海産無脊椎動物の生殖腺の成熟に関する研究—I.

イボニシの生殖腺にみられた季節的变化

今 攸・本間 義治・村川新十郎

(1966 年 2 月 8 日受理)

STUDIES ON THE MATURITY OF GONAD IN SOME MARINE
INVERTEBRATES—I.SEASONAL CHANGES IN THE GONADS OF PROSOBRANCH
MOLLUSC, *PURPURA* (*MANCINELLA*)
CLAVIGERA

Tohshi KON*, Yoshiharu HONMA** and Shinjuro MURAKAWA**

The present paper deals with the seasonal histological changes in the gonads of the purple snail, *Purpura clavigera*, known as an enemy of young oysters and clams.

The materials used were collected every 21st day from the beach of Niigata on the coast of the Japan Sea. The period of collection extended from April to December, 1963.

Vitellogenesis begins in this mollusc in April or early in May, and the ovum reaches a ripe state in early in July. As the ovary matures, periphery of the nucleus of ovum is surrounded chiefly with smaller yolk granules, while the eccentric zone of the ovum is occupied by larger ones. Up to the breeding season, smaller granules around the nucleus change into larger ones. There is no detectable change of the amount of yolk granules during and after the breeding season, however a considerable number of young oocytes which may have originated from the residual oogonia are recognized in the cystic wall (= ovigerous fold).

During April to early May, the testis is filled with spermatogonia and spermatocytes, and the formation of spermatids takes place in the latter part of May. The highest activity of the spermiogenesis is reached early in July. Cells in various stages of spermatogenesis are found throughout the year, however. Accordingly, the breeding season of the present species extends from late spring to summer, although it is difficult to decide histologically a precise period of spawning.

There appeared two types of regression in the gonads after the breeding season. Many of the specimens inspected carefully show that the glands become degenerated by degrees. On the contrary, in a small number of the specimens regarded as the senile ones the glands degenerate very rapidly.

It is very interest to find out many strange spherical cells in the seminiferous tubules. The cells contain granules stained deeply with hematoxylin (and anilin blue). According to histochemical examination the granules in question probably are of mucopolysaccharide (Feulgen negative but PAS positive etc.). A marked increase in the amount of the granules is encountered as the ovary matures. During breeding season these cells are pushed forward into the vas deference together with the sperm. It is not yet determined whether or not the cells are ejected into the vagina of the female. It seems likely that the cells are homologous to the so-called free-cell reported by Nishiwaki¹⁵⁾ of a very related species, *Purpura bronni*.

* 福井県水産試験場 (Fukui Pref. Fish. Exp. Stat., Tsuruga)

** 新潟大学理学部生物学教室 (Dept. Biol., Fac. Sci., Niigata Univ., Niigata)

本邦の有用海産軟体動物の増殖学的研究は、多くの人々によつて手がけられ、近年になつてすぐれた業績がいくつか公表されている。たとえば、吉田¹⁾は二枚貝類、猪野²⁾はアワビ属、また宇野³⁾はサザエについて重要な貢献をした。いつぼう、網尾⁴⁾は多数の腹足類の発生経過や生態的知見を取り纏めたが、その内容は極めて示唆に富んでいる。しかし、これらの報文には生殖腺の成熟状態の周年変化に関する詳細な組織学的観察はみあたらない。この分野ではアサリ(山本・岩田⁵⁾、高⁶⁾)、アコヤガイ(小島・前木⁷⁾、立石・安達⁸⁾)、ムラサキイガイ(杉浦⁹⁾)、などの斧足類のそれが発表されているにすぎず、腹足類については、インダタミ(澄川^{10)・11)})、がしらべられているに留まる。

最近著者らは、有用海産無脊椎動物の資源を確保したり、増殖を計るための基礎資料を積もうとして、生殖腺の成熟過程や生殖生理の面から解析することを意図している。そこで、腹足類の中から、まずカキの稚貝やアサリの害敵としてツメタガイなどと共に嫌われているイボニシを取りあげ調べてみた。その結果、いくつかの興味深い事実がわかつたので、ここに報告する。

稿を進めるに当り異形精子などについて有益な助言をいただいた東京教育大学理学部動物学教室の西脇三郎博士に謝意を表する。

材料および方法

供試材料のイボニシ *Purpura (Mancinella) clavigera* は、1963 年 4 月より 12 月にわたり、新潟市寄居浜海岸(新潟大学理学部裏)の突堤より 20 日ごとに 1 回、合計 11 回にわたり多数の個体を採集した。しかし、厳冬季は日本海側特有の荒天のため得ることができなかつた。結局、採集個体中殻長 15~39 mm の成熟した雌雄計 72 個体から顕微鏡標本を作つた。雌雄の区別は生殖突起(陰茎)の有無で判定し、摘出した生殖腺を含む内臓隆起部は、主として海水で調合したブアン氏液で固定し、パラヒン包埋の後、8~12 μ の切片とした。染色にはデラヒールド氏ヘマトキシリン・エオシン、ハイデンハイン氏ヘマトキシリン・ライトグリーン、ハイデンハイン氏のアザン三重染色、アルデハイドフクシン(AF)を用い、フオイルゲン氏ならびに PAS 反応なども試み鏡検した。

結 果

生殖腺の位置と形態: 生殖腺は中腸腺や一部の消化管と共に、殻の上部の螺旋内にコイル状に巻いた内臓隆起部の一部を構成しており、常に中腸腺の表面をその頂点に至るまでおおつて存在している。生殖腺の表面は、中腸腺の表面をおおっている組織と同一起源のものよりなり、外套膜の一部が薄くなつて内臓隆起部全体を包んでいるものと考えられる。その上方は一層の立方上皮細胞、下方は数層の細長い線維性細胞から成つていた。

生殖腺の内部は、雄では多数の円柱状で、しかも中腸腺に対し垂直に位置した細精管で占められ、いつぼう、雌では多数の囊胞から成る。さらに雄では著しく回旋した出精管が、生殖腺と中腸腺との間を走っている。

卵巣の発達: 殻長 15~18 mm の幼個体では、4 月末から 5 月の初め頃が卵巣の発達し始める時期で、生殖腺の厚さはいたつて薄く、囊胞内に突出している第 1 次卵母細胞には卵黄顆粒が認められない(Pl. I, Fig. 1)。しかし、前年産卵したと思われる個体では、わずかであるが卵黄の蓄積が始まつており、囊胞中央部には往時の顆粒の一部が残つていたりする(Pl. I, Fig. 2)。第 1 次卵母細胞には、明瞭な 1 個の染色仁(胚斑)を有する大きな核(胚胞)がある。この細胞は、一層のまばらな卵胞(卵母)細胞に包まれている。また、経産個体と思われるものの囊胞中央部には、卵胞細胞が食細胞としての働きを営んでいるのがみられる。

5 月末から 6 月中旬に得た個体の卵母細胞では、多数のいつそう大形化した卵黄顆粒を蓄積しており、胚胞の輪郭が不明瞭となり、胚斑も染色性を減じて消失しかけている。前期のようなごく若い細胞はほとんど見られなくなり、卵と卵とは互いに非常に薄い第 1 次卵膜を介してのみ接しており、多くの場合個々の卵をそ

の卵膜によつて区別することは難かしい (Pl. I, Fig. 3)。7月中旬に得たものでは、さらに卵黄顆粒が増加しているので、嚢胞内は卵黄で満ち、個々の卵の区別は全く不可能なほどである (Pl. I, Fig. 4)。胚斑は消失し去り、胚胞膜も認めがたい。この時期の卵細胞内における著しい変化は、胚胞の周囲の卵黄顆粒が他の所のそれよりも極端に小形のものからなることである (Pl. I, Fig. 5)。このことは、卵の成熟度の判定に役立つ。卵巣内の位置、すなわちコイル状隆起部の上方と下方とによる卵の発達度合の相違は認められなかったが、中腸腺に近い方の嚢胞内の卵は外套膜に近い方のそれより幾分進んでいる。

8月中旬から9月下旬に得たものでは、前期のように胚胞の周囲に多数の小さな卵黄顆粒を持った卵はあまりみられない。しかし、顆粒自体の大きさや量は前期のそれらとあまり変らない (Pl. I, Fig. 6)。ただ大きな胚胞と明確な1個の胚斑を持つ若い卵母細胞が、嚢胞壁に多数出現している点に前期の像との相違が見られる (Pl. I, Fig. 7)。

10月20日に得た4個体のうち、1個体では嚢胞壁の結合組織が異常に増殖して厚くなり、その壁に沿って存在する若い卵細胞、嚢胞内の胚胞状のものや卵膜状のものがほとんどなく、大量の卵黄顆粒のみによつて占められ、卵巣全体が退化している像が観察された (Pl. I, Fig. 8)。これら卵黄顆粒の間には卵胞細胞が多数入りこみ、食細胞として働いている。他の3個体では前期のそれと著しい相違が認められないが、残留卵黄顆粒はどの不産出卵の所有とも区別できず、胚胞はほとんど認められない。

11月から12月にわたる材料では、顕著な退化像を示す個体は見られず、前期の3個体のそれよりさらに進んだ状態、すなわち、残留卵黄顆粒の減少と若い卵母細胞の増加を示している (Pl. I, Fig. 9)。なお、残留卵黄顆粒の間には、少数の食細胞が認められることもある。

精巣の発達: 4月下旬から5月上旬にかけて得た個体では、精母細胞の約半分の大きさの精原細胞が細精管壁に沿って多数認められ、それらの核はヘマトキシリンで濃染されている。いつぼう、細精管の中央近くには、多数の点状の染色質が散布している大きな核を持った染色性の弱い精母細胞が少数存在する (Pl. II, Fig. 1)。しかし、第1次精母細胞と第2次精母細胞の区別は容易でなかった。これら各段階の精子形成細胞にまじつて、細胞質内にヘマトキシリンで濃染される顆粒を持った細胞が存在するが、核の大きさや染色質の状態は精母細胞に似ている。この細胞を、仮に **K** 細胞と称することにする。

5月下旬から7月下旬にかけて、精原細胞の数は次第に減少し、代つて精母細胞や精子細胞が急激に増加している。精子形成はすでに5月下旬において一部完成し (Pl. II, Fig. 2)、6月下旬から7月上旬にその頂点に達する (Pl. II, Fig. 3)。しかし、この期においても、精原細胞を始めとする各发育段階の細胞が相当数存在している。一方、**K** 細胞もその数を増す。すなわち、本細胞の顆粒は、初め核より小さいが (Pl. II, Fig. 4)、発達するにつれてそれより大きくなり、核を細胞の一隅に押しやつて、その大部分を占めるようになる (Pl. II, Fig. 5)。顆粒の大きさが最大に達する頃には、この細胞は互いに集まり合つて一団をなす傾向がある。また、輸精管中にも精子にまじつて存在している (Pl. II, Fig. 6)。

8月中旬から9月上旬の間に得た個体は、海岸の突堤に産みつけられた卵塊の状態からしても、すでに産卵期を過ぎたものと考えられる。しかし、細精管内には多数の精母細胞、精子細胞、精子および **K** 細胞が存在しており、輸精管内にも前期同様に精子と **K** 細胞が認められるので、明瞭なる放精された兆候を窺うのが困難な像を呈していた (Pl. II, Fig. 7)。ところが、9月10日に得た3個体のうち1個体では、精巣全体が卵巣における1例のように顕著な退化像を示し、細精管は所々に小さくなつて存在している (Pl. II, Fig. 8)。その細精管内は、ヘマトキシリンで濃染される小形の細胞のみからなり、輸精管も小さく退化し、ごくわずかの精子と **K** 細胞が存在しているだけとなる。他の2個体では、前期と比べて大きな変化はみられなかった。9月下旬から10月中旬に採集した7個体の総べてにおいては、前述の1個体の例よりさらに顕著な退化像がみられ、細精管は不明瞭となつている (Pl. II, Fig. 9)。11月中旬から12月下旬に得た7個体中3個体でも、精巣全体にわたる退化像を示していたが、他の4個体では正常な精原細胞や精母細胞と少数の精子細胞が認められた。

ここに特記しておきたいのは、仮に **K** 細胞と名付けた細胞中の顆粒の呈色反応についてである。すなわ

ち、この顆粒は鏡検の際、あるいは核の変化したものではないかという疑問も生じたので、種々の組織化学的検出法を試みたところ、次のような結果を得た。ハイデンハイン氏ヘマトキシリン染色や、デラフィールド氏ヘマトキシリン染色で濃染され(陽性)、アザン染色ではアニリンブルーに染まる。フォイルゲン氏反応や AF* に陰性であり、いづれ、PAS** 反応に陽性となつたが唾液では消化されない。さらにトルイジンブルーを用い染色したが、メタクロマシーはおこさなかつた。

論 議

従来、前鰓類の生殖腺を組織学的に観察した報文はいたつて少なく、性転換の研究としてヨメガカサの1種で ORTON¹²⁾ が、フネガイで ISIKI¹³⁾ が、インダタミで澄川^{10,11)} が発表している程度である。いづれ、イボニシについては、田中¹⁴⁾ は有用二枚貝に対する害機構を述べ、網尾⁴⁾ は産卵生態と発生について記しているが、生殖腺の成熟過程については知られていない。

ところで、4月から12月にかけて新潟海岸で採集したイボニシの生殖腺の組織像を観察した結果では、産卵期と目される7~8月においても、その盛期を明確に決定することは容易でなかつた。これは、組織像からのみではこれから放卵放精するのか、それともすでに排出したのかの判定が困難なためである。この理由として考えられるのは、第1に放卵放精によつて排出される卵ないし精子の量は、1生殖シーズンないし1生殖腺内における成熟生殖細胞の全生産量に比し、ごくわずかであるので、量的減少が目立たない。第2に産卵期間を通じて、成熟した卵や精子から順次に少しずつ放出されるので、常に生殖腺内に一定の卵または精子が存在する：などが考えられる。しかし、7月中旬の卵巣に多量の卵黄の蓄積があり、しかも胚胞が小形の卵黄で取り囲まれている卵が観察されること、および5月下旬から7月中旬に精子形成が急激に進み、9月上旬には明らかな精巢退化像がみられることから、晩春から夏にかけて産卵期のあることは明らかである。

つぎに、生殖腺の退化像には2通りが観察された。すなわち、不産出卵および未排出の精子を囊胞内または細精管内で少しずつ退化吸収してゆく場合と、生殖腺全体が急激に退化していく場合とである。しかし、前者では若い生殖細胞が残存しており、これが翌年成熟することが明らかであるのに、後者では次の生殖時期までに新たに生殖細胞を作り得るか否かを確かめることができなかった。被検個体が少ないので慎重を要するが、あるいは後者が一般に大型個体であることなどをあわせ考えると、生殖腺の再生は不可能とも推定される。

仮に K 細胞と呼んだものの胞体内に存在する顆粒は、固定によつて凝集して生じた可能性もあるが、調べたどの時期にも量的差異こそあれ常に観察された。しかもこの K 細胞は精子と一緒に増加し、本顆粒のまだ小さい時には、核の大きさや染色性が精母細胞のそれと非常によく似ている。また、精子と共に輸精管中に入ることが判明したが、果して陰茎を通じて雌に送りこまれるか否かは観察できなかった。しかし、両者は輸精管中に無秩序に混在しているので、放精の際、精子のみを放出することは不可能と思われる。この細胞の機能は不明であるが、その形成過程および行動から推定して、あるいは西脇¹⁵⁾ がイボニシと同属のレイソその他で記載している free cell と相同のものかもしれない。また、本顆粒は組織化学的検索により、核酸を含まない炭水化物系のもの、特に粘液多糖類、ないし糖たん白類似の物と推定されたので、いわゆる栄養細胞との関係も窺えるが、これに精子が付着している像は認められなかつた。したがつて、K 細胞を異形精子と相同のものと同定するには、まだまだ資料不足であり、今後の興味深い問題として残されよう。

要 約

1963年4月から12月にかけて、新潟市寄居浜の突堤より採集したイボニシの生殖腺を組織学的に観察し、つぎの知見を得た。

* Aldehyde fuchsin

** Periodic acid Schiff's method

1. 雌の生殖細胞（卵母細胞）には 4, 5 月頃から卵黄の蓄積が始まり, 7 月中旬には卵黄で満たされ, 胚胞膜も不明瞭となる。成熟につれ胚胞の周囲はより小形の卵黄顆粒で取り囲まれる。8, 9 月になつても卵巣内の卵黄顆粒の量的変化は認めがたいが, それより前期（産卵期）のように成熟した卵は認められず, また, 囊胞壁に沿つて多数の若い卵母細胞が出現している。10 月以後 12 月までの間には, 卵巣全体の急激な退化像を示した個体も認められたが, 他の個体では残留卵黄顆粒がどの不産出卵所有のものとも区別できがたい状態のまま存在している。しかし, 日を迫うにつれ卵黄顆粒は減少し, 若い細胞が増加してゆく。

2. 4 月から 5 月上旬の精巣内は, 精原細胞と精母細胞とで占められているが, 5 月下旬から精子が形成され, 7 月にその頂点に達する。しかし, この期においても精巣内には各發育段階にある生殖細胞がそれぞれ多数存在する。9 月以降には精巣全体の急激な退化を示す個体と, 残留精子を徐々に退化吸収してゆく個体とが観察された。

3. 出発時は精母細胞に似ているが, 細胞質内にヘマトキシリンで濃染される 1 個の顆粒を持つた細胞（仮に **K** 細胞と呼んだ）が, 細精管内に認められた。本細胞は成熟と共に数を増し, その包含する顆粒自体もきわめて大きくなり, 結局, 精子と共に輸精管内に排出される。その形成過程, 行動および組織化学的特徴から推定して, 他の前鰓類でみられた栄養細胞ないし **free cell** と相同のものかも知れない。また, 異形精子との関連も考えられるが, その本態は明らかにできなかった。

文 献

- 1) 吉田 裕: 水講研報, **3**, 1~106 (1953).
- 2) 猪野 峻: 東海水研報, **5**, 1~102 (1952).
- 3) 宇野 寛: 東京水大特研報, **6**, 1~76 (1962).
- 4) 網尾 勝: 水大校研報, **12**, 15~144 (1963).
- 5) 山本喜一郎・岩田文男: 北水研報, (14), 57~62 (1956).
- 6) 高 良夫: 本誌, **23**, 394~399 (1957).
- 7) 小島吉雄・前木孝道: 遺雑, **30**, 151~157 (1955).
- 8) 立石新吉・安達甫朗: 長崎大水研報, (5), 75~79 (1957).
- 9) 杉浦靖夫: 本誌, **25**, 1~6 (1957).
- 10) 澄川精吾: 生活科学 (福岡女大), **4**, 63~66 (1958).
- 11) 澄川精吾: 同誌, **6**, 1~39 (1963).
- 12) J. H. ORTON: *J. Mar. Biol. Assoc. U. K.*, **35**, 149~176 (1956).
- 13) H. ISHIKI: *J. Sci. Hiroshima Univ., Ser. B, Div. I*, **4**, 91~99 (1936).
- 14) 田中弥太郎: 本誌, **15**, 447~456 (1949).
- 15) S. NISHIWAKI: *Sci. Rep. Tokyo Kyoiku Daigaku, Sec. B*, **11**, 237~275 (1964).

Explanation of the Plates

Plate I.

- Fig. 1.** Young oocytes without yolk granules in their cellular components.
A prominent nucleolus (= germinal spot) can be seen in the nucleus (= germinal vesicle), and follicular cells surrounding the oocyte are indicated (April). $\times 150$
- Fig. 2.** A part of immature ovary showing the formation of yolk granules (May). $\times 40$
In this picture the yolk granules located in the central part of the cyst might be residual of the last year.
- Fig. 3.** A yolk laden oocyte with indistinct nuclear membrane and germinal spot (June). $\times 200$
- Fig. 4.** Mature ovary before breeding season (July). $\times 40$
It is difficult to distinguish an outline of each oocyte.
- Fig. 5.** Same as figure 4 at higher magnification. Notes a nucleus in the center of the picture which is surrounded with smaller yolk granules (July). $\times 200$
- Fig. 6.** Mature ovary just in the breeding season. Nuclei without smaller granules in their peripheries are noticed (August). $\times 40$
- Fig. 7.** Young oocytes are encountered in the follicular membrane of the spent ovary (September). $\times 300$
- Fig. 8.** A marked and rapid degeneration of the ovary is appeared at the time of postspawning (October). $\times 40$
- Fig. 9.** A small amount of residual yolk granules and an increase in number of young oocytes are detected in the recovery phase (December). $\times 40$

Plate II.

- Fig. 1.** A part of the testis showing small number of spermatogonia in the process of formation of spermatocytes and many spermatocytes in completion (April). $\times 600$
- Fig. 2.** Various stages of the cells under the spermiogenesis are found (May). $\times 400$
- Fig. 3.** Longitudinal section of the seminiferous tubules showing the highest activity of spermiogenesis (July). $\times 100$
- Fig. 4.** Early phase of the strange spherical cells in the seminiferous tubule (May). $\times 100$
A name "K-cell" will be applied to the present cell provisionally.
- Fig. 5.** A mass of "K-cells" with prominent granules is found in the seminiferous tubule. Various stages of the cells under the spermiogenesis are also recognized in the tubules (June). $\times 900$
- Fig. 6.** Cross section of the vas deferens which is occupied with a large amount of K-cells. This picture indicates a feature of the cells after Feulgen's reaction. Although the eccentrically placed nuclei are recognized, no granules in question are demonstrated (July). $\times 900$
- Fig. 7.** Cross section of the seminiferous tubules indicating the various stages of the cells under the spermiogenesis and the masses of "K-cells" (August). $\times 100$
- Fig. 8.** A marked and rapid degeneration of the testis in the postspawning period (October). $\times 100$
- Fig. 9.** Later phase of the degeneration of the testis showing a marked development of the connective tissue (December). $\times 100$

Abbreviations

CT: connective tissue; K: K-cell; L: liver; MK: mass of K-cells; N: nucleus; NK: nucleus of K-cell; S: sperm; YG: yolk granules.

Plate I.

Plate II.