

機関番号：17051

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2008～2010

課題番号：20590173

研究課題名(和文)：脳脊髄液減少症の発生機序と硬膜外ブラッドパッチの有効性に関する形態学的解析

研究課題名(英文)：Morphological study of the efficacy of epidural blood patch in the cerebrospinal fluid hypovolemia with special reference to relationships of the CSF leaks and epidural lymphatic system

研究代表者

三浦 真弘 (MASAHIRO MIURA)

大分大学・医学部・講師

研究者番号：50199957

研究成果の概要(和文)：

(1) CH-40 クモ膜下腔内注入実験から、炭粒子の硬膜浸潤ならびにその漏出好発部が硬膜-神経根移行部(SAA 領域)であること、また漏出好発部が硬膜外リンパ管網(ELN)の発達する頸髄節領域において著明であることを見出した。(2) 注入実験では、脳脊髄液減少症の画像診断で好発する腰髄膜領域の脳脊髄液(CSF)漏出現象は認められなかった。(3) 注入炭粒子は高 CSF 圧条件において頸-胸髄領域から脊髄硬膜外リンパ系を介して体性リンパ系に速やかに排導された。(4) 硬膜線維内の炭粒子の浸潤速度は SSA 領域で特に速く、また ELN 内進入後の吸収速度も極めて迅速であった。(5) 実験的 EBP では、頸髄領域と同じく腰髄神経根領域においても髄膜密着性をともなう血塊形成は観察されなかった。(6) EBP において唯一生じた血塊群の髄膜付着領域は硬膜背側部に限局した。(7) SAA 部に出現した脊髄クモ膜顆粒は、個体間で出現頻度は低く髄節全体の神経根 8%程度であった。(8) クモ膜顆粒先端部は硬膜内に陥入し、同部は発達したリンパ管と毛細血管網によって完全に被覆された。(9) 成人 SAA 硬膜において約  $5\ \mu\text{m}$  の小孔群(篩状斑)が頸-胸髄領域に認められた。胎児では更に発達した篩状斑が神経根に広く認められた。(10) 篩状斑の分布域と ELN 発達領域との間には高い相関が認められた。(11) 炭粒子の強い硬膜浸潤領域には篩状斑構造が局在し、またクモ膜内側の境界細胞間においても Arachnoid channel が認められた。以上の結果から、髄液漏出 SAA 硬膜に存在する脈管外通路を介する CSF 経リンパ管側副吸収路の線維拡張やその破綻に起因する可能性が示唆された。また EBP の髄液漏出制御に必要と考えられる形態学的根拠(①神経根基部篩状斑、②クモ膜顆粒部、③硬膜外リンパ系発達部、④解剖学的脆弱硬膜部領域)から、EBP 由来の血塊形成・脆弱性の高い髄膜への密着効果は SAA 部に常在する Fat pad が障壁となって困難と考えられた。ただし、BP によって硬膜外圧を一次的に上昇させることで間接的に SAA 硬膜部が圧迫されて、脳脊髄液減少症のような異常な髄液漏出が制御される可能性は残された。

研究成果の概要(英文)：

Although cerebrospinal fluid hypovolemia (CFH) is typically caused by a spontaneous spinal cerebrospinal fluid (CSF) leak, the specific cause of non-physiological leaks is still far from understanding. At present, epidural blood patch (EBP) is a well-known treatment for various neurological symptoms resulting from the CFH attributable to CSF leaks. However, its morphological inhibitory effects are not sufficient details with the true nature of CSF leaks. Therefore, the main aim of this study is to elucidate the morphological mechanism of abnormal CSF leaks with special reference to the epidural lymphatic system (ELS) and prelymphatic channel (PLC) as CSF absorbing pathway on the spinal dura. In the present study, morphological evidence of the EBP treatment, especially the adhesive condition between the blood patch and the most frequent site of CSF leaks on the spinal dura was investigated electro-microscopically and enzyme-histochemically by using an epidural injection of the monkey's own blood. Whole-mount preparations and cryostat sections of the spinal dura were double stained with 5'-nucleotidase (5'-Nase) -alkaline phosphatase (ALPase) for identifying lymphatic and blood capillary vessels, respectively.

The well-developed epidural lymphatic networks were analyzed in the spinal dura. A spinal dura mater with blood patches was observed in the light microscopy at 2 days, following an injection of blood into the epidural space from the cisterna magna. The part of two samples after EBP was observed in a condition of the fibrin sealant site under the scanning electron microscope (SEM). 5'-Nase-positive lymphatic networks and spinal arachnoid granulations (SAG) locally appeared in the subarachnoid angle (SAA) surrounding the cervical spinal nerve roots. In the SAA region of dorsal nerve root, epidural lymphatic vessels had numerous blind endings surrounding the SAG, and always situated in the epidural connective tissue layer including rich fatty mass (so-called fat pad). In the SEM observation, the dural component collagen fiber with rolling arrangements in the SAA region was relatively loose as compared with those in the general regions of the dorsal main portion. These findings may infer that the CSF physiological absorption ability via the ELS in the basilar dural structure of the spinal nerve roots was higher as compared with the structure of other dura mater region. The dura mater has suggested that the PLC may work physiologically as the CSF collateral transport pathway in the SAA region and closely relate to the abnormal acceleration of CSF leakage due to a mechanical expansion or defect in the spinal dural sac, while the well-developed fat pad may interfere with the bounding surface between blood patch and the SAA dura mater. Therefore, it may be difficult to seal directly the dural surface of SAA dura mater by the EBP. However, the EBP treatment may be expected as the transitory leak blocking by pushing indirectly an abnormal dilated dura mater via soft connective tissues including the intraepidural lymphatic vessels.

**Key words:** epidural lymphatic system, prelymphatic channel, cerebrospinal fluid leaks, epidural blood patch, cerebrospinal fluid hypovolemia

交付決定額

(金額単位：円)

|        | 直接経費      | 間接経費      | 合計        |
|--------|-----------|-----------|-----------|
| 2008年度 | 1,900,000 | 570,000   | 2,470,000 |
| 2009年度 | 1,400,000 | 420,000   | 1,820,000 |
| 2010年度 | 400,000   | 120,000   | 520,000   |
| 年度     |           |           |           |
| 年度     |           |           |           |
| 総計     | 3,700,000 | 1,110,000 | 4,810,000 |

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・解剖学一般（含組織学・発生学）

キーワード：硬膜外リンパ系、前リンパ管通液路、髄液漏出、硬膜外自己血注入療法、脳脊髄液減少症

### 1. 研究開始当初の背景

低髄圧症候群は原因不明の起立性頭痛を主訴とし、髄液検査により低髄液圧を示す病態として1938年にSchaltenbrandにより初めて報告された。本邦では、同症候群に関連して鞭打ち症やスポーツ外傷を契機に生ずる慢性的な頭痛、眩暈、倦怠感、さらに集中力や記憶力の低下など多彩な自覚症状が遷延する病態に対してMokriが命名した「脳脊髄液減少症」(cerebrospinal fluid hypovolemia: CFH)の病名が一般に広く用いられている。当初CFHは極めて稀な疾患と考えられていたが、MRIなど種々の画像診断装置の進歩によって比較的多くの症例が上記

症状の患者に潜在することが分かってきた。また不明であったCFHの発症機序についても、RI 脊髄脳槽シチグラフィによって脳脊髄液(CSF)の漏出像が存在診断されたことによって硬膜の機械的破綻にともなうCSF漏出説が有力視された。現在、CFHの代表的な治療法として腰椎穿刺後の起立性頭痛の治療法として確立されたEpidural blood patch (EBP)が髄液漏出制御にも応用されて、一定の治療効果を示している。しかし、CFH患者に対するEBP治療の有効性については、髄液漏出機序の詳細解明とともに未だ解剖学的根拠に殆ど裏打ちされていない。他方、CSFの正常な生理的吸収機序については、硬膜外

リンパ系 (ELS) との密接な関係が示唆されているものの、CFH の発症機序を論ずることにおいて ELS と CSF 漏出現象との形態学的関係に言及した研究はこれまで存在しない。

## 2. 研究目的

① 脊髄領域における ELS の形態学的特徴と CSF 側副吸収路との形態学的関係について微粒子活性炭クモ膜下腔内注入法を用いて解析・検討を行なう。② CSF 側副吸収路に関わる脊髄硬膜-神経根部領域内の篩状斑: Macula cribriformis (MC) ならびに脈管外通液路: Pre-lymphatic channel (PLC) の確認診断ならびにその構造的特徴を明らかにする。③ 特殊通液路が硬膜破綻及び病的 CSF 側副吸収亢進とどのように関わっているかについて CFH の発症機序との関連性に着目して形態学的解析を行う。④ EBP 治療法の形態学的有効性について、実験的 EBP を施した正常 CSF 圧ザルの硬膜を用いて Blood patch (BP) の局在と硬膜表面における BP 密着 (血糊) 状況を検索する。⑤ BP 硬膜の解剖学的脆弱部や PLC を介する髄液漏出が亢進する髄膜部において髄液漏出制御に形態学的にどの程度有効に作用しているか否か検討を試みる。

## 3. 材料と方法

EBP 実験に 2 匹、ELS の形態学的特徴の一般検索には幼若・成熟ニホンザル (*Macaca fuscata*) 26 匹の脊髄硬膜を用いた。また SEM 解析には解剖体 5 体の脊髄膜を用いた。CH-40 注入実験では、正常 CSF 圧群、高 CSF 圧群に分けて、注入後経時的 (1h~48h) にクモ膜下腔から体性リンパ系への排導動態について検索を行った。リンパ系への炭粒子 (CP) の吸着状況と髄膜内 CP 漏出領域との位置的関係の解析には 5' -nucleotidase 染色 (酵素組織学的染色) を用いた。EBP 有効性に対する検証実験では、5ml の自家静脈血を小脳延髄槽から硬膜外腔に注入した。神経根-脊髄硬膜上の BP と CSF 経リンパ管吸収路との関係については EBP 施行直前に微粒子活性炭水溶液をクモ膜下腔内に約 3.5ml 注入し、注入後 CP の硬膜線維束内ならびに経リンパ吸収動態について酵素組織学的・電顕的検索を行った。EBP に伴う血糊の硬膜への付着状況については SEM にて検索した。硬膜内の MC・PLC の存在確認とその解剖学的脆弱性領域の同定には、アルカリ化学消化 (6N NaOH) を施した硬膜伸展試料を SEM 解析に応用した。

## 4-1. 研究の成果 (結果)

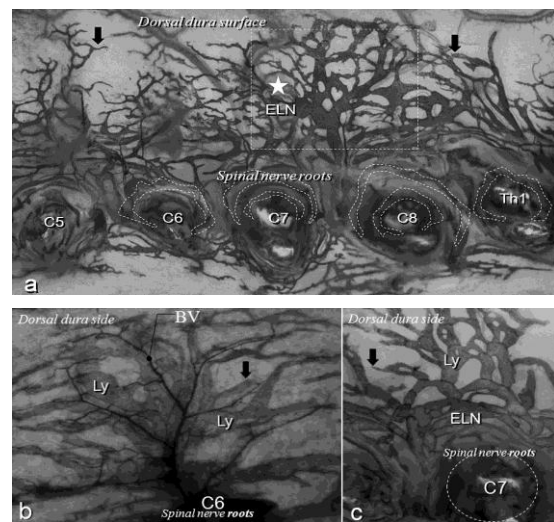
(1) 硬膜外リンパ系 (ELS) の形態学的特徴: 頸髄硬膜 (C4~Th1) 背側に発達した 5' -Nase 陽性リンパ管網 (ELN) が描出された (Fig. 1)。ELN はすべて管径の大きな盲端リンパ管 (IL) から起発し、IL は起始後すぐに発達した弁構造も有していた。Th3 より下位の髄節では、硬膜背側及び神経根基部から起発する ELN は急激に減少し、腰仙髄領域では硬膜上から完全に消失した。

**Table 1** 2つの注入条件の経時的リンパ排導状況

|                                    | Normal CSF pressure group    |    |    |    |    |     |     | High CSF pressure group |    |    |    |    |     |     |           |           |    |
|------------------------------------|------------------------------|----|----|----|----|-----|-----|-------------------------|----|----|----|----|-----|-----|-----------|-----------|----|
|                                    | Monkey No.                   | 1  | 2  | 3  | 4  | 5   | 6   | 7                       | 8  | 9  | 10 | 11 | 12  | 13  | 14        | 15        | 16 |
| Injection time (hours)             |                              | 1h | 2h | 3h | 6h | 12h | 24h | 48h                     | 1h | 2h | 3h | 6h | 12h | 24h | 48h (48h) | 48h (48h) |    |
| Organs stained by carbon particles | Deep cervical lymph nodes *  | -  | -  | -  | -  | +   | +   | +                       | -  | +  | +  | +  | +   | +   | +         | +         | +  |
|                                    | Right lymphatic trunk *      | -  | -  | -  | -  | -   | -   | -                       | -  | +  | +  | +  | +   | +   | +         | +         | +  |
|                                    | Thoracic duct *              | -  | -  | -  | -  | -   | -   | -                       | -  | +  | +  | +  | +   | +   | +         | +         | +  |
|                                    | Intercostal lymph nodes *    | -  | -  | -  | -  | -   | -   | +                       | +  | +  | +  | +  | +   | +   | +         | +         | +  |
|                                    | Lateral aortic lymph nodes * | -  | -  | -  | -  | -   | -   | -                       | -  | -  | -  | -  | -   | -   | -         | -         | +  |
|                                    | Lateral sacral lymph nodes * | -  | -  | -  | -  | -   | -   | -                       | -  | -  | -  | -  | -   | -   | -         | -         | -  |

-to +++ = none seen to maximum seen

(2) Th3 より下位髄節では硬膜背側ならびに神経根基部から起発する ELN は急激に減少し、腰仙髄領域では硬膜上から完全に消失し



**Fig. 2** 脊髄硬膜の全載伸展標本の酵素組織染色像 (a-c) a, c: 5' -nucleotidase 染色, b: 5' -Nase-ALPase 二重染色, b, c.: 2a 点線四角内の拡大像, a: 症例 1 (x 1), b: 症例 2 (x 15), c: 症例 3 (x 10), 黒矢印: 起始リンパ管, ☆: 硬膜背側中央 (2a)。

Th3 以下の髄節では、ELN は神経根周囲から細いリンパ管から起始した。

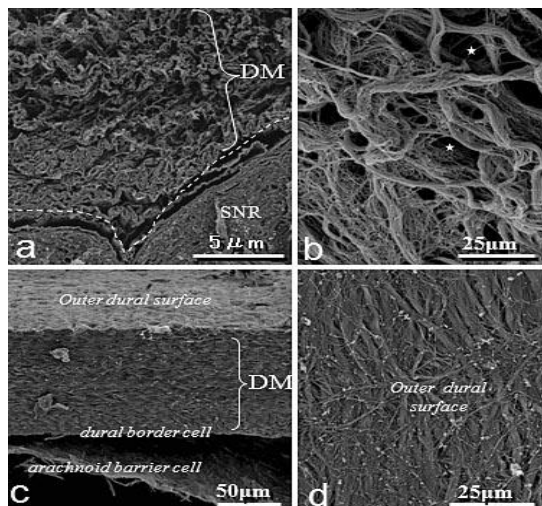


(3) 経リンパ管 CSF 側副吸収路：CP は、正常 CSF 圧群では頸部・胸椎傍領域の体性リンパ系に緩やかに吸収された。一方、高 CSF 圧群では深頸リンパ節、椎骨傍リンパ節、肋骨頭下縁 Fat pad 内の小リンパ管に速やかに取り込まれた。両群とも腰仙髄体性リンパ系への CP 吸収は出現しなかった (Table. 1)。

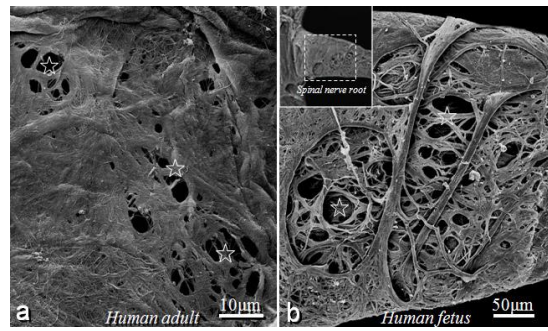
(4) 硬膜の微細構築と CP 排導動態との関係：神経根基部は硬膜主部と比して構成膠原線維数とその厚さが著明に減少した。神経根基部の線維束間隙には CP の漏出が顕著に認められたが、硬膜主部では CP 漏出は全く認められなかった。神経根クモ膜反転部 (SAA) では CP は浸潤性の強い漏出像を呈した。硬膜内に浸潤した CP は最終的に浅層に移動したのちすべて ELN に取り込まれた

(5) 脊髄クモ膜顆粒の形態的特徴：頸髄領域に局限して神経根基部に脊髄クモ膜顆粒 (SAG) が少数認められた。同部は常に大きなリンパ管・小血管によって直接覆われた。

(6) 髄膜の微細構築と EBP 実験との関係 (Fig. 3)：SAA 及び神経根硬膜では硬膜主部と比較して明らかに構成線維束の配列密度が疎に転じた。神経根基部と硬膜主部との境界部は比較的明瞭で、神経根-SAA 髄膜には線維束間に約  $8\mu\text{m}$  の間隙 (3b) が存在した。ヒト成人硬膜の神経根基部には膠原線維板上に散在して MC 構造の存在が認められた (Fig. 4a)。一方、硬膜主部では線維間隙・MC 構造とも観察することはできなかった。

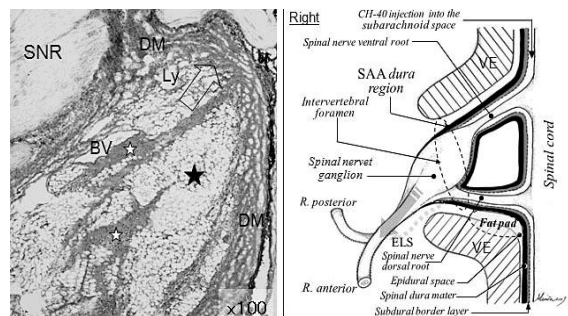


**Fig. 3** SAA 硬膜の SEM イメージ (NaOH 化学的消化試料) a, b: SAA 領域, c, d: 硬膜主部, DM: 硬膜, c: 冠状断面, b, d: 髄膜外表面。



**Fig. 4** SAA 硬膜の SEM イメージ. (6N NaOH 化学消化試料) ☆: 篩状斑 (a, b), 4b はインセット写真点線四角内の拡大像。

(7) 実験的 EBP の形態学的検索：SEM 観察にて硬膜への密着性の高い BP 形成は背側中央部のみに認められた。硬膜表面の血糊中央部では変性した赤血球どうしの連結部に多数の線維成分の出現が認められた髄膜の組織学的検索では、硬膜-神経根移行部に密着する BP 形成は全髄節で認められなかった。特に SAA 硬膜周囲 (Fig. 6) に観察された血塊は大きな BP 形成には至らず、神経根腹側浅層領域を走行する脈管系を含んだ Fat pad 内にやや陥入する位置か Fat pad 外表面に小血塊 (Fig. 5) を形成したに過ぎなかった。



**Fig. 5** 脊髄硬膜-神経根領域の HE 光顕像 (C7)

EBP 施行 24 時間後の試料, ★: 脂肪結合組織 (Fat pad), ☆: 血液パッチ, BV: 血管, Ly: リンパ管,

**Fig. 6** SAA 領域髄膜-神経根周囲の層構造を示す模式図 (冠状断面) VE: 椎骨の骨性成分

#### 4-2. 研究の成果(まとめ)

本検索において、ELS の起始形態とその発達状況に髄節間で大きな違いを示したことは CSF の側副吸収能ならびに CSF 循環調節に深く関る機能的な形態差である可能性が非常に高い。注入実験では、頸髄領域を中心にして ELS を介する CSF 側副吸収が高 CSF 圧条件下に素早く反応して亢進することから、脊髄

硬膜領域には生理的なCSF側副吸収機序の存在が推測される。一方、下位胸髄以下の脊髄領域ではELNの発達が悪いばかりでなく、高CSF圧が同領域に長時間負荷されたとしても腰椎傍領域リンパ系を介するCSF圧調節機序の発動は極めて遅いか、相当の時間を要することが推測される。CSFの循環調節には、髄液の遅延性吸収機序が存在するため正常CSF圧では静的吸収動態が保持される。一方、高CSF圧条件では正常な範囲で吸収亢進が動的発動される可能性が考えられるが、機械的外力に起因してCSF側副吸収の主座であるPLC構造に病的な線維拡張が生じることで髄液漏出の異常亢進の可能性が示唆される（SSA領域の髄膜部は引っ張り外力に弱く構成線維束が拡張または破綻しやすい易髄漏硬膜）。易髄漏硬膜とEBPとの関係については、SSA髄膜部に対するEBPの密着精度がCFHに起因した髄漏制御において重要な構造的因子と考えられる。一方、このような形態学的特徴に起因した髄液漏出亢進機序はCFH発症に深く関る解剖学的根拠の一つとも考えたい。

EBPによる髄液漏出停止効果は、それが局所的制御の期待される髄膜領域において確実に閉塞させる効果が期待される。しかし、神経根に常在するFat padはPLCを介する経リンパ管CSF側副吸収路・ELNリンパ管を保護する一方で、髄液漏出制御を目的としたBPの硬膜への接近を阻害する治療効果を左右する形態的因子にもなり得る（Fig. 7）。

現在、EBP治療の有効性については、硬膜破綻したと考えられる神経根基部またはSAA硬膜周囲を直接塞ぐ髄液漏出停止機序に依存するものではなく、これらの領域に局限して存在するMCを含むPLC構造、さらにSAGをFat padを介して間接的に圧迫する予後不定の一過性の髄液漏出制御であると考えられる。

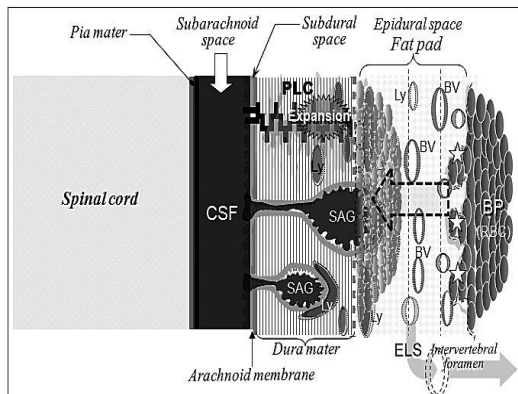


Fig. 7 EBPの効果機序に左右する構造的因

子を示す模式図 BP: 血液パッチ, ELS: 硬膜外リンパ系, PLC: 前リンパ管通路, SAG: 脊髄クモ膜顆粒, ☆: 硬膜外腔内の血液パッチの層的位置

#### 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計5件)

1. Uchino T, Hagiwara S, Iwasaka H, Kubo K, Takatani J, M Miura, Noguchi T: Use of Imaging Agent to Determine Postoperative Indwelling Epidural Catheter Position. The Korean Journal of Pain, 査読有、23巻、2010、247-253
2. 三浦真弘、紀 瑞成、内野 哲哉: The morphological relationship between the mechanism of spontaneous spinal cerebrospinal fluid leakage with the CSF hypovolemia and spinal epidural lymphatic system. 日本交通科学研究誌、査読なし、51巻、2010、24-30
3. 三浦真弘、米村 豊: 脳脊髄液減少症にともなう髄液漏出の発生機序と脊髄硬膜外リンパ系との形態学的関係 -Epidural blood patchの有効性検証も含めて-、リンパ学、査読有、33巻(1)、2010、2-11
4. 三浦 真弘: リンパ管系の形態学的解析とその臨床応用 -癌腫播種性転移・リンパ行性転移機構の解明を目指して-。Dental Medicine Research、査読有、29巻(1)、2009、102-103
5. 三浦真弘、内野哲哉: 脳脊髄液減少症に対するEpidural blood patchの有効性に関する臨床解剖学的検討-epidural lymphatic systemとの関係を中心にして-、Japanese Research Society of Clinical Anatomy. 査読なし、8巻(1)、2008、18-20

〔学会発表〕(計11件)

1. 鈴木 伸一、三浦真弘: 脳脊髄液減少症の髄液循環動態について - pre-lymphatic channelの存在とその調節機序について-。第9回脳脊髄液減少症研究会(学術集会)、2011年2月27日、東京
2. 三浦 真弘、内野 哲哉、鈴木 伸一、経リンパ脳脊髄液側副吸収路における正常・異常漏出機序の形態学的解明とその動態解析 - Epidural blood patchが生理的髄液吸収能に及ぼす影響について-。第9回脳脊髄液減少症研究会(学術集会)、2011年2月27日、東京
3. 三浦 真弘、脳脊髄液減少症の病態とその発症機序。第26回日本交通科学協議会総会・学術講演会(特別招待講演)、2010年6月12日、茨城・つくば
4. 三浦 真弘、米村豊、Clinico-anatomical

relationship between the peritoneal dissemination and the prelymphatic channel、第 115 回日本解剖学会総会・全国学術集会、2010 年 3 月 29 日、岩手

5. 三浦 真弘：髄液漏出は硬膜の機械的破綻によって生じるか？EBP の有効性には形態学的エビデンスはあるか？-Epidural lymphatic system との関係を中心とした形態学的解析-、第 8 回脳脊髄液減少症研究会(総会)(特別招待講演)、2010 年 2 月 15 日、神戸

6. 三浦 真弘、米村豊、腹膜播種治療に必要なリンパ学-ヒト腹膜リンパ系 prelymphatic channel の構造的特徴について-、第 2 回播種性転移研究会(国際シンポジウム)、2009 年 10 月 10 日、滋賀・草津

7. 三浦 真弘、紀瑞成、米村豊、脳脊髄液減少症に伴う髄液漏出機序と epidural lymphatic system との形態学的関係について、第 33 回日本リンパ学会総会、2009 年 7 月 18 日、大阪

8. 三浦 真弘、Spinal epidural lymphatic system と CSF 側副吸収機序との関係について-脳脊髄液減少症に伴う髄液漏出機序と EBP の有効性に関する形態学的検討も含めて-平衡斑研究会(特別講演)、2009 年 4 月 19 日、東京

9. Miura M, Ji RC: Anatomical study of the efficacy of epidural blood patch in the cerebrospinal fluid hypovolemia with special reference to relationships of the CSF leaks and epidurallymphatic system、第 114 回日本解剖学会全国集会、2008 年 3 月 29 日、岡山

10. 三浦真弘、内野哲哉、脳脊髄液減少症に対する Epidural blood patch の有効性に関する臨床解剖学的検-硬膜外リンパ管系との関係を中心にして-、第 11 回日本臨床解剖研究会学術集会、2008 年 7 月 7 日、富山

11. 三浦真弘、内野哲哉、Epidural lymphatic system と髄漏機序との関係について-EBP の有効性に関する酵素組織化学的検討も含めて-、第 6 回脳脊髄液減少症研究会(総会)、2008 年 2 月 7-8 日、東京

[図書] (計 1 件)

1. 三浦 真弘、MEDSi 社、Clinically Oriented Anatomy 5th ed 第 VI 章、2008、540-7

[その他]

学会賞：日本リンパ学会奨励賞(西満正賞)、脳脊髄液減少症に伴う髄液漏出機序と epidural lymphatic system との形態学的関係について、第 33 回日本リンパ学会総会、2009、大阪医科大学

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

三浦 真弘 (MIURA MASAHIRO)  
大分大学・医学部 (講師)  
研究者番号：50199957

### (2) 研究分担者

内野 哲哉 (UCHINO TETUYA)  
大分大学・医学部 (助教)  
研究者番号：70423697

紀 瑞成 (Ji Rui-cheng)  
大分大学・医学部 (助教)  
研究者番号：60305034