

# 子宮頸管内膜上皮の周期性変化に関する形態学的研究

## II. 走査型電子顕微鏡による形態学的観察

広島大学医学部産婦人科学教室

(主任：藤原 篤教授)

林 谷 誠 治

### I. 緒 言

子宮頸管内膜の性周期変化の詳細に関しては、既に光顕的には種々の報告があり、光学顕微鏡レベルにおける形態学的変化については前稿において、H-E染色とともに、特殊染色(PAS, ムチカルミン染色)を行ない、排卵期をピークとした性周期的変化を認めたことを報告した。この性周期的変化は、頸管内膜上皮の頸管粘液の合成と分泌機序が中心となっており、その意味からも、光顕レベルによる検討とともに、微細構造レベルでの分泌機序の解明が必要である。今回は、頸管内膜の性周期的変化について、とくに分泌機転を追求するため、主として走査型電子顕微鏡を用いて、頸管内膜上皮表面の超微構造の観察を行ない、若干の所見を得たので報告する。

### II. 研究材料ならびに研究方法

対象は、広島大学産婦人科において、子宮筋腫などの疾患にて、子宮摘出をうけた40例で、その条件として、1) 40才以下の規則的な月経周期をもつ性成熟婦人及び30才未満の妊婦と閉経後5年以上経過した閉経婦人、2) 最終月経が明確である事、3) 子宮頸部に炎症、腫瘍などの病変がない事、4) 同一子宮における子宮内膜の日付診が、その月経周期に一致している事、の4つを満たすものとした。

これらの症例は、腹式単純性子宮全摘術によって得られた摘出子宮に、直ちに縦切開を加え、

頸管内膜及び子宮内膜面を露出し、頸管内膜は内子宮口と外子宮口のほぼ中間部より、光顕用、走査電顕用、透過電顕用の3種類に分けて採取した。とくに、走査電顕用としては、表1の如

表1. 走査型電子顕微鏡試料作製法

- 1) 試料採取
- 2) 洗浄、細切：生食水または0.1M Millonig 磷酸緩衝液にて洗浄、約5×5×3mmに細切
- 3) 前固定：2% glutaraldehyde 液 (pH 7.4)  
氷室内約2～4時間
- 4) 洗浄：0.1M Millonig 磷酸緩衝液
- 5) 後固定：1% Osmic acid 液 (pH 7.4)  
氷室内約1時間
- 6) 脱水：上昇 ethanol 系列
 

|      |       |   |     |
|------|-------|---|-----|
| 70%  | 20分   | } | 氷室内 |
| 80%  | 20分   |   |     |
| 90%  | 20分   |   |     |
| 95%  | 20分   |   |     |
| 100% | 10分×2 |   |     |
- 7) 媒介液に置換：iso-amylacetate 液  
30分
- 8) 乾燥：臨界点乾燥法 (CO<sub>2</sub>)
- 9) 蒸着 (金)
- 10) 観察 (JSM-T 20型走査電顕)

く、十分に洗浄したのち、5×5×3mmの小切片を作成し、2% glutaraldehyde で前固定し、0.1M Millonig 磷酸緩衝液で洗浄、1% Os O<sub>4</sub> で後固定を行なった。次に、アルコール上昇系列で脱水し、イソアミルで置換、臨界点乾燥を行ない金蒸着後、JSM-T20 型走査電子顕微鏡で観察した。また、頸管粘液について、各性周期に夫々2枚のスライドガラスに塗布し、一枚はそのまま直ちにグルタル固定を行ない、他の

- |          |         |
|----------|---------|
| 1) 月経期   | 1～5日目   |
| 2) 増殖期   | 6～13日目  |
| 3) 排卵期   | 14～16日目 |
| 4) 分泌期   |         |
| a) 分泌期初期 | 17～23日目 |
| b) 分泌期後期 | 24～30日目 |
| 5) 妊娠初期  |         |
| 6) 閉経期   |         |

### III. 研究成績

### (1) 頸管内膜上皮細胞における表面超微構造の周期性変化

頸管内膜上皮細胞の周期的変化に関する走査電顕所見は以下に述べる通りである。これら所見の概要は表2に示した。

1) 月經期：

月経期の頸管内膜表面の個々の細胞は、分泌細胞において、比較的均一な円形ないし楕円形のドーム状を呈し、その表面は、無数のmicrovilliに被われている。細胞と細胞の間は、深い溝を形成しており、その為、個々の細胞境界は不明瞭である（図1）。これに対して、線毛細胞は、数10条の長い線毛に被われており、分泌細胞とは、部位により多少差がみられるものの約1:5~10の割合で観察される。細胞の大きさは、分泌細胞、線毛細胞ともにほぼ同一で、約 $5.4 \times 6.4 \mu$ 程度となっている。

2) 增殖期：

増殖期になると、個々の分泌細胞は、比較的均一な円形ないし稜形で、やや平坦なドーム状を呈し、その表面は、月経期よりもやや短小化した microvilli に被われている。細胞と細胞の

表 2. 頸管内膜上皮細胞における表面超微構造の周期性変化

[illegible]

間は、溝状であるが、その間隙は、月経期に比べて狭く、浅くなっている(図2)。一方、線毛細胞は、数10条の長い線毛に被われており、形態的に月経期との差異は認められず、分泌細胞とは、同様に約1:5~10の割合で観察された。細胞の大きさは、分泌細胞、細毛細胞ともにほぼ同一で、月経期に比べてやや小さく、約 $5.9 \times 5.5 \mu$ 程度である。

### 3) 排卵期:

排卵期では、分泌細胞は、ドーム状に膨隆し、表面の microvilli の間に、かなり大きいブドウの房状の突起が認められる事が特徴的である(図3, 4)。このかなり大きい球状の突起物は、大小種々の顆粒状の小突起が集合して形成されて行く過程が観察され、分泌細胞から分泌されつつある分泌顆粒と推定される。しかし、走査電顕所見では、分泌機転について離出分泌か、開口分泌かの判定は極めて困難である。microvilli は、増殖期よりもさらに短くなっており、microvilli の間にも、いたるところに分泌物と推定される小顆粒の球状突起が認められる。細胞間の溝は、さらに浅く、狭小化し、溝の底部も確認されるが、境界はやや不明瞭である。線毛細胞は、数10条の長い線毛に被われており、分泌細胞とは、約1:5~10の割合で観察された。細胞の大きさも、分泌細胞、細毛細胞ともにほぼ同一で、 $5.3 \times 6.2 \mu$ 程度となっていた。

### 4) 分泌期:

#### a) 分泌期初期:

排卵期を過ぎて分泌期に入ると、図5の如く、分泌細胞は、増殖期と同様に、多くの microvilli に被われた低いドーム状を呈している。これらの microvilli は、排卵期よりもやや細長くなっており、ところどころ排卵期にみられたような小顆粒状の分泌物が散見されるが、ブドウの房状の大きなものは認められず、また分泌顆粒の数も激減していた(図5)。細胞間の溝は、再び深くなり、細胞境界は不明瞭である。一方線毛細胞は、数10条の長い線毛に被われ、特に形態的な変化は認められず、分泌細胞とは、約1:5~10の割合で観察された。細胞の大き

さは、分泌細胞、線毛細胞ともほぼ同一で、 $5.9 \times 5.9 \mu$ 程度である。

#### b) 分泌期後期:

分泌期後期になると、各々の分泌細胞は、増殖期や分泌期初期と同じく、ドーム状を呈しているが、細胞間の溝は、やや不明瞭である。この時期には、分泌期初期に認められる如き分泌物は、ほとんど認められないで、microvilli がかなり細長く延長しているのが特徴的であった(図6)。一方、線毛細胞は、数10条の長い線毛に被われているが、一部では分泌細胞の microvilli が長くなっている為、多少見分け難くなっている部位もみられた。分泌細胞との比率は、同様に約1:5~10の割合で観察され、細胞の大きさは、分泌細胞、線毛細胞ともほぼ同一で  $5.5 \times 5.5 \mu$  と、分泌期初期よりやや小さくなっていた。

### 5) 妊娠初期:

妊娠時には、分泌細胞は、円形ないし楕円形のドーム状を呈し、その表面は、非妊時に比べやや短く太くなった多数の microvilli に被われているものが多い(図7)。しかし、細胞によっては、microvilli が激減し、細胞質表面が露出したもの(図7:中央上部)や表面に大きな多房性の分泌顆粒をもつもの(図8)などが認められた。また細胞表面のいたるところに排卵期に認められたものと同様の球状の小さな分泌顆粒がみられた。細胞間の溝は、かなり浅くなっているが、境界はやや不明瞭である。一方、線毛細胞は、非妊時と大差なく、同様に数10条の長い線毛に被われており、分泌細胞とは同じく、約1:5~10の割合で観察された。細胞の大きさは、分泌細胞、線毛細胞ともほぼ同一で、 $8.2 \times 9.6 \mu$  と非妊時よりかなり大きくなっていた。

### 6) 閉経期:

閉経期になると、各々の分泌細胞は、円形ないし楕円形を呈し、性成熟期に比較し、著しく平坦になっている。しかも表面は、microvilli に被われているものの、microvilli の数は著しく減少しまばらで、短小化し、部位によっては小顆粒状を呈しているものや変形したものも認

められた(図9)。細胞間は、溝状になっているが、著しく浅くなり狭小化している。一方、線毛細胞では、線毛の数が著明に減少し、まばらで、各線毛の長さ、形も不揃いで著しく変形し、先端が細くなっている(図10)。線毛細胞の数は分泌細胞に対し、成熟期同様に約1:5~10の割合で観察された。細胞の大きさは、分泌細胞では、 $3.6 \times 4.3 \mu$ となり、線毛細胞では、菱形など種々の変形がみられるが、大体 $3.7 \times 5.8 \mu$ 位の大きさで、両者とも著しく縮小していた。

## (2) 頸管粘液の走査電顕所見

### 1) 乾燥固定による頸管粘液:

自然乾燥後にグルタル固定を行なった頸管粘液について走査電顕により、比較的低倍率で観察を行なったが、光顕による乾燥頸管粘液所見と同様に、増殖期後期より羊歯葉状結晶が出現し、月経14~15日目の排卵期には典型的な結晶を認めた(図11)。高倍率においては、性周期による特徴的所見は認められなかった。

### 2) 非乾燥固定による頸管粘液:

直ちにグルタル固定を行なった頸管粘液について、比較的高倍率にて観察したところ、細い網目状の線維様の構造を呈しているのが認められた。全体的に殆ど均一で、性周期による変化や部位による相違は特に認められなかった。

## IV. 総括ならびに考案

人子宮頸管内膜の電子顕微鏡的研究に関しては、既に1958年に Dougherty<sup>1)</sup>の報告があり、子宮頸上皮の基底膜についての観察を行なっている。その後、頸管内膜の形態学的研究は、飛躍的に発展し、性周期的変化についても、1959年橋本ら<sup>2)</sup>は、40例の成熟婦人の頸管内膜を用いて、透過電顕による性周期的変化を報告している。そして、1961年 Nilssonら<sup>3)</sup>、1963年小森<sup>4)</sup>、1973年浜田<sup>5)</sup>などによって透過電顕による頸管内膜の研究が次々と発表されてきた。一方、走査電顕を用いた頸管内膜の研究は、比較的最近の事で、1973年に、Ferenczyら<sup>6)</sup>が、移行帯における所見を発表しているが、性周期的変化に関する報告としては、1976年 Ludwig<sup>7)</sup>

は、性周期を、a) postmenstrual stage b) midcycle stage c) premenstrual stageの3つに分け、cell boundary, microvilli, cell volumeの3つについて検討を行なっている。その結果、postmenstrual stageでは、各細胞は、明瞭な境界が認められ、microvilliは細胞表面に密生し、cell volumeは縮小し、明らかな緊張の欠如が認められるとしている。そして、midcycle stageでは、細胞境界は、種々の深さの間隙を形成し、microvilliは突出し、高度の分泌所見を認め、cell volumeの増大とドーム状の膨隆を報告している。さらに、最後のpremenstrual stageでは、細胞境界は、同じく間隙を形成しているが、microvilliの突出は縮小し、cell volumeは極端に大きくなり、密着する為、その状態を、“rolls in a baking pan”と表現している。次いで、1978年には、Chrétien & Guillonら<sup>8)</sup>も、35例の性成熟婦人について検討を行ない、個々の症例については、variationがあり、明確な性周期的変化は判定し難いが、ただ分泌細胞においては、14日目の排卵前にアポクリン様突出が認められ、性周期的変化としては、9日目から16日にかけて、いくつかの分泌細胞において、microvilliとともに、miniciliaeの延長が認められる事を報告し、月経中間期において、分泌細胞が、線毛細胞へ転換すると結論している。

以上の如く、走査電顕による頸管内膜の性周期についての研究は少なく、上記の報告についても、Ludwig<sup>7)</sup>は、分泌期後期に、性周期的変化のピークをみるとし、頸管粘液の分泌形態には触れていない。一方、Chrétienら<sup>8)</sup>は、性周期の判定は困難としながらも、分泌細胞と線毛細胞の移行を示唆し、頸管粘液の分泌形態は、アポクリン分泌が主体であると述べている。

ところが、今回の自験例では、個々の細胞の大きさは、表2に示したように、各性周期においては差なく、分泌期後期では、個々の細胞表面の面積でみると、むしろ縮小し、Ludwigのいう増大傾向は認められなかった。また、増殖期後期及び排卵期のmicrovilliの延長は特に

認められず、分泌期後期に microvilli の延長を認めたが、分泌細胞の線毛細胞への移行所見はみられなかった。従って、頸管内膜上皮の性周期における走査電顕上の所見としては、個々の細胞全体の大きさなどの顕著な変化は認められないが、周期的変化としては、排卵期をピークとして、細胞表面の膨隆と大小の分泌顆粒の出現とそれが融合したと推定される大きなブドー房状の突出形成など一連の活発な分泌所見が認められたことである。しかし、分泌機序については、Ludwig は、特に言及せず、Chrétien & Guillon は、アポクリン分泌としているが、今回観察された走査電顕所見のみでは明確には判断し難く、透過電顕による検索を併用して結論づけることが必要で、今回同時に作成した隣接部位の透過電顕材料では、開口分泌像が見られ、その詳細については、次回報告の予定である。

次に、妊娠時における走査電顕所見の報告は極めて少なく、Ludwig ら<sup>9)</sup> の報告によると、妊娠初期には、細胞はドーム状に膨隆し、特に大きな細胞では、大小種々の破裂孔が認められ、また microvilli は短かく、種々の pattern が認められるとした。しかし、今回の検索では、細胞表面に分泌顆粒を含む大小の球状の突出像がいたる所に認められたが、Ludwig らの如き大きな破裂孔は認められなかった。また microvilli については、今回の検索では、特に microvilli の短小化は認められず、Ludwig らの所見は、我々が1979年に報告した<sup>10)</sup> 化生上皮の microvilli に類似しており、扁平円柱連合部付近の化生変化を示している可能性が考えられた。

閉経期について、Ludwig ら<sup>9)</sup> は、明瞭な細胞境界と microvilli の縮小した敷石状の平坦な細胞を報告しているが、これは、以前に我々が報告した<sup>10)</sup> 後期化生の変化と類似しており、閉経期に二次的に発生した化生変化を見ているものと思われる。今回の頸管中央部の検索では、分泌細胞表面の microvilli は縮小短小化し、数も著しく減少して、萎縮像が著明となっており、Ferenczy & Richart ら<sup>11)</sup> の報告した閉経期子

宮内膜と類似の所見を示していた。また線毛細胞の線毛は、著明に脱落し、先細りとなって変形し、機能性も消失しているものと推定される所見が認められた。

頸管粘液の走査電顕像については、1973年に、Chrétien ら<sup>12)</sup> が、非乾燥グルタル固定を行なったものについて報告しているが、高倍率で観察した結果、網目状になっていると述べている。そして、1975年、Zaneveld ら<sup>13)</sup> は、室内乾燥させた頸管粘液を走査電顕で観察し、光顕と同様な羊歯葉状結晶を報告している。また翌1976年には、Daunter ら<sup>14)</sup> が、妊婦及び非妊婦の頸管粘液を $-20^{\circ}\text{C}$ に急速凍結させたものを観察し、1978年には、Chrétien<sup>15)</sup> が、妊娠時、閉経期における非乾燥頸管粘液の走査電顕所見について同様の所見を報告している。今回の検索では、乾燥頸管粘液については、排卵期をピークとして、光顕の羊歯葉状結晶と同様な所見がみられ、非乾燥頸管粘液については、特に性周期的変化を認めず、どの時期にも同様な細い網目状の所見がみられた。

以上の結果、走査電顕所見においても、光顕所見と同様に排卵期をピークとして分泌機能を中心とした周期性変化が認められ、妊娠初期には排卵期類似の所見を認め、閉経期には microvilli や線毛が剥げ落ちた特異な萎縮像が認められた。しかし分泌機序に関しては、走査電顕所見では小顆粒が融合し、球状に膨隆突出する所見から、あたかも離出分泌の如く観察されたが、詳細は透過電顕所見と比較検討して結論づけるべきと考えられた。

## V. 結 論

単純性子宮全摘術による摘出標本40例について、頸管の中央部より内膜の一部を採取し、性周期的変化について、走査電顕により表面超微構造を観察した結果、以下の成績が得られた。

1) 分泌細胞の性周期的変化については、排卵期をピークとして、分泌機能を中心とした周期性変化が認められ、細胞表面の膨隆や大小の分泌顆粒とその融合による膨隆突出像がみられ、

microvilli は太くやや短小化し、細胞間溝は浅く狭小化する所見がみられた。

妊娠初期では、排卵期と類似の所見がみられ、分泌物の膨隆突出が認められた。

閉経期では、細胞の縮小と microvilli の減少、短小化など萎縮像が著明であった。

2) 線毛細胞については、性成熟婦人においては、細胞の大きさや数、線毛所見などに性周期的変化は認められなかった。しかし、閉経期においては、著明な脱落と先細りの変形が特徴的であった。

3) 頸管粘液の走査電顕所見は、乾燥粘液では、光顕所見と同様の羊歯葉状結晶を認め、非乾燥粘液では、周期性変化はみられず、細い網目状所見がみられた。

4) 以上の結果、走査電顕所見上からも性周期に応じて分泌機能を中心とした周期的変化が確認されたが、分泌機序に関しては透過電顕所見と比較検討して結論づけることが必要である。

(稿を終えるにあたり、御指導御校閲を頂いた恩師藤原篤教授に深甚なる謝意を表します。また種々御教示頂いた元本学第2解剖学教室藤田尚男教授に深く感謝の意を表します。更に種々御助言頂いた当教室、井原俊彦元講師、日浦昌道講師に感謝致します。)

## VI. 引用文献

- 1) Dougherty, C.M. et al: The fine structure of the basement membrane of the uterine cervical epithelia. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 76 : 839, 1958.
- 2) Hashimoto, M. et al: Electron microscopic studies on the fine structures of the human uterine cervix. *J. Jap. Obstet. Gynecol. Soc.*, 6 : 99, 1959.
- 3) Nilsson, O. et al: The ultrastructure of the epithelial cells of the endocervix during the menstrual cycle. *Acta. Obstet. et. Gynecol. Scand.*, 40 : 223, 1961.
- 4) 小森昭：人子宮頸管内膜上皮細胞の周期性変化に関する電子顕微鏡的研究。日産婦誌, 15 : 1345, 1963.
- 5) 浜田寧：子宮腔部扁平上皮および頸管内膜の透過型および走査型電子顕微鏡的研究。産婦進歩, 25 : 349, 1973.
- 6) Ferency, A. et al: Scanning electron microscopy of the cervical transformation zone. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 115 : 151, 1973.
- 7) Ludwig, H. et al: The ectocervix and endocervix. The human female reproductive tract- A scanning electron microscopic atlas, 20. Springer-Verlag, Berlin, 1976.
- 8) Chretien, F.C. et al: The evolution of human endocervical epithelium throughout the menstrual cycle. A scanning electron microscopic study. *J. Gyn. Obstet. Biol. Reprod.*, 7 : 1189, 1978.
- 9) Ludwig, H. et al: Gestational metamorphosis of the tissue surface. The human female reproductive tract- A scanning electron microscopic atlas, 114. Springer-Verlag, Berlin, 1976.
- 10) 林谷誠治他：SCJ周辺における化生上皮の表面超微細構造の検討。日産婦中四誌, 28 : 37, 1979.
- 11) Ferenczy, A. et al: Inactive and atrophic endometrium. Female reproductive system dynamics of scan and transmission electron microscopy, 151, John Wiley, New York, 1974.
- 12) Chretien, F.C. et al: The ultrastructure of human cervical mucus under scanning electron microscopy. *Fertil. and Steril.*, 24 : 746, 1973.
- 13) Zaneveld, L.J.D. et al: Scanning electron microscopy of cervical mucus crystallization. *Obstet. Gynecol.*, 46 : 419, 1975.
- 14) Daunter, B. et al: The scanning electron microscopy of human cervical mucus in the non-pregnant and pregnant status. *Brit. J. Obstet. Gynecol.*, 83 : 738, 1976.
- 15) Chretien, F.C.: Ultrastructure and variations of human cervical mucus during pregnancy and the menopause. *Acta. Obstet. Gynecol. Scand.*, 57 : 337, 1978.



図1 月経期：分泌細胞は、円形ないし楕円形で、表面は無数の microvilli に被われ、分泌所見は認められない ( $\times 4200$ )。



図2 増殖期：月経期とほぼ同様であるが、細胞間隙がやや狭く浅くなっている ( $\times 3500$ )。

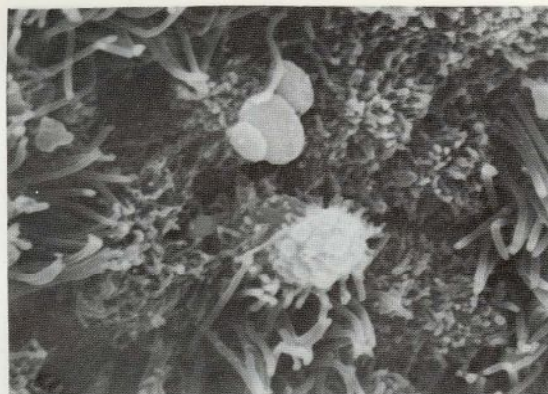


図3 排卵期：分泌細胞表面に、ブドウ房状の突起や大小の球状の分泌顆粒が認められる ( $\times 4600$ )。

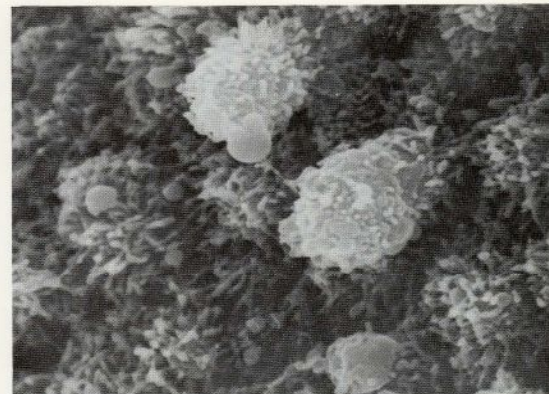


図4 排卵期：種々の大きさ、形の分泌顆粒が多数認められる ( $\times 4600$ )。



図5 分泌期初期：分泌所見は減少し、細胞間隙も深くなっている ( $\times 2000$ )。

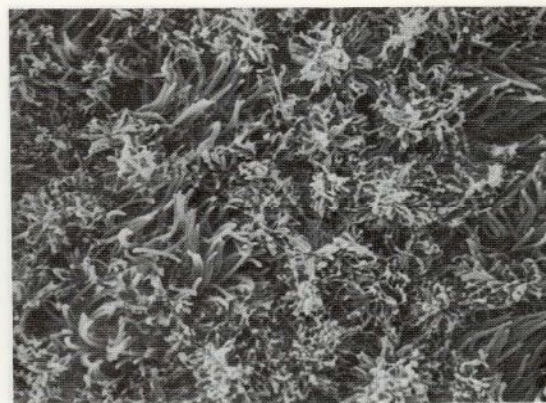


図6 分泌期後期：分泌所見はほとんど認められず、延長した microvilli と線毛が認められる ( $\times 2400$ )。

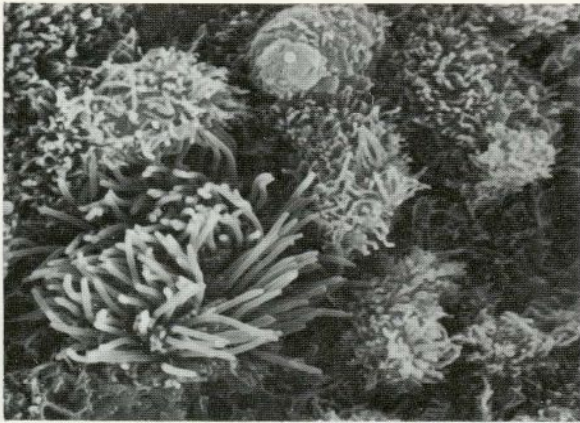


図7 妊娠初期：分泌細胞では、排卵期類似の所見がみられるが、線毛細胞は非妊時と変らない (×4300)。

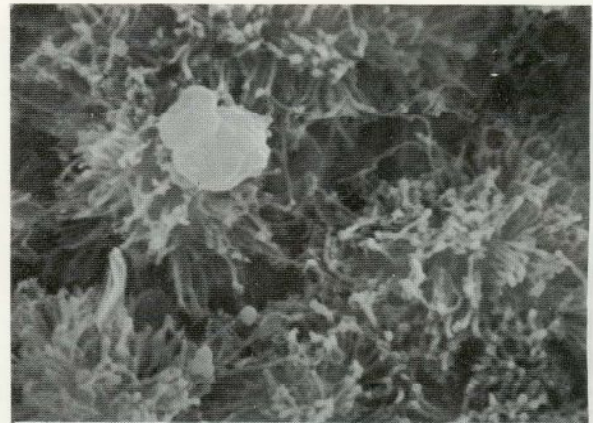


図8 妊娠初期：分泌細胞表面には種々の大きさの球状の分泌顆粒を認める (×7000)。

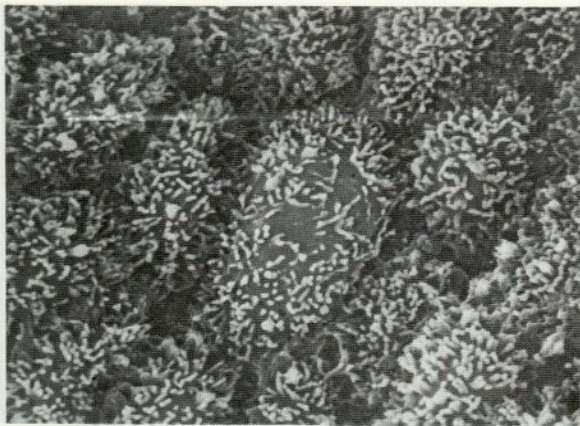


図9 閉経期：分泌細胞表面の microvilli は減少し、短小化が著しくなっている (×6300)。

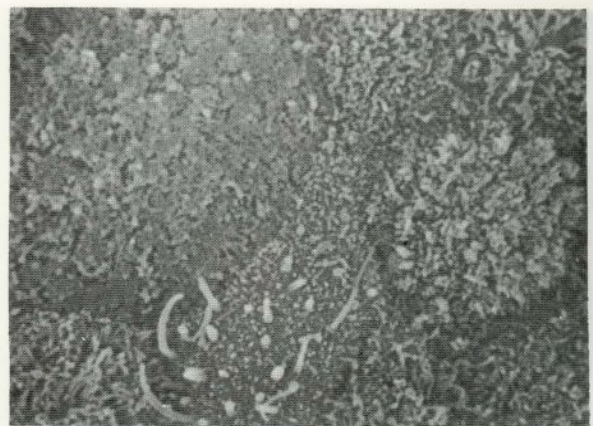


図10 閉経期：線毛細胞では、線毛の脱落が著しく、線毛の変形も著明である (×7400)。

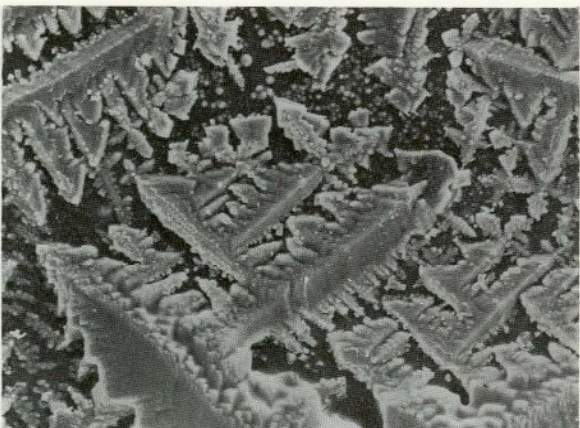


図11 排卵期乾燥頸管粘液：光顕でみる羊歯葉状結晶と類似の所見を認める (×450)。

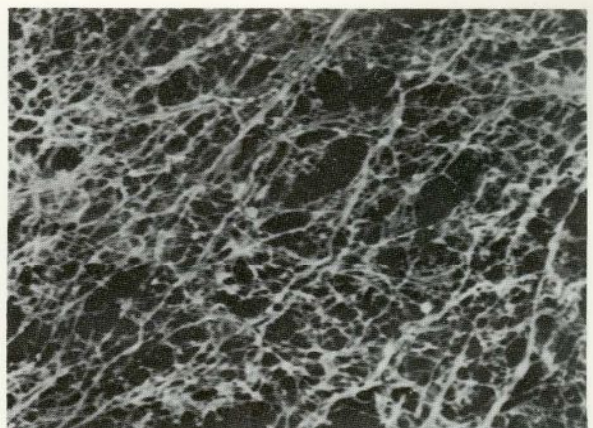


図12 排卵期頸管粘液：非乾燥固定したものでは、細かい網目状の構造を呈する (×7000)。