

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

京都大学医学部外科学教室第1講座（指導：荒木千里教授）

長 崎 寿 志

〔原稿受付 昭和34年7月20日〕

STUDIES BY NAUTA'S SELECTIVE SILVER IMPREGNATION METHOD ON DEGENERATING AXONS IN THE CENTRAL NERVOUS SYSTEM IN THE EXPERIMENTAL CONCUSSION

by

HISASHI NAGASAKI

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

A number of papers have been presented reporting that cerebral concussion results in a microscopic degeneration of myelinated and unmyelinated nerve fibers. However, many of these papers have not usually differentiated cerebral concussion from cerebral contusion strictly. The term "cerebral concussion" should be used for a case showing transient loss of consciousness with no later evidence of localized brain injury. In the present study, therefore, after real cerebral concussion was produced experimentally, I examined whether degenerating axons were really found, and if such axons were present, what forms of degeneration were produced, by the aid of NAUTA's selective silver impregnation method.

62 adult cats were divided into five groups and following procedures were done:

Group 1; No injury was given.

Group 2; Excision, 7×7 mm in size, was done in the motor area on one side.

Group 3; (a) Through a small trephine hole, the air-pulse shot by an airgun was given in order to cause cerebral concussion.

(b) 30 minutes before the death of the animals, hyaluronidase was injected into the internal carotid artery.

Group 4; The middle cerebral artery on the left side was coagulated at its stem.

Group 5; 10^{-5} × diluted solution of corrosive sublimate was injected into either the subarachnoid or subdural space on the left convexity of the brain.

All cats in all groups were sacrificed on the 3rd, 8th, 10th, 12th and 14th day after injury and the degenerating axons were examined by the aid of the alternative technic by LUE and KITA which was a modification of the method by NAUTA and GYGAX published in 1954.

Results obtained are as follows :

Group 1. No abnormality was found macroscopically. Histologically no impregnated fiber was seen in the cortex, corona radiata, internal capsule, and the cerebral peduncle (Figs. 4, 5 and 6).

Group 2. The excised area on the cortex was swollen and necrotic. In cases sacrificed on the 3rd day, fibers of various stages of degeneration were stained numerously in the form of relatively continuous tortuousness and rosary swelling. In cases sacrificed on the 8th day no fibers were impregnated in the cortex. However, in the corona radiata, internal capsule, and the cerebral peduncle on the side of operation, degenerating fibers showing tortuousness or rosary swelling were noted. In the 10th day cases degenerating axons showing tortuousness, rosary swelling or fusiform or rhomboid varicosities and drop-like disintegrations were impregnated in the areas of the corona radiata, internal capsule and the cerebral peduncle on the side of operation. In the 12th day cases only in the corona radiata drop-like degenerated fibers were found. In the 14th day cases, few degenerating fibers were noted (Figs. 7, 8, 9, 10 and 11).

Group 3. Macroscopically there was a slight atrophy of bilateral hemisphere, and some space was noted between the dura mater and the surface of the brain. There was no marked dilatation of the ventricles. In cases sacrificed on the 3rd day, not rosary fibers, but irregular tortuous fibers were found in bilateral hemisphere, though such were not so many in number as compared with those of cases of Group 2. Also in the corona radiata similar tortuous degenerating fibers were found on both sides. In the cortex of the 8th day cases, impregnated nerve fibers were not found but in the corona radiata, internal capsule, and the cerebral peduncle, relatively continuous, tortuous fibers as well as a few rosary-like fibers were bilaterally found. Similar findings were noted also in the 10th day cases. In the 12th day cases, in all areas of the corona radiata, internal capsule, and the cerebral peduncle, impregnated fibers showing tortuousness, rosary or drop-like disintegrations were seen. Also in the 14th day cases, similarly impregnated fibers were found. However, such were very few in number. In all cases injected hyaluronidase, no impregnated nerve fibers were found in all areas (Figs. 11, 12, 13, 14, 15 and 16).

Group 4. Macroscopically there was no special change in the areas of coagulation. However, the hemisphere on the side of coagulation was colored blue violet here and there, and cerebral sulci seemed to be shallow. In cases of the 3rd day, a few impregnated fibers showing tortuousness and rosary swelling were seen in the cortex, corona radiata, and the internal capsule of the hemisphere on the side of coagulation. In cases of the 8th day impregnated fibers were not found in the cortex, whereas in the corona radiata, internal capsule, and the cerebral peduncle on the same side, relatively numerous impregnated fibers were found. Cases of the 10th day had the almost similar findings to those of the 8th day. In cases of the 12th day, not continuous fibers but drop-like disintegrations were found in the corona radiata, internal capsule, and the cerebral peduncle on the side of coagulation (Figs. 17, 18 and 19).

Group 5. Macroscopically, cerebral sulci were shallow and small vessels were

somewhat dilated. In cases of the 3rd day, all areas, i. e. the cortex, corona radiata, and the internal capsule on the side of injection, had a few impregnated nerve fibers showing tortuousness and rosary swelling. In cases of the 8th day no impregnated fibers were found in the cortex of hemisphere on the side of injection. However, in the corona radiata, internal capsule, and the cerebral peduncle, tortuous and rosary fibers were found. The cases of the 10th day had the almost similar findings to those of the 8th day. In cases of the 10th day, no impregnated nerve fibers were found, but rudiments showing drop-like disintegration were seen here and there (Figs. 20, 21 and 22).

As above mentioned, it was confirmed by NAUTA'S impregnation method that degenerating axons were present bilaterally in the cortex, corona radiata, internal capsule and the cerebral peduncle in cats with cerebral concussion. However, there was a difference in the form of degenerating axons between cases of cerebral excision and those of cerebral concussion. Such a difference seemed to be due to a difference of injury given to brain cells. In the present study, therefore, in order to decrease the degree of injury, coagulation of the middle cerebral artery and injection of solution of corrosive sublimate into the surface of the brain were added. The findings in cases with coagulated middle cerebral artery were similar to those cerebral ablation, and the changes in cases injected solution of corrosive sublimate were similar to those with cerebral concussion, in which however degenerating fibers were found bilaterally throughout the brain. Judging from such findings in cases of cerebral concussion, it might be conceived that atrophy of the whole brain might be caused by the degeneration of these fibers in cerebral concussion.

Conclusion :

(1) NAUTA'S silver impregnation method can be used as a method for the selective demonstration of degenerating nerve fibers in cats.

(2) Airpulse-shot seems to be one of the best methods for producing cerebral concussion in cats.

(3) In cats with cerebral concussion, degenerating nerve fibers were found in the cortex, internal capsule, corona radiata, and the cerebral peduncle on both sides.

(4) Quite similarly, in form as well as in number, impregnated nerve fibers were found both in cases injected 10^{-5} ×diluted solution of corrosive sublimate into the subarachnoid space of the brain surface and cases receiving cerebral concussion, though unilaterally in the former and bilaterally in the latter.

(5) From above mentioned results, it is presumed that also in human cerebral concussion more or less nerve fibers degenerate throughout the whole brain, and such a degeneration seems to have something to do with the development of post-traumatic complaints.

第1章 緒 言

脳振盪は元來脳の器質的変化を伴わないものと考えられているが、それにも拘らず、脳振盪後に、脳の有髄無髄神経線維に変性の起ることが多数の人に依つて

認められ、人間脳に於ては Jacob, Schwartz & Fink, Greenfield, 又 Rand 及び Courville や Cajal 等に依り記載され、又動物実験的にも Tedeschi によつて認められている。併しこのような結論を出すには、脳振盪と脳挫傷とをはつきり區別して検査を行う必要が

あるので、私はもう一度この問題を吟味してみたいと思ひ猫を用いて自分の方法により脳振盪、即ち脳表面に何等の肉眼的変化を伴わない一過性の意識障害を作成し、その脳について Nauta の中枢神経系変性軸索の撰択的鍍銀法を行ひ、変性軸索の有無及び変性像を追求した。

(1) 先ず Gygax, Ryan 及び Nauta 等の発表した中枢神経変性軸索の撰択的鍍銀法については、家兎及び人間の脳では既に教室北がこれを再検討し、軸索変性の撰択的鍍銀法の目的に優れた方法である事を認めたが、猫に於ては未だ検討されていないので、先ず私は猫に於て果して Nauta の鍍銀法が実用に供し得るか否か、実用になり得るとしたら、如何なる形の変性線維が鍍銀される得るかを検討した。

(2) 猫に実験的脳振盪を作成するのに、銃撃法、分銅打撃法、ハンマー打撃法、水柱法等種々の方法があるが、いずれも確実に実験的脳振盪を起す方法ではなく、且つかかる方法で得られた脳振盪猫脳は、表面に挫創を受ける事をまぬがれない。私は脳表面に肉眼的変化を認めない脳振盪を確実に、しかも低死亡率で作るべく種々実験を試みた。

(3) 次に実験的脳振盪猫脳に於て、果して有髄無髄神経の変性が起るか、起るとすると、その変性像は如何なる形態を呈するか、その形態が日数の経過とともに如何に変化して行くか、Nauta 鍍銀法を用い、皮質, Corona radiata, Capsula interna, Pes pedunculi について追求した。

(4) 若し神経線維の変性が起るとしたら、Rand 及び Courville の述べた如く、この脳振盪猫に於て、脳室の拡大又脳全体として萎縮が起る筈ではないか。

これらの諸点を明らかにしようとして本実験を行ったのである。

第2章 実験動物及び実験方法

(A) 体重 2 乃至 5kg 雄又は雌の成熟猫62匹を使用した。

(1) 第Ⅰ群. 無処置の儘飼育し、3日目、8日目、12日目、14日目とに分けて麻酔死又は失血死せしめ、その脳を Nauta 鍍銀法により鍍銀して、第Ⅲ群の対照とした。

(2) 第Ⅱ群. 一侧大脳運動領皮質を双極電気刺激(20Cycl, 12mA)にて確定した上で、主として下肢支配領域を皮質下まで約 7×7mm 切除し、3日目、8日目、10日目、12日目、14日目とに分けて、失血死又

はエーテル麻酔死せしめた。これらの動物は術後2〜4日間、主として反対側の下肢に不全麻痺を呈することあり、又麻痺を来さない場合もあるが、麻痺が起つても術後5日目には外見上消失する。剖検時反対側半球に損傷の及んでいない事、又反対側硬軟膜に認むべき変化の無い事を確めて後10%中性フォルマリンで固定し、左右正しく対称となる様な方向に切片を作製し、出来る限り同一切片にて、術側に対して健常側を対照とし得る様にした。この群の動物は総計5匹であつた。

(3) 第Ⅲ群. (a) 脳振盪の作成には、耳孔及び上顎部を固定した猫の頭頂部片側に於て、頭蓋骨を露出し、ここにドリルと歯科用ピンセットにて径約 2.5×2.5mmの略円形の穴をあける。その際硬脳膜を破らぬ様に注意しなければならぬ。次でその排出圧力を調節し得る空気銃で、硬脳膜上約 5mm の距離から弾丸をこめずに空撃した。(Fig. 1) (Fig. 2)

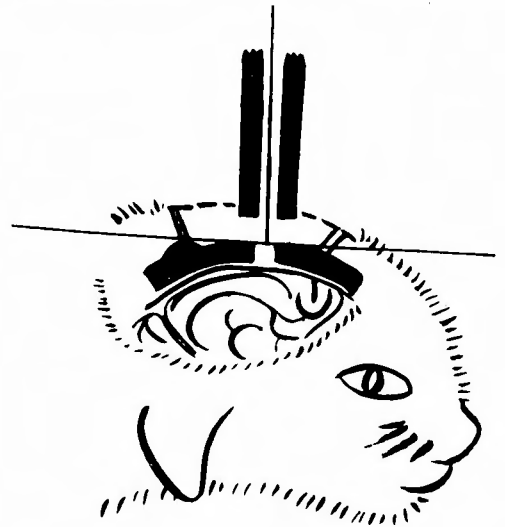


Fig. 1

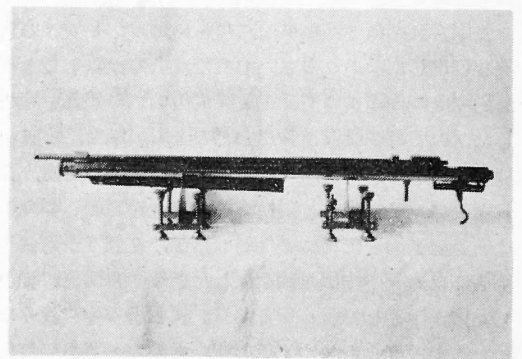


Fig. 2

この際脳振盪の起つた事の判定規準としては、侵害反射の消失、即ち(1)コッヘル鉗子に依る耳翼反射の消失、(2)角膜反射の消失、(3)瞳孔の対光反射の消失、(4)自動運動の消失、(5)足趾の痛覚反射の消失等、即ち荒木教授の無反応第3度以上の変化を以て判定した。

空気銃の排出圧力の測定には、91cm長の糸の先端に200gの砂囊をつるし、この砂囊の直前に2.5×2.5mmの略円形の穴をあけた薄い鉄板をおき、この穴を通して砂囊の前約5mmの距離から空撃を行い、その糸の振れる角度 α を測定して、その時の排出圧力のエネルギーを $980 \times 91 \times (1 - \cos \alpha) \times 200 \text{Erg}$ の式で計算した。私の使用した空気銃に於ける平均値は39,200Ergであつた。かくして得た脳振盪猫は、術後元気を失ひ、中には軽度の運動失調状態を示したが、これは術後3日目位には消失し、外見上は全く元気を回復した。これを射撃後3日、8日、10日、12日、14日と飼育した後、失血死又はエーテル麻酔死せしめ、取出した脳の表面に挫創又は出血斑、血腫のない事を確めて後10%中性フォルマリンで固定した。

(b) (a)と同様の方法で脳振盪を作成し、これを8日、10日、12日、14日と飼育した後失血死せしめることに違ひはないが、失血の30分前、両側 A. carotis interna を露出し、ここから Hyaluronidase 5000単位を蒸留水 3cc に溶解したものを、両側各 1.5cc ずつゆつくりと注入し、而る後に失血死せしめるのである。取出した脳につき肉眼的挫創、出血斑、血腫のない事を確めて後、前の場合と同様に固定した。実験動物は総計4匹であつた。

(4) 第IV群. 左側頭蓋骨を約1×2cm切り取り、ついで硬脳膜、軟膜に切開を加えて左大脳半球を露出し、その表面の A. cerebri media が細く分岐する以前の幹部を Sul. ectosylvius ant. の下端附近で、なるべく脳実質を傷つけぬ様に、耳鼻科用ピンセットの末端を焼灼したばかりの熱いもので、この動脈をつまみ焼灼することによつて、完全に末梢側への血流を遮断した。次で硬脳膜及び骨片をその上にかぶせ、皮膚を縫合し、3日、8日、10日、12日まで飼育した後、これを失血死せしめた。剖検時に右側(対照側)脳表面は何等肉眼的変化を認めなかつたが、左側(手術側)脳表面は処々やや壊死状を呈した所や、青紫色に変色した所が混在していることあり、又脳溝のやや浅くなつたもの、変化の殆んど認め難いものなどもあつた。これを固定し、正しく左右対称となる様に切片を作成

し、出来る限り同一切片に於て術側に対して健常側を対照とし得る様にした。この実験動物は総計4匹であつた。

(5) 第V群. 左側頭蓋骨を露出し、ここを約1×2cm切り取り、硬脳膜を露出し、硬脳膜を通してL状の1/5注射針に Luetin 微量注射器を接続し、脳実質を損傷しない様に、pH6.8 に一定した10万倍昇水を0.25cc ずつ徐々に脳表面(蜘蛛膜下腔又は硬膜下腔)に注入し、総計1cc注入するが、多くの場合注入液の大部は逆流漏出した。その上に骨片をかぶせ皮膚を縫合し、3日、8日、10日、12日と飼育した後失血死せしめた。標本切片は正しく左右対称となる様に注意して作成した。実験動物は総計4匹であつた。

(B) Nauta 鍍銀法

私の使用した Nauta 鍍銀法は Nauta 及び Gyax 法に Lue 等が改変を加えた方法に、更に教室北が多少改良を加えた方法である。即ち

(1) 標本は10%中性フォルマリンに最短1ヶ月間乃至6ヶ月間固定するのが最適である。

(2) 15~25 μ の凍結切片を作製する。

(3) 0.5%隣モリブデン酸水溶液に15分乃至1時間浸す。

(4) 簡単に水洗し、0.05%過マンガン酸カリ水溶液に5~15分間浸す。3枚の切片を5、10、15分間にかけて浸し、夫々に以後の操作を行い、変性軸索が選択的に鍍銀される適当な時間を決定し、残りの切片はその時間を基準にして上記液に浸す。

(5) 直ちに1%ハイドロキノ水溶液と1%亜酸水溶液の等容混合液に1~2分浸して完全に脱色し、その後充分に水洗する意味で、一昼夜蒸留水に放置する。

(6) 1.5%硝酸銀水溶液に20~30分浸し、次の鍍銀の核となる銀粒子を沈着せしめる。水洗を行い、以下切片を一枚宛操作する。

(7) Laidlaw 液に30~60秒間浸す。ここで切片が淡い暗灰色となるように、温度其の他の条件により時間を加減せねばならない。

(Laidlaw 液: 蒸留水 20cc に硝酸銀 12g を溶解し、飽和炭酸リチウム水溶液を加え、全量 250cc とし、沈澱せしめ、上澄を捨て、再び蒸留水を加え、250cc とし、沈澱、上澄を捨てる操作を3回行い、最後の沈澱に28%アンモニア水を滴下し乍ら振盪し、殆んど透明になる処で止め、これに蒸留水を加えて120cc とし、濾過して化学的に純な硝子瓶に蓄え、日光に曝し、銀

鏡の出来る迄少くとも2週間放置し、使用に当つて再び濾過する.)

(8) Nauta, Gyax 還元液(蒸溜水 400cc, 純エタノール 45cc, 10%非中性フォルマリン 13.5cc 1%クエン酸水溶液 13.5cc より成る.)に浮べる. 約1分間で light tobacco brown になる.

(9) 簡単に水洗後, 1%チオ硫酸ソーダ水溶液を通し, 蒸溜水で完全に水洗する.

(10) 北の考案した方法により, 載物硝子上に切片を伸ばし, これを一晚室温に放置し, 徐々に乾燥脱水せしめ, 切片が折り重なる事なく伸展したのを, 更に一昼夜 38°C の孵卵器中に入れ, 完全に脱水せしめ, 之をキシロールに3回通し, カナダバルサムにて封入を行つた.

第3章 実験成績

(1) 無処置猫(第I群)

(A) 肉眼的所見

脳表面には何等異常を認めない. 変色血管怒張等の異常所見は認めない.

(B) 組織所見

脳組織は一樣に極く淡い褐色に染まり, グリア細胞は淡褐色に赤血球は黒褐色に鍍銀されている. Corona radiata, Capsula interna, Pes pedunculi に於て, 明瞭に黒色をとつた鍍銀線維は, 発見出来ないが比較的直線状をした淡褐色な正常線維が略平行に染められている.

(2) 皮質切除猫(第II群)

(A) 肉眼的所見

皮質切除を施した猫脳は, 切除部位が著しく膨隆し, 壊死状となつているが, その他の部では脳表面に異常を認めなかつた. 切除部の前額断面では, 表面側を底辺とする略正三角形に壊死が脳内部に進行していた.

(B) 顕微鏡的所見

これに Nauta 鍍銀法を施して検査した. 3日目に屠殺した猫脳に於ては, 皮質切除部の周囲の皮質にはほとんど無数の比較的連続性を保つた念珠状膨大, 菱形膨大, 不規則膨大, 蛇行迂曲を呈した変性軸索が認められるが, 滴状断裂像は少い. Corona radiata, Capsula interna にも, やはりこれらの形を呈した変性軸索を認めるが, その密度は皮質切除部の周囲よりも小である.

8日目に屠殺した標本に於ては, 切除部周囲皮質に

は最早変性線維を認めない. グリア細胞は淡褐色に, 赤血球は黒褐色に鍍銀される. Corona radiata, Capsula interna, Pes pedunculi のいずれの部に於ても, 比較的に連続性を保つた念珠状膨大, 菱形膨大, 又蛇行迂曲した変性軸索が比較的多く認められる. 之を同時に染色した対照側と比較すると, 対照側の正常軸索は概ね鍍銀されず, 淡褐色の平行した略直線的な索条として認められる.

10日目に屠殺した猫の標本では, 切除部周囲皮質部には変性線維を認めない. Corona radiata, Capsula interna, Pes pedunculi に於ては, とともに蛇行迂曲等の変性像を認める他, 念珠状膨大, 菱形膨大, 又亜鈴状を示した変性線維が多く, 又滴状断裂を示した変性像も処々に認める様になる.

術後12日目に屠殺した猫の標本に於ては, Corona radiata に僅かに滴状断裂像が見出されるのみで, 蛇行迂曲, 念珠状膨大等の変性線維は殆んど認められず, 皮質部, Capsula interna, Pes pedunculi に於ては変性線維を見出し得ない.

術後14日目に屠殺した脳標本に於ては, 略12日目の標本と同様であるが, Corona radiata に於ても滴状断裂像が殆んど見出されなくなり, Capsula interna, Pes pedunculi では変性線維を見出し難い.

これらの所見の判定には, いずれも反対側の正常部の同一部分を同時に染色し比較検鏡している.

(3) 脳振盪猫脳(第III群)

(A) 肉眼的所見

35例の猫に実験的脳振盪を起すべく実験を行い, このうち24例が Nauta 鍍銀に適当な期間生存し得た. このうち脳表面に肉眼的挫創乃至出血斑を認めなかつたものは22例で, これらについて Nauta 鍍銀法を試みた. このうち4例に (b) Hyaluronidase 注入の操作を加えて鍍銀を行つた. 生存例で射撃時無反応第3度の持続時間は, 最長130秒, 最短18秒であり, 実験中最初の空撃で全例ことごとく1秒乃至3秒の extensor spasmus を来し, これが痙攣様運動に移行したものは全例死亡した. 空撃で得た脳振盪猫脳は, 対照に比較して, 全体として軽度の萎縮を認めた. 即ち硬脳膜と脳表面との間に空隙を認めたが, 脳室には著明な拡大を認めなかつた.

(B) 組織所見

第III群 脳振盪猫の鍍銀に際しては, 無処置I群の成る可く同一部分を対照として同時に鍍銀を施した.

術後3日目に於ては, 皮質部は左右いずれの半球に

於ても、第Ⅱ群皮質切除例程密度が大ではないが、処々に不規則蛇行状、極めて不規則に迂曲した鍍銀線維が見出されるが、念珠状膨大、垂鈴状の線維は見出されない。しかし鍍銀線維は明らかに正常線維とは形態学的に異っている。

Corona radiata に於ては、やはりⅡ群程密度大ではないが、左右両半球ともに、不規則蛇行状、迂曲状の線維を主として、処々念珠状膨大を呈した線維を見るが、その膨大はⅡ群の膨大程明瞭とは言い難い。

術後8日目に於ては、皮質部では左右とも、如何なる種類の線維をも鍍銀出来なかつた。Corona radiata, Capsula interna, Pes pedunculi, に於ては、左右とも3日目屠殺猫脳よりも密度小であるが、比較的連続性を保つた蛇行迂曲状の線維を主として、処々念珠状膨大、菱形膨大を呈した線維を認めるが、その膨大はやはりⅡ群の念珠状膨大を示した線維の膨大程明瞭とはいい難い。

術後10日目に於ては、皮質部には鍍銀線維は見出されない。Corona radiata, Capsula interna, Pes pedunculi, に於ては、左右いずれの側でも、形態学的に8日目と略々同じ線維を見出し得た。その密度も略々8日目と同じであつた。

術後12日目の猫脳に於ては、皮質部には鍍銀線維は見出せない。左右いずれの側の Corona radiata, Capsula interna, Pes pedunculi, に於ても、不規則蛇行状、迂曲状をした線維及び念珠状膨大を示した線維を認め、その中には滴状断裂ではないかと思われる線維が混在する。しかしその念珠状膨大及び滴状断裂と思われる線維の膨大及び断裂球は、いずれもⅡ群のそれよりも小さく明瞭さを欠いている様に思われる。

14日目に於ては、皮質部に鍍銀された線維は見出されない。又左右いずれの側の Corona radiata, Capsula interna, Pes pedunculi, のいずれの部に於ても、不規則蛇行状、迂曲状、又処々念珠状膨大を示した線維を見出し得るが、12日目屠殺猫脳標本に比して、その線維は割合太いものが多く、且つその密度ははなはだ小である。

Hyaluronidase 注入例に於ては、8日目、10日目、12日目、14日目の脳標本のいずれの部に於ても、鍍銀線維は認められなかつた。又本群標本に於ける鍍銀線維の密度と形態は、打撃側、非打撃側で有意の差は認められない。

(4) A. cerebri media の焼灼例 (第Ⅳ群)

(A) 肉眼的所見

焼灼部には特に変化は認めないが、焼灼側の半球の Fissura longitudinalis cerebri に近い所に、処々青紫色に変色した部があり、全体として脳溝が浅くなつた感じである。又処々壊死の存在するものもあるが、又その様な変化の存在しないものもある。脳の膨出は認められない。又この変化は脳の反対側の半球及び脳膜には及んでいない。

(B) 組織学的所見

術後3日目の脳に於ては、実験例の皮質部, Corona radiata, Capsula interna, いずれにも、不規則蛇行状、迂曲状、又念珠状膨大を示した鍍銀線維が極く密度小ではあるが処々に見出される。

術後8日目に於ては、焼灼側左側皮質部では如何なる形態の鍍銀線維も見出し得なかつたが、左側 Corona radiata, Capsula interna, Pes pedunculi, のいずれの部分に於ても、比較的密度大に、不規則蛇行状、迂曲状を示した鍍銀線維に混じて、中には念珠状膨大、不規則膨大、垂鈴状を示した変性線維が所々に見出される。

術後10日目に於ては、左側皮質部には、如何なる形態の鍍銀線維も見出されないが、左側 Corona radiata, Capsula interna, Pes pedunculi, のいずれの部分に於ても、相当密度大に、不規則蛇行状、迂曲状、紡錘形膨大、垂鈴状、滴状断裂等と、あらゆる形態を示したところの変性線維が見出される。その鍍銀線維の密度は第Ⅲ群脳振盪猫脳の鍍銀線維の密度よりも大である。

術後12日目に於ては、左側皮質部にはどんな変性線維も見出せない。左側 Corona radiata, Capsula interna, Pes pedunculi, に於ても、明瞭に変性線維の形をとつたものは見出せないが、所々滴状断裂かと思われる像が見られる。

(5) 10万倍稀釈昇汞水を脳表面(蜘蛛膜下乃至硬膜下腔)に注入したの(第Ⅴ群)

(A) 肉眼的所見

注入側ではやや大脳表面の脳溝が浅くなり、又脳表面の細い血管がやや拡張していたが脳の萎縮、壊死、出血、癰痕及び変色は認められなかつた。

(B) 顕微鏡的所見

術後3日目に於ては、注入側皮質部, Corona radiata, Capsula interna, のいずれの部に於ても、比較的多数の不規則、蛇行状、迂曲状を示した線維及び処々に念珠状膨大を示した線維が、その密度は小であるが見出される。

術後8日目に於ては、左側皮質部には鍍銀された線維は見出し得ない。左側 Corona radiata, Capsula interna, Pes Pedunculi に於ては不規則、蛇行状、迂曲状を呈した線維及びその中に念珠状膨大を示した線維が存在する。

術後10日目に於ては、左側皮質部ではやはり鍍銀した線維は見出し得ない。又左側 Corona radiata, Capsula interna, Pes pedunculi に於ても、8日目標本で見られた線維よりも明瞭に連続性を保つた不規則蛇行状、迂曲状の線維及び念珠状膨大を混じた鍍銀線維を見出し得る。

術後12日目に於ては、皮質部及び Corona radiata, Capsula interna, Pes pedunculi のいずれの部にも、滴状断裂かと思われる痕跡があるのみで、変性線維は見出されない。

第4章 考案並びに総括

中枢神経系に於ける有髓無髓の変性線維の選択的鍍銀法として、近年 Nauta 鍍銀法が登場して来た。従来行われていた Marchi 法及び Scharlach rot 法が有髓神経のみに有効であるのに対し、Nauta 鍍銀法は有髓無髓の両者に適用し得る点に於て甚だ有利な方法と云わねばならない。教室の北はこの Nauta 鍍銀法の種々なる変法を検討したが、私は猫を用いて、既に述べた方法に依り鍍銀を行い、大体北が述べた様な略々満足すべき成績を得たが、北の注意に加えて、猶私自身この鍍銀法に関して知り得た事を述べて見たいと思う。

(1) Nauta 及び Gyax 法を Lue 等が変更した方法に於て、15%エタノールに30分切片を浸す操作があるが、これをはぶいて直ちに0.5% 磷モリブデン酸水溶液に浸しても、標本の染め上りに何等悪影響を与えない。

(2) 1%ハイドロキノン水溶液と1%尿酸水溶液に浸した後に、切片は充分に水洗せねばならない。出来得れば一昼夜蒸留水中にこれを放置しておいた方がよい。水洗が短時間で、不十分な場合には、細い銀粒子が一面に附着して、標本のきたなくなることがある。

(3) 鄭逸民は Jabonero 神経鍍銀法に於て、実験材料に Hyaluronidase を注入して甚だ良好な結果を得たと発表している。私も屠殺30分前に両側 Carotis interna から Hyaluronidase を注入し、その後 Nauta 鍍銀法を行つて見たが、その結果は、かえつて悪く、全然変性線維を鍍銀し得なかつた。これは Nauta 鍍

銀法は微妙な相違で鍍銀出来たり、出来なかつたりするので、Hyaluronidase を注入することに依り、恐らく切片そのものの化学的性質が変り、このため Jabonero 鍍銀法では鍍銀し得た Hyaluronidase 注入法も、Nauta 鍍銀法では失敗したのだろうと思われる。

脳振盪猫の作成には打撃法、ハンマー打撃法、分銅打撃法等と色々試みたが、我々の判定規準を満足する脳振盪を起すことは困難であつた。教室林の空気銃に実弾をこめて、猫頭蓋骨頭頂部を切線方向に射撃する方法も、技術的に困難であり、又定型的脳振盪の惹起が不確実で、且つ脳表面に挫創を免れる事が出来ない。そこで私は Walker の発表した方法からヒントを得て、硬脳膜を露出し、ここを垂直の方向から空撃することに依り、確実に且つ低死亡率で猫に脳振盪を起し得た。動物脳は人脳に比して外力に恐らく鈍感と思われるので、脳振盪症状を呈する為には、人間の場合以上に強い外力を要するものと思われる。従て動物の脳振盪では、人間の脳挫傷に近い変化が起つてゐるのではないか、ということが想像される。

脳振盪を受けた脳の組織変化について述べた文献は多いが、細胞の変化について述べたものが多く、線維の変化を追求したものは少い。私は最初皮質切除猫を作り、Naute 鍍銀法による線維変性所見を確め、次に実験的に猫に脳振盪を作成し、皮質、Corona radiata, Capsula interna, 及び Pes pedunculi について、その変性像の有無、形態の変化を調べたが、この結果多分変性軸索にちがひがあるまい、と考えられる形態の鍍銀線維が、上記4部分に而も両側性に認められた。しかしこれらの鍍銀線維は、皮質切除猫の変性軸索の鍍銀像と形態的に若干の差異が認められた。即ち

(1) 皮質切除猫脳に於ては、術後10日目から滴状断裂像が見られるが、脳振盪猫脳の鍍銀線維には明瞭な滴状断裂像は認められない。

(2) 皮質切除猫脳に於ては、単なる蛇行迂曲を呈した鍍銀線維も存在するが、むしろ菱形膨大、不規則膨大を伴つた蛇行線維が多く、且つこの膨大の程度が大きく、明瞭なものが多い。これに反して脳振盪猫脳に於ては、むしろ単なる蛇行迂曲状を呈した鍍銀線維が多く、菱形膨大、不規則膨大を伴つた蛇行迂曲線維も存在はするが、その膨大は皮質切除猫脳に於けるもの程大きくなく、単なる蛇行迂曲線維に比して数も少ない。

(3) 皮質切除猫脳に於ては、変性線維と思われる線維は、Corona radiata に於てその密度大で、Capsula

interna, Pes pedunculi, に於てはその密度はやや小である。一方脳振盪脳では鍍銀線維は Corona radiata, Capsula interna, Pes pedunculi, と略々同じ密度で存在し、且つ皮質切除脳に於けるよりその密度は小である。

(4) 皮質切除脳に於ては、その変性線維は当然切除の同側のみに存在するが、脳振盪脳では左右両側の皮質, Corona radiata, Capsula interna, Pes pedunculi で鍍銀線維が見出される。

(5) 皮質切除脳に於ては、術後3日目より10日目までの鍍銀線維は、割合に連続性を保っているが、12日目、14日目となると滴状断裂像となり、それでも Corona radiata では処々に連続した線維を見出せるが、Capsula interna, Pes pedunculi では、滴状断裂と思われるものが所々に見られるのみとなり、殆んど鍍銀線維は見出されなくなる。これに反して脳振盪脳では、3日目から14日目に至るも上記の各部で様に鍍銀線維が見出されるが、12日目以後はごく少数の蛇行迂曲線維又、ごく少数の紡錘形又は菱形膨大を伴った鍍銀線維と、更にまれに滴状断裂像かと思われるものが見られるのみとなる。

以上の様な諸点に於て、皮質切除脳と脳振盪脳との間に相違が認められたのである。

しかば皮質切除脳と脳振盪脳との間に、如何にしてかかる鍍銀線維の差を生ずるであろうか。Tedeschi は実験的に脳振盪を作成した鼠脳に於て、紡錘形膨大、蛇行迂曲状線維を見出し、退行変性を示した線維が存在すると述べているが、皮質切除脳で示される退行変性像との差異については言及していない。又 Courville は頭部外傷を受けた人間脳で、神経線維に退行変性の起ることを認めているが、これが Concussion によるものが、Contusion によるものかの区別が明かでなく、従てこの変性線維と皮質切除後の変性線維との異同は不明である。唯考えられる事は、皮質切除脳に於ては、即時に、完全に、しかも多数の線維が退行変性に入るのに対して、脳振盪脳では、その細胞を変性せしめる外力が弱く、このため細胞が或は完全に死滅し、或は完全には死滅せず、半死の状態に止まる等不均一であるから、その細胞に源を発する神経線維も、或ものは完全に変性して、紡錘形膨大を示すが、他のものは完全には死滅しないで蛇行迂曲を示すに止まるということになるのではないと思われる。即ち Cajal の所謂 Preserved fibres の状態を呈するのであらうと考えられる。又皮質切除脳に於ては、即時

に、しかも完全に多くの線維が退行変性に入るために、その密度の高いのは当然と考えられる。Preserved fibres の状態を呈する線維の変化が reversible であつて、或程度まで変性状態を示して後又元に戻るものか、irreversible であつてそのまま死滅してしまうものか、は不明である。

脳振盪脳に於て、鍍銀線維が両側の脳に見られる事は、打撃は一側に加えられたと云えども、脳を一つの弾性体と見れば、脳に加えられた外力は物理学の法則に従い、両方の各部に同じ強さで伝わる故に、その線維に変性が生ずるとすれば、両側同時に起つても差支えはあるまい。Courville に依ると、脳の神経線維の変性は受傷数時間後から認められ、第3週の終りには、変性線維の大部分は消失するというが私の行つた脳振盪脳、皮質切除脳例では、術後12日目には既に大部分の線維が鍍銀されていない。この事は、Nauta 鍍銀法では特定の時期の変性線維しか染まらないという特殊性に依るのか、又或はこの時期に既に変性が終了するためか、いずれとも考えられる。

皮質切除脳に於て、変性線維の密度が大であるとは云つても、それが皮質の小部分、即ち限局した皮質切除部位に由来するのに対して、脳振盪脳に於ける鍍銀線維が仮りに変性線維とするなら、たとえ密度は小であつても、皮質の全般から由来し、且つ両側性であるから、変性線維の総数はかなり大きいものと思われ、これは脳全体の萎縮の原因となり得ると考えても良いのではなからうか。脳振盪脳の肉眼的所見に於て、脳室の著明な拡大は証明し得なかつたが、蜘蛛膜下腔の拡大を認めた事は、これを裏書きするものであらう。

皮質切除脳と脳振盪脳とに於ける鍍銀線維の形態的差異の原因は、恐らく脳振盪脳に於ては、変性に導く外力が小さく、このため細胞が即時には死滅せず、段々弱つて死滅するものもあり、又活力を復活するものもあることによるのではなからうか。この観点から、あまり強くない外傷を与え、細胞に緩慢な変化を与えようとして、Meyer に倣つて第Ⅳ群の実験を行い、又松井円照が8万倍稀釈より濃度の薄い昇永水の注入では、脳実質に見るべき変化を生じない、と言う実験を根拠として、第Ⅴ群の実験を行つた。この結果第Ⅳ群(血管焼灼)の鍍銀線維の形態及び密度は最も皮質切除標本の形態に近く、Ⅴ群(昇永水脳表面注入)では、鍍銀線維の一つ一つの形態及びその密度が脳振盪脳の鍍銀線維の状態と酷似していた。これは10万倍稀釈昇永水の脳表面注入か、外来傷害因子として弱力なもの

であることを示すものと思われる。

しかし V 群 12 日目の標本となると、殆んど線維の鍍銀されたものがない。脳振盪脳でも同じ傾向があった。併しこの事が果して細胞の reversible の障害を示すものであるかどうかは確証し得ない。併し脳細胞に与える外力の作用が緩慢な場合には、脳振盪でも、化学的傷害でも、皮質切除の場合とは異つた上述の如き変化を来すのであらうと思われる。

第 5 章 結 語

(1) 皮質切除猫脳に Nauta 鍍銀法を行い、この鍍銀法が猫に於ても、その変性線維を略選択的に鍍銀し得る事を確めた。

(2) 実験的に脳振盪猫を作成し、これに Nauta 鍍銀法を施し、皮質, Corona radiata, Capsula interna, Pes pedunculi, に於て、恐らくは変性線維であらうと思われる鍍銀線維を脳の両側で見出した。

(3) 脳表面に肉眼的变化を伴わない脳振盪を猫に於て作成するのには、空撃法が最も確実で且つ死亡率が低い。

(4) 10 万倍稀釈昇永水を脳表面の蜘蛛膜下腔に 1 cc 注入した猫脳標本に於て、Nauta 法に依り皮質, Corona radiata, Capsula interna, Pes pedunculi, に現出された鍍銀線維は、脳振盪作成脳に見られた鍍銀線維とその形態及び状態が甚だ良く似ていた。

(5) 鄭が Jabonero 神経鍍銀法で効果ありと述べた Hyaluronidase 患部注入は Nauta 鍍銀法に於てはかえつて鍍銀出来ないという結果を示した。

(6) 人間の脳振盪症に於ても以上と同じような脳全般に亘る神経線維の変性が起るとすれば、これは空気脳室撮影像に於ける脳室像の全般的瀰漫性拡大として現われると思われる。そしてこのような変化が頭部外傷後遺症の成立に何等かの関係をもち得るのではあるまいか。

本論文の要旨は、第 65 回近畿精神神経学会総会 (1959) に於て発表した。

稿を終るに当り、御指導並びに御校閲を戴いた恩師 荒木千里教授に深謝致します。尚御教示を賜つた北宏伸氏にも深謝致します。

参 考 文 献

- 1) Albrecht, M. H.: Mounting Frozen Section with Gelation. Stain Tech., 29, 89, 1954.
- 2) 荒木千里: 頭部外傷と意識障碍. 診療, 9, 1, 1956.

- 3) 荒木千里: 頭部外傷に関する吾々の研究二, 三. 医学, 4, 8, 1948.
- 4) 荒木千里: 頭部外傷の諸問題. 最新医学, 3, 293, 1948.
- 5) Auer, J. & Virgilio, G. D.: Demonstration of Degenerating Nerve Fibers by a Modified Cajal Technic. Stain Tech., 28, 141, 1953.
- 6) Bielschowsky, M.: Die Silberimpraegnation der Neurofibrillen. J. Psychol. Neurol., 3, 169, 1904.
- 7) Chason, J. L., Hardy, W. G., Webster, J. E., & Gurdjian, E. S.: Alterations in Cell Structure of the Brain associated with Experimental Concussion. J. of Neurosurg., 15, 135, 1958.
- 8) D. Denny Brown & W. R. Russell: Experimental Cerebral Concussion. J. Physiol., 99, 153, 1940.
- 9) 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.
- 10) Glees, P. & W. E. L. Gros Clark: The Termination of Optic Fibres in the Lateral Geniculate Body of the Monkey. J. Anat., 75, 296, 1941.
- 11) Glees, P. & W. J. H. Nauta: A Critical Review of Studies on Axonal and Terminal Degeneration. Mschr. Psychiat. Neurol., 129, 74, 1955.
- 12) Greenfield, J. G.: Some Observations on Cerebral Injuries. Proc. Roy. Soc. Med., 32, 129, 1938.
- 13) 林敏彦: 頭部外傷後の初期ショック. 日外宝, 28, 394, 1959.
- 14) Jakob, A.: "Experimentelle Untersuchungen über die Traumatischen Schädigungen des Zentralnervensystems (mit besonderer Berücksichtigung der Commotio cerebri u. Kompressionsneurose)." in Nissl, A. & Alzheimer, F.: Histologische u. Histopathologische Arbeiten über die Grosshirnrinde, mit besonderer Berücksichtigung der Pathologischen Anatomie der Geisteskrankheiten. (Histol. Arb. Grosshirnrinde) Jena, G. Fischer., 5, 182, 1913.
- 15) John S. Meyer: Importance of Ischemic Damage to small Vessels in Experimental Cerebral Infarctions. J. Neuropath. & Exp. Neurol., 17, 571, 1958.
- 16) 北宏伸: 中枢神経系変性軸索の Nauta 氏選択的鍍銀法について. 日外宝, 28, 855, 1959.
- 17) König, R. S. & König, H.: An Experimental Study of Post Motem Alterations in

- Neurons of the Central Nervous System. J. Neuropath. Exp. Neurol., 11 69, 1952.
- 18) 久留勝: Marchi 連続切片の製作法に就いて. 病理学雑誌., 3, 64, 1944.
 - 19) 工藤清之助: 頭部外傷による脳損傷(脳幹部を除く)に就いて. 外科学会雑誌., 50, 1, 1949.
 - 20) Lubarsch, O., Henke, F. & Rössle, R.: Handbuch der Speziellen Pathologischen Anatomie und Histologie Bd. 3. Springer Verlag. 1955.
 - 21) 松井円照: 稀薄昇汞水微量注入時に於ける大脳皮質運動領の組織学的変化(その1). 大阪大学医学雑誌, 8, 647, 1956.
 - 22) 松井円照: 稀薄昇汞水微量注入時に於ける大脳皮質運動領の組織学的変化(その2). 昇汞水注入量と脳の組織学的変化. 大阪大学医学雑誌, 8, 663, 1956.
 - 23) 松井円照: 稀薄昇汞水微量注入時に於ける大脳皮質運動領の組織化学的变化(その3). 知見補遺—昇汞水に混入する色素の研究. 大阪大学医学雑誌, 8, 669, 1956.
 - 24) Nauta, W. J. H. & P. A. Gyax: Silver Impregnation of Degenerating Axon Terminalis in the Central Nervous System: (1) Technic (2) Chemical Notes. Stain Tech., 26, 5, 1951.
 - 25) Nauta, W. J. H. & Lloyd F. Ryan: Selective Silver Impregnation of Degenerating Axons in the Central Nervous System. Stain Tech., 27, 175, 1952.
 - 26) Nauta, W. J. H. & Gyax, P. A.: Silber Impregnation of Degenerating Axons in the Central Nervous System: A Modified Technic. Stain Tech., 29, 91, 1954.
 - 27) Nauta, W. J. H.: Personal Communication. Nov., 1957.
 - 28) Nauta, W. J. H.: Personal Communication. Jan., 1957.
 - 29) Nauta, W. J. H. L. F. Ryan: Selective Impregnation of Degenerating Axon in the Central Nervous System. Stain Tech., 27, 175, 1952.
 - 30) Rand, C. W. & Courville, C. B.: Histologic Changes in the Brain in Cases of Fatal Injury to the Head, V: Changes in the Nerve Fibers. Arch. Neurol. & Psychiat., 23, 527, 1931.
 - 31) Ramon, Y. Cajal, S.: Degeneration and Regeneration of the Nervous System. I, II Band. Oxford Univ. Press, London, 1928.
 - 32) Rand, C. W. Courville, C. B.: Histologic Changes in the Brain in Cases of Fatal Injury to the Head. Arch. Neurol. & Psychat., 55, 79, 1946.
 - 33) Schwartz, P. & Fink, L.: Morphologie und Entstehung der Geburtstraumatischen Blutungen im Gehirn und Schädel der Neugeborenen. Ztschr. f. Kindheil., 40, 427, 1926.
 - 34) 武谷止孝: 脳の病理組織標本の作り方. 日本医書, 1952.
 - 35) Tedeschi, C. G.: Cerebral Injury by Blunt Mechanical Trauma. Arch. Neurol. & Psychiat., 53, 333, 1945.
 - 36) 鄭逸民: 大血管の求心性神経支配に関する組織学的研究. 日外宝, 26, 75, 1957.
 - 37) Walker, A. E., Kollros, J. J. & Case, J. J.: The Physiological Basis of Concussion. J. Neurosurg., 1, 103, 1944.
 - 38) 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.

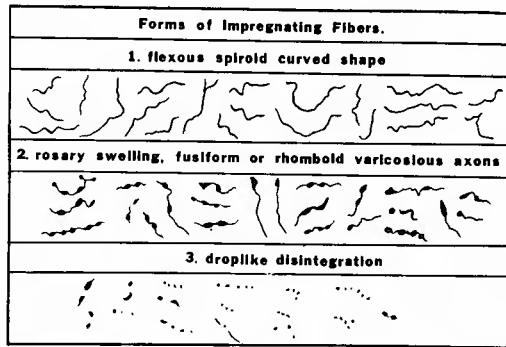


Fig. 3

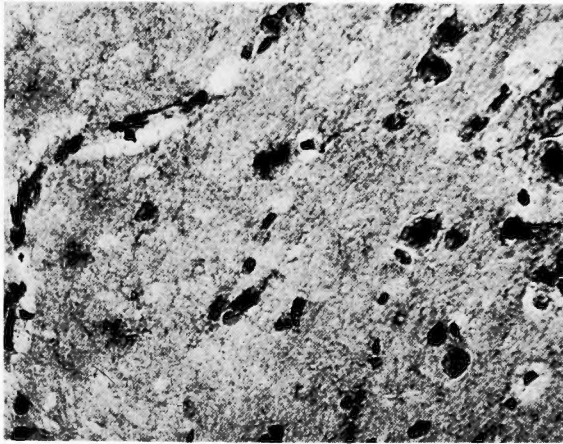


Fig. 4

第Ⅰ群. 無処置猫に於ける Corona radiata. 鍍銀線維は見出せない. (×400)



Fig. 5

第Ⅰ群. 無処置猫に於ける Capsula interna. 鍍銀線維は見出せない. (×400)



Fig. 6

第Ⅰ群. 無処置猫に於ける Pes pedunculi. 鍍銀線維は見出せない.

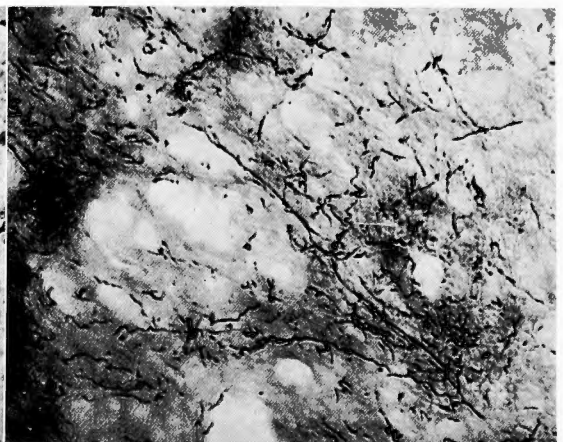


Fig. 7

第Ⅱ群. 皮質切除術後3日目切除側 Corona radiata に於ける鍍銀線維. (×400)

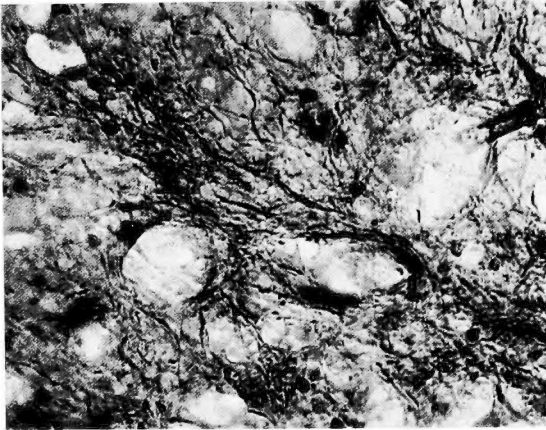


Fig. 8

第Ⅱ群. 皮質切除術後8日目切除側 Corona radiata に於ける鍍銀線維. (×400)



Fig. 9

第Ⅱ群. 皮質切除術後8日目切除側 Pes pedunculi に於ける鍍銀線維. (×400)

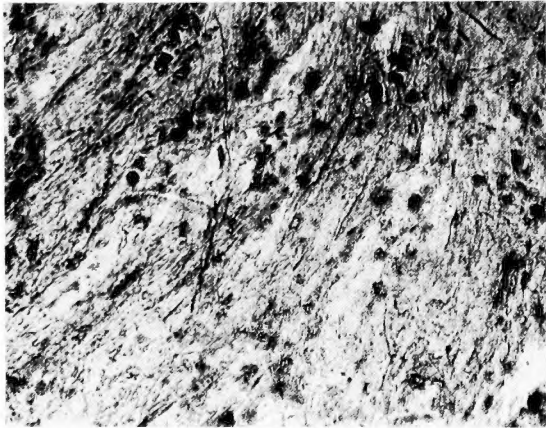


Fig. 10

第Ⅱ群. 皮質切除術後8日目切除側 Capsula interna に於ける鍍銀線維. (×400)



Fig. 11

第Ⅲ群. 脳振盪猫術後3日目皮質に於ける鍍銀線維. (×400)

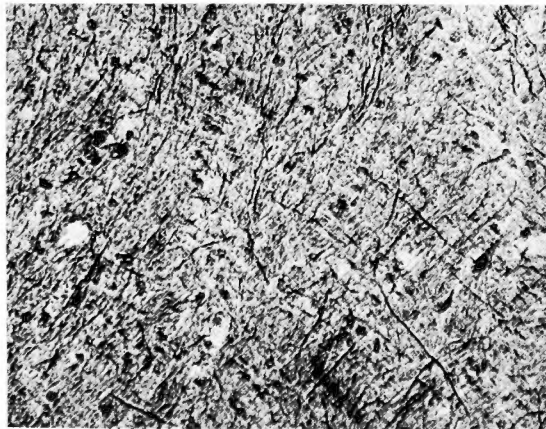


Fig. 12

第Ⅲ群. 脳振盪猫術後8日目右側 Corona radiata に於ける鍍銀線維. (×400)

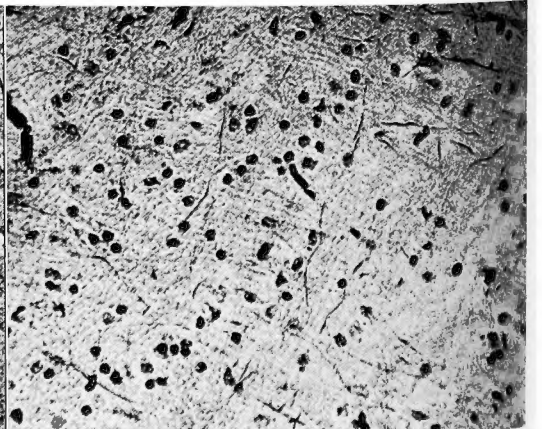


Fig. 13

第Ⅲ群. 脳振盪猫術後10日目左側 Corona radiata に於ける鍍銀線維. (×400)



Fig. 14

第Ⅲ群. 脳振盪猫術後8日目右側 Capsula interna に於ける鍍銀線維. (×400)

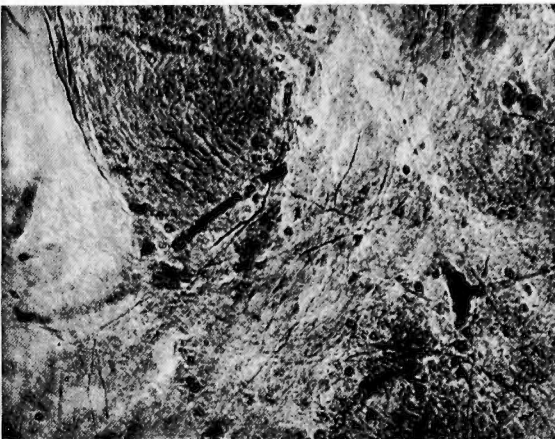


Fig. 15

第Ⅲ群. 脳振盪猫術後8日目左側 Capsula interna に於ける鍍銀線維. (×400)



Fig. 16

第Ⅲ群. 脳振盪術後8日目右側 Pes pedunculi に於ける鍍銀線維. (×400)



Fig. 17

第Ⅳ群. 左側 A. Cerebri media 焼灼群に於ける左側 Corona radiata 術後8日目の鍍銀線維. (×400)

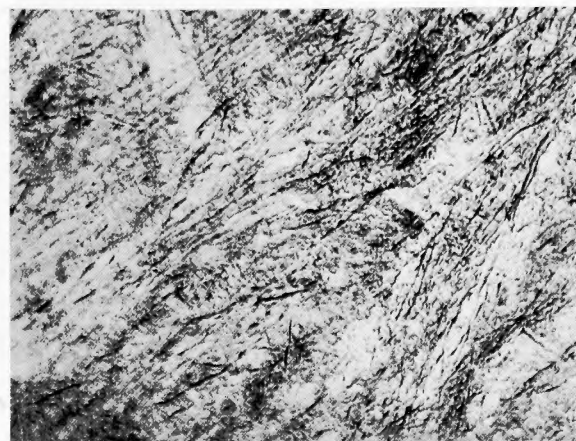


Fig. 18

第Ⅳ群. 左側 A. Cerebri media 焼灼群術後8日目左側 Pes pedunculi に於ける鍍銀線維. (×400)



Fig. 19

第Ⅳ群. 左側 A. Cerebri media 焼灼術後10日目左側 Corona radiata に於ける鍍銀線維. (×400)



Fig. 20

第Ⅴ群. 左側脳表面10万倍稀釈昇汞水注入術後10日目左側 Corona radiata に於ける鍍銀線維. (×400)

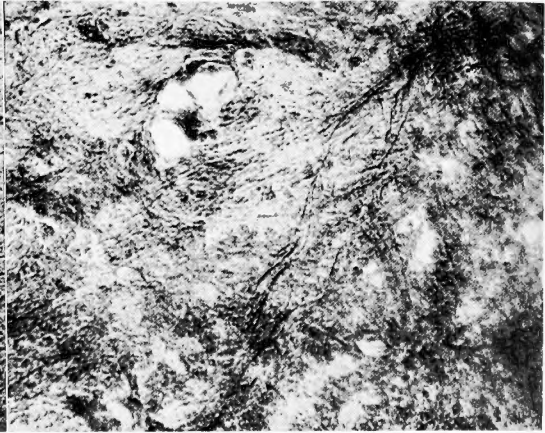


Fig. 21

第Ⅴ群. 左側脳表面10万倍稀釈昇汞水注入術後10日目左側 Pes pedunculi に於ける鍍銀線維. (×400)



Fig. 22

第Ⅴ群. 左側脳表面10万倍稀釈昇汞水注入術後10日目左側 Capsula interna に於ける鍍銀線維. (×400)