

ドジョウの上顎ひげ再生の組織学的観察

佐藤光雄・高橋正嗣

Histological Observation of the Regeneration of the Maxillary Barbels of the Loach, *Misgurnus anguillicaudatus*

Mitsuo Sato and Masatsugu Takahashi

ドジョウ類のひげの組織学的構造は、Meng (1923), Sato (1937), Ducros (1953), Sato and Kapoor (1957), Nagar and Mathur (1958), Srivastava and Sinha (1961) らによって観察されているが、その再生経過についてはまだ報告がない。この類のひげはナマズのそれとちがって、真皮部の中心に軟骨性支柱を欠き、この部分はやや太い血管によって占められている。ナマズ類のひげ再生においては、軟骨性支柱をおおっている軟骨膜細胞が切断端へ移動し、そこに軟骨の再生芽を形成することが、Goss (1954) および Kamrin and Singer (1955) によって確かめられている。従ってこの軟骨支柱を欠くドジョウのひげ再生は、ナマズの場合とかなり異なる経過をたどることが予想されたので、本観察を行なった次第である。

材料と方法

材料としては、弘前市付近の小川から採集した 9~12 cm の成魚を用いた。ひげの切断は 50 尾について試みられ、0.1% クロレントンで麻酔後各個体の上顎の右側 2 本のひげ（ひげの長さは、全長 10 cm の個体で 5 mm 前後である）を、先端から約 1/2 のところで切断し、6, 12, 18, 24, 48 時間目および 3, 5, 7, 10, 15, 25 日目にそれぞれひげをブアン液で固定、8 μ のパラフィン切片を作り、ヘマトキシリン・エオシンおよび鉄ヘマトキシリン・ライトグリーンの二重染色法を施し、再生経過を観察した。なお、上顎の左側 2 本のひげを対照とした。本観察中の水温は 20°C 前後であった。

結果

切断後 6 時間日の切断端をみると、傷口の周辺からのびてきた表皮によって、傷口がほとんどおおわれている (Fig. 1)。この表皮は 3~4 層の表皮細胞からなり、これらの細胞間にかなりの数の赤血球が混在する。またこの表皮には終末球 terminal bud も粘液細胞もみられない。この表皮下にはやや広い間隙があり、結合組織細胞なども認められるが、その大半を領しているのはひげの

中心血管から流出した血塊で、この血塊の一部は中心血管の切口をふさぎ、またこの血塊に連なるかなり大きな血塊が切断端付近の結合組織中にみられることが多い。中心血管をとりまく平滑筋層と神經の切断端には、伸長の徵候がまだ全く認められない。

切断から 18 時間後になると、傷口は表皮によっておおわれてしまい、中心血管の切口も血塊によって完全に栓をされたような状態を呈する (Fig. 2)。以上のほかには著しい変化はみられなく、結合組織中にある大きな血塊も残存している。このような状態には切断後 48 時間経過しても大きな変化がみられないが (Fig. 3)、この時期になると傷口をおおった表皮と、正常部のそれとの境界部位にある表皮細胞に、分裂像が相当数認められるようになる (Fig. 4)。しかし再生芽 regeneration-blasterema と考えられるものはみられない。

切断後 3 日目になると、傷口をおおった表皮も 5~6 層の細胞からなるが、これらの間にまだかなりの赤血球が混在する。この表皮下にも広い間隙が依然として残り、血塊によって占められているが、その量が幾分減少しており、血塊の一部が吸収されたものと思われる。平滑筋層の切断端をみると、筋繊維が互に密着していない、粗な状態を呈していることが多い (Fig. 5)。この部分の平滑筋細胞が脱分化を起し、再生芽細胞になることも考えられたが、充分確かめることができなかった。

切断から 5 日後になると、傷口をふさいだ表皮は 10 層近くの表皮細胞からなり、正常部とほぼ同じ厚さになる。しかしこの部分にはまだ赤血球が残存し、また粘液細胞もあまりなく、終末球も形成されていない。この表皮の周辺部にある表皮細胞の随所に分裂像が認められる。この表皮下にある広い間隙は、この時期には結合組織細胞によって占められ、間隙の大半を領していた血塊を埋むようになり、また平滑筋層の切断端の直前部にも集合してくる (Fig. 6)。これらの細胞群が再生芽と考えられる。血塊の吸収は 3 日目よりも一層進み、その大き

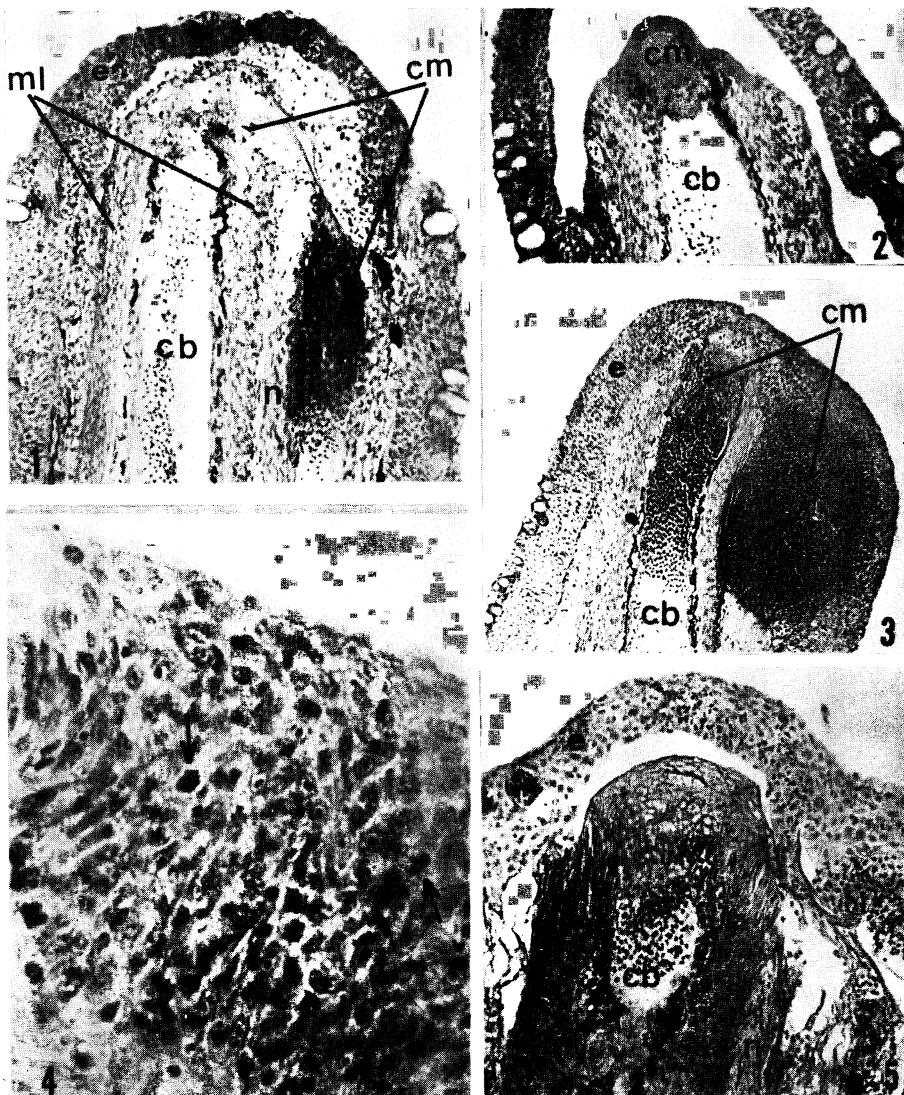


Fig. 1. Longitudinal section through cut end of barbel, 6 hours after amputation, showing wound area covered by epidermis. \times ca. 150. cb, central blood vessel; cm coagulated mass of blood; e, epidermis; ml, smooth muscle layer; n, nerve fiber. Fig. 2. Distal end of regenerating barbel, 18 hours after amputation, showing the central blood vessel plugged with a coagulated mass of blood. \times ca. 150. Letters, vide Fig. 1. Fig. 3. Longitudinal section through distal end of regenerating barbel, 2 days after amputation. \times ca. 150. Letters, vide Fig. 1. Fig. 4. Mitotic figures (arrows) found in epidermis near wound area, 2 days after amputation. \times ca. 600. Fig. 5. Longitudinal section through distal end of regenerating barbel, 3 days after amputation. \times ca. 180. Letters. vide Fig. 1.

さが著しく減少している。一方中心血管をふさいでいた血塊栓もその大きさを減じ、結合組織細胞と思われるものの侵入によって分断されるようになる (Fig. 6)。この

細胞は筆者らの観察した限りでは、中心血管と平滑筋層との間に介在する薄い結合組織層から出来したものと考えられる。この時期になると、表皮下および平滑筋層近

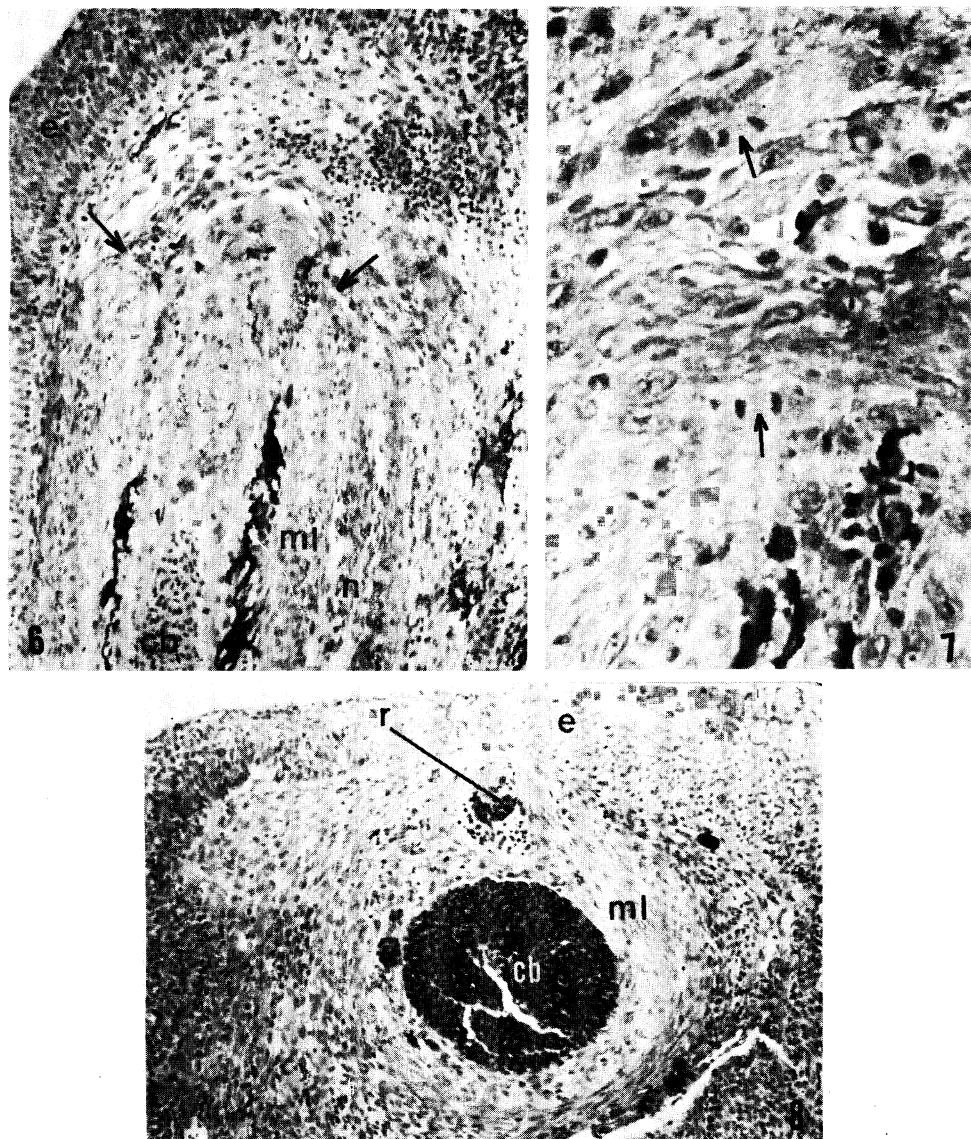


Fig. 6. Longitudinal section through distal end of regenerating barbel, 5 days after amputation, showing decrease of coagulated masses of blood and invasion of cells derived mainly from connective tissue into wound area, \times ca. 200. Arrows indicate cut end of smooth muscle layer. Letters, vide Fig. 1.
 Fig. 7. Longitudinal section of regenerating barbel, 5 days after amputation, showing mitotic figures (arrows) in dermis. \times ca. 600.
 Fig. 8. Oblique section of distal end of regenerating barbel, 10 days after amputation, showing a remnant (r) of coagulated mass of blood with which cut end of central blood vessel was plugged. \times ca. 200. Letters, vide Fig. 1.

くの結合組織細胞に分裂像がかなり多く認められるようになる (Fig. 7). 上記のような血塊の減少と結合組織細胞の侵入のみられた5日目以後は、再生が順調に進むよ

うになる。
 切断後10日目になると、中心血管をふさいでいた血塊栓は小さくなり、結合組織細胞に包まれて、血管の切

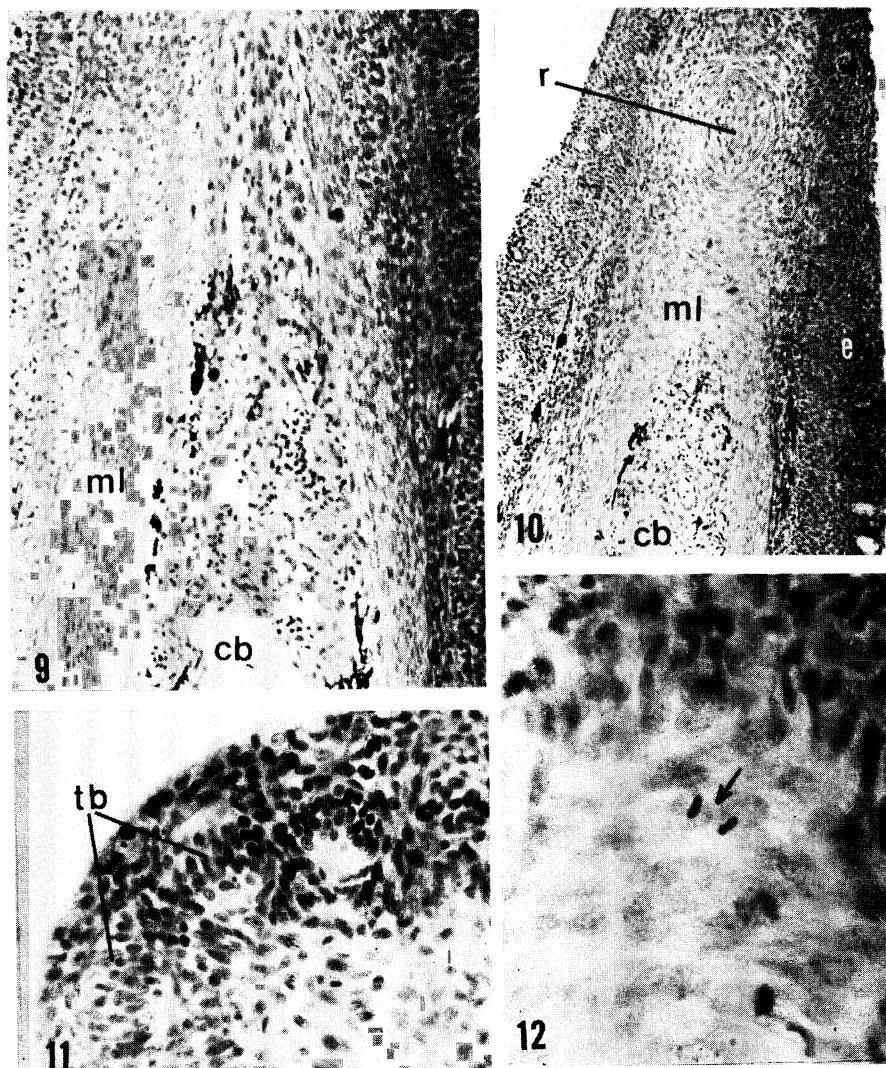


Fig. 9. Longitudinal section of the regenerate, 15 days after amputation, showing growth of central blood vessel and smooth muscle layer. \times ca. 240. Letters, vide Fig. 1. Fig. 10. Longitudinal section of the regenerate, 15 days after amputation, showing blastema cells which enclose a remnant (r) of coagulated mass of blood. \times ca. 150. Letters, vide Fig. 1. Fig. 11. Incipient terminal buds (tb) in epidermis of the regenerate, 15 days after amputation. \times ca. 450. Fig. 12. Mitotic figure (arrow) found in smooth muscle layer of regenerating barbel, 15 days after amputation. \times ca. 600.

断端からかなり前方に位置するようになる (Fig. 8). 神経纖維の再生は切断後 3 日目からみられるが、この時期には既に再生部の表皮に到達している。この表皮にはもはや赤血球が認められなく、少数ながら粘液細胞が存在する。表皮下の血塊はほとんど認められない。

切断後 15 日目になると、再生部の伸長が目立ち、上記の血塊栓は平滑筋層の前端部へ押しやられ、平滑筋の

再生芽と考えられる結合組織細胞によって包まれ、目立たない存在となっている (Fig. 10)。一方中心血管の切断端前方部を埋めた結合組織内に空隙が生じ、これらのあるものは中心血管とつらなり、血液の流入が認められた (Fig. 9, 10)。このような空隙が次第に合一し、中心血管を形成、再生部の先端へ伸びていくのが観察された。この時期の再生部の表皮には、終末球が相当数形成

されている (Fig. 11). また再生部に近い平滑筋層の細胞に分裂像がしばしばみられた (Fig. 12).

切断から 25 日後になると、再生部の組織構造は正常部のそれとほとんど変りなくなるが、時には血塊栓が平滑筋層に包まれて、再生部の先端近くに残存することもある。再生部の表皮に存在する粘液細胞と終末球の数は、正常部に比較するとやや少ない。この 25 日間における再生部の伸長は約 1.5 mm で、対照のひげとほぼ同じ長さに達するには約 40 日を要する。

考 察

Ameiurus (= *Ictalurus*) のひげ再生の場合、軟骨膜細胞が脱分化を起し、軟骨の再生芽を形成するが、その時期は Goss (1954) によれば切断後 5-6 日であるといふ。ドジョウのひげ再生においては、平滑筋および中心血管の切断端前方に集まる結合組織性細胞を再生芽と一応考えるほかなく、これの形成は切断後 5 日目にはっきり認められる。再生芽の形成時期はこれら 2 種の魚類においてほぼ同じといふが、Kamrin and Singer (1955) によると *Ameiurus nebulosus* ひげの再生芽の形成開始は、切断後 12 時間に内、5 日目には再生芽中のある細胞は軟骨細胞に分化するということである。ドジョウの場合、主として中心血管から流出した血液が切断端にかなり大きな血塊をつくるので、これがある程度吸収されなければ、結合組織細胞の移動が起らず、従って切断後 12 時間という早期には再生芽の形成はほとんど起らぬと考えられる。もっとも、中心血管の及んでいないひげ先端のみを切断した場合には、再生芽形成が早期に始まることは想像に難くない。

Ameiurus のひげの再生芽形成において、結合組織が大きな役割をもつことを Goss (1954) が指摘しており、また Kamrin and Singer (1955) は結合組織の分裂増加が予想されるのに、再生部付近の本組織に分裂像が認められないことを報じている。ドジョウのひげ再生においては、結合組織が再生芽細胞の最も重要な供給源であり、傷口付近の本組織におそくも切断後 5 日目から

明らかに分裂像が認められる。一方平滑筋の再生は主として再生芽細胞の分化によるが、平滑筋細胞それ自身の分裂増加もこれにあずかることが、本観察から知られた。また中心血管の再生は、筆者らの観察した限りでは、既存の内皮細胞の分裂増加によるよりも、結合組織性細胞の内皮細胞への分化によるようと思われたが、なお検討の余地が残っているようである。再生部の表皮に終末球が出現する時期は、*Ameiurus* では切断後 6 日頃 (Goss, 1954) または 8 日目以後 (Kamrin and Singer, 1955)、ナマズ稚魚では早い場合は切断後 3 日目 (佐藤・片桐, 1966) ということが知られている。ドジョウでは、神経纖維の再生部表皮への到達時期からみて、切断の 10 日目以後と考えられる。

最後に再生部の伸長速度であるが、これは魚種、切断部位、水温その他の条件によって左右されるので、これを比較することはあまり意味がないように思われるが、ナマズ類で既に得られた結果と今回のドジョウのそれとをあわせ示すと、Table 1 のようになる。

要 約

1. ひげを先端から約 1/2 のところで切断すると、18 時間後には傷口は表皮によって完全におおわれ、中心血管の切り口も血塊栓によってふさがれてしまう。
2. 切断後 5 日目になると、切断端付近の表皮下間隙の大半を領していた血塊と、上記の血塊栓は次第に吸収され、これらの部分は結合組織由来の細胞によって占められる。この細胞群が再生芽とみなされる。
3. 平滑筋層の再生は主として再生芽細胞の平滑筋細胞への分化によって起り、これに既存の平滑筋細胞の分裂が一部あずかっている。
4. 中心血管の再生は、既存の内皮細胞の分裂増加によらず、再生芽細胞の内皮細胞への分化にもとづくものと考えられるが、今後なお検討の要がある。
5. 再生部の表皮に終末球が出現する時期は切断の 10 日目以後であり、25 日目には再生部の組織構造が正常部のそれとほぼ等しくなる。再生部の伸長速度は 1 日

Table 1. Comparison of average rate of barbel regeneration. The average rate was calculated from the rate per week.

Species	Average rate mm/day	Water temp.	Author
<i>Ameiurus</i> (7-12 cm)	0.18	21 - 20°C	Goss (1954)
<i>Ameiurus nebulosus</i> (6-9 cm)	0.04	19 - 21°C	Kamrin and Singer (1955)
<i>Parasilurus asotus</i> larva (2 cm)	0.25	20 - 23°C	Sato and Katagiri (1966)
<i>Misgurnus anguillicaudatus</i> (9-12 cm)	0.06	about 20°C	The present study

たり平均 0.06 mm であった。

6. 本種では、再生部付近の表皮はもちろん、結合組織にも分裂像が明らかに認められる。

引用文献

- Ducros, C. 1953. Les barbillons et l'organe palatin de *Misgurnus fossilis* Linné et de *Cobitis barbatula* Linné. Trav. Lab. Hydrom. Pisc. Univ. Grenoble, Années 45 et 46: 55-70.
- Goss, R. J. 1954. The role of the central cartilaginous rod in the regeneration of the catfish taste barbel. J. Exp. Zool., 127 (1): 181~200.
- Kamrin, R. P., and Singer, M. 1955. The influence of the nerve on regeneration and maintenance of the catfish, *Ameiurus nebulosus*. J. Morpho., 96 (1): 173-187.
- Meng, Fr. 1923. Beiträge zur Kenntnis der Morphologie der barteln einiger Fische. Zool. Jahrb. Anat., 45 (2): 149-160.
- Nagar, S. K. and Mathur, R. P. 1958. Morphological and histological observations on the barbels of a few Indian fresh-water teleosts. Proc. Zool. Soc. (Bengal), 11 (1): 63-68.
- Sato, M. 1937. Histological observations on the barbels of fishes. Sci. Rep. Tohoku Univ., Biol., 12 (2): 265-276.
- Sato, M. and Kapoor, 1957. Histological observations on the barbels of Indian fresh-water fishes, Alaska codfish and *Podothecus acipenserinus*. Annot-Zool. Jap., 30 (3): 156-161.
- 佐藤光雄・片桐康雄 1966. ナマズ稚魚の下あごひげの再生、ならびに琵琶湖産ナマズ類の下あごひげの比較. 魚類学雑誌, 13 (4-6): 169-175.
- Srivastava, C. M. and Sinha, A. N. 1961. Contribution to the study of barbels of fishes. Acta Societ. Zool. Bohemoslovenicae, 25 (12): 12-15.

(弘前大学理学部生物学教室・弘前大学医学部第2生理学教室 弘前市文京町)

Summary In fifty animals, measuring 9-12 cm in total length, the distal one half of the right maxillary barbels was amputated under anesthetization with 0.1 per cent solution of chlorethane. By eighteen hours after amputation, the end of the barbel stump was sealed by a layer of stratified squamous epidermis which contained small accumulations of blood. And the cut end of a central blood vessel which occupied a core of the dermis of the barbel was plugged with a coagulated mass of blood. Five days after amputation, most of coagulated masses of blood found in the space beneath the sealing epidermis and in the cut end of blood vessel were gradually absorbed and replaced by cells which were mainly derived from the connective tissue near the wound area. These cells may represent the initial formation of the regeneration blastema. Accordingly, the connective tissue may be primary source of the cells for blastema formation. At this time, mitotic figures were observed in this tissue near the wound area. Once the blastema has been formed, the barbel regeneration progresses satisfactorily. From the present observation it is probable that new endothelial cells contributing to the growth of the central blood vessel did not arise from their own kind, but from the blastema cells. This problem needs further investigation. The regeneration of the smooth muscle layer which encircles the central vessel seemed to take place by both the differentiation of the blastema cells and the proliferation of the former muscle of the stump. Terminal buds occurred in the epidermis of the regenerate within fifteen days after operation. By the twenty-fifth day the histological structure of the regenerate became almost undistinguishable from that of the stump, and the regenerate elongated at an average rate of 0.06 mm per day.

(Department of Biology, Faculty of Science, Hirosaki University Tomita, Hirosaki City, Aomori Prefecture, Japan, and Department of Physiology, Faculty of Medicine, Hirosaki University)