

蛔虫卵の卵膜及び原形質膜の新成と その機構に関する研究

只野 柳

岐阜大学学芸学部生物学教室

(昭和36年2月13日受領)

蛔虫の卵は物理的にも化学的にも顕著な抵抗性をもっている。かかる抵抗性の本質は主としてこの卵膜にあると考えられる。亦蛔虫特に馬蛔虫の卵の発生は一見、明白なモザイク的分化の様相を示し、特にその染色体は大型でその数が極めて少ない点で注目される。以上の理由から蛔虫の発生に関する研究は従来極めて多数の人々によつてなされ、その成果は今日の細胞学並びに発生学の発展に大きな基礎をなしたと云う事ができよう。

上述の諸点は蛔虫卵が実験発生学的研究に極めて好材料である事を示しているが、然し近年は両棲類、海産無脊椎動物に関する画期的研究に比較して、蛔虫に関するこの種の研究は意外に少数である。

亦寄生虫学的立場から、成虫の駆除も確かに重要である。他方殺卵或は異常発生への誘導も又極めて重要な問題であるが、充分な対策に乏しい様に思われる。また駆除に関する研究に当り、体外培養した仔虫を用いる事も有益と考えられるが、これも今日のところ不可能であり、孵化機構も未解決である。期様な状況に達した原因の一つは強靱な卵膜の存在にあると考えられる。

以上の諸問題を扱う為には必然的に卵膜の除去が必要であり、その前段階において卵膜の性質、形成機構の解決が当面する重要課題となる。かかる見解から蛔虫卵を基礎並びに応用の諸問題の解決の有益な実験材にする目的をもつて本研究がなされた。

卵膜について Zawadowsky (1914, 1927, 1928) は *Ascaris megalcephala* 及び他の2種について、その後井田 (1930) は *A. suum* で卵膜は5層からなることを報告した。Fauré-Fremiet (1912, 1913, 1925) は卵膜を卵殻膜と卵黄膜に区別し、前者はキチン性で後者は Koprosterin であると報告した。Wottge (1937), Chitwood (1938) らは蛋白質性の外層、キチン性の中層及び Cholesterin をもつ内層の3層にわけ、中、内層は受精

後に形成されるとした。いずれの場合も膜の性質の研究に比べてその形成機構に関する研究は極めて少ない。

Wottge は膜形成時における液胞の存在をあげ、又膜の形成と共にグリコーゲンが漸減する事を指摘しているがしかしそれが液胞中にないという。近年柳沢 (1954, 1955) は *A. suum* の卵膜の形成について小顆粒の行動をみている。Fauré-Fremiet 及び Wottge らの研究から、卵膜の構造、形成は単純でないと同時に、液胞が形成に何等か重要な役割を演じている事が暗示される。

今日精子侵入後、卵表面に受精膜が現れる事は一般現象とされている。この膜は卵自身の材料で形成される事が大きな特色である。蛔虫の卵膜が精子侵入後に現れる事は受精膜に相当する可能性を暗示する。従つて蛔虫卵における膜形成機構に関する研究は他の動物卵の受精膜形成の解明に重要な意義を持つと考えられる。

主にウニの受精膜の起源について3つの考えがある。一つは新成説であり、他は Chambers (1921), Moser (1939) 及び Chase (1935) らの既存膜説と元村 (1936) による両者の折衷説とである。既存膜説によると受精前の既存膜が受精後に受精膜になると考えた。又 Moser によると原形質膜と卵黄膜を同一視し、受精後、皮部細胞質の顆粒は液泡化し、この外壁は原形質膜と共に受精膜になり、その内壁は新しい原形質膜になると云う。

もしこの事が正しければ、原形質膜が受精後において新成される事を意味する点が筆者には極めて重要であると思われる。何故なら原形質膜は原形質の界面として重要な意義をもつと同時に細胞分裂における分裂面、又創傷治癒時における表面は既存原形質膜の伸展のみに依存する事が困難になるからである。

筆者は、はじめ蛔虫卵について、精子侵入後、原形質膜の内側に卵の容積の漸減につれ膜が形成され、その際膜と細胞質の間に原形質膜がみられない事、また成熟卵

本研究の一部は文部省科学研究費によつて行つた。

の表層と卵膜最内層との間に胚卵腔が現れる事を観察した。

そこで膜の識別、性質を検討し、その上に立脚して膜形成と細胞質の行動とを検討した。その結果、卵膜及び原形質膜は顆粒によって新成される事が確認され、加うるに、実験の目的によつて任意に卵膜を除去することが可能となり、又細胞質顆粒の行動、形態及び化学的变化の検討により、細胞分裂、分化の研究に有利な着想を得るに至つた。

本論文は以上の実験結果を総括的に扱つたものである、

材料および方法

材料としてと畜から得た直後の馬蛔虫 *Parascaris equorum* (GOEZE) (Syn. *Ascaris megalcephala* CLOQUET) の卵を用いたが、尚比較の為豚蛔虫 *Ascaris suum* GOEZE の卵をも用いた。先ず交接後の虫を選び、その虫から子宮のみを分離した。成熟卵を含んでいる子宮の範囲には個体差があるが、多くの場合陰から子宮の4~5cmの部が用いられた。分離された子宮から卵のみを Ringer-Dale 氏液をいれたガラス皿に移した。そして Ringer-Dale 氏液を用い主に生卵について 35~38°C で継続的に観察した。

ヤーヌス緑Bの染色には生卵及び固定卵を用いた。固定にはオスミック酸、中性ホルマリン、Carnoy 氏液、Champy 氏液、Bouin の Picro-formol 液、35%重クロム酸カリ溶液及び Zenker 氏液が用いられた。切片の作成には水溶性合成樹脂を用い、又生卵及び中性ホルマリン固定卵の凍結切片をも作成した。細胞質顆粒の分離には普通電気遠心分離機を用い 3,200 G 1—5 時間、卵を処理した。亦顆粒の除去、膜存否の探索には Péterfi の顕微解剖器を利用した。鏡検は普通鏡検の外、位相差鏡検、偏光鏡検、及び暗視野鏡検を行つた。その他数種の組織化学的検査をも行つた。

実験結果

1. 未受精卵について

馬蛔虫の未受精卵は長径 50 μ 、短径 45 μ の楕円形で、その細胞質は透明であるが帯黒色の大、中型顆粒が充滿し、その間に小型顆粒が混在して居り、核の位置は明らかでない。是等の大部分の顆粒はヤーヌス緑B、オスミック酸に親和性をもつ。うすい原形質膜の外に透明な膜が密着している。亦卵は潰れ易い。細胞質内の顆粒の移動は認められない。

2. 精子侵入について

卵に精子が触れると、接触部に透明な突起部が現われ、精子は、アメーバ運動と共にその突起の部位から卵に侵入する。侵入後、突起部は次第に回復する。侵入部における透明領域の周辺の顆粒が最初に移動し、これと共に膨潤をする。

3. 第2層形成について (Fig. 1—1, Photo. 1).

精子侵入直後、卵内の大型顆粒は移動と共に楕円形となり、その中央に条が現れる。条は楕円形に膨れ、次いで球形となる。この液泡は内容物と外壁に区別される様になる。前者は透明でゲンチアナ堇で染色され、後者はヤーヌス緑で染色されるが、液胞化が最大になると染色性は低下する (Fig. 1—12)。液胞は卵の中央から周辺に向つて遠心的に移動し、その外壁に中、小顆粒を吸着する。原形質膜の内側の狭い透明領域において液胞は油状に溶解する。この油状物は遠心力により遠心端に密に分層される (Photo. 2)。液胞に付着していた顆粒は油状物と共に原形質膜の内側に付着する。付着した中型顆粒は不整形となり、繊維状に伸ばされ、小型顆粒はその上に散在しているが、次第に両者の形態は消失し、淡青黄色の透明膜が現われる。その外側は不整形で処々に変形した顆粒が残存しているが、第3層の形成と共に滑らかな膜となる。この後、細胞内顆粒は卵の中央に向つて求心的に移動し始める。第2層は透明で青黄色の薄い層で 0.5~10%アンチホルミン水溶液 (次亜塩素酸ソーダ水溶液) を作用させると、2層に分離し一見糸状になつて第3層から分離する。ホルマリン固定を行うと、外側から繊維状に拮がる。形成直後の第2層の内側には狭い透明部がみられ、その部の顆粒は相互に融合し、太い繊維状になり、それが螺旋状に連つている (Fig. 1—15)。外側の繊維状物を拡大すると、その1本は更に微細な繊維の集合物で不規則な網状を示し、その処々に疣状物が付着している (Fig. 1—16)。更にこれを拡大すると繊維の処々にある透明部は不透明部で埋れている。不透明物は極く微細な繊維が不規則に集合している様な状態を示す (Fig. 1—17)。

4. 第3層形成について

a. 基礎膜の形成

小型顆粒が遠心的に移動しながら少しく膨潤し、第2層の内側の透明物質中に配列し、次いで相互に融合する。そして微細な繊維状の膜となる。この膜を基礎膜と仮になづける (Fig. 1—2, Photo. 3)。基礎膜は第3、第4層にも同様に形成される。

b. 附加膜の形成 (Fig. 1, 3—8, Photo. 3, 4)

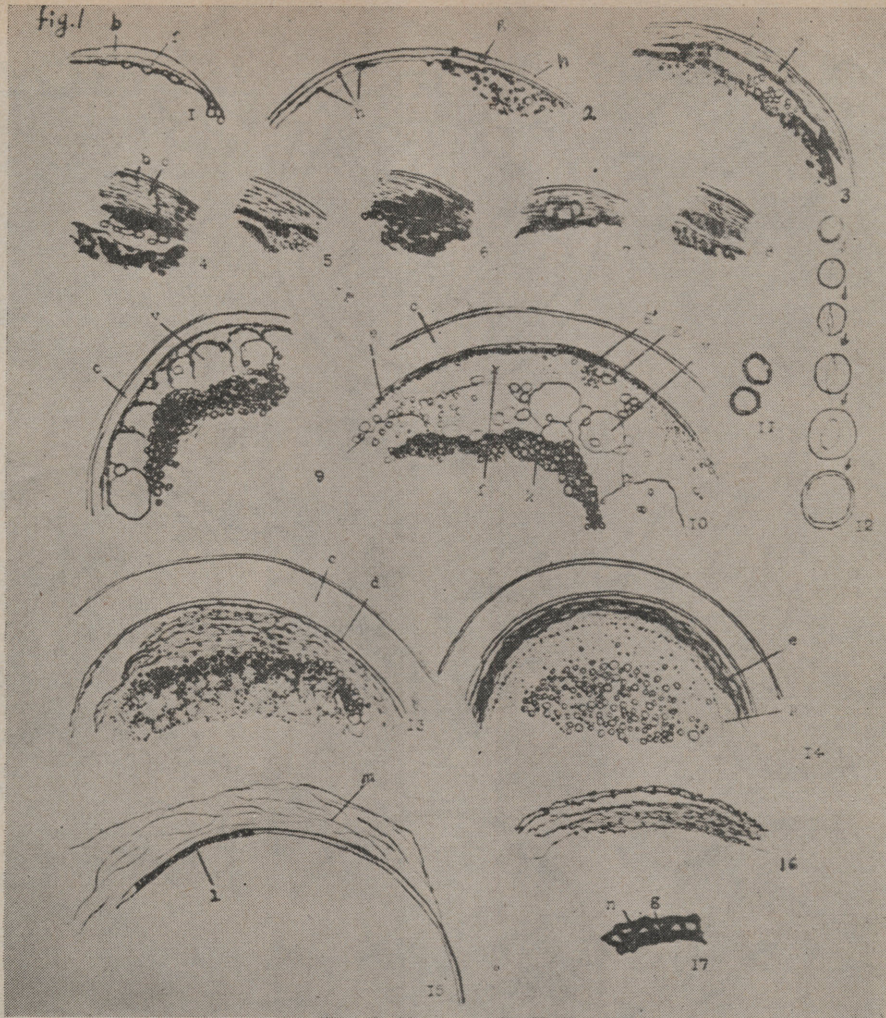
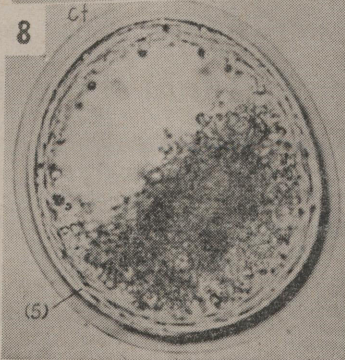
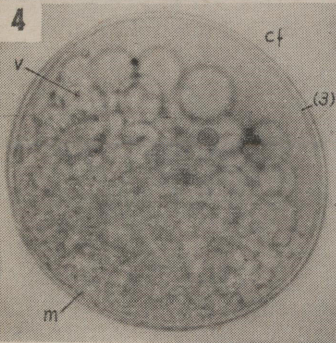
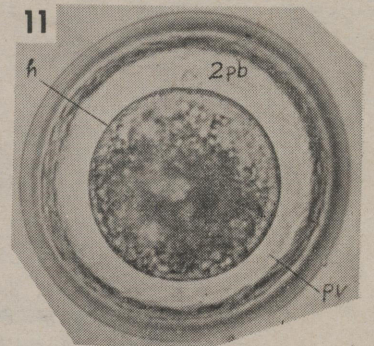
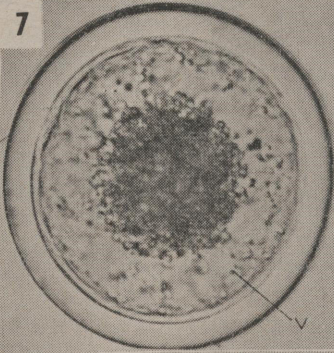
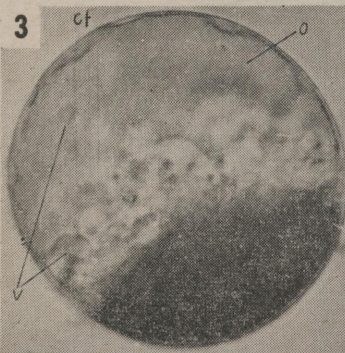
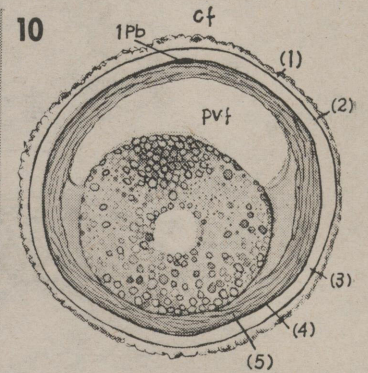
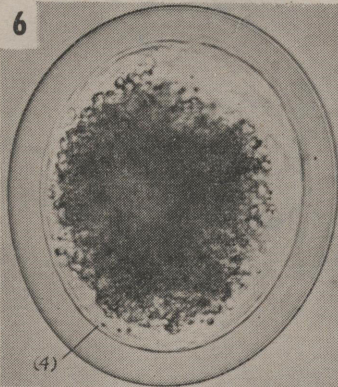
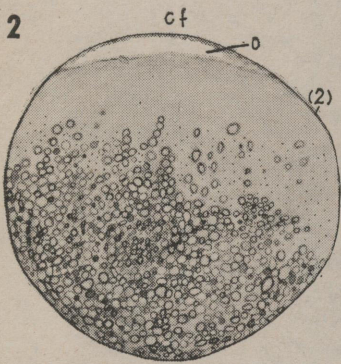
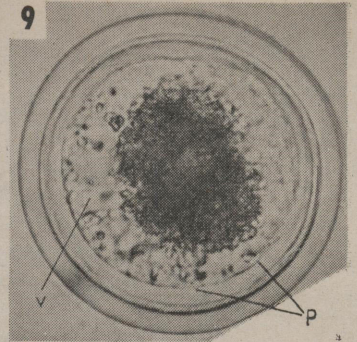
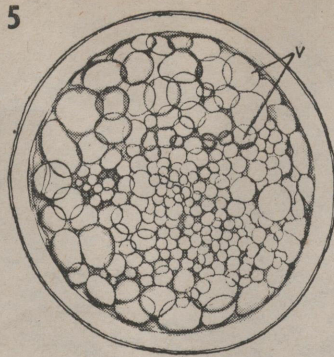
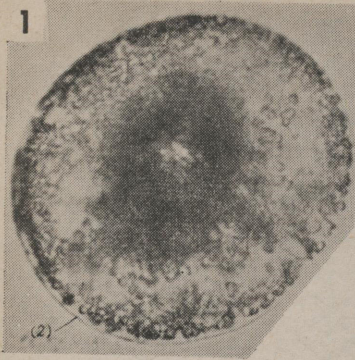


Fig. I の説明

- b, c, d, e はそれぞれ第2, 3, 4, 5層を示す。
1. 第2層形成顆粒の溶解 f. 2層形成顆粒から導かれた緑色透明物質でその中に小顆粒が残留している フォルマリン固定
 2. 第3層形成初期, 生卵, g. 小顆粒が第2層内に残留, h. 小顆粒が透明細胞質から現われて第2層の内側に付着する
 3. 第3層形成の後期, 透明顆粒が内方から移動し第3層を形成する
 - 4—8. 第3層形成過程
 9. 第4層形成初期, 融合した大型液胞は小型顆粒を吸着する
 10. 第4層形成後期 フォルマリン固定 g. 膨潤している顆粒, g'. ヤーヌス緑好染小型顆粒, f. ヤーヌス緑で弱染の透明物質, k. ヤーヌス緑好染顆粒, v. 液胞
 11. 第3層形成の膨潤顆粒, 生卵, 吸着性 gelly 物質が顆粒の外側にみられる
 12. 顆粒の液胞過程, 生卵. 13. 第5層形成 フォルマリン固定
 14. 原形質膜形成初期, 生卵 p. 原形質膜形成に参与するミトコンドリア
 15. 第2層形成直後, フォルマリン固定, m. 外側から繊維状に拡がった原形質膜, l. 原形質膜のらせん構造
 16. 15のmの部位の拡大 17. 15のlの部位の拡大 g. 透明部, n. セメント物質



写真説明

馬蛔虫卵

(1)……卵膜第1層, (2)……第2層, (3)……第3層, (4)……第4層, (5)……第5層, m……膜, o……油状物質, P……原形質膜, Pv……囀卵腔, Pvf……囀卵腔液, 1Pb……第1極体, 2Pb……第2極体, v……液胞, h……透明膜, cf……遠心端, 1. 第2層形成後期, 2. 1と同期. 黄色油状物質は遠心端, 3. 第3層形成の最も初期, 4. 第3層形成初期 求心端側で液胞が膜状に変化, 5. 第3層形成後期, 6. 第4層形成初期, 8. 第5層形成後期, 9. 第層形成の初期, 原形質膜新成初期 膜は不整形, 10. 囀卵腔形成中. 囀卵腔液が遠心端で囊状に広がる, 11. 囀卵腔と原形質膜の完成, 2-5, 8, 10は遠心処理卵

基礎膜の形成後, 連続的に移動してくる多数の球形の大形液胞と小型の液胞は基礎膜の近部で溶解する. 小型の液胞は外壁が厚く透明な物質からなり, その外側は不整形で粘着性をもっている (Fig. 1—11). 外壁はヤーマス緑で好染するが, しかし粘着物は染色されない. 是等の液胞から産出される油状物質は基礎膜に粘着する. この液胞の間に存在する少量の小型顆粒は次第に膨潤し, 油状物質中に溶け込むと微細な繊維が現われてくる. 更に液胞の移動が著しくなり, これと共に液胞は盛んに溶解する. 又2, 3個の顆粒が相互に融合し, 透明物質に取り巻かれながら移動するものもある. そして基礎膜の内側には淡青色の硝子様の膜が現われてくる. 液胞の溶解の度毎に膜の厚さは増大し, 処々に小型顆粒の変形したものが残存する. この顆粒は膜の内側が不整形の時期には認められるが, 第4層の形成によつて残存していた顆粒は消失し, 内側も又滑らかになる. 膜は青色で厚さは形成直後のものの $\frac{1}{2}$ に減少し, 光の屈折率は増加する.

この様に基礎膜に付加する膜を付加膜と仮称する.

膜形成中の卵を遠心処理すると, 細胞質は移動し難く, 遠心端に第2層のものより, 粗雑な油状物が存在し, 次いで液胞が移動してくる. 第3層は透明で厚い. 第2層の場合と同濃度のアンチホルミン水溶液を作用させると膨潤し, 青色及び光の屈折力を失い, 次第に溶解する.

第3層を除去した卵は外気の乾燥に堪へ難くなる.

5. 第4層形成について (Fig. 1, 9—10, Photo. 6, 7)

基礎膜の形成に続いて液胞が遠心的に移動しながら相

互に融合し, 基礎膜の周辺で更に大形の液胞となる. それが互に重り合い, その間には著しく多数の顆粒が吸着され, 斯くして液胞は不整形となる. この時期の細胞質は遠心力によつて著しく分層されにくい.

卵の周辺は透明な液胞で占められ, 中央部には顆粒が密に集合している. 液胞相互の融合は更に進行し, 内容物は黄色の微細な油状物となる. 液胞に付着した顆粒は次第に消失し始め, 卵の周辺は透明で不規則な形の囊状物の重り合った状態を示すが, 次第に是等の囊状物は均一な透明物に変化し, そして基礎膜に付着する.

第4層の内側は, はじめ不整形であるが, 第5層の形成と共に滑らかになり, 屈折率は前記の両膜より高い. この時期でも細胞質には多量の顆粒が残存し, 核の周辺に集積しているが卵は全体として淡黒色から帯黄色となつてくる.

第4層は薄く, 第2層に類似しているが凍結切片についてみると, 光の屈折が第3層より強くなる. この為に判別し易くなる. アンチホルミンで第2層より溶けにくい. 固定切片についてみると, 最も抵抗性を示す.

6. 第1極体の放出と第5層の形成について (Fig. 1—13, Photo. 8).

雌核は細胞質の周辺に移動し, 第1極体を放出する. 続いておこる第5層形成により極体は放出された部位から分離される. そして次第に圧迫され, 球形から扁平となり, 全卵膜の形成後に点状となる. ヤーマス線好染顆粒は, 卵の中央から遠心的に移動しながら少しく膨潤し, 第4層の内側の透明質中で相互に融合し, 波状の糸状物となる. これに前後して, 少量の中型液胞が移動して来て, 繊維状物の周辺において透明な物質に変化する. 斯様な状態が幾度も繰返されて, 繊維状物が漸次増加し, かくして第5層が形成される. 大型の液胞が小顆粒を吸着してその形成に参加することは稀である. かかる第5層は透明な部分と繊維物とが交互に配列した, 第3層より厚い層であるが, 囀卵腔の形成によつて, 緻密な繊維状の層となり, 他の部位と区別することができる. しばしば, 繊維状物に小型顆粒の変形がみられる. 第5層は他の層の何れよりも厚くまた弾力性を有し, 卵膜第4層まで除去した時, 遠心力又は卵細胞自体の変形によつて比較的容易に変形する. アンチホルミン水溶液の処理に対しては他の層に比べて, かなり抵抗性を示し, 約2時間作用すると漸次粗になり, 遂に離散する. 第5層はステアブシン, プロナーゼで消化される. 第5層形成後, 細胞質の顆粒は求心的に移動し, 第5層の内

第 1 表 卵膜各層の組織化学反応

反応の種類	固定方法	卵膜の区別					備考
		第1層	第2層	第3層	第4層	第5層	
キサントプロテイン反応	ホルマリン アルコール	+	+	++	+	-	
ニンヒドリン反応	ホルマリン	+	+++	-	+++	-	Berg 法 Romeu 法
ペルリネラブラウ反応	凍 結	+	++	-	++	++	
ミロン反応	ホルマリン	+	++	±	++	±	
アロキサン反応	ホルマリン	-	++	-	++	-	
レシチン反応	ホルマリン	++	+	+	+	++	Fischer 法
リポイド反応	5%重クロム酸カリ 8) 40%ホルマリン 2) 氷 醋酸 1)	+	+	+	+	++	Ciaccio 法
脂肪酸反応	ホルマリン 凍 結	-	±	-	±	++	Fischer 法
スーダンⅢ染色反応	ホルマリン 凍 結	+	+	-	±	++	
オキシダーゼ反応	（ナージオキシダ ーゼ反応） 凍 結						
	（ラビロキシダ ーゼ反応） 凍 結	+	++	-	++	++	
クローム反応	ツェンカー氏液 3.5%重 クロム酸カリ	+	++	++	++	±	
シルバー反応	ブアン氏液 ホルマリン 凍 結	+	++	+	+++	-	Masson 法 Herper 法 緒方法 Törö 法

— = 陰性 ± = 疑問 + = 弱陽性 ++ = 強陽性 +++ = 最強陽性

側に透明な領域が現われてくる。

7. 原形質膜と囲卵腔の形成について (Fig. 1—14, Photo. 9—11).

第5層の内側の透明な部分が或る一定度の厚さ迄現われると、細胞質の中央から移動して来たヤーヌス緑B, オスミック酸に親和性をもつ小型顆粒は少しく膨潤して、第5層から一定の距離の部位において、あたかも、その位置に吸着されるようにして移動した後停止し、列状に配列する。

次に相互に融合して著しい凹凸の繊維状構造物となる。そして変形、膨潤した顆粒がそれに付着しているのがみられる。この繊維状物の外側には融合した液胞の内容物により、薄い透明膜が現われてくる。続いて、中央から移動してきた液胞は繊維状物に接近すると、其の内容物が繊維状物及び透明膜を通過して、第5層と透明膜の間に滲出する。かかる現象に伴って、第5層と透明膜との間は増大し、その間隙は液胞の滲出液で満たされる。これが囲卵腔になる。この滲出液は遠心力で遠心端に分層される。この時期に第1極体が放出されると同方向に第2極体が放出される。滲出が完了すると、不整形の繊維状物は一定の厚さの膜になる。かくして成熟卵の

原形質膜の形成は終了する。この膜は未だ少しくヤーヌス緑Bに対して好染性を有する。原形質膜は往々 Fig. 15の1にみられる様に螺旋状構造を示し、細胞が崩壊した時の原形質膜の状態はまた同様の状態を示す。囲卵腔が完成し、細胞質内の不透明な顆粒は減少し、卵は著しく透明度を増す。卵膜形成前の卵の容積は $309135.5 \mu^3$ であり、囲卵腔形成後における卵細胞自体の容積は $63122.9 \mu^3$ になる。これは卵膜形成前の容積の 20.5%に相当する (52例)。換言すれば、容積は卵膜形成前のものに比較して $\frac{1}{5}$ に減少する。

8. 第1層(蛋白膜)の形成について

波状の遊離縁を持つ第1層は子宮壁から分泌された顆粒が卵表に付着し、互いに融合して形成される。波状の大きさは顆粒の大きさに比例し、馬蛔虫卵の場合、豚のそれと比べて小型である。この膜は粘着性でアルブミンが多く、剥れ易い。又、Ringer-Dale 氏液中で漸次溶解し消失する。未受精卵にも付着する。稀いアンチホムリンでも容易にとける。第1層を除去した卵は粘着性を失う。

9. 数種の薬品による影響

トルオール、クロロホルム、アセトン及びエーテルを $10 \sim 15^\circ\text{C}$ で作用すると、僅かな時間の相連はあるが、第

5層のみが極端に離散する以外に、他の層は著しい形態的变化を示さない。アンモニア（1～28%）により第1層は容易に溶けるが、第2～4層は形態的に著しい変化を示さない。又、第5層は離散する。硫酸、塩酸の作用には第1層を除く他の層は比較的抵抗を示した。

10. 組織化学的反応

第1層：キサントプロテイン反応とニンヒドリン反応は陽性を示し、第1層と第2層の間に特に強く、銀反応により褐色を示し、辺縁のみが特に黒色を示した。

第2層：キサントプロテイン反応は全体として弱く、ヘルンプラウ反応は陽性を示すが特に内側に弱い。ミロン反応は外側は強く、内側は弱い。

第3層：キサントプロテイン、クロム反応は特に陽性を示す。

第5層：ヘルンプラウ反応は特に網目状の繊維に強く現われる。

方法及び反応の程度は第1表に示されている。

11. 偏光鏡検

生卵では卵膜全体が偏光により複屈折を示し、特に第4層と第5層が著しく強い。ホルマリン及びブアン氏液固定卵では、第4層と第5層の外側にみられ、クロロホルムの処理後は消失する。銀、キサントプロテイン反応後においては第5層のみにみられた。

豚蛔虫を馬蛔虫に比較すると次の様な相違がある。豚蛔虫卵は小型で卵膜の各層は薄い。また第1層の著しい波状構造は子宮壁の分泌顆粒が大型であることに原因する。特に第5層の繊維層の内壁が波状を示し、緊密である。他方、卵膜、原形質膜の形成過程、化学的及び物理的性状は馬蛔虫卵に著しく類似している。

考 察

以上の実験において卵膜は5層に識別された。第1層は精子侵入に関係なく子宮壁の顆粒によつて形成され、他方第2～第5層迄は受精後、卵細胞自体の顆粒と透明原形質によつて形成され、明らかに各層は基礎膜と付加膜の二重構造を持つ（1953）。かかる点から第2～第5層はウニ、ヒトデ等の受精膜に相当すると云える。

蛔虫卵の受精膜が原形質膜の外側に形成されるか否かは、未解決であり、又層の数の上で蛔虫の卵膜はウニの受精膜から異なるが、若し前者の2～5層を単層と見做すと形成機構に関して現在の観察はウニ卵に関する Moser (1939) のそれとほぼ一致する。2～5層が受精後に形成される点で Fauré-Fremiet (1913), Wottge (1937) 及び Chitwood (1938) 等と一致する。

蛔虫卵において精子侵入点から顆粒の移動、液胞化が起り、次いで遠心的求心的な顆粒の移動と液胞化が現われる。この事はウニ卵について椛山 (1958)、魚卵について山本 (1951, 1952) らが注意した精子侵入時における表層の顆粒又は小胞の崩壊と極めて類似した現象と思われる。

第2層の既存の原形質膜が基礎膜となり、その内側に小顆粒と液胞によつて形成された膜が付加することによつて一つの層が形成される。又他の層は同様にして内側に向つて形成される。是等の現象から受精卵の原形質膜及び卵膜は、内側に漸進的に形成される事が明白である。極体の部位はこの事を支持する。又上記の事実と共に成熟卵の原形質膜の形成が確認され、且卵膜第5層と卵表面の間に囲卵腔が現われる事実は明らかに原形質膜の新成を確認する (1955)。

各層の基礎膜形成、特に成熟卵の原形質膜形成において第5層内側の透明域に小顆粒の配列する事が示す様に膜形成には既に前にある膜の基礎が必要である事を暗示する。ただ5層の形成状態から5層は原形質膜の集合体と見做すことも可能である。この場合透明物質は原形質膜形成の基礎であると見做す事ができる。

核膜は伸展、維持された前の核膜を基礎にして内部細胞質の顆粒が加わる事により形成される (1957)。

又卵剖面も既存原形質を基礎にしてミトコンドリアが加わり完成することから (1954c, 1954d, 1955a) 膜形成機構は本質的には同様である。

卵膜第5層と他の層との相違は前者には付加膜がない事であり、亦第2～4層はそれらの付加膜に主なる相違があり、これらの層の相違は付加膜の性質によると云える。

各卵膜の形成直後における厚さは次の層の形成に伴い減少し、光の屈折を増し、硬化する。この事は顆粒の遠心的拡散に伴う膨潤、即ち液胞化によるコロイド滲透圧の増加によると云える。特に第5層の内壁の緻密な構造は、囲卵腔形成時の液胞の行動により明白である。かかる見解は第1層の粗な構造によつて支持される。そして顆粒の遠心的、求心的拡散は液胞化に関係し、又かかる行動は核と細胞の間に、ある種の生化学的協調の存在を暗示する。かかる現象は2細胞期後にもみられ発生学的に重要な役割を演じている。また著しい液胞化をみると顆粒と透明原形質との間にも何等かの現象があるかもしれない。液胞の遠心的移動により、膜形成物質を移送し、液胞自体も崩れて形成材料となり、且つ形成材料を圧迫

する。この事実は膜形成及び膜の強固性の賦与に液胞は極めて重要な役割を果していると言える。

液胞の存在を Fauré-Fremiet (1912, 1913, 1925) 及び Wottge (1937) ちもみている。Wottge によると液胞が形成物質を運ぶと云うが、この見解は筆者と一致する。

一般に顆粒が液胞化するにつれて、その染色性は低下し、又移動に際し、相互に粘着し小型顆粒を吸着する。是等の程度は顆粒の種類により異なる事等から、かかる形態変化は化学変化に平行している事を推測させる。

第2層にフォルマリン及びピンチホルミンを作用した結果から、卵膜の各層及び原形質膜は極く微細な繊維構造の集合体であると見做される。井田 (1930) のアンチホルミン処理で卵膜が繊維状になったという点は上述の見解と一致する。

Schmidt (1936) は卵膜の内層の外側に重屈折をみている。この外側と云う部位が現在の第4層とすれば現在のホルマリン固定卵の場合に類似する。第2層～第5層の重屈折を示した原因は主として繊維構造とリポイドに求めるとその説明ができるように考えられる (1955e)。層の区別についてみると現在の研究は Zawadowsky のそれと一致する。Wottge 及び Chitwood らは外、中、内層に分けたが、中層は現在の第2～4層に相当すると考えられる。

化学的性質に関し、第1、第5層については前記の人々と一致するが、然し本実験で第2層はリポイドをも含み、第4層はフェノール化合物をもつ点で彼等から異なる。この差は液胞から出された物質の化学的性質の相違によるのかも知れない。第3層は種々の点から単純な組成ともみられるが、然し第3層除去卵 (1955b, 1955c) が乾燥に弱い事はこの層が卵の乾燥防止に大きな力を持つことを暗示する。第5層はリポイドが多い事は他の人々とほぼ一致するがフェノール化合物が存在しない事は注目に値する。Zawadowsky は第5層が滲透圧の調節を行うのでこれを卵の生化学的保護物質と考えた。しかし重屈折を示した事も考慮にいれると筆者の見解は彼の見解に一致する。又第5層のみをもつ卵は変形し易いが第2～4層があると変形しにくい。この事から第2～4層は機械的作用から卵を保護するに役立つと見られる。

第1層は著しく粘着力を持つが、これを除いた卵は著しく粘着性を失う。従つてこの層は卵に付着力を与え感染に役立つと見ることもできよう。

卵膜全体を通じて蛋白とリポイドを含む事から、若

し、繊維構造が主に上記の物質の重合によるミセル構造と仮定すると、卵膜の構造を一般的に理解する事が容易となる。

卵膜、囲卵腔、原形質膜そして外部細胞質 (1957) の形成は、ほぼ同一機構であり、それらの性状は外側から内側に漸次卵の性状に類似してくる事は注目される。

総 括

1. 本研究は馬蛔虫 *Parascaris equorum* (GOEZE) 及び豚蛔虫 *Ascaris suum* GOEZE の卵膜の性状及び卵膜と原形質膜の形成機構を明らかにする目的で行われた。

2. 成熟卵の卵膜は5層からなる。即ち外側から第1層、第2層、第3層、第4層及び第5層と名付ける。キチンという卵殻部分は第2、3、4層に該当する。各層の形態学的、物理的及び組織化学的性状についてのべられている。第1層は卵の付着と乾燥防止、第2～4層は機械的保護、第5層は卵の物理化学的保護に役立つと考えられる。各層の抵抗力の差は主に成分の割合による。

3. 精子侵入後、卵膜第2～5層及び原形質膜は新成される。この形成にヤーヌス緑好染顆粒、液胞及び透明原形質が関与する。侵入後、顆粒が遠心的、求心的に移動し、遠心的拡散時に顆粒は液胞化し、膜の形成に関与する。卵膜及び囲卵腔形成後ヤーヌス緑好染顆粒は著しく減少し細胞質は第4層形成後全体として黄褐色に変化する。第1層は精子侵入と無関係に子宮壁の分泌顆粒によつて形成される。

4. 第5層を除く卵膜は基礎膜と付加膜からなる。基礎膜は未受精卵の原形質膜及びこれに類似した新成膜で、透明原形質とヤーヌス緑好染顆粒から形成され、第1層と第2層では前者で、第3～4層では後者である。第5層は基礎膜の集合体である。付加膜を形成する液胞は層によつて異なり、これが付加膜の特質を示す。この液胞化は大、中顆粒とヤーヌス緑好染顆粒から成る、これらの液胞は卵の周辺で崩れ、膜形成材料となり、他の形成材料も運ぶ。遠心力に対し、これらの顆粒の抵抗性はその状態で異なるが、崩壊した形成材料は遠心端に分層される。

5. 成熟卵の原形質膜は、ヤーヌス緑、オスミック酸好染小顆粒と透明原形質によつて新成され、前者は卵膜の基礎膜形成の顆粒と著しく類似する。

6. 膜形成に関与する顆粒のヤーヌス緑に対する好染性はその膨潤と液胞化の程度に従つて減ずる。

7. 卵膜及び原形質膜は繊維構造を示し、各繊維は更

に微細繊維からなる。かかる構造の形成には形成材料の複雑な重合の存在が考えられる。

8. 第1層を除く膜構造の緻密性は顆粒の遠心的拡散とそれに伴う顆粒の液胞化によるコロイド滲透圧が重要な役割を持つ。かかる顆粒の行動は、核と細胞質の間に生化学的協調の存立を暗示する。

9. 組織化学的反応で、膜はリポイド性と蛋白性のものとに区別し得る。膜形成にリポイド性顆粒が関与する事は、このリポイドは表面活性剤として膜形成に重要な役割を持つと考えられる。

10. 胚卵腔は成熟卵の原形質膜が完成する時、細胞質中にある中型顆粒の液胞の滲出によつて形成され、腔は液胞から導れた膠質で充される。

11. 透明膜は原形質膜形成に関与する顆粒の内容物によつて形成されると推定される。

12. 卵膜はアルカリと酵素処理によつて任意に除去することができる。

13. 卵膜、原形質膜の形成過程にみられた細胞質の行動は細胞、特に癌細胞の分裂面及び創傷治癒時の細胞表面等の形成機構の解明に一つの暗示を与えるかも知れない。

本研究に際し心からの御教示と種々の御援助を賜つた岐阜県立医科大学教授江口季雄博士並びに山口県立医科大学教授細川修治博士に深甚なる謝意を捧げます。

文 献

- 1) Chambers, R. (1921): Microdissection studies. III. Biol. Bull., 61, 318.
- 2) Chase, H. Y. (1935): The origin and nature of the fertilization membrane in various marine ova. Biol. Bull., 69, 159.
- 3) Chitwood, B. G. (1938): Further studies on nemic skeletoides and their significance in the chemical control of nemic pest. Proc. Helminth. Soc. Washing., 5(2).
- 4) Fauré-Fremiet, E. (1912): Sur la maturation et la fécondation chez l'*Ascaris meg.* Bull. de la soc. Zool., 37, 83-84.
- 5) Fauré-Fremiet, E. (1913): La formation de la membrane interne de l'oeuf d' *Ascaris megalcephala*. Compt. Rend. Soc. Biol., (Paris) 74, 1183-1184.
- 6) 井田正二(1930): 蛔虫の卵殻構成に就いて, 慶応医学, X, 6.
- 7) Moser, F. (1939): Studies on cortical layer response to stimulating agents in the *Arbacia* egg J. Exp. Zool., 80, 423.
- 8) Motomura, I. (1941): Materials of the fertilization membrane in the egg of Echinoderms. Sci. Rep. Tohoku Imp. Univ., (Biol.) Vol. XVI, 3, 345.
- 9) 相山正雄(1958): ウニ卵の受精(発生生理の研究), 培風館, 東京.
- 10) 只野柳・只野正志(1953): 線虫類の発生学的研究, 寄生虫学会西日本支部大会記事, 32-33.
- 11) 只野柳・只野正志(1954c): 蛔虫の初期卵割に於ける Cortical cytoplasm の形成態度について, 動雑, 63, 11 & 12, 406-407.
- 12) 只野柳・只野正志(1954d): 蛔虫の初期卵割に於ける vacuolation と diffusion 並びに卵割面の新生, 動雑, 63(11, 12), 406-407.
- 13) 只野柳・只野正志(1955a): 馬蛔虫卵の卵割面の新生について, 岐大学芸研究報告, 3, 267-269.
- 14) 只野正志・只野柳(1955b): 蛔虫卵卵膜(卵殻)の構成とその除去, 科学, 25(6), 309-310.
- 15) 只野柳・只野正志(1955c): Antiformin と酵素の2段階処理による蛔虫卵卵膜の除去について, 動雑, 64(1), 14.
- 16) Tadano, Y. & M. Tadano (1955e): Embryological studies on the Nematodes I. Sci. Rep. Fac. Lib. Arts & Education, Gifu Univ., 3, 237-244.
- 17) Tadano, Y. & M. Tadano (1955g): Embryological studies on the Nematodes II. Sci. Rep. Fac. Lib. Arst & Education, Gifu Univ., 3, 245-266.
- 18) 只野正志(1957): 線形動物(無脊椎動物発生学), 培風館, 東京.
- 19) Wottge, K. (1937): Die stofflichen Veränderungen in der Eizellen von *A. megalcephala* nach der Befruchtung. Protoplasma, 29, 31-59.
- 20) 山本時男(1951): 魚卵における表層の変化, 実験形態学, 7, 61-64.
- 21) Yamamoto, T. (1952): On the cortical change of the unfertilized egg of *Tylorrhynchus*, 実験生物学報, 2, 193-195.
- 22) Yanagisawa, T. & K. Ishii (1954): On the granules in cytoplasm in relation to the formation of ascaris egg-shell. Jap. J. med. Sci. & Biol., 7(2), 215-229.
- 23) Yanagisawa, T. (1955): On the structure and formation process of the egg-shell of ascaris ova. Ibid., 8(4-5), 379-390.
- 24) Zawadowsky, M. M. (1914): Über die lipoide semipermeable Membrane der Eier von *As. megalcephala*. Mittl. Univ. Schanjawsky. (井田, 1930より引用).
- 25) Zawadowsky, M. M. (1927): Äussere Entwicklungsbedingungen der Eier von *As. meg-*

alocephala. Rouw' Archiv., 109(1), 14-23.
26) Zawadowsky, M. M. (1928) : The nature of

the eggshell of various *Ascaridia*. Trans. lab.
Biol. zoopark Moscow, 4, 201-205.

NEW FORMATION AND ITS MECHANISM OF THE EGG MEMBRANE AND THE PLASM MEMBRANE OF ASCARIS EGG

YANAGI TADANO

(*Biological Laboratory, Faculty of Liberal Arts and Education,
Gifu University, Gifu, Japan*)

The present experiment was performed with the intention of the explaining the properties and the formative mechanism of the egg membrane and the plasm membrane in the egg of mainly *Parascaris equorum* (Goeze).

In the matured egg the egg membrane consisted of five layers : the outmost first, the second, the third, the fourth and the inmost fifth layer. Description was done on the their histochemical nature.

The first layer was useful for adhesion and protection of the egg from its drying, the fifth was physiological protector and the remainder was mostly mechanical protector. As to the resisting power to physico-chemical action, the membranes differed from each other and this might be owing to difference in the ratio of their constituents. After sperm entrance, the plasm membrane and the egg membrane other than the first were newly formed from the cytoplasmic constituent. For this reason, such an egg membrane corresponded to the fertilization membrane in the other animal eggs. The first was formed from secrete of uterus having no relation to the fertilization.

Each of the egg membrane other than the fifth consisted of the basal and the additional membrane. The fifth was a collectivity of the basal. The basal was either the plasm membrane of unfertilized egg or the newly formed membrane, which was made of mainly the hyaloplasm and the small granule stainable with janus green. And the basal of the first and the second layer corresponded to the former and that of the third and the fourth, to the latter. On the other hand, the additional membrane was mostly made of the small granule and the vacuole from the medium-sized granule, but they differed from each other in the amount of the formative material and the formative state.

Immediately after the sperm entrance the granules began to diffuse centrifugally or centripetally centering around a female nucleus. With the centrifugal diffusion, they grew into vacuole and also a certain amount of small-sized granules was adsorbed on the surface of this vacuole. Finally, this destroyed in the circumference of the egg and participated in the membrane formation. During the course of the formation such a phenomenon was repeated. In the circumstances, the vacuole was the formative material, a carrier of the other formative material and its presser. Besides, growing vacuole was stratified with difficulty by centrifuging. The plasm membrane of the matured egg was also formed from the granule stainable with Janus green and the hyaloplasm. Affinity of Janus green with the granule contributes to the mem-

brane formation decreased according to the increase in its swelling and vacuolation.

Both the egg membrane and plasm membrane consisted of minute fibres, each of which consisted of large number of more minute fibrils. The formation of these fibrils might depend on the polymerization of the formative materials.

In the membrane formation, it appeared that the possible force from the centrifugal diffusion of granule and vacuole and the colloid osmotic pressure from the vacuole played an important part to pressing and intensification of the membrane. The state of their diffusion was suggestive for the biochemical cooperation between nucleus and cytoplasm. In addition, the participation of lipid granule in the membrane formation might have the role as a surface active agent. It was possible to remove all of the egg membranes by antiformin or the double treatment with antiformin and pronase. Observation was also done on the formation of the perivitelline space and the hyaline membrane.