

神経内膜鞘の超微構造について

金沢大学医学部解剖学教室(主任 本陣教授)

本 陣 良 平

平 井 善 昭

井 村 正 人

(昭和32年7月1日受付)

Ultrastructure of the Endoneural Connective Sheath

RYOHEI HONJIN, YOSHIAKI HIRAI and MASATO IMURA

Department of Anatomy, School of Medicine, Kanazawa University

(Director : Prof. Dr. R. Honjin)

本論文の要旨は昭和31年4月第61回日本解剖学会において発表した。本研究は文部省科学研究費の支持を受けた。記して感謝の意を表する。

可視光顕微鏡による検索に基く従来の報告によると、末梢神経は通常数本の神経繊維束からなり、数本の神経束が結合組織からなる神経上膜(epineurium)によつて共通に包まれ、個々の神経束は、神経上膜より緻密な構成を示す結合組織性の神経周囲膜(perineurium)によつてその外面を包まれ、神経周囲膜の結合組織は神経束内に入つて神経内膜(endoneurium)となつて、神経束中の神経繊維を数群に分ち、これの延長である結合組織が更に個々の神経繊維の外面を取巻き、この部に所謂神経内膜鞘(endoneural sheath)を造つていとせられている。しかしながら、神経内膜鞘の微細構造、即ちこの部の結合組織繊維の形態配列や、これと神経線維の神経鞘(neurilemma)との局

所における関係などに関しては、それが可視光顕微鏡(以下「光顕」と略記する)の分解能の限界を超える問題を多く含むため、極めて単純模糊とした記述に終始しているにすぎない。神経内膜鞘の微細構造の解明は、古くから存する神経鞘と Schwann 氏細胞との異同や、神経鞘の形成由来などに関する論争に關聯して、神経繊維超微構造の研究上重要な問題であるのみならず、神経繊維の生理学的機能を考察する上にも極めて急を要する問題と考えられる。筆者等は、超薄切片標本・磨砕細解標本・単一神経繊維表面の replica 標本について、神経内膜鞘の構成要素を電子顕微鏡(以下「電顕」と略記する)によつて検索し、結果を得たので報告する。

材料及び方法

材料は成熟廿日鼠の坐骨神経及び迷走神経を使用した。次に述べるような3種の全く異なる方法で、異なつた角度から神経内膜鞘の超微構造を電顕によつて検索した。

1. 超薄切片標本

注意深く神経を露出し、速かにこれを切り、直ちに固定液に投ずる。固定液は1%中性等張 OsO₄ 液

(veronal-acetate 緩衝液で pH 7.4 に修正)を用い、2~3°C の氷室中で4時間固定、次いで1時間水洗、順次高濃度の alcohol に移し脱水(Honjin, 1956 参照)、次いで catalyst として2%の割合に benzoyl peroxide を混じた methacrylate 樹脂に移し、次に材料をこの液と共に gelatine capsule 中に入れ、50°C のもとで24時間加熱重合せしめた(Newman, Borysko

& Swerdlow, 1949 の方法の変法). 重合合成樹脂中に包埋された材料は, JUM-3 型 ultramicrotome によつて, ガラスナイフを使用して薄切し, 20% alcohol 上に浮遊伸展せしめ, formval 薄膜を張つた電顕用標本支持板上にのせて乾燥し, 合成樹脂を溶去することなく電顕にて検鏡した.

2. 磨砕細解標本

1%中性 OsO_4 に固定した神経の材料を, 2~5 時間水洗した後, 少量の蒸溜水と共に乳鉢内で乳棒によつて静かに細解する. 数回水洗遠心し, 粗大塊を除き, 沈澱した細解片を蒸溜水中に懸濁せしめ, その1滴を支持板上に採り, 乾燥後検鏡した. 一部の細解材料は, 乾燥した後, 更に 14° の角度で chromium-shadowing を施して鏡検した. 詳細は既報 (Honjin, 1955) の場合と同様である.

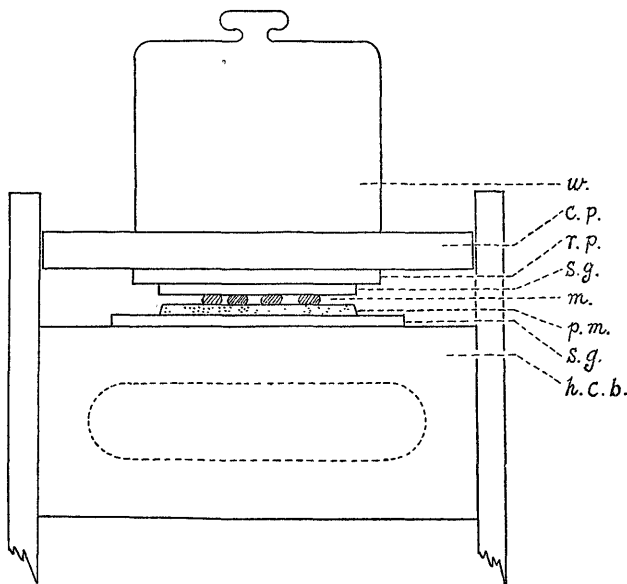
3. replica 標本

単一神経繊維の表面の面視の電顕像を観察するために行つたもので, 新鮮な坐骨神経を, ガラス板 (普通の slide glass を $2.5 \times 2.5\text{cm}$ に切つたものがよい)

上において速かに細針を以て個々の神経繊維に分離伸展せしめ, 直ちに 1% 中性 OsO_4 に投げ固定し, 後ガラス板に附着させたまま水洗乾燥したものを材料とした. replica 標本はこの材料をもととし, methacrylate 樹脂膜による二段 replica 手技によつて製作した. その概要は次のようである.

(a) methacrylate 樹脂膜の製作. 試験管にとつた methyl-methacrylate 樹脂に 3% の割合に, benzoyl peroxide を加え, 振盪してよく混和させる. 次にこの試験管を 80°C の恒温水槽中に約 30 分間入れる. この間試験管を絶えず振盪し, 重合を均等にす. 試験管内の合成樹脂が粘性を増し, 半重合状態になつた時, 試験管を水を盛つた三角コルペン中に立て, 氷室内に保存する. 用に際し, この半重合状態の methyl-methacrylate 樹脂を, 平滑なガラス板 (水平に位置させる) 上にガラス棒で滴下し, 2~3mm の厚さの樹脂の層を作る. これを恒温器内に移し, 徐々に温度を昇げ, 約 $55\sim 60^\circ\text{C}$ にて 7~8 時間放置する. 以上で圧印用の重合 methacrylate 樹脂膜の製作が完了する.

(b) 圧印法 圧印は写真 1, 2 に示すような圧印装置を使用して, 材料を樹脂膜上加温しながら圧印する. 即ち圧印装置の加熱箱上面に, 上記の methacrylate 樹脂膜をガラス板と共に樹脂膜面を上にして置き, その上に前記のガラス板上に伸展固定した神経繊維の標本を標本面を下にしてのせ, 樹脂膜と神経繊維とを接着させる (写真 1). その上に直径約 3cm 厚さ約 3~4mm のゴム板を置き, 更には上から圧印装置の蓋で覆い, その上に分銅 (約 2kg) をのせる. 次いで加熱箱下面に附した加熱用電熱器によつて加熱箱を熱する (写真 2). 側方から加熱箱内部に挿入した温度計によつて加熱箱の温度を読み, 100°C に達した時電源を断ち, そのまま 2~3 分間放置する. 加圧加熱時の標本部の層の断面を第 1 図に模式的に示す. 次いで圧印器の側面に附した冷却水用ゴム管のコックを開き, 加熱箱内に水道水を還流せしめ, 速かに加熱箱を冷却せしめる. 充分冷却した後, 静かに分銅・蓋・ゴム板等を除き, 樹脂膜から試料を剥がす. 屢々試料を剥がした後の樹脂膜に汚物が附着



replica 標本製作に際しての圧印手技の模式図. c. p., 圧印器蓋; h. c. b., 加熱箱; m., 材料; p. m., 重合 methacrylate 樹脂; r. p., ゴム板; s. g., slide glass; w., 分銅.

していることがある。斯かる時は 20% polyvinyl-alcohol 溶液を樹脂膜上に滴下し、乾燥後表面に出来る polyvinyl 膜を剥がして、これと共に汚物を除去する。樹脂膜汚染の強い時は、何度もこの汚物除去操作を繰り返す。その後樹脂膜を十分乾燥させる。

(c) 蒸着法 上記のようにして圧印した樹脂膜面を、真空内で 45° の角度で chromium shadowing を行う。次いで真空内で樹脂膜面の直上から aluminium の蒸着を行う。蒸着完了後、樹脂膜面上の所要の部に安全剃刀の刃で 1~1.5mm 平方大の切痕をつけ、樹脂膜を benzene chloroform 等量混液又は acetone 中

に浸し、樹脂膜を溶去する。2~3回溶液を更新すると、樹脂は完全に溶け去り、樹脂膜の表面に存在した aluminium の小薄膜片が溶解液上に浮遊する。これを電顕用支持板上にすくい採り、乾燥後電顕で鏡検する。

以上3種の標本は、HS-2型及びHU-9型電顕によつて、加速電圧 50KV、対物レンズの aperture 50μ の条件下で、速かに写真撮影された。写真の直接倍率は 2000~5000 倍とし、必要に応じて引伸し拡大陽画像を得た。微細構造の測定は、陰画原板を投影拡大器によつて20倍に投影拡大して行つた。

所 見

1. 切片標本における所見

超薄切片の電顕像においては、神経内膜鞘に相当する部位、即ち神経繊維の外面に多数の細長い繊維状の構造が存在する。写真3は廿日鼠坐骨神経の縦断切片の電顕像であるが、神経繊維は僅かに斜位に切断されている。上部及び下部に夫々1本の有髄繊維の断面が見られ、左上方に1本の無髄繊維の断面が見られる。神経繊維内部の超微構造は、既報 (Honjin 1955, 本陣 & 平井 1956, 本陣 1957 a, b, c) のとおりであるが、軸索膜に囲まれた有髄繊維の軸索の外面には、板層構造を呈する電子密度大な髄鞘の断面が帯状に存し、その外面には Schwann 氏細胞の細胞質があり、Schwann 氏細胞の細胞膜がその外面を限界し、細胞膜と髄鞘との間の細胞質内に紡錘形の Schwann 氏細胞核の断面が見られる。即ち所謂神経鞘(neurilemma)は Schwann 氏細胞の細胞質及び細胞膜にほかならないわけである。Schwann 氏細胞の細胞膜の表面には、多数の細繊維がならんで存在するのが見られ、同じ種類の繊維構造は神経繊維の間の部においても、多かれ少なかれ群をなして存し、切断面の方から考えて、略々神経繊維の長軸に沿つて走っていると推定出来る。写真4は迷走神経の横断像であるが、2本の小径有髄神経繊維と数本の無髄神経線維の横断像が見られる。有髄繊維も無髄繊維も共にその軸索及び髄鞘は Schwann 氏細胞の細胞質内に包含され、Schwann 氏細胞の細胞膜は外面を限界とした後、細胞質内に翻転し、外側結合膜(outer connecting membrane)又は結合膜(connecting membrane)となり、夫々有髄繊維の髄鞘板層膜又は無髄繊維の軸索膜に結合している。個々の有髄及び無髄繊維を含む Schwann 氏細胞

の細胞膜の外表面又はその間には、多数の電子密度稍々大な点状構造が存する。これは縦断切片像のこの部に見られた繊維構造の横断像である。

神経内膜鞘の部に存する上記の繊維構造は、切片写真の拡大像によつて測定すると、直径約 200~400 Å の細長い繊維で、横断面では繊維の内部が外周部より電子密度が稍々小である。繊維の縦軸に平行に切断された切片の写真においては、繊維の縦軸方向に規則正しい週期性を示す横紋構造が認められる場合もある。

2. 磨砕細解標本における所見

磨砕細解標本の電顕像には、既に報告した髄鞘板層膜(myelin lamellar membrane)や軸索細繊維(axon fibrils)の網のほかに、多数の分散した繊維が見られる(写真5)。この繊維は軸索細繊維よりはるかに太く、直径 200~400 Å 或いはそれ以上を示し、規則正しい週期性の横紋構造を示す。横紋は電子密度大な cross band とその間の密度小な部とからなるが、その週期は 600~660 Å (平均 640 Å) である。横紋を有するこの種繊維は、屢々髄鞘又は神経鞘の粗大な破壊産物(写真には不規則な形の黒色塊として現われている)を繋いでいる。このような数値の週期性横紋を示す繊維は、筆者等が電顕で検した生体の構造物質中にこれを求めると、膠原細繊維(collagen fibrils)に全く一致する。写真6はこの種の標本に chromium shadowing を施したものの電顕像であるが、横紋構造は更に著明に現われ、640 Å の週期に一致する繊維表面の凹凸の存在を知ることが出来る。

3. replica 標本における所見

写真7は比較的低倍率の単一神経繊維の神経内膜鞘外面の replica 像であるが、細繊維が神経繊維の長軸

に沿って走る一般状況をよく示している。圧印の状況から判断すると、写真の上方の部は単一神経繊維の神経鞘 (neurilemma) のすぐ外面を走る神経内膜鞘 (endoneural sheath) の膠原細繊維群の replica 像であり、下部は個々の神経繊維の間にある神経内膜 (endoneurium) の部の結合組織露出面の replica 像と考えられる。神経内膜鞘の膠原細繊維は、写真に示されているように、僅かの乱れはあるが殆んど平行して神経繊維の長軸に平行して走っている。神経繊維間に比較的大量ある結合組織内の膠原細繊維も、主として神経の長軸方向に走っているが、神経鞘外面の部のものに比しはるかに走行が乱れ、斜走する繊維の多数を

混じている。この replica 像は、これらの繊維に週期性を示して横紋状にならぬ凹凸が存在することを明瞭に示している。写真 8 は replica 標本の比較的高倍率の写真であるが、繊維は略々神経繊維の長軸に沿って走り、繊維表面に横紋構造が存在するのが認められる。replica 標本の場合横紋構造は可なり複雑である。無尾の矢印の部には略々 640 \AA の週期を示す横紋構造が見られるが、有尾の矢印の部に見られるような週期の小さな横紋構造を有する部も存在する。斯かる部においてはその週期は約 140 \AA 又は 220 \AA を示している。

総括並び考按

神経内膜鞘 (endoneural sheath, Endoneuralscheide) は軸索・髄鞘・Schwann 氏細胞を外面から取巻いている組織で、屢々 Key-Retzius 氏繊維鞘又は正確には誤りであるが通称として Henle 氏鞘と呼ばれている。Key & Retzius (1873) はこれが Fibrillenscheide であるとしたが、その後神経内膜鞘が結合組織からなることに異議ある研究者はない (Pienk 1927, Masson 1932, Glees 1943)。しかしながら Schwann 氏細胞との関聯に関しては異論がないわけではない。元来従来の光顕による検索結果には、神経鞘 (neurilemma) と Schwann 氏細胞の異同をめぐって、両者が同一のものであるとする説と、異なつた実体であるとする説とが対立していた。後者の場合、Schwann 氏細胞と神経内膜鞘との間に、独立した neurilemma の存在を主張するもので、その性質由来に関して、多数の人々が種々の憶説を述べている (Stoeckenius & Zeiger 1956)。先に筆者の一人 Honjin (1955) は、神経の超薄切片の電顕検索によつて、所謂神経鞘が Schwann 氏細胞の細胞膜及び細胞質にほかならないもので、Schwann 氏細胞とは別な neurilemma が存在しないことを明らかにしたが、今回の検索によつて、神経内膜鞘を構成する繊維の超微構造及び神経鞘との位置的關係を、各種の角度から解明することが出来た。

神経内膜鞘を構成する繊維には、切片標本においても横紋構造が認められるが、細解標本では更に著明に横紋構造が認められ、横紋の週期は平均 640 \AA を示している。横紋週期のこの数値は、Gross & Schmitt (1948) Ralph & Wyckoff (1949) その他によつて、

鼠の尾の腓その他生体各部の結合組織繊維の電顕検索において示された膠原細繊維 (collagen fibrils) に見られる横紋構造の週期に全く一致する。細解標本の一部にも見られたのであるが、replica 標本においては、この 640 \AA の週期の横紋構造を示す繊維のほかに、稍々不著明ではあるがこれより短い週期 (140 \AA 又は 220 \AA) の横紋構造を有する繊維の存在が示されているが、これは Randall, Fraser, Jackson, Martin & North (1952), 関 (1952, 1954), 後藤 (1954) 等が、幼若又は新生膠原細繊維において、 $60 \sim 80 \text{ \AA}$ 又は $100 \sim 150 \text{ \AA}$ の微粒子の連鎖を認めている所見から推察して、膠原細繊維の正常横紋週期 (640 \AA) を構成する分子集合の subunit を示しているものと考えられる。

神経内膜鞘内の結合組織繊維の配列に関して、Pienk (1927) は鍍銀法によつてこれを検し、神経内膜には微細な繊維が網状配置をしていると報告している。Glees (1943) は偏光によつて家兎皮下の神経纖維を検し、個々の有髄神経繊維の周囲には、主として縦走する繊維のほかに、斜走又は交叉する極めて細く繊維が存在すると述べているが、これは筆者等の電顕像に見られる神経繊維間に稍々多量に存する繊維中の斜走繊維の示す偏光所見であろう。神経内膜鞘部の膠原細繊維は、replica 標本に見られた如く、殆んど神経繊維の長軸に平行して走っている。Glees (1943) は偏光顕微鏡所見から、Schmidt-Lantermann 氏切痕帯が局在する輪状の繊維束に囲まれていると述べているが、筆者等の電顕写真には斯かる構造の存在は認められなかつた。

神経繊維の結合組織性要素に関する電顕検索は、

Fernández-Morán (1950), Pease & Baker (1951), Hess & Lansing (1953), Honjin (1955), 等の報告がある。切片による所見は筆者等の今回の報告と略々一致する。既に Honjin (1955) が指摘したように, de Robertis & Schmitt (1948) が各種動物神経の細解標本の電顕検索において見出し, „neurotubules” と名付け, 軸索内の構成要素であると考えた横紋を有す

る繊維や, Richards, Steinback & Anderson (1943), 建田 (1947) その他が細解標本中に見出した neurotubules に類する念珠状又は横紋を有する繊維は, 彼等がどのような軸索成分ではなく, 筆者等の電顕像に示される膠原繊維 (collagen fibril) にはかならない。

結 論

神経内膜鞘の超微構造を検する目的を以て, 廿日鼠坐骨神経及び迷走神経を, 超薄切片標本・磨砕細解標本・replica 標本によつて電子顕微鏡で検索し, 次の結果を得た。

1. 神経内膜鞘は太さ約 200~400 Å の多数の膠原繊維からなる。膠原繊維は Schwann 氏細胞の細胞膜の外面に密接して存し, 神経繊維の長軸に平行に位置する。

2. 神経繊維の間で, 膠原繊維が稍々多く集簇している部では, 膠原繊維は主として神経の長軸に沿つて走るが, 斜走する細繊維を混ざる。

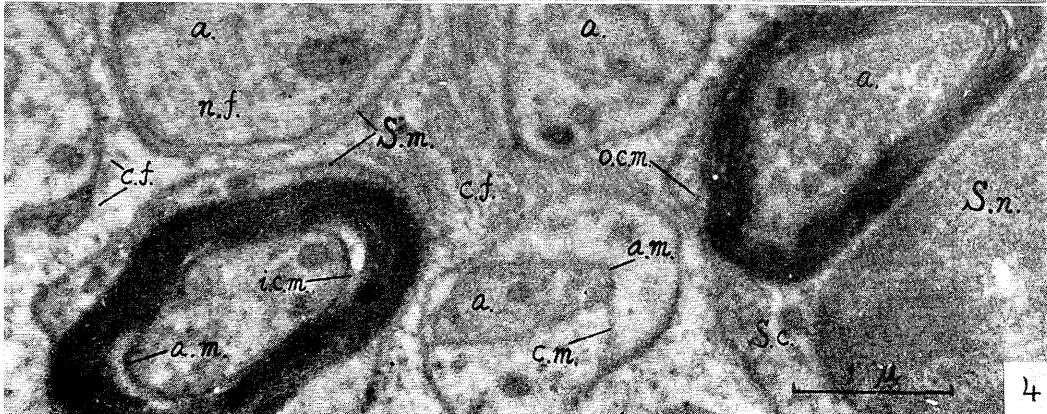
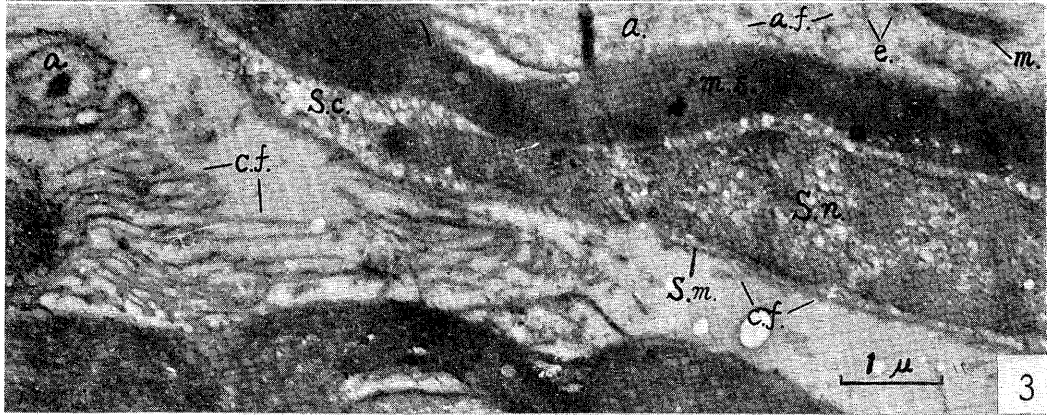
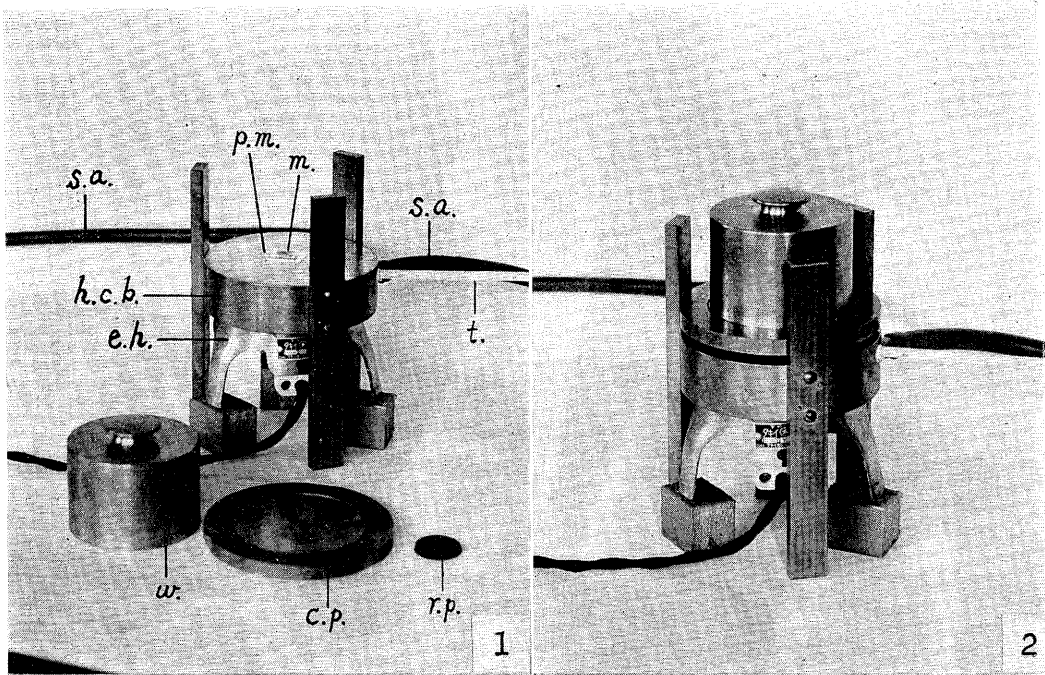
3. 上記 3 種の標本の電顕像はいずれも神経内膜鞘の膠原繊維が週期性の横紋構造を有することを示す。その週期は通常平均 640 Å であるが, これより短い (140 Å 又は 220 Å) 週期の横紋を示す繊維も認められる。

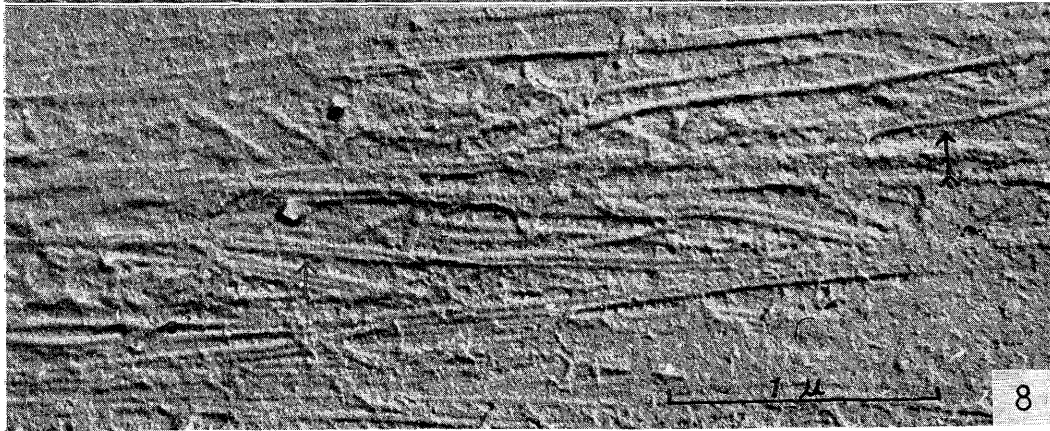
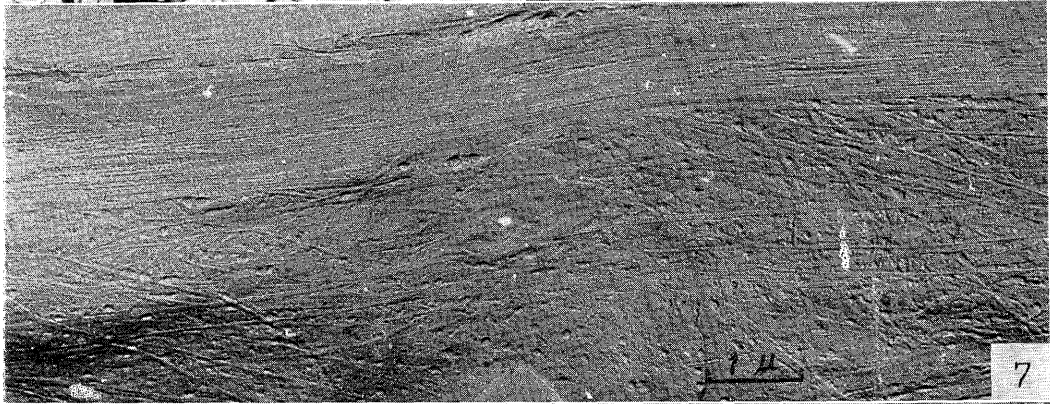
文 献

- 1) De Robertis, E. & F. O. Schmitt : J. Cell. and Comp. Physiol., 31 : 1, 1948.
- 2) Fernández-Morán, H. : Exp. Cell Research, 1 : 309, 1950.
- 3) Glees, P. : J. Anat., 77 : 153, 1943.
- 4) 後藤進 : 日本組織学記録, 6 : 183, 1954.
- 5) Gross, J. & F. O. Schmitt : J. Exp. Med., 88 : 555, 1948.
- 6) Hess, A. & A. I. Lansing : Anat. Rec., 117 : 175, 1953.
- 7) Honjin, R. : Folia Anat Japonica, 27 : 179, 1955.
- 8) Honjin, R. : Folia Anat. Japonica, 29 : 117, 1956.
- 9) 本陣良平 & 平井善昭 : 解剖学雑誌, 31 : 78, 1956.
- 10) 本陣良平 : 細胞化学シンポジウム, 5 : 109, 1957a.
- 11) 本陣良平 : 生体の科学, 8 : 110, 1957b.
- 12) 本陣良平 : 総合医学, 14 : 673, 1957c.
- 13) Key, A. & G. Retzius : Arch. mikr. Anat., 9 : 308, 1873.
- 14) Masson,

- P. : Amer. J. Pathol., 8 : 367, 1932.
- 15) Newman, S. B., E. Borysko. & M. Swerdlow : Science., 110 : 66, 1949.
- 16) Pease, D. C. & R. F. Baker : Anat. Rec., 110 : 505, 1951.
- 17) Plenk, H. : Ergebn. Anat u. Entw., 27 : 302, 1927.
- 18) Ralph, W. G. & G. Wyckoff : Electron microscopy. Interscience publisher, New York, 1949.
- 19) Randall, J. T., R. D. B. Fraser, S. Jackson, A. V. W. Martin & A. C. T. North : Nature., 169 : 1029, 1952.
- 20) Richards, A. G., H. B. Steinback & T. F. Anderson : J. Cell and Comp. Physiol., 21 : 129, 1943.
- 21) 関正次 : 日本組織学記録, 3 : 465, 1952.
- 22) 関正次 : 日本組織学記録, 7 : 5, 1954.
- 23) Stoeckenius, W. & K. Zeiger : Ergebn. Anat. u. Entw., 35 : 420, 1956.
- 24) 建田温二 : 人類と遺伝, 1 : 87, 1947.

本陣、平井、井村論文附圖 (1)





附 図

	電顕写真中の略号		
a.,	axon.	m.,	mitochondria.
a. f.,	axon fibril.	m. l.,	myelin lamellar membrane.
a. m.,	axolemma membrane.	m. s.,	myelin sheath.
c. f.,	collagen fibril.	n. f.,	non-myelinated nerve fiber.
c. m.,	connecting membrane.	o. c. m.,	outer connecting membrane.
e.,	endoplasmic reticulum.	S. c.,	Schwann cell cytoplasm.
i. c. m.,	inner connecting membrane.	S. m.,	Schwann cell surface membrane
		S. n.,	Schwann cell nucleus.

写 真 説 明

Plate 1.

写真 1 及び 2. replica 標本用の 圧印器の 全景。写真 1 は重合 methacrylate 樹脂膜上に 標本をのせた状態。写真 2 は圧印中の状態を示す。c. p., 圧印器蓋；e. h., 電熱器；h. c. b., 加熱箱；m., 材料；p. m., 重合 methacrylate 樹脂；r. p., ゴム板；s. a., 冷却水用ゴム管；t., 検温器；w., 分銅。

写真 3. 廿日鼠坐骨神経の縦断切片電顕像
× 13,000.

写真 4. 廿日鼠迷走神経の横断切片電顕像
× 21,000.

Plate 2.

写真 5. 廿日鼠坐骨神経細解標本の電顕像。髓鞘板層膜及び髓鞘断片を繋ぐ膠原細繊維を示す。
× 15,000.

写真 6. 同上標本の chromium-shadowing 電顕像
× 26,000.

写真 7. 単一神経纖維神経内膜鞘の replica 像。写真の上部は神経内膜鞘の 膠原細線維の 走行を示す。写真の下部は 結合組織性 神経内膜部の 膠原細繊維の replica 像を示す。× 12,000.

写真 8. 同上 replica 標本の強拡大像。↑印は 640 Å の週期性横紋構造を示す。↑印は 140 Å の週期性横紋構造を示す。× 35,000.