

人月経黄体莢膜黄体細胞の動態 —主に電子顕微鏡による形態的变化—

東京慈恵会医科大学産科婦人科学教室 (主任: 蜂屋祥一教授)

大 川 清

Fine Structural and Stereological Analysis on Human Theca Lutein Cell of Menstrual Cycle

Kiyoshi OHKAWA

Department of Obstetrics and Gynecology, The Jikei University School of Medicine, Tokyo

概要 人月経黄体期における Estrogen の意義, その分泌の源は黄体内莢膜黄体細胞の動態とともに不明である。手術予定の正常月経周期の婦人30例の黄体莢膜黄体細胞 (TLC) を電子顕微鏡で観察し, 以下の結果を得た。

1. 黄体期各時期を通して, 小器官の豊富な活性細胞 (A) と, 貧弱な休止細胞 (R) が観察された。TLC の各小器官の morphometric analysis を行い, A と R の比較では, 糸粒体は有意差を認めなかったが, 滑面小胞体, 脂肪小滴では有意差 ($p < 0.05$) を認めた。又黄体中期の滑面小胞体の増加, 脂肪小滴の減少は A で有意 ($p < 0.05$) に変化し, $r = -0.629$ ($p < 0.05$) の相関を示した。

2. 黄体構成 TLC 中, A の含有比率は, 排卵日 (Cl 1) と Cl 8 に高かった。

以上より黄体中期に小器官の豊富な A が多くなることがわかり, 従来の血中 Estrogen の黄体期の推移は TLC によることが形態的にも有力となった。

Synopsis In human menstrual cycle theca lutein cells (TLC) have been obscure about functional and morphological behaviors. TLC obtained from thirty corpora lutea were examined by electron microscope and morphometric analyses during the luteal phase were discussed.

Two types of TLC could be classified through the luteal phase. One was "active TLC" which contained vesicular nucleus, mitochondria with tubular cristae, massive SER, and small amount of lipid droplets and lysosome-like dense bodies. Another was "resting TLC" which had numerous lipid droplets frequently central extracted pattern, reduced number of SER, and mitochondria with mainly consisted of lamellar cristae.

Morphometric stereological analyses of some organelles such as mitochondria, lipid droplets, SER, and Golgi complex, were carried out. Between active and resting TLC, on mitochondrial volume percent, no significant change was detected, but volume % of lipid droplets and SER surface to volume ratio changed significantly through the luteal phase.

Active TLC content of thecal layer in corpora lutea increased twice a luteal phase, ovulatory phase and mid-luteal phase.

So twice estrogen peaks during menstrual cycle are good relation to TLC morphological changes.

緒 言

人月経黄体は, 顆粒膜黄体細胞 (GLC) と莢膜黄体細胞 (TLC) によつて構成されている。GLC は, 黄体の主成分として黄体期の progesterone 産生を行う。しかし, 卵胞期内莢膜細胞の Estrogen 産生関与は形態的, 機能的に比較的確

で¹⁾⁶⁾¹⁰⁾あるのに対して, 黄体期 Estrogen の意義はもちろん, 産生源細胞が, 何なのかについても報告は少ない³⁾¹⁴⁾。今回正常月経周期の TLC の細胞動態を形態的に明らかにしようとした。

方 法

卵巣嚢腫, 子宮筋腫, 卵管性不妊で開腹術予定

の正常月経周期を有する30歳代後半までの婦人30人を対象とした。患者は基礎体温測定, LH 測定で排卵期日を確認, 術時黄体, 子宮内膜を採取した。採取黄体は実体顕微鏡下で GLC, TLC 境界領域, 中心部において細切, 氷冷1.2%グルタルアルデヒド磷酸緩衝液 (pH 7.4, 340mOsm) にて固定, 1% OsO₄ 磷酸緩衝液にて再固定後, エタノールで脱水, EPON 812包埋を行つた。超薄切片はウラン, 鉛重染色で Hitachi HU11D 50KV にて観察した。残りの黄体組織, 子宮内膜は10%ホルマリン固定で通常の光顕パラフィン材料とした。又各時期 TLC の小器官の変化を客観的に検討するために volume %, surface to volume ratio を Weibel et al.¹³⁾ や Loud¹¹⁾, Loud et al.¹²⁾ の linear scanning integration にしたがひ算出した (表1)。実際には原倍率1,900~3,200の写真を 30cm×25cm に引き伸ばし, 1.5cm の間隔の線を overlap させ各小器官に対する長さの測定と intersection の数を計測し, 値を計算した。なお有意差検定は Student's t test によつた。

表1

Volume density :	$\frac{\text{length } X}{\text{length } Tot.} = \frac{\text{volume } X}{\text{volume } Tot.}$
Surface to volume ratio :	
	$R = \frac{2c}{d} \left(\frac{M}{1000} \right)$
	c : number of intersections
	d : the sampling line traversing cytoplasm. (millimeter)
	M : magnification

成 績

光顕では黄体各時期において TLC は形態的にほとんど差がみられず, GLC 層の外周囲に, 集団をなし, 時に結合組織, 血管を伴い, 深く GLC 層に浸入していることがある。Hematoxylin & eosin 染色では核はクロマチンの凝集を認めるが, その程度は強くない。細胞質は比較的豊富で好酸性である。しばしば脂肪脱出のためと思われる空胞がみられる。各時期を通して, 核分割はほとんどみられず, 5日目黄体 (Cl 5) で数個の核分割を認めたのみであつた。

電顕観察で TLC は黄体期各時期を通してその構成細胞を小器官の状態から2群に大別できた。第1群は, 核は緊満状で球形, euchromatin に富み, 細胞質には豊富な小器官をもつ。それは小管状クリスタをもつ大形球形の糸球体, 核周辺に位置し, coated vesicle を周囲に有し, 発達した弓形のゴルジ体, 細胞質全体を埋める様な小管状, 時に胞状な滑面小胞体 SER, そして中央の density のしばしば低下した脂肪小滴がみられる。この脂肪小滴は少量であり, lysosome-like dense body もあまり多くない。これら TLC は互いに tight junction, gap junction にて接しているが, デスモゾームは観察されなかつた。微絨毛様細胞質突起は GLC に比較して極端に少ない (写真1)。これらの性格は, 活性形ステロイド産生細胞にみられる特長である。もう一つの群, 第2群は細胞は小形で核膜陥凹が強く, クロマチン凝集傾向 (heterochromatin) をみとめ, 細胞質にはクリ

表2 Morphometric changes of theca lutein cells during the menstrual cycle

	CL 1	CL 2		CL 4-5		CL 5		CL 8-9		CL 10-11	
	A	R	A	R	A	A	R	A	R	A	R
volume %											
mitochondria	9.80 (0.55)	7.46 (0.46)	7.60 (0.40)	9.75 (1.45)	8.90 (0.78)	6.65 (0.18)	7.61 (1.95)	11.22 (2.151)	10.23 (1.434)	13.70 (1.500)	16.12 (1.775)
lipid droplet	0.78 (0.40)	9.92 (2.59)	3.05 (1.45)	2.90 (0.134)	0.95 (0.672)	3.45 (0.743)	32.8 (4.05)	9.02 (3.74)	24.53 (8.80)	1.30 (0.740)	7.82 (2.59)
sq μ /cu μ											
S.E.R.	4.625 (0.308)	2.984 (0.277)	4.251 (0.980)	4.137 (1.074)	5.761 (0.336)	5.843 (0.045)	9.800 (2.210)	6.255 (0.338)	4.029 (0.130)	5.324 (0.445)	4.044 (0.281)
Golgi complex	0.333 (0.100)	0.212 (0.118)	0.308 (0.231)	0.659 (0.045)	0.213 (0.055)	0.783 (0.465)	0.179 (0.299)	0.604 (0.126)	0.871 (0.405)	0.804 (0.503)	0.243 (0.134)

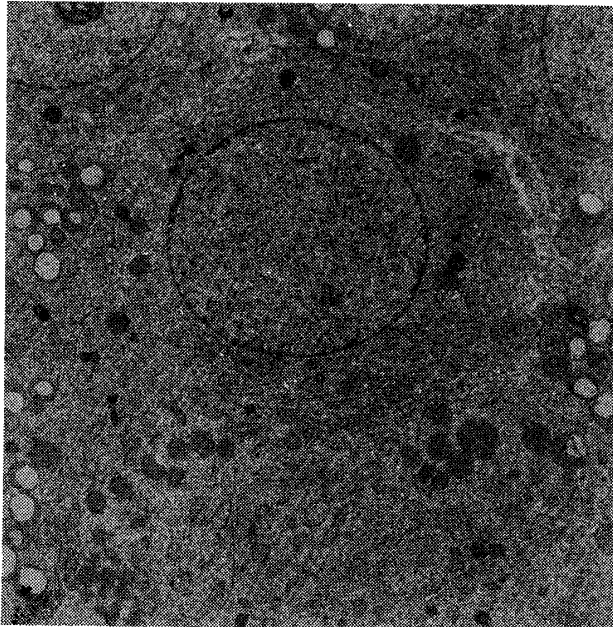
A : active theca lutein cell, R : resting theca lutein cell, () : standard error.

表 3 The ratio of active theca lutein cell to resting one

	CL 1	CL 2	CL 4	CL 5	CL 8	CL 10
active	100% (29/29)	14 (7/50)	50 (12/24)	50 (4/8)	63 (25/40)	17 (6/35)
resting	0	86	50	50	37	83

写真 1 Active theca lutein cell ×3,500

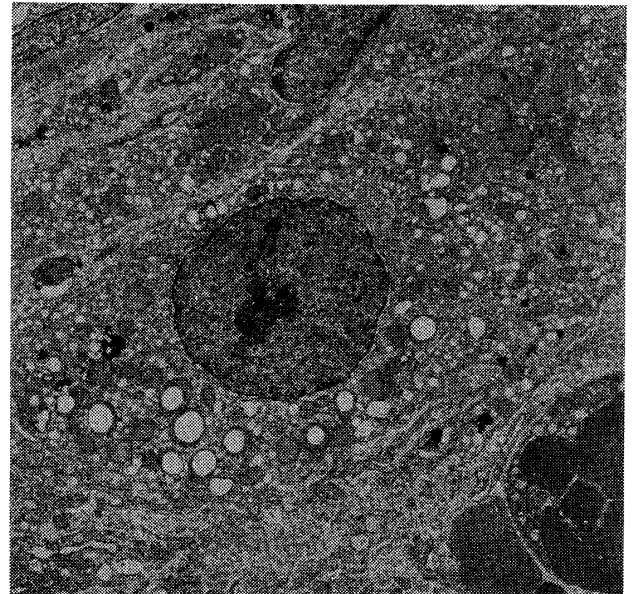
核は大形で euchromatin に富む。細胞質は SER が豊富で, mitochondria は多形性で tubular cristae をもつ。Lipid droplets は少ない。Golgi complex は大形で associated vesicle も多い。互いの細胞は tight or gap junction をもつが一方 microvilli は少ない。



スタの平板化, 消失を示す糸球体, SER の減少と小胞化, 中心 density の低下あるいは抽出された脂肪小滴の著明な増加を特徴とする, いわゆる休止期ステロイド産生細胞である (写真 2). これらの 2 群のステロイド産生細胞の主要な小器官, すなわち, 糸球体, SER, 脂肪小滴, そしてゴルジ体の morphometric change をみると (表 2), 糸粒体は黄体各時期を通して, おのおの活性形 TLC の間にも, 活性形 TLC と休止形 TLC との間にも volume % に有意差はみられず, 大きさ, 数の変化は認められなかつた。脂肪小滴は各時期を通して, 活性形 TLC に少なく, 休止形

写真 2 Resting theca lutein cell ×3,600

核は多数の陥凹をもち, heterochromatin が多い。細胞質は粗雑で, SER は vesicular で少ない。Lipid droplets は多く, 中心に lucent core を有するものも多い。Mitochondria は平板状 cristae をもち tubular cristae は少ない。Free ribosome は比較的多い。



TLC に多く, 両者に有意差 ($p < 0.05$) を認めた。SER はゴルジ体とともに単位細胞質体積当りの広がり面積 (μ^2/μ^3) をもって示しているが, 各時期黄体期で活性形 TLC と休止形 TLC において有意差 ($p < 0.05$) がみられた。しかも活性形 TLC 細胞質内の SER は CL2 の減少後黄体中期の細胞質内 (CL8~9) では, 増量の peak をもっている。ゴルジ体は黄体各時期で差はみられず, 量的変化は認められなかつたが, 黄体中期僅かな上昇がみられた。このような黄体期の TLC の脂肪小滴の volume % と SER の surface to volume ratio は $r = -0.629$ ($p < 0.05$) の負の相関を示し, この 2 つの小器官の変化が細胞内で共応して変化していることが明らかであつた。さらにこのように明瞭な細胞質内差のある活性形 TLC と休止形 TLC は各黄体期において, 莢膜黄体細胞層で含量比率に変化を来した (表 3)。すなわち, 観察細胞中活性形 TLC の比率は CL 1 で 100% (29 個 TLC 観察中活性形 TLC 29 個,

29/29), CL 2=14% (7/50), CL 4~5=(16/32), CL 8~9=63% (25/40), CL 10~11=17% (6/35)であつた。これらから、排卵期と黄体中期に活性形 TLC の著時な増加が認められた。

考 察

著者は人月経黄体中、莢膜黄体細胞 (TLC) が、超微形態的に、排卵期と黄体中期に、二度の活性形態をとることを確認した。従来 GLC の黄体内での形態的变化は黄体化ならびに、黄体退化に対して多くが検討されているが、一方 TLC はまったくの付属細胞であり忘れられた細胞として、黄体内での役割、ならびに形態的变化に関して報告はほとんどみられない¹⁾。排卵期 Cl 1 で観察したすべての TLC は核、脂肪小滴、SER、糸粒体、lysosome-like dense body 等の小器官の状態より、ステロイド産生細胞としては活性形態の特徴を有した細胞であり、これは従来の報告による活性形ステロイド産生細胞の形態に一致した¹⁾⁴⁾⁹⁾。又各時期休止形 TLC の形態も諸家の報告に一致する¹⁾⁵⁾⁷⁾。この2群の TLC の黄体各時期における主要小器官の量的変化をみると糸粒体には大きな変化がなかつた。これは、ステロイド産生細胞における糸粒体が数、大きさの変化よりもむしろ機能的変化を主に示していることによる。すなわち、GLC の排卵直後の黄体化過程における形態的变化を検討すると、数、大きさの変化よりもむしろ、多形態性の有無、クリスタの形態的变化(板状クリスタから小管状クリスタへの変化)、糸粒体基質の density の変化が前面に出る¹⁾⁸⁾。一方脂肪小滴と SER は、黄体各時期に量的に著明な変化を示し、黄体中期に SER は増加、脂肪小滴は減少という傾向をもち、結果として $r = -0.629$ ($p < 0.05$) の負の相関関係を示した。これは、この2つの小器官が、ステロイドホルモン産生のための材料貯蔵、ステロイドホルモン産生に対しての直接の場となり産生能力の指標となりうることの裏づけとなつた。ステロイド産生細胞において、脂肪小滴そして SER の一部はコレステロール、すなわち材料として、又 SER は 3β -ol dehydrogenase の活性の場である

ことが、特に黄体細胞では認められている¹⁾⁹⁾。この2群の細胞の黄体期各時期における莢膜黄体層構成の比率は変化し、排卵期をすぎ、黄体中期に活性形 TLC の比率が高かつた。以上 TLC は、排卵期ならびに黄体中期にステロイド産生細胞特有の小器官の豊富な、活性形 TLC の増加がみられた。そして黄体各時期における TLC の細胞質内小器官の変化と、その構成細胞群の比率を合わせて考えると、TLC 層は排卵期、黄体中期には充分なステロイドホルモン産生が考えられ、一方 Cl 2 を中心とする黄体化移行期にはステロイドホルモン産生能の低下が考えられる。黄体の progesterone の分泌は GLC であり一方 TLC よりは Estrogen、特に estradiol がその最大の産生ホルモンであろうことが、人黄体スライスの incubation 実験で推測されている³⁾。しかし実際に TLC が人月経黄体内でどのような細胞動態を示すかは今回初めて明らかにされ、従来よりの血中 estradiol の変動に TLC の活性形、休止形の比率ならびに小器官の活性動態の動きはよく一致した。このように、TLC は排卵期と黄体中期に機能形態的に活性形 TLC が増加するわけであるが、その目的の理由づけとして排卵期 estradiol の peak は排卵誘発のための中枢への surge であることは周知の事実であるが、黄体中期の peak は、その作用目的、標的臓器あるいは細胞等、まったく不明である。著者は、この黄体期 estradiol 分泌の意義を、黄体期 Estrogen 投与による GLC の形態的变化ならびに血中 progesterone 値の下降の面より考察し、黄体の退化化—すなわち luteolysis との関連の上で検討し、興味ある結果を得たが、これは他に報告する予定である²⁾。さらにこの機能亢進する TLC 層には、ほとんど僅かの核分割中の TLC をみるだけで核分割の増加は認められない。よつて TLC の黄体期における2回目の機能形態上の活性化は細胞増殖あるいは黄体周辺の間質細胞の TLC 類似細胞への変化による活性形 TLC の数の増加ではなく、TLC が一度の休止期を有して、その後賦活変化すると考えられるわけである。この再賦

活化が上位中枢からの刺激によるのか、TLCのもつ細胞本来の性格であるのかは今回の形態的検索ではまったく不明である。一方月経黄体におけるGLC, TLCのかかわりあいにも興味があり、現在この2点について検討を進めている。

稿を終るに臨み、ご指導、ご校閲いただいた蜂屋祥一教授、寺島芳輝助教授に感謝致します。尚、本論文要旨は第50回日本内分泌学会総会、第55回日本産婦人科関東連合地方部会で発表した。

文 献

1. 大川 清, 吉川 充, 落合和徳: 黄体化, その微細構造の変化. 細胞, 8: 87, 1976.
2. 大川 清: Estrogen による人月経黄体の機能的形態的变化. 日産婦誌, 29: 1731, 1977.
3. 玉田太朗: FSH, LH と排卵, 排卵を中心としたホルモン動態. 日産婦誌, 25: 964, 1973.
4. Adams, E.C. and Hertig, A.T.: Studies on the human corpus luteum. I. Observations on the ultrastructure of development and regression of the luteal cells during the menstrual cycle. J. Cell Biol., 41: 696, 1969.
5. Bjersing, L., Hay, M.F., Moor, R.M., Short, R.V. and Deane, H.W.: Endocrine activity, histochemistry and ultrastructure of ovine corpora lutea. I. Further observation regression at the end of the oestrous cycle. Z. Zellforsch., 111: 437, 1970.
6. Channing, C.P. and Coudert, S.P.: Contribution of granulosa cells and follicular fluid to ovarian estrogen secretion in the rhesus monkey *in vivo*. Endocrinol., 98: 590, 1976.
7. Dahl, E.: Studies of the fine structure of ovarian interstitial tissue. 4. Effects of steroids on the thecal gland of domestic fowl. Z. Zellforsch., 113: 111, 1971.
8. Enders, A.C.: Cytology of the corpus luteum. Biol. Reprod., 8: 158, 1973.
9. Fawcett, D.W., Long, J.A. and Jones, A.L.: The ultrastructure of endocrine glands. Recent Prog. Hormone Res., 25: 315, 1969.
10. Fortune, J.E. and Armstrong, D.T.: Androgen production by theca and granulosa isolated from proestrous rat follicles. Endocrinol., 100: 1341, 1977.
11. Loud, A.V.: A quantitative stereological description of the ultrastructure of normal rat liver parenchymal cells. J. Cell Biol., 37: 27, 1968.
12. Loud, A.V., Barany, W.C. and Puck, B.A.: Quantitative evaluation of cytoplasmic structures in electron micrographs. Lab. Invest., 14: 996, 1965.
13. Weibel, E.R., Kistler, G.S. and Scherle, W.F.: Practical stereological methods for morphometric cytology. J. Cell Biol., 30: 23, 1966.
14. Wentz, A.C. and Jones, G.S.: Transient luteolytic effect of prostaglandin $F_{2\alpha}$ in the human. Obstet. Gynecol., 42: 172, 1973.

(No. 4286 昭52・12・8 受付)