樹脂冷凍割断法によるウサギ脊髄の走査電顕的研究

山陰労災病院整形外科

大 月 健 二

Scanning Electron Microscopic Studies of Rabbits
Spinal Cord by Resin Cracking Method

By

Kenji Ohtsuki

Sanin Rosai Hospital

The availability of the scanning electron microscope in revealing fine details of the Surface morphology of cells and tissues has been already established. Recently, scanning electron microscopic studies of nervous tissue have been reported on the chick spinal cord, cilia in the brain, isolated nerve fibers.

However, all of these studies have treated with the surface morphology of cells and tissues, and there have been no studies performed on the inner structure, as far as is know.

In the present study on the anterior horn cells, the neuroglia cells and the myelinated nerve fibers of the spinal cord as observed with the scanning electron microscope, the author attempted not only to reveal the surface morphology of cells and tissues but also their interior structure, making use of Tanaka's freezed resin cracking method.

Small cubes cut from the spinal cord of the rabbit were fixed and dehydrated, and embedded in gelatin capsules filled with Cemedine 1500. The Cemedine was hardened at -30°C and the capsules were cracked in two pieces. The cracked surface of the specimen was observed under the scanning electron microscope with following results:

1. In the cytoplasm of the anterior horn cell the Nissl bodies were observed like specks. The Nissl bodies were denser than the cytoplasm surrounding them and contained numerous granules (about 400 Å in diameter) and membranous structures oriented parallel to each other. In the cytoplasm corresponding to the Golgi regions many vesicles and cisternal and membranous structures could be seen. On the surface of nerve cell bodies small swollen terminations of axons, which seemed to be end-bulbs, were observed.

2. The membranes consisting of myelin sheaths, which surrounded the axon as a whirlpool, were observed in three dimensions. The myelin sheath sometimes emerged thinner processes which could be considered to be the cytoplasmic processes of the neuroglia cell.

3. The cilia covering the ependymal cells of the central canal were fairly uniform in number (12-15) from cell to cell, and were arranged in a tuft for each cell. The surface was also rich in microvilli which formed various shapes.

細胞組織の表面微細構造の研究には、走査電子顕微鏡が非常に有効であるということは、すでに多くの研究によって証明されている。そのうち、神経組織の走査電顕による研究としては、鶏胎の脊髄 (Boyde et al., 1968) 脳室の線毛 (Dalen, 1971) 運動神経細胞 (Hamberger et al., 1970) 末梢神経線維 (Speu cer

et al., 1971) 等がある、しかしこれらの研究はすべて細胞組織の表面構造についてであって、内部構造を追求したものはない。

著者は細胞組織の表面構造だけでなく、その内部構造をも研究対象として、田中の樹脂冷凍割断法を用い、脊髄の前角細胞、神経膠細胞、および有髄神経線

維の観察を行ない、若干の知見を得たので報告する。

材料および方法

材料 ウサギ 体重 2.5～3.5 kg

方法 エーテル麻酔下で腹部大動脈より2.5%グルタルアルデヒドリン酸緩衝液 (pH 7.4) で灌流、10分後脊髄をとり出し、これを7mm×2mm×2mmの組織片とする。この組織片を5%グルタルアルデヒドリン酸緩衝液 (pH 7.4) で2時間固定し、さらに1%四酸化オスmium酸で3時間、4℃で後固定、上昇エタノール系列で脱水後、15分間プロピレンオキシサイドにひたし、樹脂冷凍断法 (Tanaka, 1972) を行なった。すなわち、セメダイン 1500 を入れた2号カプセル中に試料を包埋して、これを-30℃のクリオスタット内で凍結させ、のみと槌で切断する、切断後試料についているセメダイン 1500 をプロピレンオキシサイドで除去し、アミールアセタイトで20分間脱水、次いで Critical drying method (Anderson, 1951) 乾燥させる。試料の割面に、カーボンと金で二重蒸着をおこない、HITACHI, HSM-2型走査電子顕微鏡で観察した。

所見および考察

脊髄運動神経細胞は Nissl 小体の豊富な存在が特徴的である。神経細胞の透過電顕像において Nissl 小体の像に対応するものは、粗面小胞体および自由リボゾームの集合体である。このことは Palay および Palade (1955) によって明らかにされている。また Bodian (1964) によれば脊髄前角細胞は細胞体がきわめて大きく、特徴的な細胞質および核、それにミナプスを有するゆえに容易に識別されるといっている。すなわち、細胞質にはリボゾームの付着した小胞体の集団が多数散存し、小胞体の間隙には自由リボゾームが無数にみられ、通常これらはロゼットを形成している。そしてその間の比較的電子密度の低い部分に、多くのミトコンドリア、神経細線維、Golgi 体が存在する。

著者の走査電顕観察によれば、Nissl 小体に相当する部分は周囲の細胞質にくらべて緻密で、中には多くの顆粒状体が含まれている (図 I)。この顆粒状体は直径 500 Å でリボゾームに関係するものと考えられる。(TANAKA, 1972) また Nissl 小体の中には線状体も見られる。これらは透過電顕像でみられる粗面

図 1

小胞体に相当するものであろう。Nissl 小体周囲の粗な部位、特に核の近くの部には多数の直径 1000 Å の小胞および扁平円筒状の膜構造物が存在する。これらは透過電顕像で細胞体に散存性にみられる、Golgi 体であると考えられる。ミトコンドリアは Nissl 小体間の細胞質に普遍的に存在している。透過電顕で観察される、内外2枚のミトコンドリア膜は不明であるが、ミトコンドリア櫛は観察される。一方その他の細胞内小器管である神経細線維、神経細管等の同定はできなかった。

次に神経線維についてみると、有髄神経線維の断面は透過電顕像によると、軸索をとりまく明暗交互の層板構造の重積からなり、軸索内には多数の神経細管、神経細線維およびミトコンドリアが見られる。走査電顕による断面像では、ミエリン鞘が軸索を渦巻状にとりまいている膜からできていることが立体的に観察される。一般にこれらは波状を呈しているが、これは乾燥時の人工産物と考えられる。軸索はスポンジ状を呈し、時にミトコンドリアと思われる物体がみられた (図 II)。ミエリン鞘の表面を観察すると、その最外層には微細なコラーゲン線維と思われる線維状体が走っ

図 2

ているのが見られる, この所見は Moran (1953) の有髄神経線維の模式図に示されるものと一致するものである。また髄鞘が枝状の突起を出している像が観察された。Bunge (1961) によれば, 髄鞘は突起物によって神経膠細胞と連絡しているという。著者の観察した枝状の分枝も軸索自体の分枝ではなく, 神経膠細胞と髄鞘の連絡の突起物であろう。

最後に神経膠細胞について述べると, 中枢神経系のなかの神経膠細胞は, 星状膠細胞, 稀突起膠細胞, 小膠細胞, および上衣細胞の4種が区別されている。しかし透過電顕標本においては, その切片がうすいため全体像をつかむこと, および他の細胞要素との関係をつかむことが困難であるため, 上衣細胞をのぞいてはこれらの細胞種類を判別することは容易ではないという (Hama, 1971)。

走査電顕観察でも上衣細胞以外の神経膠細胞の正確な同定は不可能であった。しかし, 神経細胞に近接して随伴細胞の型で存在し, 周辺に有髄神経線維をとまなう細胞は, 稀突起膠細胞と思われ, また神経細胞と血管の間に位置し, その突起をそれぞれ神経細胞体および血管壁に出し脊髄血液関門の形態と思われる像を呈しているものは星状膠細胞であろう。白質にあっては, 有髄神経線維の間に散存し, その突起を髄鞘に送っている細胞は稀突起細胞と考えられる。一方上衣細胞は脊髓中心管の表面を被覆し単層円柱上皮様の配列を示している。この細胞の自由表面には多数の線毛および微絨毛が密生している。上衣細胞に関しては Brightman, Palay (1963) および Kohno, Usui (1966) らによる透過型電顕による研究がある。彼等によれば脳室の線毛は不均等に分布し, 微絨毛ともいいたい小さな不規則な突起物が豊富に存在するという。また中心管の上衣細胞に関しては, Schultz et al. (1956) のうなぎ研究がある。すなわち, その自由表面は2つの型の突起を有している, 1つは球根状の細胞質の突起である微絨毛と, 他の1つは真の線毛である, これら2種類の突起は同一の上衣細胞表面に存在し, 線毛は他の動物に見られるものと形態学的にはほとんど相違ないとのべている。

著者の走査電顕観察によれば, 上衣細胞表面に密生する, 多数の線毛および微絨毛は, あたかも生きているように立体的像で観察された。この線毛は10数本が1つの叢をなして1個の細胞表面中心部より突出し, 全体的にみれば, 稲の苗が田植されている様

図 3

えた。一方微絨毛は, 長さが線毛に比していちじるしく短かく種々の形態を示し, その先端は太鼓ばち状にふくれている。これらの微絨毛も細胞表面の中心部に密生しており, 細胞の辺縁部には, ほとんど見られなかった(図Ⅲ)。線毛の機能についていえば, 従来その運動の方向が脳脊髄液の流れと一致しているといわれている。脳脊髄液の流れと脳室線毛運動との関係については, Dalen et al. (1971) および Wohthington et al. (1963) らの研究がある。彼等によれば, 線毛運動は一定方向に調整されているようであり, これは脳室における脳脊髄液の循環に重要な役割をはたしているという。中心管の上皮細胞も同様な運動を有すると考えられ, 著者の所見でも線毛は, ある一定方向にむいて固定されていた。しかし線毛運動と中心管内の脳脊髄液の流れとの相関々係については明らかな事はわからない。

文 献

- 1) Hamberger, A., H. A. Hansson and J. Sjöstrand: Surface structure of isolated neurous. Detachment of nerve terminals during axon regeneration. J. Cell Biol. 47: 319-331 (1970).
- 2) Kohno, K. and T. Usui: Electron micros-

- copic studies on ependymal cilia and their basal feet on the ventral stalk of the rat subfornical organ. Bull. Tokyo Med. Dent. Univ. 13: 381-405 (1966).
- 3) Fernandez-Moran, H.: Sheath and axon structures in the internode portion of vertebrate myelinated nerve fibers. An electron microscope study of rat and frog sciatic nerves. Exp. Cell Res. 1: 309-340 (1950 b).
- 4) Palay, S. L. and G. E. Palade: The fine structure of neurones. J. biophys. biochem. Cytol. L: 69-88 (1955).
- 5) Schultz, R., E. C. Berkowitz and D. C. Pease: The electron microscopy of the lam-prey spinal cord. J. Morphol. 98: 251-273 (1956).
- 6) Spencer, P. S. and A. R. Lieberman: Scanning electron microscopy of isolated peripheral nerve fibers. Normal surface structure and alterations proximal to neuromas. Z. Zellforsch. 119: 534-551 (1971).
- 7) Tanaka, K.: Freezed resin craking method for scanning electron microscopy of biological materials. Naturwiss. 59: 77 (1972).
- 8) Worthington, W. C., JR, and R. S. Cathcart, III.: Ependymal cilia: Distribution and activity in the adult human brain. Science. 139: 221-222 (1963).

脊 髄 腫 瘍 の 5 例

島根県立中央病院整形外科

宮 本 龍 彦・富 永 積 生
繁 富 頼 雄・板 倉 宏 次

Five Cases of the Spinal Cord Tumor

By

T. Miyamoto, S. Tominaga, Y. Shigetomi
& K. Itakura

From the department of Orthopedic Surgery, Shimane
Prefectural Central Hospital

Five cases of the spinal cord tumor which we have recently experienced were reported.
Case 1. a male, aged 42 years, was neurinoma located in the extramedullary region of the second lumbar vertebrae.

Case 2. a male, aged 64 years, was malignant meningioma located in the extradural space of the third lumbar vertebral region.

Case 3. a male, aged 41 years, was plasmacytoma located in the extradural space of the first and second thoracic vertebrae.

Case 4. a female, aged 46 years. A myelogram showed a complete block of contrast material between C₁₋₂.

Case 5. a female, aged 44 years. A myelogram showed a defect of the contrast material on the left side at the third cervical vertebral region.

We could remove the tumor completely in the case 1, and partially in the case 2, 3.

In the case 4, 5 we practised only laminectomy for effect of decompression.

At the postoperative course the patient's condition was relatively good in the case 1, 3, 4, 5.