

# *Thelazia callipaeda* の微細構造

## 第2編 *Thelazia callipaeda* 体壁の微細構造についての研究

富田 精一郎

岡山大学医学部寄生虫学教室

(昭和49年9月17日 受領)

### 緒 論

寄生虫の基本的微細構造を明らかにし、機能との結びつきを形態的にとらえるべく企図し、先に *Thelazia callipaeda* の腸上皮細胞表面の微細構造について報告した(富田, 1972)。

一般に、寄生虫の体表構造は肉眼的にも光学顕微鏡的にも、種によりその構造を異にしていることは周知の事実である。しかしながらこれらの異なつた構造が、その寄生虫のもつ生理、あるいは機能との間にもつ結びつきについて詳細に論求した報告は殆んど見られないようである。

構造上の相違は、その寄生虫にとって寄生部位において生活して行くために必要欠くべからざる生理的な適応により馴化されて出来上つた体制であり、これを支える体壁下部構造もまた表面構造に順応しなければならないだろうと考えられる。従つて著者は寄生虫の体壁の微細構造を追求することにより、逆に体壁の生理機能および運動機能の解明の糸口を見出すことが出来ると考え本研究に着手し、いささか興味ある所見を得たのでここに報告し、諸賢の御批判を仰ぐ次第である。

### 材料並びに方法

寄生犬の瞬膜を反転し摘出した *Thelazia callipaeda* の虫体(長さ約1cm)を材料とし、直ちに4%の磷酸緩衝液(pH7.4)で調整した4.25%グルタルアルデヒドで1時間前固定した。その後虫体を約3~4mm長の3部に切断し、ペロナール緩衝液でpH7.4に調整した2%オスミウム酸液で、約30分氷室内で後固定した。試料は水洗することなく、50~100%の上昇エタノール系列各15分で脱水し、常規の方法でEponに包埋した。超薄切片はLKBウルトロトームⅢ型を用い、ガラスナイフを使用して作製した。切片は2%醋酸ウラニール

(Watson, 1958) および、クエン酸鉛(Reynolds, 1963)の二重電子染色を行ない、日立HU-11型電子顕微鏡により5,000~20,000倍にて撮影し、適当に引伸した写真により観察を行なつた。

なお超薄切片作製に先立ち、1 $\mu$ 厚切片のトルイジン・ブルー染色標本を作製し、光学顕微鏡用に供した。

### 成 績

#### I 角皮層の構造

##### a) 光学顕微鏡所見(図1, 2, 6, 7, 8)

虫体の最外側に存在する角皮は、虫体の頭端より尾端までの全周を包み、頭端のやや後部より尾端に至る間に虫体長軸にほぼ直行する輪状切痕を認める。この輪状切痕は虫体を圍繞しており、虫体後外側より前内側に向かつてかなり深く切れ込んでいる。従つて縦断切片で見ると棘状突起として認められる。またこれらの棘状突起は、その深い斜行する切痕のため鋸歯状の配列を呈している(図1)。

トルイジン・ブルー染色液で染色した切片で見ると、角皮は内外の2層に区別される。外層は前述の鋸歯状突起を構成している部分で、トルイジン・ブルーに濃染する比較的幅の薄い層として観察される。一方、内層は外層の直下に位置し、比較的淡染性で、幅は厚く約3~4 $\mu$ であり、均質無構造の帯状構造を呈している(図1)。これらの構造は横断切片(図2)においても観察される。

また棘状突起の角度は虫体尾部に向うに従い、虫体長軸に対する傾斜角度が鋭角になるのが観察された。虫体の伸縮に関して、伸展側では輪状切痕の間隙が広がり、屈曲側ではその間隙が狭くなる現象は当然のことながら観察された。

##### b) 電子顕微鏡所見(図3)

角皮層は、光顕的には染色性によつて大略内外の2層に区別され、特に外層は棘状突起によつて特長づけられ

たが、この層は電子顕微鏡で見ると(図3)、外層表面膜の電子密度が最も高く、その内部構造は均質で一見無構造であるように見えるが、詳細を見ると、棘状突起の根部はやや密度の低い薄層で区別される(矢印)。この薄層は隣接する突起まで延びている。従つて表面から3層を区別し得る。すなわち、第1層は外界と虫体の境をなし厚さ約 $0.03\mu$ の電子密度の高い二重膜で、外表面に見られる鋸歯状の棘状突起を被い、この棘状突起の根部では、角皮層内部に進入することなく反転して隣接の棘状突起へと連続して見られる。第2層は前述の低電子密度の薄層である。第3層は棘状突起の基質を構成している部分で、内層の表面と相接している。ここには明瞭な限界膜は見られないが、電子密度の差によりおよそその境界は区別し得る。隣接する棘状突起間の表面には浅い3~4個の陥凹が常に観察され、ヒダ状の構造として認められる。棘状突起の間、すなわち輪状切痕の陥入部には、雲状の物質が見られ、また浅い陥凹の中を充たしている場合もある(図3矢印)。この雲状物質は外界からの漿液性物質が単に虫体表面に付着し、ヒダの陥凹に残存したものである。

内層は電子顕微鏡で見ると、帯状構造を呈する5層とその直下に見られるスポンジ様の極めて明調な1層から成る。帯状構造を呈する厚さ約 $1.40\sim 1.79\mu$ の明帯層を更に詳細に観察すると、やや高電子密度の境界不分明の細い2条の縦走束(図3の5および7)により、幅のやや広い3層の明帯(図3の4、6および8)が区別される。従つて5つの縦走帯から成ることが明瞭となつた。これら3層の明帯はいずれも電子密度が低く、均質無構造な層として見え、形態的には同一の性質を有するものと考えられる。しかし、これら明帯層を区別する2条の暗帯層は途中で中断することもあり、不連続な暗帯層を呈している。明帯層の厚さはそれぞれ $0.20\sim 0.24\mu$ 、 $0.40\sim 0.45\mu$ 、 $0.20\sim 0.30\mu$ で中央の層が最も厚く、次いで内側の層となり、表面に近い明帯層は厚さが最も薄い。また一方2条の暗帯層はいずれも $0.03\sim 0.04\mu$ の薄層であるが、時には中央の明帯層を斜めに貫いて互に連絡を保っている部分も観察され、また角皮下層表面より延びて、明帯層の内部を横断する場合もある。更に樹枝状を呈している場合も見られる。これらのことから明帯層を横、縦または斜めに走る暗帯層は、硝子様を呈する明帯層と極めて密接な関係がある様に思われた。角皮の最内層すなわち、スポンジ様構造を呈する部分(図3の9)は最も電子密度が低く、厚さは約 $0.07\sim 0.20\mu$ の極

めて厚薄不均一な層である。内部は粗造であたかもスポンジ様構造を呈し、電子密度の高い部分と低い部分とが不規則に入りまじつて存在する。このうち電子密度の高い物質の内部には、線維性構造物は見られず、また輪郭は不鮮明であるが、この物質の両端はそれぞれ角皮層と角皮下層にそれぞれ連絡しているのが観察された。

以上の如く著者は、角皮層を微細構造から外層を3層、内層を6層に細区分した。

## II 角皮下層の構造

### a) 光学顕微鏡所見(図1, 2, 6, 7, 8)

角皮層と内側の筋層の間に存在する薄層で光学顕微鏡ではその内部構造は不明である。虫体横断像で観察すると(図2, 6および7)、角皮を除く虫体の体壁は正中線および側線で4部に分けられる。正中線では不明であるが、角皮下層と側線とは連続しているのが観察された(図7)。側線の胞体内には核が1~2個観察されることがある。核は卵円形を呈し、内部に明瞭な円形の核小体が1個存在する。またこの胞体内にはトルイジン・ブルーで濃染する顆粒が充満し、底部には比較的大きい空胞が見られる。

### b) 電子顕微鏡所見(図4, 5)

電顕的には角皮下層は厚さ約 $0.84\sim 0.96\mu$ を有し、外側は角皮層と、内側は筋細胞表面の基底膜と接しており、境にはそれぞれ厚さ約 $220\text{\AA}$ の限界膜を有している。この角皮下層の基質は一般に中等度の電子密度をもち、虫体の横断像で見ると側線と何の隔壁もなく連続していることは光顕所見で述べたと同様である。ここで云う角皮下層は、核の存在する側線、および正中線を除いた部分をさすものとしたい。

この細胞質内には従つて核は存在しないが、幾つかの特殊な細胞小器官が存在する。先づ、厚さ約 $0.07\sim 0.11\mu$ の基質よりやや電子密度の高い線維束(fibrillar bundle)が認められる。この線維束は、一端が筋細胞基底膜に接する限界膜に、他端は角皮層と境をなす限界膜にそれぞれ付着しているのが確かめられた(図5)。またその走行性には規則性は認められなかつた。次に存在する小器官としては、櫛が可成り良く発達した糸粒体(mitochondria)が認められた。糸粒体は長楕円形で、後述する筋層内の糸粒体に比べて小型である。その他基質内には遊離リボゾーム(free ribosomes)の散在や、小空胞(vesicles)も認められた。また特殊な構造物として、径約 $50m\mu$ の壁を有する電子密度が高い、ほぼ円形の小空胞が数個ないし十数個集合し、これを電子密度

の同様に高い一重の膜で包含した様な構造物を示す円型の構造物が所々に存在するのを認め、これを多小空胞体 (multivesicular body) と名づけた(図4)。

### III 筋層の構造

#### a) 光学顕微鏡所見 (図6, 7, 8)

筋層は角皮下層の内側に単層で配列し、体壁全周を被っている(図6)。全周を被う筋細胞の数は約80個からなり、筋細胞の構造は特殊構造を呈している。すなわち横断像(図6および7)で観察すると、筋細胞の形は一般に長楕円形で、筋形質部はその中心領域を占め、そして周囲に縞構造を呈する筋収縮性要素が観察される。縦断像では図8に示す様に比較的長い細胞と考えられ、単純に長軸方向に配列せず、筋細胞の起始部と付着部との位置関係は、虫体長軸に対して斜めの方向にあり、従って筋細胞の走行は斜走することが容易に想像される。隣接する細胞間はやや明るく、いわゆる筋形質膜 (sarcolemma) により境されている。筋形質部は一般に濃染する両端部と淡染する内部側が認められた。長い筋形質部の中央領域には楕円形または円形の核が1個存在する。核質には比較的大きい円形の核小体が見られる。

#### b) 電子顕微鏡所見

光学顕微鏡所見で述べた様に筋層の構造をA) 筋形質膜、B) 筋形質部、C) 核。の3部分に分けて記載することにする。

##### A) 筋形質膜 (図9, 11, 13, 15)

一般に筋鞘と呼ばれる部分は、電子顕微鏡的には筋細胞膜と基底膜の2種から成る。この筋細胞膜は厚さ約100~120Åの二重膜構造を呈し、筋細胞の全表面を被っている。この細胞膜は幅1.0~1.5 $\mu$ のほぼ等間隔に筋原線縦束を分離し、髓胞部近くまで陥入し、反転して他側の壁を形成している。すなわち、多数の線維束群に分けている。基底膜は筋形質膜の更に外側に存在する電子密度の低い無構造な層として表面を被っているが、細胞学で一般に云われている様な基底膜ではなく、隣接する細胞間隙を充たしているので、細胞間質としての構造を示している(図9)。

##### B) 筋形質部

###### i) 細顆粒野 (図10, 16)

この野の質には径約150Åの電子密度の異なる遊離リボソーム (free ribosomes) が充満する。それに混在して径約130~150Åの電子密度の高い顆粒の集合とみられる径約0.05~0.12 $\mu$ のグリコーゲン顆粒がかなり豊富に存在する。またこの野には、平均径約0.5~1.0 $\mu$ の

不定形の電子密度の高い小体 (dense body) が散見される。この高電子密度小体の内部は線維状要素に充たされるが、表面には膜様構造は認められない。この領域の中心に筋細胞の核が存在するのであるが、核周辺部と更に辺縁の部分とは、やや趣きを異にしている(図16)。すなわち、核膜に近接する領域には、かなり多数の電子密度の高い遊離リボソームが存在するが、それより遠位の領域は遊離リボソームの減少が著しい。このことは一般に中心領域より辺縁領域で明らかである。その他にdense bodyや小型の糸粒体が見られるが、その出現数は極めて少ない。また遊離リボソームが少ない部分に不規則に走る細かな線維状構造物(図16、矢印)が認められ、更に辺縁部には僅かの粗面小胞体 (rough surfaced endoplasmic reticulum) や小胞 (vesicle)、更に発達した悪いゴルジ装置 (Golgi complex) 等も見られる。

###### ii) 粗顆粒野 (図11, 12)

光学顕微鏡で粗顆粒層と呼称した領域は、電顕的には糸粒体に充たされた野である。この密集した領域の個々の糸粒体の形態を観察すると、桿棒状、不正円形、不正楕円形等種々の形を呈し、また大きさも大小不同である。発達した糸粒体櫛 (cristae mitochondriales) の多くのは、長軸に対してほぼ直角に向かつて延びている。糸粒体の質は一般に中等度の電子密度を示す。時には、単一膜からなる小空胞 (intramitochondrial vesicles)、および径約250Åの糸粒体内顆粒 (intramitochondrial granules) を含有する場合も認められた。

糸粒体によつてぎつしりと充たされたこの野と筋線維層との隣接領域および個々の糸粒体と糸粒体間の極めて狭い間隙は、遊離リボソームによつて充填されている。

###### iii) 筋収縮性要素 (図9, 11, 13, 14, 15)

筋原線維層は筋細胞を包んでいる筋形質膜の内部にあつて、長紡錘形を呈する筋細胞の全周にわたつて存在している。その厚さは横断像で約1.0~1.5 $\mu$ である。更に筋原線維層は内側にほぼ直角に近い角度で陥入する筋形質膜により、約30個の筋原線維束群に分けられている。収縮性要素には大小2種のミオフィラメント (myofilament) が認められる。太い方のミオフィラメント (thick filament) (以下太フィラメント) の径は約180~200Åで電子密度が高く、他方細いミオフィラメント (thin filament) (以下細フィラメント) は径約40~45Åで電子密度は低い。この2種のミオフィラメントはおおよそ筋細胞の長軸方向に走行し、径はほぼ一定であるが、長さ

は不定である。すなわち、長いものでは太フィラメントで $1.5\mu$ 以上のものが計測された。細フィラメントでは計測不能であった。両フィラメントは互いに平行に配列する。横断像で観察すると、1本の太フィラメントを中心に半径約 $250\sim 270\text{\AA}$ の円周上にほぼ等間隔に12本の細フィラメントが規則的に配列している。相隣る太フィラメントと太フィラメントの距離は約 $500\text{\AA}$ である。各線維間にはこれらを連繋する様な構造物は認めなかつた。またこの層の辺縁部すなわち、筋線維層に筋形質膜が陥入する領域は上の様な規則性は見られず、細フィラメントのみからなる。また、切片によつては筋線維束の中央部に、太フィラメントのみからなる構造も見られた。陥入した筋形質膜にそつて筋小胞 (sarcoplasmic reticulum) と比較的多数の遊離リボソームが認められた(図15)。筋小胞の多くは筋形質膜に接して存在するが、筋形質膜の陥入部分では、電子密度の高い構造物(dense substance)をはさんで筋形質膜に接して存在する。この dense substance は横断像で見ると微細な粒子状要素に見えるが、縦断像では線維状構造を呈している(図14, 15)。この dense substance の内部に図14で示す様に對をなす細フィラメントが進入する。

筋線維層の最内部は一般に壁隔なく粗顆粒野あるいは細顆粒野に移行する。太フィラメントの縦断像をみると極めて微細な周期構造が見られる。すなわち、明暗2つの周期で、明帯が $120\sim 130\text{\AA}$ 、暗帯は $50\sim 250\text{\AA}$ の明暗交互の横縞構造を示す。

### C) 核 (図16)

核は筋細胞の髓胞部すなわち、筋非収縮要素のほぼ中心部に位置し、辺縁の不規則なほぼ楕円形を呈する。厚さ約 $300\text{\AA}$ の二重膜をもつ核膜は、所々に核膜孔があり、核質には径約 $270\text{\AA}$ からそれ以下の種々の大きさの、そして電子密度も異なる種々のクロマチン顆粒が比較的粗に存在するので全体的に明かるく見える。核質のほぼ中心部には電子密度の高い円形の核小体(nucleolus)が通常1個存在する。核小体は高電子密度の微細顆粒(径約 $100\text{\AA}$ )の集合体である。

## 考 察

### 1. 角皮層について

寄生蠕虫類の外被構造については、最近数多くの報告をみるが、その殆んどは吸虫類および条虫類についてであり、線虫類については少なく、Bird and Deutsch (1957) が蛔虫において、竹下(1958)、坪田(1966a, b)

が蟯虫においてそれぞれ外被構造の微細構造を観察し報告している。

まず、吸虫類および条虫類の外被層は、数多くの研究者が報告する如く、体肉(parenchym)に存在する上皮細胞より細管(tubule)によつて連繋される合胞体構造を示し、その細胞体内に糸粒体、小胞、分泌顆粒等の細胞小器官を有するいわば機能的層である。一方線虫類における外被層は、殆んど細胞小器官を有しない均質な層として観察され、電子密度の差によつて数層が区別出来るものであり、この点において外被層についての概念は、線虫類と吸虫および条虫類において本質的に異なつていふと考えられる。従つて著者は蛔虫および蟯虫における構造と *Thelazia callipaeda* のそれとを比較検討した。

先づ *Thelazia callipaeda* の角皮を内外2層に大別し、更に細分して9亜層を区分した。この層の数については、Bird and Deutsch (1957) も坪田 (1966a) もそれぞれ6層としている。この層数で著しく異なる点は、本虫においては第1層、すなわち外界との境界に厚さ約 $0.03\mu$ の高電子密度の限界膜が存在し、虫体の全表面を被つていることであり、この膜の存在については Bird and Deutsch (1957)、坪田 (1966a) ともそのことに関して全く触れていず、虫種によつて異なるものなのか比較出来なかつた。

本虫の形態的特徴を作り上げている輪状切痕は、虫体長軸に対し、尾部方向より頭部に向かつて鋭角に侵入しており、従つて虫体長軸面での切片像では、棘状突起が鋸歯状に配列して認められる。突起の角度は虫体の屈曲により変化すること、また突起のヒダ内に漿液性物質と思われる物質が付着していること、また、輪状切痕の形態から、外層を形成している第1から第3層までの構成層は運動機能に関与しているものと考えられる。

内層には高電子密度の2条の縦走束(図3の5, 7)とこれらによつて区分される明帯層(図3の4, 6, 8)が見られる。2条の縦走束は形態的には全く同一構造を示し、両束間に同一構造物の連絡が認められる。3つの明帯層もそれぞれ均質無構造な硝子様を呈する層として観察され、同一構造を示す。坪田 (1966a) は蟯虫の第5層に微細な線維様構造を認めているが、本虫ではかかる構造は見出せなかつた。本虫のこれらの構造より、内層、殊に明帯層は伸縮性に乏しいものと考えられる。ところで角皮の最内層(図3の9)は、その厚さは広狭不均一でスポンジ様構造を呈し、その間に高電子密度の輪

郭不鮮明な物質が角皮と角皮下層を連絡しており、この物質には線維性の構造は認められない。以上内層の構造から、明帯層は体形の維持と内部の保護をその機能とし、第9層は角皮下層と共に、筋細胞の収縮・伸展運動を角皮へ及ぼす役割と、逆に衝激緩和の役割を果しているものと考えている。暗帯層は2条の縦走束の他に明帯層を横切つて連繋する枝束を有しており、何らかの役割を持つものと推定されるが、本研究ではその本体を追求出来なかつたので、運動伝達に関与するものか、単なる支持組織なのか判断出来なかつた。

## 2. 角皮下層について

本虫の角皮下層は、側線の細胞質が延びて筋層と角皮層の間の薄い層間を占めているもので、角皮層および筋層の基底膜と接する部分にはそれぞれ厚さ約220Åの二重膜よりなる限界膜が存在し境界をなしている。細胞々体内には種々の方向に走る径約10Åの細かな線維よりなる束状の構造物を認めた。この細線維束は、一端あるいは両端共限界膜に接して存在するものも認められた。また所々に多小空胞体と称すべき構造物を認めた。その他の小器管として櫛の発達の良好な、比較的小型の糸粒体が存在している。

他の線虫類では竹下(1958)と、更に詳細な報告がなされている坪田(1966b)があり、いづれも蟻虫で報告されている。これらと比較すると、角皮下層を包んでいる限界膜に関しては、坪田(1966b)はこれを認めておらず、直接角皮層に接していると述べている。竹下(1958)は全くこの点について触れていない。著者は前述の如きこの層の起源から、限界膜が存在するのが妥当と考える。次に細線維束について坪田(1966b)も同様の構造物を見出し、これを筋線維が束状になったものと見ている。本研究においても、その由来は明確にし難いが、筋層内の細フィラメントが本虫で径約40~50Å、蟻虫で150Å(坪田, 1966b)と計測されるのに比べ、角皮下層内細線維束の細線維の径は、はるかに微細であり、筋線維由来のものとは異なると考えて、細線維束(fibrillar bundles)とした。また多小空胞体に関してはその構造から、排泄機能を持つものと推定しているが、蟻虫において坪田(1966b)はgranules compoundを認め、これが排泄管に発達するものであろうと推定している。この両者は全く構造を異にするものであり、虫種による差異であるものか今後の研究に待ちたい。角皮下層に存在する糸粒体の櫛は、筋層内のものに比べその数は少ないが、豚廻虫(西岡, 1967)および、蟻虫(坪田,

1966b)の筋層内のものと比較してもはるかに櫛の数が多く、この層の代謝に関する機能的役割を推測させた。

## 3. 筋層について

一般に線虫類の体壁筋層をなす筋細胞は、扁平筋肉細胞性(platymyarian)もしくは中空筋肉細胞性(coelmyarian)とされ、環状筋肉細胞性(circomyarian)は体内組織または、臓器の周囲に見られる筋細胞(speciarized muscle)に見られるとされている(Bird, 1971)。

*Thelazia callipaeda*の体壁筋層はそれぞれ2個の側線および正中線で4分された角皮下層の内側に存在し、虫体横断像では約20個の筋細胞が4分円周上に沿つて単層をなして配列している。これらは多筋肉型(polymyarian type)配列に属すると思われる。しかしながら1個の筋細胞は、横断像では虫体外側より中心に向かう方向に長軸をもつ長槽円形を呈し、核や糸粒体が存在する筋形質を中心にして周辺を筋収縮性要素で占め、縦断像では、横断像で見られた構造をもつた虫体長軸方向に細長い紡錘型を呈し、やや斜走している。

筋細胞の外表面には筋形質膜が存在し、相隣る筋細胞との間は細胞間質を介して接している。筋形質膜は約1.0~1.5 $\mu$ の間隔で筋原線維層内に陥入し、筋胞部近くで反転しており、この陥入によりミオフィラメントが束状に分けられている。この陥入は横、縦両断像でも認められ、所々で陥入が途切れて見えるものもあるところから、筋細胞全周を陥入が一周しているものではないと考えられる。陥入部分の筋形質膜に接してdense substanceと筋小胞が存在する。このdense substanceはミオフィラメントを横断する切片で見ると微細な顆粒状に、縦断切片では線維状に観察された。これはRosenbluth(1965)が豚廻虫筋層内で見出しているdense bodyに相当し、また同虫で西岡(1967)がdense bandとしているものと似た構造を示している。しかしながらこれらと異なる点は、ミオフィラメント層内を走行する部分は本虫では認められず、また西岡(1967)が認めている中空状の構造も認めなかつた。また豚廻虫において報告されていないが、本虫では対をなす2本の細フィラメントがdense substanceに侵入するのが見られた。一方筋非収縮性要素内の特に核の付近に見出されるdense bodyとdense substanceとの関係は、それぞれの部位での構造は異なるので別個の構造として見えるが、両者の間に連繋があるかどうかについては追求出来なかつた。西岡(1967)もRosenbluth(1965)もdense bandおよびdense bodyの機能的意義に関し、支持組織と想定

しているが、蛔虫におけるこの構造物の機能は未だ論争の定まらぬ所であり、本虫においても明確な所見は得られなかった。

*Thelazia callipaeda* の筋細胞において特徴的なことは、核や、核の周囲に広がりをもつ細顆粒野、その辺縁部の粗顆粒野等の筋非収縮性要素を完全に筋収縮性要素が包んでおり、このような構造を示す筋細胞は、Chitwood and Chitwood (1950) により命名された環状筋細胞性筋細胞であると云うことである。蛔虫においてはこの種の筋細胞は体筋細胞に存在すると報告されている (Bird, 1971)。

筋層に見られる糸粒体は一般に角皮下層のものに比べ大型で櫛の数も非常に多い。蛔虫類の観察で、Hinz (1958), Kmetect *et al.* (1962), Reger (1964), Rosenbluth (1965), 西岡 (1967) らが糸粒体の櫛が非常に貧弱であると等しく述べている。一方坪田 (1966b) は蟯虫のそれが蛔虫に比べ powerful であると述べている。しかし *Thelazia callipaeda* の糸粒体の櫛は蟯虫にも増して発達している。細胞における終末電子伝達系は糸粒体の櫛に存在すると云われている (小田・関, 1958)。櫛の発達の違い、グリコーゲン顆粒の粗密の差等は、単に虫種の違いによるものではなく、それぞれの寄生部位との関連において追求さるべきものと考え、今後この方面の研究の成果を待ちたい。

本研究において最も注目したのは筋収縮性要素の構造である。本虫においても他の線虫類における多くの研究者の報告と同様に、大小2種のみオフィラメントが存在する。その径はそれぞれ約180~200Å と40~45Å と計測され、この値は他の線虫類のそれぞれの値とほぼ一致する (Bird, 1971)。太フィラメントの縦断像では明暗交互の横縞周期構造が見られた。ミオフィラメントは筋細胞の長軸方向にほぼ一致して走行している。横断切片で見ると太フィラメントが約500Å の間隔で比較的規則的に配列しており、その1個の太フィラメントを中心に半径約250Å の円周上にほぼ等間隔に12本の細フィラメントが配列している。従つて横断像では比較的規則正しい配列として認められる。非常に稀に筋線維束の中央部で太フィラメントだけの部分を認めることがあつた。一方筋形質膜の陥入部、すなわち筋線維束の周辺部では、太フィラメントが欠如し、細フィラメントのみの部分が存在する。これらの所見は脊椎動物の骨格筋におけるA、H、I帯の構造とよく似ている。一方縦断像で見ると両フィラメント共それぞれの幅は一様であり、通常2

本の太フィラメントの間に2本の細フィラメントが走行しているのが認められる。太フィラメントの長さは長短色々見られ、長いものでは1.5μ 迄計測可能なものが存在した。また多数の太フィラメントの起始部は一定していないため、規則性は見出せない。一方細フィラメントも可成り長く認められるが計測は不能であつた。かかる構造から本虫においては縦断像で脊椎動物の骨格筋に見られる様な紋構造は見られなかった。また縦断像では、ミオフィラメントは陥入部分の筋形質膜に対しある角度をもつて走行しており、この部分だけを見ると Rosenbluth (1965) のシエーマによく似ている。しかし元来陥入は筋形質膜より直角に陥入したのではなく、ある角度をもつたものであり、むしろ、ミオフィラメントの走行はほぼ外側の筋形質膜に平行している。

以上を総合して、Rosenbluth (1965) の立体図と比較すると、彼はミオフィラメントの横断像を元にしており、著者同様縦断像で紋構造を見出していない。従来脊椎動物の骨格筋の場合は、筋縦断像における紋構造をさしたものであり、このことは斜紋筋においても同様であると考え。また一方、全く考え方を変え、一つの筋線維束を円筒と考え、その長軸方向に筋線維が走行しているものと仮定し、そのほぼ中心部には細フィラメントが欠如し、周辺部には太フィラメントが欠如し、その他の部分には長さ不定の両フィラメントが混在するものとするれば、横断像では明らかにA、H、Iの各帯が見られ、縦断像では紋構造が見られないであろう。このような構造を持つ筋細胞の仮定が否定さるべき事実が見出せない限り、著者は有紋筋説を受け入れ難いと考えており、従つて本虫の筋収縮性要素の構造は脊椎動物の骨格筋に非常に似た構造をもつた無紋筋であると推論したい。

## 結 論

*Thelazia callipaeda* における体壁構造を電子顕微鏡で観察し、次のような結論を得た。

- 1) 角皮を微細構造の差により、内・外の2層に区分した。
- 2) 外層は輪状切痕を形成する部分で、切片では棘状突起が鋸歯状に配列して見える。更にこの層は3重層に細区分出来、最外層には限界膜を有する。
- 3) 内層は虫体長軸方向に走行する帯状層をなし、電子密度の差により6重層に細区分出来た。第4~8層は硝子様構造を呈し、第9層はスポンジ様構造を呈し角皮下層の原形質膜と接している。

4) 角皮層内には核および細胞小器管は認められず、合胞体をなしている。

5) 角皮下層は核が存在する側線や正中線の細胞質が延び角皮層と筋層との狭い間隙を埋めている層である。従つて角皮層および筋細胞とは、角皮下層の原形質膜を以つて接している。

6) 角皮下層の原形質内には糸粒体、遊離リボソーム、小空胞の他、特殊な構造物として線維束、多小空胞体が認められた。

7) 筋層の配列は体壁に沿つた単層の4筋細胞群に分かれて配列する多筋肉型を呈し、1個の筋細胞は中心部に非収縮性要素をもち、周辺部を収縮性要素が取囲み、突出した胞体部をもたない長紡錘形の環状筋細胞型である。

8) 非収縮性要素は胞体の中央部を占め、構造上細顆粒野と粗顆粒野とが識別される。

9) 細顆粒野は筋胞体部の中心領域を占める広い野で基質は主にグリコーゲン顆粒よりなる。またほぼ中央に核が存在する。

10) 粗顆粒野は筋胞体部の辺縁に位置し、糸粒体が密集して存在する。この糸粒体は大型で多形性を示し、櫛は豊富に存在し、糸粒体内顆粒や小胞等を認めるものも存在した。

11) 筋細胞の外表面には筋形質膜が存在し、相隣る筋細胞との間は細胞間質を介して接している。

12) 筋形質膜は一定の間隔で筋収縮性要素内に陥入し反転しており、これによつて筋収縮性要素を多数の筋線維束に分つている。

13) 筋形質膜と筋収縮性要素との間には多数の筋小胞と dense substance が存在する。

14) dense substance は線維状構造物として観察され細フィラメントの2本が対をなしてこれに侵入しているのが認められた。しかし豚蛔虫で認められた様なミオフィラメント層内の走行は認めなかつた。

15) 筋収縮性要素には大小2種のミオフィラメントが存在し、細フィラメントは径約40~45Å、太フィラメントは径180~200Åであり、両フィラメントの長さは不定であつた。太フィラメントには横縞周期構造が観察された。

16) 横断切片では太フィラメントは500Åの間隔で比較的規則正しく配列し、1本の太フィラメントを中心に半径約250Åの円周上にはほぼ等間隔に12本の細フィラメントが配列している。また筋線維束のほぼ中心部には

太フィラメントのみの部分、更に周辺部には細フィラメントのみの部分も存在した。

17) 筋収縮性要素と非収縮性要素との境には隔壁は存在しない。

18) 以上の構造から本虫の筋細胞は骨格筋様構造をもつ無紋筋であると推論する。

稿を終るにあたり御教示、御校閲を賜つた岡山大学医学部稲臣成一教授に、又種々御教示いただいた熊本大学医学部岡村一郎教授並びに宮崎医科大学大浦親善教授に感謝の意を表します。尚本研究の一部は科学研究費の補助による。

## 文 献

- 1) Bird, A. F. & Deutsch, K. (1957): The structure of the cuticle of *Ascaris lumbricoides* var. *suis* Parasit., 47, 319-328.
- 2) Bird, A. F. (1971): The structure of nematodes, Academic Press, New York and London, 45-197pp.
- 3) Hinz, E. (1959): Elektronenmikroskopische Untersuchungen an Muskelzellen von *Parascaris equorum* Goeze Zeitschrift f. Zellforschung, 49, 339-343.
- 4) Kmetect, E., Miller, J. H., & Swartzwelder, J. C. (1962): Isolation and structure of mitochondria form *Ascaris lumbricoides* muscle. Exp. Parasit., 12, 184-191.
- 5) 西岡忠祐(1967): 蛔虫筋細胞の形態学的研究. 熊本医会誌, 41(3), 209-236.
- 6) 小田琢三・関 周司(1958): 終末電子伝達系に関する細胞化学的並びに生化学的研究. ミトコンドリアに於けるコハク酸脱水素及びチトクローム酵素系の細胞化学的電子顕微鏡的検出とその応用. 日病理会誌, 47(3), 590.
- 7) Reger, J. F. (1964): The fine structure of the fibrillar network and sarcoplasmic reticulum in smooth muscle cell of *Ascaris lumbricoides* (var. *suum*) J. Ultra. Reseach, 10, 48-57.
- 8) Reynolds, E. S. (1963): The use of lead citrate at high pH as an electronopaque stain in electron microscopy J. Cell Biol., 17, 208-221.
- 9) Rosenbluth, J. (1965): Ultrastructural organization of obliquely striated muscle fibers in *Ascaris lumbricoides* J. Cell Biol., 25, 495-515.
- 10) 竹下貞子(1958): 蟻虫の組織化学的研究. 6. 蟻虫の電子顕微鏡的研究. 寄生虫誌, 7(1), 89-95.
- 11) 坪田種夫(1966 a): 蟻虫体壁の形態学的研究. 1. 角皮の微細構造. 寄生虫誌, 15(1), 58-63.

- 12) 坪田種夫(1966b) : 蟻虫体壁の形態学的研究. 2. 角皮下層の微細構造. 寄生虫誌, 15(1), 64-70.
- 13) 富田精一郎(1972) : *Thelazia callipaeda* の微細構造. 1. *Thelazia callipaeda* における腸上皮細胞表面の微細構造についての研究. 寄生虫誌, 21(6), 438-445.
- 14) Watson, M. L. (1958) : Staining of tissue sections for electron microscopy with heavy metals J. Biophys. Biochem. Cytol., 4, 475-485.



## Abstract

### ULTRASTRUCTURE OF *THELAZIA CALLIPAEDA* RAILLIET & HENRY 1910

#### 2. THE BODY WALL

SEIICHIRO TOMITA

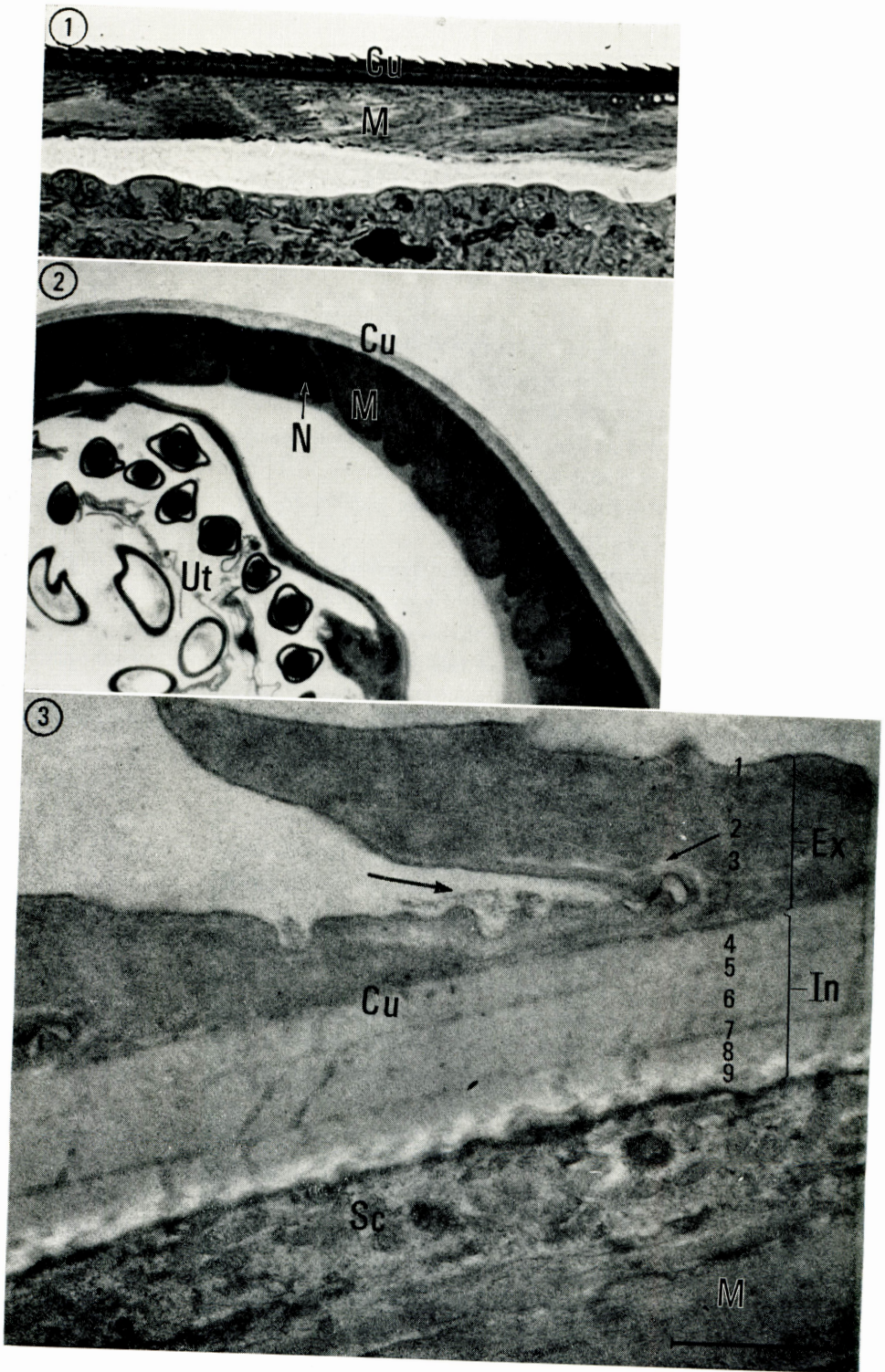
(*Department of Parasitology, Okayama University Medical School, Okayama, Japan.*)

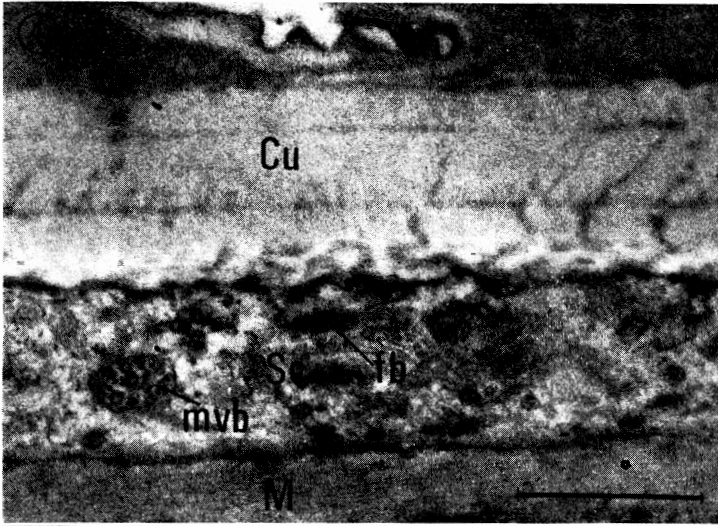
Ultrastructural observations on the body wall of *Thelazia callipaeda* have been performed.

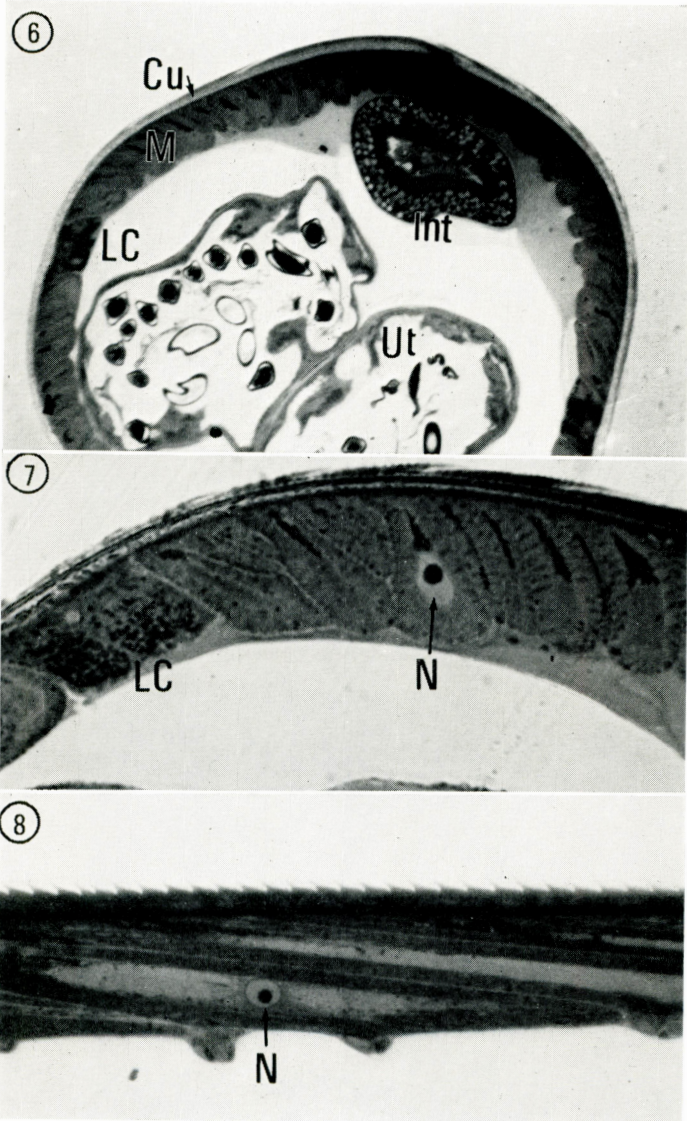
1. Outer surface of the worm was entirely covered by the cuticle of which two layers, i.e. external and internal, were identified. These layers differed in their electron density and fine structures. The external layer forming transverse striations appeared to be divided further into three sublayers. The internal layer showed bands of hyalinous structure which were composed of six sublayers further likewise running parallel to the long axis of the body. Therefore, the cuticle consisted of nine sublayers.

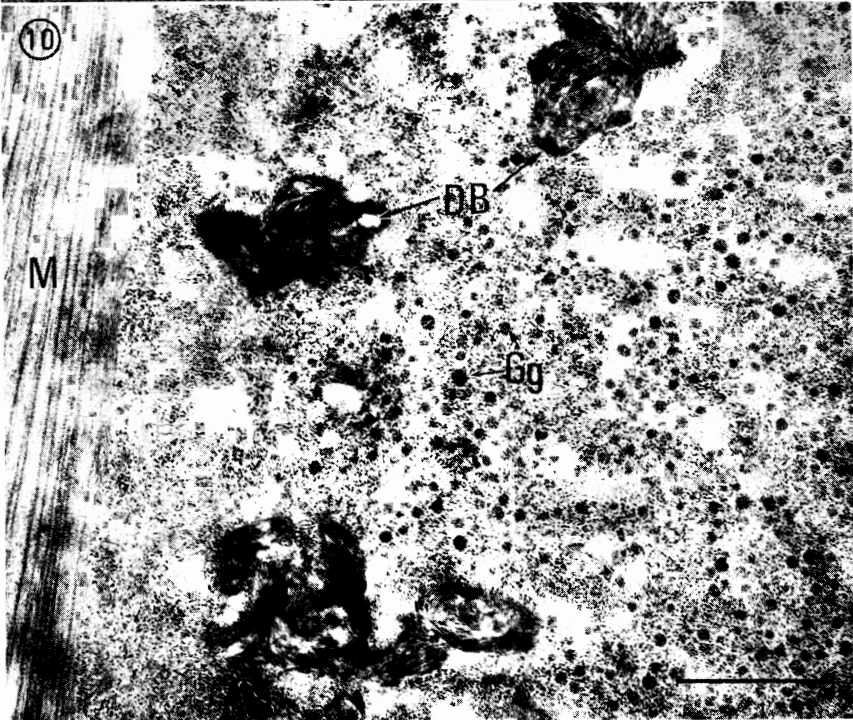
2. Between cuticle and muscle layer a thin subcuticular layer was identified. This layer was originated from the cytoplasmic processes of a cell which lies in lateral or median cords. It is reasonable, therefore, to assume that the subcuticular layer contained some cytoplasmic organelles such as mitochondria, vesicles and free ribosomes, though did not contain nucleus. Besides these ordinary cell organella, there were electron-dense fibrillar bundles which consisted of fibril approximately  $0.09 \mu$  in width. They run irregularly from unit membrane of muscle layer side to that of cuticular side. Multivesicular body was also observed in this layer.

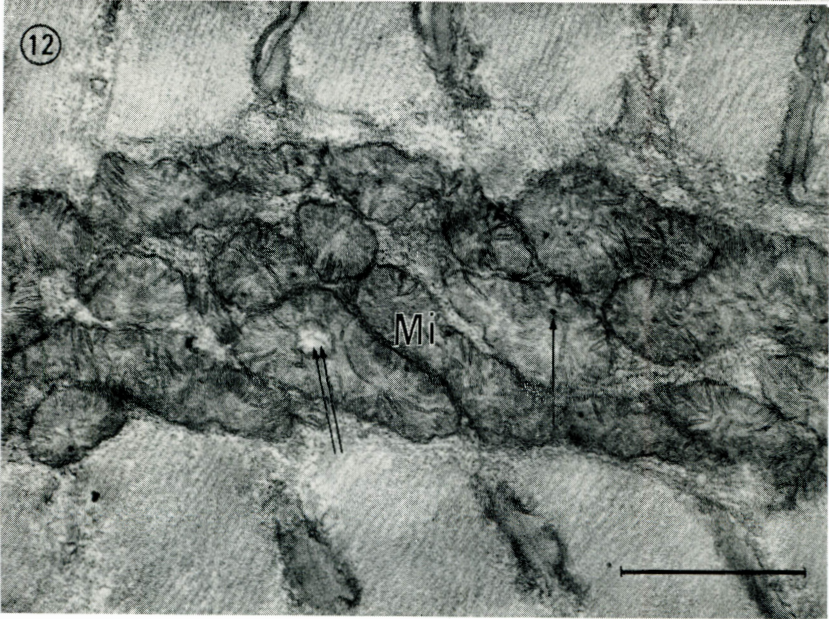
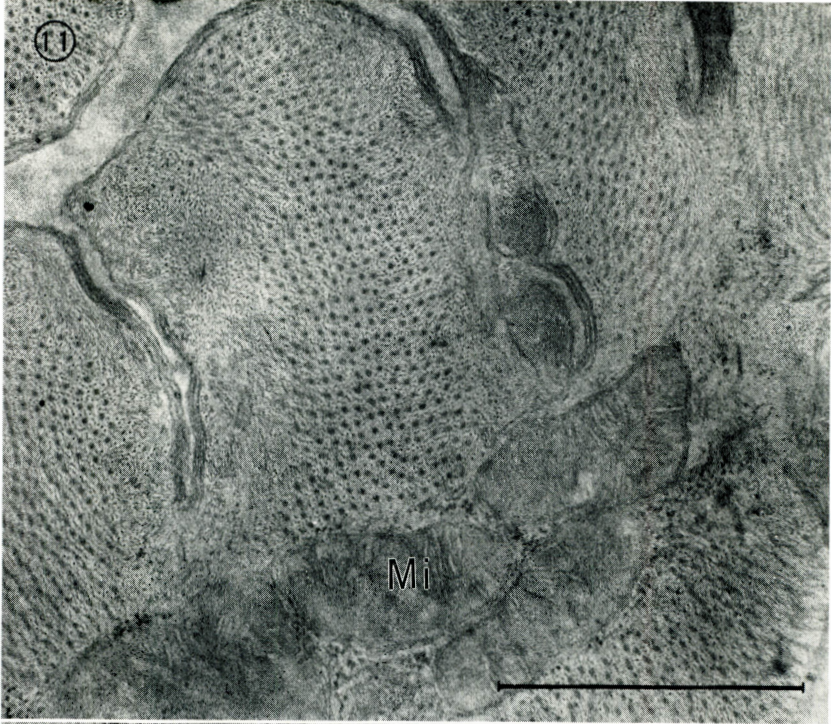
3. The muscle layer was composed of approximately 80 muscle cells which were arranged as monolayer lying beneath subcuticular layer by a cross section. The contractive portion of a muscle cell which contains myofilaments was located in periphery of the muscle cell showing an oval shape in cross section. A nucleus, however, was situated in the central portion of muscle cells. The central portion was non-contractile which consisted of two granular zones, i.e. fine and coarse. The fine granular zone with a nucleus, many free ribosomes and glycogen granules lay in the center of the non-contractile portion. On the other hand, the coarse granular zone packed with many mitochondria having well developed cristae was located at both sides of the fine granular zone. Approximately 30 myofilaments were enveloped in sarcoplasmic membrane invaginated from cell surface and formed myofibrillar bands. Along the invaginated sarcoplasmic membrane, the sarcoplasmic reticulum and fibrillar structure of high electron-density were observed (dense substance). Two types of myofilaments were discernible; thick and thin. The cross section revealed a regular arrangement of myofilaments; a thick filament was surrounded by 6 thin filaments, each thin filament was arranged closely side by side and the distance between the center of each thick filament was approximately  $500 \text{ \AA}$ . Longitudinal section revealed some irregularity of myofilaments in their length, but generally they were fairly long. Any striation was not observed in these myofilaments. Therefore, on the basis of these data, it seemed that the muscle cell of this worm consisted of non-striated muscles having some resemblance to the structure of skeletal muscle in vertebrate.

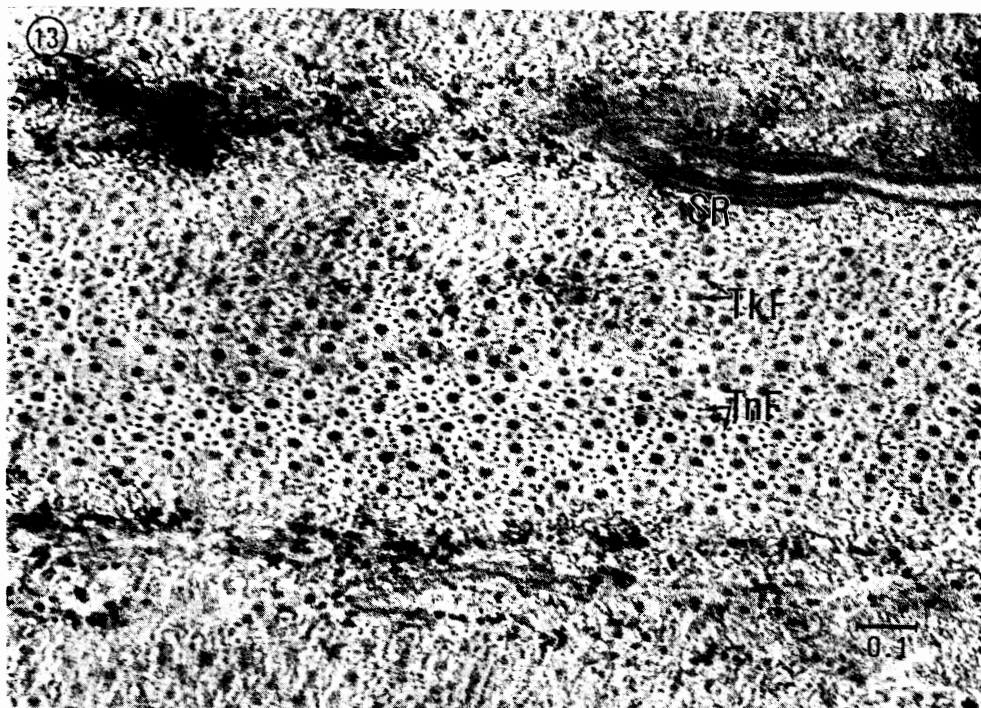


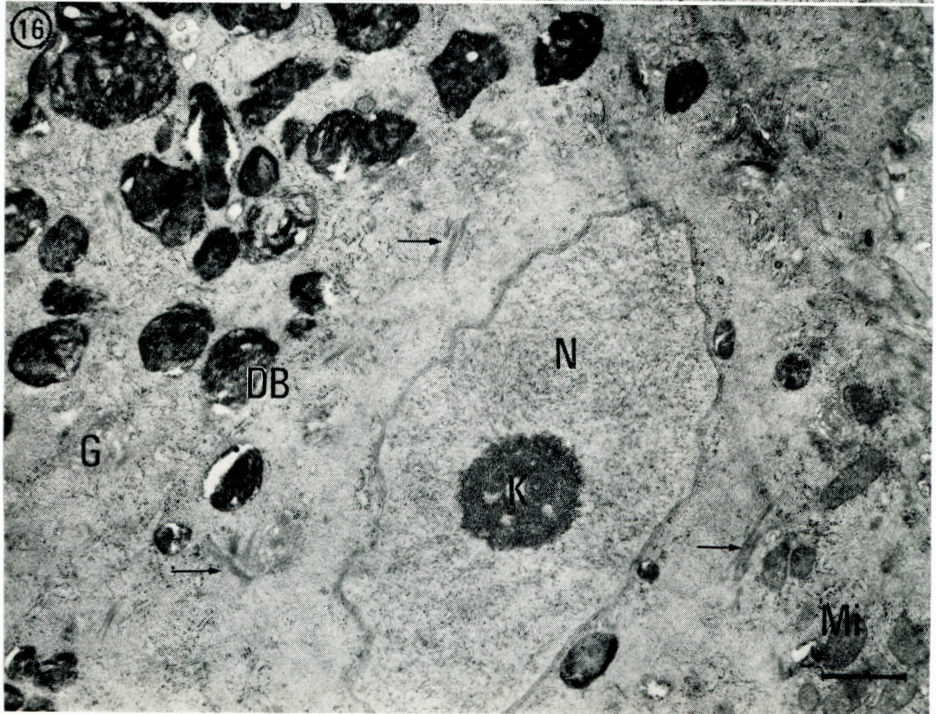
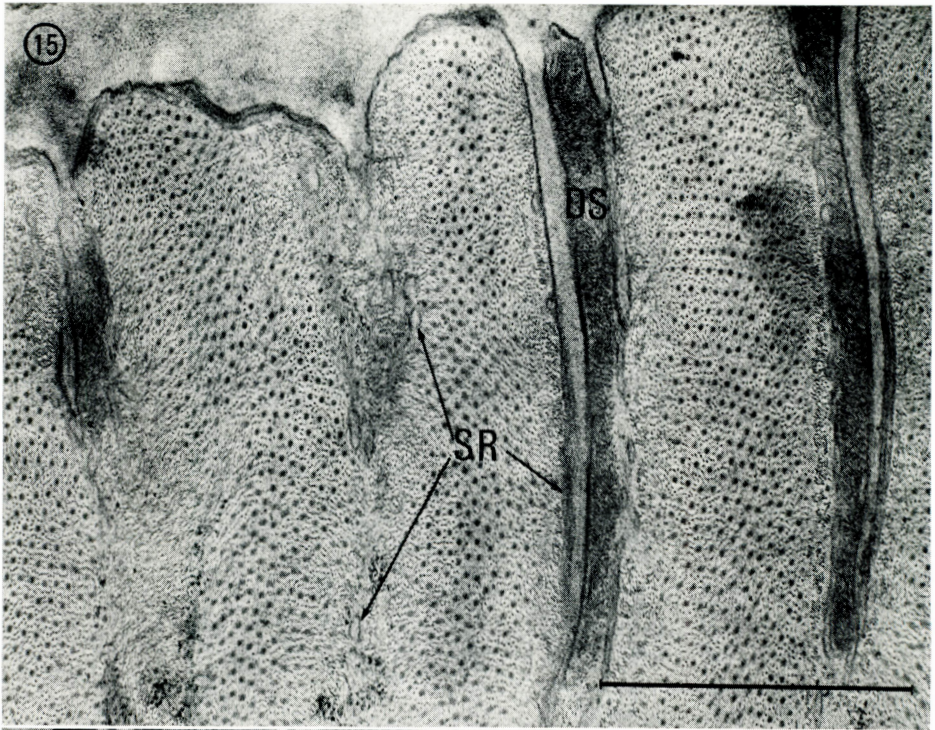














### Explanation of Figures

- Fig. 1 Longitudinal section of the body wall with light microscope. The surface of the cuticle is serrated.
- Fig. 2 Light micrograph of the body wall, showing the cuticle and muscle layers in cross section. A nucleus of lateral cord is shown at the upper side of the figure.
- Fig. 3 Longitudinal section of the body wall showing cuticle and subcuticular layer. Cuticle is divided into two layers (external and internal layers). These are divided further into nine sublayers in details (No. 1-9). Mucoïd substance is seen in the space between transverse striations.
- Fig. 4 This shows the fibrillar bundles and multivesicular body of subcuticular layer in longitudinal section.
- Fig. 5 Cross section of subcuticular layer. Double membranes on both inner and outer sides of this layer and other organelles, i.e. mitochondria and vesicles, are seen.
- Fig. 6 Cross section of a body with light microscope. Muscle cells are arranged beneath the cuticular layer and partitioned into four groups by both lateral and median cords.
- Fig. 7 Cross section of muscle layer with light microscope. Muscle cells belong to circomyarian type. A nucleus is located in non-contractive area.
- Fig. 8 Longitudinal section muscle layer with light microscope. A nucleolus is seen in the nucleus of a muscle cell.
- Fig. 9 Cross section of a muscle cell. Sarcoplasmic membrane envelopes the sarcomere and invaginates into the contractive area of a muscle cell. Intercellular space of muscle cells is filled with intercellular substances.
- Fig. 10 Longitudinal section of a fine granular layer having abundant glycogen granules and dense bodies. Longitudinal myofilaments are seen at the left side of the figure.
- Fig. 11 Cross section of a muscle cell showing cross myofilaments and coarse granular layer filled with many mitochondria.
- Fig. 12 Micrograph of a coarse granular layer. This layer is occupied by mitochondria which contain intramitochondrial granules (an arrow) and vesicles (double arrows).
- Fig. 13 Cross section of myofilaments. Thick and thin filaments are regularly arranged. Sarcoplasmic membrane and reticulum are located along the contractile area.
- Fig. 14 Longitudinal section of myofilaments with irregular length. Paired thin filaments penetrate into the dense substance at the left side of the figure.
- Fig. 15 Cross section of myofilaments. Dense substances consisting of dense fine granules are present at both sides of myofilament bundles. The sarcoplasmic reticula are seen along the sarcoplasmic membrane.
- Fig. 16 Micrograph of a fine granular layer, showing a nucleus with a nucleolus, mitochondria, dense bodies, Golgi complex and microfibrils (an arrow) in this layer.

BM	basal membrane	LC	lateral cord
Cu	cuticle	M	muscle layer
DB	dense body	Mi	mitochondria
DS	dense substance	mvb	multivesicular body
Ex	external cuticular layer	N	nucleus
fb	fibrillar bundle	Sc	subcuticular layer
G	Golgi complex	SM	sarcoplasmic membrane
Gg	glycogen granules	SR	sarcoplasmic reticulum
IcS	intracellular substance	TkF	thick filament
In	internal cuticular layer	Tnf	thin filament
Int	intestine	Ut	uterus
K	nucleolus	V	vesicle