鶏の脳室脈絡叢の機能形態

特に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 家畜衛生学教室

緒論

脈絡叢とは脊椎動物の発生過程において脳室上衣細胞が脳軟膜の一部を伴なって脳室内に 膨隆したもので、側脳室、第三脳室、第四脳室の部位に存在する。それらは単層の上衣細胞 からなる上皮性脈絡板と豊富な毛細血管を含む脳軟膜由来の疎性結合組織から構成される。

脈絡叢は DANDY と BLACKFAN²⁾ (1914) CUSHING¹⁾ (1914) の古典的研究以来,最近に 至るまで脳脊髄液の唯一の分泌源としてみなされてきた。しかし,その後 MILHORAT⁷⁾ (19 69) は脳脊髄液が脈絡叢以外からも産出され,その組成も脈絡叢から分泌されたものと大差 ないことを報告した。そして,SATO と BERING¹²⁾ (1967) や MILHORAT ら⁸⁾ (1971) は, 脳脊髄液の一部がクモ膜下腔からも産出されるという知見を得ている。

形態学的には, MAXWELL と PEASE⁶) (1956) や DAVIS ら³) (1973) は, 脈絡叢上皮細胞の自由面(脳室面), 側面, 基底面などの構造と小腸粘膜, 腎臓近位尿細管, 下顎腺線条部, 眼球の毛様体などの上皮細胞との類似性について指摘している。その後も種々の動物を用いて数多くの研究がなされたにもかかわらず, 脈絡叢の形態と機能との関連性については依然として明確にされていない。

著者ら¹¹⁾(大島と松尾 1977)は先に,光学顕微鏡レベルで成鶏の第三脳室脈絡叢の細胞 組織と光周期との間に,わずかではあるが関連性が存在することを報告した。そこで,今回 も鶏を用い,3種類の異なった光周期のもとでの側脳室および第三脳室脈絡叢の微細構造に ついて電子顕微鏡レベルで比較観察し,さらに,脳脊髄液分泌の機序と光周期との関連性に ついて検討を行なった。

材料および方法

供試鶏は、白色レグホーン種の若鶏を30羽(雄17羽、雌13羽)用いた。それらは孵化後、 連続照明(Continuous Light-LL)、連続暗黒(Continuous Darkness-DD)、LD 12:12 (午前6時から午後6時まで明期)の3種類の光周期のもとで管理育成した。供試鶏は孵化 後2日間孵卵器内に留めた後、10羽(雄5羽、雌5羽)をLL、20羽(雄12羽、雌8羽)を LD 12:12の光周期に調節した育雛器へ収容した。そして、LD 12:12のうち10羽(雄7羽、 雌3羽)を10日間で水と餌の容器の位置に慣らせてから DD へ移動した。 各実験区の鶏はすべて1ヵ月齢に達した時に屠殺し,側脳室および第三脳室脈絡叢を採取 した。組織採取時刻は,すべての光周期において日本標準時の0時と12時で,各々5羽ずつ 行なった。LD 12:12では暗期の中間と明期の中間の時刻に相当する。

採取した組織は、直ちに4°Cに冷却した固定液に30-60分間浸透させた。固定液には5% 四酸化オスミウム水溶液、Millonigのリン酸緩衝液(pH7.2-7.4)、蒸留水を各々等量に 混合したものを使用した。その後、処法のようにエポン樹脂包埋を行なった。包埋した組織 は、MT-1型超ミクロトームによって薄切し、酢酸ウランとクエン酸鉛との二重染色を行ない、日立HS-9 透過型電子顕微鏡によって観察した。

結果および考察

1 脈絡叢上皮細胞(上衣細胞)の微細構造

(1) 細胞自由面の構造

脈絡叢上皮は単層の立方または円柱状の細胞からなり、脳室に面する自由面には、繊毛や 微絨毛を具えている。繊毛は1対の中心小管と9対の周辺小管を有し、それらの基部には基 底小体や根小毛(rootlet)とよばれる線維構造がみられる(Fig.1, 4)。

微絨毛の各々の突起は形,大きさ共に不規則である。そして,時にはこれらの突起が電子 密度の極めて低い膨出となり,基部がくびれて離出分泌(apocrine secretion)の様相を呈す る(Fig. 2)。MAXWELL と PEASE⁶⁾(1956)は、微絨毛の先端が切り離されて分泌物とな ると推測しているが,著者らは,DOOLIN と BIRGE⁴⁾(1969)が指摘するように,これらの 微絨毛先端の膨出像は,オスミウム酸の単独固定による人工産物(artifact)とみなした方 が妥当であるように推測している。著者らはグルタールアルデハイドとオスミウム酸の二重 固定の場合には,脈絡叢上皮細胞の微絨毛の各突起が先端の膨出を起こさず,細長く比較的 そろった形態を呈するのを観察した(Fig. 3)。

微絨毛間の形質膜には、小陥凹(pits)や管状の陥入(tubular invagination)がみられ、 その直下には被覆小胞(corted vesicle)(100nm)が存在する(Fig. 4)。 DAVIS ら³⁾(19 73)は、これらを細胞が比較的高分子の物質を吸収または胞飲(pinocytosis)する像と解 釈している。

以上のような微絨毛や形質膜の小陥凹および管状陥入,被覆小胞などの形態は,一般的に 吸収機能の盛んな細胞の特徴としてみなされており,小腸粘膜や腎臓近位尿細管などの上皮 細胞に認められる。著者らも,脈絡叢上皮細胞が脳脊髄液の分泌と同時に何らかの吸収機能 をも有しているのではないかと推測している。

(2) 細胞側面および基底面の構造

脈絡叢上皮の隣接細胞相互の接触面には,閉鎖堤(terminal bar)または癒着帯(zonula occludens-tight junction)が存在し,自由面付近の各々の細胞の全周を帯状に取り巻いている(Fig. 1)。 この構造は細胞相互の接着という機能のほかに,細胞間隙を通しての脳室と脈絡叢の組織内部との物質の流通を阻止する役割を果しているものと考えられている。

一般的に小腸粘膜,腎臓近位尿細管,下顎腺線条部,眼球の毛様体などの上皮細胞においてみられる,側面形質膜の指状嵌合(interdigitation)や基底膜の陥入(basal infolding)

大島・松尾:鶏の脳室脈絡叢の機能形態 特に光周期との関連性について

は,水分や電解質の透過輸送と密接な関係をもつ構造,つまり,細胞の表面積を拡張して能 動輸送の効率を高めるものとみなされている。

MAXWELL と PEASE⁶) (1956) はラットで, DAVIS ら³) (1973) は豚で, 脈絡叢上皮細胞の側面形質膜の指状嵌合の存在を報告している。しかし,本実験での観察によれば,若鶏の脈絡叢上皮細胞の側面形質膜では,基底部付近の小規模な指状嵌合以外は全体的に平滑な 膜構造を呈する。すなわち,若鶏の上皮細胞間の接触面の特徴としては,上記のラットや豚 などの哺乳類の上皮細胞の接触面にみられる指状嵌合のような複雑な構造がほとんど認めら れなかった点である。したがって,これら若鶏の脈絡叢上皮細胞間の接触面の構造からみる と,隣接細胞間の相互作用は若鶏では哺乳類とは異なっているように推測せざるを得ない。

また, MAXWELL と PEASE⁶⁾ (1956) はラットの脈絡叢上皮細胞で基底膜の陥入を 認め たが, DAVIS ら³⁾ (1973) は豚で, DOOLIN と BIRGE⁴⁾ (1969) は成鶏でそのような構造を 報告していない。本実験の若鶏では, ラットの場合ほど基底膜の陥入はみられなかったが, 胞体下部が基底膜に沿って隣接細胞へ突起状に侵入するのをしばしば認め (Fig. 5), 若鶏 の脈絡叢上皮細胞の基底部においても若干の表面積拡張がなされているものと推察している。

(3) 細胞内部の微細構造

脈絡叢上皮細胞の核は、円形または卵円形で、基底部から胞体中央にかけて位置する。通 常は単核であるが、稀に二核細胞も認めた(Fig. 6)。

ゴルジ装置は主として核上部に位置し,層板,小胞,空胞の3要素から構成され,量的に は少~中程度である。ゴルジ装置には形態的に極性がみられ,核側にゴルジ層板,自由面側 に小胞や空胞が配列する傾向がある(Fig.7)。このような配列は,形態的極性であるとと もに機能的特性を意味するものかも知れない。また,ゴルジ空胞の内腔の大きさは変動する ようであるが,電子密度は低く内容物は認められない。

粗面小胞体は細胞質全域に散在する。特に,核下部では扁平嚢状の構造が層板をなし,時には同心円状に配列する場合も観察した(Fig.8)。また,内腔が拡張した嚢状や小胞状構造も多く存在する(Fig.9)。滑面小胞体は核上部,ゴルジ装置付近に散在し,時にはゴルジ装置と区別が困難な像も認めた。

ミトコンドリアは円形や長円形のものが多く、稀に桿状形態を呈し、基質は電子密度が高く暗調で均一である。また、ミトコンドリアは核上部に多く存在し、その他に基底膜陥入の部位や基底部の小突起にも存在していた(Fig.1,5)。上記と類似の構造として、腎臓近位尿細管の上皮細胞では、ミトコンドリアが基底膜陥入部に近接し、吸収した物質を基底側の毛細血管へ透過させる能動輸送のエネルギー源として貢献することが知られている。したがって、脈絡叢上皮細胞も基底膜において能動輸送が行なわれているのではないかと推察する。

微絨毛直下にみられた被覆小胞は,胞体全域に散在するが,側面形質膜や基底膜に付着す る像も認めた(Fig. 10)。また,空胞内に多数の顆粒状物質を包含した構造物(400nm)が 比較的稀に存在し,多胞体(multivesicular body)と類似するが(Fig. 7),内腔の電子密 度が高くなり,ライソゾームの形態を呈することもある。

脂肪粒と推測される,電子密度の幾分低い小滴は,胞体の基底面付近に散在または集合している。特に,基底部の突起の中に数多く観察した(Fig. 5)。このような脂肪粒は,DAvis ら³⁾(1973) も豚の脈絡叢上皮細胞で観察している。

信州大学農学部紀要 第15巻第2号(1978)

2 間質組織の微細構造

基底膜直下には脳軟膜に由来する少量の疎性結合組織であるコラーゲン線維束や複雑に走 行する毛細血管が存在する。この毛細血管の内壁は、いわゆる有窓性内皮細胞からなり、核 の所在部を除いて通常その細胞質は極めて薄く、窓状の不連続部を認めた(Fig. 10)。一般 に、この構造は物質の透過の旺盛なことに相応するものとして考えられている。

MILHORATら⁹(1973)はラットの血管内に注入したチトクロームCが、この有窓性毛細 血管から脈絡叢上皮層内に達しても、細胞間接着装置により脳室内への通過を阻止され、最 終的にはライソゾームに取り込まれることを明らかにした。また、松浦ら⁵⁾(1978)はラッ トの脳室内に注入した horseradish peroxidase が、脈絡叢上皮細胞の微絨毛の基部から取 り込まれ、ライソゾームや多胞体を経由して細胞間隙から血中へと放出されるのを観察して いる。

これらの報告は, 脈絡叢が血管から流入する物質を選択的に脳室内へ通過させ, また一方 では, 脳室腔から取り入れた物質を血中に送り込む機能をも有し, 有窓性毛細血管はそれら の窓口となっているものと推察される。

3 側脳室と第三脳室の脈絡叢の比較

本実験では同一個体から,側脳室と第三脳室の脈絡叢を採取し,両者の構造について比較 検討を行なったところ,DAVIS ら³⁾(1973)が豚で報告しているように,両者の間には著し い組織学的な相違は認められなかった。

4 大型明調細胞 (Large pale cell) と多極暗調細胞 (Multipolar dark cell)

若鶏の脈絡叢上皮層内に,一般の上皮細胞と異なり,これまでの研究報告に記載されていない2種類の細胞を認めた。

大型明調細胞は著者ら¹¹⁾(大島と松尾 1977)が,先に報告した特殊大型細胞(Specific large pale cell) である(Fig. 11)。この細胞は比較的大型で隣接細胞を圧迫し,通常,切 片像で円形や卵形となるので卵球状の形態であると考えられる。基質は電子密度が極めて低いので,通常の上皮細胞から容易に区別できる。また,小胞やその他の小器官(粗面小胞体・ゴルジ装置,ミトコンドリアなど)は,幾分少なく核上部に偏在する傾向があるが,自 由面には繊毛や微絨毛を具え,基本的には他の上皮細胞と類似している。したがって,光学 顕微鏡レベルでの特殊大型細胞(大島と松尾 1977)¹¹⁾は,本論文では大型明調細胞(Large pale cell)と呼ぶことにした。

多極暗調細胞は極めて不規則な形態で、電子密度が幾分高い暗調な細胞である(Fig.12, 13)。この細胞は上記の大型明調細胞と同様に、量的には少ないが極めて異種の形態を呈す る。核は扁平で、細胞質は著しく菲薄であり、毛細血管の内皮細胞に類似している。細胞質 からは放射状にいくつかの細長い突起が出て、周囲の上皮細胞の間隙に侵入している。また、 この細胞は脳室面には露出しないので、繊毛や微絨毛はみられない。細胞質には小胞、ミト コンドリア、粗面小胞体などが少量みられるのみで、それ程活動的な状態を示さない。した がって、形態的にみてこの種の細胞の果たす役割の一部は、上皮細胞を支持することではな いかと推察している。

5 光周期との関連性

著者ら11)(大島と松尾 1977)は先に、光学顕微鏡レベルで明暗周期における成鶏の第三

脳室脈絡叢を観察したところ,それらの細胞組織と光周期との間に,それ程顕著ではないが 関連性を認めた。すなわち,上皮細胞の基底面から自由面までの高さが暗期の方が明期より も高く,大型明調細胞が暗期では明期より幾分多く出現したことである。

今回の若鶏を用いた実験においては,脈絡叢上皮細胞の丈の高さや大型明調細胞の出現頻 度は,同じ実験区内でもいろいろの変化が認められたので,光周期の異なった時期による差 違を明確に判断できなかった。しかしながら,上皮細胞の微細構造において下記のような知 見を得た。

ゴルジ装置の空胞は、LL では大部分のものが300nm以下であるのに対し、DDのものでは 500nm 以上が多く、1 μ にまで拡大したものもみられた (Fig. 14, 15)。LD 12:12 ではこ れらの中間程度であった。

粗面小胞体はLLでは扁平囊状または層板状を呈したものが比較的多くみられるのに対し, DDでは内腔が拡張し,拡張した内腔には分泌顆粒は稀であるが,電子密度が中程度の無定 形の物質で満たされていた(Fig.9,14,15)。一般的に,粗面小胞体の機能が亢進した場合 には,分泌物が小胞腔内に貯えられて小胞腔は拡張するといわれている。また,機能が低下 すると粗面小胞体は扁平嚢状および層板状を呈し,一部はリボゾームを失って滑面化するこ とが知られている。このような粗面小胞体の形態的変化が脈絡叢上皮細胞の機能活性の指標 とみなせば,DDの脈絡叢上皮細胞の方がLLより機能的に活発であるように推察される。

ミトコンドリアはLLでは350~400nmであるが、DDでは幾分大きく(500nm)、時には著 しく肥大したもの(700nm)も存在する(Fig. 14, 15)。

脂肪粒は細胞基底部や基底面の突起部に集まってみられた。この脂肪粒を含んでいる細胞 は、LLやLD 12:12の明期のものでは、DDやLD 12:12の暗期のものより多く認めた。

以上のように、若鶏を用いた本実験ではミトコンドリアやゴルジ空胞の大きさ、粗面小胞 体の形態などからみると、DDの脈絡叢上皮細胞はLLのものより幾分機能が旺盛であるよう に推察した。一方、LD 12:12の明期と暗期との間では著しい差違を認めることができなか った。

要 約

若鶏30羽を用いて、3種類の光周期(LL,DD,LD 12:12)における脳室脈絡叢の構造 と機能との関連性について電子顕微鏡レベルで比較検討し、その結果は次の通りであった。

1 若鶏の側脳室と第三脳室の脈絡叢を比較したところ,両者の間には著しい組織学的差違は認められなかった。脈絡叢上皮細胞は立方~円柱状で自由面に微絨毛や繊毛が存在し,構造的に吸収上皮の性格を有している。これらの上皮細胞はよく発達したミトコンドリア,粗面および滑面小胞体,ゴルジ装置を有し,核は多くの場合単核で,時に二核の場合もある。また,若鶏の脈絡叢上皮細胞の側面形質膜は平滑であり,ラットや豚において観察された指状嵌合のような複雑な膜構造を呈していなかった。

2 脈絡叢の上皮層内に,通常の上皮細胞と異なる細胞を観察した。大型明調細胞(Large pale cell)と多極暗調細胞(Multipolar dark cell)の2種類である。大型明調細胞は基質の電子密度が極めて低く,卵球状を呈し,他の上皮細胞より大きい。この細胞は光学顕微鏡

レベルで先に報告したもの(大島と松尾 1977)と同一細胞である。多極暗調細胞は核,基 質ともに幾分電子密度が高く,いくつかの突起を具えた不規則な形態で,細胞の表面は脳室 に接していない。

3 脈絡叢間質の毛細血管の内皮細胞は有窓構造を呈する。これは上記1の上皮細胞の構 造と合わせて,脈絡叢が脳脊髄液の分泌に重要な関与を行なっていることを示すものである。

4 脈絡叢上皮細胞は連続暗黒のものでは連続照明のものより大きなミトコンドリアやゴ ルジ空胞,内腔の拡張した粗面小胞体を有していた。これらの構造から,連続暗黒の脈絡叢 上皮細胞は,連続照明のものより機能が旺盛であるように推測した。一方,LD12:12の明 期と暗期との間では,著しい差違を認めることができなかった。

最後に本実験を行なうに当り,種々の助言を頂いた,教室の助教授 渡辺泰邦博士に感謝 の意を表する。

引用文献

- 1) CUSHING, H. 1914. Studies on the cerebrospinal fluid. J. Med. Res. 31:1-19. Cited from 10).
- 2) DANDY, W. E. and BLACKFAN, K. D. 1914. Internal hydrocephalus. An experimental, chemical and pathological study. Amer. J. Dis. Child. 8:406-482. Cited from 10).
- 3) DAVIS, D. A., LLOYD, B. J., JR. and MILHORAT, T. H. 1973. A comparative ultrastructural study of the choroid plexuses of the immature pig. Anat. Rec. 176: 443-454.
- 4) DOOLIN, P. F. and BIRGE, W. J. 1969. Ultrastructural organization and histochemical profile of adult fowl choroid plexus epithelium. Anat. Rec. 165: 515-530.
- 5) 松浦忠夫・野条良彰・水川公直・佐野豊, 1978. 脈絡叢上皮細胞の電子顕微鏡的研究 解剖学雑誌 53:64
- 6) MAXWELL, D. S. and PEASE, D. C. 1956. The electron microscopy of the choroid plexus. J. Biophy. Biochem. 2:467-481.
- 7) MILHORAT, T. H. 1969. Choroid plexus and cerebrospinal fluid production. Science 166:1514-1516.
- MILHORAT, T. H., HAMMOCK, M. K., FENSTERMACHER, J. D., RALL, D. P. and LEVIN, V. A. 1971. Cerebrospinal fluid production by the choroid plexus and brain. Science 173: 330-332.
- 9) MILHORAT, T. H., DAVIS, D. A. and LLOYD, B. J., JR. 1973. Two morphologically distinct blood-brain barriers preventing entry of cytochrome c into cerebrospinal fluid. Science 180:76-78.
- 10) MILHORAT, T. H. 1976. Structure and function of the choroid plexus and other sites of cerebrospinal fluid formation. Inter. Rev. Cytol. 47: 225-288.
- 11) 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
- SATO, O. and BERING, E. A. 1967. Extraventricular formation of cerebrospinal fluid. Brain and Nerve 19: 883-885.

Functional Morphology of the Choroid Plexuses, with Special Reference to Various Photoperiods in Chicks.

Koji OHSHIMA and Shinichi MATSUO

Laboratory of Anatomy, Fac. Agric. Shinshu Univ.

Summary

In order to investigate the ultrastructure and function of the lateral and third ventricular choroid plexuses, thirty young chicks were used on the three different photoperiods such as the continuous light, continuous darkness and LD 12:12.

1. The choroidal epithelial cells are cubic to columnar in shape. On the free apical surface the cells possess long digitiform microvilli resembling the absorptive epithelium. The cells also have a few cilia with the 9 plus 2 arrangement. The cytoplasm of the epithelial cells contains single nucleus, numerous mitochondria, rough and smooth endoplasmic reticulum and Golgi complex. Occasionally binucleate cells have been observed. The lateral membranes between adjacent epithelial cells of young chicks are relatively straight and do not take the form of interdigitation as those of rats and pigs.

2. Two kinds of cells in the choroid plexus are found occasionally. They are different from the ordinary epithelial cells. One is the large pale cell and the other is the multipolar dark cell. The large pale cells are spherical in shape and larger than the other epithelial cells, which show extremely low electron density. The multipolar dark cells are exceedingly irregular in shape and show somewhat higher electron density. The surface of the cells did not contact with the ventricular lumen. The multipolar dark cells have some processes which reach between the epithelial cells.

3. The capillaries beneth the epithelium have fenestrations or pores. These structures show that the choroid plexus contributes the cerebrospinal fluid secretion.

4. The choroidal epithelial cells in continuous darkness contain larger mitochondria, larger Golgi vacuoles and more dilated rough endoplasmic reticulum than those in continuous light. From this finding, it seems likely that the choroidal epithelial cells in continuous darkness show more active in function than those in continuous light.

PLATE 1

EXPLANATION OF FIGURES

- 1. Electron micrograph of a choroidal epithelial cell in a longitudinal section. Note numerous digitiform microvilli and a few cilia at the apical surface, abundant mitochondria at the apical area and Golgi complex (G) and rough endoplasmic reticulum in a supranuclear area. Golgi vacuole (G), terminal bar (arrows). O_sO_4 fixation (Millonig buffer), uranyl acetate and lead citrate stain. x 4,100.
- 2. Electron micrograph of expansions (*) of the apical cytoplasm in a epithelial cell. O_sO_4 fixation (Millonig buffer), uranyl acetate and lead citrate stain. x 2,900.
- 3. Electron micrograph of the apical area in a epithelial cell. Note no expansion of the apical cytoplasm. Compare with Fig. 2. O_sO_4 fixation (Millonig buffer) after glutalaldehyde, uranyl acetate and lead citrate stain. x 7,400.
- 4. Higher magnification of Fig. 1. Note basal body (b), rootlet (r), apical pit (arrow) and corted vesicles at the base of microvilli and cilia. O_sO_4 fixation (Millonig buffer), uranyl acetate and lead citrate stain. x 9,100.
- 5. Electron micrograph of the basal cytoplasm of a epithelial cell extend adjacent cells. Note many lipid inclusions (arrow) in the process and basement membrane (b). O_sO₄ fixation (Millonig buffer), uranyl acetate and lead citrate stain. x 4,800.
- Electron micrograph of binucleate choroidal epithelial cell. O_sO_s fixation (Millonig buffer), uranyl acetate and lead citrate stain. x 2,000.
- 7. Electron micrograph of a Golgi complex (G) in a supranuclear area. Note Golgi vacuole and vesicles at the apical side and Golgi cisternae at the nuclear side. Multivesicular body (arrow). $O_{s}O_{4}$ fixation (Millonig buffer), uranyl acetate and lead citrate stain. x 7,800.
- 8. Electron micrograph of a whorl of rough endoplasmic reticulum in the basal cytoplasm of a epithelial cell in continuous light. O_sO_4 fixation (Millonig buffer), uranyl acetate and lead citrate stain. x 5,200.



PLATE 2

EXPLANATION OF FIGURES

- 9. Electron micrograph of some dilation of rough endoplasmic reticulum in the basal cytoplasm of a epithelial cell in continuous darkness. O_sO_4 fixation (Millonig buffer), uranyl acetate and lead citrate stain. x 4,900.
- 10. Electron micrograph of the basal cytoplasm, the subepithelial area and the fenestrated endothelial cell of a capillary (arrow). Note pinocytotic vesicles (p) on the basement membrane (b) and collagen fibril (*) in the stroma. O_sO₄ fixation (Millonig buffer), uranyl acetate and lead citrate stain. x 14,500.
- 11. Electron micrograph of two large pale cells (*) in the choroidal epithelium. Note these cells are spherical in shape, and much larger than the other epithelial cells. The cytoplasm shows extremely low electron density. O_sO₄ fixation (Millonig buffer), uranyl acetate and lead citrate stain. x 2,000.
- 12. and 13. Electron micrographs of the multipolar dark cell(*). These cells are exceedingly irregular in shape and show high electron density. The processes of the cells extend adjacent cells. O_sO_4 fixation (Millonig buffer), uranyl acetate and lead citrate stain. x 2,000.
- 14. Electron micrograph of epithelial cells in continuous light. O_sO₄ fixation (Millonig buffer), uranyl acetate and lead citrate stain. x 2,900.
- 15. Electron micrograph of epithelial cells in continuous darkness. Note these cells contain larger mitochondria, larger Golgi vacuoles (G) and more dilated rough endoplasmic reticulum (R) than those in continuous light (Fig. 14). O₈O₄ fixation (Millonig buffer), uranyl acetate and lead citrate stain. x 2,900.







