

# イヌ脳動脈のアドレナリン作動性神経支配 に関する組織化学的研究

河合 康明 大橋 俊夫  
信州大学医学部第1生理学教室

## Histochemical Study on Adrenergic Innervation of the Canine Cerebral Arteries

Yasuaki KAWAI and Toshio OHASHI  
Department of Physiology, Shinshu University School of Medicine

The glyoxylic acid method was used to examine the adrenergic innervation of the major cerebral arteries in dogs. This method is a relatively simple and quick procedure for the detection of catecholamine with high sensitivity and reproducibility. The nerve fibers in the whole-mount preparations were observed under a fluorescence microscope. The peak wavelengths of excitation and emission spectra of the fluorescence analyzed by means of a microepifluorescence spectrophotometer were about 415 and 465 nm, respectively. These values suggest that the fluorescent fibers are adrenergic and contain noradrenaline. The distribution of adrenergic nerve fibers was most abundant in the proximal portion of the anterior, middle, and posterior cerebral arteries as well as in the posterior communicating artery. Smaller arteries (the distal portions of each artery) were less densely innervated than larger ones. The basilar artery was supplied by a moderate number of fluorescent fibers while the internal carotid artery in the cavernous sinus had a very sparse innervation. *Shinshu Med. J.*, 33: 114-118, 1985

(Recived for publication December 7, 1984)

---

**Key words** : glyoxylic acid method, adrenergic nerve fiber, cerebral arteries, innervation density, dogs

グリオキシル酸法, アドレナリン作動性神経線維, 脳動脈, 神経分布密度, イヌ

---

### I はじめに

Willis 輪を中心とした主要な脳動脈の血管壁には豊富な交感神経網が存在し、電子顕微鏡<sup>1-4)</sup>や組織化学的方法<sup>5-7)</sup>により adrenergic fiber が多数含まれることが明らかとなっている。この分野の研究方法の発達は著しく、特に、Falk ら<sup>8)</sup>の方法以来、組織化学の分野では幾多の改良が加えられ、1970年代に至って、迅速で簡便しかも鋭敏な感受性と高い特異性を兼ね備えたグリオキシル酸法が注目を浴びてきた<sup>9-11)</sup>。

しかしながら、この方法による脳血管支配神経の研究はラット<sup>12)13)</sup>、マウス<sup>14)</sup>等の小動物に限られており、イヌに関する報告はほとんど認められない。

本研究はグリオキシル酸法を用いてイヌの内頸動脈ならびに頭蓋内血管の adrenergic fiber の分布密度を調べ、電顕観察や Falk and Hillarp 法により得られた結果と比較検討することを目的とした。

### II 材料および方法

実験には体重 7~10kg の雑種成犬 5頭を用いた。

Sodium pentobarbital 25mg/kg 静注により麻酔したのち、両側総頸動脈にカテーテルを挿入し、15%ショ糖を含む2%グリオキシル酸溶液(0.1Mリン酸緩衝液、pH7.4) 180ml を静水圧(約150mmHg)により約3分間かけて灌流した。灌流終了と同時にイヌを脱血屠殺し、すみやかに海綿静脈洞内の内頸動脈、前・中・後大脳動脈、後交通動脈ならびに脳底動脈を摘出した、この際、血管外膜に損傷を与えないように細心の注意を払った。摘出した血管を約4°Cに保った2%グリオキシル酸溶液(上記溶液と同成分)中で再固定した後、血管軸方向に切開し、無蛍光スライドグラス上に全体標本(whole-mount preparation)として伸展した。この標本を80°Cに調節した恒温槽中で約1時間加温したのち、落射蛍光顕微鏡(ニコンEF-EFA)により観察し写真撮影を行った。励起フィルターとしてはV(IF 395~425)、吸収フィルターとして470Kを用いた。標本蛍光のexcitationならびにemissionスペクトル解析はmicroepifluorescence spectrophotometer(ニコンSPM-RFL)を用いて行った。蛍光線維の分布密度の段階評価に際しては、各部位の標本につき一定面積内(0.35mm×0.24mm)に認められる線維を数え、20本未満をgrade 1、20~39本をgrade 2、40本以上をgrade 3とした。

### III 結 果

蛍光物質を同定するためにスペクトル解析を行った結果、得られたexcitationならびにemissionスペクトルのピーク波長はそれぞれ415, 465nmでnoradrenaline 蛍光に特異的なものであった。

同一血管の太い部位と細い部位を観察し、蛍光線維の分布密度の差を比較した。図1は前大脳動脈の視神経交叉外側部すなわち最も太い部位、図2は左右の前大脳動脈が吻合し再び2本に分枝した後すなわち遠位の比較的細い部位を示す。顕微鏡の倍率はすべて100倍である。図の水平方向は血管軸、上下は円周方向に相当する。図1ではきわめて密に蛍光線維が存在し、varicosity構造を認める。線維の走向は大多数が輪状方向であり、分布密度はgrade 3である。一方、遠位部の前大脳動脈にも蛍光線維は認められるが(図2)、分布密度はgrade 1であり、太い部位に比べて疎であることが明瞭である。同様に中大脳動脈についてWillis輪に近い太い部位(図3)と遠位部の細い部位(図4)とで比較した。前大脳動脈の場合と同様に、近位部の蛍光線維分布密度(grade 3)は遠位部

(grade 1)より密であることが判明した。中大脳動脈の太い部位では、線維の走向はメッシュ状を呈した(図3)。

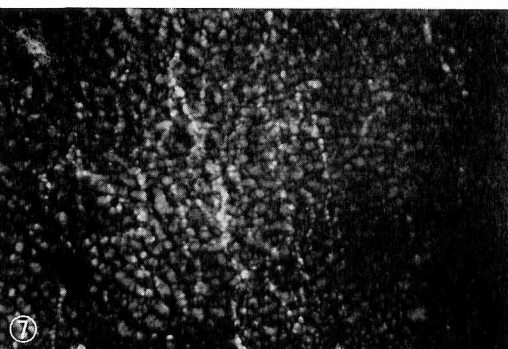
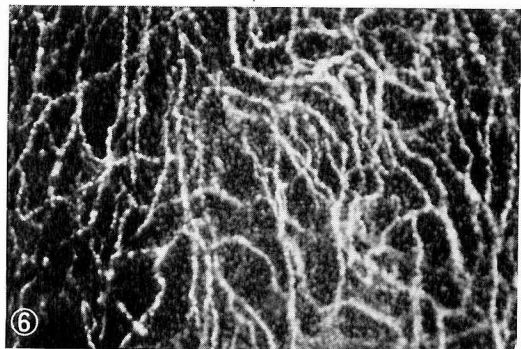
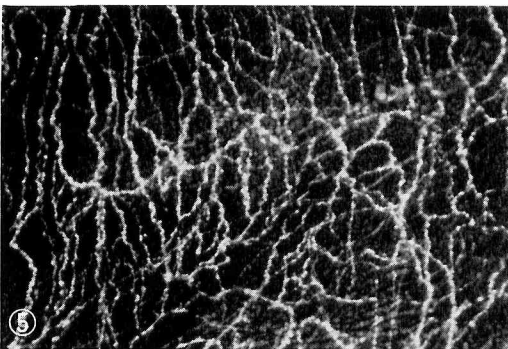
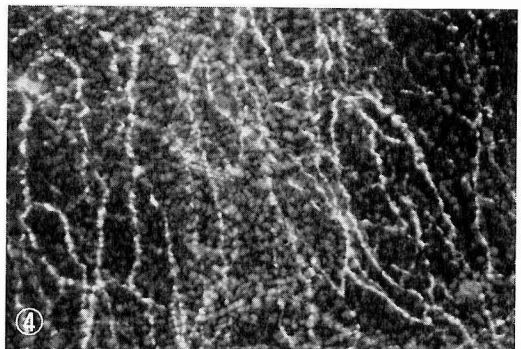
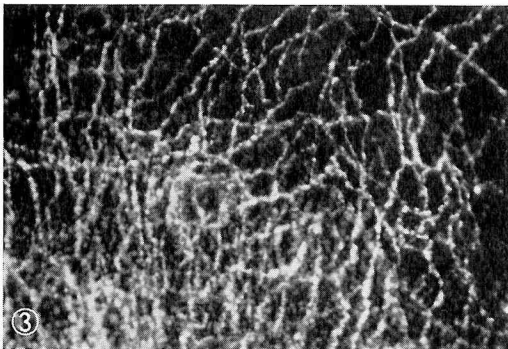
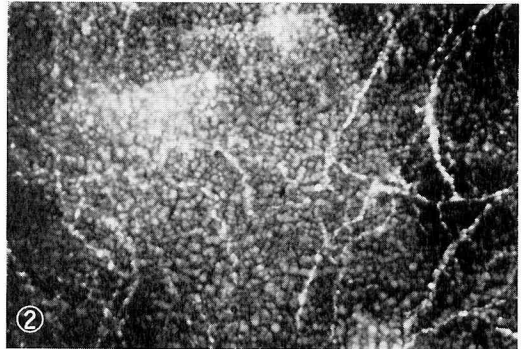
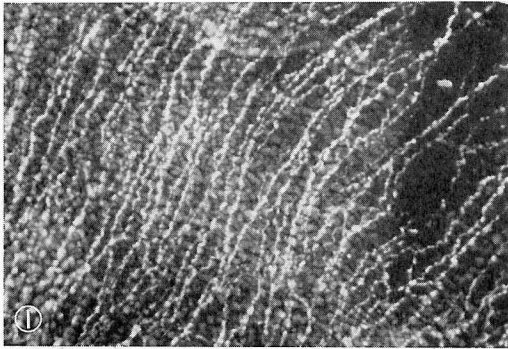
Willis輪を構成する後大脳動脈(図5)ならびに後交通動脈には、中大脳動脈の太い部位と同様のメッシュ状のきわめて密な蛍光線維がみられ、分布密度は両者ともにgrade 3であった。

Willis輪に至る直前の血管という観点からすると同じ立場にある脳底動脈(図6)と海綿静脈洞内の内頸動脈(図7)との比較を行った。脳底動脈に認められる蛍光線維は前・中・後大脳動脈の太い部位(図1, 3, 5参照)と比べるとやや少ないながら、比較的細い血管(図2, 4参照)に比べるとはるかに密な分布(grade 2)を示す。Willis輪の手前約1.5cmにわたり脳底動脈を連続的に観察した結果、この間においては蛍光線維の分布密度の顕著な部位差は認められなかった。一方、海綿静脈洞内の内頸動脈には蛍光線維はわずかに散見される程度で、分布密度はきわめて疎(grade 1)であった。

### IV 考 察

グリオキシル酸法を用いて脳動脈の組織化学的検索を行った結果、①中型動物のイヌの実験においても、Willis輪を中心とした主要な脳動脈の全体標本を用いて蛍光線維の分布密度を観察することが可能である。②得られた標本蛍光はスペクトル分析の結果、noradrenalineに特異的な蛍光である。③主要脳動脈のadrenergic fiberの分布密度の部位差は図8に示されるように、同一血管についてみると、太い部位では密度が高く、Willis輪を離れて遠位に向かうに従い徐々に密度は低下する。④海綿静脈洞内の内頸動脈は、脳底動脈と比較してadrenergic fiberの分布密度は疎であることが判明した。

Satoら<sup>4)</sup>は電子顕微鏡によるイヌ脳血管の実験において、small cored vesicleを指標としてadrenergic fiberの分布密度を検索した結果、内頸動脈、後交通動脈、脳底動脈、前・中大脳動脈の起始部には多く、末梢に近づくに従い密度が減じることを報告している。こうした傾向は、若干の変化はあるものの、ヒト<sup>3)</sup>やラット<sup>15)</sup>でも同様である。これらの報告と、今回我々の得た実験結果は良く一致し、グリオキシル酸法をイヌに適用することの妥当性が示された。本法は手技がきわめて簡便であり再現性も良いことから、イヌの血管壁adrenergic fiber分布密度の観察に有効である



- 図1 イヌ前大脳動脈近位部の全体標本に認められる adrenergic fiber. ×100
- 図2 イヌ前大脳動脈遠位部の全体標本に認められる adrenergic fiber. ×100
- 図3 イヌ中大脳動脈近位部の全体標本に認められる adrenergic fiber. ×100
- 図4 イヌ中大脳動脈遠位部の全体標本に認められる adrenergic fiber. ×100
- 図5 イヌ後大脳動脈近位部の全体標本に認められる adrenergic fiber. ×100
- 図6 イヌ脳底動脈の全体標本に認められる adrenergic fiber. ×100
- 図7 海綿静脈洞内を走向するイヌ内頸動脈の全体標本に認められる adrenergic fiber. ×100

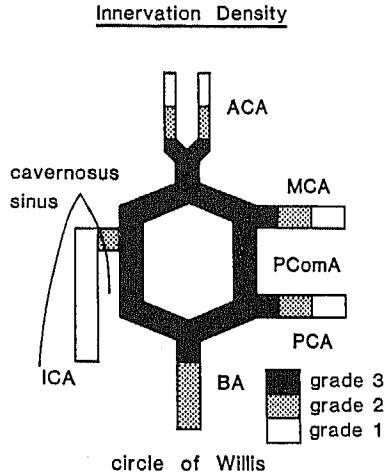


図8 イヌの主要脳動脈における adrenergic fiber の分布密度。grade 3：密，grade 2：中等度，grade 1：疎。

ことが示唆された。

前述の Sato らの報告と我々の結果が異なる点は、脳底動脈の adrenergic fiber の分布密度が、我々の観察では、Willis 輪を構成する血管に比べてやや少ないことである (図 8)。この点に関して、ラット (Iwayama ら<sup>1)</sup>、Kobayashi ら<sup>12)</sup>、マウス (Kobayashi ら<sup>14)</sup>、ウサギ (Peerless と Yasargil<sup>6)</sup>、ネコ (Nielsen と Owman<sup>5)</sup>) を用いた研究では、我々の結果同様、脳底動脈の adrenergic fiber はやや疎であることが指摘されている。一方、Hernández-Pérez と Stone<sup>7)</sup> はサルではむしろ脳底動脈の方が前・中大脳動脈よりも密であると報告した。今回の実験で脳底動脈の神経分布密度がやや低かったことの原因として、灌流固定の方法が関与する可能性がある。すなわち、脳血管をグリオキシル酸溶液で灌流固定する際、通常、ラットなどの小動物では左心室から注入する<sup>12)</sup>が、イヌの場合この方法では灌流が困難でありまたきわめて大量の固定液を必要とする。この手法上の困難さがイヌに対してグリオキシル酸法が用いられなかった1つの要因と考えられる。本法においては、両側総頸動脈からグリオキシル酸溶液を注入したために脳底動脈には固定液が到達しないと考えられる。この欠点を補うために血管摘出後グリオキシル酸溶液中で再固定を行い、これにより、Willis 輪を構成する後大脳動脈は前・中大脳動脈と同程度の蛍光が得られた (図 1, 3, 5 参照)。したがって、脳底動脈の

adrenergic fiber がやや疎であることの原因を固定方法によりすべて説明することはできない。しかしながら、灌流固定の実施法にはさらに検討の余地が残されていると思われる。

頭蓋内の内頸動脈には adrenergic fiber が豊富に存在することは良く知られているが<sup>3)-6)12)14)</sup>、海綿静脈洞内の内頸動脈について研究した報告はほとんどみあたらない。今回の実験結果から、この動脈にはわずかに輪状方向の蛍光線維が認められるだけで、分布密度はきわめて疎であることが判明した。海綿静脈洞内の内頸動脈の壁厚を光学顕微鏡を用いて測定すると、6例の平均値が約150 $\mu$ mであり、中大脳動脈(約142 $\mu$ m)と有意差は無かった(未発表所見)。したがって、血管壁が厚過ぎるために蛍光線維が認めにくいという議論は成り立たない。また、海綿静脈洞内の内頸動脈は血液に満たされた2層の硬膜間を走向しており、周囲組織との密な結合はない。それゆえに、この血管の摘出操作は簡単であり、操作時に外膜損傷を生じる可能性は少ないと考えられる。Knoche と Kienecker<sup>16)</sup> はウサギとネコを用いて頸動脈分岐部の交感神経支配を観察し、頭蓋外の内頸動脈は頸動脈洞の部位を除けば神経分布が疎であることを指摘した。これらの結果を総合すると、脳動脈に分布する交感神経の大部分が上頸神経節起源<sup>1)4)-6)12)</sup>で内頸動脈壁に沿って上行すると考えられているものの、犬における実際の分布は、頭蓋外から海綿静脈洞内までの内頸動脈の交感神経支配は疎であり、硬膜をつき抜けて頭蓋内に侵入した直後から急に密になる可能性が示唆される。こうした事実は頭蓋内血管の noradrenaline に対する収縮反応は頭蓋外の内頸動脈の反応に比べて小さい (Toda と Fujita<sup>17)</sup>、Bevan<sup>18)</sup>) という報告と対照的で興味深い。それでは頭蓋内血管に豊富に存在する adrenergic fiber はいかなる生理的機能を果たしているのだろうか。Iwayama ら<sup>1)</sup>は、脳血管の外膜周囲に存在する adrenergic fiber の生理的役割としてカテコールアミンの uptaker としての働きを示唆している。その他、脳血管の交感神経の生理的作用については膨大な研究が蓄積されつつあるが、いまだに明確な結論を導くに至っていない。今後この分野の研究においては、機能と形態の両側面から検討を加えることが必要と思われる。

謝 辞

稿を終えるに臨み、御助言を賜りました信州大学

医学部 脳神経外科 助教授 小林茂昭先生に感謝致します。

### 文 献

- 1) Iwayama, T., Furness, J.B. and Burnstock, G. : Dual adrenergic and cholinergic innervation of the cerebral arteries of the rat. *Circ Res*, 26 : 635-646, 1970
- 2) Nielsen, K.C., Owman, Ch. and Sporrang, B. : Ultrastructure of the autonomic innervation apparatus in the main pial arteries of rats and cats. *Brain Res*, 27 : 25-32, 1971
- 3) Sato, S. and Suzuki, J. : Anatomical mapping of the cerebral nervi vasorum in the human brain. *J Neurosurg*, 43 : 559-568, 1975
- 4) Sato, T., Sato, S. and Suzuki, J. : Correlation between superior cervical sympathetic ganglion and sympathetic nerve innervation of intracranial arteries : Electron microscopical studies. *Brain Res*, 188 : 33-41, 1980
- 5) Nielsen, K.C. and Owman, Ch. : Adrenergic innervation of pial arteries related to the circle of Willis in the cat. *Brain Res*, 6 : 773-776, 1967
- 6) Peerless, S.J. and Yasargil, M.G. : Adrenergic innervation of the cerebral blood vessels in the rabbit. *J. Neurosurg*, 35 : 148-154, 1971
- 7) Hernández-Pérez, M.J. and Stone, H.L. : Sympathetic innervation of the circle of Willis in the macaque monkey. *Brain Res*, 80 : 507-511, 1974
- 8) Falk, B., Hillarp, N.-A., Thieme, G. and Torp, A. : Fluorescence of catecholamines and related compounds condensed with formaldehyde. *J Histochem Cytochem*, 10 : 348-354, 1962
- 9) Björklund, A., Lindvall, O. and Svensson, L.A. : Mechanisms of fluorophore formation in the histochemical glyoxylic acid method for monoamines. *Histochemie*, 32 : 113-131, 1972
- 10) Axelsson, S., Björklund, A., Falk, B., Lindvall, O. and Svensson, L.A. : Glyoxylic acid condensation : A new fluorescence method for histochemical demonstration of biogenic monoamines. *Acta Physiol Scand* 87 : 57-62, 1973
- 11) Lindvall, O. and Björklund, A. : The glyoxylic acid fluorescence histochemical method : a detailed account of the methodology for the visualization of central catecholamine neurons. *Histochemistry*, 39 : 97-127, 1974
- 12) Kobayashi, S., Tsukahara, S., Sugita, K. and Nagata, T. : Adrenergic and cholinergic innervation of rat cerebral arteries. *Histochemistry*, 70 : 129-138, 1981
- 13) Kobayashi, S., Tsukahara, S., Tsuji, T., Sugita, K. and Nagata, T. : Histochemical studies on the regeneration of aminergic nerves in rat cerebral artery after superior cervical ganglionectomy. *Histochemistry*, 77 : 57-62, 1983
- 14) Kobayashi, S., Tsukahara, S., Sugita, K., Matsuo, K. and Nagata, T. : Histochemical studies on the postnatal development of autonomic nerves in mice cerebral arteries. *Histochemistry*, 73 : 15-20, 1981
- 15) Sato, S. : An electron microscopic study on the innervation of the intracranial artery of the rat. *Am J Anat*, 118 : 873-890, 1966
- 16) Knoche, H. and Kienecker, E.-W. : Sympathetic innervation of the carotid bifurcation in the rabbit and cat : blood vessels, carotid body and carotid sinus. A fluorescence and electron microscopic study. *Cell Tissue Res*, 184 : 103-112, 1977
- 17) Toda, N. and Fujita, Y. : Responsiveness of isolated cerebral and peripheral arteries to serotonin, norepinephrine, and transmural electrical stimulation. *Circ Res*, 33 : 98-104, 1973
- 18) Bevan J.A. : Sites of transition between functional systemic and cerebral arteries of rabbit occur at embryological junctional sites. *Science*, 204 : 635-637, 1979

(59. 12. 7 受稿)