

In vitro における末梢神経線維の超微構造 変化の電子顕微鏡的研究

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)

埴 生 知 則

(昭和41年10月5日受付)

神経線維切断後、その切断部より末梢側の部に現われる二次変性に関しては、Waller (1850) の報告以後、一般にこれは「Waller 変性」と呼ばれ、多くの神経学者によつて注目され、可視光顕微鏡(以下「光顕」と略記)による報告は枚挙にいとまがなく、Ramón y Cajal (1928), Nageotte (1932), Parker (1933), Weddel & Glees (1941), Young (1942, 1945), Holmes & Young (1942), Noback & Montagna (1952), Causey & Palmer (1953), Guth (1956), 福山 (1958) ら、によつて光顕所見の概括がなされている。しかしながら、Waller 変性の生機をめぐつて諸家の間に数々の意見の対立があり、今日なお不明の点が少なくない。近年電子顕微鏡(以下「電顕」と略記)による検索法が著しく進歩するとともに、これはいち早くこの方面の検索に応用され、本陣 & 中村 (1956), 本陣 (1956, 1957 d, 1960 a), Vial (1958), Honjin, Nakamura & Imura (1959), Terry & Harkin (1959), Glimstedt & Wohlfart (1960), 高橋 (1961), Ohmi (1961), Honjin & Takahashi (1962), 本陣 & 高橋 (1962), Webster (1962), Lee (1963), Nathaniel & Pease (1963), 小坂 (1964), Thomas (1964) ら、によつて Waller 変性の知見に関して飛躍的な進歩がもたらされた。しかしながら上記報告はいずれも *in vivo* における二次変性の知見を報告したもので、*in vitro* における解析は極めて少なく、系統的検索に欠け、電顕的検索にいたつては全くこれを見ない。

近時神経線維の微細構造の検索の進歩とともに、これを構成する物質の分子構築に関して、多くの生物物理学的知見がもたらされつつあるが、*in vivo* における Waller 変性の所見は、変性所見に及ぼす因子が極めて複雑で、その解析はさほど容易ではない。これの根本的解明には、実験条件を単純化した *in vitro*

における検索が必要と考えられる。またこのことは、神経外科学における保存神経の保存条件の決定のためにも基礎的研究として必要である。著者はこの見地に立つて、塩類構成を異にする等張溶液中にひたした *in vitro* 下における蛙の末梢神経の超微構造の変化を経時的に電顕により観察し、特に Ca イオンの神経線維微細構造に対する作用を解明し、さらにこの変化に対する温度の影響をも解明せんとして本研究を企図した。

材 料 と 方 法

材料は野性のトノサマガエル (*Rana nigromaculata nigromaculata*) 約 100 匹の坐骨神経を使用した。対照として正常動物よりの材料を検索するとともに、次に記するような術式により、切断摘出神経の種々条件の *in vitro* における変化を観察した。

カエル下半身外皮を消毒し、滅菌したハサミおよびピンセットにより大腿部の外皮を剥離し、無菌的に坐骨神経(長さ 1.2~1.3 cm)を切りとり、直ちに下記の構成をもつ等張塩類溶液に投入した。

等張塩類溶液としては下記の 2 種のものを使用した。

(1) 一価および二価の両種イオンを含む等張液 (R-液と略記)

NaCl	6.780 g	}	水を加えて 1,000 ml とする。
KCl	0.149 g		
CaCl ₂ ·2H ₂ O	0.294 g		

(Robertson, 1958 による)

(2) 一価イオンのみを含む等張液 (C-液と略記)

NaCl	6.955 g	}	水を加えて 1,000 ml とする。
KCl	0.149 g		

上記等張液を、乾熱滅菌したビンにそれぞれ 20 ml 宛分注し、高圧滅菌 120°C、20 分の後、ストレプトマイシンを 50~100 r/ml、ペニシリンを 50~100 u/ml

Electron Microscopic Studies of Ultrastructural Changes in the Peripheral Nerve Fibers *in Vitro*. Tomonori Hanyu, Department of Anatomy (Director: Prof. R. Honjin), School of Medicine, Kanazawa University.

の割合で加えた(田中, 1963; 遠藤, 山田 & 奥村, 1964)。

上記の塩類溶液に、とりだした坐骨神経を2本宛投入し、滅菌ゴム栓にて密閉、さらにその上からアルミ箔にて覆いをして、R-液は 10°C (R-10°C と略記)、20°C (R-20°C と略記)、30°C (R-30°C と略記)、C-液は 20°C (C-20°C と略記)、の各温度条件下に保ち、6時間、12時間、24時間、48時間、4日、7日、10日、15日、20日、30日、40日、50日、70日の後、とり出して電顕標本に供した。なお、実験日数4日以上のは、すべて隔日にその都度上記要領で新しく作成した新しい液に移しかえて実験を進めた。

上述の *in vitro* の条件下に目的日数を経過した神経は、電顕材料採取に際して、その両端それぞれ約3mmを切り捨て、中央部より約1~2mmの神経小片を2~3個切りとり、手早く固定液中に投じた。

固定液としては、ペロナル・酢酸ナトリウム緩衝1% OsO₄ 固定液 (pH 7.25) (Michaelis, 1931; Palade, 1952) を使用し、試料を氷室内 (0~4°C) で2時間固定した。水洗後エタノール系列を通して脱水、スチレン・メタクリレート包埋 (Kushida, 1961), Porter-Blum ミクロトームおよび LKB ウルトラトームを使用して超薄切片を作製、干渉色により厚さ200~600Åの切片を選び、炭素蒸着を施したコロジオン膜を貼った銅製メッシュ上にのせ、鉛染色法 (Karnovsky, 1961) を施して鏡顕した。電顕は HU-11型 (加速電圧75KV) および JEM-7型 (加速電圧80KV) を使用し、直接倍率3,000~50,000倍で撮影し、さらに引伸拡大陽画を作製した。微細構造の数値測定は、陰画原板をオリンパス万能投影器 UP-350により20倍に投影して行なった。また一部、軸索染色 Cajal 氏-本陣変法 (Honjin, 1951) を用いて、光顕用標本も作製して電顕所見の裏付けとした。

結 果

I. 正常トノサマガエル坐骨神経の構造

正常トノサマガエル坐骨神経に関しては、著者の教室でかなり以前から電顕検索が進められ、Honjin (1955, 1956, 1957 a), 本陣 (1957 b, 1957 c, 1957 d, 1960 a, 1961), Honjin, Nakamura & Imura (1959), 高橋 (1961), 本陣, 高橋 & 西 (1961), Honjin, Takahashi, Nakamura & Taniguchi (1962) らによる多数の知見が報告されているので、ここには著者の得た新知見のほかは概略を述べることにする。

トノサマガエルの坐骨神経には、多数の有髓および

無髓の神経線維が混在しているが、その最外側には比較的疎な結合組織からなる神経上膜があり、これに囲まれて比較的緻密な結合組織性の神経周膜に限界された幾つかの神経束が存在する。神経周膜に続く神経内膜は、神経束内に入り神経線維をさらに幾つかの集団に区分している。結合組織はさらに個々の神経線維の周囲を取り巻き、いわゆる神経内膜鞘を形成している (本陣 & 平井, 1956; 本陣, 平井 & 井村, 1957)。

A. 有髓神経線維

有髓神経線維は、軸索、Schwann 氏細胞および髓鞘とからなる。その外面は厚さ約200~400Åの基底膜にて覆われている。有髓神経線維の径は一般には1~10μのものが多いが、これより大または小なものも認められる。小径線維はしばしば群をなして存在し、その近傍を無髓神経線維が密接平行することが多い。一般に大径線維の髓鞘は厚く、小径線維は髓鞘が薄い。必ずしも両者の間に比例関係は見られず、大径線維の一部のものは比較的薄い髓鞘を有している (写真1)。

(1) 軸 索

中性 OsO 固定の超薄切片の軸索物質中には、神経細線維 (n.f.), 細管状の薄膜からなる tubular endoplasmic reticulum (tub. e. r.) および mitochondria (mito.) が常に認められる (写真1, 2)。

n. f. は直径約100Å、長さ不定の線維状構造物で、主として軸索の長軸に平行するが、時には斜に不規則に配列する場合もある。

tub. e. r. は径200~300Åの細管状構造を呈し、その長軸は軸索に平行し、表面に径100~200Åの小顆粒を付することがある。

mito. は内部に配列不規則な cristae を有し、その長軸は主として軸索の縦方向に一致する。稀に軸索-Schwann 膜が局部的に伸びて軸索内に薄板状となつて突出した構造物の存在することを見出した。時として軸索内に、二重の薄膜に囲まれた径0.5~1.0μの電子密度大な均質の球状構造物が認められた。均質物質の所々に myelin 様の層構造が認められるものもある。

軸索の外面に軸索膜が存し、その外側には Schwann 氏細胞の軸索に面する限界膜があり、この2者によつて、いわゆる軸索-Schwann 膜を構成している。

Ranvier 氏絞輪部には、時として内に径400~600Åの小胞を多数含んだ径0.3~0.5μの小球体が認められる。これは spherical body (本陣, 高橋 & 西, 1962) に相当する。

(2) Schwann 氏細胞

Schwann 氏細胞は軸索をとり囲んで長管状を呈し、Ranvier 氏絞輪部にて多数の指状の小突起すなわち絞輪突起 (nodal processes) を形成している。その細胞質は核の付近で多量に認められるが、その他の部では極めて乏しい。

Schwann 氏細胞の外限界膜は、細胞内部に齧入して2枚重なつて細胞質内を横切の際に外側結合膜 (outer connecting membrane) を形成し、髄鞘の最外層の板層膜に連続する (写真2)。髄鞘の部で螺旋状の板層構造を作つた後、2枚重なつた膜は髄鞘を離れ内側結合膜 (inner connecting membrane) として軸索外面に達し2枚が分離して Schwann 膜に連続し、軸索膜の外面を囲む。Schwann 氏細胞の細胞内には、さきに Honjin (1955, 1957 a), 本陣 (1957 b, 1957 c, 1959 a, 1961), 高橋 (1961) らが指摘しているように核, e.r. および小顆粒, mito., Golgi 体, d-顆粒, 板層小体 (lamellar body), pinocytotic vesicles などが認められる。

Schwann 氏細胞の核は、絞輪間部のほぼ中央にあり、髄鞘の方向に圧平された扁平長楕円体の外形をもつ。しばしば核の存在する部では髄鞘が内側へ陥凹している。核膜はいわゆる二重核膜構造を呈し、内外2葉の核膜の間には幅約 100~300Å の核膜内腔が存し、所々で内外核膜が互に移行して核孔構造を形成している。核基質内には、OsO₄ 固定で直径 100~200Å の小顆粒が分散し、核小体物質はこれより密度大な小顆粒の集団として認められる。

e.r. はいわゆる粗面小胞体の形を示し、外面に多数の小顆粒を附し、その分布は核の周辺に多く、その他の部分では少ない。mito. は軸索内のそれよりもやや大きく比較的規則正しい cristae 構造を有する。Golgi 体は Golgi 空胞, Golgi 薄膜, Golgi 小胞とからなり、核の近傍に存在する。d-顆粒 (special dense granule) は球状ないし楕球状を呈す電子密度大な径 0.2~0.5 μ の小体で、しばしばその内部が不規則に消失している場合もある。板層小体は断面菱形を呈し、内部には myelin 様の薄膜が重なり、一部には密度小さな空隙を含み、外面を一層の薄膜で囲まれた小体である (写真6)。

Schwann 氏細胞の細胞膜は、厚さ約 80Å の薄膜で、いわゆる unit membrane の構造を示す。Schwann 氏細胞の細胞膜の外側には、幅 200~400Å の密度やや大な基底膜 (basement membrane) が存在する (写真2)。

(3) 髄 鞘

髄鞘は Schwann 氏細胞の限界膜の齧入に由来す

る螺旋状の板層構造で、その内および外側端はそれぞれ内および外側結合膜を経て、それぞれ内および外側の Schwann 氏細胞膜に連続している。

OsO₄ 固定, PbO 染色の髄鞘の電顕像には、電子密度大な厚さ約 30Å の層 (暗層 dense zone または周期線 period dense line と呼ぶ) と、厚さ約 70~100Å の電子密度小さな層 (明層 light zone と呼ぶ) とからなる。髄鞘板層の周期は約 100~130Å を示す。明層のほぼ中央にやや電子密度大な厚さ約 10~40Å の薄層 (中間層 intermediate zone または周期間線 interperiod line と呼ぶ) が認められる (本陣, 1959, 1960 b, 1961; 本陣 & 平松, 1961; 本陣 & 中村, 1963; 平松, 1964)。

Schmidt-Lanterman 氏切痕の部では、髄鞘の各板層は暗層の中央部すなわち周期線に沿って離解し、個々の髄鞘薄膜は中央に周期間線を有する外複合膜 (external compound membrane) の形を呈する。この部の各髄鞘薄膜の間には少量の Schwann 氏細胞質があり、髄鞘の外側の Schwann 氏細胞質と Mauthner 氏層とを螺旋状につないでいる。

Ranvier 氏絞輪部においては、髄鞘板層膜は軸索表面に達して絞輪部髄鞘小輪 (nodal myelin loops) を形成する。絞輪部髄鞘小輪は絞輪部に近い軸索外面を螺旋状に緊縛し、断面では軸索の外面に沿って一列に並んだループの列として示され、ループの小輪の内にも Schwann 氏細胞質が存在する。

B. 無髄神経線維

無髄神経線維の軸索内部の構造は、基本的に有髄線維のそれに全く一致し、神経細線維, tub.e.r., mito. などが認められる。軸索の外面には軸索膜があり、軸索膜の外周には Schwann 氏細胞膜より結合膜 (mesaxon) (Gasser, 1955) を介してつながる Schwann 膜が存し、2者により軸索-Schwann 膜を形成している。時として結合膜がはなはだ短いか、あるいは全くなくて軸索が Schwann 氏細胞の凹みにはまりこんだような形態を呈する場合もある。無髄線維の Schwann 氏細胞の微細構造も原則として有髄線維のそれに一致するが、ただ髄鞘の形成がないこと、および1個の Schwann 氏細胞内に数本の軸索が包まれていることが著しく異なる点である。但し、1個の Schwann 氏細胞の中に無髄軸索が1本のみ存する場合もある。

今回の検索において、従来報告された上記無髄線維のほかに、次のような特異な無髄線維を新たに見出した。この種の無髄線維においては、その軸索の中に神経細線維の如き糸状構造物が全く認められず、径約

200~400Å の不規則な形の顆粒状の構造物が多数分布している(写真3)。その顆粒構造物はその形が神経線維の横断切片にても縦断切片にても変りなく、且つその輪廓は不鮮明である。それとともに、幾分球状に変形した mito. や、径 300~1,000Å の小胞が、所々に集まって存在するのが認められる。この種の無髓線維の数は少ない。

C. 神経内膜鞘

有髓および無髓神経線維の基底膜の外側、すなわち各神経線維の間は、いわゆる神経内膜鞘に相当し、多数の結合組織細線維が存し、所々に線維細胞、毛細血管、肥満細胞などが存在する。肥満細胞の細胞質内には径 0.5~1.5 μ の特殊顆粒 (Gamble, 1964) が密に存在する。特殊顆粒の内部構造は細顆粒状のものや板状構造物を含むものなど種々であつた。

II. 変性所見

A. NaCl, KCl, CaCl₂ を含む等張液, 20°C [R-20°C] における変化

Na, K, Ca, Cl イオンを含む塩類溶液に、20°C の条件下(この場合、一価および二価のイオンが共存する)に坐骨神経を浸した場合、経時的に最も早期に変化の現われるのは軸索であり、その中でも無髓線維の軸索には変性が最も早く始まり、且つ速やかに進行する。次いで髓鞘および Schwann 氏細胞の崩壊がみられるが、変性過程は初期に速やかに、時を経ると次第に緩徐となり、30日以後は電顕像のコントラストが著しく減弱する。総じて、各神経線維の変化は同一材料で、同一経時で、すべて同一の変化を示す訳ではなく、個々の神経線維によつて変化の開始および速度にかなりの遅速がみられる。

a. 有髓神経線維の変化

(1) 軸索の変化

軸索には先づ tub. e. r. に変化が現われる。術後6時間で、tub. e. r. は部分的に腫大、屈曲し、全体として数珠状を呈する(写真22)。次いで断裂し、空胞の列に変化する。48時間まではなおその存在を認め得るが、4日以内に顆粒状物質に崩壊して軸索内に分散する。

mito. は24~48時間で、変形、腫大し始め、同時に cristae 構造が失われてくる。変性4日でもなお正常な cristae 構造を有するものもあるが、7日以後では球状膨化著しく、内部の cristae はその構造を失つて小胞ないし不規則物質に崩壊し(写真10, 26)、次いで外側の限界膜の崩壊とともに全体が不規則物質に変化する。しかし、その最終的崩壊段階に至る期間は一定せず、30日以後でもなお胞状の外形を保つものがあ

る。変性の初期に時として Ranvier 氏絞輪部において、軸索の周辺部に腫大変形した mito. が多数集合して、球状体や変形膜構造物に混じて見出された(写真7)。

n.f. は6時間で著明な変化を示さないが、12~24時間以後、線維の走行が乱れ、24~48時間以後、寸断されその分布が不規則となる。この変化とあい前後して、軸索膜の剝離と鞘鞘の変形が現われ、軸索の matrix は部分的に収縮して、軸索全体は数珠状を呈する。部分的に収縮した軸索の部分では、変化の進度がやや遅れる(写真10)。48時間~4日の間に n.f. は細顆粒状に寸断崩壊し、4~10日で完全に崩壊して輪廓の不鮮明な顆粒の集団ないし不規則な雲状の無構造物質に変化し、軸索腔内の所々に凝集する(写真13)。しかし、20日後でもなお n.f. の構造を認め得る線維も少数存在する(写真11)。

軸索膜は12~24時間で部分的に剝離を開始し、48時間~4日で小胞状ないし細顆粒状物質に崩壊する。それとともに、一部の髓鞘薄膜の内側剝離が起り、軸索膜とともに胞状ないし顆粒状の崩壊に陥いる(写真10, 11)。

以上 *in vitro* の軸索の変化を *in vivo* の変化と比較すると、*in vivo* の場合に見られた軸索腔が次第に狭くなり遂には消失する変化所見(高橋, 1961; Honjin & Takahashi, 1962)は著者の R-20°C の場合には認められず、70日後においても広い軸索腔はそのまま残っている。このことは、軸索物質は崩壊するが崩壊遺残物の消失は起らず、軸索腔内の一部に凝集して残り、その吸収過程は全く見られない(写真13)。

以上の電顕所見との関連において、この条件下に40日おいた神経について銀法による軸索染色を施した光顕像を検すると、全体として変形した軸索が数珠状の走行をとるのが認められる(写真4)。通常 *in vivo* の場合この時期では軸索成分は全く崩壊吸収され、軸索の形骸は銀法では証明されない。さらに写真5は C-20°C の条件下、40日後の同一染色による光顕像であるが、この場合写真に見られるように軸索の存在位置はかなりの示されている。これは二価イオンの差を示すもので、後に再びふれる。

(2) 髓鞘の変化

in vitro における髓鞘の変化は、軸索のそれよりやや遅れて始まるが、先づその外形の変化すなわち変形が現われ、次いで板層の微細構造上の変性すなわち崩壊が起る。髓鞘の変形、崩壊の開始は *in vivo* の場合に比して極めて早く、変形は12~24時間で始まり、崩壊は48時間~4日ですでに始まる。しかしなが

ら、その後の変化の進行は次第に遅くなり、*in vivo* におけるような極度な崩壊、分散、消失などは起らず、変形崩壊しつつもかなり長期間保持される。このことは *in vivo* に見られる崩壊髓鞘成分を消化あるいは貪食する細胞の関与が、*in vitro* においてはほとんど見られないためと考えられる。

(a) 変形

髓鞘の変形は軸索の収縮、変形とはほぼ時を同じくして(12~24時間)一部より始まり、48時間以後に至るとますます著明となる。その変化は、髓鞘の局部的内翻および外翻によるものである(写真23, 24)。外翻および内翻は時を経ると2重3重に繰返され、4日以後に至り髓鞘の板層間剥離が加わると、剥離によつて生じた隙間にも外翻、内翻が起り、髓鞘は全体として極めて複雑な変形を示すようになる(写真13, 26, 27)。

(b) 崩壊

髓鞘は、その変性初期において、上記のように軸索の変化に伴つて著しく変形するが、次いで分子構成に变化が起る。その超微構造の変化としては、次のものが認められる。

- (i) 好オスミウム顆粒の出現
- (ii) 髓鞘板層膜の内側剥離および外側剥離
- (iii) 髓鞘板層薄膜間の剥離
- (iv) 疎化 myelin 体の形成
- (v) 髓鞘小胞および髓鞘網の形成
- (vi) 狭層髓鞘の出現

以上の変化は、変性線維の髓鞘に一樣に現われるものではなく、同一線維でも部位により、変性像の種類や変性像の出現の時期にかなりの差が認められる。これらの変化は *in vivo* の場合の崩壊初期の像に類似するが、*in vivo* の崩壊後期に見られた髓鞘の融解や髓滴の形成(高橋, 1961; Honjin & Takahashi, 1962)などは全く認められなかつた。

(i) 好オスミウム顆粒の出現

この変化は、48時間~4日より変形した髓鞘に現われ、7~10日に至つて著明となる。出現部位によつて2型に分かつ。

(a) 周期間線部 変形した髓鞘の周期間線に沿つて、その所々に電子密度の極めて大な小紡錘形の顆粒状影像が出現する。その電顕的性状は高橋(1961), Honjin & Takahashi (1962) らの *in vivo* の場合に等しく、大きさは約 $40\sim 50\text{Å} \times 100\sim 300\text{Å}$ で、その長軸は髓鞘の板層とほぼ平行に位置し、これの出現による髓鞘単位周期の増減はない。その分布は不規則で、中枢神経系の radial component に見られるよ

うな(Honjin, Kosaka, Takano & Hiramatsu, 1963; Honjin & Changuth, 1963) 規則性配列を示さない(写真11, 25)。好オスミウム顆粒の分布は漸時増加し、30~50日に至ると、程度の差こそあれ、ほとんど全線維の髓鞘に出現する。この顆粒は無染色標本にも明瞭に認められる。

(b) 髓鞘板層薄膜間の剥離部 髓鞘の板層薄膜剥離部で髓鞘板層に附着して、径約 $100\sim 300\text{Å}$ (時として 500Å 以上) のほぼ球状の電子密度の極めて高い顆粒が出現する(写真13, 25, 27)。この顆粒は周期間線部のそれより大きく、無染色標本においても明瞭である。しかし変性髓鞘の剥離部のすべてに出現するわけではない。

(ii) 髓鞘板層膜の内側剥離および外側剥離

48時間より後に現われる軸索膜剥離に伴つて、髓鞘内側の2~4層の板層膜が周期間線に沿つて剥離する。これを内側剥離と呼ぶ。剥離した膜は小膜片ないし大小種々の断面輪状の小胞に変る(写真10, 11, 12)。変性が進むと、これらは顆粒状の変性軸索物質と混在する。

変性髓鞘の外側においても2~4層の髓鞘薄膜が周期間線に沿つて剥離し、Schwann 氏細胞質内で内側剥離の場合に似た崩壊をする。これを外側剥離と呼ぶ(写真12)。外側剥離の出現頻度は内側剥離のそれより少ない。

(iii) 髓鞘板層薄膜間の剥離

髓鞘の変形が進むと、髓鞘板層膜は部分的に周期間線部で離開し、隙間が出現する(写真13, 25, 26, 27)。この変化は通常48時間~4日に始まるが、初期ではその数は少なく、裂隙も小さいが、7~10日以後になると裂隙は大きくなり、その数も増加し、時として髓鞘板層膜の一層毎に裂隙を見るものがある。時を経ると剥離した板層は蛇行し、互に内翻、外翻を起し、しばしばその剥離板層に前記の好オスミウム顆粒が附着している。

(iv) 疎化 myelin 体の形成

上記の周期間線部の剥離が各層毎の周期間線に多発すると、髓鞘は内複合膜の形で互に剥離し、いわゆる疎化 myelin 体と呼ばれる形態を呈するに至る。このような変化は10~20日で出現するが、著者がこの条件下($R-20^{\circ}\text{C}$)に見た所では、高橋(1961), Honjin & Takahashi (1962) が *in vivo* で見たような各板層が完全に剥離し波状を呈する疎化 myelin 体はその数が少なかつた。ただし後述のように $R-30^{\circ}\text{C}$ の場合には、疎化 myelin 体の出現は著明であつた(写真19, 20)。

(v) 髓鞘小胞および髓鞘網の形成

一部の髓鞘において周期線部にて剝離し内複合膜の形となつた髓鞘薄膜は、さらに周期線部にて剝離し、個々の単位膜となり、その離断端より横断切片にて径約 400~800Å の小胞を形成する。これを髓鞘小胞と呼ぶ。これらは雑然と不規則に配列するものもあるが、径の比較的小さいものは、規則正しく配列して、横断像にて網目を思わせる構造を呈するが、これは薄膜の円柱の集積したものである。これを髓鞘網と呼ぶ。髓鞘網の出現は、ここに述べる R-20°C の条件下では極めて少なく、後述の R-10°C の場合には著明であつた (写真14, 15, 16)。

(vi) 狭層髓鞘の出現

変性20日頃の髓鞘に、極めて稀に正常値の約 1/2 の周期を示す髓鞘が見られた (写真12)。恐らく髓鞘板層膜の分子構成に大きな変化が起つたものと解される。この変化は後述のように R-30°C の場合に比較的出现頻度が大きであつた (写真18, 20)。

(3) Schwann 氏細胞の変化

Schwann 氏細胞には、*in vivo* の場合のような細胞質の増大は全く見られず、細胞内の各成分はすべて崩壊の一途をたどり、早いものでは6時間ですでに崩壊の像を示す。

核は6時間ですでに核膜の内外2葉間の核膜腔が拡大する。核内の顆粒の分布密度は次第に大となり、7日以後に至ると顆粒は凝集していわゆる *pyknosis* の状を呈するに至る。

細胞質成分も6時間で崩壊を開始し、*e.r.* の腫大、さらに小顆粒への崩壊、*mito.* の膨化と顆粒状物質への崩壊などが認められ、4~7日以後では細胞質成分はほとんど細顆粒状ないし無構造物質に崩壊し、特定の構造を示さないようになる。但し *mito.* のみは、かなり後に至るまでその原形の一部を保っているものがある。

細胞膜は24~48時間より外方への凸隆を生じ、次いで一部断裂崩壊する場合もあるが、多くの場合かなり後まで膜状の形態を保っている。その際 *basement membrane* もまたその原形を保持するが、電子密度は小となる。

b. 無髓神経線維の変化

無髓神経線維の変化は一般に有髓神経線維より速い。その変性速度は個々の線維により、また部位により、かなりの差が認められるが、有髓線維の場合ほど著しい差はなく、大体1週間で完全に崩壊する。

n.f. の一部は6時間ですでにその配列が乱れるが、大部分は12~24時間で著しく配列の乱れを示し、24~

48時間で寸断ないし細顆粒状の崩壊に陥る (写真8)。

e.r. は6時間で腫大し、速やかに細顆粒状の崩壊を呈する。また無髓神経線維の軸索には、局所的に太い部分と細い部分とが生じ、全体として数珠状に変形する。4日に至ると、軸索物質は完全に崩壊して顆粒状ないし雲状の無構造物質に変じ、軸索内腔の一部に凝集する。このとき軸索膜が断裂し、次いで Schwann 氏細胞膜も断裂し、膜片ないし胞状構造物に変ずる (写真9)。*mito.* はこの時期に至つて、内部構造を失い、不規則膜片ないし顆粒状物質に崩壊する。7日に至ると、ほとんど無髓神経線維の総てが完全な崩壊を示す。

B. NaCl, KCl, CaCl₂ を含む等張液, 10°C [R-10°C] における変化

この条件は前記の R-20°C のものとは、塩類溶液が一価二価両種イオンを含む点で同一であるが、神経を浸す間の温度条件が異なる。この場合に現われる変化の特色は、変性の時間的経過が遅延することと、髓鞘の崩壊過程において髓鞘小胞ないし髓鞘網の形成が著しい点である。神経線維各構成成分に見られる変化は R-20°C のそれにほぼ類似するが、しかし変化の発現および進展ははるかに遅れる。このことは有髓線維のみならず、無髓線維においても同一である。

a. 有髓神経線維の変化

(1) 軸索の変化

6~12時間で、軸索中の *tub. e.r.* が部分的に腫大変形し、次いで胞状から顆粒状物質に崩壊する。その経過は R-20°C の場合に比して、極めてゆるやかで、20日後においても、なお管状ないし胞状の構造を保つものがある。

mito. の変化も遅延し、4日後頃より一部のものが変形腫大し、*cristae* 構造が失われ、最終的に外側の限界膜の崩壊を示して分散する。しかしその変性速度は個々の *mito.* においてかなりの遅延があり、最終的崩壊の段階に至る時期に大きな幅があり、大体10~40日後に生ずる。

n.f. は24時間後に僅かに分布配列に乱れを生じ、7日以後に寸断して短線維状となり、40日頃までにはほぼ完全に細顆粒状ないし不規則無構造物質に変化する。

(2) 髓鞘の変化

髓鞘の変化は、変形・崩壊ともに R-20°C の場合より時間的に遅れるが、その変化の様相にかなりの特色が見られる。

(a) 変形

この場合、髓鞘の変形は24~48時間に現われ、以後次第に増加し、4~10日に至ると2重3重の外膜、内

翳が生ずる。この場合髄鞘板層薄膜間の剝離が比較的少ないので、それに伴う内翳、外翳は著明でない。

(b) 崩壊

(i) 好オスミウム顆粒の出現

(ii) 髄鞘板層膜の内側剝離および外側剝離

(iii) 髄鞘板層薄膜間の剝離

(iv) 髄鞘小胞ないし髄鞘網の形成

などが一般に認められるが、この場合の特徴は髄鞘小胞ないし髄鞘網の形成が、他のいずれの実験条件におけるよりも広範かつ著明に現われることと、髄鞘板層薄膜間の剝離が軽度で、疎化 myelin 体や狭層髄鞘の形成がほとんど認められないことである。

(i) 好オスミウム顆粒の出現

好オスミウム顆粒の形態特徴は R-20°C の場合と同様であるが、通常出現の時期が遅く、7~10日ではなお比較的その数は少なく、30~40日に至ると著明となる。特に板層薄膜間の剝離部における好オスミウム顆粒の出現は、R-10°C の場合には板層薄膜間の剝離の出現頻度が低いため、著明でない。

(ii) 髄鞘板層膜の内側剝離および外側剝離

極めて稀に、12時間で内側剝離が見られるが、多くは48時間~4日に出現する。外側剝離は内側剝離より不著明である。

(iii) 髄鞘板層薄膜間の剝離

この変化は48時間~4日以後に認められるが、一般にその発現および進展はともに遅いため、R-20°C の場合のように進んだ状態と解される疎化 myelin 体は認められない。

(iv) 髄鞘小胞ないし髄鞘網の形成

髄鞘小胞の形成はこの実験条件下では極めて著明で、しばしば規則正しく密に配列して、横断切片にて網状構造を形成している。多数の電顕像より解すと、この構造は髄鞘板層膜に由来する単位膜の構成を示す膜によつて限界される径 400~500Å (稀に 800Å に達する) の管状構造が互に相接して形成されたものであることが明らかとなった (写真14, 15, 16)。この変化は R-10°C の場合に特に著明に認められる所見で、R-20°C において見られたような小径有髄線維のみならず、比較的太い有髄線維の髄鞘にもしばしば認められた。

(3) Schwann 氏細胞の変化

Schwann 氏細胞は R-20°C の場合と全く同じ変化過程をとるが、ただその時間的経過の遅いことが特徴である。多くの核は10~20日頃までに暗調の顆粒の集積塊に変ずる。細胞質内の有形成分も15~20日でほとんど崩壊する。ただし細胞膜は、一部断片状に崩壊す

るものもあるが、多くは断裂することなく、かなり後まで残存している。basement membrane もまたかなり後まで認められた。

b. 無髄神経線維の変化

無髄神経線維の変性は時間的経過が幾分遅延するほか、その崩壊過程に、R-20°C の場合に比して、基本的に認むべき差は見出し難い。

C. NaCl, KCl, CaCl₂ を含む等張液, 30°C [R-30°C] における変化

この条件は上記2条件とは温度が高い点が異なり、一価二価イオンの共存の点は同一である。この場合の変化はその時間的経過が他のいずれの場合よりも速い。神経線維の各構成要素は R-10°C および R-20°C と類似の変性過程をとるが、髄鞘変性の後半期において、著明な疎化 myelin 体、狭層髄鞘が出現し、髄鞘小胞ないし髄鞘網の形成が見られないことが特徴的である。一般に R-30°C では変形が著しく、早期に髄鞘の板層構造が不著明となり、電顕像におけるコントラストが判然としなくなる。

a. 有髄神経線維の変化

(1) 軸索の変化

軸索の変性は非常に早く、6時間で tub.e.r. の膨化、n.f. の配列の乱れ、一部の軸索膜の剝離などを生ずる。

tub.e.r. は6~24時間で屈曲、断裂などが著しくなり早期に細顆粒状に崩壊する。mito. は6~12時間で球状に膨化し、4日以後に崩壊する。n.f. は、4日以後に至り軸索全体が数珠状に変形すると、その拡大部では n.f. の崩壊は早く、収縮部では n.f. の構造が比較的後まで保たれている。軸索膜は6~12時間で一部剝離しているが、一般に4~7日で剝離が著明となり断片状ないし胞状に崩壊している。

(2) 髄鞘の変化

この場合6時間ですでに髄鞘の変形が生じ、24~48時間で崩壊過程が現われる。その特徴は変形の著しいこと、髄鞘板層薄膜間の剝離、疎化 myelin 体の形成、狭層髄鞘の出現などが極めて著明なことである。これに反し髄鞘小胞ないし髄鞘網の形成が全く見られなかつた。

(a) 変形

髄鞘の変形は早く6時間で生じ、12~24時間で内翳、外翳が一層著明になる。この場合髄鞘板層薄膜間の剝離が著しいため、部分的な内翳、外翳が多数生じ、髄鞘は全体として極めて複雑な形に変形する (写真17)。

(b) 崩壊

- (i) 好オスミウム顆粒の出現
- (ii) 髓鞘板層膜の内側剝離および外側剝離
- (iii) 髓鞘板層薄膜間の剝離
- (iv) 疎化 myelin 体の出現
- (v) 狭層髓鞘の出現

などが認められる。この条件下では、崩壊は早期に出現し、またその進展は極めて早い。

(i) 好オスミウム顆粒の出現

周期間線部および髓鞘板層薄膜間の剝離部に、好オスミウム顆粒が24~48時間で出現し始め、4日以後広範かつ多数となる。その性状は R-20°C および R-10°C の場合と同様である。

(ii) 髓鞘板層膜の内側剝離および外側剝離

24~48時間で、髓鞘板層膜の内側剝離および外側剝離が生ずるが、一般には4日以後著明となる。

(iii) 髓鞘板層薄膜間の剝離

24~48時間で剝離を生じ、4日に至つて著明となり、7~10日以後に至ると、剝離板層がさらに内齶、外齶、断裂などを示す(写真17)。この変化は R-20°C の場合よりもさらに著しい。

(iv) 疎化 myelin 体の形成

15~20日以後、上記髓鞘板層薄膜間の剝離が進み、疎化 myelin 体が多数かつ広範に出現する。これは R-10°C はもとより、R-20°C の場合に比しても、極めて著しい(写真19, 20)。

(v) 狭層髓鞘の出現

15~20日頃より、一部変形した髓鞘において、周期が正常周期の約1/2の板層構造が見られる。これはいわゆる狭層髓鞘と称される構造に相当する(写真18, 20)。この変化は R-30°C の場合に比較的多く見られ、R-10°C には見られず、R-20°C では極めて少なかった。

また15~20日の例において、外齶した髓鞘に周期約250Åの特殊な層板構成を見出した(写真18)。この特殊板層は1週期中に3層の暗層と3層の明層とからなり、明層のうち1層が他の明層より狭い。計算により暗層は約45Å、広い明層は約50Å、狭い明層は約15Åの幅をもつと推定される。

(3) Schwann 氏細胞の変化

R-30°C の場合の Schwann 氏細胞の変化は、R-20°C とほとんど同様な変化過程をとるが、その時間的経過は、はるかに速やかである。全変性過程中、細胞内小器官には変性崩壊過程のみが見られ、*in vivo* に見られたような反応所見は全く見られなかつた。

b. 無髓神経線維の変化

無髓線維の変性過程も、R-20°C のそれに比して、

変性の発現進展が早いほか、これとほぼ同様な所見を呈し、R-30°C に特異な所見に接しなかつた。

D. NaCl, KCl を含む等張液, 20°C [C-20°C] における変化

Ca イオンのない一価イオンのみの塩類溶液中における神経線維の *in vitro* の変化は、前記の R-20°C の場合と比べて、無髓神経線維の変性の遅いこと、有髓神経線維の軸索の変性が軽微でかつ遅延すること、さらに髓鞘の変形はほぼ同程度に生ずるが、疎化 myelin 体、狭層髓鞘、髓鞘小胞ないし髓鞘網の形成が極めて稀であることなどの点で異なっている。しかし Schwann 氏細胞には R-20°C の場合と著明な差は認められなかつた(写真21)。

軸索の変化が軽微なことは、光顕所見においてすでに推定されるところで、写真4と写真5とを比較すれば、前者が R-20°C、40日後で軸索の変性が著しいのに比し、後者は C-20°C、40日後で軸索の走行を明確に認め得る。

a. 有髓神経線維の変化

(1) 軸索の変化

有髓神経線維の軸索の変化は、C-20°C の場合においても、先ず tub.e.r. に現われる。6~12時間で tub.e.r. は部分的に腫大、屈曲し数珠状の変化を示し、さらに断裂による小空胞列に変化する状態が認められる。しかしながら、一般にその変性は遅く7日に至つてもなお一部に管状ないし胞状の構造を認めるものがあるが、15日以後に至るとほとんど認められなくなる。

mito. は48時間~4日にて球状に膨化し、7日頃より内部の cristae 構造の崩壊を認め、その後15~20日に至ると、一部の mito. はその外側の限界膜の崩壊とともに、全体が不規則な無構造物質ないし顆粒状に崩壊する。しかし大部分の mito. はその胞状の外形を保っている。

n.f. は12~24時間以後、その走行の乱れが生ずるが、それ以後変化は停滞する。一部の神経線維において n.f. は寸断されるものもあるが、50日に至つてもその数は極めて少数である。大部分の神経線維において、n.f. はその輪廓はやや鮮明度を失うが、変性 mito. やその他の成分の変性物質の間に残存しているのが認められる(写真26)。この点は R-20°C の場合に比して著しく異なる点である。

(2) 髓鞘の変化

髓鞘の変形は、はじめ R-20°C の場合と類似の変形をもつて始まるが、その後の髓鞘の崩壊過程は R-20°C に比して比較的軽微である。

(a) 変形

髄鞘の変形は12~24時間で始まり、内髄、外髄が増加して、48時間~4日でかなり著明となる。2重3重の外髄、内髄の像もまた認められる(写真23, 24)。

(b) 崩壊

C-20°C の場合、髄鞘の崩壊は軽度にとまり

(i) 好オスミウム顆粒の出現

(ii) 髄鞘板層膜の内側剝離および外側剝離

(iii) 髄鞘板層薄膜間の剝離

などが認められるが、それらの変化の詳細は R-20°C の場合と類似する(写真25, 26, 27)。しかし髄鞘板層膜の内側剝離は R-20°C の場合に比して出現頻度が少なく、髄鞘板層膜の外側剝離はさらに稀である。また髄鞘小胞ないし髄鞘網の出現は極めて稀で、明確な疎化 myelin 体や狭層髄鞘の所見に接しなかった。

(3) Schwann 氏細胞の変化

C-20°C の場合の Schwann 氏細胞の変化は R-20°C の場合に比べても、その変化の経過に著明な差異を認めなかった。

b. 無髄神経線維の変化

無髄神経線維を構成する n.f., tub.e.r., mito., 軸索膜, Schwann 氏細胞などの各要素を一つずつとり上げると、その形態変化は R-20°C の場合に似ているが、その時間的経過が C-20°C の場合著しく遅延する。

n.f. は12~24時間でその配列が乱れ、その多くは7~15日で顆粒状に崩壊し、その後はあまり変化が進展せず、50日に至つてもなお線維状構造を認め得るものがある(写真26)。

tub.e.r. は6~12時間で部分的に腫大し(写真22)、さらに顆粒状に崩壊するが、10日頃までなおその原形を認め得るものがある。

mito. は次第に膨化して内部の cristae が崩壊し、次いで全体が崩壊する。しかし一部の mito. は50日に至つても胞状の外形を保つものがある。

以上のように無髄神経線維を全体として見ると、48時間ですでに完全に崩壊してしまうものも少数あるが、一般に R-20°C の場合より変性が遅れ、20~50日に至つてもなお原形を認め得るものがある。このように無髄神経線維の崩壊の遅延することは C-20°C の場合の特徴の一つである(写真26)。

考 察

末梢神経の電顕的微細構造に関しては、すでに多数の先人の研究報告がある。特にカエルの末梢神経線維の微細構造に関しては、先に教室の本陣 & 平井 (19-

56), Honjin (1957 a), 本陣, 平井 & 井村 (1957), Honjin, Nakamura & Imura (1959), 本陣, 高橋 & 西 (1961, 1962), 高橋 (1961), Honjin, Takahashi, Nakamura & Taniguchi (1962) らの詳細な報告がある。また他種動物の神経や中枢神経系のものとの対比において、広く神経線維の構造について、Honjin (1955, 1956, 1957 a, 1957 f), 本陣 (1957 b, 1957 c, 1957 d, 1957 e, 1958, 1959 b, 1960 a, 1961, 1962) などの報告がある。今回の著者の知見もほぼこれに一致しているが、2~3の新しい知見を得た。

その第1は、有髄神経線維において、軸索-Schwann 膜が軸索内へ折れ込んで薄板状を呈する突出した構造である。この構造には時には複雑に折れ曲り、あるいは断面で分枝している像も認められた。その構成上この構造物は神経線維が構成される際に一時軸索体積の減少のために形成されるものと推測されるが、明確な生物学的意義は明らかでない。

第2は、従来記述された無髄神経線維のほかに、軸索内に径 200~400Å の小顆粒を含む無髄線維の存在である(写真2)。これに関して最近報告された Eames & Gamble (1964), Gamble & Eames (1964 a, 1964 b, 1966) らがヒトの末梢神経や神経根について述べている collagen pockets との異同が問題となる。しかし上記の小顆粒構造は、その直径は collagen fibrils の横断面とよく似ているが、線維の縦断切片においても長い線維状を示さず顆粒状を呈すること、また小顆粒の間に mito. など細胞内構造物が認められ、また周囲を軸索膜と解される膜構造で囲まれているので、これは細胞外の構造とは考えられない。従つてこれは collagen pockets と同一のものとは考えられず、特殊な無髄神経線維の軸索と考えられる。しかしその意義については現段階では明確でない。

第3は、新知見ではないが、Ranvier 氏絞輪部の軸索内に見出される小球状構造で、今回の検索でこれに2種類あることが明らかとなった。その一つは Robertson (1959) や本陣, 高橋 & 西 (1961, 1962) らの指摘している大きさ 0.3~0.5 μ の小球状体で、その内部には径 400~600Å の小胞が沢山含まれている。多数の薄切片の電顕所見から、絞輪部に1~6個存在するものと推定される。この構造はまた van Breemen, Anderson & Reger (1958) がカエル坐骨神経の軸索中に見出した小顆粒ないし小胞を沢山含んだ dense body にも一致する構造物と解される。その二は、径0.5~1.0 μ の2重の限界膜に包まれた電子

密度の比較的高い均質の球状構造物で、絞輪部で上記の小胞を含む球状体に混じて存し、時として絞輪間部の軸索内に孤立して存在する。その電顕的性状から、おそらく lipid 球と推定される。

髓鞘は明暗交互にならんだ板層をなし明層の中央に周期間線が見られるが、本陣 (1959b), Peters (1961, 1964), Honjin, Kosaka, Takano & Hiramatsu (1963), Honjin & Changus (1963), 小坂 (1964) らが中枢神経系の有髓線維の髓鞘に記載した放射状に規則正しく配列した electron dense radial component は今回のカエル坐骨神経の髓鞘には認められなかつた。

そのほか今回の検索によつて、高橋 (1961) の記述している「d-顆粒」や、Thomas & Slatford (1964) を記載している lamellar bodies (写真6) に一致する構造物がカエルの坐骨神経の有髓神経線維の Schwann 氏細胞内に認められた。

また神経系内で、神経線維の間に胞体内に特殊な顆粒を含む肥満細胞の存在することを認めた。

すでに述べたように、Waller 変性の研究史は極めて長い。Mönckeberg & Bethe (1899) は Waller 変性が “only in nerves in a medium of living tissue” の場合のみに起ると主張したが、その後 Merzbacher (1905), Nageotte (1910, 1932), Feiss & Crämer (1913), Ingebringsen (1916), Ramón y Cajal (1928), Gutman & Holubar (1950), 福山 (1958) らは、光顕検索によつて、神経線維を塩類溶液中におくと、*in vivo* の Waller 変性の初期段階とはほぼ同じ変化が、早期にある程度進行することを報告している。電顕による *in vitro* における末梢神経の変化に関する検索はその数が少なく、わずかに Robertson (1958), Elfvin (1962) らが低調または高張液中に短時間浸した際の神経線維の構造について記載をし、Jacobson (1965) が mineral oil 中における末梢神経の変性を約3日間観察しているにすぎず、等張の塩類溶液中における末梢神経の変性を、経時的に長期間にわたつて電顕的に詳細に研究した報告は未だこれを見ない。

in vivo における末梢神経の Waller 変性の電顕所見に関しては、先に教室の本陣 & 中村 (1956), 本陣 (1956, 1957 d, 1960 a), Honjin, Nakamura & Imura (1959), 高橋 (1961), Honjin & Takahashi (1962) らの記載があるので、著者の所見をそれらと対比しながら検討してみよう。

先ず著者の NaCl, KCl, CaCl₂ を含む等張液、すなわち R-10 C, R-20° C, R-30° C による *in vitro*

の実験を通覧すると、温度条件により多少の差異はあるが、末梢神経の変化のうち最も早期に現われるものは、軸索の変化であり、特に軸索内の tub. e. r. が先ず変化を示し、数珠状に膨化しさらに断裂、小胞への移行などの変化を起す。この所見は本陣 & 中村 (1956), 本陣 (1957 d, 1960 a), Vial (1958), Honjin, Nakamura & Imura (1959), 高橋 (1961), 小坂 (1964) らが *in vivo* の Waller 変性において、tub. e. r. が軸索離断に対して最も敏感な軸索有形成成分であると指摘している事実とよく一致する。tub. e. r., mito., n.f. などの軸索内の各形成成分の形態変化は彼らの所見に全く一致する。しかしその変性の開始は *in vivo* の場合に比して一般に早い、その後の変性進展の速度が次第に減弱し、完全に崩壊するに要する時間が極めて遅延し、軸索変性産物の吸収過程が極めて緩徐であり、また *in vivo* に見られた髓鞘の崩壊に伴う軸索腔の消失を認めないことなどは、*in vitro* における変性の特徴であり、*in vivo* の変性と著しく異なる。この差異の原因の究明はさほど容易ではないが、少くともその大きな原因の一つは、*in vitro* の場合 Schwann 氏細胞が次第に死滅崩壊するため、*in vivo* の場合に見られるような Schwann 氏細胞の反応増殖とこれに伴う軸索および髓鞘の消化過程 (高橋, 1961; Ohmi, 1961; Honjin & Takahashi, 1962; Fisher & Turano, 1963; Nathaniel & Pease, 1963; Thomas, 1964; Nusser, 1964) あるいは他種細胞による貪食過程 (Terry & Harkin, 1959; Webster et al., 1961) などが無いことであろう。

軸索の変化と髓鞘の変化のいずれが一次的で、いずれが後続して起るかをめぐつて、古くから光顕検索に基づき烈しい論争がなされたが、結論を得るには至らなかつた (von Büngner, 1891; Ramón y Cajal, 1928; Young, 1942; 福山, 1958)。その後電顕による検索で、本陣 & 中村 (1956), Honjin, Nakamura & Imura (1959), 高橋 (1961), Honjin & Takahashi (1962) らは、末梢神経の *in vivo* の Waller 変性の電顕検索により、軸索の変化が先行することを確認し、続いて小坂 (1964) もまた中枢神経線維においてもこのことが正しいことを確認している。今回の著者の *in vitro* における末梢神経の変性においても、軸索の変化が髓鞘の変性に先行することを認めた。

in vitro における髓鞘の変化は、*in vivo* の場合と同様、先ず髓鞘の変形が起り、線維の蛇行とともに髓鞘の外臚、内臚が著明となり、これらが光顕検索における光学的断面においていわゆる ellipsoid と称

される大小種々の球状体として観察される(高橋, 1961; Honjin & Takahashi, 1962; 小坂, 1964). *in vivo* の上記諸家の報告によると, 変形期に入つてしばらくすると髄鞘内部の分子構造に変化が起るといふが, 著者の *in vitro* の実験では髄鞘の変形がなおさほど著明にならぬうちに, 早期に崩壊が認められた. すなわち変形した髄鞘が崩壊に陥る時期について, *in vivo* の場合には Spielmeyer (1929), Johnson, McNabb & Rossiter (1950), Guth (1956) らは8日目, Noback & Montagna (1952) は10日目, 高橋 (1961), Honjin & Takahashi (1962) らは7日目を, 各々指摘しているが, 今回の著者の *in vitro* における実験では, 早い場合には48時間ですでに髄鞘の崩壊が始まり, 好オスミウム顆粒や髄鞘板層薄膜間の剝離が4日に至るとかなり著明に認められた. しかしながら, 髄鞘の崩壊過程はその後次第に遅延し, *in vivo* に見られたような髄鞘の徹底的かつ速やかな崩壊は見られなかつた.

周期間線部における好オスミウム顆粒の出現は, 高橋 (1961), Millington & Finean (1961), Honjin & Takahashi (1962), 小坂 (1964) らによつて, Waller 変性や種々の塩類溶液中にて神経が損傷を受けた際に見出されたものとほぼ同一のものである.

髄鞘板層構造の剝離は, 内側剝離, 外側剝離, 疎化 myelin 体の出現をも含めて, すべて周期間線の部分より起ることは高橋 (1961), Honjin & Takahashi (1962), 小坂 (1964) らが指摘したところであるが, 今回の *in vitro* の実験結果もこれに一致する. このことは髄鞘はその周期間線の部分が最も抵抗力が弱く, 外的因子に対して感受性が大きいことを示している.

このようにして, 髄鞘板層の周期間線部での剝離が次第に著明となるが, *in vitro* ではこの頃から次第に変性の進行速度が遅くなる. それ故 *in vitro* の際に著明に観察せられた疎化 myelin 体の形成は不充分であり, 巻込体や髄滴の形成, さらにその後の吸収過程(高橋, 1961; Honjin & Takahashi, 1962)などは全く見られない.

一方この間, Schwann 氏細胞の細胞質中の mito. や e. r. は完全に崩壊し, 核は pyknosis を起し, Schwann 氏細胞は死滅への一路をたどり, 細胞としての能動的作用を失う. このとき, 髄鞘の変性の進展も緩徐となつていく. このことは組織が栄養源の消失のため, 次第にそのエネルギー代謝活動が低下するとともに, 変性速度もまた遅くなることを示している. *in vitro* (塩類溶液中) の条件の最も特徴的なこと

は, 循環途絶による栄養補給のないこと, したがつて細胞による酵素合成がなされないこと, 産生物質の除去のないことなどであるが, このことが末梢神経の各成分の変性に対して *in vivo* と *in vitro* との変化に著しい差をきたす重大な因子と考えられる. このことは *in vivo* における Waller 変性の際に, Schwann 氏細胞内の酵素系の活性が高まり, これが変性髄鞘の消化吸収に重要な役割を果しているという Johnson, McNabb & Rossiter (1950), Noback & Montagna (1952), 高橋 (1961) らの考えを立証するものと思われる.

変性進行と温度との相関を検するべく, 前述のように R-10°C, R-20°C, R-30°C の各条件下で実験を行なつたが, 有髄神経線維の軸索は, R-10°C にて12~24時間で変性を開始し, その後40日に至つてほとんどの線維の軸索成分は細顆粒状に崩壊するが, なお R-20°C の30日の変化に及ばない. R-20°C の場合は6~12時間で変性を開始し, 30日ではほぼ完全に崩壊する. R-30°C の場合は6時間ですでにかんがりの変性が進んでおり, その後の変化も早く約20日でほとんど完全に崩壊する. このことは高温においては軸索の崩壊が速やかであることを示している.

髄鞘は R-10°C では24時間で, R-20°C では12時間で, R-30°C では6時間ですでに変形が始まる. すなわち温度が高くなると, 髄鞘の変化の開始および速度が早くなるが, 一方髄鞘の変性の形態も環境温度によつて幾分異なる. R-10°C の場合は髄鞘の板層間剝離が徐々に始まり, 徐々に増加するため, R-20°C の場合に見られるような著明な剝離状態に達する線維は少なく, 剝離変化の極期に達したものと解される疎化 myelin 体の像は認められない. しかし R-10°C では, 髄鞘板層膜が周期線および周期間線の両者に沿つて分離して形成される髄鞘小胞ないし髄鞘網の形成が著しい. これらは R-20°C の際には, 比較的小径の有髄線維の髄鞘にのみ少量認められるものであるが, R-10°C の際には, 比較的大径の有髄線維の厚い髄鞘にも認められる. このことは低温においては一般に髄鞘板層膜成分の保持が良好であることを示すものである. これに反し, R-30°C の場合には, 髄鞘板層薄膜間の剝離が極めて早期にかつ急速に生じ, これに髄鞘の内嚢および外嚢が加わつて, 7~10日ですでに髄鞘は極めて複雑な形態を示し, 15~20日に至ると, 疎化 myelin 体が著明に認められるようになる. しかし髄鞘小胞ないし髄鞘網は認められない. また R-30°C では, 狭層髄鞘と呼ばれる短周期の板層が出現し, 髄鞘内の微細構造は電頭的にコントラストを失い, 分子構

成におけ混乱の存在を推知せしめる。このことは高温が髄鞘板層膜の崩壊を早めることを示している、その他今回の実験は、Schwann 氏細胞の変化についても、また無髄神経線維の変性においても、温度が高いと崩壊が早く、温度が低いと崩壊が遅いことを示している。

総じて末梢神経の *in vitro* (塩類溶液中) における変性に対する温度の影響は、温度が高くなるとその変性速度が早く、低温では逆に遅延することを示している。また髄鞘分子構成の変化パターンも温度によりかなりの差のあることを示すものといえよう。以上 *in vitro* の著者の所見は、光顕により Waller 変性に対する温度の影響を検した Mönckeberg & Bethe (1899), Merzbacher (1903), Torrey (1934), Gamble, Goldby & Smith (1957), Gamble & Jha (1958) らの高温において Waller 変性の速度が早いという知見と相通ずる結果を示している。Gerald (1927), Cranfield, Brink & Bronk (1957) らは末梢神経の断片の *in vitro* における酸素の消費量を測定し、温度の上昇とともに神経線維の代謝の増加することを指摘しているが、温度の上昇とともに変性速度が上昇することは、一般に温度の上昇とともに化学反応速度が著しく早くなることを想起すれば、その理解は比較的容易である。またこのことは、*in vivo* の Waller 変性において、変温動物(両棲類)よりも恒温動物(哺乳類)の方が変性が早いという電顕知見(本陣&中村, 1956; Honjin, Nakamura & Imura, 1959)とも一致するものである。

上記の R-10°C に特に著明に観察された横断面にて規則正しく配列して魚網を思わせる髄鞘網は薄膜の管状構造が互に密接したもので、高橋 (1961), Honjin & Takahashi (1962), 小坂 (1964) が髄鞘小胞と記載したもののさらに発達したもので、小坂 (1964) が髄鞘内側剝離網と記載しているものに相当し、Thomas & Sheldon (1964) が tubular array または hexagonal array と称したものに相当すると考えられる。

Webster (1962) が *in vivo* の Waller 変性で指摘した軸索中の mito. の部分的集積の像も変性の早期に認められた。

Waller 変性時の無髄神経線維の変性に関して、Honjin, Nakamura & Imura (1959), 小坂 (1964) らは、無髄神経線維の変性が有髄神経線維のそりよりかなり遅れて生ずるとしているが、今回の著者の *in vitro* の実験では、無髄神経線維の方が先に変性し、R-20°C の場合はほぼ 4 日で崩壊し、7 日に至ると全く

その形骸を止めないことが示された。その変性の経過は基本的には小坂 (1964) の記載したところに類似し、軸索膜の凸凹化、部分的縮小と拡大による数珠状化、軸索物質の崩壊、軸索膜の断裂分散などである。同時に、Schwann 氏細胞もまた変性に陥る。

著者はまた有髄神経線維の径の大小と変性の遅速との間に相関がないかを検したが、決定的な知見は得られなかつた。これに関して、最近 Jacobson (1965) は mineral oil 中での末梢神経断片の変性を観察し、無髄神経線維の変性が最も早く、次いで小径の有髄線維が変性し、大径の有髄線維の変性が最も遅いと記述している。

Nageotte (1910, 1932) は、*in vitro* における末梢神経の変性に対する種々の金属イオンの作用を研究し、*in vitro* の末梢神経は純 NaCl 水中では変性を起さないが(約80時間)、海水中または Locke 氏液中では直ちに変性を起し、軸索は粉細、断裂、絶滅に達し、それとともに髄鞘は死滅すると述べ、その差は CaCl₂ の作用によるとしている。Ramón y Cajal (1928) は *in vitro* において末梢神経の生命現象を保持させるためには、純 NaCl 水溶液のみでは不可で、これに CaCl₂ などの二価のイオンの添加を必要とし、NaCl 水溶液単独で神経線維を保つ場合は、一時的に神経線維の生命現象を停止させるのであると述べている。かように *in vitro* の神経に対して、二価イオンが重大な役割を演ずることが暗示されていたが、著者の今回の実験結果は、新たに超微的構造変化の見地からこの問題の真相を把握せんとしたものである。電顕検索の結果は、一価イオンのみの溶液中でも明らかに変化が起つているので、Ramón y Cajal や Nageotte の言も必ずしも当を得ていないことが判明した。

著者の今回の検索によると、軸索の変化については、光顕の Cajal 氏写真銀法本陣変法による軸索染色にて、R-20°C・40日の場合は軸索の崩壊著しく、いわゆる神経原線維として染色される軸索物質は変形崩壊し、ほとんど消失しているものが多いのに反し、C-20°C・40日の場合は、部分的に小数の数珠状変化、狭窄、膨化などが認められるほか、軸索はほとんど正常像に近い状態で染色されている。しかし同時期の C-20°C 材料の電顕像によると、軸索中の tub.e.r. はすでに崩壊消失し、mito. は球状に変形膨化して内部の cristae 構造を失い、n.f. もまた走行が乱れ複雑に屈曲して互に交錯して走り、一部は寸断されて顆粒状に崩壊している。この所見は明らかに正常な軸索の構造とはいえないが、R-20°C の場合に比してその崩壊

は極めて軽微である。

C-20°C の場合の髄鞘の変化としては、変形、好オシウム顆粒の出現、顆粒板層薄膜間剥離などが認められるのみで、それ以上に進んだ変形像である疎化 myelin 体、狭層髄鞘、髄鞘小胞ないし髄鞘網などのような像はほとんど認められない。福山 (1958) は、単なる生理的食塩水中にて正常神経を位相差顕微鏡で検し、わずか30時間の間に軸索や髄鞘の断裂を認めたと記載しているが、実験条件が異なるのでにわかには断じ難いが、他の人工的原因による変性加速を否定し難い。

C-20°C の場合は R-20°C の場合に比して軸索や髄鞘の変性があまり進まず、大体20~30日以後ほとんど変化がないが、一方 Schwann 氏細胞は R-20°C の場合と同じく4~7日ですでにその細胞質成分がほとんど破壊され、核の pyknosis を認め、明らかに細胞全体が死滅崩壊している。これは Nageotte (1910) や Ramón y Cajal (1928) のいう「一価イオンのみの液中における末梢神経の保存良好なることは、生命現象の一時的停止であり死ではない」という推測を否定する所見である。むしろかかる所見は *in vitro* の実験一般において Schwann 氏細胞が死滅して、細胞内に存した種々のエネルギー源 (metabolic reserve) (Jacobson, 1965) が全く消失したために、変化がある時期に停滞すると解すべきで、神経自体の保存性が良好であるとは考え難い。

R-20°C では変性が早期にかつ速やかに進むが、その後次第に変性速度が遅くなり、ほぼ30日で変性は停滞する。これに反し C-20°C の場合は、変性の開始は前者とほぼ同時であるが、変性の速度はゆるやかで15~20日で停滞する。Schwann 氏細胞の細胞質および核について R-20°C と C-20°C との間に著明な差を見出し得ないので、両者の間における差は Ca イオンの存否に求めらるべきであろう。おそらく軸索および髄鞘の崩壊に対して Ca イオンは何らかの促進作用を有するものと考えられる。Ca イオンなどの二価の金属イオンが、種々の酵素反応に対して賦活作用を有することはよく知られているところである (Mahler, 1961)。Ca イオンの作用を受けて賦活化される酵素が如何なるものであるかは、この段階においてはなお判断としない。最近、Adams & Tuquan (1961)、Wolman (1965)、Wolman & Wiener (1965) らは動物組織一般に存し臓器の自己溶解に関与する蛋白分解酵素 "cathepsin" が Waller 変性に関与すると述べていることは注目すべきであろう。

結 論

成熟トノサマガエル坐骨神経について、その正常構造ならびに *in vitro* (等張塩類溶液中) における構造変化に対する温度 (R-10°C, R-20°C, R-30°C) および二価イオン (C-20°C) の影響について、経時的に電顕にて観察し、次の結果を得た。

(1) 有髄神経線維の軸索-Schwann 膜が軸索内へ薄板状に突出した構造物を見出した。

(2) 通常の軸索内構造をもつ無髄神経線維の他に、軸索内に n.f. 構造を有せず、径 200~400Å の輪廓の不鮮明な顆粒状物質を含む無髄線維の存在を見出した。

(3) 有髄神経線維の Ranvier 氏絞輪部の軸索内に、多数の小胞を含む小球状体 (spherical body) と、電子密度大な球状体との、2種の球体が存在する。

(4) トノサマガエル坐骨神経の神経線維間に多数の特殊顆粒を含んだ肥満細胞が存在する。

(5) *in vitro* における変性の際、Schwann 氏細胞は、含有する栄養源を使い果すとともに、崩壊死滅し、肥大増殖傾向は全く認められない。

(6) *in vitro* における変性は、その開始が *in vivo* の Waller 変性の場合より早期に現われるが、その後、変性進行が停滞し、実験50日、70日の例においても軸索および髄鞘の形骸が認められ、*in vivo* の際に見られるような完全崩壊像は現われない。

(7) *in vitro* において、軸索は崩壊変性するが、かなり後まで、その存在位置を認め得る。その崩壊物質は吸収されず、所々に凝集して残存している。

(8) *in vitro* において、髄鞘は比較的早期に、内髄、外髄の変形を開始し、次いで好オシウム顆粒、髄鞘板層膜の内側剥離および外側剥離、髄鞘板層薄膜間の剥離、疎化 myelin 体、髄鞘小胞ないし髄鞘網、狭層髄鞘などの変性を呈する。しかしそれ以上の高度な崩壊 (髄滴の形成) には陥らない。

(9) *in vitro* の場合、一般に無髄神経線維の崩壊過程は、有髄神経線維のそれより速やかである。

(10) *in vitro* における末梢神経の変性は、温度の上昇とともに、各構成分の変性変化が早く開始し、かつ速やかに進行する。髄鞘には、30°C の場合、疎化 myelin 体や狭層髄鞘の形成が著明であり、10°C の場合は、髄鞘小胞ないし髄鞘網の形成が著明である。20°C では、両者の中間の状態を示す。

(11) 一価イオンのみの等張塩類溶液 (C-20°C) 中での変性と、二価イオンを含む等張塩類溶液 (R-20

°C) 中のそれとを比べると, 48時間頃まで両者の間に著明な差を認めない. その後の変性過程において, Schwann 氏細胞の崩壊には両者の間に差を見出し難いが, C-20°C では R-20°C の時より, 軸索および髓鞘の崩壊が遅延し, かつ変性が軽度の状態で停滞する. C-20°C の場合, 軸索では, その n.f. や mito. の崩壊が遅延, 停滞し, 髓鞘では, 高度でかつ進んだ変性像と考えられる疎化 myelin 体, 狭層髓鞘などの出現はこれを見ない.

稿を終るに臨み, 御懇篤なる御指導と御校閲を賜った 恩師本陣教授に深謝致します. またいろいろと御配慮頂いた教室の諸先生および電子顕微鏡室の西村竹治郎, 谷口幸吉, 山口稔毅の諸氏に感謝致します.

文 献

- 1) Adams, C. W. M. & Tuquan, N. A. : J. Neurochem., 6, 334 (1961).
- 2) Causey, G. & Palmer, E. : J. Anat., 87, 185 (1953).
- 3) Cranefield, P. F., Brink, F. & Bronk, D. W. : J. Neurochem., 1, 245 (1957).
- 4) Eames, R. A. & Gamble, H. J. : J. Anat., 98, 478 (1964).
- 5) Elfvin, L. G. : J. Ultrastr. Res., 7, 1 (1962).
- 6) 遠藤浩良・山田正篤 & 奥村秀夫 : 組織培養—基礎と応用—中井準之助他編, 23 (1964).
- 7) Feiss, H. O. & Cramer, W. : Proc. Roy. Soc. London, S. B., 86, 119 (1913).
- 8) Fisher, E. R. & Turano, A. : Arch. Path., 75, 517 (1963).
- 9) 福山右門 : 基礎医学最近の進歩, 解剖病理篇 II, 93 (1958).
- 10) Gamble, H. J. : J. Anat., 98, 17 (1964).
- 11) Gamble, H. J. & Eames, R. A. : J. Anat., 98, 478 (1964a).
- 12) Gamble, H. J. & Eames, R. A. : J. Anat., 98, 655 (1964 b).
- 13) Gamble, H. J. & Eames, R. A. : Arch. Neurol., 14, 50 (1966).
- 14) Gamble, H. J., Goldby, F. & Smith, G. M. R. : Nature, 179, 527 (1957).
- 15) Gamble, H. J. & Jha, B. D. : J. Anat., 92, 171 (1958).
- 16) Gasser, H. S. : J. Gen. Physiol., 38, 709 (1955).
- 17) Gerald, R. W. : Amer. J. Physiol., 82, 381 (1927).
- 18) Glimstedt, G. & Wolfart, G. : Acta Morph. Neerl.-Scand., 3, 135 (1960).
- 19) Guth, L. : Physiol. Rev., 36, 441 (1956).
- 20) Gutmann, E. & Holubar, J. : J. Neurol. Neurosurg. Psychiat., 13, 89 (1950).
- 21) Holmes, W. & Young, J. Z. : J. Anat., 77, 63 (1942).
- 22) Honjin, R. : Cytol. and Neurol. Stud., 9, 1 (1951).
- 23) Honjin, R. : Okajima. Folia Anat. Jap., 27, 179 (1955).
- 24) Honjin, R. : Folia Psychiat. Neurol. Jap., suppl., 4, 49 (1956).
- 25) 本陣良平 : 解剖誌, 31, 67 (1956).
- 26) Honjin, R. : Okajima. Folia Anat. Jap., 30, 257 (1957 a).
- 27) 本陣良平 : 生体の化学, 8, 110 (1957 b).
- 28) 本陣良平 : 総合医学, 14, 673 (1957 c).
- 29) 本陣良平 : 細胞化学シンポジウム, 5, 109 (1957 d).
- 30) 本陣良平 : 解剖誌, 32, 89 (1957 e).
- 31) Honjin, R. : Folia Psychiat. Neurol. Jap., suppl., 5, 72 (1957 f).
- 32) 本陣良平 : 基礎医学最近の進歩, 解剖病理篇 II, 33 (1958).
- 33) 本陣良平 : 脳腫瘍 (医学書院), 759 (1959a).
- 34) 本陣良平 : 解剖誌, 34, 43 (1959 b).
- 35) 本陣良平 : 解剖誌, 34, 付20 (1959 c).
- 36) 本陣良平 : 脳と神経, 12, 5 (1960 a).
- 37) 本陣良平 : 解剖誌, 35, 429 (1960 b).
- 38) 本陣良平 : 最新医学, 16, 857 (1961).
- 39) 本陣良平 : 神経研究の進歩, 6, 873 (1962).
- 40) Honjin, R. & Changus, G. W. : Okajima. Folia Anat. Jap., 39, 251 (1963).
- 41) 本陣良平 & 平井善昭 : 解剖誌, 31, 78 (1956).
- 42) 本陣良平・平井善昭 & 井村正人 : 十全医会誌, 59, 1048 (1957).
- 43) 本陣良平 & 平松京一 : 解剖誌, 36, 375 (1961).
- 44) Honjin, R., Kosaka, T., Takano, I. & Hiramatsu, K. : Okajima. Folia Anat. Jap., 39, 39 (1963).
- 45) 本陣良平 & 中村俊雄 : 解剖誌, 31, 78 (1956).
- 46) Honjin, R., Nakamura, T. & Imura, M. : Okajima. Folia Anat. Jap., 33, 131 (1959).
- 47) 本陣良平 & 中村俊雄 : 化学, 18, 688 (1963).
- 48) 本陣良平・高橋暁 & 西正美 : 十全医会誌, 67, 462 (1961).
- 49) Honjin, R. & Takahashi, A. : J. Electronmicroscopy, 11, 139 (1962).
- 50) Honjin, R., Takahashi, A., Nakamura, A. & Taniguchi, H. : Okajima. Folia Anat. Jap., 38, 387 (1962).
- 51) 本陣良平 & 高橋 暁 : 解剖誌, 37, 56 (1962).
- 52) 本陣良平・高橋 暁 & 西 正美 : 解剖誌, 37, 64 (1962).
- 53) 平松京一 : 十全医会誌, 70, 45 (1964).
- 54) Ingebringtsen, R. :

- J. Exp. Med., 23, 251 (1916). 55)
Jacobson, S. : Exp. Neurol., 13, 22 (1965).
 56) **Johnson, A. C., McNabb, A. R. & Rossiter, R. J.** : Arch. Neurol. Psychiat., 64, 105 (1950). 57) **Karnovsky, M. J.** : J. Biophysic. and Biochem. Cytol., 11, 729 (1961). 58) 小坂登志喜 : 十全医会誌, 70, 64 (1964). 59) **Kushida, H.** : J. Electronmicroscopy, 10, 16 (1961). 60) **Lee, J. C.-Y.** : J. Comp. Neurol., 120, 65 (1963). 61) **Mahler, H. R.** : Mineral Metabolism I-B, edited by C. L. Comar and F. Bronner, Academic Press, New York and London, 743 (1961). 62) **Merzbacher, L.** : Pflügers Archiv. für die gesamte Physiologie, 100, 568 (1903). 63) **Merzbacher, L.** : Neurol. Centralblatt., 24, 150 (1905). 64) **Michaelis, L.** : Biochem. Zeits., 234, 139 (1931). 65) **Millington, P. F. & Finean, J. B.** : J. Ultrastr. Res., 5, 470 (1961). 66) **Mönckeberg, G. & Bethe, A.** : Arch. Mikr. Anat., 135, 183 (1899). 67) **Nageotte, J.** : Compt. rend. Soc. de Biol., 69, 556 (1910). 68) **Nageotte, J.** : Cytology and Cellular Pathology of the Nervous System, edited by W. Penfield, New York, P. B. Hoeber, I, 189 (1932). 69) **Nathaniel, E. J. H. & Pease, D. C.** : J. Ultrastr. Res., 9, 511 (1963). 70) **Noback, C. R. & Montagna, W.** : J. Comp. Neurol., 97, 211 (1952). 71) **Nusser, W. L.** : Anat. Rec., 148, 419 (1964). 72) **Ohmi, S.** : Z. Zellforsch., 54, 39 (1961). 73) **Palade, G. E.** : J. Exp. Med., 95, 285 (1952). 74) **Parker, G. H.** : Amer. J. Physiol., 106, 398 (1933). 75) **Peters, A.** : J. Biophysic. and Biochem. Cytol., 11, 733 (1961). 76) **Peters, A.** : J. Cell Biol., 20, 281 (1964). 77) **Ramón y Cajal, S.** : Degeneration and Regeneration of the Nervous System, trans. and ed. by R. M. May, Oxford University Press (1928). 78) **Robertson, J. D.** : J. Biophysic. and Biochem. Cytol., 4, 349 (1958). 79) **Robertson, J. D.** : Z. Zellforsch., 50, 553 (1959), 80) **Spielmeyer, W.** : Handbuch der Normalen und Pathologischen Physiologie, herausgegeben von A. Bethe u. a., Berlin Springer, 9, 285 (1929). 81) 高橋 暁 : 十全医会誌, 67, 433 (1961). 82) 田中信男 : 生化学, 35, 345 (1963). 83) **Terry, R. D. & Harkin, J. C.** : The Biology of Myelin, edited by S. R. Korey, New York, P. B. Hoeber, 303 (1959). 84) **Thomas, P. K.** : J. Anat., 98, 175 (1964). 85) **Thomas, P. K. & Sheldon, H.** : J. Cell Biol., 22, 715 (1964). 86) **Thomas, P. K. & Slatford, J.** : J. Anat., 98, 691 (1964). 87) **Torrey, T. W.** : Proc. Nat. Acad. Sci., 20, 303 (1934). 88) **van Breemen, V. L., Anderson, E. & Reger, J. F.** : Exp. Cell Res., suppl., 5, 153 (1958). 89) **Vial, J. D.** : J. Biophysic. and Biochem. Cytol., 4, 551 (1958). 90) **von Büngner, O.** : Beitr. Path. Anat., 10, 321 (1891). 91) **Waller, A.** : (1850) — Honjin, R. & Takahashi, A. (1962) より引用. 92) **Webster, H. de F.** : J. Cell Biol., 12, 361 (1962). 93) **Webster, H. de F., Spiro, D., Waksman, B. & Adams, R. D.** : J. Neuropath. and Exper. Neurol., 20, 5 (1961). 94) **Weddell, G. & Glees, P.** : J. Anat., 76, 65 (1941). 95) **Wolman, M.** : Biochemica et Biophysica Acta, 102, 261 (1965). 96) **Wolman, M. & Wiener, H.** : Biochemica et Biophysica Acta, 102, 269 (1965). 97) **Young, J. Z.** : Physiol. Rev., 22, 318 (1942). 98) **Young, J. Z.** : Nature, 156, 132 (1945).

Abstract

The ultrastructural changes of the sciatic nerves of the frog during the degeneration *in vitro* were studied by electron microscopy. The nerves which were immersed in an isotonic saline solution containing NaCl, KCl and CaCl₂ at 10°, 20° or 30°C as well as in another isotonic saline solution containing NaCl and KCl at 20°C were examined from 6 hours to 70 days after removal of nerves. The

results were summarised as follows:

1) In some of the myelinated nerve fibers, a special membranous structure which is composed of the axolemma and the Schwann membrane is present projecting into the axoplasm.

2) There are sometimes found special unmyelinated nerve fibers whose axoplasm contains no neurofilaments, but obscure granules, 200 to 400 Å in diameter.

3) In the axoplasm near the node of Ranvier, there are two kinds of spherical bodies. One of them is the so-called spherical body which contains many small vesicles in itself, and the other is the large electron dense body which is limited by a membrane in its outer surface and contains homogeneous or lamellar substance.

4) Among the nerve fibers in the sciatic nerve of the frog, there are found mast cells which contain special granules in their cytoplasm.

5) The Schwann cells of nerve fibers immersed in the saline solutions do not survive for a long time, but all of them instantly undergo degeneration without proliferation, when they consume the metabolic reserves in their cytoplasm.

6) The structural changes in degeneration *in vitro* take place earlier than those in Wallerian degeneration *in vivo*. The degeneration phenomena *in vitro* proceed rapidly in the early stage, but later are delayed in their advance. The exhaustive degeneration changes in the axons and myelins do not appear in degeneration *in vitro*.

7) Even in the later stage of the degeneration *in vitro*, the degenerated axoplasmic materials can be found aggregated into dense coarse masses. They are not absorbed, but are retained among the deformed and degenerated myelin lamellae.

8) Deformation of the myelin sheath, such as invagination and evagination, takes place earlier in the degeneration *in vitro* than in the Wallerian degeneration *in vivo*. The disintegration of the myelin sheath also appears earlier *in vitro* than *in vivo*, but it does not reach so high a degree as *in vivo*. During the course of the degeneration *in vitro*, the osmiophilic granules, the cleaving of myelin lamellae, the internal and external exfoliations of myelin membranes, the loosened myelin bodies, the compound lamellae, the myelin vesicles and the myelin reticula are observed in succession, but the dissolution of the myelin sheath and the myelin droplets are not observed.

9) The degeneration of the unmyelinated nerve fiber *in vitro* appears earlier than that of the myelinated nerve fiber.

10) The degeneration of the nerve fibers *in vitro* begins earlier and progresses faster as the temperature in immersion becomes higher within the range from 10° to 30°C. The loosened myelin bodies and the compound lamellae are prominent in the R-30°C specimens, and the myelin vesicles and the myelin reticula are often seen in the R-10°C specimens.

11) The comparison of the changes and their time sequence between the degeneration *in vitro* in the solution containing only univalent salts (C-20°C) and that in the solution containing univalent and bivalent salts (R-20°C) indicates that there is found no difference between these two experiments in the changes of the Schwann cells, but the degenerated changes of the axons and myelins in C-20°C are delayed and slighter as compared with those in R-20°C. In the experiment of C-20°C, the disintegration of neurofilaments and mitochondria are delayed, and the changes of the myelin sheath do not reach such higher degeneration state as the loosened myelin body and the compound lamella, which are thought to be more advanced changes of the myelin lamellae and often appear in the experiments of R-20°C.

写真説明

写真はすべて1% OsO 固定, styrene-methacrylate 包埋, PbO 染色にて得たものである。スケールはすべて1 μ を示す。但し、写真4および5を除く。

Plate I

写真1 正常坐骨神経の横断。多数の有髓および無髓神経線維が認められ、各々の軸索内には n.f., tub. e.r., mito. などが認められる。右方に Schwann 氏細胞の核、左方に線維細胞が認められる。×8,000

写真2 正常有髓神経線維の横断。ほぼ中央部を斜めに走る髓鞘の右側が軸索であり、その中には n.f., tub.e.r., mito. などが認められる。髓鞘最内側の軸索-Schwann 膜は各髓鞘板層の周期線より電子密度大である。左に Schwann 氏細胞膜があり、その一部には pinocytotic vesicles (p) が見られ、またその細胞膜の一部より外側結合膜 (o) が入りこんでいる。細胞膜の外面に基底膜 (b) がある。×100,000

Plate II

写真3 正常無髓神経線維。数本の無髓神経線維の斜断像が認められるが、それに混じて中央部に径 200~400Å の不規則な形の小顆粒を沢山含んだ特殊の無髓神経線維が見られる。上方に髓鞘の Schmidt-Lanterman 氏切痕が見える。×30,000

写真4 R-20°C, 40日の坐骨神経縦断。軸索染色 Cajal 氏-本陣変法 (光顕標本)。軸索はすべて変性著明で、多くは変性著しく、その走行を認め得ないが、残存するものも絞扼・蛇行・断裂・顆粒状崩壊などが著明である。×500

写真5 C-20°C, 40日の坐骨神経縦断。軸索染色 Cajal 氏-本陣変法 (光顕標本)。一部の軸索に変形・蛇行・断裂が認められるが、大部分の神経線維の軸索はその走行をほぼ認め得る。×500

Plate III

写真6 R-20°C, 40時間後の有髓神経線維の横断。軸索および髓鞘は正常のものと区分し難い。左下の Schwann 氏細胞質内には lamellar bodies が認められる。×40,000

写真7 R-20°C, 48時間後の有髓神経線維の Ranvier 氏絞輪部斜断。軸索を囲んで髓鞘の一部と Schwann 氏細胞の絞輪突起が認められ、その外周を basement membrane がとり巻いているのが見られる。軸索内では n.f. の分布が不規則となり、腫大した mito., spherical body, 不規則な膜構造物などが集合しているのが認められる。×15,000

写真8 R-20°C, 48時間後の有髓および無髓神経

線維の横断。下方の有髓神経線維はなおほとんど正常構造を保っているが、上方の無髓神経線維は部分的に軸索、軸索膜、Schwann 氏細胞の細胞質および細胞膜などの崩壊が見られ、それにより生じた不規則な無構造物質および胞状ないし断片状の膜片が認められる。×15,000

写真9 R-20°C, 4日後の無髓神経線維の横断。軸索成分は完全に崩壊して不規則無構造物質に変化し、軸索膜および Schwann 氏細胞膜は断片状または胞状の膜片に変化している。×17,000

Plate IV

写真10 R-20°C, 4日後の有髓および無髓神経線維の縦断。有髓神経線維は軸索の部分的狭窄および膨化、髓鞘の変形、軸索膜の剝離および崩壊などが認められる。左上方の無髓神経線維も同様に部分的膨化と狭窄による数珠状変形を呈している。×9,000

写真11 R-20°C, 20日後の有髓神経線維の横断。軸索膜の剝離と断裂、髓鞘の変形、髓鞘板層膜の内側剝離とその胞状崩壊などが認められる。変形髓鞘は互に相接し、上方では密接してその境界が不明となっている。×40,000

写真12 R-20°C, 20日後の有髓神経線維の横断。右上方の大径有髓線維の髓鞘板層はほぼ正常に保存されているが、左下方の髓鞘は狭層髓鞘 (周期約 60Å) の構造を呈し、その内側および外側では髓鞘小胞の形成が認められる。×80,000

写真13 R-20°C, 50日後の有髓神経線維の縦断。上は軸索の収縮した部、下は軸索の拡大した部を示す。軸索は完全に細顆粒状ないし不規則無構造物質に崩壊し、軸索腔内の所々に凝集している。髓鞘は板層間剝離が著明であり、好オスミウム顆粒も多数認められる。×5,000

Plate V

写真14 R-10°C, 20日後の有髓神経線維の横断。軸索成分はなお比較的良好に保存されているが、髓鞘は内側、外側および板層間剝離部にて大小種々の髓鞘小胞が形成され、一部は規則正しく配列して髓鞘網の状を呈している。×22,000

写真15 R-10°C, 30日後の有髓神経線維の横断。軸索中には崩壊寸前の mito. が数個認められる。いわゆる髓鞘小胞ないし髓鞘網が多数認められる。これらはその一部の斜断のもの形より柱状形態をとるものと想定せられる。×17,000

写真16 R-10°C, 30日後の有髓神経線維の横断。髓鞘小胞が規則正しく配列し、剝離した髓鞘の間隙に髓鞘網を作っている。小胞が互に接する部分は髓鞘の

一周期にはほぼ同じ厚さで明暗5層構造を呈する。周期間線で剥離した髄鞘薄膜はさらに周期線にて分かれて髄鞘小胞を形成する状態が示されている(矢印)。

×40,000

Plate VI

写真17 R-30°C, 15日後の有髄神経線維の横断。軸索の崩壊および髄鞘の変形, 板層間剥離などが比較的早期より極めて著明となるのが認められる。

×5,000

写真18 R-30°C, 15日後の有髄神経線維の横断。右方に変性に陥り狭層髄鞘の形態を示す髄鞘が見え, その左の Schwann 氏細胞質内に, その周期が3層の暗層, 幅の広い2層の明層および幅の狭い1層の明層, 計6層からなり, 周期約250Åの特殊な層板構造が見られる。上にはこのような特殊層板が輪をなしているのが見える。×35,000

写真19 R-30°C, 30日後の有髄神経線維の横断。髄鞘板層間剥離が著明となり, 疎化 myelin 体が形成されているのが認められる。一般に髄鞘板層構造が不著明となつている。×15,000

写真20 R-30°C, 50日後の有髄神経線維の横断。髄鞘の層板構造が不著明となるが, 中央右に狭層髄鞘が認められる。左上方に疎化 myelin 体が認められる。×22,000

Plate VII

写真21 C-20°C, 4日後の有髄神経線維の横断。これは極めて変性の遅延した1例であり, その軸索および髄鞘はほぼ正常に近い構造を示しているが, Sch-

wann 氏細胞の e.r. おおび mito. が崩壊し, 核膜内腔の拡大が見られる。×20,000

写真22 C-20°C, 12時間後の無髄神経線維の縦断。軸索中の n.f., mito. などはほぼ正常な構造を呈するが, tub.e.r. は部分的に腫大して数珠状を呈しているのが認められる。×30,000

写真23 C-20°C, 4日後の有髄神経線維の横断。軸索膜は崩壊し, 髄鞘は著しい変形を示している。変形髄鞘は相接し互に軸索膜が相対して存すものや, 互に密着したものが認められる。髄鞘に好オスミウム顆粒がかなり多く出現している。×15,000

Plate VIII

写真24 C-20°C, 4日後の有髄神経線維の横断。髄鞘の変形が著明であり, 典型的な外髄および内髄が認められる。×30,000

写真25 C-20°C, 10日後の有髄神経線維の横断。髄鞘は周期間線にて板層間剥離が生じ, その部に好オスミウム顆粒が著明に出現している。×28,000

写真26 C-20°C, 50日後の有髄神経線維の縦断。髄鞘には, 変形や板層間剥離が著明に認められる。軸索の変性は比較的弱く, n.f. や変形した mito. が認められる。中央にかなりよく保たれている無髄神経線維が認められる。×5,000

写真27 C-20°C, 50日後の有髄神経線維の横断。髄鞘には著しい板層間剥離, 内髄, 外髄, 好オスミウム顆粒の出現などが認められる。しかし軸索内にはなお n.f. が認められる。×17,000

Plate I

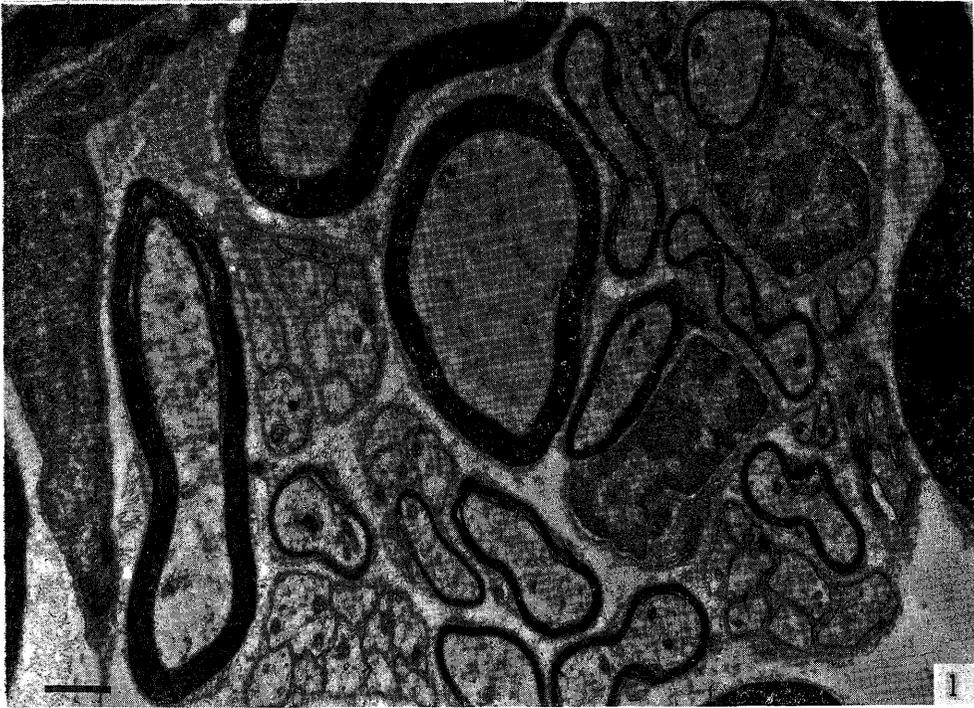


Plate II

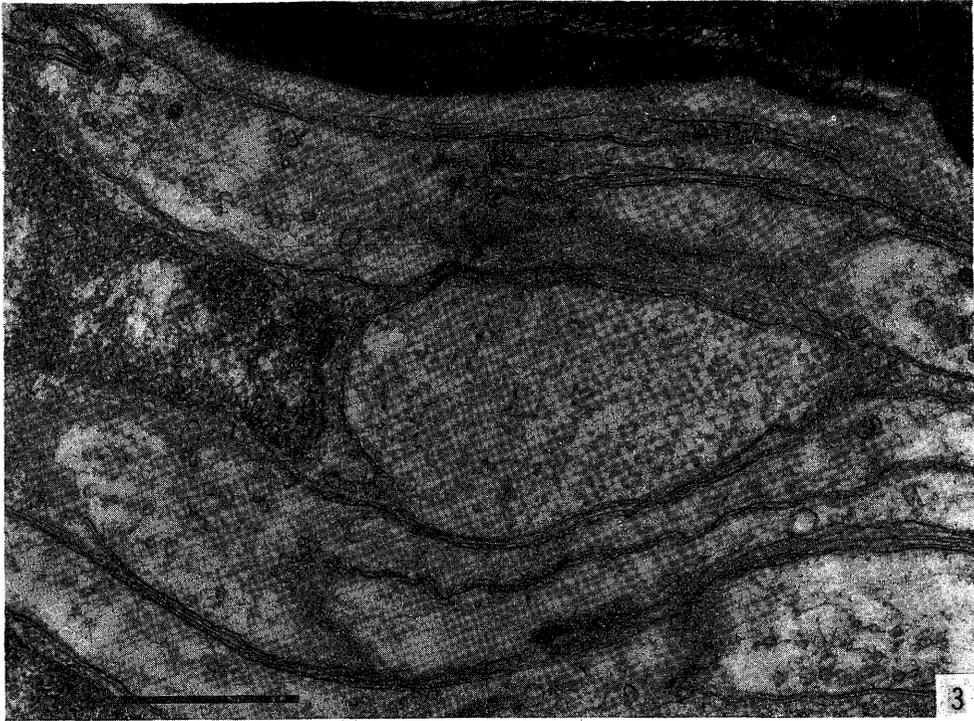


Plate III

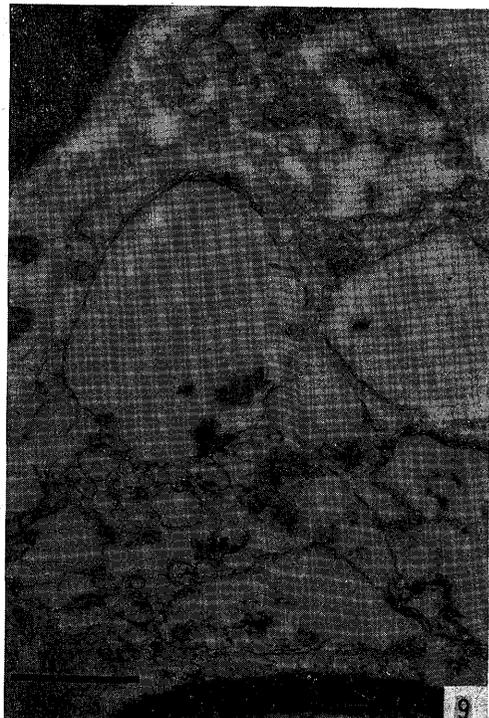


Plate IV

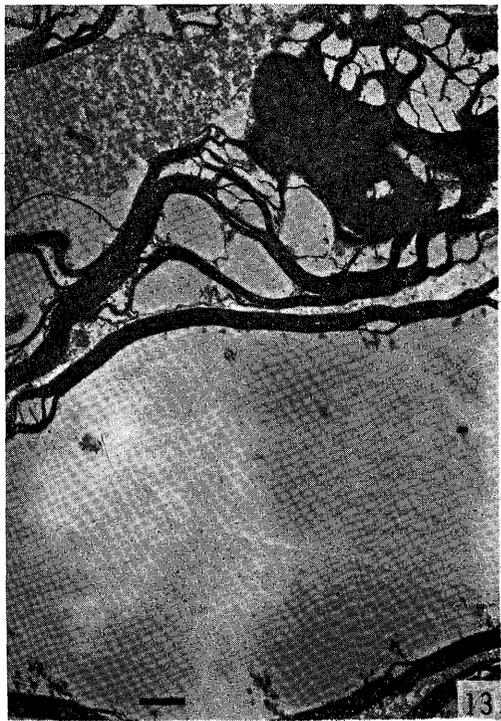
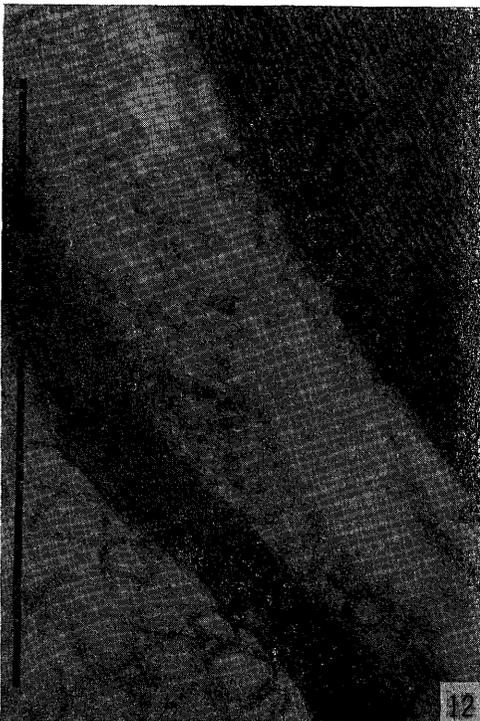
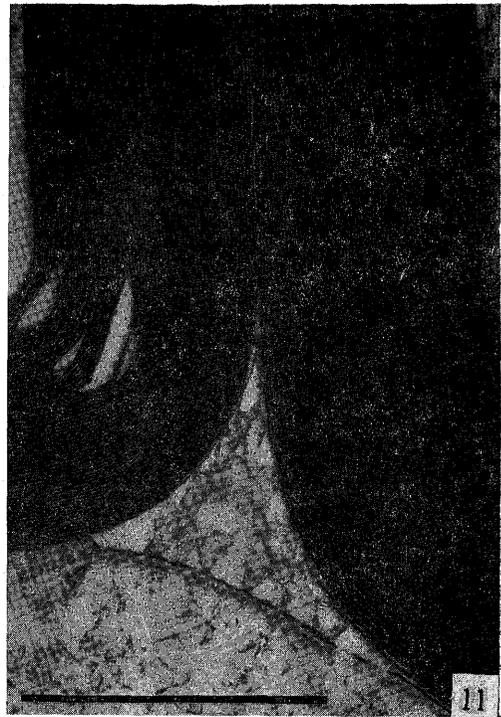


Plate V

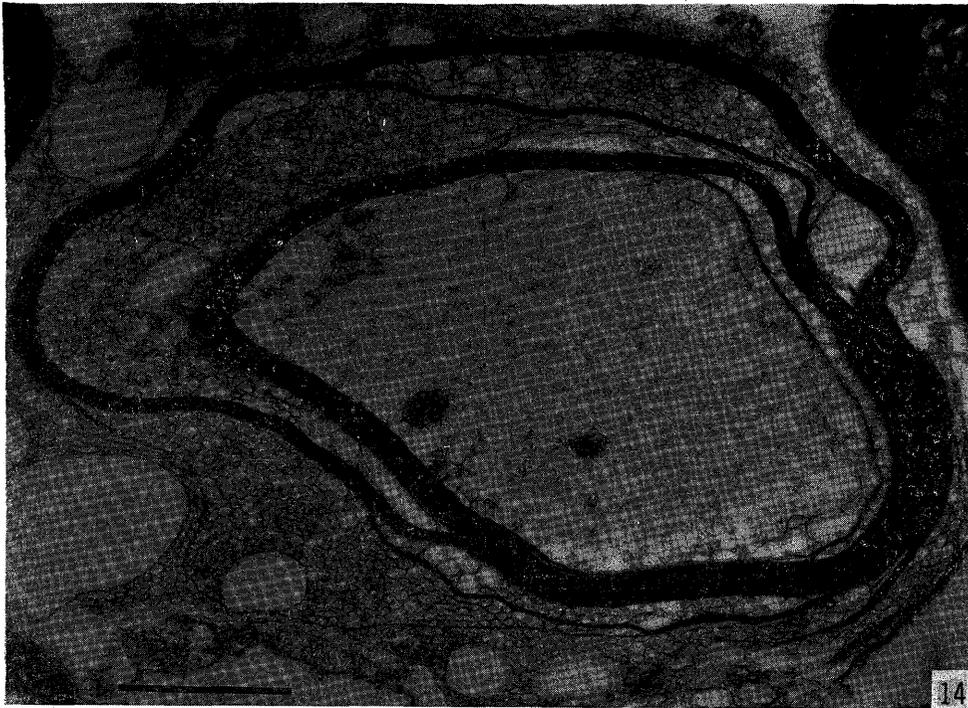


Plate VI

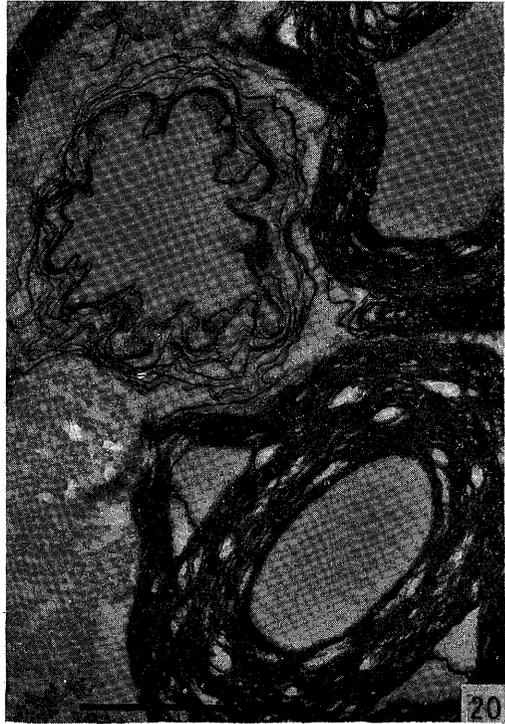
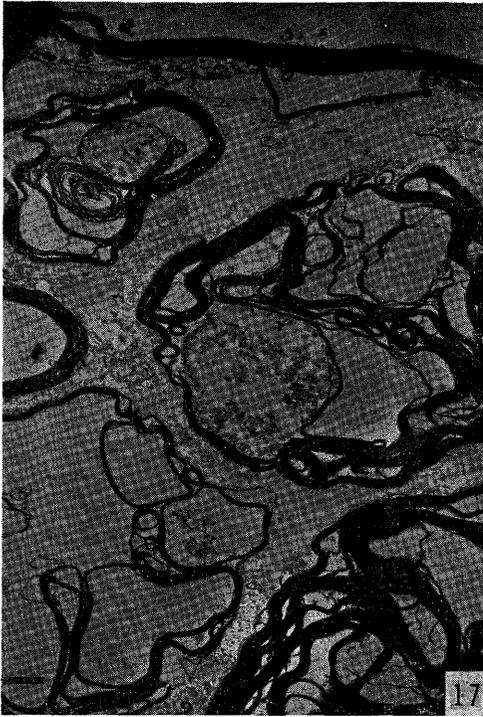


Plate VII

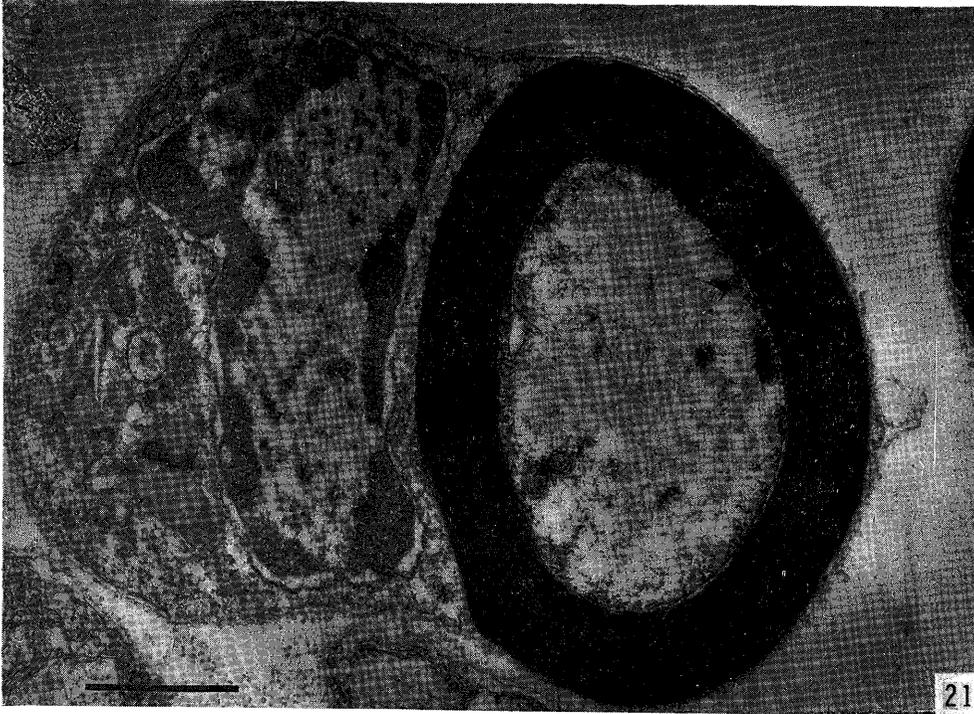


Plate VII

