



Title	中枢神経組織に対する放射線の影響に関する電子顕微鏡的研究
Author(s)	山野, 究
Citation	日本医学放射線学会雑誌. 1969, 29(6), p. 597-610
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/17822
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

特別掲載

中枢神経組織に対する放射線の影響に 関する電子顕微鏡的研究

京都大学医学部放射線医学教室 (主任 福田 正教授)

山 野 究

(昭和44年8月9日受付)

Electron Microscopic Studies on the Effect of Ionizing Radiation on the Central
Nervous Tissue

by

Kiwamu Yamano

Department of Radiology, Kyoto University, Medical School

(Director: Prof. Dr. Masasi Fukuda)

In the present experiment, the radiation-induced morphological and functional changes in the central nervous system were studied by electron microscopy 812.

Under non-anesthetic condition, the cerebral cortex was removed immediately to 109 days after irradiation with 500, 1,000, 2,000, 3,000 and 6,000 R from ^{60}Co source successively. The cerebral cortex taken from the living rabbit was fixed in 2% osmium tetroxide and Dalton Buffer for 2 hours, dehydrated in graded alcohol solutions and embedded in Epon 812.

Ultrathin sections were stained by lead monoxid and examined with electron microscopes, HU-11A, HS-7 and JEM-7A.

The normal ultrastructure of the capillary in the cerebral cortex showed that a capillary wall was surrounded directly by glial cells and there was interposed between the glial cell and endothelial elements a basement membrane. The true perivascular space was not observed around the capillary in the normal cerebral cortex.

In the irradiated cerebral cortex, were found the marked enlargement of the perivascular astroglial cells, the intracellular swelling of astrocytic processes in the neuropil and around the capillary or the breakdown of the internal arrangements of mitochondria.

The marked swelling of astrocyte, which was partially occupied by electron dense particles containing electron dense granules, was pronounced especially around the capillary, in the cerebral cortex removed 19 and 98 hours after irradiation to 3,000 R, 21 and 46 hours after irradiation to 2,000 R, 21 hours after irradiation to 1,000 R, or 25 hours after irradiation to 500 R.

In the specimens obtained 46 hours after irradiation to 2,000 R and 25 hours after irradiation to 500 R, 2 phases (dark and clear phase) were observed in the marked swelling of perivascular astrocyte, though the existence of intermediate phase could not be excepted between both phases.

These findings suggested that some fluid which appeared to have nonphysiological properties may

have been accumulated in the perivascular astrocyte.

In the specimen obtained 109 days after irradiation to 3,000 R, many vacuolation with membranous structure were observed in the neuropil.

In the specimen obtained 66 days after irradiation to 6,000 R, erythrodiapedesis outside the perivascular space were observed in the neuropil. It was noted that brain swelling like changes were found still this time.

On the base of above mentioned changes, that is, increase in the permeability of capillary wall, enlargement of perivascular astrocyte including the electron dense particles and the nonphysiological metabolic substances, the swelling of mitochondria and partial destruction of its internal arrangements and so on, it could be considered that the brain swelling appears in the first process of radiation damage.

Though the changes were kept in the long term after exposure, those are rather considered the results from the radiation damage induced by the destruction of membrane of perivascular astrocyte, the morphological and functional changes in astrocytes through the vascular damages.

諸 言

脳腫瘍に対する放射線治療は、近年目覚ましい発達をとげて来た。この場合、大部分が不完全摘出後の残存した腫瘍、あるいは、摘出不能な脳腫瘍に対して施行されており、正常脳組織がともに照射されることはまぬがれない。この際、正常脳組織への放射線による影響を究明する必要がある。

脳に対する大線量照射についての光学顕微鏡的検索は、Hicks, S.P. & Montgomery, P.O.B. (1952)¹⁴⁾, Hicks, S.P. et al (1956)¹⁵⁾等がある。電子顕微鏡的には、Vogel, F.S. (1959)⁸⁾が最初の報告で、その後、Hager, H. et al (1962)¹⁶⁾, Vogel, F.S. (1962)⁸⁾, Cervos-Navarro, J. (1964)⁵⁾, Franke, H. & Lieser, W. (1965)¹⁰⁾等が報告している。

脳組織は放射線照射により、ある時期では脳浮腫を起こすと考えられている。さらに脳は頭蓋骨で包囲されているから内圧の亢進などその影響は大きい。脳組織がいかなる機構で浮腫状態になるのか、もし浮腫状態を招来するとすれば、その形態学的変化は如何なるものか、また単に浮腫だけであるのか、以上を追求する上には、光学顕微鏡的研究からさらに一步すすめて、電子顕微鏡レベルでの形態学的変化を検索する必要があると考えた。この場合、放射線による晩期変化も問題になるが、比較的早期変化を問題にしなければならない。

本研究では、中枢神経組織におよぼす放射線の作用機序、および、放射線照射により発生すると考えられる、所謂、脳浮腫の形態学的変化を究明する目的で、中等線量 500～6,000R 照射による形態学的変化を、電子顕微鏡レベルで追求した。電子顕微鏡学は近年目覚ましい発達をとげ、固定方法、包埋剤の重合の際の障害等の諸問題があるが、本研究では包埋剤にエポキシ系樹脂を使用して、脳血管系を中心にした微細構造上の変化を検討した。この目的のために perfusion は行なっていない。

研究方法

実験動物および固定方法

成熟家兎 (2.7～3.0kg) 雄を、無麻酔下において円筒型家兎固定器に固定。

照射装置および照射方法

島津製作所製 ⁶⁰Co二重回転治療装置 RT-2,000を使用、家兎頭部に照射野 4×4 cm, S.A.D. 60 cm, 左右対向2門照射、線量率、ca. 110R/min, 照射線量は、空中線量で 500, 1,000, 2,000, 3,000, 6,000R, を照射した。この際照射は口腔をさけ、頭部のみとした。

固定液

4% OsO₄溶液を Dalton緩衝液と等量に混じ、2% OsO₄ 固定液とした。

包埋剤 Epon 812

超薄切片作製、電子染色および電子顕微鏡 Leitz

製 Ultra-Mikrotom, 日本電子製 JUM-5A を使用して超薄切片を作製, PbO 染色, 日立製作所製 HU-11A, HS-7, 日本電子製 JEM-7A, 等の電子顕微鏡を使用した。

研究実施方法

上記線量照射, 照射直後30分, 5~10時間後, 20~25時間後, 45~50時間後, 3~4日後, 約2ヵ月後, 約3ヵ月後に無麻酔下で, 家兎の頭頂部に直径 ca. 2 cm の孔をあけ, 2% OsO₄ 固定液を滴下中にすみやかに採取した脳皮質を, 大体 1 mm³ の大きさに細切して, 2% OsO₄ 固定液に2時間固定後, 50, 60, 70, 80, 90, 95, 100%, アルコールで順次脱水, プロピレンオキサイドを経て, Luft, J.H. (1961)²³⁾ の原法に従い Epon 812 に包埋した。上記 Mikrotom を使用して超薄切片を作製, 次いで PbO 染色 (Karnovsky, M.J. 1961²²⁾) を施行し, 電子顕微鏡を使用して観察した。

研究結果

(I) 正常大脳皮質毛細血管, 神経膠細胞, 神経細胞との相互関係と微細構造

中枢神経系の主な細胞構築は, 神経細胞, 神経膠細胞, と血管からなっており, 脳毛細血管は従来の光学顕微鏡的所見によると, 口径 6 μ 以下の細血管と考えられている。

家兎大脳皮質に見られる毛細血管は, ほとんどその全周を1つあるいはそれ以上の明るい胞体をもつた星状膠細胞により取り囲まれていた。

星状膠細胞と毛細血管内皮細胞の間には, 恐らく両細胞成分由来と考えられる薄い, 中等度電子密度の基底膜が介在するのみであつた。したがって毛細血管周囲腔, 所謂 Virchow-Robin 氏腔と考えられる構造はなく, また細胞成分が互に密接に相接しているため細胞周囲腔と考えられる間隙も認められなかつた。

脳の毛細血管の内皮細胞は, 他の組織の内皮細胞となら構造上の差異はなく鋸状の境界をもつて境いされ, 胞体と卵円形の濃染された核をもつていた。また辺縁部においては小泡様構造が認められた。

正常星状膠細胞は数個の長い突起を有し, 束状, 渦状に走るグリア線維群が細胞内, 特に突起部の中にみられ, これらの突起が毛細血管を直接とりかこんでいた。星状膠細胞は比較的電子密度が低い細胞質が特徴で, 比較的少ない ribosom と分散した endoplasmic reticulum を有し, また mitochondria は一般に大きく, coarse granula は直径 150~400 Å で鉛によく染色される顆粒を含んでいた。核は円形あるいは卵円形で, 特に nuclear membrane に沿つて coarsely granula と chromatin が散在しており, 染色質に乏しく星状膠細胞の突起は, 神経細胞まで達しているのを認めた。

正常希突起膠細胞は, 円形の細胞で, 一般に細胞質が少なく星状膠細胞よりも小さく, また小器官に恵まれており, 細胞質は比較的電子密度が高い。核は星状膠細胞より不規則で, nuclear chromatin は星状膠細胞よりもより多く存在した。

小膠細胞は, 不正形で凹凸の強い, 電子密度の高い核と細胞質が特徴で, 細胞質に lysosome が見られた。

(II) ⁶⁰Co 家兎頭部外部照射群

500—6,000 R 家兎頭部外部照射 (対向2門) による, 照射直後から約 108 日後までの経時的な変化を追求した中で, 特に共通の処見としてまとめられることは, まず第1に, 大脳皮質毛細血管をとりまく神経膠細胞, 中でも, perivascular astroglia の著明な腫張にあつた。一応星状膠細胞の胞体の膜様構造を保持し, かなり著明に腫張した像を呈していた。

上記の腫張した星状膠細胞の胞体の中に, electron dense な particle の充満を認めた。しかしこの electron dense な particle の充満像にも, その electron dense な点で差異のある点に注目しなければならない。すなわち clear phase と dark phase の2層が認められた。両者間には明らかな差異があり, 星状膠細胞の胞体の細胞膜で境いされていた。またこの両者間に細胞膜破綻にもとづく中間層の存在することもあつた。これらは明らかに液状物の貯溜像を考えさせるであろう。

Fig. 1 & 2. の 500 R 照射, 25 時間後の標本には, 皮質毛細血管の内皮細胞に小泡状構造が認め

Fig. 1 & 2 The capillary in the cerebral cortex 25 hrs. after irradiation to 500 R.

The most predominant change was the marked enlargement of perivascular astroglial cells (SA), where were observed 2 phases (dark and clear phase) and some vesicles (V) in the endothelial cytoplasm were seen.

The basement membrane of the capillary wall was loose and some what swollen (arrow).

The destruction of the internal arrangements in the mitochondria (M) and ribosomes accumulation (R) were observed.

E: Erythrocyte in capillary space. B: Basement membrane.

Fig. 1 (Mag. $\times 4,400$)

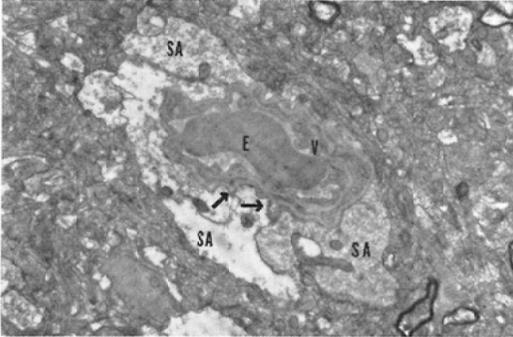


Fig. 2 (Mag. $\times 11,000$)

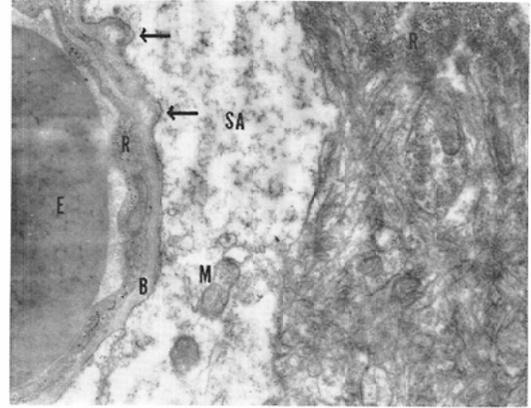


Fig. 3 & 4 The capillary in the cerebral cortex 21 hrs. after irradiation to 1,000 R.

Swelling of the astroglia (SA) around a capillary, a number of vacuolation (Va) in the perivascular astroglia and the destruction of the internal arrangements of mitochondria (M) were observed.

Several glycogen granules (G), pyknotic dense body (Pd) and ribosomes (R) were observed in the perivascular astrocyte.

C: Capillary. My: Myelin.

Fig. 3 (Mag. $\times 6,400$)

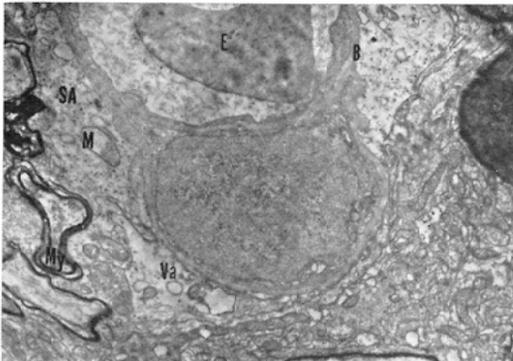
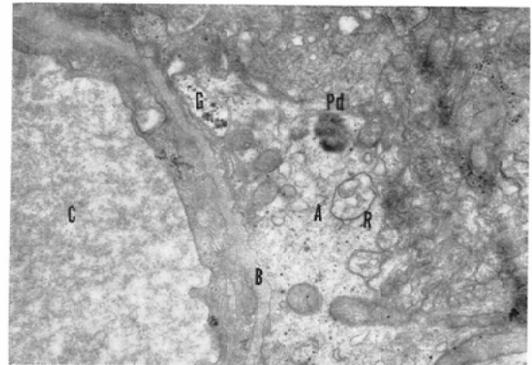


Fig. 4 (Mag. $\times 12,200$)



られ、また内皮細胞内および、perivascular astroglia にかなり多数の ribosom が認められた。また、glycogen 顆粒の著明な蓄積は認められなかつた。

毛細血管の基底膜自体には、粗な処が数カ所認められ、これらの中には明らかに上述の小泡状構造と同様の electron dense な濃度を有し、かつ同様の構造と考えられる電子顕微鏡像を呈した。こ

Fig. 5 & 6 Cerebral cortex 43 hrs. after irradiation to 1,000 R.

The electron dense granules were accumulated in the swollen astroglia (SA) around a capillary.

Many ribosomes were found in the endothelial cytoplasm.

The swelling of mitochondria (M) and the destruction of the internal arrangements of mitochondria (M) were shown.

E: Erythrocyte. B: Basementmembrane. R: Ribosom.

Fig. 5 (Mag. \times 12,100)

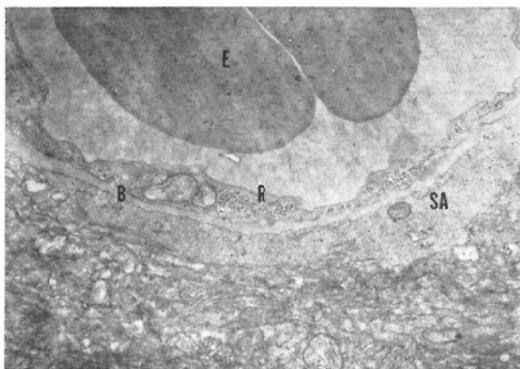


Fig. 6 (Mag. \times 15,000)

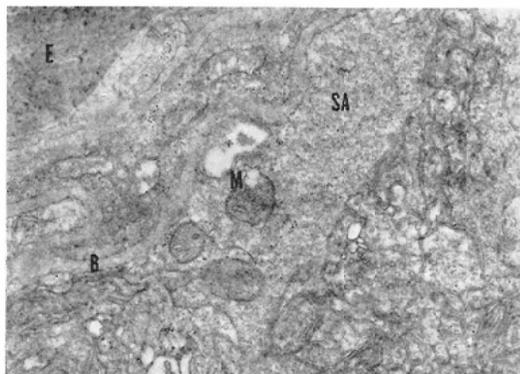


Fig. 7 & 8 Cerebral cortex 21 hrs. after irradiation to 2,000 R.

The swelling of the astrocytic processes (SA) around a capillary were shown.

The electron dense particles and more electron dense granules were observed in the swollen perivascular astrocytes.

Synaps (S) were normal.

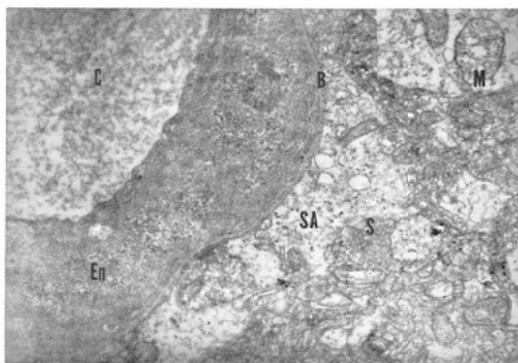
M: Swelling of the mitochondria. E: Erythrocyte. En: Endothel. C: Capillary.

B: Basementmembrane.

Fig. 7 (Mag. \times 6,300)



Fig. 8 (Mag. \times 7,800)



の時期の mitochondria は一部に内部 crista の破壊が認められた。

Fig. 3 & 4. の 1,000 R 照射, 21 時間後の標本には perivascular astroglia の腫張と, 腫張した胞体内に vacuolation および mitochondria の膨化が認められた。

また Fig. 4 では glycogen 顆粒と pyknotic dense body が認められた。

Fig. 5 & 6. の 1,000 R 照射, 43 時間後の標本には perivascular astroglia の腫張した胞体の中に electron dense な particle が充満しており, それらの胞体の中にさらに electron dense な granula,

Fig. 9 & 10 Cerebral cortex 46 hrs. after irradiation to 2,000 R.

The marked enlargement of the perivascular astroglial cells (SA) which consist of 2 phases dark and clear phase (SA 1 and SA 2) where containing many electron dense particles and ribosomes (R) were observed.

E: Erythrocyte. B: Basementmembrane. C: Capillary.

Fig. 9 (Mag. \times 5,900)

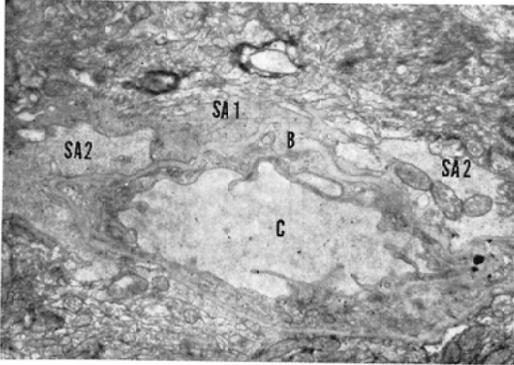


Fig. 10 (Mag. \times 6,300)



Fig. 11 Cerebral cortex 30 min. after irradiation to 3,000 R.

The swelling of astrocytic processes (SA) around a capillary were found. Mitochondria accumulated in the neighborhood of the capillary basementmembrane in the perivascular swollen astrocyte.

M: Mitochondria. E: Erythrocyte.

My: Myelin

Fig. 11 (Mag. \times 6,300)

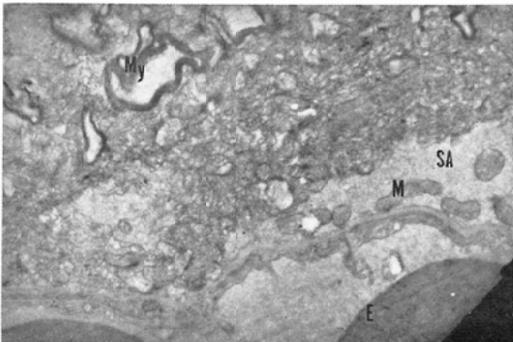
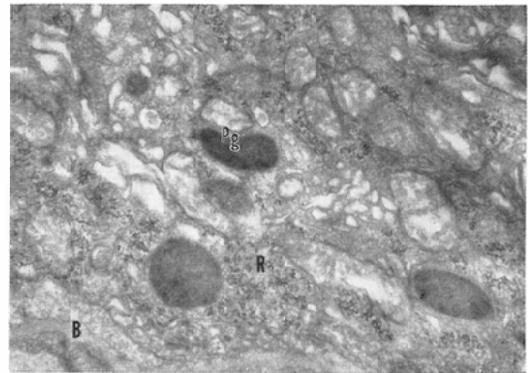


Fig. 12 Cerebral cortex 30 min. after irradiation to 3,000 R.

Some pyknotic granular cells (Pg) and many ribosomes (R) were observed. At the lower left was seen a capillary.

B: Basementmembrane.

Fig. 12 (Mag. \times 19,000)



おそらく ribosom と考えられる granula が多数認められた。特に毛細血管内皮細胞に多数存在した。

Fig. 7 & 8. の 2,000R 照射, 21時間後の標本にも perivascular astroglia の腫張と, 腫張したこれらの胞体の中に electron dense な particle の充満, ribosom および vacuoles が認められた。

Fig. 9 & 10. の 2,000 R 照射, 46時間後の標本

にも perivascular astroglia の腫張を認め, 特に Fig.9. では perivascular astroglia の腫張は 2層性 (clear phase と dark phase) の像を呈し, また腫張して内部 cristaの消失した mitochondria が, perivascular の neuropil の中にも認められた。

Fig.11&12. の 3,000 R, 照射30分後の標本にも前述のperivascular astroglia の変化とともに, pyknotic granular cell の出現が認められた。さ

Fig. 13 Cerebral cortex 19 hrs. after irradiation to 3,000 R.

Perivascular astrocytic processes (SA) were swollen and a fluid was accumulated in its cytoplasm.

E: Erythrocyte. My: Myelin.

Fig. 13 (Mag. \times 2,900)

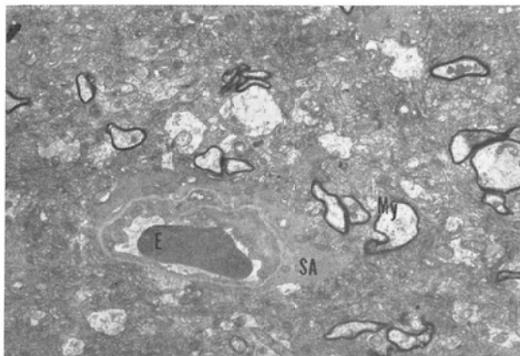


Fig. 14 Cerebral cortex 19 hrs. after irradiation to 3,000 R.

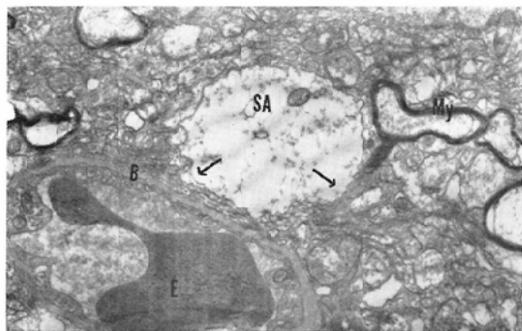
The destruction of the perivascular astrocytic membrane were seen (arrow).

SA: Swelling of astrocytic processes.

B: Basementmembrane mentane.bmmre

E: Erythrocyte. My: Myelin.

Fig. 14 (Mag. \times 7,400)



らにこの腫張した perivascular astroglia の中で mitochondria が、basementmembrane に近く集合した様な像が認められた。

Fig.13&14. の 3,000 R 照射, 19時間後の標本では腫張した perivascular astroglia の細胞膜の破綻を思わせる像を呈した。

Fig.15. 16&17. の 3,000 R 照射, 98時間後の標本では、同様腫張した星状膠細胞に electron dense な particle の充満が認められ、これらの中

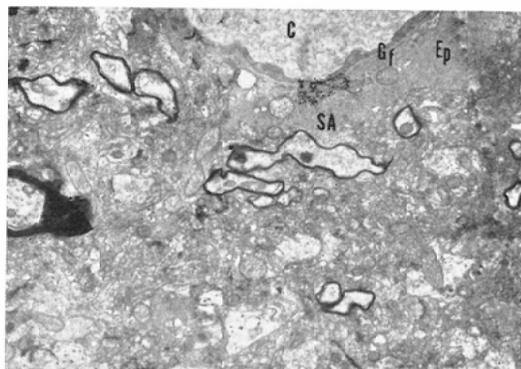
Fig. 15 Cerebral cortex 98 hrs. after irradiation to 3,000 R.

Electron dense particles (Ep) and glial fibrils (Gf) were found in the swollen perivascular astrocyte. The opaque objects at the top right and middle left were staining artifacts.

SA: Swelling of perivascular astrocyte.

C: capillary.

Fig. 15. (Mag. \times 4,400)



に腫張した mitochondria が、また vacuoles と cytoplasmic fibrils が認められた。

Fig.18. の 3,000 R 照射, 98時間後の標本では neuropil の間に erythrodiapedesis が認められた。

Fig.19. の 3,000 R 照射, 108日後の標本では neuropil の間に腫張して内部構造の粗な空泡状になった像が、また小泡状の変性像が認められた。おそらく星状膠細胞と考えられた。

Fig.21. の 6,000 R 照射, 66日後の標本では、特に特徴のあることは、著明に腫張した perivascular astroglia の胞体と、これらの胞体の中に充満した electron dense な点で差異のある前述の2層性の変化に加えて、中間層とも考えられる層が認められた。特に、照射後約2カ月後の標本に認められた点に注目した。また一方 Fig.22&23. の 6,000 R 照射, 66日後の標本では、neuropil 間にいつ出したと考えられる erythrodiapedesis の像を残しており、また mitochondria は腫張して内部構造の破綻が認められた。

考 察

一般に脳細胞は、一般細胞にみられる細胞代謝以外に特有な機能 (Blood Brain Barrier) を有し、しかも各脳細胞間、神経細胞と神経膠細胞

Fig. 16 & 17 Cerebral cortex 98 hrs. after irradiation to 3,000 R.

The swollen perivascular astrocyte including characteristic astrocytic glial fibrils (Gf) in its cytoplasm was observed.

Some vesicles (V) in the endothelial cytoplasm and swelling of mitochondria (M) were observed.

Ep: Electron dense particles. B: Basementmembrane. M: Swelling of the mitochondria. C: Capillary.

Fig. 16 (Mag. $\times 13,000$)

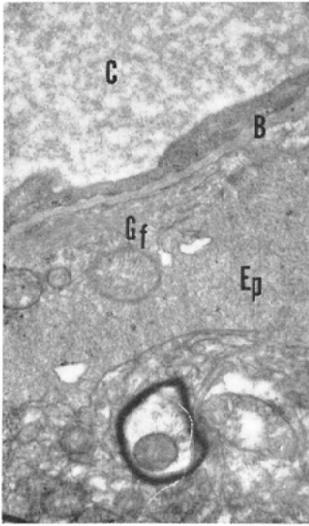


Fig. 17 (Mag. $\times 13,000$)

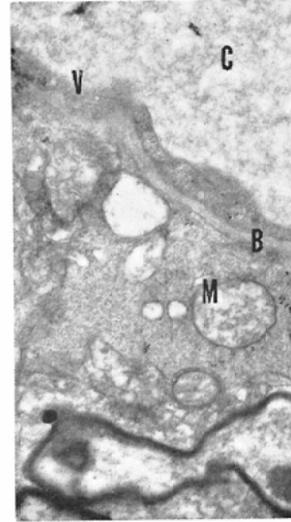


Fig. 18 Cerebral cortex 98 hrs. after irradiation to 3,000 R.

A diapedetic erythrocyte (E) and plasma exudation lay between intact cell processes.

M: Mitochondria. My: Myelin.

Fig. 18 (Mag. $\times 5,900$)

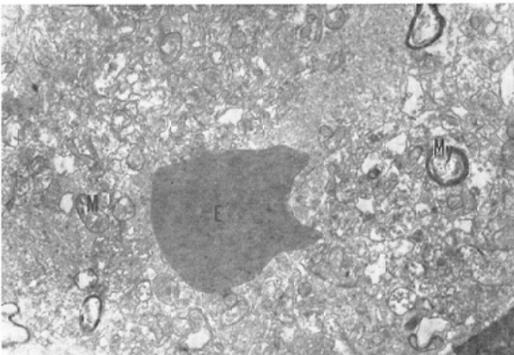
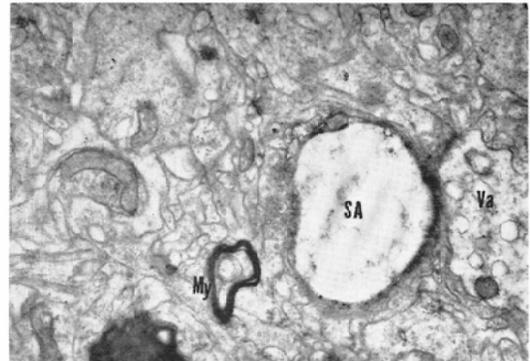


Fig. 19 Cerebral cortex 108 days and 21 hrs. after irradiation to 3,000 R.

The swelling of astrocytic processes (SA) and vacuoles (Va) in the neuropil were seen.

My: Myelin.

Fig. 19 (Mag. $\times 11,000$)



(特に星状膠細胞, 希突起膠細胞)との間には密接な関係がある. 神経膠細胞は従来から考えられている支持細胞としての機能以外に, 以下の諸家の報告にあるごとく, それ自体としての別の機能

をも保持していると考えられる. De Robertis, E.D.P. et al (1958)⁹⁾, によると星状膠細胞の役割として, 脳組織のイオン代謝を力説している. Folch, J.¹¹⁾, によると星状膠細胞は単に脳の支持

Fig. 20 Cerebral cortex 108 days and 21 hrs. after irradiation to 3,000 R.

Accumulation of ribosomes (R) and a pycnotic dense body (Pd) were observed in the neuropil.

Fig. 20 (Mag. \times 11,000)

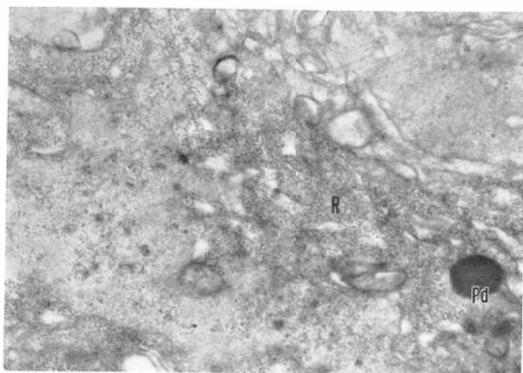


Fig. 21 Cerebral cortex 66 days and 3 hrs. after irradiation to 6,000 R.

Prominent swelling of perivascular astrocytes (SA 1, 2 and 3.) which consist of 3 phases (dark, clear and intermediate phase) were seen.

Ribosomes (R) accumulated in the swollen perivascular astrocytes and in the endothelial cytoplasm.

B: Basementmembrane. C: Capillary.

Fig. 21 (Mag. \times 5,100)

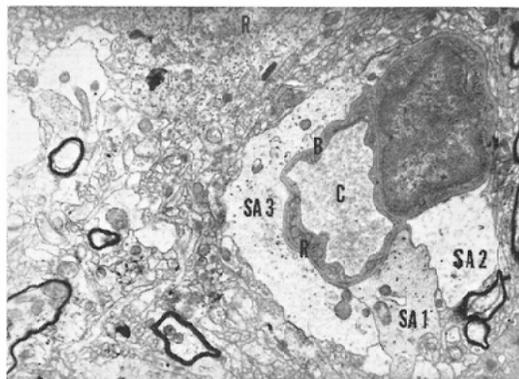


Fig. 22 & 23 Cerebral cortex 66 days and 3 hrs. after irradiation to 6,000 R.

Diapedetic erythrocytes (E) lay between neuropil.

Fig. 22 (Mag. \times 4,800)

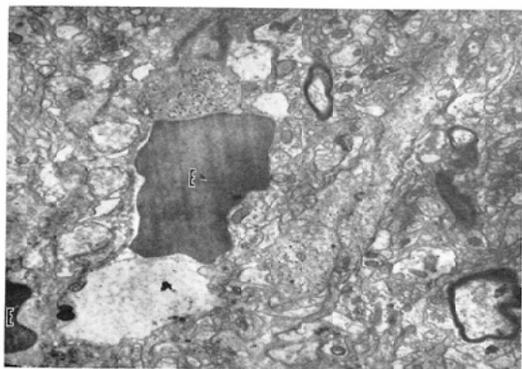
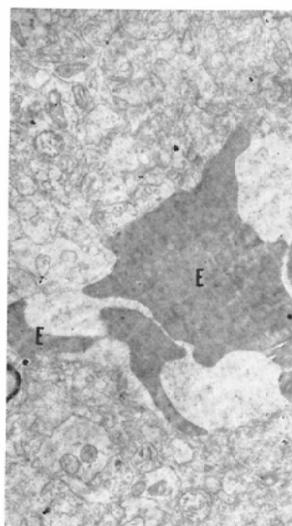


Fig. 23 (Mag. \times 6,600)



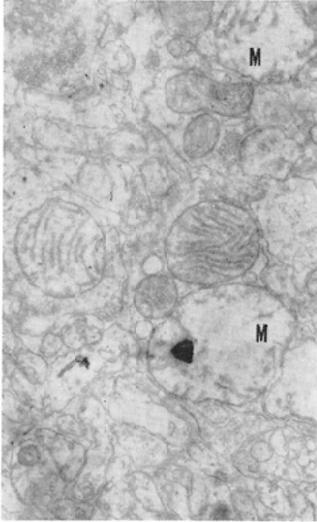
組織としての機能を持つばかりでなく、神経細胞を養う機能“nurse cell”としての機能をも果していると述べている。Farquhar, M.G. & Hartman, J.F. (1957)¹²⁾ は電子顕微鏡レベルで

の検索から、星状膠細胞と毛細血管との関係について言及し、あらゆる毛細血管は1つあるいはそれ以上の星状膠細胞の突起によつて密接に、その周辺が直接にとりかこまれており、血液からの諸

Fig. 24 Cerebral cortex 66 days and 3 hrs. after irradiation to 6,000 R.

Some of mitochondria (M) to swollen seriously in the neuropil. The opaque object at the median under was a staining artifact.

Fig. 24 (Mag. $\times 14,300$)



物質は毛細血管壁に至り、神経膠細胞の突起に沿って拡散し、さらに他の細胞成分に運ばれるであろうと述べた。また、Gerschenfeld, H.M. et al (1959)¹⁸⁾も電子顕微鏡的に、星状膠細胞は、血液、髄液、神経細胞との間にあつて、水、イオン等の相互間の物質交換および貯蔵所としての機能を有し、代謝物質の運搬をも司っていると述べた。今、Blood Brain Barrierをもたない一般組織と、Blood Brain Barrierをもつ大脳皮質とを比較して考えると、一般組織においては、血管と実質細胞との間に、血管周囲腔を介しているが、大脳皮質では、血管と神経細胞との間に、神経膠細胞、特に星状膠細胞を介している。かくのごとく神経膠細胞は、細胞酵素系、および、膠質化学系に関与する機能を保持しており、興奮の伝達を行なう神経細胞の支持、栄養、代謝等に関係し、中枢神経系において特に重要な細胞と考えられる。

放射線障害を含めて種々な原因にもとづく神経細胞の障害を考える上で、上述の細胞構築上から考えても、神経細胞に直接的な影響もさることながら、それより以前に特にその近傍神経膠細胞に

なんらかの変化があると予想されるのは当然である。

脳におよぼす放射線の障害発生については、古くからの報告にあるごとく、非分裂系の神経細胞に直接放射線が障害をおよぼすと考える直接反応と、血管系障害を介しての間接反応と考える人々がある。前者には、Arnold, A., Bailey, P., & Laughlin, J.S. (1954)¹⁾, Schümmelfeder, N. (1962)³³⁾, Janssen, P. (1962)²¹⁾, Arnold, A., Bailey, P. & Harvey, R.A. (1954)²⁾等、後者には、Scholz, W. (1935)⁸⁴⁾, Shiraki, H. (1951)⁸⁵⁾, Clemente, C.D. & Holst, E.A. (1954)⁶⁾, Clemente, C.D. & H.E. Richardson, Jr. (1962)⁷⁾, Scholz, W. et al (1962)⁸⁶⁾, Russell, D.S. et al (1949)⁸¹⁾等があつた。

また Scholz は犬の実験で、放射線による脳の反応の時期を2つに分けて、可逆的な早期変化と不可逆的な晩期変化に分けて検索を試み、臨床的に早期変化は完全に認められなかつたが、晩期変化として白質の nekrosis を報告している。

大線量照射により中枢神経組織におよぼす障害についての報告には、Schümmelfeder, N. (1962)³³⁾によるマウスの小脳での報告が、また Hager, H. et al (1962)¹⁶⁾, Scholz, W. (1962)⁸⁶⁾による Syrian Hamuster における報告がある。Hager, H. et al (1962)¹⁶⁾は、7,500~45,000 R の大線量照射で、初期変化として血管透過性にもとづく astrocytic swelling, plasma exudation を指摘した。

本研究では、家兎大脳皮質の毛細血管をとりまく星状膠細胞が、著明に腫張した像を呈し、その細胞内腫張は、Ishii, S. & Tani, E. (1962)¹⁹⁾等による実験的脳浮腫に類似するが、さらに著明に腫張した星状膠細胞の胞体の中に、electron dense な particle の充満があり、electron dense な点で差異のある2層性の変化を呈し、またその両者の中間層と考えられる変化が認められたことを前述した。勿論、electron dense な点で一様な1層性の場合も認められた。これらは明らかに液状物の貯溜であろう。

これらの腫張した星状膠細胞の細胞膜は、一応

保たれているが、一部に細胞膜破綻を思わせる像があり、また腫張した胞体の中に空泡変性を認めた。これらはおそらく不可逆な変化であろう。

毛細血管内皮細胞には、小泡状構造の出現を認めるが、Palade, G.E. (1953)²⁹⁾によるとこの小泡状構造は、正常内皮細胞にもある程度見出されるが、液状物質の内皮細胞内通過の亢進した処見と考えられている。水、イオン、非脂溶性物質等の内皮細胞内の透過性については、Chambers, R. & Zweifach, B.W. (1947)⁵⁾, Pappenheimer, J.R. (1953)³⁰⁾, が報告している。なお Cervos-Navarro, J. (1964)⁵⁾, は家兎の脳で内皮細胞の cytopempsis を後期変化 (6カ月, 1年後) として報告しているが、本研究ではすくなくとも 500 R 照射, 25時間後の標本において証明し得た。同様な事を Franke, H. et al (1965)¹⁰⁾ も述べている。

毛細血管の基底膜に前述のごとき数カ所粗な所が出現し、上述した小泡状構造を呈する点からも、血管壁の透過性が異常に増大した結果と考えさせられ、これにつづき、perivascular astroglia の腫張、その細胞内腫張と液状物の非生理的貯溜、停滞を考えさせられる。

なおこの時期における希突起膠細胞、神経細胞の変化をほとんど見なかつた。この点については、Franke, H. et al (1965)¹⁰⁾ は 2,000 R で Hager, H. et al (1962)¹⁶⁾ は 15,000 R でともに神経細胞に影響を認めなかつた事を報告しており、本研究の結果と一致している。また Maxwell, D.S. et al (1964)²⁶⁾ は崩壊物を除去する上に希突起膠細胞の中の lysosome-like bodies が集積する事に関係すると述べ、また Schultz, R.L. & Pease, D.C. (1959)³⁷⁾ によると、喰食性よりも、溶解性の変化にあると述べ、血管外に附ずいする部分に起るだろうと述べた。以上の様な perivascular astroglia の著明な変化が、500~6,000 R 照射で程度の差は多少ともあるが、共通してみとめられることにかかなり重要な点がある。

さて脳浮腫について、脳浮腫の発生機序については、なお複雑な要因があり、その解析は複雑で単純化した実験的脳浮腫についての報告が種々

ある中で、Gerschenfeld, H.M. et al (1959)¹³⁾, Luse, S.A. & Harris, B. (1960)²⁴⁾, Ishii, S. & Tani, E. (1962)¹⁹⁾ によると、例えば cerebral compression により惹起した脳浮腫、あるいは、cerebral infarction によるもの、また venous congestion によつて起した脳浮腫時における形態学的変化は、特にその電子顕微鏡像は、程度の差はあつても astroglia の胞体の著明な腫張にある。特に胞体は一層明るく、僅かな細胞内固形成分があるだけで、その細胞内容積の増大を認め、全体として透明な像を呈する。また mitochondria の膨化、空泡化、また星状膠細胞の細胞膜の断裂等の共通した諸変化を報告している。特に、Ishii, S. & Tani, E. (1962)¹⁹⁾ は、脳浮腫を早期変化と後期変化に分けて、前者は脳浮腫発生時より12時間まで、後者は12時間から48時間までと考えており、特に後者では、毛細血管に接近した星状膠細胞の細胞膜破綻を認めており、これら一連の浮腫脳における変化も 168時間後には消失していることを報告している。

浮腫脳における mitochondria は膨化、crista fragmentation の空泡化等の変化を呈するが Ishii, S. et al (1959)²⁰⁾, Ozawa, K. et al (1966)^{27,28)} によると脳浮腫時の mitochondria の ATP 生成機能は、正常時の約半分以下に減少し、biological function の低下を認めている。

⁶⁰Co 照射による本研究でも形態学的に mitochondria は浮腫脳におけると同様な変化を認めた。

ここで本研究における ⁶⁰Co 照射による形態学的変化と、脳浮腫時のそれとを比較して考察すると、脳浮腫では、毛細血管周囲の星状膠細胞の著明な細胞内腫張があり、その胞体は一層明るく、僅かな細胞内固形成分以外は全体として透明な像を呈するのに反し、本研究では同様腫張した毛細血管周囲の星状膠細胞の胞体の中に、electron dense な particle が充満し、さらに2~3層性の electron dense な点で差異のある像を呈すること、また細胞膜の一部破綻、液状物の非生理的貯溜、停滞等を認めた。また脳浮腫状態は後期変化が12~48時間までと考えられており、168時間後

には消失しているのに反し、本研究では、前述のごとき星状膠細胞の変化が、照射直後から、かなり著明にあらわれ、特に 3,000, 6,000 R 照射では、約 2 カ月、3 カ月後摘出標本にも同様な変化を残している点に十分注目の要がある。3 カ月にもわたるこれらの所謂浮腫様変化は、脳浮腫ではなく、照射直後の脳浮腫様状態につづいておこつた後の、血管系障害を介しての、毛細血管周囲をとりまく、星状膠細胞の非生理的代謝物質の貯溜、停滞等、vascular damage を経た星状膠細胞の障害、機能低下と考えられる。このことは、既に国連科学委員会作製の草稿、The effect of ionizing radiation on the nervous system. (1967) の神経系に対する放射線の作用機序の項で、著者によつて一部報告されている。⁴²⁾⁴³⁾

ゴルジ体については、Maxwell, D.S. et al (1964)²⁶⁾ が述べたごとく、明らかに正常で、また ribosom が perivascular astrocyte と内皮細胞に増加することを前述したが、free ribosom の増加については、Maxwell, D.S. et al (1964)²⁶⁾ が 6,000, 9,000 Rad 照射、5 日後に認めている。

また glycogen 顆粒については、150~400Å で鉛に好染する顆粒を Watson, M.L. (1958)⁴¹⁾, Revel, J.P. et al (1960)³²⁾ によつて報告されているが、Maxwell, D.S. et al (1964)²⁶⁾ は endothel cytoplasm の肥厚と mitochondria の増加を報告し、また perivascular astrocyte に多数の glycogen 顆粒の増加と、fat droplet を述べたが、本研究では両者の著明な増加を見なかつた。

3,000 R 照射直後の標本に pyknotic granular cell の出現を認めた。同様の像は Alvord, E.C. & Brace, K.C. (1957)⁸⁾, Brunner, H. (1920)⁴⁾, Haymaker, W. et al (1954)¹⁷⁾, (1958)¹⁸⁾, Vogel, F.S. et al (1958)⁴⁰⁾, Vogel, F.S. (1959)³⁶⁾, Hager, H. et al (1962)¹⁶⁾ 等によつても報告されている。

3,000 R 照射 98 時間後の標本では、毛細血管周囲をとりまく腫張した星状膠細胞の胞体の中に electron dense な particle が充満し、これらの中に cytoplasmic fibrils を認めたことを述べた。こ

れは希突起膠細胞には認められないが、星状膠細胞に認められることを Brunner, H. (1920)⁴⁾, Luse, S.A. (1958)²⁵⁾ が報告しているので perivascular の神経膠細胞は、星状膠細胞と考えられる。

以上述べたごとき脳浮腫様処見に、細胞膜破綻、neuropil 間にみられる erythrodiapedesis 毛細血管周囲をとりまく星状膠細胞の非生理的代謝物質の貯溜、停滞等を考え合せると中枢神経組織におよぼす放射線の作用機序は、血管系障害にもとづく神経膠細胞、特に星状膠細胞の障害、機能低下に続く 2 次的な神経細胞系への障害と考える方が妥当だと考察する。

Hager, H. (1962)¹⁶⁾ によると 45,000 R 照射で neuropil 間に exudat がたまる事を報告し、early nekrosis と考えているが、この場合でも神経細胞は形態的に異常がないと報告している。

照射時にみられる perivascular astroglia, neuropil 間の mitochondria の crista の部分的消失、および mitochondria の膨化は、Hager, H. et al (1962)¹⁶⁾ が述べたごとく、包埋、固定上の電子顕微鏡学的手技上の諸問題を含んでいる。しかしながら、Ishii, S. et al (1959)²⁰⁾, Ozawa, K. et al (1966)²⁷⁾²⁸⁾ が報告した脳浮腫時の ATP 生成機能低下からみても放射線照射によつて神経膠細胞の胞体の中に蓄積した物質を、酵素系の機能で処理する点からも、mitochondria のこれらの変化は無視出来ない問題と考える。

結 論

本研究における家兎大脳皮質におよぼす放射線の影響は次の通りであつた。

1) 毛細血管をとりまく神経膠細胞、特に星状膠細胞は、著明な腫張を呈し、その形態学的変化は、cerebral compression, cerebral infarction, venous congestion 等による実験的脳浮腫と類似していた。

2) 毛細血管内皮細胞に小泡状構造を認め、基底膜の変化、および perivascular astroglia の変化からみて pinocytosis によつて、血液から内皮細胞、星状膠細胞への透過性の増大が認められた。

3) 毛細血管をとりまく星状膠細胞の著明な腫

張と electron dense な particle の充満像で示めされた非生理的代謝物質の貯溜、停滞等、細胞内腫脹をみた。

4) 星状膠細胞の細胞膜の一部破綻、および electron dense の差異のある2~3層性の変化の残存、mitochondria の内部構造の部分的消失、および膨化等、神経膠細胞の不可逆的な変化から、中枢神経組織におよぼす放射線の作用機序は、神経細胞への直接作用もあろうが、まず本研究の線量の範囲においては、脳浮腫様状態が先行すると考える。3,000, 6,000 R 照射では、照射後2カ

月、3カ月後にもなお同様な変化を認める点から、脳浮腫様状態に加えて、血管系障害を介しての星状膠細胞の障害、機能低下に伴う2次的な神経細胞系への放射線障害がこれにつづくと考えた。

5) 家兎大脳皮質におよぼす放射線障害を電子顕微鏡学的見より考察を試みた。

本研究の一部は、文部省科学研究費補助金によるものである。尚、稿を終るに臨み、石井昌三博士、上野陽里博士、谷栄一博士、諸氏の御助力に対し深く感謝の意を表します。

References

- 1) Arnold, A., Bailey, P. and Laughlin, J.S.: Effects of Betatron Radiations on the Brain of Primates. *Neurology*. 4 (1954), 165-178.
- 2) Arnold, A., Bailey, P. and Harvey, R.A.: Intolerance of the Primate Brainstem and Hypothalamus to Conventional and High Energy Radiations. *Neurology*. 4 (1954), 575-585.
- 3) Alvord, E.C. and Brace, K.C.: X-Ray Induced Pyknosis of Cerebellar Granule Cells in Guinea Pigs and Its Suppression by Barbiturate Anesthesia. *J. Neuropathol. Exptl. Neurol.* 16 (1957), 3-17.
- 4) Brunner, H.: Ueber den Einfluss der Röntgenstrahlen auf das Gehirn. I. *Langenbecks. Arch. Klin. Chir.* 114 (1920), 332-372.
- 5) Cervos-Navarro, J.: Elektronenmikroskopische Befunde an den Capillaren des Kaninchengehirns nach der Einwirkung ionisierender Strahlen. *Archiv. Psychiat. Zeitschrift Neurolog.* 205 (1964), 204-222.
- 6) Clemente, C.D. and Holst, E.A.: Pathological Changes in Neurons, Neuroglia, and Blood-Brain Barrier induced by X-irradiation of Heads of Monkeys. *A.M.A. Arch. Neurol. Psychiat.* 71 (1954), 66-79.
- 7) Clemente, C.D. and H.E. Richardson, Jr.: Some Observations on Radiation Effects on the Blood-Brain Barrier and Cerebral Blood Vessels. Response of the Nervous System to Ionizing Radiation. 411-428. Edited by Haley, T.J. and Snider, R.S. Academic Press, New York and London. (1962).
- 8) Chambers, R. and Zweifach, B.W.: Intercellular Cement and Capillary Permeability. *Physiol. Rev.* 27 (1947), 436-463.
- 9) De Robertis, E.D.P., Gerschenfeld, H.M. and Wald, F.: Some aspects of glial function as revealed by electron microscopy. *Proc. 4th Intern. Conf. on Electron Microscopy. Berlin.* 2 (1958), 443-447.
- 10) Franke, H. and Lierse, W.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen über Hirnveränderungen des Meerschweinchens nach Röntgenbestrahlung. *Fortschritte Röntgenstrahlen Nuklearmedizin.* 102 (1965), 78-87.
- 11) Folch, J.: *Psychiatric Research*, ch 2. p. 17. Harv. Univ. Monographs: T. No. 9. From the Reference of Ishii, S. Blood-Brain Barrier. *Soogorinsho.* 8 (1959), 2458-2471.
- 12) Farquhar, M.G. and Hartmann, J.F.: Neuroglial Structure and Relationships as revealed by Electron Microscopy. *J. Neuropathol. Exptl. Neurol.* 16 (1957), 18-39.
- 13) Gerschenfeld, H.M., Wald, F., Zadunaisky, J.A. and De Robertis, E.D.P.: Function of astroglia in the waterion metabolism of the central nervous system. An electron microscope study. *Neurology.* 9 (1959), 412-425.
- 14) Hicks, S.P., and Montgomery, P.O.B.: Effects of Acute Radiation on the Adult Mammalian Central Nervous System. *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.* 80 (1952), 15-18.
- 15) Hicks, S.P., Wright, K.A. and Leigh, K.E.: The Acute Effects of Megavolt Electrons (Cathode Rays) and High-and Low-Energy X-Rays with Special Reference to the Brain. *A.M.A. Arch. Pathol.* 61 (1956), 226-238
- 16) Hager, H., Hirschberger, W. and Breit, A.: Electron Microscope Observations on the X-Irradiated Central Nervous System of the Syrian Hamster. Response of the Nervous System to Ionizing Radiation. 261-275. Edited by Haley, T.J. and Snider, R.S. Academic Press, New York and London. (1962).
- 17) Haymaker, W., Vogel, F.S., Cammermeyer, J., Laqueur, G.L. and Nauta, W.J.H.: Effects of high energy total-body gamma irradiation on the brain and pituitary gland of monkeys. *Am. J. Clin. Pathol. (International Congress of Clinical Pathology.)* 24 (1954), 69-70.
- 18) Haymaker, W., Laqueur, G.L., Nauta, W.J.H., Pickering, C.J.E., Sloper, J.C. and Vogel, C.F.S.: The Effects of Barium¹⁴⁰-Lanthanum¹⁴⁰ (Gamma) Radiation on the Central Nervous System and Pituitary Gland of Ma-

- caque Monkeys. *J. Neuropathol. Exptl. Neurol.* 17 (1958), 12-57.
- 19) Ishii, S. and Tani, E.: Electron Microscopic Study of the Blood-Brain-Barrier in Brain Swelling. *Acta Neuropathologica.* 1 (1962), 474-488.
 - 20) Ishii, S., Hayner, R., Kelly, W.A. and Evans, J.P.: Studies of Cerebral Swelling. II. Experimental Cerebral Swelling produced by Supra-Tentorial Extradural Compression. *J. Neurosurg.* 16 (1959), 152-166.
 - 21) Janssen, P., Klatzo, I., Miquel, J., Brustad, T., Behar, A., Haymaker, W., Lyman, J., Henry, J. and Tobias, C.: Pathologic Changes in the Brain from Exposure to Alpha Particles from a 60 Inch Cyclotron. Response of the Nervous System to Ionizing Radiation. 383-409. Edited by Haley, T.J. and Snider, R.S. Academic Press, New York and London. (1962).
 - 22) Karnovsky, M.J.: Simple Methods for "Staining with Lead" at high pH in Electron Microscopy. *J. Biophys. Biochem. Cytol.* 11 (1961), 729-732.
 - 23) Luft, J. H.: Improvements in Epoxy Resin Embedding Methods. *J. Biophys. Biochem. Cytol.* 9 (1961), 409-414.
 - 24) Luse, S.A. and Harris, B.: Electron Microscopy of the Brain in Experimental Edema. *J. Neurosurg.* 17 (1960), 439-446.
 - 25) Luse, S.A.: Ultrastructure of Reactive and Neoplastic Astrocytes. *Lab. Invest.* 7 (1958), 401-417.
 - 26) Maxwell, D.S. and Kruger, L.: Electron Microscopy of Radiation-induced Lamellar Lesions in the Cerebral Cortex of the Rat. Response of the Nervous System to Ionizing Radiation. 54-83. Edited by Haley, T.J. and Snider, R.S. Little, Brown and Company/Boston. (1964).
 - 27) Ozawa, K., Itada, N., Kuno, S., Seta, K., Handa, H. and Araki, C.: Biochemical Studies on Brain Swelling. I. Changes in Respiratory Control 2, 4-Dinitrophenol Induced ATPase Activity and Phosphorylation. — Correlation between Brain Swelling and Mitochondrial Function.— *Folia Psychiatrica et Neurologica Japonica.* 20 (1966), 57-72.
 - 28) Ozawa, K., Seta, K., and Handa, H.: Biochemical Studies on Brain Swelling. II. Influence of Brain Swelling and Ischemia on the Formation of an Endogenous Inhibitor in Mitochondria. *Folia Psychiatrica et Neurologica Japonica.* 20 (1966), 73-84.
 - 29) Palade, G.E.: Fine Structure of Blood Capillaries. *J. Appl. Phys.* 24 (1953), 1424-1424.
 - 30) Pappenheimer, J.R.: Passage of Molecules through Capillary Walls. *Physiol. Rev.* 33 (1953), 387-423.
 - 31) Russell, D.S., Wilson, C.W. and Tanstey, K.: Experimental radionecrosis of the brain in rabbits. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiat.* 12 (1949), 187-195.
 - 32) Revel, J.P., Napolitano, L. and Fawcett, D.W.: Identification of Glycogen in Electron Micrographs of Thin Tissue Sections. *J. Biophys. Biochem. Cytol.* 8 (1960), 575-589.
 - 33) Schümmelfeder, N.: Sequence of X-Radiation Damage in Mouse Cerebellum. Response of the Nervous System to Ionizing Radiation. 191-210. Edited by Haley, T.J. and Snider, R.S. Academic Press, New York and London. (1962).
 - 34) Scholz, W.: Über die Empfindlichkeit des Gehirns für Röntgen- und Radiumstrahlen. *Klin. Wochenschr.* 14 Jahr. Nr. 6 (1935), 189-193.
 - 35) Shiraki, H.: Die Pathologie der Gehirne von der atomischen Bombenerkrankung. *Psych. and Neurol. Japan.* 53 (1951), 147-168.
 - 36) Scholz, W., Schlote, W. and Hirschberger, W.: Morphological Effect of repeated low Dosage and single high Dosage Application of X-irradiation to the Central Nervous System. Response of the Nervous System to Ionizing Radiation. 211-232. Edited by Haley, T.J. and Snider, R.S. Academic Press, New York and London. (1962).
 - 37) Schultz, R.L. and Pease, D.C.: Cicatrix Formation in Rat Cerebral Cortex as Revealed by Electron Microscopy. *Amer. J. Path.* 35 (1959), 1017-1041.
 - 38) Vogel, F.S.: Changes in the fine Structure of Cerebellar Neurons following Ionizing Radiation. *J. Neuropathol. Exptl. Neurol.* 18 (1959), 580-589.
 - 39) Vogel, F.S.: Effects of High-Dose Gamma Radiation on the Brain and on Individual Neurons. Response of the Nervous System to Ionizing Radiation. 249-260. Edited by Haley, T.J. and Snider, R.S. Academic Press, New York and London. (1962).
 - 40) Vogel, F.S., Hoak, C.G., Sloper, J.C. and Haymaker, W.: The Induction of Acute Morphological Changes in the Central Nervous System and Pituitary Body of Macaque Monkeys by Cobalt (Gamma) Radiation. *J. Neuropathol. Exptl. Neurol.* 17(1958), 138-150.
 - 41) Watson, M.L.: Staining of Tissue Sections for Electron Microscopy with Heavy Metals. *J. Biophys. Biochem. Cytol.* 4 (1958), 475-478.
 - 42) Yamano, K.: Electron microscopic studies in the effects of ionizing radiation on the central nervous system. In. The Effect of Ionizing Radiation on the Nervous System. Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation. United Nations General Assembly. (1967), 6-6.
 - 43) Yamano, K.: Effect of head irradiation on blood brain barrier permeability. In. The Effect of Ionizing Radiation on the Nervous System. Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation. United Nations General Assembly. (1967), 6-6.