

# 両生類の手綱核 (*Nuclei habenulae*) の左右非対称性についての 組織学的観察

堀 正美、三浦 洋、豊泉 龍児、竹内 重夫  
(神奈川大学理学部応用生物科学科)

## [要約]

有尾両生類のアカハライモリ (*Cynops pyrrhogaster*) の幼生と成体およびメキシコサンショウウオ (*Ambystoma mexicanum*) 成体、無尾両生類のウシガエル (*Rana catesbeiana*) 幼生、アジアウキガエル (*Occidozyga lima*) 成体、ベルツノガエル (*Caratophrys ornata*) 成体、及びアフリカツメガエル (*Xenopus laevis*) 幼生の脳を連続切片にして手綱核 (*Nuclei habenulae*) を観察した。

有尾両生類ではアカハライモリの成体においては左右手綱核の組織像に差異が認められるものの、アカハライモリ幼生及びメキシコサンショウウオについては左右非対称性を断定できなかった。無尾両生類においてはアフリカツメガエル(ヒバ科)の例を除くと、いずれも左手綱核の白質のみが細胞層により3部分に区画化されており、殆ど区画化されていない右手綱核の白質と際だった差異を示した。このような特徴をもつ無尾両生類は、今後、脳の左右非対称性を研究する上で有利な材料であることがわかった。

## [序論]

脊椎動物の内臓諸器官には解剖学的、形態的に左右非対称なものが数多くある。生物形態はしばしばその機能を反映しており、左右非対称な内臓諸器官のその形態は、血流など機能面での利便性を反映した構造になっている。

ヒトの脳が右脳、左脳で機能を分担し、高次の脳活動を行っていることは、癲癇患者の治療のための脳梁分離手術後の意識動態の研究やヒト大脳代謝の陽電子像から明らかになり (Springer & Deutsch, 1993)、現在では広く知られている。この機能的な脳の左右非対称性は脳の形態的な左右非対称性を反映しているのだろうか。多くの脊椎動物において脳は解剖学的に左右対称とされているが、いくつかの脊椎動物では間脳の背側中央部の脳神経核、手綱核 (*Nuclei habenulae*) は左右非対称であることが知られている。Von Woellwarth (1950) は有尾両生類の *Triton* 属の幼生、成体共に、それらの脳の手綱核が左右非対称であることを指摘し、さらに実験的に手綱核の非対称性が内臓の非対称性と共軛していることを示した。しかし有尾両生類全てにおいて脳手綱核に非対称性が見られるわけではない (Braitenberg & Kemali, 1970)。

我々は、内臓の左右非対称性と脳の非対称性との関連を調べるための実験動物を求めて、入手可能な各種両生類の脳を組織学的に検索してきた。これまでのところ、Morgan(1977, 1991)の報告に見られるように、アカガエル科のウシガエル (*Rana catesbeiana*) の幼生においては手綱核が左右非対称であること、ピパ科のアフリカツメガエル (*Xenopus laevis*) の幼生においては左右手綱核に差がないことを確認した (近藤からの個人的連絡、1996)。このことは両生類にしても分類上の位置と関連して、脳の左右非対称性が顕著なものとそうでないもののあることを示唆している。このためより多種の両生類の脳を検索することが求められていた。

今回は脳の左右非対称性と内臓の左右非対称との共軛関係および手綱核の非対称性の出現と両生類の系統との関連についても視野において、有尾両生類 2 種、無尾両生類 4 種の脳の組織学的な検索を行った。

### [材料と方法]

成体の材料はいずれも動物商から購入した。無尾両生類としてウシガエル(幼生)、アジアウキガエル(成体)、ベルツノガエル(成体)及びアフリカツメガエル(成体)を、有尾両生類としてメキシコサンショウウオ(成体)及びアカハライモリ(成体)を用いた(各動物の分類学上の位置については下記に記す)。

アカハライモリ幼生及びアフリカツメガエル幼生は本実験室で得た卵を飼養したものを材料とした。

材料とした動物の分類学的な位置 (松井,1996)による。

#### 両生綱 Amphibia

##### 有尾目(Caudata)

イモリ科(Salamandridae)

イモリ属

アカハライモリ

トラフサンショウウオ科(Ambystomatidae)

サンショウウオ属

メキシコサンショウウオ

##### 無尾目(Salientia)

アカガエル科(Ranidae)

アカガエル属

ウシガエル

ウキガエル属

アジアウキガエル

ユピナガガエル科(Leptodactylidae)

ツノガエル属

ベルツノガアエル

ピパ科(Pipidae)

ツメガエル科

アフリカツメガエル

#### アカハライモリ幼生

雌アカハライモリのメスに生殖腺刺激ホルモン(hCG)200～300units を皮下注射し、得られた卵を岡田要・市川衛による発生段階表(石原、1996より)の st.34～37まで飼育

し、心臓の正位、逆位を判定した。心臓が正位の個体を選びさらに st.48 ~ 58 まで飼育した。

### 組織学的方法

幼生はブアン液で固定し、固定後常法に従い 70 ~ 100 %エタノール系列で脱水、レモゾールで透徹、パラフィンに包埋、厚さ 5 $\mu$ m で薄切した。薄切標本はヘマトキシリン・エオシン染色を施し、バルサムで封入し、観察した。

アカハライモリ幼生以外の材料は切断した頭部の左側下顎、鼻先端を切除し、左右を判別するための目印とした。頭部はブアン固定液で固定し、DW で洗浄してから骨組織を軟化させるため 5%TCA 溶液で脱灰した。さらに DW で洗浄してから、アカハライモリ成体頭部は軟化した頭蓋骨を除去し、他はそのまま薄切のための材料とした。上述の方法に従い各頭部を薄切標本(6-10 $\mu$ m)にし、ヘマトキシリン・エオシンで染色、バルサムで封入、観察に供した。

定量的な観察のために、手綱核の像を顕微写真撮影(Olympus A10)し、ピクトロスタット(Fuji Co.)により拡大写像した。得られた印画紙上の像から手綱核の部分を切り出し重量を測定した。既知の面積をもつ印画紙片の重量と比較して手綱核の断面積を算出した。さらに左右それぞれ前方から 50 $\mu$ m 迄の手綱核の部分について、断面積に切片の厚さを乗じたものを積算し、それぞれ体積を算出した。

## [結果と論議]

### 無尾両生類手綱核の左右非対称性

アジアウキガエル成体(12 個体)とベルツノガエル成体(2 個体)の脳においては、左手綱核は右に比べやや大きく、その白質部は細胞層により 3 つの部分に区画化されていることが認められた。これに反し、右手綱核の白質部に神経細胞の存在は認められるものの、区画化されるに至らず、白質部は殆どが 1 室、あるいは、せいぜい、2 室に区画化されているに留まっていた(Fig.1 と 2)。ウシガエル幼生の脳においても左手綱核は 3 室に区画化され、右手綱核は 1 室であった (Fig. 3)。一方、ピバ科に属するアフリカツメガエル幼生では左右手綱核の大きさは同じであり、双方共に区画化されていなかった(Fig. 4)。これらウシガエル及びアフリカツメガエルの手綱核に関する観察は近藤(口頭による報告、1996)による報告を支持するものであった。

今後、より多種のカエルについて検索をしなければ確実なことは言えないが、現在のところ、左手綱核が 3 室に部域化し右に比べより複雑な形態をとる左右非対称性が出現する境界はピバ科とユビナガガエル科の間にあると考えられる。この左優勢の形態が果たして機能的優位性を表しているか否かは今後の研究を待たなければならない。

## アカハライモリの幼生及び成体の手網核

内臓が正位であることを確認した 31 例の幼生の脳先端からの連続切片において、(1)左右いずれの手網核の前端部が最初に現れるか、(2)左右いずれの手網核の白質部が最初に出現するか、記録し、更に(3)左右手網核の最大断面積を比較した。この結果、白質部の突出においてのみ、左側優位が認められた。

上記(2)の調査において、左の手網核白質部が右のものより前方へ突き出している例は 31 例中 21(68%)(Fig. 5)、右の手網核白質部が突出していたのは 31 中 10 例(32%)であり(表 1)、左右手網核に差のあることが認められた。しかし *Triton* 属の手網核の白質及び灰白質の配置に見られる明瞭な組織学的な左右差は認められなかった。

表 1 手網核白質前端の位置関係

左の手網核白質前端が右より前方にあった場合	21(68%)
右の手網核白質前端が左より前方にあった場合	10(32%)
左右手網核白質の前端が同じ位置にあった場合	0
不明	0
計	31(100%)

上記(1)の指標については、左側手網核先端が突出しているものが 31 例中 14 例(45%)、右側が先に出現したものは 31 例中 11 例(35%)、同時に現れたものは 5 例(16%)であり、左右いずれかが優位ということは認められなかった(表 2)。

表 2 左右手網核の前端の位置関係

左の手網核前端が右より前方にあった場合	14(45%)
右の手網核前端が左より前方にあった場合	11(35%)
左右手網核の前端が同じ位置にあった場合	5(16%)
不明	1(3%)
計	31(100%)

また、手網核断面積について、左が大きい場合は 31 例中 10 例(32%)、右が大きい場合は 31 例中 7 例(23%)、左右同じだった場合が 31 例中 13 例(42%)と左右手網核の間に差は認められなかった(表 3)。

表 3 左右手網核の最大断面積の比較

左の手網核が右より大きかった場合	10(32%)
右の手網核が左より大きかった場合	7(23%)
左右手網核が同じ大きさであった場合	13(42%)
不明	1(3%)
計	31(100%)

左右手網核の体積についても、測定した3例の平均で、左手網核は  $1.35 \times 10^4 \mu\text{m}^3$ 、右手網核は  $1.38 \times 10^4 \mu\text{m}^3$  であり、左右の相違は認められなかった。以上により、イモリ幼生においては左手網核白質部の出現が右に先んじているものの、総じて左右の手網核を区別出来るほど明瞭な差はなかった。

成体8例については、*Triton* 属において von Woelworth(1950)が観察したのと同様に、手網核が確認できる全ての切片を観察して、それぞれ最大面積をもつ左右の手網核断面を選び、比較した。左手網核では神経細胞層は、側方下部に斜めに走る神経束の部分を除いて、ほぼ環状に白質を囲むように配列しているが、右手網核では神経細胞は脳室に沿って厚く層状に配列しており外側面へ回り込む神経細胞層は認められず(Fig. 6)、左右手網核の組織像は歴然としていた。*Cynops* 属においても、その脳は左右非対称といえよう。

幼生の30%の例においては、右手網核白質部が左より突出し、右側優位を示す組織像が認められたにもかかわらず、成体においては右手網核が左手網核より複雑な組織学的構造を示す右側優位の例は皆無であった。これは、幼生時に右優位の手網核をもつ個体は何らかの理由により変態を経て成体に達することが出来ないと言明されるかもしれない。特に間脳部にある手網核が生体の調節に関係する重要な機能を受け持たせようことを考慮すると、右優位の幼生が早逝することは充分あり得るだろう。しかし、もっと単純に、成体になるまでは手網核の形態的な左右性は確定せず、発生の早い段階での左右性は、むしろ偶然の結果であると考えの方が自然かもしれない。

今回の調査において内臓の左右非対称性と手網核の左右非対称性の共軛関係の存否をも視野のうちに入れていたが、心臓あるいは消化管の逆位の成体が得られなかったため、この点については言及出来ない。幼生時において内臓逆位の出現率は1.7%(3/166)であり、他の両生類と同程度であった(von Woelworth, 1950)。これからすれば脳の左右非対称性と内臓の非対称性の共軛関係を調査するのに十分な数の材料を確保するためには少なくとも数百匹の成体イモリを必要とする計算になる。調査の効率化には薬品等により高率に内臓逆位を誘起し、それらを材料として研究する必要があるだろう。

#### メキシコサンショウウオの手網核

メキシコサンショウウオ成体3例について、それらの脳切片において手網核を観察した。脳先端からの連続切片によれば、左手網核前端が先に出現し、左手網核は右手網核よりも突出していた(Fig. 7)。そして Aerrick(1948)の報じたように、その尾側下部は、アカハライモリの手網核(Fig. 6)や *Triton* 属のものと同様に、間脳腹側へ向かって *eminentia thalami* と結合していた。しかし、アカハライモリとは違って、神経細胞と白質部の配列における組織学的な左右の相違は認められなかった。メキシコサンシ

ヨウウオの左手網核前端の突出を左右非対称性を示す標識と断定するためには例数が少なすぎた。今後の検討を待ちたい。

### 無尾両生類と有尾両生類の手網核

今回観察した無尾両生類のアジアウキガエル、ベルツノガエル、ウシガエルの脳では、全て左手網核が右手網核よりやや大型で左手網核が3室に区画化されているという特徴があった。これらは今後無尾両生類脳の左右非対称性に関する実験のよい指標となる。一方有尾両生類のアカハライモリ、メキシコサンショウウオの脳では左右手網核いずれも複数に区画化されるといった明瞭な特徴は認められなかった。また、ウシガエル幼生の脳の手網核がアジアウキガエルベルツノガエル成体の手網核と同様の構造を示したところから、無尾両生類の手網核では成長・変態にともなう構造的変化が比較的少ないと言えるかもしれない。これに対し有尾両生類はアカハライモリ幼生と成体の比較から、発生にともなって手網核の構造が大きく変化していた。今後、無尾両生類について、同種の動物の幼生と成体の脳の組織像を厳密に比較・検討する必要があるが、上記の所見からすれば、今後、脳の組織学的な非対称性と内臓の非対称性との共軛関係、あるいは脳の組織学的な非対称性と機能的な非対称性の関連などの研究を進めるために、無尾両生類が有力な材料となることは間違いないだろう。

**【謝辞】** 本研究は神奈川大学総合理学研究所より給付された研究費により遂行されたものである。ここに記して謝意を表したい。

## 引用文献

Braitenberg, V. and Kemali, M. (1970)

Exceptions to bilaterak symmetry in the eithalamus of lower vertebrates

J. Comp. Neuro., **138**, 137-146.

石原 勝俊 (1996)

動物発生段階図譜、279-291 頁

共立出版株式会社

松井 正文 (1996)

両生類の進化、32-85 頁

東京大学出版会

Morgan, M. J. (1977)

Embryology and inheritance of asymmetry

173-256 in "Lateralization in the nervous system" (Harnad, S. R., Doty, R. W.,

Goldstein, L., Jaynes, J. and Lrauthamer, G. ed.), Academic Press (New York).

Morgan, M. (1977)

Embryology and inheritance of asymmetry

173-194, in "Lateralization in the nervous system" (Harnad, S. R., Soty, R. W., Goldstein, L.,

Jaynes, J. and Krauthamer, G. ed.), Academic Press (New York).

Morgan, M. (1991)

The asymmetrical genetic determnation of laterality: flatfish, frog and human handedness

234-250, in "Biological asymmetry and handedness (Ciba Found. Symp., 162)" (Bock, F.

R. and Marsh, J. ed.), Wiley (Chichester)

Springer, S. P. and Deutsch, G. (1993)

Left brain, Right brain 4th ed.

Freeman, W. H. & Co., (New York) (福井及び河内による日本語訳、医学書院刊)

von Woelworth, C. (1950)

Experimentelle Untersuchungen ueber den Situs inversus der Eingeweide und der

Habenula des Zwischenhirns bei Amphibien

Roux' Archiv Entwickl.mechanik., **144**, 178-256.

## 図説明

**Fig. 1** アジアウキガエル(*Occidozyga lima*)成体の手網核 (画面右側が動物固有の左となる)。左手網核が細胞層 (矢印) により3分割されているのに注意。黒線は 0.2mm を示す。

**Fig. 2** ベルツノガエル(*Caratophrys ornata*)成体の手網核 (画面右側が動物固有の左となる)。左手網核が細胞層 (矢印) により3分割されているのに注意。黒線は 0.2mm を示す。

**Fig. 3** ウシガエル(*Rana catesbeiana*)幼生の手網核 (画面右側が動物固有の左となる)。左手網核が細胞層 (矢印) により3分割されているのに注意。黒線は 0.1mm を示す。

**Fig. 4** アフリカツメガエル(*Xenopus laevis*)幼生の手網核 (画面右側が動物固有の左となる)。左右手網核が区画化されていないことに注意。黒線は 0.1mm を示す。

**Fig. 5** アカハライモリ(*Cynops pyrrhogaster*)幼生の手網核 (画面右側が動物固有の左となる)。画面上に左手網核白質(矢印)のみが認められる。黒線は 0.1mm を示す。

**Fig. 6** アカハライモリ成体の手網核 (画面右側が動物固有の左となる)。左手網核 (矢印) では細胞層が白質を環状に取り巻いているが、右では細胞層の側方への回り込みがない。黒線は 0.2mm を示す。

**Fig. 7** メキシコサンショウウオ(*Axolotl mexicanum*)成体の手網核 (画面右側が動物固有の左となる)。左手網核のみが認められる。黒線は 0.4mm を示す。



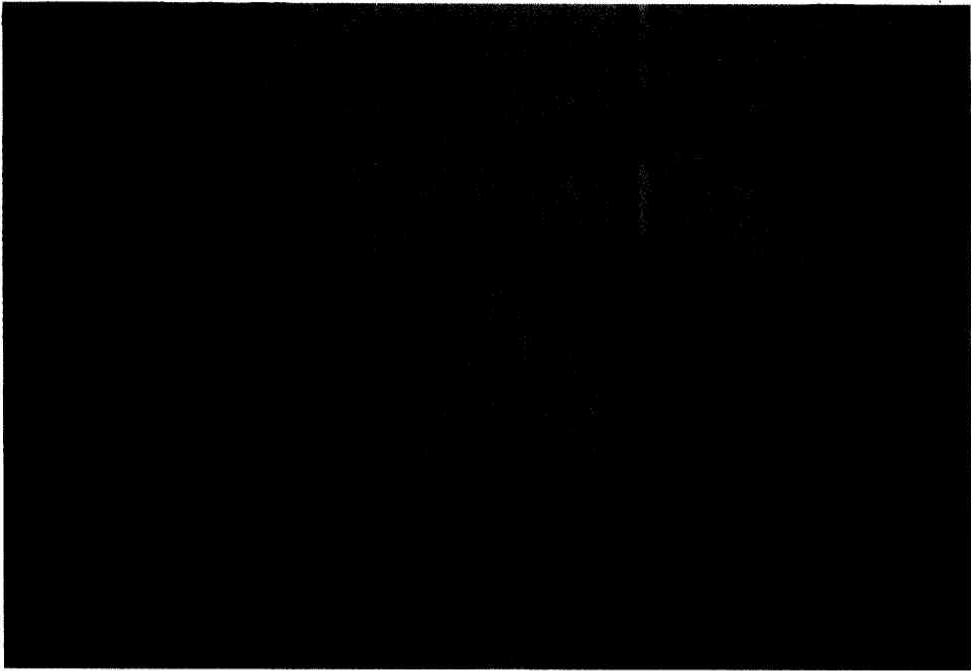


Fig 1

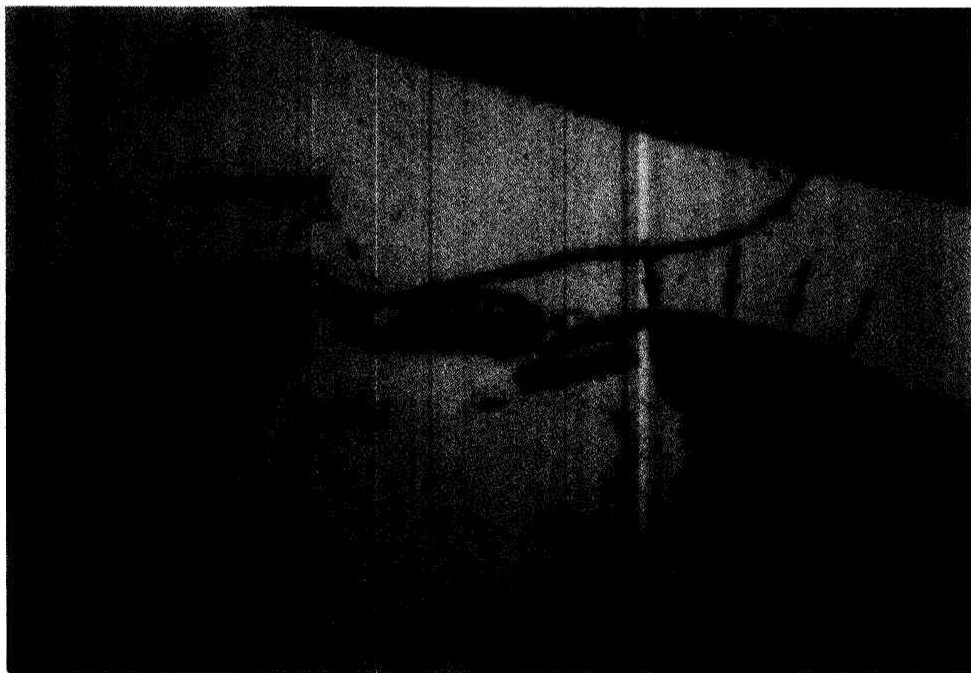


Fig 2



Fig 3

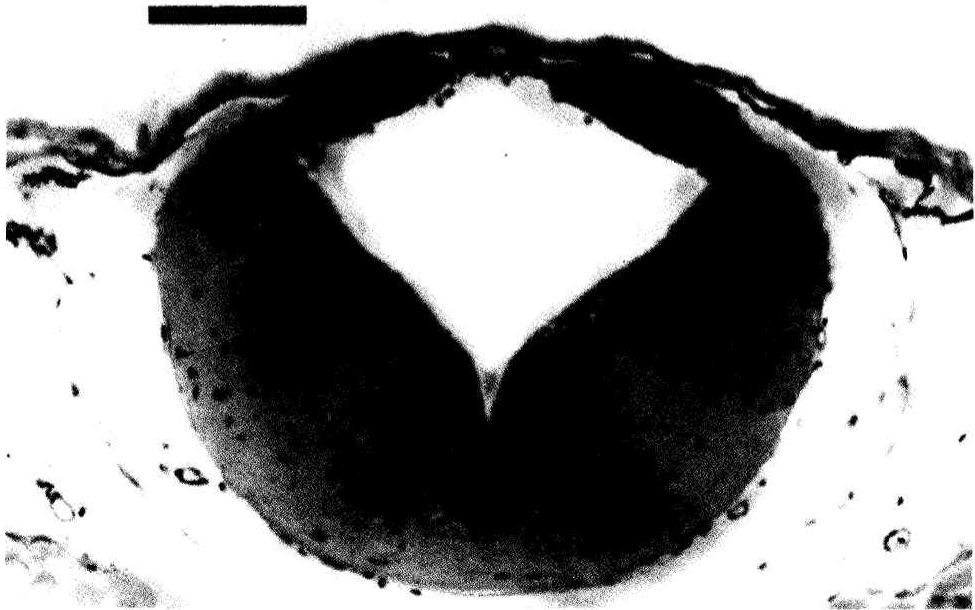


Fig 4



Fig 5



Fig 6



Fig 7