

平成 30 年 8 月 30 日現在

機関番号：17501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K08137

研究課題名(和文) 脳脊髄液減少症における腰仙髄-髄液異常漏出現象の解剖学的本態とその実験的検証

研究課題名(英文) Experimental investigation regarding the anatomical condition of abnormal cerebrospinal fluid leakage at the lumbosacral spine in cerebrospinal fluid hypovolemia

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

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、髄注indocyanine green (ICG)の吸収動態を観察することで、脳脊髄液減少症(CFH)鑑別指標となるRIシンチ陽性像の整合性と、リンパ管前通路を介してICGの髄膜及び神経根内の動態を解析した。注入実験では、解剖体・成猿の腰仙髄領域において神経根遠位に至るICG浸潤が全髄節・両側で認められた。尚、浸潤域には左右差・髄節差が出現した。走査型電子顕微鏡観察では、神経根基部内面に篩状斑が認められた。CFHの診断基準となるRIシンチ陽性像は、硬膜の機械的破綻に伴う異常な髄液漏出を反映するばかりでなく、神経根に生理的浸潤した正常髄液像が多数含まれる可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：In this study, we used the fluorescent observation of the absorption dynamics of indocyanine green (ICG) to analyze the consistency of positive radioisotope (RI) scintigraphy findings as an indicator for the identification of cerebrospinal fluid hypovolemia (CFH) and dynamics of the ICG in the meninges and within nerve roots via pre-lymphatic channels. In the injection experiment, ICG infiltration was observed bilaterally at all spinal segments in cadavers and Japanese macaques. A bilateral difference in the region of ICG infiltration within the meninges were also found at the search. The macula cribriformis was found at the all nerve root bases using scanning electron microscopy. Our results suggested that positive RI scintigraphy results as a diagnostic standard for CFH not only reflect abnormal leakage of cerebrospinal fluid due to mechanical disruption of the dura mater, but may include many cases of normal cerebrospinal fluid physiologically infiltrating the nerve roots.

研究分野：臨床解剖学

キーワード：脳脊髄液 脳脊髄液減少症 髄液異常漏出 蛍光イメージング RI脳槽シンチグラフィ indocyanine green RIオーロラサイン 髄膜リンパ管前通路

1. 研究開始当初の背景

脳脊髄液減少症(CFH)の診断基準については、CFHの病態ならびにその発症機序が十分解明されていないことに起因して説得力のある診断基準は未だ設定されていない。

しかし2010年、髄液漏出に関する解剖学的根拠は十分ではないものの、厚生労働省障害者対策研究事業の一環としてCFHの治療専門医から組織された「脳脊髄液減少症の診断・治療法の確立に関する研究班」から、待望のCFH画像診断ガイドラインが公表された。それによると、主にRI脳槽・脊髄腔シンチグラフィー(RIシンチ)による腰仙髄領域の対側性・片側性RI異常集積が「确实所見」、また非対称性RI異常集積が「強疑所見」として漏出判定において重要視されている。

一方、当初有力な髄液漏出像と考えられてきた腰部両側対称性の典型的RI集積所見(Christmas tree sign)については、同ガイドラインでは穿刺部からの医原性漏出との鑑別の困難さから参考所見に変更になった。RIシンチにおいて、髄液の生理的動態や髄液異常漏出部を明確に同定することは大変難しいことと考えられるが、少なくとも脳脊髄液(CSF)の下位脊髄神経根周囲の生理的動態解明なしに、ガイドラインで示したRIシンチ陽性所見をCFH発症に関わる有力な髄液漏出像と判断する診断プロセスには生理的髄液動態との整合性に欠けると言わざるを得ない。また、CFHが下位脊髄硬膜嚢の機械的破綻を発症機転とする従来の病態解釈についても、研究代表がこれまで提唱してきた髄膜リンパ管前通路(Meninges pre-lymphatic channels: MPLCs)を介する「経リンパ管-CSF側副吸収路」に関連する硬膜線維束の拡張または部分破綻に伴う異常漏出機序¹⁾との考え方は矛盾した臨床像と考えられる。

そもそも、CFHが髄膜の構造的破損に起因して髄液漏出するCFH病態を根拠として、RI集積部を単純に髄液漏出部と判断する考えには、解剖学的根拠の観点から大いに疑問が残る。腰仙髄神経根および髄膜下端(終系領域)を中心としたCSF異常漏出現象の検証については、その本態解明を含めて現在急務な臨床課題と考えられる。特に、CSHの鑑別診断をRIシンチに依存する診断方法の現状において、CFHが疑われる患者から得られたRI吸収動態画像の本態を、下位髄膜MPLCsの構造的特徴ならびに硬膜外リンパ管との機能的連関を含めて明らかにすることの臨床的意義は極めて高い。

他方、近年、CSHが懸念される患者において胸壁領域にしばしば出現する「オーロラサイン」(篠永正道:日本臨床, Vol.61(10), 2013)と呼ばれる不特定肋間隙に多分節性に出現する帯状のRI異常集積と髄液漏出との関係性に注目が集まっている。しかし、腰仙髄領域のRI陽性所見同様、その出現機序には不明な点が多く、同サインの正常・異常も含めて髄液漏出機序との関連性についてはいまだ明確な解答は導かれていない。

2. 研究の目的

本研究では、クモ膜下腔に注入したindocyanine green(ICG)の硬膜及び脊髄神経根鞘内動態ならびに体性リンパ系への排導・吸収動態を蛍光イメージングで観察することで、CFHで特に腰仙髄領域に描出されるRIシンチ陽性集積正常像との整合性解明と、硬膜外リンパ系(epidural lymphatic system)²⁾を介するCSF経リンパ管吸収能の脊髄分節間での比較・検討を行った。また、ICG粒子の硬膜内流入口と推測されるMPLCsの微細構造・分布様式についてはヒト脊髄神経根を全分節網羅的に検索した。

他方、CFH鑑別診断において出現の意義と髄液漏出との関連性が明らかにされていない「胸部オーロラ徴候」(thoracic aurora sign: TA-sign)についても、その本態と異常髄液漏出との関係についてMRI解析での検討を試みた。

3. 研究の方法

本研究では、formalin固定法(4体)及びThiel液固定法(2体)にて処置された成人解剖体6体(髄膜-神経根温存剖出デモ解剖体)(Fig.1)を用いた。クモ膜下腔内に留置したカテーテルからICG・indigocarmine(IC)・CH40 fine carbon particles(CH40)を注入し、それらの頸胸髄節及び腰仙髄領域の神経根周辺組織への吸収・浸潤動態について主にICG-PDE蛍光イメージングシステム(浜松ホトニクス社)にて経時的に検索した(Table 1)。一方、髄注ICGの*in vivo*動態解析では、全身麻酔管理下にある成熟カニクイザル3匹ならびに成熟ニホンザル2匹を用いて、特に一般体性リンパ管へのCSF経リンパ側副吸収動態についてした。ICG-PDE解析した。

ICGの髄膜内流入路を可能とするMPLCsの微細構造については、ヒト硬膜-神経根デモ標本を作成した後、神経根基部を個別にDigital microscope(KEYENCE, VH5500)及び走査型電子顕微鏡(SEM)(Hitachi, S-4800)にて網羅的解析を試みた。尚、MPLCsの観察にはNaOH化学消化法SEMを検索全例に応用することで、篩状斑の解析精度を高めた。硬膜外リンパ管網(epidural lymphatic networks: EDLNs)と動脈性毛細血管の同定には5'-nucleotidase-Alkaline phosphatase 酵素二重染色²⁾、また、脊髄硬膜線維内に発現する水チャンネルの存在については、CH40髄注を予め実施した髄膜組織に対して、Anti-AQP4 Antibody(funakoshi)免疫染色法にて、髄膜内発現有無と炭粒子浸潤領域との関連性について検索した。

TA-signの本態解明については、CSH患者及び同症と逆の病態を呈する正常圧水頭症患者(iNPH)、さらに正常成人を用いて水分子検索に適したMRI脂肪抑制(3D SPACE T2-weighted Short Tau Inversion Recovery(STIR) sequence (TR: 2800, TE: 289, FOV 230 mm, Slice厚 1.2mm)を用いて解析を試みた。

尚、研究内容はすべて大分大学医学部・臨床研究倫理委員会にて承認(承認No.716)の下実施された。

4. 研究成果

(1) 注入実験-1 (ICG・IC):

ヒト髄膜嚢-神経根完全温存デモ解剖体5体に実施したICG髄注実験では、検索平均10mLの10%ICG生理食塩水を経時的に注入した(Table 1)。ICG-PDE蛍光観察において、検索全例で全髄節硬膜-神経根移行部ならびに神経根鞘内に、ICG・IC浸潤が注入直後から認められた。ただし、根分節の高さならびに左右同一分節根において生じたICG・ICの髄膜内トレーサー浸潤域には、左右差ならびに神経根高差が明らかに認められた(Fig.2, yellow stars)。

注入実験で得られた自家所見を神経根周囲に生じる生理的髄液浸潤所見と見做した場合、CSHの診断基準になっている「确实所見」片側限局性RI異常集積、または「強疑所見」非対称性RI異常集積と極めて類似した蛍光所見が多数観察されることが確認された(Fig.2b, c)。

従来、RIシンチにおいて明らかな髄液漏出陽性像と判断されてきた各髄節神経根鞘遠位に及ぶ顕著な両側性RI集積像、すなわちChristmas tree sign (CT-sign)は、新しく発表されたガイドラインでは、穿刺部からの漏出アーチファクト像が反映されている可能性から除外されている。しかし、CT-signには硬膜-神経根基部髄膜に生じた生理的髄液浸潤ならびに機械的応力に伴う線維束拡張に由来したRI正常または異常集積像が含まれる可能性は残る。

事実、古典的な炭など色素の髄注動物実験において、各神経根に広がるトレーサーの伸展状況は生理的ink-cuff現象³⁾と呼ばれており、本研究においても全ての注入トレーサーにおいて同現象が神経根鞘域で多数出現した(Fig.3, CH40)。神経根鞘遠位へ及ぶink-cuff浸潤域については、通常個体差や左右差が生じやすいことから、それらはガイドラインに設定された神経根に出現する類似したCSH腰部RI陽性集積像との鑑別診断には注意が必要と考えられた(Figs.2b, c)。

(2) 注入実験-2 (ICG 体性リンパ管への排導):

全身麻酔管理下成猿を用いた髄注ICGの一般体性リンパ管への*in vivo*排導状況のICG-PDE解析では、全例で正常CSF圧範囲の注入圧状況(100-150mmHg)から胸部椎間孔周囲に位置するTh3~Th8領域の傍椎骨リンパ節群(PVLNs)に、血管内反応が生じる前にICG強陽性蛍光像が早座に出現した(Fig.4)。尚、同反応状況は、開胸(4a,b)と開胸なし(4c,d)の2つの実験条件下で、特に呼吸に伴う胸膜腔内圧変動(driving force)の有無に関してPVLNsへの排導速度ならびに吸収量が変化した(4b, 4d)。

頸髄領域では内頸静脈リンパ節ならびに深頸リンパ節において注入後5分以降経時的に蛍光陽性像リンパ節が出現した。

腰仙髄領域においてICGの硬膜外への異常な逸脱、また、腰椎椎間孔周囲(後腹壁領域)の体性リンパ管系(傍大動脈リンパ節群)へのICG吸収現象は長時間(注入後2h)検索においても全例でICG排導は認められなかった。

従って、上位脊髄膜とは異なり、下位脊髄膜領域では、腰部硬膜外リンパ管の発達不足(Table 2, EDLNs distribution condition)に起因して生理的に逸脱した髄液は比較的ボリュームのある神経根鞘内に長時間貯留する可能性が推測された。また、このような神経根鞘内の貯留髄液は、RIシンチで異常な髄液漏出として鑑別される腰仙髄領域に両側または片側に出現する神経根様のRI集積像をつくる可能性も示唆された。

(3) 髄膜脈管外通路(MPLCs)の微細分布:

網羅的SEM解析により、MPLCsは髄節領域に関係なく各神経根基部内面に局所的形成が認められた(Fig. 5)。頸髄ならびに腰仙髄領域には、平均5µm径の髄膜篩状斑(meningeal macula cribriformis, MMCs)様小孔の存在が例外なく観察された。ICG注入後の脊髄膜SEM検索において、MMCs内に髄注ICG結晶の残存(Fig. 6)が認められたことから、同構造を介して髄液が髄膜内に侵入することが示唆された。また、CH40注入実験では、炭微粒子の線維束間経路には規則的な通路が存在することもOCT切片法染色像から明らかとなった。

(4) 腰仙髄領域の脊髄EDLNsの微細分布:

5'-Naseを同定指標とした酵素組織染色法(Fig. 7)において、下位脊髄膜では終糸も含めてEDLNsの分布は認められなかった。また神経根鞘表面から途中盲端起発するリンパ管についても、その数ならびに管径とも発達は乏しかった。

(5) 脊髄髄膜におけるAQP-1発現様式:

免疫組織検索前に*in vivo* CH40注入実験を行った症例では、髄注したCH40炭粒子の髄膜内侵入とその線維内浸潤様式に一致して神経根基部線維束間ならびに基部外表面に描出された5'-Nase陽性脊髄硬膜外リンパ管(spinal epidural lymphatic networks:SEDLNs)内皮細胞壁にAQP-1の発現が検索1例であるが明らかに認められた(Fig.8)。

クモ膜下腔から髄膜内にMPLCsを介して誘導されたCSFは、AQP-1陽性線維束を移動することでEDLNsに積極的に誘導される可能性が示唆された。また、脊髄神経節を遠位境界線とした神経根鞘領域は逸脱した髄液の一次貯留槽としての機能が備わる可能性も推測された。

(6) TA-signと髄液漏出との関連性(Fig.9)

CSH群(1症例)とiNPH群(6症例)には明らかな出現差を認められなかった。コントロール群(4症例)にもTA signが2例で認められた。成人コントロール群そしてiNPH群にも多数のTA-signが出現したことから、TA-signが髄液漏出に起因した画像所見ではないことが示唆された。また、MRIにてTA-signを示した1症例に対して、オーロラ陽性領域の3軸方向撮像(Sagittal, axial sections)(Fig.10)を実施した結果、陽性領域の水は胸膜腔内の複数肋間領域に貯留した水であることが明らかとなった。TA-signの本態は背側肋間隙内の髄液を反映した水ではなく胸膜腔に貯留した正常範囲の胸水である可能性が示唆された。

(7) まとめ

髄液は、主に脊髄神経根基部から MPLCs を介して髄膜内に侵入し、線維束間で AQP の分子支援も一部受けながら硬膜外表層に生理的に移動(生理的漏出)したのち、頸胸領域に局在する EDLNs に一般的に回収されるが、EDLNs の発達が乏しい腰仙髄領域では、MPLCs を介して漏出した髄液は一時的に神経根鞘内に貯留したのち緩徐にリンパ管などを利用して排液される神経根-髄節高差が生じることが示唆された。RI 脳槽シンチで異常な CSF 漏出像として多分節の神経根髄膜領域に観察される片側限局性もしくは対称性の RI 集積像は、硬膜-神経根基部に生じた生理的な髄液漏出像を反映しており、CSF の発症原因と考えられている髄膜の破れによる CSF 硬膜外逸脱現象とは異なる正常像である可能性が高い。従って、CSF あるいは髄液漏出症患者に対する RI シンチ画像診断では、特に腰仙髄領域に出現する種々の神経根周囲の RI 集積像の正常と異常の鑑別には特別に注意が必要と考えられた。一方、MR ミエロでしばしば観察される TA-sign についても、正常範囲の胸水がその本態と考えられることから、CFH 発症機序には TA-sign が直接関係しないことが明らかとなった。

CFH の有力診断基準とされる神経根周囲の片側限局性もしくは対称性の RI 集積像・オーロラ現象は硬膜の機械的破綻に伴う異常髄液漏出を反映するばかりでなく、神経根に生理的浸潤した CSF ならびに肋間隙域に自然逸脱した正常画像が多数含まれる可能性が示唆された。

文献

- 1) 三浦真弘、米村豊:脳脊髄液減少症に伴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について - Epidural Blood Patch 療法の有効性検証も含めて - .リンパ学. 33 (2) : 2-11, 2010
- 2) Miura M, Kato S, von Lüdinghausen M. : Lymphatic drainage of the cerebrospinal fluid from monkey spinal meninges with special reference to the distribution of the epidural lymphatics. Arch. Histo. Cytol. 61: 277-286, 1998.
- 3) Brierley JB, Field EJ: The connection of the spinal sub-arachnoid space with the lymphatic system. J Anat. 82: 153-166, 1948
- 4)
5. 主な発表論文等
(雑誌論文)(計 8 件)
1. 三浦真弘、内野哲哉、山田茂樹 :脳脊髄液と脳間質液の吸収 -髄膜脈管外通路を介する髄液経リンパ管吸収メカニズムを中心にして-.画像診断.査読有. 38(3):229-240,2018
2. 三浦真弘、内野哲哉:髄液と間質液の吸収メカニズム-髄膜リンパ管からの吸収路を中心として-.神経内科. 査読なし、87(3): 240-250, 2017
3. 三浦真弘、内野哲哉:交通外傷後の頸椎障害-非生理的髄液漏出のメカニズム-. Journal of the Japanese Council of Traffic Science. 査読なし、17 (Supplement), p49, 2017
4. Miura M, Uchino T:Expression patterns of aquaporin in the spinal meninges involved in cerebrospinal fluid leak: a focus on the relationship with meningeal pre-lymphatic channels. Surg Radiol Anat. 査読なし、37:705-729, 2017
5. Miura M, Uchino T: Distribution of cranial dura lymphatic vessels and intradural cerebrospinal fluid induction pathway: discussion of analytical results of confocal laser endoscopy. Surg Radiol Anat. 査読なし、DOI.10.1007/s00276-018-1990-8. 2016
6. Uchino T, Miura M, Oyama Y, Matsumoto S, Shingu C, Kitano T :Lateral deviation of four types of epidural catheters from the lumbar epidural space into the intervertebral foramen. J Anesth. 査読有, 2016 Aug ;30 (4) :583-90. doi: 10.1007/s00540-016-2177-2. Epub 2016
7. 三浦真弘、内野哲哉、高橋明弘 : 脳脊髄液に関する最新知見:髄液の産生、循環、吸収について -経リンパ管吸収路を中心にして-.脊椎脊髄. 査読なし、28(8): 694-703, 2015

(学会発表)(計 13 件)

1. 三浦真弘、内野哲哉、山田茂樹 :Latest Knowledge of Cerebrospinal Fluid Circulation with Special Reference to the Collateral Absorptive Routes via the Epidural Lymphatic Drainage System. 第 17 回日本脳脊髄液減少症研究会・AMED 委託研究・脳脊髄液減少症における自律神経機能異常の関与検討班共催学術集会(シンポジウム・市民公開講座) 埼玉医大かわごえクリニック.埼玉, 2018.02.25.
2. 三浦真弘、内野哲哉 :髄液関連リンパ管系の機能形態学的特徴から髄液吸収メカニズムを再考する. 第 19 回日本正常圧水頭症学会(シンポジウム講演). 京都テルサ国際会議場、京都.2018.02.24.
3. 三浦真弘 :脳硬膜リンパ管の分布形態と髄液と脳硬膜内誘導経路について -cellvizio100 共焦点レーザー内視鏡解析を中心として-.加齢画像研究会第 6 回学術集会・第 21 回臨床解剖研究会共催学術集会(教育講演). 国際医療福祉大学三田病院, 東京. 2017.10.21.
4. 三浦真弘、内野哲哉、山田茂樹 :脳脊髄液の脊髄硬膜及び神経根鞘への生理的漏出現象について. 第 10 回蛍光 Navigation Surgery 研究会. メルパルク京都、京都. 2017.10.07.
5. 三浦真弘 :髄膜 pre-lymphatic channel と髄膜リンパ管系の基礎理論-リンパ系は髄液吸収の鍵をにぎるか? - (特別講演). 京都府立医科大学、京都. 2017.08.03.

- 三浦真弘, 内野哲哉 : 交通事故後の頸部障害-非生理的髄液漏出のメカニズム-.第53回日本交通科学学会総会・学術大会(シンポジウム講演). ピアザ淡海、滋賀. 2017.06.02.
- 三浦真弘 : 解剖学から見る脳脊髄液漏出症-脳髄膜関連リンパ管の同定とその髄液吸収動態について-.第16回日本脳脊髄液減少症研究会・学術大会(特別講演)、西はりま地場産業センター、姫路. 2017.03.04.
- 三浦真弘 : 髄膜関連リンパ管系(meningeal l-related lymphatic vessel system) を基軸とした髄液循環の新知見 -Nature 論文(脳硬膜内リンパ管の発見) の検証を含めて-. 第16回日本正常圧水頭症学会(教育講演)、北九州国際会議場、小倉, 2017.02.04.
- 三浦真弘 : 髄液循環に関する最新知見 ; 髄液吸収は硬膜関連リンパ管系が鍵を握る(特別企画シンポジウム). 虎ノ門フォーラム 東京、東京. 2016.06.10.
- 三浦真弘 : 髄液循環に関する最新の知見 -Nature 論文(脳硬膜内リンパ管の存在) を検証・検討する-. 第15回日本脳脊髄液減少症第15回日本脳脊髄液減少症(シンポジウム講演). 東京メジフィックス、東京. 2016.03.13.
- 三浦真弘, 内野哲哉, 大城久 : 髄膜 pre-lymphatic channel と AQP-1 発現様式の関係 -組織学的解析-. 東京大学 伊藤謝恩ホール、東京, 2016.06.24.
- 三浦真弘, 内野哲哉 : 髄液循環はリンパ系が鍵を握る-髄液漏出症の本態を考える-. 第10回北海道神経リハビリテーション治療フォーラム(特別講演). 札幌グランドホテル、札幌, 2015.04.17.
- 三浦真弘, 内野哲哉 : 内野哲哉: 髄液漏出機序に関わる水チャンネル蛋白の発現様式について-髄膜pre-lymphatic channel との関係を中心にして-. 第19回日本臨床解剖研究会(学術集会)(シンポジウム講演). 北里大学薬学部、東京, 2015.11.14.

膜切除による新しい治療)第2版.(米村豊編).10章,11章 転移しやすい腹膜 1-16: 38-54.国際腹膜播種学会、腹膜播種治療支援機構出版、神戸、2017

- 三浦真弘, 濱田裕一:リンパ管静脈吻合術で観察される皮下間質・リンパ管の微細構造的特徴、医学のあゆみ. 264 (13): 1141-1146, 医歯薬出版、東京. 2017

[産業財産権]

出願状況 なし(計0件)

取得状況 なし(計0件)

[その他]

ホームページ等(該当なし)

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 TETSUYA)

大分大学・医学部・助教

研究者番号 70423697

(3)研究協力者:山田 茂樹 (YAMADA SHIGEKI)

・医療法人社団洛和会音羽病院・医長

研究者番号 40422969

[報告書図表]

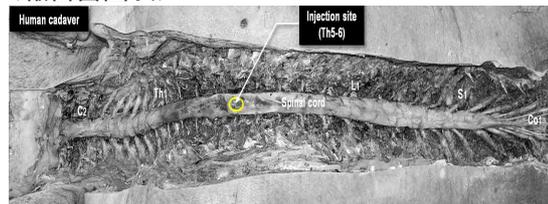


Fig.1 髄膜-神経根温存剖出デモ解剖体標本作成
作成したヒト髄膜嚢は髄腔内エアチェックと生理食塩水注入チェックにて漏出部がないことを確認。

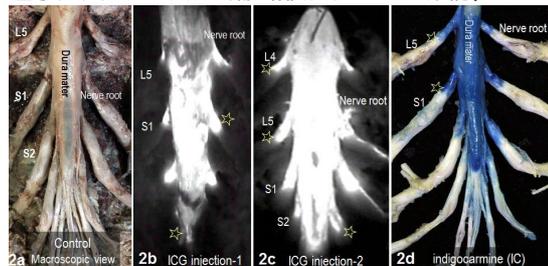


Fig.2 ヒト解剖体腰仙髄領域の注入実験 (ICG, IC)

[図書] (計2件)

- Miura M, Hamada Y.: Scanning electron microscopy findings in patients with lower-extremity lymphedema: fine-structure characteristics of subcutaneous tissues observed during lymphaticovenous anastomosis. Important Reference II, Surgical Treatments for Lymphedema. (Edited by Isao Koshima), Person-Shobo co.td, Tokyo. pp86-102, 2017
- 三浦真弘, 米村豊 : 腹膜播種の治療をめざす包括的治療 2017(周術期化学療法と腹

1. 注入実験-A	Cadavers No.1298 female	Cadavers No.1300 female	Thiel 法固定-解剖体2体
(1) ICG注入部→上位クモ膜下腔 (C2-Th5) #カテ挿入長8cm 髄液圧:100-160mmHg-O			
①Injection ②注入追加 ③動画 ④動画 ⑤動画 ⑥動画			
3mL/1min 2mL			
経過時間 0min 5 10 12 16 18 25 26 50 60 61 90			
Total amount⇒5mL			
(2) ICG注入部→下位クモ膜下腔 (Th6-S5) #カテ挿入長約7cm 髄液圧:100-160mmHg-O			
①Injection ②注入追加 ③動画 ④動画 ⑤動画 ⑥動画			
10mL/1min 2mL			
経過時間 0min 5 10 12 16 18 25 26 50 60 61 90			
Total amount⇒12mL			
2. 注入実験-B	Cadavers No.1183 male	Cadavers No.1209 male	Cadavers No.1219 female
(1) ICG注入部→下位クモ膜下腔 (Th6-S5) #カテ挿入長約平均7cm 4%ホルマリン固定-解剖体3体			
①Injection ②注入追加 ③動画 ④注入追加3mL動画 ⑤動画			
10mL/1min 5mL			
経過時間 0min 5 10 12 16 18 25 26 50 60 61 90			
Total amount⇒18mL			

Table 1. ヒト解剖体を用いた注入実験プロトコル

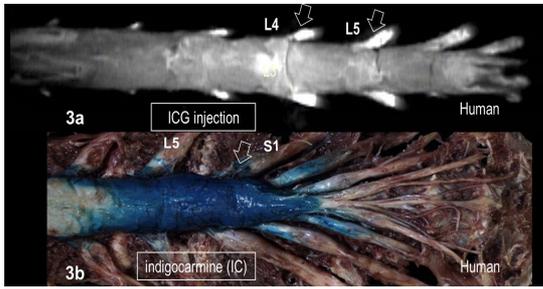


Fig.3 ヒト解剖体腰仙髄領域(L3-S3)の注入実験
 a: ICG 注入実験 b: IC 注入実験
 各分節神経根には2種類の注入トレーサーとも強陽性反応 (ink-cuff) (arrows) を示した。神経根鞘内のトレーサー浸潤領域には分節間、同一分節左右間で色素浸潤域差が認められた。

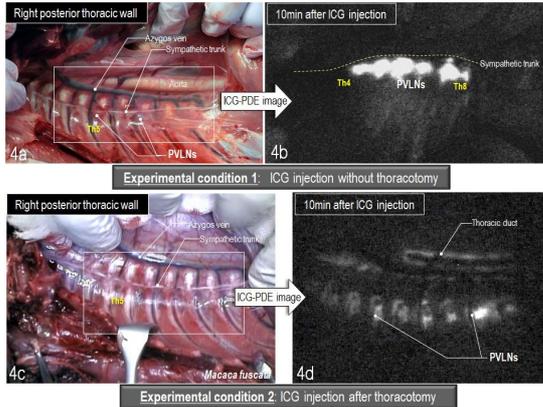


Fig.4 サル ICG 注入実験 (PVLNs への排導状況)
 4a: 注入後、右開胸時の後胸壁術野マクロ所見
 4b: 開胸なし条件における ICG 注入実験 - PVLNs ICG 吸収状況 (蛍光イメージ) 強陽性所見
 4c: 注入前、右開胸時の後胸壁術野マクロ所見
 4d: 開胸直視視下における PVLNs への ICG 吸収状況 (蛍光イメージ) 弱陽性所見

	Macula cribiformis* Dural lymphatic network**		Macula cribiformis* Epidual lymphatic network**		dura mater (inner surface)
	Inner surface	Outer surface	Inner surface	Outer surface	
C1	unsearched		T8	+ DNA	-
C2	+ DNA	+	T9	+ DNA	-
C3	+ DNA	+	T10	+ DNA	-
C4	+ DNA	++	T11	+ DNA	-
C5	+ DNA	++	T12	+ DNA	-
C6	++	++	L1	+ DNA	-
C7	++	++	L2	+ DNA	-
C8	++	++	L3	+ DNA	-
T1	+ DNA	+	L4	+ DNA	-
T2	+ DNA	+	L5	+ DNA	-
T3	+ DNA	+	S1	+ DNA	-
T4	+ DNA	+	S2	+ DNA	-
T5	+ DNA	+	S3	unsearched	DNA -
T6	+ DNA	+	S5	unsearched	DNA -
T7	+ DNA	-	Co1	unsearched	DNA -

Table 2 ヒト脊髄膜 SMPLCs の網羅的 SEM 検索結果と脊髄分節間 EDLNs の発達様式との関係

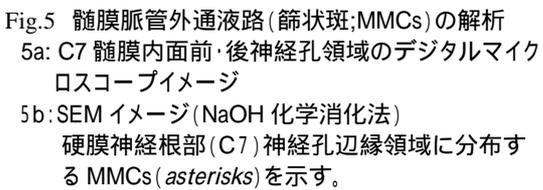


Fig.5 髄膜脈管外通路 (篩状斑; MMCs) の解析
 5a: C7 髄膜内面前・後神経孔領域のデジタルマイクロスコープイメージ
 5b: SEM イメージ (NaOH 化学消化法) 硬膜神経根部 (C7) 神経孔辺縁領域に分布する MMCs (asterisks) を示す。

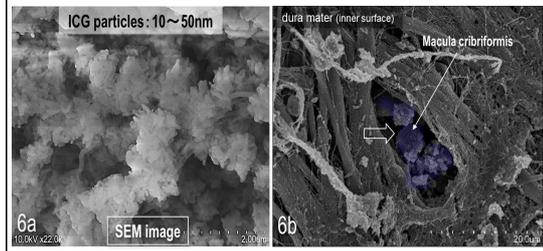


Fig.6 SEM イメージ (NaOH 化学消化法 SEM)
 6a: ICG 粒子のコントロール解析
 6b: C8 硬膜-神経根基部内面の観察 MMCs 内に存在する ICG 粒子を示す。

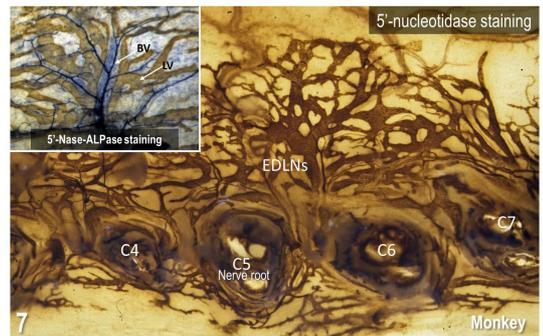


Fig.7 SEDLNs の酵素組織化学的描出 (5' -Nase) whole-mount preparation 法) x10
 硬膜背面において神経根を基点とした樹上分岐の 5' -Nase 陽性リンパ管が描出された。Inset: リンパ管 (LV) - 動脈性毛細血管 (BV) の酵素二重染色イメージ x20

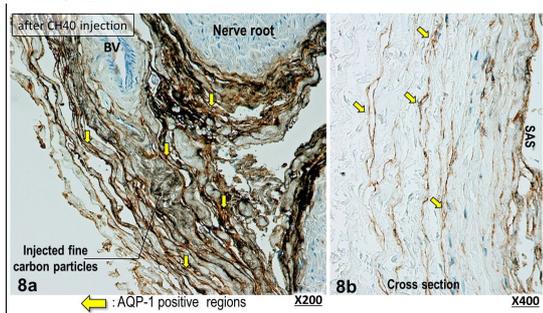


Fig.8 脊髄髄膜線維束における AQP-1 分布様式
 a: 神経根基部髄膜内に浸潤する CH40 炭粒子の線維束間流路に一致して APQ-1 陽性領域が出現した。
 b: 硬膜-神経移行部領域において線維束に沿って AQP-1 陽性領域が出現した。

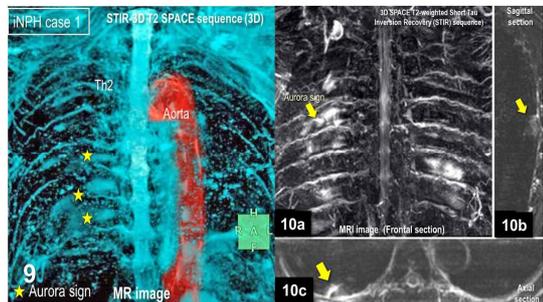


Fig.9 胸部 MR イメージ (3D SPACE T2-weighted Short Tau Inversion Recovery (STIR) sequence) iNPH に出現した TA-sign (yellow stars)
 Fig.10 胸部 MR イメージ (TA-sign 出現領域の3軸撮) 10a: frontal section, 10b: sagittal section, 10c: axial section, Yellow arrow: TA-sign 領域