

ラット扁桃体外側主核の入力線維

1. HRP 法と Nauta 法による検討

新潟大学医学部解剖学第二教室（主任：布施栄明教授）

星 野 嘉恵子

Afferent Fibers to the Lateral Principal Nucleus of Rat
Amygdaloid Complex. 1. HRP and Nauta Studies.

Kaeko HOSHINO

*Department of Anatomy, Niigata University School of Medicine
(Director: Prof. Shigeaki FUSE)*

The lateral principal nucleus of amygdaloid complex, at the lateral border and the ventral part, is demonstrated to contain zinc by the sulfide silver method of Timm. We studied on the origin of the terminals in the positions showing a positive reaction with the method of Timm by using HRP and Nauta methods. The injections of horseradish peroxidase (HRP) were made into the lateral principal nucleus. Labeled regions by HRP were coagulated electrically, and the degenerating fibers in the lateral principal nucleus were examined.

It is shown that the lateral principal nucleus of amygdaloid complex has many afferent fibers from piriform cortex in agreement with the fields showing a positive reaction by the Timm method.

Key words: amygdaloid complex, lateral principal nucleus, HRP, Nauta
扁桃体, 外側主核, HRP, Nauta

扁桃体には亜鉛の存在が証明されている。扁桃体の中はいくつかの亜核に分けられているが、そのうち外側主核はその外側縁と腹側部で亜鉛反応陽性を示す¹⁾²⁾。亜鉛については海馬で詳しく研究されており、苔状神経終末に亜鉛が存在することが明らかになっている³⁾⁴⁾。

著者はこれまで各種哺乳動物扁桃体のゴルジ構築学的

研究を行い、扁桃体亜核の細胞の種類や入力線維の終末の形態などを検討してきたが⁵⁾⁶⁾⁷⁾、扁桃体には海馬でみられるような苔状神経終末は観察されなかった。

扁桃体外側主核で亜鉛反応陽性を示す領域の線維がどこに起始するものであるかを調べるため、horseradish peroxidase (HRP) 法と Nauta 法とによって検討した。

Reprint requests to: Kaeko HOSHINO,
Department of Anatomy, Niigata
University School of Medicine Niigata
City, 951 JAPAN.

別刷請求先: 〒951 新潟市旭町通1番町757
新潟大学医学部解剖学第二教室

星 野 嘉恵子

材料と方法

1. HRP 法

本実験には250～350gwのラット15ヒキを用いた。

ネブタール麻酔下に、片側の扁桃体外側主核に0.86%生理的食塩水で溶かした30% HRP (Sigma: type VI) を0.01 μ l 注入した。HRP 注入に際しては、ハミルトンの注射針の先端に内径約50 μ mのガラスビペットをとりつけ、脳の頭頂部より垂直に刺し圧力式で行った。注入後約24時間で、ネブタール麻酔下に1.25%グルタルアルデヒドと0.4%ホルムアルデヒド混合液にて灌流固定し、脳を取り出し、2～3時間同固定液にて後固定した。5%しょ糖を含むリン酸緩衝液にて一晩洗った後、60 μ m厚の前額凍結切片とした。切片は3,3'-ジアミノベンチジン液に約30分間浸透させ、続いて30%過酸化水素を含む3,3'-ジアミノベンチジン液に移して酸化反応させた。細胞構築学的に脳部をはっきりさせるため、Cresylviolet で対比染色した。

2. Nauta 法

本実験には250～300gwのラット17ヒキを用いた。

ネブタール麻酔下に、HRP 注入によって逆行性標識細胞が認められた脳部の片側をエナメルステンレス線電極(径200 μ のエナメルステンレス線を2本接着剤でかため、先端を露出したもの)で電気的(6V・30秒間通電)に凝固破壊した。7日後、ネブタール麻酔下に10%ホルマリン液で灌流固定し、脳を取り出し、1～2日間同固定液に保存した。グリセリン含有の10%ホルマリン液に一晩入れ、30 μ m厚の前額断、水平凍結切片とし、Nauta 法にて鍍銀した。そして扁桃体外側主核の変性線維を観察し、camera lucida を用いて記載した。

尚、扁桃体垂核の分類は小池上(1963)⁸⁾に、略字はVölsch(1906⁹⁾、1910¹⁰⁾に従った。

結 果

A. HRP 注入

扁桃体外側主核の外側縁(垂鉛反応陽性の領域)に限局して HRP を注入することは困難である。ができるだけ外包に近く、しかも外包の中に HRP が拡がらないよう努めた(図1)。

扁桃体外側主核への HRP 注入によって、逆行性標識細胞は同側の梨状葉皮質(扁桃体周辺皮質)、前障の腹側部、海馬台、そして両側の視床下部弓状核に認められた。

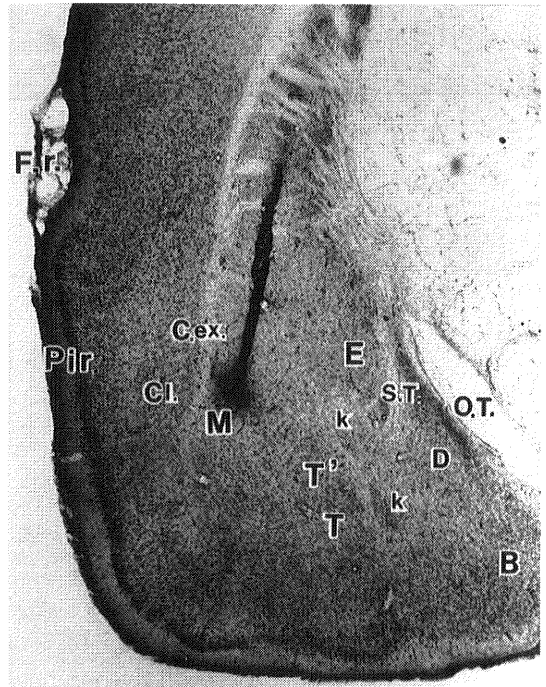


図1 HRP 注入部、左側側頭葉前額断 ×5
Cresyl violet で対比染色。

M: 外側主核 D: 内側核 C.ex: 外 包
T': 中間主核 B: 皮質核 F.r.: 嗅 溝
T: 内側主核 K: 介在核 Pir.: 梨状葉
E: 中心核 cl: 前 障 S.T.: 分界条
O.T.: 視 索

梨状葉皮質でみられた標識細胞は、外側主核に対応する皮質部で嗅溝より腹側の部分であった。層的には皮質の深層部で(Valverde¹¹⁾のⅢ～Ⅳ層)、中等大もしくはやや大型の紡錘状ないし錐体状の細胞に HRP 顆粒がとりこまれていた(図2-A, B)。

HRP 注入部位が外側主核の前部にあった時、前障に標識細胞がみられた。標識細胞は前障の腹側部で、球状ないし楕円状の細胞であった(図2-C)。

扁桃体外側主核の後部に HRP を注入した時には、数はわずかであったが海馬台に標識細胞が認められた(図3-A)。HRP 顆粒のとりこみ量が少なく反応は弱かった。

視床下部での逆行性標識細胞は両側の弓状核で密にみられた(図3-B)。この標識細胞は HRP を扁桃体外側主核の前部・中央部・後部に注入したすべての場合に認められた。

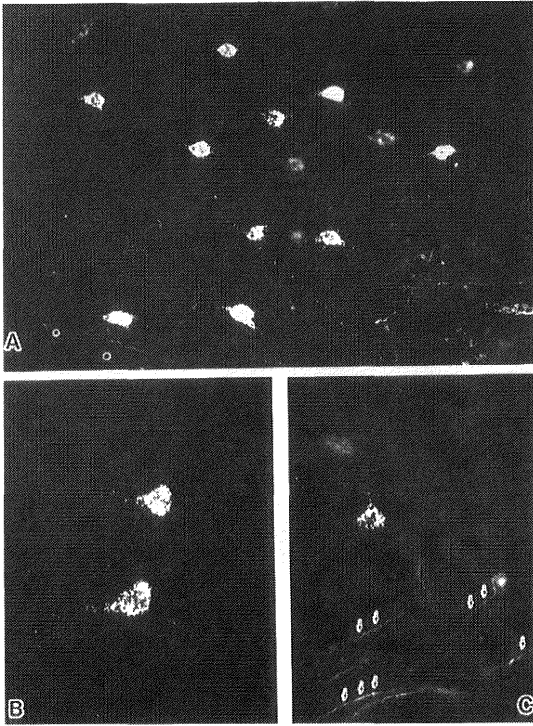


図 2 HRP 標識細胞

- A: 梨状葉皮質 (左の方が脳の表面) × 10
 B: 梨状葉皮質の細胞 × 50
 C: 前障の細胞 × 50

矢印は前障を通過して梨状葉へ向う線維

B. Nauta 法

扁桃体外側主核に HRP を注入した後、逆行性標識細胞が認められた脳部—梨状葉皮質、前障腹側部、海馬台、視床下部弓状核—を凝固破壊し、扁桃体外側主核の変性線維を観察した。そしてこれら変性線維の分布と亜鉛反応陽性の領域とを比較検討した。

梨状葉皮質の破壊は、凝固範囲が嗅溝より腹側で皮質に限られるよう注意した (図 4 皮質のすぐ内側で、外包の外側には前障があるので凝固範囲が前障にまで及ばないようにした)。梨状葉皮質の破壊によって扁桃体外側主核に多くの変性線維がみられた。前額断切片上 (図 5-A, 図 6) では変性線維は凝固部位から内側方に走り、外包を横断して扁桃体外側主核に浅く入っていた。水平断切片上 (図 5-B, 図 7) では、変性線維は凝固部位から内側やや前方に走り、外包を斜めに通過して外側主核に浅く入っていた。変性線維の一部は外包の中をさらに前方にすすみ、前交連に達していた。しかし反対側の

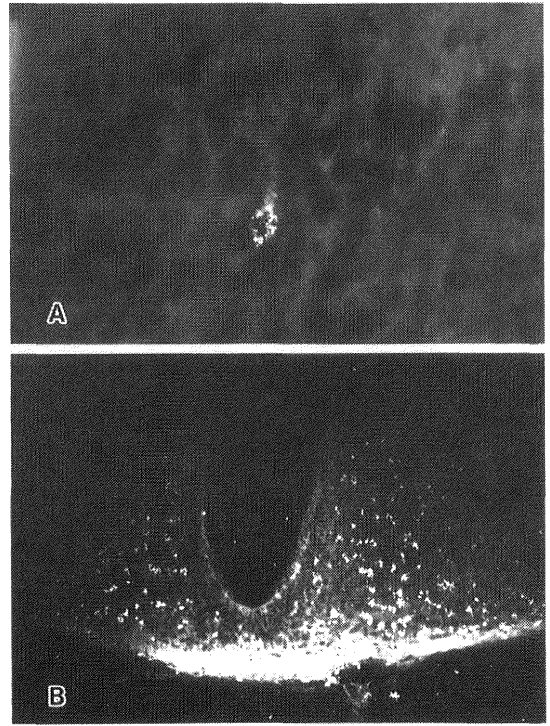


図 3 HRP 標識細胞

- A: 海馬台の細胞 × 50
 B: 視床下部弓状核 × 5

外側主核には変性線維はみられなかった。

前障腹側部の破壊では、凝固部位を前障に局限することができなかったため明確には言えないが、扁桃体外側主核の前部に多くの変性線維がみられた。

海馬台と視床下部弓状核を破壊した時には扁桃体外側主核に変性線維はみられなかった。

ま と め

扁桃体外側主核の亜鉛反応陽性を示す領域の入力線維の起始部を知るために HRP 法と Nauta 法とを試みた。

入力線維の起始部は HRP 法による標識細胞の存在で知ることができる。しかし HRP を注入する場合、注入部をできるだけ小さくできたとしても、針の経過した脳部に HRP がとりこまれたり、刺入針を伝って漏れたりするので、今回の HRP 注入実験は扁桃体外側主核の入力線維の起始部を探す目安として行った。そして HRP 注入によって逆行性標識細胞が認められた脳部を破壊し、その変性線維を観察することによって起

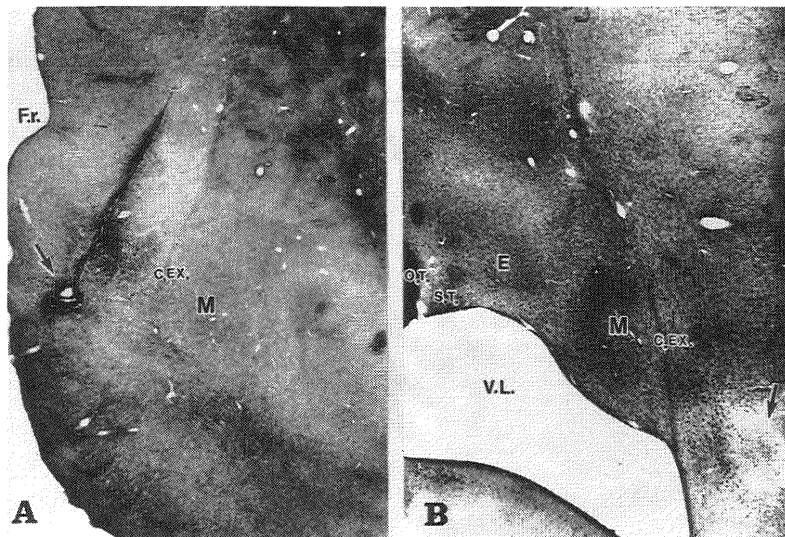


図4 梨状葉皮質の破壊部位(矢印) Nauta 鍍銀染色 × 5

A: 左脳の前額断
M: 外側主核
C.ex: 外 包
F.r.: 嗅 溝

B: 右脳の水平断
E: 中心核
O.T.: 視 索
S.T.: 分界条
V.L.: 側脳室

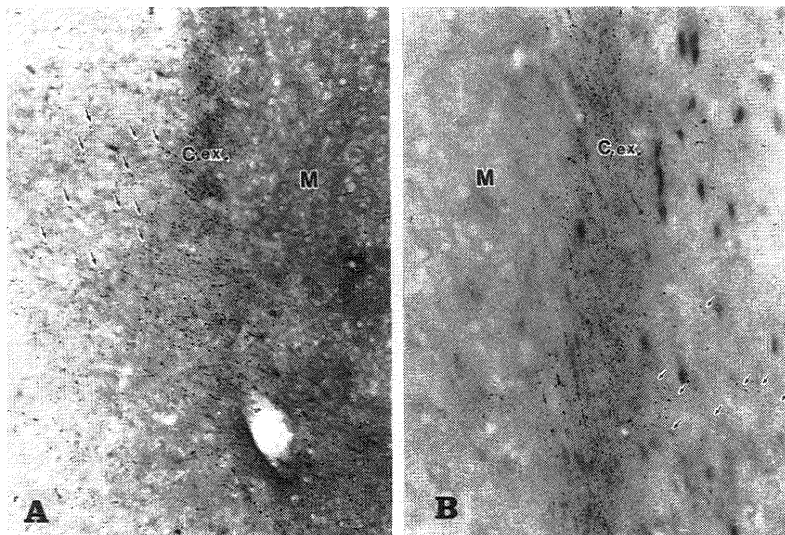


図5 扁桃体外側主核に入る変性線維(矢印)

Nauta 鍍銀染色 × 50

A: 左脳の前額断 B: 右脳の水平断
M: 外側主核
C.ex.: 外 包

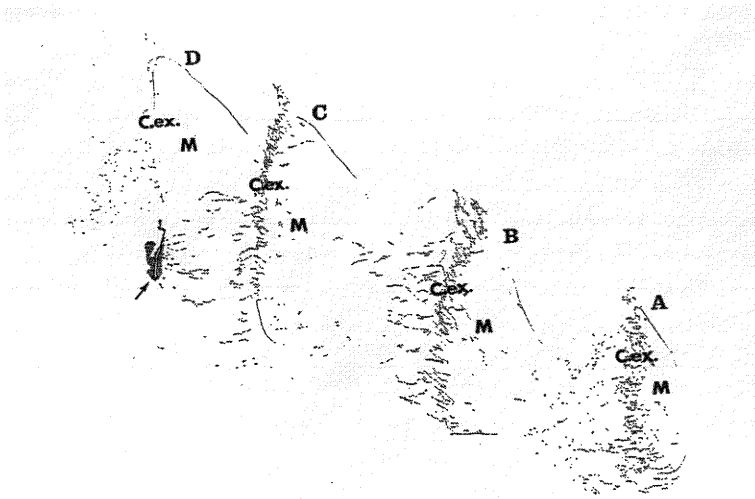


図 6 梨状葉皮質を破壊（矢印）した後の変性線維の分布の模型図
前額断

- A: 外側主核前部の断面
- B: はほぼ中央部
- C: 破壊部（矢印）を通る断面
- D: 後部



図 7 梨状葉皮質を破壊した後の変性線維の分布の模型図
水平断

- A: 外側主核の最も背側の部
- B: Aのやや腹側部
- C: はほぼ破壊部を通る高さ
- D: 腹側端

始部をより正確にすることができると考えた。

実験の結果、扁桃体外側主核は本核に対応する梨状葉皮質から密に線維を受けていることがわかった。

Veening (1978)¹²⁾, Wakefield (1979¹³⁾, 1980¹⁴⁾, Russehn (1982)¹⁵⁾ は扁桃体の主核 (外側主核, 中間主核, 内側主核) に HRP を注入し, 梨状葉皮質に逆行性標識細胞をみている。これら標識細胞は, HRP 注入部位が外側主核にある時には嗅溝のすぐ腹側の梨状葉皮質にみられ, 注入部位が中間主核・内側主核にある時には梨状葉皮質のさらに腹側にみられるという。ここでの実験でも同じ結果が得られた。

梨状葉皮質の破壊によって変性線維は凝固部位から内側方に走り, 外包を斜めに横切って扁桃体外側主核に浅く入っているのが観察された。本核の深部では変性線維はわずかであった。これらの線維は梨状葉から海馬へ,あるいは扁桃体の内側方の亜核へ行く通過線維であると思われる。外側主核における変性線維の分布は主に外包に近いところで, 亜鉛反応陽性の部位にはば一致した。

前障腹側部の破壊では, 凝固部位を前障のみに局限することができず, その範囲が梨状葉の深層部にまで及んだため明確には言えないが, 外側主核の前部に多くの変性線維がみられた。高等哺乳動物では, 扁桃体外側主核は前部で前障と接しており, 互いに線維連絡があるかもしれない¹⁶⁾。

扁桃体外側主核への HRP 注入によって海馬台と視床下部弓状核に標識細胞が認められたが, 破壊実験の結果両者とも外側主核に変性線維はみられなかった。海馬から扁桃体への投射について Morrison ら (1980)¹⁷⁾ は, 海馬の電気刺激によって外側主核ではんのわずかの unit response をとっている。

Kaelber ら (1977¹⁸⁾, 1979¹⁹⁾ は中脳黒質の外側部から, また Leichnetz ら (1976)²⁰⁾ はサルで Prefrontal cortex から扁桃体外側主核へ線維がきていることをみている。これらの線維も本核の入力線維として考慮していきたい。

今後, 外側主核における亜鉛を含有する神経終末の分布と, それとほぼ一致する梨状葉皮質からの入力線維の終末の分布とを電顕的に検討していきたい。

要 約

扁桃体の外側主核はその外側縁と腹側部で亜鉛反応陽性を示す。これら陽性を示す領域の神経終末がどこに起始する細胞のものであるかを調べるため, HRP 法と Nauta 法によって検討した。

外側主核に HRP を注入し逆行性標識細胞の分布を検索した。また標識細胞がみられた脳部を凝固破壊し, 外側主核の変性線維を観察した。

その結果, 扁桃体外側主核は梨状葉皮質から亜鉛反応陽性領域にはば一致して多くの入力線維をうけていることが明らかとなった。

稿を終えるにあたり, 御助言と御校閲を賜った布施栄明教授に謝意を表わすと共に, 研究上多大な御協力をいただいた野崎欽也, 高橋成治各技官に深謝致します。

尚, 本論文の要旨は第94回日本解剖学会総会 (1989, 宮崎) において発表した。

参 考 文 献

- 1) Hall, E., Haug, F.-M.S. and Ursin, H.: Dithizone and sulphide silver staining of the amygdala in the cat. *Z. Zellforsch.*, **102**: 40~48, 1969.
- 2) Danscher, G., Hall, E., Fredens, K., Fjerdingsstad, E. and Fjerdingsstad, E.J.: Heavy metals in the amygdala of the rat: zinc, lead, and copper. *Brain Res.*, **94**: 167~172, 1975.
- 3) Haug, F.-M.S.: Electron microscopical localization of the zinc in hippocampal mossy fiber synapses by a modified sulfide silver procedure. *Histochemie.*, **8**: 355~368, 1967.
- 4) Ibata, Y. and Otsuka, N.: Electron microscopic demonstration of zinc in the hippocampal formation using Timm's sulfide-silver technique. *J. Histochem. Cytochem.*, **17**: 171~175, 1969.
- 5) 星野嘉恵子, 平田幸男: 扁桃体のゴルジ構築 1. 外側主核. *解剖学雑誌*, **51**: 392~393, 1976.
- 6) 星野嘉恵子, 平田幸男: 扁桃体のゴルジ構築 2. 中間主核. *解剖学雑誌*, **52**: 244, 1977.
- 7) 星野嘉恵子: 扁桃体のゴルジ構築—キクガシラコウモリ (翼手目) について—. *新潟医学会雑誌*, **92**: 452~459, 1978.
- 8) Koikegami, H.: Amygdala and other related limbic structures; experimental studies on the anatomy and function. I. anatomical researches with some neurophysiological observations. *Acta. med. biol. Niigata*, **10**: 161~277, 1963.
- 9) Völsch, M.: Zur vergleichenden Anatomie des

- Mandelkerns und seiner Nachbargebilde. I.: Arch. mikr. Anat, **68**: 573~683, 1906.
- 10) **Völsch, M.:** Zur vergleichenden Anatomie des Mandelkerns und seiner Nachbargebilde. II.: Arch. mikr. Anat., **76**: 373~523, 1910.
 - 11) **Valverde, F.:** Studies on the piriform lobe. Harvard Univ. Press, Cambridge, Massach. 1965.
 - 12) **Veening, J.G.:** Cortical afferents of the amygdaloid complex in the rat: an HRP study. Neuroscience Letters, **8**: 191~195, 1978.
 - 13) **Wakefield, C.:** The intrinsic connections of the basolateral amygdaloid nuclei as visualized with the HRP method. Neuroscience Letters, **12**: 17~21, 1979.
 - 14) **Wakefield, C.:** The topographical organization and laminar origin of some cortico-amygdaloid connections. Neuroscience Letters, **20**: 21~24, 1980.
 - 15) **Russchen, F.T.:** Amygdalopetal projections in the cat. I. cortical afferent connections. a study with retrograde and anterograde tracing techniques. J. Comp. Neur, **206**: 159~179, 1982.
 - 16) 小池上春芳: 大脳辺縁系, 中外医学社. 東京, 1981.
 - 17) **Morrison, F. and Poletti, C.E.:** Hippocampal influence on amygdala unit activity in awake squirrel monkey. Brain Res, **192**: 353~369, 1980.
 - 18) **Kaelber W.W. and Afifi, A.K.:** Nigro-amygdaloid fiber connections in the cat (1). Amer. J. Anat, **148**: 129~135, 1977.
 - 19) **Kaelber, W.W. and Afifi, A.K.:** Efferent connexions of the pars lateralis of the substantia nigra (SNL). J. Anat, **129**: 405~412, 1979.
 - 20) **Leichnetz, G.R., Rovlishock, J.T. and Astruc, J.:** A prefronto-amygdaloid projection in the monkey: light and electron microscopic evidence. Neuroscience Letters, **2**: 261~265, 1976.

(平成元年 9 月 29 日 受付)