

スジアイナメの卵巣壁および卵巣薄板上皮細胞の分泌能

古屋康則¹・宗原弘幸²・高野和則³

¹〒085 釧路市桂恋 116 水産庁北海道区水産研究所

²〒041-16 北海道南茅部町字臼尻 152 北海道大学水産学部附属臼尻水産実験所

³〒905-02 沖縄県本部町字瀬底 3422 琉球大学熱帯海洋科学センター

Secretion Abilities of Epithelia of Ovarian Wall and Ovigerous Lamella Lining the Ovarian Cavity of Masked Greenling, *Hexagrammos octogrammus*

Yasunori Koya,¹ Hiroyuki Munehara² and Kazunori Takano³

¹Hokkaido National Fisheries Research Institute Fisheries Agency, 116 Katsurakoi, Kushiro, Hokkaido 085, Japan

²Usujiri Fisheries Laboratory, Hokkaido University, 152 Usujiri, Minami-kayabe-cho, Hokkaido 041-16, Japan

³Sesoko Marine Science Center, University of the Ryukyus, 3422 Sesoko, Motobu-cho, Okinawa 905-02, Japan

(Received March 1, 1993; in revised form April 12, 1993; accepted May 21, 1993)

Examination was made of the ultrastructure of the epithelial lining of the ovarian wall and the ovigerous lamellae in the ovary of female masked greenling, *Hexagrammos octogrammus*, to determine the origin of the jelly-like ovarian fluid present in the ovarian lumen during the spawning period.

The surface of the ovarian wall and ovigerous lamellae were each covered with monolayered epithelium resting on the basement membrane. During the spawning period, microvilli were present on the apical surface, and remarkable increases in mitochondria, rough-surfaced endoplasmic reticula and Golgi apparatus were noted. Many secretory vesicles were separate from the Golgi apparatus. Microapocrine secretion and exocytosis occurred at the tips and basal parts of the microvilli, respectively, throughout the spawning period. In one case macroapocrine secretion from the ovarian wall epithelium was observed and is suggested as representing the time of most active secretion. The endocytotic uptake of secretory substances at the basal and lateral parts of the epithelium was evident from an experiment using horseradish peroxidase as a tracer.

The results indicated that the components of the jelly-like ovarian fluid are synthesized and secreted not only from ovarian wall epithelium, but also from ovigerous lamella epithelium, the modes of secretion from these epithelia comprising microapocrine, macroapocrine and exocytotic mechanisms.

硬骨魚類の卵巣は生殖輸管との関連から裸状型と嚢状型とに大別される (Hoar, 1957)。これらいずれの卵巣型においても、排卵された卵は粘性を帯びた液に浸漬されている。一般にこのような液は、裸状型の卵巣を持つ種では体腔液、嚢状型の卵巣を持つ種では卵巣液または卵巣腔液と呼ばれている。これらの液については、未受精卵の保存効果 (Ginzburg, 1972; 高野ほか, 1973)、精子の運動活性の促進効果 (Ginzburg, 1972; Scott and Baynes, 1980)、および産卵の際の潤滑化 (高野, 1974) など様々な機能を有することが知られている。一方、これらの液

の起源についてもいくつかの報告がなされている。裸状型の卵巣を持つサケ科のサクラマス *Oncorhynchus masou* では、体腔液は血清由来の成分に加えて、体腔壁および卵巣間膜の上皮細胞によって合成、分泌された物質から成ることが免疫組織化学的手法により明らかにされている (松原, 1988)。一方、嚢状型の卵巣では、裸状型の体腔壁に相当する卵巣壁の上皮が卵巣腔液を産生することが数種で示唆されている (K. Yamamoto, 1963; T. S. Yamamoto, 1963; Fishelson, 1977; Brummett et al., 1982; Lombardi and Wourmus, 1985)。一方、卵巣壁上皮

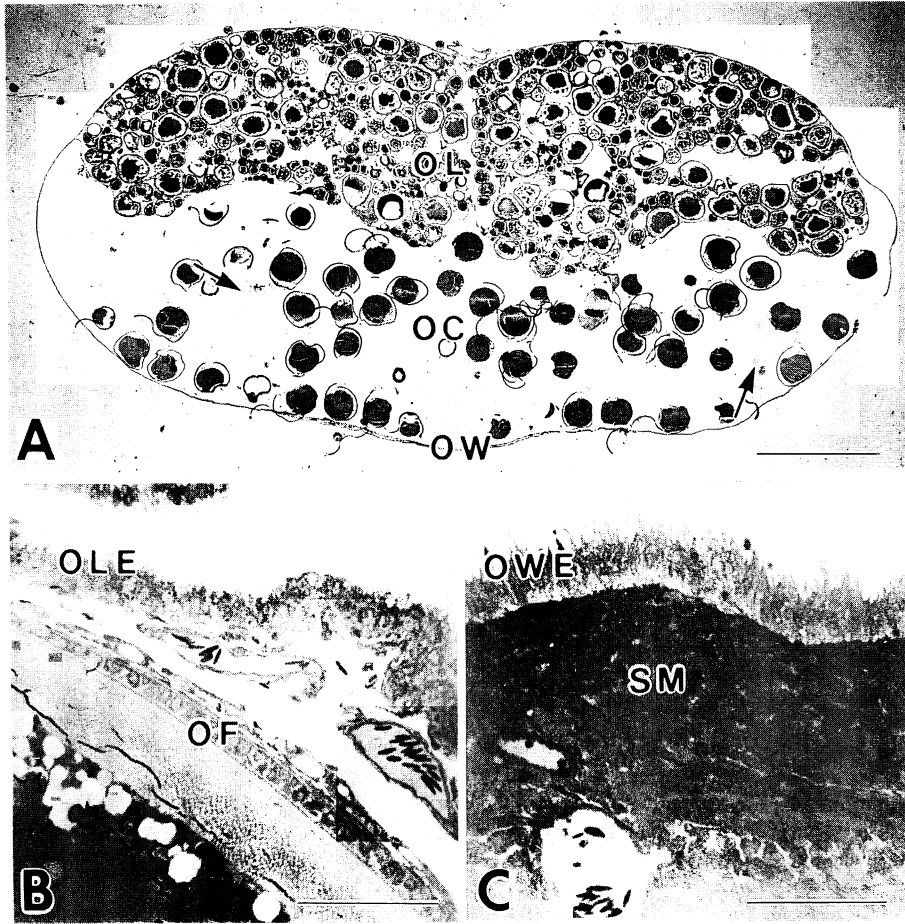


Fig. 1. Photomicrographs of sections of ovaries from a mature female masked greenling in October. *OF*—ovarian follicle; *OL*—ovigerous lamella; *OW*—ovarian wall. A) Cross section through a fused part of the paired ovaries. Ovulated mature eggs and jelly-like ovarian fluid (arrows) are present in the ovarian cavity (*OC*). Scale bar=5 mm. B) Section of ovigerous lamella covered with simple epithelium (ovigerous lamella epithelium; *OLE*). Scale bar=50 μ m. C) Section of ovarian wall. Inner surface of ovarian wall is covered with a simple epithelium (ovarian wall epithelium; *OWE*). *SM*—smooth muscle tissue. Scale bar=50 μ m.

とは別に卵巣薄板の上皮も卵巣腔に直接面しているが、この組織学的性状と機能に関してこれまでに詳細に観察された例はない。

本研究では、Munehara et al. (1987) によって成熟した卵巣腔内に多量の卵巣腔液がゼリー状となって存在することが明らかにされたスジアイナメ *Hexagrammos octogrammus* の卵巣壁および卵巣薄板上皮の微細構造を観察し、その分泌機序を検討した。

材料と方法

実験魚 本研究に用いたスジアイナメ雌魚は、未成熟期の8月および成熟期の10月に、北海道函館市近郊の南茅部町日尻沿岸の藻場から三枚網により捕獲した。

光学顕微鏡観察 摘出した卵巣を Bouin 氏液で固定し、常法によりエタノール脱水を行なった後、パラフィンに包埋し、5 μ m の組織切片を作製してヘマトシキリ



Fig. 2. Electron micrograph of ovarian wall epithelium from the ovary of an immature female masked greenling in August. Ovarian wall is covered with simple squamous epithelium having a few microvilli on the apical surface. CT—connective tissue; N—nucleus; SM—smooth muscle. Scale bar = 5 μ m.

ン-エオシン染色を施した。

透過電子顕微鏡観察 切り出した卵巣壁および卵巣薄板を 0.2 M カコジル酸緩衝液 (pH 7.4) に溶解した 4% パラフォルムアルデヒド-2.5% グルタルアルデヒド混合液に室温で 5 時間浸し、前固定した。その後試料を 0.1 M カコジル酸緩衝液 (pH 7.4) で洗浄し、氷冷した 1% 四酸化オスミウムで 2 時間、後固定した後、常法によりエタノールで脱水し、エポキシ樹脂に包埋した。超薄切片はウルトラミクロトーム (Ultracut E, Reichert-Jung 社) でガラスナイフを使用して作製した。これに酢酸ウラニールとクエン酸鉛の二重染色を施し、日立 H-7000 型電子顕微鏡を使用し、加速電圧 75 kV, 対物絞りの口径 200 μ m, 倍率 1,000-20,000 倍で観察した。

走査電子顕微鏡観察 試料を上記の前固定液により室温で 5 時間固定した後、0.1 M カコジル酸緩衝液 (pH 7.4) で洗浄した。次にエタノールで脱水し、酢酸イソアミルに浸漬した後、液体二酸化炭素で臨界点乾燥を行なった。乾燥後の試料には金蒸着を施し、日本電子 JSM-25 型走査電子顕微鏡により、加速電圧 15 kV, 対物絞りの口径 190 μ m で観察した。

トレーサー実験 卵巣壁および卵巣薄板上皮細胞による物質の取り込みを調べるためにトレーサー実験を行なった。実験魚を MS-222 で麻酔した後、トレーサーと

して西洋ワサビペルオキシダーゼ (HRP Type II, Sigma 社製) を 0.7% NaCl 水溶液に溶解し、魚体重 1 g 当り HRP が 0.18 mg となるように尾静脈に注射した。注射後約 8 時間目に卵巣を取り出し、その一部を上記の要領で前固定した後、4°C に冷やした 0.2 M リン酸緩衝液 (PBS, pH 7.4) で洗浄した。次にジアミノベンチジン (DAB) による酸化重合反応を行ない、0.1 M PBS で洗浄した。さらに DAB による重合物の電子密度を高めるために、氷冷した 0.1 M PBS に溶解した 1% 四酸化オスミウムで後固定した。その後、常法に従いエポキシ樹脂に包埋した。超薄切片を前述の方法で作製し、染色を施さずに日立 H-7000 型電子顕微鏡で前述の条件により観察した。

結 果

卵巣の構造 スジアイナメの卵巣は一对の嚢状器官で、左右の卵巣は後方で融合し、単一の輸卵管に連なっている。卵巣の背面基部側にはひだ状に卵巣薄板が発達し、その反対側に卵巣腔が広がっている (Fig. 1A)。卵巣薄板は様々な発達段階の卵胞を含み、卵巣腔に面する自由縁は単層の卵巣薄板上皮細胞に覆われている (Fig.

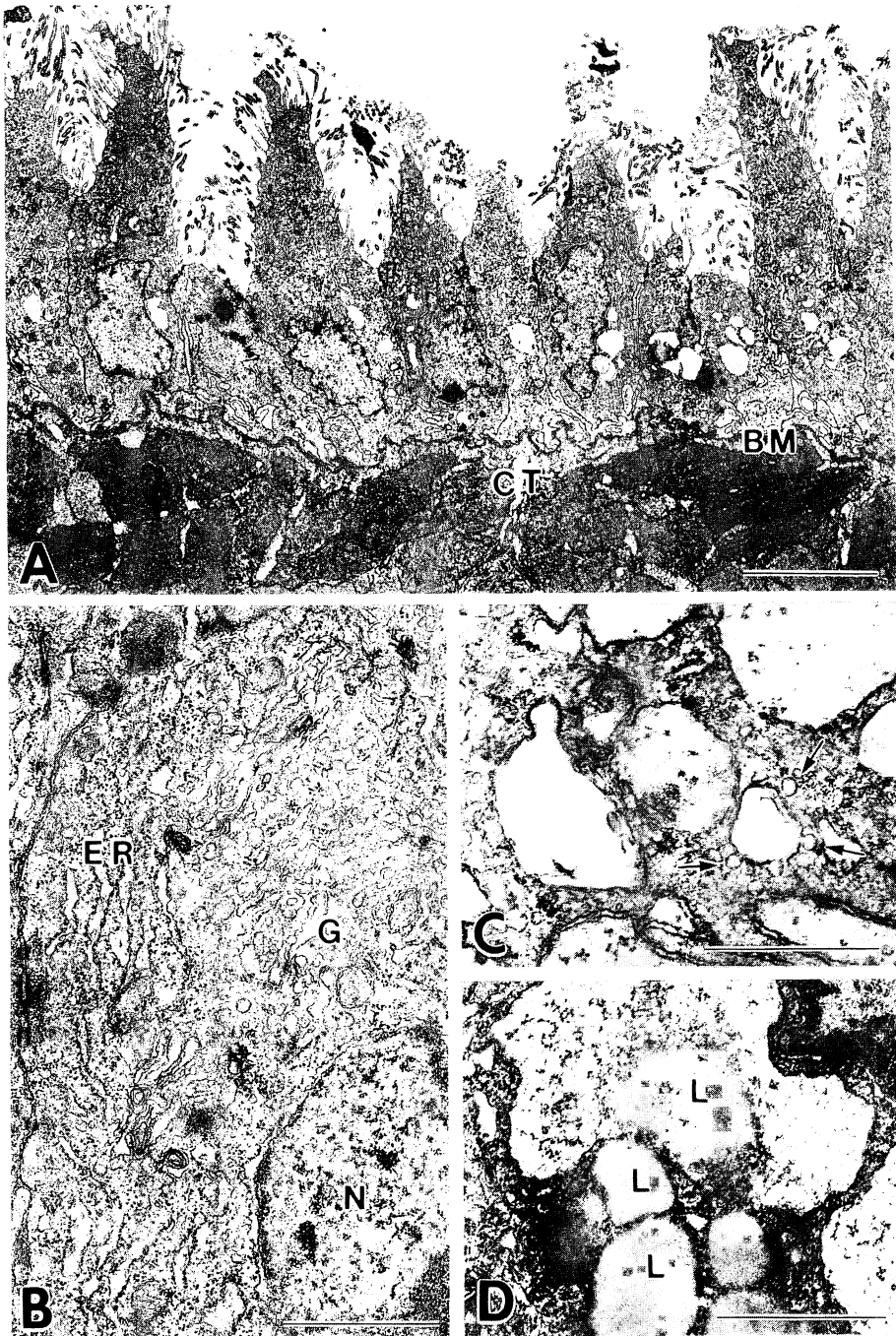


Fig. 3. Electron micrographs of ovarian wall epithelium from mature female masked greenling. *N*—nucleus. A) Sharp-pointed, columnar epithelial cells are arranged on the basement membrane (*BM*) which separate connective tissue (*CT*). Microvilli are remarkably developed on the apical surface of the epithelial cells. Scale bar = $5\mu\text{m}$. B) Rough-surfaced endoplasmic reticulum (*ER*) and Golgi apparatus (*G*) are well developed. Numerous vesicles are present near the Golgi lamellae. Scale bar = $1\mu\text{m}$. C) Several small vesicles which fuse to each other (arrows) to form larger vesicles. Scale bar = $1\mu\text{m}$. D) Lipid masses (*L*), which after fusing to each other to form large vesicles, subsequently develop into large secretory vesicles. Scale bar = $1\mu\text{m}$.

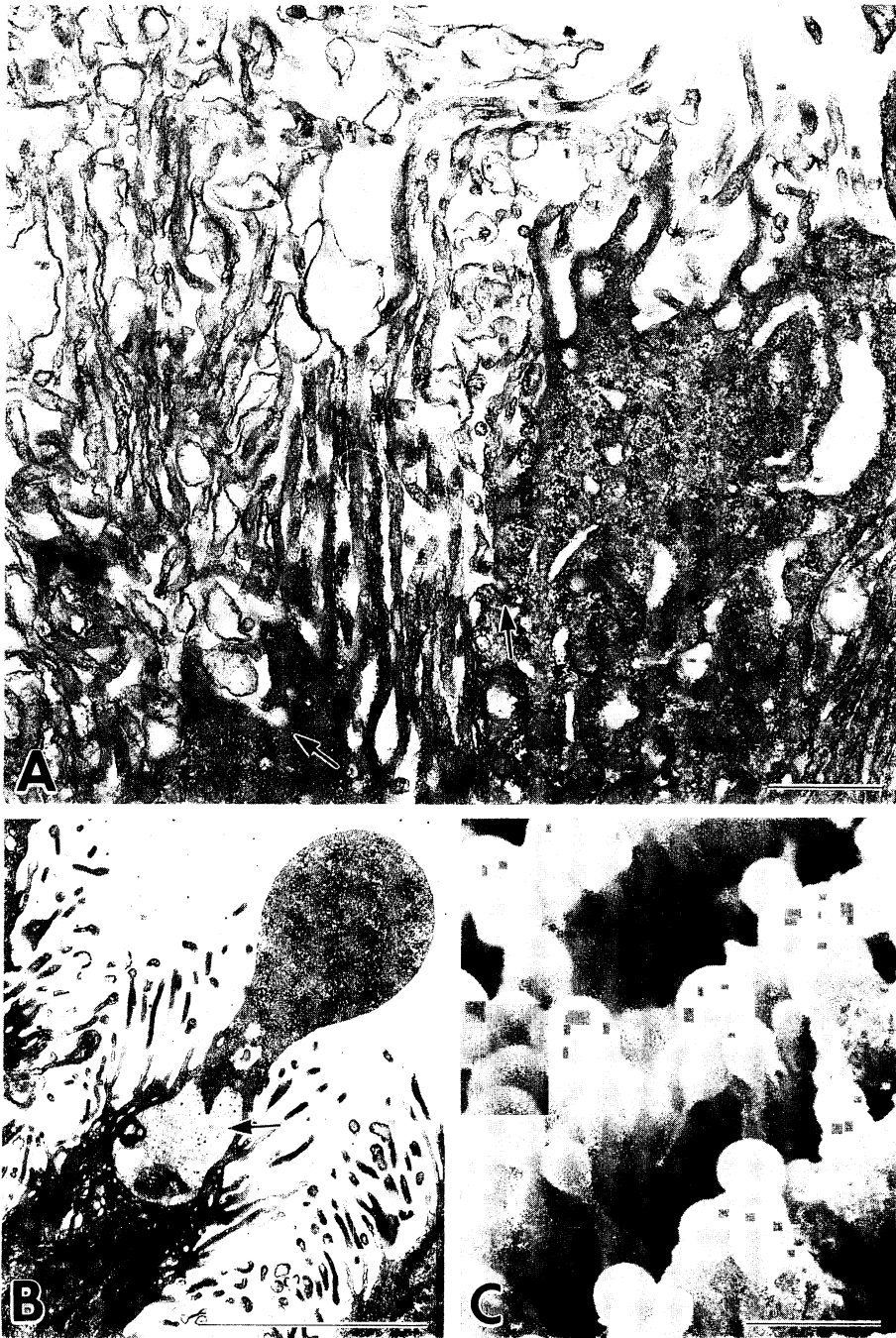


Fig. 4. Electron micrographs of ovarian wall epithelium from a mature female masked greenling. A) Apical part of cytoplasm. Note polyp-like swellings on the tips of microvilli. Small secretory vesicles release their contents by exocytosis at the basal part of the microvilli (arrows). Scale bar = $1\mu\text{m}$. B) A macroapocrine secretory process projects from the apex of an epithelial cell. A large secretory vesicle is located in the basal part of the apocrine projection (arrow). Scale bar = $5\mu\text{m}$. C) Scanning electron micrograph showing macroapocrine processes projecting from the apex of epithelial cells. Scale bar = $5\mu\text{m}$.