

副腎髄質アドレナリン細胞のゴルジ装置に及ぼす
松果体除去・対照手術の影響
——計量的電子顕微鏡的研究

梶原 哲 高橋 元 加地 隆

抄録 松果体除去が副腎髄質アドレナリン細胞のゴルジ装置に及ぼす影響を計量的電子顕微鏡的に検索した。正常対照 (NO) 群, 手術対照 (SX) 群, 松果体除去 (PX) 群の計58匹の雄性ラットを24時間明暗 (12:12) 周期, 恒温 (22±2°C) 下に飼育し, 術後14日の53日齢に日内8時点で用いた。髄質の通常の電顕標本を作製し, アドレナリン細胞全体を倍率3,000倍で, そのゴルジ装置を10,000倍で写真撮影し計測に用いた。ゴルジ装置の体積密度は1日全体でNO群よりもSX群 ($P<0.03$) とPX群 ($P<0.025$) で高値であった。平滑小胞の数密度は暗期においてPX群でSX群よりも高値 ($P<0.05$) を, 逆に被覆小胞の数密度は暗期においてSX群でNO群 ($P<0.02$), PX群 ($P<0.02$) よりも高値を示した。このようにアドレナリン細胞のゴルジ装置は小胞の種類により異なる影響を松果体から受けるらしい。

弘前医学 48:197-207, 1997

Key words : adrenal medulla
pinelectomy
quantitative electron microscopy

Golgi apparatus
intracranial surgery

**EFFECTS OF PINEALECTOMY AND SHAM SURGERY ON GOLGI
APPARATUS IN ADRENOMEDULLARY ADRENALINE CELLS :
A QUANTITATIVE ELECTRON MICROSCOPIC STUDY**

SATOSHI KAJIHARA, GEN TAKAHASHI and TAKASHI KACHI

Abstract The influence of pinealectomy on the Golgi apparatus of adrenomedullary adrenaline cells was studied by quantitative electron microscopy. Male rats ($n=58$) of normal (NO) group, sham-operated (SX) group, pinealectomized (PX) group were reared under standardized LD 12:12 photoperiod and controlled temperature (22±2°C). Adrenal glands were removed at 8 different times of the day, 14 days after surgery, at 53 days of age. Conventionally prepared electron micrographs of whole profiles of adrenomedullary adrenaline cells (3,000×) and their Golgi apparatus (10,000×) were used for measurements. Volume density of the Golgi apparatus was higher in the SX group ($P<0.03$) and the PX group ($P<0.025$) than in the NO group throughout 24 hours. On the other hand, numerical density of smooth surfaced vesicles in the Golgi area was higher in the SX group than in the SX group ($P<0.05$) in the dark phase, but, on the contrary, the density of coated vesicles was lower in the NO group ($P<0.02$) and the PX group ($P<0.02$) than in the SX group. Thus, it is likely that the Golgi apparatus of adrenaline cells is differentially influenced from the pineal gland relating to the type of vesicles.

Hirosaki Med. J. 48:197-207, 1997

弘前大学医学部解剖学第二講座 (主任 加地 隆教授)

平成8年11月28日受付

平成8年12月20日受理

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

Received for publication, November 28, 1996

Accepted for publication, December 20, 1996

結 言

近年, 副腎髄質クロム親性細胞は, アミノ酸の誘導体で小分子のカテコールアミン (エピネフリン, ノルエピネフリン等) とアミノ酸の連鎖よりなる比較的大型の分子であるペプチド (エンケファリン等) という2種類のホルモンを分泌する APUD (Amine Precursor Uptake and Decarboxylation) 細胞群¹⁾あるいはパラニューロン²⁾の一員であるとの認識がなされている。しかしながら, このような細胞においてアミンとペプチドの産生・分泌の調節機序がどのような相互の関係にあるかについては必ずしも明らかとは言えない。

一方, 松果体の機能の多様性が徐々に明らかにされ, 自律神経系に対しても種々の影響を与えることが知られている。交感神経・副腎髄質系の一部をなす副腎髄質に対する松果体の影響に関しては, PETRESCU と SIMIONESCU³⁾による松果体除去及び松果体抽出物質による組織学的変化に関する先駆的研究に始まり, 松果体除去による³H-チロジンの副腎髄質細胞への取り込みの増加⁴⁾やドーパミン- β -水酸化酵素活性の変化⁵⁾の報告に続いて, KACHI ら⁶⁻¹⁰⁾は松果体が副腎髄質クロム親性細胞及びその節前神経終末に及ぼす影響を計量組織学的・電子顕微鏡的に日内時間とも関連して詳細に系統的に検討してきたが, これまでクロム親性細胞のゴルジ装置に対する影響に関しては詳しい検討はなされていない。

ゴルジ装置は合成された種々のタンパク質や脂質を受け取り, それらを目的地である細胞膜, ライソゾーム, 及び分泌顆粒に分配する役割を担っていると考えられている。ゴルジ装置を経由するタンパク質の細胞外への経路としては構成性分泌経路と調節性分泌経路があり, それぞれ異なった内容を輸送し, 前者は分泌が持続的であるのに対し後者はホルモンや神経伝達物質などの分泌に関与すると

され, その分泌は何らかの信号により調節されるらしい¹¹⁾。一方, ゴルジ層板周囲に見られるゴルジ小胞には, 大きく分けると表面が平滑に見える平滑小胞と表面に籠状の覆いを持った被覆小胞とがあるが, ゴルジ層板小囊膜面から出芽 (budding) によって小胞が形成される際には, 被覆小窩がちぎれて被覆小胞となり, ついで被覆が表面からとれて平滑小胞に移行するとも言われ¹²⁾, また被覆小胞は選択的な物質輸送に関わっているとも推測されている。下垂体前葉¹³⁾や膵臓ランゲルハンス島¹⁴⁾等幾つかの内分泌細胞においては, ACTH やインシュリン等のペプチドホルモンがゴルジ装置近傍における被覆小胞内に存在することが認められている。髄質アドレナリン細胞においては, カテコールアミン合成酵素 (ドーパミン- β -水酸化酵素) やペプチドホルモンあるいはその前駆体やクロモグラニンが粗面小胞体からゴルジ装置を経由して分泌顆粒へ移行すると考えられている¹⁵⁻¹⁶⁾ものの, 被覆小胞との関連の詳細については不明である。

本研究では, 副腎髄質アドレナリン細胞のゴルジ装置に対する松果体除去及び頭蓋内対照手術の影響を, 特にこれまで各種条件下での量的変動がほとんど検索されていない平滑小胞と被覆小胞の2種類のゴルジ小胞に着目して, 日内時間とも関連して計量的に検討した成績を報告する。

材 料 と 方 法

25日齢の雄性白色 Holtzman 系ラット58匹を購入し, 窓のない24時間明暗周期 (明暗12:12) 室温 $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$ に調節した飼育室で固形飼料 (Purina Rat Chow) と水を自由に摂取させて飼育した。これらを3つの実験群すなわち正常無処置対照群, 手術対照群, 松果体除去群に分け, 1ケージに4匹ずつ入れて飼育した。手術処置は14日間環境に適應させた後に行い, 松果体除去は Quay の方法¹⁷⁾に従った。対照手術は松果体除去と副腎除去に

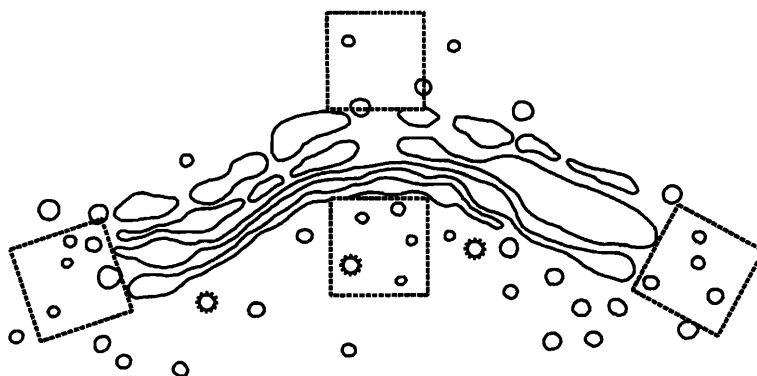


図 1 副腎髄質アドレナリン細胞ゴルジ装置の模式図。
平滑小胞数の測定部位を 4 つの四角形で示してある。

対する 2 重対照手術，つまり髄膜及び後腹膜を小さく切開するが，松果体と副腎自体には侵襲を加えないものとした。これは今回の研究の他，松果体と副腎両方除去の影響の検討も同時に行ったためである。術後 14 日目に明期，暗期の開始からそれぞれ 1，4，6，9 時間後の計 8 時点でラットをケージから取り出した後，できるだけ速やかに断頭した。ただちに左側副腎を摘出して髄質を露出した後，0.05 M のリン酸緩衝液に溶解した 2.5% グルタルアルデヒドで 1 時間前固定し，同じ緩衝液で洗浄後 1% オスミウム酸で 1.5 時間後固定し，エタノールで脱水してエポン 812 に包埋した。副腎髄質の数個のブロックから 1 個を無作為に選び，白～淡黄白色の干渉色の切片を 300-グリッドメッシュに載せ，酢酸ウランとクエン酸鉛で二重染色を行った後，電子顕微鏡 (HITACHI HU-12A，加速電圧 75 kV) で観察した。37 匹のラットに関しては各ブロックからの切片から無作為に選んだ 1 枚の切片において観察されるすべてのアドレナリン細胞を，細胞全体が視野にはいるように倍率 3,000 倍で写真撮影し，得られた 10 個前後の細胞を最終倍率 12,000 倍になるように印画紙に焼き付けた。これらを含む 58 匹のラットにおいては同様に選んだ切片上で，核の断面を含むすべてのゴルジ装置近辺の視野を倍率

10,000 倍で撮影した。得られた 10 個前後のアドレナリン細胞のゴルジ野の電顕写真は，さらに最終倍率 27,600 倍に拡大し印画紙上に焼き付けた。これらを用いて定性的定量的検索を行った。

倍率 12,000 倍の各写真上でゴルジ装置と胞体の面積を算点法にて測定し，胞体に対するゴルジ装置の体積密度を算定した。これらを個体毎に平均して各個体の値とし，明期，暗期及び 1 日全体で実験群間の比較・検討を行った。統計学的検定には分散分析と Student-Fisher の t 検定とを用いた。また 27,600 倍の写真上でゴルジ装置周囲に見られる平滑小胞と被覆小胞の直径及びその数を測定した。測定部位は，各細胞のゴルジ野に見られる垂直断ゴルジ層板の中で最も大きなものを選び，その断面のシス側とトランス側の中間部で 1 箇所ずつと両端で 1 箇所ずつの計 4 箇所とし，各部位で一辺が 18 mm (原寸では約 650 nm) の大きさの正方形の内部に含まれる平滑小胞と被覆小胞をそれぞれ計測した。正方形は，中間部ではそれぞれ最外側の小囊の接線を一辺とするようにシス側あるいはトランス側で，また両端では層板の走向方向と垂直でかつ層板に接する一辺をもつように配置した (図 1)。正方形内の核やミトコンドリアの面積は 3 mm 間隔に格子状に点を設けた透明板

を用い、算点法によって測定し、核とミトコンドリアをのぞいた面積を測定対象面積とした。

各個体の写真のうち無作為に選んだ1枚について測定範囲に見られる平滑小胞の直径をすべて測定し、個体毎に平均した値を用いて、明期、暗期のそれぞれで実験群間の統計学的検討を分散分析と Student-Fisher の t 検定で行った。被覆小胞に関しては認められる頻度が平滑小胞に比較してきわめて少なかったため、各個体の無作為に選んだ2枚につきゴルジ野に見られる被覆小胞のすべてを測定して同様に検討を行った。

両小胞の数の測定は上記の測定部位において行い、各写真毎に4部位での測定した数の合計値と総測定面積から単位面積あたりの小胞数を求め、次の式¹⁸⁾より数密度を求めた。

$$N_v = N_a \cdot \frac{10^3}{T} \cdot \frac{T}{T + 2R - 2K}$$

N_v は数密度すなわち単位体積 (μm^3) 当たりの小胞数、 N_a は単位面積 (μm^2) 当たりの小胞数、 T は切片の厚さ (nm)、 $2R$ は小胞の直径の平均値、 K は小胞を認識できる最小の厚さをそれぞれ示している。今回の計算に際しては、便宜上 T は 70 nm、 K は 0 とし、 $2R$ には各期各実験群の直径の平均値を用いた。こうして求めた値を個体毎に平均して各個体の値とし、これを用いて明期、暗期及び1日全体における実験群間の統計学的検討を分散分析と Student-Fisher の t 検定を用いて行った。

結 果

定性所見

1) 一般所見

副腎髄質 A 細胞のゴルジ装置は細胞質の様々な部位で観察され、多くは核の付近に見られるが (図 2 A, B) 核から離れた細胞膜に近い部位にも存在した。ゴルジ装置は扁平小囊が幾つか重なった層板と、付近の小管より

なる構造であるトランスゴルジネットワーク (trans-Golgi network), 及びそれらの周囲の小胞 (図 2 C, D) からなっていた。層板構造 6~8 個から構成される大きく発達したゴルジ装置もあれば、層板構造が 1~2 個からなる小さな層板からなるゴルジ装置が細胞質中に数個散在している場合もあるが、いずれにおいても一つの層板はおよそ 4~6 個の扁平小囊からなっていることが多いようであった。大きく発達したものでは、核を底辺とするような半円状に層板が配列していたり、核付近で層板が円形の配列をしている様子も見られた。円形に配列した層板の内部に別の層板が位置しているものもあった。

外分泌腺等の細胞のように明らかな細胞内極性のあるものとは異なり、副腎髄質 A 細胞では明瞭な極性は見られない場合が多かった。

層板を構成する小囊の一部やトランスゴルジネットワークの一部に被覆を持った出芽 (coated buds) が認められた。また小囊の一端が拡張し、中に顆粒小胞の内容物と同程度に高密度な物質を含んでいるものも時に見られた。さらに、最もトランス側にある層板がその一つ隣の小囊よりやや距離を置いて存在している状態が見られたり、またその一端が拡張して内部に中等度の密度の物質を含んでいるものも時にみられた。

ゴルジ野には、平滑小胞と被覆小胞の2種類の明小胞が混在していた。大きさは前者よりも後者の方が一般に大きく多様性に富んでいた。小胞内容の密度もそれぞれ多様であるが、被覆小胞の方が多くは高密度であった。

2) 実験処置の影響

A 細胞のゴルジ装置は正常群に比べ両手術群で大きな断面を呈する場合が多かった。また松果体除去群ではゴルジ装置の層板が拡大する (図 2 B) ばかりでなく、その周囲に平滑小胞が多数存在し、一方、手術対照群では正常群、松果体除去群よりも頻りにゴルジ層板周囲の被覆小胞の出現が認められた (図 2 D)。

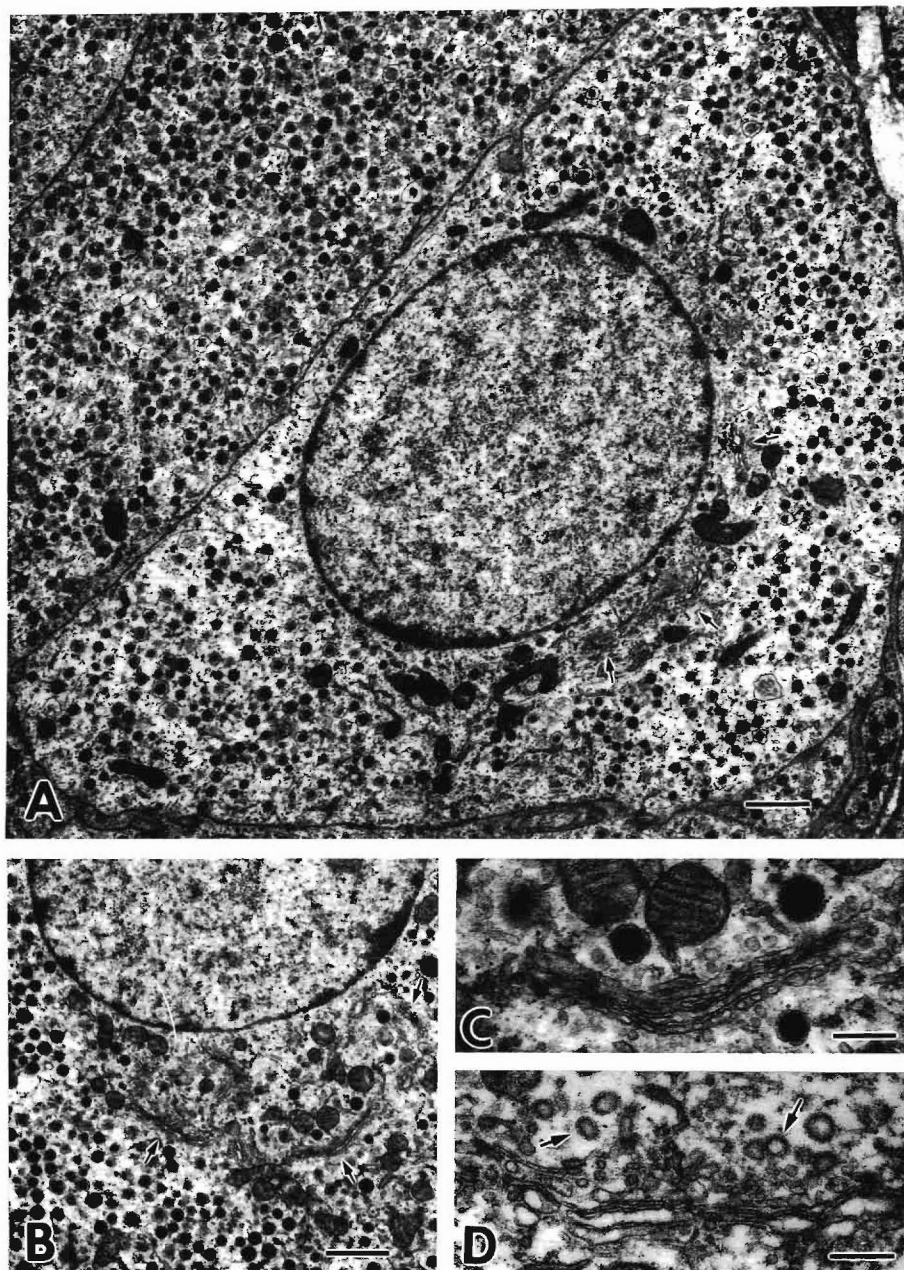


図2 副腎髄質アドレナリン細胞とそのゴルジ装置の電顕像。

A：正常動物の副腎髄質アドレナリン細胞。核付近にゴルジ装置（矢印）が観察される。棒印： $1\mu\text{m}$ ， $\times 9,000$ 。B：松果体除去動物のアドレナリン細胞のゴルジ装置（矢印）。Aの正常動物のゴルジ装置に比べ大きく見える。棒印： $1\mu\text{m}$ ， $\times 9,000$ 。C：松果体除去動物のアドレナリン細胞のゴルジ装置。層板状を呈する扁平囊の付近に多数の平滑小胞が見られる。棒印： $0.3\mu\text{m}$ ， $\times 30,000$ 。D：手術対照動物アドレナリン細胞のゴルジ装置。被覆小胞（矢印）が多数観察される。棒印： $0.3\mu\text{m}$ ， $\times 30,000$ 。

表 1 ゴルジ装置の体積密度

日内時間	暗期			明期			
	実験群	正常群	対照手術群	松果体除去群	正常群	対照手術群	松果体除去群
体積密度 1 (%)		0.36±0.06	0.48±0.06	0.54±0.10	0.33±0.06 ^a	0.46±0.05	0.55±0.07 ^a
体積密度 2 (%)		0.27±0.05	0.37±0.06	0.41±0.09	0.25±0.04	0.35±0.04	0.40±0.05
個体数		5	5	7	7	6	7

体積密度 1, 胞体に対するゴルジ装置の体積密度; 体積密度 2, 細胞に対するゴルジ装置の体積密度.
a, P<0.035; b, P<0.03; c, P<0.025; d, P<0.035; e, P<0.025; f, P<0.035; g, P<0.04.

表 2 平滑小胞及び被覆小胞の直径

日内時間	暗期			明期		
	実験群	正常群	手術対照群	松果体除去群	正常群	手術対照群
	平滑小胞*					
直径(nm)	59.9±1.0	61.1±1.7	60.7±0.8	61.9±1.0	61.3±0.9	64.5±2.3
個体数	10	9	8	10	7	7
(小胞数)	(262)	(223)	(223)	(292)	(207)	(214)
	被覆小胞*					
直径(nm)	78.9±1.2	79.4±2.7	84.4±3.2	84.8±3.0	84.6±3.4	82.1±1.1
個体数	9	8	8	7	8	9
(小胞数)	(67)	(68)	(61)	(54)	(67)	(71)

測定値は平均値±標準誤差を示している。*P<0.001 (ANOVA)。

定量成績

1) ゴルジ装置の体積密度

表 1 に示したように、暗期においては各実験群間で有意差は認められなかったが、明期では正常群に比し松果体除去群で有意の高値を示した。また、1日全体の値は正常群に対して手術対照群、松果体除去群でそれぞれ有意の高値を示した。

更に、各群において明期と暗期の間では体積密度値に有意の差異は認められなかった。

2) 小胞の直径

平滑小胞、被覆小胞それぞれの直径を測定した結果を表 2 に示した。各々の小胞において、各実験群間あるいは日内明期暗期間で有意差は見られなかったが、1日全体において被覆小胞では平滑小胞よりも有意の高値を示した。

3) 小胞の数密度

小胞の直径と単位面積内の小胞数から算出

した平滑小胞の数密度は、図 3 に見るように暗期において松果体除去群 (201.9±10.1個/ μm^3) で手術対照群 (171.2±9.8個/ μm^3) に比べて有意の高値を示した。正常群 (182.2±8.6個/ μm^3) と手術対照群の間に有意差はみられなかった。明期では実験群間に有意の差異は認められなかった。一方、被覆小胞の数密度は図 4 に見るように、暗期において平滑小胞の場合とは逆に正常群 (7.05±0.69個/ μm^3) に対して手術対照群 (9.70±0.74個/ μm^3) で有意の高値を示すと同時に、手術対照群に対して松果体除去群 (7.12±0.67個/ μm^3) で有意の低値を示した。明期では平滑小胞と同様に実験群間に有意の差異は見られなかった。

1日全体の平均数密度値を実験群間で比較してみたところ、平滑小胞では暗期と同様に手術対照群 (169.4±7.5個/ μm^3) に比べ松果体除去群 (190.7±7.0個/ μm^3) で有意な高値

1 日全体		
正常群	対照手術群	松果体除去群
$0.34 \pm 0.04^{b,c,f}$	$0.47 \pm 0.04^{b,f}$	$0.54 \pm 0.07^{c,f}$
$0.26 \pm 0.03^{d,e,g}$	$0.36 \pm 0.03^{d,g}$	$0.40 \pm 0.05^{e,g}$
12	11	14

測定値は平均値±標準誤差を示している。
(a, b, c, d, e は t 検定; f, g は分散分析)。

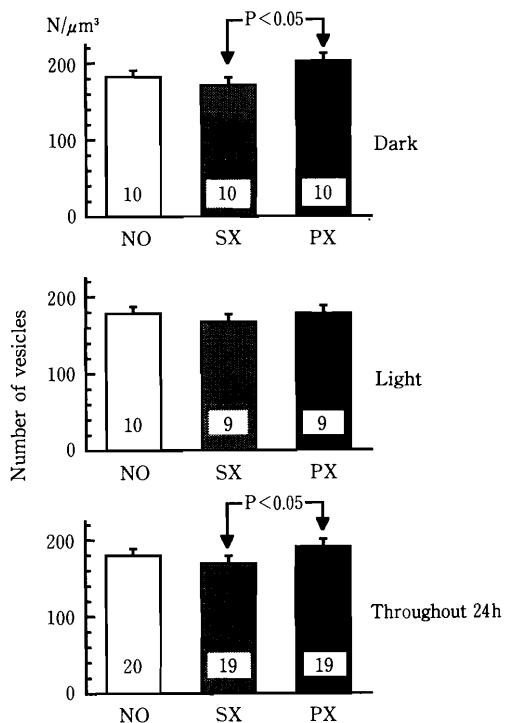


図 3 各実験群における平滑小胞の数密度。

平均値±標準誤差, 棒の中の数字は個体数。
NO, 正常群; SX, 手術対照群; PX, 松果体除去群。

を示し, 被覆小胞では正常群(6.58 ± 0.47 個/ μm^3)に対し手術対照群(8.20 ± 0.55 個/ μm^3)で有意な高値を示した。

各実験群において明期と暗期の間での比較も行ったが, 手術対照群における被覆小胞数密度値において暗期(値は前述)で明期(6.55 ± 0.34 個/ μm^3)よりも有意に高い値($P < 0.002$)が認められたが, その他の各群で

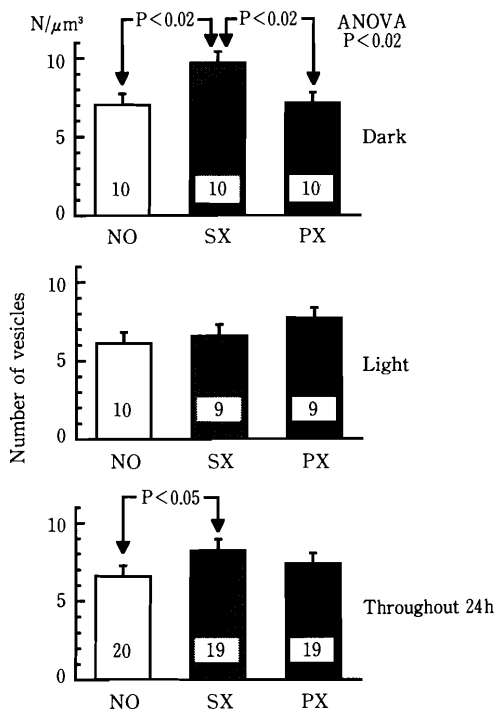


図 4 各実験群における被覆小胞の数密度。

平均値±標準誤差, 棒の中の数字は個体数。
NO, 正常群; SX, 手術対照群; PX, 松果体除去群。

は特に明期暗期間の有意な差異は認められなかった。

考 察

結果に見られるように髄質A細胞のゴルジ装置の体積密度は両手術群で正常群よりも高値を示した。文献的に副腎皮質ステロイドの投与によって髄質A細胞におけるゴルジ装置の発達が刺激され増大することが知られている¹⁹⁾ので, この両手術群におけるA細胞のゴルジ装置の増大はストレス反応性のものであり, 少なくとも部分的には皮質ステロイドの分泌増加による可能性が考えられる。しかしながら後述のように, 本実験と同じ動物あるいは同様の実験条件下でのゴールデンハムスターの副腎髄質における他の形態学的指標においては, 一般に手術対照群は正常群と同様

であるか,あるいは頭蓋内対照手術効果と松果体除去効果とが反対である場合が多く^{6-7,9,20},ゴルジ装置体積密度で見られた手術対照群と松果体除去両群での同様の効果はむしろ特徴的であるように思われる。

一方,ゴルジ装置平滑小胞の数密度は1日を通して,とくに暗期において手術対照群よりも松果体除去群で高値であった。ゴルジ装置の体積密度の測定結果に示されたようにゴルジ装置の相対的な体積は2群間で変化がなかったが,A細胞の大きさは1日を通して,特に暗期において松果体除去群で手術対照群よりも大きかった⁸⁾ので,ゴルジ装置の絶対的体積は松果体除去により増大すると考えられる。したがって,ゴルジ装置における平滑小胞の総数も松果体除去により増加しているものと見なされよう。これらの結果は,ゴルジ装置における平滑小胞数は松果体除去によって増加することを示している。また松果体除去の影響は暗期で著明であったが,このことは松果体からのメラトニン分泌が夜間に起こる²¹⁾ことによるものと考えられよう。

このように松果体除去は副腎髄質A細胞におけるゴルジ装置の体積増大やその平滑小胞数の増加を引き起こすと考えられるが,このような松果体除去による副腎髄質あるいはそのA細胞の活性増加はこれまでに報告された多くの成績と一致している。すなわち,³H-チロジンの取り込み,ドーパミン- β -水酸化酵素活性,A細胞やその核小体の大きさ,ミトコンドリアの数,血管周囲腔への開口分泌の頻度,A細胞への節前神経終末におけるシナプス小胞数等に同様のあるいは関連する変化が認められている^{4,6,8,20,22,23}。このような成績は副腎髄質における一般的及び主要な機能活性,すなわちエピネフリン等のカテコールアミンの産生・放出,が松果体除去により増加することを示しており,更に,交感神経-副腎髄質系が「闘争・逃走反応」(“fight or flight reactions”)を媒介することを併せ考えれば,松果体ホルモンが安静・休息の方向への作用

を有するとの仮説的見解²³⁻²⁴⁾を支持するものとも言えよう。

一方,被覆小胞では平滑小胞とは異なり,その数密度は1日を通して,特に暗期において,正常群よりも手術対照群で増加し,松果体除去群では逆に手術対照群よりも低下した。このような対照手術と松果体除去との反対効果は本研究と同じ動物あるいはゴールデンハムスターにおける髄質細胞あるいは節前神経終末において見られるばかりでなく,副腎髄質以外の器官・組織や現象にも認められている²³⁾。しかしながら一般に対照手術による効果としてこれまで報告されたものには抑制的なものが多かったのに対し,今回観察されたA細胞のゴルジ装置における被覆小胞の数密度は,粗面小胞体の規模⁹⁾やメチオニン-エンケファリン様免疫反応性^{10,25)}と同様に,対照手術により増加,松果体除去により低下を示した点において特徴的なものであり,注目に値する。頭蓋内手術である対照手術が血中メラトニンを増加させ,松果体除去によってこのような増加が抑えられることがウミガメ²⁶⁾などで知られており,更にメラトニンを投与するとA細胞のメチオニン-エンケファリン様免疫反応性が増加することがラット¹⁰⁾やゴールデンハムスター²⁵⁾で観察されている。従って,ゴルジ層板近傍に存在する被覆小胞及びその内容は不均一である可能性は十分にあるものの,その少なくとも一部は対照手術による松果体からのメラトニン分泌亢進によって増加するメチオニン-エンケファリン産生と関連することが示唆される。これと関連して,臍ランゲルハンス島 β 細胞においてゴルジ装置より生じた被覆小胞の表面から被覆が消失する間にプロインシュリンからCペプチドが切り離されて,インシュリンへと変化することが最近明らかにされている¹⁴⁾。従って,髄質A細胞においてもこのような被覆小胞におけるプロエンケファリンからエンケファリンへの変化が起こっている可能性も充分にあると考えられる。

しかしながら一方、ゴルジ装置の絶対体積は松果体除去群で手術対照群よりも大きいと考えられるので、ゴルジ装置における被覆小胞の総数にもその数密度に見られるような手術対照群に比べての松果体除去群での減少が見られるかどうかは今後検討される余地がある。

本研究ではゴルジ装置における 2 種類の小胞の内容についての化学的性質についての直接的検索はなされていないが、その大きさ及び数密度や動態の成績から幾つかの興味深い結論が導き出される。すなわち、被覆小胞の平均直径は平滑小胞のそれよりも大きく、またその数密度は後者の方が前者よりも数十倍高かった。したがって、ROTHMAN ら¹²⁾が考えるようにゴルジ小囊膜からの出芽によって被覆小胞が形成され比較的短時間の後に被覆がとれて平滑小胞に移行するとしても、それだけではこの観察結果は説明できず、たとえば一部には細胞膜から回収・返送されたものも含まれている²⁷⁾としても、更にそれ以外にも通常のクラスリン様の被覆の関与なしに形成される平滑小胞の存在等の可能性も示唆されよう。また一方、これらの小胞には構成性経路にあるものも一部含まれる¹¹⁾可能性が考えられるが、実験処置や日内時間によるこれら 2 種の小胞の数的変動はこれらの小胞の多くが調節性経路にあってその動態を反映しているものであることを示唆している。更にこれら 2 種の小胞の数密度は実験処置に対し異なる反応を示し、特に松果体除去によって増加と減少という反対方向の変動を示したことはきわめて興味深い。ペプチドホルモンと被覆小胞との密接な関係を示す報告¹³⁻¹⁴⁾を考慮に入れるならば、成熟分泌顆粒においてはアミンとペプチドは共存するとしても、それらの比率は何らかの調節を受けて変化し、その一つの原因はゴルジ小囊からクラスリン様被覆保有小胞を介して輸送されるペプチド量の変化によるという可能性が考えられる。BOHN ら²⁸⁾はこれと関連してラットの副腎

髄質クロム親性細胞を刺激するとカテコールアミン合成量は増加するのに対し、エンケファリン量は減少することを見出している。

一方、最近、松果体ホルモンの作用機序には受容体を介するものと介さないものがあり、副腎髄質細胞に対しても、副腎皮質等を含むホルモン性経路や中枢神経系を含む神経性経路を介する間接的なものの他に、直接的な血行性のカルモジュリンや酸化過程等への影響が知られてきた²⁹⁾。ともあれ、本研究の結果は A 細胞のゴルジ装置という細胞小器官は全体として均一な調節を受けているのではなく、部分によって、すなわち形成される小胞、そして多分その化学的組成、によって異なる調節を受けていることの実験的証拠であり、松果体ホルモンによる副腎髄質 A 細胞の調節における細胞内過程の複雑さをも示唆するものであろう。

謝 辞

稿を終えるにあたり、計量的電子顕微鏡的な研究方法に関する御助言を賜った北海道大学医学部解剖学第三講座阿部和厚教授に深謝いたします。

文 献

- 1) PEARSE, A. G. : The cytochemistry and ultrastructure of polypeptide hormone-producing cells of the APUD series and the embryologic, physiologic and pathologic implications of the concept. *J. Histochem. Cytochem.*, **17** : 303-313, 1969.
- 2) FUJITA, T. : Present status of paraneuron concept. *Arch. Histol. Cytol.*, **52** : 1-8, 1989.
- 3) PETRESCU, C. and SIMIONESCU, N. : Cercetari experimentale privind relatiile dintre pineala si medulosuprarenala la sobolanul alb. *Stud. Cercet Endocrinol.*, **21** : 339-343, 1970.
- 4) CSABA, G. and NAGY, S. U. : The regulatory role of the pineal gland on the thyroid gland, adrenal medulla and islets of Langerhans. *Acta Biol. Med. Ger.*, **31** : 617-619, 1973.
- 5) BANERJI, T. K. and QUAY, W. B. : Adrenal dopamine-beta-hydroxylase activity: 24-hour rhythmicity and evidence for pineal control. *Experientia*, **32** : 253-255, 1976.

- 6) KACHI, T., BANERJI, T. K. and QUAY, W. B. : Daily rhythmic changes in synaptic vesicle contents of nerve endings on adrenomedullary adrenaline cells, and their modification by pinealectomy and sham operations. *Neuroendocrinology*, **28** : 201-211, 1979.
- 7) KACHI, T., BANERJI, T. K. and QUAY, W. B. : Quantitative cytological analysis of functional changes in adrenomedullary chromaffin cells in normal, sham-operated, and pinealectomized rats in relation to time of day: I. Nucleolar size. *J. Pineal Res.*, **1** : 31-49, 1984.
- 8) KACHI, T., BANERJI, T. K. and QUAY, W. B. : Quantitative cytological analysis of functional changes in adrenomedullary chromaffin cells in normal, sham-operated, and pinealectomized rats in relation to time of day: III. Nuclear density. *J. Pineal Res.*, **5** : 527-534, 1988.
- 9) KACHI, T., TAKAHASHI, G., BANERJI, T. K. *et al.* : Rough endoplasmic reticulum in the adrenaline and noradrenaline cells of the adrenal medulla: effects of intracranial surgery and pinealectomy. *J. Pineal Res.*, **12** : 89-95, 1992.
- 10) KACHI, T., TAKAHASHI, G., SUZUKI, T. *et al.* : Effects of pineal and intracranial surgery on the adrenal medulla: Quantitative morphological and immunohistochemical studies. Touitou, Y., Arendt, J., and Pevet, P. (eds.) : *Melatonin and the Pineal Gland—From Basic Science to Clinical Application*. 277-280, Elsevier Science Publishers, Amsterdam, 1993.
- 11) BURGESS, T. L. and KELLY, R. B. : Constitutive and regulated secretion of proteins. *Annu. Rev. Cell Biol.*, **3** : 243-293, 1987.
- 12) ROTHMAN, J. E. : Mechanisms of intracellular protein transport. *Nature*, **372** : 55-63, 1994.
- 13) TOOZE, J. and TOOZE, S. A. : Clathrin-coated vesicular transport of secretory proteins during the formation of ACTH-containing secretory granules in AtT20 cells. *J. Cell Biol.*, **103** : 839-850, 1986.
- 14) ORCI, L., RAVAZZOLA, M., STORCH, M. J. *et al.* : Proteolytic maturation of insulin is a post-Golgi event which occurs in acidifying clathrin-coated secretory vesicles. *Cell*, **49** : 865-868, 1987.
- 15) WINKLER, H. : The adrenal chromaffin granule: a model for large dense core vesicles of endocrine and nervous tissue. *J. Anat.*, **183** : 237-252, 1993.
- 16) CARMICHAEL, S. W. and WINKLER, H. : The adrenal chromaffin cell. *Sci. Am.*, **253**(2) : 30-39, 1985.
- 17) QUAY, W. B. : Experimental evidence for pineal participation in homeostasis of brain composition. *Prog. Brain Res.*, **10** : 646-653, 1965.
- 18) ABERCROMBIE, M. : Estimation of nuclear population from microtome sections. *Anat. Rec.*, **44** : 239-247, 1941.
- 19) PIEZZI, R. S. and MIRANDA, J. C. : Effect of dexamethasone on the neonatal adrenal medulla. *Cell Tissue Res.*, **220** : 213-217, 1981.
- 20) KACHI, T., TAKAHASHI, G., SUZUKI, T. *et al.* : Relationship between Pineal Gland and Adrenal Medulla. TANG, P. L., PANG, S. F., and REITER, R. S. (eds.) : *Melatonin — A Universal Photoperiodic Signal with Diverse Actions*. *Front. Horm. Res.*, **21** : 51-59, S. Karger, Basel, 1996.
- 21) QUAY, W. B. : *Pineal Chemistry in Cellular and Physiological Mechanisms*. 154-162, Charles C Thomas, Springfield, 1974.
- 22) BANERJI, T. K. and QUAY, W. B. : Effects of melatonin on adrenomedullary dopamine-beta-hydroxylase activity in golden hamsters: evidence for pineal and dose dependencies. *J. Pineal Res.*, **3** : 397-404, 1986.
- 23) KACHI, T. : Pineal Actions on the Autonomic System. *Pineal Res. Rev.*, **5** : 217-263, 1987.
- 24) DATTA, P. C., HOEHLER, F. K. and SANDMAN, C. A. : Effects of melatonin on startle reflex in rat. *Peptides*, **1** : 155-160, 1981.
- 25) 木村尚正, 加地 隆 : ゴールデンハムスター副腎髄質のメチオニン-エンケファリン様免疫反応性に及ぼす日内時間, 頭蓋内手術, 松果体の影響. *弘前医学*, **48** : 139-147, 1996.
- 26) OWENS, D. W. and GERN, W. A. : The pineal gland and melatonin in sea turtles. LOFTS, B. and HOLMES, W. N. (eds.) : *Current Trends in Comparative Endocrinology*. 645-648, Hong Kong University Press, Hong Kong, 1985.
- 27) ABRAHAMS, S. J. and HOLTZMAN, E. : Secretion and endocytosis in insulin-stimulated rat adrenal medulla cells. *J. Cell Biol.*, **56** : 540-

- 558, 1973.
- 28) BOHN, M. C., KESSLER, J. A., GOLIGHTLY, L. *et al.*: Appearance of enkephalin-immunoreactivity in rat adrenal medulla following treatment with nicotinic antagonists or reserpine. *Cell Tissue Res.*, **231** : 469-479, 1983.