

幼若鶏の松果体の微細構造，特に明暗光周期との関連性について

大島 浩二・松尾 信一

信州大学農学部 家畜生体機構学教室

緒 論

爬虫類以下の下等脊椎動物の松果体は、いわゆる“第三の眼”として光を直接感受する役割を果たしているが、鳥類や哺乳類ではそのような光受容構造は退化し、内分泌器官の様相を呈している。

しかし、近年、鳥類や哺乳類の松果体に含まれるインドールアミンの代謝が環境の明暗光周期に同調して日内リズムを示すとされている。QUAY^{18,19)} (1963, 1964) はラットの松果体においてセロトニン含有量が昼間に高く、夜間に減少し、メラトニン含有量はその逆のリズムで昼間に低く、夜間に高くなることを見出した。このメラトニン生合成リズムは鶏やウズラでも認められ (LYNCH 1971)¹¹⁾、メラトニン生合成酵素の1つである NAT (Serotonin N-acetyltransferase) の活性のリズムに起因することが明らかにされた (KLEIN と WELLER^{9,10)} 1970, 1972, BINKLEY ら^{1,2)} 1973, 1975)。これらの知見より、鳥類や哺乳類の分泌型松果体は、光入力をホルモン出力に変換する光-神経-内分泌器官として機能し、光環境と関連して生物時計の役割を果たしているのではないかと推察されている (UECK と WAKE 1977)²⁹⁾。

一方、形態学的には哺乳類について MATSUSHIMA ら¹²⁾ (1977) がマウスの松果体細胞や神経線維にみられる各種小胞を、VOLLRATH と HUSS³⁰⁾ (1973) が、guinea-pig の松果体細胞にみられる synaptic ribbon をそれぞれ指標として、松果体の細胞組織の日内変動について報告している。鳥類では FUJIE⁷⁾ (1968), BISCHOFF³⁾ (1969), BOYA と ZAMORANO⁵⁾ (1975), BOYA と CALVO⁴⁾ (1978), DIDIO⁶⁾ ら (1978) が鶏の松果体について報告しているが、微細構造と機能との関係については一定の見解に達していない。したがって、鶏松果体の代謝機能についての生化学的知見に対する形態学的研究分野での裏付けは十分に行なわれていない。また、RALPH²³⁾ (1978) は松果体による繁殖機能の調整に関する総説の中で、鳥類松果体の細胞組織の光周期性に対して否定的である。

著者ら (大島と松尾 1977)¹⁴⁾ は先に、光学顕微鏡レベルで成鶏の松果体の核形態が明暗光周期に関連して幾らか変動することを示唆したが、今回は人工光周期下の明期と暗期における幼若鶏の松果体の微細構造について電子顕微鏡レベルで詳細に比較検討を行なった。

この報告の概要は日本畜産学会第70回大会¹⁵⁾で口頭発表した。

材料および方法

材料として用いた鶏は白色レグホーン種で孵化後 LD 12:12 (午前6時から午後6時までの12時間を明期, その後の12時間を暗期とした) の人工光周期のもとで飼育した1カ月齢 (雄8羽, 雌6羽) と2カ月齢 (雌4羽) のもの合計18羽である。1カ月齢の雄鶏の体重は平均290g, 精巢の総重量は平均50mgで, 雌鶏の体重は平均270g, 卵巣重量は平均67mgであった。一方, 2カ月齢の雌鶏は体重が平均530g, 卵巣重量は平均130mgであった。

1カ月齢の鶏のうち10羽 (雄5羽, 雌5羽) は微細構造の観察のために電子顕微鏡標本を作製し, 1カ月齢の鶏4羽 (雄3羽, 雌1羽) と2カ月齢のもの4羽 (雌4羽) は連続切片から全体像を観察するために光学顕微鏡標本とした。

松果体の採取はすべて明期の中間と暗期の中間の時刻, すなわち12時と0時にそれぞれ半数ずつ行なった。

電子顕微鏡標本は Millonig のリン酸緩衝液 (pH7.2~7.4) で希釈した約1.7%の四酸化オスミウム水溶液にて2時間浸透固定させた後, エタノールにより脱水し, エポキシ樹脂包埋を行なった。そして, Porter-Blum MT-1型超ミクロトームで薄切後, 酢酸ウランとクエン酸鉛の二重染色を施し, 日立 HS-9型電子顕微鏡にて観察を行なった。光学顕微鏡標本は通常のプロアン固定後, 常法によりパラフィン包埋し, 連続切片を作製して, ヘマトキシリン・エオシン染色を行ない観察に供した。

結果および考察

本研究において, 光学顕微鏡による観察では, 幼若鶏の松果体を構成する細胞を実質細胞とし, さらに電子顕微鏡による観察では, それらの実質細胞を, 主として, 光受容型の松果体細胞と分泌型の支持細胞とに分類した。

1. 幼若鶏の松果体の組織構成

成鶏の松果体は幾らかの濾胞を含む充実した腺体で, 血管や神経線維をとまらう結合組織によって小葉状に分割された構造を呈する (大島と松尾 1977)¹⁴⁾。しかし, 本研究において用いた1カ月齢および2カ月齢の幼若鶏の松果体では, 成鶏のものに較べてより多くの大型濾胞を有し, 松果体脚 (柄) へ移行する下部に極めて細長い管状の濾胞を認めた (Figs. 1, 2)。このような1・2カ月齢の松果体の組織形態は STUDNIKA²⁷⁾ (1905) や OKSCHE と VAUPEL-VON HARNACK¹⁷⁾ (1966) らの分類にしたがえば, 成鶏にみられる solid-lobular type (充実・小葉型) ではなくて, ハトやアヒルに代表される tubulofollicular type (管状濾胞型) に相当する。BOYA と CALVO⁴⁾ (1978) も鶏の松果体の濾胞は孵化後増加してピークに達した後, 成長とともに内腔が縮小し, 量的にも減少すると報告している。

幼若鶏の松果体の実質組織の中に有糸分裂の前期から後期までの種々の段階の細胞を数多く観察した (Figs. 4, 5)。それらの細胞は細胞質が極めて明調で染色体が明瞭であるので容易に識別可能であり, 大部分は濾胞腔に面する細胞の間に位置している。それらは実質細胞の大部分を占める松果体細胞の分裂像ではないかと推測したが, 明確に断定することはでき

なかった。今後更に追究する予定である。

また，幼若鶏では松果体の被膜や小葉間結合組織内に多くのリンパ細胞が集合し，1カ月齢のもので稀にリンパ小節状構造を呈して松果体の全腺体の半分以上を占めるのを観察した (Fig. 3)。ROMIEU と JULLIEN²⁴⁾ (1942) や QUAY²⁰⁾ (1965) とも鶏の松果体内に形成されるリンパ組織について報告している。BOYA と CALVO⁴⁾ (1978) はそれらのリンパ組織が孵化後15日から30日頃までに急増し，その後は緩やかに減少していくことを報告している。鶏の松果体にみられるリンパ組織の消長は，鳥類特有のリンパ器官であるファブリンスウス嚢の消長にも類似していて興味深い。

以下，電子顕微鏡レベルで詳細に観察した結果について記す。

2. 濾胞腔に面する細胞の微細構造

(1) 光受容型の松果体細胞

鶏の光受容型の松果体細胞を FUJIE⁷⁾ (1968) は Pinealocytes (松果体細胞)，また，BISCHOFF³⁾ (1969) は photoreceptor cells (光受容細胞) として分類している。今回の観察でも松果体細胞は濾胞周辺にみられる同型の細胞とともに実質細胞の大部分を占める。この細胞は西洋梨形を呈し，濾胞腔へ突出する頭部には，中心細管を欠き9対の周辺微細管のみの配列をみる9+0型の線毛を具えている (Figs. 6, 7)。核は通常，円形で基底部に位置し，多くの核膜孔がみられる。基底部には幾らかの突起を有し，豊富な微細線維 (microfilaments) を含む。これらの突起の末端には電子密度の高い杆状構造物の周囲に一層のシナプス小胞をともなう synaptic ribbon や直径約100nmの小型顆粒小胞を幾らか認めた (Figs. 9, 10)。核上部には弯曲したゴルジ装置がみられ，その周辺には稀に，突起末端に出現したものと同型の小型顆粒小胞が存在した (Fig. 8)。この顆粒は稀に，ゴルジ層板を形成する扁平嚢の内腔にみられるので，ゴルジ装置はこの顆粒の産生に関与するものと思われる。FUJIE⁷⁾ (1968) はこの種の小型顆粒小胞にメラトニンが含まれるかもしれないと示唆しているが，今回の幼若鶏の松果体において，これらの顆粒小胞の出現は全般的に少なく，明期と暗期での差についても不明瞭であった。したがって，生化学的方法で得られたメラトニン含有量の日内リズムの知見と顆粒小胞の増減とは相関関係を認められなかったので，著者らはこれらをメラトニン含有の顆粒小胞と断定することは無理であるように考察した。

その他，核上部には基質の電子密度が幾分高い杆状のミトコンドリアの集合や幾らかの粗面小胞体もみられ，それらの間に遊離リボゾームの小集団であるポリゾームが散在する (Fig. 6)。また，比較的電子密度の低い脂肪滴や多胞体，ライソゾームと思われる極めて電子密度の高い dense body を観察した。このライソゾームは小型で空胞を含むものや杆状のもの，大型で球状のものなど種々の形態を呈したものを観察した (Figs. 24, 25)。

核上部から頭部へ移行する頸部はくびれて隣接細胞との間に tight junction を形成する。小丘状の頭部にはポリゾームが散在し，少量の粗面小胞体などの膜構造や濾胞腔に面した部分に無顆粒小胞を観察した。また，頭部から核上部にかけては微細小管 (microtubules) が豊富にみられる。線毛は基部に一对の中心体や rootlet を有し，先端は著しく膨張して濾胞腔内へ伸張するが，内部に特別な構造はみられない。

濾胞腔には滑面膜からなる同心円状の層板構造が存在し，頭部や線毛の先端に接しているような像を認めた (Figs. 7, 11)。このようなミエリン膜状の構造はイエズメヤアヒル，ハ

トにもみられ (OKSCHE と VAUPEL-VON HARNACK 1965)¹⁶⁾、脊椎動物の網膜視細胞の外節部と幾分類似しているの、直接的な光受容もありうるとする意見もある (BISCHOFF 1969)³⁾。しかし、FUJIE⁷⁾ (1968) や RALPH²²⁾ (1970) はそれらを下等脊椎動物の松果体にみられる光受容細胞が退化したものとみなし、森田¹³⁾ (1972) はハトの松果体を用いて電気生理学的方法により検討したところ、光刺激に応ずる電位を観察できず、鳥類の松果体は神経内分泌器官としての役割を果すのではないかと推測している。

一方、梁瀬と阪本³²⁾ (1965) や片桐⁸⁾ (1978) らは特異的な光受容器を有する海産の軟体動物、イソアワモチ (*Onchidium verruculatum* Cuvier) の背眼の微細構造について報告している。それらの視細胞の光受容部として考えられている外節部は同心円状の lamella 構造を呈している。著者らが今回幼若鶏の松果体において観察した濾胞腔内の層板構造は、イソアワモチ背眼の光受容部の構造と極めて類似している。したがって幼若鶏の松果体が形態学的に光感受機能を有する構造を保有しているようであって、今回の著者らの観察は興味深い知見であるように考察している。

(2) 分泌型の支持細胞

光受容型の松果体細胞の間には、濾胞の内腔面に多くの微絨毛を具え、時には幾らかの微細線維を含んだ比較的明調な細胞が存在する。この種の細胞の核は基底部に位置し、核上部は両側面を隣接する松果体細胞に圧迫されて狭く、濾胞腔に面して漏斗状に拡張した不規則な形態である (Figs. 12, 13)。切片像で時には、松果体細胞の間にこの漏斗状の頂部のみがみられた (Fig. 14)。

この細胞には大型のライソゾームはみられないが、松果体細胞のものより幾分大きい、直径約200nmの顆粒小胞状の中型 dense body が出現し、特に、濾胞腔に面した微絨毛直下に集合する傾向がみられた。また、微絨毛間の形質膜には小胞状の陥入が認められるので、dense body の動向との関連性が推測される。FUJIE⁷⁾ (1968) はこの dense body をライソゾームか色素顆粒の一種とみなし、この種の細胞を支持細胞に分類しているが、BISCHOFF³⁾ (1969) はこの dense body を分泌顆粒小胞とみなし、この種の細胞を分泌細胞と考察している。一方、BOYA と ZAMORANO⁵⁾ (1975) は2~5日齢の鶏の松果体において、このような dense body は存在しないと報告しているので、孵化直後には産生されないものと思われる。通常、この細胞は線毛を欠くとされているが、稀に、Fig. 12 のように微絨毛の間から一本の線毛が濾胞腔内へ伸張するのを観察した。

著者らもこの dense body を分泌顆粒状の小胞と推測しているが、この種の細胞形態には多様性がみられるので機能的に明らかにするためには今後更に検討する必要がある。

3. 濾胞周辺の細胞の微細構造

濾胞の周辺には時おり、松果体細胞と類似した細胞を認めた。これらの細胞は濾胞腔に接していないので小丘状の頭部や線毛を有しないが、核周辺にはミトコンドリアが集合し、よく発達したゴルジ装置や近接する小型顆粒小胞を認めた。また、種々の動態を示すライソゾームもみられ、松果体細胞と同型のものとして推測した。

濾胞細胞の周辺や基底膜に接して、極めて電子密度の高い小型の細胞を観察した (Fig. 15)。この暗調細胞の核は不整形で細胞質に乏しく幾らかの突起状を呈して隣接細胞間へ伸張している。通常、遊離のリボゾームが多く、核周辺にはミトコンドリアやゴルジ装置、粗

面小胞体などが少量存在し，稀に，直径約200nmの中型顆粒小胞や大型のライソゾームを含むものもみられた。また，近接する幾つかの暗調細胞が突起によって連結するのを認めた。FUJIE⁷⁾ (1968)はこの種の暗調細胞に豊富な微細線維を観察し，グリア細胞として分類している。一方，BOYAとZAMORANO⁵⁾ (1975)はこの種の暗調細胞が多くのポリゾームを有し，隣接細胞をとり囲むように幾つかの突起を伸張させるのを観察し，星型細胞として分類している。また，それらの細胞が，時には，濾胞周辺の小空洞と接し，内腔面に少量の微絨毛を具えると報告している。

著者らの観察した1カ月齢の鶏の松果体において，この種の暗調細胞に微細線維を認められず，形態学的にはBOYAとZAMORANO⁵⁾ (1975)が観察した星型細胞に相当するものと推測している。しかし，それらの暗調細胞が濾胞の小空洞に接するのは極めて稀で，微絨毛はみられなかった。

従来，鳥類の松果体では神経細胞の存在は否定的であった(STAMMER²⁶⁾ 1961, WIGHTとMACKENZIE³¹⁾ 1970)。しかし，QUAYとRENZONI²¹⁾ (1963)やUECKとKOBAYASHI²⁸⁾ (1972)らはイエズメで，著者ら(大島と松尾 1977)¹⁴⁾は成鶏を用いて光学顕微鏡により，松果体実質中に神経細胞を観察している。

今回も，実質組織内に極めて稀であるが，通常の神経細胞を認めた(Fig. 16)。電子顕微鏡下では，この神経細胞は松果体細胞よりも比較的大きい楕円形の細胞で，核，細胞質ともに極めて電子密度が低い。核は円形で，明瞭な核小体を含み，核膜には多くの凹凸がみられる。細胞質にはミトコンドリアやゴルジ装置が散在し，数カ所に粗面小胞体が層板状に集合したニッスル小体を観察した。鶏の松果体の形態学的研究で，神経細胞を電子顕微鏡レベルで観察したのは著者らが最初ではなかろうか。

4. 小葉周辺部および間質組織の微細構造

小葉周辺部の基底膜付近には，時おり，多くの細胞突起がいろいろ組んだ複雑な構造を呈する(Figs. 17, 18)。これらの突起には直径約100nmの顆粒小胞や直径約50nmの無顆粒小胞，synaptic ribbonなどを含むものや多くの微細線維を含むもの，ほとんど無構造のものなど様々である。このような形態は中枢神経系において神経突起のまわりを幾つかの樹状突起がとり囲んだneuropile(神経網)の構造に類似している。しかし，このような小型顆粒小胞やsynaptic ribbon，微細線維などは松果体細胞のものと推測している。これらの突起のほか，細胞質の一部の切断面がすべて，比較的小型のミトコンドリアで占められ，網膜視細胞のellipsoidの部位の横断面に類似したものや粗面小胞体からなる同心円状の層板構造を含むものなどを数多く観察したが(Fig. 19)，全体像が得られず明確にできなかった。また実質組織内には直径約50nmの顆粒および無顆粒小胞を豊富に含む無髓神経線維が網状に分布している(Fig. 20)。

基底膜下の間質組織には，コラーゲン線維束や線維芽細胞，毛細血管などが存在していた。この毛細血管は腺組織特有の，いわゆる有窓性内皮細胞からなり，所々に窓状の開口部がみられ，血液成分が実質組織に取り込まれる部位と思われる(Fig. 21)。また，実質組織内にみられたものと同様の無髓神経線維がコラーゲン線維内に分布し，毛細血管周囲腔ではシュワン細胞に包みこまれたものを観察した。

5. 明期と暗期における組織学的変動

今回の幼若鶏の松果体において、明期すなわち昼間の12時に採取したものの実質細胞の核は、円形のもので直径 $5.0\sim 5.5\mu$ と幾分小型であり、形態は不整形で不揃いであった。それに対し、暗期すなわち夜間の0時に採取したものでは、核は円形に近いものが多く直径 $5.5\sim 6.0\mu$ で明期のものと比較して幾分大きかった (Figs. 22, 23)。このような実質細胞の核形態の変動は、著者ら (大島と松尾 1977)¹⁴⁾が成鶏の松果体を用いて観察した結果と同様であった。

また、明期の幼若鶏の松果体では、濾胞壁の細胞の核上部が 10μ 以上で高く、濾胞腔は幾分狭く、閉鎖したものもみられた。さらに、電子顕微鏡による観察では、同時期の松果体細胞は核が小型で、細長い核上部にはミトコンドリアの集合やよく発達したゴルジ装置が存在する。ライソゾームは大きく、充実型のものが多くみられた (Figs. 22, 24)。

一方、暗期のものでは濾胞壁の細胞の核上部が約 $7\sim 8\mu$ で明期のものより低く、濾胞腔は開いたものが大部分であった。同時期の松果体細胞は大型円形の核を有し、核上部は比較的短小で、ミトコンドリアやゴルジ装置が明期のものより幾分少なかった。ライソゾームは明期のものに較べてはるかに小型で杆状のものや空胞を含むものが少量存在している (Figs. 23, 25)。

synaptic ribbon は小葉周辺部にみられる松果体細胞の突起の末端部に出現し、暗期では明期のものより幾分多く、VOLLRATH と HUSS³⁰⁾ (1973) が guinea-pig の松果体で観察した結果と一致した。このような synaptic ribbon の増減は、光条件による松果体の機能変動に対応して生じるものと思われるので、これらの松果体細胞にみられる synaptic ribbon は退化、痕跡的なものではなく、機能的なものとして推測される。また、SMITH と FARQUHAR²⁵⁾ (1966) も、下垂体前葉の乳腺刺激ホルモン分泌細胞 (Prolactin cell) において、ライソゾームが過剰に生産された分泌顆粒と融合し、ホルモン分泌量を調整すると報告している。したがって、今回、幼若鶏の松果体細胞で認めた明期と暗期のライソゾームおよび synaptic ribbon の動態は、松果体の機能変動についての形態学的な指標となるかも知れない。

幼若鶏の松果体実質中にみられた有糸分裂細胞は暗期より明期において多く、松果体の有糸分裂による増殖活動はメラトニン合成活動とは逆の変動を示すことになる。

MATSUSHIMA ら¹²⁾ (1977) はマウスの松果体で、主として、間質組織内の無髄神経線維の終末部に出現する各種小胞を計量的に検討したところ、明期に顆粒小胞が増加し、暗期に無顆粒小胞が増加する日内変動を認めた。それに対し、今回の観察では、幼若鶏の一部のものについて MATSUSHIMA ら¹²⁾ (1977) の報告とは逆の変動傾向を観察したが、各種小胞の出現量が組織の各部位によって著しく異なり、個体差もみられたので明確にできなかった。

以上記したように、本研究の結果、幼若鶏の松果体の微細構造が光周期の明期と暗期間において異なった様相を示す事実を観察した。

要 約

1・2ヵ月齢の幼若鶏18羽を用いて、人工光周期(LD12:12)下における松果体の微細構造を観察し、明期と暗期で相異なるのを認めた。その結果は下記のようなものである。

1. 幼若鶏の松果体の組織構成は管状濾胞型であり、時には、濾胞の内腔に面して有糸分

裂の細胞が存在していた。

2. 光受容型の松果体細胞は濾胞腔に面して位置し，その頭部に線毛を具え，細胞質には種々の小器官や直径約100nmの顆粒小胞，synaptic ribbon を含有する。濾胞腔には滑面膜からなる同心円状の層板構造が存在し，松果体細胞の頭部や線毛の先端に接している。そのような層板構造はイソアワモチ背眼の光受容部の構造に極めて類似しているので，幼若鶏の松果体も形態学的に光感受機能を保有しているようで興味深い。

松果体細胞の間には分泌型の支持細胞が位置し，濾胞腔面に微絨毛を具える。通常，それらの微絨毛直下には，直径約200nmの顆粒小胞状の dense body が集合する傾向がみられる。

3. 濾胞周辺部には松果体細胞と同型の細胞や，核，細胞質ともに暗調でいくつかの突起を有する小型の細胞を観察した。

また，極めて稀に，実質組織内に通常の神経細胞を観察した。それらの神経細胞は楕円形で他の細胞より大きく，明調な細胞質にはニッスル小体が存在する。

4. 明期に採取した幼若鶏の松果体において，松果体細胞の核上部には暗期のものより比較的多くのミトコンドリアや幾分発達したゴルジ装置が存在していた。特に，ライソゾームは明期の松果体細胞では大きく充実したものが数多くみられ，暗期のものでは小型で空胞を含んだものや杆状のものが大部分で，幾分少なかった。

一方，松果体細胞の突起内にみられる synaptic ribbon は暗期のものでは明期のものより多く集合していた。以上のように，明期と暗期における松果体細胞のライソゾームや synaptic ribbon の増減は光周性反応と関連性を示すので，松果体の代謝機能についての形態学的な指標となるかも知れない。

引用文献

- 1) BINKLEY, S., MACBRIDE, S. E., KLEIN, D. C. and RALPH, C. L. 1973. Pineal enzymes: Regulation of avian melatonin synthesis. *Science* 181 : 273-275.
- 2) BINKLEY, S., MACBRIDE, S. E., KLEIN, D. C. and RALPH, C. L. 1975. Regulation of pineal rhythms in chickens: Refractory period and nonvisual light perception. *Endocrinology*. 96 : 848-853.
- 3) BISCHOFF, M. B. 1969. Photoreceptor and secretory structures in the avian pineal organ. *J. Ultrastruct. Res.* 28 : 16-26.
- 4) BOYA, J. and CALVO, J. 1978. Post-hatching evolution of the pineal gland of the chicken. *Acta anat.* 101 : 1-9.
- 5) BOYA, J. and ZAMORANO, L. 1975. Ultrastructural study of the pineal gland of the chicken (*Gallus gallus*). *Acta anat.* 92 : 202-226.
- 6) DIDIO, L. J. A., ALLEN, D. J., LITKE, L. L. and YEASTING, R. A. 1978. Light and electron microscopic study of the pineal gland in five-day-old chicks. *J. Submicr. Cytol.* 10 : 265-279.
- 7) FUJIE, E. 1968. Ultrastructure of the pineal body of the domestic chicken, with special reference to the changes induced by altered photoperiods. *Arch. histol. jap.* 29 : 271-303.
- 8) 片桐展子, 1978. イソアワモチ背眼にみられる繊毛型視細胞の微細構造. 日本電子顕微鏡学会第35回学術講演会講演予稿集 : 214.

- 9) KLEIN, D. C. and WELLER, J. L. 1970. Indole metabolism in the pineal gland: A circadian rhythm in N-acetyltransferase. *Science* 169 : 1093-1095.
- 10) KLEIN, D. C. and WELLER, J. L. 1972. Rapid light-induced decrease in pineal serotonin N-acetyltransferase activity. *Science* 177 : 532-533.
- 11) LYNCH, H. J. 1971. Diurnal oscillations in pineal melatonin content. *Life Science* 10, Part 1 : 791-795.
- 12) MATSUSHIMA, S., KACHI, T. and MUKAI, S. 1977. Functional relationships between sympathetic nerves and pinealocytes in the mouse pineal: Quantitative electron microscopic observations. *Arch. histol. jap. (Suppl.)* 40 : 279-291.
- 13) 森田之大, 1972. 松果体の光受容について. *日本生理学雑誌* 34 : 663-678.
- 14) 大島浩二・松尾信一, 1977. 成鶏の松果体及び第三脳室脈絡叢と光周期との関連性についての組織学的研究. *信大農紀要*. 14 : 23-31.
- 15) 大島浩二・松尾信一, 1978. 明暗周期下における幼若鶏の松果体の微細構造. 第70回日本畜産学会大会講演要旨 : 94
- 16) OKSCHE, A. and VAUPEL-VON HARNACK, M. 1965. Vergleichende elektronenmikroskopische Studien am Pinealorgan. *Progr. Brain Res.* 10 : 237-258.
- 17) OKSCHE, A. and VAUPEL-VON HARNACK, M. 1966. Elektronenmikroskopische Untersuchungen zur Frage der Sinneszellen im Pinealorgan der Vögel. *Z. Zellforsch.* 69 : 41-60.
- 18) QUAY, W. B. 1963. Circadian rhythm in rat pineal serotonin and its modifications by estrous cycle and photoperiod. *Gen. Comp. Endocrinol.* 3 : 473-479.
- 19) QUAY, W. B. 1964. Circadian and estrous rhythms in pineal melatonin and 5-hydroxy indole-3-acetic acid. *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.* 115 : 710-713.
- 20) QUAY, W. B. 1965. Histological structure and cytology of the pineal organ in birds and mammals. *Progr. Brain Res.* 10 : 49-86.
- 21) QUAY, W. B. and RENZONI, A. 1963. Comparative and experimental studies of pineal structure and cytology in passeriform birds. *Riv. Biol.* 56 : 363-407. (In Italian and English). Cited from 22).
- 22) RALPH, C.L. 1970. Structure and alleged functions of avian pineals. *Am. Zoologist* 10 : 217-235.
- 23) RALPH, C. L. 1978. Pineal control of reproduction: nonmammalian vertebrates. In 'Reiter, R. J. Progress in Reproductive Biology 4. The Pineal and Reproduction.' : 30-50.
- 24) ROMIEU, M. and JULLIEN, G. 1942. Sur l'existence d'une formation lymphoïde dans l'épiphyse des gallinacés. *C. R. Soc. Biol. (Paris)*. 136 : 626-628. Cited from 22).
- 25) SMITH, R. E. and FARQUHAR, M. G. 1966. Lysosome function in the regulation of the secretory process in cells of the anterior pituitary gland. *J. Cell Biol.* 31 : 319-347.
- 26) STAMMER, A. 1961. Untersuchungen über die Struktur und die Innervation der Epiphyse bei Vögeln. *Acta Biol. (Szeged)*. 7 : 65-75. Cited from 22).
- 27) STUDNIKA, F. K. 1905. Die Parietalorgane. Aves. In 'Oppel, A. Lehrbuch der vergleichenden mikroskopischen Anatomie der Wirbeltiere.' 5 : 1-254. Cited from 20).
- 28) UECK, M. and KOBAYASHI, H. 1972. Vergleichende Untersuchungen über acetylcholinesterase-haltige Neurone im Pinealorgan der Vögel. *Z. Zellforsch.* 129 : 140-160.

- 29) UECK, M. and WAKE, K. 1977. The Pinealocyte-A Paraneuron? A Review. Arch. histol. jap. (Suppl.) 40 : 261-278.
- 30) VOLLRATH, L. and HUSS, H. 1973. The synaptic ribbons of the guinea-pig pineal gland under normal and experimental conditions. Z. Zellforsch. 139 : 417-429.
- 31) WIGHT, P. A. L. and MACKENZIE, G. M. 1970. Dual innervation of the pineal of the fowl, *Gallus domesticus*. Nature 228 : 474-475.
- 32) 梁瀬 健・阪本佐登美, 1965. イソアワモチ背眼視細胞の微細構造. 動物学雑誌, 74 : 238-242.

Ultrastructure of the Pineal Gland in Young Chicks in Relation to Light-Dark Cycles

Koji OHSHIMA and Shinichi MATSUO

Laboratory of Functional Anatomy, Fac. Agric. Shinshu Univ.

Summary

In order to investigate the diurnal changes in the ultrastructure of the pineal gland, one and two months of age, eighteen young chicks were used at the light periods and the dark periods under the experimental photoperiod (LD 12 : 12). The results obtained are summarized as follows:

1. In light microscopy, the pineal glands of young chicks are composed of the parenchymal cells and large follicles of long tubulofollicular type, conspicuously in the pedunculus of the glands. Occasionally, mitotic cells are found among the follicular cells.

2. In electron microscopy, the sensory-like pinealocytes are pear-shaped and have a cilium with 9+0 axial configuration, which project into the lumen. Their cytoplasm have many cell organelles, small dense-cored vesicles about 100nm in diameter and synaptic ribbons. The concentric lamellar complexes are frequently observed in the follicular lumen, and which contact with the cilia and the head portions of the pinealocytes. It is very interesting fact that such lamellar structures of the pineal gland of chicks are extremely similar to those of the outer segments of the visual cells of the dorsal eyes in Molluscan, *Onchidium verruculatum* Cuvier.

The secretory-like supporting cells have irregular-shaped microvilli and some cored-vesicles about 200nm in diameter in the vicinity of the apical surfaces.

3. A few ordinary nerve cells are occasionally found in the pineal parenchyma. They are large oval in shape and have some Nissl bodies in pale cytoplasm.

4. It was found that in electron microscopy the pinealocytes of young chicks have many mitochondria, well-developed Golgi complexes and large lysosomes in solid type in the light periods, whereas they have a few cell organelles and somewhat smaller rods-like lysosomes with some vacuoles in the dark periods. On the other hand, the pinealocytes have more synaptic ribbons in the dark periods than in the light periods.

From the above finding, It seems likely that the ultrastructure of the pineal glands of young chicks may have sensory capability and also correlate with photo-periodic rhythm.

PLATES

PLATE 1

EXPLANATION OF FIGURES

For light microscopic observation, pineal glands of young chicks were fixed with Bouin's fluid and stained with hematoxylin · eosin.

For electron microscopic observation, they were fixed with osmium tetroxide and stained with uranyl acetate and lead citrate.

1. Light micrograph of a pineal gland of a young chick. Note numerous large follicles in the parenchyma and netty distribution of interlobular connective tissues. x50.
2. Light micrograph of pedunculus area of pineal gland. Note a very long tubular follicle (arrows). x100.
3. Light micrograph of lymphoid tissues (L) of pineal gland in a 1-month-old chick. These lymphoid tissues are observed in a half of a gland. x50.
4. Light micrograph of mitotic cell (arrow) among the follicular cells. Note distinct chromosomes in the pale cytoplasm. Follicular lumen (L). x400.
5. Electron micrograph of mitotic cell (arrow). Note a few mitochondria and somewhat electron dense substances. Follicular lumen (L). x2,540.
6. Electron micrograph of a sensory-like pinealocyte in a longitudinal section. Note a lot of mitochondria, well-developed Golgi complexes, a few lysosomes in the supranuclear region and abundant microtubules in the neck region surrounded by tight junction (arrows). The head portion of the cell projected into the follicular lumen. x4,000.
7. Electron micrograph of a head portion of the sensory-like pinealocyte. Note an expansion of cilium in the follicular lumen. Such cilium contacts with the concentric lamellar structure. x2,540.
8. Electron micrograph of higher magnification of supranuclear region of the sensory-like pinealocyte. Note a small granule (arrow) in the Golgi vesicle (G). Nucleus (N). x20,000.
9. 10. Electron micrographs of basal processes of the sensory-like pinealocytes. Note a synaptic ribbon, taking the shape of vesicle-crowned rodlet (arrow) in Fig. 9. x10,000. Note some cored-vesicles that are similar to those in vicinity of Golgi complexes in Fig.10. x20,000.

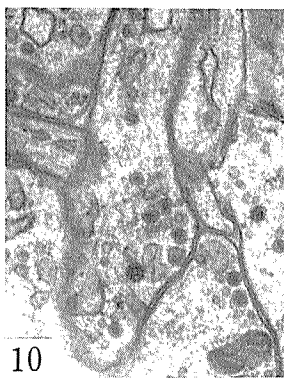
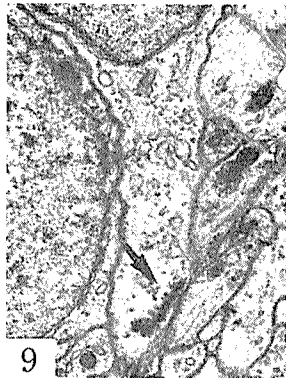
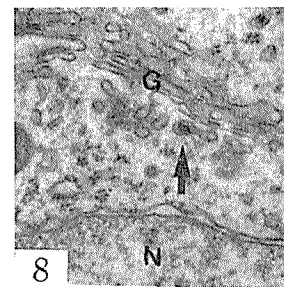
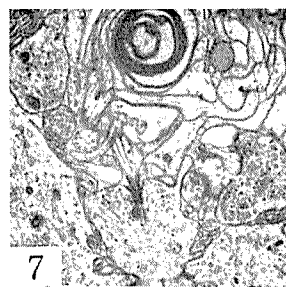
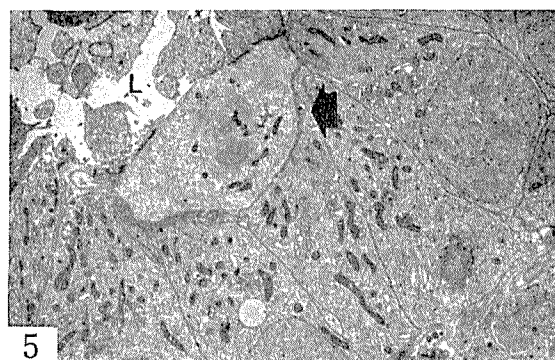
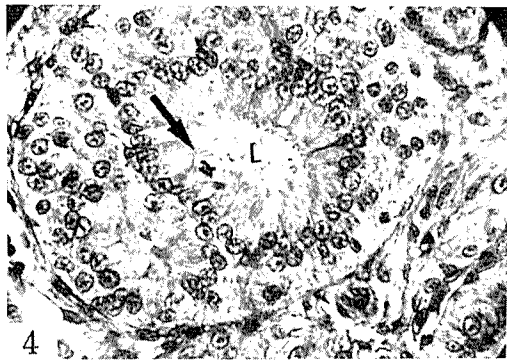


PLATE 2**EXPLANATION OF FIGURES**

11. Electron micrograph of concentric lamellar structures of smooth membranes in the follicular lumen. Note lamellar structures contacting with the apical head portion and the expanded cilia (arrows) of pinealocytes. x6,350.
12. Electron micrograph of follicular cells in a longitudinal section. Note the secretory-like supporting cells (s), occasionally possessing a cilium (arrow), between sensory-like pinealocytes (P). x4,000.
13. Electron micrograph of a secretory-like supporting cell. Note numerous microvilli and cored-vesicles about 200nm in diameter in the apical portion. x4,000.
14. Electron micrograph of a secretory-like supporting cell. Note vesicular pits (arrows) between the apical microvilli. x10,000.
15. Electron micrograph of a irregular-shaped dark cell (D) situated outside of the follicular cells. Note some processes of the dark cell, extending among the adjacent cells x4,000.
16. Electron micrograph of a ordinary large nerve cell. Note some accumulations of rough endoplasmic reticulum and polysomes in form of Nissl body (arrows). x4,000.
17. Electron micrograph of peripheral region of the pineal parenchymal lobule. Note numerous cell processes and bundles of unmyelinated nerve fiber (arrow) in the interlobular connective tissues. x2,540.

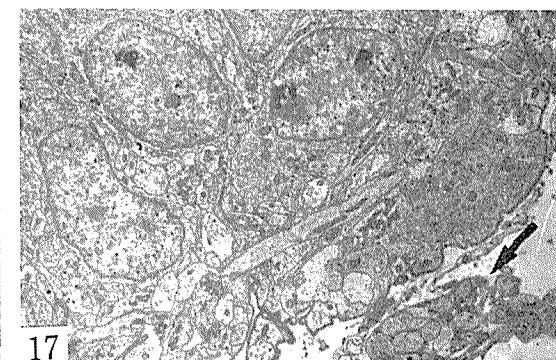
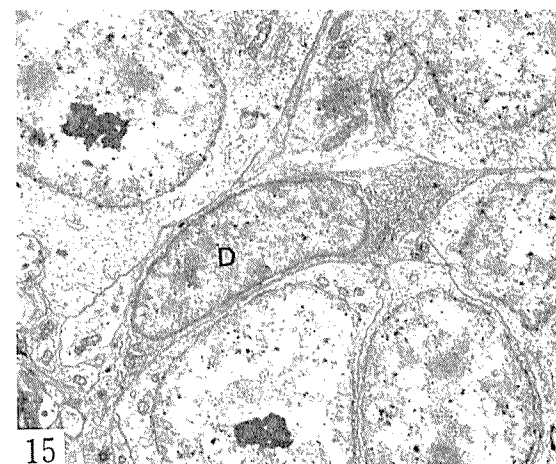
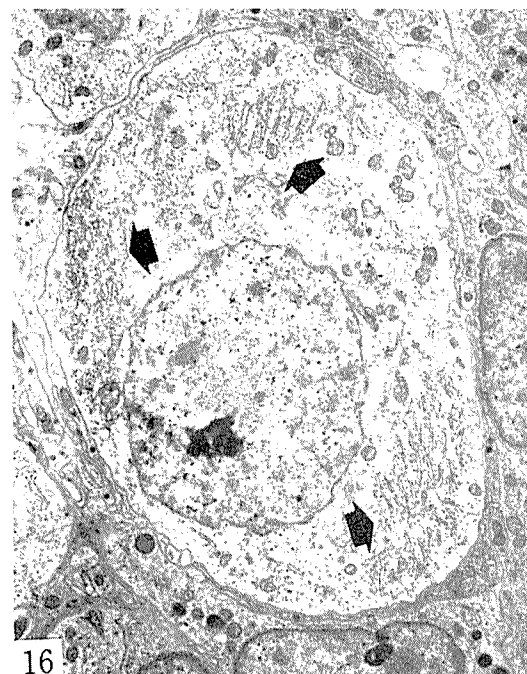
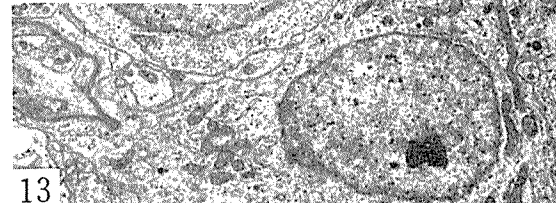
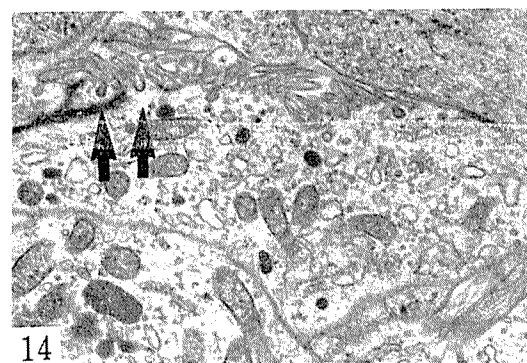
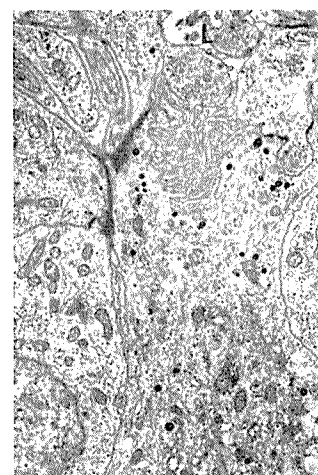
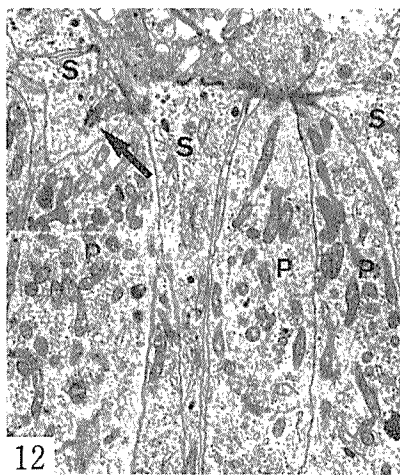


PLATE 3

EXPLANATION OF FIGURES

18. Electron micrograph of higher magnification of peripheral region of the pineal parenchymal lobule. Note cored-vesicles about 100nm in diameter and synaptic ribbons (arrows) in the processes of the pinealocytes. x20,000.
19. Electron micrograph of some accumulations of mitochondria and concentric rough endoplasmic reticulum in peripheral region of the pineal parenchymal lobule. x6,350.
20. Electron micrograph of unmyelinated nerve fiber. Note cored and clear vesicles about 50nm in diameter. x20,000.
21. Electron micrograph of fenestrated endothelium of capillary in the interlobular connective tissues. Note fenestrations (arrows), collagen fibers (CF) and basement membrane (BM). x20,000.
22. Light micrograph of a pineal follicle of a young chick in light period (12:00). Note smaller nuclei of the parenchymal cells and higher supranuclear region of the follicular cells. Follicular lumen (L). x400.
23. Light micrograph of a pineal follicle of a young chick in dark period (0:00). Note larger nuclei of the parenchymal cells and lower supranuclear region than those in light period. Compared with Fig. 22. Follicular lumen (L). x400.
24. Electron micrograph of pinealocytes of a young chick in light period (12:00). Note a lot of mitochondria, well-developed Golgi complexes and large lysosomes in solid type. x4,000.
25. Electron micrograph of pinealocytes of a young chick in dark period (0:00). Note a few cell organelles and somewhat smaller rods-like lysosomes with vacuole occasionally. Compared with Fig. 24. x4,000.

0:00; at midnight. 12:00; at noon.

