

医論 177

(別紙様式第3号)

論 文 要 旨

論 文 題 目

Stereo-electron microscopy of the ovarian follicles
of cat and mouse

(ネコおよびマウス卵胞の超微立体構造の電子顕微鏡による検討)

氏名 木幡豊 

【目的】ネコおよびマウスの成熟卵胞の立体的微細構造について、特にまだ十分に解明されていない卵胞上皮細胞と透明帯の構造に焦点をおき観察を行い、卵胞成熟および排卵のメカニズムについて新たな考察を行った。

【材料と方法】

成熟雌ネコおよびマウスの卵巣をグルタールアルデヒド固定、卵胞による膨隆部位を割断、オスミウム後固定、脱水、二酸化炭素にて臨界点乾燥、金コーティング後、走査電子顕微鏡で観察した。一部の試料は電顕観察後に実体顕微鏡下で再分割し観察した。

【結果と考察】

成熟卵胞の果粒膜細胞の配列は、卵胞洞部と卵丘部で大きく異なる。特に卵母細胞周辺の細胞は卵丘細胞と呼ばれる。洞部は4—5層の多層で、基底膜側は円柱状で、表層部は扁平である。果粒膜細胞の配列は重層または偽重層とされるが、本研究の観察では偽重層と考えられた。卵丘部はより多層で多数の卵丘

細胞が球形を示す。扁平になつた果粒膜細胞は多数の細い細胞突起と少數の太い細胞突起を持つ。果粒膜細胞間には多数の細隙結合は存在すると報告されているが、哺乳類の卵胞基底層で閉鎖堤の存在は確認されていない。

これは基底膜を通過できた分子は、容易に細胞間隙を通り卵胞洞に到達することを示唆するもので、よく発達した細胞突起が栄養素の取り込みや、より迅速な細胞間のホルモン情報伝達の経路としての役割を持つと考える。

卵胞の発育に伴い卵丘細胞の形態的変化が少ないのに対し、卵胞洞壁の細胞層に生じる大きな形態的変化は、排卵直前まで増大する卵胞容積を支える機械的枠組みとしての重要な役割を持つと考える。透明帯外層は格子状の構造を持ち種々の大きさの開孔を持つが、その生理学的役割は解明されていない。透明帶内側部は外側部に比べより複雑な纖維性の網目構造があり、さらに内側表面には卵母細胞微絨毛および放線冠細胞の突起のための多数

の小孔があり、透明帯周囲の放線冠細胞の突起が複雑に分枝をしながら透明帯の迷路を通過し卵母細胞膜に到達する。これらの所見は卵母細胞と卵丘細胞が密接な関係を持つ事を示唆する。また透明帶外側面には微粒子の規則的配列がみられた。

[結論]

成熟卵胞では①果粒膜細胞の配列は偽重層と考えられた。②卵胞洞側の果粒膜細胞が急速に増大する卵胞の構造を支える大きな役割を担う。③哺乳類の卵巢においては基底膜を通過した分子は、容易に果粒膜細胞の細胞間隙を通過し卵胞洞に到達できる。④よく発達した果粒膜細胞の細胞突起が栄養素の取り込みやより迅速な細胞間の情報伝達の経路となっている可能性がある。⑤卵母細胞と卵丘細胞が透明帯を通して密接な関係を持つ事が示唆された。⑥透明帶外側面における微粒子の規則的配列の意義は透明帯の形成過程の解明とともにさらなる研究を要する。

論文審査結果の要旨

報告番号	課程博 * 論文博	第 号	氏名	木幡 豊
論文審査委員		審査日	平成19年3月6日	
		主査教授	青木 滉一	印
		副査教授	若見 亘己	印
		副査教授	石田 筆	印

(論文題目)

Stereo-electron microscopy of the ovarian follicles of cat and mouse

(論文審査結果の要旨)

上記の論文に関して、その研究に至る背景と目的、研究の内容、研究成果の意義と学術的水準について慎重かつ公正に検討し、以下のような審査結果を得た。

1. 研究の背景と目的

ネコおよびマウス二次卵胞の、卵胞腔形成から成熟卵胞にいたる構造について検索し、特に著しくその容量を増大する卵胞液により膨大化する卵胞の卵胞上皮細胞と透明帯の構造変化に焦点をおき走査電顕による観察を行い、卵胞成熟化のメカニズムに関して考察を行った。

2. 研究の内容

本研究においては成熟雌ネコおよびマウスをグルタールアルデヒドで灌流固定後、卵巢を摘出し卵胞による膨隆部位で割断し、緩衝液で洗浄を行った後、オスミウム後固定、脱水、二酸化炭素にて臨界点乾燥、金コーティング後、走査電顕で観察した。一部の試料は電顕観察後に実体顕微鏡下で再分割し内部構造の露出を試み観察した。

卵胞洞形成初期の小さな二次卵胞では、卵胞洞に面した卵丘細胞と顆粒膜細胞の両者で、形態的变化は認められず、いずれも丸みを帯びた洞側表面を示す。

卵胞成熟に伴い膨大化した成熟卵胞では、顆粒膜細胞の細胞配列は、卵胞洞部と卵丘部で大きく異なり、洞周囲の顆粒膜では4-5層の多層で、基底膜側では円柱状で、表層部では扁平である。顆粒膜細胞の配列は重層または偽重層とされているが、本研

究の観察で基底膜面は、内側の顆粒膜細胞の突起が基底膜に到達する偽重層と考えられた。卵丘部はより多層で多数の球形卵丘細胞が球形を示す。

顆粒膜細胞間には多数の細隙結合は存在することはよく知られているが、哺乳類卵胞の基底層で閉鎖堤の存在は確認されていない。これは基底膜を通過できた分子が、細胞間隙を通り卵胞洞に到達することを示唆するもので、よく発達した細胞突起が栄養素の取り込みや、ホルモンなどの情報伝達経路としての役割を持つと考えられる。

また、卵胞の発育に伴い卵胞洞壁を構成する顆粒膜細胞の表層に生じる形態的変化は、排卵直前まで卵胞内圧を上昇させずに、増大する卵胞容積を支える物理的枠組みとしての対応を示すと考える。

透明帯外層は複雑に枝分かれした隧道様の外観で、種々の大きさの開孔を持つが、その卵胞内での生理的役割は明らかでない。内側面は外側面に比べて単純な構造で、卵母細胞微絨毛および放線冠細胞の突起のための2種の小孔を示す。透明帯を通過し卵母細胞膜に到達するやや大きなものと、卵母細胞の微絨毛が入る小さなものである。また透明帯外側面には微粒子の規則的配列がみられたが、これらの粒子は標本作製時に付着するものであろうが、その配列は表面物質の電荷などの配列に起因するものと考える。

3. 研究成果の意義と学術的水準

今回の研究の成果により、成熟卵胞では

- ①顆粒膜細胞の配列は、偽重層と考えられた。
- ②卵胞洞側の顆粒膜細胞と卵丘細胞では、卵胞成熟に伴う形態変化に大きな差がみられ、卵胞洞側の顆粒膜細胞は急速に増大する卵胞の構造を支える大きな役割を担う。
- ③よく発達した顆粒膜細胞の細胞突起が栄養素の取り込みや突起で形成される細隙結合により迅速な細胞間の情報伝達の経路となっている。
- ④卵母細胞と卵丘細胞が透明帯を通して密接な関係を持つ。
- ⑤透明帯外側面における微粒子の規則的配列の意義は、透明帯の形成過程とともにさらなる研究を要する。

この結論は、当分野における新たな知見を示す有意義な研究として評価できるものと考えられる。

以上により、本論文は学位授与に十分に値するものであると判断した。

備考 1 用紙の規格は、A4とし縦にして左横書きとすること。

2 要旨は800字～1200字以内にまとめること。