

オカダンゴムシにおける卵黄形成の 電子顕微鏡的観察

森 田 真 一・陣 野 信 孝

長崎大学教育学部生物学教室
(昭和46年11月4日受理)

Electron Microscope Observations on the Formation of Yolk Body in the Oocyte of *Armadillidium vulgare*.

Shin-Ichi MORITA and Nobutaka JINNO

Biological Laboratory, Faculty of Education
Nagasaki University, Nagasaki.

(Received Nov. 4, 1971)

Abstract

Electron microscope observations have been made on the formation of the yolk body in the oocyte of *Armadillidium vulgare* (terrestrial isopoda).

Organelles were abundant from the perinuclear region to the intermediate region of the ooplasm. Especially smooth surfaced endoplasmic reticulum (sER) of small vesicular type containing intracisternal granules were abundantly observed.

The cisternae containing granules constitute the network branching and anastomosing in all directions throughout the ooplasm.

With the morphological transformation of sER, the cisternae become to fill with granules, and granules aggregate to form granular masses, increasing in its number and electron density.

During the growth of the oocyte, they may undergo physiochemical changes resulting in a homogeneous yolk body.

序 論

卵母細胞における卵黄の形成については古くから興味をもたれ、最近では各種の動物につい

て電顕的にも多くの研究がなされている (Andre and Rouiller, 1957; Beams and Kessel, 1962, 1963; Favard and Carasso, 1958; Humphreys, 1962; Kemp, 1956; Kessel, 1968; Rebhun, 1961; 高本, 1964a, 1964b, 1966a, 1966b, 1967a, 1967b, 1967c; Ward, 1962, 1964)。しかしながらまだ十分に解明されてはいないように思われる。そこで筆者等はオカダンゴムシ (*Armadillidium vulgare*) の卵母細胞について電顕的に観察したが、その卵黄形成は今までの報告と多少ことなる所見を得た。

材 料 と 方 法

9月から10月にかけて採集したオカダンゴムシの卵巣を切除し、0.1M リン酸緩衝液で pH 7.3 にした3%グルタルアルデヒド溶液で4℃にて2時間前固定した。リン酸緩衝液で5~6回60分間良く洗滌した後、0.1M リン酸緩衝液で pH 7.3 にした1.4%オスミック酸で2時間再固定した。その後リン酸緩衝液で簡単に洗い、アセトンで脱水した。包埋には Epon 812 を用いた。超薄片作製には Reichert OmU 2 型超ミクロトームを用いた。染色は酢酸ウラニル、硝酸鉛二重染色を施し、カーボン蒸着後日立 HU 125 DS 型電子顕微鏡で観察した。

観 察 結 果

核は比較的多くの核膜孔を有するはっきりした二重膜でおおわれており、その基質の電子密度は細胞基質のそれよりも低く微細な粒状構造をしている (Fig. 1)。

仁は微小な顆粒が密に集積した電子密度がきわめて高い径4 μ 位の物質塊として核のほぼ中央部に観察される。その形状は小塊状、島状などさまざまである (Fig. 2)。核膜の近くには仁の10分1位の大きさで、電子密度がきわめて高い0.3~0.4 μ の円形の物質集塊が存在する (Fig. 3)。

核膜には多数の小孔があり、その切線切片では小環構造となって1~2列に並んで観察される (Fig. 3)。そしてこれらの核膜孔を通して電子密度の高い微小な顆粒物質が細胞質へ移行する様子がしばしば観察される (Fig. 4)。また核のピノサイトシスと思われる核膜の形態が観察される (Fig. 2, 5)。これには二重膜によるとりこみと核膜内層の陥入の2つの型がある。二重膜によるとりこみの場合には、その内面には明らかに細胞基質様の物質が含まれている。核膜内層の陥入による場合には、多くの場合物質は含まれず円形または三ヶ月状の空胞となっている。一方核膜外層が膨出して胞状になったものや、それが剥離して小胞状になったものもきわめてまれに観察される (Fig. 4)。

核に接する細胞基質は微細な粒状構造をしており、その電子密度は細胞質の中間域、周辺部のそれよりも低くなっている (Fig. 1, 4)。この部分の基質には多くの遊離リボゾームあるいはそれらが cluster となったものが散在している。これらは細胞質の中間域から周辺部にかけても比較的多く存在しているが小胞体には付着していない。

また核周囲の細胞質には、核膜孔を通して移入した核物質が再集積したと思われる電子密度の高い径0.1~0.4 μ の物質塊が散在している (Fig. 3, 4)。これは若い細胞において著しく細胞質の中間域や周辺部には存在しない。

小胞体は滑面小胞体だけでその形態は、核周囲と細胞質の中間域、周辺部とでは著しい違いがみられる。すなわち核周囲には核膜由来と思われる胞状の滑面小胞体がまれに観察される

(Fig. 4)が、核周囲から細胞質の中間域にかけては微小な顆粒を含んだ大きさ 0.1μ の小胞状の滑面小胞体が多く観察される(Fig. 6)。これらは中間域から周辺部にかけて膨大して不定形となる。また枝分かれし、吻合して複雑な網目状構造を形成している(Fig. 7, 8)が層状になったものは観察されない。このように滑面小胞体の形態的变化に伴ってその膨大した小囊の内部に、多数の顆粒が集合した不定形の粗粒状構造(Fig. 12)や、密に集積して電子密度がきわめて高い大きさ $0.6\sim 0.7\mu$ の円形の物質塊が観察される(Fig. 7, 8, 13)。この物質塊のまわりには多くの顆粒が観察される(Fig. 7, 8, 13)。そしてこれら物質塊は更に肥大成長して小囊内をみたしきわめて電子密度の高い均質な卵黄体となり、細胞質周辺部に多数分布している(Fig. 1)。十分に成長した卵細胞では核周囲から細胞質の中間域にかけても出現し(Fig. 1)、周辺部のものはやや多形となりその電子密度は多少低くなる傾向にある。この卵黄体における膜構造は不鮮明である(Fig. 1)。

ミトコンドリアは核周囲には少ないが細胞質中間域で最も多く、周辺部でも比較的多く散在している(Fig. 1)。核周囲のものは円形ないしは楕円形をしたものが多く、細胞質の中間域、周辺部のそれは桿状、ミドリムシ状をしたものが多い。また枝分かれたものも観察される(Fig. 11)。そして十分に成長した細胞の周辺部では一端またはその中央部が膨大して崩壊しかかったものも観察される(Fig. 10)。クリスタは管状や円形となって比較的多く観察される。ミトコンドリア内小顆粒はまれに観察されるにすぎない。

ゴルジ体は発達がわるく細胞質の中間域にわずかに存在するにすぎない。それには小胞を有する典型的な層状構造をしたものと(Fig. 13)、C型あるいはうずまき状となったものがある(Fig. 9)。しかしいずれの場合にも電子密度の高い小胞は観察されない。また滑面小胞体との連絡も観察されない。

他に細胞質内には次のような含有体が観察される。

1. 含有体Ⅰ (IB₁) …Fig. 11

これは細胞質の中間域にしばしば観察されるもので多くの小胞、顆粒を含んでおり、電子密度は比較的低いものからかなり高いものまである。大きさは 0.5μ 位である。

2. 含有体Ⅱ (IB₂) …Fig. 12

これは細胞質の中間域に観察されるものではっきりした一層の膜構造でとりかこまれている。その基質は微細な粒状構造をしており電子密度は低い。大きさは $2\sim 2.5\mu$ である。

3. 含有体Ⅲ (IB₃) …Fig. 1, 12

これはミエリン状構造をしており含有体Ⅱにしばしば付着し、時にはそれに陥入してうめつくしている場合もある。また卵黄体に付着している場合もある。これは十分に成長した細胞では比較的多く観察される。大きさは $0.6\sim 2\mu$ である。

4. 含有体Ⅳ (IB₄) …Fig. 15

これはアニュレイトラメラ様の構造をしており核周囲から細胞質の中間域にかけてまれに観察されるもので、多くの小孔をもった膜構造が3~4層につみかさなった形態をしている。この小孔の部分にはやや電子密度の高い微細な顆粒が存在しそれより流出しているような様子が観察される。またこれの一端が小顆粒を含んだ滑面小胞体と連絡しているのが観察される。大きさは $0.5\mu \times 1.7\mu$ である。

5. 微小管 (MT) …Fig. 11, 13, 14

これは核周囲から細胞質の中間域にかけて比較的多く観察され長いもので 2μ に達し枝分かれたものもある。これらは単独に存在する場合とそれらが多数集合して束状あるいは繊維状

となって存在する場合がある。

考 察

オカダンゴムシの 卵母細胞の核内 および核膜の微細構造は Beams and Kessel (1963), Kessel and Beams (1968) がザリガニ (*Cambarus virilis*) について報告したものとその基本構造においてはほぼ一致している。しかしながら Kessel and Beams がいうような仁内のラメラ構造や高本(1964d, 1964b, 1967c) がイモリ (*Triturus pyrrhogaster*), トノサマガエル (*Rana nigromaculata*) の仁内に見た空胞状構造, 繊維状構造は観察されない。

核膜の近くに存在する仁の10分の1位の大きさの電子密度の高い物質塊はその微細構造から仁由来のものと思われる (Kessel, 1968)。これが核膜孔に連らなっている様子は観察されないが, 核膜孔を通して細胞質へ移行している物質塊と微細構造の点で似ておりこれは仁物質または仁で合成された RNA が移行する (Kessel, 1968; 高本, 1967C) 過程を示しているのかもしれない。細胞質へ移入した物質はいったん集積するようであり, 分散後のこの物質の行動を追跡するのは困難である。

核膜の構造は他の動物におけるそれと同じであるが核のピノサイトシスと思われる核膜の形態は他の動物では観察されていない。しかしながらそれが核または細胞の活性といかなる関係にあるのか明らかでない。

核膜外層の膨出, 剝離については Kessel(1963)はサンショウウオ(*Necturus maculosus*), Kessel(1968) はウミザリガニ (*Homarus*) とイセエビ (*Panulirus*) で, 高本(1964a, 1967c) はイモリで, Beams and Kessel (1963) はザリガニで観察している。Kessel (1963) は更に膨出, 剝離の過程がくりかえされて小胞の鎖をつくり, 核の周囲に広がっていきついにはアニユレイトラメラが形成されると報告している。一方 Rebhun(1961) はウバガイ (*Spisula solidissima*) で核周囲に同様の構造を観察しているが核膜との直接な連絡は観察できないとしている。

オカダンゴムシでは核膜が膨出, 剝離して小胞が形成される様子はぎわめてまれに観察されるにすぎない。核膜より少しはなれてアニユレイトラメラに似た構造が観察されるが, これが Kessel(1963)がいう過程で形成されたものか, で細胞質中に *de novo* に生じたものか明らかでない。

タンパク卵黄の形成については Beams and Kessel (1962, 1963) はザリガニ, Kessel(1968) はウミザリガニ, イセエビ, Rebhun(1961) はウバガイ, Andre and Rouiller(1957) はクモ (*Tegenaria parietina*) で粗面小胞体内形成について報告している。その形成過程については Beams and Kessel, Kessel によると, 粗面小胞体のリボソームのもとにその小囊内に卵黄の前駆体ともいうべき “intracisternal granule” が合成される。そして粗面小胞体に連らなる滑面小胞体内を輸送されそのある場所で集積される。そして生化学的変化をうけて電子密度の高い緻密または均質な *yolk body* に形成されるという。

オカダンゴムシにおける卵黄形成過程はザリガニのそれとよく似ているが, “intracisternal granule” は粗面小胞体内で合成されると考えられているので (Palade, 1956; Siekevitz and Palade, 1958), オカダンゴムシにおける小胞状の滑面小胞体内の顆粒 (intracisternal granule) はアメリカザリガニの それとことなった形成過程で合成されたものと考えられる。

一方高本 (1964a, 1964b, 1966a, 1966b, 1967a, 1967b, 1967c) はイモリ, カエルについて

タンパク卵黄の胞状構造内形成について報告している。すなわち胞状構造がミクロピノサイトシスによる小胞や顆粒状構造を併合しながら成長してタンパク卵黄が形成される。イガイ (*Mytilus edulis*) における “yolk vesicle” 内でのタンパク卵黄形成 (Humphreys, 1962) も高本のいう胞状構造内形成様式と考えられる。このような卵黄形成過程はオカダンゴムシでは見られないが小胞、顆粒を含む含有体 I が高本がいうような卵黄形成過程にあるものか、またそれが卵黄体といかなる関係にあるのか明らかでない。

またタンパク卵黄がミトコンドリア内で形成されるとの報告もある (Favard and Carasso, 1958; 高本, 1966a, 1966b, 1967a, 1967b, Ward, 1962, 1964)。しかしオカダンゴムシではミトコンドリアは比較的多く存在するにもかかわらずそのような所見は全く観察されない。

脂肪卵黄 (リポコンドリア) の形成については, Kemp (1956) がカエル (*Rana pipiens*) で細胞内の *organelles* とは無関係に細胞基質中に *in situ* で生ずると報告している。しかし Ward (1962) は同じ材料でミトコンドリア内形成、高本 (1967C) はヤマアカガエル (*Rana ornativentris*) で胞状構造内形成を報告している。Beams and Kessel (1963) はザリガニについて細胞基質中に *de novo* で生じた不定形の脂肪卵黄を観察している。

オカダンゴムシでは脂肪卵黄と思われる形態は観察されない。

他の細胞内含有体についてはその由来、性質などまだ不明な点も多いので今後の研究にまちたい。

要 約

オカダンゴムシの卵母細胞における卵黄形成を電顕的に観察した。Organellae は卵黄細胞の中間域から周辺部にかけて多く分布する。小胞体は滑面小胞体のみで細胞質での分布の部位によって形態的变化が著しい。核周辺部の小胞状の滑面小胞体内に、卵黄前駆物質と考えられる顆粒状構造があらわれる。滑面小胞体の形態的变化に伴ない顆粒が増加し、滑面小胞体の膨大した場所に集積して電子密度の高い物質塊となる。それは更に肥大成長して、生理化学的变化をうけて電子密度の高い均質な卵黄体に形成される。

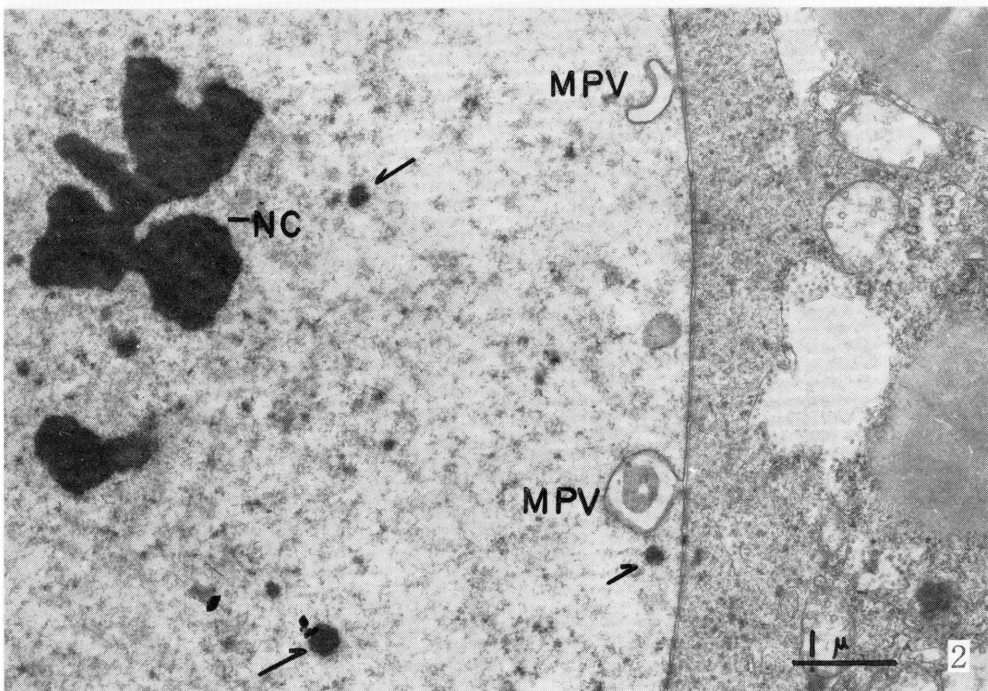
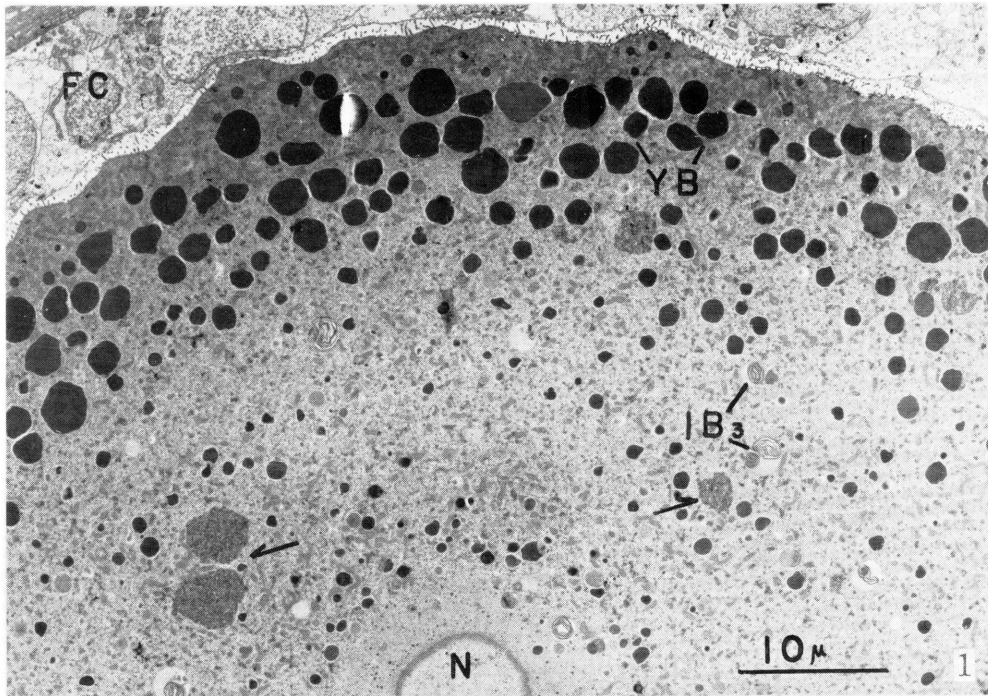
卵黄体は卵細胞周辺部に密に分布し、やがて中間域にも見られるようになる。

卵黄体とは別に由来性質不明な数種の含有体について記載した。

Literature Cited

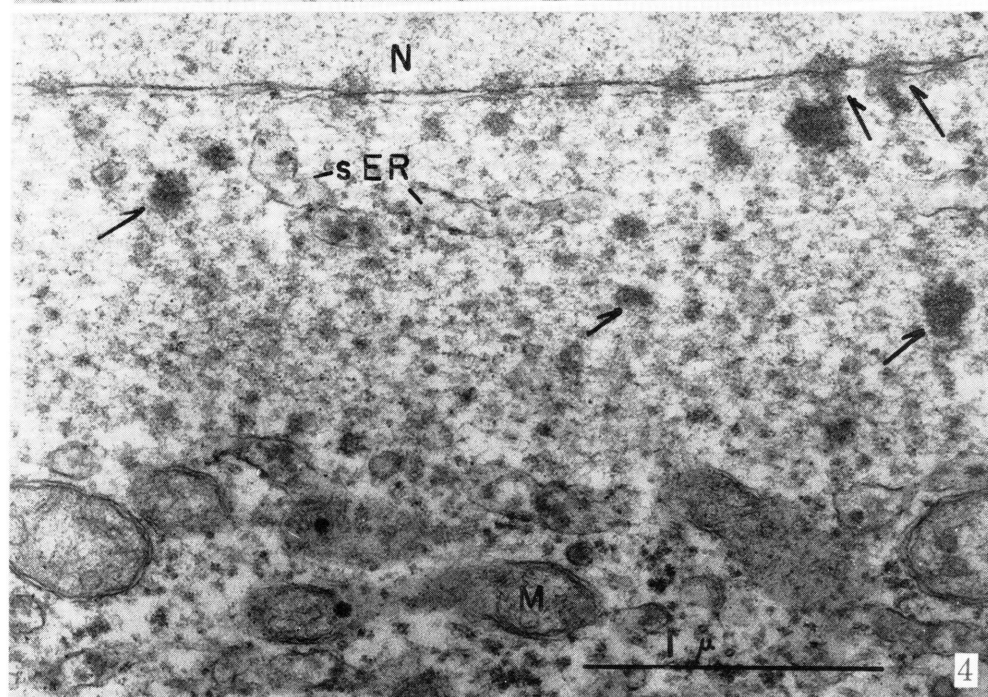
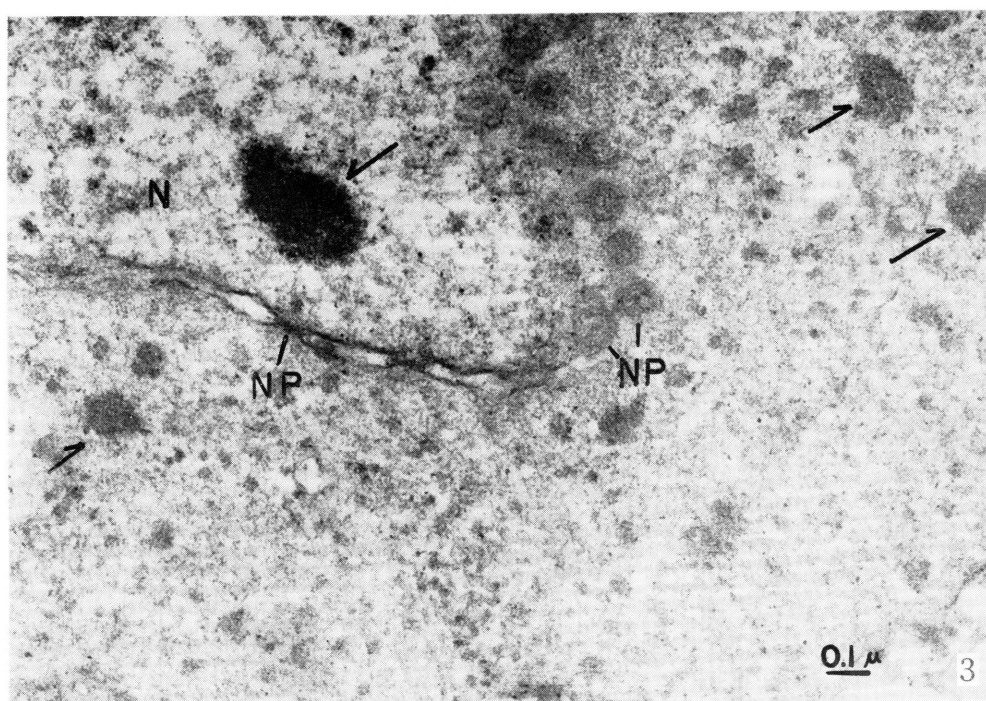
1. Andre, J. and Rouiller, C. 1957. The ultrastructure of the vitelline body on the oocytes of the spider *Tegenaria parietina*. *J. Biophysic. and Biochem. Cytol.*, **3**, 977-984.
2. Beams, H. W. and Kessel, R. G. 1962. Intracisternal granules of the endoplasmic reticulum in the crayfish oocyte. *J. Cell Biol.*, **13**, 158-162.
3. Beams, H. W. and Kessel, R. G. 1963. Electron microscope studies on developing crayfish oocytes with special reference to the origin of yolk. *J. Cell Biol.*, **18**, 621-649.
4. Favard, P. and Carasso, N. 1958. Origine et ultrastructure des plaquettes vitellines de la planorbe. *Arch. Anat. Microscop. Morphol. Exptl.*, **47**, 211-234.
5. Humphreys, W. J. 1962. Electron microscope studies on egg of *Mytilus edulis*. *J. Ultrastruct. Res.*, **7**, 467-487.
6. Kemp, N. E. 1956. Electron microscopy of growing oocytes of *Rana pipiens*. *J. Bio-*

- physic. and Biochem. Cytol.*, **2**, 281-301.
7. Kessel, R. G. 1963. The formation and subsequent differentiation of cytoplasmic vesicles in oocytes of *Necturus*. *Anat. Rec.*, **145**, 363.
 8. Kessel, R. G. 1968. Mechanisms of protein yolk synthesis and deposition in Crustacean oocytes. *Z. Zellforsch.*, **89**, 17-38.
 9. Kessel, R. G. and Beams, R. G. 1968. Intranucleolar membranes and nuclear-cytoplasmic exchange in young crayfish oocytes. *J. Cell Biol.*, **39**, 735-741.
 10. Palade, G. E. 1956. Intracisternal granules in the exocrine cells of the pancreas. *J. Biophysic. and Biochem. Cytol.*, **2**, 417-425.
 11. Rebhun, L. I. 1961. Some electron microscope observations on membranous basophilic elements of invertebrate eggs. *J. Ultrastruct. Res.*, **5**, 208-225.
 12. Siekevitz, P. and Palade, G. E. 1958. A cytochemical study on the pancreas of the guinea pig. II. Functional variations in the enzymatic activity of microsomes. *J. Biophysic. and Biochem. Cytol.*, **4**, 309-332.
 13. 高本 薫, 1964 a. 両生類の卵形成過程の研究 I. イモリ卵母細胞の核膜周辺部の微細構造. 動雑., **73**, 179-184.
 14. ———, 1964 b. イモリの卵形成に関する電子顕微鏡的研究. 実形誌., **18**, 50-84.
 15. ———, 1966 a. *Rana* 属の卵黄形成の特徴. 実形誌., **20**, 106.
 16. ———, 1966 b. 両生類の卵形成過程の研究. II. ウシガエルの卵黄形成. 動雑., **75**, 197-202.
 17. ———, 1967 a. 両生類の卵黄形成過程の研究. III. ニホンアカガエルの初期卵黄形成. 動雑., **76**, 124-128.
 18. ———, 1967 b. 両生類の卵黄形成過程の研究. V. ヤマアカガエルのタンパク卵黄形成. 動雑., **76**, 259-264.
 19. ———, 1967 c. 両生類卵形成における微細構造とその機能. 実形誌., **21**, 229-244.
 20. Ward, R. T. 1962. The origin of protein and fatty yolk in *Rana pipiens*. II. Electron microscopical and cytochemical observations of young and mature oocytes. *J. Cell Biol.*, **14**, 309-341.
 21. Ward, R. T. 1964. Dual mechanisms for the formation of yolk platelets in *Rana pipiens*. *J. Cell Biol.*, **23**, 100A.



第1図 比較的成長した卵母細胞。
矢印は小囊中に顆粒が集合したもの。IB3：ミエリン状の含有体。
N：核 YB：卵黄体 X 2,000

第2図 島状の仁(NC)と、核膜内層の陥入によって生じた小胞(MPV)。
矢印は、仁由来と思われる物質塊。 X 13,700



第3図 核内、核膜、核周囲の微細構造

核内には仁由来と思われる物質塊(矢印)と、核周囲には核物質が集積した物質塊(矢印)がみられる。

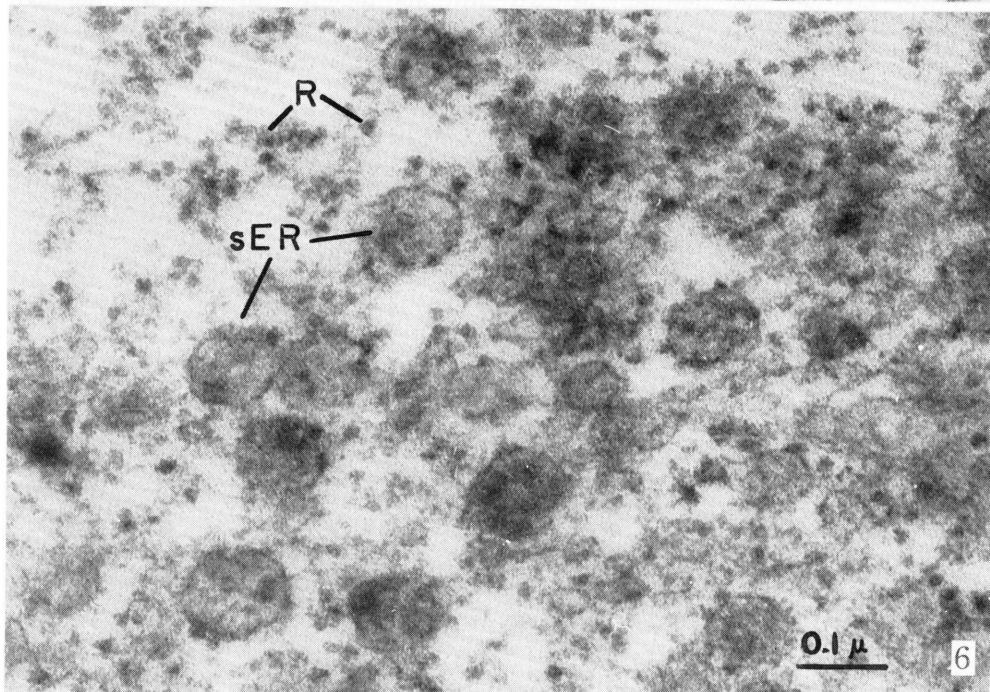
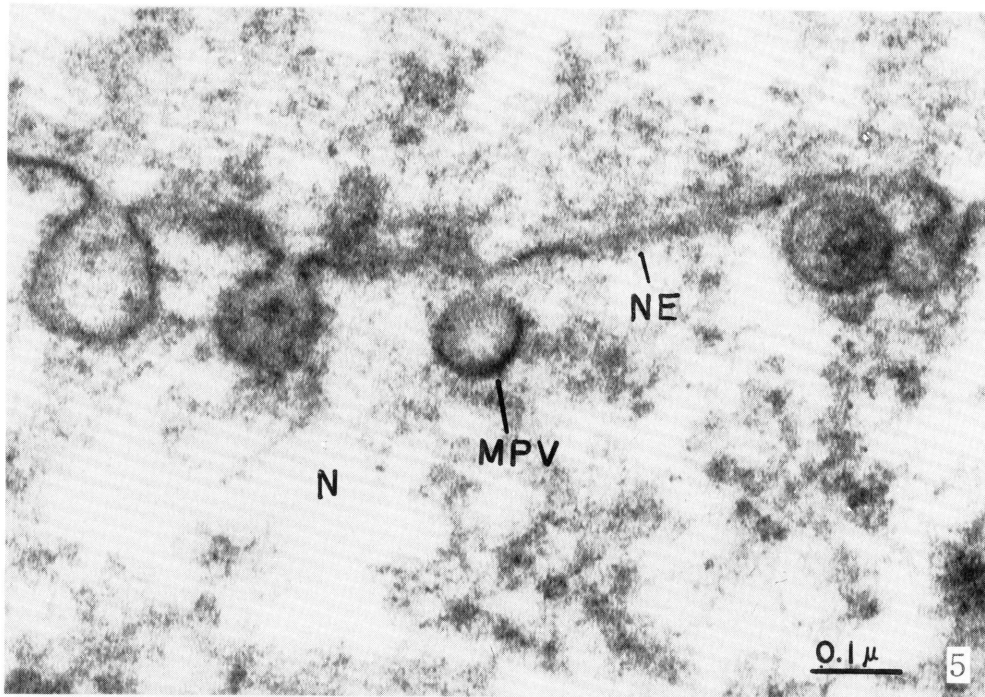
核膜の切線切断(右側)は小環構造となる。

N: 核 NP: 核膜孔 X 59,500

第4図 核膜を通しての物質の移行(矢印)と、核膜外層の膨出によって生じた滑面小胞体(sER)。

核周囲には、核物質が集積した物質塊(矢印)がある。

M: ミトコンドリア X 40,000

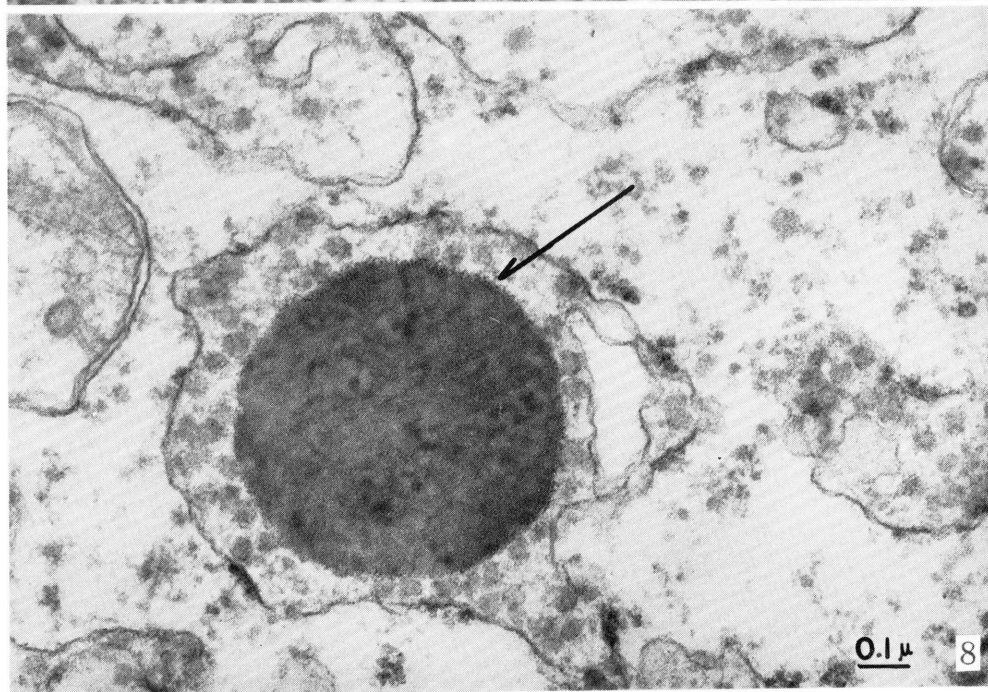
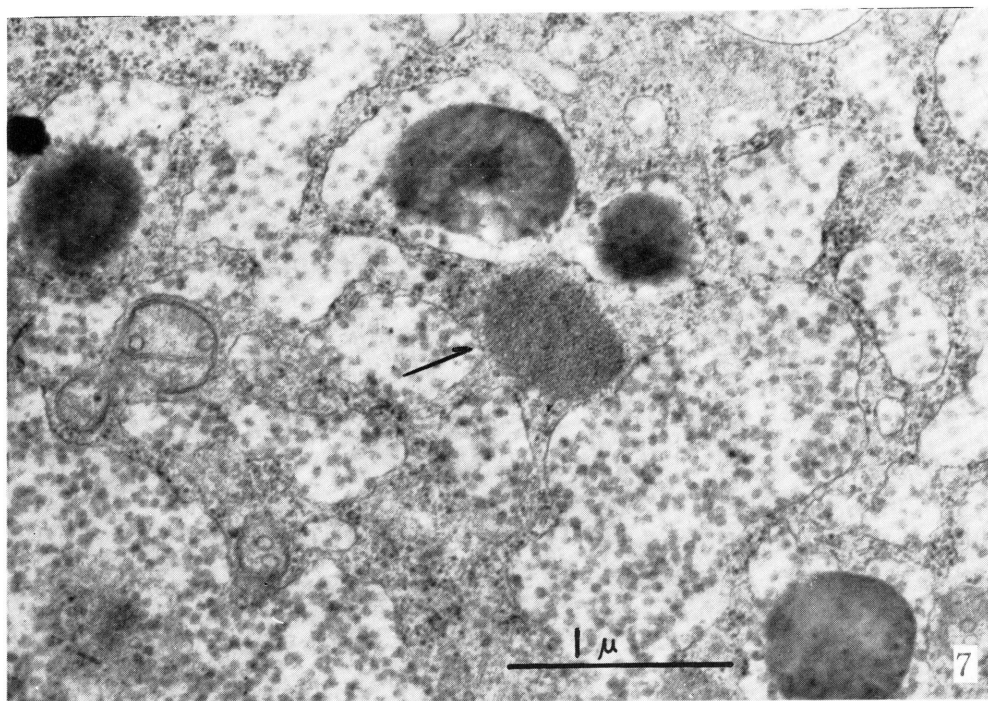


第5図 核のピノシトシスによる小胞 (MPV)。

N : 核 NE : 核膜 X 120,000

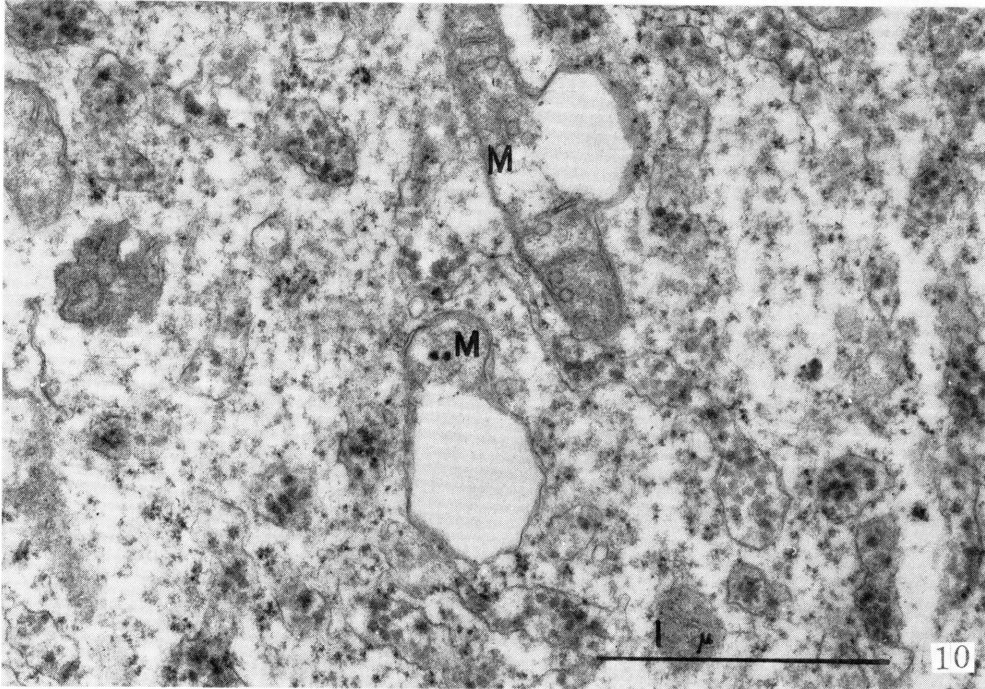
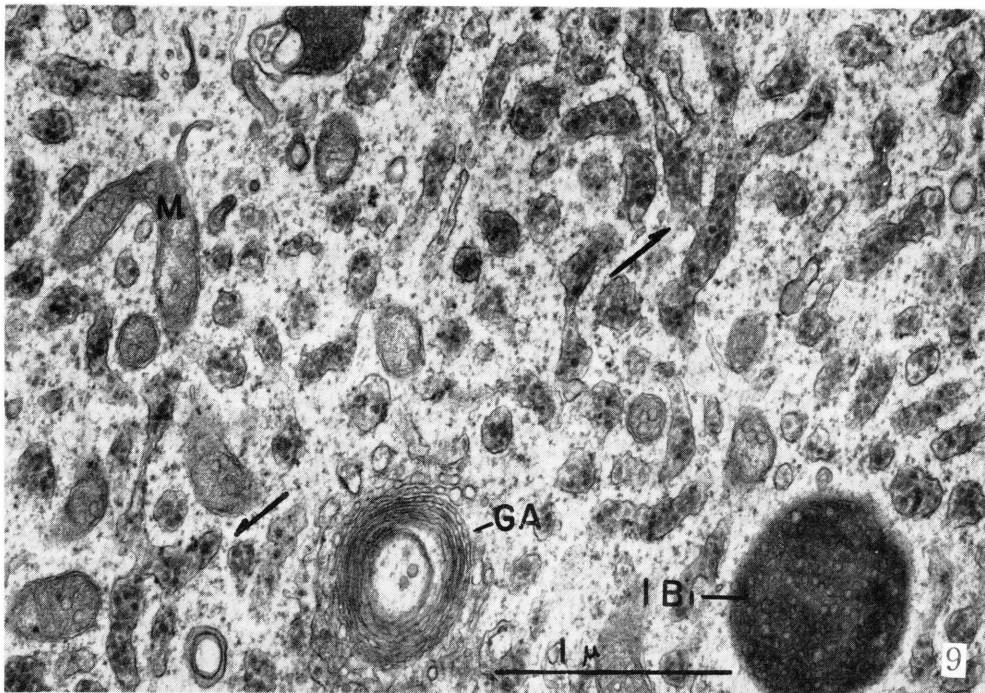
第6図 核膜周囲から細胞質中間域にかけての小胞状の滑面小胞体 (sER) とリボゾーム (R)。

X 120,000



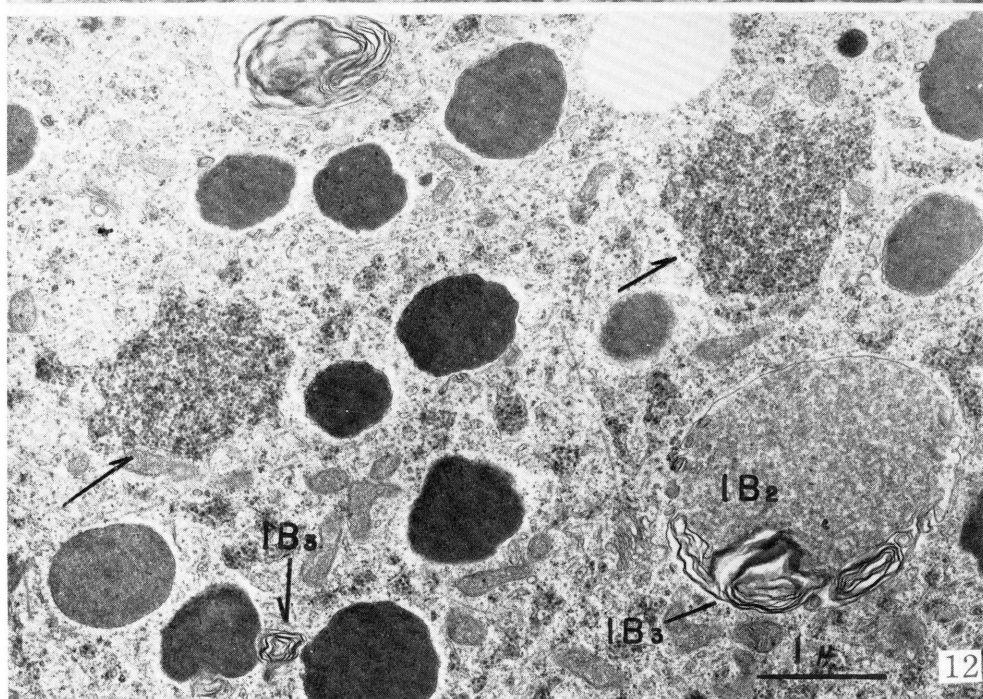
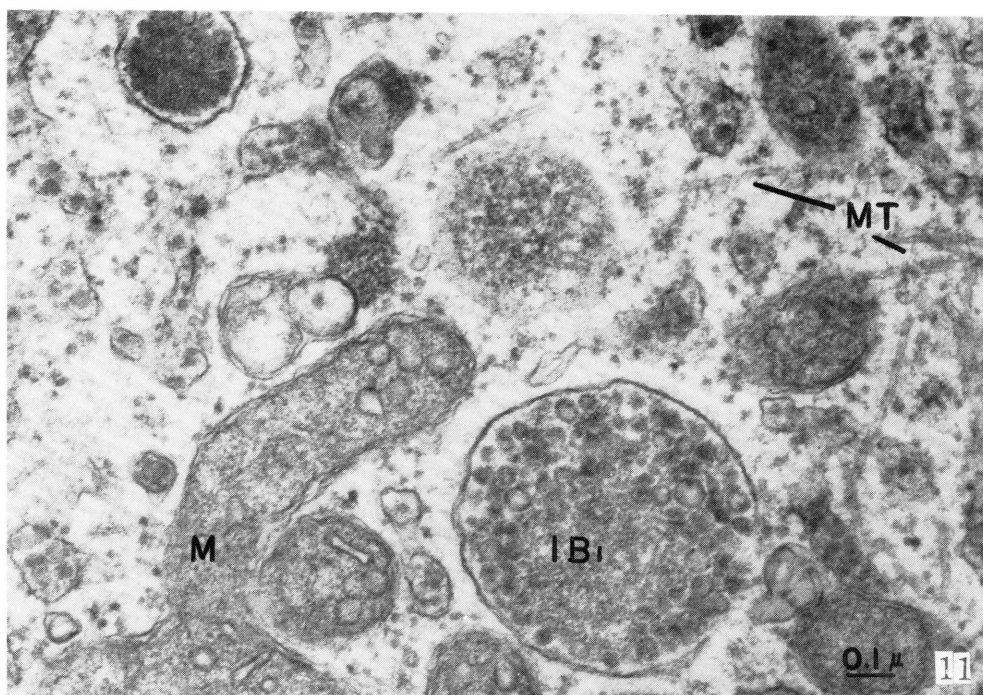
第7図 小囊中で顆粒が集積して、卵黄が形成されている。
矢印は形成の初期段階を示す粗粒状構造。 X 30,000

第8図 矢印は小囊内で顆粒が集積されて卵黄形成中のものを示す。
X 67,000



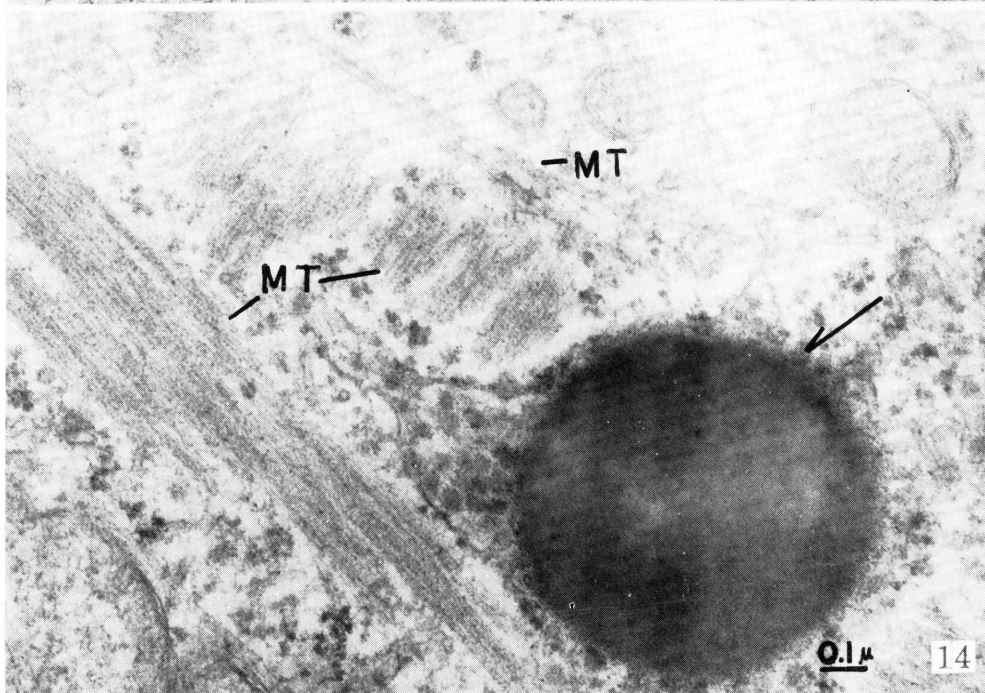
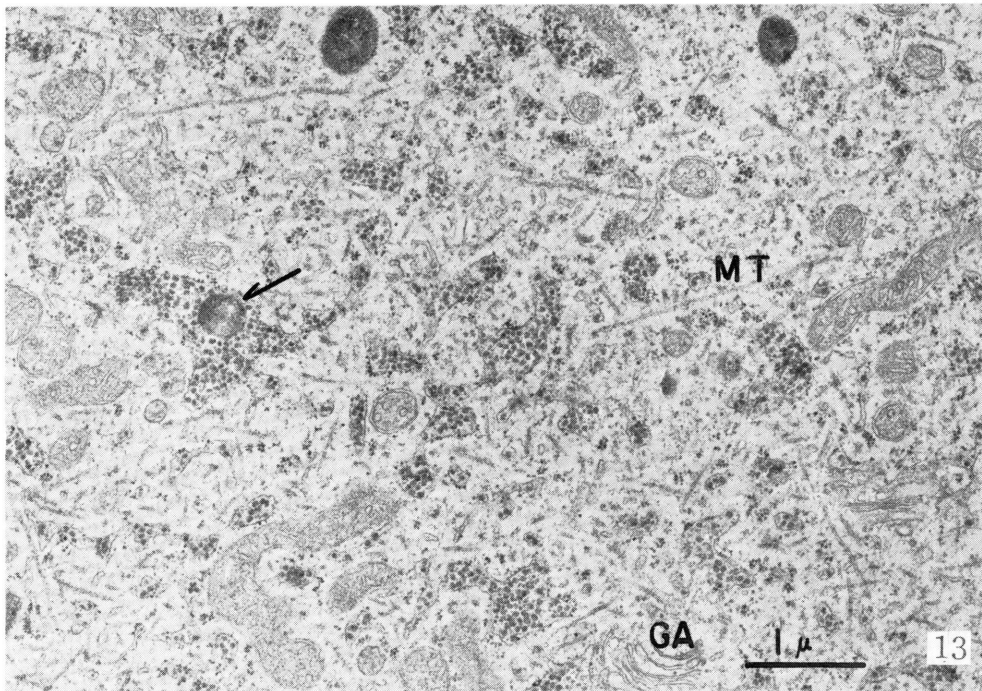
第9図 核周囲から細胞質の中間域における顆粒を含んだ多くの小胞と形成中の網目状構造(矢印)。I B1 : 細胞内含体 I
GA : うずまき状のゴルジ体 M : 枝分かれしたミトコンドリア。
X 31,500

第10図 空胞化して崩壊寸前のミトコンドリア。
X 39,500

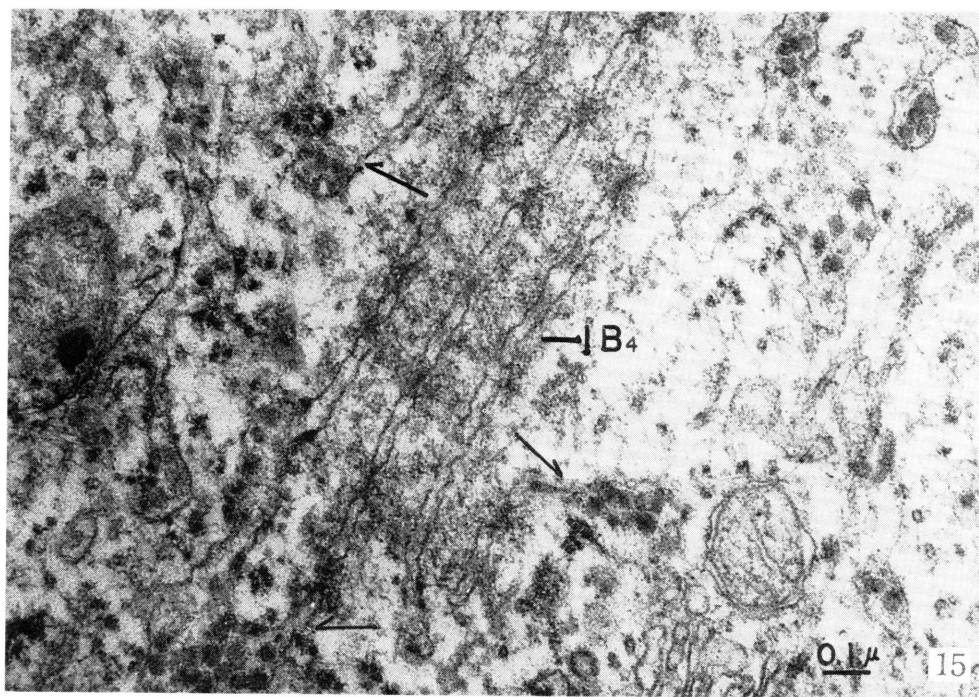


第11図 細胞管の中間域のミトコンドリア(M), 微小管(MT), 細胞内含体I (IB₁)。 X 64,000

第12図 細胞質中間域から周辺部の細胞内含体II (IB₂), III (IB₃)
矢印は, 小囊中に多数の顆粒が集積している様子を示す。 X 17,000



- 第13図 核周囲から中間域の細胞基質中にみられる微小管(MT)。
 矢印は、小囊中で形成中の卵黄体。 GA:ゴルジ体 X 16,000
- 第14図 繊維状の微小管と枝分かれした微小管(MT)。
 矢印は小囊中で形成中の卵黄体。 X 59,000



第15図 アニユレイトラメラ様の構造体(I B4)。
矢印はそれが顆粒を含む小囊と連絡している様子を示す。
X 59,000