レクチン組織化学を通して眺めるコオロギの精子形成過程

鈴木 忠*

コオロギ精巣の切片をもちいてレクチン-糖鎖結合反応を利用する組織化学をおこなうと、レクチンの結合特異性や精子形成過程の進行に応じたさまざまな染まり方をする。つまり生殖細胞のもつ糖タンパク質などの糖鎖構造がステージ特異的に変化していく様子が観察される。たとえば、精母細胞の初期にはN-アセチルガラクトサミン結合性レクチンによる強い染色性がみられるが、これは発生の進行にともなって急激に消失していき、それと交代するかのようになり、ペプチド:N-グリコシダーゼF抵抗性の糖鎖が現われる。また細胞質や核内のグリコサミノグリカン鎖が視覚化される。この総説では、糖鎖の変化に注目して精子形成過程を眺めることから新たに見えてきたこれら興味深い現象について述べる。

1. はじめに

細胞内外には多種多様な糖鎖が存在する。それらは糖タンパク質、糖脂質、あるいはプロテオグリカンというような分子形態をとり、さまざまな細胞現象に関与していると考えられる。細胞現象のすぐれたモデルとみなされる精子形成過程においても、その進行にともなう各種のタンパク質の糖鎖修飾に関する現象が断片的には知られてきた。例えば、マウスのパキテン期精母細胞と精細胞における糖鎖修飾^{32, 33)}およびグリコシル化に必要なドリコール生合成の上昇³⁷⁾、ラットの精母細胞における糖タンパク質へのフコース付加反応¹⁶⁾、ラットのプレパキテン期精母細胞⁹⁾や成熟期精子⁵¹⁾におけるシアル酸の付加反応などである。どのような糖鎖が精子形成細胞のどこに分布しているのかに関しては、レクチンを使用した組織化学の面から、主として脊椎動物の精子形成研究を対象に多くの研究がなされてきた。

レクチンは、免疫系起源ではないさまざまな糖鎖

結合性タンパク質の総称だが、抗原抗体反応を利用する免疫組織化学と同様の手法をもちいて、組織内に存在する糖鎖の検出に活用されている(各種レクチンの性質とその研究史などに関してはGoldsteinとPoretzによる総説が詳しく¹⁴⁾、レクチン組織化学に関してはBrooksらの教科書³⁾が便利)。

レクチン組織化学の研究例が豊富なのは、脊椎動物の中でも特に哺乳類である。一部の例をあげれば、膜の流動モザイクモデルで有名なNicolsonらにより1977年に報告されたウサギ精子表面糖鎖の研究³⁴⁾をはじめとして、マウス^{21, 49)}、ラット^{20, 30)}、ウシ⁷⁾、ブタ⁴⁷⁾、およびヒト^{28, 31)}などの精子形成に関するレクチン組織化学の報告がある。それに対して、他の脊椎動物での研究例はごく少ない^{1, 27)}。無脊椎動物ではどうかといえ、過去に精子形成に関する膨大な研究の蓄積があり、おどろくべき多様性³⁹⁾が知られているにもかかわらず、レクチン組織化学的研究としては、わずかにショウジョウバエ³⁵⁾と数種の直翅目昆虫⁸⁾での報告にとどまる。

以上にあげた研究は、脊椎・無脊椎を問わず、ほとんどはもっぱら精子形成の最終局面である精子完成期に興味が集中しており、それ以前の段階に関する知見は非常に少ない。筆者らは、フタホシコオロギ(*Gryllus bimaculatus*)の精巣を材料としてレクチンによる組織化学的研究^{42, 43, 45)}をおこなうにあたって、糖鎖の発現状況を精子形成過程全般にわたって概観することにした。それによって見えてきたいいくつかの現象、とりわけ精母細胞における糖鎖にまつわる変化について紹介する。

2. コオロギ精子形成の概観

精子形成の研究に昆虫を材料として使用する場合、精巣内の構造が哺乳類と比べて大きく異なることに

*Atsushi C. SUZUKI, 慶應義塾大学医学部生物学教室(〒223-8521 横浜市港北区日吉4-1-1)

図1 コオロギ7齢初期の精巣の模式図
精巣小胞内の盲管側から順に精原細胞(1), 初期精母細胞(2,3), 中期精母細胞(4), 後期精母細胞(5-7), 二次精母細胞または丸い精細胞(8), 尾部伸長期の精細胞(9)のように並んでいる。シスト数と発生段階の構成は小胞によって差がある。

気付くだろう。図1に、コオロギ7齢幼虫の精巣の模式図を示す。1対の精巣内部には多数の精巣小胞(testis follicle)がある。それぞれの精巣小胞の一端には輸精小管(vas efferens)があり、その反対の端に精原細胞がみられる。生殖細胞はステージの揃った集団ごとにシスト(spermatocyst)を形成しており、それぞれのシストは輸精小管に向かってほぼ直列状に並んでいる。精原細胞はシスト内で細胞増殖を繰り返した後、一次精母細胞となる。

コオロギ類では、一つのシスト内に含まれる精母細胞数が非常に多い。*Acheta domestica*では精原細胞の有糸分裂は10回起こるとの報告がある²⁹⁾。フタホシコオロギ精巣の連続切片で観察される一次精母細胞シスト内の細胞数を2つのシストについて数えたところ、それぞれ856個および984個であった。このことから、フタホシコオロギの精原細胞でも10回の有糸分裂を行なった後、減数分裂のサイクルに移行するものと思われる。

シストごとにまとまった非常に多数の同調集団として精子形成が進行することは、組織化学をおこなう上でひとつの利点である。図2は6齢、7齢および8齢の精巣をビオチン化したダイズマメ凝集素(SBA)とペルオキシダーゼ標識ストレプトアビジンによって標識し、3-アミノ-9-エチルカルバゾールによって染色したものである。シスト毎に同調して精子形成過程が進んでいるため、SBAの結合を示す発色もそれぞれのシスト毎に特徴的な強さであられ、その結果としてステージ特異性の観察が非常に容易となる。ここではSBAに対する強い反応が精母細胞の初期に現われていることが明確に観察できる。6齢精巣においては各精巣小胞のなかほどのシストまで染色されているが、7、8齢精巣においてはその染色は精巣の周辺部のシストに限られる。

コオロギ幼虫の精巣において減数分裂前期の精母細胞が現われるのは5齢2日頃からで、6齢脱皮当

図2 SBAによる組織化学 a, 6齢; b, 7齢; c, 8齢精巣。Bar=200 μ m。

表1 使用したレクチンの性質

略称	由来	主要な糖結合特異性
<i>N</i> -アセチルグルコサミン結合性グループ		
S-WGA	<i>Triticum vulgaris</i>	GlcNAc β 1-4GlcNAc>GlcNAc
<i>N</i> -アセチルガラクトサミン/ガラクトース結合性グループ		
DBA	<i>Dolichos biflorus</i>	GalNAc α 1-3GalNAc β 1->GalNAc α 1-3($\pm$ Fuc α 1-2)Gal β 1-
LBA	<i>Phaseolus lunatus</i>	GalNAc α 1-3(Fuc α 1-2)Gal β 1-
HPA	<i>Helix pomatia</i>	GalNAc α 1-3($\pm$ Fuc α 1-2)Gal β 1-, GalNAc α 1->GalNAc β 1-4Gal β 1-
SBA	<i>Glycine max</i>	α GalNAc> β GalNAc>Gal
SJA	<i>Sophora japonica</i>	Gal β 1-3GalNAc α 1->Gal β 1-3/4GlcNAc β 1->GalNAc>>Gal
GS-I-B	<i>Griffonia simplicifolia</i>	Gal α 1-3Gal β 1-4GlcNAc β 1-
RCA-I	<i>Ricinus communis</i>	Gal β 1-4GlcNAc β 1-> β -Gal
PNA	<i>Arachis hypogaea</i>	Gal β 1-3GalNAc α 1->Gal β 1-4GlcNAc β 1-
グルコース/マンノース結合性グループ		
ConA	<i>Canavalia ensiformis</i>	Trimannosyl core of high mannose- or hybrid-type
LCA	<i>Lens culinaris</i>	Core region of complex-type with α (1-6)-linked fucose
PSA	<i>Pisum sativum</i>	Core region of complex-type with α (1-6)-linked fucose
フコース結合性グループ		
AAA	<i>Anguilla anguilla</i>	α Fuc
UEA-I	<i>Ulex europaeus</i>	Fuc α 1-2Gal β 1-4GlcNAc β 1-
シアル酸結合性グループ		
LFA	<i>Limax flavus</i>	Neu5Ac>Neu5Gc

レクチンの単糖結合性によるグループ分けは、Goldstein と Poretz(1986)¹⁰⁾にしたがった。

GlcNAc, *N*-acetyl-D-glucosamine; GalNAc, *N*-acetyl-D-galactosamine; Gal, D-galactose; Man, D-mannose; Fuc, L-fucose; Neu5Ac, *N*-acetylneuraminic acid; Neu5Gc, *N*-glycolylneuraminic acid.

日の精巢では、第1分裂中期目前の状態の精母細胞が観察される⁴¹⁾。したがって、長期間にわたる減数分裂前期の精母細胞における種々の変化を調べるためには6齢の精巢が、さらに減数分裂が完了して尾部伸長の始まる頃の精細胞までをも対象とするためには7齢の精巢が研究材料として適している。

3. 固定液がレクチン結合性におよぼす影響

免疫組織化学では抗原性の保持に関して固定液の影響を慎重に検討することが常識となっている。ところが、レクチンと糖鎖の結合を利用するレクチン組織化学においては、抗原抗体反応の場合に比べて、固定液の選択にそれほど注意を払わなくても良いかのような記述を時折実験書などで目にする。これは

重大な誤りである。

筆者は4種の異なった固定液に関して、SBA、ドリコスマメ凝集素(DBA)およびカタツムリ凝集素(HPA)によるレクチン組織化学の比較をおこなった。比較した固定液は、Bouin液、4%ホルムアルデヒド、3%ホルムアルデヒド/0.1%グルタルアルデヒド、および1%グルタルアルデヒドである。その結果、これらのうちでは、Bouin液によって固定された精巢において各レクチンの結合がもっともよく観察された。グルタルアルデヒドは、どのレクチンに関しても反応性の低下を招いた。とくにDBAの結合性は0.1%のグルタルアルデヒドによって全く消失した。また、4%ホルムアルデヒドはPNAによる染色性を低下させ、組織の形態保持の点からもBouin液に劣った。これらの結果から、

表2 コオロギ精子形成細胞のレクチン結合パターン

	精原細胞			精母細胞									精細胞	
	N	G	C	(初期)			(中期)			(後期)			G	C
				N	G	C	N	G	C	G	C			
S-WGA	—	+	—	—	+	+	—	+	±	—	—	—	—	
DBA	—	+	—	—	++	++	—	++	±	—	—	—	—	
LBA	+	+	—	±	++	++	—	++	±	—	—	—	—	
HPA	—	+	±	—	++	++	—	+	+	++	±	++	+	
SBA	—	+	+	—	++	++	—	+	+	++	±	++	+	
RCA-I	—	+	±	—	++	++	—	+	±	+	±	++	±	
PNA	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
ConA	—	±	±	—	+	+	—	+	+	+	+	—	+	
LCA	—	+	+	—	+	+	—	+	+	+	+	±	+	
PSA	—	+	+	—	+	+	—	±	+	±	+	—	+	
AAA	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	+	—	—	
UEA-I	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	

N, 核; G, 顆粒状構造; C, 細胞表面など。染色の程度: —陰性, ±弱, +中程度, ++強

GS-IB₄, SJA と LFA は特異的結合がみとめられなかった。

[†]ペプチド: N-グリコシダーゼFまたはエンドFを含むペプチド: N-グリコシダーゼF処理によって染色性消失または低下

^hヒアルロニダーゼ処理によって染色性消失または低下

^{*}EndoF/PNGaseF処理によって別の染色性出現

[†]ヒアルロニダーゼ処理によって弱い染色性出現

コオロギ精巣におけるレクチン組織化学をおこなうためには、Bouin 液を使用することとした。

4. レクチン組織化学でみるコオロギ精子形成

筆者が使用したビオチン化レクチンの性質について表1にまとめた。また、これらのレクチンの精巣切片への結合パターンを表2にまとめて示す。ここでは、第1減数分裂前期の精母細胞を Bouin 固定切片における細胞の大きさによって大まかに3期、すなわち直径10-11μm ぐらいまでの初期精母細胞、18μm 以上の後期精母細胞、およびそれらの中間の中期精母細胞と呼ぶことにする。以下にいくつかの特徴的な染色結果について考察する。

4. 1. 初期精母細胞に特異的な糖鎖構造

初期精母細胞に強く反応するレクチンとして、さきに記した SBA のほかに、DBA, HPA, リ

ママメ凝集素(LBA), ヒマ凝集素 I(RCA-I)などがある。これらのうち特に DBA は非常にステージ特異性が高く、図3aにみられるように大型の後期精母細胞以降は全く反応しなくなり、また生殖細胞以外にもほとんど反応しない。レクチンと反応させる前に、切片をあらかじめ *Flavobacterium meningosepticum* 由来のペプチド: N-グリコシダーゼFによって処理すると、これらの反応は全く消失する。このエンド型グリコシダーゼは、ほとんどの N-グリコシド型(Asn 結合型)糖鎖を切断する性質を持っている⁴⁶⁾。また、この酵素処理をおこなったのちに、切片をマンノース結合性を持つタチナタマメ凝集素(ConA), レンズマメ凝集素(LCA)あるいはエンドウマメ凝集素(PSA)に反応させると、やはり精原細胞から初期精母細胞までの部分がまったく染まらない(図3b)。このペプチド: N-グリコシダーゼF処理後の LCA による染色パターンは、ちょうど DBA 陽性パターン(図3a)と裏返しの関係になっ

図3 DBA の染色パターン(a)とペプチド: N-グリコシダーゼ F 処理切片における LCA の染色パターン(b) 7 齢精巢。Bar=50 μ m。

ている。これらの事実から、初期精母細胞に特異的に発現している糖鎖は、複合型あるいは混成型の Asn 結合型糖鎖であり、それらの末端には α -N-アセチルガラクトサミン残基を持つものと推測できる。また RCA-I の反応性から、末端に β -ガラクトースを持つものの存在も予想される。

ところで、N-アセチルガラクトサミン結合性レクチンのうちでも染色性が異なることが注目されよう。DBA 陰性となる後期精母細胞においても、SBA や HPA などには反応している。SBA や HPA は糖鎖結合特異性の幅がひろく、O-グリコシド型(ムチン型)糖鎖のマーカーとしてもよく使用される。一方、DBA はフォルスマン型糖鎖(GalNAc α 1-3GalNAc β 1-)や A 型糖鎖(GalNAc α 1-3[Fuc α 1-2]Gal β 1-)には強い親和性を持つが、GalNAc α 1-4Gal β 1-, β GalNAc-あるいは β Gal-などに対する親和性はごく弱い³⁶⁾。それぞれのレクチンによる染色性の違いはこのような糖鎖結合特異性の違いを反映していると考えられる。

4. 2. ペプチド: N-グリコシダーゼ F 抵抗性糖鎖

ペプチド: N-グリコシダーゼ F, または、エンド F を含むペプチド: N-グリコシダーゼ F による前処理をした切片を、LCA, PSA や Con A などのマンノース結合性レクチンあるいは、ウナギ血清凝集素(AAA)やハリエニシダ凝集素 I(UEA-I)のよ

うなフコース結合性レクチンと反応させると、中～後期精母細胞に特異的な発色が観察される。これらのうち、LCA や PSA は複合型の Asn 結合型糖鎖に特異的に結合することが知られている^{6, 23)}。一方、ペプチド: N-グリコシダーゼ F はほとんどの Asn 結合型糖鎖に作用して、アスパラギンと N-アセチルグルコサミンの間で糖鎖を切断するといわれている⁴⁶⁾。このことから、中～後期精母細胞の LCA/PSA 反応性糖鎖はやや特殊なタイプの糖鎖であることが考えられ、また AAA や UEA-I との結合性から、これらの糖鎖はフコースを含んでいる可能性がある。

ところで、現在までに知られる限りでは、Asn 結合型糖鎖のうちでペプチド: N-グリコシダーゼ F によって糖鎖切断のおこらない唯一の例は、アスパラギンに直接結合する N-アセチルグルコサミン残基に α -1-3 結合したフコースがある場合とされている^{46, 48)}。これは哺乳動物では見つかっていない珍しい糖鎖構造である。しかし、昆虫の神経細胞のマーカーとして使用される抗西洋ワサビペロキシダーゼ抗体の抗原決定基がこの構造であったこと²⁶⁾、ミツバチ毒ヒアルロニダーゼ²⁵⁾や鱗翅目昆虫培養細胞の産生する糖タンパク質²⁴⁾からこのような糖鎖構造が見つまっていることから、昆虫では広く分布する糖鎖構造であるらしい。したがって、中～後期精母細胞特異的染色パターンをもたらすものとして α -1-3-

結合したフコースを持つような糖鎖が新たに発現している可能性を考えることができる。ただし、グリコシダーゼによる糖タンパク質からの糖鎖の遊離の程度はペプチド部分のサイズやコンホメーションにも依存する事を忘れてはならないであろう。

4. 3. 核に存在するヒアルロニダーゼ感受性物質

LBA は精原細胞から中期精母細胞までの顆粒状構造に結合するとともに、核内の物質とも反応する。顆粒状構造の反応は、エンド F を含むペプチド: N-グリコシダーゼ F による前処理によって完全に消失した。ところが核内の反応は残った。逆に、ウシ精巣由来ヒアルロニダーゼ処理によっては、核内の反応のみが消失した(図 4)。またピーナッツ凝集素(PNA), Con A および LCA は、無処理切片では核には結合しないが、ヒアルロニダーゼ処理後には切片の核を弱く染色する。このことはヒアルロニダーゼ感受性の物質の除去によって、それまで隠れていたレクチン結合部位が露出された結果、これらのレクチンで染色されるようになったと考えられる。以

上の事実は、核内にはなんらかのヒアルロニダーゼ感受性の物質、すなわちヒアルロン酸などのグリコサミノグリカン鎖が存在していることを示している。ただし、LBA は A 型糖鎖($\text{GalNAc } \alpha 1-3[\text{Fuc } \alpha 1-2]\text{Gal } \beta 1-$)に対する親和性⁽⁴¹⁾ 以外に、種々の疎水性リガンドに対する結合性なども持っているため⁽³⁸⁾、このヒアルロニダーゼ感受性物質のどのような部位が LBA によって認識されたのか、末端構造として A 型糖鎖のような構造を含むのかどうかは現在のところ不明である。

グリコサミノグリカンが細胞外マトリクスの構成分子としてだけでなく、細胞質や核にも存在する事があきらかになってきた経緯については Hart らの総説⁽¹⁷⁾ に詳しく紹介されている。Busch ら(1992)は、増殖刺激を受けた細胞の S 期への移行がグリコサミノグリカンの一種であるヘパリンによって阻害される際に Fos や Jun プロトオンコジーン産物による転写活性が抑制されることから、遺伝子転写因子のグリコサミノグリカンによる調節モデルを提唱している⁽⁴⁾。また最近ニワトリ心筋から単離されたヒア

図 4 酵素処理と LBA の結合 エンド F を含むペプチド: N-グリコシダーゼ F 処理(b)とそのコントロール(a), ヒアルロニダーゼ処理(d)とそのコントロール(c)。7 齢精巣。Bar=50 μ m。

ルロン酸結合タンパク質が、酵母やショウジョウバエにおける細胞周期調節因子の一つ Cdc37 とホモロジーをもつことが判明した¹⁵⁾。コオロギ精子形成細胞の核に存在するヒアルロニダーゼ感受性物質も、やはり細胞周期の調節に関与しているのであろうか。興味深い問題である。

4. 4. ネガティブな結果から

レクチン組織化学でも他のどんな実験でもネガティブな結果に対する評価は難しい。しかしながらここではレクチン 2 種に関して考えられる事を述べたい。

PNA はコオロギ精巢の生殖細胞には(ヒアルロニダーゼ前処理の場合を除いて)全く結合しないが、シスト細胞以外の体細胞を非常に強く染色する。したがって、この性質は精子形成における体細胞との相互作用について調べるために(体細胞側の)マーカーとして利用できるかも知れない。昆虫の精子形成に関しては頂端細胞(apical cell)と精原細胞の幹細胞との関係に興味を持たれている³⁹⁾。これは、脊椎動物の精子形成における基底膜や Sertoli 細胞と生殖細胞との関係と同様、細胞間相互作用を考える上で興味深いテーマである。

シアル酸は脊椎動物では非常に重要視されているが、昆虫ではその存在が長らく疑問視され続けた。1992 年になって Roth らがショウジョウバエの胚におけるシアル酸の存在を報告した⁴⁰⁾ が、未だに昆虫の糖タンパク質におけるシアル酸については確実な情報が乏しく、その生物学的活性に占める地位は脊椎動物におけるようなものではないらしい。培養細胞系ではシアル酸が検出されないと報告は数多く、培養細胞から発現されるタンパク質からシアル酸が検出されたとする近年の報告⁵⁾ も、転写膜上でのレクチンプロットによって確認しているだけであり、しかも対照実験に関する記述がない。シアル酸以外にも様々な糖鎖との親和性を持つコムギ胚芽凝集素(WGA)との反応性から安易にシアル酸について言及される場合もあるが⁸⁾、レクチン-糖鎖結合特異性を論ずる上からも、生物の多様性への視点からも、より慎重であるべきである。コオロギ精巢では、シアル酸結合性をもつコウラナメクジ凝集素(LFA)との弱い反応が精巢壁上皮細胞で観察されたが、N-アセチルノイラミン酸による吸収実験の結果からこれは非特異的結合であろうと疑っている。精子形成細胞に関する限りは LFA との反応は全く観察されていない。

5. 電顕による観察から

6 齢精巢の超薄切片上でレクチン組織化学をおこない、精母細胞における N-アセチルガラクトサミン結合性レクチンと反応する細胞内構造を透過型電子顕微鏡で観察すると、おもしろい構造が見えてくる^{42, 45)}。

精母細胞内にはしばしば直径 100-300nm 程度の電子密度の高い顆粒状構造が集団を形成しているのが観察され、このような構造に 3 種の N-アセチルガラクトサミン結合性レクチン(SBA, DBA, HPA)が結合した。これらの顆粒状構造の内部には多重層構造あるいは多胞構造が観察される。またいくつかの顆粒状構造がつながったように見えることもある。またこれらの集団をなす顆粒状構造より大きな多胞体が存在し、それらにも SBA と HPA の結合がみられた。これも高電子密度で、その内部には多様な膜構造がみとめられた。グルタルデヒド固定エポン包埋標本による通常の電顕試料を観察して、上記のような構造を探したところ、同様な高電子密度の顆粒状構造群がみつかった。これらは、レクチン標識されたものとはほぼ同じ様な大きさと形状を示し、多層構造あるいは多胞体構造が認められる。いったいどのような機能を持つオルガネラなのであろう。

じつはこのような顆粒状構造の集団に関しては、かなり昔の研究ではしばしば報告されてきた。1922 年に Gatenby はこのような構造の組織化学的性質が卵黄顆粒と同じであることからこれを male yolk と呼び¹⁰⁾、後の論文では Y 顆粒と名付けている¹¹⁾。またその染色性からニュートラルレッド小体などとも呼ばれた^{18, 19, 50)}。その後、電子顕微鏡や分子生物学の発達によってその微細構造や機能なども詳しく判明したかといえば、そうはならなかった。筆者が論文の海を見渡す限り、この構造に関するその後の報告を数えるには片手で足りそうである。Beams ら(1956)²¹⁾ と Kaye(1962)²²⁾ のコオロギ精巢の電顕による研究の中で、わずかに言及されている。また Gatenby らは直翅目昆虫精子形成細胞のオルガネラについて、それらの研究史もふくめて詳しく記載している^{12, 13)} が、そろそろ新しい手法による見直しがされるべきかと思われる。筆者の見た顆粒の集団や大型の多胞体は、その微細構造の特徴からエンドソームやリソソーム様の働きを持ったオルガネラなのではないかと想像しているが、それに関してはこれからの研究成果に期待しているところである。

6. おわりに

コオロギの精巣では、生殖細胞がシスト単位にまとまって同調集団として精子形成が進行する。この性質は、精子形成の進行とともにレクチンに対する反応性がどのように変化していくかを観察するうえで非常に好都合であった。その結果、長く続く減数分裂前期の精母細胞における細かな変化が観察され、これまで知られることのなかったさまざまな現象がみえてきた。そこで精母細胞の細胞質ではどのような形態あるいは生化学的变化が起こっているかについて最近の文献をあたってみると、驚くべきことに、無脊椎動物の精母細胞に関する研究がほとんど見当たらない。光学顕微鏡の時代はともかく、最近では脊椎動物(特にラットやヒト)以外の生物を対象とした研究は、あったとしても精細胞から精子への変態過程のものだけである。

研究をはじめた当初は、レクチン組織化学と糖鎖の生化学的分析をつなぐことを目論んでいた。しかし、基礎的な微細構造の形態学的研究が意外なほど少ないことからどんどん形態学の深みにはまり込んで、まだしばらくはそこから抜け出せそうにはないのが現状である。

謝辞

本稿の執筆を勧めて下さった山口大学高橋進教授、指導と助言を頂いた慶應義塾大学西村顯治教授に感謝いたします。

文 献

- 1) Ballesta, J., Maltnez-Menrguez, J.A., Pastor, L.M., Avils, M., Madrid, J.F. & Castells, M.T.: *Eur. J. Bas. Appl. Histochem.* 35: 107-117 (1991)
- 2) Beams, H.W., Tahmisian, T.N., Devine, R.L. & Anderson, E.: *J. Roy. Micr. Soc.* 76: 98-104 (1956)
- 3) Brooks, S.A., Leathem, A.J.C. & Schumacher, U.: *Lectin Histochemistry*, pp1-170, BIOS Scientific Publishers Ltd (1997)
- 4) Busch, S.J., Martin, G.A., Barnhart, R.L., Mano, M., Cardin, A.D. & Jackson, R.L.: *J. Cell Biol.* 116: 31-42 (1992)
- 5) Davis, T.R. & Wood, H.A.: *In Vitro Cell Dev Biol Anim* 31A: 659-663 (1995)
- 6) Debray, H., Decout, D., Strecker, G., Spik, G. & Moutreuil, J.: *European Journal of Biochemistry* 117: 41-55 (1981)
- 7) Ertl, C. & Wrobel, K.-H.: *Histochemistry* 97: 161-171 (1992)
- 8) Esponda, P. & Guerra, R.: *Cell Tiss. Res.* 264: 507-513 (1991)
- 9) Fenderson, B.A., O'Brien, D.A., Millette, C.F. & Eddy, E.M.: *Dev. Biol.* 103: 117-128 (1984)
- 10) Gatenby, J.B.: *Quart J Micro Sci* 66: 1-48 (1922)
- 11) Gatenby, J.B. & Beams, H.W.: *Quart J Micr Sci* 78 (1935)
- 12) Gatenby, J.B. & Tahmisian, T.N.: *La Cellule* 60: 103-134 (1959)
- 13) Gatenby, J.B., Tahmisian, T.N., Devine, R. & Beams, H.W.: *La Cellule* 59: 27-52 (1958)
- 14) Goldstein, I.J. & Poretz, R.D. In: *The Lectins: Properties, Functions, and Applications in Biology and Medicine*. Liener, I.E., Sharon, N. & Goldstein, I.J. (eds.), pp33-247, Academic Press (1986)
- 15) Grammatikakis, N., Grammatikakis, A., Yoneda, M., Yu, Q., Banerjee, S.D. & Toole, B.P.: *J. Biol. Chem.* 270: 16198-16205 (1995)
- 16) Grootegoed, J.A., Krger-Sewnarain, B.C., Jutte, N.H.P.M., Rommerts, F.F.G. & van der Molen, H.J.: *Gamete Res.* 5: 303-315 (1982)
- 17) Hart, G.W., Haltiwanger, R.S., Holt, G.D. & Kelly, W.G.: *Ann. Rev. Biochem.* 58: 841-874 (1989)
- 18) Hirschler, J.: *Z Zellforsch Mikr Anot* 7: 62-82 (1927)
- 19) Johnson, H.H.: *Zeit. Wiss. Zool.* 140: 115-166 (1931)
- 20) Jones, C.J.P., Morrison, C.A. & Stoddart, R.W.: *Histochem. J.* 25: 711-8 (1993)
- 21) Kanai, Y., Kawakami, H., Kurohmaru, M., Hayashi, Y., Nishida, T. & Hirano, H.:

- Histochemistry 92 : 37-42 (1989)
- 22) Kaye, J.S.: J. Cell Biol. 12 : 411-431 (1962)
 - 23) Kobata, A. & Yamashita, K. In: Glycobiology. Fukuda, M. & Kobata, A. (eds.), pp.103-125, Oxford University Press (1993).
 - 24) Kubelka, V., Altmann, F., Kornfeld, G. & März, L.: Arch. Biochem. Biophys. 308 : 148-157 (1994)
 - 25) Kubelka, V., Altmann, F. & März, L.: Glycoconjugate J. 12 : 77-83 (1995)
 - 26) Kurosaka, A., Yano, A., Itoh, N., Kuroda, Y., Nakagawa, T. & Kawasaki, T.: J. Biol. Chem. 266 : 4168-4172 (1991)
 - 27) Labate, M. & Desantis, S.: Eur. J. Histochem. 39 : 201-212 (1995)
 - 28) Lee, M.-C., Talerma, A., Oosterhuis, W. & Damjanov, I.: Arch. Path. Lab. Med. 109 : 938-942 (1985)
 - 29) Lyapunova, N.A. & Zosimovskaya, A.I.: Tsitologia 15 : 276-282 (1973)
 - 30) Malmi, R., Fröjdman, K. & Söderström, K.O.: Histochemistry 94 : 387-395 (1990)
 - 31) Malmi, R., Kallajoki, M. & Suominen, J.: Andrologia 19 : 322-332 (1987)
 - 32) Maylie-Pfenninger, M.: Arch. Biochem. Biophys. 311 : 469-479 (1994)
 - 33) Millette, C.K. & Scott, B.K.: J. Cell Sci. 65 : 233-248 (1984)
 - 34) Nicolson, G.L., Usui, N., Yanagimachi, R., Yanagimachi, H. & Smith, J.R.: J. Cell Biol. 74 : 950-962 (1977)
 - 35) Perotti, M.-E. & Pasini, M.E.: J. Exp. Zool. 271 : 311-318 (1995)
 - 36) Piller, V., Piller, F. & Cartron, J.-P.: Eur. J. Biochem. 191 : 461-466 (1990)
 - 37) Potter, J.E.R., Millette, L.F., James, M.J. & Kandutsch, A.A.: J. Biol. Chem. 256 : 7150-7154 (1981)
 - 38) Roberts, D.D. & Goldstein, I.J.: J. Biol. Chem. 258 : 13820-13824 (1983)
 - 39) Roosen-Runge, E.C. The Process of Spermatogenesis in Animals. pp.1-214, Cambridge University Press (1977)
 - 40) Roth, J., Kempf, A., Reuter, G., Schauer, R. & Gehring, W.: Science 256 : 673-675 (1992)
 - 41) Sikder, S.K., Kabat, E.A., Roberts, D.D. & Goldstein, I.J.: Carbohydr. Res. 151 : 247-260 (1986)
 - 42) Suzuki, A.C. & Nishimura, K.: Zool. Sci. 12 : 591-597 (1995)
 - 43) Suzuki, A.C. & Nishimura, K.: Zool. Sci. 14 : 455-467 (1997)
 - 44) Suzuki, A.C. & Nishimura, K.: Zool. Sci. 14 : 637-639 (1997)
 - 45) Suzuki, A.C. & Nishimura, K.: Zool. Sci., in press.
 - 46) Tarentino, A.L. & Plummer, T.H., Jr. In: Guide to Techniques in Glycobiology. Lennarz, W.J. & Hart, G.W. (eds.), pp44-57, Academic Press, (1994)
 - 47) Töpfer-Petersen, E., Januschke, E., Schmoedel, C. & Schill, W.B.: Andrologia 16 : 539-547 (1984)
 - 48) Tretter, V., Altmann, F. & März, L.: Eur. J. Biochem. 199 : 647-652 (1991)
 - 49) Watanabe, M., Muramatsu, T., Shirane, H. & Ugai, K.: J. Histochem. Cytochem. 29 : 779-790 (1981)
 - 50) Wilson, E.B. & Pollister, A.W.: J. Morphol. 60 : 407-443 (1937)
 - 51) Yamamoto, Y., Serizawa, O. & Uto, N.: Zool. Sci. 8 : 329-337 (1991)