

潜在性脳局所アナフィラキシー猫の痙攣閾値, 脳髓毛細血管像並に Nissl 氏灰白構密度に関する研究

第 3 編

潜在性脳局所アナフィラキシー猫の Nissl 氏灰白構密度に関する研究

(本論文要旨は第 50 回精神神経学会に発表した)

岡山大学医学部第一(陣内)外科教室(指導 陣内教授)

医学士 西 本 詮

[昭和 28 年 7 月 9 日受稿]

第 1 章 緒言並に文献

私は第 2 編において、潜在性脳局所アナフィラキシー家兎(以下潜在性脳局「ア」家兎と略記する)の脳髓の糖代謝が、血管内灌流実験¹⁾の場合と Warburg 氏検圧計を用いた場合²⁾とで異なつた態度を示すこと及びアレルギー性変化が主として血管系に起ると云うことから、まず血管系の変化を考え、潜在性脳局所アナフィラキシー猫(以下潜在性脳局「ア」猫と略記する)を用いて、その脳髓毛細血管像を追求し、毛細血管の攣縮状態が存在することを推論した。しかしながらこれのみによつて、潜在性脳局「ア」家兎脳髓の血管内灌流実験における糖代謝の抑制を説明することは、脳髓の糖代謝が現在未だ充分闡明せられていない以上、全く不可能である。潜在性脳局「ア」家兎と、正常家兎との間には、糖代謝以外にコリンエステラーゼ(ChE)の活性値³⁾、遊離アミノ窒素⁴⁾等種々の点で差異が認められるが、これらのことから毛細血管のみならず、毛細血管と神経細胞との間即ち Nissl 氏灰白にも何らかの変化があるのではないかと云うことが考えられるのである。即ち血管自体のみでなく、血管から再注射された抗原が神経細胞に結びつく迄に通るべき Nissl 氏灰白にも亦、何等か変化が起ることが予想され、こゝに着目して私は本研究を行つて見たのである。

所謂 Nissl 氏灰白は神経細胞及び神経膠細胞の胞体と太い突起の間を埋め顕微鏡下に Körnig fädig に見える部分であるが、この部は神経成分と神経膠成分とが交錯して存し、それに組織液が加わっていることは疑いがなく、脳髓の活動の原動力を与える栄養物質の存在場所であろうということは容易に推察されるところである。しかしながら脳髓においてその広範囲な部分を占め且つ重要な働きを持つと考えられるこの Nissl 氏灰白に対しては、未だにこれを解明すべき系統的な方法は殆んど見出されて居らないのである。

Krebs⁵⁾は骨格筋の染色において、染料の分布状態が組織の構密度と染料の拡散速度とに左右されることを見て居り、Möllendorff⁶⁾は各種染料の拡散速度を調べて、固定標本の染色の場合、色調と分散度の異なる 2 種の酸性染料の混合液を用いると、拡散速度の大なる方が密構の組織に浸潤することを述べ、関教授⁷⁾はこの研究を更に広汎に推進して染色結果から被染物の次微視的構密度を推定することを始めた。即ち同教授は分散度と色調の異なる酸性染料を伍用して神経組織成分の構密度を観察した結果、

膠原線維<中等の太さの軸索枝<太い軸索枝<細胞内神経原線維<稀突起膠細胞の胞形質< Hortega 細胞の胞形質<形質大膠細胞(核を除く)<線維大膠細胞(核を除く)<神経細胞の胞形質(Nissl 氏小体を含む)<

神経細胞核(核小体を除く) < 稀突起膠細胞及び Hortega 細胞核並に Weigert 神膠線維 < 赤血球 < 髄鞘,

の順序であることを認め, これは銀染色における観察⁹⁾ から見ても確かである. 大倉⁹⁾はこの理論の正しいことをモデル実験により確認し, また構密度測定用の7種の酸性染料の電子顕微鏡による観察¹⁰⁾を行つて従来の結果が正確であることを立証している.

この構密度染色法を Nissl 氏灰白に応用したのは松井¹¹⁾及び藤田¹²⁾であり, 松井は Azan 染色によつて人脳の Nissl 氏灰白の神経成分と神経膠成分の部位的差異を検索し, 藤田は二十日鼠脳を用いて同様の実験を行つている.

私はこのような構密度染色法を潜在性脳局「ア」猫の Nissl 氏灰白に応用することを考えたのであるが, 潜在性脳局「ア」猫は H・E 染色や Nissl 氏染色では殆んど病変が認められない程度の極めて軽い脳局所アナフィラキシー状態であり, これと正常猫とを比較するには, なるべく生前の状態に近いものを再現することが望ましく思われるので, 大倉のモデル実験を参考にし, 操作を更に簡単にしようとして試みた.

第2章 実験方法

(I) 予備実験

正常猫脳の15%フォルマリン固定標本より, 皮質運動領及びレンズ核を採取し, 20 μ の凍結切片を作成し, 次の実験を行つた.

(a) 切片乾燥度と染色性との関係

オブジェクトグラス上に載せられた凍結切片はパラフィン或はツェロイデン切片と異なり, 水分の影響が大であり, これを一定にしない場合には染色性はまちまちである. これは染料の配合の比率より遙に重要で例えば孵卵器中で充分乾燥せしめた場合は高分散の染料の色調のみとなるばかりでなく, 切片は収縮して鏡検に不適當となり, また例えば切片が漸くオブジェクトグラスから離れない程度の生乾きの状態では低分散の染料の色調のみが

強くなる. オブジェクトグラス上に載せる場合の切片の水分を一定にすることは不可能であるので, 濾紙にて過剰の水分を除き, 氷室に12時間放置した後, 染色を行つた. かくして殆んど常に一定の染色性を得ることができた.

(b) 染色時間と染料の混合比率

構密度染料としてオレンジG, ボンソー4R, アーリンブルーを選びこの三者の1%溶液を作成し, これらをそれぞれ1:1:1, 1:4:1, 1:4:2, 1:4:1.5の比率に混合し, この混合液にpH4.0の醋酸及び醋酸ソーダ緩衝液¹³⁾を等量加えたものを用い, 37°Cの孵卵器中で1分, 5分及び10分間染色を行つた.

1) 時間

1分間染色した場合は染色が不充分であり, また10分間の場合は染色過剰であるばかりでなく, 青調が非常に強い. これは染色液中で組織が膨化するためであると考えられる. 5分間の場合は最も良好であつた.

2) 混合比率

三者を等量に混合した場合は青調が強いのので, オレンジG1に対し, ボンソー4R, アーリンブルーを4:1, 4:2に混合したところ前者では赤調が, 後者では青調が僅かに強く, これらを4:1.5にすれば, Nissl 氏灰白は赤紫色, 赤血球は橙赤色に染まり, 色調の比較に便利であることを知つた.

(II) 本実験

(a) 潜在性脳局「ア」猫生成法

1) 卵白法

成熟猫背部皮下に卵白2倍溶液を初回2c.c., 以後5日目毎に6回各5c.c.宛注射し, 10日~12日後より, 10日目毎に左右総頸動脈に交互に卵白4倍溶液2c.c.宛計3~6回の効果注射を行つた.

2) 牛血清法

成熟猫股静脈に非働性牛血清 Pro kg 1c.c.を注射し, 2週間後より, 10日目毎に左右総頸動脈に交互に非働性牛血清 1c.c.宛計2~5回の効果注射を行つた.

(b) 構密度染色法

屠殺後直ちに脳を15%ホルマリン溶液で固定し、20 μ の凍結切片を作り、皮質運動領及びレンズ核を検索した。切片はゲラチンを塗つたオブジェクトグラス上に載せ、氷室中に約12時間放置した後、染色を行つた。

染色液としては、オレンジG、ボンソー4R、ア=リンブルーの1%溶液をそれぞれ1:4:1.5の比率に混合し、この混合液にPH 4.0の醋酸及び醋酸ソーダ緩衝液を等量加えたものを用い、37°Cの孵卵器中で5分間染色した。染色後は水洗することなく、濾紙にて染色液を除き2~3分自然乾燥させた後、キシロールに約10分間入れ、キシロールパルサムに封じた。

対照としては正常成熟猫をえらび、毎回同時に屠殺し、固定より染色封入に到る迄全く同様の操作を行うこととした。即ち全くの同条件にて染色するため、また比較に便ならしめるために、潜在性脳局「ア」猫とその対照との切片を同一オブジェクトグラス上に密接して載せて同時に染色し、鏡検に際して同時に或は多少の移動により双方を見得るようにした。

第3章 実験成績

正常猫のNissl氏灰白は、大体赤紫色に染まるのであるが、第1層では染色が弱く且つ青調が強く、第2層から第6層に到る間は多少の差はあるけれども、ほぼ同様の色調である。潜在性脳局「ア」猫30例(卵白法14例、牛血清法16例)を最終効果注射後、7日目7例(No. 40, No. 62, No. 64, No. 66, No. 72, No. 73, No. 156), 10日~20日目10例(No. 6, No. 21, No. 27, No. 42, No. 45, No. 55, No. 75, No. 87, No. 89, No. 100), 及び1ヶ月~2ヶ月目13例(No. 1, No. 2, No. 3, No. 5, No. 7, No. 14, No. 46, No. 47, No. 54, No. 59, No. 70, No. 81, No. 82)の3群に分けて屠殺し、皮質運動領及びレンズ核を対照正常猫と比較検索してみたところ、7日目の群は、全例において対照に比し、Nissl氏灰白は全

般に青紫調がやゝ強く、10日~20日目の群も、7日目の群に比するとやゝ軽度ではあるが、やはり全例に同様の傾向を認めた(第1図~第4図)。1ヶ月~2ヶ月目の群では、Nissl氏灰白全体の色調は対照と殆んど差が認められないが、たゞ血管の周囲において青紫調の強い細かい線維様のものが、やゝ強く且つやゝ明瞭に現われて居る像を13例中1例(No. 54)を除き認めた(第5図, 第6図)。以上の傾向は皮質各層とも大体同様であり、また皮質運動領とレンズ核との間、及び卵白法と牛血清法との間における差異は全く認められなかつた。

第4章 総括並に考按

私はさきに第1編において潜在性脳局「ア」猫のカルデアゾール痙攣閾値の下降を証明し、榊原¹⁴⁾、清水¹⁾等の潜在性脳局「ア」家兎とその軌を一にすることを述べた。更に第2編においては、この潜在性脳局「ア」猫の脳髓毛細血管像を追求して、毛細血管の攣縮状態があることを推察したのであるが、潜在性脳局「ア」家兎脳と正常家兎脳との間には糖代謝以外にChEの活性値及び遊離アミノ窒素等種々なる相違点が見られることより、潜在性脳局「ア」猫においても血管以外になお変化があるのではないかと考え、本編においてNissl氏灰白を検索することを考えたのである。しかしながら、神経細胞や神経膠細胞に関する研究は従来枚挙にいとまのない程多くなされているのに、Nissl氏灰白に関する系統的な検索法は未だ殆んど発見されえ居らず、如何なる方法を用いればNissl氏灰白の様相を知り得るかが問題となるのである。私はNissl氏灰白の構成から考えて、構密度染色法がこれに対する一つの解明を与えるであらうということを思いつき、これを潜在性脳局「ア」猫に応用してみたのである。

即ち、潜在性脳局「ア」猫の皮質運動領及びレンズ核に構密度染色を行つて対照と比較したところ、潜在性脳局「ア」猫におけるNissl氏灰白は対照に比しやゝ青紫調が強く

現われる傾向のあることを認めた。この傾向は最終効果注射後7日目においてやゝ強く、10～20日目においても7日目のものに比すれば軽度ではあるがやはり同様の傾向が認められる。1ヶ月～2ヶ月目のものでは、対照に比し殆んど差はないが、血管周囲において構密度の小さな細かい線維様のものがやゝ強く出ている像を認めたのである。以上の所見は卵白法と牛血清法との間にも、また皮質運動領とレンズ核との間にも全く異差がなかつた。

アレルギー性病変と云えば、組織学的に漿液浸潤、血漿停滯、血管周囲の白血球浸潤、及び神経細胞の膨化等が挙げられるのであるが、潜在性脳局「ア」猫は、これらの組織学的変化を殆んど認め得ない程度の局所アナフィラキシー状態にあるものと考えられ、このことは既に第1編でのべた通りである。

しからばこのような潜在性脳局「ア」猫において、Nissl 氏灰白が僅かの変化ではあるが青紫調が強い、即ち大分子のアニリンブルーに浸潤され易く、従つて疎構であるということは如何なる意義を有するであらうか。

Nissl 氏灰白が疎構になるべき因子としては、種々なる条件が予想せられるのであるが、最終効果注射後7日目に屠殺した潜在性脳局「ア」猫において Nissl 氏灰白がやゝ疎構であり、また10日～20日目のものが7日目のものより更に軽度ながら同様の傾向を有するということは、脳のアレルギー性変化として

の漿液浸潤が、たとえ普通染色では認め得ない程度ながらも起つて居り、そのために組織液が増加し脳浮腫の状態、即ち組織が膨化している状態にあるからではないかと考えられる。

次に、効果注射による急性の変化が大体において消褪したと考えられる時期、即ち1ヶ月～2ヶ月目の潜在性脳局「ア」猫においては、対照に比し僅かの変化ながら血管周囲に疎構の線維様のものがやゝ強く現われていることを認めたのみであるが、その意義に関しては、Nissl 氏灰白自体が未だ殆んど解明せられていない以上、決定的解釈を下すことは不可能であり、たゞ私はその事実を述べて置くにとどめたいと思うのである。

第5章 結 論

(1) 潜在性脳局「ア」猫の Nissl 氏灰白の構密度は、一般に僅かながら疎構である。

(2) この傾向は最終効果注射後7日目にはやゝ強く認められ、10日～20日目でも、7日日よりはやゝ軽度ながら同様の傾向を有するが、1ヶ月～2ヶ月目には、血管周囲に疎構の線維様のものが軽度に増加しているのみである。

(3) この Nissl 氏灰白の疎構なる所見は組織液の増加によるものと思われる。

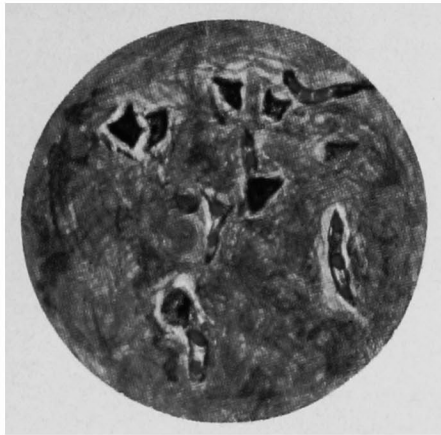
(稿を終るにのぞみ、終始御懇篤なる御指導を賜つた恩師陣内教授に深甚なる謝意を捧げる。)

参 考 文 献

- 1) 清水：癲癇の研究，35，1952.
- 2) 兼松：癲癇の研究 35，1952.
- 3) 沖：岡山医学会雑誌 64；1632，1952.
- 4) 井上：岡山医学会雑誌 64；1646，1952.
- 5) krebs：Arch. mikrosk. Anat. (Berl.) 97；554，1923
- 6) Möllendorff：Erg. Anat. 25；1，1924.
- 7) Seki：Z. Zellforsch. 29；553，1939.
- 8) Seki：Z. Zellforsch. 30；529, u. 548, 1940.
- 9) 大倉：日本組織学記録 1；3，1950
- 10) 大倉他：日本組織学記録 1；379，1950.
- 11) 松井：日本組織学記録 2；181，1951.
- 12) Fujita：Arch. hist. jap. 3；31，1952.
- 13) Seki：Fol. anat. jap. 19；47，1940.
- 14) 榊原：岡山医学会雑誌 64；347，1952.

第3編 論文附圖

潜在性脳局「ア」猫

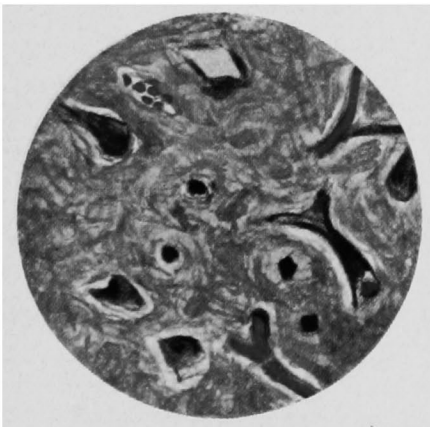


第 1 図
No.62 運動領 (7日目)

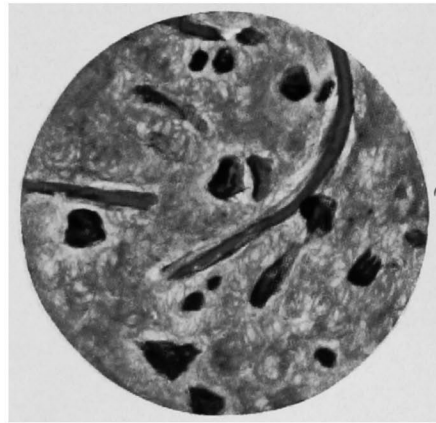
対照 (正常猫)



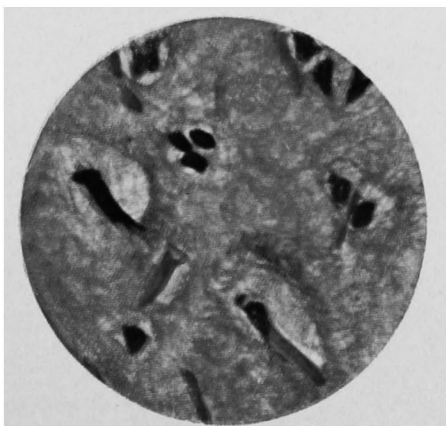
第 2 図
運動領



第 3 図
No.40 レンズ核 (7日目)



第 4 図
レンズ核



第 5 図
No.70 運動領 (30日目)



第 6 図
運動領