

## 大平肺吸虫の卵黄細胞の微細構造

福田孝一\* 浜島房則\* 市来やよい†

(昭和58年7月27日 受領)

**Key words:** *Paragonimus ohirai*, vitelline cells, ultrastructure, development

吸虫類における卵黄細胞の微細構造の研究は、主として、住血吸虫および肝蛭において行われてきた (Irwin and Threadgold, 1970, 1972; Erasmus, 1973, 1975; Erasmus and Davies, 1979; Erasmus and Popiel, 1980; Erasmus, *et al.*, 1982). 一方、肺吸虫の卵黄細胞については、横川・吉村 (1957), 吉村・横川 (1958), 大倉 (1963) そして滝沢 (1964) らによる報告があるが、それらは組織化学的あるいは虫体の発育に伴う卵黄腺の発達の光顕による観察の報告である。今回、大平肺吸虫成虫を材料として、その卵黄細胞の微細構造を観察し、いくつかの興味ある結果を得たので報告する。

### 材料および方法

大平肺吸虫 *Paragonimus ohirai* の成虫は、メタセルカリアをラットに経口感染させた後、52日目に肺のシストから取り出したものを使用した。取り出した虫体は2.5%グルタルアルデヒド (0.1M 磷酸緩衝液, pH 7.4) と1%四酸化オスミウム (0.1M 磷酸緩衝液, pH 7.4) の2重固定後、アセトン系列で脱水、Epon 812に包埋した。切片の染色は酢酸ウラニルとクエン酸鉛の2重染色を行い、日本電子 JEM-100C 透過型電子顕微鏡により加速電圧80kV で観察した。

### 結 果

おのおのの卵黄腺は、発達程度の異なる多数の卵黄細胞および、かなりの割合で、分裂途中の細胞 (Fig. 1) をふくんでいた。今回は、説明と議論を簡略化するために、卵黄細胞の発達を、Erasmus (1975) に従って、4段階に分けた。

#### Stage 1

この段階の細胞は未分化の細胞 (Figs. 2 and 3) で、一般に卵黄腺の中の周辺部分に生じ、隣接する卵黄細胞

とは junctional complex により連絡していた (Fig. 3, JC). 核 (Fig. 2, N) は細胞体に比して大きく、明確な核 (Fig. 2, NU) を持ち、またかなりの量のヘテロクロマチンを核質中に分散させていた。細胞質は明るく、リボゾーム (Fig. 3, R) を豊富にふくむ。しかし粗面小胞体 (Figs. 3 and 4, RER) は少なかった。小さなゴルジ体 (Fig. 3, G) が、核の近くにみとめられた。ミトコンドリア (Figs. 2 and 3, M) は核の近くに位置し、まばらな基質と、二、三のクリステをふくんでいた。そのミトコンドリアの形態は有糸分裂中の像を示す細胞のそれら (Fig. 1, M) に類似していた。

#### Stage 2

この段階の細胞は stage 1 の細胞と同様に隣接する卵黄細胞と junctional complex により連絡していた。核 (Fig. 4, N) は、明確な核 (Fig. 4, NU) とヘテロクロマチンの斑点を少数ふくみ、全体としてあかるい状態であり、stage 1 の細胞の核よりも大きかった。かなりの数のリボゾームが細胞質中に分散していた。粗面小胞体 (Fig. 4, RER) は stage 1 よりも発達していた。ミトコンドリア (Fig. 4, M) の形態は stage 1 の細胞のそれらに似ていた。ゴルジ体 (Fig. 4, G) は小さく目立たないが、小さな電子密度の高い vitelline globules (Fig. 4, VG) の近くに位置していた。

#### Stage 3

この時期においても、卵黄細胞は隣接する細胞と junctional complex で接触していた (Figs. 3 and 5, JC). この段階の細胞の核 (Fig. 5, N) は stage 2 の細胞のそれに似ており、少数のヘテロクロマチンの斑点を分散させ、また大きな核 (Fig. 5, NU) をふくんでいた。粗面小胞体 (Fig. 5, RER) はより豊富となり、層状の配列を示すようになった。小さなゴルジ体が細胞質中に分散し、vitelline globules を生産していた。細胞質は種々の大きさの vitelline globules (Figs. 3 and 5, VG) およびその globules の集合したものをふくんでいた。

\* 防衛医科大学校寄生虫学教室

† 同共利研電顕室

ミトコンドリア (Figs. 3 and 5, M) は少数であった。

#### Stage 4

この段階の初期の卵黄細胞は隣り合う細胞と junctional complex で連絡していた。核 (Fig. 6, N) は、以前と同様に少数のヘテロクロマチンを分散させ、また大きな仁 (Fig. 6, NU) をふくんでいた。細胞質は密に配列したりボゾームと粗面小胞体 (Fig. 6, RER) をふくんでいた。その粗面小胞体は細胞の周辺部分と核の周囲に位置していた。ゴルジ体は豊富で、vitelline globules を生産していた。Vitelline globules (Fig. 6, VG) の集合したものは stage 3 の場合よりも大きく、豊富となった。細胞質はまた脂質粒 (Fig. 6, L) を豊富にふくんでいた。グリコーゲン顆粒 (Fig. 6, GL) はその脂質粒の周囲に位置し、また細胞質中に分散し、あるいは集合していた。Stage 4 の後期になると細胞質中には成熟した細胞に特徴的な ribosomal complex (Figs. 7, 8 and 9, RC) がみとめられた。Ribosomal complex は粗面小胞体とグリコーゲン顆粒から成り (Fig. 7)、時として脂質粒 (Fig. 8, L) をふくんでいた。より成熟した卵黄細胞は、核の周囲に小さな空胞 (Fig. 9, V) を持ち、ribosomal complex (Fig. 9, RC) を豊富にふくんでいた。その核は次に、周囲を大きな空胞に取り囲まれ、やや不規則な外形を示した。ヘテロクロマチンは核膜に接触するように集合し、核の中央部分は大きな仁を除いて均質な様相を示した。この段階では junctional complex はみとめられなかった。

#### 発達しつつある卵内の卵黄細胞

卵黄細胞はそれぞれ離れて位置し、細胞同士の junctional complex による接触はみとめられなかった (Fig. 10)。卵黄細胞の細胞質中に vitelline globules およびその集合したものはみとめられず、一方、卵黄細胞間に多数の vitelline globules (Fig. 10, VG) が分散してみとめられた。それらの globules のいくつかは発達しつつある卵殻 (Figs. 10 and 11, ES) の内壁に癒合しつつあった。卵黄細胞中に、グリコーゲン顆粒と脂質粒を豊富にみとめた。それらはたがいに近くに位置し、また、部分によって集合している像がみとめられた。Ribosomal complex の形態は卵黄腺内の成熟卵黄細胞の場合と同様であった (Fig. 11, RC)。核 (Fig. 10, N) は stage 4 後期と同様に周囲を空胞 (Fig. 10, V) で取り囲まれ、大きな仁とヘテロクロマチンのかたまりを多くふくんでいた。さらに発達した卵では、卵黄細胞間の vitelline globules は消失し、卵殻 (Fig. 12, ES) は肥厚していた。卵黄細胞の間隙は消失し、それらの細

胞は接触するようになった。

## 考 察

今回の観察結果により、大平肺吸虫における卵黄細胞の微細構造は今までに報告されている肝蛭や住血吸虫のそれら (Irwin and Threadgold, 1970, 1972; Erasmus, 1973, 1975; Erasmus and Davies, 1979; Erasmus and Popiel, 1980; Erasmus, *et al.*, 1982) に類似していたが、詳細な部分に差のあることが明らかとなった。大平肺吸虫の卵黄腺の卵黄細胞は種々の成熟段階を示した。同様な観察は肝蛭や住血吸虫で報告されている。肝蛭では、卵黄細胞は最初蛋白産生細胞として発達し、後に栄養貯蔵細胞として成長する (Irwin and Threadgold, 1970)。

終宿主内で成熟した大平肺吸虫は一日に非常に多くの卵を排出する (富村ら, 1958; 富村ら, 1959)。大平肺吸虫幼成虫をラット腹腔内へ移植する実験を行った富村ら (1959) によれば大平肺吸虫幼成虫を4隻移植感染させたラットでの E. P. G. は多い時で11,250に達する。一個の卵中には卵黄細胞を多数ふくむ。それ故、多数の卵を形成するためにはより多くの卵黄細胞を産出することが必要である。今回の観察で、大平肺吸虫の卵黄腺内の周囲部分に、有糸分裂を示す細胞をみとめた。その細胞のミトコンドリアや細胞質の様相は stage 1 の卵黄細胞のそれらに似ていた。この観察は幹細胞の有糸分裂により、未分化の卵黄細胞が生ずることを示唆する。卵黄腺内の有糸分裂像は Stephenson (1947) によって肝蛭で報告されている。

卵黄細胞はミラシジウム発育のための栄養源を準備する (Irwin and Threadgold, 1970; Nollen, 1983)。大平肺吸虫の成熟した卵黄細胞はグリコーゲン顆粒および脂質粒を豊富にふくんでいた。一方、肝蛭の卵黄細胞はグリコーゲン顆粒を豊富にふくみ (Irwin and Threadgold, 1970)、*Schistosoma mansoni* の卵黄細胞では、グリコーゲン顆粒は肝蛭ほどではないが、かわりに脂質粒を豊富にふくむ (Erasmus, 1973)。肝蛭において卵黄細胞内のグリコーゲンがミラシジウムの発育に対する栄養源であると考えられている (Stephenson, 1947)。大平肺吸虫のミラシジウムの発生においても、これらのグリコーゲン顆粒および脂質粒が消費されると考えられるが、詳細は不明である。

卵黄細胞に特徴的なものの一つとして ribosomal complex があげられる。*S. mansoni* では、ribosomal complex は粗面小胞体から成立している (Erasmus,

1973). それらは *S. mansoni* のほか *S. haematobium* および *S. mattheei* でもみとめられるが, *S. japonicum* ではみられない (Erasmus *et al.*, 1982). Erasmus (1975) はそのような ribosomal complex を cytoresome であり, 卵黄細胞の部分的退化を示すものとしていたが, 後に calcareous corpuscle であり (Erasmus and Davies, 1979; Erasmus and Popiel, 1980), 余分なカルシウムの貯蔵場所かもしれないと報告している (Erasmus and Davies, 1979; Erasmus *et al.*, 1982). 一方, 肝蛭の ribosomal complex では粗面小胞体とグリコーゲン顆粒をふくむ (Irwin and Threadgold, 1970). Irwin and Threadgold (1970) はそれらを yolk globule であると考えている. 大平肺吸虫の ribosomal complex の形態は住血吸虫よりもむしろ肝蛭のそれに類似していた. しかし今回の大平肺吸虫の ribosomal complex は, 粗面小胞体とグリコーゲン顆粒に加えて, 脂質粒をふくむ場合もあり, その詳細は不明である.

横川・吉村 (1957) は, 大平肺吸虫の卵黄細胞中に多数のミトコンドリアの存在を組織化学的に報告している. 今回の観察ではミトコンドリアは少数であった.

大平肺吸虫の卵黄細胞は隣り合う卵黄細胞といわゆる junctional complex によって結合している. しかし成熟した卵黄細胞や卵内の卵黄細胞では junctional complex はみとめられなかった. 成熟した卵黄細胞は卵黄腺の中から卵細胞の周囲へ移動するが, junctional complex の消失は卵黄細胞の移動のために必要であろう. このような junctional complex の詳細な機能や性質は現在のところ不明である.

大平肺吸虫で, stage 4 のより成熟した卵黄細胞では核の周囲を囲んで大きな空胞がみとめられ, 同時に核のヘテロクロマチンが濃縮していた. それは成熟した卵黄細胞の核は退化していることを示唆する. この時期になると, 卵黄細胞における核の必要性はなくなるのであろう. 肝蛭においても卵黄細胞の核濃縮の存在が報告されている (Irwin and Threadgold, 1970).

卵黄細胞の vitelline globules は卵殻形成に重要な役割を果たす (Smith and Clegg, 1959; Irwin and Threadgold, 1972; Wharton, 1983). 今回の観察でも卵殻形成中の卵で, vitelline globules が卵殻に癒合している像がみとめられた. このことは大平肺吸虫でも, 他種と同様, vitelline globules が卵殻形成に関与することを示唆する. 横川・吉村 (1957) は光顕の組織化学によって同様な事を述べている. 今回の観察では vitelline globules の卵殻への癒合の機構は不明である. しかし, 肝蛭

において, Irwin and Threadgold (1972) は vitelline globules の卵殻への癒合にメリス腺からの分泌顆粒が影響する可能性を示唆している.

## ま と め

大平肺吸虫 *Paragonimus ohirai* 成虫の卵黄細胞の微細構造を透過型電子顕微鏡により観察した. それぞれの卵黄腺は成熟程度の異なる多数の卵黄細胞をふくみ, またかなりの割合で有糸分裂中の細胞をふくんでいた. 卵黄細胞の成熟過程は4段階 (Stages 1-4) に分けられた. 若い卵黄細胞は隣り合う卵黄細胞と junctional complex により結合していた. 未分化卵黄細胞 (Stage 1) は明るい様相を示し, その細胞質は遊離リボソームで満たされていた. Stage 2 の卵黄細胞では, 粗面小胞体が増加し, 小さな電子密度の高い球状の vitelline globules がみとめられた. Stage 3 では, 粗面小胞体はさらに豊富となり, 複雑な走行を示すようになった. Vitelline globules は数を増し, またその globules の集合したのもみとめられた. Stage 4 の初期の卵黄細胞は vitelline globules およびそれらの集合したもの, グリコーゲン顆粒, 脂質粒を豊富にふくみ, さらに stage 4 の後期になると, それらは粗面小胞体とグリコーゲン顆粒から成る ribosomal complex をふくむようになった. その ribosomal complex は時として脂質粒をふくんでいた. 核はその周囲を大きな空胞によって囲まれ, 多くのヘテロクロマチンをふくんでいた. この時期の卵黄細胞では junctional complex による結合は観察されなかった. 卵殻形成過程中的卵黄細胞では vitelline globules が細胞外へ排出され, それらが卵殻に癒合することが観察されたことから, vitelline globules は, 従来指摘されてきたように, 卵殻形成に関与することが示唆された.

稿を終るにあたり, 貴重な御助言を頂きました九州大学医学部藤野隆博助教授に深謝いたします.

## 文 献

- 1) Erasmus, D. A. (1973): A comparative study of the reproductive system of mature, immature and 'unisexual' female *Schistosoma mansoni*. Parasitol., 67, 165-183.
- 2) Erasmus, D. A. (1975): *Schistosoma mansoni*: Development of the vitelline cell, its role in drug sequestration, and changes induced by astiban. Exp. Parasit., 38, 240-256.
- 3) Erasmus, D. A. and Davies, T. W. (1979):

- Shistosoma mansoni* and *S. haematobium* : Calcium metabolism of the vitelline cell. Exp. Parasit., 47, 91-106.
- 4) Erasmus, D. A. and Popiel, I. (1980) : *Schistosoma mansoni* : Drug induced changes in the cell population of the vitelline gland. Exp. Parasit., 50, 171-187.
  - 5) Erasmus, D. A., Popiel, I. and Shaw, J. R. (1982) : A comparative study of the vitelline cell in *Shistosoma mansoni*, *S. haematobium*, *S. japonicum* and *S. mattheei*. Parasitology, 84, 283-287.
  - 6) Irwin, S. W. B. and Threadgold, L. T. (1970) : Electron-microscope studies on *Fasciola hepatica* VIII. The development of the vitelline cells. Exp. Parasit., 28, 399-411.
  - 7) Irwin, S. W. B. and Threadgold, L. T. (1972) : Electron microscope studies of *Fasciola hepatica*. X. Egg formation. Exp. Parasit., 31, 321-331.
  - 8) Nollen, P. M. (1983) : Patterns of sexual reproduction among parasitic platyhelminths. In Symposia of the British Society for Parasitology, Vol. 20, ed. by P. J. Whitfield, Cambridge University Press, Cambridge, London, New York, New Rochelle, Melbourne and Sydney. 99-120.
  - 9) 大倉俊彦 (1963) : 大平肺吸虫 (*Paragonimus ohirai* Miyazaki, 1939) の終宿主体内における発育に関する研究 第2篇 ラット体内における虫体の発育について. 寄生虫誌, 12, 99-118.
  - 10) Smith, J. D. and Clegg, J. A. (1959) : Egg-shell formation in trematodes and cestodes. Exp. Parasit., 8, 286-323.
  - 11) Stephenson, W. (1947) : Physiological and histochemical observations on the adult liver fluke, *Fasciola hepatica* L. III. Egg-shell formation. Parasitology, 38, 128-139.
  - 12) 滝沢明祐 (1964) ウェステルマン肺吸虫 *Paragonimus westermani* (Kerbert, 1878) Braun, 1899の好適及び非好適宿主体内における発育について. 寄生虫誌, 13, 181-199.
  - 13) 富村 保・小野忠相・荒川 皓(1958) : 大平肺吸虫感染犬糞便の E. P. G. および E. P. D. 検査に関する研究. 寄生虫誌, 7, 503-513.
  - 14) 富村 保・小野忠相・荒川 皓・大橋 真・大杉豊照・梶本 卓(1959) : 大平肺吸虫幼成虫の白鼠腹腔内移植試験ならびに幼成虫感染白鼠の初期排卵状況について. 日獣誌, 21, 19-34.
  - 15) Wharton, D. A. (1983) : The production and functional morphology of helminth eggshells. In Symposia of the British Society for Parasitology, Vol. 20, ed. by P. J. Whitfield, Cambridge University Press, Cambridge, London, New York, New Rochelle, Melbourne and Sydney. 85-97.
  - 16) 横川宗雄・吉村裕之(1957) : 肺吸虫の生理 (II) 組織化学的にみた肺吸虫卵卵殻の性状とその形成機転に関する考察. 寄生虫誌, 6, 546-554.
  - 17) 吉村裕之・横川宗雄 (1958) : 肺吸虫の生理 (III) ウェステルマン肺吸虫 (*Paragonimus westermani* Kerbert, 1878) の組織化学—特に糖質, 核酸及びフォスファターゼの分布—. 寄生虫誌, 7, 363-369.

Abstract

ULTRASTRUCTURAL STUDY ON THE VITELLINE CELLS OF THE  
LUNG FLUKE, *PARAGONIMUS OHIRAI*

KOICHI FUKUDA, FUSANORI HAMAJIMA

(*Department of Parasitology, National Defence Medical  
College, Tokorozawa 359, Japan*)

AND YAYOI ICHIKI

(*Laboratory of Electron Microscope, Research Institute, National  
Defence Medical College, Tokorozawa 359, Japan*)

The vitelline cells of *Paragonimus ohirai* were observed with the transmission electron microscope. Each vitelline lobule of vitelline gland had the cells showing various stages of development. Mitotic figures of stem cells were observed at the periphery of the vitelline lobules. The ultrastructure of four stages (stages 1-4) in the development of the vitelline cells was described. Immature vitelline cells were connected each other by junctional complexes. Cells of the stage 1 were undifferentiated, and the cytoplasm was filled with free ribosomes. Cells of the stage 2 were characterized by strands of rough endoplasmic reticulum and very small dense spherical vitelline globules. At the stage 3 vitelline globules accumulated in clusters. At an early phase of the stage 4 the cells had vitelline globules, glycogen granules and lipid droplets. At the later phase of the stage 4 ribosomal complexes with concentric rough endoplasmic reticulum and glycogen granules were observed in the vitelline cells. The complexes had occasionally lipid droplets. Mature vitelline cell had degenerating nucleus. Junctional complexes were not observed. In the developing egg, the vitelline globules coalesced on the inside of the egg-shell. These results were compared with those of other trematodes so far studied.

### Explanation of Figures

- Fig. 1 Mitosis of the stem cell. (Scale :  $2\mu\text{m}$ )
- Fig. 2 Vitelline cell of stage 1. The cell is undifferentiated and lies among other vitelline cells. Note the nucleus containing a large amount of heterochromatin. A small number of mitochondria are observed in the cytoplasm. (Scale :  $2\mu\text{m}$ )
- Fig. 3 Two immature vitelline cells, adhering each other by junctional complex. The cell on the left is at stage 1 and the cell on the right is at stage 3. (Scale :  $0.5\mu\text{m}$ )
- Fig. 4 Vitelline cell of stage 2. Note the slightly developed rough endoplasmic reticulum and small dense vitelline globules. (Scale :  $2\mu\text{m}$ )
- Fig. 5 Vitelline cell of stage 3, whose nucleus is circular in shape and contains definite nucleolus. A large amount of rough endoplasmic reticulum is seen. Some of vitelline globules accumulate in groups. Note the junctional complexes. (Scale :  $2\mu\text{m}$ )
- Fig. 6 Vitelline cell at an early phase of stage 4. The cell contains glycogen granules, lipid droplets and vitelline globules. (Scale :  $2\mu\text{m}$ )
- Fig. 7 Part of the vitelline cell of the stage 4 showing ribosomal complex, which contains concentric rough endoplasmic reticulum and glycogen granules. (Scale :  $0.5\mu\text{m}$ )
- Fig. 8 Part of the vitelline cell of the stage 4. Note the developing ribosomal complex, which contains rough endoplasmic reticulum, glycogen granules and lipid droplet. (Scale :  $0.5\mu\text{m}$ )
- Fig. 9 The cell at the later phase of the stage 4. Vitelline globules, ribosomal complexes, lipid droplets and glycogen granules distribute in the cytoplasm. Note the vacuole near the nucleus. (Scale :  $2\mu\text{m}$ )
- Fig. 10 A small number of vitelline cells inside developing eggs. A large number of vitelline granules are seen between the cells. Vitelline cells within the eggs remain as separate entities. Note degenerating nuclei of vitelline cells and a group of vitelline globules which is not yet released from vitelline cell. (Scale :  $10\mu\text{m}$ )
- Fig. 11 Two eggs in which shell deposition is still in progress. Note the vitelline globules coalesced to the egg-shell. (Scale :  $0.5\mu\text{m}$ )
- Fig. 12 Slightly more advanced stage than in the Fig. 11. Egg-shell becomes thick and vitelline globules are not present. (Scale :  $0.5\mu\text{m}$ )

#### Abbreviations

C :	chromosome	ES :	egg-shell
G :	Golgi complex	GL :	glycogen
JC :	junctional complex	L :	lipid droplet
M :	mitochondrion	N :	nucleus
NU :	nucleolus	R :	ribosome
RC :	ribosomal complex	RER :	rough endoplasmic reticulum
V :	vacuole	VC :	vitelline cell
VG :	vitelline globule		











