Ultrastructural and Histochemical Observations in the Rat Endometrium in the Early Normal Pregnancy

**Kaname HAYASHI, Wenyuan LEE, Kenji MATSUOKA
and Hirosuke TAKEKIDA**

Department of Obstetrics & Gynecology, Kobe University, School of Medicine, Japan.
(Chief : Professor Shimpei Tojo)

The ultrastructural changes of the endometrium early in the normal pregnancy were observed to clear the function of the endometrium that is preparing for the reception of the fertilized ovum.

Though the mechanism of ovum implantation is differ from species to species, it is reasonable to assume that there should be some common events in the fundamental aspects.

We wish to describe the functional meanings of these ultrastructural changes with histochemical findings of some enzymes such as ALPase, ACPase and ATPase, which are important substances related to the cell membrane permeability, secretion and absorption of the cell and the transport of cellular material.

The virgin Wistar strain rats were laparotomized under light Nembutal anesthesia and the uterine horn was excised immediately and was sliced and fixed in paraformaldehyde-glutaraldehyde. Then it was rinsed in buffer and was postfixed in 0.04% and processed for electron microscopy.

The observation was made mainly in the antimesometrial site of the endometrium on each day of early normal pregnancy from day L2 to day L5.

The histochemical preparation was made after Gomori's method for ALP and ACPase, and Wachstein-Meisel's method for ATPase.

1) On the day L2, the ALPase activity was mainly located in the luminal epithelia and the blood vessel wall.

The free surface of the luminal epithelia was covered with rather regular arrangement of microvilli and they were definitely covered with the filamentous structure.

The dilated microvilli was observed in the glandular epithelium and the stromal edema has already appeared.

2) On the day L3, the ATPase activity was increased in the luminal epithelia and the blood vessel has high activity of ALP and ATPase.

The microvilli in the luminal epithelia has the tendency to shorten and the filamentous structure was disappeared.

The remarkable increase of the apical vesicles was the prominent feature and the well developed Golgi complex and dilated granular endoplasmic reticulum were also

observed.

The basement lamina revealed marked tortuosity.

The stromal edema has increased and the cytoplasm of the stromal cell was enlarged and has developed organella.

The glandular lumen has many fine granules.

3) On the day L4, the subepithelial stroma showed marked ALPase activity and the ATPase activity has also appeared.

The microvilli and apical vesicles has obviously decreased in the luminal epithelia and there was translocation of the lipid droplet to the supranuclear region.

The lysosome became complicated in its structure and increased in its number.

The ribosome has progressively increased prominently and the dilated granular endoplasmic reticulum was filled with moderate electro-dense substance.

The electron density of the glandular lumen was in its peak and it was occupied with that fine granules.

4) On the day L5, the enzymic activities were more increased in the anti-mesometrial stromal cells. The surface of luminal epithelia was entirely covered with irregular cytoplasmic protrusions and the supranuclear lipid droplet has increased in its number.

The electron density and the number of lysosome have increased.

The basal lamina was rather straight at this time but it was completely intact.

The stromal edema has decreased and the stromal cells were connected with desmosome.

Fibrillar material and cilium were also observed in the stromal cells.

The electron density in the glandular lumen has decreased and the some mitochondria of the glandular epithelia showed low electron density and was dilated.

Similar changes were observed in the luminal epithelia in the mesometrial site, but the stromal edema in this site was more prominent and the cytoplasm of the stromal cell was not well developed.

(See pp. 533~547)

着床周辺期子宮内膜の形態に関する 電顕的・組織化学的観察

神戸大学医学部産科婦人科学教室（主任：東条伸平教授）

林 要・李 文 遠
松 岡 謙 二・武木田 博 祐

（昭和47年8月2日受付）

胚着床の機構を知る目的で、着床周辺期ラット子宮内膜の微細構造の変化を観察し、同時期の組織化学的検索結果と共にその意義について考察した。表面上皮の微細構造は L_3 において著変がみられ、この時期では表面上皮の分泌能の亢進することが推測できた。しかし L_4 では表面上皮の吸収能がたかまることが予測され、また間質の浮腫、腺上皮の分泌は最高であつた。さらに腺上皮は L_5 においてすでに機能低下を示唆する所見が得られ、これにかわり間質細胞の著明な機能分化をうかがわしめる所見がみられた。

は じ め に

胚着床の機構を把握するには、卵側の子宮内膜に及ぼす影響と共に、子宮内膜側におけるその準備状態の形態学の実態を可及的精微に追求する必要があることはここで論ずるまでもない。

近年その高分解能を駆使した電子顕微鏡的観察がこの分野においても盛んに応用されるようになったのはこうした理由によるものであり、例えばラットを実験対象とした研究として Enders¹⁾ ら (1967), Mayer²⁾ ら (1967), Nilsson³⁾ (1970), Tachi⁴⁾ ら (1970), 飯塚⁵⁾ (1971) の報告がみられる。

しかしながら、このように比較的多数の研究結果が報ぜられているにもかかわらず、その形態学の変化の把握や、その機能的な解釈には従来可成り見解の相違がみられる。

他方この種の基礎的な研究は各動物にみられる種特異性のために、ある種の動物における研究結果を直接他の動物、例えばヒトの着床過程にあてはめて考えることは幾多の難点があるが、この反面その基本的ないくつかの過程には重大な共通点が存在するはずである。

今回我々は、着床周辺期ラット子宮内膜の変化に焦点をおき観察を行つたので、その形態学的推移と着床に関与するその機能的な意義についての著者らの見解をここで述べてみたい。

I 実 験 方 法

膣スメア法によって性周期の規則正しいことをあらかじめ確認したウイスター系処女ラット（体重150～200g）を発情前期に雄と同居させ、翌朝交尾の有無を膣脂膏中の精子の有無から判定し、精子が検出された日を妊娠第一日（ L_0 ）とし、以後 L_1 L_2 … L_5 と命名した。

電顕用標本の作成にあたっては次の如き手順に従つた。動物をペントバルビタール麻酔し開腹した後、直ちに子宮を切除し組織を pH 7.4 に調整した paraformaldehyde-glutaraldehyde 固定液中で浸漬しつつ 1～2 mm に輪切り固定した。

そして上記の固定液で1時間固定した後、磷酸緩衝液にうつし、その後2%四酸化オスミウムで1時間再固定した。ついでエタノール系列による脱水後、プロピレンオキシドに2度通し、Luftの方法に従つて

エポキシ樹脂包埋を行つた。さらに Toluidin blau 染色後光学顕微鏡で観察部位を決定し, Porter-Blum 型ミクロトームにより超薄切片を作成し, これに酢酸ウラニールと酢酸鉛による二重染色を施し, 日立 HS-8 型電子顕微鏡を使用して観察した。

また電子顕微鏡的観察によつて得られた細胞内小器官の変化の持つ機能的な意義を, より詳細に把握する目的で, 細胞膜透過性, 細胞の分泌, 吸収, 細胞間の物質移動現象に関与すると言われる ALP-ase, ATP-ase, ACP-ase 活性の変動を, それぞれ Gomori の azo 色素法, Wachstein-Meisel 法, Gomori の azo 色素法を用い組織化学的に検討した⁶⁾。

II 実験成績

本実験においては L_2 からいわゆる nidus formation と呼ばれる L_5 までの反間膜側内膜の変化に焦点をおき観察したが, L_5 日ラットにおいては間膜側内膜についても検討を加えた。

(1) L_2 日内膜 (Table 1 Photo 1, 2)

L_2 日では, 受精卵はなお卵管内を下降しており, 内膜の代謝活動は組織化学的に低く, それまでみられた精子の侵入に由来する内膜における炎症, あるいは退行像は殆んど消失する。内膜 ALPase は主として上皮系や血管壁に局在しており間質細胞にはほとんど認められなかつた (Table 1)。

微細構造所見:

表面上皮: 胞体の遊離端はほぼ規則正しく配列する巾 $0.1 \sim 0.2 \mu$, 長さ $0.5 \sim 1 \mu$ の微絨毛でおおわれ, またこの微絨毛の表面は小腸に見られるのと同様に多糖類より成るといわれる微細な樹枝状構造, すなわち *antennulae microvillares* がみられた。

上皮表面上には直径 $0.1 \sim 0.25 \mu$ の円形の小胞が少数認められ, また中等度の大きさを持つ円形ないしは長円形のミトコンドリアが観察された。このほか少数のライソゾーム系顆粒が核上部に見られた。

他方基底部においては, 比較的多数の脂質顆粒や小型ミトコンドリアが分布しており, 基底膜は著しく屈曲していた。

間質: この時期の間質組織には光顕上浮腫はまだ認められないが, 電顕上すでに浮腫傾向が明らかにみられる。間質細胞は細胞質に乏しく, 核の辺縁は不整である。細胞質には少数のミトコンドリア, ライソゾーム系顆粒や粗面小胞体が見られる。また間質組織内にはなお中性好性白血球の遊走がみられた。

腺上皮細胞: 子宮腺細胞の微細構造は基本的には表面上皮の夫と同一構築を示しており, 腺上皮の表面には微細な樹枝状構造を持つ微絨毛でおおわれており, また一部では微絨毛が膨大したと思われる像が認められた。胞体内には少数の小胞, 粗面小胞体, ゴルジ体やミトコンドリアがみられるが, とくに特異的な所見はみられなかつた。核は細胞の $1/2$ 以上を占め, 狭い基底部には少数の脂質顆粒が分布していた。また腺に

Table 1 Changes of histochemical reaction of uterus of normal pregnant rats

	ALPase			ACPase			ATPase		
	ep.	st.	cap.	ep.	st.	cap.	ep.	st.	cap.
L_0	++	—	++	+	+	—	—	—	++
L_1	++	—	++	+	÷	—	—	÷	++
L_2	+	—	++	+	+	—	—	÷	++
L_3	+	—	+++	++	+	÷	÷	+	+++
L_4	+	÷	+++	++	+	÷	÷	+	+++
L_5	—	++	÷	+++	++	—	÷	++	÷
L_6	—	+++	—	+++	++	—	—	+++	—
L_7	—	+++	—	+++	++	—	—	+++	—

Fig. 1. Luminal epithelium on Day L₂
×15,000
Rather regular arrangement of microvilli was observed with filamentous structure.

Fig. 2. Glandular epithelium on Day L₂
×6,000
Dilated microvilli (arrow) was present.

近接する毛細血管の管腔は中等度の電子密度を有する均一な物質によって満たされており、腺附近の間質細胞のあるものは、すでに軽度の粗面小胞体の拡大像もみられた。

(2) L₃ 日内膜 (Photo 3, 4, 5, 6, 7)

Fig. 3. Luminal epithelium on Day L₃ ×24,000
Microvilli became shortened and the filamentous structure was disappeared. Many apical vesicles were observed.

Fig. 5. Luminal epithelium and stromal cell on Day $L_3 \times 11,000$

Group of mitochondria was located in the basal region and the basement lamina (arrow) showed marked tortuosity. Stromal cell had enlarged cytoplasm with dilated granular endoplasmic reticulum.

Fig. 4. Luminal epithelium on Day $L_3 \times 24,000$

Well developed Golgi complex (arrow) was observed with dilated granular endoplasmic reticulum.

Fig. 6. Glandular epithelium on Day $L_3 \times 7,500$

The nucleus occupied most part of the cytoplasm, but the mitochondria (arrow) and the lysosome has obviously increased in its number.

Fig. 7. Glandular epithelium on Day L₄ ×15,000

The electron density in the glandular lumen has increased and the filamentous structure on the microvilli has disappeared. The fine granules were observed among the microvilli and in the lumen.

この時期においては受精卵はすでに子宮内に下降しており、flush out 法によつて受精卵の子宮からの回収はほぼ100%可能である。

上皮系の ALPase 活性は前日とほぼ同様な所見を示したが、同部における ATPase 活性はやや増加、また間質血管系の ALPase, ATPase 活性は増強がみられた。

微細構造所見

表面上皮：前日と同様にほぼ規則正しく配列する微絨毛でおおわれているが、微絨毛はやや短縮し、また前日にみられた微細な樹枝状構造は大部分消失していた。さらに特徴的な像は、大きさ $0.1\mu\sim0.3\mu\times0.1\mu\sim0.6\mu$ 大の円形ないしは、長円形の大小種々の小胞が胞体上部に多数見られることであつて、この小胞内にはしばしば電子密度の高い物質が存在していた。

ゴルジ体は前日と比較し、その層構造の増加や拡大がみられ、ゴルジ体の著明な発達と共に粗面小胞体の内腔拡大像もみられた。

ミトコンドリアやライソゾーム系顆粒も前日に比し増加傾向にあり、これらの微細構造の諸変化は表面上皮の分泌機能の亢進を示唆するものと推定される。

しかし基底部のそれは、前日に比し、特に著変は認められなかつた。

Fig. 8. Luminal epithelium on Day L₄ (a.m.) ×7,500

The arrangement of microvilli became irregular and the apical vesicles has decreased in its number. Supranuclear lipid droplets were observed.

Fig. 9. Luminal epithelium on Day L₄ (p.m.) $\times 15,000$
Cytoplasmic protrusion (arrow) has appeared and
the apical vesicles has more decreased.

間質: 浮腫傾向は前日よりさらにつよくなり, 間質細胞の胞体の肥大やそれに伴う粗面小胞体の増加, さらにその内腔拡大像がみられたが, その内腔内電子密度はそれほど高くなかった。

腺上皮細胞: 前日と同様に細胞質の大部分は核によつて占められていたが, ミトコンドリア, ライソゾーム系顆粒の増加, 増大がみとめられ, またゴルジ体においても同様な傾向が観察できた。腺腔内の電子密度は前日より増加し, 表面の微絨毛には前述の表面上皮と同様な変化, すなわちその微細な樹枝状構造は消失していた。また直径 0.1μ 前後の小顆粒を微絨毛の間や腺腔内にみることができた。

腺細胞においてみられるこれらの諸変化は, この時期における腺細胞の分泌機能の亢進を思わせた。

(3) L₄ 日内膜 (Photo 8, 9, 10, 11, 12)

L₄ 日の午前中では胚はなお透明帯を有しているが, 同日の午後4時になると透明帯を消失し, 子宮内膜上皮間に指状嵌合 interdigitation, つまり両者における最初の解剖学的連絡が生ずるので, この時期を Tachi ら (1970) は early attachment stage と呼んでいる。反間膜側の間質血管系は一層増生し, その ALPase, ATPase 活性は頂点に達し, また上皮直下の間質細胞には ACPase 活性の増加と ATPase 活性の出現がみられた (午後4時)。

微細構造所見

表面上皮: 午前中における表面上皮の特徴的な所見として, 微絨毛や小胞の減少傾向, さらにゴルジ体の

Fig. 10. Luminal epithelium on Day L₄ (p.m.) $\times 15,000$
Complicated lysosomes were observed.

Fig. 11. Stromal cell on Day L₄ (p.m.) × 11,000

The nucleus became rounded with moderate electron dense substance. marked stromal edema was also noted.

Fig. 12. Glandular epithelium on Day L₄ (p.m.) × 7500

The autophagosome (arrow) was observed. The fine granules in the lumen has increased and the electron density was in its peak.

縮少傾向が見られたが、このほか脂質顆粒の核上部への移動が出現した。

また午後4時以降ではその様相はさらに一変する。すなわち、上皮表面の微絨毛の一部は細胞質突起 (cytoplasmic protrusion) によつて置換され、またさきの胞体上部にみられた小胞の減少はつよまり、他方ゴルジ体や粗面小胞体の縮少傾向は増強した。またライソゾーム系顆粒は増大し、その内部構造が複雑化していくのが観察された。

胞体の基底部分においては、脂質顆粒やミトコンドリアの増加傾向がみられ、基底膜は前日に比し、平端化していた。

間質：浮腫は前日同様顕著であつて、間質細胞の核は円形化し、細胞質はさらに増大し、同時にそのリボ

ゾームの著しい増数, ミトコンドリアの増加, 粗面小胞体の内腔拡大像がみられ, その腔内電子密度の増加が認められた。

また肥大した細胞はその細長く伸びた細胞突起によつてたがいに近接していた。

腺上皮細胞: 胞体の大きさはわずかに増し, 核/細胞質比もやや減少していた。ミトコンドリア, ゴルジ体や粗面小胞体などの細胞質内小器官にみられる所見は前日に比し, 著変はなかつたが, ライソゾーム系顆粒は増加の傾向を示し, その中にはミトコンドリアなどを喰食した自家食胞もみられた。

腺腔内の電子密度はこの時期で最高となり, 腺腔内の小顆粒も著明に増加していたが, 微絨毛の膨大像はもはやみられなかった。

(4) L₅ 日内膜 (Photo 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22)

late implantation stage あるいは, nidus formation とよばれるこの時期においては, flush out 法による胚の回収率は著しく低下し, 胚の多くは反間膜側内膜と軽く癒着している。

この時期の上皮系における ATPase 活性は完全に消失するのに対し, ACPase 活性の増強がみられ, 表面上皮直下反間膜間質細胞では ALP-ase, ATPase, ACPase 活性の劇的な増強がみられ, しかも ALPase, ATPase 活性は細胞膜の局在していた。しかし同部における血管系の活性は著明に低下する。

(A) 反間膜側における微細構造所見

まず胚の着床する反間膜側内膜について観察してみた。

表面上皮: 子宮内腔はたがいに対向する内膜の接近によつて殆んど消失しており, 上皮は菲薄化し, その表面は完全に細胞質突起によつて置き換えられており, このことから上皮の ALPase 活性は主として微絨毛に局在していることが示唆された。またその直下に存在する小胞は前日よりさらに減少していた。

Fig. 13. Luminal epithelium on Day L₅
×15,000

Apposing luminal epithelium became close and the cytoplasmic protrusion now covered all over the epithelial surface.

Fig. 14. Luminal epithelium on Day L₅
×20,000

Lysosome (arrow) has increased in its number and electron density.

Fig. 15. Basal region of luminal epithelium on Day L₅ × 15,000
Basement lamina (arrow) was straight.

Fig. 16. Stromal cell on Day L₅ × 15,000
Cellular connection with desmosome (arrow) was noted and the adjacent lymphocyte (arrow) was also observed.

Fig. 17. Stromal cell on Day L₅ × 24,000
Marked dilatation of the granular endoplasmic reticulum and the abundant ribosomes were observed. The fibrillar material (arrow) and lipid droplets were also noted.

Fig. 18. Stromal cell and glandular epithelium on Day $L_5 \times 15,000$
One cilium (arrow) was observed just below the glandular epithelium situated above.

Fig. 19. Subepithelial stromal cell on Day $L_5 \times 15,000$

Many lysosomes (arrow) were observed in the stromal cell and the cytoplasmic protrusion of the stromal cell was so closed to the basal region of the luminal epithelium.

Fig. 20. Glandular epithelium on Day $L_5 \times 15,000$
The matrix of mitochondria showed low electron density (arrow) and many vacuoles were observed.

Fig. 21. Luminal epithelium on Day L₅
 ×24,000 (mesometrial site)
 The cytoplasmic protrusion was also
 observed in this site.

胞体上部におけるミトコンドリアは、むしろ増加傾向を示し、核上部における脂質顆粒の増加、さきの ACPase 所見と符合するライソゾーム系顆粒の増加やその高密度化がみられた。

他方、基底部では脂質顆粒の減少傾向がみとめられ、さらに特徴的な所見として基底膜の平端化がみられたが、基底膜はなお完全に保持されていた。

間質：細胞質の一層の肥大に加えて、種々の細胞質内小器官の変化をみることができた。まず基底膜直下にある間質細胞では細長く伸びた細胞質突起が基底膜に極度に接近しており、またその部の基底膜上部においては、ミトコンドリアが密集していた。

間質細胞質内では、リボゾームやミトコンドリアの増加に加えて、粗面小胞体の内腔拡大像がさらに強まり、また脂質顆粒やライソゾーム系顆粒は増数していた。

このほか、細胞質内に巾 100Å~150Å の小線維状物質、いわゆる fibrillar material が出現し、また細胞相互間にはデスモゾームによる密着、すなわち間質細胞の上皮化現象と見做して良い所見が得られた。また同時にこれに近接してリンパ球の遊走も観察された。

Fig. 22. Stromal cell on Day L₅ ×11,000 (mesometrial site)
 The outline of nucleus was round as that in the antimesometrial site, but the cytoplasm was not so enlarged.

以上の様な変化のほかに、腺細胞基底膜附近の脱落膜細胞においては細胞膜間小腔が散在し、そこに繊毛をみることができた。

腺上皮細胞：腺腔内の電子密度は前日より明らかに低下していたが、胞体上部の小胞や粗面小胞体に関し

ては、前日とあまり大差が認められなかった。

しかしながらミトコンドリアは減少傾向にあり、その中には、明らかに膨化傾向を示し、さらに基質内の電子密度の低下しているものも認められた。

ライソゾーム系顆粒は前日と同様に豊富で、胞体の基底部にいたるまで大小種々の空腔が多数分布しており、ことに基底部では脂質顆粒の増加がみられた。

(B) 間膜側における微細構造所見

反間膜側表面上皮にみられた前述の諸変化が胚の機械的刺激に由来するものであるかどうかを検討する一つの手段として、同一動物の間膜側内膜についても観察を行った。

表面上皮: 表面の細胞質突起は、反間膜側と同様に出現していたが、その密生度はやや弱いように思われた。しかし細胞内小器官の変化に大差は認められず、またこのさい注目すべき所見として基底膜の平端化も反間膜側と同様に出現していた。しかし、本所見は光学顕微鏡学的検索手段では明らかでない。

間質: 間質性浮腫や、間質細胞の核の円形化がみとめられたが、細胞質の肥大は著しくなく、また粗面小胞体の拡大像も顕著でなかった。しかし細胞膜間のデスモゾームによる連結現象はすでに惹起されており、ライソゾーム系顆粒の増数も観察できた。

III 考 察

組織化学的検索成績からは、まず着床前期では上皮系と血管系に強い ALPase, ATPase 活性がみられ、ことに血管系では L_3 日を接点として急激な活性の増強、換言するとその壁透過過程の亢進を思わす所見を得た。また着床期の L_4 日では、反間膜側上皮直下の間質細胞に membrane transport marker としての ATPase 活性が出現してくる。そして L_5 日になると、脱落膜の形成と共に、同部に強い ALPase, ATP 活性が出現し、他方同時期の反間膜側上皮においては、ALPase 活性の消失と ACPase 活性の増強がみられた。

ところで、今回の著者らの観察結果によると、着床周辺期にみられる表面上皮の諸変化のうち、まず最初に出現する微細構造上の変化は、 L_3 日にみられた微絨毛の短縮と、その配列の不規則化である。これはその後にみられる微絨毛の消失や、これに代つて表面上皮をおおう細胞質突起の出現に先行する所見である。このような表面上皮の変化は、ヒト内膜においても分泌期に認められており (Nilsson⁷⁾ 1962), また去勢 progesterone 遅延着床ラットに少量のエストラジオールを投与すると同様な変化の惹起されることが観察されている (Potts⁸⁾ ら 1967)。この Potts らの知見は上皮表面にみられるこの種変化が、progesterone 前作用後の estrogen 作用を引き金として惹起されるものであることを端的に示唆するものである。

また著者らの研究においては、ほぼ同時期に微絨毛表面の樹枝状構造の消失がみられたが、これと同様な現象を Enders⁹⁾ ら (1972) は、シロイタチ ferret を用い、同一構造と思われる glycocalyx が trophoblast の ectoplasmic pad に近接する部位に特異的に消失することを観察している。もちろんこの樹枝状構造の保存の程度は、試料作成過程における固定の良否に大きく左右されるものではあるが、上記の Enders らの報告や妊娠の子宮腔に下降する L_3 日内膜にはじめて出現するという著者らの知見を考慮すると、本所見は内膜側における妊娠接触の徴候の一つである可能性が極めて強いものと思われる。

着床前期の L_3 日においてみられた表面上皮胞体上部の小胞の著しい増加は、同時にみられたゴルジ体の発達、粗面小胞体の拡大、あるいは子宮胞内液の高電子密度と考え合わせ、この時期の表面上皮の活発な分泌機能を推測させる所見である。

その生物学的な意義に関しては、現在のところあまり明らかでないが、妊娠に対する栄養源としての意義のほか、Mayer ら (1967) も指摘している様に、着床前期の胚は子宮腔内では機能的に dormant であるにもかかわらず、これを他の臓器に移植すると活発化されると言う事実から、この時期にみられる分泌機能の亢進を胚の着床を阻止する機構の一つとして関連づける見解もある。

さらに着床期、すなわち L_4 日において、表面上皮に複雑化したライソゾーム系顆粒が出現し、またそれ

らの増数や高密度化がみられたことは、この時期の表面上皮の機能が、前日の分泌相から吸収相へと変化することを示唆するものである。

このような推定を支持する事実として、我々は同時期に行つた表面上皮の Trypanblau の取り込み結果から、 L_4 日表面上皮は L_3 日と比較して著しい色素吸収能の亢進することを認めており、この athrocytosis 能の亢進はライソゾーム系列の phagosome 機能と正の相関にあることが知られている (Photo 23, 24)。

Fig. 23. Absorption of Trypanblau in the luminal epithelium on Day L_3 .

Fig. 24. Absorption of Trypanblau in the luminal epithelium on Day L_4 .

It showed stronger athrocytosis compare to that on previous day.

また同時期にみられる脂質顆粒の増加やその核上部への移動現象の持つ意義については、不明であるといわざるを得ないが、吸収された物質の貯蔵現象と関連性のある可能性も除外できない。

いずれにせよ、このような表面上皮の微絨毛の短縮、消失、分泌相から吸収相への転換を思わせる細胞内小器官の変化を、後述の表面上皮にみられる上皮の接近現象と一括し Nilsson (1970) は attachment reaction と呼んでおり、こうした上皮の接近現象は先に述べた表面上皮の吸収相への転換、いいかえると、予想される子宮内液の性状の変化、あるいはその粘調化とあいまって、胚の内膜固定に役立つものと推定される。

ところで、attachment reaction は Nilsson の系統的な研究によれば、マウス、ラット、ハムスターなどの偏心性着床、あるいはモルモットなどの間質着床型式をとる動物ではみられるが、ウサギ、ミンクなどの中心性着床型式をとる種属においては出現しないといわれる。また attachment reaction をおこす動物は、総じて着床前にみられる胚の膨化度、さらに絨毛の内膜浸潤性が弱いことも興味深い。

つぎに L_5 日内膜表面上皮においては、上皮の菲薄化と、基底膜が反間膜側の着床部位において平端化することを観察できたが、このような基底膜の平端化は着床部位のみならず、間膜側子宮膜基底膜でも認められるので、この機作に関しては、単なる受精卵の圧迫によつて惹起される現象でなく、むしろ内膜の attachment reaction の範疇にぞくする active な反応と考えたい。

次に間質における最も早期の着床準備状態は浮腫の出現であるが、間質性浮腫は受精卵が卵管内にある L_2 日の時期からすでに電顕的に浮腫傾向がみられた。このような間質性浮腫はさらにその後増強し、 L_4 日で頂点に達し、 L_5 日以降は弱まるが、胚着床にとつて極めて合目的な現象であると思われる。

また L_5 日に、上皮直下の間質細胞にデスモゾームによる密着、即ちその上皮化が認められたことは前述の通りである。

この上皮化に関しては、すでに Enders (1967) の詳細な報告がみられるが、この生物学的意義に関しては、trophoblast による基底膜破壊後の受精卵に対する第二の barrier を形成することにあるものと思われる。

る。

こうした第一次脱落膜細胞の微細構造にみられるその他の諸変化を列記すれば、核周囲の平滑化、細胞質の肥大とそれに伴う粗面小胞体の拡大とその内腔の高電子密度化、リボゾームの増加などの諸変化であり、周囲の非脱落膜化細胞と明瞭に区別できるようになるが、この中でも最も劇的な変化はポリゾームの増加であり、しばしばU字状、あるいはコイル状を呈する。

これらに加え細胞間に小隙を生じ、そこには細長い細胞突起が認められ、上皮性細胞ことに分泌機能を有する細胞と組織構築上の類似性がみられたことは、上記した barrier としての意義のほかに、本細胞における旺盛な分泌、あるいは吸収機能を示唆しており、このような考え方を裏付けする所見として、前述の脱落膜細胞に極めて強い ATPase, alkaline phosphatase, acid phosphatase 活性の局在するという所見を指摘できる。

このほか fibrillar material も明瞭に認めるようになるが、この種 fibrillar material の出現は、Jollie¹⁰⁾ ら (1965) は実験的脱落膜腫形成時に、また Enders ら (1967) はやはりラットの正常妊娠脱落膜細胞にこれを認めており、そのほか線維芽細胞、血管上皮細胞、あるいは hepatoma においてもみられると言われるが、その生物学的意義は不明である。

最後に、腺上皮細胞の動きについては、胚発育に対して limiting factor 的な役割を演ずる uteroglobin-blastokinin の形成機構などの問題とも関連して興味ある課題であるが、その分泌動態に関する業績はこれまで少ない¹¹⁾。

この点についての著者らの見解を述べると、前述した様に L₂ 日においては微絨毛の膨大像、L₃ 日や L₄ 日では小顆粒の腺腔内への蓄積などの所見が観察されたが、現時点での研究結果からその分泌様式を明確に結論することは早計である。しかし一応黒住の分泌型式の分類 (1965) に準ずると、微絨毛の膨大を認めたことから第Ⅲ型 (microapocrine mechanism) あるいは腺腔内に多くの小顆粒を認め得たことから、第Ⅴ型 (diacrine mechanism) に類するものであろうと予想される。

また腺腔内の電子密度は着床期の L₄ 日において頂点に達したが、これは著者らの別途実験における組織化学的観察において、diastase resistant PAS 陽性物質が同じくこの時期に最高となる成績とほぼ一致している。

さらに腺上皮細胞内小器官の変化に関しては、protein 産生小器官のポリゾーム、粗面小胞体、また粗面小胞体でつくられた分泌性蛋白の糖質添加の場であるゴルジ体の動態が興味深い。すなわち uteroglobin-blastokinin の本態は分子量27000前後の小分子 glycoprotein であることが Daniel ら (1971) によつて確認されているからである。そしてこれらの腺上皮細胞の小器官は L₂ 日から L₄ 日にかけて増加、もしくは増大すると言う事実をたしかめることができた。

しかし L₅ 日では、すでにミトコンドリア基質の電子密度の低下、空胞の出現などの機能低下所見を認めており、著者らは光顕的にもこの時期に H³-uridine, H³-methionine のとりこみや¹²⁾ SDH 活性の急激な低下²³⁾を別の実験で観察している。

ま と め

胚着床の機構を知る目的で、着床周辺期ラット子宮内膜についてその微細構造の変化を観察し、同時期にみられる組織化学的所見と共に、その意義について考察した。

(1) L₂ 日では ALPase 活性は主として、上皮系や血管壁に局在し、一方表面上皮には規則正しく配列する微絨毛と、その表面をおおう樹枝状構造がみられた。このほか間質の浮腫傾向、腺上皮細胞の微絨毛の膨大像が観察された。

(2) L₃ 日では上皮系の ATPase 活性の増加、間質血管系の ALPase, ATPase 活性の増強がみられた。表面上皮の微絨毛の短縮傾向と共に樹枝状構造は消失し、胞体上部の小胞の著しい増加、ゴルジ体の発達や粗面小胞体の拡大像がみられた。基底膜は著しく屈曲し、また間質の浮腫傾向の増強、胞体の肥大、小器官

の発達がみられた。腺上皮細胞ではゴルジ体の発達と共に腺腔内に小顆粒を認めた。

(3) L₄ 日においては、強い反間膜側内膜血管系 ALPase, ATPase 活性のほか上皮直下間質細胞に ACPase 活性の増加と ATPase 活性の出現をみた。微細構造では、表面上皮の微絨毛や小胞の減少傾向、脂質顆粒の核上部移動、ライソゾーム系顆粒の増加をみ、また間質細胞の胞体の増大、リボゾームの増加、粗面小胞体の内腔拡大像やその腔内電子密度の増加をみた。また腺腔内の電子密度は最高となり、同時に腺腔内の小顆粒も著明に増加していた。

(4) L₅ 日においては、反間膜側間質細胞の諸酵素活性の一層の増強がみられ、ALPase, ATPase 活性は細胞膜に局在していた。また反間膜側表面上皮は細胞質突起でおおわれ、核上部脂質顆粒の増加、ライソゾーム系顆粒の高密度化と共に、基底膜の平端化をみた。間質の浮腫傾向は減少し、間質細胞は上皮化し、fibrillar material や絨毛の出現がみられた。腺上皮細胞内ではミトコンドリアの膨化や空胞形成をみ、また腺腔内の電子密度は低下していた。

他方、間膜側表面上皮にも、細胞質突起の結合や基底膜の平端化がみられ、また間質の浮腫傾向、間質細胞核の円形化をみたが、細胞の肥大度は反間膜側の間質細胞ほど著しくなかった。

稿を終るにあたり、御指導、御校閲を賜わった東條伸平教授、また、始終御指導いただきました本学第二解剖学教室、溝口史郎教授に衷心より深謝いたします。

文 献

- 1) Enders, A.C. and S.J. Schlafke : Am. J. Anat. 120 : 185 (1967)
- 2) Mayer, G., O. Nilsson and S. Reinius : Z. Anat. 126 : 43 (1967)
- 3) Nilsson, O. : Ovo-Implantation. Human Gonadotropins and Prolactin 1970, 52 S. Karger Basel Munchen New York
- 4) Tachi, S., C. Tachi and H.R. Linder : J. Reprod. Fert. 21 : 37 (1970)
- 5) 飯塚理八 : 第23回日本産科婦人科学会総会宿題報告要旨, (1971).
- 6) 林 要, 武木田博祐, 松岡謙二 : 第22回日本産科婦人科学会総会講演集, (1970).
- 7) Nilsson, O. : Z. Zellforsch. mikrosk. Anat. 56 : 803 (1962)
- 8) Potts, D.M., and A. Psychoyos : C.r. hebd. Séanc. Acad. Sci. Paris 264 : 370 (1967a)
- 9) Enders, A.C., and S.J. Schlafke : Am. J. Anat. 133 : 291 (1972)
- 10) Jollie, W.P., and S.A. Bencosme : Am. J. Anat 116 : 217 (1965)
- 11) Daniel, J.C. : Advances in the Biosciences 1971, 191 Pergamon Press Vieweg
- 12) Takekida, H. : Acta. Obst. et Gyneac. Jap. 18 : 200 (1971)
- 13) 林 要, 高野申吾, 武木田博祐 : 産婦進歩, 20 : 375, (1968).