

光によるメダカ白色素胞の顆粒の拡散

太田忠之・杉本昌司

Leucosome Dispersion under Light in Medaka Leucophores

Tadayuki Ohta and Shoji Sugimoto

(Received August 17, 1979)

The effect of light on leucophores of an isolated scale from the wild-type medaka *Oryzias latipes* was investigated. Leucophores were directly exposed beneath a light source of 150 or 300 lux. Fully dispersed leucophores in a M/7.5 KCl solution and fully aggregated leucophores in a physiological saline solution did not show any noticeable response under illumination except for a very active Brownian movement of leucosomes. On the other hand, leucophores aggregated under the effects of both a stimulant and an inhibitor of the adrenergic β -receptor, dispersed under illumination and this response was found to be reversible. From the above findings, it was concluded that light directly induces leucosome dispersion in leucophores without any mediation of the adrenergic β -receptor.

(Department of Biology, Aichi University of Education, Kariya 448, Japan)

両生類や魚類において、上方および下方から眼に入る光の量の比によってそれらの体色が変化するといふいわゆる二次体色変化と呼ばれる現象は色素胞に対する光の間接的な作用であるが、光が色素胞に直接作用して顆粒の移動を生ずる現象（一次体色変化）のあることも知られている (cf. Parker, 1948)。この光の直接作用についてのこれまでの研究はウニ (Millott, 1952; Weber and Dambach, 1974, 1976; Yoshida, 1956, 1957; Gras and Weber, 1977), 甲殻類 (Coohill and Fingerman, 1976), 両生類 (Obika and Bagnara, 1963; Bagnara and Obika, 1967) の黒色素胞が中心で、いずれも光の直接作用によって顆粒の拡散が誘導されることが知られている。黒色素胞以外の色素胞については、メダカの白色素胞において光に反応して拡散するものがあるという Iga et al. (1977) の記載があるにすぎない。しかし、この白色素胞については詳細な研究は全くなされていない。本報告は、拡散反応を誘起する条件や拡散の程度などに考慮を払いつつ、白色素胞に対する光の直接効果を検討したものである。

材料と方法

愛知県碧南市で採集し、直射日光のよくあたるガラス製水槽で飼育した野生メダカ *Oryzias latipes* (体長 25~30 mm) から、剥離したうろこ上の白色素胞を材料

として用いた。M/7.5 KCl 液 (N/10 KHCO₃ で pH 7.2~7.3 に調整) を満たしたガラス製トラフにうろこを固定し、白色素胞が同液中で完全に拡散した後、適宜試験液を作成させ光に対する白色素胞の反応を観察した。

試験液としては、アドレナリン性 β 受容体阻害剤として dichloroisoproterenol (DCI, [Sigma], propranolol (PPL, Sigma) を用いた。これらは M/7.5 KCl 液でそれぞれ 10⁻⁴ M を原液として調製し、実験の直前に適宜稀釀して用いた。なお、白色素胞の凝集状態を保つために、生理的塩類溶液として山本 (1949) による M/7.5 平衡溶液 (M/7.5 NaCl : M/7.5 KCl : M/11 CaCl₂ = 100 : 2.0 : 2.1, N/10 NaHCO₃ で pH 7.2~7.3 に調整) を用いた。

白色素胞の反応については、一本の枝の長さをミクロメーターで読みとることによって測定し、完全拡散時の長さを 100, 完全凝集時のそれを 0 とし、その百分率であらわした。

白色素胞へ光を照射するための電球は 6 V, 2 A のものを使用し、これから発する光を暗視野落射型顕微鏡 (オリンパス製ネオパーク、対物レンズの倍率 ×40 を使用) を用いて、白色素胞に上方から照射した。光の照度については、うろこの位置に CdS 光電導セル (浜松テレビ, P587) を置き、既知の照度の光の照射による電

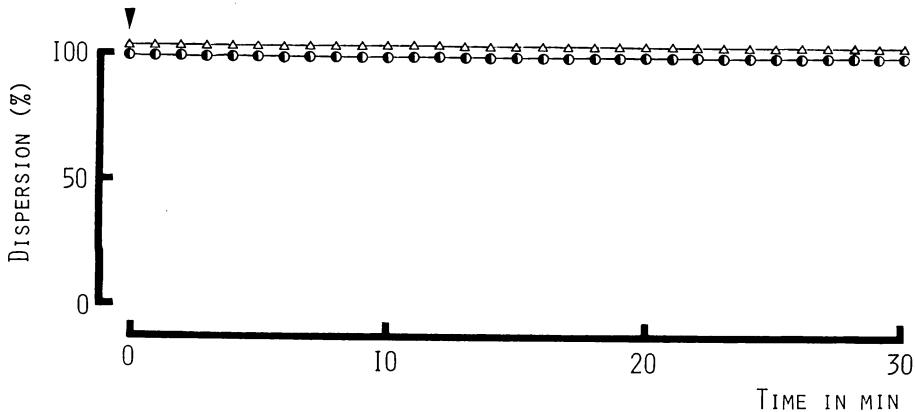


Fig. 1. Response of fully dispersed leucophores to continuous illumination in a M/7.5 KCl solution. △—△ 300 lux; ○—○ 150 lux; ●—● No illumination (control). Arrow head indicates initiation of illumination.

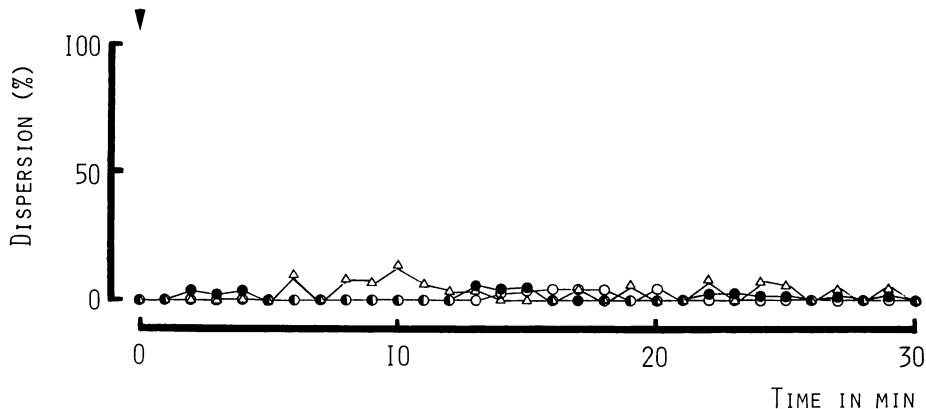


Fig. 2. Response of fully aggregated leucophores to continuous illumination in a physiological saline solution.

流値をとるよう頸微鏡の照明の強さを調節し、150または300ルクスを用いた。

結 果

1. 完全拡散あるいは凝集状態の白色素胞

M/7.5 KCl液に浸された白色素胞は完全拡散を示した。同液中に保ち、観察時のみ数秒間照射する方法(対照)でその後の反応を観察すると、多くの白色素胞は拡散状態を維持した。しかし、少数例ではあるが30分間に少しづつわずかの凝集を示すものもみられた。それに對し、光を連続照射(150あるいは300ルクス)した場合には実験例数10例ともすべて完全に拡散したままであった(Fig. 1)。

一方、生理的塩類溶液中に浸された白色素胞は、光を連続照射しても、あるいは観察時のみに限っても、凝集

状態を保った(Fig. 2)。但し、光を連続照射した場合、観察時のみ照射する対照に比べて白色素顆粒の動きが盛んになり、また若干の拡散を示すものがみられた。

2. アドレナリン性 β 受容体の阻害された白色素胞

a) 連続照射した場合 白色素胞はM/7.5 KCl液中では拡散反応を示すが、アドレナリン性 β 受容体の阻害剤であるDCI(10^{-5} M)の存在下で、観察時のみ光を照射した場合(対照)拡散は起こらず、凝集したままであった。それに対し、光を連続照射した場合には顆粒の拡散反応がみられた。150, 300ルクス共に照射後約30秒から1分位して顆粒の拡散が開始された。そして、その時の最大拡散度は平均50%(300ルクス)で、対照とは明らかにその拡散度において差がみられた(Fig. 3)。300ルクスに対する反応(拡散度)の方が、150ルクスのそれに比べてやや大きい傾向を示した。

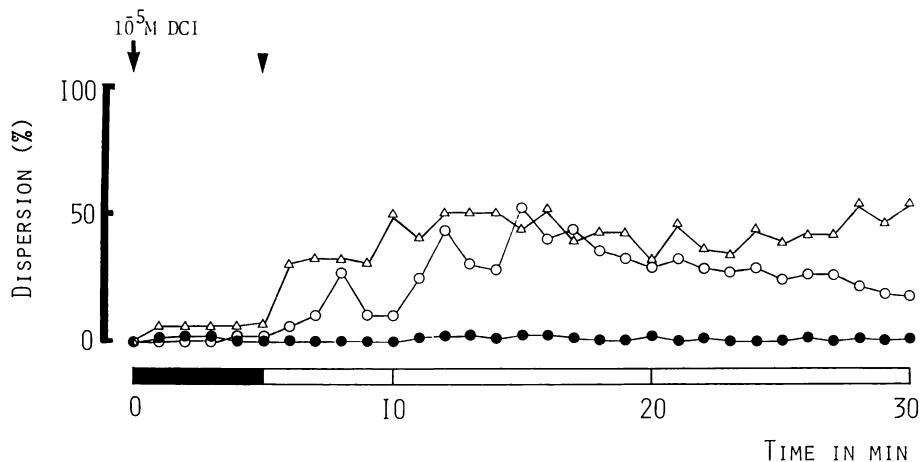


Fig. 3. Response of aggregated leucophores to continuous illumination in 10^{-5} M dichloroisoproterenol-M/7.5 KCl solution (arrow). Leucophores were kept in darkness for 5 min and then illuminated continuously (arrow head).

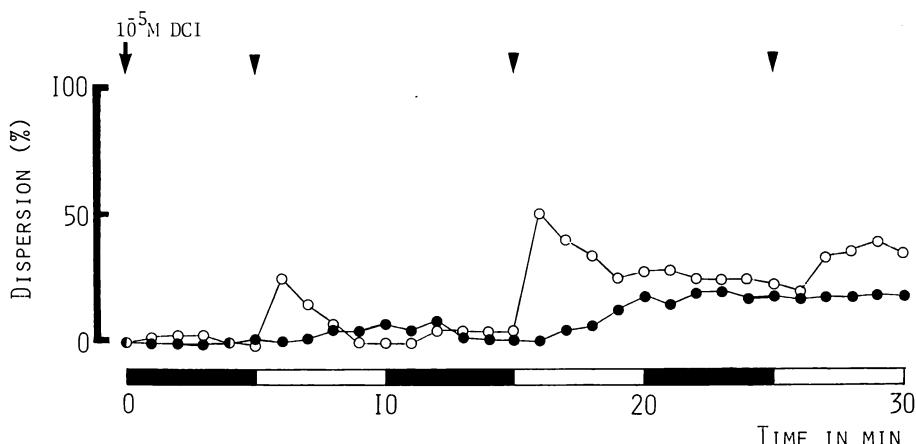


Fig. 4. Response of aggregated leucophores to discontinuous illumination in 10^{-5} M dichloroisoproterenol-M/7.5 KCl solution. Leucophores were kept in darkness for 5 min and thereafter alternately exposed to illumination (arrow heads) and darkness at 5-min intervals.

b) 不連続照射した場合 10^{-5} M DCI-M/7.5 KCl 液中に凝集した状態の白色素胞に照射と暗黒とを交互に5分間隔で繰り返した時の反応を調べた。光の照射により顆粒の明瞭な拡散がみられたことは a) の場合と同様で、顕著な場合には 90% 近くまで拡散を示すものがあった。5分後、照射をやめるともとの状態あるいはそれに近い状態にまで顆粒の凝集が起こった。以後、数回にわたって、照射と暗黒の繰り返しにより同様な拡散・凝集の反応がみられた。これに対し、観察時のみ照射した対照ではそのような反応はみられなかった (Fig. 4)。

DCI と同様、アドレナリン性 β 受容体の阻害剤であ

る PPL (5×10^{-6} M) を用いて、照射と暗黒とを交互に繰り返す実験を行なった。この場合にも、光の照射によって顆粒の明瞭な拡散がみられ、以後光の反復照射に対して数回にわたって同様な現象がみられた (Fig. 5)。

考 察

光が色素胞に直接作用して、動物の体色を変える現象を一次体色変化 (cf. Parker, 1948) というが、その例として、ウニ (Millott, 1952; Weber and Dambach, 1974, 1976; Yoshida, 1956, 1957; Gras and Weber, 1977), 甲殻類 (Coohill and Fingerman, 1976), 両生類 (Obika and Bagnara, 1963; Bagnara and Obika,

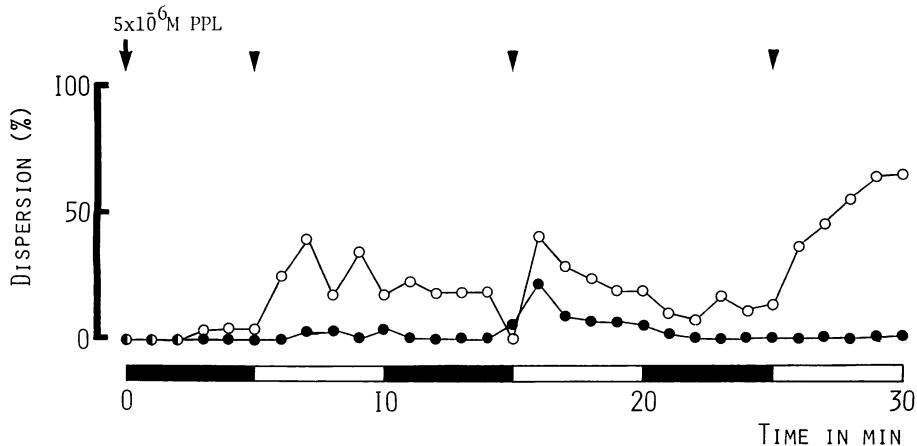


Fig. 5. Response of aggregated leucophores to discontinuous illumination in 5×10^{-6} M propranolol-M/7.5 KCl solution.

1967)などの黒色素胞が知られている。いずれの種の黒色素胞も光の照射によって拡散反応を呈するという。一方、魚類の培養した黒色素胞では、光の照射によって顆粒凝集反応を示すという報告もある (Wakamatsu, 1978)。本実験では、うろこ上の白色素胞を用いたわけであるが、完全に凝集あるいは拡散した状態の細胞は、光に対し顆粒の動きが盛んになる以外可視的な反応を示さなかった。しかし、 K^+ のように神経性要素を介して伝達物質の放出を促がし、アドレナリン性 β 受容体の刺激剤と同様な作用をもつ (Iga et al., 1977) ものと β 受容体阻害剤と併用して、それらの共存下で凝集した状態の白色素胞は光に対し明瞭に反応し、拡散を示した。光の照射を受けると 30 秒から 1 分位の間に拡散がはじまり、顆粒の運動が盛んになるのが観察された。このことは、魚類の白色素胞においても、それらは光を直接受容し、魚の体色の変化に関与すると同時に、生体の深部組織の光に対する保護 (Millott, 1952) にも役立っているものと思われる。

今までの研究により、神経性調節にもとづく白色素胞の顆粒の拡散はアドレナリン性 β 効果によってひきおこされることが明らかにされている (Iga et al., 1977)。DCI および PPL は β 受容体の阻害剤であるが、それらで処理された白色素胞の場合顆粒の拡散が起こることから、光の作用に反応して起こる顆粒の拡散が、 β 受容体を介する可能性は極めて薄いものといえよう。ウニの黒色素胞では光を直接受容する物質が原形質中に存在していると考えられている (Gras and Weber, 1977) が、魚類の白色素胞における光受容体の実体、その存在部位、光による拡散機構などは不明であり、今後

の問題であろう。

照射に用いた光の照度は 150~300 ルクスで、我々が通常顕微鏡観察に用いる程度のものである。Bagnara and Obika (1967) の実験においても、光の作用の観察の際通常の室内的照度を用いており、それほど高い照度でなくても黒色素胞は反応し拡散がみられたという。したがって、白色素胞の反応の観察のための光の照射は観察時ののみのごく短時間に限ることが大切であろう。

謝 詞

本研究の一部は文部省科学研究費補助金（総研 A, 234046）によって行われた。

引 用 文 献

- Bagnara, J. T. and M. Obika. 1967. Light sensitivity of melanophores in neural crest explants. *Experimentia*, 23: 1~6, figs. 1~2.
- Coochill, T. P. and M. Fingerman. 1976. Comparison of the effects of illumination on the melanophores of intact and eyestalkless fiddler crabs, *Uca pugilator*, and inhibition of the primary response by cytochalasin B. *Experientia*, 32: 569~570, figs. 1~2.
- Gras, H. and W. Weber. 1977. Light-induced alterations in cell shape and pigment displacement in chromatophores of the sea urchin *Centrostephanus longispinus*. *Cell Tiss. Res.*, 182: 165~176, figs. 1~6.
- Iga, T., K. Yamada and M. Iwakiri. 1977. Adrenergic receptors mediating pigment dispersion in leucophores of a teleost, *Oryzias latipes*. *Mem. Fac. Lit. & Sci., Shimane Univ., (Nat. Sci.)*, 11: 65~74, figs. 1~5.

- Millott, N. 1952. Colour change in the echinoid, *Diadema antillarum*, Philippi. Nature, 170: 325~326, fig. 1.
- Obika, M. and J. T. Bagnara. 1963. Photic influence on *Xenopus melanophores* in tissue culture. Am. Zool., 3: 495.
- Parker, G. H. 1948. Animal colour changes and their neurohumours. Cambridge Univ. Press, 377 pp., 126 figs.
- Wakamatsu, Y. 1978. Light-sensitive fish melanophores in culture. J. Exp. Zool., 204: 299~304, figs. 1~2.
- Weber, W. and M. Dambach. 1974. Light-sensitivity of isolated pigment cells of the sea urchin *Centrostephanus longispinus*. Cell Tiss. Res., 148: 437~440, figs. 1~3.
- Weber, W. and M. Dambach. 1976. Light-sensitive pigment cells of the sea urchin *Centrostephanus longispinus*. In V. Rilley, ed.: Pigment cell. Karger, Basel, 3: 311~321, figs. 1~5.
- 山本時男. 1949. 動物生理の実験. 河出書房, 212 pp., 48 figs.
- Yoshida, M. 1956. On the light response of the chromatophore of the sea-urchin, *Diadema setosum* (Leske). J. Exp. Biol., 33: 119~123, figs. 1~2.
- Yoshida, M. 1957. Spectral sensitivity of chromatophores in *Diadema setosum* (Leske). J. Exp. Biol., 34: 222~225, fig. 1.

(448 刈谷市井ヶ谷町広沢 1 愛知教育大学生物学教室)