



Title	性成熟に伴うヒメマス( <i>Oncorhynchus nerka</i> )の肝臓の形態変化
Author(s)	石井, 清士; ISHII, Kiyoshi
Citation	北海道大學水産學部研究彙報, 22(3), 215-220
Issue Date	1971-11
Doc URL	<a href="https://hdl.handle.net/2115/23453">https://hdl.handle.net/2115/23453</a>
Type	departmental bulletin paper
File Information	22(3)_P215-220.pdf



# 性成熟に伴うヒメマス (*Oncorhynchus nerka*) の肝臓の形態変化

石井 清士\*

## Morphological Changes in the Liver of the Kokanee, *Oncorhynchus nerka*, accompanied with Sexual Maturation

Kiyoshi ISHII

### Abstract

The liver of the kokanee, *Oncorhynchus nerka*, was investigated by a light and electron microscope. The fish used in the present study was sampled from the outdoor pond of the Chitose Branch of Hokkaido Salmon Hatchery from June 1968 to October 1969.

In the one-year-old fish, hepatosomatic indices (HSI) ranged from 1.0 to 1.2 per cent. On the contrary, HSI in the two-year-old maturing fish tended to increase along with the gonadal maturation and the female fish had larger HSI than those of the males. In these female fish, the liver cells became larger in size and they had a round nucleus and the cytoplasm stained strongly with dye. Ultrastructurally the cytoplasm of the liver cell is filled with a lot of vesicular endoplasmic reticulum.

After spawning the liver cell of the fish showed some degenerative changes; the nucleus darkened and many eosinophilic granules appeared in the cytoplasm.

From the findings it was suggested that in the kokanee the changes of the liver cell might be caused not only by gonadal maturation but also by starvation or some inner factors of the fish.

### 緒 言

魚類では生殖期になると雌の肝臓が雄のそれよりも重くなることが知られており(雨宮・田村, 1948; 野口・尾藤, 1953; 野村, 1963), また産卵期の肝臓では組織学的にも雌雄間で差異が認められることが報告されている(Kobayashi, 1953; Egami, 1955; Oguro, 1956)。太平洋産のサケ科魚類は一生に一度産卵し, その後間もなく死亡するが, Robertson & Wexler (1960) はこれらの種類の回遊, 産卵に伴う肝臓の変化を観察している。また Maximovich & Kostina (1969) は産卵期の *Oncorhynchus gorbuscha* で肝細胞にライソゾームの形成されることを報告している。しかしながら魚類の性成熟に伴う肝臓の詳細な形態学的変化についての研究は少なく, 未知の点が多い。

今回, 著者はサケ属魚類の一種であるヒメマスを用い生殖巣の発達に伴う肝臓の変化および産卵後の変化を微細構造レベルで観察したので報告する。

稿を進めるにあたり, 本研究に対し御指導御助言を賜った北海道大学山本喜一郎教授に深謝する。またヒメマスの採取に御便宜をいただいた北海道立水産孵化場中山忠衛氏, 寺尾俊郎博士ならびに北海道立水産孵化場千歳支場の方々に厚くお礼申し上げます。

### 材料および方法

観察に用いた材料はベニザケの陸封型として知られているヒメマス (*Oncorhynchus nerka*) で, これらの魚は北海道立水産孵化場千歳支場の養魚池で養鱒用ペレットを与えて飼育されていた0年,

\* 北海道大学水産学部淡水増殖学講座

(Laboratory of Fresh-Water Fish-Culture, Faculty of Fisheries, Hokkaido University)

1年, 2年, 3年魚である。材料の採集は1968年6月, 10月, 11月と1969年6月, 8月, 10月の計6回行ない, 採集総尾数は187尾であった。採集したヒメマスは体長, 体重, 生殖巣重量, 肝臓重量などを測定後, 肝臓の一部は光顕用として Bouin 氏液で固定し, 通常パラフィン法により5~6 $\mu$ の連続切片とし, Delafield の hematoxylin および eosin または Heidenhain の azan 染色を施した。さらに肝細胞に出現した顆粒の組織化学的研究のために Stein のヨード染色および Kutilik の brilliant yellow G 染色を施した。電顕用としては肝臓の小片を Millonig の osmium 液で約2時間固定し, 脱水後エポキシ樹脂に包埋した。超薄切片は500~800Åとし, 酢酸ウラニルおよびクエン酸鉛の二重染色を施し日立-HS-7電子顕微鏡で観察した。

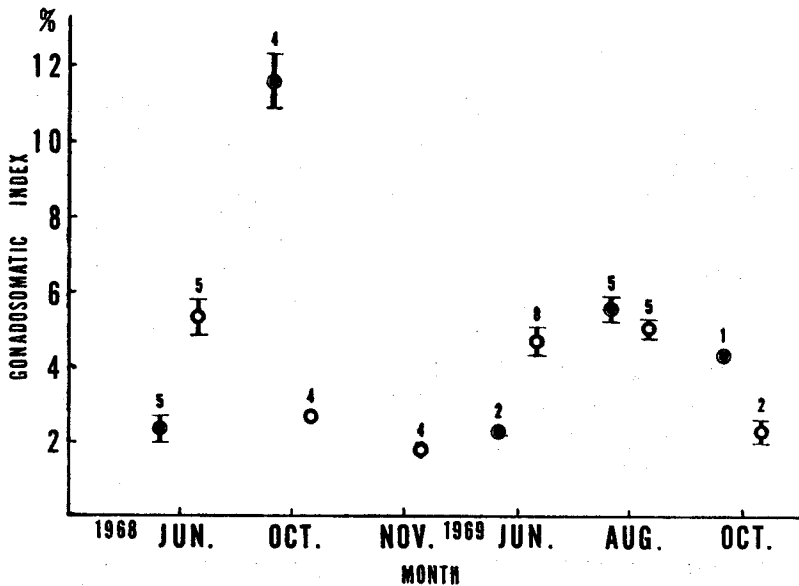
結 果

1. 成熟度指数と肝量指数

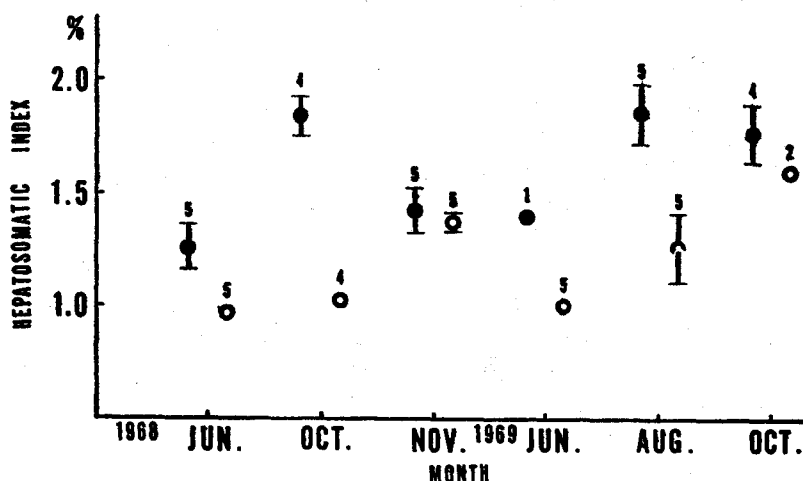
2年魚産卵群の成熟度指数(生殖巣重量 $\times$ 100/体重)と肝量指数(肝臓重量 $\times$ 100/体重)は Text-fig. 1 および 2 にそれぞれ示したとおりである。

雄の成熟度指数は1968年では6月に平均2.4%であったが, 10月には11.6と高い値を示していた。また1969年でも6月には2.3%であったが, 8月にはかなり値が上昇し5.5%を示していた(Text-fig. 1)。卵巣卵は1968年, 1969年ともに6月には第一次卵黄球期, 8月中旬には第二次および第三次卵黄球期に達していた。1968年11月, 1969年10月の個体はいずれも排卵後あるいは産卵後のものであり, そのため生殖巣重量の測定が不可能な個体もあった。一方, 雄の成熟度指数は6月, 8月では5.0%前後であるが, 10月になると下降の傾向をみせ11月には2%以下となる。これはニジマスでも指摘されているように(太田ら, 1965) 精巣が機能的成熟へ移行する際に見られる現象である。

1年魚の肝量指数は周年1.0~1.2の値を示していたが, 2年魚では生殖巣の発達に伴い肝量指数



Text-figure 1. Gonadosomatic index of the kokanee.  $\odot$  Female  $\bullet$  Male  
Each mark shows the mean value. The range of standard error is indicated by vertical bars. Figures inside indicate the number of fish examined



Text-figure 2. Hepatosomatic index of the kokanee. ● Female ○ Male  
Each mark shows the mean value. The range of standard error is indicated by vertical bars. Figures inside indicate the number of fish examined

は増加の傾向を示し、雌魚では6月に平均1.3、8月、10月で1.8、11月には1.4を示し、雄では6月には平均1.0、8月には1.3、10月は1.0~1.6、11月には1.4で肝量指数に雌雄差がみられ、雌の肝臓は一般に雄の肝臓をうまわっていた。1968年では10月、1969年では8月にこの傾向が著しい (Text-fig. 2)。

## 2. 肝臓の組織学的観察

ヒメマスの肝臓は茶褐色の大きな単葉器官で腹腔内に存在している。その組織は他の硬骨魚類で見られるように数個の肝細胞が集し肝細胞索を形成し、それらが分岐、吻合する形をとり哺乳類で見られるような典型的な肝小葉構造は認められない。

本種の0年魚あるいは1年魚の肝細胞は一般に細胞質は染色性が悪く明るい、核の周囲にはヘマトキシリンにわずかに染まる部分を有していた。またこの期の細胞中には有糸分裂像を示すものが、しばしば認められた (Fig. 1)。

次に2年魚の成熟群でも6月採集の魚は雌雄ともその肝細胞は0年、1年魚とほとんど変わらない組織像を示し、核の周辺部は塩基性色素でよく染まるが、そのほかの部分はあまり染色されずに明るい地として認められた (Fig. 2)。この肝細胞を電顕で観察すると層板状構造の粗面小胞体が細胞質中に認められた。また細胞質中には多くのミトコンドリア、ゴルジ体あるいはライソゾームなどの細胞内小器官が存在していた。ミトコンドリアは円形、卵形あるいは長桿形など種々の形態をなし、細胞質中に広く分布していた。また細胞中にはグリコーゲン顆粒が散在しており、これらは鉛で強く染まる (Fig. 7)。

1968年10月、1969年8月採集の雌の肝臓の肝量指数は増加し、雄のそれをはるかにうまわっていた。1969年8月採集の雌肝臓の組織像を調べると、その細胞は6月のものより大きく、塩基性色素に強い染色性を示した。さらに核は幾分肥大して円形のものも多く、核内には濃染した明瞭な大きな仁が1~2個認められた (Fig. 3)。これらの肝細胞を電顕的に観察すると、粗面小胞体が非常によく発達し細胞質はほとんど小胞体で占められていた。小胞体は層板状構造を示すものもあるが、胞状を呈するものも非常に多くなっていた (Fig. 8)。このような像は未熟魚の肝細胞ではみられなかった。

またこの期の細胞中にはグリコーゲン顆粒はあまり認められないが、大型の脂肪滴が散在しているのが認められた (Fig. 9)。この期の雌の肝細胞では光顕的にしばしば円形の空胞が認められたが (Fig. 3) これらは脂肪滴の溶解に起因する空胞と推察される。

一方、雄においては 1969 年 8 月採集のものは雌でみられたように細胞は大きくなり、核は円形あるいは楕円形を呈している。細胞質の染色性は雌にくらべて著しい差はみられないが雌の場合より明るい地を持つものが幾分多かった (Fig. 4)。電顕的にみると雄の肝細胞も粗面小胞体は層板状あるいは胞状のものを有し、グリコーゲンの沈着も部分的にみられた (Fig. 12)。

次に 1968 年 11 月、1969 年 10 月の雌の肝臓について述べる。まず 1968 年 11 月の雌の肝臓は光顕的には、肝細胞は小さくなり、核も小さく核内は暗調を呈していた。個体によっては細胞の境界がはっきりしなくなったものも認められた。さらに特徴的な事はこれらの細胞中にエオシンによく染まる顆粒が多数出現していたことである (Fig. 5)。この顆粒は Stein のヨード染色および Kutalik の brilliant yellow G 染色に陰性であった。従って胆汁色素ではない。これを電顕的にみると顆粒はつよい電子密度を示し、顆粒の直径は  $0.5\mu\sim 3.0\mu$  であった。形は円形あるいは不整形でその周囲には一層の限界膜を有していた。また細胞中の小胞体は発達が悪く胞状あるいは短い小管状を呈し細胞内に散在していた (Fig. 11)。上記の像からこれらの肝細胞は退行的な変化をしていると思われる。顆粒の出現はこれと深い関係があるものと思われる。Fig. 10 は 1969 年 10 月採集の 3 年魚雌の肝臓である。この個体は成熟度指数が 9.7% で成熟途上のものであった。この肝臓においては細胞中に  $0.5\mu\sim 2\mu$  の直径をもった様々な電子密度の顆粒が存在していた。これらの顆粒はゴルジ域にもみられ、そこでは小形のものが多く、これらの顆粒は 6 月採集の肝細胞には認められない。従って先に述べたエオシンに染まる顆粒はこれらの顆粒に起因することが暗示される。

一方、1968 年 11 月、1969 年 10 月採集の雄の肝臓は光顕的には明るい地をもつ細胞が多いが核は暗調を呈していた。しかし肝細胞索構造はあまり乱れていなかった (Fig. 6)。この期の肝臓を電顕的に調べると、胞状の粗面小胞体あるいは滑面小胞体が非常によく発達しているものや (Fig. 13) グリコーゲン顆粒が多量に存在し、粗面小胞体は層板状構造を保っているものなどが認められた (Fig. 14)。

#### 考 察

数種類の硬骨魚において産卵期になると雌の肝臓が雄のそれよりも重くなることが知られている (雨宮・田村, 1948; 野口・尾藤, 1953)。野村 (1963) はニジマスで卵巣重量の増加に伴って肝臓重量が増加すること、さらに十分に成熟した個体では逆に肝臓重量が減少することを報告している。今回調べたヒメマスにおいても成熟度指数の高い群では、雌の肝臓指数は雄のそれよりも高い値を示した。

野口・尾藤 (1953) はサバの肝臓の一般成分を分析し、成熟した雌では粗蛋白質の量が多いと報告している。またニジマスでも肝臓体重比の大きなものでは小さな肝臓と比較し、雌雄ともに粗蛋白質、灰分の増加、水分の減少がみられ、雌においては粗脂肪の増加することが報告されている (野村, 1963)。

さらに産卵期の肝臓は組織学的にも雌雄差のみられることが知られている (Kobayashi, 1953; Egami, 1955; Oguro, 1956)。ヒメマスにおいては肝臓指数の高い時期の雌魚の肝細胞は未熟な魚の肝細胞より大きく細胞質の染色性が良く、核も大部分が円形を呈し、仁も大きなものが認められた。そして電顕的には粗面小胞体が非常によく発達しているものが多かった。Ishii & Yamamoto (1970) は成熟キンギョの肝臓を調べ、肝細胞に雌雄差の出現することを観察し、雌の肝細胞の核は円形を呈し、その細胞中には粗面小胞体がよく発達していること、また雄の肝細胞よりもグリコーゲンの沈着が少ないことを報告している。井村・斎藤 (1969) は著者ととも使用したヒメマスを分析し、1968 年 6 月と 10 月の雌肝臓は多量の RNA を有し、雄のそれをうまわっていたと報告している。彼らはさらに、DNA 含量には時期的な変動はなかったとし、肝臓重量の増加は細胞数の増加によるのではなく、細胞の肥大によるものと考えた。今回の観察において 1969 年 8 月採集の雌の肝細胞が大きく、小胞体が著しく発達していたことは、井村・斎藤 (1969) の報告を形態学的に支持するものと思

われる。

卵黄形成の際、蛋白合成に重要な役割を演ずるとの予想が両生類で報告されているが (Follett *et al.*, 1968; Wallace & Jared, 1969), ヒメマスにおいても特に雌において肝量指数の増加期には肝臓がこのような役割を演じていることが推察される。

ヒメマスは産卵期になると摂餌をやめ産卵後死亡する種類の魚であることが知られている。McBride *et al.* (1965) は産卵後のベニザケで産卵の前後に餌をとらないもの、あるいは餌を与えなかったものでは、肝臓に様々な退行像がみられ、餌をとった魚では、肝臓細胞は萎縮していたが著しい退行はみられなかったと報告している。またサケの成熟、産卵に伴う諸器官を調べ、種々の退行現象についての Robertson & Wexler (1960) の報告もある。彼らによれば、これらの変化は副腎皮質ホルモンの過剰分泌によるとされている。

今回の観察においては、1968年11月、1969年10月の個体は産卵後のものであり肝細胞は様々な退行現象をみせた。とくに多くの雌においては細胞内にエオシンに染まる顆粒が出現していた。このような顆粒は成熟途上の雌の肝細胞にも認められ、ゴルジ体から形成されることが暗示される。Maximovich & Kostina (1969) は産卵期の *Oncorhynchus gorbusha* でゴルジ体由来の lysosomal な顆粒の形成をみており、本種の場合に認められた顆粒もこのようなことに起因することが推察される。

以上、ヒメマスにおいては成熟に伴い肝臓は重要な働きを行うことが推察されるが、産卵後死亡するとされている種類に属しているヒメマスでは、成熟現象のほかは飢餓あるいはそのほかの要因が肝臓の退行に影響を与えていることが推察される。

#### 要 約

1968年6月から1969年10月まで、北海道立水産孵化場の養魚池より得られたヒメマス (*Oncorhynchus nerka*) の成熟に伴う肝臓の形態学的変化を光学顕微鏡および電子顕微鏡を用いて観察し、次の結果を得た。

1. 1年魚の肝量指数は周年1.0~1.2であったが、2年魚では成熟度指数が高くなるにつれ肝量指数は増加の傾向を示し、雌の肝量指数は雄のそれをうまわっていた。
2. 雌では肝重量の増加期には、肝細胞は大形となり、核は円形のものも多く細胞質は好塩基性を呈していた。電顕的には細胞質は多くの胞状の小胞体で占められていた。
3. 産卵および排精後の魚では肝細胞は核の暗調化、小胞体の胞状化、好酸性顆粒の出現などの退行像を示していた。
4. ヒメマスでは成熟現象のほかは飢餓あるいはそのほかの要因が肝臓の退行に影響を与えていることが暗示された。

#### 文 献

- 雨宮育作・田村保 (1948). 魚類肝臓重量の雌雄差に就て. 水産学会報 10, 10-13.
- Egami, N. (1955). Effect of estrogen and androgen on the weight and structure of the liver of the fish, *Oryzias latipes*. *Annot. Zool. Japon.* 28, 79-85.
- Follett, B.K., Nicholls, T.J. & Redshaw, M.R. (1968). The vitellogenic response in the South African clawed toad (*Xenopus laevis* Daudin). *J. Cell. Physiol.* 72, Sup. 1, 103-123.
- 井村孝嗣・斎藤恒行 (1969). 魚類組織構成成分の代謝活性の時期的変化-I. ヒメマス組織中の核酸量の変化. 北大水産集報 20, 202-210.
- Ishii, K. & Yamamoto, K. (1970). Sexual differences of the liver cells in the goldfish, *Carassius auratus* L.. *Bull. Fac. Fish., Hokkaido Univ.* 21, 161-167.
- Kobayashi, H. (1953) Effects of estrone upon the structure, weight and fat content of the liver in the fish, *Misgurnus anguillicaudatus*. *Annot. Zool. Japon.* 26, 213-216.

- Maximovich, A.A. & Kostina, E.N. (1969). Lysosomes in the liver parenchymal cells of the spawning humpback salmon (*Oncorhynchus gorbushka*). *Tsitologia* 11, 796-802. (in Russia with English summary).
- McBride, J.R., Fagerlund, U.H.M., Smith, M. & Tomlinson, N. (1965). Post-spawning death of Pacific salmon: sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*) maturing and spawning in captivity. *J. Fish. Res. Bd. Canada* 22, 775-782.
- 野口栄三郎・尾藤方通 (1953). サバ肝臓の重量及脂肪量の季節的变化. 日水誌 19, 525-529.
- 野村稔 (1963). ニジマスの人工採卵に関する基礎研究-V. 生殖巣の発達と初産魚の大きさ. 同誌 29, 976-984.
- Oguro, C. (1956). Some observations on the effect of estrogen upon the liver of the three-spined stickleback, *Gasterosteus aculeatus aculeatus* L.. *Annot. Zool. Japon.* 29, 19-23.
- 太田勲・山本喜一郎・高野和則・坂口任一 (1965). ニジマスの成熟に関する研究-II. 1年魚の精巣の発達について. 日水誌 31, 597-603.
- Robertson, O.H. & Wexler, B.C. (1960). Histological changes in the organs and tissues of migrating and spawning Pacific salmon (genus *Oncorhynchus*). *Endocrinology* 66, 222-239.
- Wallace, R.A. & Jared, D.W. (1969). Studies on amphibian yolk. VIII. The estrogen-induced hepatic synthesis of a serum lipophospho-protein and its selective uptake by the ovary and transformation into yolk platelet proteins in *Xenopus laevis*. *Develop. Biol.* 19, 498-526.

## **Explanation of Plates**

## PLATE I

All figures are photomicrographs from sections across the liver of the kokanee, *Oncorhynchus nerka*, fixed in Bouin's fluid and stained with Delafield's hematoxylin and eosin, magnified at ca. 600 times.

Fig. 1. Liver of one-year-old fish. Note many mitotic figures (arrows) found in the parenchymal cells

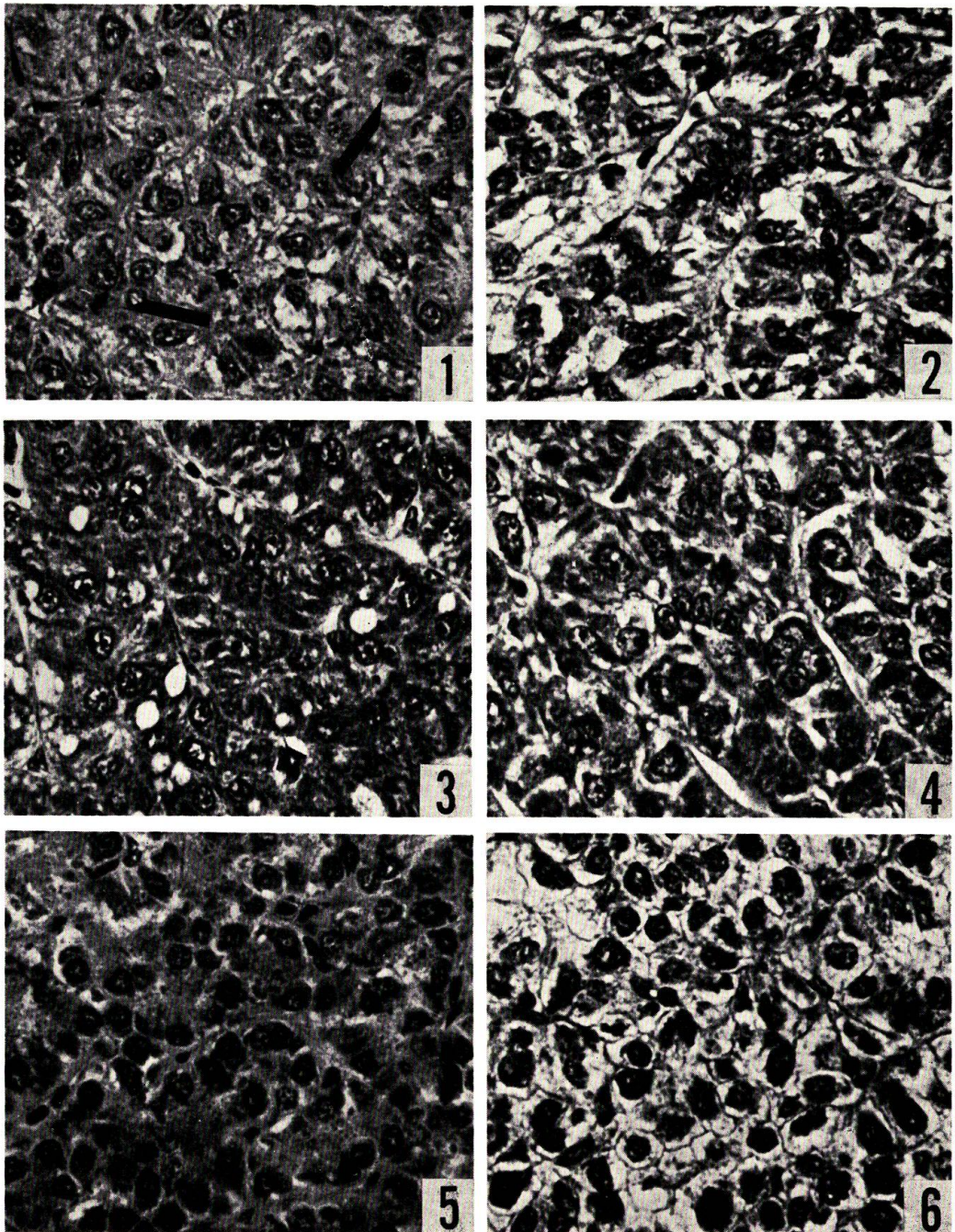
Fig. 2. Liver of two-year-old female fish fixed in June '69

Fig. 3. Liver of two-year-old female fish fixed in August '69. The cytoplasm is stained strongly with dye and some round vacuoles may be found within it

Fig. 4. Liver of two-year-old male fish fixed in August '69

Fig. 5. Liver of a female fish after spawning. Many small granules are seen in the cytoplasm

Fig. 6. Liver of a male fish fixed in October '69



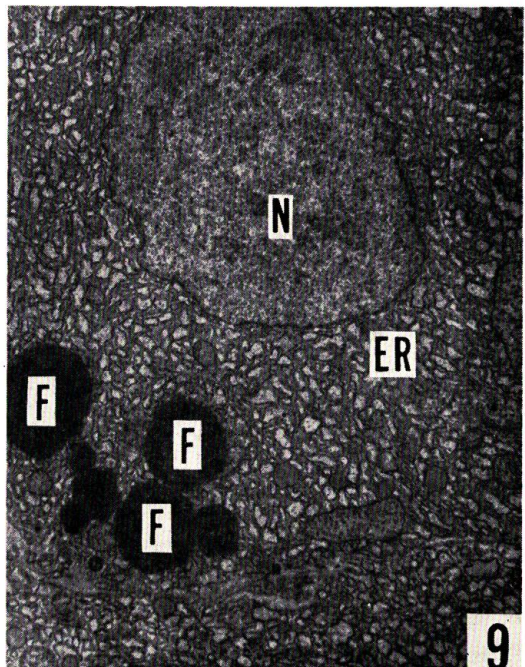
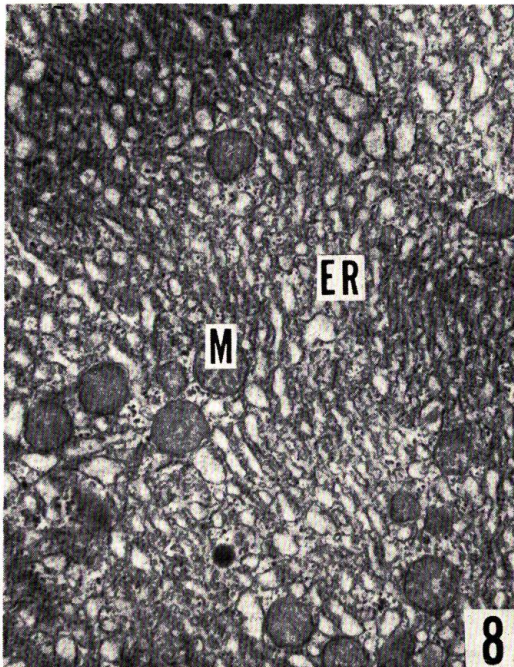
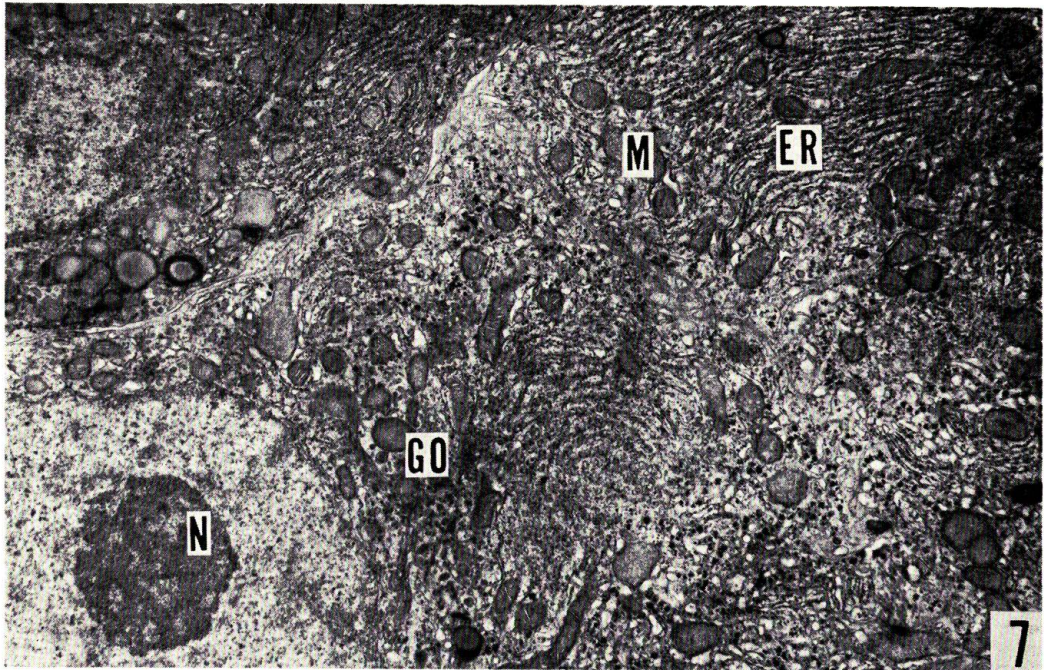
K. ISHII: Morphological changes in the liver of the kokanee

## PLATE II

Fig. 7. Liver parenchymal cells in a female kokanee collected in June '69. A large amount of rough endoplasmic reticulum appeared as stacks of flattened cisternae in the cytoplasm. *ER*, endoplasmic reticulum; *GO*, Golgi complex; *M*, mitochondrion; *N*, nucleus,  $\times 8,800$

Fig. 8. Liver parenchymal cell in female kokanee showing large HSI. The cytoplasm is occupied by vesicular endoplasmic reticulum. *ER*, endoplasmic reticulum; *M*, mitochondrion,  $\times 10,800$

Fig. 9. Liver parenchymal cell in female kokanee. The cell contains large fat droplets in the cytoplasm. *ER*, endoplasmic reticulum; *F*, fat droplet; *N*, nucleus,  $\times 4,500$

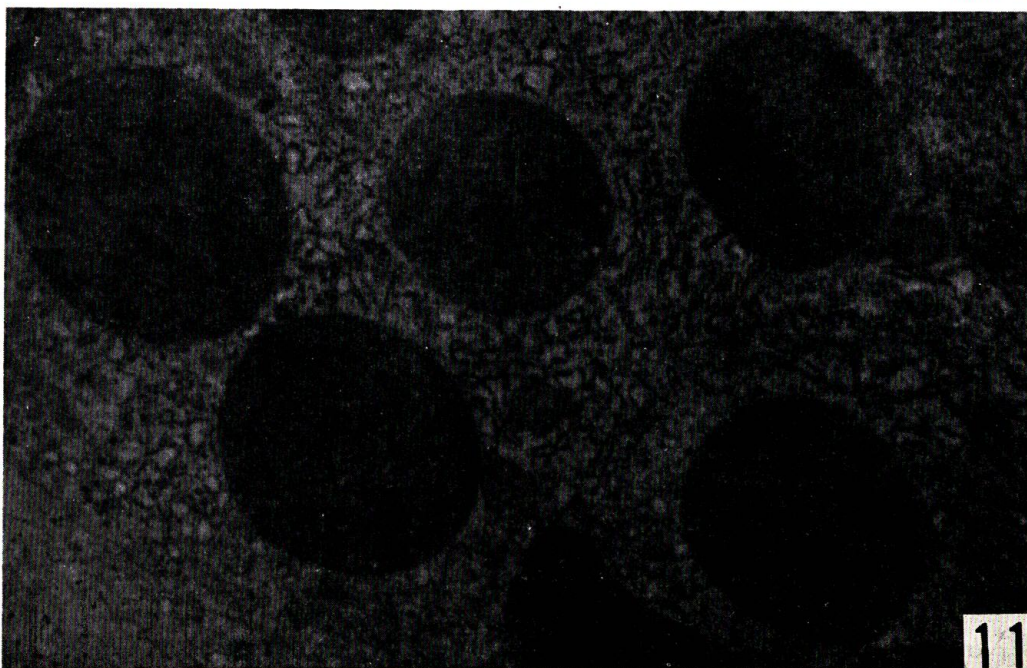
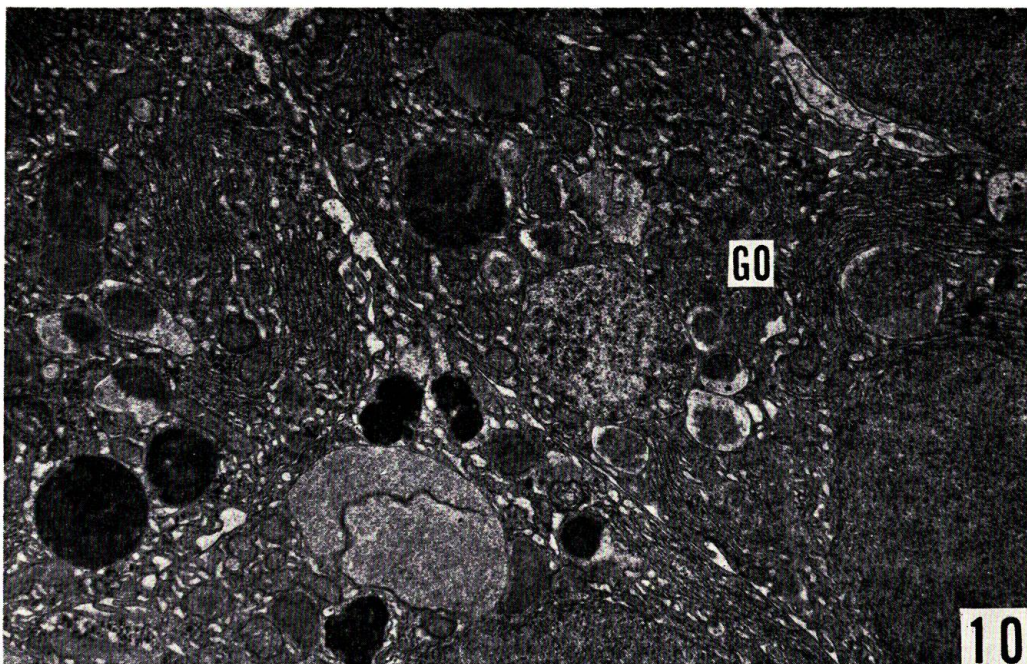


K. ISHII: Morphological changes in the liver of the kokanee

### PLATE III

Fig. 10. Female liver parenchymal cells of three-year-old fish collected in October '69. Various types of granules are seen in the cytoplasm. *GO*, Golgi complex,  $\times 6,300$

Fig. 11. Female liver parenchymal cell of two-year-old fish after spawning. Characteristic granules are seen in the cytoplasm.  $\times 13,200$



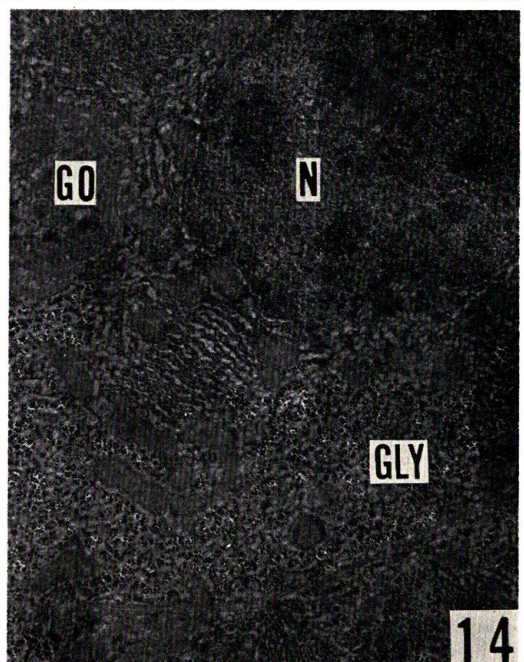
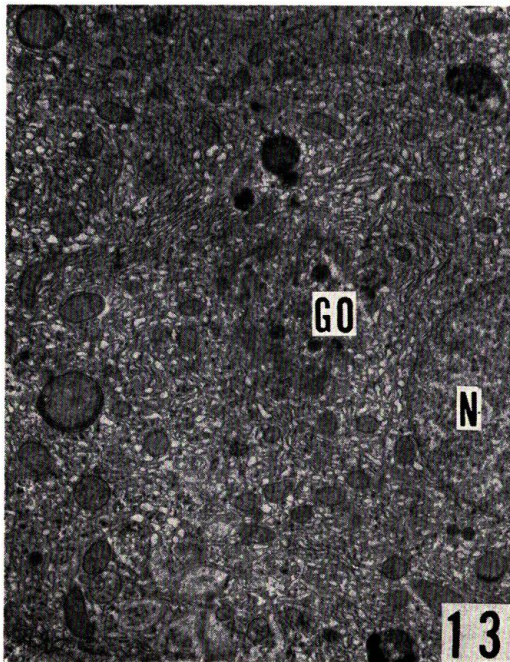
K. ISHII: Morphological changes in the liver of the kokanee

#### PLATE IV

Fig. 12. Liver parenchymal cell of a male fish collected in August '69. Glycogen granules are deposited in the cytoplasm. *F*, fat droplet; *GLY*, glycogen deposit; *M*, mitochondrion,  $\times 15,000$

Fig. 13. Liver parenchymal cell of a male fish collected in October '69. A lot of vesicular endoplasmic reticulum is seen in the cytoplasm. *GO*, Golgi complex; *N*, nucleus,  $\times 6,000$

Fig. 14. Liver parenchymal cell of a male fish collected in November '68. A large amount of glycogen is found deposited in the cytoplasm. *GLY*, glycogen deposit; *GO*, Golgi complex; *N*, nucleus,  $\times 6,900$



K. ISHII: Morphological changes in the liver of the kokanee