

鶏胚動脈管の微細構造

第二報 動脈管の閉鎖

高 橋 元

抄録 孵卵18日目から孵化後16日までのニワトリ（白色レグホン）の動脈管、大動脈及び肺動脈を光学および電子顕微鏡的に観察し、動脈管の閉鎖過程を検討した。孵化時には、発生学的に第6鰓弓動脈に由来する近位（肺動脈側）半分の動脈管の管腔はその良く発達した中膜平滑筋細胞の収縮により著明に狭細となり、高い円柱状の内皮細胞が管腔内に突出する。孵化後1日では、内皮細胞は互いに密着して、内弾性板で囲まれた円柱状の内皮細胞塊を形成し管腔は完全に閉鎖する。管腔閉鎖に際し、内皮細胞の増加、内膜の増殖やムコイド物質の蓄積はなく、血栓形成もない。中膜（殊にその内層）の平滑筋細胞は収縮してその長軸を減じ、核は著明に不規則となり、筋細糸束の dense body は増加する。極度の収縮状態にある平滑筋細胞の表面には筋細糸を含まない細胞質突起が膨出する。発生学的に背側大動脈に由来する遠位（大動脈側）半分の動脈管の管腔は孵化後数日でも閉鎖せず大動脈側に向かって漏斗状に開存している。孵化前から既に増殖し始めた中膜外層の未分化な平滑筋細胞や外膜の間葉性細胞は著明に増殖して（筋）線維芽細胞様の細胞に分化し、細胞外線維成分や基質を形成し、動脈管は次第に結合組織性の動脈管索に退化する。動脈管壁には孵化前にも孵化後にも神経線維や栄養血管は分布していない。

弘前医学 44 : 31-44, 1992

Key words : ductus arteriosus obliteration
chick electron microscopy

FINE STRUCTURE OF THE DUCTUS ARTERIOSUS OF THE CHICK

2. Obliteration of the Ductus Arteriosus

GEN TAKAHASHI

Abstract The ducti arteriosi of the chick were investigated by light and electron microscopy with particular attention to the ultrastructural alterations of the ductal wall during and after hatching. During hatching, the ductal lumen of the proximal half of the ductus arteriosus embryologically derived from the sixth aortic arch becomes markedly narrowed by vigorous contraction of the medial smooth muscle cells, and tall columnar endothelial cells are protruded into the lumen. At day one after hatching, the endothelial cells are closely packed with loss of the polarity and transform into the solid cell cord surrounded by internal elastic lamina resulting in complete occlusion of the lumen. There is no massive accumulation of the extracellular matrix or mucoid substance in the intima. The ductal lumen of the distal half of the ductus arteriosus embryologically derived from the dorsal aorta remains patent for several days after hatching. The contracted smooth muscle cells with marked indentation of the nuclei in the tunica media, particularly in the inner zone, are shortened in their longitudinal axis. Dense bodies (fusiform densities) or attachment plaques are increased in number among bundles of myofilaments or along the plasma membrane, respectively. Numerous cytoplasmic processes devoid of myofilaments are protruded from the surface of the extremely contracted smooth muscle cells. Immature smooth muscle cells in the outer zone of the tunica media and mesenchymal cells in the tunica adventitia, which begin to proliferate before hatching, proliferate markedly during and after hatching. They produce a large amount of the extracellular fibrous connective tissues in the ductal wall. Neither nerve fiber nor vasa vasorum are distributed in the ductal wall. In conclusion, the contraction of the medial smooth musculature is the primary mechanism leading to the initial functional closure of the ductus arteriosus followed by the anatomical closure by proliferation and accumulation of the extracellular matrix in the ductal wall.

Hirosaki Med. J. 44 : 31-44, 1992

弘前大学医学部第二解剖学教室（主任 加地 隆教授）

平成4年2月25日受付

The Second Department of Anatomy, Hirosaki University School of Medicine (Director : Prof. T. KACHI), Hirosaki, Japan

Received for publication, February 25, 1992

はじめに

哺乳類や鳥類の動脈管は第6鰓弓動脈として発生し、出生（孵化）前は肺動脈の血流の大部分を大動脈へ導く短絡路として機能し、出生（孵化）後は閉鎖して動脈管索に退化する。

鳥類の大動脈弓は生理的に右側大動脈弓であり、その動脈管の走行が著しく長く孵化まで左右2本共に存続して肺動脈—大動脈の短絡路として機能している¹⁾。ニワトリの動脈管は発生学的にその近位（肺動脈側）の半分のみが第6鰓弓動脈に由来し遠位（大動脈側）の半分は背側大動脈に由来するとされており、前者は壁の薄い筋性動脈に分化し^{2,3)}後者は大動脈と同じ弾性型動脈に分化する。ニワトリの動脈管には神経線維や栄養血管が分布しておらず³⁾、その壁構造も哺乳類のそれよりかなり単純なので動脈管閉鎖の基本的機構の研究には興味ある実験材料である。

著者は動脈管が閉鎖する機構に関する研究の一端として、孵卵4日から21日までのニワトリ胚における動脈管、大動脈と肺動脈を組織学的に概観し動脈管の組織発生を電子顕微鏡的に詳細に検討して報告した⁴⁾。

本論文ではニワトリの動脈管の閉鎖過程を組織学的に観察し、特に孵化前後に於ける動脈管壁の微細構造上の変化について電子顕微鏡的に詳細に検討した結果を報告する。

研究方法

孵卵18日、19日、20日、21日（孵化直前）、孵化中、孵化直後、孵化後24時間、2日、4日、8日、および16日の白色レグホンを使用した。光学顕微鏡的観察には前報で記載した方法と同様に中性ホルマリン、sus液、Bouin液などで固定し、パラフィン包埋の連続切片を作製し、各種の染色（H.E染色、PAS染色、アルデヒド—フクシン染色、Weigert弾性線維染色、Mallory-azan染色）を施した。電子顕微鏡的観察には前報と同様にグルタル

アルデヒド—OsO₄（Millonigリン酸緩衝液）による二重固定を行った。孵卵19日から孵化後2日までの動脈管は実体顕微鏡下に慎重に開胸して動脈管の太さや血流の状態を観察しながら心臓側あるいは大動脈側から出来るだけ速やかに注意深く還流圧を調節しながらグルタルアルデヒド固定液を還流して固定した。二重固定後には型の如くエポン812に包埋し、超薄切片に鉛の単染色あるいはウラン—鉛の二重染色を施し、日立HU-11A特型電子顕微鏡により加速電圧75kVで直接倍率2,000~30,000倍で撮影した。また電子顕微鏡用にエポン包埋した1 μ 切片を各種の染色を施し光顕的に観察した。

結 果

動脈管の閉鎖に際し最も早期に管腔の狭窄を来し機能的閉鎖を起こすのはその近位（肺動脈側）半分の部分である。開胸して実体顕微鏡下に動脈管の太さや血流の状態を観察して見ると、孵卵19日あるいは20日までは動脈管の血流の太さは左右共にその全長にわたりほぼ同様であるが、孵化中から近位部だけの血流が狭細化し始める。迷走神経から分枝した左右の反回神経が動脈管と肺動脈の分岐部に密着してこれを前から後ろに反回しているが、動脈管は反回神経との密着部位（分岐部の直下）から急激にその血流が狭細化しており遠位ほど次第に太くなり、動脈管の中央ではその遠位半分とほぼ同じ太さとなる。孵化後1日では近位部の管腔は完全に閉鎖して血流が途絶えてしまうが、遠位半分の管腔は孵化後3日でも閉鎖せず大動脈に対して漏斗状に開口しており、完全に閉鎖するのは孵化6~7日後である。以下主として近位半分の動脈管の閉鎖過程について述べる。

孵化直前あるいは孵化中の近位部の動脈管を組織学的に観察すると、狭細化した管腔内面を被う内皮細胞は中膜平滑筋の収縮により管腔内に突出し、さらに互いに重なり合う結果、不規則な細い裂隙状の管腔を残すのみと

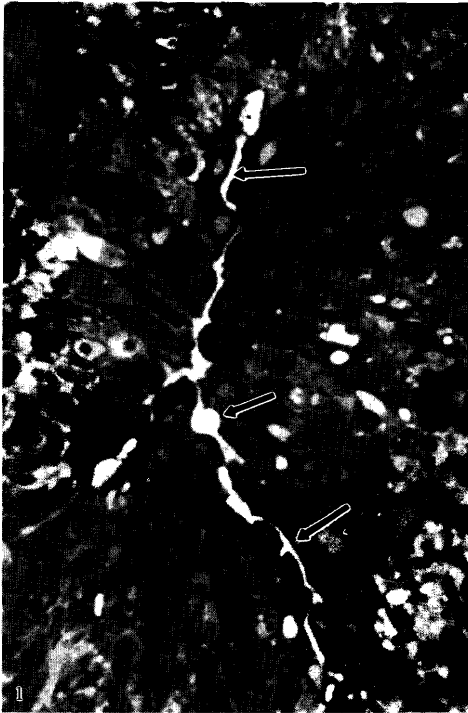


図 1 孵化中の閉鎖直前の左動脈管の近位約1/6の横断面の光顕像。内皮細胞は細長く円柱状に変形し互いに重なり合って管腔内に突出し、残存管腔(矢印)は不規則な裂隙状に狭細化している。内膜の増殖や血栓形成は見られない。Epon 包埋, 中性トルイジンブルー染色 $\times 1,000$

なる(図1)。電顕的にも高い円柱状に変形した内皮細胞は外側細胞膜を互いに近接させて管腔内に突出する。内皮細胞の頂部には核が、基底部にはライソゾームなどの細胞小器官が偏在する(図2)。孵化後約1日で中膜平滑筋の収縮により内皮細胞は寄せ集められて互いに密着し、内弾性板で囲まれた円柱状(切片では島状)の細胞塊を形成し、これによって管腔は完全に閉鎖される(図3)。管腔の閉鎖に際し、内皮細胞の増殖は認められず、有糸分裂像も観察されない。この内皮細胞塊を形成する内皮細胞には管腔の閉鎖前に比べて数的増加はないので閉鎖前の内皮細胞が受動的に寄せ集められたものと考えられる。やがてこれらの内皮細胞には、脂肪滴、空腔、サイトリゾーム(自己食胞)が出現し、細胞質の

部分的融解、濃縮、核の pyknosis が見られ、細胞の変性過程が開始する(図3)。内皮細胞塊の中央部の内皮細胞は管腔側、外側と基底側と言う極性を失い互いに $100\sim 300\text{ \AA}$ の間隔をへだてて接するが tight junction などの junctional complex の発達は著明ではない。やや開大した内皮細胞間隙には中等度の電子密度をもつ無定形の濃縮した血漿様物質を入れているが、内皮細胞塊の中に赤血球などの血球成分が取り込まれる事はない。内皮細胞塊の最周辺の内皮細胞は多数の細胞質突起を内弾性板内に突出させる一方、最内層の平滑筋細胞も多数の細胞質突起を内弾性板内を貫いて内皮細胞塊側に突出させて互いに密接しており、時に細く伸展した平滑筋細胞の胞体自身が内弾性板を貫く場合もある(図3)。閉鎖前には比較的粗な構造を有していた内皮下腔は、強く屈曲、蛇行した内弾性板や内皮細胞と平滑筋細胞の細胞質突起によりほとんど完全に占められ、閉鎖前の電子密度の低い粗な無定形物質を入れた細胞間隙は完全に消失する。

近位半分の動脈管の閉鎖に際し内膜の肥厚やムコイド物質の沈着あるいは“intimal cushion”や血栓の形成は観察されない。

中膜のとくに内層の平滑筋細胞は極度の収縮状態を呈しており、その長軸を減じ、筋細糸の dense body が増加し細胞表面の attachment plaque も著明となり(図4)、これに伴って核は変形して不規則な輪郭を呈し、ゴルジ装置や粗面小胞体等の細胞内小器官は主として核周囲部の一個所に集合する傾向があり、細胞表面は不規則な凹凸を示す。

動脈管の閉鎖以前には平滑筋細胞の細胞質全体にかなり豊富に散在していたグリコーゲン顆粒は、平滑筋の収縮に伴って急激に減少し、孵化後1日ではごく稀にしか観察されない(図5)。

中膜内層の平滑筋細胞はその収縮により、互いに重なり合って side-by-side に接触し、その結果細胞間結合組織層は極度に薄くな

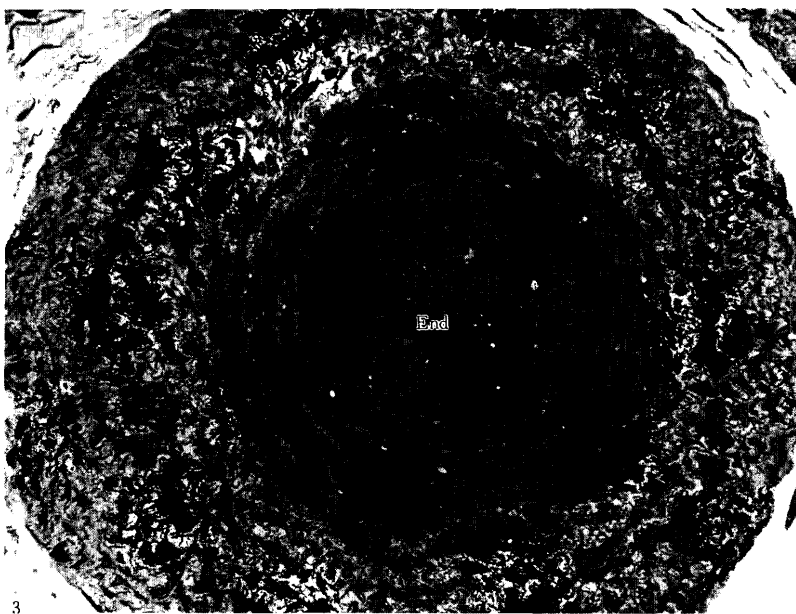
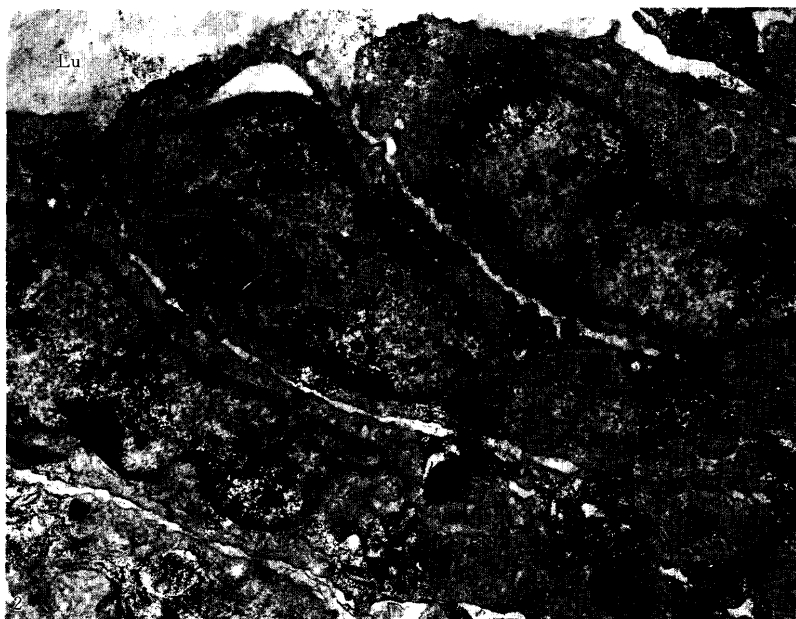


図2 図1と同じ部位の内皮細胞の電顕像。細長く円柱形に変形した内皮細胞は外側細胞膜を互いに近接させて管腔 (Lu) に突出している。核は細胞基底部から管腔側に偏位している。
ウラン，鉛二重染色 ×15,000

図3 孵化後24時間の左動脈管の近位約1/6の横断面の光顕像。中膜内層の平滑筋の収縮により内皮細胞はよせ集められて，円柱状（横断面では島状）の細胞塊 (End) を形成し，管腔は完全に閉鎖されている。中膜外層の小型平滑筋細胞（筋線維芽細胞）と外膜の線維芽細胞の増殖や細胞外結合組織線維の増殖が見られる。

Epon 包埋，メチレンブルーアズールII染色 ×400

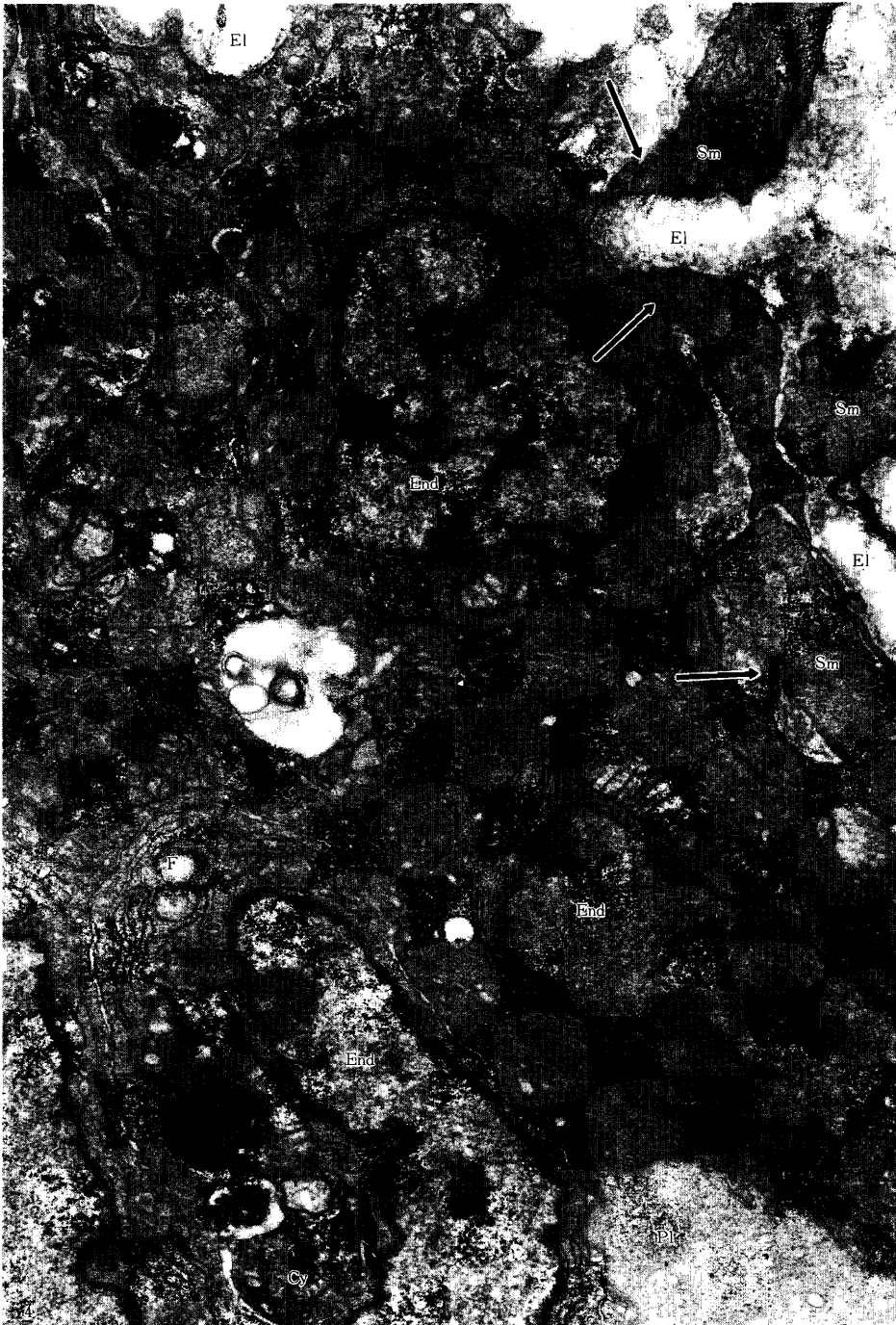


図 4 図 3 と同じ部位の内皮細胞塊と内弾性板 (EL) を示す。内皮細胞には、脂肪滴 (F)、空胞やサイトリゾーム (Cy) が出現し、細胞の変性過程が始まっている。内皮細胞は互いに密に接触し合い、狭い細胞間隙を除いてもはや管腔は存在しない。最周辺部の内皮細胞と最内側の平滑筋細胞の突起 (Sm) は、内弾性板を貫いて互いに接している (矢印)。
鉛単染色 ×19,000



図 5 図 3 と同じ箇所の中膜内層の平滑筋細胞。平滑筋細胞は極度に収縮し、互いに sliding して密接する。dense body (fusiform density) や attachment plaque が著明である (矢印)。グリコーゲン顆粒はほとんど完全に消失している。鉛単染色 $\times 41,000$

り、中膜内層は輪状の平滑筋細胞塊を形成する。中膜平滑筋の収縮による管腔の狭細、閉鎖に伴い管壁は相対的にその厚さを増すのみならず、中膜外層の未分化な平滑筋細胞や外膜の間葉性細胞（線維芽細胞）の増殖による細胞外結合組織の増加によってもその厚さを増す。外膜の間葉性細胞と同様に中膜外層の未分化な小型の平滑筋細胞や粗面小胞体の発達した筋線維芽細胞は管腔閉鎖以前から既に増殖を開始しているが、管腔閉鎖以後には更に増殖し続け結合組織線維や基質を分泌して動脈管の動脈管索への転化を進める。図 6 に示す細胞は中膜最外層にみられた未熟な平滑筋細胞であるが、筋細糸は痕跡的にしか発達しておらず外側核膜から粗面小胞体が発達しつつあり、線維芽細胞への分化傾向を示している。外膜の間葉性細胞にはなお未分化のままにとどまっている細胞もあるが(図 9)、次第に粗面小胞体が発達し(図 10)、細胞質全体に層状に配列して明らかに線維芽細胞としての形態を示すようになり、周囲に膠原線維の新生を行う(図 11)。

孵化後 1 日目から中膜内層の良く分化した平滑筋細胞や外層の平滑筋細胞（筋線維芽細胞）には自家食胞（サイトリゾーム）が出現し始め、粗面小胞体、ミトコンドリアや無定形物質を取り込んでいる(図 8)。これらのサイトリゾームが時間と共に増加するのに伴って平滑筋細胞は萎縮性になり変性過程が始まる。

孵化後約 1 週間で、内皮細胞や中膜内層の平滑筋はほとんど完全に変性し、その後中膜外層や外膜には弾性線維や膠原線維の増生がさらに著明となり次第に結合組織性の動脈管索へと転化して行く。

動脈管の組織発生や閉鎖過程及び動脈管索への転化過程に於いて左右の動脈管の間に微細構造上の相違はなく、時間的なずれも殆ど無いが、動脈管索への転化は右動脈管が左動脈管より若干早く進行する。

動脈管の閉鎖前および閉鎖後においても、

近位半分の動脈管壁内には神経終末はもちろん神経束も観察されず、また栄養血管も見出されない。

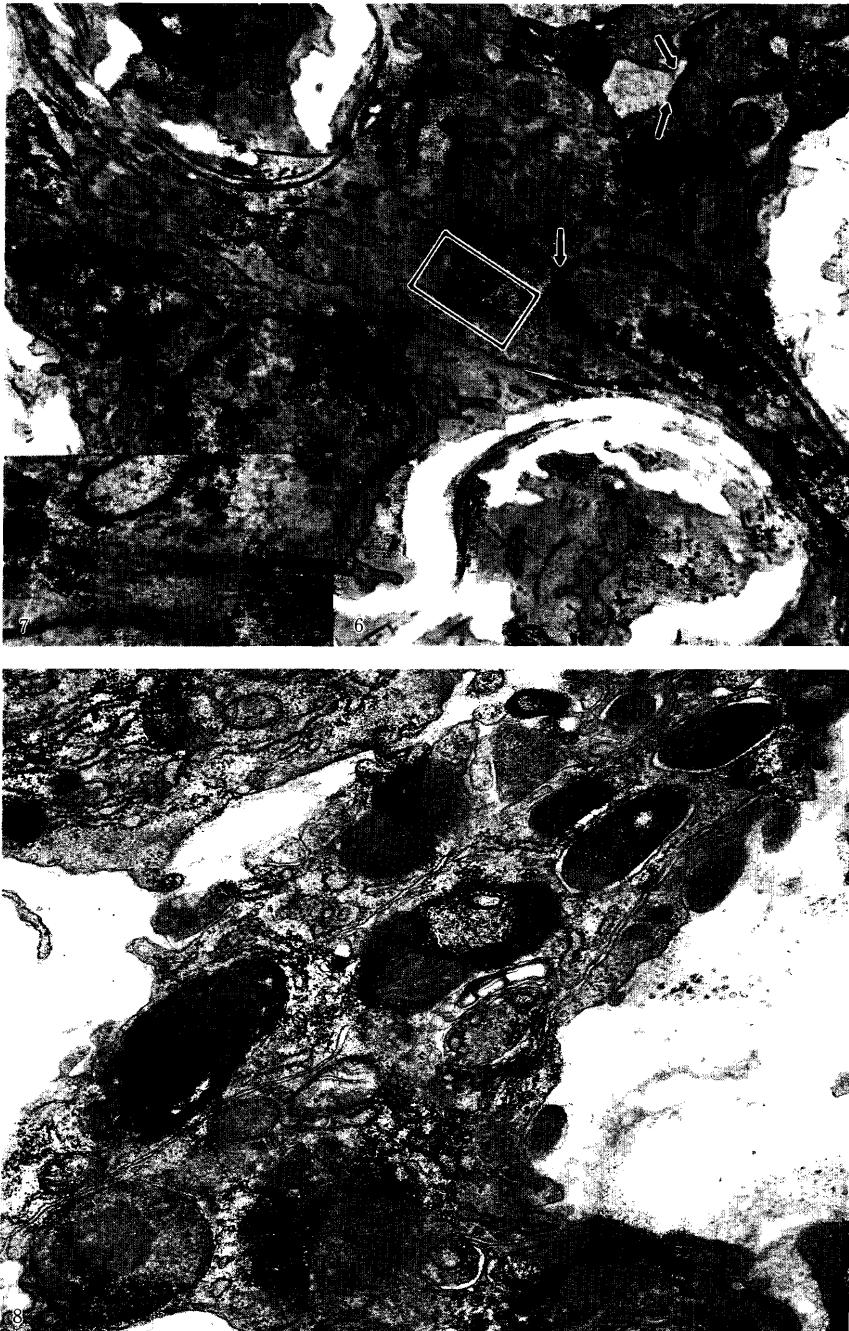
考 察

動脈管開存症は出生後に動脈管が閉鎖せず左（大動脈）から右（肺動脈）への短絡を来す頻度の高い大血管の奇形であり、一方動脈管による短絡が循環動態にとって必要な ductus-dependent な心奇形においてもしばしばその動脈管が閉鎖することがある。従って動脈管が閉鎖する機構に関しては古くから形態学的方法や生理学的方法により実験的及び臨床的な多くの研究が成されており、縦隔や迷走神経等の周囲器官による圧迫、内膜の弁様構造による血流停止、栄養血管の変化による壁の壊死、括約筋様の中膜平滑筋の収縮、内膜増殖等の出生前に設定された管壁自体の形態変化等多くの説が唱えられてきたが、特に中膜平滑筋の収縮と内膜増殖が重要視されている。

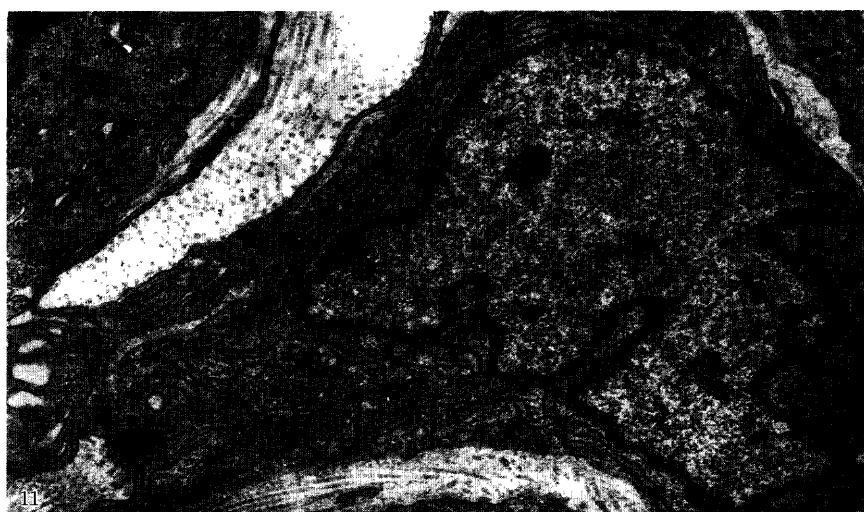
著者は先にニワトリ胚の動脈管の組織発生について報告⁴⁾し、本研究では孵化直前から孵化後の動脈管の閉鎖過程について検討したので以下動脈管閉鎖の形態学的所見について若干の考察を加えることとする。

1) 管腔閉鎖に伴う中膜の変化について

動脈管の近位半分は既に孵卵 14~15 日目には大型の中膜平滑筋細胞の良く発達した筋性動脈としての構造を有しており、以後孵化直前までその構築に著明な変化はない。孵化中の肺呼吸の開始と共に動脈管の血流が細くなり始め、孵化後約 1 日では中膜（殊にその内層の）平滑筋細胞は括約筋様に強く収縮し、管腔は完全に閉鎖している。平滑筋細胞はその長軸を減じ、筋細糸の走向が乱れ、dense body (fusiform density) の数を増し、細胞質全体にかなり豊富に散在していたグリコーゲン顆粒も恐らく平滑筋の能動的収縮のエネルギー源として分解、消費されて急激に減少



- 図 6 図 1 と同じ箇所の中膜外層の未熟な平滑筋細胞 (筋線維芽細胞)。筋細糸は極く痕跡的で、外側核膜から粗面小胞体が発達しつつある (矢印)。ウラン，鉛二重染色 ×13,000
- 図 7 図 6 の拡大像。筋細糸，dense body (fusiform density) が明らかである。
ウラン，鉛二重染色 ×36,000
- 図 8 図 3 と同じ箇所の中膜外層の平滑筋細胞，多数のサイトリゾームが出現している。
鉛単染色 ×27,000



- 図 9 孵卵18日目の近位約1/6の左動脈管の外膜に散在する未分化間葉性細胞。細胞体は小型で細胞内小器官に乏しく、粗面小胞体の発達は悪い。鉛単染色 ×23,000
- 図 10 図9と同じ部位の外膜の未分化間葉性細胞。細胞体は未だ小型だが細胞質内には粗面小胞体が発達しつつある。鉛単染色 ×23,000
- 図 11 図9と同じ部位の外膜に増殖した線維芽細胞。核も細胞体も大型になり、細胞内小器官が豊富で良く発達した層状の粗面小胞体や Golgi 装置を有している。鉛単染色 ×19,000

する。

中膜内層の平滑筋細胞は孵化後に増殖することはなく、孵化後約1週間で内皮細胞と共に変性、萎縮することから、中膜内層の平滑筋細胞の機能は専ら最初の管腔閉鎖即ち functional closure であると考えられる。中膜外層の未熟な平滑筋細胞や粗面小胞体の良く発達した平滑筋細胞(筋芽細胞)は管腔閉鎖以前から増殖し始め、閉鎖後には外膜の線維芽細胞と共に旺盛な線維性結合組織(豊富な弾性線維を含む膠原線維束と無定形基質)の新生を行うことから、中膜外層の平滑筋細胞の機能は主として管腔の不可逆的閉鎖 anatomical closure であると考えられる。

2) 動脈管の中膜平滑筋細胞の発生とその

意義について

^{12,15)} ^{2~4)} 哺乳類や鳥類の動脈管に共通した構造上の特徴は動脈管が良く発達した中膜平滑筋を有する筋性動脈であると言う点であり、その機能的な特徴もこの中膜平滑筋に対する最も有効な生理的刺激が血中の酸素分圧の上昇であると言う点である。^{9,16,17)} 哺乳類では出生後最初に起こる動脈管の functional closure が中膜平滑筋の収縮に起因することは確立された事実であり、出生前の動脈管壁の緊張性はプロスタグランジン E₂ やプロスタグランジン I₂ などの生理活性リン脂質によって調節されていることが明らかにされ、^{18,19)} 出生後の動脈管閉鎖にもこれらの生理活性リン脂質が関与していることが示唆されている。²⁰⁾

²¹⁾ 最近 LEONARD と MOORE は大動脈や肺動脈が弾性型動脈に分化するのに対し、これに連続する動脈管が筋性動脈に分化する理由について一つの仮説を提唱した。彼らはヒト胎児を連続切片の立体構築法により検討し、発生の初期から左迷走神経と反回神経が動脈管と密接な局所解剖学的関係な有しており、これらの神経線維が動脈管の発生期間中これを機械的に支持していることが動脈管が筋性動脈に分化する理由であろうと推論した。鰓弓

動脈である動脈管が鰓弓神経である迷走神経と密接な関係な有しているのは当然であり、ニワトリにおいても著しく長い走行をとる左右の動脈管は肺動脈からの分岐点で迷走神経と反回神経に密着し、その局所解剖学的関係は発生早期からヒトの場合と同様である。しかし筋性動脈に分化する部分は神経線維との密着部のみに限局せず、⁴⁾ 近位半分にまで及んでいる。従って、神経線維による機械的支持により動脈管が筋性動脈に分化するとする LEONARD と MOORE の仮説は当を得ていないと考えられる。²²⁾

LE LIEVRE²²⁾ らはニワトリ胚とウズラ胚間の移植実験により、全ての鰓弓動脈由来の大血管の中膜平滑筋細胞は菱脳領域の神経堤細胞に起源しており、内皮細胞のみが中胚葉起源であることを証明した。動脈管が筋性動脈に分化する理由は不明であるが、動脈管の中膜平滑筋細胞に分化する神経堤細胞にすでに遺伝的にプログラムされているのかあるいは神経堤から動脈管までの移動(遊走)過程で平滑筋細胞への分化が方向づけられるのかも知れない。

動脈管の閉鎖過程と大動脈縮窄症との関係は既に19世紀中ごろ Craigie により示唆されており、Skoda も動脈管の特殊組織が動脈管付着部付近の大動脈にまで波及したことが大動脈縮窄症の原因であろうとの仮説を提唱した。²³⁾ (Skodaic theory).

²⁴⁾ 最近 Ho らは大動脈縮窄症 (preductal type) の多くの例を組織学的に検索し、大動脈の動脈管付着部に大動脈の組織とは異なる特異な罌状の組織が存在すること、この組織は弾性線維の少ない筋性動脈の中膜に類似した平滑筋から成り動脈管の中膜組織に連続していることを示し、この罌状の平滑筋組織が動脈管の閉鎖の際にその中膜平滑筋と同様に収縮することにより大動脈が狭窄されることが大動脈縮窄症 (preductal type) の成因であろうと推論した。²⁵⁾ GILLMAN らは動物実験により、多くの動物種(犬は例外として)に於い

て新生児期の大動脈の preductal area がその動物の動脈管と同様に酸素分圧の上昇に反応して収縮し大動脈が狭窄を起こし大動脈縮窄症と類似した形態を取ることを示し、大動脈の動脈管付着部の付近に “oxygen-sensitive tissue” が存在すると主張した。GILLMAN らのこの実験には “oxygen-sensitive tissue” の形態学裏付けはないにしても大動脈縮窄症の成因を動脈管の閉鎖過程が大動脈にまで波及したものとする Skoda の古典的学説の一つの基礎を与えたものと思われる。河西は多数のヒトの大動脈弓の奇形の報告例を系統的に検討し、大動脈の左鎖骨下動脈の起始部と動脈管の開口部の間すなわち胎生期には “Isthmus aortae” と呼ばれる部分に一致して “developmental weak point” が存在し、多くの大動脈弓の奇形はこの部分の狭窄—閉鎖—離断と言う一連の変化に基因することを明らかにし、その際動脈管のとり態度が重要な意義を有することを指摘した。河西の “developmental weak point” とは位置的に正に Ho らの罌状の動脈管組織の存在する大動脈の動脈管付着部であり、GILLMAN の oxygen-sensitive tissue の存在する preductal area に一致する部分である。

3) 管腔閉鎖に伴う内膜の変化について

孵化後約 1 日で近位半分の動脈管の内皮細胞は密につまった円柱状の内皮細胞塊を形成し、横断切片像では内弾性板で囲まれた島状に観察される。閉鎖前には電子密度の低い無定形物質を含む内皮下腔の粗な細胞間隙は殆ど消失し、最内側の平滑筋細胞（の突起）と最外側の内皮細胞（の突起）は内弾性板を介して、あるいはこれを貫いて互いに密に結合し、是によって管腔は完全に閉鎖される。HARMS は著者と同様にニワトリの動脈管の閉鎖過程を光学顕微鏡的に検索し、この内皮細胞塊を内皮細胞の増殖に因るものとしているが、実際には動脈管の閉鎖後に内皮細胞の数的増加はなく有糸分裂像も観察されない。

従ってこの内皮細胞塊は細胞増殖によるものではなく、中膜平滑筋の収縮により全く受動的に寄せ集められたものと考えられる。これらの内皮細胞には次第に浮腫、空胞形成、脂肪滴の出現、自己食胞の増加等の変性過程が進行し、孵化後 1 週間ではほとんど全て変性、萎縮する。

哺乳類の壁の厚い動脈管の閉鎖には内膜増殖を伴う事は古くから知られている。Toda らのヒトの動脈管の電子顕微鏡的観察によれば、胎齢 15 週には既に活発な内膜の肥厚が生じ、次第に増強して出生後に最も著明になり管腔閉鎖に寄与する。DeREEDER らによれば、イヌの動脈管の閉鎖には中膜平滑筋の収縮の他に内膜増殖が必要であり、多量のヒアルロン酸を含む拡大した内皮下腔即ち “intimal cushion” の形成は正常な発生学的過程として出生以前から生じており、遺伝的欠陥による動脈管開存症のイヌの系統ではこの intimal cushion の形成障害により内膜増殖が起こらず動脈管開存を来すと言う。前述の如くニワトリの動脈管の閉鎖過程に内膜の増殖性変化（内皮細胞の剝離や増殖、intimal cushion の形成や内膜下平滑筋の増殖や結合組織の増生）が積極的に関与することはなく、この点がヒチやイヌ等の哺乳類との際立った相違である。

4) 管腔閉鎖に伴う外膜の変化について

内皮細胞や中膜内層の平滑筋は孵化後約 1 週間でほとんど完全に変性して消失するのに反して、外膜の未分化間葉性細胞は管腔閉鎖の間隙から増殖し次第に粗面小胞体などの細胞内小器官が発達して線維芽細胞へと分化し、閉鎖前から存在していた外膜の分化した線維芽細胞や中膜外層の平滑筋細胞（筋線維芽細胞）と共に旺盛な結合組織線維の新生を行う。この結合組織の増殖により、動脈管の不可逆的な “anatomical closure” の過程が促進され次第に線維性の動脈管索へ転化する。

5) 管腔閉鎖の時期について

ヒトをも含めて哺乳類では、動脈管閉鎖、殊にその“functional closure”の時期に関して多くの臨床的、実験的研究の報告があるが、出生前後の動脈管は各種の非特異的の刺激に反応して収縮し得るために、組織標本作製のための最初の固定操作の際に動脈管が収縮し管腔が人工的に狭窄し易いのでこの“functional closure”の時期に対応する正確な組織構造を把握することは困難であった。最近、^{29,30)}HORNBLADらは whole body freezing 法(液体窒素やドライアイスで冷却したイソペンタンに浸漬して急激に凍結固定する方法)により小哺乳動物の人工的な収縮の伴わない動脈管や大動脈の組織像を得ることに成功し、“functional closure”時の動脈管の管腔の狭窄率、環境温度の及ぼす影響、動物種による狭窄率や形態の違い、胎児期の動脈管壁の構成や各種の実験的処置のおよぼす影響を検討した。

鳥類では、孵化前数日からすでにわずかながら呼吸運動を開始しており、孵化とともに漸次肺呼吸が強くなるために、哺乳類に於ける出生時の胎盤循環の停止と肺循環の開始に対応する“critical”な時期は明瞭ではなく、その動脈管の閉鎖も比較的漸進的であろうと考えられる。

今回の実験では固定操作時の動脈管壁の人工的な収縮を出来るだけ避けるために実体顕微鏡下に慎重に開胸して動脈管の太さや血流の状態を観察しながら心臓側あるいは大動脈側から注意深くグルタルアルデヒド固定液により還流固定を行ったが、得られた組織像(特に図1~6)に示された管腔狭窄の程度、中膜平滑筋の収縮状態、内皮細胞や平滑筋細胞の微細構造が固定時の生きた実際の状態に対応する像を忠実に示しているという保障はない。従って、動脈管の正確な“functional closure”の時期を決定しながらそれに対応する構造を光学顕微鏡レベルで観察するためには

whole body freezing 法^{29,30)}による物理的固定法が必要であるし、化学固定剤による人工像がなく生きた状態に近い平滑筋細胞などの微細構造を電子顕微鏡レベルで観察するためには急速凍結(置換)固定法を用いた試料作製法が必要である。

ま と め

ニワトリの動脈管壁には神経終末や栄養血管が存在しないこと、第6鰓弓動脈に由来する近位半分の動脈管壁の構造は発生初期から肺動脈のそれとは異なり筋性動脈に分化しその中膜平滑筋が孵化約1週間前からすでに著しく発達していること、孵化時にはこの中膜平滑筋が括約筋様に収縮状態にあること、内膜増殖がないことから管腔閉鎖において第一次的な意義を有するのは中膜平滑筋の収縮であると考えられる。従ってニワトリに於ける動脈管の閉鎖と言う現象は動脈管壁以外の外的因子による受動的な現象ではなく、神経堤細胞に由来する中膜平滑筋と言う遺伝的にプログラムされた管壁の構造自体の能動的作用による“intrinsic phenomenon”であることが示唆される。

謝 辞

本研究に関してその課題を与えられ御指導を賜りました河西達夫名誉教授(東北女子短期大学教授、弘前大学医学部解剖学第二講座前教授)に深謝致します。本研究の一部の要旨は日本解剖学会第76回総会(東京)で発表した。

文 献

- 1) HAMILTON, A. L. : The Avian Embryo, Structural and Functional Development. 1st printing., 614-620, The Macmillan Company, New York, 1960.
- 2) HARMS, D. : Uber den Verschluss der Ductus arteriosi von Gallus domesticus. Z. Zellforsch., **81** : 433-444, 1967.
- 3) HUGHES, A. W. F. : The histogenesis of the arteries of the chick embryo. J. Anat., **77** :

- 266-287, 1942.
- 4) 高橋 元：鶏胚動脈管の微細構造，第一報 動脈管の組織発生。弘前医学，**43**：312-327, 1992.
 - 5) NOBACK, G. Y. and REHMAN, I. : The ductus arteriosus in human fetus and newborn infant. *Anat. Rec.*, **81** : 503-527, 1941.
 - 6) HOFFMAN, E. : Die Obliteration des Ductus arteriosus Botalli. *Langenbecks. Arch. Klin. Chir.*, **306** : 289-314, 1964.
 - 7) HAYEK, Hv. : Der funktionelle Bau der Nabelarterien und des Ductus Botalli. *Z. Anat.*, **105** : 15-24, 1935.
 - 8) MELKA, J. : Beitrag zur Kenntnis der Morphologie und Obliteration des Ductus arteriosus Botalli. *Anat. Anz.*, **61** : 348-361, 1926.
 - 9) KENNEDY, J. A. and CLAEK, S. L. : Observations on the physiological reactions of the ductus arteriosus. *Am. J. Physiol.*, **136** : 140-147, 1942.
 - 10) ELERIDGE, F. L. and HULTGREN, H. N. : The physiological closure of the ductus arteriosus in the newborn infant. *J. Clin. Invest.*, **34** : 987-996, 1955.
 - 11) MOSS, A., EMMANOULIDES, G. and DUFFIE, E. R. Jr. : Closure of the ductus arteriosus in the newborn infant. *Pediatrics*, **32** : 25-30, 1963.
 - 12) EVERETT, N. B. and JOHNSON, R. : A physiological and anatomical study of the closure of the ductus arteriosus in the dog. *Anat. Rec.*, **110** : 103-111, 1951.
 - 13) JAGER, B. V. and WOLLENMAN, O. J. : An anatomical study of the closure of the ductus arteriosus. *Am. J. Pathol.*, **18** : 595-613, 1942.
 - 14) TODA, T., TSUDA, N. and N. TAKAGI, T. *et al.* : Ultrastructure of developing human ductus arteriosus. *J. Anat.*, **131** : 25-37, 1980.
 - 15) JARKOVSKA, D., JANATOVA, T. and HRUDA, J. *et al.* : The physiological closure of ductus arteriosus in the rat. *Anat. Embryol.*, **180** : 497-504, 1989.
 - 16) MOSS, J. A., EMMANOULIDES, G. C. and ADAMS, F. H. *et al.* : Response of ductus arteriosus and pulmonary and systemic arterial pressure to changes in newborn infants. *Pediatrics*, **33** : 937-944, 1964.
 - 17) BORN, G. V. R. DAWES, G. S. and MOTT, J. C. *et al.* : Constriction of the ductus arteriosus caused by oxygen and by asphyxia in newborn lambs. *J. Physiol.*, **132** : 304-342, 1956.
 - 18) COCEANI, F., OLLEY, P. M. and BODACH, E. : Prostaglandins ; A possible regulator of muscle tone in the ductus arteriosus. *Adv. Prostaglandin Thromboxane Res.*, **1** : 417-424, 1976.
 - 19) COCEANI, F., HUHTANEN, D. and HAMILTON, N. C. *et al.* : Involvement of intramural prostaglandin E₂ in prenatal patency of the lamb ductus arteriosus. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, **64** : 737-744, 1986.
 - 20) DEREEDER, E. G., GITTENBERGER-DEGROOT, A. C., VAN MUNSTEREN, J. C. *et al.* : Distribution of prostacyclin synthase, 6-keto-prostaglandin F₁, and 15-hydroxy-prostaglandin dehydrogenase in the normal and persistent ductus arteriosus of the dog. *Am. J. Pathol.*, **135** : 881-887, 1989.
 - 21) LEONARD, M. E., HUTCHINS, G. M. and MOORE, G. W. : Role of the vagus nerve and its recurrent laryngeal branch in the development of the human ductus arteriosus. *Am. J. Anat.*, **167** : 313-327, 1983.
 - 22) LE LIEVRE, C. S. and DOURARIN, N. M. : Mesenchymal derivatives of the neural crest ; analysis of chimaeric quail and chick embryos. *J. Embryol. Exp. Morphol.*, **34** : 125-154, 1975.
 - 23) FREIDBERG, C. K. : Coarctation of the aorta—a new theory as to its pathogenesis. *J. Mt. Sinai Hosp.*, **8** : 520-533, 1942.
 - 24) HO, S. Y. and ANDERSON, R. H. : Coarctation, tubular hypoplasia and the ductus arteriosus. *Histological study of 35 specimens. Br. Heart J.*, **41** : 268-274, 1979.
 - 25) GILLMAN, R. G. and BURTON, A. C. : Constriction of the neonatal aorta by raised oxygen tension. *Circ. Res.*, **19** : 755-765, 1966.
 - 26) KASAI, T. : Topographic changes of the surrounding structures of the arch of aorta in various anomalies of aorta in man. *Acta Anat. Nippon.*, **37** : 275-292, 1962.
 - 27) DEREEDER, E. G., GIRARD, N., POELMAN, R. E. *et al.* : Hyaluronic acid accumulation and endothelial cell detachment in intimal thickening of the vessel wall ; the normal and genetically defective ductus arteriosus. *Am. J. Pathol.*, **132** : 574-585, 1988.
 - 28) GITTENBERGER-DEGROOT, A. C., STRENGERS, J. L. M., MENTINK, M. *et al.* : Histologic studies on normal and persistent ductus arteriosus in the dog. *J. Am. Coll. Cardiol.*

6 : 393-404, 1985.

- 29) HORNBLAD, P. Y. and LARSSON, K. S. : Studies on closure of the ductus arteriosus. I. Whole body freezing as improvement of fixation procedures. *Cardiologia*, **51** : 231-241, 1967.
- 30) HORNBLAD, P. Y. : Studies on closure of the ductus arteriosus. VI. Effect of oxygen and umbilical cord clamping on closure of the ductus arteriosus in the guinea pig and the rat. *Acta Physiol. Scand.*, **76** : 58-66, 1969.