

ラット胸髄側角および前角における神経細胞核の計量組織学的研究 —頭蓋内手術, 松果体除去および連続照明の影響

入 江 伴 幸 加 地 隆

抄録 松果体が第8, 第11胸髄の側角および前角の神経細胞に影響を及ぼすかどうかを計量組織学的に検索した。総計36匹の雄性ラットを正常群, 頭蓋内手術 (SX) 群, 松果体除去 (PX) 群, SX+連続照明 (LL) 群に分けた。第8, 第11胸髄の連続横断パラフィン切片を作成し, H-E染色を施した。コンピュータによる画像解析を行い, 前角および側角の神経細胞核断面の面積と直径を計測した。第8胸髄側角の神経細胞核断面の平均直径および面積はSX群では正常群よりも小さく ($P<0.001$), PX群およびSX+LL群ではSX群に比べて大きかった ($P<0.02$, $P<0.001$)。第11胸髄側角では実験群間に差はなかった。前角の神経細胞はPX群およびSX+LL群でSX群よりも大型核の出現率が高かった ($P<0.05$, $P<0.01$)。これらの結果は脊髄の神経細胞核に対し松果体がSXと関連して影響を及ぼし得ることを示す。

弘前医学 51:15-26, 1999

キーワード: 胸髄; 交感神経節前神経細胞; 運動神経細胞; 松果体; 頭蓋内手術。

A QUANTITATIVE HISTOLOGICAL STUDY ON NEURONAL CELL NUCLEI IN LATERAL AND VENTRAL HORNS OF THE RAT SPINAL CORD : EFFECTS OF INTRACRANIAL SURGERY, PINEALECTOMY AND CONTINUOUS LIGHTING

Tomoyuki Irie, Takashi Kachi

Abstract Pineal effects on neuronal cells in the lateral and anterior horns of T8 and T11 segments of the spinal cord were investigated using a quantitative histological method. Thirty-six male rats were divided into normal, intracranial surgery (SX), pinealectomy (PX) and SX+continuous lighting (LL) groups. Serial sections of the thoracic spinal cord embedded in paraffin were made in a transverse plane and stained with H-E. The area and diameter of profiles of neuronal cell nuclei in the anterior and lateral horns were measured by computed image analysis. In the lateral horn of T8, mean values of the diameter and area of nuclear profiles were lower in the SX group than in the normal group ($P<0.001$), and higher in the PX and SX+LL groups than in the SX group ($P<0.02$, $P<0.001$). In the lateral horn of T11, there were no significant differences among 4 groups. In the anterior horn, frequencies of large nuclei were higher in the PX and SX+LL groups than in the SX group ($P<0.05$, $P<0.01$). These results indicate that the pineal gland can influence neuronal cell nuclei of the spinal cord relating to SX.

Hirosaki Med. J. 51:15-26, 1999

Key words: thoracic spinal cord; sympathetic preganglionic neuron; motor neuron; pineal gland; intracranial surgery.

弘前大学医学部解剖学第二講座(主任 加地 隆教授)
平成11年3月26日受付
平成11年5月6日受理

Second Department of Anatomy, Hirosaki University School of Medicine (Director: Prof. T. Kachi), Zaifucho, Hirosaki 036-8562, Japan
Received for publication, March 26, 1999
Accepted for publication, May 6, 1999

緒 言

松果体は近年急速にその機能の解明が進み、メラトニンを合成・分泌し、主に上頸神経節由来の交感神経による調節をうける内分泌器官であり、生体リズムに関与し、生殖機能や内分泌系・自律神経系の機能などへの広汎な影響を及ぼす器官と見なされるようになってきた¹⁻³⁾。私共は自律神経系の一部をなす交感神経—副腎髄質系もまた松果体からの影響を受け、副腎髄質腺細胞の種々の微細構造は頭蓋内対照手術(SX)と松果体除去(PX)により相反する方向への変化を示すことをラットやゴールデンハムスターで明らかにしてきた^{2,4)}。更に、腺細胞上の神経終末もSXとPXの影響を受け、正常ラットで見られる小型明小胞密度の日内リズムはSXで抑制され、PXを行ったラットではSXで認められた抑制効果が消失する等の変化を示すことを報告した^{2,4-5)}。副腎髄質腺細胞においてSXとPXの間に見られる相反性効果が腺細胞上の神経終末にもまた認められることは、SXやPXによる副腎髄質腺細胞の変化は少なくともその一部は交感神経節前ニューロンの作用を介していることを示唆するものであろう。しかしながら、松果体ホルモンの脊髄に及ぼす影響についてはメラトニン受容体の局在に関する報告が散見される⁶⁾のみでほとんど解明されていない。

一方、第8頸髄から第3腰髄までの脊髄側角に存在する神経細胞の集団は中間質外側核(Nucleus intermediolateralis: IML)と呼ばれ、交感神経節前ニューロンのほとんどはここに存在して、交感神経の一次中枢として自律機能調節に関与していると考えられている⁷⁾。節前ニューロンは脊髄高位により支配する器官が異なり、副腎髄質腺細胞に軸索を送るニューロンは、ラットでは主に第4胸髄から第13胸髄のIMLに存在し、その大半は第7胸髄から第9胸髄に集中している⁷⁾。

本研究ではこのような胸髄に存在し副腎髄質

に神経線維を送る交感神経節前ニューロンが、SXやPXによりどのような影響を受けるかを明らかにすることを主目的とした。松果体ホルモンのメラトニンは心臓—血管系や消化器系に対する作用²⁾の他に全身の細胞に対する鎮静作用を有する⁸⁾との考え方もあり、副腎髄質調節系以外へのこのホルモンの作用の可能性^{3,9)}も想像されるが、前角の運動ニューロンや副腎髄質以外への交感神経節前ニューロンを多く含む脊髄レベルのIMLニューロンに対する影響については従来ほとんど研究がなされておらず、本研究におけるもう一つの関心事である。そこでSXやPXを行った動物において細胞機能の一つの指標と考えられる核の大きさを第8胸髄と第11胸髄の側角および前角の神経細胞で計測して比較・検討した。

材料と方法

実験動物には総計36匹の雄性Wistar系ラットを用い、3週齢で購入し(クレア社, 東京), 24時間明暗周期(明期, 07:00—19:00), 恒温下(22±2°C)に固形試料と水を自由に摂取させて飼育した。5匹の正常ラットを定性観察用として用い、残りを正常群(7匹), SX群(8匹), PX群(8匹), SX+連続照明(LL)群(8匹)に分け、4週齢で手術を行った。PXはハロセン麻酔下に頭蓋骨を開き、矢状静脈洞の外側約1~2mm, 静脈洞交会より前方約2mmのところから矢状静脈洞に平行に髄膜を約2~4mm切開し、そこからピンセットを挿入して松果体を摘出した。SXではPXと同様に髄膜に割を入れ、脳実質を損傷しないようにピンセットを挿入するだけで創を閉じた。一般にピンセット挿入時に髄液の流出が見られた。SX+LL群の動物はSXを行った直後より連続照明下に飼育した。

動物は術後3週あるいは術後・連続照明開始後3週の7週齢で暗期の終わりの午前6時から7時の間に断頭を行い、椎弓切除を行った椎骨と共に胸髄を取り出して Bouin 液に入れ、その

1～2時間後に第8胸髄および第11胸髄を分離した。分離した胸髄を Bouin 液で合計12時間固定した後パラフィンに包埋し、厚さ $8\mu\text{m}$ の連続横断切片を作成した。連続切片は脊椎の頭側より順番に10枚おきに10枚ずつ1列にスライドガラスにのせ、1枚のスライドガラスには合計3列、30枚の切片を乗せ、この操作を合計6枚のスライドガラスについて繰り返した。切片はヘマトキシリン-エオジン (H-E) 染色を施した後、定性的、定量的検索に供し、また一部の標本については Klüver-Barrera (K-B) 染色を行い、定性的検索に用いた。各実験群の各動物の H-E 染色連続切片を用いて、次のような方法で定量組織学的検索を行った。スライドガラス6枚中の1枚目の H-E 染色標本において、第1列の1枚目の切片から順に観察し、最初に IML が認められた切片で片側 IML の全ての神経細胞核を計測に用いた。ついで2枚目のスライドガラスの第1列の1枚目の切片から観察を始めて同様のサンプリングを行った。この方法を繰り返して核のサンプル数が20個以上になるまで続けた。6枚目のスライドガラスでもサンプル数が20個に達しない場合は、1枚目のスライドガラスの既にサンプリングを行った切片の2つ後の切片より鏡検を再開した。前角についても同様のサンプリングを行ったが、前角の神経細胞核では核小体を有する核断面のみをサンプリングした。このようにして無作為に選んだ切片の側角および前角の神経細胞断面を各細胞ごとに焦点を合わせて顕微鏡デジタルカメラシステム (HC-2500, 富士写真フィルム株式会社) からコンピュータ (Macintosh, Apple 社) に取り込んだ。フォトタッチソフト (Adobe Photoshop, アドビシステムズ社) を用いて側角および前角の神経細胞核断面の核膜外側縁をコンピュータディスプレイ上でトレースし、神経細胞核を抽出した。抽出した神経細胞核断面の画像データを使い、画像解析ソフト (NIH Image, Wayne Rasband 作, フリーソフトウェア) を用いて細胞核の面積および長径と短径を

計測した。長径と短径の平均を算出し、それを核断面の直径とした。第11胸髄前角の神経細胞については倍率1,000倍で鏡検し、image-splitting-eyepiece を用いて神経細胞核の短径と長径を計測し、それらの平均値を核径とした。一部の動物の第11胸髄 IML についてもこの方法で計測し、コンピュータ画像処理システムとの比較検討も行った。統計学的検定には分散分析, Student の t 検定, χ^2 検定, Mann-Whitney の U 検定を用いた。本実験は弘前大学動物実験指針に沿って行われた。

結 果

定性所見

脊椎横断連続切片において、脊椎側角は通常図1に示すように脊椎前角と後角の間の灰白質外側部が中心管よりやや後方の位置で側方に突出する部位として認められたが、側方への突出が小さいか又はほとんど認められない切片もあった。側角には大別して2種類の細胞が認められた(図2a, b, c, d)。一つは脊椎前角にある運動ニューロンよりも小型の細胞で、胞体は紡錘形又は多角形で、円形又は楕円形を呈する比較的大きな核を持ち、核小体は明瞭で、中には2個の核小体を持つ細胞もあった。核小体は中心より外れて存在する場合が多く核膜に接している細胞も認められた(図2b)。胞体は酸好性に染色され、ヘマトキシリンに好染するニッスル小体と考えられる構造物が散在していた。K-B 染色を行った切片では、このような明瞭な核小体のある比較的大きな核を有する細胞はニッスル小体が明瞭に染色され、神経細胞と同定された。もう一種の細胞は神経膠細胞と考えられるもので核は濃染し、核小体は不明瞭で、胞体は小さくはつきりしないものがほとんどであった。またこのような細胞では K-B 染色を行った切片でもニッスル小体は認められなかった。これらの所見から H-E 染色でも神経細胞と神経膠細胞の同定は可能であると考えられた。核膜の染色性は H-E 染色標本の方が強く、また

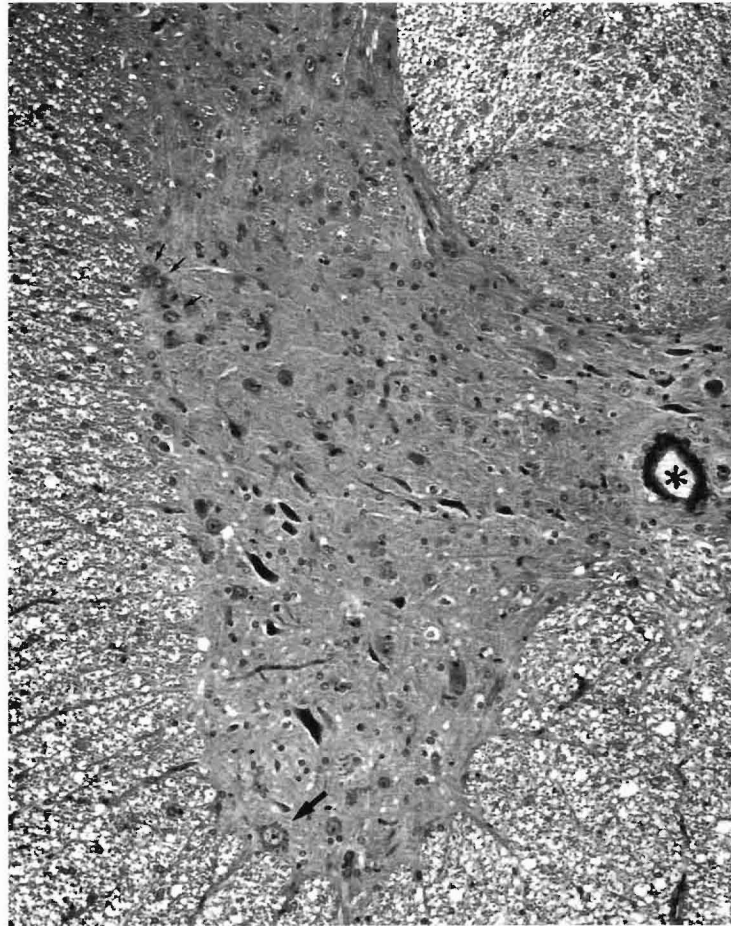


図1 第8胸髄横断光顕像。

下方が腹側, * は中心管を示す。側角は脊髓前角と後角の間の灰白質外側部が中心管よりやや後方の位置で側方に突出する部位として認められる。そこに中間質外側核の神経細胞(小矢印)の集団が認められる。前角に大矢印で示したのは運動神経細胞。×200。

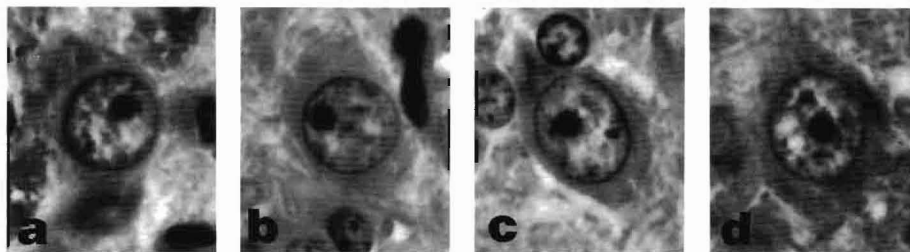


図2 第8胸髄側角における神経細胞の光顕像。

a : 正常群, b : 頭蓋内手術群, c : 松果体除去群, d : 頭蓋内手術+連続照明群, ×1200。

K-B 染色標本ではニッスル小体が核膜の近くで強く染色され、核の輪郭が不明瞭な細胞もあった。これらのことから、神経細胞核断面の計測を目的とする今回の研究では主として H-E 染色標本を用い、明瞭な核小体をもつ比較的大

型の核と胞体を有する細胞を神経細胞と同定し、計測を行った。

前角の神経細胞は円形又は楕円形を呈する大型の核を持ち、核小体は明瞭で核の中心近くにあるものが多かった。大きく明瞭な胞体中には

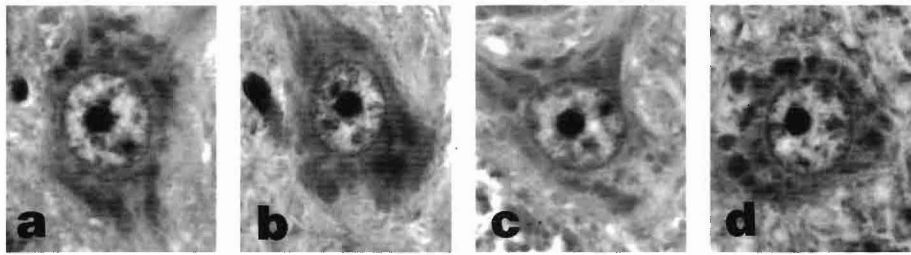


図 3 第 8 胸髄前角における神経細胞の光顕像。

a : 正常群, b : 頭蓋内手術群, c : 松果体除去群, d : 頭蓋内手術+連続照明群, ×800.

表 1 各実験群における神経細胞核の断面積, 直径, 短径長径比と部位差

| 実験群 | 動物数 | 体重 (g) | T8 前角 | | | T8 側角 | | |
|---------|-----|-----------|------------------------|----------|-------------|------------------------|-----------------------|--------------------------|
| | | | 断面積 (μm ²) | 直径 (μm) | 短径/長径 | 断面積 (μm ²) | 直径 (μm) | 短径/長径 |
| 正常群 | 7 | 245.7±4.6 | 198.7±4.8 | 15.9±0.2 | 0.878±0.010 | 100.5±1.7 ^a | 11.3±0.1 ^a | 0.834±0.010 |
| SX 群 | 8 | 252.6±3.2 | 187.3±4.2 | 15.4±0.2 | 0.877±0.014 | 86.6±2.3 | 10.5±0.1 | 0.818±0.009 |
| PX 群 | 8 | 253.6±4.3 | 193.8±5.1 | 15.7±0.2 | 0.837±0.016 | 95.3±2.1 ^b | 11.1±0.1 ^b | 0.804±0.014 |
| SX+LL 群 | 8 | 245.5±3.3 | 193.7±6.7 | 15.9±0.2 | 0.875±0.009 | 100.4±1.8 ^a | 11.4±0.1 ^a | 0.836±0.010 |
| 総計 | 31 | 249.5±2.0 | 193.1±2.5 | 15.7±0.1 | 0.866±0.007 | 95.5±1.4 ^c | 11.1±0.1 ^c | 0.823±0.006 ^c |

| 実験群 | 動物数 | 体重 (g) | T11 側角 | | |
|---------|-----|-----------|------------------------|-----------------------|--------------------------|
| | | | 断面積 (μm ²) | 直径 (μm) | 短径/長径 |
| 正常群 | 7 | 245.7±4.6 | 96.2±1.7 | 11.1±0.1 | 0.804±0.010 |
| SX 群 | 8 | 252.6±3.2 | 93.2±1.9 | 11.0±0.1 | 0.799±0.010 |
| PX 群 | 8 | 253.6±4.3 | 92.5±2.1 | 10.9±0.1 | 0.795±0.011 |
| SX+LL 群 | 8 | 245.5±3.3 | 95.1±1.5 | 11.1±0.1 | 0.807±0.008 |
| 総計 | 31 | 249.5±2.0 | 94.2±0.9 ^c | 11.0±0.1 ^c | 0.801±0.005 ^d |

数値は平均値±標準誤差を示す。

a, b は SX 群との間に有意差があることを示す (t 検定), a : P<0.001, b : P<0.02.
c は T8 前角との間に有意差があることを示す (U 検定), c : P<0.001.
d は T8 側角との間に有意差があることを示す (U 検定), d : P<0.005.

ヘマトキシリンに好染する粗大なニッスル小体を豊富に含んでいた(図 3a, b, c, d). 前角にはこのほかに小型でニッスル小体が少ないか又はほとんど認められない細胞があり, これらは介在ニューロンと考えられた。神経細胞に比べて小型で暗調の核を持ち, ニッスル小体を認めない小型の細胞が前角内に散在していたが, これらは神経膠細胞と考えられた。これら 2 種の細胞は計測の対象外とした。

定量所見

各群における動物数, 平均体重, 計測した核の数は表 1 に示した通りで, 各実験群の間で動

物の体重に統計学的に有意な差は認められなかった。

表 1 に示したように, 第 8 胸髄の側角における神経細胞核径の比較では, 実験群間に有意差があり (分散分析: P<0.001), 正常群よりも SX 群で低値を示した (t 検定: P<0.001). 逆に PX 群, SX+LL 群では SX 群より高値を示した (t 検定: P<0.02, P<0.001). 核断面積による比較でも核径による比較と同様の結果であった。

前角では神経細胞核径の平均値には実験群間に有意差がなかったが, 核径の度数分布を見ると PX 群, SX+LL 群で対照群よりも大型核の

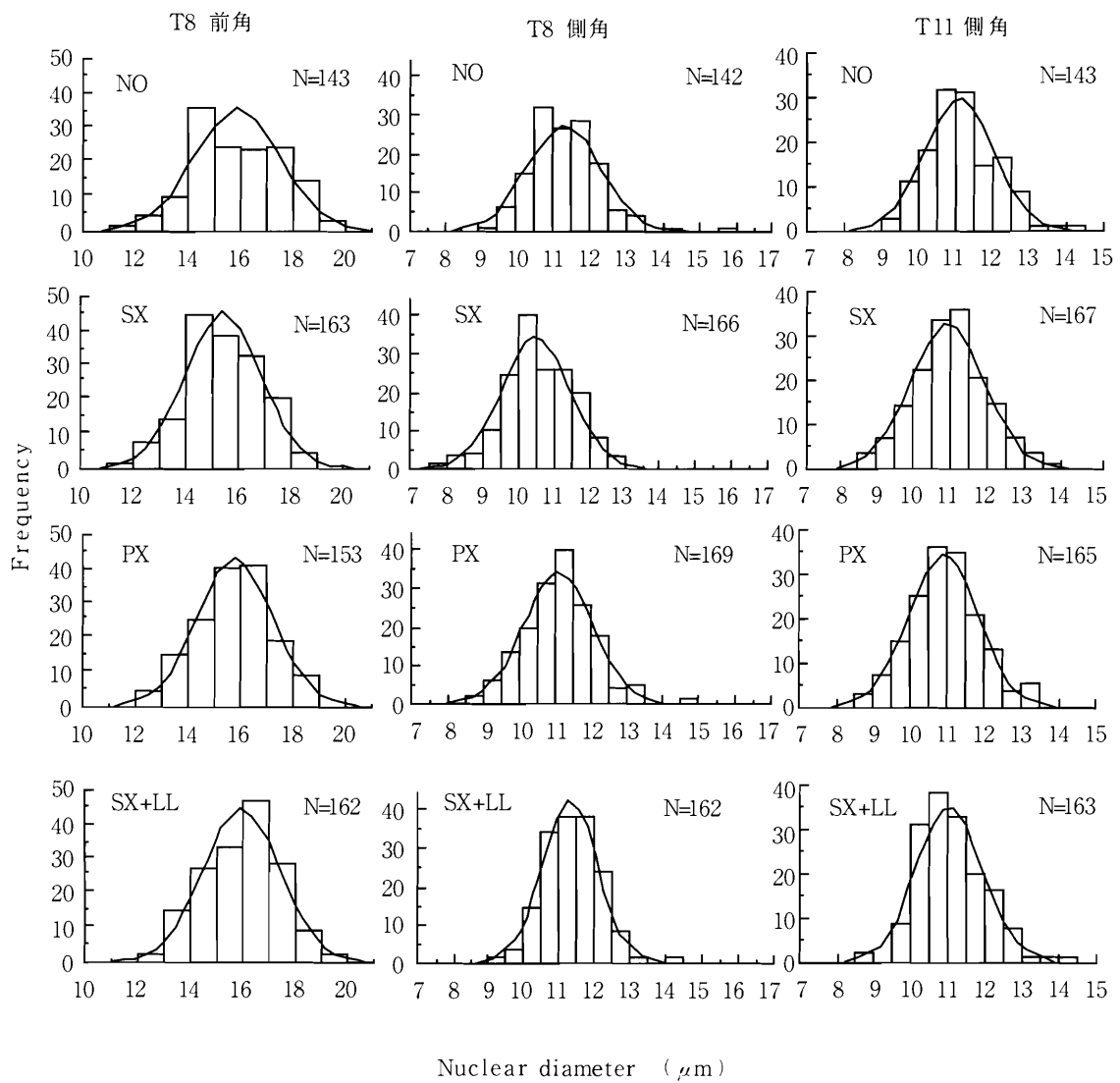


図4 各部位, 各実験群における核径の度数分布.

Nは核の計測数を表す。
NO: 正常群, SX: 頭蓋内手術群, PX: 松果体除去群, SX+LL群: SX+連続照明群。
曲線は計測により得られた平均値, 分散を用いて計算された正規分布曲線を表す。

出現頻度が比較的多かった(図4)。そこで直径 $15.0\mu\text{m}$ 以上の核の割合の実験群間における差異を χ^2 検定により検定した。正常群(92/143: 64.3%) と他の実験群との間に有意差は認められなかったが, PX 群(109/153: 71.2%) と SX+LL 群(118/162: 72.8%) は SX 群(96/163: 58.9%) に比べ大型核の出現率が有意に増加していた(χ^2 検定: $P < 0.05$, $P < 0.01$)。第11胸髄の前角についても SX 群と PX 群の間で同様の比較を行ったところ, 大型核の出現率が高い傾向が見られた(SX, 52/84: 61.9%;

PX: 63/83: 75.9%) (χ^2 検定: $P < 0.051$)。

表1に示したように, 第11胸髄の側角における神経細胞核直径と断面積各々の平均値には実験群間で有意差は認められなかった。

核の短径と長径との比の比較では側角と前角の各々の神経細胞において各実験群間に有意差を認めなかったが, 第8胸髄の側角, 第11胸髄側角と第8胸髄前角の各々の間で有意差を認め(分散分析: $P < 0.001$), 第8胸髄の側角で第8胸髄前角よりも低い値を示し(U検定: $P < 0.001$), 第11胸髄の側角は第8胸髄の側角より

も更に低値を示した ($P < 0.005$)。核の断面の直径および面積の平均値は第8胸髄前角で他の2部位より有意の高値を示した (分散分析: $P < 0.001$, U検定: 共に $P < 0.001$)。

考 察

結果に見るように、第8胸髄IMLの神経細胞核は、正常群に比べSX群で大きさの減少を示し、PX群、SX+LL群ではSX群に比べ増加を示した。これまでの予備実験において私共は第7、第8胸髄側角における神経細胞核の大きさがSXによって縮小し、PXやLLによって増大する傾向のあることを報告した¹⁰⁻¹¹⁾。今回の研究では実験上の手技・方法や条件を改善し、またコンピュータによる画像解析を行い、核の断面積についての検討をも加えた。結果は予備実験とほぼ同様であったが、このことは本研究結果が極めて再現性の高いことを示すものであろう。

一般に細胞核の大きさは細胞の機能亢進状態で増大し、逆に機能低下状態では縮小する傾向がある¹²⁾。従って、第8胸髄IMLの神経細胞はSXによって機能低下が起こり、PXやLLによって機能亢進が起こる可能性が考えられる。更にSXやPXは副腎髄質腺細胞の各種微細構造に対しても多くの場合これと同様の影響を及ぼす⁴⁾ことを併せ考えると、SXやPXを行った動物の副腎髄質腺細胞で認められた微細構造の形態学的変化は、少なくともその一部はIMLの節前神経細胞の作用を介していると推測されよう。また副腎髄質アドレナリン細胞のエンケファリン含量はゴールデンハムスターあるいはラットではSXで増加し、PXや連続照明ではこの増加は抑制され¹³⁻¹⁴⁾、またラットではこの副腎髄質エンケファリン含量の増加は除神経によっても引き起こされる¹⁵⁾。これらの報告もまたSXにより節前ニューロンの機能活性が松果体ホルモン依存性に抑制されるという推測を支持する。

一方、今回の研究で初めて明らかにされたよ

うに、第8胸髄側角で認められたSXやPXの効果は第11胸髄側角では見出されなかった。形態学的にとらえられない分子レベル以下の変化の可能性や日内多時間での比較・検討がなされていないなど最終的結論はなお今後の研究に待たなければならないが、第8胸髄IMLと第11胸髄IMLの各々のニューロンに及ぼされる松果体ホルモンの影響には両部位の間で相違があるという可能性も十分に考えられる。その理由の1つは、IMLの節前ニューロンの支配器官が第11胸髄では第8胸髄とは異なり、副腎への節前ニューロンの他に腹腔神経節等に節前線維を送るニューロンが多く含まれる⁷⁾ことである。消化器系に対しては松果体ホルモンは副交感神経系を介してその影響を強く及ぼす可能性もある。もう一つは最近、中枢性メラトニン受容体の他に消化管や血管などにおける末梢性メラトニン受容体の存在や腸管クロム親性細胞におけるメラトニンの産生・放出が報告されており¹⁶⁾、第11胸髄IMLニューロンの支配領域のような部位では一様な中枢性支配よりは局所的な変化に対応する複雑・多様な調節機構の存在する可能性も示唆されるからである。このようにSXやPX・LLの影響は交感神経系一般に均一に及ぼされるのではなく脊髄高位によって異なり、それらの影響が及ばないか又は小さい部位もあるということは考えられることである。しかしながら、このような仮説的見解は様々な脊髄高位でのより詳細な検証を必要としよう。

これと関連して最近、メラトニン投与によってエピネフリンの血中濃度は正常および高血圧自然発症ラットで著しく減少するが、交感神経節後線維からの放出を反映するノルエピネフリンの減少は高血圧ラットではずっと軽度であり、また、正常ラットでは有意の減少が起こらないことが報告されている¹⁷⁾。また一方、副腎髄質のA細胞とNA細胞に対する松果体からの影響を比較した場合、A細胞に対する方がNA細胞に対するよりも強いことが度々示されている¹⁸⁾。これらの報告はメラトニンのカテコラミ

ン放出抑制効果が交感神経系一般に対するよりも副腎髄質アドレナリン細胞の調節系に対してより強いことを示している。いずれにしても本研究結果は、松果体を一般的鎮静性器官と見なしたり、あるいはメラトニンを全身の細胞に対し同様の作用を及ぼすホルモンとする考え方だけでは明らかに説明不十分である事を示すものであろう。

結果に示すように前角の運動ニューロンでは大型核の出現率がPX群, SX+LL群で対照群と比較して有意に高かった。それに対して平均値には差異は見られなかった。前角ニューロンの核計測には核小体を含む核の中央部付近の断面を用いているので、核の切断部位の違いによる測定値のばらつきは比較的少ないと考えられる。従って、実験結果において大型核の出現頻度の実験群間における差異が見られたことは運動ニューロン相互間で松果体ホルモンに対する感受性の差異があることを示唆するものとも考えられる。いずれにしても、IMLの神経細胞だけでなく前角の神経細胞でも少なくとも部分的にはPXやLLによる変化が認められた。しかしながら、前角運動ニューロンでは第8胸髄側角ニューロンに見られたSXとPXによる相反性効果は見出されなかったもので、たとえ松果体ホルモンによる影響を受けるとしてもIMLニューロンに対する作用とは機序が異なるであろう。第8、第11胸髄の運動ニューロンは肋間筋に分布し呼吸運動に関与しているものを含んでいると考えられるが、本研究の結果がPX動物における呼吸運動の亢進といった局所的な変化を反映したものなのか、全身的な運動機能の亢進作用の一部として胸髄運動ニューロンの核の大型化が起こったものかは明らかでなく、この点については他の脊髄レベルでの今後の研究が必要であろう。松果体と脊髄運動ニューロンとの関係についてはヒトの運動ニューロン疾患における松果体の腫大に関する報告¹⁹⁾が知り得る限り唯一のものである。

ここで本論文の主題である、副腎髄質への交

感神経節前線維の主たる供給源である第8胸髄IMLのニューロンがSX動物と比較してPX動物で活性化される現象の機序について若干の考察を加えてみたい。まず初めに、本研究ではSX処置が松果体ホルモン依存的に特異な効果を有することが観察されたが、先に述べたように、副腎髄質を含む種々の器官や機能においてPX効果は正常群の動物と比較したときにはしばしば明らかでないにもかかわらず、SX動物と比較すると明瞭になる^{2,4)}ことがこれまでの研究でも知られている。SXによりウミガメではメラトニンの分泌が亢進することが報告されている²⁰⁾ので、SXラットでも松果体からのメラトニン放出が増加しているかもしれない。このような可能性を探る実験において、SXラットでは松果体細胞内の脂肪滴が減少し、一部の動物における血中メラトニン濃度値の上昇を含む値のばらつきの増大が観察されたものの、動物間で一致した値の増加は認められなかった²¹⁾。しかしながら、SX処置により仮にメラトニン放出の増加が無かったとしても、メラトニンの標的細胞の側にSX処置によるメラトニンに対する感受性の増加あるいはメラトニン依存性の機能亢進があれば、PX処置によるその効果の顕在化、明瞭化が伴われ得るであろう。この考えを支持する実験結果として、培養下垂体細胞へのメラトニンの効果は定常状態では明らかでないが視床下部ホルモンにより活性化された状態では明瞭になることなどが知られている²²⁾。このように、松果体除去やメラトニンの作用は動物、器官あるいは細胞が定常状態にあるよりはむしろそれより偏位した状態、換言すればある種の負荷のかかった状態、においてしばしば明瞭になることは注目する必要がある。

一方、くも膜下出血は脳内の三叉神経核、孤束核、最後野などにおけるc-fosの発現²³⁾、血中バゾプレッシン濃度の上昇²⁴⁾、および脳血管攣縮²⁵⁾や脳浮腫^{24,26)}を引き起こすことが示唆されているが、SXを行った動物でも脳内毛細血管径が縮小し、また脳の水分含量が増加する事

が報告されている²⁷⁾。更にバゾプレッシンの血管内投与はSXのように大内臓神経の活動を低下させることも報告されている²⁸⁾。一方、PX動物ではこれらのSXによる影響が解消され²⁷⁾、バゾプレッシン産生細胞を含む視索上核の活動および血中バゾプレッシン濃度の上昇もまたPX動物でおさえられる事が報告されている²⁹⁾。これらの結果から、SXとPXの影響には一部バゾプレッシンが関与していることも示唆されるが、バゾプレッシンに関しては一方で矛盾する報告もあるので最終結論には今後の研究に待たなければならない。また、たとえSXという処置が必ずしも出血と結びついていないとしても、痛み、脳脊髄液量の変化を含む頭蓋内圧の変化、開頭部周辺の慢性的刺激や不快感等により細胞・組織に惹起される類似の定常状態から偏位した状態がメラトニンに対する感受性の亢進等を引き起こすことは充分考えられることであろう。

松果体ホルモンの脊髄ニューロンへの作用機序を考える場合、中枢神経系におけるメラトニン受容体の存在部位が重要と考えられるが、脊髄におけるメラトニン受容体の存在に関してはウサギでは中心灰白質に⁶⁾見出されているもののラットではこれまでのところ否定的である。従って今回の研究で見られたラットにおける松果体のIMLに対する影響はメラトニンの交感神経節前ニューロンへの直接作用ではなく、これに入力する脳にある上位自律中枢への影響を介する可能性が考えられよう。脳内のメラトニン受容体については齧歯類では視床下部の諸核、特に視交叉上核、視床室傍核、最後野等に存在する事が報告されている³⁰⁻³¹⁾。これらの部位よりは作用が弱いかもしれないが、更に上位の脳の新皮質や辺縁系に対してもメラトニンは作用を及ぼしていることが示唆されている²⁾。副腎髓質を神経支配する交感神経節前ニューロンは脳にある自律神経中枢からの神経性入力を受け、アミンやペプチド等種々の神経伝達・調節性物質がこれに関与すると推測されて

いる³²⁾が、これらの物質の機能的な意義は完全には解明されておらず、また、これらの物質あるいは神経性入力、それぞれSXや松果体ホルモンによってどのような影響を受けるかも謎である。一方、この副腎髓質への節前ニューロンの機能調節に関与している中枢神経性機構については不完全ながらも次第に解明が進みつつある。最近の研究によると、ウィルスを副腎に感染させて逆行性にラベルされた神経核は視床下部室傍核、A5群、縫線核、延髄吻側腹外側部、延髄腹内側部であったと報告されており³³⁾、更にこれらの部位以外にも、IMLへのHRP投与実験で孤束核も逆行性にラベルされることが報告されている³⁴⁾。以上の神経核が副腎の機能調節に比較的密接に関与していると推測されるが、これらの神経核ではメラトニン受容体の存在は報告されていないため、メラトニンは他の神経核に作用し、間接的に側角に影響を及ぼしていると推察される。

視床下部室傍核はバゾプレッシンとも関連が深く³⁵⁾、メラトニン投与によりグルコースの取り込みが増加し³⁶⁾、また多くの哺乳動物でメラトニン受容体の存在が報告されている視交叉上核と緊密な線維連結を有することが知られているので¹⁾、視床下部におけるこれら2つの神経核は松果体ホルモンが交感神経—副腎髓質系に作用を及ぼす際の脳内の主要な作用部位となっている可能性がある。またラットでメラトニン受容体が存在するとされる最後野の神経細胞は孤束核に投射し³⁷⁾、血圧の調節にも関与している³⁸⁾と考えられているが、孤束核は直接的あるいは延髄吻側腹外側部を介して間接的にもIMLに投射していることが明らかにされている⁹⁾。最後野の一部の神経細胞核は、今回の結果とは変化の方向が逆ではあるものの、SXで大きくなりPXでその亢進作用が消失するという反対効果という点では共通する変化が報告されており²⁷⁾、また最後野と線維連絡のある孤束核は、メラトニン投与によってグルコースの取り込みが増加し³⁶⁾、メラトニンによって活性化さ

れる部位でもある。これらのことから、今回の研究で認められた側角の神経細胞核の変化は少なくともその一部は最後野—孤束核と胸髄IMLの間に介在する、たぶん抑制性ニューロンを含む、神経性経路を経由してもたらされている可能性が考えられる。またメラトニン受容体を有する視床下部神経核より投射を受け、延髄腹外側部とも連絡する中心灰白質によって介される経路も、SXのような深部の侵害刺激と関連して交感神経—副腎髄質系の抑制を起し得ることが知られており⁹⁾、興味深い経路である。

いずれにしても、この研究は副腎髄質への交感神経節前線維の主要な源である第8胸髄側角ニューロンの細胞核に対して松果体ホルモンが明瞭な影響を及ぼしうることを明らかにした最初の報告である。

謝 辞

稿を終えるにあたり、研究に終始協力して頂いた鈴木孝夫講師に深謝致します。

文 献

- 1) Yu HS, Reiter RJ, editors. Melatonin Biosynthesis, Physiological Effects, and Clinical Applications. Boca Raton, : CRC Press ; 1993. p. 2-6, p. 18-20, p. 187-511.
- 2) Kachi T. Pineal actions on the autonomic system. Pineal Res Rev 1987 ; 5 : 217-63.
- 3) 伊藤真次, 熊谷 朗, 出村 博編. 情動とホルモン. 1版. 東京 : 中山書店 ; 1997. p. 223-48.
- 4) Kachi T, Takahashi G, Suzuki T, Kimura N, Yanagisawa M, Kajihara S, Kudo H. Relationship between pineal gland and adrenal medulla. In : Tang PL, Pang SF, Reiter RJ, editors. Melatonin : A Universal Photoperiodic Signal with Diverse Actions. Front Horm Res, 21. Basel : S. Karger ; 1996. p. 51-9.
- 5) Kachi T, Banerji TK, Quay WB. Daily rhythmic changes in synaptic vesicle contents of nerve endings on adrenomedullary adrenaline cells, and their modification by pinealectomy and sham operations. Neuroendocrinology 1979 ; 28 : 201-11.
- 6) Wan Q, Liao M, Brown GM, Pang SF. Localization and characterization of melatonin receptors in the rabbit spinal cord. Neurosci Lett 1996 ; 204 : 77-80.
- 7) Strack AM, Sawyer WB, Marubio LM, Loewy AD. Spinal origin of sympathetic preganglionic neurons in the rat. Brain Res 1988 ; 455 : 187-91.
- 8) Romijn HJ. Pineal, a tranquillizing organ? Life Sci 1978 ; 23 : 2257-74.
- 9) Blessing WW. The Lower Brainstem and Bodily Homeostasis. New York, Oxford : Oxford University Press ; 1997. p. 71-7, p. 219-23, p. 304-6.
- 10) 入江伴幸, 加地 隆. 胸髄中間質外側核に及ぼす頭蓋内対照手術と松果体除去の影響—神経細胞核径の計量組織学的検索. 日本解剖学会誌 1997 ; 72 : 467.
- 11) 入江伴幸, 加地 隆. 胸髄中間質外側核に及ぼす頭蓋内対照手術, 松果体除去及び連続照明の影響—神経細胞核径の計量組織学的検索. 日本解剖学会誌 1998 ; 73 : 407.
- 12) Rather LJ. The significance of nuclear size in physiological and pathological processes. Ergeb Allg Pathol Pathol Anat 1958 ; 38 : 127-99.
- 13) 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, 松果体ホルモンの影響. 弘前医学 1996 ; 48 : 139-47.
- 14) Kachi T, Takahashi G, Suzuki T, Kimura N, Banerji TK, Quay WB. Effects of pineal and intracranial surgery on the adrenal medulla : Quantitative morphological and immunohistochemical studies. In : Touitou Y, Arendt J, Pévet P, editors. Melatonin and the Pineal Gland—From Basic Science to Clinical Application. Amsterdam : Elsevier Science Publishers B. V. ; 1993. p. 277-80.
- 15) Lewis RV, Stern AS, Kilpatrick DL, Gerber LD, Rossier J, Stein S, Udenfriend S. Marked increases in large enkephalin-containing polypeptides in the rat adrenal gland following denervation. J Neurosci 1981 ; 1 : 80-2.
- 16) Cardinali DP, Golombek DA, Rosenstein RE, Cutrera RA, Esquifin AI. Melatonin site and mechanism of action : Single or multiple? J Pineal Res 1997 ; 23 : 32-9.
- 17) K.-Lafamme A, Wu L, Foucart S, de Champlain J. Impaired basal sympathetic tone and α_1 -adrenergic responsiveness in association with the hypotensive effect of melatonin in spontaneously hypertensive rats. Am J Hypertens 1998 ; 11 : 219-29.

- 18) Kachi T, Takahashi G, Suzuki T, Kimura N, Kajihara S, Kurushima M, Yamauchi T, Irie T. : Dynamic and versatile structures of adrenal medulla, related to pineal and surgery. In : Yagihashi S, Kachi T, Wakui M, editors. *Dynamic Cells : Cell Biology of the 21st Century*. Amsterdam : Elsevier Science B. V. ; 1998. p. 47-58.
- 19) Kachi T, Fujita M, Kanda M, Hamada K, Ueno T, Takei H, Yahara O, et al. Static and dynamic morphological studies of human pineal gland in neoplastic and systemic neurodegenerative disease cases and medico-legal autopsy cases. *Adv Pineal Res* 1989 ; 3 : 277-82.
- 20) Owens DW, Gern WA. The pineal gland and melatonin in sea turtles. In : Lofts B, Holmes WN, editors. *Current Trends in Comparative Endocrinology*. Hong Kong : Hong Kong University Press ; 1985. p. 645-8.
- 21) 久留島徹大, 加地 隆, 橋本聡子, 本間研一. 血中メラトニン濃度と松果体脂肪滴量の比較的研究— 1日時間と各種頭蓋内手術の影響. *日本解剖学会誌* 1997 ; 72 : 341.
- 22) Zemková H, Vanecek J. Inhibitory effect of melatonin on gonadotropin-releasing hormone-induced Ca^{2+} oscillations in pituitary cells of newborn rats. *Neuroendocrinology* 1997 ; 65 : 276-83.
- 23) Nozaki K, Boccalini P, Moskowitz MA. Expression of c-fos-like immunoreactivity in brainstem after meningeal irritation by blood in the subarachnoid space. *Neuroscience* 1992 ; 49 : 669-80.
- 24) Laszlo FA, Varga C, Doczi T. Cerebral oedema after subarachnoid haemorrhage. Pathogenetic significance of vasopressin. *Acta Neurochir Wien* 1995 ; 133 : 122-33.
- 25) Delgado TJ, Arbab MA, Warberg J, Svendgaard NA. The role of vasopressin in acute cerebral vasospasm. Effect on spasm of a vasopressin antagonist or vasopressin antiserum. *J Neurosurg* 1988 ; 68 : 266-73.
- 26) Doczi T, Laszlo FA, Szerdahelyi P, Joo F. Involvement of vasopressin in brain edema formation : further evidence obtained from the Brattleboro diabetes insipidus rat with experimental subarachnoid hemorrhage. *Neurosurgery* 1984 ; 14 : 436-41.
- 27) Kachi T, Takahashi G, Suzuki T, Kimura N, Kajihara S, Kurushima M, Yamauchi T, et al. Pineal effects on adrenal medulla, area postrema and brain water content in relation to intracranial surgery. *Biol Signals* 1997 ; 6 : 255-63.
- 28) Unger T, Rohmeiss P, Demmert G, Luft FC, Ganten D, Lang RE. Differential actions of neuronal and hormonal vasopressin on blood pressure and baroreceptor reflex sensitivity in rats. *J Cardiovasc Pharmacol* 1986 ; 8 : S81-6.
- 29) Windle RJ, Luckman SM, Stoughton RP, Forsling ML. The effect of pinealectomy on osmotically stimulated vasopressin and oxytocin release and Fos protein production within the hypothalamus of the rat. *J Neuroendocrinol* 1996 ; 8 : 747-53.
- 30) Weaver DR, Rivkees SA, Reppert SM. Localization and characterization of melatonin receptors in rodent brain by in vitro autoradiography. *J Neurosci* 1989 ; 9 : 2581-90.
- 31) Laitinen JT, Flügge G, Saavedra JM. Characterization of melatonin receptors in the rat area postrema : Modulation of affinity with cations and guanine nucleotides. *Neuroendocrinology* 1990 ; 51 : 619-24.
- 32) Holets V, Elde R. The differential distribution and relationship of serotonergic and peptidergic fibers to sympathoadrenal neurons in the intermediolateral cell column of the rat : A combined retrograde axonal transport and immunofluorescence study. *Neuroscience* 1982 ; 7 : 1155-74.
- 33) Strack AM, Sawyer WB, Platt KB, Loewy AD. CNS cell groups regulating the sympathetic outflow to adrenal gland as revealed by transneuronal cell body labeling with pseudorabies virus. *Brain Res* 1989 ; 491 : 274-96.
- 34) Amendt K, Czachurski J, Dembowski K, Seller H. Bulbosplinal projections to the intermediolateral cell column ; A neuroanatomical study. *J Auton Nerv Syst* 1979 ; 1 : 103-17.
- 35) Harris MC, Loewy AD. Neural regulation of vasopressin-containing hypothalamic neurons and the role of vasopressin in cardiovascular function. In : Loewy AD, Spyer KM, editors. *Central Regulation of Autonomic Functions*. New York, Oxford : Oxford University Press ; 1990. p. 224-46.
- 36) Vitte PA, Brun J, Lestage P, Claustrat B, Bobillier P. The effects of melatonin and pinealectomy upon local cerebral glucose utilization in awake unrestrained rats are restricted to a few specific regions. *Brain Res* 1989 ; 489 : 273-

- 82.
- 37) Leslie RA, Gwyn DG. Neuronal connections of the area postrema. *Fed Proc* 1984 ; 43 : 2941-3.
- 38) Ylitalo P, Karppanen H, Paasonen MK. Is the area postrema a control center of blood pressure? *Nature* 1974 ; 247 : 58-9.