

異型精子細胞における膜構造の電子顕微鏡的研究

奈良県立医科大学解剖学教室電子顕微鏡研究室 (主任 安澄教授)

手塚 治

ELECTRON MICROSCOPE STUDY ON MEMBRANE STRUCTURE
OF ATYPICAL SPERMATIDS

OSAMU TEZUKA

*Electron Microscope Research Laboratory, Department of Anatomy, Nara Medical College**(Director : Prof. G. Yasuzumi)*

The fine structure of the membrane of cell organelles appearing in the atypical spermatid of *Cipangopaludina malleata* Reeve has been studied in thin sections by an electron microscope.

The porous structure has been revealed in the wall of the flattened sacculus consisting the Golgi complex. The walls are calculated 35 Å thick. The mitochondria consist of a small number of tubules and an osmiophilic matrix. The mitochondria represent a complex system of tubules projected from the inner layer of the limiting membrane, and the tubules consist of double dense membrans involving a less dense interspace. The mitochondria aggregated along the developing tail filaments coalesce to form an elongated mass of relatively large size. The limiting membrane of the rough-surfaced endoplasmic reticulum appears apparently to be a single layer, which makes its appearance in the area where the tail filaments develop. The smooth surfaced endoplasmic reticulum is bordered by a double layered membrane consisting two opaque layers with a less opaque interspace. The vesicles containing dense granules, which represent the smooth surfaced endoplasmic reticulum, migrate to the cell periphery. The smooth surfaced endoplasmic reticulum seems to function as an intracellular conductor.

緒 言

最近電子顕微鏡によつて得られた顕著な業績は膜に関する知見であろう¹⁾。この膜というのは形質(細胞)膜、核膜、髄鞘及び細胞小器官等を構成する被膜のことである。これらは電子顕微鏡によつて、一重または二重の膜から成ることが明らかとなつた。しかるに従来膜があると考えられていた仁や染色体には膜がないことが明らかとなつた。Robertson はすべて unit membrane²⁾ から成るといふも、安澄³⁾は smooth surfaced endoplasmic reticulum は unit membrane から成るも、rough surfaced endoplasmic reticulum は一重膜であることを明らかにした。この所見は Karret⁴⁾の肺上皮における知見

と一致する。

著者等は既にミトコンドリア、Golgi 氏器官及び rough surfaced endoplasmic reticulum の微細構造について模型図を掲げて報告したが⁵⁾、これらの細胞小器官が細胞の機能によつて、移動、変形するに当つて、膜構造の変化を観察して、興味ある所見を得たので、ここに報告する次第である。

実験材料として *Cipangopaludina malleata* Reeve の辜丸を選んだのは、この精子細胞は細胞小器官に富み、かつ著しい変遷をなすので、本研究の目的に沿うがためである。特にこの材料の異型精子細胞の細胞質中には、他

に見られない所見, 即ち細胞質中に DNA 顆粒の出現が見られるからである. さらに rough surfaced endoplasmic reticulum が成熟早期には多数現われるも, 成熟にともない次第にその数を減じて, smooth のものに変移する. これらの小器官と Golgi 氏器官との関連など多くの興味ある問題がある.

以上の諸問題について既に 2, 3 の所見を著者等³⁾は報告したが, さらに新しい材料で, 最近得た映像を掲げ, 考察を試みたのが, 本研究である.

実験材料及び方法

実験材料としてマルタニシ, *Cipangopaludina malleata* Reeve の辜丸を用いた. 摘出した辜丸を手早く約 2 mm 大の小片に切り, これらをペロナール醋酸緩衝液をもつて pH7.2 に調節した 1% オスミック酸で 1~2 時間, 10°C で固定した. 固定後, 水洗を行なうことなく直ちに上昇アルコール (70%, 80%, 90%, 95%, 100% アルコール) で脱水した. 脱水後, メチルメサクリレートとブチルメサクリレートとを 20:80 の割合に混合した包埋剤に重合済として 2,4-dichlorobenzoyl peroxide を 2% の割合に混じ, 46°C で重合包埋した. Porter-Blum のマイクロトームを用い, ガラスナイフで超薄切片とした. これを電子顕微鏡で 18,000 倍で直接観察し撮影して適当の大きさの写真に拡大して附図とした.

実験成績

異型精子細胞の細胞小器官の微細構造について, 高倍率の電顕像によつて観察した.

1) Golgi complex の微細構造 (第 1, 2, 3 及び 6 図)

本小器官は一定の限界なく, rough または smooth surfaced endoplasmic reticulum の間に介在する. これは層状構造と小胞体から成るが, 小胞体の直径と層状体の各層の幅とが同じであるから小胞体は層状体の横断像と考えられる. また両者の密度も同じであるから, この考えは間違いないと思われる. 各層は 3 層, 即ち電子密度小なる中間層と, これを包む 2 外層から成る. 前者の幅は 80~260 Å で, 後者のそれは 350 Å である.

第 1 図において Golgi complex は一連の endoplasmic reticulum によつて 2 区域に分たれている. 2 乃至 5 層の層状構造は略々平行しているが, 全体として僅に彎曲している.

第 2 図では層状構造の彎曲は大であつて, 環状体の一

部を示すように見える. 電子密度中等の内容を有する小胞 (直径 150~330 Å 大) が層状体の内方に, または層状体と平行に並ぶ.

第 3 図は Golgi zone の強拡大像であるが, 強拡大によつて膜の微細構造が明らかである. 層状構造は少なくとも 6 層から成り, 各層における電子密度大なる 2 層と, その間の間隙が明瞭である. この層状構造の周囲に認められる大小の滑面の胞体は Golgi complex に属する. endoplasmic reticulum とは容易に区別できる. smooth surfaced endoplasmic reticulum はその内容として密度大なる顆粒を有し, 他は rough surfaced endoplasmic reticulum であつて, その膜に 100~150 Å 大の顆粒が附着しているの, Golgi complex とは異なる. Golgi complex に属する胞体を形成する膜の厚さは rough surfaced endoplasmic reticulum と smooth surfaced endoplasmic reticulum との中間であつて, しかも小孔構造 (附図矢印) を示すことが興味ある点である.

正型精子細胞の Golgi complex の胞体の中には, しばしばオスミック好性の物質を容れ, これが次第にその量を増し, 遂に尖体へと発達するのが, セキツイ動物の精子細胞で見られる事実である. この異型精子細胞では, この胞体の中には, 稀にオスミック好性小顆粒あるも, セキツイ動物のそれで見られるものと異なる.

第 6 図は尾部軸糸形成部位を含む細胞質の横断像であつて, この領域に Golgi 氏器官が認められる. 同器官は層状構造と, これに接する胞体から成り, 密度大なる顆粒を有する. endoplasmic reticulum とは無関係のように見える.

2) ミトコンドリアの微細構造 (第 4, 5 及び 6 図)

異型精子細胞のミトコンドリアはセキツイ動物の腺細胞で見られるような crista を有しないで, 不規則に並んだ少数の管状体を備え, その間にオスミック好性中等度の基質を以て満される.

第 4 図では核及び中心体は細胞の周辺に移動し, 尾部軸糸が細胞質を透うして発達する過程を示す. 楕円形の profile を示すミトコンドリアは, その長軸を軸糸に沿うて平行に並ぶ. 二重の限界膜で包まれ, オスミック好性膜の厚さは 30 Å で, その中間の層は 70 Å である. crista に代つて少数の管状体があつて, その大部分はミトコンドリアの長軸に沿うて走る傾向を示す. この管状体の壁の厚さと, その中間層の幅の限界膜の厚さと略々同一である.

第 5 図は異型精子細胞の変態後期の像であつて, 核は不正形に扁平に細胞の先端に移動して, 形質膜に接す

る。この時期においては、尾部軸糸の間にあつて、融合して軸糸に平行して縦走する。ミトコンドリアの限界膜は明瞭に認められるが、管状体は全く乱れて不明瞭となる。amorphous な基質は中等度オスミック好性である。

上記2枚の附図はミトコンドリアの縦断像であるが、第6図は横断像である。前記の附図を立証するかのようになり、ミトコンドリアは尾部軸糸の間に多数集合して現われ、その他の部位には現われない。尾部軸糸束は12個を数える。

3) endoplasmic reticulum の微細構造 (第1~5図)

smooth-surfaced endoplasmic reticulum の略語を S.E.R. で示し、rough-surfaced endoplasmic reticulum を R.E.R. で示す。

R.E.R. は Golgi zone に接して現われて、この小器官と関連があるかのように見える (第1~3図)。即ち第2及び3図においては、層状構造の一端が R.E.R. に直接連絡しているように見えるが、断定するためには、さらに明瞭な映像を得る必要がある。興味あることは第4図で見られるように、R.E.R. が尾部軸糸発達域に多数に現われることである。R.E.R. は一重の限界膜 (厚さ約60Å) から成り、その表面に直径120~150Å大の微細顆粒が附着する。R.E.R. の間の細胞質基質にも120~150Å大の微細顆粒が存在する。R.E.R. は細胞が伸展するにつれて、引き延ばされたように見える。また互に連結して、ヒョウタン形を示すものもある。この関係は第5図において顕著であつて、ミトコンドリアの連結像に平行して管状体として現われ、限界膜の表面の Palade の顆粒は著しく減少する。

第6図において見られるように、R.E.R. は細胞の中央特に尾部軸糸形成領域の周辺及び Golgi zone に接して存在する。

異型精子細胞における S.E.R. は密度大なる顆粒を有する。この顆粒は Feulgen 反応陽性物質、即ち DNA であることは既に Yasuzumi & Tanaka⁷⁾によつて証明報告されている。S.E.R. は Golgi zone の周辺において認められ、R.E.R. よりも距つてあるように見える (第1~3図)。勿論この S.E.R. の限界膜には顆粒なく、その膜の厚さは、R.E.R. よりも厚く、二重性である。

尾部軸糸の発達において、その領域に稀に S.E.R. を認めるが、大部分は周辺に位して、あたかも軸糸の発達に直接関係がないように見える。

異型精子細胞核が細胞の一端に転位した時期においては、S.E.R. は核に接して現われることなく R.E.R. のみが見られる。

第6図においては、DNA を含む S.E.R. は次第に細胞の周辺に偏在するようになる。かつ顆粒は次第に融合して大となり、胞体を埋めるようになる。

考 察

Dalton & Felix⁸⁾は Golgi 氏器官をハツカネズミの副睾丸及び十二指腸で観察して、扁平な囊状から成る層状体と、これに関連する空胞、胞体と顆粒から成立することを明らかにして以来、同氏の発表は他種動物の種々の細胞においても肯定されている。ムセキツイ動物においては、Gatenby ら⁹⁾、Grassé^{10,11)}、Grassé ら¹²⁾、Grassé et Carasso¹³⁾、Beams ら¹⁴⁾、Noirot-Timothee¹⁵⁾、Yasuzumi¹⁶⁾、Yasuzumi & Tanaka⁷⁾、Yasuzumi⁹⁾らによつて同様な構造が Golgi 氏器官において認められている。

Yasuzumi ら⁹⁾は Golgi 氏器官を構成する膜において、小孔構造を始めて観察した。本研究においても、この事実を高倍率の映像において観察することを得た。さらに Golgi 氏器官が S.E.R. よりも R.E.R. と密接な関係にある多数の映像を得た。如何なる関係にあるかを断定することはなお早期であるが、興味ある事実と推察される。

多くの研究において、Golgi complex と S.E.R. とが区別され難く、混同して発表された論文を見ることが多いが、本研究において両者の区別は明瞭であつた。前者は小孔構造を備え、後者は二重膜構造である。Golgi 氏器官の層状体の各層が扁平な囊状であることは前回の報告に合致する。またその壁の厚さが70Åで、その中間層の幅が80~260Åであることも全く前回の報告に合致する。即ち Golgi 氏器官を構成する各要素は正型精子細胞と異型精子細胞とにおいて相違のないことを物語るものである。

ミトコンドリアの cristae は、それが発見された当時に考えられたように、ミトコンドリアの長軸に対して直角に平行に並ぶものでないことが既に緒言において述べたように明らかとなつた。この異型精子細胞において見られるように、crista というよりも、先端のつまつた盲

管という方が適当な表現であろう。この管状体の数は少なく、むしろオスミック好性物質でその基質は充滿される。これは酵素であるかも知れぬ。

尾部軸系の発達と共に、その領域に集合し、遂に軸系と平行して一列に縦列に並ぶことは、ホニウ動物のミトコンドリア鞘の形成によく似る¹⁷⁾。この場合には多数の軸系束（この材料では12本）の間に介在して、あたかも軸系形成に関与し、さらに軸系を支持するかのように見える。

E.R. が発見以来、多数の報告が S.E.R. を構成する限界膜は一重であると述べているが、Yasuzumi ら⁹⁾によつて始めて二重であることが報告された。さらに Yasuzumi¹⁰⁾によつて R.E.R. は一重膜であるが、S.E.R. は二重であつて、両者は機能的に異なるものであることを明らかにされた。

本研究においても、明らかに R.E.R. は一重膜構造で、S.E.R. は Yasuzumi ら⁹⁾の報告のように二重膜構造である。両者の細胞内における位置を考えると、その機能の異なることが判る。尾部軸系形成に当つて、R.E.R. はこの領域に現われ、次第にその表面の RNA 顆粒を失い、互に連結して細長い管状体となることから推察して、RNA が軸系の形成に関与することが明らかである。次いで R.E.R. は軸系を分離する隔壁として作用することも明らかとなつた。

Robertson⁸⁾はあらゆる生物膜は二重膜を以つて単位とすると述べ、この膜を unit membrane と称えた。しかし本研究の示すように R.E.R. は一重であつて、Robertson の unit membrane 説は正当でないと言えるであろう。

S.E.R. は Yasuzumi ら⁹⁾の説のように、少なくとも *Cipangopaludina malleata* の異型精子細胞では輸送器官として作用するように、映像から判断される。即ち核物質が細胞の周辺に S.E.R. に現われる。第6図の映像がこの事実を明白に物語る。

結 語

1. *Cipangopaludina malleata* Reeve の睾丸の超薄切片を Siemens Elmiskop I で観察し、異型精子細胞中に現われる膜構造を明らかにした。

2. Golgi complex は層状体と大小の胞体から成る。

層状体の各層は扁平な小囊状であつて、その壁の厚さは 35Å で、その中間層の幅は 80 乃至 260Å である。

3. Golgi 氏器官を構成する膜は小孔構造を備える。この細胞器官は R.E.R. と直接関連しているように見える。

4. ミトコンドリアの限界膜と、これより内方に突出する管状体は全く同一構造を示し、幅 70Å の中間層を包む厚さ 30Å の膜から成り、管状体の先端は盲管である。

5. ミトコンドリアは尾部軸系の形成に関与し、最後には索状体として軸系を支持するかのように見える。

6. S.E.R. は二重膜から成るが、R.E.R. は一重膜から成る。従つて Robertson の unit membrane 説は R.E.R. には適応しない。

7. R.E.R. はその存在部位から考えて、尾部軸系発達の資源として作用すると思われる。palade の顆粒を失つた長形の管状体は軸系を隔離する膜として作用する。

8. S.E.R. は本細胞においては輸送器官として働くものと思われる。

文 献

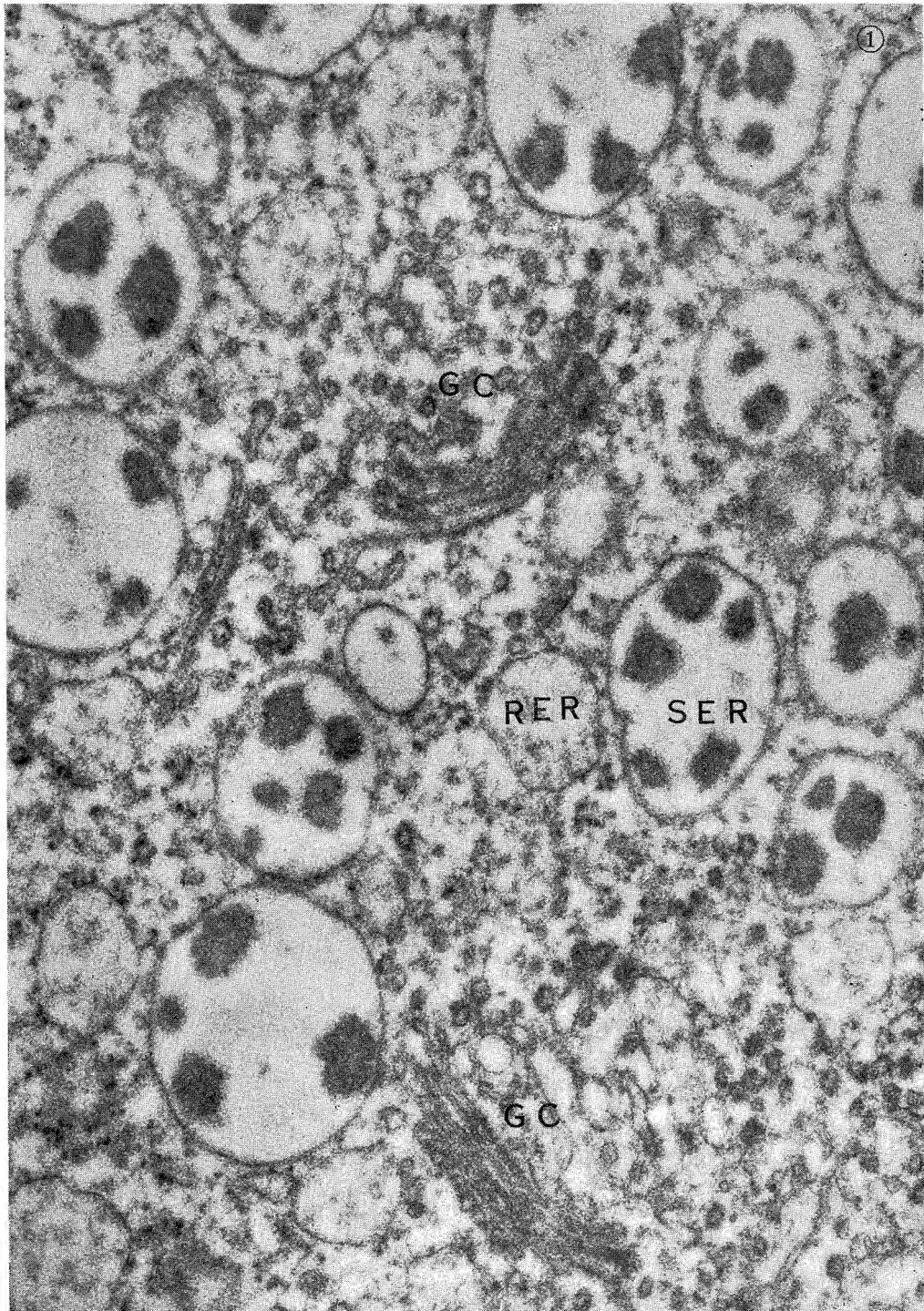
- 1) 安澄権八郎：生体の科学 **11**, 53, 昭35.
- 2) Robertson, J.D. : Biochem. Soc. Symp. **16**, 3, 1959.
- 3) Yasuzumi, G. : The VIIth International Congress of Anatomists, Symposium on Fine Structure 1960 (投稿中).
- 4) Karrer, H.E. : J. Biophysic. and Biochem. Cytol. **4**, 693, 1958.
- 5) Yasuzumi, G., Tanaka, H., Tezuka, O. and Nakano, S. : Z. Zellforsch. **50**, 632, 1959.
- 6) Yasuzumi, G., Tanaka, H. and Tezuka, O. : J. Biophysic. and Biochem. Cytol. **7**, 499, 1960.
- 7) Yasuzumi, G. and Tanaka, H. : J. Biophysic. and Biochem. Cytol. **4**, 621, 1958.
- 8) Dalton, A. J. and Felix, M. D. : Am. J. Anat. **92**, 207, 1953.
- 9) Gatenby, J.B., Dalton, A.J. and Felix, M.D. : Nature **176**, 301, 1955.
- 10) Grassé, P. P. : C.R. Acad. Sci. (Paris) **242**, 858, 1956.

- 11) Grassé, P. P. : C.R. Acad. Sci. (Paris) **243**, 1278, 1957.
- 12) Grassé, P.P., Carasso, N., and Favard, P. : C.R. Acad. Sci. (Paris) **241**, 1243, 1955.
- 13) Grassé, P.P. and Carasso, N. : Nature **179**, 31, 1957.
- 14) Beams, H.W., Tahmisian, T. N., Devine, R. L. and Anderson, E. : J. Biophysic. and Biochem. Cytol. **2**, No. 4, suppl. 123, 1956.
- 15) Noiroth-Timothée, C. : C.R. Acad. Sci. (Paris) **244**, 2847, 1957.
- 16) Yasuzumi, G., Fujimura, W. and Ishida, H. : Exptl. Cell Research **14**, 268, 1958.
- 17) Yasuzumi, G. : J. Biophysic. and Biochem. Cytol. **2**, 445, 1956.

ENPLANATION OF FIGURES

PLATE 58

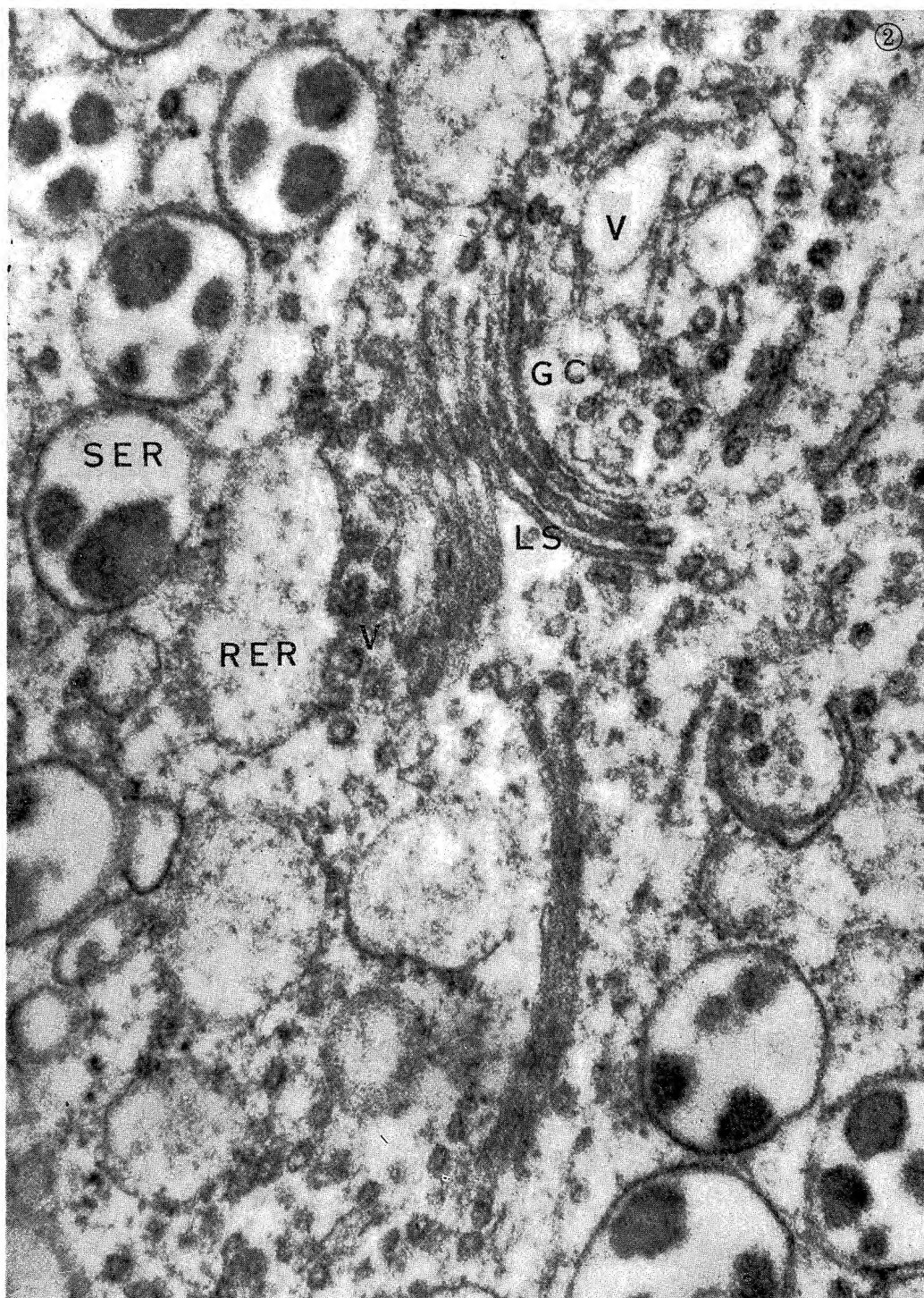
Fig. 1. Atypical spermatid, showing the Golgi complex (GC), rough surfaced endoplasmic reticulum (RER), smooth surfaced endoplasmic reticulum (SER) containing dense granules. $\times 70,000$.



(O. Tezuka : Electron microscope study on membrane structure of atypical spermatids)

PLATE 59

Fig. 2. Atypical spermatid, showing the Golgi complex (GC) of lamellar structure (LS) and vesicles (V), RER and SER. $\times 85,000$.



(O. Tezuka : Electron microscope study on membrane structure of atypical spermatids)

PLATE 60

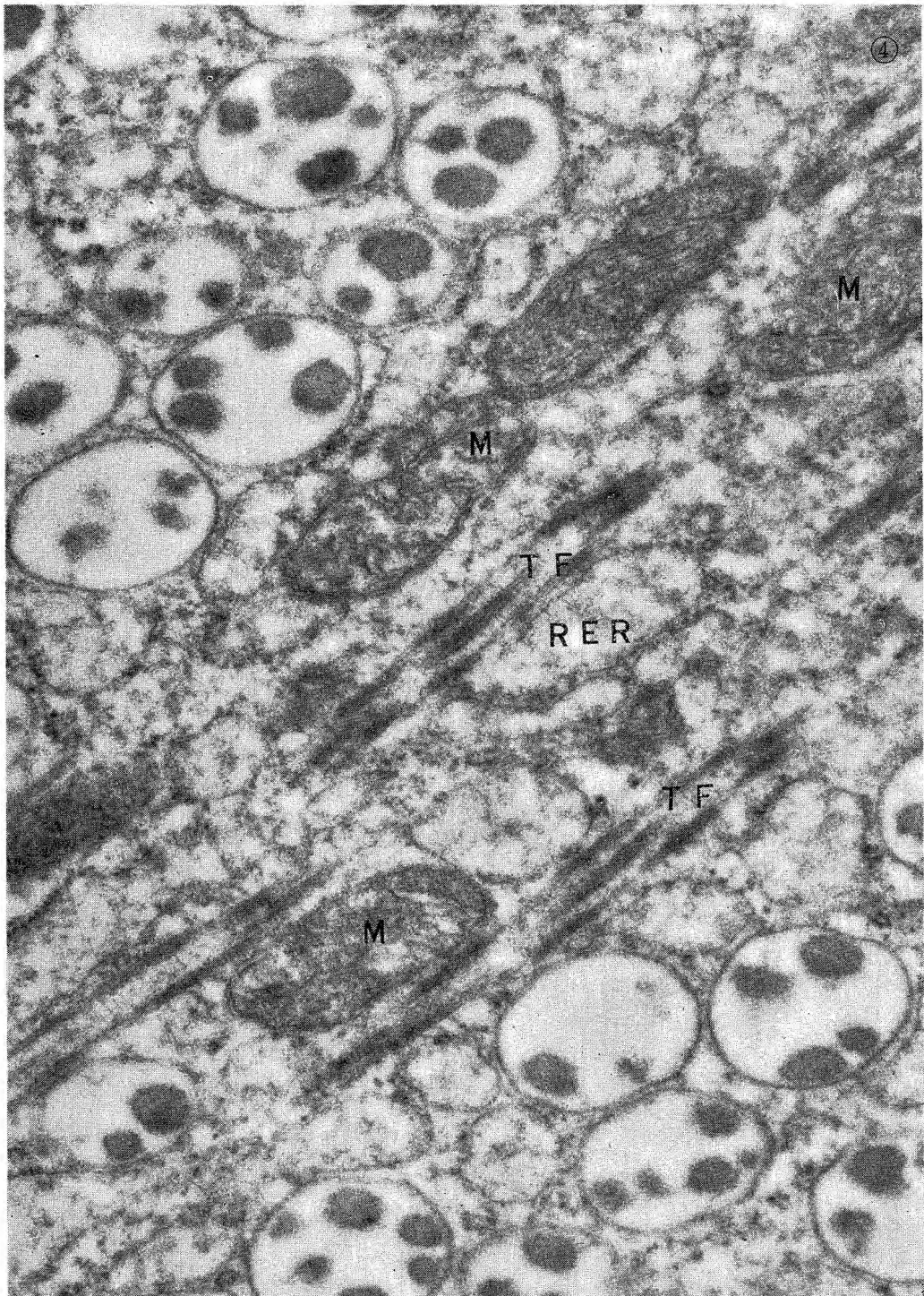
Fig. 3. The porous structure is visible in the wall of the Golgi complex at the points marked by the arrows. $\times 130,000$.



(O. Tezuka : Electron microscope study on membrane structure of atypical spermatids)

PLATE 61

Fig. 4. The tail filaments (TE) develop through the cytoplasm of the atypical spermatid. Mitochondria (M) and RER appear along the developing tail filaments. $\times 68,000$.



(O. Tezuka : Electron microscope study on membrane structure of atypical spermatids)

PLATE 62

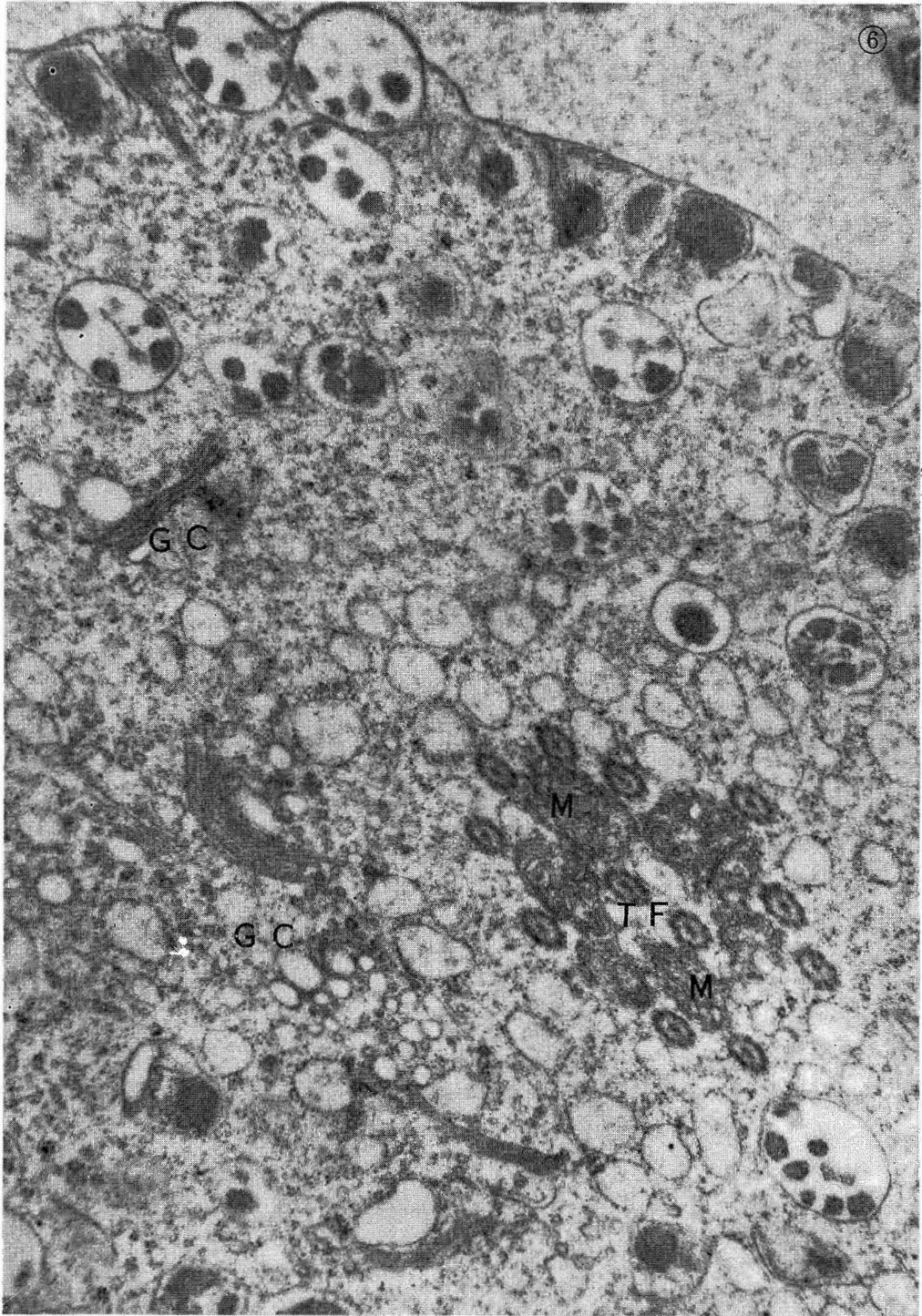
Fig. 5. A longitudinal section of an atypical spermatid lodged in a deep indentation of the surfaced of the nutritive cell (NC). The atypical spermatid nucleus (N) is reduced to a thin arched profile. The centriole is marked by C. Mitochondria (M) is confused to a strand-shaped body. $\times 68,000$.



(O. Tezuka : Electron microscope study on membrane structure of atypical spermatids)

PLATE 63

Fig. 6. The SER containing dense granules migrate to the periphery. The Golgi complex (GC) consists of lamellar structure and vesicles. Mitochondria (M) are aggregated in the area where the tail filaments (TF) develop. $\times 33,000$.



(O. Tezuka : Electron microscope study on membrane structure of atypical spermatids)