

Fig. 5. Electron micrograph of the ovarian wall epithelium from a mature female masked greenling. The epithelial cells often shows cell cap, which lacks microvilli, swelling of the apical cytoplasm, and shrinking of the nucleus. CT—connective tissue; N—nucleus. Scale bar = 5 μ m.

1B). 一方、卵巣壁は外側から扁平上皮、結合組織および平滑筋細胞の層が卵巣全面を被覆しているが、卵巣腔に面する部位の卵巣壁はさらに、その内側が単層に配列した上皮細胞（卵巣壁上皮細胞）で覆われている (Fig. 1C).

未成熟期の卵巣壁上皮細胞の微細構造 8月に採集した未成熟期の卵巣腔に面する卵巣壁上皮細胞は、内側の結合組織および平滑筋層を隔てる基底膜上に単層に配列している。細胞は高さが5-10 μ mで扁平な形状を呈し、自由縁が平坦で、表面には僅かに微絨毛が認められる (Fig. 2)。細胞のほぼ中央に位置する核も扁平で屈曲し、ミトコンドリアおよび小胞体などの細胞内小器官は極めて未発達である。

成熟期の卵巣壁および卵巣薄板上皮細胞の微細構造 成熟期の卵巣腔に面する卵巣壁上皮細胞も、基底膜上に

単層に配列するが、高さ20-40 μ mとなり、未成熟期の細胞に比較して著しく肥厚している。これらの細胞の多くは尖頭状の円柱細胞で、自由縁には微絨毛が密生している (Fig. 3A)。細胞の中央からやや基底側に位置する核は、しばしば核膜が深く陥入する複雑な輪郭を呈している。自由縁側の細胞質には小型のミトコンドリアが多数認められ、外側縁から基底部にかけての細胞質には粗面小胞体が極めてよく発達している (Fig. 3B)。また、ゴルジ装置は核よりやや自由縁側の細胞質中にしばしば見られ、電子密度の低い内容物を含むゴルジ小胞を分離していた (Fig. 3B)。これらの小胞は互いに融合して、粗い網目状に分布する微細粒子を含む、電子密度の低い大型の空胞となるものである (Fig. 3C)。一方、上皮細胞内にはしばしば脂質塊が認められ、これらが大型空胞と融合して分泌空胞を形成するようである (Fig. 3D)。また、上皮細胞の基底部および外側部には多くの滑面小胞が見られ、これらの一部は細胞の外側に向かって開口していた (Fig. 7A)。

自由縁に密生する微絨毛の先端はしばしば小さなポリープ状に膨らみ、またその近傍の卵巣腔内には、これらが分離放出されたときみなされる小胞構造が多数認められた (Fig. 4A)。これらの電顕像はマイクロアポクリン型の放出機序 (黒住, 1965) によって、上皮細胞から蛋白性の物質が放出されることを示唆している。一方、微絨毛基部の細胞表面では、ゴルジ装置から分離されたと思われる小胞の一部がそのまま卵巣腔に向かって開口し、その内容物を放出する開口分泌 (黒住, 1965) を示す像も観察された (Fig. 4A)。また、上皮細胞の先端部が卵巣腔に向かって膨隆した、いわゆる cell cap 状を呈する細胞も見られた (Fig. 5)。これらの細胞は微絨毛を欠き、細胞質の電子密度は比較的低く、核は収縮した様相を呈していた。さらに、これらの細胞は多くの空胞と拡張した粗面小胞体を含むという特徴を呈していた。

成熟期の卵巣薄板上皮細胞は、卵胞を取り巻く結合組織を隔てる基底膜上に単層に配列し、その微細形態は卵巣壁上皮細胞と同様であり、自由縁ではマイクロアポクリンおよび開口分泌像が認められた (Fig. 6)。

一方、観察した成熟魚17個体中1個体で、上皮細胞の頂端部から卵巣腔に向かって細胞内小器官を欠く大きな細胞質突起を出し、その突起が離断するというマイクロアポクリン型の放出機序 (黒住, 1965) が認められた (Fig. 4B, C)。このような細胞では、しばしばアポクリン突起の基部に脂質を含む大型の分泌空胞が位置し (Fig. 4B)、アポクリン突起の離断の際に空胞の内容物を放出している像が認められた。その一方で、他の16個体で観察され

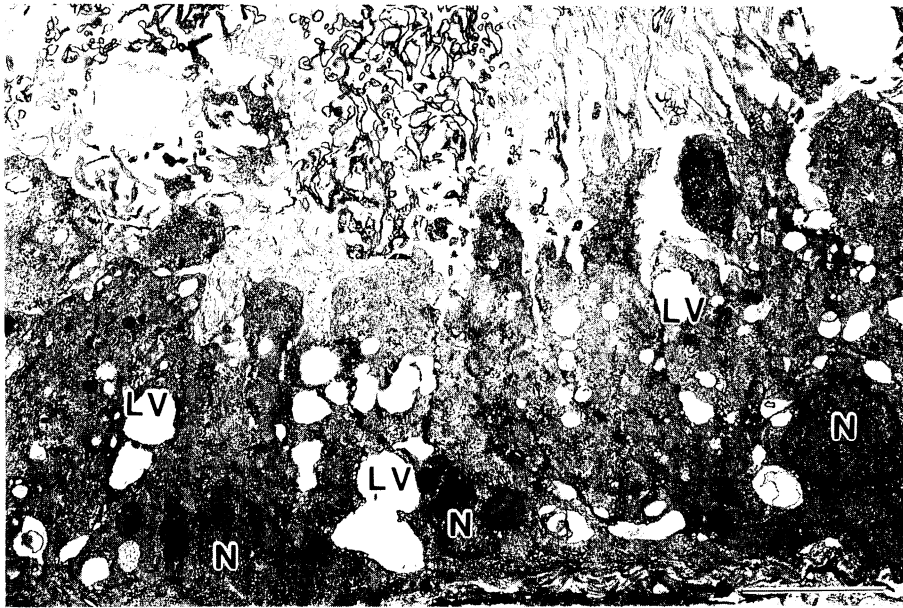


Fig. 6. Electron micrograph of the ovigerous lamella epithelium from a mature female masked greenling. The ovigerous lamella is covered with a simple epithelium resting on the basement membrane, which separates the ovarian follicles. Cytoplasmic organelles are well developed. Note microapocrine secretion at the tip of microvilli. LV—large vacuole; N—nucleus. Scale bar=5 μ m.

た微絨毛でのマイクロアポクリン分泌像はほとんど見られなかった。

卵巣壁および卵巣薄板上皮細胞の基部および側縁部では、物質の取り込みを示唆する滑面小胞の開口像が認められた (Fig. 7A)。トレーサーを用いた観察では、小胞内部に HRP の重合反応物が認められ (Fig. 7B)、これらの滑面小胞は細胞外から物質を取り込んだ飲小胞であることが確認された。また、卵巣薄板および卵巣壁上皮細胞の基底下の結合組織および平滑筋組織内には、毛細血管が著しく発達していた。毛細血管の内皮細胞では、細胞質周縁部に極めて多くの小胞が認められた (Fig. 7C)。これらの小胞のいくつかは毛細血管内腔および血管周囲腔に向って開口していた。このことから、上皮細胞が取り込んでいた物質は、毛細血管内皮細胞を透過した血液成分であることが示唆される。

考 察

スジアイナメの卵巣壁上皮細胞は、1) 未成熟期には扁平な形状を呈し、自由縁も平坦であるが、産卵期になる

と高さを著しく増大させ、自由縁には微絨毛が発達すること、2) ミトコンドリア、粗面小胞体、およびゴルジ装置が著しく発達し、物質合成が活発なこと、3) 自由縁では微絨毛先端からのマイクロアポクリン分泌、微絨毛基部の細胞表面での開口分泌、細胞頂端部でのマクロアポクリン分泌およびこれに伴う大型分泌空胞の内容物の放出像が認められたことから、卵巣腔液成分の合成および分泌を行なっていることが明らかとなった。メダカ *Oryzias latipes* (K. Yamamoto, 1963)、およびエゾトミヨ *Pungitius tymensis* (T. S. Yamamoto, 1963) では、卵巣成熟に伴う光顕的な変化、また、*Fundulus heterocritus* (Brummett et al., 1982)、および *Ameba splendens* (Lombardi and Wourmus, 1985) では細胞内小器官の発達状態と自由縁での分泌像との関連から、卵巣壁上皮が卵巣腔液の成分となる物質を分泌していることが示されている。この様に、嚢状型の卵巣を持つ魚種では卵巣壁上皮が卵巣腔液の分泌に機能することは一般的であると考えられる。

一方、今回の観察により、成熟期には卵巣薄板上皮細胞でも卵巣壁上皮と同様な観察結果が得られ、卵巣薄板上皮細胞が卵巣壁上皮細胞と同様な機能を持つことが初

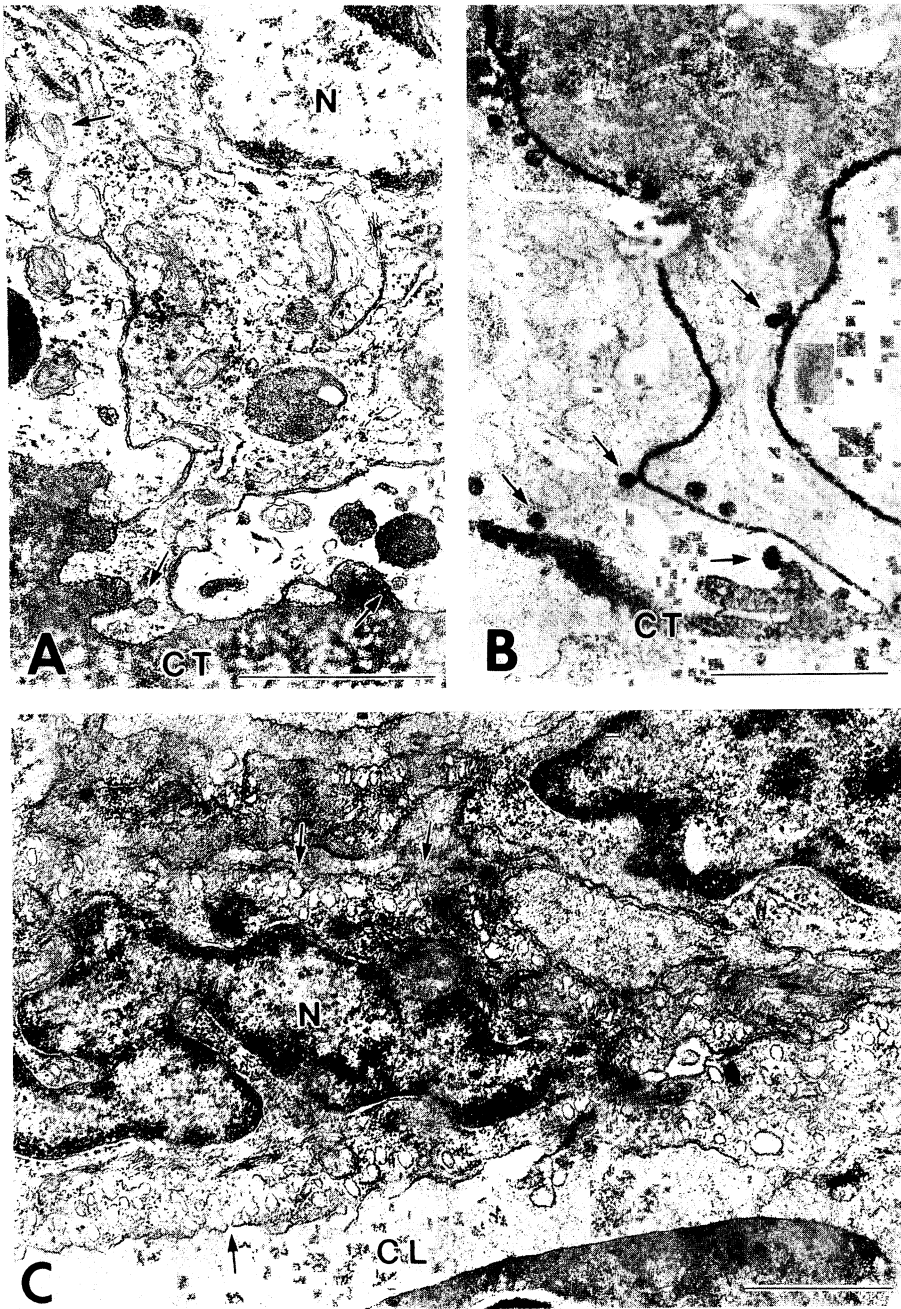


Fig. 7. Electron micrographs of the ovarian wall from a mature female masked greenling. *CL*—capillary lumen; *CT*—connective tissue; *N*—nucleus. A) Basal part of ovarian wall epithelium. Several smooth surfaced vesicles open to the outside at the basal and lateral part of the epithelial cells (arrows). Scale bar = $1\mu\text{m}$. B) Ovarian wall epithelium from HRP-treated fish. Strong HRP reaction was observed in the connective tissue (*CT*) and intercellular space. Reaction products are present in the small pits and vesicles (arrows) near the outer surface of the cell. Scale bar = $1\mu\text{m}$. C) Capillary endothelium of ovarian wall. Numerous vesicles are present in the cytoplasm. Arrows indicate pits opening to the outside of the endothelium. Scale bar = $1\mu\text{m}$.

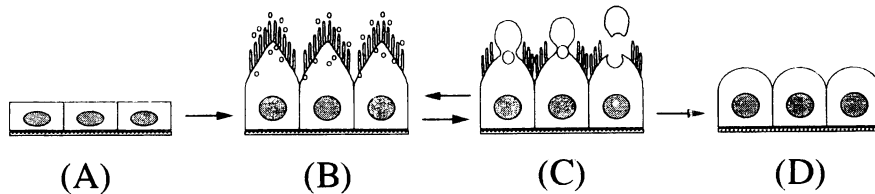


Fig. 8. Schematic illustrations showing structural changes that occur during the reproductive and ovulation cycles. Each illustration indicates A) immature period; B) spawning period-low secretory activity; C) spawning period-high secretion activity with ovulation; and D) late spawning period.

めて明らかにされた。卵巣薄板上皮細胞による分泌は、カジカ科のニジカジカ *Alcichthys alcicornis* (古屋, 1991) およびフサカサゴ科のエゾメバル *Sebastes taczanowskii* でも確認され (高野, 未発表)、嚢状型の卵巣を持つ多くの魚種に共通した機能である可能性が示唆される。

卵巣壁上皮における卵巣腔液成分の分泌の微細形態に関しては、これまでにメダカ (Takano, 1968), キンギョ *Carassius auratus* (Takahashi and Takano, 1971) およびタイリクバラタナゴ *Rhodeus ocellatus ocellatus* (松原, 1982) など、嚢状卵巣型の魚種でアポクリン様の分泌が確認されている。一方、*Fundulus heterocritus* (Brummett et al., 1982) および裸状卵巣型のサクラマス *Oncorhynchus masou* の体腔壁上皮細胞 (松原, 1988) では、開口分泌像が示されている。スジアイナメの卵巣壁および卵巣薄板上皮細胞は微絨毛基部での開口分泌、ミクロアポクリン分泌、マクロアポクリン分泌、およびマクロアポクリン分泌に伴う大型空胞の開口分泌という、多様な分泌形態を持つことが特徴的であった。

今回の観察では、卵巣壁および卵巣薄板上皮細胞内に著しく発達した粗面小胞体およびゴルジ装置が認められた。このことから、おそらく卵巣腔液の成分となる物質には粗面小胞体-ゴルジ装置由来の蛋白性の物質が含まれていることが示唆される。微絨毛基部での開口分泌による分泌物はゴルジ装置から分離されたゴルジ小胞に由来するものとみなされる。これとは別に、ゴルジ装置から生じた小胞の一部は互いに融合して大型の空胞となり、さらにこれらの大型空胞に細胞内の脂質塊が融合して大型の分泌空胞を形成する一連の合成過程を示唆する像が観察された。今回の観察では少ない例ながら、上皮細胞の頂端部が膨大、突出し、そのまま離断して卵巣腔に放出される、いわゆるマクロアポクリン様の分泌像が観察された。このような上皮細胞では前述の大型分泌空胞がマクロアポクリン突起の基部に位置し、アポクリン突起の離断の際に内容物を卵巣腔に放出する可能性が示

された (Fig. 8C)。このようにゴルジ装置由来の成分が少なくとも2通りの分泌経路により分泌されている可能性が示唆された。一方、ミクロアポクリンおよびマクロアポクリン分泌による分泌物については、これらの分泌物が細胞質そのものであることから、上皮細胞の成長に伴って細胞質基質内に徐々に蓄えられた細胞構成成分である可能性が考えられる。

産卵期の卵巣壁および卵巣薄板上皮細胞基底下の毛細血管内皮細胞には活発な物質移動を示唆する小胞が数多く認められた。また、上皮細胞の基底および側縁部では飲小胞による物質の取り込みが、トレーサーを用いた観察により明らかにされた。これらの結果は、血清由来の物質を原料に、上皮細胞が卵巣腔液成分となる物質を合成していることを示唆している。

産卵期のスジアイナメの卵巣腔内には、排卵の有無にかかわらず卵巣腔液が存在し、特に排卵した個体ではゼリー状の卵巣腔液が多量に認められる (Munehara et al., 1987)。また、本種は多回産卵型であるため (宗原, 1989)、排卵時をピークに卵巣腔液の分泌活性に著しい変化が起きることが想定される。今回の観察ではマクロアポクリン分泌は限られた個体でしか見られず、しかもその個体では高い頻度で確認された。これらのことを考え併せると、4態の分泌形態は分泌活性の違いによる可能性が高いものと思われる。おそらく分泌活性の低い時期にはミクロアポクリンおよび開口分泌により漿液性の卵巣腔液を徐々に分泌し (Fig. 8B)、排卵直前のごく短期間にマクロアポクリン分泌およびこれに伴う大型空胞の内容物の放出 (Fig. 8C) により、大量のゼリー状卵巣腔液の供給を行なっているものと思われる。そして産卵末期には、アポクリン分泌のような細胞質の離断による分泌活動を行なった結果として、微絨毛を持たない cell cap 状の細胞となり、退縮、崩壊してゆくことが推定される (Fig. 8D)。以上のように本種の卵巣壁および卵巣薄板上皮細胞では分泌活性の変化に伴って分泌様式およ

び細胞の形態が細胞周期的な変化を見せることが示唆された。

謝 辞

この研究を行なうにあたり、実験魚の採集に多大の御協力を賜った北海道大学水産学部附属E1尻水産実験所、山本弘敏助教授並びに野村潔、嵐田洋悦両技官に厚く御礼申し上げます。また、本研究に対し、適切な御助言を賜った北海道大学水産学部、島崎健二教授並びに高橋裕哉教授に深謝する。本研究の一部は秋山生命科学振興財団の研究助成金による。

引 用 文 献

- Brummett, A. R., J. N. Dumont and J. R. Larkin. 1982. The ovary of *Fundulus heteroclitus*. J. Morphol., 173: 1-16.
- Fishelson, L. 1977. Ultrastructure of the epithelium from the ovary wall of *Dendrochirus brachypterus* (Pteroidae, Teleostei). Cell Tiss. Res., 177: 375-381.
- Ginzburg, A. S. 1972. Fertilization in fishes and the problem of polyspermy. (Izdatel'stovo Nauka, Moscow, 1968). Publ. Israel Program for Scientific Transl. 366 pp.
- Hoar, W. S. 1957. The gonads and reproduction. Pages 287-321, in M. E. Brown, ed. The physiology of fishes. Vol. 1. Academic Press, New York.
- 古屋康則. 1991. 海産カジカ科魚類に見られる体内配偶子会合型の繁殖様式に関する生理学的、微細構造学的研究. 北海道大学博士論文. 191 pp.
- 黒住一昌. 1965. 分泌の形態学に関する電子顕微鏡的研究. 電子顕微鏡学会誌, 14: 12-26.
- Lombardi, J. and J. P. Wourmus. 1985. The trophotaenial placenta of a viviparous goodeid fish. I. Ultrastructure of the internal ovarian epithelium, the maternal component. J. Morphol., 184: 277-292.
- 松原孝博. 1982. 硬骨魚類の生殖腔液の性状と起源に関する研究. 北海道大学修士論文. 46 pp.
- 松原孝博. 1988. サケ科魚類の体腔液の性状と産生機序に関する研究. 北海道大学博士論文. 151 pp.
- 宗原弘幸. 1989. スジアイナメ *Hexagrammos octogrammus* の繁殖生物学的研究. 北海道大学博士論文. 152 pp.
- Munehara, H., K. Shimazaki and S. Mishima. 1987. The process of oogenesis in mesked greenling, *Hexagrammos octogrammus*. Bull. Fac. Fish. Hokkaido Univ., 38: 27-33.
- Scott, A. P. and S. M. Baynes. 1980. A review of the biology, handling and storage of salmonid spermatozoa. J. Fish Biol., 17: 707-739.
- Takahashi, H. and K. Takano. 1971. Sex hormone-induced precocious hypertrophy and ciliation of epithelial cells in the ovarian lumen of the goldfish. Annot. Zool. Japon., 44: 32-41.
- Takano, K. 1968. Fine structure of the wall of the ovarian lumen in the teleost, *Oryzias latipes*. Bull. Fac. Fish. Hokkaido Univ., 19: 76-82.
- 高野和則. 1974. 生殖腺の成熟過程. 日本水産学会編. 魚類の成熟と産卵—その基礎と応用, pp. 18-30. 恒星社厚生閣, 東京.
- 高野和則・広井修・安川雅夫・末武敏夫. 1973. サケ・マス類の卵および精子の保存に関する研究—1. サケ (*Oncorhynchus keta*) 未受精卵の保存について. さけ・ますふ化場研究報告, 27: 31-37.
- Yamamoto, K. 1963. Cyclical changes in the wall of the ovarian lumen in the medaka, *Oryzias latipes*. Annot. Zool. Japon., 36: 179-186.
- Yamamoto, T. S. 1963. Eggs and ovaries of the stickleback, *Pungitius tymensis*, with a note on the formation of jelly-like substance surrounding the egg. J. Fac. Sci., Hokkaido Univ. Ser. VI, Zool., 15: 190-201.