

Fine Structure, Origin, and Distribution Density of the Autonomic Nerve Endings in the Tarsal Gland of the Mouse

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/7759

マウスの瞼板腺内の自律神経終末の微構造、 由来、および分布密度

金沢大学医学部解剖学第一講座 (主任：本陣良平教授)

溝 口 省 三

(昭和59年12月17日受付)

本研究は、マウスの瞼板腺内の自律神経終末の、微構造、由来、および分布密度を検索することを目的とした。組織化学的検索によると、正常な神経支配下にある腺内の神経網は、カテコールアミン蛍光陽性で瘤状腫大を示す線維と、アセチルコリンエステラーゼ活性陽性で瘤状腫大を示す線維の両者を含んでいる。上頸神経節切除後、カテコールアミン蛍光陽性線維が消失し、翼口蓋神経節切除後、アセチルコリンエステラーゼ活性陽性線維が消失する。電顕写真には、上記の神経線維の瘤状腫大部が、多数のシナプス小胞を含む軸索腫大部として現われる。軸索腫大部は Schwann 細胞鞘を一部欠き、腺細胞あるいは間質の平滑筋細胞に直接対面している。軸索腫大部と腺細胞ないし平滑筋細胞との間には、幅 $0.1\sim 1.0\mu\text{m}$ の比較的広い組織腔が存在する。腫大部は、小顆粒性シナプス小胞を含む I 型と、無顆粒性シナプス小胞を含むが小顆粒性シナプス小胞を含まない II 型との、二つの型に区分される。I 型は上頸神経節切除後に変性に陥り、II 型は翼口蓋神経節切除後に変性する。以上の所見は、I 型が上頸神経節由来のアドレナリン作動性線維のシナプス終末に相当し、II 型が翼口蓋神経節由来のコリン作動性線維のシナプス終末に相当することを示している。I 型対 II 型の数比は、腺房の周囲に位置する神経束では $1:4$ であり、平滑筋細胞の間に位置する神経束では $7:3$ であった。

Key words tarsal gland, adrenergic nerve fibers, cholinergic nerve fibers, mouse

中西¹⁾はヒトの頭皮を鍍銀法で検し、皮脂腺に神経線維が分布していることを、初めて報告した。その後、Champy ら²⁾も、ヨウ化亜鉛オスミウム法により、ラットの皮脂腺に神経線維が分布していることを確認した。しかし Hurley ら³⁾は、ヒトの腋窩の皮膚で、アセチルコリンエステラーゼ活性を検したが、脂腺には活性陽性の神経線維が見いだされなかったと報じた。Montagna ら⁴⁾も、ヒトおよび各種の哺乳類で、皮脂腺にアセチルコリンエステラーゼ活性陽性の神経線維の分布を認めなかったため、皮脂腺は自律神経の支配を受けていないと考えた。

これに対し、良く発達した大きな脂腺である瞼板腺の神経支配に関しては、Montagna ら⁴⁾は、これに多数のコリン作動性神経線維が分布していると報じ、Miraglia ら⁵⁾もこれに賛同している。また Ehinger⁶⁾は、瞼板腺の間質中に存在する平滑筋に、アドレナリ

ン作動性神経線維が分布していることを報告している。一方、電子顕微鏡による検索によって、Leeson⁷⁾と Jester ら⁸⁾は、瞼板腺の間質内に、多数の無髄神経線維が走っていることを確認している。これらの知見は、瞼板腺が自律神経の支配を受けていることを示唆するものである。しかし、コリン作動性神経線維とアドレナリン作動性神経線維が、瞼板腺の腺細胞や平滑筋細胞に対し、どのような微構造をもった神経終末を形成しているかは、全く不明である。とくに、平滑筋細胞がコリン作動性神経線維の支配を受けているかどうか、また腺細胞がアドレナリン作動性神経線維の支配を受けているかどうかに関しては、従来の報告には全く触れられていない。瞼板腺に達する各種神経の枝の源や走路に関しても、わずかに Montagna ら⁴⁾と Ehinger⁶⁾の断片的な記述があるにすぎず、基本的な検索がなされていないのが現状である。

Abbreviations: FGS, formaldehyde-glutaraldehyde-sucrose.

今回著者は、上記の諸点を明らかにする目的で、正常、ならびに上頸神経節切除あるいは翼口蓋神経節切除を施したマウスについて、組織化学的方法と電子顕微鏡観察とによって、腺板腺内に分布する神経要素を検索したのでここに報告する。

材料および方法

実験動物としては、成熟した純系 KH-1 種マウス (*Mus wagneri* var. *albula*) を用い、つぎのような各種の実験検索を行なった。

I. 光学顕微鏡による検索法

1. ヘマトキシリン・エオジン染色

眼瞼を眼窩内容および頭蓋底骨質と共に切り取り、これを70%エタノール75ml・ホルマリン20ml・氷酢酸5mlからなる混液に2日間浸漬固定し、Plank-Rychlo液で脱灰、30 μ m連続切片を作製、ヘマトキシリン・エオジン染色を施し、描画再構築法によって、腺板腺の内部構造および腺と周囲組織との構造的相関を検した。

2. 神経軸索染色

腺板腺を含む眼瞼を、眼窩内容と共に一括して取り出し、本陣写真銀法 (photographic silver staining)⁹⁾ によって10 μ mの連続切片とし、描画再構築法によって、外部から腺板腺にいたる神経の走路および腺内の神経分布と神経終末を検した。この方法によると、神経線維の軸索が黒色ないし褐色に特異的に染色される。

3. 神経髄鞘染色

髄鞘の染色は、オスミウム髄鞘染色法¹⁰⁾によった。この方法によると、髄鞘が黒色に染色される。

II. 組織化学的検索法

1. カテコールアミン蛍光検索

Furnessら¹¹⁾によるFaglu法のNakamura¹²⁾の改良法であるホルムアルデヒド・グルタルアルデヒド・シュクロース (formaldehyde-glutaraldehyde-sucrose, FGS) 固定法によった。この方法によると、組織中のカテコールアミンは、黄緑色の蛍光を発する。

2. アセチルコリンエステラーゼ活性検索

Karnovskyら¹³⁾のチオコリン法を改良したNakamuraら¹⁴⁾によるルベアン酸増強法 (rubeanic acid-enhancement method) を使用した。この方法によると、アセチルコリンエステラーゼ活性陽性部位が、特異的に黒色に検出される。

III. 電子顕微鏡による検索法

腺内の神経終末部の電顕検索には、Tranzerら¹⁵⁾の重クロム酸固定法を用いた。この方法によると、神経組織中のカテコールアミン含有物が、極めて電子密度

大な物質として検出される。腺の小片を上記の固定法によって固定後、エタノール系列で脱水、エポック812に包埋、LKB2088ウルトロトームによって薄切片を作製、酢酸ウラン・鉛二重染色法¹⁶⁾を施し、HU-12型あるいはH-500型電顕によって観察した。電顕検索用の薄切片の製作と同時に、約1 μ mの切片を作り、トリジンブルー染色¹⁷⁾を施し、光顕検索を行ない、組織部位の同定に用いた。

IV. 神経線維二次変性実験法

腺板腺を支配する神経線維の起源と終末の検索を目的とする二次変性実験のため、チオペンタール腹腔内注射 (0.1 mg/g) による麻酔下に、実体顕微鏡を用いて、下に記するような2種の神経節切除実験を行なった。手術後、16, 24時間, 2, 4, 7日を経たマウスから、手術側の上・下の腺板腺を採り、以下正常の場合と同様に処理し、術後の変化を検索した。

1. 上頸神経節切除

内頸動脈と頭長筋の間を広げ、上頸神経節を実体顕微鏡下に確認して、これを切除した。

2. 翼口蓋神経節切除

上顎骨の齒槽突起を、3本の臼歯と共に切断除去し、翼口蓋神経節を実体顕微鏡下に確認し、これを切除した。

成 績

I. 正常所見

1. 写真銀法所見

写真銀法によって神経軸索染色を施した連続切片の、光顕描画再構築法による検索で、腺板腺に至る神経の分布を追及した結果、次の5種の神経から腺板腺に神経線維が供給されていることが判明した。すなわち、内眼角側から上腺板腺へ滑車上神経、下腺板腺へ滑車下神経、また外眼角側から、上腺板腺へ頬骨神経の頬骨側頭枝、下腺板腺へ頬骨神経の頬骨顔面枝、さらに上・下腺板腺へ涙腺神経の枝から、それぞれ神経線維が達している。

これら5種の神経の束から別れて腺板腺に分布する神経線維は、すべて無髄線維で、有髄線維は腺板腺に達しない。無髄神経線維は腺に入ると、腺房間の間質結合組織中に、細い神経束の網を形成する(写真1)。無髄線維軸索は、この神経網の中を走る経過中に、所々で瘤状の腫大を示す。

2. 組織化学的所見

カテコールアミン蛍光検出法によると、腺房間にある神経網内に、カテコールアミン蛍光陽性線維の存在が認められた。カテコールアミン蛍光陽性線維は、所々で瘤状の腫大を示し、蛍光はその腫大部において特に

著明であった(写真2). Schwann細胞にはカテコールアミン蛍光は認められなかった.

アセチルコリンエステラーゼ活性検出法によると、腺房間の神経網内に、アセチルコリンエステラーゼ活性陽性線維が認められた. アセチルコリンエステラーゼ活性陽性線維は、所々で瘤状の腫大を示し、その腫大部に強い活性が見いだされた(写真3). Schwann細胞にはアセチルコリンエステラーゼ活性は認められなかった.

これらのカテコールアミン蛍光陽性線維ならびにアセチルコリンエステラーゼ活性陽性線維は、その形態と分布の状態から判断して、写真銀法で見いだされた腺房間神経網中の無髄神経線維軸索に相当する.

3. 電顕所見

腺房間の神経網を構成する細い神経束は、Schwann細胞に包まれた1~数本の無髄神経線維軸索からなる. 軸索の径は約 $0.15\sim 0.5\ \mu\text{m}$ であった. 軸索は所々で拡張し、径 $0.6\sim 1.2\ \mu\text{m}$ の腫大部を形成し、しばしばその部でSchwann細胞の被鞘を脱し、神経束の外面に露出している. 露出部はその外面を厚さ約10nmの基底膜によって被われている. 電顕像に見いだされるこの軸索の腫大部は、写真銀法、カテコールアミン蛍光検出法、およびアセチルコリンエステラーゼ活性検出法によって、光顕下に認められた無髄軸索の瘤状の腫大に相当する.

無髄軸索の瘤状腫大部は、その内部に多数のシナプス小胞とミトコンドリアを含み、すでに述べたように、Schwann細胞の被鞘を一部失って、膠原細線維を含む組織腔に直接面している. このように組織腔に露出した軸索の腫大部は、瞼板腺の腺細胞あるいは腺房間の間質中の平滑筋細胞に相対して位置している(写真4~6). しかし軸索腫大部と、腺細胞または平滑筋細胞の間には、50nm以上(多くの場合 $0.1\sim 1.0\ \mu\text{m}$)の組織腔が介在し、そこに膠原細線維が疎に分布している. 軸索腫大部が腺細胞や平滑筋細胞に密接して位置する所見には接しなかった.

以上に述べた瞼板腺内に見られる無髄軸索腫大部の微構造特徴は、Jabonero¹⁸⁾が電顕所見から仮説として提案し、その後Honjinら¹⁹⁾が電顕検索に基づいて、消化管の平滑筋の神経において、内部にシナプス小胞を確認して、その存在を実証した遠距離シナプス(distant synapse, plexiforme Synapse auf Distanz)に一致する. 今回瞼板腺に見いだされた遠距離シナプスは、最近、瞼板筋²⁰⁾²¹⁾、眼窩筋²²⁾²³⁾、Harder腺²⁴⁾、耳下腺²⁵⁾などにおいて、平滑筋細胞や腺細胞において見いだされた遠距離シナプスによく似ている. しかし、今回見いだされた遠距離シナプスでは、軸索腫大部の

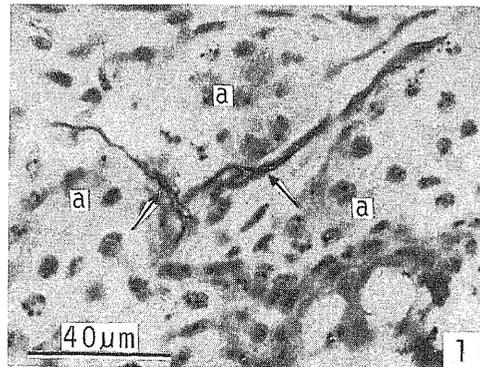


Photo 1. Fine nerve bundles (arrow) composed of unmyelinated nerve fibers located around the acini (a) of a normally innervated tarsal gland. Photographic silver staining, $\times 480$.

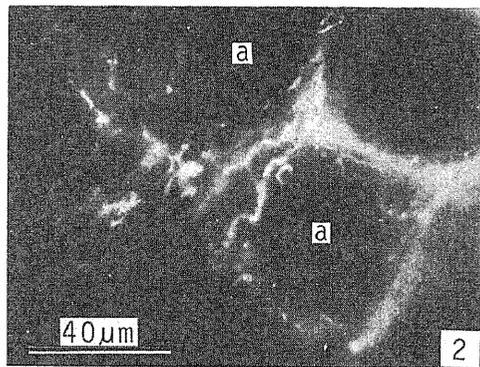


Photo 2. Catecholamine fluorescence-positive nerve axons in the fine nerve bundles located around the acini (a) of a normally innervated tarsal gland. Note the numerous varicosities along the nerve axons. FGS method, $\times 480$.

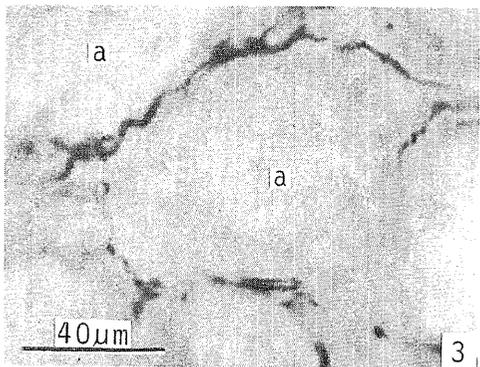


Photo 3. Acetylcholinesterase activity in the fine nerve bundles located among the acini (a) of a normally innervated tarsal gland. Note the numerous varicosities along the nerve axons. Rubeanic acid-enhancement method, $\times 480$.

外面を限界するシナプス前膜には、少数例でわずかな局所的肥厚を見るほか、分化した特殊な微構造は認められなかった。

腺板腺の神経網中の軸索腫大部内に存在するシナプス小胞は、Richardson²⁶⁾とHonjinら¹⁹⁾の分類に従って、小顆粒性小胞、大顆粒性小胞、および無顆粒性小胞の3種に区分される。小顆粒性小胞は、径約50nmで、中心に電子密度大な小さな顆粒を1個含んでいる。大顆粒性小胞は、径約100nmで、やや大きな密度大な顆粒を含んでいる。無顆粒性小胞は、径約50nmで、内部に密度大な顆粒を含んでいない。今回腺板腺で見いだされた上記の腫大した神経終末は、その中に含ま

れるシナプス小胞の種類によって、I型とII型の2種に区分される。I型は常に多少とも小顆粒性小胞を有し、そのほかしばしば少数の無顆粒性小胞や大顆粒性小胞をも含んでいる(写真4, 6, 図1)。II型は多数の無顆粒性小胞を有し、時に少数の大顆粒性小胞を含んでいる(写真5, 6, 図1)。一般によく使用されるアルデヒド固定法で固定した場合、神経組織の膜構造や線維構造は良く保たれるが、小顆粒性小胞の顆粒は小さく現われ、しばしば小胞の限界膜に接して位置するように示される。そのため、小顆粒性小胞と無顆粒性小胞との鑑別が、時として困難である。これに対し、今回使用した重クロム酸固定を行なうと、神経組織の

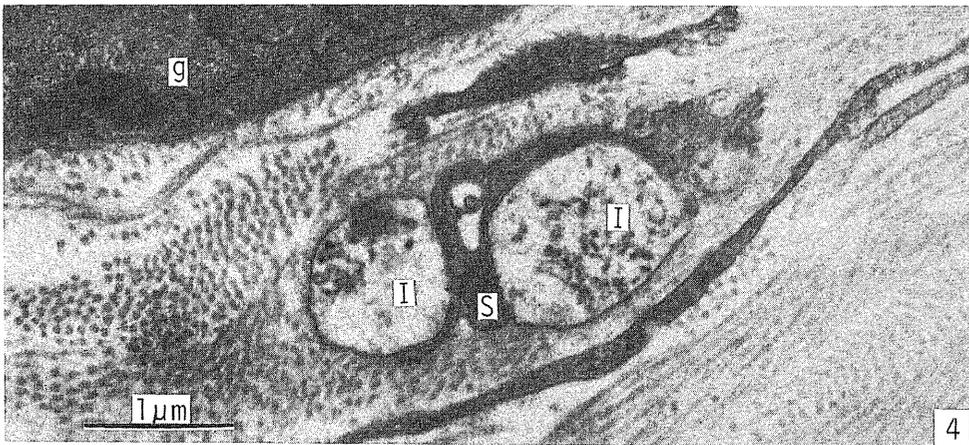


Photo 4. Type I axonal expansions (I) in a fine nerve bundle located near the glandular cells (g) in a normally innervated tarsal gland. They lack a Schwann cell sheath (S) on the side facing the tissue space, and contain many small granular synaptic vesicles and several agranular synaptic vesicles, $\times 20,000$.

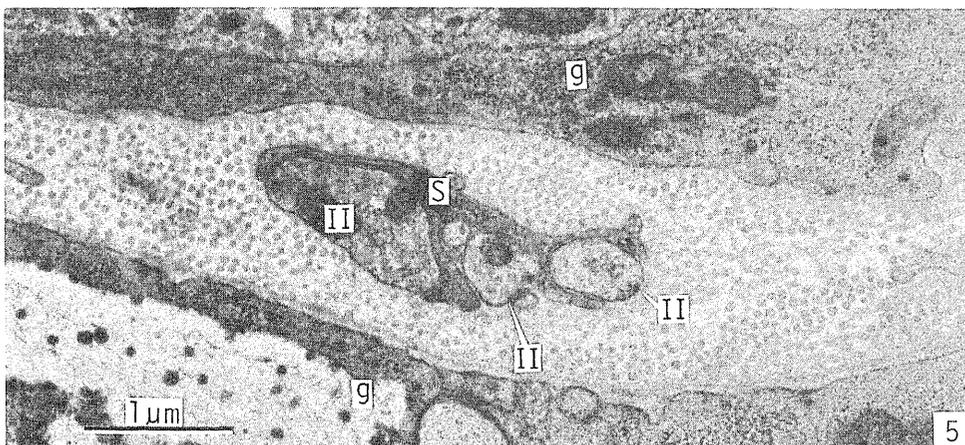


Photo 5. Type II axonal expansions (II) in a fine nerve bundle located near the glandular cells (g) in a normally innervated tarsal gland. They lack a Schwann cell sheath (S) on the side facing the tissue space, and contain many agranular synaptic vesicles. $\times 20,000$.

一般的な微構造の保存がやや低下するが、小顆粒性小胞の顆粒は良く固定され、シナプス小胞の種類の鑑別に頗る便利である。

以上のように、I型終末およびII型終末は、共に無髄軸索がその走路の所々で腫大して、その部でSchwann細胞の被鞘を局部的に欠き、組織腔に面して露出した構造のシナプス終末で、シナプスの形態分類によれば、両型の終末共に、いわゆる通過シナプス(en passant synapse)に属し、また両型の終末共に、腺細胞や平滑筋細胞から0.1~1.0 μm 離れて組織腔内に

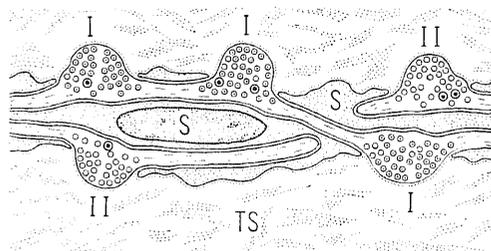


Fig. 1. Diagrammatic representation of the longitudinal section of a fine nerve bundle in the nerve plexus of the tarsal gland. The unmyelinated axons have numerous expansions which contain many synaptic vesicles and lack a Schwann cell sheath (S) on the side facing the tissue space (TS). The axonal expansions can be divided into two types: Type I (I), those having small granular synaptic vesicles and a few agranular or large granular synaptic vesicles, and Type II (II), those having agranular synaptic vesicles and sometimes, a few large granular synaptic vesicles.

位置する遠距離シナプス (distant synapse) に属する。また、I型終末とII型終末が共に、腺細胞の近傍のみならず(写真4, 5)、平滑筋細胞の間にも(写真6)見いだされる。注目すべきことは、末梢部の神経網の細い神経束において、I型終末とII型終末が、しばしば同一の1個のSchwann細胞に支持され、相並んで存在していることである。

脛板腺におけるI型終末とII型終末の分布密度を算定するため、無作意的に、腺細胞の近傍に位置する終末99例と、平滑筋細胞の近傍に位置する終末75例について、I型とII型の別を検した。その結果は次のようである。すなわち、腺細胞近傍の終末99例中、18例がI型に属し、81例がII型に属した。これに対し、平滑筋細胞近傍の終末75例中、51例がI型に属し、24例がII型に属した。この計測値を数比に換算すると、I型終末とII型終末の分布比は、腺細胞の近傍では約1:4であり、平滑筋細胞の近傍では約7:3である。この数値は、腺細胞の近傍ではII型終末が多く、平滑筋細胞の近傍ではI型終末が多いことを示している。

II. 二次変性実験所見

1. 上頸神経節切除後の変化

上頸神経節を切除した後、16時間~7日にわたって、経時的に同側の脛板腺を、写真銀法、カテコールアミン蛍光検出法、アセチルコリンエステラーゼ活性検出法、および薄切片の電顕観察によって検索した。

1) 写真銀法所見

脛板腺内の神経網を構成する細い神経束中の無髄神経軸索の一部に、術後24時間ごろから、軸索の表面が

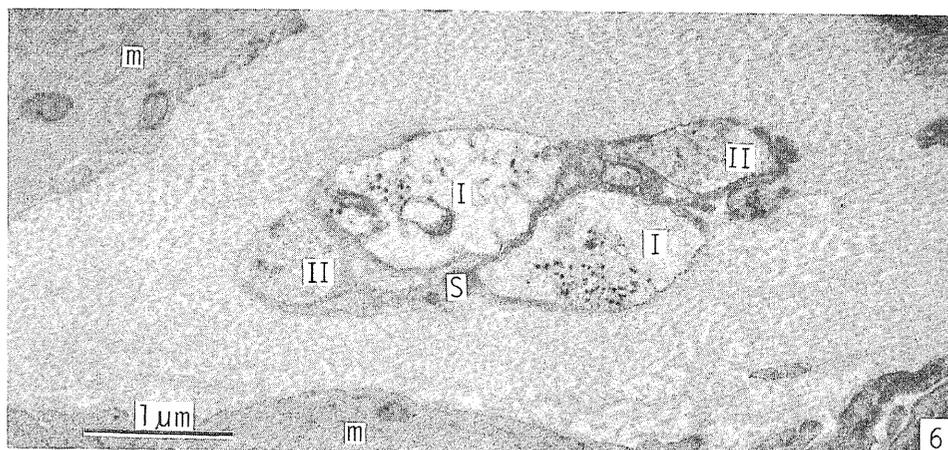


Photo 6. Type I (I) and Type II (II) axonal expansions in a fine nerve bundle located near the smooth muscle cells (m) in a normally innervated tarsal gland. They lack a Schwann cell sheath (S) on the side facing the tissue space. Type I contains many small granular synaptic vesicles and several agranular synaptic vesicles. Type II contains many agranular synaptic vesicles. $\times 20,000$.

粗雑となり、その染色性が変じて赤褐色を呈するものが見られる。やがて多数の無髄軸索がその染色性を減じて、小顆粒に断裂する。神経節切除4日以後には、正常な形の無髄線維軸索の数がかなり減少する。このとき Schwann 細胞は核が肥大し、細胞質も肥大して神経束内に並び、いわゆる Büngner 束を形成する。しかしこの時点においても、変性物質を含む神経束内に、表面平滑で瘤状腫大をもち黒色に良く染まった正常な無髄線維軸索が、なお多数残存している。

2) カテコールアミン蛍光検出法所見

正常な腺板腺の神経網を構成する細い神経束に見られたカテコールアミン蛍光は、術後16時間で著しく減弱し、24時間以後、腺板腺の全域で完全に消失する(写

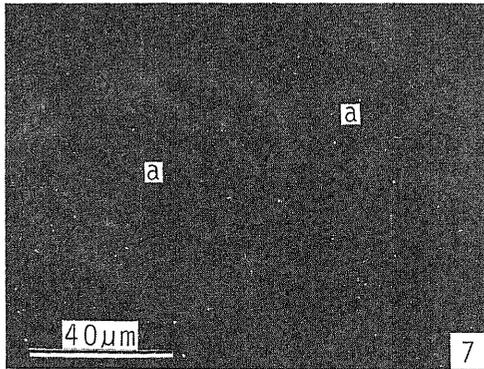


Photo 7. Catecholamine test in a denervated tarsal gland, 24 hr after superior cervical ganglionectomy. Note complete disappearance of catecholamine fluorescence. a, acinus of tarsal gland. FGS method, $\times 480$.

真7)。この所見は、腺板腺には、その終末部に多量のカテコールアミンを含むいわゆるアドレナリン作動性の無髄神経線維が多数存在して終末を形成し、それらがすべて上頸神経節に由来することを示している。

3) アセチルコリンエステラーゼ活性検出法所見

術後16時間～7日にわたって、腺板腺のアセチルコリンエステラーゼ活性を検したが、腺に分布する神経網のアセチルコリンエステラーゼ活性陽性線維の活性の強度や分布密度には、術後全く変化を認めなかった。

4) 電顕所見

上頸神経節切除後の電顕検出所見において、腺板腺に分布する無髄線維軸索とその終末が、すべてではないが、そのかなり多数のものが、二次変性に陥ることが確認された。すなわち、術後16時間ごろから、神経網の細い神経束中の軸索ならびにその終末のかなり多数に、いわゆる暗調化変性あるいは明調化変性^{20)21)27)~29)}の像が現われ始める。暗調化変性は、軸索あるいはその終末内に、シナプス小胞、ミトコンドリア、神経細管、神経線維などが集簇し、これらの構造物の間を埋める基質の電子密度が大となる変化である。明調化変性は、軸索または終末が腫大し、電子密度が小となった内容物中に、変性産物の断片が散在している変化である。ミトコンドリアの多くは球状に腫大しているが、この変性時期では、クリスタはなお保持されている。軸索膜には断裂が見られない。

術後24時間では、かなり多数の軸索がその終末をも含めて、全長にわたって、完全に上記二様の変化を示す。すなわち、この時期になると、軸索膜に凹凸や断裂が現われ、ミトコンドリアやシナプス小胞の微構造は一部崩壊し、集合して電子密度を増し、全体として

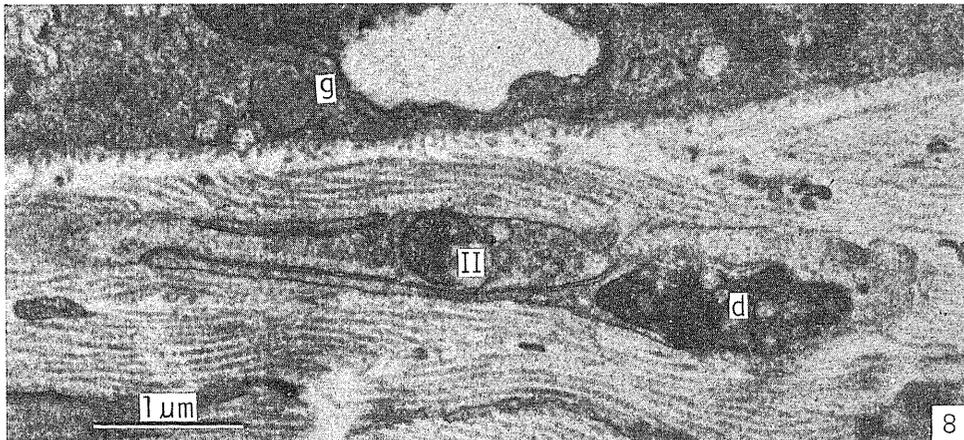


Photo 8. Degenerating axon (d) and surviving Type II axonal expansion (II) located near the glandular cell (g) in a denervated tarsal gland, 24 hr after superior cervical ganglionectomy. $\times 20,000$.

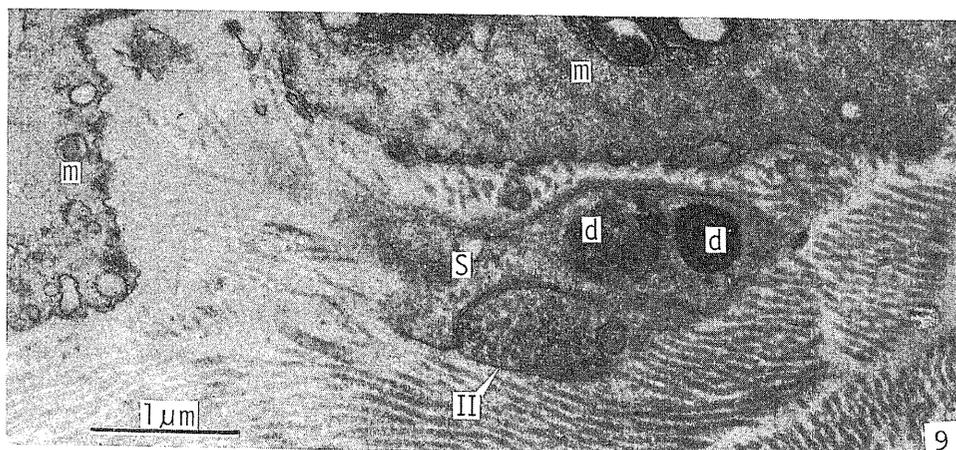


Photo 9. Degenerating axons (d) and surviving Type II axonal expansion (II) located near the smooth muscle cells (m) in a denervated tarsal gland, 24 hr after superior cervical ganglionectomy. S, Schwann cell. $\times 20,000$.

不規則塊状の変性産物と化する。このような軸索およびその終末の二次変性像は、腺細胞の近傍においても(写真8)、また平滑筋細胞の近傍においても(写真9)、同様に認められた。術後2日になると、Schwann細胞はやや肥大し、軸索変性産物の細胞質内への取り込みを示す。すなわち軸索膜は断裂し、変性産物はSchwann細胞の細胞質内に、封入体の状態を呈して存在する。注目すべきことは、術後24時間～2日の間に、神経網を構成する細い神経束において、同一のSchwann細胞が同時に、一方では正常なII型神経終末を保持し、一方では変性に陥った軸索あるいは神経終末の変性産物を細胞質内に含む所見に、しばしば遭遇したことである(写真8, 9)。Schwann細胞内の変性産物は、術後4日で著明に減少し、Schwann細胞は細長い多数の突起を伸ばしている。術後7日では、Schwann細胞内の変性物質は完全に消失している。しかし術後7日の時期においても、神経網の細い神経束に、多数の無髓軸索とこれに由来するII型神経終末が、正常な微構造を保ったまま残存している。

以上のように、上頸神経節切除後24時間～7日の試料で、細い神経束に見いだされた残存している正常な神経終末は、すべてII型終末に属するものであった(写真8, 9)。このことは、上頸神経節切除により、I型神経終末が二次変性に陥ることを意味し、腺板腺に分布する無髓神経線維のうちで、I型神経終末を形成するものが、上頸神経節に由来する交感神経節後線維に属することを示している。

2. 翼口蓋神経節切除後の変化

翼口蓋神経節を切除した後、16時間～7日にわたっ

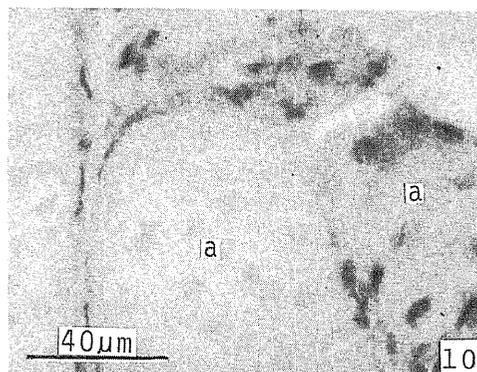


Photo 10. Acetylcholinesterase test in a denervated tarsal gland, 7 days after pterygopalatine ganglionectomy. Note complete disappearance of acetylcholinesterase activity. a, acinus of tarsal gland. Rubenic acid-enhancement method, $\times 480$.

て、経時的に同側の腺板腺を、写真銀法、カテコールアミン蛍光検出法、アセチルコリンエステラーゼ活性検出法、および薄切片の電顕観察によって検索した。

1) 写真銀法所見

翼口蓋神経節切除後、写真銀法標本においては、術後16時間～2日間に、腺内の細い神経束中の無髓軸索の約半数に、染色性の低下や小顆粒への断裂などの二次変性を認め、4日以後消失する。しかし残りの約半数の無髓軸索は、術後16時間～7日にわたって、全く変性を示さなかった。

2) カテコールアミン蛍光検出法所見

正常な腺板腺内の細い神経束に見られたカテコールアミン蛍光は、術後16時間～7日にわたって、全く変化を示さなかった。

3) アセチルコリンエステラーゼ活性検出法所見

上記の蛍光所見とは対照的に、腺内の細い神経束中のアセチルコリンエステラーゼ活性陽性線維は、翼口蓋神経節切除後 16 時間ころから、活性は完全に消失した(写真 10)。この実験結果は、腺板腺に分布するコリン作動性神経線維が、すべて翼口蓋神経節に由来することを示している。

4) 電顕所見

電顕観察においては、翼口蓋神経節切除後 24 時間で、腺細胞の近傍においても(写真 11)、また平滑筋細胞の近傍においても(写真 12)、細い神経束の多数の無髄神経軸索とその終末に、二次変性像が見いだされた。術後 24 時間～7 日の試料においては、二次変性に陥ることなく正常な微構造を保っている軸索および神経終末も、多数見いだされたが、これらの残存した神経終末はすべて I 型神経終末に属し、正常な微構造を保つ

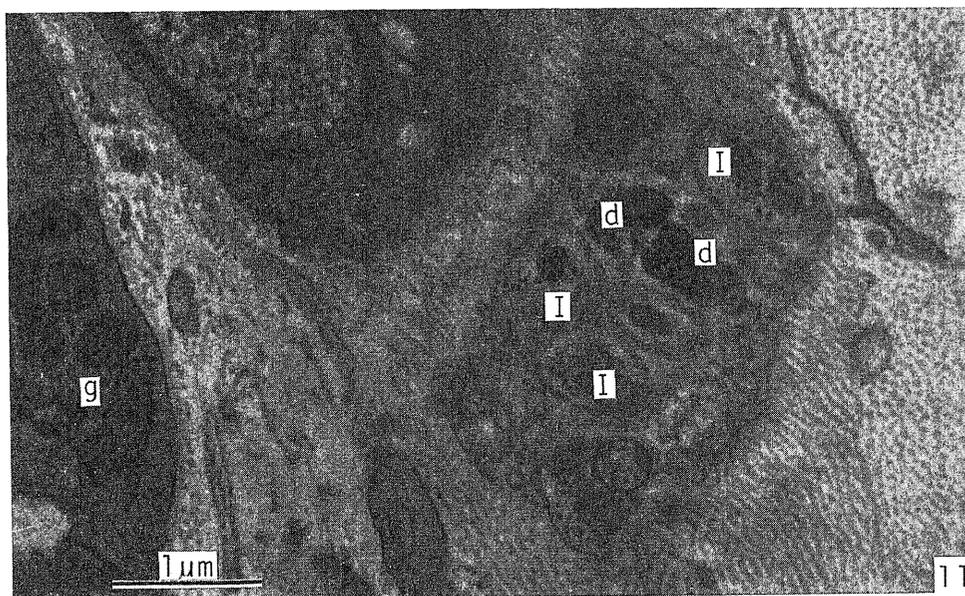


Photo 11. Degenerating axons (d) and surviving Type I axonal expansions (I) located near the glandular cell (g) in a denervated tarsal gland, 24 hr after pterygopalatine ganglionectomy. $\times 20,000$.

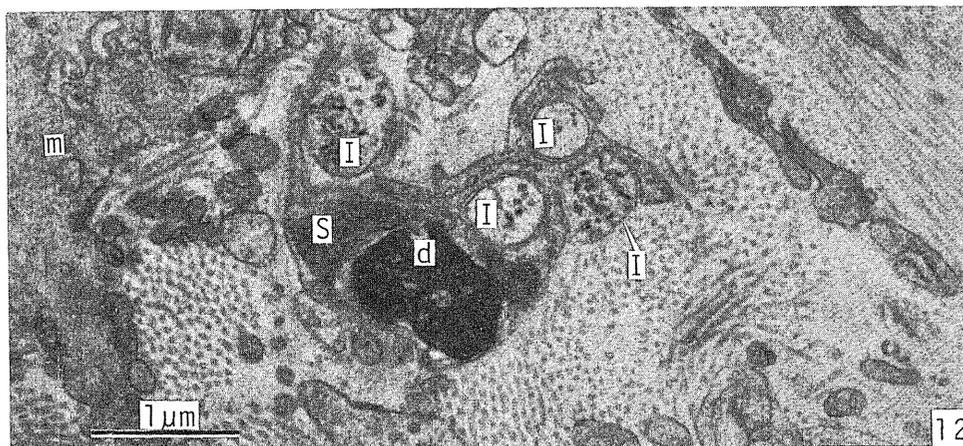


Photo 12. Degenerating axon (d) and surviving Type I axonal expansions (I) located near the smooth muscle cells (m) in a denervated tarsal gland, 24 hr after pterygopalatine ganglionectomy. S, Schwann cell. $\times 20,000$.

II型終末は全く見いだすことができなかった(写真11, 12)。またしばしば、同一の Schwann 細胞が同時に、一方では正常な I 型神経終末を保持し、一方では変性に陥った軸索あるいは神経終末の変性産物を細胞質内に含んでいる所見に接した(写真11, 12)。以上の事実は、翼口蓋神経節切除によって、II型神経終末が二次変性に陥ることを意味し、瞼板腺に分布する無髄神経線維のうちで、II型神経終末を形成するものが、翼口蓋神経節に由来する副交感神経節後線維に属することを示している。

なお以上の二次変性所見は、上瞼板腺と下瞼板腺でほぼ同様で、両者の間に大差を認めなかった。

考 察

Montagna⁴⁾は、ヒト、サル、モルモット、ウサギ、ネコ、イヌ、ウマで、瞼板腺にコリンエステラーゼ活性陽性の神経線維が分布していることを、初めて見いだした。しかしその神経終末の微構造については触れていない。彼らは、この種の神経線維が、フィズスチグミンによって反応が阻害される特異的なコリンエステラーゼを含むことを見だし、腺細胞に作用するコリン作動性神経線維であると判断した。彼らは連続切片によって、この種の神経線維を、瞼板腺から中枢側へ追求し、これが滑車下神経あるいは涙腺神経を經由して、瞼板腺に来ることを見だし、この神経線維が、三叉神経、動眼神経、あるいは上頸神経節のいずれかに由来するであろうと推測し、今日からみると荒唐無稽な説であるが、瞼板腺に分布しているコリン作動性神経線維が、上頸神経節に由来する可能性が大であると述べている。しかし彼らのコリン作動性神経線維の由来に関する説は、全く実証知見に欠けている。

その後、Ehinger⁵⁾はラットとマウスの瞼板腺に、カテコールアミン蛍光陽性の神経線維が分布していることを見いだした。彼は同時に、瞼板腺内に平滑筋細胞が存在することを見だし、このアドレナリン作動性神経線維が、腺内の平滑筋細胞を支配していると推論した。彼はまた、頸部交感神経幹を切除すると、腺内のカテコールアミン蛍光陽性線維が完全に消失するという知見をえ、瞼板腺に分布するアドレナリン作動性神経線維が、頸部交感神経幹に由来することを明らかにした。しかし彼はこの種神経線維の終末の微構造や終末部位については、何ら触れていない。

今回の著者の検索において、組織化学的に、瞼板腺内に分布する細い神経束からなる神経網には、カテコールアミン蛍光陽性線維と、アセチルコリンエステラーゼ活性陽性線維とが、共に分布していることが確認された。また電顕観察によって、光顕所見に見いだ

される無髄神経線維軸索の腫大部が、局所的に Schwann 細胞の被鞘を欠いて組織腔に露出し、いわゆる遠距離シナプスの型の神経終末であることが判明した。さらにこの腺内の神経終末が、その内部に含まれるシナプス小胞の種類によって、多少とも小顆粒性シナプス小胞を含む I 型神経終末と、無顆粒性シナプス小胞を含まない II 型神経終末とに、区分されることが明らかとなった。

また今回行った神経節切除実験において、上頸神経節切除により、カテコールアミン蛍光陽性線維が消失するとともに、I 型神経終末が二次変性に陥り、これに対して、翼口蓋神経節切除により、アセチルコリンエステラーゼ活性陽性線維が消失するとともに、II 型神経終末が二次変性に陥ることが判明した。これらの所見は、I 型神経終末が上頸神経節由来のアドレナリン作動性神経線維のシナプス終末であり、II 型神経終末が翼口蓋神経節由来のコリン作動性神経線維のシナプス終末であることを示している。著者の二次変性実験の結果は、瞼板腺に分布するアドレナリン作動性神経線維が、頸部交感神経幹に由来するとの Ehinger⁵⁾の実験知見を再確認し、さらに神経線維の終末の微構造と終末部位の実態を明らかにしたものである。また著者がえた今回の知見は、瞼板腺のコリン作動性神経線維が上頸神経節に由来するとする Montagna⁴⁾の推測を、明確に否定するものである。

今回の著者の電顕検索によると、瞼板腺内における、I 型神経終末と II 型神経終末の出現頻度は、腺細胞の近傍では I 型：II 型の比が 1：4 の割合で分布し、平滑筋細胞の近傍では 7：3 の割合で分布していた。Ehinger⁵⁾は、瞼板腺内のアドレナリン作動性神経線維が、平滑筋細胞のみを支配していると述べているが、今回の知見は彼の説が誤っていることを明示したものと見えよう。瞼板腺においては、腺細胞も平滑筋細胞も、共にアドレナリン作動性神経とコリン作動性神経とにより、二重支配を受けているが、腺細胞に対してはコリン作動性神経の分布が優位であり、平滑筋細胞に対してはアドレナリン作動性神経の分布が優位であると考えらるべきであろう。

Uno⁴⁰⁾は、サルの頭皮の立毛筋にカテコールアミン蛍光陽性線維が分布していることを見いだした。彼らはさらに電顕観察によって、立毛筋筋線維の間に、小顆粒性小胞を含む軸索終末と、主として無顆粒性小胞を含む軸索終末との、二種の軸索終末を見いだした。彼らによると、6-ハイドロオキシドーパミン投与によって、上記のカテコールアミン蛍光陽性線維が消失し、同時に、小顆粒性小胞を含む軸索終末が二次変性に陥るといふ。彼らは以上の知見から、立毛筋がアド

レナリン作動性神経とコリン作動性神経とによる二重支配を受けていると考えた。今回著者が明らかにした腺板腺内の平滑筋細胞に対する自律神経の二重支配様式は、Unoら³⁰⁾が立毛筋の神経支配に関して推測した様式に、極めて類似している。よく知られているように、立毛筋は皮脂腺と密接な位置的相関を示し、立毛筋の収縮は皮脂腺からの分泌物の排泄を促す。腺板腺内の平滑筋繊維にも、立毛筋の機能に類似する機能があると推測される。

結 論

腺板腺内の自律神経終末の微構造、由来、および分布密度を、正常ならびに上頸神経節あるいは翼口蓋神経節を切除したマウスについて検索し、次の結果をえた。

1. 腺板腺は、滑車上神経、滑車下神経、頬骨神経の頬骨側頭枝と頬骨顔面枝、および涙腺神経から、神経線維の供給を受けている。

2. 腺板腺に達した神経線維は、無髄神経線維の小束からなる神経網を、腺房間の間質中に形成する。無髄線維の軸索は、その走路の所々で、瘤状に腫大した神経終末を形成する。

3. 上記の神経網に、カテコールアミン蛍光とアセチルコリンエステラーゼ活性とが認められる。上頸神経節切除後カテコールアミン蛍光が消失し、翼口蓋神経節切除後アセチルコリンエステラーゼ活性が消失する。

4. 腺房間の神経網に見られる軸索腫大部は、局所的に Schwann 細胞の被鞘を欠き、腺細胞あるいは平滑筋細胞に対して、0.1~1.0 μm の隔たりをもって対面しており、いわゆる遠距離シナプスの特徴を示す。

5. 瘤状腫大神経終末は、小顆粒性シナプス小胞を含む I 型神経終末と、無顆粒性シナプス小胞を含む小顆粒性シナプス小胞を含まない II 型神経終末とに区分される。上頸神経節切除後 I 型終末が二次変性に陥り、翼口蓋神経節切除後 II 型終末が二次変性に陥る。

6. I 型終末は上頸神経節由来のアドレナリン作動性神経線維のシナプス終末であり、II 型終末は翼口蓋神経節由来のコリン作動性神経線維のシナプス終末である。

7. I 型終末と II 型終末の腺内における分布比は、腺細胞の近傍では約 1 : 4 であり、平滑筋細胞の近傍では約 7 : 3 である。

謝 辞

稿を終るにあたって、御指導と御校閲を賜った恩師本陣良平教授に深甚の謝意を表します。また本研究遂行に

あたり御協力をいただきました山下利夫助教授、宮下鎮憲技官に深謝いたします。また電子顕微鏡室の西村竹治郎、山口稔毅、山口浩明の各氏に厚く御礼を申し上げます。

文 献

- 1) 中西国太郎：人体皮脂腺及び立毛筋に分布せる微細神経線維に就て。皮膚誌, 30, 1134-1137 (1930).
- 2) Champy, H., Coujard, R. & Coujard-Champy, Ch.: L'innervation sympathique des glandes. Acta Anat. (Basel), 1, 233-284 (1945/46).
- 3) Hurley, H. J. Jr., Shelley, W. B. & Koelle, G. B.: The distribution of cholinesterases in human skin, with special reference to eccrine and apocrine sweat glands. J. Invest. Dermatol., 21, 139-147 (1953).
- 4) Montagna, W. & Ellis, R. A.: Cholinergic innervation of the Meibomian glands. Anat. Rec., 135, 121-127 (1959).
- 5) Miraglia, T. & Comes, N. F.: The meibomian glands of the marmoset (*Callithrix jacchus*). Acta Anat. (Basel), 74, 140-113 (1969).
- 6) Ehinger, B.: Ocular and orbital vegetative nerves. Acta Physiol. Scand., 67, Suppl. 268, 1-35 (1966).
- 7) Leeson, T. S.: Tarsal (meibomian) glands of the rat. Br. J. Ophthalmol., 47, 222-231 (1963).
- 8) Jester, J. V., Nicolaidis, N. & Smith, R. E.: Meibomian gland studies: histologic and ultrastructural investigations. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci., 20, 537-547 (1981).
- 9) Honjin, R.: Studies on the nerve endings in the small intestine. Cytol. Neurol. Stud., 9, 1-14 (1951).
- 10) 羽岡直樹：マウス頬筋の神経支配、特に運動終板の超微構造とその顔面神経切断後の変化。十全医会誌, 84, 135-158 (1975).
- 11) Furness, J. B., Costa, M. & Wilson, A. J.: Water-stable fluorophores, produced by reaction with aldehyde solutions, for the histochemical localization of catechol- and indolethylamines. Histochemistry, 52, 159-170 (1977).
- 12) Nakamura, T.: Application of the Faglu method (Furness et al.) for the histochemical demonstration of catecholamine to the cryostat section method. Acta Histochem. Cytochem., 12, 182 (1979).
- 13) Karnovsky, M. J. & Roots, L.: A "direct-

- coloring" thiocholine method for cholinesterases. *J. Histochem. Cytochem.*, **12**, 219-221 (1964).
- 14) Nakamura, T. & Torigoe, K.: Simultaneous visualization of catecholamine fluorescence and cholinesterase activity in the peripheral autonomic nerve. *Acta Histochem. Cytochem.*, **12**, 569 (1979).
- 15) Tranzer, J.-P. & Richards, G.: Ultrastructural cytochemistry of biogenic amines in nervous tissue: Methodologic improvements. *J. Histochem. Cytochem.*, **24**, 1178-1193 (1976).
- 16) 佐藤泰山: 超薄切片用鉛染色法の一改良法. *J. Electron Microsc. (Tokyo)*, **17**, 158-159 (1968).
- 17) 大和一夫: Chromatolysis の電子顕微鏡的解析. 十全医会誌, **60**, 510-528 (1958).
- 18) Jabonero, V.: Die plexiforme Synapse auf Distanz und die Bedeutung der sogenannten interkalären Zellen. *Acta Neuroveg. (Wien)*, **19**, 276-302 (1959).
- 19) Honjin, R., Takahashi, A. & Tasaki, Y.: Electron microscopic studies of nerve endings in the mucous membrane of the human intestine. *Okajimas Folia Anat. Jap.*, **40**, 409-427 (1965).
- 20) 山下利夫: マウス瞼板筋の神経支配について. 十全医会誌, **88**, 262-286 (1979).
- 21) Yamashita, T. & Honjin, R.: Fine structure, origin, and distribution density of the autonomic nerve endings in the tarsal muscles in the eyelid of the mouse. *Cell Tissue Res.*, **222**, 456-465 (1982).
- 22) Yamashita, T., Takahashi, A., Tanaka, H. & Honjin, R.: Innervation of the orbital muscle of the mouse. *Okajimas Folia Anat. Jap.*, **58**, 543-553 (1982).
- 23) 田中広昌: マウス眼窩筋の構造と神経支配. 十全医会誌, **91**, 1-20 (1982).
- 24) 河池直人: マウス Harder 腺の構造と神経支配. 十全医会誌, **91**, 744-763 (1982).
- 25) 井上正雄: マウス耳下腺の構造と神経支配. 十全医会誌, **93**, 534-549 (1984).
- 26) Richardson, K. C.: The fine structure of autonomic nerve endings in smooth muscle of the rat vas deferens. *J. Anat. (Lond.)*, **96**, 427-442 (1962).
- 27) 山田光興: 骨盤内臓神経と骨盤神経節の電子顕微鏡的研究. 十全医会誌, **79**, 214-237 (1970).
- 28) 本陣良平: 末梢神経損傷, 形態学的立場より. 日医会総会誌, **19**, 925-928 (1975).
- 29) 中泉裕子: マウス外涙腺の神経支配, 特に腺内神経終末の超微構造と導管伴行神経束切断後の神経終末および腺細胞の変化について. 十全医会誌, **86**, 686-713 (1977).
- 30) Uno, H. & Montagna, W.: Catecholamine-containing nerve terminals in piloerector muscles of stump-tailed macaques (*Macaca arctoides*) and the effects of local injection of 6-, and 5-hydroxy-dopamine. *Anat. Rec.*, **185**, 49-62 (1976).

Fine Structure, Origin, and Distribution Density of the Autonomic Nerve Endings in the Tarsal Gland of the Mouse Shozo Mizoguchi, Department of Anatomy, School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa, 920 - *J. Juzen Med. Soc.*, **93**, 843-854 (1984)

Key words: Tarsal gland, Adrenergic nerve fibers, Cholinergic nerve fibers, Mouse

Abstract

The present study was pursued to examine the fine structure, origin, and distribution density of the autonomic nerve endings in the tarsal gland of the mouse. When studied after histochemical methods, the fine nerve plexus in the normally innervated gland shows both catecholamine-positive varicose fibers and acetylcholinesterase-active varicose fibers. After superior cervical ganglionectomy, the catecholamine-positive fibers disappear, while after pterygopalatine ganglionectomy, the acetylcholinesterase-active fibers vanish. In electron micrographs, the varicosities are revealed as axonal expansions containing many synaptic vesicles. The axonal expansions partially lack a Schwann cell sheath and directly face the glandular cells or the interstitial smooth muscle cells. A relatively wide tissue space, 0.1 to 1.0 μm in width, lies between the axonal expansion and the glandular cell or smooth muscle cell. The expansions can be classified into two types: Type I, those having small granular synaptic vesicles, and Type II, those having

agranular synaptic vesicles. Type I undergoes degeneration after superior cervical ganglionectomy, while Type II degenerates after pterygopalatine ganglionectomy. This indicates that Type I corresponds to the synaptic ending of the adrenergic fiber originating in the superior cervical ganglion, and Type II to the synaptic ending of the cholinergic fiber derived from the pterygopalatine ganglion. The ratio of Type I to Type II in number was 1:4 in nerve bundles located around the glandular acini, and 7:3 in nerve bundles located among the smooth muscle cells.