

損傷脳に発生する反応性 gliosis 組織の 経時的変化に関する研究

——特に血液脳関門の変化を中心として——

東邦大学医学部第2外科学教室（主任：粟津三郎教授）

鮫 島 寛 次

〔原稿受付：昭和50年10月7日〕

Neurochemical Studies of Reactive Proliferative Glial Cells in Injured Rat Brain, and Their Relations to Blood-Brain-Barrier

by

HIROTSUGU SAMESHIMA

Department of Neurosurgery, School of Medicine,
Toho university, (Director : Prof Dr. SABURO AWAZU)

The metabolic specificity of reactive proliferative glial cells produced by subpial undercutting of unilateral frontal lobe of rat brain, especially the functional feature of blood-brain-barrier was studied morphologically and biochemically.

The results were as follows :

1) Electron-microscopically, the proliferation of glia fibrils began to start one week after operation, then the cytoplasm and perivascular endfeet of astrocytes were filled up with the glia fibrils at one month after operation. The nucleus of the astrocyte was alternated into polynuclear state and the perivascular endfeet showed the aggregation of mosaik-like structure with the marked glia fibrils.

The submicroscopic feature at three months after operation still remained to the same findings as one month after operation. These results suggest that the proliferation completes at one month after the operation.

2) The basic morphological structure of the blood-brain-barrier, so-called vasoglia unit, which was constituted by endothel, pericyte, basement membrane, endfeet and astrocyte was kept almost normally in the relation to these structure of the tissue after the gliosis completed.

3) Incorporation value of ^{32}P administered intraperitoneally into brain tissues in the stage of the brain edema was four times higher than the intact control tissue. But

Key words : gliosis, B.B.B. vasoglia unit, gliafibrils, incorporation

Present address : Department of Neurosurgery, School of Medicine, Toho University, Ota-ku,
Tokyo, Japan. 〒143

there was no remarkable change in the incorporation of ^{32}P between the gliosis tissue and the intact tissue at the time when the gliosis was accomplished. These results suggest that the gliosis induced a restoration of damaged blood-brain-barrier.

4) There was a little difference at the peak period between the gliosis and the intact tissues in the incorporation of D-glutamic acid into brain tissue from blood, but in the control group the peak of its incorporation value corresponded to those in blood. However, there was no significant difference between the gliosis and the intact control tissues in the incorporation of D-tyrosin which was well-known amino-acid easily transported through the blood-brain-barrier.

5) In the gliosis tissue the phospholipid content revealed 70% of the intact control tissue. Especially in the brain phospholipids, it was recognized that a turn-over rate of phosphorus of phosphatidyl ethanolamine was higher than that of the control.

The gliosis tissue, namely the reactive proliferative glial cells, are till now merely regarded as the cicatrical tissue. But from this investigation the author considers that the gliosis itself has some functional specificity in the blood-brain-barrier.

1 緒 言

外傷によって起こる脳浮腫は、しばしば生命を失う原因となるために、近年多数の研究がなされ、その実態も解明されつつある。しかし、外傷のみならず space occupying lesion あるいは、それらの摘除によって生ずる損傷された脳実質がいかなる変化を示すかという重要な問題については未だ充分には解明されていない。Cajal¹⁾ は損傷脳においては神経細胞の消失と、それに代るグリア細胞の出現が起こると報告し、gliosis という概念を作り上げた。その後一般的に gliosis は、脳における癒痕組織であるとひとくちにかたづけられてきた感じがある。

これに対し gliosis を単なる癒痕組織と考えることに対する疑問は Bielschowsky²⁾ (1935) により始めて提起された。しかし、その後、この点に関する報告は少なく、特に機能的な面での解明には至っていない。われわれの教室では、数年来 gliosis に関する研究を行なって来た^{15), 22)}。その一環として今回著者は vasoglia unit 説に従い、血液脳関門 (以下 B.B.B. と略する) の重要な構成因子であるグリア細胞が損傷脳において経時的にいかなる変化を示すか、特に毛細血管、星状膠細胞の相関関係を電子顕微鏡を用い観察した。更に、その際の B.B.B. の態度および物質輸送機構について生化学的検索を加えた。その結果 gliosis 組織の機能的特徴の一端を解明し得たと信ずるのでこ

こに報告する。

II. 実験方法

1. 実験動物作成法

体重 200~250gr の健康成熟 Wistar 系 rat 175 匹を使用した。Ravonal 50mg/kg、腹腔内投与による麻酔の下に中野¹⁵⁾によって報告された方法に従い、左前頭骨を直径 4.0mm のドリルにて穿孔し、尖刀を挿入して左脳半球前頭葉のみの切取手術を行なった。術後の感染予防、及び補液のために抗生物質及び糖液を皮下に投与した。飼育には鼠用固形飼料 (増殖用 NM 型、オリエンタル酵母社製) を使用した。

2. 組織学的検索

手術後 3 日 (3 匹)、1 週間 (8 匹)、2 週間 (5 匹)、1 ヶ月 (10 匹)、3 ヶ月 (10 匹) の各時間の切取部を検索した。光学顕微鏡用には、10%ホルマリン並びにブロムホルマリンで固定後、H.E 染色、Penfield 染色を行なった。電子顕微鏡用試料は 4%、Glutaraldehyde-Millonig 緩衝液にて前固定の後、1% Osmiumtetroxide-Millonig 緩衝液の中で固定、ついで、エタノール系列及び、プロピレンオキシドで脱水後、Luft の¹²⁾方法に従い、Epon812 樹脂に包埋した。porter-Blum 型 ultramicrotome にて切片を作製し、脱 Epon 後、H.E 染色し、gliosis 組織を確認後 trimming し、L.K.B.4800A 型 ultramicrotome で、超薄切片を作製し、ウラニール、水酸化鉛重染色

法で電子染色した。

3. 試料の調整

組織の取り出しは断頭後大脳を摘出し、可及的速やかに脳軟膜、血管を取り除いた。脳表に付着している血液も取り除いた。gliosis 組織を採取する場合は切載部の前後 2 mm の範囲の灰白質のみとし、対照としては右前頭葉の切載部位に相当する対称部分を試料として使用した。

4. 脳組織中の ^{32}P の測定

腹腔内に ^{32}P (英国 The Radiochemical Centre 製) を $10\mu\text{c/g. body wt}$ の割合で投与し、3 時間後に瀉血断頭し、脳組織摘出後直ちに氷冷、10% TCA の中でホモゲナイズし、その一部を取って、Geiger-Muller 計数器で、その放射能を測定し、cpm/g wet wt の値をもって腹腔内より単位質量当りの脳組織中へ取り込まれた放射能の値とした。

5. グルタミン酸の脳内への取り込み

D-体のグルタミン酸 $600\mu\text{moles}$ を白鼠腹腔内へ注入後、経時的に断頭し、血液および全脳を取り出した。脳組織は、切載側、対照側共に、100mg 前後、血液は 4~5 ml を検体として使用した。脳組織は 75% エタノールでアミノ酸を抽出、血液は、尿酸ナトリウム、100mg を加えて凝固を防ぎ、同様に、75% エタノールでアミノ酸抽出を行なった。抽出液は、paperchromatography で、分離定量した。

6. チロジンの脳内への取り込み

D-体のチロジンを 50mg/kg の割合で腹腔内へ注入後、経時的に断頭し、採血した上、脳を摘出した。脳組織量は、切載側および対照側共に、100mg 前後を、血液は全血 1 ml を採取した。脳組織は、10% TCA、血液は、20% TCA で除蛋白した、その除蛋白濾液について、Udenfriend-Cooper²⁴⁾の方法に従いチロジンを測定した。

7. 磷脂質代謝について

術後 1 ヶ月以上の白鼠の大槽内へ、 ^{32}P を、1mci 注入した。注入後 30 分、5 時間、24 時間目に断頭し、直ちに脳を取り出し、Folch の方法に従い、クロロホルムメタノールで、lipid を抽出し、Lowry の方法にて P を測定した。磷脂質は、Silicic acid impregnated paper を用いて paperchromatography で分離した。

Microsome 分面の採取は断頭組織を 0.32M sucrose (PH7.0) で teflon-glass homogeneousizer で磨砕し、stepwise に $800\text{gr} \times 20\text{min}$ 、 $8000\text{gr} \times 15\text{min}$

で、遠心分離し、核、mitochondria 分面を除き、その上清を更に、 $105000\text{g} \times 60\text{min}$ 遠沈して Microsome 分面を得た。

III. 実験成績

1. 組織学的検索

切載部位を 1 ヶ月後、H, E 染色像をみると、グリア細胞の著るしい増加と神経細胞の萎縮変性像が認められた (Fig. 1)。この時期のものを Penfield のグリア染色で更に追求すると術後、10 日目、すでに、反応性に増殖したグリア細胞を認め、1 ヶ月以降になると、切載部位附近では、グリア細胞の密集像が得られた (Fig. 2)。

つぎにこれらの微細構造の変化を急性期より電子顕微鏡を用いて観察した。手術 3 日目には毛細血管および、その周囲の星状膠細胞の細胞質は明らかに膨化し、cristae の少なくない、丸い大きな mitochondria が増しているのが認められた (Fig. 3)。一方内皮細胞の管腔側膜は、不規則に凸凹を示し、pinocytotic vesicles を多数認め、所謂 pinocytosis が亢進していることを示している。この時期の星状膠細胞、毛細血管、neuropile は脳浮腫の電子顕微鏡像として報告されているものと何ら変りが認められなかった。術後一週間では星状膠細胞の細胞質、および突起、特に血管周囲足は著るしく膨化し、微細器管の減少、著るしく膨化し、cristae のこわれた mitochondria を認める (Fig. 4)。一方、neuropile における足突起の数は対照側に比し、明らかに増加しており、浮腫変性期より増殖期に入っていることがわかる。しかし、この時期には未だ、glia fibrils の増殖は軽度である。

2 週間目に入ると、細胞質、血管周囲足の膨化があり、依然として浮腫は残存しているが、watery な細胞質、および血管周囲足の中に glia fibrils が増殖し、数少なくなった微細器管が、細胞質周辺に圧排されている。この時期の特徴的な変化は細胞質における glia fibrils の著明な増殖であり、細線維は突起内へ入り込んでいることがわかる (Fig. 5)。しかし、クロマチン顆粒は浮腫期より、一層はっきりと核周辺に集まっているが、核自体の変化は、それほど進んでいない。

術後 1 ヶ月における星状膠細胞の核は、著るしく変形し、分葉状を示す (Fig. 6)。中には多核化としか表現のしようのない像が時折見られる。mitochondria、粗面小胞体、Golgi 装置等、微細器管は核周辺、およ

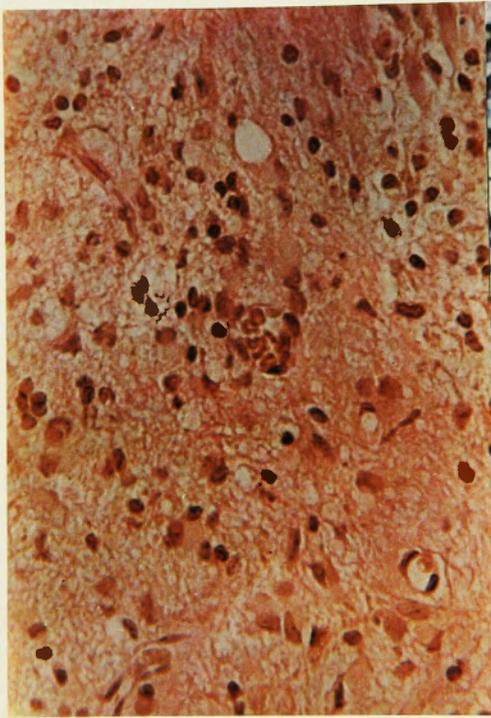


Fig. 1 1 month after operation (H.E.) $\times 400$

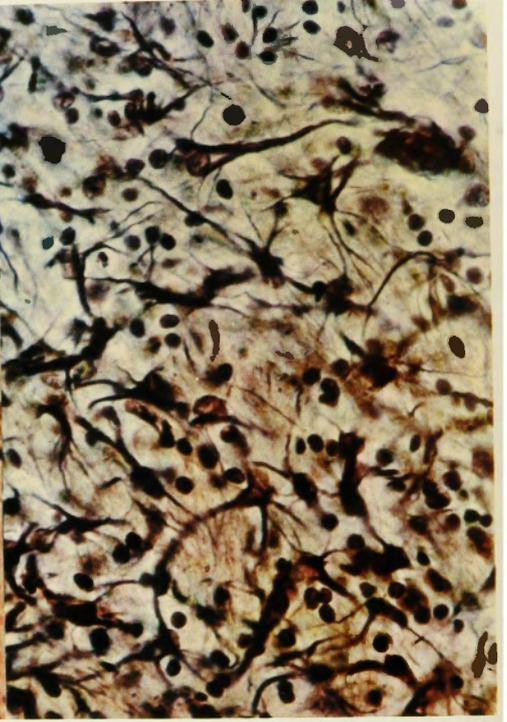


Fig. 2 1 month after operation (Penfield) $\times 400$

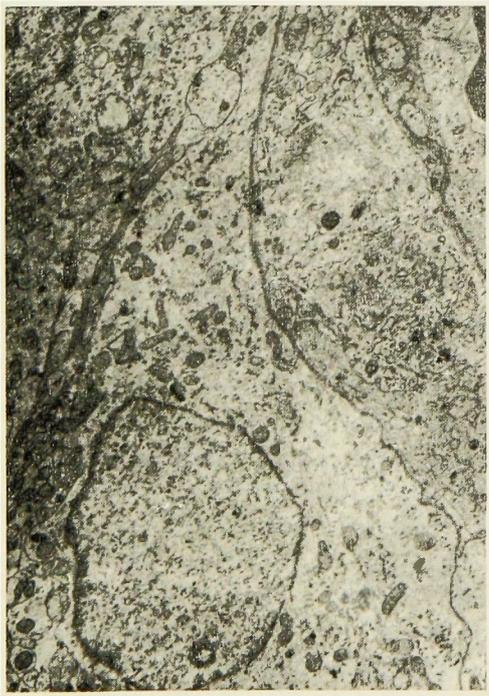


Fig. 3 Three days after operation $\times 3000$



Fig. 4 1 week after operation $\times 3000$

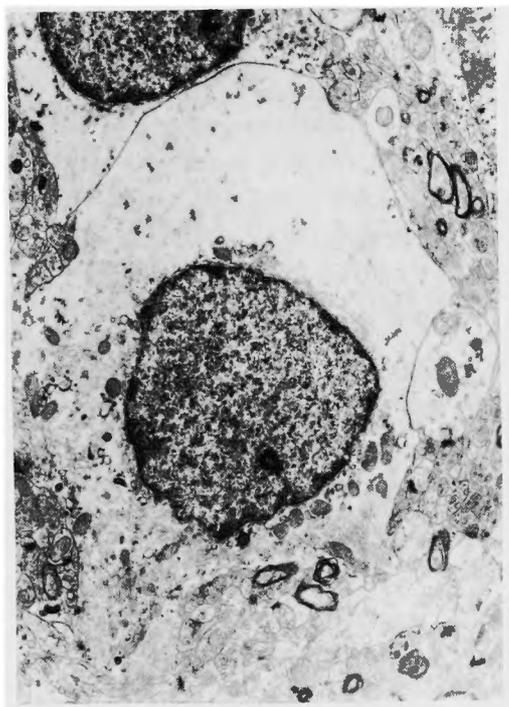


Fig. 5 2 weeks after operation $\times 3000$

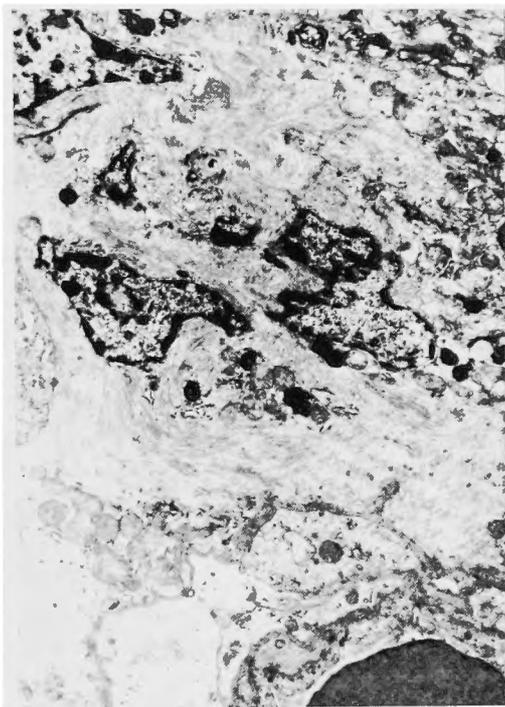


Fig. 6 1 month after operation $\times 3000$



Fig. 7 1 month after operation $\times 3000$

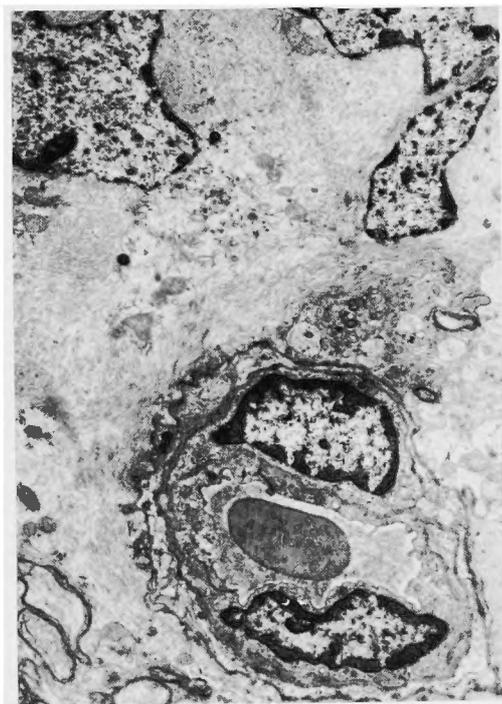


Fig. 8 3 months after operation $\times 3000$

び細胞質周辺に強く圧排され、その他の細胞質は全て増殖した glia fibrils により満たされている。毛細血管周囲は血管周囲足がモザイク様に集積し、毛細血管を何重にも取り巻いている。そして、その中は細胞質で見られたと同様の glia fibrils によって満たされて、微細器管は著しく減少している (Fig. 7)。しかし、このような変化にもかかわらず毛細血管、星状膠細胞、神経細胞という脳皮質本来の構成単位には何ら変りがなく、急性期に多く見られた組織球性の細胞もほとんど消失している。また膠細胞とその周囲組織との関連も、glia fibrils を多数もった星状膠細胞の増殖という以外、正常構造と同じように保たれていたのである。この時期は明らかに癒痕期、即ち gliosis の完成期と考えられる。

更に、術後3ヶ月目の組織像においても核の分裂、多核化、微細器管の減少圧排、glia fibrils の増殖等、1ヶ月目にみられた特徴がそのまま観察され、慢性的変化としてとらえることが出来た (Fig. 8)。一方、neuropile においては増殖した glia fibrils をもった星状膠細胞突起が数多くみられるが、他の構造は正

常と何ら変わりがなかった。

2. 生化学的検索

i) ^{32}P で見た血液脳関門. (Table 1)

B.B.B. に対する脳切取時の影響を *in vitro* で調べるために、腹腔内に ^{32}P を $10\mu\text{c/g-body wt}$ の割合で投与し、3時間後に断頭瀉血し、脳組織1g中の放射能量を手術側、ならびに非手術側の組織について比較検討した。ここで、Ratio とは単位組織質量中の手術側の ^{32}P 取り込み量と対照側の比を表わしたもので、術後1週間目で対照の組織に比し3.7倍も多く ^{32}P

Table 1. ^{32}P incorporation into rat brain tissue after intraperitoneal injection

Condition		CPM/ g.w.w.	Ratio (operation/ control)
1 week after Operation	Control	3.74×10^5	3.70
	Operation	13.8×10^5	
1 month after operation	Control	1.52×10^5	1.15
	Operation	1.75×10^5	

Table 2. D-glutamic acid incorporation into rat brain

Time after injection	Blood m μ moles/ml	Brain tissue	
		Control m μ moles/mg.w.w.	Operation m μ moles/mg.w.w.
15 min	$1929.0 \pm 214.5(8)$	$19.11 \pm 2.43(8)$	$11.93 \pm 1.92(8)$
30 min	$1120.0 \pm 92.5(8)$	$17.72 \pm 1.42(8)$	$13.96 \pm 1.17(8)$
60 min	$485.0 \pm 32.7(8)$	$15.32 \pm 1.82(8)$	$13.09 \pm 2.13(8)$
150 min	$262.5 \pm 37.5(8)$	$15.10 \pm 1.74(8)$	$12.52 \pm 2.01(8)$

D-glutamic acid content was shown as mean \pm S.D.
Number in parenthesis was given experimental numbers.

Table 3. D-tyrosine incorporation into rat brain

Time after injection	Serum m μ moles/ml	Brain tissue	
		Control μ moles/g.w.w.	Operation μ moles/g.w.w.
15 min	$0.33 \pm 0.05(10)$	$0.19 \pm 0.04(10)$	$0.22 \pm 0.03(10)$
30 min	$0.41 \pm 0.04(10)$	$0.37 \pm 0.03(10)$	$0.46 \pm 0.03(10)$
60 min	$0.25 \pm 0.03(10)$	$0.42 \pm 0.02(10)$	$0.49 \pm 0.03(10)$
120 min	$0.17 \pm 0.02(10)$	$0.29 \pm 0.05(10)$	$0.36 \pm 0.03(10)$

D-tyrosine content was shown as mean \pm S.D.
Number in parenthesis was given experimental numbers.

が取り込まれているが、術後1ヶ月目ではその比は、対照側とほとんど差が認められなくなる、このことは脳損傷によって引き起こされた B.B.B. の障害は gliosis 完成期には修復されたことを示している。

ii) グルタミン酸の細胞内取り込み (Table 2). B.B.B. を通過し難い物質といわれているグルタミン酸を用いて術後1ヶ月目の gliosis 組織の物質輸送機構にいかなる変化をきたしているかを調べた。ここでは、脳組織中のアミノ酸含有量は脳の灌流を行わず、血液中のアミノ酸量も含めて、脳組織全体として算出した。非代謝性のD-グルタミン酸を、腹腔内へ投与すると、血中濃度の増加に伴い脳内含有量も増加を示す。これを対照側と比較してみると、対照側では血中濃度の変化と同様の消長を示すが、gliosis 組織では取り込み量が最高に達する時期が対照側よりも遅れ、その後の経過は対照側と同様高値を維持した。

iii) チロシンの細胞内取り込み (Table 3). チロシンは B.B.B. を容易に通過する物質の一つとして知られている。非代謝性のD-チロシンを 500mg/kg 腹腔内へ投与して脳内への取り込みをみると、D-グルタミン酸の場合にみられるような対照側と手術側の脳組織内の濃度のピークはともに60分で最高となり、ズレは認められなかった。

iv) 磷脂質代謝
物質透過性の面で上記の如く、各種の物質を用いて検討してみると、修復された B.B.B. においても物質により機能的な相違が認められた。そこでさらに、B.B.B. の機能に密接に関連すると考えられる細胞膜、特にこの細胞膜の主要な構成成分である脂質代謝について検討を行なうことにした。³²P を用いて磷脂質代謝を検討してみると (Fig. 9), 大槽内注入後30分では

³²P INCORPORATION INTO RAT BRAIN TISSUE

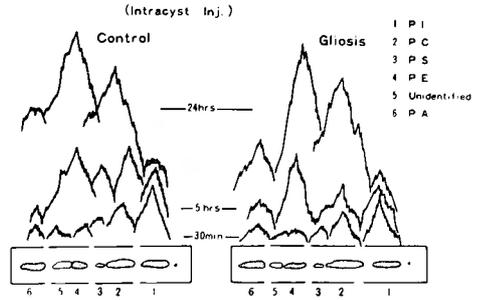


Fig. 9

³²Pの脳組織への取り込みは対照側、gliosis 側と共に phosphatidyl-inositide (以下、p-inositide と略す) への取り込みが同様に認められる。その後、5時間経過した時点では、p-choline, p-serine, p-ethanolamine への取り込みの増加が続き、逆に、p-inositide への取り込みが減少を示している。この5時間目で、gliosis を対照側と比較してみると、対照側では、p-choline と、p-ethanolamine が同じレベルであるのに対して、gliosis 側では、p-ethanolamine の方がやや高く、むしろ24時間後の態度に近く代謝回転が早い様に思われた。24時間後では、p-inositide への取り込みは対照側、gliosis 側共に減少を示し、p-choline, p-acid, p-ethanolamine, p-serine への取り込みが増加している。

更に、膜そのものの磷脂質代謝をみるために microsome 分画について同様の検討を行なってみると (Table 4), 磷脂質含有量は対照側の70%であるのに対し、各磷脂質の分布では対照側、gliosis 側共に、p-choline, p-ethanolamine が約%以上を示して

Table 4. ³²P INCORPORATION INTO MICROSOMAL FRACTION OF RAT BRAIN (3hr after Intracyst. Inj.)

Condition	Lipid-P (μg/g)	P-Inositide	P-Choline	P-Serine	P-Ethanolamine	P-Phosphatidic acid	
Control	93.3	dist. %	6.3	42.9	9.3	33.8	2.1
		S.A	29.0	4.4	8.4	4.5	51.2
Gliosis	63.3	dist. %	6.1	40.7	11.4	35.2	1.2
		S.A	17.9	6.9	20.3	8.1	58.0
Exp. Patio		0.617	1.57	2.42	1.80	1.30	
cont.							

おり、あまり差が認められない。これを、specific activity でみると、gliosis 側は p-inositide のみが対照側よりも低い以外は全て高く、対照側との比では p-ethanolamine が、p-choline より高い。これは全脳での傾向と同様であり、gliosis 側で ^{32}p の取り込みが高く、特に p-ethanolamine の代謝回転が速いものと思われた。

Ⅳ. 考 察

1846年 Virchow がグリア細胞を発見、命名して以来、種々の領域においてこの細胞の形態的、機能的特徴について多くの研究がなされて来た。しかし、現在においても個々のグリア細胞に対しては多くの議論が残されており、特にその病的変化に関しては十分に解明されていない。脳に直接の侵襲が加わった時に起こる組織反応は、Cajal⁵⁾、Penfield¹⁶⁾、等により、1920～1930年代に盛んに検討され、光学顕微鏡的にはグリア細胞の増殖、すなわち、gliosis は脳における癒痕組織としてみなされ、その機能的特徴はほとんど究明されていない。Schultz²¹⁾ は電子顕微鏡を用いることにより癒痕組織を細胞単位で研究することを試みているが、その機能面での追求は不充分である。一方、反応性に増殖したグリア細胞を単なる癒痕組織と考えることに対する疑問は、1939年、Bielschowsky³⁾ により提起されている。著者は脳損傷に随伴しておこるグリア細胞の反応性増殖、すなわち gliosis がはたしてどのような時間的推移により完成されているか、また、特に脳における特異的な機能とされている B.B. B. として現在定説化されつつある内皮細胞—周皮細胞—基底膜—毛細血管周囲星状膠細胞の位置的関係、すなわち、vasogial unit^{10), 13)} は癒痕化の完成された時期にはどのような形態的变化をきたすかを検索し、さらにその組織が機能的に、特に物質の輸送という面よりどのような変化を示すかを生化学的に追求した。

白鼠前頭部に切取手術を施行した場合障害部に一致して浮腫の出現、神経細胞の消失が起こり、浮腫の消退とともに反応性にグリア細胞が増殖してくる。術後1ヶ月目のH.E染色ではグリア細胞の萎縮変性像がみられる。Penfield のグリア染色でさらに追求すると増殖像は明確となる。

これら光顕で確認された gliosis 組織を電顕にて観察すると、術後1週間までは星状膠細胞の膨化、細胞内微細器管の減少、グリコーゲン顆粒の増大等、Farquhar⁷⁾、Luse¹⁴⁾ 等により検討され、その後一連

の多くの研究がなされてきた脳浮腫の電顕像と何ら変わるところがない。しかし、この強い浮腫の時期においても毛細血管の tight junction、および基底膜には何ら破綻が認められない。一方内皮細胞の、pinocytotic vesicles は明らかに数を増し、pinocytosis による物質輸送²⁶⁾が増加していることが考えられた。Raimondi らの行なった ferritin-albumin を用いる方法¹⁸⁾、Karnovsky の peroxidase の方法¹⁹⁾等組織化学的方法を駆使してみた B.B.B. では浮腫期における物質の取り込みは明らかに亢進していることが示されている。著者の ^{32}p を tracer としてみた B.B. B. でも浮腫期には対照側の4倍近い取り込みのあることがわかった。2週間後の星状膠細胞の細胞質は膨化が残存しているか、グリコーゲン顆粒は消失し、かわりに glia fibrils の増殖が強く、微細器管は細胞質周辺に圧排され、細胞質は、watery な部分と、増殖した glia fibrils によってほとんどが占められている。また細胞質の突起内にも、さらに毛細血管周囲足においても glia fibrils は増殖して来ている。

Bakay¹⁾ は、prolonged hypoxia により1～4日と6～20日との2つの時期にわけ7日以降に、glia fibrils が増殖してくると報告している。Blakemore⁴⁾ は凍結損傷により3～4日目に glia fibrils の増殖が起こると報告し、Maxwell⁶⁾ は1週間後より癒痕化は始まるとしている。切取による脳損傷においては1週間から、glia fibrils の増殖傾向が出現することより、この時期から癒痕化が始まることがわかった。

さらに1ヶ月の星状膠細胞では核の変形が著るしく、また多核を示すものもある。少数の微細器管は著明に圧排され、細胞質の、glia fibrils による置換がみられる。毛細血管周囲は膠細胞の突起がモザイク様に集積し、明らかにこの時期が gliosis、すなわち癒痕化の完成期とみなされた。これらの変化は、3ヶ月後まで観察しても全く変化がみられず、慢性化したものと考えられる。

以上、脳における癒痕形成とはグリア細胞の増殖であると同時に glia fibrils の増殖、そして核の多核化としてとらえることが出来る。しかし、これらの脳損傷後に出現する細胞内の変化にもかかわらず内皮細胞、周皮細胞、基底膜、血管周囲足、星状膠細胞という脳における基本的構造は一応保たれているのである。すなわち、星状膠細胞とその突起は、神経細胞と毛細血管との間にあって、B.B.B. の一部を構成しているという所謂 vasogial unit の説に立つならば、

gliosis 組織においてもそれらの基本的な関連には何ら変化が認められず、B.B.B. の形態学的基礎は一応残存していると考えられた。

本組織における物質的背景、代謝的特徴に関しては、中野¹⁵⁾ 柴田²²⁾ 等の詳細な報告があり、所謂 gliosis 組織は単なる瘢痕組織でなく、グリア細胞の特徴を有しなから、組織として特異な代謝を営んでいるとされた。一方グリア細胞は血管より脳組織への物質輸送を調節する B.B.B. の機能を有する^{8), 17)} とか、あるいは血液より神経細胞への物質輸送を仲介²⁵⁾ するといわれている。Schnitt²⁰⁾ はグリア細胞を blood brain pathway と表現し、物質輸送通路として神経細胞へ向かう物質を監視制御していると考えた。また病的状態における、vasoglia unit も近年次第に検討されつつある²³⁾。

³²P を tracer としてみると損傷後明らかに破壊されていた B.B.B. は瘢痕形成後、すなわち gliosis 組織では明らかに修復されていることが認められた。しかし、正常脳組織とこのような瘢痕形成後にみられる星状膠細胞との間で物質代謝の上で差異があることは充分考えられる。今回物質の取り込み機構を主に観察するために非代謝性の物質である D-アミノ酸を用い、しかも B.B.B. を通過し難いものと、通過し易いものとの 2 つのアミノ酸を選び追求を進めてみた。脳組織に輸入されにくいグルタミン酸は高濃度の腹腔内投与でも脳組織内には血中濃度をはるかに上廻る増加は認められないが、血中濃度が急速に減少しているにもかかわらず脳組織内の含有量は投与前より明らかに高値を示し、且つ持続していた。すなわち、大量投与により脳組織内に取り込まれたと考えられるが、対照側と本組織ではピークに達する時間に差が認められた。一方、B.B.B. を容易に通過し得る物質であり、非代謝性の D-チロジンについてみると、その時間的消長は本組織、および対照側でほとんど変化がなく、D-グルタミン酸の取り込みと異なった態度を示した。このことは、本組織の物質の取り込み機構が正常脳組織とは異なっていることを示唆している。しかし、これら取り込み機構の相違が、正常な星状膠細胞と反応性星状膠細胞との相違か、あるいは、グリア細胞と神経細胞とが異なった輸送機構を有するためかは早急には結論が出せない。

生体膜は物質透過、物質代謝に密接な関連を有することが知られており、その主な構成成分に磷脂質がある。これが物質輸送に重要な役割を果し、特に浮腫脳

において異常な代謝パターンを示す^{9), 11)} ことも報告されている。本組織では磷脂質含有量は正常脳組織の約 70% であり、特に p-ethanolamine の代謝回転が早いという特徴が認められた。これは細細胞膜の、active transport に密接な関係を有する ATPase で、Mg-dependent ATPase が著明に高く、N-K-dependent ATPase が低いという本組織の膜における酵素的特徴と考え合わせると物質輸送機構の面で正常脳組織と明らかに異なった態度を示していると推察された。

以上、2 種のアミノ酸を用いてみた脳内への取り込み機構と磷脂質代謝の成績から本組織が特異な代謝を示すことがわかった。これらがグリア細胞と神経細胞の pooling mechanism の差によるものか、Davidoff のいう物質の取り込みに関する pathway の広狭さによるものかは早急には結論が出ないとしても、先に述べたグリア細胞の変化、特に glia fibrils の増殖、一方において vasoglia unit の基本構造が残存していること等考え合わせると、狭義の B.B.B. は損傷脳においても修復されているが、広義に輸送機構としてとらえる時は両者に明らかに差が認められた。これらはグリア細胞の増殖、あるいは増殖した glia fibrils をさらに細胞単位で究明することによって解明される問題と考えられる。

V. 結 語

白鼠脳半球片側前頭部に切取手術後反応性に増殖する gliosis 組織を作製し、この組織を対照側と比較しながら組織学的に時間的経過を観察し、さらに本組織が機能的にいかなる態度を示すかを特に B.B.B. の面から追求した。

1) 組織学的に glia fibrils の増殖は切取後 1 週間より始まり、1 ヶ月に星状膠細胞の核は分葉状を示し、細胞質および血管周囲足は glia fibrils で充たされ、毛細血管周囲はモザイク様に集積した星状膠細胞突起によりおおわれている。

2) gliosis 完成後も B.B.B. の形態学的基礎である内皮細胞—周皮細胞—基底膜—血管周囲足—星状膠細胞—神経細胞という脳における基本的構造は一応保たれ、vasoglia unit は残存している。

3) ³²P を tracer としてみた B.B.B. は浮腫期には対照側の約 4 倍量の取り込みを見るが、gliosis 組織では対照側とほとんど変化が認められず、B.B.B. は一応修復されたと考えられた。

4) 物質の取り込み機構を D-グルタミン酸、D-チ

ロジンの2種のアミノ酸を用いて検討すると、グルタミン酸では取り込み量のピークに達する時間にズレが認められた。B.B.B.を容易に通過するチロシンでは時間的消長は対照側とほとんど差を認めなかった。

5) 磷脂質代謝では本組織で磷脂質含有量は正常の70%であり、特に P-ethanolamine の磷酸の代謝回転が早いという代謝上の特徴が認められた。

本論文の要旨は第30回日本脳神経外科学会総会におけるパネル、ディスカッションにおいて発表した。稿を終るにあたり、終始御懇篤な御指導を頂き、かつ御校閲を賜わった恩師、栗津三郎教授、並びに第2生理学教室、平野修助教授に深甚なる感謝の意を捧げます。また本研究について御協力、御鞭撻を頂いた中野、柴田両博士に深謝し、併わせて、日々御支援頂いた第2外科教室員の方々に厚く御礼申し上げます。

文 献

- 1) Bakay, L., Yu, M. C. Ultrastructure of the central nervous system after prolonged hypoxia. II. neuroglia and blood vessels. *Acta Neuropath. (Berl.)* **22** : 235-244, 1972.
- 2) Bakay, L. : Studies on the blood-brain-barrier with radioactive phosphorus. *Arch. Neurol. Psychiat.* **66** : 419-426, 1951.
- 3) Bielschowsky, M. : Allgemeine Histologie und Histopathologie des Nervensystems, Bunke u. Foerstersche Handbuch d. Neurol., Bd. 1, Springer, Berlin, 1935.
- 4) Blakemore, W. F. : The ultrastructural appearance of astrocytes following thermal lesions of the rat cortex. *J. of the Neurological Sciences*, **12** : 319-332, 1971.
- 5) Cajal, S., Raman, Y. : Degeneration and regeneration in nervous system. 2 vol, transl. from Spanish ed. of 1913. Oxford Univ. press. London; Humphery, Milford, 1928.
- 6) Maxwell, D. S. : The fine structure of astrocytes in the cerebral cortex and their response to focal injury produced by heavy ionizing particles. *J. cell Biol.*, **25** : 141-157 1965.
- 7) Farquhar, M. G., Hartman, J. F. : Neuroglial structure and relationship as revealed by electron microscopy. *J. Neuropath. exp. Neurol.* **16** : 18-39 1957.
- 8) Gray, E. G. : Ultrastructure of synapses of the cerebral cortex and of certain specialization of neurological membranes. In *Electron Microscopy in Anatomy*. ed. J. D. Boyd, et al. *Anatom. Soc. Soc. G. B.* 54-66 1961.
- 9) Ishii, S. : Brain swelling. Studies of structural, physiologic and biochemical alterations in Head Injury. ed. by Caviness, W.F. and Walker, A. E., Lippincott, Philadelphia, 276-299, 1966.
- 10) Klatzo, I., Piraux, A. and Laskowski, E. J. : The relationship between edema, blood-brain-barrier and elements in a local brain injury. *J. Neuropath. exp. Neurol.* **17** : 548-564, 1958.
- 11) 駒井裕一 : 脳浮腫の生化学的研究—脂質構成を中心として—*脳の神経* **21** : 7, 43-56, 1969.
- 12) Luft, J. H. : Improventism epoxy resin embedding method. *J. Biophysic. Biochem. Cytol.* **9** : 409-414, 1961.
- 13) Lumsden, C. E. : Functinal aspects of glial apparatus. *Acta Neuol. belg.*, **57** : 472-484, 1957.
- 14) Luse, S. A., Harris, B. : Electron microscopy of the brain in experimental edema. *J. Neurosurg.* **17** : 439 1960.
- 15) 中野重徳 : 外傷脳の生化学的研究—特に切載脳グリア組織の代謝的特徴について。 *日本外科宝函*, **37** : 1, 177-187, 1968.
- 16) Penfield, W. : The mechanism of cicatrix contraction in the brain. *Brain*, **50** : 499-517, 1927.
- 17) Peters, A. : Plasma membr contacts in the central nervous system. *J. Anat. London*, **96** : 237-248, 1962.
- 18) Raimondi, A. J., Evans, J. P. and Mullan, S. : Studies of cerebral eduma : 3. Alterations in the white matter : An electron microscopic study using ferritin as a labeling compound. *Acta Neuropath.* **2** : 177-199, 1962.
- 19) Reese, T. S., Karnovsky, M. J. : Fine structural localization of a blood-brain-barrier to exogenous peroxidase. *J. cell Biol.*, **34** : 207-217, 1967.
- 20) Schnitt, F. O. : Molecular neurobiology in the context of the neurosciences. In the Neurosciences. Quarton, G.C., Melenechuk, T. and Schnitt, F. O. editors, The Rockefeller Univ. Press. N.Y. 1967.
- 21) Schultz, R. L., Pease, D. C. : Cicatrix formation in rat cerebral cortex revealed by electron microscopy. *Amer. J. Path.* **35** : 1017-1041, 1959.
- 22) 柴田家門 : 損傷脳に発生する反応性グリオース組織の生化学的研究 *脳と神経* **25** : 329-336, 1973.

- 23) 竹内正：脳血液関門，3，病理の立場から．日医会誌，67：9，1186-1191，1972.
- 24) Udenfriend, S. and Cooper, J.R.: Chemical estimation of tyrosine and thiamine. J. Biochem., Chem. 196：227-233, 1952.
- 25) Wigglesworth, V. B. : The nutrition of the central nervous system in the cockroach *periplaneta americana* L. The role of the perineurium and glial cells in the mobilization of reserves. J. exp. Biol., 37：500-512, 1960.
- 26) 山元寅男：電顕的にみた脳血液関門．日医会誌，67：9，1171-1179.