

Dehydroepiandrosterone投与ラットにおける脛上皮細胞の超微構造的変化に関する研究

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 公開日: 2017-10-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 杉田, 直道 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/8803

Dehydroepiandrosterone 投与ラットにおける膣上皮細胞の超微構造的変化に関する研究

金沢大学医学部産科婦人科学講座（主任：西田悦郎教授）

杉 田 直 道

(昭和54年11月20日受付)

副腎皮質由来の androgen は産科婦人科学領域において重要な役割を果たしている。このことは種々の面から研究が進むにつれて、益々確実に実証されてきている。すなわち女性では prepuberty 思春期前期に急激な副腎性 androgen の分泌増加がおこる。特にその主要分画である dehydroepiandrosterone (以後 DHA と略す) 及びその硫酸結合型である DHA-sulfate (以後 DHA-S と略す) がまず急上昇し、その後 estrogen が急増し、次いで初経 menarche を見るに至る。この卵巣機能及び初経発来には副腎性 androgen の存在及び分泌急増が必要とみなされている。また女性においても性毛、腋毛の発生、acne なども副腎性 androgen 多くの部分を依存しており、長管骨の成長もこれに関与している。

女性のいわゆる成熟期においては、副腎皮質機能、特に androgen 分泌の亢進や副腎皮質機能低下は卵巣機能異常ひいては不妊を招来する。また正常排卵周期においても、排卵期に一致して血中副腎性 androgen が一過性に上昇するものがあり、その関連性が注目されている。

産科学的には妊娠中、胎盤より極めて大量の estriol が分泌され妊娠維持に重要な役割を果たしているが、その precursor は胎児副腎皮質から分泌される DHA-S であり、DHA-S の分泌低下は妊娠分娩に種々の不良の結果を招来する。

更年期においては、閉経後もなおかなりの量の副腎性 androgen の分泌が続き、60 才前後で減少するが、全く消失することはなく、70 ~ 80 才代においても、一定の値を保っている。更年期における健常女性と更年

期障害患者とを比較すると、後者において血中副腎性 androgen 値がやや低下している傾向が認められている。

我々はこれら女性における副腎性 androgen の動態やその生物作用、及び生理学的意義などについて一連の検索を行なってきており、さらに更年期障害の治療に副腎性 androgen の内服などの臨床応用も試みている。^{1)~12)}

DHA を閉経後女性及びラットに投与すると、膣上皮は増殖肥厚し、PAS 陽性物質が著明に増加し、特徴的ないわゆる粘液化 mucification がおこる。同腹両側卵巣摘除ラットに DHA-acetate (以後 DHA-Ac と略す) を 1 日量 1mg を連続投与すると 7 日目で表層円柱上皮 superficial columnar cell の回復が見られ、14 日目には mucification 像が現われる。また 1 日 2 mg 14 日間、あるいは 1 日 5 mg 7 日間投与で mucification は極大となり、それ以上の投与では逆にそれは減弱し、閉経後女性に DHA-Ac を投与すると、膣上皮は肥厚し上皮内 PAS 陽性物質は著増するという⁸⁾。

これらの形態学的变化については光学顕微鏡学的にはかなり詳細な観察がなされているが、その超微構造についての電子顕微鏡学的検索はほとんどなされていない。

著者は副腎性 androgen を投与した場合の卵巣機能消失後の膣上皮超微構造に及ぼす影響を検索する目的で、両側卵巣摘除ラットに DHA-Ac を投与し、その膣上皮におこる変化を透過型電子顕微鏡を用いて検索し、さらに走査型電子顕微鏡によって観察した。

Ultrastructure of Mucification of Vaginal Epithelium in Dehydroepiandrosterone treated Rat. Naomichi Sugita, Department of Obstetrics and Gynecology (Director : Prof. E. Nishida), School of Medicine, Kanazawa University.

材料及び方法

生後 40 日目の体重 100g 前後の Wistar 系雌ラット約 60 匹を腔口が開口するまでの間約 1 ~ 2 週間ケージで飼育し、環境に慣らした後実験を開始した。飼料としては固体飼料(オリエンタル K.K 繁殖用)を用い、飲料用水道水と共に自由に充分摂取させた。なお飼育はほぼ 25 ℃の換気の良好な空調飼育室で行ない、照明は特に調節せず昼夜の明暗に従った。

また体重測定と腔内容塗抹標本採取を連日 7 日間行ない、順調な体重増加と規則的性周期を維持しているものみを実験に供した。両側卵巢摘除はエーテル麻酔下で背部より行ない、その後 3 週間放置した。3 週間後 smear が静止期である事を確認した後 DHA-Ac を背部皮下より注射した。実験群別は次の如くであり、各群 6 ~ 8 匹とした。

A 群：無処置対照群

B 群：oil solvent 投与群 (0.1 ml/日, 7 日間)

C 群：DHA-Ac 5 mg/日投与群

C - 1 群 1 日投与群

C - 2 群 2 日間投与群

C - 3 群 4 日間投与群

C - 4 群 7 日間投与群

C - 5 群 14 日間投与群

D 群：DHA-Ac 10 mg/日 7 日間投与群。

なお両側卵巢切除及び腔標本摘出時などには次の点に留意した。両側卵巢切除時は stress をできるだけ避ける目的で手術創を小さくし、手術侵襲も小さくした。また組織の遺残のないよう子宮角の一部も含めて切除した。腔標本摘出特に透過型電子顕微鏡標本作製については次の如く行なった。DHA-Ac 注射終了後 24 時間後に体重測定を行ない、エーテル麻酔下で開腹し、脂肪組織並びに膀胱直腸を圧迫した後、子宮頸部から腔にあたる部分に、2.5% グルタールアルデヒド液 2 ~ 3 ml を注いだ。次いで心臓より脱血させて屠殺し、腔の上部 1/3 を膀胱の一部とともに取り出し、直ちに 2.5% グルタールアルデヒド液内にて迅速且つ十分に洗浄した。この場合わずかの血液をも残さぬよう留意した。それは血液の附着がその後の固定、包埋に大きな支障をきたすことを避けるためである。なおグルタール液はポリサイエンス社製を使用し 0.05M カコジレート緩衝液を加えて 2.5% に調製した後、pH 7.4 であることを予め確認した。

次いで 4 ℃以下に十分冷えた試料細切台上に滴下された 2.5% グルタールアルデヒド液中にて腔上皮を 1 mm 四方の切片に細切した。その際ピンセットやカミソリの刃による組織の挫滅を恐れ細心の注意を払った。

1 時間のグルタール固定の後水洗し、4% オスマウム酸による後固定を行なった。次いで型の如く操作を行ない試料作製を行なった。なお染色は酢酸ウラニール・鉛二重染色法により行なったが、一部試料は粘液顆粒内容物の成分を推測する目的で ruthenium red 染色を行なった。

観察には日立 HU-11DS (75KV)、日本電子 JEM - 100B 型 (80KV) 電子顕微鏡で直接倍率 600 ~ 20000 倍で行ない撮影した。

なお、同実験において、腔上皮表面の超微細構造の変化を観察する目的で、走査型電子顕微鏡を用いた。その試料作製においてはやはり屠殺後直ちに腔管上 1/3 部を切り出し処理した。

臨界点乾燥には日立工機社製、日立自動臨界点乾燥装置 HCP - Auto 型を使用した。乾燥を終えた試料は銀ペーストにて直径約 2 cm の円形の真鍮の試料台上にて固定した後、カーボンと金パラジウム線による回転蒸着を行なった。

観察には日立電界放射型走査電子顕微鏡 (HFS - 2 型) を用い加圧電圧 15 ~ 20KV の条件下で 500 ~ 20000 倍に拡大し観察した。

成 績

DHA-Ac 1 日 5 mg を連続投与した場合、両側卵巢摘除ラット腔上皮の超微構造に種々の変化があらわれたが、それらについて概略的に示すと、写真 1, 2, 3 に示す如くであった。

I. DHA-Ac 投与両側卵巢摘除ラット腔上皮超微構造全体像の比較

対照群 (oil solvent 投与) では、細胞層の厚さは 2 ~ 3 層となり、micro villi は疎で短く、表層細胞には小さな空胞が散在した (写真 1)。

これに DHA-Ac を 2 日間投与すると写真 2 に示す如く、上皮の厚さは約 2 倍になり、細胞層は 5 ~ 6 層に増大した。最表層の細胞は円柱形となり、中には粘液空胞を満たし、核は細胞の底面に圧迫されていた。

DHA-Ac 7 日間投与では、上皮の厚さはさらに約 2 倍に肥厚し、細胞層は約 10 層となった。表層の数層は細胞内に粘液空胞が充満し、胞体の大きさも 2 日間投与群のものよりもかなり大きくなかった (写真 3)。一方基底細胞は、対照群、DHA-Ac 2 日間投与群、7 日間投与群共にほとんど差が認められなかった。

中層は対照群ではそれに相当すると思われる細胞層は存在せず、2 日間投与群では 2 ~ 3 層、7 日間投与群では 3 ~ 4 層となった。中層は表層と深層との中間的特徴を示した。

II. DHA-Ac 投与両側卵巢摘除ラット腔上皮超微構造の透過型電子顕微鏡による観察所見

1. A群 対照群（無処置群）（写真4,5,6）

1) 表層（写真4,5）

最表層の細胞は横に長く扁平で、細胞遊離縁は比較的疎で短い micro villi に被われ、その先端に放射状の surface coat が認められるものも少數ながら存在した。

細胞内小器官は比較的乏しくミトコンドリアなどもあまり多くはなかったが、最表層細胞の遊離縁近くに直径 0.3 ~ 0.5μ の限界膜を有する円形ないし橢円形の粘液空胞と思われる顆粒の散在が認められた。また粘液空胞の周辺にやや発達の良好な Golgi 装置が散見された。

細胞間の結合は深層に比してやや緩く、desmosome も多くはなかった。

2) 深層（写真6）

最基底層の細胞間の結合は強く、よく発達した desmosome が多く見られ、また hemidesmosome も明瞭に認められた。核は橢円形で、その周囲に Golgi 装置、粗面小胞体などがみられたが、それらの発達は弱いものとみなされた。

その他細胞内には free ribosome が全体に分布しまた tonofilament も細胞内を縦走しているのが認められた¹³⁾¹⁴⁾。

2. B群 対照群（oil solvent 投与群）

無処置対照群に比べ、やや腔上皮の厚径の増加が見られる印象を持ったがその差は極めて僅かで oil solvent による特有の変化はまずないと考えられた。

3. DHA-Ac 1日投与群（C - 1群）

対照群との間に著明な差異は認められず、所により細胞層がやや増加しており、また表層細胞内の粘液空胞数の軽度の増加傾向がみられた。

4. DHA-Ac 2日間投与群（C - 2群）（写真7,8,9,10）

1) 表層

最表層の1層の細胞のみが特徴的な円柱状を呈し、細胞内特に胞体の上 2/3 は多数の大小種々の粘液空胞で満たされ、核及び Golgi 装置、粗面小胞体、ミトコンドリアなどの細胞内小器官が胞体の底面、下側方、側方などに圧排され、核の扁平橢円形、三日月形などの変形がしばしば認められた。

最表層細胞の表面は球状に膨出して腔腔へ突出し、また細胞間の desmosome は数を減じ、interdigitation は緩徐となり、細胞間結合の強度の減退が推測された（写真7）。

最表層細胞の micro villi の大きさ、形状は対照群とほぼ同様であったが、micro villi の周囲に ruthenium red 陽性の絮状物質が対照群に比し著明に認められた。また細胞表面の一部が球状に腔腔内に突出した像も処々に見られた（写真8）。

細胞内の粘液空胞は直径 0.65 ~ 1.55μ で形は円形ないし橢円形であり、限界膜を有するものもあり、幾つか融合しているものも多く見られた。Golgi 装置は対照群に比し、かなり良く発達し、長径 2 ~ 3μ であり、また Golgi 層板も多層化し、その先端が一部拡張しているものも見られた。その内容物は細胞内に充満する粘液空胞の内容物に類似した像を呈した。粗面小胞体は所々拡張を呈し、その他、ミトコンドリア、free ribosome は細胞辺縁に圧迫されているが個々の所見としては著明な変化は認められなかった（写真10）。

2) 中層

DHA-Ac 投与により全層は 4 ~ 5 層に増殖し、中層は 2 層前後の細胞層として認められるようになったが、細胞内には粘液空胞はほとんど認められなかった。Golgi 装置、粗面小胞体などの発達は比較的良好であった。

中層の細胞間の desmosome は一般によく保たれ、細胞間の結合は強い印象をうけたが、表層に近づくにつれて、desmosome は短くなり、細胞間結合の弱化する傾向が認められた（写真9）。

3) 深層

全体的には対照群の基底細胞に比し著変は認められなかったが、傾向としては Golgi 装置特に Golgi 小胞の数と Golgi 層板の長さの増加傾向が認められた。

5. DHA-Ac 4日間投与群（C - 3群）

層の厚さは 6 ~ 8 層となり、表層の粘液空胞に満たされた細胞層も数層にわたり、その部位では細胞間の desmosome の減少、interdigitation の緩徐化の増大が認められた。核は下方にかなり強く圧迫され、その周囲に拡張した粗面小胞体や、Golgi 装置の集団が散在するのが認められた。深層の 1 ~ 2 層には著しい変化は認められず、対照群の深層細胞とほぼ同様の所見であった。

6. DHA-Ac 7日間投与群（C - 4群）（写真11,12,13）

DHA-Ac を 7 日間連続投与すると、腔上皮は約 10 層に増殖し、表層の 3 ~ 5 層には強い粘液形成（mucification）がみられた。

1) 表層

細胞内には直径約 0.3 ~ 1.5μ の多数の粘液空胞が

充満し、最表層の細胞の表面は腔腔内に膨隆し、一部ポリープ状に突出する部分も処々に見られたが、その部位では micro villi は疎であった。

細胞内小器官は大部分充满する粘液空胞により細胞周辺に圧迫されていたが、その中で粘液空胞を併続してよく発達し、多層化した大きな Golgi 装置がよく見られた(写真11)。

その他ミトコンドリア、free ribosome なども見られたが、いずれも細胞周辺に圧迫されていた。また細胞遊離縁ではポリープ状に突出した細胞膜の一部が開口したと思われる像もみられ、その周辺の腔腔内には限界膜に包まれた粘液空胞が認められた。

さらに細胞遊離縁には micro villi を放射状に包む surface coat 被覆が比較的多くみられた¹⁵⁾¹⁶⁾(写真13)。細胞間の結合は投与日数の増加に伴ない漸次緩くなる傾向が見られた。

2) 中層

中層細胞のうち表層に近いものでは粘液空胞が軽度ないし中等度にみられた。深層に近いものでは著明な変化は認められなかつたが、一部の細胞に直径 0.2 ~ 0.3μ の円形の小空胞が認められた。なお細胞間の結合はやはり表層に近いほど緩く、深層に接するものは desmosome がよく発達し強固に思われた(写真12)。

3) 深層

深層の細胞も基底膜上に並列する立方状の細胞群としてみられ、hemidesmosome、並びに各細胞間の desmosome がよく発達し保たれており、細胞間結合の強さが窺がえた。

細胞内小器官は他の群と著明な差は認められなかつたが、対照群に比し free ribosome もやや密在し、ミトコンドリア、Golgi 装置なども多く見られ多少の違いがみられた。

核に著変は認められなかつたが DHA-Ac 投与群は対照群に比べ mitosis が多く見られる傾向にあつた。

7. DHA-Ac 14日間投与群(C-5群)(写真14, 15, 16)

DHA-Ac 1 日 5 mg を 14 日間連続投与すると、腔上皮細胞の粘液形成は逆に減退の傾向を示した。また細胞層も層の数、厚径にも減少がみられた。これらは、本群では表層細胞層の細胞集塊状の離脱が起つたことによるものであつた。

1) 表層

胞体内の粘液空胞が著しく少い細胞が多くなり、粘液空胞保有細胞は減少した。表層細胞間に最表層細胞間の interdigitation は緩くなり、desmosome も

ほとんど消失し、細胞間隙が広くなつた。(写真14)走査型電顕所見で表層細胞がまさに剥脱しようとしている像が得られたが、その所見と考えあわせると、透過型電顕像で隣接する細胞との間隙がかなり広くなつたものでは、まもなくその細胞は剥脱するものとみなされた。またその細胞剥脱の跡とみなされる像が得られた(写真15矢印)。その剥脱像の周囲には細胞間隙の突起と思われる密な小突起像が認められた。

2) 中層

細胞内所見としては Golgi 装置、粗面小胞体はやや発達がみられたが、ミトコンドリア、free ribosome、tonofilament などには著変は認められなかつた。また細胞間の結合はかなり強く保たれているとみなされる所見であつた。

3) 深層

深層特に最基底層の 1 層の細胞は DHA-Ac の大量長期投与によつてもほとんど全く変化せず、わずかに Golgi 装置、ミトコンドリアなどの細胞内小器官の発達が軽度に良好であった。細胞間結合にも全く変化が認められなかつた(写真16)。

8. DHA-Ac 1 日 10 mg 7 日間投与群(D群)

この群は 1 日 5 mg 14 日間投与群(C-5群)の所見とほぼ一致していた。ただ表層の剥離はそれほど激しくはなかつた。

III. DHA-Ac 投与両側卵巢摘除ラット腔上皮表面超微構造の走査型電子顕微鏡による観察所見。(写真17~22)

DHA-Ac を投与した場合の腔上皮表面の超微構造を対照群のそれと比較すると次の如くであった。

対照群では細胞は屋根瓦状に配列し、表面はほぼ扁平であり一部には軽度に膨隆しているものもみられた。細胞表面には多数の micro villi が密生し、その先端は棍棒状に膨隆しているのが観察された¹⁷⁾(写真17, 18)。

DHA-Ac 2 日投与群では細胞表面は軽度に膨隆し、その表面はポリープ状の突出部がみられ、この部位の表面には micro villi 様の突起はあまり認められなかつた。このポリープ状突出部は、透過型電顕で認められた粘液空胞を満たした突出部(写真8, 11, 13)に相当するものとみなされた。また micro villi はやや太く短くなった印象を受けた(写真19, 20)。

DHA-Ac 7 日投与群では、細胞のいくつかは半球状に大きく膨隆突出し、腔上皮表面全体としては凹凸が強くなつた。micro villi はさらに短縮した。また前記のポリープ状突出部が細胞遊離面で腔腔内に開口し、内容物、粘液空胞を排出した跡と思われる像(写真

22矢印) も認められた(写真21, 22)。

考 察

生体はその外表を上皮に被われて、外界と接している。この上皮すなわち皮膚と粘膜のうち、その増殖がホルモンによって強く影響されているものがあるが、その特徴的なものの1つとして腔上皮がある。

腔上皮は重層扁平上皮であり、一見皮膚の表皮の構造に似ているが、ホルモン特に estrogen, progesterone, androgenなどのsex steroidに対する反応が著しく異なる。腔上皮のsex steroidに対する反応の態度はその部位により相違し、一般に腔の上1/3の部位は反応が過敏であり、下1/3はさほど反応しない。

腔上皮の機能は2つに大別され、その1つは sexual intercourse の場合であり、他は児娩出時の場合である。sexual intercourse はヒトでのみ sexual cycle と無関係に行われるが、他の生物では時期を選んで行なわれる。ラットやマウスなど性周期の明確な動物では、proestrus から estrus に移る一定時期のみにそれが行われ、diestrus に行われることは全くない。このことは、diestrus では腔上皮は菲薄であり、proestrus から estrus にかけては腔上皮は肥厚し、細胞間の結合も強く保たれていることを考え合せるとまことに合理的といえる。生物では雌からの何らかの sexual sign がなければ雄は全く行動しない。雌の意識的、無意識的の態度、また視覚的、嗅覚的な sign がまず最初に雌から雄に送られて始めて雄が行動に移る。この雌からの sign は内分泌的な内部環境の準備が完了しなければ発せられないから、このことも極めて理に適っている。

一方児娩出時には腔は児圧出のために伸展拡大し、また児体表による擦過のため種々の障害を受けやすい。その場合、腔壁と児体表間にいわば潤滑油の役割をするものがあればまことに好都合である。その役割をなすものには胎児側としては、羊水、胎脂、があり頭部や体表の毛髪なども場合によってはそのような役割を果している。腔上皮側では大量の progesterone と少量の estrogen の作用により変化する。ラットでは腔上皮表層の粘液形成 mucification が行われ^{18, 19}、また腔の厚さや細胞層も diestrus 時の数倍に肥大する。これらにより、腔壁は保護され、また児娩出を容易にしている。

ヒトにおいては閉経後、卵巢機能閉止と共に、卵巢由来の estrogen 欠如のために、腔上皮は菲薄となり、いわゆる老人性腔炎 vaginitis senilis の状態となる。

この場合閉経後かなりの年数を経た女性でも有夫ないし sexual intercourse のある女性ではそうでない女性よりも比較的老人性腔炎は少ないとされている。このことは種々の sexual な刺激により、副腎皮質から estrogen ないし androgen が分泌され、それが腔上皮に作用することによるとみなされている。副腎からの sex steroid 分泌は ACTH の支配下にある。副腎皮質から分泌される sex steroid の代表は dehydroepiandrosterone (DHA) であり、これが androstenedione, testosterone などの各種の androgen に convert され、さらに、肝や末梢脂肪組織などで aromatization をうけて、estrogen となるとされている^{20, 21}。閉経後女性では血中 DHA 値は急激に減少し、また、更年期障害女性では同年令の正常女性に比して血中 DHA 値の低下傾向も認められている。

我々はこれら DHA を中心として、副腎性 androgen ひいては副腎由來の sex steroid の女性に及ぼす影響について一連の研究を行なってきており、また更年期障害女性や閉経後女性などに臨床的に DHA-Ac などを投与し、症状改善その他の良好な結果を得ている。

それらの詳細について検討を加える目的で、DHA-Ac を両側卵巢摘除ラットに投与し、腔上皮の超微細構造について観察した結果、前記の如き成績を得たが、これらはヒトの場合にも種々の示唆を与えるものと思われる。本実験では DHA-Ac 投与により、表層細胞に著しく多数の粘液空胞があらわれた。これに相当する部位は光顕標本においては、PAS 染色及びアルシンブルー染色で強陽性、ムチカルミン染色も陽性であった。

また閉経後女性に DHA-Ac を投与すると、腔上皮内の PAS 陽性物質は增量する。これらの変化には種による相違ももちろんあるが、一方それを超えた共通の反応態度もみられる。

本実験において DHA-Ac を投与すると表層細胞に2日目より粘液空胞が增量し、7日後には peak に達した。この細胞の形状は、一見腸管の杯細胞 goblet cell によく似ているように思われた。両者は重層扁平上皮と单層円柱上皮と組織学的には相異り、また内分泌面の態度も相違するが、分泌物を産生する機能面において何らかの類似点があるのではないかと推測された。

杯細胞の形態及び機能については古くから多くの研究があり、電顕的にも種々の面からその成長過程が観察されているが、その過程は大要次の如くとされてい

る。すなわち、未分化な段階ではミトコンドリアは長径 $0.3 \sim 1.0\mu$ 、横径 $0.2 \sim 0.5\mu$ で胞体全体に散在しており、それには特徴的な所見は認められず、粗面小胞体は核周辺に限局して認められる程度で、また free ribosome は広く散在する。Golgi 装置は核上部周辺に Golgi 層板が集在して円形の形態をなしている。細胞の分化成熟が進むにつれて核周辺の粗面小胞体の発達が顕著となり、また円形に構成された Golgi 装置に取り囲まれるようにして粘液空胞が出現する。この空胞は漸次無構造から糸状物質へと構造の変化を来していく。また、空胞の発達に伴い空胞は融合する。

これら分泌顆粒が多量になるに従い、核及び細胞内小器官は細胞の底部ないし辺縁に圧排される。胞体内に充満した粘液空胞は遊離縁を破り、腔内に排出される。

また、粘液空胞の形成には Golgi 装置及び粗面小胞体が重要な役割を果し、粗面小胞体で蛋白体が合成され、それが Golgi 装置に転送され、そこで合成された mucopolysaccharide や glycoprotein と結合して電顕的に観察し得る粘液空胞が形成されるとされている^{22)~28)}。

このような杯細胞の成熟過程と、本実験における腔上皮最表層細胞と比較してみると、杯細胞の初期の未分化な形態は、両側卵巢摘除の場合の表層細胞に似ていなくもない。また、胞体内に粘液顆粒が充満し、核及び細胞内小器官が圧排された像は、本実験の 7 日間投与群の表層細胞像に似ている。

ラット腔上皮に見られる粘液は mucopolysaccha-

ride と蛋白の結合したものであり、特にシアル酸 sialic acid を含む sialomucin が重要な成分とされている。

本実験では DHA-Ac 投与日数の増加と共に表層細胞の粘液空胞がより多くなり、また表層により近い細胞により多かったが、その傾向に比例して Golgi 装置及び粗面小胞体の増数と発達の良好化が認められた。すなわち、Golgi 装置では、小胞、空胞ともに増数し、層数も巾、長さが大きくなつた。粗面小胞体はその内腔が拡がり、内容物の電子密度は増強し、特に Golgi 装置周辺において著明であった。また、Golgi 装置の一部が強く拡大し、分泌空胞へ移行すると思われる構造も認められた。これらのこととは DHA-Ac 投与による腔上皮表層細胞内の粘液空胞の形成、増加においても、Golgi 装置及び粗面小胞体が密接に関与していることを示しているものとみなされた。

中層においては表層との類似点も多くみられたが異なる点もみられた。すなわち、DHA-Ac 投与を続けると表層から中層へ漸次粘液空胞が増量していく。しかしその增量の仕方は、中層では表層ほどではなく、また中層でも深層に近い部位の細胞ではほとんど粘液空胞は産生されない。このことは腔上皮細胞のホルモン反応性が中層から深層へいくに従って弱くなることを示唆している。深層細胞とくに最基底の細胞では、投与ホルモンを極めて大量にしてもほとんど全く反応を示さないこともよく一致する(図 1)。

腔上皮は一口に hormone dependent な組織とさ

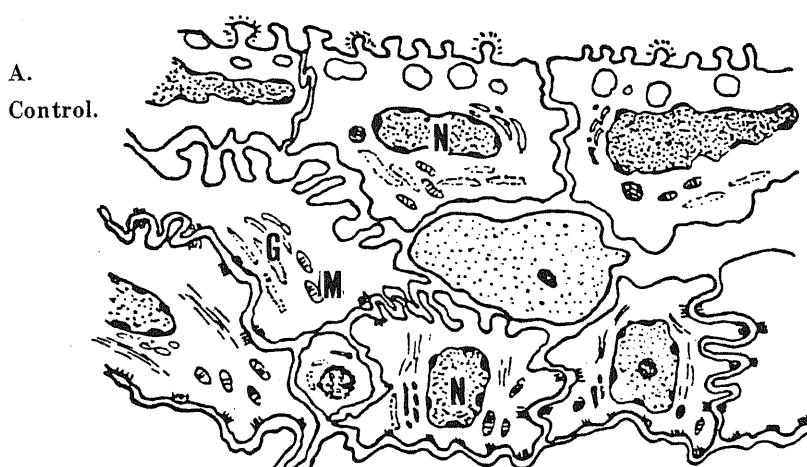
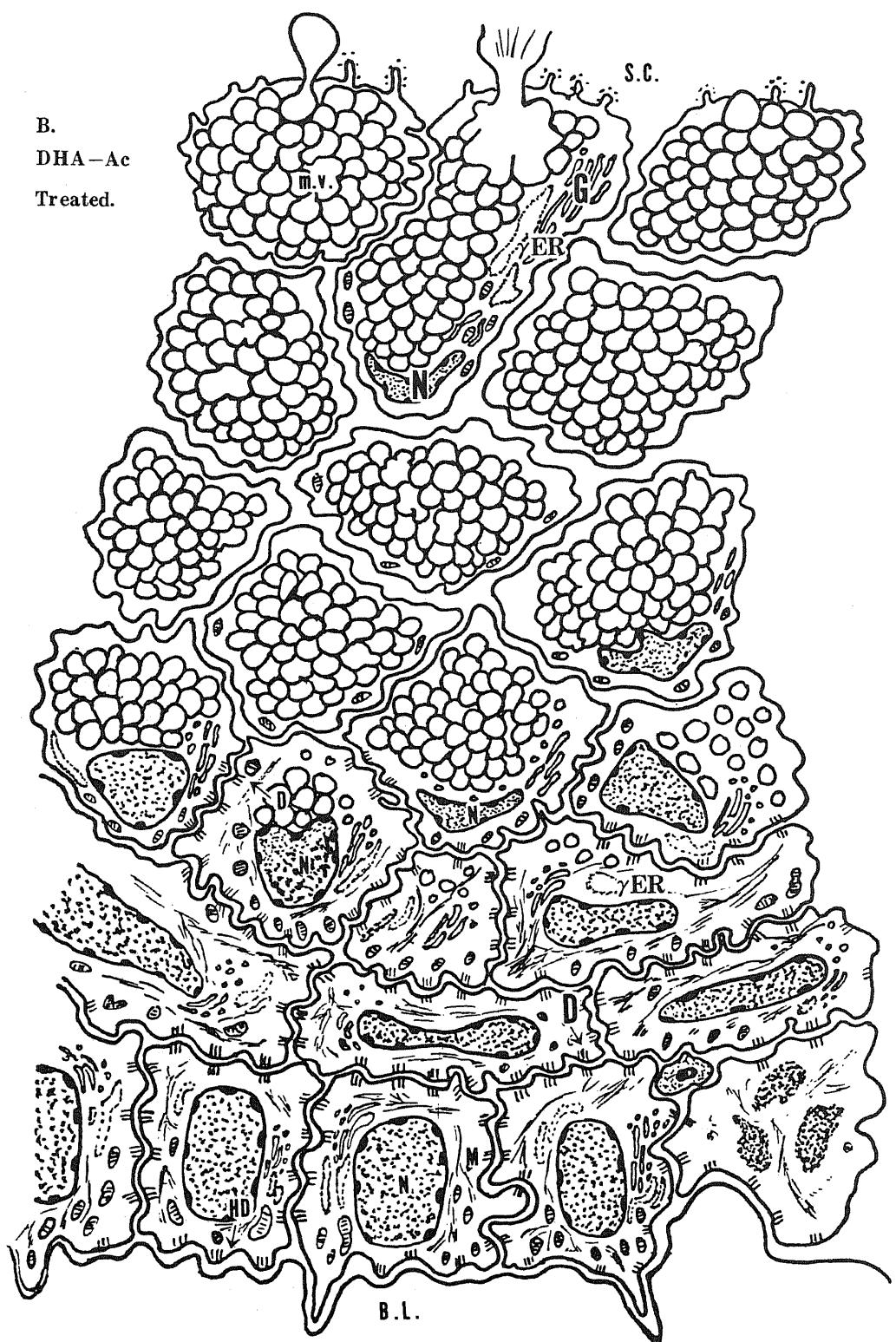


Fig. 1 Effects of administration of dehydroepiandrosterone acetate on ultrastructure of vaginal epithelium in biovariektomized rat (Schema)



れるが個々の細胞の反応性はその部位により異なる。本実験でもラット腔上皮は子宮に近い上 1/3 の方が種々のホルモンに良く反応し、腔口に近い下 1/3 の部位はあまり反応しない。また細胞の深さでは、表層に近いほど種々ホルモンに対する反応性が強いが深層になると反応は鈍くなり、特に最深層の基底層では、ほとんど全く反応しないことがよく示された。このことはある面からみれば、まことに合理的である。たとえば、妊娠時も DHA-Ac 投与と同様の粘液形成及び組織像となるが、この場合、もし全層にわたって粘液形成と細胞間の結合の緩徐化がおこれば、児娩出その他の軽度の機械的刺激で腔上皮は全層脱落し、糜爛状態となるであろう。腔入口部のホルモン反応性の微弱性についても同様の見方ができる。しかも妊娠時、表層が脱落しやすいことは児娩出時その通過を容易にするのに有効であるとみなされる。

DHA-Ac 投与により極めて容易に腔上皮の粘液形成 mucification をおこさせうること、また、その変化が妊娠時のそれによく一致していることは、前者が C-19 の androgen であるのに対して後者は C-21 の progesterone と作用ホルモンが異なるにもかかわらず同一現象をおこすという点で婦人科内分泌学面で甚だ興味深い問題を提起しており、以前より種々の検索がなされてきている。そして progesterone, androgen (DHA), estrogen, prolactin などと mucification の関係について今後さらに研究が進んでいくものと思われる^{29)~34)}。

いずれにしても妊娠時の粘液形成の詳細を検索しようとする場合には、妊娠させることの煩雑さや、刻々と変化し、また分娩が終れば像が変化してしまうことなどの状態の不定性など種々の実験操作上の困難があり、また progesterone と estrogen 混合投与による粘液形成の場合も、動物の日令や体重などによって両者の混合比が必ずしも容易でないこともある。その点 DHA-Ac 投与による場合は実験操作が極めて単純でしかも安定性があり、従ってこの方法は種々の研究面で有用な方法であると思われた。

結論

女性における副腎性 androgen の生物作用及び生理学的意義の一端を窺い知る目的で dehydroepiandrosterone (DHA-Ac) を両側卵巢摘除ラットに投与し、その腔上皮の電子顕微鏡学的超微構造に及ぼす影響について検索し、さらにその表面構造などについて若干の考察を加えた。

両側卵巢を摘除し 3 週間経過した Wistar 系雌ラ

ットに DHA-Ac 1 日 5 mg 又は 10 mg を連続投与し、1 日後、2 日後、4 日後、7 日後、14 日後に屠殺し、腔上皮について透過型並びに走査型電子顕微鏡標本を作製し、検索を加え、次の如き所見が得られた。

両側卵巢摘除ラットに DHA-Ac 1 日量 5 mg を連続投与すると、2 日後に腔上皮は 4 ~ 5 層に増殖し、特に最表層の 1 列の細胞は goblet cell 様に変化した。即ち円柱型となった表層細胞内特にその上 2/3 には大小の電子密度の比較的低い粘液性顆粒が満たされ、核は下方に圧迫され、ミトコンドリア、Golgi 装置、粗面小胞体などの細胞内小器官も周辺に圧迫された像が認められた。4 日後には腔上皮の増殖と mucification はさらに強くなった。7 日後には極めて著しい特徴的とも言える mucification 像を呈した。即ち上皮は全体として 7 ~ 10 層に達し、基底層では粘液顆粒は認められなかつたが、中層下端ではそれが認められ、いわゆる mucinous cell が全体として数層に達して見られた。表層の細胞内の粘液顆粒産生は著しく、その顆粒により遊離縁が強く上方へ押し上げられ micro villi の間隔も疎になり、一部腔内へ放出されんとする像も認められた。14 日後では表層の細胞間の結合は緩徐化し、一部に細胞の剥離像又はその痕跡と思われる像が見られ、mucification はあまり増強せず、DHA-Ac 1 日 10 mg 7 日間投与群では 5 mg 14 日間投与群に類似した所見であった。

細胞表面超微構造所見も以上の所見をよく反映しており、対照群では表面は比較的平坦で島状を呈し、表面の micro villi も全体に密生しているのが認められたが、DHA-Ac 投与の 2 日後には、表面がドーム状に膨隆し一部に外分泌様の突出を示すものが見られた。7 日後には表面膨隆は最も強くなり、micro villi の間隔が疎くなっているのが認められ、14 日後では細胞間の結合がゆるく一部に細胞の離脱した痕跡と思われる所見が認められた。

以上の所見から副腎性 androgen は腔上皮の増殖、細胞内粘液顆粒の増加などの生物的作用を発現し、卵巢機能消失後の腔上皮の回復に有用な働きをなしていると考えられる。また DHA-Ac は腔上皮基底層を障害しないことが確認され、基底細胞とホルモンとの関係、また DHA-Ac の閉経後女性に対する臨床応用の面で種々の示唆が与えられた。そして mucinous cell における粗面小胞体、Golgi 装置、surface coat の発達した所見などより腔上皮細胞内においてその粘液多糖合成に DHA-Ac が引き金の役割を果していることが推測され、その path way、メカニズムの多様性が窺われた。

終りに指導と校閲をいただいた西田悦郎教授に感謝し、種々の協力をいただいた山田、寺田、大崎、石川、細野各教官、穴田、相川、山崎各技術員に感謝致します。

また種々技術面で御指導をいただいた本学第一病理学教室、梶川欽一郎教授はじめ教室の方々に深く感謝致します。

最後に電顕撮影に際し種々協力していただいた米田、横田両技官に深謝致します。

文 献

- 1) 西田悦郎: 産婦人科領域における副腎性 androgen に関する研究 I dehydroepiandrosterone 及び glucocorticosteroids 投与の正常成熟及び両側副腎摘除去勢雌ラット性器に及ぼす影響. 日産婦誌., 15, 1151 - 1158 (1963).
- 2) 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 II 蛋白同化 steroid 及び各種 steroid 投与のラット骨に及ぼす影響. 日内分泌誌., 40, 1345 - 1357 (1965).
- 3) 西田悦郎: DHA 投与の両側副腎摘除雌ラットの成長発育に及ぼす影響. 日内分泌誌., 43, 758 - 769 (1967).
- 4) 西田悦郎: 産科婦人科学領域における老年医学的研究. 特に閉経後婦人における副腎性 androgen の意義と応用. 第 21 回日本産科婦人科学会宿題報告要旨 1 - 189 (1969).
- 5) 紺谷昭哉: 副腎性 androgen 及び各種ホルモン投与の雌ラット性器及び関連臓器に及ぼす組織化学的变化に関する研究. 十全医会誌., 78, 32 - 49 (1969).
- 6) 中野栄喜: 副腎性 androgen の閉経後婦人の膣上皮に及ぼす影響に関する研究. 十全医会誌., 79, 456 - 480 (1970).
- 7) 瀬川秀隆: dehydroepiandrosterone の膣上皮に及ぼす影響に関する研究. 十全医会誌., 86, 190 - 219 (1977).
- 8) 赤祖父一知: 女性血中副腎アンドロゲンの動態に関する研究. 第 25 回, 日本産科婦人科学会北日本連合地方部会特別講演要旨別刷. 1 - 82 (1977).
- 9) Akasofu, K., Tomita, Y., Araki, K., Shinohara, H., Yamamoto, H. & Nishida, E. : Effects of Dehydroepiandrosterone Acetate Administration on postmenopausal women with Gynecological Malignancies. Acta Obst. Gynaec. Jpn., 29, 1011 - 1020 (1977).
- 10) 細野泰, 杉田直道, 大崎勝三, 寺田督, 西田悦郎, 樋口隆: HMG 及び DHA-Ac 投与のラット血中 PRL, LH, FSH 値に及ぼす影響. 日内分泌誌., 54, 314 (1978). (会)
- 11) Akasofu, K., Tomita, Y., Araki, K., Shinohara, H., Seki, K., Yamashiro, G. & Nishida, E. : Effects of Surgical Stress on Concentrations of serum Androgens in Women. Acta Obst. Gynaec. Jpn. 31, 737 - 746 (1979).
- 12) 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-Ketosteroids in women. Acta Obst. Gynaec. Jpn., 31, 1871 - 1876 (1979).
- 13) Eddy, E. M. & Walker, B. E. : Cytoplasmic Fine Structure during Hormonally controlled Differentiation in vaginal Epithelium. Anat. Rec., 164, 205 - 218 (1968).
- 14) Cooper, R. A., Cardiff, R. D. & Wellings, S. R. : Ultrastructure of Vaginal Keratinization in Estrogen treated immature BALB/cCRGL Mice. Zeitschrift für Zellforschung, 77, 377 - 403 (1967).
- 15) Ito, S. : The Enteric Surface coat on Cat intestinal Microvilli. The J. of Cell Biology., 27, 475 - 491 (1956).
- 16) Bennet, H. S. : Morphological Aspects of Extracellular Polysaccharides. J. Histochem. Cytol., 11, 14 - 23 (1963).
- 17) Parakkal, P. F. : Cyclical Changes in the Vaginal Epithelium of the Rat Seen by Scanning Electron Microscopy. Anat. Rec., 178, 529 - 538 (1973).
- 18) Klein, M. : The mucification of the vaginal epithelium in Rodents. Proc. Roy. Soc. B., 124, 23 - 29 (1936).
- 19) Burgos, M. H. & Wislocki, G. B. : The cyclical changes in the mucosa of the guinea pigs Uterus Cervix and Vagina and in the sexual skin, investigated by the Electron Microscope. Endocrinology. 63, 106 - 121 (1958).
- 20) Kalvert, M. & Bloch, E. : Conversion of 4-C-Dehydroepiandrosterone to Estrone and 17-Estradiol by the Rat Ovary with Observations on variations during the Estrous Cycle. Endocrinology, 82, 1021 - 1026 (1968).
- 21) Harper, M. J. K. : Estrogenic Effects of

- Dehydroepiandrosterone and Its Sulfate in Rats. Endocrinology, **84**, 229–235 (1969).
- 22) Heidenhain, R. : Beiträge zur Histologie und Physiologie der Dünndarm-schleimhaut. Pflügers Arch. F. d. ges. Physiol. (suppl. Z. bd.), **43**, 1–103 (1888).
- 23) Dalton, A. : A study of the Golgi material of hepatic and intestinal epithelial cells with the electron microscope. Ztschr. Zellforsch., **36**, 522–540 (1952).
- 24) Jennings, M. & Florey, H. : Autoradiographic observations on the mucous cell of the stomach and intestine. Quart. J. Exp. Physiol., **41**, 131–152 (1956).
- 25) Kurosumi, K. : Electron Microscopic Analysis of the Secretion Mechanism. 1–124. In G. H. Bourne, (ed.), International Review of Cytology, 1st ed, Academic Press, New York and London, 1961.
- 26) Freeman, J. A. : Fine structure of the Goblet Cell Mucous Secretory Process. Anat. Record, **144**, 341–357 (1962).
- 27) Freeman, J. A. : Goblet Cell Fine Structure. Anat. Record, **154**, 121–148 (1966).
- 28) Neutra, M. & Leblond, C. P. : Synthesis of the carbohydrate of mucus in the Golgi complex as shown by electron microscope. Radioautography of goblet cells from rats injected with Glucose-H₃. J. Cell Biol., **30**, 119–136 (1966).
- 29) Ladinsky, J. L., Gruchow, H. W. & Peckham, B. M. : Cellular Behaviour of the vaginal epithelium treated with testosterone propionate alone and in combination with diethylstilbestrol. J. Endocrin., **41**, 161–169 (1968).
- 30) Josimovich, J. B., Wilson, E. L. & Leff, A. : Vaginal mucification induced by pituitary Prolactin and Placental Lactogen in mice. Gynec. Invest., **1**, 210–220 (1970).
- 31) Naftolin, F., Ryan, K. J. & Petro, Z. : Aromatization of Androstenedione by the Anterior Hypothalamus of Adult Male and Female Rats. Endocrinology, **90**, 295–298 (1972).
- 32) Kennedy, T. G. & Armstrong, D. T. : Extra ovarian effect of Prolactin on vaginal mucification in the Rats. Endocrinology, **90**, 815–822 (1972).
- 33) Kennedy, T. G. & Armstrong, D. T. : Lack of specificity for the extra ovarian Prolactin effect on vaginal mucification in rats. Endocrinology, **92**, 847–852 (1973).
- 34) Kennedy, T. G. & Armstrong, D. T. : Induction of vaginal mucification in Rats with Testosterone and 17-β-Hydroxy-5α-Androstan-3-one. Steroids, **27**, 423–430 (1976).

写 真 説 明

- 写真 1. A群 対照 全体像 腔上皮の萎縮像 × 1800
- 写真 2. C-2群, DHA5 mg/日, 2日間投与全体像, 腔上皮の増殖, 並びに最表層細胞内の粘液空胞の充満. × 1800
- 写真 3. C-4群, DHA5 mg/日, 7日間投与. 全体像, 腔上皮の増殖と典型的粘液細胞の多列化を示す. × 1800
- 写真 4. A群, 対照 × 4,500
- 写真 5. A群, 表層, 粘液空胞の散在と小器官の発達. × 18000
- 写真 6. A群, 基底層, 細胞間の強い結合. × 9000
- 写真 7. C-2群, 表層, 最表層細胞群の goblet cell 様変化, 並びに各細胞間結合の緩徐化 × 4500
- 写真 8. C-2群, 表層, 遊離縁における外分泌様突出. ruthenium red 染色. × 18000
- 写真 9. C-2群, 中層, 表層中層における細胞間の結合の差違. × 4500
- 写真 10. C-2群, 表層, 粘液空胞と Golgi 装置の強い発達(矢印). × 52000
- 写真 11. C-4群, DHA5 mg/日, 7日間投与表層, 分泌顆粒周囲における Golgi 装置並びに粗面小胞体の大きな集団(矢印: ポリープ状突出). × 4500
- 写真 12. C-4群, 中層, Golgi 装置の発達並びに細胞内小颗粒. × 4500
- 写真 13. C-4群, 表層, 遊離縁近くに発達した粘液顆粒の外分泌様突出(矢印), 並びに micro villi 表面に附着した surface coat, × 33000
- 写真 14. C-5群, 表層, 分泌顆粒の減少並びに細胞間結合の弱化. × 4500
- 写真 15. C-5群, 表層, 細胞の離脱. × 4500
- 写真 16. C-5群, 基底層, 細胞内小器官の発達. × 7500

表面超微構造

写真 17. A群 micro villi の密生する比較的平坦

な島状構造. × 10000

写真 18. A群. 強拡大 × 20000

写真 19. C - 2群. 細胞表面の隆起, 並びに外分泌

様突出物(矢印). × 10000

写真 20. C - 2群. 強拡大. × 20000

写真 21. C - 4群. 細胞表面のドーム状膨隆. × 10000

写真 22. C - 4群. 強拡大. × 20000

S. L. : Superficial Layer

I. L. : Intermediate Layer

D. L. : Deep Layer

S. C. : Surface Coat

N : Nucleus

M : Mitochondria

G : Golgi apparatus

γ-ER : rough-surfaced Endoplasmic Reticulum

D : Desmosome

H. D. : Hemidesmosome

V : Vacuole

M. V. : Mucinous Vacuole

B. L. : Basal Lamina

Ultrastructure of Mucification of Vaginal Epithelium in Dehydroepiandrosterone Treated Rat—
Naomichi Sugita, Department of Obstetrics and Gynecology, School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920, Japan. J. Juzen. Med. Soc., 88, 798—815 (1979).

Abstract Studies were made on the effects of dehydroepiandrosterone acetate (DHA-Ac) on ultrastructure of vaginal epithelium in ovarioectomized rats. Ovariectomized animals were given once daily injections of 5 mg of DHA-Ac for one day to 14 days. Ultrastructural changes in vagina were observed by transmission and scanning electron microscopy.

After the administration of DHA-Ac for two days, the epithelial thickness increased (4-5 layers). In the basal layer, the cytoplasm was filled with numerous free ribosomes, and Golgi apparatus and mitochondria were seen frequently. In the superficial layer, the apical two-thirds of the cell was filled with numerous secretory granules of relatively low electron density.

After seven days of treatment with DHA-Ac, the epithelium showed a remarkable change of mucification. The epithelial thickness increased 7-10 cell layers, and the cells in superficial and intermediate layers were filled with secretory granules. Nuclei were located at the base of the cells. Rough-surfaced endoplasmic reticulum (E.R.) and Golgi apparatus were present in close juxta-position to formed or forming secretory granules. Apical finger-like bulgings into the lumen were observed in several superficial cells.

By scanning electron microscopy were observed marked swelling of surface cell and finger-like bulgings of cell membrane into the lumen.

In the basal layer, no secretory granules appeared, and cytoplasm contained prominent free ribosomes, small amounts of rough E.R., well-developed Golgi apparatus and slightly increased mitochondria.

After 14 days of treatment of DHA-Ac, intracellular spaces in superficial and intermediate layers were remarkably increased, and the desmosomes appeared shortened and less numerous. Almost no changes were observed in the basal layer. The biological role of mucification in vaginal epithelium and the role of DHA in mucification were discussed.

