

実験的斜頸における中枢モノアミン 神経系の蛍光組織化学的研究

京都大学医学部脳神経外科学教室 (主任：半田肇教授)

石 川 正 恒

〔原稿受付：昭和51年9月9日〕

Fluorescence Histochemical Study of The Central Monoaminergic Neuron System on Experimental Torticollis in The Cat

By

MASATSUNE ISHIKAWA

Department of Neurosurgery, Faculty of Medicine, Kyoto University

(Director : Prof. Dr. HAJIME HANDA)

Using the fluorescence histochemical method of Falck and Hillarp, the present study was done in an attempt to determine whether or not the central monoaminergic neuron system is involved in experimental torticollis followed by destruction of the mesencephalic tegmentum in the cat. The localization of monoaminergic neurons and their fiber pathways in the mesencephalon were studied in nine non-treated or drug-treated (L-dopa and/or Pargyline) cats and sixteen lesioned cats. The noradrenergic neurons were found to be located in the nucleus caeruleus and subcaeruleus, and the dopaminergic neurons in the caudal mesencephalic reticular formation, the compact division of the substantia nigra, the ventral tegmental area etc.. Serotonergic neurons were identified in the dorsal raphe nucleus, the superior central nucleus and part of the central linear nucleus. The ascending monoaminergic fibers ran through the central gray, the central tegmental tract, the ventral tegmental area etc.. The ventral tegmental area was revealed to be an area of great significance as a large number of monoaminergic fibers, particularly dopaminergic and serotonergic fibers joined and ran rostrally in this area.

Behavioral changes following electrolytic lesions in the medial tegmentum of the rostral mesencephalon were observed in sixteen cats. Torticollis was shown in eight

cats, of which seven were tonic and one was rhythmic in nature. Rotational component of torticollis was prominent, though various degrees of lateral bending and leaning were noted. Circling gait was observed in three. All lesioned cats were more or less ataxic, however, such tended to be more severe in cats with torticollis. The mesencephalic ventromedial tegmentum including the ventral tegmental area was destroyed in most of cats with torticollis, in which there were significant retrograde changes of monoaminergic fibers in the ventral tegmental area as revealed by the Falck-Hillarp method. In view of these findings, a possible role of the central monoaminergic neuron system in the control of head and neck movement has to be considered.

I. は じ め に

頭頸部の姿勢異常として時折遭遇する痙性斜頸は胸鎖乳突筋、僧帽筋、板状筋など頸筋の不随意的筋収縮によっておこる不随意運動の一つであるが、病理所見に特有な変化がみられないこともあって、その発現機序はいまだ十分に解明されていない。しかし臨床例のなかには瞳孔不同を伴ない、中脳被蓋病変を示唆する例が存在する。Foltzら¹²⁾は赤毛猿の、またMizawa²²⁾は猫の中脳内側被蓋を破壊し、臨床例に類似した間代性筋収縮を伴った痙性斜頸のみられることを報告し、とくに上小脳脚交叉レベルでの中脳内側網様体が痙性斜頸の発現に関与しているとしている。Cooper⁵⁾は頸筋の不随意運動に小脳視床系が重要な役割を果たしているとし、また関野²⁷⁾は赤核—中心被蓋束—オリブ核系を重視している。Moriら²³⁾は猫を用い、中脳被蓋破壊において腹内側被蓋と中心被蓋束を含む背内側被蓋とでは発現する斜頸の病像が異なること、および両者において尾状核モノアミン(ドパミン: DA, ノルアドレナリン: NA, セロトニン: 5-HT)量の差異がみられることを報告し、斜頸の発現に中枢モノアミンが関与している可能性を示唆した。

脳内にモノアミンが存在することは1947年に Euler¹⁰⁾によって初めて明らかにされた。その後、中枢モノアミンに関する研究は生化学的、電気生理学的、電子顕微鏡的研究方法の開発によって長足の進歩をとげたが、とくにこれらモノアミンの細胞レベルでの存在様式についての知見は組織化学的手法の発達による所が多い。Falck, Hillarpら¹¹⁾は1962年、ホルムアルデヒドガスによる縮合反応を利用してモノアミンを蛍光顕微鏡下に観察することを可能とした。Dahlströmら⁷⁾ Fuxe¹⁴⁾らはこの方法を用いて、ラットの中脳神経系

に DA, NA, 5-HT などのモノアミンを含有する神経細胞が存在し、さらに脳内の多くの部位に各々の神経終末が不均等に分布していることを明らかにした。その後、猫²¹⁾、犬^{17), 28)}、猿^{8), 13), 18)}、人胎児²⁴⁾の研究において、中枢モノアミン神経細胞の分布、線維の走行および神経終末の分布は若干の種族差を示すが、基本的にはラットと同じであることが報告された。中枢モノアミン神経線維は細い線維であり、古典的な変性神経線維の追跡法では線維の走行を追うことは困難である。この Falck-Hillarp 法はモノアミン線維の走行を特異的に追跡することを可能にし、黒質線状体 DA 神経系、隆起漏斗 DA 神経系、青斑核大脳皮質 NA 神経系など多くの中枢モノアミン神経系の線維走行が明らかにされた。

Parkinson 氏病の患者では線状体の DA 量が著明に減少しており⁹⁾、DA の前駆物質である L-dopa の投与によって症状の改善がみられること⁶⁾から、不随意運動と DA の関係が重視されるようになったが、黒質以外の DA 細胞や NA 細胞または 5-HT 細胞と不随意運動との機能的関連性についての知見はいまだ充分でない。今回の研究は、猫の中脳における中枢モノアミン神経細胞の分布およびその上行性線維の走行を蛍光組織化学的に明らかにすると共に、中脳内側被蓋の破壊によってみられる頭頸部の姿勢異常の発現に中枢モノアミン神経系がどのように関与するかを検討したものである。

II. 実 験 方 法

A. 実験動物

実験には体重 2.5~3.5kg の成猫 25 匹を用いた。そのうち 9 匹は破壊巣を作ることなく、正常状態における中脳のモノアミン神経系の形態を Falck-Hillarp 法

を用いて観察した。ただし、その9匹中2匹は前処置として、L-dopa (10mg/kg, 静脈内投与, 2時間前)を2匹はモノアミン酸化酵素阻害剤である Pargyline (50mg/kg, 腹腔内投与, 4時間前)を、2匹は Pargyline+L-dopa を投与し、残りの3匹は無処置のままとした。また25匹中16匹は吻側中脳の内側被蓋に破壊巣を作製し、2~6日間症状を観察した後、同様に中脳におけるモノアミン神経系の状態を観察した。

B. 破壊巣の作製

破壊巣の作製には、Thiamylal sodium (30mg/kg, 腹腔内投与) 麻酔下に脳定位固定装置に動物を固定し、同心円型双極電極 (外径1mm, 先端0.8mm) を刺入した後、直流電流 (4mA) を10秒間通電して、電気凝固した。目標とする部位の座標は Snider と Niemer の猫定位脳図譜を用い、A5.0~7.0, L1.0~3.0, H0~4.0の範囲内より一点を選び破壊巣を作製した。

C. モノアミン神経系の観察

Pentobarbital sodium (40mg/kg, 腹腔内投与) 麻酔下に脳定位固定装置に固定した。動物の頭皮を切開、頭蓋冠を除去し、硬膜を切開した後、脳を一塊として摘出した。摘出した脳は出来る限り迅速に約1cm巾の小片に切断し、予じめ液体窒素にて-160°Cに冷却した Isopentane 液中にて凍結した。凍結標本は組織化学用凍結乾燥装置 (山本製作所製) にて-35°Cで2週間真空下に凍結乾燥を行なった。凍結乾燥した標本はパラホルムアルデヒドと共に密閉したガラス容器に入れて、恒温器中にて80°C, 1時間加熱反応させた。カテコールアミン観察用には比重1.34の濃硫酸にて相対湿度50%としたガラス容器中に保存したパラホルムアルデヒドを用い、セロトニン観察用には比重1.25で相対湿度70%とした容器中のパラホルムアルデヒドを用いた¹⁶⁾。標本はホルムアルデヒドガスと反応させた後、真空下にパラフィン包埋し、箱に入れて密封した後、冷蔵庫に保存した。各標本はマイクロームにて10μに薄切し、5枚毎にモノアミン観察用切片とした。切片の伸展には、モノアミンの流出拡散を防ぐため温湯は使わず、無蛍光スライドガラス (No. 0) に切片をのせて熱板上で60°Cに加熱し、キシレンを滴下して脱パラフィンを行なった。封入にはキシレン・エンタラン等塩混合液を用いた。モノアミンの観察には Zeiss の蛍光顕微鏡を用い、光源は高圧水銀灯を、励起フィルターとして Schott BG12 を、また干渉フィルターとして Zeiss 50 を用いた。写真撮影には Kodak Tri-X または Fuji Color R100 を使用した。

撮影時間は条件により異なり30秒から3分を要したが、通常1分間で撮影した。病巣の確認にはモノアミン用切片5枚毎に1枚を通常染色用として残し、Luxol-fast blue-cresylviolet 重染色を行ない、Berman¹⁾ および Snider と Niemer²⁹⁾ の猫定位脳図譜を参照して破壊巣の位置および大きさを観察した。

Ⅲ. 結 果

A. 中脳における上行性モノアミン神経系

モノアミン蛍光のうち NA および DA などのカテコールアミンは緑色蛍光を発し、5-HT のようなインドールアミンは黄色蛍光を示す。NA と DA の蛍光の色調は同じであるが、DA 神経系は L-dopa の単独投与あるいは Pargyline+L-dopa の投与によって著るしく蛍光が増大する。一方、NA 神経系では同じ処置によって蛍光は増加しない。また、DA 線維は非常に細い線維であり、多数の DA 線維の走行している部位ではび慢性の緑色蛍光として認められる。5-HT 神経系において、5-HT 線維は無処置では観察が困難なことが多いが、Pargyline 投与によって蛍光が増加し、観察が容易となる。Fig. 1 は不随意運動に関係が深いと思われる DA 細胞および 5-HT 細胞の分布ならびにその上行性線維の走行を示す。

i. 細胞分布

上部橋脳から下部中脳にかけて背内側被蓋に位置する青斑核には多くの NA 細胞がみられ、また青斑核の腹側の青斑下核にも NA 細胞が散在している。この NA 細胞は吻側に向うにつれて数を減じ、滑車神経核の尾側において消失する。一方、下部中脳のの中脳水道周囲灰白質正中腹側部に位置する背側縫線核 (Dorsal-nucleus of the raphe: DR, Fig. 1, Fig. 2 A, E) には多数の 5-HT 細胞が認められる。また上小脳脚交叉の尾側で正中部に位置する上中心核 (Superior central nucleus: CS, Fig. 1) にも多数の 5-HT 細胞が存在する。上小脳脚交叉と被蓋交叉の間で正中部に位置する中心線状核 (Central linear nucleus: LC, Fig. 1) は DA 細胞と 5-HT 細胞の両者からなっており、尾側半分は 5-HT 細胞が多く (Fig. 2 B)、吻側半分は DA 細胞が主体をなしている。さらに中脳正中部最吻側に位置する吻側線状核 (Rostral linear nucleus: LR, Fig. 1) は DA 細胞のみからなっている。

このように中脳正中部には DA 細胞や 5-HT 細胞が多数存在するが、正中部以外の中脳被蓋にも多数のモノアミン細胞、とくに DA 細胞が存在する。上小脳

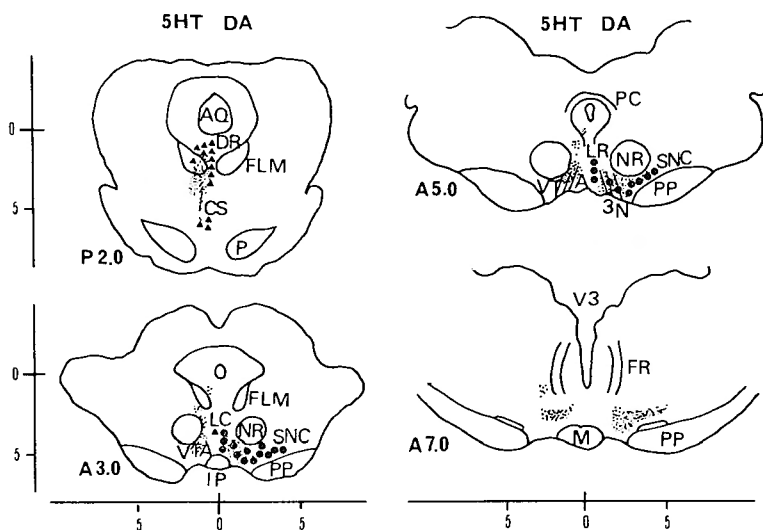


Fig. 1. Distribution of dopamine (DA) and serotonin (5-HT)-containing cells and their fiber pathways were mapped out on the basis of stereotaxic atlas of the cat by Snider and Niemer²⁹⁾. The nomenclature was taken from Berman's cat brain atlas.¹⁾ ● : DA cells, ▲ : 5-HT cells, ···· : longitudinally represented axons, --- : ventrally or transversely represented axons, Abbreviations ; 3N : oculomotor nerve, AQ : cerebral aqueduct, CS : superior central nucleus, DR : dorsal nucleus of the raphe, FLM : medial longitudinal fascicle, FR : retroflexus bundle, IP : interpeduncular nucleus, LC : central linear nucleus, LR : rostral linear nucleus, M : mamillary nucleus, NR : red nucleus, P : pyramidal tract, PC : posterior commissure, PP : pes pedunculi, V3 : third ventricle, VTA : ventral tegmental area.

脚交叉の外側から赤核尾側にかけての中脳網様体に DA細胞がみられ、また黒質緻密帯 (Compact division of the substantia nigra : SNC, Fig. 1 Fig. 2 C) は脳内での DA 細胞の最大の集まりである。さらに、黒質の内側から脚間核の外側の腹側被蓋野 (Ventral tegmental area : VTA, Fig. 1) の黒質傍核、色素性脚傍核、腹側被蓋核にも DA 細胞が存在する。

ii. 上行性モノアミン線維の走行

中脳でみられる緑色蛍光のカテコールアミン線維のうち、NA 線維は瘤状構造 (Varicosity) を有する連珠状線維 (Varicose fiber) として認められる。DA 線維は無処置あるいは薬物処置ではび慢性の緑色蛍光として認められるが、VTA 破壊によって線維を切断すると膨化した連珠状線維の像を呈する (Fig. 2 D)。5-HT 線維は起始部では観察できる (Fig. 2 E) が、少し遠位側になると殆んど観察できない。しかし、破

壊の尾側では DA 線維同様の膨化した連珠状線維として認められるようになる。このように無処置、薬物処置あるいは線維の切断によって、中脳におけるモノアミン線維の走行を観察することができる。

青斑核より出る NA 線維は中脳水道周囲灰白質の腹外側で、中心被蓋束を上行し、一方延髄、橋脳、青斑下核から上行する NA 線維は上小脳脚交叉の高さで方向をかえ、腹側へ網目状の拡がりを示す。そして多くの線維は赤核の外側を上行するが、一部の線維は VTA を上行している。

黒質からの DA 線維は腹内側へ走って VTA に入り、中心線状核、吻側線状核、および VTA の DA 細胞からの DA 線維と共に VTA を上行している。

背側縫線核や中心線状核の 5-HT 線維も腹側に走って、脚間核の外側で方向をかえて VTA を上行する。上中心核からの 5-HT 線維は赤核の内側を上行してい

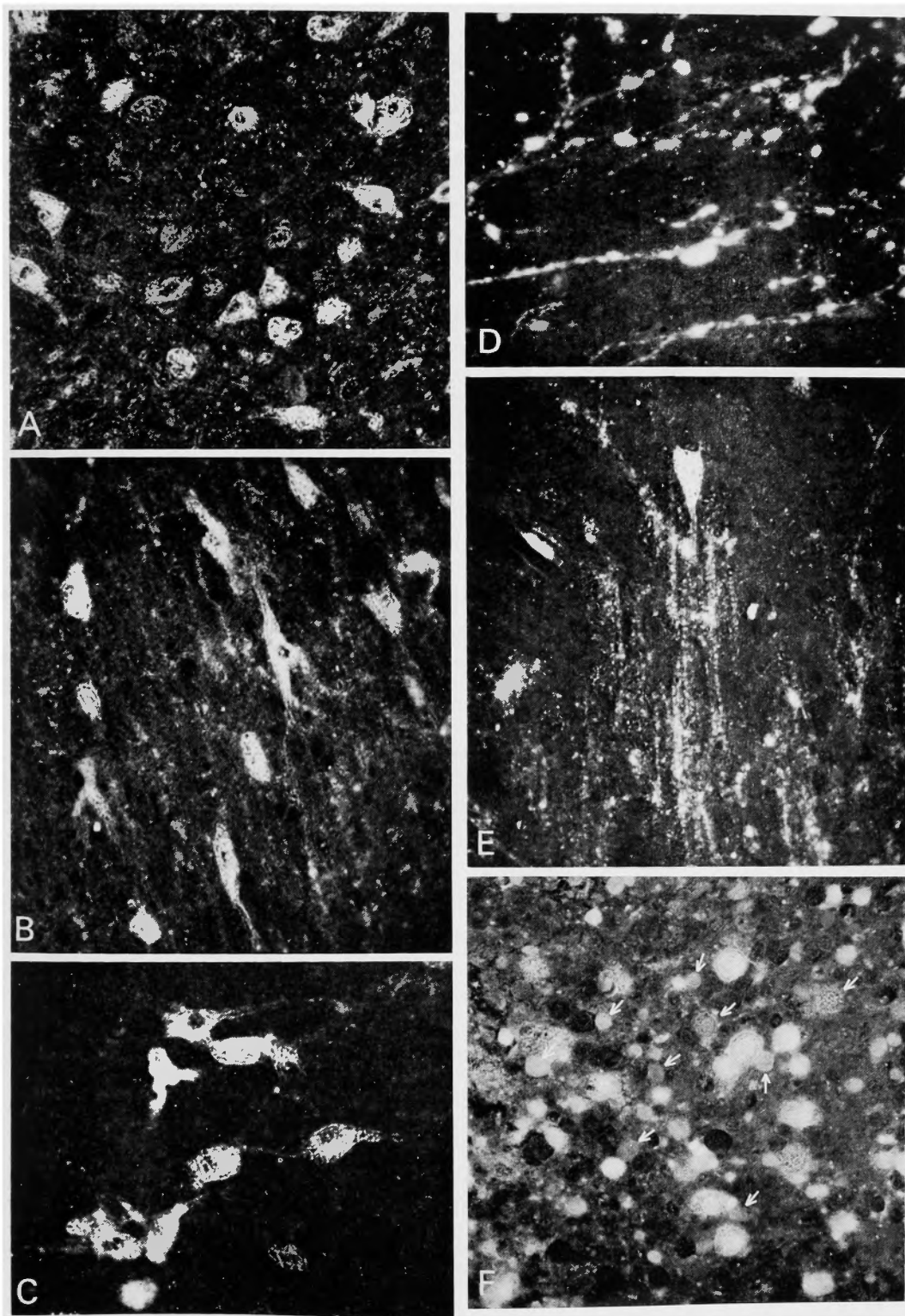


Fig. 2. Monoaminergic neurons in the cat midbrain and morphological changes after lesion-making.

- A : 5-HT neurons in the dorsal nucleus of the raphe. 5-HT fluorescence was found in the cytoplasm, not in the nucleus. Pargyline (50mg/kg, 4hr., i.p.) treatment. Frontal section. X64
- B : 5-HT neurons in the caudal part of the central superior nucleus. Pargyline (50mg/kg, 4hr., i.p.) treatment. Sagittal section. X64
- C : DA neurons in the compact division of the substantia nigra. DA fluorescence was found in the cytoplasm and cellular process, but not in the nucleus. Non-treatment. Frontal section. X64
- D : Strongly fluorescent retrograde accumulation of DA in axons running ventromedially to the ventral tegmental area. Such was observed caudal to the lesion at the rostral midbrain 6 days after lesioning of Cat No. 18. Frontal section. X64
- E : Ventrally running 5-HT axons from 5-HT cells in the dorsal nucleus of the raphe. Pargyline (50mg/kg, 4hr., i. p.) treatment. Sagittal section. X64
- F : Ascending axons in the ventral tegmental area just caudal to the lesion 6 days after lesioning of Cat No. 18. Note swollen axons with retrograde accumulation of 5-HT (gray dots, arrows) and DA (white dots, no arrow). Frontal section. X64

る。中脳水道周囲灰白質内の背側縦束を NA 線維と共に上行する 5-HT 線維があり、これは背側縫線核に由来すると考えられる。

以上より、VTA は DA 線維、NA 線維および 5-HT 線維が混じり合って上行している部位であるが、とりわけ赤核の腹内側の VTA 内側部は多くの DA

線維と 5-HT 線維が上行している部位である。

B. 中脳内側被蓋破壊による症状

16匹の成猫を用い、一側の吻側中脳から中脳間脳境界部にかけての内側被蓋にて、種々の部位に破壊巣を作製し、2～6日間症状の観察を行なった。破壊翌日にみられた症状とその程度は Table 1 に示す。ただ

Table 1. Symptoms produced by midbrain medial tegmental lesions. Severity (+3: severe, +2: moderate, +1: mild) was determined at 24 hours after lesioning in all cats except 2 (Nos. 17 and 20), in which determinations were made at 6 hours.

Cat No.		3	7	10	12	13	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
Coordinates of main lesion	-Ant.	7	6	6	7	6	5	7	6	7	7	5	6	6	5	7	7
	-Lat.	1	1	1	1	1	2	1	3	2	1	1	1	1	1	3	3
	-Hor.	-1	0	-3	-3	-3	-1	0	-3	-4	-1	-2	-3	-2	0	0	0
Days at sacrifice		2	6	2	3	4	6	6	6	6	4	3	3	6	4	3	3
Torticollis		-	-	+	+	+	-	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-
Rotation		-	-	+3	+2	+3	-	-	+1	+2	-	+1	+3	+1	-	-	-
Lateral bending	-ipsi.	-	-	-		+3			+2								
	-contra.				+2							+1					
Duration		-	-	2D	2D	4D	-	-	1D	6D	-	3H	3D	2D	-	-	-
Ataxia		+1	+1	+3	+2	+3	+1	+2	+1	+1	+1	+1	+1	+1	+1	+1	+1
Circling gait		-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-
Anisocolia		-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-

Abbreviations; Ant. : anterior plane (mm), Lat. : lateral plane (mm), Hor. : horizontal plane (mm), ipsi. : ipsilateral (lesioned) side, contra. : contralateral (non-lesioned) side, D : days, H : hours



Fig. 3. Torticollis produced by destruction of midbrain medial tegmental lesion.

A. Non-rhythmic isolated rotation of the head, in which the lesioned side was up, was evident 24 hours after lesioning of Cat No. 21. Anisocolia ($L > R$) was noted.

B: Non-rhythmic turning of the head to the lesioned side 6 hours after lesioning of Cat No. 17.

C and D: rhythmic rotation of the head with mild rotation and leaning (A) to the lesioned side up (B) 6 hours after lesioning of Cat No. 20.

し、No. 17 およびNo.20の2匹は術後6時間で症状の程度を判定した。16匹中斜頸のみられたのは8匹であり、すべて術後6～8時間以内に斜頸が認められた。8匹中7匹 (No. 10, 12, 13, 17, 18, 21, 22) は非律動性の側屈回旋性斜頸を示したが、このうち4匹 (No. 10, 18, 21, 22) は回旋を主体としていた。いずれも下顎が患側上位となる方向への回旋 (Fig. 3 A) を示した。側屈は患側へ向うもの (No. 13, 17) と健側へ向うもの (No. 12, 20) の二通りがみられた。このうち1匹 (No. 17) は頸を患側に側屈させ、脊柱も側屈させて患側凹の姿勢 (Fig. 3 B) を示し、健側前肢の伸展を伴っていた。この姿勢異常は破壊後6～8時間にもっとも著しく、24時間後には消失した。8匹中1匹 (No. 20) では術後6時間より3時間持続する一過性の斜頸がみられた。これは健側への軽度の側屈、偏倚姿勢に加えて、患側へ向う回旋を伴った明瞭な律動性斜頸であり (Fig. 3 C, D), 非律動性斜頸を示した他の7匹と著しい対照を示した。運動失調は非斜頸例を含め、すべての例にみられたが、斜頸のみられた8匹中3匹 (No. 10, 12, 13) において著明であり、とくにNo.10とNo.13の2匹は歩行不能で、物を追うのに首を捻転させ、つづいて脊柱の長軸を軸として体を回旋させる Rolling の姿勢を示した。運動失調の軽度であったものは歩行に際して両下肢の動きがにぶく、腰を低くした姿勢で不安定な歩行を示した。また跳躍に際しても充分な前傾姿勢がとれず、目標点に至るまでに落下することが多くみられた。運動失調は時間の経過と共に軽減し、4日目以後はNo.13の猫以外にはみられなかった。また回転性歩行 (Circling) を示したのは3匹であり、うち2匹 (No.17, 22) は患側へ向う方向へ、他の1匹 (No.12) は健側へ向う方向への回転性歩行を示した。

瞳孔不同は通例中は約半数にみられたが、破壊後次第に消失し、24時間後になおみられたのは5匹 (10, 13, 21, 22, 23) であった。眼振は1匹 (No.12) のみにみられた。

C. 組織学的検索

電気凝固巣を作製した16匹について、破壊巣の組織学的確認を行なった。16匹の破壊巣の位置および広がり Snider と Niemer の猫定位脳図譜を参照して、斜頸のみられた群 (Fig. 4) と斜頸のみられなかった群 (Fig. 5) とに分けて図示した。破壊巣の大きさは直径約1～2mmであったが、1匹 (No.13) のみは小血管の破綻による出血で正中をこえて健側の動眼神経根近傍にまで及ぶ直径約4mmの大きな破壊巣であった。斜頸のみられた8匹 (Fig. 4) 中6匹 (No.10, 12, 13, 17, 18, 21) は赤核の腹側に位置する Tsai の腹側被蓋野 (Ventral Tegmental Area: VTA) およびその吻側端に破壊が及んでおり、残りの2匹 (No. 20, 22) は赤核内側の腹側被蓋交叉や中心被蓋束、Cajal 間質核あるいは Forel H 野に破壊がみられた。挿入した電極によって、上丘、中脳水道周囲灰白質、内側縦束、束傍核にも破壊がみられた。患側への側屈が著るしかつた2匹 (No. 13, 17) は他の例と比べて破壊がより広範囲に及んでおり、赤核やその外側にも破壊がみられた。斜頸のみられなかった8匹 (Fig. 5) 中3匹 (No. 3, 16, 19) は第3脳室後部ないし中脳水道周囲灰白質、束傍核および反回束に破壊がみられた。また8匹中2匹 (No. 24, 25) は反回束外側の束傍核や中心正中核に破壊がみられた。さらに2匹 (No. 7, 23) は中脳水道周囲灰白質やその外側の Cajal 間質核、中心被蓋束に破壊がみられ、残りの1匹 (No. 15) は赤核の一部や中心被蓋束の破壊がみられた。

このように猫定位脳図譜上で A 5.0～7.0, H -3.0～-4.0の座標を主とする破壊 (No. 10, 12, 13, 17, 18, 21) では赤核の腹側に破壊が及び、いずれも非律動性の斜頸を示した。また A 5.0～6.0, H -2.0の座標を主とする破壊 (No. 20, 22) では赤核の内側に破壊が及び、うち1匹 (No. 20) は律動性の、また他の1匹 (No. 22) は非律動性の斜頸を示した。一方 A 5.0～7.0, H 0～-1.0の座標を主とする破壊 (No. 3, 7, 15, 16, 19,

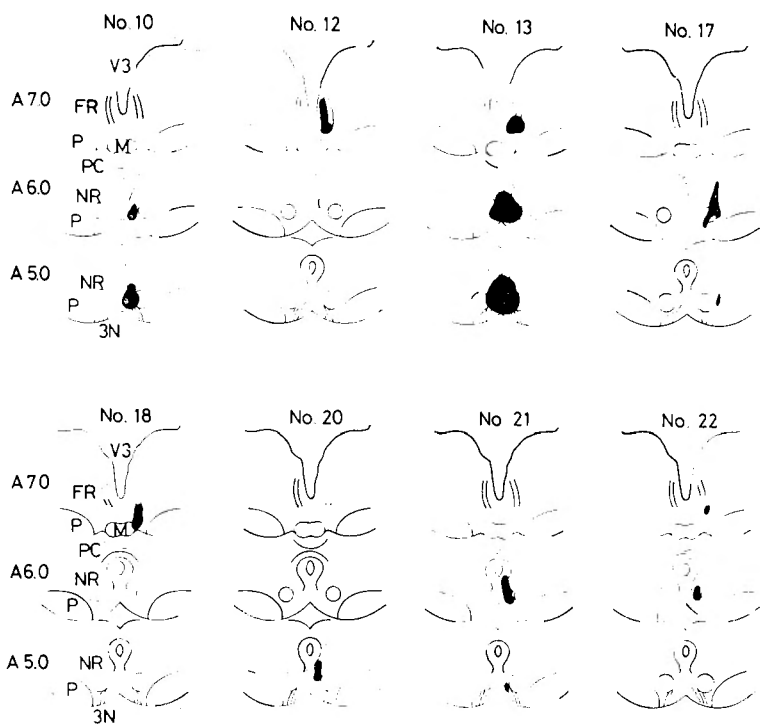


Fig. 4. Extent of lesions in cats with torticollis

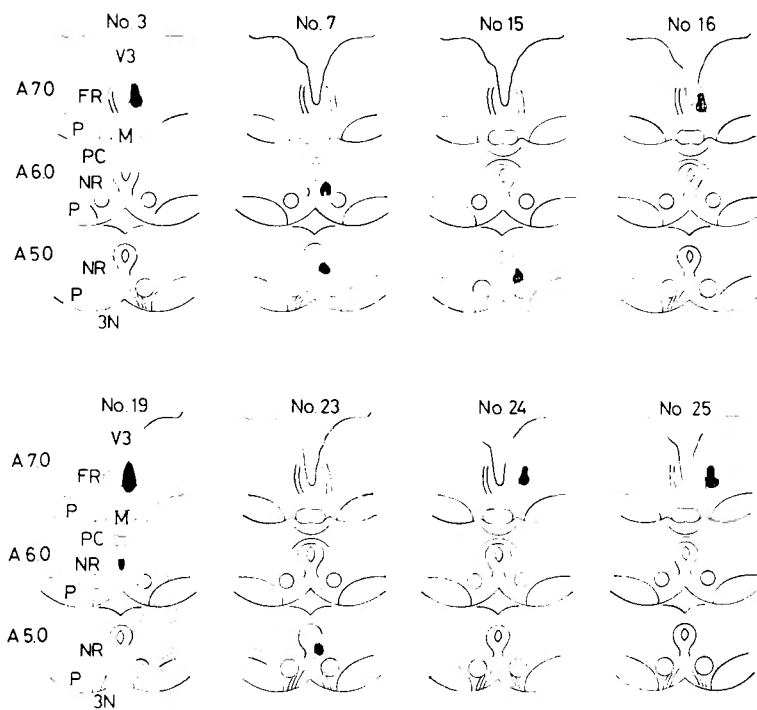


Fig. 5. Extent of lesions in cats without torticollis

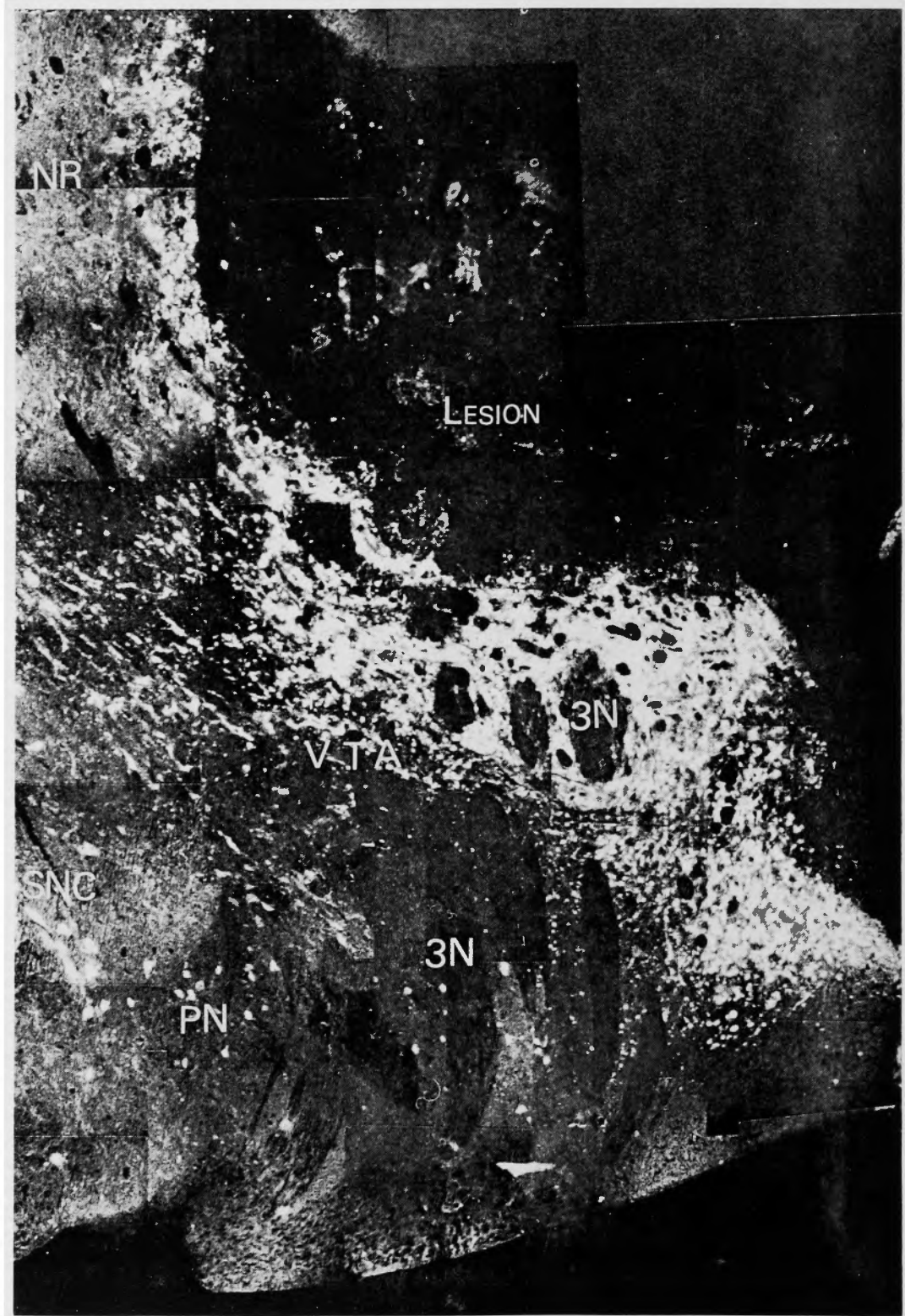


Fig. 6. Photomontage of the ventral tegmental area (VTA) 4 days after lesioning of Cat No. 13. Frontal section. Strongly fluorescent monoaminergic axons were clearly evident ventral to the lesion. Swollen varicose fibers were observed running ventromedially to VTA. DA cells in the ventromedial part of compact division of the substantia nigra (SN), and paranigral nucleus (PN) appeared normal. 3N : oculomotor nerve, NR : red nucleus.

23. 24. 25) では中脳背側被蓋や視床に破壊が及んでおり、斜頸はみられなかった。斜頸のうち非律動性回旋のみで側屈のみられなかった4匹 (No. 10. 18. 21. 22) の破壊は内側寄り (L1.0~2.0) であり、健側への非律動性側屈を示した2匹 (No. 12. 20) も内側寄り (L1.0) の破壊であった。それに対して患側への側屈を示した2匹 (No. 13. 17) では破壊はより外側にまで (L3.0~4.0) 及んでいた。

以上より、中脳腹内側被蓋、とくに VTA の内側部の破壊では回旋を主体とした斜頸を示し、赤核や VTA の外側部の破壊では側屈を主体とした斜頸を示した。また、腹側被蓋交叉を含む赤核の内側の破壊でも回旋を主体とした斜頸を示した。赤核の背内側や中脳水道周囲灰白質、視床束傍核の破壊では斜頸はみられなかった。

D. 斜頸猫における中枢モノアミン神経系の変化

斜頸のみられた8匹中6匹 (No. 10. 12. 13. 17. 18. 21) では VTA の破壊によってモノアミン線維の変化がみられた。破壊巣の腹側 (Fig. 6) および尾側 (Fig. 2 F) では強い緑色蛍光および黄色蛍光を有する膨化した連珠状線維がみられるようになり、この変化は破壊側のみで健側にはみられない。これは VTA を上行するカテコールアミン線維 (無処置あるいは薬物処置の所見から、その殆んどは DA 線維で、NA 線維はわずかと考えられる) や 5-HT 線維の切断によって神経線維内の軸索流が遮断され、そのためモノアミン線維の近位端にモノアミンが蓄積され、線維の膨化、蛍光の増加をきたしたものと考えられる。この所見は破壊巣の近傍や尾側でもっとも著明であり、破壊巣からはなれるにつれてその程度は減少する。VTA の破壊によって、破壊側の VTA の DA 細胞、とくに内側部の DA 細胞や吻側線状核の DA 細胞は消失した。VTA の最外側に破壊のみられた1匹 (No. 17) では黒質 DA 細胞の消失がみられたが、他の例では著変を認めなかった。VTA の破壊により黒質から腹内側に走り、VTA に入る DA 線維は膨化した連珠状構造を示した (Fig. 2 D, Fig. 6)。この変化は破壊が VTA のより外側にみられた例で著るしかった。

赤核の内側に破壊のみられた2匹 (No. 20. 22) では VTA 破壊例ほど著しい変化はみられなかったが、赤核の内側を走る 5-HT 線維の膨化がみられた。

一方、斜頸例のみならず非斜頸例においても、赤核の背内側や中脳水道周囲灰白質腹側部に NA 線維と 5-HT 線維の膨化が認められた。しかし、これら中脳背内側被蓋にみられるモノアミン線維の変化は、その線維の数、膨化の程度、蛍光の強さのいずれにおいても VTA での所見とくらべて、はるかに軽微であった。

以上より VTA 内側部の破壊では回旋を主体とする例が多く、VTA を上行する DA 線維および 5-HT 線維の切断がみられた。上行性 DA 線維は色素性脚傍核、腹側被蓋野核、吻側および中心線状核に由来し、上行性 5-HT 線維は背側縫線核、上中心核および中心線状核に由来すると考えられる。一方 VTA 外側部の破壊では側屈を主体としており、黒質より上行する DA 線維の切断がみられた。

IV. 考 察

吻側中脳または中脳間脳境界部の内側被蓋を破壊した猫の破壊後2~6日間の症状を観察すると共に、Falck-Hillarp 法を用いてモノアミン神経系の変化を観察した。破壊巣の尾側の中脳被蓋に連珠状に膨化したモノアミン線維がみられたが、この所見は中枢モノアミン線維の走行を追跡する有力な指標となる³⁰⁾。中枢モノアミン神経系の形態学的研究にはラット^{2), 7), 14) 20), 30)}が主に用いられてきたが、他の哺乳類についても研究が行なわれるようになり、若干の種族差はあるものの基本的には同一であることが確認されている。今回の猫の中脳におけるモノアミン細胞の分布についてもラットと基本的に同じであった。中脳における上行性モノアミン神経路は、1) 腹側被蓋野 (VTA) を上行する多くの DA 線維と 5-HT 線維および少数の NA 線維、2) 中脳水道周囲灰白質の腹外側で、中心被蓋束を上行する NA 線維および 5-HT 線維、3) 内側毛帯の背側や背外側を上行する NA 線維、4) 中脳水道周囲灰白質内の背側縦束を上行する NA 線維、の4つがラットで報告されている^{2), 20), 30)}。今回の実験で猫

においても上記4つの神経路が確認されたが、それ以外に、赤核の内側を上行する5-HT線維および背側縦束の中をNA線維と共に上行する5-HT線維があり、従って5-HT線維はVTA、中心被蓋束以外にこれらの神経路を通して上行していると考えられる。

神経終末の分布域についてもラットにおいて詳細な研究がなされている^{20),30)}。中心被蓋束を上行するNA線維は青斑核に由来し、大脳皮質に至っている。また背側縦束を上行するNA線維やVTAを上行するNA線維はいずれも視床下部に終わっている。一方、VTAを上行するDA線維のうち、黒質由来のものは線状体(尾状核、被殻)に、また黒質以外の中脳DA細胞からの線維はnucleus accumbens、終条間質核、嗅結節などの辺縁系に神経終末を送っている。DAやNAのようなカテコールアミンに比して、5-HTは蛍光が弱く、また蛍光が消失し易いこともあって、5-HT神経系の走行はいまだ十分に解明されていない。しかし最近のautoradiographyを用いた研究³⁾によると、VTAを上行する5-HT線維のうち背側縫線核に由来するものは線状体、嗅結節、中隔野に、また上中心核由来のものは大脳皮質、海馬に神経終末を送っているとされている。従って、一側のVTAの破壊によって、視床下部のNA、線状体や嗅結節、終条間質核のDA、そして線状体、嗅結節、中隔野、大脳皮質の5-HTの減少がおけると考えられるが、とりわけ不随意運動に関係の深い線状体のDAおよび5-HTが減少すると考えられる。今回の実験において、VTAの内側部の破壊によって回旋を主体とした斜頸が発現し、破壊尾側でDA線維および5-HT線維の切断による膨化が認められた。VTA内側部を上行するDA線維は中脳辺縁系DA神経系として終条間質核、嗅結節へと至っている。一方、この部位を上行する5-HT線維のうち背側縫線核由来のものは線状体に終る。Moriらは中脳内側被蓋の破壊によって回旋性斜頸をきたした猫の尾状核モノアミン量を測定し、5-HTの減少が著明で、NAやDAの変化はわずかであったと報告している。以上より、首の回旋運動に中枢5-HT、とくに背側縫線核線状体5-HT神経系が関与している可能性が考えられる。またVTAの外側部の破壊で黒質DA細胞の消失した例では側屈を主体とした斜頸を示したが、このことは黒質DA神経系が首の側屈に関与している可能性を示唆している。Ungerstedt³¹⁾はラットで黒質の一侧破壊によって、首と尾の側屈や回転性歩行のおこることを報告し、またCools⁴⁾は猫で尾状核の電気刺激

やDA微量注入で側屈、回転性歩行のおこることを報告しており、黒質線状体DA神経系は首の側屈運動に関与していると考えられる。Ganesら¹⁵⁾は猫ではVTAの破壊によっても振戦や他の不随意運動はみられなかったとしているが、Poirierら^{25),26)}は猿や猫のVTAの破壊で斜頸のみられる例のあることを報告している。彼らはこれを中心被蓋束の破壊によるとしているが、今回の実験で中心被蓋束に破壊が及んでいても斜頸のみられない例があり、破壊が腹内側被蓋に及んでいた例に斜頸がみられたことから、斜頸はVTAの破壊による症状と考えられる。電気凝固巣あるいは挿入した電極による破壊によって、中心被蓋束や中脳水道周囲灰白質に上行性NA線維および5-HT線維の切断がみられたが、この所見は斜頸例のみならず非斜頸例においてもみられたことから、これらの上行性NAあるいは5-HT神経系は少くとも首の運動に関与していないと考えられる。

中脳内側網様体^{12),22)}やCajal間質核の破壊¹⁹⁾あるいは電気刺激によって斜頸のおこることが報告されており、また臨床治験例から小脳視床系⁵⁾や赤核—中心被蓋束—オリブ核系²⁷⁾が頸部の運動に重要な意義をもつとされている。今回の実験から、これらの非モノアミン神経系に加えて、VTAを上行するモノアミン神経系も頸部の運動に関与していると考えられる。そしてVTAの内側部を上行する背側縫線核線状体5-HT神経系が首の回旋運動に、また外側部を上行する黒質線状体DA神経系が首の側屈運動に関与している可能性が考えられる。

V. ま と め

1) 猫25匹を用い、頭頸部の姿勢異常や異常運動に中枢モノアミン神経系が関与しているか否かを検索した。9匹は無処置、あるいはL-dopa、Pargylineなどの前処置を行ない、Falck-Hillarp法を用いて、中脳モノアミン細胞の分布およびその線維の走行を観察した。16匹は吻側中脳で内側被蓋を種々のレベルで破壊し、症状を観察した後、同様に中脳モノアミン神経系の変化を観察した。

2) NA細胞は青斑核、青斑下核に、DA細胞は中脳網様体、黒質緻密帯、腹側被蓋野および吻側線状核にみられる。5-HT細胞は背側縫線核および上中心核にみられる。また中心線状核にはDA細胞と5-HT細胞が混在している。上行性NA線維は中脳水道周囲灰白質、中心被蓋束、内側毛帯の近傍および腹側被蓋

野を上行する。上行性 DA 線維は腹側被蓋野を上行する。上行性 5-HT 線維は中心被蓋束、腹側被蓋野のみならず、中脳水道周囲灰白質や赤核の内側をも上行している。腹側被蓋野は多くの DA 線維や 5-HT 線維の上行する部位として重要な位置を占めている。

3) 16匹の猫を用いて吻側中脳内側被蓋を種々のレベルで破壊したが、このうち 8 匹に斜頸がみられた。8 匹中 1 匹は律動性斜頸を示したが、他の 7 匹は非律動性斜頸を示した。斜頸は回旋を主体とするものと、側屈を主体とするものとがみられた。運動失調は 16 匹すべてに認められた。回転性歩行は 3 匹において、瞳孔不同は 5 匹において認められた。

4) 斜頸のみられた例では腹側被蓋野や赤核の内側に破壊がみられ、非斜頸例では中脳水道周囲灰白質、Cajal 間質核、中心被蓋束、視束束傍核に破壊がみられた。斜頸例では腹側被蓋野を上行するモノアミン線維、とくに DA 線維および 5-HT 線維の切断による変化が顕著に認められた。

5) 以上より、頸部の運動に腹側被蓋野を上行する DA 神経系や 5-HT 神経系が関与していると考えられる。さらに、背側縫線核線状体 5-HT 神経系が首の回旋運動に、また黒質線状体 DA 神経系が首の側屈運動に関与している可能性についても言及した。

VI. お わ り に

本論文の要旨は第 17 回日本神経学会総会（1976 年 5 月、東京）で発表した。

稿を終るに臨み、御指導、御校閲を賜りました恩師、半田肇教授ならびに御校閲を賜りました京都大学医学部薬理学教室、高折修二教授、藤原元始教授に衷心より感謝の意を表します。また蛍光組織化学法について御指導、御教示頂きました同助教授、田中千賀子先生に厚く御礼申し上げます。本研究を行なうに際して、同薬理学教室の設備機器を利用させて頂いたことを感謝致します。また適切な御助言を頂きました長崎大学医学部脳神経外科学教室、藤田雄三学兄に深謝致します。

References

- 1) Berman, A. L. : The brain stem of the cat, A cytoarchitectonic atlas with stereotaxic coordinates. The University of Wisconsin Press, Madison, Milwaukee and London, 1968.
- 2) Björklund, A., Nobin, A. and Stenevi, U. : The use of neurotoxic dihydroxytryptamines as tools for morphological studies and localized lesioning of central indolamine neurons. *Z. Zellforsch.*, **145** : 479-501, 1973.
- 3) Bobillier, P., Petitjean, F., Salvetti, D., Liger, M. and Seguin, S. : Differential projections of the nucleus raphe dorsalis and nucleus raphe centralis as revealed by autoradiography. *Brain Research*, **85** : 205-210, 1975.
- 4) Cools, A. R. : Chemical and electrical stimulation of the caudate nucleus in freely moving cats : The role of dopamine. *Brain Research*, **58** : 437-451, 1973.
- 5) Cooper, I. S. : Effects of thalamic lesions upon torticollis. *New Eng. J. Med.*, **270** : 967-972, 1964.
- 6) Cotzias, G. C., Van Woert, M. H. and Schiffer, L. M. : Aromatic amino acids and modification of parkinsonism. *New Eng. J. Med.*, **276** : 347-379, 1967.
- 7) Dahlström, A. and Fuxe, K. : Evidence for the existence of monoamine-containing neurons in the central nervous system. I. Demonstration of monoamines in the cell bodies of brain stem neurons. *Acta physiol. scand.*, **62** Suppl. **232** : 1-55, 1964.
- 8) Di Carlo, V., Hubbard, J. E. and Pata, P. : Fluorescence histochemistry of monoamine-containing cell bodies in the brain stem of the squirrel monkey (*Saimiri sciureus*). IV. An atlas. *J. Comp. Neur.*, **152** : 347-372, 1973.
- 9) Ehringer, H. und Hornykiewicz, O. : Verteilung von Noradrenaline und Dopamin (3-Hydroxytyramin) im Gehirn des Menschen und ihr Verhalten bei Erkrankungen des extrapyramidalen System. *Klin. Wochenschr.*, **38** : 1236-1239, 1960.
- 10) Euler, U. S. v. : A specific sympathomimetic ergone in adrenergic nerve fibers (sympathin) and its relation to adrenaline and nor-adrenaline. *Acta physiol. scand.*, **12** : 73-97, 1947.
- 11) Falck, B., Hillarp, N.-Å., Thieme, G. and Torp, A. : Fluorescence of catecholamines and related compounds condensed with formaldehyde. *J. Histochem. Cytochem.*, **10** : 348-354, 1962.
- 12) Foltz E. L., Knopp, L. M. and Ward, A. A., Jr. : Experimental spasmodic torticollis. *J. Neurosurg.*, **16** : 55-72, 1959.
- 13) Fujita, Y. and Tanaka, C. : Histochemical demonstration of catecholamine containing nerve cell bodies in the Java monkey brain stem. In : *Amine Fluorescence Histochemistry* M. Fujiwara and C. Tanaka, eds. pp. 39-46 Igaku Shoin, Tokyo, 1974.

- 14) Fuxe, K. : Evidence for the existence of monoamine neurons in the central nervous system. IV. The distribution of monoamine terminals in the central nervous system. *Acta physiol. scand.*, 64 Suppl. 247 : 37-85, 1965.
- 15) Ganes, T., Kaada, B.R. and Nyberg-Hansen, R. : Failure to produce postural tremor by mesencephalic lesions in cats. *J. Comp. Neur.*, 128 : 127-132, 1966.
- 16) Hamberger, B. : Reserpine-resistant uptake of catecholamines in isolated tissues of the rat. *Acta physiol. scand.*, Suppl. 295 : 1-56, 1967.
- 17) Ishikawa, M., Shimada, S. and Tanaka, C. : Histochemical mapping of catecholamine neurons and fiber pathways in the pontine tegmentum of the dog. *Brain Research*, 86 : 1-16, 1975.
- 18) Ishikawa, M. and Tanaka, C. : Morphological organization of catecholamine terminals in the diencephalon of the rhesus monkey. *Brain Research*, in press.
- 19) Jung, R. and Hassler, R. : The extrapyramidal motor system : *Handbook of Physiology. Section I, Neurophysiology. Vol. 2*, pp. 890-895, Williams and Wilkinson Co., Baltimore, 1960.
- 20) Lindvall, O. and Björklund, A. : The organization of the ascending catecholamine neuron systems in the rat brain as revealed by the glyoxylic acid fluorescence method. *Acta physiol. scand.*, Suppl. 412 : 1-48, 1974.
- 21) Maeda, T., Pin, C., Salvert, D., Ligier, M. et Jouvét, M. : Les neurones contenant des catecholamines du tegmentum pontique et leurs voies de projection chez le chat. *Brain Research*, 57 : 597-625, 1973.
- 22) Mizawa, I. : Experimental spasmodic torticollis in cat. *Arch. Jap Chir.*, 32 : 597-625, 1963.
- 23) Mori, K., Fujita, Y., Shimabukuro, H., Ito, M. and Handa, H. : Some considerations for treatments of spasmodic torticollis. Clinical and experimental studies. *Confilia neurol.*, 37 : 265-269, 1975.
- 24) Nobin, A. and Björklund, A. : Topography of the monoamine neuron systems in the human brain as revealed in fetuses. *Acta physiol. scand.*, Suppl. 388 : 1-40, 1973.
- 25) Poirier, L. J., Sourkes, T. L., Bouvier, G., Boucher, R. and Carabin, S. : Striatal amines, experimental tremor and the effect of harmaline in the monkey. *Brain*, 89 : 37-52, 1966.
- 26) Poirier, L. J., Singh, P., Boucher, R., Bouvier, G., Oliver, A. and Larochelle, P. : Effect of brain lesions on striatal monoamines in the cat. *Arch. Neurol.*, 17 : 601-608, 1967.
- 27) 関野宏明 : 特殊の臨床的姿勢異常 [その7], 脳幹と頸の運動, 神経研究の進歩, 11 : 526-533, 1967.
- 28) Shimada, S., Ishikawa, M. and Tanaka, C. : Histochemical mapping of dopamine neurons and fiber pathways in dog mesencephalon. *J. Comp. Neur.*, 168 : 533-543, 1976.
- 29) Snider, R. S. and Niemer, W. T. : A stereotaxic atlas of the cat brain. The University of Chicago Press, Chicago, 1961.
- 30) Ungerstedt, U. : Stereotaxic mapping of the monoamine pathways in the rat brain. *Acta physiol. scand.*, 82 Suppl. 367 : 1-48, 1971.
- 31) Ungerstedt, U. : Striatal dopamine release after amphetamine or nerve degeneration revealed by rotational behavior. *Acta physiol. scand.*, Suppl. 367 : 49-68, 1971.