

〔総 説〕

正常、手術対照、松果体除去ラット副腎髓質の計量細胞学的研究 —とくに日内時間およびアドレナリン細胞・ノルアドレナリン細胞間差異との関連

1. 分析・統合結果を中心として

加 地 隆¹⁾

要 旨

著者らの約20年間にわたる一連の研究成績を簡潔に整理・統合した結果を示した。松果体は交感神経性調節をうける明瞭な24時間変動を示す。従ってこの研究では、松果体が交感神経系の一部を成す副腎髓質に対して及ぼす影響をラットで日内変動と関連して調べた。髓質構成細胞をアドレナリン(A)細胞とノルアドレナリン(N)細胞、神経終末と支持細胞にわけ、各種微細構造について日内8時点で正常群、頭蓋内対照手術(SX)群、松果体除去(PX)群間で計量光顕的・電顕的に比較した成績を、種々の観点から統合した。主な結果：1. 正常動物副腎髓質の多くの構造はA・N細胞間差異を示した。更に構造群は実験処置、日内時間によりAN細胞間差異の有無が変化しない群(A・N細胞サイズと種々の核構造、神経終末サイズや支持細胞の介在度等)と変化する群に大別された。2. 手術の影響：1) PX効果は多くのA細胞関連構造群に出現し、特定時間帯にのみ効果が現れる群もあった。N細胞関連ではPX効果は少数(核小体と神経終末)でのみ観察された。2) PX効果には仮説的松果体媒介SX効果と単純PX効果とが識別された。前者には日内変動の抑制のような独特のSX効果とPX逆転効果が含まれた。加えて、3) A・N細胞間差異に及ぼす多様なPX効果、4) 皮質介在性影響を示唆するPX効果の髓質内部位差、5) 神経介在性影響を示唆するPXによるシナプス小胞数の変化も見られた。

キーワード：24時間変動、頭蓋内手術効果、神経終末、核小体、粗面小胞体

I. はじめに

本研究は哺乳動物松果体の機能的意義探究の一環として、松果体除去(PX)が副腎髓質に及ぼす影響を解明するために行なわれたものである。哺乳動物副腎髓質に関しては古くから多数の研究がなされ、膨大な数の論文が報告されている。ここではまず、本研究開始の1976年迄の研究経緯・背景について簡単に述べておく。一般的な総説・参考文献としては文献^{5, 6, 11, 17, 18, 23, 57, 62, 85, 86)}を参照されたい。

副腎髓質細胞は発生学的に交感神経節ニューロンと同様に体幹部の神経堤に由来する。しかしながら、交感神経ニューロンはその分化に伴い分裂能を失うのに対して、髓質細胞は細胞分裂能をもち続ける^{12, 26, 38, 39)}。また、前者はノルアドレナリン合成能はもつがアドレナリン合

成能はもたないのに対して、後者は周囲の副腎皮質細胞からの糖質ステロイドの作用等によって分化し、ノルアドレナリンからアドレナリンを合成することができる細胞となり、血中に分泌されたアドレナリンは身体の広範囲に影響し得る。しかし髓質にはカテコールアミンとしてはアドレナリンの他にノルアドレナリンやドーパミンも含まれる。そして、髓質クロム親性細胞を電顕的あるいは光顕的にA細胞とN細胞に識別する染色方法も開発され、A細胞・N細胞とその神経終末の基本構造に関する電顕レベルでの定性的観察がなされた^{3, 9, 10)}。更に髓質クロム親性細胞上の、あるいはまた一般的に神経終末の構造、とくに腺細胞の顆粒小胞に類似するシナプス小胞と機能の関係は盛んな議論の対照であった^{14, 31, 32)}。髓質クロム親性細胞上神経終末内のシナプス小胞のうち、多量に含まれる小型明小胞内にはアセチルコリンが

1) 弘前医療福祉大学保健学部看護学科(〒036-8102 弘前市小比内3-18-1)

*本総説では多くの略字や記号、また一般的に知られていない用語が使用されているので、それらの説明を一括して表1に示した。

含まれるとされたが、少量の大型顆粒小胞の化学的実体や機能的意義は不明であった。

交感神経-副腎髄質系は機能的には生体の“fight or flight response (闘争か逃走反応)”に重要な役割を果たすとされた。胎生時代の髄質細胞は低酸素状態に直接反応してカテコールアミンを放出することができるが、その後、発達に伴い脊髄由来の‘節前神経’を介して中枢神経系と機能的に連結し^{62, 76)}、副腎髄質は松果体と同様に神経内分泌変換器官⁸⁸⁾と呼ばれる状態になると考えられた。また一方、アドレナリン合成酵素 (PNMT) の産生は、副腎皮質から静脈を介して供給される高濃度の糖質ステロイドによって増加する等のホルモン性調節も受ける^{87, 89)}。ヒトでもラットでも髄質内におけるアドレナリン含量比率はノルアドレナリンのそれよりもずっと高い事はよく知られていた。また血中のアドレナリンはほとんどが副腎髄質に由来するのに対して、血中のノルアドレナリン量は、刺激の性質にもよるが、一般的に

は全身の交感神経終末と髄質から放出されたものとの総和とされた。そして、心臓血管系への作用における髄質由来ノルアドレナリンの副次的役割が髄質におけるノルアドレナリン含量の低比率の原因と考えられた⁶²⁾。

〈補足:1970年に Von Euler や Katz と共にノーベル医学・生理学賞を受賞した J. Axelrod は、R. J. Wurtman を含む共同研究者とともに、交感神経-副腎髄質系におけるカテコールアミンの動態あるいは生合成・代謝等、生化学的・薬理学的研究において傑出した業績を残したが、副腎髄質の合成酵素に関しても、内分泌性と神経性の両調節機序等について詳細に研究・解明した¹⁾〉

髄質細胞のアドレナリンは低酸素、低血糖や精神的な不安等が放出刺激となるのに対し、ノルアドレナリンはアドレナリンとは異なる精神的状況下で放出され、攻撃性等と関係すると考えられた。また寒冷適応においてはアドレナリンよりもノルアドレナリンの方が重要とされた^{24, 25)} が、髄質由来のノルアドレナリンがどの程度の

表1. 本文および表内の字句の定義と略字・記号の説明

-
- A 細胞または表内では A : アドレナリン細胞 ; N 細胞または表内では N : ノルアドレナリン細胞 ; NO : normal, nonoperated, 正常対照 ; SX : sham-operated, (頭蓋内) 対照手術 ; PX : pinealectomized, 松果体除去 (手術) ; A・N 差異 : アドレナリン細胞・ノルアドレナリン細胞間差異 ; NGF : nerve growth factor, 神経成長因子 ; PNMT : phenylethanolamine N-methyltransferase ; DBH : dopamine β -hydroxylase ; GFAP : glial fibrillary acidic protein ; MET-ENK : メチオニン-エンケファリン ; ABC 法 : avidin-biotinylated peroxidase complex 法
 - ANOVA : analysis of variance, 分散分析 ; N/NMA: number of vesicles per unit nonmitochondrial area, 糸粒体を除く単位面積当り小胞数 ; N/NMV : number of vesicles per unit nonmitochondrial volume, 糸粒体を除く単位体積当り小胞数
 - 顆粒化核小体 : 核小体断面の電顕写真において暗調領域 (pars nucleolonema) の 40% 以上が顆粒部によって占められる核小体 ; 核小体辺縁化率 : 核小体が核膜に接する頻度 ; \uparrow : 増加 ; \downarrow : 減少 ; 両群間で有意差がない場合は \approx 、差がある場合は \neq 、 $<$ 、 $>$ などの通常の数学用記号で表記
 - 明 (暗) 早期 : 点 (消) 灯後 1 時間 ; 明 (暗) 中期 : 点 (消) 灯後 4、6 時間 ; 明 (暗) 後期 : 点 (消) 灯後 9 時間
 - 24 時間変動、SX 効果、PX 効果が存在する場合は +、存在しない場合は -
NO 動物と SX 動物の間で変化がある場合は SX 効果 +、変化がない場合は SX 効果 -
SX 動物と PX 動物の間で変化がある場合は PX 効果 +、変化がない場合は PX 効果 -
(ただし、NO 動物では 24 時間変動を示すが SX 動物で 24 時間変動が見られない場合がある。そして、その場合に PX 動物では 24 時間変動パターンが異なる場合もあり、それも PX 効果と考えられる)
 - 実験群間に変化のある場合、
陽性効果 : その変化に増加、または 24 時間変動の場合は存在あり、の方向への変化が見られる。
陰性効果 : その変化に減少、または 24 時間変動の場合は存在消失、の方向への変化が見られる。
SX 効果は陽性 SX 効果 (SX + 効果) と陰性 SX 効果 (SX - 効果) に、
PX 効果は陽性 PX 効果 (PX + 効果) と陰性 PX 効果 (PX - 効果) に、各々分けられる。
 - NO 群と SX 群の間で変化がなく PX 効果がある場合、または NO 群から SX 群への変化と SX 群から PX 群への変化が同じ方向、すなわち SX 効果と PX 効果の間に逆関係がない場合を「単純 PX 効果」と呼ぶ。
また、さらに分けて「単純陽性 PX 効果」または「単純陰性 PX 効果」と呼ぶ。
陽性 SX 効果が見られる構造に陰性 PX 効果が (陽性 SX 効果と PX 逆効果) 見られる場合を、
仮説的松果体媒介性 陽性 SX 効果、略して「松果体媒介 陽性 SX 効果」、
陰性 SX 効果が見られる構造に陽性 PX 効果が (陰性 SX 効果と PX 逆効果) 見られる場合を、
仮説的松果体媒介性 陰性 SX 効果、略して「松果体媒介 陰性 SX 効果」と、各々呼ぶ。
-

意味があるかは、議論があった。一方、1976年以後の病態生理学的・病理学的状態を含めたヒトでの血中レベルの測定結果によると、両アミンとも重い運動負荷により増加したが、ノルアドレナリンとは異なりアドレナリンは代謝性的変化により強く関与するとみなされ、低血糖やケトアシドーシスで増加、また極度の低血糖や心筋梗塞では著しく増加した¹³⁾。また褐色細胞腫に関しても、腫瘍型によるノルアドレナリンとアドレナリンの産生の違い等が報告されている^{59, 65, 66)}。

松果体については主な神経支配は全身の動脈と同様に交感神経によるという特徴を有する⁴⁹⁾ため、松果体から交感神経-副腎髄質系、あるいはまた、血圧調節などの自律機能に及ぼされる影響は興味深い問題であり、様々な角度から追究された^{27, 69, 83)}。この問題に大きな関心を引き起こした最初の重要な報告は、ZanoboniとZanoboni-Muciaccia (1967) によるラットでのPXによる実験的高血圧の誘発に関するものであった。しかし多くの追試の結果、必ずしも結果が再現できない場合もあり、再現性のある実験条件の解明が課題とされた。これと関連して、副腎髄質の組織学的構造に及ぼす松果体からの影響についても、PetrescuとSimionescu (1970) により貴重な第1歩が記された。一部計量的に研究された小規模な実験ではあったが、A細胞とN細胞の間で異なる影響が見出された。しかし、日内時間や日内変動の影響の検討がなく、また神経終末や支持細胞についても、また電顕レベルでの観察も欠くため、多くの未知の部分が残されていた⁸³⁾。

一方、松果体の構造と機能は振幅の大きな日内リズムを示し⁶⁸⁾、そのリズムは上頸交感神経節からの交感神経線維に依存する事が明らかにされた^{30, 88)}。また一方、ヒトの血中および尿中のアドレナリン、ノルアドレナリンレベルの日内変動についても1976年以前に幾つかの報告があった^{70, 72, 84)}。副腎内カテコールアミンレベルの日内変動はラットやハムスター等^{15, 56, 74)}で報告され、また、副腎髄質でノルアドレナリンを合成する酵素 (DBH) 活性の日内変動および松果体除去の影響も日内少数時点での測定ではあったが、BanerjiとQuay (1976) によって報告されていた。しかしながら、副腎髄質を光顕的・電顕的に神経終末や支持細胞を含む構成要素に分けて、日内リズムの有無や日内時間の影響とも関連して日内多時点、NO・SX・PX群間で、A・N細胞間比較も含めて計量的に比較検討した詳細な系統的研究は、著者らのものが最初であった。

計量形態学的方法は多大な時間と労力を要するため、あまり広く用いられる方法ではなかった。しかしながら、定性的研究あるいは少数の画像での判断には主観が入り不正確な判断になる可能性があるため、著者らはこ

れを是正し、できるだけ客観的で正確な判断を行なうために、形態・構造を数値化し、多数の細胞、動物で調べた。この方法によって、形態・構造とその動態を統計的に評価・検索できるという大きな利点が生じている。

本研究は著者の米国留学時の1976年に、ウィスコンシン州立大学Waisman Center on Human Development and Mental Retardationで、WB Quay教授、TK Banerji博士との共同研究として開始された。材料採取後、研究は同大学、次にテキサス州立大学ガルベストーン校、さらに帰国後の大部分は旭川医大、1991年以後は弘前大学医学部で行なわれた。

ここで材料と方法を簡単に述べておく。詳細は原著論文を参照されたい。1) 使用動物：53日齢Holtzman系雄性ラット、総計140匹以上。2) 飼育条件：恒温(22±2℃)、24時間人工明暗周期(LD 12:12)下、固形飼料と水を自由に摂取。3) 正常無処置(NO)群、手術対照(SX)群、PX群のラットを術後14日の日内8時点(暗期開始後1、4、6、9時間、明期開始後1、4、6、9時間)、反復16日間で使用。薄切した副腎をグルタルアルデヒドと四酸化オスミウムで二重固定後、エポンに包埋。4) 電子顕微鏡的検索：酢酸ウランとクエン酸鉛で染色した厚さ70nmの切片を使用。光学顕微鏡的検索：トルイジン青またはヘマトキシリン-エオジンで染色した厚さ1μmの切片を使用。このような処理により、髄質クロム親性細胞はA細胞とN細胞の2種に大別される^{3, 9)}。大部分の動物はこの方法で研究に用いられたが、弘前大学での免疫組織化学的研究では、Zamboni液で24時間固定した副腎髄質の凍結切片に対し、ABC法による免疫染色が施された。髄質A細胞の同定には抗PNMT抗体、支持細胞にはグリア標識蛋白のS-100蛋白、GFAP、ビメンチンへの抗体^{77, 78)}、メチオニン-エンケファリンに対しては、抗MET-ENK抗体が用いられた⁵⁰⁾。なお、ゴールデンハムスターを用いた第2の実験も行なっているが、その結果については本総説ではごく簡単にしか言及していない。

表1に示したように、観察・測定結果の表記方法の中で計測値の差異の有無あるいは24時間変動の有無等に関しては、多数のデータをできるだけ単純化して理解を容易にするために、とくに表の中では不等号や24時間変動の有無の場合はプラスやマイナス等の記号を用いた。この場合、細胞核の染色質のような一部の構造を除く大多数の構造については、定性的な判断結果ではなく、計測値の統計処理結果に基づいており、危険率5%未満を有意差としている。24時間変動の場合もANOVAのような適切な統計的方法を用いた結果である。

生体リズム関係の用語について一言述べる。本研究の材料採取は日内8時点での反復採取で行なっており、運

動量等のような連続測定ではないが、測定値の1日の間での変動ということで慣用的に用いられている24時間変動という用語を、本研究では日内変動の同義語として用いている。ただ「日内」という用語は24時間という意味でも、日内明期という意味でも使われるため、ここでは混乱を避けるため「24時間」変動という用語を用いた。また本研究では光環境も連続暗や連続明のような恒常状態下では検討しておらず、厳密な意味では概日変動(リズム)とは言えない。しかし現在、細胞組織学・生理学の分野では、約24時間の周期的現象には「概日」変動という用語が、しばしば恒常状態下での検討なしに用いられているので、本総説においても、表の中等で日内2峰性のウルトラディアン変動との違いを明示する必要がある場合等には特に概日変動という表現を用いている。

本研究の開始の頃には、副腎髄質細胞からカテコールアミン以外に、エンケファリンのようなペプチド、クロモグラニンAのような蛋白が放出される事等⁸⁾は一般的には知られていなかった。その後、Levi-Montalciniら(1983)のNGFに関する研究を含む発達神経科学、シナプスの構造と機能⁴⁸⁾、松果体・副腎髄質を含む神経内分泌学、自律神経およびその中枢性調節機序^{7, 58, 71)}、中枢時計の視交叉上核や時計遺伝子を含む時間生物学・医学^{16, 22, 51, 63)}等、本研究の関連分野における大きな進歩・発展があり、国際的専門誌も1976年にNeuroscience、1979年にJournal of Autonomic Nervous System、1984年にJournal of Pineal Research等が発刊された。しかし、近年膨大な報告がある副腎髄質の生化学的、薬理学的、生理学的、病理学的研究^{60, 65, 66)}およびメラトニンの薬理作用や臨床的意義^{22, 63)}等についての検討・解説の大部分は、それぞれの専門家に委ねたい。一部については、本総説の続編で述べる。

本総説では、1976年から1990年台迄の約20年間におよぶ著者ら自身による一連の形態生理学的分析的研究の原著論文を基にしており、それら原著論文からのデータの全体をA・N細胞間で比較しつつ簡潔に列記し、整理・統合した結果を提示することを主目的とした。本総説の基になっている個々の構造に関する観察・計測結果については、国際的専門誌の査読を経て出版されており、また細胞・組織学、生理学、松果体、神経内分泌、自律神経(交感神経-副腎髄質系)、生体リズム、癌と免疫等の各分野の専門家の集まる国際シンポジウム等で発表・評価されている(末尾の文献を参照)。1987年や1998年等の総説で基本的に重要な幾つかの点について述べたが、本総説ではそれらの結果に加えて、副腎髄質におけるSX効果、PX効果を日内時間とA・N細胞間差異との関連において更に広汎に検討し、統合した結果を含めた

全体図を初めて提示した。また本研究のように詳細で系統的な日内多時点での計測による計量形態学的・時間生物学的研究の例は他にないので、記録を残しておく事は意味があると思われる。多数の実験結果を統合する主な方法として、本総説においては計量的に調べた髄質内の各種の形態・構造を、細胞種(A細胞とN細胞)、実験群(NO群、SX群、PX群)、および日内リズムあるいは日内時間との間の関係から全体的な'グループ分け(分類)'、または部分的な少数の構造の'グループ化'を行っており、これも特徴になっている。そしてそのグループ化の中から、副腎髄質の各種構造の機能的意義や構造間における関連性、および松果体の機能的あるいは病態生理学的意義に関して、まだ解明されていない新しい問題点あるいはその糸口・萌芽を見出す事を意図・企画した。

- 仮説的松果体媒介頭蓋内対照手術効果、または松果体の存在に依存する頭蓋内対照手術効果(表1参照)

上述の著者らの論文内容をご存知ない大部分の読者には理解困難な現象が、一連の研究の過程で出現した。そのため順序が逆とはなるが一言説明を加える。通常動物実験では、ある内分泌腺の手術的除去による効果が確かにその内分泌腺の存在しないことによって起こるということを証明するために、その内分泌腺は除去せず、それ以外の手術的処置は同じという対照手術を行なって、当該内分泌腺の除去効果がその内分泌腺の不在自体によって引き起こされると考える。従って、通常この種の動物実験では、正常無処置動物と対照手術動物の間では差がなく、内分泌腺除去動物において両対照群との間に差が生じる。

ところが本研究では、松果体除去手術の対照手術であり髄膜切開を含む頭蓋内手術であるSXが、正常動物副腎髄質の微細構造に存在する日内変動を抑制するという著明な効果を及ぼすことが、著者らによる一連の論文の最初の、A細胞上の神経終末におけるシナプス小胞数に関する論文において報告された³¹⁾。当初はこの現象がなんらかの特別な意味をもつかどうかは不確かな状態であった。しかし、同様の現象が引き続きA細胞における核小体サイズの研究³⁴⁾でも観察され、また関連する種々の現象が著者らによるその後の研究でも繰り返し確認された。そしてさらに興味深いことに、このSX効果はPXによっては観察されず、従って松果体の存在に依存、または松果体によって媒介される可能性が想定された。この逆説的でありながら再現性の高い現象は著者の関心を強く引きつけた。この松果体の存在に依存するSX効果は、1991年以後の弘前大学における多くの研究者らとの共同研究によっても再現、検証された^{27, 41, 44, 45)}。そ

してこの現象の中には、髄質細胞における粗面小胞体の規模、メチオニン-エンケファリン様免疫反応性^{43, 44, 50)}やゴルジ装置の被覆小胞の数密度⁴⁷⁾、そしてまた脳の水分含量⁴¹⁾のように、SXにより増加し、PX（あるいは連続照明⁵⁰⁾）により低下するという場合も見出された。ちなみに、メチオニン-エンケファリンの前駆物質はプレプロエンケファリンである事が明らかにされた⁶¹⁾が、膵臓のβ細胞でインシュリンが前駆物質から産生される機序⁶⁴⁾と同様の機序が、SX動物における副腎髄質A細胞でも活性化している可能性を示す所見も観察・報告された⁴⁷⁾。

その後さらに、このSXが松果体細胞における脂肪滴量の減少^{52, 53)}や支持細胞によって被覆される松果体細胞の血管周囲腔への露出度の増加^{79, 80)}を起こす事等も著者らのグループによって見出された。これと関連して最近、松果体にはメラトニン以外の新しいホルモンとして、ニューロステロイドが存在するという重要な発見があった^{20, 21, 81, 82)}。従って現在では、この‘仮説的松果体媒介SX効果’において重要な役割を演ずる松果体ホル

モンとしては、メラトニンばかりでなくニューロステロイドをも考慮する必要があるだろう。一方、近年臨床医学方面からも、外傷性低髄液圧症候群または脳脊髄液漏出症（脳脊髄液減少症）に関する研究・議論が進み⁷³⁾、認識が深められてきている。このため、本研究における‘SX効果’のような基礎的研究の成果と臨床的問題との接点が生じる可能性が浮上しており、問題解明に向けての進展が期待される。

なお誤解と混乱をさけるために一言つけ加えておくと、本総説の最終結果にも見るように、このようなSXとPXの逆効果は副腎髄質内外のすべての構造に共通してみられる一般的な現象ではないらしい。

II. 分析と統合の結果

A. 正常ラット副腎髄質クロム親性細胞、支持細胞、神経終末におけるA細胞・N細胞間差異

(表2；表3、4、5も参照)

表2に示したように、調べられた多くの構造はA細胞・

表2. 正常成熟ラット副腎髄質クロム親性細胞、支持細胞、神経終末のA・N細胞間差異

1. 1日を通して、または24時間平均値に、NO、SX、PX各群に共通するA・N差異がある群	
A > N 「クロム親性細胞」 細胞サイズ、核サイズ、顆粒化核小体頻度 細胞核の異染色質・核液の量・定性所見 「神経終末」 終末または糸粒体断面積 / 終末断面 糸粒体断面積 / 終末断面積 (%)	A < N 「クロム親性細胞」 核小体辺縁化率 ^{a)} 「支持細胞」 クロム親性細胞間介在度または細胞表面被覆度
2. NO、SX、PX各群の間で、または日内時間により、A・N差異の有無が変わる群 ^{b)}	
1) 1日を通して、または24時間平均値	
A > N 「クロム親性細胞」 核小体サイズ (髄質全体) 集合型粗面小胞体 ^{c)} の頻度	A < N 「クロム親性細胞」 孤立散在型粗面小胞体 ^{c)} の頻度 「神経終末」シナプス小胞数密度 ^{d)} 小型明小胞 (とくに暗期1~6時間と明中期) 大型顆粒小胞
2) 概日変動の有無	
A+ N- 「クロム親性細胞」 核小体サイズ—髄質辺縁部 ^{e)} 「神経終末」: %大型顆粒小胞数 ^{f)}	
3) 特定時間での計測値または24時間変動パターン	
「神経終末」: 小型明小胞数密度 A—明早期1峰性リズム 「神経終末」: 大型顆粒小胞数密度 A—1日を通してほぼ一定値	N—明中期・暗中期2峰性リズム N—暗期で値の増減2回あり

^{a)} 表1を参照 ^{b)} 表3、4、5と本文を参照 ^{c)} 表4を参照 ^{d)} 単位はN/NMV。詳細は表1、表5と本文B-b-1を参照

^{e)} 髄質全体・中心部ではA+ N+ ^{f)} 小型明小胞数密度とはほぼ逆の変動 (小型明小胞数密度は大型顆粒小胞数密度を大幅に上回るため)

N細胞間差異を示し、それらの構造群はさらに2群—すなわちNO、SX、PX各群の間で、または日内時間により、A・N細胞間差異の有無が変わらない第1群と変わる第2群—に大別された。

第1群は比較的安定した群であり、形態学的分化を反映する構造群と示唆される。本研究結果において第1群に入るものとしては、クロム親性細胞では細胞の大きさがN細胞よりもA細胞で大きく、その他にも幾つかの核関連の構造が同様の性状を示した^{34, 36, 37, 38}。異染色質や核液の量は定性的観察結果のみで、一般的にはA細胞で多い傾向が見られたが時々例外も見られた³⁴。また神経終末断面の大きさと糸粒体の体積密度等も同様にN細胞よりもA細胞で大きい群に入る^{31, 32}。一方注目すべきことに逆の傾向を示す構造群もあった。すなわち、核小体辺縁化率(表1)はA細胞よりもN細胞の方が高く³⁴、また支持細胞がクロム親性細胞間に介在し細胞表面を被覆する程度は、A細胞領域よりもN細胞領域で大きかった。この所見は計量的電顕的方法⁴²および光顕的免疫組織化学的方法^{77, 78, 79}で確認された。核小体の計測には髄質の辺縁部と中心部でランダムに選んだ核小体を示す核断面を、NO群、SX群、PX群各々で、日内8時点での総計40匹、1,600個づつを計測に用いた。核小体辺縁化率のA・N細胞間差異は3群とも高度に有意であった($P<0.001$)³⁴。

第2の変動し易い群では、24時間平均値においてクロム親性細胞の核小体サイズ³⁴や集合型粗面小胞体の頻度⁴³は、N細胞よりもA細胞の方が高値を示し、神経終末の両型のシナプス小胞(小型明小胞、大型顆粒小胞)数密度等^{31, 32}は、逆にA細胞上終末よりもN細胞上終末の方が高値を示した。また核小体サイズの24時間変動の有無には髄質内部位差があり、辺縁部ではA細胞でのみ概日変動が見られた(表4も参照)。更にシナプス小胞数密度の24時間変動パターンに関しては、小型明小胞ではA細胞上終末において1峰性リズムが、N細胞上終末においては2峰性リズムが観察された。一方、大型顆粒小胞ではA細胞上終末においてはほぼ一定値を維持したのに対して、N細胞上終末においては日内暗期で値の増減が見られた。このように、シナプス小胞数密度はA細胞上終末よりもN細胞上終末で動揺しやすいことが示唆される(表5も参照)。

PNMTの存在は最も重要なAN細胞間差異の1つである。副腎皮質由来の高濃度の糖質ステロイドはPNMT酵素蛋白の遺伝子転写活性を促進させる^{1, 5, 8, 11, 87, 89}。その合成が促進される時には、核からの遺伝情報、胞体内のリボソームの量が増え、分泌顆粒間の細胞質中でPNMT分子が多量に合成される。PNMT分子はそのままそこに存在して、顆粒小胞内から外に出されたノルア

ドレナリンに作用してメチル基を転移させる反応を触媒してアドレナリンを合成し、合成されたアドレナリンは再び顆粒小胞内に取り込まれて、細胞外に放出される迄貯蔵されると考えられている^{8, 11}。逆にアドレナリン合成の抑制される状態が長く続く時には、PNMT蛋白が分解されると推測されている。古くからN細胞よりもA細胞でライソゾームが多量に含まれることが知られており、そのような分解過程にライソゾームが関与しているのかもしれない。また一方、A細胞にはN細胞よりも多量にエンケファリンが含まれると報告されている。これらの事はA細胞にはN細胞よりも多量の大規模集合型粗面小胞体が存在する事と関係している可能性を示唆する。著者は、SX動物においてはA細胞の中で、PNMT活性の低下とエンケファリン産生の増加がメチオニンの利用を介してカップリングしている可能性を考え、これらを含め“intracellular compact cooperation hypothesis(細胞内コンパクト協調仮説)”を提出した⁴⁵。ともあれ、微細構造の変化を観察している本研究では、髄質A・N細胞の合成機能を考える場合に、カテコールアミンばかりでなく少なくともペプチド等、アミン以外の分泌物を考慮する必要もある。エンケファリンのような物質の産生は神経性調節を受けることが報告されている^{4, 54, 75}。ので、髄質細胞の合成機能と関連する微細構造の調節機序としては、皮質ホルモン等の体液性影響と神経性影響の両方を考える必要があるように思われる。

B. 正常、手術対照、松果体除去ラット副腎髄質におけるA細胞・N細胞間差異

a. クロム親性細胞

1. 24時間平均値または日内特定時間帯での平均値(表3)

1) 細胞の大きさ³⁷と顆粒化核小体頻度³⁶の24時間平均値は、PX群のA細胞でのみNO・SX両対照群よりも高値を示した。また、このPX効果は日内時間に依存し、前者では暗期で、後者では明後期から暗早期にかけて有意であった(表6. 下線部)。

〈補足：顆粒化核小体の1日を通しての度数分布を見ると、低頻度例はA・N両細胞共SX群で多く、PX群で少ない傾向が見られた。しかし、ANOVAでの有意差はN細胞においては認められなかった〉

2) 核小体サイズ³⁴は髄質の辺縁部と中心部およびそれらの平均値について検討した。

(1) 髄質全体の24時間平均値は、NO群ではN細胞よりもA細胞で有意の高値を示したが、SX群・PX群では有意差はなかった(表2. 2-1))。また、NO群よりもSX群で有意の低値を示したが、PX群と両対照群との間の差異は認められなかった。しかし、辺縁部では注目す

表3. 正常、手術対照、松果体除去ラット副腎髄質におけるA・N細胞間差異 — クロム親性細胞(1)

1. 24時間(または‘特定時間帯’)平均値に及ぼすSX効果とPX効果の有無 [NO ≐ SX < PX : A+ N-] 細胞サイズ(とくに暗期)、顆粒化核小体頻度 ^a (とくに明期9時間~暗期1時間)
2. 24時間平均値に及ぼすSX効果とPX逆効果の有無 [NO > SX < PX : A+ N-] 核小体サイズ — 髄質辺縁部
3. 日内‘特定時間帯’での平均値に及ぼすPX効果の有無 核小体サイズ: 髄質全体(とくに暗中・後期); 辺縁部(とくに暗期) [NO > SX < PX : A+ N-]

^a A細胞: 有意差ANOVAで(+) (本文の補足を参照)

べき実験群間の差異および細胞種差が認められた。すなわち、A細胞の辺縁部平均値でのみ、NO群よりもSX群で有意の低値、SX群よりもPX群で有意の高値を示した(表3. 2)。

(2) 日内特定時間帯でのA・N細胞間差異: NO群では、明後期から暗後期において髄質全体および中心部で有意差があり、とくに暗中・後期においては髄質全体および辺縁部で差異が明瞭であった。SX群では、暗中・後期における辺縁部で有意の差異があった。PX群では、A細胞でとくに高値を示す明瞭なAN差異が暗早・中期の髄質全体および暗期の辺縁部で認められた(表3. 3)(表6. 下線部)。

3) 粗面小胞体の各種分布型(孤立散在型・小規模集合型・大規模集合型)⁴³⁾(表4. 1、2)

1日を通しての粗面小胞体の規模・集合の程度は細胞種および実験群間で明瞭な特徴的变化を示した。

(1) NO群では、大規模集合型の頻度はN細胞よりもA細胞で多く、逆に孤立散在型はN細胞よりもA細胞で少なかった。SX群では大規模集合型でのみA・N細胞間差異があり、N細胞よりもA細胞が多かった。しかしながら、PX群では各種分布型ともにA・N細胞間での差異はなかった。

(2) SX効果とPX効果: SXは、A・N両細胞種で孤立散在型の減少を、また逆にA細胞における大規模集合型、N細胞における小規模集合型、各々の増加を引き起こした。一方、PXはA細胞では孤立散在型の増加、逆に大および小規模両集合型の減少を引き起こした。しかし、N細胞では3型の粗面小胞体とも有意差は有無の境界にあり、明瞭なPX効果が見られなかった。

2. 24時間変動の有無(表4. 3)

1) 核の大きさ³⁶⁾: NO群ではA細胞(P<0.001)・N細胞(P<0.014)とも暗後期に最高値となる24時間変動があり、SX群ではA・N両細胞とも暗期での増加がなく、24時間変動がなかった。しかしながらPX群では、24時間変動がA細胞では存在し(P<0.031)、暗中・後期に最高値を示すのに対して、N細胞では存在しなかった。またA細胞ではNO・PX群間に概日変動パターンの有

意な違い(P<0.001)が認められた。

2) 有糸分裂頻度^{38, 40)}: 注目すべき変化を示した。概日変動はNO群・SX群では両細胞種共になかったのに対してPX群では、A細胞で存在し(P<0.009)N細胞では存在せず、また暗中期では両対照群よりも高値を示した(P<0.05)(表6. 下線部)。またとくに暗期中・後期のPX群においてN細胞よりもA細胞で有意の高値を示した(P<0.02)。

3) 核小体の大きさ³⁴⁾: 興味深い細胞種差、髄質内部位差、実験処置による変化を示した。

(1) NO群では、髄質全体の平均値にはA細胞(P<0.005)・N細胞(P<0.025)とも概日変動があった。リズムは暗後期(平均値±SD、A細胞: 1.29±0.06μm; N細胞: 1.23±0.05μm)に最高値、明中期(A細胞: 1.16±0.04μm; N細胞: 1.14±0.03μm)に最低値を示した。ANOVAによる検定で、A細胞では辺縁部(P<0.005)でも中心部(P<0.01)でも有意の概日変動を示したが、N細胞では辺縁部では有意の変動が見られなかった。より緩やかな検定(t検定など)ではN細胞の辺縁部でも概日変動が見られた(暗中後期対明中期: P<0.01)が、コサイン近似法¹⁹⁾による概日リズムの振幅はやはりN細胞よりもA細胞で大きかった(A細胞: 0.05μm; N細胞: 0.04μm)。

(2) SX群では、特徴的な事にA細胞では、髄質内部位に関わらず概日変動が存在しなかった。一方、N細胞では髄質全体(P<0.025)と中心部(P<0.005)で概日変動が存在した。

(3) PX群では、中心部での概日変動は両種の細胞共に存在しなかった。A細胞では、SX群とは異なり髄質全体(P<0.05)と辺縁部(P<0.05)で概日変動が存在した。しかし、その概日変動パターンはNO群のそれとは若干異なっていた(表4. 3[‡])。例えば、髄質辺縁部で位相の前進とリズムの振幅の若干の増加が見られた。一方、N細胞では髄質全体でリズムの脱同調、振幅の減少が見られた(原著³⁴⁾を参照)。

髄質辺縁部での核小体の大きさとその概日変動に関するA・N細胞間差異の実験結果は、この部位が中心部よりも皮質に近い位置にあること、および先に述べた

PNMT 遺伝子転写活性に対する皮質糖質ステロイドによる促進作用を考えると重要である。

〈補足：1. A・N細胞の分泌活動を表す開口分泌像はゴールデンハムスターで明瞭で、本研究の一環として計測結果を報告した³⁵⁾。しかしラットでは不明瞭なため、その頻度は計測していない。2. ラットでは副腎髄質のアドレナリン合成と皮質糖質ステロイドとの間には密接な関係がある事が確立されている。しかしながらゴールデンハムスターでは、これとは逆説的なA・N細胞の分布、すなわちPNMT活性をもたないN細胞が髄質内の皮質

側に、PNMT活性を有するA細胞が髄質の中心側に存在する^{45,50)}。理由は明らかでない)

b. 神経終末—シナプス小胞数密度^{31,32)} (表5)

シナプス小胞の数密度は24時間平均値でのみN/NMV (μm^3) の値を用いた。その他の値は実用上の理由からN/NMAの値を用い、単位面積は電顕写真上の 1cm^2 で、組織内での $1.6\mu\text{m}^2$ に相当する (表1を参照)。

1. 24時間平均値または日内特定時間帯での平均値の比較 (表5-1)

表4. 正常、手術対照、松果体除去ラット副腎髄質におけるA・N細胞間差異 — クロム親性細胞 (2)

1. 粗面小胞体各種分布型の24時間総計頻度 (%) (総数[#] A: NO 600, SX 612, PX 638 N: NO 494, SX 446, PX 471)

	孤立散在型		小規模集合型		大規模集合型		集合型合計		孤立散在型 (集合型合計)
	A	N	A	N	A	N	A	N	A → N 差
NO	56.0	68.8	35.5	28.3	8.5	2.8	44.0	31.1	+12.8 (-12.9)
SX	48.5	57.4	38.4	38.1	13.1	4.5	51.5	42.6	+8.9 (-8.9)
PX	66.9	64.3	25.4	31.0	7.7	4.7	33.1	35.7	-2.6 (+2.6)

2. 粗面小胞体各種分布型

	24時間総計頻度					
	孤立散在型 - AN 差異		小規模集合型 - AN 差異		大規模集合型 - AN 差異	
NO	A < N	+	A > (≐) ^a N	+	A > N	+
SX	A < (≐) ^b N	+ (-)	A ≐ N	-	A > N	+
PX	A ≐ N	-	A ≐ N	-	A > (≐) ^c N	+ (-)

SX 効果と PX 効果

	孤立散在型			小規模集合型			大規模集合型		
	A	N	AN 差異	A	N	AN 差異	A	N	AN 差異
NO → SX	↓ (<0.01)	↓ (<0.001)	-	≐	↑ (<0.005)	+	↑ (<0.02)	≐	+
SX → PX	↑ (<0.001)	↑ (<0.05) ~ ≐ ^d	± ~ +	↓ (<0.001)	↓ (<0.025) ~ ≐ ^e	± ~ +	↓ (<0.005)	≐	+

3. 24時間変動の有無

	核サイズ			有糸分裂頻度		
	A	N	AN 差異	A	N	AN 差異
NO	+	+	-	-	-	-
SX	-	-	-	-	-	- (AN 合計で24時間変動+)
PX	+ [‡]	-	+	+	-	+

	核小体サイズ			辺縁部			中心部		
	A	N	AN 差異	A	N	AN 差異	A	N	AN 差異
NO	+	+	-	+	- [@]	+	+	+	-
SX	-	+	+	-	-	-	-	+	+
PX	+ [‡]	-	+	+ [‡]	-	+	-	-	-

[#] 総細胞断面数 ^{a, b, c, d, e} 総動物数での比較 [‡] NO群とPX群の間で24時間変動パターンが異なる

[@] ANOVAでの結果 (本文参照)

表5. 正常、手術対照、松果体除去ラット副腎髄質におけるA細胞・N細胞間差異 — 神経終末

シナプス小胞数密度

1. 24時間平均値[#]の比較(平均値 ± SE)

	小型明小胞			大型顆粒小胞			%大型顆粒小胞		
	A	N	A → N 差異	A	N	A → N 差異	A	N	A → N 差異
NO	636 ± 35	756 ± 48	+120	40 ± 2	50 ± 3	+10	6.4 ± 0.5	6.7 ± 0.4	+0.3
SX	708 ± 20	624 ± 24	-84	42 ± 1	49 ± 3	+7	6.0 ± 0.2	7.9 ± 0.5	+1.9
PX	730 ± 52	746 ± 36	+16	43 ± 1	47 ± 3	+4	6.0 ± 0.4	6.3 ± 0.3	+0.3

	小型明小胞		大型顆粒小胞		%大型顆粒小胞	
	A ^a N	AN 差異	A ^b N	AN 差異	A ^c N	AN 差異
NO	(暗期1~6時間と明中期)	±		+	A ≐ N	-
SX	(暗中期~明中期)	±	(暗中期~明中期)	±	A ^c N	+
PX		-		-	A ≐ N	-

2. 概日変動またはウルトラディアン変動の有無(ANOVAによる検定)

	小型明小胞			大型顆粒小胞			%大型顆粒小胞		
	A [‡]	N [‡]	AN 差異	A	N [‡]	AN 差異	A	N	AN 差異
NO	+	+*	+	-	-	-	+	-	+
SX	-	-	-	-	-	-	-	+	+
PX	+*	-	+	-	+*	+	+	-	+

[#] 24時間平均値では数密度はN/NMV (μm³) の値を用いた(本文参照)

^{*} AN 差異の傾向あり、とくに目立つ変化を示した時点を()内に示した ^bP < 0.02 ^cP < 0.01

[‡] ウルトラディアン変動 [‡] NO動物とPX動物の間に24時間変動パターンの違いがある(本文参照)

NO動物ではA細胞上神経終末の小型明小胞数密度に比べてN細胞上のそれの方がずっと高値を示した。差異はとくに暗早期と明中期で明瞭であった。しかしA細胞終末においてはSX動物、PX動物の順で次第に増加したのに対し、N細胞終末では、SX動物において減少、PX動物では逆に増加した結果、A・N差異がほとんど消失した。また明中期でのA細胞終末の小型明小胞数はSX動物よりもPX動物で有意の高値を示し、N細胞終末でも同様の傾向が見られた。また大型顆粒小胞数密度は、NO動物では小型明小胞と同様にA細胞終末よりもN細胞終末で高値を示した。しかしA細胞終末ではSX動物、PX動物の順で徐々に増加した。一方、N細胞終末ではSX動物、PX動物の順で徐々に減少した結果、やはりA・N差異がほとんど消失した。なおSX動物では、小型明小胞ではNO動物とは逆にA細胞終末でN細胞終末よりも高値となる傾向を示したが、大型顆粒小胞ではNO動物と同様のA・N細胞間差異の傾向を示した。これらの傾向はとくに暗中期から明中期で明らかであった。いずれにしても、注目すべきことにPX動物ではA細胞終末とN細胞終末間に両型シナプス小胞数密度の差異がなかった。

2. 小型明小胞と大型顆粒小胞の数密度における概日変

動またはウルトラディアン変動の有無(表5-2)

1) NO動物においては小型明小胞はA細胞上神経終末では明早期にピークとなる概日変動を示し、N細胞上神経終末ではウルトラディアン変動を示した。これに対して大型顆粒小胞では、A細胞神経終末では24時間変動を示さなかった。N細胞神経終末では明瞭な24時間変動はなかったが、暗期に2つの小ピークが見られた。

2) SX動物では、注目すべきことに両型のシナプス小胞とも、またA・N両種細胞神経終末において共に、24時間変動を示さなかった。

3) これに対してPX動物においては、小型明小胞、大型顆粒小胞ともにA・N両種細胞神経終末の間で差異が見られるという興味深い結果が得られた。すなわち小型明小胞では、A細胞神経終末においては明期4時間に第1のピーク、暗期4時間に第2のピークをもつウルトラディアン変動が見られた(波下線部:表3と表4の[‡]欄外説明、核・核小体サイズと同様)。一方、N細胞神経終末においては、わずかに明期の4時間でのみ若干の高値を示し、ANOVAで有意となる24時間変動は認められなかったが、暗期のピークの消失はPXに起因する脱同調によることを示唆する結果が得られた。また大型顆粒小胞では、A細胞上神経終末には24時間変動が見ら

れなかったが、N細胞神経終末には暗中期と明中期にピークを有するウルトラディアン変動が見られた。

〈補足：副腎髄質クロム親性細胞上の神経終末の特異な細胞膜の変形・修飾構造を発見し、「陥凹複合体」と名付けた³³⁾。電顕的観察で見出された動的な構造で、細胞膜の終末内部への陥凹とその陥凹部における被覆小窩の存在を含む。本研究の一環として、A細胞上の神経終末でのその動態の計測結果を報告した。N細胞上神経終末にも存在を確認しているが、計測を行っていないので本総説では触れなかった〉

C. ラット副腎髄質におけるA細胞・N細胞に及ぼす対照手術効果、松果体除去効果の比較— 総括

• 全体的‘グループ分け(分類)’と概説(表6を参照)

A細胞・N細胞両方で調査・比較された種々の構造において、

1. 表6内の1に示したように、その多くでPX効果が認められた。また、NO群とSX群との間には差異の見られる場合と見られない場合とがあった。
2. 表6-1内aとbに示したように、PX効果が認められた形態学的指標は、SX群とPX群の間に、aすなわち

表6. ラット副腎髄質A細胞、N細胞に及ぼす対照手術効果、松果体除去効果の比較— 総括

1. PX効果+、すなわち [SX ≠ PX]

a. PX ⊕ 効果

1) SX効果±(単純陽性PX効果)

[NO ≅ SX < PX] A細胞：24時間平均(とくに日内暗期)—細胞サイズ
同上(とくに明9時間～暗1時間)—顆粒化核小体頻度

[NO ⊖ SX ⊖ PX ⊕]

A細胞：概日変動(暗4・6・9時間でA > N)—有糸分裂頻度

N細胞：ウルトラディアン変動+(明・暗中期に2峰)—「神経終末」大型顆粒小胞数密度

[NO < SX < PX] A細胞：24時間平均(とくに幾つかの時点)—「神経終末」小型明小胞数密度

2) SX効果+; PX逆効果+(‘松果体媒介’陰性SX効果)

[NO > SX < PX] A細胞：24時間平均—核小体サイズ(髄質辺縁部)
24時間総計—粗面小胞体孤立散在型の頻度

N細胞：24時間平均(とくに幾つかの時点)—「神経終末」小型明小胞数密度

[NO ⊕ SX ⊖ PX ⊕]

A細胞：概日変動[‡]—核サイズ

概日変動[‡](とくに髄質全体の暗後期と辺縁部の暗期でPX効果+)—核小体サイズ[★]

概日変動またはウルトラディアン変動[‡]—「神経終末」明小胞数密度、%大型顆粒小胞数

b. PX ⊖ 効果

1) SX効果-(単純陰性PX効果)

[NO ≅ SX > PX] A細胞：24時間総計—粗面小胞体小規模集合型の頻度

[NO ⊕ SX ⊕ PX ⊖] N細胞：概日変動—核小体サイズ[★]

2) SX効果+; PX逆効果+(‘松果体媒介’陽性SX効果)

[NO < SX > PX] A細胞：24時間総計—粗面小胞体大規模集合型の頻度

[NO ⊖ SX ⊕ PX ⊖] N細胞：概日変動—「神経終末」%大型顆粒小胞数

2. PX効果-、すなわち [SX ≅ PX]

1) SX効果-

[NO ≅ SX] N細胞：24時間平均—細胞サイズ、核小体サイズ、顆粒化核小体頻度
24時間総計—粗面小胞体大規模集合型の頻度

[NO ⊖ SX ⊖ PX ⊖] N細胞：有糸分裂頻度—概日変動

2) SX効果+

[NO > SX] N細胞：24時間総計—粗面小胞体孤立散在型の頻度

[NO < SX] N細胞：24時間総計—粗面小胞体小規模集合型の頻度

□ 概日変動またはウルトラディアン変動の有無 下線部は本文D-2を参照

★ 髄質内部位差は表3、4を参照

‡ NO動物とPX動物の間に24時間変動パターンの違いがある(本文参照)

「陽性PX効果が見られる場合」と、bすなわち「陰性PX効果が見られる場合」の2つの場合に分けられた。

3. 注目すべき事に、表6-1内 aの陽性PX効果には、a-1)の単純陽性PX効果と、a-2)の‘松果体媒介’陰性SX効果とが見られた。また表6-1内bの陰性PX効果にも、b-1)の単純陰性PX効果と、b-2)の‘松果体媒介’陽性SX効果とが見られた。

4. 重要な事に、SX効果の有無にかかわらず、PX効果には明瞭なA・N細胞間差異が認められた。すなわち、

1) A細胞自体およびA細胞上神経終末 双方の構造の多くにPX効果、とくにその陽性効果が認められた。

2) N細胞では、PX効果は神経終末のシナプス小胞数には見られた。しかし、N細胞自体の構造においてはPX効果の見られた場合は少なく、唯一 核小体サイズにおける概日変動の消失が認められたのみであった。

3) 表6内の2に示したように、PX効果の認められなかった構造はN細胞の構造に限られていた。この場合にも、SX効果の見られない場合と見られる場合とがあった。

5. 24時間変動パターンの変化(‡)：[A細胞の核と核小体のサイズ、およびA・N両細胞上神経終末の両種シナプス小胞数]において、SX動物では24時間変動が抑制され、またNO動物とPX動物との間には24時間変動パターンの差異(‡)が観察された。従って、松果体は少なくとも日内暗期におけるリズムのピークの同期化を起す作用をもつかももしれない^{27,39)}。

D. 正常、手術対照、松果体除去ラット副腎髓質におけるA細胞・N細胞間差異 — 総括

1. 24時間総計または平均値の差異(表4、表5)

[粗面小胞体の孤立散在型および集合型(小規模・大規模)の頻度および神経終末のシナプス小胞数密度]を3群間で比較するとAN差異はNO群で最大でPX群ではほとんど差異が見られなかった。このようにこれらの構造群の24時間総計頻度あるいは平均値に関して、PXはA・N差異をなくする効果を有するので、松果体の存在はこれらの構造群のA・N差異を明瞭にしていると推測される。

なお、実験群とA・N差異の間に見られるこの粗面小胞体の型とシナプス小胞数の類似性は、NO群、SX群、PX群の順に比較すると、SX群での小型明シナプス小胞のやや異質な成績から見て、大型顆粒シナプス小胞の方が各型の粗面小胞体頻度との類似性が高いように思われる。

2. 日内特定時間での差異(表3、表4、表6. 下線部)

“細胞種と日内時間に依存して、すなわちA細胞において特定時間帯でのみ、PX効果を示す”という点で共

通する構造群が存在した。構造群(時間帯)は、[細胞サイズ(暗期)、核小体サイズ(髓質辺縁部:暗期;全体:暗期・後期)、顆粒化核小体頻度(明後期から暗早期)、有糸分裂頻度(暗中期)]である。

3. 24時間変動(概日変動)の有無について(表4.3、表5.2、表6)

1) AN差異が存在する構造はPX群においてより多かった。その中で、A細胞で存在してN細胞で存在しない24時間変動は大部分PX群のものであった。A細胞で存在せずN細胞で存在する24時間変動はSX群とPX群の各々少数のものであった。表4.3に見るように、核小体サイズの概日変動は髓質内部位差と関連して特異なAN差異を示した。

2) AN差異を示さない構造は、髓質中心部における核小体サイズを除いて、PX群においては見られなかった。両対照群の中で、AN両細胞種で24時間変動を示す構造はNO群で見られた。また、AN両細胞種で24時間変動を示さない構造はNO・SX両群で見られた。

3) [核サイズ、有糸分裂頻度、髓質全体平均と辺縁部の核小体サイズ、小型明・大型顆粒シナプス小胞数]の24時間変動におけるAN差異を3実験群間で比較すると、AN差異は4指標ともほとんどがPX群においてのみ見られ、両対照群、とくに核小体の髓質全体平均値を除きSX群では見られなかった。すなわち、BとCで述べたように、PXはA細胞にのみ24時間変動を出現させ、N細胞の24時間変動はSX動物で見られる抑制状態を維持させる。従って、PXはこれらの構造における24時間変動の有無に関して、A・N差異を出現・明瞭化させる効果をも有する。つまり、SX動物のA・N両細胞種に共通して見られる[核の大きさ、有糸分裂頻度、シナプス小胞数]の24時間変動の抑制または消失の少なくとも1部を、松果体がA細胞の24時間変動発現に対する抑制作用によって引き起こしていると推測される。

III. おわりに

本研究は特定の仮説を検証する目的で行なわれたものではない。著者らはまず副腎髓質を構成成分に分け、その各々に対し日内時間との関係を考慮しつつ、できるだけ正確な計測を行ない、ついで基本的には帰納法的な考え方に基づき、それらの実験結果から導き出され得る結果を探究した。著者は副腎髓質を含む自律神経系に及ぼす松果体の作用に関する1987年の総説等において、1)松果体ホルモンの作用は修飾的なものであり、「協力的修飾的作用」と呼ぶ独特な作用様式による²⁷⁾；2)松果体ホルモンは少なくとも幾つかの日内リズムに対する位相調整(tuning)や協調(coordinating)を行なう^{27,39)}、

との考えを述べた。またI章で述べたように、‘仮説的松果体媒介SX効果（松果体の存在に依存するSX効果）’については多くの後続研究が行われた。

今回の総説では、これ迄の研究や総説では得られなかった結論を見出す事をめざした。統合という言葉は2つ以上のものを一つにまとめ合わせる事をいうが、これを広義に解釈して、副腎髄質における種々の構造群に対し、それらの計測値、および24時間変動のような日内時間との関連性の有無やSXやPXの影響等に関する性質を調べると、総括結果に示したような大小様々な‘グループ分け’ができる事がわかった。この‘グループ分け’は著者の過去の総説では正常動物におけるAN細胞間差異の研究およびSX効果、PX効果の検討等^{27, 41, 44, 45, 46)}で断片的に行なわれたが、この観点から全データを系統的に検討した事は初めてである。そしてこの‘グループ分け’は、それ自体は問題の解決でないにしても、問題の認識という点では研究上の1つの重要な段階と考える事ができる。その‘グループ分け’の過程で、最初に強い印象を与えた‘松果体の存在に依存するSX効果’に加えて、‘単純PX効果’を示す構造群も同じ副腎髄質内に多数存在する事が明示された。また一方、AN細胞間差異を系統的に検索する中で、松果体からの抑制性の影響はN細胞よりもA細胞においてずっと顕著であるが、それ以外にも両細胞の間に関係にまだ詳細は不明の何らかの影響を及ぼしているらしい事、また、N細胞の側にも核関連の構造、支持細胞および神経終末のシナプス小胞等、幾つかの未解明の興味深い性質が潜在する事も示された。

本研究において示された多くの結果および大小様々なグループの存在は、副腎髄質を構成する構造と24時間変動そしてSXやPXの効果が複雑で多様な機序により影響される事を示唆している。これと関連して近年、末梢器官における細胞・組織の構造と機能の調節は単純な機序ではなく、例えば中枢性、末梢性の神経性、内分泌性機序さらには局所性機序^{5, 45, 71, 81, 82)}、加えて中枢時計、末梢時計の存在^{16, 22)}等、複雑・多様な機序が関与すると思われるようになってきている。従って、副腎髄質の種々の構造と動態の調節やSX効果の発現、およびそれらに及ぼす松果体ホルモンの作用にも複雑な機序が関与する事はありうる事であろう^{27, 28, 29, 41, 45)}。本総説で提示された結果がこれらの問題に新しい明快な解答を見出すための何らかの手がかり・糸口・基礎データとなることを願って、稿を終える。

謝 辞

本研究の開始時より亡くなられる迄の約20年間にわたり、絶えず自らの行動をもって卓越したご指導を賜わり、著者を1人前の研究者に育てて下さった恩師故WB Quay教授に深甚なる謝意を表する。また、本総説の完成に際し、北海道大学大学院医学研究科時間医学講座の本間さと教授には時間生物学的用語に関する適切なおご助言をいただき、また弘前大学大学院医学研究科統合機能生理学講座の蔵田潔教授には、ご多忙にも関わらず、本総説の原稿に目を通され懇切なるご助言・ご示唆をいただいた。ここに深く感謝の意を表したい。なお、豊潤会松浦眼科副院長加地秀博士（元名古屋大学医学部眼科学講師）からの本原稿に対する的確な批評・指摘にも謝意を表する。

（受理日 平成28年2月16日）

文 献

1. Axelrod J: Noradrenaline: fate and control of its biosynthesis. *Science*, N.Y. 173: 598–606, 1971
2. Banerji TK, Quay WB: Adrenal dopamine- β -hydroxylase activity: 24-hour rhythmicity and evidence for pineal control. *Experientia* 32: 253–255, 1976
3. Böck P: *The Paraganglia*. 8–24. Berlin, Heidelberg, New York: Springer 1982
4. Bohn MC, Kessler JA, Golightly L, Black IB: Appearance of enkephalin-immunoreactivity in rat adrenal medulla following treatment with nicotinic antagonists or reserpine. *Cell Tissue Res* 231: 469–479, 1983
5. Barrett KE, Barman SM, Boitano S, Brooks HL: ギャング生理学、第20章 副腎髄質と副腎皮質。岡田泰伸（監訳）401–407頁。東京：丸善。2014（原書24版、2012）
6. Blaschko H, Sayers G, Smith AD, eds: *Handbook of Physiology, Section 7: Endocrinology, Volume VI. Adrenal Gland*. 283–445. Baltimore, Maryland: Williams & Wilkins. 1975
7. Blessing WW: *The Lower Brainstem and Bodily Homeostasis*. Oxford University Press. 1997
8. Carmichael SW, Winkler H: The adrenal chromaffin cell. *Sci Am* August 1: 30–39, 1985
9. Coupland RE: Electron microscopic observations on the structure of the rat adrenal medulla. I. The ultrastructure and organization of chromaffin cells in the normal adrenal medulla. *J Anat* 99: 231–254, 1965

10. Coupland RE: Electron microscopic observations on the structure of the rat adrenal medulla. II. Normal innervation. *J Anat* 99: 255–272, 1965
11. Coupland RE: The natural history of the chromaffin cell — twenty-five years on the beginning. *Arch Histol Cytol* 52 (Suppl): 331–341, 1989
12. Coupland RE, Tomlinson A: The development and maturation of adrenal medullary chromaffin cells of the rat *in vivo*: a descriptive and quantitative study. *Int J Devl Neuroscience* 7: 419–438, 1989
13. Cryer PE: Physiology and pathophysiology of the human sympathoadrenal neuroendocrine system. *N Engl J Med* 303: 436–444, 1980
14. De Robertis E, Ferreira AV: Submicroscopic changes of the nerve endings in the adrenal medulla after stimulation of the splanchnic nerve. *J biophys biochem Cytol* 3: 611–614, 1957
15. Dunn JD, Lin F-J: Daily fluctuations in adrenal catecholamine concentration. *Experientia* 30: 348–349, 1974
16. 海老原史樹文、深田吉孝編：生物時計の分子生物学。東京：シュプリンガー・フェアラーク。1999
17. Fawcett DW: Adrenal Medulla. *A Textbook of Histology* (12th ed). 505–513. New York, London: Chapman & Hall. 1994
18. Grynspan-Winograd O: Adrenaline and noradrenaline cells in the adrenal medulla of the hamster: a morphological study of their innervation. *J Neurocytol* 3: 341–361, 1974
19. Halberg FM, Engeli C, Hamburger D, Hillman D: Spectral resolution of low-frequency, small-amplitude rhythms in excreted 17-ketosteroids; probable androgen-induced circaseptan desynchronization. *Acta Endocrinol [Suppl]* 103: 5–54, 1965
20. Haraguchi S, Hara S, Ubuka T, Mita M, Tsutsui K: Possible role of pineal allopregnenolone in Purkinje cell survival. *Proc Natl Acad Sci USA* 109: 21110–21115, 2012
21. Hatori M, Hirota T, Iitsuka M, et al.: Light-dependent and circadian clock-regulated activation of sterol regulatory element-binding protein, X-box-binding protein 1, and heat shock factor pathways. *Proc Natl Acad Sci USA* 108: 4864–4869, 2011
22. 本間研一、彼末一之編著：環境生理学。73–88頁。北海道大学出版会。2007
23. 石田三雄：ホルモンハンター—アドレナリンの発見。京都大学出版会。2012
24. 伊藤真次：適応のしくみ—寒さの生理学—。北海道大学図書刊行会。1974
25. 伊藤真次：ホルモンによる寒冷適応。日経サイエンス 7月号：74–87, 1980
26. Ito T: Postnatal histogenesis of the adrenal medulla of the hamster with special reference to the functional structure. *Folia anat jap* 30: 239–258, 1958
27. Kachi T: Pineal actions on the autonomic system. *Pineal Res Rev* 5: 217–263, 1987.
28. 加地隆：松果体ホルモン。情動とホルモン。伊藤真次、熊谷朗、出村博 編、223–248頁。東京：中山書店。1997
29. Kachi T: Pineal structures and functions in mammalian body mechanisms coping with exogenous and endogenous changes. *Emerging Theories of Host Defense. The 10th Hirosaki International Forum of Medical Science.* Nakane A, Hirota K, Suda T et al, eds. *Hirosaki Med J* 59(Suppl): S262–S277, 2007
30. 加地隆：松果体腫瘍と発達・思春期 2.正常松果体との関連における松果体実質腫瘍についての考察。弘前医療福祉大学紀要 5: 1–18、2014
31. Kachi T, Banerji TK, Quay WB: Daily rhythmic changes in synaptic vesicle contents of nerve endings on adrenomedullary adrenaline cells, and their modification by pinealectomy and sham operations. *Neuroendocrinology* 28: 201–211, 1979
32. Kachi T, Banerji TK, Quay WB: Circadian and ultradian changes in synaptic vesicle numbers in nerve endings on adrenomedullary noradrenaline cells, and their modifications by pinealectomy and sham operations. *Neuroendocrinology* 30: 291–299, 1980
33. Kachi T, Banerji TK, Quay WB: The invagination complex in nerve endings on adrenomedullary adrenaline cells: Quantitative ultrastructural description, and analysis of changes with time-of-day and their modification by sham-surgery and pinealectomy. *J Autonom Nerv Syst* 2: 241–258, 1980
34. Kachi T, Banerji TK, Quay WB: Quantitative cytological analysis of functional changes in adrenomedullary chromaffin cells in normal, sham-operated, and pinealectomized rats in relation to time of day: I. Nucleolar size. *J Pineal Res* 1: 31–49, 1984
35. Kachi T, Banerji TK, Quay WB: Quantitative ultrastructural analysis of differences in exocytosis number in adrenomedullary adrenaline cells of golden hamsters related to time of day, pinealectomy, and intracellular region. *J Pineal Res* 2: 253–269, 1985

36. Kachi T, Banerji TK, Quay WB: Quantitative cytological analysis of functional changes in adrenomedullary chromaffin cells in normal, sham-operated, and pinealectomized rats in relation to time of day: II. Nuclear-cytoplasmic ratio, nuclear size, and pars granulosa of nucleolus. *J Pineal Res* 5: 141–159, 1988
37. Kachi T, Banerji TK, Quay WB: Quantitative cytological analysis of functional changes in adrenomedullary chromaffin cells in normal, sham-operated, and pinealectomized rats in relation to time of day: III. Nuclear-density. *J Pineal Res* 5: 527–534, 1988
38. Kachi T, Banerji TK, Quay WB: Pineal-adrenomedullary relations: Hormonal mechanisms affecting tumor growth. *The Pineal Gland and Cancer*. Gupta D, Attanasio A and Reiter RJ, eds. 333–344. London, Tübingen: Brain Research Promotion. 1988
39. 加地隆、Banerji TK, Quay WB: 副腎髄質の細胞・細胞内リズム—松果体除去・対照手術と関連して—。細胞 20: 512–517, 1988
40. Kachi T, Quay WB, Banerji TK, Imagawa T: Effects of pinealectomy on the mitotic activity of adrenomedullary chromaffin cells in relation to time of day. *J Pineal Res* 8: 21–34, 1990
41. Kachi T, Suzuki T, Kimura N et al: Pineal effects on adrenal medulla, area postrema and brain water content in relation to intracranial surgery. *Biol Signals* 6: 255–263, 1997
42. Kachi T, Suzuki T, Takahashi G, Quay WB: Differences between adrenomedullary adrenaline and noradrenaline cells: quantitative electron-microscopic evaluation of their differential cellular association with supporting cells. *Cell Tissue Res* 271: 257–261, 1993
43. Kachi T, Takahashi G, Banerji TK, Quay WB: Rough endoplasmic reticulum in the adrenaline and noradrenaline cells of the adrenal medulla: Effects of intracranial surgery and pinealectomy. *J Pineal Res* 12: 89–95, 1992
44. Kachi T, Takahashi G, Suzuki T et al: Effects of pineal and intracranial surgery on the adrenal medulla: quantitative morphological and immunohistochemical studies. *Melatonin and the Pineal Gland. From Basic Science to Clinical Application*. Touitou Y, Arendt J & Pévet P, eds. 277–280. Amsterdam: Excerpta Medica. 1993
45. Kachi T, Takahashi G, Suzuki T et al: Dynamic and versatile structures of adrenal medulla, related to pineal and surgery. *Dynamic Cells: Cell Biology of the 21st Century*. Proceedings of the 1st Hirosaki International Forum of Medical Science. Yagihashi S, Kachi T & Wakui M, eds. 47–58. Amsterdam: Elsevier. 1998
46. Kachi T, Takahashi G, Suzuki T et al: Relationship between pineal gland and adrenal medulla. *Melatonin: A Universal Photoperiodic Signal with Diverse Actions*. Tang PL, Pang SF, Reiter RJ, eds. 51–59. *Front Horm Res*, vol 21. Grossman AB, London, series ed. Basel: S Karger. 1996
47. 梶原哲、高橋元、加地隆：副腎髄質アドレナリン細胞のゴルジ装置に及ぼす松果体除去・対照手術の影響—計量的電子顕微鏡的研究。弘前医学 48: 197–207, 1997
48. Kandel ER, Schwartz JH, Jessel TM et al, eds: *Principles of Neural Science* (5th ed). New York: McGraw Hill. 2013
49. Kappers JA: Survey of the innervation of the epiphysis cerebri and the accessory pineal organs of vertebrates. *Prog Brain Res* 10: 87–153, 1965
50. 木村尚正、加地隆：ゴールデンハムスター副腎髄質のメチオニン-エンケファリン様免疫反応性に及ぼす日内時間、頭蓋内手術、松果体ホルモンの影響。弘前医学 48: 139–147, 1996
51. Klein DC, Moore RY, Reppert SM: *Suprachiasmatic Nucleus: The Mind's Clock*. Oxford University Press. 1991
52. 久留島徹大、加地隆、橋本聡子、本間研一：血中メラトニン濃度と松果体脂質含量に関する比較的研究：日内時間と種々の頭蓋内手術の影響。解剖誌 72: 341, 1997
53. Kurushima M, Takahashi G, Suzuki T et al: Effects of intracranial surgery on lipid droplets, on other structures, and on melatonin secretion. *Anat Sci Int* 84: 17–26, 2009
54. LaGamma EF, Adler JE, Black IB: Impulse activity differentially regulates [Leu] enkephalin and catecholamine characters in the adrenal medulla. *Science* 224: 1102–1104, 1984
55. Levi-Montalcini R, Aloe L: The effect of nerve growth factor on autonomic ganglion cells. *Autonomic Ganglia*. Elfvin L-G, ed. 401–426. Chichester, New York: John Wiley & Sons. 1983
56. Lew GM, Quay WB: Circadian rhythms in catecholamines in organs of the golden hamster. *Am J Physiol* 224: 503–508, 1973
57. Livett BG: *Cell Biology of the Secretion*. Cantin M, ed. 309–358. Basel, München, London: Karger. 1984
58. Loewy AD and Spyer KM, eds: *Central Regulation of Autonomic Functions*. Oxford University Press. 1990

59. 松木明知、石原弘規、廣田和美：褐色細胞腫の麻酔(改訂第2版). 33頁. 東京：克誠堂出版. 1999
60. Murakami M, Nemoto T, Niwa H et al: Involvement of endothelin-1 in adrenal catecholamine regulation. *Hirosaki Med J* 65: 218–226, 2014
61. Noda M, Furutani Y, Takahashi H, et al: Cloning and sequence analysis of cDNA for bovine adrenal preproenkephalin. *Nature* 295: 202–206, 1982
62. Norris DO: *The Adrenal Glands: Cortical and Chromaffin Cells. Vertebrate Endocrinology (2nd ed).* 217–249. Philadelphia, PA: Lea & Febiger. 1985
63. 大塚邦明：時間内科学. 東京：中山書店. 2013
64. Orci L, Ravazzola M, Storch MJ, et al: Proteolytic maturation of insulin is a post-Golgi event which occurs in acidifying clathrin-coated secretory vesicles. *Cell* 49: 865–868, 1987
65. Pacak K: Approach to the patient. Preoperative management of the pheochromocytoma patient. *J Clin Endocrinol Metab* 92: 4069–4079, 2007
66. Pacak K, Timmers HJLM, Eisenhofer G: Chapter 109. Pheochromocytoma. *Endocrinology. Adult and Pediatric (6th ed).* Vol II. Jameson JL, De Groot LJ, eds. 1990–2018. Philadelphia, PA: Saunders. 2010
67. Petrescu C, Simionescu N: Cercetări experimentale privind relațiile dintre pineală și medulosuprarenală la șobolanul alb. *St Cercet Endocrinol* 21: 339–343, 1970
68. Quay WB: *Pineal Chemistry in Cellular and Physiological Mechanisms.* Springfield, Illinois: Charles C Thomas. 1974
69. Quay WB, Kachi T: Amine-Secreting Endocrines. *Hormones and Aging.* Timiras PS, Quay WB & Vernadakis A, eds. 67–84. Boca Raton, New York: CRC Press. 1995
70. Renton GH, Weil-Malherbe H: Adrenaline and noradrenaline in human plasma during natural sleep. *J Physiol, Lond* 131:170–175, 1956
71. Robertson D, Biaggioni I, Burnstock G et al, eds: *Primer on the Autonomic Nervous System (3rd ed).* Amsterdam: Elsevier. 2012
72. Satake Y: Secretion of adrenaline and sympathins. *Tohoku J exp Med* 60 Suppl 2: 1–158, 1954
73. 佐藤慎哉、嘉山孝正：低髄液圧症候群、脳脊髄液減少症、脳脊髄液漏出症. *脳外誌* 22: 443–451, 2013
74. Scheving LE, Harrison WH, Pauly JE: Daily fluctuation (circadian) in levels of epinephrine in the rat suprarenal gland. *Am J Physiol* 215: 799–802, 1968
75. Schultzberg M, Lundberg JM, Hökfelt T, et al: Enkephalin-like immunoreactivity in gland cells and nerve terminals of the adrenal medulla. *Neuroscience* 3: 1169–1186, 1978
76. Slotkin AS: *Development of the Sympathoadrenal Axis. Developmental Neurobiology of the Autonomic Nervous System.* Gootman PM, ed. 69–96. Clifton, New Jersey: Humana Press. 1986
77. Suzuki T, Kachi T: Immunohistochemical studies on supporting cells in the adrenal medulla and pineal gland of adult rat, especially on S-100 protein, glial fibrillary acidic protein and vimentin. *Acta Anat Nippon* 70: 130–139, 1995
78. Suzuki T, Kachi T: Similarities and differences in supporting and chromaffin cells in the mammalian adrenal medullae: an immunohistochemical study. *Anat Rec* 244: 358–365, 1996
79. Suzuki T, Takahashi G, Kachi T: Supporting cells or glial cells in the adrenal medulla and pineal gland. *Dynamic Cells: Cell Biology of the 21st Century. Proceedings of the 1st Hirosaki International Forum of Medical Science.* Yagihashi S, Kachi T & Wakui M, eds. 71–76. Amsterdam: Elsevier. 1998
80. Suzuki T, Takahashi G, Kachi T: Quantitative electron-microscopic study on glial cells in contact with the perivascular space in the rat pineal gland: Effects of intracranial surgery. *青森県立保健大学紀要* 1: 133–137, 1999
81. Tsutsui K, Haraguchi S: Breakthrough in neuroendocrinology by discovering novel neuropeptides and neurosteroids: 2. Discovery of neurosteroids and pineal neurosteroids. *Gen Comp Endocrinol* 205: 11–22, 2014
82. Tsutsui K, Haraguchi S: Neurosteroids. *Handbook of Hormones. Comparative Endocrinology for Basic and Clinical Research.* Takei Y, Ando H, Tsutsui K, eds. Chapt 96. 537–539. Amsterdam: Elsevier. 2016
83. Vollrath L: *The Pineal Organ.* 308, 315. Berlin, Heidelberg, New York: Springer. 1981
84. Von Euler US, Hellner-Byörkman S, Owén I: Diurnal variations in the excretion of free and conjugated noradrenaline and adrenaline in urine from healthy subjects. *Acta physiol scand* 33: Suppl 118: 10–16, 1955
85. Von Euler US: Twenty years of noradrenaline. *Pharmacol Rev* 18: 29–38, 1966
86. Winkler H: The adrenal chromaffin granule: a model for large dense core vesicles of endocrine and nervous tissue. *J Anat* 183: 237–252, 1993
87. Wurtman RJ, Axelrod J: Control of enzymatic synthesis

- of adrenaline in the adrenal medulla by adrenal cortical steroids. *J Biol Chem* 241: 2301–2305, 1966
88. Wurtman RJ, Axelrod J, Kelly DE: *The Pineal*. 108. New York, London: Academic Press. 1968
89. Wurtman RJ, Moskowitz MA, Munro HN: *Transsynaptic Control of Neuronal Protein Synthesis. The Neurosciences*. Schmitt FO and Worden FG, eds. 897–909. Cambridge, Massachusetts, London: The MIT Press. 1979
90. Zanoboni A, Zanoboni-Muciaccia W: Experimental hypertension in pinealectomized rats. *Life Sci* 6: 2327–2331, 1967

Quantitative cytological study on the adrenal medulla in normal, sham-operated and pinealectomized rats, with special reference to time-of-day and differences between adrenaline cells and noradrenaline cells.
1. The results of analysis and integration, as the main theme.

Takashi Kachi

Hirosaki University of Health and Welfare, 3-18-1 Sanpinai, Hirosaki 036-8102, Japan

Abstract

A series of research data obtained by the author and collaborators for over the past 20 years were briefly sorted and arranged, and the integrated results were shown. The pineal gland shows distinct 24-hour rhythms that are regulated by sympathetic nerves. In this study, therefore, the effects exerted from the pineal on the adrenal medulla, which constitutes parts of the sympathetic nervous system, were investigated in rats in relation to 24-hour changes. Adrenomedullary constituent cells were divided into adrenaline (A) cells, noradrenaline (N) cells, nerve endings and supporting cells, and various fine-structures were compared by quantitative light and electron microscopy at eight time points during a day between normal, intracranial sham-operated (SX) and pinealectomized (PX) groups. The data were then summarized from various view points. Main results: 1. Many adrenomedullary structures of normal animals showed differences between A and N cells. Furthermore, the structures were divided into two groups. In one group (e.g. sizes and various nuclear structures of A and N cells, nerve ending sizes and intercalating degree of supporting cells), AN cell differences did not change due to experimental treatment and time-of-day. In the other group, AN cell differences changed depending on the experimental situations. 2. Surgery effects: 1) PX effects appeared in many A cell-related structures, and a group of the PX effects appearing only in a special time zone also existed. In N cell-related structures, PX effects appeared in only a few (nucleoli and nerve endings). 2) In PX effects, hypothetical pineal-mediated SX effects and simple PX effects were distinguishable. In the former, the unique effects of SX, such as suppression of 24-hour changes, and the reverse effect of PX were included. In addition, 3) diverse PX effects exerted on AN cell differences, 4) intramedullary regional differences in PX effects, suggesting cortex-mediated influence, and 5) numerical changes in synaptic vesicles due to PX, suggesting nerve-mediated effects, were observed.

Key words: 24-hour change; intracranial surgery effect; nerve ending; nucleolus; rough endoplasmic reticulum