

# 造礁さんご *Leptoseris sp.* の造骨組織の 電子顕微鏡的研究

川崎医科大学 生物学教室

川 口 四 郎・益 田 芳 樹

(昭和52年10月3日受理)

Electron Microscopic Studies on Tissues of  
Corallum Formation of a Reef Coral, *Leptoseris sp.*

Siro KAWAGUTI and Yoshiki MASUDA

Department of Biology, Kawasaki Medical School,

Kurashiki 701-01, Japan

(Received on Oct. 3, 1977)

造礁さんご *Leptoseris sp.* の造骨組織の光学顕微鏡、電子顕微鏡観察をした。本種は生長が遅く未分化な造骨細胞から骨格への変化が生長の速い *Acropora* や *Anacropora* よりもよりよく観察された。群体周辺部の生長点では骨格表面に造骨細胞が数層に重なってみられる。骨格に接して化骨した細胞またはその残部があり、その外側に化骨中のもの、またその外側に未分化な造骨細胞が並ぶ。生長の止まった所では化骨細胞の断片がみられる。未分化な造骨細胞は中膠内に多くの長い突起を出すことが多い。発達したものでは低電子密度の直径  $0.5\sim 1\mu$  の胞状体が多く含まれる。この胞状体が細胞の大部分を占めるようになると細胞の一部または全部が化骨して骨格を形成する。

## Abstract

Electron microscopic studies were carried out on the process of skeleton formation in a reef coral, *Leptoseris sp.* from Kabira, Ishigaki Island, one of the Ryukyu Islands. The skeleton of this coral has its growing regions in the peripheral portions of the corallum.

There are several layers of scleroblasts covering the growing region. A layer of fragments of calcified scleroblasts is found just close to the skeleton. This in turn is lined with a layer of nearly calcified scleroblasts, and also with a further layer of undeveloped ones. Undeveloped scleroblasts are derived from the ectoderm of the outer body wall. They turn into calcified ones after they have finished their development.

This process of calcification in scleroblasts is observed more clearly in *Leptoseris sp.* than in rapidly growing corals.

造礁さんごの骨格形成はさんご礁の造成に大きな役割をはたす。このため多くの研究が行なわれたが、硬組織のため観察が困難で結果がまちまちであった。

川口、佐藤<sup>1)</sup>は生長の速い三種の *Acropora* を用いて、外皮から落ちこんだ造骨細胞が化骨して骨格が形成されることを電子顕微鏡観察によって明らかにした。さらに、骨格が多孔質で生長の早い *Anacropora* sp. についても同じような結果を得た(川口・益田<sup>2)</sup>)。

今回、生長の遅い葉状群体を造る *Leptoseris* sp. について骨格を形成する造骨細胞の化骨経過がよく観察できたので報告する。

### 材料および方法

この実験に用いた *Leptoseris* sp. (Fig. 1) は1973年から1977年の間に数回にわたって沖縄県石垣島川平湾内で採集し、生きたまま岡山の研究室に持ち帰り固定した。

*Leptoseris* sp. の群体は一般に薄く葉状であるが、突起が多く出て複雑な形になるものも多い。生長は群体周辺部で起こる。ここでは共生藻がまだ十分でないため他部より褐色がやや淡い。生長中の周辺部と周辺部から2~3cm離れた生長の止まった部分を取り比較した。

目的の組織を摘出した後、磷酸緩衝2.5%グルタルアルデヒド液で90分間、4°Cで前固定をした。磷酸緩衝液で60分間洗浄後、氷冷磷酸緩衝1%オスミック酸で90分間後固定した。その後、磷酸緩衝液で洗浄した。使用した固定液および緩衝液は塩化ナトリウムで海水とほぼ同じ浸透圧に調整した。固定後の脱灰操作はEDTAによる方法またはDietrichら<sup>3)</sup>のアスコルビン酸法によった。後者では標本を2%アスコルビン酸と0.3M塩化ナトリウムの1:1の混合液につけ12時間~24時間浸透機でゆっくりと液を回転させながら行なった。脱灰後、蒸留水で洗いエタノール系列で脱水しエポン樹脂に包埋した。

光学顕微鏡観察には包埋標本を厚さ約1μの切片にして0.5%トルイジンブルーで染色した。電子顕微鏡用切片はPorter超ミクロトームで厚さ1,000Å~1,500Åにし酢酸ウラニールとクエン酸鉛で二重染色し日立HS-9電子顕微鏡で観察した。

### 光学顕微鏡観察

Fig. 2は*Leptoseris* 群体の生長しつつある周辺部の隔壁面に添った縦断面である。上部が先端部、右側が上面側壁(A)、左側が下面である(B)。側壁は中膠で結合された外皮、内皮で覆われている。

外皮は1層の細胞であるが、上面では背が高く下面では低い。これは後者が骨格に接していて伸縮が少ないためであろう。ところどころに粘液細胞や刺細胞がみえる。図中Gは胃腔で内皮で縁どられている。内皮には共生藻(Z)があるが群体の上面に多く下面に少ない。

中央の空所(K)は隔壁先端部の脱灰部である。複雑な形に観察されるのは何層にもなった造骨細胞のうち、石灰化の進んだものが除去されたためである。造骨細胞は全周にわたってあり、空所が直接に中膠に接することはない。1層の所もあるが2個以上が重なりあい、所によって網目状に観察されるところもある。細胞の形・大きさは様々である。これに反して骨格の生長が不活発な部分では造骨細胞の数は少なくまたは全く欠けているところも多い。

Fig. 3 は群体周辺から約 3 cm 離れたところで、骨格の生長がほとんど止まっている部分の水平断面の一部である。右側は上面側壁、左側の空白部は隔壁の脱灰跡である。隔壁表面には造骨細胞はほとんどみられず、直接中膠に接している部分が多い。中央部で隔壁が側壁に接している部分は隔壁突起の形成部で造骨細胞がみられる。ここでは造骨細胞（外皮）は隣接の切片では中膠が切れて合一する。骨格形成外皮の落ちこみ部である。この付近では外皮細胞は丈が低く下面の状況と類似している。

### 電子顕微鏡観察

#### 1. 外皮細胞

光学顕微鏡観察で記したが、外皮細胞は群体上面 (Fig. 4) では下面のものより丈が高い。表面には繊毛や微絨毛がある。しかし生長部のものではほとんどみられない。細胞内には中央部にやや細長い核があり、ミトコンドリア・ゴルジ体・電子密度の高い顆粒がみられる。基底部には細い枝分かれがある。

#### 2. 造骨細胞

Fig. 5 は生長中の骨格先端部の一部である。上部は外皮、その下に中膠がある。下部右側は内皮、左側は骨格部である。骨格部上の外皮は Fig. 4 にみられた一般のものとはやや異なり、未発達な造骨細胞に似た構造がみられる。内皮は胃腔の陥入部で三角形になり、褐虫藻もある。骨格部は脱灰による空所を囲んで電子密度の高い細胞の残片があり、その外側に種々の化骨段階を示す造骨細胞が数層に観察される。内側にほとんど化骨したもの、次に発達した造骨細胞、未発達な造骨細胞と続く。未発達な造骨細胞には長い突起がみられることが多い。

Fig. 6 は群体先端から約 2 mm 離れた骨格（左側空所）に接する造骨細胞の層（S）と内皮でかなり生長のみられる隔壁表面の組織である。Fig. 7 は Fig. 6 の中心部の隣接切片の拡大写真で、上面が造骨細胞層である。造骨細胞は骨格に接した所では電子密度の高いもので、一部の欠損したものや大部分が欠損した残留物がある。その外に未分化な細胞が散在する。ここでは造骨細胞の枝分かれが細長く中膠中に出ていてそれらの縦断面も多く見られる。

Fig. 8 は先端から 5～10mm 離れた生長のやや衰えた隔壁面の造骨細胞の層と中膠をへだてた内皮（下方）である。ここでは造骨細胞の中膠中への枝分かれがあまりなく、全体が石灰化直前の状態を示している。Fig. 9 は先端から 10～15mm 離れた生長のほとんど止まった隔壁の造骨細胞層と内皮（右側）である。造骨細胞は石灰化が進み、中膠に接して一部が残留している。所々薄い突起のみで覆われる。下方の大きい突出部は骨格を中膠に結びつける接着構造である。さらに、骨格の生長が止まった所では造骨細胞はほとんどみられなくなる。

Fig. 10 は Fig. 8 と同じ場所で造骨細胞の石灰過程を示すための拡大写真である。中央の核からリボソームと考えられる小顆粒が多量に出て細胞質の電子密度が高くなる。球形のミトコンドリアが多く含まれ、ゴルジ体、小胞体などがあり密度の高い球状顆粒や密度の低い直径約 0.5 $\mu$  の胞状体が形成される。後者は未分化なものでは少なく、発達したものでは多数含まれ、

細胞全体がこの胞状体で満たされる。石灰化が進み、細胞の一部が残留するものでもこのような状態が観察される (Fig. 8, Fig. 10 上部)。

Fig. 11 はこのような造骨細胞を脱灰不完全にし、骨格の一部が残存するようにしたものである。骨格部に小さい中心のまわりに放射状に長さ約  $1\mu$  の針状体が集まっているのが観察される。これらと前記の胞状体は大きさが異なる。

### 3. 内皮細胞

内皮は1層の細胞からなり胃腔に面している。群体上面のものと下面のものとはやや形態が異なり、前者には直径  $0.5\mu$  の電子密度の高い球状顆粒が含まれる。この顆粒については別論文に記述する。表面には微絨毛や纖毛がみられ、基底部は中膠に連らなる。細胞間隙が各所にあり、基部では枝分かれが見られることが多い。この間隙中に褐虫藻がある。しかし骨格に面した内皮は扁平な細胞が多く、褐虫藻もほとんどない (Fig. 6, 8, 9)。

## 考 察

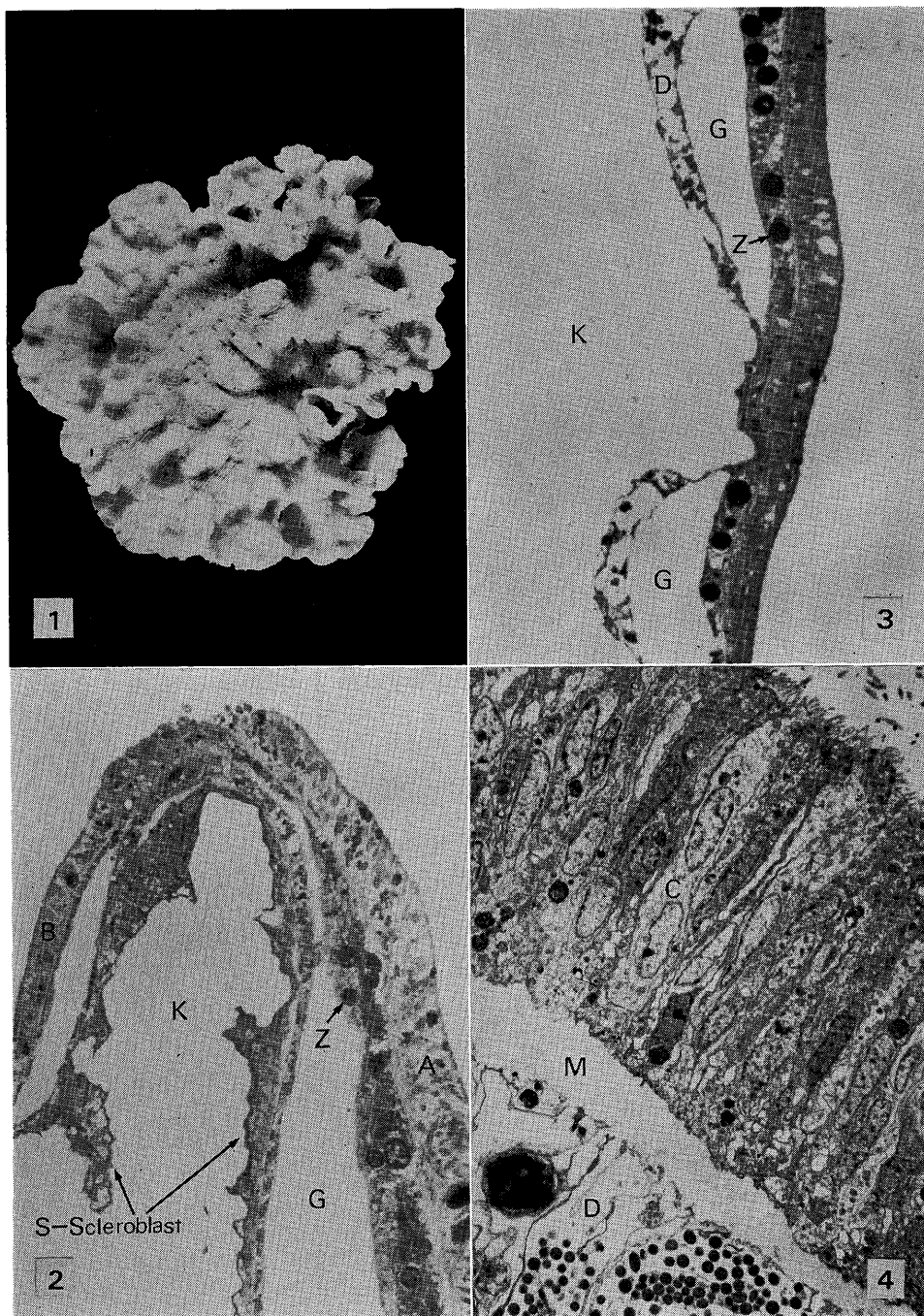
*Leptoseria* sp. の群体は葉状又は板状の骨格をもつがその生長は群体の周辺部で起こる。周辺部においても骨格は板状である。しかも生長が *Acropora* や *Anacropora* に比較すると非常に遅い。このため生長点、非生長点で比較観察することが容易にでき、骨格を形成する造骨細胞の発達・化骨経過を他の生長の速い種におけるより詳細に観察することができた。

本種では骨格生長の最も著しい部分では造骨細胞が数層にあり、それらが骨格の表面に接して一部の化骨破損したもの、化骨の進んだもの、発達したもの、外皮から落ちこんだ未発達なものの順に重なって観察された。

生長の衰えた部分では造骨細胞層の数が減る。しかし骨格に面した所には化骨細胞の破片があり、その外に化骨細胞、造骨細胞がみられる。生長の止まった部分では化骨細胞の破片と化骨細胞が散在する。

これらの観察は外皮から落ちこんだ未発達な細胞が造骨細胞となり化骨して骨格となることを示している。造骨細胞の発達・化骨の経過はまず核内に高電子密度の仁物質が多くなり、これが細胞質に出されてミトコンドリアやゴルジ体などの間を満たすと細胞全部が黒変する。各所に直径約  $0.5\mu$  の低電子密度の胞状体が現われる。この中に石灰物質が沈積される。これら胞状体で満たされるようになると化骨して骨格の一部となる。

同じような化骨経過は種々の八放さんごの造骨細胞においても観察された<sup>4), 5), 6)</sup>。

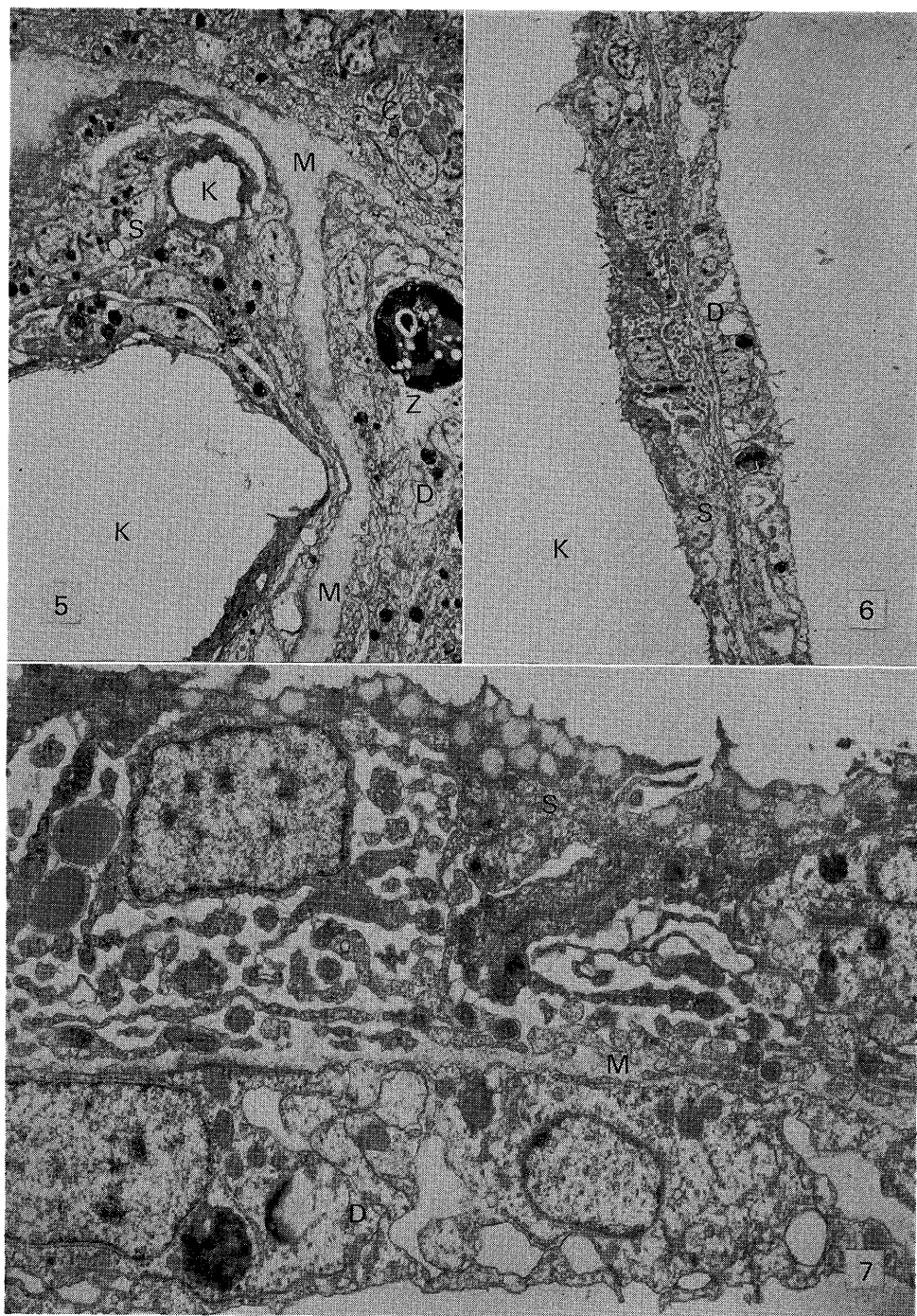


**Fig. 1.** Top view of a corallum of a reef coral, *Leptoseris* sp. from Kabira, Ishigaki Island, the Ryukyu Islands.  $\times 1/2$

**Fig. 2.** Photomicrograph of a vertical section through the marginal growing point showing an irregular distribution of scleroblasts on the skeleton (K).  $\times 280$

**Fig. 3.** Photomicrograph of a part of the non-growing surface of the corallum, showing practically no scleroblasts on the skeleton (K).  $\times 350$

**Fig. 4.** Electron micrograph of a part of the coenosarc, showing slender ectodermal cells with linings of mesogloea and endodermal cells.  $\times 2500$

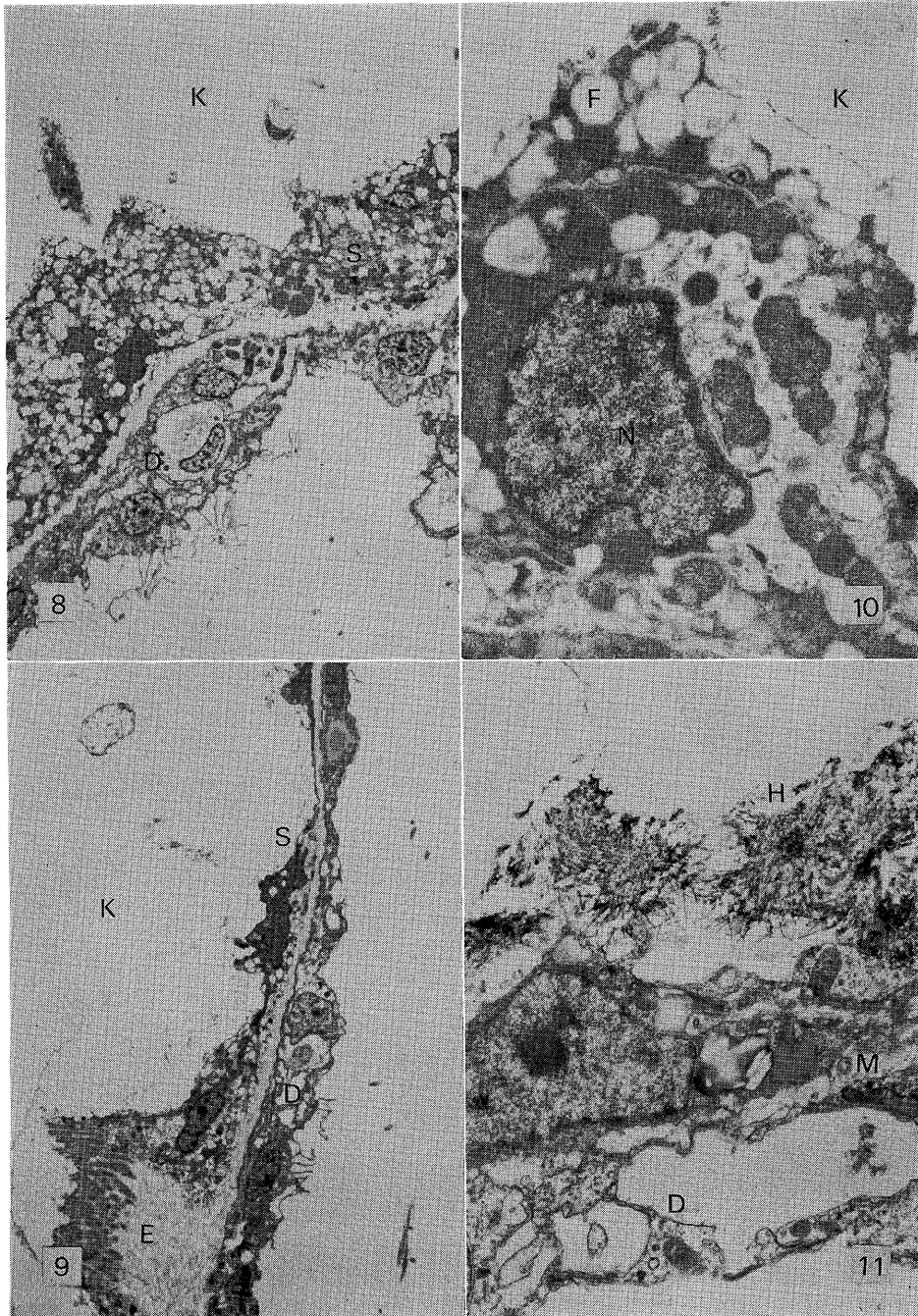


**Fig. 5.** Electron micrograph of parts of soft tissues near the growing points of the corallum, showing several layers of scleroblasts at various stages of calcification on the skeleton (K).  $\times 2500$

**Fig. 6.** Parts of soft tissues covering the surface of skeleton (K) near its growing points at 2mm from the rim of the corallum.  $\times 2500$

**Fig. 7.** Enlarged view of the central portion of Fig. 6 (from the consecutive section). Fragments of scleroblasts are observed in the top layer of the picture.  $\times 9500$





**Fig. 8.** Parts of soft tissues covering the surface of skeleton at 10mm from the rim of the corallum. Almost calcified scleroblasts are found.  $\times 2400$

**Fig. 9.** Parts of soft tissues covering the surface of non-growing portion of skeleton at 15mm from the rim. Fragments of calcified scleroblasts are found.  $\times 2400$

**Fig. 10.** Enlarged view of parts of calcified scleroblasts with a thin cover of fragments at the skeletal surface.  $\times 12000$

**Fig. 11.** Parts of calcified scleroblasts at the skeletal surface showing structures of calcified vesicles after an incomplete decalcification.  $\times 8600$

## 文 献

- 1) Kawaguti, S. and K. Sato, 1968, Electron microscopy on the polyp of staghorn corals with special reference to its skeleton formation. Biol. J. Okayama Univ., **14**, 87-98.
- 2) Kawaguti, S. and Y. Masuda, 1977. Electron microscopy on scleroblasts of a reef coral, *Anacropora* sp. 日本動物学会中国四国支部会報 **29**, 20.
- 3) Dietrich, H.F. and A.R. Fontaine, 1975. A decalcification method for ultrastructure of echinoderm tissue. Stain Technology, **50**, 351-354.
- 4) Kawaguti, S., 1964. Electron microscopy on the spicules and the polyp of a gorgonian, *Euplexaura erecta*. Biol. J. Okayama Univ., **10**, 23-38.
- 5) Kawaguti, S., 1966. Electron microscopy on the hydrozoa, *Orthopyxis caliculata*. Ibid., **12**, 93-103.
- 6) Kawaguti, S., 1969. Electron Microscopy on a soft coral, *Heteroxenia elisabethae*. Ibid., **15**, 25-35.

## Abbreviations in Figures

A, Upper surface ; B, Lower surface ; C, Ectoderm ; D, Endoderm ; E, Attachment ;  
F, Vesicle ; G, Gastral cavity ; H, Calcified scleroblast ; K, Skeleton ; M, Mesogloea ;  
S, Scleroblast ; Z, Zooxanthellae