen Mikroglia des Menschen. *Arch. f. Psychiat.*, 101, 577, 1933.
- 35) Jakob, A.: Experimentelle Untersuchungen über die traumatischen Schädigungen des Zentralnervensystems (mit Besonderer Berücksichtigung des Comotio Cerebri und Komotionsneurose). *Histologische u. Histopathologische Arbeiten über die Grosshirnrinde. F. Nissl u. A. Alzheimer*, Jena, 5, 182, 1913.
- 36) Kershman, J.: Genesis of microglia in the Human Brain. *Arch. Neurol. Psychiatr.*, 41, 24, 1939.
- 37) Kryspin-Exner, W.: Ueber die Achitektur der Glia im Zentralnervensystem des Menschen und der Säugetiere. 1952.
- 38) Leonhardt, H.: Plasmatische Abteilung. Ein Modus der Farbstoffausscheidung aus dem Gehirn. (Zugleich ein Beitrag zur physiologie des Neurencytioms). *Z. Anat. Entw. Gesch.*, 115-569, 1951.
- 39) Lewis, R. C., and Swank, R. L.: Effects of cerebral Microembolism on the perivascular Neuroglia. *J. Neuropath. Exp. Neurol.*, 12, 57-63, 1953.
- 40) 松島正行: 実験的頭部外傷脳に於ける神経細胞の変化の位相差顕微鏡による追求, 日外宝 29, 746, 1960.
- 41) Metz, A., u. Spatz, H.: Die Hortega'schen Zellen, das sogenannte 'dritte Element' und über ihre funktionelle Bedeutung. *Z. Neur.*, 89, 138-170, 1924.
- 42) Metz, A., u. Spatz, H.: Die drei Gliaarten und der Eisenstoffwechsel. *Z. Neur.*, 100, 428-449, 1925.
- 43) Mogilnitzky, B. N., Marcuse, K., Schdancw, I.: Die Einwirkung der Sensibilisierung auf die Mesoglia und das retikuloendotheliale System. *Frankf. Ztschr. f. Pathol.*, 46, 210, 1934.
- 44) 三宅川康平: ほるてが氏細胞の研究. 京府大医誌, 11, 99-146, 1934.
- 45) 長沢政隆: 脳軟化の実験的研究に就て, 金大十全雑誌, 37, 2747, 1932.
- 46) 長崎寿志: 実験的脳振盪に於ける中枢神経系軸索変性の Nauta 鍍銀法による追求, 日外宝, 28, 2727, 1959.
- 47) Nassar, T. K., and Shanklin, W. M.: Staining Neuroglia with Silver Diamminohydroxide after Sensitizing with Sodium Sulphite and Embedding in Paraffin. *Stain Tech.*, 26, 13-18, 1951.
- 48) Niessing, K.: Zellreaktion der Makroglia bei Narkose. *Zschr. f. mikroanat. Forsch.*, 56, 173-189, 1950.
- 49) Niessing, K.: Zellformen und Zellreaktionen der Mikroglia des Mausehirns. *Morphologisches Jahrb.*, herausg. Stieve u. Bennigshoff, 92, 102, 1952.
- 50) Penfield, W.: Oligodendroglia and its Relation to classical Neuroglia. *Brain*, 47, 430-452, 1924.
- 51) Penfield, W.: Neuroglia and Microglia (the metallic). In *McClung's Handbook of Microscopical Technique*, Paul B. Hoeber, Inc., New York, S. 359, 1928.
- 52) Penfield, W., u. Cone, W.: Acute Swelling of Oligodendroglia. *Arch. Neurol. and Psychiat.*, 16, 131-153, 1926.
- 53) Rand, C. W. & Courville, C. B.: Histologic Changes in the Brain in Cases of Fatal Injury to the Head; VII. Alterations in Nerve Cells. *Arch. Neurol. & Psychiat.*, 55, 79, 1946.
- 54) Ricker, G. & Döring, G.: Comotio Cerebri. *Hdb. Speziell. Pathol. Anat. u. Histol; Nerven system*, Teil 3, 177, 1955.
- 55) Setharrenberg, K., and Zeman, W.: Zur Leistungsfähigkeit und zur Technik der Hortegaschen Silberkarbonatmethoden. *Arch. Psychiat. Nervenkrankheit.*, 188, 430-439, 1952.
- 56) V. Santha, K., u. Juba, A.: Weitere Untersuchungen über die Entwicklung der Hortegaschen Mikroglia. *Arch. f. Psychiat.*, 98, 598-613, 1933.
- 57) Sasaki, S.: Experimental. Studies on Phagocytes in the Brain. *Folia Psychiat. et Neurol. Jap.*, 9, 283-303, 1955.
- 58) Spielmeyer, W.: *Histopathologie des Nervensystems*. Springer Verlag, Berlin, 1922.
- 59) 武谷止孝: 脳の病理組織標本の作り方. 日本医書, 1952.
- 60) Walter, F. K.: Untersuchungen über die amoeboide Glia und Clasmatoendrose. *Z. f. d. ges. Neurol. u. Psychiat.*, 66, 232-257, 1921.

- 61) Windle, W. F. . Anoxia : its Effect on Structure of the Brain. Ch. 21 in the Biology of Mental Health and Disease. 1952.
- 62) Windle, W. F., Clemente, C. D., and Chambers, W. W. : Inhibition of Formation of a glial Barrier as a Means of Permitting a peripheral Nerve to grow into the Brain. J. Comp. Neurol., **96**, 359-377, 1952.

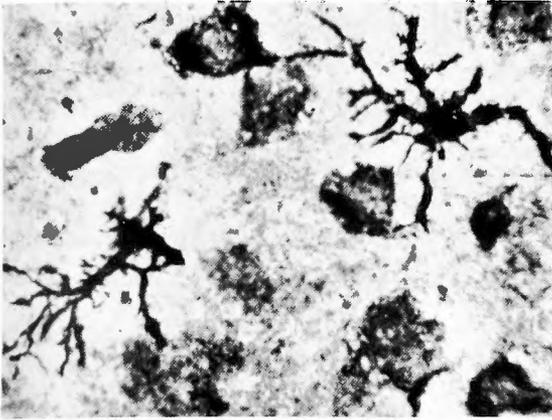


Fig. 1 : 第I群, 外傷後24時間, 挫滅近接部, 著明に変形肥厚せるミクログリヤ. × 1000.

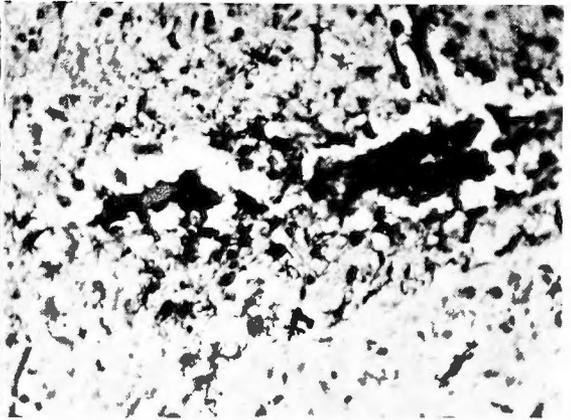


Fig. 2 : 第I群, 外傷4日後, 挫滅部並びに挫滅近接部, アメーバ様に肥厚せるミクログリヤと顆粒細胞. × 150.

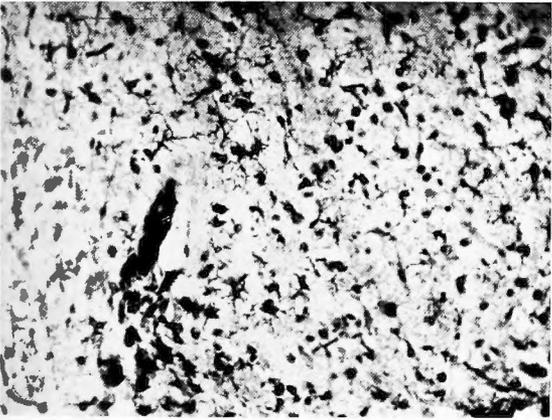


Fig. 3 : 第I群, 外傷6日後, 挫滅部並びに挫滅近接部, 肥厚せるミクログリヤと顆粒細胞. × 150.

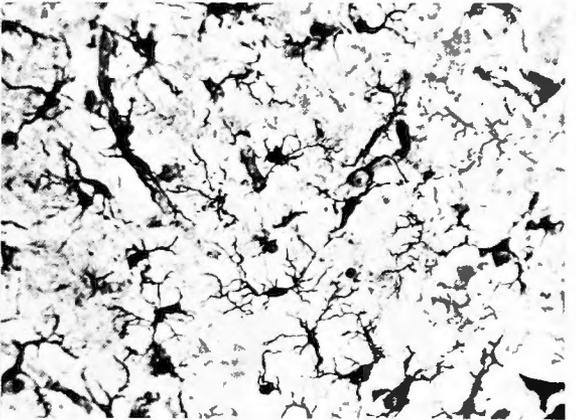


Fig. 4 : 第I群, 外傷8日後, 挫滅部, 変形増殖せるミクログリヤ. × 400.

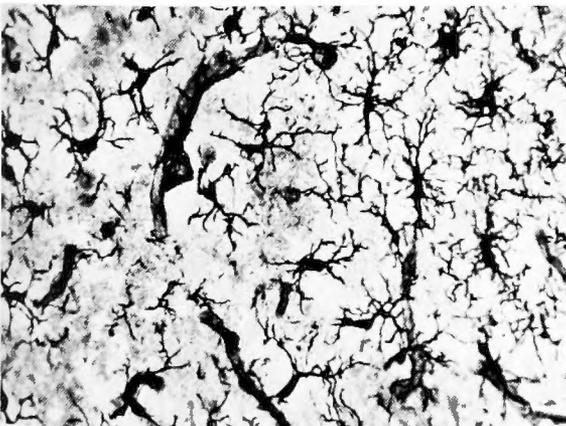


Fig. 5 : 第I群, 外傷10日後, 挫滅部, 肥厚増殖せるミクログリヤ. × 400.

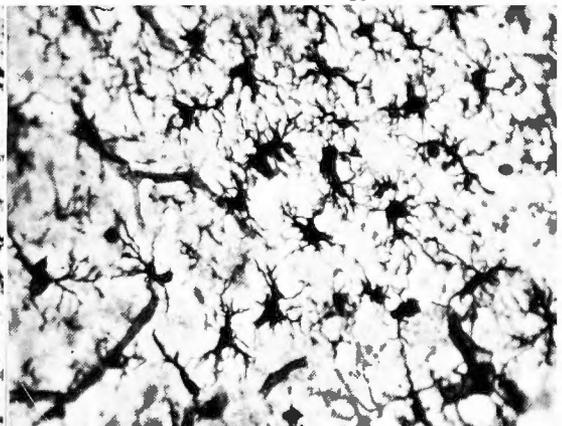


Fig. 6 : 第I群, 外傷12日, 挫滅中心部, アメーバ様に変形増殖せるミクログリヤ. × 400.

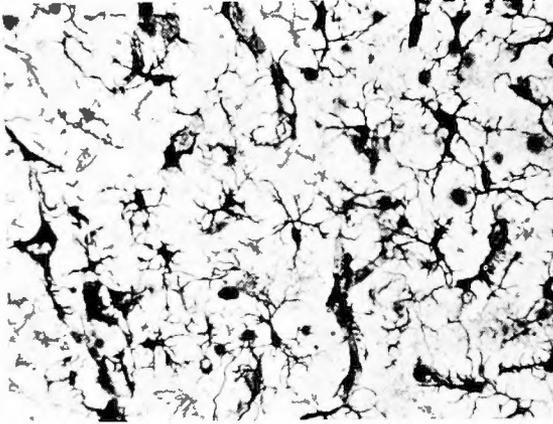


Fig. 7 : 第I群. 外傷12日後. 挫滅近接部, spider cell stageの増殖せるミクログリヤ. 個々のミクログリヤの変形は比較的軽度. × 400.

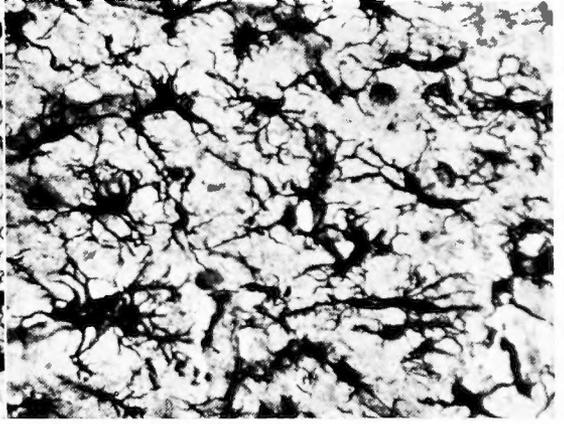


Fig. 8 : 第I群. 外傷12日後. 挫滅中心部とその近接部, amoeboid stage の増殖せるミクログリヤ. × 600.

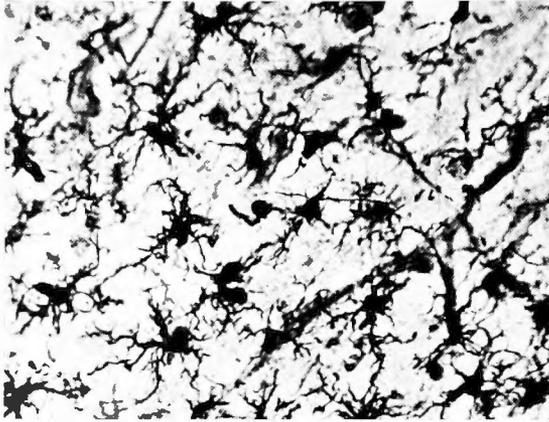


Fig. 9 : 第I群. 外傷12日後. 挫滅近接部. 増殖軽度なるも変形著明なるミクログリヤ. × 600.

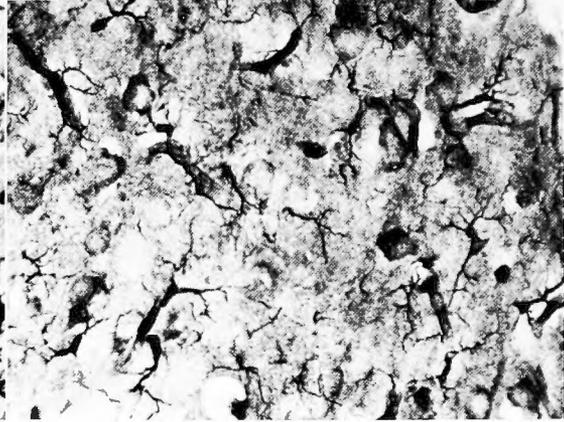


Fig. 10 : 第I群. 外傷12日後. 挫滅部の周辺部. 殆んど正常に近いミクログリヤ. × 400.

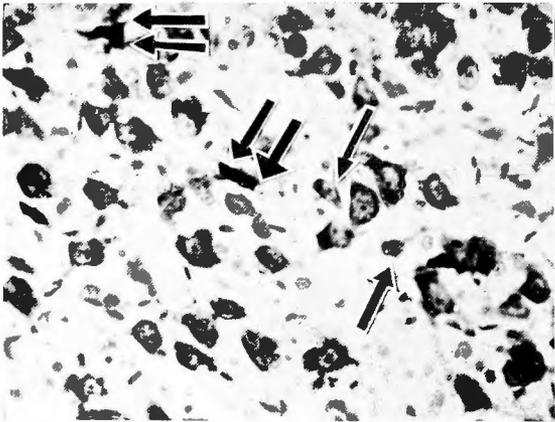


Fig. 11 : 第II A群. 空撃後24時間. 空撃局所(頭頂葉). 濃縮性細胞(↑↑)と神経細胞の atrophic change (↓↓). Nissl 染色. × 400.

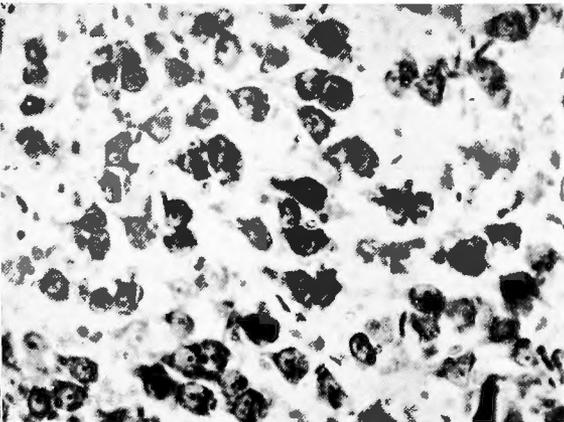


Fig. 12 : 無処置猫頭頂葉に於ける正常神経細胞. Nissl 染色. × 400.

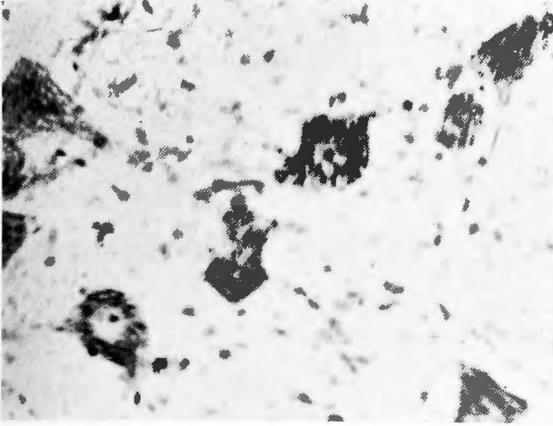


Fig. 13: 第Ⅱ A群. 空撃6日後. 中脳(動眼神経核). 変化はみられない. Nissl 染色. $\times 400$.

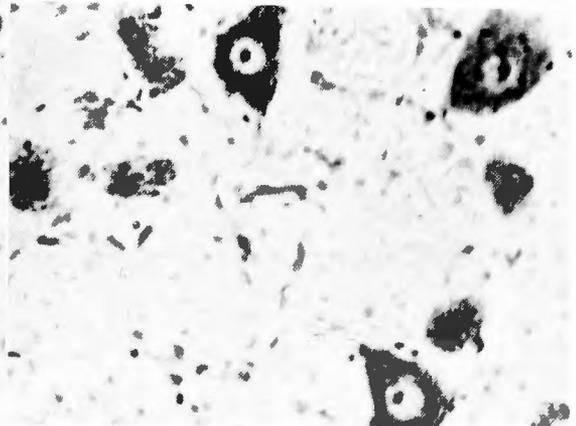


Fig. 14: 無処置猫. 中脳(動眼神経核)に於ける正常神経細胞. $\times 400$.



Fig. 15: 第Ⅱ B群. 空撃12日後. 空撃局所(頭頂葉). 著明に肥厚増殖せるミクログリヤ. $\times 400$.

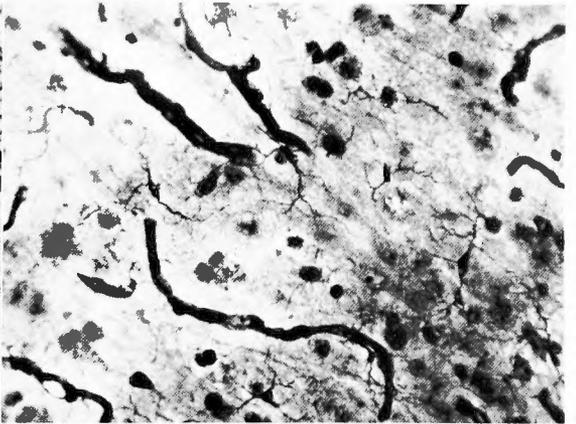


Fig. 16: 無処置猫. 頭頂葉に於ける正常ミクログリヤ. $\times 400$.

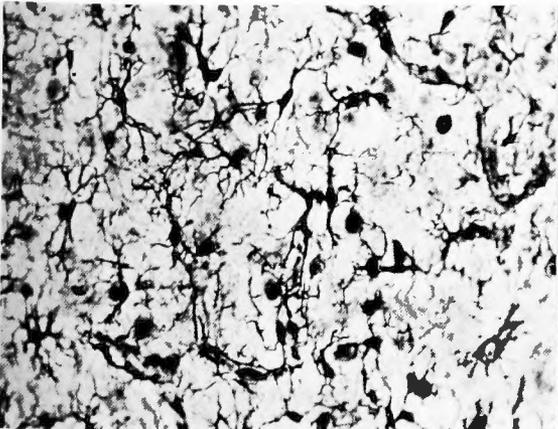


Fig. 17: 第Ⅱ B群. 空撃12日後. 空撃局所の近接部(側頭葉). spider cell stage のミクログリヤの増殖. $\times 400$.

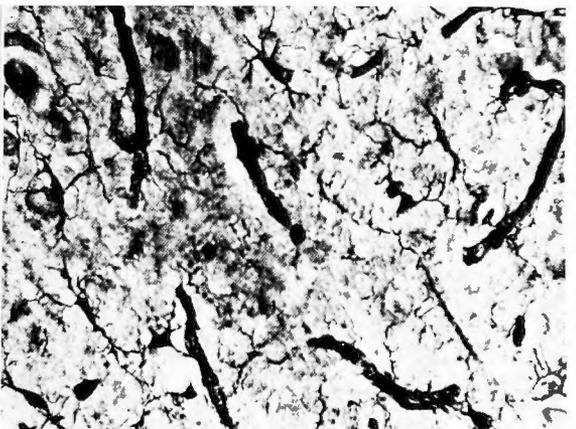


Fig. 18: 無処置猫. 側頭葉に於ける正常ミクログリヤ. $\times 400$.

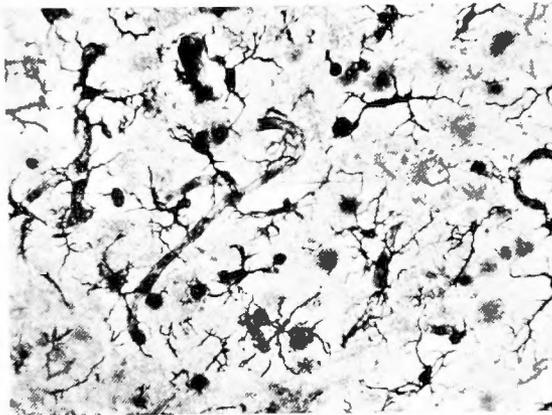


Fig. 19: 第ⅡB群. 空撃12日後, 空撃側前頭葉. ミクログリヤの中等度の増殖. 変形は著明でない. × 400.

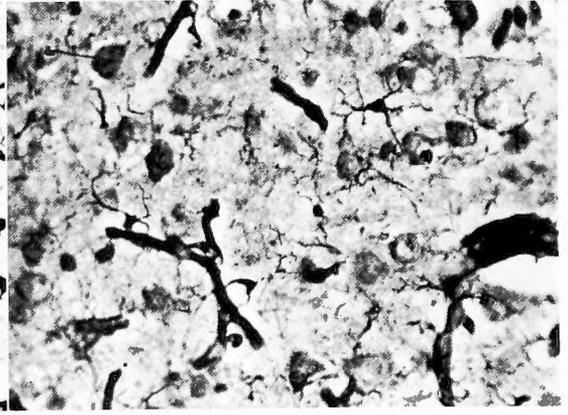


Fig. 20: 無処置猫. 前頭葉に於ける正常ミクログリヤ. × 400.

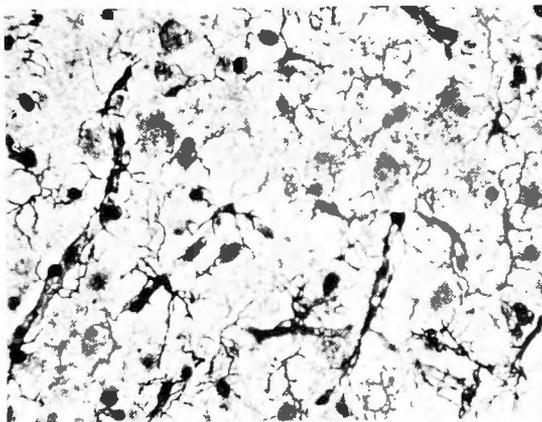


Fig. 21: 第ⅡB群. 空撃12日後, Regio calcarina. 増殖せるミクログリヤ. 変形は著明でない. × 400.

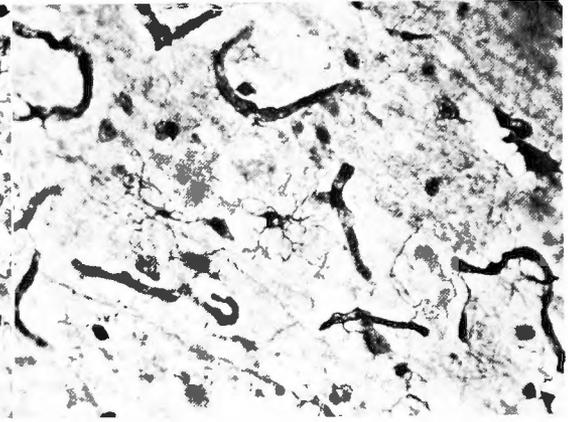


Fig. 22: 無処置猫. Regio calcarina に於ける正常ミクログリヤ. × 400.

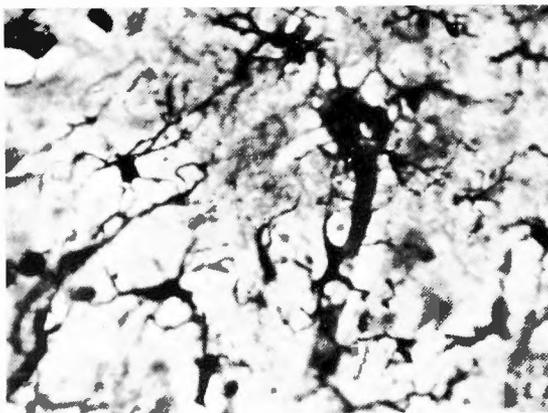


Fig. 23: 第ⅡB群. 空撃12日後, 中脳. 著明な変形と軽度の増殖を示すミクログリヤ. × 600.

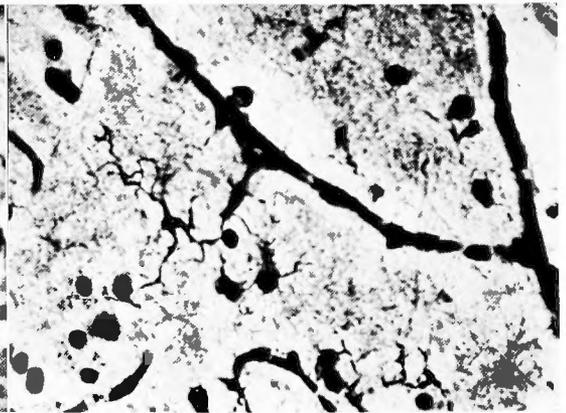


Fig. 24 無処置猫. 中脳に於ける正常ミクログリヤ. × 600.

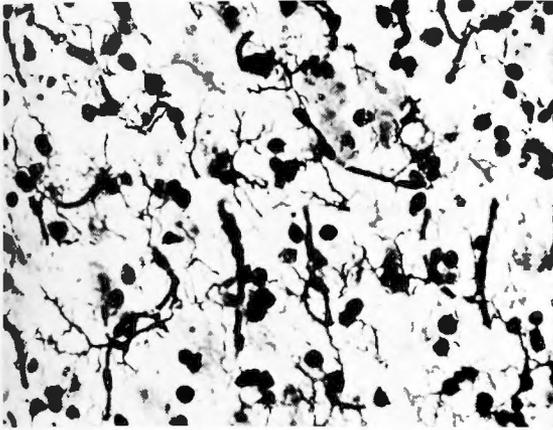


Fig. 25: 第Ⅱ B群. 空撃12日後. 海馬. 増殖せるミクログリヤ. 変形は著明でない. × 400.

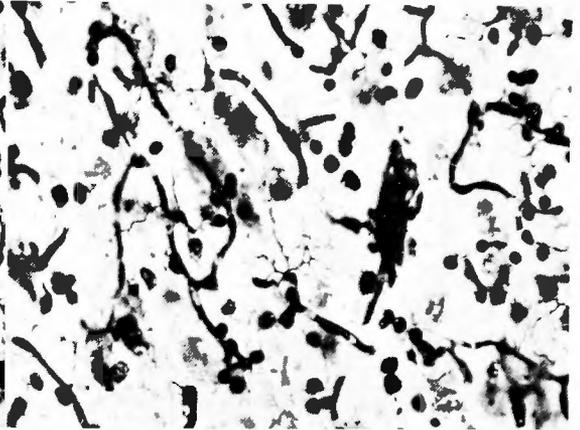


Fig. 26: 無処置猫. 海馬に於ける正常ミクログリヤ. × 400.

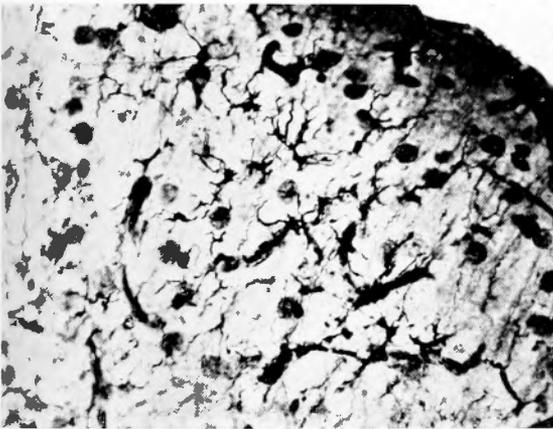


Fig. 27: 第Ⅱ B群. 空撃12日後. 小脳皮質. 肥厚せるミクログリヤの増殖. × 200.

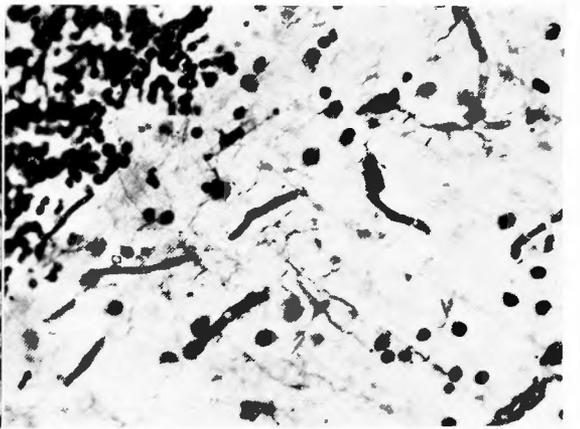


Fig. 28: 無処置猫. 小脳皮質に於ける正常ミクログリヤ. × 400.

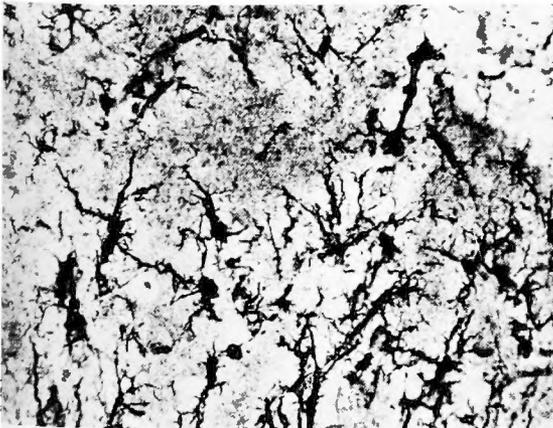


Fig. 29: 第Ⅲ A群. 脳抽出液の稀釈液注入12日後. 注入部(頭頂葉)の大脳皮質深部. 不規則に変形増殖せるミクログリヤ. × 400.

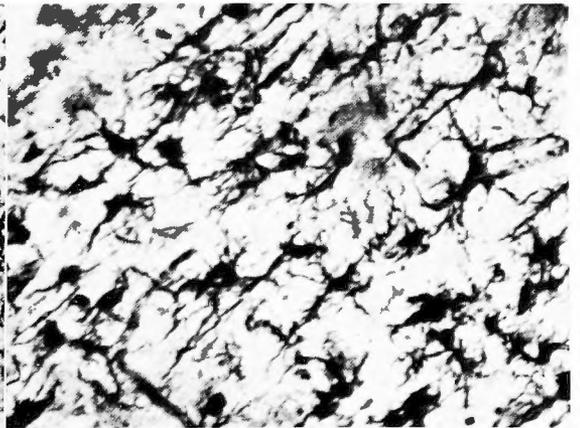


Fig. 30: 第Ⅲ A群. 脳抽出液の稀釈液注入12日後. 注入近接部(側頭葉皮質). アメーバ様の著明な変形増殖を認める. × 400.

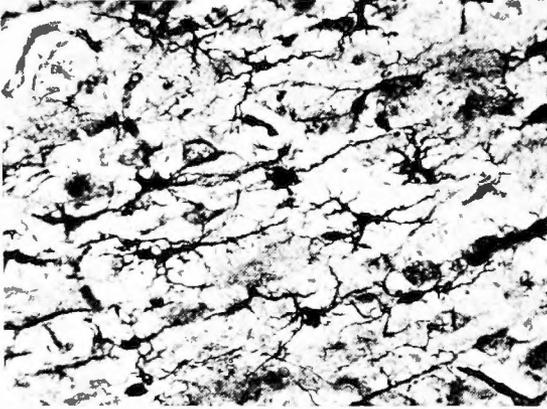


Fig. 31: 第Ⅲ A群. 脳抽出液の稀釈液注入12日後, 注入側前頭葉皮質, 中等度の変形増殖を示すミクログリヤ. × 400.

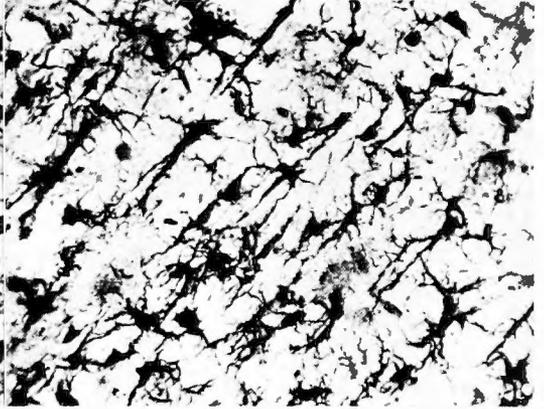


Fig. 32: 第Ⅲ B群. 稀釈昇汞水注入12日後, 注入部(頭頂葉皮質), 不規則なる変形増殖を示すミクログリヤ. × 400.

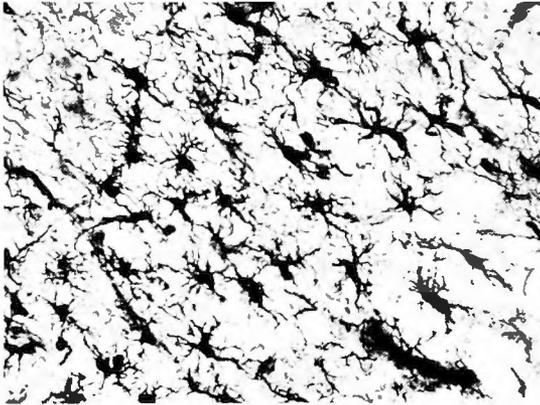


Fig. 33: 第Ⅲ B群. 稀釈昇汞水注入12日後, 注入近接部(側頭葉皮質), アメーバ様変形増殖著明なるミクログリヤ. × 400.

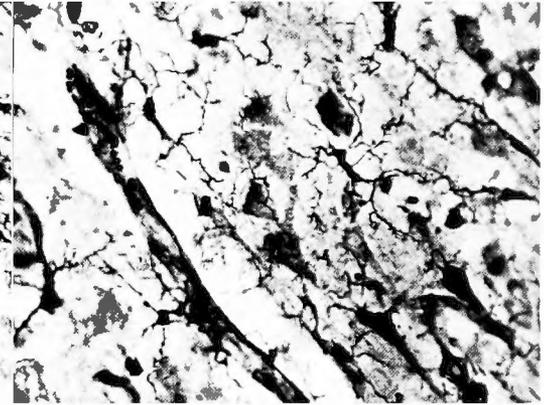


Fig. 34: 第Ⅲ B群. 稀釈昇汞水注入12日後, 注入側前頭葉, 軽度のミクログリヤの増殖. × 400.

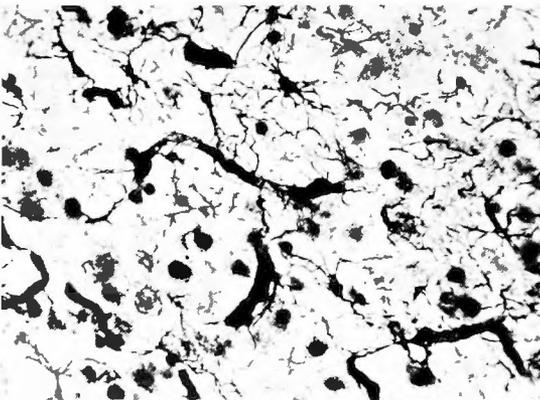


Fig. 35: 第Ⅳ群 (B群), 術後12日, 前頭葉皮質, 軽度増殖せるミクログリヤ. × 400.

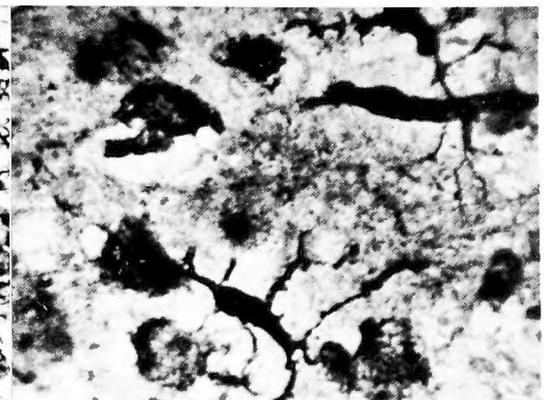


Fig. 36: 第Ⅳ群 (B群), 術後12日, 前頭葉皮質, 肥厚変形せるミクログリヤ. × 1000.