

家兎大脳皮質神経細胞の核内封入体：
Cobalt-gelatin棒の脳内投与による超微形態変化

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/2297/8878

家兎大脳皮質神経細胞の核内封入体

—Cobalt-gelatin 棒の脳内投与による超微形態変化—

富山医科薬科大学医学部神経精神医学教室 (主任: 遠藤正臣教授)

中 村 一 郎
遠 藤 正 臣
細 川 邦 仁

金沢大学医学部神経精神医学教室 (主任: 山口成良教授)

伊 崎 公 徳
小 山 善 子
勝 川 和 彦

(昭和55年12月11日受付)

この論文の要旨は第67回および第84回北陸精神神経学会において発表した

Key words intranuclear inclusions, cortical neuron, cobalt, electron microscopy.

“Rodlet”あるいは“batonnet”と呼ばれる核内封入体がある種の神経細胞に出現することは以前から良く知られた事実である。^{1)~3)}近年の電子顕微鏡(以下電顕と略記)による観察にて、これらの核内封入体は微細構造上密に集合した線維から構成されていることが明らかとなり、以後正常な動物および実験条件下の動物あるいはヒトの病的状態下の脳の神経細胞核内に同種の構造物が報告されてきた。^{4)~24)}この線維状封入体を有する神経細胞は猿、猫、家兎の嗅球など中枢神経系の特殊な部位を除いては、その出現頻度が極めて低く、特に大脳皮質、海馬、視床などにおいては稀にしか観察できないものとされている。この様に線維状構造物は部位による様々な出現様式をとるため、神経細胞の線維状封入体の出現機序あるいは封入体の持つ機能的意義などに関しては種々の論議がなされており、まだ明解な結論は得られていない。

著者らは Cobalt-gelatin による実験 てんかんモデルを家兎脳を使用して形態学的に追求してきたが、²⁵⁾てんかん家兎脳の1次焦点および2次焦点(鏡像焦点)の両病巣を電顕にて検索中、皮質神経細胞核内に線維状封入体が観察され、若干の知見を得たので報告する。

材料および方法

実験には体重1.5~3.0 kgの成熟家兎が用いられ、次の3群に分けられて検索された。1) 無処置正常対照群、2) cobaltを含まないgelatin対照群、3) Cobalt-gelatin群、の3群である。検索部位は右運動領皮質(Area precentralis agranularis²⁶⁾)および反対側対称部皮質で、2)、3)は右側運動領にgelatin棒、Cobalt-gelatin棒が刺入された。手術はすべてpentobarbitalの静脈麻酔下で行なわれた。手術群の

Intranuclear Inclusions in Neurons of the Cerebral Cortex of Rabbits and Their Morphological Alterations Induced by Intracerebral Implantation of Cobalt-gelatin. An Electron Microscopic Study. **Ichiro Nakamura, Masaomi Endo & Kunihiro Hosokawa,** Department of Neuropsychiatry (Director: Prof. M. Endo), Faculty of Medicine, Toyama Medical & Pharmaceutical University. **Kiminori Isaki, Yoshiko Koyama & Kazuhiko Katsukawa,** Department of Neuropsychiatry (Director: Prof. N. Yamaguchi), School of Medicine, Kanazawa University.

電顕資料は術後7, 14, 28日(鏡像焦点は28日のみ)に採取された。脳をあらかじめ生理的食塩水で灌流したのち、0.2M 磷酸緩衝 2.5% glutaraldehyde 液 (PH7.4) で灌流固定した。灌流後直ちに病巣部の脳組織を切り出し、磷酸緩衝液中で細切し、同じ glutaraldehyde 液にて1~2時間再固定した。引き続き磷酸緩衝 2% O_3O_4 液 (pH 7.4) にて約2時間後固定した。脱水は順次高濃度のエタノール系列で行ない、Epon 812 に包埋した。超薄切切片にはクエン酸鉛と酢酸ウラニールの二重染色法を用い、鏡検は日立 HU-11DS 型および日本電子 JEM-100B 型電顕にて行なった。

成 績

I 正常対照群および gelatin 対照群

家兎の大脳皮質運動領に見出される神経細胞には、太い樹状突起を持ち、細胞質に富む錐体細胞と、比較的細胞質に乏しく、明瞭な樹状突起を欠く円形の神経細胞の2種の神経細胞が観察された。これら2種の神経細胞は上述の胞体の外形を除いては、特に微細構造上の差異は見出し得なかった。両細胞ともに ribosome を多量に含む細胞質の核内方への湾入 (cytoplasmic invagination) がしばしば観察された。

Gelatin 刺入による大脳皮質の微細構造変化は、刺入部に一致して軽度の astrocyte の増生が見られるのみで、細胞構築の乱れもなく、神経細胞変化もごく軽微であった。正常対照群および gelatin 対照群の両者において、2種の神経細胞のいずれにも次に述べるような微細構造の異なる3つの型の線維状封入体が観察された。

1 線維束 (rodlet)

今回の観察で、3種の線維状封入体の中でこの線維束の出現頻度が最も高かった。線維束は縦断面で、約 70 Å の径を持つ多数の線維が互に密接し、全体として紡錘形又は楕円形を呈する。線維束の全体の大きさは、縦断面で、長径が 10 μ に達する長いものがあるが、平均して 2~3 μ である。幅は縦断面の中央部で最も厚く、0.4~0.5 μ である (Fig. 1)。線維束に接する周辺の核質には chromatin 顆粒の分布が粗となること (halo の形成) が多い。時にこの線維束の横断面が観察され (Fig. 6)、明瞭な halo が出現する。線維束は一般に核小体の断面と同時に出現することが多く、核小体の近傍に位置する傾向が見られた。しかし核小体との接着像や、核膜に密接する像は観察されなかった。また cytoplasmic invagination の存否と線維束の出現との間にも特に有意の関連は見出し得ない。

2 微小細管 (long parallel microtubules)

微小細管は極めて稀にしか観察できない封入体である。縦断面で約 130 Å の径を有する2本の微小細管が約 70 Å の間隔を保って平行に走っている (Fig. 2)。断面の中央から左方にかけて細管構造は不明瞭となり、同部には細線維状の構造が観察され (Fig. 2A; FL) 微小細管の周囲には上述の線維束同様に halo が見出される。また核小体、核膜のいずれにも直接の関連は持たない。

3 線維状格子 (fibrillar lattice)

径約 70 Å の細線維が約 80 Å の間隔で同一平面で規則的に配列し、これに約 40~55° の角度で交叉する同一の配列の、同一構造の細線維で構成され、全体として断面で格子状構造をとる (Figs. 3-5)。この格子構造は幅が 0.1~0.2 μ の範囲内にあるのに比べて、長さが一定せず、時に 10 μ に達するものも見られた (Figs. 3)。前記二者同様この格子構造も halo を持っている (Figs. 3-5)。核小体、核膜との連続性も見出されなかった。この格子構造を有する核にはしばしば cytoplasmic invagination の断面が同時に観察されたが、両者の間の直接の関連性は見られなかった (Figs. 3と5)。

今回の観察では、これらの封入体が出現した核においては、1つの核内に1種類の封入体が1個のみ認められ、同一核内に同種あるいは他種の封入体が共存する像には接しなかった。

II. Cobalt-gelatin 群

家兎大脳皮質に Cobalt-gelatin 棒を刺入すると、刺入部位に一致して glia-mesenchymal scar が形成され、同部はてんかん焦点 (1次焦点) となる。また反対側半球の対称皮質にも同様の焦点、すなわち2次焦点が生ずる。今回の検索で、いずれの焦点においても顕著な微細構造上の変化が観察されるが、その中で神経細胞の線維状核内封入体には以下に述べる変化が観察された。なお、微小細管は Cobalt-gelatin 群では全く観察できなかった。

1 線維束の変化

線維束を形成する個々の線維は径約 70 Å で、正常群と全く同様の像を示したが、観察しえた線維束の多くでは個々の線維の配列が粗となり、線維間の間隔も一定せず、またその間隙には時に少量の chromatin 顆粒が混在していた (Figs. 9と10)。また線維束全体の形も正常群に見られた紡錘形あるいは楕円形を示すことは稀で、不整形を示すことが多い (Figs. 9と10)。時々断面で数本から10本前後の線維の集合からなる小さな線維束も観察された。これらの線維束はいずれ

も明瞭な halo を欠くものが多い (Fig. 9). Fig. 7 は cobalt - gelatin 投与 7 日目の 1 次焦点に見られた線維束の横断像 (一部は斜断像) である. 個々の線維は互に密接して集合し, 全体として円形の断面を呈し, halo もよく保たれて正常対照群と同様の像を示しているが, 線維束の外面を微細な顆粒状物質が, その全周にわたってとり囲んでいた. 核内には 2 つの cytoplasmic invagination が見られる以外に著変はみられないが, 細胞質には粗面小胞体の減少や mitochondria の変形などが観察され, また基質全体がやや暗調を呈しており, 細胞質は全体に軽度の変化を呈している. この変化が高度の場合には (Fig. 9), halo が完全に消失していることが多く, 核内の chromatin 顆粒の分布密度が著しく高い. Cobalt-gelatin 投与 28 日目の鏡像焦点では, halo を失なった. 個々の線維の配列が粗で比較的小型の線維束が頻般に出現していた. これらの線維束を有する細胞の核周囲は中等度の細胞変化を示していた. 上記の変化を示す線維束が核小体, 核膜のいずれにも密接する像は認められなかった.

2 線維状格子の変化

線維状格子構造の変化として, 個々の線維の規則的な配列が乱れて, 不規則な格子状を呈することが多い (Figs. 8 と 11). 時々一部に格子状の構造が残存し, 他の大部分は線維が粗に配列した線維束状の像を示すこともある. 比較的規則的な格子構造を示す場合にも, halo が失われていることが多い. 個々の線維の配列に著しい乱れがある時には, 正常群に比し個々の線維の電子密度は著しく低い (Fig. 11). このような変化を示す線維状格子はしばしば核小体や核膜に近接して位置していたが, いずれにも直接接している像は観察できなかった. このような格子構造の乱れは細胞変化の比較的著しい神経細胞に認められ, 焦点から離れた変化の軽微な神経細胞では, 正常群と同様の線維状格子が出現していた. なお, Cobalt-gelatin 群においても正常群同様線維状封入体を有する核内には, 同種あるいは他種の封入体が 2 個以上出現することはなかった.

正常ならびに gelatin 対照群, Cobalt-gelatin 群のいずれにも神経細胞以外の細胞 (グリア細胞など) の核には線維状封入体は見出し得なかった.

考 察

I 正常対照群および gelatin 対照群

線維状封入体のなかで, 線維束は正常な各種の動物の中樞神経系の各所の神経細胞核内に見出され, また

脳室上衣細胞²⁷⁾, 松果体細胞²⁸⁾など神経細胞以外の細胞においても観察されている. さらに蝸牛神経核²⁹⁾, 交感神経節^{11, 29)}などの末梢神経系にもその存在が確認され, 線維束は神経系に広く分布していることが判明している. 特に中枢神経系においては部位により線維束の出現頻度にかかなりの差があることが指摘され, 嗅球^{41, 2)}, 網膜³⁾などには高率に観察され, 一方大脳皮質^{41, 8)}, 小脳皮質⁴⁾などではその頻度が極めて低いとされている. 今回の著者らの観察から, 線維束は 3 型の線維状封入体のなかで最も高頻度に出現することが明らかになったが, 薄切断面で観察し得た神経細胞核の総数と比較すると線維束を有する核の出現率は低く, 家兎の大脳皮質神経細胞においても一般的にまれにしか出現しない封入体である. 各種の動物の (中枢) 神経系のすべての部位が検索されてはいないが, 線維束の出現は大脳皮質神経細胞では低く, 一方嗅球, 網膜, 蝸牛神経核など感覚に関与する部位の神経細胞に高率に認められることは, 各々の部位の持つ生理的機能と関連して注目すべき所見と考えられる.

線維束の微細構造特徴については, 今日までに多数の報告があり, 著者らの所見もこれらの報告との基本構造は一致していた. また線維束周囲の halo の形式や, 線維束と核小体, 核膜および cytoplasmic invagination など他の構造物との間の関連性などについても諸家の報告とはほぼ一致していた. しかし核小体を含む断面で線維束の多くが同時に観察され, しかも比較的接近して位置していた像は, 両者の間の関連性を示唆する所見と考えられる.

微小細管は, 今回の著者らの観察で 3 種の線維状封入体のなかでその出現頻度が最も低く, 極めてまれにしか観察できない封入体であった. Sotelo ら³⁰⁾は正常ラットの外側前庭神経核の神経細胞核内にて, 径約 270 Å の microtubules の束を見出した. 著者らの微小細管は径が約 130 Å で, 彼らのそれと比較すると径が 1/2 以下と細い. 一般に緻密な配列を示す線維束の個々の線維は, 相隣る 2 本の線維が部分的に対をなして平行に並び, あたかも細管構造を呈することが知られている. Sotelo らの示した microtubules の像は線維束内の一部分で見出されたものであり, しかもこの microtubules が細線維に移行すると述べていることから, 彼らの主張する microtubules は 2 本の線維の対を microtubules と呼んだにすぎない. 著者らの細管も一部で細線維に連続していたが, この細線維はすでに述べた線維束の微細構造とは明らかに異なるものであった. Fig. 6. は線維束の横断面を示した写真であるが, 個々の線維はいずれも管状構造を示していない.

他方、病的状態下では Martinez ら²⁴⁾がヒトの亜急性硬化性全脳炎の皮質神経細胞で、径約 660 Å の細管構造を報告した。彼らはこの構造物をウイルスによる細胞障害の結果新たに生じたものと推測しており、著者らの細管とは恐らく別種のものと考えられる。

線維状格子の電顕所見は、1966 年 Chandler⁶⁾によってラットとマウスの視床および海馬の神経細胞内で記載されて以来、現在までに多数の報告がある。大脳皮質においては Field ら¹⁰⁾がマウスで、Gambetti ら⁷⁾がラットとマウスで見出しているが、家兎においては小柳ら²⁹⁾の実験的アルミニウム脳症家兎を除いては、正常家兎ではまだ報告に接しない。大脳皮質においては、格子の出現はまれとされて来たが、今回の検索で同様の所見が確認された。

線維状格子の微細構造については、Willey ら¹²⁾によるネコの嗅球、Feldman ら¹³⁾によるラットの蝸牛神経核など、いずれも出現頻度の高い部位の神経細胞で詳しく述べられている。Willey らによると、線維状格子は個々の細線維が規則的に配列して 1 つの sheet を形成し、この sheet が 4 層重なり合って、格子の基本的構造を形成するとした。時に 8 層からなる場合もあるという。Fig. 4 (矢印の部位) は Willey らの報じた 8 層から成る格子と考えられる。線維状格子は全体として屈曲した板状の外形を呈するため¹²⁾、薄切断面によって様々な像が出現するが (Figs. 3-5)、今回の検索では、en face の断面のみしか得られず、Willey ら、Feldman らの示した各種の断面による様々な異なった像を見出し得なかった。

II Cobalt-gelatin 群

正常群において 3 種の異なった型の線維状封入体が観察されたが、Cobalt-gelatin 群では線維束と線維状格子の 2 種のみが出現し、微小細管は見出し得なかった。すでに述べたように正常群においてもこの細管の出現がきわめて稀であったことから、Cobalt-gelatin 群での微小細管の存否については現時点で明確な結論を述べることはできない。

動物の実験的条件下あるいはヒトの病的状態下での線維束および線維状格子の報告は多数にのぼる。しかしこれらの報告の多くは、単にこれら封入体が各々の状態下で出現することのみについて触れているにすぎず、微細構造変化まで追求した報告は少ない。すなわち動物では種々の化学物質¹⁷⁾⁽²⁹⁾や薬物¹⁸⁾⁽²³⁾の投与、X 線照射¹⁶⁾、ウイルスの接種¹⁵⁾など、各種の実験的条件下での報告があり、ヒトの病的状態下では亜急性硬化性全脳炎¹⁹⁾⁽²²⁾⁽²⁴⁾多発性硬化症²¹⁾、ミオクローヌスてんかん²⁰⁾などの大脳皮質が生検法にて検索され、神経細胞

核内に線維状封入体を含めて様々な封入体の存在が報告された。これらの報告に見られる線維状封入体の微細構造と今回著者らが Cobalt-gelatin 群で得た所見とを比較し、若干の考察を加えたい。

著者らの所見をここで簡潔にまとめると;

線維束と線維状格子の両者に共通して見られる所見として、1) 個々の線維の配列が粗となり、規則的な配列が乱れる、2) halo が消失する場合が多い、3) 核小体、核膜などとの密着像は観察されない、4) 両者の線維状封入体の変化と封入体を持つ胞体の変化の強さとは平行関係がある。さらに線維束のみに見られた所見として、線維束の外周をとり囲む微細顆粒状物質が認められたこと、線維状格子では、配列の乱れた個々の線維は電子密度が低く、格子構造全体の電子密度も低下していた。

線維状封入体の個々の線維の乱れに関しては、線維束についてわずかに 1, 2 の報告を見るにすぎず、線維状格子についてはまだ報告に接しない。Scrapie ウイルスを接種したラットの海馬神経細胞で Chandler ら¹⁵⁾は個々の線維がまばらな配列をとる線維束を見出し、これを “non-organized filaments” と記載した。この線維束を有する胞体については詳しい所見に触れていないが、彼らの写真では、線維束の周辺の核 chromatin 顆粒はびまん性の分布を示しており、著者の Fig. 9 の所見に極めて類似した像を呈していた。ニワトリの embryo の交感神経節細胞で線維束形成の起源とその発育を追求した Masurovsky ら¹¹⁾は、線維束の形成初期の段階において粗な配列を示す小型の線維束を見出した。これは線維束の発育の 1 つの相を示すものとし、また発育の経過中に線維束が核小体と密着する像をも観察した。ここで著者らの所見を変化としてとらえるのではなく、線維束が核内に新しく出現したのではないかという疑問が生ずる。しかし実験下や病的状態下で線維束の出現頻度が増減するという報告はまだ見られず、また今回の実験でも正常群に比して Cobalt-gelatin 群で線維束がより頻繁に出現する所見は得られていない。従って既に存在する線維束が Cobalt-gelatin によって変化したと考えるのが妥当であろう。恐らく核質内の chromatin 顆粒の分布などの微細構造変化から、核内の機能的変化が生じて個々の線維の配列の乱れとなって現われたのであろう。

正常および gelatin 対照群においては、封入体の外周には chromatin 顆粒の分布が粗となり、いわゆる halo の存在が認められたが、Cobalt-gelatin 群ではこの halo が消失している像が多く観察された。こ

の halo の消失は、線維束については Chandler ら¹⁵⁾の報告のほかに、多数の報告がみられ^{16) 17) 19) ~ 21)}、線維状格子については Brown ら²⁰⁾、Perier ら¹⁹⁾の報告がある。いずれの報告も halo の消失する理由について具体的には記載していないが、これら諸家の所見をみる限り、いずれも核内 chromatin 顆粒が増し、しかもびまん性に分布するという共通の像を示していた。著者らの所見もこれら諸家と同様であった。この様な核の変化は、同時に細胞質の変化も伴っていたことから、halo の消失は胞体全体の変化の中で説明することも可能である。小柳ら²⁹⁾は家兎の実験的アルミニウム脳症にて、大脳皮質神経細胞核内に、明瞭な halo を持つ正常構造を示す線維状格子を見出した。彼らはこの格子が正常動物で多数報告されていることを根拠に、実験下でも全く変化を示さないものと考えた。しかし彼らの明瞭な halo にかこまれた格子を有する神経細胞ではアルミニウム脳症に陥っているにもかかわらず、核、細胞質とも正常に近い像を示していた。これらの所見は著者らの焦点の辺縁に存在した比較的变化の軽微な神経細胞で見られた格子と同様のものである。個々の線維の配列の乱れおよび halo の消失は、胞体全体の病変と平行して、あるいはその結果として生じる変化と思われる。

今回の検索では、正常および gelatin 対照群、Cobalt-gelatin 群ともに線維状封入体と、核小体や核膜など、他の構造物との直接の関連性見出し得なかった。既に述べたように Masurovsky ら¹¹⁾の研究で、線維束が核内で発育するにしたがい、線維束の一端が核膜に密着し、密着した核膜の外側の細胞質には、線維束を構成する線維と同種の線維が観察されたという。In vivo の実験は分化した成熟神経細胞で行われており、Masurovsky ら¹¹⁾の主張しているような所見は in vivo の研究ではまだ報告されていない。

Cobalt-gelatin 群で見出された線維束の外周の微細な顆粒状物質については、reserpine 投与猫の交感神経節神経細胞核内の線維状格子の周囲で見出され²³⁾、また dibenzanthracene 投与ハムスター¹⁷⁾、ヒトの亜急性硬化性全脳炎^{22) 24)}の神経細胞核内には線維状封入体のみならず、顆粒状を呈する各種の封入体が観察されている。これらの線維状または顆粒状封入体の多くに、著者らが見出した構造と同様の微細顆粒状物質がこれらの封入体の外周を取り囲んでいた。Dupuy-Coin ら³⁰⁾は酵素による消化実験から、微細顆粒物質が蛋白からなっていることを明らかにした。恐らくこの物質は核内の interchromatin granules²³⁾が線維束周囲に集簇したものと考えられる。ウイルス

あるいは dibenzanthracene はいずれも核の物質代謝に重大な影響を及ぼす動因であることは周知の事実である。線維束をとり囲むこの様な物質の出現は、Cobalt-gelatin 棒内の cobalt が神経細胞に対して有意な作用を及ぼしていることを示唆するもので、cobalt の作用は単に神経細胞の突起のみならず³¹⁾、その胞体にまで及んでいることを示している。また線維状格子を構成する個々の線維の電子密度の低下は、cobalt の作用により個々の線維の蛋白組成に変化が生じ、Os あるいは染色に用いられた重金属に対し親和性が変化したために生じたものであろう。

2種の線維状封入体のなかで、線維束に関しては組織化学的方法により、個々の線維は蛋白から成り、DNA、RNA は含まれていないことが明らかにされており³²⁾、また線維状格子についても Gambetti ら⁷⁾により線維束と類似することが示唆されている。このように線維状封入体は蛋白から成ることが明らかにされているが、これらの機能的意義に関しては種々の議論がなされている。すなわち、封入体を持つ神経細胞と持たない神経細胞との間に機能的差異があるのか否か、もしあるとすればその機能的役割は何か、神経細胞内で特異的な代謝活動に関与するものか否か、あるいは加齢との関連など多くの問題が提起されている。Masurovsky ら¹¹⁾は線維束の個々の線維は細胞内の線維状構成成分の1つの源泉であることを主張しており、一方では Feldman ら¹³⁾、Meier³³⁾は線維状封入体は加齢現象あるいは退行性変性の過程を示す所見と考えたが、まだ十分な同意は得られていない。さらに種々の病的状態下における封入体の出現は、正常な状態下と比較してその出現の頻度に有意の差がないことも問題の解決を困難にしている。封入体が正常な動物に出現すること自体が果して正常な状態であるのか、あるいは細胞のある種の異常な機能変化を示しているのか否かについても明らかにされていない。これらの多くの問題の解決には、病的状態下のみならず、正常な状態下の研究がより一層必要であろう。

結 論

Cobalt-gelatin による成熟家兎のてんかん焦点病巣を電子顕微鏡で検索中、正常対照群と gelatin 対照群において大脳皮質神経細胞核内に、1 線維束、2 微小細管、3 線維状格子の3種の型の異なる線維状封入体が観察された。Cobalt-gelatin 群では微小細管が見出されなかった他に、線維束および線維状格子に種々の超微形態変化が生ずることが観察された。これらの形態変化を Cobalt-gelatin 棒内の cobalt 金属

の神経細胞への作用との関連において考察し、また線維状封入体の神経細胞内での機能についても若干触れた。

稿を終るにあたり、終始ご協力いただいた金沢大学医学部附属病院中央診療部電子顕微鏡センター横田輝一氏ならびに神経科精神科池田輝男氏に対し、感謝の意を表します。

文 献

- 1) **Holmgren, G.** : Weitere Mitteilungen über den Bau der Nervenzellen. *Anat. Anz.*, **16**, 388 - 397 (1899).
- 2) **Ramon Y Cajal, S. R.** : *Histologie du Système Nerveux de l'Homme et des Vertébrés*. Tome 1, p. 152 - 208, Maloine, Paris, 1909.
- 3) **Mann, G.** : Histological changes induced in sympathetic, motor, and sensory nerve cells by functional activity. *J. Anat. (Paris)*, **29**, 100 - 108 (1894).
- 4) **Siegesmund, K. A., Dutta, C. R. & Fox, C. A.** : The ultrastructure of the intranuclear rodlet in certain nerve cells. *J. Anat. (Lond.)*, **98**, 93 - 97 (1964).
- 5) **Karlsson, U.** : Three-dimensional studies of neurons in the lateral geniculate nucleus of the rat. I. Organelle organization in the perikaryon and its proximal branch. *J. Ultrastruct. Res.*, **16**, 429 - 481 (1966).
- 6) **Chandler, R. L.** : Intranuclear structures in neurons. *Nature (Lond.)*, **209**, 1260 - 1261 (1966).
- 7) **Gambetti, P. & Gonatas, N. K.** : Fibrils and lattice-like intranuclear structures in nuclei of neurons. *Riv. Pat. Nerv. Ment.*, **88**, 188 - 196 (1967).
- 8) **Magalhaes, M. M.** : Intranuclear bodies in cells of rabbit and rat retina. *Exp. Cell Res.*, **47**, 628 - 632 (1967).
- 9) **Sotelo, C. & Palay, S. L.** : The fine structure of the lateral vestibular nucleus in the rat. I. Neurons and neuroglial cells. *J. Cell Biol.*, **36**, 151 - 179 (1968).
- 10) **Field, E. G. & Peat, A.** : Intranuclear inclusions in neurons and glia : a study in the aging mouse. *Gerontologia*, **17**, 129 - 138 (1971).
- 11) **Masurovsky, E. B., Benitez, H. H., Kim, S. U. & Murray, M. R.** : Origin, development, and nature of intranuclear rodlet and associated bodies in chicken sympathetic neurons. *J. Cell Biol.*, **44**, 172 - 191 (1970).
- 12) **Willey, T. J. & Schultz, R. L.** : Intranuclear inclusions in neurons of the cat primary olfactory system. *Brain Res.*, **29**, 31 - 45 (1971).
- 13) **Feldman, M. L. & Peters, A.** : Intranuclear rods and sheets in rat cochlear nucleus. *J. Neurocytol.*, **1**, 109 - 127 (1971).
- 14) **Takeichi, M. & Noda, Y.** : Light and electron microscopic studies on the ventromedial hypothalamic nucleus of the cat, with special reference to the fine structures of neurons and synapses. *Folia Psychiat. Neurol. Jpn.*, **28**, 45 - 64 (1974).
- 15) **Chandler, R. L. & Willis, R.** : An intranuclear fibrillar lattice in neurons. *J. Cell Sci.*, **1**, 283 - 286 (1966).
- 16) **Masurovsky, E. B., Bunge, M. B. & Bunge, R. P.** : Cytological studies of organotypic cultures of rat dorsal root ganglia following X - irradiation in vitro. I. Changes in neurons and satellite cells. *J. Cell Biol.*, **32**, 467 - 496 (1967).
- 17) **Popoff, N. & Stewart, S.** : The fine structure of nuclear inclusions in the brain of experimental golden hamsters. *J. Ultrastruct. Res.*, **23**, 347 - 361 (1968).
- 18) **Dahl, E.** : The fine structure of nuclear inclusions. *J. Anat. (Lond.)*, **106**, 255 - 264 (1970).
- 19) **Perier, O. & Vanderhaeghen, J. J.** : Subacute sclerosing leucoencephalitis. Electron microscopic findings in two cases with inclusion bodies. *Acta Neuropath. (Berl.)*, **8**, 362 - 380 (1967).
- 20) **Brown, W. J., Kotorii, K. & Riehl, J - L.** : Ultrastructural studies in myoclonus epilepsy (Clinical Unverricht-Lafora's disease). *Neurology*, **18**, 427 - 438 (1968).
- 21) **Raine, C. S. & Field, E. J.** : Nuclear structures in nerve cells in multiple sclerosis. *Brain Res.*, **10**, 266 - 268 (1968).
- 22) **Toga, M., Dubois, D., Berard, M., Tripier, M. F., Cesarini, J. P. & Choux, R.** : Étude

ultrastructurale de quatre cas de leuco-
encéphalite sclérosante subaiguë. *Acta*
Neuropath. (Berl.), **14**, 1-13 (1969).

23) **Seite, R.** : Étude ultrastructurale de divers
types d'inclusions nucléaires dans les neurones
sympathiques du chat. *J. Ultrastruct. Res.*, **30**,
152-165 (1970).

24) **Martinez, A. J., Ohya, T., Jabbour, J. T. &
Duenas, D.** : Subacute sclerosing pan-
encephalitis (SSPE). Reappraisal of nuclear,
cytoplasmic and axonal inclusions. *Ultrastructural study of eight cases. Acta*
Neuropath. (Berl.), **28**, 1-13 (1974).

25) 伊崎公徳・渋谷禎三・小山善子・勝川和彦・山
口成良・中村一郎 : Cobalt-gelatin による実験て
んかんモデル-光顕観察による基礎的研究-, 十全
医会誌, **89**, 588-605 (1980).

26) **Rose, M.** : Cytoarchitektonischer Atlas der
Großhirnrinde des Kaninchens. *J. f. Psychol.*
Neurol., **43**, 353-440 (1931).

27) **Hirano, A. & Zimmerman, H. M.** : Some new
cytological observations of the normal rat
ependymal cell. *Anat. Rec.*, **158**, 293-302
(1967).

28) **Alstila, A. U. & Hopsu-Havu, V. K.** :
Nuclear and cytoplasmic microfilaments in the
pineal chief cells of the rat. *Z. Zellforsch.*, **80**,
22-28 (1968).

29) 小柳新策・生田房弘 : 実験アルミニウム中毒
ウサギ神経細胞核内にみられた格子構造について.
神経進歩, **17**, 1165-1169 (1973).

30) **Dupuy-Coin, A. M., Kalifat, S. R. &
Bouteille, M.** : Nuclear bodies as proteinaceous
structures containing ribonucleoproteins. *J.*
Ultrastruct. Res., **38**, 174-187 (1972).

31) **Butler, A. B., Willmore, L. J., Fuller, P. M. &
Bass, N. H.** : Focal alteration of dendrites and
astrocytes in rat cerebral cortex during
initiation of cobalt-induced epileptiform
activity. *Exp. Neurol.*, **51**, 216-228 (1976).

32) **Kim, S. U., Masurovsky, E. B., Benitez, H. H.
& Murray, M. R.** : Histochemical studies of the
intranuclear rodlet in neurons of chicken
sympathetic and sensory ganglia. *Histochemie*,
24, 33-40 (1970).

33) **Meier, C.** : Intranukleäre Einschlusskörper

in Neuronen alternder Ratten. *Experimentia*
(Basel), **25**, 294 (1969).

Explanation of figures

Figures 1-6. Electron micrographs of neurons
of the normal cerebral cortex in rabbits.

Figures 7-11. Electron micrographs of neurons
of the epileptogenic lesion produced by
cobalt-gelatin implantation in the rabbit
cerebral cortex.

Plate 1

Fig. 1. Longitudinal section of an intranuclear
rodlet. Nucleolus (NL). $\times 7,800$.

Fig. 2. (2A) A long parallel microtubules
(long arrow) connects with fibrils (FL; short
arrows). $\times 20,000$. (2B) Higher magnifica-
tion of the part of the long arrow shown in
Fig. 2A. $\times 80,000$.

Fig. 3. (3A) A fibrillar lattice appears as a
slender band with a curved outline. $\times 7,800$.
(3B) High power micrograph of the fibrillar
lattice shown in Fig. 3A. Parallel-arrayed
fibrils cross each other at an angle of about
 55° . $\times 40,000$.

Fig. 4. (4A) Another type of fibrillar lattices
showing an irregularly linear appearance.
 $\times 11,000$. (4B) High magnification of the part
of the fibrillar lattice at the arrow in Fig. 4A.
 $\times 60,000$.

Plate 2

Fig. 5. (5A) A fibrillar lattice showing a
double-layered appearance at its central part
(arrow). Cytoplasmic invagination (I), nuc-
leus (N), and nucleolus (NL). $\times 12,000$. (5B)
Higher magnification of the fibrillar lattice
shown in Fig. 5A. $\times 80,000$.

Fig. 6. (6A) Cross section of an intranuclear
rodlet (arrow). Note the zone of nucleoplasm
around the rodlet. $\times 10,000$. (6B) High pow-
er micrograph of the rodlet in Fig. 6A. Some
fibrils of the rodlet are obliquely sectioned.
 $\times 32,000$.

Fig. 7. (7A) A slightly altered neuron in the
cobalt-gelatin lesion is seen. A cross-sectioned

rodlet is observed near the nucleolus (NL). Mitochondria (M), cytoplasmic invagination (1), synapse (S) and nucleus (N). $\times 11,200$. (7B) Higher magnification of the rodlet shown in Fig. 7A. Cross-sectioned and obliquely sectioned fibrils of the rodlet are visible. Fine granular substances in ring-like fashion (arrow) are seen around the rodlet. 7 days after implantation. $\times 60,000$.

Plate 3

Fig. 8. A fibrillar lattice showing an irregular array at both ends of it. This neuron is moderately altered. Vacuolizations of granular ER (ER), altered mitochondria (M), nucleus (N), and nucleolus (NL). 7 days after implantation. $\times 15,000$.

Fig. 9. A halo around the rodlet in irregular shape disappears, resulting from a marked increase of nuclear chromatin granules. Neuronal alterations are moderate. Nucleus (N) and mitochondria (M). 14 days after implantation. $\times 35,000$.

Fig. 10. Irregularly shaped rodlet is seen in a slightly altered neuron. Mitochondria (M), nucleus (N), and nucleolus (NL). 28 days after implantation. $\times 10,000$.

Fig. 11. Fibrillar lattice showing a disarrangement of individual fibrils. Each fibril is less dense. Cytoplasmic invagination (1), and nucleus (N). 28 days after implantation. This micrograph alone is obtained from the mirror focus. $\times 35,000$.

Intranuclear Inclusions in Neurons of the Cerebral Cortex of Rabbits and Their Morphological Alterations Induced by Intracerebral Implantation of Cobalt-gelatin Stick. An Electron Microscopic Study. Ichiro Nakamura, Masaomi Endo & Kunihito Hosokawa, Department of Neuropsychiatry, Faculty of Medicine, Toyama Medical & Pharmaceutical University (Director: Prof. M. Endo) Kiminori Isaki, Yoshiko Koyama & Kazuhiko Katsukawa, Department of Neuropsychiatry, Faculty of Medicine, Kanazawa University (Director: Prof. N. Yamaguchi), Kanazawa 920. — J. Jusen Med. Soc., **90**, 1—12 (1981).

Key words: intranuclear inclusions, cortical neuron, cobalt, electron microscopy.

Abstract

Intranuclear inclusions in neurons of the normal cerebral cortex of rabbits and their ultrastructural changes induced by intracerebral implantation of cobalt-gelatin stick were examined with electron microscope. Three different types of intranuclear fibrillar structures were found: (1) the rodlet consists of a compact bundle of parallel filaments having diameters of approximately $70\text{\AA}$; (2) the long parallel microtubules comprise a pair of microtubules of about $130\text{\AA}$ in diameter; (3) the fibrillar lattice appears as thin sheets of fine parallel filaments arrayed in a lattice.

The cobalt-gelatin-induced ultrastructural changes of these inclusions were summarized as follows:

1. The rodlet and fibrillar lattice showed irregular alignments of individual fibrils which constitute these inclusions.
2. A halo around the inclusions frequently disappeared.
3. Any picture that the inclusions are in close contact with nucleoli, nuclear membranes and other structures was not found.
4. Ultrastructural changes of the inclusions were almost parallel to the alterations of their nerve cell bodies.
5. It is sometimes observed that the capsule which consists of fine granular materials is around the rodlets and that the electron density of individual fibrils of the fibrillar lattices is lower.

The ultrastructural changes described above were discussed concerning the action of cobalt-gelatin on neurons of the rabbit brain.





