

イモリ膵細胞のゴルジ小管系とリポコンドリア

北田 仁一 (大阪府立大学教養部生物学教室)

昭和 32 年 6 月 5 日 受領

長らく論争されてきたゴルジ装置の構造も電子顕微鏡が用いられるに至つて解決の機運に向い、脊椎動物から原生動物に至るまで空胞または小管、薄膜および小顆粒の要素から成ることが明かになつてきた (Gatenby & Lufty '56)。これらの要素のうち、空胞または小管は生細胞において光学顕微鏡で、特に位相差法で見ることが出来る (Gatenby '51, Takagi & Masuda '56)。しかし膵臓内分泌細胞のゴルジ装置の小管様構造の発見は遠く Bensley ('11) にさかのぼることができ、彼の観察結果は O'Leary ('30), Beams ('30), によつて支持された。最近の Lacy ('54b) の研究によれば小管の径は $1\sim 1.5\mu$ で、リポコンドリア (lipochondria) のあるものはこれらに接して存在するという。膵臓の外分泌細胞のゴルジ小管も同時に記載されたが、その径は約 0.5μ で内分泌細胞のものよりは細い。リポコンドリアのゴルジ小管に対する位置的関係は同様であるという。Tarao ('40) はこれに先だち、膵細胞 (以下外分泌細胞をさす) のゴルジ装置は弱く、リポコンドリアは強くナイル青によつて生体的に染め出されることを見出したが、ゴルジ装置の小管状構造には触れなかつた。しかし膵細胞のゴルジ小管の内腔の存在は電顕的にも確められ (Chalice & Lacy; '54) 1本の小管は 3~4 個の空胞が連つたものであることが知られた。

Ries ('35) はハツカネズミの膵細胞のゴルジ装置は、分裂し増殖するリポコンドリアが、分泌顆粒に転化するまでの間に放出する類脂質性物質から、形成されることを主張し、ゴルジ装置の持続的存在を認めなかつた。近年に至つても Xeros ('51, '55) は膵細胞のゴルジ体はリポコンドリアにほかならず、そのミエリン像形成によつてゴルジ網が生ずるものと信じている。佐藤・宮内 ('37) は Ries の研究をイモリの膵細胞において追試し、リポコンドリアを詳細に観察したが、その分泌顆粒形成およびゴルジ装置の母体としての役割を承認し得なかつた。

この報文において、わたくしはイモリの膵細胞のゴルジ装置が小管状構造をもつか否かを主として位相差法によつて研究し、またゴルジ装置とリポコンドリアの異同を生体染色および組織化学的方法によつて研究した結果を述べる。

御指導を賜り本稿校閲の労をとられた高木俊蔵教授に対し感謝の意を表する。

材 料 お よ び 方 法

大阪府および三重県より採集された成体のイモリ *Triturus pyrrhogaster* を材料とし、イトミミズおよびハエを与えて飼育した。実験に際しては麻酔を避け必ず断頭を行い、できるだけ早く膵臓を摘出し、次に述べるような種々な方法を施して鏡検した。

生体的観察の爲には、摘出した膵臓を適当な媒液 (稀釈人血漿溶液, 生理的食塩水あるいは Baker 氏液) のなかで 1mm 平方以下に切断し、カバーガラスをかけ上部から適当な圧を加え、余分の液は吸取紙で拭いとり、周囲をパラフィンワックスで封ずる。細切と加圧により観察に適する細胞の小集団が得られる。対物レンズは千代田光学製 DM, DL, B-, NDM を用いた。

超生体染色のためには 1 万倍中性赤およびメチレン青 (生理的食塩水で稀釈) を用いた。

ゴルジ検出古典法としては青山法, Da Fano 法および Kolatchev 法を用いた。

細胞化学的方法としては Baker のアシド・ヘマテイン検査, Baker のズダン黒法, Gomori のアルカリ性フオスファターゼ検出法, Giroud & Leblond のビタミン C 検出法 (Sosa '52 による変法) を用いた。

観 察

膵細胞の核は細胞の基底部に近く偏在し、腺腔端にはチモーゲン顆粒が充満している。細胞質中の有形物

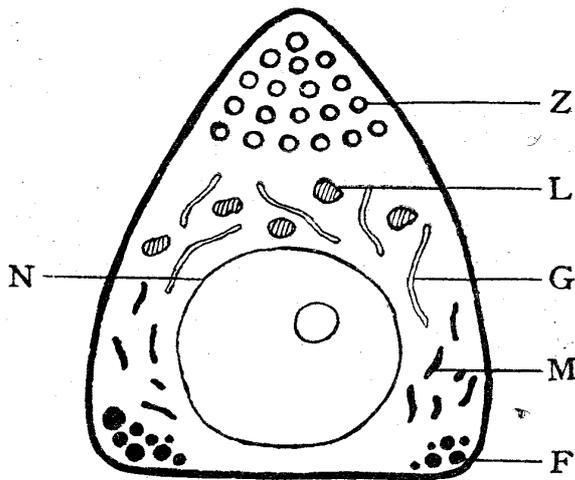


Fig. 1. Diagram of the pancreatic acinar cell to show the topography of the cytoplasmic inclusions.

F; lipid droplets. G; Golgi canal.
L; lipochondria. M; mitochondria.
N; nucleus. Z; zymogen granule.

質としてチモーゲン顆粒のほか、ミトコンドリア、ゴルジ装置、リポコンドリアおよび脂質小滴を認めることができる(第1図)。

1) ゴルジ小管系: Kolatchev 法によれば核上部および核の上半部を被う部位、即ちゴルジ領域に、オスミウムによつて黒化された紐状物が分布していることが認められる(第2図)。この紐状物は一細胞に5~12本認められ、長さはおよそ5~13 μ 、直径はおよそ0.5~0.9 μ である。37°C、5~6日間のオスミウム処理では、紐状物の辺縁部と中心部との黒化の差は見られず全く均質な細糸として観察される。これらの細糸の走行は単純であつて、連なつて網工を呈することはない。しかしオスミウム処理の期間が長くなると細糸は互に連なり合つた状態を呈する。即ち網工が認められるようになる。

小集塊に分離せられた生鮮細胞を位相差顕微鏡によつて観察すると、上記の紐状物あるいは細糸に照応する位置に小管状を呈した構造が認められる(第3図)。このものは暗対照接物鏡 DM, DL, NDM では辺縁部が暗く中心部がいくらか明るく見える。NDM を用いた場合に上述の構造が最も明瞭に認められる。小管の径は0.5~1 μ であつて、固定材料(オスミウム処理6日間)の細糸の径と略一致する。小管は一般に屈曲し焦点を移動させることによつてのみ一端より他端に至るまで追及できるものであり、したがつて第3図の写真ではその全容が現われていない。また小管は互にその端部で連絡することはない、すなわち一本の連続した管ではない。小管の数は5~10であつて固定材料の場合と略一致する。

中性赤で超生体染色を施した場合にも上

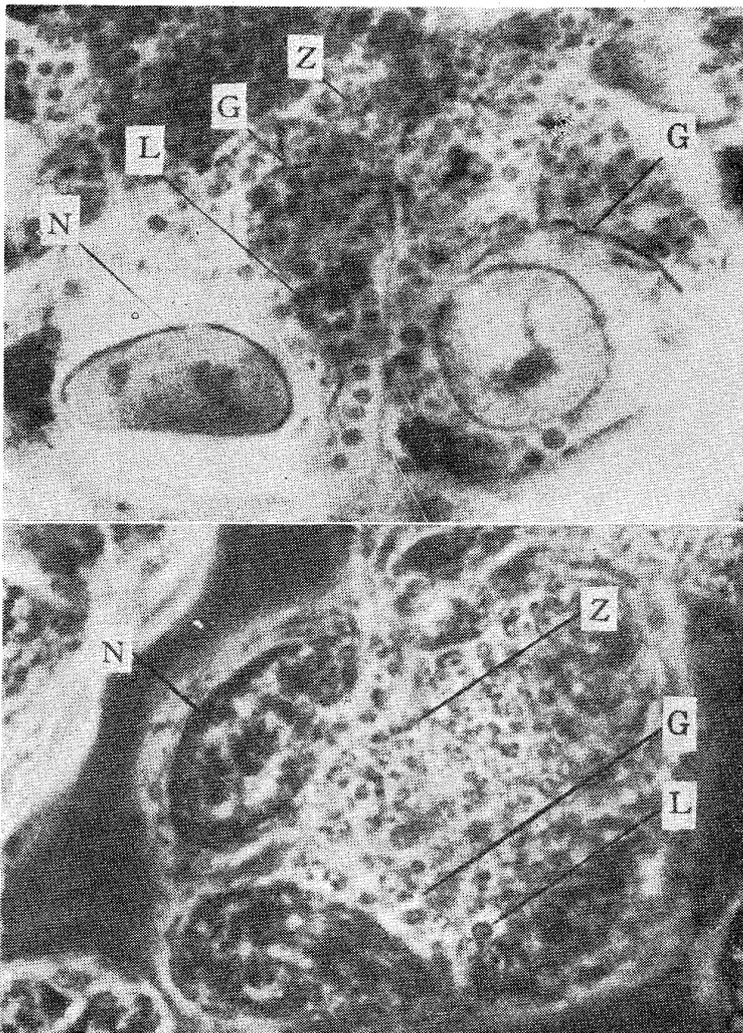


Fig. 2. Pancreatic acinar cells showing Golgi strands and lipochondria. Kolatchev method. Osmicated 6 days in 1% osmic acid at 35°C.

$\times 2500$
G; Golgi strand (canal). L; lipochondria. N; nucleus. Z; zymogen granule.

Fig. 3. Pancreatic acinar cells showing Golgi canals and lipochondria. In Baker's solution under the phase contrast (Tiyoda Neo Dark Medium). $\times 2000$

Abbreviations as in Fig. 2.

記の小管は染色されずに残留している。しかし染色時間をわずかに延長すれば小管の壁が着色される。さらに時間をかけても内部は染まらない。メチレン青でも同様の結果を得る。

小管は諸種の細胞化学的検査のうち、Baker のアシド・ヘマテイン検査に対し陽性反応を示すのみで、その他に対しては陰性である (第 1 表)。

2) リポコンドリア: Kolatchev のオスミウム処理標本において黒褐色を呈し、核上部附近に、すなわちゴルジ域内またはこれに近接して散在し、ゴルジ小管とは勿論のことチモーゲン顆粒とも容易に区別しうる顆粒が存在する (第 2 図)。このものは細胞基底部分または核周辺に散在する脂質小滴とは異り、後述する理由によりリポコンドリアと考えられるものである。リポコンドリアはオスミウム処理 5~6 日で均質に黒化したものと外縁部のみが黒化したものとが認められる。さらに長期の処理により互に接着し、また塊状を呈することがある。

リポコンドリアは位相差法によつても、たやすく他の有形物質から区別せられ、中央部が黄色く光り辺縁部が暗い類球体として認められる。しかし焦点を移動しつつ詳細に観察すると、このものは単なる類球体ではなく屈曲と膨出に富む棒状体であつて、しかも内腔を持たない単純ミエリン形 (elementary myelin forms) を呈していることがわかる。リポコンドリアは中性赤の超生体染色によりほとんど一様に赤染される。メチレン青でも同様の結果を与える。

細胞化学的検査の結果は Baker のアシド・ヘマテイン検査およびズダン黒法において陽性の結果を得るが、Gomori のアルカリ性フオスファターゼ検出法およびビタミン C 検出法はいずれも陰性の結果を示す。

Table 1. Result of cytochemical test on the Golgi canal and the lipochondria

Cytochemical technique	Baker's acid hematein test	Baker's sudan black method	Gomori's method for alkaline phosphatase	Giroud & Leblond's method (modified after Sosa) for vitamin C
Golgi canals	+	-	-	-
Lipochondria	++	+	-	-

考 察

佐藤・宮内 ('37) はイモリの膵細胞を材料とし、固定細胞において網状のゴルジ装置と核上部の特殊な顆粒即ちリポコンドリアを記載した。しかし生鮮細胞の観察では、ゴルジ領域においてリポコンドリア以外には何物も認め得なかつた。今回の研究において位相差法によりゴルジ領域に認められた小管状のゴルジ装置は普通顕微鏡では検出し得ないから、両氏がこれを認めなかつたのは当然である。上述のようにイモリの生鮮膵細胞のゴルジ装置はゴルジ小管系と称してよいものであるが、同様のものは既に Bensley ('11), Beams ('30), O'Leary ('30) らが、それぞれテンジクネズミ、シロネズミ、ハツカネズミの生鮮膵内分泌細胞において認めてをり、さらに最近 Gatenby と Moussa (Gatenby & Moussa; '49, '50., Moussa & Gatenby; '50., Gatenby; '51, '53., Moussa; '52) は諸種動物の神経細胞で、Adamton & Taylor ('53) もシロネズミ神経細胞で、Lacy ('54, a, b) はハツカネズミの膵臓の内・外分泌細胞で、いづれも生鮮状態におけるゴルジ装置は小管状構造を呈することを報告している。著者の今回の観察はこれらの人々の観察結果と主要点において一致する。生鮮細胞におけるゴルジ小管系は Chalice & Lacy ('54), Takagi & Masuda ('56) のいうように、電子顕微鏡学者のいわゆる空洞あるいは空洞系に一致するであろう。イモリ膵細胞の電子顕微鏡的研究は現在進行中である。

一方、生細胞においては小管状のゴルジ装置は認められないとする多くの学者がある (Baker; '54., Morgan; '53., Thomas; '52., Worley; '46., Xeros; '51, '56)。しかし、これらの人人が用いた材料も最適の条件下に位相差法で観察すればゴルジ小管系の存在を認め得る可能性は残されていると考えられる。ゴルジ

領域にはただリポコンドリアのみが存在するという意見は、今回のイモリ膀胱細胞における所見だけからみても承認されがたい主張である。しかしながら長期の銀またはオスミウム処理によつてリポコンドリアの一部がゴルジ小管系に接着または包含されて、いわゆる古典的ゴルジ装置像が生ずる場合はありうる。

佐藤・宮内 ('37) によればリポコンドリアは無構造な球体のほかに瘤状隆起を有したり、あるいは内部に白色透明な数個の小粒を含んでいる場合もあるというが、これらはわたくしが同じくリポコンドリアとして記述し位相差法によつて一層正確にその構造を記載し得たものと一致することは疑われない。Lacy ('54, b) はハツカネズミの生鮮膀胱細胞において、ゴルジ装置とは別に中性赤顆粒 (またはリポイド性小体) の存在について述べ、両者の関係については、中性顆粒はゴルジ装置の構成には何等関与しないとしている。彼のいう中性赤顆粒は、ここでいうリポコンドリアに相当している。リポコンドリアはその位置、形の易変性、鍍銀または鍍オスミウム性から、しばしば誤つてゴルジ体として記載された。ハツカネズミ膀胱細胞における Xeros ('51, '55) の、一般の腺細胞や腸細胞における Baker ('49) の主張などはその例である。

ゴルジ小管は中性赤等による超生体染色で染まらないといわれている (Dalton & Felix; '54., Lacy; '54b., Gatenby & Lufty; '56)。イモリ膀胱細胞においても不染であつたが、ただ時間を多くかけることによつて側壁のみが染色せられる。Tarao ('40, '53) は膀胱細胞、神経細胞および肝細胞において帯状を呈するゴルジ装置はナイル青に生体染色され、その上にあるリポコンドリアは更に濃く染め出されるといふ。ゴルジ小管とリポコンドリアが脂質の反応を異にすることは今回の実験によつても示された (第1表)。

結 論

古典法により鍍銀または鍍オスミウムされるゴルジ装置は、核上部およびそこから核上半部を被りまでの部位に位置し、黒化された数本の紐状物から構成されている (第2図)。生きた膀胱細胞の小集団を分離し位相差顕微鏡を用いて観察するとゴルジ領域には小管状構造が認められる (第3図)。このものが上記の紐状物に相当することは疑われない。各小管は互に連絡することはないが近接して存在し、一つの小管系をなしている。細胞を中性赤またはメチレン青により超生体染色してもゴルジ小管は染色されない。しかし色素を長く働かせると小管の壁が染まる。

ゴルジ域内に或はこれに近接して存在するリポコンドリアは位相差法により種々な形の単純ミエリン形を呈し、辺縁部は暗く、内部の黄色く光る小体として認められる。リポコンドリアは超生体的に中性赤またはメチレン青により染色される。

ゴルジ装置は古典法によりしばしば網の形で検出されるが、これは少なくともゴルジ小管系の黒化像と、同じく黒化されたリポコンドリアの一部を包括して形成されるものと考えられる。

ゴルジ小管とリポコンドリアは共にアシド・ヘマテイン検査に陽性である。ズダン黒によつてはゴルジ小管は不染であるが、リポコンドリアは染まる。またアルカリ性フオスファターゼとビタミン C の検出は両者において共に陰性である。

文 献

- Adamstone, F. B. & Taylor, A. B. '53. *J. Morph.*, **92**, 513. Baker, J. R. '49. *Quart. J. micr. Sci.*, **90**, 293. ——— '54. *J. R. micr. Soc.*, **74**, 217. Bensley, R. R. '11. *Amer. J. Anat.*, **12**, 297. Beams, M. W. '30. *Anat. Rec.*, '46, 305. Challice, C. E. & Lacy, D. '54. *Nature* **174**, 1150. Dalton, A. T. & Felix, M. D. '54. *Amer. J. Anat.*, **94**, 171. Gatenby, J. B. '51. *Nature*, **167**, 185. ——— '53. *J. R. micr. Soc.*, **73**, 61. Gatenby, J. B. & Moussa, T. A. A. '49. *Cellule*, **52**, 297. ——— '50. *J. R. micr. Soc.*, **70**, 342. Gatenby, J. B. & Lufty, R. G. '56. *Nature*, **177**, 1027. Lacy, D. '54. a. *J. R. micr. Soc.*, **73**, 179.

- '54. b. J. R. micr. Soc., **74**, 1. **Moussa, T. A. A.** '52. Amer. J. Anat., **90**, 379.
 ——— & **Gatenby, J. B.** '50. La Cellule, **53**, 271. **Morgan, W. S.** '53. Quart. J. micr. Sci.,
94, 141. **O'Leary, J. L.** '30. Anat. Rec., **45**, 27. **Ries, E.** '35. Z. Zellforschg., **22**, 523.
 佐藤井岐雄及び宮内 力 '37. 動雑., **49**, 319. **Sosa, J. M.** '52. Exp. Cell. Res., **3**, 184. **Takagi,**
S. & Masuda, H. '56. Bull. Univ. Osaka. Pref., **6**, 33. **Tarao, S.** '40. Cytologia, **11**, 26. ———
 '53. Cytologia, **18**, 218. **Thomas, O. L.** '52. Science, **115**, 657. **Worley, L. O.** '46. Ann. New
 York Acad. Sci., **47**, i-56. **Xeros, N.** '51. Nature, **167**, 448. ——— '56 Nature, **177**, 843.

Résumé

The Golgi Canalicular System and the Lipochondria in the Pancreatic Acinar Cell

Jinichi KITADA

Department of Biology, University of Osaka Prefecture

The Golgi canalicules and the lipochondria in the pancreatic acinar cell of newt, *Triturus pyrrhogaster*, were studied with the phase contrast microscope, supravital staining, silver- and osmium-impregnation methods and cytochemical techniques.

The Golgi apparatus is shown by the classical methods in the supranuclear area and round the upper half of the nucleus and consists of several fine strands (Fig. 2.). When small clusters of fresh acinar cells are examined under the phase contrast microscope, clear canalicules are observed which correspond to the strands above mentioned (Fig. 3). The canalicules do not communicate with, but are in proximity to each other, thus constituting a canalicular system. They are not stained supravitally either with neutral red or with methylene blue except their walls, which take up the dye on prolonged staining.

The lipochondria are situated in or near the Golgi region. They appear under the phase contrast to consist of a dark periphery and a bright yellowish core. On close study, they are provided with irregular outlines and not with central cavity, their features being characteristic of elementary myelin forms. They are stained supravitally with neutral red and methylene blue.

The so-called Golgi net, which is often demonstrated with classical Golgi techniques, is thought to include the Golgi canalicular system and, at least, part of the lipochondria which are also blackened.

Both Golgi canalicules and lipochondria react positively to the acid-hematein test. The latter are colored with sudan black, but not the former. Demonstration of alkaline phosphatase and vitamin C failed in both of them.