

猫脳尾状核の細胞構築学的研究ならびに 痙攣時の組織化学的研究

第 2 編

実験的痙攣猫脳尾状核各分野のコリンエステラーゼ (ChE) に関する組織化学的研究

(本論文の要旨は第54回日本精神神経学会に発表)

岡山大学医学部第1(陣内)外科教室(指導:陣内教授)

専攻生 西 脇 惟 信

[昭和33年6月9日受稿]

第1章 緒言ならびに文献

従来痙攣及び痙攣を本態とする癲癇について脳の組織学的研究としては内外諸家の幾多の報告を見るが、その主とする変化は神経細胞の退行性変化とグリア組織の増殖性変化であり、これらはいずれも反復して痙攣を起させた脳についての報告であつて、近年細胞化学ならびに組織化学の進展にともない、従来の組織像では認められなかつた一過性的変化が認められるにいたつている。私は第1編において痙攣と関係の深い尾状核で、細胞築学的見地より尾状核の各分野をわちその特徴を明かにしたのであるが、これを基として尾状核のうち痙攣ともつとも深い関係のある部位はどこであるかを知る目的で、神経伝導の主体をなすといわれるアセチルコリン(以下 Ach と略す)と表裏一体の関係にあるコリンエステラーゼ(以下 ChE と略す)の組織化学像を追求することとした。

そもそも神経系統の刺激伝導に関しては、Loewi¹⁾が迷走神経を刺激する際ある種の化学物質が生じ、これが刺激伝導にあずかるものであることをあきらかにして以来、この化学物質が Ach であり、かつ、この考えが全神経系統にも及ぼしうるのであることが解明されて、1939年 Nachmansohn²⁾は Ach による神経の化学的伝導機構を発表した。すなわち彼は神経細胞内で Ach が活性化されると、細胞膜の透過性が増加して刺激が伝導され、Ach がその分解酵素である ChE で分解されると細胞膜は透過性を減少して局所の興奮性が回復するのであつたと述べ

て以来、Ach 及び ChE に関して生体内における状態や、その生成、分解過程等の研究が進められてきた。

生理的状态における脳内の Ach 量は各部位により異なるが、いずれも脳基底部の Ach 量が他の大脳皮質、小脳等に比して多いと報告されている。麻酔時脳組織の Ach 量が増量し、痙攣時に減少することは Tobias, Lipton, and Lepinat³⁾が白鼠の実験で認めているが、麻酔時には ChE の働きが抑制され一時的に Ach が蓄積するために Ach が増量し、痙攣時には ChE の働きが亢進し Ach の分解が促進され Ach の減少をきたすのであつたと述べている。また Felger and Kowarzyd⁴⁾等は家兎の総 Ach 量が破傷風毒素投与後増加し、Strychnin 投与後減少することを認め、この事実より破傷風毒素のごとく徐々に神経の興奮性を高めるものは結合 Ach の合成を促し Strychnin のごとく急激に神経を興奮させるものは結合 Ach より遊離 Ach への転換を促し結合 Ach の合成がそれにもなつて増加しないため結局総 Ach 量が減少するのであつたと述べている。Richter 及び Crossland⁵⁾は白鼠で総 Ach を測定し、その平均値は麻酔時 1.76 γ /g、痙攣時 0.57 γ /g、電気刺激時 0.55 γ /g の順に減少すると報告している。中島⁶⁾は Pentamethyltetrasol の少量を白鼠に注射して痙攣の起る前に殺し Ach 量を測定し、脳幹部、外套、小脳ともに遊離 Ach 様物質は著明に増加するも、いわゆる総 Ach 様物質が減少する傾向を示すと述べ、耕田⁷⁾、福田⁸⁾は麻酔時 Ach の増量を認めている。また津

端⁹⁾はイレウス時脳脊髄等の Ach 様物質の減少を認め、その際血清中の Ach の増量することより中枢神経組織中の Ach の減少は主として血中に流出するからであろうと推定している。

また ChE については1935年 Stedman¹⁰⁾は酵素学的研究より Ach を分解する酵素を ChE と名づけたのであるが、その後 R. Ammon¹¹⁾, B. mendel¹²⁾, Nachmansohn¹³⁾等は Ach 及びその誘導体に対する ChE の特異性を認め、ChE には少なくとも2つまたは2つ以上の型があると述べているが、一般には特異性 ChE (以下 SP. ChE と略す) と非特異性 ChE (以下 non-SP. ChE と略す) の2つに分け、Nachmansohn¹³⁾は Ach 及びその誘導体の基質の炭素数の変化にしたがい、それに対する酵素の作用について詳細な報告を行い、かつまた遊離 Ach が生体内においてきわめて不安定な崩壊しやすい性質があるのと比較して ChE は Phosphatase, Lecinase とともに Esterase を形成し非常に安定な酵素であると述べ、生体各部における分布を調べ、SP. ChE は脳神経組織、筋肉、赤血球に認められると報告している。それで SP. ChE はまた真性 ChE または脳型 (あるいは赤血球型) ChE (または Acetyl. ChE), non-SP. ChE は偽性 ChE または血清型 ChE ともいわれている。また彼²⁾は Warburg 氏検圧計を用いて ChE の活性値を測定し、ChE の活性値の高い組織は Ach 代謝が盛んに行われていることから ChE の活性値を知ることにより Ach 代謝の高低を、ひいては神経活動の状態も知りうるものであろうと述べている。すなわち彼は人及び犬について、後藤¹⁴⁾は人、犬、兎等で、Little は犬で、それぞれ脳各部の ChE の活性値をしらべ脳基底各部の ChE 活性値がきわめて高いことを報告している。さらに沖中、吉川¹⁶⁾等は肝及び脳基底核の変化を主病変とする特殊疾患を ChE と関係づけている。教室の近藤は犬を用いカルチアゾール痙攣 (以下「カ」痙攣と略す) を起さしめ、痙攣前期、痙攣極期、痙攣後期、さらに痙攣重積期にそれぞれ脳各部の ChE の活性値を測定し、大脳皮質、視床、中脳、小脳皮質では変化が少なかったがレンズ核のみには前期では軽度の減少を、極期では著明な増加を認め、後期に暫次正常に復することを認めている。

また山田¹⁸⁾は犬で電撃痙攣を重複することにより尾状核、大脳皮質、小脳に ChE の活値の亢進を認め、特に大脳皮質運動領においてもつとも高く約

2倍の増加を認めている。

然しながら Ach または ChE の組織化学的検索法について、1929年広瀬はいわゆる Cholin 顆粒として各種臓器の Cholin の分布状態を比較研究し、神経系、胃十二指腸、生殖腺等に多く存在すると述べているが、1941年 Glick²⁰⁾は高級脂肪酸のカルシウム、バリウム、コバルトなどの塩類が ChE により特異的に分解されることより細胞化学への応用 (Cytochemical application) の可能性を論じ、Gomori²¹⁾は高級脂肪酸エステルを用いる方法を、Koelle and Friedenwald²²⁾²³⁾は Ach の誘導体を用いる方法を発表した。さらに1951年 Koelle²⁴⁾は前法の不備な点を改良し ChE の移動を防止した改良法を発表している。

豊田²⁵⁾はこの方法により犬の各種臓器、とくに神経系統における ChE の分布像を発表し、尾状核、被殻、黒質、及びオリブ核にきわめて強い ChE の分布を認めている。同時に non-SP. ChE の組織化学像をも追求し、脊髄、尾状核では non-SP. ChE は認められないと報告している。宇尾野²⁶⁾もまた内分泌系の ChE の分布をしらべて、神経の化学伝導学説との関係を述べている。然しながら ChE の組織化学についての上記諸氏の発表はいずれも最近のものであり主として生理的状態のものであつて痙攣時の変化を検討した報告は見当たらない。

痙攣に関する他の組織化学的検索については湧井²⁷⁾は家兎で熱鬱積による全身痙攣の場合、Bielschowsky 鍍銀法によると神経細胞内の嗜銀性顆粒の増加を認め、吉田²⁸⁾は家兎で「カ」痙攣を起さしめ、今の発表せる銀反応を用い実験したところ、尾状核頭、被殻、淡蒼球、黒質等に著明な銀反応の亢進を認めており、竹内²⁹⁾は家兎及び猫の大脳皮質、淡蒼球、黒質等にオキシダーゼ反応がとくに強くあらわれると述べている。

そこで私は痙攣時に尾状核中のいかなる分野にいかなる変化が生ずるかを第1編で尾状核の細胞構築学的特徴より各分野を分けたが、この区分方法を用いて Koelle の改良法による ChE の組織化学的変動を追求するために次の実験を行った。

第2章 実験方法

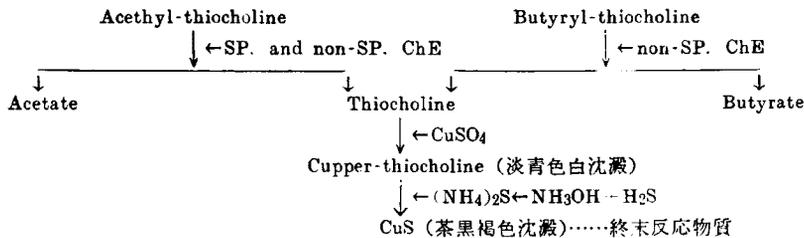
第1節 実験動物ならびに屠殺方法

正常親猫で体重2~4kgのものを使用した。対照群 (非痙攣群) は無麻酔のまま猫を背位に固定、正中線上で一挙に胸廓を開き心に入射する血管を止血針

子で挟み屠殺した。また痙攣例では前記同様に固定した猫に Pro. Kg 0.3 cc の割で 10% カルチアゾールを股静脈より注入して痙攣を起させ、前間代期を経て強直期に入り痙攣極期に達するに及び前記同様方法で屠殺した。

第2節 切片作成法ならびに染色法

屠殺後ただちに脳を損傷しないようにとり出し、尾状核の各分野を区別しやすいように前頭断で尾状核部を含めた 5 mm の厚さの数個のブロックにおけ、25 μ の凍結切片を作り、デッキグラスに密着、真空乾燥器で冷却乾燥した。ChE の染色法としては



通常前操作液として D. F. P. 液を用いた SP. ChE と、D. F. P. 不使用の totale ChE の標本を作製した。然しこの両者間にくに差異は認められなかつた。また必要に応じて Butyrylthiocholine を用いた non-SP. ChE の標本を作製した。然し尾状核では non-SP. ChE は全然染まらなかつた。

また Koelle の改良法による ChE の染色法のみでは組織の微細構造を知るのに困難であるから後染色としてヘマトキシリンを用いて核を染色し微細構造を知る助けとした。然し ChE の分布濃度の強弱を判定するには逆に不便であるところから実験成績を出すための標本とはしなかつた。

第3節 ChE の分布度の定め方

Koelle の改良法による ChE の組織化学像は CuS の茶黒褐色の沈澱顆粒の多寡により ChE の分布の多少を知る方法であるから、CuS の沈澱顆粒の多寡が ChE の分布の多少にほぼ平行するものと考えられる。私の標本では ChE の顆粒はむしろ茶褐色を呈し、かつ尾状核では非常に多量であるため、判然と顆粒を区別できぬ場合もあり、一面に分布しているように認められるが、強拡大下における顕微鏡像をその分布強度にしたがつて (卅) より (+) にわけた。

(卅)：顆粒が細胞内外にはなはだ緻密に充滿し、色調は強い茶黒褐色でほとんど個々の顆粒として見難いもので、本実験例中もつとも強い呈色性を有している部分となした。

Acethylthiocholin を使用する Koelle の改良法にしたがつた。本法は Koelle²⁴⁾ 及び豊田²⁵⁾ によりその方法の詳細な報告があるが、その染色機転は試薬中に混入された Acethylthiocholin が組織切片中に含まれる ChE により分解されて淡青色を帯びた白色の Cupper-thiocholin の沈澱となつて組織切片中に沈着し、これが H₂S 飽和のアンモニア液により本染色の最終産物である茶黒褐色の硫化銅 (CuS) の沈澱として認められ、その CuS の沈澱顆粒の多寡により ChE の分布の多少を知る方法で、その反応式を略記すれば次のようである。

(卅)：顆粒が細胞内外にはなはだ多数に瀰漫性に存在し、顆粒の大きさも小で、きわめて鮮明な茶褐色を呈し、痙攣例中もつともしばしばみられるものである。

(+)：顆粒は細胞内外に散在性にやや多く存在し、大きさは小であるが茶褐色を呈しており (卅) よりも鮮明さの劣るもので非痙攣に多く見られるもの。

(+) 顆粒が細胞の内外に散在性に存在し大きさは小で茶褐色を呈し、微細粉末状乃至点状に認められ、本実験例中もつとも弱い分布を示すもの。

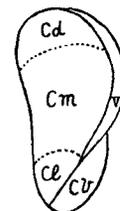
また、それぞれ上記強度の中間のものを (卅)(+) (±) のごとくした。

もちろん (±) は (+) の 2 倍の分布強度ではなくもつとも弱い分布を示す No. 1 を (+) と定め、ほぼ標準を示す No. 13, No. 18, No. 21 等を (卅) としてその間の強度の差を前記のように区別した。

第4節 尾状核各分野の区分法

第1編で述べたように Gurewitsch³⁰⁾ の分類にしたがつて尾状核を 4 つの分野に分けた。

- 1) Caudatus dorsalis (Cd)
- 2) Caudatus medialis (Cm)
- 3) Caudatus lateralis (Cl)
- 4) Caudatus ventralis (Cv)



第3章 実験成績

実験例は18例で、その内非痙攣例は7例 (No. 1~No. 7), 痙攣例は11例 (No. 11~No. 21) である。

第1節 一般的鏡検所見

Koelle の改良法による尾状核の ChE の組織像は肉眼的に見ても、痙攣例、非痙攣例を問わず他の脳の部分よりも非常に高度の分布を認める。この所見は顕鏡下においても同様で、神経細胞はもちろん、グリア細胞、ニッスル灰白に強くあらわれる。ただ有髄神経線維束のみは ChE の分布が僅少であるので白くぬけて見えるので内包周辺部では網状構造を呈している。(附註1,2参照)

強拡大下においては一般に特定の原形質の多い effect. Zellen を除いてはヘマトキシリンとかニッスルの後染色を行わないと個々の細胞の識別は困難なことが多い。(附註3,4参照)

一般に非痙攣例では神経細胞中に分布する ChE 顆粒は小顆粒状、時には小滴状に濃染した像として認められ細胞膜周辺部に比較的偏在しているように見受けられる。また痙攣例では一般に多数の茶黒褐色の ChE の顆粒が細胞原形質内に緻密に無数に充滿し、特別に細胞周辺部のみ偏在した所見は割に見当たらない。(附註5,6,7,8,9,10,11,12参照)

またニッスル灰白には痙攣、非痙攣例ともほぼ均等に ChE の分布を認め、時に Glia 細胞の核に強い ChE の分布を認めるものがあるが痙攣例では非痙攣に較べて ChE 顆粒はより密である。

いま、非痙攣例と痙攣例とを比較すると痙攣例では全般に ChE の分布が増強しているのを認めるが、強拡大所見として興味あることは非痙攣例では大多数の神経細胞が比較的細胞膜に近く ChE 顆粒が分布していたのに、痙攣例では細胞原形質内に緻密にほぼ均等に ChE の顆粒が充滿するように変化していることである。

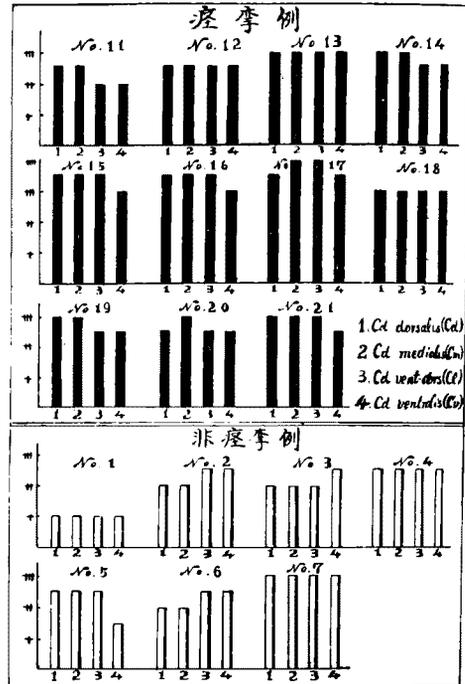
第2節 尾状核各分野の ChE

ChE 染色標本では尾状核の各分野とも主として effect. Zellen の形態があきらかである以外は大部分の recept. Zellen, グリア細胞, ニッスル灰白等を判然と区別しえない場合が多いので、まず effect. Zellen を除いた各分野の ChE の分布を検討した。

各症例別の ChE の分布強度 (染色性) を示すと第1図のようになる。

1) 各症例において各分野の相関関係を見ると非

第1図 尾状核各部の ChE 分布



痙攣例 (正常) では各分野とも同一の分布を見るもの3例 (No. 1, No. 4, No. 7) ではほぼ半数を占め、尾状核の背外側 (Cd, Cm) が腹内側 (Cl, Cv) に比して ChE 分布の弱いもの3例 (No. 2, No. 3, No. 6) で残り半数を占め、Cv が他に比し弱いものはわずか1例 (No. 5) にすぎない。すなわち各分野ともほぼ等しいか、または Cl, Cv の部が Cd, Cm に比べてわずかに強いようにおもわれる。

然し痙攣例では尾状核の背外側の部 (Cd, Cm) が腹内側 (Cl, Cv) に比して強いのが目立ち、痙攣例の半数以上、すなわち6例 (No. 11, No. 14, No. 15, No. 16, No. 19, No. 21) に認められ、残り3例 (No. 12, No. 13, No. 18) は各分野とも一樣に、他の2例 (No. 17, No. 20) は Cm に強い分布を示している。このように非痙攣例に見られたような尾状核の腹内側 (Cl, Cv) が背外側より強いものは全く認められない。

2) また尾状核全体としての痙攣例と、非痙攣例との ChE の分布の相違をみると次のごとくである。

- a) 卍またはそれ以上痙攣例 No. 13, No. 15, No. 16, No. 17, No. 18 No. 21, 6例
- 非痙攣例No. 7..... 1例
- b) 卍以下卍までのもの (卍~卍)

痙攣例 No. 12, No. 14, No. 19, No. 20

..... 4例
非痙攣例 No. 4..... 1例

c) 卍~卍

痙攣例 No. 11 1例
非痙攣例 No. 2, No. 3, No. 5, No. 6... 4例

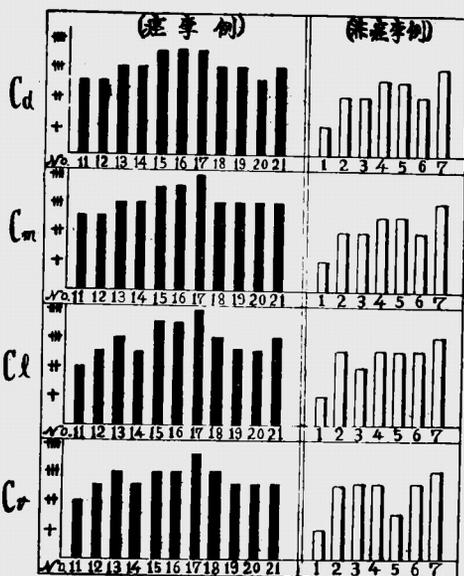
d) 卍以下痙攣例なし..... 0

非痙攣例 No. 1 1例

すなわち非痙攣例では大部分が卍~卍であるに反して、痙攣例ではほぼ半数以上が卍またはそれ以上であり、残りは卍~卍で、1例 (No. 11) のみ卍~卍を示すにすぎず、痙攣例は非痙攣例に比して明かに ChE の分布の増加を見る。

次に痙攣例及び非痙攣例につき尾状核の各分野別の ChE の分布状態を対比すると第2図のようになる。

第2図 尾状核各部の ChE の対比



これをさらに各分野における痙攣、非痙攣の平均、増減等がわかり易いようにまとめると第1表のようである。すなわち Cd では痙攣時は平均「卍」、非痙攣時「卍」で差「+」、Cm では痙攣時「卍」、非痙攣時「卍」で差「+」、Cl では痙攣時 (卍~卍)、非痙攣時 (卍~卍) で差「±」、Cv もほとんど Cl と同様となりその差は「±」であるが、もつとも差の強いのは Cd で以下 Cm, Cl, Cv の順となる。

第3節 effect. Zellen (大細胞) の ChE

非痙攣時には、尾状核の effect. Zellen 内における ChE 分布濃度が周囲に比してあまり大した相

第1表 ChE の総括

尾状核	痙攣	非痙攣										平均	差	増減
		+	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍			
Cd	(+)				●	●	●	●	●	●	●	卍	+	↑
	(-)	○		○	○	○						卍		
Cm	(+)				●	●	●	●	●	●	●	卍	+	↑
	(-)	○		○	○	○						卍		
Cl	(+)			●	●	●	●	●	●	●	●	卍	±	↑
	(-)	○		○	○	○	○	○	○	○	○	卍		
Cv	(+)			●	●	●	●	●	●	●	●	卍	±	↑
	(-)	○	○									卍		

違がないため effect. Zellen をその形態から区別することが割合に困難であるけれども、痙攣時には ChE の分布濃度が著しく増加するので周囲よりも一段と濃くなり、形態も鮮明となり、従つて各分野ともその数が著しく増したように認められる。いま非痙攣例及び痙攣例の各実験例を代表するおのおの1枚ずつの標本より求めた effect. Zellen の分布を図示すると第3図及び第4図に示すごとくで、痙攣例においては effect. Zellen の ChE の増強する度もかなり強く、かつその数も多く認められるようになることを知った。

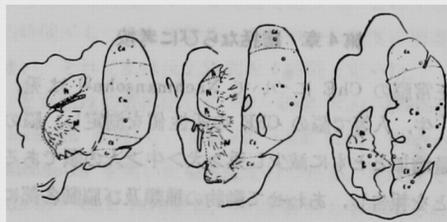
以上の如く痙攣による effect. Zellen の ChE 分布の増加度は recept. Zellen のそれに比しはるかに大である。

第3図 非痙攣例の effect. Zellen の ChE

No. 1 (-) No. 2 (-) No. 3 (-) No. 4 (-)

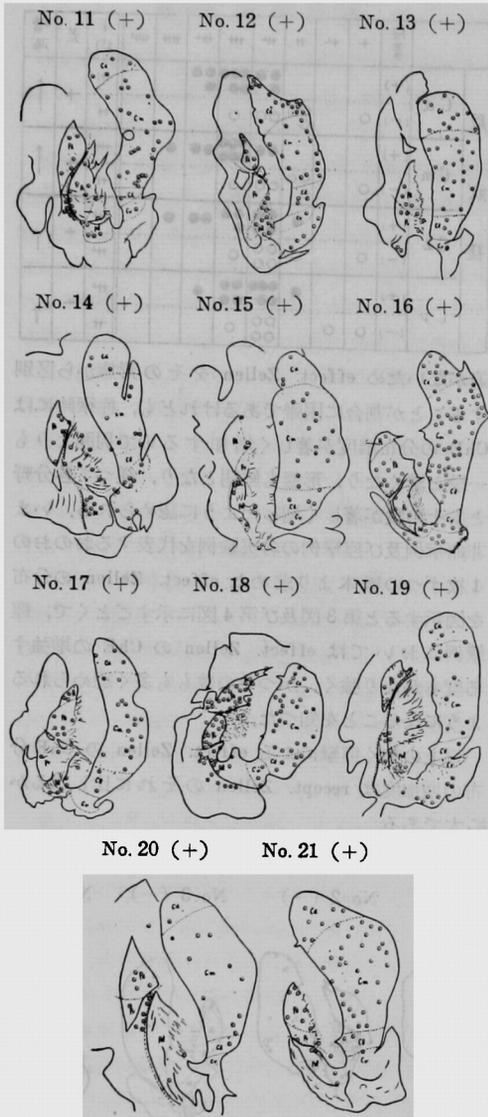


No. 5 (-) No. 6 (-) No. 7 (-)



◎ は ChE の分布著明なもの
● は ChE の分布少なきもの

第4図 痙攣例の effect, Zellen の ChE



- ◎は ChE の分布の著明なもの
 ・は ChE の分布の少なきもの

第4章 総括ならびに考按

正常脳の ChE について Nachmansohn²⁾ は兎, 犬, 牛, 人等で脳の ChE の活性値を測定し, 脳の重量増加とともに減少し兎>犬>牛>人の順であることを報告し, あわせて動物の種類及び脳髄各部によつても相当の差のあることを認めているが, 同一種動物の同一個所ではほぼ一定していると述べている. 教室の近藤¹⁷⁾ も犬の脳髄の同一部位ではほぼ

一定していることを確め, レンズ核 (9.6倍)>小脳皮質 (3.9倍)>中脳 (3.2倍)>視床 (1.9倍)>大脳皮質 (1.0倍) であるといい, 山田¹⁸⁾ は尾状核>小脳>視床>脊髓>大脳皮質となると述べ, 尾状核の ChE の活性値は正常時でも大脳皮質の約30倍に達するといっている. また, 後藤¹⁴⁾ は人においても同様の順序であつたと報告している. このように同一種動物の脳の同一個所で ChE がほぼ一定していることは血清 ChE の個体差がはなはだ大であることに比しきわめて注意すべきことで, 血清中の ChE が主として non-SP. ChE であるのに反して脳髄の ChE はほとんどすべて SP. ChE であつて, 脳各部の Ach 代謝に直接関係すると思われるので, 脳基底核の ChE の活性値がとくに高いことは他の部に比し高度の Ach 代謝が行われていることを容易に知りうるものである. また季節的変動についても沖中, 吉川³¹⁾ は四季を通じて血清 ChE に変化なく, 沖³²⁾ も兎の大脳皮質で特別の季節的關係を認めず, 近藤¹⁷⁾ も犬で同様の結果をえている.

上記のごとく脳基底核部における ChE の分布に関する酵素化学的定量値は他の神経組織及び心筋, 腸粘膜等に比しきわめて大で10倍乃至数10倍に及ぶという報告があるが, Koelle²³⁾ は猫で身体各部の ChE の組織化学的検索を行い各種臓器の ChE の組織像すなわち CuS (硫化銅) の沈着度は ChE の化学的定量値に平行していると述べ, 豊田²⁵⁾ も犬の ChE の組織化学像を Koelle の改良法により検索し, 尾状核, 被殻, 黒質, オリーブ核等には他の錐体細胞群に比し強い ChE の分布を認め, 尾状核における鏡検所見として ChE は主として神経細胞内に分布し有髓神経線維群にはあまり認められず, 同時に神経細胞内の分布は他の部分の神経細胞に比しきわめて高度で, しかも原形質にはほぼ平等に分布はするが, とくに細胞原形質周辺部に局限しているように見え, また神経細胞核及び核小体にはほとんど認められず白く抜けて見えると述べている.

私の研究においても正常例においては神経細胞の細胞原形質周辺部に比較的濃く密集しているけれども, 痙攣例では細胞原形質内に均等により一層密に分布しており, とくに周辺部に分布しているという所見はみられず, 痙攣の結果このように変化したのではないかと思われる.

私は猫の尾状核ですでに第1編に述べたごとく, 尾状核各分野の神経細胞の大きさ及び細胞密度を求めて Cd<Cm<Cl<Cv の順に細胞密度は増加するが,

神経細胞の大きさは逆に小さくなっていることを知つたが、Koelleの改良法による私の標本でも、正常例ではChEの分布強度はCl, Cvの方がCd, Cmよりもわずかに強い分布の傾向にあることが認められた。然し痙攣例では各分野のeffect. Zellen及びrecept. ZellenともにChEの分布濃度は増加、とくにCd, Cmの部ではCl, Cvに比してその程度も強く認められている。すなわち正常例では大多数の例において腹内側(Cl, Cv)の方が背外側(Cd, Cm)よりも強く分布しているのに拘らず痙攣例では逆に背外側の方が強く増加しているのである。この事実から痙攣に干渉している部分は主として尾状核の背外側(Cd, Cm)の部分であるといふことができる。

もちろん組織化学的検索法は元来定性的方法であつて正確に定量することではできないけれども組織学的にみたる所の機能的変化とか、微細構造上の変化について云々する場合には最適の方法である。

以上のごとく痙攣時には正常時に比してChEの分布濃度が増強するということは、やはり尾状核のAch代謝の亢進、ひいては細胞機能の亢進と認められ、とくにeffect. Zellenがrecept. Zellenに比し一段とChEの分布が強いことはカルチアゾール痙攣に対してrecept. Zellenよりもeffect. Zellenの方が大きな関与をなすものであると考えられる。またeffect. Zellen以外のrecept. Zellen, グリア細胞, ニッスル灰白においても上述のごとくCd, Cmの部がCl, Cvの部よりも痙攣によるChEの分布の増強度が強いことは痙攣に対してCd, Cmの部がより密接な関係をもっていることを示すものと考えられる。

教室の近藤¹⁷⁾は犬で私同様の「カ」痙攣を起さしめた実験においてレンズ核では痙攣極期において正常例の平均25%前後の増加を認めており、また山田¹⁸⁾は電撃ショックを繰返し狂燥期にある犬の尾状核で正常時のほぼ10%の増強を認めたと述べている。吉田²⁰⁾は家兎にカルチアゾール痙攣を起さしめ今の銀反応を行つたところ、皮質運動領第6層、尾状核頭部、被殻、淡蒼球、視床腹側核、黒核等に著明な反応の亢進を認め、上記の部が「カ」痙攣に強い関与があることを知り、その際、痙攣を強く起させるほど強い亢進を示し、その程度の痙攣の強さ及び長さ的比例すると述べている。私の共同研究者である本多³³⁾も猫の「カ」痙攣におけるレンズ核のChEの組織化学的変動を検し、被殻では痙攣に

よりChEの染色性がいちじるしく増強されるが、淡蒼球ではほとんど変化を認めず、あきらかに被殻と淡蒼球の機能に相違が認められると述べ、また被殻でも各分野を区別し全般的にPutamen dorsalis posteriorに最も強く、ついでPutamen ventralis, Putamen dorsalis anteriorの順に増強しており、effect. Zellenもrecept. Zellenに比し、強い染色性を示しとくにPutamen dorsalis posteriorにおいていちじるしいことを認めている。

最初Koelle²⁴⁾はその改良法で作成した組織切片を反応液中に38°C30分で充分であると報告し、豊田²⁵⁾も同様の方法によつたのであるが、最近Koelle³⁴⁾は場合によつては反応液中で2時間反応させたがよいと訂正している。私も30分, 1時間, 2時間, 24時間と反応時間を延長し、ChEの染色強度を調べたところ、尾状核ではChEの分布が非常に強いので反応液中の時間の長いほど、組織に沈着する硫化銅沈澱も増加することを知つた。もちろん私の標本においても内包のごとくChEの分布がほとんど認められない部分ではいくら長時間反応させても全然染色されないし、大脳皮質のごとく微量の領域でもいくら長時間反応させても尾状核や被殻のようによく染る部分の30分乃至1時間反応の染色強度に比較すると、その染色性は数等劣つている。尾状核、被殻等では前記時間の延長にともない、あきらかに染色強度の増加が認められ、反応液中での反応時間延長の必要が認められた。然し尾状核のごとく非常にChEの分布の強い所では作成した凍結切片がパラフィン固定のように薄い切片に切りえないし、また薄く切りえたとしても小さく粉碎され、尾状核の各分野の区別が不可能となるので切片の厚さを25 μ としたため、反応液中にあまり長時間浸漬さずと痙攣例、非痙攣例の別なく一様に濃染し、微細構造はおろか後染しても全然細胞の形態等を区別しえなくなる。そして私の実験にもつとも適当とおもわれる時間は1~2時間であつて、このくらいの時間をもつとも痙攣例と正常例の染色度の相違が強い。それで私は反応時間を1時間と定めた。

また私は必要に応じてSP. ChEにはAcetylthiocholinを用い、non-SP. ChEにはButyrylthiocholinを用いた染色法を行つたが、尾状核ではnon-SP. ChEは痙攣例、非痙攣例ともにほとんど認められなかつた。従つて上記成績はSP. ChEのみによるものである。

ChEの安定性に関してBirkhäuser³⁵⁾は死後の脳

髓の ChE 活性値は46時間を経過するも変化なく、氷室では6日後でも力価は不変であつたといひ、沖中、吉川³⁶⁾も脳組織をリングルで懸濁液にした場合、氷室で2~30日間全く変化なく、37°C では1日保存してその作用の減退を示さなかつたといつてゐる。近藤¹⁷⁾も氷室で3日間にわたり ChE の活性値を測定し変化を認めなかつたといつてゐる。このように ChE は低温では非常に安定しているが、水に対し可溶性であるから、ChE の移動をできるだけ最少にするため Koelle³⁴⁾ は Adamsston and Taylor の報告を採用してその改良法実施中にドライアイスを用いて全操作を実施した方がよいと述べてゐる。豊田は冷水を用いあまり移動を認めなかつたと述べてゐるので、私もそれにならつて氷室で冷却した蒸溜水を用い凍結切欠を浮遊させデッキグラスに密着させ乾燥させた。ただこの際、自然乾燥を早める目的で真空乾燥器を使用したのが自然に空气中で乾燥させるよりも幾分早く乾燥させることができた、かつ標本の歪みを少なくすることができた。

以上、尾状核における各分野の痙攣時の ChE の組織化学的変動について私の実験に基き成績を総括して前記諸氏の報告と比較して考按とした。

第5章 結 論

猫の尾状核の各分野についてカルチャゾール痙攣時の ChE の組織化学像を Koelle の改良法で検索

参 考

- 1) Loewi: Pflügers Arch. f. gesamt. Physiol. **189**, 239~251, 1921.
- 2) Nachmanshon: Bull. Soc. Chem. Biol. Paris. **21**, 761, 1939.
- 2') Nachmansohn: J. Neurophysiol. **X (I)**, 11~23, 1947.
- 3) Tobias, Lipton & Lepinat: Proc. Soc. exp. biol. Med. **61**, 51~54, 1946.
- 4) Felger & Kowarzyd: Klin. W. Sch. **240**, 667~672, 1938.
- 5) Richter & Crossland: Am. J. Physiol. **159**, 247~255, 1949.
- 6) 中島: 日本外科学会雑誌, **52**, 23~36, 昭26.
- 7) 樹田: 日本外科学会雑誌, **55**, 1008~1017, 昭29.
- 8) 福田: 日本外科学会雑誌, **56**, 930~952, 昭30.
- 9) 津端: 日本外科学会雑誌, **58**, 110~130, 昭32.

し次の結果をえた。

1) 正常例の神経細胞の ChE の分布は大多数において比較的原形質周辺部に高濃度に分布するに反し、痙攣例においては比較的細胞原形質内にはほぼ均等に分布するごとく変化するように思われる。

2) 痙攣例では非痙攣に比し尾状核の各分野ともに ChE の分布濃度が増加している。

3) 痙攣例における ChE の増加は effect. Zellen に著明である。

4) rcept. Zellen, グリア細胞, Nissl 灰白にも痙攣例では増加している。

5) 非痙攣例の尾状核各分野の ChE の分布濃度はわずかに腹内側 (Cl. Cv) に強いようである。

6) それにもかかわらず痙攣例では背外側 (Cd, Cm) に高度の分布をみ、痙攣による増加の程度は Cm にもつとも強く、ついで Cd, Cl, Cv の順となる。

7) 以上の結果より尾状核中もつとも痙攣に關与するのは背外側とくに Cm の部分であり、細胞としては effect. Zellen である。

稿を終るに臨み終始御懇切な御指導と御校閲を賜つた恩師陣内教授に深甚の謝意を捧げるとともにしばしば御教示を載いた浦久講師に衷心より感謝致します。)

文 献

- 10) Stedmann: J. Physiol. **89**, 37~44, 1937.
- 11) Ammon: Pflügers Arch. f. gesamt. Physiol. **233**, 486~491, 1934.
- 12) Mendel: Science, **98**, 201~202, 1943.
- 13) Nachmansohn: J. Biol. Chem. **158**, 653~682, 1945.
- 14) 後藤: 日新医学, **37**, 434~444, 昭25.
- 15) Little: Am. J. Physiol. **155**, 60~74, 1948.
- 16) 沖中, 吉川: 日新医学, **40**, 371~391, 昭28.
- 17) 近藤: 岡山医学会雑誌, **65**, 1255~1269, 昭28.
- 18) 山田: 神経研究の進歩, **2**, 152~163, 昭32.
- 19) 広瀬: 東京医学会雑誌, **43**, 888~398, 昭4.
- 20) Glick: Techniq of histo-cytochemistry Intersc. Pub. (Newyork) 1949 (豊田²⁵⁾より引用)
- 21) Gomori: Proc. Soc. exp. biol. Med. **68**, 254~265, 1948.
- 22) Koelle & Friedenwald: Proc. Soc. exp. biol.

- Med. 70, 617~629, 1949.
- 23) Koelle · J. Pharm. exp. therap. 100, 158~179, 1950.
- 24) Koelle : J. Pharm. exp. therap. 103, 153~171, 1951.
- 25) 豊田 : 日新医学, 40, 559~568, 昭28, 41, 34~42, 昭29, 42, 243~249, 昭30, 42, 302~309, 昭30.
- 26) 宇尾野 : 日新医学, 42, 466~472, 昭30.
- 27) 湧井 : 神経学雑誌, 27, 88~96, 大15.
- 28) 吉田 : 岡山医学会雑誌, 63, 別巻, 3号, 56~81, 昭26.
- 29) 竹内 : 精神神経学雑誌, 39, 229~252, 昭10.
- 30) Gurewitsch Z. f. Anatomie. 93, 723~742, 1930.
- 31) 沖中, 吉川 医学と生物学, 18, 114~120, 昭26.
- 32) 沖 : 岡山医学会雑誌, 64, 1625~1636, 昭27.
- 33) 本多 : 第54回日本精神神経学発表.
- 34) Koelle: J. Pharm, exp. therap. 114, 167~184, 1955.
- 35) Birkhauser Helv. Chem. Acta. 23, 1071, 1940.
- 36) 沖中, 吉川 : 医学と生物学, 21, 4~12, 昭26.

Cyto-architectonic and histochemical studies of the caudata nucleus
in cat's brain with special reference to convulsion

Part II Histochemical study of choline-esterase in areas of
the caudate nucleus of cat's brain with convulsion

By

Korenobu Nishiwaki

1st. Dept. of Surgery, Okayama University, Medical School
(Director: Prof. D. Jinnai)

Ten per cent metrazol solution was experimentally injected in cats and the changes of choline-esterase (ChE) at the maximum stage of convulsion was histochemically investigated by Koelle modification.

1) The ChE of nerve cells mostly increased in normal cases relatively in peripheral part of protoplasm, while in convulsion cases it was considered to be even in central part of protoplasm.

2) ChE is increased in each area of the caudate nucleus by convulsion.

3) The increase is especially remarkable in the large cells of the caudate nucleus.

4) The dorsolateral side of the caudate nucleus (Cd., Cm.) has more increase of ChE than the ventromedial side by convulsion, and Cm. has the most increase, then in the order of Cd., Cl. and Cv. to the least.

5) In cases without convulsion, there is no difference of ChE distribution among these areas, and even the large cells have no marked increase of ChE.

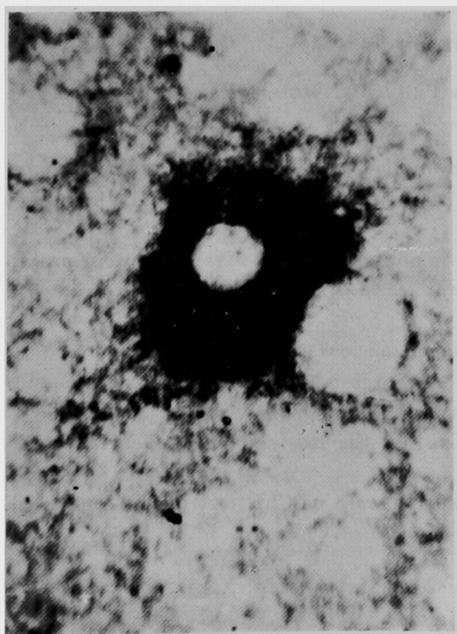
西 脇 論 文 附 図



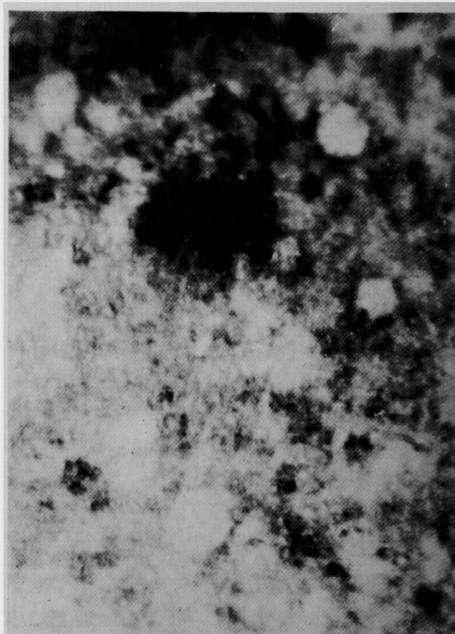
No. 1 癌腫例の ChE



No. 2 非癌腫例の ChE

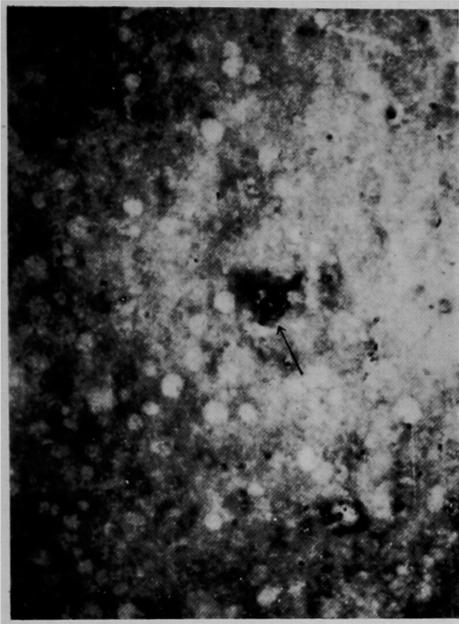


No. 3 癌腫例の effect. Zellen

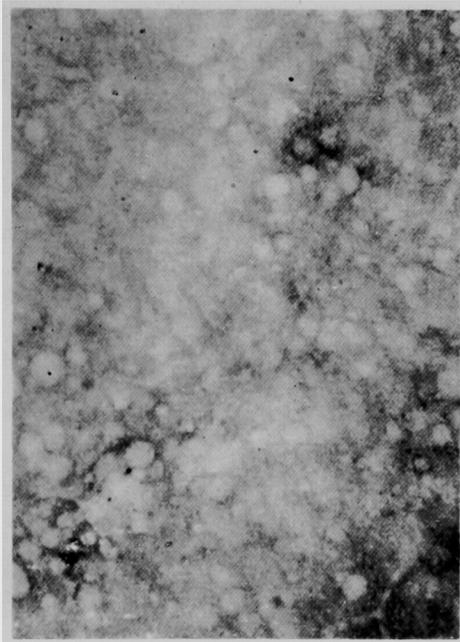


No. 4 非癌腫例の effect. Zellen

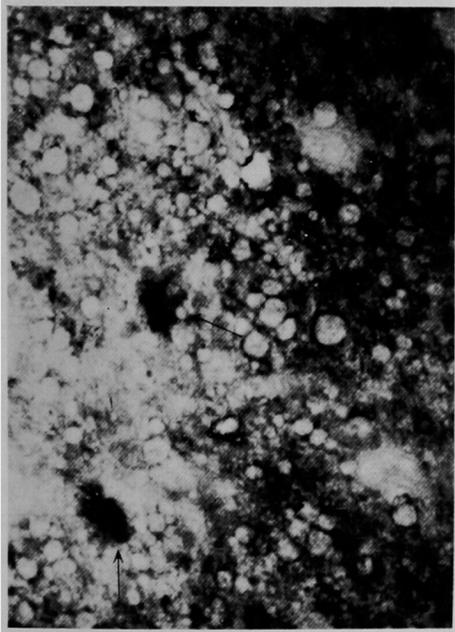
西 脇 論 文 附 図



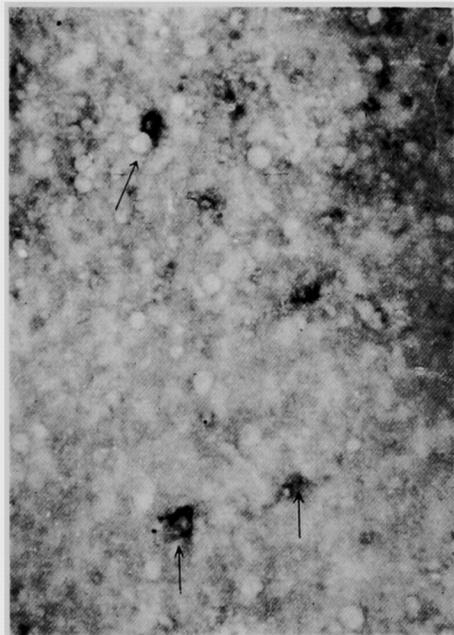
No. 5 痙攣例 Cd
矢印は effect Zellen



No. 6 非痙攣例 Cd

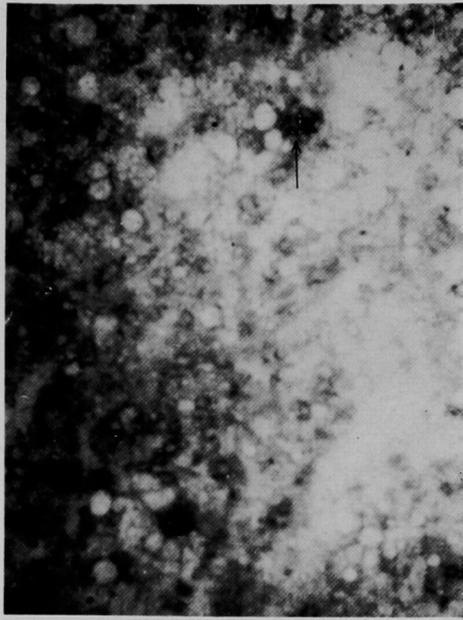


No. 7 痙攣例 Cm
矢印は effect Zellen

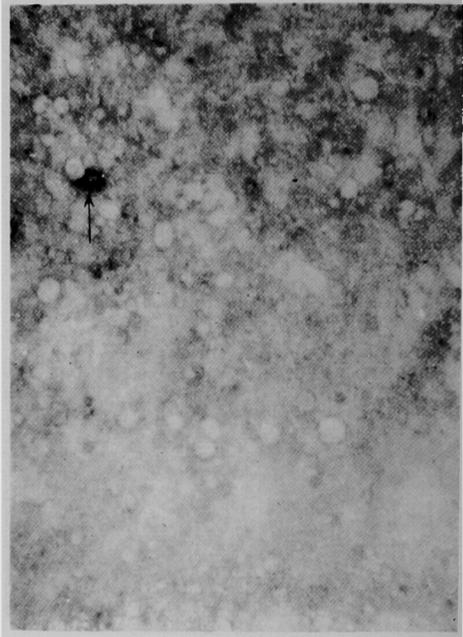


No. 8 非痙攣例 Cm
矢印は effect Zellen

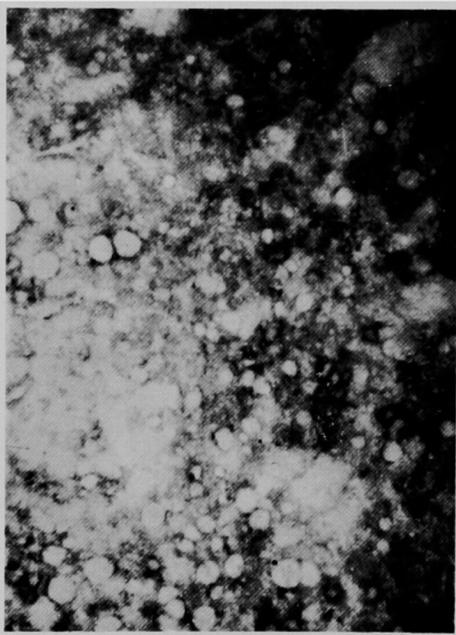
西 脇 論 文 附 図



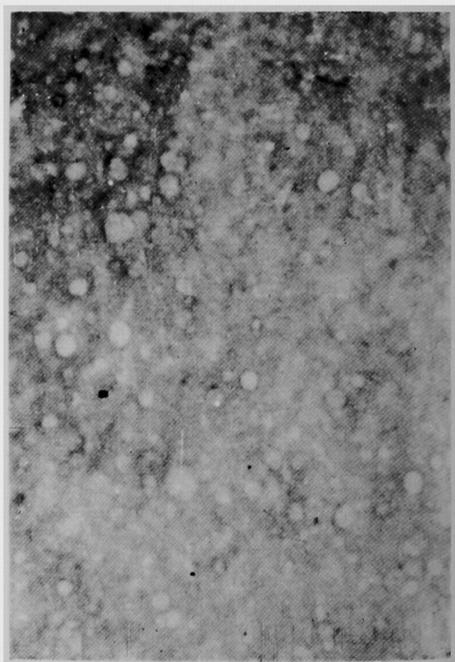
No. 9 癌學例 C1
矢印は effect Zellen



No. 10 非癌學例 C1
矢印は effect Zellen



No. 11 癌學例 Cv



No. 12 非癌學例 Cv