



Title	ポブラハバチの脂肪細胞：形態と尿酸の蓄積について
Author(s)	丹野, 皓三; TANN0, Kouzou
Citation	低温科学. 生物篇, 23, 37-45
Issue Date	1965-12-01
Doc URL	<a href="https://hdl.handle.net/2115/17693">https://hdl.handle.net/2115/17693</a>
Type	departmental bulletin paper
File Information	23_p37-45.pdf



## ポプラハバチの脂肪細胞\*

形態と尿酸の蓄積について

丹野 皓三

(低温科学研究所 生物学部門)

(昭和40年7月受理)

### I. 緒言

昆虫の変態にともなう代謝において、その脂肪細胞がはたす役割は非常に大きい<sup>1)</sup>。従来昆虫の脂肪体は体壁に接近した体壁層と消化管をとりまく内臓層との二層に区別されていた<sup>2)</sup>。しかしこれらの二層の脂肪体を構成する脂肪細胞に形態的な又は機能的な差があるかどうかについてはほとんど知られていない。たまたまポプラハバチの脂肪細胞を観察したところ、光学的異方性を示す粒子を含んでいることをみつけた。この粒子は内臓層の細胞だけにあり、体壁層の脂肪細胞にはまったく含まれていない。この粒子の成分とこれらの細胞の形体について報告する。

### II. 材料と方法

**材料：**1964年秋に採集したポプラハバチ *Trichiocampus populi* Okamoto の前蛹を外気とほぼ同じ温度条件の飼育室に保存しておき、翌年1月から6月までの間に実験に用いた。

**脂肪細胞の摘出：**パラフィンを流しこんだ解剖皿の上に虫体を針で固定し、背面を頭部から尾部まで縦に切り開き10倍の解剖顕微鏡の下でそれぞれの層の脂肪細胞を分けて摘出した。脂肪細胞と他の器官との相対的な位置関係を知るために虫の腹面から或は側面からも切り開いて観察した。

**凍結切片：**虫を液体窒素の中に常温から急速につけて凍結させた。これをごく少量のアニリンで木のブロックに固着させ、 $-15^{\circ}\text{C}$ の低温室内で廻転式マイクロームを用いて厚さ $10\sim 20\mu$ の切片にした。時には $5\mu$ の切片も得られた。スライドガラスの上に切片を受けて、カバーガラスをかけないで観察した。さらに $-15^{\circ}\text{C}$ の低温室内に放置し、氷を昇華させた。このようにして得た切片を直接或は20%ホルマリナルアルコール溶液で固定後スダンブラックで染色して $-15^{\circ}\text{C}$ の低温室内で観察した。

**パラフィン切片：**Genderの固定液で虫体を2日間固定し、アルコールで脱水し、キシロールを通してパラフィンに埋没させた。これをマイクロームで $5\mu$ の厚さに切った。

**光学的異方性を示す粒子の摘出：**10匹の虫体から摘出した内臓層の脂肪体を6mlのエ

\* 北海道大学低温科学研究所業績 第732号

ーテルで10分間4回上清液をすてて洗うと細胞は透明になる。これを6mlの100%エタノールで10分間3回上清液をすてて洗うと細胞は非常に固くなる。これをガラス棒の先で軽くたたくと細胞はこわれて小さな断片になり、エタノールを加えると懸濁する。これらの処理のあいだ細胞の持っている強い光学的異方性を示す粒子がエタノールとエーテルにまったく溶解せず最後の懸濁液に集まる事を偏光顕微鏡で確かめた。

**尿酸の定性：** 上にのべた方法で10匹分の体壁層脂肪体から得たアルコール懸濁液を400gで10分間遠沈した。この残渣を6mlの蒸留水に溶解し遠沈させ上清を得た。この上清1mlに3mlのbufferを加えてそれぞれpH2(HCl-KCl buffer)及びpH7(phosphate buffer)の溶液をつくり、短波長での吸収<sup>3)</sup>を見た。内臓層の場合は尿酸が多いので体壁層にくらべて約200倍の蒸留水で稀釈して用いた。

### III. 結 果

#### 1. 脂肪細胞の形態

##### A. 内臓層脂肪細胞と体壁層脂肪細胞

前蛹を背面から切り開いて反射光で観察すると白い粒子をたくさん持った細胞群が消化管を層状にとりまいている。この白い粒子は胞状をした膜の中に尿酸の球晶がたくさんつまったものであることが後に明らかにされたので以下これを尿酸球晶胞と呼ぶ。この細胞群を針で虫体から注意深く切りはなし、カイコの生理的食塩水の中に移すと時計皿の底に一層の細胞層となって並ぶ。これを透過光線で観察すると、反射光で白色に見えていた尿酸球晶は細胞の中の他の粒子より光を通さないの黒く見える。又となりあつた細胞が平面的にたがいに連絡しあっているのがわかる(図版I-1)。この細胞をスライドグラスに取り、カバーグラスをかけて細胞を少し扁平にしてみると、細胞間の連絡はよりはつきりとわかる(図版I-3)。この同じ細胞を十字ニコルで観察すると、上記の粒子が強い光学的異方性を示して黄色に見える(図版I-4)。

この脂肪細胞群の他に、尿酸球晶胞をまったく持っていない脂肪細胞群が体壁にそって存在している。そしてやはり細胞どうしが平面的な連絡をしている(図版I-2)。この2種類の脂肪細胞をもう少しくわしく観察した結果を第1表に示した。この表で明らかのように、これらの脂肪細胞はその色調や大きさ又1個体の幼虫に含まれる重量でも異なっている。細胞の色調はそれが含んでいる油滴の色である。

##### B. 細胞膜

次に倍率をあげて観察したところ、尿酸球晶胞は細胞の表面だけにあり、これは非常に小さい尿酸の球晶の集合で、胞状の膜の中に入っている事がわかった。この胞状をした膜は半透性を持っているらしく、水を加えるとふくらむ。その中には光学的異方性を示さない非常に小さなブラウン運動をする粒子も多数みられる。

内臓層脂肪細胞をカバーグラスとスライドグラスにはさみろ紙で少しづつ媒液をすいとつていくと細胞は扁平になり、やがて細胞全体を包んでいる外膜が原形質膜から遊離して来る。その様子は植物細胞の凹型原形質分離に似ていて、細胞が原形質糸で外膜に固着していること

第1表 内蔵層と体壁層との脂肪細胞の比較

	内蔵層脂肪細胞	体壁層脂肪細胞
細胞の色調	黄色	橙色
細胞の直径	200~250 $\mu$ (100ケの平均値 230 $\mu$ )	150~200 $\mu$ (100ケの平均値 170 $\mu$ )
尿酸球晶胞の数 (一個の細胞あたり)	0*~27 (100ケの平均値 22)	0
細胞連絡の数 (一個の細胞あたり)	1~6 (100ケの平均値 5弱)	1~6 (100ケの平均値 5弱)
細胞数 (一個体あたり)	2,500~3,000	2,500~3,000
生重量 (%) (生体重あたり)	22.7 (10匹の平均値)	10.5 (10匹の平均値)

\* 内蔵層の脂肪体に属し、尿酸球晶胞を1ケも含んでいない細胞は腹部神経節に近い所に極在していて、その数は全体の1%弱である

がわかる。特に尿酸球晶胞は外膜と強く固着している (図版 IV-13)。口紙で媒液をより早くすいとると、原形質糸が切れて油滴が細胞から少し流出して外膜との間に集まる。このような条件でも尿酸球晶胞は外膜から離れない (図版 IV-14)。尿酸球晶胞を持っていない体壁層の脂肪細胞も上に述べたような外膜を持っている。

### C. 細胞連絡

細胞連絡の部分を観察すると、外膜で出来ている連絡部分の中に非常に細い原形質連絡らしいものがみられる (図版 IV-13)。脂肪細胞をカバーガラスとスライドガラスの間にはさみ急速に偏平にすると原形質膜が破れて油滴が連絡部を通過して隣りの細胞へ移行する (図版 II-5, 6)。このように連絡部分を物質が通過出来ることはわかった。次に10  $\mu$ の厚さの凍結切片を作り観察した (図版 II-7, 8)。その結果この部分に氷が形成されており、従って水の連絡があった事実は明らかであるが、原形質連絡らしい部分に水があったかどうか判断出来なかった。

### D. 細胞の内部構造

まず内蔵層脂肪の凍結切片を観察すると、前に述べた尿酸球晶胞が細胞の表面にしかないことがよくわかる。細胞の内部には油滴と、その間を密にうめている微粒子が見られる (図版 IV-9)。これをスダンプラックで染色すると油滴は黒く染まるが、尿酸球晶胞内にある尿酸の球晶や細胞の中の微粒子はまったく染まらない (図版 III-10, 11)。次にパラフィン切片を染色したものを観察すると、油滴のあった部分はぬけて中空になっているが、その穴から判断して油滴は細胞の表面で大きくなり集まる傾向を示している。尿酸球晶胞内部の尿酸の球晶もぬけて中空になっている (図版 III-12)。パラフィン切片を脱パラフィンしただけで染色せずに観察すると、尿酸の球晶は小さくなっているが残っているのが見られる。

体壁層脂肪細胞の内部形態は尿酸球晶胞を持っていない点をのぞけば上記の内臓層脂肪細胞と同じであった。

## 2. 脂肪体と他の器官との位置関係

解剖および切片での観察 (図版 IV-15, V-16, 17, 18, 19) から、脂肪体と他の器官との位置関係を模式的に第1図に示した。

### A. 内臓層脂肪体

消化管をとりまいている内臓層脂肪体は細胞連絡によって網目状に連った頭部から尾部へわたる1枚のシートでできており、これが虫の縦方向に折りたたまれて、背隔膜と腹隔膜とで包まれた体腔の中におさめられている。その外側を筋組織が包んでいる。消化管に接している脂肪細胞はその壁に密に接しているが癒着はしていない (図版 V-16, 17)。腹部神経節の近くにある内臓層脂肪体の細胞連絡は他の部分にくらべてまばらである。この事は各体節の境界で特に著しく、ここでは左右の内臓層脂肪細胞が連絡していない。又この部分の細胞は尿酸球晶胞を少ししか含んでおらず、1ケも持っていないものも1%弱あった。

### B. 体壁層脂肪体

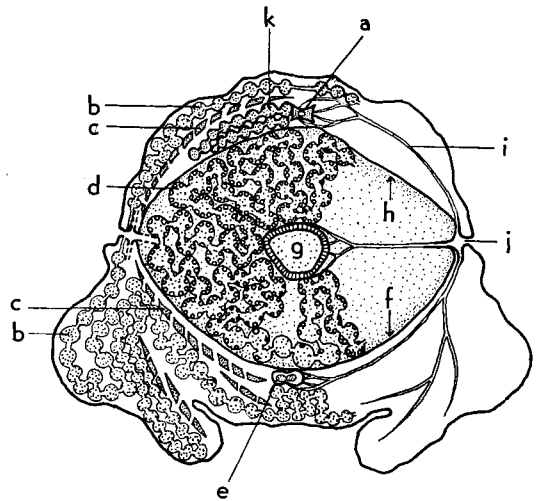
これもやはり平面的な細胞連絡によって出来た頭部から尾部へわたる1枚の細胞層であり体壁の上皮細胞にかなり強く密着している (図版 V-19)。又腹部神経にそってその下部に体壁層脂肪細胞の密集した部分がみられる (図版 V-18)。心臓の上部と気門の近く及び腹部神経の下部への側面からの移行部分にある細胞では、その細胞連絡がまばらである。特に各体節の境界では虫の横方向にむいた細胞の連絡がとぎれている。

## 3. 昆虫の変態にともなう脂肪細胞の変化

内臓層脂肪細胞だけにみられた尿酸球晶胞は摂食終了終齢幼虫以後成虫期に至るまでみとめられた。定量はしなかったがその量は変態にともなってほとんど変化しないようであった。

6月の中旬になって蛹化直前になると、体壁層の脂肪細胞は急速に小さくなるが、内臓層の脂肪細胞は前蛹の時期のものに比べてほとんど変化しない。しかし脂肪細胞を摘出してスライドグラスとカバーグラスの間にはさんで観察すると、越冬期の前蛹の場合のように外膜から原形質膜を分離させることは出来なかった。

蛹化すると体壁層の脂肪細胞は成虫になるまでの約10日間のうちにますます小さくなるのに対して、内臓層の脂肪細胞はこの時期に縮少しはじめるがそれほど小さくならず成虫にな



第1図 脂肪細胞と他の器官との位置関係

- a: 心臓 b: 体壁層脂肪細胞
- c: 筋組織 d: 内臓層脂肪細胞
- e: 腹部神経節 f: 腹隔膜
- g: 消化管 h: 背隔膜
- i: 気管 j: 気門 k: 囲心細胞

っても前蛹の時期の 2/3 ほどの直径を持っている。しかしもともと内臓層は虫 1 匹あたりの生重量で体壁層の約 2 倍であるから、成虫になるまでに失った量はちょうど体壁の全脂肪体量に匹敵するほどである。

#### 4. 光学的異方性を示す粒子の定性

ここでは尿酸球晶胞の内部にみられる光学的異方性を示す粒子が尿酸の球晶である事実についてのべる。

内臓層脂肪細胞の凍結切片を観察すると細胞の表面に直径  $50\mu$  ほどの尿酸球晶胞がみられ、その中を直径  $15\mu$  以下の光学的異方性を示す粒子が満たしている (図版 VI-20, 21)。この粒子をはじき出して十字ニコルでみると、十字型に暗黒部分が見られる (図版 VI-24, 25)。この暗黒部は偏光顕微鏡のニコルの方向に一致していて、粒子をころがしたり廻転載物机を廻転させても変化しない。同一の粒子をポーラライザーだけで (図版 VI-22) 或はアナライザーだけで (図版 VI-23) 検鏡すると粒子の中心部をのぞきそれぞれのニコルに平行した部分が暗くなる。この事実から考えてこの粒子はその構成物質が同心球面的に排列している球晶である。

さてこの粒子を 100% エタノールの中に抽出し (図版 VI-25) これに水を加えて放置しておくところの粒子は小さくなり、そのかわり結晶が現われて来る。そしてやがて全部結晶になってしまう (図版 VI-26)。

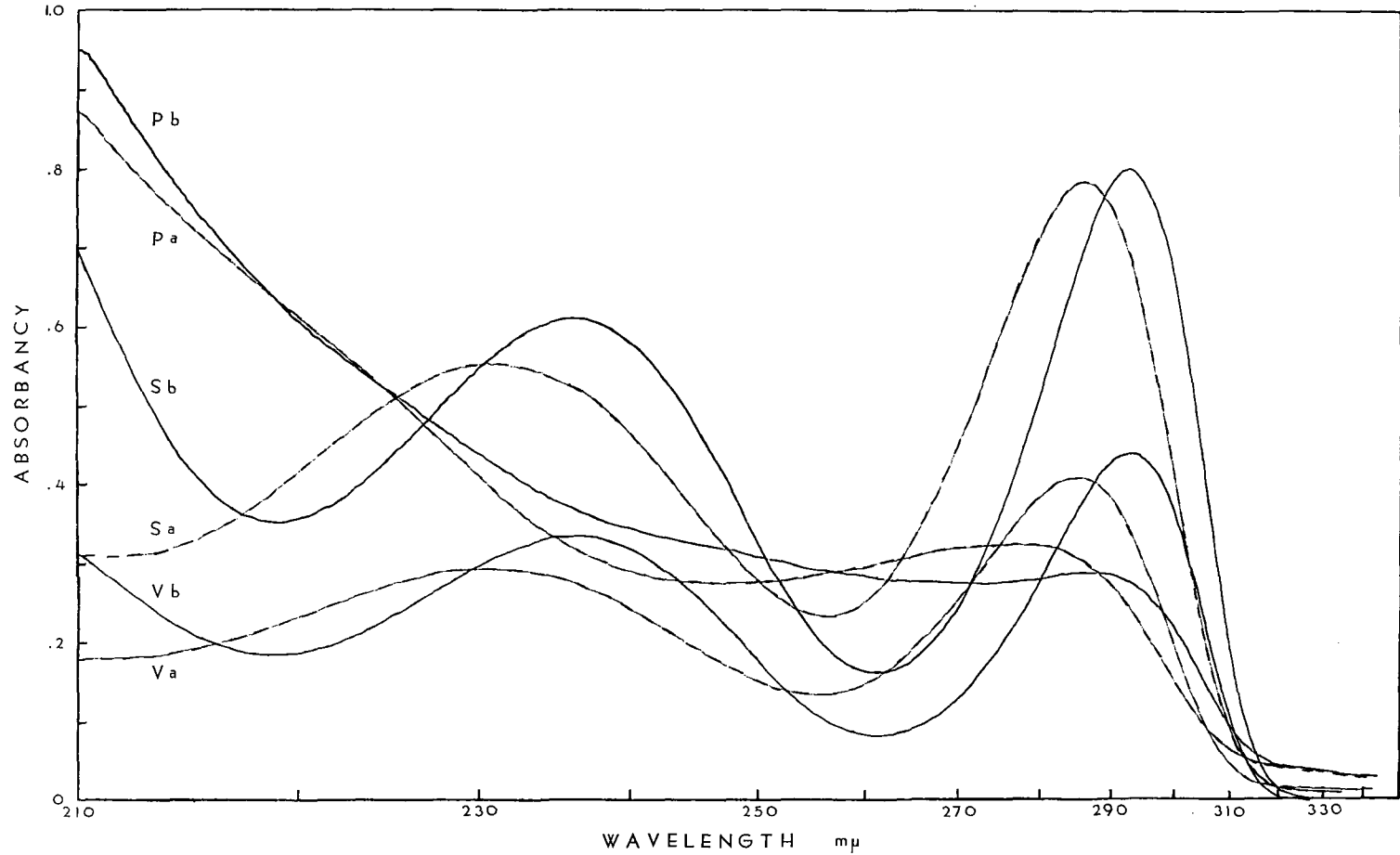
この結晶を含む液を多量の蒸留水に稀釈して、短波長での吸収を見た (第 2 図)。これによると、この結晶つまり光学的異方性を示していた球晶は尿酸である事が明らかになった。一方体壁層の脂肪細胞からの同様にして得た抽出液を内臓層の場合の約 200 倍の濃度にしてみたが、他の物質が混じっていて尿酸特有の吸収曲線は得られなかった。しかし 200 倍の濃度にしてみても  $290\text{ m}\mu$  近くの吸収がそれほど高くない事から考えて、内臓層にくらべれば尿酸の含有量は問題にならないであろう。

## IV. 考 察

昆虫の種類によってその脂肪細胞の体内での配列は種々である。Buys (1924) は昆虫の各目にわたりその脂肪体の排列及び内部構造を観察した。それによるとまず昆虫の脂肪体の配列のしかたは大別して二つに分けられる。ひとつは細胞の境界が完全でないものであり、もうひとつは細胞の境界がある場合である<sup>4)</sup>。膜翅類は後者に属しており、この点ポプラハバチの場合も例外ではない。同じく Buys は脂肪細胞の内部も観察しているが、組織をパラフィン切片にしてエオジンヘマトキシリンで染色したものを観察している。そのために本文に示したように尿酸の球晶はほとんど流れてしまい尿酸粒子の細胞内での分布に関してはっきりした傾向をつかめなかったのではなからうか。

昆虫の内臓層脂肪細胞と体壁層脂肪細胞とを外観から区別する事は普通むずかしい。しかし双翅類の *Thaumalea vernali* のように一部の体壁層脂肪細胞だけに特別な色素粒がみられるものもある<sup>5)</sup>。

Fabre (1856) は *Sphex* の特別な脂肪細胞に、ムレキシド反応を示す粒子を見つけた<sup>6)</sup>。



第2図 細胞抽出液の吸収曲線

Pa: 体壁層脂肪細胞の抽出液 pH 2    Va: 内臓層脂肪細胞の抽出液 pH 2    Sa: 尿酸の水溶液 pH 2  
 Pb: 同 pH 7    Vb: 同 pH 7    Sb: 同 pH 7

注: 内臓層脂肪細胞の抽出液の希釈度は体壁層脂肪細胞のその約 200 倍である

Marchal (1889) はこの粒子は albuminoides を中心に含んだ尿酸の球形の結晶であることを見いだした。その後この粒子は種々の昆虫の脂肪細胞に見い出されたが<sup>9)</sup>、本実験に用いたポプラハバチのように内臓層脂肪細胞だけに局現している事実は知られていない。又尿酸の球晶が、本文中で尿酸球晶胞と名づけた胞状をした構造の中におさめられていることもみつけられていない。

Wigglesworth (1942) は *Aedes aegypti* の幼虫を絶食させると脂肪細胞の中に尿酸の結晶が出来る事を見いだした<sup>7)</sup>。しかしその尿酸の量から考えてこれが脂肪細胞の蛋白質やアミノ酸だけから由来したとするには多すぎたので尿酸は他のどこかで作られて脂肪細胞に蓄積する考えた。その後 Anderson (1955)<sup>8)</sup> や McEnroe 等 (1957)<sup>9)</sup> により <sup>14</sup>C-formate を *Periplaneta americana* に注射する実験で、脂肪細胞が尿酸の合成系を持っており同時に蓄積の場である事実が明らかにされた。この事からポプラハバチの内臓層と体壁層の脂肪細胞は形態的な点で異なるばかりでなく、少なくとも尿酸の合成系に関しては機能的な点でちがいがあろうと推測される。

## VI. 摘 要

ポプラハバチの前蛹を使って脂肪細胞の形態を観察した。

多くの昆虫にみられるように本種も内臓層脂肪細胞と体壁層脂肪細胞を持っている。これら2種の脂肪細胞の間には色調、大きさ、量等の点で違いがあった。特に尿酸の球晶が内臓層脂肪細胞だけに含まれている事実は顕著である。この尿酸の球晶は内臓層脂肪細胞の表面にある胞状をした構造の中につめられており、摂食終了終齢幼虫期以後成虫になるまでのどの時期にも同程度にみとめられる。この尿酸を含んだ構造を尿酸球晶胞と命名した。又この2種類の脂肪細胞が変態にもなって使われる時期にも違いがあり、蛹化する時期に体壁層脂肪体が使われるのに対して内臓層脂肪体は蛹から成虫になる過程で使われる。

終りにこの報告にあたり、方法の点で教えて頂いた竹原一郎氏に厚く御礼申し上げる。御校閲下さった朝比奈教授に感謝する。

## 文 献

- 1) Kilby, B. A. 1963 The biochemistry of the insect fat body. *In* Advances in Insect Physiology I. (Beament, J. W. L., Treherne, J. E. and Wigglesworth, V. B., eds.) Acad. Press Lond. 111-174.
- 2) Imms, A. D. 1934 A General Textbook of Entomology, Methuen & Co. LTD. London. pp. 727.
- 3) Waldo, E. C., 1957 Methods of isolation and characterization of mono and polynucleotides by ion exchange chromatography. *In* Method in Enzymology, **3**. (Colowick, S. P. and Kaplan, N. O., eds.) Acad. Press. N. Y., 738-740.
- 4) Buys, K. S. 1924 Adipose tissue in insects. *J. Morph.*, **38**, 485-527.
- 5) Hinton, H. E. 1958 On the nature and metamorphosis of the colour pattern of *Thaumalea* (Diptera, Thaumaleidae). *J. ins. Physiol.*, **2**, 249-260.
- 6) Hollande, A. C. 1914 Formations endogènes des cristalloïdes albuminoides et des urates des

- cellules adipeuses des chenilles de *Vanessa io* et *Vanessa urticae*. Arch. Zool., **53**, 559-578.
- 7) Wigglesworth, V. B. 1942 The storage of protein, fat, glycogen and uric acid in the fat body and other tissues of mosquito larvae. J. exp. Biol., **19**, 56-77.
  - 8) Anderson, A. D. and Patton, R. L. 1955 In vitro studies of uric acid synthesis in insects. J. exp. Zool., **128**, 443-451.
  - 9) McEnroe, W. D. and Forgash, A. J. 1957 The *in vivo* incorporation of C<sup>14</sup> formate in the ureide groups of uric acid by *Periplaneta americana* L. Ann. ent. Soc. Amer., **50**, 429-431.

### Summary

The morphological structure of the fat-cells in the overwintering prepupa of the poplar sawfly, *Trichiocampus populi* Okamoto, was observed.

The prepupa, as many other insects, has two kinds of fat-bodies. The one is a parietal layer, and the other is a visceral layer. Both of these layers consist of fat-cells, both about 2,700 in number. Fat-cells are connected by fine canals with each other, arranged continuously from the anterior to the posterior end in the body cavity as a longitudinally folded thin sheet (Fig. 1).

There were some differences between these two kinds of fat-bodies, especially in the deposit of uric acid. The fat-cells of the visceral layer are yellow colored spheres which are about 230  $\mu$  in diameter. There are many sac-like structures, about 22 in number, at the surface of each fat-cell. Each structure is covered with a semi-permeable membrane, and is filled with many particles of uric acid. These particles are spherulites. When the spherulites are immersed in distilled water, they change into crystals of uric acid. During metamorphosis in the insect, these fat-cells begin to decrease in size at the pupal stage, while the spherulites of uric acid in these cells do not change either in size or in number during the stages from full grown larva to imago.

The fat-cells of the parietal layer are orange colored spheres which are about 170  $\mu$  in diameter. During the stages from full grown larva to imago, neither sac-like structures nor spherulites of uric acid are found in these cells. These fat-cells begin to decrease in size at the end of the prepupal stage.

## 図版説明

- 図版 I 1. 内蔵層脂肪細胞 尿酸球晶胞が各細胞内にやや大形の暗色斑として見られる。×90  
 2. 体壁層脂肪細胞 尿酸球晶胞は見られない。×90  
 3. 内蔵層脂肪細胞 カバーガラスをかけて細胞を少し扁平にして見ると細胞連絡が良くわかる。×92  
 4. 同じものを十字ニコルにして観察した。尿酸の球晶の集まったものが尿酸球晶胞の中で光学的異方性を示し輝いている。×92
- 図版 II 5. 内蔵層脂肪細胞の連絡 スライドグラスとカバーガラスの間に細胞をはさみ扁平にすると原形質膜が破れて油滴等が細胞の連絡部分を通過する。u: 尿酸球晶胞。×370  
 6. 同数秒後 右側の細胞から左の細胞へ油滴が移行したことがわかる。×370  
 7. 細胞連絡部分の凍結切片。i: 外側の氷。×600  
 8. 同じものを十字ニコルで観察した。細胞連絡の部分に氷が見られる。o: 油滴  
 u: 尿酸球晶胞 ×600
- 図版 III 9. 内蔵層脂肪細胞の凍結切片 細胞の表面に尿酸球晶胞が分布している。油滴とその間を満たしている小さな顆粒が見られる。×370  
 10. 同スタンブランクで染色 油滴は集まって大きくなっている。×92  
 11. 同 ×370  
 12. 内蔵層脂肪細胞のパラフィン切片。エオジン、ヘマトキシリンで染色。尿酸の球晶は溶けて流出してしまい空洞になっている (矢印)。×370
- 図版 IV 13. 内蔵層脂肪細胞をゆっくりと扁平にすると外膜から原形質が分離して来る。凹型原形質分離をする植物細胞のように原形質糸が見える。尿酸の球晶を含んだ尿酸球晶胞は外膜に特に密着している (矢印)。×370  
 14. 同細胞を急速に扁平にすると原形質糸が切れて分離した様子がよくわかる。しかし尿酸球晶胞は外膜から分離しない (矢印)。中央部分に見える尿酸球晶胞は上方の外膜に密着している。×370  
 15. ポブラハバチ前蛹の横断面 パラフィン切片, エオジンヘマトキシリンで染色。本文第1図参照。×20
- 図版 V 16. 内蔵層脂肪細胞 パラフィン切片, エオジンヘマトキリン染色。g: 消化管 ×92  
 17. 同 ×370 消化管と密着している  
 18. 体壁層脂肪細胞 (P) が腹部神経管 (矢印) の台座のように分布している。腹隔膜を隔て、内側に内蔵層脂肪細胞 (V) が見られる。e: 腹面の表皮 ×92  
 19. 同 ×370 油滴 (白くぬけている) の間をうめて無数の小顆粒が見られる  
 e: 表皮 ×370
- 図版 VI 20. 尿酸の球晶をつめた尿酸球晶胞 凍結切片 矢印: 外膜 ×800  
 21. 同十字ニコルで観察 ×800  
 22. 尿酸の球晶1ヶを観察 偏光顕微鏡のポーライザーで観察 ×1,000  
 23. 同アナライザーで観察 ×1,000  
 24. 同十字ニコルで観察 ×1,000  
 25. 内蔵層脂肪細胞からアルコールで抽出した尿酸の球晶 十字ニコルの方向に一致して十字の暗黒部分が各球晶に見える。×92 左下はこの1ヶを拡大した。×800  
 26. 同上に蒸留水を加え放置すると球晶は尿酸の結晶にかわる。十字ニコルで観察 ×92



