

ブチサンショウウオ胚孵化腺細胞の発達と微細構造

松野 煒・大氏 正己

島根大学文理学部生物学教室

(1975・9・6 受理)

Electron Microscopic Observations in the Hatching Gland Cells of the Salamander, *Hynobius naevius* (SCHLEGEL)

Akira MATSUNO and Masami OUJI

Department of Biology, Shimane University, Matsue, Japan

両生類の孵化腺細胞は柳井 ('50, '51, '52, '53, '58, '59), 柳井, 大氏, 伊賀 ('55) により, その分布, 形態と発生の起源等について多くの種類で明らかにされている。しかしこれらの光学顕微鏡による観察は分泌顆粒の形成過程における細胞内小器官の形態的な変化を明らかにすることはできなかった。筆者らはここ数年, 2・3の有尾両生類および無尾両生類の孵化腺細胞を電子顕微鏡を用いて, 分泌顆粒の形成の過程と細胞外への放出の方法について観察をしている ('73, '74)。すでに電顕的な観察として吉崎 ('73, '74) が無尾両生類のアフリカツメガエル, エゾアカガエルについては詳細な報告を行なっているが, 有尾両生類については今まで報告はない。

ここでは有尾両生類のブチサンショウウオの孵化腺細胞の微細構造を電子顕微鏡で観察した結果を報告する。

材料と方法

材料のブチサンショウウオ (*Hynobius naevius* SCHLEGEL) の卵塊は 1975 年 5 月 25 日に鳥取県西伯郡の山地で後期神経胚まで発生した 2 卵塊を採集し, 研究室に持ち帰り, 水温 9~11°C で発生を進めさせ適当な段階で次々と固定した。固定した胚は図 1 に示すように a) 眼胞が明瞭となる時期, b) 尾芽の隆起が認められる時期, c) 外鰓が伸び始める時期, d) 平衡桿が伸び始める時期, e) 第 2 外鰓に分枝が認められる時期, f) 眼に色素が見られる時期, g) 孵化直前の時期, h) 孵化後 24 時間を経過した時期の 8 つの発生段階に区別して観察の材料とした。各段階の胚および幼生を 5% グルタルアルデヒド固定液 (0.1M リン酸緩衝液, pH=7.4, 0.1M ショ糖, 4°C) で 1.5 時間前固定し, 0.1M リン酸緩衝液 (pH=7.4, 0.1M ショ糖, 4°C) で 30 分間よく洗い, この液中で胚および幼生の頭部を切り出し, 続いて 1% オスシウム酸固定液 (0.1M リン酸緩衝液, pH=7.4, 0.1M ショ糖, 4°C) で 2 時間の後固定を行なった。脱水には 70%~100% のエチルアルコールを用い, プロピレンオ

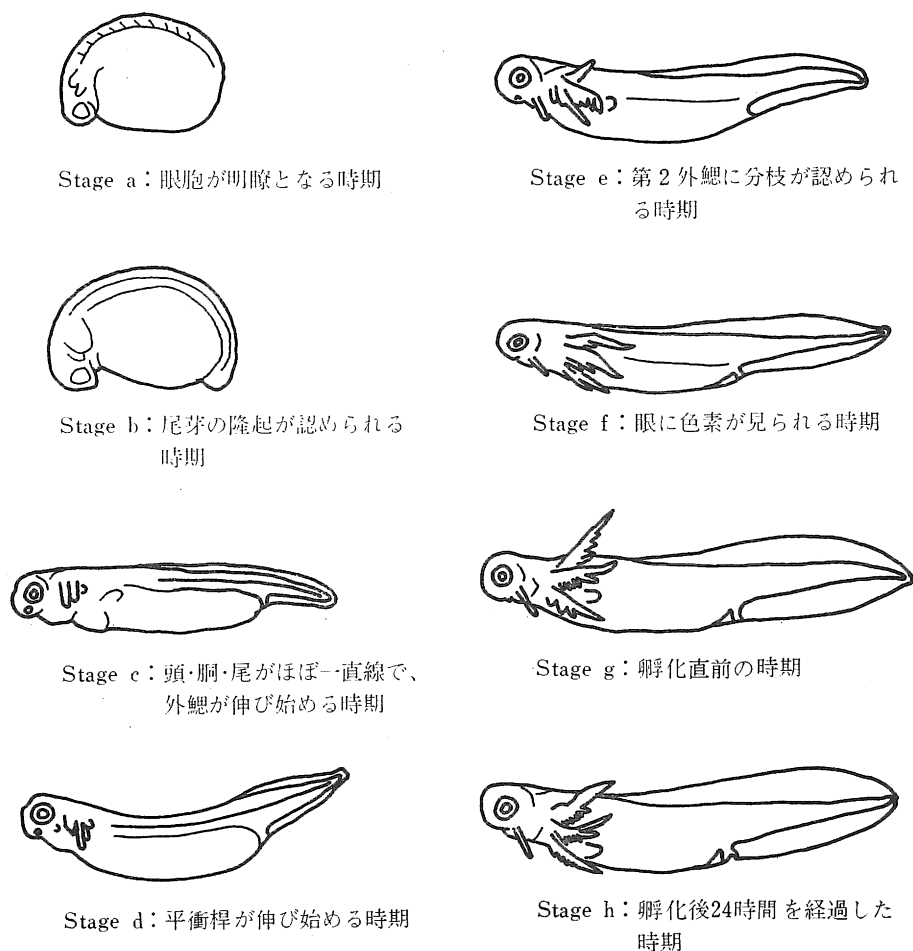


図1. 観察した各胚期における胚の特徴

キサイドを置換剤としエポン812樹脂に包埋し、超薄切片とした。切片の方向は各段階すべて頭部を体軸にそって縦断した方向にとった。切片の染色は酢酸ウランとクエン酸鉛の2重染色をし、明石 TRS-80 W.D.C. 型および日立 HU-12 型電子顕微鏡で観察した。なお切片に孵化腺細胞が正確に入っていることを確認するためには約 1μ の厚さの切片を1%塩基性フクシン染色液(70%エチルアルコールに溶解)で染色し、光学顕微鏡で観察した。

観 察 結 果

観察した各発生段階の胚および幼生の孵化腺細胞の電顕像による特徴は次のとおりである。

a) 眼胞が明瞭となる時期: 孵化腺細胞はまだ分化を始めておらず、表皮神経層の下部に数個が小集団となって分布している。この時期の細胞内の構造は他の表皮細胞と大差はなく、

細胞の外形がほぼ球形で中央部に楕円形の核を有している。細胞内には電子密度が非常に高く、大形で楕円形の卵黄粒、やや電子密度の低い脂肪粒等の栄養物質で満たされている。反面、細胞質の電子密度は非常に低く、ミトコンドリアも小型で数も少なく核および卵黄粒等の近くにわずかに見られるのみである(図2)。また、核はその形態がほぼ楕円形のものが多いが、中には図2のように表面に陥入の見られるものもある。核内のクロマチン顆粒は集中した形をとっておらず、核全体にほぼ均等に分布している。細胞質中のリボソームは数が少なく、粗面小胞体、ゴルジ装置等の膜構造物もほとんど見られない。全体として未分化な、細胞活動の不活発な細胞像を示す。

b) 尾芽の隆起が認められる時期：孵化腺細胞はこの段階から少しずつ分化した像を示すようになる。細胞群は表皮層の中に幾分移動して分布しており、細胞の外形は楕円形になり、核もある程度細胞の中央から細胞の下方に移動する。核内のクロマチン顆粒は所々で集合し、密度の濃い部分と薄い部分を示すようになる。クロマチン顆粒の密度の濃い部分は主に核の周縁部に多く見られる(図3)。細胞内小器官はかなりの発達を見せ、ミトコンドリアはやや大型となり、クリステも複雑化してくる。細胞質中のリボソームも数を増加し、ほとんどが膜に附着し、粗面小胞体の形をとっている。また未発達なものと思われる粗面小胞体が核の近くに集団となって分布していることもある(図3↑印)。卵黄粒と脂肪粒は大型で多数見られるが、中には楕円形をしておらず、いびつな形をしているものも見られる。また所々に非常に小型で、卵黄粒の断片と思われるものが見られるが、これらは大型の卵黄粒が何らかの作用でちぎれてできたものと思われる(図3)。粗面小胞体は多量に認められ、特に核の近くに密に分布している。細胞は分化を始めた様子を示すが、まだ孵化腺細胞の特徴である分泌顆粒の形成は見られない。

c) 外鰓が伸び始める時期：孵化腺細胞群は完全に表皮粘層中に移動し、細胞の一端を体表にのぞかせるようになる。細胞の外形はフラスコ状あるいは円柱状で、多くの細胞は核が中央部よりやや下方に位置している。卵黄粒と脂肪粒は核の位置よりも細胞の底部に多く分布している(図4)。核内のクロマチン顆粒は完全な核小体の形態をとり活発な活動を暗示する像を示す。粗面小胞体、ゴルジ装置は核の上方に見られ、ゴルジ装置の近くには中程度の電子密度を示す分泌顆粒が見られ始める(図6, ↑印)。これらの形成された分泌顆粒の一部は細胞頂部に移動し集団をなしてくる。また細胞頂部の分泌顆粒の近くにはミトコンドリア、あるいは直径50Åくらいの細繊維の束が見られる(図5)。この段階の細胞は急激に分化し、細胞内小器官の発達を伴って分泌顆粒の形成が始められている。

d) 平衡桿が伸び始める時期：孵化腺細胞は前のc)の段階と大差はないが、卵黄粒が小型となり、脂肪粒は次第に空胞となる。卵黄粒が消費される際は、小塊に分解されたり(図7, ↑印)、周囲から徐々に分解され、小形化するのに対して脂肪粒は外形はほとんど変化せず内部構造体の電子密度が低くなる傾向が見られる。細胞質中のリボソームは非常に分布密度が高くなり、粗面小胞体、ゴルジ装置も最高に発達した様相を示す。分泌顆粒はゴルジ小胞が発達して形成される様子でゴルジ小胞の中には分泌顆粒と同じ程度の電子密度を持った物質で満たされている(図8, ↑印)。細胞全体としては細胞の上部に非常によく発達した細胞内小器官が分布しているのに対して、細胞底部には核と卵黄粒および脂肪粒が見られるの

みである。

e) 第2外鰓に分枝が認められる時期：孵化腺細胞の外形はほぼ円柱形で前のd)の段階とあまり変わらないが、核の位置がやや細胞底部に移動する(図9)。細胞内小器官は非常によく発達した状態を維持し、分泌顆粒は数量とも増加し、大きさが 0.8μ くらいの直径となる。細胞の下底にはまだ多量の卵黄粒が見られ、粗面小胞体も少量認められる。しかしこの部分は細胞内代謝活動の盛んな部分とは思われない。核の近くの部分では粗面小胞体、ゴルジ装置等が著しい発達を示し、分泌顆粒が盛んに形成されている様子が観察される(図10)。

f) 眼に色素が見られる時期：孵化腺細胞内の卵黄粒は次第に消失し、この段階になるとほとんど認められなくなる。分泌顆粒は細胞頂部にいたるほど大型となり約 0.8μ の直径のものが多くなる(図11)。細胞の底部にわずかに残っている卵黄粒は、その周囲に厚さ 0.1μ くらいの電子密度のやや低い層がこれを取り囲むように認められ、次第に小さくなる(図13)。細胞質中のリボソームは特に卵黄粒の周囲あるいはゴルジ装置の近くに密に分布している。この段階においてもゴルジ装置、粗面小胞体の発達は顕著で分泌顆粒の形成が続けられている。また粗面小胞体の小さなものが集団となって分布していることもある(図12, ↑印)。しかし、細胞内にはライソゾームが現われこの頃から孵化腺細胞は分泌活動の頂点に達し、退化を始めたものと思われるが、粗面小胞体の分布が細胞底部にまで及ぶようになる。細繊維の束が細胞の中央部の分泌顆粒の近くに見られるようになってくる(図12)。またこの段階から分泌顆粒の細胞外への放出が見られる。

g) 孵化直前の時期：孵化腺細胞は孵化直前の段階でも盛んに分泌顆粒の放出を行っており、核の近くでは分泌顆粒の形成も続いている。細胞は十分発達した細胞内小器官を有しており見かけ上は前のf)の段階と大差ない様相を呈する(図15)。しかし核内のクロマチン顆粒は再び均等な分布を示すようになり、細胞質中にはライソゾームが増加して、細胞の退化しつつある様子を示す。細胞中の卵黄粒はすべて消失し、核が細胞の下底に押しつけられる。細胞の頂部には細胞膜の複雑な陥入が認められ、分泌顆粒の放出の様子が観察される(図14)。分泌顆粒の放出方法は細胞全体が破壊されて顆粒が細胞質とともに放出される方法ではなく、顆粒のみが次々に孵化腺細胞の頂部から細胞外に放出される方法をとることが観察される。

h) 孵化後24時間を経過した時期：この時期の孵化腺細胞においては、核の周縁および細胞下底にもよく発達した粗面小胞体が密に分布しており、まだ不完全な形のゴルジ装置が認められるが、分泌顆粒の形成は行なわれていないように観察された(図16)。細胞の下底には粗面小胞体と多量の空胞が見られ、卵黄粒はすべて消失している(図17)。しかし細胞頂部においてはまだ多量の分泌顆粒が残っており順次放出されているような像が観察される。

要 約

1. ブチサンショウウオの孵化腺細胞は眼胞が認められる段階では胚頭正中部の表皮神経層下に未分化な孵化腺母細胞として認められるが尾芽がふくらみ始めると次第に細胞分化を

始める。

2. 分泌顆粒は胚の外鰓が伸び始める段階で形成され始め、眼に色素が沈着し始めた頃から細胞外へ放出される。孵化後24時間を経過した幼生においても分泌顆粒の放出が行なわれている。

3. 細胞内のゴルジ装置および粗面小胞体は分泌顆粒が形成される前に発達を始め、粗面小胞体のみは分泌顆粒が形成されなくなった後も十分発達した形を示す。

4. 分泌顆粒の形成の場は核の上方のゴルジ装置で、卵黄粒および脂肪粒が分泌顆粒形成の材料となるものと思われる。

5. 卵黄粒、脂肪粒が消失し、分泌顆粒の形成が行なわれなくなった頃にライソゾームが現われて細胞の退化が始まる。

6. 分泌顆粒の放出方法は、特定の魚類のように孵化腺細胞が破壊されて分泌顆粒が細胞外に出る方法ではなく、分泌顆粒のみが孵化腺細胞頂部から放出される方法をとっている。

文 献

- 大氏正己, 松野 焯 (1973) 未発表
———, ——— (1974) 同
柳井隆一 (1950) 動雑 9: 230~234.
——— (1951) 同 60: 127~131.
YANAI, T. (1951) Annot. Zool. Japan., 24: 103~107.
柳井隆一 (1952) 動雑 61: 155~158.
——— (1952) 同 61: 254~250.
YANAI, T. (1953) Annot. Zool. Japan., 26: 85~90.
———, M. OUJI, T. IGA, (1955) Ibid., 28: 227~232.
YANAI, T. (1958) Ibid., 31: 222~224.
———. (1959) Ibid., 32: 31~34.
YOSHIZAKI, N. (1973) J. Fac. Sci. Hokkaido Univ., Ser. VI, Zool., 18: 469~480.
吉崎範夫 (1974) 動雑 84: 39~47.

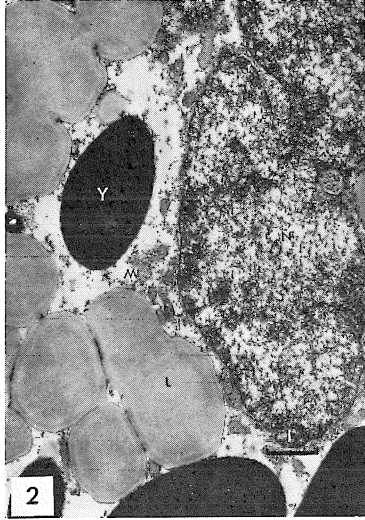


図 2. 眼胞が明瞭となる時期の孵化腺細胞：多量の卵黄粒 (Y) と脂肪粒 (L) が見られ、ミトコンドリア (M) は小形で数も少ない。



図 3. 尾芽の隆起が認められる時期の孵化腺細胞：粗面小胞体 (ER) が認められる。未発達なものと思われる粗面小胞体も見られる (↑印)。細胞質の電子密度は低い。

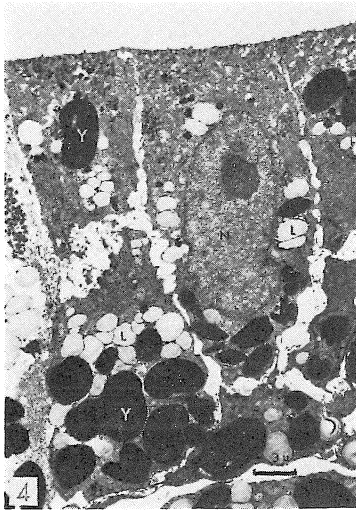


図 4. 外鰓が伸び始める時期の孵化腺細胞：細胞の外形はフラスコ状あるいは円柱状で細胞の下方には卵黄粒 (Y) および脂肪粒 (L) が多量に見られる。

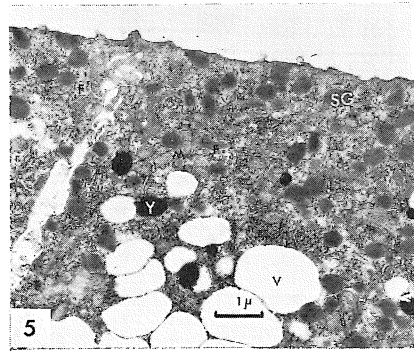


図 5. 外鰓が伸び始める時期の孵化腺細胞：細胞の頂部にはすでに形成された分泌顆粒 (SG) が見られ、その間にミトコンドリア (M)、細繊維の束 (F) が見られる。

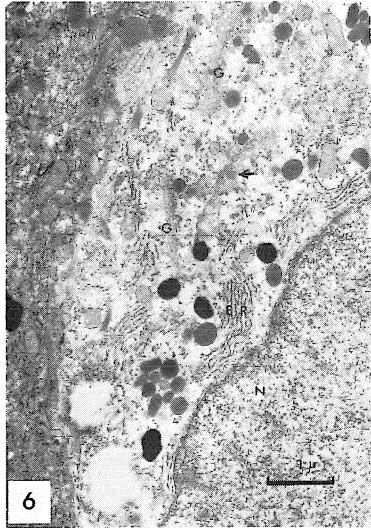


図 6. 外鰓が伸び始める時期の孵化腺細胞：形成された分泌顆粒がゴルジ装置 (G) の近くに認められる (↑印)。ゴルジ装置の発達が著しい。

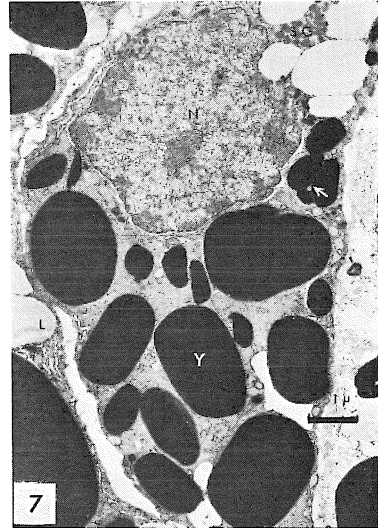


図 7. 平衡桿が伸び始める時期の孵化腺細胞：核のすぐ上方に分泌顆粒 (SG) が見られ、卵黄粒が小塊にちぎれる様子が認められる (↑印)。



図 8. 平衡桿が伸び始める時期の孵化腺細胞：分泌顆粒はゴルジ装置 (G) の小胞が発達して形成することを暗示し、ゴルジ小胞内に分泌顆粒と同じ電子密度の物質が詰っている (↑印)。

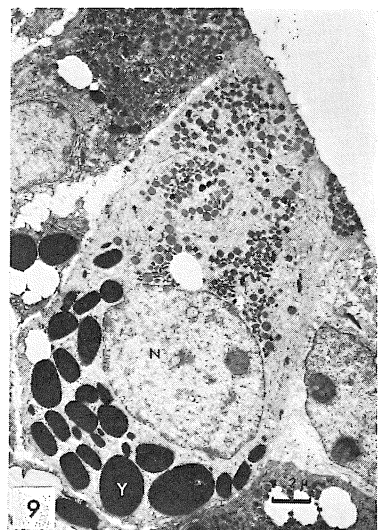


図 9. 第 2 外鰓に分枝が認められる時期の孵化腺細胞：核 (N) がやや下方に移動し卵黄粒 (Y) が少なくなり空胞が増加する。

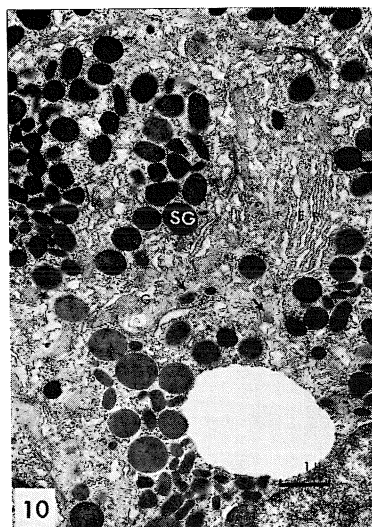


図10. 第2外鰓に分枝が認められる時期の孵化腺細胞：分泌顆粒(SG)は次第に大型になり、 0.8μ くらいの直径となる。細胞内は最もよく発達した様相を示す。

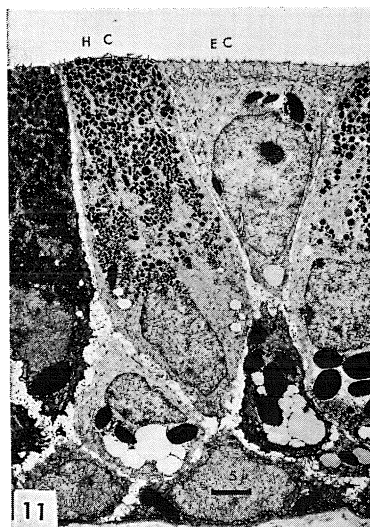


図11. 眼に色素が見られる時期の孵化腺細胞：卵黄粒が少なくなり、分泌顆粒の数量が増加する。孵化腺細胞(HC)と表皮細胞(EC)の区別は明瞭である。

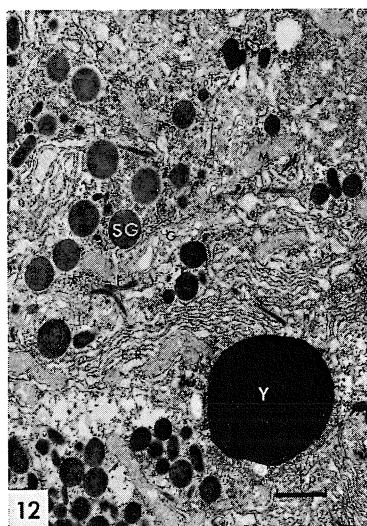


図12. 眼に色素が見られる時期の孵化腺細胞：未発達なものと思われる小さな粗面小胞体が見られる(↑印)。細繊維の束(F)が細胞の中央部にも見られる。

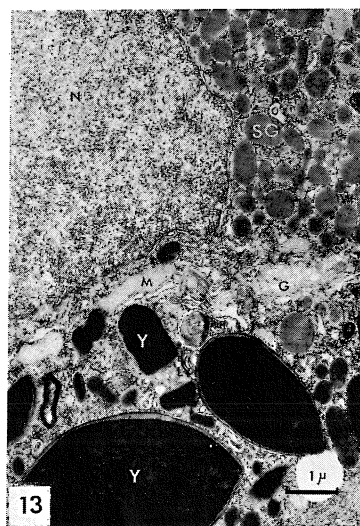


図13. 眼に色素が見られる時期の孵化腺細胞：卵黄粒(Y)の周囲に電子密度の低い層が認められる。この時期からライソゾーム(LY)が見られるようになる。

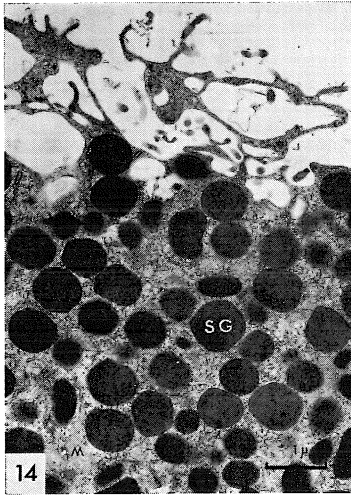


図14. 孵化直前の時期の孵化腺細胞：細胞頂部の像を示す。この部分では分泌顆粒(SG)が細胞外へ放出される様子が示されている。

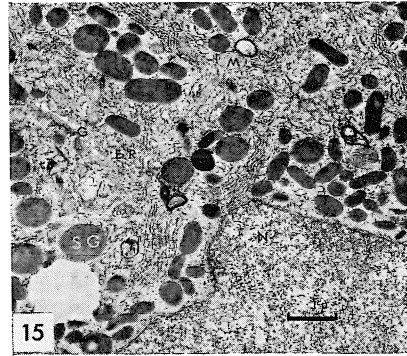


図15. 孵化直前の時期の孵化腺細胞：核(N)の内部のクロマチン顆粒はほぼ均等に分布し、ライソゾーム(LY)が増加する。ゴルジ装置(G)がこの時期でも見られる。

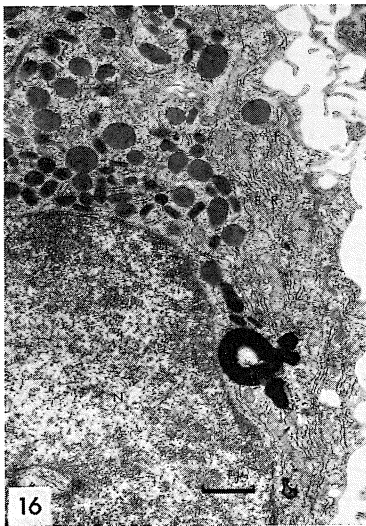


図16. 孵化後24時間を経過した時期の孵化腺細胞：粗面小胞体(ER)がよく発達している。細胞内はまだよく発達した細胞内小器官を有している。

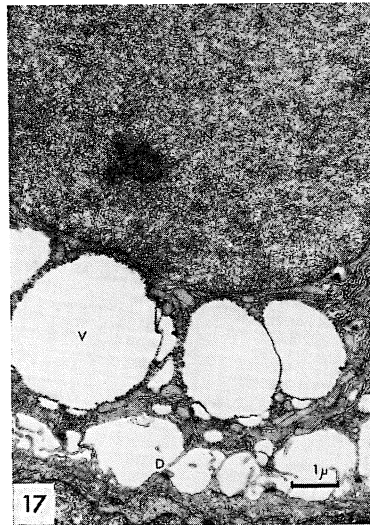


図17. 孵化後24時間を経過した時期の孵化腺細胞：細胞の下底では卵黄粒は消失し、脂肪粒は空胞(V)となる。粗面小胞体(ER)の分布が下底にまで広がっている。孵化腺細胞は互にデスマゾーム(D)で結合されている。