Studies of Implantation Traces in Rats

III. Histological Examination

Takashi YAMADA, Tadahiro INOUE, Mariko HARA and Hiroshi OHNO

*Research Center of Taisho Pharmaceutical Co., Ltd.,
1-403 Yoshino-cho, Ohmiya-shi, Saitama 330, Japan.*

(Received 27 September 1985/Accepted 14 January 1986)

We carried out a histological examination of the implantation traces in delivered rats. 1. The implantation traces could be identified more than 500 days after delivery on the mesometrial side as black and brown spots. 2. The implantation traces were recognizable as a cicatrix remaining in the parametrium, mesometrial triangle, which was formed by repair of injury caused by placental desquamation. In this area, metrial gland cells which were laid down through pregnancy were recognized for about two months after delivery. 3. The implantation traces consisted of cicatrix tissue associated with collagen production and hemosiderin. It was possible to distinguish old and new traces by the size of the siderophile cells and by the degree of hemosiderin present. It was also possible to discriminate new traces as yellowish-brown areas, covered with a yellowish-white mass of degenerated metrial gland, in cleared uteri stained with 2% NaOH solution. 4. Siderophile cells on the implantation traces were derived from giant cells which persisted around the peripheral region of the placental desquamation site, and these giant cells were considered to be identifiable with metrial gland cells. 5. It was considered that formation of the cicatrix is essentially the same in abortion, stillbirth and normal delivery. However, it was found that the implantation traces had different histological appearances depending on the degree of injury to the endometrium and myometrium and time of placental desquamation. 6. The iron content of the implantation traces corresponded quantitatively with the hemosiderin observed in the histological investigations. The iron content decreased rapidly up to 21 days after delivery, decreasing gradually thereafter. The iron in the implantation traces could, however, be analyzed quantitatively by atomic absorption spectroscopy until day 365 after delivery.

ラットの着床痕に関する研究

Ⅲ．組織像について

山田 隆・井上忠広・原真理子・大野 博

大正製薬株式会社総合研究所

妊娠ラットの子宮間膜側の粘膜に沿ってみられる黄色の metrial glands 及び分娩ラットの子宮にみられる褐色または黒褐色の斑状痕はともに着床痕 implanta-

tion sites と呼ばれ、その個数は妊娠時の胚着床数と一致するといわれている [8, 11, 21, 27, 37]。分娩後の着床痕は metrial glands の残存したものであると考

えられているが[28], 著者らは, 着床痕は metrial glands の消失する分娩後500日以上においても観察可能で, その染色には metrial glands を染色しない組織鉄染色法が有効であるところから[38], 胎盤剝離により形成された胎盤痕[31]に基づくものであろうと推測してきた[39]。

著者らは分娩後の着床痕について調べており, すでに分娩後の着床痕を妊娠中の metrial glands を示す implantation sites と区別するため implantation traces と名付け, その染色法, 観察法, 特徴などについて検討し, 報告してきた[38, 39]。

今回, この分娩後の着床痕の組織学的検査並びに着床痕中の鉄含量測定を行ったので, その成績を報告する。

材料及び方法

1. 動物及び飼育条件: 動物は Slc: Wistar 系ラットの未経産雌(12週齢)及び経産雌(19週齢)を用い, 組織学的検査に128匹, 鉄含量測定に16匹を供した。妊娠は交配翌朝の膈内検査により, 膈内に精子の確認された場合に成立と定め, その日を妊娠0日とした。

飼育はラットを木屑敷プラスチックケージに2~3匹ずつ収容し, 温度 $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$, 湿度 $55 \pm 5\%$ の空調動物室で固型飼料(オリエンタル酵母: MF)及び滅菌水を自由に与える条件で行った。

2. 組織学的検査

1) 肉眼的検査: 分娩2日前に胎仔・胎盤を除去した子宮並びに分娩後0, 5, 21, 35, 63及び91日目に摘出した子宮(21例)について, それぞれ2~3例を2%水酸化ナトリウムに1時間以上浸漬して透明化させて[39], 観察した。

2) 顕微鏡的検査: 検査は正常分娩(生産), 実験的に誘起した死産及び流産後の着床痕について実施した。正常分娩については第1産の分娩2日前, 分娩後0, 3, 7, 21, 35, 49, 63, 91, 189及び365日目(計28例), 第2産の分娩後2, 7, 14及び21日目に(計12例), また, 死産(計44例)並びに流産後(計22例)のものについては, 分娩(妊娠成立後22日目<推定妊娠満期日>を分娩日とした)2日前, 分娩後0, 7, 14, 21, 35及び49日目にそれぞれ2ないし5例の子宮を摘出し, 中性ホルマリン液にて固定した。固定後は常法に従い組織切片標本を作り, Hematoxylin-Eosin, Van Gieson, Berlin blue, PAS, 渡銀の各染色を施し[33],

組織学的検査を行った。死産(妊娠20日目以後に死亡仔が娩出された場合)については, 妊娠7日目に Busulfan 15 mg/kg を腹腔内注射する方法, 並びに, 妊娠8から15日目のいずれかの日に開腹して一部の生存胎仔を残し注射針で数匹の胎仔を刺殺 stabbing する方法, または, 妊娠15日目に全胎仔を刺殺する方法で誘起した。流産(妊娠19日目以前に全死亡仔が娩出された場合)については, 妊娠7・8両日に 6-mercaptopurine 40 mg/kg を腹腔内注射する方法, または, 妊娠7から9日目のいずれかの日に開腹して鉗子あるいは注射針で全胎仔を圧搾 crushing あるいは刺殺する方法で誘起した[39]。

3. 着床痕中の鉄含量測定: 1産目の正常分娩(生産)ラットの分娩後7, 14, 21, 63及び365日目の子宮をそれぞれ3, 3, 6, 3及び1例並びに対照として未経産ラットの子宮3例を選んだ。屠殺後摘出した子宮はホルマリンに固定し, 脱イオン二重蒸留水で十分水洗した後着床痕のみを丁寧に切り取り測定した。鉄含量測定は平間ら[5], 北川ら[9]の方法に従い, 着床痕重量測定後低温プラズマ灰化装置で灰化し, 0.1N塩酸処理を経て原子吸光法により行った。機器は島津の原子吸光光度計(SHIMADZU, AA 650型)を用い, ランプはホーローカソードランプ(Fe; 浜松ホトニクス), 波長2483Å, 電流10mA, フレームは空気(流量10ℓ/min.)—アセチレン(流量2.5ℓ/min.), スリット幅は2Å, バーナーは10cmスロットバーナー(高さ4mm)の条件で測定した。着床痕は湿重量で1mg以下であったため, その鉄含量は溶液(ml)中のppm値で, また, 対照として測定した着床痕以外の子宮組織は1mg以上秤量できたので, その鉄含量は湿重量(g)中のμg値で示した。

成 績

1. 組織学的検査所見

1) 肉眼的検査: 分娩直後のラットの子宮を肉眼的に観察すると胎盤剝離部が半球状に隆起し, その下に凝血塊がみられたが, その半球状の隆起物は経日的に小さくなり, 凝血塊の消失とともに黒褐色の斑状痕が明瞭となってきた。分娩後21日目以降は半球状の部分も次第に平坦になり, 斑状痕のみが分娩後500日以上認められた[38]。この斑状痕は分娩後の着床痕といわれているものであるが, この着床痕の形成前の状態を調べるため, まず, 分娩2日前の子宮について, 胎仔・

胎盤を除去し透明化させたところ、間膜側の metrial glands 部 [2, 21, 28, 37] に黄白色の綿帽子様の球状の細胞塊と思われるものが観察された (Fig. 1)。次いで、分娩後 0, 5, 21, 35, 63 及び 91 日目の子宮を透明化させたところ、Fig. 2, 3 に示したように、分娩後 5 及び 35 日目では胎盤剝離部に分娩 2 日前の子宮にみられたのと同様な綿帽子様の球状物 (metrial gland cells とと思われる) が観察された。また、分娩後 35 日目の子宮ではこの綿帽子様の球状物は著しく縮小し、それに変わり黄褐色の球状物 (血鉄素沈着と思われる) が明瞭となった。図示しなかったが、分娩後 63 及び 91 日目の子宮では更に縮小した褐色の球状物が認められた。

2) 顕微鏡的検査

(1) 第 1 産目着床痕：第 1 産目の正常分娩ラットの着床痕部について経日的に観察したところ、Table 1 の左側に示したような所見が得られた。

分娩前 2 日目：胎盤は内膜・筋層内に侵入しており、子宮組織との境界面に基底脱落膜が存在し、その基底脱落膜の周辺には明るい多面体状の脱落膜細胞と思われる細胞と巨細胞が密在していた。また、外膜部の子宮旁組織 parametrium にはやや拡張した血管並びに基底脱落膜周辺にみられたのと類似の胞体の明るい大きな細胞 giant cells が認められた (Fig. 4)。

分娩後 0—3 日目：分娩後 0 日目では胎盤剝離部の基部に壊死、浮腫、出血、血管拡張、好中球の浸潤がみられ、内腔に固有層と筋層の脱落組織並びに凝血塊が認められた。また、内腔には内膜側の自由面が乳頭状に突出し、やや腫脹した上皮細胞も認められた。分娩後 3 日目では剝離部の内膜は著しく修復し、固有層も正常に近い基本構築を示し、筋層隣接部位には軽度の出血、血鉄素沈着、膠原線維の増加、毛細血管の新生並びに好中球の浸潤などが観察された。筋層では著しい再生とともに連続した断裂及び錯綜がみられ、その間隙に膠原線維が認められた。また、筋層及び外膜の子宮旁組織付近では出血、壊死並びに担鉄細胞の増加がわずかに認められた (Fig. 5, 6)。強拡大にして調べてみると、子宮旁組織付近の出血巣周囲には妊娠中にみられたのと同じ胞体の明るいきわめて大きな細胞が密在していた (Fig. 7)。

分娩後 7 日目：子宮組織は著しく修復し、全体的に縮小していた。筋層並びに筋層と隣接する固有層には血鉄素沈着の増加がみられ、筋層では錯綜状態が続いているものの、断裂は減弱していた。子宮旁組織では

巨細胞のみられたところに担鉄細胞、血鉄素沈着並びに膠原線維の増加が認められた。この担鉄を示す巨細胞は P A S 陽性であった (Fig. 8, 9)。

分娩後 21 日目：子宮組織は更に縮小し、固有層、筋層の区別が明瞭となった。筋層は再生が進み断裂も消失し、健全な組織に修復していた。子宮旁組織では P A S 陽性の担鉄細胞、血鉄素沈着、膠原線維並びに好銀線維の領域が広がり、明らかな癒着化が認められた (Fig. 10, 11, 12, 13, 14, 15)。

分娩後 35-91 日目：子宮組織はほとんど健全に復したが、固有層、筋層には依然わずかながら血鉄素沈着、膠原線維が認められた。子宮旁組織では巨細胞は消失し、担鉄細胞も萎縮・減少し、血鉄素沈着並びに膠原線維の増加も認められなくなった。

分娩後 189-365 日目：固有層、筋層は全く未経産の子宮組織と変わらなくなったが、子宮旁組織の小領域には依然血鉄素沈着の存在が観察された (Fig. 16, 17, 18)。

(2) 第 2 産目着床痕：第 2 産の着床痕部の組織学的検査所見を Table 1 の右側に示した。第 2 産の着床痕も第 1 産のものと同様な組織像であった。すなわち、分娩後 7 日目頃より胎盤剝離部の固有層は著しく修復され、筋層、子宮旁組織には大きな担鉄細胞に取り込まれた血鉄素沈着並びに膠原線維の増加が認められた。更に、分娩後 21 日目になると、固有層、筋層はほとんど修復され、子宮旁組織において担鉄細胞並びに血鉄素沈着の増加が一層明瞭になった。

(3) 死産及び流産後の着床痕：薬物あるいは物理的処置により誘起した死産及び流産後の着床痕部の組織学的検査所見を Table 2, 3 に示した。死産誘起のための妊娠 15 日目に刺殺した胎仔周辺の妊娠 20 日目 (推定娩出 2 日前) における子宮組織所見は内層、筋層では特に正常妊娠のものと変わらなかったが、子宮旁組織では壊死、好中球の浸潤を示す例がみられ、担鉄細胞の増加、血鉄素沈着、血管拡張が共通して観察された。死産直後の子宮組織は正常分娩の 3 日目像に類似し、7 日目以後においては刺殺・薬剤誘起ともほぼ正常分娩と同様な組織像であった。圧挫、刺殺あるいは薬剤により誘起した流産の子宮組織については、流産後 21 日目のものは正常分娩の 35 日目頃の組織像に相当していた (Fig. 19, 20)。

2. 着床痕中の鉄含量

着床痕中の鉄含量について原子吸光法により分析した結果を Table 4 に示した。着床痕中の鉄含量は分娩

Table 1. Histological findings of implantation traces after natural delivery in rats

Days after delivery No. of rats	First delivery										Second delivery						
	-2	0	3	7	21	35	49	63	91	189	365	2	4	7	14	21	
Endometrium																	
Desquamation		++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Necrosis			-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Hemorrhage			-/+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Cell infiltration			+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	
Collagenization			-	-/+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Hemosiderin deposition			-	-/+	-/+	-/+	-/+	-	-	-	-	-/+	-/+	-/+	+	-/+	
Myometrium																	
Desquamation		+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Necrosis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Hemorrhage	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Cell infiltration	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	
Collagenization	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-/+	-/+	+	-	-	
Hemosiderin deposition	-	-	-	-/+	-/+	-/+	-/+	-	-	-	-	-	-	-/+	-/+	-	
Capillary proliferation	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Parametrium																	
Necrosis	-	-/+	+	-/+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-/+	-	-	
Hemorrhage	-	+/++	+	-/+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	
Cell infiltration	-	+/++	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	
Collagenization	-	-	+	+	+	-/+	-/+	-/+	-	-	-	+	+	++	+	+	
Hemosiderin deposition	-	-	+	+/++	++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	++	++	
Increase of siderophile cells	-	+	+	+/++	++	-	-	-	-	-	-	+	+	++	++	++	
Atrophy of siderophile cells	-	-	-	-	-	+	+	+	+/++	+/++	++	-	-	-	-	-	
Capillary proliferation	-	-	-/+	-	-	-	-	-	-	-	-	-/+	-	-	-	-	
Dilation of blood vessel	+	++	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	
Edema	-	++	-/+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

1) Rats : 40 (Slc: Wistar strain)
2) Degree of histological change: (-) No change, (+) Slight, (++) Marked, (Blank) No observation

Table 2. Histological findings of implantation traces after stillbirth rats.

	Fetal stabbing														Drug			
	-2	0	1	7	14	14	15	21	21	21	21	35	7	49				
Days after delivery	12	15	8	10	12	15	2	4	9	15	15	2	7	7				
Day of gestation treated	5	4	2	2	4	2	4	4	4	6	5	2	4	4				
No. of rats																		
Endometrium																		
Desquamation		++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-				
Necrosis			-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-				
Hemorrhage			+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-				
Cell infiltration			+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-				
Collagenization			-	-	+	+	+	+	+	-/+	-/+	-	-	-				
Hemosiderin deposition			-	+	+	+	+	+	+	+	-/+	-	-/+	-				
Myometrium																		
Desquamation			-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-				
Necrosis	-		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-				
Hemorrhage	-	-/+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-				
Cell infiltration	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-				
Collagenization	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-				
Hemosiderin deposition	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-				
Capillary proliferation	-	-	-	-	-/+	-/+	-/+	-/+	-/+	-/+	-/+	+	-	-				
Parametrium																		
Necrosis	-/+	-/+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-				
Hemorrhage	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-				
Cell infiltration	-/+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-				
Collagenization	-	-	-	++	++	++	++	++	++	-/+	-/+	-/+	++	++				
Hemosiderin deposition	+	+	+	+/++	+/++	+/++	+/++	+/++	+/++	+/++	+/++	+	+	+				
Increase of siderophile cells	+	+	+	+/++	+/++	+/++	+/++	+/++	+/++	+/++	+/++	-	+/++	-				
Atrophy of siderophile cells	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	++				
Capillary proliferation	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-				
Dilation of blood vessel	++	++	++	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-				
Edema	-	-/+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-				

- 1) Rats : 44 (Slc: Wistar strain)
- 2) Fetal stabbing : Stabbing carried out either in some fetuses at between days eight and 12 of gestation or in all fetuses on day 15 of gestation.
- 3) Drug : Busulfan 15 mg/kg/i.p.
- 4) Stillbirth : Dead fetuses expelled between day 20 to full term.
- 5) Degree of histological change: (-) No change, (+) Slight, (++) Marked, (Blank) No observation

Table 3. Histological findings of implantation traces after abortion in rats.

	Crushing	Stabbing	Drug			
Days after delivery	21	21	7	21	35	49
Day of gestation treated	7	9	7.8	7.8	7.8	7.8
No. of rats	2	4	4	4	4	4
Endometrium						
Desquamation	—	—	—	—	—	—
Necrosis	—	—	—	—	—	—
Hemorrhage	—	—	—	—	—	—
Cell infiltration	—	—	—	—	—	—
Collagenization	—	—	—	—	—	—
Hemosiderin deposition	+	+	+	+	—	—
Myometrium						
Desquamation	—	—	—	—	—	—
Necrosis	—	—	—	—	—	—
Hemorrhage	—	—	—	—	—	—
Cell infiltration	—	—	—	—	—	—
Collagenization	—	—	—/+	—	—	—
Hemosiderin deposition	—	+	—/+	—	—	—
Capillary proliferation	—	—	—	—	—	—
Parametrium						
Necrosis	—	—	—	—	—	—
Hemorrhage	—	—	—	—	—	—
Cell infiltration	—	—	—	—	—	—
Collagenization	+	+	+	—/+	—	—
Hemosiderin deposition	+	+	+/++	+	+	+
Increase of siderophile cells	—	—/+	+/++	—/+	—	—
Atrophy of siderophile cells	++	+/++	—	+/++	+/++	++
Capillary proliferation	—	—	—	—	—	—
Dilation of blood vessel	—	—	—	—	—	—
Edema	—	—	—	—	—	—

- 1) Rats : 22 (Slc: Wistar strain)
- 2) Crushing and Stabbing: Treatment carried out in all fetuses on day 7 or 9 of gestation
- 3) Drug : 6-Mercaptopurine 40 mg/kg/i. p.
- 4) Abortion : Dead fetuses explused before day 19 of gestation.
- 5) Degree of histological change: (—) No change, (+) Slight, (++) Marked

7, 14, 21, 63及び365日目で、それぞれ1.81, 1.26, 0.52, 0.35及び0.14 ppm/mlであった。着床痕中の鉄含量は分娩後7日目から21日目までに急激に減少し、約1/3量になり、その後は徐々に減少し、分娩後21日目から63及び365日目までそれぞれ約3/4及び1/4に減少した。分娩後365日目では分娩後7日目の約1/13になったが、なお高濃度の鉄が存在し、組織学的検査において観察された血鉄素沈着を裏づけていた。着床痕以外の子宮組織の鉄含量は分娩後7, 14, 21, 63及び365日目

でそれぞれ160.3, 136.9, 60.3, 59.5及び51.1 µg/gであり、いずれの測定日においても着床痕の鉄含量(1個の着床痕を平均0.1mgとし、ppm=µg/ml, ppm=µg/gに換算した場合)の約1/50~1/100程度であった。また、表示しなかったが、未経産の子宮組織の鉄含量は59.9 ± 5.6 µg/gとなり、経産の分娩後21日目以降の着床痕以外の子宮組織中鉄含量と同程度であった。

Table 4. Iron content¹⁾ in implantation traces in rats after first delivery.

Days after delivery	7	14	21	63	365
Implantation traces					
No. of rats ²⁾	3	3	6	3	1
No. of implantation traces examined	30	34	43	13	6
Mean value (ppm) ³⁾	1.81±0.96 ⁶⁾	1.26±0.72	0.52±0.34	0.35±0.16	0.14±0.08
Uterine tissues ⁴⁾					
No. of rats ²⁾	3	3	3	1	1
No. of piecemeal ⁴⁾ uterus	13	11	12	10	3
Mean value (μg/g) ⁵⁾	160.32±63.16	136.89±69.42	60.30±33.50	59.47±7.59	51.10±12.95

1). Analyzed by SHIMADZU atomic absorption spectrophotometer (Model AA-650), samples ashed and dissolved in 0.1N HCl.

2). Slc: Wistar. 3). ppm/implantation trace (ml).

4). Uterine tissues were obtained from inter implantation trace area.

5). μg/piecemeal uterus/wet weight (g). 6). Mean ± S.D.

考 察

著者らは分娩ラットの着床痕について調べてきた [38, 39]。ラットの着床は子宮の反間膜側に成立する [30, 41] のに対し、分娩後にみられる着床痕は胎盤剝離後、間膜側 [29, 32] の子宮旁組織に形成され、血鉄素沈着、膠原線維増加を伴った瘢痕で、分娩後約2ヶ月位までは妊娠中から継続するPAS陽性の明るい大きな胞体の細胞を付随することが明らかになった。

実験的に誘起した流産及び死産後の着床痕を組織学的に比較したところ、その誘起法によって組織像に若干相違が認められた。この相違は各々の処置による胚・胎盤の死滅時期あるいは娩出時期の差に基づくものと考えられた。また、流産及び死産後の着床痕と正常分娩（生産）の着床痕の比較では、流産例の分娩後（推定妊娠満期後）21日目のものは正常分娩の分娩後35日目頃の組織像に類似し、死産例の分娩後21日目のものは正常分娩の分娩後21日目の組織像と類似していた。この所見は胎盤剝離の時期と平行しており、三者の着床痕は本質的には同じ機序により形成されたためであろうと推察された。ラットのように妊娠期間の短い動物では流産、死産、正常分娩も娩出日では数日の差であり、胎盤剝離後の子宮の損傷部の修復、着床痕形成もほぼ同日数で進行していき、形成後は三者とも子宮旁組織に長期間痕跡として留まるものであった。

ラットでは、胎盤剝離後6時間以内に剝離部の辺縁上皮細胞が広がり、36時間以内に内膜表面が完全におおわれ再生される [34]。再生に用いられる上皮細胞の起源は腺上皮細胞 [10, 31] あるいは間質細胞の転換 [13, 31] であると考えられており、その再生は極めて迅速である。再生の速い子宮組織 [31] では、瘢痕は形成され難いと考えられており、事実、ラットの子宮切開傷実験において、瘢痕は形成されないと報告されている [6, 7, 20]。しかし、著者らの観察では子宮旁組織に明らかな瘢痕が認められた。すなわち、ラットの胎盤は直径1から2cmの盤状で、子宮組織との血液交流が血内皮型であるため [41]、分娩時の子宮創傷の程度も実験的切開傷に比較し著しく、そのため内膜再生後にも筋層に大きな出血果が残され、その修復に瘢痕が形成された。瘢痕は担鉄細胞並びに膠原線維の働きにより子宮旁組織に形成され、分娩後500日以上経ても肉眼的に観察できる黒褐色の斑状の着床痕も [38]、血鉄素沈着を伴った瘢痕萎縮組織であると思われた。

胎盤剝離後に現われる担鉄細胞は明るい大きな胞体の細胞であったが、この子宮にみられる巨細胞については主として妊娠子宮において研究されている [3, 17, 22, 37]。妊娠中から分娩後に継続して観察される巨細胞としては胎仔摘出後4週目においても筋層に存在するという栄養膜様細胞 [23]、あるいは何らかの刺激で脱落膜細胞様に変化する間質細胞 [6, 29] 及び metrial gland cells [2, 21, 34] などが知られている。

このうち, metrial gland cells [19, 21, 25, 37] については貪食作用 [14, 22, 26], PAS陽性反応 [18, 24, 26, 34] を示す細胞であるといわれており, しかも, 分娩後15日目の metrial gland cells に血液由来の鉄陽性反応が認められたという報告もあるところから [2], 著者らの観察した担鉄及びPAS陽性を示す巨細胞は metrial gland cells であろうと推測された。Metrial gland cells のPAS陽性は, その主組成の糖蛋白 [14, 24, 37] によるものであり, 水酸化ナトリウム透明化標本で綿帽子様にみえる metrial glands 部のものも, この糖蛋白顆粒の変性したものと考えられた。この変性した metrial gland cells についてはすでに球状物にみえるそのサイズが着床痕の新旧の区別に役立つことを報告した [39]。

着床痕中の血鉄素は, 分娩後365日以上経過してもBerlin blue染色に対し強い鉄陽性反応を示した。着床痕中の鉄沈着の由来については, ラット, モルモット, ブタ, ヒトなどにおいて妊娠中の胎盤附近の子宮内膜に高濃度の鉄が存在し [35, 36], また, ウシでは妊娠中の胎仔に移行しない鉄が子宮小丘 carunculae に集まるという報告もあり [40], 妊娠中に増加する子宮内組織鉄が移行したとも推測された。しかし, 組織学的検査により, 胎盤剥離の際に出血した赤血球内の色素が metrial gland cells に貪食され, 担鉄細胞となり沈着したものであろうと考えられた。したがって, 着床痕中の鉄沈着は赤血球の破壊に由来した血鉄素沈着であり, この沈着の程度並びに次第に萎縮していく担鉄細胞の大きさを観察することによって, 着床痕成立後の経過を推察することができると考えられた。この担鉄細胞並びに子宮透明化染色により見える綿帽子様の metrial glands の経日的な萎縮については, 分娩後の metrial gland cells が妊娠時と同様なホルモン支配も受けず [1, 12], また, 免疫学的機能 [4, 14, 15, 16] も消失していくため, その組織も次第に退縮するからであろうと考えられた。

着床痕中の鉄含量について, 原子吸光法により測定したところ, 分娩後いずれの時期の着床痕も着床痕を含まない部分の子宮片に比較し, 50~100倍位の鉄含量が示された。着床痕中の鉄は分娩後21日目まで急速に減少し, 分娩後21日目以後は徐々に減少していった。この結果は, 貪食・沈着現象の旺盛な時期の組織学的な所見を裏付けたものと考えられた。分娩後経日的に着床痕中の鉄は減少していくが, 分娩後365日目でも定量でき, 組織学的な血鉄素沈着所見と一致していた。

未経産子宮の鉄含量は分娩後21日目の着床痕を除いた子宮組織の鉄含量とほぼ同程度の値であるところから, 妊娠中あるいは分娩後増加する子宮の鉄は分娩後21日目より正常値に回復すると考えられた。

要 約

分娩ラットの着床痕について組織学的な検討を行った。1) 分娩ラットにおいて, 着床痕といわれる褐色または黒褐色の斑状物は, 子宮間膜側に500日以上肉眼的に観察できた。2) 分娩ラットの着床痕は, 胎盤剥離後の損傷によって子宮旁組織に形成される瘢痕が主体をなすもので, 分娩後約2カ月位は妊娠中からの metrial gland cells と思われるものを付随した。3) 着床痕は血鉄素沈着並びに膠原線維を伴った瘢痕であり, その新旧の区別は担鉄細胞の大きさ並びに血鉄素沈着の程度により可能であった。また, 水酸化ナトリウムによる子宮透明化着床痕染色で, 着床痕上部に観察できる黄白色の metrial glands と思われるものの存否が新旧の区別になった。4) 着床痕形成に関与する担鉄細胞は, 胎盤剥離部周辺にみられる巨細胞に由来するものであり, その巨細胞は metrial gland cells と思われる細胞と同一の細胞であった。5) 実験的に誘起した死産及び流産後の着床痕と正常分娩(生産)の着床痕を比較したところ, 三者間の組織像に多少の違いがみられたが, 内膜・筋層の損傷程度, 形成時期に基づく違いによるもので, 本質的には同じ変化であると推測された。6) 着床痕中の鉄含量を原子吸光法により測定したところ, 組織化学的検査所見と一致し, 分娩後21日目までは急速に減少していき, その後は徐々に減少するが, 分娩後365日目においても定量できた。

謝 辞

本研究を進めるに当たり, 終始適切な御助言と御指導を賜った日本獣医畜産大学教授 田中亮一博士並びに同教授高橋和明博士に深謝する。

本稿の一部については, 第32回日本実験動物学会において報告した。

文 献

- [1] Adam, E., and Peel, S. (1983). The maintenance of rat metrial gland explants in vitro, in the presence and absence of progesterone. *J. Anat.*, **136**, 321-328.

- [2] Baker, B. L. (1948). Histochemical variations in the metrial gland of the rat during pregnancy and lactation. *Proc. Soc. exp. Biol.*, **68**, 492-496.
- [3] Bulmer, D., and Dickson, A. D. (1960). Observations on carbohydrate materials in the rat placenta. *J. Anat.*, **94**, 46-58.
- [4] Bulmer, D., and Peel, S. (1977). The demonstration of immunoglobulin in the metrial gland cells of the placenta. *J. Reprod. Fertil.*, **49**, 143-145.
- [5] 平間元博・藤岡保範・恩村雄太 (1977). 組織内金属の測定法. 臨床検査, **21**, 114-147.
- [6] Hooker, C. W. (1941). The healing of wound of the uterus of the mouse. *Anat. Rec.*, **79**, 211-229.
- [7] Jett-Jackson, C. E. (1939). A study of the hormonal factor in the repair of uterine tissue in the albino rat. *Anat. Rec.*, **74**, 79-89.
- [8] Jbara, K., and Stewart, I. (1982). Granulated metrial gland cells in the uterus and labyrinthine placenta of inbred and outbred pregnancies in mice. *J. Anat.*, **135**, 311-317.
- [9] 北川晴雄・千葉剛久・鬼頭寛和・藤田公司 (1978). 必須金属の生体内動態におよぼす Tiopronin [N-(2-Mercapto propionyl)-glycine] の影響. 応用薬理, **15**, 496-500.
- [10] 木下英夫 (1972). 子宮内膜再生機序に関する基礎的研究. 慈医誌, **87**, 266-279.
- [11] 厚生省薬務局 (1984). 生殖に及ぼす影響に関する試験, 医薬品の製造(輸入)承認申請に必要な毒性試験ガイドライン. 薬審第118号.
- [12] Martel, D., Monier, M. N., Psychoyos, A., and Defeo, V. J. (1984). Estrogen and progesterone receptors in the endometrium, myometrium, and metrium gland of the rat during the decidualization process. *Endocrinol.*, **114**, 1627-1634.
- [13] Papanicolaou, G. N. (1933). Epithelial regeneration in the uterine glands and on the surface of the uterus. *Amer. J. Obstet. Gynecol.*, **25**, 30-37.
- [14] Mitchell, B. S., and Peel, S. (1984). Identification of cells bearing leucocyte surface antigens in metrial gland tissue from rats of different gestational ages, strains or parities. *Immunology*, **53**, 63-68.
- [15] Mitchell, B. S., Craggs, R. I., and Peel, S. (1980). Localisation of immunoglobulin (IgG) within the rat metrial gland. *J. Reprod. Immunol.*, **2**, 235-244.
- [16] Mitchell, B. S., Craggs, R. I., and Peel, S. (1981). Localisation of immunoglobulin (IgG) in granulated metrial gland cells of decidualomata of the pseudopregnant rat. *J. Reprod. Immunol.*, **3**, 237-241.
- [17] Padykula, H. A., Deren, J. J., and Wilson, T. H. (1966). Development of structure and function of the mammalian yolk sac. I. Developmental morphology and vitamin B-12 uptake of the rat yolk sac. *Developmental Biology*, **13**, 311-348.
- [18] Peel, S., and Stewart, I. (1979). Ultrastructural changes in the rat metrial gland in the latter half of pregnancy. *Anat. Embryol.*, **155**, 209-219.
- [19] Peel, S., Stewart, I., and Bulmer, D. (1979). Metrial gland cells in decidualomata of pseudo-pregnancy. *J. Anat.*, **129**, 21-30.
- [20] Selye, H., and McKeown, T. (1934). On the regenerative power of the uterus. *J. Anat.*, **69**, 79-81.
- [21] Selye, H., and McKeown, T. (1935). Studies on the physiology of the maternal placenta in the rat. *Proc. Roy. Soc. B.*, **119**, 1-31.
- [22] Sharma, R., and Peel, S. (1979). Uptake of marker proteins by glycoprotein-containing cells of the pregnant rat uterus and placenta. *J. Anat.*, **129**, 707-718.
- [23] Shintani, S., Glass, L. E., and Page, E. W. (1966). Studies of induced malignant tumors of placental and uterine origin in the rat I. Survival of placental tissue following fetectomy. *Am. J. Obst. Gynec.*, **95**, 542-549.
- [24] Smith, L. J. (1966). Metrial gland and other glycogen containing cells in the mouse uterus following mating and through implantation of the embryo. *Am. J. Anat.*, **119**, 15-24.
- [25] Stewart, I., and Peel, S. (1978). The differentiation of the decidua and the distribution of metrial gland cells in the pregnant mouse uterus. *Cell Tiss. Res.*, **187**, 167-179.
- [26] Stewart, I., and Peel, S. (1979). Changes in the metrial gland of the rat uterus following ovariectomy on day 10 of pregnancy. *Anat. Embryol.*, **156**, 103-114.
- [27] Stewart, I., and Peel, S. (1980). Granulated metrial gland cells at implantation sites of the pregnant mouse uterus. *Anat. Embryol.*, **160**, 227-238.
- [28] 高野喜一 (1975). 胎児毒性試験, 薬物の特殊毒性 (1) 胎児毒性と遺伝毒性, pp 9-53, 高木博司監修, 高野喜一, 菊池康基, 飯島貞二, 土川清著, 南江堂, 東京.
- [29] 館 鄰・館 澄江 (1975). 胚盤胞と子宮内膜の相互関係について—脱落膜形成機構を中心にして— 日本医師会雑誌, **74**, 844-857.
- [30] 館 鄰・館 澄江 (1975). 卵着床の動態. 生体の科学, **26**, 323-337.
- [31] 館 鄰・館 澄江・高田邦昭 (1976). 細胞ならびに分子再生系としての子宮組織. 代謝, **13**, 195-205.
- [32] 館 鄰・館 澄江 (1979). 着床と胎盤形成, 一細胞生物学的機構—性II, 代謝, 臨時増刊号, **16**, 445-452.
- [33] 渡辺恒彦・成松一久・岩垂 司・福島範子・吉野信二・鈴木 裕 (1981). 日常染色法各論. 病理技術マニュアル3, 病理組織標本作製技術(下)—染色法一, pp 35-179, 日本病理学会編, 医歯薬出版, 東京.
- [34] Warbrick, J. G. (1955). Post-partum changes in the uterus of the rat *J. Embryol. exp. Morph.*, **3**, 256-264.
- [35] Wislocki, G. B., Deane, H. W., and Dempsey, E. W. (1946). The histochemistry of the rodent's placenta. *Am. J. Anat.*, **78**, 281-345.
- [36] Wislocki, G. B., and Dempsey, E. W. (1945). Histochemical reactions of the endometrium in pregnancy. *Am. J. Anat.*, **77**, 365-403.
- [37] Wislocki, G. B., Weiss, L. P., Burgos, M. H., and Ellis, R. A. (1957). The cytology, histochemistry and electron microscopy of the granular cells of the metrial gland of the gravid rat. *J. Anat.*, **91**, 130-140.
- [38] 山田 隆・原 真理子・大場由香・井上忠広・大野 博 (1985). ラットの着床痕に関する研究. I. 大きさ, 観

- 察可能日数及び染色法について、実験動物, **34**, 17-22.
- [39] 山田 隆・原 真理子・大場由香・井上忠広・大野 博 (1985). ラットの着床痕に関する研究. II. 子宮透明化着床痕染色, 着床痕の成立及び分布について, 実験動物, **34**, 249-260.
- [40] Yamauchi, S., Kotera, K., and Kakishita, T. (1971). Histological study of the pregnant uterus in the cow IV. Study on iron and calcium in the placenta. *Jap. J. Zootech. Sci.*, **42**, 344-357.
- [41] 安田泰久・高橋寿太郎・安部徹良 (1981). 着床, 生殖機能の組織学, 哺乳動物の比較組織図譜, pp 292-334, 菅原七郎, 安田泰久, 石田一夫, 正木淳二編集, 理工学社, 東京.

Explanation of figures

- Fig. 1. Cleared uterus stained with 2 % sodium hydroxide on day 2 before delivery.
M: Metrial gland, O: Ovary
- Fig. 2. Cleared uterus stained with 2 % sodium hydroxide on day 5 after delivery; small globe is first trace (F) and large globe is second trace (S).
F: First trace, M: Metrial gland, O: Ovary, P: Placental desquamation site, S: Second trace
- Fig. 3. Cleared uterus stained with 2 % sodium hydroxide on day 35 after delivery.
I: Implantation trace, M: Metrial gland, O: Ovary.
- Fig. 4. Day 2 before delivery; H·E stain, $\times 100$
D: Decidua basalis, JG: Junctional zone giant cell, PG: Parametrium zone giant cell
- Fig. 5. The day of delivery; Normal; H·E stain, $\times 15$
D: Dilation of blood vessel, P: Parametrium, PD: Placental desquamation site, PP: Papillary protrusion, U: Uterine cavity
- Fig. 6. Day 3 after delivery; Normal; H·E stain, $\times 20$
E: Endometrium, H: Hemorrhage, M: Myometrium, P: Parametrium, U: Uterine cavity
- Fig. 7. Day 3 after delivery; Normal H·E stain, $\times 200$
G: Giant cell
- Fig. 8. Day 7 after delivery; Normal; Berlin blue $\times 200$
S: Siderophile cell
- Fig. 9. Day 7 after delivery; Normal; PAS stain, $\times 200$
- Fig. 10. Day 21 after delivery; Normal; H·E stain, $\times 40$
E: Endometrium, H: Hemosiderin, M: Myometrium, P: Parametrium, U: Uterine cavity
- Fig. 11. Day 21 after delivery; Normal; Van Gieson stain, $\times 40$
E: Endometrium, H: Hemosiderin, M: Myometrium, P: Parametrium, U: Uterine cavity
- Fig. 12. Day 21 after delivery; Normal; Berlin blue stain, $\times 40$
E: Endometrium, H: Hemosiderin, M: Myometrium, P: Parametrium, U: Uterine cavity
- Fig. 13. Day 21 after delivery; Normal; Berlin blue stain, $\times 200$
S: Siderophile cell
- Fig. 14. Day 21 after delivery; Normal; PAS stain, $\times 40$
E: Endometrium, H: Hemosiderin, M: Myometrium, P: Parametrium, U: Uterine cavity
- Fig. 15. Day 21 after delivery; Normal; Silvering stain, $\times 40$
E: Endometrium, H: Hemosiderin, M: Myometrium, P: Parametrium, U: Uterine cavity
- Fig. 16. Day 365 after delivery; Normal; H·E stain, $\times 40$
E: Endometrium, H: Hemosiderin, M: Myometrium, P: Parametrium, U: Uterine cavity
- Fig. 17. Day 365 after delivery; Normal; Van Gieson stain, $\times 40$
E: Endometrium, H: Hemosiderin, M: Myometrium, P: Parametrium, U: Uterine cavity
- Fig. 18. Day 365 after delivery; Normal; Berlin blue stain, $\times 40$
E: Endometrium, H: Hemosiderin, M: Myometrium, P: Parametrium, U: Uterine cavity
- Fig. 19. Day 21 after delivery (presumptive term); Abortion induced by 6-MP; H·E stain, $\times 40$
E: Endometrium, H: Hemosiderin, M: Myometrium, P: Parametrium, U: Uterine cavity
- Fig. 20. Day 21 after delivery (presumptive term); Fetal death-stillbirth induced by stabbing of selected fetuses on day 10 of gestation; H·E stain, $\times 40$
E: Endometrium, H: Hemosiderin, M: Myometrium, P: Parametrium, U: Uterine cavity