

中枢神経線維二次変性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)

小坂登志喜

(昭和38年12月24日受付)

神経線維切断後、神経線維の切断端より末梢側に現われる二次変性(Waller変性)に関しては、Waller(1850)が最初に報告して以来、可視光顕微鏡(以下「光顕」と略記)による観察は枚挙にいとまがなく、Ramón y Cajal(1928), Spielmeyer(1929), Nageotte(1932), Cone & MacMillan(1932), Parker(1933), Weddell & Glees(1941), Holmes & Young(1942), Noback & Montagna(1952), Guth(1956)らによって概括総説されている。しかし変性の生機をめぐる諸家の間に意見の対立があり、不明の点が少ない。光顕による場合、その分解能の限界(0.2 μ)と、標本作製の間に起る人工的損壊とにより、二次変性の微細な変化を把握することは容易ではない。

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し、飛躍的な分解能と、これに応ずる固定・包埋・薄切法がこの分野に応用せられ、二次変性微細変化の検索結果が逐次報告されている。本陣 & 中村(1956), 本陣(1957b), Vial(1958), Honjin, Nakamura & Imura(1959), Hess(1960), Glimstedt & Wohlfart(1960), 由利, 駒井 & 村井(1960), Ohmi(1961), 高橋(1961), Yuri, Komai & Murai(1961), Honjin & Takahashi(1962), 駒井(1962), Barton(1962), Webster(1962), Lee(1963)らは二次変性の電顕所見に関して種々の知見を報告し、二次変性時の微細構造の変化の解明は新たな段階に入った。

二次変性は、それ自体が神経の組織生理解明の重要な手掛りであるとともに、neuron構築検索の手段であり、さらには医学的見地より極めて重要な、神経線維再生の生機解明のための、基本的研究課題である。さて末梢神経系においては神経離断後、一時末梢側の神経は変性に陥るが、離断部を縫合接触せしめることにより、神経線維は再生し、機能を恢復するに反し、中枢神経の場合、損傷離断後の神経線維の再生機能恢復は、ほとんど不可能であることが、神経医学の経験から知られている。近年生活の機械化とスピード化

は、中枢神経系の損傷の多発の傾向を示し、中枢神経系の再生の問題は、新たな見地よりの研究を必要としている。著者はこの問題解決の基礎的研究として、中枢神経系の二次変性の微細構造変化の解明を企図し、比較的局所における変化を把握しやすい材料として、トノサマガエルの視神経を用い、まず正常視神経の微細構造を電顕によつて観察し、次いで実験的切断後二次変性に陥つた際の超微構造変化を手術直後から66日間にわたつて検し、各種構成要素、特に有髄および無髄神経線維の軸索、髄鞘および神経膠細胞の微細構造変化を、日を追つて糺明した。

材料と方法

材料には1961年より1963年の間、毎年5月～9月の間に、金沢市近郊で採取した雌雄成熟トノサマガエル(*Rana nigromaculata nigromaculata*)約60匹の頭蓋内視神経を使用した。対照として正常動物の材料を検索するとともに、次のような術式による神経切断術を施した材料について検した。

切断実験手技を述べると、まず解剖台上にカエルを腹位に固定し、瞬膜を切除し、各眼筋を切断したのち、視神経をその眼球附着部の近くで切断し、眼球を完全に摘出する。ただちに上下眼瞼を縫合し、他側にも同様な手術を施し、無眼カエルとして、目的とする実験日まで生存せしめた。

材料採取の方法は正常動物ならびに、術後1, 2, 3, …… 7, 9, 12, 14, 15, 16, 18, 21, 22, 24, 28, 29, 35, 42, 49, 52, 66日目の動物について、これを腹位に固定し、頭蓋を開き、注射器で固定液(下記)を頭蓋窩に注入し、次いで安全剃刀の刃の細片を用いて、頭蓋内視神経の遠位側を切断し、さらに視束交叉部が混じらないように注意しつつ、小鋏でその近位側を切断し、長さ1ないし1.5cmの両側視神経を摘出し、ただちに固定液に投じた。

固定液は veronal-acetate 緩衝 1% OsO₄ 液 (pH

Electron Microscopic Studies on the Secondary Degeneration of the Central Nerve Fibers.
Toshiki Kosaka, Department of Anatomy (Director: Prof. R. Honjin), School of Medicine,
Kanazawa University.

7.25) (Michaelis, 1931; Palade, 1952) および veronal-acetate 緩衝 0.6% KMnO_4 液 (pH 7.42) (Luft, 1956) を用い、氷室内 (約 4°C) で約 3 時間固定を行ない、次いで順次高濃度の ethanol 系列を通して脱水し、(1) epoxy 樹脂 (Araldite) 包埋法 (Glauert & Glauert, 1958) および (2) styrene-methacrylate 包埋法 (Kushida, 1961) の 2 法によって合成樹脂に包埋した。

超薄切片の作製は、日本電子社製 JUM-5 型超薄切片用 microtome を使用し、glass-knife を使って行なった。knife-boat に浮かんだ切片のうちから、干渉色により、 $200\sim 500\text{ \AA}$ の切片のみを撰択し、carbon coating を施した collodion 膜を貼った銅製 mesh 上に附着せしめた。

従来の樹脂包埋法による場合、重合時の合成樹脂の物理的収縮と、鏡検時の強電子線による蒸散とのために、微細構造の検索に障害をきたす傾向があつたが、今回使用の両樹脂に対する場合、包埋による損壊は少なく、電子線に対する抵抗は強い。しかしこれらの包埋法によると、電顕像の contrast が低下するので、上記の方法によつて得た切片に、(1) KMnO_4 染色法 (Lawn, 1960), (2) PbO 染色法 (Karnovsky, 1961) および (3) $\text{Pb}(\text{OH})_2$ 染色法 (Watson, 1958) による電子染色法を施して鏡検した。

鏡検には、日立製作所製 HU-11P 型 (加速電圧 75, 50 KV; 対物 lens の aperture 20μ) を使用し、直接倍率 $2,000\sim 40,000$ 倍で撮影し、さらに引伸し拡大陽面を作製した。

電顕検索によつて得られた微細構造の数値測定は、陰画原板を投影拡大器により、19.2倍に投影して行なつた。

結 果

I. 正常トノサマガエル視神経の構造

最近 Maturana (1960), Peters (1960 a), Gaze & Peters (1961) らは、カエルの視神経の電顕的観察を行なっているが、著者もまた二次変性の検索に先立つて、正常構造の検索を行なつた。

トノサマガエルの視神経は、最外側を脳膜の延長である硬膜・クモ膜・軟膜の 3 層の組織からなる視神経鞘に包まれ、内部には、その直径を異にする多数の有髄ならびに無髄の神経線維が縦走している。神経線維の間に星状膠細胞 (astrocytes) (以下「astro.」と略記) と稀突起膠細胞 (oligodendroglial cells) (以下「oligo.」と略記) の胞体および突起が介在し、特に astro. の突起は延長して desmosomes を介して互に

結合し、神経横断面で見ると、神経線維を多数の群に分割している。また astro. は神経の辺縁で marginal cells となり、全周にわたり神経線維を視神経鞘から絶縁している。

神経線維の所々に毛細血管が存在する。視神経の外周に存する marginal cells の外面および毛細血管の外面に接して、幅 $300\sim 400\text{ \AA}$ の basement membranes が存在する。

有髄・無髄神経線維・神経膠細胞およびその突起の間には幅約 200 \AA の細隙が存するのみで、従来光顕検索に基づいて、存在が主張されたいわゆる細胞間隙は存在しない。また互いに相隣る 2 個の有髄神経線維の髄鞘は、しばしば密接して、その間に僅かに $70\sim 90\text{ \AA}$ の明層を見るにすぎない。さらに視神経の内部の神経線維の間には、末梢神経で認められるような、神経内膜・神経内膜鞘に相当する結合組織性の細胞および結合組織細線維は、全く存在しない。

A. 有髄神経線維

有髄神経線維は、軸索・髄鞘および渦巻状の髄鞘薄膜の外端に連続する oligo. の細胞質又はその突起とからなる。この場合 oligo. は末梢神経の Schwann 氏細胞に見られるような、神経線維を完全に包みこむ状を示さず、細胞質またはその突起が僅かに outer myelin loop および inner myelin loop (Honjin, Takahashi, Nakamura, A. & Taniguchi, 1962; Honjin, Kosaka, Takano & Hiramatsu, 1963) として、髄鞘外面の一部および髄鞘と軸索の間に存在する (写真 1, 39)。髄鞘の薄膜は outer myelin loop と inner myelin loop との間に存し、loops の境界膜に連続して渦巻状に軸索を囲んでいる (本陣, 1957 b, 1959, 1960, 1961 参照)。

有髄神経線維の直径は $0.6\sim 2.0\mu$ で、その直径と髄鞘の厚さとの間に、関与係は認められない。有髄神経線維は、他の構成分間に散在し、遊離して 1 本存在することもあるが (写真 39)、数本が密接して存在することが多い (写真 1, 3, 39)。後者の場合、相接する 2 本の有髄神経線維の間には、末梢神経の場合と異なり、間隙で隔てられず密接している (写真 1, 2, 3, 15, 39)。

有髄神経線維には Ranvier 氏絞輪が存在するが (写真 26, 27, 28, 29, 30, 31), Schmidt-Lanterman 氏切痕に相当する構造は認められない。

1. 軸 索

軸索はその外面を軸索膜によつて限界されている (写真 1, 8, 39, 図 2A)。軸索膜の厚さは固定の種類および固定時間によつてかなりの変化を示す。3~4

時間 OsO_4 に固定した材料では、 $90\sim 100\text{Å}$ の厚さを示す電子密度大な層として示されるが、 KMnO_4 固定材料では、2 層の密度大な層とその間にはさまれた密度小な層とからなる、全体の長さ約 $70\sim 80\text{Å}$ の構造として示される。有髄線維の軸索膜の外面上には、髄鞘の板層膜の最内側部または **inner myelin loop** が存し、これらと軸索膜の間には約 100Å の電子密度小な層が介在する (写真 8)。

軸索内には、直径約 100Å の神経細線維 (**thin neurofilaments**) および細長い糸粒体 (**mitochondria**) (以下「mito.」と略記) が神経線維の長軸に沿って縦走している。以上の 2 種の有形成分の間に、さきに Honjin (1955, 1957 a, 1957 b, 1957 c) が末梢神経で **tubular endoplasmic reticulum** として記述した構造と全く同一の、直径 $200\sim 300\text{Å}$ で内部が電子密度小で、外面を密度大な薄膜で囲まれた細長い管状の構造が認められる。これは Elfvin (1961) が **thick filaments** と呼んだものに相当し、これを細管状 **endoplasmic reticulum** (以下「**tub. e. r.**」と略記) と呼ぶことにする (写真 27, 28, 29)。この構造もまた軸索内を縦走している。

2. 髄 鞘

髄鞘は **oligo.** の細胞限界膜が伸びて、単位膜が 2 枚重なって、軸索を幾重にも螺旋状に取り巻き、互いに密着して形成され、明暗交互にならんだ板層構造は螺旋状を呈して、その内・外側端は、内部に **oligo.** の細胞質を含む **inner myelin loop** および **outer myelin loop** に連続している。**outer myelin loop** は **oligo.** の突起にほかならず、通常髄鞘の一側に位置している (本陣, 1959, 1960 a, 1961, 1962)。Ranvier 氏絞輪の部では、髄鞘は中断され、この部で **nodal myelin loops** を形成する。このほかすでにふれたように視神経の有髄線維には Schmidt-Lanterman 氏切痕は認められなかった。これらについては後に詳しくふれる。

OsO_4 固定材料の電顕像に現われる渦巻状の髄鞘層構造は、電子密度大な厚さ約 30Å の層 (以下「暗層」**dark zone** と呼ぶ。この層は断面像では層が黒い線として示されるので、「周期線」**period dense line** と呼ぶ) と、密度小な厚さ約 $40\sim 70\text{Å}$ の層 (以下「明層」**light zone** と呼ぶ) とからなる髄鞘板層の周期は同一線維においてすら部位的な多少の差異が認められ (写真 1)、個々の線維によりかなりの差異が存在するが、 $70\sim 110\text{Å}$ (平均 90Å) を示し、この価はカエルの坐骨神経のそれよりやや小である。 OsO_4 固定材料に電子染色を施した切片では、明層の中央にやや電子密度大で不連続な厚さ約 15Å の薄層 (以下「中間層」

intermediate zone, または **interperiod line** と呼ぶ) (本陣, 1961) が認められる。相接する 2 線維の髄鞘間には間隙が認められず、相接する個々の線維の髄鞘の最外側の暗層と暗層との間隔は同一線維内の暗層間の間隔 (周期) に全く等しい。

渦巻状の髄鞘薄膜の最内側の暗層はやや厚く ($50\sim 70\text{Å}$)、**inner myelin loop** に接続する場合が多い (写真 1, 39)。これは **inner myelin loop** 内の細胞質から、この部の暗層の中央部へ層状にやや電子密度小な層が入りこんでいるためで、末梢神経の Mauthner 氏鞘に相当する。しかし鞘と呼ぶほど著明ではない。

一部の有髄線維の髄鞘には、髄鞘の層構造内に放射方向にならんだ **electron dense radial components** (Honjin, Kosaka, Takano & Hiramatsu, 1963) が存在する (写真 39)。主として明層中央部の周期間線の部が局所的に肥厚して、点の列をなして、放射状にならんだものである。点状肥厚は約 50Å の径を有し、髄鞘板層に対して斜めに切られた切片では、電顕像には放射状の構造として現われる。この構造はすべての有髄線維に存するものではなく、そのう髄鞘の一部に局在する。存在する部位では髄鞘薄膜の周期の軽度の肥大が認められる。詳細に関しては、Honjin (1959), Peters (1961), Honjin, Kosaka, Takano & Hiramatsu (1963), Honjin & Changus (1963) らの報告に委ねる。

3. 稀突起膠細胞の突起

oligo. の細胞限界膜が髄鞘を形成する際に、髄鞘の一部に細胞質が残存する部分がある。その部が **inner myelin loops**, **outer myelin loops** および **nodal myelin loops** (Honjin, Takahashi, Nakamura, A. & Taniguchi, 1962) (写真 26, 27, 28, 29, 30, 図 2A, B, C) である。すなわち髄鞘となつた薄膜の部分は髄鞘形成の際に細胞質が排除されるが、辺縁部に細胞質が残存したものと思われる。**inner myelin loop** は髄鞘形成の際の延長した限界膜の最先端部に相当し、髄鞘と軸索の間に位置し、内部に少量の細胞質を含んでいる。**outer myelin loop** は通常髄鞘の外面上に位置し、**oligo.** の細胞体につながっている。時として **outer myelin loop** が髄鞘から離れて、他の構成分間にはさまれて存在することもある。

loop の内部には断面で数個の直径約 200Å の小顆粒または小胞 (写真 1, 26, 29, 39, 図 2A, B) が存するが、それ以外の細胞内小器官を認めなかった。

4. Ranvier 氏絞輪

有髄線維の所々に、末梢神経の Ranvier 絞輪に相当する構造を認めた。これは Uzman & Villegas (1960) が廿日鼠視神経で観察した **node-like structure** に

類似の構造を示す。髄鞘はこの部で断端を示し、個々の髄鞘板層は *nodal myelin loops* を形成して軸索表面に終るが、この際外側の髄鞘板層は内側のそれよりさらに延長して次々と絞輪部の軸索表面を取り巻きつつ終っている (写真26, 図2A)。この部では *loop* は軸索の方へ方向を変え、軸索膜に接している。*nodal myelin loops* の内部には小顆粒ないしは小胞が存在する。

Ranvier 絞輪の髄鞘を有しない無髄部の軸索は、ここで僅かに径を減じ、この部の神経線維および *tub. e. r.* の分布密度は他の部に比してやや高い (写真26, 27)。無髄部の横断面は、あたかも大径無髄線維のような像を呈する。無髄部の距離は約 $0.6 \sim 1.0 \mu$ であるが、小径有髄線維で 6μ に及ぶものに接した。Ranvier 絞輪の無髄部は *astro.* の突起に接する場合が多いが、他の有髄線維または無髄線維に接する場合も認められる。

B. 無髄神経線維

無髄神経線維は多数が群をなして、有髄神経線維、神経膠細胞およびその突起の間に集簇している。個々の軸索は互いに相接してならば、軸索膜と軸索膜との間には幅約 200 \AA の密度小な層が存するのみで、末梢神経系に見られるような個々の軸索に対する *mesaxon* による取り囲みがなく、多数の無髄線維軸索の周囲を膠細胞の突起が囲んでいるにすぎない。しばしば無髄線維軸索の群の中に無髄線維が含まれている。

軸索は大小種々であるが、一般にその直径は $0.1 \sim 0.3 \mu$ で、横断面はほぼ円形を示す (写真1, 2, 39, 41)。外面は厚さ約 80 \AA の軸索膜に限界され、内部には神経線維、*tub. e. r.*, *mito.* が存在する。このことは有髄線維の場合とはほぼ同様であるが、無髄線維の場合、*mito.* は軸索の径に比して大きく、軸索断面の大部分を占めることすらある。特異なことは、有髄線維の場合に比し、*tub. e. r.* の分布密度が大なことである。その径は $200 \sim 300 \text{ \AA}$ であり、横断面で小胞状を呈し、内腔は電子密度が小である。

C. 神経膠細胞

電顕像に見られる神経膠細胞の種類と、光顕像に見られる細胞区分との間の同定には、Luse (1956, 1960) らと Farquhar & Hartmann (1957), Schultz, Maynard & Pease (1957), 本陣 & 西 (1958), 魚津 (1960), 本陣 (1961, 1962), 藤田 (1961) らとの間に大きな見解の相違がある。問題は *astro.* と *oligo.* の同定が両者間で全く相反する点にあるが、色素による染色性の相違、髄鞘に対する微細構造関連、細胞質およびその突起の大小、神経膠細胞の有無等より、著者

は後者の所見が正しいと考える (本陣, 1961, 1962)。なお著者の観察の限りでは、小膠細胞は本動物の視神経内に確認されなかった。

1. 稀突起膠細胞

oligo. (写真32, 33, 38, 45, 46) の核は、断面で円形または円形に近い楕円形を示し、核膜は一般に平滑で、*chromatin* 小顆粒は核内の所々に小集塊を形成する。核膜は内側核膜と外側核膜とからなり、その間に核膜腔を含む。所々で内側核膜と外側核膜が結合移行している核孔を認める。この部は小孔状を示して細胞質と核質が直接している。核小体の発育は不著明である。細胞質は一般に少なく、核の近傍に薄い層として存する。しかし細胞質内の小器官は比較的良好に発達し、特に *endoplasmic reticulum* と *ribosomes* は後述の *astro.* に比して豊富である。極めて少数例であるが、細胞質内に中心小体 (*centrioles*) の存在を認めた。細胞体の限界膜は比較的平滑で (写真38, 45, 46)、細胞質はその限界膜とともに延長し、突起として有髄線維または無髄軸索群の外面に達し、上記のように *outer myelin loop*, 髄鞘の板層薄膜, *inner myelin loop* 等を形成する。しかし無髄軸索群内の個々の軸索を直接覆うことはない。*oligo.* には後述の *desmosomes* は認め難い。

2. 星状膠細胞

astro. (写真3, 4, 6, 7, 15) の核は断面では紡錘形ないし長楕円形で、核の辺縁は一般に比較的平滑であるが (写真37)、時には湾入を認めることもある。核の *chromatin* 小顆粒の分布状態には特徴はなく、核膜は内・外側核膜からなり、核孔構造がある。核小体の発達は顕著ではない。細胞体は比較的細胞質に富み (写真3, 6, 7)、径約 $50 \sim 80 \text{ \AA}$ の神経膠細胞 (写真3, 4, 6, 7, 15, 18, 20, 27, 38, 41) が細胞体および突起内を種々の方向に分布している。約 200 \AA の少量の遊離した *ribosomes* が認められ、稀に極めて少量の *mito.*, *endoplasmic reticulum* および *Golgi* 薄膜, *Golgi* 小胞, 中心小体, 纖毛および小管状の線維構造が認められることもある。中心小体は切断面によつては同一の *astro.* 内に認められることがある。その基本的な微細構造は、直径 $200 \sim 250 \text{ \AA}$ の小管状の線維が対 (*doublet*) をなし、*central fiber* (Gibbons & Grimstone, 1960) を構成し、その周囲を取り囲むように直径約 200 \AA の小管状の線維が9対 (それぞれが *doublets*) 存し、*outer fibers* (Gibbons & Grimstone, 1960) を構成している。全体として、立体的には直径 $150 \sim 250 \text{ m}\mu$, 長さ不定の小円柱状構造を示し、周囲に *satellite* (Sorokin, 1962) の接すること

がある。時として *central fibers* が欠如したり、*outer fibers* が8対しかないものを見た。上記の中心体と同様な構造が細胞限界膜に囲まれていることがあるが、これは纖毛または纖毛の *basal body* であろう。稀に *dense bodies* (Hudson & Hartmann, 1961) の存在を認める (写真 6, 7)。

astro. の多くの突起は四方に伸びているが、一般に神経膠細線維を含み、*mito.* その他の小器官に乏しい。一般に *astro.* の突起は *oligo.* のそれに比して電子密度が小である。

すでにふれたように、*astro.* は視神経の外周に多数存し、*marginal cells* (Farquhar & Hartmann, 1957) の形でこれを完全に包んでいる (Cone & MacMillan, 1932; Gaze & Peters, 1961 参照)。また *astro.* の突起は毛細血管へ伸びて、その周囲に終足 (*end feet*) を形成して終り、ほとんど毛細血管の全周を包みこんでいる。毛細血管に面する *astro.* の突起の限界膜と毛細血管の間には *basement membrane* が存在している。また突起から単一または少数の、径 $400\sim 500\text{Å}$ の中心に *core* を有する *microvilli* 様の小突起が突出している所見に接した。さらにカエルの視神経の場合の特有な所見として、哺乳類には見られない *desmosomes* (写真 3, 4, 15, 18, 19) が *astro.* の胞体や突起相互間に存在することを見出した。*desmosomes* は細胞体間のみではなく、細胞体突起間 (写真 3, 4)、突起間 (写真 15, 18, 19) にも多数存在する。通常幅約 200Å の細胞細隙が *desmosomes* 部では広く、約 350Å を示す。この部で細胞限界膜は厚さ約 80Å に肥厚し、その電子密度が大となり、断面で長さ $200\sim 600\text{m}\mu$ の *attachment plaques* (Odland, 1958) を形成する。その細胞質側には *tonofilaments* が密集して存し、これに近傍の神経膠細線維が混入している。*tonofilaments* と神経膠細線維とは形態的に区分し難い。*tonofilaments* の走行は *attachment plaques* に平行に走る場合のほか、垂直に接する場合もある。また相対する *attachment plaques* のそれぞれの細胞質側における *filaments* の走行方向は、必ずしも一致していない。

attachment plaques の間の細隙には幾層かの暗薄層が存在し (写真 4)、Odland (1958) のいう、2層の *intermediate dense layers* と、その間にはさまれた *intercellular contact layer* からなる合計3層の存在がこの部に確認される。*attachment plaques* は立体的には楕円形の広がりをもつものと推測され、細胞間の接触面が大きな場合には、同一断面で数個が連続して認められる (写真 3, 18)。以上の構造は他種の上

皮細胞間に見出された *desmosomes* に一致する (Selby, 1955; Hartmann & Knoop, 1958; Odland, 1958; Hibbs & Clark, 1959)。

D. 毛細血管

中枢神経系の他部と異なり、視神経においては毛細血管の分布密度が小さく、電顕でこれを見る機会は極めて少ない。毛細血管は内皮細胞、*pericytes* および *basement membranes* からなる。横断面では血管内腔を2~3個の内皮細胞が囲み、これらの内皮細胞相互の接触部は限界膜の電子密度が大きくなり、*terminal bars* の構造を呈する (本陣, 1960 c; Peters, 1962b)。内皮細胞はしばしば内腔へ *microvilli* 様の突起を出し、細胞質内には *mito.* および *endoplasmic reticulum* を含んでいる。内皮細胞の外周の一部に *pericytes* が接して位置し、さらにその外周を *astro.* の終足が包んでいる。この際内皮細胞の外周および *pericytes* の表面に、厚さ $300\sim 400\text{Å}$ の *basement membranes* が存し、これらと *astro.* の脈管周囲終足との間に介在している。

E. 視神経鞘

視神経鞘は脳膜から延長突出したもので、構造的には脳膜に等しい。神経要素との間には厚さ $300\sim 400\text{Å}$ の *basement membranes* が存している。内側より外方に向つて層状に、毛細血管に富み、周囲を無数の膠原線維により囲まれている軟膜細胞からなる軟膜、次に細胞質が細線維に富み、所々を *desmosomes* により密に結合して数層を形成する扁平なクモ膜細胞からなるクモ膜、およびさらにその外側に位置する膠原線維に包まれた細長い細胞からなる硬膜の3層より形成されている。

II. 変性所見

正常所見との対比において、神経切断後の変化を経時的に追求したが、最も早期に変化の現われるのは有髄神経線維で、まずその軸索が収縮して円柱状の形態を失い、その電子密度は漸次増大する。軸索の変化に次いで、二次的に髄鞘の変形が生ずるが、髄鞘板層の微細構造はかなり長く保持されている。やがて髄鞘の崩壊変性が見られ、同時に、神経膠細胞の反応変化が著明となる。一般に無髄線維は変化は緩慢で、その変化は有髄線維に比してかなり遅れる。しかし同種の神経線維の変性変化は、同一材料で、術後の同一時間で、すべて同一変化を示すわけではなく、個々の線維によつて、変化の速度にかなりの遅速が見られる。

A. 有髄神経線維

1. 軸索の変化

術後2日で、一部の *tub. e. r.* および *mito.* が腫大

する。この時 *mito.* の *matrix* の電子密度が小となる。神経細線維は切断後2日頃から、その正常な走行に乱れを示し始める(写真8, 26)。術後4日目には軸索全体の電子密度が増し、*tub. e. r.* および *mito.* の膨化の著しいものが多くなる(写真26, 28, 30)。術後6日頃には、この傾向は益々著しくなり、*tub. e. r.* に変形離断が見られ、*mito.* の *cristae* の崩壊、電子密度の上昇が現われる。神経細線維の走行の乱れが著明となるが、なお細線維構造を保っている。軸索は縮小の傾向を示し、表面の軸索膜に小さな凹凸が認められる(写真8, 26)。術後7日頃になると、*tub. e. r.* はほとんど小さな胞の列に離断し、*mito.* は表面の限界膜の平滑さを失い、小さな凹凸を生ずるが、なお *cristae* の存在を認める。神経細線維の走行の乱れが著しくなる(写真27)。9~12日目になると *tub. e. r.* は完全に崩壊し去り、小胞ないし細顆粒状となる。しかしこの時神経細線維はなお存在する(写真28, 29, 図2B, C)。術後14日では、*tub. e. r.* は完全に崩壊し去り、顆粒状物質に変じ、*mito.* は電子密度大となり、*cristae* の断裂崩壊を示す(写真29)。この間軸索膜は次第に電子密度を増し、表面の平滑な輪郭を失い、断面で波状の凹凸を示し、やがて連続性を失い、断裂を示し始める(写真9)。軸索は収縮するとともに、著しく変形し、全体として一様の管状の形を失って、凹凸の著しい不規則な形を示し、電子密度を増す(写真9)。術後18日頃には軸索の収縮が進行して、所々で断裂し、神経細線維はほとんど崩壊する。断裂した軸索は、変形した髓鞘によつて囲まれた不規則な形を呈するとともに、内部の変性物質は益々凝集して、段々密度大となり、変性髓鞘に囲まれるにいたる(写真17, 18, 19)。この時期の軸索は電子密度大な細顆粒状変性物質の中に、著しく電子密度大となつた *mito.* またはその崩壊物質の存在を示す(写真10, 11)。術後3週以後には、細顆粒状の軸索変性物質は比較的均質な様相を呈するにいたる(写真12, 18, 19)。この際軸索変性物質の辺縁部が特に電子密度が大である。この時期においても、*mito.* の存在を認め得るが、その変性は著しい。軸索膜の断裂はさらに顕著となつている。術後4週目に入ると、軸索の電子密度は徐々に小となり、変性した *mito.* の存在も僅かに形骸をとどめる程度となる(写真13)。漸次変性した軸索物質はその量を減じ、残存するものも所々に切れこみや断裂を生じる。この間軸索の変性物質と変形した髓鞘の間に、明調の部が現われ、この時期に著明となる。すでに変性を起こしている髓鞘から内側に板層膜の剝離が起こり、後述の髓鞘剝離輪として軸索変性物の中に混

ずる。この頃には軸索膜は完全に破壊して、存在しない(写真20)。このような状態はかなり長い期間継続するが、残存軸索変性物はその電子密度が小となる(写真14, 20)。後に述べる陳化 *myelin* 体の状態のものでは、その中央に軸索変性物を含めことが多い(写真34, 35, 36)。

2. 髓鞘の変化

髓鞘は神経切断後、軸索の変化に遅れて変化するが、まずその形の変化が現われ、次いで板層構造の微細構造上の変性、すなわち崩壊が起こる。はじめ管状を呈した髓鞘変形に、さらに髓鞘分子構成の変性が加わり、崩壊・分散・消失するにいたる。変性ははじめ膠細胞の外部で起こるが(写真21, 25)、変性後期では変性物質の一部は膠細胞の細胞体内にとり入れられ、細胞質内で変性過程が進行する(写真34, 35, 36, 37, 38, 45)。

a. 変形

切断後かなり早い時期に軸索の収縮・変形とはほぼ時を同じくして、髓鞘は変形を呈しはじめる。すなわち軸索が拡張して太くなつた部の髓鞘は、これに応じて膨隆し(写真11, 12, 13, 17, 18, 20)、これに反し軸索が収縮して細くなつた部では髓鞘は内翻を示す(写真9, 12, 15, 16, 17, 18, 19, 21, 23, 32, 42)。その初期のもので内翻した髓鞘は内外面が逆となり、内部には軸索を含まない(写真12, 15, 16, 17, 19, 32, 42)。このような髓鞘の変形は術後2週頃から顕著となり、以後第3週、第4週で複雑多岐な変遷を示す。変性軸索の収縮変形が著しくなるにつれて、内翻は複雑さを増し(写真17)、三重四重あるいはそれ以上の翻入を示し、3週目頃には軸索がこのような部位から完全に姿を消す場合も多い(写真16)。本来の髓鞘と内翻髓鞘との間に間隙または軸索が存在する場合(写真15, 16, 42)、またこの両者の境界に正常髓鞘最内側層で見られたような、やや幅の大きな密度大な1層で隔てられている場合(写真21, 23, 32)等、翻入の様式や切片作製の方によつて区々な姿を示す。このような髓鞘変形の初期には、髓鞘の板層構造には認むべき変化が現われない。術後第4週に入ると板層構造の変形は進んで、さらに甚だしくなるが、多くの線維では、この時期にすでに崩壊分散の段階に入っていると考えられる。写真23は有髓線維であるが、見られるように内翻髓鞘の内外側に板層週期の幅をやや減じている。このことは髓鞘内の分子構成に大きな変化が起こつたことを示すものである。

b. 崩壊

変形初期には、上記のように、軸索の変化にしたが

つて髄鞘の著明な変化が見られるが、次に髄鞘それ自身の内の分子の organization に変化が起こり、髄鞘の微細構造は崩壊する。崩壊像としては (1) 好オスミウム顆粒 (osmiophilic granules) の出現, (2) 髄鞘板層膜の内側剥離 (internal exfoliation of myelin membranes), (3) 髄鞘板層膜の外側剥離 (external exfoliation of myelin membranes), (4) 狭層髄鞘 (compound lamellae of myelin sheath), (5) 髄鞘融解 (dissolution of myelin sheath), (6) 疎化 myelin 体 (loosed myelin bodies) の形成, (7) 髄鞘小胞 (myelin vesicles), (8) 髄滴 (myelin droplets), 等が観察された。以上の変化は二次変性線維の髄鞘に一樣に現われるものではなく、変性像の種類、変性像出現の時期にかなりの差異が認められる。髄鞘崩壊の過程を模式的に図1に示す。後にもふれるが、変性が進行すると、視神経内の膠細胞が反応を示す。変性の初期には髄鞘の変形崩壊は、それが以前に存した部位において観察せられるが、変性が進むと、上記の膠細胞の進行性変化が起こり、変形崩壊した有髄線維は膠細胞またはその突起細胞質内にとりこまれる。写真32は oligo. の細胞質が、まさに変性した線維を包みこもうとしている像である (図1B)。このような変化は、さらに崩壊の進んだ段階では各所に見られ (図1C)、肥大した膠細胞の細胞質および突起内に有髄、無髄線維の大量の変性産物がとりこまれているのが見られる。このような変性物質の膠細胞内へのとりこみ像は術後9日にすでに出現しているが、かかる場合、未だ髄鞘の板層構造は残存していることが多い。しかし3週間より以後のものでは髄鞘に崩壊変性が認められ、特に疎化 myelin 体ないし髄滴 (写真34, 35, 36, 37, 45, 図1D) (高橋, 1961; Honjin & Takahashi, 1962) の形を示すことが多い。

1) 好オスミウム顆粒の出現

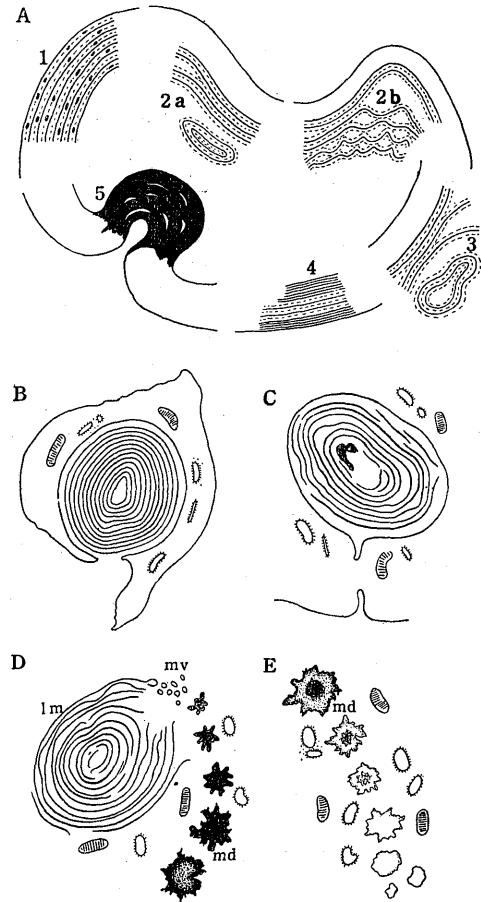
好オスミウム顆粒の出現は、最も早期に現われる変化で、髄鞘の変形が著しくなる第3週頃に比較的多く認められる。しかし少数例ではあるが、第1週の終りに変形した髄鞘に認められたものもある。好オスミウム顆粒の出現するのは一般に変形した髄鞘で、軸索を含まない内齟した部位の周期間線に沿って、その所々に電子密度極めて大な、小紡錘形の顆粒状の影像として出現する。その電子密度は周期線のそれより大きく、髄鞘薄膜に垂直の方向の径は約40Å、長さは100~300Åの長紡錘形を呈し、不定の間隔をもつてならんでいる (写真11, 12, 17, 42, 図1A1)。これは radial components に見られるような規則的な配列を示さず、またこのものの存在による髄鞘単位、周期の

拡大は見られない。上述のように第3週頃多いが、さらに崩壊が進んで、髄鞘の一部がすでに疎化したものにも、疎化が未だ現われない部分に現われる。しかし好オスミウム顆粒の出現は、すべての髄鞘の変性過程に必発するものではなく、また解離、疎化し崩壊高度に達した髄鞘には、この種の顆粒は認められなくなる。

2) 髄鞘内側剥離

術後2週間より、変形した髄鞘と収縮した軸索との

図1 二次変性時の中枢神経有髄線維
髄鞘の崩壊過程の模式図



lm, 疎化 myelin 体; md, 髄滴; mv, 髄鞘小胞。

A1 は好オスミウム顆粒の出現を、A2 は髄鞘内側剥離を、A2a は内側剥離輪を、A2b は内側剥離網を、A3 は髄鞘外側剥離を、A4 は狭層髄鞘を、A5 は髄鞘融解を示す。B は稀突起膠細胞の細胞質が変性した髄鞘を包みこもうとしている像を示す。C はこの過程がさらに進んだ状態を示す。D は疎化 myelin 体、およびそれから生ずる髄鞘小胞、髄滴の形成を示す。形成された髄滴は次第に融合して大となる。E は髄滴が空泡化して消失する過程を示す。

間に大きな間隙が生ずるが、この部位において2～4層の髄鞘の板層薄膜が剝離する。剝離した膜は断端を有するものもあるが、これらは次の2種の変性物質に移行する。(a)内側剝離輪(**internal exfoliated rings**)、これは内側へ剝離した薄膜が形成した断面で、輪状を呈する構造物で、術後3～4週によく観察される。これは髄鞘に見られる周期構造をなお保有しているが、やがて変性軸索と合し、微細構造を失って、これと運命をともにする(写真14, 17, 18, 19, 図1A 2a)。(b)内側剝離網(**internal exfoliated reticula**)、これは内側に剝離した髄鞘薄膜が、互に入り乱れて複雑な網状構造を呈するもので、術後4週頃に最も顕著で、初期には薄膜の一部に板層構造が保持されている。これも変性軸索と合し、やがて顆粒状の物質に崩壊する(写真20, 21, 図1A 2b)。

3) 髄鞘外側剝離

比較的早期から認められる変化で、術後12日の髄鞘にすでに観察せられた(写真22, 図1A 3)。変性髄鞘の外面において、2～4層の髄鞘薄膜が周期線部で剝離して、その一部は内側剝離に似た輪状の配置を示す。変形が顕著になるとともに、しばしば見られ、術後3～4週にその変化も著しく、複雑な像を呈する。

4) 狭層髄鞘

これは稀に認められる変化で、術後4週の頃、変性髄鞘の内側または外側の一部に、正常髄鞘周期より狭い板層構造が見られる(写真23, 図1A 4)。この部の板層周期は正常のもの $\frac{3}{4}$ ～ $\frac{1}{2}$ を示している。特に明層の幅の減少が著しい。おそらく髄鞘板層膜の分子構成に大きな変化が起こったことによるものと推定される。同様な狭層の構造が髄鞘の内側で変性した軸索との間にも認められた(写真24, 図1A 4)。

5) 髄鞘融解

この変化は内翻した髄鞘が板層構造を失い、電子密度極めて大なる均質の物質にそのまま変化したと思われるもので、術後4週頃に時々認められる(写真21, 図1A 5)。

6) 疎化 myelin 体

髄鞘の変形が進むと、髄鞘の暗層(周期線)の電子密度が大となり、幅もやや大となる。このことは重要な髄鞘変性初期の特徴ある変化であるが、髄鞘崩壊の前駆的な兆である。次いで髄鞘板層膜は明層の中央の周期線部の部で互いに剝離し、いわゆる内複合膜(**internal compound membrane**)を作り、個々の膜の間の所々に隙間が現われる。はじめはこの隙間が小であるが、やがて大きくなり、個々の内複合膜の間に大きな間隙を生じ、膜は蛇行して、髄鞘は全体として

疎化する(写真34, 36, 45, 図1D)。このような状態の髄鞘変性物質を疎化 myelin 体と呼ぶ。すでに述べた髄鞘の内側および外側剝離も剝離の機作において、内複合膜の形をとるもので、疎化 myelin 体はこの剝離変化が広範に髄鞘全般に及んだものというべきであろう。疎化 myelin 体の形成は、髄鞘が強く翻転した変形甚だしい部に早期かつ高度に現われ、薄層の粗な渦巻状を呈し、この変化によつて板層膜はばらばらとなり、部分的に離断し、一部はさらに翻転をくり返して、さらに疎化することにより、大小区々の疎化 myelin 体に変じ、結局多数の球状ないし楕球状の疎化 myelin 体となる。疎化 myelin 体は術後4週目頃より現われ、第5～7週に顕著に認められる。疎化 myelin 体は初期には膠細胞の外でも見られるが、多くの場合変性崩壊過程にある髄鞘が、oligo. の細胞質内にとりこまれた状態下において形成されている。

7) 髄鞘小胞

疎化 myelin 体が形成される間、および形成された後に、内複合膜の形で剝離した髄鞘薄膜は、さらに周期線部で剝離し、個々の単位膜として oligo. の細胞質内に遊離し、この場合これらはただちに小片に崩壊分散する場合もあるが、解離端において径約300Åの薄膜に包まれた小胞を形成する(写真37, 図1D)。これを髄鞘小胞と呼ぶ。髄鞘小胞は互いに融合し、膜成分の崩壊により、次に述べる髄滴に移行する。このような変化は第6～7週に著明である。

8) 髄滴の形成

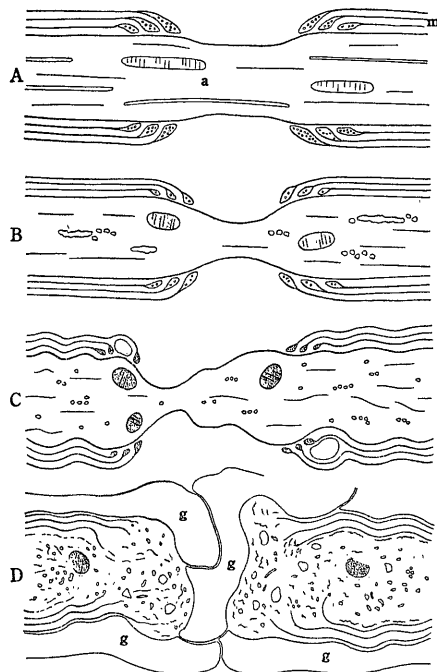
上記のような変性崩壊過程をとつた有髄線維は、変性と崩壊によつて細分されるが、これらが oligo. にとりこまれた初期の段階では、変性物質の周囲はとりこみの際に湾入した oligo. の限界膜が存するが(図1C)、やがてこれが消失し、分離した髄鞘薄膜の崩壊物は oligo. の細胞質内に遊離し、ここで膜としての organization を完全に失い、一部のものは小顆粒状となつて分散するが、結局著しく OsO₄ 親和性の大きな均質な物質塊として、電子密度大な断面星形ないし不整形の小体、すなわち光顕にいう髄滴に相当する変性物質となる(写真34, 35, 36, 38, 図1D, E)。髄滴は融合して大となる。髄滴は早くは術後9日頃にすでに認められるが、その後漸次増加する。大きさは径0.2～0.8μで、鋸歯状の輪郭を示し、辺縁部は内部に比して電子密度が大きい。術後3週以後多数現われ、6～7週に極期に達する。次いで髄滴はその内部の一部が電子密度を減じて空胞状の部を示し(写真38, 図1E)、第7週以後には鋸歯状縁のみを有する空胞と化する。(写真36, 図1E)。この時細胞質はやや電子密

度を増している}(写真36)。髄滴の電顕像は他種細胞内の lipoid 滴の電顕像に極めてよく似ている。この間 oligo. の細胞質内の mito. および e. r. は髄鞘および軸索の変性物質、すなわち髄滴または前駆物質の周囲に群集する。術後10週においてもなお存在を認める。

3. Ranvier 氏絞輪における変化

Ranvier 氏絞輪部の髄鞘を有しない部の軸索の変化は、他の有髄部における変化と質的にも時間的にも大差はない。絞輪部の髄鞘特に nodal myelin loop に関しては、術後第1週においては著しい変化を見ない(写真26)。しかし術後9日目には、無髄部の軸索が延

図2 二次変性時の中枢神経有髄線維の Ranvier 絞輪部の変化過程の模式図



a, 軸索; g, 神経膠細胞の突起; m, 髄鞘板層膜。Aは正常。nodal myelin loops および軸索内の神経細線維, tubular endoplasmic reticulum, mitochondria を示す。Bは切断後9~12日頃のもので、Ranvier 絞輪部の径の収縮, nodal myelin loops の収縮および軸索内小器官の変化を示す。Cは切断後21日頃のもので、Ranvier 絞輪部の著明な径の縮小・蛇行, nodal myelin loops の収縮・その内部の電子密度変化・nodal myelin loops 間に出現する球状塊および軸索内小器官の変化を示す。Dは切断後42日頃のもので、Ranvier 絞輪部の軸索の離断, 増殖した膠細胞による隔離, nodal myelin loops の消失, 髄滴および軸索の著しい変化を示す。

長して直径が狭くなり、軸索の収縮とともに nodal myelin loop の個々の loop の配列に乱れを示し(写真27, 図2B), 術後12日頃から, nodal myelin loops 間の所々に電子密度のやや大なる均一な球状塊の貯溜を認める(写真29, 30, 図2C)。軸索の変性とともに(写真28, 29, 30, 図2C), nodal myelin loops の個々の loop の細胞質も収縮し、電子密度が大きくなる(写真27, 28, 30, 図2C)。3週目には、さらに細くなった無髄部軸索は蛇行し(写真30, 図2C), 絞輪部からの離断が起こる。術後6週目になると, nodal myelin loops の崩壊消失とともに変性 mito., 小胞および管状ないし胞状の構造物が離断した部に集簇し、電子密度の大きな物質がこの部に集まる結果、無髄部が逆に嚢状に膨化している(写真31, 図2D)。

B. 無髄神経線維

術後2日頃より軸索内の mito. が膨化し、電子密度を増す(写真19, 28, 39)。しかし神経線維および tub. e. r. には著明な変化は認められない。術後1週頃になると, tub. e. r. が腫大し、所々くびれて多数の径約 600~800 Å の小胞に変化しているのが認められる。この際この小胞がくびれによつて tub. e. r. に連続している像が認められた(写真28)。術後2週頃より、電子密度大な膨化 mito. が、配列方向を乱して局所的に集合し、無髄線維の軸索は、全体として見るとき、局所的に太い部分と細い部分が出来、太い部分に軸索物質が集簇する傾向を示す。この段階では tub. e. r. はほとんど崩壊して小胞状となり、mito. は電子密度極めて大なる不規則な形の顆粒となつている。しかし cristae mitochondriales はなお形骸をとどめるものがある。このような像は術後3週に入ると、さらに顕著になる。無髄線維ではこのような変化が著しいことが特色である。軸索膜はこの頃より表面の平滑さを失い、小さな凹凸を示すものが多く、相隣る軸索の軸索膜間の電子密度小な隙間がやや大きくなる。この傾向は術後4週に入るとさらに強くなり、軸索は部位的に大小区々となり、内には薄膜に囲まれた小胞を包み、また所々に電子密度大な極めて小さな大小の空胞が出現する。このとき mito. は密度大なかなり大きな不規則顆粒状を呈する。術後5週以後萎縮した軸索は軸索膜と小胞の薄膜系の残骸となり、一部は oligo. の突起にとり入れられて顆粒状物に変化するか、またはこのような萎縮軸索の群の中に, astro. の突起が増殖侵入し、無髄軸索の遊離したものは著しくその数を減じ、2~5個小群をなして, astro. の突起間に分離されて存する状態を示す。第6週に入つてこのような変化はさらに進展する。このような無髄軸索の変性が起こつ

ている間にも、一部の無髄線維は第6週においてなお著明な変化を示さず、明確な軸索膜を保存して、変性視神経内に残存することは注目されるべきであろう。

C. 神経膠細胞

1. 稀突起膠細胞

正常視神経の oligo. においては、細胞質内小器官の発達は余り著明ではなく、僅かに核の周囲の胞体内に少量の e. r., ribosomes, mito. および Golgi 装置の散在するのを認めるのみであるが、術後1週頃から次第に細胞質が豊富になるとともに、mito. および e. r. が増加し、Golgi 薄膜および Golgi 小胞の像も顕著となる。また e. r. 附近の ribosomes もその rosette 配列を明確に示すにいたる (写真45, 46)。著者の所見では術後9日ですでに述べた軸索髄鞘の崩壊現象がその細胞質内で進んでいる場合に接した。このような細胞の反応性の肥大が進むにつれて、術後2週頃よりある一方向への細胞質の伸展による大きな突起形成や、核の偏在が見られ (写真45)、したがって超薄切片では、豊富な細胞質のみで核が存在しない像にしばしば接する (写真19, 32, 35, 36, 37, 44)。上記の変性崩壊物質の貪食像は術後24日頃から多く観察される (写真34, 35, 36, 37, 38, 図1D)。髄鞘軸索の崩壊物質を貪食した部の細胞質には、その多数の mito.・e.r.・ribosomes が存し、特に多数の e. r. の腔が顕著に膨化して活動的な状態を示唆する。術後第4週に入って著明となる変化として、oligo. の突起に多数の密度大な比較的大きな物質塊が見られることで、これは

おそらく、崩壊髄鞘の断片か、変化した mito. であろう。また変性4~5週において、内に多数の小胞を含む oligo. の突起を囲んで、同心性の薄膜の粗な集積が見られる (写真41, 42, 43)。これは明らかに oligo. の突起の限界膜が延長して形成せられたもので、この種変性における特異な膠細胞反応というべきであろう (図3A, B, C, D)。

2. 星状膠細胞

astro. は正常組織においても oligo. に比し細胞質に富んでいるが (写真3, 6, 7)、変性に際してさらに胞体の細胞質が豊富になる。術後時を経過するにつれて、突起は太く長く発達して、従来神経線維が占めていた場所を埋めるようになり (写真38)、それと平行して、突起内の mito. および e. r. は軽度の発達を認める。膠細胞は変性により増大した突起内に分布している。このとき astro. の相互間の接する部においては細胞間の結合に関与する demosomes も依然として存在している (写真15, 18, 19, 20)。稀に変性髄鞘が astro. の突起にとりこまれている像に接する (写真40)。注意すべきは変性期の astro. の肥大、特に突起の肥大延長により視神経内はこの突起によつて縦横に区切られ、神経線維ないし oligo. の占める体積が極めて小となることで、変性時の膠細胞の配置、ないし神経線維、膠細胞の立体的構築は正常な場合に比して大きな変化を惹起していることは注目すべきであろう。

考 按

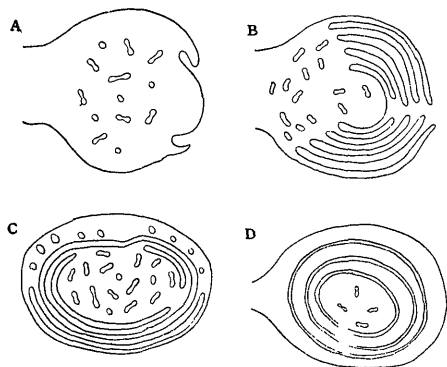
I. 正常視神経組織

A. 有髄神経線維

有髄神経線維の微細構造に関しては、すでに多くの先人達の報告がある (Honjin, 1955, 1957 a, 1957b, 1957c, 1957d, 1960, 1961 参照)。中枢神経内有髄線維に関しては本陣 (1959, 1960a), Maturana (1960), Peters (1960a, 1960b) らの報告がある。著者の今回の検索結果も大略これに一致するが、2, 3の新知見を得た。

Cone & MacMillan (1932) は、光顕検索により、視神経内に Ranvier 氏絞輪の存在を認めなかつたが、その後電顕により、Uzman & Villegas (1960) と Maturana (1960) は「node-like structure」の存在を認めた。著者の観察では、視神経有髄線維には明らかに Ranvier 氏絞輪の構造が存し、その微細構造は原則として本陣、高橋 & 西 (1961) および Honjin, Takahashi, Nakamura A. & Taniguchi (1962) が末梢有髄線維に見た Ranvier 氏絞輪の構造、特に小径のそ

図3 二次変性変化の極期における稀突起膠細胞の突起が示す同心性重積膜球状形成反応の模式図



Aは多数の小胞を含む稀突起膠細胞の突起の断面を示す。Bは突起の先端部に限界膜により多数の薄膜皺の集積が形成された状態の断面を示す。Cは、Bの時期のものを切断方向を変えて見た状態を示す。同心性重積膜は未だ完全な同心性を示さない。Dは完成された同心性重積膜球体の断面を示す。

れにはほぼ一致することが明らかとなった。中枢神経の有髄線維の Schmidt-Lanterman 氏切痕に関しては、脊髄で Bunge & Bunge (1960) が存在を示しているが、視神経では Cone & MacMillan (1932) が光顕で、Maturana (1960) が電顕でともに存在を否定している。著者の所見では本構造を見出し得なかつた。

中枢神経系の髄鞘形成に関しては、De Robertis, Gershenfield & Wald (1958) は神経膠細胞細胞質内の小胞から髄鞘が形成されると述べ、Maturana (1960), Peters (1960b, 1962a), Bunge, Bunge & Pappas (1962) らは、神経膠細胞細胞質が軸索を螺旋状に巻いて髄鞘を形成するとした。胎生期の動物について、Bunge, Bunge & Pappas (1962) が示した電顕像は、後者の説を支持している。著者の今回の所見において、髄鞘の板層膜の内外両端に outer および inner myelin loops として oligo. の突起の細胞質が附着することは、髄鞘が oligo. の突起によつて形成され、それが完成後も連絡を保持することを示すものである。

髄鞘板層の周期値は、さきにカエルの末梢神経電顕像の計測から、本陣 (1961) が $75\sim 120\text{Å}$ 、高橋 (1961) が平均 110Å の値を得ているが X 線回折による検索では、新鮮標本で、Fernández-Morán & Finean (1957), 本陣 (1960a, 1960b), 本陣 & 中村 (1963) らは 171Å の値を得ている。中枢神経標本では X 線回折で、本陣 & 中村 (1963) が脊髄で 154Å と報告している。さらには本陣 & 平松 (1961) により、ラットの中枢神経と末梢神経の新鮮標本で、それぞれ 161Å と 182Å で、中枢と末梢との間に約 21Å の差があると報告されている。このことは電顕像においても、中枢神経線維と末梢神経線維との間に約 20Å の差異の存在が推定され、著者の $70\sim 110\text{Å}$ 、平均 90Å 、および Maturana (1960) の $80\sim 110\text{Å}$ の数値は、その裏付けになると思われる。inner および outer myelin loops, さらには nodal myelin loops の微細構造に関しては、今回の所見は著者らの前報 (Honjin, Kosaka, Takano & Hiramatsu, 1963) に全く一致する。

B. 無髄神経線維

カエルの視神経は、哺乳類のそれと異なり、無髄線維の数は有髄線維に比して著しく多い。Breusch & Arey (1942) は *Rana pipiens* の光顕検索により、有髄線維 15,300 に対し、無髄線維は 13,700 で、無髄線維の方が少ないとしているが、無髄軸索間の距離が光顕分解能の限界を超えるものがあるので、にわかに信じ難い。その後 Maturana (1959) は電顕を用いて、無髄線維の特徴として、末梢神経のそれと異なり、個

々の軸索は結合膜の延長による鞘細胞膜による包みこみが見られず、多数が相接して、視神経内の所々に群をなして存し、oligo. または astro. の突起はこの大きな軸索群の外側に位置するにすぎないことがあげられる。軸索内に、本陣 (1955, 1957b, 1957c) は薄膜に囲まれた細長い管状構造を見出し、これを tubular endoplasmic reticulum と名付けた。Palay (1956) は中枢神経系の dendrites および axon terminals 内に、直径 180Å の tubular な構造を認め、e. r. の canalicular elements と記述した。その後末梢有髄神経内に e. r. の存在を記述した報告が多い。Gray (1959) は同じ構造物に dendrite tubules と命名し、Whitewear (1960) は角膜の無髄線維内に、直径 $200\sim 500\text{Å}$ の同様な構造物を認めている。さらには Elfvin (1961) は脾神経無髄線維で、約 300Å の直径を有する細線維を認め、従来の neurofilaments (彼はこれを thin filaments と呼ぶ) に対応して、これを thick filaments と命名した。著者の場合、カエル視神経内の有髄および無髄軸索内に多数これを認めた。注意すべきは、著者らの所見によると、tub. e. r. は無髄線維において比較的これが多く存在していることで、無髄線維の縦断面で、同一切片で 1μ 以上にわたつて連続して認められる例に接した。

C. 神経膠細胞

著者の所見では、視神経内に astro., oligo. の 2 型の膠細胞が存在し、oligo. は有髄線維の髄鞘と密接な関連を有することが明らかとなった。Peters (1960b), Gaze & Peters (1961) もまた視神経に 2 型の膠細胞が存在するとしているが、Maturana (1960) は 2 型の型の区分を否定している。これは後者は電顕検索に当り、Araldite 包埋、無染色切片を用いたため、膠細胞の存在を確認し得なかつたことによるものと思われる。Cone & MacMillan (1932) は光顕で、小膠細胞の存在を観察しているが、著者の電顕検索ではこれを見出し得なかつた。

Cramer & Alpers (1932) は光顕検索により、oligo. の内部に centrosome の存在を主張したが、電顕では Bunge, Bunge & Ris (1961) が脊髄脱髄実験で reactive macroglia 内に、2 個の中心小体の存在を確認している。著者の今回の所見もこれに一致する。2 個の中心小体の内の 1 個から繊毛が生ずるという Sorokin (1962) の説が正しいとすれば、中心小体と繊毛が同一膠細胞内に併存しても矛盾はしない。著者の観察で、胞体の辺縁近くに存在し、輪状の断面を示す細胞限界膜により周囲を包みこまれているものは、明らかに繊毛と思われるが、他にも種々の形態が認められ

るところから、さきに Gibbons & Grimstone (1960) が鞭毛で示したほどではないとしても、かなり標本の切断面により異なつた形を示す構造物であることが推定される。Grillo & Palay (1963) が中心小体および纖毛を Schwann 氏細胞および神経細胞内に認めていることから、膠細胞内に両者が存在することは異とするに足らない。カエルの視神経で、Maturana (1960) および Gaze & Peters (1961) らはすでに desmosomes の存在を認めている。著者の今回の検索は desmosomes が astro. 相互間の接触部に存し、oligo. にはかかる構造の存しないことを明らかにした。desmosomes は marginal cells の形の astro. において特に著明である。desmosomes に附随した tonofilaments が相対する 2 細胞間を穿通しているか否かは議論されるところだが、前述のように desmosomes の間の細隙に 3 暗薄層が存在すること、tonofilaments は必ずしも plaques に対して垂直の位置を示さず、平行に走る場合も多いこと、および plaques 間の電子密度が tonofilaments 束のよりも小さいこと等から推して、両細胞間に穿通している可能性は考えられない。著者が見た 3 暗薄層の存在は、Odland (1958) が電顕像を densitometer を用いて観察して確認したものに一致する。また desmosomes の部で細胞間の細隙がやや大きくなることは、さきに本陣、泉、大和 & 奥村 (1957) および本陣、津田、松田 & 高橋 (1961) が腸上皮の terminal bars で観察した所見と一致する。

II. 変性所見

A. 有髄神経線維

1. 軸 索

二次変性過程で、軸索内の mito. が膨化し、崩壊することは、すでに多くの記述があり (本陣 & 中村, 1956; Vial, 1958; Honjin, Nakamura & Imura, 1959; 高橋, 1961; Honjin & Takahashi, 1962; 駒井, 1962), また mito. がその電子密度を増すことは、Rouiller (1960) が, mito. の変性の一種として記述しているところで、Hess (1960), Webster (1962), 駒井 (1962) らが二次変性時のそれを報告している。特に Webster (1962) は dense body と命名したものが mito. から由来することを示唆している。彼はまた、mito. が軸索の局所に集積することを報じているが、著者の有髄線維の変性時の観察では、かかる所見に接しなかつた。軸索内の一部の mito. が、術後かなりの時期まで残存することは、高橋 (1961), Honjin & Takahashi (1962) がすでに指摘しているが、今回の観察で、変性により電子密度が大となつた軸索内

に、膨化せる mito. が存し、著しく電子密度が大となり、しかもかなりのちまで cristae の形骸を保つものがあることを確認した。しかし軸索の変性の間に、表面の限界膜に凹凸を生じ、やがて破壊して崩壊すると思われる mito. の像をも認めた。軸索の収縮変形にもかかわらず、上記のようなかなり後まで構造を保つ mito. があることは、mito. の崩壊が徐々に行なわれていることを推測せしめるものがある。

神経線維が走行を乱し、崩壊する所見は、さきの本陣 & 中村 (1956), Vial (1958), Honjin, Nakamura & Imura (1959), 高橋 (1961), Honjin & Takahashi (1962) らの所見に全く一致するが、上記の末梢神経の場合と異なり、変性崩壊にいたる時間は、著者の視神経の場合、はるかに長い。軸索の収縮像に関しては、すでに哺乳類の視神経の二次変性で、Ramón y Cajal (1928) が、術後 7~8 日で軸索が varicose あるいは bead-like となり、従つて神経線維は fusiforms と pale bridges とが交互にならんだ形を呈すると述べている。Cone & MacMillan (1932) も術後 8 日で、不規則な varicosities を示すと述べている。以上の光顕で見られた局所的に腫大した線維は、今回の軸索の収縮変形の所見と一致するものと思われる。髄鞘の変形の結果生じた楕球形の物質内に囲まれる変性軸索は、Ramón y Cajal (1928), Weddell & Glees (1941) らが末梢神経で「digestive chamber」と名付けた部分と一致する部分であろう。いずれにしても、著者の今回の所見から、中枢神経系の有髄線維の変性においては、軸索の変性が、髄鞘の変性よりも早く起こることは確実である。ただ末梢神経に関する Honjin, Nakamura & Imura (1959), 高橋 (1961), Honjin & Takahashi (1962) の報告と比較すると、使用動物が同一であるにもかかわらず、著者の視神経の実験においては、tub. e. r., mito., 神経細線維の変性崩壊の過程が徐々であり、かなり長時間を要することが、著しく末梢神経の場合と異なる。

2. 髄 鞘

軸索の変化が髄鞘の変化に先行するか否か、以前光顕による研究で議論されたところであるが、さきに本陣 & 中村 (1956), Honjin, Nakamura & Imura (1959), 高橋 (1961), Honjin & Takahashi (1962) らが、軸索の変化が髄鞘のそれに先行することを、末梢神経で証明したが、今回著者は中枢神経で同様に軸索の変化が先行することを確認した。

髄鞘に起こる最初の変化は、髄鞘の変形であり、翻転により生じた大小の球状体は、Ramón y Cajal (1928) が「ellipsoids」の名称で呼んだものの一部であ

り, Guth (1956) が物理的 myelin 崩壊段階と称した時期に相当する. Spielmeyer (1929), Noback & Montagna (1952) らによると, 変性のこの段階の髄鞘は, 組織化学的には, 正常髄鞘とはほとんど明らかな差異がないという. Vial (1958), Glimstedt & Wohlfart (1959), 高橋 (1961), Honjin & Takahashi (1962) さらに視神経で, 駒井 (1962) が記述しているように, この時期には, 髄鞘内部に未だ基本的な変化が起きず, 従って板層構造が保持されていることを示している.

変形した髄鞘は, 次には崩壊に陥るが, その時期に関して, 哺乳類で Spielmeyer (1929), Guth (1956) は術後8日目を, Noback & Montagna (1952) は術後10日目を指摘しているが, 今回の著者の実験結果は, 両棲類中枢神経系では, 髄鞘の化学分子の崩壊は哺乳類より遅れることを示している. おそらくこの時期は Guth (1956) が化学的崩壊段階, Spielmeyer (1929) が Marchi 反応陽性である Marchistadium と呼んだものに一致すると考えられる.

崩壊過程の前駆とみなされる, 好オスミウム顆粒の出現は, 変性実験以外にも, Millington & Finean (1961) によつて, 正常神経線維に, 固定前に塩類や昇汞を作用させた際にも出現することが報ぜられている.

著者の所見に見られる髄鞘板層構造の剝離は, 内・外側剝離, 疎化 myelin 体の形成を問わず, 周期間線部から起こることは, 高橋 (1961), Honjin & Takahashi (1962) の所見と一致する. Robertson (1958) は末梢神経線維を低稠液に浸すと, 髄鞘板層膜がすみやかに周期間線部から剝離することを認めているが, これらの所見はいずれも周期間線部が髄鞘中最も感受性に富む部分であることを示している.

狭層髄鞘は, さきに高橋 (1961) および Honjin & Takahashi (1962) が記述した狭層結晶と類似の構造を示すが, 彼らの狭層結晶が Schwann 氏細胞質内で, おそらく lipo-protein が再配列することにより形成されると考えられるに反し, 著者の狭層髄鞘は髄鞘自体が直接変化したものであると考えられ, このことは本報告の写真23の一見から明らかであろう.

髄鞘の板層薄膜が, その周期間線部よりの解離によつて崩壊する時期について, これらは直接または髄鞘小胞の状態を経て, 髄滴の状態に変化するが, この時期は, 光顕検索において Spielmeyer (1929) が Scharlachrotstadium と名付けた時期に相当する. oligo. の細胞質内に存在する酵素系の作用を受けて, 髄鞘薄膜系の蛋白・lipoid 等が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 親和性を増大し, その

結果電顕像には電子密度大な影像として現われるものであろう. 髄滴の発現ならびに消褪の過程は, 末梢神経系で高橋 (1961), Honjin & Takahashi (1962) によつて報告されたものと, 発規の時期の問題を除くほか, ほとんど一致する. またこの時期に, oligo. の細胞質内に e. r.・mito.・Golgi 装置などが増加することは, 細胞内酵素系が活潑に働いていることを示している.

3. Ranvier 氏絞輪の変化

末梢神経変性の早期に, 高橋 (1961), Webster (1962), Honjin & Takahashi (1962) らが指摘した, 絞輪部の mito. 集積像は, 今回の観察では余り顕著ではなかった. 髄鞘端の変形および無髄部の変形蛇行は高橋 (1961), Honjin & Takahashi (1962) の観察に一致するが, その発現は時間的にかなり遅れる. 術後12日以後に, Ranvier 絞輪の myelin loop の間の所々に, 均一密度の球状塊が出現することは, 著者によつてはじめて見出されたところである. その由来に関しては明瞭ではないが, 電子密度の点から, これが lipid を主とした物質であり, 変性物質であることは疑いない.

B. 無髄神経線維

従来光顕, 電顕を問わず, 無髄線維の変性に言及した神経二次変性に関する報告は少ない.

Honjin, Nakamura & Imura (1959) は, 有髄線維の変性よりかなり遅れて, 無髄線維が変性を起こすと報じ, 軸索内の mito. の膨化を指摘している. また Webster (1962) は一部の無髄線維で, 軸索内に mito. が局在集積し, mito. の一部は電子密度を増し, さらにその部分が局在的に太くなつていと述べている. これらの所見は著者の変性初期の所見と全く一致する. mito. の変性に関しては, 有髄線維軸索で前述した如く, Rouiller (1960) が詳述しているが, 彼によれば, mito. の変性の1型として膨化をあげ, これをさらに2型に分けている. 最初の1型は普通に見られるもので, matrix の電子密度が小さくなり膨化するもので, 他の1型は稀なもので, matrix 内物質の電子密度上昇のため cristae が消失するか, または全体が大電子密度物質によりおおわれてしまうと記述しているが, 著者の見た無髄線維に見られる mito. の変性は, 全く後者に相当するものである. かかる mito. の電子密度の増加は, 神経二次変性の軸索内の mito. に特異的に出現するもので, すぐ近傍に存する神経膠細胞の mito. にはかかる変化は認められない.

術後1週間より顕著に出現する, 軸索内の tub. e. r. の断裂による小胞への移行は, Webster (1962) が e. r. の変化として述べたところに一致し, 著者の観察

したところでは、*tub. e. r.* は膨化の後、このような崩壊過程をとるものと考えられる。

第3週以後に軸索膜が表面に小凹を生じ、軸索が全体として萎縮し、部分的な肥大と縮小のために本来の円柱形を失って、珠数状を呈し、やがて粗雑な薄膜系となり、崩壊の運命をたどることは、すでに述べたとおりで、この際神経膠細胞の肥大が大きな役割を演ずるものと推定される。有髄線維が、著者の観察では、すべて変性するのに対し、無髄線維の一部が、術後9～10週においてなお認むべき変性所見を示さぬことは、著者の変性実験の期間が、なお短かすぎたということも考えられないことはないが、極めて注目すべき所見で、これらの無髄軸索は少数が増殖した神経膠細胞の突起の間に僅かに残存するにすぎず、あるいはこの変性を示さぬ線維が遠心性線維であるとの可能性も推論され得る。*Cone & MacMillan (1932)* は視神経内に遠心性線維の存在を認め、最近においても *Armstrong (1951)* がヘビ、*Wolter & Liss (1956)* および *Wolter (1960)* はヒトで、さらに *Gaze (1960)* は両棲類において、いずれも光顕検索に基づいて、その存在を報告している。

C. 神経膠細胞

Cone & MacMillan (1932) は、変性初期に、線維性星状膠細胞の核が大きくなり、細胞質も増大するが、このとき内部に神経膠線維の証明が不可能になり、変性が進展すると、細胞分裂により、細胞の大きさが小型となり、数を増すが、一方貪食細胞が出現する際には、*oligo.* はほとんど染色されず、貪食が終ると、小型の *astro.* だけが染色されてくることから、*oligo.* から *astro.* への移行も考えられると述べている。最近駒井 (1962) は、 KMnO_4 固定切片を用いて、電顕による研究を行ない、変性初期に *astro.* の小器官は発達し、変性とともにその細胞質も肥大すると記述しているが、*oligo.* の変化にはふれていない。著者の観察では、変性の如何なる段階においても、*oligo.* と *astro.* の両型の細胞は共存し、一方が他方へ移行することは考えられない。*astro.* は OsO_4 固定による時、原則としてその胞体の構成分に乏しく、従って極めて電子密度が小で、大きな細胞体と、かなり太い突起を有し、しかもこの部の *astro.* は原則として胞体および突起内に多数の神経膠細胞線維を保有している。しかも *astro.* はそれら相互の接着部には *desmosome* 構造が正常、変性時を問わず存在する。これに反し、*oligo.* は神経膠細胞線維を欠き、胞体内にかなりの量の細胞小器官を保存し、突起の細胞質内にも小胞多数を入れていることが多い。このような所見から2細胞の

区分は必ずしも困難ではない。

今一つの問題点は、神経膠細胞の貪食機能の問題であるが、*Ramón y Cajal (1928)* および *Cramer & Alpers (1932)* らは神経膠細胞に貪食機能の存在を認めている。特に *Cramer & Alpers (1932)* は *oligo.* は貪食作用を示す最初の神経膠細胞であり、後に小膠細胞が参加すると述べ、さらに *oligo.* は *axomyeline* 物質を貪食して脂肪に変える作用を有し、一方 *astro.* は最初支持細胞としてのみ働き、後に脂肪および変性産物を抱えるが、大神経膠細胞の最終機能は、変性部に瘢痕を形成することであると述べている。著者の前述の電顕所見は、明確に *oligo.* の貪食作用を実証したもので、髄鞘や軸索の崩壊産物が、主として *oligo.* の細胞質内で酵素作用を受けて変化する過程を形態学的に把握したものと考えられる。しかし小膠細胞および白血球による貪食像には接しなかった。

末梢神経の *Schwann* 氏細胞が、髄鞘等の貪食に関与することは、さきに高橋 (1961)、*Honjin & Takahashi (1962)* によつてその微細構造的変化過程が明らかとされたわけだが、今回の著者の観察により、同じく髄鞘形成細胞である *oligo.* が、同様に貪食機能を有し、変性物質の除去に大きな作用を示し、かつまた *astro.* の肥大と突起の増殖が著しく、ために局所における *neuron* と膠細胞の構築に正常に比して大きな変化が招来され、この変化結果は、末梢神経における *Schwann* 氏細胞の肥大所見と著しく相違し、*astro.* による瘢痕組織とも呼ぶべきものが、想像以上に微細構造的に強力であり、このことが中枢神経系における再生機能阻害の最大原因であることが明らかとなった。なお変性後期に、著者によつて初めて見出された *oligo.* の突起の部に形成される、同心性の粗な膜系の集積は、明らかに同膠細胞の増殖性変化の一端を示すもので、おそらく機能昂進した *oligo.* がその突起末端において髄鞘形成の際と似た作用を示すにもかかわらず、目的とする軸索の新生なきため、かかる新生物を形成するものと推定される。

結 論

OsO_4 ならびに KMnO_4 固定、*Araldite* および *styrene-methacrylate* 包埋、さらに KMnO_4 、 PbO ならびに Pb(OH)_2 電子染色を施した成熟トノサマガエル視神経について、正常ならびに二次変性時の有髄・無髄神経線維および神経膠細胞の微細構造とその経時的変化過程を術後24時間ないし66日にわたつて、電子顕微鏡により観察し、次の結果を得た。

A. 正常所見

(1) カエル視神経は、軟膜・クモ膜および硬膜の3層からなる視神経鞘に包まれ、有髄・無髄神経線維、稀突起膠細胞、星状膠細胞ならびに毛細血管により構成される。

(2) 中枢の有髄神経線維の髄鞘は、稀突起膠細胞の突起である outer myelin loop の細胞限界膜に連続し、渦巻状の板層構造を示したのち、内側端および絞輪端に、それぞれ細胞質を含む inner myelin loop および nodal myelin loop を有する。最内側の髄鞘単位膜と軸索膜の間に厚さ $50\sim70\text{\AA}$ の隙間がある。これは末梢有髄線維の Mauthner 氏鞘に相当する。

(3) 隣接有髄線維の接着部には、髄鞘板層膜間に隙間を認めず、密接する。

(4) 中枢神経有髄線維に、Ranvier 氏絞輪の構造が存在するが、Schmidt-Lanterman 氏切痕は認められなかった。

(5) 中枢神経有髄線維の髄鞘板層周期は、末梢神経に比しやや小さい。

(6) 無髄軸索は多数が束をなして走り、この際個々の軸索に対する mesaxon は存在しない。

(7) 神経膠細胞細胞質には中心小体、ならびにそれより派生せる繊毛が存在する。

(8) カエルの視神経の星状膠細胞、ならびに marginal cells は desmosomes を有し、互いに結合している。

B. 変性所見

(1) 最も早く出現する変化は、有髄線維軸索の変性で、次いで髄鞘の変形ならびに崩壊が起こる。無髄線維ははるかに遅れて変性を示す。一部の無髄軸索は術後10週にいたるも変性を示さない。両神経膠細胞ともに神経線維の変性に反応を示し、貪食と瘢痕形成作用を示す。

(2) 有髄線維軸索の各小器官は、術後漸次崩壊し、術後12日頃には軸索は細顆粒状を呈し、軸索膜も断裂する。軸索は順次収縮変形して全体に電子密度を増し、mito. の一部はかなり後まで cristae の形骸を止める。術後3週で軸索は密度大な均質物に変じ、4週目には逆に電子密度を減じ、次いで切れこみや離断が生じて拡散消失する。

(3) 髄鞘の変化は軸索のそれに次いで起こり、術後2週で内髄・外髄による変形が著明となる。変形髄鞘はその初期には、正常板層構造を保持している。

(4) 変形に次いで、髄鞘の分子構造の崩壊が現われる。崩壊の前駆所見は髄鞘間線部に現われる大きさ $40\times100\sim300\text{\AA}$ の長紡錘形の好オスミウム顆粒の出現である。次いで髄鞘内および外側剝離・狭層髄鞘・髄

鞘融解・疎化 myelin 体・髄鞘小胞・髄滴等の崩壊像が認められる。

(5) 前項の崩壊過程は、初めは膠細胞の細胞質外で起こるが、後期にいたると崩壊物質は稀突起膠細胞の細胞質内に貪食され、その部で髄滴を経て消失する。このような変性は術後3週より認められ、術後7週に最も顕著である。

(6) Ranvier 氏絞輪部の無髄部軸索は術後9日頃直径が狭くなり、第2週の終り頃 nodal myelin loops 間の隙間に均一な電子密度を示す球状変性部質が出現する。術後3週には無髄部が蛇行し、次いで離断する。

(7) 無髄線維の軸索は平滑な円柱形を失い、太細区々の索状を呈し、mitochondria の膨化と電子密度の増大、軸索膜の凹凸萎縮等を示し、やがて崩壊する。

(8) 稀突起膠細胞は神経線維の変性に伴ない、反応を示す。術後1週頃より細胞質が豊富となり、小器官も増大し、術後2週には突起の伸展と核の辺在を認める。術後24日には崩壊物質の貪食も顕著となり、髄滴の周辺に mitochondria および endoplasmic reticulum の顕著な発達を認める。

(9) 稀突起膠細胞の突起によって形成される同心性の粗な薄膜系の形成が認められる。

(10) 星状膠細胞は変性期に肥大し、多数の突起が伸展し、神経線維の既存部を満たし、瘢痕形成に寄与する。

稿を終るに臨み、御懇篤なる御指導と御校閲を賜わった恩師本陣教授に深謝いたします。またいろいろ御配慮頂いた教室の諸先生および電子顕微鏡室の諸氏に感謝いたします。

文 献

- 1) Armstrong, J. A. : J. Anat. London, 85, 275 (1951).
- 2) Barton, A. A. : Brain, 85, 799 (1962).
- 3) Breusch, S. R. & Arey, L. B. : J. Comp. Neurol., 77, 631 (1942).
- 4) Bunge, M. B., Bunge, R. P. & Pappas, G. D. : J. Cell Biol., 12, 448 (1962).
- 5) Bunge, M. B., Bunge, R. P. & Ris, H. : J. Biophysic. and Biochem. Cytol., 10, 67 (1961).
- 6) Bunge, R. P. & Bunge, M. B. : J. Biophysic. and Biochem. Cytol., 7, 685 (1960).
- 7) Cone, W. & MacMillan, J. A. : Cytology and cellular pathology of the nervous system, edited by W. Penfield, New York, p. b. Hoeber, II, 837 (1932).
- 8) Cramer, F. & Alpers, B. J. : Arch. Path., 13, 23 (1932).

- 9) De Robertis, E., Gerschenfeld, H. M. & Wald, F. : J. Biophysic. and Biochem. Cytol., 4, 651 (1958).
- 10) Elfvin, L-G. : J. Ultrastr. Res., 5, 51 (1961).
- 11) Farquhar, M. G. & Hartmann, J. F. : J. Neuropath. Exp. Neurol., 16, 18 (1957).
- 12) Fernández-Morán, H. & Finean, J. B. : J. Biophysic. and Biochem. Cytol., 3, 725 (1957).
- 13) Gaze, R. M. : International Review of Cytology, edited by C. C. Pfeiffer, & J. R. Smythies, New York and London, p. b. Academic Press, II, 1 (1960).
- 14) Gaze, R. M. & Peters, A. : Quart. J. Exp. Physiol., 46, 299 (1961).
- 15) Gibbons, I. R. & Grimstone, A. V. : J. Biophysic. and Biochem. Cytol., 7, 697 (1960).
- 16) Glauert, A. M. & Glauert, R. H. : J. Biophysic. and Biochem. Cytol., 4, 191 (1958).
- 17) Glimstedt, G. & Wohlfart, G. : Acta Morph. Neerl.-Scand., 3, 135 (1960).
- 18) Gray, E. G. : J. Anat. London, 93, 420 (1959).
- 19) Grillo, M. A. & Palay, S. L. : J. Cell Biol., 16, 430 (1963).
- 20) Guth, L. : Physiol. Rev., 36, 441 (1956).
- 21) Hess, A. : J. Biophysic. and Biochem. Cytol., 7, 339 (1960).
- 22) Hibbs, R. G. & Clark, W. H. : J. Biophysic. and Biochem. Cytol., 6, 71 (1959).
- 23) Holmes, W. & Young, J. Z. : J. Anat. London, 77, 63 (1942).
- 24) Honjin, R. : Okajima. Folia Anat. Jap., 27, 179 (1955).
- 25) 本陣良平 : 生体の化学, 8, 110 (1957 a).
- 26) 本陣良平 : 総合医学, 14, 673 (1957 b).
- 27) 本陣良平 : 細胞化学 シンポジウム, 5, 109 (1957c).
- 28) Honjin, R. : Okajima. Folia Anat. Jap., 30, 257 (1957d).
- 29) 本陣良平 : 解剖誌, 34, 43 (1959).
- 30) 本陣良平 : 脳と神経, 12, 5 (1960a).
- 31) 本陣良平 : 解剖誌, 35, 429 (1960 b).
- 32) 本陣良平 : 内分泌と代謝, 2, 43 (1960 c).
- 33) 本陣良平 : 最新医学, 16, 851 (1961).
- 34) 本陣良平 : 神経研究の進歩, 6, 41 (1962).
- 35) Honjin, R. & Changus, G. W. : Okajima. Folia Anat. Jap., 39, (1963).
- 36) 本陣良平 & 平松京一 : 解剖誌, 36, 375 (1961).
- 37) 本陣良平・泉 外美・大和一夫 & 奥村隆彦 : 十全医会誌, 59, 1093 (1957).
- 38) Honjin, R., Kosaka, T., Takano, I. & Hiramatsu, K. : Okajima. Folia Anat. Jap., 39, 39 (1963).
- 39) 本陣良平 & 中村俊雄 : 解剖誌, 31, 78 (1956).
- 40) 本陣良平 & 中村俊雄 : 化学, 18, 688 (1963).
- 41) Honjin, R., Nakamura, T. & Imura, M. : Okajima. Folia Anat. Jap., 33, 131 (1959).
- 42) 本陣良平 & 西 正美 : 解剖誌, 33, 242 (1958).
- 43) Honjin, R. & Takahashi, A. : J. Electronmicroscopy, 11, 139 (1962).
- 44) Honjin, R., Takahashi, A., Nakamura, A. & Taniguchi, H. : Okajima. Folia Anat. Jap., 38, 387 (1962).
- 45) 本陣良平・高橋 暁 & 西 正美 : 十全医会誌, 67, 462 (1961).
- 46) 本陣良平・津田宏信・松田 基 & 高橋 暁 : 解剖誌, 36, 289 (1961).
- 47) Horstmann, E. & Knoop, A. : Z. Zellforsch., 47, 348 (1958).
- 48) Hudson, G. & Hartmann, J. E. : Z. Zellforsch., 54, 147 (1961).
- 49) 藤田尚男 : 最新医学, 16, 831 (1961).
- 50) Karnovsky, M. J. : J. Biophysic. & Biochem. Cytol., 11, 729 (1961).
- 51) 駒井 健 : 日眼会誌, 66, 1353 (1962).
- 52) Kushida, H. : J. Electronmicroscopy, 10, 16 (1961).
- 53) Lawn, A. M. : J. Biophysic. and Biochem. Cytol., 7, 197 (1960).
- 54) Lee, J. C. : J. Comp. Neurol., 120, 65 (1963).
- 55) Luft, J. H. : J. Biophysic. and Biochem. Cytol., 2, 794 (1956).
- 56) Luse, S. A. : J. Biophysic. and Biochem. Cytol., 2, 531 (1956).
- 57) Luse, S. A. : Anat. Rec., 138, 461 (1960).
- 58) Maturana, H. R. : Nature, 183, 1406 (1959).
- 59) Maturana, H. R. : J. Biophysic. and Biochem. Cytol., 7, 107 (1960).
- 60) Michaelis, L. : Biochem. Zeits., 224, 139 (1931).
- 61) Millington, P. F. & Finean, J. B. : J. Ultrastr. Res., 5, 470 (1961).
- 62) Nageotte, J. : Cytology and cellular pathology of the nervous system, edited by W. Penfield, New York, p. b. Hoeber, I, 189 (1932).
- 63) Noback, C. R. & Montagna, W. : J. Comp. Neurol., 97, 211 (1952).
- 64) Odland, G. F. : J. Biophysic. and Biochem. Cytol., 4, 529 (1958).
- 65) Ohmi, S. : Z. Zellforsch., 54, 39 (1961).
- 66) Palade, G. E. : J. Exp. Med., 95, 285 (1952).
- 67) Palay, S. L. : J. Biophysic. and Biochem. Cytol., 4, suppl., 193 (1956).

68) Parker, G. H. : Am. J. Physiol., **106**, 398 (1933). 69) Peters, A. : J. Biophysic. and Biochem. Cytol., **7**, 121 (1960a). 70) Peters, A. : J. Biophysic. and Biochem. Cytol., **8**, 431 (1960b). 71) Peters, A. : J. Biophysic. and Biochem. Cytol., **11**, 733 (1961). 72) Peters, A. : Internationaler Kongress für Neuropathologie, edited by H. Jacob, **II**, 50 (1962a). 73) Peters, A. : J. Anat. London, **96**, 237 (1962 b). 74) Ramón y Cajal, S. : Degeneration and regeneration of the nervous system, trans. and ed. by R. M. May, Oxford University Press (1928). 75) Robertson, J. D. : J. Biophysic. and Biochem. Cytol., **4**, 349 (1958). 76) Rouiller, C. : International Review of Cytology, edited by G. H. Bourne and J. F. Danielli, New York, p. b. Academic Press, **IX**, 227 (1959). 77) Schultz, R. L., Maynard, E. A. & Pease, D. C. : Am. J. Anat., **100**, 369 (1957). 78) Selby, C. : J. Biophysic. and Biochem. Cytol., **1**, 429 (1955). 79) Sorokin, S. : J. Cell Biol., **15**, 363 (1962). 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) 魚津 竹男 : 十全医会誌, **64**, 289 (1959). 83) Uzman, B. G. & Villegas, G. M. : J. Biophysic. and Biochem. Cytol., **7**, 761 (1960). 84) Vial, G. D. : J. Biophysic. and Biochem. Cytol., **4**, 551 (1958). 85) Waller, A. : Philos. Trans., **140**, 423 (1850). (Honjin, R. & Takahashi, A. 1962より引用). 86) Watson, M. L. : J. Biophysic. and Biochem. Cytol., **4**, 727 (1958). 87) Webster, H. de F. : J. Cell Biol., **12**, 361 (1962). 88) Weddell, G. & Glees, P. : J. Anat. London, **76**, 65 (1941). 89) Whitear, M. : J. Anat. London, **94**, 387 (1960). 90) Wolter, J. R. : Arch. Ophth., **64**, 697 (1960). 91) Wolter, J. R. & Liss, L. : von Graefes Arch. Ophth., **158**, 235 (1956). 92) 由利嘉章・駒井 健 & 村井正明 : 日眼会誌, **64**, 1630 (1960). 93) Yuri, Y., Komai, T. & Murai, M. : Jap. J. Ophthal., **5**, 123 (1961).

Abstract

The changes in the ultrastructure of secondary degeneration of the optic nerves of the adult frog were studied by electron microscopy. The nerves were examined from 1 to 66 days following the enucleation of the eyeballs. The results obtained were summarized as follows.

The myelin sheath of the normal optic nerve shows a spiral structure which tightly envelops the axon and is connected with the outer, inner and nodal myelin loops. The myelinated fibers have the structure of the node of Ranvier, but the so-called Schmidt-Lanterman cleft is absent. Many unmyelinated axons are situated in large groups running in the form of bundles. Each of them is not accompanied by the mesaxon. There are found centrioles and cilia in the neuroglial cells.

The earliest changes of secondary degeneration appear in the myelinated axons. The organelles in the axon are gradually disintegrated into rough granular materials and the axon membranes are fragmented about 12 days after operation. The axons retract and increase its electron density, but a part of mitochondria have kept the cristae in this stage. Subsequently deformation and disintegration occur in the myelin sheath. The deformation caused by invagination and exvagination of myelin tube becomes distinct 2 weeks after operation. The preliminary sign of disintegration is an appearance of elliptic osmiophilic granules along the interperiod lines of myelin sheath in the 3rd postoperative week. Subsequently the internal and external exfoliations of myelin membranes, the compound lamellae, the dissolution of myelin sheath, the loosed myelin bodies, the myelin vesicles and the myelin droplets are observed in succession. In the early stage, the disintegration process occurs outside the neuroglial cytoplasm, but later the disintegrated materials are taken into the oligodendroglial cytoplasm and are transformed into the myelin droplets which disappear there. These degenerative phenomena are observed on and after the 21st postoperative day and become pro-

minent on the 7th postoperative week.

The axon in the node of Ranvier becomes smaller in diameter about 9 days after operation and a large spherical material of uniform density appears between the nodal myelin loops at the end of the 2nd week. Then the axon of this region lengthens and is interrupted.

The degeneration in the unmyelinated fibers are considerably delayed. The unmyelinated axon loses its smooth cylindrical contour and assumes a beaded cord, which shows electron-dense swollen mitochondria and an uneven axon membrane. The degenerated axons are disintegrated into coarse materials and at last disappear. A part of unmyelinated axons show no degenerative phenomenon even 10 weeks after operation.

Both types of the neuroglial cells show proliferation. The phagocytosis of the disintegration materials becomes prominent and the distinct development of mitochondria and endoplasmic reticula around the myelin droplets are observed 24 days after operation. A body of concentric loosed membranes formed by the processes of oligodendroglial cells are observed. The processes of astrocytes develop prominently during the degeneration, and fill up the regions of degenerated nerve fibers to take participation of cicatrix formation.

写真説明

写真はすべて 1% OsO_4 固定の材料より得たものである。包埋および染色の種類は個々の説明に記してある。

写真の略号説明

c, 中心小体; db, dense body; es, extracellular space; G, Golgi 薄膜; Gv, Golgi 小胞; il, inner myelin loop; mt, 糸粒体; ol, outer myelin loop; rc, radial component;

Plate I

写真1 正常有髓線維の横断。中央の有髓線維に inner および outer myelin loop が認められ、その内部に小胞が見える。軸索内に小器官の横断像が観察される。同一線維においても、部位により髄鞘板層周期の幅が僅かながら異なっている。styrene-methacrylate (以下「S-M」と略記) 包埋, PbO 染色, $\times 48,000$

写真2 正常視神経の横断。無髓線維は互いに約 200\AA の細隙で接し、同軸索内に tub. e. r., mito. および神経細線維の横断像が観察され、下方に星状膠細胞の2突起間に desmosomes が認められる。S-M 包埋, PbO 染色, $\times 24,000$

写真3 正常視神経の横断。中央に星状膠細胞およびその突起が見える。左上方に8個の desmosomes が連続して認められる。S-M 包埋, PbO 染色, $\times 12,000$

写真4 術後35日の星状膠細胞の一部。desmosome の微細構造が認められる。Araldite 包埋, KMnO_4 染色, $\times 60,000$

Plate II

写真5 正常髄鞘の横断。周期線および周期間線が明瞭に観察される。Araldite 包埋, KMnO_4 染色, $\times 200,000$

写真6 正常星状膠細胞の胞体。2個の中心小体の横断像ならびに Golgi 薄膜, Golgi 小胞, ribosomes, 膠細線維および dense body が認められる。S-M 包埋, PbO 染色, $\times 45,000$

写真7 正常星状膠細胞の胞体ならびに無髓線維の縦断。胞体の辺縁に絨毛が認められ、その周囲に extracellular space が存在する。無髓線維内の tub. e. r. の縦断像に注目。S-M 包埋, PbO 染色, $\times 30,000$

写真8 術後5日の有髓線維の縦断。神経細線維の走行が乱れ、右方の有髓線維内に軸索膜および正常に近い mito. が認められる。S-M 包埋, PbO 染色, $\times 20,000$

Plate III

写真9 術後14日の有髓線維。中央の有髓線維の軸索は細顆粒状となり、軸索膜は断裂を示す。mito. は cristae が膨化してはいるが残存している。上方の有髓線維軸索の変性の程度は、前者に比して弱い。S-M 包埋, PbO 染色, $\times 24,000$

写真10 術後16日の有髓線維。変形線維内に残存する軸索は、細顆粒状でしかも電子密度が、写真9のものに比して大きい。mito. は膨化し、その一部は崩壊を示す(矢印)。軸索膜らしき構造がかろうじて残存する。Araldite 包埋, PbO 染色, $\times 24,000$

写真11 術後22日の有髓線維。翻転により拡大した部の髄鞘で、軸索の軽度の収縮を示す。軸索は細顆粒

状となり、軸索膜の断裂および mito. の残存が認められる。左方髄鞘は外嚢像と思われる。Araldite 包埋, PbO 染色, $\times 17,000$

写真12 術後22日の有髄線維。電子密度の大きな軸索は均質となつている。その辺縁は電子密度が一層増加している。上方の髄鞘に好オスミウム顆粒が認められる。Araldite 包埋, PbO 染色, $\times 24,000$

Plate IV

写真13 術後28日の有髄線維。嚢転した髄鞘を示す。軸索は均質であるが、写真12のものに比し、かなり電子密度は減じている。mito. はかすかにその形骸をとどめている。S-M 包埋, PbO 染色, $\times 30,000$

写真14 術後42日の有髄線維の縦断。軸索の崩壊が著明である。S-M 包埋, PbO 染色, $\times 30,000$

写真15 術後2日の有髄線維。髄鞘内嚢像で、髄鞘と軸索との間に嚢入したもの。下方は星状膠細胞の核、上方は desmosomes である。Araldite 包埋, KMnO_4 染色, $\times 24,000$

写真16 術後21日の有髄線維。何度も内嚢をくり返すことにより、髄鞘が重層となつたもので、髄鞘が密接して、境界が不鮮明となつている。S-M 包埋, PbO 染色, $\times 30,000$

Plate V

写真17 術後21日の有髄線維。髄鞘の複雑な内嚢像を示す。軸索は完全に消失し、髄鞘には好オスミウム顆粒が見られる。左下方に髄鞘内側剝離が認められる。S-M 包埋, PbO 染色, $\times 20,000$

写真18 術後28日の有髄線維。髄鞘の内嚢像、髄鞘内側剝離および軸索の残存が見られる。S-M 包埋, PbO 染色, $\times 24,000$

写真19 術後21日の視神経の横断。複雑な髄鞘内嚢による変形、髄鞘内側剝離、無髄線維内の変性 mito. および有髄線維軸索の変性像等が認められる。大部分の無髄線維の変性は軽度である。S-M 包埋, PbO 染色, $\times 20,000$

Plate VI

写真20 術後49日の有髄線維。伸展した髄鞘の内側へ網状剝離像が見られる。特に矢印で示した所から剝離が起こっている。変性した軸索が僅かに残存している。左方に microvillus 様の突起が認められる。S-M 包埋, PbO 染色, $\times 24,000$

写真21 術後29日の有髄線維。ほぼ中央に内嚢髄鞘の髄鞘融解が認められ、かすかに層状構造が残存している。上方には髄鞘の内側網状剝離や内嚢髄鞘が見られる。Araldite 包埋, PbO 染色, $\times 24,000$

写真22 術後12日の髄鞘の縦断。髄鞘外側剝離が認

められる。S-M 包埋, PbO 染色, $\times 24,000$

写真23 術後29日の髄鞘の横断。内嚢部の髄鞘の一部の拡大像。中央および右方の髄鞘は狭層を示す。右方2内嚢髄鞘の境界部に幅の大きな1層を認める。Araldite 包埋, KMnO_4 染色, $\times 60,000$

plate VII

写真24 術後29日の髄鞘の横断。伸展した髄鞘の一部の拡大像。左方軸索側に、正常髄鞘(周期約 130\AA)に接して狭層髄鞘(周期約 70\AA)が認められる。Araldite 包埋, KMnO_4 染色, $\times 100,000$

写真25 術後24日の髄鞘の横断。髄鞘の崩壊が認められる。S-M 包埋, PbO 染色, $\times 30,000$

写真26 術後5日の Ranvier 絞輪の縦断。上方に nodal myelin loop の列が認められる。左下方に変性 mito. および膨化した tub. e. r. が認められる。S-M 包埋, PbO 染色, $\times 36,000$

写真27 術後9日の Ranvier 絞輪の縦断。無髄部が細くなり、nodal myelin loops はやや収縮し、神経細線維および tub. e. r. の断裂像が認められる。星状膠細胞の突起からの microvillus 様の突起が見られる。S-M 包埋, PbO 染色, $\times 24,000$

Plate VIII

写真28 術後9日の Ranvier 絞輪の縦断。無髄部がやや細く、nodal myelin loops は収縮し、電子密度を増している。左上方の無髄線維内に tub. e. r. が変化して、小胞を形成する像が認められる(矢印)。S-M 包埋, PbO 染色, $\times 24,000$

写真29 術後12日の Ranvier 絞輪の縦断。左上方に球状塊の形の変性物質が認められる。S-M 包埋, PbO 染色, $\times 48,000$

写真30 術後21日の Ranvier 絞輪の縦断。無髄部が細くなり蛇行を示す。左上方に球状塊の形の変性物質、さらにすべての nodal myelin loop の収縮と電子密度の増強が観察される。S-M 包埋, PbO 染色, $\times 24,000$

写真31 術後42日の Ranvier 絞輪の縦断。2個の絞輪部が伴走している。下方の node は軸索部に軸索および髄鞘の変性物質が充満し、無髄部が嚢状に膨化して見える。nodal myelin loops が消失し、小胞が髄鞘に付着するのを認める(矢印)。S-M 包埋, PbO 染色, $\times 20,000$

Plate IX

写真32 術後14日の有髄線維。変性した髄鞘を稀突起膠細胞の突起が、まさに包みこもうとしている像。S-M 包埋, PbO 染色, $\times 30,000$

写真33 術後24日の稀突起膠細胞。細胞質内に髄滴

の出現が見られる。その周囲に **mito.** が散在し、**e. r.** の腔は膨化している。**S-M** 包埋, **PbO** 染色, $\times 24,000$

写真34 術後24日の稀突起膠細胞。細胞質内に疎化 **myelin** 体が認められる。中央の疎化 **myelin** 体には変性軸索が残存しているが、下方のには残存せず、疎化の程度も顕著である。髄滴、細胞質内の小器管の増大が認められる。**S-M** 包埋, **PbO** 染色, $\times 20,000$

写真35 術後24日の稀突起膠細胞。疎化 **myelin** 体、髄滴、小器官の増強が認められる。右上方に変性 **mito.** の局在した無髄線維が見られる。**S-M** 包埋, **PbO** 染色, $\times 15,000$

Plate X

写真36 術後49日の稀突起膠細胞。髄滴内容が消失し、空胞と化しているのが観察される。しかし疎化 **myelin** 体は残存している。**S-M** 包埋, **PbO** 染色, $\times 20,000$

写真37 術後49日の稀突起膠細胞。稀突起膠細胞の細胞質内で疎化 **myelin** 体から髄鞘小胞が形成されている(矢印)。中央の髄鞘は融解を示す。**S-M** 包埋, **PbO** 染色, $\times 24,000$

写真38 術後24日の稀突起膠細胞。相接する上下2個の稀突起膠細胞が認められる。下方の稀突起膠細胞内の髄滴は内容が一部消失している。周囲に発達した星状膠細胞の突起が認められる。**S-M** 包埋, **PbO** 染色, $\times 17,000$

Plate XI

写真39 術後2日の神経線維の横断。有髄、無髄線維の軸索内に **tub. e. r.** の横断が見られる。**Araldite** 包埋, **KMnO₄** 染色, $\times 24,000$

写真40 術後21日の星状膠細胞の突起の縦断。変性 **mito.** の局在集積像および変性物質の貪食が認められる。**S-M** 包埋, **PbO** 染色, $\times 30,000$

写真41 術後24日の視神経の横断。星状膠細胞の大きな突起を認める。無髄軸索の間に稀突起膠細胞の突起によつて形成された、粗な膜の重積像を示す球体が存在する。**S-M** 包埋, **PbO** 染色, $\times 27,000$

写真42 術後35日の神経線維の縦断。無髄軸索の間に形成された、稀突起膠細胞の突起先端部の同心性重積膜の球体を示す。**S-M** 包埋, **PbO** 染色, $\times 24,000$

Plate XII

写真43 術後24日の無髄線維のほか大きな星状膠細胞の突起、稀突起膠細胞の突起の先端に形成された同心性重積膜の球体を示す。**S-M** 包埋, **PbO** 染色, $\times 36,000$

写真44 術後24日の無髄線維ならびに稀突起膠細胞。上方に無髄軸索内の変性 **mito.** および小胞を含む膨化無髄線維、中央に **mito.** の局在集積像を含む無髄線維、下方に髄滴を含む稀突起膠細胞の突起が認められる。右方に星状膠細胞内の **lipoid** 滴を認める。**S-M** 包埋, **PbO** 染色, $\times 24,000$

写真45 術後35日の稀突起膠細胞。変性髄鞘のとりこみ像。発達した **mito.**。さらには **Golgi** 薄膜, **dense bodies** も認められる。核の辺在が著明である。**S-M** 包埋, **PbO** 染色, $\times 15,000$

写真46 術後28日の稀突起膠細胞。細胞質が豊富となり、**mito.** の発達とともに、**e. r.** (矢印) も顕著となつている。**S-M** 包埋, **PbO** 染色, $\times 24,000$

Plate 1

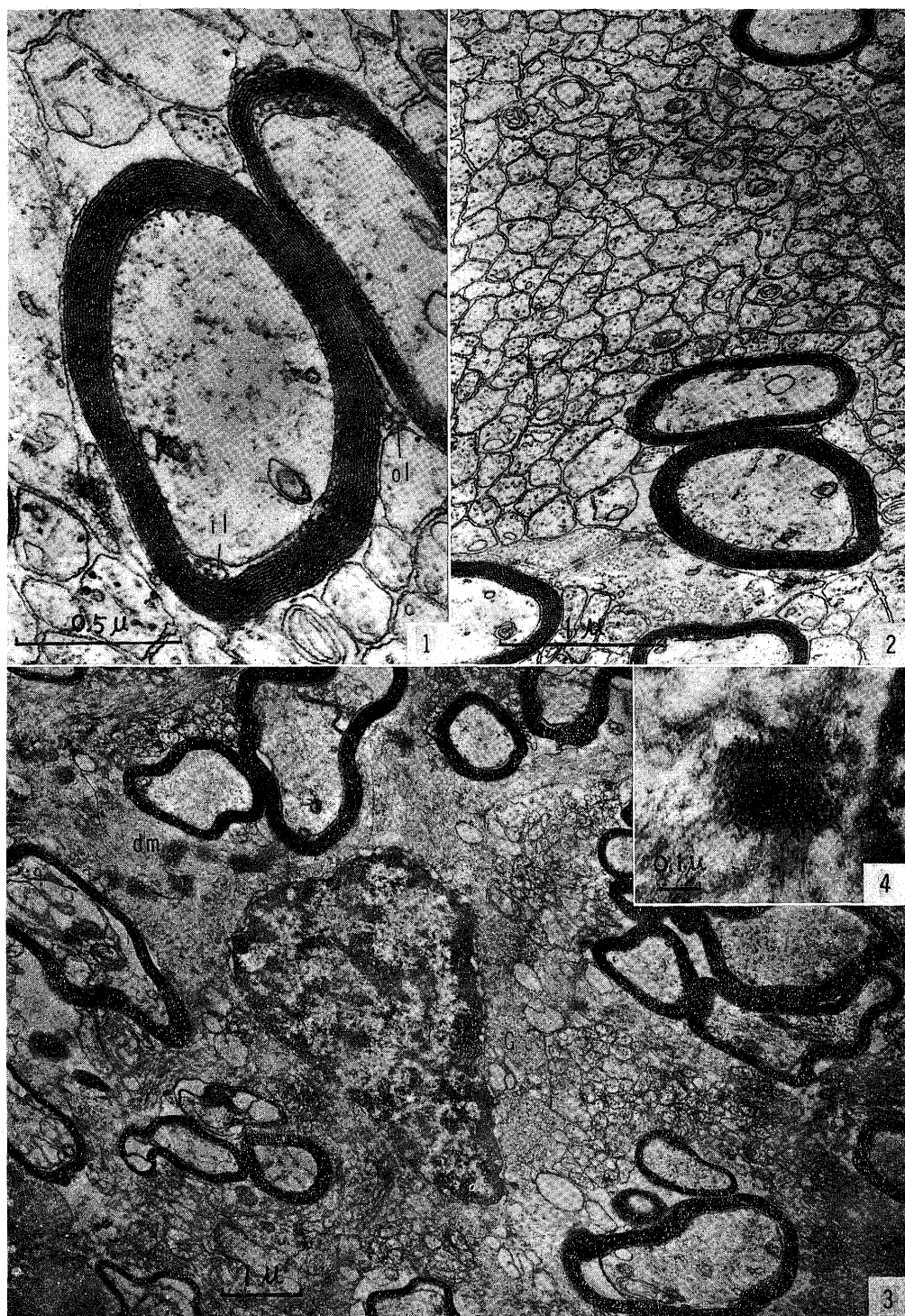


Plate 2

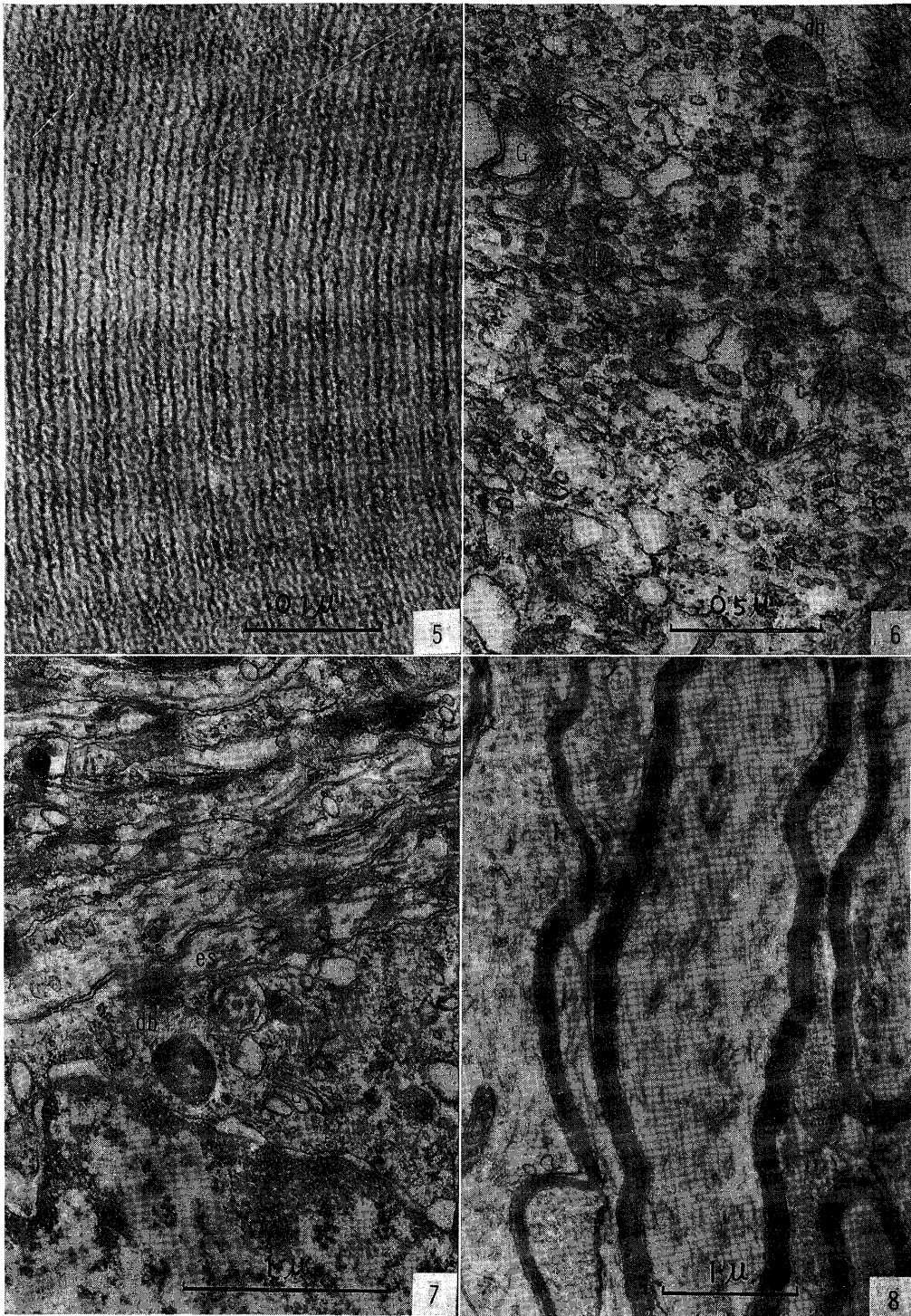


Plate 3



Plate 4

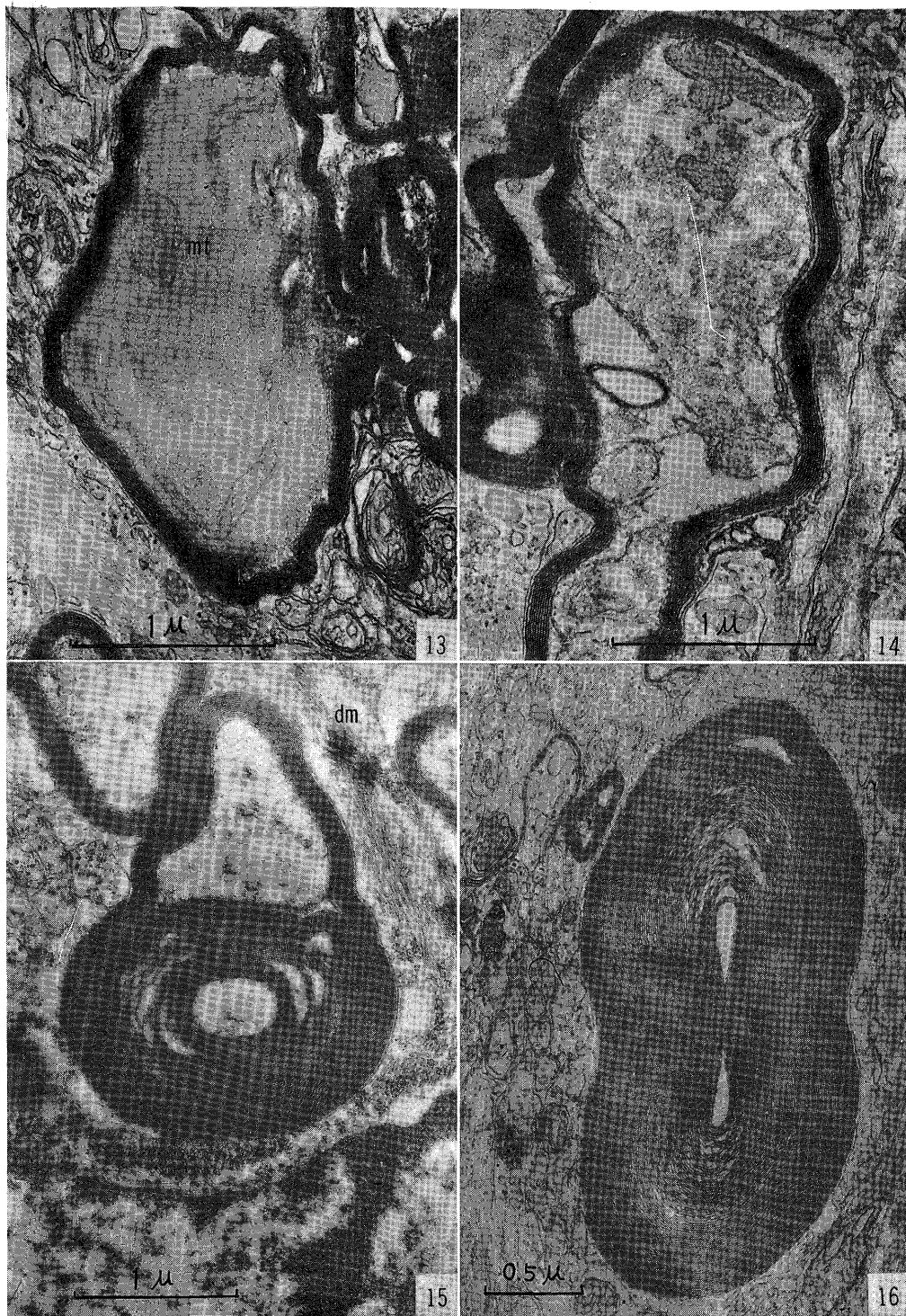


Plate 5

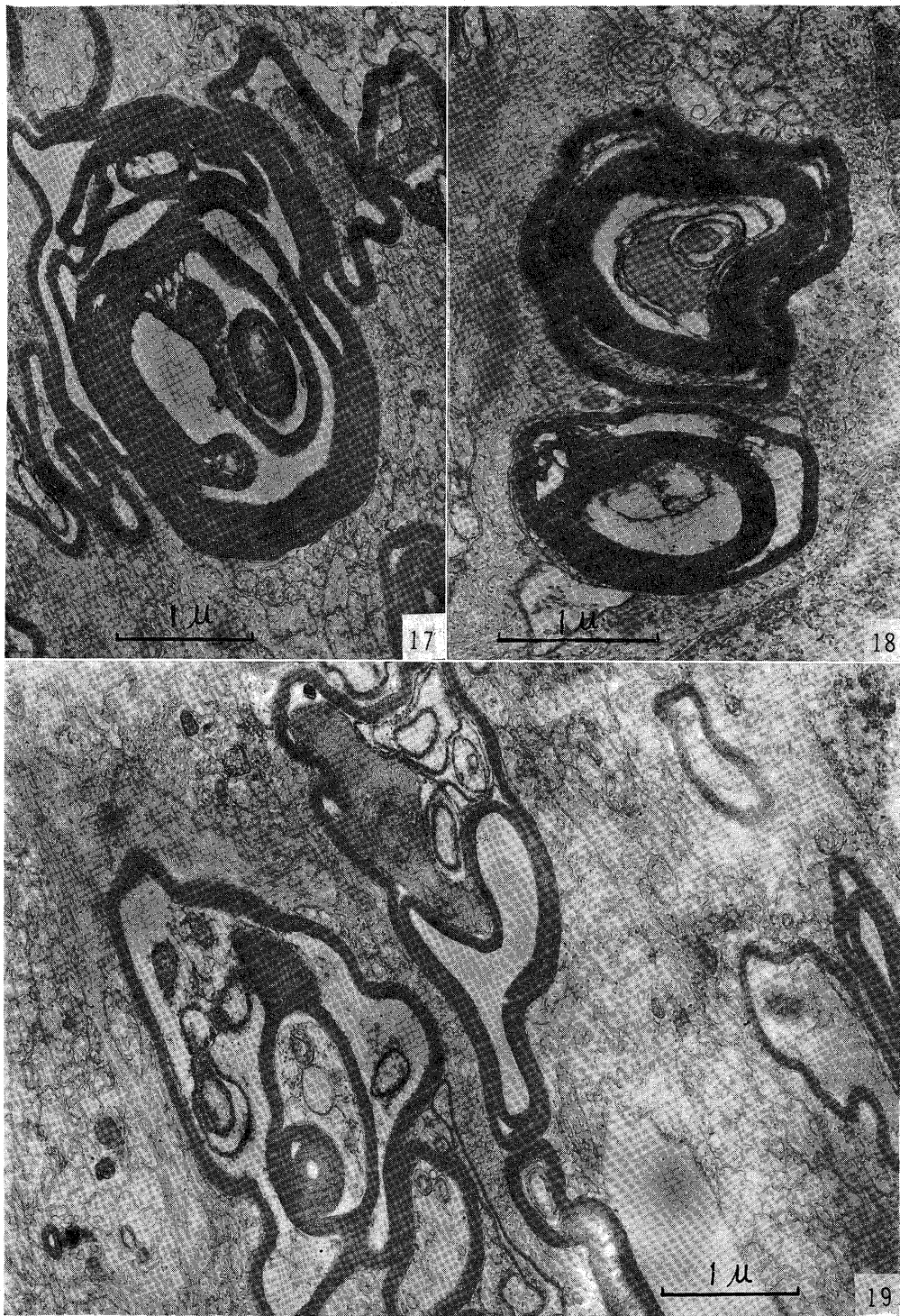


Plate 6

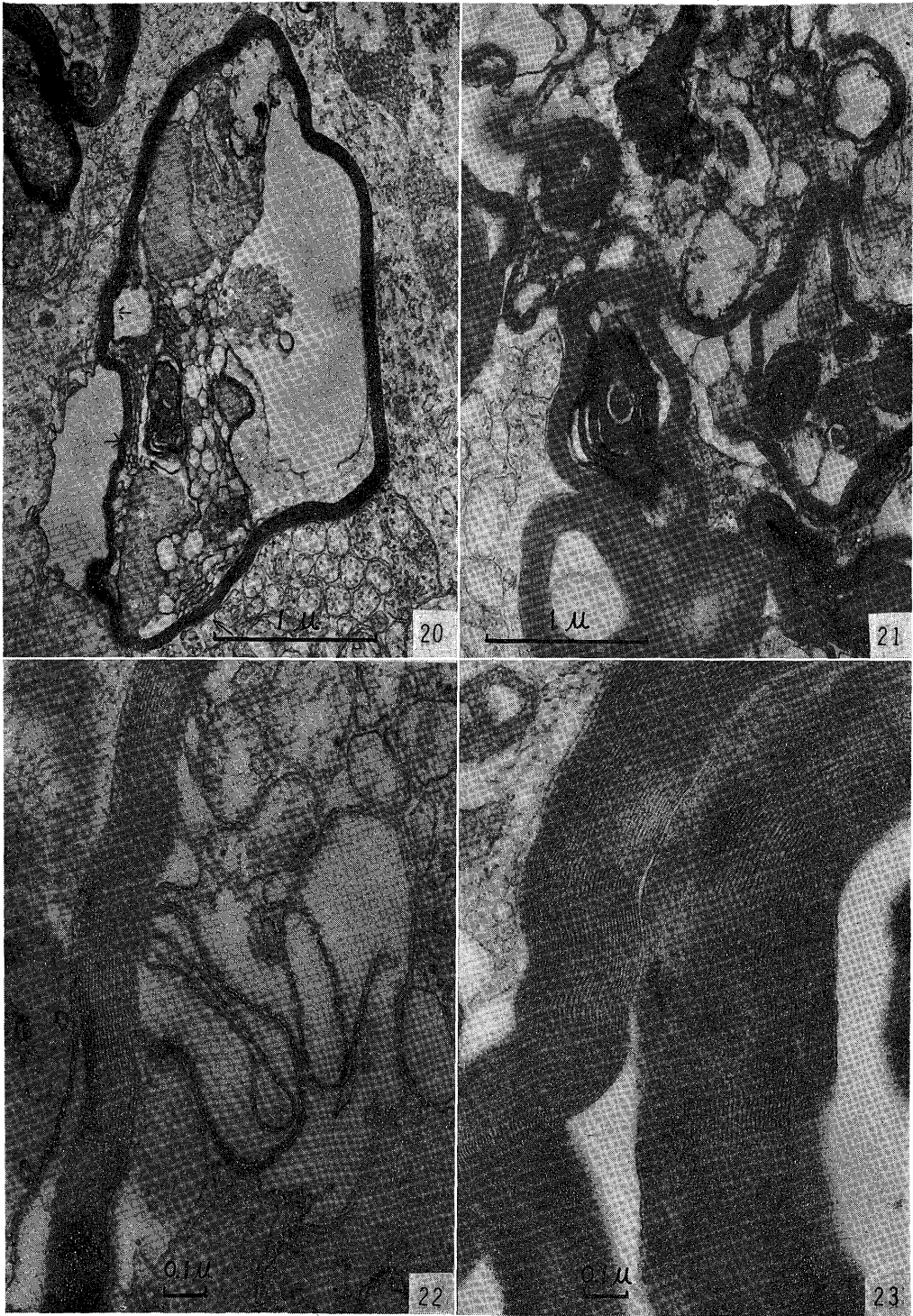


Plate 7

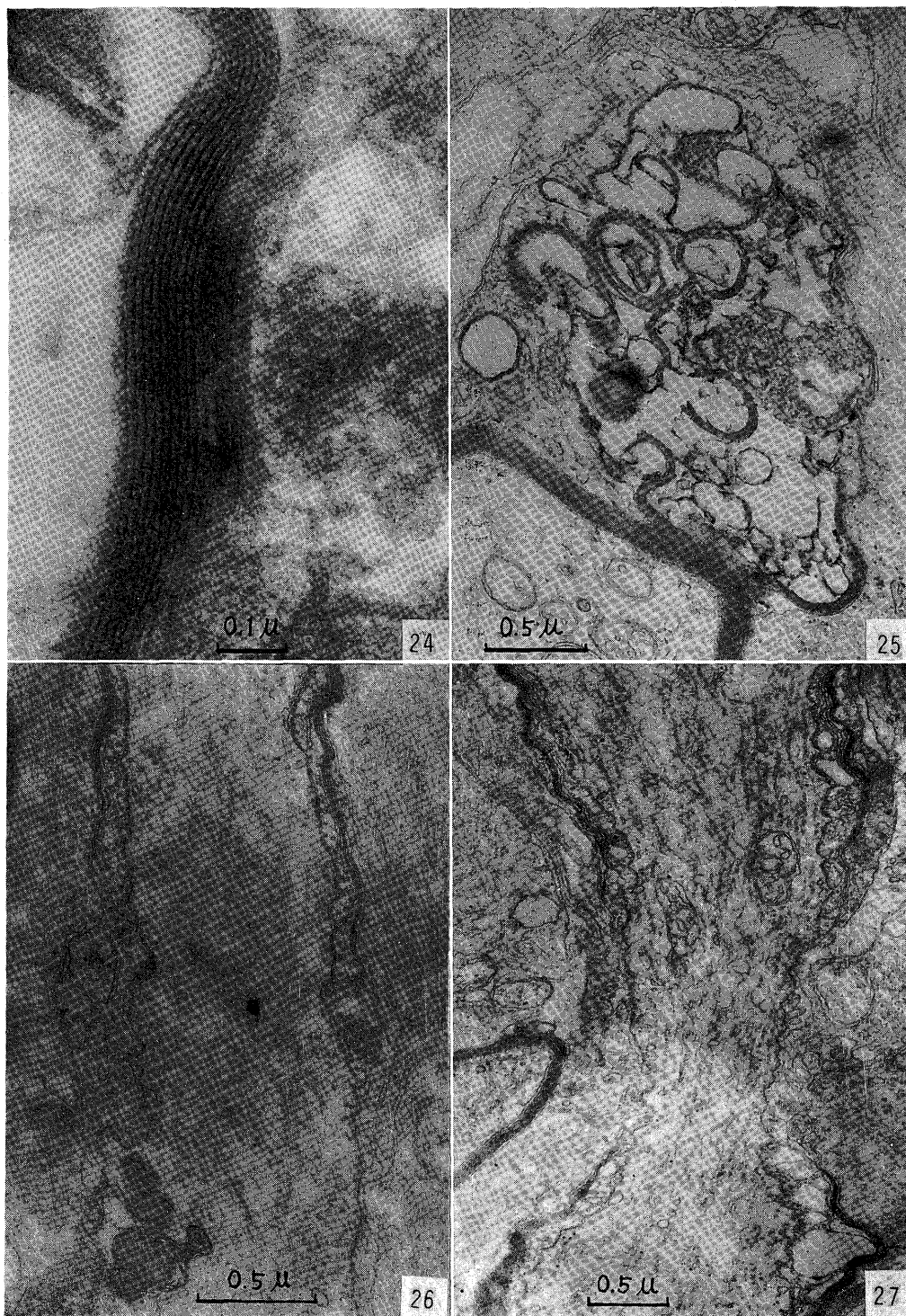


Plate 8

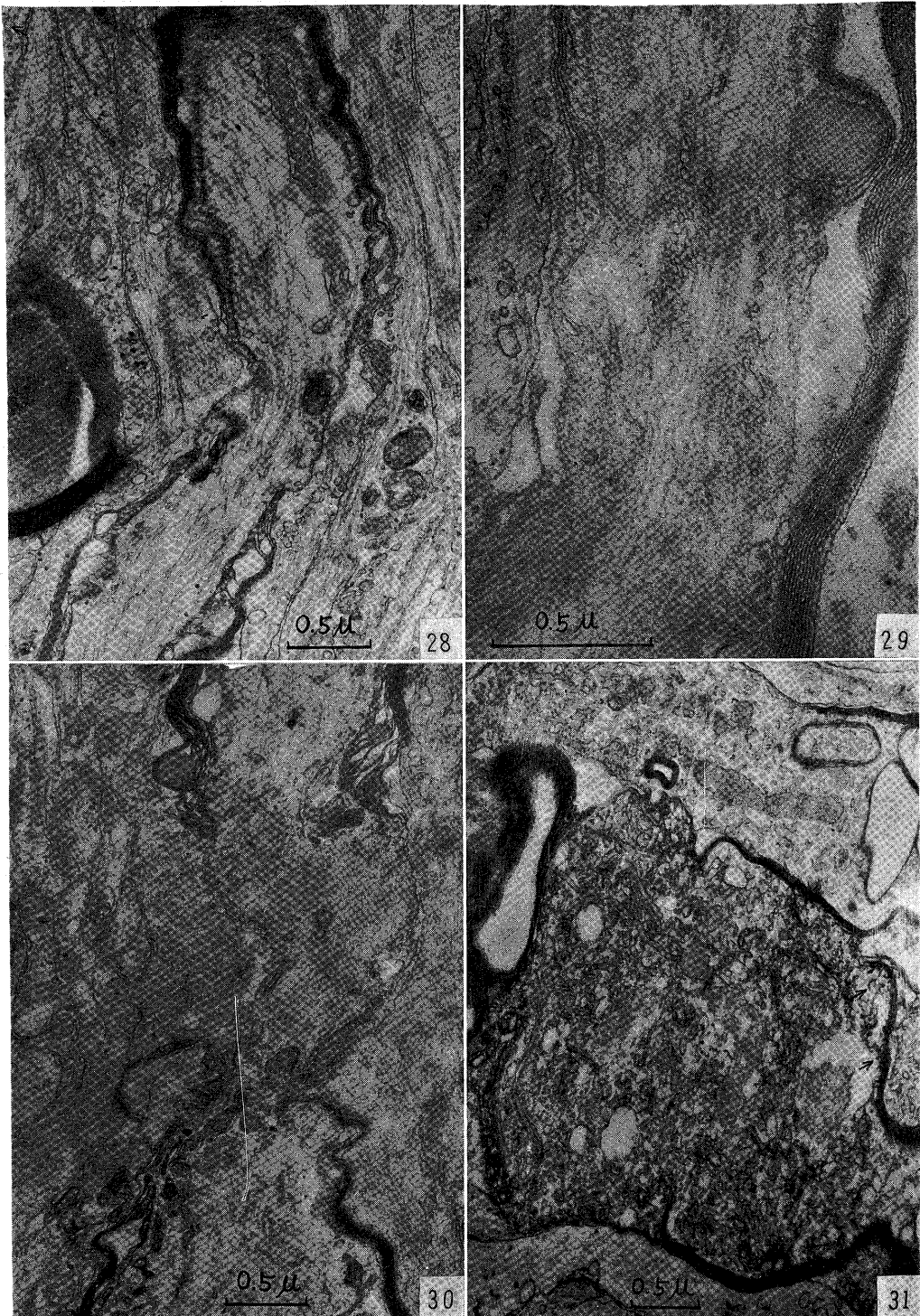


Plate 9

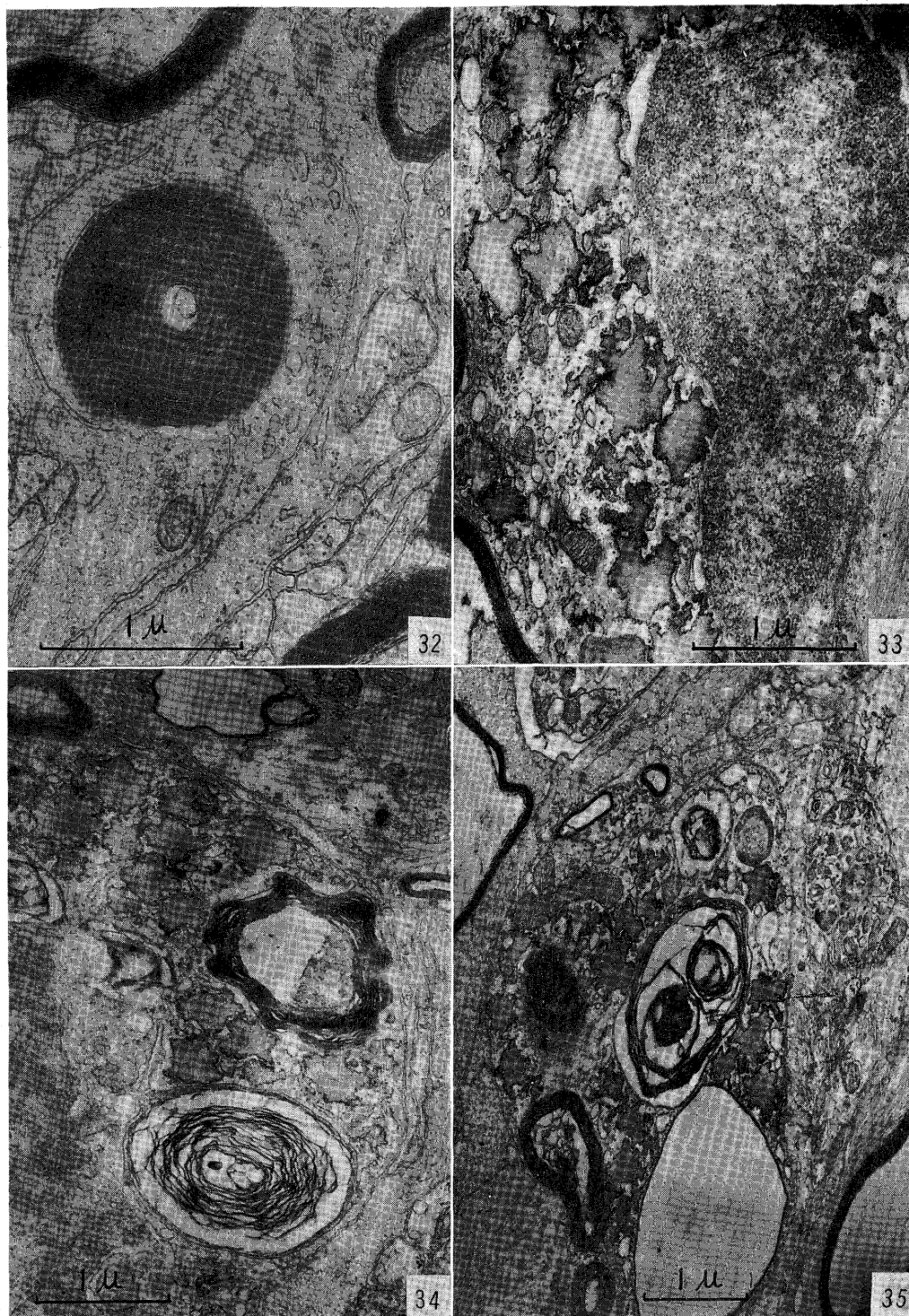


Plate 10

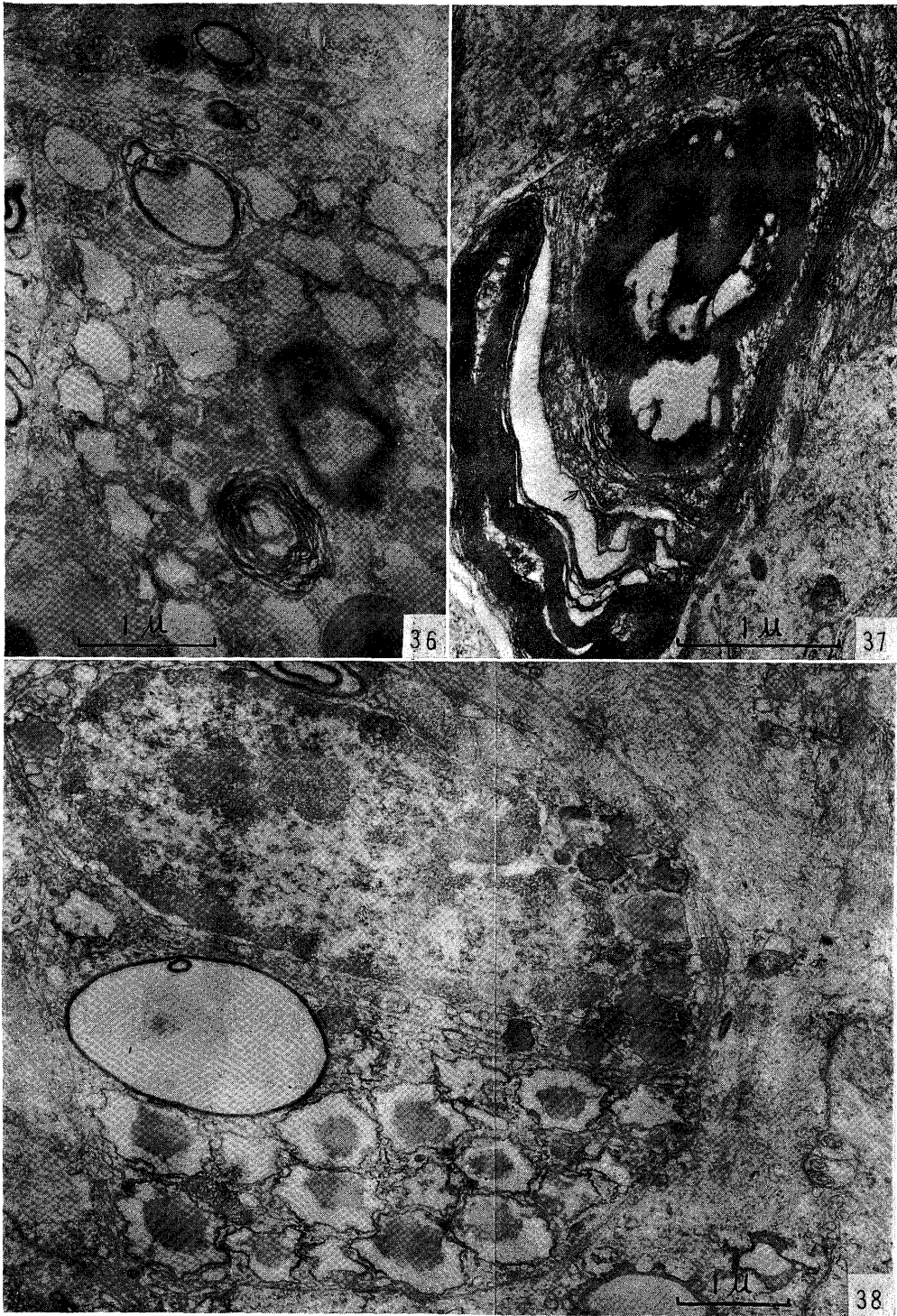


Plate 11

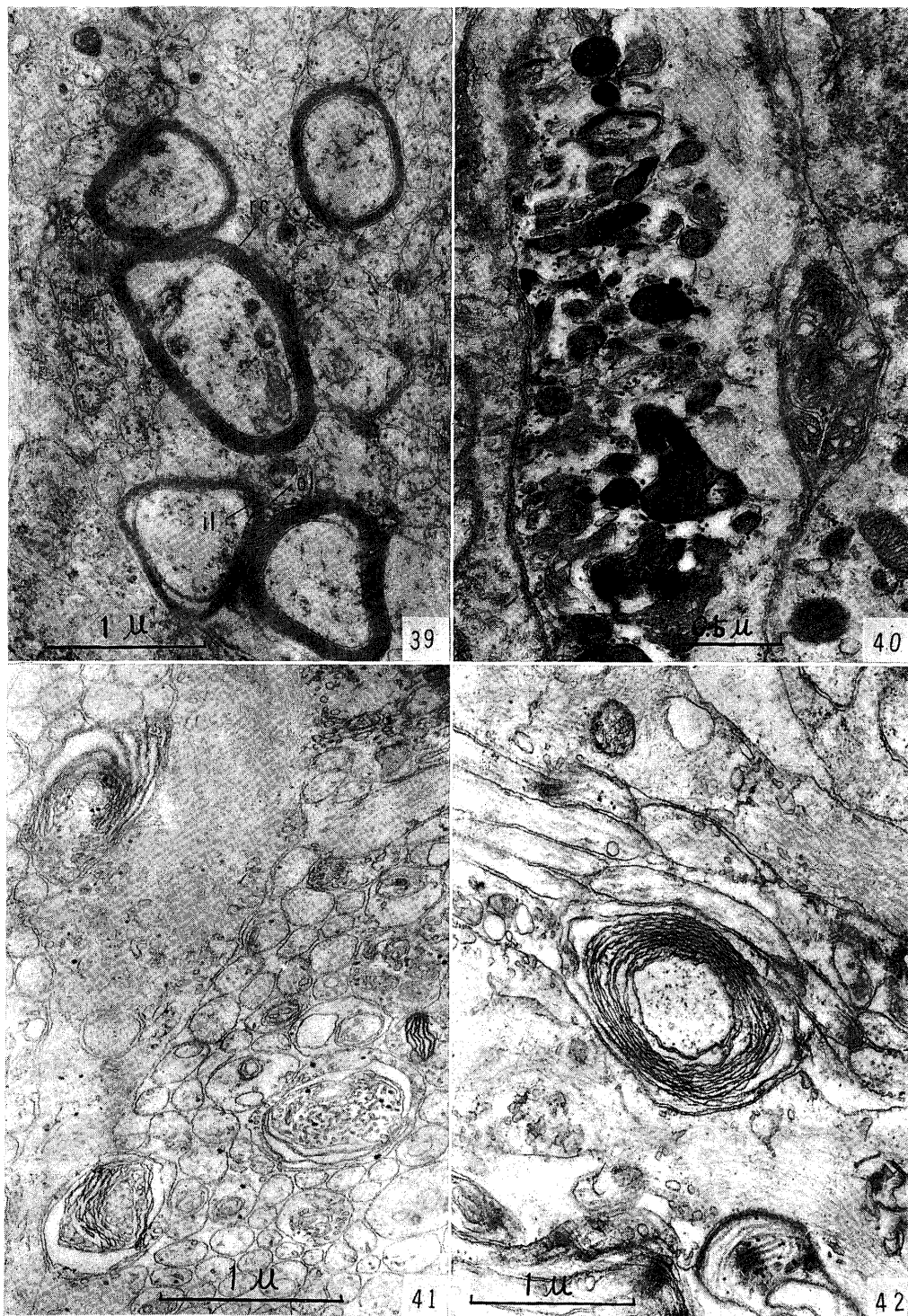


Plate 12

