

## カリウムイオン及びアドレナリンの魚類黒色素胞凝集系に及ぼす作用機構

藤 井 良 三

東京大学理学部動物学教室

昭和 33 年 4 月 10 日 受領

黒色素胞内のメラニン顆粒が K イオンにより凝集を起すことは Spaeth ('13) によつて *Fundulus* その他数種の魚類について最初に観察された。それ以来、K イオンの同様の作用は多くの魚類で確められてきている。また、この作用を利用して黒色素胞内の顆粒の移動を詳細に観察した報告 (Motthews '31, Kamada and Kinoshita '44), さらにはこのメラニン顆粒の移動機構に関する研究 (Spaeth '16, Spaeth and Barbour '17, Marsland '44, Kinoshita '53) 等も少くない。しかし、黒色素胞に対する K イオンによる刺激の作用機構に関する研究は Spaeth ('13) の黒色素胞に対する直接作用を説く論文以後、Spaeth and Barbour ('17), Wyman ('24), Nagahama ('53), Ueda ('55) 等を数えるに過ぎず、そのいずれもが結局 Spaeth と同じ結論に達している。

この実験で用いた黒色素胞は従来の研究のように鱗の表皮中のものでなく、尾鰭の表皮中のものである。尾鰭については黒色素胞神経の退化した標本を比較的容易確実に得ることができる (Parker and Porter '33, Abramowitz '35)。この点を利用して K イオン又はアドレナリン (エピネフリン) の作用が凝集神経—黒色素胞系のどの部分にはたらくものであるかをしらべようと試みた。

本文に先立ち、この研究を御指導下さり、本稿の御校閲の労を執られた木下治雄教授、常に御指導、御助言を惜まれなかつた上田一夫助教授、材料の種名同定を快く引受けて下さつた三崎臨海実験所長富山一郎助教授、並びに度々御激励の言葉を寄せられた広島大学の長浜博教授に深く感謝の意を表したい。

## 材 料

三崎臨海実験所附近で採集したハゼ科のドロメ (*Chasmichthys gulosus*) を使用した。この材料の尾鰭は周辺の色素胞のない透明な部分を除けば、ほぼ一様に密に黒色素胞が分布しており、この実験には適当なものであつた。

## 実 験

あらかじめ尾鰭の一部の黒色素胞に分布する神経を退化させておく。これには魚を麻酔してから尾鰭の基部近くで 2 本の鰭条とそれにはさまれた条間膜を切断し、水槽にもどして飼育する。約 3 日後には切口より末梢の帯状部の黒色素胞に分布していた神経は完全に退化する。このような黒色素胞神経の再生は切断後約 10 日間にはほぼ確実に始まらない (20°C)。神経の退化完成後、再生の開始前までの期間はここに存在する黒色素胞には神経が分布していないわけで、以後このような黒色素胞のある部分を神経退化帯、または単に退化帯と記す。

尾鰭に神経退化帯を作つた魚を断頭し、内臓を除いて観察用容器に入れる。外液を生理的塩類溶液 (M/4 NaCl: M/4 KCl: M/6 CaCl<sub>2</sub>: M/6 MgCl<sub>2</sub>=100: 3.5: 1.5: 2.4 の容量比で混合され、NaHCO<sub>3</sub> により pH=7.2 に調整してある。山本 '49 による。) で灌流すると間もなく黒色素胞はすべて完全に拡散する。そこで電気刺激により所謂退化帯に機能的な黒色素胞神経が存在しないことを確認する。これには細い銀—塩化銀の電極を用い、脊髓の断面を交流で刺激する。神経の再生が起つている場合は凝集を示す域が切口を越えて末梢に拡がるので容易に検することが出来る。退化の確認は電極を所謂神経退化帯の数ヶ所に軽く接触させて刺激することにより行つた。神経が退化していれば電極のごく近くにある黒色素胞すら凝集を示さないことを利用したのである。刺激の強さは神経分布を受けている黒色素胞が充分早く凝集する程度に調節した。

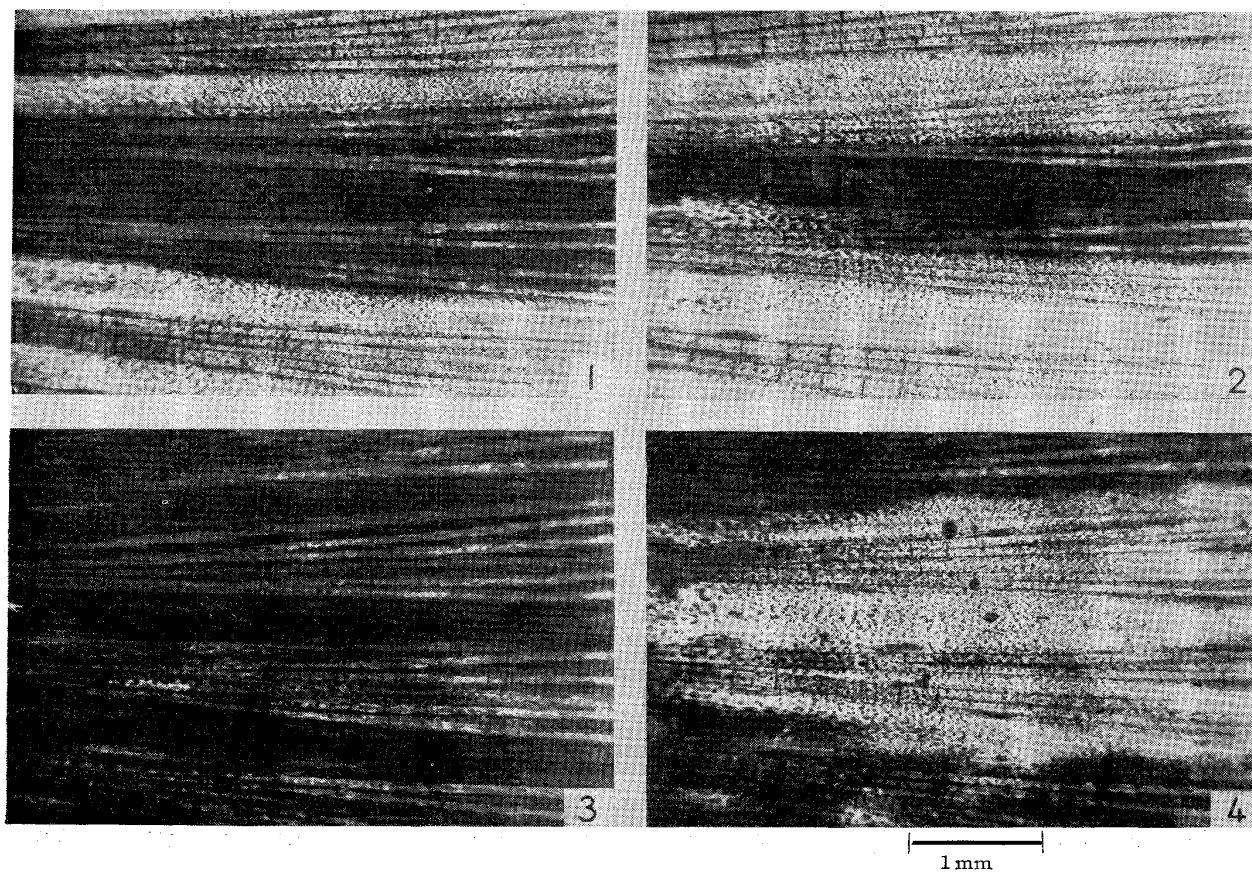
脊髄の断面を刺激した場合や、神経退化帯の周囲の鰭条を刺激した場合しばらくすると退化帯上の黒色素胞を周辺から次第に凝集して来る。この凝集は神経分布域の凝集神経末端から分泌されると考えられる黒色素胞凝集神経液 (melanophore-concentrating neurohumor) の組織内浸透によるものである。この効果は交流刺激を断つてもしばらく続くのが見られる。刺激を断つと神経分布を受けている黒色素胞は急速に拡散するが、退化帯の黒色素胞は凝集の場合と同様に神経分布域に接するところから徐々に拡散して来る。これは神経退化帯では拡散神経を再生していないことを示すと共に、組織内を浸透する黒色素胞拡散神経液 (melanophore-dispersing neurohumor) の存在をも示している。

このようにして神経退化帯が存在することが確かめられた標本はそのまましばらく全ての黒色素胞が拡散した状態になるまで生理的溶液で灌流される。

灌流液を M/4 KCl 溶液 ( $\text{KHCO}_3$  により  $\text{pH}=7.2$  に調整してある。) に替えて数分後には、神経退化帯以外の部分の黒色素胞は鰭の周辺から凝集を始める。この凝集は間もなく尾鰭全体に及ぶが、退化帯上の黒色素胞は拡散したままである (Fig. 1.)。

さらに KCl 溶液の灌流を続けると退化帯上の黒色素胞は交流刺激の場合と同様に退化帯の周囲のものから徐々に凝集を始める (Fig. 2.)。これはやはり凝集神経液が神経分布を受けている部分から浸透して来ることによるものと思われる。

灌流液を生理的溶液にもどしてからの再拡散の過程も交流刺激の場合と同じで、まず周辺の黒色素胞が拡散した後、次第に退化帯中軸に及び完全に回復する (Fig. 3.)。



Figs. 1.-4. Microphotograms of the denervated band. Body length: 51 mm, room temp.:  $15.8^{\circ}\text{C}$ .  
 Fig. 1. 7 minutes after KCl application. Fig. 2. Soon after the returning to physiological solution following to KCl application for 12 minutes. Fig. 3. Fully dispersed recovery after 30 minutes standing in physiological solution. Fig. 4. 4.5 minutes after the application of  $5 \times 10^{-4}$  M adrenalin.

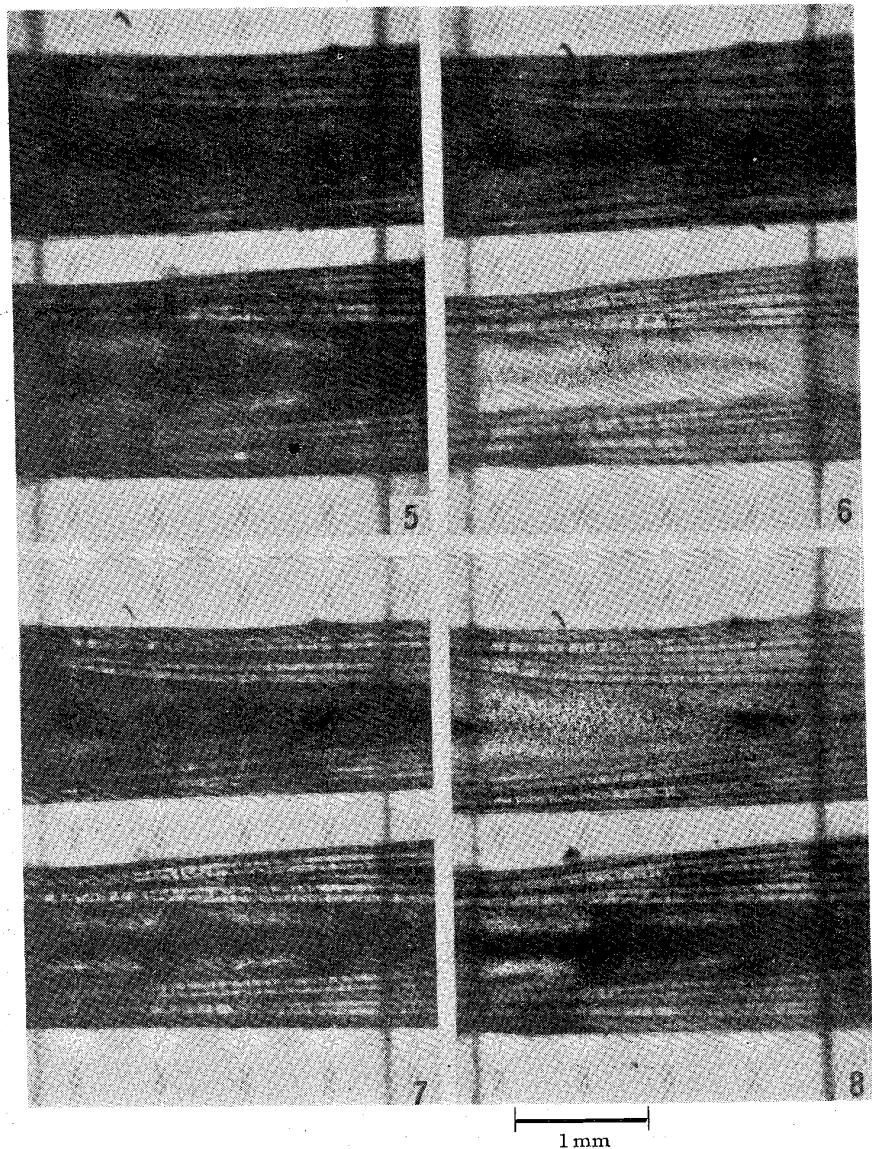
以上の実験から K イオンは神経を退化させた黒色素胞には直接には働かず、K イオンの作用により神経分布部の凝集神経末端で分泌された神経液が浸透して行つて凝集を起させたと考えられる。

この結論はさらに次の実験によつて確められる。その方法としては、神経退化帯を周囲に神経分布部が残らぬ様に切り出したのち、KCl 溶液で灌流するのである。対照、即ち神経分布部を同様の大きさに切り出した断片ではごく速い凝集がみられるのに反し、退化帯の断片ではより長時間灌流しても全く凝集しない (Fig. 6.)。即ち、この場合には神経液の浸透がないために凝集が起らないのであり、逆に前記の周辺からの凝集が組織内浸透性の神経液によるものであることが確められる。

次に同様な方法によつてアドレナリンの作用機構をしらべてみた。K イオンの場合と同じく、生理的溶液で灌流し、黒色素胞が完全に拡散した状態にする (Fig. 3.)。ここで灌流液をアドレナリン溶液 (生理的塩類溶液に対し adrenalin を  $10^{-4}$ ~ $10^{-3}$  M の濃度範囲を含むもの) に替える。すると、退化帯上の黒色素胞は数分後には完全に凝集してしまふ (Fig. 4.)。神経分布を受けている黒色素胞の凝集はこれよりいくらか遅れて始まりまたアドレナリンの濃度次第では凝集を示さない場合もある。勿論、アドレナリンをより高濃度で含む溶液で灌流すれば、これ等の黒色素胞も凝集するようになる。

この退化帯の黒色素胞の凝集が神経分布部の神経末端から分泌された凝集神経液の浸透によるものではないことは、K イオンによる刺激の場合と同じく退化帯だけを切り出してアドレナリン溶液の灌流を行えば明かとなる。この場合も退化帯断片上の黒色素胞は速かに凝集する (Fig. 8.)。対照とした神経分布部の断片に於て無色素胞の凝集を起すにはやはりより高濃度のアドレナリンを要する。

以上の実験によつて、少なくとも神経退化帯上の黒色素胞ではアドレナリンが直接に働いてその凝集を引起すらしいことがわかる。



Figs. 5.-8. Microphotographs of the responses of both denervated (upper) and innervated (lower) pieces of a caudal fin. Body length: 65mm, room temp.:  $14.5^{\circ}\text{C}$ . Fig. 5. Initial dispersed state in physiological solution. Fig. 6. 25 minutes after KCl application. Fig. 7. Recovery after 36 minutes' standing in physiological solution. Fig. 8. 6 minutes after the application of  $10^{-4}$  M adrenalin.

## 考 察

Nagahama ('53) はメダカ (*Oryzias latipes*) 及び *Cambusia sp.* の鱗を摘出して、その一部を生理的溶液で、他部を等張の KCl 溶液で灌流したところ、凝集が KCl 溶液の作用する部位のみで起ることをみた。このことから K イオンは黒色素胞凝集神経を介さずに黒色素胞の凝集を誘起するとの結論が得られた。Ueda ('55) もまた、メダカの鱗と *Cambusia* の尾鰭を材料として同じ結果を得ている。そこで Ueda ('55) の鰭条の微小ピペットによる局所刺激の方法をドロメの尾鰭条に適用してみた。この場合も凝集は KCl 溶液の流れるところだけに起る。したがって、ドロメでも K イオンの凝集作用は神経を介して働くものではないことは確かである。

Nagahama ('53) 及び Ueda ('55) によれば、凝集を起した部分と生理的溶液中で拡散している部分との境界が明瞭であり、凝集域が拡散している部分に拡がらぬことから、K イオンの作用は組織内浸透性の神経液の分泌を介さずに直接黒色素胞に働くものと考えた。しかしドロメに於てはこの境界は明らかでなく、次第に凝集域が拡がる傾向が見られる。これが KCl 溶液の乱流、または組織内拡散による可能性も一応は考えられるが恐らくは神経液の浸透により説明されるべきものであろう。

このように K イオンの黒色素胞凝集作用は凝集神経を刺激して衝撃を生じさせるように働くのではなく、また、従来から言われているように黒色素胞に直接的に働くものでもない。恐らく凝集神経の末端部に働き、そこで凝集神経液を分泌させ、それが黒色素胞の凝集を誘起させるのが主な作用機構であろう。すなわち KCl による黒色素胞凝集も結局は神経を介する刺激と同様に凝集神経液の作用により行われるものであろう。したがって Nagahama ('53) 及び Ueda ('55) の KCl による局部刺激の効果も K イオンの黒色素胞に対する直接作用としてではなく、神経液分泌機構に対するものとして円滑に理解出来る。

神経退化帯の黒色素胞がアドレナリンに対して正常なものより、より鋭敏に反応するという結果は Smith ('41) の *Tautoga* の鱗を用いた実験、及び *Ameiurus* の尾鰭を使った Parker ('42) のアドレナリンの注射による実験のそれと一致している。しかしこの現象の原因が黒色素胞のどのような生理的变化によるかは今日まで明かにされていない。

アドレナリンの作用機構については古くから多くの研究がある。Fuchs ('14), Spaeth and Barbour ('17), Giersberg ('30) 等はそれが神経系を介して作用すると記している。それに反し、Lieben ('06), Wyman ('24), Parker ('34), 等は直接作用を主張している。Parker ('34, '42) の方法では退化帯は切り出されていないので、神経分布域からの神経液の速い拡散がアドレナリン、従つて恐らくは神経液に過敏に反応するようになっている退化帯の黒色素胞を凝集させるという可能性が残っている。この実験では退化帯の他に切り出された退化帯の黒色素胞の反応が観察されており、それから少なくとも神経分布のない黒色素胞ではアドレナリンが直接に作用することが明かとなつた。神経を退化させることによつて、いままでアドレナリンに対して直接には反応しなかつた黒色素胞が、反対に非常に鋭敏に反応するようになることはむしろ考え難いので、恐らく神経分布を受けた黒色素胞でもアドレナリンは直接に作用すると考えられる。

## 要 約

ドロメの尾鰭に作られた神経退化帯の黒色素胞の反応を利用して、黒色素胞凝集系に及ぼす K イオンとアドレナリンの作用機構を研究した。

K イオンは凝集神経末端部を刺激して神経液を分泌させることにより黒色素胞の凝集を誘起するものと思われる。

アドレナリンは黒色素胞に直接作用し、その凝集を起させると考えられる。

## 文 献

- Abramowitz, A. A.** '35 Proc. Nat. Acad. Sci., **21**, 137. **Fuchs, R. F.** '14 In H. Winterstein, Handb. vergl. Physiol., **3**, 1189. **Giersberg, H.** '30 Z. vergl. Physiol., **13**, 258. **Kamada, T. & Kinoshita, H.** '44 Proc. Imp. Acad. Tokyo, **20**, 484. **Kinoshita, H.** '53 Annot. Zool. Japon., **26**, 115. **Lieben, S.** '06 Zbl. Physiol., **20**, 108. **Marstrand, D. A.** '44 Biol. Bull., **87**, 252. **Matthews, S. A.** '31 J. Exp. Zool., **58**, 471. **Nagahama, H.** '53 Jap. J. Zool., **11**, 75. **Parker, G. H.** '34 J. Cell. Comp. Physiol., **5**, 311. **Parker, G. H. & Porter, H.** '33 J. Exp. Zool. **66**, 303. **Smith, D. C.** '41 Amer. J. Physiol., **132**, 245. **Spaeth, R. A.** '13 J. Exp. Zool., **15**, 527. **Ueda, K.** '55 Annot. Zool. Japon., **28**, 194. **Wyman, L. C.** '24 J. Exp. Zool., **39**, 73. 山本時男 '49 動物生理の実験, 河出書房.

## Résumé

Action of Potassium Ions and Adrenalin on the  
Melanophore-concentrating System of Fish

Ryozo FUJII

Zoological Institute, Faculty of Science, Tokyo University

1. By making use of the response of denervated melanophores on the caudal fins of gobies, *Chasmichthys gulosus*, the action mechanisms of potassium ions and of adrenalin (epinephrine) on the melanophore-concentrating system of fish were studied.
2. K ions could not induce the concentration of melanin granules within the denervated melanophores, though did in the case of innervated ones.
3. A prolonged application of KCl solution caused the gradual concentration of the melanophores from the margin towards the axis of the denervated band. This may be due to the invasion of the melanophore-concentrating neurohumor secreted within the innervated area.
4. This interpretation was also confirmed by the fact that the melanophores on the isolated piece of denervated band keep their dispersed state regardless of the continued application of KCl solution.
5. A test with a local application of KCl solution on the isolated fin ray shows that there is no possibility of K acting through the conductive system.
6. These results suggest that the K ions act not directly on melanophores, but on the concentrating nerve endings to induce secretion of neurohumor, which brings about the melanophore concentration.
7. The denervated melanophores showed a hyper-sensitized response to adrenalin.
8. The analogous experiment on the effect of adrenalin stimulation brought to a conclusion that this agent may act directly on the melanophores.