

# 家蚕幼虫消化器官の局所的機能差に関する研究

## II 中腸被膜組織の多糖類特に Glycogen の蓄積機能

山口 定次郎\*

Sadajiro YAMAGUCHI : Studies on the Functional Localization of Digestive System in the Silkworm Larva, *Bombyx mori* L.

### II. On the Preservation of Glycogen in the Enteric Epithelium

(1956年10月1日受理)

家蚕幼虫の中腸被膜組織の機能については、従来実験生理学及び組織生理学的の立場から観て、中腸はその前端から後端に至るすべての部分が吸収作用を営むということ、円筒細胞は分泌及び吸収機能をもち、蓋状細胞は専ら分泌に関与するという説(二元説)に傾いている<sup>3)14)</sup>。而して今日では消化管の作用は、主として消化液の分泌、消化及び吸収の作用を営むものとせられ、中腸細胞が栄養質の合成或は蓄積の機能に与つている点については余り注意が払われていない。然し乍ら家蚕については金子<sup>2)</sup>横山<sup>1)</sup> BOGOMAWLENBKY, K. S<sup>6)</sup> 黒沢<sup>7)</sup> PAILLOT, A<sup>9)</sup>、及び PARDI, L<sup>10)</sup> 等により中腸細胞に glycogen が含有されることを認め、又一部の研究者はその消長を報じている。一般の昆虫では WIGGLASWORTH<sup>13)</sup> が *A. des* (シマ蚊)の幼虫につきその中腸後半部に glycogen 蓄積が多いことを見出し、消化吸収の他に、蓄積と更に中間代謝に与つて大なる役割を演じているものであると述べて中腸の機能に新しい意義を附加した。

著者は先に<sup>13)16)17)</sup>中腸組織は部位により消化吸収に機能差があることを報じ、又蚕兒の中腸後部の被膜組織及び消化液は他の部分の夫れに比し、protease, amylase、及び saccharase 等の活性が何れも高いこと<sup>17)</sup>を見出し、又実験生理学的にこの部分の重要性を考察したが、本報告に於ては更に中腸の多糖類特に glycogen の蓄積について PAS 又は BAUER 等の方法を採用組織化学的に、その蓄積作用、局所機能差、glycogen の生成様相、蚕の経過、細胞の種類との関係等について研究し、蚕の中腸の機能に新しく重要な機能を見ることが出来たので、茲にその結果を報告する。

### 材料及び実験方法

材 料 供試蚕品種は支108号、日115号、大造、黄体色蚕、

\* 信州大学繊維学部 蚕種学研究室

秋花×銀嶺其他多数を用い、蠶蚕より化蛹頃迄のものを材料とした。

### 実験方法

固定液：—CARNOY, BOUIN, Ca 加 formalin 液等を用い、glycogen 其他の多糖類が固定に際し逸失しないようなるべく低温で固定した。

切片：—パラフィンで包埋し、厚さ5~10 $\mu$ とし縦断及び横断の切片を作つたが、この研究には縦断切片が一般に便利であつた。

多糖類の検出法：—Glycogen の検出には従来主に BEST の carmine 染色法及び沃度染色法等が用いられたが、近時化学的に最も確実な理論的基礎をもつ方法として SCHLEFF 試薬が用いられるので、本研究では PAS—LILLIE の法一及び BAUER<sup>20)</sup>を採用し、この他に BEST の carmine 液、沃度染色をも併用し、又唾液もしくはタカジアスターゼを用いて glycogen 消化を行いその真偽及び位置を確認した。核染色には DELAFIELD の hematoxylin を用いた。操作中 glycogen の流失を予防する為めに切片は脱パラフィンの後 90% alcohol の所でコロジオン膜で被置させた。

### 実験観察結果

Glycogen とその他の多糖類との判別については、今日尚、難問であるが BALDWIN<sup>15)</sup>は動物において glycogen 以外のもので広い分布を示すものは極少数の多糖類に過ぎないと述べており、又著者が PAS, BAUER, BEST の carmine 及び唾液消化等で確認した範囲でも、瀰漫性に現われるもの及び核の退行変性により現われる場合を除いては PAS 陽性の大部分が glycogen ではないかと思われる。尚組織内の glycogen には結合型と遊離型とがあるが、要するに重合度の低いものは結合型で進んだものは遊離型になるものであらうといわれている。尚何れの品種も glycogen の生成状態はその間全く差異が見られ

なかつた。

1. 蚕児の組織器官と多糖類

中腸組織について記載する前に、一般の組織器官の多糖類特に glycogen について記せば、先づ遊離型の glycogen と思われるものは第一に脂肪組織、第二に中腸皮膜細胞特にその後部の皺襞部、第三には結腸の前及び後部の括約筋で異常に多く、特徴がある。又結腸の皮膜細胞内にも多く見られることがある。mucoïd 物質 (mucin) は glycogen と共に PAS 陽性であり、顆粒性に現われないが一般の筋肉等では之が結合型で存在しているよう

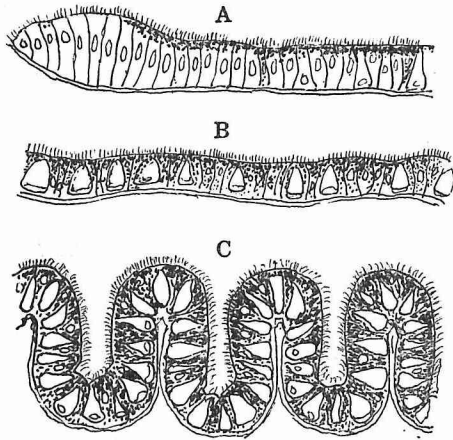


Fig. 1 Showing the glycogen deposition in the enteric epithelium of *Bombyx mori* L. larva. A. Anterior midgut. B. middle midgut. C. posterior midgut. Black spots show glycogen granules.

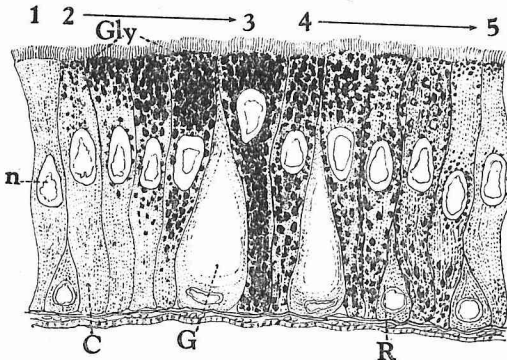


Fig 2 Order of glycogen deposition and disappearance in the enteric epithelium of *Bombyx mori* L. larva. C. columner cell G. goblet cell R. regenerative cell n. nucleus Gly. glycogen 1. no glycogen cell 2~3. shows the increase course of glycogen 4~5. decrease course of glycogen.

である。かように glycogen と mucoïd が結合又は共存していると見做されるものには、頭部及び体皮筋肉、中腸皮膜の縦走及び環状筋肉等があり、その時期により異なる。この他生殖巣、神経球、絹絲腺細胞、マルピギー氏管等殆んど凡ての細胞に、多少共、瀰漫性又は顆粒状に存在している。之等に就ては既に金子<sup>2)</sup>や BOGOJAWLENSKY<sup>6)</sup>も観察しておりその結果と大略同様であるので本報告には記載しないことにする。

2. 消化管系統の組織の Glycogen

消化管系の glycogen を組織化学的に観ると大要は次の通である。

(1) 前腸の小形の細胞内、特に中腸との境界部には比較的多くの多糖類が見られる。

(2) 中腸細胞内には1~4 齡迄、特に盛食期から催眠期迄の間に多いが、5 齡期は終始蓄積が少ない場合が多い。

(3) 中腸後部皺襞部には特に glycogen の蓄積が多く、前部は最も少く中部は中位である (Fig. 1)。

(4) glycogen は円筒細胞に現われ、盃状細胞及び新生細胞には現われないか或は微弱である。



Photo. 1. Anterior enteric epithelium. Upper black portion shows glycogen.



Photo. 2. Posterior enteric epithelium. Glycogen are shown as black granules in columner cell which is inserted between light goblet cells.

(5) 後腸ではその幽門部の細胞内に glycogen があり、又特に結腸の細胞には glycogen の大顆粒がみられる。

(6) 結腸の前後の括約筋は特殊な形状を示し細胞質の網状部に多くの glycogen が含まれている。生体の解剖観察において結腸の前部の括約筋の運動量が著しく多い事実と併せ考えると意義が深いと思う。

(7) 中腸の縦走筋及び環状筋共に多糖類に富み sarco-plasm 中では絶食中にも可也多く残留している場合が多い。

(8) 吐糸中の前蛹期に於ては中腸内には glycogen の蓄積少く糖類消費の多いことを物語っているようである。

### 3. 蚕児の發育と中腸被膜細胞内 Glycogen の生成

孵化直後から化蛹頃迄の中腸被膜細胞内 glycogen の消長を観察した結果は次の通りである。

第1齡から第4齡迄について見るに孵化当時の幼虫及び起蚕では PAS 陰性で glycogen は殆ど全く見られない。尤も起蚕の場合は前齡のものが残留している場合もある。続いて食桑と共に発現して来る。2日目には中腸中部及び前部では細胞縁の下部に現われる。従つて組織全体としては一列に配置される。中腸後部では多糖類が円筒細胞に瀰漫性に分布した上に更に glycogen が大小の顆粒として、細胞の上部から底部に向つて全体に現われて来る。又幼齡では個体により特定の円筒細胞にだけ選択的に現われている場合もある。各齡の眠前期には最も多くの多糖類特に glycogen が中腸後部に現われて来る。中部は之に次ぎ前部は少ない。眠中から少なくなり起蚕に近づくと細胞全体が PAS 陰性で顆粒状の glycogen は僅少となるもの、又皆無となるものがある。又あるものでは中腸後部の円筒細胞の核を中心とする部分がある上部から下方に尾をひいたおたまじやくしの形のように PAS 陽性のものがみられる。この PAS 陽性のものは細胞質なのか核質なのかはつきりしないが眞の glycogen ではなく核質変性によつて生じた物質のようで、やがて退行する運命の細胞にみられる現象であると思われる。特に4齡起蚕で皺壁のある部分の細胞の上方にならぶ核は全部 PAS 陽性で下方のものは全部 D. hematoxylin 可染の若い細胞であつたという例が見られた。すなわち PAS 陽性の核はやがて退行、脱落すべきものと考えられる。尚5齡蚕にあつては PAS 反応が比較的弱く瀰漫性で顆粒の生成が少ない。然し glucose や starch を経口的に増給した場合には中腸後部及び中部に明かに多量の glycogen 顆粒が見られた。之については後の報告にゆずることに

した。熟蚕から化蛹迄においては旧いの中腸皮膜組織は剝離脱落をはじめその下部に新しい皮膜を再生しはじめているが、その旧い細胞の核のあるものは大形で、PAS 陽性であり、唾液で消化されるものもあるのを見ると、前述の起蚕の核の PAS 陽性の場合とは多少異なるように思われる。化蛹期の核の変性については金子の詳細な観察がある<sup>2)</sup>。

### 4. 絶食から食桑への Glycogen の変化

起蚕又は齡中に絶食し細胞内に多糖類が空になつた頃の蚕に食桑させると glycogen の発現状態はどうか？ その一例を記せば次の通りである。

第1表 絶食から食桑への glycogen の変化

食桑時間	中腸前部及中部	中腸後部
絶食蚕	—	—
食桑30分	—	—
〃 1時間	±	±
〃 4〃	±	+
〃 10〃	+	++
〃 20〃	+	++
〃 30〃	+	++

材料：支108号 起蚕を更に25°Cで1日間絶食させた場合  
 — PAS 陰性  
 ± 〃 弱陽性  
 + 〃 中陽性  
 ++ 〃 強陽性、中顆粒あり

即絶食蚕に食桑すれば1時間位で多糖類が現われはじめ4時間で明かとなり10時間には可也増加する。その後は20時間30時間共、蓄積は著しくない。尚4時間目頃では或細胞だけが陽性を示しモザイク状に見える場合もある。

### 5. 食桑から絶食への Glycogen の変化

4齡起蚕食桑1日間の蚕で glycogen が或程度増加した頃の材料を採り、之を停食させ絶食一定時間毎に固定しておいて後切片で観察した結果の一例を示せば次の通りである。

第2表 食桑より絶食への glycogen の変化

絶食時間	中腸前部及中部	中腸後部
対照蚕 (無絶食)	+	++~+++
4時間	+	++~+++
10時間	+	++
15時間	±~+	+~++
30時間	±	+

材料：支108号 4齡4日目  
 ±……微紅 +……中陽性 顆粒少し  
 ++……中陽性 中顆粒あり +++……大中顆粒あり

上表によれば、食桑中に蓄積された glycogen は停食して4時間位迄は対照の蚕糸と変りがないが10時間目には食桑片が腸内に多数残っている時でも、もはや減少しはじめる。而して15〜30時間になると順次減少していくのが見られる。尚中腸付属の筋肉も略々平行的な変化を示すが残留しているものが多い。

## 6. 中腸被膜細胞内 Glycogen の生成状態

絶食により空になつた中腸円筒細胞の細胞質は、食桑短時間にして、先づ全体として瀰漫性の淡紅色を示し、続いて円筒細胞の細線緑の下部に赤色顆粒物を認めることができる。更に進むと細胞の上半部に顆粒を生ずるようになるが此の頃は、核の周辺にも小顆粒が現われる。続いて核の下部にも全体が赤く又大小の顆粒が充満して来る。顆粒は輪廓が稍不明瞭な球状又は楕円形で細胞質の網目、すなわち細胞の縦軸に平行して存在して現われ mitochondria の形や配置<sup>1)</sup>と似ているように思われる。尚 glycogen が消失する過程を見るに顆粒はその一部が蝕ばれたように見えるものがあり、又全体として少くなるが細胞の膜の周辺に glycogen が残る傾向がある。(Fig. 2) 尚黒沢<sup>2)</sup>は中腸管腔内にも glycogen が発現するといつており金子<sup>3)</sup>は glycogen の形で細胞から吸収するものもあると記しているが、之は多分固定の際に細胞が急に圧迫されて内容物と共に管腔内に押出されたもので人為産物であろう。著者の場合はあまりこのような現象は見られなかつた。

## 考 察

家蚕の消化管被膜組織における glycogen 蓄積については、金子<sup>3)</sup>は各器官における詳細な研究の中に記述し、又 BOGOJAWLENSKY<sup>6)</sup>は絶食蚕につき glycogen は先づ脂肪細胞に現われ、次に中腸及びその他の器官に現れ、而して糖は中腸で吸収され、最初に脂肪細胞で合成されるといつている。即ちこの被膜組織は脂肪細胞に次いで蓄積の多いことが判る。中腸細胞内 glycogen の合成については、中腸腔内の glucose は中腸細胞に吸収され、又 saccharose は大部分中腸細胞に吸収され endo-enzyme の saccharase により glucose に転化されて、一部は血糖となり一部はそのまま組織内で glycogen 合成酵素の作用によつて glycogen に合成されるに相違ない。ただ中腸細胞と脂肪組織との何れに先に glycogen が作られるかについては、著者の観る所では、食桑1時間位で中腸細胞内にすでに脂肪細胞よりも稍多く多糖類が現われて来る点を見ると量の多少は別として、脂肪細胞よりも先に

中腸細胞内に新生されるものと考えられる。WHOLESWORTH<sup>12)</sup>が長く絶食した蚊 (*Aedes*) の幼虫で観た所によれば、脂肪組織に先立つて中腸に glycogen の蓄積が初まつたと述べている。

中腸被膜組織の glycogen 生成機能の局所差については、普通食桑の場合、中腸全体として多少共 glycogen 蓄積能力が見られるが特に中腸後部の皺壁部に glycogen が著しく多いことは特異な事実でこのことは、別の glucose 添食の実験で一層明かになつた。(山口未発表)而して中腸後部は著者の先の酵素作用の局所差の研究<sup>11)</sup>でも明かなように重要な消化酵素は何れもこの部に活性高く、又組織構造及び細胞の形態等から見ても、或は glycogenase が多い(山口未発表)等から見ても、ただに消化液の分泌、栄養物質の吸収作用をもつているのみでなく、又平塚<sup>13)</sup>は「glucose 及び saccharose に対しては幼虫の吸収調節作用少なきため食物中之等種類を増給すれば吸収量も殆ど之と比例して増加する」と述べているが、本研究によれば、少くとも中腸の後部に於ては glycogen の合成・蓄積・分解等の作用が行われており血糖調節の場所となり極めて重要な役割を果しているものと信ぜられる。之に関連して WHOLESWORTH<sup>12)</sup>は *Aedes* (シマ蚊) の幼虫での研究において、又 WATERHOUSE, D. E. and DAY, M. F.<sup>22)</sup>も昆虫の glycogen 合成は脂肪細胞のみでなく中腸細胞内に於ても行われており、つまり「中腸では高等動物の肝臓において主として行われている所の中間代謝の役割を果しているのではないかと思う」と述べているが、家蚕の場合にも同様な作用があるのではないかと思われる。

蚕の發育に伴う中腸被膜細胞内 glycogen 蓄積量の変化については、全体として第1齡より第4齡眠期迄齡を追つて glycogen が多くなる。又各齡の齡中変化は、孵化直後及び起蚕に最も少なく、齡の初期中期も稍少く、眠前期に著しく多くなる。之は恐らく、脂肪組織内の glycogen と関連して眠(絶食)中のエネルギー源として又新外皮のキチン形成等にも役立つものとして一時貯りに多く蓄積されるもので glycogen 合成能と眠ホルモンとが関係しているものと思われる。然し乍ら第5齡期に入ると食桑期の glycogen 蓄積は少く又熟蚕時も蓄積が少い。之について金子<sup>3)</sup>は Best の carmine 染色で同様のことを認め、伊藤<sup>14)</sup>は4齡以後について、生化学的定量により齡初から4眠迄は急速に増加するが、眠に入ると激減し、5齡には低い値を示したと述べ、重松<sup>15)</sup>も脂肪組織と関連して定量し5齡中はあまり変化しないといつ

ているが、著者の場合も正常食桑の場合には中腸被膜細胞内蓄積が少量であるが、糖類添食の場合には5齢に於ても多量の glycogen の蓄積が見られることから、glycogen の生成能力がないのではなく、5齢では絹糸物質生成のために異常のエネルギーを要するし、血液又は各組織の glucose の需要量が腸からの供給量よりも多いために中腸細胞内に蓄積するに至らないのではないかと思われる。之は重要にして興味ある問題であるので更に研究を進めている。

中腸被膜細胞はその円筒細胞の細胞質内のみに glycogen を蓄積するもので正常では核は PAS 反応がない。然し脱皮期の細胞の核でしばしば PAS 陽性のものが見られる。金子<sup>2)</sup>は上簇期の中腸細胞において Best の carmine 可染のものを認め、之を核の退行に伴う糖原質の変性と呼んでいるが著者もこの事実をも確認した。而して各齢起蚕に現われるものについての記載はないが、著者はこの場合のものは真の glycogen ではなく核の退行に伴う別の多糖類ではないかと思う。

Glycogen の合成・分解等に当つては細胞内に当然酵素が存在することが考えられ、之が触媒作用をなしているものと思う。この場合の中心器官は、諸種の酵素形成に与る mitochondria と考えるのが妥当であろう。之について辻田<sup>14)</sup>は特に mitochondria と消化液の分泌関係について記し又蛹期において之により作られたとみるべき代謝性顆粒があると述べているが、glycogen 合成については何等触れていない。然し著者は、glycogen 顆粒の配置が辻田の mitochondria のそれと軌を一にしているように考えられ、glycogen 合成の中心がここにあるものと思うので更に実証したいと考えている (Fig. 2)。

## 要 結

著者は PAS, BAUER 及び Best の carmine 等の方法で家蚕幼虫消化器系の特種糖類特に glycogen の生成・消長等を観察し消化官の機能について次の事実を認めた。

1. 蚕の消化器系では glycogen は食道、中腸及び後腸の皮膜細胞内に多く発現する。又中腸附属の縦走及び環状筋や結腸の前後の括約筋に多量に蓄積されている。

2. Glycogen は中腸後部皺襞部に最も多く蓄積され、中部之に次ぎ前部には少い。

3. 何れの品種も第1齢乃至第4齢の食桑中、特に催眠時に於て常に多い。但し第5齢期に於ては glycogen の蓄積は少いが、その機能が欠けているのではない。

4. Glycogen は主に円筒細胞の細胞質のみに発現し、蓄積は細胞縁の下部からはじまり順次細胞の下部に及ぶ。

Glycogen の形状、配置等から推して mitochondria との間に密接の関係があるように思われる。

5. 起蚕の細胞質には glycogen は殆ど認められないが細胞の上部に位する核の中には PAS 陽性を示すものがあり之は退行期の変性した核ではないかと思われる。上簇期の剥離細胞の核には glycogen を含むものがある。

6. 絶食蚕に食桑させると1~2時間で多糖類の反応が現われ、4時間で glycogen 顆粒が増加し10時間では可也多くなる。又蓄積された glycogen は停食後5~10時間目で減少をはじめ30時間では可也少くなる。

7. 以上の事実から蚕の中腸は脂肪細胞に次いで glycogen の蓄積能力が強いこと、又この蓄積は中腸の後部に顕著で、中腸の作用に機能の局所差が見られ、この部が蚕の糖類の中間代謝につき重要な役割を演じているものであることがわかる。

本研究を行うにあつては東大農学部有賀教授、信大繊維学部蒲生教授及八木教授より終始懇切な御指導と、実験上多大の御便宜を与えられた。又実験は信大清水猛氏及び宇都宮大学岩下嘉光氏の助力に俟つ所が多かつた。茲に併せて深甚な謝意を捧げる次第である。

## 文 献

1. 平塚 英吉：蚕試報，6(10) 457~474 (1925)
2. 金子 悟：北越医学会誌，41(2) 247~312 (1925)
3. 町田 次郎：蚕試報，11(2)，211~293 (1933)
4. 横山 忠雄：日蚕誌，4(1)，40~41 (1933)
5. ————：蚕試報，8(11)，539~550 (1934)
6. BOGOJAWLENSKY, K. S. : Zeit. Zellforsch. Mikr. Anat. 22(2), (1935)
7. 黒沢 益雄：日蚕誌，6(1)，68~69 (1935)
8. 蒲生 俊興：上田蚕専学術報告，2(1)，1~67 (1936)
9. PAILLOT, A. : Ann. Epiphyt. Phytogen., 5, 339~86 (1939)
10. PARDI, L. : Redia, 25, 87~288 (1939)
11. 松村 季美：日蚕誌，13(4)，168~174 (1942)
12. WIGGLESWORTH, V. B. : J. Exp. Biol., 19(1), 56~77 (1942)
13. 山口定次郎：蚕糸学雑誌，14(2)，93~98 (1942)
14. 辻田 光雄：蚕試報，11(2)，211~293 (1943)
15. WIGGLESWORTH, V. B. : J. Exp. Biol., 26(2), 150~163 (1949)
16. 山口定次郎：信大繊維報，(4) (1954)
17. ————：" (5) 47~52 (1955)

18. 重松 孟：日蚕関東要旨，(7) (1955)  
 19. 伊藤智夫・堀江保宏・田中元三：日蚕関東要旨，(7) (1955)  
 20. BALDWIN, E. : 比較生化学入門  
 21. WIGGLESWORTH, V. B. : The Principles of Insect Physiology (1953)  
 22. ROEDER, K. D. : Insect Physiology  
 23. LISON, L. : 組織化学及細胞化学，今泉正訳 (1953)

### Summary

In the present study the author has investigated the distribution and accumulation of polysaccharide, especially of glycogen, in the enteric epithelium of the silkworm larva, *Bombyx mori* L..

In this study the polysaccharides as well as glycogen in the cells were detected histochemically by means of PAS (Periodic acid SCHIFF) and BAUER's reaction etc..

The results thus obtained are as follows.

(1) The polysaccharides are laid down, more or less, in almost all of the epithelial cells and muscles surrounding the alimentary tract.

(2) During the 1st to the 4th instar it is observed that the glycogen is deposited in large amount especially in the last day of each instar. Although the amount of glycogen storage is generally small in the 5th instar it is supposed that the ability of glycogen accumulation is not lacking in this instar according to the proof of other experiments of the author.

(3) The amount of glycogen storage is much more in the posterior region of the midgut, where existing many thickened folds, than in the middle and anterior region (Fig. 1).

(4) The accumulation of the glycogen is mostly limited to the columnar cells of the midgut, and at first it begins to appear just under site of the striated border, next appears in the inner half and then outer half of the cells (Fig. 2).

(5) It may be thought that there are some relation between glycogen synthesis and mitochondria present in the cells, judging by the shape and distribution of the glycogen.

(6) Reaction of PAS, in general, appears gradually after 4 hours feeding, and the preserved glycogen begins to disappear from 5 to 10 hours after fasting.

(7) In conclusion it is said that the ability of glycogen accumulation in the enteric epithelium of midgut is fairly strong next to that of fatty tissue. According to the author's observation there is obviously a functional localization of glycogen storage in the enteric epithelium of midgut. Furthermore it is presumed that the posterior epithelium of the midgut of silkworm larva is playing important roles of the glycogen storage and of the intermediary metabolism of carbohydrates. (Faculty of Textile and Sericulture, Shinshu University, Ueda Japan)