

心臓に分布するモノアミン作動神経に関する 蛍光顕微鏡的研究

岡山大学医学部第一解剖学教室（指導：大塚長康教授）

磯 部 保

〔昭和48年12月26日受稿〕

緒 言

心臓が交感神経ならびに副交感神経によって拮抗性支配を受けていることは明らかである^{1), 2), 3), 4)}。このような自律神経は心基底部で表在性および深在性の神経叢を介して心臓各部に分布している。しかし心臓を支配する神経の神経調節と刺激伝導系の自働能およびその正確な協調の機構はまだまだ十分には明らかでない。

心臓、とくにその心筋層は豊富な神経に支配されており、古くより、その終末構造の解明に結びついて多くの研究がなされて来た。しかし、従来から神経系の研究に使用されてきた渡銀法のみでは心臓に分布する神経線維が交感性か、副交感性かを正確に分類することができなかった。

近年、急速に進歩してきた組織化学と電子顕微鏡の技術の進歩は自律神経の終末部に存在する神経伝達物質によって形態学的に、また組織化学的にコリン作動神経とモノアミン作動神経に分類することが可能となって来た。

モノアミンの中枢および末梢神経系における分布についての研究は、これまで主として生化学的定量法によって追究されて来た。しかし近年、Eränkö⁵⁾、Carlsson、FalckとHillarp⁶⁾らによって蛍光顕微鏡的にモノアミンを証明する方法が確立され、細胞レベルで直視下にモノアミンの分布が観察できるようになって以来、モノアミン作動ノイロンに関する形態学的研究は急速な進歩がもたらされた。

心臓に分布するモノアミン作動神経についてもこれまで2, 3の研究者により報告がなされて来た^{7), 8)}。これらの研究はいずれもごく限られた動物で行なわれているか、または心臓の一部の領域に限られている。したがって各種の哺乳類の心臓刺激伝導系各部のモノアミン作動神経を詳細にしらべた仕事はほとんどない。そこで著者は各種哺乳類の心臓、とくに刺激

伝導系の各部を中心にモノアミン作動神経の分布状態を検索すると同時に2, 3の実験的研究を行なった。

材料と方法

1. 生体アミン検出のための蛍光顕微鏡的証明法（一般にFalck-Hillarp法と呼ばれている）。

従来、生化学的方法でしか検出できなかったモノアミンの細胞レベルにおける局在性を組織化学的に検索しようとする試みは主として副腎を対照として進められて来た。クロム親和性反応やヨウ素酸反応によるアドレナリン分泌細胞のための検出法はその基盤をなす。しかし、これらの反応はその化学的根拠の上でも、鋭敏度の上でも十分とはいいがたい。したがってEränkö⁹⁾がホルマリンで固定後、強い蛍光を発する細胞群がノルアドレナリンの含有量に著しい相関を示すことを明らかにしたことは、この分野における画期的な研究の端緒を作ったものといえる。

その後、カロリンスカ研究所を中心に、主としてスキャンディナヴィアの学者によって開発され、確立された生体アミン検出のための蛍光顕微鏡的証明法はEränkö法の原理にもとづいた改良といえる。

そこでまずDahlströmとFuxe¹⁰⁾の記載をもとに蛍光法の概略を述べると次のごとくである。

a) 凍結乾燥：この装置は冷却器、デシケータ、冷却トラップ、拡散ポンプ、回転ポンプからなる。動物を殺したのち、すみやかに組織片を取り出し、金属容器にブロックを入れ、ドライアイス、イソペンタンを用いて凍結する。ついでこれをデシケータに移し、ポンプを作動し-35℃で5日間、-20℃で24時間、+35℃で12時間、+50℃で1時間と順次温度をあげつつ乾燥する。b) ホルマリンガスによる固定：凍結乾燥終了後、ただちにブロックを入れた金属容器ごとバラホルムアルデヒドを入れたガラス容器に入れ、真空グリースで密封し、恒温器に入れて80℃で1時間置く。c) 包埋：恒温器から取り出し

た組織片は60℃でパラフィン（融点51—53℃）に1時間真空包埋する。d) 薄切封入：包埋組織片は8—10μに薄切し、55—65℃に温めた蛍光のないスライドガラス上に置いて伸展し、キシレンでパラフィンを溶かし、キシレンまたは流動パラフィンで封入する。e) 検鏡：蛍光顕微鏡の光源としては Osram HBO 200 高圧水銀灯を用い、励起フィルターは、Schott BG12 filter (3—4 mm) を光源側におく。暗視野コンデンサーを使用し、逕過フィルター (Zeiss “50” 2 mm) を通して蛍光を観察する。

このような方法でえられた蛍光の特異性は、いろいろの手段でたしかめられてきた。primary catecholamine (たとえばドーパミン、ノルアドレナリン) はホルムアルデヒドガスの作用によって6,7-dihydroxy-1,2,3,4-tetrahydro-isoquinoline となり、さらに強い触媒作用をもつ乾燥蛋白の存在のもとに脱水素されて、強い蛍光をもつ6,7-dihydroxy-3,4-dihydroisoquinoline になる。またある種の tryptamine (たとえば5ヒドロキシトリプタミン) は6-hydroxy-1,2,3,4-tetrahydro-β-carboline をへて、6-hydroxy-3,4-dihydro-β-carboline となり、強い蛍光を示すことが確認されている。しかしながらこの方法で蛍光を示す物質は、多数存在し、また自家蛍光をもつ物質からの鑑別も必要である。

モノアミンによる蛍光はまず生体内に含まれる種々の自家蛍光をもった物質から鑑別されなければならない。多くの自家蛍光をもった物質はパラホルムアルデヒドの処理によって影響されないか、または逆に蛍光を減じ、またパラホルムアルデヒドの湿度に対してモノアミン類のように敏感に反応しない。モノアミン類は既に述べたように、ホルムアルデヒドガスの作用をうけて、蛍光をもった物質に移行するが、種々の還元物質の影響をうけて容易に蛍光をもたない中間物質、すなわち6,7-dihydroxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline または6-hydroxy-1,2,3,6-tetrahydro-β-carboline にかえる、この性質を利用して、80—90%イソプロピルアルコールに0.03—0.1%の割合に sodium borohydride を溶かした液を作用させてモノアミン類の蛍光を消失せしめ、ホルマリンガスの作用で再び蛍光を回復させることができる。このような可逆性の有無を実験的にしらべることによっても、自家蛍光との鑑別ができる。

モノアミン類の蛍光は reserpine, m-tyrosine, α-methyl-m-tyrosine や nialamide のほか、種々のモノアミン酸化酵素の阻害剤などに対して敏感に反応し、

このことから自家蛍光との鑑別と同時に、モノアミン自体における種類の鑑別が可能である。たとえば reserpine の投与によってドーパミン、5ヒドロキシトリプタミンの蛍光は消失する。また α-methyl-m-tyrosine の投与によって蛍光は一過性に消失するがドーパミン含有ノイロンの終末部における蛍光は早期に回復するのに反し、ノルアドレナリン含有ノイロンではその回復はおそい。ドーパミンとノルアドレナリンの蛍光物質に thionyl chloride を作用させると、ノルアドレナリンの蛍光物質(4,6,7-trihydroxy-3,4-dihydroisoquinoline)のみは容易に6,7-dihydroxy isoquinoline になる。この物質は sodium borohydride によって、中間物質、すなわち tetrahydroisoquinoline に還元されず、そのため蛍光を発する。それに反し、ドーパミンの蛍光物質は変化をうけず、そのため sodium borohydride によって蛍光を消失する。このような反応からドーパミンとノルアドレナリンを区別することもできる。

2. 材 料

1) 正常例

材料としては、サル3例、ウシ2例、イヌ10例、ネコ10例、ウサギ10例、モルモット10例、ラット10例、マウス10例の心臓を用いた。各動物はエーテルまたは、ラボナルで麻酔し頸静脈を切断、脱血死せしめ、ただちに心臓を剔出し、右心房、左心房、右心室、左心室と、洞房結節、房室結節、房室束および仮腱索 (Purkinje 線維) の刺激伝導系各部を含んだ組織片を取り出した。取り出された組織片はただちにドライアイス・イソペンタン内に入れ凍結させる。その後の処置は上記に記載したような Falck-Hillarp 法により行なわれた。

2) 薬物投与例

イヌ15例中5例に L-DOPA (100mg/kg)、5例に nialamide (500mg/kg)、さらに5例に reserpine (10mg/kg) をそれぞれ投与し、L-DOPA, nialamide は3—5時間後に、reserpine は6時間後に動物を殺し心臓各部を Falck-Hillarp 法で観察した。

3) 星状神経節切除例

イヌ20例を用いて右星状神経節のみ、左星状神経節のみ、および左、右星状神経節を剔出し、それぞれ1週間、2週間、3週間、および4週間後に動物を殺し、正常例にしたがって Falck-Hillarp 法で観察した。

所 見

1. サ ル

心房と心室：モノアミン作動神経線維（あるいは蛍光線維）は心室より心房に多く分布している。左、右の心房あるいは左右の心室の間には、その分布密度はそれほど変わらない。心房内では心房筋線維の走行に一致して走る線維が多い。このように心房筋間に存在するモノアミン作動神経のほかに、心房筋細胞内に褐色の蛍光を発する顆粒状の形態を呈する物質が認められるが、これはリボフスチンの自家蛍光と考えられる（図1）。

心室内では心房に比較して蛍光線維の分布は少ないが、心筋細胞の走行によく一致して存在するため、一つの切片のなかで蛍光線維をかなりの距離にわたって追究することができる。サルの場合、心房、心室のいずれにおいても、その中隔部では蛍光線維の分布状態がその他の部位よりも弱い（図2）。

刺激伝導系：洞房結節、房室結節とも多数の蛍光線維の分布をうけている。サルでは他の動物と異なって房室結節の方が蛍光線維の分布密度が高い。両結節とも一般心筋線維より細い特殊心筋線維により構成されその配列も複雑になっているためモノアミン作動神経も網状配列をしている。しかし両結節においては、その結節の内部で蛍光線維の分布状態に部位差は認められない。

房室束になると特殊心筋線維は太くなり、その配列も平行配列に近い状態になる。したがって蛍光線維も結節部のような網状配列は認められず、特殊心筋線維にそった配列を呈す。しかし、その神経線維の分布密度は両結節に比較すると、はるかに低い。

仮腱索は一般心筋線維と Purkinje 線維により構成されているが、この部では蛍光線維の分布は極めて少なく、少数の神経線維が観察されるに過ぎない。

血管：いずれの部位の動脈も、静脈も主としてその外膜にモノアミン作動神経を認めることができる。もちろん、毛細血管にはその分布をみない。

神経節細胞：われわれの検索した部位では心内神経節を観察することができなかった。

2. ウ シ

心房と心室：左右の心房と左右の心室を構成する一般心筋線維は、実験に使用した、他の動物に比較して太い。したがって、この心筋線維に分布しているモノアミン作動神経の分布状態が、一見すると減少しているように観察される。しかし、よく注意し

て検索すると心筋細胞間に多数のモノアミン作動神経が分布していることがわかる。しかもその分布密度はサルよりも高い。またウシにおいても心房の方が心室より多数の蛍光線維を認める。心房ではその筋線維の配列状態はやや複雑であるため、蛍光線維の分布もやゝ網状配列をとる。心室では心筋線維の走行にそって配列している。

ウシの場合も、心房、心室のいずれにおいても中隔部ではモノアミン作動神経の分布状態が、その他の部位よりも減少している。

刺激伝導系：洞房結節を構成する特殊心筋線維は一般心筋線維に比較してウシの場合も細いが、実験に使用した他の動物に比較するとかなり太い線維で構成されている。したがって蛍光線維の分布状態が他の動物と比較するとやゝ疎なるように見えるが実際には特殊心筋線維の間にかかなりの蛍光線維を観察でき、他の動物のように網状配列を呈している。房室結節においてもほぼ洞房結節と類似の像を認めることができる（図3）。しかし蛍光線維の分布密度は洞房結節よりやや弱い。両結節ともおのおのの結節内における蛍光線維の分布状態には部位による差を認めることができない。ウシの場合、房室束を構成する特殊心筋線維は一般心筋に比較すると太く、平行配列をしている。したがって結節部とは蛍光線維の分布状態はことなり、特殊心筋線維の走行に一致して分布する。その分布密度は両結節と比較すれば弱い。サルやイヌよりはかなり多数のモノアミン作動神経が分布している。

さらに仮腱索になると、ウシでは典型的な Purkinje 線維が観察され、おのおの Purkinje 線維を取り囲むように蛍光線維が分布している（図4）

血管：われわれの観察したウシの心臓の各部位にみられる動脈や静脈の血管壁においてはその外膜内に蛍光線維が観察できる。しかし、毛細血管には神経の分布を認めることができない。

神経節細胞：われわれが検索した材料では心内神経節や神経細胞を観察することができなかった。

3. イヌとネコ

イヌとネコでは、心臓に観察されるモノアミン作動神経の分布状態が極めて類似している。

心房と心室：イヌとネコでは心房に分布する蛍光線維は、われわれの観察した動物の中ではもっとも分布密度が高い。イヌやネコの心房も他の動物と同様に心房筋の配列が心室に比較すると複雑なため蛍光線維の分布状態は網状を呈す。すなわち、心筋線

維一本ずつを蛍光線維が取り囲むように分布している。左右の心房において、その線維の分布状態には、大きな相違はないが、心房中隔部ではその分布はやゝ疎になる。

イヌとネコの心室では心房に比較して蛍光線維の分布が少ない。心室においては他の動物と同様に心室筋線維の配列が比較的規則正しいため、その筋線維に平行して蛍光線維が走行することがよく観察できる。左右の心室に分布するモノアミン作動神経は心室中隔部で少ない。しかし、左右差はほとんど認められない。

刺激伝導系：イヌとネコの洞房結節では、それを構成する特殊心筋線維は一般心筋線維より細く、小型細胞からなり、しかも、その配列状態が網状を呈する。そのため、この部に分布する蛍光線維も特殊心筋線維にそって終末するので、その線維の走行は網状を呈す。さらにその神経の分布密度は検索した他の動物よりも、最も高い(図5)。

イヌとネコの房室結節においても洞房結節と類似の形態を呈す。すなわち、房室結節を構成する特殊心筋線維は網状配列をとるため、この筋線維にそって走行する蛍光線維も洞房結節と同様に網状分布を呈す(図6)。しかし、その分布密度はやゝ洞房結節と比較すると低い。イヌとネコの房室束において、これを構成する特殊心筋線維は両結節を構成している線維より太く、その配列も規則正しい平行配列をとっている。そのためモノアミン作動神経も特殊心筋線維にそって分布している。しかし、その神経の分布密度は両結節部にみられるよりも、はるかに疎である(図7)。

イヌとネコの仮腱索内に認められる Purkinje 線維に分布する蛍光線維はきわめて少なく、切片標本の弱拡大で観察しても一視野に1~2本の神経線維を観察するにすぎない(図8)。

血管：イヌやネコの心臓に存在する動脈も静脈も、その外膜に蛍光線維の分布を認められるが、毛細血管にはその分布をみない。

神経節細胞：イヌの房室結節の近傍で5~6個の神経細胞が集団した心内神経節を認めた。蛍光法で観察したが、これらを構成する神経細胞には蛍光を生ずる細胞は観察されなかった。

4. ウサギとモルモット

ウサギとモルモットの心臓にみられるモノアミン作動神経はその分布状態は極めて類似している。

心房と心室：ウサギやモルモットの心房を構成する一般心筋線維は、イヌやネコに比較すると細く、

小型の細胞からできている。その線維の走行はイヌや、ネコよりも複雑である。したがってこれら筋線維に終末する蛍光線維も網状に分布するが、その網目は小さい。しかも、ウサギやモルモットでは蛍光線維はサル、イヌやネコに比較すると、その数が少ない。したがって心房においては神経線維の分布密度は低い。ウサギやモルモットではモノアミン作動神経の分布状態は左右の心房において大きな差は認められない。ただ心房中隔部ではその神経の分布状態は疎となる(図9)。

ウサギやモルモットの心室では心房における蛍光線維の分布状態よりもさらに疎となる。しかし心室では一般心筋は比較的規則正しい配列をとるため蛍光線維の走行も筋線維にそって分布する。ウサギやモルモットでは左右の心室のモノアミン作動神経の分布状態には大きな相違はないが心室中隔部では一般に蛍光線維の分布が少ない。

刺激伝導系：ウサギやモルモットの刺激伝導系はイヌやネコに比較すると一般染色(たとえば、ヘマトキシリン・エオジン染色)標本ではやゝその検索が難しい。これは刺激伝導系を構成する特殊心筋線維の構造が一般心筋と類似しているためである。しかし洞房結節や房室結節におけるモノアミン作動神経の分布状態はイヌやネコなどと同様である(図10, 11, 12)。ウサギやモルモットでは両結節を構成する特殊心筋線維は細く、小さいので筋線維の配列は複雑である。したがって、このような特殊心筋細胞に分布するモノアミン作動神経も密な網状分布を呈している。さらにこれらの神経線維は両結節のいずれにおいても結節内において部位による分布差は認められない。

房室束になるとやゝ特殊心筋線維も太くなるが、蛍光線維は極めて減少し、房室束を構成する筋の中にごく少量の神経線維を認めるに過ぎない。

仮腱索ではウサギでも、モルモットでも、その中に Purkinje 線維を認めるが、蛍光線維はほとんど観察できない。

血管：ウサギやモルモットの心臓に分布する動脈や静脈は主として外膜の中に蛍光線維を認めることができる。毛細血管には認められない。

神経節細胞：ウサギの心房内に数々の神経細胞の集団を観察したが、蛍光法ではそれらの細胞は蛍光を生じない。モルモットでは観察できなかった。

5. ラットとマウス

ラットとマウスでは心臓自身の大きさなどはかなり異なっているが、刺激伝導系の形態やモノアミン

作動神経の分布状態などはかなり類似している。

心房と心室：ラットやマウスの心房では一般心筋線維はかなり細いので、心房筋に分布する蛍光線維はこれら心筋線維間に存在するため、蛍光線維の分布は密なように見えるが、よく観察すると、ウサギやモルモットよりもさらに疎な分布を呈す。

ラットやマウスの心室ではそれを構成する一般心筋線維はウサギやモルモットより細い。さらに心室筋線維は心房と異なりその線維の走行は比較的平行走行をとるため、心室に分布する蛍光線維は心筋線維の走行にそって分布している。しかしその分布密度はわれわれの検索した動物の中ではもっとも低い。心房、心室ともに左右差はほとんど認められないが、いづれにおいても、中隔部はモノアミン作動神経の分布が少ない(図13)。

刺激伝導系：ラットやマウスはウサギやモルモットの洞房結節や房室結節と同様に一般染色標本においては、その部位の確定が、難しい。ラットやマウスの洞房結節は小さく、これを構成する特殊心筋線維も細く、小さい。またその配列も複雑である。そのため洞房結節に分布する蛍光線維はその分布状態は密である。そうして細かい網状分布を呈す。

房室結節も洞房結節と同様、これを構成する特殊心筋線維は細く、小さい。したがってこの部に分布する蛍光線維は細かい網状走行を呈す。しかし、両結節とも結節内では蛍光線維の分布の局所差というもの認めない(図14)。

ラットやマウスの房室束はウサギやモルモットよりも、さらに小さく、心室中隔膜性部に存在する。ここを構成する特殊心筋線維は結節部のものより太い。しかしこの部における蛍光線維の分布状態はきわめて弱い。すなわち、モノアミン作動神経をほとんど観察できない。

ラットやマウスの仮腱索には特殊心筋が含まれているが、その仮腱索内には蛍光法で観察されるモノアミン作動神経は全く認めることができない(図15)。

血管：ラットやマウスでも他の動物と同様に、心臓内に分布している動脈や静脈の外膜には蛍光線維を認めることができる。しかし、毛細血管には蛍光線維を観察することができない。

神経節細胞：ラットやマウスの心房部には数ヶの神経細胞が集合した神経節や単独に存在する神経細胞をとこところで観察することができるが大部分のものは蛍光法で、その細胞は蛍光を生じない。またこれらの神経細胞とは別に、黄色の強い蛍光を発

する細胞を、とくに心房部で観察することができる。これはクロム親和性細胞に属する細胞であろうと思われる(図16)。

6. 薬物投与例

この実験は主としてイヌの心臓を用いて行った。

Reserpine 投与例：Reserpine (10mg/kg)をイヌに腹腔内注射して、6時間後にその心臓を摘出して蛍光法で観察した。その結果、心房や心室に分布するモノアミン作動神経はもちろんのこと、とくにその分布密度の強い洞房結節や房室結節においても蛍光線維はほとんど観察ができなくなる。

L-DOPA投与例：L-DOPA (100mg/kg)をイヌに腹腔内注射して、3~5時間後に殺し、心臓を摘出して蛍光法で観察した。その結果、心房や心室に分布するモノアミン作動神経の蛍光は増強され、その数も増加する。さらに洞房結節や房室結節においても、一段と蛍光線維の蛍光は増強され、緑黄色であった蛍光が、黄色蛍光を呈するようになる。そうしてその神経線維の数も増加する。

Nialamide投与例：Nialamide (500mg/kg)をイヌに腹腔内注射して、3~5時間後に殺し、心臓を摘出して蛍光法で観察した。その結果、心房や心室に分布するモノアミン作動神経はその蛍光を増強し、数も増加するがL-DOPA投与時より蛍光は弱く、数も少ない。洞房結節や房室結節の蛍光線維も蛍光を増強し、その数も増加するがL-DOPA投与時よりも蛍光は弱い(図17)。

7. 星状神経節切除例

イヌの場合、交感神経系に属する下頰神経節と第一胸神経節が融合して星状神経節を作る場合が多い。そこでイヌにおいて、左右の星状神経節を同時に、あるいは、左右別々に摘出し、術後、1週目、2週目、3週目、4週目にイヌを殺し、心臓各部を蛍光法で観察した。

1) 右星状神経節摘出例

右星状神経節摘出後、1週目のイヌの心臓では右心房、右心室、刺激伝導系各部(洞房結節、房室結節、房室束、仮腱索)において蛍光線維が多少減少する。しかし、左心房、左心室においては、正常例とほとんどその分布状態は変わらない。術後2週間目では右心房、右心室、洞房結節および房室結節に分布するモノアミン作動神経はその数を減少する。術後3週目になると右心房、右心室、洞房結節および房室結節に分布する蛍光線維は2週間目よりさらに減少するが、どの部位においても完全に消失するこ

とはない。術後4週間目のものでは心臓の各部においても3週間目のものと、ほとんど変わらない蛍光線維の分布を示す。

2) 左星状神経節摘出例

左星状神経節摘出後、1週目のものでは左心房と左心室において蛍光線維の分布密度はやや低くなる。しかし右心房、右心室、刺激伝導系の各部位は正常例とほとんど変わらない分布を受けている。術後2～4週間目では左心房と、左心室で蛍光線維の分布はかなり減少するが、全く消失することはない。それに比較して右心房、右心室、刺激伝導系各部においては蛍光線維の分布状態はほとんど減少しない。

3) 両側の星状神経節切除例

イヌの両側の星状神経節を摘出し、1週間目のものでは左心房、右心房、左心室、右心室、および刺激伝導系各部において全体としてモノアミン作動神経は少し減少を呈する。術後2～4週間目になると左心房、右心房、左心室および、右心室においては蛍光線維はいちじるしく減少する。しかし、この場合も完全に消失するという事はない。刺激伝導系においても、洞房結節や房室結節では大部分の蛍光線維は消失するが、これらの組織内の蛍光線維が全く消失することはない。このような消失状態は両結節とも、ほとんど平等に減少し、部位によっての差はみられない。房室束、仮腱索の蛍光線維は全く消失する(図18)

以上いづれの例においても、心臓に分布する血管壁の蛍光線維はほとんど変化を受けない。

考 察

心臓が迷走神経ならびに交感神経によって拮抗性支配を受けていることは周知の事実である。これらの神経線維は心臓基底部に表在性および深在性の神経叢を形成する。心臓分布の神経は大部分この神経叢を介して心臓各部に分布する。しかし、動物の種族或いは心臓内の部位により、それらの神経線維の分布に量的な差がある。一般に交感神経節後線維は心臓の各部位で均等に分布する傾向があるが、動物の種族によって心臓内に分布する量にも変動がある。これに対して迷走神経節後線維は、脊椎動物の心臓には基本的要素として一定量が存在しているものと考えられる。

一方、心臓神経の機能的役割としては心臓の自動能の調節作用が考えられている。求心性の神経要素は心臓反射の求心路として、また遠心性の神経要素

は心筋の①収縮力の強さ、②刺激の伝導速度、③興奮性を变化させるものと考えられている。一般に交感神経節後線維はモノアミン作動神経に属しており上記①、②、③のいずれの作用をも増強させるように働き、迷走神経節後神経はこれらの作用を低下させるように働くものと思われる。神経系における興奮の化学的伝達物質としてアセチルコリン、カテコールアミン、GABAなどが存在することは、今日では認められている。一般に神経の終末部でアセチルコリンが伝達物質として働く場合、その神経をコリン作動性神経と名付け、カテコールアミン(またはモノアミン)が働く場合はカテコールアミン(またはモノアミン)作動神経と名付ける。

これらの神経伝達物質の研究はこれまで主として生化学的な研究方法で進められて来たが、近年、とくに開発されて来た組織化学的手技によっても伝達物質の証明ができるようになって来た。特に、モノアミンの組織化学的検索法としての蛍光法は材料と方法の項ですでにその手技を述べたがきわめて優秀な方法である。この方法をもちいて行なわれた中枢神経系および末梢神経系に関する研究成果は非常に多数におよんでいる。

心臓における蛍光法に関する研究も今日まで多数の報告がある。^{4,7,8,11,12} 蛍光法により Angelakos¹¹ は一般心筋においては心房が心室よりも、また右心房が左心房よりもモノアミン作動神経の分布が密であることを観察している。著者の所見では実験に使用したすべての動物(サル、ウシ、イヌ、ネコ、ウサギ、モルモット、ラット、マウス)において心房が心室よりもモノアミン作動神経の分布が高いが、左、右の心房、あるいは、左右の心室の間ではその分布状態にほとんど差をみとめなかった。この所見は数種の動物の心臓に分布するモノアミン作動神経を観察した、NielsenとOwman⁸の報告によく一致する。一般に哺乳類の心臓では心房が心室よりも密な神経支配を受けていることが明らかである。NielsenとOwman⁸の研究の中で、ネコだけが心房よりも心室の方がモノアミン作動神経の分布密度が高いと述べている点が著者の報告と異なる。一方コリン作動神経は哺乳類心房では豊富に分布している。しかし心室でこれら神経の存在については見解が一致しない。すなわち、機能上からの観察によれば少数の例外をのぞき多くのものはコリン作動神経が心室には分布していないと考えられているが^{14,15,16}。しかし形態学的には心内神経節が心室内にもあること¹⁷心

臓移植の後にも心内神経節からでた神経線維が残っていること^{18,19)} 心室筋細胞に終末する神経にアセチルコリンエステラーゼ反応が陽性を呈すること²⁰⁾ さらに電子顕微鏡的研究^{11,4)}などから心室筋にもコリン作動神経が存在することが認められている。

刺激伝導系における神経支配に関しても古くから議論の多いところである。KeithとFlack²¹⁾は洞房結節が迷走および交感神経の2重支配をうけていることを認めている。Nomura²²⁾はマウスで刺激伝導系には大部分副交感神経節後線維が分布しており、右側からの線維は主として洞結節に、左側からの線維は房室結節に分布していると報告している。またDavies, FrancisとKing²³⁾によれば偶蹄類や水棲哺乳類では房室束、それに続く左、右脚にまで、豊富な神経線維を見出すが、その他の哺乳類では房室結節には豊富な神経線維を見出すが、房室束にいたれば少なくなり、脚になるとほとんど認められなくなるようであると述べている。しかしなお一致した見解に到達していない。著者の研究では洞房結節ではサルをのぞいてウシ、イヌ、ネコ、ウサギ、モルモット、ラット、マウスではモノアミン作動神経の分布密度はその他の心臓各部位におけるよりも高い。この所見は動物の種類はことなるが、NielsenとOwman⁸⁾の報告とよく一致する。このように洞房結節において、モノアミン作動神経の分布が高いことは心臓の自動能のペースメーカーとしての働きのある結節部として神経性調節を受けることから当然のことと思われる。

一方、房室結節もサルをのぞけば実験に使用した動物で、洞房結節にはやゝおとるが、強いモノアミン作動神経の分布をうけている。この部位が、心房から伝わって来た、刺激を心室へつたえる連絡部位としてこれまた神経性調節をうけているものと考えられる。

これまで房室束やPurkinje線維には一般に神経終末の分布が疎で、特にPurkinje線維ではモノアミン作動神経は極めて数少ないとされている。しかし、著者の研究では、これに対して房室束、仮腱索(Purkinje線維を含んでいる)におけるモノアミン作動神経の分布状態にはかなりの動物差があることがわかった。すなわち、ウシでは他の検索した動物とは異なり房室束においても、Purkinje線維においても、モノアミン作動神経はその分布密度は高い。サル、イヌおよびネコでは房室束ではまだ少しの神経線維を認めるが、仮腱索ではほとんど観察できない。

ウサギ、モルモット、ラットおよびマウスでは房室束ではごく少しのモノアミン作動神経を認めるが、仮腱索では全く認めることができなかった。このように房室束、仮腱索に分布するモノアミン作動神経の働きについてはほとんど解明されていない。

一方、コリン作動神経も洞房結節や房室結節では豊富な分布を呈している。^{26,27)}房室束やPurkinje線維におわる神経は電顕による検索からこれらの部位においてはコリン作動神経終末と考えられる構造を呈する終末が大部分をしめると報告されている。

近年になって電子顕微鏡の出現により、電顕を用いて神経終末の微細構造が観察されるようになった。すなわち、その終末部に含まれるシナプス小胞には3つの型が認められている。それは直径約500Åの明るいシナプス小胞、直径約500Åの顆粒を含んだ小含粒小胞、さらに直径約1000Åの顆粒を含んだ大含粒小胞である。このうち、明るいシナプス小胞を含んだ終末はコリン作動神経の終末であり、小含粒小胞を含んだ終末はモノアミン作動神経の終末であると考えられている。^{29,30),31),32)}ただ大含粒小胞の働きは不明である。

Hayashi et al.³³⁾大家⁴⁾はイヌの心臓に分布する神経終末に含まれるシナプス小胞の形の上から終末部を5型に分類し、コリン作動性神経終末とモノアミン作動神経終末の電顕による分類を明らかにしている。さらに一般心筋細胞や特殊心筋細胞に終る神経終末は通常数個の種々なタイプが混在した終末が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。したがって著者が行なった研究から明らかになった心臓各部位に分布するモノアミン作動神経もコリン作動神経と混合して心筋細胞に終ると考えられる。したがって、1個の筋細胞はモノアミン作動神経とコリン作動神経の二重の神経支配の下に調節されているものと思われる。

L-DOPAやnialamideの投与により、心臓各部のモノアミン作動神経はその蛍光を増強させ、また線維の数も増加する。さらにreserpineの投与で減少することなどの実験により心臓に分布するモノアミンの大部分はノルアドレナリンを考えてまちがいないと思われる。

心臓に分布するモノアミン作動神経の起源がどこにあるかということに関しては古くから種々の議論をなされてきた^{21),22),23)}しかし、今日まで一致した見解には到達していない。著者はこの問題を少しでも解

明するためにイヌの星状神経節の摘出後におけるモノアミン作動神経の分布の変動について研究した。左心房、左心室に分布するモノアミン作動神経は左星状神経節に由来する交感神経節後神経である。また右心房、右心室に分布するモノアミン作動神経は右星状神経節に由来する神経より支配されている。また刺激伝導系に属する各部位、特に洞房結節や房室結節は右星状神経節に由来する神経が分布しているものと思われる。しかし両星状神経節を摘出して心臓各部のモノアミン作動神経は術後3週間を過ぎても、完全には消失しない。このことは心臓を支配するモノアミン作動神経はそのすべてが星状神経節に由来するのではなく、おそらく上頸神経節、第2、第3胸神経節あたりから少数の神経が心臓に分布しているものと考えられる。また、心内神経節は著者の実験ではイヌ、ネコ、ラットおよびマウスでのみ観察できた。他の動物にも、おそらく心内神経節が存在するものと思われるが、著者の材料には含まれなかったものと考えられる。イヌ、ネコ、ラットおよびマウスでみられる心内神経節を構成する神経細胞は蛍光法では蛍光を発しないので、これらの細胞はコリン作動神経に属するものと推定される。このような神経細胞の他に蛍光法で強い黄色蛍光を発する細胞がラットやマウスに観察できたが、これはクロム親和細胞に属するものと考えられるが、その生理的な意義に関しては全く不明である。

心臓に分布する血管は毛細血管をのぞいた、動脈や静脈でその外膜にモノアミン作動神経が分布していた。これら血管の蛍光線維は、星状神経節の摘出後においても、ほとんどの分布状態を変えないところから、この部に分布する神経は星状神経節以外の交感神経節に由来する神経によって支配されるものと思われる。

結 語

サル、ウシ、イヌ、ネコ、ウサギ、モルモット、ラットおよびマウスの心臓を Falck-Hillarp による蛍光法で検索し、これら動物に認められるモノアミン作動神経線維の心臓における分布状態を観察し、次の所見を得た。

1) 検索した動物のすべての心臓において、心室よりも心房でモノアミン作動神経の分布密度は高かった。左心房と右心房の間や左心室と右心室の間ではその分布状態に大きな差はなかった。

2) 刺激伝導系の中で洞房結節はサルを除くすべ

ての動物で、モノアミン作動神経の分布密度は心臓の他の部位よりも最も高かった。

3) 房室結節に認められるモノアミン作動神経はサル以外の動物では洞房結節についてその分布密度が高かった。ただサルでは洞房結節よりも房室結節の方が分布密度が高かった。

4) 房室束のモノアミン作動神経の分布密度はウシでは高いが、サル、イヌ、およびネコでは結節部に比較するとはるかに低かった。ウサギ、モルモット、ラットおよびマウスではモノアミン作動神経はほとんど観察できなかった。

5) 仮腱索内の Purkinje 線維に対するモノアミン作動神経の分布状態はウシでは高いが、サル、イヌ、およびネコではその分布がほとんど認められなかった。またラットやマウスでは全く検索することができなかった。

6) L-DOPA, nialamide の投与によりイヌの心臓に分布するモノアミン作動神経は、すべての部位でその蛍光が増強され、さらに神経線維の数も増加した。Reserpine 投与後には心臓のすべての部位で蛍光線維は減弱、または消失した。

7) 星状神経節を摘出したのち、イヌの心臓におけるモノアミン作動神経の分布状態を観察した。その結果、左心房と左心室は左星状神経節由来のモノアミン作動神経により支配されていることがわかった。また右心房、右心室、および刺激伝導系各部位は、右星状神経節由来の神経によりその大部分が支配されていることが証明できた。しかし左右の星状神経節を摘出しても心臓の各部位でモノアミン作動神経は完全には消失しなかった。

稿を終るにのぞみ御懇篤なる御指導と御校閲を賜った岡山大学医学部第一解剖教室の大塚長康教授に深い感謝を捧げると共に、終始、実験や論文作製に御協力をいただいた根ヶ山美和子助手、荻田成人技官に心からお礼申し上げます。

文 献

- 1) YAMAUCHI, A.; Innervation of the vertebrate heart as studied with electron microscope. Arch. Histol. Jap. **31**, 83-117, 1969.
- 2) PICK, J.; The Autonomic Nervous System. Lippincott, Philadelphia, 1970.
- 3) 福山右門：心臓支配神経の起源から終末まで。日本医師会雑誌, **64**, 1027-1044, 1970.
- 4) 大塚長康：心臓に分布するモノアミン作動線維。日本医師会雑誌, **64**, 1044-1049, 1970.
- 5) ERÄNKÖ, O.; On the histochemistry of the adrenal medulla of the rat, with special reference to acid phosphatase. Acta anat., **16**, Suppl. 17, 1952.
- 6) CARLSSON, A., FALCK, B. and HILLARP, N.-Å.; Cellular localization of brain monoamines. Acta physiol. scand., Suppl. **196**, 1-28, 1962.
- 7) DAHLSTRÖM, A., FUXE, K., MYA-TU, M. and ZETTERSTRÖM, B. E. M.; Observation on adrenergic innervation of the dog heart. Am. J. Physiol., **209**, 689-692, 1965.
- 8) NIELSEN, K. C. and OWMAN, CH.; Difference in cardiac adrenergic innervation between hibernators and nonhibernating mammals. Acta physiol. scand., Suppl. **316**, 1-30, 1968.
- 9) DAHLSTRÖM, A. and FUXE, K.; Evidence for the existence of monoamine containing neurons in the central nervous system. I. Demonstration of monoamines in the cell bodies of brain stem neurons. Acta physiol. scand., Suppl. **232**, 1-55, 1964.
- 10) 山内昭雄：神経支配（心筋—その機能と構造）日本臨床, **31**, 36-44, 1973.
- 11) ANGELAKOS, E. T., FUXE, K. and TORCHIANA, M. L.; Chemical and histochemical evaluation of the distribution of catecholamines in the rabbit and guinea pig hearts. Acta physiol. scand., **59**, 184-192, 1963.
- 12) 大塚長康, 越智淳三：カテコールアミン作動ニューロンの蛍光顕微鏡的ならびに電子顕微鏡的研究。神経研究の進歩, **13**, 803-811, 1970.
- 13) CHIBA, T. and YAMAUCHI, A.; On the fine structure of the nerve terminal in the human-myocardium. Z. Zellforsch., **108**, 324-338, 1970.
- 14) SCHAFFER, H.; Central control of cardiac function. Physiol. Rev., **40**, Suppl. 4, 313-231 1960.
- 15) GREGG, D. E. and FISHER, L. C.; Blood supply to the heart. in The Handbook of physiology, Am. physiol. Soc., Washington, 1963.
- 16) BURNSTOCK, G.; Evolution of the cardiovascular systems in vertebrates. Pharmacol. Rev., **21**, 247-324, 1969.
- 17) MITCHELL, G. A. G.; Cardiovascular innervation. Livingstone, Edinburgh, 1956.
- 18) NAPOLITANO, L. M., WILLMAN, V. L., HANLON, C. R. and COOPER, T.; Intrinsic innervation of the heart. Am. J. Physiol., **208**, 455-458, 1965.
- 19) POTTER, L. T., COOPER, T., WILLMAN, V. L. and WOLFE, D. E.; Synthesis, binding, release, and metabolism of norepinephrine in normal and transplanted dog hearts. Circulation Res., **16**, 468-481, 1965.
- 20) HIRANO, H. and OGAWA, K.; Ultrastructural localization of cholinesterase activity in nerve endings in the guinea pig heart. J. Electron Micr., **16**, 313-321, 1967.
- 21) KEITH, A. and FLACK, M. W.; The form and nature of the muscular connections between the primary divisions of the vertebrate heart. J. Anat. Physiol., **41**, 172, 1907.
- 22) NOMURA, S.; On the structure, distribution and innervation of the special heart muscle systems of the mouse. Cytol. & neurol. stud., **9**, 212-256, 1952.
- 23) DAVIES, F., FRANCIS, E. T. B. and KING, T. S.; Neurological studies of the cardiac

- ventricles of mammals. *J. Anat.*, **86**, 130-143, 1952.
- 24) BOJSEN-MOLLER, F. and TRANUM-JENSEN, J.: Whole-mount demonstration of cholinesterase-containing nerves in the right wall, nodal tissue and atrioventricular bundle of the guinea pig heart. *J. Anat.*, **108**, 375-386, 1971a.
- 25) BOJSEN-MOLLER, F. and TRANUM-JENSEN, J.: On nerves and nerve ending in the conducting system of the moderator band (septomarginal trabecula). *J. Anat.*, **108**, 387-395, 1971 b.
- 26) JAMES, F. N. and SPENCE, C. A.: Distribution of cholinesterase within the sinus node and A-V node of the human heart. *Anat. Rec.*, **155**, 151, 1966.
- 27) OGA, K.: Light and electron microscopic studies on cholinesterase of the dog heart. *Acta Histochem. Cytochem.*, **4**, 111-, 1971.
- 28) HAYASHI, S.: Electron microscopy of the heart conduction system of the dog. *Arch. histol. jap.*, **33**, 67-86, 1971.
- 29) 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.
- 30) BLOOM, F. E. and BARNETT, R. J.: Fine structural localization of norepinephrine in vesicles of autonomic nerve endings. *Nature*, **210**, 599-601, 1967.
- 31) HÖKFELT, T.: Electron microscopic studies on brain slices from regions rich in catecholamine nerve terminals. *Acta physiol. scand.*, **69**, 119-120, 1976.
- 32) HÖKFELT, T.: In vitro studies on central and peripheral monoamine neurons at the ultrastructural level. *Z. Zellforsch.*, **91**, 1-74, 1968.
- 33) 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.

附 図 説 明

各種哺乳類の心臓各部におけるモノアミン作動神経

- 図1. 右心房, サル, ×150
- 図2. 左心室, サル, ×150
- 図3. 房室結節, ウシ, ×200
- 図4. 仮腱索, ウシ, ×250
- 図5. 洞房結節, イヌ, ×150
- 図6. 房室結節, イヌ, ×150
- 図7. 房室束, イヌ, ×150
- 図8. 仮腱索, イヌ, ×150
- 図9. 右心房, モルモット, ×130
- 図10. 洞房結節, ウサギ, ×100
- 図11. 房室結節, ウサギ, ×60
- 図12. 洞房結節, モルモット, ×150
- 図13. 左心室, ラット, ×180
- 図14. 房室結節, ラット, ×130
- 図15. 仮腱索, ラット, ×200
- 図16. 右心房内にみられるクロム親性細胞, ラット, ×230
- 図17. Nialamide 投与後の右心房, イヌ, ×130
- 図18. 両側星状神経節摘出後の左心室, イヌ, ×120

Monoaminergic Innervation of the Mammal Heart as Studied with the Fluorescence Microscope.

Tamotsu ISOBE

Department of Anatomy
Okayama University Medical School
(Director : Prof. Nagayasu OTSUKA)

The monoaminergic innervation of the mammal (ox, monkey, dog, cat, rabbit, guinea pig, rat and mouse) heart was studied by a histochemical fluorescence technique.

The number and distribution of monoaminergic nerve terminal was greater in the atria than in the ventricles of the heart of mammals. Fluorescence histochemical studies of the mammal heart conducting system have shown the density of monoaminergic nerve terminals to be highest in the sino-atrial node, followed in order by atrio-ventricular node, atrio-ventricular bundle and false tendons. The plexus was so extensive that the majority of sino-atrial nodal cells appeared to be innervated. The innervation to the Purkinje cell in the false tendons from both the right and left ventricle of mammals except for ox was of low density and a large number of cells seemed to have no contact at all with the monoaminergic terminals.

In the cases of 6 hrs after reserpine administration, fluorescent nerve fibers had disappeared from all mammal heart. In cases in which L-DOPA oder nialamide was administered 3-5 hrs before killing, fluorescent nerve fibers in mammal heart gave an intensified fluorescence together with the increased number of fluorescent fine varicose nerve fibers.

After right and left stellate ganglionectomy, histochemical determinations showed a decrease in monoaminergic nerve content both right and left atria, in both right and left ventricle, and heart conduction system.

図 1 .

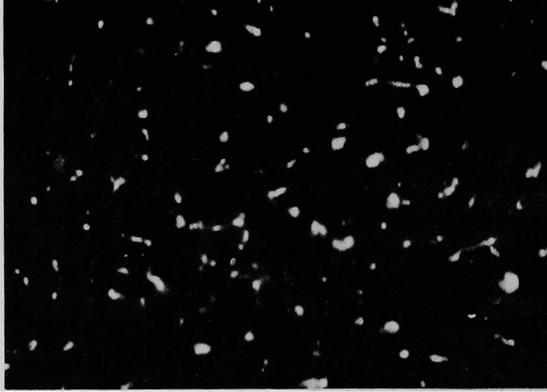


図 2 .

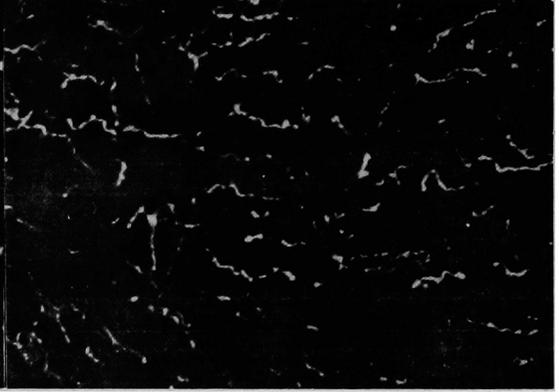


図 3 .

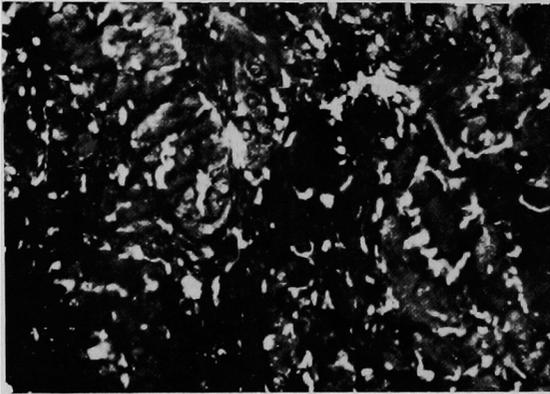


図 4 .

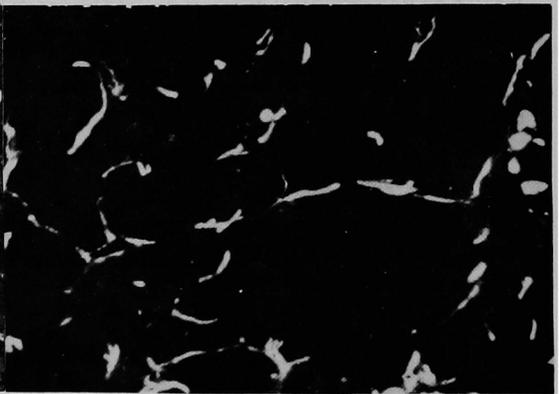


図 5 .

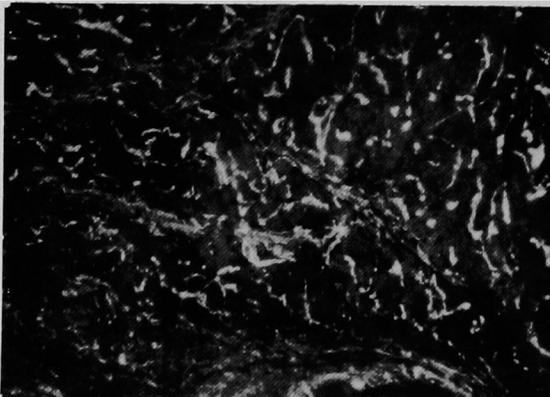


図 6 .



磯部保論文附图

図7.



図8.

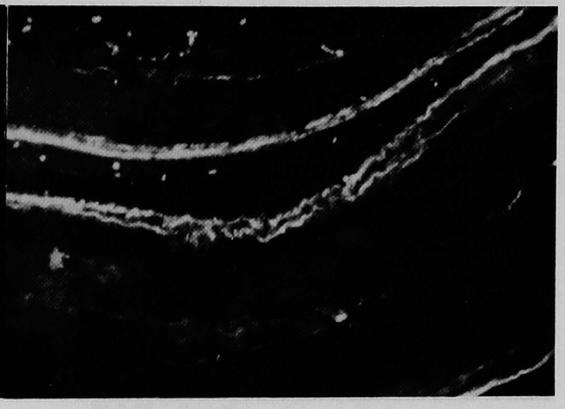


図9.

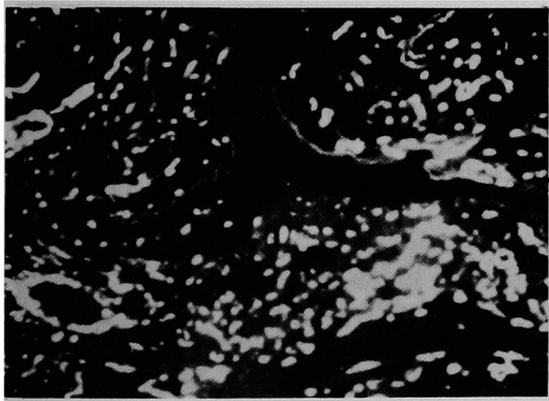


図10.

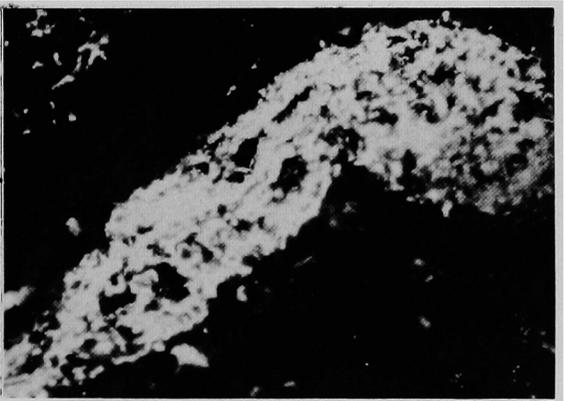


図11.

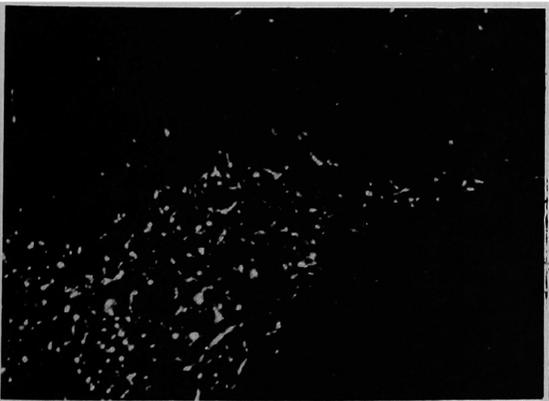


図12.

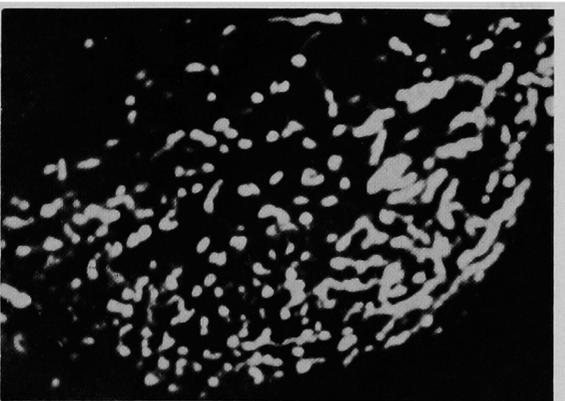


図13.

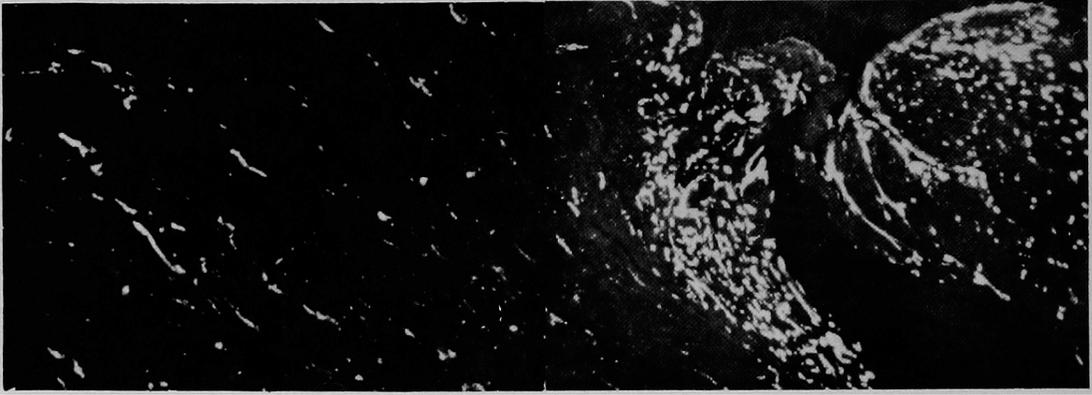


図14.

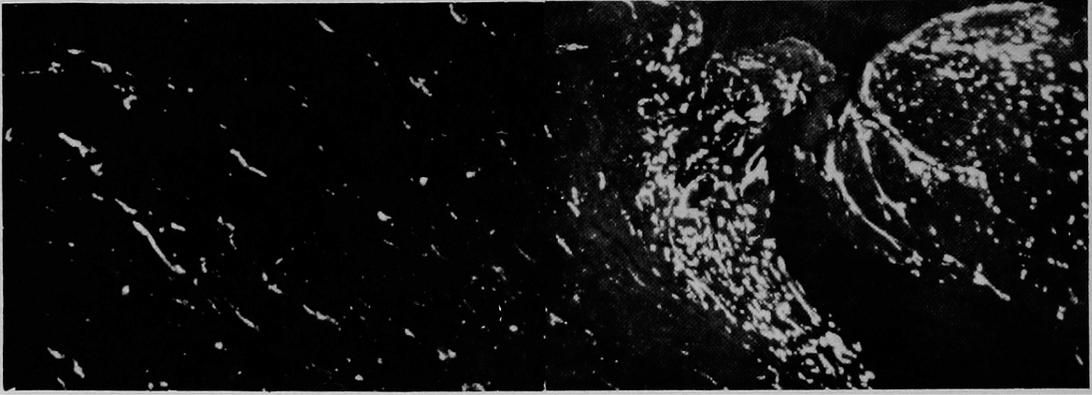


図15.

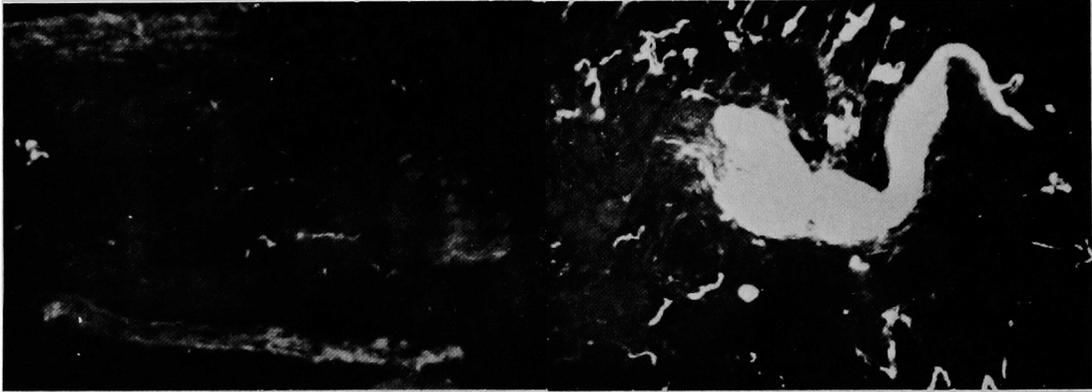


図16.

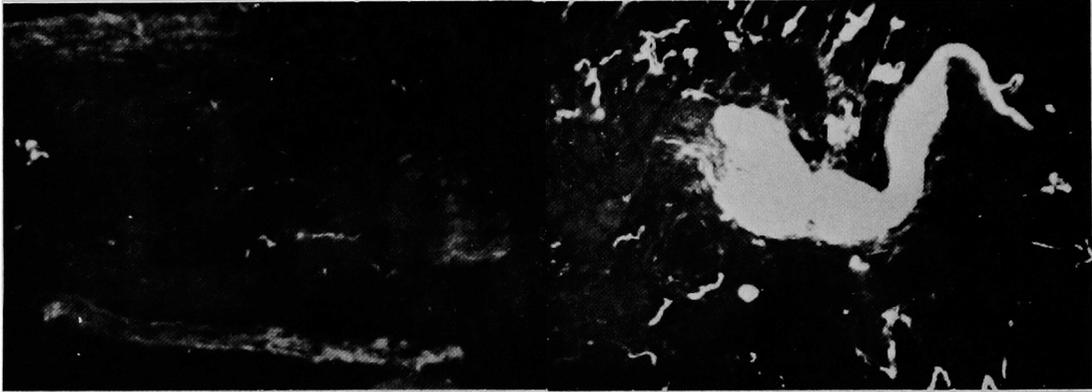


図17.

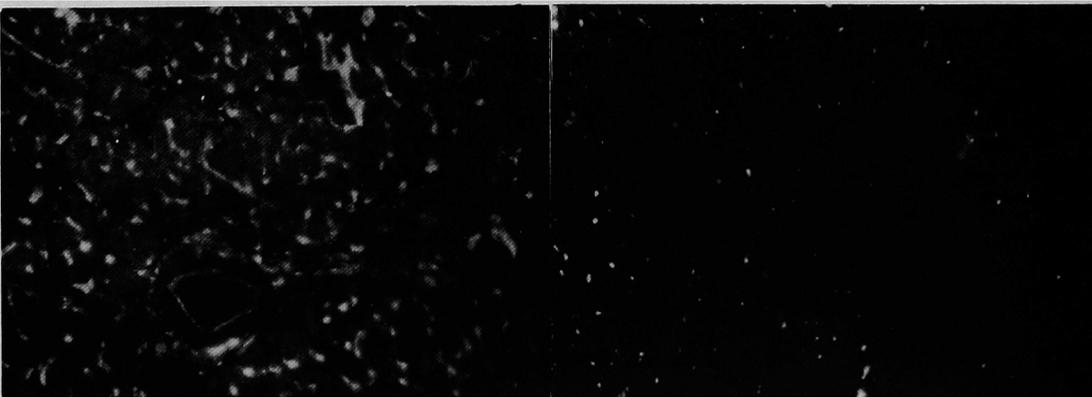


図18.

