

メダカ消化管にみられた内分泌細胞の微細構造

高畠 悟郎

Ultrastructure of the Endocrine Cells in the Digestive Organs of the Medaka, *Oryzias latipes*

Gorō Takahata

(Received December 11, 1979)

Endocrine cells were observed in the digestive tracts of the medaka, *Oryzias latipes*, by light and electron microscopy. These cells showed positive staining with lead haematoxylin. Tests for argentaffin and chromaffin reaction were negative. Endocrine cells are always found straggled in the mucous epithelium. They have many secretory granules in the cytoplasm. Five types of endocrine cells (I, II, III, IV, and V) are identified by the morphological characteristics of their secretory granules. In every endocrine cell type, the basal part directly faces the basement membrane of the epithelium. The apical part of the type IV and V cells reaches the digestive lumen, and microvilli are recognized in the apical cytoplasm. The cell membrane of the base and side often appears hollow and Ω -shaped. It is suggested that secretory granules may be released into the connective tissue or intercellular space by the emiocytosis.

(Biological Laboratory, Predental Course of Tokyo Dental College, 18-7, Sugano-4, Ichikawa 272, Japan)

脊椎動物の消化管内分泌細胞の形態学的研究は哺乳類や鳥類などの高等脊椎動物を中心に行われ、多数の報文が発表されている。各種の細胞と産生される消化管ホルモンとの対応も免疫組織学的研究法などにより検索されてきた。下等脊椎動物や原索動物などの消化管内分泌細胞の形態学的研究はまだ比較的少なく (Noorden et al., 1972; Kataoka, 1973; Kataoka and Fujita, 1974; Noorden and Pearse, 1974; Östberg et al., 1976; Rombout, 1977; Bevis and Thorndyke, 1978, 1979; Thorndyke and Bevis, 1978), 系統上の問題や産生される消化管ホルモンに関する研究もそれほど進んでいない (Barrington and Dockray, 1972; Dockray, 1974, 1975)。筆者はこれらの問題点を検討するための一端と

して、硬骨魚のヒメダカ *Oryzias latipes* (Temminck et Schlegel) の消化管を用いて光学および電子顕微鏡観察による内分泌細胞の検索を行ったので、その結果を報告する。

材料および方法

観察に供したヒメダカは動物商より購入し、研究室内で約1カ月飼育した雌成魚である。飼育水は地下水を用い、水温は 21°C から 25°C に保った。餌料にはイトミミズを1日おきに与えた。このヒメダカを給餌100分後に取りあげて消化管を摘出し、食道部分を除いた前半部を試料とした。

光顕用標本の固定液には Bouin 液、10% フォルマリン液、5% クロム酸塩水溶液を用いた。試料は常法に従ってパラフィン切片とし、Masson-Fontana の銀親和性反応 (Fontana, 1926; Masson, 1928)、クロム親性反応 (Hillarp and Hökfelt, 1955)、鉛ヘマトキシリン染色 (Solcia et al., 1969) を行った。

電顕用標本は前固定に 2% paraformaldehyde と 2.5% glutaraldehyde の混合液を、後固定に 1% オスマニウム酸水溶液を用いた。Buffer は cacodylate buffer (pH 7.4) を使用した。試料は通常の方法により水洗、脱水を行い、Epon 812 と Epon 815 の混合液で包埋した。薄切した切片は酢酸ウラニュームと鉛の二重染色を施し、HS-8 型電子顕微鏡で観察した。

観察結果

光学顕微鏡による観察 メダカは無胃魚であるとされている。食道部を除いた消化管上半部の観察によると、消化管内分泌細胞は粘膜上皮の円柱上皮細胞の間に単独で散在している (Fig. 1)。

内分泌細胞の形は一般に円柱状ないしフラスコ状で、基底部は基底膜に接している。細胞上部は消化管腔に向かい、その頂端が消化管腔に達しているものもある。核は円形ないし橢円形で、基底側に偏在していることが多い。核内には通常1個の核小体がある。

消化管内分泌細胞は Solcia の鉛ヘマトキシリン染色に陽性であるが、Masson-Fontana の銀親和性反応や Hillarp-Hökfelt のクロム親性反応には陰性である。

電子顕微鏡による観察 光顕での観察と同様に、内分泌細胞の頂端が消化管腔にまで達して開口しているとみられるものも観察された。その開口面には微絨毛があり、形状は円柱上皮細胞のそれとよく似ている。隣接する円柱上皮細胞との間にはデスマゾームが形成されてい



Fig. 1. Photomicrograph of the intestinal mucous epithelium of *Oryzias latipes*. Lead-hematoxylin positive cells (arrows) are seen between columnar cells. $\times 1,400$.



Fig. 2. Apical part of a type-V cell opening to the lumen equipped with microvilli (Mv). D, desmosome; Sg, secretory granules. $\times 10,000$.

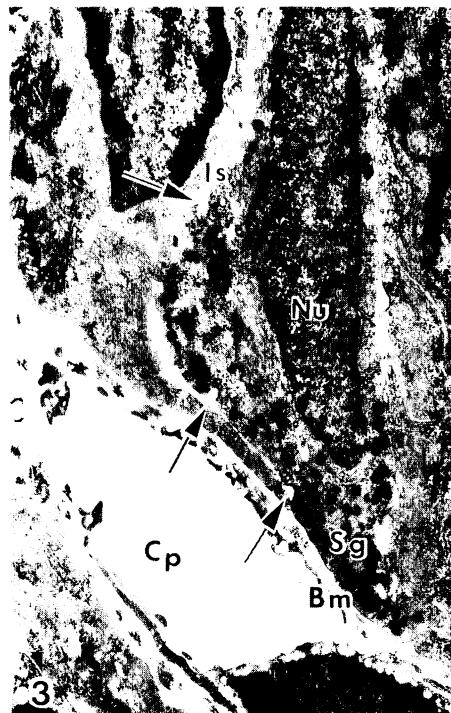


Fig. 3. An endocrine cell (Type V) in the intestinal mucous epithelium. The cell connects with the basement membrane (Bm). The cell membrane facing the intercellular space (Is) forms the Ω -shaped invagination (arrows). Cp, capillary; Nu, nucleus; Sg, secretory granules. $\times 14,000$.

る。内分泌細胞の頂端部の細胞質内には分泌顆粒や細胞内小器官は認められない (Fig. 2)。

内分泌細胞と隣接する円柱上皮細胞との間には明瞭な細胞隙がつくれられていることがあり、この間隙に面した細胞膜にはしばしば Ω 状の陷入部が観察される (Fig. 3)。

内分泌細胞の基底部は粘膜上皮の基底膜に接している。その部位の細胞膜にも前述した Ω 状の陷入部がしばしばみられる。内分泌細胞直下の粘膜固有層には毛細血管が存在することが多い (Fig. 3)。

内分泌細胞の核はほぼ円形ないし橢円形を呈し、核内には通常 1 個の核小体が存在する。

核側部から核上部にかけて多數の粗面小胞体が存在しており、層状をなしていることが多い。粗面小胞体の附近には 1 ないし 2 個のゴルジ装置が認められる (Fig. 4)。ゴルジ装置はゴルジ層板、ゴルジ空胞、ゴルジ小胞などの構造から成り、形成途上と思われる分泌顆粒が認



Fig. 4. A type-V cell. Bm, basement membrane; Er, rough endoplasmic reticulum; G, Golgi apparatus; Ly, lysosome; M, mitochondria; Mb, multivesicular body; Nu, nucleus; Sg, secretory granules. $\times 13,000$.

められることがある (Fig. 5). ミトコンドリアは細胞質内全体にわたって存在するが、基底部に多い傾向がある。ミトコンドリアは円形ないし長円形のものが普通であり、しばしばミトコンドリア内顆粒がみられる。細胞質内には数個の大型 (500~1000 nm) の電子密度の高いライソゾームが存在している。また、多胞体と思われる微小胞を多数含んだ空胞が観察されることがある (Fig. 4).

細胞質内には多数の分泌顆粒が存在しており、特に細胞基底部の方に多数集合している (Fig. 3)。分泌顆粒は一重の限界膜に囲まれ、中の内容物との間にはわずかな間隙が認められる。顆粒の電子密度は中ないし高程度であり、また形状も多様である (Fig. 6)。

メダカの消化管粘膜上皮内に検出された内分泌細胞は形態的特徴により次の 5 型に分けることができる。

I 型細胞 (Fig. 6A): 腸の始部と中部に存在する。分



Fig. 5. A Golgi area of a type-V cell. The secretory material (arrow) is seen in the Golgi cistern. Er, rough endoplasmic reticulum; La, Golgi lamellae; Sg, secretory granules; Va, Golgi vacuole; Ve, Golgi vesicle. $\times 40,000$.

泌顆粒は卵円形ないし橢円形で、電子密度は高い。顆粒の直径は 200~300 nm で、限界膜と内容物との区別はあまり明瞭でない。

II 型細胞 (Fig. 6B): 腸の始部と中部に存在する。分泌顆粒は正円形に近く、電子密度は高い。顆粒の直径は 120~170 nm で、限界膜と内容物との境界は明瞭、境界の間隙は均一である。

III 型細胞 (Fig. 6C): 腸始部に存在する。分泌顆粒は橢円形で、電子密度は高く、直径は 100~150 nm である。顆粒数は他の型の細胞に比べ非常に少ない。

IV 型細胞 (Fig. 6D): 腸の中部に存在する。分泌顆粒は円形ないし橢円形で、電子密度は中程度である。顆粒の直径は 150~200 nm で、内容物の輪郭ははっきりしない。この型の細胞は消化管内腔に開口している。

V 型細胞 (Figs. 2, 3, 4, 5, 6E): 腸の始部と中部に存在する。分泌顆粒は円形ないし橢円形で、電子密度は高く、直径は 150~200 nm である。限界膜と内容物との区別は比較的明瞭である。この型の細胞も消化管内腔に開口している。

考 察

消化管内分泌細胞の微細構造、分泌顆粒の形成・放出機構、顆粒の化学的組成や産生ホルモンは最近にわかつに注目を集め、その本質は次第に明らかにされてきている

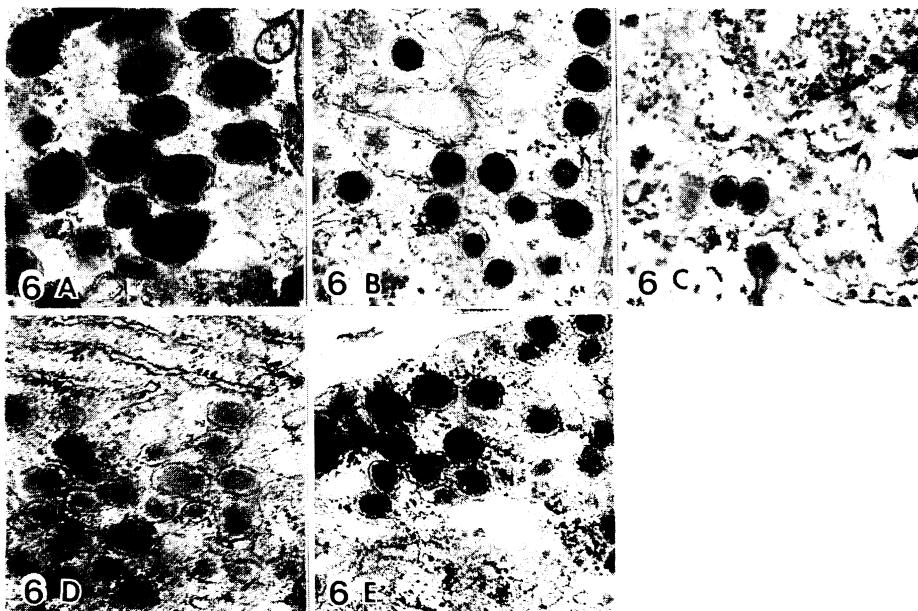


Fig. 6. Secretory granules of the endocrine cells. A, a type-I cell; B, a type-II cell; C, a type-III cell; D, a type-IV cell; E, a type-V cell. $\times 40,000$.

(Fujita, 1973, 1976; Solcia et al., 1975; Fujita and and Kobayashi, 1977). これらの成果はいずれも哺乳動物でなされ、特に下等脊椎動物に関する知見は乏しい。しかし下等脊椎動物の消化管内分泌細胞は形態的には高等脊椎動物のそれと多くの類似性をもち、系統的には相同意で、同様な役割を持つものと推察される。

メダカの消化管にみられる内分泌細胞は基本的な形態においては他種の細胞と多くの共通性があり、系統的には相同であると思われる。しかし、形態的には哺乳類 (Solcia et al., 1967; Forssmann et al., 1969; Vassallo et al., 1969, 1971; Kobayashi et al., 1970; Pearse et al., 1970), 鳥類 (Toner, 1964; Larsson et al., 1974; Yamada et al., 1978), 両生類 (Kataoka, 1973) の消化管内分泌細胞とは異なった特徴を示している。

哺乳類や鳥類の消化管内分泌細胞はクロム親和性反応や銀親和性反応に陽性を示す場合が多い (Solcia et al., 1967; Vassallo et al., 1969, 1971; Larsson et al., 1974; Yamada et al., 1978) が、メダカの消化管内分泌細胞はこれらの反応に対して陰性であった。

メダカの消化管内分泌細胞の分布状態は非常に低密度で、ヒト (Vassallo et al., 1969; Kobayashi et al., 1970) やウズラ (Yamada et al., 1978) で記載されているような集合状態はみられなかった。

消化管内分泌細胞は消化管腔への開口の有無により開放型と閉鎖型に分けられている (Fujita and Kobayashi, 1977)。ヒト (Kobayashi et al., 1970; Pearse et al., 1970), ラット (Forssmann et al., 1969), ウズラ (Yamada et al., 1978), トノサマガエル (Kataoka, 1973) では開放型が多く閉鎖型は少ない。メダカでは二つの型 (IV型, V型) の開口が確認されたが、他の型 (I型, II型, III型) においても細胞頂端が内腔近くまで伸びているものがあり、開口している可能性も推定される。

Kataoka (1973) はトノサマガエルの消化管で 10 型の、Yamada et al. (1978) はウズラの幽門領域で 5 型の消化管内分泌細胞を分類し、他動物種の細胞型と相似した細胞型を認めている。メダカにおいては他動物種の消化管内分泌細胞と対応するような型の細胞は認め得なかつた。

顆粒の分泌形式は基底膜や側壁の細胞膜にみられるΩ状の陷入部の存在から推察して開口放出が予想されるが、今回の観察では開口放出を直接証明するような像は得られなかつた。

謝 辞

本稿を校閲いただいた千葉大学理学部山本芳弘助教授にお礼申し上げる。

引 用 文 献

- Barrington, E. J. W. and G. J. Dockray. 1972. Cholecystokinin-Pancreozymin-like activity in the eel (*Anguilla anguilla* L.). *Gen. Comp. Endocrinol.*, 19: 80~87, figs. 1~7.
- Bevis, P. J. R. and M. C. Thorndyke. 1978. Endocrine cells in the oesophagus of the ascidian *Styela clava*, a cytochemical and immunofluorescence study. *Cell Tissue Res.*, 187: 153~158, fig. 1.
- Bevis, P. J. R. and M. C. Thorndyke. 1979. A cytochemical and immunofluorescence study of endocrine cells in the gut of the ascidian *Styela clava*. *Cell Tissue Res.*, 199: 139~144, fig. 1.
- Dockray, G. J. 1974. Extraction of a secretinlike factor from the intestines of pike (*Esox lucius*). *Gen. Comp. Endocrinol.*, 23: 340~347, figs. 1~5.
- Dockray, G. J. 1975. Comparative studies on secretin. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 25: 203~210, figs. 1~5.
- Fontana, A. 1926. Über die Silberdarstellung des Treponema pallidum und anderer Mikroorganismen in Ausstrichen. *Derm. Z.*, 46: 291~293.
- Forssmann, W. G., L. Orci, R. Pictet, A. E. Renold and C. Rouiller. 1969. The endocrine cells in the epithelium of the gastrointestinal mucosa of the rat. An electron microscope study. *J. Cell Biol.*, 40: 692~715, figs. 1~16.
- Fujita, T. 1973. Gastro-entero-pancreatic endocrine system. Igaku Shoin Ltd., Tokyo, x+195 pp., 110 figs.
- Fujita, T. 1976. Endocrine gut and pancreas. Elsevier Scientific Publishing Co., Amsterdam, xiv+411 pp., 272 figs.
- Fujita, T. and S. Kobayashi. 1977. Structure and function of gut endocrine cells. *Intn. Rev. Cytol. Suppl.*, 6: 187~233, figs. 1~17.
- Hillarp, N.-Å. and B. Hökfelt. 1955. Histochemical demonstration of noradrenaline and adrenaline in the adrenal medulla. *J. Histochem. Cytochem.*, 3: 1~5, figs. 1~3.
- Kataoka, K. 1973. An electron microscope study of the gastro-enteric endocrine cells of the frog, *Rana nigromaculata nigromaculata*. In T. Fujita, ed.: Gastro-entero-pancreatic endocrine system. Igaku Shoin Ltd., Tokyo, pp. 39~48, figs. 1~6.

- Kataoka, K. and H. Fujita. 1974. The occurrence of endocrine cells in the intestine of the lancelet, *Branchiostoma japonicum*. An electron microscope study. Arch. Histol. Japon., 36(5): 401~406, figs. 1~4.
- Kobayashi, S., T. Fujita and T. Sasagawa. 1970. The endocrine cells of human duodenal mucosa. An electron microscope study. Arch. Histol. Japon., 31(3): 477~494, figs. 1~15.
- Larsson, L.-I., F. Sundler, R. Håkanson, J. F. Rehfeld and F. Stadil. 1974. Distribution and properties of gastrin cells in the gastrointestinal tract of chicken. Cell Tissue Res., 154: 409~421, figs. 1~7.
- Masson, P. 1928. Carcinoids (argentaffin-cell tumors) and nerve hyperplasia of the appendicular mucosa. Amer. J. Path. 4: 181~212, figs. 1~32.
- Noorden, S. V., J. Greenberg and A. G. E. Pearse. 1972. Cytochemical and immunofluorescence investigations on polypeptide hormone localization in the pancreas and gut of the larval lamprey. Gen. Comp. Endocrinol., 19: 192~199, figs. 1~6.
- Noorden, S. V. and A. G. E. Pearse. 1974. Immunoreactive polypeptide hormones in the pancreas and gut of the lamprey. Gen. Comp. Endocrinol., 23: 311~324, figs. 1~10.
- Östberg, Y., S. V. Noorden, A. G. E. Pearse, and N. W. Thomas. 1976. Cytochemical, immunofluorescence, and ultrastructural investigations on polypeptide hormone containing cells in the intestinal mucosa of a cyclostome, *Myxine glutinosa*. Gen. Comp. Endocrinol., 28: 213~227, figs. 1~9.
- Pearse, A. G. E., I. Coulling, B. Weavers, and S. Friesen. 1970. The endocrine polypeptide cells of the human stomach, duodenum, and jejunum. Gut, 11: 649~658, figs. 1~17.
- Rombout, J. H. W. M. 1977. Enteroendocrine cells in the digestive tract of *Barbus conchonius* (Teleostei, Cyprinidae). Cell Tissue Res., 185: 435~450, figs. 1~9.
- Solcia, E., C. Capella and G. Vassallo. 1969. Lead-haematoxylin as a stain for endocrine cells. Histochemie, 20: 116~126, figs. 1~8.
- Solcia, E., C. Capella, G. Vassallo and R. Buffa. 1975. Endocrine cells of the gastric mucosa. Intn. Rev. Cytol., 42: 223~286, figs. 1~48.
- Solcia, E., G. Vassallo and R. Sampietro. 1967. Endocrine cells in the antro-pyloric mucosa of the stomach. Z. Zellforsch., 81: 474~486, figs. 1~11.
- Thorndyke, M. C. and P. J. R. Bevis. 1978. Endocrine cells in the gut of the ascidian *Styela clava*. Cell Tissue Res., 187: 159~165, figs. 1~3.
- Toner, P. G. 1964. Fine structure of argyrophil and argentaffin cells in the gasstro-intestinal tract of the fowl. Z. Zellforsch., 63: 830~839, figs. 1~9.
- Vassallo, G., C. Capella and E. Solcia. 1971. Endocrine cells of the human gastric mucosa. Z. Zellforsch., 118: 49~67, figs. 1~12.
- Vassallo, G., E. Solcia and C. Capella. 1969. Light and electron microscopic identification of several types of endocrine cells in the gastro-intestinal mucosa of the cat. Z. Zellforsch., 98: 333~356, figs. 1~19.
- Yamada, J., T. Kayamori, T. Okamoto, T. Yamashita and M. Misu. 1978. Endocrine cells in the pyloric region of the Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*). Arch. Histol. Japon., 41(1): 41~52, figs. 1~8.

(272 市川市菅野 4-18-7 東京歯科大学進学課程生物学教室)