

Chronological changes of the vaginal epithelium in postnatal developing, mature and aged rats: A scanning electron microscopic study

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/8485

加齢に伴うラット腔上皮表面構造に関する研究

— 新生仔期・乳仔期・成熟期・老齢期における検討 —

金沢大学産科婦人科学講座 (主任: 西田悦郎教授)

窪 田 與 志

腔の表面構造の加齢に伴う変化を明らかにする目的で、新生仔期、乳仔期、性成熟期(発情周期、妊娠期、分娩期、産褥期)および老齢期におけるウィスター系雌ラットの腔上皮を走査型電子顕微鏡により観察した。2日齢の新生仔腔上皮表面には、腔内腔に向かって球状膨隆を示す小型の円形ないし卵円形細胞が石状に配列しているのが観察された。細胞表面には、丈の低い微絨毛がわずかに観察された。4日齢から10日齢にかけて、細胞は肥大して多角形となり、細胞表面の腔内腔への膨隆は小さくなり平板状となった。また、微絨毛が発達して細胞間に列状構造(堤防状隆起)が形成された。14日齢には性成熟期の発情間期Ⅱに相当する形態となった。性成熟期では、発情周期に伴う表面構造の変化が観察された。すなわち、1) 発情間期Ⅱでは微絨毛が密生した多角形の平板状細胞が観察され、2) 発情前期には腔上皮最表層に顆粒を有する粘液細胞が出現し、3) 発情期と発情間期Ⅰには表層細胞の角化とその剝離像とが観察された。微絨毛はすべての腔上皮表面の細胞に観察されたが、その表面(腔内腔側)には多くの棍棒状の先端を持つ微絨毛が観察されたのに対し、細胞の裏面には微皺壁が多く観察された。断面による観察では、腔上皮を構成する細胞の層数が発情間期(4~5層)から発情期(10層以上)にかけて増加するのが観察された。妊娠期では、妊娠第3日までは角化像が認められたのに対し、妊娠第5日以降分娩までは著明な粘液細胞が観察された。分娩時期には、微絨毛の押しつぶされた細胞が出現し、産褥3日では細胞片・血球成分・粘液の付着が認められた。60日齢に両側卵巢を摘除された90~100日齢の性成熟期去勢ラットでは、丈の低い微絨毛が密生した小型紡錘形細胞が観察された。この性成熟期去勢ラットに、体重100g当たり2 μ gの安息香酸エストラジオール(17 β -estradiol benzoate, EB)または体重100g当たり5ないし10mgのデヒドロエピアンドロステロン・アセテート(dehydroepiandrosterone acetate, DHA-Ac)を投与したところ、24時間後にいずれの群にも細胞径の増大・細胞形が多角形化・微絨毛の膨化が観察された。EB投与群では細胞が平板状となったのに対し、DHA-Ac10mg投与群では細胞表面の球状膨隆が認められ、それぞれ角化および粘液化の初期像と考えられた。正常発情周期消失の確認された老齢ラット(18か月齢以降)では、個々の表面細胞の細胞径、細胞形態、細胞表面の膨隆の程度、微絨毛の発達の程度に多様性が認められ、1) 平板状の大型多角形で微絨毛密度の低い角化細胞様細胞、2) 表面が球状隆起を示す大型多角形で微絨毛密度が高く分泌顆粒の観察される粘液細胞様細胞、3) 球状膨隆を示す小型の円形ないし楕円形で微絨毛密度の低い低形成微絨毛細胞、4) 軽度の膨隆を示す比較的小型の多角形で微絨毛密度の高い発情間期細胞様細胞の4つの異なるタイプが認められた。これらの存在比率は、観察個体および観察部位により大きく異なっていた。以上の成績から、ラットの腔の表面構造は、成長期には形態形成に伴って大きく変化すること、性成熟期には発情周期および妊娠・分娩に伴う性ホルモン環境の変動に同調した変化を示すことが明らかにされた。老齢期の腔上皮表面構造は、性ホルモン環境の変化以外に腔壁上皮自体の老化による変化をも反映している可能性があると考えられた。

Key words vagina, scanning electron microscopy, aging, dehydroepiandrosterone, rat

女性の一生を生殖機能の面からみると、思春期から更年期までの生殖可能な期間と、思春期前および閉経後の生殖不可能な期間とに大別することができる。この生殖機能の変化は、視床下部-下垂体-卵巢系の成熟に伴う排卵の開始と卵巢内卵子の枯渇による排卵の閉止によってもたらされる変化であり、卵巢機能の加齢に伴う変化を反映したものである。生殖可能な期間における卵巢は、排卵のほかに性ホルモンの分泌という重要な機能を果たしている。この性ホルモンは子宮や腔などのミューラー管由来の臓器を標的臓器としており、性成熟期の卵巢性ホルモンの周期的変動が子宮や腔の形態や機能を周期的に変化

させている。閉経後においては子宮および腔に明瞭な形態的・機能的な変化が生じることが知られているが、ヒトにおいてはこれらの変化は主として卵巢の老化に伴う性ホルモンの減少を反映したものであり、臓器固有の老化を反映したのではないと考えられてきている¹⁾。

ラットにおいても、加齢に伴い生殖機能が明瞭な変化をとげる²³⁾。ウィスター系ラットでは、生後36日頃に腔開口・初回発情(春機発動)が起こり、その後2ないし3周期の不規則な発情周期を経たのち規則的発情周期を獲得して生殖可能となる。300日齢頃より、徐々に不規則周期が見られるようになり、や

平成5年11月16日受付, 平成5年11月30日受理

Abbreviations: DHA, dehydroepiandrosterone; DHA-Ac, dehydroepiandrosterone-acetate; DMSO, dimethyl sulfoxide; EB, 17 β -estradiol benzoate

がて連続発情を経て連続非発情となって妊孕能は完全に失われる³⁴⁾。このような一連の生殖機能の変化はマウスにおいてもほぼ同様に認められるが、卵巣の老化が性中枢の老化に先行して起こる点で、ラットの方がマウスよりヒトに近い老化過程を辿る⁴⁵⁾。したがって、ヒト性機能の老化モデルとしては、ラットの方がより適当であると考えられる。

われわれの教室では、加齢に伴う内分泌変動、とくに老化に伴う卵巣機能や副腎機能の変化を中心に臨床的および実験的な研究を進めてきている²³⁾⁶⁾¹¹⁾。腔についてもラットを用いた検討を行なっており、これまでに老化に伴う変化やステロイドホルモンに対する反応性などについての形態学的および生化学的な検討を行ってきたが¹²⁾¹⁶⁾、内外の報告をみても新生仔期から老齢期までの腔上皮表面の形態学的変化を一貫して検討した成績はないようである。そこで今回、ラット腔上皮の新生仔期から老年期までの加齢に伴う変化を明らかにする目的で、腔の超微構造を走査型電子顕微鏡を用いて、新生仔期、乳仔期、性成熟期、老齢期に分けて観察を行なった。また、性成熟期においては、妊娠・分娩に伴う変化、卵巣摘除および性ホルモン投与による変化についても観察を行ない、老齢期における変化と比較することにより老齢期の所見が性ホルモン環境の変化以外に臓器固有の老化現象を反映している可能性があるか否かについても検討を加えた。

材料および方法

1. 実験動物

北陸動物実験施設(富山)より購入したウィスター(Wistar)近交系ラットを継代繁殖させて実験に用いた。ラットは常温(23±2℃)・常湿(55±15%)・人工照明(明時間9時～20時30分)下に飼育し、飼料CRF-1(日本チャールスリバー、厚木)および水(水道水)は自由摂取させた。70～90日齢前後の処女雌ラットを雄と交配させ、得られたラットを各時期の実験に用いた。出生した日を1日齢とし、5日齢に1腹当たりの新生仔数を8匹に調整して、21日齢で離乳させた。以後、1ケージ当たり2～4匹として飼育した。

新生仔期・乳仔期のラットについては、これらのうちそれぞれの相当時期に腔管を採取した。性成熟期ラットについては、70日齢頃より3週間の腔垢細胞診検査を行なって規則的発情周期を帰していることを確認してから実験に用いた。なお、発情周期は、腔垢像から発情間期Ⅰ、発情間期Ⅱ、発情前期、発情期に分けた¹⁶⁾。妊娠ラットでは、腔内に精子を確認した日を妊娠第1日とし、産褥ラットは分娩日の翌日を産褥1日とした。分娩時期のラットについては、妊娠第23日の15時より30分毎に観察し、第1仔の分娩が終了した直後に腔管の採取を行なった。

老齢期のラットとしては、18か月以上飼育した処女ラットを用いた。飼育中に腫瘍などの発生をみたラットは除外した。出生後6か月毎に3週間づつ連続して腔垢検査を行ない、規則的発情周期から不規則周期または連続発情へと移行したことを確認できたものを実験に使用した。

II. 試薬

エチルエーテル、塩酸、エタノール、10% グルタルアルデヒド溶液、カコジル酸ナトリウム、ジメチルスルフォキシド(dimethyl sulfoxide, DMSO)、タンニン酸、デヒドロエピアンドロステロン・アセテート(dehydroepiandrosterone-acetate,

DHA-Ac)、安息香酸ベンジル、ベンジルアルコールは、いずれも和光純薬工業(大阪)より購入した。安息香酸エストラジオール(17β-estradiol benzoate, EB)はSigma(St. Louis, U.S.A.)より、4酸化オスミウムはMerck(Darmstadt, Germany)より購入した。また、燐酸緩衝液用粉末 M/15 pH 7.4 はヤマトン(東京)より、10% 緩衝ホルマリンは武藤化学薬品(東京)より、ごま油は半井化学薬品(京都)より入手した。ドータイト D-550 および白金パラジウムは応研商事(東京)より購入した。

りん酸緩衝液とカコジル酸緩衝液は、それぞれ燐酸緩衝液用粉末 M/15 pH 7.4 またはカコジル酸ナトリウムを蒸留水に溶解して所定のモル濃度とした後、等モル濃度の塩酸を加えて pH を調整した。グルタルアルデヒド溶液、タンニン酸、4酸化オスミウムは、0.1M カコジル酸緩衝液(pH 7.40)に溶解して用いた。DHA-Ac および EB は、30% の安息香酸ベンジルと1% のベンジルアルコールを添加したごま油に溶解して用いた。

III. 検体採取と観察方法

新生仔期(2日齢, 4日齢, 6日齢)、乳仔期(8日齢, 10日齢, 14日齢)、性成熟期(約90日齢)、妊娠(妊娠第3日, 妊娠第5日, 妊娠第7日, 妊娠第14日, 妊娠第20日)・分娩・産褥期(産褥3日)、老齢期の各期のラットから腔管を摘出し、周囲の結合組織を除去した後、走査型電子顕微鏡観察試料を作成して日立 HFS-2 電界放射型走査型電子顕微鏡(日立邦河精器、茨城)を用い、加速電圧を15～25KVとして500倍～20,000倍で観察した。なお、性成熟期ラットについては、発情周期別に腔上皮の断面試料も作成して同様に観察を行なった。

また、両側卵巣を摘除した後に DHA-Ac または EB を投与した性成熟期ラットについても観察を行ない、性成熟期の各発情周期および老齢期の所見と比較した。すなわち、60日齢にエーテル麻酔下に両側卵巣を摘除した後、90～100日齢に体重100g 当たり 2μg の EB, 5mg の DHA-Ac, 10mg の DHA-Ac または油溶媒を背部皮下に注射し、その24時間後に腔管を摘出して観察した。

実験に使用したラット数は、新生仔期および乳仔期については各日齢につき3匹、性成熟期の各発情周期、妊娠・分娩・産褥期の各時期、性成熟期の性ホルモン投与去勢ラットの各群、および老齢期のラットについてはおのおの5匹である。

VI. 通常走査型電子顕微鏡観察試料の作成方法

1. 倍率500～5,000倍での観察試料作成方法

断頭屠殺後、直ちに0.1M カコジル酸緩衝液加1% グルタルアルデヒド溶液を腔内に注入した。腔口周囲を円周状に切開した上で開腹により腔全体を円筒状のまま速やかに摘出し、低温プレート上に置いて周囲の結合組織を除去した。0.1M カコジル酸緩衝液加1% グルタルアルデヒド溶液で2時間固定したのち、腔上方1/3の部位から5mm×5mmの腔組織を採取し、4℃に冷却した0.1M カコジル酸緩衝液(pH 7.40)に24時間浸漬した。上昇エタノール系列(50%, 80%, 90%, 95%, 99%, 100%)にて脱水し、エタノールを酢酸イソアミルに置換した後、臨界点乾燥器 HCP-2(日立サイエンスシステムズ、茨城)により液体炭酸ガスを用いて臨界点乾燥した。

試料をドータイト D-550 で試料台に固定した後、日立イオンスプッター E-102(日立サイエンスシステムズ、茨城)により試料表面に白金パラジウムを蒸着させて観察試料とした。

2. 倍率5,000～20,000倍での観察試料作成方法

倍率500～5,000倍での観察試料と同様の手技で腔壁を採取し

た。4℃に冷却した1/15M りん酸緩衝液加1% グルタルアルデヒド溶液 (pH7.40) により2時間固定した後、2% タンニン酸および1% オスミウム酸液で各2時間の導電染色を行ない、倍率500~5,000倍での観察試料の場合と同じ方法で脱水・臨界点乾燥の後に白金パラジウムを蒸着させて観察試料とした。

V. 断面走査型電子顕微鏡試料の作成方法

Tanaka ら¹⁷⁾の方法に従って作成したが、簡便となるよう標本切断時の温度管理に若干の変更を加えた。すなわち1/15M りん酸緩衝液加0.5% グルタルアルデヒド溶液と0.5% 中性緩衝ホルマリン溶液の等量混合溶液により30分間固定した後、0.1M りん酸緩衝液 (pH7.40) にて十分水洗した。25% DMSO, 50% DMSO に各1時間浸漬した後、液体窒素で冷却固化した。液体窒素で冷却した鉄板に試料を載せ、同様に冷却したカミソリ刃とハンマーですみやかに試料を切断した。この切断標本を50% DMSO 中で常温解凍した。0.1M りん酸緩衝液で十分水洗した後、2% タンニン酸および1% オスミウム酸液で各2時間の導電染色を行なった。以後、通常観察試料の場合と同様に、脱水・臨界点乾燥・白金パラジウム蒸着を行なって観察試料とした。

成 績

1. 新生仔期およびに乳仔期

2日齢では、膈内腔に向かって円形あるいは卵円形の膨隆を示す細胞が膈上皮表面に配列していた (図 1-A)。細胞径には大小不同があり、膈表面は石垣を思わせる外観を呈していた。細胞間距離は比較的広く、細胞の結合は弱いものと思われた。強拡大での観察では、一部の膈上皮表面の細胞に少数の微絨毛を認めることができた。

4日齢では、膈上皮表面の細胞は多角形となり、膈内腔への細胞の膨隆は少なくなって個々の細胞表面はやや平板状となった (図 1-B)。また、2日齢に比し、細胞間の空隙が狭くなった。

6日齢では、すべての膈上皮表面の細胞に丈の低い微絨毛が多数観察された。細胞境界部では、相対する細胞の微絨毛が列状に整列して膈内腔に向かう突出 (堤防状隆起) を形成しており、細胞境界が明瞭に観察された。

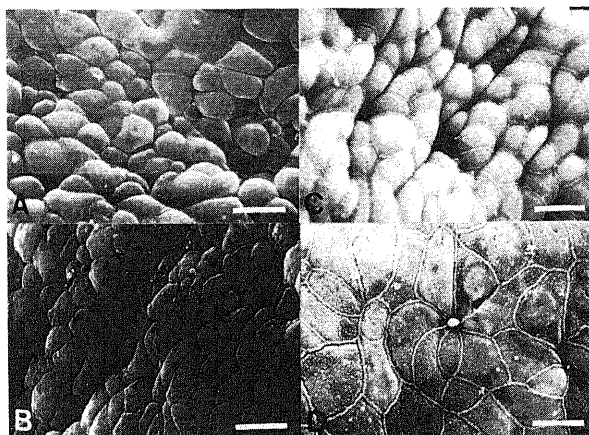


Fig. 1. Scanning electron micrograms of the surface of the vagina at the second day of age (A), the fourth day of age (B), the 10 th day of age (C), and the 14 th day of age (D). Bar=10 μm.

8日齢および10日齢では、個々の膈上皮細胞の膈内腔に向かう突出はさらに小さくなって平板状の細胞表面となった (図 1-C)。また、微絨毛数はさらに増加していた。

14日齢では、個々の膈上皮表面の細胞はほぼ平板となった (図 1-D)。膈内腔側からみると、多角形を示す平板状の細胞が敷石状の配列を示すのが観察された。細胞表面には微絨毛が密生しており、細胞間を画する堤防状隆起が明瞭に認められた。これらの所見は、後述する性成熟期発情間期Ⅱの所見にはほぼ一致するものであった。

Ⅱ. 性成熟期

1. 発情周期

1) 通常走査型電子顕微鏡による観察

発情間期Ⅰでは、表面のやや膨隆した紡錘形の細胞が敷石状に密に配列していた。細胞表面には、全面に丈の低い微絨毛が観察された (図 2-A)。発情間期Ⅱになると、細胞表面は平板となり、細胞形は多角形のものが多くなった (図 2-B)。微絨毛は、発情間期Ⅰに比べてやや少なくなり、太くなって棍棒状のものが多くなった。また、堤防状隆起が明瞭に観察された。

発情前期では、細胞表面の軽度の膨隆を示すようになり、個々の細胞は発情間期に比べて大きくなった (図 2-C)。微絨毛は、発情間期Ⅱよりさらに太く短くなった。また、偶然観察された細胞の裏側 (膈内腔に向かう面と反対の面) には網の目状の微皺壁 (microridge) が観察された。微絨毛と微絨毛との間の細胞表面には、分泌粒またはその分泌後像と思われる小穴が観察された。

発情期では、大型の平板状の多角形の細胞が配列し、膈表面には波打つような屋根瓦様の起伏が観察された (図 2-D)。一部の細胞には、剝離像が観察された。細胞表面には、網の目状の微皺壁が認められ、微絨毛はほとんど観察されなかった。

2) 切断試料による断面の観察

発情間期Ⅰでは、膈上皮全層に核/細胞質比の大きな有核細胞が観察された (図 3-A)。この膈上皮層は、基底層 (1~2層)、中間層 (5~10層) より構成されており、さらに一部には中間層の上方に剝離前の角化細胞層が観察された。

発情間期Ⅱでも、発情間期Ⅰと同様に核/細胞質比の大きな有核細胞が全層で観察されたが、発情間期Ⅰに比し最表層の細胞の核/細胞質比は若干小さくなっていった (図 3-B)。また、最表

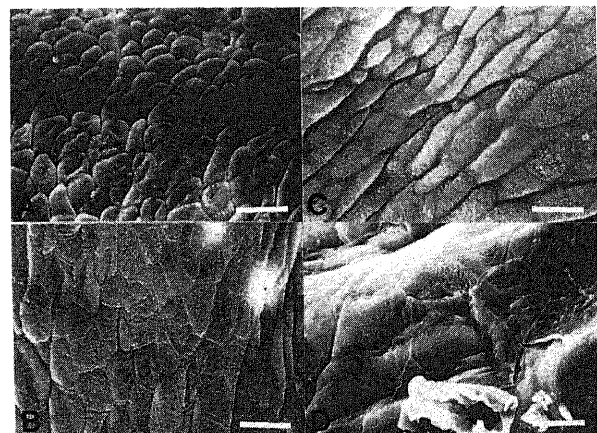


Fig. 2. Scanning electron micrograms of the surface of the vagina of mature cycling rats: diestrus I (A), diestrus II (B), proestrus (C) and estrus (D). Bar=10 μm.

層に角化層はみられず、腔上皮全体の厚さは発情間期 I に比し減少していた。

発情前期では、中間層の厚さがさらに増加した (図 3-C)。最表層にはやや丈の高い胞体の豊かな細胞層 (被蓋細胞層) が認められ、その下層に薄い角化細胞層が観察された。部分的には被蓋細胞層が脱落して下層の角化層が最表層となっており、これらの角化細胞の剝離・脱落像が観察された。

発情期では、表層に 5~10 層におよぶ角化層が観察された (図 3-D)。最表層では、脱核した扁平細胞の剝離像が観察された。

2. 妊娠・分娩・産褥期

1) 妊娠第 3 日

大型でほぼ平板状の多角形の細胞が配列しており、細胞剝離像や細胞の折れ曲がりが見られた (図 4-A)。平板状の角化細胞

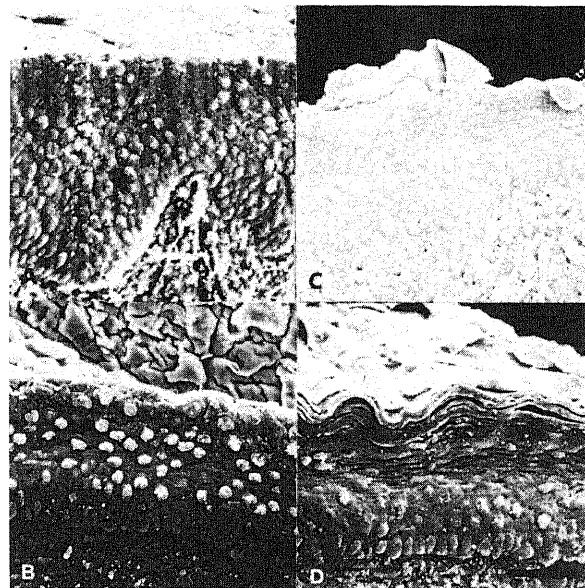


Fig. 3. Scanning electron micrograms of the cut surface of the vagina of mature cycling rats: diestrus I (A), diestrus II (B), proestrus (C) and estrus (D). Bar=20 μm .

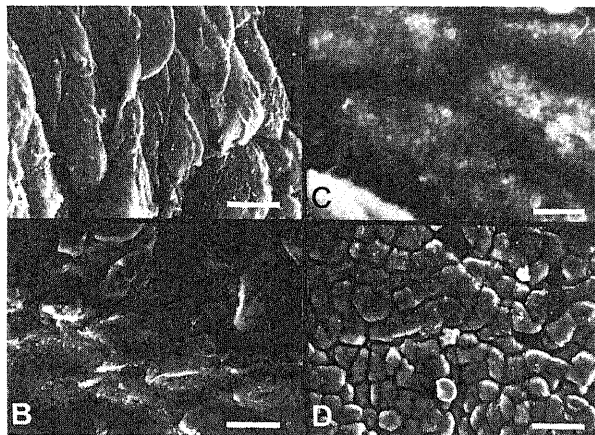


Fig. 4. Scanning electron micrograms of the surface of the vagina at the third day of pregnancy (A and B), the fifth day of pregnancy (C), and the seventh day of pregnancy (D). Bar in A, B and D=10 μm ; Bar in C=2 μm .

胞の表面には微絨毛はほとんど認められなかったが、角化細胞が剝離した部分では下層の細胞が露出してその表面に丈の低い微絨毛が密生しているのが観察された (図 4-B)。細胞剝離像が著明な点および腔表面の起伏が多い点で、発情周期の発情期の腔表面とは若干異なる所見であった。

2) 妊娠第 5 日

細胞表面が軽く膨隆した多角形の小型細胞が配列しており、腔表面には軽度の起伏が観察された。膨隆した細胞表面に小さな陥凹を有する細胞も観察された。強拡大では、丈の低い微絨毛が密生しているのが認められ、微絨毛と微絨毛の間の細胞質に粘液顆粒と思われる球状ないし瓢箪型の顆粒 (直径 0.4~1.0 μm) が多数観察された (図 4-C)。

3) 妊娠第 7 日

細胞形は多角形のものと楕円形のものが混在してみられ、細胞表面の隆起も強いものと弱いものが隣り合わせに観察された (図 4-D)。妊娠第 5 日に比し、微絨毛の丈が高くなり、粘液顆粒と思われる顆粒の数が多くなっていた。

4) 妊娠第 14 日

妊娠第 7 日とほぼ同様の所見で、細胞形は多角形のものと楕円形のものが混在してみられ、細胞表面の隆起も強いものと弱いものが隣り合わせに観察された (図 5-A)。妊娠第 7 日に比し、粘液顆粒と思われる顆粒の数が多くなっていた。

強拡大 (倍率 10,000 倍) で観察したところ、細胞表面に直径 0.4 μm ~1.0 μm 程度の小穴 (pit) が多数観察された。この部位の細胞膜には微絨毛が欠如しており、粘液顆粒の分泌・剝離によって生じた小穴と考えられた (図 5-B)。また、細胞膜の一部が破壊された細胞では細胞質内の顆粒を観察することが出来た (図 5-B)。断面では、細長い粘液細胞が多列円柱上皮様に配列しているのが観察された (図 5-C)。

5) 妊娠第 20 日

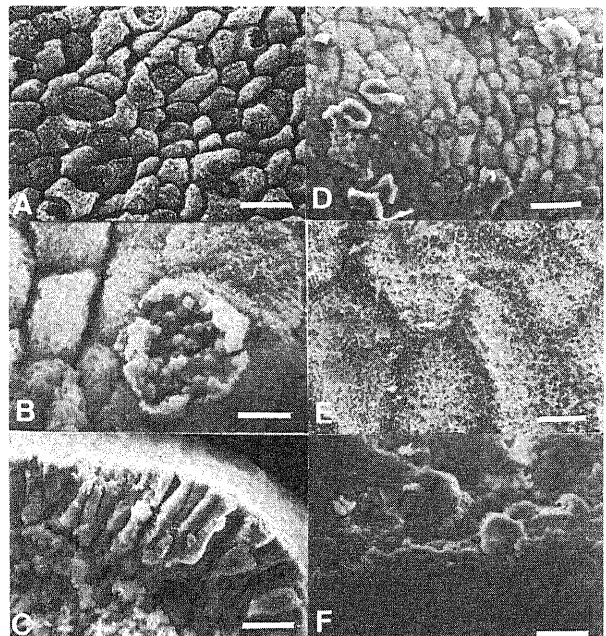


Fig. 5. Scanning electron micrograms of the surface of the vagina at the 14 th day of pregnancy (A, B and C), delivery (D and E), the third day of postpartum (F). Bar in A, C, D and F=10 μm ; bar in B and E=2 μm .

妊娠第10～15日の所見と同様に、粘液顆粒と思われる顆粒を多数有する細胞が観察された。

6) 分娩時期

妊娠第14日および20日にかけて観察された粘液細胞が主体で、細胞表面には細胞片・白血球・赤血球の付着が認められた(図 5-D)。また、物理的圧迫により細胞表面の構造が破壊された粘液細胞も観察された(図 5-E)。

7) 産褥3日

膣表面はほぼ平面的で、細胞表面の隆起のほとんど見られない小型の卵円形の細胞が配列していた。また、粘液細胞の脱落片、白血球・変性赤血球などが膣上皮表面に付着しているのが観察された(図 5-F)。

3. 去勢および性ホルモン投与の影響

1) 去勢

膣表面は平面的で、細胞表面が軽度に膨隆した小型の紡錘形細胞が配列していた(図 6-A)。細胞表面には丈の低い微絨毛が密生しており、大小さまざまな顆粒の付着が認められた。この顆粒は、妊娠後半期に観察された粘液顆粒に比し帯電が強く、発情前期の膣表面細胞に見られる顆粒に類似していた。また、細胞間の堤防状隆起は観察されなかった。

2) 性ホルモン投与

溶媒投与対照群の所見は、性成熟期去勢ラットの場合と同じであった。

EB 投与群(図 6-B)、DHA-Ac 5mg 投与群(図 6-C)、DHA-Ac 10mg 投与群(図 6-D)では、いずれも細胞径の増大、細胞形の多角形化、微絨毛の増加と膨化とが認められたが、DHA-Ac 5mg 投与群での変化は他の2群に比し軽微であった。EB 投与群では細胞が平板状となったのに対し、DHA-Ac 10mg 投与群では球状膨隆が認められた。

IV. 老 齢 期

膣表面は平面的であった(図 7)。個々の表面細胞の細胞径、細胞形態、細胞表面の膨隆の程度、微絨毛の発達程度は多様であったが、次の4型に大別することができた。すなわち、表

面が平板状の大型多角形で微絨毛密度の低い角化細胞様細胞(図 7-A)、表面が球状膨隆を示す大型多角形で微絨毛密度が高く顆粒のみられる粘液細胞様細胞(図 7-C, D)、表面が球状膨隆を示す小型の円形ないし楕円形で微絨毛密度の低い低形成微絨毛細胞(図 7-A)、表面が軽度の膨隆を示す比較的小型の多角形で微絨毛密度の高い発情間期細胞様細胞(図 7-B)の4型である。この4型の細胞の構成比は、観察部位および観察個体ごとにかなり異なっていた。

考 察

われわれの教室では、女性を対象として加齢に伴う内分泌変動を中心に研究を進めてきており、これまでに卵巣機能や副腎機能における経年的変動に関する報告を行ってきた¹⁸⁾¹⁹⁾。女性においては、生殖機能の経年的変動が男性よりも明瞭に認められること、さらに閉経後には性腺機能の関与のない個体を対象として老化過程を検討できることなどの点で、加齢の研究対象としてより有利であると考えられる¹⁹⁾。

冒頭にも述べたように、女性における生殖機能の経年的変動は主として卵巣の機能、すなわち排卵と性ホルモン分泌機能の経年的変化によって生じるものであり、性ホルモンの経年的変化は、その標的臓器である子宮や膣などのミューラー管由来の臓器の機能や形態にも明瞭な経年的変動を惹起させる。とくに、閉経後卵巣からの性ホルモンの分泌がほぼ停止すると、膣上皮の増殖は副腎性アンドロゲンないしその末梢での代謝産物であるエストロンなどの影響を強く受けるようになることが明らかにされている¹⁹⁾。これを、膣の加齢に伴う変化の面からみると、思春期から閉経までは卵巣由来のエストロゲンとプロゲステロン、閉経後は副腎性アンドロゲンの経年的変動の影響を受けていると考えられる²⁰⁾。したがって、膣の加齢現象には、卵巣性性ホルモンの加齢に伴う変化、副腎性性ホルモンの加齢に伴う変化、膣固有の老化に伴う変化の3つの側面があり、膣は老化研究の対象として興味深い臓器であると考えられる²⁰⁾。また、平均余命が延長した結果、女性は閉経後も平均して30年間生きる時代になってきており、老年期女性における生活の質は社会的にも関心を集めるようになってきている。したがって、卵巣性性ホルモン分泌のない老年期における膣の機能維持に関する研究は、社会的にもその意義が認められつつある。

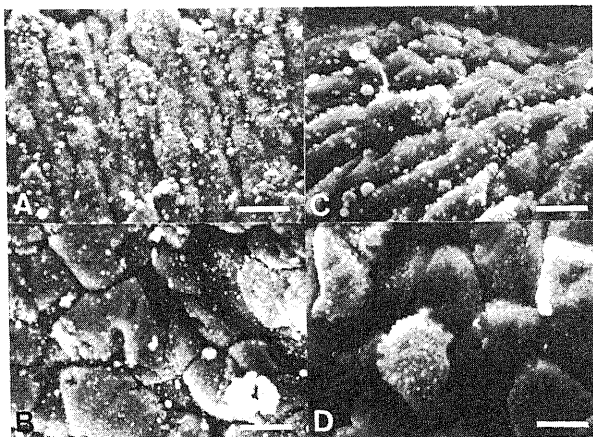


Fig. 6. Scanning electron micrograms of the surface of the vagina of ovariectomized mature rats 24 hours after a single injection of vehicle (A), 2 µg/100 g body weight (BW) of estradiol benzoate (B), 5 mg/100 g BW of dehydroepiandrosterone-acetate (C), 10 mg/100 g BW of dehydroepiandrosterone-acetate (D). Bilateral ovariectomy was performed at the 60 th day of age and autopsy was performed at around 90 day of age. Bar=10 µm.

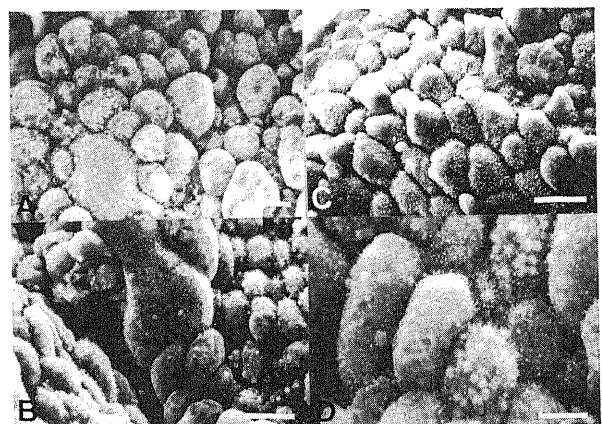


Fig. 7. Scanning electron micrograms of the surface of the vagina of aged rats older than 18 months. Bar in A, B and C=10 µm; bar in D=2 µm.

これらの観点から、従来よりわれわれの教室では腔を加齢現象の研究対象のひとつとして、ヒトおよびラットを用いて実験的研究を行ってきた。ラットの腔上皮は、基底膜近くで上皮細胞の増殖が行なわれたのち基底細胞から表層細胞に向かって成熟が進み、表層細胞が角化して細胞死を来し剝離・脱落していくことから、典型的な細胞再生系のひとつとされている²¹⁾。この腔上皮では細胞の増殖と分化が性ホルモンの支配下にあることが特徴で、エストロゲンなどにより増殖から角化・細胞剝離までの過程が短縮される。したがって、個々の腔上皮細胞からみると性ホルモンが細胞自体の発育・老化を促進していると考えられる。そこで、これまでわれわれの教室では、成熟期の去勢ラットに性ホルモンを投与して腔上皮細胞における変化を調べることにし、細胞再生系の観点から性ホルモンの腔細胞に対する発育・老化促進におよぼす効果を検討してきた。その結果、副腎性アンドロゲンのひとつである DHA もエストロゲンやプロゲステロンと同様に投与量依存性に腔上皮の角化や粘液化を促進すること、その結果腔上皮の剝離が亢進することを形態学および生化学的手法を用いて明らかにしてきた¹³⁾¹⁵⁾¹⁶⁾¹⁹⁾²²⁾。

本研究では、対象を新生仔期および老齢期にまで広げてラット腔上皮の加齢に伴う生理的な形態変化を明らかにし、臓器としての腔上皮の老化現象と卵巣機能の加齢に伴う変化との関連について考究した。さらに、成熟期去勢ラットおよび成熟期去勢ラットに性ホルモンを投与した場合の腔上皮の所見と老齢期ラットの腔上皮の所見とを比較検討することにより、老齢期ラットにみられる腔上皮の所見が臓器としての腔自体の老化を反映している可能性があるのかどうかについても考察を加えた。

発生学的にみると、ラットの腔上皮のうち頭側約1/3がミューラー管下部由来であり（ミューラー管腔，Müllerian vagina）、これより尾側の腔上皮は尿生殖洞背側の上皮に由来している²³⁾。胎生15日頃にミューラー管下端が尿生殖洞の背側上方と交通した後、尿生殖洞の分離が起こり、その腹側から尿道が背側から腔が形成される。ラットにおけるこの尿生殖洞の分離は、出生後数日を経て完成されるものと考えられている。出生時には、ミューラー管腔の上皮は、すでに偽重層円柱上皮から重層上皮へと分化しており、腔の形成も認められる。また、尿生殖洞由来の腔のうち尾側では腔の形成が認められ、その上皮は立方上皮から重層扁平上皮への分化を遂げて外陰皮膚の重層扁平上皮と連続しており、尿生殖洞腔（sinus vagina）と呼ばれている。一方、腔入口部位では主として生殖結節後方の組織の肥大により内腔が狭窄して腔閉鎖膜を形成している。これに対し、ミューラー管腔に連続する尿生殖洞由来の腔では、偽円柱上皮より成り、扁平上皮への分化や腔の形成は見られず、充実性腔（solid sinus）と呼ばれている。2日齢頃になると、頭側から尾側に向かって充実性腔に腔が形成され、偽円柱上皮細胞から重層立方上皮へと変化していく。生後3日頃になると、充実性腔下方の重層扁平上皮の上層に軽度の角化が認められるようになり、尿道からの分離が完了する。その後、15日齢頃にかけて腔上皮の扁平上皮化が進み、腔入口部直上を残して腔の拡大がほぼ完了する²⁴⁾。腔入口部では、扁平上皮化を起した腔上皮細胞が剝離せずに中央部で相対する腔壁上皮の扁平上皮と接触を保っており、いわゆる腔閉鎖膜が形成される。

その後、春機発動期に至り中枢が成熟して黄体化ホルモン（luteinizing hormone, LH）の拍動性分泌が開始されると、卵巣からのアンドロゲン分泌が亢進して、これが腔閉鎖膜においてエストロゲンに転換され腔閉鎖膜の融解すなわち腔開口が起こり、腔の形態は完成する²⁴⁾。この時期は、今回使用したウィスター系ラットでは、およそ33~37日齢である²⁵⁾。このように光学顕微鏡による形態学的観察によれば、ラットでは生後15日頃までかかって腔の形態形成が進行するものと考えられている。また、新生仔期から幼仔期にかけての時期に、DHA あるいはテストステロンを投与してその後の腔開口や腔上皮のホルモン反応性を検討した教室の打出²⁶⁾および生水³⁾の成績によれば、出生後1ないし10日齢に投与された男性ホルモンは、直接あるいはエストロゲンに転換されて腔に作用しその重量を増加させること、出生後1日齢に投与された DHA あるいはテストステロン・プロビオネートにより腔閉鎖膜および腔上皮細胞の性ホルモン感受性に恒久的変化が生ずること（組織化効果）、20日齢以降の投与ではこのような組織化効果が認められないことが示されており、腔閉鎖膜および腔上皮の性ホルモン反応性という観点からも、腔の臨界期は15日齢頃までとみなされる。

以上のごとく、ほぼ15日齢までに腔の形態形成が行なわれるものと考えられるが、この時期のラット腔上皮の表面形態を走査型電子顕微鏡を用いて検討した報告はない。今回の研究では、出生後腔表面には、細胞の肥大、細胞形の多角形化、細胞表面の平坦化、微絨毛の発達と堤防状隆起の形成といった構造変化が認められ、15日齢で性成熟期の発情間期Ⅱにはほぼ相当する形態が完成されることを明らかにした。これらの一連の形態学的変化は、マウス腔の形態形成時期に観察された表面構造の変化とはほぼ一致するものであった²⁵⁾²⁶⁾。しかしながら、マウスでは性成熟期発情間期に相当する腔表面形態の完成する時期が21日齢と考えられており、今回の成績と比較すると、ラットにおける腔表面形態の完成時期はマウスよりおよそ1週間早いものと考えられた。Forsberg も、光学顕微鏡を用いた発生学的検討から腔の形態形成がラットではマウスより早くおこると結論している²⁷⁾。

性成熟期の腔上皮には、発情周期の発現に伴って表面構造の大きな変化が認められた。すなわち、発情間期Ⅱでは角化層の脱落後に微絨毛を有する多角形の細胞が観察され、発情前期には最表層に粘液顆粒様の顆粒を有する細胞層が出現するようになり、発情期と発情間期Ⅰには表層細胞の角化とその剝離像が観察された。この一連の表面構造の変化は、教室の杉田らの光学顕微鏡による観察所見と一致するものであった¹⁶⁾。去勢ラットや乳仔期のラット腔が微絨毛の発達した多角形の細胞が平面的に配列した像を示すことなどから、腔表面の細胞の基本形態、すなわち性ホルモンの影響の少ない状態における形態は発情間期Ⅱに近い像であると考えられる。これに対し、発情間期Ⅰから発情間期Ⅱにかけては、血中エストラジオールおよび血中プロゲステロン値が軽度上昇することによって発情前期に粘液化が生じ、発情前期に血中エストラジオール値が最高値となり発情期の角化が生じるものと理解される²⁸⁾。

一方、発情周期を通じて、腔上皮細胞の表面には多数の微絨毛および微皺壁が観察された。腔上皮細胞の表面（腔内腔側）には多くの棍棒状の先端を持つ微絨毛が観察されたのに対し、細胞の裏面には微皺壁が多く観察された。細胞表面の微絨毛が、相対する細胞の裏面にある微皺壁の隙間（hole）に陥入してお

り、これが細胞間の結合に関与しているものと考えられている²⁰。また、細胞表面に微絨毛が、細胞裏面に微皺壁が多く観察されることから、細胞の角化に伴い微絨毛が発達し、徐々に微皺壁に変化してゆくものと想定されている²⁰。また、著明な微皺壁の形成は発情期の腔上皮表面細胞にも認められたが、これは精子に通る道を提供すると同時に変形精子や奇形精子を捕捉する機能を担った構造であると考えられている³¹。

妊娠期には、妊娠第3～5日を境にして腔表面構造は発情周期の発情期の像にはほぼ相当する像から、強い粘液化を示す細胞像へと変化した。その後、分娩まで粘液化の程度が増強した。また、粘液化の進行と共に微絨毛は粗となり、表面はより平面的なものとなった。妊娠第3日～第5日ごろより血中プロゲステロン値が上昇することが知られており³²、これによりそれまでエストロゲンによる角化像が主体であった表面構造から、粘液化を示す像へと変貌していくものと考えられる。今回の検討結果からも、妊娠後半期に腔表面に認められた粘液細胞の形態は、去勢ラットに DHA-Ac を投与した場合に認められた粘液細胞の形態と同様であり¹⁹、妊娠後半期の強い粘液化を示す細胞は性ホルモンによって生じた形態であることが示唆された。また、妊娠に伴うこれらの一連の腔の形態変化は、われわれの教室の杉田の光学顕微鏡による検討結果ともよく一致するものであった¹⁹。

産褥期には、この粘液細胞の剝離像と下層の細胞の再生像とが観察されたが、産褥3日においても剝離像と再生像との混在が認められたことから産褥期における細胞の剝離と再生過程は発情周期に比してゆっくり起こるものと考えられた。

老齢期ラットの腔上皮表面細胞の特徴は、性成熟期のいずれの時期にもみられる細胞よりも微絨毛の少ない小型の低形成微絨毛細胞がみられること（低形成微絨毛細胞の出現）、角化細胞様細胞、粘液細胞様細胞とが同一視野に混在して認められること（非同調性）、角化細胞様細胞、粘液細胞様細胞、低形成微絨毛細胞、発情間期細胞様細胞の混在比率が同一個体でも部位ごとに大きく異なること（不均一性）の3点に要約できた。なお、成熟期（妊娠期および発情周期発情前期）の観察所見を参考にして、走査型電子顕微鏡上、細胞形態が多角形であること、表面が軽度に腔内腔に向かって膨隆していること、微絨毛が密生して一部に先端が棍棒状肥大を示すこと、微絨毛間に分泌顆粒もしくは分泌顆粒の脱落した後の小穴が観察されることの3点をみためを粘液細胞様細胞と判定した。妊娠期および発情周期発情前期にみられるこれらの顆粒が粘液顆粒であることは、一連の教室の光学顕微鏡的観察^{13,14}、透過型電子顕微鏡による観察^{15,16}により確認されている。

今回の成績には記載しなかったが、別に行なった光学顕微鏡による観察では、性成熟期去勢ラットの腔上皮は小型の胞体を有する細胞が2～3層に重層した重層扁平上皮により構成されている点で老齢期ラットの腔壁と類似した所見を示していたが、最表層の細胞の細胞質が大きく明るく見える点では老齢期ラットの腔壁とは若干異なっていた。走査型電子顕微鏡による今回の観察でも両者に明瞭な差異を認めることができた。すなわち、性成熟期去勢ラットでは微絨毛の発達も老齢期ラットよりはるかに良好であり、一部の細胞に分泌顆粒は見られるが角化細胞様の形態を示す細胞は存在せず（軽度の非同調性）、観測部位や観測個体による細胞構成比の変化（不均一性）は認められなかった。今回の研究では、この去勢ラットにエストロゲ

ン、少量の DHA-Ac および大量の DHA-Ac を投与したところ、投与24時間で細胞径の増大、細胞表面の腔内腔側への膨隆、微絨毛の増加と膨化、分泌顆粒の出現など粘液化および角化の初期の変化が観察されたが³³、これらの各腔上皮は同期した表面構造の変化を示しており、不均一性も認められなかった。また、性ホルモン投与24時間以上を経過した場合の腔上皮の表面構造の変化についてはすでに教室の杉田が報告を行なっているが、やはり同調した均一な変化が認められたとしている¹⁹。一方、産褥期には粘液細胞の剝離像に不均一性が認められたが、剝離した粘液細胞層の下層から出現する細胞には密生した微絨毛が観察されており、産褥期の所見も老齢期ラットの所見とは異なるものであった。

今回の研究では、老齢期ラットの腔上皮細胞に認められた非同調性および不均一性の所見は成熟期のいかなる時期にも認められなかった。したがって、老齢期ラットの腔上皮に認められた非同調性および不均一性の所見は、性ホルモン環境の変化を反映したのではなく臓器としての腔そのものの老化をも反映した変化である可能性が高いものと考えられた。また、低形成微絨毛については、成熟期のいかなる時期にも観察されなかったことや、新生仔期から乳仔期にかけての形態形成の過程において類似した所見が観察できたことなどから、同様に臓器固有の老化過程を反映した変化である可能性が示唆された。今後、老齢期ラットに性ホルモンを投与してその反応を観察することにより臓器自体の固有の老化過程の関与の有無についてさらに検討を行ない、ヒトにおける腔の老化過程との違いを明らかにしていく必要があるものと考えられた。

冒頭にも述べたように、視床下部-脳下垂体-卵巢系の老化過程からみるとラットの老化過程はマウスの場合よりヒトに近い。ラットでは、性周期が不完全黄体相のために周期的な子宮内膜の剝離がみられず、ヒトの閉経に相当するような生殖機能にはっきりした終焉が認められない。そこでラットが生理的に妊娠分娩可能な最終月齢である17か月齢をヒト閉経時期に相当するものと考えると、今回の老齢期ラットはほぼ閉経後の時期に相当するものと考えられた³⁴。ヒトでは腔壁は性ホルモン投与によっても粘液化を示さず、粘液化は子宮頸内膜に観察される。ヒトの子宮頸内膜は、ミューラー管下端に由来する上皮で、性成熟期には腔に向かって進展発育すると同時に、一部が扁平上皮化を示すことが知られている¹⁵。この際、化生扁平上皮の上層に粘液細胞が観察されるが、この像はラット腔上皮に観察される粘液化像ときわめて類似している¹⁵。したがって、ラットの腔上方1/3はヒトの閉経後の子宮頸内膜と対比させて、加齢に伴う変化を検討する必要があるものと思われた。

結 論

腔の表面構造の加齢に伴う変化を明らかにする目的で、新生仔期、乳仔期、性成熟期（発情周期、妊娠期、分娩期、産褥期）および老齢期におけるウィスター系雌ラットの腔上皮を走査型電子顕微鏡により観察し、去勢雌ラットに性ホルモンを投与した場合の所見と比較した。

1. 2日齢の新生仔腔上皮表面には、腔内腔に向かって球状膨隆を示す小型円形ないし卵円形細胞が石垣状に配列しているのが観察された。細胞表面には、丈の低い微絨毛がわずかに観察された。4日齢から10日齢にかけて、細胞径の増加、細胞形の多角形化、細胞表面の平板状化、細胞間の堤防状隆起の形成

が観察され、14日齢には性成熟期の発情間期Ⅱに相当する形態となった。

2. 性成熟期の腔表面には発情周期に伴う明瞭な変化が観察された。発情間期Ⅱでは微絨毛が密生した多角形の平板状細胞が、発情前期には粘液細胞層が、発情期と発情間期Ⅰには表層細胞の角化とその剥離像が認められた。微絨毛は発情周期を通じてすべての腔上皮表面の細胞に観察された。細胞の裏面には微皺壁が多く観察されたが、発情期には細胞の表面にも観察された。断面による観察では、腔上皮を構成する細胞の層数が発情間期(4~5層)から発情期(10層以上)にかけて増加するのが観察された。

3. 妊娠第3日までは角化像が認められたのに対し、妊娠第5日以降分娩までは著明な粘液細胞が観察された。分娩時期には、微絨毛の押しつぶされた細胞が出現し、産褥3日では細胞片・血球成分・粘液の付着が認められた。

4. 60日齢に両側卵巣を摘除された90~100日齢の性成熟期去勢ラットでは、丈の低い微絨毛が密生した小型紡錘形細胞が観察された。この性成熟期去勢ラットに、体重100g当たり2 μ gの安息香酸エストラジオールまたは体重100g当たり5ないし10mgのDHA-Acを投与したところ、24時間後にいずれも細胞径の増大・細胞形の多角形化・微絨毛の膨化が観察された。EB投与群では細胞が平板状となったのに対し、DHA-Ac10mg投与群では細胞表面の球状膨隆が認められた。

5. 老齢ラットでは、個々の表面細胞の細胞径、細胞形態、細胞表面の膨隆の程度、微絨毛の発達に多様性が認められ、角化細胞様細胞、粘液細胞様細胞、低形成微絨毛細胞、発情間期細胞様細胞が混在して観察された。これらの存在比率は、観察個体および観察部位により大きく異なっていた。

謝 辞

稿を終えるに臨み、ご指導とご校閲を賜りました西田悦郎教授に慎んで謝意を表します。また、終始ご指導とご教示をいただきました赤祖父一知助教授ならびに寺田督講師に深謝致します。電子顕微鏡による観察に御協力くださいました金沢大学医学部電子顕微鏡室米田邦雄元技官に深謝致します。研究の遂行に御協力くださいました教職員各位、穴田幸子、相川みち代、棚田留美子の各事務官に厚く御礼申し上げます。

文 献

- 1) 西田悦郎: 産科婦人科学領域における老年医学的研究。とくに閉経後婦人における副腎性 androgen の意義と応用。日産婦会誌, 21, 887-894 (1969).
- 2) 打出喜義: 雌ラットの性機能に及ぼす dehydroepiandrosterone 投与の影響に関する研究。十全医会誌, 102, 349-357 (1993).
- 3) 生水真紀夫: 新生仔期の dehydroepiandrosterone-acetate 投与の雌ラット生殖機能に及ぼす影響に関する研究。十全医会誌, 102, 698-713 (1993).
- 4) 守 隆夫: 年をとるのは卵巣か脳か—(1)卵巣を中心として。石居進編, ホルモンと時間—生殖周期の内分分泌学—, p57-68, 学会出版センター, 東京, 1980.
- 5) Steger, R. W., Sonntag, W. E. & Meites, J.: Female reproductive senescence. In R. C. Adelman & G. S. Roth (eds.), Endocrine and Neuroendocrine Mechanisms of Aging, 1st ed., p55-103, CRC Press, Boca Raton, 1982.
- 6) Akasofu, K., Tomita, Y., Araki, K., Shinohara, H.,

Yamamoto, H. & Nishida, E.: Effects of dehydroepiandrosterone acetate administration on postmenopausal women with gynecological malignancies. Acta Obstet. Gynaecol. Jpn., 29, 1011-1020 (1977).

7) 荒木克己, 富田嘉昌, 赤祖父一知, 西田悦郎: Dehydroepiandrosterone, DHA sulfate および acetate 投与の中・老年女性血中ホルモン値におよぼす影響。日内分秘会誌, 54, 393 (1978).

8) 富田嘉昌: 女性における血中 11-deoxy-17-ketosteroid の動態に関する研究。十全医会誌, 88, 210-232 (1979).

9) Akasofu, K., Tomita, Y., Araki, K., Shinohara, H., Seki, K., Yamashiro, G. & Nishida, E.: Influence of aging on serum dehydroepiandrosterone, DHA sulfate and 11-deoxy-17-keto-steroids in women. Acta Obstet. Gynaecol. Jpn., 31, 1817-1876 (1979).

10) 西田悦郎: Dehydroepiandrosterone および Cortisol 長期投与の幼若ラット卵巣に及ぼす影響。日産婦会誌, 18, 285-290 (1966).

11) 西田悦郎: Dehydroepiandrosterone および Gonadotropin 混合投与の両側副腎摘除ラット卵巣に及ぼす影響。日産婦会誌, 18, 383-392 (1966).

12) 中野栄喜: 副腎性 androgen の閉経後婦人の腔上皮に及ぼす影響に関する研究。十全医会誌, 79, 456-480 (1970).

13) 瀬川秀隆: Dehydroepiandrosterone の腔上皮に及ぼす影響に関する研究。十全医会誌, 86, 190-219 (1977).

14) 杉田直道, 窪田与志, 生水真紀夫, 三輪正彦, 寺田 督, 西田悦郎: 腔上皮細胞についての組織細胞学的研究, 第1報 妊娠ラット腔上皮細胞の経時的変化—正常性周期細胞との比較を中心として—。日臨細胞会誌, 23, 33-39 (1984).

15) 杉田直道: Dehydroepiandrosterone 投与ラットにおける腔上皮細胞の超微構造的変化に関する研究。十全医会誌, 88, 1-18 (1979).

16) 杉田直道, 窪田与志, 寺田 督, 西田悦郎: 腔上皮細胞についての組織細胞学的研究, 第2報 ラット腔上皮細胞における粘液形成化の超微構造—とくに Dehydroepiandrosterone 投与による変化について—。日臨細胞会誌, 23, 359-369 (1984).

17) Tanaka, K. & Naguro, T.: High resolution scanning electron microscopy of cell organelles by a new spicemen preparation method. Biomed. Res., 2(Suppl.), 63-70 (1981).

18) 荒木克己: 女性における血中 dehydroepiandrosterone の動態に関する研究。十全医会誌, 89, 852-876 (1980).

19) 西田悦郎: 産科婦人科領域における副腎性 Androgen に関する研究 1. Dehydroepiandrosterone および Glucocorticosteroids 投与の正常成熟および両側副腎摘除去勢雌ラット性器に及ぼす影響。日産婦会誌, 15, 1151-1158 (1963).

20) 赤祖父一知, 生水真紀夫: 閉経と内分泌変動。臨床検査, 37, 349-354 (1993).

21) 江上信雄, 守 隆夫: 上皮細胞の分裂と分化—細胞再成系の2つの例を中心として—。医のあゆみ, 79, 245-256 (1971).

22) 大崎勝三: 副腎性 Androgen 投与のラット血中ホルモンおよび腔上皮シアル酸に及ぼす影響。十全医会誌, 91, 387-402 (1982).

23) Forsberg, J. G.: Cervicovaginal epithelium, its origin and development. Am. J. Obstet. Gynecol., 115, 1025-1043

(1973).

- 24) Ojeda, S. R. & Urbanski, H. F.: Puberty in the rat. In E. Knobil & J. Neill (eds.), *The Physiology of reproduction*, 1st ed., p1677-1737, Raven Press, New York, 1988.
- 25) Plapinger, L.: Surface morphology of uterine and vaginal epithelia in mice during normal postnatal development. *Biol. Reprod.*, 26, 961-972 (1982).
- 26) Lamb, J. C., Newbold, R. R. & McLachlan, J. A.: Modulation of the female mouse genital tract by hormones. *Scanning Electron Microscopy*, 2, 773-778 (1978).
- 27) Forsberg, J. G.: Estrogen, vaginal cancer and vaginal development. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 113, 83-87 (1972).
- 28) Butcher, R. L., Collins, W. E. & Fugo, N. W.: Plasma concentration of LH, FSH, prolactin, progesterone and estradiol-17 β throughout the 4-day estrous cycle of the rat. *Endocrinology*, 94, 1704-1708 (1974).
- 29) Centola, G. M.: Surface features of exfoliated vaginal epithelial cells during the oestrous cycle of the rat examined by scanning electron microscopy. *J. Anat.*, 127, 553-561 (1978).
- 30) 工藤京子, 飯沼守夫: ラット膣上皮の走査電顕像. *東京女子医大誌*, 55, 481-489 (1985).
- 31) Pakzad, R. & Paufler, S.: Scanning electron-microscopic study of sperm retention and migration in the vagino-cervical region of the rabbit. *Cell Tissue Res.*, 227, 387-399 (1980).
- 32) Albrecht, E. D.: Pregnancy in young and aged rats, II. Peripheral serum progesterone concentrations. *Biol. Reprod.*, 33, 432-435 (1985).
- 33) Parakkal, P. F.: Cyclical changes in the vaginal epithelium of the rat seen by scanning electron microscopy. *Anat. Rec.*, 178, 529-538 (1974).

Chronological changes of the vaginal epithelium in postnatal developing, mature and aged rats: A scanning electron microscopic study Yoshi Kubota, Department of Obstetrics and Gynecology, School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920—J. *Juzen Med Soc.*, 102, 787—795 (1993)

Key words vagina, scanning electron microscopy, aging, dehydroepiandrosterone, rat

Abstract

To clarify the sequential of surface structure of the vagina with aging, the vaginal epithelium of the female Wistar rat was observed from birth to old age using scanning electron microscopy. On postnatal day 2 (P2), small ovoideal cells with microvilli were seen to be clustered like a stone-wall in the vaginal epithelium. On days between P4-P10, the cells gradually acquired large polygonal configurations with their surfaces flattened, while the microvilli were well developed to form ridges which demarcated cell boundaries clearly. By P14, the surface structure of the vagina was fully formed up to that in the second diestrus period (diestrus II) of the mature estrus cycle. The surface structure of the vagina was found to change according to the estrus cycle in maturity: 1) flattened polygonal cells possessing short microvilli appeared at diestrus II, 2) mucinous cells with granules and club-tipped microvilli appeared at the proestrus period, and 3) keratinized cells, some of which were in the process of desquamation, appeared at estrus and the first diestrus period (diestrus I). Keratinized cells at the estrus period had the club-tipped microvilli on the luminal surface and microridges on the opposite surface. At the first three days of pregnancy, the epithelial surface exhibited marked keratinization, while the epithelial surface exhibited extensive mucification from the fourth day of pregnancy through delivery. Compression of microvilli was observed at delivery. Attachment of the debris of cells, blood components and mucus were seen on the third day of postpartum. In mature rats which had received the total ovariectomy at P60, the vaginal epithelial surface was found to be covered with small spindle-shaped cells with numerous microvilli. When a single injection with 2 μ g/100 g body weight (BW) of estradiol benzoate (EB), 5 mg/100 g BW of dehydroepiandrosterone-acetate (DHA-Ac), or 10 mg/100 g BW of DHA-Ac was made to the spaying rats, swollen polygonal cells with club-tipped microvilli appeared 24 hours later. The surface cells were more flattened in EB treated rats than in DHA-Ac treated rats. In anestrus aging rats older than 18 months, the surface cell of the vagina showed marked variety in its size, shape, bulging of the surface and the development of the microvilli. The surface cells were classified into four different types: 1) keratinized cells, 2) mucified cells, 3) dysplastic cells with few microvilli, and 4) flattened polygonal cells corresponding to those in the diestrus II. Thus, the present findings show that 1) the surface structure of vaginal epithelium changes under the process of morphogenesis during the first two weeks of life, and 2) changes according to hormonal alteration of the estrus cycle or pregnancy in mature rats, and 3) disturbance of synchronized cell growth is seen in the aged rats reflecting the aging process of the vaginal epithelium itself.