1.細胞と組織

1.1 組織(そしき)とは何か

多細胞生物の体は多くの種類の細胞からできています。多くの種類の細胞はどの様に集まり、個体を作っているのでしょうか。

同じ種類の細胞が集まり組織を作っている。

多細胞動物の細胞は、同じ種類の細胞どうしが集まり接着する性質があります。その結果、同じ種類の細胞だけが集まり組織と呼ばれるまとまりを作ります。

図1:同じ細胞が集まって組織は出来ている



組織は多細胞動物の体を作る材料です。

たとえて言えば、自動車は鉄板やガラスやプラス チックや布などの材料から出来ている。この鉄板や 布にあたるものが組織である。

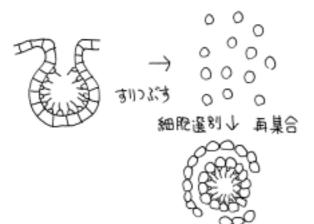
組織は同じ種類の細胞から出来ていなければ正しく 機能を果たせません。

車のシートの布に鉄が混ざっていたらズボンが破けるだろう。

1.1.1 細胞集合の実験

カイメンは体の外側を作っている細胞と、内側を 作っている2種類の細胞から出来ています。

図2:カイメンの再集合の実験



磯でよく見られる代表的なカイメンであるダイダイ イソカイメンを生きたまま海水と共にミキサーにか けます。

カイメンの細胞どうしの接着は弱いので、かなりの 細胞は生きたままバラバラになります。

バラバラになったカイメンの細胞を海水と一緒に シャーレに入れておくと、内側の部分を作っている 細胞は内側に、外側を作っている細胞は外側に集合 します。

この様子を詳しく観察すると、バラバラになった細胞はアメーバのように仮足(かそく)を伸ばして動きまわり、自分と同種の細胞と出会うと接着(せっちゃく)し、そうでなければ離れるということを繰り返すことがわかります。

この現象は細胞選別(さいぼうせんべつ)と再集合と呼ばれています。

細胞選別と呼ばれる現象はドイツのホルトフレー ターによって 1955 年に発見されました。

同種の細胞どうしが接着するという性質は、多細胞 生物の細胞が持つ基本的な性質です。

この性質のために多細胞動物の組織は、傷ついても 自動的に修復されていると考えられます。

1.2 動物の組織の種類

1.2.1 上皮組織(じょうひそしき)

上皮組織に共通した特徴。

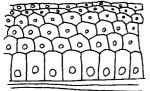
上皮組織のはたらきは細胞自身によっておこなれて います。

細胞間質(細胞と細胞の間を埋めている物質、細胞 自身が作ったもの)が少なく、細胞どうしが直接結 合しています。

保護上皮(ほごじょうひ)

細胞が密に接着し、内部を保護するという役割を果たしています。

そのために、身体や器官(きかん)の外側や内側の 表面をすきまなくおおっています。 図3:保護上皮の断面



基底膜

保護上皮(ほごじょうひ)の一部が変化し次のような上皮組織が生じました。

吸収上皮(きゅうしゅうじょうひ)。

小腸の内側などをおおい、物質を吸収する働きを持ちます。

1. 小腸の内側の上皮、養分を吸収します。

図4:小腸の吸収上皮



2. 腎臓の細尿管(さいにょうかん)糸球体(しきゅうたい)で血液からこしだして作った原尿(げんにょう)から水分を再び血液に戻す働き(再吸収)を行っています。

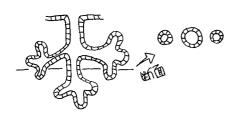
図5:腎臓の構造

分泌上皮(ぶんぴつじょうひ)。

物質を細胞外に放出する(分泌(ぶんぴつ))を行う 上皮です。特に、分泌細胞(ぶんぴつさいぼう)の ある部分が管状になったものを腺(せん)と呼びま す。

体外に物質を分泌する外分泌腺(がいぶんぴつせん) と血液中に物質を分泌する内分泌腺(ないぶんぴつ せん)があります。

図6:



外分泌腺の例) 汗腺、唾液腺。

*消化管の中は外とつながっているので体外の延長と考えます。

内分泌腺の例) 膵臓(すいぞう)のランゲルハンス 島(インシュリンと呼ばれるホルモンを血中に分泌 します)

ホルモンとは血中放出される物質で、決まったメッセージを伝える役割を持ちます。

例えばインシュリンと呼ばれるホルモンは全身の 細胞に「血液中の糖分を減らせ」というメッセージ を伝えます。

メッセージを受け取った細胞の反応はさまざまで す。ある細胞では糖の消費を増やし、ある細胞では 糖をため込もうとします。

ホルモンによる情報の伝達は神経による情報伝達と並ぶ重要な情報伝達のための仕組みです。

感覚上皮(かんかくじょうひ)。

外界からの刺激(しげき)を受け取るように変化したもです。神経がつながっています。

例)眼の網膜(もうまく) 鼻の嗅上皮(きゅうじょうひ)など。

1.2.2 結合組織(けつごうそしき)と骨組織(こつそしき)

組織や器官の間を埋め、組織や器官を補強したり支えたりしている組織です。

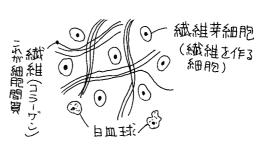
共通した特徴

結合組織、骨組織の働きは、細胞自身の働きではなく、細胞が作った細胞間質によって行われています。 したがって、結合組織の種類は細胞間質の種類によって決まります。

繊維性結合組織(せんいせいけつごうそしき)

皮膚(ひふ)の真皮(しんぴ)など。コラーゲンと呼ばれる丈夫な繊維状のタンパク質が細胞間質(さいぼうかんしつ)。表皮などの他の組織の補強をしています。

図7:



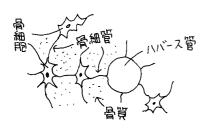
コラーゲンの繊維はしなやかで引っ張りに強いという特徴があります。

コラーゲンの合成にはアスコルビン酸(ビタミンC) が必要です。ビタミンCが欠乏すると結合組織が役 割を果たせなくなり、あちこちから出血しいろいろ な器官が壊れていきます。これが壊血病です。

コラーゲンの代わりにエラスチンと呼ばれる伸び 縮みできる繊維からできているものを弾性組織(弾 性繊維)と呼びます。靭帯(じんたい)を作ってい ます。

骨組織

図8:



骨細胞(こつさいぼう)が作ったかたい「骨質(こつ)」が細胞間質です。骨質はコラーゲンの繊維とリン酸カルシ

ウムから出来ています。

繊維性結合組織のコラーゲンの繊維にリン酸カルシウムと呼ばれる物質がしみこんで骨が作られます。繊維性結合組織と骨はもとは同じものであることがわかります。

1.2.3 筋組織(きんそしき)

筋原繊維(きんげんせんい)と呼ばれる収縮する繊維を細胞質中に持つ筋繊維(きんせんい)からできています。

筋繊維が1個の細胞です。

骨格筋(横紋筋(おうもんきん))

一つの細胞に数百の核があります。多数の細胞が融合して細長い繊維になっているため、元の細胞の数だけの核があります。

筋繊維に枝分かれがありません。随意筋(ずいいきん)と呼ばれ、自分の意志で収縮(しゅうしゅく)させる事ができます。

横紋と呼ばれるしま模様があります。

収縮力が強く収縮速度も速いが疲れやすい事が特徴です。

収縮速度速いが疲れやすい白筋(速筋)と収縮速度 が遅く比較的疲れにくい赤筋(遅筋)があります。 赤筋にはミオグロビンと呼ばれる酸素を貯蔵できる赤い色のタンパク質が多く含まれ、主に脂肪をそのエネルギー源としていると考えられます。

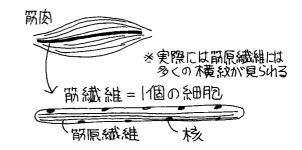
赤筋が多い人は太りにくいと考えられています。

白筋にはミオグロビンが少なく、主に炭水化物をエネルギー源としていると考えられます。

白筋と赤筋の比率は生まれつき決まっていると考えられ、マラソンランナーでは8割が赤筋、短距離ランナーでは7割が白筋といわれています。

再生は可能ですが、あまり活発に細胞分裂をする組織ではありません。

図9:



心筋(しんきん)(横紋筋、内臓筋)

単核で筋繊維に枝分かれがあります。横紋が見られ ます。

自分の意志で動かすことができない不随意筋 (ふず いいきん) です。横紋があります。

ほとんど疲労することがなく、神経系からの命令が なくても自分で収縮する事ができます(自律的)。

分裂することができないので再生されることはあり ません。

平滑筋(へいかつきん)(内臓筋)

単核で筋繊維に枝分かれはありません。横紋もあり ません。

自分の意志で動かすことができない不随意筋です。

疲れにくく収縮力、収縮速度は小さい事が特徴です。 活発に分裂することができます。

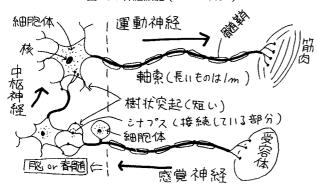
1.2.4 神経組織(しんけいそしき)

神経単位(ニューロン)が一つの細胞です。

われわれが普段「神経」と呼ぶものは、軸索(じくさく)の部分が束(たば)になったものです。

神経細胞体はほとんどが脳や脊髄(せきずい)の内部やその周辺にあります。そこから長い軸索(1m以上になるものもあります)が体のあちこちにのびています。

図 10:神経細胞(ニューロン)



運動神経(うんどうしんけい)

中枢(ちゅうすう)からの信号(インパルス)を筋肉などの作動体に伝える働きをします。

感覚神経(かんかくしんけい)

感覚器 (かんかくき) からのインパルスを中枢に伝える働きをします。

中枢神経(ちゅうすうしんけい)

脳と脊髄(せきずい)から出来ています。何らかの 判断を行う力を持っています。

1.3 器官と器官系

異なる種類の組織が組み合わさって、器官が出来ています。関連のある、器官を器官系としてまとめます。

1.3.1 消化器官(しょうかきかん)系

口、舌、咽頭(いんとう)、食道、胃、小腸、肝臓(かんぞう)、膵臓(ひぞう)、大腸、直腸(ちょくちょう)、肛門(こうもん)。

1.3.2 呼吸器官(こきゅうきかん)系 気管、気管支(きかんし)肺(はい)。

1.3.3 循環器(じゅんかんき)系 心臓、動脈(どうみゃく)静脈(じょうみゃく)。

1.3.4 泌尿生殖器系(ひにょうせいしょく きけい)

卵巣、精巣、子宮、腎臓(じんぞう)、尿道、膀胱 (ぼうこう)。

1.4 細胞が組織をつくる仕組み

組織は同じ種類の細胞が接着してできています。また、多くの場合、細胞は一層に並んで細胞シートを作っています(細胞のシートは多層の場合もあります)。

細胞集合の実験のところで述べたように、実際に多 細胞生物の組織をバラバラにすると、同じ種類の細 胞どうしが接着する様子が観察できます。

図11:細胞選別の実験(ホルトフレーター)



細胞のこのような性質を解明する一つの糸口がわかってきました。

脊椎(せきつい)動物のからだが作られる過程で、背中側の表皮に溝ができこの溝の上部が閉じ背中側を前後に貫く管が作られます。この表皮の一部から作られる管を神経管と呼びます。

前の方がふくらみ脳に、それ以外の部分が脊髄(せきずい)になります。

このとき表皮の細胞は E 型カドヘリンと呼ばれるタンパク質を細胞の表面につきだしています。神経管の細胞は N 型カドヘリンを細胞表面につきだしています。

同じ型のカドヘリンどうしは結合することができる ため、同じ型のカドヘリンを持つ細胞どうしが接着 します。

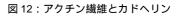
カドヘリンは細胞膜を貫通しているタンパク質で細胞内では細胞骨格の一種であるアクチン繊維に結合しているため、細胞どうしを強固に接着することができます。

カドヘリンは現在120種類以上が見つかっています。 おそらくすべての細胞は一種類以上のカドヘリンを 作っていると考えられます。

カドヘリンの発見

カドヘリンは 1982 年京都大学理学部の武市雅俊ら によって発見され、その遺伝子が 1987 年に発見さ れました。

武市らが発見したカドへリンは現在クラシックカ ドへリンと呼ばれ 20 種が確認されています。



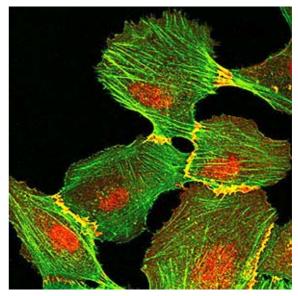


図 13:象徴の吸収上皮の細胞接着



図 14:両生類の神経管の形成

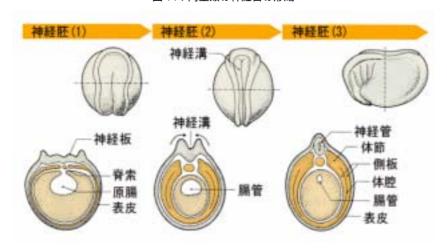


図 15:神経管の形成におけるカドヘリンの分布

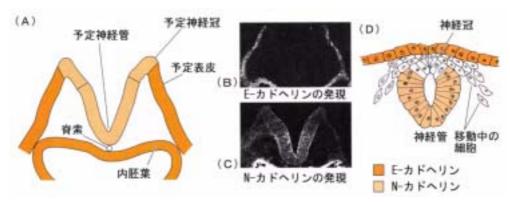
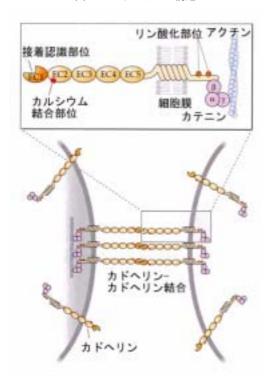


図 16:カドヘリンの構造



2.パラフィン切片の作り方

光学顕微鏡で観察をするためには、細胞が一層になるようにプレパラートを作る必要があります。

ここまでの観察はタマネギの表皮やムラサキツユク サのおしべの毛、ゾウリムシなど、もともと細胞が 一層のものと、細胞分裂の観察で行ったように押し つぶして細胞を一層にしたものを使いました。

しかし、多くの材料は細胞が多層になっているもので、薄くはがすことや構造を保持したまま押しつぶすことも困難です。

そこで、材料を細胞の厚さより薄くスライスしてプレパラートを作ります。多くの細胞は数 μ m の大きさがあります。そのためには材料を数 μ m の厚さにスライスしなくてはなりません。

* 1 µ m=1/1000mm です。

観察に使用するニジマスの切片 (せっぺん) は厚さが $4 \sim 6 \, \mu \, m$ ときわめて薄いため細部まできれいに見る事ができます。

この厚さに試料をそのまま切ることは不可能です。

そこで、組織中の水分をパラフィンで置き換えると、 細胞の7割は水なのでパラフィンを削るように薄く スライスできます。

このように捨て作ったプレパラートをパラフィン切 片標本と呼びます。

この標本は次のような手順で作られています。

2.1 固定(こてい)

エタノール、ホルマリン、酢酸などの薬品を使って タンパク質を変性(へんせい)させ(タンパク質が 固まる)構造が壊れにくくします。

今回、実験で使うニジマスの稚魚はブアン液(ピクリン酸、ホルマリン、酢酸の混合液)と呼ばれる固定液を使っています。骨を柔らかくする効果もあるので、骨ごと固定するのに適しています。

2.2 脱水(だっすい)

組織中の水をエタノールで置き換えます。70%程度のエタノールから徐々に濃度の高いエタノールに試料を移し、水をエタノールにゆっくりと置き換えます。

2.3 パラフィン浸透

エタノールとパラフィン(ろう)は混ざらないので、 エタノールとパラフィンの両方に混ざるキシレンな どの有機溶媒に試料を浸し、エタノールをキシレン に置き換えます。

さらに暖めて液体になっているパラフィンに試料を 浸し、キシレンをパラフィンに置き換えます。パラ フィンが冷えて固まると、試料中の水が全て固体の パラフィンに置き換えられたことになります。

この状態の試料をパラフィンブロックと呼びます。

今回の実習ではパラフィンプロックを薄くスライス するところからやってみます。

2.4 薄切(はくせつ)

試料をミクロトームと呼ばれる機械で薄く切ります。パラフィンの固まりはかんなで削るように薄く切ることが出来ます。

ミクロトームの刃は上向きに付いているので使用する時にだけ刃を取り付け、刃の上に手をかざさないように注意します。

ミクロトームの試料送りを $5 \mu m \sim 10 \mu m$ 程度の適当な大きさにセットします。

ミクロトームのハンドルを一定の速さで回しパラフィンブロックをスライスします。うまく切れると切れた切片がつながりリボンのようになります。これをパラフィンリボンと呼びます。

温度が低いとパラフィンが固くリボンがうまくつながりません。温度が高いとパラフィンが柔らかく 刃にくっついてしまします。

乾燥していると静電気であちこちにくっついてし まいます。

固定やパラフィンの浸透が不十分だとぼろぼろ切 片が崩れてしまいます。

パラフィンリボンを習字の筆を使ってできるだけ切れないように黒いラシャ紙の上に移します。

パラフィンリボンは鼻息で簡単に飛んでしまいます。手で触れると、体温でパラフィンが柔らかくなってくっついてしまいます。取り扱いには細心の注意を払い、操作する時はできるだけ筆を使い、ピンセットを使う時は端を軽くつかむようにします。

8

2.5 貼り付け

あらかじめ新しいスライドグラスを洗浄し、十分乾燥させておきます。

準備したスライドグラスをヒーターの上にのせ、蒸留水を垂らし暖めます(40 ぐらい)。

パラフィンリボンを適当な長さに切り、暖めたスライドグラス上の蒸留水に浮かべます。位置は枝付き針で動かします。

暖まると切片のしわが伸びます。この操作を伸展と 呼びます。

しわが伸びたら、余分な水をろ紙で吸い取り、乾燥機で乾燥させます(一晩)。これで切片がスライドグラスに張り付きます。

ここからの操作は切片を貼り付けたスライドグラス を染色つぼに出し入れして行います。

有機溶媒を使用するので十分換気を行い、染色つぼ のふたはこまめに閉め、蒸気を吸い込まないように 注意します。

また、スライドグラスはピンセットで取り扱い、使い捨ての手袋をして薬品が手に付かないように注意します。

特にフェノールが手に付くとやけどをするのでフェ ノール・キシレンの取り扱いは特に注意します。

2.6 脱パラフィン・染色・脱水・透 徹

	1 5 1 5 4 77 110 5 5	
1.	キシレン(脱パラフィン)	5分

2. エタノール 100% (加水) 2分

3. エタノール 90% 2分

4. エタノール 70% 5分

5. 水道水で流水洗 5分

6. 蒸留水 2分

7. ヘマトキシリン染色液 (染色) 15分 今回はマイヤーのヘマトキシリンを使用します。 染まりすぎることがなく、安定した処方です。

8. 水道水で流水洗 (色出し) 15分 *水道水で洗うと赤紫が青紫に変わります。* 水洗が不十分だと退色しやすくなるとされています。

9. 蒸留水 2分

10. エオシン染色液 (染色)1分*色を見て調節します。*

11. 水洗 (脱色) 数秒

エオシンは水でどんどん脱色されます。適当な色合いになったらエタノールに移します。70%エタノールでも脱色が進むので、色合いを見ながら90%エタノールまで移します。

12. 蒸留水 数秒

13. エタノール 70% (脱水・脱色) 30秒

14. エタノール 90% 2分

15. エタノール 100% 5分

16. フェノール・キシレン(透徹) 5分

17. キシレン 1 0 分

脱水が不十分だとこの段階で切片が白く濁ります。 脱水時間が不足しているか、100%エタノールに水 が混入していることが考えられます。

2.7 封入(ふうにゅう)

カナダバルサム(松ヤニ)やエンテラン、オイキットなどの合成樹脂の封入剤(ふうにゅうざい)を一滴垂らし、カバーグラスをかけます。水平な場所に置き、おもりをカバーグラスの上に置きます。

封入剤は少なめで十分です。

数時間から数日後、封入剤が固くなったらはみ出した封入剤をカミソリで削り取り、必要ならラベルを 貼って永久プレパラートとして完成です。

完全に封入剤が乾燥するには数週間を要するので、 それまではマッペと呼ばれる枠に入れ、水平にして 保存します。

図 17:全体と切片の関係に注意

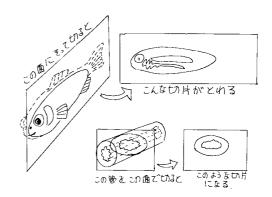
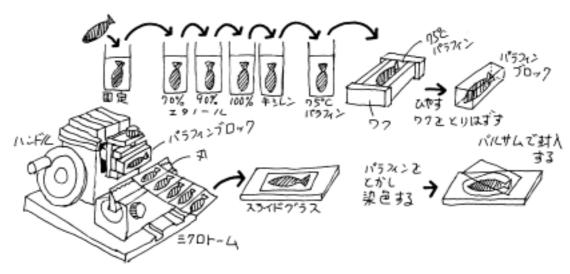


図 18:パラフィン切片標本の作り方



10

3. ニジマスのパラフィン切片の観察

3.1 目的

- 1. 動物の組織を観察し各組織の特徴を確認します。
- 2. 組織から器官が作られていることを確認します。
- 3. 体の中での器官の配置を知ります。

3.2 準備

ニジマスのプレパラート、双眼実体顕微鏡 (そうがんじったいけんびきょう)、顕微鏡。

3.3 方法

- あらかじめ準備してあるニジマスの稚魚のプレパラートをルーペか双眼実体顕微鏡で観察し、 全体の配置を理解します。
- 2. 器官、組織の名称を切片の全体写真に書き込みます。
- 3. 観察したい組織をいくつか選び顕微鏡で観察します。

次のような組織を観察するとよい。

えらの上皮組織と血球。腎臓の細尿管。小腸の吸収 上皮。眼の網膜。皮膚とその下の真皮(結合組織)。 軟骨。

3.4 観察上の注意点

- 1. このプレパラートはニジマスの稚魚(ちぎょ)を 図のように縦に薄く切ったものです。
- 2. 自分が観察している場所は、魚全体の中でどの 部分なのかを考えながら観察し、立体的な形を 想像します。
- 細胞膜(さいぼうまく)はほとんど見えませんが、核が紫色に染まっているので、これを頼りに細胞1個1個を推定し、細胞の形と並び方を考えます。
- 4. このプレパラートはヘマトキシリン・エオシン 二重染色を行っています。核がヘマトキシリン で紫に、細胞質が赤く染色されます。また軟骨 は青紫に染まります。

稚魚の場合は骨がまだ軟骨に近いために青紫色に 染まっています。

3.5 ニジマスの切片全体の写真

図 19: ニジマスの切片全体の写真

