



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	硬骨魚類仔稚魚の前中腸および直腸上皮細胞の微細構造
Author(s)	渡辺, 良朗; WATANABE, Yoshirou
Citation	北海道大學水産學部研究彙報, 33(4), 217-228
Issue Date	1982-11
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/23802
Type	departmental bulletin paper
File Information	33(4)_P217-228.pdf



硬骨魚類仔稚魚の前中腸および直腸上皮細胞の微細構造

渡 辺 良 朗*

Ultrastructure of Epithelial Cells of the Anteromedian Intestine
and the Rectum in Larval and Juvenile Teleosts

Yoshiro WATANABE*

Abstract

Ultrastructural characteristics of the rectal epithelium cells are described in comparison with those of the anteromedian intestine cells in larvae and juveniles of four teleost species. The anteromedian intestine cells were typical columnar absorptive cells. They had regularly arranged microvilli on the free surface. The distinct terminal web comprised the apical border of the cytoplasm. Mitochondria and rough endoplasmic reticulum were distributed in the supranuclear area. The rectal epithelium cells also had microvilli on their free surface. Mitochondria and rough endoplasmic reticulum were seen in the supranuclear cytoplasm, as in the cells of the anteromedian intestine. The most characteristic features of the rectal cells were the presence of vigorous invaginations of intermicrovillous plasma membrane, numerous vesicles and vacuoles, and large supranuclear vacuoles. These features showed a capability of ingesting macromolecular substances from the rectal lumen. The vacuoles of *H. transpacificus nipponensis* and *C. nozawae*, which were fed on zooplankton, contained electron-dense substances. In *O. masou* and *C. auratus* which were fed on commercial pellets, however, the vacuoles contained flocculent materials. Primary lysosome-like bodies were found in the Golgi area. Some large supranuclear vacuoles often exhibited a secondary lysosome-like structure and were assumed to be the site of intracellular digestion.

緒 言

硬骨魚類仔稚魚の腸は、その前中部と後部とで異なった吸収機能を示すことが知られている。前中腸上皮細胞は脂質の吸収機能を示す¹⁾のに対して、直腸上皮細胞は蛋白質分子を未消化な状態で摂取し、これを細胞内消化する能力をもつ²⁾³⁾。

このような機能的差異を反映して、両者は形態的にも異なった特徴を示す。前中腸上皮細胞はその中央部近くに核をもち、細胞質は核の上方、下方ともヘマトキシリン-エオシン染色で濃く染まる²⁾。これに対し、直腸上皮細胞の核は基底部近くに位置し、広い核上方域はヘマトキシリン-エオシン染色に難染色性を示すか、または空胞化しており²⁾、そこには餌料由来の蛋白質と思われる好酸性顆粒が観察される⁴⁾。電顕的には、前中腸上皮細胞が多数の脂質滴を含む⁵⁾⁻¹⁰⁾のに対し、直腸上皮細胞は微絨毛の基部に顕著な飲作用像を示し、細胞質中に大小の空胞をもつこと⁵⁾⁷⁾⁹⁾⁻¹²⁾、などが知られてい

* 北海道大学水産学部生理学生態学講座
(Laboratory of Physiology and Ecology, Faculty of Fisheries, Hokkaido University)

る。しかし、直腸上皮細胞による蛋白質分子の摂取、細胞内消化能力と細胞の微細構造との関連についての検討は不十分である。本研究は、4種の硬骨魚類仔稚魚の前中腸および直腸上皮細胞の微細構造を調べ、さらに直腸上皮細胞の形態的特徴と、分子状蛋白質の摂取および消化能力との関連を検討したものである。

材 料 と 方 法

材料として、サクラマス (*Oncorhynchus masou*), ワカサギ (*Hypomesus transpacificus nipponensis*), ハナカジカ (*Cottus nozawae*), およびキンギョ (*Carassius auratus*) の仔稚魚を用いた。これらの仔稚魚はいずれも受精卵を実験室内でふ化させ、飼育することによって得た。受精卵の入手方法、飼育条件、および供試魚の年令と全長を表1にまとめた。

Table 1. Data and records of fishes used as materials

	Collection of eggs	Rearing temperature (°C)	Food	Age (days)	Total length (mm)
<i>O. masou</i>	Artificial fertilization	8-10	Commercial pellet	46	30.5-31.8
<i>H. transpacificus nipponensis</i>	Artificial fertilization	15-22	Rotifer	25	8.4-10.7
<i>C. nozawae</i>	Natural spawning	12-14	Daphnia	12	10.7-11.3
<i>C. auratus</i>	Spawning in tank	18-22	Commercial pellet	24	6.6- 8.3

各個体から切り出した腸を、0.1 M 磷酸緩衝液で pH7.3 に調整した 2% パラフォルムアルデヒド、2.5% グルタルアルデヒド混液で 2 時間、前固定し、同じ緩衝液で 1 昼夜以上洗浄した。次にこれを 0.54% ブドウ糖を含む 0.1 M 磷酸緩衝液で pH7.3 に調整した冷オスミック酸で 1 時間、後固定し、脱水、透徹後エポキシ樹脂 (Epon 812) に包埋して超薄切片を作成した。切片には酢酸ウラニル、クエン酸鉛の二重染色を施し、日立 HU-12 型電子顕微鏡で観察した。また、厚さ 1 μm の切片にトルイジンブルー染色を施した標本を作成し、光顕下で観察した。

結 果

前中腸上皮細胞 (図 1~4)

前中腸上皮細胞はハナカジカとキンギョについて観察した。上皮細胞の核は細胞の中央部近くに位

Figs. 1, 2. Anteromedian intestine cells of *C. nozawae* 12 days after hatching (11.3 mm TL).

Fig. 1. Photomicrograph of the cells showing deeply stained cytoplasm. toluidine blue stain (×450)

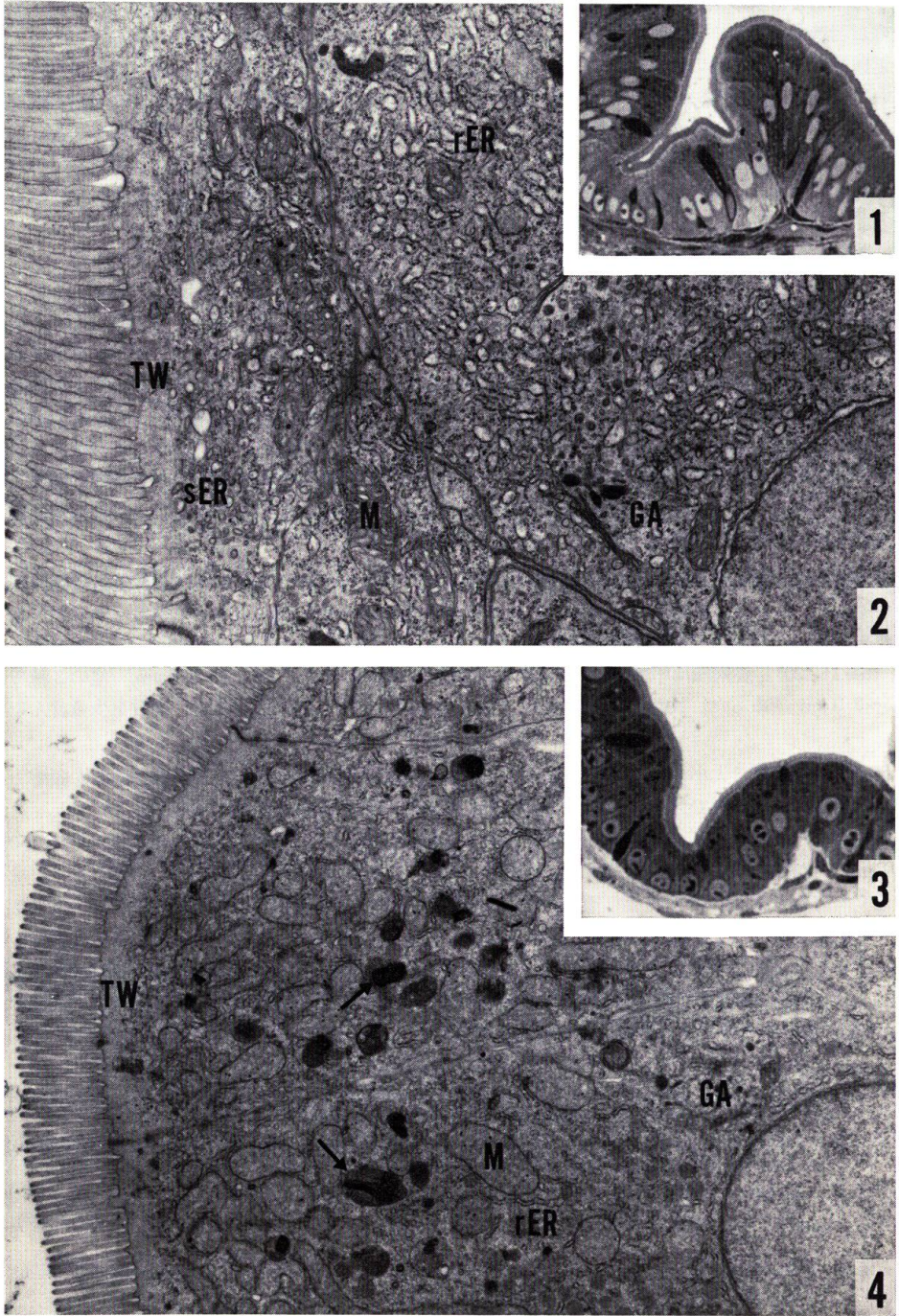
Fig. 2. Electron micrograph of the upper half of the cell. (×11,000)

Figs. 3, 4. Anteromedian intestine cells of *C. auratus* 24 days after hatching (6.6 mm TL).

Fig. 3. Photomicrograph of the cells showing deeply stained cytoplasm. toluidine blue stain (×500)

Fig. 4. Electron micrograph of the upper halves of the cells. Numerous lysosome-like dense bodies (arrows) are seen in the supranuclear area. (×7,000)

GA, Golgi apparatus; M, mitochondria; rER, rough endoplasmic reticulum; sER, smooth endoplasmic reticulum; TW, terminal web



置き、細胞質は核の上方、下方ともトルイジンブルーに濃く染まる(図 1, 3)。細胞の自由面には線条縁が明瞭であり、その内側にはトルイジンブルーにうすく染まる狭い層がみられる。

電顕観察では、細胞の自由面には長さ約 $1.5\ \mu\text{m}$ の微絨毛が規則正しく密に並び、線条縁を形成している。微絨毛の基部にはところどころに浅い陥入がみられるが、細胞の頂端部には終網織が明瞭である(図 2, 4)。この部位は、光顕観察においてみられたトルイジンブルーにうすく染まる狭い層と対応している。終網織の内側から核の間には大型のミトコンドリア、粗面小胞体などが均一に分布し、核の上方にはゴルジ装置が観察される。隣接する細胞との境界は滑らかで、閉鎖堤やデスモゾームによって接着されている。ハナカジカでは終網織の下方に滑面小胞体と思われる小胞が観察された(図 2)。キンギョでは細胞上半部に電子密度の高いライソゾーム様の構造が多数みられた(図 4)。

直腸上皮細胞(図 5-21)

直腸上皮細胞もその自由面には線条縁が明瞭である。しかし、線条縁の内側のトルイジンブルーにうすく染まる狭い層は不明瞭である。核は細胞の基底部近くに位置し、核上方域は前中腸上皮細胞に比べて広い。4種いずれにおいてもこの広い核上方域には大小多数の空胞がみられ、この点で前中腸上皮細胞とは明らかに異なっている(図 5, 9, 14, 18)。これらの空胞内には、シオミズツボワムシやミジンコなどの生物餌料を投与されたワカサギとハナカジカでは、トルイジンブルーに濃く染まる顆粒がみられたが(図 9, 14)、市販の配合飼料を与えられたサクラマス、キンギョでは、染色性の低い物質が満たされていた(図 5, 18)。

電顕的には、直腸上皮細胞もその自由面に発達した微絨毛をもち、また隣接する細胞との境界は滑らかである。しかし、微絨毛の基部の細胞膜は顕著な管状の陥入を示し、その下方には陥入部分がくびれて生じたと思われる小胞が観察される(図 6, 11, 15, 20)。これらの小胞はしばしば融合像を示す(図 11, 20)。終網織は不明瞭である。微絨毛の長さはワカサギで $2.5\sim 3.0\ \mu\text{m}$ 、他の3種では $1.5\sim 2.0\ \mu\text{m}$ であった。また、ワカサギでは細胞頂端部の小胞が電子密度の高い物質を少量含んでいた。

広い核上方域には大小多数の空胞が分布しており、大型のミトコンドリアや粗面小胞体も顕著である。空胞は核に近い側で大きく、核上方に位置する空胞が最大の径を示す(図 6, 10, 15, 19)。その径はサクラマスとキンギョでは $6.0\sim 10.0\ \mu\text{m}$ ときわめて大きく、ワカサギとハナカジカでは $1.0\sim 3.0\ \mu\text{m}$ と比較的小型であった。これらの空胞は、ワカサギではそのほとんどが、ハナカジカでは核の近くに位置するものがそれぞれ電子密度の高い均一な物質を含んでいたが(図 10, 15)、サクラマスとキンギョでは電子密度の低い粗な物質を含んでいた(図 8, 21)。またこれらの空胞には膜状の構造を含むもの(図 8, 21)、一次ライソゾーム様小体と融合しつつあるもの(図 13, 17)など、二次ライソゾーム様の形態の特徴を示すものがみられた。核の上方または側方のゴルジ野には、直径 $0.2\sim 0.4\ \mu\text{m}$ の一次ライソゾーム様小体が観察された(図 12, 16)。

Figs. 5-8. Rectal cells of *O. masou* 46 days after hatching (31.1 mm TL).

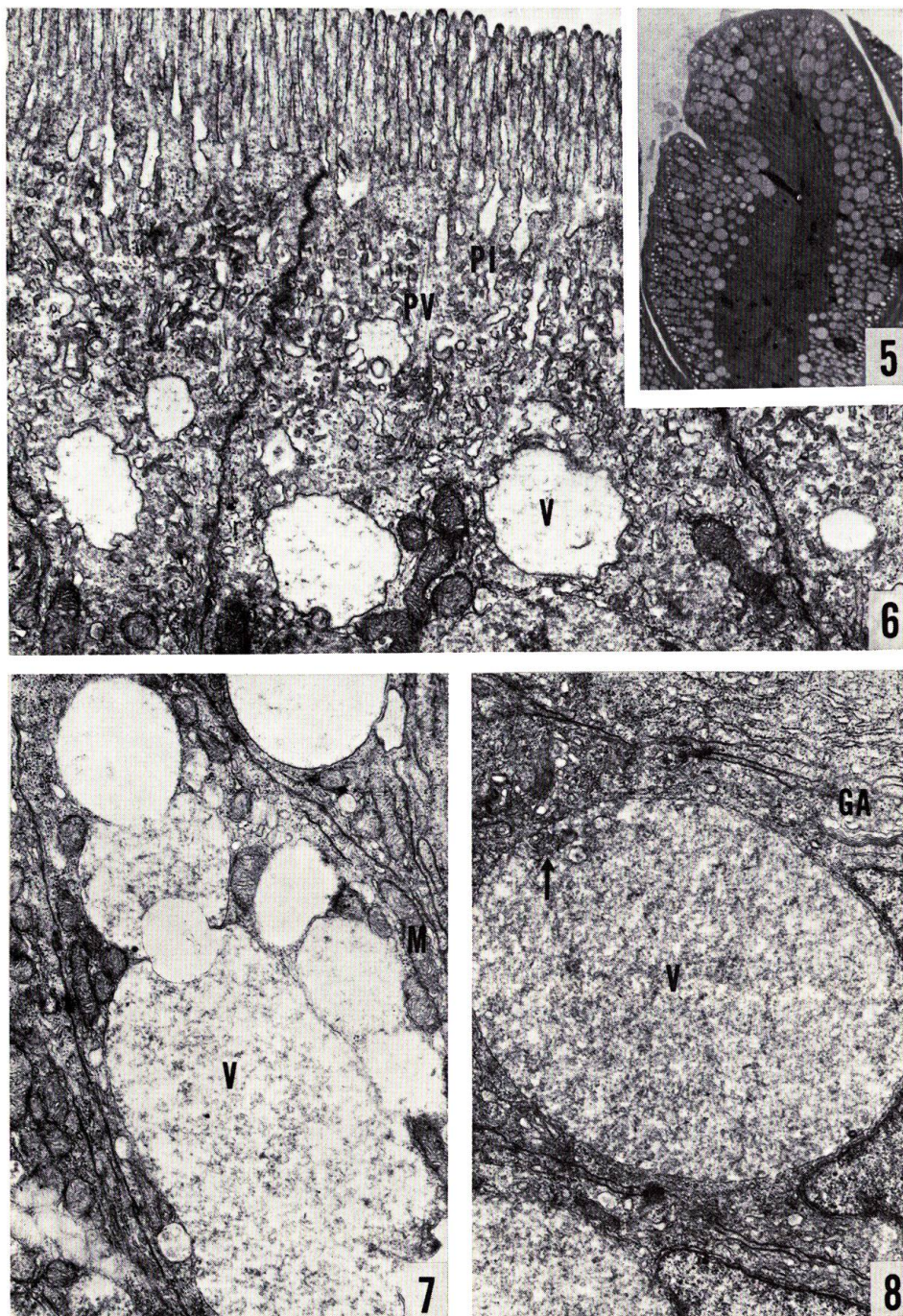
Fig. 5. Photomicrograph of the cells having numerous vacuoles in the extensive supranuclear area. toluidine blue stain ($\times 250$)

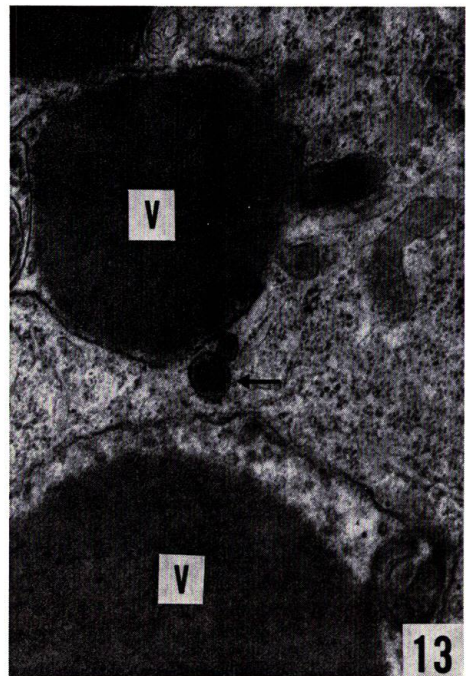
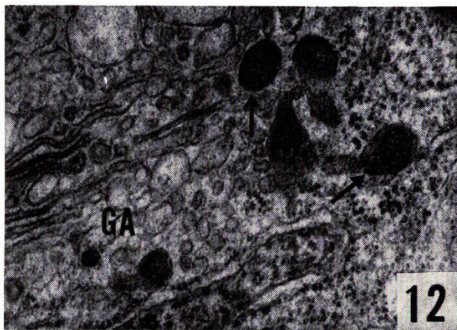
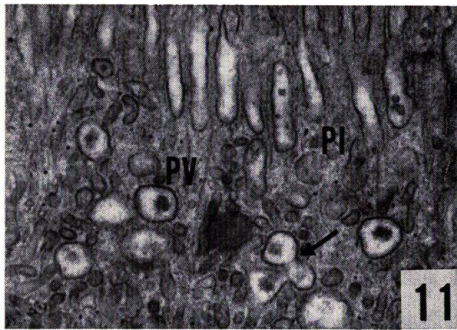
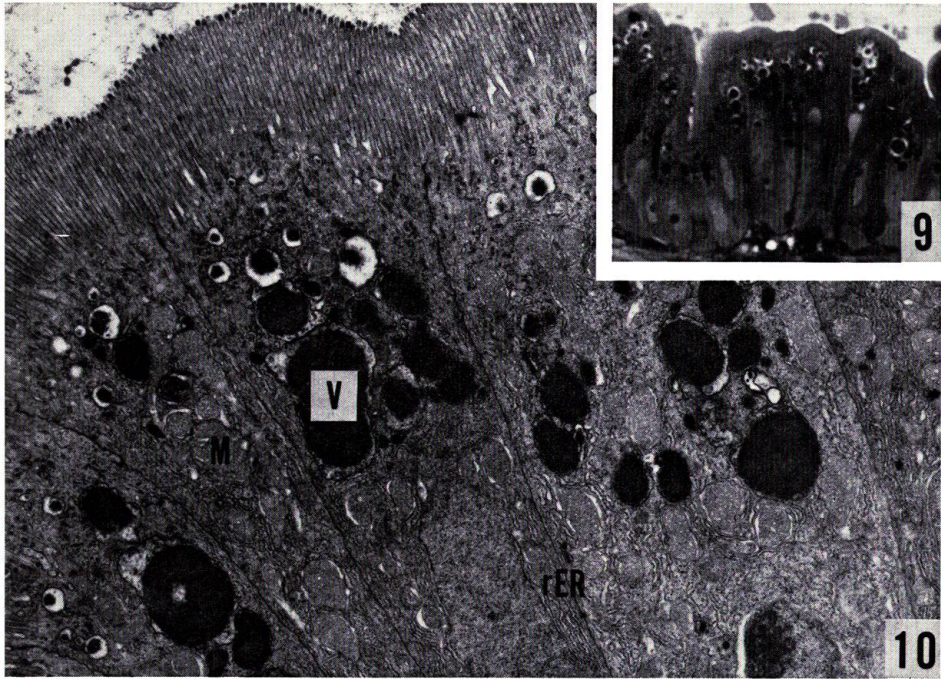
Fig. 6. Electron micrograph of the apical part of the cells. ($\times 9,500$)

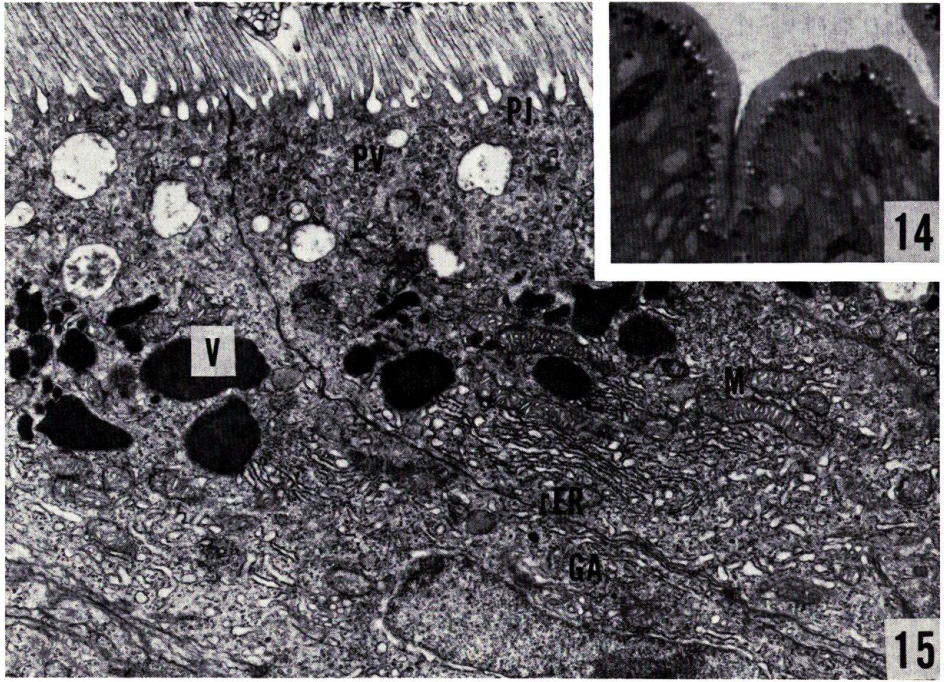
Fig. 7. Electron micrograph of the supranuclear area showing coalescing vacuoles (V). ($\times 11,000$)

Fig. 8. Electron micrograph of a large supranuclear vacuole (V) containing flocculent materials and membranous substance (arrow). ($\times 10,500$)

GA, Golgi apparatus; M, mitochondria; PI, pinocytotic invagination; PV, pinocytotic vesicle







Figs. 14, 15. Rectal cells of *C. nozawae* 12 days after hatching (11.0 mm TL).

Fig. 14. Photomicrograph of the cells with deeply stained granules. toluidine blue stain ($\times 500$)

Fig. 15. Electron micrograph of the cells. Vacuoles (V) above the nucleus contain an electron-dense substance. ($\times 8,000$).

GA, Golgi apparatus; M, mitochondria; PI, pinocytotic invagination; PV, pinocytotic vesicle; rER, rough endoplasmic reticulum

論 議

4種の仔稚魚の前中腸上皮細胞と直腸上皮細胞には明らかな微細構造の違いがみられた。前中腸上皮細胞は発達した微絨毛と終網織をもち、核上方の細胞質中にはミトコンドリアや粗面小胞体がほぼ

Figs. 9-13. Rectal cells of *H. transpacificus nipponensis* 25 days after hatching (10.7 mm TL).

Fig. 9. Photomicrograph of the cells having numerous vacuoles with deeply stained granules. toluidine blue stain ($\times 500$)

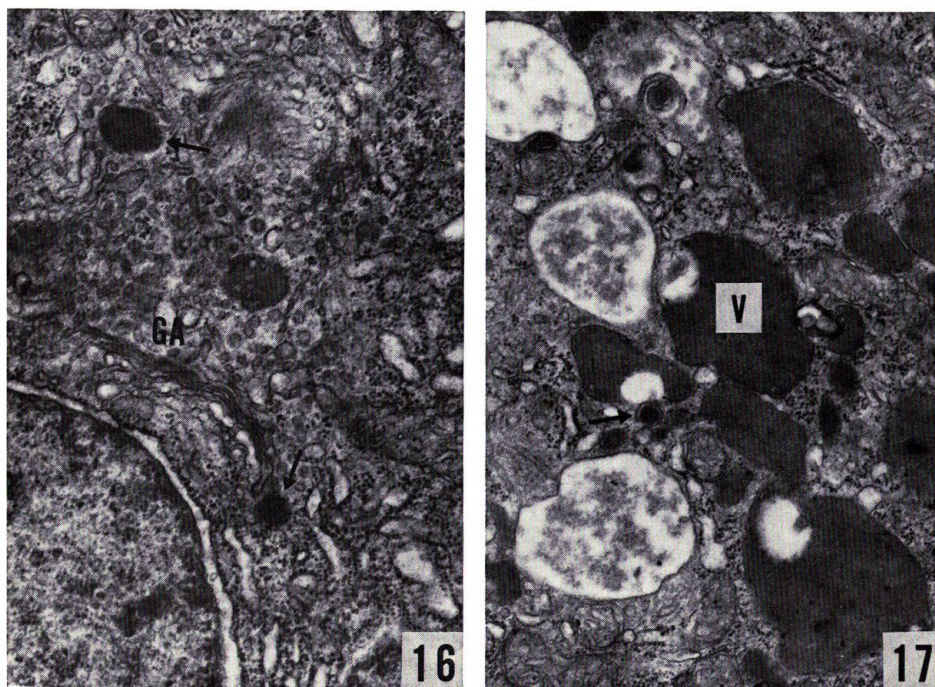
Fig. 10. Electron micrograph of the apical halves of the cells. Vacuoles (V) contain an electron-dense substance. ($\times 6,500$)

Fig. 11. Electron micrograph showing pinocytotic invaginations (PI) and pinocytotic vesicles (PV) at the base of microvilli. The vesicles contain small amount of electron-dense substance. Some vesicles are fusing with each other (arrow). ($\times 18,500$)

Fig. 12. Electron micrograph of small primary lysosome-like bodies (arrows) in a Golgi area (GA). ($\times 21,000$)

Fig. 13. Electron micrograph of large supranuclear vacuoles (V) exhibiting secondary lysosome-like structures. Small primary lysosome-like body (arrow) is seen adjacent to the vacuole. ($\times 27,000$)

M, mitochondria; rER, rough endoplasmic reticulum



Figs. 16, 17. Rectal cells of *C. nozawae* 12 days after hatching (11.0 mm TL).

Fig. 16. Electron micrograph of a Golgi area near the nucleus including small primary lysosome-like bodies (arrows). ($\times 29,000$)

Fig. 17. Electron micrograph of secondary lysosomal vacuoles (V) in the supranuclear area. A primary lysosomal body (arrow) is seen adjacent to the vacuole. ($\times 23,000$)
GA, Golgi apparatus

均一に分布していた。このような構造は、ゴマフグ (*Spheroides stidonotus*)¹³⁾、キンギョおよびニジマス (*Salmo irideus*)¹⁴⁾ 成魚の腸中部上皮細胞の基本構造と一致し、典型的な円柱上皮細胞の特徴を示した。

Iwai⁵⁾⁻⁷⁾, Iwai and Tanaka⁸⁾, Stroband and Dabrowski⁹⁾, Stroband and Kroon¹⁰⁾ は、仔稚魚の前中腸上皮細胞中に多数の脂質滴がみられることを報告しているが、本研究では脂質滴は観察されなかった。これは、与えた飼(餌)料中の脂質量や、標本固定時における摂餌状態の違いと関連しているとも考えられる。

直腸上皮細胞も自由面に微絨毛をもち、細胞質中にミトコンドリアや粗面小胞体が分布している点で前中腸上皮細胞と同様であった。しかし、微絨毛の基部には顕著な細胞膜の陥入がみられ、活発な

Figs. 18-21. Rectal cells of *C. auratus* 24 days after hatching (6.6 m TL)

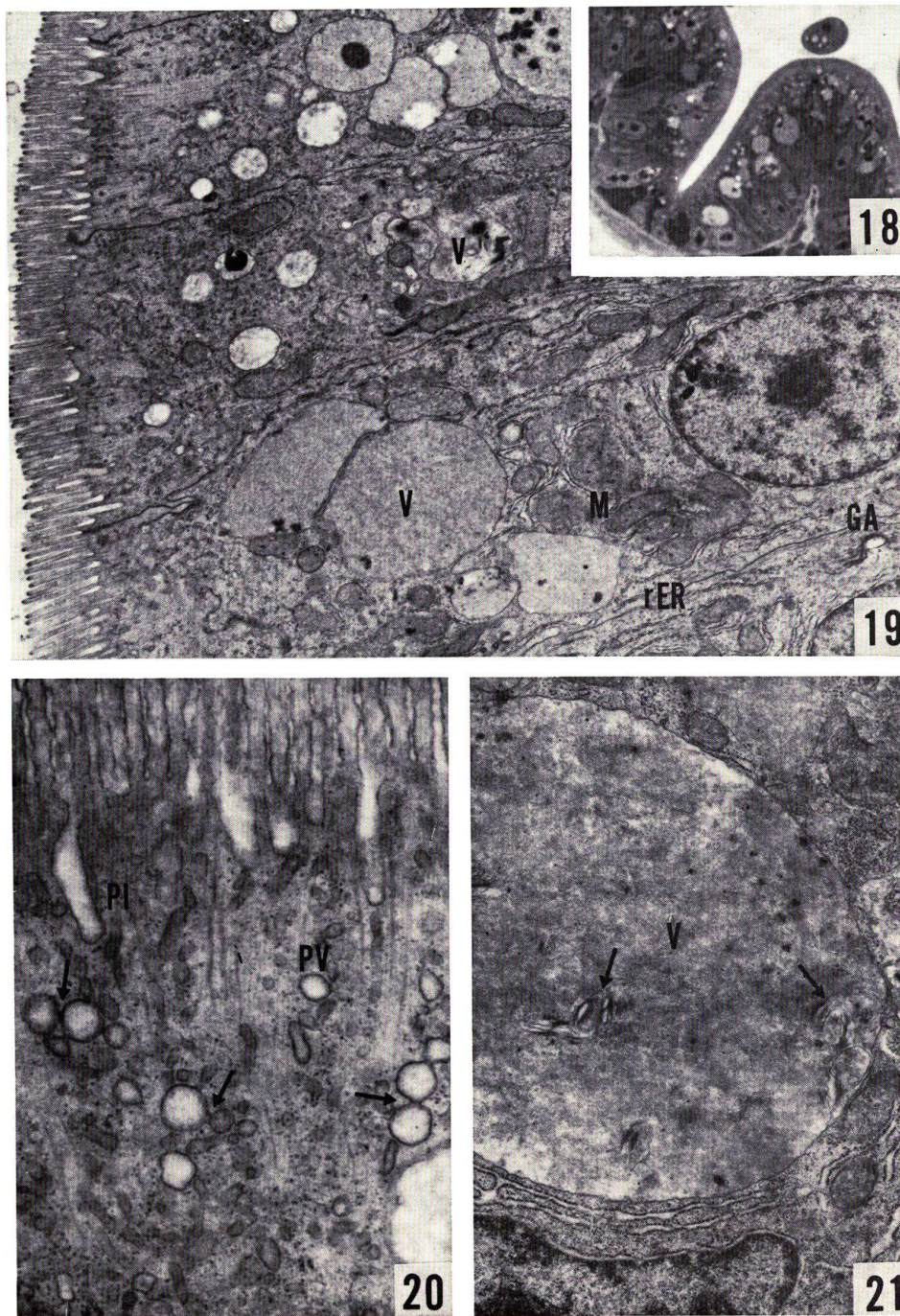
Fig. 18. Photomicrograph of the cells showing vacuolated supranuclear area, toluidine blue stain ($\times 500$)

Fig. 19. Electron micrograph of the apical halves of the cells having many vacuoles (V) with electron-lucent materials. ($\times 6,500$)

Fig. 20. Electron micrograph of pinocytotic invaginations (PI) and pinocytotic vesicles (PV) at the base of microvilli. Vesicles are fusing with each other (arrows). ($\times 10,500$)

Fig. 21. Electron micrograph of a large supranuclear vacuole (V) containing membranous structures (arrows). ($\times 10,500$).

GA, Golgi apparatus; M, mitochondria; rER, rough endoplasmic reticulum



飲作用を示唆していた。また、細胞上半部には大小多数の空胞があり、前中腸上皮細胞とは際立った違いがみられた。仔稚魚の直腸上皮細胞がこのような形態的特徴を示すことは、アユ (*Plecoglossus altivelis*)¹¹⁾、サヨリ (*Hemiramphus sajori*)²⁾、コイ (*Cyprinus carpio*)⁷⁾、ソウギョ (*Ctenopharyngodon idella*)⁹⁾、*Clarias lazera*¹⁰⁾ などで報告されている。

仔稚魚の直腸上皮細胞は蛋白質分子を未消化な状態で細胞内に摂取する²⁾¹⁵⁾。上述した上皮細胞の形態的特徴は、蛋白質分子が微絨毛基部の飲作用によって摂取されることを示している。仔稚魚の上皮細胞が、飲作用によって蛋白質を摂取する無胃魚成魚の腸後部上皮細胞¹⁶⁾¹⁷⁾と同様の形態的特徴を示したことは、これを裏付けている。

上皮細胞中の空胞は頂端部で小さく、核に近づくにつれ大きさを増していた。また頂端部近くの小胞や小型の空胞はしばしば相互に融合する像を示した。従って、微絨毛基部の細胞膜の陥入とそのくびれによって生じた小胞が、融合をくり返してしだいに大型化しつつ核上方域へと移動し、ここに大型空胞の集合を形成すると推測される。

核上方の大型空胞の径は、サクラマスとキンギョでは 6~10 μm ときわめて大きいのに対し、ワカサギとハナカジカでは 1~3 μm と小型であった。田中⁴⁾は、直腸上皮細胞の核上方域に観察される餌料由来の蛋白質顆粒の大きさが種によって異なることを示した。このことは、本研究で示された核上方の大型空胞の大きさの種による違いに基づくものと思われる。

ラット新生児の腸上皮細胞には、細胞内に小型の空胞を多数もつ十二指腸、空腸型の細胞と、核上方に巨大な空胞をもつ回腸、大腸型の細胞の2種類があることが知られている¹⁸⁾⁻²⁰⁾。Rodewald²¹⁾も空腸と回腸の上皮細胞にこのような形態的差異があることを認め、空腸の細胞は母乳由来の免疫蛋白質を選択的に摂取し、そのまま循環血中へと放出する働きをもつのに対し、回腸の細胞は非選択に摂取した蛋白質分子を細胞内消化すると考えている。形態的特徴からは、ワカサギとハナカジカの細胞は空腸的であり、サクラマスとキンギョのそれは回腸的である。しかし、4種いずれにおいても上皮細胞が蛋白質分子を細胞内消化する能力をもつことが知られており³⁾、空胞の大きさの違いが機能的な差異を示すものとは思われない。

核上方の大型空胞には二次ライソゾーム様の構造を示すものが多くみられた。このことは、上皮細胞に摂取された蛋白質が核上方に集められて消化されること³⁾と符合する。また、ゴルジ装置に由来すると思われる一次ライソゾーム様小体が大型空胞と融合する像がしばしばみられたが、これは細胞内消化にライソゾーム性の酵素が関与することを示している。Gauthier and Landis²²⁾は、蛋白質分子摂取能力をもつキンギョ成魚の腸後部上皮細胞の核上方域に、高い酸性フォスファターゼ活性を検出している。

シオミズボワムシやミジンコなどの生物餌料を与えたワカサギおよびハナカジカでは、直腸上皮細胞の空胞中に電子密度の高い物質が含まれており、これは光顕下ではトルイジンブルーに濃く染まる顆粒として観察された。この顆粒は、指標蛋白質として西洋ワサビペルオキシダーゼ (HRP) を細胞に摂取させた場合の HRP 顆粒と、存在部位および形状がよく一致している²⁾。従って、トルイジンブルーに濃染する顆粒は、外因性、即ち餌料に由来する蛋白質であろうと判断される。サクラマスおよびキンギョの空胞中にはこのような物質は全く含まれておらず、空胞は電子密度の低い物質で満たされていた。これら2種の上皮細胞の蛋白質摂取能力がワカサギやハナカジカと全く同様であること²⁾を考えると、空胞中に含まれる物質の、電子密度や均質性について示された違いは、投与された餌料の違いを反映したものであると思われる。蛋白質成分に関し、生物餌料と市販の配合飼料とを比較した場合に考えられる違いは、前者が水溶性の蛋白質を多く含むのに対し、後者では作成過程における種々の加工処理によって蛋白質成分のほとんどが変性不溶化している点にあると思われる。従って、ワカサギやハナカジカにみられる高電子密度の物質は、主として餌料中の水溶性蛋白質であろうと推測された。

謝 辞

本研究にあたって御助言をいただき、また本論文を校閲していただいた、北海道大学水産学部 山田寿郎教授に感謝する。

文 献

- 1) 田中 克 (1972). 仔魚の消化系の構造と機能に関する研究—IV. 摂餌にともなう腸前部および中部上皮層の変化と脂肪の吸収. 魚類学雑誌 19, 15-25.
- 2) Watanabe, Y. (1981). Ingestion of horseradish peroxidase by the intestinal cells in larvae or juveniles of some teleosts. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, 47, 1299-1307.
- 3) Watanabe, Y. (1982). Intracellular digestion of horseradish peroxidase by the intestinal cells of teleost larvae and juveniles. *Ibid.*, 48, 37-42.
- 4) 田中 克 (1972). 仔魚の消化系の構造と機能に関する研究—V. 後部腸管上皮層の変化と蛋白質の摂取. 魚類学雑誌 19, 172-180.
- 5) Iwai, T. (1968). The comparative study of the digestive tract of teleost larvae - V. Fat absorption in the gut epithelium of goldfish larvae. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, 34, 973-978.
- 6) Iwai, T. (1968). Fine structure and absorption patterns of intestinal epithelial cells in rainbow trout alevins. *Z. Zellforsch.*, 91, 366-379.
- 7) Iwai, T. (1969). Fine structure of gut epithelial cells of larval and juvenile carp during absorption of fat and protein. *Arch. histol. jap.* 30, 183-199.
- 8) Iwai, T. and Tanaka, M. (1968). The comparative study of the digestive tract of teleost larvae - IV. Absorption of fat by the gut of halfbeak larvae. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, 34, 871-875.
- 9) Stroband, H.W.J. and Dabrowski, K.R. (1979). Morphological and physiological aspects of the digestive system and feeding in freshwater fish larvae. p. 355-376. In Fontaine, M. (ed.), *Nutrition des Poissons*. CNERNA, Paris.
- 10) Stroband, H.W.J. and Kroon, A.G. (1981). The development of the stomach in *Clarias lazera* and the intestinal absorption of protein macromolecules. *Cell. Tiss. Res.*, 215, 397-415.
- 11) Iwai, T. (1967). The comparative study of the digestive tracts of teleost larvae - I. Fine structure of the gut epithelium in larvae of ayu. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, 33, 489-496.
- 12) Iwai, T. and Tanaka, M. (1968). *Ditto* - III. Epithelial cells in the posterior gut of halfbeak larvae. *Ibid.*, 34, 44-48.
- 13) 尾崎紀子 (1965). 海水魚腸管上皮の微細構造に関する電子顕微鏡的観察. 日組録 26, 23-38.
- 14) Yamamoto, T. (1966). An electron microscope study of the columnar epithelial cell in the intestine of freshwater teleost; goldfish (*Carassius auratus*) and rainbow trout (*Salmo irideus*). *Z. Zellforsch.*, 72, 66-87.
- 15) Stroband, H.W.J., Meer, H. v.d., and Timmermans, L.P.M. (1979). Regional functional differentiation in the gut of the grasscarp, *Ctenopharyngodon idella* (Val.). *Histochemistry*, 64, 235-249.
- 16) Noaillac-Depeyre, J. and Gas, N. (1973). Absorption of protein macromolecules by the enterocytes of the carp (*Cyprinus carpio* L.): Ultrastructural and cytochemical study. *Z. Zellforsch.*, 146, 525-541.
- 17) Noaillac-Depeyre, J. and Gas, N. (1976). Electron microscopic study on gut epithelium of the tench (*Tinca tinca* L.) with respect to its absorptive functions. *Tissue & Cell*, 8, 511-530.
- 18) Ono, K. (1975). Absorption of horseradish peroxidase by the small intestinal epithelium in postnatal developing rats. *Z. mikrosk. -anat. Forsch., Leipzig*, 89, S., 870-883.
- 19) Ono, K. (1976). Ultrastructure of the surface principal cells of the large intestine in postnatal developing rats. *Anat. Embryol.*, 149, 155-171.

- 20) Ono, K. and Takashio, M. (1978). Scanning electron microscopic studies of ileal epithelial cells in suckling rats. *Ibid.*, 153, 1-8.
- 21) Rodewald, R. (1973). Intestinal transport of antibodies in the newborn rat. *J. Cell Biol.*, 58, 189-211.
- 22) Gauthier, G.F. and Landis, S.G. (1972). The relationship of ultrastructural and cytochemical features to absorptive activity in the goldfish intestine. *Anat. Rec.*, 172, 675-702.