

(原著)

# イソアワモチ背眼のレンズを構築する レンズ細胞の形態と光応答

片桐 康雄\* 片桐 展子\*\*

## CELLULAR COMPOSITION OF THE LENS AND PHOTORESPONSIVENESS OF THE LENS CELL IN THE ONCHIDIUM DORSAL EYE.

Yasuo KATAGIRI\* Nobuko KATAGIRI\*\*

イソアワモチ *Onchidium verruculatum* (軟体動物・腹足類) の背眼のレンズは細胞性である。連続切片の光学顕微鏡観察によりレンズ細胞によるレンズの構築を形態学的に観察するとともに、電気生理学的手法によりレンズ細胞の光応答を記録した。背眼中心部には洋梨型のレンズが位置する。大部分のレンズはそれぞれ結合組織で囲まれた入射光側の主部とその下層の副部からなり、いずれも1~複数個のレンズ細胞から構成される。レンズ細胞の数や形、大きさ、配置などは個々のレンズにより多様である。およそ半数のレンズでは主部は1~8個のレンズ細胞で構成され、その63%は1個だけのレンズ細胞で構成されていた。副部は0~9個のレンズ細胞から構成され、稀にレンズの外に遊離レンズ細胞が存在する例が観察された。全てのレンズ細胞は入射光側に感杆型光受容細胞に特有な微絨毛が存在し、光刺激に対して脱分極性の光受容器電位が発生した。イソアワモチ背眼のレンズ細胞はレンズとしての光学的機能とともに光受容細胞としても機能していると考えられる。

キーワード：レンズ、光受容細胞、光応答、イソアワモチ、軟体動物

### Abstract

Cellular composition of the lens in the dorsal eye of *Onchidium verruculatum* (Gastropoda, Mollusca) was investigated through serial sections by light microscope. A pear-shaped lens was located in the center of the dorsal eye. In most lenses, an upper principal and a lower accessory part could be distinguished. Both parts were composed of several lens cells and ensheathed entirely with the connective tissue. Number, shape, size and arrangement of constituent cells were considerably varied in individual lenses. The principal part contained 1-8 lens cells and occupied more than half of the lens. In 63% of the lenses, the principal part was formed by a single large lens cell. Beneath the principal part, the accessory one contained 0-9 cells and formed the spherical bottom of the whole lens. Occasionally, free lens cells occurred outside the lens proper. All lens cells, independent of their location, were provided with the rhabdomeric microvilli extending from the distal portion of the cell toward the incident light. The lens cells responded to light with a characteristic pattern of slow depolarization. It was suggested that the lens cells of *Onchidium* dorsal eye play double roles, that of a photoreceptor individually and of a dioptric apparatus *en masse*.

Key Words : Lens, Photoreceptor cell, Photoresponse, *Onchidium*, Mollusca

\* 東京女子医科大学・看護学部・基礎科学系  
(Section of Basic Science, School of Nursing, Tokyo Women's Medical University)

\*\* 東京女子医科大学・総合研究所・研究部  
(Medical Research Institute, School of Medicine, Tokyo Women's Medical University)

イソアワモチは体の前端部にある一対の触角上に柄眼を持つ他に、背部外套の十数個の担眼突起上にそれぞれ1~数個の背眼を備えている。背眼は古く Semper<sup>1)</sup>によって「脊椎動物型の眼」であると報告され、その後、Santschinsky<sup>2)</sup>や平坂<sup>3)</sup>の光学顕微鏡による研究が行われた。平坂<sup>3)</sup>は背眼の発生に関して、レンズは感覚細胞由来の細胞性であり光受容細胞として働く時期もあるのではないかとの推測している。梁瀬ら<sup>4)</sup>は背眼の微細構造を観察して視細胞が繊毛型光受容細胞であることを示した。我々は蛍光色素を充填した電極を用いた細胞内染色法を適用して背眼の受容器電位の細胞内記録をとり、光刺激に対して過分極し、光遮断時に一過性の脱分極のoff応答を伴う光応答を繊毛型受容細胞より記録した<sup>5)</sup>。また、光刺激時に脱分極性の緩電位がレンズ細胞より発生することを見だし、さらに形態観察によってレンズ細胞が感杆型受容細胞であることを明らかにした<sup>6-9)</sup>。このことはレンズ自体が光学的役割と光受容の二重の機能を有することを示している。このような細胞は脊椎動物はもとより、無脊椎動物の多種多様な眼の中でも例がない。レンズ細胞がどのようにレンズを構成するか、また、レンズを構成する細胞の光応答について調べたので報告する。

### 材料および方法

イソアワモチ *Onchidium verruculatum* (軟体動物・腹足類)を用いた。レンズの構築を観察するために、背眼を2.5%グルタルアルデヒドと1%オスミウム酸(0.2Mリン酸緩衝液 pH7.6)で二重固定し、エタノール系列で脱水し、Epon包埋した<sup>8)</sup>。1または3 μm厚さの連続切片を0.5%トルイジン・ブルー液(1/15Mリン酸緩衝液 pH7.4)で染色した。背眼76個について、連続切片よりそれぞれレンズをトレーシングペーパーにスケッチして図を重ねあわせ、レンズを構成する細胞の数、サイズおよび相互の位置関係を調べ各レンズを立体構築した。

電気生理学的手法は従来<sup>6)</sup>の方法に従った。

光刺激の最大強度は単色光が  $5 \times 10^5$  quanta/mm<sup>2</sup>・sec、白色光は  $2.0 \times 10^2$  mW/cm<sup>2</sup>で、それぞれN.D.フィルターおよびN.D.ウェッジによって強度を調節した。

蛍光色素(プロシオン・イエローおよびルシファー・イエロー)の細胞内注入を行なった試料は2.5%グルタルアルデヒド(0.2Mリン酸緩衝液 pH7.6)に一晩固定、エタノール脱水後Spurr樹脂に包埋し、3 μm厚さの連続切片を蛍光顕微鏡で観察した。写真撮影後、同じ切片を

トイジン・ブルー液で染色し観察した。

## 結 果

### 1. 背眼とレンズの形態

イソアワモチの外套背面にある担眼突起上には多数の背眼が散在する。背眼は1個の担眼突起に1~19個、多くは3~4個が一群として皮下組織に存在する。背眼は直径95~240 μm、ほぼ球形で、外層の色素層、その内側の網膜、中央のレンズから構成され、外周を結合組織に取り囲まれている(図2、3)。網膜には一層の繊毛型光受容細胞が並び、その光受容部位は入射光と反対側の色素層に面し背光型網膜である。光受容細胞の軸索は集まって視神経となり、網膜の中心を貫いて出るため盲点がある(図2、5a)。

レンズは透明で眼球の中央部にあり眼盂内腔の大部分を占めていた。実体顕微鏡下で角膜側から背眼を覗くとレンズにより盲点が拡大されて観察され、屈折率の高い光学的な特性を示していることがわかる。

多くのレンズには主部と副部の2部が区別された(図1、4a)。主部はレンズの入射光側で上半部に位置し、レ

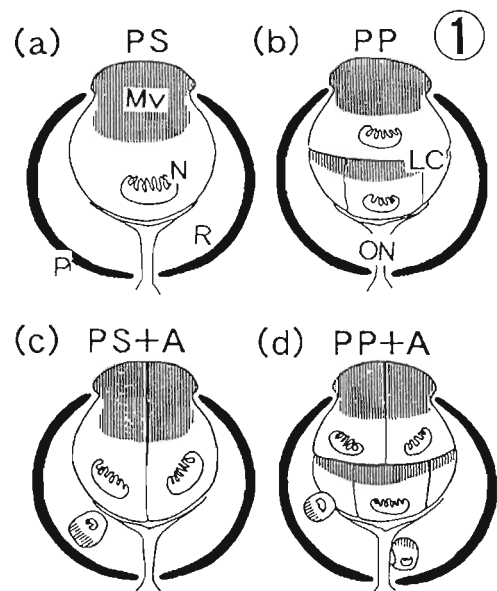


図1 イソアワモチ背眼のレンズ構成の模式図

レンズは主部と副部に含まれるレンズ細胞(LC)の集合体である。各部位の細胞数に基づいて4タイプに大別される。(a) PSタイプ: 単一の主レンズ細胞からなるレンズ。(b) PPタイプ: 主部がレンズ細胞2個以上のレンズ。(c) PS+Aタイプ: 主部がレンズ細胞1個と副部があるレンズ。(d) PP+Aタイプ: 主部がレンズ細胞2個以上で副部があるレンズ。

光は上方より背眼に入る。いずれのタイプのレンズにおいても網膜(R)内に遊離レンズ細胞が散在することがある。ON, 視神経; P, 色素層

レンズの主要部位を占める。副部は主部の下においてカップ状を呈し主部より小さい。主部、副部ともに1個以上のレンズ細胞を含む。この他に背眼の中においてレンズの構成に関与しない遊離のレンズ細胞がレンズ本体の周りや網膜内に散在した。

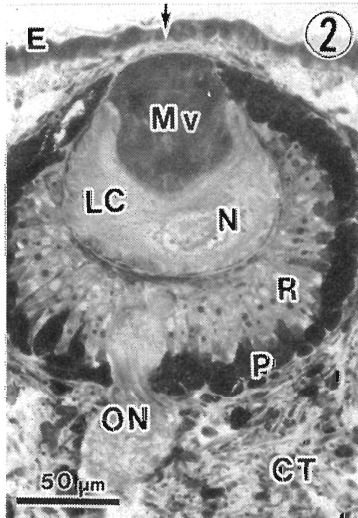


図2 PSタイプのレンズ（主レンズ細胞のみからなる）を有する背眼の光顕写真（縦断）

背眼は外套の表皮（E）の下に結合組織（CT）に囲まれて存在し、ほぼ球形で、外側の色素層（P）、その内側の網膜（R）、中央のレンズからなる。この背眼のレンズは大形の主レンズ細胞（LC）1個からなり、洋梨型、入射光（↓）側の端部はトルイジン青に好染し微絨毛（Mv）が塊状に密在している。大形で特異な切れ込みのある核（N）が基部細胞質に位置する。網膜（R）の繊毛型光受容細胞の軸索が集まって視神経（ON）となる。

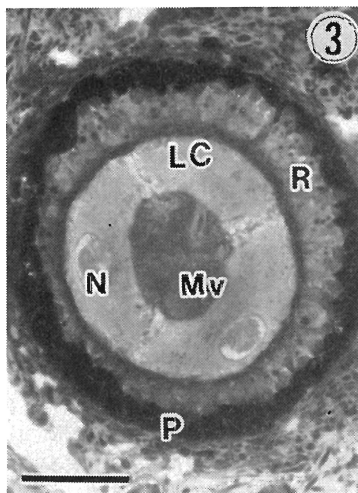


図3 PPタイプのレンズ（主部はレンズ細胞3個からなり副部がない）を有する背眼の横断写真

隣接するレンズ細胞（LC）は側面で細胞膜が噛み合って接する。レンズ中央のトルイジン・ブルーに好染する部位は3個のレンズ細胞の端部（Mv）で一体化している。

N, 核；R, 網膜；P, 色素層 スケールは50 μm.

## 2. レンズ細胞の端部

主部が単一の細胞からなる場合これを主レンズ細胞、それ以外のレンズを構成する細胞を副レンズ細胞と呼ぶ。レンズ細胞の光受容細胞としての形態的特徴として、端部が密在する微絨毛の塊で細胞の1/3を占め、感杆型光受容細胞の光受容部位に相当することがあげられている。特異な切れ込みのある大形の核が基部細胞質に存在する。レンズ細胞の微細形態の特徴は、細胞の存在位置に関らず、主部と副部のレンズ細胞、遊離レンズ細胞で共通していた<sup>6)</sup>。

端部はトルイジン・ブルーに好染し、主レンズ細胞では入射光側に両凸型に（図2）、主部が複数の細胞からなるレンズの場合はそれらの細胞は光軸を中心に互いに接し、入射光側においてそれぞれの端部が合体して両凸型を呈する（図3、5a）。副部では副レンズ細胞の端部が合体して、主部の下に平凹型を呈する（図4a）。遊離レンズ細胞では細胞の方向性が不定であり、端部は入射光と無関係な方向にある。

## 3. レンズの構成

レンズの細胞構成は個々の背眼で異なり、同一担眼突起上の背眼においてもその構成は異なっていた。レンズは複数のレンズ細胞で構成される場合、細胞の大きさや形態は不定であるが、主部、副部においてそれぞれモザイク状にかみあって一塊となり、さらに両部を結合組織が囲んで全体として洋梨型を呈する（図1、4a）。主レンズ細胞の場合、細胞1個が洋梨型である（図2）。

連続切片を重ね合わせて背眼のレンズの構築を調べた。レンズは単一のレンズ細胞のものから14個の細胞から成るものまであり、主部と副部に含まれる細胞数やレンズの細胞構成はかなり変異が見られた。副部のみからなるレンズは見られなかった。レンズ構成を主部と副部を構成する細胞の数を組み合わせ、さらに遊離レンズ細胞の数を加えて表すと、観察された背眼76例では28タイプのレンズが区別された。大別して、主部（P）が主レンズ細胞のみの場合と2個以上の副レンズ細胞から構成される場合に分け、副部（A）が存在するかどうかで、レンズを次の4タイプに分けた（図1）。(a) PSタイプ：主レンズ細胞のみのレンズ。(b) PPタイプ：主部がレンズ細胞2個以上のレンズ。(c) PS+Aタイプ：主レンズ細胞と副部があるレンズ。(d) PP+Aタイプ：主部がレンズ細胞2個以上で副部があるレンズ。これらの4タイプのレンズ構成の例を図2～5に、背眼76例におけるレンズ構成をTableに示した。レンズの76.3%は主部と副

部から構成され、主部のみからなるレンズは23.7%、主レンズ細胞をもつレンズは全体の63%であった。最も多い代表的なレンズは主レンズ細胞1個と副部のレンズ細胞2~4個から構成されるレンズで38%であった。代表的なレンズの例として、主レンズ細胞と副部のレンズ細胞4個からなるレンズを図4aに示した。

Table イソアワモチ背眼のレンズの構成

| Type | No. of lens cells |           |       | Dorsal eye No. |
|------|-------------------|-----------|-------|----------------|
|      | Principal         | Accessory | Free  |                |
| PS   | 1*                | 0         | 0-1   | 7              |
| PS+A | 1                 | 1-8*      | 0-7*  | 41             |
| PP   | 2-8*              | 0         | 0-5   | 11             |
| PP+A | 2-6*              | 1-9*      | 0-5   | 17             |
|      |                   |           | Total | 76             |

\*は光応答を記録したレンズ細胞を含む。

#### 4. 光応答

暗順応した背眼に微小電極を刺入すると-50~-60

mVの静止電位が得られ、光刺激に対して脱分極性の緩電位応答が得られた。この細胞を貫いて、さらに刺入を続けると同様の静止電位および応答を示す細胞に2~3回刺入される場合がある。これらを蛍光色素を細胞内に注入して染め出したところ、いずれもレンズ細胞が染色された(図4b、5b)。電極をさらに刺入すると-30~-40mVの比較的浅い静止電位を有し、過分極性光応答が記録された。蛍光色素の注入によりこの応答は繊毛型光受容細胞より発生していることが確認された<sup>5)</sup>。

レンズ細胞の脱分極性光応答は長い潜時をもち、立ち上がりの早い成分と後続の緩やかな持続する成分とから成る(図4c、5c)。刺激光強度が十分な場合には応答振幅は数10mVに達し、最大強度の白色光を30秒照射した場合、完全な回復には数分を越える暗順応時間を要した。刺激光強度と応答振幅の関係は暗順応とのダイナミック・レンジは5~6logの範囲に及ぶ優れた特性を示した。応答の波長感度の極大( $\lambda_{max}$ )は450nm付近にあり、その波長のDartnallのNomogramとほぼ一致した<sup>9)</sup>。

光応答の記録後、蛍光色素を注入して細胞を同定した

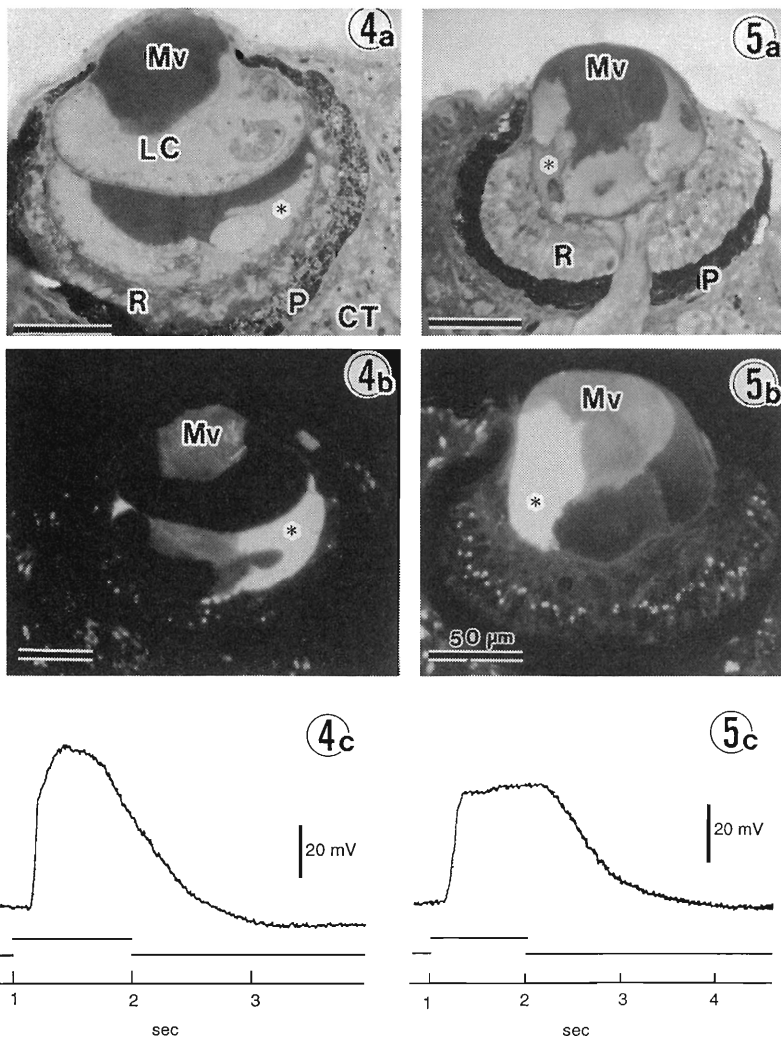


図4a、b PS+Aタイプのレンズ(主レンズ細胞と副部4個の細胞からなる)を有する背眼の光顕写真(縦断)

4a: レンズの上半部に大形の主レンズ細胞(LC)があり、副部は4個の細胞の集合体でカップ状。両部の濃染部位は端部(Mv)。\*印の細胞から図4cの光応答が記録された。表皮は電極刺入のため切除した。

4b: 背眼の連続切片で図4aと隣接する切片の蛍光顕微鏡写真

光応答を記録後、蛍光色素を注入された細胞(\*)に蛍光が認められた。

CT, 結合組織; R, 網膜; P, 色素層

図4(c) 図4a、4bの背眼レンズを構成する副レンズ細胞4個のうち\*印を付した細胞から得られた脱分極性光応答。

図5(a)、(b) PP+Aタイプのレンズ(主部が4個、副部が6個のレンズ細胞からなる)を有する背眼の光顕写真(縦断)。

5a: 主部はほぼ同大の4個のレンズ細胞の集合体であった。そのうち\*印を付した細胞から図5cの光応答が得られた。副部は背眼が斜断されたためここには示されていない。また、この背眼にはレンズ本体の周囲に遊離レンズ細胞が4個見られた。

5b: 背眼の連続切片で図5aと隣接する切片の蛍光顕微鏡写真。

光応答を記録後、蛍光色素を注入された細胞(\*)に蛍光が認められた。

図5c 図5a、5bの主部のレンズ細胞(\*)から得られた脱分極性の光応答

結果、多様なレンズ構築と背眼内のレンズ細胞の位置に関わらず、主部のレンズ細胞と副部のレンズ細胞のいずれも染色され、また、遊離レンズ細胞でも光応答を示すことが証明できた。記録した細胞の中でレンズの構築を調べることができた例はTableに\*印を付した。主レンズ細胞と副部のレンズ細胞から記録された脱分極性光応答を図4c、5cに、細胞内記録後注入した蛍光色素によって同定された細胞をそれぞれ図4a、4bと5a、5bに示した。

## 考 察

軟体動物の眼のレンズには視細胞等の分泌によって形成されるもの<sup>10)</sup>と細胞性のもの<sup>11)</sup>とがあり、イソアワモチでは柄眼は前者に、背眼は後者に属する<sup>12)</sup>。背眼のレンズ細胞について平坂<sup>3)</sup>は主レンズ細胞、副レンズ細胞を区別し後者には端部が認められないと述べている。しかし、微細構造を観察した結果、レンズ本体を構成するレンズ細胞および遊離レンズ細胞はいずれも、大きさ、形状、位置などの違いはあっても、レンズ細胞として最大の特徴であるよく発達した微絨毛から成る端部が存在すること、その他の微細構造は基本的に同じであることが明らかになった<sup>7-9)</sup>。感杆型光受容細胞の光受容部位は微絨毛の密在する感杆であり<sup>10)</sup>、イソアワモチ背眼のレンズ細胞の端部は感杆に相当すると思われる。さらに、核上部のミトコンドリアの集合と層板小体の存在は、頭足類の感杆型光受容細胞の内節とミエロイド小体に相当する構造<sup>13,14)</sup>と考えられる。

脱分極性光応答の記録後に、蛍光色素の注入により種々の位置にあるレンズ細胞が染め出されたことは、レンズ細胞が機能的にも感杆型光受容細胞の性質を備えていることを示している。

背眼は繊毛型視細胞層と感杆型光受容細胞（即ちレンズ細胞）群からなる二重網膜を持つことになる。二重網膜はイタヤガイ (*Pecten*) の外套眼で知られているが、そのレンズは細胞性で本来の光学的機能のみを有する<sup>11)</sup>。イタヤガイの外套眼の網膜における2種の光受容細胞は入射光側に繊毛型の遠位細胞が、色素層側に感杆型の近位細胞層が存在し<sup>11)</sup>イソアワモチ背眼とは逆の配列である。電位の極性、電位発生時の膜透過性の変化など受容器電位の性質を比較すると背眼の繊毛型視細胞はイタヤガイの遠位細胞に、同じくレンズ細胞は近位細胞に多くの類似点が見いだされる<sup>15,16)</sup>。背眼の繊毛型視細胞内電位にスパイクの重畳した例をみると、いずれも光遮断時

に発生しており、イタヤガイの遠位細胞と同様のoff-型である。レンズ細胞から視神経束中へ軸索が出ているか否かは明確ではない。また、レンズ細胞ではスパイクが細胞内電位に重畳した例はないが、視神経レベルで稀にレンズ細胞由来と考えられるスパイクが記録される。視覚情報の一部がレンズ細胞から中枢に送られている可能性が示唆される。

イソアワモチ背眼のレンズ細胞は端部において微絨毛が密に規則的に配列し、他の腹足類の感杆型光受容細胞<sup>10)12)17-19)</sup>に匹敵する形態を持ち、感杆型光受容細胞として十分な特徴を備えている<sup>7-9)</sup>。背眼のレンズは透明体で、1~複数個のレンズ細胞の集合体が全体としてほぼ球形に近い洋梨型を呈し、光の通路に位置している。角膜側からレンズを通して盲点をみると拡大されて見えることからレンズが集光・屈折装置であると言える。レンズ細胞はレンズとしての光学的機能を持つとともに、光受容細胞としての生理機能を兼ね備えている。多様性で知られる無脊椎動物の眼の中でも極めて特異な眼と考えられる。

## 文 献

- 1) Semper, C.: Über Schneckenaugen vom Wirbelthiertypus nebst Bemerkungen über einige andere histologische Eigenthümlichkeiten verschiedener cephalophoren. Arch. mikr. Anat. 14, 118-124. (1887)
- 2) Stantschinsky, W.: Über den Bau der Rückenaugen und die Histologie der Rückenregion der Oncidien. Zoologische Jahrbücher. Abteuf. Systemat. 25: 137-180. (1907)
- 3) 平坂恭介: イソアワモチ背眼の構造について. 動物学雑誌, 24: 20-38. (1912)
- 4) 梁瀬健、阪本佐登美: イソアワモチ背眼視細胞の微細構造. 動物学雑誌, 74: 238-242. (1965)
- 5) Okuno, Y., Y. Katagiri, and K. Fujimoto.: On hyperpolarizing and off-depolarizing receptor potential in the *Onchidium* dorsal eye. Zool. Mag., 85: 88-90. (1976)
- 6) 片桐康雄・藤本克巳・片桐展子: イソアワモチ背眼のレンズ細胞の光応答. 東京女子医大雑誌 51, 1161-1167, (1981)
- 7) 片桐展子・片桐康雄: イソアワモチ背眼にみられるレンズ細胞の微細構造. 東女医大誌 51, 1148-1160, (1981)

- 8) 片桐展子・藤本克巳・片桐康雄：イソアワモチ背眼のレンズ細胞のレンズ構築と光受容能. 動物学雑誌 92, 199-1206. (1983)
- 9) Katagiri, Y., N. Katagiri, and K. Fujimoto: Morphological and electrophysiological studies of a multiple photoreceptive system in a marine gastropod, *Onchidium*. *Neurosci. Res.*, Suppl. 2, S1-S15. (1985)
- 10) Eakin, R. M.: Structure of invertebrate photoreceptors. *Photochemistry of Vision. Handbook of Sensory Physiology Vol. 7* pp. 625-684. (1972)
- 11) Barber, V. C., E. M. Evans and M. F. Land: Fine structure of the eye of the mollusc *Pecten maximus*. *Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat.*, 76 : 295-312. (1967)
- 12) Katagiri, N. and Y. Katagiri: Fine structure of the dioptric apparatus in the stalk eye of *Onchidium verruculatum* (Gastropoda, Stylommatophora): a distinct lamellar substructure of the lens. *Zomorph.* 118 : 13-21. (1998)
- 13) Yamamoto, T., K. Tasaki, Y. Sugawara and A. Tonosaki: Fine structure of the octopus retina. *J. Cell Biol.*, 25 : 345-359. (1965)
- 14) 原富之、原黎子：頭足類網膜のレチノクロム. 動物学雑誌 84, 12-22. (1975)
- 15) McReynolds, J. S. and A. F. L. Gorman: Photoreceptor potentials of opposite polarity in the eye of the scallop, *Pecten irradians*. *J. Gen. Physiol.*, 56 : 376-391. (1970a)
- 16) McReynolds, J. S. and A. F. L. Gorman: Membrane conductances and spectral sensitivities of *Pecten* photoreceptors. *Ibid.*, 56 : 392-406. (1970b)
- 17) Hughes, H. P.: A light and electron microscope study of some opisthobranch eyes. *Z. Zellforsch.*, 106 : 79-98. (1970)
- 18) Gillary, H. L. and E. W. Gillary: Ultrastructural features of the retina and optic nerve of *Strombus luhanus*, a marine gastropod. *J. Morphol.* 159 : 89-116. (1979)
- 19) Jaklet, J.W., R. Alvarez and B. Bernstein: Ultrastructure of the eye of *Aplysia*. *J. Ultrastruct. Res.* 38, 246-261. (1972)