



岐阜大学機関リポジトリ

Gifu University Institutional Repository

ニホンカモシカにおける卵胞閉鎖過程,特に胞状卵胞の閉鎖の終末像について

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2022-06-07 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 安木, 大策, 喜多, 功, 千葉, 敏郎, 杉村, 誠 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12099/5580

ニホンカモシカにおける卵胞閉鎖過程,
特に胞状卵胞の閉鎖の終末像について

安木大策*・喜多 功・千葉敏郎・杉村 誠**

家畜臨床繁殖学研究室
(1984年7月31日受理)

Atresia of Ovarian Follicles in Japanese Serows
(*Capricornis crispus*), Especially in Final
Structural Changes of Vesicular Follicles

Daisaku YASUGI, Isao KITA, Tosihiro TIBA
and Makoto SUGIMURA

Laboratory of Theriogenology
(Received July 31, 1984)

SUMMARY

Histological observations were performed on the structural changes occurring during the atresia of ovarian follicles in Japanese serows, especially on a final phase of the atretic process of the vesicular follicles.

Examined were the paired ovaries removed from 25 female serows captured in December 1981 and December 1982, in Gifu Prefecture. The animals were divided into 5 age classes containing 5 individuals each : 0.5, 1.5, 2.5, 4.5-6.5, and 11.5-17.5 years old, respectively. Age of animals was determined on the basis of dental features. The ovaries were fixed in formol, embedded in paraffin, sectioned and stained with haematoxylin-eosin, PAS-haematoxylin and other solutions.

The most remarkable changes were observed on the basal lamina of the vesicular follicles. Around the time when the degeneration of the majority of granulosa cells following invasion of the connective tissue cells occurs, the basal lamina shows signs of hyalinized thickening. While increasingly thickening, the hyalinized lamina contracts, showing a meandering contour, towards the antral cavity. Even after all the other cells in the collapsed follicle are replaced by the connective tissue, the thickened hyalinized lamina alone remains unabsorbed. Ultimately, the laminae are left for long in the stroma as a mass of undulating hyaline fragments. In many animals over 1.5 years old, such fragments are deposited by calcium salts. Polynuclear giant cells are often found in the calcified area.

The atretic process from the degeneration of the granulosa cells to the calcification was divided into 5 stages, mainly based on the changes of the basal lamina, taking account of the degenerative changes in the granulosa layers as well as the fibrosis within the antral cavity. Using the ovarian

* 現在：扶桑薬品工業株式会社
** 家畜解剖学研究室 (Laboratory of Veterinary Anatomy)

sections cut across the maximum diameter, all the atretic follicles were observed according to the classification and frequencies of different stages were calculated. From the results obtained, it was demonstrated that with the advancing age a sum of the frequencies of stages I, II and III is reduced, whereas that of stages of IV and V is increased. The highest frequency of stage V, which is characterized by the calcification of thickened basal lamina, is found in the age class of 11.5-17.5 years old, although there is individual variation. It might be supposed, therefore, that age plays an important part as a predisposition to calcification. The calcium deposition encountered in the material under study seems to be a form of dystrophic calcification occurring secondarily in the dead vesicular follicles. The authors have found no report on this type of calcification in any other animal species. Therefore, the phenomenon described may be characteristic of the Japanese serow.

Res. Bull. Fac. Agr Gifu Univ. (49):283-290, 1984.

要 約

1981年12月と1982年12月に、岐阜県下で捕殺されたニホンカモシカ25頭の卵巣について、卵胞特に胞状卵胞の閉鎖過程の終末像について観察を行った。

顆粒層の変性脱落に次いで、基底膜は硝子様に肥厚し始め、迂曲蛇行しつつ卵胞腔内に陥入する。閉鎖の末期において他の卵胞構成要素がすべて結合織によって置換された後も、基底膜のみは硝子様の波状片の集塊として長く卵巣支質中に残存する。1.5歳以上の個体には、この波状片に石灰沈着を示すものが多い。

上述の基底膜の変化を主体とし、これに顆粒層の変性および卵胞腔内の結合織成分の状態を加味して胞状卵胞の閉鎖過程を観察すれば、これを5 stageに分類することができる。この分類に基づき、各 stageに属する閉鎖卵胞の数を各個体ごとにかぞえ、それぞれの stageの出現頻度を求めた。その結果、stage I, II, IIIの出現頻度の和は加齢と共に減り、stage IVとVの和は次第に増す傾向が明らかに認められた。石灰沈着がおこる stage Vの出現頻度は11.5~17.5歳群において最高値を示した。石灰沈着が認められる個体の頻度を年齢層間で比較すると、加齢と共にその頻度が増加する傾向がうかがわれ、石灰沈着には素因として「老齢」が関与しているものと推考した。この現象は組織の変性に継発する栄養障害性石灰沈着と解されるが、他の動物種については未だ報告が見られないので、ニホンカモシカ特有の現象と判断される。

緒 論

今日まで、種々の哺乳動物について卵胞閉鎖に関する研究報告がなされている(ウシ^{8,12)}, ヤギ⁴⁾, ヒツジ^{2,5,15)}, ブタ¹⁷⁾, ヒト⁶⁾)。これらの研究の対象は、多くは卵胞閉鎖の初期像に関するもので、終末像に至る迄の全過程を逐一追求したものはまれである。

しかしながら、本邦唯一の野生ウシ科動物であるニホンカモシカにおいては、閉鎖過程の進行した段階においてきわめて特徴的な所見が見出される。この動物の胞状卵胞の閉鎖過程において基底膜が硝子様の肥厚を示すことは、家畜全般³⁾およびヒト^{6,9,10,11,13)}を初めとする霊長目¹¹⁾におけると同様である。しかしカモシカでは、ヒトと並んで基底膜の硝子様の肥厚と収縮蛇行の程度が家畜よりも著しい。加えてカモシカでは、閉鎖の終末期に遺残物となった基底膜にしばしば石灰の沈着を認めることがある。この事実は、他の動物種には見られないきわめて特異な所見である。

本研究においては、顆粒層の変性から石灰沈着に至る胞状卵胞の閉鎖過程について基底膜を中心とする形態学的観察を行うと共に、閉鎖過程をいくつかの stageに区分し、加齢に伴う各 stageの消長を計量的に検討することによって、この動物種における卵胞閉鎖過程の終末像を努めて明らかにしてみたい。

材料および方法

1981年12月および1982年12月、岐阜県下で捕殺されたニホンカモシカ25頭の両側卵巣を検索に供した。

年齢構成は0.5, 1.5, 2.5, 4.5~6.5および11.5~17.5歳の5群から成り、各群には5個体が含まれる。年齢の推定は歯牙の交換と、セメント質の年齢測定法によった。

採取した卵巣はホルマリン固定後、約2mmの間隔で連続横断スライスとした。これをパラフィン包埋した後、厚さ4mmに薄切し、Haematoxylin-Eosin (H-E) 染色を施し、用に応じてPAS-Haematoxylin, Azan, Grmori 鍍銀法の各染色を行った。また石灰沈着の検出には Von Kossa の反応を試みた。

成 績

I. 胞状卵胞の閉鎖過程の通覧

ここでは、閉鎖過程の終末像の出現を理解するために最少限必要な成績のみを述べる。

胞状卵胞の閉鎖の最初の徴候は、先ず顆粒層細胞の変性に始まる。細胞は核濃縮あるいは染色質融解に陥り、濃縮核あるいは融解核が卵胞液中に浮遊する像がみられる。多数の顆粒層細胞の変性によって顆粒層は厚さを減じる (Fig. 3)。

顆粒層が若干の層を留めるのみとなった頃、大食細胞と線維芽細胞が現われる。時に多核の巨細胞の出現をみることがある。この後に、大食細胞、リンパ球等が卵胞腔の中心に向かって遊走する像が観察されることがある。大食細胞および線維芽細胞が増数すると共に、顆粒層細胞は次第に消滅し、やがてわずかに遺残するにとどまる。

顆粒層がほぼ完全に消滅した頃、基底膜に軽度の硝子様の肥厚が認められる (Fig. 4)。鍍銀標本、PAS 染色標本および Azan 染色標本によれば、基底膜自体の硝子様の肥厚というよりは、むしろ基底膜およびこれと吻合する内卵胞膜細網線維の網工に硝子様物質が沈着し、徐々に網工の間隙を埋めてゆくような感がある。これによって、網工の間隙に位置する内卵胞膜細胞が周囲から硝子様物質の圧迫を受けて萎縮している。

この時期、内卵胞膜から卵胞腔に向かって基底膜を突破中の線維芽細胞や、突破して卵胞腔に侵入したばかりと推定される線維芽細胞が多数観察される。

内卵胞膜の結合織細胞は、卵胞腔へ向かうものの数が増すにつれて、卵胞腔に対して放射状の配列をとるに至る (Fig. 4)。そして内外両卵胞膜と卵巣支質との境界は不明瞭となる。

やがて卵胞腔内の線維芽細胞は血管の新生および線維形成を伴って増殖し、腔の中心部へ広がる (Fig. 5)。硝子様化した基底膜内には、多数の結合織細胞が閉じ込められており、その核は圧迫されて萎縮している。硝子様物質の沈着は、硝子様に肥厚した基底膜から内卵胞膜の線維の走行に沿って、連続的にかつ不均等に生じることが多い。

基底膜の硝子様の肥厚と収縮蛇行の程度がさらに顕著となり、複雑に迂曲蛇行して卵胞腔内に大きく陥入し、多数の皺襞を形成するに至る (Fig. 6)。

卵胞腔では、線維形成の増加に伴って結合織細胞の狭小化が生じる。また、硝子様化が認められる例がある。卵胞腔の容量はさらに著しく減少する。

基底膜の吸収過程が進行すると共に、卵胞腔を充填した結合織線維と基底膜外周の結合織線維が随処で繋がる。これにより、今まで複雑に蛇行錯綜していた硝子様の基底膜が随処で寸断されるに至り、多数の波状片を生じる (Fig. 7)。

こうして胞状卵胞の閉鎖過程は、硝子様に肥厚した基底膜波状片から成る集塊物を構成して完了する。

しかし、その後上記の集塊物の吸収過程がさらに進んだ段階において、1.5歳以上の個体では波状片に石灰が種々の程度に沈着している例が観察された (Fig. 8)。石灰の沈着部は Haematoxylin で赤紫ないし暗紫色に染まり、Von Kossa の反応で黒色に染まった。この石灰沈着部位には、しばしば巨細胞の出現をみた (Fig. 8)。

II. 閉鎖過程の計量的検討

1. 胞状卵胞の閉鎖過程における stage の分類

顆粒層の変性から石灰沈着に至る一連の閉鎖過程をいくつかの stage に区分することを試みた。

前項で述べたような観察によって得られた多数の総合所見について検討を加えた結果、卵胞腔、顆粒層、

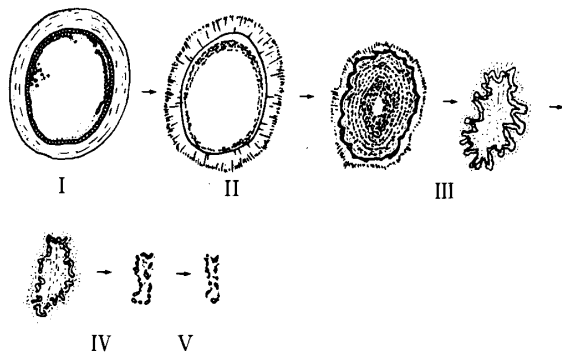


Fig. 1. Stages of atretic process of vesicular follicles

Main findings at every stage are summarized as follows :

Stage I : The granulosa layer cells are degenerate and only several layers survive. Sometimes, many macropages and few fibroblasts are present along the luminal surface of the antral cavity. (Fig. 3)

Stage II : The granulosa cells are absent or almost disappeared. The connective tissue cells, mainly the fibroblasts, are found along the luminal surface of the antral cavity or free within the antrum. Hyalinization occurs in the basal lamina. In some cases the basal lamina shows partial slight contraction. (Fig. 4)

Stage III : The granulosa layers are utterly extinct, and the antral cavity is completely filled with the connective tissue. The basal lamina begins to contract, showing a meandering contour, towards the antral cavity. With the increasingly prominent contraction, the antral cavity becomes narrower. In some cases, the hyalinized laminae are absorbed in places, and the connective tissue fibres within the cavity begins to connect with those outside the cavity. The cells of the theca interna show all the various grades of fibrosis and hyalinization. (Fig. 5 and 6)

Stage IV : With the progressive absorption of the hyalinized lamina, the areas organized by the connective tissue are steadily expanded. Consequently, the fragments of hyaline basal lamina are scattered among the connective tissue cells. The theca interna cells cannot be able to distinguished from the stroma cells. (Fig. 7)

Stage V : Changes similar to those in the preceding stage become more serious. In addition, the fragments of hyalinized basal lamina are deposited by calcium salts. (Fig. 8)

基底膜の中で、最も特徴的な変化を示すものは基底膜である。しかも閉鎖の全過程にわたって参加し続けるのも基底膜である。この理由に基づき、基底膜の変化を主体とし、これに顆粒層および卵胞腔の変化を加味して、閉鎖の各 stage を決定した。

各 stage における主な所見は次の通りである (Fig. 1)。

stage I : 顆粒層は変性に陥り薄層化しているが、なお若干の層を留めている。加えて、卵胞腔辺縁部には多数の大食細胞と、一部線維芽細胞を混じえる結合織細胞が出現する (Fig. 3)。

stage II : 顆粒層は完全に消滅しているか、あるいは遺残物としてみられるのみである。線維芽細胞を主体とする結合織成分が卵胞腔の辺縁部または中心部に存在する。基底膜に軽度の肥厚が現われ始める。内卵胞膜には軽度の線維化を認める場合が多い (Fig. 4)。

Stage III : 顆粒層は完全に消滅し、結合織成分が卵胞腔全体を充填している。基底膜の収縮につれて卵胞腔の容積の減少も顕著になる。基底膜の一部が吸収されている例では、その部で腔内の結合織と腔外のそれとが連続している。基底膜の肥厚がさらに進み、次第に複雑に迂曲蛇行する。硝子様基底膜の吸収が既にかなり進んでいるものも見られる。内卵胞腔には様々な程度の線維化と硝子化が見られる (Fig. 5, 6)。

Stage IV : 硝子様化した基底膜の吸収がさらに進み、随処で結合織で分断される。一方、結合織によっ

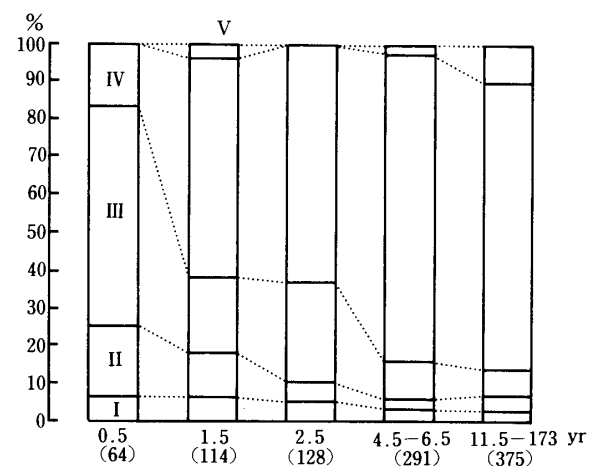


Fig. 2. Average frequencies of stages of atretic process of vesicular follicles—for each age class

The parenthesized numbers show total numbers of atretic follicles observed.

て置換される領域はますます拡大する。その結果、硝子化した基底膜は波状片の集塊と化してゆく。内卵胞膜は卵巣支質と区別し得ない (Fig. 7)。

Stage V : stage IVの所見がさらに顕著になり、かつ基底膜に石灰の沈着を見る (Fig. 8)。

2. 計量的検討

前項 1 で述べた分類に基づいて、各卵巣の最大横断面とみなされる標本について、全視野のすべての閉鎖卵胞の stage を鑑別・記録し、それぞれの stage の出現頻度を求めた (Fig. 2)。その結果、加齢に伴う各 stage の消長の一般的傾向が明らかになった。

卵胞腔を明瞭に識別し得る stage (I, II, III) と、そうでない stage (IV, V) に 2 大別した場合、Fig. 2 から加齢につれて stage I, II, III の出現頻度の和は減少し、stage IV, V のそれは逆に増加する傾向にあることが明らかに読み取れる。

石灰沈着を示す stage V の出現頻度については 11.5~17.5 歳群が最高値を示したが、個体間のバラつきが大きく一定の傾向を把握することは難しい。しかし、石灰沈着を示す個体の数を年齢群間で較べると、

Table 1. Number of animals showing calcification

Age class (years)	0.5	1.5	2.5	4.5-6.5	11.5-17.5
Animals with calcification / All animals	0/5	1/5	0/5	3/5	5/5

加齢と共に石灰沈着を示す個体の頻度が増加する傾向がうかがわれる (Table 1)。

考 察

ここでは専ら基底膜の変化について考察を加えることにする。

胞状卵胞の閉鎖過程において基底膜が硝子様に肥厚することは、カモシカと近縁種であるウシ^{8,12)}、ヤギ⁴⁾、ヒツジ²⁾にも認められ、ウマ^{8,12)}、ブタ¹⁷⁾、イヌ¹⁾においても同様である。またヒトを含む霊長目^{6,9,10,11,13)}においても同様な事実が報告されている。

ヒトにおいては硝子様に肥厚した基底膜が閉鎖過程の後半期に複雑な収縮蛇行を示し、またその一部は吸収されるなど、多様な形態を示すという¹⁰⁾。他の動物に関してはこのような記載はない。そこでヒトにおける硝子様基底膜の変化の概要を参照しつつ、カモシカのそれと比較してみよう。

ヒトでは閉鎖した胞状卵胞の遺残物として次の 4 型が区別されている¹³⁾。すなわち *Corpus atreticum*, *Corpus candicans*, *Corpus fibrosum* および *Corpus restiforme* である。これらは黄体が退縮した白体の小型のものに類似している。*Corpus atreticum* は顆粒層が完全に消滅し結合織が卵胞腔を充填した後に、硝子様化した基底膜が収縮蛇行しつつ卵胞腔中に陥入したものである。*Corpus candicans* は *Corpus atreticum* における硝子様基底膜が卵胞腔中にさらに陥入堆積し、基底膜内縁が付加成長して間隙がほとんど無くなったものである。*Corpus fibrosum* は卵胞壁の陥入が生じることなく、硝子様化した基底膜の内縁に硝子様物質が不均等に沈着してゆき、ついに卵胞腔を埋めたものである。この型はまれである。*Corpus restiforme* は細い波状の帯をなす硝子様の基底膜である。最初の *Corpus atreticum* は一般に本研究における stage III の終期のものに相当する。*Corpus candicans* はカモシカでも類似のものがまれに認められるが、ヒトにおける程複雑な堆積および基底膜内縁の付加成長は認められない。*Corpus restiforme* は、カモシカでは stage IV のものの吸収過程が進行してただ一つの基底膜波状片が残ったものに相当する。ヒトとの類比で言えば、カモシカでは *Corpus atreticum* から *Corpus restiforme* へと移行するが、ヒトではそのような移行を指摘する記載は見られない。*Corpus fibrosum* に相当するものはカモシカには認められない。

閉鎖した胞状卵胞は、多くの動物においては結局小型の白体様物として遺残する⁹⁾。ヒトではこの所見がとりわけ特徴的である旨の記載⁹⁾があるが、このことは前述の内容からもうかがわれる。ヒトとの比較により、カモシカの所見もヒトに匹敵し得ることが結論できる。

カモシカでは硝子様に肥厚した基底膜の波状片にしばしば石灰沈着が認められた。これは組織の変性に続発する、いわゆる栄養障害性石灰沈着であろうが、石灰沈着の成因に関してはなお不明の点が多いよ

うである¹⁶⁾。他の動物種においては、著者等の知る限りこのような現象については未だ報告がないようである。

石灰沈着の成因について敢えて一考察を加えるならば、硝子様の基底膜が蓄積されることによって卵巣内に体液循環障害がひき起こされ、体液中に溶解している石灰成分が変性膨大した糖蛋白質性物質である硝子様基底膜に固着し易くなる、という過程が生ずるように思われる。

カモシカにおいては石灰沈着は0.5歳では認められず、1.5歳から生じて加齢と共にこれを示す個体が増える傾向が認められた。したがって石灰沈着に関与する要因として年齢という素因が推定される。しかし年齢が素因になっているとしても、石灰沈着が起こる機序としては、循環障害による石灰の溶存状態の変化であることには相違なからう。しかし石灰沈着の所見はカモシカと同様な特徴ある基底膜の遺残物が蓄積するというヒトでは報告がない。もし蓄積した硝子様基底膜自体が石灰の溶存状態の変化をもたらすものであれば、ヒトでも同様な報告があつてしかるべきであろう。したがってカモシカの場合には、生体の代謝機構の上で何か特別な側面を有するのではないかと考えられる。

最後に、本研究においては専ら大型の胞状卵胞の閉鎖過程のみが扱われたことを特に付記する必要がある。胞状卵胞に至る前、すなわち原始卵胞や2次卵胞における閉鎖過程は、本研究において述べたとは当然異なる様相を呈する筈である。このことに関する報告は他日を期したい。

謝 辞

セメント質の年齢測定による年齢査定については、三浦慎悟氏（兵庫医大）のデータを利用して頂いた。ここに厚く感謝の意を表する。

なお、本研究の一部は昭和57、58年度文部省科学研究費補助金総合研究A(57362001, 58362001)によつた。

文 献

- 1) Andersen, A. C. & Simpson, M. E. : "The Ovary and Reproductive Cycle of the Dog (Beagle)" Los Altos : Geron-X, Inc., 92-229, 1973.
- 2) Brand, A. & de Jong, W. H. R. : Qualitative and quantitative micromorphological investigations of the tertiary follicle population during the oestrous cycle in sheep. *J. Reprod. Fertil.* **33** : 431-439, 1972.
- 3) Dellman, H.-D. & Brown, E. M. : "Textbook of Veterinary Histology" Philadelphia : Lea & Febiger, 1976.
- 4) Harrison, R. J. : The changes occurring in the ovary of the goat during the estrous cycle and in early pregnancy. *J. Anat.* **82** : 21-48, 1948.
- 5) Hay, M. F., Gran, D. G. & Moor, R. M. : Structural changes occurring during atresia in sheep ovarian follicles. *Cell. Tiss. Res.* **169** : 515-529, 1976.
- 6) Himelstein-Braw, R., Byskov, A. G., Peters, H. & Faber, M. : Follicular atresia in the infant human ovary. *J. Reprod. Fertil.* **46** : 55-59, 1976.
- 7) 星 修三 : 馬の卵巣に関する研究 11. 卵巣 GRAAF 氏胞及黄体の組織学的研究. *日獣誌* **9** : 59-70, 1947.
- 8) Marion, G. B., Gier, H. T. & Choudary, J. B. : Micromorphology of the bovine ovarian follicular system. *J. Anim. Sci.* **27** : 451-465, 1968.
- 9) Mossman, H. W. & Duke, K. L. : "Comparative Morphology of the Mammalian Ovary" Wisconsin : Univ. Wisconsin Press, 34-111, 1973.
- 10) 小野勇成 : 人卵胞の退縮過程に関する形態学的研究. *日大医誌* **14** : 1343-1356, 1955.
- 11) Peters, H. & McNatty, K. P. : "The Ovary" London : Granada Publishing, 98-106, 1980.
- 12) Rajakoski, E. : The ovarian follicular system in sexually mature heifers with special reference to seasonal, cyclical and left-right variations. *Acta Endocrinol. Suppl.* 52, 1960.
- 13) Shaw, W. : The fate of the Graafian follicle in the human ovary. *J. Obstet. Gynaec.* **32** : 679-690, 1926.
- 14) Sugimura, M. Kita, I., Suzuki, Y., Atoji, Y. & Tiba, T. : Histological studies on two types of retrograde corpora lutea in the ovary of Japanese serows, *Capricornis crispus*. *Zool. Anz.* (in press)

- 15) Turnbull, K. E., Braden, A. W, H. & Mattner, P. E. The pattern of follicular growth and atresia in the ovine ovary. *Aust. J. Biol. Sci.* **30** : 229-241, 1977.
- 16) Smith, H. A., Jones, T. C. & Hunt, R. D. : "Veterinary Pathology" Philadelphia, Lea & Febiger, 54-56, 1972.
- 17) Yamashita, T. : Histological studies on the ovaries of sows I. *Jap. J. vet. Res.* **7** : 177-202, 1959.

Explanation of plate

- Fig. 3. Degeneration of granulosa layer (Stage I) : Degenerate granulosa cells floating within the antral cavity. $\times 480$, H-E.
- Fig. 4. Slightly thickened, hyalinized basal lamina (Stage II) : The granulosa cells are shed leaving the basal lamina exposed to the antral cavity. The theca interna cells are arranged centripetally towards the antral cavity. $\times 120$, Azan.
- Fig. 5. Proliferation of fibroblasts and beginning of contraction of hyalinized basal lamina (Early stage III). $\times 120$, H-E.
- Fig. 6. Prominent contraction of hyalinized lamina (Stage III) : Note the meandering contour. $\times 120$, H-E.
- Fig. 7. Fragmentation of hyaline basal lamina (Stage IV). $\times 120$, H-E.
- Fig. 8. Calcification of hyaline fragments and appearance of polynuclear giant cells (Stage V). $\times 480$, H-E.

