耳鼻咽喉科領域の神経ペプチドに関する
免疫組織化学的研究
第3報：気道における神経ペプチド分布
— Substance P を中心に —

二之湯 修*・山下 敏夫*・熊沢 忠躬*

螺良 愛郎**

Immunohistochemical Studies of Peptidergic
Innervation in the Field of Otolaryngology

Part 3 : Distribution of Peptidergic Nerve
Fibers in the Respiratory Tract

Osamu Ninoyu, Toshio Yamashita and Tadami Kumazawa

(Department of Otolaryngology, Kansai Medical University)

Airo Tsubura

(2nd Department of Pathology, Kansai Medical University)

The peptidergic innervation of the guinea pig's respiratory tract was examined immunohistochemically. We investigated 3 kinds of peptides in this study-SP, VIP, L-Enk. SP was detected extensively throughout the respiratory tract-nose, larynx, trachea and its peripheral. But the other 2 kinds of peptides stained poorly or not at all.

In the nasal mucosa, fine varicose SP fibers were clearly seen in the subepithelial region, and some of them passed through the epithelial layer. Also we were able to find them around the blood vessels and the acini of nasal glands, but SP fibers were scarce around the ducts. Between the nasal glands, there were fine varicose SP nerve bundles, which innervated the nasal glands, blood vessels and epithelial region.

In the laryngeal mucosa, the distribution pattern of SP fibers was the same as in the nose, and some SP fibers were detected in the epithelial region. In the branches of the vagus nerve which run in the laryngeal region, we were able to see many SP fibers and occasionally even SP nerve cell bodies. Around the laryngeal glands and arteries, SP fibers stained well, but there seemed to be very few in the veins.

In the tracheal region, we were able to observe many fibers in the smooth muscle, subepithelial region, glands and tracheal blood vessels. These fibers mentioned above

*関西医科大学耳鼻咽喉科学教室（主任：熊沢忠躬教授）

**関西医科大学第Ⅱ病理学教室（主任：森井外吉教授）

were most numerous in the lower region of the main trachea near the carina and then lessening the number of them in the bronchi and bronchioles. SP immunoreactive nerve cell bodies were found in the tracheobroncheal region, mostly near the carina. Some SP fibers may have originated from these cell bodies along the trachea, bronchi and bronchioles.

Such SP fibers in the respiratory tract were distributed in the same way as the cholinergic nerve fibers, suggesting that SP nerves in the respiratory tract may regulate the vasodilatation, the secretion of the glands and the contraction of the smooth muscle in coordination with cholinergic nerves.

緒 言

今日まで自律神経は、交感神経（ア神経）と副交感神経（コ神経）の2つで代表されてきた。しかし最近の免疫組織化学法の発達に伴い、種々の神経ペプチドが発見され、その正確な生理学的薬理学的性格はなお不明な点もあるが、一応自律神経の範中に入れられ、中枢神経又消化管などの諸臓器における分布についての報告が見られるようになった。

鼻・喉頭・気管に関してのア神経線維^{17) 20) 21) 24)} 又コ神経線維^{18) 19) 22) 24) 25) 26) 27)} 分布についての報告が多く見られるが、神経ペプチド分布に関してはまだその報告は少なく^{6) 7) 8) 9) 10) 11)}、又 topographic に詳細に調べた文献は未だ見られない。そこで著者らは神経ペプチドのうち比較的その生理・薬理学的機能が知られている Substance P (SP), Vasoactive Intestinal Polypeptide (VIP), Leu-Enkephalin (L-Enk) の3種類の神経ペプチドに対する抗体を用い、モルモットにおける鼻・喉頭・気管についての各神経ペプチド分布を調べ検討したので報告する。

材料及び方法

A) 標本採取及び観察：実験動物としては、モルモット（体重約300g）を20匹使用した。ジエチルエーテル麻酔後、鼻甲介さらに喉頭を切除し、気管を主気管、気管支、末梢部にわけて採取した。その後PAP法、蛍光抗体法（FITC法）に従って各神経ペプチドの存在を調べた。

a) PAP法：各標本をイソペンタン（-180℃）液中で凍結した後、液体窒素（-196℃）内に一昼夜保存し、凍結乾燥機により真空乾燥を一週間施行した。その後ジエチルピロ炭酸塩蒸気中に60℃3時間留置し、その標本処理後パラフィン（Merk融解温度51～53℃）にて80℃30分間真空包埋を行なった。包埋後ブロック作製し、ミクロトームにて6μmの切片作製を行なった。グリセリン・ゼラチン混合液をスライドガラス上に塗布し、その上に各標本切片を伸展し、それぞれの標本伸展スライドガラスをパ

ラフォルムアルデヒドにより80℃1時間の処理を行なった。キシレンにて脱パラフィンの後100%アルコール、H₂O₂ 混入メタノールに30分間浸漬後、96%アルコール、70%アルコール及び0.9%食塩水中での処理を行ない、その後PBS+0.25% triton 溶液中にて浸漬した。第1抗体（表1）としてSP, VIP, L-Enk に対する各抗体を標本伸展スライドガラス上に付加し、モイストチェンバー内（4℃）にて一昼夜（18～24時間）反応させた。PBS+0.25% triton 液中に30分間の洗滌留置を行ない、その後第2抗体（表1）anti rabbit IgG sheep serum を付加し、モイストチェンバー内にて30分間反応させた。さらにPBS+0.25% triton 液中で洗滌留置後PAP（表1）を30分間反応させた。PAP染色はジアミノベンチジンにより行ない、エンテラン（Merk）にてマウントした。観察は光学顕微鏡下に行った。

表1 Characteristics of antiserum used

a) First antibody	Code No.	Working dilution in cryostat section	Working dilution in freeze dry section	Source
SP	SP-8	1:40	1:320	Dr. P. Emson, Cambridge University, Cambridge England.
VIP	7852	1:160	1:5120	Dr. R. Ekman, Malmö general Hospital Malmö Sweden.
L-Enk	170	1:60	1:640	K.-J. Chang, Burroughs Wellcome Research Triangle Park, N. C., U. S. A.

b) Second antibody and PAP	Code No.	Working dilution	Source
FITC labelled swine anti-rabbit IgG	F 205	1:20	DACO company
unlabelled sheep anti-rabbit IgG	SR 64 BO 50	1:30	SBL company
PAP (rabbit)	Z 113	1:160	DACO company

b) FITC法: 各標本を採取後, 4%パラフォルムアルデヒド液に4℃一昼夜固定を行ない, 翌日 Tyrode 液での洗滌を2日間施行, その後標本をドライアイスで凍結した. クライオスタットで約12 μ mの切片を作製し, 切片をクロマルン塗布スライドガラス上に伸展した. 第1抗体を標本伸展スライドガラスに付加後, モイストチェンバー内にて4℃3時間作用させた後PBS+0.25% triton 液中に30分間洗滌留置した. 第2抗体(表1)としてFITC labelled swine antirabbit IgG 30分間作用させた. さらにPBS+0.25% triton 液中に30分間洗滌留置した後, PBS・グリセリン混合液にてマウントし蛍光顕微鏡下に観察した.

写真撮影には, コダックASA 400 Tri-X フィルムを使用した.

B) 各種抗体(表1)

SP抗体は交叉反応試験により, 2つのC端アミノ酸配列が共通であるポンベシンやGRPと交叉反応を示さないがフィセラミンとはわず

かに交叉反応が見られた¹⁾.

VIP抗体は Enk, SP, Somatostatin, Neurotensin, Gastrin, CCK, Secretin, Glucagon, GIP との交叉反応は見られなかった²⁾.

L-Enk 抗体は, ある程度の M-Enk との交叉反応を認めたが, Endorphin 又は β -lipo-tropin との交叉反応はまったく認められなかった³⁾.

現在まだ知られていないペプチドとの交叉反応を除外する事は出来ないので, SP様, VIP様などと表現すべきであるが, 本文中では便宜上 SP, VIP, Enk 神経線維と記した.

第1抗体として使用した SP, VIP, L-Enk 各抗体に対して各抗原(10~100 μ g 合成SP, 合成Enk, 精製ブタVIP)による吸収試験を行ない, それぞれの抗体の特異性を確認した. 合成SP及び合成EnkはBeckmann社製(U. S. A.)を使用, 又精製ブタVIPはDr. V. Mutt (Stockholm, Sweden)より供給を受けた.

結

一般にSP神経線維は, 鼻甲介, 喉頭, 気管に於て非常に良く分布していたが, VIP神経

果

線維は鼻甲介分泌腺, 血管周囲, そして上皮下に認められたのみであり, 喉頭, 気管及びその

末梢における分布は、きわめて少なかった。又 L-Enk は気道系全体にその分布は認められなかったもので、ここでは気道系全体によく分布していた S P 神経線維を中心に述べる。

図1 鼻甲介粘膜上皮下を走行する S P 神経線維 (↑)。

BM: 基底膜 E: 上皮

(PAP法, ×400)

図2 鼻甲介粘膜上皮を貫く S P 神経線維及び鼻腺部 (NG) に見られた S P 神経線維網を示す。

BM: 基底膜

(PAP法, ×400)

1) 鼻甲介: S P 神経線維は鼻甲介粘膜上皮下に密に存在し (図1), 上皮内にもその存在が認められ, 中には上皮を貫いて上皮上面に到達する varicose 様神経線維も見られた (図2). 鼻内血管にはその大小を問わず血管周囲によく分布していた (図3, 図4). 鼻腺腺房にもその周囲に多く分布するが, 導管周囲には

図3 鼻甲介粘膜上皮基底膜 (BM) 下及び小血管 (V) 周囲に見られた S P 神経線維. 又鼻腺部 (NG) にもその分布を認める。

(PAP法, ×400)

図4 鼻甲介粘膜上皮基底膜 (BM) 下, 血管 (V) 周囲を走行する S P 神経線維. 血管 (V) 内に認められるのは血球による非特異的反応である。

(PAP法, ×400)

ほとんど認められなかった(図5)。又鼻腺間を通るSP神経束を見る事が出来、そこからの鼻血管、鼻腺そして上皮下・上皮内への神経線維分布が観察された。VIP神経線維はSP神経線維と同様血管周囲(図6)及び鼻腺周囲(図7)における分布を認めた。しかしその分布はSP神経線維に比べると疎であった。L-Enk神経線維は認められなかった。

2) 喉頭: 喉頭粘膜上皮下には上皮と平行に喉頭内腔周囲にそって走行するSP神経線維を見る事が出来、一部には鼻甲介部と同様上皮を貫ぬいて走行するSP神経線維も見られ(図8), この現象は声門上部の前壁に於いて著明であり、同部の上皮内にはSP陽性細胞も認め

られた(図9)。上皮下SP神経線維は喉頭前部、後部に比較的多く側壁へ行くに従いその分布は少なくなる傾向が見られ、又声門上部より声門、声門下と行くに従い、喉頭前壁SP神経線維分布は減少した。

喉頭内血管周囲にSP神経線維の豊富な分布を見た(図10)。喉頭腺は声門付近に多く分布しているが、その腺周囲にSP神経線維が比較的豊富に分布するのが観察された(図11)。喉頭内を走行する迷走神経分枝内にもSP神経線

図5 鼻腺腺房(A)に密なSP線維網を認めるが導管(D)周囲にはほとんど認められなかった。又鼻腺間を走行する比較的大いSP神経束(↑)が見られた。

(PAP法, ×400)

図6 鼻甲介粘膜上皮下血管(V)周囲に認められたVIP神経線維(↑)。

(PAP法, ×400)

図7 鼻腺部(NG)に認められたVIP神経線維。(PAP法, ×400)

図8 a: 喉頭粘膜上皮内及び上皮下に豊富に見られたSP神経線維。

L: 喉頭内腔 (PAP法, ×100)

b: 図a□内を拡大した図である。喉頭上皮(E)内を貫いて走行するSP神経線維(↑)。又上皮下神経線維を示す。

(PAP法, ×400)

維の散在が見られ(図12), 中にはS P陽性神経節細胞が認められ, そこから延びるS P神経

図9 声門上部, 喉頭前部粘膜上皮内に認められたS P陽性細胞(↑)及び基底膜下を走行するS P神経線維を示す。

(PAP法, ×800)

図10 喉頭内筋層間を走行する血管(V)周囲に見られたS P神経線維。血管内に認められるのは血球による非特異的反応である。

(PAP法, ×400)

図11 喉頭腺(LG)部に比較的豊富に認められたS P神経線維。喉頭筋(M)に直接分布するS P神経線維は見られなかった。

(PAP法, ×100)

線維が観察された(図13). 喉頭周囲では喉頭後部喉頭外筋と接する結合織内にもS P神経叢を見る事が出来たが, 直接喉頭筋に分布するS P神経線維は見られなかった(図14).

V I P神経線維は喉頭に於いてその分布は非常に少なく, Enk神経線維は認められなかった。

3) 気管: 主気管, 気管支枝, 細気管支におけるS P神経線維分布を比較すると, 一般に主

図12 喉頭内を走行する迷走神経分枝内に認められたS P神経線維。(PAP法, ×400)

図13 声門付近, 喉頭前部上皮(E)下に見られたS P神経節細胞(↑)及びそこから延びる神経線維を示す。(PAP法, ×400)

気管より末梢に行くに従い、その線維分布は少なくなる傾向が見られた。しかし主気管についていえば、上部気管と下部気管に於いて、その神経線維の分布様式には差は認めなかったが、分布密度は下部気管に多く特に気管分枝部に多く分布していた。

主気管におけるS P神経線維の局在に関しては平滑筋、気管腺、気管血管周囲にその分布が見られ(図15)、又上皮下を気管内腔周囲にそって平行に走る神経線維も見られた(図16)。主気管腺様部には、平滑筋外側に太いS P神経束が観察され(図17)、又S P神経叢及び神経節細胞をも見る事が出来た。そして主気管平滑筋を通して上皮下へ延びるS P神経線維を認めた。

気管支において気管分枝部付近では太いS P神経束が見られ、気管支軟骨間腔を通して気管

支平滑筋へと走行するS P神経線維が見られた(図18)。気管支軟骨周囲及び気管支軟骨平滑筋付近にS P神経束及びS P神経節細胞を認め(図19)、そこから内方へと延びる神経線維が見

図16 主気管粘膜上皮(E)下を上皮と平行に走行するS P神経線維を示す。(PAP法, ×100)

図17 主気管膜様部に見られた、太いS P神経束(↑)及び血管(V)周囲に見られたS P神経線維(↑↑)。(PAP法, ×400)

図14 喉頭周囲、後部喉頭外筋(M)と接するS P神経叢(↑)及びその周囲のS P神経線維を示す。(PAP法, ×400)

図18 気管分枝部、気管支軟骨(C)間を通して気管支平滑筋(M)側へと延びるS P神経束(↑)。(PAP法, ×400)

図15 主気管平滑筋内を走行するS P神経線維(↑)を示す。(PAP法, ×800)

図19 気管支軟骨外側に認められたS P神経節細胞(↑)。(FITC法, ×300)

図20 気管支軟骨(C)側より気管支平滑筋(M)へと延びるS P神経束(黒↑)及び平滑筋を貫いて走行するS P神経線維(白↑)を示す。(PAP法, ×100)

図21 気管支平滑筋付近に見られたS P神経節細胞(黒↑)及び平滑筋を貫いて上皮(E)下へと延びるS P神経線維(白↑)を示す。(PAP法, ×400)

られた(図20, 21)。又気管支上皮下において平滑筋上縁にそって走行するS P神経線維そして上皮粘膜ヒダ内へ走行する神経線維が見られた。平滑筋内又平滑筋外縁に沿うS P神経線維を認め、その一部はS P神経叢を形成していた。

気管支枝、細気管支と末梢に行くに従いS P神経節細胞数は減少する傾向が見られたが、細

気管支領域にまで細気管支外側を走行するS P神経束を見る事が出来た。又細気管支においても上皮下、平滑筋内、外膜周囲にS P神経線維を認め、一部にはS P神経叢の形成が見られた。

VIP神経線維は非常に少なく、Enk神経線維は認められなかった。

考

気道系におけるA神経線維、C神経線維の組織化学的研究に対し、近年 Coons⁴⁾によるFITC法そして Sternberger らによるPAP法⁵⁾などの免疫組織化学法の発達により neurotransmitter 又 neuromodulator としての働きを持つと言われる神経ペプチドについても、その気道系における存在を蛍光顕微鏡下又光学顕微鏡下に見る事が可能となった。気道におけるペプチド神経線維分布の研究は、Nilsson⁶⁾及び Sundler⁷⁾らがモルモットを使用し気管におけるS P分布を、又 Uddman⁸⁾⁹⁾¹⁰⁾¹¹⁾らはネコの鼻部S P、VIP分布を報告し、又VIPの気道系における分布をネコ、ウサギ、モルモット、ブタ、人より材料を採取し検討している。しかしこれらの報告は断片的で気道系における分布を topographic には観察していない。

今回著者らは、気道の神経ペプチド分布観察

按

にFITC法及びPAP法の両法を用いたがそれぞれ一長一短がある。FITC法による手技は第1抗体に蛍光をラベルした第2抗体を作用させることにより、2段階で反応を終える事が出来、結果を得るまでの時間が比較的短かく、手技が容易であるという利点がある。しかし一方組織蛍光を長期保存する事は出来ない。PAP法は第1抗体そして第2抗体を作用させた後にさらにPAPを作用させ、そして1時間のジアミノベンチジン反応が必要でやや操作が煩雑であるが、組織の長期保存観察が可能であり又FITC法に比較し、かなり高感度である為、同一抗体量で多くの標本作製が出来ると等の利点がある。その為今回行った気道系全体の比較検討には組織の長期保存と光学顕微鏡下に比較観察可能なPAP法を主として使用し、場合によりFITC法を追加した。

S P及びV I Pの神経ペプチドとしての一般的説明に関しては、著者らはすでに耳鼻科領域の神経ペプチドに関する免疫組織化学的研究第1報¹²⁾、第2報¹³⁾に述べておりそれらを参照されたい。

Enkは1975年 Hughes¹⁴⁾によりブタ脳から5個のアミノ酸からなるペプチドとして抽出された。その機能としては Uddman¹⁵⁾ や Cordner¹⁶⁾らの消化器系に関する研究によりアドレナリン、アセチルコリン、セロトニンなどの modulator として消化管運動を調節していると考えられる。

今回の研究で著者らは SP, VIP, Enk 3種の抗体を使用し、各ペプチド神経線維の気道系における分布を調べたが、鼻、喉頭、気管全体にわたって S P神経線維は非常に豊富に分布しているのが観察された。そこで各部位における考察を S Pを中心に述べたいと思う。

Uddman⁸⁾らはネコ鼻部において S P神経線維が血管周囲、腺房周囲、上皮下、上皮内に見られたとしているが、モルモットを用いた著者らの観察でも鼻部において S P神経線維は、血管・腺房周囲及び上皮下に認められ、一部は上皮を貫いている神経線維も見られた。ア神経線維¹⁷⁾及びコ神経線維¹⁸⁾は粘膜上皮内に認められないとされているが、S P神経線維の鼻部上皮内に存在する所見は、S P神経線維が一次知覚ニューロンに含まれ、そして痛覚を伝達すると言われている点で興味ある事と思われる。

鼻腺は混合腺と言われており、それに対する自律神経分布は、主としてコ神経線維であるとされ¹⁷⁾¹⁹⁾、Dahlström²⁰⁾らはア神経線維は見られなかったと報告している。S P神経線維は鼻腺腺房に多く分布しており、コ神経線維の分布様式と良く類似していた。一方腺管に関してはコ神経線維と同様¹⁸⁾、腺管周囲に S P神経線維分布はほとんど見られなかった。血管周囲には、主としてア神経線維が分布している¹⁷⁾とされているが、S P神経線維も比較的豊富に見られた。しかし Ishii¹⁸⁾らのコ神経線維の研究と

同様、静脈にはその分布は少なかった。

V I P神経線維に関しては、血管周囲、腺房周囲及び上皮下に認められたが、その分布は S Pに比較し少なく思われた。又上皮内には認められず、その走行はコ神経線維と類似していると思われた。鼻部へのペプチド神経線維由来について Uddman⁸⁾¹¹⁾らは V I P神経節細胞、S P神経節細胞をネコ及びブタ翼口蓋神経節中に観察しており、そしてこれらの神経節細胞により局所ペプチド神経支配がされていると述べている。又これらの神経節細胞は、アセチルコリンも含んでいるとしており、もし神経末端においてもそれらペプチド神経線維が共存しておれば、ペプチド神経線維とコ神経線維とが協調して末梢に作用しているのであろうと述べている。Änggard¹⁹⁾らは鼻粘膜には、アトロピン又はインドメサシンには反応しない血管拡張機構があるとしているが、S P, V I Pのアトロピン拮抗性である血管拡張作用、腺分泌促進作用などを考慮すれば、S P, V I Pが十分に上述の機構に関与している可能性を示唆するものと思われた。

喉頭に関する自律神経分布については、久²¹⁾らがア神経線維分布を報告しており、上喉頭神経及び反回神経にア神経線維成分の存在を、又喉頭腺に同線維の分布を観察している。しかしコ神経線維については、反回神経内に AchEの存在を見た報告が存在するのみである²²⁾。又神経ペプチドに関しては Uddman⁹⁾らがネコ喉頭において V I Pを血管周囲、腺周囲に認めたとのみ報告しているにすぎない。著者らは S P神経線維が喉頭粘膜上皮下に存在するのを観察し、さらに鼻部と同様喉頭粘膜上皮を貫く S P神経線維が存在する事を明らかにした。

喉頭腺に関しては人において声門部を中心にその上下に腺組織が密に分布している²³⁾。著者らはモルモットにおいても同様の所見を認め、この腺組織に S P神経線維が比較的豊富に認められた事は S Pが鼻腺と同様喉頭腺分泌調節に関与している事を示唆する所見と思われた。

迷走神経よりの分枝である喉頭内神経中にも S P 神経線維を認め、又 S P 神経節細胞を認めたことは喉頭に対し血管拡張、腺分泌などに局所神経節細胞による *intrinsic* な調節作用が考えられると推察した。

Nilsson⁶⁾, Sundler⁷⁾ らは気管平滑筋、分泌腺、血管周囲、上皮下などにおける S P 神経線維分布を報告しているが、著者らも各部位における S P 神経線維の局在を認めた。一般に気管、気管支における S P 神経線維は粘膜上皮下に存在するが、鼻部及び喉頭部と違い上皮内には認められなかった。又気管分泌腺及び血管系にも S P 神経線維は密に分布しているが、全体として静脈系には鼻部・喉頭部と同様、その神経線維分布は疎であった。

気管平滑筋に S P 神経線維は広く分布し、特に平滑筋外周にそって S P 神経叢が形成されているのが観察された。一方主気管膜様部、気管支軟骨内・外側そして細気管支周囲にも S P 神経節細胞が認められ、その分布は気管分枝部に多い事が観察された。これらの所見は Mann²⁴⁾, 鈴木²⁵⁾, El-Bermani^{26) 27)} らの研究によるコ神経線維及びコ神経節細胞分布様式と近似したものであった。そして彼らは局所神経節細胞による平滑筋及び上皮下コ神経線維支配を述べているが、著者らは S P 神経線維の *topographic* な観察からそのコ神経線維支配に S P の直接又間接的な関与がありうると推測した。又気管分泌腺・血管について、その周囲に存在する S P 神経線維の局所 S P 神経節細胞による *intrinsic* な調節機能が考えられた。

この様に気道全般における S P 神経線維と文献上見られるコ神経線維との相互関係は、その分布様式の類似性から、おそらく両者が協同して気道系における血管拡張、腺分泌亢進、平滑筋収縮などを調節しているものと推察した。又、Chubb²⁸⁾ らは S P が AchE により加水分解される事を示し、S P 陽性ノイロンにおける AchE の機能面からの存在意義を述べている。

一方、S P の生理・薬理実験は多く行なわれているが、その中で Nilsson⁶⁾ は S P はアトロピンによりブロックされず気管平滑筋に対する強力な収縮作用がある事を示し、又 Johnson²⁹⁾ 及び Hägermark³⁰⁾ らは S P が mast cell よりヒスタミンを放出させる作用を持つ可能性を示唆し、さらに Lembeck³¹⁾, Chahl³²⁾ らはエバンスブルーを用い、S P を投与した際皮膚にその染料の溢出を認め、この所見は皮膚血管透過性を亢進した結果であると述べている。これらの諸家による知見は、著者らが気道系すべてに S P の豊富な分布を観察した事を考え合わせると S P がアレルギー性鼻炎又喘息など気道アレルギーにも関与する可能性を示唆している。

V I P 神経線維は、鼻部・喉頭・気管と総じてその分布は少なく、Uddman らによる V I P 神経線維がネコ気道系に豊富に見られたと報告している⁹⁾ 点と比較し、動物の種差による影響と思われた。Enk 神経線維は、モルモット鼻部・喉頭・気管と気道系すべてに認められず、食道に見られたとする報告¹⁵⁾ に比較し興味ある所見と思われ、今後さらに詳細な検討を要すると考えた。

著者らが専攻する、耳鼻咽喉科学領域の各器官に於ける機能、及びその疾患に対して、自律神経ははかり知れなく大きな影響を与えている。一方最近の免疫組織化学法の進歩により、古典的な交感神経・副交感神経による自律神経作用に加えて、新たに神経ペプチドの存在が脚光をあびてきており、その存在を無視しては自律神経作用を語れないと言える。しかるにこの神経ペプチドの耳鼻咽喉科領域器官に於ける分布に関する研究は極めて少ない。そこで著者らは既報^{12) 13)} 及びこの論文に於いて、耳鼻咽喉科学領域の主要器官に於ける神経ペプチド分布を *topographic* に観察し、文献的考察を加え検討した。これらの知見が各耳鼻咽喉科領域器官の自律神経機能については疾患を考える時、何らかの参考になる事を期待する。

ま と め

モルモット気道に於ける Substance P (SP), Vasoactive Intestinal Polypeptide (VIP), Leu-Enkephalin (L-Enk) の3種の神経ペプチド分布をPAP法及びFITC法を用い観察した。

総体的にSP神経線維は気道系全体に豊富な分布を認めたが、VIP及びL-Enk神経線維の分布は少ないか、又は全く認めなかった。

鼻粘膜上皮下にSP神経線維の豊富な分布を認め、その一部は上皮を貫き、上皮上面に到達していた。鼻腺、血管周囲にも密な分布を認め、時に神経束を形成していた。

喉頭に於けるSP神経線維は鼻粘膜と同様上皮下固有層に密な分布を認め、一部は上皮内にも分枝していた。又喉頭内を走行する迷走神経分枝中にSP神経線維を認め、時にSP神経節細胞の存在も認めた。喉頭腺周囲、血管、特に動脈周囲にも豊富な分布を認めた。

主気管・気管支・細気管支に於けるSP神経線維分布は一般に主気管より末梢に行くに従い少なくなる傾向を認めた。その分布は特に気管分枝部周囲に密で、同部にSP神経束や神経節細胞を多く認めた。

以上の気道系に於けるSP神経分布は文献に見られるコリン作動神経の分布様式と近似したものであり、おそらく両者が協同して気道系に於ける血管の拡張、腺分泌亢進、平滑筋収縮などを調節しているものと推察した。

本研究の一部は文部省科学研究費(No.56480289)の援助を受けた。

本論文の要旨の一部を第34回日本気管食道学会に於いて発表した。

尚、耳鼻咽喉科領域の神経ペプチド分布に関する一連の研究において御協力を頂いたLund大学、Dr. Rolf Uddman及びDr. Frank Sundlerに心から感謝する。

参 考 文 献

- 1) Brodin, E., et al: Immunoreactive substance P in chicken gut, distribution, development and possible functional significance. *Cell Tissue Res.* 216: 455~469, 1981.
- 2) Sporrang, B., et al: Neurohormonal peptides in ovarian carcinoids. An immunohistochemical study of eighty-one primary carcinoids and of intra-ovarian metastases from six mid-gut carcinoids. *Cancer*, 48: 68~74, 1982.
- 3) Alumets, J., et al: Leu-enkephalin-like material in nerves and enterochromaffin cells in the gut: An immunohistochemical study. *Histochemistry*, 56: 187~196, 1978.
- 4) Coons, A.H., et al: Studies on antibody production. 1. A method for the histochemical demonstration of specific antibody and its application to a study of the hyperimmune rabbit. *J. Exp. Med.* 102: 49~60, 1955.
- 5) Sternberger, L. A., et al: Immunohistochemistry. Prentice-Hall Inc., Englewood Cliffs, N. J. 1974.
- 6) Nilsson, G., et al: Distribution and constrictor effect of substance p in guinea pig tracheobronchial tissue. Substance P, edited by U.S. von Euler and B. Pernow. Raven Press. New York: 75~81, 1977.
- 7) Sundler, F., et al: Perivascular substance p immunoreactive nerves in tracheobronchial tissue. Substance P, edited by U.S. von Euler and B. Pernow. Raven Press. New York: 271~273, 1977.
- 8) Uddman, R., et al: Peptide containing nerves in the nasal mucosa and tracheobronchial

- wall. *Rhinology* 19: 75~79, 1981.
- 9) Uddman, R., et al: Occurrence and distribution of VIP nerves in the nasal mucosa and tracheobronchial wall. *Acta Otolaryngol.* 86: 443~448, 1978.
 - 10) Uddman, R., et al: Vasoactive intestinal polypeptide nerves in human upper respiratory tract. *O. R. L.* 41: 221~226, 1979.
 - 11) Uddman, R., et al: The origin of vasoactive intestinal polypeptide (VIP) nerves in the feline nasal mucosa. *Acta Otolaryngol.* 89: 152~156, 1980.
 - 12) 二之湯 修, 他: 耳鼻咽喉科領域の神経ペプチドに関する免疫組織化学的研究 第1報: 中耳粘膜および耳管における神経ペプチド分布. *耳鼻臨床* 76: 1481~1489, 1983.
 - 13) 二之湯 修, 他: 耳鼻咽喉科領域の神経ペプチドに関する免疫組織化学的研究 第2報: 蝸牛血管における自律神経分布. *耳鼻臨床* 76: 1773~1781, 1983.
 - 14) Hughes, J.: Isolation of an endogenous compound from the brain with pharmacological properties similar to morphine. *Brain Research* 88: 295~308, 1975.
 - 15) Uddman, R., et al: Peptidergic (enkephalin) innervation of the mammalian oesophagus. *Gastroenterology* 78: 732~737, 1980.
 - 16) Corder, R., et al: Gut hormones. edited by Bloom, S. R. and Polak, J. M. Churchill Livingstone, Edinburgh: 425~431, 1981.
 - 17) Ånggård, A., et al: Adrenergic innervation of the nasal mucosa in cat. *Acta Otolaryngol.* 78: 232~241, 1974.
 - 18) Ishii, T., et al: Acetylcholinesterase activity in the vasomotor and secretory fibers of the nose. *Arch. Klin. Exp. Ohr. -, Nas. -u. Kehl. Heilk.* 201: 1~10, 1972.
 - 19) Ånggård, A.: The effects of parasympathetic nerve stimulation on the microcirculation and secretion in the nasal mucosa of the cat. *Acta Otolaryngol.* 78: 98~105, 1974.
 - 20) Dahlström, A., et al: The adrenergic innervation of the nasal mucosa of certain mammals. *Acta Otolaryngol.* 59: 65~72, 1965.
 - 21) 久 育男, 他: 犬喉頭における交感神経系の形態学的研究. *日気食会報* 32: 99, 1981.
 - 22) Malmgren, L. T., et al: Acetylcholinesterase staining of fiber components in feline and human recurrent laryngeal nerve. *Acta Otolaryngol.* 91: 337~352, 1981.
 - 23) 中島 格, 他: 喉頭の免疫組織化学的研究. 腺組織分布と SIgA 産生. *日気食会報* 32: 103, 1981.
 - 24) Stephen P, Mann., et al: The innervation of mammalian bronchial smooth muscle: the localization of catecholamines and cholinesterases. *Histochemical Journal* 3: 319~331, 1971.
 - 25) 鈴木 隆: 気管・気管支の神経支配に関する形態学的研究. *日気食会報* 33: 443~452, 1982.
 - 26) El-Bermani, AI-W: Innervation of the rat lung acetylcholinesterase containing nerves of the bronchial tree. *Am. J. Anat.*, 137: 19~30, 1973.
 - 27) El-Bermani, AI-W: Acetylcholinesterase positive nerves of the rhesus monkey bronchial tree. *Thorax*, 30: 162~170, 1975.
 - 28) Chubb, I. W., et al: Acetylcholinesterase hydrolyzes substance P. *Neuroscience* 5: 2065~2072, 1980.
 - 29) Johnson, A.R., et al: Release of histamine from mast cell by vasoactive polypeptides. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 142: 1253~1256, 1973.
 - 30) Hägermark, O., et al: Flare and itch induced by substance P in human skin. *J. Invest. Dermatol.* 71: 233~235, 1978.
 - 31) Lembeck, F., et al: Substance P and sensory nerve endings. Substance P., edited by U.S. von Euler and B. Pernow. Raven Press. New York: 169~181, 1977.
 - 32) Chahl, L.A.: The effect of putative peptide neurotransmitters on cutaneous vascular permeability in the rat. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol.* 309: 159~163, 1979.

原稿到着: 昭和58年6月20日

別刷請求先: 二之湯 修

〒570 大阪府守口市文園町1

関西医科大学耳鼻咽喉科学教室