

## 両棲類の重複畸形の研究

## I. ヒキガエル卵の蓚酸カリウム処理によるデエリー除去と重複胚の形成

山 本 忠

三 重 大 学

昭和 32 年 10 月 19 日受領

ま え が き

両棲類の重複胚は卵軸の反転 (Schulze, '94; Wetzel, '96; Penners 及び Schleip, '28; Penners, '29), 卵の結紮 (Spemann, '28; Schmidt, '33), 受精卵又は初期胚の遠心処理 (元村, '35, '49; 岡田, 波磨, 梶島及び蒲原 '47, '49; 坂, '50), ラヂウム照射 (Pease, '39), 温度処理 (Hertwig, '98; 長谷川, '53) 等によつて得られている。これらの成因については卵の皮部細胞質の変化による二重陥入 (元村, '49) 卵黄の異常分布 (Dalcq 及び Pasteels, '38) 及び脂肪粒の異常分布 (岡田及び共同研究者, '47, '49) 等の考察がある。

筆者は蓚酸カリウム処理によりヒキガエルのデエリーが除かれると共に重複胚及び種々の抑制畸形が生ずることを知つたので報告する。

この実験の御指導を賜つた元村教授に謝意を表する。

## 材 料 及 び 方 法

ヒキガエル *Bufo vulgaris formosus* (Boulenger), の卵塊は 3 月上旬採集した。卵の各発生段階ごとに 1/100 モル蓚酸カリウムに 12 時間浸し、水洗後水道水に換へ、その後の発生を調べた。蓚酸カリウム処理により、卵を包むデエリー中のカルシウムは、蓚酸カルシウムとなつて沈澱し、デエリーは溶解し洗い除かれる。沈澱物は分光分析及び定性分析の結果、蓚酸カルシウムであることを確認した。

桑実期に処理したものはデエリー無しで正常に近い発生を続けた。胞胚期、囊胚期に処理したものからは多数の重複胚を生じた。重複胚の外、種々の抑制畸形が得られたが、これ等の畸形は尾芽期にブアン氏液で固定し、10 $\mu$  連続切片とし、デラフィールド・ヘマトキシリン、エオジンで二重染色し観察した。

## 実験結果及び観察

得られた畸形は、その性質上二つの型に分けられる。一つは重複畸形で、脊索、神経管及び原腸が対をなし、特に神経管と脊索は頭部より尾部に至るまで平行に並ぶ。

第二の型は抑制畸形と呼ばれるもので二裂脊髄 (Spina bifida), 単鼻, 及び単眼畸形などである。

Table 1. Effects of Potassium Oxalate on the Embryo of *Bufo vulgaris*

| Stage of treatment | Number of double embryo | Number of spina bifida | Number of other deformations | Dead embryos | Normal embryos |
|--------------------|-------------------------|------------------------|------------------------------|--------------|----------------|
| Cleavage           | 0                       | 0                      | 0                            | 2            | 298            |
| Morula             | 0                       | 0                      | 3                            | 7            | 290            |
| Blastula           | 4                       | 0                      | 7                            | 23           | 276            |
| Early gastrula     | 9                       | 5                      | 7                            | 27           | 252            |
| Late gastrula      | 2                       | 8                      | 11                           | 13           | 266            |
| Neurula            | 0                       | 12                     | 13                           | 16           | 259            |

第 1 表に示す如く重複胚は胞胚期及び囊胚期に処理したものから得られ、神経胚以後に処理したものからは得られない。二裂脊髄には二つの種類があり、一つは囊胚期以前に処理したものから得られる陥入抑制によつて生じたものであり。他の一つは陥入完了後である神経胚期に処理して神経管の形成を抑制して生じたものである。これらは形態的に異り、前者は卵黄栓が見られ頭部は完全で胴及び尾部が二裂している。後者

の 12 個体は卵黄栓はなく頭部より尾部まで完全に二分された棒状の脊髓が見られ、その下部の脊索は中胚葉化している。その他の抑制畸形は水腫、単鼻及び単眼などであるがここでは除く。

重複胚はすべて左右の大小がなく同形同大の脊髓及び脊索が平行に並び、原腸、心臓も対をなしている。あるものは頭部は完全な双胚で胴及び尾部に於て癒合している。しかしこの場合も神経管や脊索は尾部に至るまで平行している。中央部の筋節は互に癒合して一本になっている。

### 考 察

観察された 15 個体の重複胚中、胞胚期に処理して得られたものは頭部重複畸形に属するが胴及び尾部の内部構造は脊髓、脊索とも対をなして存在する。また残りの 11 個体は平行重複畸形と考へられ外部形態は一見一個体の様に見えるが内部構造は神経管及び脊索とも対をなし、しかも平行に並んでいる。これらの成因は卵黄の異常分布による陥入障害によつて生ずるのでなく、形成体の生理的二等分と考へる。

Bellamy, '19 によれば囊胚期の原口背唇部が最も感受性が高いとされているが、蓚酸カリウムで処理した時、卵の保護物質であるデエリーが除去されると同時に原口背唇部が侵されると考へられる。そしてこの部分は生理的に二等分され、それぞれが独自に陥入し、上部の外胚葉に働いて神経管を誘導する。また下部の内胚葉に働いて原腸を作ると考へる。このことは得られた重複胚のすべてに左右に大小がないことから推論される。

両棲類のデエリー除去は Hluckovsky, '27 が紫外線照射法を報告して以来よく用いられているが蓚酸カリウム液に浸すことによつても洗い除かれる。デエリー溶解の機構は蓚酸カルシウムの沈澱と同時溶解することから、カルシウムのイオン結合の糖蛋白からカルシウムが蓚酸により取除かれ可溶性の低分子の構造になるためと考へる。この蓚酸カリウムによるデエリー除去法は適濃度で処理すれば全く無害な点に今後の利用性がある。

神経胚期に処理したものから 12 個体の二裂脊髓が得られたが、これ等は陥入抑制によつて生じたものと

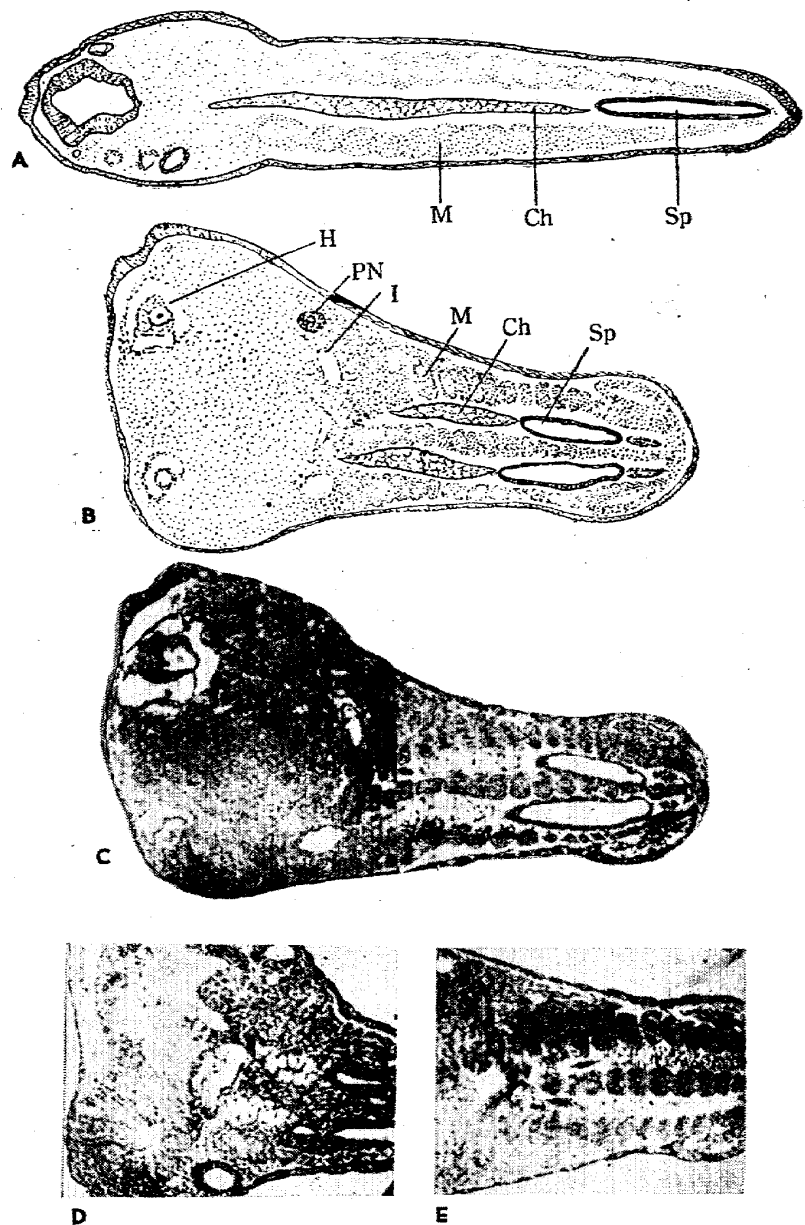
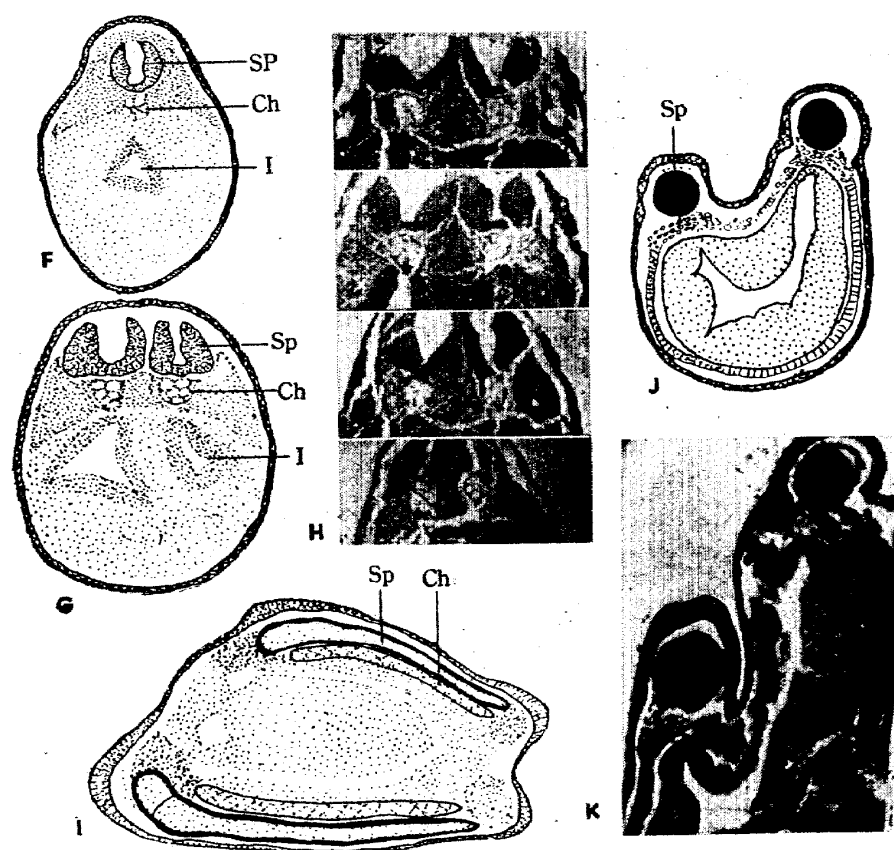


Fig 1. Comparison of normal and double embryos. A. A frontal section of the control embryo. B-E. A frontal section showing the presence of two chordae and two spinal cords.



## Abbreviations in the figures

|                |                 |                |            |
|----------------|-----------------|----------------|------------|
| Ch, chorda     | H, heart        | Int, intestine | M, myotome |
| PN, pronephros | Sp, spinal cord |                |            |

Fig. 2. Comparison of normal and double embryo, and spina bifida which caused by the prevention of forming the neural tube. F. A cross section of the control embryo. G.-H. Cross section of double embryo, showing the presence of two chordae and two spinal cords. I. A sagittal section of double embryo. J.-K. Cross section of spina bifida, showing the presence of bar like spinal cords and degenerated notochord.

異なり、神経管の形成が抑制されて生じたものである。外観は重複胚の如き形態を示すが内部構造は全く異なる。頭部から尾部に平行に縦走する脊髄は管状でなく棒状である。またその下部の脊索は形成されず、中胚葉状である。

蓼酸カリウム処理により水腫や単眼畸形も得たが、蓼酸リウチム処理によつても多数得ているので、これらは後に報告する。

## 摘 要

ヒキガエル卵のデエリーは蓼酸カリウム液に浸すことにより洗い除くことが出来る。卵割期に処理したものは正常の発生を続けたが、胞胚期、囊胚期に処理したものから重複胚を得た。これ等はすべて左右に大小のない平行重複胚であつた。また二裂脊髄は従来の陥入抑制によるものの外に神経管の形成抑制によると考えられるものが得られた。

## 文 献

- Ichikawa, M, '42 Memo. Coll. Sci. Kkoto Imp. Univ. Ser. B 17, 175. Motomura, I, '49 Sci. Rep. Tohoku Univ. Biol., 18, 127. 元村 勲 '49 実験形態学 5, 133. 岡田 要, 波磨忠雄, 梶島孝雄 '47 動雑 57, 15. ———, '49 実験形態学 5, 135. 長谷川 和 '53 動雑 62, (6). Child, C. M. '41 Patterns and Problems of Development. Rugh, R, '52 Experimental Embryology. Brachet, J, Chemical Embryology.

## Résumé

## Double Embryos induced by Split Organizer of Toad Eggs treated with Potassium Oxalate

Tadashi YAMAMOTO

Mie University

Amphibian double embryos are able to be produced by many treatments, such as by inverting at 2 cell stage, constricting at 2 cell stage or even at the later stage, centrifuging before the beginning of the first cleavage, etc. The aim of the present study was to remove the jelly capsule of the egg by potassium oxalate and to observe the effects of potassium oxalate on the egg. The material used was the egg of the toad, *Bufo vulgaris formosus* (Boulenger). The jelly capsule of the egg could be removed in potassium oxalate solution. Calcium in the jelly capsule was precipitated as calcium oxalate, then the capsule being dissolved in water. Those eggs which were thus treated at the cleavage stage underwent the almost normal development without jelly capsule, whereas those treated as described above at the blastula and gastrula stages produced many double embryos (cf. Table 1). Each double embryo had two spinal cords and two notochords, which were all parallel from the head region to the caudal. The right side cord or notochord had the same size as the left one. Some double embryos had a couple of hearts and guts (cf. Figs 1-2). These double embryos were thought to develop under the effect of the organizers which were divided into two equal parts. Some embryos at neural stage developed spina bifida by treatment with potassium oxalate. Each bar like spinal cord was caused by the prevention of forming the neural tube (cf. Fig 2).

## 正 誤

本誌 66 巻・第 12 号 竹田公久氏の論文中下記の誤りがありましたので訂正します。

| 頁   | 行        | 誤                | 正               |
|-----|----------|------------------|-----------------|
| 442 | 下より 13   | 無関性刺激            | 無関刺激            |
| 448 | 11       | 汎去               | 汎化              |
| "   | 16       | プロコル             | プロトコル           |
| 449 | Résumé 1 | establised       | established     |
|     | 下より 5    | the              | the             |
|     | 4        | differenetiation | differentiation |
|     | 4        | pserved          | preserved       |