

## ニジマス幽門垂における顆粒層の微細構造

木村 紀彦・工藤 重治

### Fine Structure of the Stratum Granulosum in the Pyloric Caeca of the Rainbow Trout

Norihiko Kimura and Shigeharu Kudo

(Received August 13, 1974)

The stratum granulosum of the pyloric caeca in the rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson was examined by electron microscopy.

The stratum granulosum was found in two regions; stratum granulosum internum and externum lying inside and outside the stratum compactum respectively. The two layers are composed of morphologically similar granule cells which are in an elongated oval or spindle form, protrude a few cytoplasmic projections from their cell surface and closely appose to the fibroblasts, and they are connected with each other and/or fibroblasts by desmosomes.

In the fingerlings about 3 weeks after starting on a course of feeding the granule cells, containing no or a few immature granules, are provided with an oval nucleus located at their central portion, the comparatively well-developed Golgi apparatus and rough endoplasmic reticulum, a small number of mitochondria, centrioles, and plentiful free ribosomes.

In the fingerlings about 5 months after starting on a course of feeding the stratum granulosum internum was composed of the granule cells which mainly contained electron lucent granules (about 340~450 m $\mu$  in diameter) with gradations in electron density, and which exhibited about the same degree of development in cell organelles as those in the fingerlings about 3 weeks after starting on a course of feeding and frequently contained lysosomes. On the other hand, the stratum granulosum externum was composed of the granule cells which were packed with electron dense granules about 600~1160 m $\mu$  in diameter and were provided with an eccentrically located nucleus with occasional deep infoldings, less-developed cell organelles such as the rough endoplasmic reticulum and the Golgi apparatus, a few mitochondria, and free ribosomes. Formation of the granules appeared to be closely related to the Golgi apparatus.

In the rainbow trout about one year after starting on a course of feeding the granule cells in both stratum granulosum internum and externum exhibited about the same ultrastructural appearance in the degree of development in cell organelles as those in the stratum granulosum externum of the fingerlings about 5 months after starting on a course of feeding, and the externum was frequently composed of 2 layers of the granule cells, some of which contained electron lucent granules (about 340~450 m $\mu$  in diameter) with gradations in electron density.

The tunica muscularis consists of 1 or 2 layers of internal longitudinal muscular fibers (tunica muscularis longitudinalis interna), 5 or 6 layers of intermediate circular muscular fibers (tunica muscularis circularis intermedia) and 4 or 5 layers of external longitudinal muscular fibers (tunica muscularis longitudinalis externa).

(NK: Gunma Prefectural Fisheries Experimental Station, Shikishima-cho, Maebashi, 371, Japan. SK: Department of Anatomy, Gunma University School of Medicine, Maebashi, 371, Japan)

サケ科魚類の幽門垂は組織学的に上皮、粘膜固有層、緻密層、顆粒層、筋層および漿膜よりなることが知られている (Greene, 1912; Weinreb and Bilstad, 1955; Lappa, 1966; 梅津, 1970; Khanna and Mehrotra,

1971; 木村, 1973). また、健康なニジマス *Salmo gairdneri* Richardson の幽門垂では顆粒層を組織学的に内外2層に識別できる (木村, 1973). この顆粒層を構成する顆粒細胞の微細構造を明らかにすること、およびそれ

らが遊走細胞であるかどうか確かめることを目的として観察を行なった。

また、従来ニジマス幽門垂の筋層は内輪と外縦の2層であるといわれていたが、本観察において内輪層の内側に縦走する平滑筋線維よりなる筋層があることがわかつたので合わせて報告する。

### 材料および方法

用いたニジマスの幽門垂は餌付け後3週間、5カ月、および1年魚より採取し、その小組織片を3%蔗糖を含む2.5%グルタールアルデヒド(0.1M磷酸緩衝液pH7.4)で2時間固定したのち、5%蔗糖を含む同緩衝液で1晩洗い、さらに1%四酸化オスミウムで3時間固定した。常法によりエタノール脱水を経てエポン812で包埋し、超薄切片をつくり酢酸ウランと酢酸鉛の二重染色を施して電子顕微鏡で観察した。

また、Allen-Bouin氏液またはLevi氏液で固定したパラフィン切片をhematoxylin-eosin染色、azan染色、PAS反応またはaldehyde thionin-light green-orange Gの染色を施した標本およびエポン包埋した組織切片をトルイジン青で染色した標本も参照した。

### 観察結果

餌付け後3週間の稚魚では内外両顆粒層および緻密層は光頭的には明瞭に識別することはできないが、電頭的には容易に識別することができる(Fig. 1)。この時期の内顆粒層の顆粒細胞は線維芽細胞と線維芽細胞の間に介在し、顆粒を含まないことが多いが、まれに1~2個含まれていても小さくしかも電子密度が低い。核は橢円形で細胞のはば中央部にあり、ゴルジ装置は比較的よく発達し、2~3層の層板、多数の小胞および少数の空胞よりもなる。このようなゴルジ装置内にしばしば中心体が存在する(Fig. 1)。粗面小胞体の発達も比較的よいが、付着リボソーム(adherent ribosome)は少なく、層板配列することはほとんどない。糸粒体の数は少なく、散在し、橢円形のものが多い。上述の細胞小器官(cell organelles)の間の細胞質を遊離リボソーム(free ribosome)が満たしている。しかし、細胞質基質は線維芽細胞のそれより明調で後者とは容易に識別できる。また、この時期の外顆粒層の顆粒細胞は細胞小器官の発達状態において内顆粒層のものとほとんど変わらないが、電子密度の低い顆粒を少数有するものがしばしばみられる。やはり外顆粒層細胞は線維芽細胞と隣接することが多いが、時折り隣接していないこともある。

餌付け後5カ月の稚魚では光頭的にAzan染色で赤染

する顆粒が外顆粒層の顆粒細胞にのみ多数認められたが、内顆粒層の顆粒細胞にはほとんど認められなかつた。しかし、電子顕微鏡による観察では内顆粒層の顆粒細胞のいくつかは電子密度の高い小型の顆粒を2~3個有し(Fig. 2)、このような細胞では細胞質の大部分が遊離リボソームによって占められていることもある。また、他のいくつかの顆粒細胞は相対的に電子密度の低い顆粒(直径約340~450mμ)を多数有することがある(Fig. 3)。これらの顆粒の間には電子密度における漸次的移行(gradation)があり、また餌付け後3週間の例にみられた顆粒細胞の顆粒に似ているものも少なくなく、幼若な顆粒であることが示唆される。このような顆粒を多数含む顆粒細胞では細胞質全体にわたって相対的に電子密度が高く、比較的よく発達したゴルジ装置や粗面小胞体、少数の糸粒体、少数のライソソーム(lysosome)および遊離リボソームがみられる。一般にこの時期の顆粒細胞の核には深い陥凹があり、核膜の内側面に集積した染色質がみられる。外顆粒層の顆粒細胞内には電子密度の高い比較的均質な物質よりなる円形または卵形の多数の顆粒(直径約600~1160mμ)や時折り乳糜脂粒(chylomicron)が含まれる。この顆粒の限界膜下には多くの場合狭い明調量(halo)があるが、ほとんどないこともある(Fig. 2)。顆粒細胞内の乳糜脂粒は多数集団をなして存在し、この集団は限界膜で細胞質と境界されている。これは恐らく、顆粒細胞によって取込まれたものと思われる。顆粒の分布密度の高い顆粒細胞では一般にゴルジ装置の発達はよくないが、しばしばゴルジ装置による顆粒の形成がみられる。顆粒間の細胞質内には付着リボソームの少ない偏平な粗面小胞体や少数の糸粒体がみられ、核は偏在する。

1年魚では光頭的にAzan染色で赤染する顆粒が内外両顆粒層の顆粒細胞にみられるが(Fig. 4)、特に外顆粒層では顆粒細胞がしばしば2層に配列している。これらの顆粒はPAS反応陰性である。電頭的には内外両層の顆粒細胞は電子密度の高い顆粒(直径約600~1160mμ)を多数含むものが多いが、しばしば餌付け後5カ月の稚魚の内顆粒層の顆粒細胞でみられたと同様な顆粒(直径約340~450mμ)を比較的多数含む顆粒細胞もみられる(Fig. 6)。しかもこのような顆粒細胞はしばしば2層に配列した外顆粒層の顆粒細胞のうち、外側すなわち筋層に近く位置する層にみられた(Fig. 6)。また、細胞小器官の発達程度も餌付け後5カ月の稚魚の例とほぼ同様で、幼若な顆粒を含む顆粒細胞と思われる。電子密度の高い顆粒を多数含む顆粒細胞は内外両層において同様な発達程度を示す細胞小器官を含んでおり、餌付け後約5



Fig. 1. Internal and external granule layers from the fingerling about 3 weeks after starting on a course of feeding. Under the epithelium (EP) of the pyloric caecum longitudinal smooth muscle cells (SM) are seen. An internal granule cell (IGC) interposing between fibroblasts contains a well-developed Golgi apparatus (G), sparse flattened cisternae of the rough endoplasmic reticulum, an immature granule (gr) and a centriole (arrow). EGC: external granule cell, F: fibroblast, SC: stratum compactum (internum), TM: tunica muscularis.  $\times 12,700$ .

カ月の稚魚の外顆粒層における顆粒細胞の細胞質の状態と大差はなく、核も偏在する。

顆粒細胞は一般に線維芽細胞と密接して存在することが多く、しばしばその表面の大部分が線維芽細胞の細長い細胞質突起によって包囲されている。そして顆粒細胞

と顆粒細胞または線維芽細胞との間は、デスマソーム (desmosome) によって結合されている (Fig. 5)。線維芽細胞はしばしば小脂肪滴、乳糜脂粒およびライソソームを含み、細長い突起部以外ではよく発達した、付着リボソームの多い粗面小胞体、あまり発達のよくないゴルジ

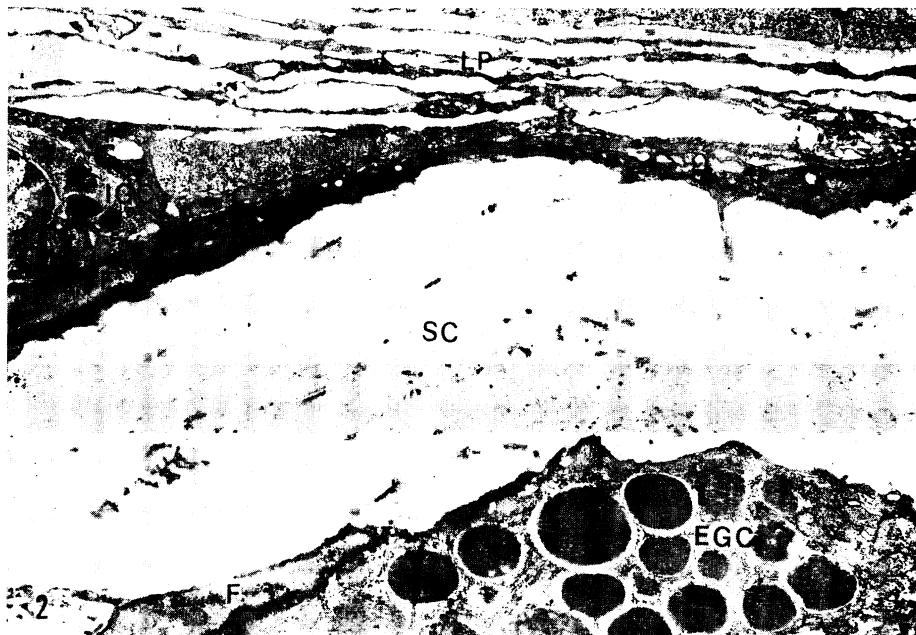


Fig. 2. Internal and external granule layers from the fingerling about 5 months after starting on a course of feeding. An internal granule cell (IGC) closely surrounded by fibroblasts contains a few small granules, while an external granule cell (EGC) is packed by electron dense granules. F: fibroblast, LP: lamina propria, SC: stratum compactum (internum).  $\times 9,600$ .

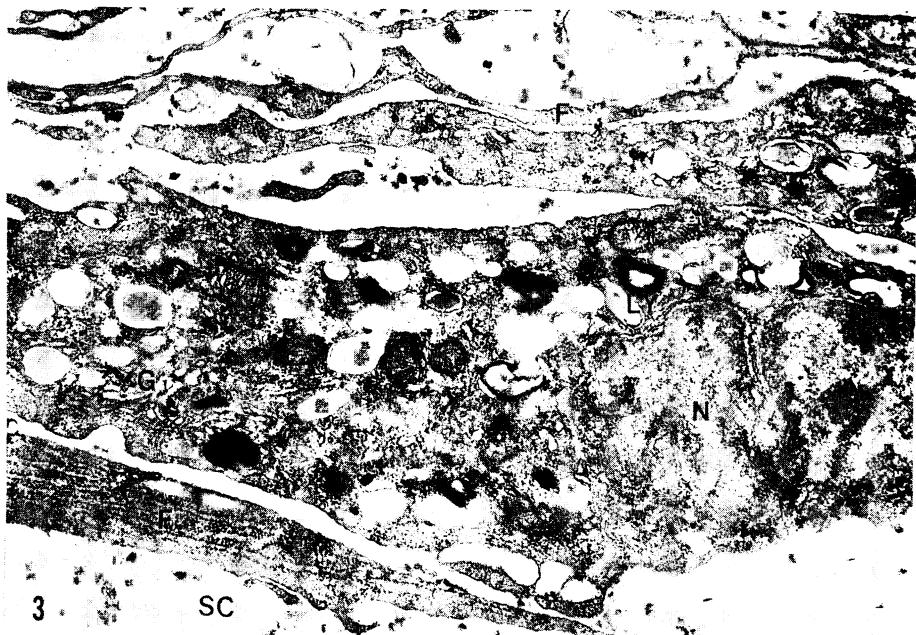


Fig. 3. An internal granule cell from the fingerling about 5 months after starting on a course of feeding. The granule cell contains relatively electron lucent granules (about  $340\sim450\text{m}\mu$ ), Golgi apparatus (G), lysosomes (LY), mitochondria and sparse elements of the rough endoplasmic reticulum. F: fibroblast, N: nucleus, SC: stratum compactum (internum).  $\times 17,800$ .

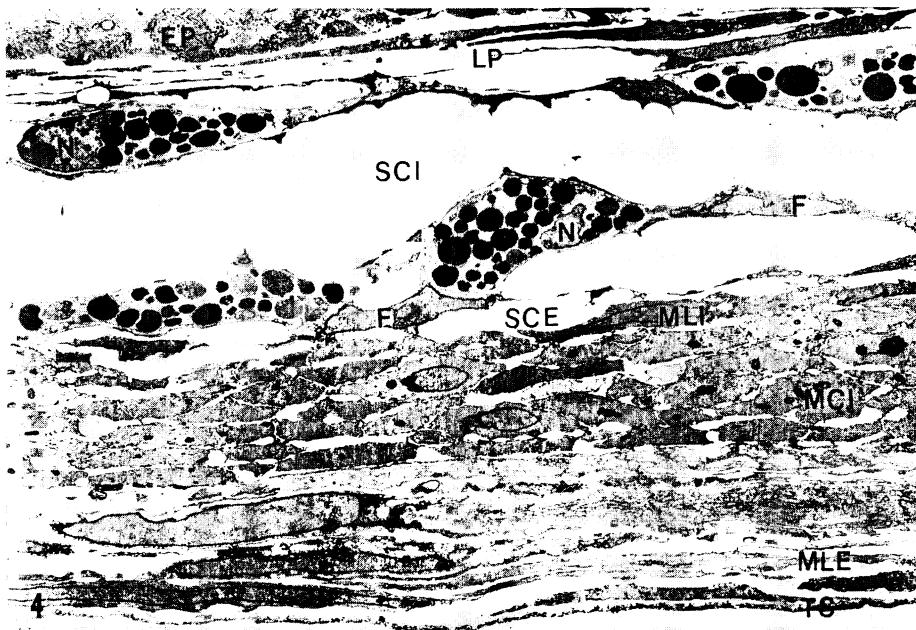


Fig. 4. Internal and external granule layers from the rainbow trout about one year after starting on a course of feeding. The internal and external granule cells, closely applied to fibroblasts (F), are packed by electron dense granules. EP: epithelium, LP: lamina propria, MCI: tunica muscularis circularis intermedia, MLE: t. m. longitudinalis externa, MLI: t. m. longitudinalis interna, N: nucleus, SCE: stratum compactum externum, SCI: str. comp. internum, TS: tunica serosa.  $\times 2,800$ .

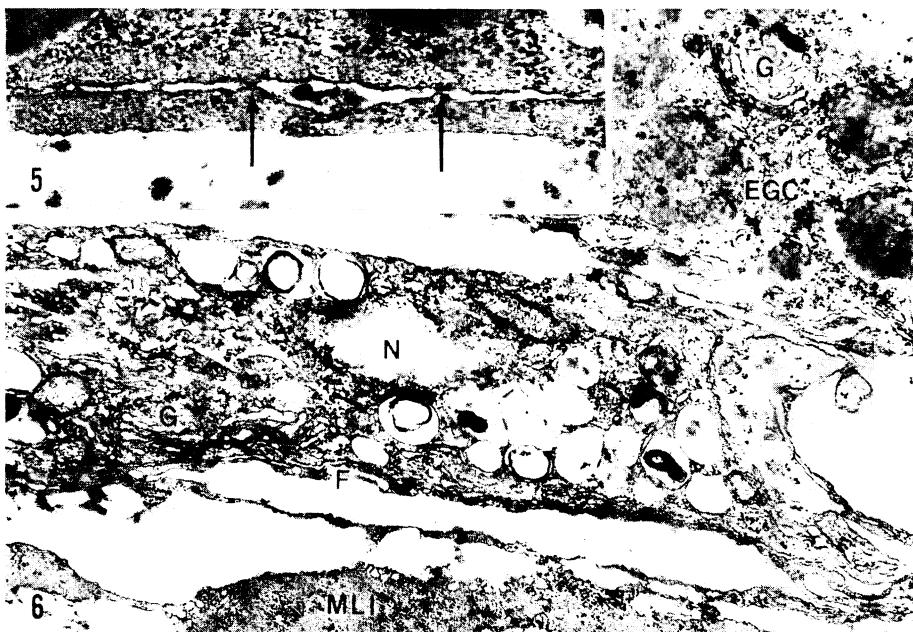


Fig. 5. A connection between a granule cell and a fibroblast. Both cells are connected with desmosomes (arrows).  $\times 29,700$

Fig. 6. External granule cells from the rainbow trout about one year after starting on a course of feeding. Between an external granule cell (EGC) containing electron dense granules and a fibroblast (F) another external granule cell is seen, containing electron lucent granules, the Golgi apparatus (G) and mitochondria. MLI: tunica muscularis longitudinalis interna, N: nucleus.  $\times 16,200$ .

装置および少数の糸粒体が含まれる。粗面小胞体はしばしば内腔が拡大し、その中に電子密度の相対的に低い微細顆粒状または線維性物質を含む。このような状態の線維芽細胞は餌付け後5カ月の稚魚および1年魚で顕著である。そして観察したすべての時期においてその細胞質は顆粒細胞のものより一般に電子密度が高く、両細胞の識別は容易である。

筋層 (tunica muscularis) は光顯的にも電顯的にも3層に識別することができる。すなわち、外顆粒層の外側には膠原線維束よりなる狭い層 (外緻密層) があるが、この外側に接して長軸方向に延びる平滑筋線維が1~2層みられる。この外側に從来から知られている平滑筋線維よりなる輪走筋と縦走筋がみられ、幽門垂の最外側には漿膜がある (Fig. 4)。それゆえに、ニジマス幽門垂の筋層は内縦層 (tunica muscularis longitudinalis interna), 中輪層 (t. muscularis circularis intermedia) および外縦層 (t. muscularis longitudinalis externa) の3層よりもなる。内縦層の平滑筋線維は稚魚でも1年魚でも全例においてみられ、しかもいずれの時期においても線維芽細胞と並行して延びているが、その細胞質の大部分は筋原線維 (myofilament) に満たされ、その表面には薄い基底膜があり、さらに線維芽細胞より全体として電子密度は低く、識別は容易である。

以上の所見から、ニジマス幽門垂は組織学的に次のように細分することができる。

上皮 (epithelium), 粘膜固有層 (lamina propria mucosae), 内顆粒層 (stratum granulosum internum), 内緻密層 (str. compactum internum), 外顆粒層 (str. granulosum externum), 外緻密層 (str. compactum externum), 内縦層 (tunica muscularis longitudinalis interna), 中輪層 (t. muscularis circularis intermedia), 外縦層 (t. muscularis longitudinalis externa), および漿膜 (tunica serosa)。

### 考 察

魚類の腸管の粘膜固有層や粘膜下組織の中に好酸性、好塩基性または両好性の顆粒を含む顆粒細胞 (granule cells) が存在することは多くの記載がある (Greene, 1912; Al-Hussaini, 1946, 1949; Weinreb and Bilstad, 1955; Bullock, 1967; Khanna and Mehrotra, 1971; 木村, 1973; Sottovia-Filho and Taga, 1973)。木村 (1973) は顆粒層をニジマスの幽門垂で初めて内外両層に区分した。Greene (1912) はマスノスケの幽門垂で、木村 (1973) および本観察における内顆粒層に相当する位置に少数の顆粒細胞が存在することをみているが、顆粒層

を内外両層に区分しなかったのは恐らく顆粒細胞は移動性のあるものかもしれないと思ったことによると思われる。また Weinreb and Bilstad (1955) もニジマスの腸管で粘膜固有層に顆粒層由來の顆粒細胞が存在すると報告している。確かに、本観察において餌付け後3週間、5カ月の稚魚、および1年魚へと魚の成長に伴って、顆粒細胞の存在する部位は組織学的に拡大し、しかも魚の成長の過程で光顯的に顆粒細胞が最初にみられたのは外顆粒層の位置である。しかし電子顕微鏡による所見では顆粒を含まない幼若な顆粒細胞は餌付け後3週間の稚魚ですでに内外両顆粒層に見出され、しかも顆粒細胞と顆粒細胞および線維芽細胞とはデスマソームによって結合されている。これらのこととは外顆粒層の顆粒細胞において内顆粒層のそれより早く顆粒形成が始まるに過ぎないことおよび少なくとも顆粒細胞は移動性のあるものではないことを示唆している。

餌付け後5カ月の稚魚の内顆粒層に相対的に電子密度が低く、しかも電子密度において漸次の移行を示す顆粒 (直径約340~450 m $\mu$ ) を比較的多数有する顆粒細胞が見出されたが、これに酷似する顆粒を1~2個有する顆粒細胞が餌付け後3週間の稚魚の例でも見出された。また1年魚の例においても内外両顆粒層の顆粒細胞に電子密度の高い顆粒が多数含まれている時期には、上述のような電子密度の低い顆粒を比較的多数含む顆粒細胞が、しばしば2層に配列する外顆粒層のうちでも、外側の細胞層に見出された。これらのこととは両顆粒層が本質的には全く同様な顆粒細胞から構成されていることを示唆する。さらに、餌付け後5カ月の稚魚で電子顕微鏡のレベルでは顆粒間に電子密度において漸次の移行を示す顆粒を含む顆粒細胞が内顆粒層に存在するにもかかわらず、光学顕微鏡のレベルではそこに顆粒細胞を識別することはできない。しかし、1年魚の例では光顯的にも顆粒を多数含む顆粒細胞を内顆粒層に識別できるようになる。これらのことから、相対的に電子密度の低い顆粒 (直径約340~450 m $\mu$ ) はエオシンやトルイジン青で染色されないか、または染色されても染色性が弱くて光顯的には識別できないことが示唆されるばかりでなく電子顕微鏡のレベルで電子密度の高い顆粒に成長および成熟して初めて両色素によってよく染色され、光顯的にも識別できるようになることが考えられる。

ニジマス幽門垂の顆粒細胞が光顯的に識別できる時期の顆粒は酸性色素にも塩基性色素にも染色されるが、PAS反応は陰性で、現在のところ顆粒細胞の機能については不明である。

ニジマス幽門垂の筋層は内縦層、中輪層および外縦層

の3層に識別できるが、ヒトの胃の大部分、尿管、精管および膀胱の筋層でも同様に3層になっているので(Bloom and Fawcett, 1968)，筋層が3層であることは例外的なものではない。

### 要 約

ニジマス幽門垂の顆粒層が主として電子顕微鏡で観察された。顆粒層は内顆粒層と外顆粒層とに識別できるが、両層を構成する顆粒細胞は本質的には差がなく、顆粒の形成は外顆粒層の細胞で早く始まる。顆粒細胞は長楕円形または紡錘形で、細胞表面はほとんど平滑でしばしば細胞質突起がみられるが、通常線維芽細胞と密接して存在し、しばしば顆粒細胞の表面の大部分が線維芽細胞によって包囲されている。また、顆粒細胞と顆粒細胞および線維芽細胞の間にはデスマソームがみられる。

顆粒を含まないかまたは幼若な顆粒を少数含む顆粒細胞では核は楕円形で細胞の中央部に位置し、比較的よく発達したゴルジ装置や粗面小胞体、少数の糸粒体、中心体および多くの遊離リボソームを含む。電子密度において漸次的な移行を示す幼若な顆粒(直径約340~450 m $\mu$ )を比較的多数含む顆粒細胞では細胞小器官の発達程度は上述とほぼ同様で、しばしばライソームも含む。電子密度の高い成熟した顆粒(直径約600~1160 m $\mu$ )を多数含む顆粒細胞では核は偏在し、その表面に深い陥凹がみられ、一般に細胞小器官の発達はよくないが、ゴルジ装置による顆粒の形成がしばしばみられる。

ニジマス幽門垂の筋層は内縦層、中輪層および外縦層の3層よりなる。

### 引 用 文 献

Al-Hussaini, A. H. 1946. The anatomy and histology of the alimentary tract of the bottom feeder *Mulloidess auriflamma* (Forsk.). J. Morph., 78: 121~

- 154 (梅津, 1970 より引用)。
- Al-Hussaini, A. H. 1949. On the functional morphology of the alimentary tract of some fishes, in relation to differences in their feeding habits. II. Cytology and physiology. Quart. J. Microsc. Sci., 90: 323~354 (cited from Sottovia-Filho and Taga, 1973).
- Bloom, W. and D. W. Fawcett. 1968. A Textbook of Histology. W. B. Saunders Company, Philadelphia.
- Bullock, W. L. 1967. The intestinal histology of the mosquito fish *Gambusia affinis* (Baird and Gerard). Acta Zool., 48: 1~17 (cited from Sottovia-Filho and Taga, 1973).
- Greene, C. W. 1912. Anatomy and histology of the alimentary tract of the king salmon. Bull. U.S. Bur. Fish., 32: 75~101, figs. 1~11.
- Khanna, S. S. and B. K. Mehrotra. 1971. Morphology and histology of the teleostean intestine. Anat. Anz., 129: 1~18, figs. 1~22.
- 木村紀彦. 1973. ニジマス幽門垂上皮細胞の微細構造. 魚類学雑誌, 20: 13~24, figs. 1~9.
- Luppa, H. 1966. Ein Beitrag zur Funktion der Appendices Pyloricae der Fische. Morphologische, histochemische und electronenoptische Untersuchungen. Gegenauss Morph. Jb., 109: 315~339, figs. 1~18.
- Sottovia-Filho, D. and R. Taga. 1973. Morphological and histochemical study of granular adidophilic cells in the connective tissue of some ophidians. Arch. Histol. Jap., 36: 79~84, figs. 1~4. Tl. 1.
- 梅津武司. 1970. 幽門垂. 魚類生理, 川本信之編 pp. 106~133, 恒星社厚生閣, 東京。
- Weinreb, E. L. and N. M. Bilstad. 1955. Histology of the digestive tract and adjacent structures of the rainbow trout, *Salmo gairdneri irideus*. Copeia, 3: 194~204, figs. 1~17. Tl. 1~2.
- (木村: 371 前橋市敷島町 群馬県水産試験場, 工藤: 371 前橋市昭和町 群馬大学医学部第1解剖学教室)