

カニ血中に投与されたglucose-1-C14の甲殻キチンへの移行について,特に脱皮後の内クチクラ層形成時との関係

誌名	日本水産學會誌
ISSN	00215392
著者名	矢野,勲
発行元	日本水産學會
巻/号	40巻8号
掲載ページ	p. 783-787
発行年月	1974年8月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



カニ血中に投与された Glucose-1-C¹⁴ の甲殻 キチンへの移行について、特に脱皮後の 内クチクラ層形成時との関係

矢 野 勲

(1974年4月27日受理)

Incorporation of Glucose-1-C¹⁴ into Chitin of the Exoskeleton of a Shore Crab, with Special Reference to the Period of Endocuticle Formation

Isao YANO*¹

The incorporation of radioactivity into chitin of the exoskeleton after injection of glucose-1-C¹⁴ into the blood of a shore crab, *Gaetice depressus*, was studied in relation to chitin synthesis at stages of the molting cycle.

The ratio of chitin to organic matter was determined to be 67.9% in the completed exoskeleton, but different in each cuticle layer; that is, 22.4% in the exocuticle, 74.9% in the endocuticle, and 63.3% in the membranous layer.

During the period of endocuticle formation, the radioactivity was rapidly incorporated into chitin within several hours after the injection of glucose-1-C¹⁴, while that in blood decreased correspondingly.

Throughout the molting cycle, the highest value of incorporation within 24 hours was shown at one day after molting suggesting that the most active synthesis of chitin occurs at the beginning of endocuticle formation and slows down thereafter with the lapse of time.

甲殻類の脱皮が、生長に伴つて、周期的に起こることはよく知られている。すなわち古い甲殻の一部が吸収され、甲殻と表皮細胞の間に隙間ができると、そこに新しい表クチクラ層、外クチクラ層の2層が形成され(脱皮前期 D*²)、古い甲殻は脱ぎ捨てられる(脱皮期 E)。新しい甲殻の形成は、脱皮後もひきつづき行われ、脱皮前に形成された外クチクラ層下にさらに内クチクラ層、膜層が形成されて甲殻は完成する¹⁻¹²⁾(脱皮後期 A, B, C および脱皮間期 C₄)。これら形態的に区別される4つのクチクラ層から成る甲殻は、その直下に並ぶ表皮細胞によつて形成されると考えられている^{12,13,*3}。

いづばう、主としてリポタンパク質から成る表クチクラ層¹⁴⁾以外の各層すなわち、甲殻中最大の厚さを示す内クチクラ層を始めとして、外クチクラ層、膜層の主成分はいずれもキチンとタンパク質であり、その構成比は各層によつて異なることが示唆されている^{15,16)}。

そこで本研究では、ヒライソガニ甲殻の各層におけるキチンの割合を明らかにするとともに、主として脱皮後の内クチクラ層形成時に血中に投与された Glucose-1-C¹⁴ の甲殻キチンへの移行について検討した。

*¹ 国立真珠研究所 (National Pearl Research Laboratory, Kashikojima, Ago-cho, Shima-gun, Mie, Japan): 本研究は北海道大学水産学部生理学生態学講座在籍中に実施したものの一部である。

*² DRACH¹⁾ は脱皮周期を甲殻各層の形成順序に基づいて、脱皮前期 D, 脱皮期 E, 脱皮後期 A, B, C および脱皮間期 C₄ の5段階に区別し、さらに各段階を A₁, A₂, B₁, B₂, C₁, C₂, C₃, C₄, D₀, D₁, D₂, D₃, D₄ に細別した。

*³ 矢野 勲: 日本水産学会春季大会講演要旨 57, (1971).

材料と方法

材料は水温 20°C のガラス水槽中で飼育した脱皮前後の甲長 8-11 mm のヒライソガニ (*Gaeticte depressus*) 雄 13 個体を用いた。すなわち、内クチクラ層を形成中の脱皮後 1 日目と 4 日目、外クチクラ層を形成中の脱皮前 2 日目 (推定)、および膜層を形成中の脱皮後 14 日目のそれぞれ数個体を選び出して実験に使用した。

血液中の glucose の甲殻キチン成分への移行を調べるため、内クチクラ層形成の盛んな脱皮後 1 日目の 6 個体に体重 1 g 当り生理食塩水に溶かした glucose-1-C¹⁴ 2 μ ci を注射し、それぞれ 10 分、30 分、1 時間、3 時間、7 時間、24 時間後の血液 1 μ l 当りの放射能および甲殻より抽出したキチン 1 mg 当りの放射能を測定した。注射は腹節より体腔内にマイクロシリンジを使用して行つた。キチンは甲殻の心域部より切り取つた殻片を水洗しながら、表皮組織を注意深く剝離除去して得た甲殻を蒸留水で数回洗滌したのち、OKAFOR¹⁷⁾ の方法に従つて抽出後定量した。放射能の測定には Aloka 社製 TDC-6 型スケーラ GM 計数管を用い、乾燥した同一試料について 10 分間 2 回測定し、その平均値を 1 分間当りのカウント数に換算して表わした。

注射後 24 時間の間にキチン中にとり込まれた放射能については上述の脱皮後 1 日目の個体のほか、とくに外クチクラ層および膜層を形成中のそれぞれ 2 個体ずつについても測定し、得られた結果を比較した。

なお、各実験個体については外骨格組織標本を作製して、それぞれの個体が目的とするクチクラ層を実際に形成しているかどうかを確認するとともに、各個体の脱皮周期段階を脚注に示した DRACH の区分に従つて決定した。

いつぼう、外骨格形成の異なる段階にあるそれぞれの実験個体について、外骨格全体の有機質中のキチンの割合を求めた。また、外クチクラ層、内クチクラ層および膜層の各層ごとの有機質中のキチンの割合を求めるため、別に甲長 25 mm 前後の脱皮間期 C₄ のヒライソガニの完成された外骨格を乾燥し、歯科用グラインダーを使用して、各クチクラ層を分離し、それぞれについての有機質中のキチンを定量した。

結 果

外骨格中の有機質に対するキチンの割合を脱皮前後について比較すると Fig. 1 のごとくなる。脱皮前期の表クチクラ層がすでに形成され、外クチクラ層を形成中の外骨格におけるキチンの割合は 18~20% と低い、内クチクラ層が形成され始める脱皮後 2 日目には 31~35%、脱皮後 5 日目には 63~66% とその割合は急速に高くなり、さらに膜層形成時の脱皮後 15 日目になるとそれは 68~71% にも達するようになる。

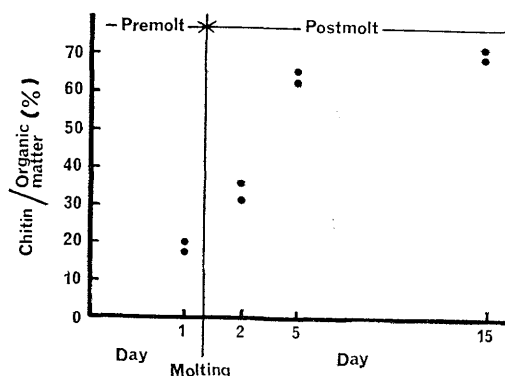


Fig. 1. Change in ratio of chitin to organic matter of the developing exoskeleton at different stages of the molting cycle of *G. depressus*.

また、有機質中に占めるキチンの割合は完成された脱皮間期の外骨格全体については 67.9% であるが、各クチクラ層により、その割合はかなり異なっている (Table 1)。すなわち、キチンは外骨格中内クチクラ層で 74.9% と最も高く、次いで膜層が 63.3% と高いが、これら両層に比べ外クチクラ層では 22.4% を示すにすぎない。

Fig. 2 は脱皮後 1 日目、すなわち内クチクラ層形成時のヒライソガニ体腔内に glucose-1-C¹⁴ を注射し、経時的に血中および外骨格キチンの放射能の増減を追つたものである。まず、外骨格キチンの放射能をみると、注射 10 分後で 2865 cpm/mg とすでにかなりの値が測定され、その後放射能

Table 1. Ratio of chitin to organic matter in each cuticle layer and the completed exoskeleton of *G. depressus*

Cuticles	Chitin/Organic matter (%)	
	Mean	Range
Exocuticle	22.4*	19.8-26.0
Endocuticle	74.9*	70.0-78.9
Membranous layer	63.3*	60.0-70.0
Exoskeleton	67.9*	64.6-70.5

* Mean value of 3-5 individuals.

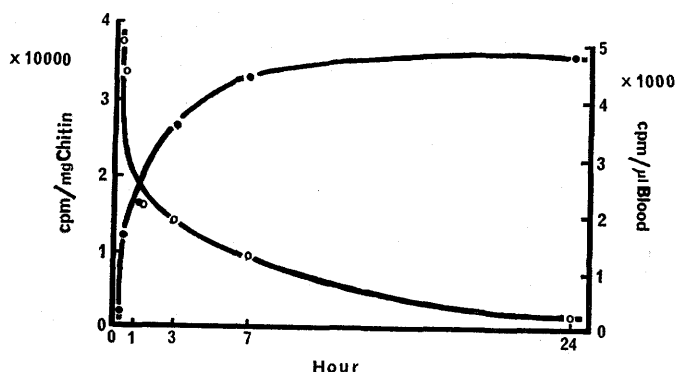


Fig. 2. Time course of changes in radioactivity of the blood and chitin of the exoskeleton after injection of glucose-1-C¹⁴ during the formation of the endocuticle.

—○— radioactivity of blood; —●— radioactivity of chitin of exoskeleton.

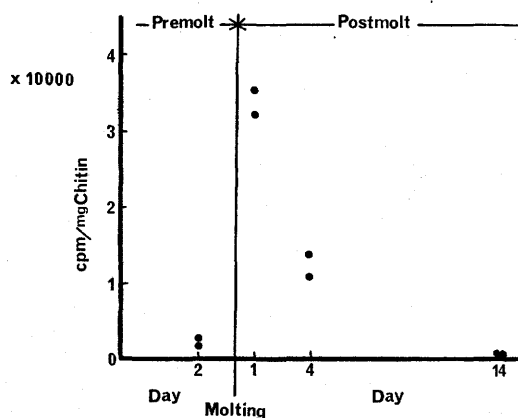


Fig. 3. Comparison of radioactivity incorporated into chitin within 24 hours after injection of glucose-1-C¹⁴ at different stages of the molting cycle.

は急速に増加するが、7時間以後はあまり増加せず、ほぼ一定な状態を保っているようにみる。いつぼう、これに対応して、血中の放射能は注射後10分から1時間にかけて急速な減少を示すが、注射後7時間をすぎると減少は緩やかになり、24時間後には154 cpm/ μ lと非常に低い値になる。

Fig. 3は脱皮前期および後期のそれぞれ外クチクラ層、内クチクラ層および膜層を形成中の個体に glucose-1-C¹⁴ を注射し、24時間後に外骨格からキチンを分離して、その放射能を測定した結果を比較したものである。脱皮の前後を通じて、高い放射能のとり込みは脱皮後1日目と4日目のともに内クチクラ層形成時に示されるが、とくに脱皮後1日目では32500~35860 cpm/mgと脱皮後4日目の11076~14153 cpm/mg

よりかなり高い。これに比して脱皮 2 日目の外クチクラ層形成時の放射能は 2060~2920 cpm/mg とかなり低い。また、脱皮後 14 日目の膜層形成時にとり込まれた放射能はわずかに 157~180 cpm/mg で内クチクラ層、外クチクラ層の両層形成時に比べ非常に低い値が示された。

考 察

一定時間内に外骨格キチンにとり込まれた放射能は脱皮後 1~4 日目に高い値を示した。これは内クチクラ層がもつともキチン質に富む層であることから当然であるが、同じ内クチクラ層形成期であつても脱皮後 1 日目の方が 4 日目よりもはるかに高いとり込みを示したことは、内クチクラ層のキチン生成が脱皮後まもない頃もつとも盛んであり、その後時間の経過とともに緩やかになることを明示していると思われる。これは内クチクラ層の層線構造の過半は脱皮後数日以内に形成されるが、その後形成速度は緩やかになるという前報の組織学的観察結果¹¹⁾を裏付けるものである。

また、脱皮前の外クチクラ層形成時にとり込まれた放射能の値が脱皮後の内クチクラ層形成時に比べて低いことは、有機質中のキチンの割合が外クチクラ層で内クチクラ層のその約 1/3 であることから容易にうなずける。

しかしながら、膜層のキチンが 60% 以上に達するにもかかわらず、その形成期の 24 時間内にとり込まれた放射能が内クチクラ層および外クチクラ層形成期に比べ非常に低い値を示したことは、膜層が外骨格形成の終期に形成される事実から判断して、この層の形成速度が非常に緩やかであることを推察させる。

つぎに、外骨格キチンおよび血中の放射能の増減をみると、脱皮後の内クチクラ層形成時において、血中の glucose-1-C¹⁴ は速やかに減少し、外骨格キチンへ移行することが明らかである。著者はヒライソガニ血中の glucose 量は脱皮前には約 26 mg/dl の値を示すが、脱皮後内クチクラ層が形成され始めると 16 mg/dl 前後に減少することを観察している (未発表)。SPECK と URICH¹⁸⁾はザリガニ外皮の観察において、脱皮前期に古い外骨格のキチンが吸収されることを報告している。したがって、血中の glucose 量は脱皮前期に外骨格のキチンが吸収されるなどの理由で増加するが、脱皮後キチン質に富む内クチクラ層が形成され始めると速やかにそれがキチン生成に利用されるため減少するものと思われる。

いづぼう、甲殻類の外骨格キチンの生化学的合成過程については、すでに明らかにされているが¹⁹⁻²¹⁾、キチン生成がどの細胞でどのように行われているかについては問題が残されている。LUNT²²⁾はロブスター、ミドリガニおよびクモガニの表皮にキチンの代謝中間体であると思われる Uridine Diphosphate N-Acetylglucosamine が存在することを明らかにし、キチンの生成が表皮細胞において行われることを暗示している。著者は先にヒライソガニ外皮の電顕観察において内クチクラ層形成時の表皮細胞外表面に直径約 400 Å の多数の限界膜を持つた電子密度の低い顆粒の存在を報告した^{*3}。これらの顆粒はキチンの分泌顆粒であることが予測されるが、このことの解明は今後に残された問題である。

本研究を遂行するに当たり、種々有益なる御助言と御援助をいただいた北海道大学山田寿郎教授、鹿児島大学林征一講師に深甚なる謝意を表す。

要 約

1. ヒライソガニ (*Gaeticus depressus*) 甲殻の各クチクラ層におけるキチンの割合を明らかにするとともに、主として脱皮後の内クチクラ層形成時に血中に投与された glucose-1-C¹⁴ の外骨格キチンへの移行について調べた。
2. 有機質中に占めるキチンの割合は完成された外骨格全体については 67.9% であるが、各クチクラ層により、その割合はかなり異なっている。すなわち、内クチクラ層で 74.9% ともつとも高く、次いで膜層が 63.3% と高いが、これら両層に比べ外クチクラ層では 22.4% にすぎない。
3. 脱皮後の内クチクラ層形成時に血中に投与された glucose-1-C¹⁴ は注射後数時間の内に速やかに減少

し、外骨格キチンへ移行した。

4. 脱皮の前後を通じて、24時間内のもつとも高い放射能のとり込みは内クチクラ層形成時に示されたが、内クチクラ層形成期間内においても脱皮後1日目から4日目にかけてとり込み量のかんりの減少が認められた。これに比して脱皮2日目の外クチクラ層形成時のとり込みはかなり低く、また、膜層形成時にとり込まれた放射能は内クチクラ層、外クチクラ層の形成時に比べさらに低い値を示した。

文 献

- 1) P. DRACH: *Ann. Inst. Ocean.*, Paris (N. S.), **19**, 103-391 (1939).
- 2) D. F. TRAVIS: *Biol. Bull.*, **108**, 88-112 (1955).
- 3) D. F. TRAVIS: *ibid.*, **113**, 451-479 (1957).
- 4) R. DENNELL: *The Physiology of Crustacea* (ed. by T. H. Waterman.), Vol. 1, Academic Press, New York, 1960, pp. 449-472.
- 5) L. M. PASSANO: *ibid.*, Vol. 1, 473-536.
- 6) D. M. SKINNER: *Biol. Bull.*, **123**, 635-647 (1962).
- 7) D. F. TRAVIS: *Ann. New York Acad. Sci.*, **109**, 177-245 (1963).
- 8) D. F. TRAVIS: *Acta Histochem.*, **20**, 193-222 (1965).
- 9) J. R. STEVENSON: *Crustaceana*, **14**, 169-177 (1968).
- 10) A. C. NEVILLE and B. M. LUKE: *J. Insect Physiol.*, **17**, 519-526 (1971).
- 11) I. YANO: *This Bull.*, **36**, 1208-1213 (1970).
- 12) I. YANO: *ibid.*, **38**, 733-739 (1972).
- 13) 齊木一弘・宮脇三春: *動物学雑誌*, **78**, 476-481 (1969).
- 14) C. M. YONGE: *Proc. Roy. Soc. (London)*, **111**, 297-329 (1932).
- 15) P. DRACH and M. LAFON: *Arch. Zool. Exptl. Gen.*, **82**, 100-118 (1942).
- 16) M. LAFON: *Bull. Inst. Ocean.*, **45**, 1-28 (1948).
- 17) N. OKAFOR: *Biochim. Biophys. Acta*, **101**, 193-200 (1965).
- 18) U. SPECK and K. URICH: *Z. Vergl. Physiol.*, **71**, 286-294 (1971).
- 19) A. S. L. HU: *Arch. Biochem. Biophys.*, **75**, 387-395 (1958).
- 20) V. R. MEENAKSHI and B. T. SCHEER: *Comp. Biochem. Physiol.*, **3**, 30-41 (1961).
- 21) D. E. HORNING and J. R. STEVENSON: *ibid.*, **40**, 341-346 (1971).
- 22) M. R. LUNT and P. W. KENT: *Biochem. J.*, **78**, 128-134 (1961).