

担癌マウスにおける下垂体前葉・副腎皮質の 組織学的研究

第 I 編

脳下垂体前葉組織について

岡山大学医学部平木内科 (主任: 平木 潔教授)

山 縣 昭

[昭和43年7月10日受稿]

内 容 目 次

第1章 緒 言

第2章 実験材料並びに実験方法

第1節 実験材料

第2節 実験方法

第3章 実験成績

第1節 正常マウスの下垂体前葉所見

第2節 白血病マウスの下垂体前葉所見

第3節 乳癌マウスの下垂体前葉所見

第4章 総括並びに考按

第5章 結 論

第1章 緒 言

担癌生体と内分泌腺との関係については、従来種々論ぜられている処であるが、実験的担癌マウスにおける内分泌腺の組織学的検索は今日尚充分ではない。

先年平木教授は実験的マウス白血病並びにマウス乳癌について一連の研究を行なわれたのであるが、その一分野として之等担癌 (以下白血病を含む) マウスの下垂体前葉・副腎皮質系が如何なる態度にあるかを、ACTH 又はは副腎皮質ホルモン剤の担癌生体への臨床的応用にも鑑みてその組織学的検索を行い且つその分泌機能状態を窺わんと試みた¹⁾。

茲で悪性腫瘍とホルモンとの関連についての研究を歴史的経過にて大別すれば、先づ Beatson²⁾ に始まる癌患者のホルモン臓器別出による臨床的経験に基づく考察時代から、自然発生乳癌マウスを利用した Loeb³⁾ の研究に、次いで Lacassagne⁴⁾ の Estrone 注射による実験的発癌の研究へと展開されて来たのであるが、担癌生体自身の防禦反応或いは適応反応として最初に現われて来る下垂体・副腎皮質系の機能異常にも注目される様になつたのである。即ち下垂体前葉とその target organ の一つである副腎皮質との関係は Salye⁵⁾ による適応症候群の概念により導入され、生体の生活現象に与かる凡ゆる生理作

用の支配調節関係の位置を確立した感がある。

私は本篇において正常マウス及び担癌マウスの下垂体前葉組織の光学的検索として、その実質細胞の百分比変動を観察し且つ考按を試みた。

第2章 実験材料並びに実験方法

第1節 実験材料

① 白血病マウス⁶⁾

(A) 実験的誘発性白血病マウス

1. 20-Methylcholanthrene 塗布后リンパ球性白血病発生 Dda 系マウス⁷⁾
2. X線照射后リンパ球性白血病発生 Rf 系マウス⁸⁾¹⁰⁾¹¹⁾

(B) 自然発生性白血病マウス¹²⁾¹³⁾

1. リンパ球性白血病発生 C₅₈ 系マウス
2. 骨髄性白血病発生 C₅₈ 系マウス

② 乳癌マウス (凡て C₃H 系マウス)

(A) 実験的誘発性乳癌マウス

1. Estradiol 注射による乳癌発生マウス (生後2ヶ月の雌マウスに Estradiol 0.04 mg を週2回計20回皮下注射を行い平均204日後に100%乳癌発生を見た)
2. 合成卵胞ホルモン (Robal) 経口投与による乳癌発生マウス (生後1ヶ月の雌マウスに Robal 0.1mg/100ml を150日間連日飲用せし

め平均262日間で64%の乳癌発生をみた)

(B) 自然発生性乳癌マウス

③ 対照マウス

Db_a, R_f, C₅₈, 及び C₃H 系各マウスで健常と見られたもの

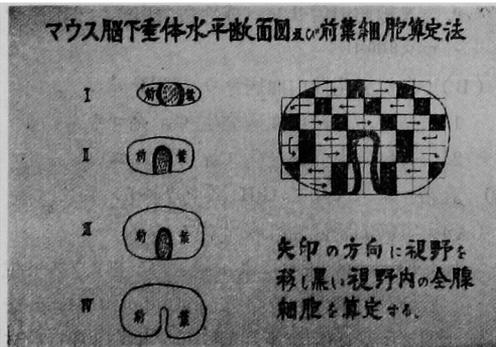
上記何れのマウスも飼育に当つてはオリエンタル固型飼料を使用した。

第2節 実験方法

実験マウスは凡て断頭術にて屠殺し、直ちにトルコ鞍と共に下垂体を取り出し組織検索に供した。即ち下垂体を Zenkel-Formol 固定后 Paraffin 包埋を行つたが、此の場合脱水・脱アルコールに要する時間は短かい方がよく、アルコール及びクロロホルムの各濃度のものに約30分宛浸した¹⁴⁾。かくして包埋固定せる下垂体を水平断で3~4 μに薄切し、中心部を各5枚宛のスライドガラスに連続切片とし、夫々に H・E 染色, Azan Mallory 染色及び PAS 反応を施し、残りを予備とした。猶前葉細胞中好酸性細胞(α細胞)は固定法により百分率を異にするという事実により Zenkel-Formol 法のみを用いた。

下垂体は解剖学的に主部・結節部・中間部に分けられ、最大部分を占める主部は全体の凡そ70%に当り各種の前葉細胞から成り而もその分布は部位により異なる¹⁵⁾¹⁶⁾¹⁷⁾¹⁸⁾。即ち前葉細胞の百分率を論ずるに当つては一定の算定方式に従う必要があり、一般に広く利用されているのは Rasmussen & Herrick¹⁹⁾の方法であるが、私は対象がマウス下垂体という大きさからしてその変法の一つである井上²⁰⁾法に準拠して第3視野法によつて算定した。(図)

図



又前葉実質細胞の分類は Flesch (1884) が色素好性細胞と色素嫌性細胞との二つに分けたのに始まり、次いで Schönemann (1892) は色素好性細胞を更に酸好性細胞と塩基好性細胞とに分けた²¹⁾。その

后染色法の改良発達に伴いその分類は極めて複雑多岐に亘つている。併し今日でもマウス下垂体の前葉細胞は一般に3つの細胞型に分類されるのが妥当である様に思われ、私も Azan Mallory 染色で3つの細胞に大別し得た。

第3章 実験成績

第1節 正常マウス下垂体前葉所見

光学的観察にてマウス下垂体前葉は間質組織に乏しく実質細胞が不規則無秩序且つ密に存在して居る。更に実質細胞は Azan Mallory 染色でその胞体中に Azocarmine G (酸性色素) で赤染する顆粒を有する α細胞と、Azocarmine G 及び Anilin blue (塩基性色素) で紫染する顆粒を有する β細胞と、その何れにも殆んど染まらない境界不明瞭な稍々小型の主細胞の三型に区別され得た。

Romeis 等は δ細胞 (kresofuchsin-Anilin blue 藍染細胞) 及び ε細胞 (Azan orange 好染細胞) の存在を指摘しているが、前者は β細胞の退化せるものと見做され、又後者は主細胞と密接な関係を有するという説により特に考慮に入れなかつた。又 β細胞の算定には特に PAS 反応を利用したが、之は β顆粒がよく赤染され而も Azan Mallory 染色によるよりも明瞭に観察し得る有利性があるからである。

α細胞は数個相隣接し又点在して居り、主細胞と共に実質細胞の大部分を占め百分率平均は凡そ44%であつた。その形状は不正円形且つ大小不同で胞体と核との比率にも差があり、微細な好酸性顆粒も比較的少ないものから豊富に存するもの迄多様である。之等の事は α細胞の成熟過程の相違によるものと考えられている。

表1 正常マウス下垂体前葉細胞百分率

	α細胞(%)	β細胞(%)	主細胞(%)
C ₃ H 系マウス	45.3	7.2	47.5
	46.6	4.3	49.1
C ₅₈ 系マウス	42.0	6.6	51.4
	43.2	6.4	50.4
Db _a 系マウス	42.7	5.0	52.3
	R _f 系マウス	46.1	6.8
変動範囲	(42.0~46.6)	(4.3~7.2)	(47.1~52.3)
平均	44.3	6.1	49.6

実質細胞中大型のβ細胞は百分率平均で6%を示して最も少なく、特に周辺部で発現率が低い様であった。形状も不規則で胞体中のAzocarmineとAnilin blueとに共染されて紫色を呈する顆粒も僅少なものは主細胞との区別に困難であつたが、PAS反応陽性な色調(暗調性深紅色)に染まりより明確に観察され得る事は前述した。PAS反応陽性細胞は更にGomoriのAldehyd Fuchsin法により陽性か否かによつてβ細胞とδ細胞に分けられるが、私は特に意に介しなかつた。

主細胞は小型でAzan Mallory染色で胞体内に可染性の顆粒を殆んど認めず且つ染色質の乏しい明調性核を有しPAS反応ではくすんだ桃色に染まり、数量的にも最も多く百分率平均は約50%で半数を占めていた。核は円形乃至楕円形のものが多かつた。

第2節 白血病マウス下垂体前葉所見

④ 20-Methylcholanthrene塗布后リンパ球性白血病発生Dbu系マウス下垂体前葉3細胞の百分率平均はα細胞39.4%、β細胞7.5%、主細胞53.1%であつた。

⑤ X線照射后リンパ球性白血病発生Rf系マウ

表2 白血病マウス下垂体前葉細胞百分率

	α細胞(%)	β細胞(%)	主細胞(%)
20M-C塗布 リ白発生 Dbu系マウス	45.6 34.6 38.1	8.2 7.1 7.3	46.2 58.3 54.6
平均	39.4	7.5	53.1
X線照射后 リ白発生 Rf系マウス	32.5 40.3 36.2	12.5 11.4 11.0	55.5 48.3 52.8
平均	36.3	11.6	52.1
自然発生 リ白 C ₅₈ 系マウス	40.5 35.8 37.0	6.1 11.0 10.6	53.4 53.2 52.4
平均	37.7	9.2	53.1
自然発生 骨白 C ₅₈ 系マウス	29.9 40.1 36.9	11.1 7.3 10.6	59.0 52.6 52.5
平均	35.6	9.9	54.5
全例平均	37.25	9.55	53.2

スの各平均はα細胞36.3%、β細胞11.6%、主細胞52.1%で白血病細胞浸潤の見られたものもあつた。

⑥ リンパ球性白血病自然発生C₅₈系マウスの夫々平均はα細胞37.7%、β細胞9.2%、主細胞53.1%であつた。

⑦ 骨髄性白血病自然発生C₅₈系マウスの夫々平均はα細胞35.6%、β細胞9.9%、主細胞54.5%であつた。

白血病マウス下垂体前葉細胞の共通として対照正常マウスの夫れに比し何れもα細胞の減少、β細胞及び主細胞が百分比的に増加して居り此の変動は特にX線照射による白血病発生マウスに於て顕著であつた。又α細胞は全般にα顆粒が減少し胞体量の乏しい小型細胞の発現が増加しているものが多く主細胞との鑑別に困難であつた。β細胞の発現率増加はあるがその形態及び顆粒に著しい変化は認めなかつた。

第3節 乳癌マウス下垂体前葉所見

④ 乳癌自然発生C₃H系マウスの前葉3細胞百分率は夫々平均α細胞38.6%、β細胞5.0%、主細胞56.4%であつた。

⑤ Estradiol注射后乳癌発生C₃H系マウスの夫々平均はα細胞36.2%、β細胞4.4%、主細胞59.4%であつた。

⑥ 合成卵胞ホルモン(Robal)経口投与后乳癌発生C₃H系マウスの夫々平均はα細胞40.77%、β

表3 乳癌マウス下垂体前葉細胞百分率

	α細胞(%)	β細胞(%)	主細胞(%)
自然発生 C ₃ H系マウス	38.0 39.3 38.5	4.0 5.8 5.3	58.0 54.9 56.2
平均	38.6	5.0	56.4
Estradiol注 C ₃ H系マウス	35.9 36.3 56.3	3.8 5.1 4.3	60.3 58.6 59.4
平均	36.2	4.4	59.4
合成卵胞ホ (Robal) 経口投与 C ₃ H系マウス	39.1 41.2 42.0	4.2 3.9 4.8	56.7 54.9 53.2
平均	40.77	4.3	54.93
全例平均	38.51	4.56	56.93

細胞4.3%, 主細胞54.93%であつた。

乳癌マウス下垂体前葉は一般に細胞裂間隙が拡大し主細胞の増加と α 細胞にあつては胞体量の乏しい小型のものが多く且つ顆粒の染色性が低下しており、 β 細胞では胞体量に変化はないが少々 β 顆粒に乏しかつた。

第4章 総括並びに考按

下垂体前葉細胞を論ずるに当つて先づ問題となるのはその分類法であらう。既に第2章において述べた如く今日尚基本的には好色素性の好酸性細胞(α 細胞)と好塩基性細胞(β 細胞)並びに嫌色素性細胞(主細胞)の3つに分類されて各細胞の形態学的特色と相互の系統的関連乃至は生理的機能的意義をめぐつて論争が続けられていると言えよう。更には実質細胞の量的変動の表現法としての3細胞百分率算定法も広く認められた方法である事も既に述べた通りである。即ちその量的変動(百分率)についても人体に関して広汎な研究を行つた Rasmussen 等の業績以来算定方法の確立と共に生理的にも性・年齢・季節・性周期・妊娠等により著しく影響されて居り病的状態における変動についても多くの報告がある。

更に Stress に際しての変動については Knigge²²⁾、中尾²³⁾等は好酸性細胞の発現率増加を、友成²⁴⁾は α 細胞の顆粒が増加すると述べ、Finerty²⁵⁾等は各種細胞の発現率に変化を認めないと記載しており此の点でも明瞭な意見の一致をみないが、一般に好酸性細胞の増加を伴う主細胞の減少を認めるとする説が多い様である。又好酸性細胞は女子の方が男子に比し多く、且つ男女共に老年者ほどその発現率は少ない²⁶⁾。好塩基性細胞の発現は一般に女子よりも男子に多く、又若年者よりも老年者に多い²⁷⁾。

下垂体前葉ホルモンは現在少なくとも生理作用を異にする6種類のものが区別されている。即ち成長ホルモン(GH)、甲状腺刺激ホルモン(TSH)、副腎皮質刺激ホルモン(ACTH)、及び性腺刺激ホルモン(Gonadotropin)として総称されている卵胞刺激ホルモン(FSH)、黄体形成ホルモン(LH)、乳腺刺激ホルモン(Prolactin)とである。之等前葉の topic hormone の産生細胞については今日では好酸性細胞より Prolactin 及び GH が、又好塩基性細胞よりは FSH・LH・TSH が分泌されるという事が殆んど定説となつているが、ACTH 産生細胞については非常に興味ある重要な課題であるにも拘らず、

好塩基性細胞とする者、好酸性細胞とする者相半ばし更に兩種細胞が之に関与すると称せられ未だ確定した結論に達しておらず今後の研究が大いに待たれている現状である²⁸⁾。何れにせよ前葉ホルモンの産出機能の頂点は好酸性細胞と好塩基性細胞であつて、この両好色素性細胞が最も盛んな分泌活動に因るものであらうと推定される。又色素嫌性細胞と好色素性細胞との間に種々な移行型を得る(之が前葉細胞分類の複雑性の原因の一つであると言えよう)のであり、従つて色素嫌性細胞は機能発現の前段階若しくは分泌活動後の休止状態にある細胞型と考えられる。

教室の白血病マウスでは好酸性細胞の発現率低下と好塩基性細胞及び主細胞の発現増加を認めたと、白血病マウスにおける下垂体前葉細胞の変動についての文献に乏しい様であつた。又乳癌マウスで好酸性及好塩基性細胞の減少と主細胞の増加が認められたが、森²⁹⁾、羽根田³⁰⁾の主細胞の著明な増加と好色素性細胞殊に α 細胞の減少を認めた報告とよく一致しており、又森岡³¹⁾は好塩基性細胞の増加と好塩基性細胞数の有意の減少を見たと報告している。以上の Hormon Unbalance を示す生理的状态での下垂体前葉として着目されるのは妊娠であらう。妊娠時に於ける前葉細胞の動勢に関しては変化の主体をなす細胞型や所謂妊娠細胞の存否についても種々異論の存する処であるが、Wolfe & Cleveland³²⁾は主細胞の増加を強調し更に α 細胞は減少するとし、Decline は α 細胞が減少し一方 β 細胞と主細胞とが肥大すると言つている³³⁾。個体内細胞増殖機転の顕著なものは生理的には妊娠であり病的には担癌状態であると考える場合に興味のある処であらう。歴史的にも乳癌発生とホルモンとの関係についての業績は多いが、下垂体との関係について文献的に考察するに下垂体摘出動物では自然発生乳癌も Estrogen による乳癌の発生もみない³⁴⁾、又下垂体摘出により乳癌の発育は抑制される³⁵⁾³⁶⁾という事実は古くからよく知られている。又 Estrogen 投与によつて発生する下垂体腫瘍は色素嫌性細胞腺癌(chromophobe adenocarcinoma)である。有名な Mühlbock³⁷⁾の業績によると Estrogen 投与により発生するマウス腫瘍として下垂体・睾丸・乳腺・子宮・骨及びリンパ組織を挙げており Hormon Unbalance による発癌性は確実に認められておる処であるが、之が起癌因子であるか育癌因子となつているかを見極める事は困難である。然しその発生部位はホルモンの標的臓器又は内

分泌臓器に多い事や下垂体の存在が重要であること等より、発癌機序は直接作用よりは下垂体・副腎・性腺の変調による Hormon Unbalance が重要事となっている事は充分推定される。

第5章 結 論

1) 正常マウス群下垂体前葉における3種の細胞百分率は平均 α 細胞 44.3%, β 細胞 6.1%, 主細胞 49.6%であつた。

2) 白血病マウス群では夫々平均 α 細胞37.25%, β 細胞9.55%, 主細胞53.2%で、その百分率変動を検討し対照に比し α 細胞発現率の減少と β 細胞及び主細胞発現率の増加を認めしたが、特にX線照射によ

る白血病マウスにおいて顕著であつた。

3) 乳癌マウス群では平均して夫々 α 細胞 38.51%, β 細胞 4.56%, 主細胞 56.93%で、対照に比し α 細胞及び β 細胞減少と主細胞の増加を認めた。

(本論の要旨は昭和36年4月第23回日本血液学会総会及び同年10月第20回日本癌学会総会に於いて報告した)

稿を終るに臨み終始懇篤なる御指導並びに同校閥を賜わつた恩師平木教授並びに実験に際し種々の御指導御助言を賜わつた西下講師に対し衷心より感謝致します。

写 真 説 明

- 写真1 正常マウス (Db_a系) 下垂体前葉, Azan-Mallory $\times 400$
 写真2 リンパ球性白血病 (Db_a系) マウス下垂体前葉, Azan-Mallory $\times 400$
 写真3 リンパ球性白血病 (Rf系) Azan-Mallory $\times 400$
 写真4 リンパ球性白血病 (Rf系) Azan-Mallory $\times 1000$
 写真5 リンパ球性白血病 (C₅₈系) P. A. S. $\times 400$
 写真6 乳癌マウス (C₃H系) 下垂体前葉 P. A. S. $\times 400$
 写真7 乳癌マウス (C₃H系) 下垂体前葉 Azan-Mallory $\times 400$

Histological Studies on pituitary and Adrenal Cortex in Mice with Experimental Leukemia or Mammary Cancer.

Part I Findings of Anterior Lobe of Hypophysis

By

Akira YAMAGATA

Department of Internal Medicine Okayama University Medical School
 (Director: Prof. Kiyoshi Hiraki)

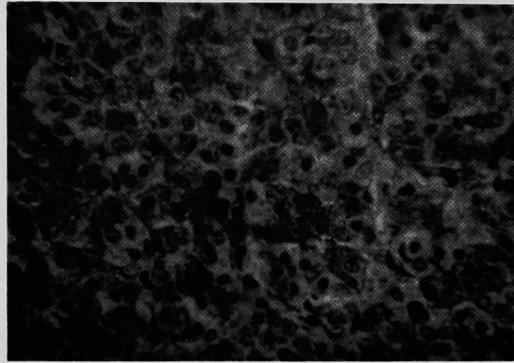
In the cytological observations of the hypophysis in mice with leukemia or mammary cancer, the author made the classification and calculation of epithelial cells of mouse anterior hypophysis.

The results of this experiment were as follows:

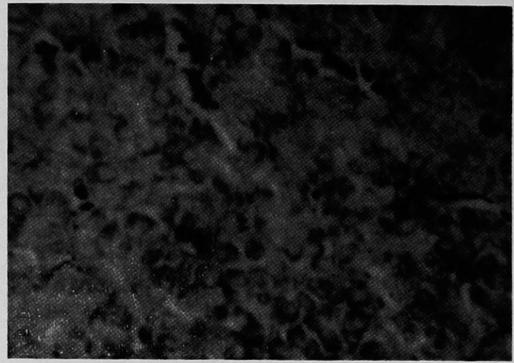
1. In the pituitary of mice with leukemia, acidophilic cells decreased in number, while the basophilic particularly chromophobic ones increased in number.
2. In the pituitary of mice with mammary cancer, acidophilic and basophilic cells decreased in number, while the chromophobic ones increased in number.
3. From these findings it is assumed that the hypophyseal function of mice with leukemia or mammary cancer is hormone-unbalanced.

山 県 論 文 附 図

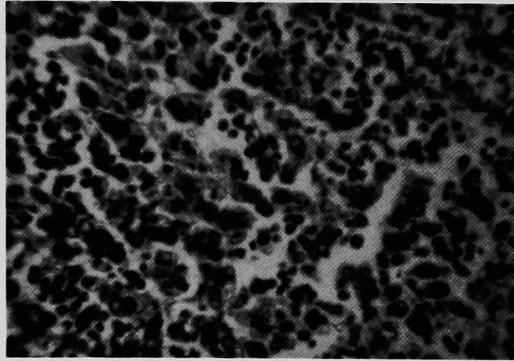
写 真 1



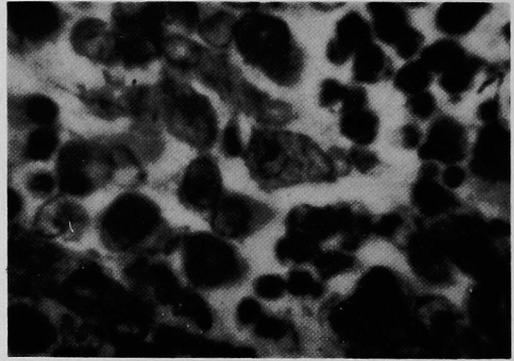
写 真 2



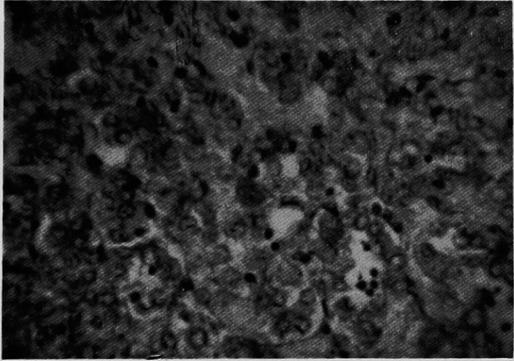
写 真 3



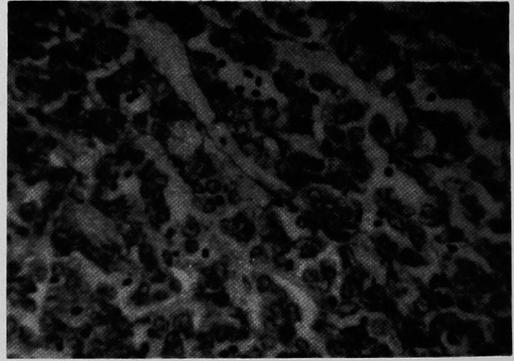
写 真 4



写 真 5



写 真 6



写 真 7

