

Ultrastructure and Innervation of the Ovarian Wall and Oviduct in the Medaka, *Oryzias Latipes*

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/7753

メダカの卵巣壁と卵管の微構造と神経支配

金沢大学医学部解剖学第一講座 (主任: 本陣良平教授)

東 元 瑞 子
山 下 利 夫
本 陣 良 平

(昭和59年10月27日受付)

メダカ卵巣壁と卵管の微構造と神経支配を、電子顕微鏡と組織化学的方法により検索した。メダカの卵巣は卵巣壁をもつ嚢状の器官で、種々の発達段階の多くの卵胞を含んでいる。卵巣壁は、上皮細胞層、平滑筋層、メラニン細胞層から構成されている。筋層中には、無髄神経線維の微細な神経網と卵巣壁間質細胞が存在する。卵胞膜細胞の突起が、卵巣壁間質細胞と密接している。組織化学的検索によれば、微細な神経網はアセチルコリンエステラーゼ活性陽性の瘤状腫大線維からなる。電顕像によれば、瘤状腫大は軸索の腫大部として観察される。軸索腫大部は、多くの無顆粒性小胞と大顆粒性小胞を含み、部分的に Schwann 細胞の鞘を欠いている。軸索腫大部は以下の2型に分類される: Type-D(遠距離シナプス)、これは微細な神経束の走行中に位置し、平滑筋細胞の組織腔に露出している; Type-C(密接シナプス)、これは平滑筋細胞の陥凹部に密接している。Type-DとType-Cの比は11:9である。無顆粒性小胞と顆粒性小胞の数比は6:1である。卵管壁は上皮細胞層と多くの卵管間質細胞を含む厚い層とで構成されている。無髄神経線維の軸索は、卵管間質細胞と密接シナプスを形成している。卵管の密接シナプスには、多くの無顆粒性小胞と大顆粒性小胞が含まれている。無顆粒性小胞と大顆粒性小胞の比は2:1である。

Key words cholinergic nerve fiber, smooth muscle cell, interstitial cell, ovarian wall, oviduct, medaka

メダカの卵巣はその壁が収縮するため、卵巣全体が腹腔内において常に律動的に収縮している¹⁾。この律動収縮運動は、卵巣壁の平滑筋細胞の収縮によることが知られている²⁾。メダカ卵巣では、卵管に近い部に卵巣腔があり、卵巣腔に面する壁は特に厚く約30 μ mで、そのうち筋層は約20 μ mを占める。卵巣腔内に成熟卵子が20個ないし30個蓄積すると、卵巣腔壁の収縮により、卵子は卵管へと送り出され、泌尿生殖乳頭の後方に位置する総排泄腔から体外へ産卵される。

メダカ卵巣腔壁や卵管の微構造に関しては、幾つかの報告が見られる³⁾⁴⁾が、詳細な知見に乏しく、不明な点が多い。特に律動収縮にあずかる平滑筋細胞の神経支配に関しては、ほとんど触れられていない。今回は、メダカ卵巣壁と卵管の微構造および、ここに分布する神経終末を電子顕微鏡観察と組織化学的方法によって

検索したので報告する。

材料および方法

I. 実験動物

成熟ヒメダカ (*Oryzias latipes*) の雌を実験動物として用いた。

II. 光顕検索法

卵管を含む尾端周辺組織と卵巣を10%ホルマリンに固定、パラフィン包埋、ヘマトキシリン・エオジン染色を施した。また、電顕検索用に作成したエポン包埋試料の約1 μ m切片に、トルイジンブルー染色を施し、組織部位の同定に用いた。

III. 組織化学的検索法

1. カテコールアミン検出法

カテコールアミン蛍光検出のためのホルムアルデヒ

Abbreviations: Type C, type of contact synapse; Type D, type of distant synapse.

ド・グルタルアルデヒド・ショ糖固定法 (formaldehyde-glutaraldehyde-sucrose fixation method)⁴⁾を用いた。この方法によると、組織中のカテコールアミンは黄緑色の蛍光を発する。

2. アセチルコリンエステラーゼ活性染色法

アセチルコリンエステラーゼ活性検出のためのルベア酸増強法 (rubeanic acid-enhancement method)⁵⁾を用いた。この方法によるとアセチルコリンエステラーゼ活性陽性部位が黒色に特異的に検出される。

IV. 電顕検査法

卵巢壁および卵管の電顕検査には、組織の小片を2.5%グルタルアルデヒド・0.1M 磷酸緩衝液 (pH 7.4) に、4°Cで60分から2日間前固定、細切後0.1M 磷酸緩衝液中で水洗、1%四酸化オスミウム・0.1M 磷酸緩衝液で90分後固定、ついでエタノール系列で脱水、エポン812に包埋し薄切片を作成した。薄切片には酢酸ウラニルとクエン酸鉛の二重染色を施し、HU-12型あるいはH-500型電顕によって観察した。そのほか卵巢壁の筋層の神経終末の検索のために、Tranzer⁶⁾の重クロム酸固定法を用いた。この方法によると、神経組織中のカテコールアミン含有物が極めて電子密度大な物質として検出される。

成 績

I. 卵巢壁と卵管の光顕所見

メダカ卵巢の最外表には一層の中皮細胞があり、その直下には卵巢壁が存在し、種々の発達段階の卵胞を含む卵巢実質を取り囲んでいる。卵巢壁は卵巢の後端

の卵巢腔の部では著しく厚くなり、卵管壁に移行している (写真1)。卵巢腔に面する卵巢壁では、卵巢腔の内腔から外方に向かって、単層柱状上皮、内縦・外輪平滑筋層 (卵巢壁間質細胞, interstitial cell of ovarian wall を含む)、メラニン細胞層が層状に並んでいる (写真2)。卵管は単層柱状上皮と、紡錘形ないし星形で細い突起をもった細胞 (卵管間質細胞, interstitial cell of oviduct) の厚い層とから成っている。卵巢壁が中腎管や腸管に面する部位には、壁の外面に薄い縦走する平滑筋層があり、卵管壁の外面に移行している (写真1)。卵巢壁が卵巢実質に面する部位では、しばしばメラニン細胞層を欠き、平滑筋層が卵巢実質の卵胞膜の組織、無髄神経線維束、血管と密接している。

II. 卵巢壁の電子顕微鏡および組織化学的所見

1. 電子顕微鏡所見

1) 上皮細胞

卵巢腔の内面を覆う単層柱状上皮細胞は、染色質に富む大きな核を有し、その細胞遊離面には無数のマイクロビリーが存在する。上皮細胞の遊離面は卵巢腔側に深く突出し、突出部に大小種々の空胞が存在し、内部に無定形物質を含んでいる。しばしば、空胞は細胞表面に開口している。隣接する上皮細胞間には、細胞間接着装置 (junctional complex) や嵌合がよく発達している。細胞質にはミトコンドリア、粗面小胞体、および遊離リボソームが存在する。細胞内の至るところに多量の張原線維束が走り、マイクロビリーの中にまで伸びている (写真3)。

2) 平滑筋細胞

筋層の平滑筋細胞は長紡錘形を呈し、互いに密に嚙

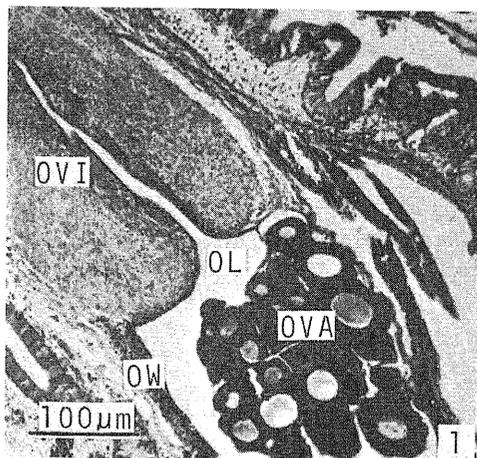


Photo 1. Ovary (OVA) and oviduct (OVI) of the medaka. Ovarian wall (OW) is observed facing the ovarian lumen (OL). Hematoxylin-eosin staining; ×150.

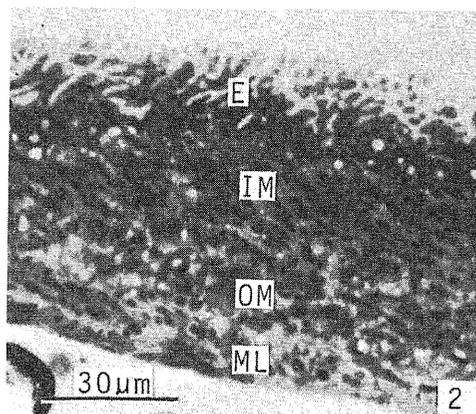


Photo 2. Transverse section of the ovarian wall. The wall consists of an epithelial cell layer (E), inner longitudinal (IM) and outer circular (OM) muscle layers, and melanocyte layer (ML). Toluidine blue staining; ×600.

みあっている。細胞の先端部は、長い突起を出して隣の細胞と密接している。細胞間には幅約 $0.3\ \mu\text{m}$ の組織腔が介在し、基底膜と膠原細線維が存在する。また細胞側面の至る所で突起を出して、隣の筋細胞に密接している。この部では、両細胞膜間に約 $100\ \text{\AA}$ の細隙を見るにすぎず、基底膜が欠除している。さらに細胞側面から出る突起は、隣の細胞の表層胞が密集している部（表層胞領域）と接していることがある。表層胞領域では細胞膜直下に径 $800\sim 1000\ \text{\AA}$ の表層胞が多数存

在し、その一部は細胞間腔側に開口している。後にも触れるが、しばしば表層胞領域に神経終末が密接している（写真4）。細胞質には多量の筋細線維が含まれ、所々で濃密体を形成している。核の近傍の筋形質には、ゴルジ装置、粗面小胞体、中心小体、グリコゲン顆粒が存在する。細胞表面の表層胞が欠落している領域（暗調領域）では、細胞膜直下の筋形質内に電子密度大な無構造の物質が集積し、これに筋細線維の集団が接着している。細胞表面には、表層胞領域と暗調領域とが

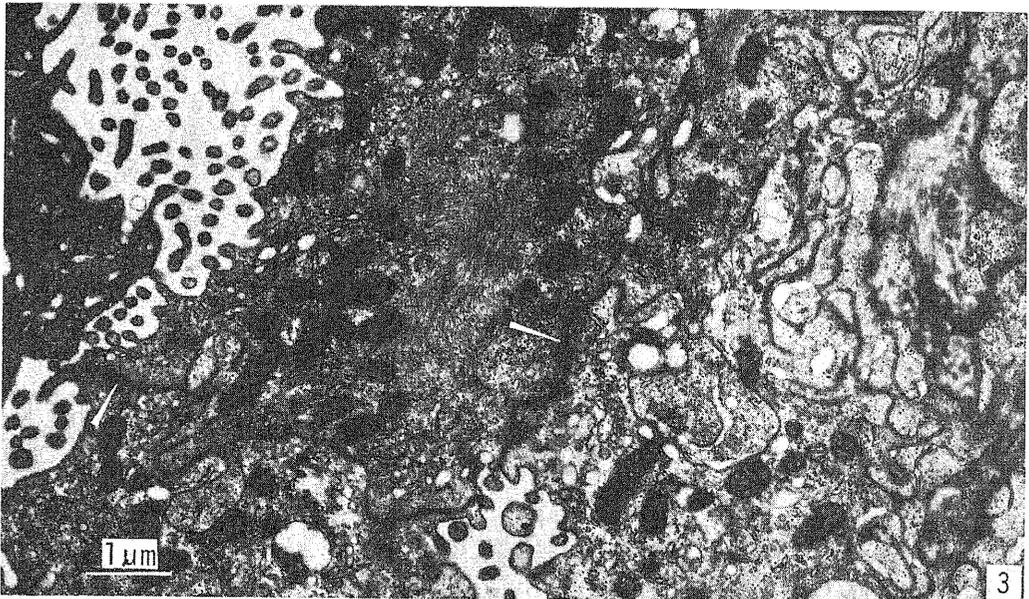


Photo 3. Epithelial cell layer of the ovarian wall. Numerous microvilli, many bundles of tonofilaments, numerous vesicles, and junctional complexes (white arrows) are observed. $\times 11,200$.

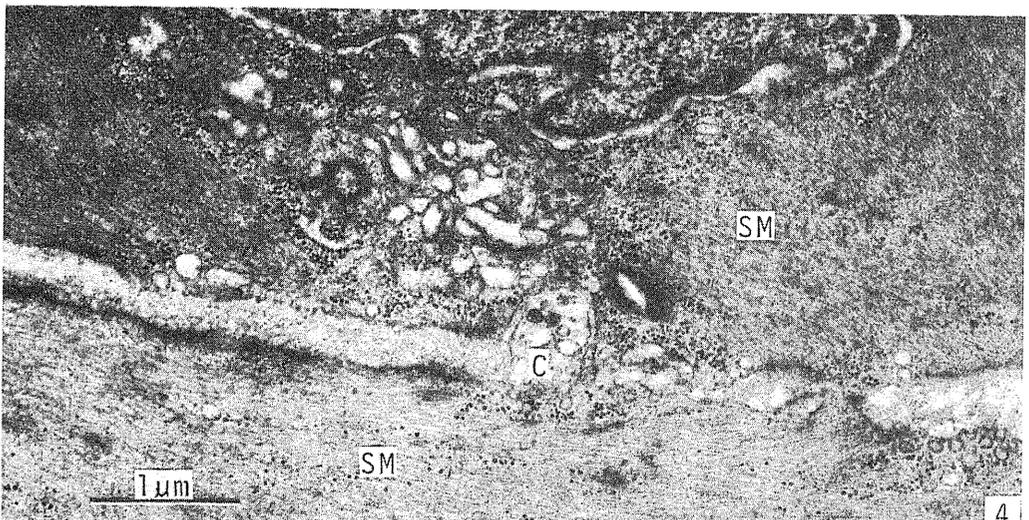


Photo 4. Smooth muscle cells (SM) in the ovarian wall. A contact synapse (C) of the unmyelinated nerve axon is observed in the groove of a muscle cell. $\times 20,000$.

交互に配列し、また隣接する筋細胞の同種の領域同士がそれぞれ相対している(写真4)。

3) 無髓神経線維の終末

平滑筋細胞の集団を分けている間質には、多数の無髓神経線維が束をなして走っている。その軸索中にはミトコンドリア、神経細管、神経細線維などが走り、所によっては多数のシナプス小胞が含まれている。シナプス小胞を含む軸索の部はしばしば肥大し、軸索腫大部を形成している。軸索腫大部はその一側において Schwann 細胞の被鞘を失い、膠原細線維を含む組織腔に露出している。露出部には基底膜は見当らない。軸索腫大部と平滑筋細胞との間には、通常約 0.1~1.0 μm の組織腔が介在している。神経終末と被支配細胞との距離的相関からみて、ここに述べた多数のシナプス小胞を含む軸索腫大部は、消化管の平滑筋において観察された⁷⁾⁸⁾、いわゆる遠距離シナプス (distant synapse, Type-D) に相当する(写真5, 図1 a)。神経束は平滑筋層の深部に進入すると個々の無髓神経線維に分かれ、平滑筋細胞に接近し、Schwann 細胞の被鞘を失って終末を形成し、平滑筋細胞の陥凹部にはまり込んでいる。この種の軸索終末の細胞膜は部分的に肥厚している。シナプス隙は幅約 200~400 \AA で、既に述べた平滑筋細胞の表層胞領域にシナプスを形成している(写真4, 6 a-d)。この種の終末は精管の平滑筋で見出された⁹⁾、いわゆる、密接シナプス (contact synapse, Type-C) に相当する(図1 b)。この終末部は、上記の遠距離シナプスに比し、その径は小さい。

上記の二種の神経終末 (Type-D と Type-C) には、いずれにおいても径約 500 \AA の無顆粒性シナプス小胞と径約 800~1200 \AA の大顆粒性シナプス小胞、不整形の小胞、グリコゲン顆粒、およびミトコンドリアが含まれている。哺乳類の自律神経終末にしばしば見出された径約 500 \AA で内部に電子密度大な顆粒をもついわゆる小顆粒性シナプス小胞¹⁰⁾は、重クロム酸固定法をもってしても見出すことができなかった(写真5)。写真撮影した 373 例の神経終末について、上記の遠距離シナプスと密接シナプスを算定すると、前者は 207 個 (55.5%)、後者は 166 個 (44.5%) で、その比は 11:9 であった。遠距離シナプス (Type-D) は一般に多数の無顆粒性小胞と少数の大顆粒性小胞を含む (49.9%) が、時として多数の無顆粒性小胞のみを含み、大顆粒性小胞を有しないもの (5.6%) も認められる。密接シナプス (Type-C) の大部分は少数の無顆粒性小胞と少数の大顆粒性小胞を含む (31.1%) が、その一部のみは少数の無顆粒性小胞のみ (9.4%) あるいは少数の大顆粒性小胞のみ (4.0%) を含む。神経終末におけるシナプス小胞の分布の差異は、遠距離シナプス (Type-D) および密接シナプス (Type-C) の断面の種々の相を示すものと考えられる。次に、遠距離シナプス・密接シナプスを問わず、これら両種の神経終末内に含まれる全シナプス小胞の数を上記の 373 例で算定した。その結果は、無顆粒性小胞が 5793 個、大顆粒性小胞が 1007 個であり、両者の比は大略 6:1 であった。

4) 平滑筋層に存する特殊な細胞(卵巣壁間質細胞)

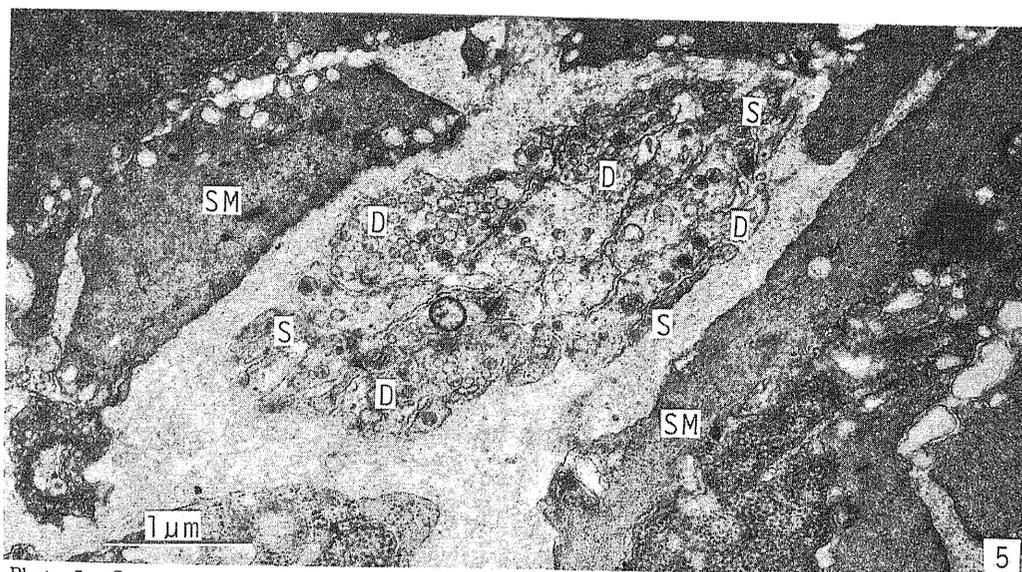


Photo 5. Cross section of a nerve bundle situated among muscle cell bundles in the ovarian wall. Naked axon, which partially lack a Schwann cell sheath (S) and face the tissue space separating the smooth muscle cells (SM), form the distant synapse (D). $\times 20,000$.

平滑筋層内に、平滑筋細胞に挟まれて明調な特殊な細胞が頻繁に見出される。この細胞の核は明調で、異質染色質に富む。細胞内にはゴルジ装置、しばしば細胞膜と連続する被覆小胞 (coated vesicle)、ミトコンドリア、粗面小胞体、遊離リボソーム、張原線維、微細線維束を含む大小様々の不定形小胞 (微細線維の直径は約 65\AA で、線維間隔は約 130\AA)、電子密度大な物質を含む滑面小胞体などが存在する。細胞外周は基底膜に覆われ、その外側にかなり広い組織腔の存在する部位もあるが、平滑筋細胞表面の表層胞領域に対しては平滑筋細胞と密接し、このような部位では平滑筋細胞と基底膜を共有している。しかし平滑筋細胞表面の暗調領域に面する部では、基底膜が厚く、時としてこの細胞内に存在する被覆小胞が細胞外面に開口している (写真7)。またこの細胞が平滑筋束から離れた間質内に存在する場合には、平滑筋細胞の細い突起がこの

細胞を取り囲むようにして位置している。しばしば、この細胞に幅約 $200\sim 400\text{\AA}$ の間隙をもって、無髄神経線維が終末を形成している。終末内部には多数の無顆粒性小胞と少数の大顆粒性小胞、グリコゲン顆粒が含まれており、前述の密接シナプスに属する (写真8)。著者らは、この細胞を卵巢壁間質細胞 (interstitial cell of ovarian wall) と名付ける。この細胞はその微構造から、明らかに間質結合組織内の線維細胞とは異なる。注目すべきことには、この細胞は卵胞膜に由来する卵胞膜細胞とも密接していることである。すなわち卵胞膜細胞の長い突起が、卵巢壁間質細胞の方向に伸び、基底膜を共有して密接している。しかし両者の間には、接着斑による結合は見られない。ちなみに卵胞膜細胞は細胞質内に多数の小胞と張原線維を有し、卵胞膜細胞同士は嵌合をなして密接し、またその多数の長い突起は、よく発達した細胞間接着装置 (junctional

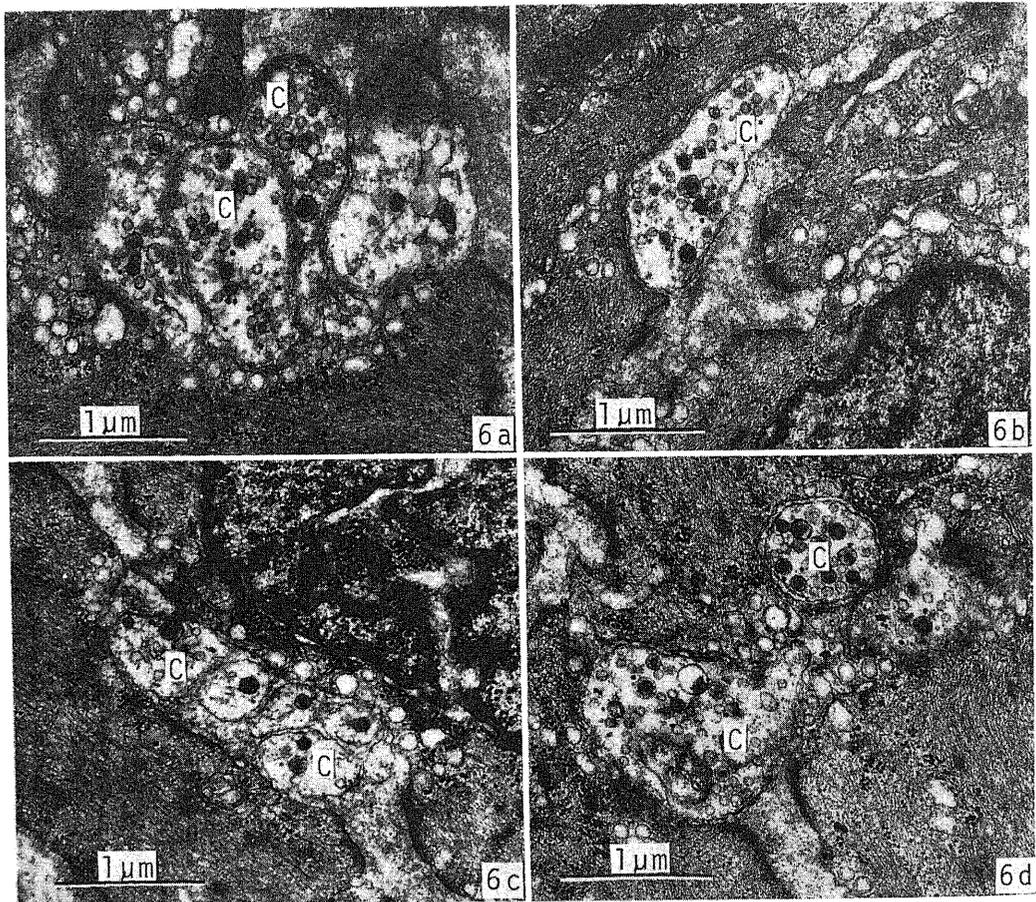
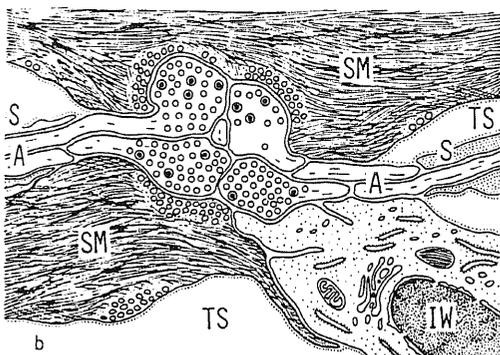
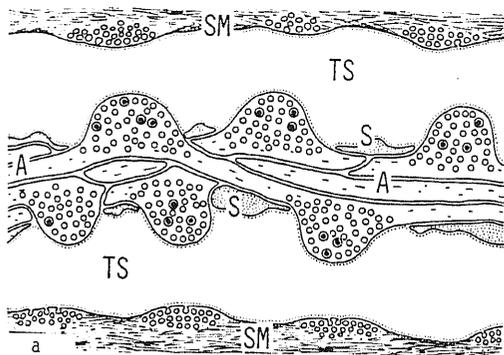


Photo 6a-6d. Axonal expansions in contact with the grooves of the smooth muscle cells in the ovarian wall. These expansions form the contact synapse (C) near the surface vesicles-rich area in the smooth muscle cell. Agranular vesicles and large granular vesicles are observed in the axonal expansions. $\times 20,000$.

complex)により連結され、卵巢壁間質細胞を取り囲んでいる(写真9)。このような電顕所見は、卵巢壁間質細胞、平滑筋細胞、無髄神経線維、卵胞膜細胞の四者間に密接な関連があることを示している。

5) メラニン細胞層

筋層の外側に膠原細線維を含む組織腔を隔てて、メラニン細胞の層がある。この細胞の核の表面は凹凸に



富み、異質染色質が核膜を縁どるように存在する。細胞質には径2~5 μ mの大小種々の小胞が充満し、小胞内には径約400Åの微細顆粒が集積している。低倍率像でみると、この微細顆粒は微細線維の集積から構成されている(写真10)。蛍光顕微鏡で検索すると、顆粒状の橙黄色の蛍光が見られるが、これはメラニン細胞が含むdopa (3, 4-dihydroxyphenylalanine)の蛍光¹¹⁾であり、アドレナリン作動性神経が示すカテコールアミンの黄緑色の蛍光とは異なるものである。

2. 組織化学的所見

1) カテコールアミン蛍光検出所見

カテコールアミン蛍光検出法により卵巢壁を検索したが、メラニン細胞の呈する橙黄色の蛍光を除いて、

Fig.1a. Diagrammatic representation of the axonal expansions in the fine nerve bundle located in the tissue space (TS) among the smooth muscle bundles (SM) of the ovarian wall in a longitudinal section. They contain many agranular synaptic vesicles and large granular synaptic vesicles, lack a Schwann cell sheath (S) on the side facing the tissue space, and represent distant synapses (Type-D). A, unmyelinated nerve axon.

Fig.1b. Diagrammatic representation of the axonal expansions in the smooth muscle cells (SM) in a section. They contain many agranular synaptic vesicles and large granular synaptic vesicles, and represent contact synapses (Type-C) in the grooves of the smooth muscle cells. The processes of the interstitial cell of the ovarian wall (IW) are also attached to the nerve expansions. A, unmyelinated nerve axon; S, Schwann cell sheath; TS, tissue space.

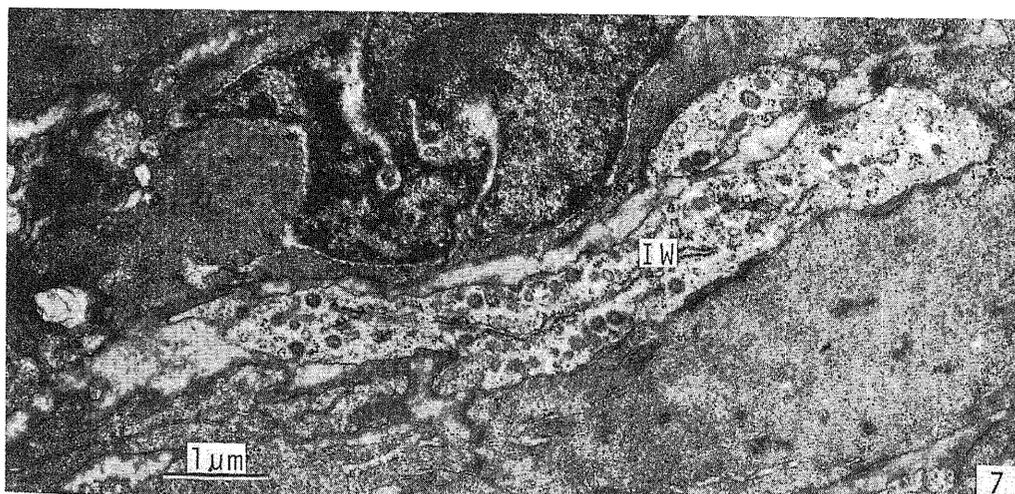


Photo 7. Interstitial cell of the ovarian wall (IW) situated among the smooth muscle cells. $\times 14,000$.

黄緑色のカテコールアミン蛍光は全く見られなかった。このことは、電顕検索において見出された大顆粒性シナプス小胞がカテコールアミンを含まないことを示している。

2) アセチルコリンエステラーゼ活性検出所見

アセチルコリンエステラーゼ活性検出法によって卵巣壁を検索したが、アセチルコリンエステラーゼ活性陽性の神経束が、筋層内に縦横に走っているのが見出された。さらに個々の線維は神経束からはなれて分岐し、平滑筋細胞の間に進入している。活性陽性の神経線維は、所々腫大部を形成している(写真11)。電顕検索と対比すると、活性陽性の神経束は筋層間を走る数本の無髄神経線維の束に相当し、その中で所々瘤状腫大が認められるのは、前述の遠距離シナプス(Type-D)に相当し、また個々の平滑筋細胞間を縫うように走り、平滑筋細胞に密接している活性陽性線維は、前述の密接シナプス(Type-C)に相当する。

III. 卵管壁の電顕所見

1. 卵管上皮

単層柱状上皮で、細胞遊離面の近くが細くなり、細胞間接着装置(junctional complex)が密集している。マイクロビリーは短く棍棒状で、その内部に長軸に平行して張原線維が走っている。上皮細胞相互間は嵌合で

噛み合っている。核は明調な長楕円形で、核小体が著明である。細胞質内には遊離リボソームが点在し、張原線維が束になって走り、粗面小胞体、小胞、内顆粒をもつミトコンドリア、リゾソームが存在する。細胞基底部分には細胞膜の陥入が認められ、そこには厚い基底膜がはいり込んでいる。基底部分の細胞膜の細胞質側に半接着斑(hemidesmosome)や被覆小胞が認められる(写真12)。上皮細胞は、管腔に面した細胞遊離面に一對の中心小体のいずれか一つに発する一本の繊毛を有している(写真13)。上皮直下には、多数の無髄神経線維から成る神経線維束がある。

2. 上皮下結合組織層

卵管間質細胞(interstitial cell of oviduct)、Schwann細胞、無髄神経線維が網目をなして存在し、間隙に膠原細線維が密に存在する。これらが全体として厚さ約100 μ mの結合組織層を形成している。卵管間質細胞は長紡錘形で、長楕円形の入り込みのある核を有し、細胞内には多量の遊離リボソーム、中心小体の付随するゴルジ装置、ミトコンドリア、細胞膜と密着する細線維束などが存在する。なお随所に不定形物質を含むコラーゲンポケット(collagen pocket)が見出され、細胞外側の細胞間隙に微細線維の集積が認められる(写真12)。卵管間質細胞に接して、多数の無髄

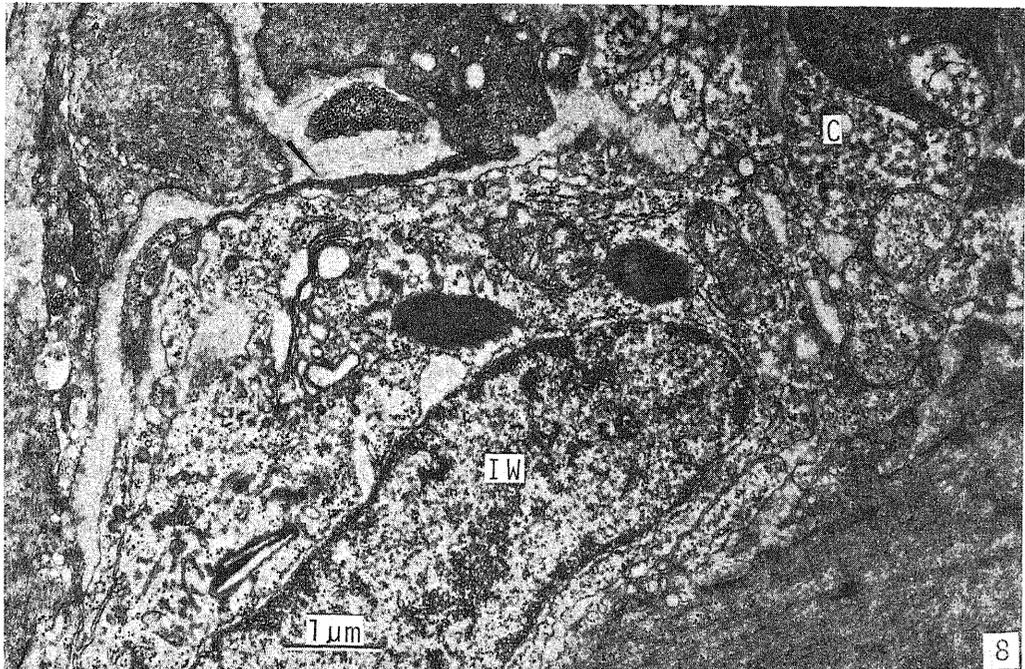


Photo 8. Interstitial cell of the ovarian wall (IW). The process of the smooth muscle cell (arrow) adheres to the interstitial cell. A contact synapse (C), located between the smooth muscle cell and the processes of the interstitial cell, is observed. $\times 13,500$.

神経線維軸索が終末を形成している。すなわち無髄神経軸索は Schwann 鞘を失い、先端部でやや肥大して腫大部を形成し、卵管間質細胞の陥凹部に密接シナプ

スを形成している。軸索終末の内部には径約 500 Å の無顆粒性小胞と径約 800~1200 Å の大顆粒性小胞が存在する。いわゆる小顆粒性シナプス小胞は認められなかった(写真 14 a-d, 図 2)。一般にこの種の軸索終末内においては、卵巣壁の密接シナプスのそれに比して、大顆粒性小胞が多い。この種の密接シナプス 130 例の断面について、軸索終末内部に含まれるシナプス小胞の数比を算定した。すなわち 130 例において、無顆粒性小胞が 917 個、大顆粒性小胞が 550 個であり、

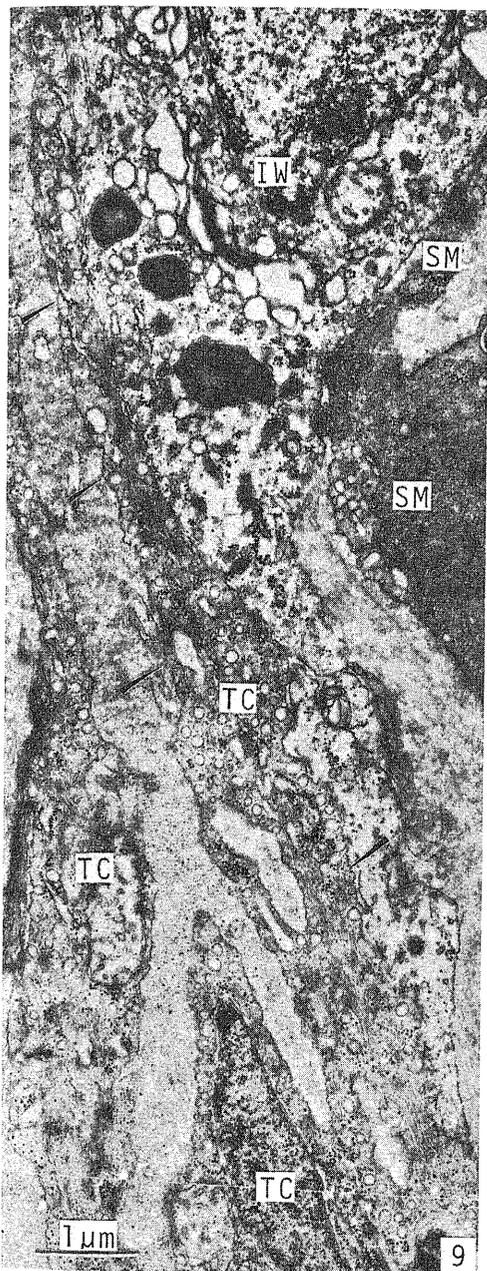


Photo 9. Theca cell (TC) and interstitial cell of the ovarian wall (IW). The processes of the theca cell (arrows) are in contact with the interstitial cell of the ovarian wall. The processes of the smooth muscle cell (SM) are also in contact with the interstitial cell. $\times 13,400$.

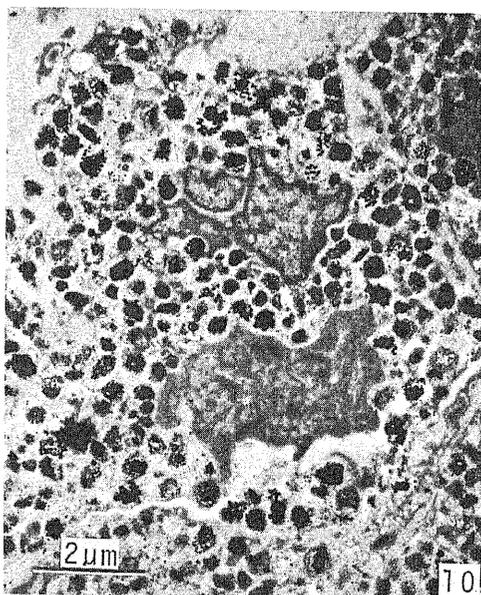


Photo 10. Melanocyte in the ovarian wall. $\times 7,700$.

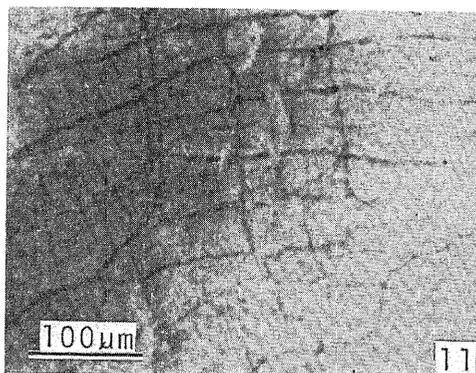


Photo 11. Acetylcholinesterase activity in the ovarian wall. Activity positive nerve axons are observed as many black lines. Numerous varicosities are observed along the courses of the axons. Rubenic acid-enhancement method. $\times 150$.

両者の比は大略2:1であった。

考 察

I. 卵巣壁の微細構造

硬骨魚類の卵巣壁上皮の役割に関しては諸説がある¹²⁻¹⁴⁾が、メダカのそれに関し、Takano³⁾とYamamoto¹⁵⁾は、上皮細胞にアポクリン分泌の像を認め、上皮細胞が液体分泌の役割をもつと報じている。しかし

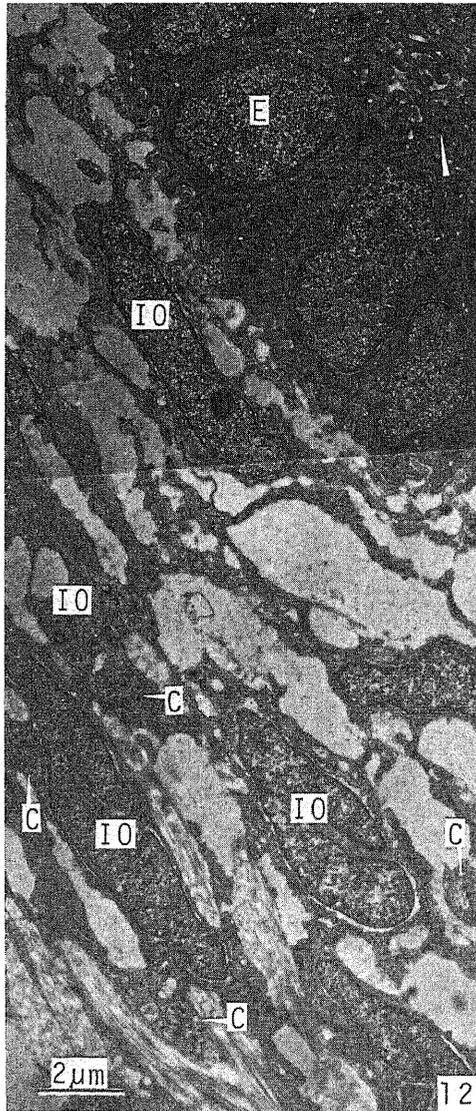


Photo 12. The wall of the oviduct. Junctional complexes (white arrow) are observed in the upper part of the epithelial cells (E). Unmyelinated nerve axons form the contact synapse (C) in close contact with the interstitial cell of the oviduct (IO). $\times 5,800$.

今回の著者らの電顕検索においては、産卵休止期および産卵期のいずれの時期においても明確なアポクリン分泌像を見出し得なかった。むしろ上皮細胞内に大小種々の小胞が存し、これが産卵周期によって変化し、この小胞が遊離面に開口している像に接した。この知見は、アポクリン分泌というよりは、むしろ漏出分泌の存在を示すものと推測される。Takano³⁾のいうアポクリン分泌像は、固定不良による人工像と考えられる。

緒言でも触れたように、卵巣壁の平滑筋の収縮が卵巣運動を引き起こしている¹²⁾と言われており、平滑筋細胞の微構造も報告されている²⁾。しかし現在まで卵巣壁の平滑筋細胞の神経支配については何ら論述がなされていない。今回の検索によって、卵巣壁の平滑筋細胞が無髄神経線維による高密度の神経支配を受けていることが明らかとなった。すなわち、平滑筋束間に無髄神経線維軸索の腫大部の形をとる遠距離シナプス (distant synapse, Type-D)⁷⁾⁹⁾があり、また平滑筋細胞の陥凹部に密接する無髄神経線維の末端と考えられる密接シナプス (contact synapse, Type-C)⁹⁾が存在する。前者は径が大きく、後者は径が小さい。両者ともに無顆粒性シナプス小胞と大顆粒性シナプス小胞を含んでいる。しかも組織化学的検索の結果は、これらの軸索終末がアセチルコリンエステラーゼ活性陽性であることを示している。一般に無顆粒性シナプス小胞がアセチルコリンを含むと考えられている¹⁰⁾ので、これらの終末がコリン作動性神経の終末と断定してよいであろう。今回の検索で見出された大顆粒性シナプス小胞の性格に関しては、一般にセロトニン、ヒスタミン、あるいはポリペプチドを含むとされている¹⁰⁾。硬骨魚類の化学伝達物質に関しては、胃・腸においてアミン作動性神経 (aminergic neuron) とコリン作動性神経 (cholinergic neuron) の二種の軸索が認められ、前者はセロトニンやヒスタミンを含み、後者はアセチ

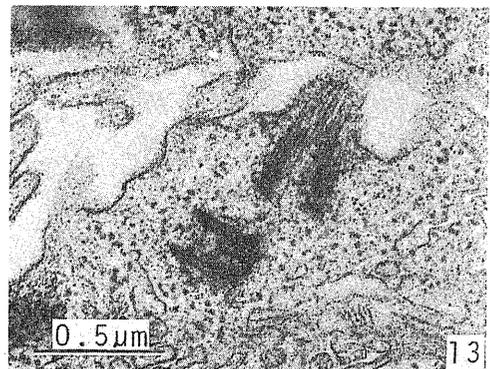


Photo 13. Cilium observed in the epithelial cell of the oviduct. $\times 33,600$.

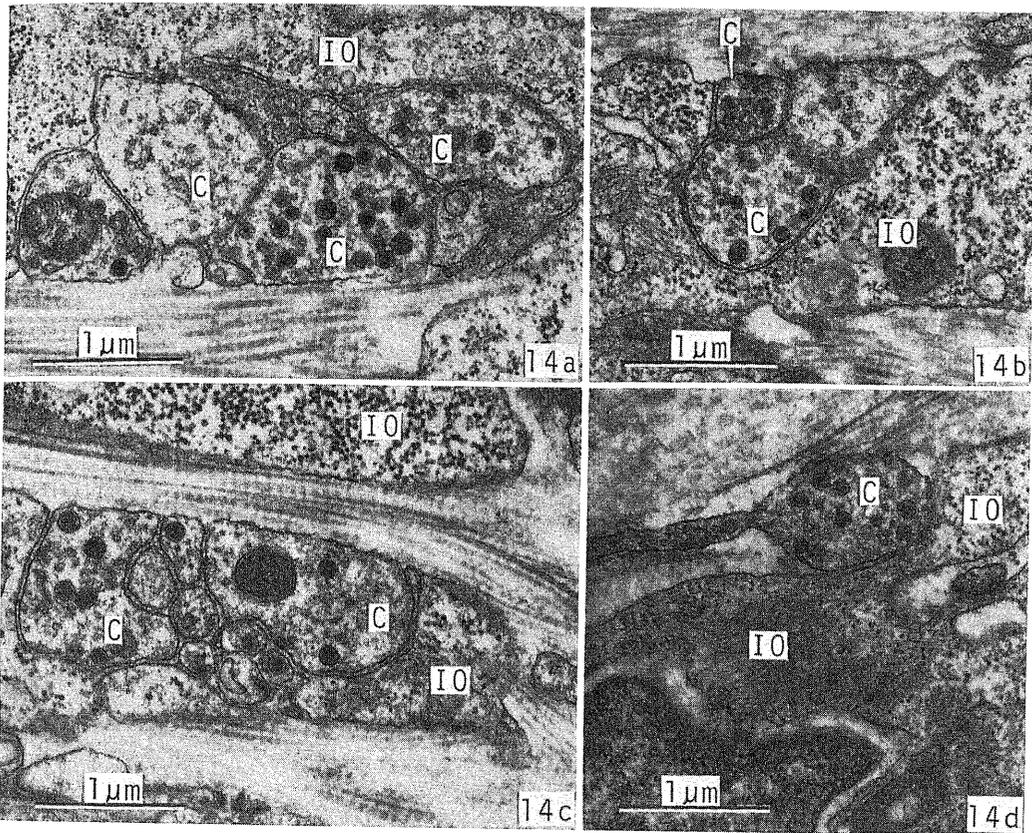


Photo 14a-14d. Axonal expansions forming contact synapse (C) in the interstitial cell of the oviduct (IO). Agranular vesicles and large granular vesicles are observed in the axonal expansions. $\times 20,000$.

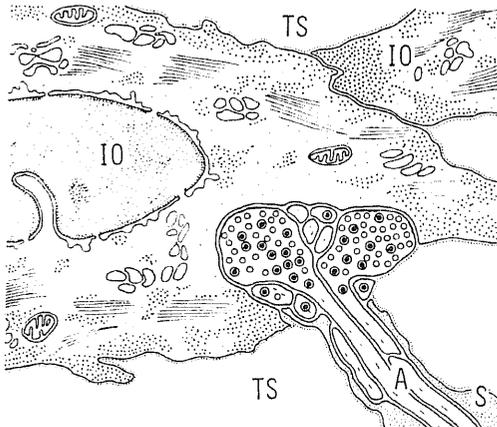


Fig. 2. Diagrammatic representation of the axonal expansions in the interstitial cell of the oviduct (IO) in a section. They contain many agranular synaptic vesicles and large granular synaptic vesicles, and represent contact synapses (Type-C) in the grooves of the interstitial cell of the oviduct. A, unmyelinated nerve axon; S, Schwann cell sheath; TS, tissue space.

ルコリンを含んでいる¹⁶⁾¹⁷⁾と報告されている。Nambuら¹⁸⁾は、メダカ腹腔内にアセチルコリン、セロトニン、ヒスタミンを個別に注入したところ、卵巣壁に著明な収縮が起こり、5分以内に放卵することを報じている。彼らによると、このうちアセチルコリン投与が最も有効であったとしている。この報告は、平滑筋細胞に分布する無髄神経軸索とその終末に、アセチルコリンエステラーゼ活性が陽性であり、かつ電顕検査において、軸索終末に無顆粒性シナプス小胞および大顆粒性シナプス小胞が存在するという著者らの知見とよく一致する。今回の検索では、カテコールアミン蛍光は検出されず、かつ Tranzerら⁹⁾のクロム反応においても、小顆粒性小胞は電顕像に認められなかった。従って、メダカ卵巣壁の平滑筋には、ノルアドレナリン作動性神経は存在しないと考えられる。

ところで、平滑筋細胞の表層胞は、骨格筋線維のT系 (transverse system) に相当する¹⁹⁾とも、カルシウム排出作用をもつ²⁰⁾とも推測されており、いずれも平滑筋細胞の興奮伝導に重要な役割を演ずる構造と考

えられている。メダカ卵巣壁の平滑筋細胞の表層胞領域に、しばしば無髄神経線維の末端が密接シナプス (Type-C) を形成していることが明らかとなったが、このことはシナプスから放出される神経伝達物質が、まさに平滑筋細胞の表層胞に作用していることを示している。

平滑筋層中に存在する卵巣壁間質細胞は、基底膜を有して平滑筋細胞と密接している。この細胞の存在については、現在まで他に全く報告を見ない。この細胞と線維細胞との異同について検討したが、卵巣壁間質細胞は、細胞質が明調で、粗面小胞体が少なく、被覆小胞を多数有し、また細胞外面に基底膜を有している。このことは、線維細胞と著しく異なる点である。しかも卵巣壁間質細胞には、無髄軸索が密接シナプスを形成して終わっている。また卵胞膜細胞の突起とも密接している。従って、卵巣壁間質細胞は単なる線維細胞ではなく、おそらく哺乳類の卵胞膜における平滑筋様細胞 (smooth muscle-like cell)²¹⁾ と呼ばれた細胞と同様に、卵胞の成熟に対応して平滑筋様の作用を示すものであろう。

II. 卵管壁の微細構造

今回の検索によると、卵管上皮は産卵周期に伴って、その内部微構造に何ら変化を示さなかった。ただ産卵直後の卵管においては、上皮細胞側面の嵌合が伸長して卵管内腔が拡張し、上皮のミクロビリ間に変性に陥った卵管上皮細胞と微細小管の解離した付着毛 (attaching filament)²²⁾ が残存していた。また、メダカ卵管上皮細胞が繊毛をもつことは他に報告を見ないが、今回の検索によって初めて、一对の中心小体のうちの一個から繊毛が一本延長している所見に接した。この繊毛は、分泌細胞にしばしば見られる oligocilia²³⁾ の構造に相当する。

Robinson ら²⁴⁾ は、光顕検索により、メダカ卵巣壁の厚い筋層と卵管の筋層は連続していると報じている。しかし今回の検索では、メダカ卵管上皮下には厚い結合組織層が存在し、そこには平滑筋細胞は存在せず、代わって、卵管間質細胞が存在することが明らかになった。卵管間質細胞と線維細胞との異同について検討したが、卵管間質細胞は細胞質が明調で、細胞内小器官が少なく、遊離リソソームが豊富で、しばしば細胞膜に接着する細線維束を含み、細胞外面に基底膜が存在する。このような微構造は、いわゆる線維細胞とは異なる点である。しかも、卵管間質細胞には、無髄軸索に由来する密接シナプスが存在する。従って、卵管間質細胞は、単なる線維細胞とは著しく作用の異なった細胞と考えられる。哺乳類の卵管は厚い平滑筋細胞の層を有しているが、メダカ卵管では平滑筋細胞

が存在しない。マウス²⁵⁾ やラット²⁶⁾ の発生途上の動脈において、将来の平滑筋細胞は、発生期において線維芽細胞の形態を取り、中膜に膠原線維を沈着させることが知られている。最近、哺乳類の卵巣や子宮の間質細胞がホルモンの影響を受けて増殖し、種々の生理作用を営むことが知られ注目されている。例えば、卵巣の卵胞膜間質細胞 (theca-interstitial cell) は、唾液腺から分泌されるホルモンの作用によって、アンドロゲンを分泌する細胞に変わり、エストロゲンの生合成と卵胞閉鎖を引き起こすと言われている²⁷⁾ 今回の検索によって見出された前述の卵巣壁間質細胞と卵管間質細胞も、ホルモンの作用によって様々な機能をなし、成熟卵子の排卵と産卵に関与することが十分に考えられる。

結 論

メダカ卵巣壁と卵管の微構造を、電顕ならびに組織化学的方法を用いて検索し、次の結果を得た。

1. 卵巣壁の平滑筋層には、明調な卵巣壁間質細胞が存在し、その細胞質は微細線維束を含む大小種々の不定形小胞、被覆小胞、張原線維などを含む。卵巣壁間質細胞はしばしば平滑筋細胞、無髄神経線維、および卵胞膜細胞の突起と密接している。

2. 卵巣壁の筋層には無数の無髄神経線維束が分布しており、その無髄軸索は所々で腫大部を形成して間質に露出し、その部で Schwann 細胞の被鞘を欠き、遠距離シナプス (distant synapse, Type-D) を形成している。腫大部の内部に径約 500 Å の多数の無顆粒性小胞と径約 800~1200 Å の少数の大顆粒性小胞を含む。上記の軸索および遠距離シナプスは、アセチルコリンエステラーゼ活性陽性である。

3. 筋束内の個々の平滑筋細胞の表層胞領域に対して、幅約 200~400 Å の間隙をもって無髄神経軸索の終末が存し、密接シナプス (contact synapse, Type-C) を形成している。この神経終末の内部には、無顆粒性小胞と大顆粒性小胞が存在する。この種の軸索および密接シナプスは、アセチルコリンエステラーゼ活性陽性である。

4. 卵巣壁の平滑筋層内の神経終末のうち、遠距離シナプス (Type-D) は全体の 55.5% を占め、密接シナプス (Type-C) は全体の 45.5% を占める。全シナプス小胞のうち、無顆粒性小胞と顆粒性小胞の比は 6:1 である。

5. 卵管壁は、卵巣壁に続く単層柱状上皮と、主として卵管間質細胞と膠原線維束から成る結合組織層とで構成されている。卵管上皮細胞同士は互いに細胞間接着装置 (junctional complex) と嵌合によって結

合し、細胞遊離面に無数のマイクロビリーと一本の繊毛を有している。卵管間質細胞は内部に無数の細線維束を含み、無髄神経軸索の終末が密接シナプスを形成して終わっている。この軸索終末には径約 500 Å の無顆粒性シナプス小胞と径約 800~1200 Å の大顆粒性シナプス小胞が含まれていて、無顆粒性小胞と大顆粒性小胞の比は 2 : 1 である。

謝 辞

稿を終えるにあたって、本研究に際し御協力を頂きました第一解剖学教室の宮下鎮憲技官に感謝の意を表します。また電子顕微鏡室の西村竹治郎氏、山口稔毅氏、山口浩明氏に厚く御礼を申し上げます。

文 献

- 1) 細川和子・南部 実: メダカの卵巣運動について。動物誌, 75, 318 (1966).
- 2) 細川和子・南部 実: メダカの卵巣腔壁および輸卵管壁の電子顕微鏡的観察。動物誌, 80, 202-207 (1971).
- 3) Takano, K.: Fine structure of the wall of the ovarian lumen in the teleost, *Oryzias latipes*. Bull. Fac. Fish., Hokkaido Univ., 19, 76-97 (1968).
- 4) Nakamura, T.: Application of the Faglu method (Furness et al.) for the histochemical demonstration of catecholamine to the cryostat section method. Acta Histochem. Cytochem., 12, 182 (1979).
- 5) Nakamura, T. & Torigoe, K.: Simultaneous visualization of catecholamine fluorescence and cholinesterase activity in the peripheral autonomic nerve. Acta Histochem. Cytochem., 12, 569 (1979).
- 6) Tranzer, J. -P. & Richards, G.: Ultrastructural cytochemistry of biogenic amine in nervous tissue: Methodologic improvements. J. Histochem. Cytochem., 24, 1178-1193 (1976).
- 7) Jabonero, V.: Die plexiforme Synapse auf Distanz und die Bedeutung der sogenannten interkalären Zellen. Acta Neuroveg., 19, 276-302 (1959).
- 8) Honjin, R., Takahashi, A. & Tasaki, Y.: Electron microscopic studies of nerve endings in the mucous membrane of the human intestine. Okajimas Folia Anat. Jpn, 40, 409-427 (1965).
- 9) Richardson, K. C.: The fine structure of autonomic nerve endings in smooth muscle of the rat vas deferens. J. Anat., 96, 427-442 (1962).
- 10) 本陣良平・山下利夫: 平滑筋に分布する自律神経終末の微細構造。病態生理, 2, 1165-1173 (1983).
- 11) Furness, J. B., Costa, M. & Wilson, A. J.: Water-stable fluorophores, produced by reaction with aldehyde solutions, for the histochemical localization of catechol- and indolethylamines. Histochemistry, 52, 159-170 (1977).
- 12) Gardiner, D. M.: Cyclic changes in fine structure of the epithelium lining the ovary of the viviparous teleost, *Cymatogaster aggregata* (Perciformes: Embiotocidae). J. Morphol., 156, 367-380 (1978).
- 13) Fishelson, L.: Ultrastructure of the epithelium from the ovary wall of *Dendrochirus brachypterus* (Pteroidae, Teleostei). Cell Tissue Res., 177, 375-381 (1977).
- 14) Brummett, A. R., Dumont, J. N. & Larkin, J. R.: The ovary of *Fundulus heteroclitus*. J. Morphol., 173, 1-16 (1982).
- 15) Yamamoto, K.: Cyclical changes in the wall of the ovarian lumen in the Medaka, *Oryzias latipes*. Annot. Zool. Jpn, 36, 179-186 (1963).
- 16) Watson, A. H. D.: Fluorescent histochemistry of the teleost gut: Evidence for the presence of serotonergic neurons. Cell Tissue Res., 197, 155-164 (1979).
- 17) Watson, A. H. D.: The ultrastructure of the innervation of the intestinal wall in the teleosts, *Myoxocephalus scorpius* and *Pleuronectes platessa*. Cell Tissue Res., 214, 651-658 (1981).
- 18) Nambu, M. & Hosokawa, K.: Note on the induction of oviposition by injection of acetylcholine, serotonin or histamine in the fish, *Oryzias latipes*. Annot. Zool. Jpn, 44, 15-18 (1971).
- 19) Devine, C. E., Simpson, F. O. & Bertaud, W. S.: Surface features of smooth muscle cells from the mesenteric artery and vas deferens. J. Cell Sci., 8, 427-443 (1971).
- 20) Popescu, L. M., Diculescu, I., Zelck, U. & Ionescu, N.: Ultrastructural distribution of calcium in smooth muscle cells of guinea-pig taenia coli. Cell Tissue Res., 154, 357-378 (1974).
- 21) O'Shea, J. D.: An ultrastructural study of smooth muscle-like cells in the theca externa of ovarian follicles in the rat. Anat. Rec., 167, 127-140 (1970).
- 22) 東元瑞子: メダカ卵形成期の付着毛の微構造と発生。十全医会誌, 92, 875-893 (1983).
- 23) Dustin, P.: Microtubules, p 131-132, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 1978.

- 24) **Robinson, E. J. & Rugh, R.**: The reproductive process of the fish, *Oryzias latipes*. Biol. Bull., 84, 115-125 (1943).
- 25) **Karrer, H. E. & Cox, J.**: An electron microscope study of the aorta in young and in aging mice. J. Ultrastruct. Res., 5, 1-27 (1961).
- 26) **Chiff, W. J.**: The aorta tunica media in growing rats studied with the electron microscope. Lab. Invest., 17, 599-615 (1967).
- 27) **Erickson, G. F. & Case, E.**: Epidermal growth factor antagonizes ovarian theca-interstitial cytodifferentiation. Mol. Cell. Endocr., 31, 71-76 (1983).

Ultrastructure and Innervation of the Ovarian Wall and Oviduct in the Medaka, *Oryzias latipes*
Mizuko Higashimoto, Toshio Yamashita, and Ryohei Honjin, Department of Anatomy, School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa, 920 - J. Juzen Med. Soc., 93, 736-748 (1984)

Key words: Cholinergic nerve fiber, Smooth muscle cell, Interstitial cell, Ovarian wall, Oviduct, Medaka

Abstract

The present study was pursued to examine the fine structure and innervation of the ovarian wall and the oviduct of the medaka by electron microscopy and histochemistry. The ovary of the medaka is a sac-shaped organ having an ovarian wall and containing many follicles in different developmental stages. The ovarian wall consists of an epithelial cell layer, a smooth muscle layer, and a melanocyte layer. The muscle layer contains a fine nerve plexus of unmyelinated fibers and interstitial cells of the ovarian wall. The processes of the theca cells are in contact with the interstitial cells of the ovarian wall. Using histochemical methods, the fine nerve plexuses show acetylcholinesterase-active varicose fibers. In electron micrographs, the varicosities appear as axonal expansions, containing many agranular synaptic vesicles and large granular synaptic vesicles, and partially lacking a Schwann cell sheath. The axonal expansions can be classified into two types: Type-D (distant synapse), those located along the fine nerve bundle and facing the tissue space located among the smooth muscle cells, and Type-C (contact synapse), those in contact with the grooves of the smooth muscle cells. The ratio of Type-D to Type-C in number was 11:9. The ratio of agranular vesicles to large granular vesicles in number was 6:1. The wall of the oviduct consists of an epithelial cell layer and a thick layer containing many interstitial cells. The axons of the unmyelinated fibers form a contact synapse to the interstitial cells of the oviduct. This type of synapse in the oviduct also contains many agranular synaptic vesicles and large granular synaptic vesicles. The ratio of agranular vesicles to large granular vesicles in number was 2:1.