山羊に於ける SEX CHROMATIN の研究

I. 神経細胞に於ける SEX CHROMATIN の検索

中原 達 雄

(兵庫農科大学解剖学教室)

動物の性別は性染色体と常染色体との間の平衡関係により生ずる^{1,2)}ことは最早疑問の余地がない。この性染色体は形、大きさ、分裂時の行動から他の染色体と明らかに区別することが出来るが、更に Heteropyknosis を顕著に表す特性を有する。従つて他の染色体と異り、休止期の細胞核内に於いてもクロモネマに還元することなく、大部分もとの染色体の形を保っている^{3,3)}。従来この Heteropyknosis の現象は主として生殖細胞に就いて観察されて来たが、一般体細胞に於いても認めらるべきである。而して動物の染色体構成は、一般に雌は同型配偶的で大型の X 染色体を 2 個持ち (昆虫、魚類、両棲類及び爬虫類の一部並びに鳥類の全部では異型配偶的である)、雄は異型配偶的で X と極く小型の Y 染色体 (Y は種によりないものもある) を有する。従つて Heteropyknosis を起した性染色体の染色質塊の大小により、雌雄を区別することが可能である。この観点に立つて最初に体細胞で動物の性別を試みたのは BARR 等⁴⁾である。彼等はネコの神経細胞に於いて、雌では XX 染色体の異質染色質部の Heteropyknosis により生じたと考えられる大型の染色質塊を発見し、Sex chromatin と呼んだ。この染色質塊は雄では鮮明を欠き殆ど見出すことが出来ないその後多くの研究者がネコ⁴⁻⁶⁾ ヒト⁷⁾ サル⁸⁾等の各種組織的細胞並びに胎児の尿・羊膜に就いてその存在を確めている。更に最近、SACHS⁹⁾はヒトに於いて羊水中に存在する浮遊細胞の Sex chromatin を観察することによつて胎児の性別の可能なことを報告している。

本研究は山羊に於いて、先ずかかる性に関係を有する特殊な染色質塊が存在するか否かを確め、更に進んで近來増加の傾向にある間性に就いて、この染色質塊を追究し、核構造の上から間性を究明せんとするものである。今回は、その一段階として神経細胞に於ける観察結

果を報告する。

材料及び方法

本研究に使用した山羊は生後一週間目から成体に至るまでの雄 16, 雌 7, 間性 9 計 32 頭である。屠殺後、脳及び脊髄より材料を採取し、formol-acetic-alcohol (フォルマリン 20 部、氷醋酸 10 部、95%アルコール 30 部、蒸溜水 30 部)、10%フォルマリン及び改良 Flemming の液で固定して、常法によりパラフィン包埋とした。切片の厚さは 6 μ の連続切片で、染色はクレジールバイオレット、Harris のヘマトキシリン・エオシン、Heidenhain の鉄ヘマトキシリン、メチルグリ

Camera-lucida 使用。倍率 20×10

第 1 図 (左上)は大脳皮質の神経細胞, 第 2 図 (右上), 第 3 図 (左下) 及び 第 4 図 (右下)は小脳のプルキンエ細胞, 矢印は Sex chromatin を示す。

ーン・ピロニン等を使用し、更に DNA 検出のために Feulgen 反応をも行つた。観察は大脳皮質、小脳及び脊髄の神経細胞に就いて行い、Sex chromatin の発現率及び大きさを測定して雌、雄及び間性の間で比較した。

Studies on the Sex chromatin in cell nuclei of the goat. I. Detection of the Sex chromatin in nerve cells. NAKAHARA, T. (Hyogo Univ. Agric.) Jap. J. Animal Reprod. 2, (2).

発現率の測定は連続切片につき、仁を有する核を 100 個宛 10 回数えてその平均値で表した。大きさは染色質塊の長径及び短径を測定して、その平均値を求めた。

観 察

大脳皮質の神経膠細胞、カハール細胞、顆粒細胞及び錐体細胞、小脳の顆粒細胞、ゴルジ細胞、プルキンエ細胞、籠細胞及び小皮質細胞、並びに脊髄の神経細胞に就いて観察した。

雌に於いては全神経細胞を通じて、BARR のいわゆる Sex chromatin は第 1 図～第 3 図に示す様に核膜或は仁の周辺に存在し、極く少数は核質中に遊離して認められる。形は核膜に接して存するものは半月状或はレンズ状のものが多く、凸面を核膜に向けている。核膜の近く及び核質中に遊離しているものは円形が多い。更に仁の周辺にあるものは半月状又は円形を呈するものが多く、強拡大で詳細に観察すると第 2 図の様に半月の凹面を仁の方に向けて、仁と細い紐で連絡している。

この Sex chromatin は Heidenhain の鉄ヘマトキシリンに好染し、クレジールバイオレットでは pH を大略 4 に調整すると、他の核構成物及び細胞質中のニッスル物質より濃染するので、その特異な形状と共に他の核染色物質と容易に区別出来る。更に Feulgen 反応で陽性を示すので DNA の性質を持つと考えられる。

雄に於いては染色性、形及び核中の存在部位から Sex chromatin と推測される染色質塊は稀に認められるが、その大部分は小型で他の染色質塊と区別することが困難で、Sex chromatin と断定出来るものは殆ど存在しない。

第 1 表 発現率と核中発現部位

細胞	性別	発 現 部 位			計 (%)	大きさ (μ) 長径× 短径
		核膜 (%)	仁周辺 (%)	遊離 (%)		
大脳神経細胞	雌	80	6	1	87	1.3×1.0
"	雄	3	0	0	3	—
ゴルジ細胞	雌	28	60	0	88	1.1×0.9
"	雄	5	1	0	6	—
プルキンエ細胞	雌	48	27	3	75	1.2×1.0
"	雄	2	1	0	3	—
籠細胞	雌	31	49	1	81	1.1×1.0
"	雄	3	1	0	4	—

次に Sex chromatin の発現率に就いてであるが、大脳皮質の神経膠細胞、顆粒細胞及び小脳の顆粒細胞等の如く小型の細胞に於いては核内に他の染色質塊が密に存在するので、第 1 表の如く大型の細胞に就いてのみ測定

した。個体により多少の差はあるが、雌の大脳皮質の神経細胞では表の様に 75～94%，平均 87%である。その大部分が核膜に接して存在する。小脳のプルキンエ細胞

第 2 表 間性に於ける発現率

個体 番号	間性 区分	細胞	発 現 部 位			計 (%)
			核膜 (%)	仁周辺 (%)	遊離 (%)	
19	雄	大脳神経細胞	58	8	0	66
		プルキンエ細胞	33	25	1	56
21	雄 型	大脳神経細胞	67	8	0	75
		プルキンエ細胞	25	24	1	50
23	雄 型	大脳神経細胞	67	5	2	74
		プルキンエ細胞	36	24	1	61
22	中雄型	大脳神経細胞	71	5	2	78
		プルキンエ細胞	44	21	0	65
23	中雄型	大脳神経細胞	62	6	2	70
		プルキンエ細胞	31	26	3	60
18	中雌型	大脳神経細胞	66	7	1	74
		プルキンエ細胞	38	22	1	61
12	雌 型	大脳神経細胞	68	5	1	74
		プルキンエ細胞	—	—	—	—
16	雌 型	大脳神経細胞	73	6	0	79
		プルキンエ細胞	39	24	2	65

では 68～81%，平均 75%で核膜及び仁の周辺に位置し、極く少数が核質中に認められる。ゴルジ細胞では 83～96%，平均 88%，籠細胞では 76～89%，平均 81%で共に仁の周辺及び核膜に接して認められる。

雄では全細胞を通じて 3～6%で、表の如く大脳の神経細胞で 3%，ゴルジ細胞で 6%，プルキンエ細胞で 3%。籠細胞で 4%であり、極めて少数しか認められない。尚例外として No. 19 は外見は雄であるが Sex chromatin の発現率が極めて高く、間性の発現率に略等しいと考えられるので、便宜上第 2 表の間性の部に入れた。

間性の発現率は第 2 表に示す如くである。間性の区分は、内部及び外部の生殖器の肉眼的所見により近藤¹⁰⁾の方法に従つて分類した。

No. 19 は 4 ヶ月令のもので、睪丸は一側は陰睪であり外側にある睪丸も月令の割に小さかった。細精管には壁に沿つて一層の精原細胞しか認められず、細胞の数も比較的少なかった。然し外見は完全に雄である。この発現率は、間性と殆ど同じく、大脳の神経細胞で 66%，プルキンエ細胞で 56%を示している。但し、他にも一側陰睪の個体は 2 頭いたが、いずれも発現率は雄型であった。No. 21 及び No. 23 は雄型間性で共に 2 ヶ月令

のものである。両個体の発現率は略等しく、脳の神経細胞では No. 21 は 75 %, No. 23 は 74 %, プルキンエ細胞ではそれぞれ 50 % 及び 61 % であった。No. 22 及び No. 28 は中雄型間性で、月令は No. 22 は 2 ケ月、No. 28 は 4 ケ月令のものである。これ等の発現率は脳の神経細胞で No. 22 は 78 %, No. 28 は 70 %, プルキンエ細胞で 65% と 60% であり、No. 28 の方が稍低率であった。No. 18 は 2 ケ月令の中雌型間性である。その発現率は、脳の神経細胞で 74 % プルキンエ細胞で 61 % であった。最後に No. 12 及び No. 16 は雌型間性で、No. 12 は 1 ケ月、No. 16 は 2 ケ月令のものである。脳の神経細胞では No. 12 は 74 %, No. 16 は 79%, プルキンエ細胞では No. 16 は 65% を示した。以上第 2 表を通覧すると No. 19 は両細胞共稍低い発現率を示すが、脳神経細胞では 66~79 %, プルキンエ細胞で 50~65 % を示し、間性の程度と発現率との間には顕著な差を見出すことが出来ない。次に間性全部の平均値、脳神経細胞 74 % 及び プルキンエ細胞 60 % を第 1 表の雌の 87 % 及び 75 % と比較すると若干少いが、雄の発現率と比較すると著しく多い。従つて間性は発現率から云えば雌に属するものと思われる。次に脳神経細胞とプルキンエ細胞の発現率を比較すると、プルキンエ細胞の方が常に低い値を示している。これは同じ 6 μ 切片とした場合、脳神経細胞は小型のもので大略 9 $\times$ 6 μ 大型のもので 11 $\times$ 8 μ であるのに反して、プルキンエ細胞は 15 $\times$ 14 μ であるから、細胞の大きさの差により生じたものと考えられる。

考 察

核構造上に於ける雌雄の差として、山羊に於いても BARR が云うような大型の染色質塊を観察することが出来た。ここで問題となるのは性染色体と Sex chromatin の関係である。休止期の一般体細胞に於いても生殖細胞と同じく Heteropyknosis を起した性染色体を見得る可能性があることは前述した。然し現在の処、性染色体が Sex chromatin になると云う直接の立証は、一般体細胞に就いては無いようである。そこで新に、Sex chromatin が遺伝的な性に伴う核構造上に於ける二次的な特徴ではないかと云う疑問が生じて来る。この疑問に就いて MOORE¹¹⁾ の実験は明確な解答を与えている。即ち卵巣割去を行つた犬の Sex chromatin を観察して正常の雌と何等異なるところの無かつたことを報告している。従つて一般体細胞に於いても生殖細胞のプレプロテン期に於ける性染色体と同じ状態の性染色体を想像することが出来るので、性染色体の異質染色質の部分が休

止期の体細胞に於いて Sex chromatin として存在することは可能であると思う。

次に染色体と DNA について見ると、細胞質に含まれる核酸は一般に RNA で、DNA は核の染色体だけしかないと言うのが通説になつている¹²⁾。而して、染色体の異質染色質の部分は Feulgen 反応に陽性¹³⁾で、CASPERS¹⁴⁾ 及び SERRA¹⁵⁾ はこの部に desoxyribonucleohiston が多いと考えている。著者の実験に於いても Sex chromatin は Feulgen 反応に強い陽性を示した。以上の事実は Sex chromatin が染色体から由来したものであることを強く裏付けるものと考えられる。

次に Sex chromatin の核中の発現部位について見ると、同一種類の細胞では、多少の変異はあるが、大体一定している。然し細胞の種類の違いによつては発現率を異にしている。この原因については BARR 等¹⁶⁾ は Chromatolysis を行つている細胞に於いて、Sex chromatin の位置を決定する或る未知な力が細胞の代謝の変化につれて変つて来ることによると云つてゐる。牧野¹⁷⁾ はハツカネズミの精母細胞の生長期に於ける X と Y の行動を追究して、X 染色体はパキテン期には核の一隅に存するがディプロテン期になると 1 個の仁と結合して、いわゆる Amphinucleolus を形成することを観察している。更に SAEZ²⁾ はイタチのレプロテン期の細胞に於いて核膜の近くに X と Y 染色体が見られることを示している。従つて Sex chromatin の位置は同一種類の細胞では大体一致しているが、細胞の種類により、又同一細胞でも核の代謝の過程に応じて核中の力の平衡関係に変化を来とし、位置の変異を生ずるものと考えられる。

測定した発現率が常に 100 % より低かつたが、これは細胞の中に Sex chromatin が含まれていないのではなく、6 μ で切つた場合、大きな細胞ではその一部が切断されて、切片の中に含まれてないことがあるためと解される。

最後に間性について見ると、従来哺乳動物に於ける間性はすべて雌間性であつて、雄間性はまだ発見されて居らず、全然存在しないかも知れないと云われている¹⁸⁾。従つてこれが事実であれば、間性の染色体構成は雌の X X である筈である。著者の観察に於いて、Sex chromatin が性染色体から由来したものであると云う考えに立つて、その遺伝的な性を判定すると、1 頭の雄及び間性の全部は多少正常雌より発現率が低いのが明らかに雌型である。従つてこれ等の個体は XX 染色体を有するものと想像することが出来る。然し牧野¹⁷⁾ は 1 頭の間性山羊に就いて染色体の研究を行い、1 個の長大な X と微小な

Y と認め、遺伝的に雄であることを示している。この山羊は肛門下方に陰唇と陰茎を備え、睪丸もあり、子宮も膣部も不完全ながら認められたと云っている。更に BARR¹⁹⁾ はヒトの半陰陽に就いて、雌型と診断された 31 例は明らかに雌型の細胞を示し、雄型と見られた 33 例は雄型を示し、外見で性別のつかない真性の半陰陽 9 例に於いては 6 例が雌型、3 例が雄型であつたと云っている。以上を総合して考えると、哺乳動物の間性はすべて雌間性であるとする従来の考え方に再検討を加える必要があると思う。

次に間性の発現率が正常雌より稍低いことについては間性の方が正常雌より XX 染色体の異質染色質の部分が少ないのではないかと想像される。CASPERSON と SCHULTZ²⁰⁾ はショウジョウバエの唾腺及び卵細胞の仁について、紫外線吸収曲線を調べ、系統の相違によつて又同じ系統でも雌雄によつて差のあることを認めた。この相違は仁が X 及び Y 染色体の異質染色質についてるので XX と XY の質及び量の違いによつて生ずるものであると結論している。更に SCHULTZ 等²¹⁾ は Y 染色体を余分に持つ雌 (XXY) の卵細胞は普通の雌より核酸の量が多いことを報告している。従つて光学的方法によれば量の違いを測定することが可能であるかも知れない。然し本研究では未だ個体数も少く、又光学的な量の測定も行っていないので現在の段階ではこの点に就いて判きりと断定し得ない。

むすび

以上の結果から、山羊に於いても全神経細胞で Sex chromatin を認めることが出来た。雌に於ける Sex chromatin は大型で、半月状、レンズ状或は円形を呈し、その発現率は脳の神経細胞で 87 %, ゴルジ細胞で 88 %, プルキンエ細胞で 75 %, 籠細胞で 81 % で

あつた。これに反し雄では雌に見られる様な Sex chromatin は殆ど認められなかつた。間性に於ける発現率は個体により多少の差はあるが、平均して脳の神経細胞で 74 %, プルキンエ細胞で 60 % で雌の発現率に非常に近かつた。

稿を終るに臨み、本研究に就いて絶えず懇切丁寧な御指導を戴き、又御稿閲の労を賜つた兵庫農科大学石橋助教授並びに研究に対し種々御便宜を与えて下さつた野草助教授に対し深甚なる感謝の意を表すものである。

(1956. 8, 13. 受付)

文 献

- 1) BRIDGES, C. B.: *Am. Nat.* 59, 1925.
- 2) DE ROBERTIS, E., W. W. NOWINSKI & F. A. SAEZ: *General Cytol.* 1954.
- 3) 牧野(佐): 遺伝 10, 14, 1956.
- 4) BARR, M. L., L. F. BERTRAM & H. A. LINDSAY: *Anat. Rec.* 107, 283, 1950.
- 5) GRAHAM, M. A.: *Nature Lond.* 173, 310, 1954.
- 6) GRAHAM, M. A.: *Anat. Rec.* 119, 469, 1954.
- 7) MOORE, K. L. & M. L. BARR: *Acta Anat.* 21, 197, 1954.
- 8) PRINCE, R. H., M. A. GRAHAM & M. L. BARR: *Anat. Rec.* 122, 153, 1955.
- 9) SACHS: 3) より引用.
- 10) 近藤(恭): 日畜会報, 19, 55, 1949.
- 11) MOORE, K. L. & M. L. BARR: *J. Comp. Neurol.* 98, 213, 1953.
- 12) 柴谷(篤): 核酸及び核蛋白(下) 102, 共立出版, 1953.
- 13) 安澄(権): 阪医会誌, 4, 6, 1950.
- 14) CASPERSON, T.: *Chromosoma* 1, 562, 1940.
- 15) SERRA, J. A.: *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* 12, 192, 1947.
- 16) BARR, M. L. & E. G. BERTRAM: *J. Anat.* 85, 171, 1951.
- 17) 牧野(佐): 性の決定と性染色体 力書房, 1948.
- 18) 田中(義): 遺伝学 裳華房, 1953.
- 19) BARR: 3) より引用.
- 20) CASPERSON, T. & J. SCHULTZ: *Proc. Natl. Acad. U.S.* 26, 502, 1950.
- 21) SCHULTZ, J., T. CASPERSON & L. AQUILONIUS: *Ibid.* 26, 515, 1950.