

メクラウナギの痕跡眼に見られる活動電位

小林 博

下関市 農林省水産講習所

昭和37年12月1日受領

メクラウナギの眼は皮膚の下に埋没して外部から見えず、眼筋およびこれに附随する脳神経は萎縮あるいは消失してその視覚は退化するといわれている (Jordan and Snyder, 1901, 内田, 1930, 松原, 1955)。しかしこの動物が光に反応して活発な運動を行うことはすでに Cole (1912) および Gustafson (1935) によって記載されており、また Newth and Ross (1954) はこの反応が皮膚光覚にもとづくもので、皮膚の表面とくに頭部ならびに排泄腔附近に存在する末端器官が光受容器であることを示した。さらに Steven (1954) はこの反応の分光感度を測定し、その最大値は $500-520 \text{ m}\mu$ の波長にあって、 $600 \text{ m}\mu$ 以上の波長の光には感受性のないことをみた。

著者はこの動物の眼を覆う部分の皮膚が色素を欠き、白色やや不透明の円形の窓をなしていることから、この部分の光感受の可能性を考え、皮下埋没眼の機能を電気生理学的に調べるために実験を行った。その結果この眼が視覚機能を有することを明らかにし得たので、ここに組織学的観察の結果もふくめて報告する。

材料と方法

実験に使用したメクラウナギ *Myxine garmani* JORDAN and SNYDER は体長約 $50-70 \text{ cm}$ のもので 1959年3月から7月にわたって、下関市吉見の漁業者が打瀬網で夜間に捕獲したものである。活動電位の実験は摘出眼について行った。すなわち約2時間以上暗順応させた動物を、暗赤色燈光下で断頭、皮膚を切除した後、眼を中心に約 8 mm 四方の大きさの眼部周辺組織片として切り出した。誘導電極として $\text{Ag}\cdot\text{AgCl}$ 電極を用い、その先端は生理的塩類溶液 (海産硬骨魚類用, 山本, 1949) を入れた U 字管の一端に挿入し、その U 字管の他端から細く捻じった綿糸を水晶体の上面に接触させた。なお不閃電極は同じく $\text{Ag}\cdot\text{AgCl}$ 板を用い、生理的塩類溶液を含んだ脱脂綿を介して組織片の裏側にあてた。この標本を電氣的にシールドを施した暗箱内におさめ、

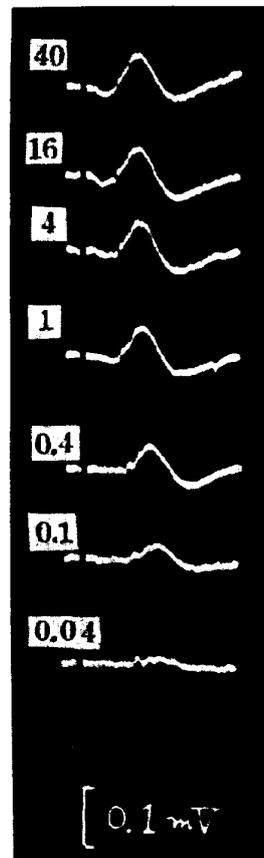
箱の側壁にあけた小孔に取り付けたシャッターを通して光刺激を与えた。光源にはオリンパス顕微鏡光源ランプを使用し、刺激強度の調節はシャッターの前面に挿入したニュートラルフィルターを用いて行った。また分光感度の測定には湘南光膜 K.K. 製干渉フィルターを用いたが、その特性ならびに分光感度の測定方法は別の報告 (Kobayashi 1962) に示した通りである。誘導された活動電位は交流増幅器 (時定数1秒) で増幅し、ブラウン管オシログラフによって記録された。またシャッターの開閉はサイクロンリレーによってオシログラフの単掃引装置と同期させた。

眼の組織的観察に用いた標本は、摘出した眼部周辺組織片をホルマリンまたはカルノア溶液で固定し、約 7μ のパラフィン切片となし、ヘマトキシリン・エオシンの二重染色を施して作製した。

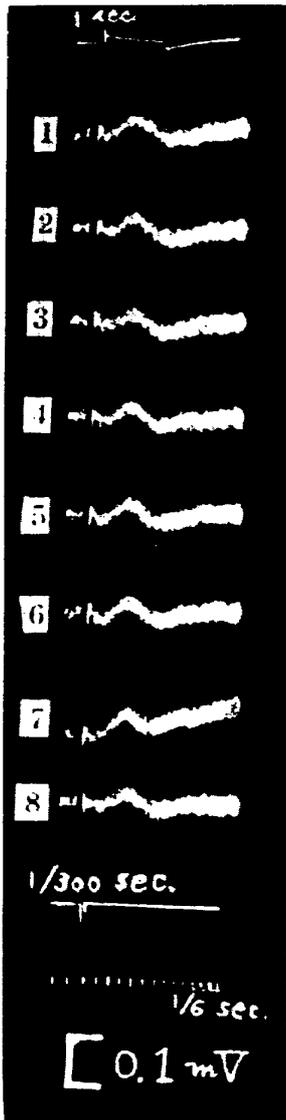
眼の組織的観察に用いた標本は、摘出した眼部周辺組織片をホルマリンまたはカルノア溶液で固定し、約 7μ のパラフィン切片となし、ヘマトキシリン・エオシンの二重染色を施して作製した。

実験ならびに結果

1. 活動電位の波形 眼部組織片として摘出した痕跡眼における活動電位は、第1図に示したように顕著な陽性的変動をあらわす。弱い光、例えば約 0.1 lux の光で刺激した場合は潜伏時の比較的長い緩やかな陽性的変動のみが見られるが、刺激が強くなると、例えば約 1 lux 以上の光刺激の場合



第1図 メクラウナギの痕跡眼から光刺激によって記録した活動電位。各記録の数字は刺激の強さ (lux) を示す。刺激時間は $1/50$ 秒。掃引の時標は $1/6$ 秒。極性は上向きが陽性 (以下同じ)。



第2図 種々の長さの刺激時間で記録した活動電位。刺激光の強さは5 lux, 刺激時間は各記録の1~8でそれぞれ1, 1/2, 1/5, 1/10, 1/25, 1/50, 1/100, 1/300秒である。

ルターで低下させた場合に起る活動電位の大きさを測定した。第3図および第4図に見られるように、光の強さの対数に対して活動電位の大きさを最大のものに対する百分率で表わすと、陽性電位(b-波)ならびに陰性電位(a-波)の大きさはともに刺激強度の対数に対して直線的関係を示した。そしていづれも2-10 luxの刺激強度で最大値(60-100 μ V)を

には、この陽性変動に先行して小さい陰性変動が見られる。そして刺激強度の増加は電位の立ち上りの急峻、振幅の増大、潜伏時間の短縮を起した。以上のことから上記の陽性変動の電位は高等脊椎動物の網膜活動電位(ERG)におけるb-波に、また陰性変動はa-波に相当するものと考えられる。

第2図は刺激の強さを一定にして、刺激時間を1/300秒から1秒まで種々変化させた場合の活動電位の波形および振幅の大きさを観察した記録の1例である。極めて短い刺激の場合を除いては、刺激の時間(duration)による波形の変化は殆んど認められず、硬骨魚類のERGに顕著に見られたような(Kobayashi, 1962)刺激時間の増大によるoff-効果の出現は観察されなかった。

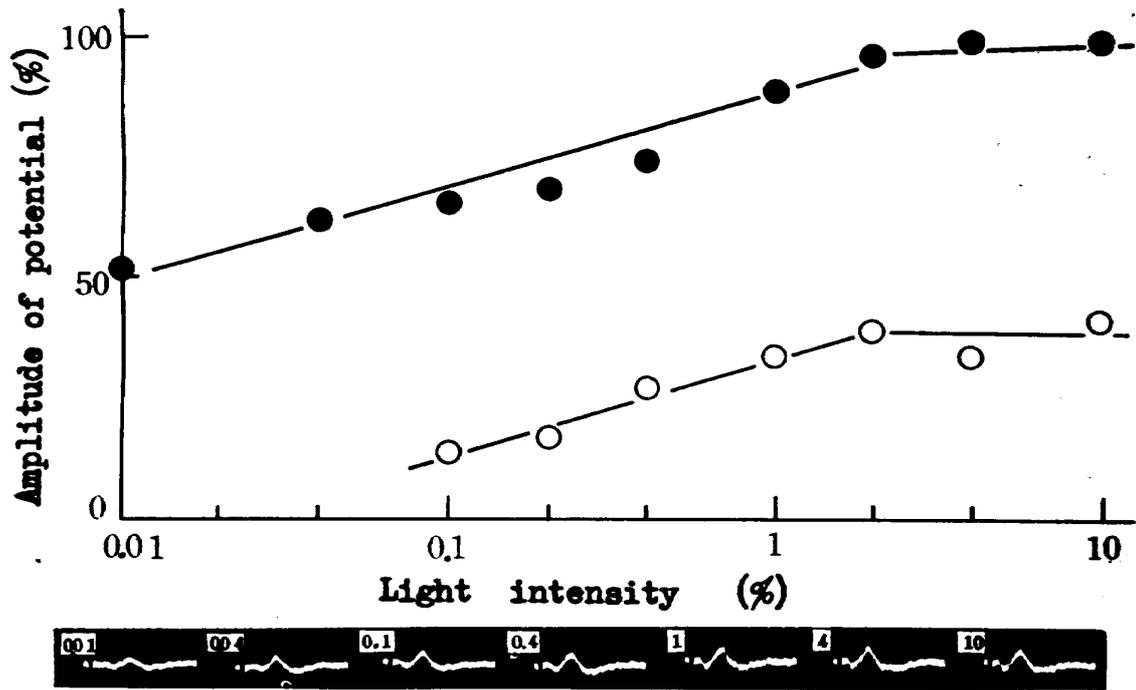
2. 刺激強度の変化と活動電位の大きさとの関係

電極の位置における照度が500 luxの時の刺激強度を100%とし、これを順次ニュートラルフィル

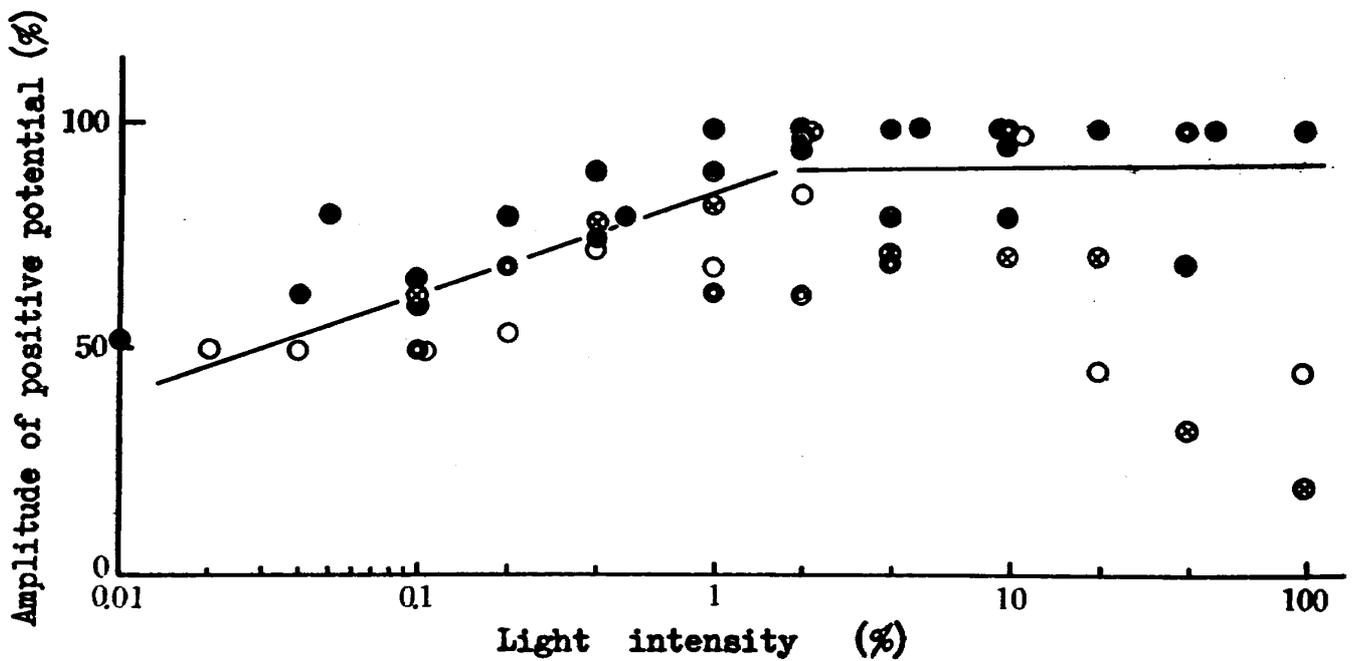
示し、それ以上の刺激強度では電位の変化は見られず一定の値を示した。ただしb-波の場合には最大の電位を示してから、刺激強度の増加につれて急激な電位の低下を示す例が見られた。第4図は6例の実験全部について陽性電位の大きさの変化を図示したもので、個体変異が著しく存在するが上述の関係が明らかに認められる。

3. 明暗順応の影響 第5図Aは暗順応眼を極めて弱い光(約0.03 lux)で明順応させ、その時間的経過に従って10 lux, 1/50秒の刺激光に対する活動電位を記録したものである。短時間の明順応で電位は急激に低下するが、明順応に用いた光の強さが極めて小さいためか、明順応開始後5分には活動電位がやや回復するのが見られる。なお明順応の進行と共に反応の潜伏時は長くなり、陽性電位の立ち上りもゆるやかになる。このような眼を10分の後に再び暗順応させると、わずか1分後には感受性は回復し、もとと同じ大きさの活動電位を生じる。同図Bはやや明るい光(約2 lux)で明順応した場合で、1分後にはすでに前と同じ刺激光に対する活動電位は得られなかった。しかしこのような眼を再び暗所に戻すと、すみやかに感受性の回復が起ることは前の場合と同じである。同図Cは20 luxの光に10分間明順応させた眼の暗順応過程を示すもので、5分後には興奮性が回復し、反応の潜伏時間、経過時間が早くなることが見られる。以上のようにこの動物の眼においてもその感受性が明暗順応によって著しく影響を受けることが認められた。

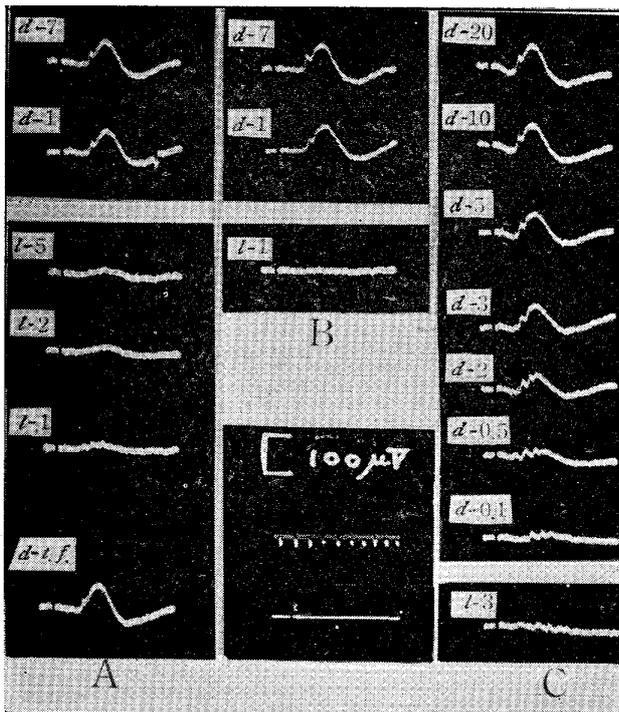
4. 繰り返し刺激が活動電位におよぼす影響 この動物の眼の活動電位は通常のフリッカー刺激には応じなかった。それで最初の刺激による興奮が、次の刺激による興奮を抑制すると考えられるから、最初の刺激による抑制効果を調べるために、一定の間隔で2つの刺激を与え、その間隔の大きさと第2の刺激による反応の大きさとの関係を種々の強さの刺激光について調べた。第6図は陽性電位について測定した結果であるが、刺激光が強いほど先行する反応の抑制効果が大きく見られる。また反応が全く抑制される時間すなわち絶対不応期が、刺激光の強さが0.3 luxの時は約0.8秒、3 luxの時は約1.8秒、30 luxの時は約4秒という極めて長い期間であることが第6図から推察される。



第3図 刺激光の強さと活動電位の振幅の大きさとの関係。黒丸；陽性電位，白丸；陰性電位。横軸は刺激光の強さ (%) を示し，縦軸は振幅の大きさで最大のものに対する% で表わす。下方の活動電位は測定に用いた記録例。



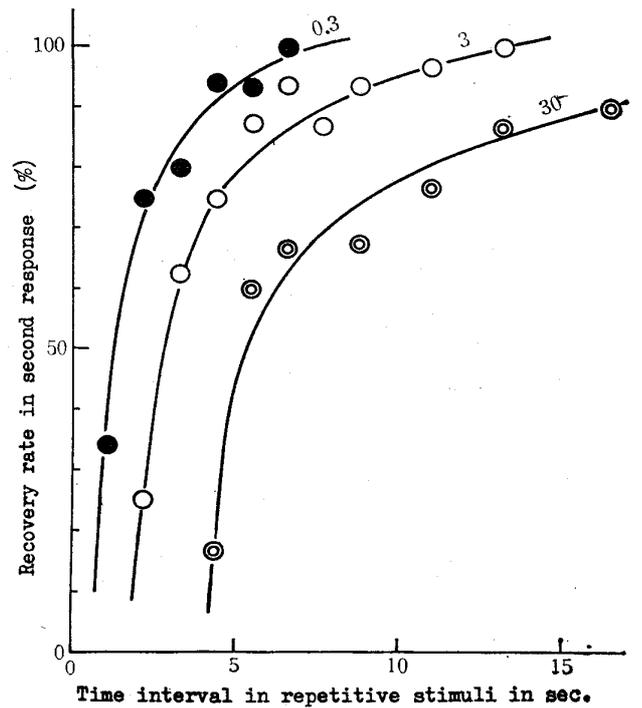
第4図 刺激光の強さと陽性活動電位の大きさとの関係。同符号の測定値は同一眼からの記録による。他の説明は第3図と同じ。



第5図 明暗順応の経過中に見られる活動電位の変化。明順応に用いられた光の強さは A, B, C のそれぞれで約 0.03 lux, 2 lux, 20 lux である。d- は暗順応, l- は明順応で, その数字はそれぞれの順応が始ってから経過時間 (秒) を示す。d-t.f. は暗順応における test flash (10 lux, 1/50 秒) による活動電位である。

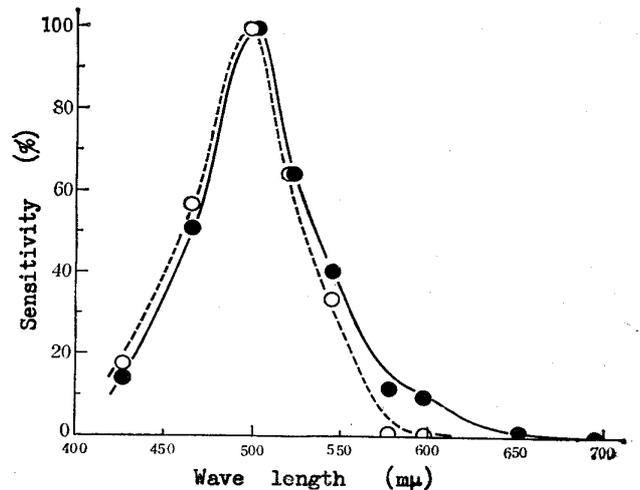
5. 分光感度 単色光刺激を与え, ニュートラルフィルターでその強さを変化させて, 陽性電位を引き起す閾値強度を求め, その逆数をもって分光感度 (spectral sensitivity) とした。なお等エネルギーの単色光刺激に対する感度とするために, 求めた閾値強度は干渉フィルターを通過する光のエネルギー比によって補正された。このようにして求めた分光感度は最大のものに対する百分率で表示した。結果は第7図に見られるように, 分光感度はスペクトルの約 500 m μ の位置に最大値を示し, それより長波長および短波長で急激に減少した。なお明順応ならびに暗順応による分光感度曲線の最大値の移行は殆んど認められなかった。またこの分光感度曲線の最大値は, Steven (1955) が皮膚光覚で求めた値とほぼ一致した。

6. 眼の形態的観察 メクラウナギの眼は頭部の両側に対をなして存在しているが, 皮膚上に現われない。そして表皮の眼を覆う部分は茶褐色の色素を欠



第6図 繰り返し刺激における活動電位の抑制効果。横軸は繰り返し刺激における刺激の時間間隔 (秒)。縦軸は最初の活動電位の振幅の大きさに対する2番目のそれの%。各曲線上の数字は刺激光の強さ (lux) を示す。

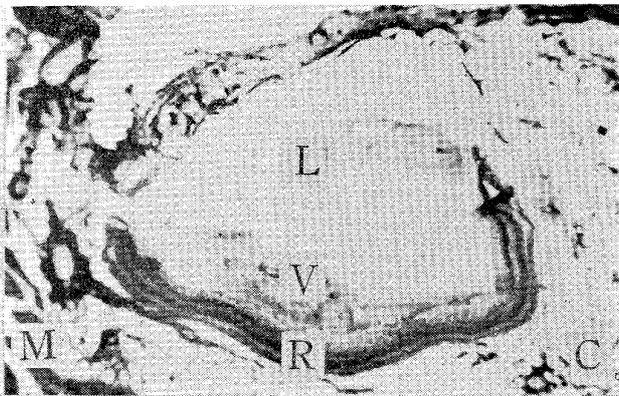
き, 白色不透明の円形の窓をなしている。眼は直径約 3 mm でその中心は無色透明の直径約 1 mm の水晶体を有する。眼の前後より2本の紐状の弾力性に富んだ突起が出て, 表皮の白色円形部分の前後にそ



第7図 メクラウナギ痕跡眼の分光感度曲線。黒丸; 暗順応眼より測定, 白丸; 明順応眼 (約 0.2 lux の光による) より測定。

れぞれ附着している。

パラフィン切片による眼の組織的観察では、第8図に見られるように結合組織と筋組織に囲まれた眼胞の最外側に、三層の神経細胞層を有する網膜様構造が存在する。その構造の前面内側にはエオシンでよく染色される硝子体および水晶体が認められる。また眼の前面には結合組織からなる薄い層が見られるが、これは脊椎動物の角膜に相当するものと思ふ。脈絡膜、強膜に相当する構造は特に見出されなかったが、眼胞周囲の結合組織がよく発達していることから、この組織が上記の二膜に相当するものと考えられる。



第8図 メクラウナギ痕跡眼の顕微鏡写真(垂直断面)。L; 水晶体, V; 硝子体, R; 網膜様構造, M; 筋組織, C; 結合組織(×20)。

網膜の微細構造は第9図に示すように、ヘマトキシリンで紫黒色に染る顆粒をもつ円形、卵形あるいは楕円形の細胞核の層状集合帯で、これらの核は最外層は1列、次は数列、最内層は2—3列または網膜内の位置により点状の部分も見られる。最外層の円形の核は1列に並んでいることから、これは高等脊椎動物の普通の網膜における色素細胞の核に相当するものと思ふが、黒色素の顆粒は殆んど見出されない。この細胞層の内側に視細胞層があり、その外節は幅約 1.5μ 、長さ $9-12\mu$ の棒状あるいは基部のやや幅広い棒状を示し、楕円体は幅約 3.6μ 、長さ約 3μ を示す。また毛様体は幅約 2μ で、その長さは標本の個体によりさまざまであった。次の層は視細胞の核で直径 $4-5\mu$ の大きさを示すが、普通の網膜の外顆粒層に相当するものと思ふ。この層はヒトの網膜の発生過程 (Detwiler, 1943) に見られる outer neuroblastic layer の状態に相当し、いま

だ双極細胞と水平細胞への分化が起っていないと考えられる。最内層は核がさらに大きく $5-6\mu$ であるが、この層はまた inner neuroblastic layer に相当し、いまだミューラー細胞やアムクリン細胞への分化が起っていないと考えられる。さらにこの層の内側に神経節細胞が散在しているがこの数は極めて少い。なお inner neuroblastic layer の内側は網状組織で、内境界膜をへだてて硝子体に接している。普通の脊椎動物の網膜に見られる視神経繊維はこの染色標本では明らかにすることが出来なかった。

考 察

一般に脊椎動物の眼はよく発達し、その視覚作用については極めて広範囲にわたって研究されている。しかし下等脊椎動物の中には形態学的に眼の発達が悪く、その機能について全く否定的解釈がな



第9図 メクラウナギ網膜の微細構造。P; 色素細胞層, R; 視細胞層, EN; 外顆粒層, IN; 内顆粒層, G; 神経節細胞(×1200)。

れているものがある。メクラウナギの眼は退化を示し痕跡的であり、その視覚作用はないと古くから記されている。従ってこのような眼から活動電位を記録出来たことは光感受機能の存在を明らかにするものとして意義があると思う。

メクラウナギ痕跡眼の活動電位は、その閾値が一般に硬骨魚類のそれより低く(Kobayashi, 1962), また最大の電位を生じるための刺激光の最小強度はかなり低い(約 10 lux)。このような弱い光刺激で起る ERG (陽性の電位) は高等脊椎動物網膜の桿体細胞に類似したものの活動と関連するようと思われる。このことはフリッカー刺激に応じないこと, off-効果を示さないこと, および分光感度の最大値が 500 m μ の波長にあることから推察される。なおこのような活動電位の諸性質が板鰓類のそれに類似していることは(Kobayashi, 1962), この動物が大陸棚の泥底に住むという生態(Cole, 1912, Gustafson, 1935)との関連において興味がある。また網膜活動電位の off-効果の生理学的意義はいまだ明らかではないが, もしこれが抑制に関係するもので, off-効果のないために残像効果あるいは像の重複が意味されるならば, この動物の生息深度や夜行的習性をあわせ考えて, メクラウナギの眼では視精度より光感受性の増大が重要性をもっていることがわかる。

なお, この動物の眼の分光感度曲線は 500 m μ の波長の光に最大値を示したが(第 7 図), このことはメクラウナギの眼における視物質がロドプシン系に属することを暗示する。また Clarke (1954), Steven (1955) によれば魚類では刺激効果の最も強い波長は海水を最もよく透過する波長と一致する, また深さによる光エネルギーのスペクトル分布は深い所では分布曲線の形が急峻であり, 浅い所では緩やかであるという。したがってメクラウナギの眼における分光感度曲線が 500 m μ 附近にピークをもつ急峻な形を示すことは, この動物が大洋の海底に生活することへの適応であると考えられる。一方, 円口類には pineal organ の発達が見られ, 体色変化に関連してこの器官の光感受性が述べられている(飯島, 1927; Young, 1935)。しかしメクラウナギではこの器官の存在は確認されておらず, 有対眼であるこの動物の皮下埋没眼の組織学的所見は, pineal organ と異なる構

造を示し, ヒトの網膜の発生途上における neuroblasten の状態を示していると考えられる。また Rasquin and Rosenbloom (1954) が 7 ヶ月以上にわたって暗所で飼育した *Astyanax mexicanus* の網膜が退化現象(内顆粒層の破壊, 変性)を起すことを述べているが, メクラウナギではこのような退化的像を示す所見はなかった。

以上述べたことはメクラウナギの眼が視覚をつかさどる光感受器であることを暗示するものであり, 眼が皮下にあることもこの動物の生活への適応と考えられる。今後, この眼に見られた活動電位と中枢との関連について考究したい。

要 約

メクラウナギの摘出眼部組織片から, 光刺激による活動電位を誘導記録することが出来た。この活動電位は小さい陰性変動が先行する緩やかな陽性変動で, 刺激閾値は極めて低い。この電位には off-効果が表われず, 明暗順応の度合により大きさが影響された。またこの電位は速いフリッカー刺激には応じなかった, すなわち反応の不応期は比較的長い(0.3 lux の刺激光で約 0.7 秒)。分光感度曲線は約 500 m μ の波長に最大値をもった。この眼の組織的観察では pineal organ と異なる構造を示し, 高等脊椎動物網膜の発生途上における neuroblasten に相当する構造を示した。以上のことからメクラウナギの痕跡眼は, 海底生活ないし夜行生活に適した視覚作用をもつ眼としての機能が推察される。

謝 辞

この研究に際していろいろ御指導を賜り, 原稿の御校閲を頂いた九州大学桑原万寿太郎教授に, また活動電位の測定について御教示を頂いた同森田弘道助教授に厚く御礼を申しあげる。さらに文献を御貸し下さった三重県立大学川本信之教授に深く感謝の意を表す。

文 献

- CLARKE, G. E. (1954) Elements of Ecology. John Wiley & Sons Inc. New York.
 COLE, F. J. (1912) A monograph on the general morphology of the myxinoïd fishes, based on a study of Myxine — III. Trans. Roy. Soc.

Edinb. 49. Part. II: 293-344.

DETWILER, S. R. (1943) Vertebrate Photoreceptors. The Macmillan Company. New York.

GUSTAFSON, G. (1935) On the biology of *Myxine glutinosa* L. *Ark. Zool.* 28 A: 1-8.

飯島 魁 (1927) 動物学提要. 大日本図書株式会社. 東京.

JORDAN, D. S. AND J. O. SNYDER (1901) A review of the lancelets, hag-fishes, and lampreys of Japan, with description of two new species. *Proc. U. S. Nat. Mus.* 23: 725-734.

KOBAYASHI, H. (1962) A comparative study on electroretinogram in fish, with special reference to ecological aspects. *J. Shimonoseki Coll. Fish.* 11: 407-538.

松原喜代松 (1955) 魚類の形態と検索. 石崎書店. 東京.

NEWTN, D. R. AND D. M. ROSS (1954) On the reaction to light of *Myxine glutinosa* L. *J. Exp. Biol.* 32: 4-21.

RASQUIN, P. AND L. ROSENBLOOM (1954) Endocrine imbalance and tissue hyperplasia in teleosts maintained in darkness. *Bull. Amer. Mus. Nat. Hist.* 104. Article 4: 361-425.

STEVEN, D. M. (1955) Experiments on the light sense of the hag, *Myxine glutinosa* L. *J. Exp. Biol.* 32: 22-38.

内田恵太郎 (1930) 魚類円口類頭索類. 岩波講座「生物学」第三回配本. 岩波書店. 東京.

山本 時男 (1949) 動物生理の実験. 河出書房. 東京.

YOUNG, J. Z. (1949) The photoreceptors of lampreys, II — the functions of the pineal complex. *J. Exp. Biol.* 12: 254-270.

ABSTRACT. KOBAYASHI, H. (Shimonoseki College of Fisheries, Shimonoseki) Preliminary Report on the Action Potentials Recorded from the Rudimentary Eye of Hagfish, *Myxine Garmani*. *Zool. Mag.* 72: 6-12. (1963)

Action potentials were obtained by light stimulus to the eye buried beneath the skin in the hag fish, *Myxine garmani*. The potential was a slow positive monophasic deflection and the maximum of the potential was about 0.1 mV. The amplitude of the potential augmented with the increase in stimulus intensity, but the potential attained a maximum at the unexpectedly low light stimulus intensity of 1 lux. The potential did not elicit an off-effect and also did not respond to the usual flicker stimuli.

A long refractory period of the potential was found in the experiments using slowly repetitive stimuli. The properties of these potentials were found to be similar to those of the ERG obtained from benthonic fish, particularly in Batoidei. Although the potential is considerably suppressed with light adaptation, the eye recovered its sensitivity rapidly in darkness, and the recovery of the sensitivity showed a simple course. The spectral sensitivity curve investigated in the dark-adapted state showed the maximum at 500 m μ , and the maximum was not shifted by light adaptation. This fact suggests that the eye has only one type of visual pigment. Histological studies of the hagfish eye failed to show any affinities to the pineal organ which is photoreceptive. Moreover, the hagfish eye has a retinal like layer, which is believed to generate the observed action potentials. (Received December 1, 1962)