上智大学, 生物学教室 (主任: 水野復一郎教授), 紀尾井町, 千代田区, 東京都.
Biol. Lab. (Head: Prof. M. MIZUNO), Sophia Univ., Kioi-cho, Chiyoda-ku, Tokyo.

温度条件とメダカの肝臓の変化について.

I. 適温範囲における変化の電子顕微鏡的研究.

On the Relation between the Fish-Liver and Temperature Conditions.

I. Electron Microscopy of the Liver Cells of *Aryzias latipes* at the Suitable Temperature (15 and 30°C).

蛭谷 米司 Yoneji EBITANI.

(Received April 16, 1961.)

肝臓の構造については古くから多くの研究がなされている。下等脊椎動物については, Hering (1867), Eberth (1867), Shore と Jones (1889), Krause (1922, 1923) および Elias と Bengelsdorf (1952) などの優れた研究がある。彼らによって, 比較解剖学的な見地から, その構造について観察がまとめられ, 哺乳類と魚類の肝臓が基本的には差がないことや肝細胞索が, ほとんど2細胞層からなっているし, 中にはただ1細胞層からなっていることのあることが明らかにされた。これらは *Myxine*, *Petromyzon*, *Torpedo*, *Squalus*, *Muraena*, *Gymnothorax*, *Cyprinus*, *Carassius*, *Acipenser*, *Alligator*, *Eumeces*, *Clemmys*, *Emys*, *Terrapene*, *Callus* および両棲類では *Hyla*, *Rana*, *Amphiuma*, *Necturus* などについての報告である。

肝臓のおもな機能としては, 一般に, 1. 栄養に関係ある中間代謝 (グリコーゲンの合成と貯蔵と分解, アミノ酸の代謝, 魚類の脂質合成など), 2. 胆汁の生産, 3. 血液成分の生成と変換 (初期には赤血球の生成, 成体では赤血球を破壊した胆汁色素を作ったりする), 4. 解毒と異物除法, 5. 発熱, そのほか血液の貯蔵による循環量の調節などがあげられている。魚類の肝臓についての機能的な研究は, ほとんど断片的なものしかないようではあるが, その機能についてはすでに知られている他の動物と同じようなはたらきをしていると想像されている。

ましてや, メダカのように変温性でいろいろな環境条件に適応して, 生育できるものでは, 肝臓が環境条件, 特に温度の変化に対して敏感に反応して, 調節の機能を果していると考えることができる。これらの形態学的な研究は一般的な肝臓あるいは細胞の機能を考えるうえに大きな意味をもっと考える。

これらの温度適応現象につき, メダカ (*Oryzias latipes* TEMMINCK et SCHLEGEL) やニジメダカ (*Lebistes reticulatus*), その他の種類など多数の例が報告されている (Peiss と Field 1950, Fortune 1955, Brett 1956, 佃と片山 1957)。しかしこれらの研究は, いずれも温度適応の機構について解明するまでに至っていない。

著者は肝臓の機能的な変化から、温度条件の作用を明らかにし、適応の機構を明らかにしようとした。

なおこの研究は、山口県立医科大学神保雅幸教授の御懇篤な御助言と上智大学生物学教室の水野復一郎教授の御援助がなければ、とうてい進めることができなかったものである。また、明石製作所および酒井俊男氏の御協力に負うことの多いことを記して厚く感謝の意を表したい。

I. 材料と方法.

材料. ヒメダカ (*Oryzias latipes*) は、遺伝的に異常の認められない観点から前年にふ化したもの(約10か月目のもの)を選び出し、実験室の水槽で約1か月間 25°C に飼育馴化させて実験に使用するようにした。

これらのヒメダカは広い温度範囲に生活することができ、10—30°C の間にあることが知られている(佃と片山 1957)。

飼育. この実験は、1958年4月から開始した。実験区は 15°C 区と 30°C 区との2群にし、これらの実験区では、30 cm 径のガラス水槽5つに、それぞれ20匹ずつ、計100匹いれて、水槽による飼育条件の差がないようにした。ほかに、斃死の場合を予想して予備の水槽で、それぞれ実験区の補充用のメダカを飼育した。

実験水槽に移す前のメダカの温度条件をそろえるために、水槽の底に土を入れ、バリスネリアとカボンバとを適当に植えたものの中で、約1か月間 25°C で飼育し、その後それぞれを 15°C 区と 30°C 区に移し入れて実験を開始した。移し入れるとき、温度が1時間に1°C の割で低く、あるいは高くなるようにして、急激な変化を与えないようにした。

餌料として、1日に1回ミミズをじゅうぶんに与えるようにしたが、2日に1回の割で粉餌を与えた(イワシ粉、乾燥エビ、牛の肝臓、小麦粉各40g、食塩1g、ホウレン草20gの割の乾燥粉末)。換水は3—4日毎に所定の温度にしたもので行った。

固定と包理. 電子顕微鏡による検討をするため、3日目、10日目、25日、30日目と一定の期間を経過したものを1% OsO_4 Sørensen 氏 buffer solution (pH 7.4) で12時間固定した。固定および脱水は5°C で行った。脱水の後、butyl methacrylate に包理した。1% benzoyl peroxide を加えて、45°C で16時間かけて重合を進めた。 OsO_4 が肝臓片に侵入するのに多くの時間をかけないように、組織片はつねに1mm³ 以下になるようにした。また、肝臓小片の細胞学的な変性を避けるため、できるだけ5分以内に処置するようにした。

固定には1% OsO_4 液のほか重クロム酸液(5% $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 80 + formalin 20 + acetic acid 5) → 48時間処理や通常の Bouin 氏液 → 12時間処理によるものも行った。いずれの場合も包理は上述の方法によった。

切片. 超薄切片の作製は glass knives によった。切片を collodion 膜で coated

した grids の上に置いて観察した. 電子顕微鏡は Akashi Tronscope TRS—50 を使用した.

II. 超薄切片の観察.

A. 15°C 実験区 (図 1—3 参照).

この実験区の肝臓片では, 肝細胞は明調な部分と電子密度の極めて高い暗調な部分とにわかれている. 暗調な部分は導管とか毛細血管に近い方に片寄る傾向を示しているが, 相隣った細胞でも, 暗調な部分が見られる方向が必ずしも一致していない. 幾つかの細胞が接する部分では, 隔壁にそって, 電子密度の濃い部分が見られ, 膜の輪廓構造が明らかになっている (図 1). 細胞内の暗調な部分には, 核や mitochondria などが密集した形で認められるが, いずれも暗調化している. Mitochondria の基質も暗調化しているので, cristae mitochondriales の構造が明らかにならないものが多い (図 2). 暗調部は明調化した部分に比べると, 大きさのいろいろな空胞状のものが多数見られる (図 3).

明調な部分には, 暗調化した mitochondria などが認められるが, その数は極めて少い. また, この部分に特に認められるものとして図 2 の a, a', b, c, d のようなものがある. これらは電子密度の高い輪廓をもっているが, a と a' は, 同じ性質のものであると考えられる. d と a, a' も同じ種類のものかどうかは明確ではないが, 類似したもののように見える.

図 3 では空胞上の小胞体 (endoplasmic reticulum) の構造も多く認められる. これらの空胞の壁には Palade の顆粒と思われるものが密着しているものが多い.

B. 30°C 実験区 (図 4—10 参照).

1. ヒメダカを 30°C 実験区に移してから 3 日目のものは, 15°C 実験区におけるものほどは明, 暗の差がなく, 全般的に明調化していく傾向を示している (図 4, 5, 6).

図 4 に見られるように, 脂質顆粒の大小いろいろなものが, 1 つの集団をなしているような形で見る事ができる. 脂質顆粒は固定による人為的な影響を受けて生じたと思われる像を示している. すなわち, O_5O_4 による酸化吸着などで, 最初の位置の中の方に凝縮したようになって見られる. 脂質顆粒は, その形の大きなものほど glass knife の刃の進んだ方向に, 波形の濃淡を生じている. 脂質顆粒は, かなり均質化した基質の部分にのみ認められる. この部域は特に明調化している. これを取り囲むようにして, やや暗調化の傾向をもつ基質部がある. その部分には, 特に明瞭な限界膜をもつ球状あるいは短桿状の mitochondria が多くなっている. 図 5 で見られるように, 脂質顆粒群を含む部分の構造は, その部域を取り囲んでいる部分ではよく空胞状の小胞体がくびれたり, 離断したりしているが, これと対照的に小胞体の明瞭な構造が見られない. 細胞質の基質と思われる

るものが密に分散状になっていたりしている。これらの中には少いけれども Palade の細顆粒のやはりあるのが認められる。この部分は電子密度が低いような像を示すようである。

図 6 は、脂質顆粒のように、中央に凝集する様子を見せることもなく、電子密度の高い顆粒が散在しているのがわかる。

Mitochondria の中には基質の電子密度が高く明調になっていないものがある。また、De Man など (1959) が報告しているような electron dispersing structure をもつ顆粒も認められる。

2. 30°C で 25 日目のヒメダカの肝臓の電子顕微鏡像は、図 7, 8, 9, 10 に示されているように、小胞体 (endoplasmic reticulum) や電子密度の高い小体 (+), 電子の散乱を示す小体 (→) および mitochondria の明調化などにその顕著な変化を見ることができる。

図 7 では、毛細血管と血球の像も見られる。この血管に近い部分の細胞は一般に暗調化している。そして、mitochondria など多数明確な像を示している。これらに混じて、電子密度の高い球形の小体やいわゆる electron dispersing structure をもつ顆粒などが多数認められる。

図 8 と 9 で明らかのように、mitochondria 群の中に、限界膜、cristae mitochondriales などの明らかに認められないものもある。

図 10 に見られるように、脂肪顆粒は mitochondria に囲まれていることなどは、15°C 実験区や 30°C (3 日) 実験区のものと同様である。脂質顆粒ではその多くに濃淡のしま模様がやはり認められる。脂質顆粒は一般に内部が緻密で、均質になっているので、細胞質内に存在する他のいろいろな顆粒と容易に区別することができる。Palade の細顆粒が増加するとともに、小胞体壁に連続して密着するものや遊離の状態にあるものも多くなっている。

C. Bouin 氏 固定 (図 11—16 参照)。

1. 15°C 実験区 (図 11, 12) では、核および細胞の輪廓を示すような形に細胞内容物が残っているだけで、微細な構造が見られなくなっている。しかし、図 1 に見られるように (↑印)、核を中心にするような同心円的な層状の構造が認められる。

図 12 はこの層状構造の部分を拡大したものである。このような構造は細胞質内物質の多く残留している部分にのみ明らかである。

2. 30°C 実験区の 3 日目 (図 13 と 14) では、細胞質内に形成された空胞が、15°C 実験区のものよりもせまくなっていることがわかる。図 14 に核を中心に並ぶ層状構造が見られる。

3. 30°C 実験区の 25 日目 (図 15 と 16) では、細胞間の隔壁部が残留している。この残留物が 15°C 実験区の 3 日目のものよりも多いことは注目される。図 15 に

は血管の横断面が見られ、16には縦断面が見られている。この15と16からも明らかなように、この血管周辺の細胞では、これに接する側の壁が厚く残留している。また、空胞化している内部にも、なお、多くの残留物があることがわかる。つまり、単層の小空胞に区分されたような形で、大きな空胞が見られる点は、この実験区の特徴になっている。なお、血管壁側の残留状態と、これらの反対側とでは、反対側が密な状態になっている。

D. 重クロム酸固定 (図17—21).

1. 15°C 実験区 (17 と 18).

固定液としての像は、Bouin 氏液によるものよりも優れているとは思えない状態になっている。図17の左下に見られるように血管の細胞質の残留が認められる。また細胞間の隔壁は、Bouin 氏液固定の場合と同様な状態で残っている。

2. 30°C 実験区の3日目 (図19).

大きく空胞化している細胞質の部分が見られる。

3. 30°C 実験区の25日目 (図20 と 21).

人為的な影響を受けて、細胞質内に大きな空胞ができていますが、これからも図15と16のように小空胞が内部に結合しているように見える。すなわち、細胞質内に小空胞が互に連絡をもつようにできているのは、細胞質内に何かの構造があって、それにのっている以外のものが溶出してしまったかの感をいだかせる。しかし、溶出にともなう物理的な変化で、小空胞状になっているようにも見える。15°Cの3日目の像に比較すると、この実験区(30°C, 3日目)では細胞質内物質、特に電子密度の高いものの増加が認められる。この傾向については、Bouin 氏液についても同様であるが、両者についての差は不明である。

III. 考 察.

この研究を通して、15°C 実験区と 30°C 実験区の間には、温度差に応じた変化が見られるのではないかと予想していた。そして、30°C のようにかなり高い温度に馴れていくためには、急速な変化がある筈で、それがどのようにあらわれてくるかを知りたいとも考えたわけである。

この変化を何を手がかりにして見るかということになると、肝臓の基本的機能に関係していると考えられる構造や幾つかの特殊な構造を比較することによって進めるほうが、よくその実態をつかむことができると考えた。

15°C 実験区と 30°C 実験区の大きな差と考えられるものは、まず、15°C 実験区のものには、電子密度の濃い部分と薄い部分、すなわち、暗調化と明調化の部分が明瞭であるということである (図1, 2, 3)。これに対して、30°C 実験区では、全体的に明調化する傾向をみせる (図4—10)。

Mitochondria についても、温度の高いほうが、明調化してきている。このこと

は、mitochondria の多く分布しているところに、脂肪顆粒などが多いことから、高い温度になるにつれ mitochondria の活動がさかんになっているのではないかと考えられる。Mitochondria が、いろいろの細胞質の副形質の形成に関与していることについては、光学顕微鏡的に推定されているところであり、その実証例も多い。しかし、電子顕微鏡的には、Golgi 体のほうが分泌顆粒の形成に関与するとされ、mitochondria については、はっきりした例が少い。

筆者の得た図4と10の像のように分泌顆粒、特に脂質顆粒が mitochondria の活動と関係あるのではないかという予想は、mitochondria に、Krebs 回路の各段階における酸化、脂肪酸の酸化、酸化的磷酸化などの酵素系が局在していて、細胞のエネルギー生成の中心的場となっているというこれまでの多くの研究の結果からしても容易に肯定できる。

温度の上昇によって、肝細胞内の代謝活動が盛んになるわけであるが、高温に長期飼育されたものでは、図7—10に明らかなように mitochondria の数の増加や基質の明調化によって、代謝量の増加をささえていると考えられる。Sjöstrand (1956) は mitochondria の膨化や基質の明調化は O_2O_4 固定時における浸透圧が大きく影響してくると考えている。すなわち、固定液が低調である場合に、膨化と明調化が生ずるという。筆者は前述したように1% O_2O_4 -Sørensen氏 buffer solution (pH 7.4) を使用しているから、たとえ、固定液の浸透圧という条件を考えるにしても、15°C と 30°C の条件の差そのものが像の変化としてあらわれていると考えても誤りではないであろう。Witter ら (1955) は mitochondria の形態と媒質濃度の関係を研究して、浮遊媒質の濃度が低いと、mitochondria が膨化し、基質も明調化するが、逆に高調な場合には、mitochondria が縮少し基質も濃縮することを報告している。しかし、この遊離した mitochondria における結果を、ただちに筆者らの組織片の研究に対して適用することはできない。たとえば、15°C 実験区(図2)と30°C 実験区(図4と8)を比較してみても mitochondria の数や配列あるいは電子密度については差が認められるけれども、形については著しい差を認めることができない。

また、図5と7—10に見られるように、典型的な限界膜と cristae mitochondriales をもっているものとともに、限界膜はもっているが、基質が暗調で、mitochondria を他の顆粒から区別する特徴にされているところの cristae mitochondriales が認められないものが多数同じ部域に見られる。これらが mitochondria といわれるものと同じものであるかどうかについては、mitochondria の定義のしかたによって違ってくるが、この顆粒が細胞内で果している役割や消長などから考えて異同を明らかにするほうがよいと思う。図7の中で、mitochondria に混在する顆粒の中には、Rouiller と Bernhard (1956) が肝組織再生の時に報告しているような、暗い球状の小体とその中に cristae ができて、典型的な mitochondria に変化していくことを推定させるものが多い。また、柄崎(1957)はイモリの初期胚で、cristae

をもたず、大きさと密度が間もなく出現してくる mitochondria に似る前駆者を報告し、それが発生とともに急激に増殖することを見ている。つまり mitochondria の内部化学的な変化の違いやその活動の状態によって、同一部域にあっても、このように多様な状態になっているのだと考える。

図9の mb は mitochondria が脂質性物質を多量に蓄積して崩壊したような像を示している。このような過程で脂質顆粒に成長していく場合や小さな脂質顆粒が幾つか集って、大きな脂質顆粒になっていく場合(図4)などが考えられる。このように考えると、脂質顆粒の位置する部位が比較的明調化していることと関係があるように思われる。すなわち、この部域は、細胞の他の部域よりも、はるかに粘性の低い部分でないかとも考えられる。

Mitochondria あるいは microbodies の限界膜はそのまま、脂質顆粒の外壁になっていく場合も考えられる。もしこれらの内部に脂質が蓄積されたとするなら、図1の a, a', b, c, d や他の図のいろいろな部分で見ることのできるように空胞の中央部に胞質部分が凝集して、周囲と糸状な連結を残している像の関係をよく説明することができる。図2で暗調化している mitochondria あるいは microbodies に脂質の小滴と思われる像を見ることも、これに関連して考えられる。しかし、脂質顆粒の空胞化した部分が、周囲の細胞質と境するところに、必ずしも膜があるとはいえないものがある。すなわち mitochondria などの特徴づけている限界膜が見られないことは、mitochondria や microbodies が崩壊し変質したためになくなったものか、それとも、これまでの推測とは別に、細胞質の空胞化した部分に脂質が合成蓄積されたと考えるかしなければ説明できない。

Mitochondria の内部で脂肪滴が形成される例は小野江ら(1957)によって、リン中毒肝について報告されているのであるが、筆者がすでに述べてきたように、魚類、少なくともメダカにおいては、肝臓で脂質の合成が行われているという顕著な事実がある。肝細胞における脂質の蓄積はここに見る mitochondria のこのような消長によって顆粒化され蓄積された結果であると考えられる可能性が多い。いずれにしても mitochondria が脂質代謝にたいせつな役割をしているわけであるが、脂質が細胞内に吸収されていく機構は、原形質膜の脂質に溶けたものが細胞質の内部に侵入してリン酸化されて脂肪酸エステルになり、さらに細胞質内のいろいろなリパーゼやエステラーゼによって遊離脂肪酸に分解されていくのであろう。脂肪酸は CoA, ATP, DSN およびフラビン酵素を含む β -酸化系によって、アセトアセチル CoA, さらにアセチル CoA に分解され、TCA-サイクルにはいるといった経過をとると考えられる。

このように考えてくると、電子密度の高い顆粒や electron dispersing structures の顆粒、あるいは明瞭に mitochondria と同定できるものなどが、高い温度条件で飼育される場合脂質顆粒の形成に関係をもってあらわれてきたものでないかということが想像される。

30°C 実験区で脂質顆粒以外に見られるものには、図6と7で明らかなように、いわゆる electron dispersing structure をもつ顆粒(半)や内部に電子密度の高い球形の小体をもつやや大形の球形顆粒(↑)などがある。これと同じような事実については De Man ら(1960)の報告がある。すなわち二十日鼠の肝臓で、acid phosphatase の活性部位では、電子密度の高い顆粒の部分に一致することを報告している。筆者が認めている顆粒も、温度の上昇にともなって盛んになってくる代謝に即応した存在であり、acid phosphatase などの存在する部位であるかも知れない。これらについては将来の研究によって明らかにするつもりであるが、mitochondria がプラズマール反応が陽性で、acetalphosphatid の含量が高い事実(Barnum 1948, Claude 1948, Schneider 1951)と考え合せると、これらの顆粒を、まったく上述の mitochondria と切り離して考えるわけにはいかない。30°C 実験区において、これらの顆粒が増加してあらわれてくることは、少なくとも細胞内の物質代謝の促進に関連をもつものであることを示していると考えられる。また Bouin 氏固定液や重クロム酸処理では、蛋白質の凝固や重クロム酸による脂質の不溶化が期待された。しかし図版(3)と(4)に見られるように包埋までの処理によって(超薄切片にしてからは、溶剤による像の変性を避けるため包埋剤を除去していない)細胞質、および核のかかなりの部分が溶出している。残留部分は、すなわち、不溶性の物質ということになる。この残留物が 15°C 実験区のものよりも 30°C 実験区のものに多くなっていることは、少なくとも細胞質内部における物質の合成、たとえば蛋白合成などが盛んに行われたことを意味すると考える。

温度の上昇につれ、mitochondria の数が増加し、細胞質の明度が増すことと、Bouin 氏液や重クロム酸処理で残留する物質が多くなるということの間にはこうした必然的な関係があると考えてよい。

高い温度飼育のものの細胞質に扁平状、小胞状、あるいは空胞上の小胞体(endoplasmic reticulum)が多くなることは、この物質代謝の増加していることと関連していると考ええる。

このように考えてみると、15°C 実験区のもので小胞体(endoplasmic reticulum)のようなものが、mitochondria などの多く位置する暗調な部域に、わずかに認められ、それに反して、明調な部域では、ほとんど明確な小胞体の像が認められず、また蛋白合成に関与しているといわれている Palade の細顆粒の存在も明瞭でないなどのことから、これら低温飼育のものでは蛋白合成があまり進んでいないといえる。

この場合、細胞質内の物質の代謝に関与するものが、Casperson (1960), Palade (1956), 渡辺(1957)らが予想しているように、小胞体や小胞体内に形成される小顆粒に係るのか、あるいは Palade の細顆粒やこの mitochondria によるものかわからないが、少なくともこれらに係ることは確かである。

Palade (1956)は、小胞体は Osmometer のような性質をもち、浸透圧の変化で

敏感に変化する。たとえば高張な浮遊液の中では扁平な形になり、低張な場合は膨大すると報告している。筆者らの実験では、30°C 実験区のものにおいて、扁平状の小胞体よりも小胞体が mitochondria などとともに多く見られることから、この実験の高温に馴化したものでは、細胞質の浸透圧が低くなっているのではないかと思われる。この浸透圧の低下は、同時に電子密度の低下、すなわち明調化の事実に関連してくるのでないかと考えられる。

この推論は、実験区の高温に馴化したもの程、肝臓が摘出されるに際して、みずみずしく感じさせたことや、Hoar と Cottle (1952) がキンギョの温度順応を研究して体組織の水分含有量が温度上昇につれて上昇することを報告していることなどとも矛盾しない。

この肝細胞の浸透圧の低下、電子顕微鏡における像の明調化が、どのような機構のもとに生ずるかについては、細胞内における脂肪酸化の増加にともなう水分の増加と魚の体表面や肝細胞などの浸透性の変化を要因として考えることができよう。これらの点については、筆者 (1958, 1959, 1960) がすでに報告した。温度条件の変化に伴う脂質、グリコーゲン、アミノ酸の変化に関する事実からも肯定することができる。

すなわち、Bloor (1943) の方法にしたがって、コレステロール対リン脂質 (P の測定値による推定値) によって肝臓の水分含有の増減傾向を考えると、15°C 実験区のものが 30°C 実験区のものよりも高い値を示している。また肝臓から抽出された脂質のヨード価は高い温度に馴化したものの脂質に高い価を示している。このことは高い温度の方に水分の含有量が多く、また蓄積される脂質は不飽和度が大であることを示している。これらは吸収や蓄積に対して、つねに有利な状態になっていることでないかと考えられる。これらの関係については、著者がさらに研究を進めている。肝臓の水分含有量の増加が、少なくとも細胞内における酵素系の理論的な反応速度を高めるのにつごうのよいことになる場合もある筈である。

これらの機能的な相違が、電子顕微鏡像の差として、比較され、環境条件に対する生体の反応を示す手がかりになるかも知れない。

IV. 結 語.

ヒメダカを 15°C と 30°C の水槽の中に 3, 10, 25, 30 日間飼育して、肝臓の変化を電子顕微鏡によって検討した。

1. 15°C に飼育されたものの肝臓の細胞は電子密度の高い暗調な大部分とその低い明調な小部分とにわかれ、30°C に飼育されたものは、明調な部分がほとんどである。

2. 15°C に飼育された肝細胞は、脂質顆粒の蓄積が少く、30°C のものには脂質顆粒が蓄積されるいろいろな段階がみられる。

3. Bouin 氏固定液や重クロム酸処理によって、保留される細胞内物質は、15°C

のものよりも 30°C のものに多くなる。蛋白質などに関連する物質が多く合成されたものと想像される。

4. 30°C のものは、明調な糸粒体にまじって脂質の蓄積に関連していると思われる暗調な糸粒体や微粒体 (Microbodies) を多数もっている。また、Palade の細顆粒を密に附着している小胞状や空胞状の小胞体が多く部分を占めている。

5. 30°C における細胞内の全面的な明調化は、構造的な変化に伴う細胞内における物質代謝の促進によって生ずる水分の蓄積や体表面の透過性の増加によることが多いと想像される。15°C における明調な部域には、Palade の細顆粒の分布や糸粒体などが甚だしい。

6. 15°C 実験区のものに多い暗調化の部分がどうして暗調であるかはわからない。水分の含有量の多少に関連することもあるが、質的な構成物質の差によることも考えられる。

Author's Abstract.

The fresh-water fish, *Aryzias latipes*, was bred in two pools at temperature of 15°C and 30°C for 3, 10, 25 and 30 days, and the changes of thier liver cells were observed with the electron microscope.

1. The liver cells of the fish bred in the pool of 15°C have two parts: the darker parts of the higher electron density occupying a large part of the cell, and the clearer parts of the lower electron density. The liver cells of the fish bred in the pool of 30°C have only clearer parts.

2. The liver cells of the fish in the pool of 15°C contains little lipid granules and those in the pool of 30°C show various stages of accumulation of the lipid granules.

3. The cell substances not dissolved after the treatments of BOUIN's fluid or 5% $K_2Cr_2O_7$ are contained much more in the liver of the 30°C-fish. It is supposed that the substances which are related to proteins have been much more synthesized.

4. The liver cells of the 30°C-fish contain besides clear mitochondria many dark mitochondria and microbodies which are supposed to be related to the lipid contents. Also the endoplasmic reticula in alveolate and vacuolate form to which small granules of PALADE are attached are seen in almost all parts of the cell.

5. It is supposed that the tendency of growing clear in the liver cells at 30°C is caused by the increase of their surface-permeability and water contents, which is based on the acceleration of metabolism inside of the cell accompanying changes of its structure. On the clear parts of the liver cells of the 15°C-fish the small granules of PALADE and mitochondria are very few.

6. The reason why these dark parts in the liver cells of the fish bred in the pool of 15°C make their appcarance is not clear. It may be related to the water contents of the cells or may be caused by the qualitative difference of the constructive substances.

文 献.

- Barnun, C. P.** and **R. A. Hureby**: Arch. Biochem. 19 (1948). P. 17. — **Bloor, W. R.**: Biochemistry of the fatty acids. New York, Reinhold, 1943. — **Brett, J. R.**: Univ. Tor. Stud. Biol. Ser. 52. 63 (1944). — **Caspersson, T.**: Cell growth and cell function. New York, Norton, (1960). — **Claude, A.**: Harvey Lectures. Ser. 43. 121 (1948). — **De Man, J. C. H., W. Th. Daems, R. G. J. Willighagen** and **Th. G. van Rijssel**: J. Ultrastruct. Res. 4 (1960). P. 43. — **Eberth, C. J.**: Virchows Arch. 39 (1867). S. 70. — **Elias, H** and **H. Bengelsdorf**: Acta anat. 14 (1952). P. 297. — **Fortune, P. Y.**: J. exp. Biol. 32 (1955). P. 504. — **Her- ing, E.**: Arch. mikr. Anat. 3 (1867). S. 88. — **Hoar** and **Cottle**: 1952. 川本信之. 魚類生理生態学(恒星社, 東京)より引用. — **柄崎脩一**: 細胞化学シンポジウム 6 (1957). 頁 77. — **Kra- use, R.**: Mikroskopische Anatomie der Wirbeltiere. II. Voegel und Reptilien. 1922, — III. Amphibien. 1923. — **Palade, G. E.**: J. biophys. biochem. Cytol. 2 (1956). P. 417. — **Rouil- ler, Ch.** and **W. Bernhard**: J. biophys. biochem. Cytol. 2. Suppl. (1956). P. 355. — **Schnei- der, W. C.** and **G. H. Hogeboom**: Cancer Res. 11 (1951). P. 1. — **Shore, T. W.** and **J. H. Lewis**: J. Physiol. 10 (1889). P. 408. — **Sjöstrand, F. S.**: Physical techniques in biological research 3 (1956). P. 241. — **佃 弘子と片山トシ子**: 生理生態, 7 (1957). 頁 113. — **渡邊陽之輔**: 細胞化学シンポジウム. 5 (1957). 頁 35. — **Witter, R. F., M. L. Watson** and **M. A. Cottone**: J. biophys. biochem. Cytol. 1 (1955). P. 127.
-

図 1. 15°C 実験区. 明調な部分と暗調な部分にわかれる. a, a', b, c, d などの顆粒が見られる. 約 $\times 3,700$

図 2. 15°C 実験区. 図 1 の拡大である. a, a' 顆粒や暗調部の mitochondria が見られる. 約 $\times 10,500$

図 3. 15°C 実験区. 暗調部には大小の空胞や mitochondria が見える. 約 $\times 10,500$

図 4. 30°C 実験区, 3 日目. 脂質顆粒群の部域と mitochondria, 小胞状の endoplasmic reticulum などが見られる. 約 $\times 6,300$

図 5. 30°C 実験区, 3 日目. 扁平状の endoplasmic reticulum. 脂質顆粒, mitochondria のいろいろの状態が見られる. 約 $\times 8,050$

図 6. 30°C 実験区, 3 日目. Endoplasmic reticulum のいろいろな形態や特異な顆粒 () などが見られる. 約 $\times 6,300$

The fresh-water fish (*Aryzias latipes*) was bred in two pools at temperature of 15 and 30°C, and the changes of their liver were observed with the electron microscope.

Fig. 1. Case of 15°C. The liver cell of the fish bred in the pool of 15°C, consisting of darker and clearer parts. Granules such as a, a', b, c, and d are seen. $\times 3,700$

Fig. 2. Case of 15°C. This figure shows a high magnification of Fig. 1. Granules such as a and a', and mitochondria are seen in the darker part. $\times 10,500$

Fig. 3. Case of 15°C. In the darker part of the cell vacuoles and mitochondria are seen. $\times 10,500$

Fig. 4. Case of 30°C, 3 days after. Accumulation of lipid granules, mitochondria and alveolate endoplasmic reticulum are seen. $\times 6,300$

Fig. 5. Case of 30°C, 3 days after. Flat endoplasmic reticulum, lipid granules and mitochondria are seen. $\times 8,050$

Fig. 6. Case of 30°C, 3 days after. Various forms of endoplasmic reticulum and specific granules (↑) are seen. $\times 6,300$

蛭谷米司 (1)

図 7. 30°C 実験区, 25 日目. Mitochondria, 脂質顆粒その他の顆粒が見える. 部分的に電子密度の大なるもの(↑)や空胞化した部分をもつもの(↑)などがある. 約 $\times 2,600$

図 8. 30°C 実験区, 25 日目. 全体的に明調化してくる. 小胞状の endoplasmic reticulum やいろいろな状態の mitochondria が見られる. 約 $\times 6,300$

図 9. 30°C 実験区, 25 日目. Mitochondria のいろいろな状態や脂質顆粒に関連すると思われる微粒体(mb)が見られる. 約 $\times 8,050$

図 10. 30°C 実験区. 25 日目. Mitochondria, Palade の細顆粒や脂質顆粒などが見られる. 約 $\times 8,050$

Fig. 7. Case of 30°C, 25 days after. Showing mitochondria, lipid granules and other granules in the liver cells. Note the part of higher electron density (↑) and that of vacuolation (↑). $\times 2,600$

Fig. 8. Case of 30°C, 25 days after. Liver cells become generally clearer. Alveolate endoplasmic reticulum and various forms of mitochondria are seen. $\times 6,300$

Fig. 9. Case of 30°C, 25 days after. Various forms of mitochondria and microbodies(mb), which are related to lipid granules are seen. $\times 8,050$

Fig. 10. Case of 30°C, 25 days after. Mitochondria, small granules of PALADE and lipid granules. $\times 8,050$

図 11. 15°C, Bouin 固定. 固定とともに溶出した部分が大きい. ↑印のところに層状の構造が見える. 約 $\times 2,700$

図 12. 15°C, Bouin 固定. 層状構造がわかる. 細胞質の質的基本的構造に関連すると思われる. 約 $\times 37,400$

図 13. 30°C, 3 日目, Bouin 固定. 固定による溶出部分が 15°C よりも少くなっている. 約 $\times 4,200$

図 14. 30°C, 3 日目, Bouin 固定. 核および核に平行する層状構造が見られる. 約 $\times 8,750$

図 15. 30°C, 25 日目, Bouin 固定. 血管横断面などが見える. 細胞質に残留するものが多い. 蛋白質に関連するものであろう. 約 $\times 4,200$

図 16. 30°C, 25 日目, Bouin 固定. 血管の縦断面などが見える. 約 $\times 4,200$

Fig. 11. Case of 15°C. Large parts are dissolved at the time of fixing. Lamellar structures of the liver cell are seen in the part of ↑ mark. BOUIN fixing, $\times 2,700$

Fig. 12. Case of 15°C. Lamellar structures are seen. They are related to the basic structure of the protoplasm. BOUIN fixing. $\times 37,400$

Fig. 13. Case of 30°C, 3 days after. Dissolved parts at the time of fixing are seen. The dissolving is little less than in the case of 15°C. BOUIN fixing. $\times 4,200$

Fig. 14. Case of 30°C, 3 days after. Nucleus and lamellar structures which are parallel to the nucleus. BOUIN fixing. $\times 8,750$

Fig. 15. Case of 30°C, 25 days after. Showing cross section of a blood vessel. Much remains of protoplasm are seen, which may be related to protein. BOUIN fixing. $\times 4,200$

Fig. 16. Case of 30°C, 25 days later. Showing longitudinal section of blood vessel. BOUIN fixing. $\times 4,200$

- 図 17. 15°C, 重クロム酸固定. Bouin 固定と同じ傾向である. 約 $\times 3,700$
- 図 18. 15°C, 重クロム酸固定. 核や細胞と細胞の区分がよく見られる. 約 $\times 3,700$
- 図 19. 30°C, 3日目, 重クロム酸固定. Bouin 固定と同じ傾向であるが, まだ細胞質が充実していない. 約 $\times 4,200$
- 図 20. 30°C, 25日目, 重クロム酸固定. 空胞化している部分が少く, 細胞質の充実が見られる. 約 $\times 4,200$
- 図 21. 30°C, 25日目, 重クロム酸固定. 核と細胞質にそれぞれ質的な差が見られる. 約 $\times 4,200$

Fig. 17. Case of 15°C. Same as in the figure after BOUIN fixing. $K_2Cr_2O_7$ fixing. $\times 3,700$

Fig. 18. Case of 15°C. $K_2Cr_2O_7$ fixing. $\times 3,700$

Fig. 19. Case of 30°C, 3 days after. Same as after BOUIN fixing. $K_2Cr_2O_7$ fixing. $\times 4,200$

Fig. 20. Case of 30°C, 25 days after. Note the small part with vacuolation and the large part without such vacuolation of the liver cell. $K_2Cr_2O_7$ fixing. $\times 4,200$

Fig. 21. Case of 30°C, 25 days after. Qualitative changes of substances are seen in the nucleus and protoplasm. $K_2Cr_2O_7$ fixing. $\times 4,200$

蛭谷米司(4)