

Cobalt-gelatine による実験てんかんモデル

—光顕観察による基礎的研究—

金沢大学医学部神経精神医学教室 (主任: 山口成良教授)

伊	崎	公	徳
波	谷	禎	三
小	山	善	子
勝	川	和	彦
山	口	成	良

富山医科薬科大学医学部神経精神医学教室 (主任: 遠藤正臣教授)

中 村 一 郎

(昭和55年9月20日受付)

動物を用いての実験てんかんの研究は、てんかん発作波の成因やその波及残制に関する電気生理学的研究および光顕・電顕を用いての神経要素の形態学的検索、さらには中枢神経系の伝達物質、種々のけいれん惹起性薬物による神経化学的接近など、各方面より行われている。これらの中でも、てんかんの成因に関する形態学的方面よりの研究、すなわちてんかんの神経病理に関する研究の歴史は最も古く、19世紀はじめのAmmon角硬化の報告以来、Spielmeyer, ScholzらのMünchen学派の「脳のけいれん障害」¹⁾の研究や、PenfieldらMontreal学派²⁾, GastautらMarseille学派³⁾の側頭葉てんかんの研究が有名である。

その後のてんかん学における神経病理学的研究は、脳波学の発展に伴う神経生理学領野からの、おびただしい報告に押されながらも、各種薬物による焦点てんかんモデルを用いての研究が、他領野の研究と平行して行われている。

本研究は従来より、焦点てんかん起因物質として知られているCobalt金属を、Cobalt-gelatineの棒片として家兎大脳皮質に刺入して、てんかん焦点を作成し、焦点病巣の組織変化を経時的に光顕観察して、Cobalt-gelatineによる焦点てんかんの、形態学的基礎研究を

意図として行われたものである。

対象および方法

実験には体重2~3kgの成熟家兎12匹を用いた。焦点起因物質としては、Fischerら⁴⁾と同様の方法で作成したCobalt-gelatine (以下Co-gelatineと略す)を用いた。すなわちmetallic cobalt powder (Mesch200)と56℃の5% Gelatine水溶液を1:1に混合攪拌する。しばらく放置したのち、沈澱したCo-gelatineを直径0.8mmの細管で吸引して棒状とする。さらに冷却凝固させた後Aceton脱水、Formaldehyde気体で固定し、十分に蒸留水で洗浄する。このようにして作られたCo-gelationは80%のEthanolの中に保存され、使用に際2mmの棒片として切断し用いられた。

家兎の脳内投与の手術は、すべて無菌的に行われた。すなわちPentobarbitalの35mg/kgの麻酔下、家兎の頭部を秋元・石川の装置に固定した後、頭部を正中において切開し、頭蓋背面を広く露出した。その後、冠状縫合の吻側4mm、矢状縫合より右側へ2mmの点 (Area praecentralis agranularis, Rose⁵⁾)を中心に、頭蓋骨に直径約5mmの孔をあけ、その中央部の硬膜を小切開して、上記の直径0.8mm、長さ2mmのCo-

Experimental model of epilepsy produced by cobalt-gelatine — a basic cytopathological study with light microscopy — **Kiminori Isaki, Teizo Shibutani, Yoshiko Koyama, Kazuhiko Katsukawa, Nariyoshi Yamaguchi**, Department of Neuropsychiatry, School of Medicine, Kanazawa University (Director: Prof. N. Yamaguchi), **Ichiro Nakamura**, Department of Neuropsychiatry, Faculty of Medicine, Toyama Medical and Pharmaceutical University (Director: Prof. M. Endo).

gelatine の棒片を脳表面に垂直に、かつ棒片の上端が脳表面と同じくなるまで刺入した。

てんかん焦点の完成の有無をみるために、皮質電極を刺入部位の直上および反対側半球の対称部位（左側の Area praecentralis agranularis）、さらに刺入部位より吻側 5 mm と尾側 5 mm の各点の合計 4 カ所を、不閉電極として前頭洞上壁のほぼ正中部位を選び、電極を植込んだ。皮質電極は 2 mm 直径のステンレス鋼のねじを用い、頭蓋骨を通し硬膜上に置いた。これらすべての電極は、細い 7 芯ビニール被覆線により Winchester プラグに連結され、それはさらに歯科用合成樹脂を用いて頭蓋骨に固定された。脳波的観察は術後毎日、上記のプラグに装着されたコネクターを通じて、無拘束、無麻酔状態で行い、大部分の家兎では Megimeide (0.1 ~ 0.3 mg / kg / sec) の静脈内投与による賦活記録によって、発作焦点の完成が確認された。

実験家兎の脳は 3 日、7 日、14 日後に組織学的検索のため光顕資料として、以下の手法で採取された。すなわち家兎の頸動脈よりの Formalin 灌流後、焦点部位を含む全脳が摘出され、さらに 10 % Formalin 再固定後 Hematoxylin-Eosin, Nissl, Klüver-Barrera, Bielschowsky, Holzer, Cajal, Perdrau, Golgi-cox, Bodian, Weolke, Sudan III など各種の染色標本が作成された。なお、対照として 6 匹の家兎について、Co-

gelatine と同大の Gelatine のみの棒片を脳内に同様の術式で刺入し、脳波的観察および組織学的検索を経時的に行った。

成 績

I. 実験家兎の臨床および脳波的観察

発作焦点の完成は、実験家兎の行動観察および頭蓋骨を通して硬膜上に植込んだ 4 カ所の電極より記録した、皮質脳波所見で確認された。

本実験で用いた大きさの Co-gelatine (0.8 mm × 2 mm) 刺入家兎では自然発作はみられず、そのため大部分の実験例では 0.1 ~ 0.3 mg / kg / sec の Megimeide 賦活脳波の記録により、発作焦点の完成が確認された (Fig.1)。すなわち、7 日ないし 14 日目の実験家兎は、全例 Megimeide による賦活脳波観察で、同側または植込と反対側 (mirror focus) に発作波を示し、続いて顔面播擲や上下肢にはじまる Jackson 型発作に進行して、焦点発作の存在が確認された。なお 3 日目の実験家兎では Megimeide 賦活で 60 % が臨床発作に発展し、対照として用いた Gelatine 単独刺入家兎では Megimeide 賦活による発作波の出現が一定せず、臨床発作に移行するものはなかった。

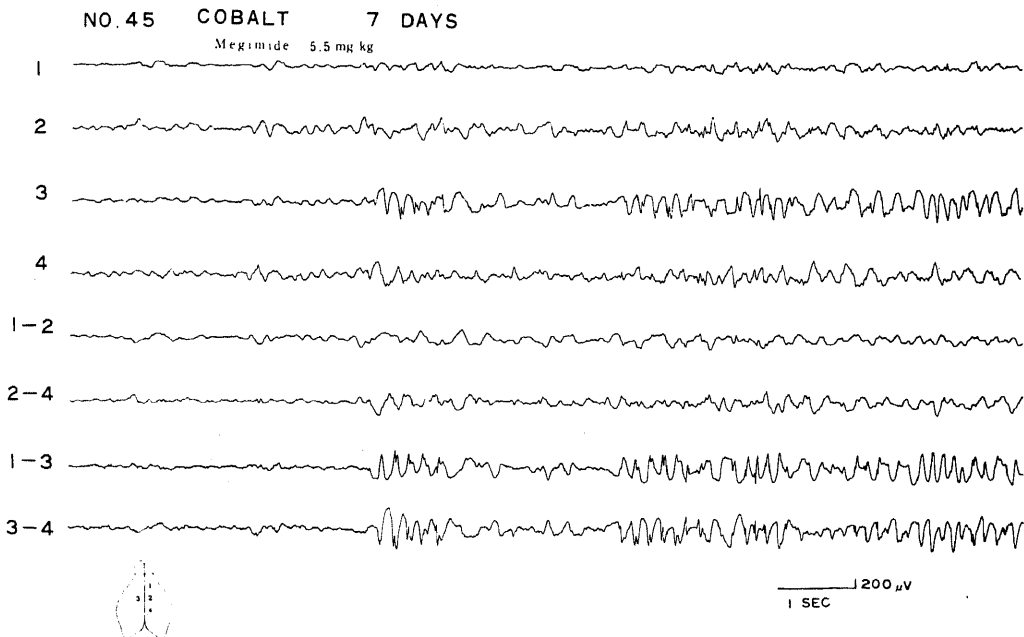


Fig. 1 Epidural EEG showing focal epileptic discharges by means of megimeide activation (5.5mg/kg). EEG findings could be localized in the mirror focus (3).

II. 焦点病巣の神経病理学的検索

1. 対照群の肉眼および光顕所見 (Fig.2)

Co-gelatine と同大の, Gelatine 片単独刺入家兔の肉眼的観察では, 3 日目の刺入脳表面には, なお Gelatine 片や手術による損傷がみられたが, 7 日目, 14 日目の観察では, 刺入部位が痕跡的に認められるにすぎなかった。

対照群の光顕所見は 3 日目の家兔 No. 64 では, Hematoxylin-Eosin (以下 H. E. と略) 標本, Nissl 標本で観察すると, 皮質には Gelatine 刺入部位を中心に, 脳表面を底とする楔状の病巣がみられ, H. E. の染色性が低下し, 軟膜および病巣内の小血管に沿っての線状出血が観察された。病巣中心部では, 神経細胞, グリア細胞共に核濃縮や細胞硬化, 陰影化などの変性, 退行像や細胞消失がみられた。病巣辺縁部の神経細胞の変化は軽く, 脱落はない。病巣には軟膜血管より遊出の多核白血球が少数みられるが, 炎症反応の像はない。Cajal グリア標本では, 病巣周囲にグリアの反応はみられない。

7 日目の家兔 No. 56 の観察では, Gelatine 刺入部を中心とする楔状病巣の基本的性状は, 3 日目のそれと同様である。すなわち, H. E. 標本では軟膜より連続して病巣上部には, 大食細胞, 泡沫細胞, リンパ球などが出現し, 既存小血管の壁細胞の増殖および軽度の毛細管の新生がみられる。病巣にはマイクログリア, 肥大星状グリアが増加し, 軟膜よりの結合織細胞, 結合織線維の侵入もみられる。炎症反応は軟膜に局限し, かつ軽微である。出血はみられない。Cajal グリア標本では, 病巣周辺に軽度の星状グリアの増殖がみられる。

14 日目の家兔 No. 62 の所見は刺入した Gelatine 片に一致する細長い物質欠損 (小嚢胞) が皮質内にみられる。嚢胞壁は星状グリアよりなり, 炎症性の細胞反応は全くみられない。刺入部位の軟膜には限局性の線維性肥厚やリンパ球浸潤がわずかに認められるが, 皮質内には結合織性反応はない。Nissl 染色では嚢胞に隣接する脳実質に, 軽度のグリア細胞の増殖と, 硬化・萎縮などの変性, 退行を示す神経細胞がみられる。Holzer 標本では線維性グリオゼの像はみられない。脂肪標本では, 軟膜直下にわずかに Sudan III 陽性の脂肪顆粒が出現しているが, 皮質内の小嚢胞辺縁には脂肪顆粒はみられない。

2. 実験群の肉眼および光顕所見 (Fig.3-6)

a. 肉眼的観察

Co-gelatine 刺入による焦点病巣は, 肉眼上脳表面に径 5 mm 大の円形の軟化巣として観察される。軟化巣の性状は脳表面よりわずかに隆起し, 灰黄色の外観を

呈している。また 14 日目の観察でも軟化巣内に Cobalt 片が中央に残存し, 病巣内に拡散していない。3~7 日目の病巣では, 周囲に同心円状の出血帯をみることが多い。いずれの時期の観察でも, 焦点病巣は限局性で, 隣接する脳軟膜や脳実質には, 混濁, 腫脹など肉眼上の異常所見は観察されなかった。

b. 焦点病巣の光顕的観察

1). Co-gelatine 焦点病巣 3 日目の病理像 家兔 No. 53

H. E. 標本で観察すると, 焦点巣に接する脳軟膜には, 赤血球や軽度の多核白血球, リンパ球の浸潤がみられる。病巣は皮質内に局限して存在している。Co-gelatine 片はほぼ原形のまま病巣内にみられ, Cobalt 顆粒として巣内に散存している像は認められない。病巣はその Co-gelatine 片を囲むように U 字型を呈している。Co-gelatine 片に接する部は, 壊死脳組織および崩壊炎症細胞よりなり, それは赤血球, 多核白血球の核残屑などの集合物で Hematoxylin に赤紫色に均一に染まる細粒構造の壊死巣である。またこの壊死巣内には Nissl 染色で可染されず, Eosin で赤く濃染する急性壊死神経細胞が散在している。この中心をなす壊死巣の外側には, 脳組織が Eosin に赤く染まり, 細胞成分がまばらな凝固壊死が存在する。この凝固壊死部には, 崩壊多核白血球, 急性壊死神経細胞が散在性にみられ, Nissl 標本では, この部は細胞成分の乏しい無構造帯として観察される。H. E. 標本ではこの凝固壊死部のさらに外側に出血病変がみられる。出血は血管中心性に輪状または斑状に生じ, 融合傾向が強い。

また出血像は皮質表面に高度で, 軟膜を底とした楔状に存在している。出血巣の中には, 変性神経細胞, 多核白血球の浸潤もみられる。出血部の外側で, 正常脳組織に接する境界部は, 基質が疎鬆化し, 細胞間隙や血管周囲腔が拡がり浮腫状を呈している。この部の神経細胞は硬化像, 空泡変性, 陰影化など種々の退行, 変性に陥っているが, 細胞脱落は軽微である。またここには多核白血球の浸潤はみられない。斑状の小出血も散在している。

この脳基質の浮腫状変化も皮質表層で顕著である。その他, Klüver-Barrera (以下 K. B. と略) 標本では病巣に接する髓質には, 不規則な髓鞘崩壊や血管の変性とそれに伴う漿液浸潤や漏出性小出血がみられ, Cajal 標本では焦点側髓質の星状グリアがびまん性に増殖し, 活性化の傾向を示している。

家兔 No. 48

病巣は大脳正中裂に平行し, 皮質内に U 字型に局限して存在している。H. E. 標本でみると焦点病巣は刺

入 Co-gelatine 片を中心に、同心円状にその性状を変えている。すなわち、Co-gelatine に接する病巣中心部は、壊死脳組織や崩壊した炎症細胞によって占められている。その外側部は、細胞密度の乏しい脳実質の凝固壊死が囲んでいる。この症例では凝固壊死は皮質表層で巾が狭く、深層では巾が広い。この部のさらに外側には出血の高度な病巣が広がっている。出血は毛細血管を中心とした漏出性出血、輪状出血が多く、融合性で皮質表層に高度にみられ、深層では斑状出血が多い。凝固壊死部や出血部には、Eosin に濃染する急性壊死神経細胞や多核白血球がみられる。出血部のさらに外側には脳基質が粗で、種々の神経細胞の退行変性を伴う、正常脳組織との移行部がある。ここには中胚葉性の炎症細胞は認められない。またこの部の毛細血管には壁細胞の肥大、増生や小出血がみられることもある。Nissl 標本では、焦点病巣は概して細胞成分が乏しくみえ、中心の壊死巣を囲んで、無構造の凝固壊死部が帯状に観察される。H. E. 標本でみられた出血部には、多核白血球が血管中心性に増殖している。Eosin 濃染の急性壊死神経細胞は、Nissl 染色には可染されない。病巣と正常脳組織との境界部の神経細胞は、皮質表層では細胞硬化や空泡変性を示し、深層では淡明化、陰影化の像を示すものが多い。また円形、卵円形に肥大した核の活性星状グリアがみられる。K. B. 標本では、病巣内の髄鞘は完全に消失し周囲髄鞘も蛇行、腫脹、断裂像がみられる。

家兎 No. 52

焦点病巣は一部軟膜を含み、Co-gelatine 片を中心に U 字型を示している。H. E. 標本では、Co-gelatine 片は大部分が標本製作中に抜け落ち、残った一部が黒褐色の顆粒として標本内に認められるが、病巣全域に拡散している像はない。病巣中心部は壊死脳組織、変性炎症細胞の核残屑が密に混在している。その中に散在性に胞体が Eosin に一様に濃染された急性壊死神経細胞や変性小血管がみられる。この中心病巣の外側には、Eosin に濃く均一に染っている脳実質の凝固壊死が存在する。この部にも強く変性した神経細胞や炎症細胞が散在しているが、細胞密度は少なく、特に Nissl 標本では急性壊死神経細胞が可染されないため、殆んど無構造にみえる。この部のさらに外側を出血や血管反応の著しい病巣が囲んでいる。出血は毛細血管よりの漏出性小出血が大部分で、融合傾向を示し一部には溶血もみられる。血管の新生も多い。この出血部にはまばらに多核白血球が遊出しており、変性神経細胞やグリア細胞もみられる。

焦点病巣と正常脳実質との移行部では、脳基質が粗

鬆化して浮腫状にみえる。ここには多核白血球はみられず、代わって円形または卵円形に肥大した核の活性化星状グリアが増殖している。神経細胞も硬化像や空泡変性など種々の変性像を呈している。移行部は皮質下白質で巾広く、そこには血管中心性の漿液浸潤や小出血も斑状に観察される。K. B. 標本では、髄質病巣には不規則な髄鞘の崩壊がみられる。Cajal 標本でみると焦点側半球髄質には、健側に比較して高度に星状グリアの増殖がみられるが、増殖はびまん性である。

その他、脂肪染色標本では凝固壊死部辺縁に、びまん性に脂肪顆粒が出現している。鍍銀染色、Bielschowsky 染色、Holzer 染色標本では、特別の所見は認められなかった。

2) Co-gelatine 焦点病巣 7 日目の病理像

家兎 No. 44

焦点病巣の組織像は、同心円状に明確に区分される。すなわち H. E. 標本でみると、病巣の中心には壊死に陥った脳組織や炎症細胞の核残屑が細粒状に存在している。その中に、Eosin 濃染の急性壊死神経細胞が、ほぼ原形のまま散在している。この中心壊死巣の外側には、Eosin に均一に染まり、細胞成分がまばらな脳実質の凝固壊死が囲んでいる。点在する細胞は変性した炎症細胞や神経細胞である。この凝固壊死部のさらに外側には、帯状に広がる出血病巣が存在する。出血は斑状、融合性である。この部にはまた血管の新生が著しく網状に広がり、その間に赤血球やリンパ球、組織球、大食細胞が密に増殖している。出血部と凝固壊死部との境には、線維芽細胞が細長く認められる。また出血部の外側は基質が粗鬆化、浮腫状を呈して正常脳組織に移行している。この浮腫状所見は深部病巣に広く認められ、同部には肥大した核や核内に Eosin 顆粒を含む活性化星状グリアが多数みられ、漏出性小出血も存在している。K. B. 標本では緑色に染まる出血部を囲み、網目状に幼若な線維細胞がみられ、血管の新生も多い。それらと共にリンパ球、形質細胞、大食細胞などが肉芽状に増殖している。多核白血球は退行変性像を示し、核屑として存在するものが多い。また印環細胞もみられる。これらの細胞反応は皮質内に広がっている。

特異な所見として、この出血部の肉芽組織の中に、胞体の原形を保ちつつ、塩基性 aniline 色素に濃染し、細胞体や突起の周囲に不規則な顆粒が附着している神経細胞が存在している。核は淡染しぬけてみえるものが多い。この神経細胞は Nissl 染色では赤紫色に可染されている。

その他の染色では、Bielschowsky 標本では特記す

るものなく、Alzheimer 原線維変化はみられない。Cajal グリア標本では、正常脳組織との移行部に星状グリアの肥大、増殖が目立つ。鍍銀標本では出血部で、軟膜より病巣を囲むように網目状の線維形成がみられる。それは新生血管に連らなり、軟膜を底辺にした楔状を呈している。深部の病巣では、この線維形成は軽く、血管周囲にわずかにみられるにすぎない。

家兎 No. 47

焦点病巣は深部が髄質に達する楔形の限局性病巣である。焦点巣に接する脳軟膜には異常ない。H. E. 標本では病巣の中央に細顆粒の壊死巣があり、その外側には Eosin 濃染の急性壊死細胞の点在する、脳実質の凝固壊死部が囲んでいる。そこには炎症細胞反応はまばらで、グリア細胞や大食細胞の動きもみられない。K. B. 標本では壊死部の神経細胞は緑色に一樣に染まり、脂肪変性に陥っている。皮質部病巣では、この凝固壊死部の外側に楔状の出血病巣がみられる。出血は新鮮なものや陳旧性のものなど混在している。またそれは血管周囲性に生じ融合傾向を示している。深部病巣の皮質下白質では、血管の変性や輪状出血がみられる。この出血部のさらに外側には、網目状に増生した新生血管の著しい部分があり、線維芽細胞、脂肪顆粒細胞、リンパ球や形質細胞の慢性炎症反応がみられる。この部に残存する神経細胞は壊死傾向を示し、数も少ない。なおこの部の変化も、出血部同様軟膜下の皮質表層で最も顕著である。

鍍銀標本で見ると、上記の傾向はより著明に観察される。すなわち好銀性の結合線維は、軟膜より連続して網状に広がって、新生血管とも連らなり、全体として楔状を呈している。この結合線維反応部と正常脳組織との間には、基質が疎で浮腫状を呈し、活性化星状グリアの著しい移行部が存在している。この部の神経細胞には、細胞硬化、淡明化、同質化などの非特異的変性像が観察される。さらに Golgi-cox 標本で検索すると、壊死巣より移行部には、Golgi 可染の神経細胞は全く認められず、正常脳組織との境界が鮮明に区別されている。また可染されている神経細胞の形態は、胞体、突起共に正常で、突起分枝の減少、蛇行や腫脹はみられず、spine 密度にも、正常の神経細胞の形態と大差なかった。その他の染色標本では、K. B. 標本で深部病巣に接して、境界鮮明な髄鞘の変性、崩壊が認められる。Holzer 標本では、移行部や正常脳組織内にグリア線維の増殖は生じていない。

家兎 No. 45

Co-gelatine 片は髄質まで深く刺入されている。中心部の壊死巣の性状は他の症例と同一で、同心円構造

を示している。H. E. 標本では中心の壊死巣やその外側の凝固壊死部に Eosin 濃染の急性壊死神経細胞や崩壊炎症細胞の残屑がみられるが、清掃機転は未だみられない。さらにその外側部の出血巣には、新旧の出血が混在しているが、いずれも皮質部病巣で高度である。同部には線維細胞や大食細胞が密に存在しているが、深部の髄質病巣では、出血や血管の新生も軽度で、髄鞘崩壊による髄質の疎鬆化がみられる。K. B. 標本では皮質部の壊死巣を囲んでの血管の新生や結合線維網が顕著にみられ、大食細胞、リンパ球、形質細胞などの慢性炎症細胞が肉芽組織を形成している。髄質部病巣ではこれらの細胞反応は軽微である。またこの結合線維反応部と正常脳組織との境界は明瞭である。すなわち、皮質部では基質が粗鬆化し、血管の新生は病巣一正常脳組織両方にみられるが、炎症細胞反応は後者には認められない。髄質部では髄鞘が崩壊し、境界部髄質は海綿状を呈している。Cajal 標本で見ると、髄質部には活性化した星状グリアの増殖が著しいが、Holzer 標本では線維性グリアの出現は認められない。

その他、脂肪標本では凝固壊死部の変性細胞に Sudan III 陽性の脂肪顆粒が散在しているが、まばらで血管周囲への集合傾向はない。

3) Co-gelatine 焦点 14 日目の病理像

家兎 No. 43

焦点病巣の組織学的一般性状は 7 日目のそれと同様である。すなわち H. E. 標本では、病巣の中心は壊死脳組織や変性、崩壊した炎症細胞残屑で占められ、これに接して大食細胞やリンパ球などの単核円形細胞が密に増殖している。また印環細胞や泡沫細胞もみられるが、出血や血管の新生は目立たない。この慢性炎症細胞増殖部と、その外側の正常脳組織との境界は明瞭に区別できる。病巣に接する脳基質は粗で海綿状を呈し、血管の新生や幼若な結合線維が網目状に認められる。この結合線維は皮質部病巣で密で、髄質部では軽微である。K. B. 標本では病巣中心の壊死部をとりまく肉芽組織の層は、H. E. 標本より一層明瞭に認められる。すなわち密に増殖した大食細胞やリンパ球などの間には、結合線維や線維が蛇行して存在し、その一部は凝固壊死部内にも侵入している。またこの肉芽組織は内側の壊死巣側には、大食細胞や結合線維細胞が多くみられ、外側の正常脳組織側にはリンパ球や形質細胞などの小円形細胞が多く占めている。さらにこの肉芽組織の外側部には、塩基性 aniline 色素に濃染し、胞体が空泡状または顆粒状を呈する壊死神経細胞が残存している。Nissl 標本では、中心の壊死巣には崩壊組織残屑が細粉状に観察されるのみで、健全な細

胞成分は全く認められない。肉芽組織内の細胞は大小の泡沫状核で円形細胞体を示すものが多く、変性像は少ない。上述の残存壊死神経細胞は Nissl 染色では赤紫色に不均一に染まり、核内構造は不明である。この細胞を Rubean 酸 Cobalt 染色標本にて検索したところ、胞体および核が黄褐色に可染された。なかには核膜が特に濃染している細胞や、核がぬけて胞体のみが黄褐色に染まっているものもある。病巣内のその他の部には同じく可染されているものはない。

鍍銀染色標本では、好銀性の線維が壊死巣を囲み密に増している。線維の形成は、軟膜直下では巾広いが、皮質の他の部ではほぼ同一の巾の壁をなしている。また内側の壊死巣に接する部では、毛細血管を中心に線維も粗で荒いが、正常脳組織に面する部では線維も細い。その他、Bielschowsky 標本では病巣に接する脳実質の神経細胞に、特別の所見はない。脂肪標本では肉芽組織層に一致して、Sudan III 陽性顆粒が出現している。Cajal グリア標本では病巣に接する脳実質、特に髄質部に肥大星状グリアの増殖が認められるが、Holzer 標本では線維性グリオゼの像はみられない。

家兎 No. 42

焦点病巣は限局し、肉芽組織に被包されて存在している。壊死病巣の中心には Co-gelatine の一部が黒褐色、細粉状に残存している。また壊死巣の辺縁の一部にも Hematoxylin に濃染する Cobalt 様物質が認められる。それらの一部は大食細胞内に存在している。その他、H. E. 標本にて、中心の壊死巣内におよ Eosin 濃染の壊死神経細胞はみられるが、大食細胞も散存している。特にそれは接する肉芽組織附近に多くみられ、また結合線維の侵入も観察される。肉芽組織内にはまた Hematoxylin に赤紫色に胞体が可染される神経細胞が、埋れたように存在している。その他、鍍銀染色、Cajal グリア標本、Holzer 標本の所見は、No. 43 と同様であった。

家兎 No. 65

U 字型の焦点病巣の組織学的性状は、基本的には他の症例と同一である。すなわち、同心円状の各部の組織像はより完成されて観察されうる。H. E. 標本でみると、中心部の核残屑などの壊死巣を囲む、凝固壊死部には大食細胞、泡沫細胞などの清掃細胞が出現して、細胞成分が増加している。凝固壊死部の外側は慢性炎症細胞による肉芽組織が囲み、病巣と正常脳組織との間に壁形成をなしている。この壁の組織像は内側（病巣側）、中央部、外側部（正常脳組織側）とで、若干異なる。内側部は上記のように大食細胞や結合線維細胞や線維が、壊死巣内に侵入し清掃機転を示している。中

央部ではリンパ球、形質細胞、組織球などが密に増殖し、外側部には毛細血管の新生が高度で基質が粗な移行部を介して、正常脳組織と接している。この外側部の肉芽組織内には、No. 42 と同様の壊死神経細胞が埋もれて観察される。K. B. 標本、Nissl 標本の所見も同様で、凝固壊死部には大食細胞が散在し、全体にその巾を減じている。Cajal グリア標本では、病巣に接する脳実質に顕著な星状グリアの増殖がみられる。星状グリアは血管壁に接し、網状を呈しているが、肉芽組織内には進入することはない。Holzer 標本ではグリア線維の形成はみられない。

考 察

I. 焦点てんかん病巣の光顕観察のまとめ

Co-gelatine は肉眼的観察でもわかるように、起炎症の強い作用を有している。病巣は 3 日、7 日および 14 日目の観察で、いずれも大脳皮質より皮質下白質にかけて、限局性の楔状ないし U 字形の軟化巣を形成している。軟化巣は Co-gelatine を囲んで組織学的に 3 つの部分に区別される。すなわち Co-gelatine に接する壊死帯、ついで出血を含む炎症反応の強い反応帯、さらにその外側で正常脳組織との間の移行帯の 3 帯状組織である。(Fig. 7).

壊死帯は Co-gelatine による壊死脳組織や赤血球、崩壊炎症細胞の核残屑などの集合よりなる a) 組織崩壊部とそれをとり囲む b) 凝固壊死部に分かれる。組織崩壊部は 14 日目の観察でも、わずかに線維芽細胞や大食細胞がみられる程度で、変化は少ない。凝固壊死部は、H. E. 染色では Eosin 好性に均一に染まり、Nissl 染色では可染されない。その中には急性壊死像を示す神経細胞や、3 日目の観察では多核白血球が散在しているが、全体としては細胞反応に乏しく、出血もみられない。

最も病変の激しい反応帯は、3 日目の観察ではさらに、内側より c) 出血部、d) 浮腫部に細分することができる。c) の出血部は軟膜直下や皮質表層で巾が広く、皮質深層や髄質では狭く、ときには斑状を呈している。この部の小血管には退行、変性が高度で、漿液や赤血球の滲出や多核白血球の遊出も多い。d) の浮腫部は基質が浮腫状で、ときに海綿状を呈し、また出血部に接して新鮮な血管中心性の小出血や、漿液浸潤がみられることもある。この部の神経細胞やグリア細胞の多くは、退行、変性像を示し、多核白血球を主とする急性炎症反応もみられる。反応帯のこのような急性炎症像は、7 日目、14 日目の観察では次第に結合線維反応に代わり、慢性炎像（肉芽組織）へと移行してゆく。こ

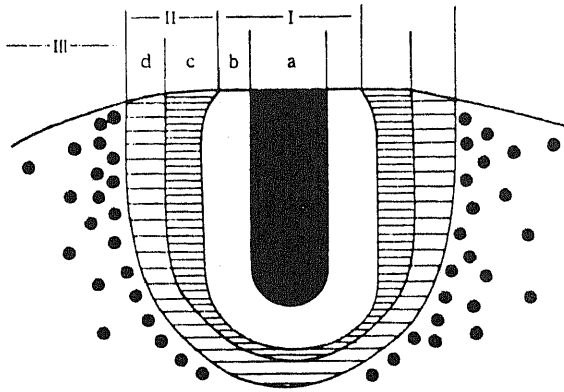


Fig. 7

- I. Necrotic zone
 - a: cobalt-gelatin and destruction products of brain tissues.
 - b: coagulation necrosis.
- II. Reactive zone
 - c: bleeding area.
 - d: edematous area.
- III. Transition zone

の変化の主座は反応帯の出血部である。すなわち、それは出血部における血管の新生、リンパ球や組織球などの単核円形細胞の増殖、線維芽細胞の増加と結合織線維の増生や大食細胞、脂肪顆粒細胞の出現など、清掃一癒痕化の過程に要約される。このような変化は、皮質表層の出血部病巣に最も高度であるが、経過とともに出血部と浮腫部の区別が不明確となり、また全体に反応帯は狭く限局してゆく。さらに移行帯を含めて周囲脳実質の星状グリアの増殖と相まって、14日目にはほぼグリアー結合織性癒痕が完成される。

これらの過程の中で、神経細胞の変化に注目すれば次のようになる。すなわち各期間を通じて、急性壊死変化を示す神経細胞は、壊死帯内に認められる。また反応帯の肉芽組織内に、埋もれたように mineralization 像を示す壊死神経細胞が存在している。それは主に皮質表層にみられ、Rubean 酸 Cobalt 染色で黄褐色に可染されている。

移行帯の神経細胞は硬化像や陰影化などの、非特異的退行、変性を示し、細胞脱落は軽微である。なお移行帯は経時的観察で、次第にその巾を減じ、反応帯との境界が不鮮明となってゆく。

刺入された Co-gelatin 片は、14日目でもほぼ原型のまま病巣内に認められるが、一部は散在して大食細胞内にも存在している。

なお本実験では病巣内および周囲脳実質内に Alzheimer 原線維変化は認められなかった。神経細胞以外では、星状グリアの反応が著しい。すなわち、3日目より病巣側大脳半球、特に髄質に星状グリアの活性化がみられ、肥大した星状グリアが病巣周辺に増し、次第に限局して結合織反応（肉芽組織）の外側に集合しグリアー結合織癒痕に参加するが、14日目では未だ

線維性グリオーゼの像は認められない。

一方、対照として行った Gelatin 単独病巣の組織像は、限局性の小軟化巣～小嚢胞がみられたのみで、いずれの時期の観察でも、周囲脳組織への影響は軽微で、炎症反応はみられない。

以上記した観察結果より、焦点病巣の組織像として、有意な光顕所見は次のようにまとめられる。

1) Megimeide 誘発による発作波の出現は、Co-gelatin による焦点病巣が急性炎期を過ぎ、慢性炎期の結合織性肉芽-星状グリア周壁の形成時期と、ほぼ一致している。なおこの時期において、結合織性線維の増生はみられるが、線維性グリオーゼは存在せず、グリアー結合織性癒痕は未熟、未完成である。

2) 慢性炎の肉芽組織の内に、胞体の原形を保ちつつ、細胞周囲に不規則な顆粒が付着してみえる、Cobalt 染色陽性の壊死神経細胞 (mineralization 変化) が認められる。

3) 焦点病巣周辺を中心に、病巣側大脳半球には、早期より星状グリアの活性化がみられる。星状グリアは結合織性肉芽の外側に、多くは血管周囲終足を有して増殖しているが、上述のようにグリア性の線維増生は、14日目には認められない。

II. 焦点てんかんの病理と発作発現機序について

てんかんの研究に焦点てんかんが話題となったのは、脳波学と脳外科学の発展に伴い、外傷性てんかん特に側頭葉てんかんと、精神運動発作との関連が論じられるようになってからである。Penfield ら⁹⁾は、側頭葉てんかんの主な原因として、出産時に生じたテント切痕ヘルニヤを重視し、incisural sclerosis の考えを主張した。そして機能的に、成人より重要といわれる前脈絡膜動脈と後大脳動脈が、テント縁に強く圧迫さ

れるため、未熟な幼児脳に外傷性癲痕が生じることを、臨床観察とモデル実験で確めた。さらに側頭葉てんかんの発生機序の組織学的説明として、Penfield ら²⁾は癲痕部は外頸動脈の分枝の硬膜動脈、および内頸動脈よりの軟膜動脈の両者より血液供給を受けること、また癲痕部には結合組織線維とグリア線維が共存することの病理像を特異的と考えた。この癲痕部組織の脳外血管-軟膜血管の二重支配および結合組織性-グリア性癲痕の相互作用が、癲痕部と正常脳組織との中間帯(不完全損傷部)に残存する神経細胞に、てんかん原性の慢性的刺激として作用するためと述べている。すなわち、中間帯の脳実質は萎縮し、毛細血管も乏しく、血液循環量が著しく減少するため、慢性的乏血状態が続き、それが残存する神経細胞にてんかん原性に作用するという。この中間帯組織のゆるやかな進行性破壊と萎縮は、さらに周囲組織を索引して焦点病巣を徐々に拡大させる。このような機制によって、外傷数年後にもてんかん発作は出現し、またてんかん発作によって生じる血管攣縮、乏血により組織壊死はさらに進行し、焦点病巣はますます拡大してゆく論じている。そしてこのような焦点てんかん成因の、組織学的うら付けとして、癲痕部周辺には血管周囲の脂肪顆粒や hemofuscin の沈着、乏突起グリアの腫脹像、clasmotodendrosis や白質の海綿状態が認められると述べている。

Penfield ら²⁾の観察は、発作波出現のための特異的な病理所見とはいえないが、中間帯の慢性、反復性の刺激状況は、最近話題の Goddard ら⁷⁾のけいれん閾以下の電気刺激の反復により、最終的には全身けいれんに発展する、燃えあがり効果 *Kindling effect*、との類似において、注目すべき考えとおもわれる。

このような脳外科方面よりの臨床観察と共に、種々の薬物を用いての実験的焦点てんかんの研究も数多く行われている⁹⁾¹⁰⁾。

急性実験モデルとしては、Penicillin, Picrotoxin, Strychnine, Acetylcholine, Pentylenetetrazol, Hydrozides, Ammonium, Methionine sulfoximine, Ouabain など種々のけいれん剤や代謝拮抗薬物を、脳局所に直接塗布することにより、動物にけいれん発作を誘発させ、電気生理学的、神経病理学的さらには神経化学的検索がなされている。急性あるいは慢性的てんかん焦点モデルとしては、大脳皮質小領野の短時間の Freezing, Alumina cream, Cobalt powder や Tungstic acid gel などが知られているが、Chusid¹¹⁾によれば、Nickel および Antimony が最も有効で、他に Bithmuth, Cadmium, Zirconium,

Tin, Titanium, Iron, Molybdenum, Mercury, Vandium, Tungsten, および Tantalum でもてんかん原性焦点の作成が可能と報告している。

これらの中では、Kopeloff ら¹²⁾の報告以来高頻度に安定した発作焦点を作るといわれている Alumina cream (以下 Al-cream と略)を用いての報告が多い。例えば、注入部位を経時的に観察した Mayman ら¹³⁾は、注入8週間後には病巣は慢性炎の肉芽性細胞増殖の像を呈するが、この時期に一致して異常脳波の発現がみられるとして、発作発現への Al-gel 自体の low grade injury effect を推論している。また Al-gel の脳内投与によって、Alzheimer 原線維様変化を示す神経細胞の出現も知られている。沼部¹⁴⁾は Al-cream の注入による実験的癲痕を作り、Pentazol けいれんにより癲痕部周辺の血行障害をベンチジン法で観察している。それによると癲痕周辺の貧血出現と発作異常波の出現が一致していると述べている。さらに Ward¹⁵⁾は、猿に Al-cream による発作焦点を作り、Golgi-cox 法と Nauta 法とで樹状突起の形態をしらべた。それによると焦点周辺に局限して、神経細胞の減少と共に樹状突起の構造に、枝分れの減少や歪みがみられ、dendritic spine の著しい減少または消失を観察している。Ward¹⁵⁾はさらに、このような樹状突起の変化は、dendritic membrane の機能的変化、すなわち、dendritic spine の減少による deafferentation や Na^+, K^+ に対する透過性の異常をもたらし、その結果付近の正常神経細胞よりの transmitting agents に対して過興奮性を示したり、electrical sink に作用して、てんかん原性細胞になるのだろうと推論している。

Al-cream に次いで、Cobalt が焦点原性薬物として多く用いられている。Cobalt は純金属 Cobalt, Cobalt-powder, Cobalt-gelatine, Cobalt-pelet および Cobalt 溶液など種々の形で脳内に投与されている⁹⁾¹⁰⁾。その中で、われわれと同様 Cobalt-gelatine (以下 Co-gelatine)による焦点てんかんを、ラットで研究した Fischer ら¹⁶⁾によれば、その組織像は Co-gelatine 片を囲む壊死、浮腫、移行の3つの層に区別されるとし、その中でも浮腫層の病変を重視している。すなわち、浮腫層の組織所見は2日目には浮腫も高度で、神経細胞にも強い損傷がみられる。4日目ではやや浮腫は軽減するが、一部神経細胞の消失、グリア細胞の増加、軟膜下に毛細血管の新生がはじまる。8日以後には結合組織の増殖や血管新生が盛んとなり、炎症細胞と共存している。またこの頃には星状グリアも増え、浮腫層の神経細胞は次第に崩壊、消失する。さらに血管新生を伴う結合組織の層は厚さを増し、脳軟膜から

皮質深層に拡がり、焦点病巣を包むようになる。このようにしてグリアー結合織性、軟膜-脳癩痕が形成されてゆく。そしてこの癩痕化の時期(6日目頃より14日目)に一致して、てんかん性異常放電がみられるとし、その発作機序として、前述の Penfield ら²⁾のグリアー結合織性癩痕説を引用している。

Baleyrier ら¹⁷⁾は Cobalt-pelet (以下 Co-pelet) を用いて猫の脳皮質内に焦点巣をつくり、電顕的に経時的観察を行っている。それによると Co-pelet による病理像は、病巣中心より近位帯、中間帯、遠位帯に区別されている。その中でも中間帯の変化が有意とされ、神経要素の存在によって、崩壊の強い近位帯より区別されている。中間帯の組織像として、neuropil が破壊され、細胞間隙は拡大し、電子密度の高い浸出液が満ち、その中にグリアや神経細胞、結合織線維が浮んでいるように見えるのが特徴と述べている。また神経細胞および突起内の微細構造はほぼ正常で、星状グリアの長い突起は神経細胞の胞体や突起と網目構造をなし、隣接する星状グリアとの間に Gap-junction がみられ、大食細胞や形質細胞も少数みられるという。このような中間帯の変化とてんかん発作波との関係を見ると、中間帯の広がりや発作活動との間に量的相関関係があり、その神経機序として Baleyrier ら¹⁷⁾は、中間帯における高度の浮腫が重要であると考えている。すなわち、星状グリアによる灰白質の慢性の浮腫は、神経細胞の興奮性を左右するイオン環境に変化をもたらす。この星状グリアによる buffering system の障害により、 K^+ の増加が生じ神経細胞の過興奮性、すなわちてんかん性異常放電が生じると述べている。

てんかん発作波の発生機序として、皮質上層の dendrite を囲む星状グリアの腫脹-イオン homeostasis の障害によるという報告は、Butler ら¹⁸⁾によってもなされている。彼らはラットの知覚運動野に Cobaltous chloride 100 mg を注入し、Cobalt イオンによるてんかん焦点を、病理学的に検索している。それによると、光顕観察では特記すべき所見を認めないが、電顕観察にて第1層(分子層)および第2層の、dendrite 内の細胞内小器官の拡大、離散、synapse の軽度の変化と共に、星状グリア突起の著しい腫脹が観察されている。axon には変化なく皮質深層には変化をみない。このような所見より Butler¹⁸⁾は Cobalt イオンにより生じた代謝の混乱が、星状グリアさらには neuronal depolarization の spatial cation buffering 機構の障害の結果、神経細胞の soma から離れた I~III 層の皮質 dendrite のレベルで、てんかん性発作波が生じると述べている。

このように Cobalt を用いた最近の焦点てんかんの研究においては、星状グリアの突起の腫脹とその結果として、膜透過性の異常によるイオン平衡機能の破綻が重視されている。しかし一方では、てんかん原性焦点の形態的特徴を、synapse を含めて dendrite の変化にあるとする研究も少なくない。Okada ら¹⁹⁾はネコの大脳皮質に、Penicillin によるてんかん焦点をつくり、電顕的に検索した結果、皮質には発作波出現前に、すでに neuropil の dendrite は腫脹し、発作波が生じた後には dendrite はますます腫大して、その基質は水腫様の像を呈していた。しかしこの時点でも星状グリアには浮腫像はみられない。この所見より彼らは、Penicillin 焦点の微細構造の特徴は、dendrite の1次的腫脹であり、Penicillin が dendrite の限界膜に特異的に作用するためと考えている。また細胞膜の Na^+ , K^+ の能動輸送を特異的に阻害する Ouabain 焦点モデルにおいて、Lewin²⁰⁾ や田中²¹⁾の観察では、Ouabain によって生じた浮腫脳において、星状グリアの突起は腫脹せず、腫脹性変化を示すのは大多数が postsynapse の dendrite であるという。Cobalt 焦点モデルにおいても、Fischer ら²²⁾は病巣周囲の neuropil において、比較的早期に、星状グリアの腫脹と同時に dendrite の腫脹が生じ、その dendrite に多数の glycogen 顆粒が出現することを報告している。また Fischer ら²³⁾は他の論文で、Cobalt 焦点を組織化学的に検索し、この種の神経細胞には脱水素酵素の活性が高く、逆に neuropil の dendrite では活性が低下していることを指摘した。そしてこの所見は神経細胞の deafferentation を示すものであり、この種の細胞が動物におけるてんかん発作を誘発する重要な因子ではないかと推測している。

われわれの研究は、光顕観察による基礎的なもので、直ちにこれらの電顕観察の所見との対比は困難である。しかし本実験でも Co-gelatine 刺入直後より、焦点側半球の星状グリアの活性化は高度で、また反応帯においては、グリア細胞と結合織細胞とが共に増殖することは少なく、結合織性肉芽組織の外側に限局かつ血管周囲終足を有しているものが多い。また、移行帯の神経細胞では、Ward ら²⁴⁾の観察のごとく Golgi 標本で dendrite の変形や spine の減少はみられず、正常像を示して焦点巣と対面していた。本実験では、てんかん性発作波は、線維性グリオ-ゼのみみられない未熟なグリア性癩痕形成時期に一致して出現している。このような所見は、焦点病巣周辺の星状グリアの増殖の意義について、病巣修復以外の機能をも有しているものと推測される。ちなみに、従来の各種薬物を用い

ての、焦点てんかんモデルにおいても、永続的なてんかん焦点の作製は困難で、多くの例でグリアー結合織性癱痕完成後には、発作波が消失している。

本実験では Co-gelatine 投与後、7日目、14日目の観察で、皮質上層の慢性炎の肉芽組織内に、胞体や突起周囲に不規則な顆粒が付着している壊死神経細胞が観察された。その細胞の染色性は Nissl 染色で赤紫色に、K. B. 染色で濃紫色に可染された。この変化は、神経細胞の石灰化 (calcification) といわれている像であるが、必ずしも Calcium の沈着に限らず、種々の鉱物質の salts が複雑に沈着して生じるために、mineralization とも呼ばれている²⁵⁾。

神経細胞の石灰化は、普通壊死に陥った細胞や組織にみられ、早いものではロボトミー創で術後 13 日目に観察されている²⁶⁾。本実験でのこの所見は、7日目以降の肉芽組織内神経細胞に出現し、しかも Rubean 酸による Cobalt 染色で黄褐色に可染されていることより、Cobalt に関連する mineralization 変化と考える。Cobalt イオンによる焦点巣を観察した Butler ら¹⁸⁾も、皮質 II～III 層の錐体細胞の核や胞体が萎縮し、腫脹した星状グリアや dendrite に囲まれた hyperosmophilic な dark neuron を認めた。その細胞は硫酸アンモニウムの灌流後製作した、厚い切片の顕微鏡観察より神経細胞の胞体や突起に沈着した Cobalt イオンと確認されている。Butler ら¹⁸⁾はこの所見を人工産物と考えているが、Fischer ら²²⁾は Cobalt 壊死巣周囲の腫大した dendrite 内の glycogen 顆粒について考察し、種々の病的状態における神経細胞の glycogen 顆粒の出現を考察した上で、焦点巣の周りの腫大した dendrite 内の glycogen 顆粒は、Cobalt イオンの組織内への侵入の結果生じたものだろうと推定している。

このように本実験で観察された mineralization 変化も、Cobalt イオンの作用による神経細胞の蛋白代謝異常に関連するものとおもわれるが、その意義および発作波発現の神経機序との関係については、本実験結果よりは解明困難である。

以上、Co-gelatine による焦点てんかんモデルで、光顕的観察で得られた 3 つの特徴について、若干の考察を行ったが、今後さらに、焦点巣の電顕的観察ならびに電気生理学的、神経化学的研究を重ねて、Cobalt の epileptogenesis について論じたいと考えている。

結 論

家兔を用いて、Cobalt-gelatine による実験てんかんモデルを製作し、その焦点病巣の病理を光顕的に観

察して、次の結論を得た。

1. 焦点病巣は、皮質内の Cobalt-gelatine を中心に、I. 壊死帯 (組織崩壊部、凝固壊死部) II. 反応帯 (出血部、浮腫部) III. 移行帯の同心円帯状病変に分かれる。
2. 病変の主座は反応帯である。その中でも出血部は、急性炎、出血→血管新生、慢性炎の肉芽組織→結合織性癱痕と経時的に変化する。
3. 慢性炎の肉芽組織内に、Cobalt 染色陽性の mineralization に陥った神経細胞が認められる。
4. 焦点病巣周辺には、早期より星状グリアの増殖がみられる。星状グリアの多くは新生血管に連なる終足を有するが、14日目でも線維の形成はみられない。
5. Megimeide 賦活による発作波の出現は、Cobalt-gelatine による焦点病巣が、急性炎期を経て、慢性炎期の結合織性肉芽-星状グリア同壁の形成時期とほぼ一致している。なほこの時期には結合織線維の増生はみられるが、線維性星状グリアは存在せず、グリアー結合織性癱痕は未熟、未完成である。

文 献

- 1) Scholz, W.: Die Krampfschädigungen des Gehirns. Springer, Berlin, (1951).
- 2) Penfield, W. and Jasper, H.: Epilepsy and the Functional Anatomy of the Human Brain. Little-Brown, Boston, (1954).
- 3) Gastaut, H., Toga, M., Roger, J. and Gibson, W.C.: A correlation of clinical electroencephalographic and anatomical findings in nine autopsied cases of "temporal lobe epilepsy". *Epilepsia*, **1**; 56-85 (1959).
- 4) Fischer, J., Holubar, J. and Malik, V.: A new method of producing chronic epileptogenic cortical foci in rats. *Physiol. bohemoslov.*, **16**, 272-277 (1967).
- 5) Rose, M.: Cytoarchitektonischer Atlas der Grosshirnrinde des Kaninchens. *J. Psycho. Neurol.*, **43**, 354-440 (1931).
- 6) Earls, K. M., Baldwin, M. and Penfield, W.: Incisural sclerosis and temporal lobe seizures produced by hippocampal herniation at birth. *Arch. Neurol. Psychiat.*, **69**, 27-43 (1953).
- 7) Goddard, G. V.: Development of epileptic seizures through brain stimulation at low intensity. *Nature*, **214**, 1020-1021 (1967).
- 8) Racine, R.: Kindling: The First Decade.

- Neurosurgery, 3, 234-252 (1978).
- 9) 森 昭胤 : 実験的てんかんモデル. 神経進歩, 23, 891-903 (1979).
- 10) 大塚良作, 伊崎公聰, 中村一郎 : てんかんの基礎的研究の概観-組織病理学的研究-てんかんの臨床と理論(原・平井・福山編), 599-622, 東京, 医学書院, (1974).
- 11) Chusid, J. G. and Kopeloff, L. M. : Epileptogenic effects of pure metals implanted in motor cortex of monkey. J. Appl. Physiol., 17, 696-700 (1962).
- 12) Kopeloff, L. M., Barrera, S. E. and Kopeloff, N.: Recurrent convulsive seizures in animals produced by immunologic and chemical means. Amer. J. Psychiat., 98, 881-902 (1942).
- 13) Mayman, Ch. I., Manlapaz, S., Ballantine, H. T., Jr. and Richardson, E. P., Jr.: A neuropathological study of experimental epileptogenic lesions in the cat. J. Neuropath. exp. Neurol., 24, 502-511 (1965).
- 14) 沼部敏夫 : 実験的脳癲痕を中心とした血行障害に関する研究. 精神経誌, 61., 208-219 (1959).
- 15) Ward, A. A., Jr.: Autorhythmic activity of epileptic neurons, 60-74. In Servit. Z. (Ed.), Comparative and cellular pathophysiology of epilepsy, Proceeding of symposium in Liblice, (1964).
- 16) Fischer, J., Holubar, J. and Maik, V. : Neurohistological study of the development of experimental epileptogenic cortical cobalt-gelatine foci in rats and their correlation with the onset of epileptic electrical activity. Acta Neuropathologica, 11, 45-54 (1968).
- 17) Baleydier, C. and Quoex, C. : Epileptic activity and anatomical characteristics of different lesions in cat cortex. Ultrastructural study. Acta neuropath. 33, 143-152 (1975).
- 18) Butler, A. B., Willmore, L. J., Fuller, P. M. and Bass, N. H. : Focal alteration of dendrites and astrocytes in rat cerebral cortex during initiation of cobalt-induced epileptiform activity. Experimental Neurology, 51, 216-228 (1976).
- 19) Okada, K., Ayala, G. F. and Sung, J. H. : Ultrastructure of penicillin-induced epileptogenic lesion of the cerebral cortex in cats. J. Neuropath. exp. Neurol., 30, 337-353 (1971).
- 20) Lewin, E. : Epileptogenic foci induced with ouabain. Electroenceph. clin. Neurophysiol., 29, 402-403 (1970).
- 21) 田中隆一 : Ouabain 浮腫脳の電子顕微鏡的研究. 脳と神経, 21, 853-864 (1969).
- 22) Fischer, J. and Brinzinger, K. : Vorkommen von Glycogen in geschwollenen Dendriten bei experimenteller Kobaltnekrose des Rattengehirns. Virchows Arch. Abt. B. Zellpath., 1, 201-210 (1968).
- 23) Fischer, J., Holubar, J. and Malik, V. : Dehydrogenase patterns of the experimental epileptogenic cortical focus in the rat. A correlation of histochemical and electrophysiological findings. Acta Histochem., 31, 296-304 (1968).
- 24) Westrum, L. E., White, L. E. and Ward, A. A., Jr. : Morphology of the experimental epileptic focus. J. Neurosurg. 21, 1033-1046 (1964).
- 25) 平野朝雄 : 神経病理を学ぶ人のために. 東京, 医学書院, (1976).
- 26) 武谷止考 : 神経病理組織学入門. 東京, 医学書院, (1970).

Fig. 3 The focus of 3 days after implantation of cobalt-gelatine.

- 3-A. Epileptogenic focus is sharply outlined. The bleeding area is observed in the periphery of the lesion. No. 48, naked eye observation.
- 3-B. Bleeding area between necrotic zone (left) and normal brain tissue (right). No. 53, H. E. stain $\times 20$.
- 3-C. Polymorphonuclear leucocytes, ischemic nerve cells and diapedesis in the reactive zone. No. 53, H. E. stain $\times 100$.
- 3-D. Proliferation of astrocytes in the white matter of the surrounded lesion. No. 52, Cajal stain $\times 40$.
- 3-E. Inserted cobalt-gelatine in the lesion. No. 53, Klüver-Barreara stain $\times 100$.
- 3-F. Brain tissue loosening in the transition zone, showing a widening of the pericellular space and degenerating nerve cells. No. 48, H. E. stain $\times 200$.

Fig. 4 The focus of 7 days after implantation of cobalt-gelatine.

- 4-A. U-shaped lesion. Pathological changes of the reactive zone are marked in the cortical surface. No. 47, H. E. stain $\times 20$.
- 4-B. An increased number of connective tissue fibers and capillary neoformation in the subpial region. No. 44, Perdrau stain $\times 40$.
- 4-C. The necrotizing nerve cells are buried in the granulation tissue of the reactive zone. No. 44, Klüver-Barrera stain $\times 100$.
- 4-D. Neuronal loss and capillary proliferation in the reactive zone (left). Degenerating nerve cells and active astrocytes in the transition zone (right). No. 47, Klüver-Barrera stain $\times 100$.
- 4-E. Proliferating gemistocytic astrocytes in the transition zone. No. 45, Klüver-Barrera stain $\times 200$.
- 4-F. A marked increase of astrocytes in the area adjacent to reactive zone (left). No. 45, Cajal stain $\times 200$.

Fig. 5 The focus of 14 days after implantation of cobalt-gelatine.

- 5-A. Mesenchymal scar surrounded the whole necrotic lesion. No. 43, Perdrau stain $\times 20$.
- 5-B. Glio-mesenchymal scar formation, showing the necrotic (left) and normal brain (right) tissues. No. 45, Klüver-Barrera stain $\times 40$.
- 5-C. Proliferating astrocytes borders on mesenchymal scar (right). No. 65, Cajal stain $\times 100$.
- 5-D. Higher power view of 5-A. Gemistocytic astrocytes are observed in the transition zone (upper part). No. 45, Klüver-Barreera stain $\times 200$.
- 5-E. Cobalt granule in the lesion. Some of them are recognized within macrophages. No. 42, H. E. $\times 100$.

Fig. 6

- 6-A. Mineralizing change of nerve cell in the granulomatous tissue. No. 44, Klüver-Barrera stain $\times 50$.
- 6-B. Higher power view of 6-A. $\times 200$.
- 6-C. The same nerve cell as 6-B were stained brown. No. 44. Rubeanic acid cobalt stain method. $\times 200$.
- 6-D. Golgi-cox preparation. The reactive zone (right) is distinctly outlined. No. 47, Golgi-cox stain $\times 50$.
- 6-E. Higher power photomicrograph of neurons of 6-D. Almost normal picture of spines and branches of dendrites. No. 47, Golgi-cox stain $\times 200$.

Experimental Model of Epilepsy Produced by Cobalt-gelatine — a Basic Cytopathological Study with Light Microscopy — Kiminori Isaki, Teizo Shibutani, Yoshiko Koyama, Kazuhiko Katsukawa, Nariyoshi Yamaguchi, Department of Neuropsychiatry, Kanazawa University School of Medicine (Director: Prof. N. Yamaguchi), Ichiro Nakamura, Department of Neuropsychiatry, Toyama Medical and Pharmaceutical University Faculty of Medicine (Director: Prof. M. Endo) Kanazawa 920, Japan. *J. Juzen Med. Soc.*, **89**, 588—605 (1980).

Abstract The experimental rabbit model of epilepsy was produced by intracortical implantation of the cobalt-gelatine stick.

In animals there developed on the 7-14th day an epileptic discharge either in the primary lesion or in the contralateral site (mirror focus) by means of megimide activating method.

The cytopathological changes of the primary lesion were examined by light microscopical observation.

The results obtained were summarized as follows.

1. The cobalt-gelatine focus shows an U-shaped appearance characterized by three zones; the necrotic, reactive and transition zones from the stick toward periphery of the lesion.

2. Histologically, the necrotic zone consists of the distraction products of brain tissues with red blood corpuscles and shows coagulation necrosis. The reactive zone where the pathological changes are most striking, is the zone of marked edema and bleeding until 3rd day after operation. From that time on, the number of macrophages, mononuclear inflammatory cells, connective tissue cells and astrocytes, together with capillary neoformations, increase in the lesion. Those glio-mesenchymal reaction, maximally develops in the subpial region, and gradually extends narrow strip into the deep cortex. And then, it finally surrounds the whole necrotic lesion and shows the occurrence of the glio-mesenchymal scar. In the transition zone, the pathological changes are only slight and the findings gradually become normal toward the periphery.

3. In the reactive zone, there are observed the degenerating nerve cells such as ischemic, vacuolated, homogenizing and sclerotic changes. Occasionally, mineralization change of nerve cells is recognized in the glio-mesenchymal scar and those cells stain brown with cobalt metal stain. This evidence suggests that some of cobalts might be accumulated in those neurones.

4. Astrocytic proliferation around the lesion is also a characteristic pathological feature. A large number of astrocytes are increased and activate on the periphery of the reactive zone. After that, they take part in glio-mesenchymal scar formation. But there is no appearance of fibrous astrocytosis until 14th day, therefore, the immature glial scar can be seen at that time.

From the findings mentioned above, it might be concluded that the time of the occurrence of the glio-mesenchymal scar coincide with the onset of the epileptic discharge, and it might be suggested that the cytopathological changes correlated with the genesis of this type of experimental epilepsy.

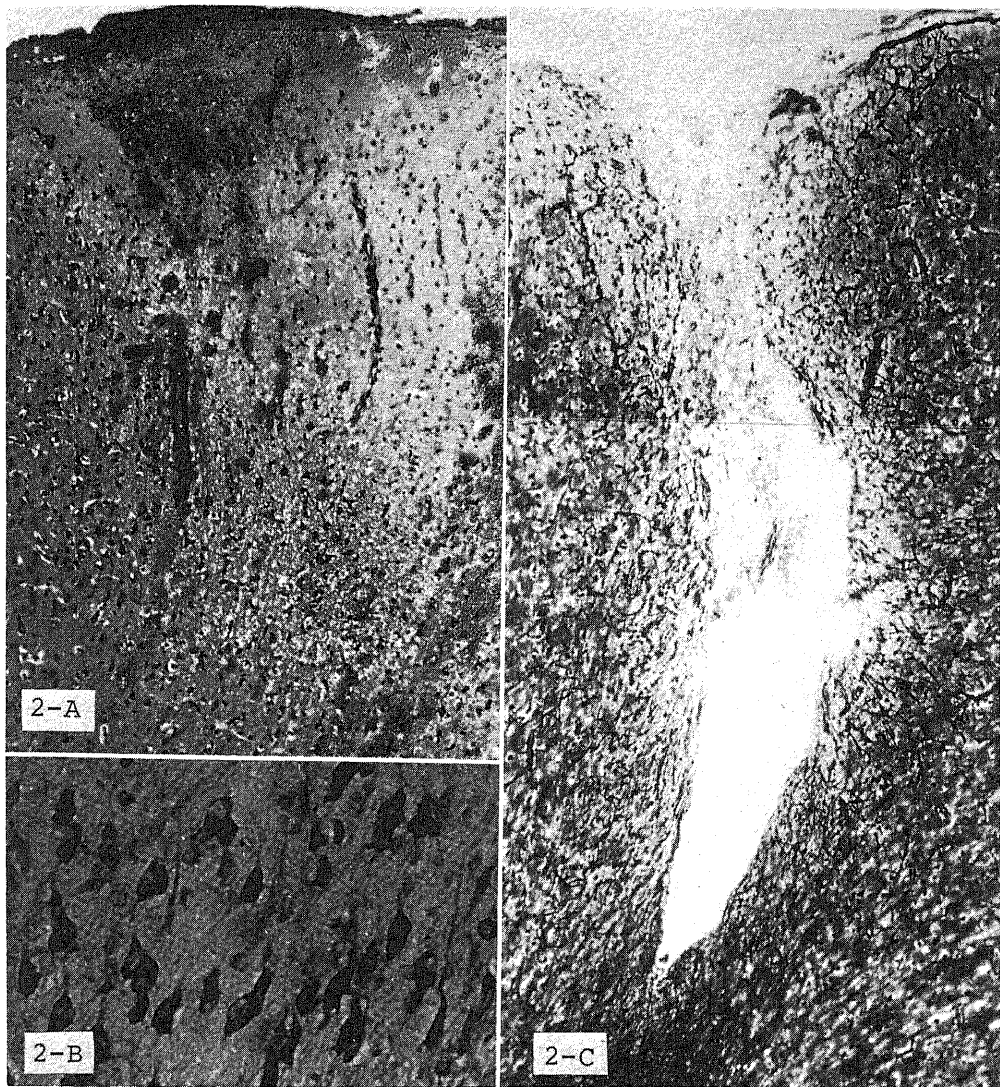


Fig. 2 Control lesion was induced around the gelatine stick alone.

2-A. Wedge-shaped lesion. Bleeding around the small vessels, degenerating nerve and glia cell changes are seen toward the periphery. (3 days after operation). No. 64, H. E. stain $\times 40$.

2-B. The brain tissue adjacent to the site of implantation. Nerve and glia cells are well preserved. (7 days after operation). No. 56, Klüver-Barrera stain $\times 200$.

2-C. There is a small cyst that coincide with gelatine stick, and is an increased number of astrocytes without mesenchymal reaction. (14 days after operation). No. 62, Cajal stain $\times 20$.

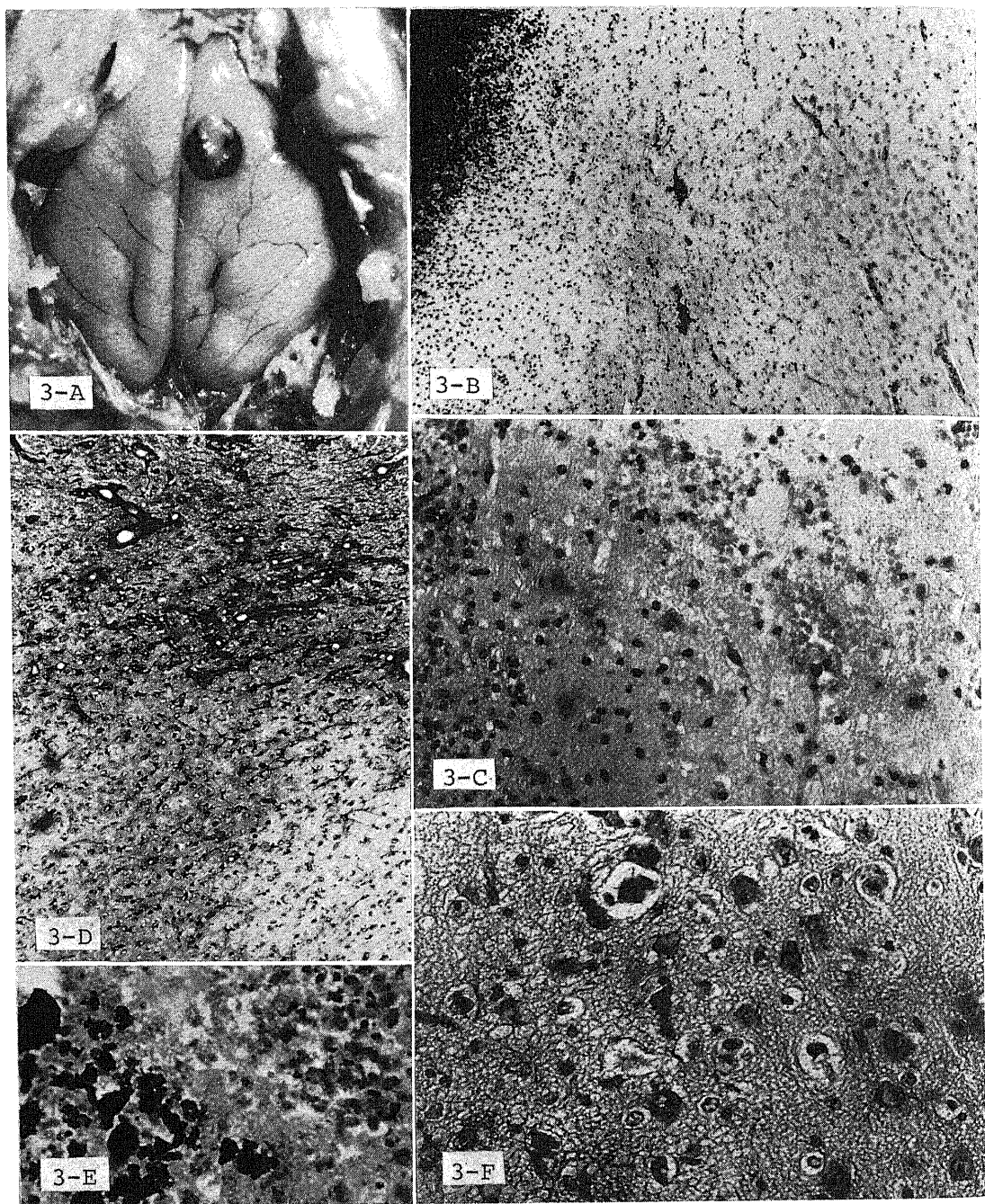


Fig. 3

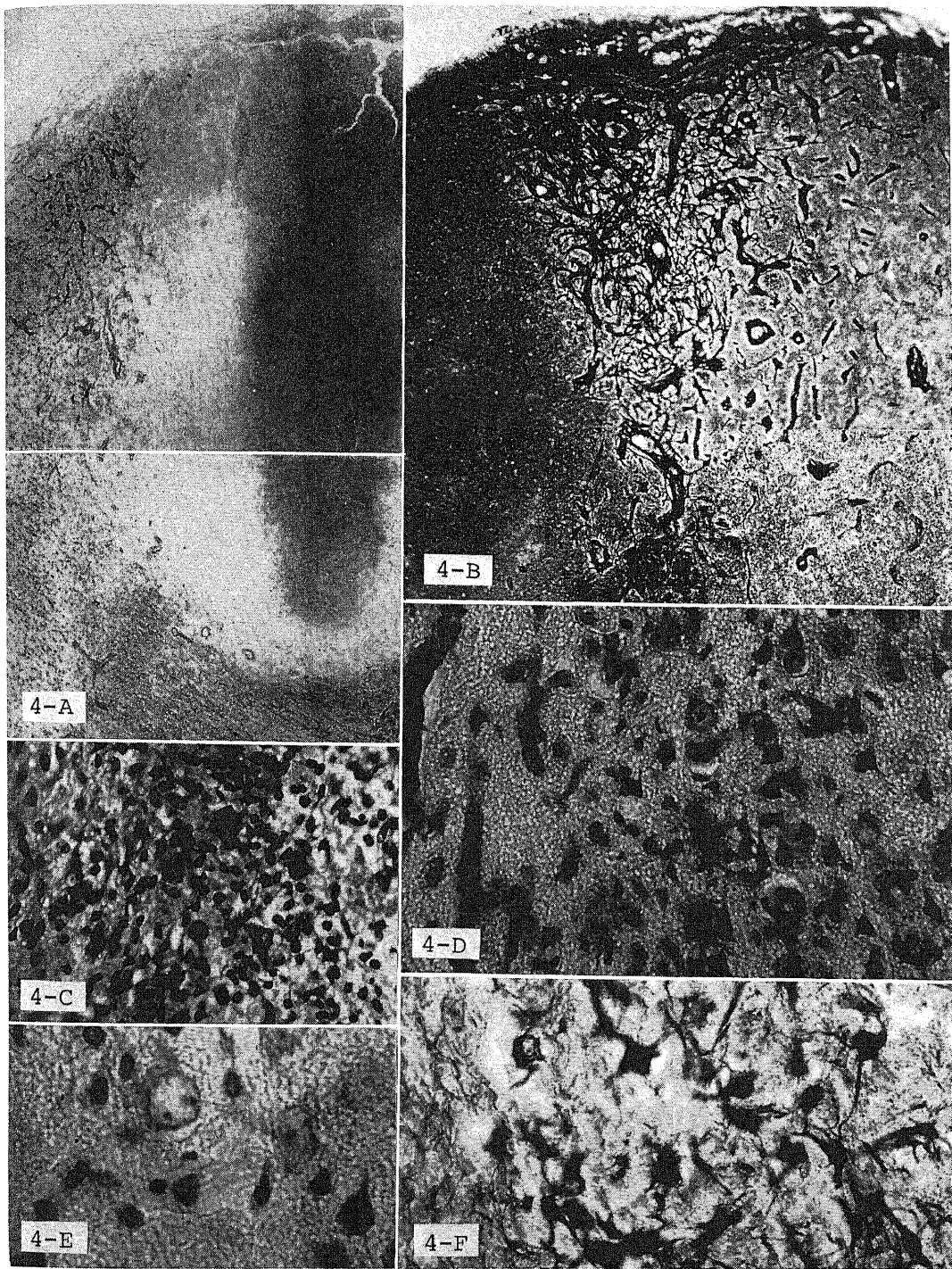


Fig. 4

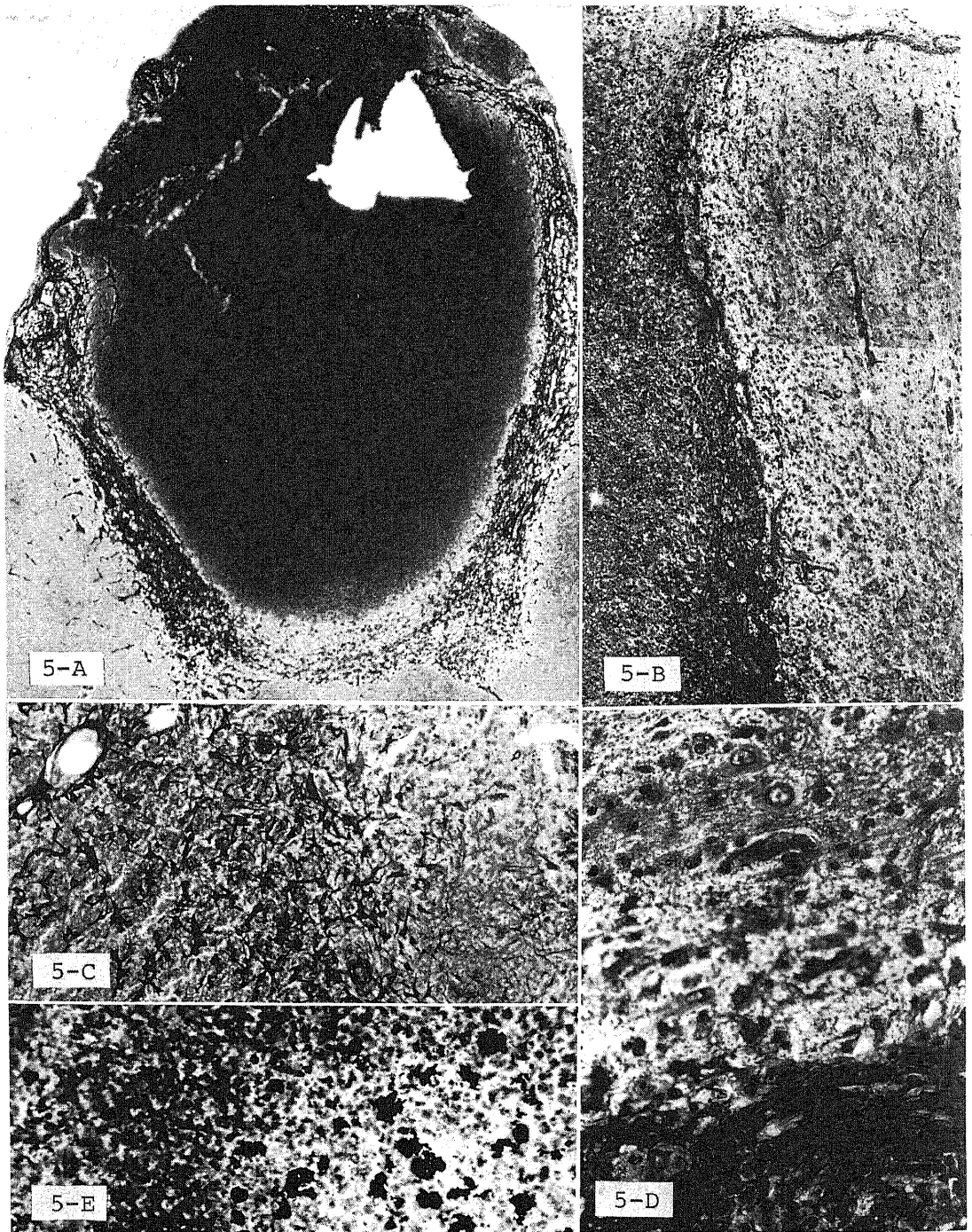


Fig. 5

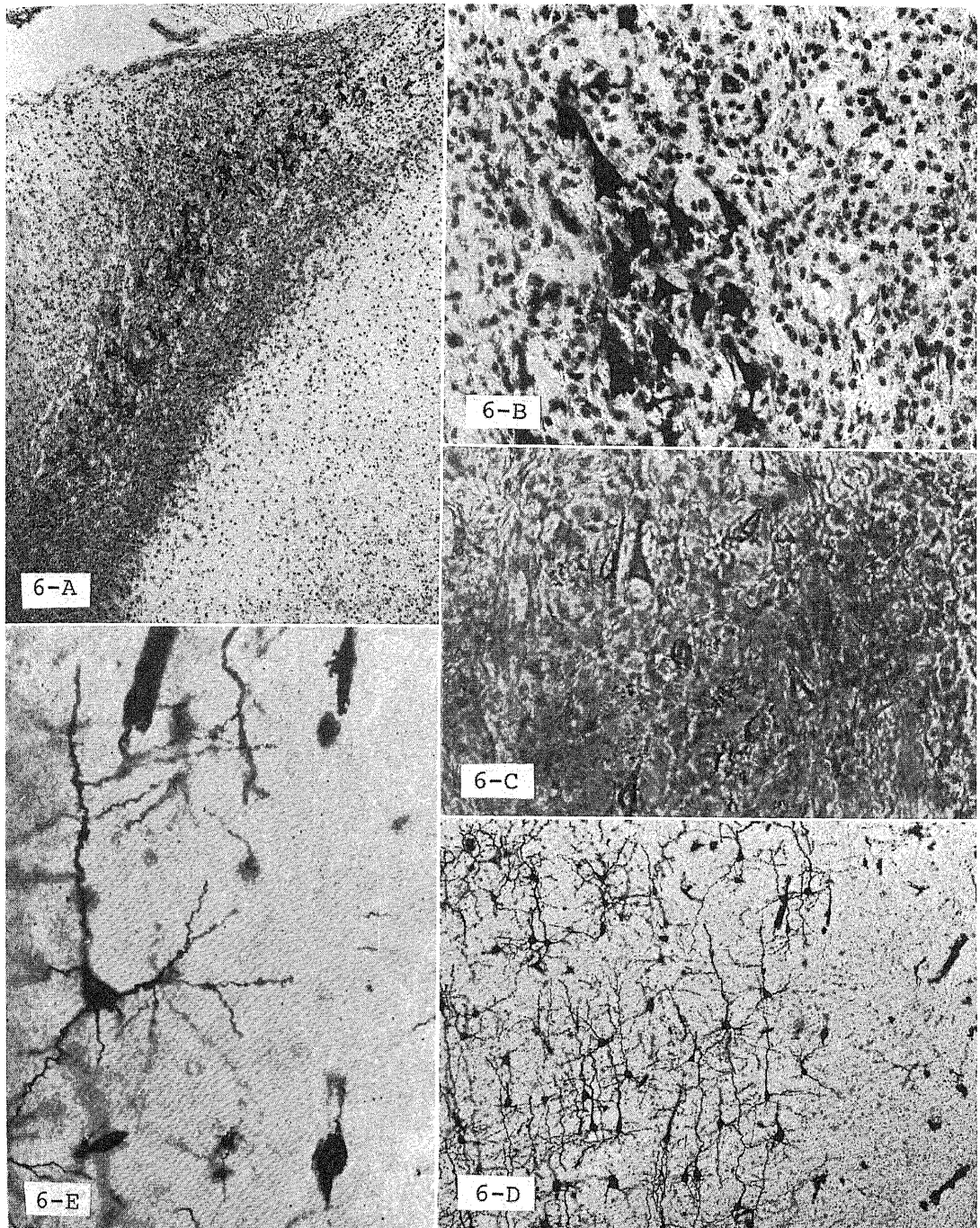


Fig. 6