

# 交感神経の肺内分布に関する研究 Falck-Hillarp の螢光法を応用して

京都大学結核胸部疾患研究所胸部外科学部（指導：教授 長石忠三・講師 佐川弥之助）

甲 斐 隆 義

## 緒 言

肺が神経支配を受けていることは古くから知られており、ことに自律神経系統が肺の諸機能に果している役割が多大なものであることが、形態学者のみならず、生理学者または薬理学者等により強調されていることは周知の通りである。

また、肺における自律神経の分布状態を的確に知ることが、形態学上のみならず、肺生理学上、就中、呼吸機能や肺循環機能の調節機構を解明する上で極めて重要なことは言を俟たない。

肺が交感系および副交感系の両植物神経によって支配されていることは既に立証されており議論の余地がないところであるが、この両系に属する神経線維は肺門にいたるに先立って複雑に吻合しており、肺内において両系の線維が肺のいずれの部位に、どのように分布しているかは、在来の研究法、就中、神経染色法を以てしては解明し得ず、いずれの研究結果をみても推測の域を脱していないといっても過言ではない。

しかしながら、近年になって、副交感神経等のコリン作働性神経線維は、それに含まれているコリンエステラーズの活性を組織化学的に証明することにより、その線維の分布状態を知り得るようになった<sup>1)</sup>。

他方、Scandinavia 学派が取り組み、Falck-

Hillarp により確立された螢光法<sup>2)</sup>は、組織内に含有されているカテコルアミンを細胞レベルで顕微鏡下に捉えることを可能ならしめた。

交感神経節後線維はアドレナリン作働性で、その中に化学伝達物質としてノルアドレナリンを高濃度に含有している。このノルアドレナリンを、Falck-Hillarp 法によって発螢光性化学物質に変化せしめると、螢光顕微鏡下に交感神経節後線維を螢光線維として観察することが可能となり、臓器における交感神経の分布を明らかにし得る。

そこで、著者はこの方法を応用して、肺における交感神経節後線維の分布状態を知ろうとした。

## I 実験材料

家兎およびモルモットの全肺、および、ヒトの切除予定肺葉の健常と思われる部分である。

## II 実験方法

### 1. 標本作成

家兎とモルモットとの場合は、30 mg/kg のペントバルビタールソーダで腹腔内注入麻酔を施し、気管切開下に気管内挿管をして、空気で至適気管内圧の下に調節呼吸を行なう。ついで、胸骨縦切開と上下左右4カ所の肋間切開とを併用して両側開胸を施し、両側肺を十分広く露出せしめる。

さらに、生理的血流を保持している肺を可及的生理的状态に近くまで膨脹するように調節呼吸を行なって、

吸気相において液体窒素を一気に全肺に注ぎかけて、肺を瞬間的に凍結せしめる。

ヒトの場合には、肺切除術の際、切除に先立ち、気管内圧を高めて膨脹せしめた状態で、切除予定の肺葉の中で健常と思われる部分に楔状に鉗子を二重にかけて鉗子の間をメスで切る。膨脹したままの状態の部分切除された肺を切除後直ちに液体窒素の中に浸漬する。

このようにして得られたヒトおよび動物の凍結肺を直ちに氷室に入れ、この中で予め冷却しておいた剃刀で約 5 mm 角大の大きさに切り、数個ずつガーゼにくるむ。これを、予め液体窒素で冷却しておいた標本格納槽に出来る丈早く移し、槽内に乾燥剤として  $P_2O_5$  を入れ、槽を真空凍結乾燥装置に接続する。

## 2. 凍結乾燥

その装置は、京大薬理学教室考案の山本製作所製真空凍結乾燥器<sup>36)</sup>で、その真空度を約  $5 \times 10^{-4}$  mmHg にまで下げ、格納槽をドライアイスで  $-40^\circ\text{C} \sim -35^\circ\text{C}$  に冷却したアセトンに浸す。

この開胸から凍結乾燥にいたる行程は可及的迅速に行なう必要がある。

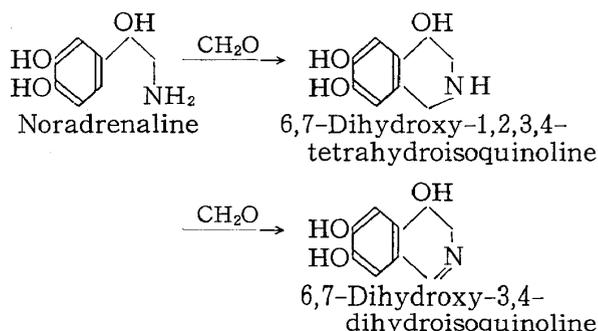
冷却用アセトンは、ドライアイスを適宜投入することによって、常に  $-40^\circ\text{C} \sim -35^\circ\text{C}$  に維持する。

凍結乾燥を5日間持続的に行ない、6日目に冷却用アセトンを除去して、1昼夜をかけて徐々に室温に戻し、7日目に徐々に平圧に戻す。

## 3. Paraformaldehyde-gas 処理

室温・平圧に戻した後、標本を凍結乾燥器より取り出して、可及的迅速に Paraformaldehyde を入れたガラス容器に移し、これを密閉して  $+80^\circ\text{C}$  に保つてあるオーヴンの中で1時間加温する。

加温により発生した Paraformaldehyde vapor は乾燥された組織の最深部まで十分滲透して、これをよく固定する。と同時に、paraformaldehyde は組織内に含有されるノルアドレナリンを、組織中の乾燥蛋白質が触媒的に働くことにより、酸化せしめて、以下に示すような化学変化により蛍光を発する物質へと変化せしめる。



## 4. 包埋

直ちに、 $60^\circ\text{C}$  に加温融解した固形パラフィンを入れた容器に標本を移し変え、この容器を前述の真空凍結乾燥器に接続して、この容器のみを  $+60^\circ\text{C}$  の温水で加温しつつ、30分間真空下でパラフィン包埋を施行する。真空中で行なうのはパラフィンを組織内に十分良く浸透させるためである。

## 5. 薄切、脱パラフィンおよび封入

このようにして得られたパラフィン包埋ブロック標本を  $6 \sim 15 \mu$  の厚さに薄切する。又、1個のブロック標本から少なくとも50枚の連続切片を作成する。

次に、非蛍光性載物ガラス上に薄切薄片を載せ、出来るだけ襞を伸ばし、ガラスを加温してパラフィンを一旦融解させた後、これを徐々に室温に戻す。こうすると切片はガラスに密着する。この上に Xylene と Entellan (Merck 社製) とを等量に混合した液を数滴々下した上、被覆ガラスで切片を被う。この操作により脱パラと封入とが同時に行ない得る。

## 6. 観察および撮影

Nikon 蛍光顕微鏡を用い、紫外光源として Toshiba 200 W 超高圧水銀灯を、又、光源一次側に BV 励起フィルター (Nikon)、光源二次側に中性フィルター、接眼側にはラッテン 2B と Y-51 各フィルターを夫々使用する。

観察のみの場合、位相差装置を装着し、切片を少し厚い目に作成すると、線維の走行や分布部位がよく観察できる。

写真撮影を行なう場合には、標本は出来るだけ薄く切る。カラーフィルムは富士カラー ASA 100 か Ektachrome high speed ASA 160 を用い、いずれを使用しても露出時間は3~4分間が必要である。白黒の場合は Kodak Tri X がよく、露出時間は60秒前後である。

自家蛍光が多いので、白黒写真の場合は必ずスケッチしておかなければならない。

なお、本論文中の一部の写真はカラスライドから反転したものを使用した。

## III 実験成績

蛍光法を応用する場合、標本は出来るかぎり新鮮なものでなければならぬので、ヒトの肺の場合は肺葉切除術の際に、切除に先立って標本を採取しなければならず、採取部位に自ら

制限が加えられる。したがって、ヒトの肺の肺門部附近から新鮮で、しかも生理的に近い状態で標本を採取し得ず、この部位の観察は出来なかった。

### 1) 肺内肺動脈

被験材料3種のいずれにおいても、螢光線維は内径  $100\ \mu$  の肺動脈にいたるまで豊富に認められた。すなわち、中膜筋層を有する所謂筋性肺動脈は肺門から最末梢にいたるまで全長にわたって螢光を示した。

先ず長軸に沿って観よう。

**写真1**のように、中膜の横輪平滑筋束がほぼ直角に横断されている血管の縦断面では、螢光線維は横断されて点状に配列されている。その存在部位は、後述する場合を除いて、すべて血管の外膜と中膜との境界面である。又、その配列は比較的等間隔で、 $30$ ないし  $40\ \mu$  の間隔を有している。

連続的に縦断して行って、断面が少し端の方に及ぶと、平滑筋線維が斜めに切断されて筋線維の走行がよく分ってくる。それを示したのが**写真2**で、ここでは螢光が糸屑状に見え、螢光線維が平滑筋とほぼ平行に走っている。これを見ると、螢光線維が恰も中膜の内層に入り込もうとしているかのように思われるが、**写真1**や血管横断面の写真等から、そうではないことが伺える。

血管の縦断の場合、血管の外側端近くで、ことに血管の外膜と中膜との境界面で切断されると、**写真3**のように、はっきりと網目状を呈する螢光線維叢が認められる。これを拡大したのが次の**写真4**で、膨隆部を持った比較的太い線維が中膜平滑筋線維とほぼ平行に走っており、それらより細い線維が分枝されて、これら大小の線維によって網目が形成されているのがよく分る。

次に、血管の横断面について検討してみると、断面の角度によって、**写真5**のように血管を取り囲むような線維が認められたり、**写真6**のように糸屑状の螢光が認められたり、あるいは**写真7**のように点状に配列された螢光が認め

られたりする。

この横断面においても縦断面におけると同様に、螢光は外/中膜境界面に存在し、その間隔も同じように  $30\sim 40\ \mu$  である。

先に述べたように、殆んどすべての標本で、螢光線維が中膜に入り込んでいる像を認めなかったが、ごく僅かのブロック標本から得た連続切片で、**写真8**に見られるような中膜の内部に貫入している螢光を認めた。しかし、その終末がどうなっているかを追求することは出来なかった。

なお、すべての標本で内膜や内膜下組織等には、この螢光を全く認めなかった。

### 2) 肺内気管支および気管支血管

気管支についても、被験動物3種のいずれにおいてもほぼ同様の知見が得られた。

軟骨輪を有する比較的太い気管支から観察を始めよう。

**写真9**は内径  $50\ \mu$  の気管支動脈を有する軟骨下組織である。この写真では、軟骨外側にある組織には全く螢光が認められない。しかし、他の標本からみて、全然無いのではなく、軟骨内側に比べて軟骨外側には螢光はかなり少ないという結果を得ている。

軟骨内側で最も目立つ処は気管支血管壁である。この血管は大循環系に属するものであり、大循環系の動脈が直径  $25\sim 30\ \mu$  の細動脈にいたるまで豊富に交感神経支配を受けているという報告<sup>36)</sup>と合致する。

気管支壁で螢光が次いで多く認められるのは気管支平滑筋層である。内輪筋、外縦筋両者共にほぼ同等の螢光線維の存在を提示している。血管平滑筋と異なり、気管支筋層においてはその内部にいたる所に螢光が認められる。

**写真10**は**写真9**と同じ気管支の膜様部であるが、ここでも気管支血管周囲が目立ち、又、写真の右端でわかるように平滑筋と血管周囲との間に螢光がまたがって存在している。

次に軟骨片を島状に有している気管支について観ると**写真11**のように内径  $700\ \mu$  の気管支であるが、これでも気管支血管周囲が目立ち、そ

の半周が螢光で取り巻かれている。又、平滑筋にもその内部および内外両側縁に螢光が豊富に存在している。

**写真12**は粘膜下組織における螢光を、**写真13**および**写真14**は  $30\mu$  の気管支血管と粘膜下組織との螢光を示している。

**写真15**は軟骨を全く失った内径  $250\mu$  の細気管支で、その周囲を螢光線維が圍繞している。この写真に2本に分岐した内径約  $100\mu$  の肺動脈があるが、これらには螢光が認められない。その反面、次の**写真16**に見られるように、太い肺動脈 ( $1000\mu$ ) 壁には豊富に認められるが、それに随伴する気管支壁には螢光が僅かしか認められない。**写真17**では気管支と肺動脈の相方にはほぼ同じ程度に認められる。**写真18**は  $400\mu$  の肺動脈とそれに随伴する半分虚脱した気管支であるが、螢光線維は両者にまたがって存在している。**写真19**は  $150\mu$  の気管支と  $150\mu$  およびこれから分枝された  $100\mu$  の肺動脈であるが、螢光は肺動脈の方に多く、又、気管支と肺動脈とがある程度隔たっている処では夫々別個に螢光が存在するが、両者が密着している処ではいずれに属するのか判然としない螢光が認められる。

一般に、気管支血管壁を除いて考えると、螢光線維は気管支壁より肺動脈壁の方に多く分布している。又、両者の間は多くの交通枝によって互いに吻合合っている。

### 3) 肺内肺静脈

肺静脈に関しては動脈の種類および血管の太さによって非常に差がある。

すなわち、ヒトおよびモルモットの細い静脈において螢光が認められたのに対して、家兎の肺静脈では全く見出されなかった。又、ヒトやモルモットでも肺門に近い比較的太い肺静脈では螢光を認め得なかった。

**写真20**はモルモットの内径  $150\mu$  の肺静脈で4ヶの点状螢光が認められる。**写真21**もモルモットの内径  $150\mu$  の静脈であるが、これでは線維状の螢光が認められ、分岐している線維も認められる。**写真22**はヒトの内径  $150\mu$  の肺静脈

である。

肺静脈の螢光の分布は肺動脈のそれに比べて非常に疎であるが、肺動脈周囲と同じように叢を形成している。又、肺静脈の中膜は肺動脈のそれに比べて非常に薄いので、螢光の分布部位を明確に写真で示すことは出来なかったが、位相差装置により、肺動脈におけると同じ部位であることを確認している。

## IV 綜括ならびに考按

肺にいたる交感神経は交感神経幹の上・中・下各頸部神経節および第1、稀には第2胸部神経節(下頸部および第1、時には第2胸部神経節は癒合して星状神経節を形成する)に由来する。

一方、副交感神経は迷走神経に由来する。これら両系の神経線維は肺門部に達するまでに各交感神経節と迷走神経の頸静脈神経節や節状神経節との間にすでに多数の交通枝が存在し、心臓肺神経叢に至っては一層複雑に吻合していることは周知のとおりである。

肺門で前後両肺神経叢を形成したのち、神経線維束は気管支や肺血管に随伴して肺内に進入するのであるが、上述のように、肺神経叢に達するまでに交感・副交感両系の線維は複雑に吻合しているので、特異的な神経染色法を以て証明しないかぎり、肺内において交感あるいは副交感神経がどのように、どの部位に、あるいは、いずれが優位に分布しているのか等を正確に知ることはできない。したがって現在に至るまで、各成書あるいは各文献における植物神経線維の分布云々は、憶測にすぎなかったと言っても過言ではあるまい。

すなわち、線維が有髄であるか無髄であるか、太いか細いか、ノイロンの中継部位が支配下組織に近いか遠いか、あるいは、神経終末がどのような形態をとっているか等々によって、知覚性か運動性か、あるいは遠心性か求心性か等を区別して来た。又、生理学的に諸処で神経切断あるいは神経刺激等を加えることにより、あるいは薬理的に神経遮断剤等を用いること

等によって、その所属を決定して来た<sup>4~28,30)</sup>。

一方、在来の神経染色法は、鍍銀法やメチレンブルー生体染色法でさえ、弾力線維を神経線維と誤認するという危険すらはらんでいると言われている<sup>32)</sup>。

さらに、神経支配を受けている気管支や肺血管等の直径が計測されているが、肺は弾力性に富み、しかも、気管支や血管等はトーンズを持っているので、肺の摘出法や標本の作成法等によって計測値は如何ようにも変動するという問題も生じてくる。

以下、これらの諸点について、著者の採用した方法を中心として論ずることとする。

### 1. サンプリングの方法について

従来、肺の切除標本は、通常、被験動物を屠殺したのち開胸して、虚脱した肺から求めていた。又、原形に近い状態で観察する場合には、気道あるいは(および)血管より固定液を注入して肺を膨脹せしめて行なってきた。

しかし、こういう方法によっては、肺胞および気管支あるいは肺血管等は虚脱しており、生理的な状態においてさえ、換気あるいは肺血流は肺の部位によって不均等であるから、固定液の注入で肺を膨脹せしめたとしてもそれは生理的状态には程遠く、したがって血管や気管支等の径を正確な値として出すことは出来ない。

一方、組織化学的検索を行なうにあたっては、被験材料は出来得るかぎり新鮮なもので行なければならない。ことに螢光法の場合、ヒトの材料に行なう時には、手術的に臓器の切除を終えたのち本法を応用してもなかなか良い結果が得られないと言われている<sup>33)</sup>。

こういう諸点を鑑みて、著者は、可及的新鮮で、かつ、可及的生理的に近い状態で観察しなければならないと考え、先に述べたように急速冷凍法<sup>34,35)</sup>を応用したのであるが、本法でも気管内加圧という避けられない欠点があり、さらに本法の改良が望まれる。

さて、凍結せしめたまま直ちに凍結乾燥せしめるのであるが、膨脹した状態にあるので、凍結乾燥終了後、パラフォルムアルデハイドによ

る組織固定と真空下でのパラフィン包埋とが肺組織の最深部まで非常に良好に行なえるが、一方、肺の場合、実質より間隙の方が多いのでミクロームによる薄切が難かしく、又、脱パラフィン操作の際、薄切切片が破砕されたり重畳したりして原形を保つことが困難であるという欠点をも持っている。

しかし、薄切後、切片を載物ガラス上に出来るだけ襞を伸ばして載せ、ガラスを加温してパラフィンを一旦融解せしめてのち、室温に放置しておく、切片はガラスに密着する。切片の上にエンテラン(Merck社)とキシレンの等量混合液を2, 3滴々下して被覆ガラスで被うと脱パラと封入とが同時に行なえ、しかも、前述の欠点が補なえて、組織の破壊変形が最小限度に抑えられる。

### 2. 螢光法について

本法の原理は前述したのでここでは省略するが、本法の組織内における化学反応は、CorrodiとHillarpら<sup>37)</sup>のモデル実験で解明され、本法が組織内カテコルアミンを証明するのに非常に感度が高く、就中、神経組織に應用されると、神経線維中の螢光すなわち化学伝達物質の一つであるノルアドレナリンであり、その分布部位すなわち交感神経節後線維である、と言ってもいいことは明らかにされている<sup>31,36)</sup>。

### 3. 交感神経の肺内分布について

肺神経叢に参錯した交感神経節後線維が、気管支や肺動静脈に沿って肺内に進入するという事は、Braeucker<sup>13)</sup>が記載し、新らしくはSpencer & Leof<sup>29)</sup>, Fisher<sup>31)</sup>やDaly & Hebb<sup>32)</sup>に至るまで諸家によって発表されており、螢光法による著者の結果でもこれらの事実とよく一致している。

以下、肺動脈、気管支および気管支血管、肺静脈にわけ、著者の得た結果を既存の文献を参考としつつ考えていくこととする。

#### 1) 肺動脈

肺動脈に関しては、被験動物3種、すなわち、ヒト、モルモットおよび家兎のいずれにお

いても同じ結果が得られた。

すなわち、螢光線維は肺動脈の外膜と中膜との境界面を螺旋状に圍繞し、比較的太い線維は血管とほぼ直交するように、中膜平滑筋束とはほぼ平行するようにして走り、その間隔は 30~40  $\mu$  で比較的均等である。この太いものからより細い線維がわかれ、太い線維と細いものとで網目を形成している。

これらの線維の分布密度は血管が末梢に向かうにつれて薄くなり、内径 100  $\mu$  を境として、これより末梢の動脈および毛細血管には螢光線維は全く認められない。

肺動脈壁における交感神経の分布部位は、前述のように殆んどすべて外膜・中膜境界面であるが、ごく一部の線維は中膜筋層内部に進入している。しかし、内皮下組織や内皮には全然存在しない。

肺動脈における植物神経の分布に関して古くから多くの研究がなされている<sup>4,9-14,16,17,19,20,23,26,27,29,31</sup>が、それらの分布が主として中膜と外膜との境に接して認められることは一応定説とされ、今述べた例外をのぞいて、螢光法による結果とも一致している。

しかし、Ponzio<sup>9</sup>、Larsell<sup>12</sup>、Larsell & Dow<sup>19</sup>、長石<sup>27</sup>等は、前毛細管動物はおろか、毛細管でさえもかなり豊かに植物神経の支配を受けいと述べ、Ponzio<sup>9</sup>はさらに血管内皮細胞も神経線維でとりまかれていると言っているが、これらは弾力線維と見違えたのか、標本作成に欠陥があったのか、あるいはコリン作働性線維であったのか、結論は下せないが、少なくとも螢光法によっては、こういう部位に螢光線維は全く存在しなかった。

長石他<sup>27</sup>の Bielschowsky-Gros 染色法、Spencer-Leof<sup>29</sup>のメチレンブルー染色法、Fisher<sup>31</sup>の応用した諸方法、あるいは Daly と Hebb<sup>32</sup>のとった方法等による結果では神経線維が内皮細胞までは達していないことが次第に明らかにされて来た。

さて、一般に神経線維は肺動脈より気管支において量的に多いとされているが、これは有髓線維が気管支壁により多いためであると考えら

れる。軟骨を有する気管支壁では全層にわたって見ると螢光線維は随伴する肺動脈の壁のそれを凌駕しているが、軟骨を失った気管支では、螢光はむしろ肺動脈より少なく、この所見は諸家の結果と合致しない。

又、Molhant<sup>8</sup>等が述べているように、神経切断等の変性実験によるデータからは気管支平滑筋等に分布する無髓線維は主として迷走神経性であると言われているが、螢光法による結果では交感神経も亦決して少なくない。

次に、肺動脈と気管支動脈とを比べてみると、著者の成績では、後者の方がはるかに多くの交感神経支配を受けており、この所見は滝野<sup>16</sup>が述べた肺循環系の血管運動神経支配は大循環のそれに比べて貧弱であるという事実とよく一致している。しかし、肺の神経支配に関して詳細に検討した Sunder-Plassmann<sup>12</sup>の肺動脈の神経支配は大循環系血管のそれに比べて何ら遜色はないという所見とは一致しない。

## 2) 気管支および気管支血管

気管支周囲神経叢は、軟骨を有する気管支では軟骨内側および外側神経叢の二つに大別されるが、軟骨を失った細い気管支ではこれらは一体となっている。

著者のみだ螢光線維の場合でもこれと同じことが言い得る。しかし、在来の染色法による結果と非常に異なる点は、螢光法では螢光線維が軟骨外側より軟骨内側においてはるかに優位であったのに対して、在来の染色法によれば、軟骨外側神経叢の方が内側神経叢を量的にはるかに優位であるという全く逆であることである。

このことは、軟骨外側神経叢において有髓線維が無髓線維より多く、又、無髓の中でも、この神経叢にある神経節に由来する副交感性節後線維が多いということを検討するとうなずけることである。

さて、螢光法によると、気管支壁で最も目立つものは気管支血管である。

大循環系の動脈は直径 15  $\mu$  の細動脈にいたるまで豊富に交感神経支配を受けていると、同じように螢光法によって藤原<sup>36</sup>が述べてい

るが、大循環系に属する気管支動脈が豊かな螢光を示すことは何ら異存のないところであろう。

しかし、この気管支血管の神経が、他の臓器ないし組織に分布する大循環系の血管と同じように大動脈の単なる一分枝として、大動脈周囲神経叢に由来しているのか、あるいは、肺の諸機能に關与する気管支や肺動脈と同じレベルで心肺神経叢に由来しているのかは明らかにし得ず、今後さらに追究しなければならない問題であろう。

さらに、軟骨内側において、螢光は、内輪外縦を問わず、気管支平滑筋層の内部にまで豊富に存在しており、その走行に余り規則性はない。この点、肺血管壁の螢光の殆んどすべてが平滑筋層内に進入して行かないのと所見を異にしている。

粘膜下組織にも比較的豊富に螢光が認められるが、これは、Berkley<sup>4)</sup>、Ponzio<sup>9)</sup>、Glaser<sup>14)</sup>、滝野<sup>16)</sup>や長石<sup>27)</sup>等のいう上皮下神経叢に相当するものであろう。

気管支平滑筋の螢光線維や粘膜下組織のそれ等と気管支血管周囲神経叢との間には多数の吻合が認められ、特に粘膜下組織においては螢光線維の大半が後者に由来しているのではないかとの印象を受けるほどであった。このことはSpencerとLeof<sup>29)</sup>が気管支壁の細い神経線維は、運動性で、その大多数が気管支筋層に終り、ごく少数は気管支腺に、その残りは血管に沿って固有層に終ると述べていることと似通っているが、著者の結果で、気管支腺の螢光は明らかでなく、又、気管支血管に沿う螢光線維は非常に多いという点で異なる。

気管支が次第に末梢に行き、軟骨組織を失うようになると、粘膜下組織の螢光は次第に乏しくなり、やがては殆んど認められなくなる。すなわち、一体となった気管支周囲神経叢がみられ、これは主として気管支平滑筋を支配しているように思われる。この辺りになると、螢光線維の数は肺動脈よりむしろ少なくなってくる。

又、気管支周囲神経叢と肺動脈周囲神経叢との間には非常に多くの吻合が認められるので、

形態上は別個の神経叢を形成しているが、機能上は一体で気管支—肺動脈神経叢と言っても良いのではなかろうかと考えられる。

### 3) 肺 静 脈

肺静脈における螢光線維は動物の種類によって大きな差があり、家兎においてはこれを全く認めなかった。

又、ヒトやモルモットにおいても螢光が認められたとはいっても肺動脈に比べるとその分布は非常に少ない。

しかし、その存在部位は肺動脈におけると同様で、外膜と中膜の境界面である。肺静脈の場合、中膜平滑筋層は非常に薄く、肺動脈で認められたような筋層内に進入している線維を見出すことは出来なかった。

内径が500 $\mu$ を越える太い肺静脈では螢光が殆んど認められず、300 $\mu$ 以下の末梢側で初めて確認され、しかも、その線維数が非常に少ないということは、肺静脈においては交感神経節後線維の分布が非常に疎なものであることを物語っている。

しかし、細い肺静脈でも内径100 $\mu$ がより小さくなると肺動脈と同様に全く螢光が認められない。

肺静脈の植物神経が肺動脈のそれに比べて量的に少ないことは、Berkley<sup>4)</sup>、Larsell等<sup>10~12,19)</sup>、Glaser<sup>14)</sup>、滝野等<sup>16,17,20)</sup>、Elftman<sup>24)</sup>や長石<sup>27)</sup>等がすでに述べているが、著者の結果もこれとよく一致している。

又、滝野等<sup>16,17,20)</sup>は、肺静脈の血管運動神経は肺門部の太いところで豊富であり、血管が末梢に行くにつれて急激に減少していると述べており、さらに、彼等は家兎の肺静脈においても血管運動神経を認めているが、これらの点は螢光法で得た著者の結果とは全く逆である。彼等の言う血管運動神経の分布が事実だとするならば、それはコリン作働性植物神経であろうと考えられる。

肺内において肺静脈が肺動脈や気管支とかなり隔って走っているという解剖学的位置関係、および、前者と後二者との間に存在する肺実質

に螢光が全く認められなかったという点とを合わせ考えると、肺静脈神経叢は解剖学的にも機能上においても一つの独立した神経叢ではないかと考えられる。

## 結 言

液体窒素による急速凍結法と Falck-Hillarp の螢光法とを併用して、家兎、モルモットおよびヒトについて肺内における交感神経節後線維の分布を検討し、次のような結論を得た。

1. 肺の標本を採取するのに急速凍結法を応用すると、可及的に生理的な状態でその形態を知ることが出来る。

2. さらに、得た凍結標本に凍結乾燥を施すとパラフォルムアルデハイドによる組織の固定と、真空下で行ないさえすると、パラフィン包埋とを非常にうまく仕上げることができて原形を壊すことがない。

これらの方法は、螢光法のみならず、他の染色法にも応用し得、美しい染色標本を作ることができるので、操作はやや煩雑であるが是非試みるべきであろう。

3. 肺内における交感神経節後線維の分布は次の通りである。

1) 肺内肺動脈においては、螢光線維すなわち交感神経線維は、随伴する気管支のそれと多数の交通枝を分かち合いながら、比較的太い線維が血管の外膜と中膜との境界面を  $30\sim 40\mu$  の等間隔で螺旋状に圍繞し、その途中で、より細い枝を分かって、太いものと細いものとで網目を形成して末梢に向かっていく。

又、螢光線維は筋性動脈全ての周囲に豊富に認められ、内径  $100\mu$  を境として、これより細い前毛細管動脈や毛細血管には螢光は全く認められなかった。

2) 気管支壁において、軟骨の存在する部位では軟骨内外両側に螢光を認めるが、外側は内側に比べると遙かにその分布が乏しい。軟骨内側においては、気管支血管周囲に螢光が最も顕著にみられ、内径  $30\mu$  のものにまで認められた。さらに、平滑筋層がこれに次ぎ、粘膜下組

織にもかなりの螢光が認められた。

気管支動脈神経叢と平滑筋層および粘膜下組織の螢光線維との間には多数の吻合が認められ、ことに粘膜下組織はあたかも気管支動脈周囲神経叢によって支配されているかのごとき観を呈した。

気管支上皮には螢光は全く認められず、気管支腺については明らかにし得なかった。

さらに、軟骨を失う細い気管支においては、螢光線維も気管支周囲神経叢を形成し、主に平滑筋を支配し、粘膜下組織に分布するものは気管支が細くなるにつれて減少する。

気管支周囲神経叢と肺動脈周囲神経叢とを比較すると、太い処では気管支壁の方に螢光が多く、細い処ではむしろ肺動脈壁の方が凌駕する。

又、両者の間には非常に多くの交通枝が見られ、形態的には別個の神経叢であるが、機能的には両者は一体のものではないかと考えられた。

3) 肺静脈における螢光線維は、ヒトおよびモルモットで認められたが、家兎では螢光が全く認められなかった。

又、ヒトおよびモルモットにおいても、肺動脈に比べるとその分布は非常に少なく、 $500\mu$  をこえる太い血管では螢光を殆んど認めることができず、 $300\mu$  の肺静脈にいたって初めて螢光が確認された。

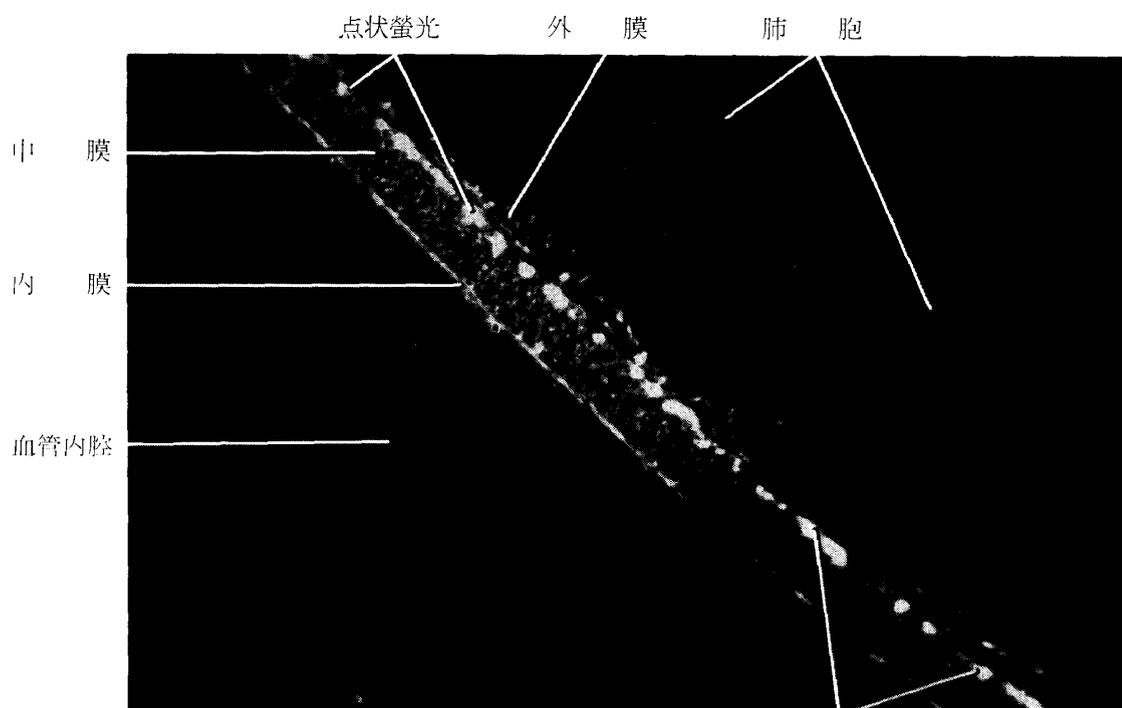
さらに、肺静脈周囲神経叢は、肺静脈が肺動脈や気管支とかなり離れた走行をとっているという解剖学的な位置関係や、前者と後二者の間にある肺実質に螢光が全く認められないという観点から推して、肺動脈周囲神経叢や気管支周囲神経叢とは吻合枝を持たない独立した神経叢であろうということが推測される。

稿を終るにのぞみ、本研究に終始御懇篤な御指導と御校閲とを賜った長石忠三教授、佐川弥之助講師に、ならびに螢光法に関して多大なる御指導を賜った京都大学薬理学教室島本暉郎教授、藤原元始助教授、無量林堯氏に深く感謝致します。

## 参 考 文 献

- 1) Koelle, G. B. : The elimination of enzymatic diffusion artifacts in the histochemical localization of cholinesterases and a survey of their cellular distributions, *J. Pharmacol.*, 103 : 153, 1951.
- 2) Falck, B., et al. : Fluorescence of catecholamines and related compounds condensed with formaldehyde, *J. Histochem. Cytocchem.*, 10 : 348, 1962.
- 3) Falck, B. : Observations on the possibilities of the cellular localization of monoamines by a fluorescence method, *Acta Physiol. Scand.*, 56 (Suppl.) : 197, 1962.
- 4) Berkley, H. : The intrinsic pulmonary nerves in mammals, *John Hopkins Hosp. Reports*, 4 : 72, 1894.
- 5) 池上馨一, 八木田九一郎 : Über den Ursprung des Lungenvagus, *岡山医学雑誌*, 206 : 1, 1907.
- 6) Müller, L. R. : Beiträge zur Anatomie, Histologie und Pathologie des Vagus, zugleich des Herzens, der Bronchen und des Magens, *Deutsch. Arch. Klin. Med.*, 101 : 421, 1910.
- 7) Möllgaard, H. : Studien über das respiratorische Nervensystem bei den Wirbeltiere, *Acta Physiol. Scand.*, 26 : 315, 1912.
- 8) Molhant, M. : Le nerv vague ; étude anatomique et experimentale : Le ganglions périphérique du vague, *Nervaxé, Louvain*, 14, 15 : 521, 1913. (長石他(27)より引用)
- 9) Ponzio, F. : Le terminazion nervore nel pulmone. *Anat. anz.*, 28 : 74, 1916. (長石他(27)より引用)
- 10) Larsell, O. : Nerve terminations in the lung of rabbit, *J. comp. neur.*, 33 : 105, 1921.
- 11) Larsell, O. & Mason, M. L. : Experimental degeneration of the vagus nerve termination in the lung of rabbit, *J. comp. neur.*, 33 : 509, 1921.
- 12) Larsell, O. : The ganglia, plexuses, and nerve terminations of the mammalian lung and pleura pulmonalis, *J. comp. neur.*, 35 : 97, 1923.
- 13) Braeucker, W. : Der Brustteil des vegetativen Nervensystems und seine klinisch-chirurgische Bedeutung, *Beitr. Klin. Tbk.*, 66 : 1, 1927.
- 14a) Glaser, W. : Die Nerven der Blutgefäße in der Lunge, *Z. Anat.*, 83: 327, 1927.
- 14b) Glaser, W. : Die Nerven in der Bronchienwand, *Z. Anat.*, 83 : 382, 1927.
- 15) Daly, I. de B. & Euler, U.S. v. : The functional activity of the vasomotor nerves to the lungs of the dog, *Proc. Roy. Soc. B.*, 110 : 92, 1932.
- 16a) Takino, M. : Über die Innervation der Lungengefäßswand, besonders über das Vorkommen der Ganglienzellen an der Gefäßswand der Venae pulmonales und über die Verbreitungszustände der Lungengefäßnerven bei der Fledermaus. 1, *Act. Schol. Med. Univ. Kioto*, 15 : 330, 1932.
- 16b) Takino, M. : Über die Innervation der Blutgefäße der Lunge beim Vogel besonders über das Vorkommen der Ganglienzellen in oder an der Wand der Venae und Arteriae pulmonales und über die Verbreitung der Blutgefäßsnerven dasselbst. 2, *Acta Schol. Med. Univ. Kioto*, 15 : 308, 1932.
- 16c) Takino, M. : Vergleichende Studien über die histologische Struktur der A. und V. pulmonalis, die Blutgefäßsnerven der Lunge und die Nerven der Bronchien bei verschiedenen Tierarten, besonders die Beziehung der Blutgefäßsnerven zu den glatten Muskeln der Blutgefäße. 3, *Acta Schol. Med. Univ. Kioto*, 15 : 321, 1932.
- 17) Takino, M. & Ezaki, Y. : Über die Besonderheiten der Arteriae und Venae pulmonales bei verschiedenen Tiere, besonders beim Menschen. 4, *Acta Schol. Med. Univ. Kioto*, 17 : 1, 1934.
- 18) Gaylor, J. B. : Intrinsic nerve mechanism of the human lung, *Brain*, 57 : 143, 1934.
- 19) Larsell, O. & Dow, R. S. : The innervation of the human lung, *Am. J. Anat.*, 52 : 135, 1935.
- 20) Takino, M. & Watanabe, S. : Über das Vorkommen der Ganglienzellen vom unipo-

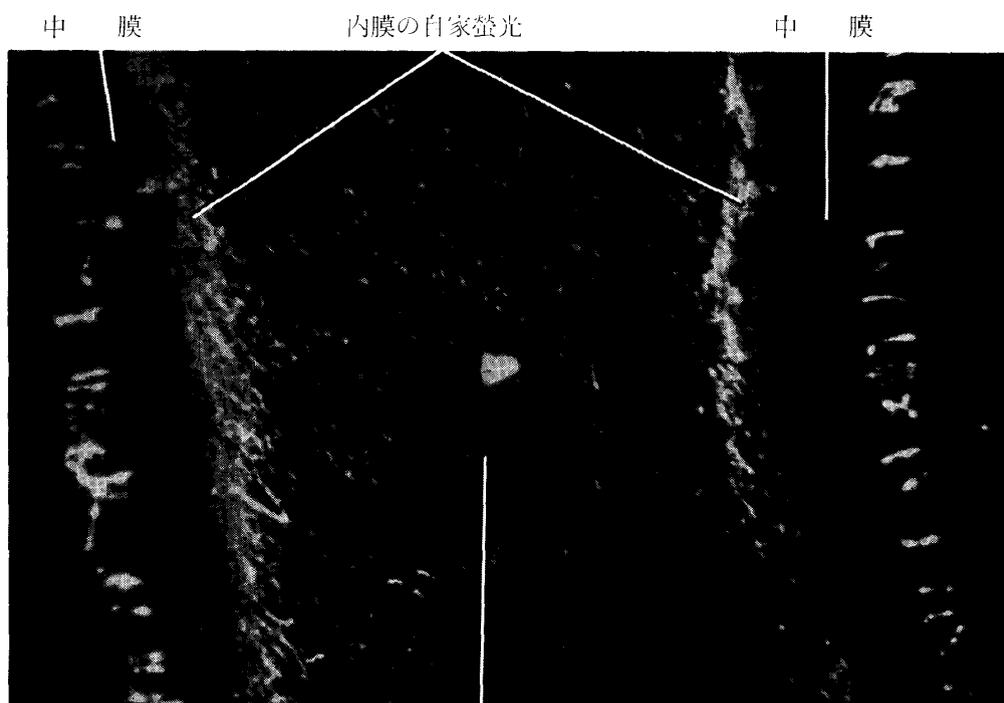
- laren Typus in der Lunge des Menschen und Schweins, Acta Schol. Med. Univ. Kioto, 19 : 308, 1936.
- 21) Sunder-Plassmann, P. : Der Nervenapparat der menschlichen Lungen, Dtsch. Z. Chir., 250 : 705, 1938.
- 22) Bronkhorst, W. & Dijkstra, C. : Das neuromuskuläre System der Lunge. Anatomische und physiologische Untersuchungen über die Lungenmuskulatur und ihre Bedeutung für die Klinik der Tuberkulose, Beitr. Klin. Tbk., 94 : 445, 1940.
- 23) Dijkstra, C. : Über die Innervation der Lunge, Beitr. Klin. Tbk., 92 : 445, 1939.
- 24) Elftman, A. G. : The afferent and parasympathetic innervation of the lungs and trachea of the dog, Am. J. Anat., 72 : 1, 1943.
- 25) 呉 健, 沖中重雄 : 自律神経系, 総論・各論, 医書出版, 東京, 1950.
- 26) Honjin, R. : On the nerve supply of the lung of the mouse with special reference to the structure of the peripheral vegetative nervous system, J. comp. neurol., 105 : 587, 1943.
- 27) 長石忠三他 : 肺 その構造, 下巻, 第4篇 肺の神経系, 医学書院, 東京, 1958.
- 28) Widdicombe, J. G. : Regulation of tracheobronchial smooth muscle, Physiol. Rev., 43 : 1, 1963.
- 29) Spencer, H. & Leaf, D. : The innervation of the human lung, J. Anat. Lond., 98 : 599, 1964.
- 30) Olsen, C. R. et al. : Motor control of pulmonary airways studied by nerve stimulation, J. appl. Physiol., 20 : 202, 1965.
- 31) Fisher A. W. F. : The intrinsic innervation of the pulmonary vessels, Acta anat., 60 : 481, 1965.
- 32) Daly, I. D. B. & Hebb, C. : Pulmonary and bronchial vascular systems. EDWARD ARNOLD LTD, LONDON, 1966, pp. 89.
- 33) 大串直太 (京大第2外科) : 個人的交見.
- 34) Staub, N. C. & Storey, W. F. : Relation between morphological events in lungs studied by rapid freezing, J. appl. Physiol., 17 : 387, 1962.
- 35) 佐川弥之助 : 生体臓器の急速冷凍法とこれを応用した迷走神経肺水腫の研究, 胸部疾患, 8 : 1186, 1964.
- 36) 藤原元始 : 螢光法によるカテコルミンおよびセロトニンの組織化学的検出 — その方法と応用, 最新医学, 22 : 100, 1967.
- 37) Corrodi, H. & Jonsson, G. : Fluorescence method for the histochemical demonstration of monoamines, 4. Histochemical differentiation between dopamine and noradrenaline in models, J. Histochem. Cytochem., 13 : 484, 1965.



家 兔 内径  $1000\mu$  の肺動脈  
外膜と中膜との境界面に、点状に配列した蛍光が認められる

写真 1

×100

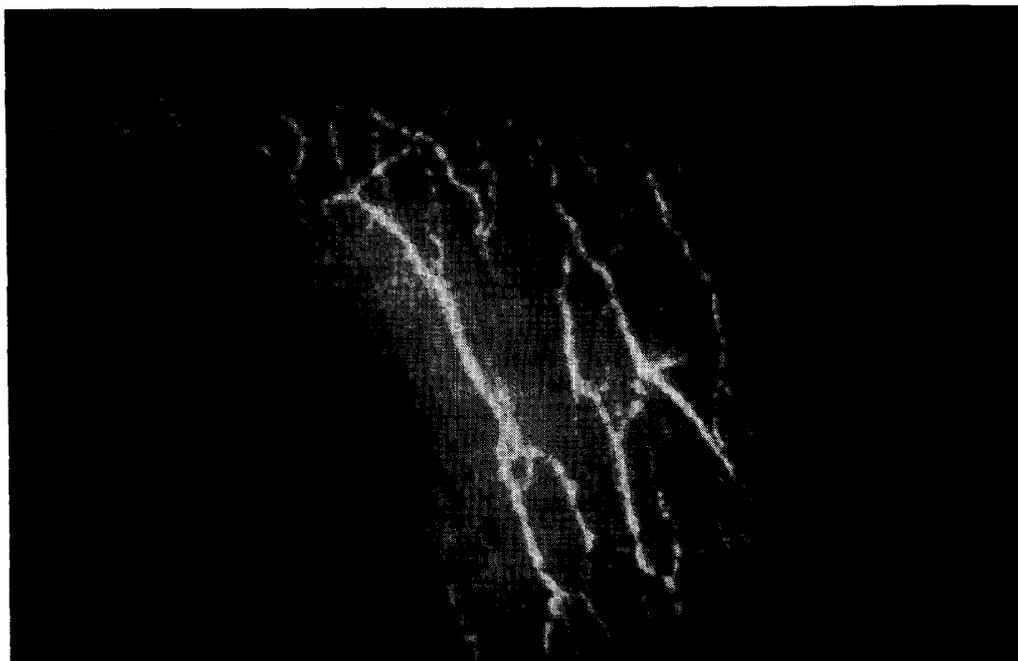


血球で充満された血管内腔

家 兔 内径  $1000\mu$  の肺動脈縦断面

写真 2

×100



家 兎 内径 1000  $\mu$  の肺動脈  
彎曲して走っている血管の縦断面の外・中膜境界面

写真 3

×100

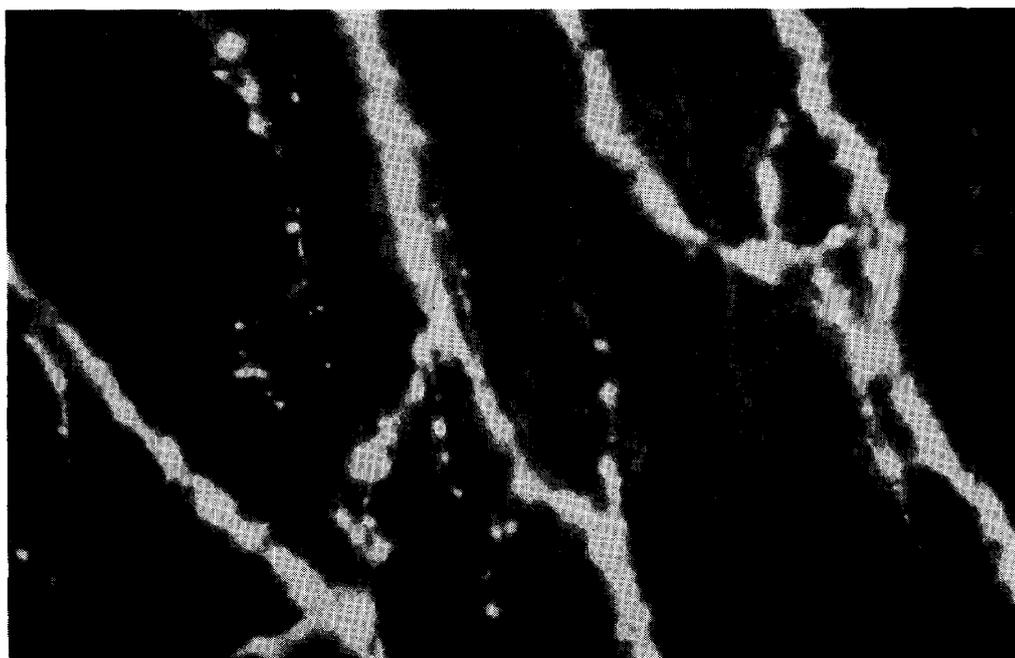
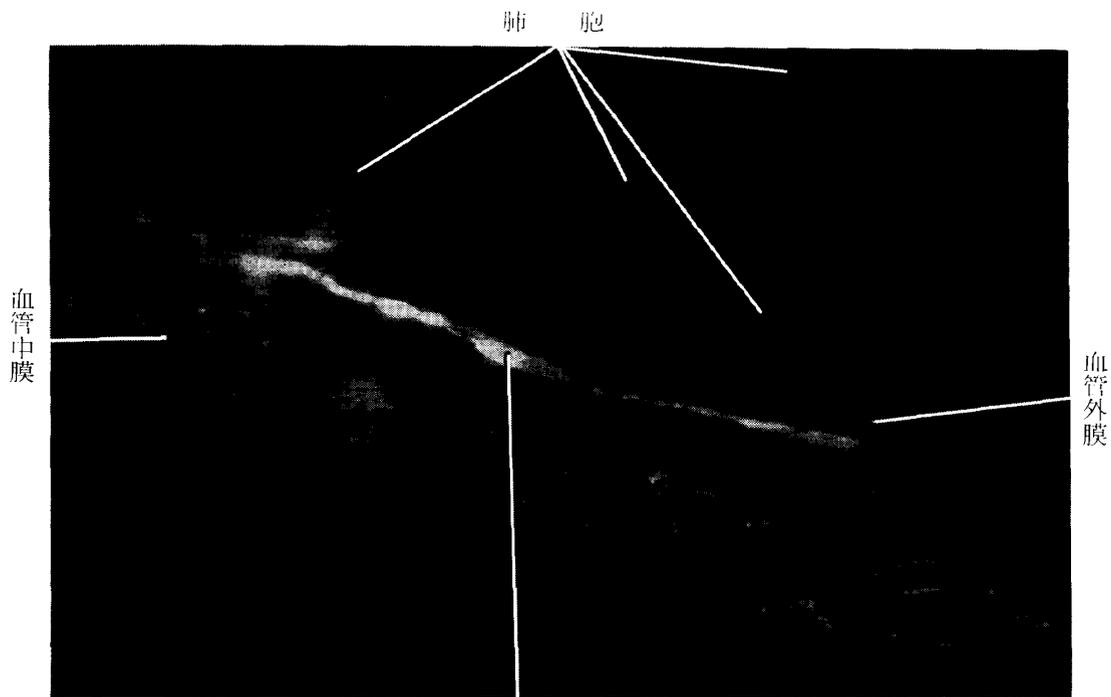


写真3の拡大写真

写真 4

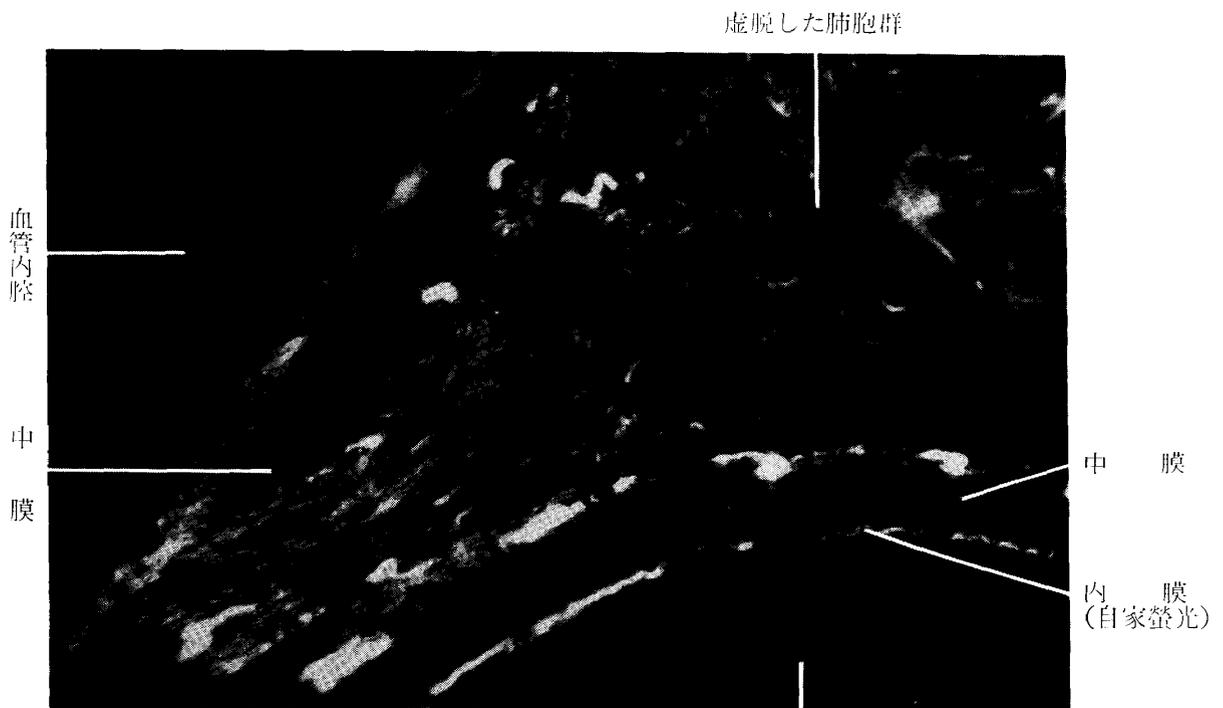
×400



蛍光線維  
 ヒトの肺動脈 (約 700  $\mu$ )  
 横断面の蛍光線維

写真 5

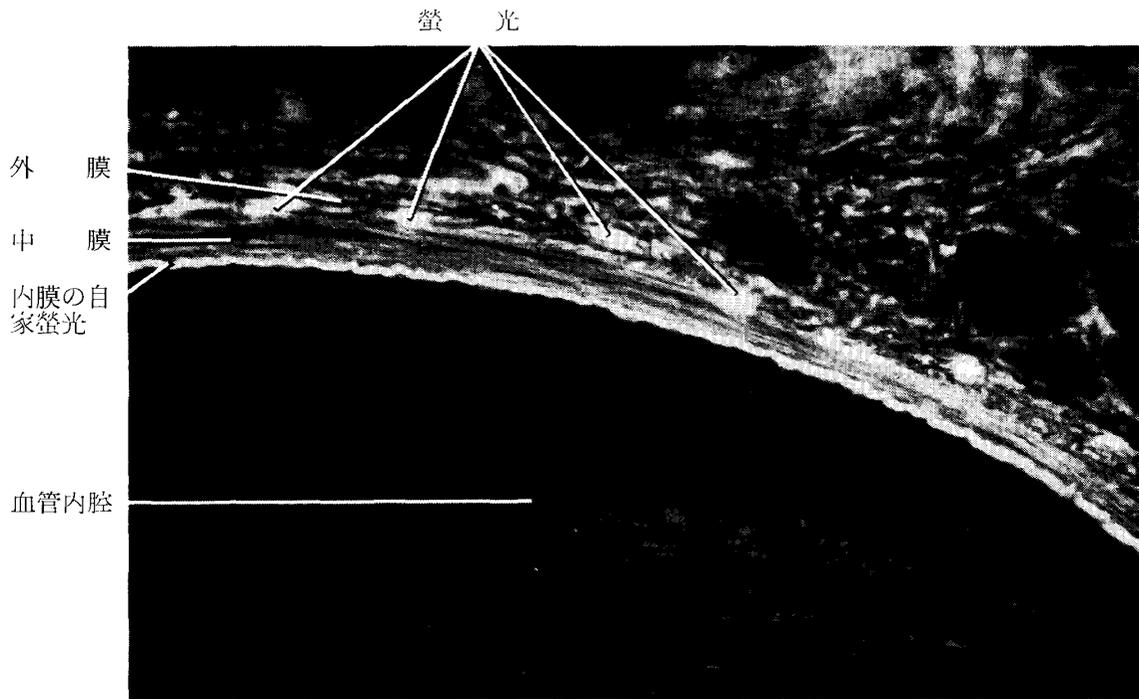
× 400



血管内腔  
 モルモットの内径 1000  $\mu$  の肺動脈分岐部  
 蛍光は分岐部に多く認められる

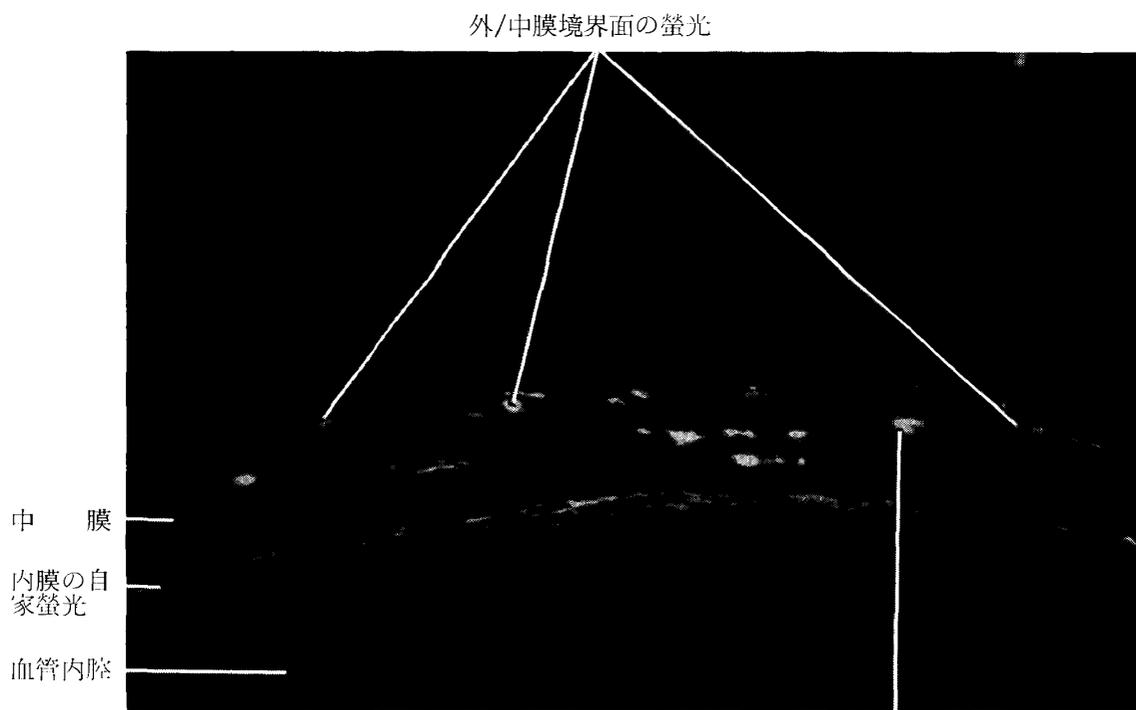
写真 6

× 200



モルモット 内径  $700\mu$  の肺動脈  
横断面における点状蛍光  
写真 7

×200

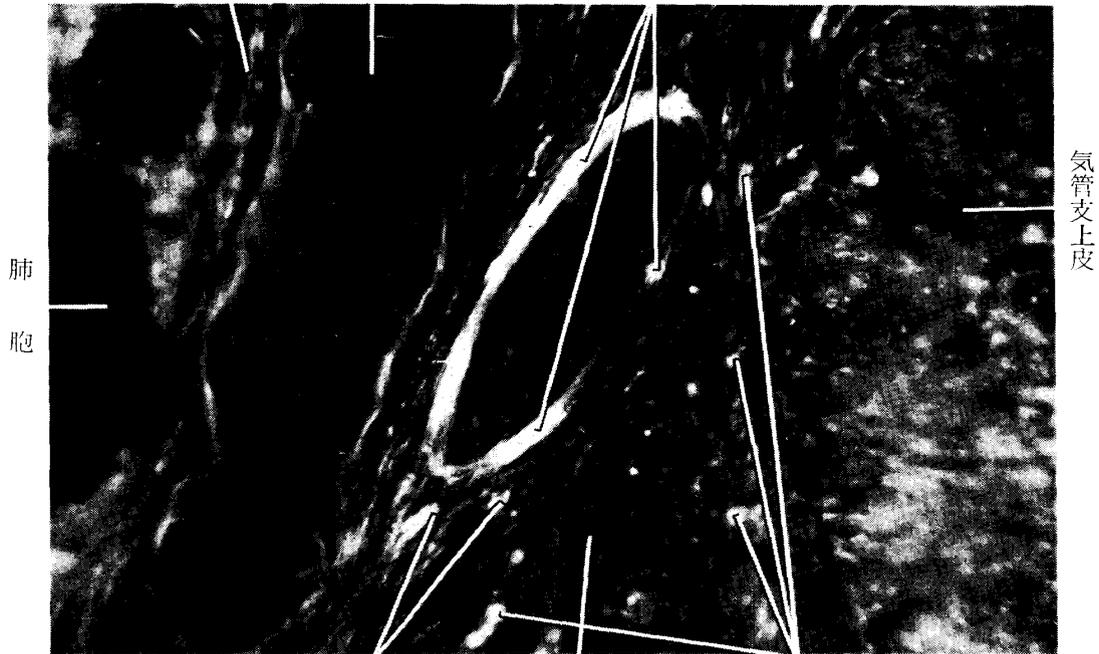


中膜筋層に進入した蛍光線維  
家兔 肺動脈  
外/中膜境界面の蛍光と中膜内層に進入した蛍光線維

写真 8

×400

気管支外膜 軟 骨 気管支動脈周囲の螢光



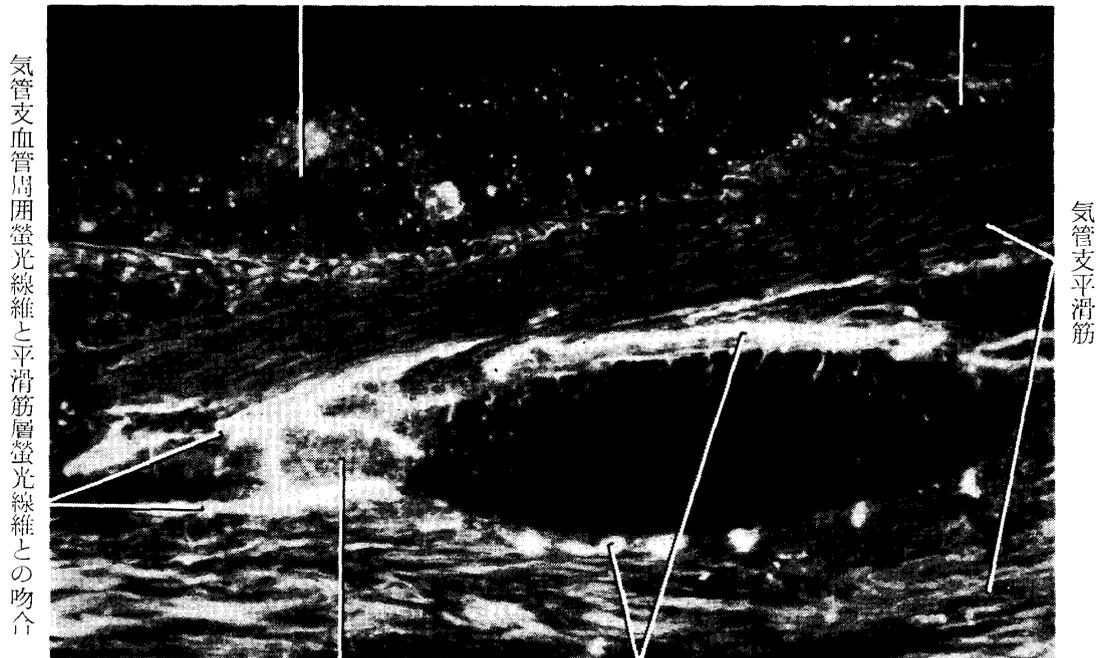
気管支動脈周囲の螢光線維 平滑筋層 平滑筋層内の螢光  
より分枝されたとと思われる螢光

モルモット 軟骨輪を有する気管支壁  
内径 50  $\mu$  の気管支血管を半周している螢光線維と気管支平滑筋層内  
の点状螢光とが認められる。 又同血管周囲の螢光線維より分れたと  
思われる螢光も見られる。

写真 9

×200

気管支上皮 粘膜下組織

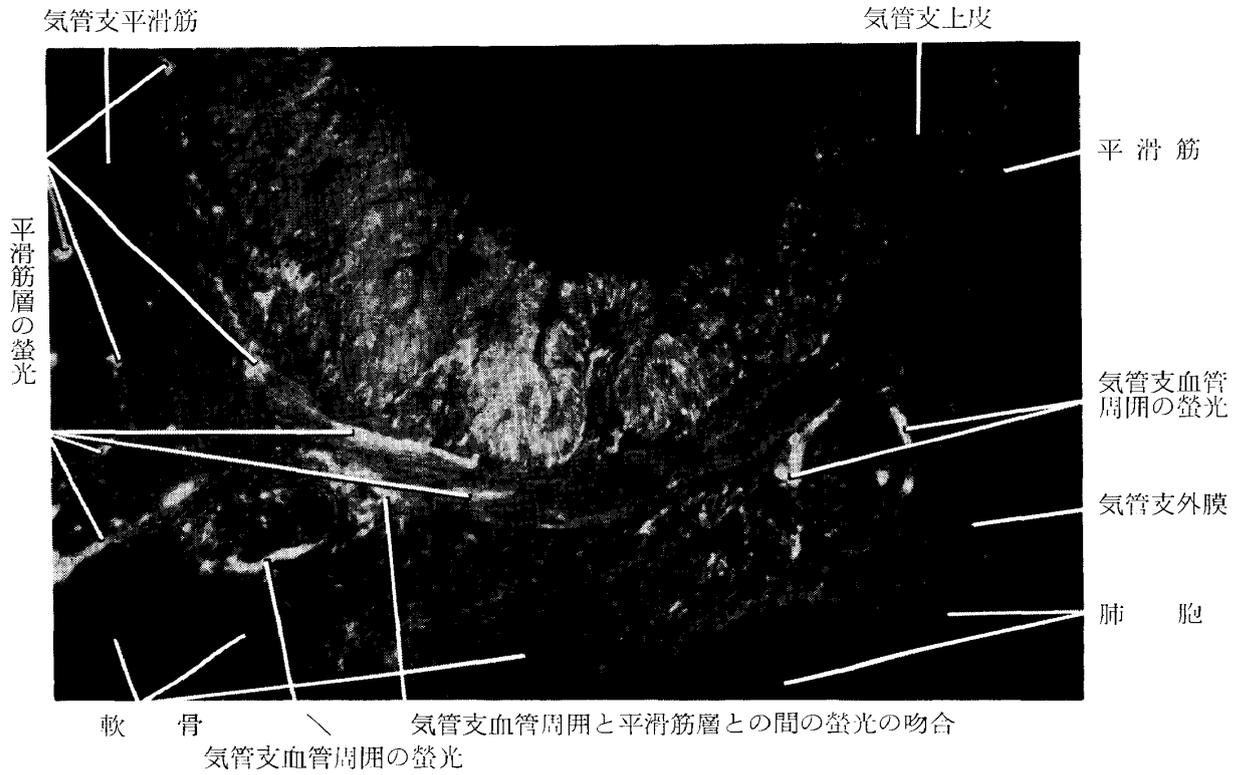


血管中膜 血管周囲の螢光線維

モルモット 気管支膜様部に存在する内径 80  $\mu$  の気管支血管の周囲にある螢光線  
維とそれから分れて筋層に進入する螢光線維

写真 10

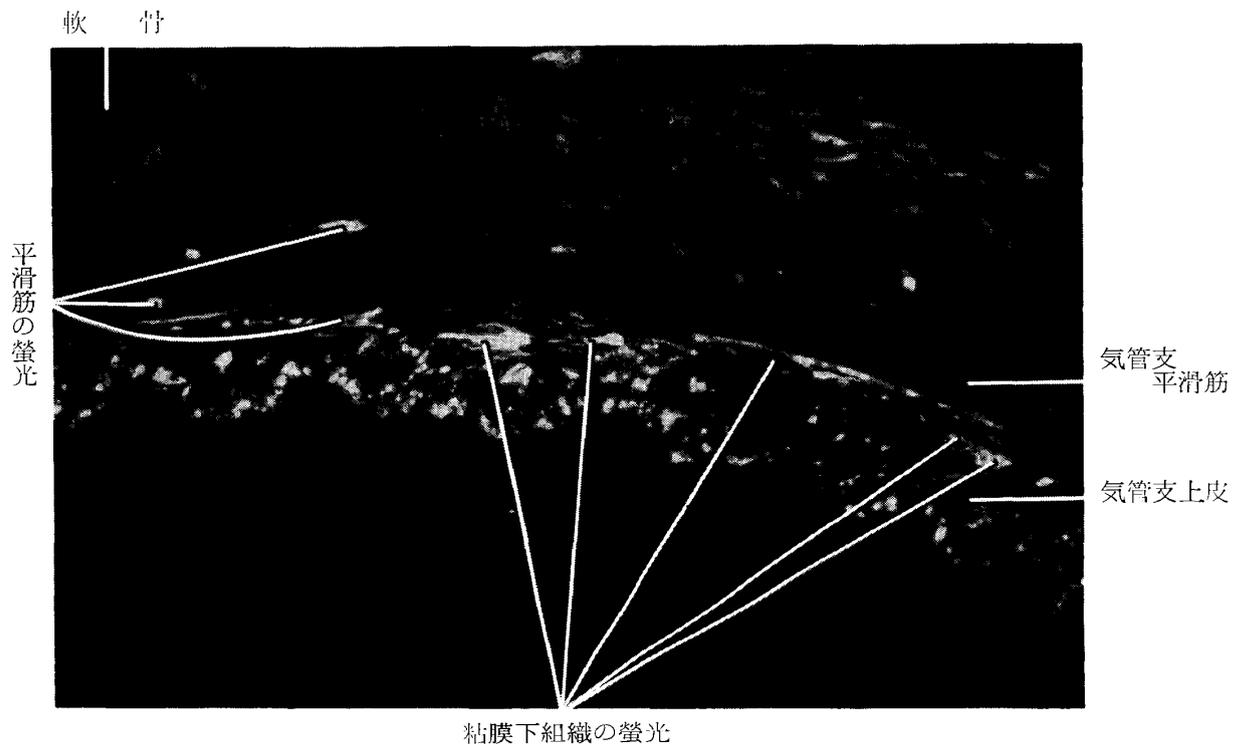
×200



モルモット 軟骨組織を島状に有する直径  $700 \mu$  の気管支壁  
 螢光は内径夫々  $80 \mu$  および  $50 \mu$  の気管支血管壁，平滑筋層内部および  
 粘膜下組織にみられる。

写真 11

×100

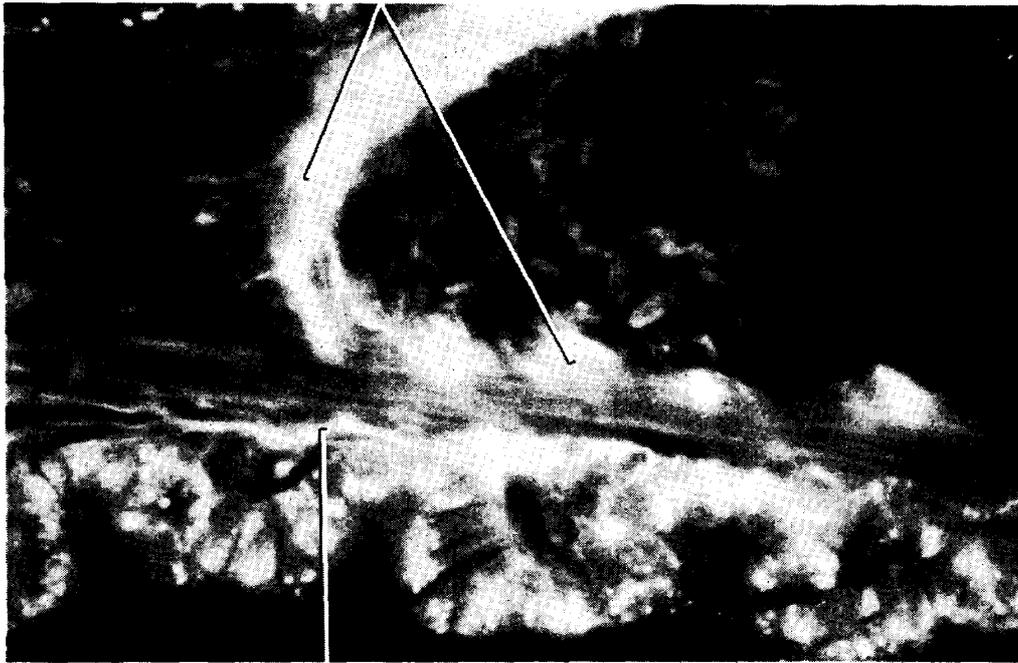


モルモット 軟骨を島状に有する気管支壁で，螢光は平滑筋の内外側および内層と  
 粘膜下組織に認められる

写真 12

×200

気管支血管壁の螢光



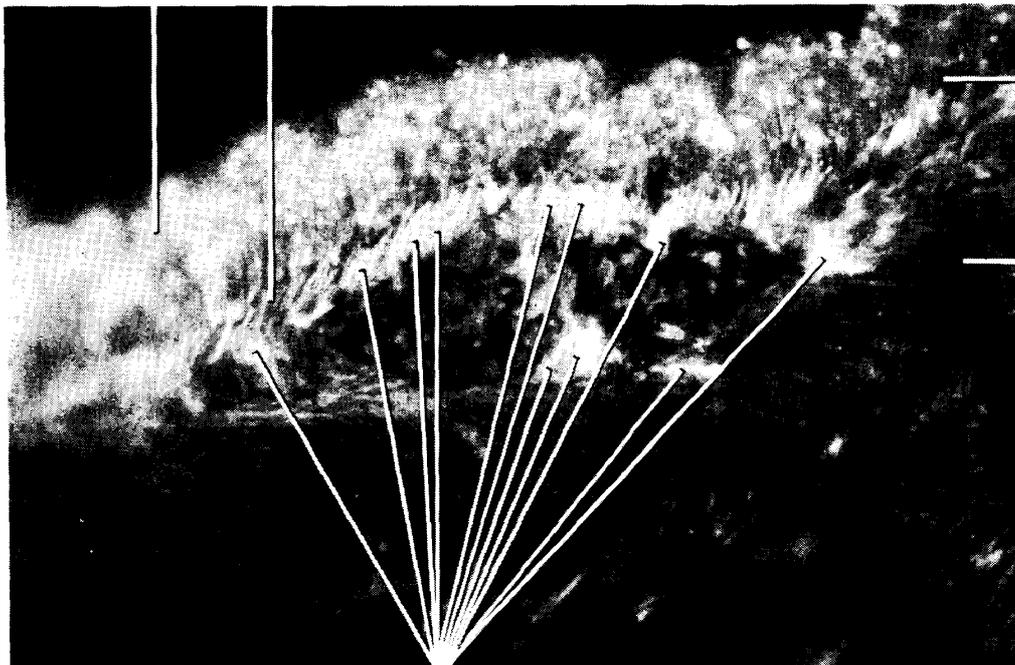
粘膜下の螢光

モルモット 直径 500  $\mu$  の気管支壁の一部で螢光は血管周囲と粘膜下組織に見られる

写真 13

×400

粘膜上皮の自家螢光 粘膜下の自家螢光



上皮

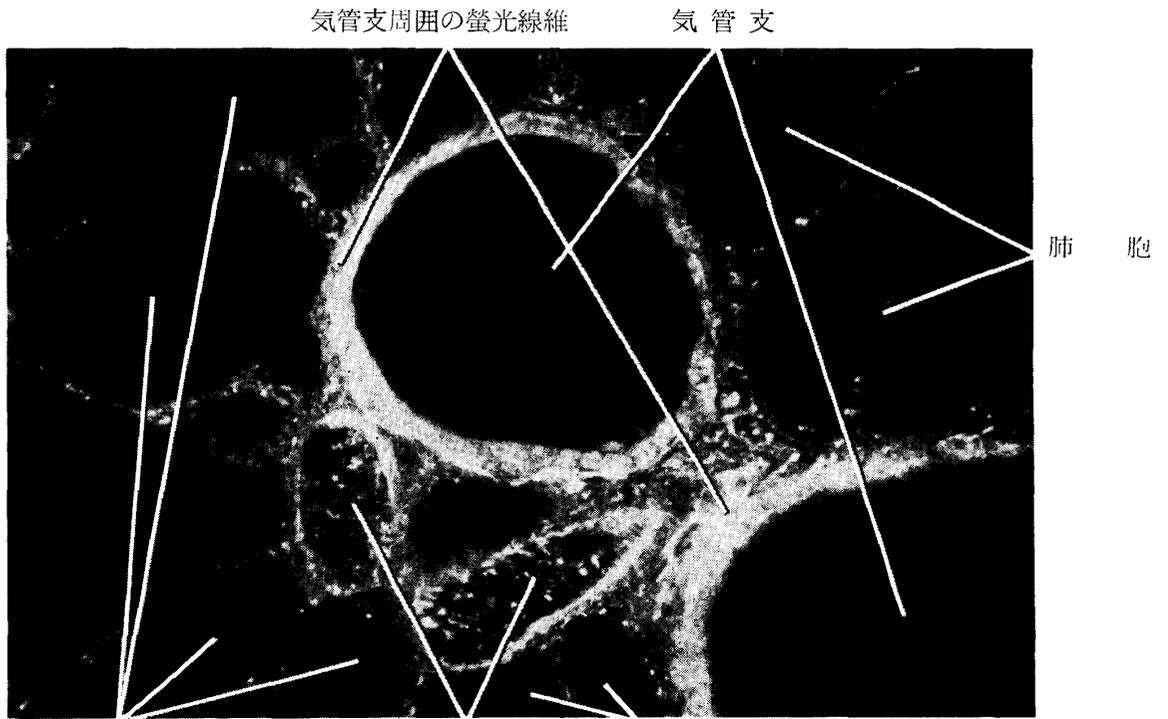
平滑筋

螢光線維

家 兎 気管支壁の血管周囲にみられる螢光とこれより分枝した螢光線維が平滑筋層および粘膜下組織に認められる

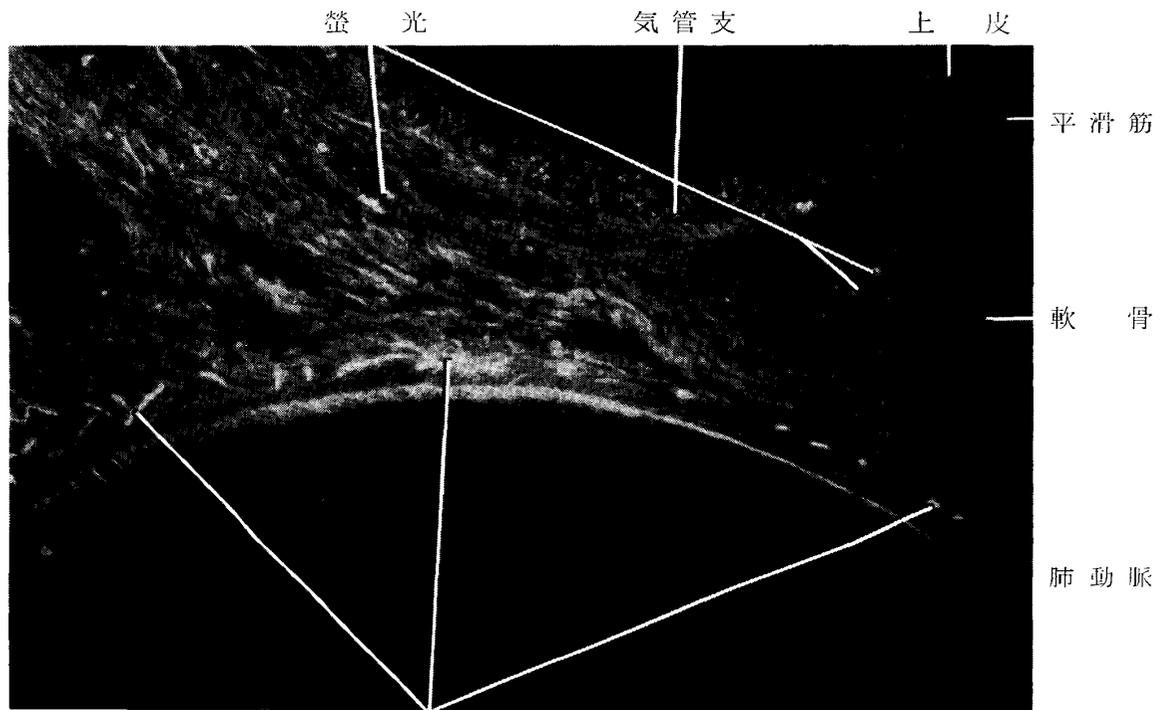
写真 14

×400



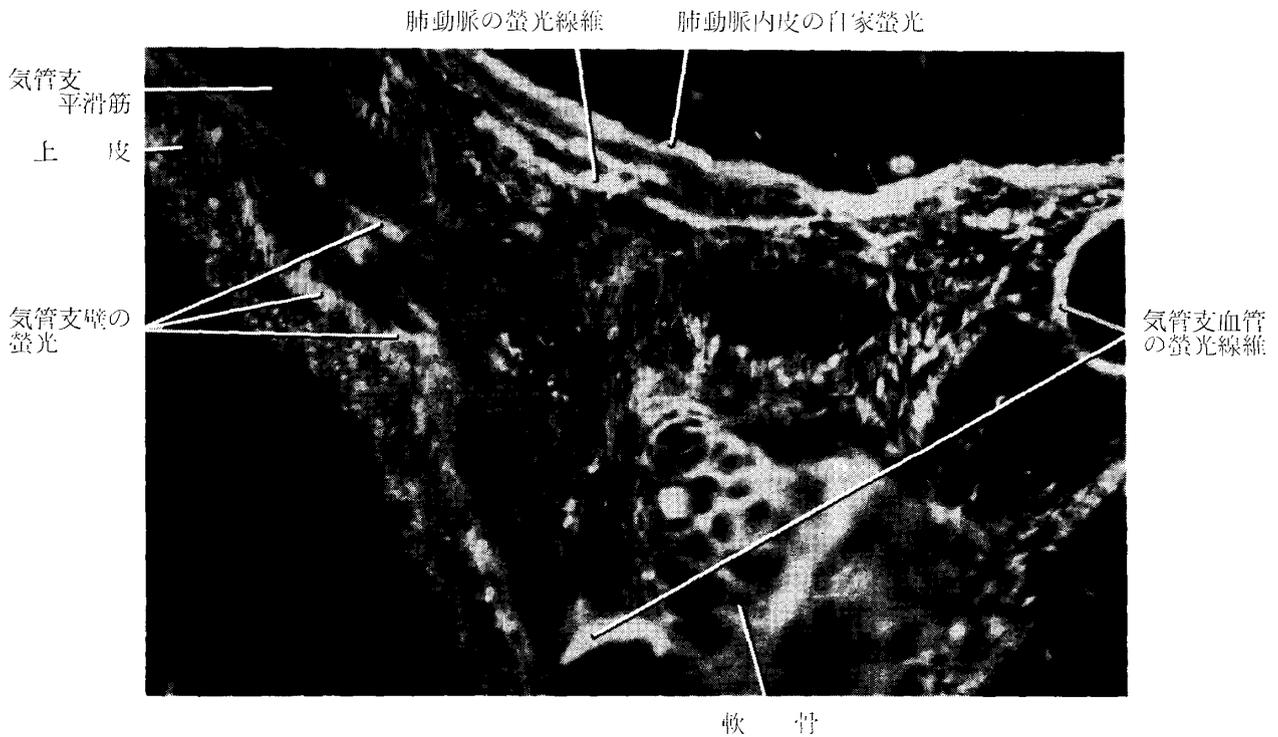
肺胞 肺動脈 肺胞  
 家兎 直径  $250\mu$  と  $300\mu$  の気管支の周囲には螢光線維が認められるが、  
 随伴する  $60\mu$  の肺動脈には螢光は認められない

写真 15 ×100



螢光  
 モルモット 内径  $1000\mu$  の肺動脈とそれに随伴する軟骨組織を島状に有している  
 気管支である。肺動脈には螢光が豊富に認められるが気管支壁には  
 僅かしか存在しない。

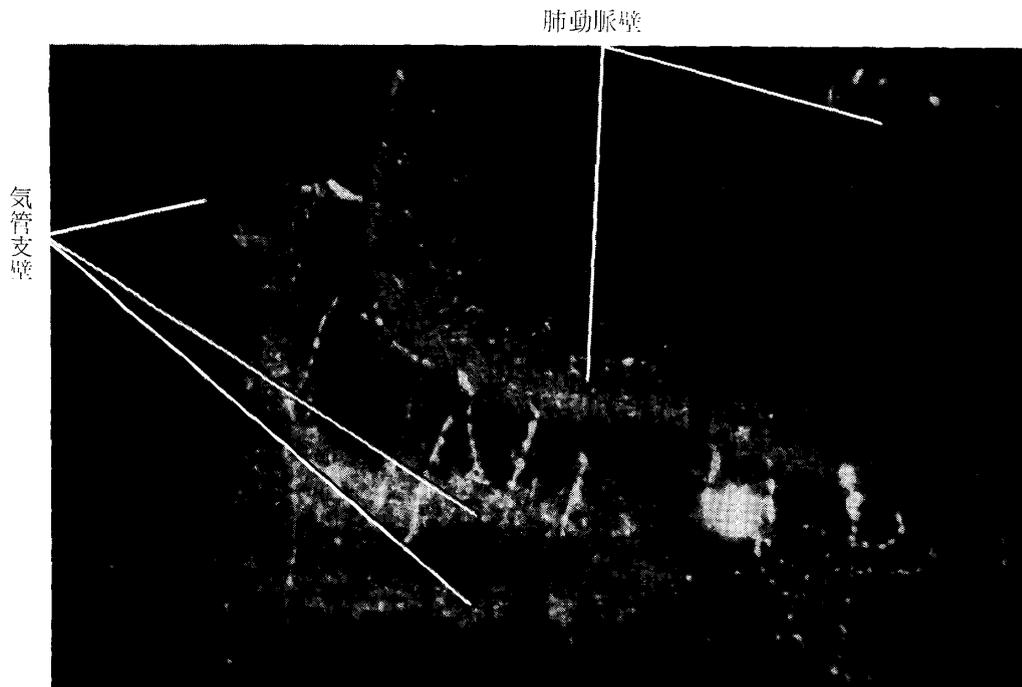
写真 16 ×100



家 兎 内径 800  $\mu$  の肺動脈とそれに随伴する気管支  
 気管支血管，肺動脈，気管支の3者とも同じ程度に螢光が認められる。

写真 17

×200

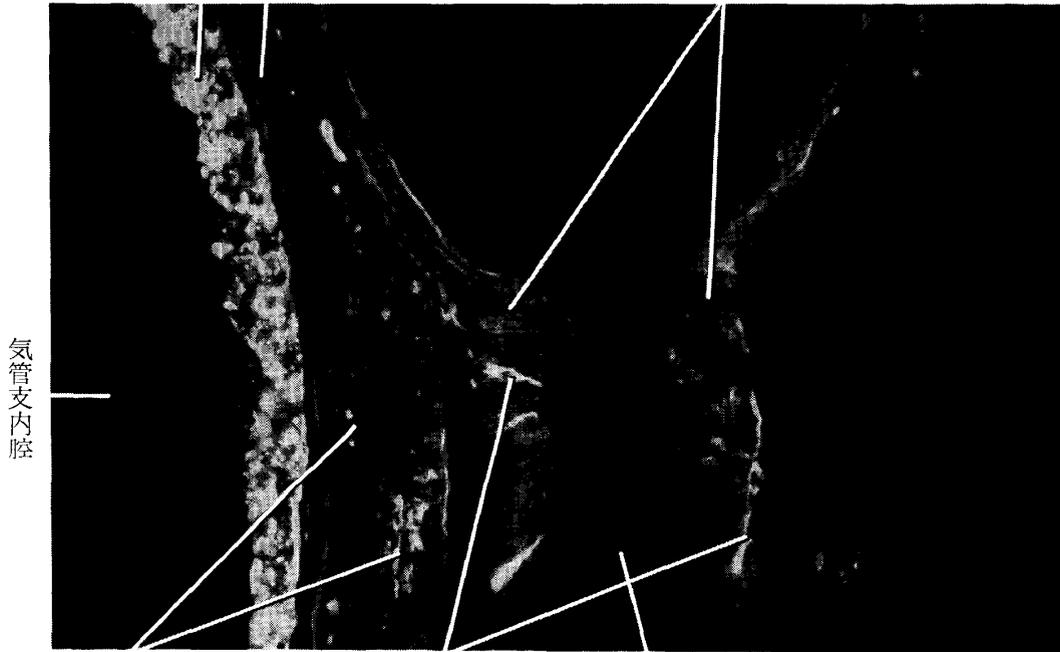


家 兎 内径 400  $\mu$  の肺動脈とそれに随伴する一部虚脱した気管支とであるが，螢光線維は両者にまたがっている。

写真 18

×100

気管支上皮の自家蛍光 気管支平滑筋 肺動脈中膜



気管支内腔

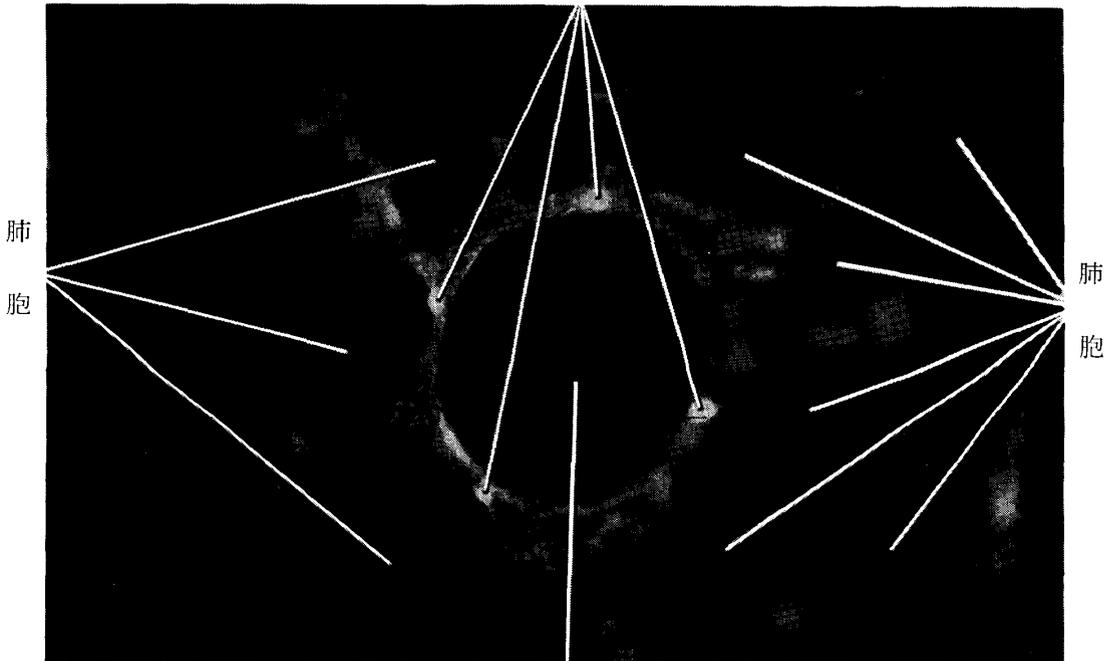
気管支壁の蛍光 肺動脈壁の蛍光 肺動脈内腔

ヒト 内径 150  $\mu$  の肺動脈およびそれから分枝された 100  $\mu$  の肺動脈とこれらに随伴する 150  $\mu$  の気管支とである。150  $\mu$  の肺動脈と気管支との間にみられる蛍光はいずれに属するか判定しがたい。

写真 19

×200

点状蛍光



肺胞

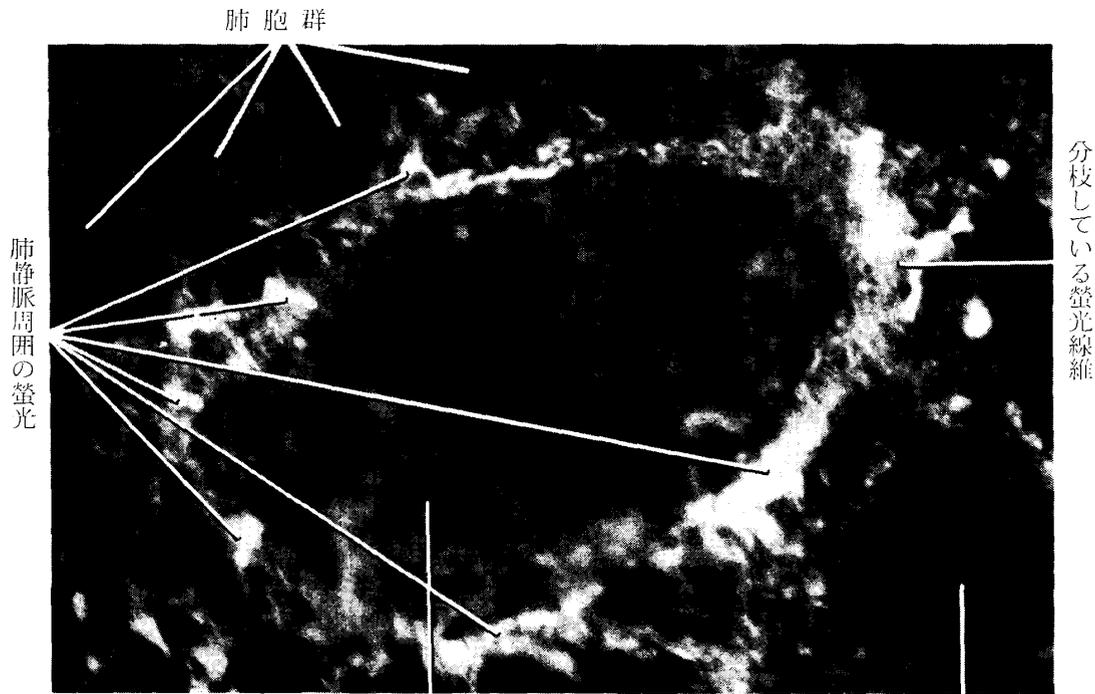
肺胞

血球の充満している肺静脈内腔

モルモット 内径 150  $\mu$  の肺静脈 中膜外側に十字の頂点に点状の蛍光がみられる

写真 20

×200

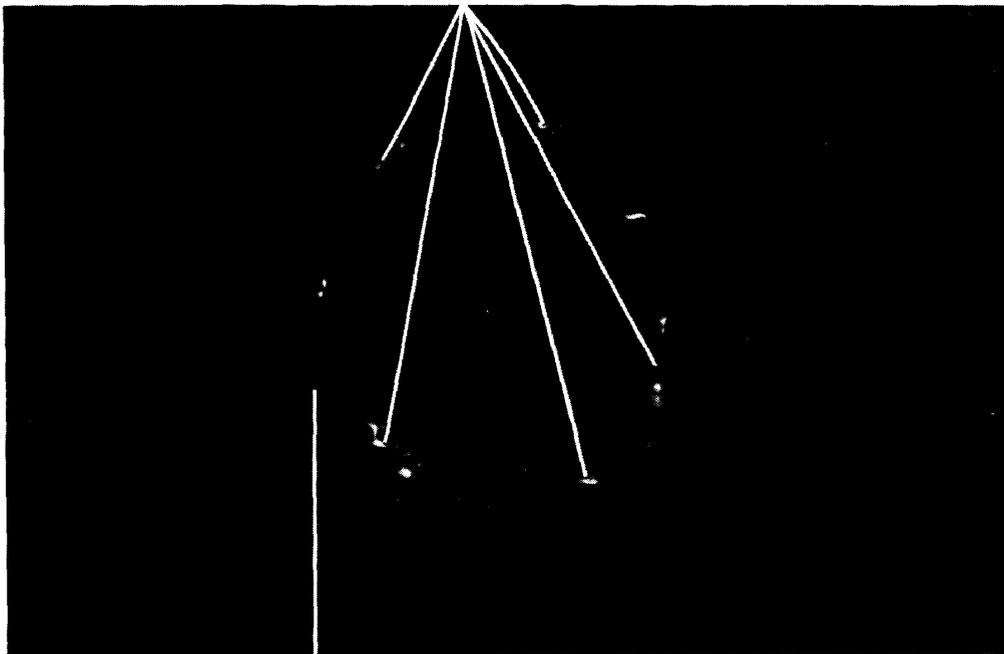


血球の充満した血管内腔 肺 胞  
 モルモット 内径 150  $\mu$  の肺静脈  
 血管壁周囲に点状，線維状あるいは線維状で分岐している螢光が  
 認められる

写真 21

×200

内径 150  $\mu$  の肺静脈周囲の螢光



150  $\mu$  の肺静脈より分枝した肺静脈細枝  
 ヒト 内径 150  $\mu$  の肺静脈周囲の螢光

写真 22

×200