慶応義塾大学医学部, 耳鼻咽喉科教室 (主任: 鈴木教授).
Dept. of Oto-Rhino-Laryngol. (Head: Prof. Y. SUZUKI), School of Med., Keio Univ.,
Shinjuku-ku, Tokyo.

正常成熟モルモットと家兎のラセン神経節細胞に 関する細胞学的並びに電子顕微鏡的研究.*

Cytological and Electron Microscopic Studies on the Spiral Ganglion
Cells of the Adult Guinea Pigs and Rabbits.

鈴木安恒, 渡辺 昭, 長田光博

Yasunobu SUZUKI, Akira WATANABE and Mitsuhiro OSADA.

(Received August 2, 1963).

近時, 内耳の諸種細胞の形態学的研究は電子顕微鏡によって著しく進歩した (Engström と Wersäll 1958, Iurato 1961, Spoendlin 1957 等). 一方, 末梢神経節細胞についての電子顕微鏡的研究は多いが (本陣 1961, Andres 1961 a, b 参照), ラセン神経節については僅かに山本 (1962), 山本, 西村, 石田 (1963) の簡単な報告があるに過ぎないようである. また抗結核剤投与実験及び騒音性難聴実験時の内耳に関する病理組織学的研究は枚挙にいとまがないほど多いが, 細胞学的観察は殆んど行なわれていない. この研究はこの方面の実験に最もよく用いられる正常成熟モルモットのラセン神経節細胞について細胞学的と電子顕微鏡の観察を行なったもので, 同時に家兎のラセン神経節細胞も観察し参考とした. 吾々が計画している今後の諸種実験的研究の基礎的研究である.

I. 材料と方法.

正常成熟モルモット (15例) と家兎 (4例) をエーテル及びラボナールで麻酔したのち, 骨迷路を破壊し採取した蝸牛軸を Levi 氏液, Regaud 氏液, ホルモール-アルコール等で固定し, Golgi 装置の検出には Kolatchev 氏法を行なった. 次いで Kolatchev 氏法を行なったもの以外は5%トリクロール酢酸にて約5日間脱灰し, 脱水後にキシロールを経てパラフィンに包埋, 4 μ 厚の連続切片とした. Kolatchev 氏法固定切片は脱パラフィン後そのまま, 又は Kull 氏染色を行なって観察した. 染色には Levi 氏液固定切片に Heidenhain 氏鉄ヘマトキシリン及びアザン染色を用い, その他過沃度酸 Schiff (PAS) 反応を施し, 唾液消化試験を併用した. Regaud 氏液, ホルモール-アルコール及び10%ホルモール固定切片にヘマトキシ

* 明治製菓学術振興資金による.

リン (Hansen)-エオジン染色, チオニン単染色も行なった。

電子顕微鏡観察には採取した蝸牛軸を酢酸ペロナル緩衝液により pH 7.4 に調整した 1% OsO_4 溶液で 2—4°C で 2 時間固定した。固定後に水洗することなく 50% アルコールで数回洗滌し, 70, 90, 100% アルコールで脱水した。包埋に際しては styrene-butyl methacrylate 樹脂包埋法, epoxy 樹脂包埋法 及び epok 533 樹脂包埋法を用いた (Kushida 1959, 1961, 1963)。超薄切片の作製に際しては Porter-Blum 型 ultramicrotome にガラスナイフを使用した。

Epoxy 樹脂に包埋した切片はシリカを真空蒸着したシートメッシュに直接のせて uranyl acetate 飽和溶液 (50% アルコール) で 4 時間染色ののち電顕にて検鏡した (Kushida 1961)。日立製 HU-10 型 及び 日本電子製 JEMT-6 型電子顕微鏡を用い, 直接倍率 1,000—10,000 倍にて撮影した。

モルモットについては各例とも鼓膜所見は正常で, Preyer 反射を行ない, 聴力正常であることを確めた。

II. 所見と考察.

A. 光学顕微鏡所見.

ラセン神経節細胞は Kolatchev 標本 (神経節細胞の明調及び暗調神経細胞を分類するに適する, 大屋 1959 参照) について観察するに, 比較的明調な双極神経細胞よりなり, その大きさはほぼ等しい (図 1, 2)。核は 1 個で, 円形から楕円形であり, 細胞内に偏心性に位置することも多く, 1—数個の核小体を有し, 屢々これが核膜に接する。細胞体は前庭神経節細胞のものより小さく, 大屋 (1959) の研究した人の脊髄神経節細胞とは異なり, 細胞質を内, 外形質に明瞭に区別出来

Fig. 1. Bipolar spiral ganglion cells of guinea pig (markhaltige Ganglienzellen, SCHARF, 1958), each of them has one satellite cell. Myelin sheath is observed around the cell body (perikaryon). The nucleus contains three or more nucleoli often attaching to the nuclear membrane. LEVI, iron-hemat. $\times 1,260$

ないことが多い。時に普通染色標本でやや暗調に染まる細胞が認められ, その細胞質には多数の小空胞が出現しており, 屢々核が萎縮し濃染する。これを第 2 種類の細胞型と考えるより, 1 種類の細胞型のうちで, 他と違う機能状態にあるものと見なすことが適当と思われる。このような細胞が甚だ少数ではあるが, 正常神経節に於いても認められることは注目すべきである。次に糸粒体は細胞質内

に散在性に多数認められ、主として糸状と桿状である(図1). その分布状態を見ると、細胞質中に分布しやや同心円性に配列する傾向があり、大沢(1956)の所見とほぼ一致するようである. また Kolatchev 標本で比較的簡単な Golgi 装置が核周囲に検出され(図3), 普通染色標本(Levi 固定, アザン並びに鉄ヘマトキシリン染色標本等)でも明細管, 即ち Golgi 陰像として認められることもある. なお, 家兎ではモルモットと比較して, 細胞体がやや大きく, Golgi 装置もよく発達している(図3を図1と比較). Nissl 物質は微細粒子として瀰漫性に証明されることが多く, これは桐谷(家兎, 1942)の所見にほぼ一致する.

神経細胞, 特に脊髓神経節細胞に出現する色素顆粒については多数の詳細な報告がある(Scharf 1958 参照). ラセン神経節細胞には屢々淡黄色の粗大な色素顆

Fig. 2. Filamentous and rod-shaped mitochondria in cytoplasm. Arrow indicates a rosette of pigments. Material and method, same as in Fig. 1. $\times 1,260$

Fig. 3. GOLGI apparatus of rabbit spiral ganglion cell, taking a simple form around the nucleus. Comparatively light cytoplasm is notable. KOLATCHEV's method, $\times 1,260$

粒が認められ, 形は多少角張った不正形であって, 均質性ではなく, オスミウム酸を含む固定液では時に黒化する部分がある. 核の1側に数個の色素顆粒がロゼット様に配列することがある(図2). この色素顆粒は Levi 固定切片で, 鉄ヘマトキシリン法にて好染し, azocarmin に淡染する. そして PAS 反応に陽性である(図4). この粗大色素顆粒のほかにも, 淡黄色で PAS 反応陽性の微細顆粒が細胞質中に多数認められる. 鉄ヘマ

トキシリンによく染まるために糸粒体と区別し難いことがある.

本研究の被検動物のラセン神経節細胞は細胞体が髄鞘に包まれ, いわゆる有髄神経節細胞(Markhaltige Ganglienzellen. Scharf 1958 参照)である(図1, 2, 5). その外側に外套細胞が多くの場合1個認められる. この核は円形から楕円形で, 神経細胞内へ突隆する場合と, 反対に外側へ膨隆する場合とがある.

この他, 上述の神経節細胞よりも細胞体及び核が小さく, Levi 固定—鉄ヘマ

Fig. 4. Guinea pig spiral ganglion cell. A rosette of pigments (↑), which gives a positive PAS reaction. ↓ indicates a satellite cell. LEVI, PAS (after salivary digestion). $\times 1,260$

中央部に認められ、核も同様に細胞体の中央に位置する。ただしこのような核小体のほかに小さい核小体が数ヶ認められることもある。細胞体の周囲には1個の外套細胞が認められるが、髄鞘構造は認めがたい。この神経細胞については未だ詳細な報告がないようであるが、上記の神経細胞の幼若型ではなく、全く別種の機能をもつ神経細胞であるという想定も可能である。

Fig. 5. Two very light small nerve cells (arrows), each has one satellite cell. The cell body and nucleus are small in comparison with those in other cells. Note one large nucleolus in the center of the nucleus. Myelin sheath is not observed. Material and method, same as in Fig. 1. $\times 1,260$

B. 電子顕微鏡所見.

光学顕微鏡所見の項で記載した如く、モルモットと家兎のラセン神経節細胞は大部分が明調な神経細胞であるので、本項では主としてこの種の細胞の細胞体(perikaryon)について述べる。

核.

核は1個で、円形で、細胞の中央部に位置し、1—2個の核小体を有する。核質

キシリン染色標本及びアザン染色標本で細胞質の殆んど染らない非常に明調な双極神経細胞が、主として神経節の周辺部に少数認められる(図5)。しかも前記の細胞と異なり、核が小さいにも拘らず、核小体が寧ろ比較的大きく、数は1個で常に核の

と細胞質の電子密度には著しい差を認めず、このことは核質の電子密度の甚だ低い脊髄神経節細胞(黒住と秋山 1958)とは異なる。後述のように核膜を構成する2重膜のうち、外側膜が細胞質へ凸隆する像が屢々認められる(図6, 7)。また核膜孔が見あたる(図8)。核小体は脊髄神経節細胞(黒住と秋山 1958)と同じく、主として核小体系(nucleolonema)よりなり(図7)、屢々図8のように核膜に接近する。その他、染色質塊が認められることもある。

Golgi 装置.

諸種の神経節細胞と殆んど同一の構成要素よりなり、光顕所見で明らかな如く、核を囲んで出現し、細胞質の特定の部分に限って現われるのではない。Vacuole, vesicle, lamella からなるが(図6, 9, 15)、屢々 vacuole, lamella が甚しく拡大する。Golgi vesicle の内部の電子密度が比較的高い場合もある。

糸粒体.

多様な形態を示し、屢々不規則形であるが、また短棒状(図10, 9)、球形、楕円形のものもある(図6)。不規則な形をした糸粒体を山本等(1963)は核周囲のみに見たが、我々は部位的な差を認めない。細管状の糸粒体クリスタは棒状の糸粒体ではその長軸にはほぼ直角の方向に互に平行して並んでいるが、短棒状から球形の糸粒体では放射状に配列する傾向がある。そのほか、時に膨大した糸粒体を認め、この場合糸粒体クリスタの配列は疎となり、内部の電子密度は低下する(図7)。同様の所見を秋山(1960)は脊髄神経節細胞で記載し、人工的変形の可能性があるとしている。我々は糸粒体以外の細胞内小器官などの像より、寧ろ細胞の盛んな機能状態を示しているものとする。

Nissl 物質.

Nissl 物質は電顕像では電子密度の高い微細顆粒が数—10 数個ずつ集まって出来た小群の集団と粗面小胞体とから成る(図8, 10, 9)。時には粗面小胞体は層板状に配列することもある。なお図7に示されたように、この微細顆粒群が細胞質全体に瀰漫性に多量に存在し、粗面小胞体が屢々拡大して不規則な囊状となり、核周囲にも認められ、また核質の電子密度が高まった細胞が少数認められる。又この場合に本陣等(1961)の報告しているように、2枚の核膜のうち外膜が細胞質へ膨隆し、Nissl 物質の粗面小胞体に連続する傾向が著明になる。Scharf(1958)は知覚性脊髄神経節細胞を4種類に分類し、明調細胞と暗調細胞に大別し、電顕的にも Hess(1955)がこの2型を明らかにしている。即ち、前者では Nissl 物質が少量で疎に分布し、後者では多量で密に分布しているという。ラセン神経節細胞は光顕的には大部分がいわゆる明調細胞よりなり、しかも電顕的にかなり大量の Nissl 物質が認められる。この所見は、人の脊髄神経節細胞にて明暗の差が基礎形質(ground plasm)の性質の差により、Nissl 物質の量、分布などの差によるものではないとの説(大屋 1959)と一致するように思われる。

Fig. 6. A part of the guinea pig spiral ganglion cell. Two nucleoli (NI), composed of nucleolonema, are seen near the nuclear membrane. Over the upper portion of the nucleus are seen pigment granules (P), GOLGI complex (G) and mitochondria (M). NISSL substance (Ns), composed of rough surfaced a endoplasmic reticula and clumps of some dozen ribosomes is seen scatteringly. Myelin sheath (MS), composed of lamellar structures, envelops the cell body (confer Fig. 17) $\times 10,000$

Fig. 7. Illustrating a cell whose cytoplasm and nucleus are of comparatively high electron density. They are found in small number in the spiral ganglion. The outer nuclear membrane (*ONM*) is swollen towards cytoplasm and detaches from the inner nuclear membrane (*INM*). The clumps of some dozen granules (ribosomes) and widened endoplasmic reticula increase in number in comparison with in Fig. 6. The nucleus with nucleolonema shows a high electron density. This cell is in one stage of its function (confer Fig. 6). $\times 20,000$

Fig. 8. Same as in Fig. 6. The nuclear membrane (*INM* and *ONM*) has pores ($\uparrow$). Dark pigment granules are seen, as if it were located in the interior of mitochondria (*M*). A pigment granule near a mitochondrion has double limiting membranes, the outer membrane being especially electron dense. The NISSL substance (*NS*) is composed of endoplasmic reticula and clumps of ribosomes. $\times 35,000$

Fig. 9. A part of rabbit spiral ganglion cell. (Attention : except Fig. 9 and 14, all figures are of guinea pig.) The NISSL substance is, for the most part, clumps of ribosomes, and endoplasmic reticula are scattered. *M* rod-shaped mitochondria. GOLGI apparatus (*G*) is composed of small vesicles, lamellae and vacuoles. *P* pigment, *MS* myelin sheath. $\times 20,000$

Fig. 10. Nissl substance (NS) is seen at the right lower corner. M mitochondria. Myelin sheath (MS) looks a comparatively homogeneous layer (confer Fig. 18). $\times 17,500$

色素顆粒

光学顕微鏡で認められる粗大な色素顆粒は屢々2枚の限界膜を有し、不規則な形をなすが、ほぼ球形に近い形をとる。この内部は種々の大きさ及び電子密度の小胞によって充満され、これらの小胞の間隙は電子密度が高く暗調である(図11, 12)。これらの空胞のほか、屢々電子密度の極めて高い塊状物質が認められ

Fig. 11. The interior of the gross pigment granules (*P*) is filled with vesicles of various sizes and electron densities. Neurofilaments run in all directions. *M* rod-shaped mitochondria, *SM* myelin sheath, *NS* NISSL substance. $\times 22,000$

る。モルモット及び犬の脊髓神経節細胞 (Hess 1955, 秋山 1960), ドジョウの腸の主細胞 (鈴木, 長田, 渡辺 1963) に認められる色素顆粒の所見とほぼ一致する。

Fig. 12. Note gross pigment granules (*P*) as seen in Fig. 11 and small dense granules ($\uparrow$, pigment) in the mitochondrion (*M*). Mitochondria are somewhat swollen and possess a small number of tubelike cristae mitochondriales. $\times 45,000$

このほか、諸種の神経細胞で記載されている電子密度の高い楕円形から球形の顆粒が細胞質の種々の部位に認められる(図8, 14)。これは上記の粗大色素顆粒より小さいが、出現頻度は遙かに高い。又この顆粒が恰かも上記の粗大色素顆粒の周囲に付着している如き像を呈するものもある(図11)。この密体(dense body)について山本等(1963)は核周囲に認められ、1枚の限界膜をもち、微細顆粒状構

成を有し、屢々その中により電子密度の高い多くの小顆粒を認めるという。またその本態は不明で、リゾソーム (lysosome) と非常に類似しているという。我々の観察によれば屢々2枚の限界膜が明瞭に認められ、その内膜の電子密度は外膜と比較して低く (図8), 両者の間の層は明調である。内部の電子密度は不均質で、やや明るい層状または指紋状の構造も認められ (図14), これは Essner と Novikoff (1960) が肝細胞の色素顆粒で記載している concentric layers と類似する。この所見は糸粒体の基質の電子密度が漸次高まり、糸粒体の内膜の電子密度は外膜に比較して低下し、遂には糸粒体クリスタも消失し、内部は不均等であるが、全体的に電子密度を増して形成さ

Fig. 13. A pigment granule (P) attaches to the mitochondrion (M). It may be suggested that the mitochondria produce dense granules, having passed through the processes seen in Fig. 8 and 12. The fine dense granule may have grown up to the gross one. $\times 45,000$

Fig. 14. Pigment granule (P) shows concentric lamellar structure. $\downarrow$ clump of some dozen ribosomes of NISSL substance. M mitochondria. $\times 40,000$

れる過程を示唆しているものとも考えられる。併し、やや膨大した糸粒体と接触し (図13), 恰かも糸粒体の内部に存在しているように見えるものもある (図8, 12). これは形成された顆粒が糸粒体に付着したものか、糸粒体の1部が上記のような変化を起しつつくびれて生じたものかは不明である。既に ITO (1936) は人の虫垂壁内の神経細胞で、また大屋 (1959) は人の脊髓神経節細胞で、糸粒体の末端の肥厚部の切断によって生じた顆粒からリポフスチン顆粒が形成されることを報告しているが、こ

れがいま我々が電子顕微鏡観察によって得た糸粒体 → 電子密度の高い顆粒の像と、この顆粒が更に粗大な色素顆粒と関係をもつ所見に一致していることは興味深い。いずれにしても糸粒体と色素顆粒とは極めて密接な関係があるものと思われる。Hess (1955) はモルモットの脊髄神経節細胞で、特に老令の動物に於いて顕著に、我々が記載した粗大な色素顆粒に相当する構造を認め、これは糸粒体の膨化によって形成されるとし、また秋山 (1960) は犬の同じ神経節の細胞のうちで、萎縮した糸粒体が寧ろ色素顆粒の発生母地になるとしている。

一方、内部の電子密度のやや高くなった Golgi vesicle も屢々認められ、これと色素顆粒との間の移行を思わせる所見も得られたので、Golgi 装置との関係を否定することは出来ない。また Duncan, Nall と Morales (1960) はマウスの脊髄神経節細胞の色素顆粒は *very dense particle* (明、暗調帯が交互に層状に配列)、基質 (内膜の肥厚した糸粒体の基質と類似する)、電子密度の低い小胞の 3 要素よりなり、糸粒体より出来るという。なお Andres (1961) はラットの脊髄神経節細胞の色素顆粒を *lamella* 型と *granula* 型に分類し、Golgi 装置より出来るという。副腎皮質の *liposome* (Cotte 1959)、腎細尿管上皮細胞の *cytosome* (Trump 1961)、肝細胞の *lysosome* (Essner と Novikoff 1960)、ドジョウの腸上皮細胞の色素顆粒 (鈴木、長田、渡辺 1963) 及び本論文の色素顆粒は互に電顕像が極めて類似しており、同一系列のものと考えられる。

Wellings と Siegel (1959) は Golgi 装置よりメラニン顆粒が生ずるというが、彼等のメラニン顆粒の電顕像と上記のリポスチン顆粒の電顕像とを比較すると類似しており、殆んど区別出来ないのではないと思われる。

終りに、Rosenbluth と Palay (1961) が金魚の第 8 神経節細胞の包含体を記載し、これが光顕的には色を持たないから色素顆粒ではないとしているが、これは明らかに我々の色素顆粒に相当している。

次に述べたいのは、モルモットで上記の電子密度の高い顆粒が細胞の 1 側に 10 数個の群をなしている像が認められたことである (図 15)。そして、この顆粒の周囲には、一般により電子密度が高く、明瞭な 2 枚の限界膜をもつ小胞が多数伴われる (図 16)。この小胞は Golgi 装置の *vesicle* と比較して、ほぼ同じ大きさであるが、内部の電子密度が高い。Golgi 装置の *vesicle* と同じ位置に認められるものもあるが、その起源を総て Golgi 装置に求めうるか否かはにわかに断定し難い。その他、色素顆粒及び Golgi 装置と関係なく、この小胞が群をなして細胞質中に認められる場合もある。かかる所見は 15 例中 3 例のラセン神経節に於いて認められた。なお、2 枚の限界膜を有する空胞の出現については鈴木、長田、渡辺 (1962) がモルモットの血管の内皮細胞に於いて始めて記載したが、大きさはこの小胞より遙かに大きい。一方、大きさが同じであること、電子密度の高いこと、2 重膜をもつことなど (東 1957 参照) より細胞質中の *virus* とも考えられるが、この問題については更に検討を要する。

Fig. 15. Note many vesicles with double smooth limiting membranes around pigment granules (P). GOLGI apparatus (G) consists of vesicles, vacuoles and lamellae. M mitochondrion. $\times 15,000$

神経微原線維.

神経微原線維が屢々認められる (図 10, 11).

神経細胞の外囲の層板状構造層.

神経細胞と外套細胞の細胞質との間には光学顕微鏡によって髄鞘構造が明らか

Fig. 16. Same in the preceding figure, but in high magnification. Arrows indicate vesicles with double limiting membranes, whose contents are of high electron density. They may be viruses in the cytoplasm. $\times 45,000$

にされた (Wittmaack 1904, 1906, モルモット, 犬, 家兎, ラット, Scharf 1958 引用; Kolmer 1927, 人). 一方, 電子顕微鏡では山本等 (1963) の記載しているように数層から 10 数層の層板状構造を示す髄鞘の形成が認められる (図 17, 6). 層板

間が広く開大することもあるが、これは人工的のものと思われる。山本(1962)はこの層板状構造は外套細胞の形質膜の細胞体へ向かう褶入(infoldings)によってできたものとし、更に幹神経節の外套細胞ではこの褶入は過マンガン酸カリ固定標本で観察されるが、オスミウム酸固定標本では小胞と

Fig. 17. Illustrating myelin sheath (MS) of the ganglion cell (GC), composed of few or some dozen lamellae. The cell membrane is uneven and wavy. M mitochondria, P pigment. $\times 27,000$

して認められると述べた。しかし我々はオスミウム酸固定切片で上述の層板状構造を認めたのである。そして時には、そこに明瞭な層板状構造でなくして、ほぼ均質で細い線維様構造をもつ厚い層が認められることもあるが(図10, 11, 18),

Fig. 18. In the myelin sheath (MS), fine filaments run parallel, whereas the myelin sheath, in the preceding figure, shows scarcely such a structure. $\times 27,000$

Fig. 19. Portion of a light small nerve cell. Such cells are found in the periphery of the ganglion spirale in small number. In place of a myelin sheath, one to three lamellar infoldings are seen between the satellite cell (SC) and the nerve cell body (sGC), which contain sometimes a series of small vesicles. M swollen mitochondrion with a few tube-like cristae mitochondriales. $\times 20,000$

その構造物が小胞になることはない。我々が記載した構造上の差異は固定の影響によるものと思われる。

本陣 (1961) が書いたように、末梢神経系では神経細胞の細胞体は外套細胞で

囲まれ、神経細胞の限界膜と外套細胞の限界膜とは互いに相接するというのが従来の通説であるが、上記の山本の所見や我々がラセン神経節細胞で認めたような層板状構造への注意が今後必要であろう。

髄鞘に接する神経細胞の形質膜は小さい波状を呈することがある。

光学顕微鏡で発見した非常に明調な小さい神経細胞は電子顕微鏡的には極めて発達の良い Golgi 装置と、球形から楕円形で、少数の糸粒体クリスタをもつ糸粒体及び粗面小胞体が少数認められる(図 19)。細胞の周囲は 1 個の外套細胞で包まれているが、上記の大きい神経細胞とは大いに異なり、前に見たような髄鞘構造は認められず、僅かに 2—3 の平たい infolding が認められるに過ぎない。

上記の光顕的及び電顕的所見には蝸牛の回転の部位による差異と動物の違いによる著しい差異が認められなかったことを付記する。

III. 総 括.

主として正常成熟モルモットと家兎のラセン神経節細胞につき、光学並びに電子顕微鏡を用いて観察した。

1. ラセン神経節はほぼ同じ大きさの比較的明調な双極神経細胞よりなる。核は円形から楕円形であり、細胞中央部に、時には少し偏在性に位置し、1—数個の核小体を有し、これは屢々核膜に接して認められる。時に細胞質が濃染し、多数の小空胞をもち、また核も往々萎縮し濃染する暗調な細胞が認められるが、これ等は一時の機能的変化であると考えられる。糸粒体は糸状や桿状で、散在性に多数認められ、比較的簡単な Golgi 装置が核の周りに出現する。Nissl 物質は普遍に証明されることが多い。淡黄色で、屢々オスミウム酸で黒化する部分があり、ここに鉄ヘマトキシリンと azocarmine に好染し、PAS 反応に陽性である粗大な色素顆粒が少数認められ、核側部に集まって花結びの形をすることもある。このほかに、同じ染色性を示すが、上記の粗大顆粒よりも遙かに小さい淡黄色の顆粒を多数認める。

神経節細胞の周囲は髄鞘構造を示す被膜によって包まれ、その外側に 1 個の外套細胞が認められる。

2. 電子顕微鏡で詳しく観察するに、神経節細胞の核質と細胞質の電子密度には著しい差がなく、核膜には核膜孔が認められ、屢々核膜の外膜が細胞質へ凸隆する。核小体はおもに核小体系で形づくられる。Golgi 装置は vesicle, vacuole, lamella よりなり、屢々 vacuole, lamella が甚しく拡大する。糸粒体の形は多様で短桿状、球形、楕円形などのものが散在性に分布し、時には細管状の糸粒体クリスタが認められる。Nissl 物質は電子密度の高い微細顆粒であるリボゾームが数個から 10 数個密集して作る小群の集団と粗面小胞体から成る。Nissl 物質の量は種々で、不均等にあたり、細胞質全域に分布したりする。

なお、このリボゾームが細胞質全体に多量に認められ、また粗面小胞体が拡大

し細胞質全域に亘って不規則な囊状を呈する細胞が少数認められた。この細胞の核質の電子密度も高いことが多く、糸粒体が膨化し、糸粒体クリスタの配列は疎となり、糸粒体の基質の電子密度は低下する。

粗大色素顆粒に時に2枚の限界膜が認められることもあり、この顆粒はほぼ球形をなす。内部は種々の大きさと電子密度の小胞で充満され、小胞間隙は電子密度が高く暗調である。また電子密度の極めて高い塊状物質（内部に層板状の構造が認められることがある）が認められることが希れでない。

そのほかに、この粗大色素顆粒より小さいが、出現頻度は遙かに高い楕円形から球形の電子密度の高い顆粒が存在する。その表面が垂直に切られておれば、普通そこに2枚の限界膜が明瞭に認められ、内膜は外膜と比較して電子密度が低く、両者の中間層は明調である。顆粒の内部の電子密度は不均質で、それに指紋状（同心層板状）構造が認められることも少なくなく、一見して全体が糸粒体の基質の電子密度が高まったものと似ている。併し、この顆粒がやや膨大した糸粒体に付着し、或はその内部に認められることがある。またこの顆粒と Golgi vesicle の内部の電子密度の高まったものとの間に移行を思わせる像がある。糸粒体とも Golgi 装置とも成因関係があるらしく想像される。そしてこの顆粒は粗大色素顆粒へ移行するものと見られ、lysosome, liposome, cytosome 等とよばれる物象と同系列のものであると考えられる。

2枚の平滑な限界膜をもち、電子密度の高い小胞が群をなして細胞質中に認められ、屢々色素顆粒（後者の）周囲に付着している例もあった。

神経微原線維が時に束をなして細胞質中を走る。

我々はオスミウム酸固定標本で観察したが、神経節細胞と外套細胞間には数層から10数層の層板状構造を示す髄鞘の形成が確められた。そこに vesicle の形をするものは見られなかった。

3. 上記の神経細胞より小さく、Levi 固定、鉄ヘマトキシリン染色標本及びアザン染色標本の神経節のおもに周辺部に、細胞質が普通よりも著しく明調な双極神経細胞を少数認めた。核は小さいが、核小体は1個で、大きく、核小体と核はそれぞれ核と細胞体の中央に位する。電顕的には甚だ発達の悪い Golgi 装置と球形の糸粒体及び粗面小胞体が少数認められる。

細胞体の周囲には1個の外套細胞が見られるが、この種の細胞では完全な髄鞘構造はなく、そのかわりに2—3枚の板状をした褶(ヒダ)がある。その意義については不明である。

4. 上記の神経細胞の所見には蝸牛の回転の部位による差異がなく、またモルモットと家兎の間にも著しい差異が認められなかった。

IV. 結 語.

正常成熟モルモットのラセン神経節細胞について光学並びに電子顕微鏡的観察

を行ない、同時に家兎のラセン神経節細胞をも観察して参考とした。

光学顕微鏡によってラセン神経節が多数の双極神経細胞よりなることを確め、その一般構造及び Golgi 装置、糸粒体、Nissl 物質、色素顆粒などについて記載した。次に電子顕微鏡によって超微構造を明らかにし、特に色素顆粒の形成機転とラセン神経節細胞の周りに認められる髄鞘構造について論じた。なお、小さな形の著しく明調な神経細胞を少数認めたが、その本性はまだ明らかでない。モルモットにおいて2枚の平滑な限界膜をもつ小胞を発見した。

神経細胞の微細構造には蝸牛内の部位的差異と2種の動物間の著しい差異が見られない。

稿を終るに臨み、終始御援助と御校閲を戴いた群馬大学医学部解剖学伊東俊夫教授に深く感謝の意を表します。なお、電子顕微鏡撮影に際して慶応義塾大学医学部電顕室の串田弘博士、藤原達司氏、斉藤明次氏、藤田邦夫氏に、なお光学顕微鏡写真作成に際して群馬大学医学部解剖学教室の高橋嘉幸氏に御協力を戴き、感謝致します。

Authors' Abstract.

Although several kinds of electron-microscopic studies have so far been made on various ganglion cells, it seems that concerning spiral ganglion cells there has been only one brief report of YAMAMOTO et al. (1963). The present study was made on the spiral ganglion cells of matured guinea-pig which are used most frequently for our experimental researches. At the same time rabbit's spiral ganglion cells were observed, too.

Material and methods: Fifteen healthy matured guinea-pigs and four healthy rabbits were etherized. Modioli previously taken after destroying osseous labyrinth were fixed in LEVI's solution, REGAUD's solution and formol-alcohol. For the study of the GOLGI apparatus, KOLATCHEV's method was adopted. Decalcification was performed in the 5% trichloroacetic acid about 5 days and 3 to 4 μ paraffined serial sections were made after dehydration. For the electron-microscopy, modioli were fixed in 1% osmium tetroxide adjusted to pH 7.4 with phosphate buffer, dehydrated through a series of alcohol, and then embedded in styrene and n-butyl methacrylate (1:1), epon and new epoxy resine 'Epok 533' recommended by KUSHIDA. Thin sections were cut on a PORTER-BLUM microtome with glass knives, stained with uranyl acetate, and examined in a HITACHI's HU-10 electron microscope and a NIPPON DENSHI's JEMT-6 electron microscope at magnification of 1,000—10,000.

1. The spiral ganglion consists of comparatively light bipolar nerve cells which are almost of the same size. The nucleus is round or oval in shape and is sometimes located to one side in the cells. It contains one or several nucleoli which are often found closely attached to the nuclear membrane. Occasionally a small number of comparatively dark cells are recognized. They have many small vacuoles, their cytoplasm has got dark stained and their nucleus has often become atrophic. This fact, however, is considered to be an indication of one stage of the above-mentioned nerve cell function.

A great number of filamentous and bacilliform mitochondria are recognized

scatteringly and a comparatively simply formed GOLGI apparatus is found around nucleus. NISSL substances are often observed diffusely in the cytoplasm. In spiral ganglion nerve cell, somewhat light yellowed gross pigment granules are often recognized. They are of more or less angular pseudomorph and not homogeneous, and there are some of their portions which are blackened by the fixative which contains OsO_4 . Furthermore occasions not frequently arise when several pigment granules are placed in the form of 'rosette' on one side in the cell. In fact, they are well stained with iron-hematoxylin, slightly stained with azocarmine and positive to PAS reaction. Besides this gross pigment granules, many small pigment granules which are positive to PAS reaction are found plentifully in the cytoplasm. It is often difficult to distinguish themselves from mitochondria as they are so well stained to the iron-hematoxylin.

The spiral ganglion cell is called 'markhaltige Ganglienzellen' (SCHARF 1958) and its cell body is covered with myelin sheath. In many cases, only one satellite cell envelops around a nerve cell body in a section.

2. Electron microscopic study was made on the above-mentioned nerve cell and the following results were obtained.

a) No remarkable density difference is observed between the cytoplasm and the nucleus of the spiral ganglion cell, which is different from the spinal ganglion cell (KUROSUMI and AKIYAMA 1958). Nuclear membrane pores are confirmed on the nuclear membrane. Very often the outer membrane of the nucleus swells into cytoplasm. The nucleolus chiefly consists of nucleolonema and often finds itself close to the nuclear membrane. Besides, chromatin aggregates are seen in the nucleus.

GOLGI apparatus consists of vesicles, vacuoles and lamellae, and quite often vacuoles and lamellae grow much larger. On some occasions, the interior of GOLGI vesicles shows markedly high electron density. Mitochondria which are of various forms, namely short-rod, globular or oval in shape, are distributed scatteredly in the cytoplasm. They possess slender tube-like cristae mitochondriales.

In addition, swelled mitochondria are seen occasionally and the disposition of the cristae mitochondriales becomes rougher and interior electron density falls lower. Judging from the cell organelles etc. in the cytoplasm excepting mitochondria, these findings are the indication of a cell function stage rather than an artificial deformation.

NISSL substance consists of rough surfaced endoplasmic reticula and collective bodies of small groups of granules (ribosomes) of high electron density. The NISSL substance is distributed unevenly or evenly in the cell.

Furthermore, there is a matter which is worth mentioning. That is nothing but the fact that a small number of such cells as follows have been discovered: In these cells, small granules (ribosomes) are observed in comparatively great numbers and rough surfaced endoplasmic reticula take irregular sack form. As for these cells, electron density of nuclear substances is high, mitochondria are swollen, cristae mitochondriales decrease in number and the electron density of the mitochondrial matrix becomes lower. In this case, as HONJIN (1961) already reported, the outer nuclear membrane swells toward cytoplasm, and the tendency that the NISSL substance will join themselves with the rough surfaced endoplasmic reticula becomes conspicuous.

Spiral ganglion nerve cells are so-called 'light cells' under the light microscope and are relatively rich in NISSL substance. In view of this finding, it is likely to be considered that the difference of light and darkness in cytoplasm of spinal ganglion cells does not agree to the volume and the distribution of the NISSL substance in the cytoplasm (against to HESS 1955), but to the difference of the ground plasm (OYA 1959).

Moreover neurofilaments are often observed.

b) Pigment granule. Gross pigment granules have sometimes double limiting membranes and take the irregular or roughly globular form. The interior of the pigments are filled with electron dense vesicles of various sizes and variant degrees, and the interstitium between the vesicles have high electron density. In addition, high electron dense massive ones of concentric lamellar structure are often observed.

High electron dense, round or oval shaped granules, which are smaller than the above-mentioned gross pigment granules but appear more frequently are seen. Double limiting membranes are often very distinct, the inner limiting membrane being less electron dense, and the interspace between them is clear. Sometimes, concentric lamellar structures are found in the interior of these granules, too.

On some occasions, however, such granules were attached to considerably swelled mitochondria or were placed in their interior. Consequently it is quite conceivable that the origin of these granules is attributable to the mitochondria. Meanwhile, there is a possibility that a GOLGI vesicle with high electron dense contents transforms to pigment granule. All these granules may grow up to gross pigment granules, which bear resemblance to the so-called liposome, cytosome etc.

c) Small vesicles with double smooth limiting membranes. In the spiral ganglion cells of guinea-pig, aforesaid high electron dense granules are found in a side part of cell-body in group. Around these granules are observed many small vesicles (about 110 m μ in diameter), which have two distinct smooth limiting membranes, and their internal electron density is in general comparatively high (Fig. 14 and 15). These small vesicles are almost of the same size as the GOLGI vesicle's, yet the former have a higher electron density than the latter. Even though some of these vesicles are found in the same place as those of the GOLGI vesicles, yet it is difficult to trace the origin of these vesicles to the GOLGI apparatus. Sometimes these vesicles gather in the cytoplasm apart from GOLGI area and pigment granules.

In addition, as regards the appearance of the vacuoles with double limiting membranes, it has been described for the first time by SUZUKI, OSADA and WATANABE (1962), on their study of the endothelial cells of guinea-pig's arteries, but they were far bigger than these small vesicles. There is some possibility that these vesicles are viruses in the cytoplasm, in view of double limiting membranes, high electron density of the body and same size one another (confer virus differential table by HIGASHI 1957).

d) The nerve cells of the spiral ganglion are so-called 'markhaltige Ganglienzellen' (SCHARF 1958). Their myelin sheath which is found between the nerve cell and the satellite cell shows in the electron microscope several or some dozen stratified lamellar structure. The distance from one lamella to another becomes sometimes wider. YAMAMOTO (1962) reported that this lamellar structure is originated from the infoldings

of the satellite cell plasma membrane. It is said that in the spinal ganglions such infoldings are observed only in the specimen fixed with KMnO_4 , but not in the specimen fixed with OsO_4 , in which they come out as a series of small vesicles. In the present study, however, the lamellar structure has been also recognized in the specimen fixed with OsO_4 . At times, lamellar structure does not appear and in place of it an amorphous or filamentous layer comes out. It may be due to the effect of fixation.

The nerve cell plasma membrane attached to the myelin sheath occasionally appears in wavy form.

3. In the specimen fixed with LEVI's solution and stained with iron-hematoxylin or azan staining, remarkably light bipolar nerve cells whose cell body and nucleus are smaller than the above-stated nerve cells and whose cytoplasm is almost unstainable are recognized in small numbers at the periphery of the ganglion. Though their nucleus and cell body are smaller, the sole nucleolus is rather large and is placed in the center of the nucleus. In the tissue section, generally only one satellite cell with a nucleus is recognized around the nerve cell, yet no myelin sheath structure is observed. It is noticed in the electron microscope that one to three infoldings of the satellite cell contain sometimes a series of small vesicles. In such nerve cells, primitive GOLGI apparatus, a small number of mitochondria possessing a few tube-like cristae mitochondria and a scanty of endoplasmic reticula are observed.

No detailed reports have been made concerning this nerve cell, yet it is suggestive that this is not the earlier stage form of the nerve cell, but is the nerve cell possessing an entirely different function.

4. The above-mentioned results obtained with the light and electron microscope hardly show any differences concerning the locality in the cochlea and kinds of animal (guinea-pig and rabbit).

文 献

- 秋山洋一: 脊髄神経節細胞の電子顕微鏡的研究. 日組録. 19 (1960). 頁 411-436. — **Andres, K. H.**: Untersuchungen über den Feinbau von Spinalganglien. *Z. Zellforsch.* 55 (1961). S. 1-48. — Untersuchungen über morphologische Veränderungen in Spinalganglien während der retrograden Degeneration. *Z. Zellforsch.* 55 (1961). S. 49-79. — **Cotte, G.**: Quelques problèmes posés par l'ultrastructure des lipides de la cortico-surrénale. *J. ultrastr. Res.* 3 (1959). P. 186-209. — **Duncan, D., D. Nall and R. Morales**: Observations on the fine structure of old age pigment. *J. gerontol.* 15 (1960). P. 366-372. — **Engström, H. and J. Wersäll**: The ultrastructural organisation of the organ of Corti and of vestibular sensory epithelia. *Exptl. Cell Res. Suppl.* 5 (1958). P. 460-492. — **Essner, E. and A. B. Novikoff**: Human hepatocellular pigment and lysosomes. *J. ultrastr. Res.* 3 (1960). P. 374-391. — **Hess, A.**: The fine structure of young and old spinal ganglia. *Anat. Rec.* 123 (1955). P. 399-423. — 東昇 (編集): 最近の応用電子顕微鏡学. 永井書店, 1957. — 本陣良平: 神経細胞および神経線維. 最新医学, 16 (1961). 頁 857-879. — **ITO, T.**: Zytologische Untersuchungen über die intramuralen Ganglienzellen des Verdauungstraktus. Über die Ganglienzellen der menschlicher Wurmfortsätze u. s. w. *Fol. anat. jap.* 14 (1936). S. 621-663. — **Iurato, S.**: Submicroscopic structure of the membranous labyrinth. II. The epithelium of Corti's organ. *Z. Zellforsch.* 53 (1961). P. 259-298. — 桐谷信雄: 家兔螺旋神経節細胞ニッスル氏小体の正常像及び其の脱灰液による変化に関する研究. 京府医大誌, 36

- (1942). 頁 138-156. — **Kolmer, W.**: Gehörgang. Möllendorffs Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen. Bd. 3, Tl. 1. 1927. — **黒住一昌と秋山洋一**: 神経細胞の電子顕微鏡的研究, 特に核小体とニッスル小体の超微細構造について. 電子顕微鏡. 8 (1959). 頁 129-133. — **串田 弘**: エポキシ樹脂包埋法について. 電子顕微鏡. 8 (1959). 頁 72-75. — **Kushida, H.**: A styrene-methacrylate resin embedding method for ultrathin sectioning. J. Electronmicrosc. (Jap.) 10 (1961). P. 16-19. — **大沢正人**: 聴器ミトコンドリアに関する実験的研究. 日耳鼻会報. 59 (1956). 頁 1245-1281. — **大屋正夫**: 成人脊髄神経節細胞の細胞学的研究. 日組録. 18 (1959). 頁 355-396. — **Rosenbluth, J. and S. L. Palay**: The fine structure of nerve cell bodies and their myelin sheaths in the eighth nerve ganglion of the goldfish. J. biophys. biochem. Cytol. 9 (1961). P. 853-877. — **Scharf, J. H.**: Sensible ganglien. Möllendorffs Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen. Bd. 4, Tl. 3. 1958. — **Spoendlin, H.**: Elektronmikroskopische Untersuchungen am Cortischen Organ des Meerschweichens. Pract. oto-rhino-laryng. (Basel). 19 (1957). P. 192-234. — **Suzuki, Y., Osada, M. and A. Watanabe**: Cytological and electron microscopical observations on the vascular system of the various organs and mesentery of guinea pigs, with special reference to the endothelial cells. Arch. histol. jap. 22 (1962). P. 477-514. Cytologic and electron microscopic studies on the intestinal respiration of the loach (*Misgurnus anguillicaudatus*). Arch. histol. jap. 23 (1963). P. 431-446. — **Trump, B. F.**: An electron microscope study of the uptake, transport and storage of colloidal materials by the cells of the vertebrate nephron. J. ultrastr. Res. 5 (1961). P. 291-310. — **Wellings, S. R. and B. V. Siegel**: Role of Golgi apparatus in the formation of melanin granules in human malignant melanoma. J. ultrastr. Res. 3 (1959). P. 147-154. — **山本敏行**: 幹神経節の超微構造. 日新医学. 49 (1962). 頁 777-788. — **山本敏行, 西村哲郎, 石田光男**: モルモットのラセン神経節の微細構造について. 解剖誌. 38 (1963). 頁 54-55.
-