



ウシ心臓のプルキンエ線維の走査型電子顕微鏡的観察

村上 隆之¹⁾・福島さつき²⁾・黒木 正子³⁾

那須 哲夫¹⁾・斎藤 勇夫¹⁾・島田 達生⁴⁾

1) 宮崎大学農学部 2) 現 熊本県畜産連合会

3) 宮崎大学電子顕微鏡室 4) 大分医科大学

Scanning Electron Microscopy of Purkinje Fibers in the Bovine Heart

Takayuki MURAKAMI¹⁾, Satsuki FUKUSHIMA²⁾, Masako KUROKI³⁾,
Tetsuo NASU¹⁾, Isao SAITO¹⁾ and Tatsuo SHIMADA⁴⁾

- 1) Faculty of Agriculture, Miyazaki University, Miyazaki-shi 889-21, Japan
- 2) Kumamoto Federation of Animal Husbandry Associations, Kumamoto-shi 860
- 3) Electron Microscopic Laboratory, Miyazaki University
- 4) Medical College of Oita, Oita-gun, Oita 879-56

Abstract. Subendocardial Purkinje (P) fibers in the bovine heart were observed by scanning electron microscopy after removal of the endocardium or freeze cracking. Small branches from the left and right limbs of the atrioventricular conducting system were spread out, forming an irregular and delicate P network under the ventricular endocardium. P fibers forming strands of the network were roughly cuboidal, rectangular, or oval. They were branching cells with a diameter two to five times as long as that of the ordinary cardiac muscle fibers. The P fibers had few myofibrils and mitochondria. Their sarcoplasm was packed with a network of filaments which were not organized into myofibrils. They frequently communicated with ordinary cardiac muscle fibers through transitional fibers. A direct continuity was rarely observed between them.

緒 言

Purkinje (1845)¹⁾ によって有蹄類の心室心内膜下に特殊筋から成る線維網が存在することが報告されて以来、ウシの刺激伝導系の光学顕微鏡 (以下 LM) や透過型電子顕微鏡 (以下 TEM) による研究は数多くなされている。しかし、伝導系の三次元的構築やプル

キンエ (以下 P) 線維から心室筋への移行部の形態は充分には解明されてはいない。走査型電子顕微鏡 (以下 SEM) はこれらの検索に非常に有用であるが、ウシの伝導系の SEM による観察は少なく、横索内に位置する P 線維束の外表面の簡単な所見が報告^{2,3)} されているのみである。著者らはウシの心内膜下の P 線維を SEM で観察し、LM および TEM による所見と

比較検討したので報告する。

材料および方法

観察に用いた材料は2日～3か月齢の仔ウシの心臓12例で、いずれも放血殺直後に採取し、心臓と肺に肉眼的な異常が認められなかったものである。

LM 観察のためには心室をホルマリン固定、アザン染色を行なった。SEM (JEOL JSM-35 C) 観察のためにはカルノフスキー液で固定、化学的に心内膜を除去⁴⁾、あるいはジメチルスルホキシドに浸漬して液体窒素中で割断⁵⁾、2% O₃O₄ 後固定、導電染色⁶⁾、臨界点乾燥 (HITACHI CHP-2)、金蒸着 (JEOE JEC-1000) を行なった。TEM (HITACHI HU-11 DS) 観察のためにはカルノフスキー液および2% O₃O₄ 後固定、スパーレジン包埋の超薄切片にウラン・鉛染色を行なった。

結果および考察

ウシの心臓における房室伝導系の左・右脚の分枝がP線維網となって心室の心内膜下に拡がることは、無処理の心臓の肉眼的観察によって認められるが⁷⁻⁹⁾、伝導系への墨汁¹⁰⁻¹⁴⁾や色素¹⁵⁾注入、またはPAS変法による伝導系の染色^{16,17)}などによっても明瞭に示されている。

心内膜を化学的に除去し、心内膜下に位置するP線維網をSEMで観察した結果、肉眼的に認められるP線維束は種々の方向に分岐し、それらが吻合して心内膜下に不規則で繊細なP線維網を形成していた (Fig. 1)。このようなP線維網には2, 3層が重なり合って立体的な網工を形成する部や、P線維網から固有筋線維束間に向かうP線維束も認められた。

凍結割断した標本の観察で、P線維網を形成するP線維束は1ないし数例のP線維が索状に連なっているのが認められた。P線維束の間質面で割断された標本では、P線維の間質側外表面は滑らかに膨隆するもの、強く不規則に突出するもの、比較的平坦で多少の微細な突起を有するもの、など種々であったが、隣接のP

線維と結合する部には浅く狭い陥凹が常に認められた。また個々のP線維の形態は辺縁が鈍な立方形、長方形、卵形などのほか、分岐するものや突起を有するものなど種々であったが、その太さは固有筋線維の2～5倍であった (Fig. 2)。

凍結割断された標本の細胞内をSEM観察すると、固有筋線維では、筋線維の長軸に沿って平行配列を示す横紋の明瞭な筋原線維、その間に縦に並ぶミトコンドリア、さらに筋原線維のZ線レベルを横走する横細管などが規則正しく配列していた。

一方、P線維では、筋原線維に横紋は認められるが筋原線維の数が少なく、その走行は無秩序で、主にP線維の辺縁部に偏在する傾向を示していた。核は大型球形で線維の中央、時には辺縁部に1または2個存在し、その周囲を少数の小型のミトコンドリアが取り囲んでいた。この核領域と線維辺縁部との間の豊富な筋形質は筋原線維を作らないフィラメントの網工で満たされ、その網工内に少数のミトコンドリアと筋原線維が散在していた (Fig. 3)。このフィラメントの網工の密度は個々のP線維で異なっていたが、各P線維内では一般的に核近位部で疎であった。このようにウシのP線維には筋原線維やミトコンドリアが少なく、それらが散在性に存在していたことは、今回 (Fig. 4) および過去に報告された^{2,18,19)} TEM 所見とよく一致していた。TEM 観察で、ウシのP線維内には無秩序に配列する中間径フィラメントが多数存在するといわれ^{3,20,21)}、それは筋形質の全域に拡がって細胞骨格となり、P線維の形態を保持しているといわれている³⁾。今回のSEM観察でP線維には網工状のフィラメントが豊富に存在していた。蒸着した金の厚さが不明なこともあり、このフィラメントの太さは測定できなかったが、TEMで認められた中間径フィラメントあるいはその小束がこの網工の主要な構成成分と考えられた。なお、ウシのP線維の核領域にはブタのP線維で報告²²⁾されているような小型の顆粒 (径200～400 nm) がTEMでしばしば観察された。この顆粒の形態は心房筋内に見られる特殊心房顆粒²³⁾ に似ており、atrial

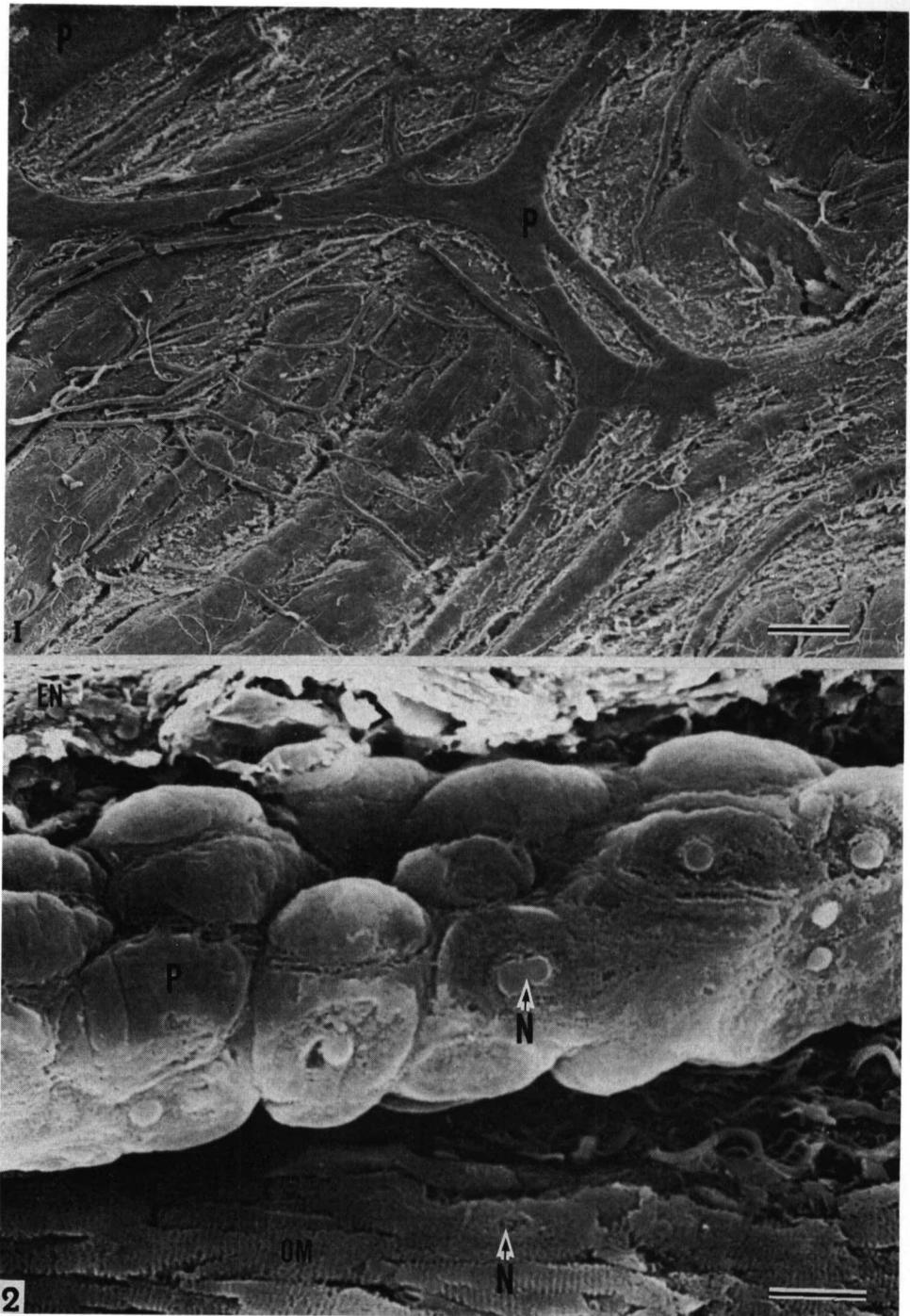


Fig. 1 Scanning electron micrograph of Purkinje (P) network in the subendocardium of the right ventricle after chemical removal of the endocardium. Bar=200 μ m.

Fig. 2 Scanning electron micrograph of the cracked surface of a Purkinje (P) fiber strand. EN: endocardium OM: ordinary cardiac muscle fiber N: nucleus Bar=20 μ m.

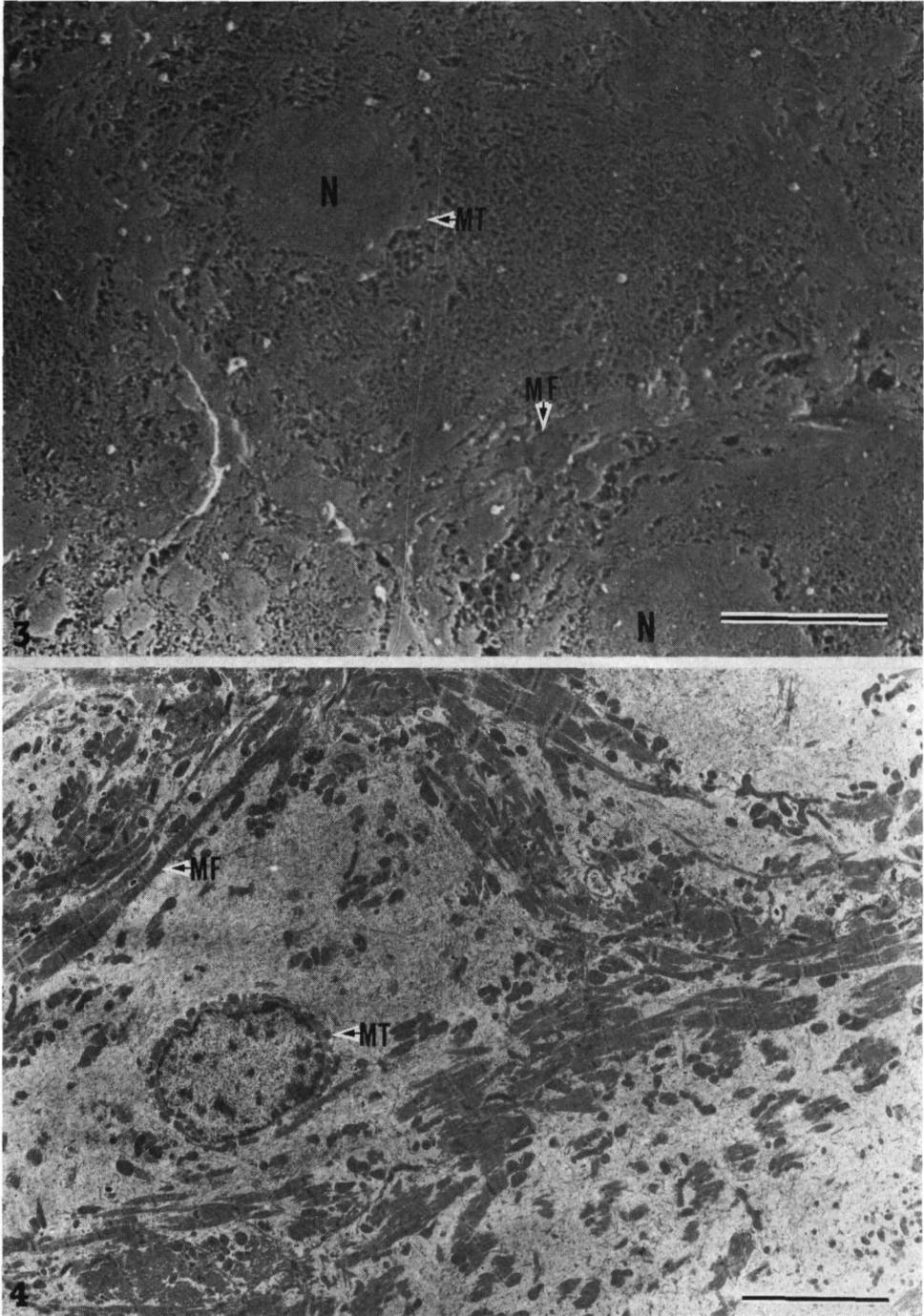


Fig. 3 Scanning electron micrograph of the cracked surface of Purkinje fibers. Each fiber is packed with a network of filaments.
MF: myofibril MT: mitochondria N: nucleus Bar=5 μ m.

Fig. 4 Electron micrograph of sectioned Purkinje fibers. The electron-transparent sarcoplasm is filled with a large number of filaments.
MF: myofibril MT: mitochondria Bar=5 μ m.

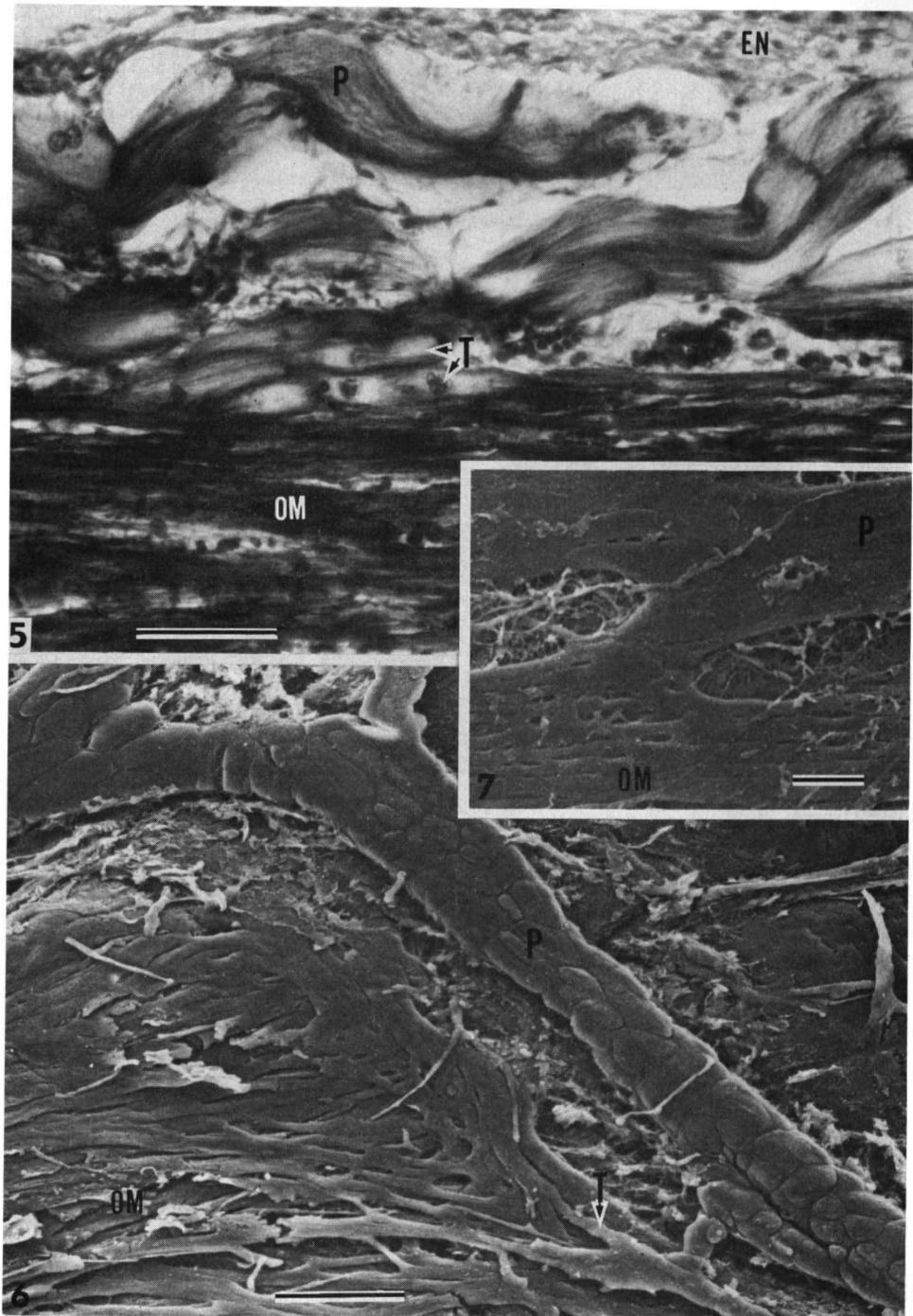


Fig. 5 Light micrograph of Purkinje (P), transitional (T) and ordinary cardiac muscle (OM) fibers. Azan staining. EN: endocardium Bar=50 μ m.

Fig. 6 Scanning electron micrograph showing continuity of Purkinje fiber strand (P) with ordinary cardiac muscle fiber (OM) through transitional fiber (T). Bar=50 μ m.

Fig. 7 Scanning electron micrograph showing direct continuity of Purkinje fiber (P) with ordinary cardiac muscle fibers (OM). Bar=20 μ m.

natriuretic polypeptide²⁴⁾ を含んでいるようで²⁵⁾興味深い、今回の SEM 観察ではそのような顆粒は同定できなかった。

ウシの P 線維束は、心内膜下または心筋層内に進入したのち、移行型線維を介して固有心筋線維に連絡するといわれている^{12,17,26-28)}。今回の LM 観察で、大型の P 線維と細い固有心筋線維との間に移行型線維が認められた (Fig. 5)。この移行型線維は固有心筋線維よりもやや太く、多くの場合中心に 2 個の核を有し、筋原線維が少なく、淡染性であった。しかし LM 観察で、移行型線維と固有心筋線維が明確に連絡している像を認めることはまれであった。

心内膜を除去した標本の SEM 観察で、P 線維が移行型線維を介して固有心筋線維と連絡することがヤギ²⁹⁾とアヒル³⁰⁾で証明されている。今回の SEM 観察で、ウシでも同様の連絡像がしばしば認められた (Fig. 6)。また、まれにはあったが、大型の P 線維と固有心筋線維が直接連絡する像も認められた (Fig. 7)。このような移行型線維の介在しない直接的な連絡はヤギでも認められている⁴⁾。

要 約

ウシの心内膜下 P 線維を化学的心内膜除去および凍結切断によって SEM 観察した。房室伝導系の左・右脚の分枝は心室の心内膜下で不規則で繊細な網として広がっていた。P 線維網の束を形成する P 線維は、ほぼ立方形、長方形、卵円形、あるいは分岐するものなど種々であったが、固有心筋線維の 2~5 倍の太い線維であった。P 線維内には筋原線維やミトコンドリアは少なく、筋筋質は筋原線維を作らないフィラメントの網工で満たされていた。P 線維は移行型線維を介してしばしば固有心筋線維と連絡していたが、まれには両者が直接連絡する像も認められた。

文 献

1) PURKINJE, J. E. Von(1845): Mikroskopische-neurologische Beobachtungen. *Arch. Anat. Physiol. Wiss. Med.*, **12**, 281-295.

- 2) THORNELL, L.-E.(1975): Morphological characteristics of Purkinje fibre bundles separated from their connective tissue sheath. *J. Mol. Cell. Cardiol.*, **7**, 191-194.
- 3) ERIKSSON, A. and L.-E. THORNELL (1979): Intermediate filaments in heart Purkinje fibers. *J. Cell Biol.*, **80**, 231-247.
- 4) SHIMADA, T., M. NAKAMURA, Y. KITAHARA and M. SACHI (1983): Surface morphology of chemically-digested Purkinje fibers of the goat heart. *J. Electron Microsc.* **32**, 187-196.
- 5) TOKUNAGA, J., M. EDANAGA, T. FUJITA and K. ADACHI (1974): Freeze craking of scanning electron microscope specimens. *Arch. Histol. Jpn.* **37**, 165-182.
- 6) MURAKAMI, T., K. YAMAMOTO, T. ITOSHIMA and S. IRINO (1977): Modified tannin-osmium conductive staining method for noncoated scanning electron microscope specimens. *Arch. Histol. Jpn.*, **40**, 35-40.
- 7) DE WITT, L. M. (1909): Observations on the sino-ventricular connecting system of the mammalian heart. *Anat. Rec.*, **3**, 475-497.
- 8) 大森静樹 (1928): 哺乳類心臓ニ於ケル房室連結系統ノ比較解剖学的並ニ発生学的研究. *福岡医誌*, **21**, 1104-1129.
- 9) GLOMSET, D. J. and A. T. A. GLOMSET (1940): A morphologic study of the cardiac conduction system in ungulates, dog and man. *Am. Heart J.*, **20**, 677-701.
- 10) LHAMON, R. M. (1912): The sheath of the sino-ventricular bundle. *Am. J. Anat.*, **13**, 55-70.
- 11) COHN, A. E. (1913): Observations on injection specimens of the conduction system in ox heart. *Heart*, **4**, 225-229.
- 12) HOLMES, H. (1921): The auriculo-ventricular bundle in mammals. *J. Anat.*, **55**, 269-285.
- 13) CARDWELL, J. C. and D. I. ABRAMSON (1931): The atrioventricular conduction system of the beef heart. *Am. J. Anat.*, **49**, 167-192.
- 14) TRUEX, R. C., J. L. CURRY and M. Q. SMYTH (1954): Visualization of the Purkinje network of the beef heart. *Anat. Rec.*, **118**, 723-735.
- 15) MEYLING, H. A. and H. T. BORG (1957): The conducting system of the heart in hoofed animals. *Cornell Vet.*, **47**, 419-455.
- 16) SHARMA, D. N. and J. PRASAD (1976): Anatomy of the cardiac conducting system of Indian buffalo. *Haryana Vet.*, **15**, 88-94.
- 17) 大塚長康 (1977): 刺激伝導系の構造. *日医会誌*, **78**, 1027-1034.
- 18) HAYASHI, K. (1962): An electron microscope study on the conduction system of the cow heart. *Jpn. Circul. J.*, **26**, 765-842.

- 19) JENSEN, H., L. HOLTET and R. HOEN(1978): Nerve-Purkinje fiber relationship in the moderator band of bovine and caprine heart. *Cell Tiss. Res.*, **188**, 11-18.
- 20) ARLUK, D. J. and J. A. G. RHODIN (1974): The ultrastructure of calf heart conducting fibers with special reference to nexses and their distribution. *J. Ultrastruct. Res.*, **49**, 11-23.
- 21) FORSGREN, S. and L.-E. THORNELL (1981): The development of Purkinje fibres and ordinary myocytes in the bovine fetal heart. *Anat. Embryol.*, **162**, 127-136.
- 22) 高橋彰彦 (1967): ブタの刺激伝導系房室部の微細構造について. 弘前医学, **19**, 170-192.
- 23) JAMIESON, J. D. and G. E. PALADE (1964): Specific granules in atrial muscle cells. *J. Cell Biol.*, **23**, 151-172.
- 24) KANGAWA, K. and H. MATSUO (1984): Purification and complete amino acid sequence of α -human atrial natriuretic polypeptide (α -h ANP). *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **118**, 131-139.
- 25) 年森啓隆, 大浦親善 (1986): 心房性ナトリウム利尿ホルモンの免疫組織学的研究. ブタ心臓における陽性細胞の分布. 解剖誌, **61**, 156.
- 26) TRUEX, R. C. and W. M. COPENHAVER (1947): Histology of the moderator band in man and other mammals with special reference to the conduction system. *Am. J. Anat.*, **80**, 173-201.
- 27) NANDY, K. and G. H. BOURNE (1963): A study of the morphology of the conducting tissue in mammalian heart. *Acta Anat.*, **86**, 302-309.
- 28) KUGLER, J. H. and J. B. PARKIN (1956): Continuity of Purkinje fibres with cardiac muscle. *Anat. Rec.*, **126**, 335-339.
- 29) SHIMADA, T., M. NAKAMURA and A. NOTOHARA (1984): The Purkinje fiber-myocardial cell region in the goat heart as studied by combined scanning electron microscopy and chemical digestion. *Experientia*, **40**, 849-850.
- 30) MURAKAMI, T., G. TANAKA, T. NASU, I. SAITO and K. MOCHIZUKI(1984): The subendocardial Purkinje fiber of the duck. *Jpn. J. Vet. Sci.*, **46**, 937-940.