

クルマエビの神経分泌に関する研究—III

環境条件とPAS陽性物質量との相関性の検討

中 村 薫*

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

Correlations between Some Environmental Factors and a Quantity of the PAS-Positive Granules in the PAS-Cells

Kaworu NAKAMURA*

Abstract

The influences of temperature, light and specific gravity on the PAS-cells in the ventro-posterior ganglion cells group of the prawn were examined. The temperature experiments were conducted with 3 different conditions such as $15.0 \pm 0.5^\circ\text{C}$, $23.0 \pm 1.5^\circ\text{C}$ and $32.5 \pm 0.5^\circ\text{C}$. Also, 3 grades of the specific gravity with 1.016, 1.024 and 1.032 were prepared. As the light experiments, 3 types of photoperiods, 18L-6D (18hrs. with light and 6 hrs. with dark), 6L-18D (6hrs. with light and 18 hrs. with dark) and natural photoperiod, were tested. Samplings in the natural ones were taken place at 5:00, 12:00, 17:30 and 23:00 in order to investigate a diurnal rhythm. The examinations were dealt relatively with an application of the quantitative method to the PAS-positive granules observed in the cells of the histological specimens.

Effects of the temperature, the photoperiod and the specific gravity were slightly or no exist in the cells. On the contrary, the quantity of the granules showed a feeble diurnal variation. It needs, however, more detailed experiment, due to the insufficient specimens, to say that the PAS-cells have a diurnal rhythm of secretion.

先報¹⁾において、クルマエビの食道上神経節腹面後部の細胞集団 (VP) にPAS陽性顆粒を有する特殊神経細胞 (PAS 細胞) が存在することを確認し、当該細胞に神経分泌細胞の可能性を指摘したが、その生理的機能に関しては未知の状態である。ところで、当該細胞の分布状態には局在性が認められること、およびその数は一定で少数を数えるにすぎないことと等は今後の機能究明に関する PAS 細胞の研究をより容易に導くものと考えられる。今回は当該細胞の生理的機能を検討する一つとして、飼育環境条件が PAS 細胞に及ぼす影響の有無を、PAS 陽性物質の量的変化より検討した。

実 験 方 法

材料には体重 2~5 g のクルマエビ *Penaeus japonicus* を用いた。飼育条件の設定において、諸環境要因の中より水温、光および比重を選び、各因子に関して下記の実験区を設けた。なお本実験

* 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)

は各区の長期的条件による影響度の比較を目的としたものであり、よって各因子の短期的変動による影響に関する実験区は設定しなかった。

- 1) 水温条件; $15.0 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 区, $23.0 \pm 1.5^{\circ}\text{C}$ 区, $32.5 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 区の各温度区。
- 2) 光条件一日周性; 5:00 区, 12:00 区, 17:30 区, 23:00 区の各標本固定時刻区。飼育水温 $23.0 \pm 1.5^{\circ}\text{C}$ 。
- 3) 光条件—光周期; 長日区 (18L6D, 18 時間明条件 6 時間暗条件), 短日区 (6L18D), 自然日長区。長日, 短日両区は暗箱内で 20 W 昼光用蛍光灯の人工照明をおこなった。飼育水温, 長日, 短日両区 $22.5 \pm 1.5^{\circ}\text{C}$, 自然日長区 $23.0 \pm 1.5^{\circ}\text{C}$ 。
- 4) 比重条件; 高比重区 (標準比重 1.032), 低比重区 (標準比重 1.016), 自然海水比重区 (標準比重 1.024)。高比重区は NaCl 添加法により, 低比重区は蒸溜水添加法により徐々に飼育海水の比重を変え, 飼育開始後 5 日目に所定の比重とした。飼育水温 $23.0 \pm 1.5^{\circ}\text{C}$ 。

各実験区には 30 l 容積の、濾過装置となる砂層を敷いた円形水槽 (Fig. 1) を用いた。実験は 2) を除き、飼育期間を 20 日とし、日毎、アサリ *Tapes sp.* を給餌した。実施時期は 1973 年 3 月 2 日より同年 5 月 30 日までの約 3 カ月間である。



Fig. 1. Experimental equipment for a keeping. The synthetic resinous basin possesses a thermostat, a heater and a bottom filter composed of the upper sand layer, the lower pebble layer and the central air tube. The last contains an air-stone. With a ventilation, water drains into the bottom and gets out of the central tube.

各実験区とも飼育実験終了後、クルマエビの食道上神経節を摘出し、先報¹⁾と同一の方法により組織標本とし、McMANUS 過沃素酸 SCHIFF (PAS) 染色および MAYER ヘマトキシリン染色を施した。

各実験区の標本個体に関して、PAS 陽性物質の計量を以下の方法により実施した。組織標本における当該物質の所在部位を顕微鏡写真撮影する。そのネガフィルムをプロジェクターにより拡大投影する。当該物質の拡大像をペン複写する。複写像を切り抜き、重量法により計量する。実施に

当たり，複写には模造紙を用いた．また計量の際，測定値はg単位とし，小数以下1桁まで読み取った．なお複写・計量の精度検査のため，同一組織標本に関して写真撮影より計量までの過程を繰返し，測定値の差異を比較検討した．

結 果

複写計量法の精度検査；5検体に関する結果を Table 1 に示した．各検体とも2回の測定値には差異が認められ，相対誤差として示すと0.16～0.46，またその平均相対誤差は0.29と算出される．

Table 1. Examination on the measurement error of the PAS-positive granules in the PAS-cells. (g unit)

No.	Measurement		Error	Relative error
	1 st	2 nd		
1	0.22	0.28	0.06	0.27
2	0.28	0.41	0.13	0.46
3	0.32	0.37	0.05	0.16
4	0.25	0.21	0.04	0.19
5	0.08	0.11	0.03	0.38

水温実験区の測定値；15検体に関する結果を Table 2 に示す． $15.0 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 区は他の区と比較して，低い値を示す傾向にある．しかし各区の平均値には大差が認められない．

Table 2. Examination of the temperature effect on the quantity of the PAS-positive granules in the PAS-cells.

No.	$15.0 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$	$23.0 \pm 1.5^{\circ}\text{C}$	$32.5 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$
1	1.1	0.8	1.6
2	0.7	0.8	0.9
3	0.3	2.4	0.9
4	1.5	1.1	1.3
5	0.6	1.4	1.0
Total	4.2	6.5	5.7
Average	0.8	1.3	1.1

日周性実験区の測定値；18検体に関する結果を Table 3 に示す．17:30区は12:00, 23:00両区と比較して，低い値を示す傾向が認められる．また5:00区は前者ほど明瞭ではないが，同様な傾向を示す．平均値において17:30区は12:00区の半分の値を示す．

光周期実験区の測定値；15検体に関する結果を Table 4 に示す．自然日長区に比較して長日，短日両区とも同様な値を示し，またその平均値には大差が認められない．

比重実験区の測定値；18検体に関する結果を Table 5 に示す．自然海水比重区に比較して，高比重，低比重両区とも低い値を示す傾向が認められるが，平均値間には明瞭な差が認められない．

Table 3. Examination of the diurnal variation of the quantity of the PAS-positive granules in the PAS-cells.

No.	5:00	12:00	17:30	23:00
1	1.1	0.8	0.1	1.9
2	1.0	2.4	0.6	0.8
3	0.7	1.1	1.2	0.7
4	0.7	1.4	0.5	0.9
5	—	0.4	0.7	—
Total	3.5	6.1	3.1	4.3
Average	0.9	1.2	0.6	1.1

Table 4. Examination of the photoperiod effect on the quantity of the PAS-positive granules in the PAS-cells. Apprev., 18L6D: 18 hr. light, 6 hr. dark 6L18D: 6 hr. light, 18 hr. dark Control: natural condition

No.	18L6D	6L18D	Control
1	0.9	0.8	0.8
2	2.0	0.8	2.4
3	1.9	2.3	1.1
4	1.9	1.3	1.4
5	1.4	2.9	0.4
Total	8.1	8.1	6.1
Average	1.6	1.6	1.2

Table 5. Examination of the specific gravity effect on the quantity of the PAS-positive granules in the PAS-cells. Abbrev., Hypo.: specific gravity=1.016 Hyper.: 1.032 Control: 1.024

No.	Hypo.	Hyper.	Control
1	0.8	0.9	0.8
2	0.6	0.8	0.8
3	0.8	1.5	2.4
4	1.6	0.9	1.1
5	0.9	0.7	1.4
6	0.4	0.4	1.0
Total	5.1	5.2	7.5
Average	0.9	0.9	1.3

考 察

組織標本を手段とする物質の定量は、本来、対象とする物質の性質によって、その方法の妥当性が

決まるものと考えられる。組織の固定より標本作成の一連の過程において、溶出、変性、分散といった、後の計量の際にマイナスの影響を与える物質には、不向きである。また、対象物質自体の本質的問題に加えて、標本作成時における、対象物質の欠損、組織切片の厚味の不均一性、組織切片の収縮・膨脹（伸展条件の不均一性）、染色条件の相違等の技術的面が計量の際に問題となる。ところで本実験において対象とした、PAS 陽性物質は組織標本上、顆粒状によくまとまった出現を示し、その像は明確に捉え易い利点を有するものであり、ここに先の諸点を考慮する際、当該 PAS 陽性物質の定量化とは組織標本作成過程で物質に欠損がないか、欠損があるとしても検体に同等に生ずるとの仮定をおき、組織標本上の相対的量的把握を意味するものである。次に組織標本作成後の計量過程に関しては、複写計量法の精度検査の結果を参照すると、5 検体の相対誤差が 0.16 より 0.46 を示し、その平均値が 0.29 であることから、測定精度は低いが一定の許容度を与えれば測定値を採用できると言える。

水温、光周期および比重に関する各実験区の PAS 陽性物質量には明瞭な差が認められず、よって設定要因と PAS 細胞の関連性は薄いか或いはないものと考えられる。但し、比重要因に関して、高比重区に NaCl 添加法を用いたことは塩分組成の点で他区と条件を異にするため、実験としての問題は残される。一方、日周性実験には当該物質量の無視できぬ差異が認められ、その日周性変動が推察される。ところで十脚目の神経分泌に関した日周性の研究例は殆んどない。Bliss 等^{2) 3)} のオカガニ *Gecarcinus lateralis* における運動活動度の解析によると、活動度には脱皮周期および日周期にともなう変動が認められるとし、特に後者に関しては体内時計による支配の可能性を指摘し、その支配中枢は眼柄内神経節以外の部位に存在するとの考え方を示している。日周性に関する今回の実験は、検体数が充分とは言えず、また当該物質の生理的機能が未知であることから今後の確認が必要である。

要 約

1. クルマエビの食道上神経節腹面後部細胞集団の PAS 細胞に環境要因が与える影響の有無を、PAS 陽性物質の多寡を基準として調べた。
2. 環境因子としては水温、光および比重を選び、各々実験区を設けた。実験終了の後、上記神経節の組織標本を作成し、PAS 陽性物質に関する組織像を複写計量法により計量した。
3. 複写計量法の精度検査をおこない、測定値の信頼度を考察した。また組織標本を手段とした物質定量に関して問題点を指摘した。
4. 水温、光周期および比重に関する各実験区には、当該物質量に明瞭な差異が認められず、よって設定要因と PAS 細胞の関連性はうすいか、或いはないものと考えられる。
5. 日周性の実験に関しては、各時刻区に PAS 物質量の無視できぬ差異が認められた。しかし検体数が充分とは言えず、PAS 細胞が日周性の分泌活動を行なうか否か不確定である。

文 献

- 1) 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ー。鹿大水紀要, 23, 83-91.
- 2) Bliss, D. E. (1962): Neuroendocrine Control of Locomotor Activity in the Land Crab *Gecarcinus lateralis*. in "Neurosecretion" (ed. by H. HELLER and R. B. CLARK), Academic Press, London and New York, 391-410.

- 3) BLISS, D. E., and P. C. SPRAGUE (1958): Diurnal Locomotor Activity in *Gecarcinus lateralis*. *Anat. Rec.*, **132**, 416-417.