齧歯類精子の acrosomic system の形成について

大 沼 秀 男

(農林省 畜産試験場)

精子の頭部の前半が帽子状の構造によっておおわれていることは古くから知られ、一般に acrosomic system^{1,2)}, または acrosome³⁻¹¹⁾ と呼ばれているが、そのほかにも kopfkappe¹²⁻¹⁵⁾, perforatorium^{16,17)}, galea capitis¹⁸⁻²⁰⁾, capuchon céphalique²¹⁾, spermiocalypthrotheca と spermiocalyptra²²⁾, cytoplasmic cap²³⁾, acrosome cap^{24,25)}, head cap²⁶⁾, spermatic veil²⁷⁾ などの名称が用いられている。しかし、その内容は用語によって若干の相違がみられるばかりでなく、同じ用語であっても、研究者によって内容が必ずしも一致せず、徒らに混乱を招き、この構造を正しく理解することをさまたげている。

一方、家畜繁殖の実際面では acrosomic system にみられる形態異常と不妊とのあいだに関係のあることが知られ²⁸⁻⁴⁰⁾, その重要性がしだいに注目されてきているが、acrosomic system の形態異常の持つ意義を正しく把握するためには、まず、形成過程もふくめた acrosomic system の構造を知る必要がある。

そこで、acrosomic system の構造を解明し、ひいては混乱をきわめている acrosomic system に関する用語の統一解釈に資することも目的として、精子形態の変化に富む齧歯類精子の acrosomic system の形成過程を、その検索にすぐれているオルト液で固定し、過ヨード酸・シッフ染色 (PAS 染色) を行なって、前報⁴¹⁾ の家畜の場合と比較検討した。

材料および方法

実験材料は、兎、ラット、モルモットの屠殺摘出した精巢を用いた。

固定は主としてオルト液を用い、そのほか必要に応じて、浜崎・クロム KEG 液、カルノア第2液を使用した。法に従って、5 μ のパラフィン切片としたのち、Mc-

Formation of the acrosomic system of spermatozoa in rodents.

ONUMA, H. (Nat'l. Inst. of Animal Indust., Chiba)
Jap. J. Animal Reprod. 10 (3), 1964.

MANUS の PAS 染色を行ない、後染色には 70% のアルコールに溶解した 0.5% のライトグリーン液を用いた。

結果および考察

牛、馬、豚、山羊⁴¹⁾と同じように、兎、ラット、およびモルモットの精子の acrosomic system の形成過程は acrosomic granule 形成期、頭帽形成期 (前期および後期)、acrosome 形成期 (前期および後期)、成熟期の4期に分けられた。その比較形態学的な所見はつぎのようである。

1) acrosomic granule 形成期

新しく形成された精子細胞の核に接して PAS 染色に淡染するゴルジ体があるが、その中に将来精子の帽子状の acrosomic system となる PAS 染色に濃染する顆粒があらわれる。顆粒の数は兎では 2,3 個、ラットでは 2~4 個、モルモットでは 10 個、あるいは 10 数個であった。この顆粒はオルト液固定材料では単一の顆粒のようであったが、浜崎・クロム KEG 液で固定した場合はきわめて小さい PAS 陽性顆粒を入れた囊状体、すなわち、proacrosomic granule を内封した proacrosomic vesicle であることが知られた。ただ、兎ではオルト液で固定した材料でもはじめから 2 重構造のものがあつた。やがて、それらは融合するが、図 1 のようにオルト液固定材料では動物の種類によって所見に差があつた。

兎では牛、馬、豚、山羊と同じように、1 個の acrosomic granule を内封した球状の acrosomic vesicle が形成されるが、この acrosomic vesicle 内には acrosomic granule 以外にもごく微細な PAS 淡染物質が vesicle の壁に付着したり、granule 周辺にみられ、ときにはそれが vesicle 全体に広く分布する場合もある。ところが、ラットでは 1 個の PAS 染色に濃染する顆粒が形成されるのみで 2 重構造は認められず、また、モルモットでは本期の末期になってはじめて濃染する顆粒内にさらに濃染する顆粒が認められた。しかし、浜崎・クロム KEG 液で固定すると、それらの顆粒は家畜とまったく同じ構造、すなわち、acrosomic granule を内封した acrosomic vesicle であることが知られた。

兎

図1. acrosomic granulé 形成期の acrosomic system の2重構造 (オルト液固定)

したがって、オルト液で固定した場合に単一な顆粒のように見えるのは acrosomic vesicle 内の PAS 陽性物質が家畜より濃度が高いため、2重構造の特徴が失われることによると思われる。

2) 頭帽形成期

前期：頭帽形成の準備期で、主として acrosomic vesicle に変化がみられる。

図2のように兎では acrosomic vesicle が扁平となるとともに、その中の PAS 淡染物質が融合し、のちに頭帽中間層になる PAS 陽性小板が形成された。

この PAS 陽性小板の形成過程はこれまで供試した動物のあいだに若干の差があった。すなわち、豚がもっとも典型的な過程を経て形成され、まず、acrosomic vesicle 内の PAS 淡染物質が融合して、核膜に接するやや粗大な PAS 陽性顆粒となり、しだいにそれが大きく

なるとともに密に並んで PAS 陽性小板となった。しかし、牛、馬および山羊はそのようなはっきりした段階を経ることなく、淡染する PAS 陽性小板ができ、しだいに濃染した。兎の PAS 陽性小板の形成過程は豚と傾向が同じであった。

ラットでは本期になるとオルト液固定材料でも acrosomic system の2重構造が認められるようになるが、acrosomic vesicle はきわめて小さく、かろうじて acrosomic granule が入る位の大きさで、そのために頭帽形成の準備過程が家畜のように明瞭ではない。

また、供試した他の動物では、本期になると acrosomic vesicle は扁平となり、容積が縮小するにかかわらずモルモットではむしろ発育を続け、形状が半球形になった。しかも、その中に PAS 陽性小板の形成は認められなかった。

兎

図 2. 頭帽の形成機転 (オルト液固定)

後期: この期になると兎の acrosomic vesicle の壁が acrosomic granule と PAS 陽性小板に密着して, acrosomic granule を中心とした傘状の頭帽が形成され, その過程は牛, 馬, 豚, 山羊とまったく同じであった。ラットは兎のようにはっきりしないが, やはり acrosomic vesicle がきわめて狭くなり, PAS 陽性物質を充満した小さな円錐に近い形の頭帽となった。しかし, モルモットでは acrosomic vesicle が PAS 染色に濃染する内容とともに, acrosomic granule を内封したまま存続し, 核との接合部の acrosomic vesicle の壁が突出し, 頭帽が形成された。

ついで, 頭帽は核の表面にそって核のはば前半をおおうまで伸長した。そのあいだにゴルジ体は acrosomic granule から離れ, 頭帽の表面に付着しながら後方に移動した。

3) acrosome 形成期

前期: 本期になると, まず, 細胞質が頭帽から離れ

たゴルジ体とともに核の後方に移動し, 精子細胞は acrosomic system を精細管の基礎膜の方にむけるように位置を変えた。その後, 核の変形が起こるが, 核の形状が動物の種類によって相当の差があり, 頭帽もその変形に従って形が変化した。

山羊の acrosomic granule は核の細長化に伴って細長くなるが⁴¹⁾, これと同じ現象が羊でも知られている²⁾。しかし, 兎とラットの acrosomic granule は牛, 馬, 豚と同じように顆粒状のままあまり変形せずに存続し, そのような傾向は認められなかった。

モルモットではすでに述べたように, 頭帽形成期が終了しても acrosomic vesicle が消失せず, 本期の変化も特異的であった。すなわち, 細胞質が核の後方に転位すると, 核の細長化がはじまり, それまで碗状をしていた acrosomic vesicle の円錐化が起こった。acrosomic vesicle の円錐化の初期には, その中にはっきり顆粒状をしている acrosomic granule を認めることができた

が、長円錐形になるに従って不鮮明になり、識別できないようになった。本期後半の acrosomic vesicle の形状が acrosome と類似し、LEBLOND & CLERMONT⁴¹⁾ はこれを acrosome と呼んでいるが、形状が円錐形で、核もまだ扁平化を開始せず、著者が他の動物で acrosome と名付けているものと同一物ではない。GRESSON & ZLOTNIK⁴²⁾ は acrosomic granule を proacrosome と呼称しているが、それとまったく違った意味で、acrosomic granule を内封していると想像されるモルモットの本期の円錐状の acrosomic vesicle を proacrosome と呼ぶのが適当と考えられる。

後期：この期になると、兎では核の扁平化が起こり、

それに伴って acrosomic granule も扁平となって半月状の acrosome が形成される。この半月状の acrosome は家畜では鉤状変化を起こすが⁴¹⁾、兎でもやはり同じ過程を辿ることが知られた。すなわち、図3のように核に近い部分から彎曲して縦断面が鉤状になる。そのために acrosomic system は濃染する三日月状の acrosome の部分、淡染する acrosome の部分およびやや淡染する頭帽の三者にあきらかに区別された。続いて acrosome の菲薄化は acrosome の全般に波及し、同時に縮小も起きて、濃染する三日月状の acrosome の部分が消失し、淡染する acrosome のみが見られるようになる。しかし、縦断面にみられる鉤状の形態学的特徴は

図3. acrosome の鉤状変化（オルト液固定）

前ほど顕著ではないが、未だ失なわれていない。その後、acrosome はさらに縮小を続け、頭帽の前縁にそって細い三日月状となる。同時に縦断面にみられる鉤状の形態も大分失なわれる。

CLERMONT & LEBLOND²⁾ は猿の acrosome 期の後半に頭帽後縁と核が密着せず、遊離する時期があると報じ、著者も馬で同じ現象の起こることを知ったが、兎では認められなかった。

兎や家畜に比べると、ラットとモルモットの本期の変化は大分趣を異にした。ラットでは本期になると核は菱形となり、acrosomic granule も頭帽の背縁にそって後方に伸び、前部 acrosome が形成される。その後、核の扁平化が急速に進み、前部 acrosome も扁平となって淡染し、やがて丸味を帯びていた頭帽の突出部が角張ると、前部 acrosome は頭帽の先端に位置し、形状も楔状になる。この時期の核はもっとも長く、約 160~170 μ であった。ついで、前部 acrosome が消失し、頭帽背縁の中央に acrosome があらわれる。しかし、核の彎曲が強まると、それも消失し、新たに PAS 染色に濃染する後部 acrosome が形成される。この時期の頭帽は前半が核より著しく大きい。これは核の縮小が頭帽よりも急速に進行するために生じた一時的現象と思われる。後部 acrosome はやがて扁平となって淡染した鰭状膜となり(図3)、その後、しだいに縮小する。この鰭状膜については LEBLOND & CLERMONT¹⁾ は位置的關係から、acrosome ではなく、頭帽が鰭状に伸長したものと考えている。しかし、その出現時期が家畜の acrosome の鉤状変化の起こる時期に符合するので、acrosome とするのが合理的である。鰭状膜とともに頭帽自体も縮小するが、なお核よりいくぶん大きく、核とのあいだにすきまが認められる。モルモットでは核が扁平化を開始すると同時に proacrosome も扁平となり、色調にも変化を生じ、acrosome となる。その後、acrosome の先端が丸味を帯び、それに平行して核の縮小が急速に進行するので、acrosome は核の周囲の約 2/3 を取り囲む。末期になると acrosome はやや彎曲し、核に近い部分が他の部分よりいくぶん淡染し、2 層に分かれる(図3)。これは淡染する部分が薄くなるためで、他の動物の鉤状変化に相当すると考えられる。細胞質が精子細胞から離脱する直前に上述の淡染する部分は消失し、acrosome は周辺のごくわずかな部分を除いて、著しく染色強度が低下する。著者は LEBLOND & CLERMONT¹⁾ が精巢塗抹標本で観察したような acrosome の 2 重構造はみることはできなかった。しかし、初期の

acrosome の縦断面では中央部が他より濃染し、2 重構造を示すことを知った。形成過程からみて、この濃染部は acrosomic granule に由来することは想像にかたくない。したがってモルモットの acrosome は acrosomic granule と acrosomic vesicle 内の PAS 濃染物質の両者から作られていると考えられる。

4) 成熟期

本期になると、細胞質の離脱が起こり、中片部の上端に PAS 陽性の細胞質滴が新しくでき、精子となる。兎とモルモットの acrosomic system は本期では変化はみられなかった。しかし、ラットでは細胞質の離脱が終る頃になると後部 acrosome はみられなくなり、新たに頭帽背縁の中央に acrosome があらわれた。細胞質の離脱が完了し、精子となると、acrosome の染色性は著しく低下し、頭帽とあまり差はみられなかった。

上述した所見、特に acrosomic system の 2 重構造、頭帽の形成機転ならびに acrosome の鉤状変化は acrosomic system の形成過程を比較形態学的に論ずる場合に重要と考えられるが、上述のように基本的な点では前報⁴⁾の牛、馬、豚および山羊とまったく一致することが知られた。

精子の acrosomic system の形成過程および前報⁴⁾の射出精子の緩衝ギムザ液染色の結果から、家畜精子の

図4. 精子の acrosomic system の構造

ようなラケット状の精子の acrosomic system の構造を図示すれば図4のようである。

acrosomic system は精子頭部の前半をおおう囊状構造で、その中には acrosomic granule に由来する acrosome と acrosomic vesicle 内の微細な PAS 淡染物質から作られた PAS 陽性小板に由来する頭帽中間層を入れている。PAS 染色では頭帽の部分は均一に染まるが、緩衝ギムザ液で染色すると、その後半が半月状の赤道帯によって構成されている⁴¹⁾。赤道帯については、これまで acrosomic system の一部か、あるいは acrosomic system とはまったく別の構造が種々論議されているが、最近小島⁴³⁾は牛精子の電子顕微鏡学的研究から、acrosomic system の後半の他の部分よりも薄い部分であって、acrosomic system の一部であると報じている。著者⁴¹⁾は射出直後の精子、および保存や温度衝撃を行なった精子の acrosomic system を検索した際、acrosomic system の膨化は赤道帯以外の部分に起こり、赤道帯にはまったく認められず、また、その欠損は頭帽内膜と赤道帯が崩壊、あるいは脱落することが比較的少ないことを知った。これらの事実は赤道帯が他の acrosomic system の部分より強固にできていることを示唆するものと考えられる。

摘 要

PAS 染色を用いて、兎、ラットおよびモルモットの精子の acrosomic system の形成過程を、既報の牛、馬、豚および山羊の場合と比較しながら追求した。

その形成過程は acrosomic granule 形成期、頭帽形成期（前期および後期）、acrosome 形成期（前期および後期）、成熟期の4期に大別され、基本的な点ではいずれも家畜の場合と一致した。しかし、つぎの点が家畜と違っていた。

1. ラットの acrosome が頭帽の背線にそって転位した。頭帽背線の後端に生ずる鰭状膜は acrosome 転位の一過程のものであって、家畜の acrosome の鉤状変化に相当する。

2. モルモットでは acrosomic vesicle は PAS 濃染物質を多量に入れ、acrosome 形成前期まで消失しなかった。また、acrosome の鉤状変化は非常に軽度であった。

稿を終るにあたり、御指導と御校閲を賜わった京都大学教授西川義正博士に対し深甚な謝意を表します。

(1964, 4, 10 受付)

文 献

- 1) LEBLOND, C. P. & Y. CLERMONT: Amer. J. Anat. 90, 167, 1952. 2) CLERMONT, Y. & C. P. LEBLOND: Amer. J. Anat. 96, 229, 1955. 3) BOWEN, R. H.: Anat. Rec. 28, 1, 1924. 4) WILSON, E. B.: The cell in development and heredity, 3rd Ed., MacMillan Co., New York, 1925. 5) BAKER, J. R.: J. Hyg. 31, 189, 1931. 6) GRESSON, R. A. R.: Essentials of general cytology. Edinburgh Univirsity Press, 1948. 7) GRESSON, R. A. R.: Cellule 54, 398, 1951. 8) HANCOCK, J. L.: Ph. D. Thesis, Cambridge, 1952. 9) HANCOCK, J. L.: J. R. Micr. Soc. 27, 84, 1957. 10) MELAMPY, R. M., L. F. CAVAZOS & J. C. PORTER: J. Dairy Sci. 35, 140, 1952. 11) BISHOP, M. W. H. & C. R. AUSTIN: Endeavour 16, 137, 1957. 12) BALLOWITZ, E.: Arch. Anat. Physiol., Lpz. 193, 1891. 13) BALLOWITZ, E.: Z. Wiss. Zool. 52, 217, 1891. 14) RETZIUS, G.: Biol. Untersuch. (N. F.) Jena 13, 49, 71, 75, 77, 87, 91, 1906. 15) RETZIUS, G.: Biol. Untersuch. (N. F.) Jena 14, 89, 123, 127, 129, 133, 163, 179, 185, 199, 201, 205, 1909. 16) WALDEYER, W.: Die Geschlechtszellen, Handbuch der vergleichenden und experimentellen Entwicklungslehre der Wirbeltiere, Jena, 1906. 17) DUESBERG, J.: Arch. Zellforsch. 2, 137, 1908. 18) BLOM, E.: Skand. Vet. Tidskr. 35, 779, 1945. 19) BRETSCHNEIDER, L. H.: Proc. Acad. Sci. Amst. 52, 301, 1949. 20) ROLLINSON, D. H. L.: Brit. Vet. J. 107, 203, 258, 251, 1951. 21) POPA, G. T. & V. D. MARZA: Arch. Roum. Path. Exp. Microbiol. 4, 301, 1931. 22) PAPANICOLAOU, G. N. & C. R. STOCKARD: Amer. J. Anat. 24, 37, 1918. 23) RAO, C. K. & R. O. BERRY: Amer. J. Vet. Res. 10, 357, 1949. 24) FAWCETT, D. W.: Int. Rev. Cytol. 7, 195, 1958. 25) BEDFORD, J. M.: J. Reprod. Fertil. 6, 245, 1963. 26) FRIEND, G. N.: Quart. J. Micr. Sci. 78, 419, 1936. 27) WILLIAMS, W. W. & A. SAVAGE: Cornell Vet. 15, 353, 1925. 28) BLOM, E.: Om bedømmelsen af tyresperma specielt med henblik pa anvendelsen ved den kunstige saedoverforrig, Kopenhagen: A/S Carl Fr. Mortensen 1950. 29) BLOM,

- E.: Fertil. & Steril. **1**, 223, 1950. 30) TEUNISSEN, G. H. B.: Tijdschr. Diergeneesk **71**, 292, 1946. 31) Blom, E.: Medlemsbl. danske Dyrlaegeform **31**, 446, 1948. 32) HANCOCK, J. L.: Vet. Rec. **61**, 308, 1949. 33) HANCOCK, J. L.: Proc. 2nd Int. Congr. Anim. Reprod., Copenhagen **2**, 35, 1952. 34) HANCOCK, J. L.: J. Exp. Biol. **30**, 50, 1953. 35) DONALD, H. P. & J. L. HANCOCK: J. Agr. Sci. **43**, 178, 1953. 36) HANCOCK, J. L. & D. J. TREVAN: J. R. Micr. Soc. **76**, 77, 1957. 37) ROLLINSON, D. H. L. & J. B. MAKINSON: Vet. Rec. **61**, 373, 1949. 38) BRETSCHNEIDER, L. H.: Proc. Acad. Soc. Amst. **53**, 531, 1950. 39) LIESS, J. & D. KRAUSE: Dtsch. tierärztl. Wschr. **65**, 677, 1958. 40) BANE, A.: Proc. 4th Int. Congr. Anim. Reprod., Hague, 1961. 41) 大沼 (秀): 家畜繁殖誌 **9**(4), 127, 1964. 42) GRESSON, R. A. R. & I. ZLOTNIK: Proc. Roy. Soc. Edinb. B **62**, 137, 1945. 43) 小島 (義): 北海道大学大学院博士論文 1962.
-