

末梢神経二次変性におけるアルカリ性フォスファターゼ 活性の組織化学的ならびに生化学的研究

付：分離神経の *in vitro* 変性における知見

金沢大学大学院医学研究科解剖学第一講座(主任：本陣良平教授)

室 野 繁

(昭和41年10月4日受付)

神経線維を切断した後、その切断端より末梢側の部分は変性に陥る。この現象は神経組織に特有な変化で、二次変性または Waller 変性と呼ばれ、それ自体神経の組織生理理解明のための重要な手掛かりであるのみならず、神経系におけるノイロン構築検索の重要な手段であり、神経線維の再生機序とも関連する重要な現象であるため、過去における可視光顕微鏡(以下「光顕」と略記)による観察は非常に多く、Ramón y Cajal (1928), Nageotte (1932), Weddell & Glees (1941), Young (1942), Noback & Montagna (1952), Guth (1956), 福山 (1958) らにより概括総説されている。近年電子顕微鏡(以下「電顕」と略記)研究法の進歩により、二次変性における超微細構造変化に関して種々の知見がもたらされ(本陣 & 中村, 1956; 本陣, 1957; Vial, 1958; Terry & Harkin, 1959; Honjin, Nakamura & Imura, 1959; Glimstedt & Wohlfart, 1960; 高橋, 1961; Ohmi, 1961; Honjin & Takahashi, 1962; Fisher & Turano, 1963; Lee, 1963), 従来、光顕分解能の限界(0.2 μ)にさまたげられて、未解決のまま残されていた多くの問題が解決されるとともに、多数の新知見が報告せられるに至った。

しかしながら、変性過程における形態学的変化と関連して、局所に生起する生化学的な変化については、殆んど不明のまま残されている感がある。著者はこの点を明らかにするために、エネルギー代謝に重要な酵素の一つであるアルカリ性フォスファターゼ(以下「Al-P-ase」と略記)の活性の消長を、実験的切断後二次変性に陥ったハツカネズミ坐骨神経について、生化学的方法(本陣, 中村, 和島, 布上 & 岡山, 1961)

ならびに組織化学的方法(本陣, 中村, 岡山, 布上 & 和島, 1962)を用いて検索し、あわせて *in vitro* 変性における活性の変化をも同様の方法で検討した。Al-P-ase は、Gomori (1939) と高松 (1939) による組織化学的証明法の考案以後、多くの研究者によつて検出法について詳細な検討と改良法の提案がなされ(Emmel, 1946; Martin & Jacoby, 1949; Gomori, 1952; Lison, 1954; Pearse, 1960; 本陣, 中村, 岡山, 布上 & 和島, 1962), 一般に核酸または蛋白合成の盛んな段階にある細胞に、Al-P-ase 活性の強いことが報告されている(Moog, 1944; Dempsey & Wislocki, 1946; Krugelis, 1947; Jeener, 1947; Davison, 1949)。神経組織の二次変性における Al-P-ase 活性の組織化学的知見に関しては、Marchant (1949), Samorajski (1957), Wolfgram & Rose (1960), Fisher & Turano (1963) らの断片的な報告を散見するにすぎず、しかもこれらは局所の組織化学反応を追うに急で、全体としての酵素能についての生化学的知見の裏付けがない感がある。

最近の電顕所見において、従来二次変性末梢神経に多数に出現するとされた大食細胞の存在に疑問が投げかけられている(高橋, 1961; Ohmi, 1961; Honjin & Takahashi, 1962; Fisher & Turano, 1963)が、著者はこの点をも考慮し、二次変性中の大食細胞の動態ならびに Schwann 氏細胞との関連を明らかにするために、生体染色色素注入による二次変性に陥った神経組織の貪食能をも検索した。

材 料 と 方 法

材料には純系成熟ハツカネズミ (*Mus wagneri*)

Histochemical and Biochemical Studies on Alkaline Phosphatase Activity in the Secondary Degeneration of Peripheral Nerves, Including an Experimental Analysis of the Degeneration *in Vitro* of Isolated Nerves. Shigeru Muro, Department of Anatomy (Director: Prof. R. Honjin), School of Medicine, Kanazawa University.

var. albula) KH-1 種約 130 匹の坐骨神経を使用した。対照として正常動物の材料を検索するとともに、次の術式により坐骨神経切断術を施した材料について検した。

二次変性実験手技としては、実験動物を腹位に固定、臀部および大腿後面をアルコールで消毒、皮膚を約 5 mm 切開、坐骨神経を露出し、大腿上部の骨盤に近い部位で細絹糸によりこれを完全に結紮した後、結紮部のすぐ末梢側で坐骨神経を鋭利な小鋏で切断する。次いで、切断端の中樞側からの神経線維の再生を防ぐために、切断端より中樞側の坐骨神経を上方に翻転して、周囲の筋に縫いつけた後、筋膜次いで皮膚を縫合し、目的とする実験日まで生存せしめた。

術後 2, 4, 7, 15, 30 日および 45 日目に、坐骨神経を露出し、切断端から末梢側約 1 mm の部分を除去し、その末梢側の坐骨神経を切り取り、これを直ちに下記の各実験に供した。一部の材料は切断端の部分を残したまま実験に供した。

I. 一般光顕的検索法

二次変性の光顕的概観を得るための「ヘムアラウン・エオジン」染色法、軸索検索のための Cajal 氏写真銀法本陣氏変法 (Honjin, 1951)、髄鞘染色のための 1% OsO₄ 液固定法を実施した。

II. Al-P-ase 活性の生化学的検索法

取り出した坐骨神経を冷却生理的食塩水 (0.9%) 中で手早く洗い、氷片で冷却した結晶皿上に置いた濾紙

の上に移して、周囲の結合組織および付着している血液を可及的除いた後、乳鉢ですりつぶしてホモジネートとした。このホモジネートについて、本陣、中村、和島、布上 & 岡山 (1961) の法に従って Al-P-ase 活性を測定した。その大要を記すと、まず、*p*-nitrophenol 法によつて、ホモジネートをあらかじめ 37°C に温めた基質液 (0.01% *p*-nitrophenylphosphate-Na, 1.00 ml + Veronal-HCl, pH9.4 緩衝液, 3.95 ml + 2% MgCl₂, 0.05 ml) 中に投じ、37°C にて 1 時間浸漬し、15 分毎に容器を振盪する。次いでこれを濾過し、濾液と濾過残渣とに分つ。

まず濾液について、Al-P-ase によつて遊離した *p*-nitrophenol 量を、日立光電光度計 FPW-4 型で

表 1 *p*-nitrophenol 法標準液の組成

0.01% <i>p</i> -nitrophenol	Veronal-HCl 緩衝液	<i>p</i> -nitrophenol 濃度
ml	ml	γ/ml
0.05	4.95	1
0.07	4.93	1.4
0.1	4.9	2
0.15	4.85	3
0.2	4.8	4
0.25	4.75	5
0.3	4.7	6
0.35	4.65	7
0.4	4.6	8

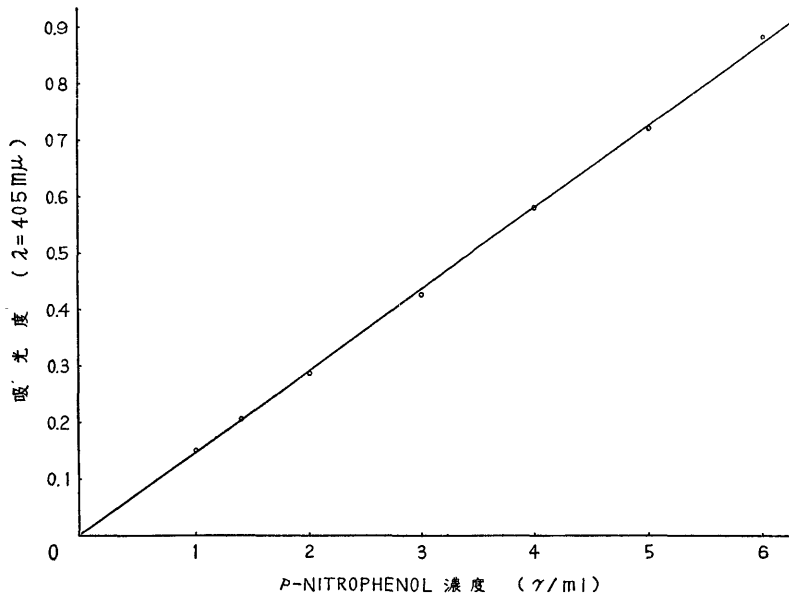


図 1 表 1 の標準液について、分光光度計で測定して得た *p*-nitrophenol の濃度と吸光度との相関を示す標準曲線。

405 m μ の波長にて吸光度を測定する。この際、*p*-nitrophenol 量 M/16000 \approx 8 τ /ml 以下の濃度において、*p*-nitrophenol 濃度と吸光度とは比例する。個々の試料について測定して得た吸光度の値を、あらかじめ表 1 に示すような一連の *p*-nitrophenol の標準液を作つて、これを上記の方法で測定して得た標準曲線 (図 1) について読み、それから個々の試料の *p*-nitrophenol 濃度を知る。さらに 1 ml 中に遊離している *p*-nitrophenol 量 1 τ を以つて Al-P-ase 活性量の 1 単位として表わす。

次に濾過残渣を、Micro-Kjeldahl 法に従い、分解コルベンに入れ、濃硫酸 1 ml と分解触媒 (K₂SO₄ と CuSO₄·5H₂O の粉末を 1:3 の重量比に混じたもの) 0.05 g とを加え、分解炉で約 20 分間煮沸し、冷却後 30% H₂O₂ 3 滴を加え、再び加熱沸騰させ、硫酸蒸気が出始めた後冷却し、さらに 30% H₂O₂ 3 滴を加え、同様煮沸する。H₂O₂ の添加と沸騰を、分解液が褪色して微青色となるまで繰返し、さらに 1 時間沸騰して分解を完了する。次に Micro-Kjeldahl 用蒸溜装置を使用し、2 ml の蒸溜水を加えて冷却した分解液を完全に蒸溜装置内に移し、さらに 50% KOH 12 ml を蒸溜装置内に加え、N/100 HCl 5~6 ml とメチールレッド 1 滴とを入れた三角コルベンを冷却管の下端が HCl 液面下に入るように置き、蒸溜コルベンの水を沸騰させ水蒸気を通じ、蒸溜装置内の液を沸騰せしめる。分解液中のアンモニアは追い出されて、三角コルベン内の HCl に吸収される。蒸溜後アンモニアを吸収した HCl (ビュレットの目盛により使用量を知り得る) を、N/100 NaOH で赤色が淡黄色になるまで滴定する。N/100 NaOH 1 ml は 0.14 mg の窒素 (N と略記) に相当する。

次に *p*-nitrophenol 法による濾液より得た Al-P-ase 活性量を、Micro-Kjeldahl 法によつて求めた Nmg で除し、単位 Nmg 当りの Al-P-ase 活性量を Al-P-ase 活性度とし、Act/Nmg を以つて表わし、個々の試料の Act/Nmg を比較した。

III. Al-P-ase 活性の組織化学的証明法

本陣、中村、岡山、布上 & 和島 (1962) による Gomori 氏法の改良法ならびにアリザリンレッド法を用いた。概要を次に記す。

A. Gomori 氏法の改良法

採取した坐骨神経を、アルコール・ピリジン固定液 (80%アルコール 3 容 + ピリジン 1 容) に 4°C にて 4 時間固定する。次いで無水アルコールで 2 時間脱水し、クロロホルムに 1 時間浸漬後、54°C にて 30 分間パラフィン浸漬後包埋する。10 μ 切片を作り、カバ

ーガラスに直接貼布し、37°C にて 1 時間乾燥後、キシロールで脱パラフィンし、無水次いで 90% アルコールを通し、蒸溜水で 5 分間洗つた後、次の組成の基質反応液 (pH 9.4) に移し、37°C にて 2 時間浸漬する。この間時々容器をよく振盪する。

2% barbital sodium	25 ml
2% CaCl ₂	5 ml
2% MgSO ₄	2 ml
2% β -glycerophosphate-Na	25 ml
蒸溜水	50 ml

浸漬を終えた切片を蒸溜水で 5 分間洗滌後、1% 硝酸コバルト液に 5 分間浸漬し、再び水洗した後、1% 硫化アンモニウムに 3 分間浸漬する。よく水洗してから、グリセリンゼリーまたはエルパノールにて封入する。Al-P-ase 活性部位は黒褐色を呈する。

B. アリザリンレッド法

材料の固定から基質反応液に浸漬までは、Gomori 氏の改良法と同じに行ない、浸漬を終えた切片を 5 分間水洗し、0.01% sodium alizarin sulfonate (Alizarin Red S) アルコール液に 60°C で 1 時間反応させる。次いでアンモニア・アルコール (28% アンモニア 7 容 + 70% アルコール 3 容) に移し、1 分間浸漬する。この際活性部位以外の赤色色素が脱色される。水洗後順次高濃度のアルコール、キシロールを通してバルサムに封入する。Al-P-ase 活性部位は赤色を呈する。

C. 対照標本

上記の各方法で得た結果の対照として、前記の基質反応液から β -glycerophosphate-Na のみを除いた溶液中に切片を浸漬して、同様な処理を施したものを対照とした。

坐骨神経の *in vitro* 変性の実験手技としては、ハツカネズミの大腿後面を剃毛後、稀ヨードチンキ次いで 70% アルコールで消毒し、坐骨神経を無菌的に摘出し、ペニシリン (結晶ペニシリン G カリウム: 武田薬品工業) とストレプトマイシン (結晶硫酸ジヒドロストレプトマイシン: 明治製薬) とをそれぞれ 10 万単位 / 1 および 0.1 g/l の割合に混じた Ringer 氏液 (日本薬局方, 組成: NaCl 8.6g, KCl 0.3g, CaCl₂ 0.33g, 注射用蒸溜水で全量 1000 ml) をあらかじめ 35°C に保つたものに直ちに投入し、摘出後 2, 5, 7, 15 日目に取り出し、前記と全く同様な方法で、Al-P-ase 活性の生化学的、組織化学的検索を行なつた。

二次変性坐骨神経の生体染色色素摂取に関する組織学的検索としては、生体染色色素にトリパン青を用い、その 1% 水溶液を、坐骨神経切断後 7, 15, 22 日

目のハツカネズミ腹腔内に、坐骨神経摘出前48時間ならびに24時間にそれぞれ 0.5 ml, 計 1.0 ml を注入し、さらに摘出2時間前に 1.5~2.0 ml を追加注入した。材料は Bouin 氏液または susa 液で固定、パラフィン切片とし、カルムアラウン液で核染色を施してバルサムに封入した。なお坐骨神経は左側を切断変性させ、右側を対照として比較した。

実験成績

I. 正常ハツカネズミ坐骨神経の構造

ハツカネズミ坐骨神経は、数個の神経束よりなり、その周囲は緻密な結合組織からなる神経周膜で包まれている。数個の神経束を比較的疎な結合組織性の神経上膜が共通に包んでいる。神経上膜には、線維細胞・膠原線維・毛細血管の他に、白血球・肥満細胞・大食細胞・脂肪組織などが存在する。神経周膜の所々から神経束内に結合組織が進入し、神経内膜となつて神経束をさらにいくつかの小束に区分している。これからさらに、個々の神経線維の間に結合組織が入り込み、神経内膜鞘を形成し、所々に線維細胞および毛細血管が存在する。

個々の神経束内には多数の有髓および無髓神経線維がほぼ平行して走り、細い無髓線維は小群をなして有髓線維の間に散在する。有髓線維は径により、大径線維 (10 μ 以上)、中径線維 (3~9 μ)、小径線維 (2 μ 以下) の3群に区分する。軸索は同一神経線維では太さはほぼその全長にわたつて同じであるが、大径線維では Ranvier 氏絞輪部において細くなっている (写真2)。髓鞘の所々に Schmidt-Lanterman 氏切痕が認められ、Schwann 氏細胞の核の存在する部位では、髓鞘は内側へ圧迫されて彎入している。

Schwann 氏細胞は髓鞘の外側にあつてこれを包圍し、核は長楕円形を呈し、細胞質は核の周囲ではやや多いが、その他の部分では極めて少ない (写真1)。神経線維間にある線維細胞は、核が紡錘形で濃染し、やや粗大なクロマチン顆粒を有する。

II. 二次変性の際の坐骨神経の形態変化

神経切断後、切断端より末梢側の神経線維に現われる変化を、1~45日にわたつて経時的に観察した。先ず最初に変化が現われるのは軸索で、次いで髓鞘の変性が起こり、やや遅れて Schwann 氏細胞にも変性反応が現われる。同一神経束内の神経線維の間にも、術後の同一時期で変性の進度にはかなりの差異が存在するが、1本の神経線維については、切断部からの距離の如何を問わず、神経線維の全長にわたつて、変性変化の進度には特に差異がなく、ほぼ一様の変性像を

示す。

1. 軸索の変化

二次変性における軸索には、先ず狭窄部と膨大部とが交互に配列した珠数状の変形が現われ、次いで狭窄部で断裂が生じる。断裂によつて生じた軸索断片は、やがてそれを囲む髓鞘内で次第に崩壊し始め、不規則な形状の塊状変性物質となる (写真3)。すなわち神経切断後24時間では、軸索の変化は著しくはないが、一部大径有髓線維に、珠数状の変形や狭窄部における断裂が認められる。術後2日では、大径および中径線維に多数の珠数状変化が生起し、軸索の断裂もかなり認められ、一部の線維では軸索が不規則な断片と化している。術後4日では、ほとんどすべての軸索は断裂崩壊しているが、小径線維の軸索の一部には、なお変性に耐えて断裂を生じないものもある。術後7日では、軸索はすべて断片ないし大小種々の顆粒状物質として、髓鞘の変性によつて生じた楕球体 (ellipsoids) 内に認められ、また変性軸索が消失してしまつた楕球体もかなり存在する (写真3)。この傾向はその後さらに進み、15日以後、軸索の変性物質はもはや認めなくなる。

2. 髓鞘の変化

術後2日で、髓鞘にかなりの変形が現われる。大径線維は Ranvier 氏絞輪の部分で先ず断裂し、髓鞘は両端が鈍円状の細長い円筒状をなすが、所々内方または外方に凹凸を示し、全体として蛇行を示す。Schmidt-Lanterman 氏切痕の部には一般に拡張が認められ、術後4日では、ほとんどすべての線維に髓鞘の変形が生起する。大径線維では髓鞘が外翻内翻し、多数の楕球体を形成し、しばしば楕球体内腔には、翻入によつて生じた車輪状の髓鞘断面を見出す。この変化は時とともに複雑の度を加え、しばしば二重の車輪状断面が見られた。さらに変性が進行すると、楕球体は断裂によつて小さくなり、外翻内翻はさらに著しくなり、内部に大小種々の髓鞘の変性物質が出現する (写真4)。髓鞘は年輪状にならぶ薄膜に剝離分解し、いわゆる「疎化ミエリン」(高橋, 1961; Honjin & Takahashj, 1962) が多数出現し、剝離した髓鞘板層は楕球体の内方に向つて剝離している (写真5, 6)。以上の変化は術後7日頃より著明となる。一部髓鞘の変性の著しく進んだ楕球体では、髓鞘が極めて薄くなり、その内部には比較的小さな車輪状の髓鞘変性物質や、好オスミウム性の微細な顆粒状物質が存在する (写真5)。髓鞘のこのような崩壊物質を以下「髓滴」(myelin droplets) と呼ぶことにする。髓滴の存在する部分では、神経線維は紡錘状に大きく膨大してい

る(写真7)。以後髄鞘の崩壊はさらに進み、疎化ミエリンの出現および髄滴への崩壊が盛んになり、神経線維は髄滴の存しない部分が細くて、全体として珠数状の形態をとり、変性中期の特徴的所見となる。中径小径の有髄線維では、髄鞘の崩壊が7日以後比較的急速に進み、このことは特に細い線維で著しい。術後15日に至ると、疎化ミエリンは散在性に認められるにすぎなくなり、大部分は粗大ないし微細な種々の段階の髄滴に崩壊する(写真7)。その量は線維によりさまざまである。小径有髄線維では、変性が早く進み、髄滴の存在は稀となり、中径線維には少量の髄滴を見るものが多いが、さらにこれを失ったものもかなり認められる。この時期では、中径および小径線維では、髄鞘の変性が後期に入り、大径線維では極期に達していると考えられる。術後30日の観察では、大部分の髄滴は消失し、神経束の大部分は、増殖した Schwann 氏細胞によつて形成される Schwann 氏細胞索(Büngner 氏索)で置き換えられる。術後45日に至ると、極く少量の髄滴が散見されるにすぎず、大部分は髄滴を含まない Büngner 氏索と化する。

3. Schwann 氏細胞の変化

二次変性中、軸索および髄鞘が崩壊消失の運命をたどるのに反し、Schwann 氏細胞は著しい増殖を示す。Schwann 氏細胞の二次変性におけるその特徴は、核分裂による Schwann 氏細胞の核の増加ならびにそれに伴う細胞質の増大である(写真8, 9, 10, 11)。術後2日では、Schwann 氏細胞の核が卵円形にやや肥大し、核質にクロマチン顆粒の粗大化が現われる。神経線維が変性に陥り、軸索の断裂に続いて髄鞘が楕球体に変形すると、Schwann 氏細胞の核は二つの楕球体の間の空隙に転位し、細胞体は空隙に応じた種々の形状をなし、細胞質は増大する。しかし Schwann 氏細胞の核の分裂像は、術後2日ではまだ認められず、従つて Schwann 氏細胞の核の増加は現われない。術後4日になると、Schwann 氏細胞の核の増大が著明となり、Schwann 氏細胞の核の周囲に明らかに増大した細胞質が認められる(写真8)。しばしば有糸核分裂の像に接する(写真10)。この段階でしばしば接する著しく肥大した Schwann 氏細胞の核は、核分裂開始の前段階のものであろう。変性が進むに従つて、Schwann 氏細胞の核は核分裂によつて増加し、術後7日では多数の核分裂像に接する。Schwann 氏細胞の核の分裂は、分裂の赤道面が神経線維軸に直角をなす方向に位置し、従つて、神経線維軸の方向に娘染色体群が分かれる(写真10)。転位した Schwann 氏細胞の核の変形も著明になり、楕球

体に接する Schwann 氏細胞の核は、その接触面が軽く弓状の凹面をなして半月状を呈し、また2個の楕球体の間に介在する Schwann 氏細胞の核は、しばしば厚い凹レンズ状を呈する(写真9)。これらの Schwann 氏細胞の核の周囲には、増大した細胞質が存在する。Schwann 氏細胞は増数増大し、変性崩壊する神経線維に代つて、Büngner 氏索を形成する(写真12)。以後 Büngner 氏索の形成は著明になる。この間さらに核分裂によつて Schwann 氏細胞の核の増加が進み、術後15日に至ると、Schwann 氏細胞の核は7日に比してかなりの増加を示している(写真11)。Büngner 氏索内には、増加した長楕円形の Schwann 氏細胞の核がならび、しばしば互いにその長軸方向にならんで連鎖状をなす。一部の Schwann 氏細胞の核は、残存する髄滴に圧迫されて不整形を呈する。Büngner 氏索の形成が著明になるとともに、Büngner 氏索の間の所々で、膠原線維の増殖が明らかとなり、繊細な線状配列をとる(写真12)。術後15日に至ると、Schwann 氏細胞の核の核分裂は少なくなるが、以後 Büngner 氏索は限界が明確となり、充実した様相を示す。術後30日では、Schwann 氏細胞の核はやや小さくなり、扁平化する。Schwann 氏細胞の核は、しばしば数個が一列に長軸方向にならぶ。術後45日においても術後30日と大差はない。

4. その他の成分の変化

切断後4日頃より、変性した神経線維間に、白血球が僅かに侵入しているのが認められる(写真8)。これらの白血球はほとんどが典型的な分葉核を有する好中球で、稀に好酸球も混在する。白血球の浸潤は、術後7日より軽度の増加を見るが、15日でも比較的少なく、変性した神経線維の内部に白血球が侵入している所見は得られなかった。術後30日でも白血球は認められるが多くはない。術後45日でも大差はなかった。

線維細胞は、変性の初期においては変化がなく、術後7日でもほとんど変化は認められない。線維細胞の増殖が明瞭になるのは術後15日以後で、変性した神経線維の間には線維細胞が軽度に増加し、30日ではその増殖が進み、線維細胞の増殖に伴つて膠原線維の増加が見られる。術後45日では、30日と大差は認められなかった。

以上の細胞の変化の他に、術後4日頃より、稀ではあるが、類円形ないし腎臓形の細胞が出現する。この種細胞は Schwann 氏細胞の核に比して小さな核を有し、術後7日頃よりやや増加するが、増加の程度は僅かで、術後15日でも比較的少ない。この種細胞は後述のように、トリパン青注入実験の結果、大食細胞で

あることが同定された。

Ⅲ. 二次変性坐骨神経における Al-P-ase 活性の変化

1. 生化学的所見

正常坐骨神経を対照として、術後 2, 4, 7, 15, 30, 45日目の坐骨神経について、前記の生化学的定量法に従って、Al-P-ase の活性度 (Act/Nmg) を測定した。その結果は、表 2 ならびに図 2 に示す通りである。表 2 には変性日数、例数、活性度の平均値、分散、平均値の信頼限界などを示す。活性度の平均値間の差の有意性の判定は、増山 (1943) により判定したもので、すべての相隣平均値間には、5% の危険率で有意の差が認められた。

正常坐骨神経の Al-P-ase 活性度の平均値 3.02 に対する、術後 2 日の活性度の平均値 3.48 は、15% の増加を示したにすぎないが、両者の間には明らかに有意の差のあることが示される。術後 2 日以後、変性の進行とともに活性は急速に高まり、術後 4 日では活性度の平均値は 4.90 を示し、術後 7 日では活性度の平均値は 7.45 を示し、正常値の約 2.5 倍となる。7 日以後増加の割合は ややゆるやかとなるが、活性は高まりつつ、術後 15 日に至つて最高に達し、活性度は 9.20 を示し、正常値の約 3 倍となる。以後変性の進行とともに、ほぼ一定の割合で減少し、術後 30 日では活性度は 6.71 で、正常値の約 2.2 倍にまで減少し、45 日に至つて活性度は 3.66 で、正常値より僅かに多い程度にすぎなくなる。その後の日数における測定は行なわなかつたが、活性度は次第に低下するものと推測される。以上の知見は、生化学的見地よりすると、坐骨神経全体としてその Al-P-ase 活性を測定すると、正常坐骨神経と、変性 2 日の坐骨神経のそれぞれの活性度の平均値の間に有意の差があり、さらにその後変性が進むに従つて、活性度は増大し、ほぼ術後 15 日頃頂点に達し、以後漸減することを示している。

2. 組織化学的所見

(1) 対照所見

正常坐骨神経および変性坐骨神経の切片について、Gomori 氏法の改良法 および アリザリンレッド法により、基液反応液中の基質 β -glycerophosphate-Na を除去した反応液中に浸漬した対照標本では、いずれの方法によつても、黒褐色または赤色の着色は認められなかつた。従つて、以下に記す Al-P-ase 活性の組織化学的局在は、既存のリン酸塩ならびに人工的着色による非特異的なものではなく、Al-P-ase 活性の局在を顕わすものであることが確かめられた。

(2) 正常坐骨神経における Al-P-ase 活性

正常坐骨神経の Al-P-ase 活性の局在を見ると、先ず神経線維間に分布する毛細血管は、極めて強い反応を示す (写真 13, 14)。浸漬 2 時間では反応が強いため、活性の局在は明瞭ではないが、内皮細胞に活性が局在するものと思われる。毛細血管の内皮細胞以外には、Schwann 氏細胞にも反応が認められる (写真 13, 14)。この部分の活性は、毛細血管の内皮細胞におけるよりもやや弱く、神経線維の方向に平行に、核を中心として、その周囲に紡錘状の反応陽性部位が示され、陽性部位は神経線維の外側に密接して認められる。活性部位の精密な局在は拡散の問題があるため、なお確定的ではないが、核周囲に比較的多く存する細胞質に局在するものようである。極めて稀に、Ranvier 氏絞輪部に面する Schwann 氏細胞質に、細い線状をなして Al-P-ase 活性陽性の部位の存在を観察した (アリザリンレッド法による) が、この部位の活性は、他の部位の活性に比べて比較的弱かつた。軸索ならびに髄鞘には、Al-P-ase 活性は全く認められない (写真 13, 14)。その他、神経束を包む神経周膜および神経上膜では、毛細血管以外の成分は活性を示さなかつた。特に神経上膜では、線維細胞・白血球・大食細胞などの細胞が多少とも存在するにかかわらず、これらの細胞には活性は認められなかつた。この所見からも、上記の神経線維に接した紡錘状の活性部位が、Schwann 氏細胞であることは明らかである。膠原線維は活性を示さなかつた。以上の結果は、Gomori 氏法 および アリザリンレッド法の間でほとんど差異はなかつたが、Gomori 氏法では拡散のためやや鮮明を欠き、拡散による核の染色が認められた。アリザリンレッド法では活性の局在は比較的鮮明であるが、染まりがいく分薄かつた。個々の正常実験動物の坐骨神経の間には、Al-P-ase 活性の分布に特に著しい差異はなかつた。

(3) 二次変性坐骨神経における Al-P-ase 活性

切断後二次変性に陥つた坐骨神経の Al-P-ase 活性は、経時的に増強した。この際活性の増強は、活性陽性部位の絶対数の増加と、個々の活性部位における活性の増大とによる。二次変性の経過中、変性に陥つた軸索および髄鞘には、Al-P-ase 活性は認められなかつた。また毛細血管内皮細胞の活性は、変性中も特に増減は認められなかつた。神経周膜ならびに神経上膜に存する線維細胞・白血球・大食細胞などの細胞成分および膠原線維には、活性反応は陰性であつた。このことは、二次変性経過中の坐骨神経における Al-P-ase 活性の増強が、Schwann 氏細胞における Al-P-ase 活性の増強に因することを示している。個々の

表2 ハツカネズミ坐骨神経の二次変性ならびに *in vivo* 変性におけるアルカリ性フォスファターゼ活性の生化学的消長

変 性 日 数	例 数	活性度平均値	分 散	平均値の信頼限界	平均値の差の有意性
正 常	9	3.02	0.048	$2.85 \leq m \leq 3.19$	有
<i>in vivo</i>					
2 日	3	3.48	0.056	$2.90 \leq m \leq 4.06$	
4 日	4	4.90	0.041	$4.56 \leq m \leq 5.24$	
7 日	6	7.45	0.169	$7.00 \leq m \leq 7.88$	
15 日	6	9.20	0.052	$8.96 \leq m \leq 9.44$	
30 日	5	6.71	0.083	$6.35 \leq m \leq 7.07$	
45 日	3	3.66	0.040	$3.16 \leq m \leq 4.16$	
(正 常)					
<i>in vitro</i>					
2 日	4	1.41	0.053	$1.05 \leq m \leq 1.77$	有
5 日	4	0	0	—	有

両変性における坐骨神経のアルカリ性フォスファターゼ活性は、活性度 (Act/Nmg) を以つて表わした。また平均値の信頼限界の算定および平均値の差の有意性の判定は、5%の危険率で行なつた。

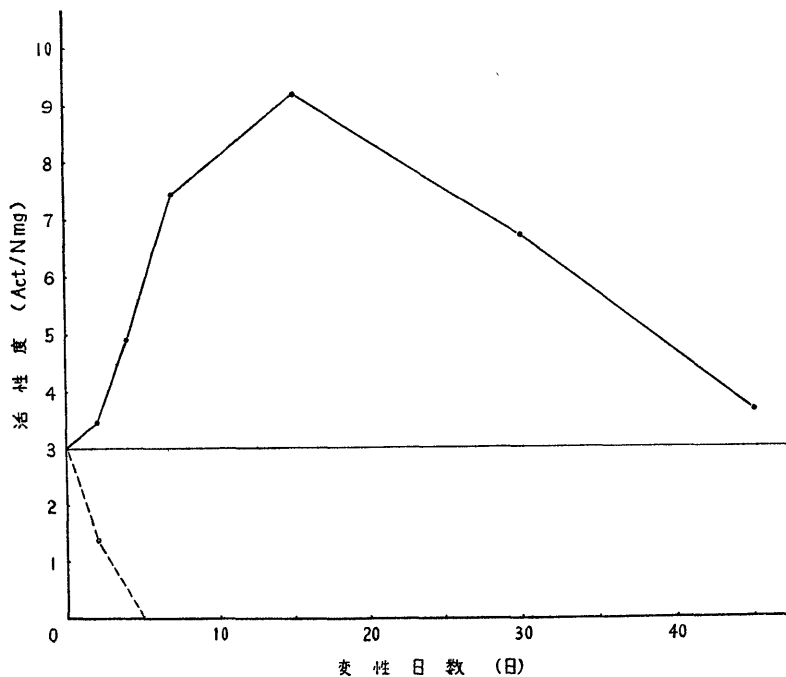


図2 ハツカネズミ坐骨神経の二次変性ならびに *in vitro* 変性におけるアルカリ性フォスファターゼの活性度の変化。
 ・——・——・ は二次変性，○---○---○ は *in vitro* 変性における変化を示す。
 また活性度3にて横軸に水平な細線は、正常坐骨神経の活性度の平均値を示す。

術後日における所見を概述すると、

術後2日: AI-P-ase 活性は正常坐骨神経とほとんど変化はなく、極めて散在性に Schwann 氏細胞に認められたにすぎない。Gomori 氏法、アリザリンレッド法のいずれの方法によつても差異はなかつた。

術後4日: AI-P-ase 活性を示す Schwann 氏細胞の軽度の増加が認められる (写真15, 16)。Schwann 氏細胞における活性は、ほとんど核周囲細胞質に局在し、Schwann 氏細胞の核も軽度に染着するが、細胞質のそれに比して弱い (写真16)。活性を示す Schwann 氏細胞は、神経線維の外側に接して存するものや、楕球体の間に転位しているものなど種々である。このような部位では、その間隙を埋めている細胞質に強い活性が認められる。細胞質における活性の局在によつて、逆に細胞質の増大が推知せしめられる。Ranvier 氏絞輪部においても稀に Schwann 氏細胞質に活性を認めたが、この部位の活性が他に比して弱いことは、正常坐骨神経におけると同様であつた。Ranvier 氏絞輪部の活性の局在が特に増加している所見には接しなかつた。

術後7日: AI-P-ase 活性はかなり増強している (写真17, 18, 19, 20)。顕微鏡下の切片の単位面積当りの活性部位の数が、全体として増加しているのみならず、個々の活性部位の広がりが増大が認められる。この所見は、前述の普通光顕所見における変性に際しての Schwann 氏細胞の細胞質の増大所見とも一致し、反応陽性の局部はかなり拡大しているのが観察される。Schwann 氏細胞質における活性は、細胞質に均等な反応を示すため、その精細な細胞質内局在を識別することはできなかつた。核における反応は、一般に細胞質のそれに比べてはるかに弱かつた。アリザリンレッド法では活性の局在は比較的鮮明であつたが、Gomori 氏法ではいく分鮮明さを欠いた。

術後15日: 組織化学的に見ても、坐骨神経二次変性中、AI-P-ase 活性は術後15日に最高に達する (写真21, 22)。すなわち一方では、活性部位の分布密度は増加し、他方、個々の活性部位の広がりが増大し、この期における AI-P-ase 活性の増大が、Schwann 氏細胞の増数と、その個々における活性の増大によることを示している。Schwann 氏細胞質における活性は増大して、しばしば変性髄鞘 (大部分が髄滴) を外側より取り囲んでいる。細胞質で細い線状をなす活性陽性の部位も認められ、このような傾向は、大きな髄滴の存する部位に接した Schwann 氏細胞に著しい (写真21, 22, 23, 24)。このような活性の変化は、術後7日では軽微であつたが、15日では著しくなる。しか

し術後15日においても、増殖した Schwann 氏細胞のすべてに AI-P-ase 活性を認めるわけではなく、少数ながら活性をほとんど示さないものも散見された。

術後30日: AI-P-ase 活性は術後15日に比べて、かなりの低下をきたした (写真26, 27, 28)。この所見は、AI-P-ase 活性が術後15日頃を頂点として、以後変性が進むにつれて漸次減弱していくことを示すもので、前記の生化学的知見とよく一致する。活性の局在は、上記の場合と同様 Schwann 氏細胞にあるが、その着色がやや弱く (アリザリンレッド法による)、活性がやや低下していることを示している (写真28)。髄滴を囲む細胞質では活性がやや強いが、術後15日のものほど強くない (写真27)。Gomori 氏法では、術後15日の場合と比べ染着に大差は認められなかつた。

術後45日: Schwann 氏細胞は細胞質の退縮によつて、紡錘状ないし索状に変化し、所々髄滴の存在部位で珠数状に膨大した形状を呈するが、このような形態変化に比例して AI-P-ase 活性も著しく減弱し、毛細血管が正常坐骨神経におけると同様の強い反応を示す他には、活性陽性部位は減少して、その分布はかなり散在性となり、その活性部位の分布密度は、術後4日の坐骨神経におけると大差ない程度であつた (写真29, 30)。活性部位は紡錘状をなし、比較的反応が弱い。アリザリンレッド法と Gomori 氏法との間に、所見に認むべき差異はなかつた。

(4) 切断端における AI-P-ase 活性

坐骨神経切断後4日頃より、その末梢側切断端およびこれに近い神経束内に種々の細胞が浸潤し始め、15日にはおびただしい数の浸潤細胞が見出される。以後この所見は著しい変化をきたさないが、変性が進むと、浸潤細胞に加うるに膠原線維の著しい増殖が起こる。その結果、神経束の切断端にはこれらの細胞のため半球状の肥大が認められる。この部分に存在する多数の細胞は、線維細胞が最も多く、次いで大食細胞ならびに好中球が比較的多い。少量のリンパ球・肥満細胞なども認められた。この部分には毛細血管の増殖は認め得なかつた。AI-P-ase 活性の組織化学的検索の結果では、この切断端末端の部分には Gomori 氏法、アリザリンレッド法のいずれの方法によるも、この部の Schwann 氏細胞、毛細血管、浸潤細胞などに活性を見出し得なかつた (写真25)。この所見は、二次変性中のいずれの時期においても同様であつた。このような毛細血管内皮細胞と Schwann 氏細胞における活性の欠除は、おそらく切断端附近における出血

による急激な虚脱状態によるものと推測され、また上記の各種浸潤細胞が、元来 AI-P-ase 活性に乏しいことが組織化学的に証明されたものと考えられる。

IV. 坐骨神経 *in vitro* 変性所見

1. 組織学的所見

坐骨神経を *in vitro* で、Ringer 氏液中に浸漬した場合の経時的変化 (2, 5, 7, 15日後) を光顕によつて検した。方法は二次変性の場合と同様である。変化は先ず、大径有髄線維の軸索に現われ、軸索は波状走行を呈し、辺縁はしばしば不規則に蛇行し、次いで珠数状変形を示す。軸索は多少とも断裂し、粗大な顆粒状物質に崩壊する (写真32)。小径および中径線維の軸索の変化はやや遅れるが、すでに2日で、珠数状変形ないし断裂が一部の線維に現われている。髄鞘は2日後で早くも長ささまざまな楕球状を形成するが、その後大小種々の髄鞘の外翻内翻によつて、大小種々の楕球体が形成され、髄鞘は極めて複雑な様相に変化する。髄鞘のこのような変化は、5日、7日でも著明に見られるが、髄滴はほとんど観察されない。Schwann 氏細胞の変化は、二次変性の際の変化とは相反し、*in vitro* 2日で、Schwann 氏細胞の核の増大は認められず、むしろ軽度に縮小し、ピクノーシスの像を示す (写真31)。この核の変化は日を追うて著しくなり、ヘムアラウンに濃染する不規則な塊状物に変わる。Schwann 氏細胞の核の分裂は全く認められず、二次変性にて、術後4日以後に特徴的に出現した Schwann 氏細胞の核の神経線維内での転位や変形は全く見られず、細胞質の染色度も著しく減弱する。

in vitro における変性の光顕像の特徴は、神経線維の変性が二次変性の場合に比して早く出現し、早期に速かに進展するが、4~7日頃にその変化の進度が弱くなり、疎化ミエリンや髄滴の出現は7~15日頃にも認められないことである。また Schwann 氏細胞の反応性の増殖は全くなく、一方的にピクノーシスを示しつつ死滅することが、二次変性の場合と異なっている。

2. AI-P-ase 活性の生化学的所見

坐骨神経の *in vitro* における AI-P-ase 活性推移の生化学的検索の結果は、表2ならびに図2の下部点線に示されている。*in vitro* 2日では、AI-P-ase 活性度 (Act/Nmg) の平均値1.41は、正常坐骨神経のそれ (3.02) の約半ばに止どまる。このことは AI-P-ase 活性が *in vitro* 2日では、ほぼ半減していることを示すものである。*in vitro* 5日では、生化学的に活性は全く認められなかつた。統計的検討の結果、

5%の危険率において、正常と *in vitro* 2日、*in vitro* 2日と5日との間には、ともに明らかに有意の差のあることが示された。以上の結果は、著者が使用した浸漬液による *in vitro* の条件のもとでは、坐骨神経の AI-P-ase 活性は、経時的に急速に減少し、*in vitro* 5日ですべて活性が消失していることを示すものである。

3. AI-P-ase 活性の組織化学的所見

in vitro 2日の検索では、Gomori 氏法の改良法ならびにアリザリンレッド法のいずれの方法によつても、活性の局在は神経束内に分布する毛細血管の一部にのみ限局して、弱く認められたにすぎなかつた (写真33)。正常坐骨神経に分布する毛細血管は、すべて AI-P-ase 活性を呈することは前に記した通りであるが、正常坐骨神経と *in vitro* 2日の坐骨神経との、毛細血管における活性を比較すると、後者では、活性を示す毛細血管の部位が明らかに減少している。しかも *in vitro* 2日では活性を呈する毛細血管について見ると、活性の強さは正常坐骨神経のそれに比して弱い。*in vitro* 5日以後に至ると、活性は毛細血管にも認められず、組織化学的に AI-P-ase 活性は全く証明し得なかつた。この組織化学的所見と、前記の生化学的所見とを対比して見ると、*in vitro* の条件下では、坐骨神経は速かに AI-P-ase 活性を失い、*in vitro* 2日の生化学的検索によつて示された減弱した活性が、毛細血管内皮細胞が僅かに保っていた活性によるもので、Schwann 氏細胞は2日ですべて活性をほとんど失っていることを示している。また *in vitro* の所見と *in vivo* の所見とを対比すると、*in vivo* の変性の際に見られた術後15日を頂点とする AI-P-ase 活性の増加が、Schwann 氏細胞の活性増大に因することが明瞭となつた。

V. 二次変性坐骨神経のトリパン青による生体染色所見

ハツカネズミ腹腔内に1%トリパン青水溶液0.5mlを注入すると、注入後30分ですでに全身の皮膚が青色に染まり、色素が全身に広く分散していることがわかる。次いで同液0.5mlを追加注入ハツカネズミでは、肉眼的に坐骨神経周辺の皮下結合組織、筋膜、筋などは濃青色ないしは藍色に着色しているが、坐骨神経は全体として僅かに淡青色を呈し、神経束を包んでいる結合組織の部分が神経の長軸方向に沿つて、細い線状に青く染まつているのが認められる。正常および二次変性各期の坐骨神経の、トリパン青注入時の光顕所見を次に記する。

1. 正常坐骨神経

神経上膜と神経周膜では、トリパン青色素顆粒を含んで青染した細胞がかなり存在するが、神経内膜には色素を摂取した細胞の数がはるかに少なく、散在性に認められるにすぎない(写真34)。この細胞は分布と形態から、すでに述べた大食細胞に相当すると判断される。大食細胞はやや大型で、核は類円形ないし楕円形を呈し、細胞質内にはほぼ円形の、種々の大きさの色素顆粒を不均等に摂取している。時として、比較的小型で紡錘形の大食細胞も存在する。これに反し、脂肪細胞・線維細胞・肥満細胞・白血球などには、トリパン青顆粒の摂取はなかつた。また Schwann 氏細胞にもトリパン青貪食所見は全く認められなかつた。そのほか神経束中では、毛細血管腔の所々に、微細顆粒状のトリパン青顆粒の存在するのが観察された。

2. 二次変性坐骨神経

術後7日の二次変性坐骨神経においては、トリパン青摂取細胞の分布にも変化が現われる。神経上膜においては、青染した大食細胞がやや増加する。神経周膜においては、大食細胞の分布、色素摂取量など、正常坐骨神経の場合と大差は認められない(写真36)。神経内膜においても著明な変化がなく、少数の大食細胞を認めたにすぎず、これらは変性した神経線維の間に散在し、卵円形ないし類円形をなし、核の一侧または両側に少量の微細な色素顆粒を含んでいる(写真35)。しかしその数は極めて少ない。Schwann 氏細胞にはすでに記したように、核の増大と盛んな核分裂および細胞質の増大が見られるにもかかわらず、トリパン青色素顆粒は認められなかつた。また神経束内に浸潤してきた白血球が少数認められたが、その胞体内にトリパン青顆粒は認められなかつた。神経線維間に存在する線維細胞も同じ結果を示した。神経束内の毛細血管腔には、所々に少量の色素顆粒が集積しているのを認めた。

術後15日では、神経上膜には多数の細胞が出現するが、これらの細胞は大部分が白血球ならびに線維細胞で、いずれもトリパン青色素顆粒を認めない。神経上膜および神経周膜における、トリパン青色素陽性の大食細胞の分布は、術後7日の坐骨神経における大差はなかつた。大食細胞には、粗大な顆粒をも含有する大型のものほか、微細な色素顆粒を含むものが見られた。神経束内の大食細胞の数は、術後7日と比べて大差はなく、少量の微細な色素顆粒を含む不整形ないし腎臓形の細胞として認められた。神経束内の白血球・線維細胞・Schwann 氏細胞には、トリパン青色素顆粒の存在を認め得なかつた。毛細血管腔の所々に白血球に混じて、トリパン青の微細な色素顆粒が集積して

いるのが観察された。

術後22日の坐骨神経においては、神経上膜ならびに神経周膜では、不整形ないしは楕円形の細胞質内に、微細な色素顆粒をほぼ均等に含んだ大食細胞が散在性に分布し、神経束内にも特に大食細胞が増加している所見は得られなかつた。術後22日の坐骨神経には、著しい Schwann 氏細胞の増殖が現われているにもかかわらず、トリパン青顆粒の貪食は全く見られなかつた。このような二次変性時の生体染色所見は、大食細胞が変性期に神経束内に特に増加せず、またこの期に、変性物質に対して反応を示す細胞の少なくとも大部分が、Schwann 氏細胞であることを示すものである。

考 察

I. 二次変性における変化

末梢神経の二次変性に際し、有髄神経線維相互の間、その変性速度にかなりの差のあることは、すでによく知られたところであるが、これをめぐって、大径線維が早いとする Ramón y Cajal (1928), Young (1942) らと、小径線維が早いとする Weddell & Glees (1941), 福山 (1958) らとの間に意見の対立があつた。著者のハツカネズミについての今回の観察では、一般に大径線維の変性開始は小径線維のそれより早い、小径線維は変性が始まると、その変性は比較的急速に進行し、髄鞘の髄滴への崩壊は小径線維において、大径線維におけるより早く完了することが明らかとなつた。

二次変性の過程で、軸索と髄鞘の変化のいずれが先行するかは、議論の多いところで、著者の今回の所見は、軸索に先ず変化が現われることを示している。軸索には先ず珠数状の変形が現われるが、これは切断実験により、軸索が神経線維切断後神経細胞から全く離断されると、Droz & Leblond (1963) が radioautography で示しているように、細胞体からの軸索成分の流れが止まり、軸索内圧が低下して髄鞘の張力と軸索の張力との均衡が失われるためである。本陣 & 中村 (1956), 本陣 (1957), Honjin, Nakamura & Imura (1959), 高橋 (1961), Honjin & Takahashi (1962), Lee (1963) らが超微構造変化の電顕検索の結果、軸索の変化が髄鞘の変化に先行すると述べ、また Finean & Woolf (1962) が、軸索の収縮断裂が、髄鞘への物理的断裂効果を持つと述べているのは著者の知見を支持するものである。Guth (1956), 福山 (1958) らは、髄鞘の変性が軸索の変性に先行すると力説しているが、根拠に乏しく、Guth (1956) が

最初の変化が生起するとして絞輪部は、軸索が外面に露出しているため、内圧低下の影響を最も受けやすい部位であることを考えると、彼らの推測には無理があるように思われる。著者が見た楕球体は、Ramón y Cajal (1928) のいう「ellipsoids」と「digestive chamber」, Noback & Montagna (1952) のいう「plasmatic space」に相当するもので、変形して生じた髄鞘の外翻内翻部と、これに囲まれた軸索の変性物質にはかならない。高橋 (1961) はカエル坐骨神経二次変性の電顕検索により、髄鞘には先ず変形が現われ、このとき光顕的光学断面像として多数の ellipsoids が観察され、髄鞘の内部の分子構造に変化が起ると、髄鞘の断裂が生じ、このようにして ellipsoids は益々複雑化すると述べているが、今回の著者の光顕所見もこの知見に賛成するに足るものであった。Glimstedt & Wohlfart (1960) はラットで、術後3日にしてすでにすべての髄鞘が断裂していると述べているが、著者のハツカネズミの場合、同様に変性は早く、このことは、カエルの場合 (高橋, 1961) に比べ、哺乳類では変性が早期に開始し、急速に進行することを示すもので、従来諸家の光顕所見に一致する。また従来、髄鞘断裂の好発部位として、Schmidt-Lanterman 氏切痕部が指摘されている (Nageotte, 1932; 福山 1958) が、著者の観察では、術後4日で髄鞘の断裂が著明にもかかわらず、拡大した Schmidt-Lanterman 氏切痕が多数認められ、髄鞘断裂が必ずしもここから起ると断じ得ないと思える。このことは、高橋 (1961), Honjin & Takahashi (1962) の電顕知見とも一致する。髄鞘の変性過程について、Johnson, McNabb & Rossiter (1950), Rossiter (1956) は、これを物理的崩壊期 (7日まで) と化学的崩壊期 (8日以後) とに分類し、Noback & Montagna (1952) は、組織化学的に術後10日までは、髄鞘は正常とほとんど同じ性状を示し、従つて物理的崩壊期であり、化学的崩壊はそれ以後に起こるとしている。これによれば、Ramón y Cajal (1928) が広く ellipsoids と呼んだものには、少なくとも髄鞘の単なる変形によるものと、すでに化学的崩壊に陥つたものとの2種があることになる。高橋 (1961), Honjin & Takahashi (1962) は電顕所見より、板層膜が個々に剝離した髄鞘に囲まれた球体ないし不整形の変性体を「疎化 myelin」と呼んでいる。著者が術後7日で認めた髄鞘内面の剝離像は、彼らのいう疎化 myelin の一部に相当するものであろう。またこの期に、一部出現する好オスミウム性の弱い微細な顆粒状の髄鞘崩壊物質は、おそらく彼らのいう「髄鞘小胞」ないし

「巻込体」に相当するものであろう。これらの出現する段階は、Noback & Montagna (1952) の化学的崩壊期に当る。髄鞘は変性崩壊の最終段階において、好オスミウム性の顆粒状物質 (Ramón y Cajal, 1928 のいわゆる「myelin droplets」・「lipoidal drops」) となり、消失するに至る。高橋 (1961), Honjin & Takahashi (1962) はこれを「髄滴」(「myelin droplets」) と呼び、髄鞘薄膜を構成する protein, lipid などが、酵素系作用を受けて膜状の分子構築を失い、分子の極性部の開放によつて OsO_4 親和性を増し、その結果、電子密度大な影像として電顕像に現われるものであろうと述べている。

二次変性における Schwann 氏細胞の特徴的な反応が、その著しい増殖にあることは、すでに多数の光顕的研究によつて知られている (Ramón y Cajal, 1928; Nageotte, 1932; Young, 1942; Guth, 1956)。著者は術後4日で少数の核分裂像を認め、7日にて多数の分裂像を見、典型的な有糸核分裂の状態を観察した。術後15日においても核分裂像は存したが、その数は少なかつた。この所見は Young (1942) の報告に一致する。Schwann 氏細胞が変性に際して、細胞質が増大し、核の増数と相まつて Schwann 氏細胞からなる細胞索すなわち Büngner 氏索を作るが、その細胞内の微細構造の変化に関して、Glimstedt & Wohlfart (1960), 高橋 (1961), Honjin & Takahashi (1962), Fisher & Turano (1963) らによつて報告がなされ、特に高橋 (1961), Honjin & Takahashi (1962) は、細胞質内のミトコンドリア、rough surfaced endoplasmic reticulum, リボソームなどの著しい増加と、機能の亢進を思わせる微細構造変化が現われ、しかもそれが髄鞘の崩壊期に著明となることを報告している。細胞内の合成系の存在すると考えられる上記細胞内の小器官の増殖が、この期に見い出されることは、今回著者の所見において、この期の Schwann 氏細胞に Al-P-ase 活性が増大する所見と合わせ考えると、極めて重要である。Bodian & Dziewiatkowski (1950), Logan, Mannell & Rossiter (1952) らは二次変性神経において、DNA, RNA とともに増加し、RNA/DNA 値も上昇し、変性16日で最高に達すると報告しているが、これは Schwann 氏細胞の分裂による増加、細胞内の Al-P-ase 合成の上昇のもとをなすと思われる RNA の増加を示すものと解される。Holmgren & Rexed (1946) は Schwann 氏細胞が増殖するとき、細胞質が metachromatic な変化を示し、metachromasia は細胞質の増大に平行すると述べているが、核酸の meta-

chromasia 性 (Lison, 1954) を考え合わせると、これらの所見は著者の形態学的知見を支持し、その意義を暗示するものであろう。

末梢神経二次変性における生体染色に関する報告は、Doinikow (1913), Nageotte (1932), Weddell & Glees (1941) らのものを散見するにすぎない。著者は今回の実験において、神経上膜、神経周膜および神経束内に、正常状態で生体染色を施すと、トリパン青顆粒を多数含む少数の大食細胞が存することを認めしたが、Schwann 氏細胞には生体染色色素貪食能を全く認めなかつた。二次変性状態下では、神経束内に大食細胞が僅かに増加した程度で、著しい増加は見られなかつた。しかもこのとき、Schwann 氏細胞は、生体染色陰性であつた。この知見は、Doinikow (1913), Nageotte (1932), Weddell & Glees (1941) らの二次変性時の所見と一致する。このことは変性物質の処理に関与する細胞が、いかなる種類の細胞であるかを考察する上に極めて重要である。この問題は由来激しい論争のあるところで、古くは Stroebe, Büngner, Doinikow らは、線維内の食細胞 (intratubal phagocytes) はほとんどすべてが増殖した Schwann 氏細胞であるとし、他方、Ballance & Stewart, Mönckeberg & Bethe, Nageotte らは、Schwann 氏細胞と血管から遊走する白血球であるとした (Ramón y Cajal, 1928 による)。Ramón y Cajal (1928) 自身は、遊走白血球が食細胞として活動し、Schwann 氏細胞は食細胞たり得ないとし、Young (1942) はこれに賛しているが、竹内 (1956) はこれに反対している。最近 Guth (1956)、福山 (1958) らは二次変性の光顕所見において、増殖した Schwann 氏細胞が変性物質を貪食しているのを観察している。二次変性の経過中に、神経束内に、髄鞘および軸索の変性物質塊をその細胞質内に含む多数の細胞が存することには異論はないのであるが、問題はこれらの細胞が間葉由来の大食細胞か、増殖して反応している Schwann 氏細胞であるかにある。大食細胞は異物を貪食する間葉性細胞で、一般にトリパン青のような色素によつて生体染色可染性であることが重要な特徴とされている。すでに述べたように、ハツカネズミ坐骨神経には生体染色に際して、トリパン青顆粒を含む細胞が、正常でも少数存在するが、二次変性に際して、これが著しく増加する所見には接しない。このとき Schwann 氏細胞は、全くトリパン青顆粒を含まない。このことは、二次変性に際して、髄滴その他の変性物質を含む細胞は大食細胞ではなく、反応した Schwann 氏細胞であることを明確に示すものであ

る。Weiss & Wang (1945) は、神経の組織培養において、増殖する Schwann 氏細胞が一見大食細胞様の外形をとると述べているが、この所見は著者の見解を支持するものである。さらに近年、電顕による二次変性の検索がなされ、高橋 (1961), Ohmi (1961), Honjin & Takahashi (1962), Fisher & Turano (1963), Lee (1963) らは、変性に陥つた髄鞘は、Schwann 氏細胞質内で処理されることを述べ、高橋 (1961), Honjin & Takahashi (1962) は、カエルで特に大食細胞は認められなかつたと述べ、Fisher & Turano (1963), Lee (1963) らは少数の食細胞は存在するが、本来の食細胞には髄鞘の変性物を取り込む能力はないと述べている。これらの電顕知見も著者の所見を支持するものである。ただ Terry & Harkin (1959) は電顕所見から、大食細胞こそが変性物質を貪食するものであり、Schwann 氏細胞は貪食に関与しないと推定しているが、これは大量に変性物質を含む Schwann 氏細胞を、大食細胞と混同したものと推測される。高橋 (1961), Honjin & Takahashi (1962) が指摘しているように、元来髄鞘は Schwann 氏細胞質内に存し、その中で変性崩壊することを考えるならば、神経線維中にトリパン青可染性の大食細胞の大量の出現を見ないという著者の観察は異とするに足らないし、また Schwann 氏細胞が特に食作用を持つ必要はないわけで、Schwann 氏細胞にトリパン青貪食作用が認められなかつたことは当然であろう。変性物質の処理に際し、Schwann 氏細胞内に存する酵素系が関与することは容易に推定される (Johnson, McNabb & Rossiter, 1950; Porcellati & Curti, 1960; Adams, Ibrahim & Leibowitz, 1965)。Schwann 氏細胞の崩壊は、光顕的には全く識別不可能であるが、Ohmi (1961), Lee (1963) らは電顕的に Schwann 氏細胞の変性崩壊像を見ている。神経束内に少数存在する大食細胞は、変性過程で一部崩壊死滅する Schwann 氏細胞の処理に関与することは当然推定される。

II. *in vitro* 変性における変化

古く Mönckeberg & Bethe (1899) は、動物を屠殺後、39°C にて24時間放置したとき、神経線維には死後変化として、軸索の断裂、髄鞘の楕球体形成が見られることを記している。末梢神経を *in vitro* にて、Ringer 氏液中に浸漬すると、*in vivo* の二次変性変化と一部よく類似した変化が現われることは、すでに古くから知られており、Feiss & Cramer (1913), Ramón y Cajal (1928), Nageotte (1932) らの報告がある。彼らの所見を総括すれば、*in vitro*

変性では、軸索の崩壊と髓鞘の断裂が起こるが、変性過程はそれ以上には進まず、髓鞘が崩壊し顆粒状になることはないという。この状態では、髓鞘の存在した部位においても Marchi 反応は陰性である (Feiss & Cramer, 1913)。すなわち彼らによると、*in vitro* の変性は、Johnson, McNabb & Rossiter (1950) のいう髓鞘の物理的崩壊期で停顿し、化学的崩壊期にまで進行することはない。またこのとき、Schwann 氏細胞の増殖も起こらないという。福山 (1958) は正常神経線維を生理的食塩水で封じて、位相差顕微鏡で観察し、上記と同様の髓鞘の変化を認め、この際の変化は非常に速く、*in vivo* で切断後 6 日を要する変化が、*in vitro* では 30 時間を要するにすぎぬことを指摘している。著者の今回の所見は、上記の諸家の知見とはほぼ一致している。*in vitro* の際には、Schwann 氏細胞の増殖が見られず、一方的に変性死滅するが、それに一致して生化学的にも、組織化学的にも A1-P-ase 活性の減弱ないし消滅が見られることは、二次変性時に Schwann 氏細胞が増殖増大するとき、神経束の A1-P-ase 活性が増加する所見とともに、二次変性時の髓鞘崩壊物質の処理の際に、Schwann 氏細胞内に A1-P-ase 活性が増大することを明確に示すものである。また *in vitro* 変性に際して、はじめ髓鞘の変形が急であるにもかかわらず、疎化ミエリンないし髓滴に至る崩壊が見られず、変性が一時停滞するのは、この条件下では Schwann 氏細胞が死滅し、髓鞘物質を変化せしめる各種酵素の形成が中止されるためと推測され、今回の実験によつて A1-P-ase 活性の低下消失が実証されたわけである。

Ⅲ. 二次変性および *in vitro* 変性における A1-P-ase 活性の消長

正常な末梢神経系の A1-P-ase 活性が低いことは、本陣、中村、和島、布上 & 岡山 (1961) が生化学的にすでに指摘しているところで、著者が今回得た結果も全く同様であった。

正常末梢神経の A1-P-ase 活性の組織化学的検索に関しては、過去に少数の報告がある。しかしながら、その結果については諸家の間に相違があり、Marchant (1949) は家兎で、'streaks' 状をなして散在性に分布する活性を認め、これを Schwann 氏鞘における活性であるとし、一方 Tewari & Bourne (1960) はラット、ネコ、イヌ、Wolfgram & Rose (1960) はラット、ネコ、Shanthaveerappa & Bourne (1962) はラットで、髓鞘特にその neurokeratin に強い活性があると、Adams, Davison & Gregson (1963) もラットで同様に、neurokeratin に散

在性に中等度の強さの活性を認めている。さらに、Samorajski (1957), Fisher & Turano (1963) らは、家兎坐骨神経の A1-P-ase 活性は、毛細血管内皮細胞に限局すると述べている。著者の所見では、毛細血管内皮細胞に強い活性が存し、正常状態では Schwann 氏細胞に弱い活性を認めた。前記諸家のうち、neurokeratin に局在するとの見解は、最近の電顕知見において neurokeratin の存在が否定的であることを考慮するとき、極めて疑わしく、おそらくこれは研究に使用された組織化学的方法が Gomori 氏法であり、しばしば拡散が生じやすく、また一方、研究者が neurokeratin なる古典的イメージに縛られたがためと推測される。Adams, Davison & Gregson (1963) はラット脳を用い、脳のホモジネートの A1-P-ase 活性のうち、ミエリン分画の A1-P-ase 活性は、その約 3% にすぎないことを生化学的に分析しているが、この結果が末梢神経にも適用され得るものとすれば、Tewari & Bourne (1960), Wolfgram & Rose (1960), Shanthaveerappa & Bourne (1962) らが得た、髓鞘の neurokeratin における強い A1-P-ase 活性は、すこぶる疑わしい。特に Tewari & Bourne (1960) および Shanthaveerappa & Bourne (1962) は、neurokeratin に種々のフォスファターゼならびに酸化系酵素の活性を認め、'a center of metabolic activity' であるとしているが、Davison & Dobbing (1960) は、ミエリンの lipids turn over が著しく低いことを報告し、Sidman (1960) も酸化系酵素が髓鞘に存することは、その微細構造上からも否定し得ると述べていることから、にわかに肯定し難い。

二次変性経過中の坐骨神経の A1-P-ase 活性に関する今回の著者の所見によると、術後 4 日より、生化学的に A1-P-ase 活性が上昇し始め、その局在は組織化学的に、Schwann 氏細胞にあることが示されている。このような上昇は、7 日頃よりさらに著明となり、15 日では最高に達し、増殖した Schwann 氏細胞の細胞質に強い活性の局在が認められる。これはすでに述べたように、変性に伴い増加増大した Schwann 氏細胞と関連のあることは明らかである。変性髓鞘の処理が進むにつれて Schwann 氏細胞は次第に退縮し、細胞性の索状物となるが、これに平行して術後 30 日以後 A1-P-ase 活性が漸減し、45 日で著しい減弱を見る。このように形態学的変化と、A1-P-ase 活性の生化学的および組織化学的所見との間に、一連の相関の存することは明白で、その中心は Schwann 氏細胞の動向にある。組織化学的にみて、毛細血管の活性

には、正常と二次変性時との間に著明な差が見られないから、変性経過中における生化学的活性度の上昇下降は、もつぱら Schwann 氏細胞における活性の増減によるものである。Marchant (1949) は、組織化学的に、二次変性中 Schwann 氏細胞の Al-P-ase 活性が高まることを指摘し、術後50日以後も Schwann 氏細胞がなお強い活性を示すと報告しているが、彼の場合、生化学的裏付けがないので、50日以後の所見についてはにわかに信じ難い。Wolfgram & Rose (1960)は、ネコ、ラットの坐骨神経切断後 Al-P-ase 活性が減少し、Hollinger, Rossiter & Upmalis (1952) がネコの坐骨神経で、生化学的に術後4~16日の間に、Al-P-ase 活性が低下すると報告しているのに一致すると述べているが、Hollinger, Rossiter & Upmalis (1952) は、むしろ軸索に Al-P-ase 活性が存すると仮定しており、Wolfgram & Rose (1960) らの neurokeratin 説は前記の理由で信憑性がうすい。そのほか Samorajski (1957) は末梢神経切断後、末梢側神経に再生してくる軸索 ('neurofibrils') に Al-P-ase 活性が強いとし、Al-P-ase 活性は神経線維の成長に関与するとし、Fisher & Turano (1963) は変性中も全く変化はなかつたと述べているが、これらの報告には生化学的計測が同時になされていないので、定量的見地からの記述はすこぶる疑わしい。

末梢神経の *in vitro* 変性における酵素の生化学および組織化学の報告は、いまだこれを聞かない。*in vitro* 2日で、毛細血管の一部にのみ Al-P-ase 活性が存し、生化学的にも、このとき活性度が50%以下に低下し、以後生化学的にも組織化学的にも全く Al-P-ase 活性は認められない。このことは、*in vitro* 2日における生化学的活性度が、毛細血管内皮細胞の活性によるものであり、Schwann 氏細胞の Al-P-ase 活性は *in vitro* の場合、2日以後全く消失していることを示している。このとき光顕所見において、Schwann 氏細胞はピクノーシスその他退行変性を示し、早晚死滅の転帰を取る。このことは、すでに述べた二次変性の場合と著しく異なる点で、二次変性における Schwann 氏細胞の Al-P-ase 活性上昇およびその時期における髄鞘の崩壊(疎化ミエリン体、髄滴など)が密接な相関を持つことを、別な面から証明するものである。事実、Schwann 氏細胞の Al-P-ase 活性の低下ないし消失する *in vitro* の場合、髄鞘の変化は変形による楕球体の形成に止まり、髄滴の形成には至らない。

IV. 二次変性における Schwann 氏細胞の Al-P-

ase 活性の意義

いうまでもなく、アルカリ性フォスファターゼは、アルカリ性 (pH 9.0~9.4) で種々のリン酸モノエステルを水解して、リン酸を遊離する基質特異性の広い 'non-specific phosphomonoesterase' で、生化学的分析により、Chantrenne (1947) はハツカネズミ、Jeener (1948) はラットの肝細胞の細胞質顆粒に Al-P-ase 活性を、また Novikoff, Podber & Ryan (1950), Emery & Dounce (1955) らは、ラットの肝細胞の 'soluble fraction' に Al-P-ase 活性の大部分 (70~80%) があり、核にも少量 (10~15%) ながら存することを証明している。Al-P-ase その他の多くの水解酵素が神経系に証明されているにもかかわらず、生体内で実際どのような代謝機能に関与しているものかについては、現在なお十分に解明されていない (Sidman, 1960)。ところで、Al-P-ase は glycerophosphate, phenylphosphate などの通常のリン酸モノエステルの他に、核酸に由来する mononucleotides をも水解することが生化学的に知られている (下村, 1953; Fruton & Simmonds, 1958)。一方 Al-P-ase にも他のリン酸転移酵素 (transphosphorylase) と同じように transphosphorylation の作用のあることが、Meyerhof & Green (1950), Morton (1953), Dixon & Webb (1964) らによつて指摘されており、*in vivo* における Al-P-ase の重要な機能であると考えられる (Pearse, 1960)。

二次変性中、Schwann 氏細胞に Al-P-ase 活性の増強が観察されることと、Schwann 氏細胞の代謝との関連性については、はつきり断定し得ないが、以上の考察および二次変性中 Schwann 氏細胞質に rough surfaced endoplasmic reticulum が増加する (高橋, 1961; Honjin & Takahashi, 1962) こと、核酸が増加する (Bodian & Dziewiatkowski, 1950; Logan, Mannell & Rossiter, 1952) こと、さらにこのことから、Schwann 氏細胞でこのとき核酸の合成が盛んに行なわれていると考えられるので、Schwann 氏細胞の核酸代謝と Al-P-ase 活性との間に、何らかの関連があるものと推測される。すなわち全くの憶説ではあるが、Al-P-ase は Schwann 氏細胞における核酸の合成の際に、nucleosides からリン酸転移によつて mononucleotides を合成するための transphosphorylation の反応に関与することが推測される。さらに神経髄鞘には各種の脂質が含まれているが、Bear, Palmer & Schmitt (1941), Palmer & Schmitt (1941) は、髄鞘から各種の脂質

(リン脂質としては *lecithin*, *cephalin*, *sphingomyelin*; 糖脂質としては *cerebroside*; その他 *cholesterol* など)を抽出し, Noback & Montagna (1952) は組織化学的に, 脂質の存在を検索している. このうち, リン脂質の分解にフォスファターゼが関与することが推定される. たとえば *lecithin* に例をとれば, フォスファターゼは *lecithin* に作用し, これを *glycerol* とリン酸 *choline* に分解する. すなわち二次変性において, Schwann 氏細胞に強く現われる *Al-P-ase* 活性は, 細胞内に含まれる髄鞘中のリン脂質に対してこれを水解し, 含窒素化合物+リン酸と *glycerol* とに分解し, 形態的には髄鞘板層膜を破壊し, 髄滴の形成に至る崩壊過程に関与するものではなからうか.

結 論

ハツカネズミ坐骨神経について, その二次変性および *in vitro* 変性におけるアルカリ性フォスファターゼ活性の消長を, 術後2日ないし45日にわたつて, 生化学的方法 (*p*-nitrophenol 法) ならびに組織化学的方法 (Gomori 氏法の改良法 およびアリザリンレッド法) を用いて検し, 同一材料の可視光顕微鏡所見および生体染色色素 (トリパン青) 注入所見と比較検討し, 次の結果を得た.

(1) 二次変性中, 生化学的定量によるアルカリ性フォスファターゼ活性度は, 術後2日以後急速に上昇し, 術後15日に最高に達し, 正常坐骨神経の活性度の3倍となる. 以後変性の進行とともに漸減し, 術後45日では, 正常値よりわずかに多い値を示す.

(2) 正常坐骨神経におけるアルカリ性フォスファターゼ活性は, 組織化学的検索によると, 神経束内に分布する毛細血管内皮細胞に極めて強く, Schwann 氏細胞にかすかに認められる.

(3) 二次変性の際には, Schwann 氏細胞のアルカリ性フォスファターゼ活性が著しくなり, これは Schwann 氏細胞の増殖と反応性の肥大にほぼ平行して経時的に増強し, 術後15日に最も著明となり, 以後次第に減弱する.

(4) 二次変性時のアルカリ性フォスファターゼの生化学的活性の増強は, 活性局在部位 (Schwann 氏細胞) の増加と, 個々の活性局在部位における活性の増大とによる.

(5) *in vitro* 変性における生化学的定量によるアルカリ性フォスファターゼ活性度は, 神経分離後急速に低下し, 2日ですでに正常値の約半量に減少し, 5日では全く消失する.

(6) *in vitro* 変性におけるアルカリ性フォスファターゼの組織化学的活性は, 2日で毛細血管の一部にのみ認められ, 5日では全く消失する.

(7) 二次変性に際し, 軸索および髄鞘の変性物質を含む細胞は Schwann 氏細胞であり, 大食細胞ではない. ただしこれとは別に, 正常ならびに二次変性坐骨神経の神経束内に, 少数のトリパン青生体染色陽性の大食細胞が存在する. Schwann 氏細胞はトリパン青生体染色陰性である.

(8) *in vitro* 変性は最初急速に進行するが, 軸索の変形・断裂・部分的崩壊および髄鞘の楕球体形成の段階で停止する. Schwann 氏細胞は退縮し, 核はピクノーシスに陥り, 増殖は起こらない.

稿を終るに臨み, 終始御懇篤な御指導と御校閲を賜つた 恩師本陣良平教授に深謝いたします. なおいろいろと御指導, 御援助を戴いた中村俊雄助教および顕微鏡写真撮影に御援助戴いた写真部神戸竜雄, 吉田敏衛両氏に厚く感謝します.

文 献

- 1) Adams, C. W. M., Davison, A. N. & Gregson, N. A. : J. Neurochem., 10, 383 (1963).
- 2) Adams, C. W. M., Ibrahim, M. Z. M. & Leibowitz, S. : Neurohistochemistry, ed. by C. W. M. Adams, Elsevier Publishing Company, Amsterdam, London, New York, p. 437 (1965).
- 3) Bear, R. S., Palmer, K. J. & Schmitt, F. O. : J. Cell. and Comp. Physiol., 17, 355 (1941).
- 4) Bodian, D. & Dzieriatkowski, D. : J. Cell. and Comp. Physiol., 35, 155 (1950).
- 5) Chantrenne, H. : Biochim. Biophysic. Acta, 1, 437 (1947).
- 6) Davison, J. N. : Ann. Rev. Biochem., 18, 155 (1949).
- 7) Davison, A. N. & Dobbing, J. : Biochem. J., 75, 565 (1960).
- 8) Dempsey, E. W. & Wislocki, G. B. : Physiol. Rev., 26, 1 (1946).
- 9) Dixon, M. & Webb, E. C. : Enzymes, 2nd ed., Academic Press Inc., Publishers, New York, p. 285 (1964).
- 10) Doinikow, B. : Folia neurobiol., 7, 731 (1913).
- 11) Droz, B. & Leblond, C. P. : J. Comp. Neurol., 121, 325 (1963).
- 12) Emery, A. J. & Dounce, A. L. : J. Biophysic. and Biochem. Cytol., 1, 315 (1955).
- 13) Emmel, V. M. : Anat. Rec., 95, 159 (1946).
- 14) Feiss, H. O. & Cramer, W. : Proc. Roy Soc. London, s.B.,

- 86, 119 (1913). 15) Finean, J. B. & Woolf, A. L. : J. Neuropath. Exp. Neurol., 21, 105 (1962). 16) Fisher, E. R. & Turano, A. : Arch. Path., 75, 517 (1963). 17) Fruton, J. S. & Simmonds, S. : General Biochemistry, 2nd ed., John Wiley & Sons, Inc., New York, p. 877 (1958). 18) 福山右門 : 基礎医学最近の進歩, 解剖病理編, 2, 93 (1958). 19) Glimstedt, G. & Wohlfart, G. : Acta Morph. Neerl.-Scand., 3, 135 (1960). 20) Gomori, G. : Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 42, 23 (1939). 21) Gomori, G. : Microscopic histochemistry, principles and practice, The Univ. of Chicago Press, p. 127 (1952). 22) Guth, L. : Physiol. Rev., 36, 441 (1956). 23) Hollinger, D. M., Rossiter, R. J. & Upmalis, H. : Biochem. J., 52, 652 (1952). 24) Holmgren, H. & Rexed, B. : Acta anat., 2, 287 (1946). 25) Honjin, R. : Cytol. Neurol. Stud., 9, 1 (1951). 26) 本陣良平 : 総合医学, 14, 673 (1957). 27) 本陣良平 & 中村俊雄 : 解剖誌, 31, 78 (1956). 28) Honjin, R., Nakamura, T. & Imura, M. : Okajima. Folia Anat. Jap., 33, 131 (1959). 29) 本陣良平・中村俊雄・岡山陽子・布上善衛 & 和島 毅 : 解剖誌, 37, 126 (1962). 30) 本陣良平・中村俊雄・和島 毅・布上善衛 & 岡山陽子 : 解剖誌, 36, 475 (1961). 31) Honjin, R. & Takahashi, A. : J. Electron-microscopy, 11, 139 (1962). 32) Jeener, R. : Nature, 159, 578 (1947). 33) Jeener, R. : Biochim. Biophysic. Acta, 2, 633 (1948). 34) Johnson, A. C., McNabb, A. R. & Rossiter, R. J. : Arch. Neurol. Psychiat., 64, 105 (1950). 35) Krugelis, E. J. : Biol. Bull., 93, 215 (1947). 36) Lee, J. C. : J. Comp. Neurol., 120, 65 (1963). 37) Lison, S. : 組織化学及び細胞化学, 理論と方法 (今泉 正訳), 白水社, 東京 (1954). 38) Logan, J. E., Mannell, W. A. & Rossiter, R. J. : Biochem. J., 51, 482 (1952). 39) Marchant, J. : J. Anat., 83, 227 (1949). 40) Martin, B. F. & Jacoby, F. : J. Anat., 83, 351 (1949). 41) 増山元三郎 : 少数例の纏め方と実験計画の立て方, 河出書房, 東京 (1943). 42) Meyerhof, O. & Green, H. : J. Biol. Chem., 183, 377 (1950). 43) Mönckeberg, G. & Bethe, A. : Arch. f. mikr. Anat., 54, 135 (1899). (Nageotte, 1932 より引用). 44) Moog, F. : Biol. Bull., 86, 51 (1944). 45) Morton, R. K. : Nature, 172, 65 (1953). 46) Nageotte, J. : Cytology and cellular pathology of the nervous system, ed. by W. Penfield, P. B. Hoeber, New York, I, 189 (1932). 47) Noback, C. R. & Montagna, W. : J. Comp. Neurol., 97, 211 (1952). 48) Novikoff, A. B., Podber, E. & Ryan, J. : Fed. Proc., 9, 210 (1950). 49) Ohmi, S. : Z. Zellforsch., 54, 39 (1961). 50) Palmer, K. J. & Schmitt, F. O. : J. Cell. and Comp. Physiol., 17, 385 (1941). 51) Pearse, A. G. E. : Histochemistry, theoretical and applied, 2nd ed., J. & A. Churchill Ltd., London (1960). 52) Porcellati, G. & Curti, B. : J. Neurochem., 5, 277 (1960). 53) Ram'ón y Cajal, S. : Degeneration and regeneration of the nervous system, trans. and ed. by R. M. May, Oxford Univ. Press, p. 66 (1928). 54) Rossiter, R. J. : Neurochemistry, ed. by K. A. C. Elliott, I. H. Page & J. H. Quastel, Springfield, Illinois, p. 696 (1956). 55) Samorajski, T. : J. Histochem. Cytochem. 5, 15 (1957). 56) Shanthaveerappa, T. R. & Bourne, G. H. : Acta anat., 51, 112 (1962). 57) 下村道夫 : 核酸及び核蛋白質 (江上不二夫 編集) 上巻, 共立出版, 東京, p. 314 (1953). 58) Sidman, R. L. : J. Histochem. Cytochem., 8, 412 (1960). 59) 高橋 暁 : 十全医会誌, 67, 433 (1961). 60) 高松英雄 : 日本病理学会誌, 29, 492 (1939). 61) 竹内一郎 : 京府医大誌, 60, 243 (1956). 62) Terry, R. D. & Harkin, J. C. : The Biology of Myelin, ed. by S. R. Korey, P. B. Hoeber, New York, p. 303 (1959). 63) Tewari, H. B. & Bourne, G. H. : Nature, 186, 645 (1960). 64) Vial, J. D. : J. Biophysic. and Biochem. Cytol., 4, 551 (1958). 65) Weddell, G. & Glees, P. : J. Anat., 76, 65 (1941). 66) Weiss, P. & Wang, H. : Proc. Soc. Exp.

Biol. Med., 58, 273 (1945). 67) Wolfgram, 68) Young, J. Z. : Physiol. Rev., 22, 318
F. & Rose, A. S. : Neurol., 10, 365 (1960). (1942).

A b s t r a c t

The changes in alkaline phosphatase activity during Wallerian degeneration and the degeneration *in vitro* of the sciatic nerves of the mouse were studied by the *p*-nitrophenol method for biochemical estimation and Gomori's method and alizarin red method for histochemical demonstration. The usual light microscopic observations were performed in order to outline the processes of both degenerations. The vital staining examinations by trypan blue for nerves during Wallerian degeneration were also done. The results obtained were summarized as follows:

1. During Wallerian degeneration, alkaline phosphatase activity estimated biochemically rises rapidly on the 2nd day after operation and reaches the maximum (about 3 times as large as the normal value) on the 15th day after operation. Thereafter, the activity shows a gradual decrease and descends to a slightly higher value than the normal value in 45 days after operation.

2. The histochemical observations on the normal nerves indicate that alkaline phosphatase activity is intense in the endothelium of the capillaries distributed in the nerves and is weakly positive in the Schwann cells.

3. It is found histochemically that during Wallerian degeneration, alkaline phosphatase activity in the Schwann cells increases rapidly, accompanied with the proliferation of the Schwann cells, shows the strongest reaction in 15 days after operation and is followed by a gradual reduction of the activity.

4. The increase in the enzyme activity of the nerve bundle during Wallerian degeneration, demonstrated by biochemical procedure is due to both the increase of the numbers of the Schwann cells and the increase in activity in the individual Schwann cells.

5. Alkaline phosphatase activity during the degeneration *in vitro* measured by biochemical method decreases rapidly after the removal of the nerves. *In vitro* 2 days, about one half of the activity found in the normal nerves is only retained and there is found no activity *in vitro* 5 days.

6. Alkaline phosphatase activity demonstrated by histochemical methods *in vitro* 2 days is localized only in a part of the capillaries. The entire disappearance of the activity occurs *in vitro* 5 days.

7. During Wallerian degeneration, the Schwann cells contain many remnants of degenerated axons and myelin sheaths. A small number of macrophages which are strongly positive in the trypan blue vital staining are present in the normal and degenerated nerves. The Schwann cells are negative in the vital staining.

8. The degenerative processes during the degeneration *in vitro* advance rapidly in the first step, but are delayed later. The processes are retarded in the stages of deformation, fragmentation and partial destruction in the axons and of formation of the ellipsoids in the myelin sheaths. The nuclei of the Schwann cells suffer pycnosis and show no proliferous reaction.

写真説明

写真はすべて坐骨神経の縦断像であり、写真中のスケールは 50μ の長さを示す。

Plate I

写真1 正常坐骨神経。「ヘムアラウン・エオジン」染色法。×300

写真2 正常坐骨神経。写真銀法。×690

写真3 術後7日の二次変性坐骨神経。変性により崩壊した軸索物質が散在性に認められる。写真銀法。×690

写真4 術後7日の二次変性坐骨神経。髄鞘は外髄内髄により、種々の大きさの楕球体を形成している。一部に疎化ミエリンも存在する。OsO₄固定法。×300

写真5 術後7日の二次変性有髄線維。二つの大きな疎化ミエリンを示す。矢印は、すでに顆粒状に崩壊した髄鞘を示す。OsO₄固定法。×690

写真6 術後7日の二次変性有髄線維。髄鞘板層膜が内方に剝離して、複雑な様相をした疎化ミエリンが認められる。OsO₄固定法。×690

Plate II

写真7 術後15日の二次変性坐骨神経。変性した髄鞘は、すでにほとんど顆粒状の髄滴に崩壊している。OsO₄固定法。×300

写真8 術後4日の二次変性神経線維。矢印は Schwann 氏細胞の細胞質の増大を示す。有尾の矢印は、侵入してきた好中球を示す。「ヘムアラウン・エオジン」染色法。×690

写真9 術後7日の二次変性坐骨神経。Schwann 氏細胞の核が増加している。核はしばしば半月状ないし凹レンズ状をなしている。「ヘムアラウン・エオジン」染色法。×300

写真10 術後7日の二次変性神経線維における Schwann 氏細胞の核の有糸核分裂像。「カルムアラウン」核染色法。×960

写真11 術後15日の二次変性坐骨神経。Schwann 氏細胞の核の著しい増加が認められる。「ヘムアラウン・エオジン」染色法。×300

写真12 術後15日の二次変性神経線維。Schwann 氏細胞索の形成とともに、矢印の部に膠原線維が認められる。「ヘムアラウン・エオジン」染色法。×690

Plate III

写真13 正常坐骨神経におけるアルカリ性フォスファターゼ（以下「Al-P-ase」と略記）の活性。毛細血管に強い活性が認められるが、一部 Schwann 氏細胞（矢印）にも活性が局在する。Gomori 氏法の改良

法。×100

写真14 正常坐骨神経における Al-P-ase 活性。矢印で示した強い活性を示す部位は毛細血管で、その右上に Schwann 氏細胞における活性が認められる。アリザリンレッド法。×300

写真15 術後4日の二次変性坐骨神経における Al-P-ase 活性。活性の局在が、Schwann 氏細胞質に認められる。Gomori 氏法の改良法。×300

写真16 術後4日の二次変性坐骨神経における Al-P-ase 活性。活性を示す Schwann 氏細胞が、明らかに増加している。アリザリンレッド法。×300

写真17 術後7日の二次変性坐骨神経における Al-P-ase 活性。個々の Schwann 氏細胞の細胞質における活性の増大が認められる。Gomori 氏法の改良法。×300

写真18 術後7日の二次変性坐骨神経における Al-P-ase 活性。活性を示す Schwann 氏細胞の増加と、個々の細胞における活性の増大が見られる。アリザリンレッド法。×300

Plate IV

写真19 術後7日の二次変性坐骨神経における Al-P-ase 活性。Schwann 氏細胞の活性の増大が認められる。Gomori 氏法の改良法。×300

写真20 術後7日の二次変性坐骨神経における Schwann 氏細胞の Al-P-ase 活性。核周囲細胞質の活性を示す。核（矢印）も染着している。アリザリンレッド法。×690

写真21 術後15日の二次変性坐骨神経における Al-P-ase 活性。強い活性の増強が見られる。中央やや右上に、髄滴の存する部分を囲む活性局在部が認められる。Gomori 氏法の改良法。×300

写真22 術後15日の二次変性坐骨神経における Al-P-ase 活性。活性の増強が認められる。活性はしばしば、大きな髄滴の存する部位に接して見られる。アリザリンレッド法。×150

写真23 術後15日の二次変性神経線維における Al-P-ase 活性。左下方に、髄滴に接した Schwann 氏細胞質に活性が認められる。Gomori 氏法の改良法。×690

写真24 術後15日の二次変性坐骨神経の Schwann 氏細胞における Al-P-ase 活性。髄滴に接した Schwann 氏細胞質に、明らかに活性が認められる。アリザリンレッド法。×690

Plate V

写真25 術後15日の二次変性坐骨神経の切断端。この部位には、Al-P-ase 活性は認められない。左方に

見える活性は Schwann 氏細胞におけるものである。

Gomori 氏法の改良法, ×150

写真26 術後30日の二次変性坐骨神経における AI-P-ase 活性. 術後15日に比して, 活性は減弱している. 髄滴の存する部分に接した Schwann 氏細胞の AI-P-ase 活性を示す. Gomori 氏法の改良法.

×300

写真27 術後30日の二次変性坐骨神経の Schwann 氏細胞における AI-P-ase 活性. 右中央に存する大きな髄滴に接して, 活性が認められる. 右上方に増殖した膠原線維が見られるが, 活性は認められない.

Gomori 氏法の改良法, ×690

写真28 術後30日の二次変性坐骨神経における AI-P-ase 活性. 術後15日に比し, AI-P-ase 活性が減弱しているのが見られる. Schwann 氏細胞に活性の局在が認められる. アリザリンレッド法, ×300

写真29 術後45日の二次変性坐骨神経における AI-P-ase 活性. 活性を示す Schwann 氏細胞は減少し, 活性の広がりも小さく, 核周囲細胞質と考えられる部位に活性を認める. Gomori 氏法の改良法, ×300

写真30 術後45日の二次変性坐骨神経における AI-

P-ase 活性. 活性が著しく減弱しているのが認められる. アリザリンレッド法, ×300

Plate VI

写真31 *in vitro* 2日の坐骨神経. Schwann 氏細胞の核はすべてピクノーシスを示している. 「ヘムアラウン・エオジン」染色法, ×300

写真32 *in vitro* 15日の坐骨神経. 軸索の変形・断裂・崩壊が認められる. 変性は太い軸索に著しい. 写真銀法, ×150

写真33 *in vitro* 2日の坐骨神経における AI-P-ase 活性. 毛細血管の一部に限局して活性が認められる. Gomori 氏法の改良法, ×690

写真34 正常坐骨神経の神経周膜における大食細胞(矢印). 貪食したトリパン青色素顆粒が少量認められる. 左下方の部分は脂肪組織である. ×960

写真35 二次変性7日の神経線維間に見られる大食細胞. 少量の微細なトリパン青色素顆粒(矢印)を含んでいる. ×960

写真36 二次変性7日の坐骨神経の神経周膜に見られる大食細胞. 種々の大きさのトリパン青色素顆粒を貪食した大食細胞を示す. ×960

Plate I

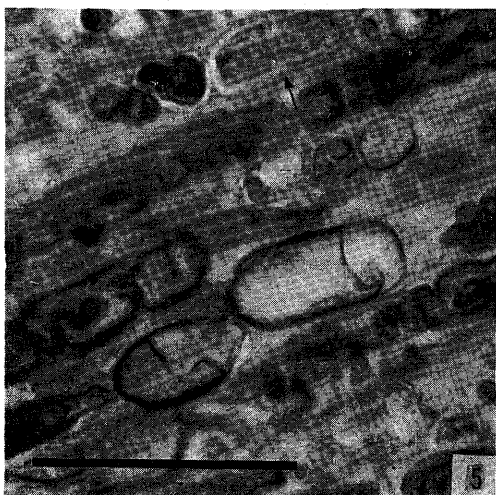
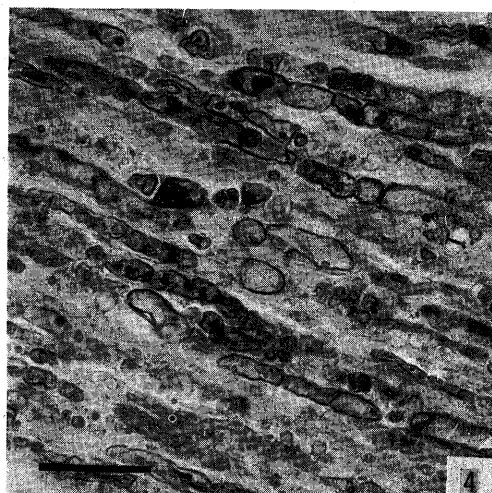
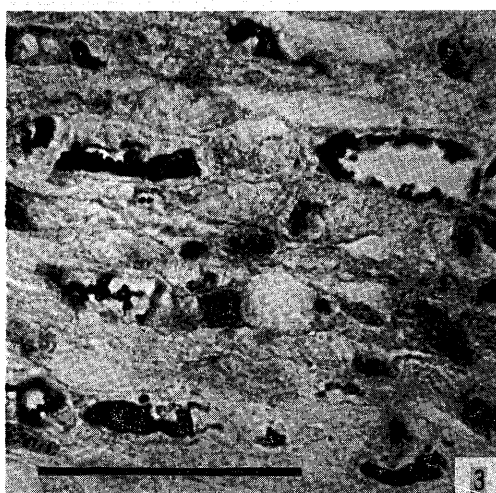
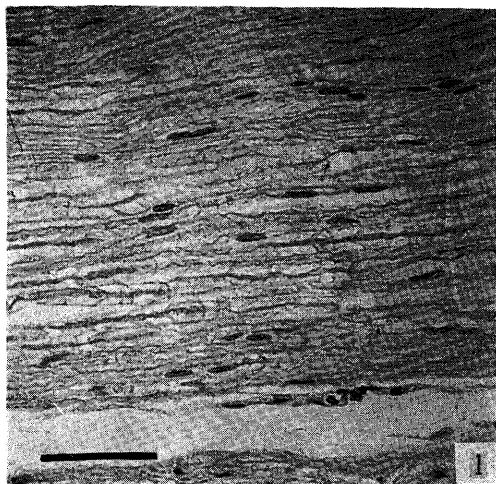


Plate II

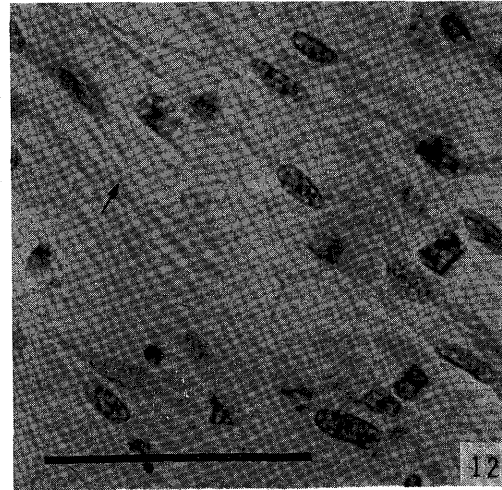
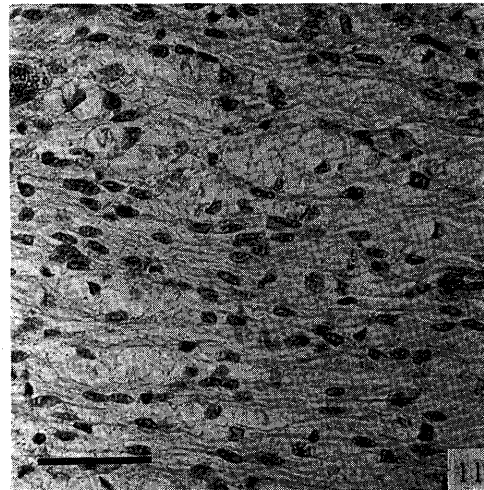
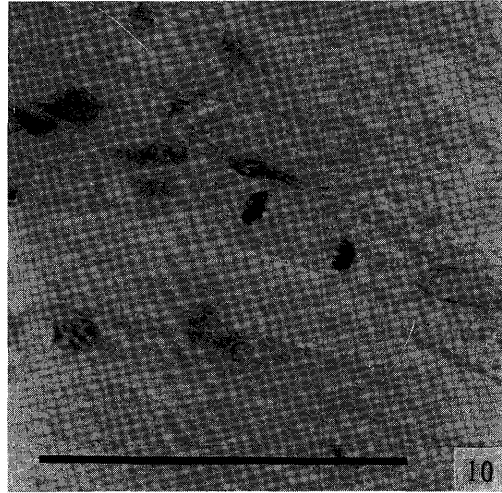
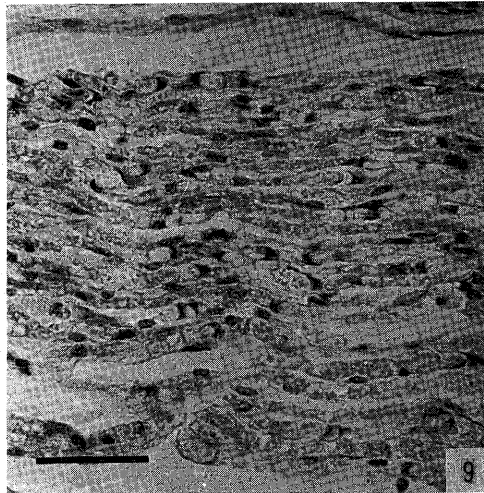
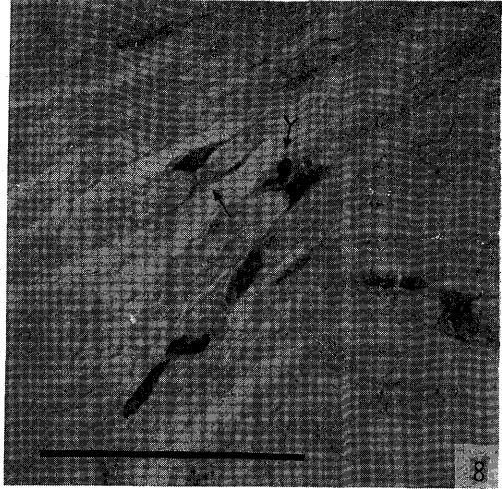
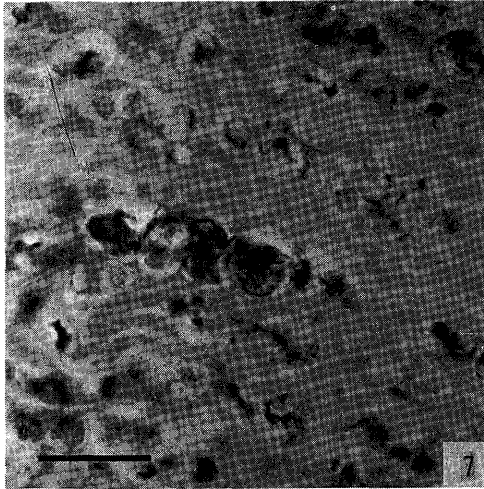


Plate III

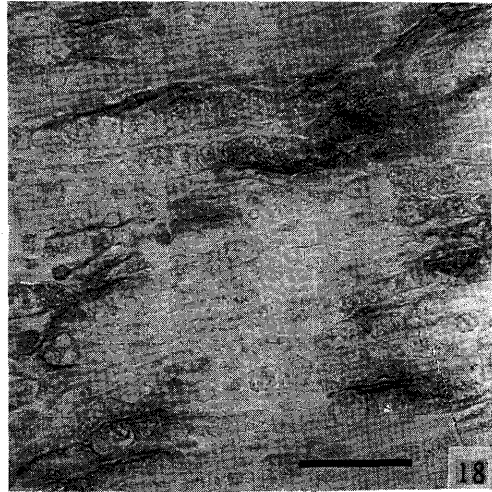
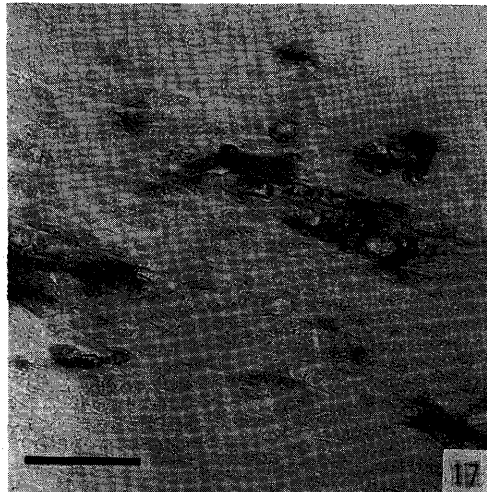
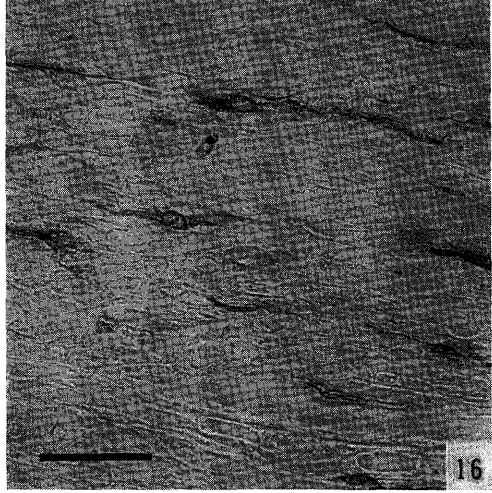
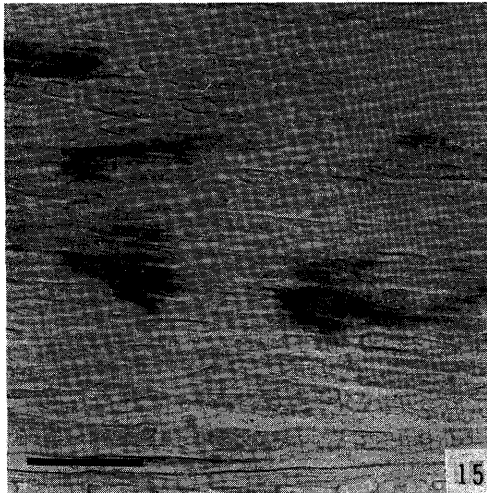
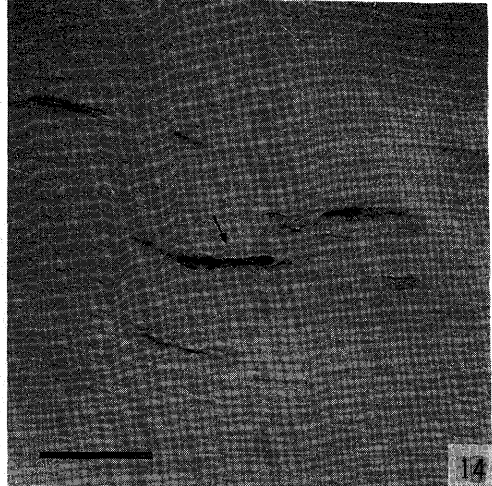
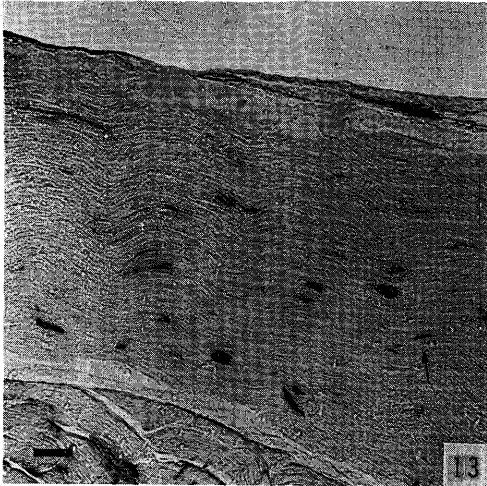


Plate IV

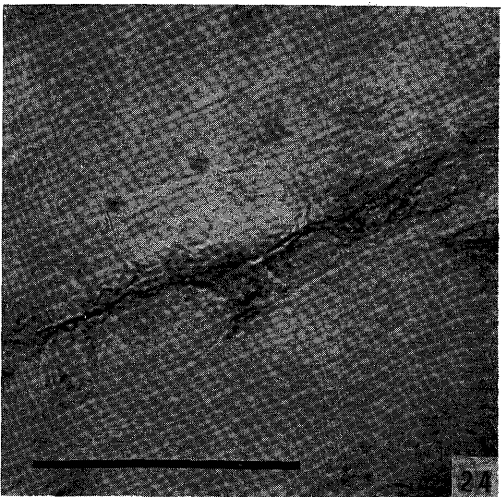
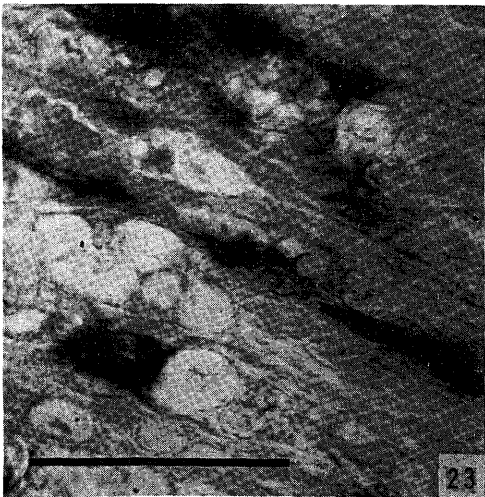
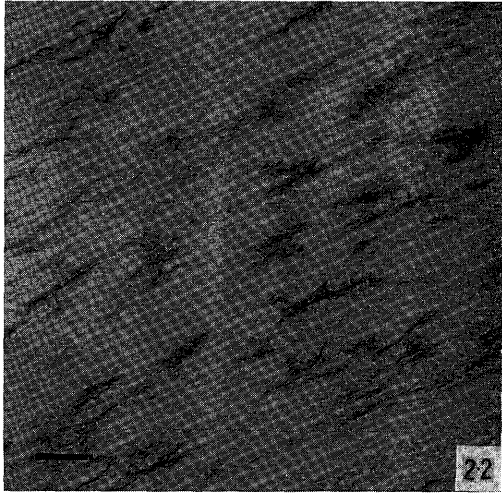
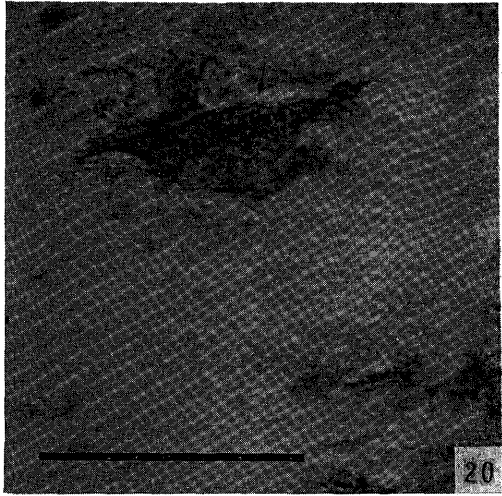
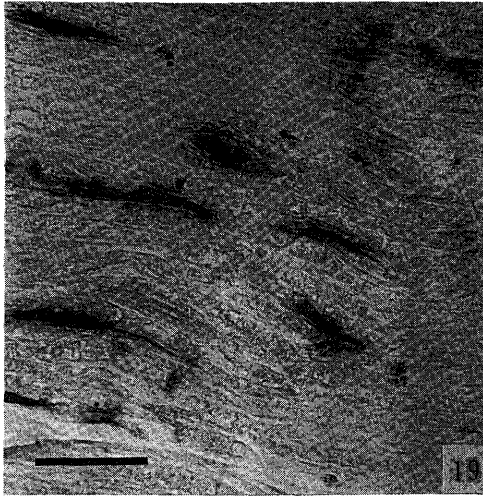


Plate V

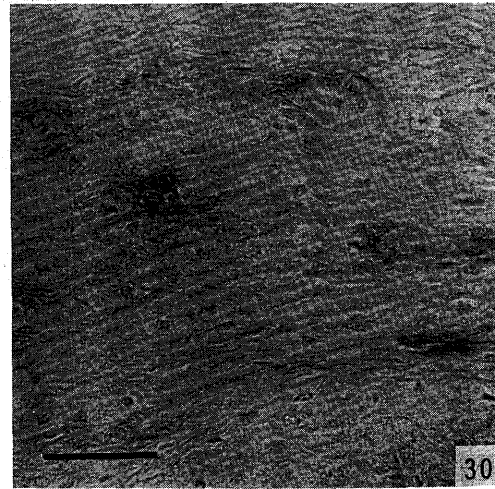
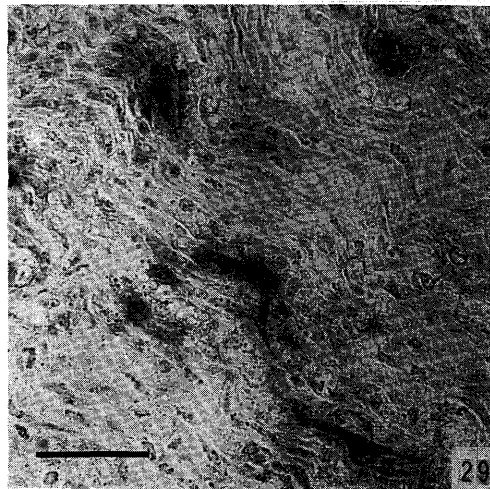
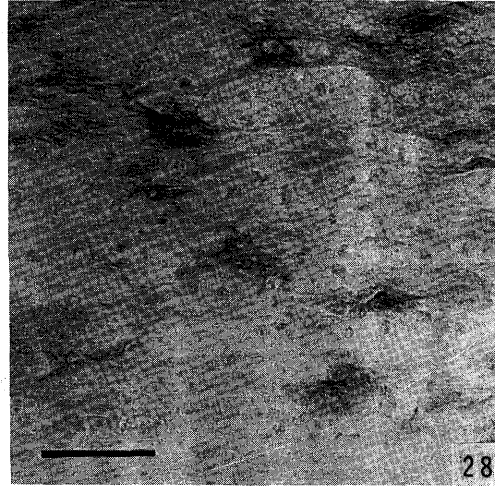
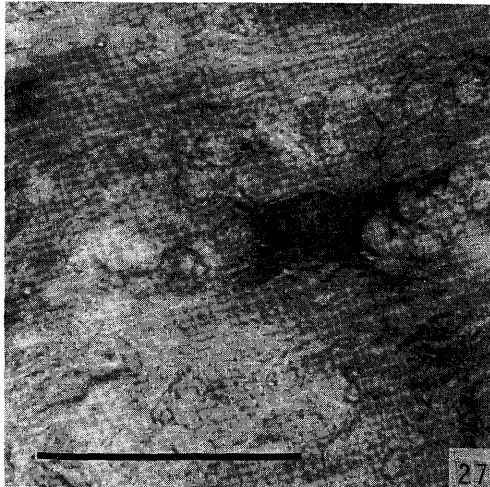
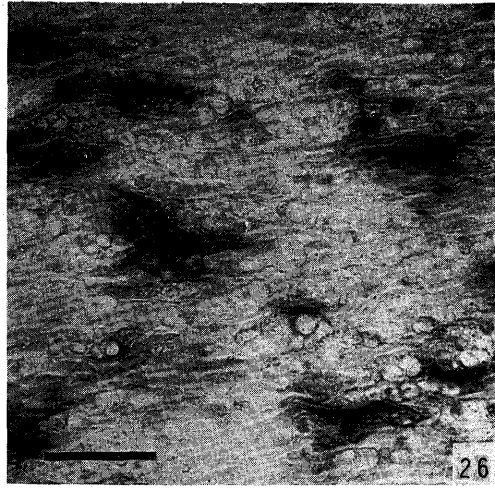
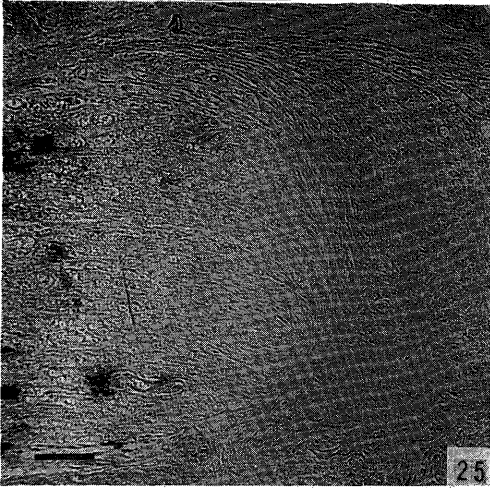


Plate VI

