

腎の神経支配に関する組織化学的研究

(その1) Adrenergic nerve について

金沢大学大学院医学研究科内科学第一講座(主任 武内重五郎教授)

高松 弘 明

(昭和40年1月26日受付)

本論文の要旨は、昭和38年9月28日、第6回日本腎臓学会総会において発表した。

腎は豊富な自律神経支配をうけており^{1,2)}、従来から、解剖学的・生理学的な立場より多くの研究が行なわれてきている。しかし腎内神経分布の詳細、たとえば糸球体・尿細管などに対する神経分布の問題には、依然として不明な点が多く残されている。

自律神経は近年、神経の刺激伝達に関する神経体液学説のめざましい発展にもなつて、その刺激伝達物質の種類により、adrenergic nerve と cholinergic nerve の2種類におよそ大別されている³⁾。著者は腎の神経支配を神経体液学説の立場から解明しようと試み、本報ではとくに成熟イヌ腎の adrenergic nerve の支配領域を、catecholamine (CA) と monoamine oxidase (MAO) の組織化学的検索にもとづいて観察し、若干の知見をえたので報告する。

材料と方法

実験動物として体重 8kg から 15kg の成熟イヌ16頭を用いた、イヌを amobarbital sodium (30mg/kg) で麻酔し、左腎を腎被膜周囲の組織から切り離した後に、腎動静脈・腎門部・尿管周囲にみられる神経を肉眼的にできるだけ完全に剝離切断し、ついで腎動静脈・腎門部・尿管の周囲に純アルコールを塗布して神経除去腎とした。右腎は対照腎とした。術後1日目(2頭)、1週目(4頭)、2週目(5頭)、4週目(5頭)のイヌをそれぞれ大腿動脈より脱血・死亡させ、直ちに両側の腎を取り出して下記の方法によつて CA および MAO 活性を組織化学的に検出した。

1. CA の組織化学的証明法

Eränkő による螢光法⁴⁾によつた。具体的な手技はつぎのごとくである。

1) 厚さ 5mm の切片を作製

2) 下記溶液中に12~24時間浸漬

2% CaCl ₂ 溶液	5 容
中性ホルマリン溶液	1 容
蒸 溜 水	4 容

3) 厚さ 30 μ の氷結切片とする。

4) 流動パラフィンで封入。

5) 螢光顕微鏡で鏡検、光源は日本ビーシー製 造株式会社製水銀ランプ、B型照射器を使用した。

2. MAO 活性の組織化学的証明法

田辺ら⁵⁾により一部改良された高松法⁶⁾を用いてつぎのごとく実施した。

1) 新鮮組織切片(厚さ 5mm)を30%冷アルコール中に30分~1時間浸漬。

2) M/100KCN 溶液中に10~30分浸漬。

3) 0.1%チラミン、0.5%亜テルル酸カリウム、M/15リン酸緩衝液(pH 7.4)各等量混和反応液中に5~7時間、37°Cで孵置する。

4) ホルマリン固定後、厚さ 30 μ の氷結切片とし、ここで必ず鏡検して成績を確認する。

5) 切片を塩化金水溶液中で処理し、金置換を行なう。

6) 脱水、バルサム封入

左右の腎を比較するために、腎摘出から孵置を経て鏡検にいたるまでの全操作、たとえば切片の厚さ、反応時間などは、左右の腎についてすべて全く同一条件のもとで行なつた。

実 験 成 績

CA および MAO 活性の対照腎 および神経除去腎における分布を一括すれば表1のようになる。

1. CA について

Histochemical Studies of the Innervation of the Kidney. (1) On Adrenergic Nerves. Hiroaki Takamatsu, Department of Internal Medicine (I) (Director: Prof. J. Takeuchi), School of Medicine, Kanazawa University.

表1 CA・MAO 活性の成熟イヌ腎内分布と神経除去による影響

	対照腎	神経除去腎			
		24時間	1 週	2 週	4 週
葉間動脈中膜	(++)	(++)	(++)	(±)	(±)
弓状動脈中膜	(++)	(++)	(++)	(±)	(±)
小葉間動脈中膜	(++)	(++)	(++)	(±)	(±)
輸入血管中膜	(+)	(+)	(+)	(±)	(±)
静脈	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
腎被膜	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
尿細管					
皮質	(++)	(++)	(++)	(++)	(++)
髓質	(+~±)	(+~±)	(+~±)	(+~±)	(+~±)
乳頭部	(±~-)	(±~-)	(±~-)	(±~-)	(±~-)
Bowman 嚢	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
糸球体内部	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)

1) 対照腎: 腎内の血管では、静脈にはほとんど螢光物質は存在しないが、葉間動脈・弓状動脈・小葉間動脈・輸入血管の中膜に一致して強い螢光がみとめられた(写真1, 3, 5)。被膜でもかなり強い螢光がみられる(写真7)。尿細管の螢光は皮質では強い(写真7, 8)が、髓質では弱く、乳頭部ではほとんどみとめられない。Bowman 嚢には中等度の螢光がみられるが、糸球体内部にはほとんど螢光物質をみとめることができなかつた(写真8)。

2) 神経除去腎: 神経除去腎では、術後1日目・1週目までは対照腎と比較して螢光の分布とその強さには全く差異をみとめることができなかつた。しかし術後2週目になると、神経切断の影響が明らかとなる。すなわち葉間動脈・弓状動脈・小葉間動脈・輸入血管の中膜は、対照腎と比較して明らかに螢光の強さが減弱している(写真2, 4, 6)。これに対して、腎被膜・Bowman 嚢・尿細管の螢光の強さにはほとんど変化がみとめられなかつた。4週目の神経除去腎の所見も2週目と全く同様である。

2. MAO 活性について

1) 対照腎: MAO 活性の分布とその強さは、前述したCAのそれとほぼ一致した所見を示した。すなわち、葉間動脈・弓状動脈・小葉間動脈・輸入血管の中膜に一致して強い活性がみとめられ(写真9, 11, 13, 15)、腎被膜(写真17)はやや強い活性を示した。尿細管の活性は皮質では強い(写真17, 18)が、髓質では弱く(写真19)、乳頭部にはほとんど活性はみとめられなかつた。Bowman 嚢はうすく染色されるが、糸球体内部にはほとんど活性は存在しなかつた(写真18)。なお尿細管上皮細胞の核にはMAO活性はみと

められない(写真18)。

2) 神経除去腎: 神経除去のMAO活性に与える影響はCAの場合とほぼ同様であつた。

すなわち、術後2週目で神経除去腎の葉間動脈・弓状動脈・小葉間動脈・輸入血管それぞれの中膜でMAO活性の減少がみとめられた(写真10, 12, 14, 16)。一方、被膜・Bowman 嚢・尿細管のMAO活性は、その分布および強さに、対照腎と比較して全く差を示さなかつた。

術後4週目の神経除去腎でも、腎被膜・Bowman 嚢・尿細管の活性には対照腎と比較してみるべき変化はなかつたが、葉間動脈・弓状動脈・小葉間動脈・輸入血管それぞれの中膜では、術後2週目とほぼ同程度のMAO活性の減弱がみとめられた。

考 察

CAがadrenergic nerveの刺激伝達物質としてきわめて重要な役割を演じ、しかもある器官・組織に含まれるCAの量がそれを支配するadrenergic nerveの数と密接な関係をもっていることは、一般にみとめられているところである⁷⁾⁸⁾。

今日まで、各種の動物について種々の器官・組織に含まれるCAが定量的に測定されており⁷⁻¹²⁾、そのうち腎については、Eulerら⁸⁾がヒツジを用いて化学的に定量測定しCAの存在を確認している。

一方組織化学的には、田辺⁵⁾¹³⁾¹⁴⁾、朝長¹⁵⁾らはEränköの螢光法を用いて各種動物におけるCAの分布をしらべ、イヌ腎については、螢光物質は腎被膜・尿細管・動脈壁の中膜に一致して強力にみとめられるが、糸球体では欠如するとしている。今回の著者の対

照腎における成績もほぼその結果と一致しており、皮質尿管・動脈壁の中膜に強く、腎被膜・Bowman嚢にやや弱い螢光をみとめ、糸球体内部には螢光物質をみとめることができなかった。

さて、このようなCAの不均一な分布をみると宇尾野ら¹⁶⁾も指摘しているように、腎内螢光物質のすべてを直ちにadrenergic nerveに由来するものと考えすることは困難であろう。そこで著者は腎へ入るすべての神経を切断した場合におけるCAの減少を組織化学的に観察しようと試みたのである。腎動脈周囲の神経を切断すると腎のCAが術後2週目に著明な減少を示すことは、Eulerら⁸⁾がヒツジを用いた実験で定量的に証明しており、また組織化学的にも神経切断によるCAの減少が腎以外の組織について観察されている¹⁷⁾。今回著者の行なった神経切断実験でもCAの減少を組織化学的に観察することができた。すなわち、腎へ入る神経を腎被膜・腎動脈・尿管の周囲ですべて切断すると、術後2週目で腎内動脈壁中膜のCAが減少したが、腎被膜・Bowman嚢・尿管のCAには全く変化がみとめられなかった。前述したEulerら⁸⁾の神経切断実験でも、神経切断後なお若干のCAが存在していることが観察されており、彼らはこの残存するCAは恐らく取り残した神経か、またはCAの産生能力をもつクロム親和性細胞に由来するものであろうと推定している。著者の実験成績からみると、この残存CAの少なくともその一部は、腎被膜・Bowman嚢・尿管に由来する可能性があるかと推測される。

一方、CAを分解する酵素として知られているMAO活性の分布についてもすでに多くの研究者によって定量的^{19~21)}あるいは組織化学的^{5)13~15)22)23)}に検索されている。それらの報告によると、ヒト・イヌその他の動物を含めて、腎はMAO活性のきわめて豊富な器官であることが定量的に確認されている²⁰⁾²¹⁾。腎内における組織化学的なMAO活性分布は、各種の動物について一般に被膜・皮質尿管に強く、髄質の尿管には弱く、糸球体ではほとんど存在しないとされており^{5)21~23)}、また腎内血管壁中膜に一致して活性がみとめられるという¹⁵⁾。

著者の成熟イヌにおける対照腎での組織化学的观察では、皮質尿管・血管壁中膜には強く、腎被膜はやや弱く、髄質の尿管に弱い活性がみとめられた。さらにBowman嚢にも中等度の活性がみとめられたが、糸球体内部ではほとんど活性は存在しなかった。

ところで、MAOは神経刺激伝達物質であるCAのみに働く特異的な酵素ではなく、チラミンやセロトニンなどのmonoamine、種々の器官から放出される有

毒amineなどの分解にも役立つものとされているので、腎内に分布するMAO活性のすべてを直ちにadrenergic nerveに関連づけることはできない¹⁶⁾²⁰⁾²¹⁾。そこで著者は神経除去の効果もCAについて観察したのと同様に、組織化学的方法を用いて神経除去による腎内MAO活性の変化をしらべれば、神経関連性のMAO活性分布を知ることが可能となるであろうと考えた。

Adrenergic nerveを切断すると、その支配下にある器官・組織のMAO活性が減少することは、ネコの瞬膜²⁴⁾²⁵⁾・前肢²⁵⁾について行なわれた定量実験をみても明らかである。今回イヌ腎について著者の行なった観察でも、神経切断によるMAO活性の減弱が組織化学的にみとめられた。すなわち、神経除去腎では、術後2週目を経ると腎内動脈壁のMAO活性が減少し、血管以外の部位、たとえば腎被膜・Bowman嚢・尿管に分布する活性の強さにはなんら変化がおこらなかった。

著者が行なった以上の実験成績から、神経除去とCAあるいはMAO活性の組織化学的染色との併用によつて、腎におけるadrenergic nerve由来またはそれと関連の深いCAおよびMAO活性の分布を多少とも知りえたと思われる。今回用いた組織化学的方法では神経線維のレベルでadrenergic nerveを検索できなかったが、近年神経線維に含まれる微量なCAを証明する組織化学的方法が確立されつつあり¹⁷⁾、この方法を用いれば、さらに詳細なadrenergic nerveの腎内分布を解明できることと思われる。

結 論

1) 成熟イヌ腎におけるadrenergic nerveの分布を観察するため、CAおよびMAO活性を組織化学的に検索し、対照腎と神経除去腎について比較検討した。

2) 対照腎ではCAおよびMAO活性はともに腎内の動脈壁中膜・腎被膜・Bowman嚢・皮質尿管にみとめられ、糸球体内部ではほとんど欠如する。

3) 神経除去腎では、術後1日目・1週目まではCA・MAO活性はともに変化がみとめられないが、2週目、4週目では動脈壁中膜のCA・MAO活性は明らかに減少する。

一方、血管以外の部位、すなわち腎被膜・Bowman嚢・尿管ではほとんど変化がみとめられない。

4) 以上の所見から、成熟イヌ腎においては、adrenergic nerveと腎内動脈系との関係はきわめて濃厚であるが、一方、腎被膜・Bowman嚢・糸球体内

部・尿管と adrenergic nerve との直接的な関係は比較的うすいものと推定される。

稿を終るにあたり、ご指導・ご校閲をいただいた恩師武内重五郎教授に感謝し、組織化学にご指導いただいた本学第二病理倉田助教授、東大中尾内科田辺博士、ならびに実験にご協力下さった教室員各位、顕微鏡写真撮影にご協力願った金沢市立病院野村技師に謝意を表します。

文 献

- 1) Allen, A. C. : The Kidney, 2nd ed., p. 27, New York, Grune & Stratton, 1962.
- 2) 武内重五郎・水村泰治 : 最新医学, 19, 2853 (1964).
- 3) 吳 健・冲中重雄 : 自律神経系, 改訂第6版, 95頁, 東京, 金原出版社, 1956.
- 4) Eränkö, O. : Endocrinology., 57, 363 (1955).
- 5) 田辺 等 : 日新医学, 47, 833 (1960).
- 6) 高松英雄 : 日病理会誌, 45, 307 (1956).
- 7) Euler, U. S. : The Harvey Lectures, Series 55, p. 44, Academic press, New York & London (1959~1960).
- 8) Euler, U. S. & Purkhold, A. : Acta physiol. Scand., 24, 212 (1951).
- 9) Euler, U. S. : Pharmacol. Rev., 6, 15 (1954).
- 10) Vogt, M. : Pharmacol. Rev., 6, 31 (1954).
- 11) Euler, U. S. & Lishjako, F. : Acta physiol. Scand., 42, 333 (1958).
- 12) Euler, U. S. : Acta physiol. Scand., 43, 155 (1958).
- 13) 田辺 等 : 日新医学, 48, 20 (1961).
- 14) 田辺 等 : 日新医学, 48, 106 (1961).
- 15) 朝長正徳 : 日新医学, 49, 194 (1962).
- 16) 宇尾野公義・田辺 等 : 最新医学, 15, 2306 (1960).
- 17) Falck, B. : Acta physiol. Scand., 56, Suppl. 197 (1962).
- 18) Malmfors, T. : Acta physiol. Scand., 58, 99 (1963).
- 19) Thompson, R. H. S. & Tickner, A. : J. Physiol., 115, 34 (1951).
- 20) Blashko, H. : Pharmacol. Rev., 4, 415 (1952).
- 21) Davison, A. N. : Pharmacol. Rev., 38, 729 (1958).
- 22) Blashko, H. & Hellmann, K. : J. Physiol., 122, 419 (1953).
- 23) Koelle, G. B. & Valk, A. T. : J. Physiol., 126, 434 (1954).
- 24) Burn, J. H. & Robinson, J. : Brit. J. Pharmacol., 7, 304 (1952).
- 25) Burn, J. H. : Brit. Med. J., 12, 784 (1952).

Abstract

An attempt was made on adult dogs to investigate the innervation of the kidney by histochemical methods. The left kidney of each dog was denervated, and the right one was left intact for control. The dogs were sacrificed at intervals covering 24 hours to 4 weeks after operations. Immediately after killing the dogs, fluorescence of catecholamine and monoamine oxidase activity in the kidneys were demonstrated histochemically.

On the denervated side, a remarkable decrease in catecholamine fluorescence and monoamine oxidase activity in the media of the renal arteries and arterioles was observed 2~4 weeks after the denervation. On the other hand, in the renal capsules, Bowman's capsules, the glomerular capillaries, and the renal tubules, no change could be seen in both catecholamine fluorescence and monoamine oxidase activity compared with the control.

It was suggested that the renal arteries and arterioles were supplied by the adrenergic nerves, but the renal capsules, Bowman's capsules, the glomerular capillaries and the renal tubules were not so related to the adrenergic nerves.

写真説明

写真1: 対照腎. 葉間動脈中膜(矢印)のCA 蛍光. ×100

写真2: 神経除去腎. 葉間動脈中膜(矢印)の蛍光は対照腎にくらべて減少している. 術後2週目. ×100

写真3: 対照腎. 弓状動脈中膜(矢印)のCA 蛍光. ×100

写真4: 神経除去腎. 弓状動脈中膜(矢印)の蛍光は対照腎にくらべて減少している. 術後2週目. ×100

写真5: 対照腎. 小葉間動脈中膜(矢印)のCA 蛍光. ×400

写真6: 神経除去腎. 小葉間動脈中膜(矢印)の蛍光は対照腎にくらべて減少している. しかし尿細管の蛍光の強さには全く差はみとめられない. 術後2週目. ×400

写真7: 対照腎. 腎被膜(矢印)にはかなり強い蛍光がみられる. ×100

写真8: 対照腎. 皮質尿細管は強い蛍光を発するが, 糸球体内部(G1)ではCA 蛍光はほとんどみとめられない. ×100

写真9: 対照腎. 葉間動脈中膜(矢印)に一致してみられる強いMAO 活性. ×100

写真10: 神経除去腎. 葉間動脈中膜(矢印)のMAO 活性は明らかに減少している. 術後2週目. ×100

写真11: 対照腎. 弓状動脈中膜(矢印)に強いMAO 活性がみとめられる. ×100

写真12: 神経除去腎. 弓状動脈中膜(矢印)のMAO 活性は明らかに減少している. 術後2週目. ×100

写真13: 対照腎. 小葉間動脈中膜(矢印)に一致してみられる強いMAO 活性. ×100

写真14: 神経除去腎. 小葉間動脈中膜(矢印)のMAO 活性は減少している. しかしその周囲の皮質尿細管では活性の変化は全くみとめられない. 術後2週目. ×100

写真15: 対照腎. 輸入血管中膜(矢印)のMAO 活性. ×400

写真16: 神経除去腎. 輸入血管中膜(矢印)のMAO 活性は減少している. 術後2週目. ×400

写真17: 対照腎. 腎被膜(矢印)および皮質尿細管のMAO 活性. ×100

写真18: 対照腎. 皮質尿細管には強い活性がみとめられるが, 糸球体内部(G1)にはほとんど活性はない. 尿細管上皮細胞の核は染色されない. ×100

写真19: 対照腎. 髓質尿細管のMAO 活性は弱い. ×100





