

鳥類の卵殻腺におけるカルシウム分泌細胞

山本 敏 男

岡山大学歯学部口腔解剖学第一講座

鳥類の卵のカラすなわち卵殻は卵殻腺(子宮部)で石灰化することが知られている。形成された卵殻の約98%はミネラルでそのうち約95%が炭酸カルシウムとして存在する¹⁾。産卵鶏(体重2kg)を例にとると卵殻中には約2gのカルシウムが含まれているので、体重1kgあたりでは1,000mg/kg/dayの分泌量となる。この量がいかに多いかは、産乳量の比較的高い乳牛(体重400kg)の乳汁中に分泌されるカルシウムが108mg/kg/dayであることと比較すると理解できる²⁾。本稿ではニワトリやウズラのように毎日多量のカルシウムを分泌する鳥類の卵殻腺に注目し、その微細構造ならびにカルシウム分泌細胞について従来の報告ならびに著者のニホンウズラを用いた実験結果をまじえて述べてみたい。

鳥類の卵管は卵巣に引きつづき存在する漏斗部、膨大部、峡部、卵殻腺(子宮部)および陰部に分けられる。卵殻腺は粘膜、筋層および漿膜の3層が区別される。粘膜上皮は単層円柱上皮で線毛を有する線毛細胞(C-細胞)と線毛を持たない無線

毛細胞(N-細胞)の2種類の細胞からなる。粘膜固有層には管状腺と呼ばれる外分泌腺が極めてよく発達している。Fig. 1と2はそれぞれニホンウズラの粘膜上皮細胞と管状腺細胞を示したものである。C細胞は細胞質が明るくC細胞頂部に微絨毛および線毛がみられる。細胞側壁は隣接する細胞とひだ状の嵌合を形成し相互に密に接している。細胞質には直径0.7 μ m程度の電子密度の高い大きな果粒が豊富に存在している。これらは主に核上部に分布する。ゴルジ装置はよく発達しており数層の層板構造と小胞から成っている。粗面小胞体は比較的槽が短く断片状を呈するものが多い。N細胞はC細胞に比較して全体に暗調を呈し、核は基底部に位置している。細胞頂部には多数の微絨毛が存在するが線毛はみとめられない。細胞質には直径0.4 μ m程度の電子密度の高い果粒が多数認められ核上部や細胞頂部に集積している。ゴルジ装置はC細胞に比べ発達が悪い。ミトコンドリアは比較的多数みとめられ、それらは主に細胞基底部に集まる傾向がある。粗面小胞体は個々の細胞に

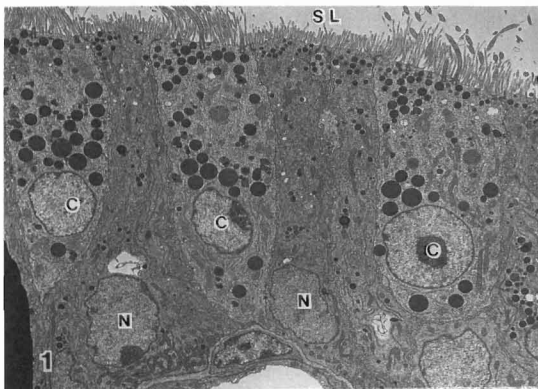


Fig. 1 ウズラ卵殻腺の粘膜上皮細胞。線毛細胞(C)と無線毛細胞(N)の2種類の細胞がほぼ交互に配列している。両細胞とも細胞質に多数の分泌果粒を有する。SL: 卵殻腺腔

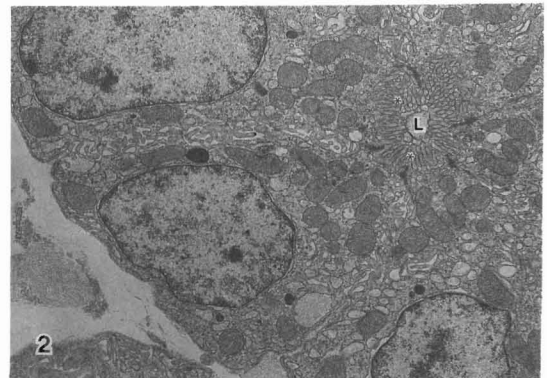


Fig. 2 ウズラ卵殻腺における管状腺細胞。腺腔側(L)に多数の微絨毛(*)がみられる。卵殻石灰化が進行している時期ではミトコンドリアが細胞頂部に集積する。

よって発達程度や分布が異なっている。N 細胞には特徴的に大きな空胞が出現し、主として核上部に位置する。これら C 細胞、N 細胞は交互に配列して認められる。また凍結レプリカ膜を作製して観察すると、いずれの細胞頂部にも閉鎖帯がよく発達しており、P 面には十数条におよぶ隆起が網状に走行している。

管状腺細胞は腺腔側に多数の微絨毛を有している。隣接細胞間は開大してみとめられることが多く、その間隙にも微絨毛状の小突起が多数みとめられる。核は基部に位置している。ゴルジ装置は中等度に発達している。粗面小胞体は小胞状を呈し、細胞質全般に分布している。管状腺細胞の特徴の一つは、ミトコンドリアが細胞の大きさに比較して多数存在しており、それらは大型で円形ないし楕円形を呈し、またクリステが豊富であるなど形態学的によく発達した様相を呈していることである。さらに、卵殻の石灰化が進行している時期ではこれらミトコンドリアが細胞頂部に集まっている。C 細胞、N 細胞に存在するような分泌果粒はみとめられない。細胞頂部に存在する細胞間結合を凍結レプリカ膜で観察すると閉鎖帯は存在するが発達が悪く途中に不連続な箇所もみとめられ、いわゆる“leaky”であることがうかがわれる。

以上卵殻腺の粘膜上皮細胞と管状腺細胞の構造を述べてみた。次にこの卵殻腺におけるカルシウム分泌細胞についてであるが、従来、これらの細胞のうちいづれの細胞がカルシウム分泌を行なうかについて相反する説がある。すなわち、Hohman と Schraer³⁾、Gay と Schraer⁴⁾および Solomon ら⁵⁾はそれぞれ電顕レベルでの低温顕微灰化法³⁾、凍結置換法を用いた光顕での⁴⁵Ca オートラジオグラフィ⁴⁾、ピロアンチモン酸法⁵⁾によるカルシウム捕捉を試み、いづれも粘膜上皮細胞にミネラルもしくはカルシウム沈着をみとめた。これらのことから粘膜上皮細胞によるカルシウム輸送を支持した。一方、管状腺細胞がカルシウム輸送を行うとする報告もある。Richardson⁶⁾は光顕での顕微灰化法を行い管状腺細胞がカルシウム分泌を行うと結論した。Breen と DeBruyn⁷⁾および Johnston ら⁸⁾は微細構造を調べ、管状腺細胞の腺腔側にみられる微絨毛の空胞化あるいは膨潤化像はカルシウムを含

む溶液の分泌と考えた。さらに Breen と DeBruyn⁷⁾は管状腺細胞にはいわゆる分泌果粒がみとめられないことから管状腺細胞によるカルシウム分泌を示唆した。また、Lippiello と Wasserman⁹⁾および Jande ら¹⁰⁾は免疫組織化学的方法を用いて、管状腺細胞にカルシウム結合蛋白 (CaBP) が存在することを明らかにし、このことから Lippiello と Wasserman⁹⁾は管状腺細胞によるカルシウム輸送を支持した。以上のように形態学的研究ではいづれがカルシウム分泌細胞なのかあるいは両者が分泌するのか判然としなかった。一方、生理、生化学的に卵殻腺のカルシウム輸送を調べた報告によれば、卵殻腺のカルシウム輸送は好氣的代謝によるエネルギー依存性の能動輸送であるという^{2,11)}。さらに、卵殻腺には Ca-ATPase 活性が検出され、ウズラの卵殻腺を用いた実験では卵殻の石灰化が進行している時期に高く、石灰化が行なわれていない時期では低いという報告がみられる¹²⁾。また、カモに DDT あるいはその代謝産物である DDE を投与すると Ca-ATPase 活性が低下し、石灰化の弱い軟卵を産卵するといわれている¹³⁻¹⁵⁾。これらのことから卵殻腺のカルシウム輸送はエネルギー依存性の能動輸送、すなわち Ca-ATPase 活性に依存して行なわれることが強く示唆されている。Ca-ATPase の機能は細胞外へのカルシウム放出、すなわちカルシウムポンプとして作用することが知られており^{16,17)}、生化学的に多くの組織、細胞、細胞小器官に証明されている。また、形態学的方法においても Ca-ATPase は検出可能であり多くの組織、細胞で検出され細胞機能とその分布、局在性について論じられている。そこで著者らは前述の卵殻腺におけるカルシウム輸送機構をふまえて酵素細胞化学的に Ca-ATPase 検出を行い、卵殻腺におけるカルシウム分泌細胞の同定を試みた¹⁸⁾。その結果 Ca-ATPase 活性は粘膜上皮細胞の基底部細胞膜に比較的強く、また基底部に近い細胞側壁に弱くみとめられた。管状腺細胞では腺腔に面する微絨毛および細胞側壁の細胞膜に強い Ca-ATPase 活性をみとめ、特に微絨毛における反応は強かった。基底部の細胞膜は陰性であった。これらの結果と生化学的報告とを考え合わせると卵殻腺におけるカルシウム分泌は管状腺細胞によって行なわれ

ることが強く示唆される。すなわち、管状腺細胞内に流入したカルシウム（その機構については不明）は微絨毛の細胞膜に存在する Ca-ATPase 活性によって腺腔にくみだされ卵殻石灰化に寄与するものと考えられる。また、管状腺細胞のミトコンドリアが卵殻の石灰化進行時に細胞頂部に集積する。さらに、卵殻腺細胞はミトコンドリアの標識酵素であり、TCA 回路に寄与するコハク酸脱水素酵素、NAD⁺依存性イソクエン酸脱水素¹⁸⁾およびチトクロームオキシダーゼ（未発表）活性に強陽性を呈する。このように機能的に活発なミトコンドリアの細胞内分布は Ca-ATPase 活性に依存する、すなわちエネルギー依存性のカルシウム分泌に際してエネルギー供給源としての合目的なものと考えられる。粘膜上皮細胞にみとめられた Ca-ATPase 活性については、その活性部位が主として細胞基底面であり卵殻腺腔とは逆方向になるので卵殻石灰化には寄与しないと考えられる。おそらくは細胞内カルシウムの調整に関与するものと思われる。

粘膜上皮細胞（N, C 細胞）の機能については、C 細胞の分布果粒は好塩基性を呈し、多糖体染色に陰性であることから C 細胞は卵殻の蛋白性基質の形成に関与するものと考えられる⁷⁾。N 細胞の分泌果粒は PAS 反応、アルシアン青染色、コロイド鉄染色に陽性を呈し、かつアズール染色によってメタクロマジーを呈することから酸性粘液多糖を含むといわれている⁷⁾。卵殻中にはコンドリュチン硫酸などの多糖体の存在が知られているので¹⁹⁾、N 細胞は卵殻の多糖体形成に関与すると推察される。先に述べたように、粘膜上皮細胞中にミネラルもしくはカルシウムが存在するという報告²⁻⁵⁾がある。これらの卵殻石灰化に対する意義についてはさらに研究を要するが、分泌果粒中にカルシウムは含まれることは一般的にみとめられる現象であるといわれている¹⁶⁾。ここで再度強調しておきたいことは、卵殻腺のカルシウム分泌は Ca-ATPase に依存する能動輸送であるということである。そして Ca-ATPase 活性は管状腺細胞の微絨毛にみられる。したがって酵素細胞化学的には粘膜上皮細胞による能動輸送は考えにくい。

最後に、卵殻石灰化に際してカルシウム分泌細

胞ということに注目して述べたが、そのカルシウムが分泌されるにいたるまでの細胞内経路、それにかかわる細胞小器官、特にミトコンドリアの役割などさらに解明されなければならない問題がある。また、卵殻の石灰化にあたっては炭酸イオンの供給が重要である。今後これらのことに注目して研究を進めていきたいと考える。

引用文献

- 1) 堀河 博, 菅原道照: 鶏の産卵の栄養と生理—特に卵殻形成を中心に—, 畜産の研究 35: 727-734, 1981.
- 2) Schraer, R. and Schraer, H.: The avian shell gland: A study in calcium translocation. In Biological calcification: Cellular and molecular aspects, ed. Schraer, H., P.347-373, Appleton, New York, 1970.
- 3) Hohman, W. and Schraer, H.: Low temperature ultramicro-incineration of thin-sectioned tissue. J. Cell Biol., 55: 328-354, 1972.
- 4) Gay, C.V. and Schraer, H.: Autoradiographic localization of calcium in the mucosal cells of the avian oviduct. Calcif. Tiss. Res. 7: 201-211, 1971.
- 5) Solomon, S.F., Fryer, J. and Baird, T.: The ultrastructural localization of calcium in the avian shell gland. J. Microsc., 105: 215-222, 1975.
- 6) Richardson, K.C.: The secretory phenomena in the oviduct of the fowl, including the process of shell formation examined by microincineration technique. Trans. Roy. Soc. (London), B225: 149-195, 1935.
- 7) Breen, P.C. and DeBruyn, P.P.H.: The fine structure of the secretory cells of the uterus (shell gland) of the chicken. J. Morph., 128: 35-66, 1969.
- 8) Johnston, H.S., Aitken, H.N.C. and Wyburn, G.M.: The fine structure of the uterus of the domestic fowl. J. Anat., 97: 333-344, 1963.
- 9) Lippiello, L. and Wasserman, R.H.: Fluorescent antibody localization of the vitamin D-dependent calcium binding protein in the oviduct of the laying hen. J. Histochem. Cytochem., 23: 111-116, 1975.
- 10) Jande, S.S., Tolnai, S. and Lawson, D.E.M.:

- Immuno-histochemical localization of vitamin D-dependent calciumbinding protein in duodenum, kidney, uterus and cerebellum of chickens. *Histochem.*, 71 : 99-116, 1981.
- 11) Pearson, T.W. and Goldner, A.M. : Calcium transport across avian uterus. II. Effects of inhibitors and nitrogen. *Am. J. Physiol.*, 227 : 465-468, 1974.
 - 12) Pike, J.W. and Alvarado, R.H. : Ca^{2+} - Mg^{2+} -activated ATPase in the shell gland of Japanese quail (*Coturnix Coturnix Japonica*). *Comp. Biochem. Physiol.*, 51B : 119-125, 1975.
 - 13) Miller, R.D., Kinter, W.B. and Peakall, D.B. : Enzymatic basis for DDE-induced eggshell thinning in a sensitive bird. *Nature.*, 259 : 122-124, 1967.
 - 14) Kolaja, G. and Hinton, D.E. : In vitro inhibition of microsomal calcium ATPase from eggshell of mallard duck. *Bull. Envir. Contamination Toxicol.*, 17 : 591-594, 1977.
 - 15) Lundholm, C.E. : Effect of P-P-DDE administered in vivo and in vitro on Ca^{2+} binding and Ca^{2+} - Mg^{2+} -ATPase activity in egg shell gland mucosa of ducks. *Acta Pharmacol. et Toxicol.*, 50 : 121-129, 1981.
 - 16) 岡田泰伸, 矢田俊彦, 上田俊二, 老木成穂 : Ca^{2+} による細胞機能調節—生きた細胞を用いて—. *代謝* 20 : 439-447, 1983.
 - 17) Vincenzi, F.F. and Hinds, T.R. : Calmodulin and plasma membrane calcium transport. In *Calcium and cell function*, ed. Cheung, W. Y., vol.1, p.127-165, Academic Press, New York, 1980.
 - 18) Yamamoto, T., Ozawa, H. and Nagai, H. : Histochemical studies of Ca-ATPase, succinate and NAD^{+} -dependent isocitrate dehydrogenases in the shell gland of laying Japanese quails : with special reference to calcium-transporting cells. *Histochem.*, 83 : 221-226, 1985.