

スナヤツメの幼生および成体における肝細胞の 電子顕微鏡観察による微細構造

北 田 仁 一

(1970年9月18日受理)

The Fine Structure of the Liver Cell in Larval and Adult Brook-Lamprey, *Entosphenus reissneri*, Observed by Electron Microscope

Jin-ichi Kitada

In the course of metamorphosis from ammocoetes to adult in *Entosphenus reissneri*, a land-locked lamprey in the streams of Japanese Islands, the gall bladder and its duct disappear, also, cells in the liver undergo a marked change. The liver cells of both ammocoetes and adult forms of the species are observed by electron microscope.

Larval forms—Inter- and intrabile canaliculi are clearly recognized with well-developed microvilli. Endoplasmic reticula with rough surface are normal. Golgi complexes are abundantly accumulated near the bile canaliculi. Golgi vesicles (or vacuoles) contain electron-dense bodies which are believed to represent granules at some stage playing a role in the production of bile. Mitochondria are well developed, besides the passing in the bile canalicules of myelin-like bodies of various types.

Adult forms—Neither inter- nor intracellular bile canaliculi are present. Endoplasmic reticula with rough-surface are formed in stratification. Golgi complexes are typical in general, but of ten accumulation of concentric circles. Mitochondria are regular in form in most cases.

(Department of Biology, Faculty of Liberal Arts and Sciences, University of Osaka Prefecture, Mozu-Umemachi, Sakai, Japan)

スナヤツメは変態を行なうことが知られているが、それにつれて幼生と成魚とにおける肝臓の構成に顕著な変化がみられる。すなわち幼生の肝臓には明らかに保有されていた胆のうおよび胆管が成魚になるにおよんで消失してしまうことが解剖学的に明らかにされている。その際における肝細胞の微細構造の変化を追及するのは興味ある問題である。最近 Bertolini (1965) および Autuori and Bertolini (1965) はイタリア産のヤツメウナギ類 *Lampetra zanandreaei* を、北田・高木 (1967) と谷沢 (1967) は日本産のカワヤツメ *Entosphenus japonicus* (*Lampetra japonica*) をそれぞれ用いて肝細胞の電子顕微鏡的研究をおこない、それらの間に若干異なっているが興味ある所見を発表している。

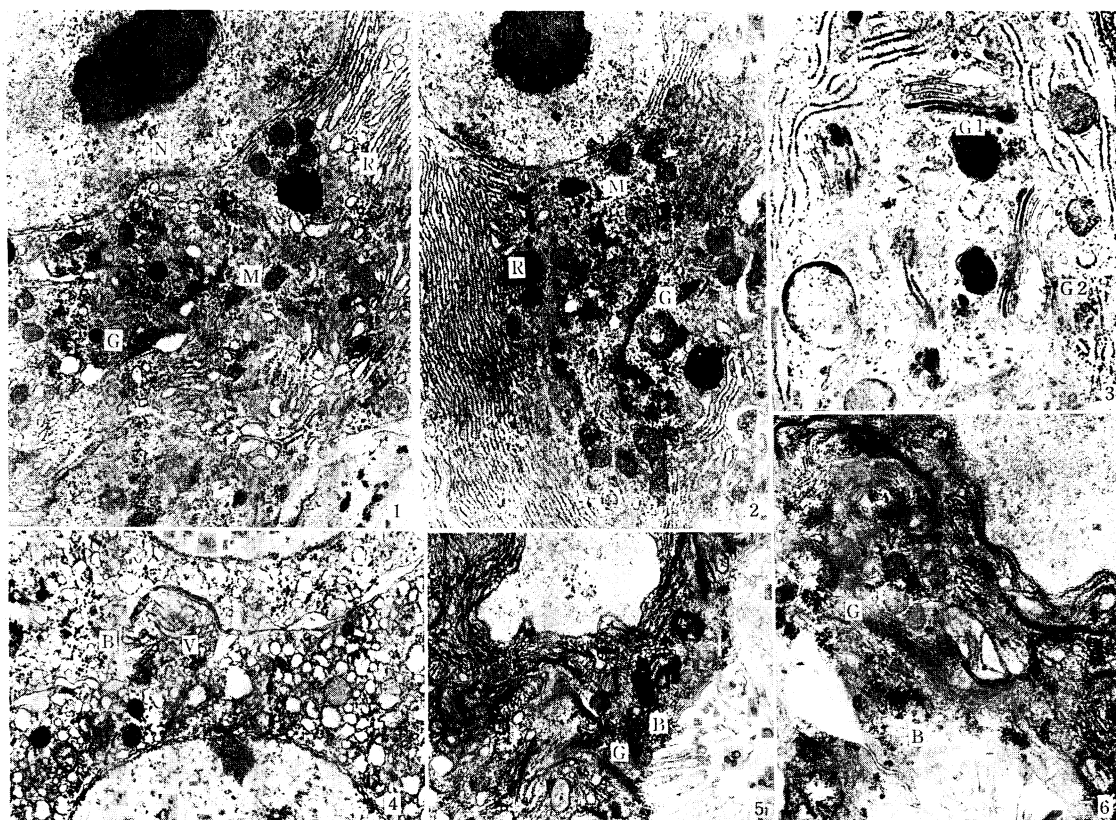
カワヤツメの近縁種でありながら、非常に小型であり、また幼生も成魚も小川の同一場所において同時に容

易に採集することができるスナヤツメを用いて、その各期における肝細胞の微細構造の変化を追及し、若干の知見を得たのでここに報告する。

材料および方法

用いたスナヤツメ *Entosphenus reissneri* は山形県新庄市近郊の最上川にそそぐ最上流の小流(幅 1~2 m) の特定の深くなつたたまり場において、1966年11月初旬、1967年2月初旬および11月下旬の各期に採集したものである。幼生は5~6 cm、成魚は14~16 cmの体長を有するものを用いた。

材料は採集後直ちに開腹を行ない、一部活したまま研究室に持ち帰って開腹を行なった。肝臓をとり出して一辺2~3 mmの小片となし、6% グルタル前固定2時間の後、Dalton 固定液変法(北田・高木、1967)で1



時間固定した。また Daiton 固定液変法のみで1時間単独固定も併せ行なった。脱水はアセトン系またはアルコール系にて行ない、エポキシ樹脂に包埋した。超薄切片の製作には LKB 4800 A ウルトロトームを用いた。切片は酢酸ウラニールと硝酸鉛による二重染色、または後者のみによる単染色を行なった。使用した電子顕微鏡は日立 HU-11 D およびシーメンスエルミスコ IA である。

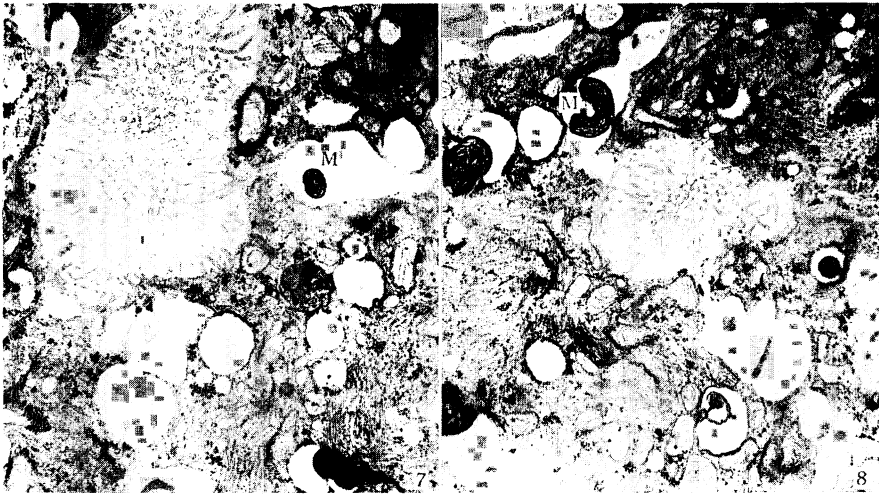
観察結果

スナヤツメ成魚の肝臓もカワヤツメ成魚の肝臓と同じく円錐形を呈し、その尖端部が体腔壁に付着している。そして肝背側正中の凹陷部を腸管が貫通している。肝臓の色は赤褐色を呈する。幼生肝臓においては胆のうおよび胆管が明瞭に存在しており、組織学的検索によって小葉間胆管、細胞間および細胞内胆細管の存在が確認された。これに対し成魚肝臓においては胆のうおよび胆管は全く認められず組織学的検索によっても各胆管は確認されず血管、類洞、類洞血管などが認められた。成魚における肝細胞は、ふつう一核性であるが、時には二核性の細胞もみられる。核の形はほとんど正円形を呈す

る。ところどころに核膜孔あるいは膨潤部をもった内外2層の核膜によって包まれた核質の中央部、あるいはやや偏在して電子密度の高い1個の仁が存在する。

核周には種々な細胞質小器官の存在が認められる。粗面小胞体は核を中心にして同心円状に何層にも堆積した状態を呈するが、核周に対して垂直の状態に配列する場合もある (Figs. 1, 2)。粗面小胞体の端部は時に膨らみをもっているものもある。いずれにせよその発達は顕著であるが、これに対し滑面小胞体の発達はあまりよくない。グリコーゲンの蓄積はほとんど認められない。(Figs. 1, 2)。

ゴルジ装置は典型的な三要素からなり (Fig. 1)、特にゴルジ・ラメラの両端部は著しく膨らんでいる。また興味ある所見としてゴルジ・ラメラが同心円状に堆積し、その中心部域にやや電子密度の高い小果粒の存在がみられる (Fig. 2)。またゴルジ・ラメラの内部やその両端部の膨大部にも電子密度の高い物質が貯留しているのが認められる (Figs. 2, 3)。円形、長円形その他さまざまな形態を有するミトコンドリアが細胞質全域にわたって散在しており、その内部の櫛状構造も正常であるが、稀に



- Fig. 1. A liver cell of the adult form. G. Golgi complex of typical shape; M. mitochondria; N. nucleus; R. rough-surfaced endoplasmic reticula. $\times 9,000$.
- Fig. 2. A liver cell of the adult form. G. typical and circular shaped golgi complexes; M. mitochondria; R. well-developed rough-surfaced endoplasmic reticula. $\times 9,000$.
- Fig. 3. A liver cell of the adult form. G 1. Golgi lamella accompanied by secretion materials; G 2. Golgi vacuoles with diffuse materials. $\times 18,750$.
- Fig. 4. A liver cell of the larval form. B. intercellular bile canalicule; V. well-developed micro-villi. $\times 9,000$.
- Fig. 5 and 6. A liver cell of the larval form. B. inter cellular bile canalicule; G. Golgi complexes. $\times 9,000$.
- Figs. 7 and 8. A liver cell of the larval form. M. myelin-like bodies of various types contrined in bile canalicule. $\times 9,000$.

は不整形を呈する場合もある (Figs. 1, 2).

細胞内および細胞間胆管はすべての材料において全く認められなかった。

変態前の幼生の肝細胞においては細胞内および細胞間胆管の存在が明瞭に認められる (Fig. 4)。それらの胆管における管腔は微細絨毛が通常よく発達して密に充満している。

核の状態は成魚肝細胞に類似し、比較的明るい核質と1~2個のクロマチン塊がみられ、二重の核膜に包まれている。

細胞質には粗面小胞体が存在するが特に顕著な発達を示さないし、また滑面小胞体はほとんど認められない。

これに対しゴルジ装置は胆管の周辺部において顕著な発達を示している (Figs. 5, 6)。それらはゴルジ三要素からなるが、特にゴルジ・ラメラの堆積が増加する傾向が顕著であり、多くの場合6層以上10数層からなる。これらの層状構造は伸展しているが、稀には同心円状を示すこともあり、その場合は中心部に電子密度の高い小

果粒が充満しているのがみられる (Fig. 6)。またゴルジ・ラメラの内部あるいは周辺部のゴルジ・ベシクルの中に電子密度の高い物質が存在しているのが認められる。(Figs. 5, 6)。また胆管周にはグリコーゲン果粒の集塊が散在している (Figs. 5, 6)。

胆管へ開孔している胆細管はところどころ拡張しており、その中にはやや電子密度の高い拡散した物質が貯留されている。さらにそれとは別に、これらの管腔の中にさまざまな形を呈したミエリン様体が含まれているのが認められる。それ等は直径 $0.3 \sim 1 \mu$ で管腔の内部に流入包含されるに至るまでの移行像の各段階が追跡できた (Figs. 7, 8)。胆管周辺にはライソゾーム様の小体が散在している。

ミトコンドリアは大体円形または長円形を呈するが、稀に伸長あるいは不整形のものが混在している。楕状構造も正規であるが、長軸に沿って伸長した状態を示すものもみられる (Figs. 5, 6)。

考 察

円口綱ヤツメウナギ目に属する種類では長い幼生時代を終えて変態するが、その間に胆のうと胆管が消失する種類と、残存する種類とのあることが知られている (Jollie, 1962; Bertolini, 1965; Autuori and Bertolini, 1965; 北田・高木, 1967; 谷沢, 1967)。

スナヤツメは前者に属しており、また幼生と成魚とが同一時期に同一場所において採集可能であることから研究材料として最も好適であると考えられる。

本種幼生の肝細胞のゴルジ装置は顕著な発達を示している。すなわちそのゴルジ・ラメラは多層化の傾向を示し、10層以上におよぶ場合が多い。最近 Flickinger (1969) はラットの精巣上体を胎児期および出生後の各段階につき、ゴルジ・コンプレックスが成長変化する様相を詳細に追及している。彼によると生後3週間の間にゴルジ・コンプレックスは最も急速な発達を示すことが明らかになった。また特に10日目の動物において円形のゴルジ・コンプレックスの堆積がみられることを述べている。スナヤツメにおいても幼生の肝細胞のゴルジ・コンプレックスが成魚のそれよりも発達状態がよいことが認められ、まったく同じ傾向を示すものと考えられる。また幼生の肝細胞において同心円状ないし輪状を呈するゴルジ堆積もみられた。

丸山 (1968) もムラサキツユクサの花粉粒形成過程の電子顕微鏡による観察から、そのゴルジ体は著しい形態的变化を伴って成長、発達する細胞器官であり、輪状構造こそゴルジ体の若い形態を示すものであるといっている。スナヤツメ幼生の肝細胞にみられる特殊なゴルジ堆積はこの現象と同じくその幼若型と考えられる。しかしながら Sakai and Shigenaga (1967) はバッタの精子形成過程を電子顕微鏡を用いて追及して、その分化過程でゴルジ体は平板型からU字型ないし同心円型に変型してゆくことと反対の所見を述べている。これは精子形成という特殊な分化過程にみられる現象と考えられる。

スナヤツメ幼生の肝細胞のゴルジ装置は位置的には細胞内胆管または細胞間胆管の周辺部に認められることが多く、明らかに局在性を示している。またゴルジ・ラメラの中に、あるいは同心円の中心部に電子密度の高い物質または果粒を含むことから、グッピーの肝細胞 (Kitada and Takagi, 1966) の場合と同じく胆汁成分の一部を積極的に分泌していることを示すものとする。谷沢 (1967) はカワヤツメ幼生の肝細胞のゴルジ空胞や小胞の一部が拡張して中に果粒状の高電子密度の物質を貯えていると述べており、彼はさらにこれが peribiliary

dense body に移行すると考えて、直接胆汁成分との関連性についてはふれていない。しかしカワヤツメ幼生の肝細胞におけるゴルジ空胞や小胞内の高電子密度の物質は胆汁成分の一部に含まれることは十分に考えられる。

スナヤツメ成魚肝細胞のゴルジ装置は三要素からなり、特に発達した様相は示さず普通の状態である。成魚においては胆のうが消失することから、それにともなって細胞内または細胞間胆細管も認められなくなる。従って胆管との位置的関連性については論じられなくなる。しかしゴルジ・ラメラ内になお高電子密度の物質が残存しているのが認められる。このものがその後どのように移動してゆくかは興味ある問題であるが、今回の材料では十分に追及することができなかった。

スナヤツメ幼生の肝細胞のミトコンドリアは稀には不整形を呈するものもみられたが、大体において内部のクリスタの発達もよく形態は正常である。成魚の肝細胞においては、不整形のミトコンドリアがやや多くなるが、特に顕著な崩壊像は認められなかった。北田・高木 (1967) はカワヤツメにおいて、その成魚肝細胞に比較的多くのミトコンドリアの崩壊像を観察している。これに対して、Bertolini (1965) は欧州産の *Lampetra zanandrei* の成魚肝細胞のミトコンドリアは時に不規則性を示すのみで、大きな構造上の変化はみられないと述べている。スナヤツメ成魚の場合には後者にみられたと同様な傾向をもっている。これらのことから肝細胞ミトコンドリアは種の相違により、また採集された時期、成熟度あるいは採食状態などにより変化を示すものと思われる。

スナヤツメ幼生肝細胞においては細胞内、細胞間胆細管の発達がみられるのに対して、成魚肝細胞においてはそれらは認められなくなる。

この現象は変態に際して胆のうの消失にともなってみられる肝細胞の当然の変化である。

また興味ある事実として幼生の肝細胞において胆細管に流入する細管の所々に拡大部が生じ、その中に大小さまざまなミエリン様体の存在がみられたことであり、今回の観察ではそれが胆細管へ移動してゆく各段階を追跡することができた。Bertolini (1965) が *Lampetra zanandrei* の成魚肝細胞で、これと類似した物体を認めて myeloid body と呼んでいる。彼はこの中に電子密度の高い物質 (dense body) の存在を認め、myeloid body の中で胆汁色素が濃縮されると考えた。また彼はこの他に myeloid body に包まれた多分 apoferritin と思われる結晶の存在について述べ、これを crystalline body と呼んでいる。スナヤツメの場合にはミエリン様

体の中に dense body は観察されないし、また crystal line body に相当するものも存在しなかった。

Bertolini (1965) は myeloid body のはたらきを重要視しているが、この小体に特殊な胆汁色素の濃縮というはたらきは期待されず、単なるフォスホリピッド性の物質と考えられる。したがってスナヤツメ肝細胞でみられたミエリン様体と本質的には著しく異なるものではなからう。

要 約

スナヤツメ *Entosphenus reissneri* は変態に伴って肝臓に顕著な変化が生じ、胆のうおよび胆管が消失する。この際における肝臓の微細構造の変化について電子顕微鏡を用いて研究した。

幼生の肝細胞では細胞間および細胞内胆管は明らかに認められ、その管腔は microvilli がよく発達し密になっている。粗面小胞体の発達はふつうであるが、ゴルジ装置はよく発達しており、特に胆細管に接近して集積する傾向がみられる。そしてその小のうや空胞の内部に電子密度の高い物質が認められ、これは胆汁構成成分の一部となるものと考えられる。これとは別に胆細管あるいはそれに連なる細管の中に顕著なミエリン様体(直径 $0.3\sim 1\mu$) の移行状態が追跡された。ミトコンドリアもよく発達した状態を示す。

これに反し成魚の肝細胞では細胞間および細胞内胆管は全く認められない。粗面小胞体はよく発達し層状構造を呈する。ゴルジ装置は典型的な様相を示す。ミトコンドリアは普通であるが、時に不規則な形状を呈するものがみられる。

謝 辞

スナヤツメの採集には、山形大学理学部の久佐守博士の御教示と、山形県立新庄北高等学校の大竹正治氏の御協力とによって、生鮮材料を多数入手することが出来

た。また材料の固定に際しては久佐研究室を使用させて頂いた。明石製作所の酒井俊男氏には電子顕微鏡技術について種々適切なる助言と、シーメンスエルミスコ IA による電顕写真撮影の便宜をはかって頂いた。これらの諸氏に対してあつく御礼を申し上げる。

引用文献

- Autuori, E. and B. Bertolini. 1965. A study of some acid hydrolases in the liver of the larval and adult lamprey. *Z. Zellforsch.*, 68: 818-829.
- Bertolini, B. 1965. The structure of the liver cells during the life cycle of a brook-lamprey (*Lampetra zanandrei*). *Z. Zellforsch.*, 67: 297-318.
- Elias, H. and J. C. Sherrick. 1969. Morphology of the liver. pp. 5-74.
- Flickinger, C. J. 1969. The pattern of growth of the Golgi complex during the fetal and postnatal development of the rat epididymis. *J. Ultrastructure Res.*, 27: 344-360.
- 石川栄世, 安田寛基, 藍沢茂雄, 万屋 裕. 1965. 肝細胞の微細構造. *最新医学* 20: 264-276.
- Jollie, M. 1962. Chordate morphology. Reinhold Publ. Corp., N. Y., 275-278.
- Kitada, J. and S. Takagi. 1966. Electron microscopic study on the liver cell of the guppy, *Lebistes reticulatus*. *Bull. Univ. Osaka Pref.*, Series B, 18: 1-9.
- 北田仁一, 高木俊蔵. 1967. カワヤツメ肝細胞の電子顕微鏡的観察, 特にゴルジコンプレックスについて. *動 雑*, 76: 154-160.
- 丸山圭蔵. 1968. ゴルジ体の発達. *化と生*, 6: 308-309.
- Sakai, A. and M. Shigenaga. 1967. Behavior of cytoplasmic membranous structures in spermatogenesis of the grasshopper, *Atractomorpha bedeli* Bolvar. *Cytologia*, 32: 72-86.
- 谷沢義弘. 1967. カワヤツメ幼魚と成魚の肝の微細構造の比較. 日本電子顕微鏡学会第 23 回学術講演会講演予稿集 p. 52.
- (大阪府堺市百舌鳥梅町 大阪府立大学教養部生物学教室)