

幼若期水頭症ラットにおける脳組織及び血管床の変化

—先天性水頭症 (LEW/Jms) と幼若期カオリン水頭症における研究—

奥 山 徹

札幌医科大学脳神経外科学講座 (主任 端 和夫 教授)

Brain Tissue Damages and Vascular Changes in Infantile Rat Hydrocephalus

—Comparison of Congenital Hydrocephalus (LEW/Jms)
and Infantile Kaolin-induced Hydrocephalus—

Tohru OKUYAMA

Department of Neurosurgery, Sapporo Medical College

(Chief: Prof. K. Hashi)

Brain tissue damages and vascular changes were studied using light and electron microscopes in congenital rat hydrocephalus (LEW/Jms) and infantile kaolin-induced hydrocephalus.

In this study, 40 congenital hydrocephalic rats (LEW/Jms) and 132 rats injected with kaolin suspension 2 days after birth were examined.

For the light microscopic study, rats' brains in both groups were perfused with 10% formalin followed by carbon black infusion.

For the electron microscopic study, rats' brains in both groups were perfused with Karnovsky's solution. Samples were refixed in a 1% osmium tetroxide solution, dehydrated with ethanol and embedded in Spurr resin.

In light microscopic study of congenital hydrocephalus, there were disruptions of the ependymal layer and local edema formation in the periventricular white matter of the lateral parts of the anterior and posterior horns, which resulted in the formation of an intracerebral cavity. Stenotic or obstructive blood vessels without filling of carbon black were observed in the periventricular white matter.

In light microscopic study of kaolin-induced hydrocephalus, edema was diffusely observed in the subependymal white matter. The intracerebral cavity was also observed in the same region as congenital hydrocephalus. Stenosis or obstruction of the blood vessels were focally observed in the periventricular white matter. The difference of the edema formations in the two hydrocephalic models may be due to the difference of immaturation of the infantile brain tissue.

In electron microscopic study for these two hydrocephalic models, the enlargement of the extracellular space was noticed in the periventricular edematous region. The endothelial cells of capillaries and venules showed an irregular surface with indentations and contained numerous hollow vesicles. Only in the congenital hydrocephalus, occluded capillaries were found in the border zone between the edematous and non-edematous area. Around the occluded capillaries, there were swellings with a degeneration of the astrocytes and shrinkage of the pericyte.

These microcirculatory disturbances of the brain tissue were considered to be one of the etiological factors for the enlargement of the ventricles and intracerebral cavity formation in infantile hydrocephalus.

(Received November 11, 1985 and accepted December 2, 1985)

Key words: Congenital hydrocephalus, Kaolin-induced hydrocephalus, Brain edema, Intracerebral cavity, Microvasculature

1 緒 言

水頭症は、髄液の産生と吸収の不均衡によって生じ、髄液が頭蓋内に貯留した状態である。髄液は正常では脈絡叢の他に脳実質から産生され¹⁻⁴⁾、くも膜顆粒、脳軟膜、脳室壁、脈絡叢、リンパ系など種々の部位から吸収されているが⁵⁻¹⁵⁾、水頭症の場合には、破壊された脳室上衣細胞間を介して髄液が脳室周囲の白質に浸潤し、血管内へ吸収される副経路が形成されることが知られている^{1,16-20)}。この脳室周囲組織への髄液浸潤によって起こされた水頭症型脳浮腫²¹⁾は、水頭症における脳室系の拡大と脳実質の非薄化に重要な役割を果していると信じられているが、一方では、水頭症の際には脳血管床が減少することも報告されており²²⁻²⁴⁾、組織破壊の詳細な機序はよく知られていない。

臨床的に小児の重症水頭症では成人の水頭症と異なり脳室拡大が高度であり、脳実質の非薄化も著明である。実験水頭症でも幼若期に作成されたものでは同様の傾向があることが報告されているが^{25,26)}、実験的水頭症は、従来ほとんどが成熟動物で作成され、幼若動物を用いた研究はあまり行なわれていない²⁵⁻²⁷⁾。

そこで著者は、先天性水頭症ラット (LEW/Jms)²⁸⁾と幼若期 (2日齢) に作成したカオリン水頭症ラットについて光学顕微鏡及び電子顕微鏡的検索を行ない、幼若期で起こった水頭症において組織破壊をもたらす病理組織学的背景、ことに脳血管床の形態学的変化について検討した。

2 対象と方法

2.1 先天性水頭症ラット

生後2日齢から15日齢の頭囲拡大の見られた先天性水頭症ラット (LEW/Jms) 40匹 (体重: 5~40g) を用いた。

光学顕微鏡標本作成には先天性水頭症ラット21匹 (2日齢~15日齢) (2日齢: 3匹, 4日齢: 3匹, 5日齢: 5匹, 9日齢: 2匹, 10日齢: 2匹, 13日齢: 4匹, 15日齢: 2匹) を用いた。エーテル麻酔の下に開胸を行ない、右心耳を切除し瀉血しながら左心室より120 mmHgの圧で3~5 mlの生食を灌流した後に10%ホルマリン (1 ml/体重g) を3~5分で灌流固定した。次いで、carbon black (Pelican) が脳内に十分充満する目安である耳と鼻が完全に黒く着色するまで1~2分で0.5~1.0 mlの量を120 mmHgの圧で注入した。その直後に断頭し、10%ホルマリンで1週間浸潤固定した。固定完了後に5%塩酸で約30時間電気脱灰を行

ない、50~100%エタノールで順に脱水し、8%セロイジンに包埋した。標本は、前額断により35 µmの薄層切片とし、ワイゲルト鉄ヘマトキシリン・エオジン(HE)染色をおこなった。コントロールとして、2日齢から16日齢の先天性水頭症ラットと同腹のラットで脳室拡大を呈さなかった6匹を用い、前記と同様の方法で標本を作成した。

電子顕微鏡標本作成には2日齢から13日齢の先天性水頭症ラット19匹 (2日齢: 3匹, 4日齢: 2匹, 5日齢: 4匹, 10日齢: 3匹, 11日齢: 2匹, 12日齢: 3匹, 13日齢: 2匹) を用いた。カルノフスキー液 (1 ml/体重g) を120 mmHgの圧で灌流固定後に断頭し、摘出脳の数個所に約1 mm間隔で割を入れ、さらに同液で浸潤固定した。後述のintracerebral cavity周囲の組織を含め、脳室に接した部位から脳表までの種々の部位からの約1 mm³の薄片 (1匹から10~50個程度) を採取し1%四酸化オスミウムで再固定し、エタノール脱水の後スパーレジンに包埋した。酢酸ウラニルと硝酸鉛で二重染色して透過型電子顕微鏡 (日立, H-600) で検索した。

水頭症の進行はそれぞれの個体により多少異なるが、日齢により、急性期水頭症 (2日齢~5日齢) 20匹と慢性期水頭症 (9日齢~15日齢) 20匹に分類して検討を行なった。

2.2 幼若期カオリン水頭症ラット

2日齢のウィスター系ラット132匹 (体重: 4~7g) を用いた。無麻酔下で、無菌的に、25ゲージ針を用い経皮的に後頭蓋下より大槽を穿刺し、34匹に蒸溜水に溶解し煮沸して冷却した4% (4g/dl) カオリン懸濁液を、98匹に40% (40g/dl) カオリン懸濁液を約5分間で0.03~0.05 ml注入し水頭症を作成した。カオリン注入後12日~18日目 (14日齢~20日齢) (体重: 20~60g) に、先天性水頭症ラットと同様の方法で標本の作成を行ない、光学顕微鏡及び透過型電子顕微鏡で検索した。コントロールとして14日齢から20日齢の正常ラット5匹を用いた。

3 結 果

3.1 先天性水頭症ラット

3.1.1 肉眼及び光学顕微鏡所見

急性期2日齢 (3匹) ですでに側脳室は拡大し、前角部では透明中隔が破壊され、高さ、幅とも正常脳室の約4倍程度の拡大を呈し、後角部では実質が0.5 mm以下に非薄化していた。急性期から慢性期になるにしたがい、側脳室はさらに拡大し特に後角の拡大が著明

となった。一方、第3脳室、中脳水道、第4脳室の拡大は認められず、急性期から慢性期になるにしたがい、それらは圧排され閉塞していた (Fig. 1)。中脳水道の上衣細胞下の実質には、gliosisや浮腫の所見は認められなかった。

急性期4日齢(3匹)では全例に脳室上衣細胞に亀裂が入り、側脳室から大脳灰白質(皮質)下の白質で大脳基底核部灰白質周囲の外包と前障の部分に相当して帯状の組織の断裂が認められ、その周囲の組織は細胞間隙の拡大を示す基質の粗鬆化が見られ、水頭症型脳浮腫が認められた (Figs. 1 and 2a)。5日齢(5匹)では全例において脳室上衣細胞の欠損が見られ、上記の帯状の白質の断裂はさらに拡大し、組織が粗となった浮腫部の中に比較的限局した左右対称性の脳実質の脱落の像(intracerebral cavity)が認められた。また、後頭葉は著明に菲薄化し、脳室上衣細胞下の実質内に

intracerebral cavityの形成が見られた (Fig. 1)。

慢性期では、急性期で見られた intracerebral cavity はさらに拡大し、前角外側部でも広範に認められるようになり、破壊された脳室壁を介して側脳室と交通していた。後頭葉では intracerebral cavity の形成によって脳実質の著しい菲薄化や破壊が見られ、側脳室後角は穿孔し、くも膜下腔と交通していた (Fig. 1)。Intracerebral cavity は組織学的には脳実質内に形成された空隙の構造を呈し、周囲には間葉系細胞からなる被膜は形成されていなかった。

Intracerebral cavity 周囲では白質の他に大脳灰白質にも脱落、欠損が見られ、脳実質は白質、多形細胞層、内錐体細胞層、内顆粒層、外錐体細胞層の区別が不鮮明で完全な層構造を呈していなかった。一方、intracerebral cavity が形成されていない部位では大脳灰白質や白質の欠損や脱落は見られず、正常の6層構

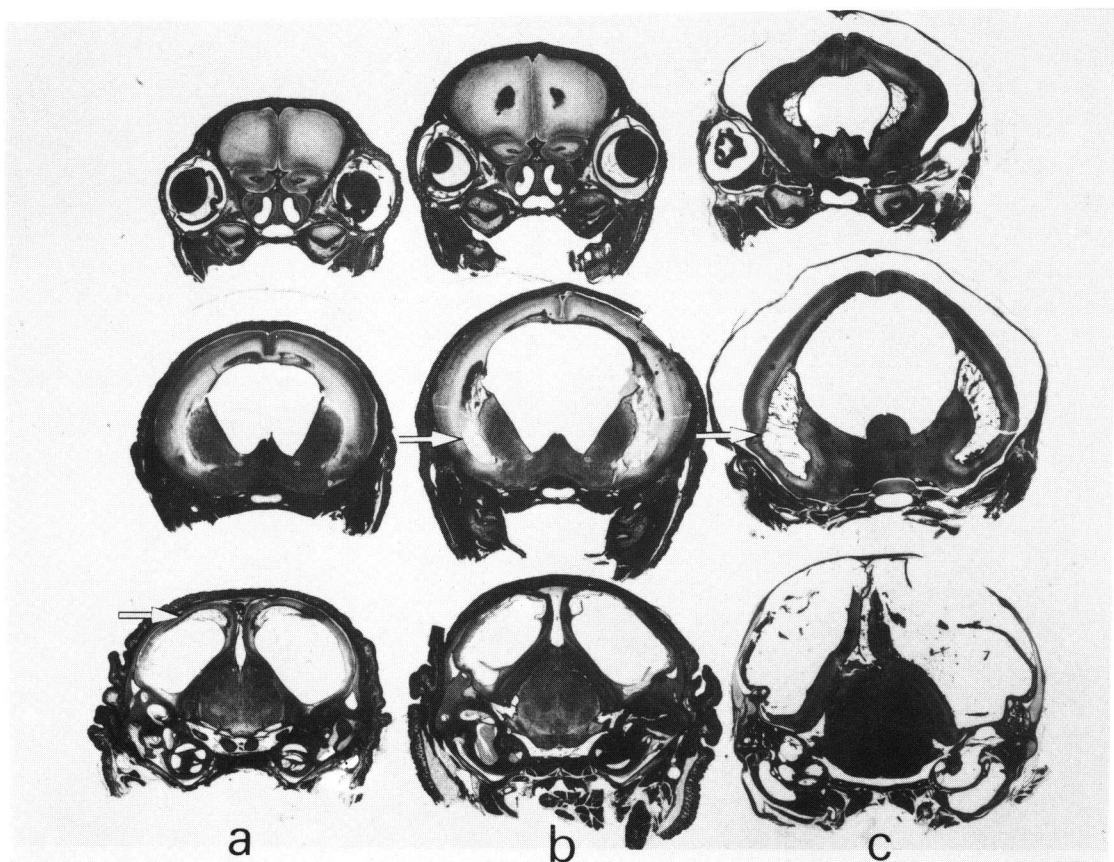


Fig. 1 Coronal sections of congenital hydrocephalic rat brain (LEW/Jms) showing dilatation of the lateral ventricles. Note development of the intracerebral cavities in the white matter (arrows). The black material represents carbon black. $\times 3.5$
a. Four days of age, b. Five days of age, c. Thirteen days of age.

造は呈していたが層の厚さは一様に菲薄化し萎縮像を呈していた。

急性期と慢性期で浮腫部と非浮腫部との境界は光学顕微鏡的に明瞭に境されていた。

3・1・2 脳血管床の変化

コントロール群では血管の数や血管内への carbon black の流入は良好で血管構築に異常は見られなかった (Fig. 2b)。

急性期の浮腫が認められない部位では, carbon black の充満度は良好であったが, 浮腫の著明な部位では全例において carbon black の流入した血管の数が少なく, 流入したものでも管腔は狭く数珠状の血管が認められた (Fig. 3a)。慢性期では, 浮腫部における carbon black の流入はさらに悪く, コントロール群や急性期に比べると血管床は著しく減少していた。また, 菲薄化した脳実質内でも一般に血管床が減少し, 狭窄

血管が所々に観察された。急性期と慢性期において, intracerebral cavity と浮腫部の境界部位に, carbon black のあまり流入しない拡張血管が散見された (Fig. 3b)。

3・1・3 電子顕微鏡所見

急性期において脳室上衣下の白質や intracerebral cavity 周辺の光学顕微鏡で見られた浮腫部位に一致して全例に neuropil 間の離開, 細胞外腔の拡大や neuropil の空胞化や腫張が見られた。この部位におけるほとんどの毛細血管は, 内腔が狭小化する傾向を示していたが閉塞血管は見られず, 内皮細胞の厚さは様々でその表面は不規則となりひだ状に血管腔に突出し, 細胞内には electron dense material を含まない多数の plasmalemmal vesicle が認められた (Fig. 4a)。一部の細静脈の内皮細胞の接合部には interendothelial tight junction 間に不規則な形の空胞 (Fig. 4b) が見ら

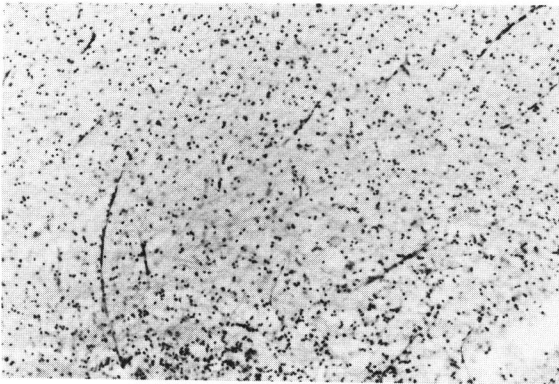


Fig. 2a Four days of age. Congenital hydrocephalus. Spongy appearance in the periventricular white matter. $\times 70$

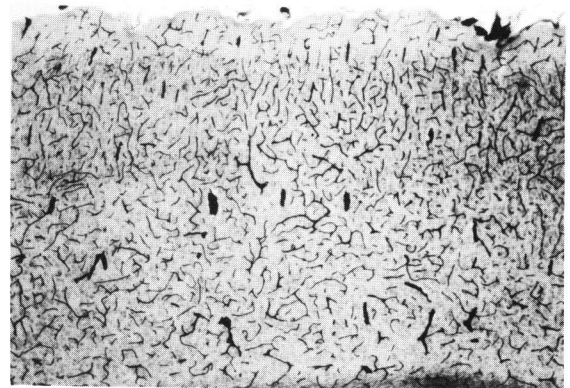


Fig. 2b Sixteen days of age. Normal rat. (control group). Good filling of carbon black in the vascular lumen. $\times 45$

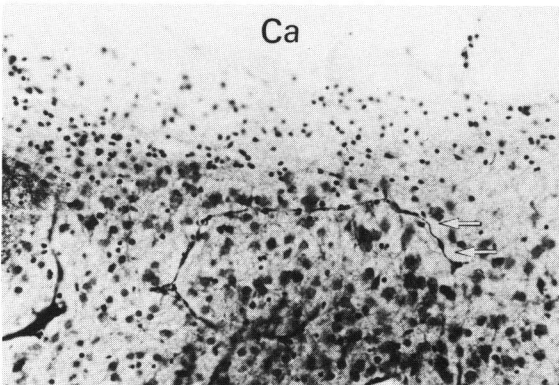


Fig. 3a Four days of age. Congenital hydrocephalus. Stenotic or obstructive blood vessels (arrows) in the periventricular white matter. Intracerebral cavity (Ca). $\times 125$

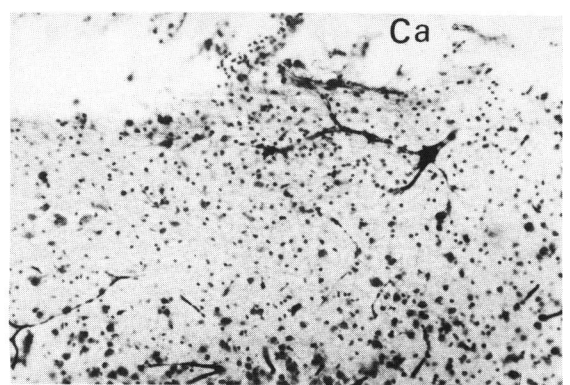


Fig. 3b Five days of age. Congenital hydrocephalus. Dilatated blood vessel in the edematous area near the intracerebral cavity (Ca). $\times 110$

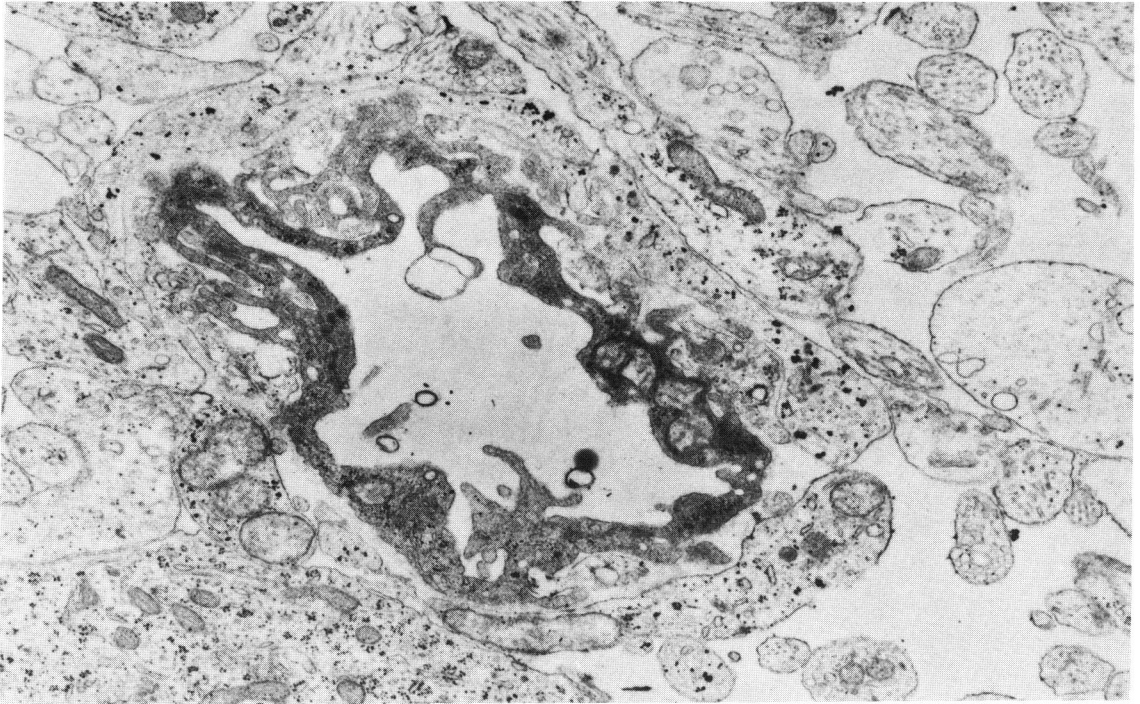


Fig. 4a An electron micrograph of the periventricular white matter of the congenital hydrocephalus. Enlargement of the extracellular space. Note numerous vesicles in the endothelium and irregular surface of the capillary endothelium. Two days of age. $\times 20,000$

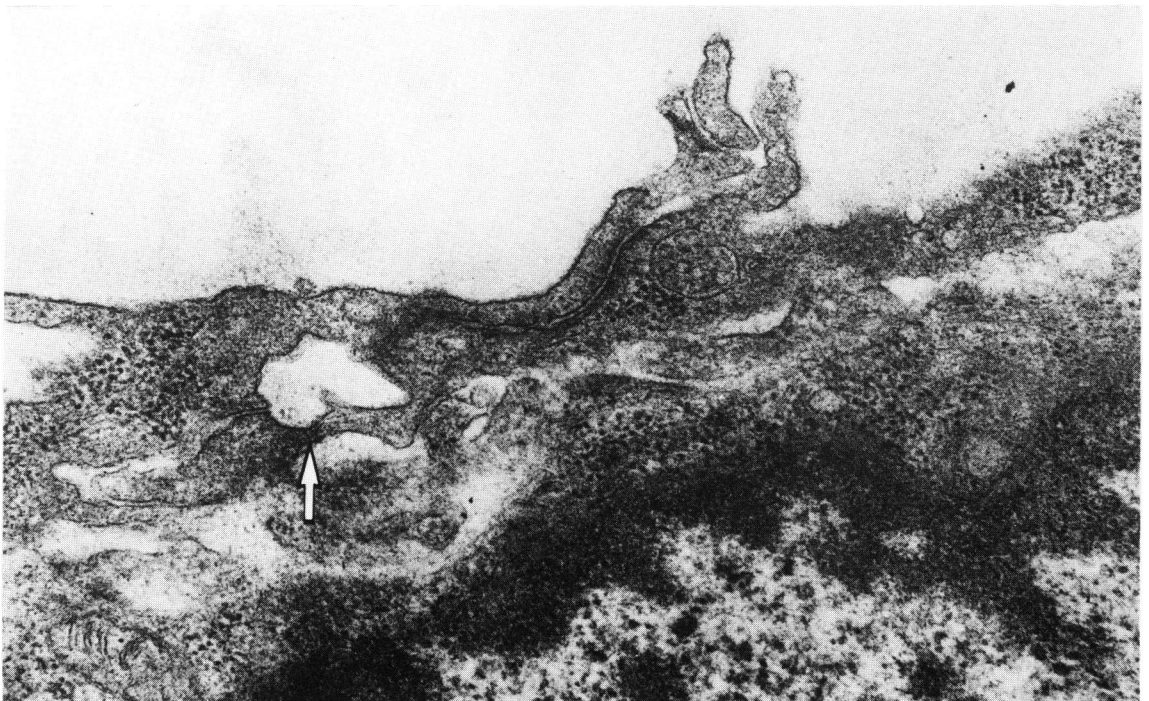


Fig. 4b An electron micrograph of the congenital hydrocephalus. Note interendothelial vacuole (arrow) at the tight junction of the venule in the edematous area. Two days of age. $\times 50,000$

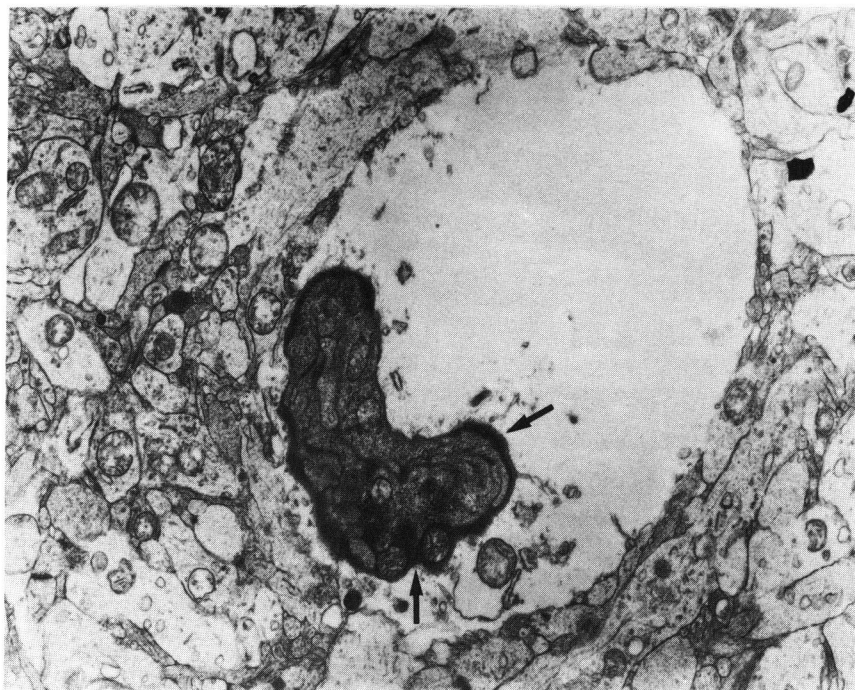


Fig. 5a An electron micrograph of the occluded capillary of the congenital hydrocephalus. Note swelling with degeneration of the astrocytic process and shrinkage and degeneration of the pericyte (arrows) in the border zone between the edematous and non-edematous area. Twelve days of age. $\times 11,000$

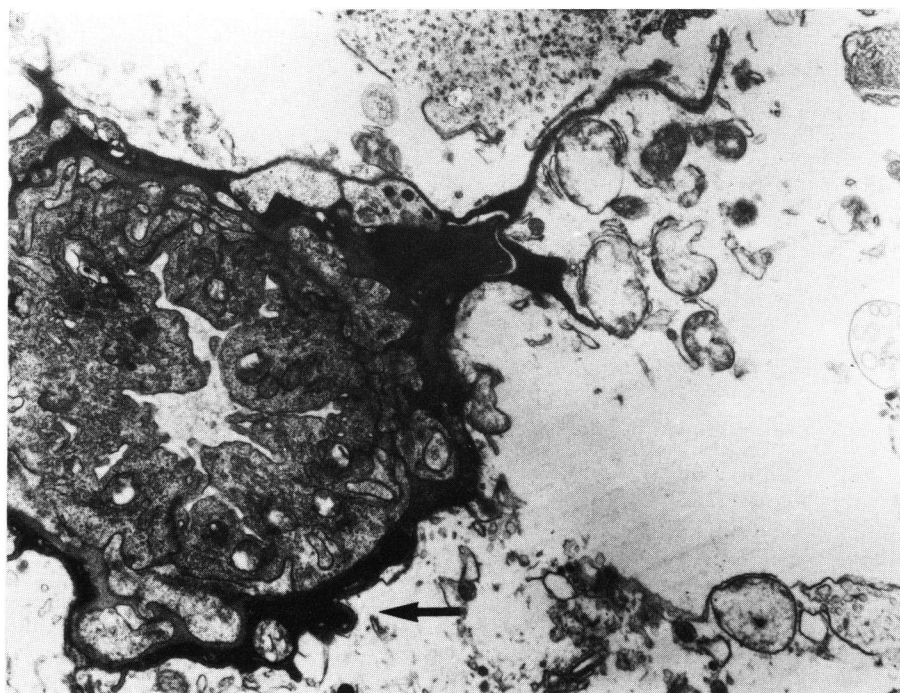


Fig. 5b An electron micrograph of the congenital hydrocephalus showing the stenotic arteriole in the border zone between the edematous and non-edematous area. Note swelling of the perivascular astrocytic process and shrinkage of the pericyte (arrow). Twelve days of age. $\times 12,000$

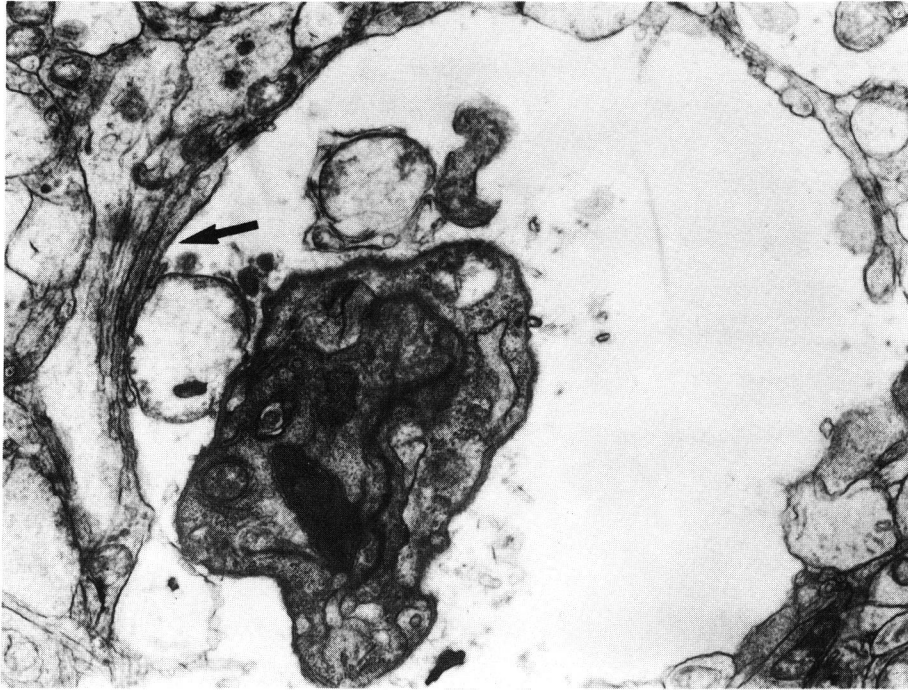


Fig. 5c An electron micrograph of the congenital hydrocephalus showing the thrombocyte in the occluded lumen of the capillary in the border zone between the edematous and non-edematous area. Note swelling of the perivascular astrocyte and atrophy of the neighboring neuropil (arrow). Twelve days of age. $\times 17,000$

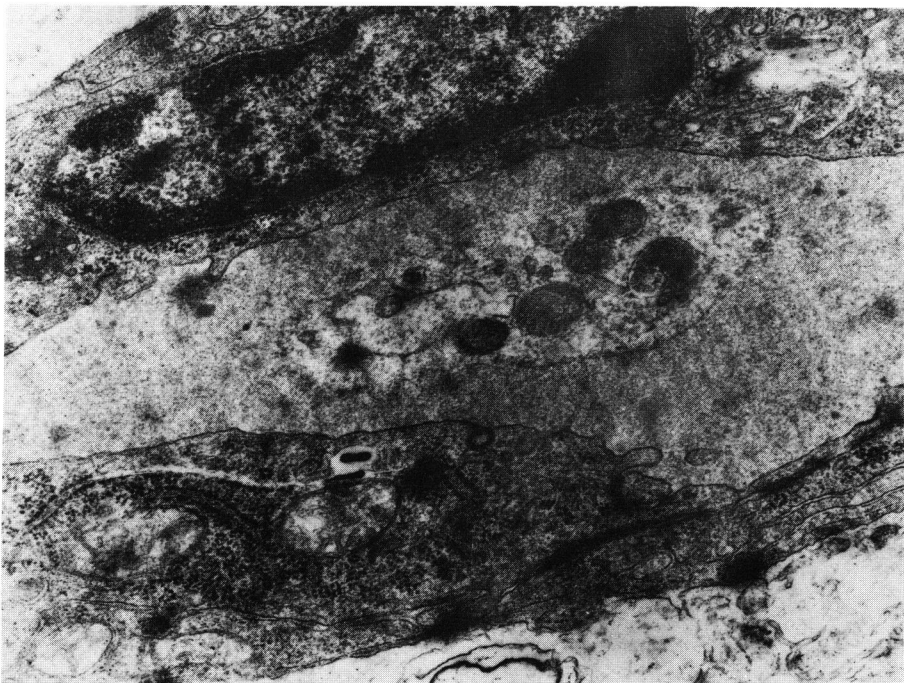


Fig. 5d An electron micrograph of the congenital hydrocephalus. Note thrombocytes in the lumen of the venule in the border zone between the edematous and non-edematous area. Eleven days of age. $\times 29,000$

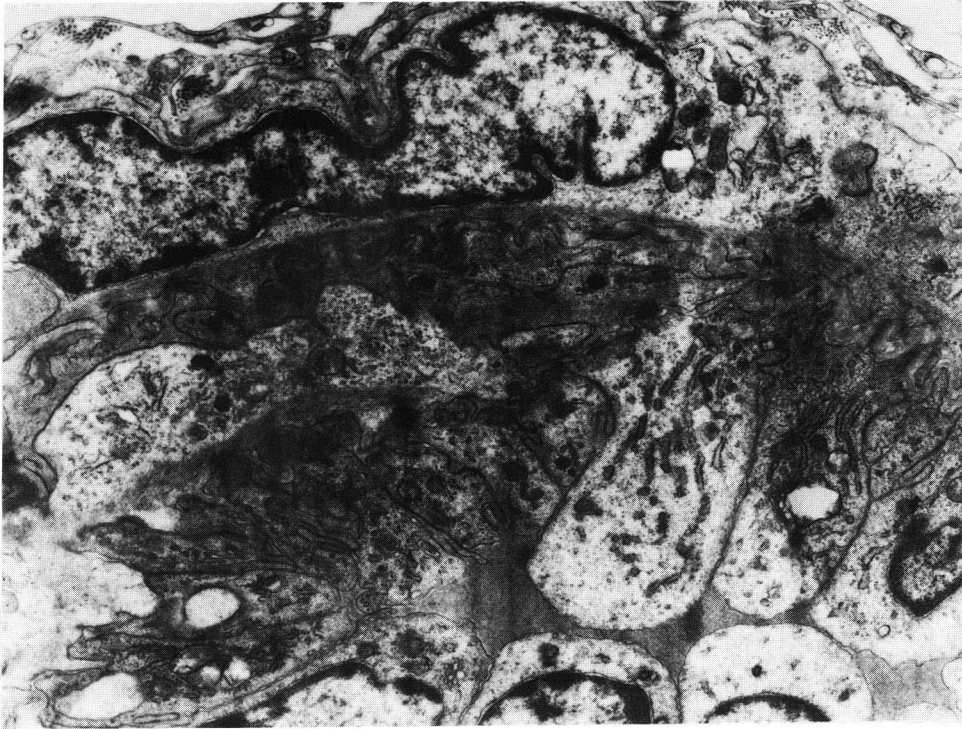


Fig. 6a An electron micrograph of the subarachnoid arteriole of the congenital hydrocephalus. Note moderate stenosis without collapse of the vessel. Twelve days of age. $\times 12,000$



Fig. 6b An electron micrograph of the congenital hydrocephalus. Note thrombocytes in the subarachnoid venule. Twelve days of age. $\times 17,000$

れた。浮腫部から非浮腫部になるにしたがい細胞外腔の拡大は少なくなり、同部位の neuropil 構造は正常であった。浮腫部や非浮腫部には核がまるく濃染した oligodendroglia と判定できる成熟した細胞や軸索は認められなかった。また、浮腫部と非浮腫部の境界領域には閉塞した毛細血管の像は見られなかった。

慢性期では、浮腫部における組織所見や血管像は急性期と同様で、浮腫部から非浮腫部になるにしたがい細胞外腔の拡大は少なくなり neuropil の構造も正常となっていた。一方、浮腫部と非浮腫部の境界領域においてほとんどの毛細血管が完全に閉塞し、その内皮細胞には細胞内小器官の膨化や破壊が見られ、pericyte は変性萎縮して過染性を呈していた (Fig. 5a)。Pericyte の同様な変化は細動脈にも認められ、血管腔の狭小化を伴っていた (Fig. 5b)。これらの閉塞血管の全てにおいて血管周囲の astrocyte の膨化や崩壊 (Figs. 5a, 5b and 5c) が見られ、膨化した astrocyte に隣接する neuropil は萎縮していた (Fig. 5c)。この所見は、閉塞血管周囲以外の部位では認められなかった。閉塞した毛細血管の一部 (Fig. 5c) や管腔が開いている細静脈の腔内には破壊された血小板が観察され (Fig. 5d)、細静脈の内皮細胞には plasmalemmal vesicle が認められた (Fig. 5d)。

慢性期のくも膜下腔の細動脈には動脈壁の平滑筋の収縮と基底膜の変形が見られ、内皮細胞は肥厚し内腔へ突出して血管内腔が狭小化していた (Fig. 6a)。くも膜下腔の細静脈は内腔が拡張し、腔内には血小板が観察された (Fig. 6b)。

3.2 カオリン水頭症

カオリン水頭症作成ラット 132 匹のうち 49 匹は、カオリンの大槽内注入操作時及び注入後 2~3 日で死亡した。4%カオリン注入群 34 匹 (16 日齢~18 日齢) のうち生き残った 30 匹中 27 匹が軽度の脳室拡大を示した。40%カオリン注入群 98 匹 (14 日齢~20 日齢) のうち生き残った 53 匹中 8 匹が頭囲拡大と著明な脳室拡大を呈し、10 匹は軽度の脳室拡大を呈した (Table 1)。脳室拡大が軽度であった 37 匹 (4%と 40%カオリン注入群) を A 群 (Fig. 7) とし、脳室拡大が著明で大脳半球の皮質の厚さが 2 mm 以下の 8 匹 (40%カオリン注入群) を B 群 (Fig. 8) とした。

3.2.1 髄液循環障害部位

A 群では大槽や脳底槽にカオリン顆粒が見られ、同部の髄膜の増殖性変化や macrophage が見られた。

B 群では、カオリン顆粒は大槽、脳底槽、第 4 脳室や中脳水道にまで認められ、特に第 4 脳室底では塊状

Table 1 Cases of kaolin-induced hydrocephalus.

	40% カオリン注入群	4% カオリン注入群
総 数	98	34
死 亡 数	45	4
生 存 数	53	30
水頭症軽症例 (A群)	10 [光顕標本; 9 電顕標本; 1	27 光顕標本; 27
水頭症重症例 (B群)	8 [光顕標本; 6 電顕標本; 2	0
非水頭症例	35	3

を呈していた。大槽部には髄膜の増殖性変化や macrophage が認められ、中脳水道及び第 4 脳室周囲のカオリヅ塊と脳室上衣細胞や脳実質との境には gliosis (Fig. 9a) が見られ、カオリン塊と脳実質の境界は不明瞭となっていた。カオリン塊の中や脳実質との境界部の gliosis の部分には、新生血管 (Fig. 9a) やカオリン顆粒を貪食した macrophage (Fig. 9b) が多数認められた。

3.2.2 肉眼及び光学顕微鏡所見

A 群では第 4 脳室の拡大が著明で側脳室の拡大は軽度であった (Fig. 7)。

B 群では側脳室の拡大が著しく脳実質は非薄化していたが、先天性水頭症で見られたような脳室とくも膜下腔が交通した所見は認められなかった。第 3 脳室、中脳水道、第 4 脳室の拡大は軽度であった (Fig. 8)。また、第 4 脳室上部には小脳半球が後下方に偏位し、後頭葉が小脳に上座し、小脳半球間から一部が第 4 脳室内に陥入した所見が見られた。

A 群では側脳室の外側に軽度の脳浮腫と思われる染色性の異なる部位が見られたが、脳組織の変性、壊死や脱落などの所見は認められなかった。

B 群では脳室上衣細胞は先天性水頭症と比較して破壊は少なく、一部に亀裂が入り側脳室周囲の直下の白質に比較的瀰漫性に粗鬆化 (Fig. 10a) や intracerebral cavity の形成が見られた。側脳室周囲の大脳灰白質下の白質では組織の粗鬆化が著しく、先天性水頭症の場合とほぼ同様に外包から前障の部位に intracerebral cavity が左右対称性に認められた (Figs. 8 and 10b)。Intracerebral cavity が形成されている部位や組織の粗鬆化の著しい部位の周辺では大脳灰白質にも脱落、欠損が見られ、正常の完全な層構造を呈していなかった。一方、intracerebral cavity の形成されていない部位の大脳灰白質や白質には欠損がなく、組織の脱落を伴わない単なる萎縮像を呈していた。

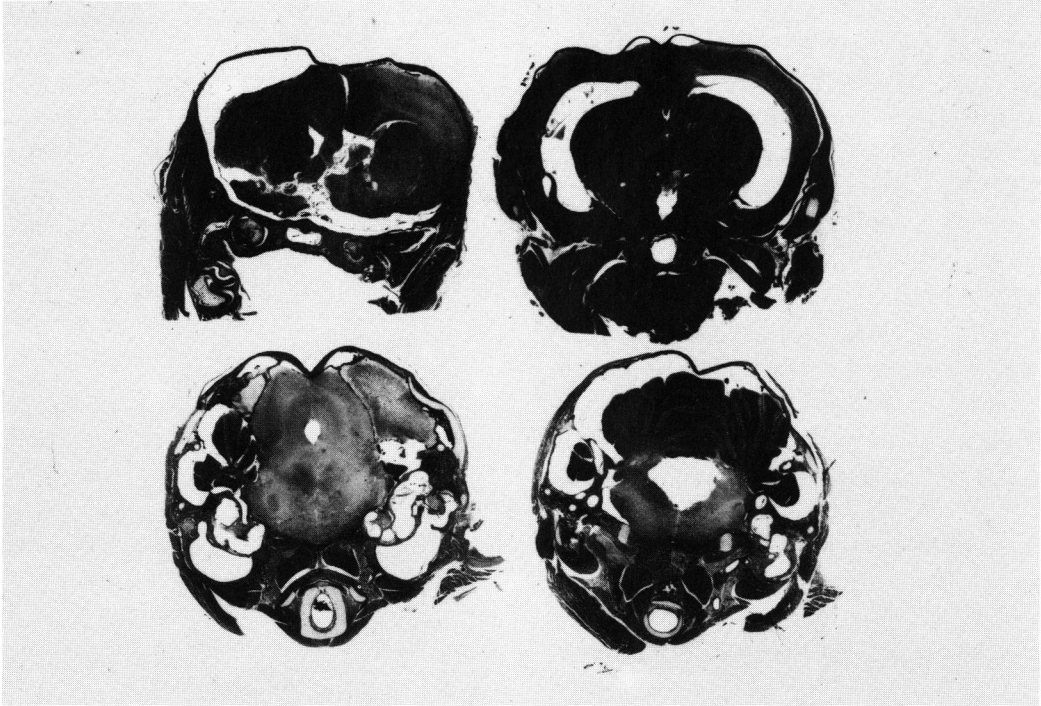


Fig. 7 Kaolin-induced hydrocephalus. Seventeen-day-old rat with mild hydrocephalus (group A). Enlargement of the fourth ventricle is more pronounced than the other ventricles. $\times 3.8$

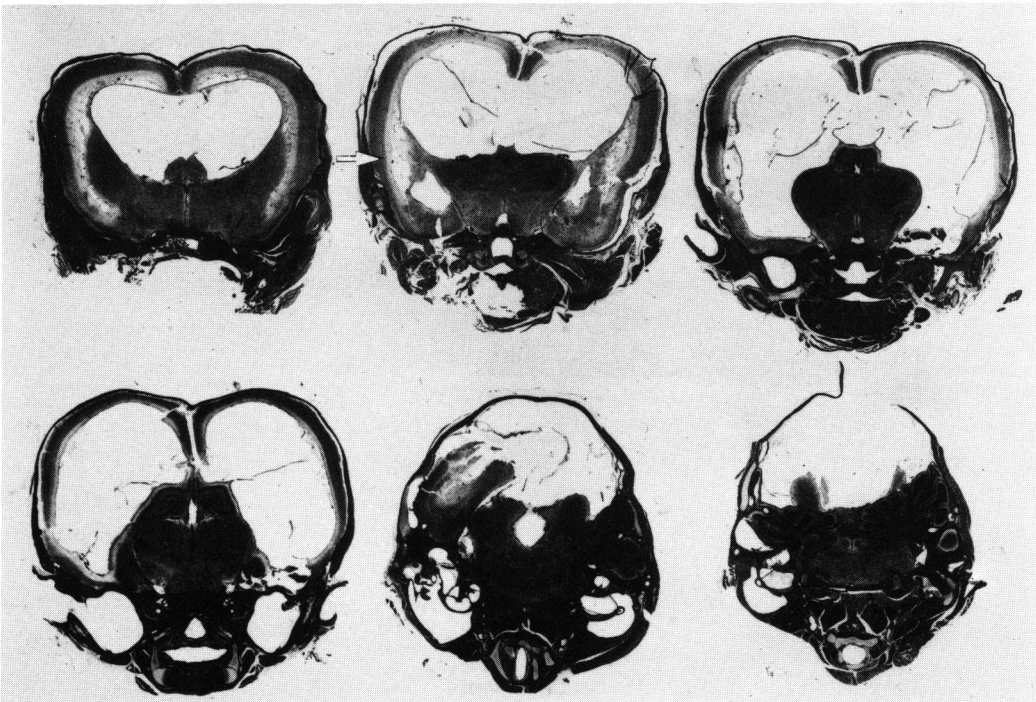


Fig. 8 Kaolin-induced hydrocephalus. Sixteen-day-old rat with severe hydrocephalus (group B). Marked enlargement of the sylvian aqueduct and the lateral ventricles. Edematous white matter with intracerebral cavity (arrow). $\times 3.4$

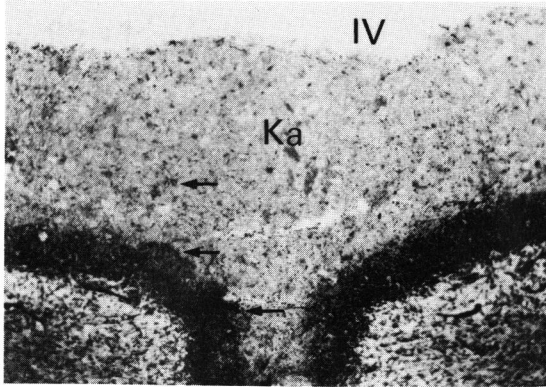


Fig. 9a Kaolin-induced hydrocephalus. Sixteen days of age. Kaolin granules (Ka) and gliosis at the base of the fourth ventricle (IV). Note the newly produced blood vessels (arrows) in the border zone between kaolin granules and gliosis (group B). $\times 45$

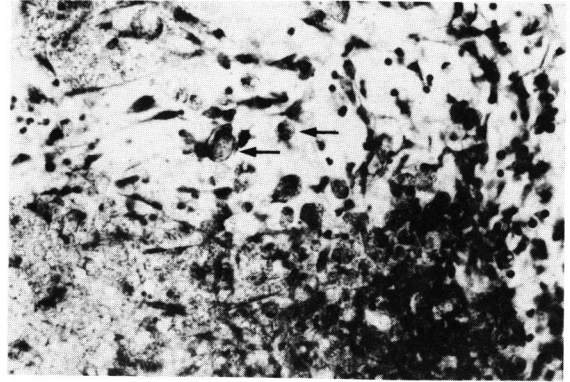


Fig. 9b Higher magnification of Fig. 9a. Macrophage (arrows) containing kaolin granules. $\times 220$

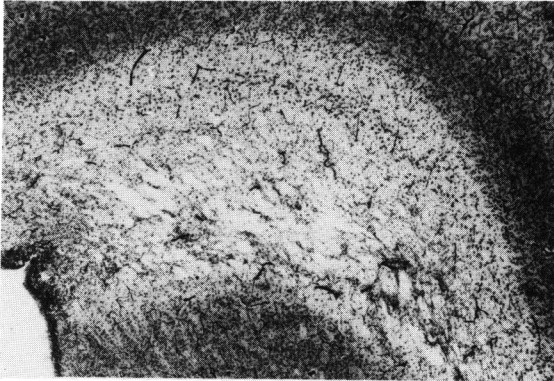


Fig. 10a Kaolin-induced hydrocephalus. Sixteen days of age. Spongy appearance in the periventricular white matter (group B). $\times 30$

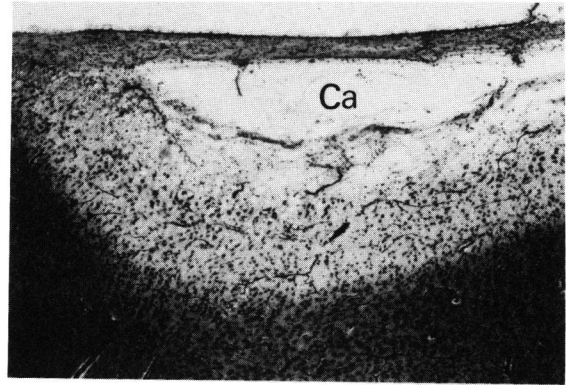


Fig. 10b Kaolin-induced hydrocephalus. Sixteen days of age. Intracerebral cavity (Ca) (group B). $\times 45$

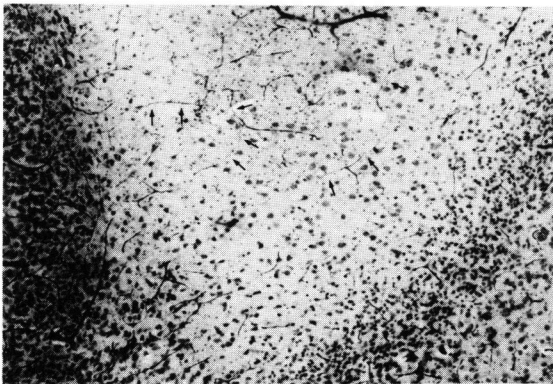


Fig. 11 Kaolin-induced hydrocephalus. Sixteen days of age. Blood vessels (arrows) not filled with carbon black are present in the edematous area. The surrounding tissue is well perfused with carbon black (group B). $\times 55$

3・2・3 脳血管床の変化

コントロール群では carbon black の流入が良好で血管構築に異常はなかった。

A 群では、側脳室外側部位のみに carbon black の充満度の悪い部分が見られた。

B 群では、側脳室周辺や intracerebral cavity 周囲の浮腫部に先天性水頭症と異なり、所々に巣状に carbon black の流入しない血管が見られ(Fig. 11)、一様に carbon black の充満の見られる非浮腫部やコントロール群とは異なっていた。また、B 群の intracerebral cavity と浮腫部の境界部位には、先天性水頭症で見られたのと同様な carbon black があまり注入されない拡張血管が散見された。

3・2・4 電子顕微鏡所見

A 群では、血管外腔は狭く正常組織の形態を示して



Fig. 12a An electron micrograph of kaolin-induced hydrocephalus showing the edematous white matter near the intracerebral cavity. Note deformation of the capillary lumen and enlargement of the extracellular space (group B). Fourteen days of age. $\times 10,000$

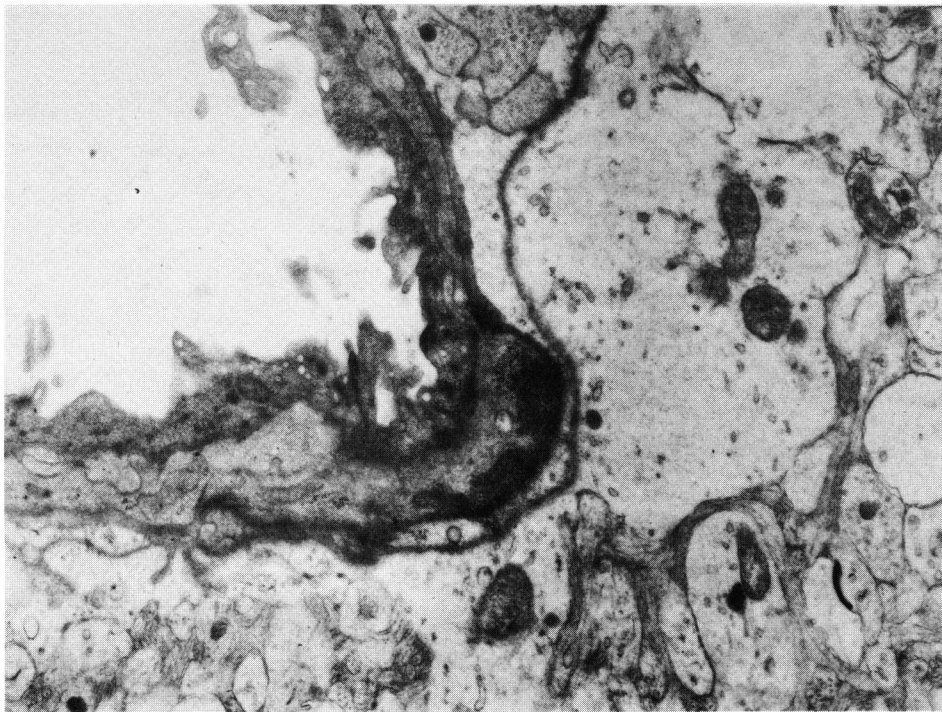


Fig. 12b An electron micrograph of kaolin-induced hydrocephalus showing the distant area from the intracerebral cavity. Note irregular surface of the venular endothelium with numerous plasmalemmal vesicles. Swelling of the neuropil (group B). Fourteen days of age. $\times 13,000$

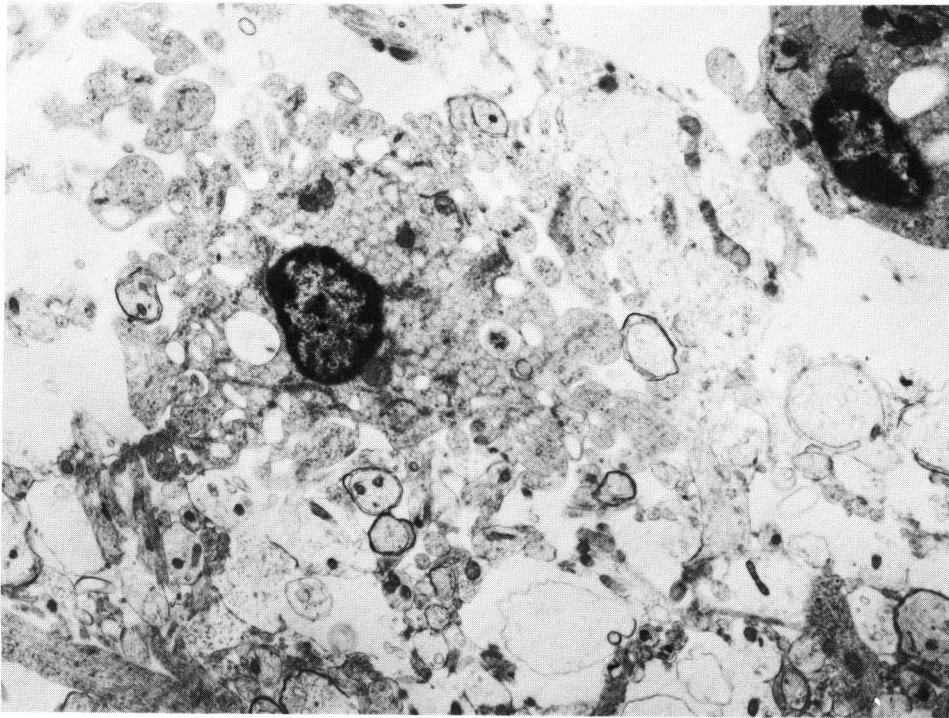


Fig. 12c An electron micrograph of kaolin-induced hydrocephalus showing the edematous white matter near the intracerebral cavity. Note enlargement of the extracellular space and the immature myelinated axons(group B). Fourteen days of age. $\times 6,500$

Table 2 Comparison of congenital hydrocephalus and kaolin-induced hydrocephalus.

	先天性水頭症		カオリン水頭症	
	急性期	慢性期	A 群	B 群
閉塞部位と所見	二次的な中脳水道閉塞		大槽、脳底槽の髄膜肥厚	中脳水道、第4脳室内カオリン塊による閉塞、カオリンとの境界部に gliosis
脳室拡大	側脳室特に後角の拡大、第3脳室・第4脳室はむしろ圧排		側脳室の軽度拡大、第4脳室の拡大	側脳室の著しい拡大、後頭葉の第4脳室内陥入
浮腫像(光顕)	外包から前障にかけて白質の粗鬆化	左記の他に後頭葉、側脳室前角外側の限局性の粗鬆化	側脳室外側角のみの軽度の浮腫像	外包から前障にかけて白質の粗鬆化、側脳室下の白質全周に及ぶ瀰漫性の粗鬆化
cavity の形成	外包から前障にかけて限局性の脳実質の脱落	左記の他に前角外側や後角外側に拡大	(一)	外包から前障にかけて脳実質の広範な脱落と脳室上衣細胞下の帯状脱落
脳室上衣細胞	cavity の形成される部位に一致した脱落や欠損		著変なし	比較的保存されている
微小血管(光顕)	浮腫部に広範に狭窄・閉塞血管	血管床の減少	著変なし	浮腫部に巣状に狭窄・閉塞血管、血管床の減少
浮腫像(電顕)	細胞外腔の拡大		著変なし	細胞外腔の拡大
浮腫部 1) 毛細血管	内皮細胞の不整、管腔の狭小化、plasmalemmal vesicle の増加		著変なし	内皮細胞の不整、管腔の狭小化、plasmalemmal vesicle の増加
2) 細静脈	内皮細胞の不整、管腔はむしろ拡張、plasmalemmal vesicle の増加、interendothelial vacuole、血管腔内血小板		著変なし	内皮細胞の不整、管腔はむしろ拡張、plasmalemmal vesicle の増加

いた。また、血管周囲の astrocyte の突起の腫張が観察されたが、毛細血管と細静脈の内皮細胞の胞体の厚さはほぼ一定で、plasmalemmal vesicle もごく少数認められるにすぎなかった。

B 群では全例で脳室周辺や intracerebral cavity 周囲に、先天性水頭症で見られたのと同様な細胞外腔の拡大と neuropil 間の離開が見られ、この浮腫部のほとんど全ての毛細血管には、plasmalemmal vesicle の増加と管腔の変形や狭小化傾向が見られた (Fig. 12a)。Intracerebral cavity から離れた部分では、細胞外腔の拡大は認められなかったが neuropil は腫張し、内皮細胞には多数の plasmalemmal vesicle をもつ細静脈や内腔に不整な突起が時に見られた (Fig. 12b)。浮腫部と非浮腫部の境界領域には先天性水頭症で認められたような完全閉塞血管は見られなかった。

B 群では、未熟な軸索形成が認められた (Fig. 12c)。

4 考 察

本研究で用いた先天性水頭症ラット (LEW/Jms) は現在まで報告されている 4 系統の先天性水頭症ラット²⁸⁻³¹⁾ のうちの 1 系統であるが、本水頭症ラットは近交系とし維持され、水頭症発生率は約 20% である。この動物ではそれぞれの個体によって多少こととなるが、2 日齢より大泉門の膨隆と頭囲の拡大によって水頭症の診断が可能で、ほとんどが約 2 週以内に死亡する。病態に関しては、側脳室から第 3 脳室にかけて脳室の一部閉塞に伴う髄液の循環障害が原因で側脳室が拡大することにより二次的な第 3 脳室や中脳水道閉塞が起こり、ウイルス感染やその他の炎症機転の存在は否定されている²⁸⁾。

一方、実験水頭症作成には 1) 髄液中へ炎症反応を起こす物質を入れる方法、2) 外科的に髄液の流通路を閉塞する方法、3) 頭蓋内静脈血栓を作り作成する方法、などが報告³²⁾されているが、カオリンを髄腔内注入して大槽、脳底槽部を閉塞させて作成する方法がもっともよく行なわれている。

カオリン水頭症では脳槽における髄膜の炎症が主な変化と言われている³²⁾ が、本研究における幼若動物を用いたカオリン水頭症では、カオリン顆粒が大槽や脳底槽だけでなく第 4 脳室や中脳水道にまで侵入しているのが認められた。臨床的に小児の脳槽撮影でしばしば造影剤が脳室内に逆流することが見られることを考えると、これは幼若期における特徴と思われる。さらに、第 4 脳室や中脳水道では脳組織の慢性変化である gliosis が見られ脳実質内までカオリン顆粒が侵入して

いる所見があり、また、脳実質とカオリン塊の境界部の gliosis 部にカオリン顆粒を貪食した macrophage が見られ、カオリン塊内や脳実質との境界には血管新生も認められた。すなわち本研究におけるカオリン水頭症では髄膜の増殖性変化の他に脳組織自体もカオリンに対して異物反応を起こしていることが明らかとなった。

現在までに報告されている実験的に作成された水頭症^{10,18,23,26,32-34)} では、本研究の B 群のような脳室の著明な拡大と脳実質の菲薄化を起こした症例はなく、また、小脳半球が後下方へ偏位し、後頭葉が小脳半球間から第 4 脳室内に陥入しているような例も見られていない。すなわち、幼若期では大槽内に注入したカオリンが第 4 脳室、中脳水道にまで達してその部の髄液循環障害を起こし側脳室が非常に大きくなるという特徴があると考えられる。一方、大槽や脳底槽の閉塞が原因である A 群では第 4 脳室は拡大し側脳室も中等度の拡大を呈しており、従来 of 成熟動物を用いたカオリン水頭症の所見に一致していた。

先天性水頭症では第 3 脳室と中脳水道前半付近に髄液循環障害が発生しており、脳室拡大の程度はカオリン水頭症にくらべて高度で、側脳室後半部の拡大と後頭葉の菲薄化が主体であった。この動物では発生時期がカオリン水頭症より早期であり、幼若期の水頭症の特徴は一層明瞭であった。

一般に水頭症においては、脳室圧が上昇し、髄液は破壊された脳室壁から脳実質内に浸潤し細胞外液として脳室周囲の白質に貯留し水頭症型脳浮腫を示すといわれている^{16,17,25)}。本研究の先天性水頭症やカオリン水頭症において見られた、側脳室周囲から外包と前障にかけての白質や、intracerebral cavity 周囲の白質の粗鬆化は、spongy appearance¹⁷⁾ と呼ばれており、水頭症型脳浮腫の所見と一致するものである。電子顕微鏡でも側脳室や intracerebral cavity 周囲に neuropil 間の離開や細胞外腔の拡張が見られている。

先天性水頭症では、浮腫は側脳室周囲の大脳灰白質下の白質、特に外包と前障にかけての白質に比較的限局して見られ、脳室周囲の上皮細胞は破壊され欠損していた。これに対しカオリン水頭症では側脳室の全周にわたって比較的瀰漫性に白質の粗鬆化が見られ、脳室上皮細胞下の白質に浮腫が特に著しく脳実質は一樣に菲薄化していた。また、脳室上皮細胞は比較的保存されていた。すなわち、先天性水頭症では脳室上皮細胞の破壊とそれに付随する intracerebral cavity の形成という比較的限局的な浮腫形成であるのに対して、カ

オリオン水頭症ではあまり脳室上衣細胞の破壊は著明ではないが、側脳室周囲全般にわたる intracerebral cavity の形成と脳室上衣細胞下の白質に瀰漫性に広がって浮腫が形成されていた。これらの違いは、脳室上衣細胞と neuropil の構築の成熟度の違いによるものと思われる。Tennyson and Pappas³⁵⁾ は中脳水道の上衣細胞の発達について、胎生期から生後数週間は上衣細胞が数層からなった不完全な形態を呈しており、生後になって上衣細胞の完全な構築が完成することを報告している。すなわち、胎生期より形成される先天性水頭症では、脳室上衣細胞はより未熟であり、水頭症の進行により容易に破壊されるが、これに対し、幼若期カオリン水頭症の作成時期では脳室上衣細胞と直下の組織はすでに強固となり、この組織が髄液浸潤からある程度脳実質を保護する働きを持っているものと推測された。また、両モデル間の組織の成熟度の違いは、先天性水頭症では浮腫部において有髄線維の形成が見られなかったのに対し、カオリン水頭症では未熟ながら有髄線維の形成が見られたことから推定された。

先天性水頭症とカオリン水頭症の両者に共通して見られた特徴的な脳組織の脱落 (intracerebral cavity) は、著者が調べた限りでは、Weller and Mitchell³⁶⁾ と Kohn *et al.*³⁰⁾ の先天性水頭症の報告以外では見あたらない。Weller and Mitchell³⁶⁾ は2週齢の先天性水頭症マウスでごく軽度の脳実質の脱落を“cyst formation”として記載しており、Kohn *et al.*³⁰⁾ はその詳細が不明であるが、1週齢の先天性水頭症ラットで報告している。本症例のような典型的で広範囲に起こった intracerebral cavity の報告は本症例が初めてであり、特に実験的に作成された水頭症ではこのような組織障害の報告は見られない。この intracerebral-cavity の形成の原因に関しては、本症例を含めて幼若期の水頭症以外ではその報告がないことから脳の未熟性が関係していると考えられるが、先天性水頭症とカオリン水頭症の両方で同じ部位に左右対称性に形成され、この白質部位が終末動脈領域であり、線条体を形成する線維束の外側で corona radiata の基部に位置することを考慮すると、脳組織の未熟性の他に解剖学的にも破壊されやすい部位であることが原因とも考えられる。

また、intracerebral cavity の周囲では大脳灰白質と白質は脱落や欠損をきたし、完全な皮質の構造を呈していなかった。それに対し、intracerebral cavity の存在しない部位では脱落や欠損は見られず、脳実質は単に萎縮していた。このことより、脳実質の菲薄化を来たす機転としては、側脳室の拡大によって脳実質が圧

迫され単に萎縮するものと、本症例で見られた intracerebral cavity の形成や大脳灰白質の脱落、欠損のように脳実質が脱落を呈するものがあると思われる。

水頭症における脳実質の障害に関して、Weller *et al.*^{25,26)} は2週齢と4~6週齢の犬に水頭症を作成し、浮腫部の白質では、oligodendroglia はほとんど障害されず、髄鞘の障害や浮腫部に gliosis, macrophage が見られることを報告しているにすぎない。一方、水頭症の微細血管に関しては、ほとんど形態学的変化は認められないと言われていたが^{24,33,36)}、Wozniak *et al.*²⁴⁾ は、先天性水頭症マウス (hy-3 murine mutant mouse) において、また、Sato *et al.*²³⁾ は成犬におけるカオリン水頭症の carbon perfusion 標本において、水頭症型脳浮腫部位に一致して狭窄血管や閉塞血管が見られることを報告した。また、電子顕微鏡的にも血管の交差・圧迫像が見られることが確かめられており²²⁾、髄液浸潤の著明な脳室周囲組織に微小循環障害が生じていることが注目されている。本研究においても先天性水頭症とカオリン水頭症の両者において、脳室周囲や intracerebral cavity 周辺では carbon black の流入が乏しい狭窄血管や閉塞血管が光学顕微鏡的に観察された。

電子顕微鏡的には、浮腫の著しい部位の毛細血管では内皮細胞の胞体は凹凸が著明で多数の plasmalemmal vesicle が存在し、その幅も一定ではなかった。この像は、内皮細胞を介する fluid transport の亢進を示すものと解釈され、毛細血管を介する髄液の排出機転を示唆するものである。一方、この像はまた、胎児や新生児の脳で観察される幼若な血管³⁷⁻⁴¹⁾ と同様な形態であることも注目される。佐々木⁴²⁾ によればマウスの脳内毛細血管では生後においても発生過程における経時的変化が続き、生後4日から8日目のマウスにおいてさえ、内皮細胞の厚さの不均一や large vesicle 及び pinocytotic vesicle が観察されるという。したがって上記の浮腫部に認められた血管の変化は、これらの血管の発生過程が遅延し幼若血管の形態にとどまっているものか、あるいは水頭症型脳浮腫という組織環境で血管の幼若化が新たに生じた可能性も考えられる⁴³⁾ が、今後の検討を待たねばならない。

細静脈では内皮細胞の接合部に Nakagawa *et al.*³⁴⁾ が、カオリン水頭症ラットで報告した interendothelial blisters に類似した vacuole の形成が認められた。この所見は本研究では、先天性水頭症のみで観察されカオリン水頭症では見られなかったが、これは、浸潤した髄液が細静脈を介して排除されている像と思われる。また、intracerebral cavity と浮腫との境界領域におい

て細静脈の拡張が見られたことも髄液の排除に関する所見として興味深い。

本研究の血管変化で最も特徴的所見は、先天性水頭症において浮腫部と非浮腫部の境界領域で多数の細動脈や毛細血管の完全閉塞が観察されたことである。内腔には血小板が認められ、さらにこれらの血管周囲には、特異的に astrocyte の膨化と neuropil の萎縮を伴っていた。これらの変化は、急性期 2 日齢の水頭症では見られず、Figs. 5a, 5b and 5c で示したごとく慢性期の水頭症のみで認められた。この部位では髄液浸潤の組織学的所見が乏しいにもかかわらず微小血管における形態学的変化はもっとも顕著であり、血管周囲の astrocyte の膨化はあたかも虚血時の変化⁴⁾を思わせるものであった。このように直接髄液浸潤にさらされる組織の外側に、より著明に微小循環が障害された領域が存在することはまだ報告されておらず、水頭症における組織破壊のメカニズムを考慮する上で興味深いものと思われる。

かりに水頭症における組織破壊の進行が、髄液浸潤を受ける領域の進行性拡大によって起こるとすると、境界部位の閉塞血管は髄液浸潤が進行するにしたがい再開通し、さらに新たに形成された浮腫部に幼若化像を呈する血管が観察されるはずである。しかし、本研究ではこれらの閉塞血管と幼若化を呈する血管に関連があることを支持する所見は得られなかった。

これらの両者の血管間に関連がないとすると、水頭症における組織障害は浮腫部と境界部で別々の機序によって起こると考えなければならない。すなわち、個々の水頭症において髄液浸潤を受ける組織の範囲は髄液の産生と吸収機構のあり方により規定され、次いでその外側に頭蓋内圧やその他の不明の機序により発生した完全閉塞血管を含む微小循環障害の領域が生じ、その部は虚血により組織破壊を受けるというものである。ただ、この浮腫部と非浮腫部の境界領域における完全閉塞血管はカオリン水頭症では見られておらず、この点に関しては両者の脳組織成熟度の差によるのか、あるいは先天性水頭症における病態上の特異性によるのか、今後の検討が必要であろう。

もし、この浮腫部の外側に生じた血管閉塞が幼若期における水頭症にのみ起こるとすれば、幼若期に見られる脳実質の著しい菲薄化には髄液浸潤に加えて血液循環障害が重要な役割を呈していると考えられる。今後これらの面を考慮した水頭症の病態の解明が必要である。

5 要 約

先天性水頭症ラット (LEW/Jms) と幼若期に作成したカオリン水頭症ラットの組織障害に関して光学顕微鏡及び電子顕微鏡的検討を行なった。

- 1) 本研究に用いた先天性水頭症では側脳室の拡大が主体であり第 3 脳室や第 4 脳室の拡大は認められなかった。これに対してカオリン水頭症ではカオリンが中脳水道にまで侵入する症例が見られ、中脳水道や第 4 脳室では gliosis や新生血管、カオリンを貪食した macrophage が観察され、脳実質と脳室壁の境界が不明瞭となっていた。このような例では側脳室の拡大は著明であり、第 3 脳室や第 4 脳室の拡大は軽度であった。一方、カオリンが大槽や脳底槽に限局している例では、第 3 脳室や第 4 脳室の拡大が著明で側脳室の拡大は軽度であった。
- 2) 先天性水頭症とカオリン水頭症の両者で浮腫の存在部位に特徴が見られた。すなわち、先天性水頭症では大脳灰白質下や後頭葉の白質で浮腫が著明であり、カオリン水頭症では側脳室上衣細胞下の白質全周に瀰漫性に浮腫の所見が見られた。
- 3) 先天性水頭症とカオリン水頭症に共通して大脳灰白質下の白質の外包から前障の部位、特に線条体を形成する線維束の外側で corona radiata の基部に左右対称性に脳実質の脱落 (intracerebral cavity) が見られた。
- 4) 先天性水頭症とカオリン水頭症の両者で血管構築の変化が見られ、前者では浮腫部に広範に、後者では浮腫部に巣状に狭窄血管や閉塞血管が見られた。さらに cavity と浮腫の境界には拡張血管も認められた。電子顕微鏡では浮腫部には内皮細胞の幅の不整と多数の plasmalemmal vesicle をもつ管腔の狭小化した毛細血管が見られた。先天性水頭症では浮腫部と非浮腫部の境界領域には血管周囲の astrocyte が特異的に膨化した完全閉塞血管が認められた。

稿を終るにあたり、御指導、御校閲を賜った端和夫教授並びに佐藤 修前教授、病理学的知識と技術を御指導下さった帯広畜産大学獣医学科佐々木 啓先生に感謝致します。また先天性水頭症ラットを分与して下さい下さった東京大学医科学研究所須藤カツ子先生と、その飼育に便宜をはかって下さった動物実験施設部副部長伝法公磨助教授並びに実験に御協力下さった脳神経外科学講座黒川泰任先生、岡田 忠さんに感謝致します。

文 献

1. Bering, E. A. Jr. and Sato, O.: Hydrocephalus: Changes in formation and absorption of cerebrospinal fluid within the cerebral ventricles. *J. Neurosurg.* **20**, 1050-1063 (1963).
2. Dandy, W. E. and Blackfan, K. D.: Internal hydrocephalus. An experimental, clinical and pathological study. *Am. J. Dis. Child.* **8**, 406-482 (1914).
3. Milholat, T. H.: Choroid plexus and cerebrospinal fluid production. *Science* **166**, 1514-1516 (1969).
4. Sahar, A.: Choroidal origin of cerebrospinal fluid. *Israel J. Med. Sci.* **8**, 594-596 (1972).
5. 浅野良夫, 蓮尾道明, 山本勇夫, 景山直樹, 池山 淳: 経リンパ脳脊髄液吸収経路に関する検討—視神経のくも膜顆粒の役割について—. *脳神経* **32**, 1101-1107 (1980).
6. Bering, E. A. Jr.: Water exchange of central nervous system and cerebrospinal fluid. *J. Neurosurg.* **9**, 275-287 (1952).
7. Bowsler, D.: Pathways of absorption protein from the cerebrospinal fluid: An autoradiographic study in the cat. *Anat. Rec.* **128**, 23-39 (1957).
8. Bradford, F. K. and Sharkey, P. C.: Physiologic effects from the introduction of blood and other substances into the subarachnoid space of dogs. *J. Neurosurg.* **19**, 1017-1022 (1962).
9. Földi, M.: Preliminary-lymphatic drainage of the brain. *Am. Heart J.* **93**, 121-124 (1977).
10. Ingraham, F. D., Matson, D. D., Alexander, E. Jr. and Woods, R. P.: Studies in the treatment of experimental hydrocephalus. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* **7**, 123-143 (1948).
11. Milholat, T. H., Mosher, M. B., Hammock, M. K. and Murphy, C. F.: Evidence for choroid plexus absorption in hydrocephalus. *New Engl. J. Med.* **283**, 286-289 (1970).
12. Mortensen, O. A. and Sullivan, W. E.: The cerebrospinal fluid and the cervical lymph nodes. *Anat. Rec.* **56**, 359-363 (1933).
13. Sato, O., Asai, T., Amano, Y., Hara, M., Tsugane, R. and Yagi, M.: Extraventricular origin of the cerebrospinal fluid: formation rate quantitatively measured in the spinal subarachnoid space of dogs. *J. Neurosurg.* **36**, 276-282 (1972).
14. Sweet, W. H. and Locksley, H. B.: Formation, flow and reabsorption of cerebrospinal fluid in man. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **84**, 397-402 (1953).
15. Weed, L. H.: Forces concerned in the absorption of the cerebrospinal fluid. *Am. J. Physiol.* **114**, 40-45 (1935).
16. De, S. N.: A study of the changes in the brain in experimental internal hydrocephalus. *J. Pathol. Bact.* **62**, 197-208 (1950).
17. Hochwald, G. M., Sahar, A., Sadik, A. R. and Ransohoff, J.: Cerebrospinal fluid production and histological observations in animals with experimental obstructive hydrocephalus. *Exp. Neurol.* **25**, 190-199 (1969).
18. 村田高穂, 森 惟明, 半田 肇, 中野善久: 実験水頭症犬におけるCT (第3報) —periventricular lucency (PVL) の成因に関する考察—. *脳神経* **31**, 721-729 (1979).
19. Sahar, A., Hochwald, G. M. and Ransohoff, J.: Alternate pathway for cerebrospinal fluid absorption in animals with experimental obstructive hydrocephalus. *Exp. Neurol.* **25**, 200-206 (1969).
20. Wislocki, G. B. and Putnam, T. J.: Absorption from the ventricles in experimentally produced internal hydrocephalus. *Am. J. Anat.* **29**, 313-320 (1921).
21. Fishman, R. A.: Brain edema. *New Engl. J. Med.* **293**, 706-711 (1975).
22. 岡 伸夫, 中田潤一, 遠藤俊郎, 高久 晃, 篠原治道, 森沢佐歳: 実験的水頭症における血管構築. *Neurol. Med. Chir. (Tokyo)* **25**, 701-706 (1985).
23. Sato, O., Ohya, M., Nojiri, K. and Tsugane, R.: Microcirculatory changes in experimental hydrocephalus: morphological and physiological studies. In: Shapiro, K., Marmarou, A. and Portnoy, H.: *Hydrocephalus*. 215-230, Raven Press, New York (1984).
24. Wozniak, M., Mclone, D. G. and Raimondi, A. J.: Micro- and macrovascular changes as the direct cause of parenchymal destruction in congenital murine hydrocephalus. *J. Neurosurg.* **43**, 535-545 (1975).
25. Weller, R. O., Wiśniewski, H., Ishii, H., Shulman, K. and Terry, R. D.: Brain tissue damage in hydrocephalus. *Med. Child. Dev. Neurol.* **11 (Suppl. 20)**, 1-7 (1969).
26. Weller, R. O., Wiśniewski, H., Shulman, K. and Terry, R. D.: Experimental hydrocephalus in young dogs: histological and ultrastructural study of the brain tissue damage. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* **30**, 613-626 (1971).
27. Gopinath, G., Bhatia, R. and Gopinath, P. G.: Ultrastructural observation in experimental hydrocephalus in the rabbit. *J. Neurol. Sci.* **43**, 333-344 (1979).

28. Sasaki, S., Goto, H., Nagano, H., Furuya, K., Omata, Y., Kanazawa, K., Suzuki, K., Sudo, K. and Collmann, H.: Congenital hydrocephalus revealed in the inbred rat, LEW/Jms. *Neurosurgery* **13**, 548-554 (1983).
29. 東健一郎, 朝久 浩, 上田信子, 野田安孝, 田代美智子: ラットにおける先天性水頭症の実験モデル. *小児の脳神経* **9**, 257-264 (1984).
30. Kohn, D. F., Chinookoswong, N. and Chou, S. M.: A new model of congenital hydrocephalus in the rat. *Acta Neuropathol. (Berl.)* **54**, 211-218 (1981).
31. 清水 昭, 上野日出男, 渡辺 学, 千ヶ崎裕夫, 石井昌三, 三輪政夫, 古瀬正男, 辻敏一郎, 安達二郎: Wistar-Imamichi 系ラットにおける先天性水頭症. 第43回日本脳神経外科学会総会, 千葉, プログラム 221, (1984).
32. 平山昭彦, 松本 悟: 実験的水頭症. *小児の脳神経* **1**, 17-27 (1976).
33. Hassler, O.: Angioarchitecture in hydrocephalus. An autopsy and experimental study with the aid of microangiography. *Acta Neuropathol. (Berl.)* **4**, 65-74 (1964).
34. Nakagawa, Y., Cervós-Navarro, J. and Artigas, J.: A possible paracellular route for the resolution of hydrocephalic edema. *Acta Neuropathol. (Berl.)* **64**, 122-128 (1984).
35. Tennyson, V. M. and Pappas, G. D.: An electron microscope study of ependymal cells of the fetal, early postnatal and adult rabbit. *Z. Zellforsch.* **56**, 595-618 (1962).
36. Weller, R. O. and Mitchell, J.: Cerebrospinal fluid edema and its sequelae in hydrocephalus, In: Cervós-Navarro, J. and Ferszt, R.: Brain edema. *Adv. Neurol.* **28**, 111-123, Raven Press, New York (1980).
37. Bär, Th. and Wolff, J. R.: The formation of capillary basement membranes during internal vascularization of the rat's cerebral cortex. *Z. Zellforsch.* **133**, 231-248 (1972).
38. Bauer, K. Fr. and Vester, G.: Das elektronenmikroskopische Bild der Hirnkapillaren menschlicher Feten. *Fortschr. Neurol. Psychiat.* **38**, 270-310 (1970).
39. Caley, D. W. and Maxwell, D. S.: Development of the blood vessels and extracellular spaces during postnatal maturation of rat cerebral cortex. *J. Comp. Neurol.* **139**, 31-48 (1970).
40. Donahue, S. and Pappas, G. D.: The fine structure of capillaries in the cerebral cortex of the rat at various stages of development. *Am. J. Anat.* **108**, 331-338 (1961).
41. Hauw, J. J., Berger, B. and Escourolle, R.: Electron microscopic study of the developing capillaries of human brain. *Acta Neuropathol. (Berl.)* **31**, 229-242 (1975).
42. 佐々木 啓: マウスの脳内毛細血管と血管周囲組織の発生過程における経時的変化に関する研究. *脳神経* **34**, 151-158 (1982).
43. 吉田泰二: 実験膠腫内微小血管の立体像. 一胎仔, 新生仔期の脳血管形成との関連一. *脳神経* **35**, 619-627 (1983).
44. Klatzo, I.: Neuropathological aspects of brain edema. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* **26**, 1-14 (1967).

別刷請求先:

(〒060) 札幌市中央区南1条西16丁目

札幌医科大学脳神経外科 奥山 徹