

ヤエヤマサソリにおける卵膜の消長に関する予備的研究

山崎 一憲・牧岡 俊樹

Kazunori YAMAZAKI¹⁾ and Toshiki MAKIOKA²⁾: Preliminary Study on Appearance and Disappearance of Egg Membrane in *Liocheles australasiae* (Scorpiones, Ischnuridae)*

¹⁾ Graduate School of Life and Environmental Sciences, University of Tsukuba, Tsukuba, Ibaraki, 305–8572, Japan
Current address: JT Biohistory Research Hall, 1–1 Murasaki-cho, Takatsuki, Osaka 569–1125, Japan

²⁾ Institute of Biological Sciences, University of Tsukuba, Tsukuba, Ibaraki, 305–8572, Japan
E-mail: yamazaki@brh.co.jp (KY)

サソリ類は、卵胎生もしくは胎生によって繁殖している (Polis and Sissom, 1990)。卵胎生サソリの胚は卵に含まれる卵黄を栄養源として成長するのに対し、胎生サソリの卵は無黄卵であることから、胚発生に必要な栄養物質は母体から胚へ直接供給される。胎生サソリの胚発生に関わるこの栄養供給はこれまでもいくつかの種において報告がされている (e.g., Mathew, 1956)。今回材料としたヤエヤマサソリは胎生種であり、胚は卵巣管から突出した卵巣盲嚢とよばれる保育器中で発生・成長する。その際、胚発生にともない卵巣盲嚢も著しく成長し、とくに、卵巣盲嚢の先端部が伸長し appendix とよばれる栄養吸収のための構造を形成することはよく知られている (Pflugfelder, 1930; Makioka, 1992a)。しかしながら、胚および卵巣盲嚢におけるこのような栄養吸収が始まる以前にも、無黄卵の発生には母体からの栄養供給が必要であると考えられる。しかし、早期胚への栄養供給に関する研究はまだまだほとんど行われていない。

これまでに私たちは、ヤエヤマサソリにおける一次卵母細胞期から囊胚期までの胚発生とそれともなう卵巣盲嚢の成長の過程を組織学的に観察し、成長した卵巣盲嚢において液胞を蓄えて膨張した内層上皮細胞の液胞の崩壊と胚をとりまく濾胞腔の拡張の時期が一致することを見だし、濾胞腔は内層上皮細胞の液胞由来の液状物質の流入によって拡張すると考え、また胚はその液状物質を栄養としているのではないかと推測した (Yamazaki et al., 1998)。本研究では、早期胚の栄養取り込みを妨げると考えられる卵膜に着目し、胚発生開始前後の卵膜の消長を組織化学的および電子顕微鏡的に観察した。

材料と方法

材料としたヤエヤマサソリは沖縄県西表島で採集し、週に一度シロアリを餌としてあたえ、28℃の温度条件下で飼育した。当研究室では、ヤエヤマサソリの継代飼育に成功しており、通常6齢で成体となること (Makioka, 1993)、繰り返し出産が可能であること (Makioka, 1992a, b; Yamazaki and Makioka, 2001)、若虫出産後新たな世代となる一次卵母細胞を含む卵巣盲嚢が成長を開始すること (Makioka, 1992a) などの生活史上の諸点についても確認できている。そこで今回は、一次卵母細胞を含む5齢亜成体の卵巣と、出産後新たに成長・発生を開始した一次卵母細胞から囊胚期までの胚を含む成体の卵巣を材料とし、PAS–アルシアン青–ヘマトキシリン三重染色による組織化学的観察と透過型電子顕微鏡による観察を行った。

結果および考察

1. 組織化学的観察

亜成体の卵巣では、一次卵母細胞は卵巣管の卵巣壁中に存在し、濾胞細胞によって囲まれていた。直径約 25 μm までの若い一次卵母細胞はそれら濾胞細胞と密着しており、両者の間に膜状の構造物は認められなかった。直径約 40 μm に達した一次卵母細胞では濾胞細胞との間に PAS によって染色される隙間が認められた。これは一次卵

* Abstract of paper read at the 37th Annual Meeting of Arthropodan Embryological Society of Japan, June 1–2, 2001 (Nihonmatsu, Fukushima).

母細胞がPAS陽性の糖タンパク質の膜様の層によって囲まれていることを示している。

成体の卵巣で卵巣盲嚢が成長を開始してから約14日目までの初期の卵巣盲嚢は、最大の大きさ（直径約50 μm ）に達した一次卵母細胞を含んでいるが、これらの一次卵母細胞も、PAS陽性の糖タンパク質の膜様の層によって囲まれていた。また一次卵母細胞が減数分裂を開始する直前にあたる約16日目では、一次卵母細胞はPASとアルシアン青の混ざった紫色の膜様の層によって囲まれていた。これは、この時期の一次卵母細胞の周囲でPAS陽性の層に酸性ムコ多糖を含むアルシアン青陽性の成分が新たに加わったことを示している。この紫色の層は、胚発生が開始し、卵巣盲嚢壁の内層上皮細胞が液胞を蓄え始める約22日目まで存在していたが、内層上皮細胞の液胞が崩壊し始める約24日目には消失していた。濾胞腔が拡張を始める約26日目（胞胚期）以後、胚が囊胚期に達する約30日目までの間は、胚周囲に紫色の層は存在しなかった。

2. 透過型電子顕微鏡による観察

亜成体の卵巣において、直径約35 μm に達した若い一次卵母細胞では、卵母細胞の細胞膜上に微絨毛の存在しない場所と微絨毛の生え始めている場所と微絨毛が密に存在する場所がみられた。微絨毛の生え始めている場所と微絨毛が密に存在する場所では微絨毛の周囲に電子密度の比較的低い物質が集まっているのがみられた。直径約50 μm に達した一次卵母細胞の細胞膜には微絨毛が一様に存在し、一次卵母細胞は微絨毛も含めて厚さ約0.4 μm の電子密度の比較的低い物質の層によって全面が覆われていた。しかし、濾胞細胞の細胞膜表面にはそれら電子密度の低い物質は到達していなかった。以上のことから、この物質の層は一次卵母細胞に由来し、したがって一次卵膜に相当するものであると考えられる。

成体の卵巣において、成長を開始してから約8日目までの卵巣盲嚢に含まれる直径約50 μm の一次卵母細胞の周囲は、比較的电子密度の低い厚さ約0.7 μm の層によって覆われ、それは濾胞細胞表面にまで達していた。約10日目の濾胞細胞内にはゴルジ体とそこから形成されたと思われる電子密度の高い小顆粒を含む小胞が多数観察され、濾胞細胞の細胞膜表面から一次卵膜に相当する層へ向けてそれら電子密度の高い小顆粒が放出されていると思われる像も観察された。約16日目になると一次卵母細胞は電子密度の高い物質の層によって完全に覆われていた。

以上のことから、卵巣盲嚢の成長開始以後約10日目頃から、成長期の一次卵母細胞の周囲にすでに存在していた一次卵膜に相当する層に、濾胞細胞由来の電子密度の高い物質が付加され、約16日目の一次卵母細胞の周囲では、一次卵膜に相当する層は電子密度の高い物質からなる二次卵膜に相当する層とほぼ完全に混合すると考えられる。約19日目の発生開始直後の胚の周囲にも二次卵膜に相当する層が観察された。しかし、卵巣盲嚢壁内層上皮細胞の液胞が崩壊し始める約26日目頃には、二次卵膜に相当する層は分解し始めており、濾胞腔が拡張し始める頃には完全に消失していた。約30日目になり囊胚期に達した胚では、胚表層の各細胞の細胞膜に微絨毛の発達を観察された。

今回の観察における時間的および位置的対応に基づき、ヤエヤマサソリの卵膜消長について次のようなことが明らかになった。一次卵母細胞が直径約35 μm に達すると一次卵母細胞自身によって、その周囲にPAS陽性で電子密度の比較的低い一次卵膜に相当する層が分泌され一次卵母細胞を包む。この一次卵膜に相当する層は成体卵巣で卵巣盲嚢が形成されるはじめてから約10日目頃まで存続する。その後約6日程の間に一次卵膜に相当する層は濾胞細胞から分泌されるアルシアン青陽性で電子密度の高い二次卵膜に相当する層と混ざる。そしてこの二次卵膜に相当する層は約10日後の濾胞腔が拡張し始める頃には消失する。

二次卵膜に相当する層が形成されてから消失するまでの期間は、卵巣盲嚢における appendix の形成や卵巣盲嚢内層上皮細胞の液胞蓄積など劇的な変化の起こる時期に相当する。この変動の時期に、二次卵膜は卵母細胞あるいは胚を周囲の環境変化から保護する働きがあると思われる。また、この層が消失する時期は、濾胞腔が拡張し始める時期（胞胚期）であることと囊胚期胚表層の細胞には多数の微絨毛が観察されたことから、胚は二次卵膜を失うことにより胚表面から栄養物質を取り入れることができるようになると推測される。つまり、ヤエヤマサソリ胚における卵膜の消失は、胚への栄養供給と密接に関係して起きていると考えられる。

胎生サソリにおいて、胚発生過程初期の胚周囲に卵膜が存在することは、わずかではあるが、これまでも観察されている（Pflugfelder, 1930; Mathew, 1956）。とくに、ヤエヤマサソリを材料としたPflugfelder (1930) は、4細胞期胚時には存在していた卵膜がその後消失することを観察している。しかしながら、これまでに、卵膜の由来さらには卵膜と胚への栄養供給との関係について追究した研究はない。今回の私たちの観察は、まだ予備的な段階ではあるものの、胎生サソリにおける母体から胚への栄養供給に関する新しい視点を提供するとともに、今後、サソリを材料として卵胎生から胎生への進化に関する研究を進めていく上でも有用な情報であると思われる。

引用文献

Makioka, T. (1992a) *Invert. Reprod. Dev.*, **21**, 161–166.

Makioka, T. (1992b) *Invert. Reprod. Dev.*, **21**, 207–214.

Makioka, T. (1993) *Invert. Reprod. Dev.*, **24**, 207–212.

Mathew, A.P. (1956) *Zool. Mem. Univ. Travancore Res. Inst.*, **1**, 1–99.

Pflugfelder, O. (1930) *Z. Wiss. Zool.*, **137**, 1–23.

Polis, G.A. and W.D. Sissom (1990) In G.A. Polis (ed.), *The Biology of Scorpions*, pp. 161–223. Stanford University Press, Stanford, California.

Yamazaki, K., K. Yahata and T. Makioka (1998) *Proc. Arthropod. Embryol. Soc. Jpn.*, **33**, 17–20.

Yamazaki, K. and T. Makioka (2001) *Zool. Sci.*, **18**, 277–282.