

ウグイ胚孵化腺顆粒の構造 (予報)

大 氏 正 己・松 野 煒

(島根大学文理学部生物学教室)

(1972. 9. 30受理)

The Structure of the Hatching Gland Granules in Fresh-water Teleost, *Leuciscus hakuensis*

Masami OUII and Akira MATSUNO

(Department of Biology, Shimane University, Matsue, Japan)

Abstract

Structural changes in hatching granules and behaviour of cytoplasmic inclusions in the process of hatching gland cell differentiation were studied electron microscopically using embryos of *Leuciscus Hakuensis* GÜNTHER.

Three types of hatching granules were found in the developmental process of hatching gland cell. They were classified morphologically into type I, II and III corresponding to early, transitional and late stages of hatching gland differentiation. At the early stage of hatching gland cell development, Type I hatching granules with not clear limiting membranes, inner amorphous materials, and fine mesh-like structures, well developed nucleus, mitochondria and ribosomes, and small number of endoplasmic reticulums are seen in it. At the transitional stage, type II hatching granules with clear limiting membrane and a few lamellae, and electron dense materials are seen. At the last stage, type III hatching granules was of almost the same size. The hatching granules also had limiting membranes, and were contained foamy material.

魚類の孵化腺細胞の微細構造については、山本('63)がメダカ胚を用い電子顕微鏡で観察した結果を報告して以来ほとんど報告がなされていない。これまで、ウグイ胚孵化腺細胞の発生と分布については、光学顕微鏡的観察を行なった伊賀('59)の研究がある。その報告によれば、孵化腺細胞中には受精後75時間目から分泌顆粒の存在が認められ、孵化の5~6時間前に発達の頂点に達するとある。そして、これら分泌顆粒の発達の様子を染色性の観点から調べると、分泌顆粒は発達の初期の段階では塩基性の色素に染まる性質を示しながら発達し、発達の頂点に近づくと酸性の色素に好染する反応を示すようになる。孵化後、胚の体表に分布する孵化腺細胞は急速に分泌物の放出を終って退化し、孵化後24時間を経過した胚の体表には孵化腺細胞の姿は全く見られなくなる。

著者等はこれら孵化腺細胞内に形成される分泌顆粒の発達の様子を染色性の変化と関連を持ちながらその微細構造の変化について詳細な研究を行ないたいと考え、ウグイ胚の受精後63時間を経過したものから孵化直前までの発生期間の胚を4段階に分けて固定し、孵化腺細胞内顆

粒の発達の経過を電子顕微鏡を用いて観察した。その結果、分泌顆粒が発達するにつれて3段階の電子密度の異なる顆粒が観察されたこと、分泌顆粒の合成の過程でミトコンドリアを取り囲む小胞体とリソゾームの特異な関係を暗示する像が観察されたので、その結果を報告する。

材料と方法

材料には出雲市西郊の神西湖にそそぐ常楽寺川で1972年4月上旬採捕したウグイ (*Leuciscus hakuensis* GÜNTHER) 成魚を研究室に持ち帰り乾導法による人工受精を行ない、卵は室温下 (16°C) で発生させた。胚は光学顕微鏡像による染色性の変化のみられる受精後63時間、87時間、114時間、140時間で固定し観察することにした。固定には0.1M磷酸緩衝液 (pH7.3) で緩衝した冷グルタルアルデヒド固定液 (3.5%) で1.5時間の前固定を行ない、同じ緩衝液で緩衝した冷四酸化オスミウム固定液 (1%) で2時間の後固定を行なった。脱水はエチルアルコールを用い、プロピレンオキシドを置換剤としてエポン812樹脂に包埋した。切片の電子染色には酢酸ウランとレイノルズ法によるクエン酸鉛の2重染色を施した。切片の切断方向は発生の各段階ですべて、胚頭部眼原基の直後の部分を体軸に直角な背腹の方向に横断するようにした。像の観察には明石 TRS-80W. D. C. 型電子顕微鏡を用い、2000倍及び5000倍の直接倍率で写真撮影を行なった。切片の作成にはL.K.B.ウルトラトームを用いた。また、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1 μ の薄切片を作成しこれを1%トルイジンブルー液で染色し光学顕微鏡で観察した。

観 察 結 果

A段階 (受精後63時間の胚) : 孵化腺母細胞像は表皮細胞層の表皮下に周囲を表皮細胞に囲まれて存在する。この時期の細胞内には、多数の非常に大型で断面が丸く膨らむミトコンドリアとリボゾームが認められ、粗面小胞体は認められず、滑面小胞体が多く認められる。滑面小胞体はある部分ではミトコンドリアをとり囲むように配列しているのが観察された (Fig. 1, 矢印)。細胞質中には数個の電子密度の高い顆粒が認められるがこの顆粒はこの時期ですでに明瞭な限界膜に包まれていることから孵化腺細胞における孵化酵素に関係ある分泌顆粒とは関係のないものと思われる。核は細胞質の中心附近にあり、ほぼ球型で表面の陥入や突出は見られない。核中のクロマチン顆粒は発達しておらず活動の盛んな核であるとは考えられない。細胞全体としてまだ十分に腺分化の様相を示していない。

B段階 (受精後87時間の胚) : 孵化腺細胞中には分泌顆粒の近くに顆粒とほぼ等しい大きさのミトコンドリアが多数存在する。そして細胞質全体にわたり、多数のリボゾームが認められ、余り発達していないが小胞体も多く認められる。Fig. 2の像に3個の分泌顆粒が認められるが、この顆粒内部には繊維様の網目構造が見られる。顆粒の内容は極めて電子密度が低い(S₁)。ゴルジ体の存在は認められず、核の形はほぼ楕円形で核中のクロマチン顆粒は核の周囲に認められ、活動が盛んな核の形態を示している。

C段階 (受精後114時間の胚) : この時期の孵化腺細胞質には全体に小胞体が密に発達して見られ、リボゾームもおびただしく増えてくる (Fig. 3)。この段階では電子密度が低く限界膜の構造も明瞭でない分泌顆粒 (S_1) と電子密度がやや高く明瞭な限界膜構造を持った分泌顆粒 (S_2) の2種類の顆粒が認められる。分泌顆粒は直径 2μ 位のものが多くなり、細胞質の一侧に集中して存在し、このため核は分泌顆粒群に圧されてその細胞の基底側に移動する。また核の附近と細胞の周縁部には比較的正しく配列をした小胞体が見られる。この段階で特に注目されるのはリソゾームが多数見られることである。リソゾームは分泌顆粒群の近くに多く見られ、その形態も多様な変化を示し、内部にミトコンドリア、リボゾーム、小胞体由来のものと思われる膜構造が多層化シラメラ様構造を示すもの、あるいはとりこまれたミトコンドリアの壊れつつあるものを含む像も認められる。特に Fig. 4 の像に矢印で示されるように細胞質を小胞体がとり囲み周囲にラメラ様構造が作られつつある段階を示す像も認められた。その他リソゾーム中に含まれるこまかい粒子が S_1 中の粒子とよく似ている場合や、とりこまれた細胞質が壊れて行く過程を示すものなども見られた。この時期は分泌顆粒の数も急速に増え腺分化が著しく示される段階である。

D段階 (受精後140時間の胚) : この時期は孵化直前の段階で、孵化腺細胞はその内部が分泌顆粒で満たされ、核は細胞の底部に存在し、孵化腺細胞は表皮の表層に細胞質の一端をのぞかせる。核の附近すなわち細胞の底部附近には複雑な形態の小胞体が見られ、この小胞体の内腔はこれまでに見られない異常な広がりを見せその中にはミトコンドリアのクリステのような形態をした細管状の膜構造物、あるいはその他の膜構造が見られる (Fig. 5, 矢印)。分泌顆粒はその大きさも一定となり電子密度も均一化し、しかも Fig. 6の S_3 に近い低度なものとなる (Fig. 5, S_2)。孵化期が近づくとこの分泌顆粒は電子密度が著しく低下し、個々の分泌顆粒の内部は淡い泡沫状構造が見られるのみとなる (Fig. 6, S_3)。この状態が分泌顆粒を細胞外に放出する直前の像である。

考 察

伊賀 ('59) によって観察された結果、ウグイ胚に出現する 孵化腺細胞の分泌顆粒は、まずピクロブルーブラックおよびマロリー染色のアニンブルーに好染する顆粒として出現し、発生が進むと次第にエオシンに染まるように変化することが示された。大氏・伊賀 ('61) はコイ胚の孵化腺細胞の分泌顆粒の染色性について、ハイデンハイン鉄ヘマトキシリン・酸フクシン染色では分泌顆粒は腺分化の初めは酸フクシン染色では分泌顆粒は腺分化の初めは酸フクシンに、次に鉄ヘマトキシリンに、最後に再び酸フクシンへと色素への親和性が3段階に変化することを報じている。これらの報告にある孵化腺細胞の分泌顆粒に化学的性質の異なる3つの過程が微細構造の面でも見られるかどうかを確めるためにウグイ胚を材料にして、孵化腺細胞の分泌顆粒について電子顕微鏡的観察を行なった。

その結果、分泌顆粒は発生の進むにつれて3段階に変化する構造を示した。すなわち1)受精後87時間を経過した胚の孵化腺細胞には限界膜の不明瞭な、電子密度が低く網目構造の認められる分泌顆粒が現れ、2)受精後114時間を経過した胚の孵化腺細胞には小胞体やリソゾームが著しく増え、電子密度の異なる2種類の分泌顆粒が見られる。特にこの時期には核の周縁にミトコンドリア、リソゾームなどをとり囲む多様な小胞体が現れ、さらにその周囲にラメラ様構造をもつリソゾーム様の構造物と明らかなリソゾームが認められる。3)孵化直前になると孵化腺細胞の内部は分泌顆粒で満たされ、多数の分泌顆粒は一樣にその内容物の電子密度が低下し、かすかな泡沫状構造をもつ明るい構造物として認められる。また、腺細胞底部にある核の附近には複雑な形態の小胞体が位置し、この中にはミトコンドリアのクリステ様の管状構造あるいはその他の膜構造が認められる。

ここで示した3種類の分泌顆粒の形態は山本(63)の報告と多くの点で一致し、わずかな点で相異なるが、これは孵化腺細胞の発生の起源が内胚葉性であるメダカを用いたという材料の違いによるものと考えられる。以上の観察からウグイ胚孵化腺細胞の分泌顆粒には、発達の経過として光学的顕微鏡像で見られる3段階の変化が電子顕微鏡的にも3つの構造変化として認められた。

参 考 文 献

- Iga, T., 1959, The Scientific Report of the Shimane Univ., No.9, 64-68.
 Ouji, M., 1959, The Journal of the Faculty of Science Hokaido Univ., 14, 282-285.
 Ouji, M. and T., Iga, 1961, Zoological Magazine, 70, 356-360.
 Yamamoto, M., 1963, Journal of the Faculty of Science, University of Tokyo, 10, 115-122.

図 の 説 明

- Fig. 1: 受精後63時間のウグイ胚の孵化腺母細胞: 大型のミトコンドリアとほぼ球型に近い核が見られる。ほとんど腺分化を示していない。
 Fig. 2: 受精後87時間のウグイ胚の孵化腺細胞: I型(S₁)に属する分泌顆粒が見られる。
 Fig. 3: 受精後114時間のウグイ胚の孵化腺細胞: I型(S₁)の分泌顆粒と多種のリソゾームが見られる。小胞体が密に分布している。
 Fig. 4: 受精後114時間のウグイ胚の孵化腺細胞: I型(S₁)とII型(S₂)の分泌顆粒が見られる。分泌顆粒の直径は約2 μ のものが多い。矢印は小胞体が細胞質をとり囲んでいる像である。
 Fig. 5: 受精後140時間のウグイ胚の孵化腺細胞: II型(S₂)の分泌顆粒と非常に膨らんだ小胞体が見られる。小胞体内部にはさまざまな膜構造が認められる。
 Fig. 6: 受精後140時間のウグイ胚の孵化腺細胞: 孵化直前の胚の孵化腺細胞である。III型(S₃)の分泌顆粒が見られる。細胞質の一部は表面に露出している。
 E・R: 小胞体, L: リソゾーム, M: ミトコンドリア, N: 核, S₁: 分泌顆粒I型, S₂: 分泌顆粒II型, S₃: 分泌顆粒III型。





