家畜の下垂体前葉の形態と機能

見 上 晋 一

岩手大学農学部家畜解剖学教室，盛岡市 020

Functional Morphology of the Adenohypophysis of the Domestic Animals

Shinichi MIKAMI

Department of Veterinary Anatomy, Iwate University
Morioka-shi, 020

緒 言

下垂体前葉は視床下部の支配を受けて生殖腺を含む各種内分泌腺の機能を体液的に調整する中心器官で，特に性腺，副腎，甲状腺などの機能をはじめ全身の物質代謝と関係し，家畜の繁殖ならびに生産性に最も重大な影響を与えている器官である。現在，下垂体前葉からは卵胞刺激ホルモン (FSH)，黄体化ホルモン (LH)，催乳ホルモン (プロラクチン，PRL)，甲状腺刺激ホルモン (TSH)，副腎皮質刺激ホルモン (ACTH)，および生長ホルモン (STH) の6種類のホルモンが分泌されることが確認されており，これらはすべて生化学的に分離抽出され，その化学的特性や生物学的活性が明らかにされている。また ACTH などはアミノ酸配列が明らかにされて合成品が実用化される時代に入っている。しかし下垂体前葉の構造は複雑で，動物種によってもかなりの相異を示し，その機能の複雑さと相まって，形態学的にはなお多くの未解決の問題を残している。下垂体についての形態学的研究法は現在では著しく発展し，従来から用いられてきた特殊(分別)染色法による光学顕微鏡の観察のほかに，物質や酵素などを検出する細胞化学的方法，免疫細胞化学的方法などが用いられ，また電子顕微鏡を用いた微細構造の面からの細胞学，細胞化学，免疫細胞化学などの方法が用いられている。さらに下垂体前葉の各種の腺細胞の機能を推定するために，下垂体の標的器官の摘除，ホルモンの投与，間脳の破壊など各種の実験形態学的手法が取り入れられ，光学および電子顕微鏡による観察に

よって，前葉の腺細胞の機能的分類が試みられている。

このように下垂体前葉の研究は最近の4半世紀に医学，生物学の分野の花型として登場し，今やその開花期にあると言っても過言ではない。現在，下垂体前葉の研究については形態学的研究だけでも1000編に余る論文があり，今回の総説では到底そのすべてを紹介すべくもないが，特に組織，発生，細胞学，微細構造を含む形態学に重点をおいて，また畜産学と直接関連のある家畜を主として，この複雑で膨大な研究業績をできるだけ簡明にまとめて紹介したい。

下垂体の構成と発生

哺乳類では下垂体は脳底に突出している小体で，脳底を構成する蝶形骨の下垂体窩(トルコ鞍)のくぼみにはまり込んでいる。下垂体の大きさは牛や馬ではそら豆大，豚や犬では豌豆大であるが，鶏やネズミでは米粒よりも小さい。下垂体は前葉(遠位部)，中間部(中間葉)，隆起部，および神経葉(後葉)の4部からなるが，それらの発達程度は動物種によって様ではない。同じ哺乳類でも象¹⁾や海牛²⁾，抹香鯨³⁾，いか⁴⁾，ビーバー⁵⁾などのような水棲動物では中間部を発達させないし，鶏など鳥類では中間部を欠欠する^{6,7)}。またヘビ，魚類，円口類などは隆起部をもたない。

発生学的には神経葉は神経性の漏斗突起から起こるが，他の3部はすべて外胚葉性の口窩の上皮に由来する。その発生を見ると犬や猫では体長6mm程度の胎児期に口窩の上皮が脳底に向う小さい突出，すなわちラー

トケ囊を突出させる。このラートケ囊の先端は脳底に達し、その基部はくびれて、やがて口腔との連絡を断つ。一方、脳底からも漏斗突起が下方へ膨出してラートケ囊の先端と接着する。漏斗突起はやがて下垂体神経葉に分化し、またラートケ囊の先端は著しく肥厚して下垂体前葉となるが、その先端、後方に向って神経葉と接する部分は中間部となる。またラートケ囊の両側に外側突起が出て、これが漏斗突起の基部に向って伸びた部分は隆起部(これは脳底の灰白隆起に接するからこの名がある)になる。ラートケ囊の内腔は発生の途中で消失することがあるが、前葉と中間部の間にはさまって狭い下垂体腔として遺残することが多い。特に牛や豚ではこれが顕著である。

下垂体の形態発生については古くは HERRING⁹⁾, ATWELL¹⁰⁾, SCHWIND¹¹⁾ らによって研究され、最近では、GLYDON¹²⁾, CONKLIN¹³⁾, CAMPBELL¹⁴⁾ らの研究がある。鳥類では RAHN⁵⁾, PAYNE¹⁵⁾ らの研究があるが、WINGSTRAND⁸⁾ によってその形態発生は完成された観がある。現在では電顕を用いた下垂体の細胞発生の研究^{16,17,18)} が盛んで、特に光顕による観察との比較において、より詳細な細胞分化の過程と時期を決定しようとする試みが多い。

下垂体の区分と構造

下垂体は通常つぎのように区分される。

神経性下垂体	正中隆起 <i>Eminentia mediana</i>
Neurohypophysis	神経葉 <i>Pars nervosa</i> (neural lobe)
腺性下垂体	隆起部 <i>Pars tuberalis</i>
Adenohypophysis	中間部 <i>Pars intermedia</i> 前葉(遠位部) <i>Pars distalis</i>

正中隆起と神経葉はともに漏斗突起から起こり連続するが、両者の違いは血管分布で、門脈系に流入する血管叢を受けている部分は正中隆起で、一般静脈に流入する血管を受けている部位は神経葉である。

腺性下垂体は隆起部、中間部、前葉(遠位部)の3部からなる。隆起部は正中隆起を覆う腺性正中隆起と門脈を容れる腺性柄からなり、前葉に続くが、色素好性細胞を含まない点で前葉とは異なる。

中間部は神経葉に接した腺葉の一部で、組織学的には一様な塩基好性細胞からなり、その量は動物種によって著しく異なる。ある種の動物(犬、猫)では中間葉として発達し、神経葉を包むものもあるが、牛や羊ではこの発達が悪く、この葉の一部、下垂体腔に面する側は前葉組織からなる¹⁹⁾。このような前葉が分離してできた層をウルゼンの円錐 (cone of WULZEN) と呼ぶ。

前葉または遠位部は中間部を除く腺葉全体を占める。この葉は数種の色素好性細胞が混在した組織からなる。中間部を欠く動物(象、鯨、鳥類など)では腺葉全体が前葉細胞に似た各種の色素好性細胞を含み、これらの中には中間部細胞に相当する細胞が含まれている可能性があり、また腺葉は中間葉ホルモン(MSH)を含む。

家畜の下垂体前葉では各型の腺細胞はすべて均等に分布している訳ではない。酸好性細胞の多い酸好性細胞層(周辺部)と塩基好性細胞の優勢な塩基好性細胞層がある。隆起部に接し、それから前葉の前腹側中央部に伸びる塩基好性細胞層は DAWSON と FRIEDGOOD^{20,21)} によって *Zona tuberalis* 隆起層と呼ばれ、その後多くの哺乳類ではこれに相当する部位があることが知られている^{8,22)}。このような下垂体の層形成は細胞分布の相異のみならず、部位による機能的な相異があることを示している。

下垂体前葉細胞の分類と名称

下垂体前葉の細胞型の区分および命名については従来から多くの試みがなされたが、現在でもなお著しく混乱していると言わざるを得ない。分類法には純粋に形態学的あるいは染色性による方法、細胞化学的性質による方法、単純にギリシャ語の文字を用いた命名法などのほかに、現今では分泌するホルモン名を冠した名称が多く用いられている。

下垂体前葉細胞は最初に SCHÖNEMANN²³⁾ によって、分泌顆粒の染色性によって酸好性細胞、塩基好性細胞および色素嫌性細胞(主細胞)の3型に分けられ、さらにこれらの細胞型はそれぞれ異なる分泌機能を有することが明らかにされた²⁴⁾。その後、6種類の前葉ホルモンの存在が明らかになるにつれて、前葉ホルモンがそれぞれ独立した細胞型から分泌されると考えるならば、6種類の細胞型があるべきで、未知の細胞型はこの3者のいつれかに含まれるものと考えねばならず、細胞を3型にのみ分類するのでは不都合となった。そこで各ホルモンの分泌細胞をより合理的に説明するために細胞型をさらに細分する試みがなされた。すなわち従来は同じ酸好性細胞とされたものでも、酸性色素への親和性の違いによって、オレンジ好性細胞(orangeophil), カルミン好性細胞(carminophil), エリスロシン細胞(erythrosinophil), 酸フクシン好性細胞(fuchsinophil)などと細分されるようになった。一方、塩基好性細胞の染め分けは難かしく、アルデハイドフクシン染色(AF), アルシアン青染色(AB), アルデハイドチオニン染色(AT), PAS反応など各種の染色法を発達させたが、最近ではPAS反応と塩基性色素に対する親和性をもとにAF+細胞, AB

＋細胞, PAS 赤細胞, PAS 紫細胞などと呼ぶこともある。また酸性色素と塩基性色素の両者に親和性をもつ細胞を両好性細胞 *amphophil* と呼び、中性色素に染まるものを中好性細胞 *neutrophil* と呼ぶこともある。

いずれにしても従来のような色素親和性のみによって6種類の細胞を命名することは困難であるので、ROMEIS²⁵⁾ はギリシャ語の頭文字をとった命名法を提唱し、酸好性細胞を α , ε , η 細胞に分け、塩基好性細胞を β , δ , および γ 細胞に分けた。ROMEIS のクレゾフクシン染色によると β 細胞の顆粒は染まるが、 δ および γ 細胞の顆粒は染まらない。アザン染色では β 細胞と δ 細胞の顆粒の染め分けは困難である。その後 GOLDBERG と CHAIKOFF²⁶⁾ は MASSON のトリクローム染色によって紫色に染まる ζ 細胞を追加し、TIXIER-VIDAL²⁷⁾ は鳥類で k 細胞を区別している。しかしこの分類法にも研究者の間に多くの混乱がある。例えば HALMI^{28,29,30)} の β 細胞は HERLANT^{31,32)} や TIXIER-VIDAL³³⁾ の δ 細胞に相当し、HALMI の δ 細胞は HERLANT の β 細胞に相当する。いずれにしてもこの命名法を用いるためには各種の染色法によるおのおのの細胞型の染色性についての詳細な記載が必要であり、また異った染色法を用いた場合には連続切片法による各細胞型の確実な同定が必要である。

最近、もっとも多く使用されている命名法は各細胞型をそれらが分泌するホルモンの名を冠して命名する機能的命名法である。これは最初に PURVES と GRIESBACH^{34,35,36)} によって生殖腺刺激細胞 *gonadotrophs*, 甲状腺刺激細胞 *thyrotrophs*, 副腎皮質刺激細胞 *adrenocorticotrophs* などと用いられたが、VAN OORDT³⁷⁾ はこれをさらに略して、STH 細胞, ACTH 細胞, TSH 細胞, FSH 細胞, LH 細胞, LTH (PRL) 細胞と呼ぶことを提唱した。この方法は細胞の機能との関連については最も明解な命名法であるが、この命名法を用いるためには各細胞型の機能が明解に確認されていることが必要であり、機能の不明確な細胞には適用できない。しかし最近では蛍光抗体法や酵素抗体法などの免疫細胞化学や電子顕微鏡の利用などによって、各細胞型の機能はしだいに明確になりつつあるので、この分野ではこの命名法がおもに用いられており、今後使用すべき学名としても最も合理的なものと考えられる。

前葉細胞の染色性と細胞型

1. 前葉細胞の染色性

前葉細胞を染め分けるためにおもに用いられてきた方法は HEIDENHAIN のアザン染色³⁸⁾, MALLORY 染色の

CROSSMON 変法³⁹⁾, SEVERINGHAUS 染色⁴⁰⁾, GOLDBERG-CHAIKOFF のトリクローム染色²⁶⁾, HERLANT のテトラクローム染色³¹⁾, GOMORI のアルデハイドフクシン (AF) 染色⁴¹⁾, STEEDMAN のアルシアン青 (AB) 染色⁴²⁾, WILSON-EZRIN の PAS-オレンジ G-メチル青 (PAS-OG-MB) 染色⁴³⁾, PAGET-ECCLESTON⁴⁴⁾ のアルデハイドチオニン-PAS-ファースト緑 (AT-PAS-FG) 染色などである。これらの染色法またはその組み合わせによって、前葉細胞を6型に識別することができる。これらの特殊染色では細胞の生産物つまり分泌顆粒を染め分けているものが多い。したがって染色法としては細胞質の基質をほとんど染めないで、分泌顆粒のみを強く染める色素が望ましい。細胞質の蛋白を一様に染めるメチレン青やトルイジン青などの単純な塩基性色素や対称染色として用いられる酸性色素はこの目的には効果がない。酸性色素で特別に染まる顆粒を含む細胞を酸好性細胞 *acidophil* と呼び、塩基性色素で染まる顆粒を含むものを塩基好性細胞 *basophil*, 両者に染まる顆粒を含むものを両好性細胞と呼ぶ。酸好性細胞をさらに細分して染め分けるためにオレンジ G, 酸フクシン, エリスロシン, アゾカルミンなどの酸性色素の混合液が用いられる。酸好性顆粒はオレンジ G で橙色に染まるものとフクシンなどで赤色に染まるものとに区別ができる。これはそれぞれの顆粒を構成する蛋白の違いによるものと考えられる。さらにこれにアニリン青やメチル青などの塩基性色素による染色を重ねると、塩基好性顆粒は青, 紫, 青紫, 赤紫などの色に染め分けることができる。

細胞型を区別するためには、おのおのの細胞の色が鮮やかに区分されており、互いの間に中間的な色調のものがないことが条件となる。染色性は染色液の濃度はもとより、染色時間、染色前後の処理(媒染と弁色), 各染色のバランスなどで著しく異なり、1つの色素による染色が強すぎれば他の色素による染色は覆われて、しばしば単染色のように見えることがある。したがって下垂体の染色には豊富な経験と熟練を要する。

また特殊染色によって細胞型を区分するためには、細胞の機能状態が重要な問題となる。分泌顆粒を充満して休止相にある細胞は濃く明瞭な色調に染まるが、顆粒を放出している分泌相にある細胞は、貯蔵された顆粒が少ないために色調は淡く、細胞質の蛋白や核酸の染色にかくれて不明瞭な色を呈する。したがって顆粒をごく僅かしか含まない細胞は酸好性細胞か塩基好性細胞かの区別さえも難しい場合が多い。このことは電顕ではごく僅かの顆粒さえ存在すれば細胞型が確認できるのと比べて著しい弱点である。細胞の形態や大きさなどは機能状態

によって大きく変化するので、正常な場合は細胞型の区別にはほとんど役立たない。

さらに下垂体の細胞の染色性は動物種によっても著しく異なる。それは動物種によって各細胞型の比率が異なるばかりでなく、染色反応の強さや性格が異なるからである。このことは動物種によるホルモンの特異性によるものかも知れない。哺乳動物のなかで各細胞型が比較的染め分け易い動物は、犬、猫、コウモリ、牛、綿羊などで、ネズミやモルモットなどでは酸好性細胞を2型に区別することが難しい。特に鶏などの鳥類では分別染色による細胞型の区分はきわめて困難である。

一方、前葉ホルモンのうち TSH, FSH, LH は炭水化物を含む糖蛋白性のホルモンであることから、炭水化物の細胞化学的検出法として McMANUS⁴⁵⁾ によって開発された PAS 反応がしばしば細胞型の染め分けに用いられている。実際に下垂体では塩基好性細胞が PAS に反応して強い赤またはレンガ赤色に発色する。PAS 反応は反応の機構がわかっており、従来の経験的な特殊染色法と比べると細胞化学的な根拠がある。PAS 反応と組み合わせた特殊染色法として WILSON-EZRIN⁴⁸⁾ による PAS-OG-MB 染色や、PAGET-ECCLESTON⁴⁴⁾ による AT-PAS-FG 染色などが開発され、下垂体の細胞学の研究に大きな貢献を与えている。細胞化学的方法としてはこの他に磷脂質を染める BAKER⁴⁶⁾ の酸ヘマチン法や SH 基を染めるための BARNETT-SELIGMAN⁴⁷⁾ 法などが用いられたが、これらの染色機構はいまだ十分には明らかでない。

2. 酸好性細胞

酸好性細胞に2型があることは多くの動物について明らかにされている。この2型の酸好性細胞を最初に区分したのは DAWSON と FRIEDGOOD^{30,31)} で、猫と兎の下垂体前葉でオレンジ G で橙色に染まるオレンジ好性細胞 (orangeophil, α 細胞) とアゾカルミンで赤色に染まるカルミン好性細胞 (carminophil, ϵ 細胞) を区別した。その後、これらの2型の酸好性細胞は牛^{48,49)}、綿羊^{50,52,53)}、犬^{26,51,54,55)}、コウモリ⁵⁷⁾などで同様に観察されている。 α 細胞は PAS-OG 法で染めると橙色に染まるが、 ϵ 細胞は PAS の赤色とオレンジ G の黄色をとって赤橙色に染まる^{50,51,54)}。このことは α 細胞は PAS に反応しないが、 ϵ 細胞は PAS に弱く反応することを示すものである。しかし犬の前葉を固定する前に pH 7.5 の緩衝液で抽出してから PAS 反応を行なうと、塩基好性細胞の顆粒は溶出するが、カルミン好性顆粒は抽出されないで PAS に反応するので、カルミン好性顆粒は糖蛋白ではなくて不溶性の蛋白であろうと考えられる⁵⁴⁾。また

2.5% トリクロール酢酸で抽出しても α 細胞も ϵ 細胞も顆粒は抽出されない。磷脂質を検出するための BAKER の酸ヘマチン法⁴⁶⁾ では α 細胞も ϵ 細胞もともに顆粒が強く反応し^{50,51)}、LANDING-HALL のジアゾ青 B⁵⁸⁾ でも酸好性顆粒はアゾ色素と結合して明瞭な緑色に染まる⁶⁰⁾。また SH 基 (sulfhydryl および disulfide group) を染めるための BARNETT-SELIGMAN⁴⁷⁾ 法では酸好性細胞のみが染まることが認められたが⁵⁹⁾、この染色は ZENKER 液で固定した材料しか反応しないので、純粋に cystine の存在によるとは言い難い⁶⁰⁾。

酸好性細胞が生長ホルモン分泌細胞であることは 1927 年に CUSHING と DAVIDOFF⁶¹⁾ が人の末端肥大症 acromegaly が酸好性細胞腫によることを発見して以来、多くの観察によって確かめられている。例えば矮小マウスや小びとでは酸好性細胞が欠除していることが知られており⁶²⁾、また甲状腺摘出によって生長が停止する際には酸好性細胞が消失することが多くの研究者によって報告されている^{63,64)}。甲状腺摘出によって消失する酸好性細胞はオレンジ好性細胞 (α 細胞) であってカルミン好性細胞 (ϵ 細胞) には変化がないので⁶⁵⁾、 α 細胞が生長ホルモン分泌細胞であることが明らかである。その後、多くの免疫細胞化学的研究はこの結論を追証している。

酸好性細胞の他の一型、カルミン好性細胞 (ϵ 細胞) は動物の妊娠期や泌乳期に活動的になることからプロラクチン (PRL) 産生細胞と考えられる。このことは猫^{20,21,66)}、兎²¹⁾、サル⁶⁷⁾、コウモリ⁶⁷⁾、牛⁴⁹⁾、綿羊⁵⁰⁾、犬⁵¹⁾など多くの動物において確認された。兎では交尾後1時間以内に排卵を起こすための LH の分泌が起こるが、この時期には LH 分泌細胞と思われる塩基好性細胞の顆粒が放出される。交尾後3-4時間でカルミン好性の顆粒が蓄積され、続く10時間の間にこの顆粒は漸次放出される⁶⁸⁾。このことから ϵ 細胞は LTH (PRL) 分泌細胞であると考えられ、猫でも同様の観察が行なわれている⁶⁹⁾。またコウモリでは繁殖期に ϵ 細胞は2相の分泌活動を行うことが知られている⁶⁷⁾。すなわち最初は排卵時と妊娠の後半期で、つぎは分娩の直前と泌乳期に分泌活動が盛んになる。これらのことは ϵ 細胞が黄体形成作用や泌乳作用をもつプロラクチンを分泌することを示すものである。

3. 塩基好性細胞

塩基好性細胞は、従来、塩基性色素に染まる顆粒を含む細胞を意味していたが、最近ではこれらの顆粒は PAS 反応に陽性の糖蛋白を含むことが明らかとなったので、粘液細胞 mucoid cell と呼ばれることもある。塩基好性細胞の顆粒は塩基性色素による単染色では糖蛋白による赤紫色の異調染色 metachromasia を示す。前葉ホル

モンの糖蛋白に着目して下垂体前葉にPAS反応を行い、実験的変化と対照してTSH細胞、FSH細胞、LH細胞を最初に区別したのはPURVESとGRIESBACH⁸⁸⁻⁸⁶⁾である。しかし、分別染色でこれらの3型を区別することは容易ではなかった。ROMEIS²⁶⁾は人の前葉にクレゾフクシン染色を用いて、これに好染する β 細胞と染まらない δ 細胞および γ 細胞の3型の塩基好性細胞を区別した。アザン染色では β 細胞と δ 細胞の分別は困難であるが、 γ 細胞は容易に識別できる。その後、弾性線維の染色法として知られるGOMORIのAF染色⁴¹⁾が β 細胞を撰択的に染めることが発見された^{89,94,95)}。しかしこの染色も固定法やその後の処理、あるいは染色液の熟成度などによって一定ではなく、場合によっては他の塩基好性細胞を染める欠点がある。またSTEEDMAN⁴²⁾によるAB染色が β 細胞を撰択的に染色することが報告されている⁵⁶⁾。さらにPAGETとECCLESTONはAT染色を開発したが、この染色性はAF染色とはかなり異なり、 δ 細胞の顆粒を染める^{49,50)}。

多くの動物において3型の塩基好性細胞があることが知られている^{84,95,96,99,44,62,68,67,69,70,71,78)}。これらの3型はWILSONとEZRINのPAS-OG-MB染色⁴³⁾やHERLANTら⁸¹⁾のAB-PAS-OG染色、PAGET-ECCLESTONのAT-PAS-FG染色⁴⁴⁾などで染め分けることができる。3型の塩基好性細胞とはROMEIS²⁶⁾やHERLANT^{81,92)}の β 細胞、 δ 細胞、 γ 細胞であり、機能的にはTSH細胞、FSH細胞、LH細胞である。一般にTSH細胞(β 細胞、HERLANTの δ 細胞)はAFやAB染色に撰択的に染まる。 γ 細胞(LH細胞)はPASに弱く反応するが、AFやABにはpH3で酸化しても染まらないので、ある種の動物では酸好性細胞または両好性細胞に含まれることもある^{81,92,49,50)}。

WILSONとEZRIN⁴³⁾はPAS-OG-MB染色でラットの下垂体の塩基好性細胞をPAS赤細胞とPAS紫細胞の2型に分け、前者をTSH細胞、後者をGTH細胞とした。過ホルミック酸で酸化した後、AB-PAS-OG染色を行なうと塩基好性顆粒はS型とR型の2型に分けられ⁶⁰⁾、S型顆粒は比較的高濃度にcystineを含み⁷²⁾、GTH細胞に含まれるが、R型顆粒はTSH細胞に含まれると言われる。MIKAMIら⁵⁰⁾はAT-PAS-FG染色によって緬羊の前葉に3型の塩基好性細胞を認めた。その1型はATに強く染まり青黒色で、2型はATに弱く染まって紫色を呈し、第3型はPASにのみ反応して赤色を呈した。連続切片の比較によって1型は δ_1 細胞(LH細胞)、2型は δ_2 細胞(FSH細胞)、3型は β (TSH細胞)および ζ 細胞(ACTH細胞)であることを明らか

にした。

ラットにおいてFSH細胞とLH細胞の染め分け法はまだ確立されていない。これらは同一細胞であることも考えられるし、また異った細胞型であっても染色性が似ていて識別が不可能な場合もある。このような場合、両者を合わせて生殖腺刺激細胞 gonadotrophs (GTH細胞)と呼ぶ。しかしRENNELS⁷⁸⁾やHILDEBRANDら⁷⁴⁾はPAS-OG-MB法を用いて、粗大な紫色の顆粒を含むFSH細胞とび満性の赤色の顆粒を含むLH細胞を染め分けた。これはHELLBAUMら⁷⁵⁾によって追証されたが、他の研究者は成功しなかった。FSH顆粒とLH顆粒を見分けるためにPURVESら^{58,54)}は緩衝液による抽出試験を提案した。それによるとび満性に顆粒を含むGTH細胞は顆粒が溶出し難く、またLH活性のみが残ったので、これらをLH細胞とした。BERRNETTら⁷⁶⁾は2.5%トリクロール酢酸による抽出によって同様の結果を得ている。

4. 両好性細胞

GOLDBERGとCHAIKOFF²⁶⁾は犬で第6の細胞型として ζ 細胞を記載した。この細胞はPURVESとGRIESBACHのpale細胞⁹²⁾や ζ 細胞⁵⁸⁾に相当し、明瞭な染色性を示す顆粒を含まない点でROMEISの γ 細胞に相当する。アザン染色では淡い細胞質中に不規則に分散した淡紫色の顆粒が認められる。MIKAMIら^{49,50,51)}はトリクローム染色でこの細胞を両好性細胞とした。顆粒はPASに弱く反応するが、AFやAT、ABに染まらず、PAS-OG-MB染色やAB-PAS-OG染色で赤色を呈するので、人⁸⁹⁾、犬²⁶⁾、山羊⁵⁸⁾などの ζ 細胞に相当し、WILSONとEZRIN⁴³⁾のPAS赤細胞、EZRINとMURRAY⁷⁸⁾の β_1 細胞、PEARSEとVAN NOORDON⁷⁹⁾のR型細胞に相当する。副腎を摘出した犬や羊では ζ 細胞は著明に肥大して副腎摘出細胞に発達する^{50,80)}ので、 ζ 細胞はACTH分泌細胞であると考えられる。EZRINとMURRAY⁷⁸⁾も人の β_1 細胞はACTH分泌細胞であると考えたが、RACADOT⁸¹⁾は猫の下垂体でACTH細胞は色素雄性細胞であると述べている。

前葉の免疫細胞化学

1. 蛍光抗体法

蛍光抗体法は1951年にCONN⁸²⁾によって開発され、その後の20年間に著しい発達を遂げた組織化学的方法である。その原理は抗原抗体反応を主とする免疫学的な組織反応である。この方法は蛋白、酵素、ホルモンなどの物質が純粋な形で分離精製される限り、それを抗原として抗体を作って蛍光色素でラベルし、これを用いて組織

細胞と抗原抗体反応を行なわせ、物質の局在を組織学的に検出する方法である。したがって細胞内における特定の物質やホルモンなどは免疫学的に直接組織上に証明できるわけで、下垂体では各ホルモンの分泌細胞を同定するためには最も優れた方法の1つと言えよう。

下垂体では生長ホルモン分泌細胞の同定が最初に行なわれ、酸好性細胞 (α 細胞) が生長ホルモン分泌細胞であることが明らかになった^{88,84,85,86,87,88}。また生長ホルモン (STH, GH) を分泌する酸好性細胞とプロラクチン (PRL) を分泌する酸好性細胞は別種の細胞型であることが明らかにされた^{85,87,88}。EMMART^{87,88} は羊の PRL を抗原として抗血清を作り、抗 PRL グロブリンを蛍光色素でラベルして、猫⁸⁷ とラット⁸⁸ の下垂体を染め、酸好性細胞に PRL を検出した。椎野⁸⁹ はラットと兎の下垂体の凍結乾燥切片に羊の GH と PRL を抗原とした蛍光抗体法を用い、GH と PRL はそれぞれ異った2型の酸好性細胞に存在することを明らかにした。NAYAK⁹⁰ は牛の下垂体では羊の PRL に対する蛍光抗体は AT-PAS-OG 法で PAS に弱く染まる酸好性細胞と反応するが、GH は OG のみに染まる酸好性細胞に存在することを認め、 α 細胞が STH 細胞であり ϵ 細胞が PRL 細胞であると言う従来の細胞学的研究の結果を裏付けた。また STOKES と BODA⁸¹ は羊の GH と PRL に対する蛍光抗体を用いて、羊の胎児の下垂体の GH および PRL の分布とその初期発生について検討し、抗 GH による蛍光は新生児や成熟羊では aurantiphil (α 細胞) のみに検出され、胎児では胎生 43-53 日に始めて出現したが、抗 PRL 蛍光は erythrophil (ϵ 細胞) に認められ、胎生 80-88 日で検出されたと述べ、この時期は染色によって α 細胞 (胎生 73-95 日) や ϵ 細胞 (胎生 105-125 日) が検出される時期よりも著しく早いことを明らかにした。

ACTH 細胞については多くの研究があり、PAS に弱く反応する R 型細胞であるとする意見が強いが、BREUS-TEDT⁹¹ は合成 β^{1-2} corticotrophin および抽出豚 ACTH に対する兎抗血清の蛍光抗体によってラットの ACTH 細胞を検出し、PF-AB-PAS-OG 染色による R 型および S 型粘液細胞は陰性で、色素嫌性細胞または多角細胞が ACTH 細胞であると述べている。最近 DUBOIS⁹² は蛍光抗体法によって牛、羊、豚の中間部の細胞は α -および β -MSH を分泌するが、前葉では ACTH 細胞は ACTH と β -MSH を分泌すると述べている。

TSH 細胞については MCGARRY^{93,94} は TSH と ACTH は同一の R 型細胞から分泌されると述べ、BROZMAN⁹⁵ は TSH 細胞は AB 陽性の S 型細胞であり、

ACTH 細胞とは区別されると述べて一致しないが、これは蛍光抗体法の場合、対照染色が難しいことに原因するものと考えられる。

FSH 細胞と LH 細胞については MIDGLEY⁹⁶ は LH 細胞は AF および PAS 陽性の S' 細胞であると述べ、KRACHT^{97,98} は LH は S₁ 型細胞、FSH は S₂ 型細胞に存在するとし、DUBOIS⁹⁹ は抗 HCG 抗体と交叉反応をする牛の LH 細胞は小型の PAS+, AB+ 細胞で、前葉のほか隆起部、中間部にも分布し、PAS+, AB- の FSH 細胞や、PAS-, AB+ の TSH 細胞から区別できると述べている。

2. 酵素抗体法

NAKANE¹⁰⁰ によって開発された免疫組織化学的方法で、その原理は蛍光抗体法における蛍光色素の代りに酵素を用いる。この酵素はなるべく動物組織に存在しない純粋なもので、反応様式もわかっており、反応最終産物が光顕または電顕下で可視であることが必要である。一般に酵素としては horseradish peroxidase が用いられ、反応の発色には 3-3'-diaminobenzidine (DAB) が用いられる。この方法は蛍光抗体法と異なり、反応産物は永久標本にできるほか、光顕と電顕の両方で観察できることである。したがって特殊染色との併用による細胞の同定や電顕による微細構造との比較が容易で、きわめて優れた方法であり、この方法は今後最も多く用いられるものと考えられる。

この方法を下垂体前葉ホルモン分泌細胞の同定に最初に用いたのは NAKANE¹⁰¹ で、ラットの STH, ACTH, PRL, TSH はそれぞれ異った細胞に分布するが、FSH と LH はしばしば同一細胞内に認められることがあると述べている。BAKER¹⁰² は酵素抗体法をラットの下垂体に応用して GH と PRL を検出し、MASSON のトリクローム法による対照染色によって、それらが2型の酸好性細胞に別々に存在することを明らかにした。また豚の ACTH に対する peroxidase でラベルした抗体を用い¹⁰³、ラットの ACTH 細胞は多角形で突起をもった星状細胞であり、AF や PAS に弱く染まると述べた。彼らによると ACTH 細胞は比率は少ないが、中間部に接する部位や後部を除いて前葉全体に分布し、その大きさは ACTH の含量の生理的変化に伴って増減し、副腎摘出によって増大するが、cortisol 投与によって減少するという。さらに BAKER¹⁰⁴ は人の抗 TSH 抗体を用いてラットの TSH 細胞を検討し、TSH 細胞は多角形で AF および PAS 陽性の細胞で細胞索の中央部に位置し、側葉の正中部と中間部の直下に多く分布するが、背頭側部には稀であると述べ、また¹⁰⁵ TSH 細胞は他の研究

者によって形態学的にあるいは染色性や分布によって TSH 細胞と言われてきたものによく一致したと述べている。BAKER ら¹⁰⁵⁾は牛の α - および β -LH の抗血清を用いてラットの LH 細胞を検討し、ラットでは β -LH は LH 細胞を選択的に染めたが、 α -LH の抗血清は LH 細胞と TSH 細胞の両者に反応したと述べた。最近、TOUGARD ら¹⁰⁶⁾は羊の LH とその 2 つの subunit, LH α と LH β に対するモルモットの抗血清を用いてラットの下垂体の LH 細胞を光顕と電顕で検討した。その結果、LH は AB-PAS 染色で紫色に染まる細胞に認められたが、この細胞は LH α および LH β にも反応した、しかし AB-PAS で青色の細胞は LH α のみに反応したと述べている。これを電顕で観察すると 2 型の塩基好性細胞が LH, LH α , LH β に反応し、その 1 型, A 型細胞は 2 型の球形の分泌顆粒 (径 200 m μ と 300-700 m μ) を含み、去勢によって肥大して空胞化した。他の 1 型, B 型細胞は小型で径 200 m μ の小型球形顆粒のみを含むと述べている。また細胞内における反応産物の分布は、顆粒に最も強く出現するが、去勢によって肥大した細胞では細胞質の一部にも出現し、また粗面小胞体の内腔にも出現することがあると述べている。

下垂体前葉の微細構造

近年電子顕微鏡の開発と技術の改良によって形態学特に細胞学の研究は大きな変革を遂げた。下垂体の研究においても電顕は今や最も有力なそして欠くことのできないものとなった。それは主として電顕の高い分解能による。下垂体について電顕を最初に用いたのは FERNÁNDEZ-MORÁN と LUFT¹⁰⁷⁾で、当時は超薄切片の技術が発達しなかったため細胞のスメアーやレプリカについて観察し、酸好性顆粒と塩基好性顆粒の大きさが著しく異なることを発見した。その後、超薄切片技術の急速な発達に伴って多くの研究が行われた。RINEHART と FARQUHAR ら¹⁰⁸⁾は酸好性細胞には径 350 m μ の球形顆粒を含むものと、径 400-700 m μ の卵円形顆粒を含むものとの 2 型があることを明らかにし、続いて^{109,110,111)}塩基好性細胞にも 2 型があり、その 1 型は TSH 細胞で径 140 m μ の顆粒を含むが、他の 1 型は GTH 細胞で径 200 m μ の顆粒を含むことを明らかにした。電顕による下垂体の研究はその後 BARNES^{112,113)}, KUROSUMI¹¹⁴⁾, HERLANT^{115,116)}らによって発展され、現今では下垂体の研究者の大半は電顕を用いていると言える。さらに電顕による細胞化学や酵素抗体法が発達し、またエポキシ切片の染色技術の発達に伴い、電顕と光顕との対比研究法などが旺んに用いられている⁴⁹⁾。

1. 細胞の微細構造とホルモン産生機序

前葉ホルモンはすべて蛋白性であるので、腺臓その他の蛋白分泌腺と同様の機序で腺細胞において生産され、分泌顆粒として一時期、細胞内に貯えられ、放出ホルモンの作用によって血流中に放出される。したがって前葉の腺細胞はよく発達した粗面小胞体や GOLGI 装置をはじめ、自由リボゾームやミトコンドリア、ライソゾームなどを含む。前葉ホルモンは粗面小胞体に付着するリボゾームにおいて合成され、粗面小胞体の内腔に分離される。この蛋白は GOLGI 装置に運ばれ、ここで濃縮されて分泌顆粒が形成される。この際、GOLGI 槽の壁には酸性フォスファターゼやチアミンピロフォスファターゼなどの酵素が認められることから^{117,118,119)}、これらの酵素が蛋白の濃縮や糖質や脂質の附加などに関与するものと考えられる。濃縮された物質は GOLGI 装置に由来する膜に包まれ、一定の大きさの小胞あるいは顆粒となって GOLGI 装置から遊離し、細胞質中に分散する。したがって GOLGI 装置の附近には種々の成熟段階の顆粒が認められる。分泌顆粒の大きさは産生されるホルモンの種類によってほぼ一定しているので、これが細胞型の区分に役立つ。細胞表面に移動した分泌顆粒は視床下部からの放出ホルモン (RH) の刺激によって細胞膜を通過して細胞外(血管周辺腔)へ放出される。放出機序ははじめ顆粒膜が細胞表面の形質膜に癒着し、その部分に小孔が開いて、顆粒内容は細胞外に出て、顆粒膜は新しい細胞膜として残る。この形式を開口分泌 *emiocytosis* と呼んでいる¹²⁰⁾。しかし前葉ホルモンのすべてがこの様式で放出されているのかどうかは疑わしい。ある種の細胞では開口分泌が見られない。このような場合、おそらく顆粒内容が低分子のものに分解され、顆粒膜と細胞膜を透過して細胞外へ放出されることも考えられる。このような様式を透過分泌 *diacrine secretion* と呼んでいるが、形態学的に実証することが難しい。

前葉ホルモンは正常な状態では上記のような機序で生産され、放出されると考えられるが、ある細胞の機能が極端に刺激された場合、例えば去勢、甲状腺摘出、副腎摘出、放出ホルモンの投与などの場合、それに該当する細胞は著しい形態的変化を示す。この場合、GOLGI 装置が著しく肥大して細胞質中に分散するとともに、細胞質中には粗面小胞体が発達して内腔が拡大し、多数の大小の液胞となって細胞質全体に分散する。これは粗面小胞体で生産された蛋白が GOLGI 装置に運びきれず、内腔に貯溜されたものと考えられ、粗面小胞体の内腔で濃縮される場合と濃縮されないままで細胞膜に開口して流出される場合とがある。このような細胞は著しく肥大する

が、分泌顆粒はきわめて稀である。このような細胞の起源を追究することによって、それが分泌するホルモンとの関係を明らかにすることができる。

2. 前葉の各細胞型の特徴と微細構造

電顕による下垂体前葉細胞の区分は多くの研究者によって各種の動物について行われている^{49,112,114,116}。その多くは前葉細胞を分泌するホルモンの種類に合わせて6型ないし7型に区分し、ホルモン名を冠して命名している。

1) 生長ホルモン分泌細胞 (STH 細胞)

酸好性細胞の1種、オレンジ好性細胞 (α 細胞) に相当し、最も高率に出現する細胞型である。大きさは中等度、円形、卵円形または多角形である。細胞質中に約 $350\text{ m}\mu$ の電子密な球形の顆粒を含み、粗面小胞体と Golgi 装置の発達がよく、しばしば開口分泌像が認められる。特に視床下部の抽出物や GH-RH を投与すると Golgi 装置が発達し、開口分泌像が増加する。

2) プロラクチン分泌細胞 (PRL 細胞, LTH 細胞)

酸好性細胞の他の1種、アゾカルミン、エリスロシン、酸フクシンなどに好染する細胞 (ϵ 細胞) で、最も大型で電子密な不規則な形の顆粒を含むことが特徴である。顆粒は円形、卵円形、コマ型などを呈し、その大きさは長径 $600\sim 900\text{ m}\mu$ におよぶ^{117,121,122}。また粗面小胞体が著しくよく発達し、細胞の一端で平行な層板状または渦巻き状をなすことが多い^{101,117,118,123,124}。分泌顆粒は兎では交尾後増加し、ラットでは泌乳期やエストロゲン処理によって増加する。HYMER と McSHAN¹²⁵ はラットで遠心分画によってこの顆粒を集め、これが PRL 作用があることを明らかにした。

3) 副腎皮質刺激ホルモン分泌細胞 (ACTH 細胞)

ACTH 細胞についてはなお論議のあるところである。それは分泌顆粒が著しく小型で明瞭な染色性を示さないことから光顕による結果との比較が容易でないことによる。しかし同一細胞を光顕と電顕で比較すると、ACTH 細胞は5細胞に一致することが認められた⁴⁹。FARQUHAR¹²³ や KAGAYAMA¹²⁷ はラットでは顆粒をもたない小胞細胞が ACTH 細胞であると述べたが、KUROSUMI^{114,126,129} や RENNELS ら^{121,130} は ACTH 細胞は直径 $200\text{ m}\mu$ 以下の有芯顆粒をもつ不規則な多角形の突起を有する細胞であると述べている。ACTH 細胞の分泌顆粒は著しく小型であるので、同様に小型顆粒を含む TSH 細胞との区別が難しい^{131,132,133}。しかし TSH 細胞との区別は顆粒内容が顆粒膜との間に明るい空隙をもつことによって見分けられる。しかしこの空隙はオスミウム酸固定では明瞭であるが、グルタルアルデヒド固定では認

められないことから、固定中に顆粒の一部が溶出するのではないとも言われる^{130,134}。副腎摘出によってこれらの細胞は増数、肥大して分泌顆粒を失った副腎摘出細胞に発達する。

4) 甲状腺刺激ホルモン分泌細胞 (TSH 細胞)

塩基好性細胞の一種、 β 細胞で、AF や AL に陽性、PAS-OG-MB 法で PAS 赤に染まる小型多角形の細胞である。直径 $100\sim 180\text{ m}\mu$ の電子密な小型球形顆粒を有し、この顆粒は細胞の表面に沿って配列する傾向がある。しかしこの顆粒の大きさについては異論のあるところで、動物種によっても異なり、最小 $100\text{ m}\mu$ ¹³⁵ から $250\sim 400\text{ m}\mu$ ⁴⁹ までの巾がある。甲状腺を摘出したり、放射性ヨウ素を投与すると TSH 細胞は極度に肥大して甲状腺摘出細胞になる。この細胞は Golgi 装置が著しく肥大し、また粗面小胞体の内腔が拡大してコロイド状物質を入れた大小様々の液泡が細胞質全体に出現する。この液泡は核や Golgi 装置の周辺部では小型であるが、細胞の周辺部では大型で、またしばしば内腔に球形または不定形の暗調物質を容れる。分泌顆粒はほとんど消失する。したがってこれらの細胞は著しく分泌機能が高まり、も早 Golgi 装置のみにおいて顆粒を濃縮するゆとりがなく、直接粗面小胞体内で分泌物が形成されているものと考えられる。しかし、甲状腺摘出細胞の起源については異論もあり、halo 細胞、LTH 細胞、LH 細胞または STH 細胞から起ると言う説もある^{136,137,138}。

5) 生殖腺刺激ホルモン分泌細胞 (GTH 細胞)

前葉の2種の生殖腺刺激ホルモン (FSH と LH) が同一細胞から分泌されるのか、別種の細胞から分泌されるかは長い間論議されたが、まだ完全に解決されたとは言えない。FARQUHAR と RINEHART¹⁰⁹ は去勢ラットにおいて2型の GTH 細胞を最初に記載し、FSH 細胞は拡張した内腔をもつ粗面小胞体と均等に分布した分泌顆粒をもつが、LH 細胞は暗調な分泌顆粒の間に flocculent な明るい部分をもつと述べたが、正常な FSH 細胞や LH 細胞については記載していない。BARNES^{112,113} はマウスで FSH 細胞を区別し、KUROSUMI と OOTA¹³⁹ はラットで BARNES の結果と同様の2型の GTH 細胞を区分している。BARNES¹¹³ によるとマウスの FSH 細胞は大形円形または卵円形の細胞で、径 $150\sim 200\text{ m}\mu$ の比較的電子密度の低い球形顆粒と拡張した囊状の粗面小胞体を含むが、LH 細胞は小形卵円形または多角形の細胞で、径 $100\sim 200\text{ m}\mu$ のきわめて電子密な球形顆粒を含む。GIROD と DUBOIS¹⁴⁰ はハムスターで FSH 細胞は大きさの不定な (径 $100\sim 180\text{ m}\mu$) 暗調顆粒と明るい粗面小胞体を含むが、LH 細胞は $100\sim 200\text{ m}\mu$ の暗調顆粒と囊

状の粗面小胞体を含むと述べている。しかし現在、分泌顆粒の電子密度や大きさのみで FSH 細胞と LH 細胞を区分することは確実ではないとする意見も多い^{141,142)}。最近、SHIINO ら¹⁴⁰⁾は LH-RH の投与によって LH 細胞から分泌顆粒が放出される像を見ており、MIKAMI⁴⁰⁾も牛で同一細胞の光顕と電顕の比較によって、明らかに染色性や微細構造の異なる 2 型の GTH 細胞が存在することを認めているので、それらの 2 型について記載しておく。

a) FSH 細胞 塩基好性細胞の一種、 δ_2 細胞で、AT, MB, PAS に陽性、AF, AB に陰性の顆粒を含む大型不定形の細胞で、細胞質中には直径 220~300 m μ の顆粒を含む。粗面小胞体は中等度に拡張し、分泌顆粒の間に分散している。Golgi 装置は発達して輪状をなし、細胞のほぼ中心に位置する。去勢すると分泌顆粒は減少し、粗面小胞体の内腔は著しく拡張し、時には signet ring 状を呈する。

b) LH 細胞 PAS 陽性の顆粒を含む塩基好性細胞の一種、 δ_1 細胞であるが、分泌顆粒は酸フクシンとアニリン青の両者に染まって赤紫色を呈するので両好性細胞とも言える。細胞は中等大、円形または円形に近い多角形で、細胞質中には径 250~300 m μ のきわめて電子密な球形顆粒を充満している。去勢によって細胞は肥大し、細胞質がしばしば針金細工様を呈する。

最近 20 年間における下垂体前葉についての研究の進展は著しく、各種の新しい技術の発達とともに、多数の重要な知見が得られた。この総説ではそのすべてを紹介することはできなかったが、特に重要と思われる知見や今後の研究の方向を示唆すると考えられる研究については詳しく述べた。この総説が下垂体の研究者にとって多少とも参考になり、今後ますますこの分野の研究が進展することを望んで止まない次第である。

文 献

- 1) WISLOCKI, G. B., Anat Rec 74: 321-328. 1939.
- 2) OLDHAM, F. K., D. P. MCGLEERY, and E. M. K. GEILING, Anat Rec 71: 27-32. 1938.
- 3) WISLOCKI, G. B., and E. M. K. GEILING, Anat Rec 66: 17-41. 1936.
- 4) WISLOCKI, G. B., Arch Surg 18: 1403-1412. 1929.
- 5) KELSEY, F. O., L. SORENSON, A. A. HAGEN, and H. J. CLAUSEN, Proc Soc exp Biol 95: 703-704. 1957.
- 6) RAHN, H., J Morphol 64: 483-517. 1939.
- 7) RAHN, H., and B. T. PAINTER, Anat Rec 79: 297-312. 1941.
- 8) WINGSTRAND, K. G., The structure and development of the avian pituitary. Gleerup, Lund. 1951.
- 9) HERRING, P. T., Quart J exp Physiol 6: 73-108. 1913.
- 10) ATWELL, W. J., Amer J Anat 24: 271-337. 1918.
- 11) SCHWIND, J. L., Amer J Anat 41: 295-319. 1928.
- 12) GLYDON, R. St. J., J Anat (Lond) 91: 237-244. 1957.
- 13) CONKLIN, J. L., Anat Rec 160: 79-92. 1968.
- 14) CAMPBELL, H. J., J Anat (Lond) 100: 381-387. 1966.
- 15) PAYNE, F., Anat Rec 96: 77-91. 1946.
- 16) DAIKOKU, S., M. KINUTANI, and Y. G. WATANABE, Neuroendocrinol 11: 284-305. 1973.
- 17) FINK, G., and G. C. SMITH, Z Zellforsch 119: 208-226. 1971.
- 18) MIKAMI, S., T. HASHIKAWA, and D. S. FARNER, Z Zellforsch 138: 299-314. 1973.
- 19) WULZEN, R., Anat Rec 8: 403-415. 1914.
- 20) DAWSON, A. B., and H. B. FRIEDGOOD, Anat Rec Suppl 1, 70: 129. 1937.
- 21) DAWSON, A. B., and H. B. FRIEDGOOD, Stain Technol 13: 17-21. 1938.
- 22) HANSTRÖM, B., Arkiv för Zool 4: 187-294. 1952.
- 23) SCHÖNEMANN, A., Arch path Anat 129: 310-336. 1892.
- 24) SMITH, P. E., and I. P. SMITH, Anat Rec, Suppl 25: 150-151. 1923.
- 25) ROMEIS, B., Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen, 6-3. 1940.
- 26) GOLDBERG, R. C., and I. L. CHAIKOFF, Anat Rec 112: 265-274. 1952.
- 27) TIXIER-VIDAL, A., Arch Anat micr Morphol Exp 54: 719-780. 1965.
- 28) HALMI, N. S., Endocrinol 47: 289-299. 1950.
- 29) HALMI, N. S., Stain Technol 27: 61-64. 1951.
- 30) HALMI, N. S., Endocrinol 50: 140-142. 1952.
- 31) HERLANT, M., Bull Micr Appl 10: 37-44. 1960.
- 32) HERLANT, M., Biol Med, Paris 51: 205-222. 1962.
- 33) PURVES, H. D., and W. E. GRIESBACH, Endocrinol 49: 244-264. 1951a.
- 34) PURVES, H. D., and W. E. GRIESBACH, Endocrinol 49: 427-428. 1951b.
- 35) PURVES, H. D., and W. E. GRIESBACH, Endocrinol 49: 652-662. 1951c.
- 36) PURVES, H. D., and W. E. GRIESBACH, Endocrinol 55: 785-793. 1954.
- 37) VAN OORDT, P. G. W. J., Cytologie de l'Adenohypophyse, Ed C. N. R. S. Paris 1963.
- 38) LILLIE, R. D., Histopathologic technic and

- practical histochemistry 545 McGraw-Hill B.C. 1965.
- 39) CROSSMON, G. C. *Anat Rec* **69**: 33-38. 1937.
 - 40) SEVERINGHAUS, A. E., *Anat Rec* **57**: 149-175. 1933.
 - 41) GOMORI, G., *Amer J clin Path* **20**: 665-666. 1950.
 - 42) STEEDMAN, H. F., *Quart J Micr Sci* **91**: 477-479. 1950.
 - 43) WILSON, W. D., and C. EZRIN, *Amer J Path* **30**: 891-899. 1954.
 - 44) PAGET, G. E., and E. ECCLESTON, *Stain Technol* **35**: 119-122. 1960.
 - 45) McMANUS, J. F. A., *Nature, Lond.* **158**: 202. 1946.
 - 46) BAKER, J. R., *Quart J Micr Sci* **87**: 441-471. 1946.
 - 47) BARNETT, R. J., and A. M. SELIGMAN, *J Nat Cancer Inst* **54**: 769-803. 1954.
 - 48) GILMORE, L. O., W. E. PETERSON, and A. T. RASMUSSEN, *Minn Agr Exp Stat Tech Bull* **145**. 1941.
 - 49) MIKAMI, S., *Z Zellforsch* **105**: 457-482. 1970.
 - 50) MIKAMI, S., and T. DAIMON, *Arch histol jap* **29**: 427-445. 1968.
 - 51) MIKAMI, S., and K. ONO, *J Fac Agr Iwate Univ* **2**: 440-448. 1956.
 - 52) PURVES, H. D., *Sex and internal secretion*, 3ed Edn. pp. 161-239. ed W. C. Young, William & Wilkins, Baltimore. 1961.
 - 53) PURVES, H. D., *The pituitary gland*, Vol. 1 pp. 147-232. Ed G. W. HARRIS, and B. T. DONOVAN, Butterworths, Lond. 1966.
 - 54) PURVES, H. D., and W. E. GRIESEBACH, *J Endocrinol* **14**: 361-370. 1957.
 - 55) HARTMANN, J. F., W. R. FAIN, and J. M. WOLFE, *Anat Rec* **95**: 11-27. 1946.
 - 56) HERLANT, M., and S. RACADOT, *Arch Biol* **58**: 217-248. 1957.
 - 57) HERLANT, M., *Arch Biol* **67**: 89-180. 1956.
 - 58) LANDING, B. H., and H. E. HALL, *Stain Technol* **31**: 193-196. 1956.
 - 59) LADMAN, A. J., and R. J. BARNETT, *Endocrinol* **54**: 355-360. 1954.
 - 60) ADAMS, C. M. M., and K. V. SWETTENHAM, *J path Bact* **75**: 95-103. 1958.
 - 61) CUSHING, H., and L. M. DAVIDOFF, *Rocheffeller Inst Med Res Monogr* **22**: 1-131. 1927.
 - 62) HEWER, T. F., *J Endocrinol* **3**: 397-400. 1943.
 - 63) GESCHWIND, I. L., and C. H. LI, *J clin Endocrinol* **12**: 937. 1952.
 - 64) PURVES, H. D., and W. E. GRIESBACH, *Brit J exp Path* **27**: 170. 1946.
 - 65) GOLDBERG, R. C., and I. L. CHAIKOFF, *Endocrinol* **50**: 115-123. 1952.
 - 66) DAWSON, A. B., *Amer J Anat* **78**: 347-410. 1946.
 - 67) DAWSON, A. B., *Anat Rec* **102**: 103-122. 1948.
 - 68) PEARSE, A. G. E., *J Endocrinol* **7**: 48-50. 1951.
 - 69) DAWSON, A. B., *Anat Rec* **120**: 810. 1954.
 - 70) HEATH, E. H., *Amer J Vet Res* **26**: 368-373. 1967.
 - 71) RACADOT, J., *Cytologie de l'Adenohypophyse*. Ed du C. N. R. S. Paris. 1963.
 - 72) ADAMUS, C. W. M., and A. G. E. PEARSE, *J Endocrinol* **18**: 147-153. 1959.
 - 73) RENNELS, E. G., *Z Zellforsch* **45**: 464-471. 1957.
 - 74) HILDEBRAND, L. E., E. G. RENNELS, and J. C. FINERTY, *Z Zellforsch* **46**: 400-411. 1957.
 - 75) HELLBAUM, A. A., L. G. McARTHUR, P. J. CAMPBELL, and J. C. FINERTY, *Endocrinol* **68**: 144-153. 1961.
 - 76) BARNETT, R. J., E. J. LADMAN, N. J. McALLASTER, and E. R. SIPERSTEIN, *Endocrinol* **59**: 398-418. 1956.
 - 77) SHIINO, M., *J. Fac Agr Miyazaki Univ* **9**: 53-59. 1963.
 - 78) EZRIN, C., and S. MURRAY, *Cytologie de l'Adenohypophyse*. Ed du C. N. R. S. Paris. 1963.
 - 79) PEARSE, A. G. E., and S. VAN NOODDEN, *Canad Med Ass J* **88**: 462-471. 1963.
 - 80) 見上 晋一, *岩大農報* **3**: 62-68. 1956.
 - 81) RACADOT, J., *C R Acad Sci (Paris)* **257**: 1970-1973. 1963.
 - 82) CONN, A. A., *Fed Proc* **10**: 558-559. 1951.
 - 83) LEZNOFF, A., J. FISHMAN, L. GOODFRIEND, E. McGARRY, J. BECK, and B. ROSE, *Proc Soc exp Biol Med* **104**: 232-235. 1960.
 - 84) STOKES, H., and J. M. BODA, *Endocrinol* **83**: 1362-1366. 1968.
 - 85) RÜMKE, P., and N. C. J. J. LADIGES, *Z Zellforsch* **67**: 575. 1965.
 - 86) PARKER, M. L., L. JARETT, D. S. SCHACH, and D. M. KIPNIS, *Endocrinol* **76**: 928-932. 1965.
 - 87) EMMART, E. W., S. S. SPICER, and R. W. BATES, *J Histochem Cytochem* **11**: 365-373. 1963.
 - 88) EMMART, E. W., R. W. BATES, and W. A. TURNER, *J Histochem Cytochem* **13**: 182-190. 1965.
 - 89) SHIINO, M., and E. G. RENNELS, *Texas Rep Biol Med* **24**: 659-673. 1966.
 - 90) NAYAK, R., E. E. McGARRY, and J. C. BECK, *Endocrinol* **83**: 731-738. 1968.
 - 91) BREUSTEDT, VON H.-J., *Endokrinologie* **53**: 1-19. 1968.
 - 92) DUBOIS, M. P., *Z Zellforsch* **125**: 200-209. 1972.
 - 93) McGARRY, E. E., L. AMBE, R. NAYAK, E. BIRCH,

- and J. C. BECK, *Metabolism* **13**: 1154. 1964.
- 94) McGARRY, E. E., J. C. BECK, L. AMBE, and R. NAYAK, *Rec Progr Horm Res* **20**: 1. 1964.
- 95) BROZMAN, M., *Acta Histochem (Jena)* **26**: 261-270. 1967.
- 96) MIDGLEY, A. R. Jr., *J Histochem Cytochem* **14**: 159. 1966.
- 97) KRACHT, J., U. HACHMEISTER, and H-J. BREUSTEDT, *Symp Deut Gesel Endokrinologie*, 331-335. 1967.
- 98) KRACHT, J., U. HACHMEISTER, H-J. BREUSTEDT, and ZIMMERMAN, H.-D. *Mater Med Nordmark* **19**: 224-238. 1967.
- 99) DUBOIS, M-P., *Bull Assoc Anat* **54 Congr**: 139-146. 1969.
- 100) NAKANE, P. K., and G. B. PIERCE, Jr., *J Cell Biol* **33**: 307-318. 1967.
- 101) NAKANE, P. K., *J Histochem Cytochem* **18**: 9-20. 1970.
- 102) BAKER, B. L., A. R. MIDGLEY, B. E. GERSTEN, and Y-Y YU, *Anat Rec* **164**: 163-172. 1969.
- 103) BAKER, B. L., S. PEK, A. R. MIDGLEY Jr., and B. E. GERSTEN, *Anat Rec* **166**: 557-568. 1970.
- 104) BAKER, B. L., and Y-Y Yu, *Amer J Anat* **131**: 55-72. 1971.
- 105) BAKER, B. L., J. G. PIERCE, and J. S. CORNELL, *Amer J Anat* **135**: 251-268. 1972.
- 106) TOUGARD, C., B. KERDELHUE, A. TIXIER-VIDAL, and M. JUTISZ, *J Cell Biol* **58**: 503-521. 1973.
- 107) FERNÁNDEZ-MORÁN, H., and R. LUFT, *Acta Endocrinol* **2**: 199-211. 1949.
- 108) RINEHART, J. F., and M. G. FARQUHAR, *J Histochem Cytochem* **1**: 93-113. 1953.
- 109) FARQUHAR, M. G., and J. F. RINEHART, *Endocrinol* **54**: 516-541. 1954.
- 110) FARQUHAR, M. G., and J. F. RINEHART, *Endocrinol* **55**: 857-876. 1954.
- 111) FARQUHAR, M. G., and J. F. RINEHART, *Anat Rec* **121**: 394. 1955.
- 112) BARNES, B. G., *Endocrinol* **71**: 618-628. 1962.
- 113) BARNES, B. G., *Cytologie de l'Adenohypophyse*, Ed C. N. R. S. Paris. 1963.
- 114) KUROSUMI, K., *Arch histol jap* **29**: 329-362. 1968.
- 115) HERLANT, M., *Cytologie de l'Adenohypophyse*, Ed C. N. R. S. Paris. 1963.
- 116) HERLANT, M., *Int Rev Cytol* **17**: 299-381. 1964.
- 117) SMITH, R. E., and M. G. FARQUHAR, *J Cell Biol* **31**: 319-347. 1966.
- 118) SMITH, R. E., and M. G. FARQUHAR, *J Histochem Cytochem* **18**: 237-250. 1970.
- 119) MIKAMI, S., *Proc Japan Acad* **48**: 121-126. 1972.
- 120) SALAZAR, H., and R. R. PETERSON, *Amer J Anat* **115**: 199-216. 1964.
- 121) RENNELS, E. G., *Amer J Anat* **114**: 71-91. 1964.
- 122) POTLIEGE, P. R., *Anat Rec* **160**: 595-605. 1968.
- 123) McSHAN, W. H., *Proc II Int Congr Endocrinol* 382-391. 1964.
- 124) HYMER, W. C., W. H. McSHAN, and R. G. CHRISTIANSEN, *Endocrinol* **69**: 81-90. 1961.
- 125) HYMER, W. C., and W. H. McSHAN, *J Cell Biol* **17**: 67-86. 1963.
- 126) FARQUHAR, M. G., *Anat Rec* **127**: 291. 1957.
- 127) KAGAYAMA, M., *Endocrinol* **77**: 1053-1060. 1965.
- 128) KUROSUMI, K., and Y. KOBAYASHI, *Endocrinol* **78**: 745-758. 1966.
- 129) KUROSUMI, K., and Y. KOBAYASHI, *Gunma Symp Endocrinol* **6**: 213-229. 1969.
- 130) RENNELS, E. G., and M. SHINO, *Arch d'Anat Hist Embr* **51**: 575-590. 1968.
- 131) SIPERSTEIN, E. R., and K. J. MILLER, *Endocrinol* **86**: 451-486. 1970.
- 132) SIPERSTEIN, E. R., and V. F. ALLISON, *Endocrinol* **76**: 70-79. 1965.
- 133) HERLANT, M., and J. KLASTERSKY, *C R Ass Anat* **118**: 720. 1963.
- 134) YAMADA, K., and K. YAMASHITA, *Z Zellforsch* **80**: 29-43. 1967.
- 135) DEKKAR, A., *Anat Rec* **158**: 351-368. 1967.
- 136) DINGEMANS, K. P., *J Ultrastr Res* **26**: 480-500. 1969.
- 137) YOSHIMURA, F., K. HARUMIYA, H. YACHI, T. SOJI, and T. YOKOYAMA, *Endocrinol japon* **20**: 181-198. 1973.
- 138) HARUMIYA, K., *Endocrinol japon* **19**: 461-475. 1972.
- 139) KUROSUMI, K., and Y. OOTA, *Z Zellforsch* **85**: 34-46. 1968.
- 140) GIROD, C., and P. DUBOIS, *J Ultrastr Res* **13**: 212-232. 1965.
- 141) SALAZAR, H., *Anat Rec* **147**: 469-497. 1963.
- 142) RENNELS, E. G., *Cytologie de l'Adenohypophyse*, Ed C. N. R. S. Paris. 1963.
- 143) SHINO, M., A. ARIMURA, A. V. SCHALLY, and E. G. RENNELS, *Z Zellforsch* **128**: 152-161. 1972.