

マウスHarder腺の構造と神経支配

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/2297/8946

マウス Harder 腺の構造と神経支配

金沢大学医学部解剖学第一講座 (主任: 本陣良平教授)

河 地 直 人

(昭和57年9月13日受付)

マウス Harder 腺の構造と神経支配に関して、組織化学的検索法および電顕観察によって検した。マウス Harder 腺の腺細胞は A 細胞と B 細胞の 2 種に区分される。A 細胞は、大きく明調な分泌滴と、限界膜で囲まれた径 800—4,000 Å の電子密度大な構造物を有する。B 細胞は、電子密度小な中心部と電子密度大な辺縁部よりなる小さな分泌滴、渦巻体および層板体を有する。腺腔内には、いわゆる黒褐色顆粒に一致して、電子密度大な板状体の不規則な集合が見られ、この板状体は周期約 30 Å の縦走の縞構造を呈する。この構造はプロトポルフィリンの結晶構造に相当する。写真銀法によると、Harder 腺には多数の無髄神経線維が分布し、腺房間ならびに動脈壁において、線維束の微細な網を形成し、その所々で瘤状の腫大を示す。組織化学的検索によると、カテコールアミン蛍光は動脈壁の神経網にのみ陽性で、アセチルコリンエステラーゼ活性は動脈壁と腺房間の両神経網に陽性である。上頸神経節切除後、上記の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。電顕検索によると、神経網内の軸索瘤状腫大部は、腺房基底面あるいは動脈の中膜平滑筋細胞との間に 0.1—1.0 μm の隔たりをもって対面する。軸索腫大部は、小顆粒性シナプス小胞を含む I 型終末と、多数の無顆粒性シナプス小胞を含む II 型終末とに区分される。動脈壁の神経網には、I 型終末が II 型終末より多く分布し、腺房間の神経網には II 型終末のみが分布する。上頸神経節切除後、I 型終末が変性に陥り、翼口蓋神経節切除後、II 型終末が変性する。I 型終末は上頸神経節由来のアドレナリン作動性神経に属し、II 型終末は翼口蓋神経節由来のコリン作動性神経に属すると考えられる。Harder 腺にはまた鼻毛様体神経由来の少数の小径有髄線維も分布している。

Key words Harder 腺, アドレナリン作動性神経, コリン作動性神経, マウス

Harder 腺は、Harder¹⁾によってシカにおいて、腺体が眼窩内に位置し、導管が内眼角の近くで結膜嚢に開口する腺として、初めて記載された。その後、Harder 腺は、両生類²⁾、爬虫類³⁾、鳥類⁴⁾、哺乳類^{5)~10)}の一部のものにおいてその存在が確認された。一方、生化学的検索により、マウス、ラット、雌のハムスターなど一部の齧歯類の Harder 腺では、その分泌物が、グリセリル-1-アセチル-3-β-D-グルコシド-6-リン酸、ワックス-エステル、磷脂質などを主成分とする脂質^{6)11)~14)}と、ポルフィリン^{6)7)15)~19)}とを含むことが知られている。この特異な脂性分泌物の形成機序について、微構造検索に基づくいくつかの報告^{7)10)12)18)~20)}があるが、その詳細ははまだ明確ではない。

Harder 腺の神経支配に関しては、マウス¹²⁾²¹⁾、ラット^{22)~24)}、ハムスター¹⁰⁾²⁵⁾²⁶⁾などで、電子顕微鏡 (以下「電顕」と略) 観察や、組織化学的検索による断片的な報告をみるにすぎず、支配神経の由来と走路、および腺内神経終末の微構造や組織化学的特性などについて、系統的な検索が望まれている。

今回、著者は、マウス Harder 腺について、その微構造を可視光顕微鏡 (以下「光顕」と略) ならびに電顕観察によって検した。また、Harder 腺に分布する神経の走路を連続切片の再構築法によって検し、ついで、腺内神経終末の微構造を神経染色、組織化学的検索法、および電顕観察によって検した。なお、Harder 腺支配神経の由来、走路および終末を確認するため、各種の

Structure and Innervation of Mouse Harder's Gland. Naoto Kawachi, Department of Anatomy (Director: Prof. R. Honjin), School of Medicine, Kanazawa University.

侵襲による神経変性実験を行った。

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, Harder 腺の形態を検査するため, 切断したマウス頭部を 75% エタノール 75 ml・ホルマリン 20 ml・水酢酸 5 ml の混液に 2 日間浸漬固定し, Plank-Rychlo 液で脱灰, セロイジンに包埋し, 前頭断, 矢状断, あるいは水平断の 30 μ m 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 (以下「HE」と略), 2) レゾルチン・フクシン染色を施した。

Harder 腺に分布する外来神経の走行を, 光顕再構築法によって検査するため, 諸神経を含む次の 3 箇所組織を試料とした。1) 動眼神経・三叉神経など, 眼窩へ向う脳神経を含む頭蓋底の組織。2) 翼口蓋神経節と上顎神経を含む翼口蓋窩内の組織。3) Harder 腺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除去し, 上記 3 箇所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²⁷⁾ (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。

Harder 腺の神経要素の組織化学的特性の検査は, 次の方法によった。1) カテコールアミン蛍光検出のための Formaldehyde - glutaraldehyde - sucrose 固定法²⁸⁾ (以下「FGS 法」と略)。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。2) アセチルコリンエステラーゼ活性検出のためのルベアン酸増強法²⁹⁾。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。3) 写真銀法²⁷⁾。4) クロムヘマトキシリン髄鞘染色法。3) と 4) は神経要素確認のための対照として使用した。

Harder 腺の電顕検査には, Harder 腺をその導管と共に取り出し, 25% グルタルアルデヒド 0.1 ml・0.2 M 磷酸緩衝液 5 ml・ショ糖 0.4 g・2% オスミウム酸 5 ml からなる固定液に浸し, 固定液中で細切し, 同固定液に 4°C で 2 時間固定, エタノール系列で脱水, エポック 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 m の切片を作り, トライジンブルー染色³⁰⁾を施し, 光顕検査による組織部位の同定に資した。薄切片には酢酸ウラニルと鉛の二重染色³¹⁾を施し, HU-12 型あるいは H-50 型電顕によって観察した。上記アルデヒド固定法のほか, 腺内神経終末部の検査には, Tranzler らの重クロム酸固定法³²⁾を用いた。この方法によると, 神経組織中のカテコ-

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。

Harder 腺支配神経の起源検査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 3 種の神経・神経節の切断あるいは切除実験を行った。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。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。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, Harder 腺を採り, 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 Harder 腺の一般的構造と腺に至る神経の走路

1. マウス Harder 腺の一般的構造 (写真 1-4)

マウスの Harder 腺は眼球の後方で眼筋と眼窩壁との間に広がるかなり大きな腺で, その腺体は上部, 内側部, および下部に区分される。上部は比較的小さく, 眼球の上方に位置する。下部は大きく, 眼球の後方に位置する。内側部は眼球の内側方において, 腺体の上部と下部とを連結している。導管は短く, 腺体内側部の前縁で腺体を離れ, 前方へ走り, 直ちに瞬膜軟骨の下方で内眼角の結膜嚢に開口する。

Harder 腺は, 腺門部のみが瞬膜軟骨を介して眼球壁に付着し, その他の部分は眼窩静脈洞で囲まれている (写真 2, 3)。眼球壁との付着部を切開することにより Harder 腺は容易に取り出され, その重量は約 15 mg である。取り出した Harder 腺を, 眼筋に接していた眼球面を下にして広げると, 眼窩面はやや膨隆し, 腺体の前縁は長さ約 11 mm で, 腺体上部では前方に凸な, 下部では後方に凸な軽度の湾曲を示す。腺体は上部から下部に向うにともない, 前後径と厚さを増す。前後径は腺体上部で約 1.7 mm, 下部で約 4.5 mm であり, 厚さは腺体上部で約 0.5 mm, 下部で約 1.3 mm である。腺体の表面は平滑で光沢があり, 淡紅色を呈し, 所々に径 0.03 mm の黒褐色の顆粒が実体顕微鏡下に見いだされる。この顆粒は, 腺体の断面においても見られる。腺体は疎な結合組織によって多数の小葉に

の眼窩枝は前篩骨孔へ去る。なお、翼口蓋神経節の吻側部から発する眼窩枝は、しばしば起始部の近傍でその走路中に小神経節を含んでいる。

眼窩面側から腺体内側部に達した神経束は、腺体を貫くか、あるいは腺体の表面に沿って前方へ走り腺門部に至る。その後、神経束は導管の周囲で分岐を重ね、神経叢を形成しつつ、導管に伴行して末梢へ広がり、腺房間に微細な神経束の網を形成する。

一方、眼球面から動脈と共に腺に進入する神経束は、眼窩後神経叢 (Ruskell³³), 山下³⁴), 田中³⁵) に由来する。この神経叢は上眼窩裂のすぐ前方で外転神経と眼神経との間に位置し、外転神経を経由して眼窩に至った内頸動脈神経の枝と、翼口蓋神経節の尾側部から発した4~5本の眼窩枝とを受ける。眼窩後神経叢は、眼窩内の諸神経へ交通枝を送るほか、眼窩動脈へも伴行枝を送る。Harder 腺は、腺体上部、内側部、および下部のそれぞれの眼球面で、眼窩動脈の枝を受ける。眼窩動脈に伴行して末梢へ走る神経線維の大部分は、これらの動脈枝と共に Harder 腺に進入する。動脈伴行束として腺体内に進入した神経線維は、一部のものが動脈周囲にとどまり動脈壁内の神経網を構成するが、多くものはやがて動脈を離れ、上記の腺房間の神経網の構成に参加する。

II. マウス Harder 腺ならびに腺内神経線維の微構造

1. 光顕所見

1) マウス Harder 腺の構造

HE 標本の観察によると、マウス Harder 腺は複合管状胞状腺で、屈曲した終末部は分岐を示す。終末部は一層の腺細胞とその外面に位置する筋上皮細胞とで構成されている。腺細胞は、径約 $2\ \mu\text{m}$ の空胞状を呈する多数の分泌滴を含み、球形の核がやや基底部よりにある。腺細胞は多くの場合、腺腔面が著しく膨隆しているので、腺腔はほとんど閉ざされているか、あるいは横断面で星状を呈するが、ときに拡張した腺腔もみられる。拡張した腺腔内には分泌滴の形をとどめた分泌物が充満していることが多いが、しばしばこれに加えて、腺細胞の断片、脱落した腺細胞、あるいは径約 $25\ \mu\text{m}$ の黒褐色の顆粒が見いだされる(写真5)。この顆粒は、その大きさ、および無染色でも黒褐色を呈することから、さきに述べた実体顕微鏡下に見られた黒褐色顆粒に相当し、後に述べるようにポルフィリンを含む顆粒である。

HE 標本では腺細胞に2種を区分しえないが、電顕用に固定包埋し、トルイジンブルー染色を施した標本では、腺細胞にA細胞とB細胞の2種が区分された(写真6)。A細胞はオスミウム親和性の小さな分泌滴を有し、

胞体大きい。B細胞はオスミウム親和性の比較的大なや小型の分泌滴を有し、胞体が小さく腺腔面が一般に狭い。同一切片で見いだされた腺細胞375例のうち、359例がA細胞に、16例がB細胞に属した。

筋上皮細胞は腺細胞の基底面に沿って突起を伸ばし、その突起はしばしば終末部に軽度のくびれを生じさせている。導管は終末部より太く内腔も広い。管腔内には、分泌物のほか、腺上皮細胞の断片、脱落した腺細胞、および黒褐色顆粒が見いだされる。小葉間ならびに腺房間の結合組織は量が少なく疎である。その中を脈管と神経が走るが、特に毛細血管は洞様を呈し、数が多い。

2) 腺内神経線維の構造ならびに組織化学的特性

写真銀法と髄鞘染色法の検索結果を対比すると、眼窩面側から腺体に進入する神経束(写真7)、およびその末梢に続く導管周囲神経叢(写真9)は、多数の無髄神経線維のほか、しばしば3~4本の小径有髄線維(写真11)を含んでいる。これらの有髄線維の軸索は髄鞘を脱し、分岐して次第に細くなり、導管周囲に尖鋭状の遊離終末を形成する。眼球面側から動脈に伴行して進入する神経束(写真8)は無髄線維のみからなっている。腺房間ならびに動脈壁の神経網(写真10)は、細い無髄線維束からなり、無髄線維軸索はこれらの神経網の中を走る際、所々で瘤状の腫大を示す。

カテコールアミン蛍光検出法によると動脈壁の神経網にのみカテコールアミン蛍光が認められた(写真13)。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、蛍光はその腫大において特に著明であった。

アセチルコリンエステラーゼ活性検出法によると、腺房間および動脈壁の両神経網に活性が認められた。これらの神経網を構成する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15)。アセチルコリンエステラーゼ活性は、腺体の眼窩面から進入する神経束、導管周囲神経叢、および動脈伴行神経束にも認められた。

2. 電顕所見

1) マウス Harder 腺の微構造

i) A細胞

A細胞は、限界膜に境された径 $1.5\sim 2.5\ \mu\text{m}$ の球形ないし楕円形の分泌滴を有する(写真17)。分泌滴は細胞質全体に分布しているが、腺腔側の細胞質中に特に多い。分泌滴の融合像や一側に陥凹をもつものも見られた。分泌滴の限界膜の内面には微量の電子密度大な物質が沈着しているが、分泌滴の内部は一般に密度小な物質のみで占められ均一である。細胞の遊離面では、分泌滴の限界膜が腺腔側の細胞膜と融合して、分泌滴

の内容物が腺腔内へ放出される漏出分泌の像が認められた。

径約 $0.4 \mu\text{m}$ の球形もしくは杆状の大きなミトコンドリアが豊富に存し、そのクリスタは板状あるいは管状を呈し、基質は細顆粒状の物質に富んでいる。粗面小胞体、滑面小胞体、および Golgi 装置は核の周辺部に多い。粗面ならびに滑面小胞体はそれぞれ小集団をなすこともあるが、管状を呈し、一般に互いに入り乱れ、不規則な配列を示す。Golgi 装置は層板と小胞とからなり、Golgi 胞はほとんど見られない。核上部に、ときに中心小胞が見いだされる。

細胞質内には、上記の細胞内小器官のほか、限界膜で境され、径 $800-4,000 \text{ \AA}$ で、円形、楕円形、垂鈴形、あるいは馬蹄形の断面を示し、内部を電子密度大な物質で満たされた構造 (dense body) が認められる。内部の物質は周期約 50 \AA の縞構造を呈することがある (写真 18)。また、小さなリゾソーム様の構造も認められた。

腺腔に面する細胞遊離面には、長さ約 $0.6 \mu\text{m}$ のマイクロピリーを認めるが、腺腔内へ強く膨隆している部では短く、しばしばこれを欠く。腺細胞間では、遊離面直下に tight junction と閉鎖堤が見られ、ときにデスマゾームと gap junction が見いだされる。A 細胞の基底面には、ときにわずかの基底翻入が認められる。

ii) B 細胞

B 細胞は、限界膜に境された径 $0.8-1.0 \mu\text{m}$ の球形ないし楕円形の分泌滴を有する (写真 19)。分泌滴は腺腔の近くにより多く集まり、ときに漏出分泌像を示す。分泌滴は互いに融合する傾向が強い。分泌滴には電子密度小な中心部と密度大な周辺部が明確に認められる。中心部は均一なものもあるが、しばしば径 150 \AA の多数の顆粒を含んでいる。辺縁部は一般に、薄膜が限界膜と平行に堆積した構造を示す。この薄膜構造には、ときとして約 50 \AA の縞状の周期構造が認められる。

ミトコンドリアの大きさ、分布密度、およびクリスタの形は A 細胞のそれと大差がない。小胞体や Golgi 装置もその形や分布は A 細胞のそれと大差ない。B 細胞に特に見られるものとしては、細胞質内の所々に薄膜が渦巻状に集積した構造が存在し、これを渦巻体 (spiral body) と呼ぶ (写真 20)。そのほか、これより大きい細胞の基底部にしばしば、内部に脂質滴を含みこれを囲んで不規則に薄膜が集積した構造物が存し、これを層板体 (lamellar body) と呼ぶ (写真 20)。また、小脂質滴が数個集合し、そのまわりを薄膜の層状構造によって囲まれている像にも接した (写真 21)。

細胞遊離面には、マイクロピリーを認め、隣接する A 細胞との間には tight junction, 閉鎖堤, デスマゾームおよび gap junction が見られる。この細胞の基底翻入

は A 細胞に比して良く発達している。

iii) 腺腔内の黒褐色顆粒そのほか

拡張した腺腔内には多数の分泌滴のほか、ときに腺細胞の断片や脱落した腺細胞が見いだされる。腺腔内に脱落した腺細胞には、種々の程度の変性像が見られ、このさい分泌滴はなお限界膜を保有している。まれに、上記の分泌滴や細胞片と共に、電子密度大な板状の構造物の不規則な集合体が見いだされることがある。これを板状体 (small plate) と呼ぶ (写真 22)。これがさきに述べた黒褐色顆粒に相当する。板状体は、厚さ 150 \AA 、長さ約 $1.5 \mu\text{m}$ のやや湾曲した断面を示し、その断面には周期約 30 \AA の縦走する縞構造が認められる (写真 23)。板状体は、脱落変性した腺細胞の崩壊物質中に特に見だし、この場合板状体の間に、なお限界膜を保有する分泌滴が見出される。また、この種の分泌滴がその内容の減少によって断面星形を呈する像にも接した。

iv) 筋上皮細胞と導管

筋上皮細胞は、腺細胞の基底面と約 120 \AA の間隙をもって接しており、まれに両細胞間にデスマゾームが認められた。筋上皮細胞の核の周囲は筋形質に富むが、その突起は長軸方向に走る多数の筋細線維によって占められている。筋上皮細胞の組織腔に面する外面には多数のピノサイトーシス様の小胞あるいは小窩が存在する。

Harder 腺の導管は、上皮細胞と基底細胞との二種の細胞で構成されている。導管の上皮細胞は柱状で、核上部の細胞質は滑面小胞体に富み、しばしば管腔面の近くに電子密度やや大径 $2,000-3,000 \text{ \AA}$ の球状の顆粒を含んでいる。管腔面には少数の短いマイクロピリーを認めるが、開口部に近づくにつれて、マイクロピリーはさらに短く、疎になる。終末部に近い部では、導管の上皮の所々に、腺細胞が出現するが、これらの腺細胞の微構造は終末部の A 細胞のそれと同様であった。

腺房間ならびに小葉間には、疎に分布する膠原細線維と少数の線維細胞のほか、洞様に拡張した毛細血管が多数存在する。毛細血管の内皮細胞はピノサイトーシス小胞に富み、所々に隔膜を保有する孔様の構造を有している。

2) 腺内神経線維の微構造

Harder 腺の眼窩面から単独に、あるいは眼球面から動脈に伴行して、腺体内に進入する神経束は、いずれも薄い神経周膜で囲まれている。眼窩面から進入する神経束は、2-3 本存在し、それぞれ $50-70$ 本の無髄軸索を含むほか、軸索の直径 $1.0 \mu\text{m}$ 、髄鞘の厚さ約 $0.3 \mu\text{m}$ の小径有髄線維を 1-3 本含んでいる。眼球面から進入する神経束は、3-4 本存在し、それぞれ $30-60$

本の無髄軸索を含むが、有髄線維は含んでいない。

導管周囲神経叢は、導管の横断面において5~6本の神経束からなるが、そのうち2~3本は比較的太く、神経周膜を有し、それぞれ20~60本の無髄軸索を含むほか、上記の眼窩面から進入する神経束に含まれていたのと同様の小径有髄線維を1~2本含んでいる(写真24)。そのほかの神経束は細く、神経周膜を欠き、1~10本の無髄線維のみからなる。

腺房間の神経網は、神経周膜を欠く細い無髄線維束からなり、1~10本の無髄軸索が Schwann 細胞によって包まれている。軸索は腺房間を走る際、所々で腫大し、その腫大部で Schwann 鞘を一部欠き、組織腔に面している。軸索腫大部は、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、腺房の基底面と0.1 μm -1.0 μm の隔たりをもって対面している(写真27)。腫大部の表面には多くの場合基底膜があるが、これを欠く部分も見られた。このような微構造特徴は、この軸索腫大部が、いわゆる遠距離シナプス(Synapse auf Distanz)^{36)~38)}を形成する神経終末であることを示している。

動脈壁の神経網は、外膜中に分布する無髄線維束からなる。この無髄線維束は、腺房間神経網の場合と同様の微構造特徴を示すが、この部の軸索腫大部は、中膜の平滑筋細胞と0.1-1.0 μm の隔たりをもって対面している(写真28)。軸索は、Schwann 細胞に包まれて走るが、断面で Schwann 細胞の被鞘を完全に欠く軸索が、所々に見いだされた。このような軸索は、通常、基底膜を欠いている。

腺房間ならびに動脈壁の神経網内にみられる上記の軸索腫大部は、多数のシナプス小胞を含んでいるが、これらのシナプス小胞は、Richardson³⁹⁾と Honjin^ら³⁷⁾の分類に従って、次の3種に区分される。小顆粒性小胞、大顆粒性小胞、および無顆粒性小胞である。小顆粒性小胞は、径約500 Åで内部に電子密度大な1個の顆粒を有する。大顆粒性小胞は、径約1,000 Åで内部にやや大きな顆粒を1個含んでいる。無顆粒性小胞は、径約500 Åで顆粒を含んでいない。Harder 腺内の軸索腫大部は、その内部に含まれるシナプス小胞の種類により、I型とII型とに区分される。I型は、多少とも小顆粒性小胞を含み、ときとして少数の無顆粒性小胞や大顆粒性小胞をも含んでいる。II型は、多数の無顆粒性小胞を含み、ときに少数の大顆粒性小胞をも含むが、小顆粒性小胞を含まない。

腺房間の神経網では、検した127例の軸索腫大部のすべてのものがII型に属し、I型に属するものは見いだされなかった(写真27)。これに対して、動脈壁の神経網においては、検した軸索腫大部115例中の83例が

I型に属し、32例がII型に属した(写真28)。

III. マウス Harder 腺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 Harder 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、および電顕観察によって検した。

写真銀法によると、動脈壁の神経網において、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、やがて多数の無髄軸索が、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、正常な無髄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、変性神経束内に少数の表面平滑な無髄線維軸索が残存する。腺体内へ動脈と共に進入する神経束では、術後16時間~2日に、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。腺体に眼窩面側から単独に進入する神経束ならびに腺房間の神経網においては、術後、著明な変化が認められなかった。

カテコールアミン蛍光検出法によると、正常な Harder 腺の動脈壁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、完全に消失した(写真14)。この所見は、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、Harder 腺内の動脈の壁に多数分布し、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。

アセチルコリンエステラーゼ活性を、術後16時間~7日にわたって検したが、腺内神経要素が示す活性の強さや分布密度には、術後著明な変化を認めなかった。

電顕検索においては、上頸神経節切除後、腺体に眼窩面から進入する神経束、導管周囲神経叢および腺房間神経網には変化が認められなかった。これに対して、眼球面から動脈に伴行して腺体に進入する神経束内の一部の軸索と、動脈壁の神経網内の多数の軸索ならびに終末とは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、動脈壁に分布する一部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、軸索およびその終末内に、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の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、軸索および終末が腫

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。軸索膜には断裂が見られなかった。

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(写真29)。

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。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動脈壁内の一部の無髄軸索とその終末は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。

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29)。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、Harder腺内の動脈壁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

写真銀法標本においては、腺内の大多数の無髄線維軸索が、術後16時間～2日に染色性の低下や小顆粒への断裂などの二次変性像を示し、術後7日までに変性消失することを認めた。しかし、動脈壁の神経網を構成する無髄線維軸索の多くのもとの、導管周囲の有髄神経線維ならびにその終末軸索(写真12)には、術後16時間～7日にわたって全く変化を認めなかった。

カテコールアミン蛍光検出法では、動脈壁に分布する蛍光陽性線維に、術後7日を経ても全く変化を認めなかった。一方、アセチルコリンエステラーゼ活性検出法によると、腺内のすべてのアセチルコリンエステラーゼ活性陽性線維が、術後16時間ごろより活性の減弱を示し始め、術後7日までにその活性は完全に消失した(写真16)。この実験結果は、Harder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。

電顕観察においては、腺房間の大多数の無髄線維軸

索が翼口蓋神経節切除後24時間に、二次変性像を示し、術後7日までに変性消失することを確認した(写真30)。しかし、術後24時間～7日の試料において、動脈壁の神経網中の大部分の無髄線維軸索とその終末、ならびに、導管周囲の有髄線維と一部の無髄線維軸索は、二次変性に陥ることなく正常な微構造を保っていた(写真25)。動脈壁の神経網内に残存していた神経終末はすべて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31)。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、Harder腺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. 鼻毛様体神経切断後の変化

鼻毛様体神経切断後、写真銀法によると、導管周囲の有髄線維ならびにその終末軸索が、術後16時間～2日に二次変性像を示し、術後4日以後に完全に変性消失する。しかし、腺内の大多数の無髄線維とその瘤状腫大終末は、術後16時間～7日にわたって全く変化を示さなかった。

組織化学的検索では、腺内のカテコールアミン蛍光ならびにアセチルコリンエステラーゼ活性には、術後、変化が認められなかった。

電顕観察では、眼窩面より腺に進入する神経束ならびに導管周囲の神経叢において、鼻毛様体神経切断後24時間に、有髄線維ならびに一部の無髄線維軸索が二次変性像を示すことが確認された(写真26)。

考 察

1. Harder腺の腺細胞内の分泌滴ならびに腺腔内色素顆粒の形成機序

Griffin⁷⁾はラットで、Harder腺の腺細胞を、ズダン親和性の小な分泌滴をもつprinciple cellと、ズダン親和性の大な分泌滴をもつclear cellとの2種に区分した。Brownschidleら²²⁾は同じくラットで、電顕観察により、大きな明調な分泌滴を有するA細胞と、辺縁部に電子密度大な層のみられる小さな分泌滴をもつB細胞とに区分し、A細胞がGriffin⁷⁾のclear cellに、B細胞がprinciple cellに相当すると考えた。マウスのHarder腺においても、Woodhouseら²⁰⁾が電顕観察により、ラットの場合と同様に、明調な分泌滴を有する腺細胞と、オスミウム好性の物質を辺縁部に含む分泌滴をもつ腺細胞との2種の腺細胞の存在を見だし、Brownschidleら²²⁾の命名法と同じく、それぞれA細胞、B細胞と名付けた。マウスHarder腺におけるA、B両細胞の存在は、Watanabe¹²⁾によっても電顕下で確認されているが、今回、著者は、光顕下においても、

電顕用に固定包埋してトルイジンブルー染色を施した標本で、分泌滴のオスミウム親和性の大小により、A細胞とB細胞とを識別した。

今回の電顕所見によれば、A細胞の微構造特徴は次の2点に要約される。1) 分泌滴が1.5—2.5 μm と大きく、その内容物は電子密度が小さく、均一である。2) 限界膜で包まれ、電子密度大な物質を含み、径800—4,000 \AA を算し、円形、楕円形、垂鈴形、馬蹄形など種々の断面を示す構造物 (dense body) を多数含んでいる。後者に関し、Woodhouse ら²⁰⁾はこれを dense body と称し、これが分泌滴ないし脂質滴と合すると考え、A細胞の分泌滴の前駆体の一つと見なした。今回の検索によれば、この構造物が分泌滴に合する像は見いださなかった。著者は、この構造物がA細胞分泌滴形成に直接関与しているとは考えない。

一方、B細胞の重要な微構造特徴は次のようである。1) 分泌滴は径0.8—1.0 μm とやや小さく、その内容物は、電子密度の小さな中心部と、それを囲む電子密度大な薄膜の集積からなる辺縁部とからなる。2) 薄膜が渦巻状を呈する渦巻体が見られる。3) 内部に脂質滴を含み、これを囲んで不規則に薄膜の集積した層板体が存在する。多数の電顕像を通覧すると、渦巻体と層板体との中間、また、層板体とB細胞分泌滴との中間に位すると思われる像に接するので、B細胞の分泌滴が、渦巻体から層板体を経て形成されるものと推測される。

Harder 腺腺細胞の分泌様式に関しては、光顕検索に基づき、Cohn⁹⁾は離出分泌を、Björkman ら⁹⁾は全分泌を主張したが、近年、電顕観察により Woodhouse ら²⁰⁾や Brownschidle ら²²⁾は漏出分泌を提唱している。今回の電顕検索においても、A細胞・B細胞ともに分泌滴の限界膜が腺腔側の細胞膜と融合し、分泌滴の内容物が腺腔内へ放出される像が観察された。この所見は、A・B両細胞において漏出分泌が行なわれていることを示している。しかし、今回の検索では、腺腔内に腺細胞の断片や脱落した腺細胞がしばしば見いだされ、また腺房を構成する腺細胞間に少数ながら、変性に陥って脱落しつつあると思われる腺細胞が確認された。この所見は、腺細胞の新旧交代が比較的活発であることを意味し、A細胞・B細胞ともに漏出分泌をなすが、このほか細胞の脱落によってその内容を分泌する可能性を示唆している。

Derrien ら¹⁹⁾は、Harder 腺腺腔内に見いだされる黒褐色顆粒が、紫外線により特有の赤色蛍光を発することから、ポルフィリンを多量に含むものであることを示唆した。一方、Gschnait ら⁴¹⁾は電顕検索により、グリセオフルビン投与時にマウスの肝に蓄積するプロト

ポルフィリンならびに市販の結晶プロトポルフィリンが、周期約30 \AA の縦走の縞構造を示す板状物からなることを報じている。今回の検索において、マウス Harder 腺の黒褐色顆粒が電子密度大な板状体からなり、その多くのが周期約30 \AA の縦走の縞構造を呈することが確認された。このことは、Harder 腺腺腔内に存在する黒褐色顆粒が、ポルフィリンを高濃度に含んでいることを微構造の上からも示すものである。

Harder 腺腺腔内の黒褐色顆粒の形成機序に関しては、Woodhouse ら²⁰⁾は、A細胞から放出された分泌物から脂質成分が抜け、ポルフィリン成分が腺腔内に析出し、この顆粒を形成すると考えた。一方、Watanabe¹²⁾はB細胞の分泌滴の辺縁部を占める電子密度大な薄膜の堆積物が、黒褐色顆粒の周囲に見いだされる細線維状物質に似ていることから、腺腔内に放出されたB細胞分泌滴の薄膜部分が腺腔内で集積して黒褐色顆粒を形成すると推測した。今回の検索において、黒褐色顆粒は、しばしば脱落した細胞片ないしその変性産物と接して存在するを見いだした。著者は、これらの所見から、腺腔内に脱落した腺細胞片から脂質などの成分が抜け、ポルフィリン成分のみが残って濃縮し、黒褐色顆粒が形成されるものと推察する。

2. マウス Harder 腺の神経支配

今回の組織化学的検索の結果により、正常な神経支配の場合、カテコールアミン蛍光陽性線維は、腺内の動脈の壁にのみ分布し、アセチルコリンエステラーゼ活性を示す神経線維は、動脈壁のみならず、広く腺房間に分布していることが明らかになった。また、著者の二次変性実験とそれに続く組織化学的検索は、上頸神経節切除後、上記の動脈壁の神経終末にみられたカテコールアミン蛍光陽性が消失し、翼口蓋神経節切除後、腺房間および動脈壁の神経終末に見られたアセチルコリンエステラーゼ活性陽性が消失することを示した。さらに同時に行った電顕検索は、上頸神経節切除後には、動脈壁に存し、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消失し、このとき、腺房間および動脈壁に存する無顆粒性シナプス小胞のみを含むII型神経終末が残存することを示した。一方、翼口蓋神経節切除後には、腺房間および動脈壁に存し、無顆粒性シナプス小胞のみを含むII型終末が変性に陥って消失し、このとき、動脈壁には多かれ少なかれ小顆粒性シナプス小胞を含むI型終末が残存しているのが見いだされた。以上の所見は、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、カテコールアミン蛍光ならびにアセチルコリンエステラーゼ活性の組織化学的証明法と電顕による微構造検索によって、交感および副交感神経

線維の腺内分布とその由来を明らかにしたものである。Harder 腺内に分布している I 型終末は上頸神経節に由来するアドレナリン作動性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明確に示したものとえよう。

従来の報告によると、齧歯類の Harder 腺には、アドレナリン作動性の神経とコリン作動性の神経の 2 種が分布しているという点では、いずれの報告も一致している。しかし、Norvell ら²⁹⁾は単なる正常動物についての組織化学的検索に止まり、Bucana ら²⁹⁾、Sakai ら⁴²⁾、Watanabe⁴⁾、井上ら²⁴⁾は正常動物についての電顕所見のみに基づき、腺内の血管周囲にアドレナリン作動性線維を、腺房間にコリン作動性線維を見いだしたとしている。しかし、これらの報告は両種の神経の由来については述べていない。Huhtala ら²³⁾は、主として組織化学的検索に基づき、腺房間にもカテコールアミン陽性線維が認められたとしている。しかし、著者の今回の知見では、腺房間にはカテコールアミン陽性線維を見いだし得ず、また腺房間に I 型終末を見なかった。Huhtala ら²³⁾はラットで、二次変性実験に続く組織化学的検索に基づき、アドレナリン作動性神経が上頸神経節に由来することを報じているが、今回のマウスでの結果と一致する。しかし、彼はコリン作動性神経の由来について、頬骨神経切断実験後、腺内のコリン作動性線維の変性を確認したとして、涙腺と同様に Harder 腺も翼口蓋神経節から頬骨神経を介して、コリン作動性線維の供給を受けていると考えた。著者の今回の連続切片所見では、頬骨神経から Harder 腺に至る神経は見いだしえなかった。

今回の連続切片による神経線維の走行の追求により、マウス Harder 腺は翼口蓋神経節から独立して走る神経束と、眼窩後神経叢を経て動脈に伴行して腺に至る神経束とを受けることが示された。翼口蓋神経節を発して Harder 腺に至るコリン作動性線維はこの 2 種の走路を経て腺に到達すると考えられる (図 1)。一方、上頸神経節に由来し、Harder 腺に分布するアドレナリン作動性線維の走路に関しては、頭蓋内で外転神経を經由して眼窩内に至る走路 (Johnston ら⁴³⁾、Parkinson ら⁴⁴⁾、山下³⁴⁾、田中³⁵⁾が考えられる。すなわち、上頸神経節由来の神経線維は、内頸動脈神経から内頸動脈神経叢を経て頭蓋内に進入し、海綿静脈洞の部で外転神経に合流して末梢へ走り、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する。Harder 腺に分布するアドレナリン作動性神経は、上記の走路を経て、ついで眼窩後神経叢からの動脈伴行枝を通して腺に至ると推測

される (図 1)。なお、眼窩後神経叢からは、鼻毛様体神経へも交通枝が出るが、今回の鼻毛様体神経切断実験により、Harder 腺に分布するアドレナリン作動性神経とコリン作動性神経は、いずれも鼻毛様体神経を經由しないことが確認された。

今回、マウス Harder 腺において、導管周囲の神経叢に、多数の無髄線維のほかに通常数本の小径有髄線維が含まれていることが、光顕ならびに電顕下に見いだされた。Sakai ら⁴²⁾も電顕検索により、スナネズミの Harder 腺内での有髄線維の存在を報じている。ただ、Sakai ら⁴²⁾はその有髄線維の終末、由来、機能などについては言及していない。Harder 腺以外の外分泌腺においては、中村⁴⁵⁾がマウス顎下腺と舌下腺で、中泉⁴⁶⁾がマウス外涙腺で、腺門部に有髄線維を見だし、同時にこの有髄線維が導管周囲で求心性神経終末を形成することを報じている。今回の光顕検索でも、有髄線維は、Harder 腺の導管周囲で髓鞘を脱し、比較的単純な分岐性の遊離終末を形成することが確認されたが、電顕下にその終末の像を同定するには至らなかった。今回見いだされた有髄線維は、上頸神経節や翼口蓋神経節を切除した後、二次変性に陥ることはなかったが、鼻毛様体神経切断後に変性に陥ることが、光顕ならびに電顕検索により確認された。このことは、マウス Harder 腺導管に分布する小径有髄線維が、鼻毛様体神経を經由して腺に至ることを示すもので、この有髄線維が分岐性遊離終末を形成するという光顕所見とともに、三叉神経に属する求心性神経線維が Harder 腺の導管近傍に分布していることを示している。

結 論

Harder 腺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 Harder 腺について検し、次の結果を得た。

1. マウス Harder 腺は、眼球後方で眼筋と眼窩壁との間に広がり、腺体の大部分は眼窩静脈洞におおわれ、その導管は結膜嚢に開口する。
2. Harder 腺は複合管状胞腺で、オスミウム親和性の小な分泌滴を有する A 細胞と、オスミウム親和性の大きな分泌滴を有する B 細胞の 2 種の腺細胞を有する。A 細胞と B 細胞の分布比は 20 : 1 である。
3. A 細胞は径 1.5—2.5 μm で均一な密度を示す分泌滴と、径 800—4,000 \AA の dense body を多数含む。
4. B 細胞は径 0.8—1.0 μm で、電子密度小な中心部と電子密度大な辺縁部とからなる分泌滴のほか、渦巻体と層板体を含む。
5. A・B 両細胞ともに、漏出分泌をなす。
6. 腺腔内に見られる黒褐色顆粒は、板状体の集合

したもので、周期約 30 Å の縦走の縞構造を示し、この縞構造はプロトポルフィリンの結晶構造に一致する。

7. Harder 腺に至った交感・副交感神経節後線維は無髄神経線維の小束よりなる網を動脈壁ならびに腺房間に形成する。無髄軸索は所々で瘤状に腫大した神経終末を形成する。カテコールアミン活性が動脈壁の神経網にのみ、また、アセチルコリンエステラーゼ活性は腺房間ならびに動脈壁の両神経網に認められる。

8. 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。

9. 腺房間ならびに動脈壁の神経網にみられる軸索腫大部は、腺房の基底面あるいは中膜の平滑筋細胞との間に 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 (Synapse auf Distanz) の特徴を示す。

10. 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 型に区分される。小顆粒性小胞を含む I 型終末は、動脈壁神経網にのみ分布し、上頸神経節切除後変性消失するが、翼口蓋神経節切除後残存する。無顆粒性小胞を含むが、小顆粒性小胞を含まない II 型終末は、腺房間・動脈壁のいずれの神経網にも分布し、翼口蓋神経節切除により変性消失するが、上頸神経節切除後残存する。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。動脈壁神経網における I 型終末と II 型終末との分布比は約 7 : 3 である。

11. 少数の小径有髄線維が、導管周囲で遊離性求心性終末を形成する。この種の小径有髄線維は、上頸神経節あるいは翼口蓋神経節を切除後変性しないが、鼻毛様体神経切断後変性に陥る。

12. マウス Harder 腺は、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および、極めて少数の三叉神経由来の求心性小径有髄線維によって支配されている。

謝 辞

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、いろいろ御協力を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御礼を申し上げます。

文 献

1) Harder, J. J.: Glandula nova lachrymalis una cum ductu excretorio in cervis & damis. Acta eruditorium lipsiae, 49 - 52 (1694). (Cited from Sakai, 1981.)

2) Piersol, G. A.: Beiträge zur Histologie der Harder'schen Drüsen der Amphibien. Arch. mikrosk. Anat., 29, 594 - 608 (1887).

3) Cowan, F. B. M.: Gross and microscopic anatomy of the orbital glands of *Malaclemys* and other emydine turtles. Can. J. Zool., 47, 723 - 729 (1969).

4) Burns, R. B. & Maxwell, M. H.: The structure of the Harderian gland and lacrimal gland ducts of the turkey, fowl and duck. A light microscope study. J. Anat., 128, 285 - 292 (1979).

5) Sakai, T.: The mammalian Harderian gland: Morphology, Biochemistry, Function and Phylogeny. Arch. histol. jap., 44, 299 - 333 (1981).

6) Cohn, S. A.: Histochemical observations on the Harderian gland of the albino mouse. J. Histochem. Cytochem., 3, 342 - 353 (1955).

7) Grafflin, A. L.: Histological observations upon the porphyrin - excreting Harderian gland of the albino rat. Amer. J. Anat., 71, 43 - 64 (1942).

8) Kanwar, K. C.: Morphological and cytochemical studies on the Harderian glands of rats. Cellule, 61, 129 - 143 (1960).

9) Björkman, N., Nicander, L. & Schantz, B.: On the histology and ultrastructure of the Harderian gland in rabbits. Z. Zellforsch., 52, 93 - 104 (1960).

10) Bucana, C. D. & Nadakavukaren, M. J.: Fine structure of the hamster Harderian gland. Z. Zellforsch., 129, 178 - 187 (1972).

11) Kasama, K., Uezumi, N. & Itoh, K.: Characterization and identification of glyceryl ether diesters in Harderian gland tumor of mice. Biochim. biophys. Acta, 202, 56 - 66 (1970).

12) Watanabe, M.: An autoradiographic, biochemical, and morphological study of the Harderian gland of the mouse. J. Morphol., 163, 349 - 365 (1980).

13) Zackor, J., Egge, H. & Murawski, U.: 1 - Alkyl - 2, 3 - diacylglycerin in der Harderschen Drüse der Ratte. Hoppe - Seyler's Z. physiol. Chem., 357, 288 - 289 (1976).

14) Murawski, U. & Jost, U.: Unsaturated wax esters in the Harderian gland of the rat. Chem. Phys. Lipids, 13, 155 - 158 (1974).

15) Derrien, E. & Turchini, J.: Sur l'accumulation d'une porphyrine dans la glande de Harder des rongeurs du genre *Mus* et sur son mode d'excrétion.

C. r. Soc. Biol., 91, 637 - 639 (1924).

- 16) **Tomio, J. M. & Grinstein, M.**: Porphyrin biosynthesis. 5. Biosynthesis of protoporphyrin IX in Harderian glands. *Eur. J. Biochem.*, 6, 80 - 83 (1968).
- 17) **Kennedy, G. Y.**: Harderoporphyrin: A new porphyrin from the Harderian glands of the rat. *Comp. Biochem. Physiol.*, 36, 21 - 36 (1970).
- 18) 提啓, 岩田克美, 小川勝士, 松浦和彦: シロネズミ Harder 腺の組織化学的ならびに電子顕微鏡的研究. 日本組織学記録, 27, 553 - 567 (1966).
- 19) **Hoffman, R. A.**: Influence of some endocrine glands, hormones and blinding on the histology and porphyrins of the Harderian glands of golden hamsters. *Amer. J. Anat.*, 132, 463 - 478 (1971).
- 20) **Woodhouse, M. A. & Rhodin, J. A. G.**: The ultrastructure of the Harderian gland of the mouse with particular reference to the formation of its secretory product. *J. Ultrastruct. Res.*, 9, 76 - 98 (1963).
- 21) **Mahran, Z. Y. & Sakla, F. B.**: The pattern of innervation of the extrinsic ocular muscles and the intra - orbital ganglia of the albino mouse. *Anat. Rec.*, 152, 173 - 184 (1965).
- 22) **Brownschieldle, C. M. & Niewenhuis, R. J.**: Ultrastructure of the Harderian gland in male albino rats. *Anat. Rec.*, 190, 735 - 754 (1978).
- 23) **Huhtala, A., Huikuri, K. T., Palkama, A. & Tervo, T.**: Innervation of the rat Harderian gland by adrenergic and cholinergic nerve fibers. *Anat. Rec.*, 188, 263 - 272 (1977).
- 24) 井上節, 越智淳三: ラット Harder 腺の交感神経支配についての蛍光および電顕的研究. 解剖誌, 46, 67 - 68 (1971).
- 25) **Bucana, C. D. & Nadakavukaren, M. J.**: Innervation of the hamster Harderian gland. *Science*, 175, 205 - 206 (1972).
- 26) **Norvell, J. E. & Clabough, J. W.**: Adrenergic and cholinergic innervation of the hamster Harderian gland. *Science*, 178, 1102 - 1103 (1972).
- 27) **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).
- 28) **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).

- 29) **Nakamura, T. & Torigoe, K.**: Simultaneous visualization of catecholamine fluorescence and cholinesterase activity in the peripheral autonomic nerve. *Acta histochem. cytochem.*, 12, 569 (1979).
- 30) 大和一夫: Chromatolysis の電子顕微鏡的解析. 十全医会誌, 60, 510 - 528 (1958).
- 31) 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).
- 32) **Tranzer, J. - P. & Richards, G.**: Ultrastructural cytochemistry of biogenic amines in nervous tissue: Methodologic improvements. *J. Histochem. Cytochem.*, 24, 1178 - 1193 (1976).
- 33) **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).
- 34) 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).
- 35) 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).
- 36) **Jabonero, V.**: Die plexiforme Synapse auf Distanz und die Bedeutung der sogenannten interkalären Zellen. *Acta neuroveg.*, Wien, 19, 276 - 302 (1959).
- 37) **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).
- 38) **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.*, 222, 459 - 465 (1982).
- 39) **Richardson, K. C.**: The fine structure of autonomic nerve endings in smooth muscle of the rat vas deferens. *J. Anat.*, 96, 427 - 442 (1962).
- 40) 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).
- 41) **Gschnait, F., Konrad, K., Hönigsmann, H., Denk, H. & Wolff, K.**: Mouse model for protoporphyrin. I. The Liver and Hepatic Protoporphyrin Crystals. *J. Invest. Dermatol.*, 65, 290 - 299 (1975).
- 42) **Sakai, T. & Yohro, T.**: A histological study

of the Harderian gland of Mongolian Gerbils, *Meriones meridianus*. *Anat. Rec.*, **200**, 259 - 270 (1981).

43) Johnston, J. A. & Parkinson, D.: Intracranial sympathetic pathways associated with the sixth cranial nerve. *J. Neurosurg.*, **39**, 236 - 243 (1974).

44) Parkinson, D., Johnston, J. & Chaudhuri, A.: Sympathetic connections to the fifth and sixth cranial nerves. *Anat. Rec.*, **191**, 221 - 226 (1978).

45) 中村俊雄: 顎下腺および舌下腺の神経支配について. *解剖誌*, **35**, 162 - 209 (1960).

Explanation of Photographs

Photos. 1 to 16 are photomicrographs, and Photos. 17 to 31 are electron micrographs.

Plate I

Photos. 1 to 4. Photo. 1 is a sagittal section of the mouse orbit. Photos. 2, 3 and 4 are frontal sections of the mouse orbit at the levels of A, B and C indicated in Photo. 1. e: eyeball, H: Harder's gland, o: orbital venous sinus, on: optic nerve. Resorcin - fuchsin stain. $\times 8$.

Photo. 5. Acini of Harder's gland. Note brown pigments (p) in the lumen of the acini. Hematoxylin - eosin stain. $\times 270$.

Photo. 6. Acini of Harder's gland. Note brown pigments (p) in the lumen. A: A cell, B: B cell. Toluidine blue stain. $\times 270$.

Photo. 7. Nerve bundle (arrow) running from the pterygopalatine ganglion to the Harder's gland. Photographic silver stain. $\times 290$.

Photo. 8. Nerve bundle (arrow) running from the retro - orbital nerve plexus to the Harder's gland. a: artery. Photographic silver stain. $\times 290$.

Plate II

Photo. 9. Periductal nerve plexus. d: glandular duct. Photographic silver stain. $\times 290$.

Photo. 10. Fine nerve plexus situated among the glandular acini and in the arterial wall (a). Photographic silver stain. $\times 580$.

Photo. 11. Myelinated nerve fibers (arrow) in the periductal nerve plexus. d: glandular duct. Toluidine blue stain. $\times 540$.

Photo. 12. Surviving myelinated nerve fibers (arrow) in the periductal nerve plexus, 4 days after pterygopalatine ganglionectomy. All un-

myelinated fibers disappear. d: glandular duct. Photographic silver stain. $\times 540$.

Photo. 13. Catecholamine fluorescence in normally innervated Harder's gland. Note dense plexus of thin nerve bundles with many varicosities near the arterial wall. FGS method. $\times 580$.

Photo. 14. Catecholamine test in denervated Harder's gland, 24 hr after superior cervical ganglionectomy. Note complete disappearance of catecholamine fluorescence near the arterial wall. FGS method. $\times 580$.

Photo. 15. Acetylcholinesterase activity in normally innervated Harder's gland. Note dense plexus of thin nerve bundles with many varicosities both near the arterial wall (tailed arrow) and among the acini (untailed arrow). Rubanic acid - enhancement method. $\times 270$.

Photo. 16. Acetylcholinesterase test in denervated Harder's gland, 7 days after pterygopalatine ganglionectomy. Note complete disappearance of acetylcholinesterase activity both near the arterial wall and among the acini. Rubanic acid - enhancement method. $\times 270$.

Plate III

Photo. 17. Apical part of A cell. Many secretory droplets are seen. One of them shows exocytotic secretion to the acinar lumen (l). $\times 15,000$.

Photo. 18. Many dense bodies (db) in the cytoplasm of A cell. $\times 30,000$.

Photo. 19. Apical part of B cell. Many secretory droplets having less dense central part and more dense peripheral part. Arrow indicates exocytosis of a secretory droplet. $\times 15,000$.

Photo. 20. Spiral bodies (tailed arrow) and lamellar body (untailed arrow) in the cytoplasm of B cell. $\times 15,000$.

Photo. 21. Accumulation of small lipid droplets in the cytoplasm of B cell. $\times 15,000$.

Plate IV

Photo. 22. Many small plates in the lumen of the acini of Harder's gland. $\times 18,000$.

Photo. 23. High magnification of the small plates in the glandular lumen. Note longitudinal regular band, about 30 Å in period. $\times 144,000$.

Photo. 24. Cross section of a nerve bundle in the periductal nerve plexus. Note a small myelinated fiber and many unmyelinated ones. $\times 20,000$.

Photo. 25. Longitudinal section of a nerve bundle in the periductal nerve plexus, 24 hr after pterygopalatine ganglionectomy. Degenerating axons (dg) and a surviving myelinated fiber are seen. $\times 20,000$.

Photo. 26. Cross section of a nerve bundle in the periductal nerve plexus, 24 hr after sectioning the nasociliary nerve. Degenerating myelinated fibers (dg) and surviving unmyelinated axons are seen. $\times 20,000$.

Plate V

Photo. 27. Type -II axonal expansion (II) in the nerve plexus among the acini of Harder's gland. Note many agranular synaptic vesicles in the axonal expansion. $\times 20,000$.

Photo. 28. Type -I axonal expansions (I) and Type -II axonal expansions (II) in the nerve plexus in the arterial wall of Harder's gland. Note small granular synaptic vesicles in Type -I

expansions and agranular synaptic vesicles in Type -II expansions. $\times 20,000$.

Plate VI

Photo. 29. Degenerating axons (dg) and surviving Type -II axonal expansions (II) in the nerve plexus in the arterial wall in denervated Harder's gland, 24 hr after superior cervical ganglionectomy. Arrow indicates large granular synaptic vesicle. $\times 20,000$.

Photo. 30. Degenerating axons (dg) in the nerve plexus among the acini in denervated Harder's gland, 24 hr after pterygopalatine ganglionectomy. $\times 20,000$.

Photo. 31. Degenerating axon (dg) and surviving Type -I axonal expansions (I) in the nerve plexus in the arterial wall in denervated Harder's gland, 24 hr after pterygopalatine ganglionectomy. $\times 20,000$.

Structure and Innervation of Mouse Harder's Gland Naoto Kawachi, Department of Anatomy, School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa, 920 - J. Juzen Med. Soc., 91, 744-763 (1982)

Key words: Harder's gland, adrenergic nerve fibers, cholinergic nerve fibers, mouse.

Abstract

The structure and innervation of the mouse Harder's gland were studied by histochemistry and electron microscopy. The mouse Harder's gland has two types of acinar cells, A and B cells. The A cells have large secretory droplets containing an electron-lucent amorphous material, and membrane-bounded peculiar organelles, 800-4,000 Å in diameter, containing an electron-dense material. The B cells have small secretory droplets composed of a less dense central part and a denser peripheral part, spiral bodies and lamellar bodies. The so-called brown pigment in the acinar lumen consists of an irregular accumulation of electron-dense small plates having longitudinal regular bands, about 30 Å in period. This structural feature is similar to that of protoporphyrin crystals. The photographic silver method shows that the Harder's gland is supplied with many unmyelinated nerve fibers, which form fine nerve plexus among the acini and in the arterial walls. The nerve fibers show many varicosities along their course in the plexus. The histochemical techniques demonstrate catecholamine-fluorescent varicose fibers only in the arterial walls and acetylcholinesterase-active varicose fibers both in the arterial walls and among the acini. After superior cervical ganglionectomy the catecholamine-positive fibers disappear, while after pterygopalatine ganglionectomy the acetylcholinesterase-active fibers vanish. In electron micrographs, the varicosities appear as axonal expansions containing many synaptic

vesicles. A relatively wide space, 0.1-1.0 μm in width, lies between the expansions and the glandular acini or the smooth muscle cells in the media of the arteries. The expansions can be classified into two types; Type-I always having small granular vesicles and Type-II having many agranular vesicles. In the arterial walls Type-I expansions are more frequent than Type-II expansions, while among the acini only Type-II expansions are present. After superior cervical ganglionectomy Type-I expansions undergo degeneration, while after pterygopalatine ganglionectomy Type-II expansions degenerate. These observations indicate that Type-I 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. The Harder's gland is also supplied with a few thin myelinated nerve fibers from the nasociliary nerve.











