

マウス眼窩筋の構造と神経支配

| | |
|-------|---|
| 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/2297/8953 |

マウス眼窩筋の構造と神経支配

金沢大学医学部解剖学第一講座 (主任: 本陣良平教授)

田 中 広 昌

(昭和56年12月9日受付)

マウス眼窩筋の構造と神経支配を、可視光顕微鏡、蛍光顕微鏡、および電子顕微鏡観察により検索した。眼窩筋は、平滑筋組織から成る比較的小さな筋腹と多量の弾性線維を含む大きな膜状の腱とを有し、眼窩内容全体を包むように広がっている。平滑筋細胞の表面は、交互に位置する2種の領域、小窩密集領域と小窩欠落領域とに分化している。後者は、1層の基底膜のみを含む約400Åの細隙を介して、隣の細胞の同種な領域と密接する。平滑筋細胞間に少数ながら gap junction が見いだされた。写真銀法によると、眼窩筋は眼窩後神経叢、前篩骨神経、および頬骨神経の頬骨顔面枝のそれぞれから筋に至る小枝を通じて無髄神経線維を受けている。これらの神経線維は、筋腹の眼窩面ならびに眼球面に線維束の網を形成し、その網の中を走る際、多数の瘤状の腫大を示す。組織化学的検索は、眼窩筋に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の存在を示した。筋の後部では前者が後者より多く、前部では前者のみが見いだされた。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した。鼻毛球体神経ならびに頬骨神経の切断後、筋の前部のカテコールアミン蛍光陽性線維が消失した。電顕写真には、上記の神経線維の瘤状部が、多数のシナプス小胞を含む軸索腫大部として現われる。腫大部は Schwann 鞘を失い組織腔に露出している。軸索腫大部と筋細胞との間には、幅0.1~1.0μの比較的大い間隙が存在する。軸索腫大部は、小顆粒性小胞を含むI型と多数の無顆粒性小胞を含むII型との二つの型に区分される。筋の後部においてはI型(筋面積当り $36.4 \pm 13.2/10^4 \mu^2$)がII型($6.6 \pm 4.3/10^4 \mu^2$)より多く、前部ではI型($37.5 \pm 9.6/10^4 \mu^2$)のみが存在する。上頸神経節切除後、I型が変性に陥り、翼口蓋神経節切除後、II型が変性する。以上の所見は、I型軸索腫大部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型腫大部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。

Key words 平滑筋細胞, アドレナリン作動性神経, コリン作動性神経, 眼窩筋

Horner 症候群は、眼瞼下垂、眼球後退、および瞳孔縮小を3主徴とする症候群として、臨床的に良く知られ、Horner¹⁾以来眼窩内平滑筋に分布する交感神経の麻痺がその原因であると考えられてきた。しかし、眼窩内平滑筋の構造とその神経支配に関しては、これまで系統的な検索がなく、断片的な報告を見るにすぎなかった。さきに当教室の山下²⁾は、マウスの眼窩内平滑筋の一つである瞼板筋の構造および神経支配を検索し、その結果を報告した。今回の著者の研究は、眼窩内のいま一つ重要な平滑筋である眼窩筋の構造と神経

支配を解明せんとするものである。

眼窩筋は、Müller³⁾によって、ヒトおよび種々の哺乳類において、下眼窩裂を閉じる平滑筋として初めて記載された。その後、眼窩筋は Ernyei⁴⁾、和佐野⁵⁾、Rohen⁶⁾、Welt⁷⁾、および Vermeij-Keers⁸⁾によりヒトで、永井¹⁰⁾によりウサギで、Page¹¹⁾によりラットで、その存在が確認された。しかし、眼窩筋は薄弱なうえに、広範な広がりをもつために、剖出が困難で、その形態の詳細はいまだ明確でない。また、眼窩筋の微構造はこれまで報告されていない。眼窩筋の神経支配に関しては、

Structure and Innervation of the Orbital Muscle of the Mouse. Hiromasa Tanaka, Department of Anatomy (Director: Prof. R. Honjin), School of Medicine, Kanazawa University.

永井¹²⁾のメチレンブルー生体染色法によるウサギ眼窩筋の報告と、Ehinger¹³⁾とPage¹¹⁾のラットなどの眼窩筋の組織化学的検索結果の報告があるにすぎない。電子顕微鏡（以下電顕と略）レベルの微構造検索や二次変性実験に基づく報告はいまだこれを見ない。

今回著者は、連続切片の可視光顕微鏡（以下光顕と略）所見から再構築観察の可能なマウス眼窩筋について、その形態ならびにこれに分布する神経の走路を検し、ついで、眼窩筋とその筋内神経終末の微構造に関して神経染色、組織化学的検索、および電顕観察によって検した。なお、眼窩筋支配神経の由来、走路、および終末を確認するため、各種の神経切断実験を行った。

材料と方法

純系成熟KH-1種マウス (*Mus wagneri* var. *albula*) を実験動物として用いた。

光顕再構築法により眼窩筋の形態を検するため、切断したマウス頭部を70%エタノール75 ml・ホルマリン20 ml・氷酢酸5 mlの混液に2日間浸漬固定し、Plank-Rychlo液¹⁴⁾で脱灰、セロイジンに包埋、前頭断、矢状断、あるいは水平断の30 μ 連続切片を作製した。切片には、1) ヘマトキシリン・エオジン染色、2) レゾルチン・フクシン染色を施した。

眼窩筋に分布する外来神経の走行を、光顕再構築法によって検するため、諸神経を含む次の3箇所を組織を試料とした。1) 動眼神経や三叉神経などの眼窩へ向かう脳神経を含む頭蓋底の組織。2) 翼口蓋神経節や上顎神経を含む翼口蓋窩内の組織。3) 眼窩筋に分布する神経を含む眼窩内容。これらの間に介在する薄い骨壁をピンセットで除去することにより、上記3箇所の組織を連続した一塊の軟部組織として取り出し、本陣写真銀法¹⁵⁾（以下写真銀法と略）による連続切片を作製した。この方法によると、神経細胞体および神経線維軸索が褐色ないし黒色に特異的に染色される。

眼窩筋内の神経要素の組織化学的的特性の検索は、次の3法によった。1) 写真銀法¹⁵⁾。2) カテコールアミン蛍光検出のためのFaglu法¹⁶⁾を改変したFGS法¹⁷⁾。FGS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。3) アセチルコリンエステラーゼ検出のためのチオコリン法¹⁸⁾を改良したルベアン酸増強法¹⁹⁾。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黒色に特異的に検出される。なお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の分布密度を検するため、眼窩筋を伸展標本とし、上記と同様の処置を施して比較検討した。

眼窩筋の電顕検索には、眼窩筋を含む眼窩内容を一

括して取り出し、25%グルタルアルデヒド1 ml・8%パラホルムアルデヒド6 ml・0.2 M 磷酸緩衝液8 ml・Tyrode液10 mlからなる固定液に浸し、固定液中で微解剖して、眼窩筋の種々な部を含む小片を切り出し、ついで同固定液と2%オスミウム酸水溶液との等量混液に4°Cで2時間固定（以下アルデヒド固定と略）、エタノール系列で脱水、エポン812に包埋、LKB 4800 A ウルトロトームによって薄切片を作製した。同時に約1 μ の切片を作り、トルイジンブルー染色²⁰⁾を施し、光顕検索による組織部位の同定に資した。薄切片の電子染色は、1) 酢酸ウラニル・鉛二重染色法²¹⁾、2) タンニン酸染色法²²⁾によった。写真撮影はHU-12型あるいはH-500型電顕によった。上記アルデヒド固定法のほか、筋内神経終末部の検索には、Tranzerらの重クロム酸固定法²³⁾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。

眼窩筋支配神経の起源検索を目的とする二次変性実験のため、実体顕微鏡を用いて、下記4種の神経・神経節の切断あるいは切除実験が行なわれた。1) 上顎神経節の切除。2) 翼口蓋神経節の切除。3) 鼻毛様体神経の切断。4) 頬骨神経の切断。手術に際して、塩化チオペンタール腹腔内注射(0.1 mg/g)による麻酔が施された。上顎神経節切除は、内頸動脈と頭長筋との間を広げて、上顎神経節を確認して切除した。翼口蓋神経節切除は、上顎骨の歯槽突起を3本の臼歯と共に切除することによって翼口蓋神経節を確認し、これを切除した。鼻毛様体神経切断には、上斜筋の滑車を骨壁から離断し、眼窩内容と眼窩内側壁との間を広げ、鼻毛様体神経を確認し、これを切断した。頬骨神経の場合は、側頭筋を切開し、眼窩内容と側頭筋との間を広げ、頬骨神経を確認して、これを切断した。上記の手術後、16, 24時間, 2, 4, 7日間生存させたマウスから、眼窩筋を採り、以下正常な場合と同様に試料を処置し、術後の変化を検した。

成 績

I. マウス眼窩筋の形態と筋に分布する外来神経の走行

1. マウス眼窩筋の形態

マウス眼窩筋は眼窩の上内側壁で、後方は眼窩のほぼ中央から、前方は滑車および涙丘にわたる線上に起こり、内涙腺以外の眼窩内容全体をその上面、外側面、ついで下面から包み、眼窩の内側壁で上記の起始線の下縁に終る大きな嚢状に広がった平滑筋で、腱組織が大きく、筋組織は比較的小さい(図1)。眼窩筋は、筋組織からなる筋腹の小さな後部と筋組織からなる筋腹

の比較的大きな前部とに区分される。

眼窩筋の後部は、眼窩の上内側壁から起こり（写真1）、眼窩静脈洞と側頭筋との間を走り（写真2）、つぎに眼窩静脈洞と外側翼突筋ないし咬筋との間を通り、眼窩内側壁に終る（写真3）。後部の筋腹は、眼窩の下外側部に位置し、その外側に側頭筋、下外側に外側翼突筋と咬筋がある（写真2）。

眼窩筋の前部は滑車軟骨と涙丘の上縁、および上涙小管から起こり、眼球赤道部のわずか後方で眼球を上方から下方へ、眼球の外側面を取り囲み、滑車軟骨と涙丘の下縁、および下涙小管に終る。眼窩筋前部の上部ならびに外側部は、その前縁において上眼瞼挙筋、瞼板筋、および眼窩隔膜に接着する（写真5）。眼窩筋前部の下部は内涙腺の上面をおおって前方へ広がり、眼窩下縁に付着する（写真6）。眼窩筋前部の筋腹は眼球の下側に位置する。この筋腹以外にも、前部の滑車軟骨の下縁近くに少量の平滑筋組織がある。

眼窩筋は、眼窩静脈洞と頭部の静脈系とを連結する数本の交通静脈²⁴⁾や Harder 腺に進入する神経束によって貫かれている。涙腺動脈、頬骨神経とその末梢枝、眼窩上動脈、前頭神経、および下斜筋も眼窩筋を貫いて走る（図1）。

2. 眼窩筋に分布する外来神経の走行

写真銀法による神経軸索染色を施した連続切片の描画再構築法によって神経の分布を追及すると、眼窩筋は次の3種の細い神経枝を受けることが判明した。1) 眼窩後神経叢²⁵⁾からの枝（図2, b 1）、2) 前篩骨神経の枝（図2, b 2）、3) 頬骨神経の頬骨顔面枝からの枝（図2, b 3）。

眼窩後神経叢は、上眼窩裂のすぐ前方で外転神経と眼神筋との間に位置し、上頸神経節から起こる内頸動脈神経の末梢枝と翼口蓋神経節の眼窩枝とを受ける。眼窩後神経叢は、鼻毛様体神経、頬骨神経などへ交通枝を送るほか、眼窩筋へ2~3本の神経枝を分かつ。

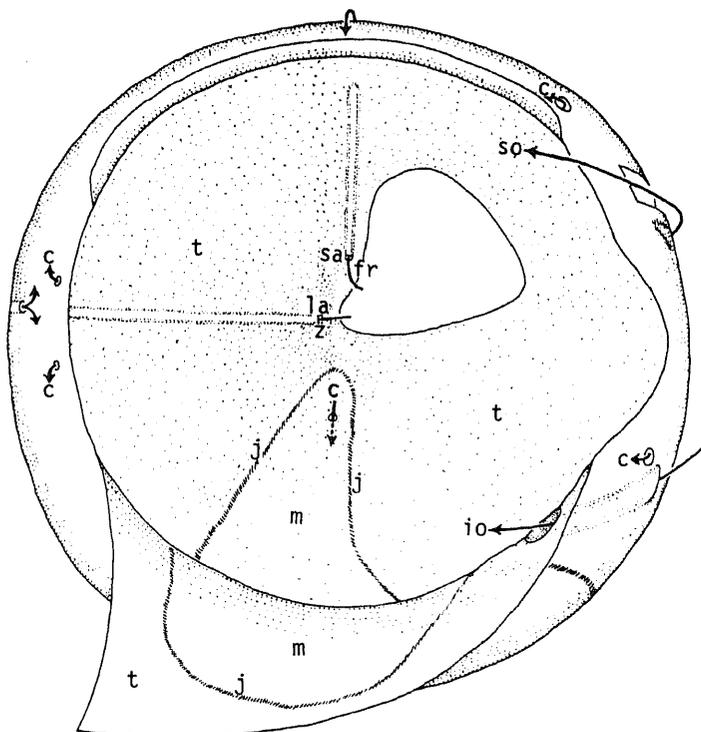


Fig. 1. Diagrammatic representation of the frontal view of the spatial aspect of the orbital muscle of the mouse. Lines marked j indicate the muscle (m)-tendon (t) junction of the orbital muscle. Arrows represent the running courses of the veins (c) connecting the orbital venous sinus with the venous system of the head, the lacrimal artery (la), the zygomatic nerve (z), the supraorbital artery (sa), the frontal nerve (fr), the superior oblique muscle (so), and the inferior oblique muscle (io).

眼窩筋への神経枝は、眼窩と側頭下窩との境を通過して眼窩筋後部の筋腹に達し、その部に分布する。

鼻毛様体神経は、眼窩後神経叢からの交通枝を受けた後、眼窩内側部で分岐して前篩骨神経と滑車下神経とに分かれる。このうち前篩骨神経は前篩骨孔に入るが、その直前で1~2本の小枝を分かち、この小枝が、前下走して眼窩筋前部の筋腹に分布する。

頬骨神経は、眼窩後神経叢からの交通枝を受けた後、眼窩筋の外側部の腱の中を通過して外眼角へ向かうが、この際、頬骨顔面枝と頬骨側頭枝とに分かれる。このうち頬骨顔面枝が、外眼角の近くで眼窩筋前部へ達する1~2本の小枝を出す。残余は下瞼板筋へ小枝を送るほか、眼窩隔膜を貫き、下眼瞼の外側部や頬骨部の

皮膚へ去る。

II. マウス眼窩筋ならびに筋内神経線維の微構造

1. 光顕所見

1) 眼窩筋の構造

眼窩筋の後部ならびに前部の平滑筋組織は厚さ約20~30 μ で、5~10層の平滑筋細胞と比較的少量の間質とからなる。眼窩筋の起始腱ならびに停止腱には膠原線維の間に多量の弾性線維が含まれている(写真8)。眼窩筋が眼窩静脈洞を囲む部では、その筋腹と腱は眼窩静脈洞の内皮に密接し、あたかも眼窩静脈洞の壁であるかのような構造を呈する(写真4, 17)。

平滑筋細胞は、弛緩状態で長さ約100 μ 、直径約5 μ の長紡錘形を呈し、そのほぼ中央に長楕円形の核を有

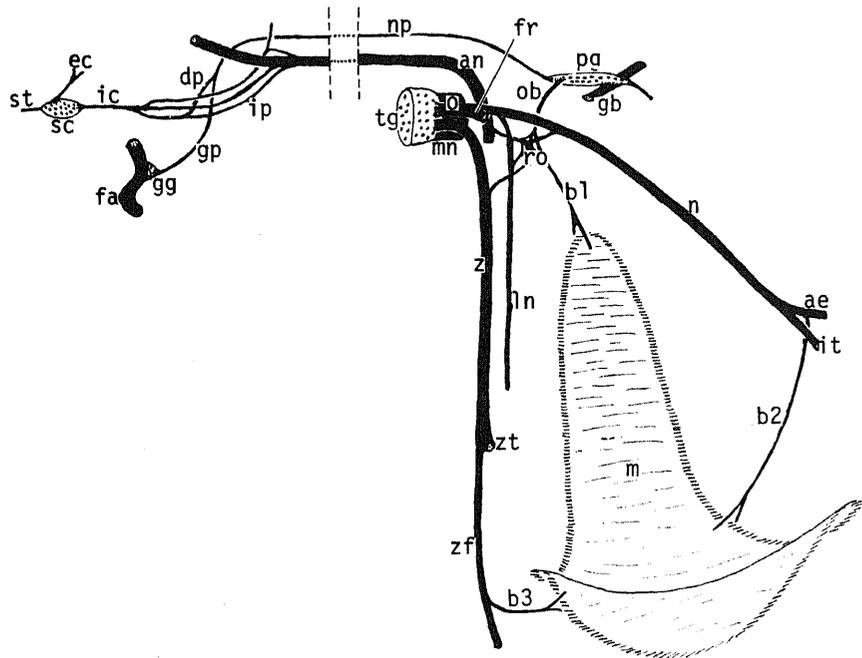


Fig. 2. Diagrammatic representation of the dorsal view of the nerve branches supplied to the orbital muscle, and their topographical relation to the nerves of the orbit. ae: anterior ethmoidal nerve, an: abducent nerve, b1: branches from retro-orbital nerve plexus, b2: branches from anterior ethmoidal nerve, b3: branches from zygomaticofacial nerve, dp: deep petrosal nerve, ec: external carotid nerve, fa: facial nerve, fr: frontal nerve, gb: ganglionic branch of maxillary nerve, gg: geniculate ganglion, gp: greater petrosal nerve, ic: internal carotid nerve, ip: internal carotid plexus, it: infratrochlear nerve, ln: lacrimal nerve, m: belly of orbital muscle, mn: maxillary nerve, n: nasociliary nerve, np: nerve of pterygoid canal, o: ophthalmic nerve, ob: orbital branches of pterygopalatine ganglion, pg: pterygopalatine ganglion, ro: retro-orbital nerve plexus, sc: superior cervical ganglion, st: sympathetic trunk, tg: trigeminal ganglion, z: zygomatic nerve, zf: zygomaticofacial nerve, zt: zygomaticotemporal nerve.

する。核は長径約 25μ 、短径約 2μ で、内部に $1 \sim 3$ 個の核小体を含む。収縮状態では、核はやや短縮し、ラセン状のくびれを生ずる (写真 7)。

2) 筋内神経線維の構造と組織化学的特性

写真銀法によると、既に述べた眼窩筋に至る神経枝は、いずれも多数の無髄神経線維からなり、有髄線維を含まない。これらの神経枝は筋腹に達すると多くの細枝に分かれ、膜状を呈する筋腹の眼窩面ならびに眼球面に沿って網状に広がる。軸索は、この神経網の中を走る際、多数の瘤状の腫大を示し (写真 9)、一部の軸索は筋細胞間に入る。

FGS 法によりカテコールアミン蛍光を検すると、眼窩筋にはカテコールアミン蛍光陽性の神経網が見いだされ、その分布は筋腹全域に及んでいる。蛍光は、神経網を構成する神経線維の瘤状腫大部で特に著しい (写真 10, 11)。その形態特徴から、カテコールアミン蛍光によって見いだされるこの神経網は、上記の写真銀法に見られた無髄線維の神経網にほぼ一致する。

ルベアン酸増強法によりアセチルコリンエステラーゼ活性を検すると、眼窩筋の後部筋腹に活性陽性の神経網が見いだされたが (写真 13, 14)、その分布は後部筋腹に限局しており、前部筋腹にはアセチルコリンエステラーゼ活性を検出し得なかった (写真 16)。後部筋腹に見られるアセチルコリンエステラーゼ活性は神経線維の走行に沿って認められるが、特にその瘤状腫大部において著明である。眼窩筋後部に広がるこのようなコリンエステラーゼ陽性の神経網の分布密度は、上記のカテコールアミン蛍光陽性の神経網に比し疎であった。このような分布密度の差は、伸展標本と比較するとさらに明瞭である (写真 11, 14)。

2. 電顕所見

1) 眼窩筋の微構造

眼窩筋の平滑筋細胞はピノサイトーシス小胞様の小窩に富んでいるが、この小窩は、細胞表面で縦走する数条の帯状領域に密集している (小窩密集領域)。この小窩密集領域の間には、小窩を欠く領域 (小窩欠落領域) があり、これら両者が交互に配列している。小窩欠落領域では、細胞膜直下の筋筋質内に電子密度大な無構造な物質が集積し、これに筋細線維の集団が接着している。小窩密集領域と小窩欠落領域は、隣接する筋細胞の同種の領域とそれぞれ相対する (写真 18)。この際、小窩密集領域間には約 900 \AA の隔たりを認め、筋細胞はそれぞれこの間隙に面した部に独立した厚さ $100 \sim 200 \text{ \AA}$ の基底膜を有する。なお小窩密集領域では、二つの細胞の表面がしばしば互に入り組み、断面で波状を呈するヒダを示すことがある。また小窩欠落領域が互いに接近し、その間には 1 層の基底膜様の物質

を含む約 400 \AA の細隙を認めるにすぎない部位もある。この場合、対をなす小窩欠落領域は、断面でデスマゾーム様の構造を呈する。また時に、二つの筋細胞の細胞膜間に幅約 0.3μ の gap junction が見いだされた (写真 19)。少数の線維細胞とメラニン色素細胞が平滑筋細胞間に散見された。

眼窩筋の起始腱ならびに停止腱の特徴は、膠原細線維束の間に縦走する多量の弾性線維を含むことで、そのほか少数の線維細胞が存在する (写真 20, 21)。弾性線維は平均直径約 1.2μ で、時に分岐を示す。筋腱移行部においては、弾性線維が幾つかの枝に分かれ、平滑筋細胞の小窩欠落領域に接着している (写真 22, 23)。弾性線維が接着する小窩欠落領域は、しばしば縦走する深い陥凹を示す。

2) 筋内神経線維の微構造

眼窩筋に至る小神経束を電顕で観察すると、薄い神経周膜に包まれて、内部に十数本の無髄神経線維が存在する。この神経線維の超微構造は、従来記載の哺乳類一般末梢神経のそれと同様である²⁰⁾。すなわち、軸索は内部に神経細線維、神経細管、ミトコンドリアなどを含み、外面が軸索膜で限界されている。数本あるいは十数本の無髄軸索が同一の Schwann 細胞内に包み込まれている。

神経束は筋腹に達すると神経周膜を失い、分岐を重ねて細くなり、筋層の表面に沿って走る。この部では、Schwann 細胞に包まれて $1 \sim$ 数本の無髄軸索 (径 $0.15 \sim 0.5 \mu$) が走っているが、軸索は所々で拡張し、径 $0.6 \sim 1.2 \mu$ の腫大部を形成し、しばしばその部で Schwann 細胞の被鞘を脱して外面に露出している (写真 24)。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、あるいはアセチルコリンエステラーゼ活性検出法により光顕下に認められた前記の瘤状の腫大に相当する。

無髄神経軸索の瘤状腫大部は、その内部に多数のシナプス小胞、ミトコンドリア、少数の神経細線維、神経細管、グリコゲン顆粒などを含み、既に述べたように、局所的に Schwann 細胞の被鞘を一部失って、平滑筋組織の組織腔に直接面している (写真 24)。このような組織腔に露出した腫大部は、しばしば平滑筋細胞の小窩密集領域と相対して位置している。しかし、両者の間には 500 \AA 以上 (多くの場合 $0.1 \sim 1.0 \mu$) の組織間隙が存在している。通常、腫大部とこれに対する平滑筋細胞の表面には基底膜が存し、その間に膠原細線維が介在している。軸索腫大部が平滑筋細胞に密接する所見には接しなかった。以上眼窩筋内に見られる無髄軸索腫大部の微構造特徴は、既に他の多くの臓器の平滑筋で観察されたいわゆる遠距離シナプス (Synapse

auf Distanz)^{27)~29)}に相当する。しかし、軸索腫大部の外面を限るシナプス前膜には、少数例でわずかに局所的肥厚を見るほか、特殊な分化した構造は認められなかった。

眼窩筋内の軸索腫大部内に存するシナプス小胞は、Richardson³⁰⁾とHonjinら²⁹⁾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500Åで、中心に電子密度大な顆粒を1個含んでいる。大顆粒性小胞は径約1000Åで、やや大きな顆粒を有する。無顆粒性小胞は径約500Åで、顆粒を含んでいない。眼窩筋で見いだされる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、多少とも小顆粒性小胞を有し、そのほかしばしば無顆粒性小胞と少数の大顆粒性小胞をも含んでいる(写真24, 25)。II型は、多数の無顆粒性小胞のみを有し、時に少数の大顆粒性小胞をも含んでいる(写真26, 27)。アルデヒド固定法を行った場合、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一般に小さく現われ、しばしば小胞の限界膜に接して位置する(写真24)。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、重クロム酸固定法を用いた場合には、神経組織の一般的な微構造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鑑別に便である(写真25, 26, 27)。ただ注意すべきことは、重クロム酸固定による場合、II型終末内の無顆粒性小胞は常に円形を呈するが、I型終末内の小顆粒性小胞と無顆粒性小胞はしばしば楕円形を呈することである。また、II型終末内の大顆粒性小胞の顆粒が比較的小きな電子密度を示すのに対し、I型終末内の大顆粒性小胞の顆粒は、大きな電子密度を示す。以上の理由から、著者は、I型・II型終末の筋内分布密度の検索、ならびに各種の神経切断がこの2種の終末に及ぼす変化の検索に、専ら重クロム酸固定法を使用した。

I型とII型の両神経終末の分布密度を検するため、眼窩筋後部および前部の筋腹からそれぞれ140枚の電顕写真を、直接倍率5,000倍で撮影し、それに現われた終末の数、種類、筋面積当りの出現率を検した。

筋の後部筋腹の薄切片の被検視野の総面積は $3.92 \times 10^4 \mu^2$ で、見いだされた神経終末の数は169例であった。そのうち143例がI型に属し、26例がII型に属した。これらの実測値を筋の単位面積当りの値に換算すると、I型終末の分布密度は 36.4 ± 13.2 (標準偏差)/ $10^4 \mu^2$ であり、II型終末の分布密度は 6.6 ± 4.3 / $10^4 \mu^2$ であった。筋の前部筋腹では、被検視野の総面積 $3.92 \times 10^4 \mu^2$ の中に、147例のI型終末が見いだされ、その分布密度は

37.5 ± 9.6 / $10^4 \mu^2$ であった。前部の筋腹内にはII型終末は全く見いだされなかった。

III. マウス眼窩筋に分布する神経終末の各種神経切断後の変化

1. 上頸神経節切除後の変化

上頸神経節切除後16時間~7日にわたって経時的に眼窩筋を、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、および重クロム酸固定法を用いた電顕観察によって検した。

写真銀法によると、無髓神経軸索は、術後24時間ごろから、軸索の表面がやや粗雑となり、その染色性が赤褐色を呈するものが見られ、やがて多数の無髓軸索が、その染色性を減じて、小顆粒に断裂し、神経節切除4日以後には、正常な無髓線維軸索の数が著しく減少する。このとき、Schwann細胞は核がやや肥大し、細胞質も腫大して、神経束内に並び、いわゆるBüngner束を形成する。この状態でも、変性神経束内に、表面平滑な無髓線維軸索が残存する。

カテコールアミン蛍光検出法によると、正常な筋の神経網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、眼窩筋の全域で完全に消失する(写真12)。この所見は、眼窩筋には、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髓神経線維が多数分布し、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。術後16時間~7日にわたって、眼窩筋のアセチルコリンエステラーゼ活性を検したが、眼窩筋後部の筋腹に分布するアセチルコリンエステラーゼ活性陽性線維の活性の強さや分布密度には、術後全く変化を認めなかった。

電顕検索所見において、上頸神経節切除後、眼窩筋の前部・後部ともに、筋に分布する無髓線維軸索とその終末の大部分が二次変性に陥ることが確認された。すなわち、術後16時間ごろより、筋内の軸索ならびにその終末に次のような二様の変性像が現われ始める。第1は、軸索ないしその終末内に、シナプス小胞、ミトコンドリア、神経細管などが集簇し、それらの構造物の間を埋める基質の電子密度が増大する、いわゆる暗調化変性である。第2は、軸索ないし終末が腫大し、その内部に雲状に変性産物が散在している、いわゆる明調化変性である。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。軸索膜には断裂がみられない^{31)~34)}。

術後24時間では、軸索はその終末も含め全長にわたって、完全に上記二様の変性に陥る。この時期になると、軸索膜に断裂や凹凸が現われ、ミトコンドリアやシナプス小胞の構造は一部崩壊し、電子密度を増し、

全体として不規則塊状の変性産物と化する。

術後2日になると、Schwann細胞はやや腫大し、軸索変性産物の取り込みを示す。すなわち、軸索膜は断裂消失し、変性産物はSchwann細胞の細胞質内に封入体状に存在する(写真28)。術後4日では、Schwann細胞内の変性産物は著明に減少し、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細胞内の変性産物は完全に消失している。

しかし、この時期においても後部の筋腹においては一部の無髄軸索とその終末が正常のまま残存している。術後24時間～2日の間に、神経網を構成する小神経束中において、腫大した同一のSchwann細胞内に、正常な神経終末と変性に陥った軸索ないし終末とが、同時に存在する所見にしばしば遭遇した(写真28)。

術後24時間～7日の試料で見いだされた残存神経終末は、すべてII型に属した(写真28)。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、眼窩筋に分布する無髄神経線維のうち、I型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

翼口蓋神経節切除後、写真銀法標本においては、術後16時間～2日に後部の筋腹で、一部の無髄軸索に、染色性の低下や小顆粒への断裂などの二次変性像を認めたが、大多数の無髄線維軸索は、術後16時間～7日にわたって全く変化を示さなかった。

カテコールアミン蛍光検出法でも、筋に分布する蛍光陽性線維には、術後7日を経ても全く変化を認めなかった。この結果とは対照的に、筋腹後部に分布する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時間ごろより活性の減弱を示し始め、術後4日までその活性は完全に消失した(写真15)。この実験結果は、眼窩筋の後部の筋腹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。

電顕観察においては、翼口蓋神経節切除後24時間で、後部の筋腹において、少数ではあるが無髄神経軸索あるいはその終末に二次変性像が見いだされた(写真29)。前部の筋腹には変性像は認められなかった。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微構造を保っている神経終末が、前部・後部ともに多数見いだされたが、これらはすべてI型に属し、正常なII型終末は全く見いだされなかった(写真29)。このことは、翼口蓋神経節切除によりII型神経終末が二次変性に陥ることを意味し、眼窩筋の後部に分布する無髄神経線維のうち、II型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。

3. 鼻毛様体神経あるいは頬骨神経切断後の変化

鼻毛様体神経を切断し、24時間～7日後にカテコールアミン蛍光検出法ならびにアセチルコリンエステラーゼ活性検出法によって眼窩筋を検した。術後のいずれの時期にも、前部の筋腹の内側部で、カテコールアミン蛍光の消失を認めたが、後部の筋腹に分布するアセチルコリンエステラーゼ活性陽性線維には全く変化が見いだされなかった。

頬骨神経を切断し、術後24時間～7日に同様の検索を行ったところ、前部の筋腹の外側部でカテコールアミン蛍光が消失することが見いだされた。しかし、この場合にも鼻毛様体神経切断の場合と同様、アセチルコリンエステラーゼ活性には、術後全く変化が認められなかった。

考 察

1. 眼窩筋の構造と機能

Burkard²⁰⁾は、眼窩領域を比較解剖学的に検索し、眼窩内容全体を包み、これを周囲の諸臓器組織から分かつPeriorbitaが、全脊椎動物に共通して存在することに注目し、Periorbitaは、軟骨魚類では弾性線維に富む結合組織からなり、硬骨魚類では平滑筋細胞と弾性線維に富む結合組織からなり、両生類と鳥類では骨格筋からなり、爬虫類では平滑筋細胞を多数含み、哺乳類では、眼窩が骨壁でより完全に取り囲まれるにしたがって退化すると述べている。一方、Müller⁴⁾、Rohen⁷⁾、およびWeltら⁸⁾は、ヒトで、平滑筋組織からなる眼窩筋と多量の弾性線維を含むPeriorbitaとの密接な関係に着目し、眼窩筋に接続して位置するPeriorbitaの部分を、この筋の弾性腱と見なした。

今回の検索は、マウス眼窩筋が多量の弾性線維を含む起始腱ならびに停止腱をもつことを示した。同様の腱はマウス臉板筋においても確認されている²⁾。一般に骨格筋の腱組織は、強固な膠原線維束からなり、強靱結合組織の代表的なもので、弾性は極めて小である。これに反し、眼窩筋や臉板筋などの平滑筋の場合、その腱にこのように多量の弾性線維があることは極めて異とすべきであろう。この弾性線維の存在意義はなお明確ではないが、体制神経の支配下にある一般骨格筋とは異なり、平滑筋は自律神経の支配下にあり、その収縮作用は持続的でしかも緊張的である。恐らく、眼窩内容全体に対する被膜として、また眼窩を側頭窩や側頭下窩から仕切る隔膜として、眼窩筋が常に一定の緊張を維持するのに、腱の弾性線維が作用するものであろう。

マウスの眼窩筋は、その構造と広がりから、その腱

をも含めて、上記の Burkard³⁵⁾の Periorbita に属すべきものである。ヒトの場合、眼窩筋と眼窩骨膜は下眼窩裂と眼窩下溝をおおって広がっているが、マウスでは眼窩の形成が不十分で、その眼窩筋の後部がヒトの眼窩骨膜の機能をも持つと推察される。またその前部は、Whitnall³⁶⁾の transverse ligament と Lockwood³⁷⁾の suspensory ligament に相当すると考えられる。ヒトにおけるこれら二つの靭帯は内眼角ならびに外眼角の近くで互いに連結しており、Fink³⁸⁾は、これらをそれぞれ superior and inferior transverse fascial expansions と名付けている。

眼窩筋は、ヒトも含めて多くの哺乳類において下眼窩裂を閉じているが、特にマウスでは、この筋が眼窩を側頭窩ならびに側頭下窩から仕切る唯一の隔壁となっている。マウス眼窩筋後部の筋腹は、側頭筋が外側翼突筋と咬筋とに接する部に位置し、これらの筋の間への眼窩内容の脱出を防いでいると考えられる。

マウス眼窩筋は眼窩静脈洞の外面の大部分をおおっており³⁹⁾、この筋の収縮は、眼窩静脈洞の血圧上昇をもたらす、眼球の突出や Harder 腺からの分泌物排出を促すであろう。したがって本筋の麻痺は眼球の眼窩内への陥凹をもたらす、Horner 症候群の発現に關するものである。

著者の今回の眼窩筋の電顕知見は、眼窩筋の平滑筋細胞表面が、筋線維の縦軸に沿って交互に走る小窩密集領域と小窩欠落領域をもつことを示しているが、このような特徴は先に教室の山下²⁾が驗板筋で見いだした構造と類似している。小窩密集領域に多数集まっているピノサイトーシス小胞様の小窩は他の臓器の平滑筋細胞にも多かれ少なかれ存在し、Gabella⁴⁰⁾と Devine⁴¹⁾は骨格筋線維の T 系に相当するとし、Popescu⁴²⁾はカルシウム排出ポンプ作用をもつと推測しているものである。小窩欠落領域は細胞膜下に電子密度大な物質の沈着があり、Pease⁴³⁾はこの部を筋細線維の細胞膜への附着部と考えているが、いずれも推測の域を出ない。

今回の検索で平滑筋細胞間に、少数ではあるが gap junction (nexus) と呼ばれる接着構造が見いだされた。gap junction は、Evans⁴⁴⁾により、二つの細胞間の電氣的興奮の伝導部位として、いわゆる電気シナプス的な作用を示すものとして、最近注目されているが、この構造が眼窩筋細胞間に見いだされたことは、本筋の筋収縮の興奮の伝達と緊張性収縮を考察する上に重要な知見と考えられる。

2. 眼窩筋の神経支配

今回の組織化学検索結果は、カテコールアミン蛍光陽性線維は眼窩筋の前部・後部の筋腹の全域に分布し

ているが、アセチルコリンエステラーゼ活性を示す神経線維の分布は、眼窩静脈洞をおおう後部の筋腹に局限していることを示している。著者の二次変性実験とそれに続く組織化学検索は、上頸神経節切除がカテコールアミン蛍光陽性線維の消失をもたらす、翼口蓋神経節切除がアセチルコリンエステラーゼ活性陽性線維の消失を引き起こすことを示した。さらに、同時に行なった電顕検索は、上頸神経節切除後、多かれ少なかれ小顆粒性シナプス小胞を含む I 型神経終末が変性に陥り、翼口蓋神経節切除後、専ら無顆粒性シナプス小胞を含む II 型終末が変性に陥ることを示した。以上の所見は、I 型終末は上頸神経節に由来する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ことを示している。

Johnston⁴⁵⁾と Parkinson⁴⁶⁾はヒトで、山下³⁾はマウスで、肉眼観察ならびに光顕観察に基づき、次のような眼窩内への交感神経走路を報じている。すなわち、上頸神経節から発した内頸動脈神経は、頸動脈管に入り、そこで分岐して内頸動脈神経叢を形成する。内頸動脈神経叢は、頸動脈管を通過して内頭蓋底に達するが、その部で、この神経叢を構成する神経線維の大部分は、外転神経の海綿静脈洞部に合流し、これと共に上眼窩裂に入る。外転神経と合して上眼窩裂に進入した交感神経線維は、上眼窩裂を通過後、直ちに外転神経から別れ、翼口蓋神経節の眼窩枝と交錯して眼窩後神経叢を形成し、その後、この神経叢からの交通枝を経て鼻毛様体神経、頬骨神経などに混入し、これらの神経の中を末梢へ走る。今回著者の検索によると、鼻毛様体神経ならびに頬骨神経の切断は、眼窩筋に分布しているカテコールアミン蛍光陽性線維のうち、前部の筋腹の陽性線維のみの消失をもたらす。しかも鼻毛様体神経切断の際には内側部、頬骨神経切断の際には外側部に消失が見られた。この所見は、眼窩筋の前部の筋腹に分布するカテコールアミン蛍光陽性線維が、鼻毛様体神経あるいは頬骨神経を通過して筋腹に至り、それぞれその内側部と外側部に分布することを示している。また後部の筋腹に分布するカテコールアミン蛍光陽性線維は、眼窩後神経叢を経てこれからの独立枝を経て後部の筋腹に至ることを示している。

今回のマウスにおける連続切片の光顕再構築観察によれば、翼口蓋神経節の眼窩枝は眼窩後神経叢に入り、これから出る小神経枝が眼窩筋に達することが確認された。これらの所見から、眼窩筋後部の筋腹に分布するコリン作動性神経線維は、翼口蓋神経節の眼窩枝を通り、眼窩後神経叢を経て、その枝を通過して眼窩筋の後部の筋腹に達すると考えられる。

Ehinger¹³⁾とPage¹⁴⁾は、眼窩筋においてはカテコールアミン蛍光陽性線維の方が、コリン作動性線維よりかなり密な分布を示すと報告している。これら2種の神経線維間におけるこの分布密度の差は、今回の組織化学検索においても後部の筋腹で認められた。さらに今回の電顕検索によると、後部の筋腹におけるI型(アドレナリン作動性)終末とII型(コリン作動性)終末の割合は、それぞれ85%と15%であった。また、前部の筋腹で見いだされた神経終末は、すべてI型に属した。

結 論

眼窩筋の構造と神経支配を、正常ならびに諸神経切断後のマウス眼窩筋について検し、次の結果を得た。

1. マウス眼窩筋は、眼窩内容全体を取り囲む嚢状の平滑筋で、眼窩上壁の後部、滑車軟骨の上縁、涙丘の上縁、および上涙小管から起り、眼窩内側壁の後部、滑車軟骨の下縁、涙丘の下縁、および下涙小管に終る。その筋腹は、眼窩の後下外側部から前下部にわたって広がり、内側方および外側方で、弾性線維に富む広い腱に連結する。
2. 上記のマウス眼窩筋の形態は、この筋が、眼窩内容の眼窩外への脱出防止、眼球突出の助長などの機能をもつことを示唆する。
3. 平滑筋細胞の表面は、交互に位置して縦走する2種の領域、ピノサイトーシス小胞様の小窩が密集した小窩密集領域と小窩を欠く小窩欠落領域とからなる。相隣る二つの平滑筋細胞においては、同種の領域同士が相対し、小窩密集領域には約900Åの隔たりが保たれているが、小窩欠落領域間では、細胞膜が互いに約400Åまで接近し、その細隙には1層の基底膜が介在する。平滑筋細胞間には、少数ながらgap junctionが存在する。
4. 腱に含まれている弾性線維は縦走し、筋腱移行部で平滑筋細胞の小窩欠落領域に接着している。接着部では、筋細胞表面がしばしば陥凹し、縦走の溝を形成する。
5. マウス眼窩筋は、上頸神経節由来の交感神経節後線維と翼口蓋神経節由来の副交感神経節後線維とによって支配されている。
6. 交感神経節後線維は、内頸動脈神経・外転神経・眼窩後神経叢を経て、以後1)眼窩後神経叢からの独立枝、2)交通枝を介して鼻毛様体神経・前篩骨神経とその眼窩筋への末梢枝、3)交通枝を介して頬骨神経・頬骨顔面枝とその眼窩筋への末梢枝、を経て筋に至る。
7. 眼窩筋の受ける交感神経節後線維のうち、後部の筋腹に分布するものは、上記の第1の走路を通り、前部の筋腹の内側部に分布するものは、第2の走路を通り、前部の筋腹の外側部に分布するものは、第3の走路を通して、筋に達する。
8. 副交感神経節後線維は、翼口蓋神経節から発し、その眼窩枝を経て眼窩後神経叢に至り、つづいて眼窩後神経叢からの独立枝を経て眼窩筋に達する。筋に至った副交感神経節後線維の分布は、後部の筋腹に限局され、前部には及ばない。
9. 眼窩筋に達した交感・副交感神経節後線維は、無髄神経線維の小束からなる網を筋腹の眼窩面ならびに眼球面に沿って形成する。この部では、Schwann細胞内に包まれて無髄軸索が走り、軸索は、所々でSchwann細胞外に出て、瘤状に腫大した神経終末を形成する。後部の筋腹では、神経網はカテコールアミンならびにアセチルコリンエステラーゼ活性が陽性で、その活性部位の分布密度は、カテコールアミン活性の方が大きい。前部の筋腹では、カテコールアミン活性のみが陽性である。
10. 上頸神経節切除後、上記のカテコールアミン活性が消失し、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。
11. 腫大神経終末は平滑筋細胞の小窩密集領域に面し、平滑筋細胞との間に0.1~1.0μの距離をもち、いわゆる遠距離シナプス(Synapse auf Distanz)の特徴を示す。
12. 無髄神経線維の瘤状腫大神経終末は、内部に含まれるシナプス小胞の種類によってI型とII型に区分された。小顆粒性小胞を含むI型終末は、後部の筋腹(36.4±13.2/10⁴μ²)ならびに前部の筋腹(37.5±9.6/10⁴μ²)に密に分布しているが、上頸神経節切除後、変性消失する。無顆粒性小胞を含む小顆粒性小胞を含まないII型終末は、後部の筋腹(6.6±4.3/10⁴μ²)にのみ疎に分布しているが、翼口蓋神経節切除後、変性消失する。I型終末は、交感神経節後線維の終末と考えられ、II型終末は、副交感神経節後線維の終末と考えられる。
13. 上頸神経節あるいは翼口蓋神経節切除後、眼窩筋後部の筋腹に分布する神経網において、しばしば同一のSchwann細胞内に変性した無髄軸索と変性しない正常な無髄軸索とが共存している所見に接した。このことは、自律神経の末梢部においては、交感性および副交感性の節後線維が同一のSchwann細胞内に包まれて走ることを示す。

稿を終るにあたって、研究の御指導と御校閲を賜った恩師本陣良平教授に深甚なる感謝の意を表します。また本研究に

際し、いろいろ御協力いただきました解剖学教室の山下利夫助教授、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、山口稔毅の両氏に厚くお礼を申し上げます。

文 献

- 1) **Horner, F.**: Ueber eine Form von Ptosis. *Klin. Mbl. Augenheilk.*, **7**, 193-198 (1869).
- 2) 山下利夫: マウス脛板筋の形態と微構造について。 *十全医会誌*, **88**, 1-12 (1979).
- 3) 山下利夫: マウス脛板筋の神経支配について。 *十全医会誌*, **88**, 262-286 (1979).
- 4) **Müller, H.**: Ueber einen glatten Muskel in der Augenhöhle des Menschen und der Säugethiere. *Z. wiss. Zool.*, **9**, 541 (1858).
- 5) **Ernyei, I.**: Die Rolle des Musculus orbitalis (Müller) beim Menschen. *Albrecht v. Graefes Arch. ophthalm.*, **131**, 398-400 (1934).
- 6) 和佐野武雄: 日本人眼球付属器の見聞補遺。第二報、平滑筋並びに涙腺について。 *福岡医誌*, **39**, 53-62 (1948).
- 7) **Rohen, J.**: Die funktionelle Gestalt des Auges und seiner Hilfsorgane. *Abh. math.-naturw. Kl. Akad. Wiss., Mainz*, **4**, 202-212 (1953).
- 8) **Welt, K. & Zacharias, K.**: Über die Entwicklung der Periorbita beim Menschen. *Anat. Anz.*, **127**, 511-526 (1970).
- 9) **Vermeij-Keers, C.**: Spatial aspects of the orbital muscle. *Z. Anat. EntwGesch.*, **141**, 77-87 (1973).
- 10) 永井正清: ミュラー氏筋に関する実験的組織学的研究, (その1) ミュラー氏筋の構造について。 *大阪大医誌*, **3**, 345-351 (1951).
- 11) **Page, R. E.**: The distribution and innervation of the extraocular smooth muscle in the orbit of the rat. *Acta anat.*, **85**, 10-18 (1973).
- 12) 永井正清: ミュラー氏筋に関する実験的組織学的研究, (その2) ミュラー氏筋の神経終末について。 *大阪大医誌*, **3**, 509-513 (1951).
- 13) **Ehinger, B.**: Ocular and orbital vegetative nerves. *Acta physiol. scand.*, **64**, Suppl. 268, 1-35 (1966).
- 14) 佐野 豊: 組織学研究法, 318-319頁, 東京, 南山堂, 1965.
- 15) **Honjin, R.**: On the nerve supply of the lung of the mouse, with special reference to the structure of the peripheral vegetative nervous system. *J. comp. Neurol.*, **105**, 587-626 (1956).
- 16) **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).
- 17) **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).
- 18) **Karnovsky, M. J. & Root, L.**: A "direct-coloring" thiocholine method for cholinesterases. *J. Histochem. Cytochem.*, **12**, 219-221 (1964).
- 19) **Nakamura, T. & Torigoe, K.**: Simultaneous visualization of catecholamine fluorescence and cholinesterase activity in the peripheral autonomic nerve. *Acta histochem. cytochem.*, **12**, 569 (1979).
- 20) 大和一夫: Chromatolysisの電子顕微鏡的解析。 *十全医会誌*, **60**, 510-528 (1958).
- 21) 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).
- 22) **Kajikawa, K., Yamaguchi, T., Katsuda, S. & Miwa, A.**: An improved electron stain for elastic fibers using tannic acid. *J. Electron Microsc.*, Tokyo, **24**, 287-289 (1975).
- 23) **Tranzer, J.-P. & Richards, G.**: Ultrastructural cytochemistry of biogenic amines in nervous tissue: Methodologic improvements. *J. Histochem. Cytochem.*, **24**, 1178-1193 (1976).
- 24) **Yamashita, T., Takahashi, A. & Honjin, R.**: Spatial aspect of the mouse orbital venous sinus. *Okajimas Folia anat. jap.*, **56**, 329-336 (1980).
- 25) **Ruskell, G. L.**: The orbital branches of the pterygopalatine ganglion and their relationship with internal carotid nerve branches in primates. *J. Anat.*, **106**, 323-339 (1970).
- 26) 本陣良平: 神経線維の微細構造。 *細胞*, **3**, 2-10 (1971).
- 27) **Jabonero, V.**: Die plexiforme Synapse auf Distanz und die Bedeutung der sogenannten interkalären Zelle. *Acta Neuroveg.*, Wien, **19**, 276-302 (1959).
- 28) **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).
- 29) **Yamashita, T. & Honjin, R.**: Fine structure,

- origin, and distribution density of the autonomic nerve endings in the tarsal muscle in the eyelid of the mouse. *Cell Tiss. Res.* (印刷中) (1982).
- 30) **Richardson, K. C.**: The fine structure of autonomic nerve endings in smooth muscle of the rat vas deferens. *J. Anat.*, **96**, 427-442 (1962).
- 31) 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).
- 32) 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).
- 33) 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).
- 34) 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).
- 35) **Burkard, O.**: Ueber die Periorbita der Wirbelthiere und ihre muskulösen Elemente. *Arch. Anat. Physiol., Suppl.*, 79-98 (1902).
- 36) **Whitnall, S. E.**: On a ligament acting as a check to the action of the levator palpebrae superioris muscle. *J. Anat. Physiol., Lond.*, **45**, 131-139 (1910).
- 37) **Lockwood, C. B.**: The anatomy of the muscles, ligaments, and fasciae of the orbit, including an account of the capsule of Tenon, the check ligaments of the recti, and of the suspensory ligament of the eye. *J. Anat. Physiol., Lond.*, **20**, 1-25 (1886).
- 38) **Fink, W. H.**: An anatomic study of the check mechanism of the vertical muscles of the eyes. *Am. J. Ophthalm.*, **44**, 800-809 (1957).
- 39) **Yamashita, T., Takahashi, A. & Honjin, R.**: The spatial aspect and fine structure of the orbital muscle of the mouse. *Okajimas Folia anat. jap.*, **56**, 383-398 (1980).
- 40) **Gabella, G.**: Caveolae intracellulares and sarcoplasmic reticulum in smooth muscle. *J. Cell Sci.*, **8**, 601-609 (1971).
- 41) **Devine, C. E., Simpson, F. O. & Bertaud, W. S.**: Surface features of smooth muscle cells from the mesenteric artery and vas deferens. *J. Cell Sci.*, **8**, 427-443 (1971).
- 42) **Popescu, L. M., Diculescu, I., Zelck, U. & Ionescu, N.**: Ultrastructural distribution of calcium in smooth muscle cells of guinea-pig taenia coli. *Cell Tiss. Res.*, **154**, 357-278 (1974).
- 43) **Pease, D. C. & Molinari, S.**: Electron microscopy of muscular arteries; pial vessels of the cat and monkey. *J. Ultrastruct. Res.*, **3**, 447-468 (1960).
- 44) **Evans, D. H. L. & Evans, E. M.**: The membrane relationships of smooth muscles: An electron microscope study. *J. Anat.*, **98**, 37-46 (1964).
- 45) **Johnston, J. A. & Parkinson, D.**: Intracranial sympathetic pathways associated with the sixth cranial nerve. *J. Neurosurg.*, **40**, 236-243 (1974).
- 46) **Parkinson, D., Johnston, J. A. & Chaudhuri, A.**: Sympathetic connections to the fifth and sixth cranial nerves. *Anat. Rec.*, **191**, 221-226 (1978).

Explanation of Photographs

Photos. 1~16 are photomicrographs, and Photos. 17~29 are electron micrographs.

Plate I

Photos. 1, 2 and 3. Frontal section of the mouse orbit. The origin, the muscle belly (m), and the insertion of the posterior portion of the orbital muscle are observed in Photos. 1, 2 and 3, respectively. fb: frontal bone, H: Harderian gland, mm: masseter muscle, t: tendon of orbital muscle, tm: temporal muscle, v: orbital venous sinus. Resorcin-fuchsin stain. $\times 40$.

Photo. 4. The orbital venous sinus (v) extending between the posterior portion of the orbital muscle (m) and the Harderian gland (H). Toluidine blue stain. $\times 400$.

Photos. 5 and 6. Sagittal section of the mouse orbit. The upper (t) and lower (m) parts of the anterior portion of the orbital muscle are observed, respectively. H: Harderian gland, i: intraorbital lacrimal gland, l: levator palpebrae superioris muscle, m: muscle belly, mm: masseter muscle, s: orbital septum, t: tendon, v: orbital venous sinus. Resorcin-fuchsin stain. $\times 40$.

Photo. 7. Longitudinal section of the belly of the anterior portion of the orbital muscle. Hematoxylin-eosin stain. $\times 700$.

Photo. 8. Longitudinal section of the muscle (m)-tendon (t) junction of the posterior portion of the orbital muscle. H: Harderian gland. Resorcin-fuchsin stain. $\times 175$.

Plate II

Photo. 9. Tangential section of the anterior portion of the normally innervated muscle. Note varicose axons (arrows) forming a plexus on the surface of the muscle belly. Photographic silver method. $\times 240$.

Photo. 10. Catecholamine fluorescence in the posterior portion of the normally innervated muscle (m) in frontal section. Note nerve fibers (arrows) on the orbital and bulbar surfaces of the muscle belly. H: acinus of Harderian gland. FGS method. $\times 480$.

Photo. 11. Thin spread of the posterior portion of the normally innervated muscle. Catecholamine-fluorescent fibers demonstrated by the FGS method are distributed densely throughout the muscle belly. $\times 240$.

Photo. 12. Catecholamine test in the posterior portion of the denervated muscle (m) in frontal section, 24 hr after superior cervical ganglionectomy. Note complete disappearance of catecholamine fluorescence in the muscle belly (m). The fluorescence-positive fibers (e) which are seen among the Harderian gland (H), the orbital venous sinus and the orbital muscle, correspond to the elastic fibers. They assume a deeper green fluorescence which differs from the yellowish green fluorescence. FGS method. $\times 480$.

Photo. 13. Acetylcholinesterase activity in the posterior portion of the normally innervated muscle (m) in frontal section. Note nerve fibers (arrows) on the orbital and bulbar surfaces of the muscle belly. H: acinus of Harderian gland. Rubenic acid-enhancement method. $\times 480$.

Photo. 14. Thin spread of the posterior portion of the normally innervated muscle. Acetylcholinesterase-active fibers stained with the rubenic acid-enhancement method are found. They are less dense in distribution than catecholamine-fluorescent fibers as shown in Photo. 11. $\times 240$.

Photo. 15. Acetylcholinesterase test in the posterior portion of the denervated muscle (m) in frontal section, 4 days after pterygopalatine ganglionectomy. Note complete disappearance of acetylcholinesterase activity. H: acinus of Harderian gland. Rubenic acid-enhancement method. $\times 480$.

Photo. 16. Thin spread of the anterior (a) and posterior (p) portions of the normally innervated muscle. Acetylcholinesterase-active fibers stained with the rubenic acid-enhancement method are seen in the posterior portion, while they cannot be found in the anterior portion. $\times 240$.

Plate III

Photo. 17. The orbital venous sinus (v) extending between the orbital muscle and the Harderian gland (H) as shown in Photo. 4. ns: smooth muscle cell of orbital muscle. $\times 8,000$.

Photo. 18. Longitudinal section of smooth muscle cells of the orbital muscle. Note the caveola-rich zone (r) and the caveola-free zone (f). These two zones respectively pair with the same kind of zones of the adjacent cells. $\times 30,000$.

Plate IV

Photo. 19. Transverse section of smooth muscle cells of the orbital muscle. Note a gap junction (g) between smooth muscle cells. $\times 30,000$.

Photos. 20. and 21. Longitudinal section of the tendon of the orbital muscle. Elastic fibers (e) are hardly stained by the uranyl acetate and lead citrate double staining method as shown in Photo. 20, but deeply stained by the tannic acid method as shown in Photo. 21. $\times 13,000$.

Photos. 22 and 23. Transverse and longitudinal sections of the muscle-tendon junction of the orbital muscle, respectively. e: elastic fiber, ns: smooth muscle cell. $\times 13,000$.

Plate V

Photo. 24. Type I axonal expansions (I) in the nerve plexus in the posterior portion of the normally innervated muscle fixed by the aldehyde method. The axonal expansions contain many synaptic vesicles and mitochondria, and face the caveola-rich zone (r) of smooth muscle cells (ns), intervening a relatively wide tissue space of 0.1 to 1.0 μ in width, to prepare the so-called "Synapse auf Distanz." $\times 20,000$.

Photo. 25. Types I (I) and II (II) axonal expansions in the nerve plexus in the posterior portion of the normally innervated muscle fixed by the dichromate method. The Type I axonal

expansions contain a various number of small granular synaptic vesicles, which are more conspicuous than those fixed by the aldehyde method as shown in Photo. 24. The Type II axonal expansions contain no small granular vesicles. ns: smooth muscle cell, S: nucleus of Schwann cell. $\times 20,000$.

Plate VI

Photos. 26 and 27. Two types of axonal expansions in the posterior portion of the normally innervated muscle. Type I expansions (I) contain many small granular vesicles, and Type II expan-

sions (II) contain many agranular vesicles but no small granular vesicles. ns: smooth muscle cell. Dichromate fixation method. $\times 20,000$.

Photo. 28. Degenerating axons (d) and surviving Type II expansions (II) in the posterior portion of the denervated muscle, 2 days after superior cervical ganglionectomy. S: Schwann cell. Dichromate fixation method. $\times 20,000$.

Photo. 29. Degenerating axons (d) and surviving Type I expansions (I) in the posterior portion of the denervated muscle, 24 hr after pterygopalatine ganglionectomy. S: Schwann cell. Dichromate fixation method. $\times 20,000$.

Structure and Innervation of the Orbital Muscle of the Mouse Hiromasa Tanaka, Department of Anatomy, School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa, 920 — J. Juzen Med. Soc., 91, 1–20 (1982)

Key words: smooth muscle cells, adrenergic nerve fibers, cholinergic nerve fibers, orbital muscle.

Abstract

The structure and innervation of the orbital muscle of the mouse were studied by light, fluorescence, and electron microscopy.

The orbital muscle has a relatively small muscle belly of smooth muscle tissue and large membranous tendons containing abundant elastic fibers, and encloses almost all of the orbital contents.

The cell membrane of the smooth muscle cells specializes into two kinds of alternate zones; caveola-rich zones and caveola-free zones. The latter come into close contact with the same zones of another cell with a minute gap of about 400 Å which contains only one basal lamina. Gap junctions were occasionally observed between smooth muscle cells.

The photographic silver method shows that the orbital muscle is supplied with unmyelinated nerve fibers passing through each branch of the retro-orbital plexus, the anterior ethmoidal, and zygomaticofacial nerves. The nerve fibers form a plexus on both the orbital and bulbar surfaces of the muscle belly. They show many varicosities along their course.

The histochemical techniques demonstrate both catecholamine-fluorescent varicose fibers and acetylcholinesterase-active varicose fibers in the muscle. In the posterior portion of the muscle the former are more numerous than the latter, while the anterior portion is supplied with only the former. After superior cervical ganglionectomy the catecholamine-fluorescent fibers disappear, while after pterygopalatine ganglionectomy the acetylcholinesterase-active fibers vanish. After sectioning the nasociliary and zygomatic nerves, the catecholamine-fluorescent fibers in the anterior portion of the muscle disappear.

In electron micrographs, the varicosities appear as axonal expansions containing many synaptic vesicles. The axonal expansions lack their Schwann cell sheath and directly face the tissue space. A relatively wide space, 0.1 to 1.0 μ in width, lies between the axonal expansion and the muscle cell. The expansions can be classified into two types; Type I always having small granular vesicles and Type II having many agranular vesicles. In the posterior portion of the muscle Type I is more frequent ($36.4 \pm 13.2/10^4 \mu^2$ area of muscle) than Type II ($6.6 \pm 4.3/10^4 \mu^2$), while in the anterior portion only Type I is present ($37.5 \pm 9.6/10^4 \mu^2$). After superior cervical ganglionectomy Type I undergoes degeneration, while after pterygopalatine ganglionectomy Type II degenerates.

These observations indicate that Type I axonal expansions correspond to the synaptic endings of the adrenergic fibers originating from the superior cervical ganglion, and Type II expansions correspond to the synaptic endings of the cholinergic fibers derived from the pterygopalatine ganglion.

