

ムラサキガイの殻体再生における 外套膜の組織学的・組織化学的变化

鈴木 清 一*

I. はじめに

筆者は軟体動物の殻体の鉱物化や構築構造の形成機構の解明の1方法として、殻体再生実験を行ってきた。その結果、次のような殻体の形成過程を明らかにすることができた。すなわち3種類の有機質膜層（葉片状膜層、褐色膜層、コンキオリン膜層）の累積による有機膜殻体の形成→コンキオリン膜層中における有機質微粒子の沈着・凝集による顆粒の形成→その内部で炭酸塩鉱物の晶出→結晶成長によるコンキオリン膜層間の鉱物化→構築構造の形成、である。実験は外套線より内側の殻体の一部を開口して行われたため、開口部付近の小範囲の外套膜組織のみが、この一連の過程に関与している。今回は殻体をのぞき、外套膜の変化を取り上げ、殻体形成機構との関連を解明したいと思う次第である。

ムラサキガイの外套膜の概要については、Beedham (1958) や和田 (1973) らにより報告されているが、殻体再生に伴う変化の詳細な記載はない。今回はこの外套膜の一般性質とあわせてこれらを報告する。

II. 試料と方法

ムラサキガイ (*Mytilus edulis*) の標本、および飼育法、殻体再生実験の方法などは魚住・鈴木 (1978)、鈴木・魚住 (1979) の述べたものである。

今回の対象とした標本は再生実験動物11個体、および比較試料としての非実験動物10個体である。

Suzuki, S. : The histological and histochemical changes of the mantle of *Mytilus edulis* in shell regeneration.

* 北海道大学理学部地質学鉱物学教室

前者は実験期間が殻体開口後4日から310日に渡るものである。これらは走査型電顕による観察から再生段階が明らかになっているものである (Uozumi and Suzuki, 1979 ; 鈴木, 1979)。

外套膜はパラフィン包埋により切片を作製し、ヘマトキシリン・エオジン法、アザン・マロリー法、ヴァンギーソン法の染色を施した。組織化学的検鏡のため、1), 過ヨウ素酸・シッフ法 (だ液消化処理を併用)、2), トルイジンブルーのメタクロマジー反応、3), メチルグリーン・ピロニン法、および4), コッサ法を用い、グリコーゲンと中性多糖類、酸性ムコ多糖類、RNA (リボ核酸)、カルシウムを検索した。

III. 観察結果

A. ムラサキガイの外套膜

ムラサキガイの外套膜の表面は単層性の上皮組織により被覆され、その内部には筋肉、神経、血管、生殖腺などが発達し、各組織間は結合組織により充填されている。上皮細胞間には多数の腺細胞が介在し、結合組織には遊走細胞が散在する。なお、本種の外套膜には生殖腺が発達し、外套膜の観察からも生殖腺の種類 (卵巣、精巣) により、雌雄の識別が可能である (吉田, 1964)。しかし、その他の組織には雌雄差による相違は認められない。

外套膜と殻体の対応関係をみると、外套膜縁の殻皮溝基部で外套膜と殻皮が密着し、外褶内面から外套腔部 (中央域) 外面に至る一連の上皮組織が外套外液を媒介して殻体内面と対面している (第1図)。すなわち外褶内面上皮は殻皮と、外褶外面上皮は鉱物質外層 (繊維稜柱構造) と、外套縁膜外面上皮は中層 (シート状真珠構造) と、外套腔部外面上皮は内層 (シート状真珠構造) と、

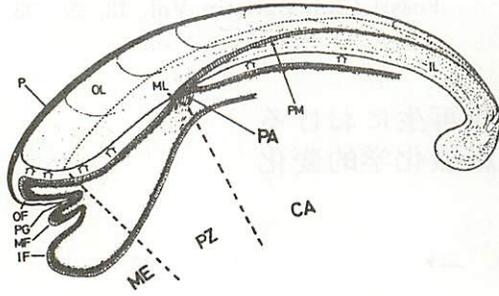


図1. 二枚貝における外套膜と殻体の関係。

CA: 外套腔部, IF: 内褶, IL: 内層, ME: 外套膜縁, MF: 中褶, ML: 中層, OF: 外褶, OL: 外層, P: 殻皮, PA: 外套筋痕部, PG: 殻皮溝, PM: 光輝層, PZ: 外套縁膜。

それぞれに対応する。また外套縁膜と外套腔部の間にある外套筋痕部の上皮は、殻体と密着して光輝層を形成している。

外套膜縁の上皮細胞は一般に円柱状(高さ20~50 μ)を呈する。核は基底側に位置し、棒状である。また細胞質内にヘマトキシリンに好染する粒状物を含有する。細胞の高さと粒状物の量は後腹縁で著しく、前腹縁では顕著でない。これは殻体の成長量に関連するのかもしれない。外套縁膜および外套腔部の内外両面の上皮細胞は通常は扁平状(高さ10 μ 以下)であり、外套筋痕部の上皮細胞は立方状(高さ10~15 μ)である。しばしば同様な立方状細胞群が外套腔部外面の扁平状上皮細胞間に島状に散在することがある。

腺細胞は2種類が識別される。1つはエオジンに好染する顆粒を含むもので、小島(1949)の大顆粒細胞に相当する。他の1つはいわゆる粘液細胞である。このうち前者はほとんどすべての部位の上皮細胞間に認められる。後者は内褶から外套腔部にかけての内面側の上皮間に偏在し、とくに内褶内面では良く発達して腺細胞自体は上皮直下の結合組織内に位置するようになる。この粘液細胞は殻体形成面には存在しない。

組織化学的試験では、グリコーゲンは径50 μ 以下の塊状をなして結合組織中に散在し、各上皮細胞中にも検出される。中性多糖類は各上皮細胞と粘液細胞に検出される。酸性ムコ多糖類は粘液細胞にのみ検出され、殻体と対面する上皮細胞や遊走細胞には認められない。RNAは外褶内面の円柱状上皮に最も多量に含まれる他、外褶外面~外

套腔部外面の円柱状および扁平状上皮に認められる。また粘液細胞にも比較的強い反応が示される。しかし、中・内褶の上皮、外套縁膜~外套腔部内面の上皮、外套筋痕部タイプの上皮群、さらに遊走細胞にはほとんど検出されない。カルシウムは内外面の上皮細胞や遊走細胞の一部に認められるが、今回用いた手法では極めて微量しか検出されず、正確な分布は不明である。

B. 有機膜殻体の形成、鉱物化に関連する外套膜の組織学的組織化学的变化

殻体開口により、外套膜は有機膜殻体の形成を開始し、正常時と異なる種々の変化を起こす。肉眼的には外套膜自身の肥厚現象が観察される。これは主に結合組織中のグリコーゲン(塊)の増加によるもので、開口部とその周辺域に対応する外套腔部の一部が肥厚する。この現象は全実験過程を通じて認められる。個体により外面側に脹らむものと内面側に脹らむものがあり、前者は凸状殻体を、後者は並行殻体を形成する(魚住・鈴木, 1978)。鏡下での変化は主として外套腔部外面の上皮細胞と遊走細胞の挙動に認められる。

1) 殻体開口後4日を経過した試料(葉片状膜層形成中)では、径10 μ ±の遊走細胞が外套膜全域に分布し、その中にはエオジンに好染する顆粒を内包する。この遊走細胞は外套腔部外面(殻体形成面)にも密集するため、上皮細胞の状態は確認し難く、部分的には上皮細胞が消失している可能性がある。

2) 6日を経過した試料(開口部の周囲で褐色膜層の形成開始)はいまだ変化は認められない。

3) 15日の試料(褐色膜層形成中)においては、外面側の上皮細胞の存在が確認される。開口部付近の上皮細胞は高さ50 μ に及ぶ高円柱状を呈し、細胞質にはヘマトキシリンに好染する粒状物質を多量に含んでいる。開口部以外の外套腔部外面の上皮は扁平な細胞からなり、好ヘマトキシリン性粒状物質も少ない。遊走細胞は外套膜全域に分布するが、とくに開口部付近に集中し、結合組織中のみでなく円柱状上皮細胞間に多数介在している(第2図)。また外套膜から遊離して外套外液中に進出し、有機膜殻体中に達しているものも多い(鈴木・魚住, 1979)。この遊走細胞は好エオジン性顆粒を含まない。

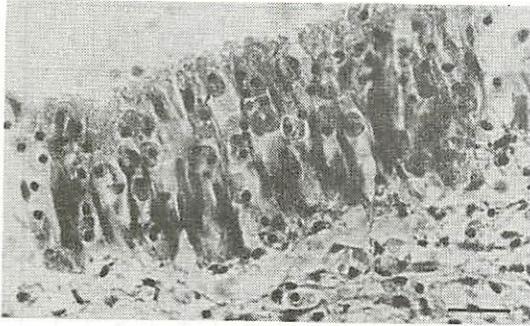


図2. 円柱状上皮細胞。ヘマトキシリン・エオジン染色。スケールは20 μ 。

4) 23日の試料(部分的にコンキオリン膜層の形成開始)では、上皮細胞は開口部付近で円柱状を呈し、その他の部位では扁平状である。この円柱状細胞は高さが最大で30 μ ±で、細胞質には好ヘマトキシリン性粒状物質があまりみられない。上述の15日の試料の上皮とは多少異なる性状を示している。遊走細胞は外套膜および外套外液中に多数観察され、好エオジン性顆粒を含有するものとしめないものがある。

5) 30日の試料(コンキオリン膜層中の有機顆粒が大化、鉱物化開始)では、上皮細胞は15日の試料のそれとまったく同じ性状で、開口部付近は高さ50 μ ±の円柱状細胞である。しかし、遊走細胞は円柱状上皮直下の結合組織に集中するが、上皮細胞間に介在したり、外套外液中に進出しているものはほとんどない。

6) 41日の試料(コンキオリン膜層の鉱物化が進行し、部分的に針状結晶集合体の形成)では、開口部位を含む外套腔部の外面上皮細胞はすべて扁平状で、円柱状細胞は存在しない。遊走細胞は外套膜全域に散在し、とくに密集する部位はない。

7) 52日の試料(結晶集合体はかなり広範囲に分布)では、外套腔部の上皮細胞はすべて扁平状である。遊走細胞は好エオジン性顆粒を含まず、開口部付近の上皮直下の結合組織に密集して観察される。

8) 64日の試料(結晶集合体が開口部全域を被覆)では、外套腔部の上皮細胞は全体に扁平状であるが、開口部付近はやや高い(10~15 μ)。遊走細胞は開口部付近の上皮直下に密集する。好エオジン性顆粒は含まない。

9) 135日の試料(鉱物化層の表面では、シー

ト状真珠構造と不規則稜柱構造を形成中)では、外套腔部外面の上皮細胞は扁平状となる。遊走細胞は外套膜全域に散在する他、外套外液中にも観察される。好エオジン性顆粒は含まれていない。

10) 210日の試料(不規則稜柱構造を形成中)では、開口部付近の上皮細胞は低い円柱状(高さ20 μ ±)を呈し、細胞質は好ヘマトキシリン性粒状物質を含む他、エオジンに好染する非粒状物質を含むため、ヘマトキシリン・エオジン染色法で赤紫色となる。この低円柱状上皮の遊離縁には、微小な粒状物質が薄層をなして分布する。この物質は上皮細胞の突起物のように観察されることもある。開口部以外の上皮細胞は扁平状である。遊走細胞は外套膜全域に散在する。大部分のものは好エオジン性顆粒を含まないが、まれに含むものも認められる。

11) 310日の試料(繊維稜柱構造の形成がほぼ終了し、シート状真珠構造と不規則稜柱構造を部分的に形成)では、外套腔部の外面上皮は扁平状細胞からなる。遊走細胞は外套膜全域および外套外液中に分布する。このうち好エオジン性顆粒を含むものは外套膜内に多く観察される。

以上の組織学的な変化に伴って、次のような組織化学的变化も観察される。前述のように、殻体開口により外套膜結合組織中のグリコーゲンが増加する。この現象は有機膜殻体の形成開始から鉱物化に至る一連の過程を通して維持される。また上皮細胞中のRNAの量は細胞の高さに比例して増減する。すなわち、円柱状を呈する時期の上皮細胞中には多量に検出され、扁平な時期のそれには比較的少量しか検出されない。カルシウムは41日以降の試料において、上皮細胞および遊走細胞の一部のものに検出されるが、全期間を通じての詳細な変化は不明である。中性多糖類、酸性ムコ多糖類などは全期間を通して顕著な変化が認められず、正常時とほぼ同様の状態で検出される。

全期間を通しての主要な変化をまとめると、第3図のようになる。

IV. 考察

再生有機膜殻体の形成、鉱物化の過程における外套膜の変化は大局的に3期に分けることができる。第1期では、上皮細胞は扁平状、あるいは細胞自身が消失し、遊走細胞が外套外液中に進出し

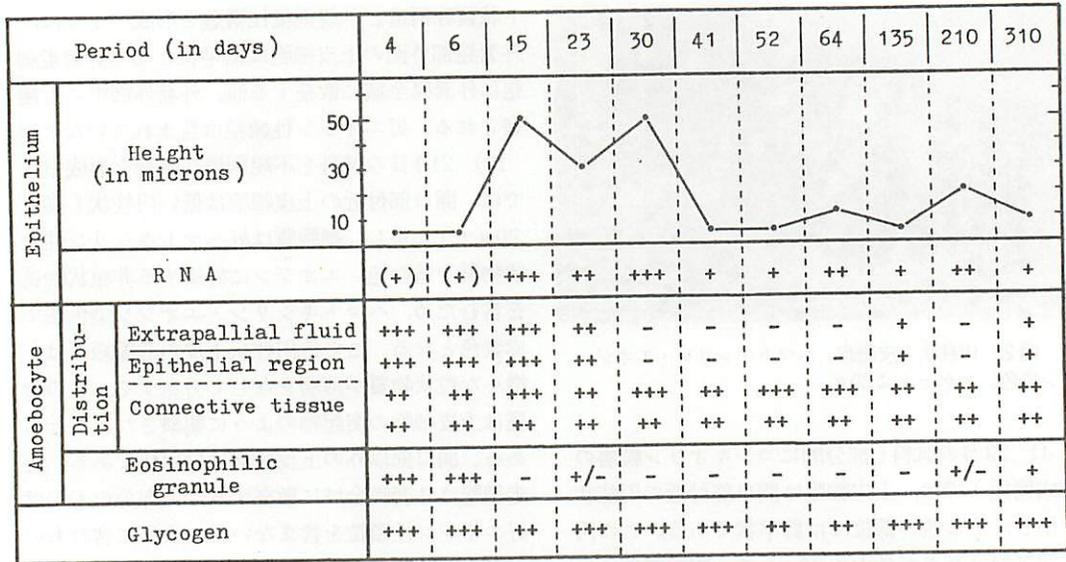


図3. ムラサキガイの殻体再生における外套膜の主要な組織学的、組織化学的变化。

て、上皮の表面を被覆する。第2期では、開口部付近の上皮はRNAを多量に含む円柱状細胞からなり、遊走細胞は漸次外套膜組織内に届まり、外液中に進出しなくなる。第3期では、正常時とほぼ同様に上皮は扁平状細胞からなり、遊走細胞は当初は上皮直下の結合組織に集中するが、次第に外套膜全域に分散するようになる。しかし、この期間には、上皮細胞が円柱状を呈したり、遊走細胞が外套外液中に進出するなど、不安定な生理状態にあることも示している。

以上の外套膜の変化を有機膜殻体の形成過程と対照すると、おおよそ第1期は葉片状膜層形成期、第2期は褐色膜層およびコンキオリン膜層形成期、第3期はコンキオリン膜層の鈣化物化期に、それぞれ相当するといえる。すなわち、第1期では、上皮細胞が殻体開口による環境の急変に直ちに対処しきれないため、遊走細胞が外套外液中に漏出して外套膜表面を被覆し、応急処置的な保護にあたるのであろう。この結果、外套外液から積出するコンキオリン様物質と遊走細胞の遺骸などが混合して、葉片状膜層が形成される。第2期においては、ようやく環境変化に順応した上皮細胞が本格的に殻体の分泌形成を開始する。当初は外套膜の外界からの遮断・保護を目的とした殻皮様有機物質を分泌し、褐色膜層を形成する。その後は引き続き、鈣物質殻体形成の基質となるコンキオリン膜層を形成する。この有機物質（硬たんぱくを主成

分とする）を敏速かつ大量に生産するには、たんぱく合成に関与するRNAを多量に含む上皮細胞を多数必要とするであろう。このため、上皮細胞は円柱状となり、単位表面積あたりの密度を大きくするのである。外套膜表面の保護の役割を終了した遊走細胞はもはや外套外液中へ進出することをせず、次第に外套膜組織内に留まる。第3期では、不安定ながらも正常時に近い状態に戻り、上皮細胞は扁平状となり、有機基質と同時にカルシウムや二酸化炭素を分泌するようになる。この時期には、遊走細胞は結合組織内において専らカルシウムの運搬に携わるようである。

以上の推論が正しいとすれば、今回の実験で観察された上皮細胞の組織学的、組織化学的变化は、主に殻体の有機成分の分泌に関連したものであると考えられる。一方、遊走細胞は通常はカルシウムなどの運搬を行い、異状時には外套膜組織の保護の役割を担っている。いずれの場合においても、殻体物質の分泌は行わないと思われる。

今回は極めて限定された手法のみを用い、また考察も限定した内容に留めた。今後はさらに研究を進め、構築構造の形成メカニズムへの外套膜の関与の問題も追求していきたいと思うものである。

謝辞：小論をまとめるにあたり、終始御指導いただいた北海道大学の魚住 悟教授ならびに有益な御助言をいただいた同大学の岩田圭示博士、北海

道教育大学の都郷義寛博士に厚く御礼申上げる。

文 献

Beedham, G. E. (1958): Observations on the mantle of the Lamellibranchia. Quart. J. Microsc. Sci., 99, 181-197.

小島吉雄(1949): アコヤガイ外套膜の組織学的研究. 特に腺細胞に関する観察. 生物, 4, 201-205.

鈴木清一(1979): *Mytilus edulis* (斧足類)の再生有機膜殻体の鈹物化. 地質雑, 85, 669-678.

———・魚住 悟(1979): ムラサキガイ (*My-*

tilus edulis)の再生有機膜殻体の発達に伴う組織化学的变化. 地球科学, 33, 200-207.

魚住 悟・鈴木清一(1978): *Mytilus edulis* (斧足類)の殻体再生初期における有機膜殻体. 同上, 32, 113-119.

Uozumi, S. and Suzuki, S. (1979): "Organic membrane-shell" and initial calcification in shell regeneration. J. Fac. Sci., Hokkaido Univ., Ser. 4, 19, 37-74.

和田浩爾(1973): 外套膜の酵素組織化学による研究. 国立真珠研報, 17, 2059-2074.

吉田 裕(1964): 貝類種苗学. 北隆館, 東京.
(1980年11月7日受理)

(本の紹介)

E. R. ピアンカ著; 伊藤嘉昭 監修

久場洋之, 中筋房夫, 平野耕治 共訳
進化生態学 (原書第2版)

Eric R. Pianka の 'Evolutionary Ecology' 第2版(1978)の翻訳である。生態学の教科書としての形をとっているが、生態学から見て、進化をどうとらえるかという観点に立っているところに本書の特徴がある。

蒼樹書房 5,000円

目次は次のとおりである: 1. 序章, 2. 物理的環境 3. 気候と植生 4. 生理生態学 5. 個体群生態学 6. 個体群間の相互作用 7. 生態的ニッチ 8. 群集構造 9. 生物地理学。

(笹川一郎)

(本の紹介)

水平敏和・John, C. Russ

分析電子顕微鏡

—微小部X線分析の理論と生物医学的応用—

電子顕微鏡技術の発達には目ざましいものがあるが、微細構造のみならず、その構成元素をも合わせて知ろうという目的で分析電子顕微鏡が開発された。なじみの深いものでは、走査電顕と波長分散型特性X線検出器を合せたタイプがある。さら

日本メディカルセンター 9,800円

に近年、透過電顕あるいは走査電顕にエネルギー分散型の検出器とコンピュータを組み合せたタイプの各種分析電顕が開発されてきている。本書は最近の分析電顕について、その基礎と応用のをべている。
(笹川一郎)