

## クルマエビの神経分泌に関する研究—XII

### PAS 細胞の微細構造

中 村 薫\*

### Studies on the Neurosecretion of the Prawn, *Penaeus japonicus* B.-XII

#### Ultrastructural Observation of the PAS-Cells

Kaworu NAKAMURA\*

#### Abstract

Electron microscopic experiments were carried out to define the structural characters of the peculiar cells containing the PAS-positive granules in the periphery that located on the ventroposterior of the supraoesophageal ganglion of the prawn, *Penaeus japonicus* B.. After the fixations of 5% glutaraldehyde-0.1 M s-collidine (pH 7.5) and 2% osmic acid-0.1 M s-collidine the specimens were dehydrated by the acetone series and then embedded in the epon 812. For the observation the staining method of the uranium acetate-lead citrate was treated after glass-knife cutting.

Ultrastructures of the cells are as follows: The rough surfaced endoplasmic reticulum is not much developed. Prevalled smooth surfaced ER and the tubular cristae of mitochondria suggest the unexpected metabolism of lipid. The border glias of the cells sink their processes into the cells and near to the PAS-positive granules in some cases. The granules show the low electron density and possess no limiting membrane. Therefore considering together another previous results of histochemical experiments it seems that the substance may be a neutral mucopolysaccharide in a broad sense and non produced by the secretory functions of the cells. In addition it would be suggested that the glias participate with the cells in their procedures of the production or the accumulation of the substance.

クルマエビの食道神経節の後部腹面にあってその表層正中線上に位置する神経節細胞集団 (VP 細胞集団) には、米粒状の顆粒を含有する中形の細胞がいくつか存在する<sup>1)2)</sup>。当該顆粒は過沃素酸-SCHIFF 反応に強陽性を呈すること等から広義の中性粘液多糖類と考えられ<sup>2)</sup>、その出現率は該当細胞 (PAS 細胞) の細胞質周縁部および軸索起始部 axon hillock に高い傾向を示す。ところで当該物質の由来に関しては細胞の分泌機能にもとづく分泌性顆粒であるか或いは他の様式により産生・蓄積されたものかの判読が光顕 level での観察では難しく、

\* 鹿児島大学水産学部増殖生理学研究室 (Lab. of Propagation Physiology, Fac. of Fisheries, Kagoshima Univ., Kagoshima, Japan)

よってここに電子顕微鏡を用いた観察を、当該細胞の微細構造との関連において行ない PAS 陽性顆粒の由来に検討を加えることとした。

### 実験方法

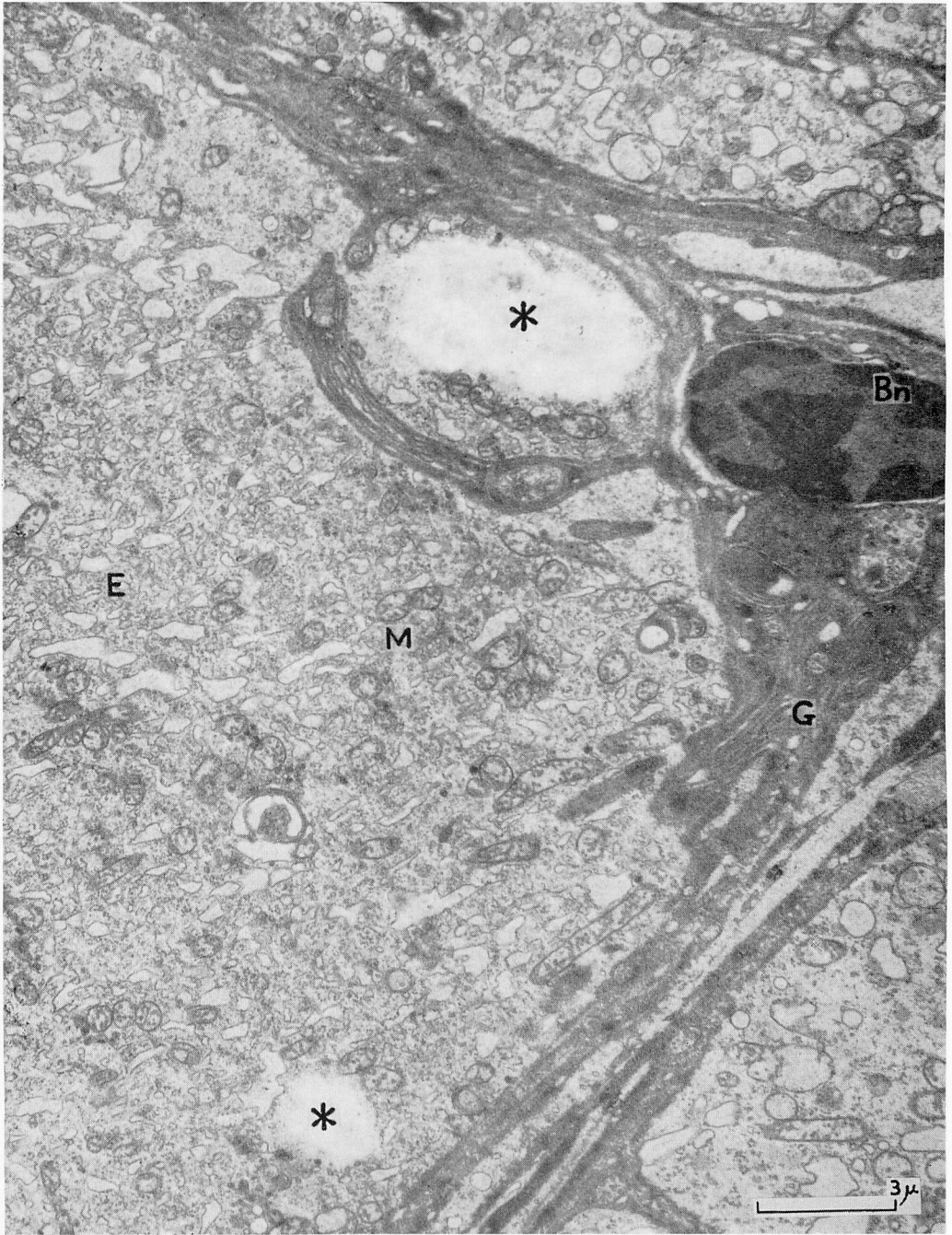
材料には体重 15 g 程のクルマエビ *P. japonicus* B. を用いた。食道神経節を摘出し 5% グルタルアルデヒド・0.1 M s-コリジン緩衝液 (pH 7.5) で 4°C・3時間の前固定を行なった後、0.3 M となる様に蔗糖を加えた 0.1 M s-コリジン緩衝液にて 4°C・3時間毎の移し替えを 2 回行ない、次いで冷蔵庫中に 1 晩放置した。さらに 2% オスミウム酸・0.1 M s-コリジン緩衝液で 4°C・2.5 時間の後固定を行なった。脱水、透徹、包埋の過程には各々、アセトン、プロピレンオキサイド、エポン 812 樹脂を用い常法<sup>3)</sup> に従った。切片は酢酸ウラン・クエン酸鉛による重染色を施し日立 HS-7 型電子顕微鏡による観察を行なった。なおトリミング過程の該当部位の確認には堀<sup>4)</sup> のアズール II・メチレン青染色を、又、対象となる PAS 顆粒の確認には星野<sup>5)</sup> の PAS 染色法を適用した。実験は 1976 年 12 月より 1977 年 9 月の期間に実施した。なお実験に当たり本学理学部大迫暢光氏の御指導を受け、さらに本学医学部鮫島宗文氏の御助言、御助力をいただいた。ここに両氏の御好意に心より謝意を表します。

### 結 果

1977 年 8 月に採取した標本の中で PAS 顆粒の存在が確認された該当細胞 (PAS 細胞) の低倍率像 (×3000) を Fig. 1 に示し、当該顆粒部位の拡大倍率像 (×9000) を Fig. 2 に示した。神経細胞は一般にその周縁をグリア細胞 (G) により囲繞され、処々においてグリア突起が陥入しいわゆる細胞内管腔系の形成が認められる。細胞間隙には血球の核 (Bn) および毛細血管 (Bc) 等が存在する。PAS 細胞の核 (N) は染色質に乏しく明調均質で、その輪郭は凹凸の多い不整形を示す。核膜は二重構造で内側核膜は概して平滑であるが、外側核膜は多少の波状を呈する。細胞質においてミトコンドリア (M) は均一な分布を示し、その大きさは幅が 0.5 μ、長さは 0.7~1.0 μ 程であるが中には 3 μ 以上のものも存在し、いわゆる楕円或いは短桿形を呈する。又、外側・内側の二重膜を有し内側の膜は内部に向かって不規則的に管状のクリステを発達させるが、クリステ内や内腔中に特定の dense body は認められない。一方、小胞体 (E) は三次元的に細胞質全体に拡がるが粗面小胞体の集合像は著明ではなく、その多くは滑面小胞体に属するものと解される。さらにその内腔の電子密度は低く特定の物質像は見出し難い。free ribosome は微小顆粒となって小胞薄膜の間の細胞質内に散在するが限界膜を有した分泌顆粒は認められない。ところで PAS 顆粒 (\*) は該当細胞の周縁部に位置し、楕円或いは円形に近い形状を示しその大きさは場合により一定しないが長径として 2~4 μ 程のものが多い。Fig. 1 では 2 μ のものと、比較的大きい 6 μ 程の例が示されており、い

Fig. 1 Electron micrograph of the PAS-cell containing the granules in the periphery of the cytoplasm. ×3000 Abbrev., Bc: blood capillary, Bn: nucleus of the blood corpuscle, E: endoplasmic reticulum, G: glia cell, M: mitochondria, N: nucleus of the PAS-cell, \*: PAS-positive granules.





づれも電子密度は低く輪郭は不明瞭で細胞質との間には限界膜が認められない。当該顆粒には Fig. 2 に示される様な周縁グリヤの突起が近接する例もあるが、概してグリヤ細胞とは独立した分布位置を占める例が多い。

## 考 察

HYDÉN<sup>6)</sup>によるとグリヤ細胞は血管壁と連絡を保ちつつ血液脳関門の機能を荷うと同時に神経細胞を取り巻いてミエリン形成に与かる他、その物質代謝に重要な役割を果たすとされ、神経細胞に対する栄養細胞としてのグリヤの機能に関しては KUFFLER and NICHOLLS<sup>7)</sup>の綜説に詳しい。ところで形態的にみるとグリヤは単に神経細胞の被包体ではなく、細胞体或いは軸索の細胞質内にまでその突起をのぼし相互に緻密な連絡を保ち且つ両者の接触面積を著しく広げていることが窺われる。HOLMGREN<sup>8)</sup>はこうしたグリヤ-神経細胞体の形態を trophospongium と名づけており、この構造に関して甲殻類では ROSS<sup>9)</sup>, LACROIX<sup>10)</sup>等のザリガニ *Cambarus sp.*, *Astacus fluviatilis* における報告があり、特に前者の場合、陥入は細胞体の中央部まで至ることを認めている。又、昆虫類では BEAMS and KING<sup>11)</sup>, WIGGLESWORTH<sup>12)13)</sup>, 河野<sup>14)</sup>等の直翅目、オオサシガメ *Rhodnius prolixus*, ゴキブリ *Periplaneta americana*, モンシロチョウ *Pieris rapae crucivora* における報告があり、特に WIGGLESWORTH<sup>12)</sup>はオオサシガメの胸部神経節のグリヤ細胞を、その分布位置、形態、酵素反応等の面から 4 type に分類しており、中でも type iii は巨大グリヤであり大形の神経細胞を圍繞し、著しく陥入した突起は神経細胞の栄養補給と排出物質の輸送を調整するものとし、又、ゴキブリ腹部神経節<sup>13)</sup>での大形神経細胞にみられる陥入突起はグリコーゲン、脂質等の輸送に与かるものと解している。本実験で認められたグリヤの陥入突起は如上の trophospongium の概念を肯定させるものと考えられ、こうした神経細胞との密接な連絡様式は両細胞間の両者一体的重要性がクルマエビの神経系においてもその生理的機能の維持の上に存在することを想定させる。ところで神経細胞には一般的とも云える粗面小胞体は PAS 細胞において発達の度合いが悪い。浜<sup>15)16)</sup>によると神経細胞（特に蛋白質合成機能の活発な）は平行且つ密に配列した粗面小胞体の集団が発達しており、光顕像としてはいわゆるニッスル小体を形成するが、同様の粗面小胞体の lamella 構造は甲殻類でも SMITH<sup>17)</sup>, HISANO<sup>18)</sup>等により *Carcinus maenas* 或いはスジエビ *Palaemon paucidens* の眼柄内神経節の神経分泌細胞において、電子密度の高い分泌顆粒の存在と同時に確認されている。一方、当該 PAS 細胞には分泌性の顆粒が認められずむしろ滑面小胞体が存在することを考慮すると、当該細胞における神経分泌的機能の可能性は無いものと判断される。さらにミトコンドリアに認められたクリステの管状構造は THREADGOLD<sup>19)</sup>によると一般に原生動物、哺乳類においては副腎・生殖腺、昆虫類ではマルピーギ管・肝・神経等に認められるとし、PALADE<sup>20)</sup>は原生動物と哺乳類副腎皮質において、BEAMS et al.<sup>21)</sup>は直翅目の種においてマルピーギ管に確認しており、又、BELT and PEASE<sup>22)</sup>はラットの副腎皮質、卵巣および精

Fig. 2 Electron micrograph of the PAS-positive granules magnified from Fig. 1. ×9000  
Abbrev., Bn: nucleus of the blood corpuscle, E: endoplasmic reticulum, G: glia cell, M: mitochondria, \*: PAS-positive granules.

巢等のステロイド産生細胞におけるミトコンドリアの、機能の特殊化との関連より管状クリステの発達を考察している。ところで渡辺<sup>23)</sup>は滑面小胞体の例として哺乳類における肝、胃腺、副腎皮質、卵巣黄体、精巣 Leydig 細胞等を列挙しその機能には不明な点が残るにせよ、肝細胞では少なくとも油溶性薬物の解毒代謝に与かり、他方、ステロイド産生組織ではコレステリン合成に関与しているとの一般の見解を紹介している。以上の点を考慮すると管状クリステの発達したミトコンドリアと、粗面小胞体よりむしろ滑面小胞体を予想以上に備える PAS 細胞はその代謝機能の面において脂質代謝が深く関与することを類推させる。

PAS 顆粒を電顕的に観察すると限界膜を備えぬ点から、小胞体或いはゴルジ装置等の分泌機能にもとづく分泌性顆粒ではないことが判り、よって当該物質はいわゆる神経分泌物ではないと判断される。加えて電子密度の低い点も併せて考慮すると、蛋白質、リポフスチン、メラニン或いはアミロイド等の範疇に属するものではなく、先の光顕による組織化学的結果<sup>2)</sup>と同様に総括的には広義の中性粘液多糖類であろうと解釈される。ところで当該物質は細胞質周縁部に位置を占めるが、そこはグリヤ陥入突起との連絡が多い個所であり、Fig. 2 に示される様な、当該物質の近隣に入り込んだ突起像からは両者の関わり合いを推察させる。このことは PAS 顆粒の産生・蓄積過程における周縁グリヤの関与を示唆するものと解される。

## 要 約

1. クルマエビの食道上神経節の腹面後部細胞集団に所在する PAS 細胞に関して、5%グルタルアルデヒド・0.1M s-コリジンおよび2%オスミウム酸・0.1M s-コリジンの固定を行ない、酢酸ウラン・クエン酸鉛重染色の後、電子顕微鏡による観察を行なった。
2. 当該細胞は粗面小胞体の発達が悪く、滑面小胞体の予想以上の発達とミトコンドリアの管状クリステ構造が特徴的であることから神経分泌的機能の存在は否定的であり、むしろ脂質代謝の占める位置が無視できぬことを窺わせる。
3. PAS 顆粒に関しては、限界膜を備えず電子密度の低いこと等から細胞内小器官の分泌機能に由来するものではなく、細胞内に産生・蓄積された広義の中性粘液多糖類であろうと解釈され、当該顆粒の産生・蓄積過程においては周縁グリヤの関与も想定され得る。

## 文 献

- 1) 中村 薫 (1974): クルマエビの神経分泌に関する研究-I 食道上および眼柄内神経節に分布する神経節細胞集団の位置的関係. 鹿大水紀要, 23, 173-184.
- 2) 中村 薫 (1974): クルマエビの神経分泌に関する研究-II PAS 陽性物質の組織化学的検討および VP 神経節細胞集団のトポグラフィ. 同上, 23, 185-193.
- 3) 水平敏知 (1973): “電子顕微鏡—医学生物学への応用”, 医歯薬出版, 東京, 81-132.
- 4) 堀 嘉昭 (1970): 厚切切片の過ヨード酸, アズール II・メチレンブルー染色. in “電子顕微鏡試料技術集” (日本電子顕微鏡学会関東支部編), 誠文堂新光社, 東京, 352.
- 5) 星野 洸 (1970): 光学顕微鏡と電子顕微鏡による同一細胞の観察. 同上, 346-347.
- 6) HYDÉN, H. (1960): The neuron. in “The Cell” (ed. by J. BRACHET and A. E. MIRSKY), vol. 4, Academic Press, New York and London, 215-323.
- 7) KUFFLER, S. W., and J. G. NICHOLLS (1966): The physiology of neuroglial cells. *Ergeb. Physiol.*, 57, 1-90.

- 8) HOLMGREN, E. (1914): Trophospongium und Apparato reticolare der spinalen Ganglienzellen. *Anat. Anz.*, **46**, 127-138.
- 9) ROSS, L. S. (1922): Cytology of the large nerve cells of the crayfish (*Cambarus*). *J. Comp. Neurol.*, **34**, 37-71.
- 10) LACROIX, P. (1935): Recherches cytologiques sur les centres nerveux chez les invertébrés. II. *Astacus fluviatilis*. *Cellule*, **44**, 251-270.
- 11) BEAMS, H. W., and R. L. KING (1932): Cytoplasmic structures in the ganglion cells of certain Orthoptera, with special reference to the Golgi bodies, mitochondria, "vacuome", intracellular trabeculae (Trophospongium), and neurofibrillae. *J. Morphol.*, **53**, 59-95.
- 12) WIGGLESWORTH, V. B. (1959): The histology of the nervous system of an insect, *Rhodnius prolixus* (Hemiptera) II. The central ganglia. *Quart. J. Microscop. Sci.*, **100**, 299-313.
- 13) WIGGLESWORTH, V. B. (1960): The nutrition of the central nervous system in the cockroach *Periplaneta americana* L.. The role of perineurium and glial cells in the mobilization of reserves. *J. Exp. Biol.*, **37**, 500-512.
- 14) 河野義明 (1971): モンシロチョウの休眠誘起時における脳一側心体系の微細構造, I. 脳の一般的構造. 応動昆, **15**, 228-239.
- 15) 浜 清 (1968): 神経系. in "電子顕微鏡による細胞組織図譜" (山田英智・内齒耕二・渡辺陽之輔編), vol. 4, 医学書院, 東京, 136-197.
- 16) 浜 清 (1969): 神経組織. in "医学生物学用電子顕微鏡学" (東昇編), 文光堂, 東京, 311-331.
- 17) SMITH, G. (1975): The neurosecretory cells of the optic lobe in *Carcinus maenas* (L). *Cell Tiss. Res.*, **156**, 403-409.
- 18) HISANO, S. (1976): Neurosecretory cell types in the eyestalk of the freshwater prawn *Palaemon paucidens*. An electron microscopic study. *ibid.*, **166**, 511-520.
- 19) THREADGOLD, L. T. (1967): "The Ultrastructure of the Animal Cell", Pergamon Press, Oxford, 176-191.
- 20) PALADE, G. E. (1953): The fine structure of mitochondria, an electron microscope study. *J. Histochem. Cytochem.*, **1**, 188-211.
- 21) BEAMS, H. W., T. N. TAHMISIAN and R. L. DEVINE (1955): Electron microscope studies on the cells of the malpighian tubules of the grasshopper (Orthoptera, Acrididae). *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **1**, 197-202.
- 22) BELT, W. D., and D. C. PEASE (1956): Mitochondrial structure in sites of steroid secretion. *ibid.*, 2 suppl., 369-374.
- 23) 渡辺陽之輔 (1969): 細胞の微細構造. 小胞体. in "医学生物学用電子顕微鏡学" (東昇編), 文光堂, 東京, 246-256.