

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ー

中 村 薫*

Studies on the Neurosecretion of the Prawn, *Penaeus japonicus* B.—II

Histochemical Examinations of the PAS-Positives and
Topographical Observations of the Ventro-Posterior
Ganglion Cells Group

Kaworu NAKAMURA*

Abstract

The experiments were conducted with following two parts; 1) the histochemical examinations of the PAS-positive substances in the ventro-posterior (VP), the medulla externa small dorsal (d) and the pars distalis x-organi (PDX) described previously, and 2) the topographical observations of the VP to understand the constructional situations of the PAS-cells in this group. The former experiments were carried out by the routine methods of stainings such as BENNHOLD's congo red, DEITCH's naphtol yellow S, GOMORI's AF, HEIDENHAIN's iron hematoxylin, the iodine, LISON's sudan black B, MAYER's gentian violet, McMANUS' PAS, the MILLON, MOWRY's colloidal iron, the saliva-PAS and the toluidine blue. The latter were carried on the restoration of the VP group.

The positive reactions were observed in the VP, the d and the PDX with the GOMORI's and the McMANUS', but only in the PDX with the MOWRY's and the toluidine blue. The results indicate possibly that the granules and the colloidal in the PAS-positives might be corresponded to a neutral- and an acid-mucopolysaccharides, respectively.

It was revealed that the numbers of the PAS-cells in the VP were no more than 6, and all the cells were situated anteriorly in this group.

著者は先報においてクルマエビの食道および眼柄内の両神経節に分布する細胞をいくつかの集団に分け、その特定細胞集団中に PAS 陽性物質を検出したが、今回は特に、神経分泌物の可能性のある食道神経節の腹面後部細胞集団 (VP) の当該物質を中心に組織化学的検討を加え、またこの細胞集団における当該物質を有する神経細胞の分布位置、細胞数等を明確にした。

実 験 方 法

体重 2~8 g のクルマエビ *Penaeus japonicus* より食道および眼柄内の両神経節を摘出し、前回¹⁾ と同一方法で組織標本とした。染色には MAYER ヘマトキシリン・エオジン重染色法の他、組

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

組織化学的検討のため McMANUS 過沃素酸 SCHIFF (PAS) 法, GOMORI アルデヒド・フクシン法, MOWRY コロイド鉄法, トルイジン青反応, 沃素反応, BENNHOLD コンゴ赤法, MAYER ゲンチアン紫法, LISON ズダン黒B法, MILLON 反応, DEITCH ナフトール黄S法, HEIDENHAIN 鉄ヘマトキシリン法等を適用した。なお PAS 染色に関しては唾液消化試験 (38°C, 1hr.) をおこなひ, トルイジン青反応に関しては反応溶液を pH 3.0 に設定した。以上の諸方法は佐野²⁾ の紹介によった。

検討の対象として食道上神経節の腹面後部細胞集団 (VP) と, 眼柄内神経節の外髄小背面細胞集団 (d) の各 PAS 陽性物質およびX器官末端部 (PDX) の PAS 陽性コロイド状物質を選び比較対照した。

一方, 上記 VP 細胞集団の PAS 陽性物質を有する神経細胞 (PAS 細胞) に関して, その分布位置を明確にするため組織標本を顕微鏡複写して, VP 細胞集団の復原をおこなった。

結 果

組織化学的検索: 各反応の結果を Table 1 に示した。VP, d 両細胞集団の当該物質および PDX 部位のコロイド状物質はいずれも多糖類検出の PAS 反応に陽性で, 唾液処理によって消失

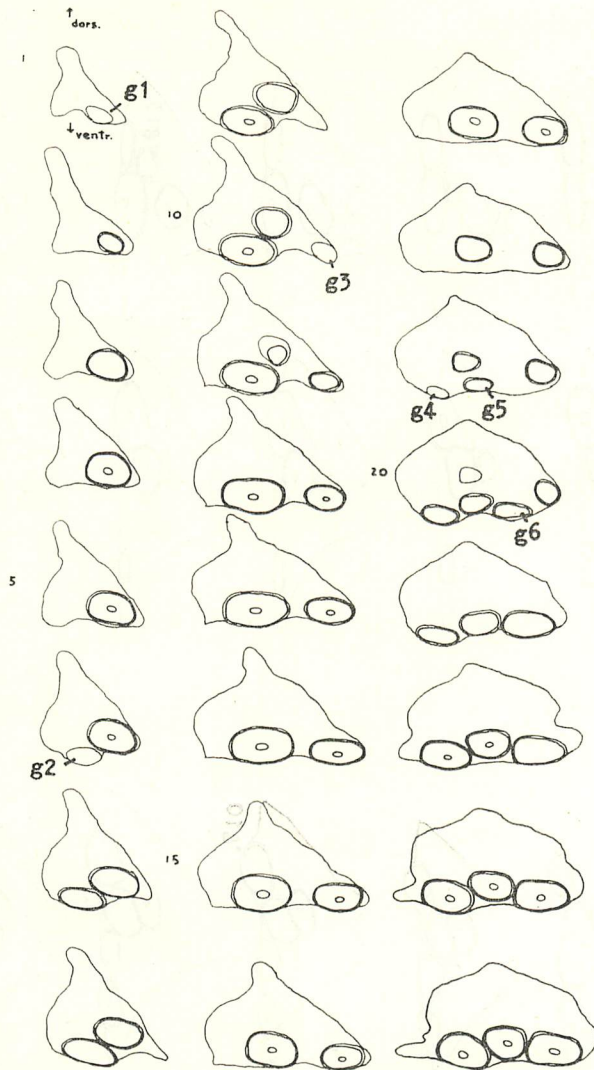
Table 1. Histochemical examinations of the PAS-positive substances of the VP-, the d- ganglion cells and the PDX.
+: Positive - : Negative * : No Sample

Reactions	VP	d	PDX
aldehyde fuchsin	+	+	+
colloidal iron	-	-	+
congo red	-	*	*
eosin	-	-	+
gentian violet	-	*	*
hematoxylin	-	-	+
iodine	-	*	*
iron hematoxylin	-	-	*
MILLON	-	-	-
naphtol yellow S	-	-	-
PAS	+	+	+
saliva+PAS	-	-	-
sudan black B	-	*	*
toluidin blue	-	-	+

を示さない。一方, 酸性粘液多糖類検出のコロイド鉄, トルイジン青両反応に VP, d 両部位では陰性, PDX 部位では陽性を示し, 後者の陽性反応にはトルイジン青の異調性による赤の呈色が認められる。アミロイド検出のコンゴ赤, 沃素, ゲンチアン紫各反応および脂質検出のズダン黒B反応に VP 部位では陰性を示す。d, PDX 両部位については両検出をおこなわなかった。蛋白質検出の MILLON, ナフトール黄S両反応に VP, d および PDX 各部位の当該物質は陰性を示す。神経分泌染色のアルデヒドフクシンに VP, d および PDX 各部位の当該物質は陽性を示す。MAYER ヘマトキシリンおよびエオジンに VP, d 両部位では陰性, PDX 部位では陽性を示す。鉄ヘマトキシリンに VP, d 両部位では陰性を示す。PDX 部位については本検出をおこなわなかった。

VP 細胞集団における PAS 細胞の分布位置およびその細胞数: Plate I-III に1個体の VP 細胞集団に関して, その組織標本像を連続複写した結果を示す。複写は PAS 陽性物質を有する細胞 (PAS 細胞) と, 細胞集団中の位置関係を比較する目的で巨大神経細胞とについてのみおこなった。Plate IV-VI には 10 個体の VP 細胞集団に関して, その組織標本の複写像より側面的 (左図) および水平的 (右図) に復元した結果を示す。但し各側面図において上方は食道上神経節腹面後部に接する。また両面図とも右側が当該細胞集団の前方部に当たる。用いた標本の体重は Plate IV の4個体が 2~4g, Plate V-VI の6個

Plate I



Explanation of Plates

Plates I—III

Diagrammatic copies of the successional histological sections of the VP-ganglion cells group from posterior to anterior. g 1-g 14: the giant cells p 1-p 5: the PAS-cells.

Plates IV—VI

Diagrammatic restoration of the VP-ganglion cells groups. solid lines: cells of the giant and the PAS dotted lines: contours of the VP-ganglion cells groups.

Plate II

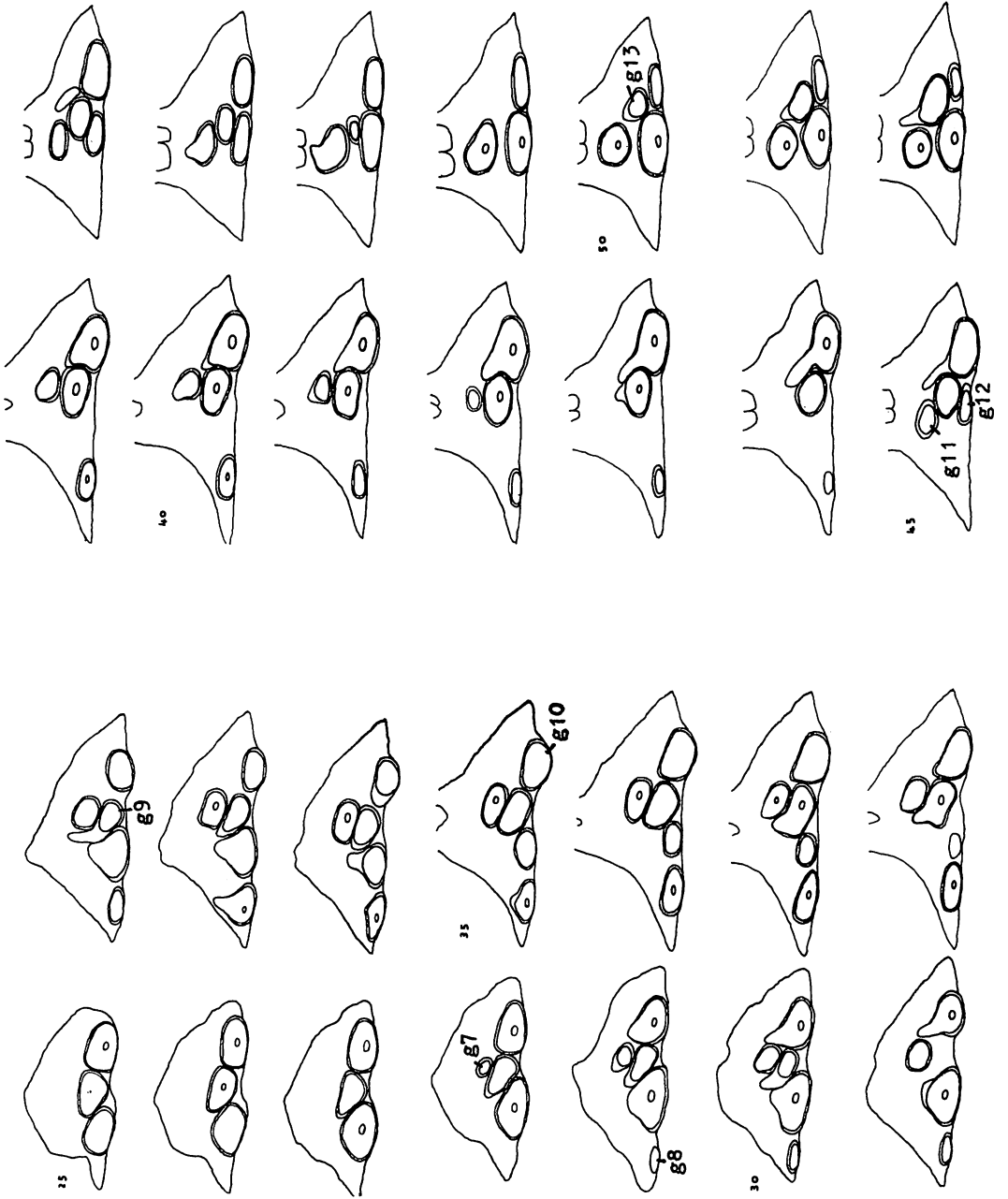


Plate III

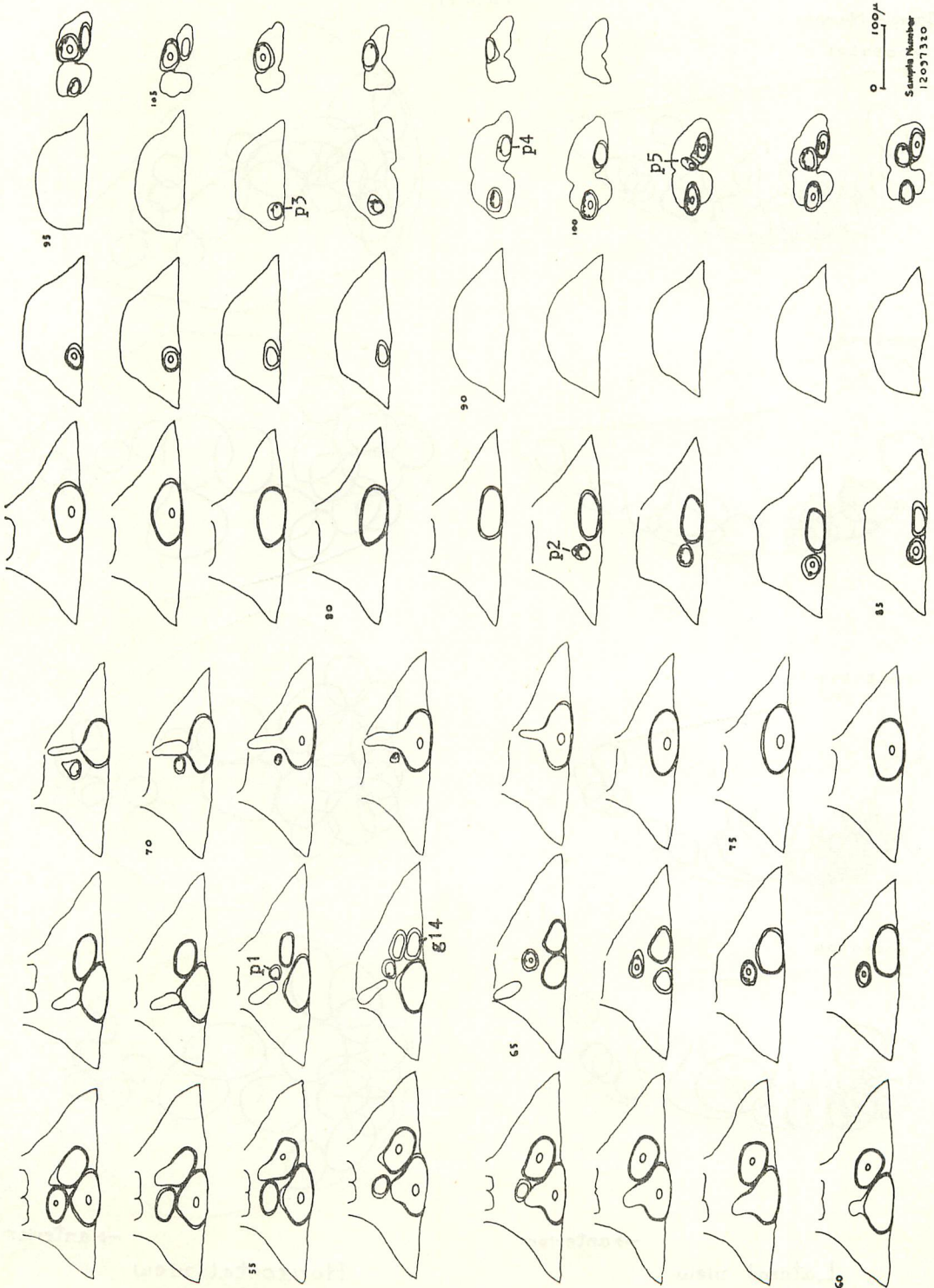
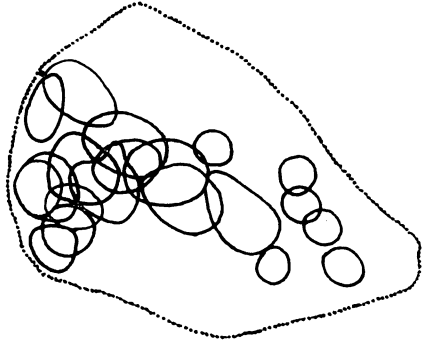
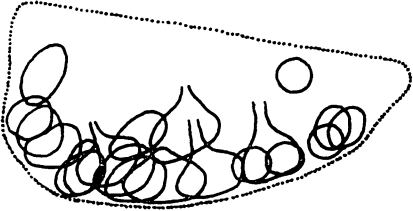




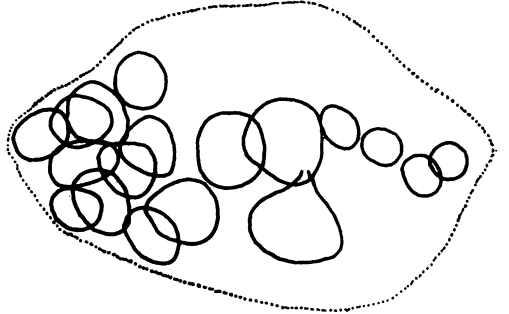
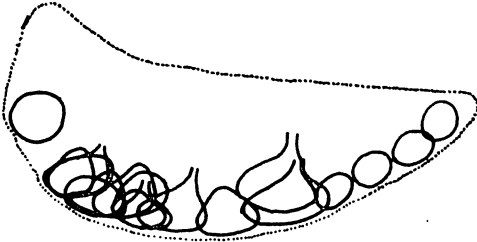
Plate IV

Sample Number

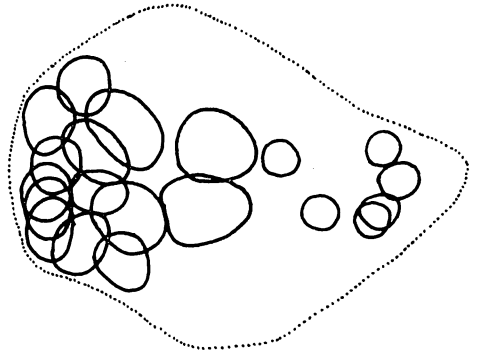
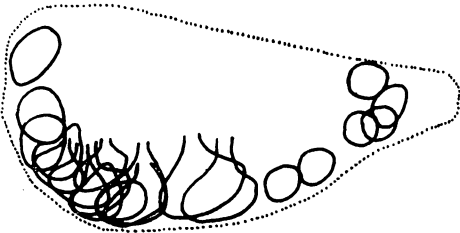
20057301



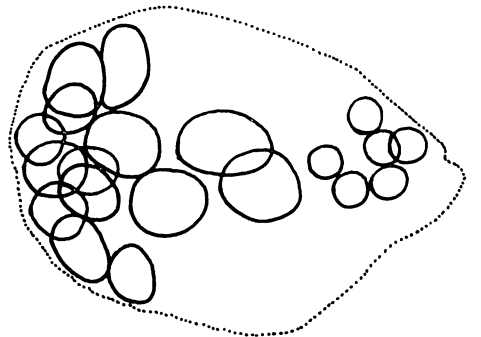
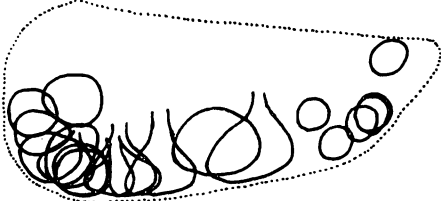
20057302



20057303



20057304



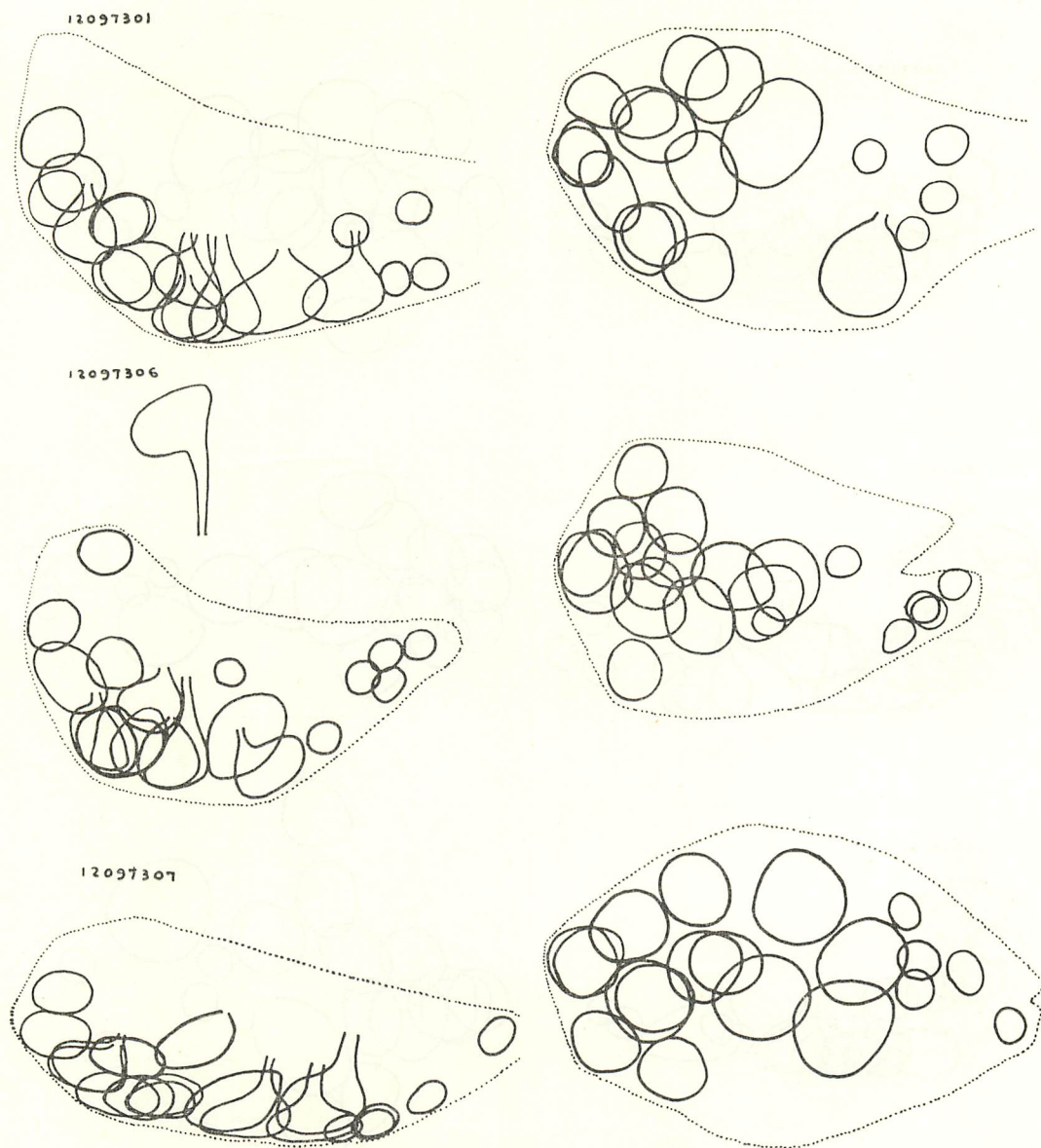
→ anterior

Lateral view

→ anterior

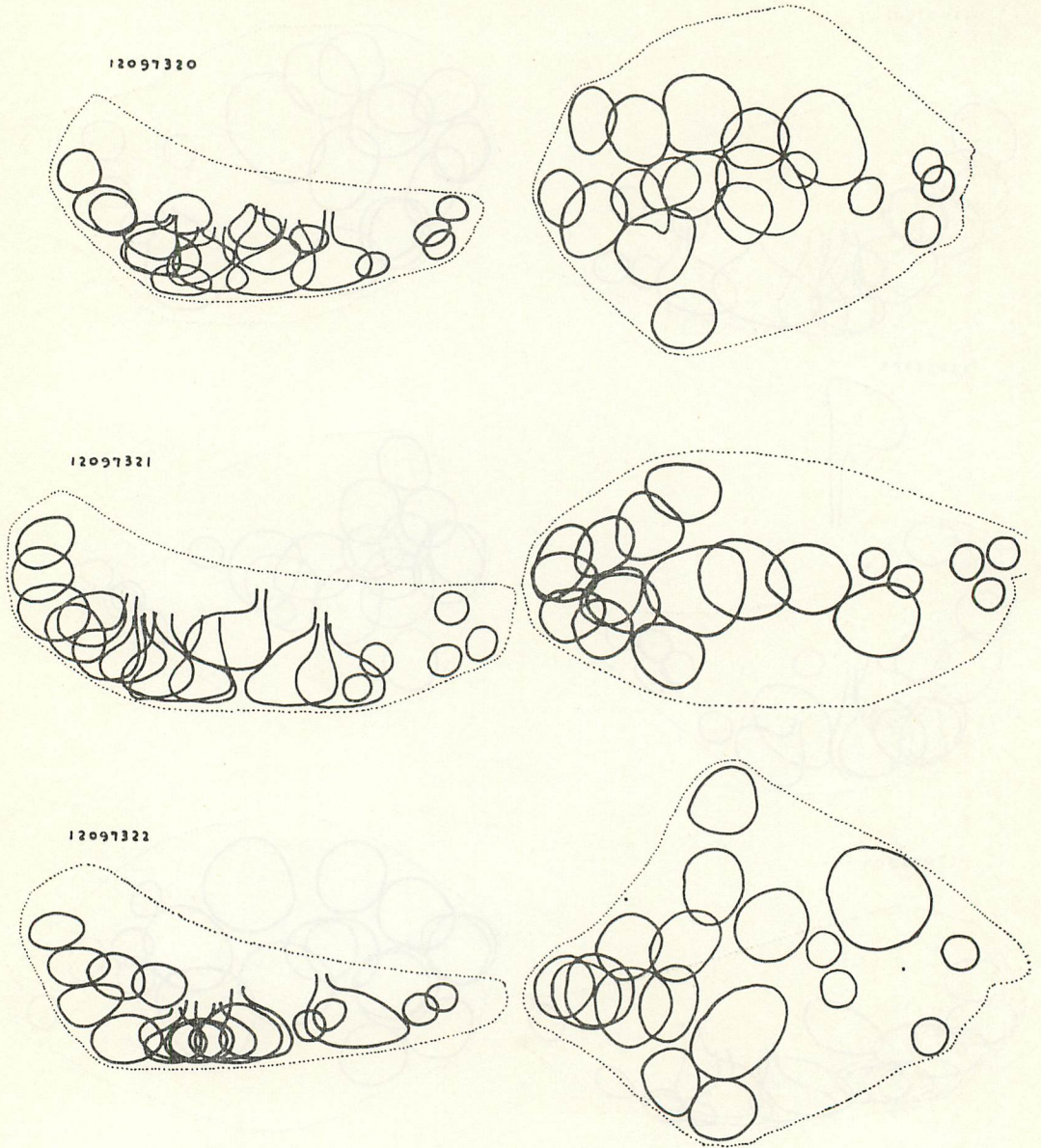
Horizontal view

Plate V



体が 5~8 g であった。PAS 細胞は当該細胞集団の前方部に分布する。またその細胞数は個体の大きさに関わらず一定で、4~6 個を認めうる。一方、巨大神経細胞は当該細胞集団の後方部寄り腹面正中線をはさんで大略対称的に分布する。その細胞数は個体に関わらず一定で、14~15 個を認めうる。細胞の大きさは前者で 30~40 μ 、後者では 70~100 μ であった。

Plate VI



考 察

VP および d 両細胞集団における PAS 陽性物質はともに唾液消化試験に陰性であることによりグリコーゲンを除く多糖類と考えられる。また酸性粘液多糖類検出反応に陰性であることよりその可能性はないと言える。一方、アミロイド検出反応に陰性であるが、本実験では対照標本を欠くことより確定的な事は言えない。また脂質検出反応に陰性であることに関しても、本実験では標本作

成に脂溶性有機溶媒を用いているため、本来、当該物質に脂質を含むものか否か不明である。蛋白質検出反応には陰性であることよりその可能性はないと言える。神経分泌染色に陽性を示すことは当該物質が神経分泌物である可能性を強めるものである。しかし GOMORI 染色法は一般に神経分泌染色に用いられているとは言え、その特異性はないため当該物質の由来に関しては、あくまで神経分泌の可能性にとどまる。以上の諸点より、LISON³⁾ の組織化学的分類によれば当該物質は広義の中性粘液多糖類である可能性が大きい。ところで十脚目の神経分泌に関する組織化学的検索の例は少なく⁴⁾、一方、ARVY and GABE⁵⁾ によると、昆虫類有翅上目の脳間部神経分泌物は中性粘液多糖類或いは糖蛋白であり、組織化学的技法で両者を区別することは困難であるとしている。ところで PDX 部位の PAS 陽性コロイド状物質に関しては、酸性粘液多糖類検出反応に陽性を示すこと、および上記各反応の結果より判断して、酸性粘液多糖類である可能性が大きい。

VP 細胞集団に存在する PAS 細胞は一定した数および分布を示すことより、特定の生理的機能を荷っているものと推察される。

要 約

1. クルマエビの食道上および眼柄内両神経節の特定細胞集団 (VP, d) に認められる PAS 陽性物質と X 器官末端部 (PDX) の PAS 陽性コロイド状物質に関して組織化学的検討を加えた。
2. VP および d 両細胞集団の当該物質は唾液処理により影響を受けず、また酸性粘液多糖類、蛋白質等の検出反応に陰性であることより中性粘液多糖類の可能性が大きい。
3. PDX 部位の当該物質は唾液処理により影響を受けず、また酸性粘液多糖類の検出反応に陽性を示すこと等より酸性粘液多糖類の可能性が大きい。
4. VP 細胞集団の組織複写をもとにその復元をおこない、PAS 細胞の当該細胞集団に占める位置とその細胞数を確認した。

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關係. 鹿大水紀要, **23**, 71-82.
- 2) 佐野 豊 (1972): “組織学研究法”, 南山堂, 東京, 179-480.
- 3) LISON, L. (今泉正訳) (1972): “増訂・組織化学および細胞化学—理論と方法”, 白水社, 東京, 361-409.
- 4) WELSH, J. H. (1961): Neurohumors and Neurosecretion. in “The Physiology of Crustacea” (ed. by T. H. WATERMAN), Vol. 2, Academic Press, New York and London, 296-297.
- 5) ARVY, L., and M. GABE (1962): Histochemistry of the Neurosecretory Product of the Pars Intercerebralis of Pterygote Insects. in “Neurosecretion” (ed. by H. HELLER and R. B. CLARK), Academic Press, London and New York, 331-344.