

心臓刺激伝導系の組織化学的研究

岡山大学医学部第一解剖学教室（指導：大塚長康教授）

椋代龍彦

（昭和55年5月27日受稿）

Key words：心臓刺激伝導系，酸性フォスファターゼ，
コハク酸脱水素酵素，組織化学と電子顕
微鏡像

緒言

固有の一般心筋とは組織学的に構造を異にする特殊心筋の存在と，その特異な配列について Purkinje (1845), His (1893), Tawara (1906), Klith と Flack (1907) らの発表が行なわれて以来，この特殊な組織は心臓の刺激伝導系として数多くの研究者により，その構造と機能に関する検索が行なわれてきた。

しかし，近年急速に進歩した組織化学的方法により，一般心筋，特に特殊心筋を観察し，その構造にあずかる細胞内に含まれる化学物質と，それら物質の組織構造における局在性や，代謝の問題について研究した報告は少ない。

そこで，本研究では，われわれの教室の刺激伝導系に関する組織化学的研究の一連の研究の一つとして，各種ほ乳類の刺激伝導系各部を構成する特殊心筋線維における酸性フォスファターゼとコハク酸脱水素酵素の分布状態を比較解剖学的に検索すると同時に，ラットを用いてこれら両酵素に関する発生学的研究を行なった。

材料と方法

I) 酸性フォスファターゼ

A) 光学顕微鏡的観察

酸性フォスファターゼの光学顕微鏡的観察には，ウシ（3例），ブタ（4例），サル（3例），イヌ（6例），ウサギ（5例），モルモット（5例），ラット（10例），マウス（5例）が用いられた。また，酸性フォスファターゼの発生学的変化の研究には，生直後（2例），生後2日目（2例），3日目（2例），8日目（2例），12日目（3例），14日目（2例），20日目（2

例），21日目（2例），24日目（3例），28日目（4例），30日目（4例），32日目（3例），35日目（2例），45日目（1例），100日目（1例），のラットが用いられた。

ウシ，ブタは屠殺場よりできるだけ新鮮な心臓を提供してもらい，実験に用い，イヌ，サルはネンブタール麻酔下において，ウサギ，モルモット，ラット，マウスはエチルエーテル，または，クロロホルム吸入麻酔下において，頸静脈を切断，脱血死せしめ，ただちに開胸し，心臓を摘出し，心房，心室，および刺激伝導系各部位（洞房結筋，房室結筋，房室束，Purkinje 線維）を摘出した。

その後下記のごとき Gomori 法を行なった。

1) 動物から摘出した心臓の心房，心室，刺激伝導系各部位を生理的食塩水，または，リンゲル液にて，血液が残らないようによく洗う。

2) グルタルアルデヒド 6 cc, 0.1M トリス・マレイン酸緩衝液 (pH 5) 44cc の混合液で固定する。24時間。

3) 蒸留水で水洗。

4) 凍結切片を作製

5) 滲漬液に3時間（室温）

6) 水洗の後，1% 硫化アンモニウム水溶液につける。2～3分

7) 水洗の後，グリセリンに封入。

滲漬液の作り方

0.1 M トリス・マレイン酸緩衝液 (pH 5) 10cc, 蒸留水 10cc および，1.25% β -グリセロリン酸ナトリウム水溶液（前もって pH を 5 に 1N 塩酸にて調整しておいたもの）10cc をよく混ぜる。この液に 0.1～0.2% 硝酸鉛溶液 20cc を 1 滴ずつよくかきまぜながら加える。必要があれば，最後に

0.1 N 塩酸で pH 5 に調整する。

B) 電子顕微鏡的観察

電子顕微鏡での観察は、上記光学顕微鏡用切片を四酸化オスミウムで固定、脱水後エボンで包埋し、超薄切片を作製、鏡検した。

II) コハク酸脱水素酵素

コハク酸脱水素酵素の光学顕微鏡的観察には、ウシ (3例)、ブタ (4例)、サル (3例)、イヌ (5例)、ネコ (3例)、ウサギ (5例)、モルモット (3例)、ラット (10例)、マウス (5例) が用いられた。また、発生学的変化の研究には、胎生14日目 (2例)、生直後 (4例)、生後2日目 (3例)、7日目 (4例)、14日目 (3例)、25日目 (2例)、30日目 (2例) のラットが用いられた。酸性フォスファターゼの検索と同様に、各動物より、洞房結節、房室結節、房室束、Purkinje 線維の部位を摘出し、その後下記のごとき Barka-Anderson 法を行なった。

1) 動物より摘出した心房、心室、刺激伝導系各部位を生理的食塩水、または、リンゲル液で血液が残らないようよく洗う。

2) 冷アセトンにて20分間固定。

3) 凍結切片を作製

4) 蒸留水にてよく洗い、滲漬液に室温にて3分間入れる。

5) 水洗の後、グリセリンにて封入。

滲漬液の作り方

A 液 ; 0.1M コハク酸ナトリウム (0.1M Sörensen 磷酸塩緩衝液 pH 7.6に溶解) 1.5cc

B 液 ; 0.1 M Sörensen 磷酸塩緩衝液 (pH 7.6) 1.2cc

C 液 ; 250mg%ニトロブルーテトラゾリウム水溶液 0.3cc

D 液 ; 100mg%フェナジンメトサルフェイト水溶液 0.1cc

上記4液を混合してただちに使用する。

結 果

I) 酸性フォスファターゼ

A) 光学顕微鏡的観察

1) 比較解剖学的観察

各種ほ乳類 (ウシ、ブタ、サル、イヌ、ウサギ、モルモット、ラット、マウス) の刺激伝導系各部 (洞房結節、房室結節、房室束、Pur-

kinje 線維) の酸性フォスファターゼの分布状態を観察した。

ウシでは洞房結節の特殊心筋線維にはあまり強い反応を呈していないものが多く、細胞質内においては、辺縁部がやや強く反応しているものも認められた。この部に存在する中心動脈の中膜が弱く反応していた。房室結節の特殊心筋線維は洞房結節のそれよりはやや反応が強く陽性にでるものが多かった。細胞質内における反応の強さにはあまり差はなかった。また、房室束では酸性フォスファターゼ反応は洞房結節や房室結節よりもやや強く認められた。さらに、心室内膜直下の Purkinje 線維も、心筋層に深く進入した Purkinje 線維のどちらも反応は弱かった。心房、心室を構成する一般心筋線維はいずれも弱陽性反応を呈していた。

ブタの洞房結節では、酸性フォスファターゼ反応は、ウシ同様、比較的弱かった。しかし、洞房結節を構成する特殊心筋線維の中には、かなり強い反応をその細胞質内全体に呈するものもあったが、その数は少なかった。また、房室結節でも、洞房結節のそれと同様に、全体としては、特殊心筋線維の反応は、弱陽性であった。房室束では、そこにみられる特殊心筋線維のすべての酸性フォスファターゼ反応が、洞房結節や房室結節のそれよりもやや強かった。また、心室内膜直下の Purkinje 線維も、心筋層内深く進入した Purkinje 線維も、どちらもその反応は、ウシの場合と同様に、心室筋線維とほとんど変わらない程度の弱陽性反応を呈するにすぎなかった。ブタにおいてもまた、心房と心室の一般心筋線維では、酸性フォスファターゼ反応は、弱陽性反応を認めるにすぎなかった。

サルでは洞房結節を構成する特殊心筋線維は、強陽性反応を呈し、黒褐色、あるいは、濃褐色に反応していた。房室結節においても、酸性フォスファターゼ反応は強く、洞房結節とほとんど同程度の反応が認められた。いずれにおいても、その特殊心筋線維の細胞質内は、ほとんどで均一に反応していた。房室束では、それを構成する特殊心筋線維のほとんどすべてのものが、黒褐色の強陽性反応を呈し、刺激伝導系の各部の中で、最も強い反応がみられた。また、心室

心内膜直下の Purkinje 線維も強陽性反応を呈していた、これと比較して、心房や心室を構成する一般心筋は、いずれの部位も弱い陽性反応を呈するにすぎなかった。

イヌでは、その刺激伝導系の各部とも、研究に使用した動物の中では、最も強い酸性フォスファターゼ陽性反応を呈していた。すなわち、洞房結節を構成するすべての特殊心筋線維は酸性フォスファターゼ反応において、その細胞質のすべての部分が、黒褐色の強陽性反応を呈した。しかし、中心動脈の筋層は、弱陽性反応を認めるにすぎなかった。房室結節においても、洞房結節同様に、この部の特殊心筋線維は、すべて強陽性反応を呈していた。その部位による差も認めなかった。房室束は、特に反応が強く、そこを構成する特殊心筋線維のすべての細胞質が濃黒褐色を呈していた。また、心室心内膜直下の Purkinje 線維も強い反応を呈していた。しかし、心室筋層内に深く進入する Purkinje 線維は観察できなかった。イヌにおいても、刺激伝導系各部の特殊心筋線維が強陽性反応を呈したのに対して、心房や心室を構成する一般心筋線維は弱い反応が認められるにすぎなかった。

ウサギでは、その洞房結節の特殊心筋線維は強い濃褐色の陽性反応を呈したが、イヌの洞房結節よりは反応は弱かった。しかし、その細胞質はほとんど均一に反応していた。房室結節の特殊心筋線維は、イヌの房室結節のそれと同様に、黒褐色の強陽性反応が認められた。房室束もまた、イヌの房室束の特殊心筋線維と同程度の極めて強い陽性反応を認め、その細胞質全体が濃黒褐色の陽性反応を呈していた。また、心室心内膜直下の Purkinje 線維も褐色の陽性反応を認めたが、イヌの Purkinje 線維のように酸性フォスファターゼ反応は強くなかった。心房や心室を構成する一般心筋線維は弱陽性反応を呈し、また、部位による反応の差はほとんど認められなかった。

モルモットの洞房結節の特殊心筋線維の酸性フォスファターゼ反応は、イヌやウサギと比較すると、その反応は弱く、その細胞質全体は褐色を呈する程度のあまり強くない反応を呈して

いた。それに比較すると、房室結節の特殊心筋線維は、濃褐色の強陽性反応を呈した。ただ、この部では、この部を構成する個々の特殊心筋線維により、その反応態度に差があり、濃褐色の強陽性反応を認めるものから、褐色の弱陽性反応を呈するものが混在していた。しかし、一つの特異心筋線維の細胞質内においては、反応は同程度の強さを認めた。房室束の特殊心筋線維は、ほとんどのものが同程度の強陽性反応を呈していた。また、心室心内膜直下の Purkinje 線維は、やや強い酸性フォスファターゼ反応が観察できた。心房や心室を構成する一般心筋線維は、どの部位においても弱陽性反応を呈していた。

ラットにおいては、その洞房結節を構成する特殊心筋線維はどの細胞も、ほとんど同程度の強陽性反応が認められ、その反応の洞房結節内における部位差はなかった。房室結節においては、特殊心筋線維は褐色の陽性反応を呈するが、その酸性フォスファターゼ反応は、洞房結節の特異線維ほどには強くなかった。しかし、個々の特殊心筋線維の酸性フォスファターゼ反応に対する態度は変わらなかった。房室束の特殊心筋線維も、房室結節のそれと同程度の陽性反応を認めた。また、心室心内膜直下の Purkinje 線維は、あまり強い陽性反応を呈していなかった。心房と心室を構成する一般心筋線維は、どの部においても弱陽性反応がみられるにすぎなかった。

マウスの洞房結節では、そこを構成する特殊心筋線維は、ラットの場合と同様に強陽性酸性フォスファターゼ反応を呈し、個々の特殊心筋線維の酸性フォスファターゼ反応に対する態度はどれも同程度であった。房室結節では、ラットとは異なり、非常に強い濃褐色反応が認められた。ここを構成するどの部の特殊心筋線維も黒褐色から濃褐色を呈していた。房室束もまた房室結節と同様、極めて強い陽性反応が認められた。そこにみられるすべての特殊心筋線維は、その細胞質全体が黒褐色ないしは濃褐色を呈していた。また、心室心内膜直下の Purkinje 線維も強い陽性反応を呈していた。心房や心室を

構成する一般心筋線維は弱陽性反応を認めるにすぎなかった。

2) 発生学的観察

ラットの心臓において、生後2～3日目には組織学的にすでに刺激伝導系の各部（洞房結節、房室結節、房室束、Purkinje線維）を認めることができた。しかし、酸性フォスファターゼの組織化学的方法で観察すると、洞房結節、房室結節を構成する特殊心筋線維はどちらにおいても、その反応の強さは、心房や心室の一般心筋線維のそれとほとんど同程度の反応で、弱陽性を呈するにすぎなかった。房室束においてもまた、特殊心筋線維は一般心筋線維とほとんど反応の差はなかった。この時期のPurkinje線維は酸性フォスファターゼ反応では、一般心筋線維と区別することができなかった。

生後8～14日目のラットになると、組織学的には刺激伝導系の各部はよりその特徴的な像を呈するが、酸性フォスファターゼ反応では、洞房結節、房室結節、房室束のどの部を構成する特殊心筋線維も反応は弱陽性で、一般心筋線維の反応とほとんど区別できなかった。また、Purkinje線維は、生後2～3日目のものと同様に、この時期においてもまだ酸性フォスファターゼ反応では、両者を区別することができなかった。

生後20～30日目のラットになると、刺激伝導系の各部は、ますますその特徴的な構造を呈するようになってくるが、洞房結節、房室結節、房室束の各部とも、酸性フォスファターゼ反応ではまだ、この部を構成する特殊心筋線維と一般心筋線維との間に、反応の違いが認められなかった。Purkinje線維においても同様であった。

生後30～40日目のラットにおいて、初めて刺激伝導系を構成する特殊心筋線維と一般心筋線維の間に、酸性フォスファターゼ反応の差が生じてきた。すなわち、35日目の洞房結節や、房室結節の特殊心筋線維では、その細胞質全体が、やや強い褐色の陽性反応を呈し、弱陽性反応を認める一般心筋線維と区別できるようになってきた。房室束でも同様に、房室束を構成する特殊心筋線維が、一般心筋線維よりも強く反応するようになってきた。しかし、Purkinje線維

はまだこの時期には、酸性フォスファターゼ反応では検索することはできなかった。

生後45日目のラットにおいては、組織学的にも刺激伝導系各部は、ほとんど成熟ラットのそれと変わらない構造を認めるようになった。酸性フォスファターゼ反応においても、洞房結節の特殊心筋線維は、その細胞質全体が強陽性反応を呈していたのに反して、一般心筋線維は弱陽性反応を認めるにすぎなかった。房室結節では、洞房結節ほどではないが、やはりここを構成する特殊心筋線維は強い陽性反応を呈したが、房室結節周辺部の一般心筋線維もまた比較的強い陽性反応を認めたが、洞房結節におけるほど、特殊心筋線維と一般心筋線維の間に反応の差は確認できなかった。房室束の特殊心筋線維は、刺激伝導系の中では最も強く反応し、その細胞質は濃褐色に反応していた。Purkinje線維もこの時期になると酸性フォスファターゼ反応でも認められるようになるが、その反応は、一般心筋線維とほとんど変わらない反応を呈し、確認しにくかった。

生後100日目のラットの心臓では、その刺激伝導系各部の組織学的構造も、その分布状態もほとんど成熟ラットのそれと変わらなかった。したがって、刺激伝導系各部における特殊心筋線維の酸性フォスファターゼ反応もその反応状態などは、成熟ラットの場合と変わらなかった。

B) 電子顕微鏡的観察

イヌの刺激伝導系の洞房結節、房室結節、房室束の酸性フォスファターゼ反応を行なった切片を電子顕微鏡で観察し、その反応陽性物質と微細構造との関係を観察した。しかし、反応陽性物質の微細構造上における分布状態は、洞房結節、房室結節、房室束のいずれを構成する特殊心筋線維においてもほぼ同様の所見を呈していたので、ここでは房室結節を中心として観察したものを報告する。

イヌの房室結節を電子顕微鏡で観察すると、これを構成する特殊心筋線維に3つの型がみられた。すなわち、Jamesら(1966)が記載しているP細胞とT細胞と、さらにHayashi(1971)が報告している暗調細胞であった。P細胞はその細胞の形は円形で、細胞質の中には筋原線維

は少なく、その配列もみだれていた。また、T細胞は細長く、その大きさは変化に富んでいた。筋原線維はP細胞より多く一般心筋線維とよく類似していた。T細胞の筋原線維は細胞の長軸に平行に配列したものが多かった。

酸性フォスファターゼ反応を用いて観察すると、P細胞もT細胞も共に陽性反応を呈していた。その陽性反応物質は特に筋原線維に強く認められた。すなわち、P細胞ではその配列がみだれ、少ない筋原線維の筋細糸上に多数の顆粒状陽性物質が観察できた。しかし、Z帯上には、陽性反応物質は認められなかった。一方、ミトコンドリア、ゴルジ装置や筋小胞体にはほとんど陽性物質が観察できなかった。また、ライソゾームは見い出せなかった。細胞基質には数は少ないが、陽性物質が認められた。さらに、核においては、その染色質に一致し、かなりの顆粒状陽性物質が分布していた。一方、核小体や核膜には反応はほとんど認められなかった。T細胞においてもP細胞よりはその配列の整った筋原線維の筋細糸上に数多くの顆粒状陽性物質が認められた。ここにおいても、P細胞と同様、Z帯上には陽性反応物質はみられなかった。また、ミトコンドリア、ゴルジ装置などごく少数の陽性物質が分布しているにすぎなかった。この細胞にもライソゾームは認められなかった。その細胞基質はややP細胞よりも、陽性反応物質が多いようにみえたが、それほど分布状態には差がなかった。また、核においては、P細胞同様、核の染色質にかなりの反応陽性物質が分布している状態が認められた。しかし、核小体や核膜には、酸性フォスファターゼ反応陽性物質は観察されなかった。P細胞もT細胞も、その細胞膜上には陽性反応はほとんど認められなかった。暗調細胞は、イヌの房室結節では、あまり数多く存在する細胞でないので、酸性フォスファターゼ反応を行なった切片の電子顕微鏡による観察では確認できなかった。

一方、心房や心室を構成する一般心筋線維においても酸性フォスファターゼ反応を行なった後、電子顕微鏡で観察した。その結果、一般心筋線維の筋原線維上に顆粒状陽性物質を認めたが、その分布密度は房室結節の特殊心筋線維に

比較するとかなり低かった。しかし、その分布状態は特殊心筋線維の場合と同様、筋細糸上にみだされ、Z帯には分布していなかった。ミトコンドリア、ゴルジ装置、筋小胞体には酸性フォスファターゼ陽性物質をほとんど観察できなかった。しかし、リポスチン顆粒の上には多数の陽性物質の分布しているのが認められた。また、核では特殊心筋線維の場合より、反応陽性物質の分布は少なく、その染色質にはごく少数の顆粒状物質が認められるにすぎなかった。核小体、核膜にも陽性物質はほとんど観察できなかった。また、細胞膜にも全く反応はみられなかった。

II) コハク酸脱水素酵素

1) 比較解剖学的観察

各種ほ乳類（ウシ、ブタ、サル、イヌ、ネコ、ウサギ、モルモット、ラット、マウス）の刺激伝導系の各部（洞房結節、房室結節、房室束、Purkinje線維）のコハク酸脱水素酵素を光学顕微鏡による組織化学により検索した。

ウシの洞房結節を構成する特殊心筋線維は、コハク酸脱水素酵素反応により、その細胞質が極めて弱い反応を呈した。また、この部にみられる中心動脈の筋層も反応は陰性であった。房室結節の特殊心筋線維は、コハク酸脱水素酵素が弱陽性、または陰性のものが大部分をしめていたが、一部には陽性反応を呈するものも認められた。房室束にみられる特殊心筋線維もまた、房室結節の場合と同様に、その大部分の特殊心筋線維は弱陽性反応を認めたが、一部のものは陽性反応を呈するものもあった。また、心室内膜直下や、心室心筋層に深く進入したPurkinje線維は、コハク酸脱水素酵素反応は陰性であった。それに対して、心房や心室を構成する一般心筋線維は、いずれの線維もコハク酸脱水素酵素反応は強陽性反応を呈していた。

ブタの洞房結節では、そこにみられる特殊心筋線維はウシと同様、極めて弱いコハク酸脱水素酵素反応を認めるにすぎなかった。この部にみられる中心動脈の筋層は反応が陰性であった。房室結節の特殊心筋線維のコハク酸脱水素酵素反応に対する態度も、ウシとほぼ同様で、この部の大部分の特殊心筋線維が弱陽性、または陰

性で、一部のもののみが陽性反応を呈していた。房室束もまた、房室結節と同様に大部分の特殊心筋線維は弱陽性反応を呈していたが、一部のものには陽性反応が認められた。また、心室心内膜直下や心筋層に深く進入している Purkinje 線維には、コハク酸脱水素酵素反応は陰性であった。心房や心室を構成する一般心筋線維はいずれも強陽性反応を呈していた。

サルでは、洞房結節の特殊心筋線維はすべてのものがコハク酸脱水素酵素反応が弱陽性または陰性反応を呈していた。房室結節の特殊心筋線維は反応はややウシやブタより強かった。しかし、心房や心室の一般心筋線維は強陽性反応を呈しており、これと比較すると反応はかなり弱かった。また、房室束の特殊心筋線維もコハク酸脱水素酵素反応はやや強く認められたが、一般心筋線維の反応状態よりは弱かった。また、心室心内膜直下の Purkinje 線維ではコハク酸脱水素酵素反応は陰性であった。

イヌの洞房結節の特殊心筋線維は、そのすべてのものが陰性または弱陽性で、全体としてコハク酸脱水素酵素反応は非常に弱かった。房室結節もまた洞房結節と同様にこの部に認められる特殊心筋線維は弱陽性か陰性反応が認められた。房室束においても特殊心筋線維の反応は非常に弱かった。また、心室心内膜直下の Purkinje 線維はコハク酸脱水素酵素反応はほとんど陰性に近い反応を呈した。心房や心室の一般心筋線維では強陽性反応が認められた。

ネコでは、洞房結節の特殊心筋線維はコハク酸脱水素酵素反応が弱陽性反応を呈していた。また、房室結節も房室束もイヌと同様にその反応は弱陽性反応を認めた。心室心内膜直下の Purkinje 線維は、陰性反応を呈していた。心房や心室を構成する一般心筋線維は、コハク酸脱水素酵素反応で強陽性反応が観察された。

ウサギの洞房結節では、特殊心筋線維のすべてがコハク酸脱水素酵素反応では弱陽性反応を呈したが、その反応はイヌやネコよりやや強かった。房室結節の特殊心筋線維はやや反応が強く、陽性に近い反応を認めた。房室束ではそこを構成する特殊心筋線維のすべてが房室結節の特殊心筋線維に近いやや強い反応を呈した。ウ

サギでは心室心内膜直下の Purkinje 線維をコハク酸脱水素酵素反応の標本では確認できなかった。心房や心室の一般心筋線維はすべてのものが強陽性反応を呈していた。

モルモットの洞房結節では、それを構成する特殊心筋線維のすべてがやや強くコハク酸脱水素酵素反応を呈していた。一方、房室結節では、特殊心筋線維は洞房結節のそれよりは反応が弱く、弱陽性反応がみられた。房室束においても、特殊心筋線維は房室結節の反応と同程度の弱陽性反応が観察された。また、どの動物においてもコハク酸脱水素酵素反応では、心室心内膜直下の Purkinje 線維を認めることができなかった。さらに、心房や心室の一般心筋線維はいずれの部位においても強陽性反応を呈していた。

ラットの洞房結節の特殊心筋線維は、モルモットのものよりもコハク酸脱水素酵素反応が弱く、弱陽性反応を認めた。房室結節では、その特殊心筋線維は全体として洞房結節の特殊心筋線維より反応が強く、ウサギの房室結節とよく類似した反応を観察した。房室束においても、房室結節同様にその反応がやや強く陽性反応を呈していた。ラットにおいても、コハク酸脱水素酵素反応では、Purkinje 線維を確認することができなかった。また、心房と心室を構成する一般心筋線維は、この動物においても、そのすべての部位で強陽性反応を認めた。

マウスの洞房結節では、特殊心筋線維はラットのそれと同様に、コハク酸脱水素酵素は、そのすべての部位で弱陽性であった。房室結節の特殊心筋線維は、これもラット同様に、洞房結節の特殊心筋線維より反応は強かったが、一般心筋線維と比較すると弱かった。房室束では房室結節とほぼ同様な反応を呈していた。また、このものでも心室心内膜直下の Purkinje 線維は、コハク酸脱水素酵素反応では観察できなかった。心室や心房にみられる一般心筋線維は、そのすべての部位でこの反応は強陽性反応を呈していた。

2) 発生学的観察

胎生14日目のラットでは、刺激伝導系の各部分はまだ十分に分化していないため、コハク酸脱水素酵素反応ではこれらの領域を認めることが

困難であった。

生後1～2日目のラットでは、刺激伝導系の各部（洞房結節、房室結節、房室束、Purkinje線維）を組織学的に認めることができた。コハク酸脱水素酵素反応で洞房結節をみると、そこを構成している特殊心筋線維はやや弱い陽性反応を呈していた。房室結節と房室束の特殊心筋線維も洞房結節のそれと同程度の反応が認められた。しかし、心室心内膜直下のPurkinje線維では反応を確認することができなかった。心房や心室を構成する一般心筋線維はかなり強い陽性反応を呈していた。

生後7～14日目のラットでは、刺激伝導系は組織学的にもよく発達していることがわかった。この時期における洞房結節は、コハク酸脱水素酵素反応で弱陽性反応を呈していた。房室結節や房室束もまた弱陽性反応を認めたが、洞房結節よりもやや強い反応が観察できた。しかし、心室心内膜直下のPurkinje線維はコハク酸脱水素酵素反応ではまだ確認することができなかった。心房や心室の一般心筋線維はすべてに強陽性反応を呈していた。

生後25～30日目のラットでは、その刺激伝導系はますます特徴的な像を呈するようになってきた。その洞房結節では、そこを構成する特殊心筋線維は、コハク酸脱水素酵素反応で弱陽性反応を呈し、成熟ラットの場合とほぼ同様にその細胞質全体も弱陽性反応を認めた。房室結節や房室束の特殊心筋線維も、またそのすべての特殊心筋線維がここにおいても成熟ラットのコハク酸脱水素酵素反応と同様の反応を呈していた。また、心室心内膜直下のPurkinje線維もコハク酸脱水素酵素反応では確認できなかった。心房や心室の一般心筋線維も成熟ラット同様にすべてのもので強陽性反応が観察できた。

考 察

刺激伝導系の組織化学的検索はこれまでグリコーゲンを中心に進められてきた。すなわち、Marchand (1885), Aschoff (1908) らの研究以来、有蹄類のPurkinje線維には一般心筋線維に比して、高度のグリコーゲンが含まれてい

ることが報告されてきた。その後、Schiebler (1953, 1955), Otsukaら「1965, 1967」, Hara (1967), 大塚 (1973, 1974) らは各種ほ乳類の刺激伝導系の各部（洞房結節、房室結節、房室束、Purkinje線維）を、PAS染色法を用いて染め、さらに、種々な方法から、このPAS染色で陽性を呈する物質はグリコーゲンであることを証明し、各種ほ乳類の刺激伝導系各部の特殊心筋線維には、一般心筋線維よりも多くのグリコーゲンが存在することを明らかにした。

一方、刺激伝導系に含まれている酵素に対する検索は現在にいたるまでまだ少ない。

Yamazaki (1931) は生化学的研究からウシの房室結節には脱水素酵素が欠如していることを初めて報告した。近年、組織化学の急速な技術の進歩により、刺激伝導系を構成する特殊心筋線維の組織化学的研究が行なわれてきたが、その研究はまだあまり行なわれていない。Schiebler (1953, 1955), Schiebler (1963) は初めて刺激伝導系の特殊心筋線維の各種酵素を組織化学的に検索した。また、Otsukaら (1967) 大塚 (1973, 1974) は、刺激伝導系内に豊富に分布するグリコーゲンを中心に、どのような代謝が行なわれているかということを知るために、イヌの刺激伝導系各部（洞房結節、房室結節、房室束）における各種の酵素を組織化学的に検索し、その結果、酸性フォスファターゼが刺激伝導系各部で強陽性反応を呈するが、一般心筋線維はほとんど反応を認めないことがわかった。また、コハク酸脱水素酵素の活性は、一般心筋線維では非常に強いが、刺激伝導系の各部位ではほとんど陰性に近いことを知った。また、乳酸脱水素酵素は、刺激伝導系の特殊心筋線維も一般心筋線維もともに強陽性反応を呈したと報告している。

また、Alciniら (1965), Wegmannら (1965) によれば、特殊心筋線維の房室束ではフォスホリラーゼ（加磷酸水解酵素）の活性が一般心筋に比較してきわめて強いことが証明された。さらにクレブス回路に関係する酵素は、コハク酸脱水素酵素に代表されるように、特殊心筋線維では反応は弱く、一般心筋線維で強い活性が認められた。

これらの研究から、フォスフォリラーゼの活性が一般心筋線維より特殊心筋線維で強いことは、グリコーゲンの分解が刺激伝導系内で強く行なわれていることを示している。

一方、乳酸脱水素酵素反応の結果からは、一般心筋線維も特殊心筋線維もともに、ブドウ糖から乳酸への代謝、すなわち、嫌気性のいわゆる解糖がどちらの組織においても行なわれていると考えられる。また、コハク酸脱水素酵素をはじめとして、クレブス回路に関係する酵素が、いずれも一般心筋線維に比較して、刺激伝導系内ではほとんど反応を呈していないことは、刺激伝導系においては好気性の代謝がきわめて不活発なことを強く示唆しているものと思われる。さらに、一般心筋線維ではきわめて強い酸素消費量を要するのに比較して、刺激伝導系を構成する特殊心筋線維では、それほど多くの酸素を必要としないということ (Schiebler 1955) は、刺激伝導系内で行なわれる代謝は嫌気性であるということを裏付けるものと考えられる。

そこで本研究では、Otsuka ら (1967) が行なったイヌの刺激伝導系各部 (洞房結節, 房室結節, 房室束) の酵素の組織化学による検索の中で、一般心筋線維と特殊心筋線維との間において大きな反応態度を異にする酸性フォスファターゼとコハク酸脱水素酵素の分布状態についての比較解剖学的研究と発生学的研究を行なった。その結果、酸性フォスファターゼにおいては、すでに大塚ら (1961) が報告しているように、イヌやサル刺激伝導系各部では強陽性反応を呈したが、ウシやブタでは反応が弱く、一般心筋線維との反応の強さの差はあまりみられなかった。しかし、どの動物においてもその反応の強さは陽性反応かまたは、強陽性反応であって、あまり弱い反応を呈するものはなかった。

刺激伝導系を構成する特殊心筋線維の酸性フォスファターゼ反応を電子顕微鏡で観察した研究はこの報告が初めてである。本研究によると酸性フォスファターゼ陽性反応物質は筋原線維上にそのほとんどすべてが認められた。この所見は Schiebler (1955) が酸性フォスファターゼの光学顕微鏡的観察において、筋原線維上の Z と Q 帯にその陽性反応物質が認められると

述べているものと類似しているが、われわれの電子顕微鏡による観察では、反応陽性物質は Z 帯よりも筋細糸上に認められた。現在までのところ酸性フォスファターゼの特殊心筋線維における機能的役割がまだわかっていないが、筋原線維と関係があるようなこの所見は非常に興味ある所見である。

一方、発生学的に刺激伝導系各部の酸性フォスファターゼ反応を検索したのもこの研究が初めてである。その結果、酸性フォスファターゼ反応が一般心筋線維と刺激伝導系の特殊心筋線維との間に、その反応の強さに差ができ、特殊心筋線維が強陽性反応を呈してくるのは生後 32 日目頃であった。その結果、酸性フォスファターゼが刺激伝導系の特殊心筋線維の中で何かわからないが、特別の機能を持つようになるのは生後かなりの日がたってからのように推察される。

コハク酸脱水素酵素に関する比較解剖学的研究からは、酸性フォスファターゼの場合と異なり、われわれが検索したすべてのほ乳類の刺激伝導系のすべての部位の特殊心筋線維で、その反応が弱陽性か、陰性に近い反応を呈し、心房や心室を構成する一般心筋線維に強陽性反応が認められるのとは対照的な反応態度を示した。このことは刺激伝導系のすべての部位の特殊心筋線維が先にも述べたように、嫌気性の解糖を行なっていることを裏付ける所見と考えられる。

また、刺激伝導系各部のコハク酸脱水素酵素の発生学的分布状態を検索した研究としては、Otsuka ら (1979) の報告があるが、これはあまり詳細な報告ではない。そこで、本研究で行なった結果からは生直後においてすでに、コハク酸脱水素酵素は刺激伝導系の各部 (洞房結節, 房室結節, 房室束, Purkinje 線維) のいずれの部位においても、これらを構成する特殊心筋線維が一般心筋線維の強陽性反応に対して、弱陽性、あるいは陰性に近い反応しか呈していなかったことは、Otsuka ら (1979) のラットの胎生後期にすでに特殊心筋線維のコハク酸脱水素酵素反応が弱かったという研究とあわせて考えるとラットにおいては、刺激伝導系が分化した初期から、そこを構成する特殊心筋線維には、

コハク酸脱水素酵素は少なく、したがって、発生初期から刺激伝導系の特殊心筋線維は一般心筋線維とは異なり、嫌気性の解糖がその中心的な代謝の役割を演じているのではないかと示唆された。

結 語

各種ほ乳類（ウシ、ブタ、サル、イヌ、ウサギ、モルモット、ラット、マウス）の刺激伝導系を構成する特殊心筋線維と一般心筋線維における酸性フォスファターゼの分布状態を、光学顕微鏡と電子顕微鏡を用いて、組織化学的に観察し次の結果を得た。

ほ乳類の中ではイヌとサルが刺激伝導系の各部（洞房結節、房室結節、房室束、Purkinje線維）の特殊心筋線維において、酸性フォスファターゼが最も強陽性反応を呈した。ついで、ウサギ、モルモット、ラットとマウスの刺激伝導系各部の特殊心筋線維で比較的強い陽性反応が認められた。ウシとブタではその反応はあまり強い反応状態を観察できなかった。これらに対して、一般心筋線維は、すべての検索に用いられた動物で弱陽性反応を認めるにすぎなかった。

さらに、ラットを用いた酸性フォスファターゼの発生学的分布状態の観察において、弱陽性反応を呈する一般心筋線維に対して、刺激伝導系各部の特殊心筋線維に強陽性反応を観察できるようになるのは、生後30～40日以後であった。

また、犬の房室結節で行なった酸性フォスファターゼの分布状態に対する電子顕微鏡的研究では、房室結節を構成するP細胞とT細胞のいずれの細胞においても、酸性フォスファターゼ反応陽性物質は筋原線維と核の染色質上に認められ、その他の細胞内小器官には陽性物質はあまり観察できなかった。

一方、各種ほ乳類（ウシ、ブタ、サル、イヌ、ネコ、ウサギ、モルモット、ラット、マウス）の刺激伝導系各部（洞房結節、房室結節、房室束、Purkinje線維）を構成する特殊心筋線維と一般心筋線維におけるコハク酸脱水素酵素の分布状態を、光学顕微鏡を用いて、組織化学的に検索し次の結果を得た。

コハク酸脱水素酵素は検索に用いたすべての動物の刺激伝導系各部の特殊心筋においてその反応は、弱陽性または陰性反応を呈した。それに対してすべての動物の一般心筋線維は強陽性反応を認めた。

また、ラットを用いたコハク酸脱水素酵素の発生学的分布状態の観察においてはすでに生後1～2日目からコハク酸脱水素酵素の強陽性反応を呈する一般心筋線維に対して、刺激伝導系各部の特殊心筋線維はすべて弱陽性または陰性反応を観察するにすぎなかった。

上記の所見により、酸性フォスファターゼとコハク酸脱水素酵素の刺激伝導系の特殊心筋線維内における役割について論説された。

文 献

1. Alcini, E., Lageron, A. et Wegmann, R. : Étude histoenzymologique du métabolisme glucidique du faisceau de His (à différents niveaux) et du myocarde ventriculaire, chez le rat. *Ann. Histochem.* 10, 127—144, 1965.
2. Aschoff, L. und Nagayo, M. : Über den Glykogengehalt des Reizleitungssystems des Säugetierherzens. *Verh. dtsh. path. Ges.* 12, 150—153, 1908.
3. Hara, T. : Morphological and histochemical studies on the cardiac conduction system of the dog. *Arch. histol. jap.* 28, 227—246, 1967.
4. Marchand, F. : Über eine Geschwulst an quergestreiften Muskelfasern mit ungewöhnlichem Gehalte an Glykogen (nebst Bemerkungen über das Glykogen) in einigen fötalen Geweben. *Virchow's Arch. path. Anat.* 100, 42—65, 1885.
5. 大塚長康 : 心筋の組織化学—とくに刺激伝導系を中心として—, 心臓, 5, 1471—1489, 1973.
6. 大塚長康 : 解剖学, 光学顕微鏡および組織化学的所見. 佐野豊美編集「刺激伝導系」1—23. 医学書院東京, 1974.
7. 大塚長康, 浜名耕二 : イヌの刺激伝導系における Phosphatase と Lipase について, 解剖誌, 36, 222—228, 1961.
8. Otsuka, N. und Hara, T. : Histochemische Untersuchungen am Reizleitungssystem des Hundeherzens. *Proc. Jap. Histochem. Ass.* 6, 65—67, 1965.
9. Otsuka, N., Hara, T. und Okamoto, H. : Histochemische Untersuchungen an Reizleitungssystem des Hundeherzens. *Histochemie*, 10, 66—73, 1967.
10. Otsuka, N., Wada, T., Mukudai, T., Kanda, S. and Sasaki, J. : Embryologic and histochemical study of the conduction system of the heart in rats. *Acta. histochem. cytochem.* 12, 590, 1979.
11. Schiebler, T.H. : Herzstudie, I. Mitteilung. Histochemische Untersuchungen der Purkinjefasern von Säugern. *Z. Zellforsch.* 39, 152—167, 1953.
12. Schiebler, T.H. : Herzstudie, II. Mitteilung. Histologische, histochemische und experimentelle Untersuchungen am Atrioventrikularsystem von Huf- und Nagetieren. *Z. Zellforsch.* 43, 243—306, 1955.
13. Schiebler, T.H. und Doerr, W. : Orthologie des Reizleitungssystems. In *Das Herz des Menschen.* ed. H.W. Bargmann und W. Doerr, Bd. I, Stuttgart, Georg Thieme, pp. 165—227, 1963.
14. Wegmann, R., Alcini, E. and Lageron, A. : Comparative histoenzymology of the Purkinje fibers (main branch and bifurcation) and the myocardial fibers of rats. *Acta. anat. nipponica*, 40, 418—422, 1965.
- 15) Yamazaki, K. : Biochemical studies in the auriculoventricular junctional system of heart. IV. Studies on the anaerobic oxidation of the auriculoventricular junctional system. *J. Biochem.*, 12, 241—346, 1931.

写 真 説 明

1. ウシの房室結節 (AVN), 酸性フォスファターゼ反応, X55.
2. ブタの房室結節 (AVN), 同上, X55.
3. イヌの房室結節 (AVN), 同上, X55.
4. イヌの房室束 (AVB), 同上, X130.
5. ウサギの房室束 (AVB), 同上, X55.
6. モルモットの洞房結節 (SN), 同上, X55.
7. ラットの房室束 (AVB), 同上, X130.
8. マウスの房室結節 (AVN), 同上, X130.
9. ラットの房室結節 (AVN), (生後3日目), 同上, X130.
10. ラットの房室束 (AVB), (生後12日目), 同上, X130.
11. ラットの房室結節 (AVN), (生後30日目), 同上, X130.
12. ラットの房室束 (AVB), (生後45日目), 同上, X130.
13. ウシの洞房結節 (SN), コハク酸脱水素酵素反応, X130.
14. ブタの房室束 (AVB), 同上, X55.
15. サルの洞房結節 (SN), 同上, X55.
16. イヌの洞房結節 (SN), 同上, X55.
17. イヌの房室結節 (AVN), 同上, X55.
18. イヌの房室束 (AVB), 同上, X130.
19. ネコの房室結節 (AVN), 同上, 130.
20. ウサギの房室束 (AVB), 同上, X130.
21. モルモットの房室束 (AVB), 同上, X130.
22. ラットの洞房結節 (SN), 同上, X130.
23. ラットの房室束 (AVB), 同上, X55.
24. ラットの房室結節 (AVN), (生後30日目), 同上, X130.
25. イヌの房室結節T細胞の酸性フォスファターゼ反応の電子顕微鏡像, X13,000.
26. 同上, 筋原線維上に反応陽性物質が認められる, X23,000.
27. 同上, 同上, X30,000.
28. 同上, 核の染色質上に反応陽性物質が認められる, X20,000.

椋代龍彦論文付図

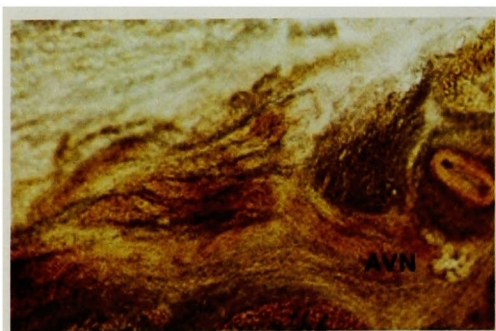


写真1

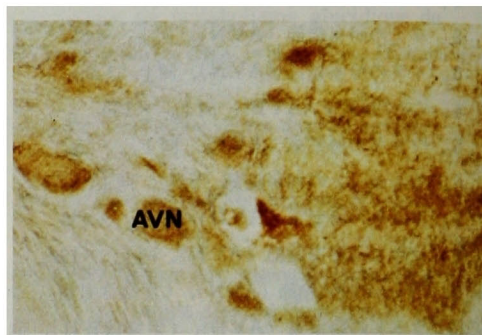


写真2

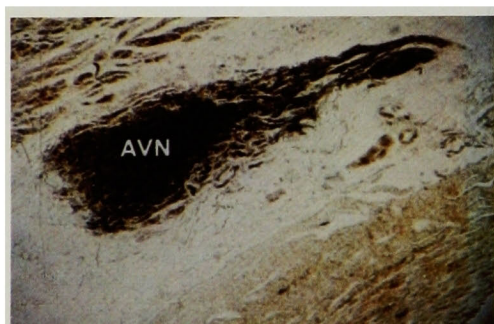


写真3

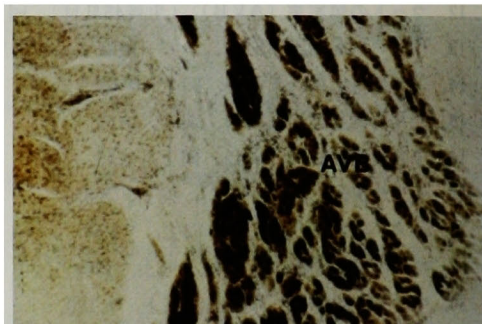


写真4

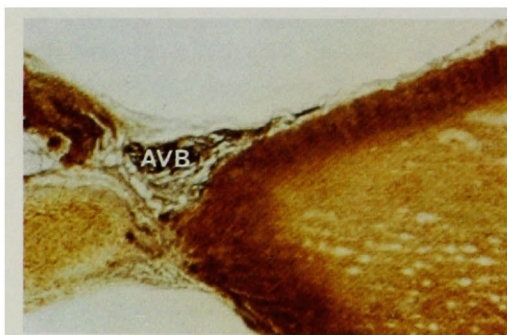


写真5

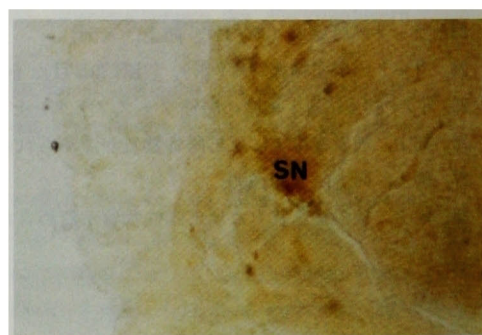


写真6

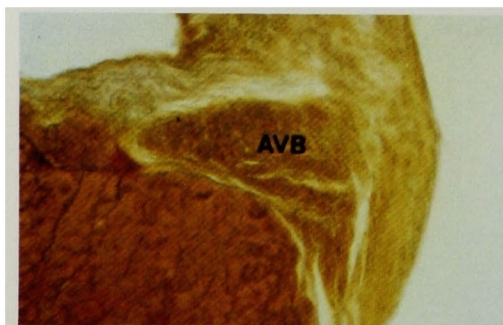


写真7

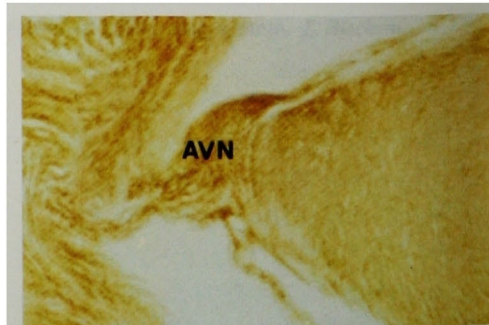


写真8

椋代龍彦論文付図

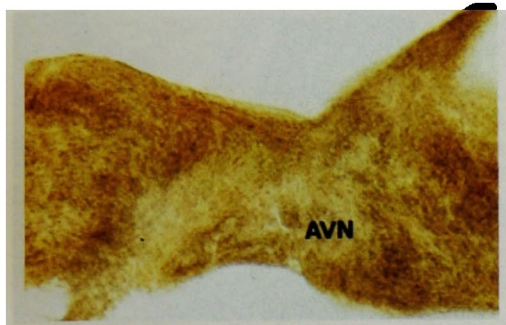


写真9

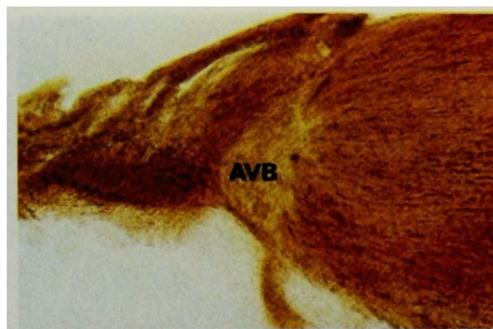


写真10

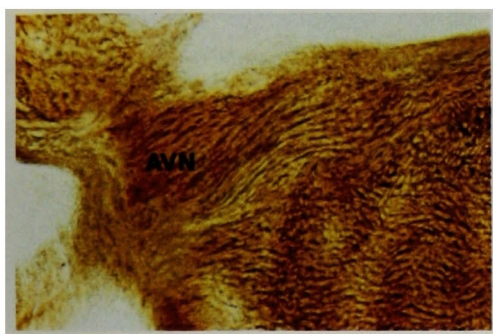


写真11

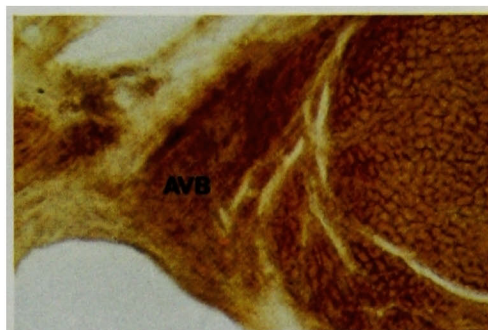


写真12

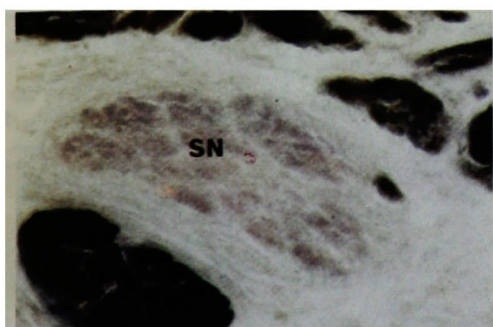


写真13

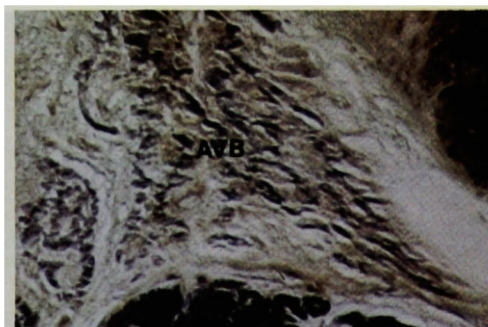


写真14

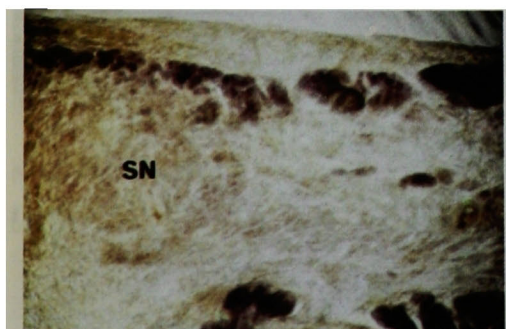


写真15

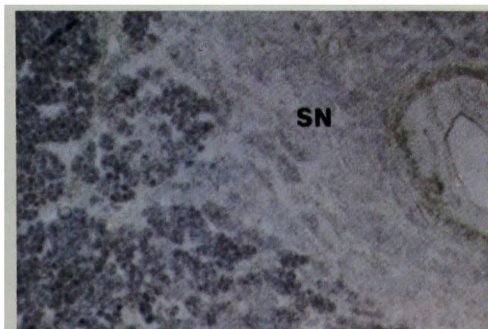


写真16

椋 代 龍 彦 論 文 付 図

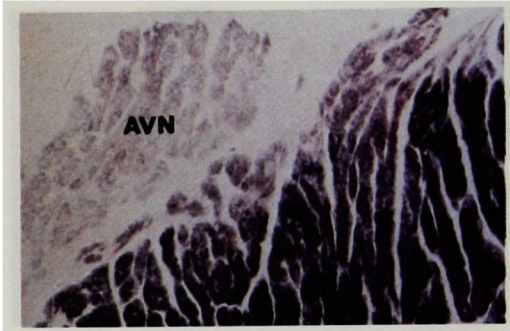


写真17

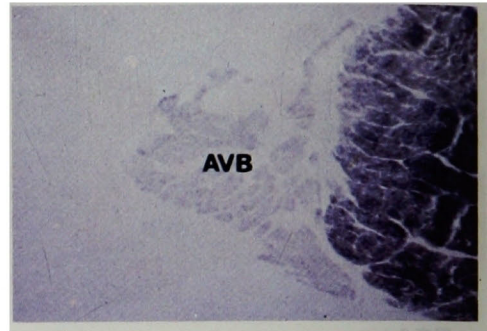


写真18

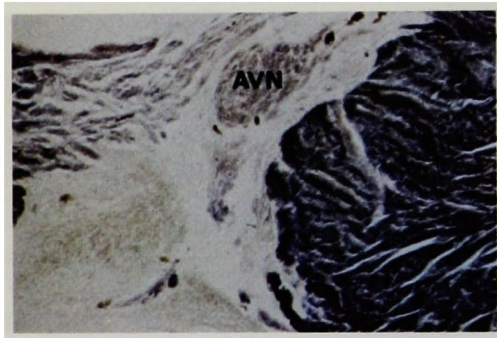


写真19

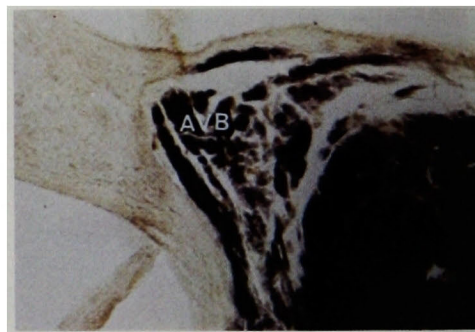


写真20

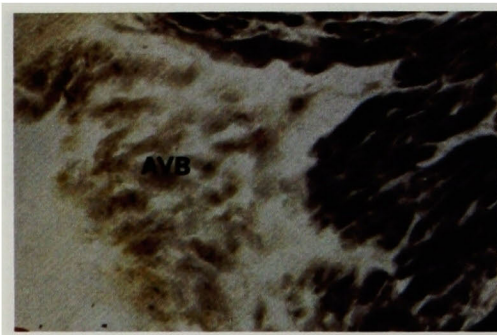


写真21

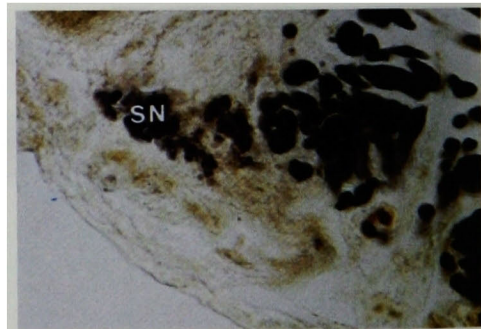


写真22

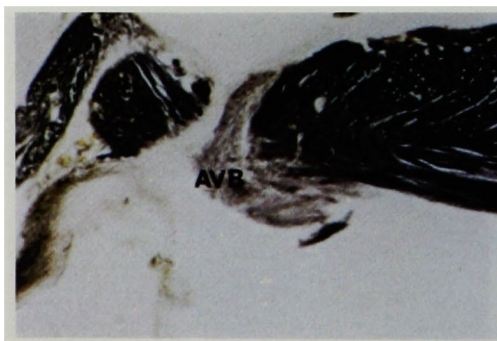


写真23

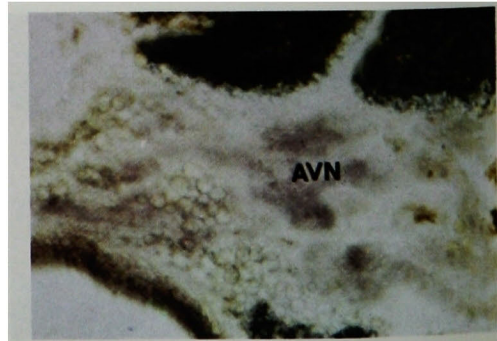


写真24

椋代龍彦論文付図

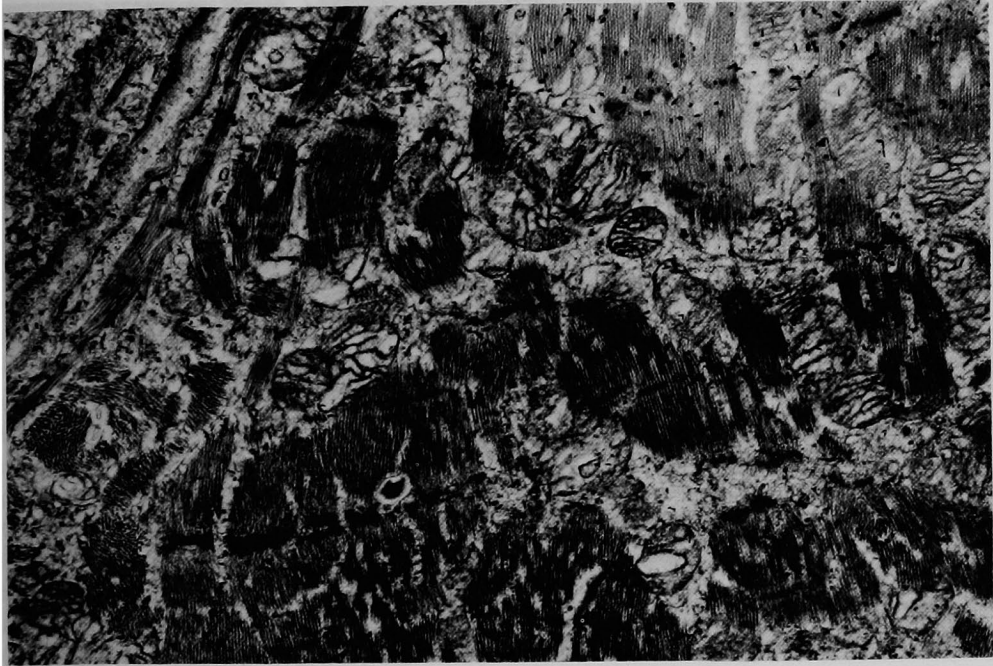


写真25

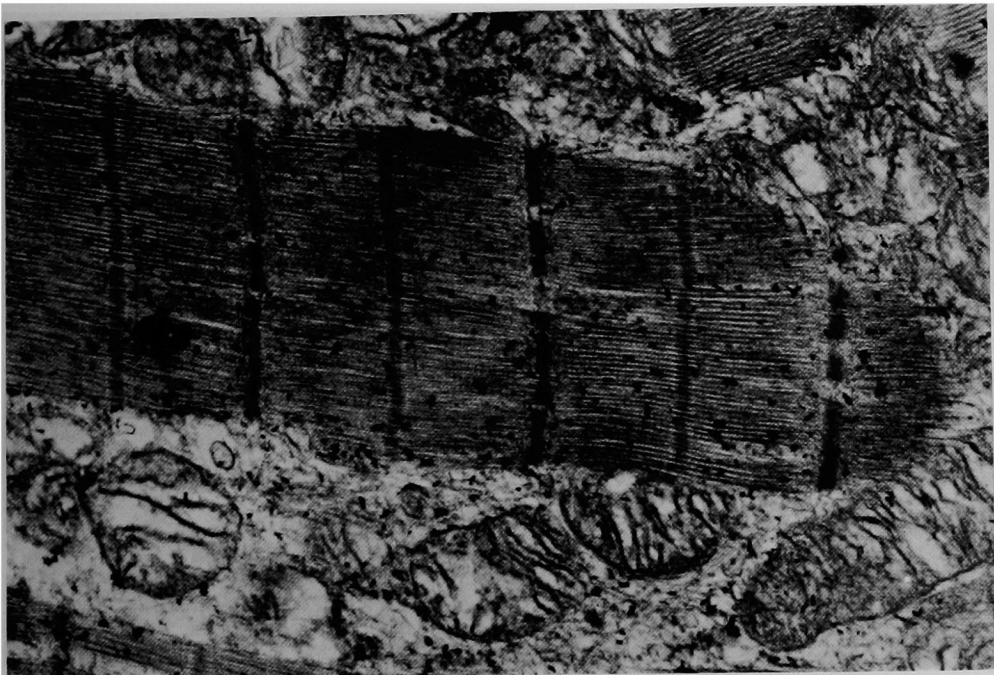


写真26

椋 代 龍 彦 論 文 付 図

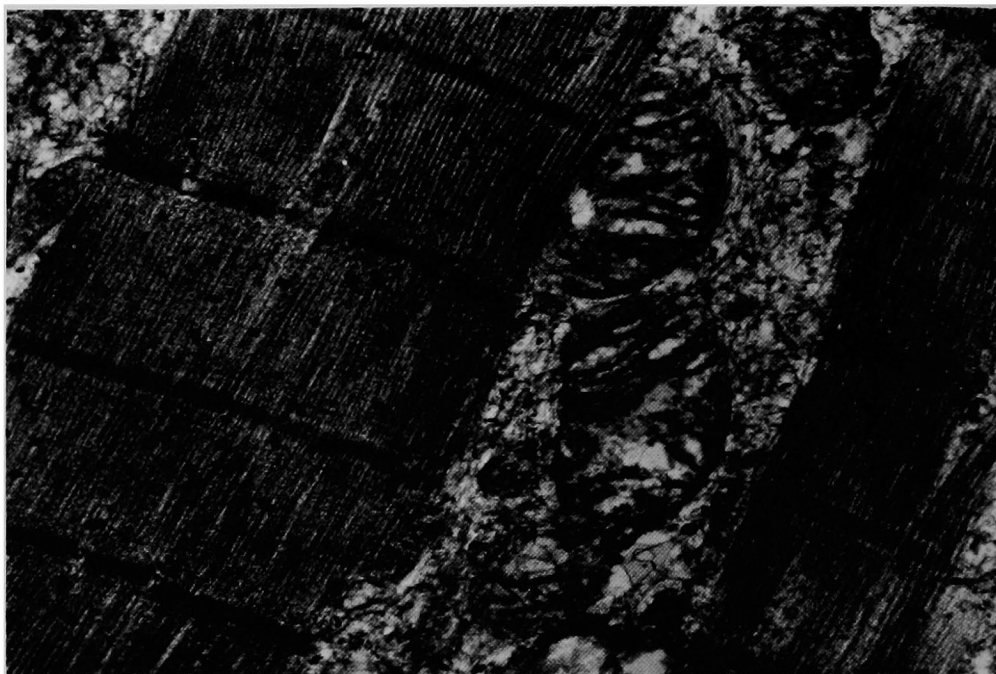


写真27

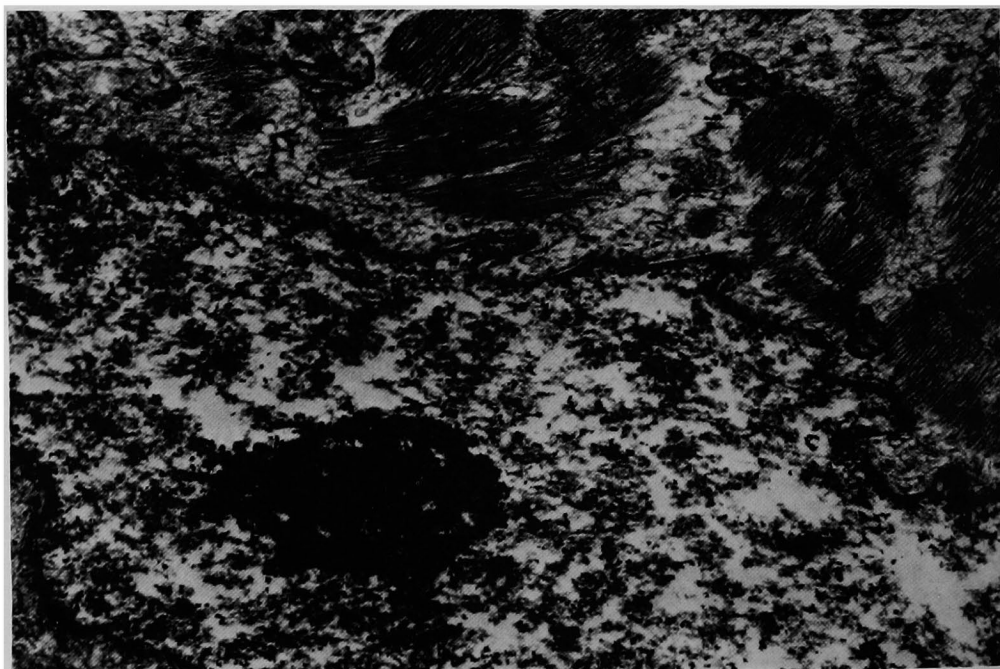


写真28

Histochemical study of the heart conduction system**Tatsuhiko MUKUDAI**

Department of Anatomy, Okayama University Medical School

(Director : Prof. N. Otsuka)

The distribution of acid phosphatase and succinic dehydrogenase in the specialized muscle fibers constructing the heart conduction system (sinoatrial node, atrioventricular node, atrioventricular bundle and Purkinje fibers) and the ordinary heart muscle fibers of several mammals were studied histochemically with a light and electron microscopies. The activity of acid phosphatase was high in the specialized muscle fibers of dog and monkey, relatively high in these fibers of rabbit, guinea pig, rat and mouse and low in cow and pig. The activity in the ordinary heart muscle fibers was low in all mammals studied. Embryologic study of the enzyme in rat showed that equal activity was found at the late fetal stage in both heart muscle fibers and increased only in the specialized fibers 30 — 40 days after birth. Electron microscopic study on the distribution of the enzyme in rat's atrioventricular node showed that the reaction product was found on myofibrils and chromatin in both P cells and T cells which consisted the node. Succinic dehydrogenase activity was studied using mammals described above including cat. The activity in the specialized heart muscle fibers was negative or weakly positive throughout the developing stage of all mammals used, while its activity in the ordinary muscle fibers was already high 1 — 2 days after birth. From these results, the role of both enzymes in the heart conduction system was discussed.