

実験的頭部外傷による神経細胞の変化の 電子顕微鏡的研究

京都大学医学部外科学教室第1講座(指導: 荒木千里教授)

牧 田 泰 正

(原稿受付 昭和37年10月4日)

ELECTRON MICROSCOPIC STUDY ON THE ALTERATIONS IN NERVE CELLS DUE TO EXPERIMENTAL HEAD INJURY

by

YASUMASA MAKITA

From the 1st Surgical Division, Kyoto University Medical School
(Director : Prof. Dr. CHISATO ARAKI)

In the present study, the author examined with electron microscope the ultra-structural details of changes in nerve cells due to head injury, which had roughly been known light microscopically. As a control experiment, anoxic changes were compared with traumatic changes.

MATERIAL AND METHOD

Adult cats, weighing 2.0 to 5.0kg were used. PURKINJE cells of the cerebellum were subjected to study, since they seemed the most suitable for electron microscopic study because of their regular distribution. Experimental animals were divided into five groups.

1) Group 1 : A single air-pulse by an air-gun was given in vertical direction to the dura mater directly through a small trephine hole just under external occipital protuberance.

2) Group 2 : An air-pulse was given in the same manner as in group 1 through a small trephine hole in the parietal region on one side.

3) Group 3 : A small craniectomy (1.5×1.5 cm) with its center at external occipital protuberance was made and the overlying scalp flap was replaced. Air-pulses were delivered directly over the scalp covering the bone defect five times successively.

4) Group 4 : A tracheotomy was performed, and 0.5mg/kg of succin was given intravenously. After the suspension of respiration for 1 to 6 minutes, positive-pressure-artificial respiration was carried out through an intratracheal cannula.

5) Group 5 : A) A head injury was given in the same manner as in group 2 without artificial respiration. B) The same as in group 2 with artificial respiration.

Clinical findings following the trauma are shown in table 1. Animals were observed from half an hour to 40 days after trauma in groups 1~3, and 24 hours in groups 4 and 5.

Specimens were fixed for 2 hours in 2 per cent osmium tetroxide (pH 7.2) buffered with phosphate buffer. After fixation, the specimens were dehydrated in ethyl alcohol and embedded in 7 : 3 mixture of n-butyl and methyl methacrylate or 1 : 1 mixture of epon 112 and epon 115. Shimadzu microtom was used for ultra-thin sectioning. Electron microscopes used were Akashi TRS-50 and Hitachi HS-6 model.

RESULTS AND DISCUSSION

1) Normal picture of PURKINJE CELLS (Figs. 1, 2):

Nissl body which was composed of ergastoplasmic-membranous sacs and associated finely granular components had a characteristic appearance in the cytoplasm. Golgi apparatus consisted of paired lamellar membranes, clusters of small vesicles and large vacuoles. Mitochondria containing either transversely or longitudinally oriented cristae and dense bodies which seemed to be lysosome were scattered throughout the cytoplasm. Neurofilaments were scarce in perikaryon, but were abundant in the initial portions of axon and dendrite (Figs. 3, 4). Nucleus encircled with double nuclear membranes contained dispersed or occasionally conglomerated chromatin particles and one prominent dark nucleolus.

2) Alterations in group 1 and group 3.

A) Macroscopic findings : A few petechial haemorrhages and slight subdural hematomas were sometimes seen.

B) Electron microscopic findings : The severity and course of alterations of injured nerve cells were almost similar in these two groups. Changes were noticed within 1 hour after injury, and reached the maximum about 2 days later. Enlargement of cisternae of ergastoplasm with decrease in number of ribonucleoprotein particles were apparent in all cells, and the number of Nissl bodies decreased conspicuously in animals which had survived more than 24 hours after injury.

Mitochondria swelled up at first, and then showed decrease in density of matrix, disorientation of cristae and vacuolation in them. In the final stage, some of mitochondria disappeared completely.

Golgi membranes were dilated and Golgi vesicles and vacuoles were extended 2 hours after injury. When the three components of Golgi apparatus were dilated or extended, it was difficult to differentiate them from extended reticulum of Nissl bodies which had lost their RNA-granules (Fig. 8).

Dense body became more electron-dense (Fig. 7), and a few dense bodies fused into one large irregular dense body (Figs. 10, 14).

Neurofilaments almost disappeared after 24 hours (Fig. 8). Nuclear materials were clumped together in masses or particles in irregular distribution throughout nucleus (Fig. 7) or in attachment with nuclear membrane (Fig. 21). Nuclear membranes showed indentation, infolding and dilatation (Figs. 11, 21). Nucleolus was variable in location, and sometimes enlarged (Fig. 23).

About 4 days later, injured nerve cells began to regenerate, and all cytoplasmic organelles recovered gradually. In this stage, some evidences suggested that Nissl bodies and mitochondria budded off from nuclear membranes (Figs. 12, 16), but some others showed that Nissl bodies and mitochondria developed possibly by division. 30~40 days after injury,

most of PURKINJE cells were nearly normal in appearance, but in some cells, slight changes were still recognizable (Figs. 18, 19).

3) Alterations in group 2 :

A) Macroscopic findings : In few cases, small subdural hematomas were present in the shot region, but no abnormality was seen in the cerebellum.

B) Electron microscopic findings : The type and course of degeneration and regeneration in this group were similar to those in the former two groups, but mitochondrial changes in this group were slight, and sometimes mitochondria with denser matrix were present (Fig. 22).

4 days after injury, signs of recovery were seen in this group (Fig. 23) and 14 days later, greater parts of nerve cells showed the normal picture (Fig. 25).

Contrary to those reversible alterations, there were cells of overall high density (pyknotic change) (Fig. 5) or cells with watery cytoplasm (Figs. 28, 29) in early stages. These changes were supposed to be irreversible and these cells seemed to have undergone lysis or destruction. However, in this study, it was impossible to decide definitely by electron microscopy whether these alterations were irreversible or not.

4) Alterations in group 4 : In animals with apnoea for 1 minute, no special changes were observed. Changes in nerve cells following apnoea for more than 2 minutes were similar to those of head injury (Figs. 26, 27). Therefore, alterations after head injury may be due partly to apnoea if it lasts for more than 2 minutes.

5) Alterations in group 5 : Group A and B did not exhibit obvious difference, because apnoea in all experimental animals of these groups was within 1 minute.

CONCLUSION

1) After head injury, all cytoplasmic organelles of PURKINJE cells were degenerated, but most alterations were of reversible nature.

2) In cerebral concussion in which no abnormality was found macroscopically and light microscopically, changes of the similar nature to those of contusion were observed. However, recovery occurred sooner than that of contusion.

3) It was impossible to decide definitely under electron microscope whether the alterations were irreversible or not.

4) It was supposed that apnoea at the time of head injury seemed to be a supplementary factor of alterations due to head injury.

結 言

脳振盪症は元来一過性の意識障害を来すも、脳に器質的変化を伴わないものと考えられて来た。1895年 Büdinger が脳振盪症後の脳神経細胞内に微細なる変化を指摘して以来 Windle, Groat and Fox, Rand and Courville 等多くの光学顕微鏡(以下光顕と略す)による研究、教室松島の光顕並びに位相差顕微鏡による研究があり、脳振盪に組織学的変化を認める者が多い。

私は光顕及び位相差顕微鏡にて認められて居る変化の詳細を知り、更にそれらの顕微鏡の分解能では知り得なかつた変化を追求する目的で、猫に何等肉眼的変化を伴わないで意識障害を来す頭部外傷を作成し、高度な解像力のある電子顕微鏡(以下電顕と略す)を用いて研究を行つた。電顕の生物分野への応用のかなり進んだ現在でも脳神経細胞の病理形態学的研究は甚だ少い。そこで、1) 今迄行われて居る電顕に用いる標本作成の過程並びに技術に検討を加え、2) artifact を

来すと考えられる諸種原因を可久的に避けて、神経細胞の正常像を確かめ、3) 脳振盪症に近い外傷、脳挫傷に近い外傷、及びその中間程度の3群の外傷を作成して、外力の強さと細胞変化の程度並びに夫々の変化

の時間的推移を観察し、4) 変化の可逆性、非可逆性に考察を加え、5) 外傷後一過性に起る無呼吸の神経細胞に及ぼす影響に對し検討を行った。

第 1 篇 予 備 実 験

電顕にて一定の脳神経細胞を毎常確実に捉える事は極めて困難である。そこで、その規則正しい排列の故に比較的容易と思われる小脳 Purkinje 細胞を選んで実験の対象とし、Purkinje 細胞の正常像を確かめ、本実験を円滑に進める為に次の検討を行った。

1) 本実験に於ては、Purkinje 細胞の存在部位を決める為に楔状のブロックを作成した。標本作成時に出血が多いと標本は汚染し、時間も長くかつた。そこで、頸動脈より脱血しつつ死亡直前に標本を取り終る事にしたが、頸動脈より脱血したものと然らざるものの細胞内構造に相違は認められなかつた。

2) Luse は麻酔下開頭にて、30 分乃至 60 分で稀突起膠細胞の突起の拡大を来すが、神経細胞には変化は認めなかつたと述べて居る。本実験では麻酔は単時間であるが、a) ether による浅麻酔のみの場合、b) nembutal (0.5cc/kg) による深麻酔のみの場合、c) nembutal 麻酔下無菌的に後頭結節下に試験開頭を行った場合の3群を夫々24時間飼育し、夫々の Purkinje 細胞を対比したが、何等相違は認められなかつた。

3) 正常動物に於ても Fig. 5 の如き細胞が時に発見された。即ち、細胞全体の電子密度が増し、各 organelle の間隙が殆んど無くなつたものから、内部構造が全く分別出来ないもの迄種々の程度のものを認めた。これは光顕上の pyknotic change に相当するものと思われる。本実験に於て、前述の如くブロックは部位を決める為に電顕標本の常識を破つて 3mm 角程度のものを用いたので、固定力の弱い OsO_4 による固定では、固定が完了する迄にブロックの深部では死後変化が起るのではないかと云う推定の下、ブロックの表面より深部への連続切片を観察した処が明らかに深部になる程かかる細胞の多くなる事を確かめ得た。次で脱血死せしめて2時間後の動物よりブロックを作成し、同様に固定包埋後観察した処、ブロックの表面に於ても黒化細胞を多数発見した。以上の所見と、Cajal が Purkinje 細胞は非常に感受性が強く急速に変化すると述べて居る事実より、斯かる細胞は死後変化乃至は固定完了迄に生じた変性と考へて実験の対象とせず、急

速に十分固定されたと考えられるブロックの極く表面より超薄切片を作成する事とした。

以上の結果より、標本作成時は nembutal 麻酔下にて脱血しつつ死亡前に標本を取り終り、phosphate buffer を加えた 2% OsO_4 (pH7.2) で氷室内2時間固定後、脱水はエタノール系列により40%から10%おきに10分ずつ、100%は30分間2回を行い、methacrylate (n-butyl : methyl methacrylate = 7:3) に包埋し、一部は内田の方法に従い、epon (epon815 : epon812 = 1:1) 包埋を行った。超薄切片作成には Shimadzu ultramicrotom を使用し、電顕は Akashi Tronscope TRS-50 と Hitachi HS-6 型を用い、直接倍率 1,500~6,000 倍にて撮影した。

Purkinje 細胞の正常像：

Fig. 1 は全体像、Fig. 2 は他の細胞の強拡大像である。核は胞体のほぼ中央に位置し、円形又は橢円形で厚い内膜と薄い外膜の2重膜にて囲まれて居る。核質は chromatin の小顆粒が漸進性に拡がり、所々に集合をなして居る。核小体は電子密度の高い小顆粒の集合体の像を示し、限界膜を有して居ない。細胞質には Nissl body と考えられて居る rough surfaced endoplasmic reticulum が豊富に認められる。即ち、薄膜の一侧の面に膜の厚さより直径のやや大きい Palade and Siekevitz 以後 RNA 顆粒と信じられて居る小顆粒が附着して粗面をなし、他の面は平滑で、対峙する膜の間に電子密度の小なる腔を有して居る。mitochondria も Cajal 等が光顕で Purkinje 細胞に多いと述べて居る如く豊富に認められ、外面は2重の薄膜で限界され、内部には cristae mitochondriales が通常長軸に直角に並んで居る。Golgi apparatus は Sjöstrand, Dalton 以後認められて居る Golgi membrane, Golgi vesicle, Golgi vacuole の3つの形態を示す部位を有し、表面に顆粒を有して居ない。dense body は細胞質内に散在性に存在する電子密度大なる直径 0.2~0.6 μ 程度の小体で、一般に脂質顆粒等と呼ばれて居る organelle である。neurofilament は細胞質内に束状又は錯雑して走行する線維状の構造で余り豊富には認められないが、ax-

on, dendrite への移行部で急に多くなり、夫々の neurofilament に移行して居る (Fig. 3, Fig. 4). 細胞膜

も2重膜構造を示し神経膠細胞の突起、小脳顆粒細胞の細胞膜、毛細血管の基底膜等と接して居る。

第2篇 本 実 験

第1章 実験動物び実験方法

実験動物は2.0~5.0kgの成熟猫111匹を使用し、次の5群に分けて実験を行った。

1) 第1群: ether 麻酔下後頭結節の下で、正中線上に drill で直径約2.5mmの円形開頭を行い、麻酔が浅くなり角膜反射、耳翼反射の起るのを待つて後、小脳硬膜上約1.0cmの距離から当教室が頭部外傷作成に使用して居る実験用空気銃にて小脳表面に直角方向に空撃した。この際の衝撃エネルギーは約 4×10^4 erg であった。本群の実験動物は表1に示す如く44例で、その中16例が外傷直後に死亡、4例が飼育中に死亡して、生存例は24例であった。空撃直後死亡例は全例に於て空撃直後に全身痙攣を来し、呼吸麻痺で死亡した。生存例では30秒から10分間侵害反射は消失し、同時に10秒乃至5分間の呼吸停止を来した。侵害反射の消失は、1) 耳翼反射の消失、2) 角膜反射の消失、3) 瞳孔反射の消失をもつて判定規準としたが、かかる状態は荒木教授の無反応第3度以上に相当する。尚呼吸停止の間は徒手的人工呼吸を行った。受傷後数日は全例に於て食欲なく横臥し、強いて歩行させると著明なる運動失調を認めた。本群の実験動物は実験後30分乃至40日間飼育して後、予備実験に述べた方法で標本を作成した。

Table I. Clinical findings after the head injuries in experimental animals

Group	Total	Unresponsiveness	Apnoea	Death	Survival Rate
1	44	44	44	20(4)	55%
2	37	36	34	7(5)	81.1%
3	11	6	11	1(1)	90.9%
5	A	3	3	0	100%
	B	3	3	0	100%

(): Number of death later than 24 hours after injuries

2) 第2群: 本群は教室長崎が脳振盪作成に用い、教室松島が同一条件の Purkinje 細胞を従来の Nissl 染色法及び位相差顕微鏡で観察し、変化を認めなかつ

た方法である。即ち、ether 麻酔下一側頭頂部で正中線より約1.0cm側方に drill で直径約2.5mmの円形開頭を行い、第1群と同一の空気銃を用い、硬膜上約5mmの距離より同一排出圧力で垂直方向に空撃した。本群の実験動物は37例で、2例が空撃直後に、5例が飼育中に死亡し、生存例は30例であった。本群は1例を除き10秒乃至5分間の侵害反射消失を来し、3例を除き10秒乃至3分間の呼吸停止を来した。本群の空撃による全身状態の変化は第1群とほぼ同程度であったが、運動失調は数例に認めたのみであった。本群は30分乃至14日間飼育し、第1群と同様に標本を作成した。

3) 第3群: 第1群と第2群の中間程度の外傷の影響を見る為に、ether 麻酔下で後頭結節を中心に直径約15mmの円形開頭を行い、皮膚を縫合して後、実験用空気銃の銃口を骨欠損部の中央に置き、皮膚に密着させて小脳表面に直角方向に連続5回の空撃を行った。此の際の空気銃の1回の排出圧力は略 5×10^4 erg であった。本群の実験動物は11例で、飼育中に1例が死亡した。実験直後11例中5例は10秒乃至1分30秒間侵害反射が消失し、同時に一時的呼吸停止を来した。本群は1時間乃至30日間飼育し、前記2群と同様に標本を作成して、epon 包埋と methacrylate 包埋を行った。

4) 第4群: 前記各群の空撃直後、多数例に於て一時的呼吸停止を伴った。無呼吸による脳低酸素血症が外傷による神経細胞の変化発現に関与して居ないかどうかを観察する為に本実験を行った。即ち、nembutal 麻酔下気管切開を行い、陽圧呼吸器に接続し、succin 0.5mg/kg を静注して1分間乃至6分間呼吸を停止せしめて後、人工呼吸を行った。人工呼吸は教室細野に従い毎分200cc、30回の割合で外気を吹き入れた。自発呼吸開始迄に23分乃至1時間26分を要し、呼吸停止時間が長くなるにつれて自発呼吸開始は一般に遅れた。本群の実験動物は13例で、1分乃至4分間呼吸停止では死亡例はなかつたが、5分間呼吸停止で3例中2例、6分間呼吸停止で2例中2例が死亡した。実験動物は24時間飼育後標本を作成した。

5) 第5群: 低酸素血症が外傷後の神経細胞の変化に関与して居るとすれば、外傷後に最初より人工呼吸

を行つた場合と、全く人工呼吸を行わなかつた場合では変化に差が現われる事が予想された。そこで次の実験を行つた。

A) 3例を用い、ether 麻酔下、第4群と同様に人工呼吸器に接続して後、第2群と同一条件にて外傷を与え、同時に、第4群の条件で人工呼吸を行つた。3例共1分以内に自発呼吸を開始し、10秒乃至1分20秒の侵害反射消失を見た。

B) 3例を用い、第2群と同一条件の外傷を与え、呼吸停止に際し人工呼吸を行はなかつた。本群は全例1分以内に自発呼吸を開始し、5秒乃至1分間の侵害反射消失を見た。A群、B群共に24時間飼育後標本を作成した。

第2章 実験結果

1) 第1群：

a) 肉眼的所見：生存例24例中5例に硬膜下血腫を認めたが、血腫は何れも軽度で小脳実質を圧迫する程のものではなかつた。死亡例20例中2例に於て、硬膜が破れて小脳実質に挫滅創を認め、2例に小さい血腫を認めた。其他初期のものに硬膜の充血、長期飼育例に硬膜の肥厚を認めたが、他に肉眼的所見は見られなかつた。

b) 電顕的所見：空撃後1時間で Nissl body の2重膜の内腔の間隙が開き、表面の RNA 顆粒の減少が起り始める。そして Golgi apparatus の3要素は何れもその腔が大となり、mitochondria は軽度に膨隆したものが現われ、dense body 内の高電子密度顆粒が増加して、全体の電子密度が上昇し始める (Fig. 6)。此の時期には尚正常像を示す細胞も認められる。2時間後には各々の変化は進行し、mitochondria は matrix の電子密度の低下したもの、cristae の走行の乱れたもの、更には cristae 構造を殆んど持たないものが現われて来る。6時間後には mitochondria の空泡化したものが出現し、dense body は大形で外形の不規則な高電子密度のものが認められる (Fig. 7)。24時間後には Nissl body は vacuole 状となり、顆粒は殆んど持たず、Golgi apparatus の拡大したものととの区別がつかなくなる。mitochondria は大部分のものの matrix の電子密度は低下し、内部構造を持たず外膜のみ残つて vacuole 状になつたものや、中には外膜の破壊されたものも認められる様になる。dense body は大形となり、外側が不規則で数個が融合したかの如き像を示し、電子密度も上昇する。neurofilament は此の時期に

は殆んど認められなくなる (Fig. 8)。細胞質の電子密度の低下に反し、此の頃より核の chromatin 顆粒は増加し、核は全体として高電子密度となる。又核膜の凹凸も強くなる。かくして、2日後に変化は最高に達する (Fig. 10)。此の頃より外側核膜の細胞質内への突出像を認める (Fig. 11)。そして4日後位には Nissl body の回復像と考えられる外側核膜と Nissl body の連続像や、枝分れた像が認められる様になる (Fig. 12)。又此の時期には時に内部構造に乏しい小形の mitochondria が散在性に出現し殆める。7日後には Nissl body の膜系は尚開いて居るが RNA 顆粒の増加の著明なもの (Fig. 14)、かなり正常像に近く回復して居るもの (Fig. 15) 等を認める。4日後頃より現われ始めた小形の mitochondria は次第に大きくなり、内部に cristae 構造を持つ様になつて来る。Golgi apparatus は正常に近い像を示すものが多くなるが (Fig. 15)、dense body は尚数個の融合像を示す事が多い (Fig. 14)。10日後には各々の organella は更に回復し、neurofilament の構造も現われて来る。14日後には殆んど正常像を示すもの (Fig. 17) や、尚軽度の変化を残すものもあるが、漸次回復して居る。40日後には大部分の細胞は回復して居る。然し軽度の変化を認める事もある (Fig. 19)。

以上の如く同一症例でも細胞により変化の程度にかなりの巾があるが、本群の肉眼的変化を認めた5例も、肉眼的変化を認めなかつたものと大体同程度の変化を示して居た。

2) 第2群：

a) 肉眼的所見：空撃直後死亡した2例中1例に空撃局所に巨大なる硬膜下血腫を認め、飼育中に死亡した5例中1例、生存例の1例に小さい硬膜下血腫を認めた以外に大脳実質に肉眼的変化は認めず、小脳実質には勿論何等肉眼的変化は認めなかつた。

b) 電顕的所見：30分、1時間後のものには、何等変化は認められなかつた (Fig. 20)。2時間後には膜系の開大、顆粒の減少、dense body の変化が現われ始める。24時間後には第1群と良く似た変化が現われるが、変化は一般に軽度であり、特に mitochondria の変化は少い (Fig. 21)。2日後には変化は最高に達し、時に高電子密度の mitochondria が出現する (Fig. 22)。4日後には変化は回復に向かい (Fig. 23)、7日後には殆んど正常に復し (Fig. 24)、14日後には完全に回復した (Fig. 25)。

3) 第3群：

a) 肉眼的所見：生存例，死亡例共局所に何等肉眼的変化を認めなかつた。

b) 電顕的所見：本群は第1群と同程度の変化を示し，回復は第1群よりやや早かつた。本群は methacrylate 包埋と epon 包埋を対比したが，両者の細胞内構造は同様の変化の過程を示した (Fig. 9, Fig. 13). 本群は30日後に尚お軽度の変化を残すものを認めた (Fig. 18).

4) 第4群：

電顕的所見：1分間呼吸停止例では時に軽度の膜系の拡大が認められたが，他に変化は認められなかつた。2分間呼吸停止例では膜系の開大，RNA 顆粒の減少が起り，dense body の融合像，mitochondria の matrix の電子密度の低下，空泡化を認めた (Fig. 26). 3分間停止例では夫々の変化は更に高度となるが，外傷群程激しくはない (Fig. 27). 4分停止例，5分停止例では3分停止例より変化がやや高度であつた。本群に於ても，第1群，第3群に比べて mitochondria の変化は特に軽度であつた。

5) 第5群：

a) 肉眼的所見：A群の1例に於いて空撃局所に小血腫を認めた以外には肉眼的変化は認められなかつた。

b) 電顕的所見：A群，B群共に第2群の24時間後の変化と同程度で，有意の差は認められなかつた。

第3章 考 按

脳振盪症による脳神経細胞の変化に対し，1895年 Büdinger が染色性的変化を指摘して以後，Scagliosi, Cajal, Minkowski, Windle, Groat and Fox, Rand and Courville, Tedeschi, Chason, Hardy and Webster 等多くの光顕にて組織学的変化の存在を肯定する研究がある。1960年教室松島が猫を用い，本実験の第1群，第2群，第3群と同一条件の頭部外傷を作成し，Nissl 染色と位相差法を対比し，脳振盪に極く近い外傷群と考えられる第2群に於ては何等変化を認めなかつたと述べて居る。そこで私は電顕を取り上げ，従来の顕微鏡で認められて居る変化の詳細を知り，更に今迄の組織学的方法では認められなかつた微細な変化を知ろうと前記の実験を行った。

先づ変化の存在を肯定する何れの研究者も極く早期に chromatolysis の起る事を記載して居る。現在神経細胞に於て，rough surfaced endoplasmic reticulum が Nissl body の構造に一致する事は一般に信じられて居

る。本実験では実験後1時間頃より endoplasmic reticulum の2層間の開大，長軸の短小化，即ち立体的には扁平なものが次第に洞状に変化し，表面のRNA顆粒の減少が起り始め，24時間から2日後に最大となり，消失に向かうものが多い。松島が本実験の外傷と同一条件の外傷脳に於て，1時間後に chromatolysis の出現を認めて居る事実より，endoplasmic reticulum は消失しなくても開大し，顆粒の減少が始まつたものには染色性的変化が起り Nissl 染色法では chromatolysis の像を示す事が想像される。かかる endoplasmic reticulum の変化は，Palay and Palade, 本陣，大和，Vial, Smith 等の末梢神経切断後の神経細胞の変化，吉田の電気ショック後の Purkinje 細胞及び小脳顆粒細胞の変化，Roizin, Rugh 等のレ線照射後の脳神経細胞の変化，石井，谷，関谷，渡辺等の脳浮腫時の神経細胞の変化に一致して居る。神経細胞以外の細胞でも，種々の病的状態に於て斯かる変化が認められて居る。本実験では2乃至4日後より外側核膜の細胞質内への突出像が現われ (Fig. 11, Fig. 21), 4~7日後には外側核膜と Nissl body の連続像並びに Nissl body の枝分かれした像 (Fig. 12) が現われて来る。これは Watson, Moe, 本陣，大和等も記載して居る如く Nissl body の再生像と考えられる。然し Nissl body は核膜より離れた部位に於ても散在性に出現して居り (Fig. 14,), Nissl body の再生は核膜からのみと云つた単一のものではない様である。Bernhard and Rouiller は断食にて，肝の mitochondria の周囲以外は endoplasmic reticulum は消失し，食事を与えると再出現する事より，endoplasmic reticulum の再生に際し，mitochondria がエネルギーを与えると述べて居るが，本実験では mitochondria の周囲に Nissl body が特に多いと云つた所見は得られなかつた。RNA 顆粒の回復は Watson, Wischnitzer, 大和等は核小体の顆粒が核孔を通じて細胞質内へ移行し，endoplasmic reticulum の顆粒となると述べて居るが，本実験ではその様な像は得られなかつた。然し Nissl body の回復期に chromatin 顆粒の集団が核膜の周囲に集り，細胞質内の顆粒の集団と連続したかの如き像はよく認められ，又此の時期に細胞質の核膜周囲に遊離した顆粒が多く認められる事は Caspersen に始まり，Einerson, Richter 等の云う，核小体で作られた RNA は核膜を通じて細胞質内へ出た後，複雑なる cytoplasmic protein に合成されると云う仮説を裏書きして居る様である。chromatolysis の回復は外傷の程度によりかなりの差が認められる。即ち，Rand

and Courville は39日後に, Mairret and Durante は5~9ヵ月後に, Hess は30日後に chromatolysis の存在を認めて居る。本実験に於ては, 第1群で40日後に, 第3群で30日後に各 organella の軽度の変化を認めたが, 第2群に於ては, 1週間後には殆んど回復し, 2週間後には完全に回復した。

Golgi apparatus は Nissl body の変化と前後して Golgi vacuole, Golgi membrane, Golgi vesicle の3要素は何れも内腔が拡大し, Nissl body の顆粒が減少して内腔の拡大したものとの区別が困難となり, 変化の激しい細胞に於ては, Golgi apparatus も消失するものがある。そして Nissl body と前後して回復する。その過程は拡大したものは次第に内腔が狭小になる様であるが, 消失したものについては, その新生の基盤になるものは不明であつた。唯回復期の Golgi 野に小 vesicle が多数認められる事が多かつた (Fig. 23)。又 Golgi apparatus の変化の激しい時期に Backer, Dalton 等は脂肪, 其他の顆粒を取り込むと述べて居るが, 其の様な所見は得られず, Deane and Dempsey, Montagna, Weiss and Fawcett 等は Golgi zone に high acid phosphatase activity を認めて居るので, 後述の dense body 即ち lysosome との関係を注意深く観察したが, 何等関連性は認められなかつた。Pitcock は脳へのレ線照射にて Golgi complex は小 vesicle に破壊されると述べて居るが, 本実験でも時に小 vesicle が多数現れたり (Fig. 6), Golgi membrane が断裂して vesicle 様の像を示す事があつた。

mitochondria は外傷後2時間頃より変化が起る。先づ膨隆に始まり, matrix の電子密度の低下, cristae の走行異常, 短小化, Rosenbluth 等の multivesicular body 様の構造 (Fig. 6, Fig. 21), を示すものが現われ, 更には空泡化, mitomembrane の破壊が起り, mitochondria は全体として次第に数が減少する。これらの変化は Vial, Smith, Barton, 本陣等の未梢神経切断後, Pitcock, Roizin, Rugh and Kaufman のレ線照射後, Luse, 石井, 谷等の脳浮腫時の神経細胞の変化に一致する。又第2群の極期には時に matrix の電子密度の上昇した mitochondria が認められた (Fig. 22)。かかる高電子密度の mitochondria は Hess 等が未梢神経切断後に認めて居り, Roizin 等はレ線照射後に時々現われると述べて居る。神経細胞以外にも斯かる変化は, Gancer and Rouiller の断食時の肝, 腎, Okada and Peachy のレ線照射後の肝等に於て認められて居る。mitochondria の回復については, 大体4病日頃より膨

隆したものが縮少する以外に, 小形の内部構造に乏しい mitochondria が細胞質内に散在性に出現する。これらは他の organella の回復につれて次第に大きくなると同時に内部構造を持つて来るので, 変性の過程ではなく新生されたものと考えられる。mitochondria の新生については未だ定説はなく, 1) Bernhard 等の endoplasmic reticulum を origin とするもの, 2) Rouiller, Roth, Karasaki 等の microbody を origin とするもの, 3) Wahlfarth-Bottermann 等の small cytoplasmic vesicle を origin とするもの, 4) Causey, Hoffmann, Steinert 等の核膜を origin とするもの等諸説があり Hartmann, Novikoff, Bottlmann and Karasaki 等は mitochondria 自身の分裂を認めて居る。本実験に於ては新生の origin と考えられるもの, 及び分裂の明確なる像は得られなかつたが, Barton and Causey 等が認めて居る核膜との連続像 (Fig. 16) が得られた。これは mitochondria が核より何らかの物質の供給を受けて居る像とか, 核膜の偶然的膨出像と云うより, mitochondria が核膜より新生されつつあるものと考えたい像である。又回復期に長形の mitochondria が散見されたり, 一部がくびれたものが時に認められるので, 分裂も行はれて居る事は想像される。Hess, Fawcett 等は mitochondria が pigment body, lipid に変化すると述べて居るが, 其の様な所見は得られなかつた。

dense body はその大きさ, 表面の性状, 電子密度より lysosome と考えられる。1959年 de Duve が脳に lysosome の存在を暗示して以来, 種々の部位に発見され, Becker and Barron, 教室鈴木も光顕で high acid phosphatase activity の organella を Purkinje 細胞に多数認めて居り, 更に小川はこれを電顕的に同定して居る。これは dense inclusion body, microbody, 脂質顆粒等と呼ばれて居るが, unit membrane を持ち, acid phosphatase activity の高い事より, de Duve, Novikoff and Essner の lysosome の定義に従うと lysosome と呼んでいいと思われる。然し, 全部のものに確実に unit membrane を認める事が出来なかつたし, 私自身電顕的に同定を行つて居ない為, dense body と呼んだ。dense body は実験後2時間頃よりやや膨大し, 電子密度を増す。24時間後には, あるものは縮少し, 同時に数個のものが融合したかの如き像を示し, 不規則な大形の organella を形成して来る。この原因については不明であるが, 光顕で鈴木が anoxia により Purkinje 細胞の lysosome の減少を指摘して居り, Becker and Barron は anoxia により cytolysosome formation 即ち膨隆を指

摘し、数の減少と集団を作ると述べて居る。本実験に於ても末期に細胞質の核より離れた部位に集団を作る事を度々認めた。dense bodyはmitochondriaよりやや早く回復するが、回復に伴ない数の増加するのは、回復期に融合像の個々のbody間が粗になつて居る事より、再び分離するのではないかと考えられる(Fig. 14).

neurofilamentはPurkinje細胞に於ては数が少く詳細な観察は困難であるが、24時間後位より消失し、7日乃至10日後に再び現われて来る。その過程及び原因については不明であるが、Smith, Vial等はWallerian degenerationに際し、neurofilamentは早期に減少すると述べて居る。

核小体は光顕でRand and Courville等が記載して居る空泡化は認められなかつた。細胞の変化の激しい2日より10日後位にBarton and Causey等が述べて居る如く、核小体の辺在性、膨化が時に認められた。又核小体の顆粒の間隙が拡がり、空泡様の構造を示す事があるが(Fig. 23)、これは正常時より存在する顆粒の間隙が増しただけであり、その部は低電子密度で核小体の顆粒より小さい顆粒によつて満たされて居る。

核のchromatinは24時間後頃より一般に増加し、光顕でも認められて居る様に種々の形の集合像を示し、特に細胞の回復期には核膜に接したり、核膜の周辺部の集団が多くなる。光顕でよく記載されて居る核膜の厚さの変化は、外側核膜の波立ちの爲と考えられ(Fig. 11, Fig. 21)、又凹凸の増加も電顕的に良く認められた。

以上各群共程度の差はあるが同様の変化の過程を示し、変化の程度は外傷の外力の強さが強い程大で、回復にも時間を要した。第2群の外傷は猫の天幕は骨化して居る為、Purkinje細胞には直接外力は殆んど加わつて居らず、人脳に於ける脳振盪に近いものと考えられる。第2群は光顕並びに位相差顕微鏡では変化は認められて居ないが、電顕的には軽度ではあるが明らかに他の群と良く似た変化を示した。又本群の変化の出現は他の群よりやや遅れて居る。これは脳振盪に於て振動乃至は圧力が加わる以外に種々の代謝に変化が起り、受傷部より離れた位置にある神経細胞は2次的に変化を受ける事が想像される。又本群に於て特徴的な事はmitochondriaの変化が他の群に比べて特に軽度な事である。mitochondria以外のorganellaの変化は第1群、第3群と余り変らないのに、mitochondriaの変化の軽度な本群に於て細胞全体の回復が早いと云う事は、mitochondriaの変化の軽い様な外傷に於ては形態

的に他のorganellaの変化が激しくても細胞全体としての機能は良く保たれて居る為か、mitochondria自身が他のorganellaの回復に大きく貢献して居る為かは不明であるが興味深い事実である。

今迄述べた可逆性変化に対し、予備実験で述べたosmiophilicな細胞(Fig. 5)は初期に於て、ブロックのかなり表面より超薄切片を作成しても発見される事があり、後期のもので小脳顆粒細胞層に時にPurkinje細胞のaxonと思われる黒化像を認める事がある。そこで斯かる変化は非可逆性変化として外傷により起る事もあると考えられる。然し前述の如く固定迄に起る変化と区別出来ないので非可逆性変化と断定する事は出来なかつた。又Fig. 28, Fig. 29の如き細胞が2時間後より2日後位迄に時々発見された。斯かる細胞の生存は考え難く、又各群に於て4日以後には全く発見されなかつたので、非可逆性変化と考え、如何なる形でcytolysisに移行するかを詳細に観察したが、cytolysisを来した部位は完全にneuropileと置き換えられて居り、その過程は不明であつた。そしてcytolysisを来した部位に小膠細胞は必ずしも多くはなく、渡辺も述べて居る如く、phagocytosisは小膠細胞以外の神経膠細胞でも行われて居るのではないかと想像された。

次に外傷時一過性に起る無呼吸による脳低酸素血症が外傷後の細胞変化に関与して居ないかを見る為に、第4群の実験を行つた。2分以上呼吸停止例でmitochondriaの変化は軽度であるが、他のorganellaは外傷群と良く似た変化を示した。依つて2分以上呼吸停止を来した外傷に於て人工呼吸を行わなかつた場合は、無呼吸による影響が加わる事は確実である。又2分以下の無呼吸に於ても形態的变化は余り認め得なかつたけれど、他の因子と共に外傷後の神経細胞の変化出現に関与して居る事は推測される。

外傷群の実験に於て、外傷直後無呼吸を来した例には徒手的人工呼吸を行つたが、第4群の結果に鑑み、外傷後人工呼吸を行つた場合と然らざる場合でどの程度の相違があるか、又如何なるorganellaにその差が強く現われるかを見る為に、第5群の実験を行つた。然し不幸にしてA群、B群共全例に於て1分以内に自発呼吸を開始し、期待する結果は得られなかつた。然し2分間以上呼吸停止を来す様な外傷を与えたならば有意の差を認め得たかも知れない。

第4章 結 語

猫を用い、実験的に肉眼的変化を伴わないで一過性の意識障害を来す頭部外傷を、空気銃による空撃法にて作成し、電顕を用いて小脳 Purkinje 細胞の変化を追求し、更に外傷時一過性に起る無呼吸の影響を観察して、次の結論を得た。

1) 脳挫傷に近いと考えられる比較的強い外傷にて神経細胞内の各 organelle は夫々著明な変化を受けるが、多くは可逆性変化であつた。

2) 光顕及び位相差顕微鏡の分解能では変化が認められなかつた脳振盪症に近い外傷に於ても、脳挫傷群と良く似た変化が認められた。然し変化は単期間に回復した。尚この程度の外傷に於ては mitochondria の変化は特に軽度であつた。

3) 非可逆性変化もある様に思われるが、これを電顕的に確証する事は出来なかつた。

4) 呼吸を停止せしめた動物の神経細胞に於て、2分間以上呼吸停止例で外傷群と良く似た変化が現われた。即ち、外傷時の呼吸停止時間が或る程度長びいた場合には、呼吸停止は外傷後の神経細胞の変化の補助的因子となり得ると考えられる。

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。又電子顕微鏡を御貸し頂き、懇篤なる御指導、御助言を戴いた本学皮膚科特別研究施設西占貢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) Anderson, E. & von Breemen, V. L. : Electron Microscopic Observation on Spinal Ganglion Cells of RANA PIPINS after Injection of Malononitrile. *J. Biophysic. & Biochem. Cytol.*, **4**, 83, 1958.
- 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 : 頭部外傷と意識障害. *診療*, **9**, 1, 1956.
- 5) Barton, A. A. & Causey, G. : Electron Microscopic Study of the Superior Cervical Ganglion. *J. Anat.*, **92**, 399, 1958.
- 6) Becker, N. H. & Barron, K. D. : The Cyto-

- chemistry of Anoxic-Ischemic Encephalopathy in Rats. *Am. J. Pathol.*, **38**, 161, 1960.
- 7) Bourne, G. H. & Danielli, J. F. : International Review of Cytol., **9**, 227, 1960.
- 8) Chason, J. L., Hardy, W. G., Webster, J. E. & Gurjian, E. S. : Alterations in Cell Structure of the Brain Associated with Experimental Concussion. *J. Neurosurg.*, **15**, 135, 1958.
- 9) Dalton, A. J. : Golgi Apparatus and Secretion Granules. *The Cell*, **2**, 603, 1961.
- 10) Dalton, A. J. & Felix, M. D. : Studies on the Golgi Substance of the Epithelial Cells of the Epididymis and Duodenum of the Mouse. *Am. J. Anat.*, **92**, 277, 1953.
- 11) De Duve, C. : In Subcellular Particle. New York Ronald Press Co., 128, 1959.
- 12) Essner, E. & Novikoff, A. B. : Human Hepatocellular Pigments and Lysosomes. *J. Ultrastruct. Res.*, **3**, 374, 1960.
- 13) Essner, E. & Novikoff, A. B. : Localization of Acid Phosphatase Activity in Hepatic Lysosomes by Means of Electron Microscopy. *J. Biophysic. & Biochem. Cytol.*, **9**, 773, 1961.
- 14) Fernández-Morán, H. : Electron Microscopy of Nervous Tissue, in Metabolism of the Nervous System. (Richter, D. editor) London, Pergamon Press, 1, 1957.
- 15) Foltz, E. L. : Jenker, F. L. & Ward, A. A. : Experimental Cerebral Concussion. *J. Neurosurg.*, **10**, 342, 1953.
- 16) Hartman, J. F. : Electron Microscopy of Mitochondria in the Central Nervous System. *J. Biophysic. & Biochem. Cytol.*, **2**, 375, 1956.
- 17) 早石 修, 小沢和恵, 荒木千里, 石井昌三, 近藤祐之 : 脳外傷および脳浮腫の生化学. *日新医学*, **48**, 915, 1961.
- 18) Hess, A. : Fine Structure of Young and Old Spinal Ganglion. *Anat. Rec.*, **123**, 399, 1955.
- 19) Hess, A. : The Fine Structure of Nerve Cells and Fibers, Neuroglia and Sheaths of the Ganglion Chain in the Cockroach. *J. Biophysic. & Biochem. Cytol.*, **4**, 731, 1958.
- 20) Hess, A. : The Fine Structure of Degenerating Nerve Fibers, Their Sheaths and Their Termi-

- nations in Central Nerve Cord of the Cockroach. *J. Biophysic. & Biochem. Cytol.*, **7**, 339, 1960.
- 21) Hyden, H. : The Neuron. *The Cell*, **4**, 215, 1960.
 - 22) 本陣良平 : 神経組織一般の電子顕微鏡像. 脳と神経, **12**, 5, 1960.
 - 23) Luft, J. H. : Improvements in Epoxy Resin Embedding Methods. *J. Biophysic. & Biochem. Cytol.*, **5**, 409, 1961.
 - 24) Luse, S. A. : Electron Microscopic Observation of the Central Nervous System. *J. Biophysic. & Biochem. Cytol.*, **2**, 531, 1956.
 - 25) Luse, S. A. & Harris, B. : Electron Microscopy of the Brain in Experimental Edema. *J. Neurosurg.*, **17**, 439, 1960.
 - 26) 松島正之 : 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.
 - 27) Mizuno, N., Ogawa, K. & Okamoto, M. : Changes of Lysosomes in Fibroblasts Cultured Anaerobically. *Arch. Histol. Japon.*, **21**, 455, 1961.
 - 28) 長崎寿志 : 実験的脳振盪に於ける中枢軸索変性のNauta鍍銀法による追求. 日外宝, **28**, 2727, 1957.
 - 29) Novikoff, A. S. : Mitochondria. *The Cell*, **2**, 299, 1961.
 - 30) Palay, S. L. & Palade, G. E. : The Fine Structure of Neurons. *J. Biophysic. & Biochem. Cytol.*, **1**, 68, 1955.
 - 31) Palay, S. L., Mc Gee-Russell, S. M., Gordon, S. & Grillo, M. A. : Fixation of Neural Tissues for Electron Microscopy by Perfusion with Solutions of Osmium Tetroxide. *J. Cell Biol.*, **12**, 385, 1962.
 - 32) Pitcock, J. A. : An Electron Microscopic Study of Acute Radiation Injury of the Rat Brain. *Laborat. Investigat.*, **2**, 32, 1962.
 - 33) Porter, K. R. & Palade, G. E. : Studies on the Endoplasmic Reticulum. III Its Form and Distribution in Striated Muscle Cell. *J. Biophysic. & Biochem. Cytol.*, **3**, 269, 1957.
 - 34) Rand, C. W. & Courville, C. B. : Histologic Changes in the Brain in Cases of Fatal Injury to the Head. *Arch. Neurol. & Psychiat.*, **55**, 79, 1946.
 - 35) Roizin, L. & Dmochowski, L. : Comparative Histologic and Electron Microscope Investigations of the Central Nervous System. *J. Neuropathol. & Exp. Neurol.*, **15**, 12, 1956.
 - 36) Roizin, L., Rugh, R. & Kaufman, M. A. : Neuropathologic Investigations of the X-Irradiated Embryo of Rat Brain. *J. Neuropathol. & Exp. Neurol.*, **21**, 219, 1962.
 - 37) Rosenbluth, J. & Palay, S. L. : The Fine Structure of Nerve Cell Bodies and Their Myelin Sheaths in the Eighth Nerve Ganglion of the Goldfish. *J. Biophysic. & Biochem. Cytol.*, **9**, 853, 1961.
 - 38) Rosenbluth, J. : The Fine Structure of Acoustic Ganglia in the Rat. *J. Cell Biol.*, **12**, 329, 1962.
 - 39) Rouiller, C. & Bernhard, W. : "Microbodies" and the Problem of Mitochondrial Regeneration in Liver Cells. *J. Biophysic. & Biochem. Cytol.*, **2**, 355, 1956.
 - 40) Schinagawa, Y. & Uchida, Y. : On the Specimen Damage of Spinal Cord Due to Polymerization of Embedding Media. *J. Electronmicroscopy*, **10**, 86, 1961.
 - 41) Schulz, R. L., Maynard, E. A. & Pease, D. C. : Electron Microscopy of Neurons and Neuroglia of Cerebral Cortex and Corpus Callosum. *Am. J. Anat.*, **100**, 369, 1957.
 - 42) Smith, K. R. : The Fine Structure of Neurons of Dorsal Root Ganglion after Stimulating or Cutting the Sciatic Nerve. *J. Comparat. Neurol.*, **116**, 103, 1961.
 - 43) Smith, S. W. : Fine Structure of Nissl Bodies in Sympathetic Neurons of a Lizard. *Anat. Rec.*, **130**, 373, 1958.
 - 44) Smith, S. W. : Fine Structure of "Neurosecretory" Inclusion in Sympathetic Neurons of a Lizard and a Toad. *Anat. Rec.*, **130**, 464, 1958.
 - 45) Steinert, M. : Mitochondria Associated with the Kinetonucleus of TRYPANOSOMA MEGA. *J. Biophysic. & Biochem. Cytol.*, **8**, 542, 1960.

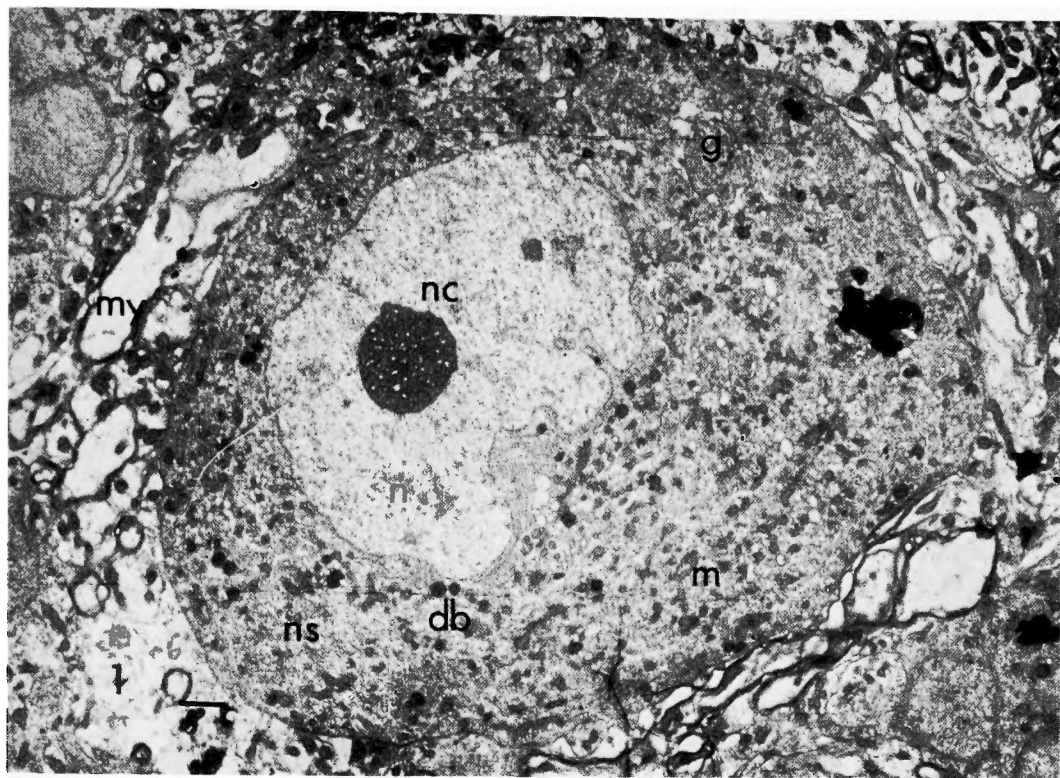


Fig. 1 : Normal PURKINJE cell. $\times 6,000$

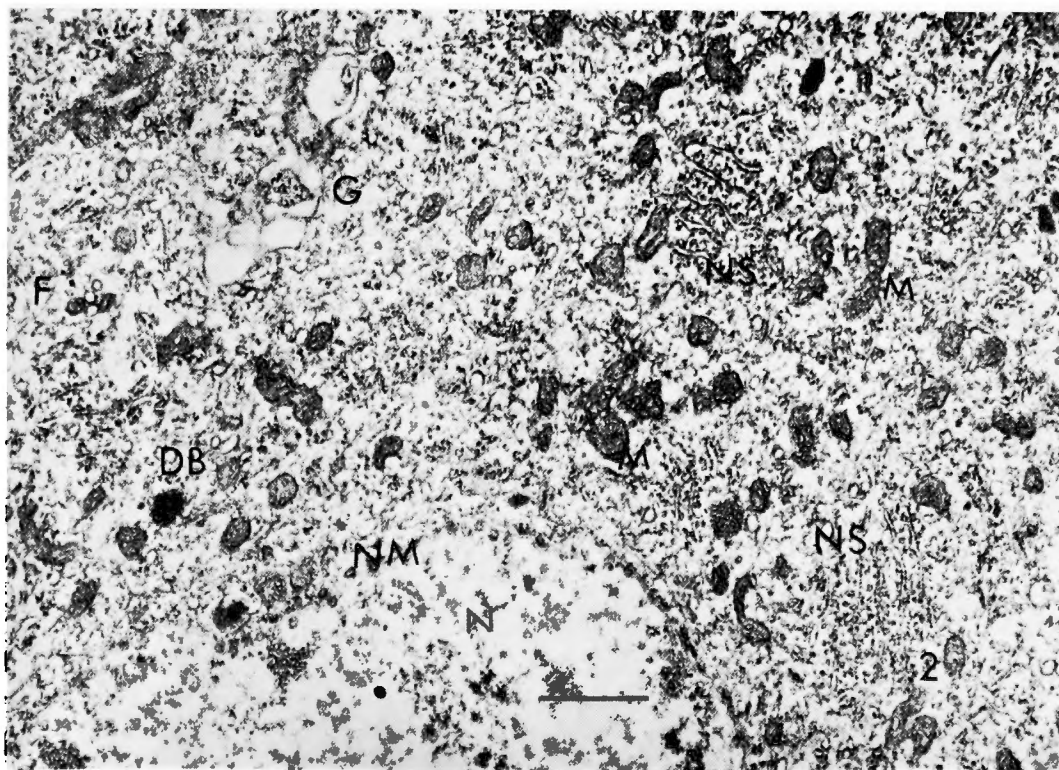


Fig. 2 : Normal PURKINJE cell. $\times 16,000$

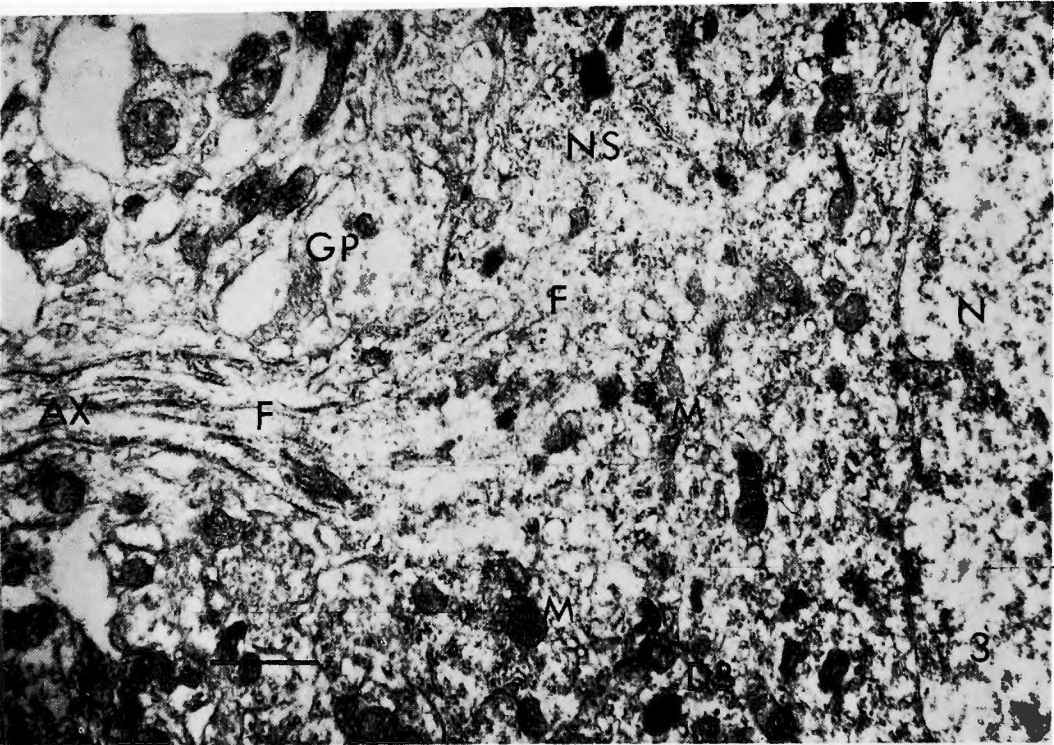


Fig. 3 : Initial portion of normal axon. ×16,000

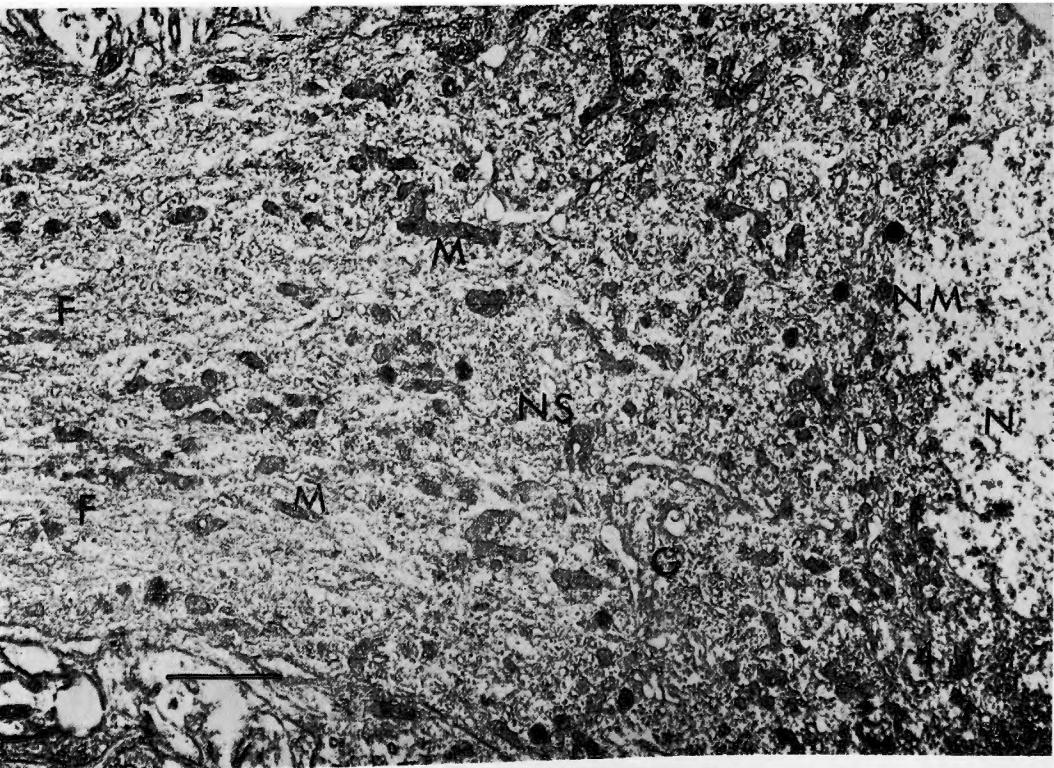


Fig. 4 : Initial portion of normal dendrite. ×16,000

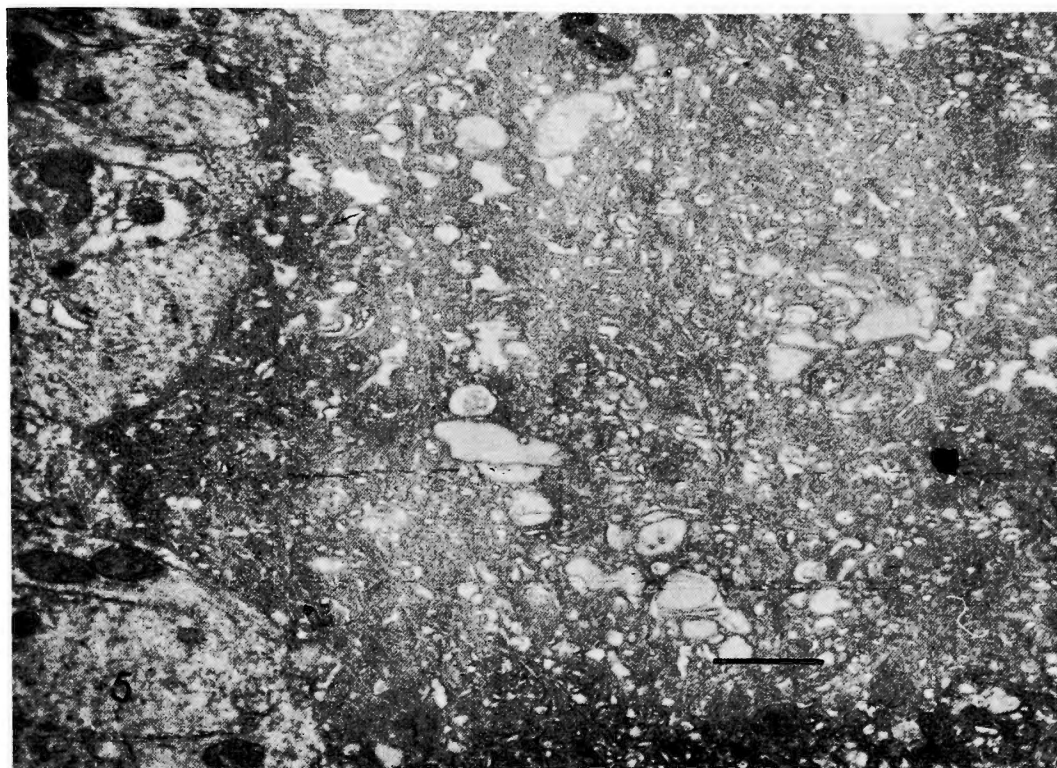


Fig. 5 : Pyknotic change in PURKINJE cell. $\times 16,000$

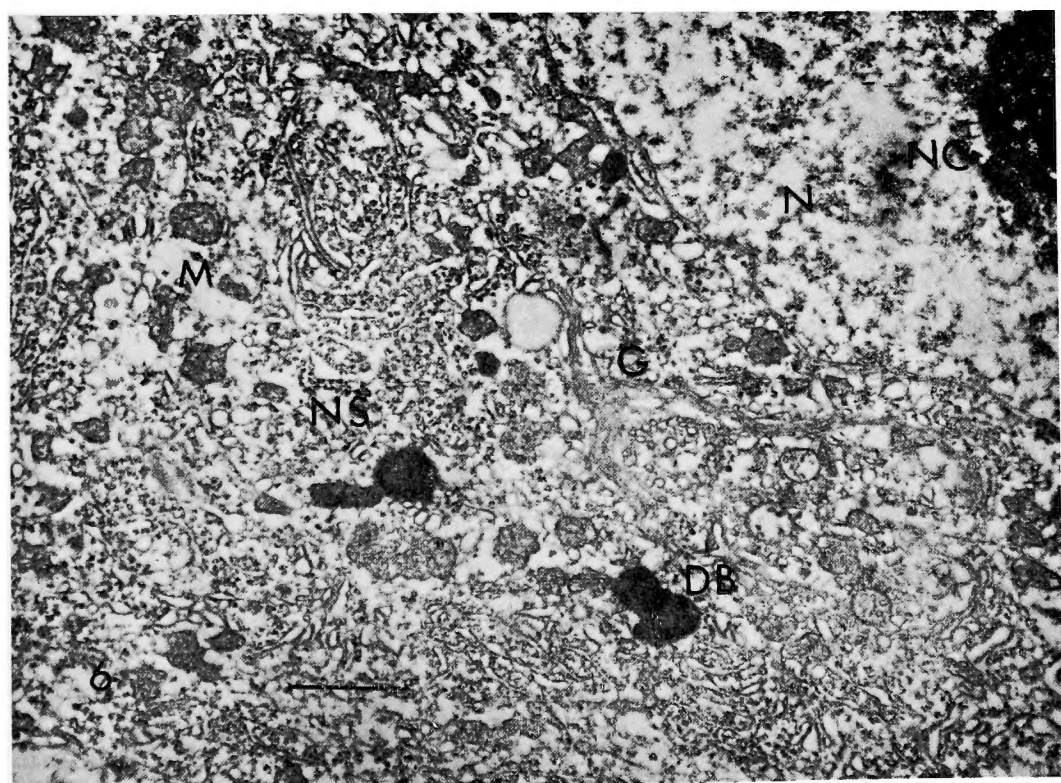


Fig. 6 : Injured PURKINJE cell, 1 hour after head trauma in group 1. $\times 16,000$

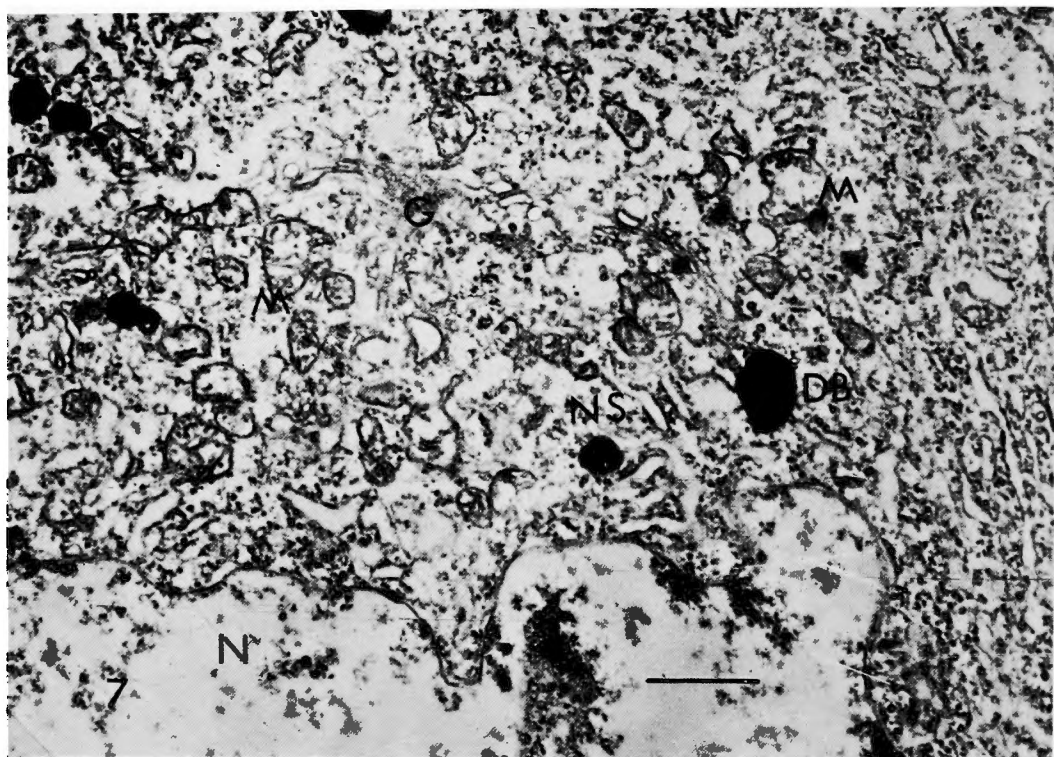


Fig. 7 : Injured PURKINJE cell, 6 hours after head trauma in group 1. $\times 16,000$

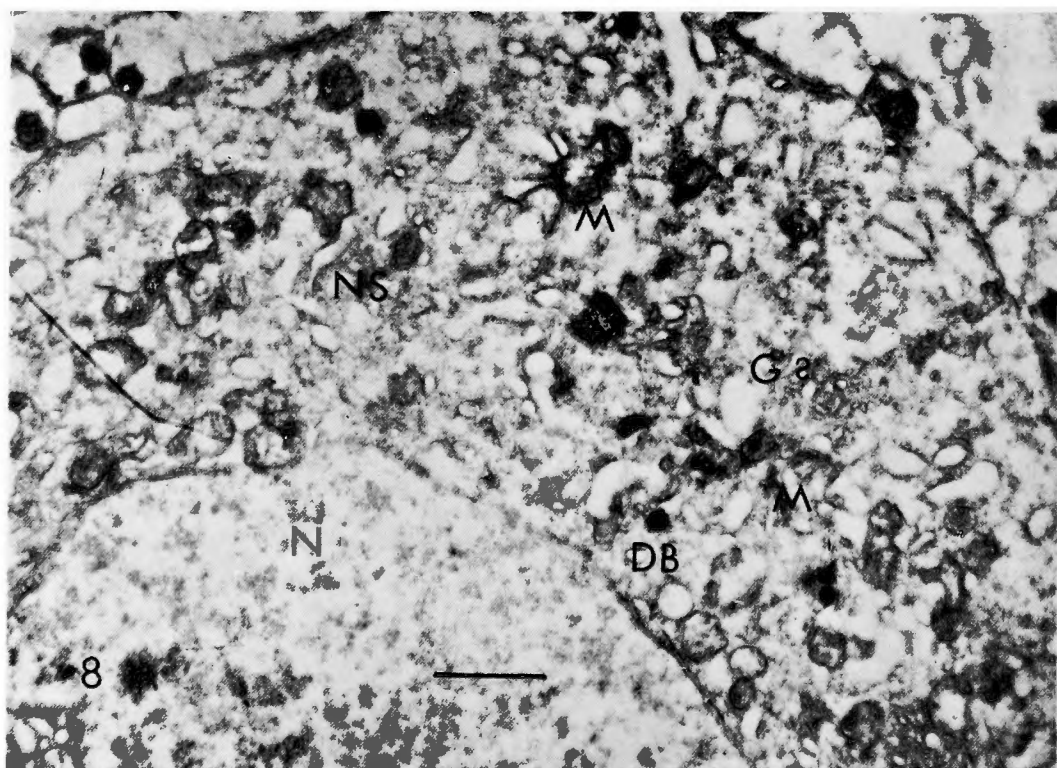


Fig. 8 : Injured PURKINJE cell, 24 hours after head trauma in group 1. $\times 16,000$

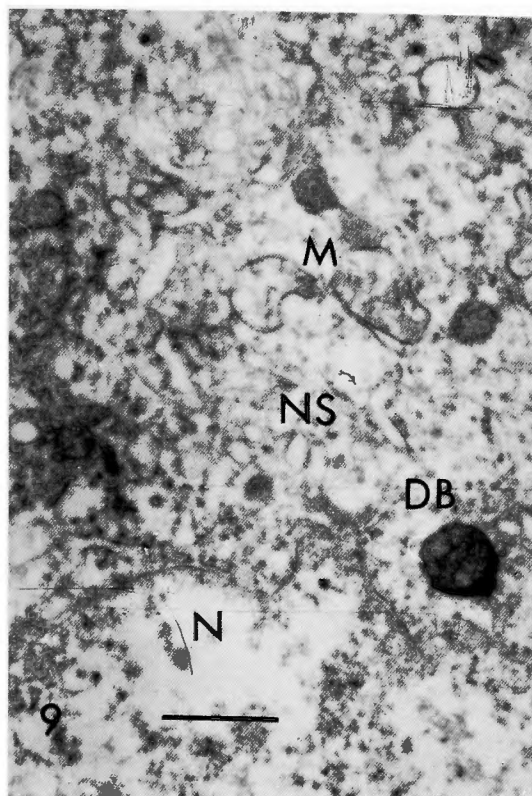


Fig. 9 : Injured PURKINJE cell, 24 hours after head trauma in group 3.(epon embedding) $\times 16,000$

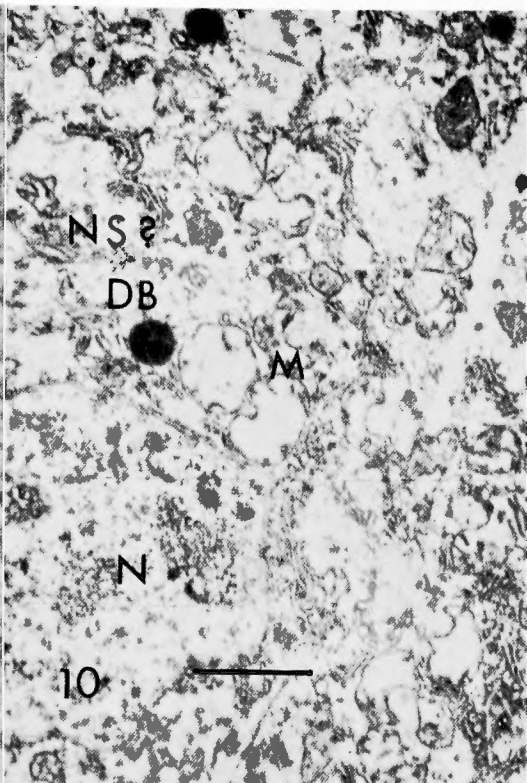


Fig. 10 : Injured PURKINJE cell, 2 days after head trauma in group 1. $\times 16,000$

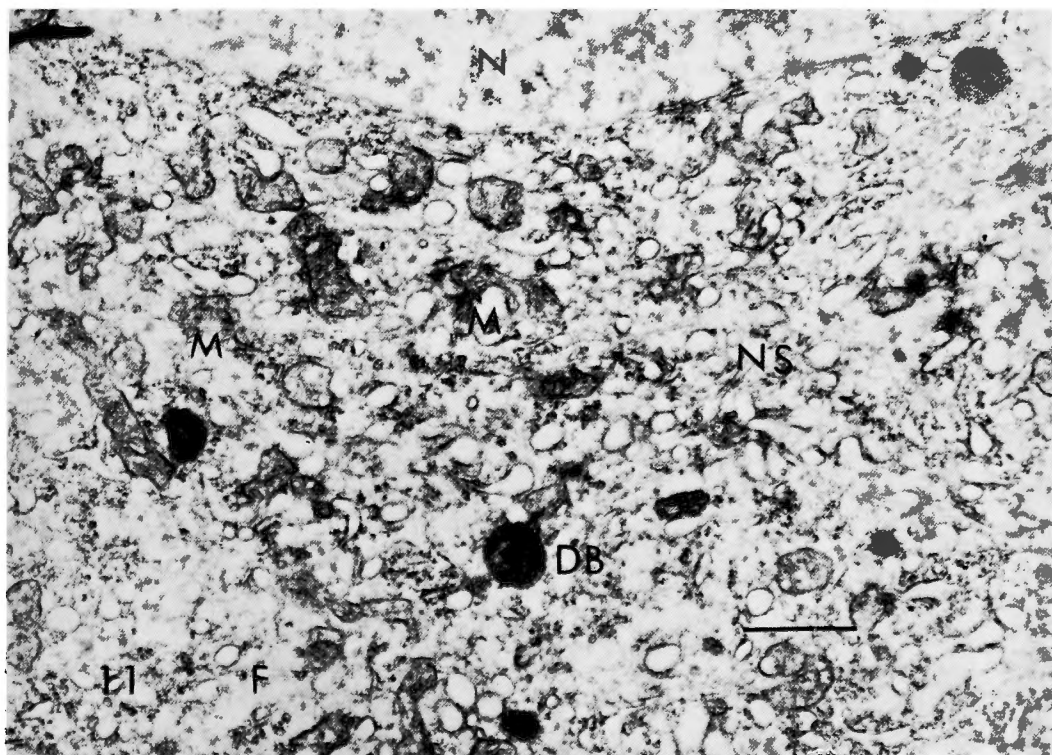


Fig. 11 : Injured PURKINJE cell, 2 days after head trauma in group 1. $\times 16,000$

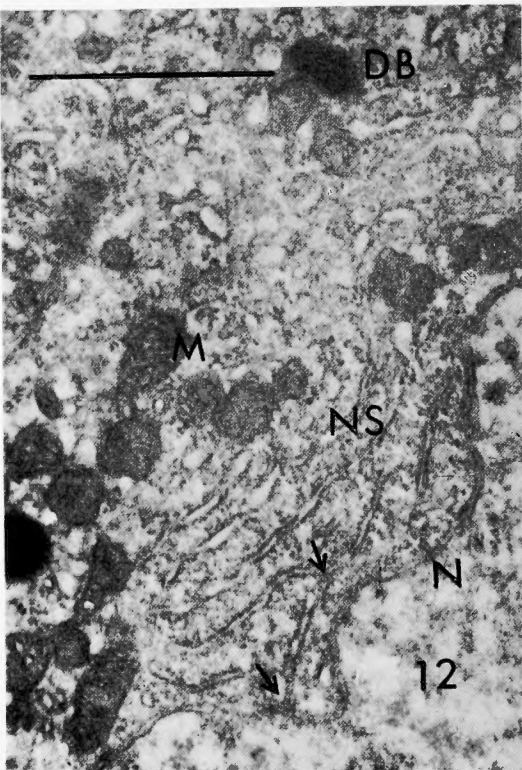


Fig. 12 : Regenerating PURKINJE cell, 4 days after head trauma in group 1. New Nissl body bud off from nuclear membrane (arrow). $\times 32,000$

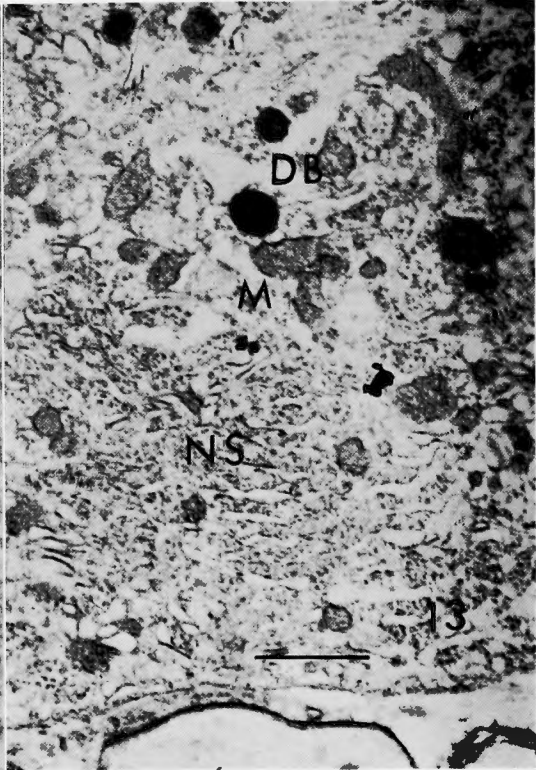


Fig. 13 : Regenerating PURKINJE cell, 4 days after head trauma in group 3. (epon embedding) $\times 16,000$

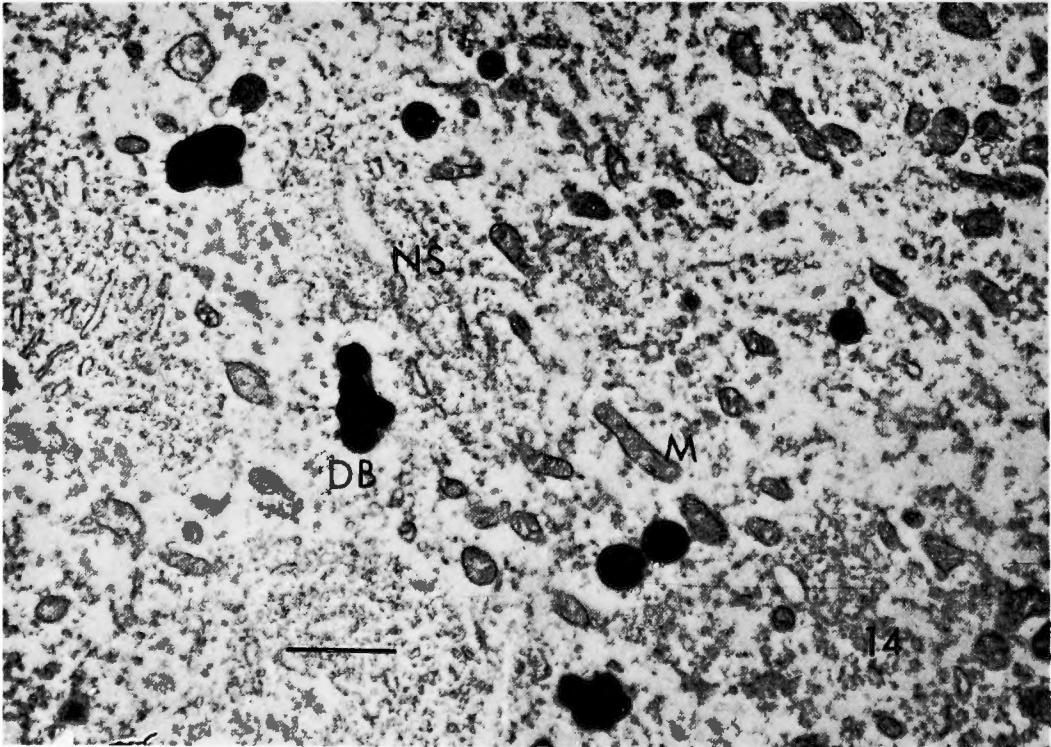


Fig. 14 : Regenerating PURKINJE cell, 7 days after head trauma in group 1. $\times 16,000$

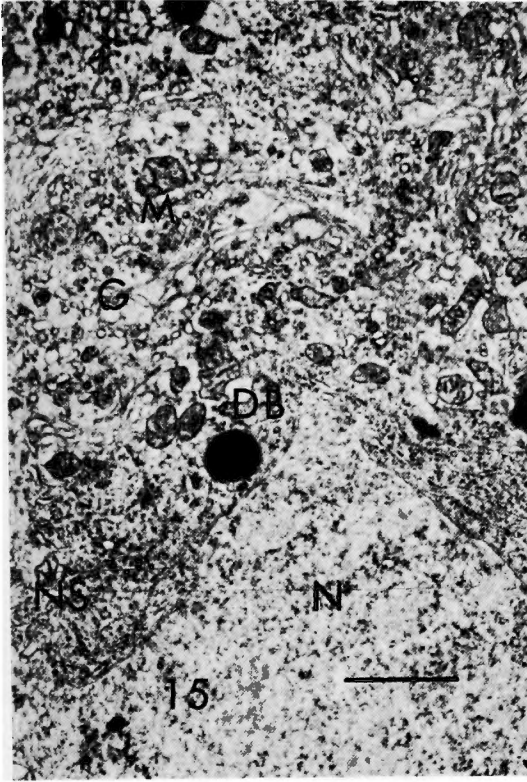


Fig. 15 : Regenerating PURKINJE cell, 7 days after head trauma in group 1. $\times 16,000$



Fig. 16 : Regenerating PURKINJE cell, 7 days after head trauma in group 1. New mitochondrion bud off from nuclear membrane (arrow). $\times 35,000$

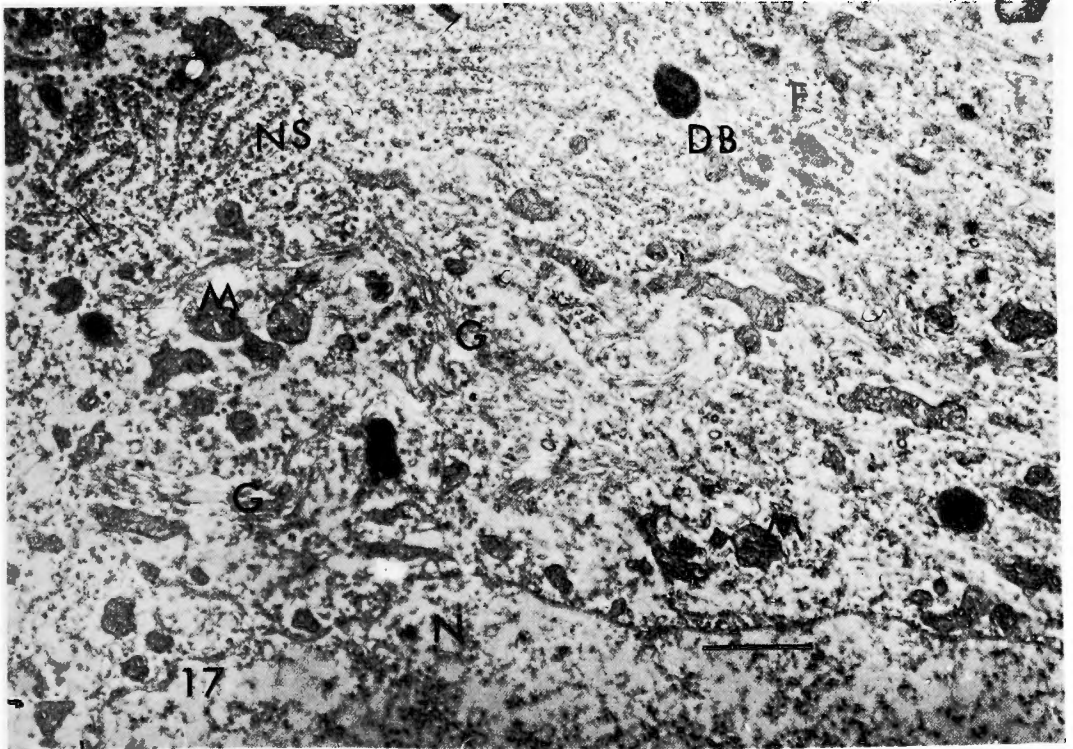


Fig. 17 : Regenerating PURKINJE cell, 14 days after head trauma in group 1. $\times 16,000$

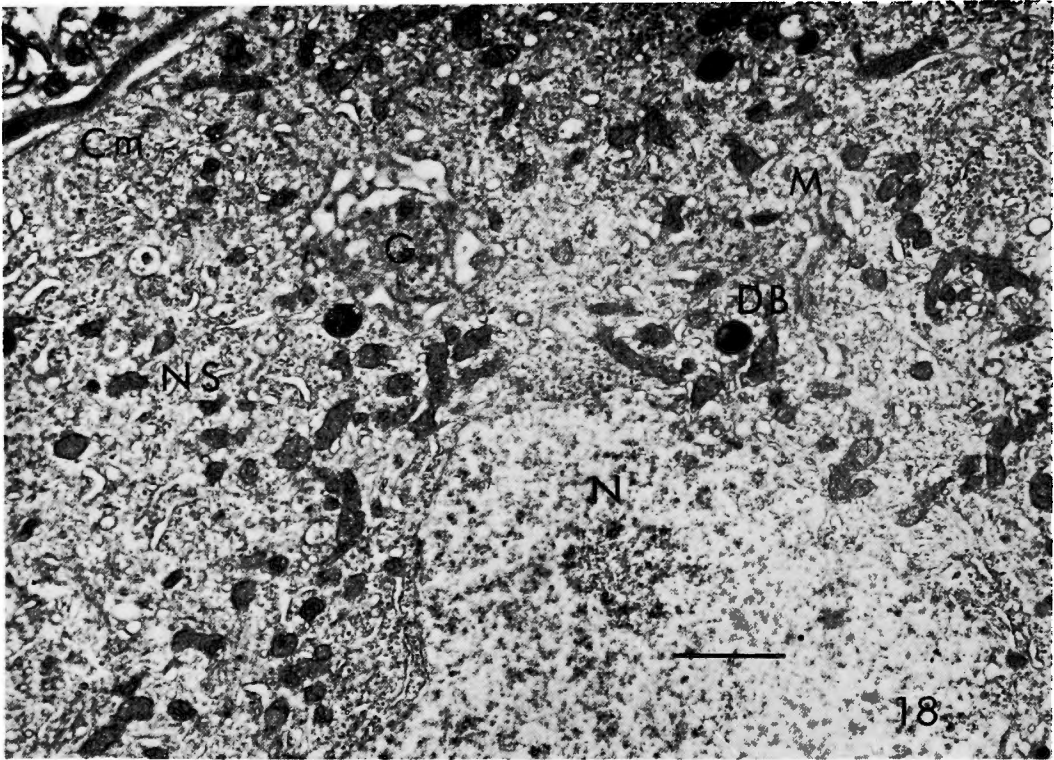


Fig. 18 : Regenerating PURKINJE cell, 30 days after head trauma in group 3. ×16,000

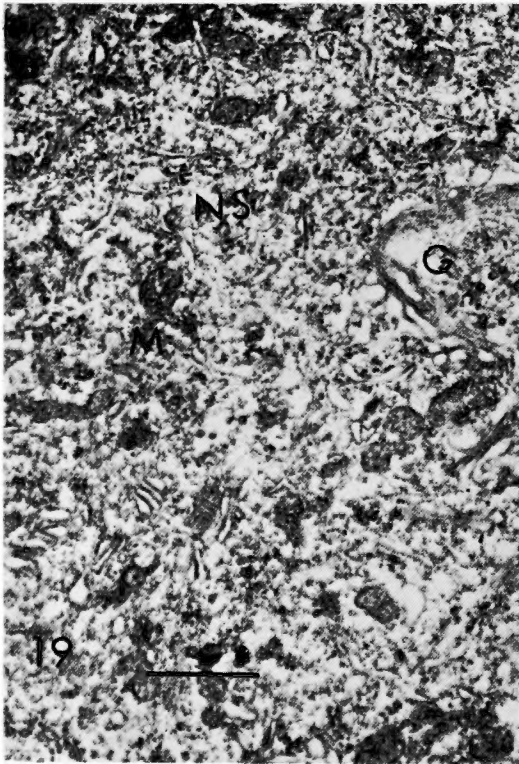


Fig. 19 : Almost normal PURKINJE cell, 40 days after head trauma in group 1. ×16,000

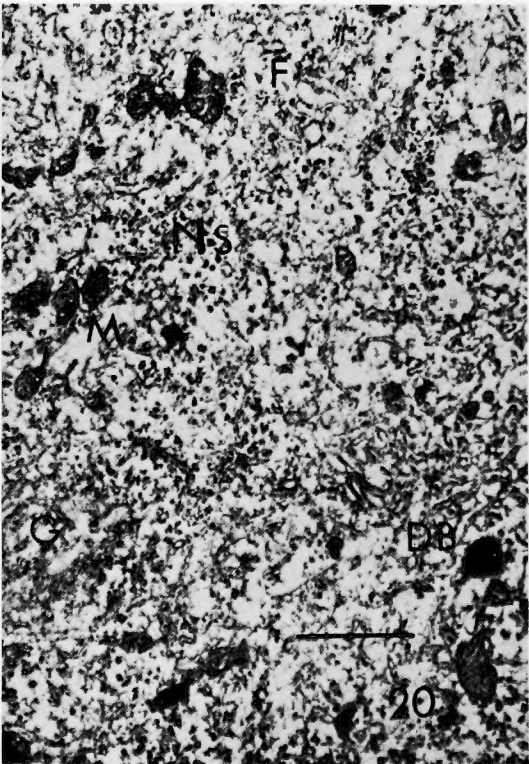


Fig. 20 : Almost normal PURKINJE cell, 1 hour after head trauma in group 2. ×16,000

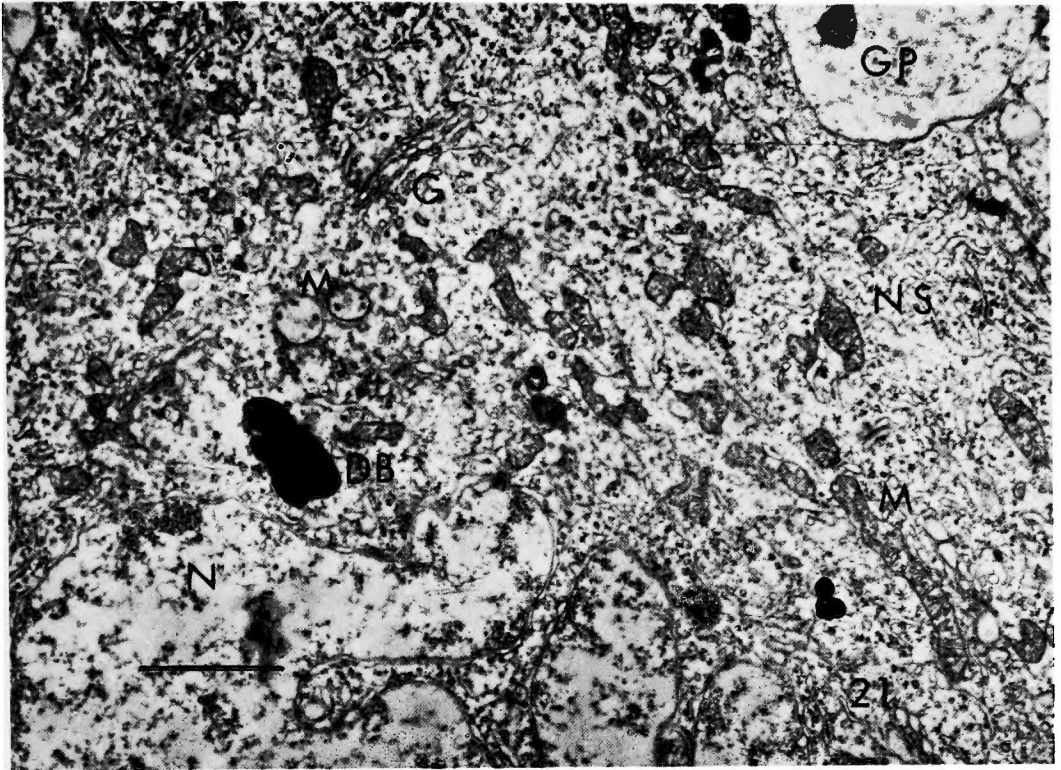


Fig. 21 : Injured PURKINJE cell, 24 hours after head trauma in group 2. $\times 16,000$

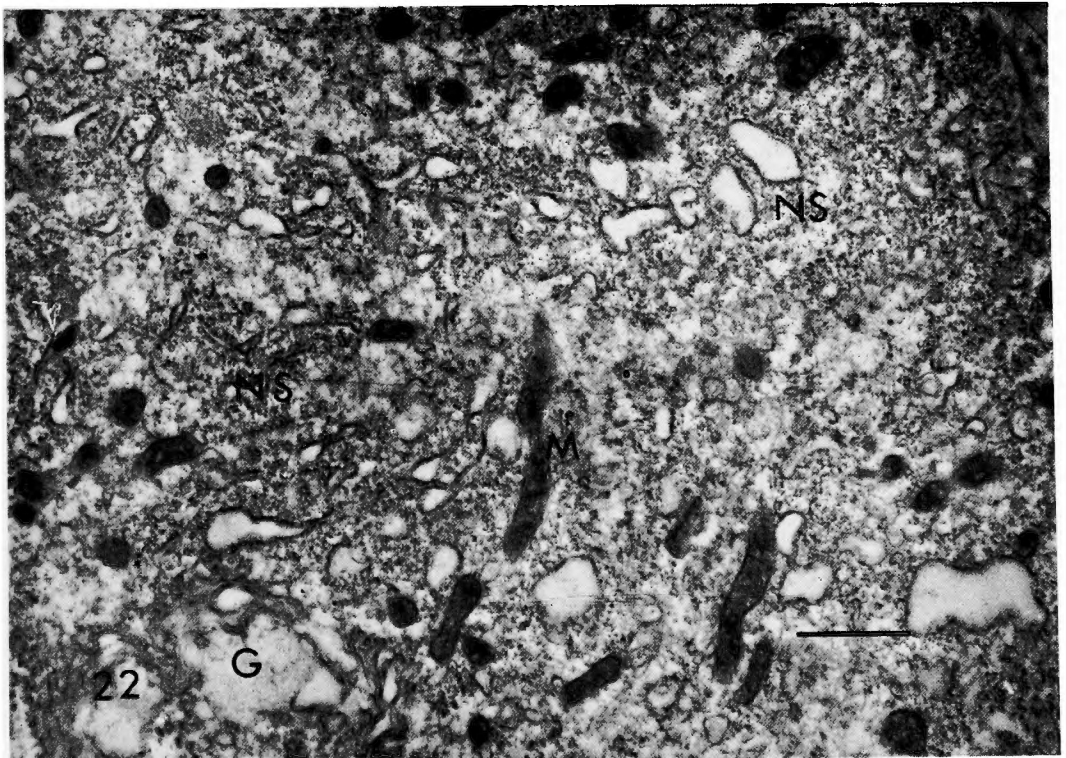


Fig. 22 : Injured PURKINJE cell, 2 days after head trauma in group 2. $\times 16,000$

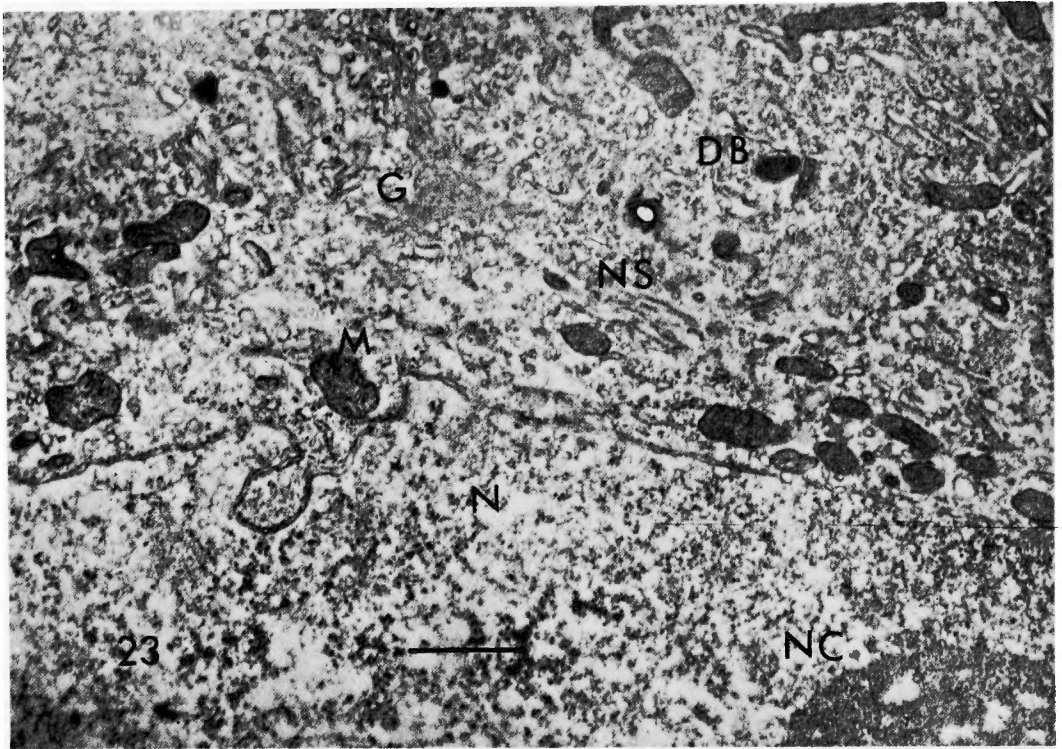


Fig. 23 : Regenerating PURKINJE cell, 4 days after head trauma in group 2. $\times 16,000$

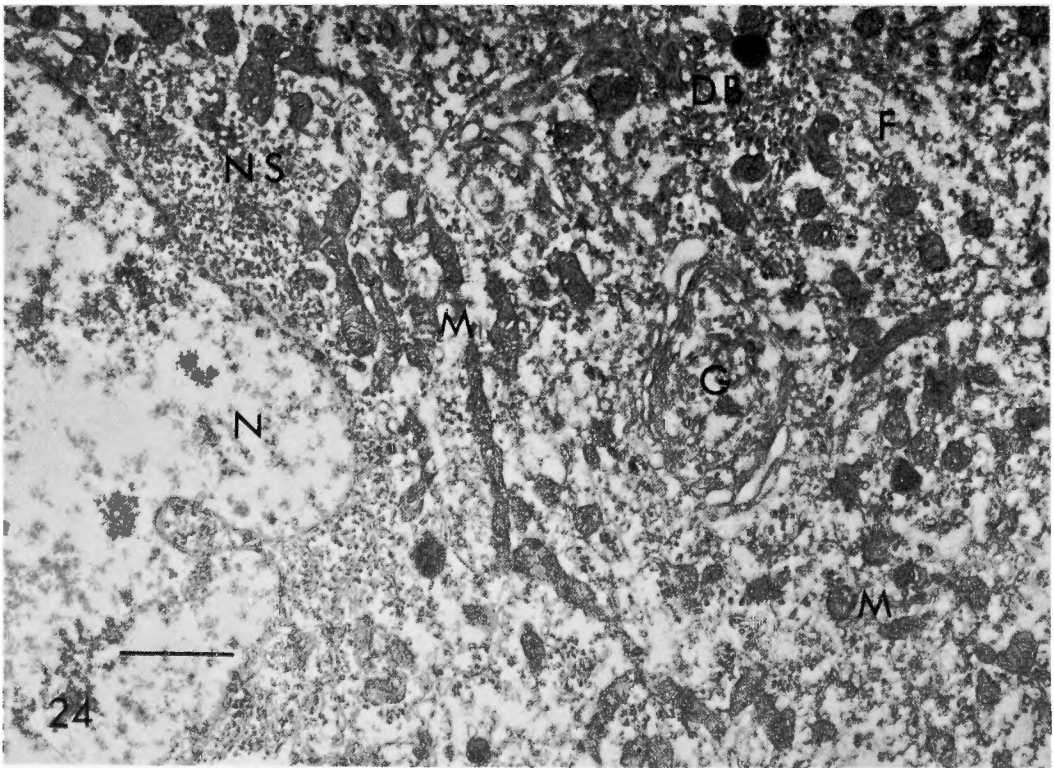


Fig 24 : Nearly normal PURKINJE cell, 7 days after head trauma in group 2. $\times 16,000$

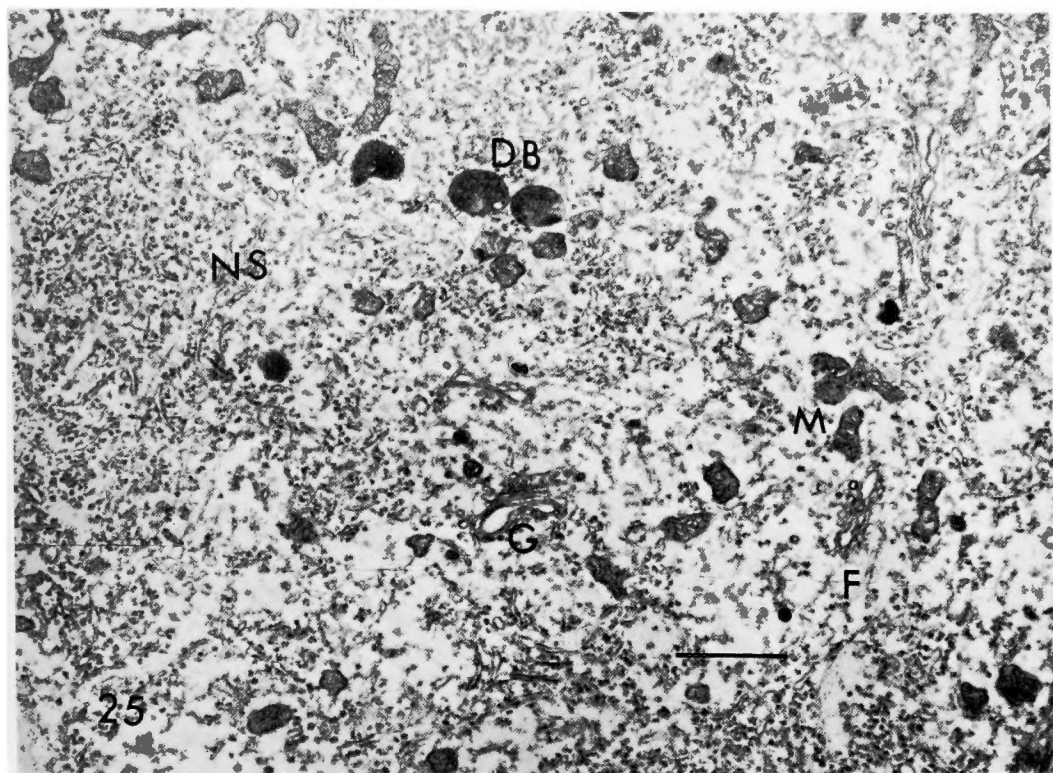


Fig. 25 : Normal PURKINJE cell, 14 days after head trauma in group 2. $\times 16,000$

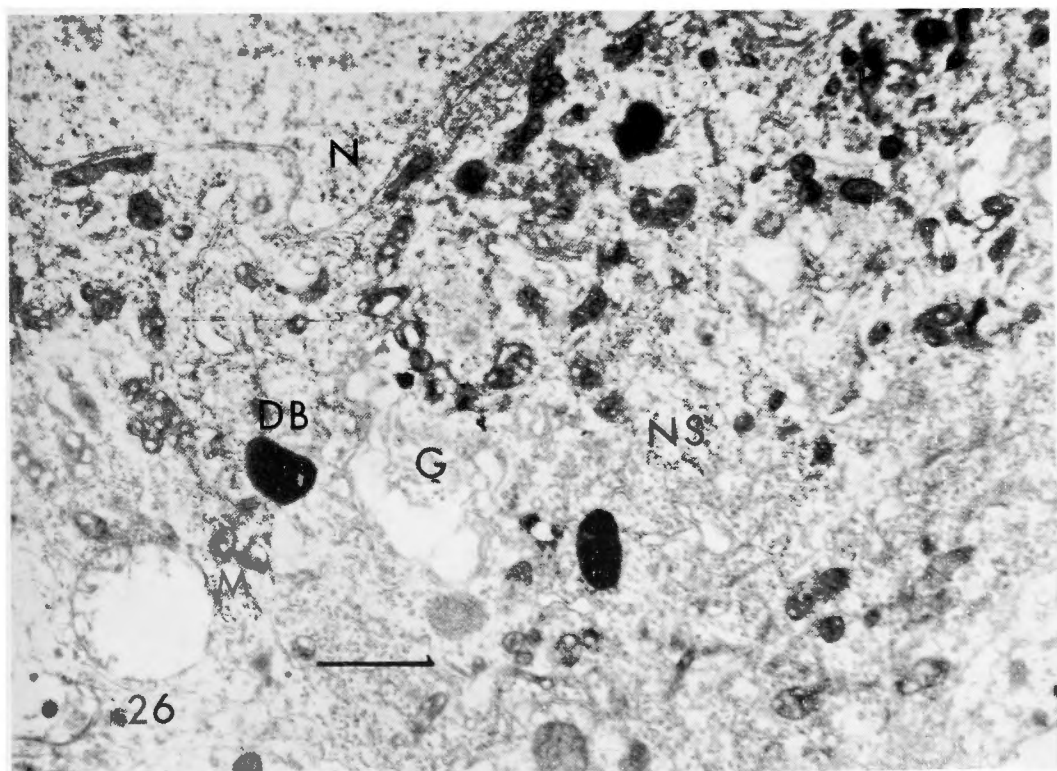


Fig. 26 : Injured PURKINJE cell following apnoea for 2 minutes, 24 hours after experiment. $\times 16,000$

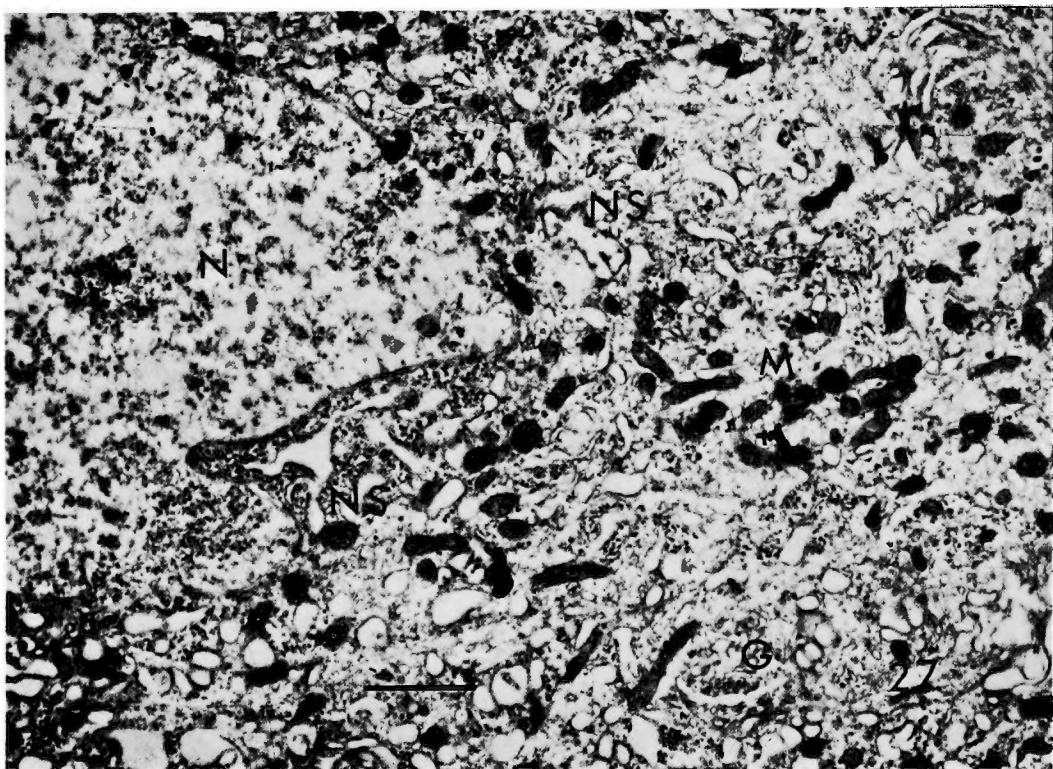


Fig. 27 : Injured PURKINJE cell following apnoea for 3 minutes, 24 hours after experiment. $\times 16,000$

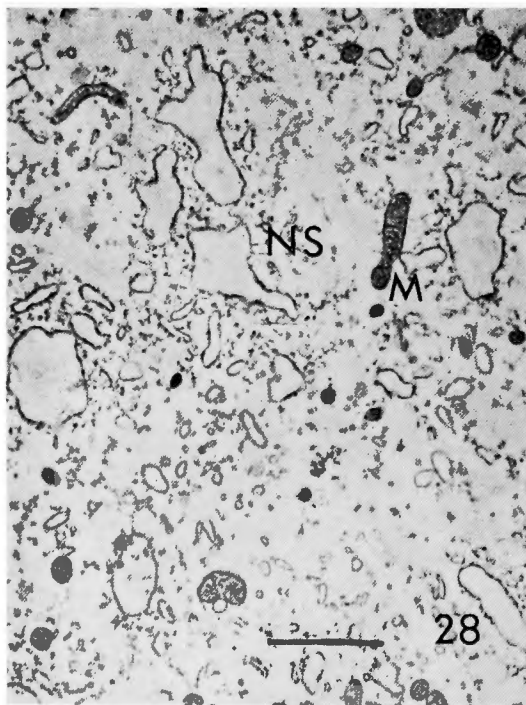


Fig. 28 : Injured PURKINJE cell, 2 days after head trauma in group 2. $\times 16,000$

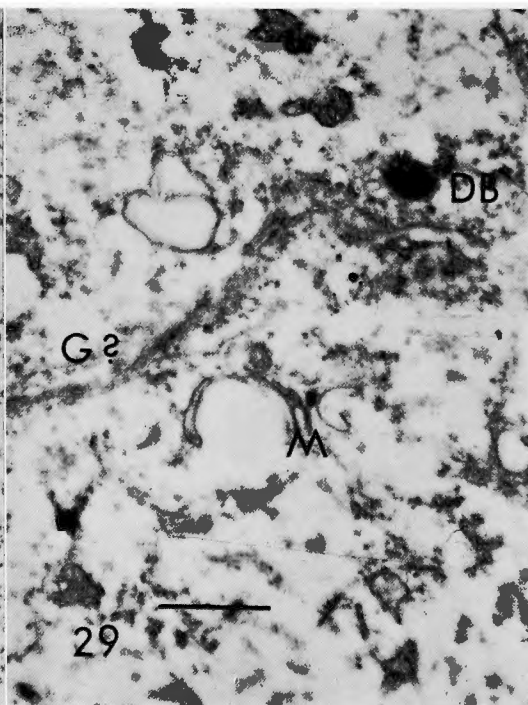


Fig. 29 : Injured PURKINJE cell, 2 hours after head trauma in group 1. $\times 16,000$

- 46) Smith, S. W. : "Reticular" and "Areticular" Nissl Bodies in Sympathetic Neuron of a Lizard. *J. Biophysic. & Biochem. Cytol.*, **5**, 77, 1959.
- 47) Tedeschi, C. G. : Cerebral Injury in Blunt Mechanical Trauma. *Arch. Neurol. & Psychiat.*, **58**, 333, 1946.
- 48) Vial, J. D. : The Early Changes in the Axoplasm during Wallerian Degeneration. *J. Biophysic. & Biochem. Cytol.*, **4**, 551, 1958.
- 49) Watson, M. L. : Further Observation on the Nuclear Envelope of the Animal Cell. *J. Biophysic. & Biochem. Cytol.*, **6**, 147, 1959.
- 50) Windle, W. F., Groat, R. A. & Fox, C. A. : Experimental Structural Alterations in the Brain during and after Concussion. *Surg. Gynec. & Obst.*, **79**, 561, 1944.
- 51) Wischnitzer, S. : An Electron Microscope Study of the Nuclear Envelope of AMPHIBIAN OOCYTES. *J. Ultrastruct. Res.*, **1**, 201, 1958.
- 52) 吉田三彦 : 正常及び実験的痙攣における小脳皮質の電子顕微鏡学的研究. *久留米医誌*, **24**, 1117, 1961.

EXPLANATION OF PLATES

NC : nucleolus

N : nucleus

NM : nuclear membrane

NS : Nissl body

G : Golgi apparatus

M : mitochondria

DB : dense body

F : neurofilament

CM : cell membrane

AX : axon

MY : myelin sheath

GP : glial process

(各写真のスケールは, 1μ を表す.)