Histochemical Studies on the Effect of Various Estrogenic Compounds upon the Anterior Lobe of the Pituitary Gland

By

Hajime KIMURA

Department of Obstetrics and Gynecology, School of Medicine, Kanazawa University

(Director : Prof. F. Akasu M.D.)

Uncomfortable side-effects are often observed clinically in the cases of overdosed administration of estrogens as the functions of anterior pituitary were under the influences of estrogen.

The purpose of this article is, therefore, to study histochemical changes of the anterior lobe of the pituitary gland after administration of various kinds of estrogens.

Female, matured and non-parous rats and spayed rats were used as test-animals, and Estradiol benzoate, Estrone, Estriol, Ethinylestradiol, Hexron, Methallenestril and Chlorotrianisene of various concentration were administered to the animals. Experimented histochemical methods are as follows ; cytol reaction (so called periodic acid-Schiff reaction), pyronin-methylgreen staining, Gomori's aldehyde-fuchsin staining, Gomori's alkaline phosphatase staining, Ōhara's method for sulfhydryl and haematoxylin-eosin staining. Changes of weights of the pituitary, adrenal glands and ovaries were also followed.

It could be concluded from the obtained results that :

- 1) Continuous administration of estrogen of small doses stimulated the anterior pituitary function, while the large doses showed reverse effects.
- 2) Potency of estrogenic effects could be ranked : Estradiol $\approx$ Ethinylestradiol>Hexron, Chlorotrianisene>Estrone>Vallestril.
- 3) Estriol which has been regarded as an estrogen-metabolite showed some mild stimulating effects on the anterior pituitary gland.
- 4) Notable changes were observed in the basophilic cells of the anterior pituitary gland after the administration of estrogens.

The PAS-positive substance in these cells might have certain relationships with the anterior pituitary function.

Evaluation of our Modified Methods used for Determination of the Catecholamine Content of Children's Urine

By

Toshitake ISHII, Toshimichi MATSUMOTO, Hitoo WATANABE

(From the Department of Pediatrics, Kyushu University Medical Faculty : Prof. Munenori Enjōji)

The total catecholamine content of urine determined chemically by our modification of Euler and Floding's method.

- 1) The biochemical activity of catecholamine in stored urine was kept up by the addition to the urine of 6N sulfuric acid. This acid, which interferes with subsequent procedures when added in

各種エストロゲン投与による脳下垂体前葉 細胞の細胞の組織化学的研究

金沢大学医学部産科婦人科学教室 (主任 赤須文男教授)

大学院学生 木 村 肇

第1章 緒 言

性腺機能は、間脳及び下垂体前葉ホルモン（以下「前葉ホ」と略す）によつて調節が行われているが、一面、末梢ホルモンは、また逆行性に「前葉ホ」の分泌を調節し下垂体と性腺とは、いわゆる性中枢の支配下に、それぞれのホルモンを介して互いに影響を及ぼしあいながら、正常な性活動を維持していることは周知のところである。それゆえホルモン療法を行う際に、使用量の如何によつて、逆効果を来すことがあるのは、すでに Hohlweg¹⁾ や Meyer²⁾ の報告にもみられたところである。このさい、エストロゲンの性上位部逆調節に関しては、微量の連続投与では、前葉のゴナドトロピン（以下Gと略）の分泌機能を亢進せしめ³⁾⁴⁾、かなりの量の連続投与では、反対にこの機能の低下をみるとなす説⁵⁾⁶⁾が支配的である。一面、衝撃的な大量投与では、かえつて LH 分泌を促すことも明らかにされた⁷⁾¹⁰⁾。また Sayers¹¹⁾ は、副腎皮質ホルモンの ACTH に対する関係も略々同様であると述べており、一般に多量のホルモン投与では、前葉機能を抑制し、少量はむしろ亢進させると考えられているが、その作用機序は未だ明らかにされていない。近時臨床面において、天然のものはもとより、合成されたものも、多数のホルモン剤が用いられる様になり、その臨床報告^{12)~16)}も多いが、これら両者間に末梢臓器に対する効力に差がある様に、その中枢作用にも差がありはしないかということは、比較検討されなくてはならない。

他面、前葉の細胞学的研究は1884年に、Flesch 及び Lothringer¹⁷⁾ らによつて始められ、最近では Romeis¹⁸⁾、Pearse¹⁹⁾ らにより、 β , δ , ϵ 細胞など数種に分類されている。また組織化学的研究は、Herlant²⁰⁾ が、前葉に粘液蛋白質または糖蛋白の存在すること、これがGと密接な関係があることなどを報告したことに始まり、McManus²¹⁾ が Cytol 反応²²⁾（いわゆる過沃度酸-Schiff 反応、以下 PAS と略）を前葉細胞染色に適用したことにより、各種ホルモンの産生細胞について多くの知見が得られたが、中でも Purves & Griesbach²³⁾ は、「前葉ホ」の中で糖蛋白と考えられる FSH, LH 及び TSH は、それぞれ δ 細胞、 β 細胞から産生されると推論しており、間脳-下垂体-性腺系の解明と共に、「前葉ホ」産生の機序が、明らかにされようとしている。けれどもここには未だ多数の未開地が残されており、ことに臨床に屢々用いられる各種エストロゲン製剤の性上位部に対する逆作用の機構、それら相互間の効力の比較などは、明らかにされている面が甚だ少ないので、私はこれら各種エストロゲン投与時の前葉細胞の変化を、形態学的に特に組織化学的立場から実験を行つたので以下これを報告する。

第2章 実験材料並びに実験方法

第1節 実験材料

1. 実験動物：正常群は、体重120~180 gの雌成熟処女ラットで、4~5日の正しい腔周期を有するものを選び、去勢群としては、上述の条件に合致するラットから両側卵巢剔除を行い、術後24日を経過し、腔周期が持続的に静止期像を示したものをを用い、この際飼育環境を一定にするため、温度、湿度、光度などの外来刺激に留意し、また飼料も可及的に一定を保つ様につとめた。実験に用いたラット数は、後述の各種エストロゲンの各稀釈段階あたり3~5匹とした。

2. 薬剤：使用したエストロゲンは、Estradiol benzoate (以下 ED と略)、Estrone (以下 EO と略)、

Estriol (以下 ET と略), Ethinylestradiol (以下 EED と略), Hexron (以下 Hex と略), Methallenestril (Vallestril, 以下 Vall と略) 及び Chlorotrianisene (以下 TACE と略) の 7 種類で, それぞれの滅菌大豆油による段階稀釈液を使用した。しかし, ED では大豆油 0.2ml 中に 0.01, 0.02, 0.04 (2 i.u.), 0.1, 0.2, 1 (50i.u.), 2, 20 及び 1000 (50000i.u.) μg を含むものとし, EO, ET は同様大豆油 0.2ml 中 0.04, 1, 1000 μg を含む各濃度のものを用い, 更に EED, Hex, Vall, TACE は, 大豆油 0.2ml 中それぞれ 2, 50, 50000i.u. を含む各段階稀釈液を使用した。

第 2 節 実験方法

1. エストロゲン投与方法: ED, EO 及び ET は, 上述各濃度の稀釈液をラットの背部皮下に注射し, EED, Hex, Vall および TACE は, それぞれ動物用胃内挿管を用いて, 経口的に投与した。

2. 上述各種類, 各濃度のエストロゲンを, 正常群では, 静止期から始めて 1 日 1 回宛 5 日間にわたり, 皮下または経口的に連続投与した後, 48 時間して断頭屠殺し, 直ちに下垂体, 卵巣, 副腎および子宮などを剔出し, Torsions balance で各臓器重量を測定し, 下垂体は, 10% フォルマリン液, Carnoy 液及び冷アセトン・無水アルコール等量液で固定し, 4~9 μ のパラフィン連続切片を作り, (1) ヘマトキシリン・エオジン染色 (以下 HE と略), (2) PAS 染色²⁴⁾, (3) ピロニン・メチールグリーン染色²⁵⁾ (以下 PMG と略), (4) Gomori アルデヒド・フクシン染色²⁶⁾ (以下 AF と略), (5) Gomori 法によるアルカリ・フォスファターゼ染色²⁷⁾ (以下 Al-ph と略), (6) 大原法の SH 基染色²⁸⁾ (以下 SH 染色と略) などを行い, 更に一部には 1% トルイジンブルー染色 (以下 TB と略), アザン染色, 唾液消化試験及び 0.2mg/cc のリボヌクレアーゼ消化などを実施し, 鏡検した。なお実験方法の性格上, 色調判定に重点をおくため, 染色時間・至適温度・至適 pH・切片の厚さを一定にするなどの諸点に特に注意し, 実験操作過程をすべて統合調整した。

第 3 章 実験成績

第 1 節 一般所見

前葉の腺組織は, 微細な血管或は毛細血管を伴う間質組織によつて, 索状或は網状となつて配列しており, この細胞索はかなり緻密に並んだ実質細胞によつてみたまされている。この実質細胞の内では, 酸好性細胞 (以下 AZ と略) は, 円形または卵円形を呈しており, 細胞境界は明瞭である。胞体内には, 顆粒の充満するものから空胞の混在するものに至る迄種々の移行形があり, 核は稍々偏心位をとり, 核膜は一般に緊張性を示している。しかし PAS では陽性を示さないが, PMG では胞体に陽性部を認めた。これは細胞により, 核周辺から胞体周辺に至る迄, 様々に分布しているが, 特に小型円形の細胞に於いて, 核周辺に陽性部が強い。しかし AF では, 陽性所見を認めないが, SH 染色では, 連続切片で HE のものと比較すると, 茶色の弱い陽性部が認められた。また Al-ph では, 胞体全体が瀰漫性にうすい黒褐色を呈した。

塩基好性細胞 (以下 BZ と略) は, 正常の前葉細胞中最も大きく, 不規則な多角形または卵円形を呈し, 細胞境界は明瞭である。核は多く偏心位をとり, 胞体は PAS ⊕ の微細暗調性顆粒でみたまされており, 前葉の前端部に多くまた中心部にも散在性に位置している。更に AF では, 前葉中心部に陽性細胞を多く認めたが, PAS 及び HE の所見と比較すると, BZ には AF ⊖ のものと ⊕ のものがあるが, 前者の多くは前葉周辺で, 血管の近くに位置する卵円形または多角形の細胞が多く, その PAS ⊕ 物質は稍々粗大状を呈し陽性度も強い。これに対し後者は, 中心部に多く散在し, 血管と位置的関係がうすく, その数も前者に比して少ない。また PAS ⊕ 物質は微細であり, 周辺のものより弱陽性を示すものが多かった。更に唾液消化試験の有無により, PAS ⊕ 物質の出現度をみたが変化なく, また 60% アルコール及び 50% アセトン固定の組織に於いて, PAS ⊕ 物質はいづれに於いてもみられなかつた。Al-ph では陽性を殆んど示さないが, PMG では AZ 程ではないにしても, やはり胞体周辺にピロニン好性の微細構造を認めたが, リボヌクレアーゼによる消化を行うと, この ⊕ 物質は殆んど消失し, 一部のみはアザン染色を重複すると, 消化前と同様に青染された。更に SH 染色では, AZ に於けると同様に HE の所見と比較すると, 中心部の BZ は殆んど陽性を示さないが, 前葉周辺の BZ の胞体に, 茶色の弱い陽性部がみられたが, 染色法の関係からその切片は厚

いので断定は下しにくい。なお TB では、BZ は青染されたが、強いメタクロマジーはみられなかった。

また主細胞（以下 HZ と略）は、胞体に色素好性顆粒を有しないので、殆んど核だけが存在している様にみえる小さい細胞であるが、その数は前二者に較べて多く、屢々これらの細胞との間に移行形がみられた。細胞境界は不明瞭であり、各種類の染色法によつても、胞体には顕著な変化を認めにくい。核も染色性の乏しい明調性を示し、1～2個の核小体を認めた。

第2節 性周期による変化

1. 下垂体前葉の組織化学的所見

(1) PAS : BZ は、発情前期に於いては、PMG ⊕物質が少々増加し、発情期から発情後期にかけて減少傾向を示し、卵円形または多角形で血管に接して前葉周辺に多く散在する傾向がある。これら PAS ⊕物質は、静止期及び発情前期では、顆粒状を呈し少々粗大であるが、発情期のそれは、全周期の中で最も微細で染色度も弱かつた(写真1, 2)。

(2) PMG では、発情前期に PMG ⊕物質を、BZ 核の周囲に僅かに認めたが、その他の時期ではみられなかった。また AZ 及び HZ については、性周期に伴う変化はみられなかった。

(3) AF では、前葉中心部に散在する PAS ⊕細胞に陽性を認めたが、周期的変化は見出せず、しかも周辺部には、AF ⊕細胞は見出しえなかった。

(4) Al-ph は、AZ に褐色の陽性部を認めたが、BZ には陽性像は殆んどみられず、周期的変化も見出しえなかった。

(5) SH 染色では、前葉周辺に弱い陽性部を認めたが、周期的変化はみられなかった。

2. 各臓器の重量変化：性周期に伴い、下垂体、副腎、卵巣及び子宮重量は、表1の様な変動を示し、下垂体及び副腎は、発情前期に増加の傾向を示したが、推計学的に有意の差は認め難かつた。しかし卵巣及び子宮の重量は、発情期に最大値を示し、静止期のそれに較べて、それぞれ21.5%、30.9%の増大を認めた。

表1 性周期に伴う各臓器の重量変化

性 腺 臓 器	静 止 期	発 情 前 期	発 情 期	発 情 後 期
下垂体重量 (mg)	7.16±1.30	8.08±0.46	6.50±1.50	5.50±1.50
副 腎 重 量 (〃)	23.00±1.52	24.50±3.50	24.00±2.44	20.00±2.44
卵 巣 重 量 (〃)	45.00±5.00	43.50±1.50	54.50±2.50	49.66±6.73
子 宮 重 量 (〃)	277.50±27.15	331.80±20.19	363.30±46.70	261.70±11.17

註 数字は平均重量±標準誤差以下同様に記載

第3節 去勢による影響

1. 組織化学的变化

(1) 去勢後20日：PAS ⊕の BZ は、その数、細胞の大きさ及び陽性度が、対照に比して増加を示し、特に前葉周辺部の毛細血管に沿った細胞に強くみられた。このさい毛細血管腔は拡大し、充血像を示していた。PAS ⊕物質は、少々粗大となり胞体中に充満していた。AZ は少々その数の減少を示していたが、HZ には、著変を見出しえなかった。

(2) 去勢後23日：BZ, AZ 及び HZ の各細胞は、いづれも(1)に於ける変化が更に強められた感があり、また核周に環状空隙を有する去勢細胞が多くみられ、この細胞は PAS ⊕を示しその陽性度も強いのが認められた。

(3) 去勢後30日：PAS ⊕細胞は、更に胞体及び陽性度が大きくなり、陽性物質は粗大顆粒状を呈していた。また去勢細胞は数多く前葉全域にみられ、核の周囲に大きな環状空隙を有し、核は偏心位をとり、毛細血管は充血を示し、屢々洞様に拡大しているのがみられた。なお AZ は、特に変化を示さなかつたが、HZ は

減数を示した(写真3, 16).

(4) 去勢後40日: PAS ⊕細胞は, 著明に増加し, 特に中心部に多く, これらの陽性物質は, 粗大顆粒状を呈していたが, これに反し周辺部の陽性物質は, 少々微細状を示していた. 去勢細胞も数が増加し, その核周の空胞は広く, ために核は偏在し, 核周は層々明調性を示し, この核の一端に肥大したゴルジ装置の陰影像がみられた. AZ には著変がなかつたが, HZ は更に減数していた.

(5) 去勢後60日: PAS ⊕細胞は, 肥大して卵円形を示すものが多く, 大きな空胞を有する去勢細胞も認められ, また印環細胞と思われる去勢細胞も出現し, その空胞中にコロイド様物質が含有され, 胞体はPAS陽性度が強く, 特にその周辺に増量していた. 血管腔は拡大し, 洞様を呈するものが多く, 充血像が強い. その他, AZ 及び HZ では, 去勢後40日の所見に比し, 著差を認めえなかつた(写真4).

(6) 去勢後90日: PAS ⊕細胞は, 60日の所見に較べて, その数及び細胞の大きさには差異を認めないものが多かつたが, 中心部の PAS ⊕細胞の顆粒は粗大となり, その空胞の大きさも減弱しており, 崩壊像らしいものも認めえた. 核は一般に不明瞭となり, 濃縮像を示し, 印環細胞も出現していた. 間質における血管は, 60日の所見と同様に拡大して洞状を呈し, その充血像を前葉全域に認めた. 一方 AZ 及び HZ は, 去勢後60日の所見に比して, 差異は殆んどみられなかつた.

2. 各臓器の重量変化: 去勢によつて下垂体重量は, 表2及び図1の如く変化した. 即ち体重100g 当りの重量は, 去勢後60日迄は漸次増加を示し, 90日では少々減少したが, 正常群と較べるとなお26%の増加を示していた. この間, 去勢後60日で最大値を示し, 7.4mg で正常群のそれに較べて約3mg の増大を呈していた. 副腎重量は, 去勢後20日では, 体重100g 当りの重量は, 平均32mgと最大値を示し, 明らかに正常群のそれと較べ有意の差を認めたが, 以後日数の増加と共に次第に減少し, 40日では平均13mg となり, 正常群よりもむしろ軽量を示した. 更にそれ以後は, 僅かに増量傾向を示したが, 著変は認められなかつた.

表2 去勢による下垂体, 副腎の重量変化

去勢後日数	対 照	20	23	30	40	60	90
下垂体重量(mg)	7.25±0.25	6.00±0.62	6.51±2.45	8.50±0.41	7.50±0.73	16.10±0.89	11.00±1.80
副腎重量(%)	24.50±0.50	34.50±1.50	32.50±1.44	31.50±0.68	27.70±3.19	39.40±0.32	43.00±1.54

図1 去勢による下垂体, 副腎の重量(mg)/体重100g

3. 小括

性周期に伴う性腺の変動について、Hill²⁹⁾、Wolfe³⁰⁾及び松田^{31)~32)}らは、その重量が周期的にも変化すると述べており、一方下垂体に於いても伊藤³³⁾は、静止期に BZ の数が増加する事を観察し、Catchpole³⁴⁾も、同様な所見を報告し、加えて組織化学的研究により、PAS ⊕物質が発情前期に多くみられた事から、G、殊に FSH との関係を推察している。私の実験において、前葉の組織化学的所見は、軽度ではあるが発情前期に PAS ⊕細胞を稍々多数、前葉周辺に認め、これら PAS ⊕物質は、発情期から発情後期にかけては殆んど消失しているのを知った。これに対し下垂体重量は、平行的に増減の傾向を示したが、有意の変化は示さず、卵巢及び子宮の重量は、発情期に最大値を示し、周期的変化を示した。次に、去勢後の下垂体の変化をみると、去勢による BZ の変化は著しく、特に去勢後60日で著明であつた。即ち胞体内の PAS ⊕物質も多量となり、粗大顆粒状を呈し、これにつれて重量増加も認められた。去勢時には、Gの量が増加する事については、すでに多くの報告³⁵⁾³⁶⁾があるが、下垂体重量及び前葉の組織化学的变化をあわせ考えると、去勢により前葉の分泌機能は亢進しており、このさい特異的に現われる去勢細胞は、この機能亢進と密接な関係を有するものと考えられる。よつてこの細胞中に現われる PAS ⊕物質は、Gの前葉内における動態を推測する有力な一つの示標とも考えられるであろう。さらに去勢後の副腎重量を考えると、去勢後20日迄は次第に増加するが、以後減少を示し、40日では正常群のそれよりも低下しており、その後は著変を示さなかつた。これは、去勢直後は性腺の代償を副腎が営むが、一定期間(20日)以後では、漸減して一定値に近づいているのは、ここに新しいホルモンバランスが成立したためと考えられる³⁷⁾。

第4節 各種エストロゲン投与が下垂体、副腎及び卵巢に及ぼす影響

第1項 去勢群

1. 対照(去勢後24日目からエストロゲン油液の油液のみの投与を行つたもの)：前葉に於いて、卵円形の大きな胞体を有する BZ 及び核周囲に空胞を形成し、各所にみられる去勢細胞は、いずれも PAS ⊕を呈し、一般に去勢後30日にみられた無処置群の所見と殆んど差異はなかつた。前葉周辺の PAS ⊕細胞は AF ⊕であるが、中心部のものの一部は AF ⊕を示し、また去勢細胞の中で核周に PMG ⊕を示したものもみしたが、その陽性度は微弱であつた。SH 染色では、胞体は瀰漫性に弱陽性を示していた。

2. 天然エストロゲン投与群

(1) ED 投与群

(i) 下垂体に於ける変化

① 組織化学的所見：ED 0.01~0.04 μ g 投与では、対照に較べ著差は認められず、PAS ⊕細胞には、粗大な陽性顆粒がみられた。AZ 及び HZ も同様に著差を示さなかつた(写真5, 20)。

0.1~2.0 μ g 投与では、PAS ⊕細胞は、前葉の中心部及び周辺にみられ、⊕顆粒は稍々緻密となり、特に周辺部の細胞にこの傾向が強く、去勢細胞に於いては、核周の空胞は投与量の増加につれて縮小傾向を認めた。これらの細胞核は偏在し、ゴルジ装置の陰影は大となつて核に接しているが、血管に接する陽性細胞には、内容を放出した様な萎縮した細胞が認められ、これらはいずれも弱陽性を示した。また PMG では⊕物質を認めた(写真6)。

20~200~1000 μ g 投与群では、上述の投与群に較べて PAS ⊕細胞の胞体は縮小し、数も減少し、空胞を有する去勢細胞に於いても同様な変化が認められた。これら BZ の⊕物質は微細となり、染色度も減退するが、細胞間隙は広がつた(写真7, 21)。

② 下垂体重量の変化：表3及び図2の如く、0.01~2.0 μ g 投与では著差を示さぬが、20~200 μ g 投与時に増大し、対照群に比し24~28%増大していた。また1000 μ g 投与時には、実測値では更に肥大傾向を示しているが、体重100g当りの重量は逆に減少を認めた。

(ii) 副腎重量の変化：表4の如く0.4 μ g 以下の少量投与によつて対照の10~30%の増加を認めたが、1~2 μ g 投与時には稍々減少を示した。また20 μ g 投与では副腎重量は最高値を示したが、それ以上の投与量では再び減少を示した。

表3 各種各濃度エストロゲン投与による去勢ラットの下垂体重量(mg)の変化

投与エストロゲン量 $\mu\text{g}/\text{日}$	エストロゲンの種類		
	ED	EO	ET
0 (対照)	7.25 ± 0.60		
0.01	8.05 ± 0.95		
0.02	7.40 ± 0.79		
0.04	8.50 ± 0.50	7.00 ± 0.36	8.50 ± 0.50
0.1	8.25 ± 0.78		
0.2	7.50 ± 1.05		
0.4	8.95 ± 0.69		
1	8.50 ± 0.79	8.00 ± 1.00	9.50 ± 0.50
2	8.25 ± 0.68		
20	9.25 ± 1.25		
200	9.00 ± 1.04		
1000	9.50 ± 0.29	10.75 ± 0.25	11.00 ± 1.00

図2 各種各濃度エストロゲン投与による去勢ラットの下垂体重量(mg)/体重100g

表4 各種各濃度エストロゲン投与による去勢ラットの副腎重量(mg)の変化

投与エストロゲン量 $\mu\text{g}/\text{日}$	エストロゲンの種類		
	ED	EO	ET
0 (対照)	30.66 ± 2.06		
0.01	38.00 ± 1.00		
0.02	39.50 ± 0.50		
0.04	40.00 ± 1.50	20.00 ± 2.31	24.50 ± 4.50
0.1	33.00 ± 3.00		
0.2	34.01 ± 3.70		
0.4	40.50 ± 1.50		
1	31.00 ± 3.00	25.10 ± 3.32	23.00 ± 1.47
2	30.00 ± 4.00		
20	42.00 ± 3.00		
200	36.10 ± 3.05		
1000	39.50 ± 6.50	34.80 ± 2.23	33.30 ± 1.20

(2) EO 投与群

(i) 下垂体に於ける変化

① 前葉の組織化学的变化: EO 0.04 μ g 投与では, PAS ⊕細胞の大きさ及び数は多いが, 対照群に較べて著差はみられなかった。

1 μ g 投与では, PAS 陽性度は, 前者と同様に強く, ⊕物質は前者より粗大顆粒状を呈し, 胞体内に充満しており, 胞体周辺部に特に多く集まっていた。毛細血管は充血して広い腔を有していた。また PMG ⊕物質も BZ の胞体内に認めたが, AF では対照群と同様に, 前葉周辺には⊕細胞はみられなかった。

1000 μ g 投与では, PAS ⊕細胞の数及び胞体の大きさは, 共に前者ほど強くはないが, ⊕物質はむしろ微細顆粒状を呈し, 核周よりも胞体周辺部に多く, 空胞を有する去勢細胞は減少し, 卵円形の BZ を多く認めた。また PMG も SH 染色も共に⊖であつた。AZ には著変はないが, HZ は少々その数を増加していた。毛細血管は, 充血像が軽度となり, 管腔も ED の場合と同様に狭小を示していた。

② 重量変化: EO 投与量の増加に比例して, 漸次下垂体重量も増量し, 1000 μ g 投与では対照群に較べて48%の増加率を示した。

(ii) 副腎重量: 少量投与で一著明に減少したが, 投与量の増加につれて, 下垂体と同様に次第に増加し, やがて復元した。

(3) ET 投与群

(i) 下垂体に於ける変化

① 前葉の組織化学的所見: 0.04 μ g 投与では, 対照群に較べて著差はみられなかった。

1.0 μ g では, PAS ⊕細胞は増数し, むしろ中心部にみられ, 又, 周辺の細胞の⊕物質は粗大顆粒状であつた。空胞を有する去勢細胞も多数にみられ核周に明調性を示していた。

1000 μ g では, 前者と同様に PAS ⊕細胞が多くみられたが, その⊕顆粒は, 比較的小さくなり, 細胞の周辺に多く分布していた。空胞を有する去勢細胞もみられたが, その核は肥大していた。PMG では⊖であつた。

② 重量変化: 投与量の増大に伴い, 重量の増加傾向を示し, 1000 μ g 投与では対照に比し10%の増大率を示した。

(ii) 副腎重量: 0.04 μ g 投与時に著明に減少したが, 投与量の増加と共に対照群の値に近づいた。

3. 合成エストロゲン投与群

(1) EED 投与群

(i) 下垂体における変化

① 前葉の組織化学的变化: 2.0i.u. 投与群では, PAS ⊕細胞の数が少なかった他は対照群に比し著差はなく, 50i.u. 投与では, 前者より PAS ⊕細胞が少々増加し, PMG ⊕の微細構造を BZ の核周に認めた。50000i.u. 投与では, PAS ⊕顆粒は, 比較的微細状となるが, 依然として血管に富み細胞間隙は広いのが知られた。

② 重量変化: 表5及び図3の如く, 50i.u. では減少するが, 50000i.u. では, 対照群と較べ38%の増加率を示した。

(ii) 副腎重量: 表6の様に, 投与量に比例して増大するのが知られた。

表5 各種各濃度エストロゲン投与による去勢ラットの下垂体重量 (mg) の変化

投与エストロゲン量 i.u./日	エストロゲンの種類				
	ED	EED	Hex	Vall	TACE
2	8.50 $\pm$ 0.50	7.50 $\pm$ 0.48	9.00 $\pm$ 0.62	9.25 $\pm$ 0.25	8.25 $\pm$ 0.25
50	8.50 $\pm$ 0.79	6.00 $\pm$ 0.42	9.10 $\pm$ 0.84	9.50 $\pm$ 0.85	9.00 $\pm$ 0.73
50000	9.50 $\pm$ 0.29	10.00 $\pm$ 1.05	10.00 $\pm$ 0.97	10.00 $\pm$ 0.60	9.20 $\pm$ 0.75

図3 各種各濃度エストロゲン投与による去勢ラットの下垂体重量(mg)/体重100g

表6 各種各濃度エストロゲン投与による去勢ラットの副腎重量 (mg) の変化

投与エストロゲン量 i. u./日	エストロゲンの種類				
	ED	EED	Hex	Vall	TACE
2	40.00±0.60	19.50±0.50	26.00±1.05	26.20±1.80	22.00±3.60
50	31.00±3.00	21.50±1.38	28.50±1.26	27.50±1.85	22.05±1.43
50000	39.50±6.50	29.05±3.10	31.05±1.50	30.00±2.00	26.00±1.90

(2) Hex 投与群

(i) 下垂体に於ける変化

① 組織化学的所見: PAS では, EED の場合と同様に 20i.u. 投与では著変がみられなかったが, 50i.u. 投与では, ⊕顆粒は少々微細となり, 空胞を有し, 又, BZ の数は減少し, 50000i.u. 投与では, 上述の傾向が更に強められたが毛細血管腔は広い特徴があつた.

② 重量変化: 投与量の増加にもかかわらず, 著差はみられなかった.

(ii) 副腎重量: 投与量が増すと増加の傾向がみられた.

(3) Vall 投与群

(i) 下垂体における変化

① 組織化学的所見: 2.0i.u. 投与では著変なく, 50i.u. でもほぼ同様であつたが, PAS ⊕顆粒は少々微細となり, 50000i.u. 投与でも著変を示さず, PAS ⊕細胞はその数を減じていた.

② 重量変化: Hex と同様に, 投与量が変化しても著差はみられなかった.

(ii) 副腎重量: 投与量に伴つて, 増加の傾向を示した.

(4) TACE 投与群

(i) 下垂体に於ける変化

① 組織化学的所見: 2.0i.u. 投与では著変をみなかつたが, 50及び 50000i.u. 投与では, PAS ⊕顆粒の緻密となるのが認められた.

② 重量変化: 投与量の増加により, 平行的に下垂体重量増加の傾向を示し, 50000i.u. 投与では, 対照群に比し27%の増加率を示した.

(ii) 副腎重量: 投与によつて重量は増加したが, 推計学的には有意の差はみられなかった.

第2項 正常群

1. 対照 (エストロゲンの溶媒のみを与えた群): この群では, PAS ⊕細胞は周辺に多くみられ, 卵円形又は多角形であり, 胞体中の⊕物質は顆粒状を呈していた. 核の周囲に⊕顆粒が多いもの, 胞体周辺に密に

分布しているものなど各細胞でその分布は様々であるが、前葉の中心にある⊕細胞は、多角形で赤味が強く顆粒は微細である印象をうけた。HE では、AZ, HZ 共に静止期のそれに比して差異を認めなかつた。また PMG では、BZ に於いて胞体部にピロニン弱陽性を認めたが、AZ 程強くはなく、また AF では、⊕細胞陽を中心部に少数認めたが、周辺部の PAS ⊕細胞は、多くは AF ⊖であつた。SH 染色では、中心部に弱性を呈した。

2. 天然エストロゲン投与群

(1) ED 投与群：前葉に於ける組織所見は、ED 0.01 μ g 投与時には、対照群に比し著差はなく、0.02 μ g 投与では、PAS ⊕細胞の数及び陽性度は増し、顆粒は粗大となり、又、卵円形又は多角形を呈し、血管壁に接してみられ、しかも周辺部に多くみられた。血管は稍々充血像を呈し、細胞間隙は密であつた。AZ 及び HZ は著変をみなかつた。0.04 μ g 投与では、前者における変化が一層強化され、血管は充血、拡大し、前葉周辺に PAS ⊕細胞が多くみられ、その顆粒は粗大で、一部の細胞の核周には空胞の如く明るく染められた部位を認めた。核は稍々凹凸不正形を示すものがあつた。又これらの PAS ⊕細胞は AF では⊖を示し、少数の中心部に散在する多角形の細胞は AF ⊕を呈した。PMG では、核周にピロニン好性の微細構造がみられたが、AZ 及び HZ では著変がなかつた。Al-ph では、前葉周辺部に茶褐色の陽性部が認められ、又、SH 染色でも周辺に黒褐色の陽性部がみられたが、染色度は弱かつた（写真 8, 17, 18, 22）。0.1 μ g 投与では、PAS ⊕細胞の数及び陽性度は減少し、対照群と著差なく、0.2 μ g 投与でも同様であつた。1 μ g 及び 2 μ g 投与では、PAS ⊕細胞は前者と同様に中心部に僅かにみられたのみで、数も陽性度も少なく、周辺部には⊕細胞を認めなかつた。細胞間隙は稍々広いが、毛細血管の充血像はみられず、PMG でも⊖で、AZ 及び HZ も著変を示さなかつた（写真 14）。また 20 μ g 投与では、PAS ⊕細胞は、再び増数を示し、中心部に散在性にみられ、形は多角形を示すものが多く、染色度も弱く、その顆粒は非常に微細であり、しかもこれら細胞は特に血管と関連性を有しないものが多かつた。AF では、中心部の BZ は⊕を示すものが多く、PMG に於いても核周に⊕物質を認めた。200 μ g 投与では、PAS ⊕細胞は再び少くなり、微細状を呈し、血管も再び充血像を示すものが多い。PMG は⊕であり、SH 染色では、中心部に弱陽性がみられた。1000 μ g 投与では、PAS ⊕細胞の数及び陽性度は再び減少するが、細胞間隙は広く、PMG, Al-ph 及び SH 染色に於いては、いずれも対照群と著差を見出しえなかつた（写真 15, 19, 23）。

下垂体重量は、表 7 及び図 4 の如く、対照に比して少量投与では著増し、体重 100 g 当り 0.04 μ g 投与時で

表 7 各種各濃度エストロゲン投与による正常ラットの下垂体重量 (mg) の変化

投与エストロゲン量 μ g/日	エストロゲンの種類		
	ED	EO	FT
0 (対照)	6.30 $\pm$ 0.33		
0.01	8.75 $\pm$ 0.75		
0.02	12.00 $\pm$ 1.73		
0.04	11.20 $\pm$ 0.44	8.00 $\pm$ 2.04	6.00 $\pm$ 0.58
0.1	11.10 $\pm$ 1.01		
0.2	8.50 $\pm$ 0.22		
0.4	8.45 $\pm$ 0.41		
1	8.25 $\pm$ 0.46	8.50 $\pm$ 0.91	7.12 $\pm$ 1.16
2	9.75 $\pm$ 0.75		
20	8.20 $\pm$ 0.20		
200	13.00 $\pm$ 0.58		
1000	10.66 $\pm$ 0.33	10.00 $\pm$ 1.15	8.87 $\pm$ 2.19

図4 各種各濃度エストロゲン投与による正常ラットの下垂体重量(mg)/体重100g

は7.6mgを示すが、中等量(0.2~20 μ g)では再び減少して対照と著差はなくなり、200~1000 μ gの大量投与では再び増加し、対照群に比して、30~40%の増大率を示した。

副腎重量は、表8に示す様に、0.4~1.0 μ g投与では減少したが、以後次第に増加し、20 μ g投与では最高を示し52.6mgとなった。卵巣重量は表9の如く0.04 μ g投与で著増し対照群に較べ22.5mg増加しているが、中等量投与では、対照群のそれより減少し、更に20 μ g投与で一時的に増加しているが、200~1000 μ g投与では再び対照群のそれより減少しているのがみられた。

(2) EO投与群

(i) 下垂体：前葉組織は、0.04 μ g投与時では、PAS ⊕細胞は多角形を呈し、その顆粒は少々粗大状を呈するが、その他、対照群と著差はみられなかつた。1 μ g投与では、PAS ⊕細胞はより大となり、その顆粒は粗大を呈し、空胞を有するものがみられ、核小体はEDのそれに較べ膨大していた。毛細血管の充血は著明ではない(写真9)。1000 μ g投与では、PAS陽性度は前者よりも弱く、細胞数の減少を示していた他は、依然として前者と同様な変化を示していた。SH染色では、周辺に黒褐色の陽性部がみられた。重量の変化は、その投与量に伴い平行的に増大し、1000 μ g投与では対照群に比して45%の増加率を示した。

(ii) 副腎重量：下垂体に於けると同様に増加し、1000 μ g投与では対照群よりも34%の増加を示した。

表8 各種各濃度エストロゲン投与による正常ラットの副腎重量(mg)の変化

投与エストロゲン量 μ g/日	エストロゲンの種類		
	ED	EO	ET
0 (対照)	22.5 $\pm$ 1.89		
0.01	28.60 $\pm$ 1.20	21.40 $\pm$ 1.50	25.80 $\pm$ 3.61
0.02	38.60 $\pm$ 6.33		
0.04	28.60 $\pm$ 1.31		
0.1	28.50 $\pm$ 1.27		
0.2	31.50 $\pm$ 0.50		
0.4	27.05 $\pm$ 0.62	23.75 $\pm$ 2.98	23.60 $\pm$ 3.85
1	21.30 $\pm$ 0.55		
2	32.10 $\pm$ 1.09		
20	52.60 $\pm$ 1.45		
200	32.30 $\pm$ 1.86		
1000	34.60 $\pm$ 2.67	30.70 $\pm$ 0.55	34.60 $\pm$ 5.98

表9 各種濃度エストロゲン投与による正常ラットの卵巢重量(mg)の変化

投与エストロゲン量 $\mu\text{g}/\text{日}$	エストロゲンの種類		
	ED	EO	ET
0 (対照)	41.00 $\pm$ 3.73		
0.01	58.00 $\pm$ 12.05	34.70 $\pm$ 3.60	37.25 $\pm$ 3.25
0.02	62.70 $\pm$ 8.65		
0.04	63.50 $\pm$ 4.64		
0.1	50.30 $\pm$ 3.62		
0.2	44.10 $\pm$ 1.45		
0.4	39.20 $\pm$ 2.50	36.80 $\pm$ 3.20	37.60 $\pm$ 2.68
1	30.70 $\pm$ 3.64		
2	29.60 $\pm$ 2.73		
20	42.50 $\pm$ 9.82		
200	30.90 $\pm$ 6.63		
1000	30.60 $\pm$ 4.34	52.20 $\pm$ 2.55	46.00 $\pm$ 0.72

(iii) 卵巢重量：漸増して 1000 μg 投与では、対照群のそれに比して27%の増加を示し、この投与量では、ED 投与の際よりもむしろ増大していた。

(3) ET 投与群

(i) 下垂体：0.04 μg 投与時、前葉組織は、PAS 及びその他の染色法によつても対照群と較べ著差はなかった。1 μg 投与では、前葉の周辺よりも中心部において PAS ⊕細胞が多く、顆粒は比較的緻密であり、陽性度は弱い。胞体内に一樣に分布していた。細胞は多角形のものもあるが、中心部では楕円形を呈し、空胞を有するものもある。核は一樣に膨大し、クロマチン網が紋様となつていのがみられ、核小体は偏心位をとり、核膜は肥厚していた。PMG では BZ に陽性の微細構造がみられ、また PAS ⊕細胞は、AF では⊖を示すものが多く、SH 染色では中心部に弱陽性がみられ、Al-ph も⊕を示した(写真10)。1000 μg では PAS ⊕細胞の数は、前者に較べ減少しているに反し、胞体の大きさは、前者よりもむしろ増大し、殊に核が非常に大となり前者に於ける変化が一層強く現われている感がある。核小体も膨大し平板状を呈しているものもみられた。PMG では BZ の⊕物質は殆んどみられず、SH 染色では中心部に索状の⊕物質がみられ、Al-ph は前者に比し陽性度が減少していた。

下垂体重量は、1 μg 投与ですでに増加していたが、1000 μg 投与では対照群に比し 2.5mg の増大を示していた。

(ii) 副腎重量は、1 μg 投与では著変がないが、1000 μg 投与では、対照群に比し 12mg の増加を示していた。

(iii) 卵巢重量は、1 μg 投与では推計学的に有意の差がみられないが、1000 μg 投与では、対照群に比し 5 mg の増加を示した。

3. 合成エストロゲン投与群

(1) EED 投与群

(i) 下垂体：2.0i.u. 投与時には、前葉に於いて PAS ⊕細胞は、卵円形又は多角形を呈し、血管に接して位置し、⊕物質は少々粗大顆粒状であるが、同単位の ED 投与のそれに較べると微細であつた。PMG は⊖であり、SH 染色では中心部に弱陽性の褐色部位を認めた。AZ 及び HZ に著変はなかった(写真11)。50i.u. 投与では、PAS ⊕細胞は中心部にみられたが、陽性度は非常に弱く、卵円形細胞には⊕顆粒の減少を認め、顆粒は微細状であつた。PMG では核周囲に⊕の網様構造を認め、血管は少々充血像を呈してい

た. 50000i.u. 投与では, 毛細血管は, その管腔が広く, PAS ⊕細胞は殆んど消失し, BZ の数は減少し細胞間隙は前二者に較べると広く, 又 PMG は⊖となり, SH 染色では陽性部は認めず, AZ の増加がみられた.

下垂体の重量は, 表10及び図5の如く, 投与量により有意の差を示さなかつた.

(ii) 副腎重量: 表11の様に, 50000i.u. 投与時に増大し, 対照に比し17mgの増大であつた.

(iii) 卵巣重量: 表12の如く, 50i.u. 投与時は, 対照群のそれに較べ著差を認めなかつたが, 50000i.u. 投与時は, 対照群に比し10mg減少した.

表10 各種各濃度エストロゲン投与による正常ラットの下垂体重量(mg)の変化

投与エストロゲン量 i.u./日	エストロゲンの種類				
	ED	EED	Hex	Vall	TACE
2	11.20±0.44	7.12±0.17	6.33±0.11	6.25±0.46	7.00±0.76
50	8.25±0.46	6.25±0.79	7.00±1.00	6.25±0.44	8.20±1.42
50000	10.66±0.33	7.00±1.00	9.00±1.50	7.62±0.86	10.25±0.69

図5 各種各濃度エストロゲン投与による正常ラットの下垂体重量(mg)/体重100g

表11 各種各濃度エストロゲン投与による正常ラットの副腎重量(mg)の変化

投与エストロゲン量 i.u./日	エストロゲンの種類				
	ED	EED	Hex	Vall	TACE
2	28.60±1.31	24.60±3.47	20.00±1.19	21.70±1.32	21.80±1.34
50	21.30±0.55	25.70±1.20	28.00±4.72	26.30±2.97	28.80±3.66
50000	34.60±2.67	39.60±8.38	34.20±4.70	30.50±1.84	29.50±1.26

表12 各種各濃度エストロゲン投与による正常ラットの卵巣重量(mg)の変化

投与エストロゲン量 i.μ./日	エストロゲンの種類				
	ED	EED	Hex	Vall	TACE
2	63.50±4.65	32.40±1.95	37.00±6.25	34.70±5.31	50.80±13.12
50	30.70±3.64	42.70±2.70	38.60±4.70	36.70±6.86	43.50±3.05
50000	30.60±4.34	31.00±3.00	4.00±12.90	45.70±4.72	44.00±3.97

(2) Hex 投与群

(i) 下垂体: 2.0i.u. 投与時の前葉細胞は, 中葉に接して少々粗大な PAS ⊕細胞を認めこれらは卵円形又は多角形を示し, PMG ⊖であつた (写真12). 50i.u. 投与では, PAS ⊕細胞は減数し, PAS ⊕物質は微細顆粒状を呈し, 特に卵円形細胞には脱顆粒像を認め, 広い管腔を有する血管に富んでいる特徴があつた. 50000i.u. 投与では, PAS ⊕細胞は, 前者と同様中心部にみられたが, その数は少く形は多角形を呈し, PMG ⊕のBZ もあつた. 下垂体重量は, 投与量の増加に伴つて漸増したが, 50000i.u. 投与では対照群に比して4.3mgの増加であつた.

(ii) 副腎重量: 前者と同様に, 投与量に平行して増大を示した.

(iii) 卵巣重量: 投与量の増加により有意の差を示さなかつた.

(3) Vall 投与群

(i) 下垂体: 前葉組織は, 2.0i.u. 投与時では, 対照群に比し著差を認めなかつた. 50i.u. 投与で, PAS ⊕の微細顆粒を有する細胞を中心部にみた他は, 前者に比し著差はなかつた. 50000i.u. 投与では, 広い管腔を有する毛細血管に富み, PAS ⊕細胞は減数していた他は, 前二者に較べ著差はなかつた. 下垂体重量は, 投与量に比例して僅かに肥大するのが知られた.

(ii) 副腎重量: 50i.u. 及び 50000i.u. 投与時に於いて, 対照に比し32~55%の増量を示した.

(iii) 卵巣重量: 投与量の変化に伴い増量し, 50000i.u. 投与時に対照群に比し4.7mgの増大を示した.

(4) TACE 投与群

(i) 下垂体: 2.0i.u. 投与時の前葉は, 少々微細な PAS ⊕顆粒を有する卵円形又は多角形の細胞を認めたが, これらの細胞像は, ED 0.2~0.4 μ g 投与時の所見に近く, PMG は⊕であつた (写真13). 50i.u. 投与では, PAS ⊕細胞は, 数及び染色度が減少し, PMG ⊖となつた. これに対し AZ は, 少々増加した. 50000i.u. 投与では, 中心部に血管とは位置的関係のない, 微細顆粒を有する PAS ⊕細胞を認め, AF ⊕を示したが, 周辺には PAS ⊕細胞を殆んど認めなかつた. 下垂体重量は, 50及び 50000i.u. 投与時に, それぞれ対照群より2~4 mgの増大を示した.

(ii) 副腎重量: 50及び 50000i.u. 投与時に, それぞれ対照群より6.3~7mgの増大を示した.

(iii) 卵巣重量: 投与量に変化しても, 推計学的に著差を示さなかつた.

第3項 小括

以上により, 去勢動物に少量の ED を投与すれば, 下垂体の組織像及び重量には変化をみないが, 投与量を増して 0.1~20 μ g とすれば, PAS ⊕細胞は減数しはじめ, 殊に前葉周辺細胞の ⊕顆粒は微細化を示し, 去勢細胞中の空胞にも縮小がみられる様になつた. このさい ED 投与に應ずる細胞は PAS ⊕, AF ⊖の周辺細胞が多かつた. 又, 投与量が極めて大量となると, ⊕細胞の粗大顆粒は殆んど消失し, 微細顆粒状を呈する様になつた. AZ は, ED の投与量の増加により, 一般に増数したが, HZ は著差を示さなかつた. 又, 正常群に於いては, ED の極めて微量投与では, 著変がみられなかつたが, 少量投与では, PAS ⊕物質は粗大となり, 周辺の血管の近傍に多く現われ, PMG は⊕を示した. 更に投与量を増加すると, 周辺の⊕細胞は, 脱顆粒又は消失し, 中心部のみ微細顆粒状を呈し, AF ⊕の PAS ⊕細胞の少数がみられるのみとなつた. 又 EO 投与では, これらの変化が ED 程著明には起らず, その 1000 μ g 投与時の前葉所見は, ED20~200 μ g 投与時のそれに近い像を示したが, 更にETに至つては, その変化は弱く, これに関しては後述する. 又合成エストロゲンとこれら天然エストロゲン投与の所見を比較すれば, 表13, 表14の如くである.

下垂体重量の変化は, エストロゲン各製剤により, 多種な変化を示したが, 去勢群では, その大量を投与すれば増大して一定の値に近づく傾向がみられた. 又副腎に関しては, 去勢群も正常群も共にエストロゲン投与により増加の傾向を示したが, その標準誤差を考慮すれば断定は出来ない. 卵巣重量は, エストロゲン製剤により下垂体に於けると同様に様々な変化を示し, それが卵巣, 子宮及び腔粘膜に及ぼす効力に差がある事を示した.

表13 各種各濃度エストロゲン投与による去勢ラットの下垂体前葉の組織化学的变化

染色法	投与量 i.u./日	エストロゲンの種類						
		ED	EO	ET	EED	Hex	Vall	TACE
PAS	0 (対照)	++						
	2	++	++	++	+	++	++	++
	50	+	++	++	+	+	++	+
	50000	+	+	++	+	+	+	+
PMG	0 (対照)	+						
	2	+	+	±	+	+	±	+
	50	—	+	+	+	—	+	+
	50000	—	—	—	—	—	—	—

註 (—) 陰性 (±) 弱陽性 (+) 中等度陽性 (++) 強陽性

表14 各種各濃度エストロゲン投与による正常ラットの下垂体前葉の組織化学的变化

染色法	投与量 i.u./日	エストロゲンの種類						
		ED	EO	ET	EED	Hex	Vall	TACE
PAS	0 (対照)	+						
	2	++	+	—	+	+	+	+
	50	—	++	++	+	—	+	—
	50000	+	+	+	—	+	+	++
PMG	0 (対照)	±						
	2	+	+	—	—	—	—	+
	50	—	—	+	+	—	±	—
	50000	—	±	±	—	+	—	±

第4章 考按並びに結論

性ステロイドホルモンが、性腺に作用する事は、周知のところで、古くから臨床面で応用されているが、更に性中枢、殊に下垂体も作用する事は、Hohlweg や Halpern³⁸⁾ らにより研究報告されたところである。この際、Gの変化を解明するために、個体又は並体動物の下垂体及び性腺臓器の形態学的研究、生体検定^{39)~46)}又は生化学的検査^{47)~49)}などが行われてきたが、近年に至り組織化学の急速な進歩発達により、Hildebrand⁵⁰⁾, Rennels⁵¹⁾ らが報告した様に、物質代謝の面からも検討を加える事が出来る様になった。

さて PAS 反応は、過沃度酸が1, 2グリコール基に作用して2分子のアルデヒド基を生ずるいわゆる Cytol 反応 (Malaprade 反応⁵²⁾) に基づくのであるが、⊕物質としては、多糖類、粘液多糖類、糖蛋白あるいは糖脂質などが考えられる。ラット下垂体において、唾液消化試験及び1%のTBにより強いメタクロマジーはみられなかつた事、又50%アセトン固定の組織片では PAS ⊕物質が殆んど消失した事及び同様に60%アルコール固定では陽性は消失したが、80%アルコール固定では PAS 陽性度に著変のなかつた事などを考慮すると、前葉の PAS ⊕物質は糖蛋白である事が推測され、この事は Evans⁵³⁾, Pearce⁵⁴⁾ らも認めているが、他面 FSH を化学的に糖蛋白として Li⁵⁵⁾ は取り出している。又 LH では Otuka⁵⁶⁾ が、TSH は Fels

⁶⁷⁾らによつて明らかにされたが、前葉における PAS ⊕物質は、いずれも G と関係があると推察出来る。

他面、去勢時に、前葉は多量の G 特に FSH を含むとなす多くの研究^{58)~60)} がみられるが、このさい一般に BZ が増加し、AZ は一応減少するが、HZ については意見が一致していない^{61)~62)}。しかしラットでは、いわゆる去勢細胞が出現し、これは粗大な PAS ⊕顆粒を含む事から、この顆粒と BZ とは、機能的にも密接な関係が存在するものと推定される。更に性周期については、下垂体細胞成分に関して伊藤が示している様に、機能的に FSH 放出時と考えられる静止期の終りから、発情前期にかけて BZ の数が増加するが、私もこの時期に PAS ⊕顆粒の出現が、僅かではあるが周期的に変化するのをみた。この事によつても G と PAS ⊕顆粒の出現が無関係であるとは云えないであろう。

1940年に Romeis は BZ に β 細胞と δ 細胞の 2 種類がある事を提唱し、続いて Gomori は、AF により β, δ の 2 種類の細胞を識別したが、その後 Pearse, Wilson⁸⁴⁾ 及び Barnett⁶³⁾ らの変法が報告されて、β, δ 細胞の区別は、より容易となつた。一方 Purves²⁹⁾⁶⁴⁾ らは、いわゆる塩基好性細胞を “Gonadotrophs” と “Thyrotrophs” の 2 つに分け、Wilson は、PAS-red と PAS-purple と呼んでおり、Pearse⁶⁵⁾ は “Mucoid” 細胞と呼称し、これを 8 型に分類している。

さて ED 投与時における前葉細胞、殊に BZ は、少量投与で PAS ⊕物質は、前葉の中心部及び周辺、特に血管周囲に著明に現われ、⊕顆粒は粗大であり、また PMG によつて核の周囲及び胞体周辺にピロニン好性の網様構造が出現した事は Caspersson⁶⁶⁾ により、リボ核酸を多量に保有する細胞は、蛋白合成機能及び増殖機能と密接な関係を有するといわれており、Pearse も “Mucoid” 細胞の産生時には、リボ核酸が増量することを述べている。更にこの時卵巢重量の増加がみられた事をあわせ考えると、前葉機能の亢進を思わせる。これらの点につき Salhanick⁶⁸⁾ らは去勢猿に少量の ED (1 日 10 μg) を長期間投与したが著変なく、1 日 100 μg 宛の長期投与で下垂体 G が ⊕ となり、投与中止後 20 日して再び G の産生をみた報告を肯定するものであり、すでにいわれている如く少量のエストロゲン投与は、G の放出を来さしめるものであらう⁶⁹⁾ ~⁷¹⁾。投与量を増し、中等量を与えると PAS ⊖ となり、PMG も ⊖ を示し、卵巢重量も減少し、あたかも前葉機能は減退したかの感がある。去勢ラットと異つて自己の生産するエストロゲンがある事から、ラットは正常状態を保っており、投与エストロゲンを充分利用し、前葉機能の亢進を必要としないのであらう。

去勢動物においては、性腺機能は完全に停止して、下垂体 G と性ステロイドとの相関関係から前葉機能は亢進し、PAS ⊕物質も増量するけれど、これは G 利用の高められたための増量ではなく、単に G のだぶついた姿であり、ために顆粒は粗大である。これにエストロゲンを投与すれば、この生理作用をうける臓器の機能は亢進するために、投与エストロゲンの利用消費は、直ちに前葉に反応し、G の分泌は高められる。これは中等量投与時に強く現われており、PMG ⊕はこれを補つて説明するものであり、要するに G の産生は高められているけれども、投与エストロゲンが大量となると、エストロゲンの飽和を来しいわゆる Feedback 現象から G 分泌を抑制し、PAS ⊖化を招来する。

体内で検出されるエストロゲンは、ED, EO, ET の 3 者から成つており、血流により目的臓器に達して作用を及ぼすと共に、体内代謝過程でこれら 3 者の移行が行われ、最終代謝産物として体外に排出されるのであるが、この動態を知るために、血中及び尿中エストロゲン分劃を追究したものは極めて多い⁶⁷⁾。中でも EO は、ED より発情力の弱いエストロゲンとして臨床面でも屢々使用されたのであるが、ET については極めて関心が少なく、Frederick らは、子宮重量測定にさいし、特異な作用が考えられる事を推察し、Puck⁷²⁾ は、他のエストロゲン製剤と異り、子宮頸部内膜に作用を及ぼすと報告しているが、一般には ET は、最終代謝産物と考えられているに過ぎない。この様な EO, ET については、まず EO に於いて、1 μg 投与の前葉組織は、PAS ⊕細胞の形、⊕顆粒の性状、その陽性度及び下垂体、卵巢重量を考慮すると、ED0.1~0.4 μg 投与時の所見に似ており、同様に 1000 μg 投与時のそれは、ED20~200 μg 投与時の所見に類似点を求める事が出来る。この事から EO は ED よりも下垂体に対して作用が弱いと考えられるが、EO は稀釈段階が少ないので、今後の検討を要するものがある。次ぎに ET には、投与時に卵巢重量の変化は殆んどみられなかつたのであるが、前葉組織殊に BZ の変化を認めた。即ち大量投与で PAS ⊕細胞核は肥大し、

核周の凹凸不正形, 核小体の膨大及びクロマチン網の紋様化がみられたが, これは腫瘍細胞の発生過程にみられる核に似ているが, Auerbach は機能の旺盛な細胞にこの様な所見がみられると述べており, 又浜崎⁷³⁾も核の上述の様な変化は, その細胞機能が亢進している事を示すと報告しているが, 従来殆んどその発情作用が弱いために注目されなかつた ET が, 卵巣及び副腎は著明な変化を及ぼさず, 前葉にのみこの様な作用を有する事は, 単にエストロゲン代謝産物に過ぎないと考えるには, あまりにも興味ある点を残している。

前葉のリボ核酸について, その BZ 中に於いて, Desclin⁷⁴⁾, 山田⁷⁵⁾, 林⁷⁶⁾らは, その胞体顆粒はリボ核酸の性質をもっていないと述べているが, Pearse, Wolfe⁷⁷⁾ 及び Dempsey らは, BZ においても認められると発表している。私は TB で弱いけれどメタクロマジーが認められた事及びリボスクレアーゼ消化を行うと, ピロニン好性の微細構造が消失した事は, BZ に於いても, リボ核酸は存在すると思われる。更に Abolin⁷⁸⁾は蛋白体の産生には, リボ核酸が必要であるが, 糖蛋白の産生には不要であると述べているが, Pearse は反対の意見を発表している。私の実験に於いては, 蛋白代謝を追究するために, 大原法により SH 基の変化をみたが, 有意の差を認めえなかつたのは, Abolin のいう如く, 蛋白代謝に関係のないためであるか, 又は染色方法の都合上, 切片を 9 μ 以下にはつくれなかつたため細胞の区別が出来なかつた理由によるのであるかは, 更に今後の検討を要する。

天然ホルモンは, 注射によつて効果を示すが, 内服では著しく効果をおとすとされ, これは, 肝臓酵素系によるエストロゲン不活性化によると考えられている。合成エストロゲンは, 内服によつてもこの様なことは少なく, 今日では臨床面で広く用いられているが, 合成エストロゲンも不活性化されないわけではない。これらの天然エストロゲンと合成エストロゲンとの作用効果については報告^{79)~81)}が多い。私の実験では, 先づ EED 投与時の所見は, 卵円形又は多角形の PAS ⊕細胞内に, 少々粗大な顆粒を認め, PMG ⊕, 血管の充血像及び PAS 陽性度などは, ED 投与時の 0.2~0.4 μ g 投与の所見に近く, 50i.u. ではかなりの PAS ⊕顆粒の消失及び染色度がおちている事は, ED 1 μ g 投与像に近い。又 Hex, TACE に於いて 2.0i.u. 投与像は差異がなく, 又 50i.u. 投与時に PAS ⊕の卵円形細胞に脱顆粒像がみられた点などは, ED 0.2~0.4 μ g 投与時の所見に類似している。これら合成エストロゲンの稀釈段階が荒いので, ED 投与と, これら合成エストロゲン投与とにより, 全く同じ所見はみられなかつたが, 更に下垂体重量, 卵巣重量及び去勢群投与時の所見を考えあわせると, 前葉に対し EED は ED と近似した作用を及ぼし, Hex, TACE はかなり弱い力しか有しない。この事は, 各製剤の国際単位は同一であつても, 性腺に対する効果と前葉に対するそれは, 必ずしも同一でないからであろう。更に Vall 投与では, 前葉の組織化学的像に著変なく, 下垂体重量及び卵巣重量にも有意の変化を認めないが, 大量投与に至つて始めて卵巣重量が増加したのは, 他のエストロゲンと異り, 発情作用は同じであつても下垂体, 卵巣に対しては機質的变化を及ぼす事が極めて少ないと考えられる。

蛋白代謝と密接な関係を有する SH 基に関して Ladman⁸²⁾⁸³⁾ らは, BZ に於いては, FSH の消長に併行して⊕物質の出現を認めているが, 私の場合は前葉周辺に陽性部を認めた場合もあつたが, その陽性度と特定の細胞との関係を断定する事はむづかしいが, ED 少量投与時に, 周辺部に⊕が強いのは PAS 及び PMG 所見と考えあわせると, 蛋白代謝の亢進を推察する事が出来, 適当な染色法を用いるならば, SH 基の面からも G 産生の機序を更に明確にする事が出来るであろう。又 Al-ph に於いて Abolin も述べている如く, BZ に於いては, 著変を認めない。又 AZ は⊕物質を有しているが, エストロゲン投与量との間に一定の関係は見出しえなかつた。

よつて私は, ラットを用いた実験の結果から要約して次の如く結論する。

(1) エストロゲンの連続投与を行えば, 下垂体前葉機能は, その少量投与では刺激的に, 大量投与では抑制的に影響された。

(2) 天然及び合成エストロゲン投与の下垂体前葉への影響の強さを比較すれば, Estradiol>Ethinylestradiol>Hexron, Chlorotrianisene>Estrone>Vallestril の順に弱くなる。

(3) ET は、前葉に対して弱いながらも刺激的に作用し、この点から ET を単なる代謝産物と考えることに対し再検討の要がある。

(4) エストロゲン投与により下垂体前葉の塩基好性細胞に変化がみられ、これら細胞中に含まれる PAS 陽性物質は、下垂体前葉の機能と一定の関係がある事が示された。

(稿を終るに臨み、終始御懇篤な御指導と御校閲を賜りました恩師赤須教授に心から感謝致します。)

参 考 文 献

- 1) Hohlweg, W. : Klin. Wschr. 11 : 321, 1932
- 2) Meyer, R.K., et al. : Endocrinol. 16 : 655, 1932
- 3) Zondek, B. : Nature. 154 : 154, 1944
- 4) Brown, W.E., et al. : Am. J. Obst. a. Gynec. 65 : 733, 1953
- 5) Zondek, B. : Surg. Gynec. & Obst. 88 : 783, 1949
- 6) Greep, R.O., a J.C. Jones. : Recent. Prog. Hor. Res. 5 : 197, 1950
- 7) Hohlweg, W. : Klin. Wschr. 13 : 92, 1934
- 8) Fevold, H.L., et al. : Am. J. Physiol. 114 : 508, 1936
- 9) Bradbury, J.T. : Endocrinol. 41 : 501, 1947
- 10) 五十嵐正雄 : 日産婦誌, 8 : 1395, 1956
- 11) Sayers, G. : Physiol. Rev. 50 : 241, 1950
- 12) 佐藤 孝 : 日産婦誌, 8 : 693, 1956
- 13) 古谷 博 : 日産婦誌, 7 : 1212, 1955
- 14) 奥田久ら : 産婦の進歩, 6 : 290, 1954
- 15) 成田久ら : 産と婦, 21 : 932, 1954
- 16) 塚原 栄 : 日産婦誌, 4 : 965, 1952
- 17) Lothringer, S. : Arch. Mik. Anat. 28 : 257, 1886
- 18) Romeis, B. : Handbuch d. Mik. Anat. d. Menschen, Bd VI. Tl 3, Springer Berlin, 1940
- 19) Pearse, A.G.E. : J. Path. a. Bact. 64 : 811, 1952
- 20) Herlant, M. : Bull. Acad. roy. Sci. Belg, 28 : 588, 1942 抄録
- 21) Mc Manus, J.F.A. : Nature, Lond. 158 : 202, 1946
- 22) 井上和子ら : 日病会誌, 38 : 109, 1949
- 23) Purves, H.D., a. W.E. Griesbach : Endocrinol. 49 : 244, 1951
- 24) 菊地 享 : 十全会誌, 57 : 102, 1955
- 25) 岡本耕造 : 顕微鏡的組織化学 医学書院, 東京, 1958
- 26) Pearse, A. G.E. : Histochem. Church. Lond. 1953
- 27) Gomori, G. : Mik. Histochemist., Univ. Chicago Press. Chicago, 1952
- 28) 大原実ら : 医学と生物, 11 : 344, 1949
- 29) Hill, R.T. : J. Physiol. 83 : 129, 1934
- 30) Wolfe, J.M. et al. : Z. Zellforsch 17 : 420, 1933
- 31) 松田正二 : 日産婦誌, 11 : 547, 1959
- 32) 佐藤五美 : 日産婦誌, 11 : 1513, 1959
- 33) 伊藤美禰子 : 臨産婦, 7 : 693, 1953
- 34) Catchpole, H.R. : J. Endoc. 6 : 218, 1949
- 35) Rothermich O., a. M. Foltz : Endocrinol. 27 : 37, 1940
- 36) 小林 博 : 日産婦誌, 8 : 621, 1956
- 37) 赤須文男 : 日産婦誌, 7 : 655, 1955
- 38) Halpern, S.R. a F.E.D' Amor. : Am. J. Physiol. 115 : 229, 1936
- 39) Finerty, J. C., a. R.K. Meyer. : Endocrinol. 46 : 494, 1950
- 40) 小栄次郎 : 日内泌誌, 16 : 89, 1940
- 41) 藤井久四郎 : 日婦会誌, 35 : 95, 1940
- 42) 原田基男 : 日外会誌, 56 : 396, 1955
- 43) 林 幹夫 : 名古屋医学, 69 : 65, 1955
- 44) Cutuly, E. a. E.C. Cutuly. : Endocrinol. 22 : 568, 1938
- 45) Biddulph, C. a. R.K. Meyer. : Proc. Soc. Exp. Biol. & Med. 63 : 92, 1946
- 46) 斎藤信彦 : 日産婦誌, 11 : 1899, 1959
- 47) Hilton, A.S., et al. : J. Clin. Endocrinol. 12 : 310, 1952
- 48) 土肥 定 : 日産婦誌, 10 : 1309, 1958
- 49) 住谷孝子 : 産婦の進歩, 6 : 71, 1954
- 50) Hildebrand, J.E., et al. : Z. Zellforsch. 46 : 400, 1957
- 51) Rennels, E.G. : ibid. 45 : 464, 1957
- 52) Malaprade, M.L. : Bull. Soc. Clin. biol. Paris. 5 : 833, 1934
- 53) Evans, H.M., et al. : Science. 89 : 249, 1939
- 54) Pearse, A.G.E. : Nature, Lond. 162 : 651, 1948
- 55) Li, C.H., et al. : Science. 109 : 445, 1949
- 56) Otuka, H. a. Y. Nada. : J. Biochem. Japan 41 : 547, 1954
- 57) Fels, I.G. et al. : Endocrinol. 51 : 349, 1952
- 58) Allright, F. : ibid. 20 : 24, 1936
- 59) 滝上 進 : 日産婦誌, 9 : 1402, 1957
- 60) 助川藩夫 : 日産婦誌, 11 : 1769, 1959
- 61) Gumbreck, I.G. : Am. J. Anat. 101 : 321, 1957
- 62) 山田和麻呂ら : 解剖誌, 31 : 82, 1956
- 63) Barnett, R.J. : Endocrinol. 59 : 398, 1956
- 64) Purves, H. D. a. W.E.

- Griesbach. : *ibid.* 55 : 785, 1954 65) Pearse, A.G.E. : *J. Path. & Bact.* 64 : 791, 1952 66) Caspersson, T. : *Naturwiss.* 29 : 33, 1941 67) Hisaw, F.L. et al. : *J. Clin. Endoc.* 14 : 1134, 1954
- 68) Salhanick, H.A., et al. : *J. Clin. Endoc. a Metab.* 12 : 310, 1952 69) Moore, C.R. et al. : *Am. J. Anat.* 50 : 13, 1932 70) Lane, C.E. a. F.L. Hisaw. : *Anat. Rec.* 60 : Suppl, 52, 1934 71) Frank, R.T. : *J.A.M.A.* 114 : 1504, 1940 72) Puck, A. a. K.A. Hüber. : *Acta. Endocrinol.* 22 : 191, 1956
- 73) 浜崎幸雄 : 細胞核の生理と病理, 永井書店, 大阪, 1954 74) Desclin, L. : *Endocrinol.* 40 : 14, 1947 75) 山田和麻呂 : 内分泌のつどい, 第12集, 協同医書, 1959 76) 林幹夫 : 名古屋医学, 69 : 52, 1955 77) Wolfe, J.M. : *Am. J. Anat.* 85 : 309, 1949 78) Abolin, L. : *Exp. Cell. Res.* 3 : 1, 1952 79) 中山徹也 : 日産婦誌, 8 : 1337, 1956 80) 赤須文男ら : 日産婦誌, 3 : 335, 1951 81) 小林隆ら : 産と婦, 23 : 360, 1956 82) Ladman, A.J. a. R.J. Barnett. : *Endocrinol.* 54 : 335, 1954 83) Barnett, R.J. : *ibid.* 55 : 484, 1954 84) Wilson, W.D. a. C. Ezrin. : *Am. J. Path.* 30 : 891, 1954

木 村 論 文 附 図 (その1)

写真1 静止期 (PAS ×350)
血管周囲に卵円形の PAS ⊕細胞あり

写真2 発情後期 (PAS ×350)
PAS ⊕細胞の顆粒は微細となる

写真3 去勢後30日 (PAS ×350)
PAS ⊕細胞は卵円形を呈し 血管周囲に多い去勢細胞は胞体大であり PAS ⊕

写真4 去勢後60日 (PAS ×350)
血管腔は広く PAS ⊕細胞は数を増している

写真5 ED0.04 μ g 投与：去勢群 (PAS ×350)
去勢後30日の像に近く PAS ⊕細胞の顆粒も粗大状を呈す

写真6 ED1.0 μ g 投与：去勢群 (PAS ×350)
PAS ⊕顆粒は稍微細化を示す

木 村 論 文 附 図 (その2)

写真7 ED.1000 μ g 投与: 去勢群 (PAS $\times$ 350)
去勢細胞の数は減少し, その環状空胞は殆んど消失している。

写真8 ED 0.04 μ g 投与 (PAS $\times$ 930)
卵円形の PAS $\oplus$ 細胞は血管周囲に多い

写真9 ED 1 μ g 投与 (PAS $\times$ 930)
辛じて ED 0.04 μ g 投与像に近似している

写真10 ET 1 μ g 投与 (PAS $\times$ 930)
PAS $\oplus$ 細胞の数は少く核は変形している

写真11 EED 2.0 i.u. 投与 (PAS $\times$ 930)
PAS $\oplus$ 細胞はみられるが, ED 投与時に較べてその数は少ない。

写真12 Hex 2.0 i.u. 投与 (PAS $\times$ 930)
PAS $\oplus$ 細胞はみられるが, 数及び陽性度はむしろ低調

木 村 論 文 附 図 (その 3)

写真13 TACE 2.0i.u. 投与 (PAS $\times 930$)
Hex 投与時と略同様像を呈する

写真14 ED1.0 μ g 投与 (PAS $\times 350$)
陽性細胞は前葉周辺に於ても殆んどみられない。

写真15 ED1000 μ g 投与 (PAS $\times 350$)
写真14と酷似している。血管周囲にも欠如している点
が注目される。

写真16 去勢後30日 (AF $\times 350$)
去勢細胞は AF $\ominus$ を示す。

写真17 ED 0.04 μ g 投与 (AF $\times 350$)
陽性細胞は血管とは関係なく散在し多角形を呈する

写真18 ED 0.04 μ g 投与 (PMG $\times 350$)
PMG $\oplus$ 細胞は AZ, BZ 共にみられる。

木 村 論 文 附 図 (その4)

写真19 ED1000 μ g 投与 (PMG $\times$ 350)
BZ の陽性度は殆んど消失し、胞体は明調となる

写真20 ED 0.04 μ g 投与：去勢群 (PMG $\times$ 350)
去勢細胞は陽性度が強い、

写真21 ED1000 μ g 投与：去勢群 (PMG $\times$ 350)
去勢細胞の陽性度は減少し胞体は明るい、

写真22 ED0.02 μ g 投与 (Al-ph $\times$ 350)
陽性細胞は周辺に多い、

写真23 ED1000 μ g 投与 (Al-ph $\times$ 350)
陽性度は殆んど消失