

鶏視神経の後期発生における電子顕微鏡的研究

満嶋 明*・上原正人*・上嶋俊彦*

昭和53年8月31日受付

Electron Microscopic Studies on the Developing Optic Nerve in Fowl

Akira MITSUSHIMA*, Masato UEHARA* and Toshihiko UESHIMA*

The development of the optic nerve of fowl was studied by electron microscope. White Leghorn chickens from HH39 embryo (according to the criteria of Hamburger and Hamilton, 1951) up to 84-days of age were used for this study.

At HH39, all the glial elements of the optic nerve consisted of glioblasts which originated from the neuro-epithelial layer. The first appearance of the astroblasts and oligodendroblasts after the proliferation and differentiation of glioblasts was observed at HH40 and HH42 respectively. Astrocytes and oligodendrocytes were initially observed at HH44 and at the age of 4-days respectively. But the oligodendroblasts were still observed even at hatching (HH46).

The nerve fiber diameters of the optic nerve in fowl had a spectrum ranging from 0-2.0 μ m with a peak of 0.4-0.6 μ m (84-days of age). At HH39, the range was small, ranging from 0-0.6 μ m with a peak on 0-0.2 μ m.

The beginning of the myelination of fibers was observed at HH42, when the first appearance of oligodendroblasts was seen. The percentage of myelinated fiber counts in the optic nerve increased as the stages of the embryos and ages went on; 11.2% at HH46, 63.0% at 44-days of age, 88.3% at 84-days of age. It appeared plausible that the increase of fiber-size and myelination was completed at the end of three months after hatching.

緒 言

各種動物の視神経の形態に関する電顕的研究は数多くなされており、視神経の myelination, gliogenesis, 神経線維総数・線維直径・線維密度等の計測に関する電顕による研究も多い。しかし、鶏視神経に関しては Lyser⁶⁾, Rager⁹⁾ などに限られており、しかも総括的な発生については報告がないので、視神経線維の完成される後期発生について電顕的観察を試みた。

材料と方法

材料は白色レグホン種, HH39(Hamburger & Hamilton⁵⁾ による stage) (13日胚) から HH46 (孵化時) までの鶏胚19例, 1日令から84日令まで11例, 計30例を用いた。鶏胚は視神経を直接摘出して4%グルタルアルデヒド浸漬, 孵化後例では灌流法をも併用した。前固定及び1%オスミウム酸による後固定を施した。緩衝液には Millionig のリン酸緩衝液を用いた。固定後脱水, Epon 包埋。視神経横断超薄切片を作製後, Raynolds の硝酸鉛染色, Watson の酢酸ウラニル染色を施し, 日立H-500型電顕

* 鳥取大学農学部獣医学科家畜解剖学研究室

Department of Veterinary Science, Faculty of Agriculture, Tottori University

にて鏡検した。なお同時に、トルイジンブルー染色1 μm 厚切切片を作製した。

得られた電顕写真によって視神経線維の直径スペクトル、有髄線維の比率をも計測、算出した。直径は髄鞘を含まない軸索のみを計測し、楕円形の線維は、その短軸をその直径とした。計測巾は0.2 μm 毎に行った。

結 果

1) 膠細胞

HH39 (約13日胚)。この時期にみられる膠細胞は、すべて未分化型の glioblast (以下 Gb) である (第3図)。核の形態あるいは細胞の電子密度など、個々の細胞によって様々である。細胞質は比較的乏しく核周囲に限定されており、小器官は少数のリボゾーム、ミトコンドリアなどを除いてあまりみられない。突起もあまり発達していない。

HH40 (約14日胚)。膠細胞の核周囲部には変化がみられないが、かなり長い突起がみられるようになり、内部に比較的多くの微細小管がみられる (第4図)。

HH41 (約15日胚)。細線維を有する astroblast (以下 Ab) がみられるようになる (第5図)。Abには細線維のほかにミトコンドリア、リボゾーム、粗面小胞体、ゴルジ装置、微細小管などがみられる。核は楕円形に近く、電子密度の低いものが多い。この時期の Gb もその小器官を増量している。

HH42 (約16日胚)。この stage ではじめて oligodendroblast (以下 Ob) が出現する (第6図)。核は円型に近く、核・胞体共に電子密度が若干高いものも多く、突起

は殆んどみられない。粗面小胞体が多く、ミトコンドリア、リボゾーム、ゴルジ装置、微細小管などを有している。

HH43 (約17日胚)。大きい変化はみられない。

HH44 (約18日胚)。Ab の中で、細胞質内の細線維の増量が見られ、astrocyte (以下 Ac) が出現する (第7図)。Ac は明るい細胞で、核は多くは楕円形で染色質に乏しい。細線維が特徴的で、成熟と共にその量を増す。核周囲部では束状または網状に、突起内では束状に配置している。その他ミトコンドリア、リボゾーム、粗面小胞体、ゴルジ装置などがみられるが、微細小管は殆んどみられない。グリコーゲン顆粒はみられない。

HH45 (19-20日胚) 及び HH46 (20-21日胚, 孵化時)。両 stage 共に変化はみられないが、HH46においては、Gb, Ab, Ob, Ac が混在している (第8図)。

4日令。Gb はみられなくなり、oligodendrocyte (Oc) が出現する (第9図)。Oc は暗い細胞で、核は円形で、染色質は Ac よりも多い。ミトコンドリア、リボゾーム、ゴルジ装置、Ac よりも多くの粗面小胞体、時として微細小管がみられる。細線維を欠き、突起は殆んどみられない。成熟につれて電子密度が増す様に思われる。

14日令及び27日令。ほとんどの細胞が Ac または Oc で、Ab または Ob は極めて少ない。

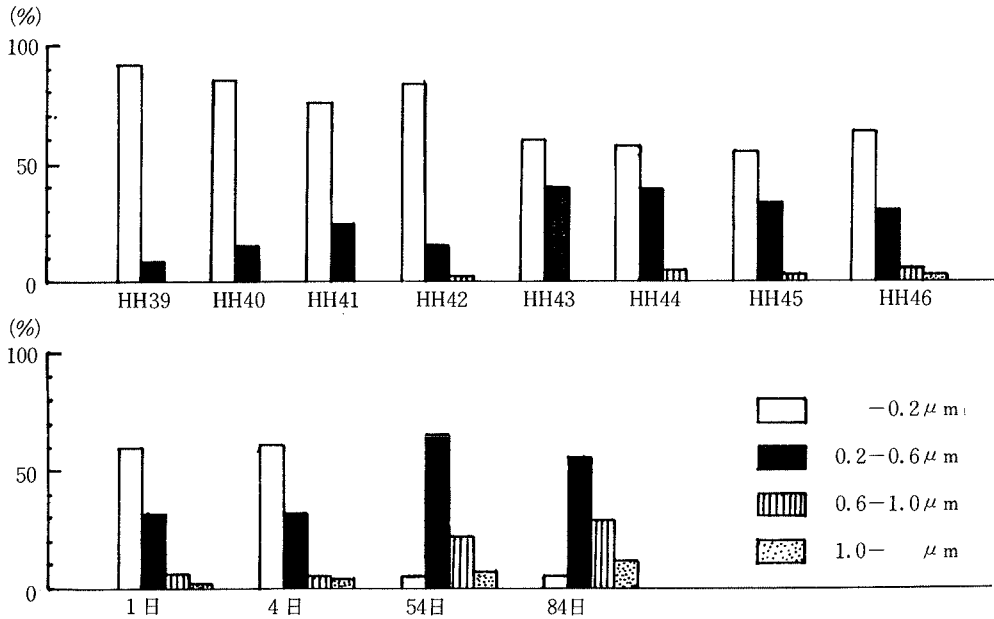
44日令以降。膠細胞は成熟度を増し、成熟型膠細胞について述べている Lyser⁶⁾ の記載に一致する細胞を観察した (第10, 11図)。また Ac の中で、核・細胞質の共に暗い dark Ac を観察した (第12図)。

2) 神経線維

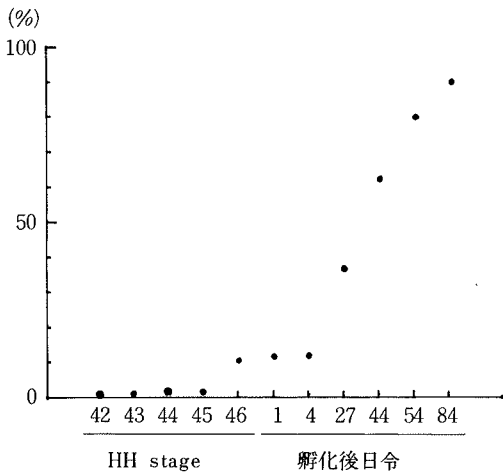
視神経線維直径 (髄鞘を含まない) の計測の結果 (第

第1表 各 HHstage 及び孵化後日令における線維径のスペクトル (%)

線維径 (μm)	HHstage								孵化後日令			
	39	40	41	42	43	44	45	46	1日	4日	54日	84日
-0.2	91.4	84.1	76.1	87.3	59.6	57.3	64.7	62.8	59.7	60.4	5.1	6.0
0.2-0.4	7.7	13.6	17.2	11.0	31.9	19.3	25.0	29.5	18.1	17.6	33.5	18.1
0.4-0.6	0.9	2.0	6.3	4.0	8.5	9.7	7.9	10.2	13.4	14.5	32.7	36.3
0.6-0.8		0.3	0.4	1.3		3.6	1.4	4.9	6.3	3.0	13.8	18.6
0.8-1.0							0.1	1.1	0.6	1.9	8.1	9.8
1.0-1.2							0.3	0.4	0.9	1.9	2.9	2.3
1.2-1.4							0.3	0.7	0.6	0.7	1.5	3.3
1.4-1.6							0.1	0.7	0.3	0.5	0.9	2.8
1.6-1.8										0.2	0.6	1.9
1.8-2.0										0.2	0.6	0.5
2.0-											0.4	0.5



第1図 各HH stage 及び孵化後日令における線径径スペクトル(%)のヒストグラム。



第2図 各HH stage 及び孵化後日令における有髓線維の比率の変化。

1表, 第1図), HH39で0-0.6 μ mの範囲であったものが, 84日令では0-2.0 μ mの範囲へと広がっている。孵化後数日までは細い線維(0.2 μ m径以下)が大部分を占

め, (孵化時63%)以後より太い線維が増加し, 84日令ではピークが0.4~0.6 μ mとなっている(36%)。

また有髓線維の比率の変化(第2図)についてみると, 有髓線維の最初の出現はHH42であり, この時の有髓線維の比率は1%以下である。84日令では88.3%の線維が髓鞘を獲得していた。血管, 結合組織については, 検索したすべてのstageで観察された(第6, 8, 10, 12, 14)。血管, 結合組織は基底膜を有して, 神経線維群と境を有する(第10, 12図)。この基底膜はAcまたはAcの突起におおわれており, 直接に神経線維やOcと触れることはない(第12, 14図)。

考 察

視神経の膠細胞は, 先ず神経上皮細胞からGbが分化し, GbからAb, Obに分化する。分化はAbが先に出現するとされ^{10,11)}本所見にてもHH40にAbの分化の兆しが, 微細小管に富む長い突起として現れる。HH41で細線維が明瞭に確認され, Abとして観察される。ObはAbに遅れてHH42に出現する。Gbは孵化後数日まで存在しており, 増殖・分化をしていると考えられる。Gbから分化したAb, Obは成熟してAc, Ocとなる。最初にAcがみられるの

はHH44で、Ocの出現は孵化後4日令であった。しかし、これら出現初期のAc、Ocは幼若である。孵化時においてはGb、Ab、Ac、Obの4種の細胞が混在しており、膠細胞に関する視神経の成熟は孵化後になされ、27日令においてはかなり成熟した膠細胞がみられ、44日令に至って、成熟膠細胞所見について述べているLyser⁶⁾の記載に一致したAc、Ocを観察し、この頃に膠細胞は成熟に達すると考えられる。

Gbの形態は様ざま、核は楕円形、円型、不規則形で、電子密度もかなりの差がある。初期のGbは細胞質が比較的少なく、核周囲に限定される傾向にあり、小器官も遊離リボソーム、ミトコンドリアなどを除いてあまり見られない。発達に伴って細胞質は広くなり、小器官も増加する。小胞体、ゴルジ装置、微細小管などもみられるようになる。突起の発達はよくない。

Abは核が楕円形、Gbに比べ細胞質も豊か、小器官も豊富で細線維が出現している。重要な要素として細胞の同定にも不可欠なAcは細線維が増量し、特に突起に多く、一方微細小管がほとんどみられなくなる。突起はよく発達して神経線維をよく束ねる。Acの中には核・細胞質ともに非常に暗いものがみられ(第12図)、Lyser⁶⁾のdark Acに一致する。また人、猿、猫などのAcのグリコーゲン顆粒^{1-3,4,12,14)}については鶏ではLyser⁶⁾と同様みられず、また幼若型Acにおける中心小体^{2,15)}もみられなかった。Acの突起は神経線維を束ねると共に、結合組織の全周囲をおおい(第14図)、astroglial layerまたはglia limitansと言われるものに相当する^{1-3,14)}したがってAcの突起の介在によって、神経線維やOcは直接に血管・結合組織と触れることはない。

Obは核が円型に近く、粗面小胞体が増量し、細線維を欠き、微細小管を有する。OcはObに比べて更に電子密度が高くなり、小器官も豊富で、粗面小胞体、核のクロマチンは共にAcより多く、細線維の欠如などが特徴で、突起はほとんどみられない。

神経線維直径のスペクトルの変化は(第1表及び第1図)、孵化時においても $0.2\mu\text{m}$ 以下の径をもつ線維が約63%存在しており、ほぼ成体型と考えられる84日令とはかなり異なった分布を示している。したがって孵化時にてなお未成熟で、完成は孵化後3ヶ月頃になされると考えられる。数値そのものについては、鶏について計測しているRager⁹⁾にほぼ一致し、他の動物(鳥類、哺乳類)に比べて細い方に属する。線維径の太さによる分布も単峰性を示している。

有髄線維が初めて観察されたのはHH42であり(第13

図)、Rager⁹⁾の記載と一致した。その後、有髄線維の比率は、(Rager⁹⁾は3ヶ月令にて95%としているが)本所見にては第2図のように変化し、84日令にて88.3%を示した。孵化時において有髄線維は全体の11.2%にすぎず、未熟である。髄鞘形成の完成は、以上より3ヶ月令頃に成体型に達すると考えられる。

髄鞘形成と神経線維径の間の時間的相関々係については詳細には不明であるが、少なくとも、より太い線維から髄鞘を獲得していくようである。しかし、その規準となる線維径(critical size⁸⁾)は認められなかった。

髄鞘形成に直接関与する膠細胞については、一部を除いて⁴⁾Ocのみと考えられているが、今回の観察においては明確な像を得る事できなかった。

血管、結合組織は、HH39の段階ですでに視神経内に侵入しており、以降どのstageにおいても観察され、血管・結合組織は常にastroglial layerによっておおわれていた。

要 約

白色レグホン種の鶏胚HH39(Hamburger and Hamiltonの鶏胚stageによる)から孵化後84日令までを経時的に観察した。HH39にては、視神経は神経線維、膠細胞、血管及び結合組織によってみだされている。膠細胞はHH40にてastroblastへの分化をみる以前は、すべてglioblastである。glioblastは神経上皮層から生じ、astroblast、oligodendroblastに分化する。oligodendroblastは、astroblastよりおくれでHH42に生ずる。その後HH44にて最初のastrocyte、孵化後4日令にて最初のoligodendrocyteが出現する。しかし、孵化時においてもglioblastは存在しており、孵化後4日令頃にglioblastはみられなくなり、膠細胞は成熟度を増す。孵化後44日令にて、Lyser⁶⁾の記載に一致する成熟膠細胞の像がしめされる。

glioblastは形態が多様で、細胞質は比較的乏しく、小器官もミトコンドリア、リボソームを除いてあまりみられない。astroblastの核は楕円形に近く、細線維がみられ、小器官も増量し、微細小管が存し、突起がかなり発達する。astrocyteはさらに細線維を増し、微細小管はみられなくなる。他の動物で報告せられているグリコーゲン顆粒、中心小体はみられなかった。oligodendroblastは核が円形に近く、粗面小胞体が多くなり、細線維はみられない。oligodendrocyteは核の染色質を増し、突起はほとんどみられない。

視神経線維の直径を見ると、孵化時では $0.2\mu\text{m}$ 以下の線維が約63%で最も多く、この部をピークとして $0-1.6\mu\text{m}$

の単峰性分布をなし、ほぼ成熟した84日令では0.4-0.6 μ mをピーク(約36%)とする0-2.0 μ mの単峰性分布をしめた。

有髄線維の最初の出現はHH42(1%以下)であり、その後増加し、孵化時で約11.2%, 84日令では88.3%となった。

文 献

- 1) Anderson, D. R., Hoyt, W. F. and Hogan, M. J.: *Trans. Amer. Ophthalmol. Soc.*, **65** 175 (1967)
- 2) Anderson, D. R. and Hoyt, W. F.: *Arch. Ophthalmol.*, **82** 506 (1969)
- 3) Anderson, D. R.: *Arch. Ophthalmol.*, **82** 800 (1969)
- 4) Blunt, M. J., Baldwin, F. and Wendell-Smith, C. P.: *Z. Zellforsch.*, **124** 269 (1972)
- 5) Hamburger, V. and Hamilton, H.: *J. Morphol.*, **88** 49 (1951)
- 6) Lyser, K. M.: *J. comp. Neurol.*, **146** 83 (1972)
- 7) Matheson, D. F.: *Exp. Neurol.*, **32** 195 (1971)
- 8) Potts, A. M., Hodges, D., Shelman, C. B. and Fritz, K. J.: *Invest. Ophthalmol.*, **11** 980 (1972)
- 9) Rager, G.: *Proc. Roy. Soc. Lond. B.*, **192** 331 (1976)
- 10) Skoff, R. P., Price, D. L. and Stocks, A.: *J. comp. Neurol.*, **168** 291 (1976)
- 11) Skoff, R. P., Price, D. L. and Stocks, A.: *J. comp. Neurol.*, **169** 313 (1976)
- 12) Sturrock, R. R.: *J. Anat.*, **119** 223 (1975)
- 13) Tirner, J. E. and Singer, M.: *J. comp. Neurol.*, **156** 1 (1974)
- 14) Wendell-Smith, C. P., Blunt, M. J. and Baldwin, F.: *J. comp. Neurol.*, **127** 219 (1966)
- 15) Yuri, Y.: *Jap. J. Ophthalmol.*, **4** 48 (1960)

付 図 説 明

Ab astroblast; Ac astrocyte; Gb glioblast; En 血管内皮細胞; F 線維細胞; Ob oligodendroblast; Oc oligodendrocyte; b 基底膜; Co 膠原線維; t 細線維; ms 髄鞘; p Acの突起

第3図 HH39(13日胚)。Gb。×12000

第4図 HH40(14日胚)。右下の細胞は突起を一本伸ばしている。おそらくAbへの移行型と考えられる。Abの突起群とその内部に含まれる微細小管(矢印)。×6000

第5図 HH41(15日胚)。Ab。明瞭な細線維を含む突起を伸ばす。左上の細胞は線維細胞。×15000

第6図 HH42(16日胚)。Ob。豊富な粗面小胞体が見られる。×10000

第7図 HH44(18日胚)。Acとその突起。AbからAcへの移行型と考えられる。突起とその基部に増量した細線維が見られる。突起は神経線維群中に入り込んでいる。×10000

第8図 HH46(20-21日胚, 孵化時)。Gb, Ab, 線維細胞が見られる。×10000

第9図 4日令。Oc。より成熟したOcに比べると電子密度は未だ低い状態にある。×12000

第10図 44日令。Ac。細胞質内には細線維が見られる。×8000

第11図 54日令。Oc。核にはAcよりも多いクロマチンが見られる。小器官に富んでいる。すぐ上部にAcの突起が接している。×7000

第12図 54日令。dark Ac。暗い細胞で、細線維を有する。×10000

第13図 HH42における有髄線維。この時期にはじめて有髄線維が観察された。矢印は細い無髄線維を示す。×18000

第14図 84日令。血管内皮細胞。基底膜の周囲にはAcの突起による astroglial layer が明瞭に見られる。左側の神経線維群中には無髄線維が数本見られる。×12000

