

心臓の洞房結節に分布する神経終末に 関する電子顕微鏡的研究

岡山大学医学部第一解剖学教室（指導：大塚長康教授）

大塚長康・磯部保・根ヶ山美和子・荻田成人

〔昭和48年12月26日受稿〕

緒 言

De Robertis と Bennett^{1),2)}, Palade と Palay³⁾によって神経終末に出現する直径 200—500 Å の empty な小胞の存在が報告されて以来、これはシナプス小胞としてシナプス前線維に特有な構造であることが認められた。その後、この小胞と伝達物質の関係が論議されるようになり、さらに研究が進められ、種々の性質を異にする小胞の存在が明らかにされてきた。その中でもモノアミン作動神経の終末には電子密度の高い内容を含む小胞が見られるという報告は注目をあびた^{4),5),6)}。このような含粒小胞はグルタルアルデヒド・四酸化オスミウム固定のものでも観察できるが、KMnO₄を含んだ固定液を用いた場合非常によく固定されることがわかった^{7),8),9)}。

しかし、心臓とくに刺激伝導系の神経終末を中心に電子顕微鏡で観察し、その終末の形態を明らかにした研究は少ない^{10),11),12)}。そこでわれわれはイヌの刺激伝導系の洞房結節を用いて、KMnO₄で固定し、特にその神経終末に含まれる含粒小胞を中心に検索した。

材料と方法

イヌ10例をラボナル麻酔下に脱血死し、ただちに心臓を開き、洞房結節領域を摘出、これからさらに小組織片を作り、2% KMnO₄水溶液で1時間（4℃）固定、エポン包埋し Porter-Blum I で薄切、JEM-7 型電子顕微鏡で観察した。

所 見

イヌの洞房結節に分布する神経では、神経線維は数本ずつが1個の Schwann 細胞の細胞形質に取り囲まれている。これら神経線維は終末部になると多数のシナプス小胞の集積が認められるようになる。終

末が特殊心筋細胞に接する側では、線維に随伴してきた Schwann 細胞が次如し、はだかになる。終末部の外表面はこれを取りまく基底膜でおおわれ、細隙をへだてて筋細胞の外表面をおおう基底膜に相対している。この細隙は通常1000 Å以上あり、ときには2枚の基底膜の間に細い線維細胞の形質が介在していることがある。終末部に面する筋形質には糸粒体の集積、多数のシナプス小胞大の空胞の存在が認められることがあるほか、筋細胞に pinocytosis の像がみられる。洞房結節に分布する神経終末内のシナプス小胞には KMnO₄ 固定ではグルタルアルデヒド固定とは異なった像が観察できる。すなわち、終末部には無含粒小胞のみを含んだ終末、小含粒小胞のみを含んだ終末と、多数の小含粒小胞の中に散在性に大含粒小胞を含む終末の3つの型のものが大部分を占め、それ以外の型のものはほとんど観察されない。これら3つの型の終末部は、1つの Schwann 細胞に混在して取り囲まれている場合が多い(図1)。

考 察

神経終末に出現する含粒小胞は、その小胞の大きさから、小（直径500 Å）、中（直径1000 Å）、大（直径2000 Å）の3群に分けられている^{13),14)}。このうちで前2者が伝達物質としてのモノアミンと関係があり、最後のものは神経分泌物や副腎髄質の顆粒に関係があると考えられる。

これら含粒小胞がモノアミンと関係が深いのではないかという推測は種々な実験的研究によって支持された。しかし、含粒小胞とモノアミンの関係については、まだ多くの解決しなければならない種々の問題を含んでいる¹⁵⁾。

しかし、現時点では小含粒小胞はモノアミンと極めて関係が深いと考えられている。大含粒小胞に対してもモノアミンの貯蔵の場であるとも考えられているが、不明な点が多い^{16),17)}。さらに無含粒小胞はア

セチルコリンと関係が深いと考えられている。

交感神経節後線維に含まれる小含粒小胞はグルタルアルデヒド・四酸化オスミウムではそのすべてを証明することができない。Richardson⁷⁾や, Hökfelt,^{8),9)}Ochi¹⁰⁾らは KMnO₄による固定が含粒小胞の有芯性顆粒を保存させるのに有効であり, その理論的裏づけがなされてきた。

心臓に分布する神経線維内のシナプス小胞に含粒小胞が出現することは多数の研究者の報告がある。しかし, 刺激伝導系における神経終末に関する検索は少ない^{10),12),19),20),21)}大塚¹⁹⁾や Hayashi et al.¹⁰⁾はイヌの洞房結節をグルタルアルデヒドで固定した後, その特殊心筋線維に終わる神経終末を観察した。その結果, その内部に含有されるシナプス小胞の形の上から終末部を5型に分類した。すなわち, I) 無含粒小胞(直径約500 Å)のみからなるもの, II) 無含粒小胞と大含粒小胞(直径約1000 Å)が混在するもの, III) 無含粒小胞と小含粒小胞(直径約500 Å)が混在するもの, IV) 無含粒, 小含粒さらに大含粒小胞が混在するもの, V) 大含粒小胞のみからなるものの5種類である。

一方, 本研究において明らかになったように, KMnO₄固定のイヌの洞房結節では, 終末部は, 1) 無含粒小胞のみを含んだ終末, 2) 小含粒小胞のみを含んだ終末と, 3) 多数の小含粒小胞の中に散在性に大含粒小胞を含む終末の3つの型のみが観察された。

Hökfelt^{8),9)}や Ochi¹⁰⁾は KMnO₄固定をほどこした場合は生体アミンと反応して, 還元され MnO₂ となって電子密度の高い顆粒となって小胞の中に沈殿するものと考えている。

したがって, われわれの研究結果では KMnO₄固定では上記のように3つの型のものが大部分を占め, それ以外のものはほとんど観察されなかった。この

ことは Hayashi et al.が行なった研究のようにグルタルアルデヒド固定では特に小含粒小胞の顆粒の成分が一部溶出されるために無含粒小胞と小含粒小胞とが混在した型のものが観察できるが, KMnO₄固定ではみとめられなくなるものと考えられる。したがって, 本研究において出現した終末構造で, 1) に属するものはコリン作働神経の終末であり, 2) と 3) に属するものは, モノアミン作働神経の終末であろうと推察することができる。

終末部では数個の種々の型が混在した神経終末が1個の Schwann 細胞に取り囲まれながら1個の筋細胞に終わる形態を取ることが多い。したがって, 1個の筋細胞はコリン作働とモノアミン作働神経の二重支配の下に調節を受けているものと思われる。

さらに心臓内にみられる神経終末の中に多数のミトコンドリアを含んだものが観察され, これを心臓の知覚神経の終末であろうと考えられている²²⁾が, 本研究ではこのような終末を認めることができなかった。

結 語

イヌの心臓刺激伝導系の洞房結節を KMnO₄で固定し, そこに分布する神経終末を電子顕微鏡で観察した。

その結果, 洞房結節の神経終末を, その部に含まれるシナプス小胞の形の上から3型の終末部に分類することができた。すなわち, 1) 無含粒小胞のみからなるもの, 2) 小含粒小胞のみからなるもの, 3) 小含粒小胞と大含粒小胞からなるものの3種類である。この3種類の型をもった終末部を検討した結果, 1) に属するものはコリン作働神経, 2) および3) に属するものはモノアミン作働神経の終末であることがわかった。

文 献

- 1) DE ROBERTIS, E. D. P. and BENNETT, H. S. ; Submicroscopic vesicular component in the synapse. Fed. proc., **13**, **35**, 1954.
- 2) DE ROBERTIS, E. D. P. and BENNETT, H. S. ; Some features of the submicroscopic morphology of synapses in frog and earthworm. J. Biophys. Biochem. Cytol., **1**, **47-58**, 1955.
- 3) PALADE, G. E. and PALAY, S. L. ; Electron microscope observation of interneuronal and neuromuscular synapses. Anat. Rec., **18**, **335**, 1954.

- 4) VON EULER and HILLARP, N. A.; Evidence for the presence of noradrenaline in submicroscopic structures of adrenergic axons. *Nature*, **177**, 44-45, 1956.
- 5) ELFVIN, L. G.; The ultrastructure of unmyelinated fibers in the splenic nerve of the cat. *J. Ultrastr. Res.*, **1**, 428-454, 1958.
- 6) DE ROBERTIS, E. and PELLEGRINO DE IRALDI, A.; Pluvivesicular secretory process and nerve endings in the pineal gland. *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **10**, 361-372, 1961.
- 7) RICHARDSON, K. C.; Electron microscopic identification of autonomic nerve endings. *Nature*, **210**, 756, 1966.
- 8) HÖKFELT, T.; On the ultrastructural localization of noradrenaline in the central nervous system of the rat. *Z. Zellforsch.*, **79**, 110-117, 1967.
- 9) HÖKFELT, T.; In vitro studies on central and peripheral monoamine neurons at the ultrastructural level. *Z. Zellforsch.*, **91**, 1-74, 1968.
- 10) HAYASHI, S., OGA, K. and OTSUKA, N.; The fine structure of nerve endings in the sinus node of the canine heart. *J. Electron Micr.*, **19**, 176-181, 1970.
- 11) NILSSON, E. and SPORRONG, B.; Electron microscopic investigation of adrenergic and non-adrenergic axon in the rabbit SA-node. *Z. Zellforsch.*, **111**, 404-412, 1970.
- 12) THAEMERT, J.C.; Atrioventricular node innervation in ultrastructural three dimension. *Am. J. Anat.*, **128**, 239-264, 1970.
- 13) GRILLO, M. and PALAY, S.L.; Granule-containing vesicles in the autonomic nervous system. In: Fifth Internat. Congr. for Electron Micr., Philadelphia, Edit. by S. S. Breese Jr., vol. 2, U-1, Academic Press, New York, 1962.
- 14) PELLEGRINO DE IRALDI, A. and DE ROBERTIS, E.; Ultrastructure and function of catecholamine containing systems. In: Proc. 2nd Internat. Congr. Series, No. 83, 355-363, 1964.
- 15) 佐野豊; モノアミン作働ニューロンの研究. *最新医学*, **25**, 2031-2048, 1970.
- 16) KAPPELLER, K. and MAYOR, D.; The accumulation of noradrenaline in constricted sympathetic nerves as studied by fluorescence and electron microscopy. *Proc. R. Soc. Ser., B*, **167**, 282-292, 1959.
- 17) SANO, Y., YOSHIKAWA, H. and OCHI, J.; Intraneuroplasmic transport of catecholamines as studied by fluorescence and electron microscopy. *Arch. histol. jap.*, **32**, 329-345, 1970.
- 18) OCHI, J.; A study of potassium permanganate fixation for electron microscopic detection of small granular vesicles in the sympathetic nervous system. *Acta Histochem. Cytochem.*, **2**, 13-18, 1969.
- 19) 大塚長康; 心臓に分布するモノアミン作働線維. *日本医師会雑誌*, **64**, 1044-1049, 1970.
- 20) HAYASHI, S.; Electron microscopy of the heart conduction system of the dog. *Arch. histol. jap.*, **33**, 67-86, 1971.
- 21) CHENG, Y.; The ultrastructure of the rat sino-atrial node. *Acta Anat. Nippon*, **46**, 339-358, 1971.
- 22) CHIBA, T. and YAMAUCHI, A.; On the fine structure of the nerve terminal in the human myocardium. *Z. Zellforsch.*, **108**, 324-338, 1970.

**Electron Microscopic Study on Nerve Endings in the
Sinus Node of the Heart.**

**Nagayasu OTSUKA, Tamotsu ISOBE, Miwako NEGAYAMA and
Shigeto KANDA**

Department of Anatomy, Okayama University Medical School

(Director: Prof. Nagayasu OTSUKA)

The sinus node of the canine heart contains numerous autonomic nerve fibers. All of these are unmyelinated fibers associated with the cytoplasm of Schwann cell. The axon terminals, however, are devoid of such processes and are separated from the myocardial cells by an unusually wide space. In these naked nerve ending, 3 types of vesicles are observed: small granular vesicles, large granular vesicles, and agranular vesicles. The distribution of the vesicles by KMnO_4 -fixation has enabled us to classify autonomic nerve endings into 3 categories.

大塚 他 3 名 論文 附 図

図 1 . 洞房結節にみられる小含粒小胞を含んだ神経終末, イヌ,
KMnO₄ 固定 ; ×40,000

