

ハゼ *Clevelandia ios* の幼魚の視床下部—脳下垂体神経分泌系に対する 脳下垂体摘出と海水の塩分濃度変化の影響

上 村 晴 子・小 林 英 司・石 居 進

東京都 東京大学理学部動物学教室

昭和 37 年 12 月 24 日 受領

視床下部—脳下垂体神経分泌系の神経軸索路を切断すると、神経分泌物質が、神経分泌細胞に近い軸索切断部位に蓄積することは、いろいろの動物で観察されている (Scharrer and Scharrer, 1954; Jørgensen *et al.*, 1956; Ortman, 1960 参照)。イヌでは軸索を漏斗茎で切断すると、切断部位に神経葉組織が新生することも報告されている (Scharrer and Wittenstein, 1952)。また脳下垂体を摘出すると、その結果として、視床下部神経分泌細胞の軸索路は脳下垂体漏斗茎において切断されるが、この場合も軸索路切断のみの手術と同様に、神経分泌物質が漏斗茎の軸索切断部位に蓄積する。しかもこの場合、脳下垂体漏斗茎に生じた軸索切断部位に、新たに脳下垂体神経葉の如き構造が再構成されることも、ダイコクネズミおよびヒキガエルで観察されている (Billenstien and Leveque, 1955; 塩崎, 1958; Jørgensen *et al.*, 1956)。しかし、この神経葉の再構成は、動物の種類にもよるらしい。たとえば Palay (1953) は *Fundulus* で、Stutinsky (1953) はウナギで脳下垂体を摘出して、神経分泌物質の蓄積をそれぞれ手術 15 週、45 日後に観察しているが、それら期間内には神経葉の再構成を観察していない。本実験においては、*Clevelandia ios* の幼魚の脳下垂体を摘出し、神経分泌系がいかなる変化を受けるか、また幼魚では神経葉の再構成が見られるかどうかを調べた。

次に、淡水魚 *Phoxinus* やドジョウを高張食塩水で飼育すると、神経分泌系の神経分泌物質が減少する (Arvy *et al.*, 1954; 今井 1959)。しかし、ウナギのように、その習性上いろいろの塩分濃度の水に住む動物では、高張食塩水や海水に入れても神経分泌系には僅かな変化しか見られない (Arvy *et al.*, 1954)。海産硬骨魚 *Callionymus lyra* や *Ammodytes cancellatus* では、10% の食塩溶液に入れられると、神経分泌系に神経分泌物質の減少が認めら

れ、薄めた海水に入れられると、神経分泌物質が神経分泌系のあらゆる部分にたまる (Arvy and Gabe, 1954)。以上のように、魚の神経分泌系の塩分濃度変化に対する反応は、その魚が通常いかなる塩分濃度の水に住んでいるかということに大いに左右される。すなわち、外界の水の塩分濃度変化に対して起ると考えられる体内の水や塩類の代謝（主に腎臓と鰓によるとと思われる）における神経分泌物質中の後葉ホルモン物質の役割の程度は、その魚の住む場所に大いに関係があると思われる。本実験においては、ハゼの一種 *Clevelandia ios* の幼魚を用い、海水の塩分濃度の変化が神経分泌系に及ぼす影響を調べた。この幼魚は、夏に遠浅の海浜や小さい潮溜りに住んでおり、そこは、炎天下では潮溜りの周りに塩分が析出しているような濃い海水であり、一方雨の折には希薄な海水である。そのような場合の塩分濃度は測定してないが、海水の塩分濃度の激変に曝されることの多い幼魚である。こういう点において、この幼魚を用いて、海水の塩分濃度変化と神経分泌現象との関係を調べることは興味がある。以上述べたように、本報においては、*Clevelandia ios* の幼魚における脳下垂体摘出および海水塩分濃度変化の神経分泌系に及ぼす影響について観察した結果を報告する。

材料および方法

ハゼの一種 *Clevelandia ios* の幼魚（体長 2.0—2.5 cm）を、7 月中にワシントン州 Friday Harbor 臨海実験所附近にて集めたものを材料として用いた。前報 (Kobayashi *et al.*, 1959) で *Lepidogobius lepidus* としたのは *Clevelandia* であることも判ったので本報で訂正したい。体長が 2.0—2.5 cm の幼魚の生殖腺には、第一次精母細胞または第一次卵母細胞より進んだ生殖細胞は見出されなかった。集めた幼魚は、5 匹宛を 200 cc の海水を含むフィンガー・ボールで、実験開始前少くとも 10 日

間飼育した。海水は一日おきに取換え、*Artemia* の幼生を餌として毎日与えた。

脳下垂体の摘出を行うには、動物を MS 222 (Tricane methane sulphonate, Sandoz) で麻酔し、背位にして口を開け、頭骨に窓を開けてから小さいピペットで吸い取った。脳下垂体が摘出された動物は、13°—17°C の海水で前述の方法で飼育した。手術後 5, 9 および 14 日後に、それぞれ 6 ないし 10 匹宛の手術動物を断頭して殺し、頭部をブアン氏液にて固定、パラインに包埋、8 μ の連続切片を作った。ついで Gomori (1950) のアルデハイド・フクシン (AF) 法により染色し、神経分泌系を観察した。この際、同時に脳下垂体が完全に摘出されていたかどうかを顕微鏡下で調べた。

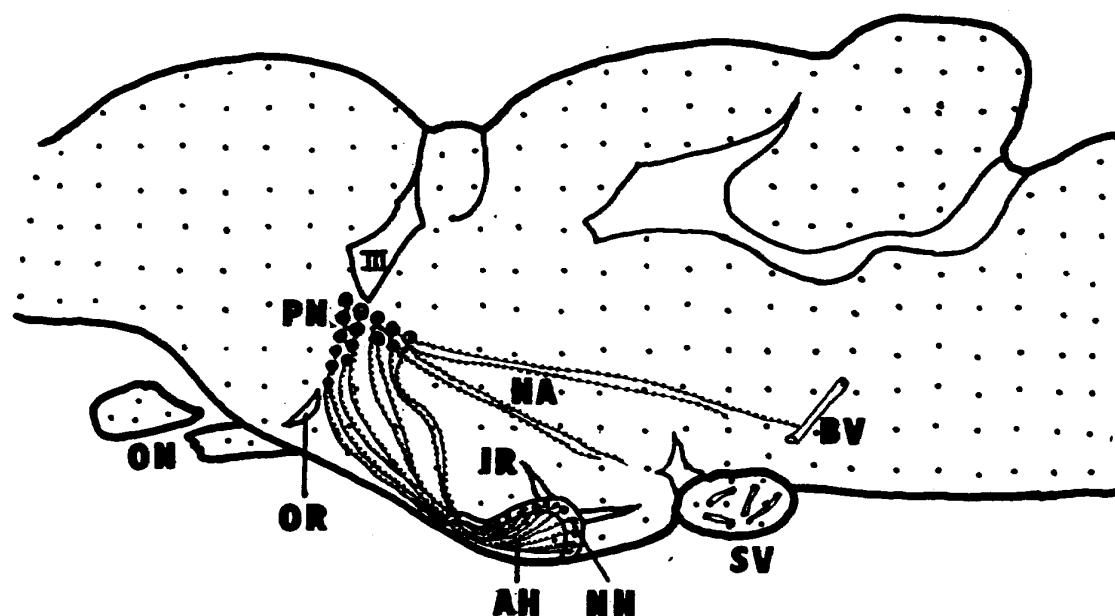
海水の塩分濃度変化の実験においては、高張海水として食塩を 10, 7, 5 および 2 % の割合で海水に溶かしたものを用いた。以下これらの海水をそれぞれ 10, 7, 5 および 2 % 食塩海水と呼ぶ。10 % 食塩海水に入れられた動物は、処置後 20 分以内で死んだ。7 および 5 % 食塩海水では、黒色素胞が拡散し、呼吸は激しくなる。これらの海水に入れられた動物は、処置後 90 分にそれぞれ 6 匹宛殺した。2 % 食塩海水の影響を見るためには、動物をこの海水に入

れてから3時間後、さらに1, 4および9日後に、それぞれ5匹宛を殺した。低張海水としては、海水を蒸留水で1/2および2/3に薄めたものを用い、1/2海水に入れた動物については、入れてから3および17時間後、さらに4および9日後にそれぞれ5または6匹宛を殺し、2/3海水では3時間および4日後にそれぞれ6匹宛殺した。結果の観察には前述の方法により組織標本を作った。対照動物は、正常海水に飼育した5匹であり、これらはまた脳下垂体摘出実験の対照にも用いた。手術と実験操作は著者の一人小林が行い、組織の観察は三人にて行った。

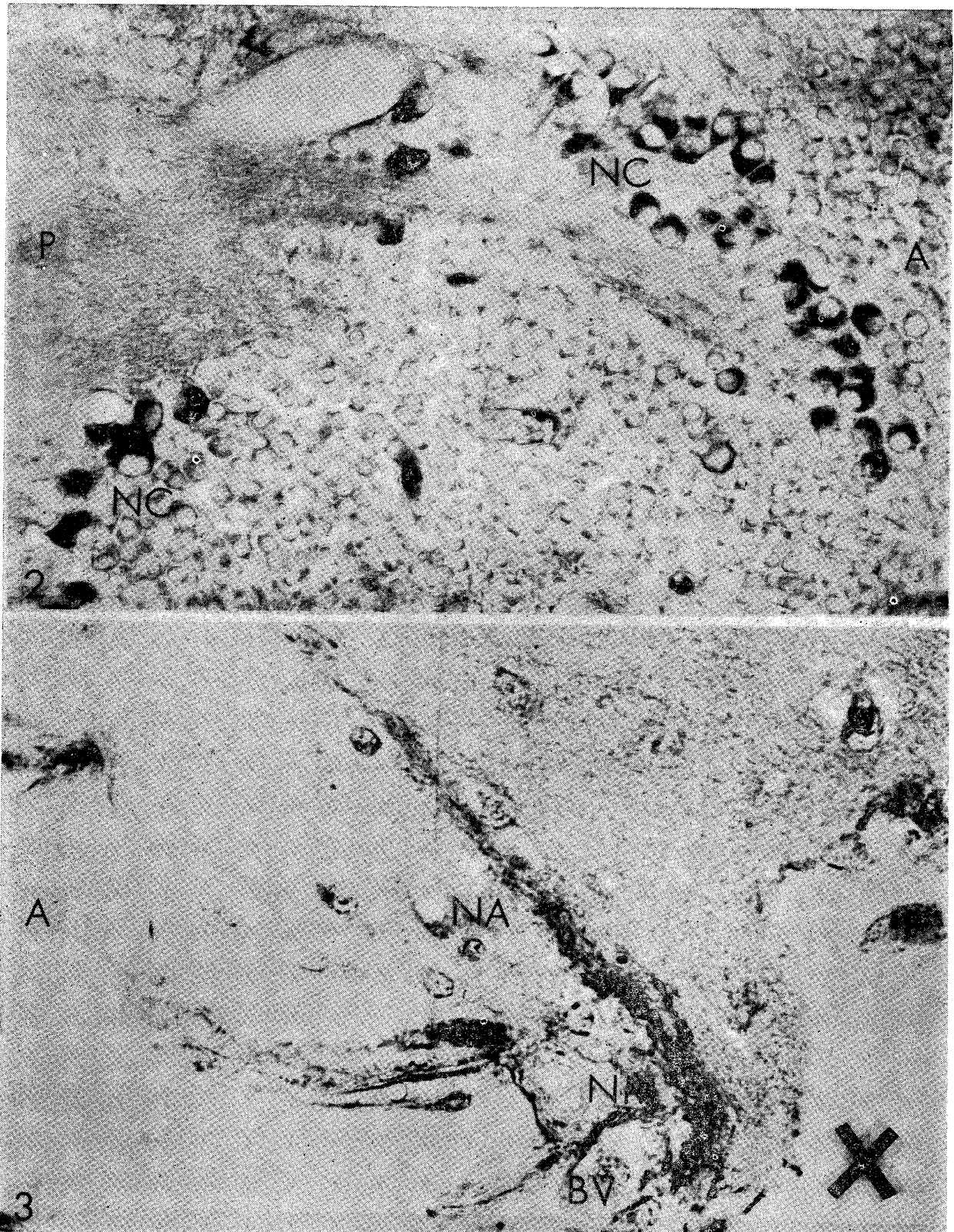
結果および論議

I. 脳下垂体摘出と神経分泌系 *Clevelandia*

ios の視床下部—脳下垂体神経分泌系の模型図と、正常海水中に飼育された動物の視索前核の神経分泌細胞は、それぞれ第1および第2図に示してあるが、それらの詳細は前報 (Kobayashi *et al.*, 1959) に記載してある。特に脳下垂体が脳内に入り込んでいるのが特徴的である。脳下垂体摘出後5日には、手術による神経分泌軸索切断部で、細胞体に近い部に、AFに染まった神経分泌物質の蓄積が観察された(第3図)。また Herring 小体が軸索中にしばしば



第1図 *Clevelandia ios* 幼魚の視床下部—脳下垂体神経分泌系の模式図。Ⅲ, 第3脳室; PN, 視索前核; ON, 視神経; OR, optic recess; NA, 神経分泌細胞軸索 (.....); I.R., 漏斗腔; BV, 血管; AH, 脳下垂体腺葉; NH, 脳下垂体神経葉; SV, 血液とう。×90



第2図 正常海水に飼育した *Clellandia ios* 幼魚の視索前核の神経分泌細胞 (NC)。A, 前方; P, 後方。アルデハイド・フクシン染色。×700。

第3図 脳下垂体摘出5日後の *Clellandia ios* 幼魚の神経分泌細胞軸索 (NA) とその切断部位に蓄積した神経分泌物 (NM)。BV, 血管; A, 前方; P, 後方。× 部は脳下垂体が摘出されたあとを示す。アルデハイド・フクシン染色。×780

観察された。手術後9および14日に殺した動物では、視索前核の神経分泌細胞中の神経分泌顆粒も減少し、また Herring 小体や、手術後5日に見られた軸索切断部の神経分泌物質の蓄積は殆んど消失していた。AF 染色で観察した限りでは、手術動物の神経分泌細胞は退化の兆を示していなかった。また手術後14日までには、幼魚といえども神経葉組織の再構成などは起らなかった。Stutinsky (1953) はウナギで、脳下垂体摘出により生じた軸索切断部に、神経分泌物質が蓄積することを手術後25および45日に観察し、また視索前核の神経分泌細胞の退化は起らないことを報告している。Palay (1953) は、*Fundulus* で脳下垂体摘出後15週に視索前核中の細胞に退化が起ることを報じている。Jørgensen *et al.* (1956) は、*Bufo* で脳下垂体を摘出すると、神経分泌細胞軸索切断部にあらたに神経葉組織の再構成が、手術後数週で始まることを観察しているし、また Billenstien and Leveque (1955) は、ダイコクネズミの脳下垂体を摘出すると、手術5日後に多量の神経分泌物質が、漏斗茎に生じた軸索切断部位に蓄積することを観察し、さらに手術後14日には、この蓄積が消失することを報告している。そして、この消失を切断部附近の血管の回復に帰している。また神経葉組織が再構成されることも報告している。ダイコクネズミにおけるこの再構成は、前述のように他の研究者によっても観察されている。*Clevelandia ios* では、神経分泌細胞の軸索切断部位が、脳下垂体が摘出されたあとの腔所に直接接しているのもあり、また切断部位の近くの血管に接しているものもあるから(第3図)、手術5日後に蓄積した神経分泌物質は、ある場合には直接脳室液へ、ある場合には血管中へ放出されたものと思われる。

Follenius and Porte (1962) は、*Lebistes* と *Perca* の神経葉に存在する神経分泌細胞の軸索末端には、神経分泌顆粒と synaptic vesicle とが共存していると述べている。この末端構造は、魚のみならず両生類 (Gerschenfeld *et al.*, 1960), 鳥類 (Kobayashi *et al.*, 1961; Oota and Kobayashi, 1962; Oota, 1962), および哺乳類 (Berry and Gotte, 1961) などの神経葉でも観察されており、特に Gerschenfeld 等や Kobayashi 等は神経分泌顆粒が末端より消失する際に、synaptic vesicle に変化があることを報

告し、後葉ホルモンの分泌に synaptic vesicle が何らかの役を果しているとの説を出している。さて、本実験で神経分泌物質が、神経分泌軸索切断後一時蓄積され、その後消失したが、この消失が生理的に如何なる意味を有するか、またこの消失の際にも、正常の場合と同様に、synaptic vesicle がその部位にあらたに形成されていたのかどうかは興味あるが、この問題は目下研究中である。

II. 海水の塩分濃度変化と神経分泌系 すでに記載したように、*Clevelandia ios* の幼魚を10%食塩海水に入れると、20分以内に死ぬ。2.5および7%食塩海水に入れた動物は、前述したようにそれらの海水に入れてからいろいろの間隔で5あるいは6匹宛殺し、視索前核の神経分泌細胞と神経葉との神経分泌物質の量を、階級を設けてすべての動物について三度スコアをつけて調査したが、ここに表示するまでもなく、対照動物のそれらと差はつけられなかった。分泌細胞(第3図)にも神経葉にも多量に神経分泌物質がたまっていた。この所見は、緒言に述べた他の研究者達の報告 (Pickford and Atz, 1957; Arvy *et al.*, 1959) をも参照) とは若干異っている。

さて、このような相違は、第一に本実験で用いられた *Clevelandia ios* が幼魚であって、水や塩の代謝が神経分泌系をあまり介さないで、別の機構で行われる可能性に基づくものかも知れない。第二の説明としてその習性を考えなければならない。*Clevelandia* の幼魚は、盛夏に岩間の小さい潮溜りや海浜の浅い所にいる。前述したように、ここでは海水の塩分濃度の変化は非常に著しいと思われる。ウナギはその習性上海水および淡水中に住む euryhaline なものであるが、塩分濃度変化に対して神経分泌系が大きな反応を示さない (Arvy *et al.*, 1954)。この現象は、やはり euryhaline の *Gasterosteus aculeatus* でもうかがわれる。すなわち淡水に飼った *Gasterosteus aculeatus* を強い高張な塩類の水に飼うと神経分泌系に変化が起るが、うすい高張水では変化が起らない。また海水に飼ったものを淡水に移しても変化が見られない (Fridberg and Olsson, 1959)。また、euryhaline の *Tilapia* でも高張食塩水に入れると、神経葉の神経分泌物質は、実験動物の1/3において減少するが、他は反応しないことも

見られている (Takasugi and Bern, 1962)。 *Clevelandia* の神経分泌系が海水の塩分濃度変化に対して敏感でないのは、幼魚であるが故ではなく、ウナギ、 *Gasterosteus* や *Tilapia* のように、この幼魚が euryhaline であるためかも知れず、また両方のためであるのかも知れない。いずれにせよ、こういう euryhaline の魚における塩類や水の代謝は、神経分泌系にあまり依存しないで、他の機構に、より依存しているものと思われる。このような例は鳥類でも見られるのであって、南豪洲原産であるセキセイインコは、飲料水を与えられなくても粒餌のみで一週間以上体重の減少もなく生存する。この際、視索上核や脳室旁核の神経分泌細胞の形態および神経葉の神経分泌物質の量は、水を与えた対照のセキセイインコと差がない (上村・小林, 未発表)。これに較べて、スズメ (松井, 未発表), *Zonotrichia leucophrys gambelii* (Kawashima et al., 未発表), ハト (Ishii et al., 1962; Kobayashi et al., 1962) などは飲料水が与えられないと、体重は直ちに減少し、神経分泌細胞群の一部に大きな変化が現われ、神経葉から神経分泌質および後葉ホルモンが減少する。すなわち神経分泌物質の中に含まれている抗利尿ホルモンが血中に増し、その結果水分が体内に保持されるのである。セキセイインコでは、神経分泌系には依存しないで水分を体内に保持するような別な機構が発達しているものと思われる。

一方、以上の考察とは反対に、海水の塩分濃度変化に対して、神経分泌系に顕微鏡で検出できぬ程度の変化が起っており、かつ、その程度の変化で塩類および水の代謝の変化に十分与っていると考えられる。いずれにせよ *Clevelandia ios* の幼魚では、これまで報告された魚類に較べて、外界の塩分濃度変化に対する神経分泌系の反応が小さいことは確かである。尾部神経分泌系も塩分の濃度変化に多少関係していると言われているが (Takasugi and Bern, 1962参照), 本研究においては観察しなかった。

摘 要

ハゼの一種 *Clevelandia ios* の幼魚 (体長 2.0~2.5 cm) の脳下垂体を摘出すると、手術の結果神経分泌細胞の軸索路が切断されるが、摘出 5 日後にこの切断部位に神経分泌物質が蓄積する。しかし、こ

の蓄積も 14 日後には消失する。この消失の機構について若干の論議をした。また、この切断部位に、哺乳類や両棲類で報告されているような神経葉組織の再構成は、幼魚であっても手術 14 日後までは起らない。

Clevelandia ios の幼魚を、蒸留水で薄めた海水または食塩で高張にした海水に入れても、神経分泌系における神経分泌物質の量は、対照のそれに較べて差が認められない。この現象の説明をこの幼魚の生態、主にその euryhalinity と関聯して論議した。

文 献

- ARVY, L., M. FONTAINE ET M. GABE (1954) Action des solutions salines hypertoniques sur le système hypothalamo-hypophysaire chez *Phoxinus laevis* Agass. et chez *Anguilla anguilla* L. C. R. Soc. Biol., Paris, 148: 1759-1761.
- ARVY, L. ET M. GABE (1954) Modifications du système hypothalamo-hypophysaire chez *Callionymus lyra* et *Ammodytes lanceolatus* au cours des variations de l'équilibre osmotique. C. R. Assoc. Anat. 41: 843-849.
- ARVY, L., M. FONTAINE ET M. GABE (1959) La voie neurosécrétoire hypothalamo-hypophysaire des téléostéens. J. Physiol. 51: 1031-1085
- BARRY, J. ET C. COTTE (1961) Etude préliminaire, au microscope électronique de l'éminence médiane du Cobaye. Z. Zellforsch. 53: 714-724.
- BILLENSTIEN, D. C. AND T. F. LEVEQUE (1955) The reorganization of the neurohypophyseal stalk following hypophysectomy in the rat. Endocrinol. 56: 704-717.
- FOLLENIUS, E. AND A. PORTE (1962) Appearance, ultrastructure and distribution of the neurosecretory material in the pituitary gland of two teleost fishes *Lebistes reticulatus* R. and *Perca fluviatilis* L. Neurosecretion 51-69. edited by H. Heller and R. B. Clark. Academic Press. London and New York.
- FRIDBERG, G. AND R. OLSSON (1959) The praectico-hypophysial system, nucleus tuberculis lateralis and the subcommissural organ in osmotic stimuli. Z. Zellforsch. 49: 531-540.
- GERSCHENFELD, H. M., J. TRAMEZZANI AND E. DE ROBERTIS (1960) Ultrastructure and

- function in neurohypophysis of the toad. *Endocrinol.* 66: 741-762.
- 今井 勝俊 (1959) 淡水魚類に対する塩類負荷と神経分泌, 動雑 68: 123-124.
- ISHII, S., T. HIRANO AND H. KOBAYASHI (1962) Neurohypophyseal hormones in the avian median eminence and pars nervosa. *Gen. Comp. Endocrinol.* 2: 433-440.
- JØRGENSEN, C. B., P. ROSENKILDE AND K. G. WINGSTKAND (1956) Regeneration of the neural lobe of the pituitary gland in the toad, *Bufo bufo* (L.). *Bertil Hanström: Zoological papers in honour of his sixty-fifth birthday.* 184-195.
- KOBAYASHI, H., S. ISHII AND A. GORBMAN (1959) The hypothalamic neurosecretory apparatus and the pituitary gland of a teleost, *Lepidogobius lepidus*. *Gunma Jour. Med. Sciences* 8: 301-321.
- KOBAYASHI, H., H. A. BERN, R. S. NISHIOKA AND Y. HYODO (1961) The hypothalamo-hypophyseal neurosecretory system of the parakeet, *Melopsittacus undulatus*. *Gen. Comp. Endocrinol.* 1: 545-564.
- KOBAYASHI, H., Y. OOTA AND T. HIRANO (1962) Acid phosphatase activity of the hypothalamo-hypophyseal system of dehydrated rats and pigeons in relation to neurosection. *Gen. Comp. Endocrinol.* 2: 495-498.
- OOTA, Y. AND H. KOBAYASHI (1962) Fine structure of the median eminence and pars nervosa of the pigeon. *Annot. Zool. Japon.* 35: 128-138.
- 太田 吉彦 (1962) 鳥類脳下垂体後葉の微細構造, 動雑 71: 235-242.
- ORTMANN, R. (1960) Neurosecretion. *Handbook of Physiology* 2: 1039-1065.
- PALAY, S. L. (1953) A note on the effects of hypophysectomy on the preoptico-hypophyseal pathway in *Fundulus*. *Bull. Bingham Oceanographic Collection* 14: 42-45.
- PICKFORD, G. E. AND J. W. ATZ (1957) *The physiology of the pituitary gland of fishes.* New York Zoological Society, New York.
- SCHARRER, E. AND G. J. WITTENSTEIN (1952) The effect of interruption of the hypothalamo-hypophyseal neurosecretory pathway in dog. *Anat. Rec.* 112: 387.
- SCHARRER, E. AND B. SCHARRER (1954) Hormones produced by neurosecretory cells. *Recent Progr. Hormone Res.* 10: 183-240.
- SHIOZAKI, N. (1958) Reorganization of rat's neurohypophysis after total hypophysectomy. *Gunma Jour. Med. Sciences* 7: 199-206.
- STUTINSKY, F. (1953) La neurosécrétion chez l'*Anguilla* normale et hypophysectomisée. *Z. Zellforsch.* 39: 276-297.
- TAKASUGI, N. AND H. A. BERN (1962) Experimental studies on the caudal neurosecretory system of *Tilapia mossambica*. *Comp. Bioch. Physiol.* 6: 289-303.
- ABSTRACT.** UEMURA, H., H. KOBAYASHI AND S. ISHII (Zoological Institute, Faculty of Science, University of Tokyo, Tokyo) Effects of Hypophysectomy and Salinity Change of Sea Water on the Hypothalamo-Hypophyseal Neurosecretory System of the Young Goby, *Clevelandia ios*. *Zool. Mag.* 72: 17-22. (1963) A diagram of the hypothalamo-hypophyseal neurosecretory system of *Clevelandia ios* is presented in Figure 1. Five days after hypophysectomy in the young goby (2.0-2.5 cm in body length), *Clevelandia ios*, neurosecretory material was accumulated at the proximal cut ends of the axons originating in the neurosecretory cells of the preoptic nucleus. Herring bodies were frequently observed in the axons. In Figure 3, NA, NM and BV show the neurosecretory axons, accumulated neurosecretory material and blood vessel, respectively. The sign of cross (X) shows the original position of pituitary body. By nine days following hypophysectomy, the accumulation of neurosecretory material at the cut ends disappeared, and the neurosecretory granules in the neurosecretory cells and the Herring bodies in the axons decreased in number. The disappearance of neurosecretory material from the cut ends were discussed in comparison with normal releasing mechanism of neurosecretory granules from the axon endings.
- The amount of neurosecretory material in the neurosecretory cells of the preoptic nucleus (Fig. 2) and in the neurohypophysis was not affected by keeping the young gobies in either sea water containing NaCl at concentrations of 2, 5 and 7% or sea water diluted to 1/2 and 2/3 with distilled water. The results were discussed in relation to their habitats, especially to their euryhalinity. (Received December 24, 1962)