

はすべて男性の非脊髄性疾患による急死例である。患者家族に説明を行い承諾書を得られた症例を対象とした。病理学的に脊髄にはいかなる損傷も受けていない症例である。

(標本の固定法および作成法)

病理解剖より得た標本を10%ホルマリン固定後セロイジン包埋し、C6,7,8 髄節の両側前角を含む厚さ 40μ の前額切片を連続して切り出し、Nissl および Klüver-Barrera (以下 K-B) 染色標本を作製した。各髄節の範囲はそれぞれの前根系付着範囲とし、脊髄表面の髄節境界線にメスで小切開を作り墨汁を入れた。組織標本ではこの墨汁線により各髄節範囲を定めた。今回の計測は C7 髄節につき行った。連続切片は頸髄表面より中心管にいたる範囲につき作成した。

(細胞体直径と核小体直径相関関係の検討)

Offord らの研究からヒトの脊髄神経節細胞の直径と核小体の直径は直線的比例関係にあるが、この関係が頸髄前角細胞でも成り立つかをパイロットスタディとして調査した。成人頸髄3標本のほぼ中央切片を用い、頸髄前角細胞 Rexed IX 層外側核の前角細胞と同一細胞の核小体の大きさを100倍に写真投影し、その negative film を用い細胞および核小体直径を計測した。一つ一つの細胞をディジタイザー (Measure 5; System Supply, 長野, 日本) 上に 1000 倍に投影して細胞面積を求めて、細胞が完全な円形をしていると仮定した場合の直径を計算した。核小体は Fuji の microcopy-reader の screen 上に negative film を 19 倍に投影し、その直径を計測した。細胞直径と核小体直径はそれぞれ 1000 倍および 1900 倍に拡大されたことになる。この計測値を用いて前角細胞直径と核小体直径の相関を調べた。

(頸髄前角細胞形態計測法)

結果は後述するが、頸髄前角でも Offord の式が成立することが確かめられたので、以下この方法で行うことにした。左右それぞれ C7 髄節 Rexed IX 層の外側核の前角細胞の出現から消失までの標本の切片番号を記録し、同範囲に含まれる切片を前、中、後の3群に分けた。それぞれの群の中央の切片で、Rexed IX 層外側核に含まれるすべての前角細胞の核小体の直径を計測した。

(核小体直径計測法)

光顕により Rexed IX 層外側核で、核小体をすべて写真撮影 (100 倍) した。得られた negative film を富士 microscopy-reader RF-3A にかき screen 上に核小体を 19 倍に投影しその直径を定規を用いて計測した。核が完全な円形を示さない場合には長径をとった。得られた成績より年代別による核小体直径の分布表ならびに分布グラフを作成した。

(前角細胞数の評価)

各症例の前角細胞数は3枚のプレパラートで計測した前角細胞数を合計して評価した。

(前角細胞数の統計解析)

0-20 歳、21-60 歳、61-85 歳の3群に分けた解析と、0-60 歳、61-85 歳の2群に分けた解析を行った。

(結果)

細胞体直径と核小体直径相関関係: 前角細胞直径と核小体直径の相関は両者の関係は一次式で表すことができ、かつ、その相関係数は 0.86-0.93 間にあり、極めて正の相関関係にあることがわかった。即ち、前角細胞の大きさの比を求める場合、核小体直径の比を求めればよいことが判明した。

核小体 histogram の結果

- 1) 核小体直径は 2.0–6.0 μm の範囲に分布した。
- 2) 各症例で、腹側群、中間群、背側群のそれぞれの histogram の pattern に変化はなかった。
- 3) 20 歳以下では核小体直径約 3.5–4.5 μm に peak を持つ一峰性の histogram を 4 症例中 3 症例が示した。
- 4) 21 歳から 60 歳までは約 3.5–4 μm 及び 5–5.5 μm に peak を持つ 2 峰性の histogram を 11 症例中 9 症例が示した。
- 5) 61 歳から 85 歳までは約 5–5.5 μm に peak を持つ 1 峰性の histogram を 7 症例中 6 症例が示した。
- 6) 細胞数は各年齢間に有意差が認められなかった。

(考察)

上肢筋力が 60 歳以上で加速度的に低下することが報告されているので、上肢運動機能に関与しているこれら α 運動細胞と γ 運動細胞の経年的変化を調べるには、Renshaw 細胞、介在ニューロンの比較的少ない Rexed IX 層外側核について行うのが適当と考えられる。このため今回の計測では外側核と内腹側核の区別が容易な前額面切片を用い、外側核の脊髓前角細胞の経年的変化を調べた。上肢を支配する運動細胞の数や大きさの経年的変化を知れば、上肢運動機能の解析の基礎資料となりうる。われわれが治療する機会が多い頸椎症性脊髄症患者の手術による改善度は、若年者に比べ高齢者で劣るとされる報告が散見される。老化による脊髓前角細胞構成比の変化が成績不良因子の一つである可能性もあるが、脊髓の加齢変化が十分解明されていないため、結論を出すことができない。そこで今回我々は、核小体法をもって調べた細胞の大きさと頸髄前角細胞数の経年的変化を histogram を用いて検討した。

(核小体直径と細胞直径の関係について)

神経細胞の大きさと核小体の大きさとの相関関係について Offord らはヒトの脊髓神経節細胞の直径と核小体の直径は直線的比例関係にあることを示した。

Zeiss の Particle Size Analyzer の原理に従い計測したヒト頸髄前角細胞では、両者の関係は Offord らと同様に直線関係にあること、しかもその相関係数は 0.86–0.93 間にあり極めて強い正の相関があることがわかった。即ち頸髄前角細胞の大きさの比を求める場合、核小体直径の比を求めればよいことが判明した。

(histogram からみた細胞の識別について)

核小体直径の計測値から前角運動細胞の大きさを計算式に当てはめると細胞体直径は 25–75 μ となり、この細胞体の大きさは Tomlinson らが計測したヒト四肢筋を支配する前角運動細胞の大きさである 25–80 μ の大きさに一致する。小径細胞群には運動神経細胞以外の小細胞も含まれている可能性が考えられる。本報告の結果で 2 峰性の分布を示す細胞群につきその大きさを結果 1 に示した式から求めると、大径細胞群の中央値は 50–65 μ 程度 (核小体直径 5 μ) となり、これは α 運動細胞を表すものと思われる。 α 運動細胞には直径が大型の約 2/3 程度の小型のものもあるとされ、これは大きさからは γ 運動細胞と区別しがたい。Ranshaw 細胞の大きさは大型 α 運動細胞の約 1/4 程度と言われている。本データにおける小細胞群に γ 運動細胞以外のものがどの程度含まれているかはっきりしないが、小細胞群核小体直径中央値に相当する細胞はその殆どが小 α 細胞ないし γ 細胞である可能性があると思われる。

(前角細胞数に関して)

今回のわれわれの研究では、各年齢群で前角細胞数に有意な差は見られなかった。われわれの今回の計測ではかなりの個人差が前角細胞数に見られた。これは今回の症例数が少ないことが原因のひとつと考えられる。また脊髄の大きさの個体差に関して Elliot が報告した以外にも、横断面積が最大値と最小値に 2 倍以上の差が見られるとした報告もあり、脊髄前角細胞数に関しても個体差がある可能性も否定できない。今後症例数を増やして検討する必要がある。

(histogram の変化に関する考察)

今回は前角細胞の核小体の大きさに置き換えた前角細胞の大きさと細胞数を histogram で評価を行った。本研究で (a)peak が経年的に移動し (b)21-60 歳は histogram が 2 峰性になることが判明した。これを説明するひとつの仮説として頸髄前角細胞では、成長期を過ぎてから大小細胞が分化すること、および老齢化に伴い小細胞群が減少していく可能性があることがあげられる。もうひとつの可能性は小細胞が徐々に肥大していったこのような結果となった可能性も否定できない。しかし、そうであるなら移行期である 21-60 歳の段階で核小体直径が 4.5μ 付近に細胞が徐々に大きくなっていく段階の peak が捕らえられるはずである。それが今回の結果では見られていない。また前角細胞数に関して、60 歳以上の高齢者とそれ以下の年齢で 2 群の比較を行うと、unpaired-t 検定で $p=0.086$ と減る傾向はあったものの統計学的有意差は見られなかった。これは症例数が少ないことが影響していると思われる。以上の理由より頸髄前角細胞では、成長期を過ぎてから大小細胞に分化すること、および老齢化に伴い小細胞群が減少していく可能性が高いと推論する。成長期を過ぎてからの大小細胞の分化過程、老齢化での小細胞群の脱落過程に関与する因子やそれと末梢神経線維との関連に関する研究は今後の問題である。またこれらの細胞体の大きさの変化が神経生理学的にどのような意味があるのかなどに関しても今後明らかにしていく必要があると思われる。

(まとめ)

1. 核小体法を用い、ヒトの C7 髄節の Rexed IX 層外側核運動細胞構成の加齢的变化を調べた。
 - a)核小体直径は $2.0-6.0\mu\text{m}$ の範囲に分布することを示した。
 - b)各症例で、腹側群、中間群、背側群それぞれの histogram の pattern に変化はなかった。
 - c) 20 歳以下では一峰性の histogram を 4 症例中 3 症例が示した。
 - d) 21 歳から 60 歳までは 2 峰性の histogram を 11 症例中 9 症例が示した。
 - e) 61 歳から 85 歳までは 1 峰性の histogram を 7 症例中 6 症例が示した。

以上のように脊髄病変を有しない症例で経年的に変化する代表的な 3 つの histogram の pattern が判明した。

2. これらの結果の原因として、頸髄前角細胞は成長期を過ぎてから大小の細胞に分化し、60 歳を超えると小細胞が減少する可能性が考えられた。