

性周期に伴う卵巣機能の変化と自律神経 —ラットの研究を中心に—

Cyclic Changes in Ovarian Function and the Ovarian Autonomic Nerves

花田智子, 内田さえ*, 堀田晴美*, 會川義寛

Tomoko HANADA, Sae UCHIDA, Harumi HOTTA and Yoshihiro AIKAWA

(お茶の水女子大学・人間文化研究科, *東京都老人総合研究所)

1. はじめに

排卵は定常的ではなく一定の周期(卵巣周期)をもって行われるため, 女性生殖器はこの周期に合わせた各種の変化をあらわす。卵巣周期は種で異なり, ヒトでは約28日であるが, ウシでは約21日, ヒツジでは約16日であり, ラットでは4ないし5日である。ラットの卵巣周期はヒトに比べて非常に短い, 視床下部-下垂体-卵巣系のホルモン分泌の変化によって起こる卵巣周期と, それに伴う生殖器の変化は多くの点でヒトと類似する。一方, 卵巣には自律神経が支配することも解剖学的に明らかにされてお

り, 卵巣周期に関わる卵巣支配自律神経の役割が動物を用いた研究から徐々に明らかにされてきている。

本稿では, 卵巣機能の研究に良く用いられているラットを中心として生殖器の卵巣周期に伴う変化と, 卵巣を支配する自律神経と卵巣周期の関わりについて紹介する。

2. 生殖器の卵巣周期に伴う変化

(1) 視床下部-下垂体-卵巣系のホルモン

卵巣周期は視床下部-下垂体-卵巣系のホルモンの周期的変化によって起こることが知られている。

day	1	2	3	4	5	1
vaginal smear						
criterion	cornified cell	leucocyte + nucleated cell + cornified cell			nucleated cell	cornified cell
cycle	Estrus	Diestrus			Proestrus	Estrus
	E	D1	D2	D3	P	E

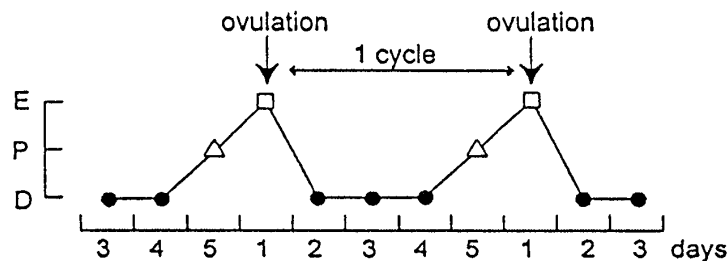


図1 ラットの膺垢の周期的変化

上段: 膺塗沫標本の光学顕微鏡写真(200倍)と周期の判定。下段: 膺垢の周期的変化を図式化した一例。横軸は日数, 縦軸は性周期の時期。今回の観察では発情期(E)を周期の第一日目とした。

視床下部ホルモンである性腺刺激ホルモン放出ホルモン（ゴナドトロピン放出ホルモン：GnRH）は、下垂体前葉に作用して下垂体前葉からの性腺刺激ホルモン（ゴナドトロピン：Gn）の放出を促す。Gn は卵胞刺激ホルモン（FSH）と黄体形成ホルモン（LH）の2種類がある。

下垂体前葉からの FSH の分泌が高まるにつれて、卵巣では卵胞が発育・成熟し、それに伴い卵胞から分泌されるエストロゲン量が次第に増加する。卵胞の成熟によって血中エストロゲン濃度が著しく増加すると、LH の一過性の急激な増加（LH サージ）が起こり、それによって排卵が起こる。LH の働きで排卵後の卵胞は黄体となる。黄体からは、エストロゲンに加えて、プロゲステロンが分泌される。ラットでは、妊娠しなかった場合、排卵後に形成された黄体のプロゲステロン分泌機能が短期間で消失するため、卵巣周期が短くなることが知られている。排卵前に分泌が高まるエストロゲンは卵胞の発育を促す作用の他、子宮粘膜を肥厚させるなど生殖器に妊娠に備える変化をもたらす。排卵後に分泌が高まるプロゲステロンは、増殖した子宮内膜に分泌腺を発達させて着床しやすい状態を作り、妊娠を維持する作用をもつ。

（2）膣周期

ヒト（霊長類）では、排卵後、妊娠が起こらないと、黄体の消失により血中プロゲステロン濃度が低下するため子宮内膜は維持できなくなり、子宮内膜が脱落し出血が起こる（月経）。この月経周期から卵巣周期を知ることができる。ラットでは月経出血が認められないが、排卵の時に起こる発情行動とエストロゲンやプロゲステロンの周期的変化に対応して見られる膣垢の周期的変化を指標として卵巣周期を知ることができる。膣垢の変化から膣周期は、発情前期（Proestrus）、発情期（Estrus）、発情間期（Diestrus）に分けられる（Long and Evans, 1922; Everett, 1948）。発情前期は卵胞が成熟してエストロゲン分泌が高まり LH サージが見られる時期で、膣垢

には主に有核上皮細胞が認められる。発情期の始めに排卵が起こる。発情期の膣上皮細胞は、発情前期に分泌されたエストロゲンの作用により角化する。この角化に伴い細胞は死に核は消失する。発情間期には、排卵後にできた黄体からのプロゲステロンの作用により膣上皮に白血球が浸潤してくる。

筆者らは、4 匹の Wistar 系雌性ラットで、膣垢を採取し膣塗抹標本 Vaginal smear を作り約 1 ヶ月間観察した。1 日 1 回午前中に蒸留水を含ませたピペットを雌ラットの膣に挿入し、膣内を洗浄するように膣垢を採取、スライドガラス上に塗抹した。膣塗抹標本をギムザ染色すると細胞が観察しやすかった。今回使用した 4 匹のラットの 1 回の膣周期は、いずれも 5 日であった。最も判定しやすい時期は、角化した膣上皮細胞のみが存在する発情期だった（図 1）。発情期 1 日に続き発情間期が 3 日、発情前期が 1 日見られ、再び発情期が観察された。

（3）子宮の形態

ラットでは性周期に伴って子宮の形態が著しく変化することが知られている。筆者らは上述の膣上皮細胞の観察結果を指標として、発情間期と発情前期のラットを選び、子宮と卵巣の形態を観察した。子宮の太さは発情間期のラットでは細く 2.5-4.0mm であったが、発情前期のラットでは 5.0-7.0mm に肥大して子宮内液を貯留していた。発情前期における子宮の形態的变化はエストロゲンの作用によることが知られている。性周期に伴って卵巣内では卵胞の発育のスピードやホルモン分泌などの変化が起こるが、卵巣の大きさには目立った変化は見られなかった。

（4）卵巣血流

ラットの卵巣は卵巣動脈および子宮動脈の両者からの血液供給を受ける。卵巣動脈は腹大動脈あるいは腎動脈から分枝し、尿管の腹側を走行して卵巣に向かう。子宮動脈は子宮に多数の分枝を出しながら卵巣に向かい卵巣動脈と吻合する（図 2 A）。卵巣への動脈は卵巣門に達すると更に分枝して髓質に侵

入する。これらの血管はコイル状になり、ねじれながら髄質の支質や卵胞・黄体に分布する(図2B)。

放射性マイクロスフェア法を用いてラットの卵巢血流量を測定した Zackrisson et al. (2000) の報告によると、卵巢血流量は子宮動脈のみ結紮すると結紮前に比べて約2割、卵巢動脈のみ結紮すると約4割低下する。この報告から、卵巢は子宮動脈よりも卵巢動脈からの血液供給をより多く受けていると考えられる。

ラットにおいて卵巢の血流量が性周期に伴い変化することが放射性マイクロスフェア法を用いた研究により明らかにされている(Harvey and Owen, 1976)。卵巢血流量は発情後期には117 ml/min/100gで最も低く、排卵前の発情前期に最大となり、約6倍の676 ml/min/100gに達する。

排卵前にはLHサージが起こることが知られているが、ウサギやラットにLHを静脈内投与すると卵巢血流量が増加することが報告されている(Janson, 1975; Varga et al., 1985)。さらにZackrisson et al. (2000)はラットにおいて、卵巢動脈や子宮動脈の結紮により卵巢への血液供給を約2~4割減らすと、ゴナドト

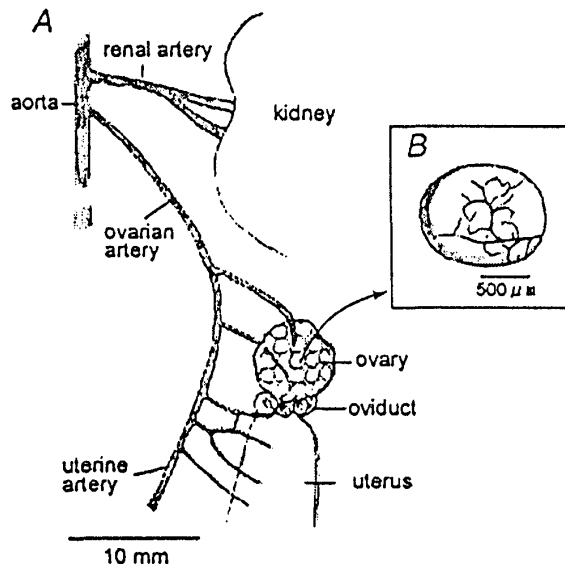


図2 ラットの卵巢の血管支配(動脈)
A:左卵巢への血管分布を腹側からみた模式図。
B:一つの卵胞を取り囲む血管の模式図。

ロピン投与で誘発される排卵数が減少することを報告している。これらの報告から、排卵前にLHサージによっておこる卵巢血流の増加が、排卵誘発に重要な役割を持つことが指摘されている。

(5) 卵胞の選択とその血管網

先に、排卵前に卵巢血流量が増加することを述べたが、卵巢内では排卵にいたる卵胞が豊富な血管網を発達させていくことが卵胞血管の鋳型標本の観察により示されている(Jiang et al., 2003)。卵胞の成熟に伴って卵胞を取り巻く血管が新生される。一方、閉鎖卵胞では血管網が少なくなる(Jiang et al., 2003)。このような卵胞の血管網の新生と退行は、卵胞の成熟過程で一部の卵胞のみが排卵に至る優位卵胞となる選択の過程に関わっている可能性が指摘されている。血管の新生を促す栄養因子として、bFGF(塩基性線維芽細胞増殖因子)、EGF(上皮細胞増殖因子)などが知られているが、近年これらに加えてVEGF(血管内皮増殖因子)が中心的役割を持つことが見いだされている。ブタやラットの卵巢内にVEGF遺伝子の断片を投与すると、卵胞での血管新生が高まり、より多くの卵胞が発育し、排卵数が増加することも報告されている(Shimizu et al., 2003)。

3. 卵巢支配の自律神経と卵巢周期

初めに述べたように卵巢周期は視床下部一下垂体—卵巢系のホルモンにより調節されるといわれているが、思春期における排卵の始まりや優位卵胞の選択などホルモン性調節のみでは説明のつかないことも多い。ホルモン性調節で説明できない卵巢機能の調節に、卵巢支配の自律神経が関与する可能性が指摘されている。免疫組織学的研究によって卵巢に分布する神経線維がカテコールアミン、ニューロペプチドY(NPY)、血管作動性腸ペプチド(VIP)、カルシトニン関連ペプチド(CGRP)などの種々の神経伝達物質を含むことが明らかにされている(Dissen et al., 2004)。卵巢神経の卵巢ホルモン分泌や排卵に対する役割についての研究を以下に紹介す

る。

卵巣支配のアドレナリン作動性神経は卵巣動脈神経叢 (OPN) と上卵巣神経 (SON) の二つの経路を通して卵巣に達する。OPN から来る線維は主に血管を支配するが、SON から来る神経の多くは腺を支配すると報告されている (Lawrence and Burden, 1980)。カテコールアミンが $\beta 2$ アドレナリン受容体を介して卵巣のステロイド合成に影響を及ぼすことも明らかにされてきた (Adashi and Hsueh, 1981)。カテコールアミンは卵巣からのステロイド分泌を刺激する他、低濃度のゴナドトロピンに対する卵巣のステロイド合成反応を促進する (Adashi and Hsueh, 1981)。SON の切断が卵巣静脈からのステロイドホルモン分泌に及ぼす影響を調べた報告によると (Aguado and Ojeda, 1984)、卵巣からのエストロゲンとプロゲステロンの分泌は、発情前期に交感神経を切断すると低下して、切断前の 50-60% になる。しかし、発情期に交感神経を切断してもエストロゲンとプロゲステロンの分泌は変化を示さない。この結果から SON を通る交感神経は、発情前期の日起こるゴナドトロピンによる卵巣ステロイドホルモン分泌を維持する生理的役割を持つと考えられる。

卵巣に分布する VIP 作動性神経は卵胞、血管、間質組織に分布することが知られている。サル卵巣において卵胞支配の VIP 作動性神経が特定の原始卵胞のみに見られことが報告されている (Schulthea et al., 1992)。このような独特な分布は VIP 作動性線維に特異的であり、CGRP, NPY 線維などには見られない。この結果から、霊長類の卵巣では VIP 作動性神経支配が、卵胞成熟の初期段階で卵胞に情報を送ることにより、卵胞の選択過程に寄与する可能性が指摘されている。また、VIP 作動性神経の卵巣支配は生後、思春期にかけて増加することも報告されており (Schulthea et al., 1992)、思春期に排卵が開始するメカニズムにも関与する可能性が指摘されている。VIP は血管拡張作用を持つことが知られているので、卵胞の血流量を高めることが卵胞選択過程や思春期に向けての卵巣の発達に関与する可能性も考えられる。

4. おわりに

以上に述べたように、卵巣を支配する自律神経が性周期に伴うステロイドホルモン分泌、卵胞成熟、排卵などに関与する可能性を示す知見が蓄積されつつある。これらの神経性の卵巣機能調節が、神経の直接作用による可能性と、神経性の卵巣血流変化を介する可能性があり、今後の課題である。

5. 参考文献

- 1) Adashi E.Y. and Hsueh, A.J.: Stimulation of $\beta 2$ -adrenergic responsiveness by follicle-stimulating hormone in rat granulosa cells in vitro and in vivo. *Endocrinology* 108: 2170-2178, 1981.
- 2) Aguado, L.I. and Ojeda, S.R.: Ovarian adrenergic nerves play a role in maintaining preovulatory steroid secretion. *Endocrinology* 114: 1944-1947, 1984
- 3) Dissen, G.A., Paredes, A., Romero, C., Dees, W.L. and Ojeda, S.R.: Neural and neurotrophic control of ovarian development. In: Leung, P.C.K. and Adashi E. Y. (Eds), *The Ovary*, 2nd ed., Elsevier, Amsterdam, pp.3-23, 2004.
- 4) Everett, J.W.: Progesterone and estrogen in the experimental control of ovulation time and other features of the estrous cycle in the rat. *Endocrinology* 43: 389-405, 1948.
- 5) Harvey, C.A and Owen, D.A.A.: Changes in uterine and ovarian blood flow during the oestrous cycle in rats. *J. Endocr.* 71: 367-369, 1976.
- 6) Janson, P.O.: Effects of the luteinizing hormone on blood flow in the follicular rabbit ovary, as measured by radioactive microspheres. *Acta Endocrinol.* 79: 122-133, 1975
- 7) Jiang, J.Y., Macchiarelli, C., Tsang, B.K. and Sato, E.: Capillary angiogenesis and degeneration in bovine ovarian antral follicles. *Reproduction* 125: 211-213, 2003.
- 8) Lawrence, I.E. and Burden, H.W.: The origin of the extrinsic adrenergic innervation to the rat ovary. *Anat. Rec.* 196: 51-59, 1980.
- 9) Long, J.A. and Evans, H.M.: The oestrous cycle in the rat and its associated phenomena. *Mem.Univ.California* 6: 1-148, 1922.
- 10) Schulthea, T.D., Dees, W.L., and Ojeda, S.R.: Post natal development of sympathetic and sensory innervation of the rhesus monkey ovary. *Biol. Reprod.* 47: 760-767, 1992.
- 11) Shimizu, T., Jiang, J. Y., Iijima, K., Miyabayashi, K., Ogawa, Y., Sasada, H., Sato, E.: Induction of follicular development by direct single injection of vascular endothelial growth factor gene fragments into the ovary of miniature gilts. *Biol. Reprod.* 69: 1388-1393, 2003.
- 12) Varga, B., Horváth, E., Folly, G. and Stark, E.: Study of the luteinizing hormone-induced increase of ovarian blood flow during the estrous cycle in the rat. *Biol. Reprod.* 32:480-488, 1985.
- 13) Zackrisson, U., Mikuni, M., Peterson, M.C., Nilsson, B., Janson, P.-O. and Brännström, M.: Evidence for the involvement of blood flow-related mechanisms in the ovulatory process of the rat. *Human Reproduction* 15: 264-272, 2000.