

相模湾初島沖、シロウリガイ群集棲息地付近の  
黄褐色底泥上より採集された腹足類  
(Neogastropoda; Turridae) の鰓の  
超微形態観察に基づく一考察

遠藤圭子\*<sup>1</sup> 橋本 惇\*<sup>2</sup> 藤倉克則\*<sup>2</sup> 内田徹夫\*<sup>2</sup>

透過型電子顕微鏡を用いて、相模湾初島沖、シロウリガイ群集棲息地付近より採取されたクダマキガイ科腹足類の鰓の観察を行った。この結果、鰓の主細胞が、被覆小坑を通じて、外界からリガンドを取り込んでいることが判明した。腹足類で、直接環境水に接する鰓の細胞が受容体伸介エンドサイトーシスにより、リガンドを取り込んでいるのが観察されたのは初めてである。被覆小坑は、これらの細胞の上部表面に観察されたピノサイトーシスによる換入の10%強を占める。この鰓の上皮細胞は、残りの90%弱の換入を通じて活発に液相ピノサイトーシスも行っている。細胞上部の多数のエンドソーム、多胞体、二次ライソソームから、取り込まれた物質がこれで消化されていることが強く示唆される。基底部には極度に発達した基底迷路が観察される。上記の観察を総合すると、消化された物質は主として基底部から分泌されていると考えられる。基底側2/3にぎっしりつまった大型のミトコンドリアは、上部よりの旺盛な外液の取り込みと細胞内消化、基底部からの分泌活動を支えるエネルギーを供給していると想定される。

Possible "talks" with environment : the branchial cells of a deep-sea snail (Neogastropoda ; Turridae) import "ligand(s)" from the fluid of mantle cavity through coated pits

Keiko ENDOW\*<sup>3</sup> Jun HASHIMOTO\*<sup>4</sup>  
Katsunori FUJIKURA\*<sup>4</sup> Tetsuo UCHIDA\*<sup>4</sup>

Branchial cells of an unnamed deepsea snail belonging to Turridae engaged in active import of extracellular fluid through fluid phase pinocytosis from the apical cell membrane. Abundant endosomes, multivesicular bodies, secondary lysosomes occupied the apical part of these cells strongly suggest intracellular digestion of imported materials. An extremely well developed basal labyrinth supports the idea that branchial cells of the snail secrete digested materials largely from the basement. Numerous large mitochondria compactly packed in the basal two thirds of the cell may meet energy demands for active im-

\* 1 東京大学海洋研究所  
\* 2 海洋科学技術センター  
\* 3 Ocean Research Institute, University of Tokyo  
\* 4 Japan Marine Science & Technology Center

port, followed by intracellular digestion, from the apex and secretion of digested materials from the basement. Further, TEM observations of coated pits at the apical cell membrane faced to mantle cavity, and the import of ligand(s) clearly show possible direct interaction(s) with environment of branchial cells of the mollusc through receptor-mediated endocytosis. This is the first observation, we believe, of the occurrence of coated pits at the cell surface of molluscs being contact with environmental water, and the import of "ligand(s)" from the fluid of mantle cavity through receptor-mediated endocytosis.

## 1. はじめに

試料は1990年11月11日、「しんかい2000」#518 潜航航海中に相模湾初島沖シロウリガイ群集棲息地（水深170m, 北緯35°00.2', 東経139°13.5'）付近の黄褐色の底泥上より採取された。この貝はシロウリガイ群集棲息地にはほとんど出現せず、黄褐色底泥部に集中して分布するという特徴をもつ。鰓が暗色を呈し、通常の腹足類に比して厚く大きいという特徴が認められたため、共生細菌の有無を調べる目的で透過電子顕微鏡（TEM）による観察を行った。なお、この貝の歯舌、消化管および内容物等の研究は、現在海洋科学技術センターにおいて、藤倉を中心に進行中である。

試料作製方法はJAMSTEC Deepsea Research (1987) 遠藤ほかに準じた。ただし固定液、洗浄液ともショ糖のかわりに、0.4M 食塩を浸透圧調整用に用いた。光学顕微鏡用切片は2 $\mu$ m厚に作製し、トルイジン青染色をほどこして検鏡した。超薄切片は酢酸ウラニウムおよびクエン酸鉛による二重染色をほどこし、JEOL 100 CX 透過型電子顕微鏡で検鏡した。

この結果、共生細菌は認められなかったものの、いくつかの興味深い知見を得たので報告する。

## 2. 観察結果

鰓系の先端部は多列角柱上皮によって被覆されている（写真1）。この上皮細胞は、大きいものでは高さ40 $\mu$ mに達する。付け根の辺は単層立方上皮に覆われている。

鰓系にはかなり高頻度に分泌細胞が分布している。先端部のみならず中央部にも多く存在し、さらに付け根の辺にも出現する。光顕切片観察では

3種類の果粒細胞が観察された。第1は透明な細胞質中に濃い藍青色の果粒を含むもので、TEM切片上の電子密度の高い果粒を含む細胞に対応する（タイプI）。第2は光顕切片上でうすい赤紫中にまばらに濃い赤紫色の果粒を含む細胞で、TEM切片上のほぼ透明な中に少数の電子密度の高い果粒（一様に中まで黒くない）の認められる細胞に対応する（タイプII）。第3は濃い赤紫中にさらに濃い赤紫色の果粒を含む細胞で、TEM切片上の網状構造を持つ貯蔵物質を主として含む細胞（写真2）に対応する（タイプIII）。ただし、染色性や微細形態に差異が認められるものの、2と3とが同種の細胞であるか、異種であるかは今後の観察および組織化学的検討等により検証されなければならない。同種の細胞の細胞活動のステージの違いを反映している可能性もある。

鰓系を構成する主要な細胞は多数の微絨毛に縁どられている。微絨毛の中には枝分れたものも見られる。この細胞は細胞質突起や仮足を伸ばすこともある（写真3a, 3b）。微絨毛の付け根の辺や細胞上部表面にはTEMサイズの陥入（0.1 $\mu$ m強）がひんぱんに見られる。陥入の一周強は被覆をまとい、その部分の細胞膜の外側表面に中程度のオスミウム染色性を示す繊維状物質が付着しているのが認められる（写真4a, 4b）。細胞上部には多数のエンドソームが存在する（写真4a, 4b）。

また被覆をまとった小胞（写真4c）も見られる。エンドソームにまじって多数の多胞体も存在するが、含まれる小胞のうちに外面に繊維状の物質が付着しているものが認められる（写真5）。多くの場合、そのやや下部に多数の、オスミウム染色性の異なる不均一な内容物を含む一重膜に囲

まれた胞状構造(写真1, 2)が存在する。これは形態的に二次ライソソームと考えられる。この中には多胞体中に見られるような小胞が存在することがある。

この細胞の基底側より2/3ほどの部分はおびただしい大型のミトコンドリアによって占められる。核はおおむねその上に位置し、核を囲むように二次ライソソームの領域がはじまる。基底部には著しく入り組んだ基底迷路(写真6a, 6b)が発達し、基底部の面積を拡大している。

### 3. 考 察

鰓の主細胞は形態学的にみて、旺盛な物質交換を行っていることをうかがわせる多くの特徴をそなえている。細胞上面の豊富な微絨毛、ひんばんに認められる細胞質突起、時に仮足の伸長(写真1, 2, 3a, 3b)、基底部における高度に発達した基底迷路(写真6a, 6b)は分泌吸収活動の活発な細胞に認められる特徴で、おびただしいミトコンドリア(写真1, 2, 6a参照)はこれらの活動に必要なエネルギーを供給するのに役立っていると考えられる。さらに細胞上部の多数のエンドソーム、多胞体、二次ライソソームは、この貝の鰓の主たる上皮細胞が上部表面に認められるTEMサイズの陥入を介して、ピノサイトーシスにより外界から活発に物質を取込み、ライソソーム内で消化していることを強く示唆する。海産無脊椎動物には体表より環境水中の溶存物質を取込むものが多く知られ(Southward & Southward, 1979, Wright 1982)、ピノサイトーシスによる微粒子の取込みは軟体動物でも *Macrocallista maculata* (Eulamellibranchia; Veneridae), *Isognomon alatus* (Pteriomorpha; Isognomonidae), *Pinctada radiata* (Pteriomorpha; Pteridae) の外套膜の上皮細胞 (Bevelander & Nakahara, 1966; Nakahara & Bevelander, 1967), *Mytilus edulis* (Pteriomorpha; Mytilidae) の鰓の上皮細胞 (Pasteels, 1968)、シャコガイ科の *Hippopus hippopus*, *Tridacna gigas*, *Tridacna maxima*, *Tridacna squamosa* (Eulamellibranchia; Tridacnidae) の水管の上皮細胞 (Frankboner, 1971) 等、古くから多くの報告がある。なお、Pasteels (1968) は取込みの見られない、まだ性成熟に達していない

*Mytilus edulis* の鰓の細胞にはエンドソームやライソソームが認められないと述べている。

上部表面の陥入のうち1割強のものは被覆をまといっている。これは今回の観察のうちでも最も興味深いものである。ピノサイトーシスにはラッフルをのばしてのマクロピノサイトーシスの他に、この細胞の9割近くの陥入に見られるような単純なTEMサイズの液相ピノサイトーシスと被覆小坑を経る受容体仲介ピノサイトーシスの存在が知られている (Silverstein et al., 1979)。現在、被覆小胞にはクラスリンで被覆される直径0.15 $\mu$ m (平均; 細胞により異なる場合有り) ほどの大型の被覆小胞(細胞表層から陥入)と、クラスリンおよび非クラスリン被覆のより小型の被覆小胞(小胞体およびゴルジ層板からの出芽)の存在が知られている。写真4a, 4b, および写真4cで観察された被覆小坑および小胞の直径は0.1~0.14 $\mu$ mで、他細胞で観察されるものとはほぼ同程度の大きさをしている。また図4a, 4bの被覆小坑の細胞外側表面、および写真4cの被覆小胞の内側に付着した中程度のオスミウム染色性を示す物質は、膜の受容体に結合したリガンドだと考えられる。この観察により、この貝の鰓の主細胞が外液からの物質の選択的取込みに関与していることが明らかとなった。

受容体ピノサイトーシスによって取込まれたリガンドは、大部分が最終的にはライソソームに至り、そこで分解されることが知られている (Goldstein et al., 1979; Sonne, 1988)。また多胞体はライソソームと極めて緊密な関係にある細胞小器官であるが、膜の中に含まれる小胞のうち少くとも一部は多胞体の膜の小部分が反転して胞内に突出し、くびれて多胞体中に放出されてできると考えられている (McKanna et al., 1979)。写真5に見られるように、多胞体中に繊維状物質の付着した小胞が認められること、および二次ライソソーム中に多胞体中に見られるような小胞が認められることから、この貝においても取込まれたリガンドのうちに多胞体を経てライソソームに至るものがあることがうかがわれる。

被覆小坑、小胞は遅くとも1950年代後半には観察されていたと思われ、1960年代に入ると1961年 Gray, "complex", 1962年 Brightman, "dense

rimmed", 1963 年 Palay, "alveolate", 1964 年 Roth & Poter, "bistle-coated" とさまざまな呼び方で報告され, Roth と Poter は初めてこの構造が外界からの物質 (タンパク質, おそらく非タンパク質も) の選択的取込みに貢献するものであるという仮説を提出した。

無脊椎動物でも古くよりネッタイシマカ (*Aedes aegypti*) やセクロビア蚕 (*Platysamia cecropia*) の卵母細胞 (Roth & Poter, 1964, Stay, 1965) のように血中より卵黄タンパク質を取込む細胞, モモアカアブラムシ (*Myzus persicae*) の囲心細胞 (Bowers, 1964) のようなシグナルを受けとって別のシグナルを出す細胞, ザリガニ (*Orconectes virilis*, *Procambarus clarkii*) の中腸腺上皮細胞 (Loizzi, 1971) のような吸収細胞にその存在が報告されてきた。これらの機能の明確な細胞に比してこの新腹足類の鰓の細胞がどのようなリガンドの取込みに関与しているのかは現在不明であるが, 自然の生態系から採取された個体の体表に被覆小坑が観察されたことは大変興味深い。被覆小坑を介しての物質の取込みはリガンドが受容体に特異的に吸着するため, 顕著な濃縮がおこる。栄養物質のみならず, ペプチドホルモン, 免疫グロブリン等, 生体にとって極めて重要な物質の取込みも多くは受容体仲介エンドサイトーシスによって行われていることはよく知られているところである。今後リガンドや受容体の研究が進めば, この貝の生理・生態学に資するところ大と思われる。高頻度に観察される 2 種または 3 種もの分泌細胞は, 単に外套腔内に導入された環境水中の塵芥の排除や細胞表面の保護に役立つのみならず, 外部よりの物質 (情報?) に対するフィルターとして, 選別・集積等の役割を果たしている可能性があり, これも今後の課題である。

基底部における高度に発達した基底迷路 (写真 6 a, 6 b), 細胞の基底部側 2/3 を埋めつくすおびただしい大型のミトコンドリアの存在は, この細胞のもう一つの極だった特徴である。これらの特徴は分泌・吸収活動の双方に等しく重要であるが, この細胞中には貯蔵果粒が認められず, さらに上面より盛んに物質を取込み分解していると考えられることから, 細胞下部における分泌に比重をおいた物質交換が想定される。

まとめると, この貝の鰓には細胞外, 細胞内を含めて細菌との共生関係は認められなかった。鰓糸を構成する主細胞は細胞上面より液相ピノサイトーシスにより旺盛に外液を取込んでいる。細胞上部の多数のエンドソーム, 多胞体, 二次ライソソームは取込まれた物質の細胞内消化を強く示唆し, 細胞の基底側 2/3 を占める大型のミトコンドリアはこれらの取込み, 分解活動のみならず, 著しく発達した基底迷路の表面等よりの分泌活動をも支えているものと考えられる。さらにこの細胞の上部には被覆小坑・被覆小胞が認められ, 受容体仲介エンドサイトーシスにより何らかのリガンドを取込んでいることが確認された。腹足類の鰓の細胞に被覆小坑・被覆小胞の存在が確認されたのは私達が知る限りでは初めてであり, 今後他の腹足類との比較, リガンドや受容体の研究が進むことが望まれる。

#### 参考文献

- Bevelander, G. & H. Nakahara, 1966, "Correlation of lysosomal activity and ingestion by the mantle epithelium". *Biol. Bull.*, 131, 76-
- Bowers, B., 1964, "Coated vesicles in the pericardial cells of the aphid (*Myzus persicae* Sulz)". *Protoplasma*, 59, 351-
- Brightman, M. W., 1962, "An electron microscopic study of ferritin uptake from the cerebral ventricles of rats". *Anat. Record*, 142, 219-
- Endow, K., H. Sakai & S. Ohta, 1987, "A simple detection method for symbiotic bacteria in epoxy resin-embedded tissues using acridine orange staining". *JAMSTEC Deepsea Res.*, 61-
- Frankboner, P. V., 1971, "Intracellular digestion of symbiotic zooxanthellae by host amoebocytes in giant clams (*Bivalvia*: *Tridacnidae*), with a note on the nutritional role of the hypertrophied siphonal epidermis". *Biol. Bull.*, 141, 222-
- Goldstein, J. L., R. G. W. Anderson & M. S. Brown, 1979, "Coated pits, coated vesicles, and receptor-mediated endocytosis". *Nature* 279, 679-

- Gray, E. G., 1961, "The granule cells, mossy synapses and Purkinje spine synapses of the cerebellum: Light and electron microscopic observations". *J. Anat.*, 95, 345-
- Loizzi, R. F., 1971, "Interpretation of crayfish hepatopancreatic function based on fine structural analysis of epithelial cell lines and muscle network". *Z. Zellforsch.*, 113, 420-
- McKanna, J. A., H. T. Haigler & S. Cohen, 1979, "Hormone receptor topology and dynamics: Morphological analysis using ferritin-labelled epidermal growth factor". *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 76, 5689-
- Nakahara, H. & G. Bevelander, 1967, "Ingestion of particulate matter by the outer surface cells of the mollusc mantle". *J. Morph.*, 122, 139-
- Palay, S. L., 1963, "Alveolate vesicles in Purkinje cell of the rat's cerebellum". *J. Cell Biol.*, 19, 89A
- Pasteels, J. J., 1968, "Pinocytose et athrocytose par l'épithélium branchial de *Mytilus edulis* L.". *Z. Zellforsch.*, 92, 339-
- Roth, T. F. & K. R. Porter, 1964, "York protein uptake in the oocyte of the mosquito *Aedes aegypti* L.". *J. Cell Biol.*, 20, 313-
- Silverstein, S. C., R. M. Steinman & Z. A. Cohn, 1977, "Endocytosis". *Ann. Rev. Biochem.*, 46, 669-
- Sonne, O., 1988, "Receptor-mediated endocytosis and degradation of insulin". *Physiol. Rev.*, 68, 1129-
- Southward, A. J. & E. C. Southward, 1979, "Further experiments on the value of dissolved organic matter as food for *Siboglinum fiordicum* (Pogonophora)". *J. mar. biol. Ass. U. K.*, 59, 133-
- Stay, B., 1965, "Protein uptake in the oocytes of the cecropia moth". *J. Cell Biol.*, 26, 49-
- Wright, S. H., 1982, "A nutritional role for amino acid transport in filter-feeding marine invertebrates". *Amer. Zool.*, 22, 621-

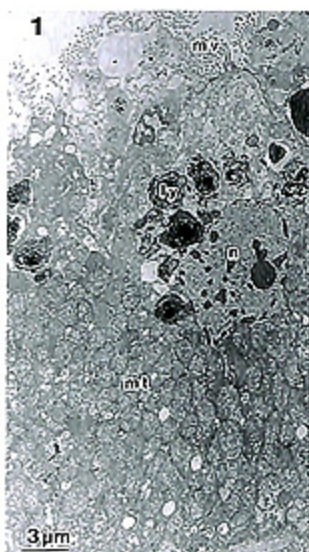


写真1 相模湾初島沖シロウリガイ群集棲息地近辺より採取されたクダマキガイ科腹足類の鰓の電子顕微鏡写真。

Photo 1 Pseudostratified high-prismatic epithelium composes the gill filament of an unnamed deep-sea snail (Neogastropoda; Turridae). Cells are fringed by dense microvilli. Many secondary lysosomes are observed at the apical part of cells and large mitochondria are very densely packed in the basal two thirds of cells.

lysosome: ly; microvilli: mv; mitochondria: mt; nucleus: n.

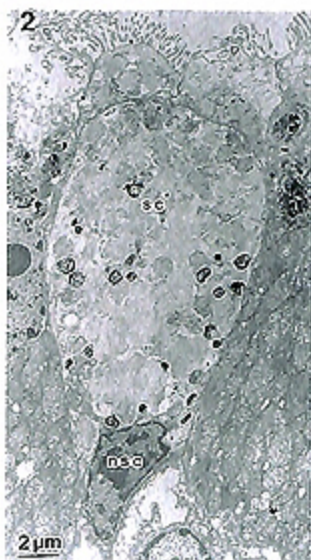


写真2 鰓糸中に分布する分泌細胞（タイプⅢ）。

Photo 2 A type III secretory cell distributed among branchial cells.

nucleus of secretory cell: nsc; secretory cell: sc.

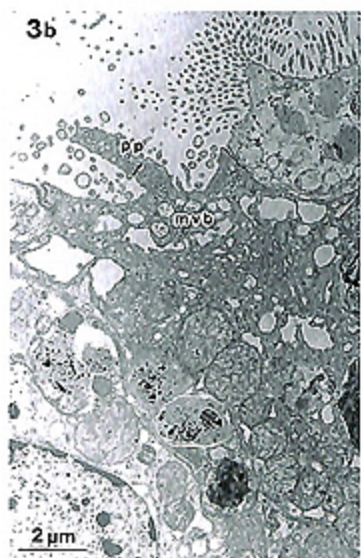


写真3 a, 3 b 大きな仮足。

Photo 3 a, 3 b Large pseudopods.

Arrows indicate pinocytotic invaginations.

multivesicular body: mvb; nucleus: n; pseudopod: pp.

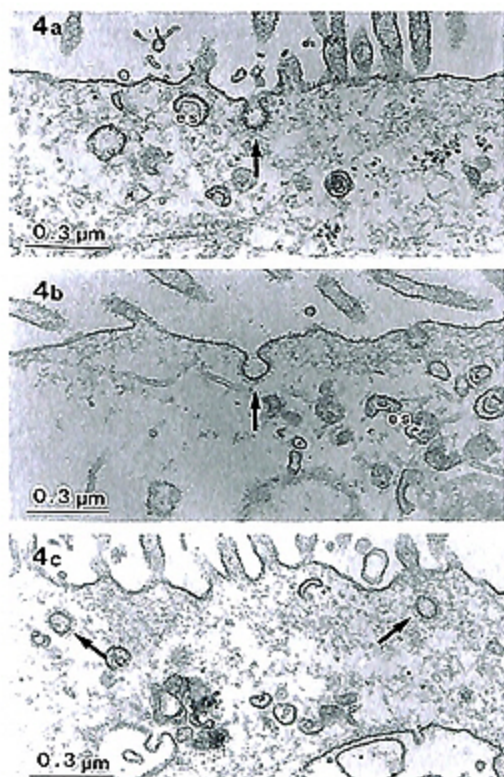


写真 4 a, 4 b, 4 c 鰓の上皮細胞外表面の被覆小坑 (4 a, 4 b) と細胞上部の被覆小胞 (4 c)。

Photo 4 a, 4 b, 4 c. Coated pits at the apical cell membrane (4a, 4b) and coated vesicles at the apical part of the cell (4c)

Note fibrous material attached on the extracellular side of coated pits. Fibrous materials, as well as particulate material, attached on the inner surface of coated vesicles are also observed.  
endosome: es.

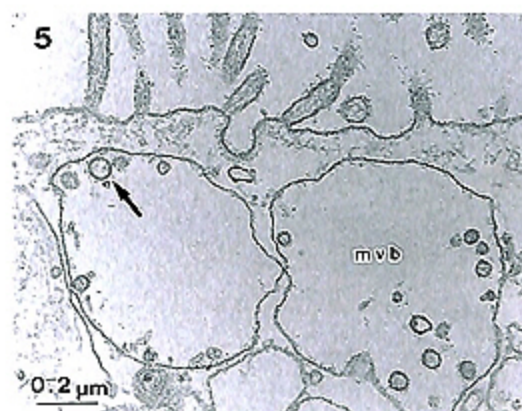


写真 5 多胞体内部の被覆をまとった小胞。

Photo 5 A small vesicle in a multivesicular body covered with fibrous coat (arrow)  
A coated pit is observed at the central part of the cell membrane.  
multivesicular body: mvb.

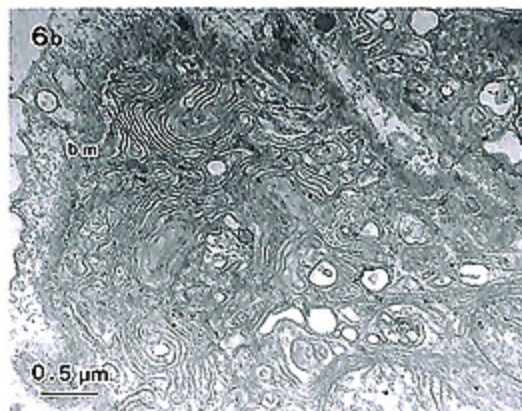
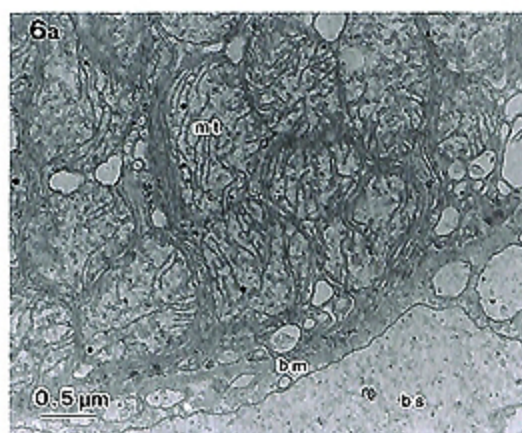


写真 6 a, 6 b 著しく発達した基底迷路。

Photo 6 a, 6 b Extremely well developed basal labyrinth.

basement membrane: bm; blood space: bs;  
mitochondria: mt.