岡山大学医学部病理学教室 (小川勝士教授)
Department of Pathology (Prof. K. OGAWA), Okayama University Medical School
Okayama, Japan

シロネズミ Harder 腺の組織化学的ならびに 電子顕微鏡的研究*

Histochemical and Electron Microscopic Observations on the Harderian Gland of the Albino Rat

提 啓, 岩田克美, 小川勝士, 松浦和彦

Akira TSUTSUMI, Katsumi IWATA, Katsuo OGAWA
and Kazuhiko MATSUURA

Received September 9, 1966

Harder 腺 (以下 H 腺と略す) は 1694 年 HARDER がシカとノロの眼窩の中に初めて発見した腺組織で、種々の動物の眼球後部に位置し、涙腺とは異なり、瞬膜の基底部に排泄管をもつ一種の管状胞状腺である。それ以来、種々の哺乳類 (ウシ, ウマ, ブタ, サル, ネコ, イヌ, ヤギ, カイウサギ, ノウサギ, ハツカネズミ, シロネズミ, モルモット, ハリネズミ, モグラなど), 鳥類, 両生類などにおいて本腺に関する研究がなされている。とくにネズミ属においては、この腺が黄褐色の色素を含むことが古く LOEWENTHAL (1892) によって記載され、その後 DERRIEN と TURCHINI (1924) はネズミ属の H 腺のみが紫外線照射によって強い赤色螢光を発し、それがポルフィリンの存在によることを報告した。

現在までのところ H 腺の組織化学的知見は、シロネズミについては GRAFFLIN (1942) の、またマウスについては COHN (1955) の報告があるが、電子顕微鏡の検索に関しては僅かに CHIQUOINE (1958) の主として筋上皮細胞に関する記載があるにすぎない。先に浜崎ら (1955), 小川ら (1955) はシロネズミの吉田腫瘍試食発癌例において H 腺が著しく黒化腫大を来すことを見出したが、この変化の本態が、H 腺におけるポルフィリンを含む色素の異常な分泌亢進に基因するものであることはすでに報告した (堤と岩田 1963)。この研究に関連して行なわれた正常シロネズミの H 腺の検索によって、この腺の分泌機序と腺細胞内でのポルフィリンの局在に関し、若干の知見を得たので報告する。

実験材料と方法

- 1) 生後約 1 ケ月半の無処置シロネズミを絞殺後、ただちに眼窩を開放して H 腺を摘出し、検索に供した。
- 2) 10%ホルマリン固定後パラフィン包埋切片とし、ヘマトキシリン-エオジン染色を行なって鏡検した。
- 3) 同切片につき PAS 反応, Masson の銀親和性反応, 石炭酸フクシン染色, Schmorl 試

* 岡山大学名誉教授 故関 正次教授を追悼して。

験, 鉄反応を行なった.

4) 10%ホルマリン固定後凍結切片として脂肪染色 (Sudan III, Nile blue), 漂白 (Kopsch 法および 5% H_2O_2), Gmelin 反応を行なうとともに, 脂肪溶媒 (エタノール, メタノール, エチル・エーテル, アセトン), 酸 (濃硫酸, 濃塩酸, 濃硝酸, 氷酢酸) およびアルカリ (50% 苛性ソーダ, 50% 苛性カリ) による色素の溶解性を検討した.

5) 未固定組織を凍結切片とし, DOPA 反応および蛍光顕微鏡検査に供した.

6) 1% オスミウム酸 (pH. 7.42, 燐酸緩衝) 固定, methacrylate 包埋を行なった後, 超薄切片となし, 電子顕微鏡で観察した. また同切片をメチレン青で染色して比較検討した.

実 験 成 績

A. 組織化学の所見

シロネズミの H 腺色素は生後 2 週間目ごろまでは認められず, 以後 3~4 ケ月ごろまで次第に増量し, その後は漸次減量する. 色素量の少ない時期のものは肉眼的に淡褐色の色調を示すが, 今回検索した例のように比較的増量した時期のものでは, 表面に直径 1 mm 前後の暗褐色の斑紋が認められ, このような部分を鏡検すると, 終末部腺腔および分泌管の内腔に無定形塊状, 一部線維状の黄褐色ないし濃褐色の色素の蓄積が認められる. 色素塊に混じて まれに境界鋭利な類円形の塊状物が見られ, これらは時に層状構造を示すものがある. 色素形成の旺盛な部分では腺細胞の原形質内にも淡褐色微細顆粒状の色素が見られ, これらは不規則塊状ないし針状を示し, とくに細胞遊離縁近傍に多く, 遊離縁表面ではたがいに融合している.

色素の組織化学的性状は以下のようなものである. 脂肪溶媒には色素に混在する脂質が溶解するので, 色素自体はほとんど溶解しない. 色素の色調は塩素によって容易に漂白されるが, H_2O_2 による漂白にはやや長時間を要する. 石炭酸フクシンによる耐酸性は示さない. Schmorl 試験, Masson の銀親和性反応には陽性を示す. PAS 反応に対しては色素自体は陰性のものであるが, 色素に混じて弱陽性物質が存在する. 腺細胞の原形質内には 0.5~1 μ 大の PAS 陽性顆粒が存在し, 細胞遊離縁ではこれらが融合している. 鉄反応と DOPA 反応の陽性の物質は細胞内外ともに全く認められない.

Sudan III 染色では胞体内にも腺腔内にも多量の脂質が証明される. 腺腔内の褐色調の強い色素自体は染色されないが, 腺細胞遊離縁の色素顆粒には淡紅色に染まるものもある. ナイル青染色では腺腔内に黄褐色色素に混じて紫紅色に染まった脂肪滴が認められる. オスミウム酸染色では細胞内外に多量の黒染される物質が証明されるが, 色素自体は黒染しない.

蛍光顕微鏡で観察すると, 腺腔内の色素は強い輝赤色の特異蛍光を発し, また腺細胞遊離縁にも線状に輝赤色蛍光が認められる. それ以外の原形質には一般に蛍光の発生は認められないが, 時に瀰漫性に微弱な蛍光を発することもある.

B. 電子顕微鏡による所見

パラフィン包埋, ヘマトキシリン・エオジン染色標本では H 腺を構成する細胞に関して

Fig. 1. Light microscopic aspect of glandular end-piece, consisting of clear cells (C) and dark cells (D). No clear boundary between free margin of dark cell and the secreta (pigments) in glandular lumen (L). Black spots within cytoplasm are fat droplets. Methylene blue stain. $\times 1,800$

Fig. 2. Glandular end-pieces, lined by glandular cells of the intermediate type, without pigment production. L glandular lumen. Methylene blue stain. $\times 600$

GRAFFLIN (1942) の記載したような形態的な区別 (principal cell or dark cell and clear cell) を認めたいが, methacrylate 包埋切片をメチレン青で染めると, 光顕的にも明らかに明暗 2 種の細胞を区別することができる (図 1), 個々の腺房において両者は混在しており,

その分布は全く不規則である。両者の数的比率は一般にほぼ同数か、あるいは暗細胞の数がやや勝る。ときに両者の中間の形態を示す細胞が認められる(図2)。これら二種の細胞は電子顕微鏡的に はなはだ異なる特徴を示すので、以下にその所見を記す。

1. 明細胞: (図3)

この細胞の胞体は はなはだ淡明で、空胞に富み、基質は疎な顆粒状にあらわれ、遊離縁ではやや膨隆して腺腔に突出している。核は ほぼ球形をなし、基底側に位置する。細胞質小器官は核周縁部に集合する傾向があり、その傾向の著しいものでは遊離縁に近いかなり広い範囲の細胞質が小器官を欠き、はなはだ微細な顆粒状の *hyaloplasm* のみからなっていることがある。このような部分に続いて小器官の分布密度の比較的低い部分が認められる。この部分では小胞体にリボゾームがごく少数付着しているものもあるが、多くのものは滑面小胞体の像を示す。その形態は一般に胞状で、大型のものではその一部から、あたかも真菌の発芽のように小胞状あるいは管状の分枝を示すものがある。またこの間に少数の *microbody* が散在性に認められる。

さらに核の近傍では各成分の分布密度が非常に高くなり、なかでも広範囲にわたって緻密に配列する小胞体の発達は著しいものがある。これら小胞体の形態は一般に球形ないし長楕円形胞状を示し、大型のものでは $250 \times 500 \text{ m}\mu$ 大にまで達し、その内腔に電子密度の低い絮状物質を容れるものが多く、その小胞体膜の外側にはごく少数のリボゾームの付着を認める。また特異的な所見として比較的电子密度の低い *hyaloplasm* 内に $10 \sim 20 \text{ m}\mu$ 大の非常に電子密度の高い、大きさも形態もリボゾームに似た粒子がかなり多数散在するのが認められる(図6)。この粒子の少数のものは小胞体膜の外側に付着する。この粒子は後述する空胞の壁に認められる粒子と同種のものと考えられる。

ミトコンドリアは $500 \text{ m}\mu \sim 1 \mu$ で球形ないし楕円形をなし、*cristae mitochondriales* は中央に向かって放射状に配列するが、いずれもミトコンドリアの横径の半分以下の短かいものである。*Mitochondrial matrix* はやや電子密度の高い微細顆粒状を示し、内腔を充満する。

以上のほかに、この細胞には大型の空胞が認められる。その数は後述する暗細胞のものよりは少ないが、細胞の一断面について十数個ほど見いだされる。これらの空胞は一層の限界膜を有し、その電子密度と厚さは小胞体のそれとほぼ同様である。特異なことに、その膜の一部あるいは全体にわたって、電子密度のはなはだ高い微細な粒子の付着が見られる(図6—9)。この粒子のくわしい所見は、後述の暗細胞に見られるものと併せて、別項に記述する。空胞の小型のものは、著しく拡張した小胞体と区別できない。

2. 暗細胞: (図3, 4, 5)

この細胞は明細胞よりやや小型で、メチレン青に濃染する原形質をもち、明細胞の間でやや圧迫されたような形で、多角形あるいはプリズム型をなす(図1)。

核は球形ないし楕円形で、基底膜近くにある。小胞体の発達は明細胞にくらべて弱く、その形態は胞状、細管状あるいは不整形のものなど、はなはだ変化に富んでいる。拡張したものは比較的少ないが、ときに基底膜の近くで小胞体が著しく拡張して、胞体の基質を強く圧迫しているのが見られる。

ミトコンドリアはかなり多数に認められ、明細胞のものに比べてやや長いものが多い、

Fig. 3. Electron micrograph of the cells in the glandular end-piece. In the clear cell C_1 , the cytoplasm near the nucleus shows a remarkable development of smooth-surfaced endoplasmic reticulum. In the clear cell C_2 , the cytoplasm near the free margin of cell shows clear matrix and dilatation of endoplasmic reticulum to form vacuoles (V) of varying size. Dark cell (D) also shows remarkable vacuole (V) formation. $\times 4,000$

Cristae mitochondriales はかなり長くなって内腔の中央にまで達するものが多く、少数のものでは対側壁にまで達している。mitochondrial matrix は中等度の電子密度を示し、一般にはほぼ均質で、少数のものだけが軽度で顆粒状を示す。

空胞形成は主として細胞の上層部に多く見られ、明細胞にくらべて著しく多数におよび、

内腔に脂肪の形成を見るものが多い。

胞体の基質は電子密度が高く、はなはだ緻密な状態を示す。胞体の一部に明細胞に見られたと同様に小器管の見られない部分が認められるが、このような部分でも明細胞のそれに比べて基質ははなはだ緻密である。リボゾームは基底部において少数認められるに過ぎず、中央部より上層部にかけてはほとんど見られない。明細胞に多数に見いだされた電子密度の高い特異な粒子は、暗細胞では空胞の壁以外にはほとんど証明されない。

Fig. 4. Cytoplasm of a dark cell, severely degenerating and shedding off into the glandular lumen. ND the nucleus of dark cell, C clear cell, L the area corresponding to the glandular lumen. $\times 3,400$

暗細胞のあるものでは、胞体の中央部から上層部にわたって小胞体膜が厚さを増し、かつ、空胞壁の粒子ほどではないが、電子密度の増強が見られる。このように電子密度の高い小胞体が増加した細胞上層部では、巨大な空隙が無数に形成されている(図4)。この空隙は限界膜をもたず、少数のものでは中に脂肪滴を容れている。またこのような部分ではミトコンドリアの変性、消失も認められる。胞体の基質は増量して微細顆粒状をなし、変

性したミトコンドリア，小胞体および空胞の間を均等に充たしている．細胞質はかかる部分の腺腔内に突出して腺腔をほとんど充満し，ために腺腔の空間は僅かな間隙として残されているにすぎない．

さらにこのようなアポクリン型分泌過程の進んだものではミトコンドリアは全く消失するが，管状の小胞体の輪廓はやや電子密度の低下したままよく残されている．原形質の基質は減少して一部では絮状をなし，この間に脂肪滴が遊離して認められる．このような部分が遊離端より崩壊して腺腔内に脱落し，腺腔を充たすようになる．腺腔内容物は無数の迂曲した細管，その拡張した空胞，および少数の直線的に走る細管などからなり，これら細管の間隙に電子密度の低い雲絮状物質および黒染した脂肪滴が認められる（図 5）．

Fig. 5. Glandular lumen, filled with fragments of cytoplasm of dark cells, i. e. secreta including pigments. The lumen (L) is surrounded by dark cells. $\times 13,000$

3. 空 胞

空胞の小型のものは小胞体の著しく拡張したものと区別しがたいが，その大きさは通常 $0.5 \sim 1.8 \mu$ 大，平均 1.0μ 大である．細胞質が腺腔内に脱落しはじめた部分に見られる巨大な空隙のなかには 6μ に達するものも見られる．空胞の壁は厚さ約 $80 \text{ \AA}$ の一層の膜状構造からなるものと，明瞭な膜をもたず，胞体の基質が直接壁を形成するものがある．しかし前者においてもこの膜様構造が切片上で連続性の線として認められるのは一部分にす

Fig. 6. A number of electron dense granules of approximately $100 \text{ \AA}$ in diameter are scattered in the cytoplasm matrix, showing a tendency to accumulate on the wall of a vacuole (V_1). A huge vacuole is occasionally observed with few granules (V_2). No lipid production within the vacuoles is seen in this area. M mitochondria. $\times 32,400$

ぎず、壁の大部分は一列に並ぶ $70\sim 90 \text{ \AA}$ 大、中等度の電子密度をもつ粒子の配列からなっている。この粒子の間に電子密度の非常に高い $70\sim 110 \text{ \AA}$ 大の粒子が少数混在している (図 6, 7)。以上の像が空胞壁の基本的構造を示すもので、さらに部位によっては $300 \text{ \AA}$ にも達する大型の粒子が出現し、このような部分では壁の厚さは $800 \text{ \AA}$ ぐらいになり、一層の限界膜とはかなり異なった印象を与える (図 9)。これらの粒子は電子密度がきわめて高く、重金属粒子の密度を想起させる。境界ははなはだ明瞭で、緻密に集合する部分においても、たがいに融合す傾向は非常にとぼしい。

また一方では常に一層の膜構造をもつとともに、内腔に向かって丘状あるいは乳頭状に突出した顆粒状ないし架状の基質のなかに電子密度の高い粒子が形成されているものも認められる。このような粒子形成の過程は、限界膜をもたない空胞においても認められる。

空胞内には時として電子密度のやや高い無構造な物質が認められ、これらは次第に密度を増して、ついには脂肪の密度に達するようになる (図 8, 9)。この物質と前述の粒子が混在すると、粒子の境界が見分けにくくなる。しかしながら、このように明らかに脂肪と考えられる物質を容れる空胞は比較的少数であって、多くの空胞の内腔は空虚である。

Fig. 7. In this field the vacuoles with accumulation of the granules on their walls do not contain lipid-like substance in their lumina (V_2), whereas the vacuoles with few granules contain it (V_1). The electron density of the granules is much higher than that of the lipid-like substance.

M mitochondria. $\times 32,500$

総括と考案

ネズミ属のH腺にポルフィリンが含まれていることは DERRIEN と TURCHINI (1924) によって初めて認められた。FISCHER と ORTH (1937) によればこの物質は protoporphyrin であるといい、また MCELROY ら (1941) によるシロネズミのこの物質に関する検討では、

Fig. 8. The same tissue as Fig. 2. A remarkable lipid production is demonstrated within the vacuoles. $\times 8,000$

主な分画には protoporphyrin が証明されるが、なおはなはだ少量ながら coproporphyrin も含まれているという。

WOLBACH と HOWE (1925) はシロネズミにビタミン A の欠乏を起こさせると H 腺色素が消失することを見だし、また BESSEY と WOLBACH (1939) は riboflavin 欠乏にさいしてやはりこの色素の消失することを報告した。これら両種のビタミン欠乏にさいしては角膜の vascularization が起こり、当のビタミンを投与するとこの vascularization は消褪

Fig. 9. A different portion of the tissue shown in Fig. 6. Development of smooth-surfaced endoplasmic reticulum is remarkable. Lipid production within the dilated endoplasmic reticulum and accumulation of the electron dense granules on the walls are notable. $\times 20,000$

して、かつ再び腺房内に色素が現れるという。

TASHIRO ら (1940) はシロネズミにアセチルコリンまたは dacryorrhetin を注射すると bloody tears を出すことに注目し、この現象をアセチルコリンの生物学的分析法として推奨した。この業績は H 腺の生理学的研究のはなはだ乏しい中において注目に値するものである。FIGGE ら (1942) は種々の純系マウスの H 腺を検索し、乳癌好発系マウス (C_3H) の H 腺のみが他の系統のマウスに比べてはなはだ多量のポルフィリンを含むことを発見した。このことから彼らはマウスにおける H 腺のポルフィリン代謝と発癌の要因との間に重要な関連があるものと推測したが、同じ報告のなかでシロミズミには乳癌発生を見ないにもかかわらず、H 腺に多量のポルフィリンを含む事実を奇異な現象として観察している。

以上今日までの H 腺に関する研究の概要を述べたが、この腺の生理的機能に関してはまだ不明の点のはなはだ多く残されている。H 腺が脂質を分泌することは各動物に共通して見られる現象で、これには瞬膜の運動を潤滑にし、かつ眼球表面を保護する意義が想定されている。しかしながらポルフィリン分泌に関してはこれが何故にネズミ属のみに見いだされるものか、またこの腺の全身ポルフィリン代謝に関与する位置、あるいはその分泌機序については、まだほとんど論じられていないのが現状である。

著者らがシロネズミの H 腺について行なった組織化学的検索の結果は、すでに報告したように (堤と岩田 1963), GRAFFLIN (1942) と COHN (1955) の成績にほぼ一致している。分泌された脂質は酸化過程を経て黄褐色色素の一部を構成するとともに、ポルフィリンと

結合してさらに複雑な化合物をつくる可能性も考えられる。腺腔内では色素に混じて唾液で消化されない PAS 陽性物質がしばしば証明されるが、これはおそらく不飽和脂肪酸の酸化物に由来するものと考えられる。腺細胞遊離縁または腺腔内ではこの PAS 陽性物質と色素との間に一見色調の移行が見られるようであるが、胞体内部ではかかる移行が認められない故に、両者は単に分泌された後に混和したに過ぎないものと思われる。H 腺色素の組織化学的性状は、自然界に存在する種々の生体色素のなかでは、リポフスチンのそれに最も近似しているが、完全には一致せず、のみならず H 腺色素はポルフィリンを主成分とする点、他のものとは全く別種の色素と見なすべき特異な褐色色素である。

パラフィン包埋、ヘマトキシリン-エオジン染色標本では、H 腺を構成する 2 種の細胞（明細胞及び暗細胞）を区別することは困難であるが、オスミウム酸固定後 methacrylate 包埋切片にメチレン青単染色をほどこすと、両者を明らかに識別しうる。両種細胞はシロネズミでは一個の腺房のなかで混在して認められ、その数的比率は一般にほぼ同数で、分泌の亢進した部分では暗細胞がやや高率に見いだされる。

明細胞の胞体には微細な粒子がはなはだ粗に分布しているにすぎないが、暗細胞ではその分布が著しく緻密で、粒子の間にほとんど間隙が認められない。両細胞ともに高度の小胞体の発達を示し、ことに明細胞において著しい。小胞体は滑面小胞体が大部分を占め、粗面のものは少なく、また両者の移行型を示すものも見られる。滑面小胞体が脂質合成に、また粗面小胞体が蛋白合成に関連が深いことは、すでに一般によく知られた事実であって、H 腺に脂質を充たした空胞が多数現われるのは、これら滑面小胞体の変化したものとして首肯できる。

皮脂腺、膵腺などは脂肪上皮からなり、その分泌はホロクリン腺の形式をとるものとされている。H 腺は明らかにアポクリン型の分泌を示すもので、腺腔を充たす分泌物は常に多数の変性した小胞体の残骸と、脂肪滴および胞体の matrix を思わせる雲絮状の物質からなり、これらは腺細胞の一部が腺腔内に突出し、やがてその部分のみが変性崩壊して分泌物となったものである。またこのような分泌像は暗細胞にのみ認められ、明細胞には全く認められない。

H 腺においてエックリン腺の形式による分泌の可能性を全く否定し去ることはできない。すなわち暗細胞において細胞遊離縁に近い部分の空胞が細胞膜に連なり、比較的大きな孔をもって空胞の内腔と腺腔が連続している像を少数ながら認めることがある。このようなことは、アポクリン型の分泌を示さない明細胞においてもあるいは行なわれているかもしれないが、その証明はなされていない。明細胞の遊離縁の近くには小器官のほとんどない淡明な部分が占めているので、空胞が直接腺腔に連続することがあるにしても、きわめてまれであろう。

以上のように明暗二種の細胞はその微細構造と機能を異にするものではあるが、両者ともに著明な空胞形成および脂質産生という共通な性質を有しており、また分泌の亢進した部分では暗細胞の増加を認めるところから、両者は本態的には同一のもので、分泌能の変化に応じて相互に移行しうるものと考えられる。

H 腺に認められるポルフィリンは主として protoporphyrin からなることが知られてい

る。その由来に関しては、赤血球のヘムに由来するものか、それ以外の、例えばチトクロームCなどのポルフィリン化合物からつくられるのか、あるいは全く未知の過程で腺細胞内で合成されるものか、不明のままに残されている。しかしながら蛍光顕微鏡検査によって腺腔内の褐色色素だけでなく、胞体内にも軽度ながら赤色蛍光を証明しうることから、明らかに腺細胞自身が何れの過程にせよポルフィリンを産生していることが示唆される。腺細胞内には電子密度の高い70~300 Å 大の特異な粒子が認められ、その少数のものは胞体のmatrixのなかでリボゾームに混じて散在するが、大部分のものは空胞壁に認められる。粒子の電子密度は脂質のそれよりもはるかに高く、むしろ重金属の密度を思わせ、一般にはなほだ緻密に集合する場合でも明瞭な輪郭をもち、たがいに融合することはない。動物体内でポルフィリンに最も関連の深い重金属は鉄であり、ヘモグロビン形成の素材として生体内に導入された鉄が、フェリチンの段階では40~100 Å 大の顆粒として組織内に見いだされている。H腺細胞内の特異な粒子は、あるいは鉄ポルフィリン化合物に蛋白の結合したものであるかも知れない。

同様な所見は植物におけるクロロフィル——この場合はマグネシウム・ポルフィリン化合物を補欠分子族とする複合蛋白質であるが——の形成過程においても認められる。すなわちクロロプラストは電子密度の高い蛋白の層を中心として脂質の層が並び、その外側にクロロフィルの単分子膜が層板を形成するのである。SAGER ら (1957) は *Chlamydomonas* においてこのクロロプラストに連なる電子密度の高い顆粒性の要素を証明し、この顆粒をクロロフィルであると考え、その形成に RNA-protein が密接な関係をもつと述べている。このような所見は、H腺の明細胞に多く認められるように、リボゾームと混在する特異な粒子が次第に小胞体膜に付着し、小胞体が拡張し空胞化すると、その周縁部に多数に集合して来る像ときわめて類似するものである。

重金属と錯塩をつくっているポルフィリンが一次蛍光を欠くことは周知の事実である。小胞体あるいは空胞の壁に見られる特異な粒子は細胞遊離縁で原形質の変性とともに消失しはじめ、ついに腺腔中央に脱落した部分には粒子は全く認められなくなるが、一方この粒子の減少とともに赤色の蛍光が出現し、分泌物において最も強度の蛍光を証明しうる。従がって原形質の健全な部分だけに認められる高電子密度の特異粒子は、重金属と結合した状態のポルフィリンを含むもので、変性とともに金属部分が解離し、ポルフィリンのみがその位置に残って蛍光を発し、原形質の崩壊に伴なって腺腔内に分泌されるものと理解される。すなわちこの特異粒子こそ蛍光発生以前の状態におけるポルフィリンの局在を示すものと考えられるのである。

結 語

シロネズミの Harder 腺を組織化学的ならびに電子顕微鏡的に検索し、次の事実を明らかにした。

1. 腺腔内の黄褐色の色素はポルフィリンを主成分とし、これが脂質に混じて存在するものである。
2. 蛍光顕微鏡検査により、色素と腺細胞遊離縁に強い輝赤色蛍光を証明したほか、腺

細胞の胞体にも微弱ながら瀰漫性に赤色螢光の発生を認めた。

3. 電顕像では明らかに明暗2種の細胞を区別できた。明細胞では細胞質基質の電子密度が低く、小胞体の著しい発達が見られた。暗細胞では前者にくらべて小胞体の発達は劣るが、基質の電子密度は著しく高度で、かつこの細胞だけがアポクリン型の分泌像を示す。

4. 腺腔内の色素に一致する分泌物は細胞の変性崩壊した各種成分からなるが、管状構造物が多く、その大部分は小胞体由来する。

5. 明暗いずれの細胞においても囊状に拡張した小胞体が多数に認められ、その内腔に脂質を容れる。またその壁と小胞体膜面には70~300 Åの高電子密度を示す特異な粒子が多数認められた。この粒子はポルフィリンが金属と錯塩の状態で細胞質内に存在するもので、分泌時にはポルフィリンが重金属と解離し、腺腔内に遊離するものと考えられる。

Author's Abstract

Histochemical properties of the pigment accumulated in Harderian gland of the rat closely resemble to those of lipofuscin. However, it should be assumed to be a unique type of pigment, for it is mainly composed of porphyrins. In fluorescent microscopy, not only a strong brightly red fluorescence is noted in the pigment in the glandular lumina and in the free margin of the glandular cells, but a weak diffuse red fluorescence is also observed in the cytoplasm. This fact indicates that porphyrins of this pigment are produced within the glandular cell and then retained in the glandular lumina. At the same time a large amount of fatty substances are demonstrated in both the glandular lumina and the cytoplasm, mixed with the pigment.

Electron microscopically, it is possible to differentiate two types of glandular cell, i. e. clear cells and dark cells. The cytoplasmic matrix of the dark cell is remarkably higher in electron density than that of the clear cell. The mode of secretion in this gland belongs to the apocrine type, and only dark cells take part in secretion. In the cytoplasm of the glandular cells a number of specific granules, 70—300 Å in diameter, can be observed, which are very high in electron density, suggesting the complex salts of porphyrin and a certain metal. Most of the granules are attached to the endoplasmic reticulum and to the internal surface of the vacuoles within the cytoplasm. The glandular lumina are filled with degenerated organelles, mainly consisted of crooked tubules, suggesting to be degenerated endoplasmic reticulum, but there is no electron dense granule as mentioned above.

References

- Bessey, O. A. and S. B. Wolbach:** Vascularization of the cornea of the rat in riboflavin deficiency, with a note on corneal vascularization in vitamin A deficiency. *J. exp. Med.* 69: 1-12 (1939).
- Chiquoine, A. D.:** The identification and electron microscopy of myoepithelial cells in the Harderian gland. *Anat. Rec.* 132: 569-583 (1958).
- Cohn, S. A.:** Histochemical observations on the Harderian gland of the albino mouse. *J. Histochem. Cytochem.* 3: 342-353 (1955).
- Derrien, E. et J. Turchini:** Sur l'accumulation d'une porphyrine dans la glande de Harder des Rongeurs du genre *Mus* et sur son mode d'excrétion. *C. r. Soc. Biol.* 91: 637-639 (1924).
- Figge, F. H. J., L. C. Strong, L. C. Strong, Jr. and A. Shanbrom:** Fluorescent porphyrins in

Harderian glands and susceptibility to spontaneous mammary carcinoma in mice. *Cancer Res.* 2: 335-342 (1942).

Fischer, H. and H. Orth: Die Chemie des Pyrrols. Bd. 2, 1937. (Cited by Grafflin).

Grafflin, A. L.: Histological observations upon the porphyrin-excreting Harderian gland of the albino rat. *Amer. J. Anat.* 71: 43-64 (1942).

Hamazaki, Y., I. Ikegami, H. Funagoshi and K. Hosokawa: Experimental induction of cancer by feeding of transplantable tumors. II. On the histopathological studies of the new tumor. *Proc. Jap. Acad.* 31: 486-491 (1955).

Loewenthal, N.: Beitrag zur Kenntnis der Harder'schen Drüse bei den Säugetieren. *Anat. Anz.* 7: 546-556 (1892).

McElroy, L. W., K. Salomon, F. H. J. Figge and G. R. Cowgill: On the porphyrin nature of the fluorescent "blood caked" whiskers of pantothenic acid deficient rats. *Science* 94: 467 (1941).

小川勝士, 有木 庸, 前田 昭, 池上市郎, 中野昭典, 林 強爾: 吉田腫瘍試食実験の系統的研究. 細胞核病理学雑誌 3: 1-21 (1955).

Sager, R. and G. E. Palade: Structure and development of the chloroplast in *Chlamydomonas*. I. The normal green cell. *J. biophys. biochem. Cytol.* 3: 463-488 (1957).

Tashiro, S., C. C. Smith, E. Badger and E. Kezur: Chromodacryorrhea, a new criterion for biological assay of acetylcholine. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 44: 658-661 (1940).

堤 啓と岩田克美: 吉田腫瘍試食に於ける Harder 氏腺の色素沈着. 細胞核病理学雑誌 8: 34-42 (1963).

Wolbach, S. B. and P. R. Howe: Tissue changes following deprivation of fat-soluble A vitamin. *J. exp. Med.* 42: 753-777 (1925).