



Scanning electron microscopic studies on stigmas in rat ovaries

辻本, 大治

(Degree)

博士 (医学)

(Date of Degree)

1982-09-22

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

乙0778

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D2000778>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



氏名・(本籍)	つじもと だいじ 辻 本 大 治 (和歌山県)
学位の種類	医 学 博 士
学位記番号	医博ろ第 679 号
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 2 項該当
学位授与の日付	昭和 57 年 9 月 22 日
学位論文題目	SCANNING ELECTRON MICROSCOPIC STUDIES ON STIGMAS IN RAT OVARIES ラット卵巢の Stigma に関する走査型電子顕微鏡学的 研究

審 査 委 員	主査 教授 溝 口 史 郎	
	教授 杉 山 武 敏	教授 岩 井 誠 三

論 文 内 容 の 要 旨

緒 言

排卵に際しては、排卵直前に卵胞の表面に形成される Stigma を経て卵の放出が行われることが、すでに多くの形態学的観察から明らかにされている。また、近年走査型電子顕微鏡（以下 SEM と略す）を用いた排卵現象の観察結果が報告され始めた。しかし、これまでの SEM による観察対象は、stigma の最表層の形態に限られ、その直下における微細構造の詳細は未だ明確でない。

そこで、本研究は Evans らの方法 (HCl-collagenase method) を応用して、stigma 表層の細胞外物質を除去することにより、排卵現象のより詳細な SEM 的観察を行ったものである。

方 法

実験動物としては SD 系幼若雌ラットを用いた。生後 22 日目に PMS 10 i. u. を、その 56 時間後に HCG 10 i. u. を皮下注射した。さらにその 12 時間後から 16 時間後にペントバルビタール麻酔下を開腹し、実体顕微鏡で卵巢を観察した。切除した卵巢を 1% のグルタルアルデヒドで 4 時間固定し、アルコール上昇系列による脱水の後、臨界点乾燥を行い、さらに金のスパッターコーティングを施し、日立 S 700, SEM によって観察した。一部の卵巢は HCl-collagenase method による処置を加えて同様に観察した。また、ブアン固定、パラフィン包埋した卵巢から 5 μm の連続切片を作り、HE 染色またはアザン染色を施して光学顕微鏡（以下 LM と略す）による観察も併せ行った。

結 果

排卵周辺期の卵胞頂部の形態は、実体顕微鏡下に次の如く分類された。すなわち2つのタイプの stigma (水腫型 stigma と扁平型 stigma) と卵丘突出を伴う卵胞頂部である。

水腫型 stigma は透明な円錐状のたかまりを特徴とし、その基底部には平坦な板状の境界面を有し、通常そこには小孔が見られる。また、その小孔の周囲を細血管がリング状に取り囲んでいることもあった。胚上皮は剥脱し、微細な輝点の集まりが stigma の表面に観察された。

扁平型 stigma は小さな円形の無血管領域からなる平坦な stigma で、水腫型に比較してそこに小孔を確認することはできなかった。

stigma の LM および SEM による所見

1. 水腫型 stigma

LM 所見：卵胞基底部はほぼ円形で、胚上皮は水腫様無血管領域に相当して剥脱していた。stigma の表層は1層が2層の線維芽細胞に裏打ちされており、莖膜細胞層との間に間隙を生じ、卵胞液は顆粒膜細胞の離開部を通りその浮腫状間質に流出していた。しかし、上層の線維芽細胞には間隙を認めなかった。

SEM 所見：露出した線維芽細胞によって密に覆われ、表面には multivesicular body と思われる、 $0.5 \sim 1.0 \mu\text{m}$ の微小顆粒が多数散在していた。線維構造は変質し痕跡状であった。

2. 扁平型 stigma

LM 所見：卵胞基底部には顆粒膜細胞層の屈曲、収縮が生じており、他方無血管領域に相当して胚上皮の微小剥脱部が認められた。表層の線維芽細胞は疎な配列を示し、その微細な間隙から卵胞液が卵巢外に流出していた。

SEM 所見：表面上皮の剥脱部が卵円形を成しているのが観察され、そこは密な線維構造によって覆われ、比較的粗大で直線的な線維と、やや細く円形に走行する線維とを識別することができた。HC1-collagenase method により、これら線維構造を除去すると、星型の線維芽細胞とそれらに取り囲まれた小孔が明らかになり、そこから顆粒膜細胞様の球形細胞が流出している状態が観察された。

3. 卵丘突出を伴う卵胞頂部

これは LM 標本では観察できなかった。

SEM 所見：顆粒膜細胞を含む多角形の塊状物質が、露出した間質の表面に付着しており、その周囲には扁平型 stigma 表面に見られた線維構造と同様の形態が観察された。

考 察

排卵周辺期の卵巣表面を実体顕微鏡下に観察すると、その頂点に血流の途絶が生じ、そこに無血管領域が形成される (Walton & Hammond, 1928)。排卵前卵胞の最外層に存在する胚上皮は剥脱し、その直下の組織が小水泡を形成する (Blandau 1955)。さらに、Parr (1974) は LM と透過型電子顕微鏡によってラットの stigma を観察し、その所見を次のように要約している。すなわち、stigma は一般に胚上皮を欠き、最外層が白膜と莖膜細胞層から成るものと、白膜のみから成

るものの2種がある。前者はその最外層に微細な裂孔を有し、そこから卵胞液が卵巣外に流出している。後者では、1～2層の線維芽細胞からなる白膜と莖膜細胞層との間に離開が生じており、顆粒膜細胞層の間隙を通して流出した卵胞液がそこに貯留して水腫様の外観を呈するが、しかし最外層には裂孔が認められず、卵胞液が卵巣内から流出する像はみられない。

今回のLMおよびSEMによるラットの stigma の観察所見は、以上のParr の報告にほぼ一致する。すなわち扁平型 stigma は前者に、水腫型 stigma は後者に相当する。扁平型 stigma のSEMによる観察から、露出した線維芽細胞が星型を呈し、それらが小孔を取り囲むように配列しており、その表面には特徴ある線維構造が存在することが判明した。それに反し、水腫型 stigma では線維芽細胞が多角形で密に配列しており、間隙の形成は認められず、表面の線維構造は変質しその痕跡を観察し得るのみであった。さらに線維芽細胞質突起の周辺にはmultivesicular structure 様の顆粒状構造を多数観察した。Espey (1971)によると、multivesicular structure は排卵前の卵胞の白膜内線維芽細胞表面に数多く認められ、卵胞壁の崩壊に重要な役割を果たしているという。しかし今回のSEMによる観察では、卵丘突出を伴う卵胞頂部に存在している線維構造の特徴から、卵丘の放出は扁平型 stigma を経て行われ、水腫型 stigma からは起こり得ないことが示唆された。すなわち、stigma から卵丘が放出されるためには、線維芽細胞の星型形態変化と線維構造の存在を必要とすると考えられる。従って、水腫型 stigma の表面に多数見られたmultivesicular structure が直接卵胞壁最外層の崩壊に関与していると考えすることは困難である。

また、卵巣の莖膜細胞層に平滑筋細胞が存在する (Okamura et al., 1972) ことから、この平滑筋による卵胞収縮が卵胞の破裂に何らかの関与をしているであろうと考えられている。上述の扁平型 stigma における線維構造の存在は、この収縮力の伝達における何らかの役割を示唆するものである。

いずれにしても、扁平型 stigma においてのみ卵丘の放出がおこる事実から、この線維構造の下において線維芽細胞層が疎になり、その結果 stigma に小孔が形成され、卵丘の放出が可能になると結論される。

論文審査の結果の要旨

排卵現象は生殖機能の根本にかかわるものとして古くから研究されてきた。しかし卵胞発育の極期において卵が卵胞から卵巣外に放出される機構、特に排卵の直前に卵胞の頂上に形成される stigma の形成及びこれを通して卵が放出される機構については今日なお不明の点が少なくない。近年走査型電子顕微鏡 (SEM) による卵胞表面の観察が行われるようになったが、これまでのところ観察は最表層部に限られ、深部の構造には及んでいない。

そこで申請者は、SEMによる観察に塩酸コラゲナーゼ法を応用し、卵胞表面の細胞外物質を除去して、最表層のみならずその下層の構造の観察を可能にして、stigma の構造を詳細に観察し、光学顕微鏡標本上の所見とあわせて、排卵機構の解明を行い、以下の結果を得た。

1. 排卵周辺期のラットの卵巣にみられた stigma は、水腫型と扁平型の2型に大別される。
2. 卵の放出は扁平型 stigma においてのみ見られ、水腫型においては見られなかった。
3. 扁平型 stigma を持つ卵胞では顆粒膜に屈曲・ヒダが認められた。頂上の stigma の部分では胚上皮は剥脱し、表面は密な線維構造で被われており、これを塩酸コラゲナーゼ法で除くと、比較的疎に配列した星形の線維芽細胞とこれらに囲まれた小孔があらわれ、この小孔から顆粒膜細胞が流出している状態が観察された。
4. 水腫型 stigma を持つ卵胞では、卵胞そのものは球形で、顆粒膜にヒダはみられなかった。stigma の部分では胚上皮は剥脱し、表面は互に密に隙間なく配列した扁平な線維芽細胞で被われ、扁平型で見られたような密な線維構造は見られず、少数の断裂した線維が認められるのみであった。線維芽細胞の表面には multivesicular body と思われる小胞状の微小突起が多数認められた。卵胞液は顆粒膜細胞の開離部から卵胞外へ浮腫状に浸出していたが、しかし被膜を貫いて卵巣外へ流出する像は見られなかった。

以上の所見から申請者は、卵の放出は扁平型 stigma を持つ卵胞においてのみ起り、その際 stigma の表面を被っている線維芽細胞が星形化し、配列が疎になること及びその外側に線維構造の存在が必要であるという重要な結論を得た。この線維構造の意義について申請者はラットの卵胞の莖膜内に存在する平滑筋線維の収縮力の伝達に関与している可能性を示唆した。また従来卵胞壁の崩壊に重要な役割を演ずるものと考えられてきた multivesicular body については、これが卵の放出のみられない水腫型 stigma においてのみみられたところから、申請者はそのような積極的な意義を与えるわけにはゆかないと結論している。

このように本研究は、排卵現象の解明に重要な新知見を集積したもので、価値ある研究と認められる。よって申請者は医学博士の学位を得る資格があると認める。