

肺吸虫および膾吸虫における精子および 精子形成過程の電子顕微鏡的観察*

藤野 隆博 石井 洋一

九州大学医学部寄生虫学教室

毛利 孝之

九州大学農学部動物学教室

(昭和52年6月22日 受領)

扁形動物とくに吸虫類の精子の形態および精子形成に関しては、従来多くの研究がなされてきた。近年の主な研究としては、Nez and Short (1957), Burton (1960, 1967, 1968, 1972), Gresson and Perry (1961), Hendelberg (1962, 1969), Gresson (1965), Sato *et al.* (1967), Grant *et al.* (1976), 尾辻ら (1976) 等があげられるが、最近、*Schistosoma mansoni* の精子の形態が Kitajima *et al.* (1976) によつて明らかにされた。これらの研究は光学顕微鏡および透過型電子顕微鏡を用いて行なわれた。

著者らは、今回、走査型電子顕微鏡 (SEM) および透過型電子顕微鏡 (TEM) を用いて、大平肺吸虫 *Paragonimus ohirai* Miyazaki および膾吸虫 *Eurytrema pancreaticum* (Janson)**を材料として、それらの成熟精子およびその精子形成過程の微細構造を立体的にとらえようとした。

材料および方法

大平肺吸虫は、メタセルカリアをラット (SD) に経口投与し、3か月後に取り出したもので、膾吸虫は、福岡市食肉衛生検査所で牛の膾臓に寄生していたものを材料に供した。採取後直ちに虫体を実体顕微鏡下で解剖し、精巣および貯精嚢を取り出した。SEM の試料としては、精巣および貯精嚢を壊し、1% グルタルアルデヒド (Millonig の燐酸緩衝液, pH 7.4) で固定後、ガラス

板上にはりつけ、その後1%オスミック酸 (Millonig の燐酸緩衝液, pH 7.4) で後固定した。アルコール系列により脱水し、臨界点乾燥を実施した。乾燥試料はカーボンおよび金でコーティングし、日本電子 JSM-U3 型走査電顕により加速電圧15kV で観察した。TEM 用には、材料を3%グルタルアルデヒド (Millonig の燐酸緩衝液, pH 7.4) と1%オスミック酸 (Millonig の燐酸緩衝液, pH 7.4) の二重固定後、アセトン系列により脱水し、Epon 812 に封埋した。染色は酢酸ウラニールと酢酸鉛の二重染色を行ない、日立 HS-9 型透過電顕により加速電圧75kV で観察した。

なお、精巣の全体像はエポン封埋ブロックを1~1.5 μm 厚さの切片とし、トルイジンブルー染色により光顕で観察した。

観察結果

1. 成熟精子の形態

SEM による観察

兩種成熟精子の形態は互いに類似しており、核を含む頭部がやや膨んだ細長い糸状を呈する。肺吸虫の方が膾吸虫に比較して一層細長く、SEM による測定では、肺吸虫でおよそ180 μm 、膾吸虫で160 μm である。

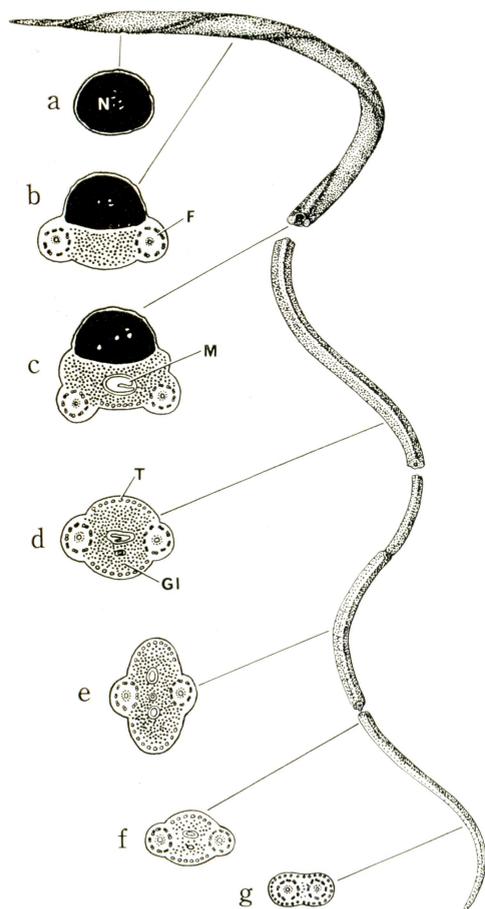
精子細胞表面には、多くの脊椎動物精子におけるような頭、頸、尾、各部を区別する著しい構造はみられない (Text-fig. 1a-g)。頭部は細長い紡錘形をしており、後方に行くにつれてゆるやかに細くなる。頭部先端は細く突出するが、ときにこの部位に小さな膨みが見られることがある。頭部は肺吸虫では精子全長の約 $\frac{1}{5}$ 、膾吸虫では約 $\frac{1}{4}$ を占める。もつとも太い部位は肺吸虫でおよそ0.6 μm 、膾吸虫では0.8 μm で、肺吸虫の方がほつそりした感を呈する。頭部の細胞膜はルーズで、細胞表面にはゆ

* 本研究の一部は昭和50年度文部省科学研究費総合研究 (A)、医動物、特に寄生蠕虫類の走査電子顕微鏡的研究 (代表者 石井洋一教授) の研究補助金を受けた。

***Eurytrema coelomaticum* (Giard et Billet) との分類学上の多少の問題は残るが、ここでは一応、*E. pancreaticum* とした。

るやかに巻くら旋状隆起が特徴的である (Figs. 1, 2).

精子は頭部後方で次第に細くなり、肺吸虫では精子全長のほぼ $\frac{2}{3}$ の箇所、膾吸虫では中央付近でもつとも細く、ついで急に太さを増し、一様な太さの後、再びゆるやかに細くなる。この部位を拡大してみると、ちょうど‘接木’をしたような構造をしていることがわかる (Fig. 4, 矢印)。そこから細胞表面に2本の浅い溝状のくぼみが精子の長軸に沿って平行に走るのがみられ、やがてこれらは1本となつて尾端に到る (Fig. 5, 矢印)。尾端近くでは精子は扁平になり、肺吸虫では $0.3\mu\text{m}$ 、膾吸虫では $0.5\sim 0.6\mu\text{m}$ の幅をもち、へら状である (Fig. 5)。



Text-fig. 1 Diagram of matured whole sperm of *Paragonimus ohirai* illustrating main features of ultrastructure of its different parts. F: axial filament complex; Gl: glyco-gen-granules; M: mitochondria; N: nucleus; T: peripheral tubules.

TEM による観察

兩種精子の内部構造は互いに類似している。

頭部先端は細胞質性の細い突起だけからなり、先体 (acrosome) をもたない。核が頭部の大部分を占め、核の内・外膜および細胞膜が核質をゆるくとり囲んでいる。核質は濃縮し、顆粒状を呈し、ところどころで空胞化している。矢状断像では、核がゆるやかに旋をえがいてうねっていることがわかる。細胞膜は核にゆるく接しており、核の走行に沿ってうねっているようにみえる (Fig. 3)。

核前端部やや後方には、精子変態過程で細胞体にゆ結合した2本の鞭毛 (flagella) の複合軸糸 (axial filament complex) がみられるが、これらの鞭毛は横断像では、最初、核の左右腹側に位置する (Text-fig. 1 b-c; Fig. 3)。精子の頭部後方では、鞭毛は細胞体の左右両側に位置する (Text-fig. 1 d-f; Fig. 4)。鞭毛は他の多くの吸虫類と同様9+1の軸糸をもつ。細胞基質内には多量のグリコーゲン顆粒の蓄積がみられ、それは2本の鞭毛のほぼ全長周辺にわたって存在するが、鞭毛後端近くではごく少量となる (Text-fig. 1 g; Fig. 5)。

頭部では、1, 2個の伸長したミトコンドリアが鞭毛の間に存在し、核の腹側を走る。これらのミトコンドリアは棒状で数本の短いクリステがみえる。クリステは肺吸虫に比較して膾吸虫の方がよく発達している。精子中央部の横断面では、ミトコンドリアは細胞のほぼ中央に位置し、多量のグリコーゲン顆粒にとり囲まれて存在する。さらに後方でそれは数を増し、通常2~4個となる (Text-fig. 1 c-f; Figs. 3, 4)。

左右の鞭毛と対称の背腹の位置に、細胞膜を裏うちする数本ずつの微小管 (microtubules) が、精子の長軸に沿って平行に走っている。これらの微小管は肺吸虫では最初、核寄りの部位でおおの7, 8本から次第にその数を増し、もつとも多くて15本になるが、やがて背腹の対が1つになって30本ほどの微小管が細胞膜を完全に裏うちするようになる。膾吸虫では片側およそ20本ほどの微小管がみられ、後方で合一し、50本前後となる。これらの対をなす微小管の数は必ずしも背腹で同一ではない (Text-fig. 1 c-g; Figs. 3-5)。

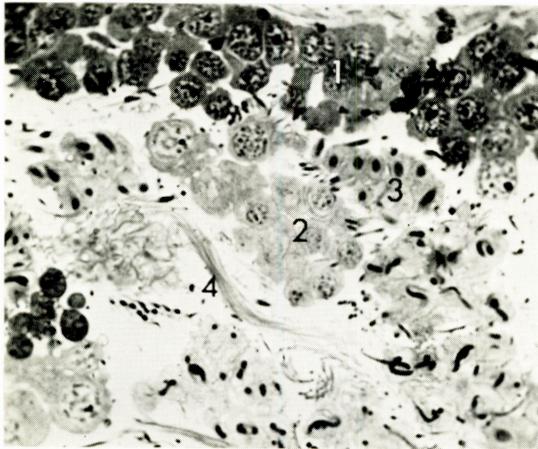
精子尾部では、ミトコンドリアおよびグリコーゲン顆粒が減少し、尾端近くでは細胞質はほとんど無く、2本の鞭毛軸糸のみとなる。横断像ではこの部位は上下に扁平な楕円形を呈する (Text-fig. 1 g; Fig. 5)。

2. 精子形成

精子形成過程においては、肺吸虫および膾吸虫兩種で

顕著な差はみられない。精原細胞 (spermatogonia) は精細管の周辺部に位置し、内方に精母細胞 (spermatocyte)、精子細胞 (spermatid) が認められる (Text-fig. 2)。精原細胞の核は大きく、細胞質の大部分を占める。核にはヘテロクロマチンが顆粒状の核質中に分布する。細胞質中には小型で丸く、短いクリステをもつミトコンドリアと小胞体、リボゾームが比較的多い。リボゾームは多くはポリゾームの形態をとる (Text-fig. 3a)。ゴルジ装置はみられない。1次精原細胞は2度の分裂により4細胞 (3次精原細胞) となる。各細胞は中心でたがいに連絡した、いわゆる「ロゼット」を形成する。この中心部 (cytophore) には発達した小胞体が観察されるが、ミトコンドリアはごく少ない。この時期になると、細胞内のミトコンドリアは数を増し、ロゼットの中心よりみて外側の細胞遠位端部に集まる。

さらに分裂し、8細胞の1次精母細胞となる (Text-fig. 3b; Figs. 6, 7)。この時期のロゼットの直径はおおよそ $10\mu\text{m}$ で、従つて各細胞は直径約 $5\mu\text{m}$ ほどであり、核の細胞質に占める割合が減る。核内には数個の小型の核小体が明瞭に認められ、数本の染色体芯 (synaptonemal complex) およびゴルジ装置が現われるのがこの時期の特徴である。核質は一層顆粒状になり、リボゾームおよび小胞体が著しく増加してくる。ミトコンドリアもその数を増し、形は細長く、基質の電子密度がやや上昇する

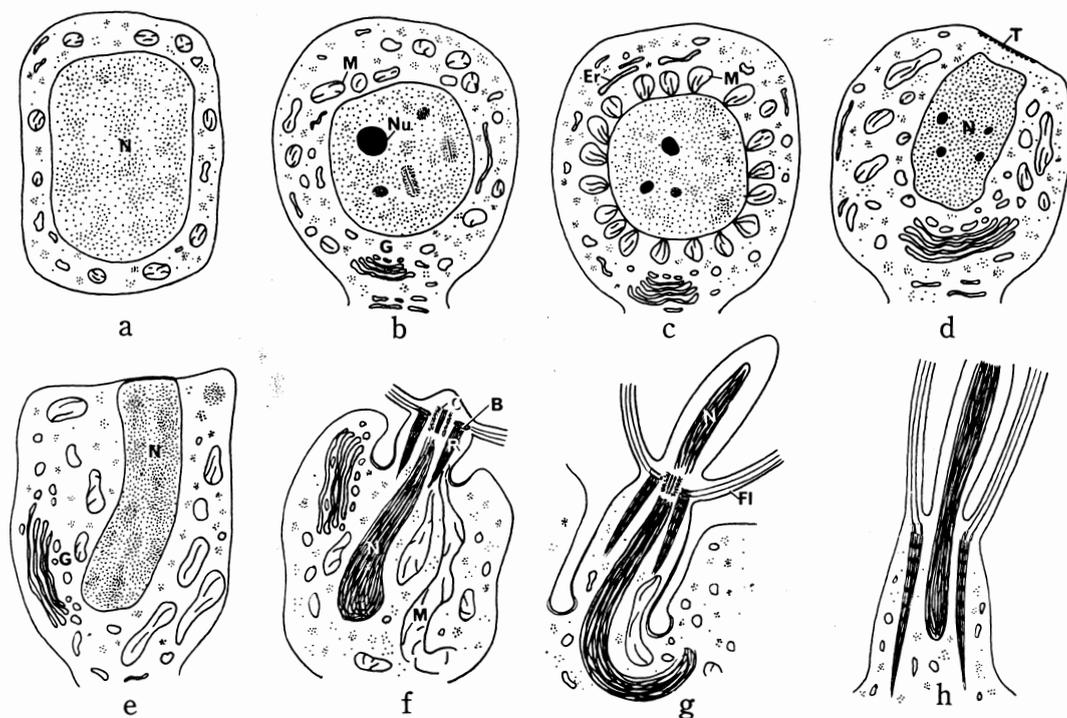


Text-fig. 2 Light micrograph of *Paragonimus ohirai* testis, showing distribution of cells in different stages of development. Note darkly stained spermatogonia (1) at periphery of testis, rosettes of spermatocyte (2), spermatid (3) and fibrillar spermatozoa (4). Toluidine blue. $\times 800$.

のが観察される。ミトコンドリアは最初細胞質中に一樣に分布するが、減数分裂により16細胞 (2次精母細胞) になると、細胞の遠位端近くに集合するようになる。

精子細胞 (32細胞) 期にはロゼットの直径は約 $10\mu\text{m}$ で、各細胞は球状となり、直径おおよそ $3\mu\text{m}$ である (Figs. 8, 9)。核は細胞の遠位端近くに移動する。一方、良く発達したゴルジ装置が近位に位置し、核にほとんど接してみられるようになる (Fig. 10)。ミトコンドリアは核の周囲に集合し、核膜にほとんど接するようになる (Text-fig. 3c; Fig. 11)。この時期のミトコンドリアは楕円形、または核に接する方がやや鋭つた卵形をしており、数本のクリステはミトコンドリアの長軸にほぼ平行に配列する。さらに顆粒状のクロマチンが次第に集合し、不規則な大小の塊を形成するようになる。やがて遠位の細胞膜を裏うちして微細小管からなる板状構造が形成され、核はこの構造へ向つて伸長する (Text-fig. 3d, e; Fig. 12)。SEM 像では、この部分が次第に突出 (細胞突起の原基) するのがみられる。ミトコンドリアは伸長し、たがいにゆ合してくる。ゴルジ装置は一層発達するが、やがて細胞の側方へ移動する。核質は糸状あるいは層状に濃縮してくる。核と細胞膜の接した部分に中心体様の構造が出現し、それから左右に基粒体 (basal body) とその先に鞭毛が形成される (Text-fig. 3f; Figs. 13, 14)。基粒体基部には小根 (rootlet) が伸びている。

細胞の突起 (cellular projection) は次第に伸長し、その中へ濃縮しつつある核がら旋状にうねつて入つて行く (Text-fig. 3g; Figs. 15, 16)。切片像では、細胞内にいくつかの核がみられることが多いが、これは、この時期の核がへびのようにうねつて細胞内に存在するため、同一平面上で複数の核の断面構造としてみとめられる (Fig. 16)。核の横断面は唐草模様をしている。この核のうねりは SEM 像でも明らかにみることができる。同時に左右の鞭毛も伸長し、数本にゆ合かつ伸長しつつあるミトコンドリアも核に沿つて細胞突起へと侵入する。SEM 像では、ロゼットを形成する精子細胞塊から数多くの細長い鞭毛が伸びているのが観察される。この時期には細胞の一部が細胞突起周辺に袋状に垂れ下り、これをとり囲むようになるが、この細胞質中にゴルジ装置が移動し、同時に小胞体の減少がみられる (Fig. 16)。細胞突起の基部には細胞膜が「C」字形に湾入しており、その内側には微細小管が、さらにその内側に小胞体が裏うちする構造が認められる (Text-fig. 3f, g; Figs. 16, 17, 矢印)。細胞突起の細胞膜内側は電子密度の高



Text-fig. 3 Diagram of main stages in spermatogenesis of *Paragonimus ohirai* and *Eurytrema pancreaticum*. a. spermatogonia, b. spermatocyte, c. early spermatid, d-h. spermatid. B: basal body; C: centriole-like body; Er: endoplasmic reticulum; Fl: flagellum; G: Golgi complex; M: mitochondria; N: nucleus; Nu: nucleole; R: rootlet; T: peripheral tubules.

い物質によって裏うちされている。細胞の突起と左右の鞭毛はさらに伸長し、核が突起の中を前方に移動するにつれ、間もなくこれらはたがいにゆ合するようになる。この時期になると、中心部の各精子細胞を互いに結びつけていた細胞内間橋はおおの分離して、未熟な精子は精細管内腔に放出される。

核の移動および細胞突起と鞭毛のゆ合は急速に起る。2本の鞭毛がゆ合する箇所の細胞突起には、左右に精子長軸に沿って走るくぼみが形成され、ちょうどそこに鞭毛が入って行くようになる。横断面像をみると、このくぼんだ部分の細胞内側には微小管の裏うちはなく、その細胞膜内側は電子密度が高くなっている。SEMで観察すると、頭部では、2本の鞭毛が細胞突起にら旋状にゆ合していく種々の段階の精子がみられる。左右2本の鞭毛のゆ合は必ずしも同時に起るのではなく、多少ずれているのが観察される。ゆ合直後の鞭毛が精子細胞表面に残っており、それが明らかに認められる (Fig. 19)。鞭毛をわずかに残すほど完成に近いと思われる精巢内未成熟精

子も多数観察される。成熟精子には基粒体、中心体様構造、小根とともにすでに消失している。細胞質残留体 (residual body) 中にはリポゾームおよび退化しつつあるミトコンドリアが特徴的である。また小胞体、空胞、ミエリン状構造物もときどきみられる。

考 察

成熟精子について

兩種精子の形態および精子形成過程は類似するが、大平肺吸虫の精子は膀胱虫に比較して一層細長く、頭部もほつそりしている。成熟精子は中央より後方では、精子表面に2本の長軸に平行に走る浅い溝またはくぼみがみられるが、さらに後方では1本となる (Fig. 5, 矢印)。これらの溝は、左右の鞭毛と中心の細胞突起とが精子形成過程でゆ合した結果、それぞれの境界のくびれを示すものと思われる。このことは透過電顕による切片像と比較してみると合致する。

精子頭部先端は細く突出しており、それより後方に位

置する核の部分とは区別される。Burton (1960) は *Haematoloechus medioplexus* の精子を光顕下で観察し、先体、頭部、尾部に大きく区別し、尾部をさらに中片 (middle piece) と末端片 (terminal piece) に分けた。彼は、精巣中で新しく形成された精子の先端部は細い線維状で、のちに短かく太くなつて、頭部の先端にわずかに $4 \mu\text{m}$ ほどの突起として残ることを記載している。われわれの SEM による観察では、その長さおよび太さに精子間でかなりの差が認められた。このことは、おそらく彼が述べたように、精子の成熟度の差によるものと思われる。しかし、この突起は彼のその後の研究 (1967, 1972) により、実際は先体ではなく、単なる細胞質の突起であることが確かめられた。このことは、受精が卵と精子の細胞膜の直接の接触、ゆ合によつて起るという Burton (1967) の観察により裏付けられた。

SEM 像によれば、鞭毛がゆ合して間もないと思われる精子頭部では、ゆ合の痕跡が表面から観察されるが、成熟精子では認められなくなる。なお、この時期のこの部分の切片像でも鞭毛構造は認められず、従つて鞭毛のゆ合後、精子の成熟につれ、細胞先端部が伸長したものと推測される。

SEM による観察では、成熟精子頭部において、細胞表面にゆるやかに巻く旋状隆起がみられるが、両種とも左巻きである (Figs. 1, 2)。幼若な精子においては、2本の鞭毛が細胞突起とゆ合を起す時、ら旋状によじれてゆ合するようにみえる (Fig. 19, 矢印)。また切片では、核が同様にら旋状に巻いているのが確かめられたが (Fig. 3)、細胞表面のねじれはこの核のねじれとも関係があるのかもしれない。しかし、ねじれの生ずる原因については未だ不明である。数多くの幼若な精子を調べてみると、左右の鞭毛は長さ厳密には等しくなく、ゆ合し終つた時点で、表面から長・短の鞭毛の痕跡が認められる。

Hendelberg (1962) は、精子が急に太さを変える箇所 (彼はこの点を 'P' とした) が *Fasciola hepatica* と *Dicrocoelium dendriticum* において異なつてゐることを指摘した。彼はこの箇所について、精子形成過程で鞭毛が出る場所にみられ、オスミウム-ホルゲン反応で黒く染る 'dark structure' との関係を示唆した。われわれの観察では、この箇所は光顕でも認められ、SEM 像ではあたかも '接木' をしたような構造をしていることがわかつた (Fig. 4, 矢印)。しかし、この部位の切片像は得られていないため、詳しい内部構造は不明である。大平肺吸虫では、この箇所は精子の中央よりやや後

方であるが、肺吸虫では、後方約 $1/4$ の点であり、差がみられる。この構造は、成熟精子に比較して未成熟精子においてより顕著に観察される。

グリコーゲン顆粒が、先端を除く頭部から尾端近くまで精子細胞質の大部分を満しているのが観察されるが (Fig. 18)、尾端近くでは量は少くなる。数本の棒状をしたミトコンドリアがこれらの顆粒中にちようどうずめ込まれたような状態で存在する (Figs. 4 挿入図, 18)。グリコーゲンの各顆粒はいわゆる β 粒子で、直径は $30 \sim 35 \text{nm}$ である。左右の鞭毛とミトコンドリアおよびそれを包み込むグリコーゲン顆粒の3者は、それらの位置および走行により、たがいに機能的に密接な関係を有することが推測される。多量のグリコーゲンは、精子の運動および細胞の生存のためのエネルギー源として使用されるものと考えられる。一方、Bonsdorff and Telkkä (1965) は条虫の *Diphyllobothrium latum* の精子で、星状の塊を形成するグリコーゲン顆粒を報告している。この塊は α 粒子と思われ、ロゼットを形成するタイプである。このように、蠕虫類の中でもグリコーゲン顆粒の形状に差がみられる。

両種精子の細胞膜下の微小管 (Figs. 3-5, 18 挿入図) は扁形動物に一般にみられるものである。微小管は精子の各部分でその数が変化する。すでに述べたように、大平肺吸虫ではもつとも多くて約30本、肺吸虫では50本ほどになり、種間で多少の差がみられるようである。Lumsden (1965) は条虫精子の微小管について調べたが、機能的には精子の運動性および細胞構造の維持という点をあげている。彼は、これらの微小管に類似する構造は、原生動物から脊椎動物に到るまでみだされることを記している。

精子形成について

精子形成過程で、ゴルジ装置は精母細胞期に次第に発達し、精子細胞になると細胞の近位の位置を占め、核にほとんど接して観察される (Fig. 10)。細胞内にはゴルジ由来の大、小の空胞が数多くみられる。ゴルジ装置は次第に発達し、複雑な網状構造をもつ。細胞突起が出はじめると、ゴルジ装置は細胞突起側方の細胞質中へ移動し、次第に退化するものと考えられる (Fig. 16)。一般に、精細胞のゴルジ装置は先体を産生するとされているが、吸虫類の場合、ゴルジ装置は比較的良く発達し、それに由来する空胞、小胞体なども多く産生されるにもかかわらず、先体は形成されない。従つてその機能については不明であるが、Halton and Hardcastle (1976) も述べているように、吸虫類の精子形成時に出現するゴル

ジ装置は、長く伸び出す細胞突起の細胞膜の形成に関与しているのではないかと考えられる。

Hendelberg(1962)は *Dicrocoelium dendriticum* および *Fasciola hepatica* を用いて精子形成過程を調べ、核の移動が起ることをホイルゲン反応を用いて追跡した。彼によると、核の細胞突起内の移動は急速に起り、細胞突起および2本の鞭毛とのゆ合もまた急速であることを記している。Burton(1972)はさらに *Haematoloechus medioplexus* では、核の移動があたかも鞭毛と突起のゆ合を引起すかのようなものであるとして、たがいの関連性を指摘した。核の移動は、著者らの知る限りでは、扁形動物に特異で、他の動物ではみられない現象である。

細胞突起形成初期に細胞膜を裏うちする微小管が形成されると、それに向つて核が伸長するが、このメカニズムはいかなるものか、この微小管の裏うちは精子細胞のロゼットの中心に対して遠位の細胞膜に形成されるが、その極性はどのようにしてつくられるのか、等多くの興味深い問題が残される。

一方、ミトコンドリアは、精母細胞の初期では、細胞質中に一様に分布するが、やがて細胞遠位端近くに集合し、その後、精子細胞の初期には、核に接して周辺をとりまくようになる (Fig. 11)。Gresson and Perry (1961) および Grant *et al.* (1976) も *Fasciola hepatica* と *Pharyngostomoides procyonis* でそれぞれ同様な形像を得ている。この時期のミトコンドリアは楕円形をしたものが多く、楕円の長軸を核の中心に向けて配列する。やがてこれらのミトコンドリアは核から離れて、たがいにゆ合し始める。このように、この時期の核とミトコンドリアの行動とは深い関係があるように考えられるが、くわしくは不明である。

大平肺吸虫では、貯精囊中の精子のうち鞭毛のゆ合が完成していないものが認められるが、このことは精子が精巢を出る時点では未だ完全には成熟しておらず、輸精管内を移動する間、さらには貯精囊中でも精子成熟が進行することを示している。一方、肺吸虫では、貯精囊内の精子は、観察した限りでは、すべて成熟している。

各種精子における比較

吸虫類の精子形成過程に関しては従来多くの研究がなされてきたが、その中でも Burton (1960, 1972) は *Haematoloechus medioplexus* を材料に光顕・電顕を用いて詳しく研究した。われわれの観察した *Paragonimus ohirai* および *Eurytrema pancreaticum* では、精子形成において両種の差はほとんどみられず、*H. medioplexus* における精子形成過程に、さらには単生目 (Monogenea)

の *Diclidophora merlangi* の精子形成過程にも類似している (Halton and Hardcastle, 1976)。Sato *et al.* (1967) は *Paragonimus miyazakii* の精子形成過程を調べたが、われわれの研究と良く一致する。精子形成過程で2本の鞭毛を形成し、成熟精子では、細胞突起とのゆ合により1本の糸状になるのが吸虫類での普通にみられるタイプである。

Kitajima *et al.* (1976) は最近、*Schistosoma mansoni* で成熟精子の形態を電顕を用いて研究したが、肺吸虫、肺吸虫を含む他の吸虫類とは精子全体の形、核およびミトコンドリアの形態、鞭毛の形状等で著しく異なつた構造をしており、特異な存在である。従つて、精子形成過程においても、おそらく他の吸虫類とはかなり違つた形像を示すことが想像される。このことは Lindner (1914) の光顕による同一属の *S. haematobium* と *S. bovis* 精子の観察にも類似しているように思われる。二生目 (Digenea) の中でもこのように異なつた精子をもつ虫の存在は興味深いだが、同じ Schistosomatidae の中でも *Schistosomatium douthitti* の精子はリボン状で、尾端に全長 $\frac{1}{3} \sim \frac{1}{2}$ ほどの2本の鞭毛をもつとされる (Nez and Short, 1957)。この種のように、成熟後の精子においても依然としてゆ合しない鞭毛をもつタイプは吸虫綱 (Trematoda) ではまれであるが、渦虫綱 (Turbellaria) では数多く知られている (Hendelberg, 1969, 1970)。

Franzén (1970) は、下等後生動物から高等後生動物に到る精子の形態を比較検討し、系統樹を製作した。彼によれば、精子形成過程で2本の鞭毛を形成するタイプの精子は扁形動物に特有のものである。Turbellaria タイプの精子は、従来非常に原始的なグループであると説明されてきたが、彼の意見では、非常に変化した増殖様式に基づき、著しく分化したものであろうと述べている。なお、条虫類では、円葉目の *Hymenolepis nana* や *H. diminuta* のように1本の鞭毛しか形成しないタイプ (Rosario, 1964) と、2本の鞭毛をもつ擬葉目の *Diphyllobothrium latum* のようなタイプ (Bonsdorff and Telkkä, 1965) とが知られている。Hendelberg (1969) は、前者は後者の‘退化’によつて生じたものであろうと説明している。

稿を終るにあたり、本研究で使用した材料を御恵与下さつた防衛医科大学校浜島房則教授および福岡市博多保健所の若月正年氏に深謝致します。さらに本研究に多大の関心を寄せられ、貴重な助言をいただいた九州大学農学部内田照章教授に厚く御礼申し上げます。

文 献

- 1) Bonsdorff, C.-H. von and Telkkä, A. (1965) : The spermatozoon flagella in *Diphyllobothrium latum* (fish tapeworm). Z. Zellforsch., 66, 643-648.
- 2) Burton, P. R. (1960) : Gametogenesis and fertilization in the frog lung fluke, *Haematoloechus medioplexus* Stafford (Trematoda: Plagiorchiidae). J. Morph., 107, 93-122.
- 3) Burton, P. R. (1967) : Fine structure of the reproductive system of a frog lung fluke. II. Penetration of the ovum by a spermatozoon. J. Parasit., 53, 994-999.
- 4) Burotn, P. R. (1968) : Effects of various treatments on microtubules and axial units of lung-fluke spermatozoa. Z. Zellforsch., 87, 226-248.
- 5) Burton, P. R. (1972) : Fine structure of the reproductive system of a frog lung fluke. III. The spermatozoon and its differentiation. J. Parasit., 58, 68-83.
- 6) Franzén, Å. (1970) : Phylogenetic aspects of the morphology of spermatozoa and spermiogenesis. In Comparative Spermatology, Proc. Internat. Symp. Rome and Siena, 1969, Academic Press, 29-46.
- 7) Grant, W. C., Harkema, R. and Muse, K. E. (1976) : Ultrastructure of *Pharyngostomoides procyonis* Harkema 1942 (Diplostomatidae). 1. Observations on the male reproductive system. J. Parasit., 62, 39-49.
- 8) Gresson, R. A. R. (1965) : Spermatogenesis in the hermaphroditic Digenea (Trematoda). Parasitol., 55, 117-125.
- 9) Gresson, R. A. R. and Perry, M. M. (1961) : Electron microscope studies of spermateleosis in *Fasciola hepatica* L. Exp. Cell Res., 22, 1-8.
- 10) Halton, D. W. and Hardcastle, A. (1976) : Spermatogenesis in a monogenean, *Diclidophora merlangi*. Internat. J. Parasit., 6, 43-53.
- 11) Hendelberg, J. (1962) : Paired flagella and nucleus migration in the spermiogenesis of *Dicrocoelium* and *Fasciola* (Digenea, Trematoda). Zool. Bidr. Uppsala, 35, 569-587.
- 12) Hendelberg, J. (1969) : On the development of different types of spermatozoa from spermatids with two flagella in the Turbellaria with remarks on the ultrastructure of the flagella. Zool. Bidr. Uppsala, 38, 1-50.
- 13) Hendelberg, J. (1970) : On the number and ultrastructure of the flagella of flatworm spermatozoa. In Comparative Spermatology, Proc. Internat. Symp. Rome and Siena, 1969, Academic Press, 367-374.
- 14) Kitajima, E. W., Paraense, W. L. and Correa, L. R. (1976) : The fine structure of *Schistosoma mansoni* sperm (Trematoda: Digenea). J. Parasit., 62, 215-221.
- 15) Lindner, E. (1914) : Über Spermatogenese von *Schistosomum haematobium* Bilh. (*Bilharzia haematobia* Cobb.) mit besonderer Berücksichtigung der Geschlechtschromosomen. Arch. Zellforsch., 12, 516-538.
- 16) Lumsden, R.D. (1965) : Microtubules in the peripheral cytoplasm of cestode spermatozoa. J. Parasit., 51, 929-931.
- 17) Nez, M. M. and Short, R. B. (1957) : Gametogenesis in *Schistosomatium douthitti* (Cort) (Schistosomatidae: Trematoda). J. Parasit., 43, 167-182.
- 18) 尾辻義人・前田 忠・原田隆二・中島 哲・楊炳家・入江康文 (1976) : 蠕虫類生殖細胞の超微細構造, 鹿大医誌, 28, 933-974.
- 19) Rosario, B. (1964) : An electron microscope study of spermatogenesis in cestodes. J. Ultrastruct. Res., 11, 412-427.
- 20) Sato, M., Oh, M. and Sakoda, K. (1967) : Electron microscopic study of spermatogenesis in the lung fluke (*Paragonimus miyazakii*). Z. Zellforsch., 77, 232-243.

Abstract

ULTRASTRUCTURAL STUDIES ON THE SPERMATOOZOA AND
SPERMATOGENESIS IN *PARAGONIMUS* AND *EURYTREMA*
(TREMATODA : DIGENEA)

TAKAHIRO FUJINO, YOICHI ISHII

(*Department of Parasitology, Faculty of Medicine, Kyushu University,
Fukuoka, Japan*)

AND

TAKAYUKI MORI

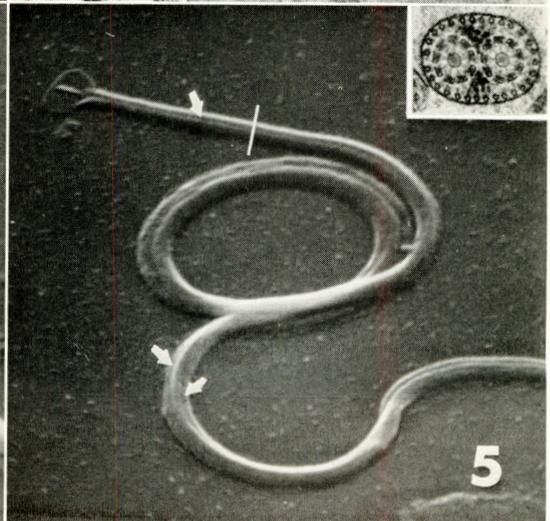
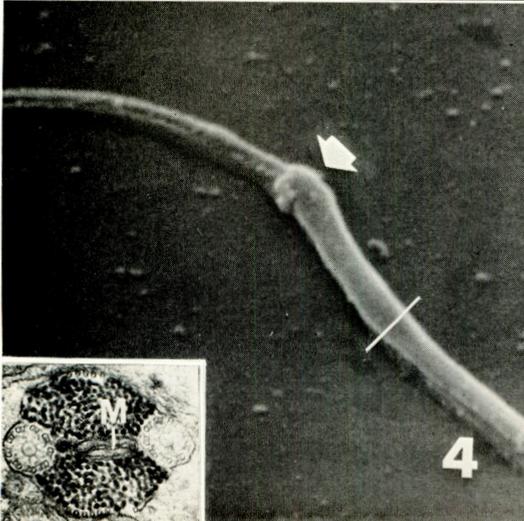
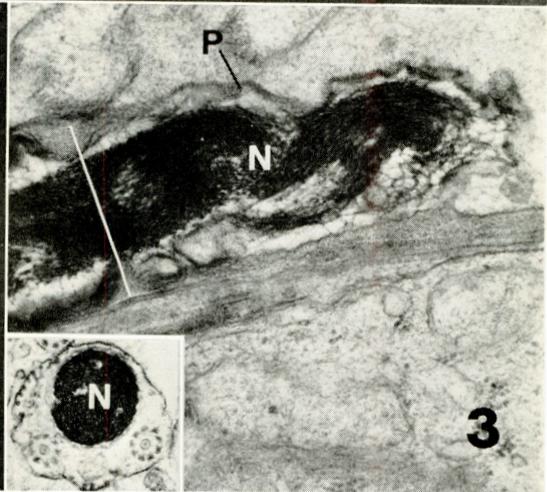
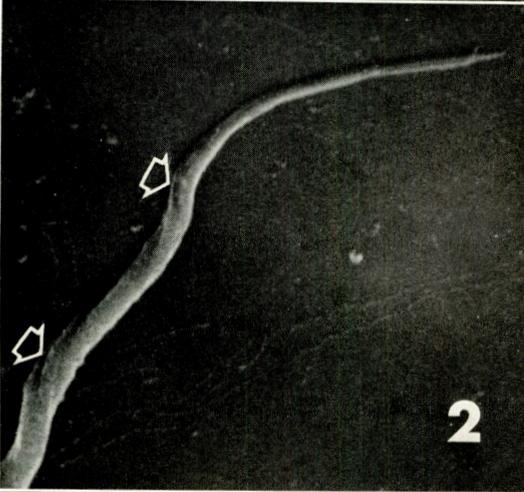
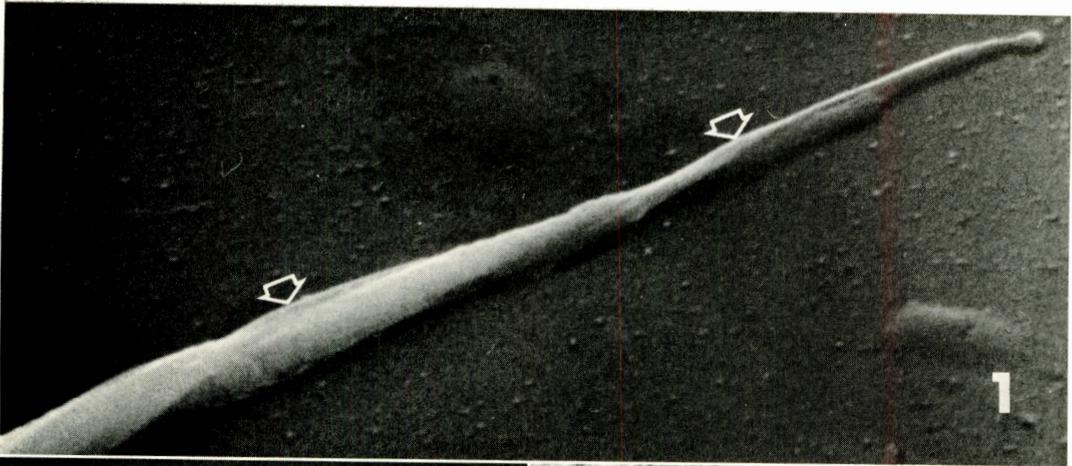
(*Zoological Laboratory, Faculty of Agriculture, Kyushu University,
Fukuoka, Japan*)

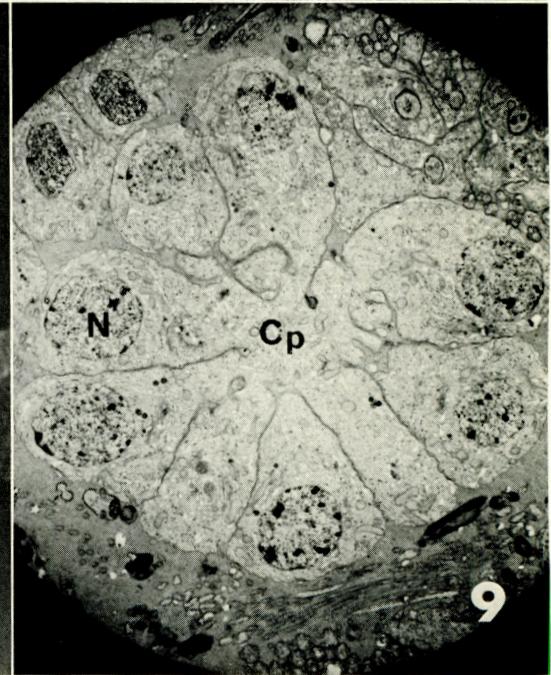
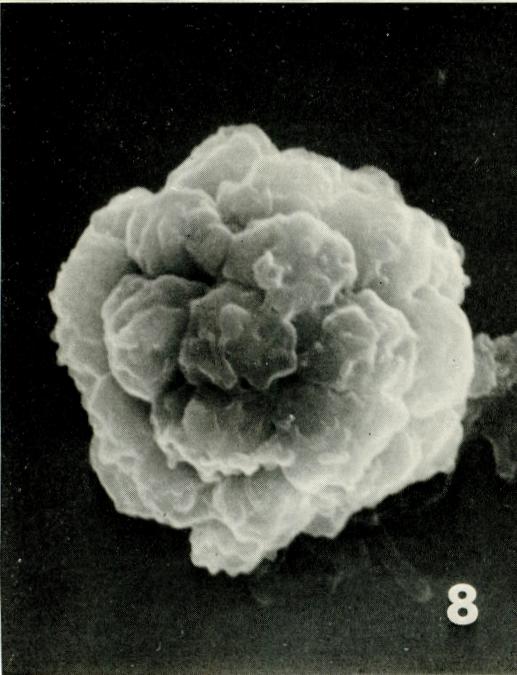
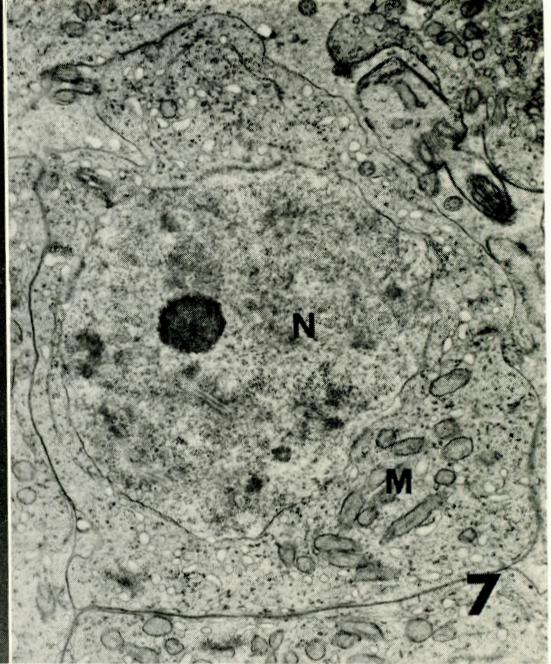
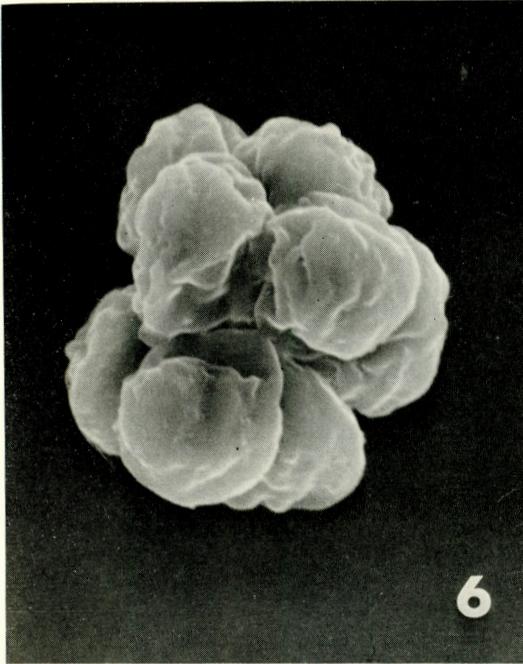
The present study was carried out to investigate the stereoscopic structures of the spermatozoa and spermatogenesis in two trematodes, *Paragonimus ohirai* Miyazaki and *Eurytrema pancreaticum* (Janson), by using scanning electron microscopy (SEM) and transmission electron microscopy (TEM).

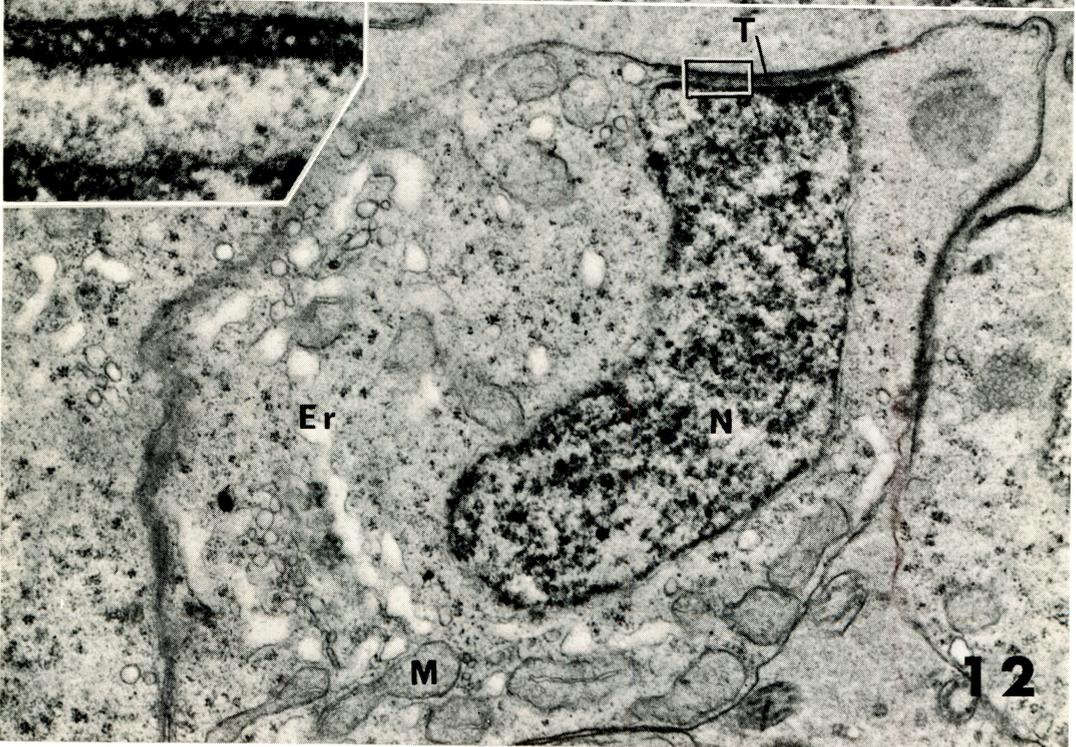
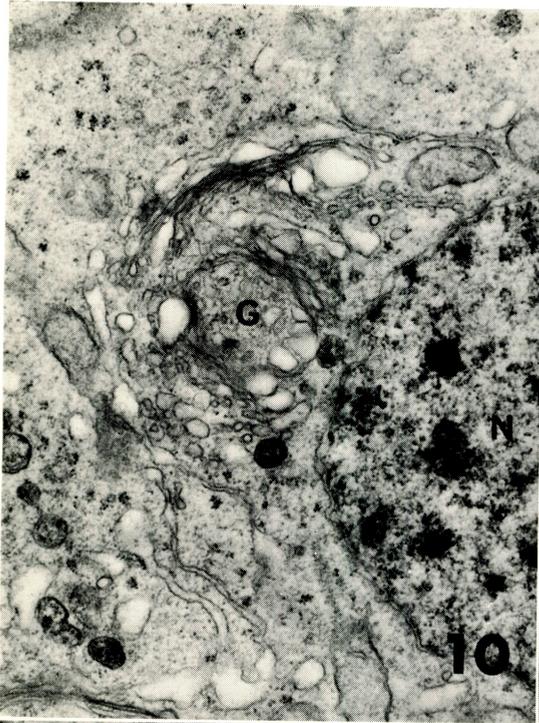
No distinct morphological differences were found between the spermatozoa of the two species. The matured spermatozoa are very long, cylindrical and thread-shaped in general form with a narrowed anterior tip, somewhat thick head including nucleus, thin middle region, and slightly flattened tail. Acrosome is absent (Text-fig. 1). The nucleus appeared to wind in spiral form, and there are also spiral ridges running over the surface of the plasma membrane. The plasma membrane of the head looked loose and a space was occasionally found between the nucleus and the plasma membrane (Figs. 1-3). The spermatozoa become narrowest at about middle in *P. ohirai*, and at about one fourth in *E. pancreaticum*. Just posterior to this narrowest point the spermatozoa suddenly change the thickness. This position at a higher magnification with SEM appeared to be grafted (Fig. 4, arrow). No observation of this point was made with TEM. There are two thin lines or furrows running longitudinally over the surface of the spermatozoa in about posterior half of the body. These would represent the traces of the borders among two flagella and the median cytoplasmic projection, which all fused together in the course of spermatogenesis (Fig. 5). In developed spermatozoa, mitochondria and axial filament complexes are packed in glycogen-granules which thickly distributed almost throughout the length, except for the anterior and posterior ends (Fig. 18). The arrangement of these organelles makes us suppose that it has close relation to the movement of spermatozoa.

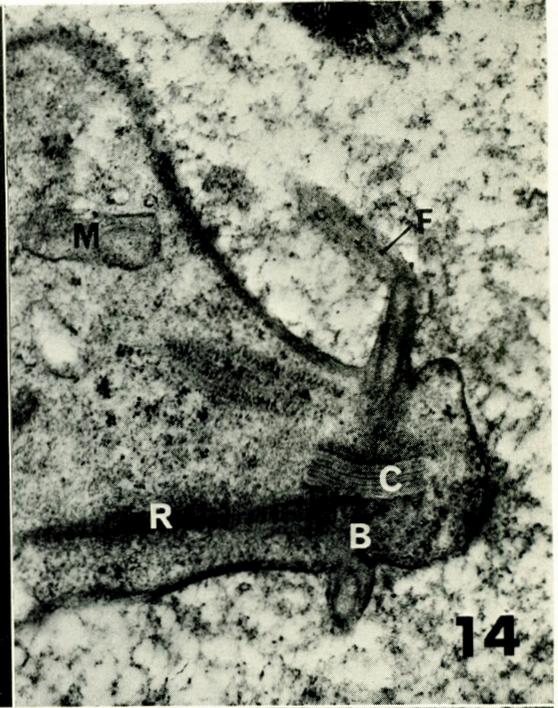
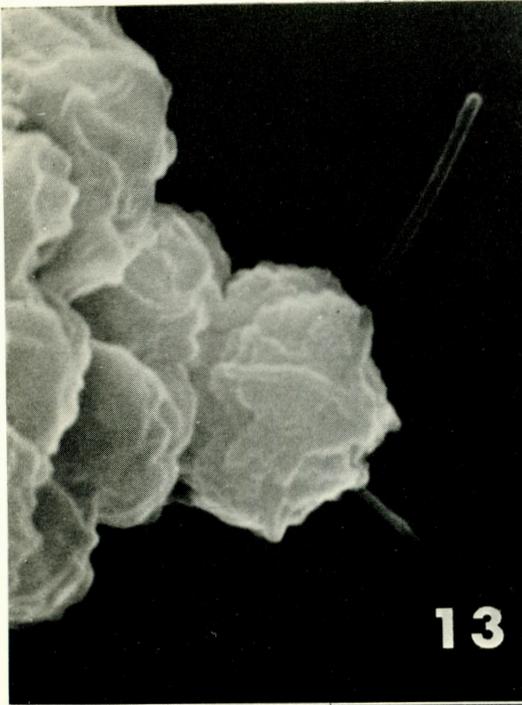
Spermatogenesis in these two species is close to each other and typical of Digenea (Text-figs. 2, 3). The secondary spermatocyte divides to give rise to a rosette of 32 spermatids, each of which matures into spermatozoon (Figs. 8, 9). In this stage, the outgrowth of a cytoplasm occurs from the apical portion of the spermatid. Nucleus becomes condensed and moves towards the apical end of the plasma membrane where the characteristic structure of a sheet of microtubules has already been formed (Fig. 12). It seems interesting to know how

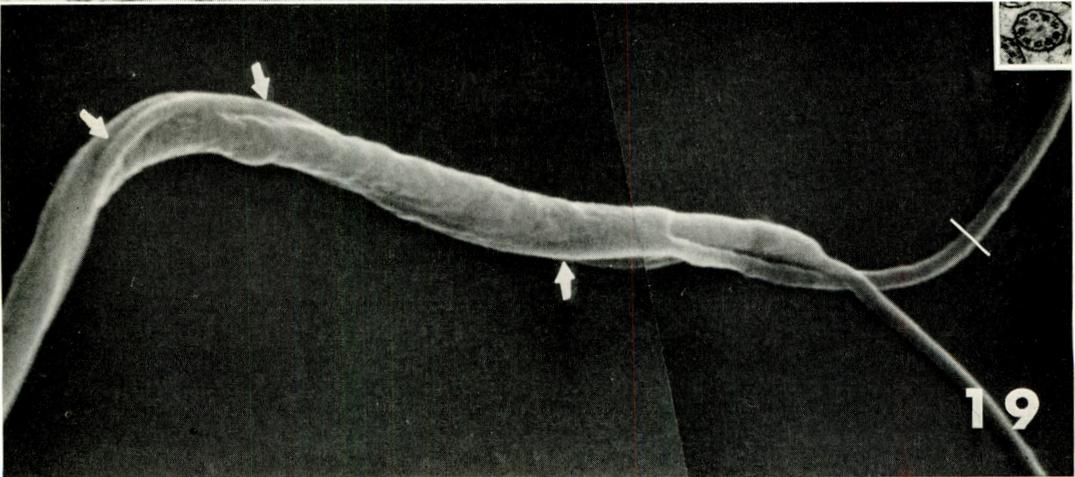
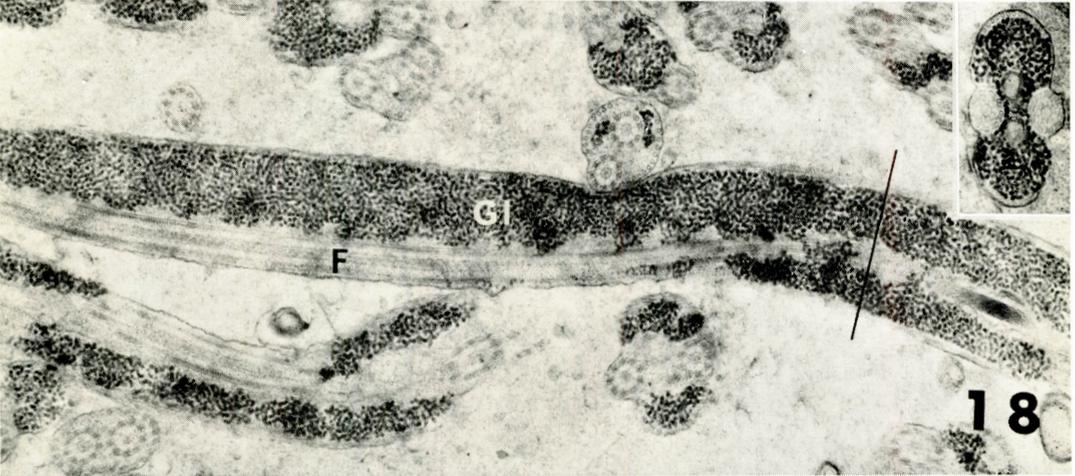
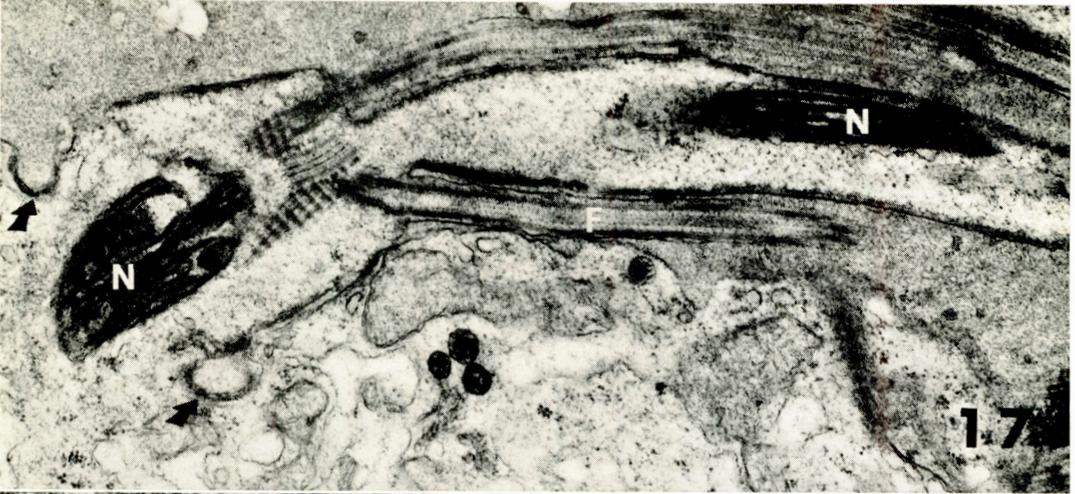
such a polarization is formed in the course of cellular differentiation. The extension and migration of the nucleus as well as of mitochondria which fuse into a few long rod-shaped bodies in the cellular projection occur as in the other trematodes (Figs. 12-19). This process agrees well with Burton's (1972) detailed description on *Haematoloechus medioplexus*. Although a few well-developed Golgi apparatus and many vesicles probably derived from it appeared in spermatocyte and gradually degenerated later without forming acrosome, their role in the spermatogenesis is not well known. Before fusing together, mitochondria in early spermatid arrange around and close to the nucleus (Fig. 11). Almost all of these mitochondria are elliptical in shape and their cristae present parallel to the longer axis of the mitochondria. This may suggest some close relation between the nucleus and mitochondrial movement.











Explanation of Figures

- Fig. 1 SEM micrograph of head of spermatozoon (*Eurytrema pancreaticum*). Arrows indicate spiral ridges over the surface of spermatozoon. $\times 15,000$.
- Fig. 2 SEM micrograph of head of spermatozoon (*Paragonimus ohirai*). Arrows indicate spiral ridges over the surface of spermatozoon. $\times 10,000$.
- Fig. 3 Longitudinal section of head of spermatozoon (*P. ohirai*). Note loose plasma membrane and the nucleus winding in spiral form. Line indicates the place where the micrograph for inset was taken. $\times 30,000$. Inset represents cross section of head. $\times 20,000$.
- Fig. 4 SEM micrograph of middle region of spermatozoon (*P. ohirai*). Arrow indicates 'grafted' portion of spermatozoon. Line shows where the micrograph for inset was taken. $\times 10,000$. Inset represents cross section of spermatozoon where a mitochondrion is situated between paired axial filament complexes in a lot of glycogen-granules. $\times 30,000$.
- Fig. 5 SEM micrograph of tail of spermatozoon (*P. ohirai*). Arrows indicate thin furrows running over the surface of spermatozoon. Line shows where the micrograph for inset was taken. $\times 10,000$. Inset represents cross section of the tail. Note microtubules lining just under the plasma membrane and two closely situated axial filament complexes. $\times 30,000$.
- Fig. 6 SEM micrograph of 1st spermatocyte (*P. ohirai*), showing a cluster of 8 cells. $\times 5,000$.
- Fig. 7 Section of 1st spermatocyte (*P. ohirai*). Note the nucleus with granular nucleoplasm, nucleole, and synaptonemal complexes, developed ribosomes and endoplasmic reticulum. $\times 5,000$.
- Fig. 8 SEM micrograph of early spermatid (*P. ohirai*), showing a cluster of 32 cells. $\times 6,000$.
- Fig. 9 Section of early spermatid (*P. ohirai*). Note cells connected by cytophore at the center and the nucleus situated near the distal end of the cell. Note well-developed endoplasmic reticulum and ribosomes. $\times 6,000$.
- Fig. 10 Section of early spermatid (*P. ohirai*). Note well-developed Golgi complex located close to the nucleus. $\times 7,000$.
- Fig. 11 Section of early spermatid (*E. pancreaticum*). Note mitochondria arranged around the nucleus, with their cristae parallel to the longer axis. $\times 30,000$.
- Fig. 12 Section of spermatid (*P. ohirai*). Note the elongated nucleus approaching close to the distal end of the plasma membrane where a peculiar structure of microtubules are formed. Mitochondria are elongated and fused together. $\times 18,000$. Inset shows the enlarged micrograph from square region. $\times 90,000$.
- Fig. 13 SEM micrograph of spermatid (*P. ohirai*). Note two flagella projecting from a cellular process. $\times 10,000$.
- Fig. 14 Longitudinal section through differentiating end of spermatid (*E. pancreaticum*). Note two flagella projecting in association with a centriole-like body. Rootlet is well developed. $\times 20,000$.
- Fig. 15 SEM micrograph of spermatid (*E. pancreaticum*). Arrows show the nucleus whirled and running into the cytoplasmic process. $\times 16,000$.
- Fig. 16 Longitudinal section of spermatid (*P. ohirai*). Note the nucleus whirled and running into the cytoplasmic process. Golgi complex is now situated in the side of cell. Arrows indicate region of transition between zone of differentiation and spermatid proper. Mitochondria are somewhat degenerated. $\times 7,000$.
- Fig. 17 Longitudinal section through apical differentiating zone of spermatid (*P. ohirai*). Note two flagella and a median cytoplasmic process in which the dense nucleus is now moving posteriorly. Dense material is inside the plasma membrane of differentiating zone. Arrows indicate the region of transition between zone of differentiation and spermatid proper. $\times 10,000$.
- Fig. 18 Longitudinal section of spermatid (*P. ohirai*). Note an axial filament complex running in glycogen-granules distributed throughout the length. $\times 10,000$. Line indicates where the micrograph for inset was taken. Inset represents the cross section of the spermatozoon. $\times 20,000$.
- Fig. 19 SEM micrograph of early spermatozoon (*P. ohirai*). Arrows indicate the traces of the flagella fused to a cytoplasmic process. Line indicates where the micrograph for inset was taken. $\times 16,000$. Inset shows cross section of the flagella. $\times 20,000$.

Abbreviations

B: basal body
C: centriole-like body
Cp: cytophore
Er: endoplasmic reticulum
F: axial filament complex
G: Golgi complex
Gl: glycogen-granules
M: mitochondria
N: nucleus
P: plasma membrane
R: rootlet
T: peripheral tubules