

強力超音波による実験的脳浮腫作製に関する研究

順天堂大学医学部外科教室第2講座（指導：田中憲二教授）

野 中 博 敏

〔原稿受付：昭和42年7月11日〕

Experimental Brain Edema by Intense Ultrasound

by

HIROTOSHI NONAKA

The Second Surgical Department, Juntendo University School of Medicine

(Director : Prof. KENJI TANAKA)

Many factors are involved in brain edema, and numerous reports have been presented about brain edema.

I have reported that brain edema was to be easily and ideally produced using intense ultrasound which was generated by Horn-type irradiator. Magnestricion tranducer consists of NA-type Nickel and resonant frequency is 20 kc and is cooled by water. Electric output of the generator is 50 to 100 watts.

Rabbits and cats were used for the experiments under Uretan anesthesia and irradiated by ultrasound through the scalp at region of the cerebral hemisphere.

I have reported about the experimental brain edema in rabbits cortex produced quantitively by intense ultrasound of 20 kc from the scalp which doesn't make any lesions on scalp and exclude any other factors which would produce brain edema.

The cerebral cortex were used as the materials for the electron microscopic examination. The cortex was fixed with the Millonig solution, then embedded in Epon resin 812 and stained using the method of Millonig. The section were observed under the electron microscope.

Experimental brain edema made by ultrasonic irradiation is electron microscopically almost similar to that of brain edema produced by other methods.

目 次

1. 緒 論	(a) 肉眼的観察及び脳脊髄液圧の変化
2. 実験方法	(b) 組織学的観察
実験材料及び実験方法	(4) 電顕試料の検索法
(1) 実験材料	3. 実験成績
(2) 実験方法	電子顕微鏡的観察
(3) 予備実験	4. 考 按
予備実験方法	5. 結 語
予備実験成績	6. 参考文献

1. 緒 論

脳神経外科領域疾患において、頭蓋内圧亢進は Transientorial herniation, Tonsillar herniation など Pressure cone の危険をはらみ、その治療には大きな関心がもたれている。

この頭蓋内圧亢進の発生機序は静脈血鬱滞、脳脊髄液の鬱滞による場合の他、脳組織の炎症、脳腫瘍、脳外傷、脳低酸素症による脳容積の増大等により、その成立の機構は単一ではなく、種々な因子が関与し、ここで脳浮腫、脳腫脹の占める役割は大きい。

しかし、この所謂脳浮腫という概念で総括されている脳の状態は形態学的にも、病理組織学的にも、あるいは組織化学的にもその本質を究明するにはいたっていない。

しかも、その脳浮腫の概念についてもこれまで種々な意見が報告され諸家の見解も今だ統一されていない状態である。

古典的には、M. Reichardt¹⁾ は脳浮腫と脳腫脹に分類した。

脳浮腫とは脳動脈の拡張及びこれに伴う血漿の漏出に起因し、組織間隙や血管周囲腔に水分の貯溜した状態であり、肉眼的には脳表面は湿潤でくも膜下腔に脳脊髄液が増加した状態である。

脳腫脹は原形質の膠様構造の変化による水分結合と同形物質の細胞内侵入により、細胞内水分の過剰に貯溜した状態で、脳脊髄液が減少し、くも膜下腔は狭く、脳表面は光沢が少く、脳は硬い状態と解釈した。この説は、安保⁴⁹⁾により、脳容積増大時の脳水分の測定による実験から支持された。

それ以後、脳浮腫、脳腫脹の定義の下、自由水、結合水の測定を基礎とした所謂脳浮腫の研究²⁶⁾²⁴⁾⁴⁷⁾⁴⁸⁾⁴⁹⁾²²⁾が行われて来た。

しかし Greenfield⁶⁴⁾, Penfield, Nito-Cass, Prados 等は脳浮腫、脳腫脹の差は結局、肉眼的な問題であり、両者の差を強いて考えれば、水分貯溜の差であると考え、両者を区別せず、共に脳浮腫の概念で総括する事を提示した。中田²⁰⁾は急性か慢性か、短期間か長期間脳の圧迫、脳循環障害等脳容積増大を来す病変が継続されたかどうかで、両者の差は本質的なものではないとしている。

このような状況のなかで、脳浮腫の病態生理を究明するためには、実験的に所謂脳浮腫といわれる状態を作成し、これについて脳浮腫発生の因子、脳浮腫時に

おける脳の生理学的、生化学的あるいは病理学的探究、さらにはその治療について研究することが必要と考えられるにいたり、いわば『定量脳浮腫学』という分野が開拓されて来た。

この定量脳浮腫学を推進するためには、まず、普遍的、定量的に脳浮腫を作成する事が急務であり、これ迄種々の方法が報告されてきた。

- (1) 両側頸静脈結紮法¹⁾、胡麻油総頸動脈注入法⁴⁴⁾⁴⁵⁾、矢状洞頭頂後頭部結紮法²⁾。
- (2) 脳表面冷却法、⁴⁾⁵⁾⁶⁶⁾⁷¹⁾、脳曝気法⁷⁾⁸⁾⁹⁾¹⁰⁾³⁶⁾³⁷⁾。
- (3) 天膜上硬膜外圧迫法¹⁸⁾²⁴⁾⁷³⁾⁴¹⁾、頭蓋内異物挿入法⁷³⁾。
- (4) 硬膜外振動法²⁶⁾²²⁾²⁷⁾²⁸⁾、頭蓋骨振動法²¹⁾³⁰⁾、頭部外傷法⁶⁾¹⁵⁾⁶²⁾、硬膜外集束超音波照射法¹⁶⁾¹⁷⁾²⁵⁾。
- (5) 視床下部電気刺激法¹⁾、前頭葉穿刺法¹⁾。
- (6) 慢性重症性肝障害中毒法、クロロホルム慢性中毒法⁴⁹⁾⁵⁰⁾、四塩化炭酸中毒法。
- (7) 低張溶液頸動脈内注入法、低張溶液静脈内注入法、大槽内生理食塩水注入法。

等があるが、本来所謂脳浮腫発生には種々な因子が関与し、従来試みられて来た実験的脳浮腫作製法には、脳浮腫の他に、脳皮質・髄質の損傷、血管の破壊を来とし、且つ手術等の操作も必要とし、同時に定量的に確実に脳浮腫を作成するという点において満足すべき方法とは云い難く、しかも普遍性と再現性において十分な条件を満たしていない。

著者は当大学でおこなわれている超音波の医学生物学的応用の一つである強力超音波に着目し、普遍性、再現性、定量性の条件を満足する脳浮腫作成法を研究した。

尚、ここで取り扱った強力超音波は、Intensity の level においては weak intense Ultrasound といわれるもので周波数も 20kc のものを使用した。

超音波を利用することによる利点は、

① 浮腫作成に普遍性を持たせ得る事、即ち、超音波振振装置、その電気的なデーターから、また振動子についている電気音響的試料より overall intensity が基準化される。

② 定量的な超音波照射が可能である。超音波の cavitation level 以下の weak intense ultrasound の生物学的作用は、振動振幅により決定されると考えられる。

③ 再現性のある実験が施行され得ること。音響系

をふくめた超音波発振器による再現性が音響学的な立場よりも確認されている。

の3点である。

2. 実験方法

実験材料及び実験方法

(1) 実験材料

実験動物として体重2.5kg～3kgの成猫と体重1.8kg～2.2kgの成熟家兎を使用した。

頭皮上より20kc平行強力超音波照射後、家兎大脳皮質を採取し、光学顕微鏡並びに電子顕微鏡観察の試料とした。

(2) 実験方法

成猫及び家兎を用い、麻酔は25% ウレタン3.0g/kgを皮下注射し、一時間後動物固定器に固定した。(図1、2)

Horn Type Ultrasonic Transducer (20kc)

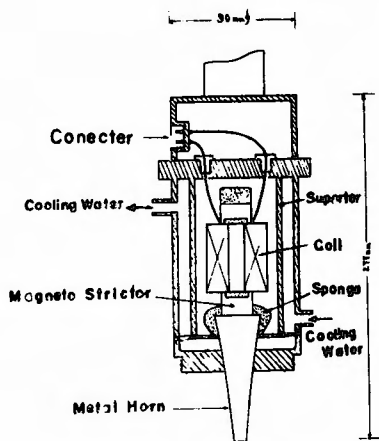


図 3

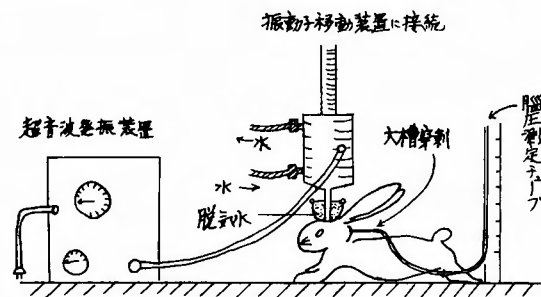


図 1

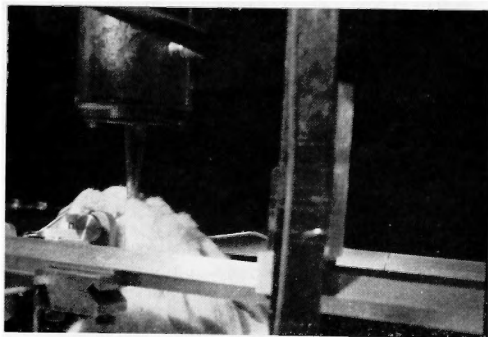


図 2

この実験に使用した超音波発振装置は東洋理工製強力超音波振盪器50-4型であり、電気の最大出力100W、周波数20kcである。

振動子は振動振幅の増大を計り、黄銅製半波長共振指数ホーンを附加した。(図3)

振動子の先端は円形で、直径は9mmである。20kc強力超音波照射は頭皮上よりゴム膜(コンドームを使用した。)と脱気水を介して行ない、照射部位は一側大脳半球の一ヵ所とした。

脳組織のいかなる状態を指して脳浮腫とするか論議の別れている現在、脳浮腫判定方法³⁾³⁶⁾⁴⁸⁾⁴⁹⁾⁶⁸⁾についても種々の報告がある。

今日、"脳浮腫"時血液脳関門の破壊が生じ、血液脳関門の透過性が亢進し、脳浮腫が発生するのである。という点に関しては、大方の研究者の意見の一致を見ている。

著者はこの血液脳関門障害の指標として、従来用いられている Trypan blue の腹腔内投与により脳浮腫局在部位を青染する事を利用した。又光学顕微鏡により組織学的検索を行なった。同時に大脳皮質を材料として電子顕微鏡にて観察し、従来理想的脳浮腫作製法とされている硬膜外圧迫法²⁴⁾³⁴⁾⁴²⁾⁴²⁾⁷³⁾により発生した脳浮腫像と比較検討を行なった。

(3) 予備実験

予備実験方法

予備実験として、超音波照射方法を次の3群に別けた。

第1群 成猫、家兎を用いた。

大開頭術を行ない、硬膜上より照射した。

第2群 成猫、家兎を用いた。

開頭術を行わず、頭皮切開を行ない、直接頭蓋骨に振動子を接し照射した。

第3群 家兎を用いた。

頭皮切開を加えず、頭皮上にゴム膜を介して照射した。

あらかじめ腹腔内に注射した5%Trypan blueにより大脳の限局性青染を観察した。

又、大槽穿刺を施行し、脳脊髄液圧の変化を経時的に観察した。脳脊髄液圧の測定は麻酔後直ちに動物固定器に固定し、小児用ルンバール針を大槽内に挿入し、水柱圧で測定した。同時に振動子直下の大脳皮質を光学顕微鏡にて観察した。(表1)

表 1

	実験動物	照射方法	電氣的出力	振動子振幅	照射時間
第1群	家兎	硬膜上	100W	24.5×10^{-4} cm	10~15秒
第2群	家兎	頭蓋骨上	100W	24.5×10^{-4} cm	3~5分
第3群	家兎	頭皮上	100W	21.5×10^{-4} cm	1~5分
	家兎	頭皮上	75W	19.0×10^{-4} cm	4~5分
	家兎	頭皮上	50W	12.0×10^{-4} cm	8~10分
	家兎	頭皮上	25W	9.2×10^{-4} cm	10分

予備実験成績

第1群：(a) 肉眼的観察及び脳脊髄液圧の変化

頭頂部に直径約1cmの骨窓を開け、約1mmの距離からゴム膜(コンドームを使用)を介して、硬膜上より20kc強力超音波を照射した。

電氣的出力100W、振動子振巾 24.5×10^{-4} cm、10~15秒照射を行こなう。

4例中2例は超音波照射10秒後、振動子直下に振動子の大きさに大脳に挫傷を発生し、同時に硬膜は線維方向に断裂状の破綻を来たした。4例中1例は照射12秒後、振動子直下該当部位に脳挫傷を生じ、硬膜も断裂を来した。4例中1例、照射15秒後、振動子直下該当部位に脳挫傷を生じた。硬膜も断裂を来たした。全例超音波照射後4~5分経過し、破綻した硬膜より脳の脱出して来るのが観察された。

これは局所に強い超音波が当たり、音圧のメカニズムが作用して限局した脳挫傷を来たしたものと考ええる。又、脳挫傷部位周囲にtrypan blueにより青染された大脳皮質一髓質を認めた。(図5)

第2群

頭頂部に皮膚切開を加え、直接頭蓋骨に振動子を接触させ、超音波を照射した。

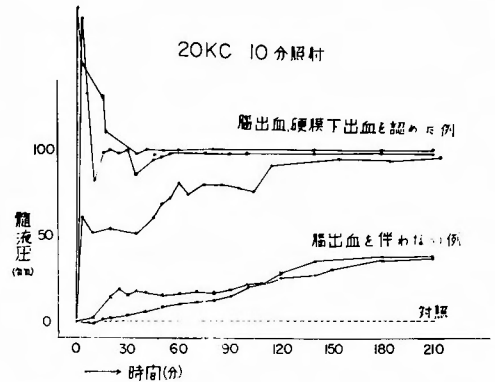


図 4

電氣的出力100W、振動子振巾 24.5×10^{-4} cm、3~5分照射した。

5例中全例振動子直下に相当する大脳皮質一髓質に限局性脳挫傷、出血性変化を来たした。又硬膜は全例出血性変化を認めたが、第1群にて認められた硬膜の断裂状態は一例も発生しなかつた。

脳脊髄液圧の変動を経時的に観察すると、超音波照射中より急激な脳脊髄液圧の上昇が観察された。

脳脊髄液圧の測定は、超音波照射以前の髄液圧を0点とし水柱圧で測定した。

5例中3例、3分照射中髄液圧は急激な上昇を来たし、4秒後には最高値に達し、約18.0cm~20.0cmを示した。この値は5分後いずれも10.0cmの値迄下降し、以後一定の値を保ち続けた。

5例中1例は5分照射中、急激な脳脊髄液圧の上昇を来たし、3秒後には最高値20.0cmに達した。5分後10.0cm迄下降し、以後この値を保ち続けた。

5例中1例は3分照射中、前例と同様、急激な脳脊髄液圧の上昇を来たしたので、照射を中止した。脳脊髄液圧は6.0cmに達した。この一例のみ、照射後髄液圧の上昇を続け、150分後9.8cmに達し以後この値を示した。この時の急激な脳脊髄液圧の変動は脳浮腫の変化をとらえたものではなく、脳浮腫発生による頭蓋内容積の増大を来す以前に、脳挫傷及び頭蓋内の出血性変化による脳脊髄液圧の変動をとらえたものである。

又、脳挫傷、出血性変化を来たした大脳周囲にtrypan blueにより青染された大脳皮質、髓質を認めた。(図4)

第3群

超音波照射時間と電氣的出力を変える事により9つの組合せを作り超音波を照射した。

① 電氣的出力50W、振動子振巾 12.0×10^{-4} cm、照

射時間10分。68例中出血例4例，非出血例64例，内 trypan blue により青染された大脳を認めたもの63例，1例は trypan blueにより青染された大脳を認めなかった。

② 電氣的出力50W，振動子振巾 12.0×10^{-4} cm，照射時間8分。5例中出血例なし，非出血例5例，内 trypan blue により大脳の青染されたもの2例，青染されなかったもの3例。

③ 電氣的出力60W，照射時間10分。

5例中5例出血性変化を来した。

④ 電氣的出力75W，振動子振巾 19.0×10^{-4} cm，照射時間5分。

4例中4例出血性変化を来した。

⑤ 電氣的出力75W，振動子振巾 19.0×10^{-4} cm，照射時間4分。

5例中5例出血性変化を来した。

⑥ 電氣的出力100W，振動子振巾 24.5×10^{-4} cm，照射時間5分。

4例中4例出血性変化を来した。脳挫傷を伴った。

⑦ 電氣的出力100W，振動子振巾 24.5×10^{-4} cm，照射時間3分。

2例中2例，脳挫傷を来した。

⑧ 電氣的出力100W，振動子振巾 24.5×10^{-4} cm，照射時間2分。

4例中3例，脳挫傷，出血性変化を来した。4例中1例は脳挫傷，出血性変化を認めず，振動子直下，照射該当部位に trypan blue により青染された脳組織を認めた。

⑨ 電氣的出力100W，振動子振巾 24.5×10^{-4} cm，照射時間1分。

3例中3例，脳挫傷，出血性変化を認めた。

以上の成績より，電氣的出力50W，振動子振巾 12.0×10^{-4} cmに超音波発振装置を規定し，10分間照射を行なう事により，大脳組織，硬膜に何ら出血性変化を発生させる事なく，一番安定した状態で，常に超音波照射直下の該当大脳組織を限局性に trypan blue で青染させる事が出来た。(図6)

一方，電氣的出力100W，振動子振巾 24.5×10^{-4} cm，2分照射例に於いて，4例中1例のみ出血性変化を認めず，大脳組織の限局性青染を来したが，この例は振動子と頭皮間距離が1mm以上離れて居たために起つたものとする。この事実より，振動子振巾増大させた場合は，超音波照射間隙を広くとる事により，脳浮

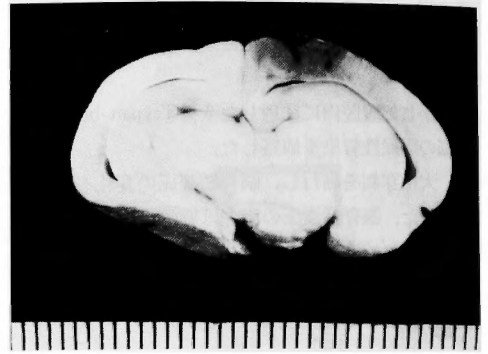


図 5

腫発生に必要な力を与える事が可能である事を示すものとする。

一方脳脊髄液圧の変動を観察すると，脳挫傷，出血性変化を来した例は全例，急激な圧上昇を来し，第2群に於いて見られたと同じ傾向を示した。

電氣的出力50W，振動子振巾 12.0×10^{-4} cm，照射時間10分例について観察すると，超音波照射後脳脊髄液圧は徐々に上昇し，30分後には $1.0\text{cm} \sim 2.0\text{cm}$ を示し，150分迄は殆んど直線的に上昇し， 3.8cm に達した。この後上昇カーブはさらに緩くなり210分後には 4.0cm に達するが，以後12時間一定の値を保ち上昇，下降の変化を示さない。

著者の方法によれば，脳脊髄液圧の変動を起す因子は20kc強力超音波照射以外にはなく，この脳脊髄液圧の上昇は，所謂脳浮腫の発生が起り，頭蓋内容積の増大により生じたものとする。(図4)(表2)



図 6

(b) 組織学的観察

組織学的変化は電子顕微鏡用試料採取後，光学顕微鏡試料として，10% フォルマリン液にそのまま固定し，パラフィン包埋した。

表 2

	電気的出力	振動子振幅	照射時間	出血例	非出血例	trypan blue 染色(陽性)	trypan blue 染色(陰性)
①	50(W)	12.0×10^{-4} (cm)	10(分)	4(例)	64(例)	63(例)	1(例)
②	50	12.0×10^{-4}	8	0	5	2	3
③	60		10	5	0	0	0
④	75	19.0×10^{-4}	5	4	0	0	0
⑤	75	19.0×10^{-4}	4	5	0	0	0
⑥	100	24.5×10^{-4}	5	4	0	0	0
⑦	100	24.5×10^{-4}	3	2	0	0	0
⑧	100	24.5×10^{-4}	2	3	1	1	0
⑨	100	24.5×10^{-4}	1	3	0	0	0

ヘマトキシリン・エオジン染色し、光学顕微鏡にて観察した。

第1群、第2群及び第3群の内、肉眼的に脳挫傷、出血性変化を来した例については、いずれも大脳組織の出血、挫滅組織は鈍な楔状を呈し、神経細胞の破壊、細血管、毛細血管の破壊像を示した。又超音波入射角と直角方向に波状に神経線維の断裂像を認めた。(図7) 一方、超音波入射対側骨前面の脳組織には何等組織学的変化を認めない。

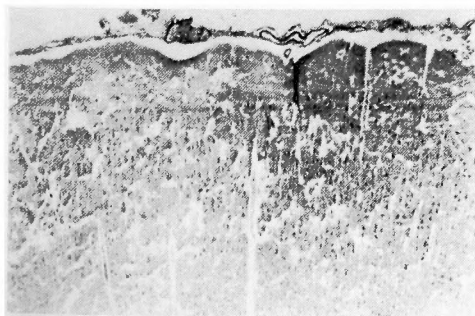


図 7

8)。

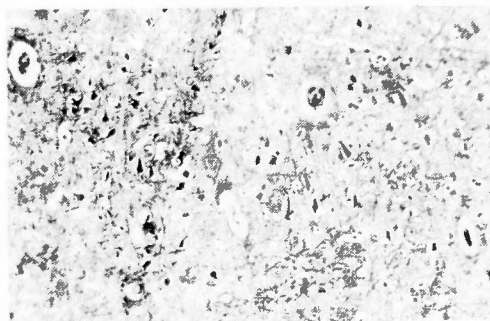


図 8

12時間後、24時間後に於いても同様の所見を得た。12時間後、24時間後、超音波照射対側骨前面の大脳組織を観察するに神経細胞、神経線維に変化を認めず、細血管、毛細血管周囲腔にも何ら異常所見を認めなかつた。6日後、7日後には大脳組織には殆んど異常所見を認めない。

全時期を通じ、全例細血管、毛細血管の破壊像は認めない。

(4) 電顕試料の検索法

電顕試料の作成方法は、家兎を25% ウレタン 麻酔(3.0 g / kg) 後、頭頂部の頭蓋骨を除去し、更に硬膜除去後すみやかに大脳皮質表面の切除部位に、Millonig⁵¹⁾⁵²⁾⁵³⁾氏燐酸緩衝液(pH7.5)を加えた2% オスミウム酸固定液を滴下し、生体のまま固定し、直ちに固定部位大脳皮質の一部を極く少量取り、固定液で覆つたまま、ロウ板上で $0.5\text{mm}^3 \sim 1.0\text{mm}^3$ の大きさに細切し、この小組織片を Millonig氏燐酸緩衝液を加えた2% オスミウム酸固定液に入れ、2時間氷室固定した。次いで50% エタノールより漸次高濃度エタノールにて脱水を行ない、エポン(812)樹脂⁵⁵⁾⁵⁴⁾で包埋した。

第3群 電気的出力50W. 振動子振幅 $12.0 \times 10^{-4}\text{cm}$, 超音波10分照射例について組織学的観察を行なう。超音波照射6時間、12時間、24時間、6日、7日後に殺し光学顕微鏡にて観察した。

超音波照射後、6時間後より振動子直下に振動子直径の大きさで、平均約0.4cmの深さにわたり、浸潤性で楔状に trypan blue により青染された大脳組織を認めた。

12時間後、24時間後の例に於いても、青染された大脳組織の大きさには殆んど有意の差は認めなかつた。

この部位の大脳皮質—髄質は細血管周囲腔の拡大、細胞周囲腔及び神経線維周囲腔の拡大像を認めた(図

超薄切片作成には Servall 社製, Porter-Blum-MI-Ultramicrotom を使用し, ガラスナイフにて 1×10^{-5} cm に超薄切し, この切片を Millonig 氏水酸化鉛染色液⁵³⁾にて15分間染色した。これを電子顕微鏡の試料とした。

電子顕微鏡は日立製 HU-11A 型を使用し, 2,500倍～20,000倍にて観察し, 写真撮影を行なった。

3. 実験成績

電子顕微鏡的観察

動物は成熟家兎を用い, 超音波照射後, 6時間, 12時間, 24時間, 48時間, 6日, 7日後に屠殺し, その時の大脳皮質の微細構造について観察した。

超音波照射条件は電氣的出力50W, 振動子振巾 12.0×10^{-4} cm, 照射時間10分とした。

(i) Astrocyte

① Astrocyte の核小体は電子密度の高い chromatin 小顆粒が密に集まり, 一部顆粒の集まりの粗の部位を認め, テープの集まつた様子を示す。

② Astrocyte の核はほぼ円形を示し, 核質は chromatin 小顆粒に乏しく, 微細顆粒が集団的に核膜に接して配置し, 中央部は核膜周囲部位に比して明るい。

全経過を通じて, Astrocyte の核, 核小体の微細構造は著明な変化を示さない。

③ Astrocyte の核膜は内層—外層からなり約300Åの間隙をもつ二重構造を示す。

外層は正常時所見においても, わずかに波状を示しているが, 超音波照射後12時間経過した試料においては, 外層は細胞質内に著明に膨隆し, 波状所見は増々強く, 外層, 内層の間隙は部分的に拡大する所見を得た。

24時間, 48時間を経過するとこの異常所見は著しくなり, 一部には外層は剝離し, 飛び散つた如き像を示した。

6日後, この所見は全く認められなかつた。

④ Astrocyte 細胞質及びその突起は有形成分に乏しく, 電子密度はきわめて小さい。

超音波照射6時間後著明な変化を認めない。12時間後より, 細胞質はやや淡明となり, 原形質に乏しく, 全体的に膨大した感じを与えるが, 24時間, 48時間経過したものでは細胞質は明るく, 原形質は増々乏しくなり, 毛細血管に接する Astrocyte 突起部位は特に原形質に乏しい。又互いに相い接する Astrocyte の突起の細胞膜は緊張し, 張りが強く伸展し, 著しい膨化像を

示した(図9)。6日, 7日後にこの所見は消失していた。

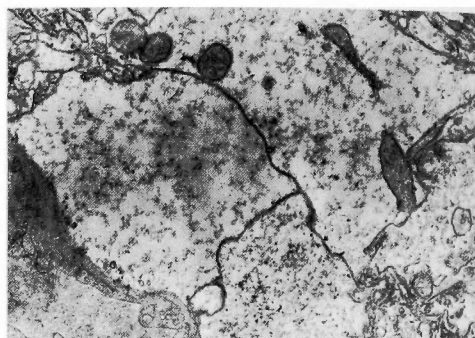


図 9

細胞間隙は150Å～200Åを示し, 全時期を通じて細胞間隙が拡大する像は認めなかつた。

⑤ Golgi, Astrocyte 細胞質内の Golgi 装置の発達傾向は, 超音波照射後6時間で認められた。12時間後, Golgi野を形成し, Golgi胞の拡大傾向を示し, Grigi胞の配列の乱れを示した。48時間後にも同様の所見を認めた(図10)。

6日以後は発達傾向を示さなかつた。

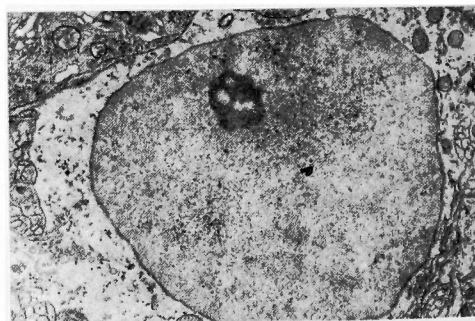


図 10

⑥ Mitochondria, Astrocyte 細胞質内の Mitochondria の変化は最つとも著しい所見である。

Mitochondria は内層, 外層よりなる2重膜構造を示し, 円型乃至は卵円形を呈するものが多い。

超音波照射後, 6時間後より Astrocyte 細胞質及びその突起内の Mitochondria に変化が発生し, crista の乱れが最初に出現し, Mitochondria は円形となり, Mitochondria 全体の大きさが増し膨化の傾向を示すものが認められる。

12時間経過したものでは, Astrocyte 細胞質内の Mitochondria の crista の乱れ, 断裂が起り, 一部には crista

の消失した Mitochondria が出現し、Mitochondria 内部には電子密度の低い顆粒が散在し、基質は淡明、無構造となる。

24時間、48時間経過したものでは、この所見は著明となった。

2重膜構造を示す Mitochondria の内膜、外膜の内、24時間以上経過したものに於いて外膜の断裂を起す所見を認めた。その後、Mitochondria の変化は長期にわたり観察されたが、7日以後のものは異常所見を認めない。

(ii) 毛細血管内皮細胞

超音波照射後、6時間経過したものには著明な異常所見を認めない。

12時間後の毛細血管内皮細胞の Pinocytotic vesicles は増加の傾向を認めた。24時間経過したものでは、Pinocytotic vesicles は著明に増加し、Vesicles は大型化を示す傾向がある。又 Glia 細胞側内皮細胞膜に血管腔に向う小突起は、正常像に比べ増加した所見を示した(図11, 12)。

(iii) Basement membrane

基底膜の厚さは、正常脳に於ても厚い所、薄い所と切り口の角度によりある程度巾がある。超音波照射後、6時間、12時間経過したものに於ては著明な変化は認めない。

24時間、48時間経過したものについて観察すると、基底膜間隙に部分的に肥厚した所見を認めた。この肥厚した基底膜間隙は中央部は淡明となり、正常像にみられる基底膜を引き伸したとき興味ある所見を認めた(図13)。

4. 考 按

各種成因により発生した、所謂脳浮腫と呼ばれる変化は、いかなる脳の状態であるか、従来多くの病理組織学的、生理学的、生化学的研究が行なわれ報告されて来た²⁰⁾¹⁵⁾³⁰⁾³¹⁾⁴⁸⁾⁴⁹⁾⁶⁹⁾⁷⁰⁾。

今日迄、脳浮腫の研究に先だち、実験的脳浮腫惹起法が種々試みられて来たが、普遍性を持ち、且つ定量的に確実に脳浮腫を作成するという点においては、未だ満足すべき方法が無い。

著者は初めて成熟家兎を用い、手術操作を行なう事なく、頭皮上より20kc強力超音波を照射し、家兎大腦に定量的脳浮腫を作成した。実験的脳浮腫作製法の確認法³⁾³⁶⁾⁴⁸⁾⁴⁹⁾⁶⁸⁾として、従来より種々の方法が報告されている。

著者は光学顕微鏡の観察、脳脊髄液圧の変動、血液脳関門障害により発生する、trypan blueによる大腦の青染の観察を行なつた。同時に電子顕微鏡にて大腦皮質の微細構造を観察した。

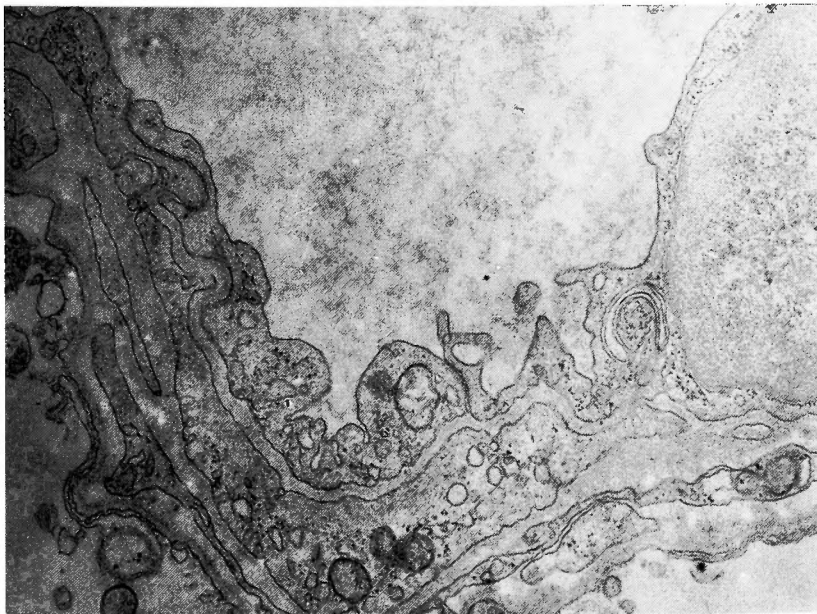


図 11

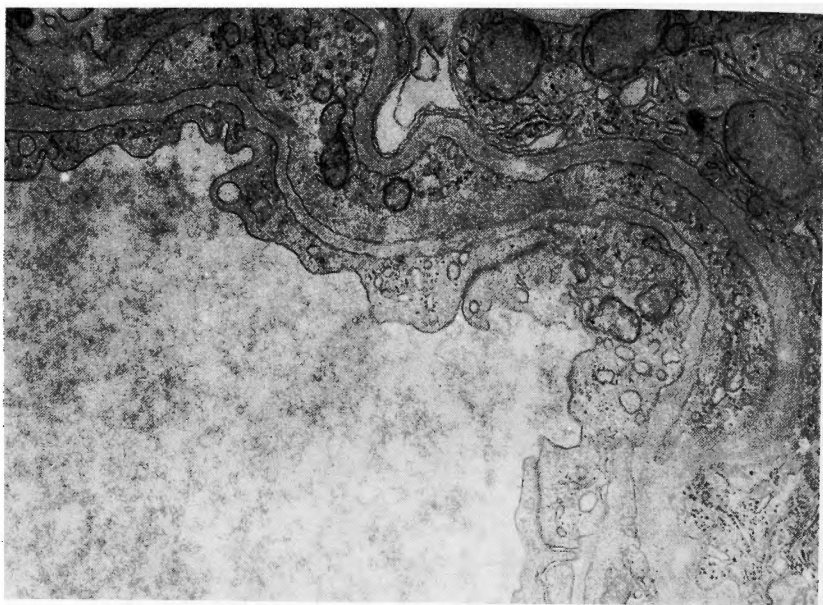


図 12

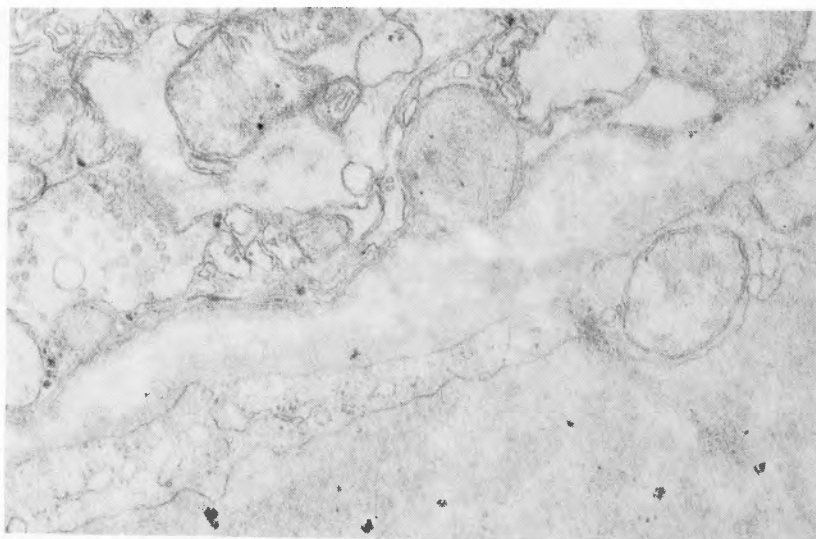


図 13

1905年, Reichardt¹¹⁾ は脳容積増大時の脳組織の状態を脳浮腫, 脳腫脹に分類した。

Zülch³⁶⁾³⁷⁾ はこれを組織学的検索により 裏付けた。又, 小谷⁴⁸⁾, 安保⁴⁹⁾等は脳組織の自由水, 結合水の測定を行ない脳浮腫, 脳腫脹に分けた。その後, 数多くの研究報告¹⁵⁾²⁰⁾³⁵⁾⁴⁶⁾⁴⁷⁾⁴⁸⁾がなされた。

近年, 電子顕微鏡学的研究が進み, この問題多い,

所謂脳浮腫の分野にも導入され, 脳容積増大時の脳組織の形態学的研究^{8)14)42)57)58*8)59)63)68)62)73)75)76)}が進められて来た。

電子顕微鏡による脳組織の微細構造の研究が進み, これ迄認められて来た 脳浮腫, 脳腫脹の概念は根本より変えられた。すなわち, 脳容積増大時の大脳皮質に於て, 今日 光学顕微鏡的 観察により 認められてい

る細胞間隙、血管周囲腔と呼ばれる所見は認められず、各神経細胞及びその突起、毛細血管は互いに100~200Åの間隙にて密に相接し、毛細血管の周囲85%以上が神経膠細胞及びその突起により密に接している。一方、著しい膨化を来す組織は神経膠細胞及びその突起である。これ等認むべき変化はZülch³⁶⁾の言う脳浮腫の存在は否定され、脳腫脹のみが存在する事になった。

電子顕微鏡による脳組織の形態学的研究が進み解明されたかに見えた。脳浮腫発生時の病態生理も、脳容積増大時変化を来す神経膠細胞の電顕像については、現在未だ細胞同定に関して義論が分かれている。

光学顕微鏡的分類によるAstrocyte, Oligodendroglia, Microgliaの3膠細胞の内、特にAstrocyte, Oligodendrogliaの同定には意見の一致はみえていない。

すなわち、Hartmann & Farquhar¹²⁾³⁸⁾, Maynard³⁹⁾, Schultz & Pease³⁹⁾⁷²⁾, 本陳⁴⁰⁾⁴¹⁾等はAstrocyteは、ほぼ円形の核を有し、核質もChromatin小顆粒に乏しく、微細顆粒が集团的に核膜に接して配置し、中央部は明るい。

細胞質及びその突起は著明な特徴として、認め得る有形成分が少く、電子密度が極めて小で、全体として殆んど空虚にみえ、少量の小顆粒—endoplasmic reticulum及びMitochondriaを有する細胞を指摘し、又その突起は神経細胞、毛細血管、他種神経膠細胞の表面に達するが、最つとも特徴的なことは毛細血管の基底膜の外面に密接し、毛細血管基底膜に接する細胞の内85%³⁹⁾をしめる。

脳腫脹、脳浮腫時変化を示す組織は、この細胞で、他の神経膠細胞には変化を認めていない。

一方、Oligodendrogliaは細胞質及びその突起は電子密度は中等度で、可成りのendoplasmic reticulum及び小顆粒並びにMitochondriaが存在し、chromatin小顆粒は少く、突起は主としてneuronに接し、毛細血管基底膜に達するものは一部のものにすぎない。

Dempsey & Luse⁴²⁾⁴³⁾, Frank, D., Mann¹³⁾ et al, J. E., Gruner⁶⁹⁾等は脳腫脹時にOligodendrogliaが膨化し、他の神経膠細胞には変化を来さないと報告している。しかし、両者共に脳容積増大時脳組織に変化を生ずる細胞は、電子密度の低い細胞をそれぞれ指摘し、前者は後者がOligodendrogliaと称する神経膠細胞をAstrocyteと称し、後者がAstrocyteと称する神経膠細胞を前者はOligodendrogliaと報告していると考えられる。

他方、畠中⁴⁴⁾によれば、銀染色と蛍光顕微鏡法との併用により、組織学的検索を行ない、脳容積増大時、Oligodendroglia. 又はAstrocyte いづれか一方のみが膨化性変化を来すのではなく、すべての神経膠細胞、更に神経細胞やこれ等の突起が脳浮腫に関与しているであると報告している。

著者はHartmann, Maynard等の記載にもとずいて観察した。

近藤⁶⁰⁾は、硬膜外圧迫法により作成した、実験的脳浮腫脳について、肉眼的所見、病理組織学的所見共に人間の脳浮腫と類似の所見を認めるが、硬膜外振動法による脳容積増大時の脳組織の変化には、著明な細血管・毛細血管の充盈が認められるのみにて、電子顕微鏡学的観察にて硬膜外圧迫法により認められた、脳浮腫時の異常所見は認めないと報告した。

著者は周波数20 kc, 電気的出力100W, 振動子振巾 24.5×10^{-4} cmの状態にて、頭皮上より超音波を3分間照射した時の脳組織の変化を肉眼的に観察すると、照射後直ちに屠殺した時の脳組織は血管の損傷、脳組織の断裂破壊像を示し、12時間後屠殺した時、脳組織の挫傷を来した部位の周囲にtrypan blueに青染された脳組織を認めた。

照射条件をかえ、周波数20 kc, 電気的出力50W, 振動子振巾 12.0×10^{-4} cmにて成熟家兎を用い、頭皮上より10分間超音波照射を行なった時の脳組織を肉眼的に観察すると、超音波照射12時間後、脳挫傷、出血性変化はなく、振動子直下に該当する脳組織は限局性にtrypan blueにより青染された。

一方、電子顕微鏡にて観察すると、6時間後よりすでに、Astrocyte細胞質内のMitochondriaは軽度膨化像を示し、Mitochondriaのcrisaeの乱れが出現した。

12時間後、Mitochondriaの膨化像は著明となり、Astrocyte細胞質及びその突起の膨化、腫脹像を認めた。更に毛細血管基底膜の部分的間隙肥厚像を認めた。毛細血管内皮細胞のPinocytic vesicleの増加、膨大化の傾向も合せ観察した。

本陳⁴⁷⁾は神経切断後のchromatolysisの回復期には核膜の外層が細胞内に膨隆し、endoplasmic reticulum薄膜の形成に関与し、同時に核小体の小顆粒が、核孔部を介して核内から細胞質内に出現すると報告している。

著者の観察によれば、核小体には殆んど変化を認めぬが、超音波照射後24時間後に核膜外層は著明に細胞質内に膨隆して来る所見を認めた。この核膜外層の著明に膨隆して来る時期は本実験に於いては脳浮腫最盛

期に相当し、照射後7日目の電顕像にては核膜の変化は認めず、脳浮腫回復期には認めなかった。

これ等の所見は、核膜の異常所見を除けば、現在多くの研究者⁸⁾¹⁴⁾²⁴⁾⁸³⁾により報告されている脳浮腫脳の大脳皮質についての電顕的観察と一致した所見である。

一方、強力超音波を使用し、大脳破壊実験を行ない、それに附随して大脳破壊巣周囲に trypan blue により青染された脳組織について報告⁶⁸⁾¹⁷⁾¹⁶⁾がある。

Ballantine⁶⁴⁾、石井¹⁷⁾、竹内¹⁶⁾等は1 M/C、3 M/C、5 M/Cという強力超音波を用い、開頭術を施行し、硬膜上より直接深部脳組織に集束した超音波エネルギーを照射し、脳組織の破壊を起した。この時破壊された周囲の脳組織は脳血液関門に障害が発生し、trypan blue により青染されたものとする。

著者の方法は、キャピテーション位下の超音波音圧エネルギーを利用したものである。又頭蓋骨に何ら手術操作を加える事なく、頭皮上より超音波を照射する事が出来る。

照射条件を一定に規制する事により（電氣的出力50 W、振動子振巾 12.0×10^{-4} cm、照射時間10分）大脳組織の破壊、硬膜の出血性変化を発生させる事なく、照射直下の大脳に振動子の大きさで深さ約0.3 cmの楔状の脳浮腫を常に作成する事が出来た。又、超音波照射対側音前面の脳組織には浮腫性変化は認ず、超音波が脳実質内を通過し、対側骨の振動を惹起し、超音波の反射エネルギーにより脳浮腫を発生する事はなく、頭皮上より照射した超音波は減衰の為に深部迄到達しないものとする。

5. 結 語

(i) 成猫及び成熟家兎を用い、手術操作を施行する事なく、頭皮上より20 kc強力超音波を照射し、大脳皮質に定量的実験的脳浮腫作製を試みた。

(ii) これ迄の実験的脳浮腫作製法と異なり、頭蓋骨の損傷を起さず、手術操作による脳侵襲を加える事なく、脳浮腫発生を来す他の因子の関与を防ぎ脳浮腫を発生させる事が出来た。

(iii) 超音波照射後、脳脊髄液圧の変動を経時的に観察した。脳容積増大時の大脳組織を肉眼的、光学顕微鏡的観察を行ない、これと平行して電子顕微鏡的観察にて脳浮腫を確認した。

(iv) 強力超音波による脳浮腫作製法は超音波発振器、振動子振巾、照射時間を規制する事により普遍

性、再現性、定量化において理想的な脳浮腫作製法である。

(v) 各種方法による脳浮腫作製法の脳組織の電顕像と比較検討を行い、類似の所見を得た。

稿を終るに臨み、終始御懇篤な御指導、御校閲を賜りました田中憲二教授をはじめ、伊藤和文講師、又電子顕微鏡室にていろいろと御指導戴きました解剖学教室益田栄教授に深甚なる感謝の意を表します。

文 献

- 1) 小崎泰一：自律神経剤、Hormon 剤注射並びに視床下部刺激の脳浮腫に及ぼす影響に関する実験的研究。岡山医学雑誌 71 (7) : 4009, 昭34.
- 2) 橋本義雄：組織学的に観た尿素の脳浮腫に及ぼす影響。脳と神経, 14 (5) : 399, 昭37.
- 3) Raymond, A. J. : Studies of Cerebral Edema III. Acta neuropath., 2 : 177, 1972.
- 4) Raymond, A. J. : Experimental cerebral edema produced by focal freezing. J. Neuropath. exp. Neurol., 21 : 579, 1962.
- 5) Raymond, A. J. et al. : Treatment of Experimental Cerebral Edema with Intravenous Hypertonic Glucose, Albumin, and Dextran. Surg. Gyn. Obstetr., 104 : 591, 1957.
- 6) Klatzo, I. et al. : The relationship between edema, blood-brain barrier and tissue elements in a local brain injury. J. Neuropath. Exp. Neurol., 17 : 548, 1958.
- 7) 堺 浩一：脳浮腫に関する実験的研究。日外函, 28 (8) : 3121, 昭34.
- 8) Luse, S. A. et al. : Electron Microscopy of the Brain in Experimental Edema. J. Neurosurg., 17 : 439, 1960.
- 9) 長谷川秀秀：脳圧亢進時に於ける急性危険症の実験的研究。熊本医雑誌, 36 (1) : 88, 1962.
- 10) Lippert, J. : The Effect of Cortison on Experimental Cerebral Edema. J. Neurosurg., 17 : 583, 1960.
- 11) Reichardt, M. et al. : Zur Entstehung des Hirndrucks bei Hirngeschwulsten und anderen Hirn Krankheiten und über eine bei diesen zu beobachtende besondere und der Hirnschwellung. Deutsche. Z. Nervenheit., 28 : 306, 1905.

- 12) Hartman, J. F. : Electron Microscopy of Mitochondria in the Central Nervous System. *J. Biophysic Biochem Cytol.*, **2** : 375, 1956.
- 13) Frank, D. M. et al. : Experimental postoperative cerebral edema. *J. Neurosurg.*, **20** : 687, 1963.
- 14) Tani, E. and Evans, J. P. : Electron Microscope Studies of Cerebral Swelling. *Acta Neuropathologica.*, **4** : 507, 1965.
- 15) Eichelberger, L. : Water nitrogen and electrolyte content of brain following cerebral concussion. *Am. J. Physiol.*, **156** : 129, 1959.
- 16) 竹内達夫 : 集束超音波による脳定位的破壊に関する実験的研究. 日外函, **34** : 634, 昭40.
- 17) 石井 稔 : 集束超音波による猫脳定位的破壊実験. 日外函, **34** : 621, 昭40.
- 18) Ishii, S. and Tani, E. : Electron microscopic studies on blood brain in cerebral swelling. *Acta Neuropathol.*, **1** : 474, 1962.
- 19) Tani, E. : Electron Microscopic Study on Pathogenesis of Cerebral Edema in the White Matter. *Arch. für Japan Chirurg.*, **33** : 469, 1964.
- 20) 中田瑞穂 : 脳浮腫とか脳腫脹と云うもの. 手術, **14** (6) : 487, 昭35.
- 21) 里吉啓二郎 : 脳浮腫に関する研究. 頭部振盪の影響. *精神神経学雑誌*. **62** (4) : 717, 昭35.
- 22) 中山幸雄 : 実験的脳波浮腫に於ける脳組織含水量に関する研究. 京府医誌. **69**(2) : 375, 1961.
- 23) 石井昌三 : 血液脳関門 (B.B.B.) について, 特にその電子顕微鏡的検索. *脳と神経*. **14** (5) : 357, 昭37.
- 24) Ishii, S. et al. : Studies of cerebral swelling. II. Experimental swelling produced by supratentorial extradural compression. *J. Neurosurg.*, **16** : 152, 1959.
- 25) Bakay, L., et al. : Ultrasonically produced changes in the blood-brain barrier. *Arch. Neurol. Psychiat.*, **76** : 457, 1956.
- 26) 有田泰夫 : 脳浮腫治療の実験的研究. 京府医誌. **69** (1) : 225, 1961.
- 27) 萩原 徹 : 実験的脳浮腫作製法に関する一考案. 京府医誌. **69** (3) : 803, 1961.
- 28) 中山幸雄 : 実験的脳浮腫に於ける脳組織含水量に関する研究. 京府医誌. **68** (6) : 1667, 1960.
- 29) 中山俊郎 : 頭部外傷時の所謂脳浮腫に関する実験的研究. 熊本医誌. **34** (11) : 2249, 1960.
- 30) 栗津三郎 : 脳浮腫の実験的研究. *脳と神経*. **13** (8) : 653, 1961.
- 31) 森 昭胤 : Thioceto 酸の脳浮腫予防作用. *医学と生物学*. **55** (2) : 41, 昭35.
- 32) 安保 寿 : 脳浮腫の電子顕微鏡的研究. *日病理雑誌*. **49** (3) : 655, 1961.
- 33) 安保 寿 : 脳浮腫の臨界値認定. 実験的検索を中心として. *Folia Psychiatrica et Neurologica*. **15** (1) : 40, 1961.
- 34) Evans, J. P., Tani, F. and Raymond, A. J. : An electron microscopic study of brain swelling. *Trans. Amer. Neurol. Ass.*, **86** : 28, 1961.
- 35) Evans, J. P. and Scheinker, L. M. : Histologic studies of the brain following head trauma. Post-traumatic cerebral swelling and edema. *J. Neurosurg.*, **2** : 306, 1945.
- 36) Zülch, K. J. : Hirn Odem Hirnschwellung. *Virchows Arch. Path. Anat.*, **310** : 1, 1943.
- 37) Zülch, K. J. : Störungen des Intrakraniellen Druckes. *Handbuch der Neurochirurgie.*, 208, 1959.
- 38) Hartmann, J. F. and Farquhar, M. G. : Neuroglial structure and relationships as revealed by electron microscopy. *J. Neuropath. exp. Neurol.* **16** (1) : 18, 1957.
- 39) Maynard, E. A., Schultz, R. L. and Pease, D. C. : Electron microscopy of the vascular bed of rat cerebral cortex. *Amer. J. Anat.*, **100** : 409, 1957.
- 40) Honjin, R. : Electron microscopy of peripheral nerve fibers. *Folia Anat. Japonica*, **30** : 257, 1957.
- 41) 本陳良平 : 神経組織一般の電子顕微鏡像. *脳と神経*. **12** (1) : 5, 1960.
- 42) Dempsey, E. W. and Luse, S. A. : Fine structure of the neuropile in relation to neuroglial cells. *Biology of Neuroglia*, edited by W. F. Windle., 99, 1958.
- 43) Luse, S. A. : Electron microscopic observation of the central nervous system. *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **2** : 531, 1956.

- 44) 畠中 坦：脳浮腫の螢光顕微鏡的研究。脳と神経。15 (6) : 49, 1963.
- 45) 畠中 坦：ステロイドと脳浮腫。脳と神経。15 (7) : 624, 1963.
- 46) 森田得三：脳腫脹に関する実験的研究。三重医雑誌。1 : 1, 昭和23.
- 47) 小谷武彦：脳腫脹及び脳水腫に於ける所謂結合水の測定と組織学的変化の比較研究。北海道医誌。1 : 1, 昭和23.
- 48) 小谷武彦：脳腫脹及び脳水腫に於ける所謂結合水の測定と組織学的変化の比較研究。北海道医誌。2 : 65, 昭和23.
- 49) 安保 寿：脳浮腫と脳水腫。日医新報。1363 : 1479, 1950.
- 50) 安保 寿：脳毛細血管の電子顕微鏡的研究。東京医新誌。75 (8) : 463, 1958.
- 51) Millonig, G. : Further observation on a phosphate buffer for osmium solutions in fixation. Electron Microscopy Academic Press., 28, 1962.
- 52) Millonig, G. : Advantages of a phosphate buffer for OsO_4 solution in fixation. J. Appl. Phys., 32 : 1637, 1961.
- 53) Millonig, G. : A modified procedure for lead staining of this section. J. Biophys. Biochem. Cytol., 11 : 736, 1961.
- 54) Luft, J. H. : Improvement in Epoxy Resin Embedding Methodes. J. Biophys. Biochem. Cytol., 9 : 409, 1961.
- 55) Elson, L. G. et al. : An Embedding Technique for Electron Microscopy using Epon 812. J. Cell. Biology., 12 : 190, 1962.
- 56) Dempsey, E. W. and Wislocki, G. B. : An electron microscopic study of the blood-brain barrier in the rats, employing silver nitrate as a vital stain. J. Biophys. Biochem. Cytol., 1 (1) : 245, 1955.
- 57) Ute, G. : Elektronen mikroskopische studien zum experimentellen hirn odem. IV. Int. Kongr. Neuropath. Proc., 2 : 118, 1962.
- 58) 藤田尚男：神経膠細胞の微細構造。最近医学。16 (4) : 831, 1961.
- 59) 魚津竹男：神経膠細胞の微細構造の電子顕微鏡的研究。十全会誌。64 : 289, 1961.
- 60) 近藤祐二：脳浮腫の実験的研究。脳と神経。13 : 8, 1961.
- 61) Edstrom, R. F. S. and Essex, H. E. : Swelling of damaged brain tissue. Neurology., 5 : 490, 1955.
- 62) Cannon, W. B. : Cerebral pressure following trauma. Amer. J. Physiol., 6 : 91, 1901.
- 63) 本陳良平：神経膠細胞の発生に関する電子顕微鏡的研究。解剖誌。33 : 242, 1958.
- 64) Greenfield, J. G. : The histology of cerebral edema associated with intracranial tumors with special reference to changes in the nerve fibers of the centrum ovale. Brain., 62 : 129, 1939.
- 65) Bakay, L. : The blood-brain barrier. Springfield, Illinois, Charles, C. Thomas., 1956.
- 66) Clasen, R. A. : Experimental cerebral edema produced by focal freezing. J. Neuropath. exp. Neurol., 21 : 579, 1962.
- 67) Clasen, R. A. : Use of vital staining in experimental cerebral edema. Fed. Proc., 16 : 353, 1957.
- 68) Gruner, J. E. : Étude Anatomique De L'Oedème Cérébral. Masson & Cie, Editevs., 75, 1965.
- 69) F lgin, I. and Popoff, N. : Neuropathological observation on cerebral edema. Arch. Neurol., Chicago. 6 : 151, 1962.
- 70) Clemente, C D. and Holst, E. A. : Pathological changes in neurons, neuroglia and blood-brain barrier by X-irradiation of head of monkeys. Arch. Neural. Psychiat. Chicago., 71 : 66, 1954.
- 71) Connolly, J. E. et al. : The protective effect of hypothermia in cerebral ischemia. Experimental and clinical application by selective brain cooling in the human. Surgery., 52 : 15, 1962.
- 72) Schulz, R. L. : Electron microscopy of neurons and neuroglia of cerebral cortex and corpus callosum. Am. J. Anat., 100 : 369, 1957.
- 73) 岡田耕坪：脳浮腫の電子顕微鏡的研究。脳と神経。17 (10) : 1025, 1965.
- 74) Greenfield, J. G. : Neuropathology. Edward Arnold Publisches. London. 1958.
- 75) 牧田泰正：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。日外函。31 : 822, 1962.
- 76) Davson, H. and Spaziani, E. : The Blood-Brain Barrier and the Extracellular Space of Brain. J. Physiol., 149 : 135, 1959.