

<招待講演 2>

Neuron と Glia の突起を追って 50 年

平野 朝雄

要旨：Neuron と glia は、よく発達した突起をもち、細胞間を連絡する特別な構造があります。Neuron は円柱状の突起を伸ばして synapses を形成し、それに対し、glia の突起の末端は布状の大きな広がり形成します。Oligodendroglia の突起は axon の周りにシャベル状の髄鞘板を形成するのに対し、astrocyte の突起は中枢神経系を包み、外部組織から隔離し、中枢神経系実質内の血管周囲を取りかこみます。更に、neuron の soma および dendrites を包み、無数の synapses と接しています。こうした解剖学的所見は、電子顕微鏡で詳細に観察することができます。私はこの半世紀にわたり神経病理学に携わってきました。そして、そのあいだに、neuron と glia の突起にみられるいろいろな思いがけぬ興味ある所見に驚かされてきました。その中でとくに強く印象を受けたエピソードを記載します。

(臨床神経, 49 : 719—723, 2009)

Key words : astrocyte, glia, myelin, neuron, oligodendroglia

はじめに

1953年に私は、当時日本では本格的に学ぶことのできなかった神経学を勉強するために、渡米しました。そして、resident 期間中に、神経疾患の診断には神経病理学の裏付けが必要であることを痛感し、Montefiore Hospital の Dr. Harry M. Zimmerman の神経病理部に入門しました。それから半世紀以上の歳月が経ちました。

この度、糸山会長より、日本神経学会の50周年にあたり、私が今まで培ってきた50年の成果を神経学の歴史の中で講演するようにとの、思いがけないお手紙をいただきました。そして、私の電顕観察の当初における数々の発見、なかでも“平野シャベル (myelin shovel)”等のエピソードを加えて、私の話しやすい形での講演を、すすめていただきました。このご親切なご提案に基づきまして、neuron と glia の突起につきましての私の歩んできた学びの道を辿り^{1)~3)}、とくに印象に残っている思い出を述べます。

私は毎週2回、短期間 Division of Neuropathology を rotate する Montefiore Medical Center/Albert Einstein College of Medicine の学生たち、Neurology および Pathology の residents に神経病理の基礎的な教育 session をしております。その際、まず中枢神経系を構成する主要細胞である neuron, astrocyte そして oligodendroglia を描いてごらんといいますが、まず、はっきりした核小体をもった核の周りに Nissl 小体に富む neuron の細胞体を描き、それから長い一本の axon と数本の dendrites を描きます。次に星状をした少し小型の astrocyte を描き、その突起の中に血管に付着している vascular foot を追加する人もいます。それに対して oligodendroglia は描きにくいらしく、その名のように、短く少数の突起をもつ

た卵の目玉焼きのような小型の細胞を描きます³⁾。

さて、Nissl や H.E.染色では、細胞体が注目の的になっていましたが、Cajal や Hortega などの metallic impregnation により、その突起の研究に画期的貢献がもたらされました。更に、半世紀前、私が神経病理を学び始めた頃から、電顕の登場により、多くの思いがけぬ知見がえられました。本稿では、neuron, oligodendroglia そして astrocyte の順に私の電顕で学んできたそれぞれの細胞突起の研究にかかわる思い出のいくつかを紹介します。

I. Neuron

Nissl 染色や H.E.染色で neuron の細胞体は大きくよくめだち、その病変、たとえば chromatolysis とか Pick 小体や Levy 小体など細胞体内封入体等の病変が注目されるのはごく自然なことです。一方、neuron には、きわめてよく発達した多数の dendrites と一本の長い axon が存在します。これは metallic impregnation により素晴らしく描かれ、更に電顕によりその表面、とくにその末梢部に存在する無数の synapses が確認されております。一般に、模型図で表現されるばあいとは比較にならぬほど細胞体の占める面積にくらべて、抹消の細胞突起がよく発達していることは強調されるべきことです。

病変の判定には、正常像が尺度となりますが、その反面、めだつた病変をみつめることから、気がつかなかった正常および特殊な異常構造を認識する機会を与えられることもあります。神経細胞で synapse がユニークな装置で、これには pre と post の synaptic ending があります。ところが、その一方だけが多数出現する病変像をみてびっくりしたことがあります。その一つは、小脳の顆粒細胞が乏しい顆粒細胞型の小脳変

性症のばあいに、Purkinje 細胞の dendrite の萎縮がおこるのにもかかわらず多数の spine が存在しております。しかし、これらの spine のほとんどには presynaptic mate がないのです⁴⁾。それと反対に、小脳の medulloblastoma として、外科的に切除された腫瘍の電顕像で spine を欠く presynaptic terminal が群集している所見があり本当に驚愕しました⁵⁾。こうした synapsis の形成がみられない unattached presynaptic terminal や unattached postsynaptic terminal は正常組織ではみられない所見で、私たちはこうした synapsis の形成異常についての研究課題に取り組むことになりました。

II. Oligodendroglia

学生時代、神経解剖の教科書に掲載されていた Hortega の metallic impregnation の oligodendroglia の像は素晴らしいです。この細胞は白質に数珠上に並び、細胞突起は astrocyte にくらべて少なく、細くそして短いのです。そのため oligodendroglia と呼ばれています。しかし、Nissl 染色では細胞の核が綺麗に一列に配置されていますが、細胞突起はみえず細胞列の間を占めている大部分の場所は染まりません。ここは myelin 染色および axon 染色をすると多数の myelinated axon の存在することがわかります。更に、電顕でみますともっとはっきりみえます。

1950 年代になり、神経組織の研究に登場してきた電顕により、中枢神経組織には細胞とその突起がぎっしりと詰まり、細胞外腔がきわめて狭いこと、そして、その中に他の組織に存在する結合組織がきわめて乏しいことが観察されました。

神経疾患のなかでもっとも恐ろしいのは、脳の腫瘍、外傷、感染などでおこる頭蓋内圧亢進で、致死をきたします。その主役は脳浮腫で、神経病理学の重要なテーマでした。脳以外の組織では浮腫のみられるのは主に結合組織に富む細胞外腔です。しかし脳浮腫の電顕像をみると、astrocyte とその突起がめだって白く広がり、狭い細胞外腔はもっと狭くなり、ほとんど見えにくくなりました。そこで astrocyte が水の溜まる場所で、他の組織の細胞外腔に相当するのではないかという意外な説が生まれたほどです。

しかし、これには2つの大きな欠点が指摘されました。その一つは大脳皮質が検査の対象になっていたのに対して、浮腫の強いのは白質です。もう一つは、中枢神経系は適切な固定をするのが非常に難しいことでした。Astrocyte が oligodendroglia の細胞体のように、固定の悪い場所では白く広がりやすいことはよく知られてきました。そして、これは脳浮腫のない場所でもみられることがあります。しかし、S.L.Palay の画期的な脳の灌流固定が報告され、私たちはこの固定法を使用することにより、今まで手をつけかねていた実験動物の白質の微細構造を研究対象にすることができるようになりました。

正常の白質をみると、その細胞外腔は灰白質のそれよりも狭く、隣接する有髄線維の間隙は恰も myelin の intraperiod line と同じで見分けることができません。しかし脳内に電子度の高い tracer を入れますと、vasogenic edema の流れに

そって白質の中を移動するのがみえます。そのばあい拡大するのは細胞外腔で、ここには電顕でみえる tracer をふくんだ hematogenous edema fluid がはっきりとみえます。そのために一本一本の myelinated axon がばらばらになります。そして、反応性の astrocyte は無構造に白く抜けることなく、細胞の中には glycogen や glial fibril が存在しています。このことから、hematogenous edema fluid が出現し、移動するのは白質の細胞外腔であることを確認しました。これは私にとって最初の電顕の論文となり、病理学の権威ある American Journal of Pathology に掲載されてうれしかったです⁶⁾。その頃は、まだ電顕の教科書もなく、組織学の基礎智識に乏しい私にとり暗闇で手探りの毎日でしたが、新しいことをみつけてゆく喜びと興奮の連続でした。このことから脳浮腫に関係する blood-brain barrier や glia の反応所見の研究に専心するようになり、米国および世界各地の学会や研究所に招待され勉強の機会を与えられるようになりました。

脳浮腫でばらばらになった myelinated axon は固定がよく、とてもみやすいのです。そして、時を経て反応性の変化がおこり、それまでみたことのない想像外の様々な像がみつかってきました。そして、こうした所見を書いて、Neurology や Pathology でなく、思い切って電顕の専門雑誌 J. Cell Biology (JCB) に投稿し、掲載されたのは夢のようでした⁷⁾。これに励まされ、その後も写真をたくさんとりました。Oligodendroglia は中枢神経系の myelin forming cell ですが、不思議なことに、成熟した動物で myelin lamella と oligodendroglia の細胞膜が明白に連結している像はみられておりませんでした。ところが、本当に偶然ですが、私はその像を捉えることができました。これは一枚(本当は一枚とその一部の拡大図)の写真だけで JCB に投稿しました⁸⁾。このようなことは、私にとりはじめてで、その後にもなく、唯一の思い出となりました。この写真は今でも改訂を重ねている有名な教科書に掲載されていることからみても幸運の shot でした。

Myelin の構造について、もっとも素晴らしい着眼は Harvard 大学の B.G.Uzman の末梢神経系の myelin は axon 周囲を Schwann 細胞が螺旋状に巻いて生ずるということです。これとは逆に、私は想像上、でき上がった中枢神経系の myelin を axon からときほぐしてみたのです。こうしますと myelin は板のように広がり、その周囲を oligodendroglia の細胞突起が取りかこんでいることになります。これはちょうどシャベルのような形です。中枢神経系では一つの oligodendroglia の細胞体から多数の突起を出してそれが夫々シャベル状の広がりを作ることになります。このことは oligodendroglia の細胞突起は小さく数少ないのではなく、素晴らしく発達した大きな myelin の面を形成していることになります。末梢神経系のばあいには一つの Schwann 細胞が一枚の myelin 板を作りますが、それは中枢神経系の myelin よりも大きく、そのために多数の規則的に配列した通路を形成しております。これが Schmidt-Lanterman cleft です。更に、このシャベルの模型図をちょっと変えることにより、今まで不思議に思われていた様々の myelin の変性像を説明することができ

ます。この myelin シャベルの模型図は JCB に掲載されました⁹⁾。そして、思いがけぬことがおこりました。私はその当時、一つの論文の別冊要求に対して約 300 冊位の reprint を用意しておりました。これで大体充分だったのです。しかしこの myelin シャベルの論文では別冊要求があまりに多く、出版後一か月以内にすっかりなくなりました。そこで、毎日届く葉書の枚数をグラフに書いてみましたところ、一直線に伸び、長い間下向きの減少カーブになりませんでした。更にびっくりしたことは、他の neuroscience の journal の editor より、まだ若年の私に myelin の構造に関する論文の査読を依頼されたことです。改めて、その当時の neuroscience における myelin について関心をもつ読者層の広さに驚嘆しました。ファクスやコンピューター時代の現在では、こうした郵便葉書による活発な別冊要求のあったことは到底想像できません。この JCB にのったシャベル状の模型図はその後台頭してきた freeze fracture の画像解析に盛んに利用されました。まもなく Scientific American に myelin の review が掲載され、その中に大きな色刷りの見事な oligodendroglia の模型図がのり、その中央に myelin のシャベルが書かれておりました。この素晴らしい review の著者である Dr. William Norton は Albert Einstein College of Medicine での友人で、私は思いがけぬ親切な感謝の言葉を添えた別冊をいただきました。この原因が 30 年経過しても Greenfield の Neuropathology の教科書の第 7 版に一頁を占める挿絵としてのっており、私たちのシャベル像が学問の流れの中に溶け込んでいるのを感じます。

Oligodendroglia は中枢神経系の myelin forming cell です。その細胞突起末端の myelin 板の大きな広がりには想像を遙かに超えるものです。そしてこの一番末端の部分が axon に接触し、paranode では特殊な結合装置 transverse band を形成しております。ここは sodium や potassium の局在の研究に発展してゆき、この場所こそ oligodendroglia の本来の機能の場となっているようにすら思われます。

III. Astrocyte

Astrocyte はその名のように星状をなした glia 細胞で、その突起は末梢にゆくにつれて細くなり消えてゆくような印象をうけます。しかし血管に伸びる突起は血管壁に付着して vascular foot と呼ばれています。神経細胞の突起である axon と dendrite は長く伸びてその切り口は丸いのです。Axon は一定の太さを保って非常に長く伸びますが dendrite のばあいには分岐し、そのたびに細くなり、切り口が丸く小さくなっています。それで、私は長い間 astrocyte の突起もやはり管状をなして伸び、その切り口は丸いものと思っておりました。

ところが、遺伝性の小脳發育異常をきたす staggerer という二十日鼠の萎縮した小脳を電顕でしらべてみたところ、まったく思いがけない像がえられたのです¹⁰⁾。この小脳の萎縮した実質の大部分は無数の幅の狭い平行した細胞突起により占められ、それが残存している Purkinje 細胞や axon の周

りを同心円状にきれいに取り巻いて配列されているのです。その中には myelinated axon もふくまれ、その周囲は幾重にも薄くて均一の細胞突起の層により取りかこまれて、一見 myelin sheath を形成する以前の細胞突起の拡がりのようにみえるのです。しかし、これらの細胞突起層は myelin のように spiral ではなく、同心円状に配列されています。そして myelin の形成はなく、細胞突起内にあるのはごく少数の glycogen とめだたない glial fibril です。そしてこれらの細胞突起を辿ってゆきますと、glial fibril の豊富につまった太い astrocyte の幹に合流しているのです。つまりこれは astrocyte の突起がその末端で一様に薄く大きく広がっている像なのです。これらの突起の間には astrocyte の間にみられる様々の junctions が存在します。この小脳の電顕像で切断面の丸くみえるのはすべて neuron の突起で、それをかこんでいる astrocyte はその切断面が薄い層を成し布のように大きく広がっているのです。そこで staggerer の小脳にみられる astrocyte は私が以前もっていた image とはまったく違ったものだったのです。すなわち、突起の末端がしだいに細くなり消えてゆくのは反対に末端は末広がりに面をなしており、それらは沢山の接着装置で連絡されていることがわかります。

以上述べてきたのは staggerer という特殊な疾患動物にみられた astrocyte の反応所見ですが、これは staggerer だけにみられる像ではなく、これほどはっきりとはしておりませんが、よく似た所見はいろいろな病変で見られます。Astrocyte がこうした像を呈することは、決して突飛なことではなく、実は、解剖学者はすでにこのことを記載しております。Purkinje 細胞や前角細胞はその細胞体および dendrite が全周にわたり astrocyte により取りかこまれていて、astrocyte の突起の切り口は丸くなく、不規則な層状の形をしていることを指摘しております。そして synapsis のある場所は astrocyte により取りかこまれています。

ここで、astrocyte の geometry を今一度見直してみると、neuron を取りかこむ他に、中枢神経系全体をすっかり覆っているのです。大脳そしてことに小脳の表面には入りこんだ gyri や sulci があり、その表面積は想像以上の広さをもっています。更に、脳はもっとも血管分布の豊富な組織で、そのすべての血管周囲の perivascular space は astrocyte の vascular feet によりすっかりかこまれています。このことからだけでも、astrocyte の突起の拡がりには莫大なものであることがわかります。

以上の所見を別の見方をしますと、astrocyte の末端の拡がりには外胚葉性の中枢神経実質を、中胚葉性の脳膜や血管性組織から分割していることとなります。そして、その境界面にあたる astrocyte の表層はすっかり一枚の基底膜で被われております。こうしたことから astrocyte の細胞体の部分は末梢のゆきとどいた拡がりにくらべてはるかに小さいものになります。Astrocyte の細胞末端の拡がりには、Golgi impregnation をほどこした厚い標本を高圧電顕で観察されております。この astrocyte の末端部を freeze fracture の電顕像でしらべると、その細胞膜には gap junction の他に rectilinear array と

よばれる粒子が規則的に配列した特別構造がみられます。

Astrocyte がその突起の末端において広がりをもっていることは、oligodendroglia がもっと極端な広がりをもち axon の周りに myelin を形成していることを思えば、うなずけます。そして、光顕ではみえないか、あまりめだたない末梢の部分が、実は astrocyte の重要な機能の場であろうと思われる。Astrocyte と oligodendroglia は glia (glue のり) といわれて、その名のように中枢神経実質内部にあまねく行きわたり、neuron に接しその周りの microenvironment を調節しているといわれております。そして、結論としまして、最初に述べた neuron と glia の模型図に、私なりの追加をしてみますと追加部分が膨大な場所を占め、そこが夫々の細胞の本来の機能の場であるかも知れないことを強調させていただきます。

あとがき

このテーマは今まで神経病理学を学んできました私にとり、私の思考の中心にあり、しだいに育っていったもので、何度か発表の機会を与えられてきました^{1)~3)}。その最初は 1977 年 1 月に葉山海岸のホテル葉山マリーナで開催された第 2 回神経生物学セミナーで、私にとり渡米して 24 年目にあたる日本における神経科学の meeting での発表でした。Montefiore で同窓でした豊倉康夫、生田房広先生と席を並べて座り小川鼎三先生の“日本における神経学研究の歴史”を拝聴し、晴天に聳える白雲をともなった富士を眺めました。そして 1/4 世紀にわたる私の neuron と glia の突起について神経病理からみた観察を発表いたしました。

その翌年 1978 年 9 月に American Association of Neuropathologists (AANP) が Washington D.C. において VIII International Congress of Neuropathology と同時に開催されることになっていました。International Congress of Neuropathology はそれまでいつも欧州と英国の都市で 4 年毎に開催されてきましたので、これが米国ではじめての神経病理の国際学会となりました。たまたま私は AANP の president でしたので、慣例により presidential symposium を担当することになっておりました。私の緊張は一方ならぬものでした。そして前年の葉山の学会での成果が私に対する何よりの励ましとなって同じテーマを presidential symposium および私の講演に選びました。私は AANP の学会に 1961 年より毎年一つだけ研究発表をするように努めてきました。これは 10 分間で 5 分が討論に当てられており、私にとり一年中で一番大切な行事でした。何か月もかけて約 10 枚のスライドを用意し、原稿

をつくり、それをおぼえ、発表するときは、念のために原稿をゆっくり読むことにしておりました。しかし、Washington の学会では、大講堂でしかも一時間にわたる発表でした。私は生まれてはじめて、思い切って原稿なしに、たどたどしい英語で、自分でとり、染め、作った沢山のスライドを使用して、一生懸命、夢中で話しました。一時間があつという間に過ぎて、学会出席者全員の standing ovation の中に終了したことは本当に夢のようでした。今日まで、1,000 回におよぶ学会発表や、セミナーをしてきましたが、こうしたことははじめてで、そして最後でした。そしてこの中核となる内容はこの発表後 30 年たった今でも私が神経病理の標本をみる時に生きているような気がしております。

文 献

- 1) 平野朝雄：ニューロンとグリアの形態と機能—細胞突起の考察。ニューロンとグリアの神経生物学、塚田裕三編、共立出版、東京、1977、pp 65—87
- 2) Hirano A: Neuronal and glial processes in neuropathology. *J Neuropathol Exp Neurol* 1978; 37: 365—374
- 3) Hirano A, Llena J: Fine structure of neuronal and glial processes in neuropathology. *Neuropathology* 2006; 26: 1—7
- 4) 平野朝雄：神経病理を学ぶ人のために。第 4 版。2003、p 428
- 5) 平野朝雄：現代における神経病理の意義。私の経験を踏まえて。神経進歩 2003 ; 428
- 6) Hirano A, Zimmerman HM, Levine S: The fine structure of cerebral fluid accumulation. III. Extracellular spread of cryptococcal polysaccharides in the acute stage. *Am J Pathol* 1964; 45: 1—19
- 7) Hirano A, Zimmerman HM, Levine S: Myelin in the central nervous system as observed in experimentally induced edema in rat. *J Cell Biol* 1966; 31: 397—411
- 8) Hirano A: A confirmation of the oligodendroglial origin of myelin in the adult rat. *J Cell Biol* 1968; 38: 637—640
- 9) Hirano A, Dembitzer HM: A structural analysis of the myelin sheath in the central nervous system. *J Cell Biol* 1967; 34: 555—567
- 10) Hirano A, Dembitzer HM: The fine structure of astrocytes in the adult staggerer. *J Neuropathol Exp Neurol* 1975; 35: 63—74

Abstract**Fine structure of neuronal and glial processes in neuropathology, a personal historical note**

Asao Hirano, M.D.

Division of Neuropathology, Montefiore Medical Center

Neurons and glia are characterized by their well formed processes and by cell-to-cell relationships. Neurons show cylindrical processes, which form synaptic junctions. On the other hand, the peripheral parts of the glial cells are sheet-like in nature. Thus, the oligodendroglial cells form shovel-shaped myelin sheets around axons. The astrocytes also form delicate sheet-like processes, which separate the central nervous system from the mesodermal tissue and surround neuronal soma, dendrites and synapses.

Fine structural studies in neuropathological material provide many interesting new findings on neuronal and glial processes. This communication highlights my exciting experience studying neuropathology for over 50 years.

(Clin Neurol, 49: 719—723, 2009)

Key words: astrocyte, glia, myelin, neuron, oligodendroglia
