精管および副睾丸の自律神経支配の精管切断術による 変化に関する実験的研究

金沢大学医学部泌尿器科学教室 高 野 學
(主任: 黒田恭一教授)

THE EFFECT OF VASECTOMY ON THE AUTONOMIC INNERVATION OF THE VAS DEFERENS AND EPIDIDYMIS IN RATS

Manabu Takano

Department of Urology, School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa
(Director: Prof. K. Kuroda)

In order to clarify the effect of vasectomy on the autonomic innervation of the vas deferens and epididymis, an animal experiment has been performed using histochemical and pharmacological techniques.

A group of 68 rats was subjected to a unilateral vasectomy study and their contralateral vasa deferentia were served as controls. In an additional group of 38 rats, the animals received a unilateral ligation of the vas deferens. Each subgroup of 5 to 9 rats in both groups was sacrificed 1, 2, 3 and 4 weeks and 2, 3 and 6 months after vasectomy or ligation. The distribution of adrenergic fibers and acetylcholinesterase positive fibers in these epididymides and vasa deferentia were investigated by Falck-Hillarp method and Karnovsky method modified by El-Badawi and Schenk, respectively. The sensitivity of these removed vasa deferentia to noradrenaline, adrenaline and acetylcholine was determined using an isometric *in vitro* technique.

The results obtained are as follows:

- 1) The denervation of the vas deferens and cauda epididymidis proximal to the site of vasectomy or ligation was observed one week after vasectomy or ligation.
- 2) In case of ligation, the autonomic reinnervation of the proximal portion of the vas deferens and cauda epididymidis occurred 2 weeks after operation, and the rate of regeneration of the autonomic fibers was approximately one cm a month. While, in case of vasectomy, there was a considerable delay of the autonomic reinnervation in most rats and no reinnervation in some rats.
- 3) The histological distribution of autonomic fibers regenerating in the muscular layer of the vas deferens was similar to that in the controls. On the other hand, the distribution of acetylcholinesterase positive fibers regenerating in the submucosal layer was considerably rare as compared with the controls.

From these results, possible clinical significance of these effects is discussed.

要旨: 精管切断術による精管と副睾丸の自律神経支配における変化を明らかにする目的で、ラットを用い組織化学的方法と薬理学的方法により実験的研究を行なった。1側精管を切断し対側は対照とした68匹と、1側精管を結紮した38匹の計106匹のラットを使用した。それぞれ5～9匹を術後1, 2, 3, 4週後と、2, 3, 6ヵ月後に屠殺して副睾丸と精管を摘出し、その自律神経支配について、組織化学的にはFalck-Hillarp法により交感神経節後線維, El-Badawi および Schenk のKarnovsky変法によりacetylcholinesterase陽性線維の分布を観察し、薬理学的には生体外での摘出精管の張力測定法により、精管の自律神経系薬物に対する感受性を検討した。得られた結果は以下のごとくである。

- 1) 精管の切断や結紮により、同部より睾丸側の精管と副睾丸尾部は、術後1週後には除神経された。
- 2) 精管結紮後では自律神経支配の再生は術後2週後以内に開始され、精管内は1ヵ月間に約1cmの速度で自律神経線維が再生したが、精管切断後では自律神経支配の再生開始は遅延しており、6ヵ月後でも自律神経支配の再生を認めない例がみられた。
- 3) 精管に再生した自律神経線維の分布は、筋層においては対照側と類

似した分布を示したが、粘膜下層における acetylcholinesterase 陽性線維の再生は、対照側の密な分布に比し粗であり障害されていると考えられた。

なお精管と副睾丸の自律神経支配における精管切断術による変化の臨床的意義について考察した。

緒 言

精管切断術が安全な避妊方法として普及するに伴い、精管再開通術を希望する不妊患者の増加が指摘されている¹⁾²⁾。しかし精管再開通術後の精子出現率や妊娠成功率は、手術手技の進歩にもかかわらず必ずしも高くはないとする報告³⁾⁴⁾が少なくない。この原因として精管切断術による精管支配神経の障害を指摘する報告⁵⁾⁶⁾が散見される。しかし現在までのところ、精管切断術が精管神経支配にどのような障害を与えるかに関しては、ほとんど検討がなされていない。そこで著者はラットを用いて精管切断術を行い、術後の精管と副睾丸の神経支配に関して組織化学的、薬理学的に検討した。組織化学的には交感神経節後線維（以下 adrenergic 線維と略す）は蛍光組織化学的に catecholamine 蛍光を発する線維として認識できることを利用した蛍光組織化学的方法⁷⁾、副交感神経線維は acetylcholinesterase（以下 ACh-E と略す）陽性線維であることを利用した酵素組織化学的方法⁸⁾により観察し、薬理学的には Magnus 法により主として精管の自律神経系薬剤に対する感受性を検討し、若干の知見を得たので報告する。

実験材料および方法

A. 実験材料

生後2～3カ月の雄性ウィスター系ラット106匹を使用した。Nembutal® 麻酔下に開腹し、1側精管を膨大部より約1cm 中枢側でできるだけ周囲組織の損傷を避けて結紮切断し、対側は対照とした68匹と、結紮のみで切断を行わなかった38匹のラットについて検討を行った。術後1, 2, 3, 4週後と2, 3, 6ヵ月後に各5～9匹屠殺し、副睾丸と切断または結紮部より中枢側（すなわち睾丸側）の精管を摘出した。対照とした対側精管は切断または結紮部位に一致する膨大部より約1cmの部位より中枢側の精管を摘出した。摘出した精管は両端約5mmを組織化学的検査の材料とし、それぞれ尿道側精管、睾丸側精管とした。残り約2cmの精管を薬理学的検査の材料とした。一部の例では切断または結紮部位より末梢側（すなわち尿道側）の精管も摘出し、組織化学的観察を行った。

B. 実験方法

1) 組織化学的検査

摘出した精管を直ちにあらかじめ液体窒素で冷却しておいた isopentane 内に投入し凍結させ、cryostat を用い15μ の凍結切片を作製した。catecholamine 蛍光の観察は、五酸化リンの入った容器で1時間乾燥させたのち、Falck-Hillarp 法⁷⁾に準じ1時間80℃のフォルマリン・ガスで処理し、蛍光顕微鏡下で観察した。ACh-E 活性は同様に作製した凍結切片を El-Badawi および Schenk⁸⁾ の Karnovsky 変法に準じ incubation medium (acetylthiocholine iodide 12.5mg, 0.06N sodium acetate 15.8ml, 0.1N acetic acid 0.5ml, 0.1M sodium citrate 1.2ml, 30mM cupric sulfate 2.5ml, 4mM isomPA 0.5mM potassium ferricyanide 2.5ml, 蒸溜水 2.0ml) に37℃, 120分浸漬し、水洗、脱水、透徹の後グリセリン封入を行い光学顕微鏡下で観察した。一部には Harris-hematoxylin による核染色を行った。

2) 薬理学的検査

摘出した精管を Magnus 法により50ml の Tyrode 液（蒸溜水1l 中、NaCl 8.0g, KCl 0.2g, MgCl₂ 0.1g, CaCl₂ 0.2g, NaH₂PO₄ 0.05g, NaHCO₃ 1.0g, ブドウ糖 1.0g を含む）の液槽内に懸垂した。温度は37℃とし、95%の O₂ と5%の CO₂ の混合ガスを通気した。収縮は等尺性に日本光電社製 FD ピックアップと RH 20型記録計により記録した。用量反応曲線の検討時には薬剤は低濃度から高濃度へと投与し、間隔は10分間とした。荷重は0.2g とし、それを基線として収縮を記録した。薬剤は *l*-noradrenaline（東京化成）、*l*-adrenaline（Sigma）、acetylcholine chloride（第一化学）、Phentolamine mesylate（Ciba）、atropine sulfate（田辺製薬）を使用した。

実験成績

I. 組織化学的所見

1) 対照側精管および副睾丸：ラット精管内の adrenergic 線維の分布は、筋層には強い catecholamine 蛍光を発する adrenergic 線維終末の密な分布がみられ、外膜内の血管壁にも分布が認められたが、粘膜下組織には adrenergic 線維の分布は認められなかった。筋層内の adrenergic 線維は、尿道側では筋層全体に密な分布がみられたが（図1）、睾丸側では外膜に接する筋層においてやや粗な分布が認められた（図2）。

図1 A fluorescence micrograph of a cross-section of the vas near the urethra treated with formaldehyde vapor for localization of catecholamins. Numerous fluorescent nerve terminal are distributed in the muscular layer. $\times 100$

図2 A fluorescence preparation from the testicular end of the vas. The terminals are less frequent in the outer muscular layer and are absent in the submucosa. $\times 100$

副睪丸内の adrenergic 線維の分布は、尾部では副睪丸管の筋層や周囲の間質組織に密な分布がみられたが(図3)、体部や頭部では間質組織の血管壁にのみ認められた(図4)。

精管の外膜には太い ACh-E 陽性線維が多数認められ、精管筋層内の ACh-E 陽性線維の分布は、尿道側では粘膜下組織に面する筋層を除き粗な分布であり(図5)、睪丸側では全層にわたり密な分布がみられ、特に粘膜下組織に面する筋層で顕著であった(図6)。また粘膜下組織には ACh-E 陽性線維の密な分布が認められた。

副睪丸内の ACh-E 陽性線維の分布は、尾部では副

図3 A fluorescence preparation of the cauda epididymidis. The tubules are surrounded by rich fluorescent nerve fibers. $\times 100$

図4 A fluorescence preparation of the caput epididymidis. Arterioles are surrounded by fluorescent nerve fibers. $\times 100$

図5 An ACh-E preparation of the vas near the urethra. Large ACh-E positive fibers are seen in the adventitia, and very few ACh-E positive nerve fibers are apparent in the muscular layer. $\times 40$

図 6 An ACh-E preparation from the testicular end of the vas. The inner aspect of the muscular layer are related to many ACh-E positive nerve fibers, the submucosa possesses a rich ACh-E positive nerve fibers. $\times 40$

図 7 An ACh-E preparation of the cauda epididymidis. The tubules are surrounded by rich ACh-E positive nerve fibers. $\times 40$

辜丸管の筋層や周囲の間質組織に密な分布が認められたが(図7)、体部や頭部では分布が認められなかった(図8)。

これらの対照側の精管内と副辜丸内の adrenergic 線維と ACh-E 陽性線維の分布は、対側精管の切断や結紮後のいずれの期間においても、その分布に変化が認められなかった。

2) 結紮側精管および副辜丸：結紮側の精管や副辜丸における adrenergic 線維と ACh-E 陽性線維の分布は、結紮部位より末梢側の精管においては、術後のいずれの期間においても対照側と同様の分布を示し、また副辜丸頭部においてもその分布に変化が認められなかった。結

図 8 An ACh-E preparation of the caput epididymidis. Note a lack of ACh-E positive nerve fibers. $\times 40$

図 9 A fluorescence preparation from the testicular end of the vas which was ligated before 7 days. A complete absence of fluorescent nerve terminals. $\times 100$

図10 An ACh-E preparation from the testicular end of the vas which was ligated before 7 days. Note a lack of ACh-E positive nerve fibers. $\times 40$

紮部位より中枢側の精管や副睪丸尾部においては、術後1週後の例では全例において、尿道側精管、睪丸側精管、副睪丸尾部のいずれの部位にも adrenergic 線維と ACh-E 陽性線維の分布が認められなかった。図9、図10に結紮1週後の睪丸側精管の catecholamine 蛍光染色と ACh-E 染色の所見を示した。

その後、結紮部位より中枢側の精管や副睪丸尾部における adrenergic 線維と ACh-E 陽性線維の分布を経時的に観察すると、術後2週後の例では既に全例に尿道側精管に粗な adrenergic 線維と ACh-E 陽性線維の分布が認められ、その分布密度は経時的に次第に密となり、3ヵ月後の例では尿道側精管とともに睪丸側精管にも

adrenergic 線維と ACh-E 陽性線維の分布が全例に認められた。6ヵ月後の例では尿道側精管、睪丸側精管とともに、副睪丸尾部にも明らかな adrenergic 線維と ACh-E 陽性線維の分布が全例に認められ、その精管内の分布様式は、尿道側精管、睪丸側精管それぞれの部位で筋層では対照側と類似した分布様式を示したが、粘膜下組織内の ACh-E 陽性線維の分布は対照側に比べ非常に粗であった。図11、図12、図13、図14に結紮6ヵ月後の尿道側精管と睪丸側精管の adrenergic 線維と ACh-E 陽性線維の分布を示した。

3) 切断側精管および副睪丸：切断側の精管や副睪丸における adrenergic 線維と ACh-E 陽性線維の分布は、

図11 A fluorescence preparation from the urethral end of the vas which was ligated before 6 months. The existence of uniformly distributed fluorescent nerve terminals. $\times 100$

図13 An ACh-E preparation from the urethral end of the vas which was ligated before 6 months. There are few ACh-E positive nerve fibers in the submucosa. $\times 40$

図12 A fluorescence preparation from the testicular end of the vas which was ligated before 6 months. The terminals are less frequent in the outer muscular layer. $\times 100$

図14 An ACh-E preparation from the testicular end of the vas which was ligated before 6 months. Many ACh-E positive nerve fibers are distributed on the inner aspect of the muscular layer. $\times 40$

切断部位より末梢側の精管あるいは副睪丸頭部においては、結紮された精管と同様に、分布に変化は認められなかった。切断部位より中枢側の精管や副睪丸尾部においては、術後1週後から3週後までの例では全例に、尿道側精管、睪丸側精管、副睪丸尾部のいずれの部位にも adrenergic 線維と ACh-E 陽性線維の分布は認められなかった。

その後の切断部位より中枢側の精管や副睪丸尾部にお

ける adrenergic 線維と ACh-E 陽性線維の分布は、術後4週後と2カ月後の例では、それぞれ7例中2例、6例中2例に尿道側精管にのみ adrenergic 線維と ACh-E 陽性線維の粗な分布を認めたが、その他の例ではいずれの部位にも分布が認められなかった。術後3カ月後の例では、7例中3例に尿道側精管に adrenergic 線維と ACh-E 陽性線維の分布を認め、内1例は睪丸側精管にも adrenergic 線維と ACh-E 陽性線維の分布を認めた

図 15

1) Contractions induced by noradrenaline in an isolated vas deferens preparation from a control rat.

2) Supersensitivity to noradrenaline in a preparation of the vas deferens 7 days after ligation.

3) Supersensitivity to noradrenaline in a preparation of the vas deferens 7 days after vasectomy.

4) Inhibitory effect of phentolamine on noradrenaline in an isolated vas deferens preparation from a control rat.

が、他の4例ではいずれの部位にも分布が認められなかった。術後6カ月後の例では、9例中5例に尿道側精管の adrenergic 線維と ACh-E 陽性線維の分布を認め、その内3例は睪丸側精管にも adrenergic 線維と ACh-E 陽性線維の分布を認めた。睪丸側精管にも adrenergic 線維と ACh-E 陽性線維の分布を認めた3例中2例では、副睪丸尾部にも adrenergic 線維と ACh-E 陽性線維の分布を認め、その精管内の分布様式は結紮された精管と同様に、粘膜下組織内の ACh-E 陽性線維の分布を除き、対照側精管の分布様式と類似していた。6カ月後のその他の4例ではいずれの部位にも adrenergic 線維と ACh-E 陽性線維の分布を認めなかった。

4) 小括

精管内や副睪丸内の adrenergic 線維と ACh-E 陽性線維の分布は、精管切断または結紮1週後には切断・結紮部位より中枢側の精管と副睪丸尾部においては分布が

認められなくなった。その後、切断・結紮部位に近接する精管に始まり、副睪丸尾部に向かう adrenergic 線維と ACh-E 陽性線維の再分布が、結紮後では術後2週後に全例に認められたが、切断後では再分布の開始時期は遅延しており、6カ月後でも再分布を認めない例があった。

II. 薬理学的所見

1) 対照側精管

a) noradrenaline の作用：対照側精管では栄養槽に加えた noradrenaline は $3 \times 10^{-7} \text{M}$ の濃度から収縮作用を示し、この収縮は noradrenaline の存在下において間もなく自然に消失した。図15の1にその用量反応曲線を示した。また noradrenaline 10^{-5}M での収縮反応は、phentolamine 10^{-6}M の前処置により抑制されるのが認められた(図15の4)。

b) adrenaline の作用：対照側精管では adrenaline

図 16

1) Contractions induced by adrenaline in an isolated vas deferens preparation from a control rat.

2) Supersensitivity to adrenaline in a preparation of the vas deferens 14 days after vasectomy.

3) Inhibitory effect of phentolamine on adrenaline in an isolated vas deferens preparation from a control rat.

は 10^{-7}M から収縮作用を示し、その収縮は adrenaline の存在下においても自然に消失した。図16の1にその用量反応曲線を示した。また adrenaline 10^{-6}M での収縮は phentolamine 10^{-6}M の前処置により完全に抑制されるがみられた (図16の3)。

c) acetylcholine の作用：対照側精管では acetylcholine は検討を行った9例中4例では、図17の1に示すように $3 \times 10^{-5}\text{M}$ から収縮作用を示し、その 10^{-4}M での収縮は atropine 10^{-6}M の前処置により抑制されるのがみられた (図17の3)。しかし9例中5例では、 10^{-3}M 以上の濃度で 0.2g 以下の一過性の収縮を認めるのみであり、acetylcholine には必ずしも一定した収縮作用が認められなかった。

2) 結紮側精管

結紮1週後の精管では、noradrenaline は対照側に比べて低い 10^{-8}M の濃度から収縮作用を示し、起こしうる最大収縮も対照側に比し大きく、結紮1週後の精管は noradrenaline に対する感受性が增大していることが認められた。結紮1週後の精管での noradrenaline の用量反応曲線を図15の3に示した。

その後、結紮側精管における noradrenaline の用量反応曲線の経時的な変化についてみると、用量反応曲線の左方への移動と最大収縮の増大は経時的に次第に減少し、結紮6ヵ月後の精管では、noradrenaline の用量反応曲線は対照側の noradrenaline の用量反応曲線と一致し、noradrenaline に対する感受性の増大は認められなかった (図18)。

3) 切断側精管

図 17

1) Contractions induced by acetylcholine in an isolated vas deferens preparation from a control rat.

2) Supersensitivity to acetylcholine in a preparation of the vas deferens 14 days after vasectomy.

3) Inhibitory effect of atropine on acetylcholine in an isolated vas deferens preparation from a control rat.

図18 Dose-response curves to noradrenaline obtained with the rat vasa deferentia ligated for different periods (●—●) and the control vasa (○---○).

a) noradrenaline の作用：切断1週後の精管では、noradrenaline の用量反応曲線に、対照側の用量反応曲線に比べて左方への移動と最大収縮の増大が認められ、その左方への移動と最大収縮の増大の程度は結紮1週後と同程度であった（図15の2）。

切断2週以後の精管における noradrenaline の用量反応曲線の経時的な変化を、各期間の同一濃度での収縮の平均値で求めた用量反応曲線でみると、最大収縮の増大は経時的に次第に減少したが、6カ月後においても左方への移動が認められた（図19）。しかし切断4週以後の精管では、noradrenaline に対する感受性は同一期間であっても異なっており、noradrenaline に対する感受性には精管内の adrenergic 線維と ACh-E 陽性線維の分布との関連が認められた。つまり adrenergic 線維と

ACh-E 陽性線維の分布が認められない精管では、noradrenaline の用量反応曲線に術後1週後と同程度の左方への移動と最大収縮の増大が認められ、adrenergic 線維と ACh-E 陽性線維の分布が認められた精管では、分布の範囲がより中枢側まで認められる精管ほど noradrenaline に対する感受性は低下していることが認められた。副辜丸尾部まで adrenergic 線維と ACh-E 陽性線維の分布がみられた切断6カ月後の精管では、noradrenaline の用量反応曲線は対照側の用量反応曲線とはほぼ一致することが認められた。

b) adrenaline の作用：切断2、4週後と3、6カ月後の精管において検討した。各期間の同一濃度での収縮の平均値で求めた adrenaline の用量反応曲線を図20に示した。術後2週後の例では用量反応曲線の左方への移動

図19 Dose-response curves to noradrenaline obtained with the vasa deferentia from rat vasectomized for different periods (●—●) and the control vasa (○---○).

と最大収縮の増大が認められた(図16の2)。

その後の用量反応曲線の経時的な変化をみると、最大収縮の増大は次第に低下したが、6カ月後においても左方への移動が認められた。また noradrenaline においてみられたごとく、切断側精管での adrenaline に対する感受性は同一期間であっても異なっており、感受性には精管内の adrenergic 線維と ACh-E 陽性線維の分布との関連が認められた。adrenergic 線維と ACh-E 陽性線維の分布が認められない精管では、adrenaline の用量反応曲線は切断6カ月後であっても切断2週後とほぼ同程度の左方への移動と最大収縮の増大を示し、辜丸側の精管や副辜丸尾部まで adrenergic 線維と ACh-E 陽性線

維の分布を認めた精管では、明らかに adrenaline に対する感受性は低下していることが認められた。

c) acetylcholine の作用：切断2、4週後と3、6カ月後の精管について検討し、図21に各期間の同一濃度での収縮の平均値で求めた acetylcholine の用量反応曲線を示した。対照は前述のごとく、 3×10^{-8} M より dose-dependent な収縮を示した9例中4例の平均である。切断2週後の精管では、観察した5例全例で用量反応曲線の左方への移動と最大収縮の増大が認められた(図17の2)。その後の精管の acetylcholine に対する感受性には、noradrenaline や adrenaline においてみられたと同様な、精管内の adrenergic 線維と ACh-E 陽性線維の

図20 Dose-response curves to adrenaline obtained with the vasa deferentia from rats vasectomized for different periods (●—●) and the control vasa (○—○).

分布との関連が認められ、睪丸側精管や副睪丸尾部まで adrenergic 線維と ACh-E 陽性線維の分布をみた 6 カ月後の精管では、対照側精管にみられたごとく、 10^{-3} M 以上の濃度でも 0.2g 以下の一過性の収縮反応しか示さない例も認められた。

考 察

1. 副睪丸と精管の神経支配について

副睪丸の神経支配に関する組織化学的な検索についてみると、adrenergic 線維の分布に関しては Sjöstrand⁹⁾ や Baumgarten ら¹⁰⁾ の各種の動物での詳細な報告がみられ、ACh-E 陽性線維の分布に関しては、ラット、モルモット、ネコ、イスでの Risley および Skrepgetos¹¹⁾ や El-Badawi および Schenk¹²⁾ の報告がみられる。著者の

ラット副睪丸の組織化学的観察では、adrenergic 線維と ACh-E 陽性線維は、副睪丸尾部では副睪丸周囲の筋層や間質組織内に密な分布がみられたが、体部や頭部では間質組織内の血管壁内にわずかの adrenergic 線維の分布がみられたにすぎない。このような adrenergic 線維と ACh-E 陽性線維の頭部、体部、尾部での分布の部位的な差は、ラット以外にウサギやモルモットでも報告されているが¹²⁾¹³⁾、ネコ、イス、ヒトでは頭部や体部にも adrenergic 線維と ACh-E 陽性線維の分布が認められ、副睪丸内の adrenergic 線維と ACh-E 陽性線維の分布は動物の種により異なるとされている⁹⁾¹⁰⁾¹²⁾¹³⁾。

副睪丸の神経支配と副睪丸機能との関連に関しては、副睪丸内に密に分布する adrenergic 線維は emission の

図21 Dose-response curves to acetylcholine obtained with the vasa deferentia from rats vasectomized for different periods (●—●) and the control vasa (○—○).

際に副睪丸より精管への精子移送に何らかの役割を演ずるのではないかとする報告が多いが⁹⁾¹⁰⁾¹³⁾、精子移送への関与とともに、粘膜上皮に近接して神経網を形成している神経線維は感覚神経である可能性もあるとする報告¹²⁾もみられる。著者の今回の成績では、adrenergic 線維と ACh-E 陽性線維の分布は部位的には副睪丸尾部に限られ、主として副睪丸管周囲の筋層内に認められたことより、ラットでは副睪丸より精管への精子移送に関与しているのではないかと考えられた。

精管の神経支配に関する組織化学的検索についてみると、ラット精管筋層に認められた adrenergic 線維の密な分布は、ラット以外にモルモット、ウサギ、ネコ、サルなどでも報告されている⁹⁾¹³⁾¹⁴⁾。ヒト、キツネ、イヌでは筋層内の adrenergic 線維の分布は粗であるとの報告もみられるが¹⁴⁾¹⁵⁾、Baumgarten ら¹⁰⁾や Bell および McLean¹⁶⁾は、adrenergic 線維の筋層内の分布は部位により分布密度に差がみられ、精管の尿道側は睪丸側に比し分布が密で、ヒトやイヌでも精管の尿道側には adrenergic 線維の密な分布がみられたと報告している。著者の観察したラット精管筋層内の adrenergic 線維の分布は、睪丸側では筋層の外層でやや粗な分布がみられたが、睪丸側と尿道側では分布密度に顕著な差は認められず、Dixon および Gosling¹⁷⁾の報告と一致した。粘膜下組織内の adrenergic 線維の分布はラットでは観察さ

れず、Norberg ら¹³⁾のラットでの成績や Al-Zuhair ら¹⁸⁾のモルモットでの成績と一致したが、Norberg ら¹³⁾はモルモット、ネコ、ウサギには認められたと報告しており、ヒトでは認められたとする報告¹⁴⁾と認められないとする報告⁹⁾がみられ、粘膜下組織内の adrenergic 線維の分布に関しては、必ずしも意見の一致がみられないようである。

精管内の ACh-E 陽性線維の分布に関しては、ラット精管にみられた外膜内の太い ACh-E 陽性線維の存在はラット¹⁷⁾のみならずヒト¹⁹⁾、モルモット²⁰⁾でも報告されている。筋層内の ACh-E 陽性線維の分布はヒト¹⁹⁾、イヌ¹⁶⁾、ネコ²¹⁾では筋層全体に粗であると報告されており、モルモットにおいては内輪筋では密であるが外縦筋では粗であると報告されている¹⁷⁾²⁰⁾²²⁾。Dixon および Gosling¹⁷⁾は、ラットでは筋層内の ACh-E 陽性線維は睪丸側では筋層全体に分布し、特に粘膜下組織に面する側には密であるが、尿道側に向かい次第に分布密度が減少し、睪丸側と尿道側では分布に差が認められると報告しており、今回の著者の所見と一致した。またラット精管で観察された粘膜下組織内の ACh-E 陽性線維の密な分布は、イヌ¹⁴⁾、モルモット¹⁷⁾、ヒト¹⁹⁾、ネコ²¹⁾でも報告されている。

これらの組織化学的観察成績より、精管筋層は主として adrenaline 作動性神経の支配を受けていることが考

えられるが、筋層内に ACh-E 陽性線維の分布を認めたことより、精管筋層は choline 作動性神経支配の関与も受けていることが考えられた。ACh-E 陽性を示す神経線維が直ちに choline 作動性神経線維であるか否かは議論の多いところであるが²³⁾、これらの組織化学的所見は形態学的には synaptic vesicles の形態より adrenaline 作動性神経終末と choline 作動性神経終末の区別が可能とされる電顕的研究とも一致しており、また後述する薬理学的所見とも一致した。電顕的には精管筋層内の神経終末の多くは adrenaline 作動性神経終末であり、choline 作動性神経終末は少いことがヒト⁹⁾、ラット¹⁷⁾、モルモット^{18) 20)}、マウス²⁴⁾で報告されている。

次に精管神経支配に関する薬理学的、電気生理学的研究についてみると、従来、精管は adrenaline 作動性神経支配であると主張されていたが^{25) 26)}、choline 作動性薬物が精管の収縮に影響を与えることから、精管神経支配における choline 作動性神経の関与も考慮されるようになってきた^{27) 28)}。その後精管へ分枝する神経線維が精管に近接して synapse を換えることが、神経電気刺激下の精管収縮への神経節遮断剤の影響をみた研究^{29) 30)}により明らかにされ、近年、精管は adrenaline 作動性神経支配と choline 作動性神経支配が、それぞれ独立して存在するとする説が支配的である^{31) 32)}。著者の薬理学的実験でも、ラット精管は栄養槽に加えた noradrenaline と acetylcholine に対していずれも収縮反応を示し、それぞれ phentolamine と atropine により特異的に抑制されたことより、ラット精管には α -adrenergic と cholinergic の両 receptor が存在すると考えられ、既報告³³⁾に一致した。しかし acetylcholine による反応が9例中5例では 10^{-3}M 以上という非生理的な濃度でのみ認められたことは、精管神経支配における choline 作動性神経の関与は少ないとする Swedin³⁴⁾の報告と一致するものと考えられた。

これらの精管神経支配が精管機能といかなる関連を有するかについてみると、腰部交感神経切断術や腰部交感神経の障害を伴うことが多い後腹膜リンパ節廓清術後にみられる射精障害、あるいは adrenergic neuron blocker である guanethidine 投与後にみられる射精障害は、臨床的に逆行性射精と考えられていたが、近年これらの射精障害は精囊や精管の収縮不全が原因とされており^{35) 36)}、また精管内の精子移送に関する in vivo の薬理学的研究では、精管内の精子移送が主として α -receptor を介した adrenaline 作動性神経の関与を受けていると

する報告が多い^{37) 38) 39) 40)}。一方、choline 作動性神経の精管機能への関与に関しては、精管内の精子移送への関与は少ないと報告されている^{39) 40)}。しかし粘膜下組織内に密な分布がみられた ACh-E 陽性線維については、感覚神経である可能性が高いとされているが^{19) 20)}、choline 作動性神経であり、精管分泌機能に関与している可能性もあるとする報告¹⁸⁾もみられ、choline 作動性神経の精管機能への関与に関しては、現在なお明らかにされていないようである。

2. 精管切断術後の精管神経支配の障害について

前述したごとく、精管機能との深い関連を有する精管神経支配は、Mitschell⁴¹⁾、阿部⁴²⁾らが報告している支配神経線維の走行より、精管切断術後には何らかの障害を被ることが予想される。しかしこの問題に関しては、わずかにラットを用いた実験的研究で、精管切断術後には切断部位より睪丸側の精管内の adrenergic 線維の分布が消失するという Norberg ら⁴³⁾の報告をみるにすぎない。著者はラットにおいて精管切断あるいは精管結紮1週後、組織化学的には切断・結紮部位より中枢側の精管内の adrenergic 線維の分布が消失するとともに、ACh-E 陽性線維の分布も消失することを観察し、薬理学的には精管は noradrenaline, adrenaline, acetylcholine に対して感受性が増大することを観察した。臓器が神経支配を慢性的に絶たれた状態で薬物に対する感受性が増大することは、古くより Cannon⁴⁴⁾の“A low of denervation”としてよく知られている。精管においても既に、Kasuya ら⁴⁵⁾、Birmingham⁴⁶⁾、Wakade および Kirpekar⁴⁷⁾らが、外科的、化学的な除神経(denervation)により denervation supersensitivity が認められることを報告している。彼らは精管の除神経後は精管内の adrenergic 線維の分布が消失することも明らかにしており、ラット精管は切断や結紮によっても除神経されたと考えられた。また精管内の ACh-E 陽性線維の分布が切断または結紮1週後に消失したことは、除神経された臓器では ACh-E 陽性線維の分布が消失したという報告⁴⁸⁾と一致すると考えられた。

除神経による supersensitivity の発現機序についてみると、その機序はきわめて多様であるとされている^{49) 50)}。acetylcholine を伝達物質とする骨格筋では、acetylcholine に感受性を示す部位が神経筋接合部にとどまらず筋細胞全体に及ぶことが supersensitivity の原因とされている⁵¹⁾。一方 catecholamine を伝達物質とする精管などの平滑筋臓器では、除神経による noradrenaline に対

する感受性増大の機序は、神経末端への noradrenaline の取込みが消失するため receptor に到達する noradrenaline が増加することによるという神経側に起因する機構 (prejunctional supersensitivity) とともに、平滑筋自体の薬物感受性増大 (postjunctional supersensitivity) という細胞側に起因する機構が加わると考えられている^{50) 52)}。この postjunctional supersensitivity は、神経末端に取込まれる薬物にのみ特異的に感受性増大が認められるような prejunctional supersensitivity とは異なり、筋肉を収縮させる薬物すべてに対して感受性が増大するとされており⁵³⁾、choline 作動性神経支配の関与が少ないラット精管の除神経による acetylcholine に対する感受性の増大も、主として postjunctional supersensitivity であると報告されている⁵⁴⁾。また最大収縮の増大は除神経によってのみ認められ、reserpine 投与や筋前線維の切断 (decentralization) による postjunctional supersensitivity は、単に用量反応曲線の左方への移動のみであるともされている^{53) 55)}。除神経による supersensitivity 発現の機序に関しては、近年次第に明らかにされつつあり、詳細は他に譲るとして^{50) 55)}、著者が観察した精管切断や結紮後の精管の薬物感受性増大は、denervation supersensitivity に間違いなくと考えられ、ラット精管は切断や結紮によっても除神経、つまり精管支配の節後線維が切断されると考えられた。しかし今回著者が行つた方法では、精管外膜と精管を完全に分離することが技術的に困難であり、精管切断や結紮による除神経が精管外膜内を走行する精管支配神経線維への障害によるものか、精管自身の切断や結紮によるものか、あるいは外膜と精管の剥離でも起こりうるかなどに関しては、更に検討されることが臨床的に重要であると考えられた。

3. 精管切断および精管結紮後の精管神経支配の再生について

精管結紮 2 週以後や精管切断 4 週以後に、精管や副睾丸尾部に再び認められた adrenergic 線維と ACh-E 陽性線維の分布は、再生した adrenergic 線維も蛍光組織化学的に catecholamine 蛍光を有するとされており^{56) 57)} また choline 作動性神経線維も再生に伴い ACh-E 活性が回復するとされていることより^{58) 59)}、精管支配神経線維の再生が考えられた。薬理学的にも副睾丸尾部まで adrenergic 線維と ACh-E 陽性線維の再分布がみられた結紮 6 カ月後または切断 6 カ月後の精管では、精管の noradrenaline, adrenaline, acetylcholine に対する感受性の増大が認められなくなっていたことは、神経支配の

再生が認められた臓器では denervation supersensitivity は認められないという Simeone⁶⁰⁾ や Murray および Thompson⁶¹⁾ の報告と一致した。一方、精管切断 6 カ月後にも adrenergic 線維と ACh-E 陽性線維の再分布がみられない精管は、薬理学的に noradrenaline, adrenaline, acetylcholine に対する感受性は増大しており、これは神経支配の再生がみられない臓器では denervation supersensitivity の消失が認められないという報告⁶¹⁾と一致し、神経支配の再生がなかつたものとみなされた。

神経組織が高い再生能力を有することはよく知られているが、除神経後の神経支配再生までの期間や神経線維の再生速度についての精管支配神経での報告はみられない。主として adrenaline 作動性神経支配を受ける他臓器での報告をみると、眼の瞬膜ではネコの節後神経線維の切断後は 7～11 週後に神経電気刺激下の収縮反応が回復したとの報告⁶²⁾がみられ、心臓では心移植に準じたイス心臓の除神経後は、6～12 カ月後に星状神経節電気刺激下の心臓の変力作用や変時作用の回復がみられるとともに、心臓の noradrenaline に対する supersensitivity の消失や組織内の noradrenaline 含有量の増加が認められたと報告されている⁶³⁾。血管ではイスの腰部交感神経幹の圧挫後は 4～6 カ月後に血管収縮反射の回復が認められたとの報告⁶⁴⁾がみられる。脾臓では Kirpekar ら⁶⁵⁾がネコ脾動脈周囲神経圧挫後に脾臓支配神経の noradrenaline 放出能や取込み能、あるいは脾臓内の noradrenaline 含有量を検討し、6 カ月後に脾臓支配交感神経の再生が認められ、神経線維の再生に要した距離は 6～8 cm であったと報告している。今回の著者の実験では、精管結紮後は神経線維の再生が 2 週後には結紮部位に近接する精管に始まり、3 カ月後には摘出した精管の長さ一致する約 3 cm 離れた精管睾丸側に認められたことより、精管への神経線維再生速度は前述の Kirpekar ら⁶⁵⁾の観察した脾臓支配神経線維の再生速度とほぼ一致すると考えられた。また精管結紮あるいは切断後に、精管や副睾丸尾部への adrenergic 線維と ACh-E 陽性線維の再分布の時期が一致したことも、モルモット前眼房内に移植された結腸紐では、adrenergic 線維と ACh-E 陽性線維の再分布は同時に認められたという Burnstock ら⁵⁸⁾の報告と一致した。

次に著者は、精管切断後における精管神経支配の再生については、神経支配の再生を認めた例でも再生の開始時期は結紮後に比し遅延し、その時期も一定しないこと、6 カ月後でも神経支配の再生がない例があることを

観察した。これは精管切断後では精管の連続性が断たれ断端が遊離したこと、断端の距離が一定しなかったことが原因と考えられた。このように精管の連続性が断たれた状態での神経支配の再生は、神経線維の一部切除後や臓器の移植後などの神経支配の再生に類似すると考えられるが、これらの報告による神経支配再生までの期間についてみると、ウサギ瞬膜では上頰神経節よりの節後線維の一部を切除しても259日後には神経支配の再生をみた例が認められたという報告⁶⁶⁾や、ネコ瞬膜では節前線維を切断しその間に胸鎖乳突筋を介在させても、275日後には神経支配の再生をみた例が認められたという報告⁶⁷⁾のごとく、著者の観察期間6カ月以後に神経支配の再生が認められたとする報告もあるが、ネコの頸部交感神経幹の1インチ切除では死亡するまで動眼神経麻痺を認める例がみられたとの報告⁶⁸⁾や、人の心移植後では7カ月後や15カ月後でも神経支配の再生が認められない例がみられたという報告⁶⁹⁾のごとく、神経支配の再生が長期間認められないとする報告もみられる。Waris⁷⁰⁾ はラットの皮膚移植後では神経線維の再生は周辺部のみに認められ、中心部には20週後にも認められないことを観察し、除神経された臓器への神経支配再生の有無は、神経組織と除神経された臓器の距離と関連する可能性があるのではないかと述べている。著者の今回の実験では、精管切断後の断端の距離と神経支配再生までの期間、あるいは神経支配再生の有無などに関しては明らかにすることができず、今後更に検討する必要があるが、臨床例の精管切断術にあたっては、精管支配神経線維への障害をできるだけ小範囲にとどめる必要があると考えられた。

有髄神経線維では神経線維切断後の Waller 変性や逆行性変性あるいは Schwann 細胞による Büngner 帯の形成はよく知られた事実であり、神経線維の再生は、切断された神経線維から直接、あるいは障害を受けない周囲の神経線維の神経線維分芽 (collateral sprouting) により、軸索 (axon) が Büngner 帯内に再生することにより成されるとされている⁷¹⁾。著者は結紮や切断により除神経された精管では、再生した adrenergic 線維や ACh-E 陽性線維の分布様式が、対照側における分布様式と類似することを観察した。これはラット前眼房内に移植された臓器には常に正常臓器の adrenergic 線維の分布と類似した adrenergic 線維の再生が認められ、adrenaline 作動性神経支配を受けていない臓器では adrenergic 線維の再生は認められなかったという Olson および Malmfors⁵⁷⁾ の報告や、ラット脳内に移植された虹彩で

は、多くの部位で正常虹彩と類似した分布を示す ACh-E 陽性線維の再生が認められたという Svendgaard ら⁵⁹⁾ の報告と一致した。このように除神経された臓器に再生した神経線維の分布が、正常臓器の神経線維の分布と類似するという機序に関しては、前述したごとく、除神経後に残存する髄鞘組織と再生する神経線維との関係を考える報告が多い^{57) 59) 72)}。しかし自律神経などの無髄神経では、軸索の変性後は Schwann 細胞は Büngner 帯といった一定の形態を取らないという報告⁷³⁾や、再生する神経線維は変性した神経組織により誘導されないとする報告⁷⁴⁾もみられる。著者も切断や結紮により除神経された精管では、神経線維の再生が粘膜下組織では長期間障害されることを観察したので、再生した神経線維の臓器内分布が正常臓器の神経線維の分布に類似するという機序に関しては、更に検討される必要があると考えられた。また今回の実験で明らかにされた精管切断術による精管神経支配における障害は、精管再開通術にあたつても起こりうる事が予想され、神経支配が再生した精管における精管機能の検討も、今後に残された重要な課題であると考えられた。

結 語

精管切断術による精管および副睪丸の自律神経支配の変化を明らかにする目的で、ラットを用い組織化学的方法と薬理学的方法により実験的研究を行つた。1 側精管を切断あるいは結紮し対側は対照とした計106匹のラットを使用し、術後1, 2, 3, 4 週後と、2, 3, 6 カ月後に精管と副睪丸を摘出した。組織化学的には Falck-Hillarp 法により adrenergic 線維と、El-Badawi および Schenk の Karnovsky 変法により ACh-E 陽性線維の分布を観察し、薬理学的には Magnus 法により精管の自律神経系薬物に対する感受性を検討した。得られた結果は以下のごとくである。

1) 精管の切断や結紮により、切断・結紮部位より睪丸側の精管と副睪丸尾部は、術後1 週後には除神経された。

2) 精管結紮後では、自律神経支配の再生は術後2 週後以内に開始され、精管内は1 カ月間に約1cm の速度で自律神経線維が再生したが、精管切断後では自律神経支配の再生開始は遅延しており、6 カ月後でも自律神経支配の再生を認めない例がみられた。

3) 精管に再生した自律神経線維の分布は、筋層においては対照側と類似した分布を示したが、粘膜下組織における ACh-E 陽性線維の再生は、対照側に比し粗で障

害されていた。

稿を終るにあたり、御指導と御校閲を賜った恩師黒田恭一教授、御教示と御助言を頂いた本学薬理学教室正印達教授および本学附属神経情報研究施設中村俊雄教授に深甚な感謝の意を表します。また実験に際して直接御指導を頂いた勝見哲郎講師をはじめ教職員各位に深く感謝します。

なお本論文の要旨は第67回日本泌尿器科学会総会において発表した。

文 献

- 1) Amelar, R.D. and Dubin, L.: Vasectomy reversal. *J. Urol.*, **121**, 547—550, 1979.
- 2) 石神襄次: 第21回日本不妊学会総会講演抄録集, p. 82, 1976.
- 3) Derrick, F.C., Yarbrough, W. and D'Agostino, J.: Vasovasostomy: Results of questionnaire of members of the American Urological Association. *J. Urol.*, **110**, 556—557, 1973.
- 4) Wicklund, R. and Alexander, N.J.: Vasovasostomy: Evaluation of success. *Urology*, **13**, 532—534, 1979.
- 5) Ventura, W.P., Freund, M., Davis, J. and Pannuti, C.: Influence of norepinephrine on the motility of the human vas deferens: A new hypothesis of spema transport by the vas deferens. *Fertil. Steril.*, **24**, 68—77, 1973.
- 6) Hulka, J.F. and Davis, J.E.: Vasectomy and reversible vasocclusion. *Fertil. Steril.*, **23**, 683—696, 1972.
- 7) 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.
- 8) El-Badawi, A. and Schenk, E.A.: Histochemical methods for separate, consecutive and simultaneous demonstration of acetylcholinesterase and norepinephrine in cryostat sections. *J. Histochem. Cytochem.*, **15**, 580—588, 1967.
- 9) Sjöstrand, N.O.: The adrenergic innervation of the vas deferens and the accessory male genital glands. *Acta Physiol. Scand.*, **65**, Suppl. 257, 1—82, 1965.
- 10) Baumgarten, H.G., Holstein, A.F. and Rosengren, E.: Arrangement, ultrastructure, and adrenergic innervation of smooth musculature of the ductuli efferentes, ductus epididymidis and ductus deferens of man. *Z. Zellforsch.*, **120**, 37—79, 1971.
- 11) Risley, P.L. and Skrepetos, C.N.: Histochemical distribution of cholinesterases in the testis, epididymis and vas deferens of the rat. *Anat. Rec.*, **148**, 231—249, 1964.
- 12) El-Badawi, A. and Schenk, E.A.: The distribution of cholinergic and adrenergic nerves in the mammalian epididymis. A comparative histochemical study. *Am. J. Anat.*, **121**, 1—14, 1967.
- 13) Norberg, K.-A., Risley, P.L. and Ungerstedt, U.: Adrenergic innervation of the male reproductive ducts in some mammals. *Z. Zellforsch.*, **76**, 278—286, 1967.
- 14) Owman, C. and Sjöstrand, N.O.: Short adrenergic neurons and catecholamine-containing cells in vas deferens and accessory male genital glands of different mammals. *Z. Zellforsch.*, **66**, 300—320, 1965.
- 15) 佐々木桂一: 雄性性器系の神経支配に関する組織化学的研究. *日泌尿会誌*, **62**, 688—699, 1971.
- 16) Bell, C. and McLean, J.R.: The distribution of cholinergic and adrenergic nerve fibers in the retractor penis and vas deferens of the dog. *Z. Zellforsch.*, **106**, 516—522, 1970.
- 17) Dixon, J.S. and Gosling, J.A.: The distribution of autonomic nerves in musculature of the rat vas deferens. A light and electron microscope investigation. *J. Comp. Neur.*, **146**, 175—188, 1972.
- 18) Al-Zuhair, A., Gosling, J.A. and Dixon, J.S.: Observations on the structure and autonomic innervation of the guinea-pig seminal vesicle and ductus deferens. *J. Anat.*, **120**, 81—93, 1975.
- 19) 高橋茂喜: ヒト精管神経支配の電子顕微鏡学的研究. *日泌尿会誌*, **69**, 554—571, 1978.
- 20) Furness, J.B. and Iwayama, T.: The arrangement and identification of axons innervating the vas deferens of the guinea-pig. *J. Anat.*, **113**, 179—196, 1972.
- 21) Jacobowitz, D. and Koelle, G.B.: Histochemical correlations of acetylcholinesterase and catecholamines in postganglionic autonomic nerves of the cat, rabbit and guinea-pig. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **148**, 225—237, 1965.
- 22) Gosling, J.A. and Dixon, J.S.: Differences in the manner of autonomic innervation of the muscle layers of the guinea-pig ductus deferens. *J. Anat.*, **112**, 81—91, 1972.
- 23) Bell, C. and McLen, J.R.: Localization of norepinephrine and acetylcholinesterase in separate neurons supplying the guinea-pig

- vas deferens. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **157**, 69—73, 1967.
- 24) Yamauchi, A. and Burnstock, G.: Post-natal development of the innervation of the mouse vas deferens. A fine structural study. *J. Anat.*, **104**, 17—32, 1969.
 - 25) Hukovic, S.: Responses of the isolated sympathetic nerve-ductus deferens preparation of the guinea-pig. *Brit. J. Pharmacol.*, **16**, 188—194, 1961.
 - 26) Burnstock, G. and Holman, M.E.: The transmission of excitation from autonomic nerve to smooth muscle. *J. Physiol.*, **155**, 115—133, 1961.
 - 27) Ohlin, P. and Stömlad, B.C.R.: Observations on the isolated vas deferens. *Brit. J. Pharmacol.*, **20**, 299—306, 1963.
 - 28) Della Bella, D., Benelli, G. and Gandini, A.: Eserine and autonomic nervous control of guinea-pig vas deferens. *J. Pharm. Pharmacol.*, **16**, 779—787, 1964.
 - 29) Birmingham, A.T. and Wilson, A.B.: Preganglionic and postganglionic stimulation of the guinea-pig isolated vas deferens preparation. *Brit. J. Pharmacol.*, **21**, 569—580, 1963.
 - 30) Ferry, C.B.: Cholinergic link hypothesis in adrenergic neuroeffector transmission. *Physiol. Rev.*, **40**, 420—456, 1966.
 - 31) Bhargava, K.P., Kar, K. and Parmar, S.S.: Independent cholinergic and adrenergic mechanisms in the guinea-pig isolated nerve vas deferens preparation. *Brit. J. Pharmacol.*, **24**, 641—650, 1965.
 - 32) Bell, C.: An electrophysiological study of the effects of atropine and physostigmine on transmission to the guinea-pig vas deferens. *J. Physiol.*, **189**, 31—42, 1967.
 - 33) Graham, J.D.P., Al Katib, H. and Spriggs, T.L.B.: The isolated hypogastric nerve—vas deferens preparation of the rat. *Br. J. Pharmac. Chemother.*, **32**, 34—45, 1968.
 - 34) Swedin, G.: Studies on neurotransmission mechanisms in the rat and guinea-pig vas deferens. *Acta. Physiol. Scand.*, **82**, Suppl. **369**, 1—34, 1971.
 - 35) Kedia, K.R., Markland, C. and Fraley, E.E.: Sexual function following high retroperitoneal lymphadenectomy. *J. Urol.*, **114**, 237—239, 1975.
 - 36) Kedia, K. and Markland, C.: The effect of pharmacological agents on ejaculation. *J. Urol.*, **114**, 569—573, 1975.
 - 37) Melin, P.: In vivo recording of contractile activity of male accessory genital organs in rabbits. *Acta. Physiol. Scand.*, **79**, 109—113, 1970.
 - 38) Knight, T.W.: A qualitative study of factors affecting the contractions of the epididymis and ductus deferens of the ram. *J. Reprod. Fert.*, **40**, 19—29, 1974.
 - 39) 伊勢和久：射精の研究。第9報。精管内における精子の移送のメカニズムについて。日泌尿会誌, **68**, 231—242, 1977.
 - 40) Brushini, H., Schmidt, R.A. and Tanagho, E.A.: Studies on the neurophysiology of the vas deferens. *Invest. Urol.*, **15**, 112—116, 1977.
 - 41) Mitschell, G.A.G.: The innervation of the ovary, uterine tube, testis and epididymis. *J. Anat.*, **72**, 508—521, 1938.
 - 42) 阿部定蔵：睾丸、副睾丸の神経支配。日泌尿会誌, **42**, 294—303, 1951.
 - 43) Norberg, K.-A., Risley, P.L. and Ungerstedt, U.: Adrenergic innervation of male reproductive ducts in some mammals. II. Effects of vasectomy and castration. *Experientia*, **15**, 392—394, 1967.
 - 44) Cannon, W.B.: A law of denervation. *Am. J. Med. Sci.*, **198**, 737—750, 1939.
 - 45) Kasuya, Y., Goto, K., Hashimoto, H., Watanabe, H., Munakata, H. and Watanabe, M.: Nonspecific denervation supersensitivity in the rat vas deferens 'in vitro'. *Eur. J. Pharmacol.*, **8**, 177—184, 1969.
 - 46) Birmingham, A.T.: Sympathetic denervation of the smooth muscle of the vas deferens. *J. Physiol.*, **206**, 645—661, 1970.
 - 47) Wakade, A.R. and Kirpekar, S.M.: Chemical and histochemical studies on the sympathetic innervation of the vas deferens and seminal vesicle of the guinea pig. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **178**, 432—441, 1971.
 - 48) Tervo, T.: Histochemical demonstration of cholinesterase activity in the cornea of the rat and the effect of various denervations on the corneal nerves. *Histochemistry*, **47**, 133—143, 1976.
 - 49) Fleming, W.W., McPhillips, J.J. and Westfall, D.P.: Postjunctional supersensitivity and subsensitivity of excitable tissues to drugs. *Ergeb. Physiol. Biol. Chem. Exp. Pharmacol.*, **68**, 56—119, 1973.
 - 50) 後藤勝年：ラット精管の denervation および reserpine による supersensitivity と形態学的変化。医学のあゆみ, **103**, 860—861, 1977.
 - 51) Thesleff, S.: Effects of motor innervation on the chemical sensitivity of skeletal muscle.

- Physiol. Rev., **40**, 734—752, 1960.
- 52) Trendelenburg, U.: Supersensitivity and subsensitivity to sympathomimetic amines. *Pharmacol. Rev.*, **18**, 629—640, 1966.
 - 53) Westfall, D.P., McClure, D.C. and Fleming, W.W.: The effects of denervation, decentralization and cocaine on the response of the smooth muscle of the guinea-pig vas deferens to various drugs. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **181**, 328—338, 1972.
 - 54) Westfall, D.P., McPhillips, J.J. and Foley, D.J.: Inhibition of cholinesterase activity after postganglionic denervation of the rat vas deferens: Evidence for prejunctional supersensitivity to acetylcholine. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **189**, 493—498, 1974.
 - 55) Fleming, W.W. and Westfall, D.P.: Altered resting membrane potential in the supersensitive vas deferens of the guinea-pig. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **192**, 381—389, 1975.
 - 56) Malmfors, T. and Olson, L.: Adrenergic reinnervation of anterior chamber transplants. *Acta. Physiol. Scand.*, **71**, 401—402, 1967.
 - 57) Olson, L. and Malmfors, T.: Growth characteristics of adrenergic nerves in the adult rat. *Acta. Physiol. Scand. Suppl.*, **348**, 1—111, 1970.
 - 58) Burnstock, G., Cannon, B.J., Malmfors, T. and Rogers, D.C.: Changes in the physiology and the fine structure of the tenia of the guinea-pig caecum following transplantation into the anterior eye chamber. *J. Physiol.*, **219**, 139—154, 1971.
 - 59) Svendgaard, N.-Aa., Björklund, A. and Stenevi, U.: Regeneration of central cholinergic neurones in the adult rat brain. *Brain Research*, **102**, 1—22, 1976.
 - 60) Simeone, F.A.: The effect of regeneration of the nerve supply on the sensitivity of the denervated nictitating membrane to adrenaline. *Am. J. Physiol.*, **120**, 466—474, 1937.
 - 61) Murray, J.G. and Thompson, J.W.: The occurrence and function of collateral sprouting in the sympathetic nervous system of the cat. *J. Physiol.*, **135**, 133—162, 1957.
 - 62) Langley, J.N.: On regeneration of pre-ganglionic and of the post-ganglionic visceral nerve fibers. *J. Physiol.*, **22**, 215—230, 1897.
 - 63) Kaye, M.P., Randall, W.C., Hageman, G.R., Geis, W.P. and Priola, D.V.: Chronology and model of reinnervation of the surgically denervated canine heart: Functional and chemical correlates. *Am. J. Physiol.*, **233**, H431—H437, 1977.
 - 64) Gillespie, J.S., Lloyd, S. and Pickford, M.: A search for the factors responsible for absence of recovery of the normal vascular response to oxytocin following sympathetic nerve injury. *Quart. J. Exp. Physiol.*, **61**, 331—339, 1976.
 - 65) Kirpekar, S.M., Wakade, A.R. and Prat, J.C.: Regeneration of sympathetic nerves to the vas deferens and spleen of the cat. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **175**, 197—205, 1970.
 - 66) Tuckett, I.L.: On the structure and degeneration of non-medullated nerve fibers. *J. Physiol.*, **19**, 267—311, 1895.
 - 67) Lee, F.C.: The regeneration of nervous tissue. *Physiol. Rev.*, **9**, 575—623, 1929.
 - 68) Schafer, E.S.: Experiments on the cervical vagus and sympathetic. *Quart. J. Exp. Physiol.*, **12**, 231—301, 1913.
 - 69) Beck, W., Barnard, C.N. and Schrire, V.: Heart rate after cardiac transplantation. *Circulation*, **40**, 437—445, 1969.
 - 70) Waris, T.: Reinnervation of free skin autografts in the rat. *Scand. J. Plast. Reconstr. Surg.*, **12**, 85—93, 1978.
 - 71) Edds, M.V.: Collateral nerve regeneration. *Quart. Rev. Biol.*, **28**, 260—276, 1953.
 - 72) Speidel, C.C.: *In vivo* studies of myelinated nerve fibers. *Int. Rev. Cytol.*, **16**, 173—231, 1964.
 - 73) Thomas, P.K. and King, M.M.: The degeneration of unmyelinated axons following nerve section: An ultrastructural study. *J. Neurocytol.*, **3**, 497—512, 1974.
 - 74) Weiss, P. and Taylor, A.C.: Further experimental evidence against “neurotropism” in nerve regeneration. *J. Exp. Zool.*, **95**, 233—257, 1944.

(1981年3月16日受付、特別掲載)