Electron Microscopic Studies on the Ultrastructure of the Adrenal Cortex

Correlation of its Structure and Function

Takeshi SATO

The 1st Department of Internal Medicine, Niigata University School of Medicine
(Director : Dr. Mitsuo Nishikawa)

Electron microscopic studies were made on the morphological changes of mitochondria of the adrenal cortex of young and mature rats under various experimental conditions : administration of ACTH, DOCA, chorionic gonadotrophin and KCl with accompanying decrease in Na/K ratio, removal of hypophysis, etc. Correlation between the ultrastructure of the adrenal cortex and its function was sought.

1) Mitochondria can be classified into two types according to the structure of the internal membrane : type I with the internal membrane possessing crista-like or filament-like structure and type II with the internal membrane of honeycomb-like structure. The former is mainly found in the zona glomerulosa and the latter in the zona fasciculata and reticularis. As the rat matures or as hyperfunction of the adrenal cortex develops, the type I mitochondria become more complex in structure with the protruding structure of the internal membrane forming a fine network. The type I mitochondria are transformed into type II. When hyperfunction of the adrenal cortex persists, the limiting membrane of mitochondria breaks and the internal structures of mitochondria come into contact with the endoplasmic reticulum surrounding the mitochondria.

2) The structure of mitochondria in the zona glomerulosa is altered when either the Na/K ratio is lowered or DOCA is administered. A similar change can be observed with the administration of ACTH or by hypophysectomy. The function of the zona glomerulosa, therefore, seems to be under the influence of the alteration of the Na/K ratio as well as the function of the hypophysis, though to a lesser extent.

3) With the administration of chorionic gonadotrophin, a tubular structure appears in the type II mitochondria in the inner layer of the zona fasciculata and in the outer layer of the zona reticularis. This structure, after six weeks administration of chorionic gonadotrophin, changes into a vacuolar structure.

These changes in the mitochondria differ from those seen after the administration of ACTH, e.g., disappearance of the fine structure in the internal membrane of the type II mitochondria in the outer layer of the zona fasciculata and opening of the limiting membrane.

副腎皮質の電子顕微鏡学的研究

——超微細構造と機能との関連について——

新潟大学医学部西川内科教室 (主任 西川光夫教授)

佐 藤 猛

(昭和37年5月25日受付)

1. 緒 言

従来、副腎皮質の構造と機能との相関について、皮質細胞の層的配列という観点に立脚した機能的二元論が提唱されてきた (Greep & Deane¹⁾)。即ち、球状層は鉱質ホルモンを分泌し、脳下垂体前葉の支配からは独立する。一方、束状層及び網状層は ACTH により支配され、糖質ホルモンを分泌するという考えである。これに加え、性ホルモンも束状層内層或いは網状層から分泌されるのではないかという推測が Bottella-Llusia²⁾及び Jones³⁾等によりなされている。

近年、電子顕微鏡の発達に伴ない、細胞内の超微細構造と機能の関連が脚光をあびてきた。即ち Brauntersteiner⁴⁾、Lever^{5~7)}、Belt⁸⁾、De Robertis⁹⁾、Ross¹⁰⁾、Geyer¹¹⁾、Asworth¹²⁾、Zelander¹³⁾、本陣¹⁴⁾、坂元¹⁵⁾、吉村¹⁶⁾、斎藤¹⁷⁾等は Mitochondria (以下 Mit. と略す)、小胞体等の各 organella が副腎皮質の機能に伴なつて変化することを電顕的に観察している。

生化学の領域から Steroid Hormone の生合成の際、重要な役割をもつ酵素が Mit. 及び小胞体に多く含有されていることが指摘されていること¹⁸⁾を考え合せる時、これら organella の構造の変化を追求する意義が大となつてくる。

西川、室根及び著者¹⁹⁾はラットに ACTH 投与、脳下垂体摘出、Gonadotrophin 投与等の実験を行ない、電顕的観察から、副腎皮質細胞の organella の形態の変化と機能との関連を推論した。

その結果、副腎皮質の Mit. は cristae 或いは filament 状の比較的簡単な内膜構造から、複雑な蜂窩状の内膜構造へと発達してゆくと推測した。この点について、幼若ラットの副腎皮質の超微細構造の検討によつて更に確かめた。

次に ACTH で刺激すると束状層外層の Mit. が反応し、Chorionic Gonadotrophin で刺激すると束状層内層及び網状層外層の Mit. が反応することから、我々は副腎性性ホルモンの生合成は後者の層で行なわれるのであらうと考えた。これに電解質代謝の実験も加えて、球状層細胞の微細構造の変化を観察し、Functional zonation の問題に検討を加えた。

2. 実験材料及び方法

Wistar 系雄性ラット (平均体重150g) を用い、各群を3~5匹とし、下記の実験を行なつた。

第1群: 正常成熟ラット群。

第2群: 生後5日 (体重8g) 及び12日 (体重18g) の未熟ラット群。

第3群: ACTH-Z 投与群。ACTH-Z 3mgを一回筋注後12, 24, 36時間後屠殺、及び ACTH-Z 4mg/日を1, 2, 3週間連続投与群。

第4群: 脳下垂体摘出後1, 3, 4, 7, 8週間後に屠殺した群。

第5群: KCl 投与群: 脳下垂体摘出後8週間及び未摘出のラット群を用い、一側副腎を KCl 投与前日にあらかじめ摘出しておき、対照とした。体重100g当り KCl 15mg を1%水溶液として、3回に分け6時間の間に腹腔内に注射、初回注射より11及び24時間後に他側副腎を摘出検索した。

第6群: DOCA 投与群: 体重100g当り0.025mgを5及び8週間連続筋注した。

第7群: Chorionic gonadotrophin 投与群: 去勢及び未処置ラットに Primogonyl (Schering) 1回50単位を週2回, 2, 3, 4及び6週間筋注.

以上の各群の動物は断頭屠殺後, 直ちに副腎を摘出, pH7.4磷酸緩衝1% Osmium 酸固定液中にて, 長軸が必ず副腎の中心を通る幅及び厚さ1mmの組織片に細分し, 氷室中で3時間固定した. 終了後水洗し, 70%から始まる Alcohol 系列にて脱水. 包埋は n-Butylmethacrylate 8 と n-Methylmethacrylate 2 の割合にて混合した monomer を使用し, 最初30°Cの孵卵器中で3時間, 次いで45°C中に一昼夜入れて重合した.

超薄切片作成は日立製UM-2型及び Sjöstrand 型 Ultra-microtome にて行なつた. この際試料を副腎被膜から髓質に向う軸に, 切片の長軸が平行になるような短冊型に整形して, 切片を作成した. これをスリット・メッシュ及びシート・メッシュにのせて, 電子顕微鏡にて観察の際, 細胞の層的な位置関係がはつきり分るようにした (Fig. 17参照).

電子顕微鏡は日本電子社製 JEM-5G及び明石製 TRS-50型を使用した.

なお他側副腎はH-E染色, Sudan Black 染色をほどこし参考に供した.

3. 観 察 所 見

(1) 正常成熟ラット

副腎皮質の Mit. はその内膜構造により, 2型に大別され, これらは皮質の各層における分布も異なっている.

I型 Mit. は長径0.8~1.3 μ の楕円形で, 一層の限界膜を有し, 内膜は他の臓器の Mit. と同様に幅約0.04 μ の cristae 或いは filament 状の構造を呈している. Mit. の matrix には微細顆粒も存在する. この型の Mit. は主に球状層の被膜隣接の細胞に多く分布する (Fig. 1). 球状層の内層になるに従つて, この filament 状の内膜突起は不規則に蛇行し, その断面は円形或いは桿状を呈し, 構造が複雑になり次に述べる II型 Mit. への移行型となる.

II型 Mit. は長径1.2~1.4 μ のほぼ球に近い楕円形で, 内膜は蜂窩状の構造を呈する. これは直径約0.04 μ の小球状或いは短桿状の胞体が密に配列していると考えられる (Fig. 2). この II型 Mit. は束状層及び網状層に多く分布する. かかる構造の Mit. は副腎皮質の他には睾丸の間質細胞, 卵巣の黄体細胞, バックの腎臓²⁰⁾及び或る種の原虫類²¹⁾の Mit. にみられる.

束状層内層及び網状層になると II型 Mit. の内部構造の一部が棍棒状又は短管状になつており, matrixの電子密度も高い. 便宜上, 前記 Mit. をII A型, かかる Mit. をII B型とした (Fig. 3 及び Fig. A 参照).

ラット副腎皮質で従来から問題になつている移行層は, 電顕でも観察され, 扁平な暗細胞から成り, Mit. はII B型を呈する.

小胞体は直径0.17~0.2 μ の滑面小胞体で, これも皮質各層における分布状態が異なっている. 球状層では vesicular type のものが数多く存在するが, 束状層, 網状層では少ない. これらの層は大部分暗細胞で構成されているが, 明細胞ではやはり vesicular type の小胞体が認められる (Fig. 3).

脂質顆粒は一層の薄膜に包まれる. 球状層では直径1 μ 前後の大きさのほぼ一定した球形の顆粒が, しばしば, 集団をなしているが, 束状層, 網状層では直径2.7 μ 前後の大きな球形のものが散在している. 網状層の髓質に近接した細胞には直径3 μ 以上の更に大きな顆粒もある.

この脂質顆粒にはしばしば Mit. が密に接している像がみられる (Fig. 1, 7). この脂質顆粒の形成については次の項で述べる.

(2) 未熟ラット群

生後5日及び12日目の未熟ラットに共通している特徴は, 成熟ラットに比し, 球状層及び束状層の細胞内に含まれる Mit. の密度が非常に少ないことである. この傾向は5日目の方が著明である. 換言すれば, 成熟度に比例して Mit. の数が増加する (Fig. 5, 6, 7, 8). したがって細胞質は明調を呈し, 束状層内層にな

つてはじめて暗細胞が観察される。

又, Mit. の構造は比較的単純であり, I 型 Mit. が束状層外層でも認められる。成熟するに従つて内膜の構造が複雑となつて, II 型 Mit. へと進展するのではないかと推察される。

Mit. と同様, 小胞体並びに Golgi apparatus の発達も悪いが, Palade 顆粒は多数認められる。Rouiller & Bernhard²²⁾ 及び Belt⁹⁾により Mit. の前駆体と考えられた microbody は成熟ラットでは主に球状層に散見されるに過ぎないが, 未熟ラットに於ては球状層から束状層外層にまで比較的多数認められる (Fig. 6, 8)。この microbody は直径 $0.2 \sim 0.3 \mu$ の球形の顆粒である。電子密度は中等度で, 一層の限界膜を有する。あるものは cristae 様の内部構造を呈し, Mit. への移行像と推察される。

脂質顆粒も未熟ラットの副腎では発達が悪い。この脂質顆粒の形成について Lever⁷⁾は Mit. の内部に電子密度の高い物質が沈着して, この沈着が次第に増加して脂質顆粒が形成されるのではないかと示唆しているが, degeneration の場合を除いて, Mit. 内に脂質顆粒の沈着が観察されることは極めて稀である。むしろ小胞体の内部に電子密度の高い物質が沈着していることが多い。この物質が集合し, 融合して脂質顆粒が形成されると想像される。

(3) ACTH-Z 投与及び脳下垂体摘出の影響

a) ACTH-Z 投与の影響

ACTH で刺激すると束状層外層に最も著明な変化が起る。II 型 Mit. は膨大し, 蜂窩状の内膜の一部は消失し, Mit. の matrix の電子密度は低下して明調を呈する。或る Mit. では, 限界膜の一部が開裂して, Mit. の内部と周辺の前形質や小胞体等と接触するようになる。ACTH の投与期間が長くなる程, かかる傾向は著明になる (Fig. 10)。かくの如き Mit. の形態の変化の過程を Fig. A の模式図で示した。

Fig. A 副腎皮質 Mitochondria 形態の変遷

小胞体も数, 大きさ共に増加し, Golgi apparatus も発達する。これに加え細胞内に palade 顆粒及び直径約 0.04μ の特殊な小胞も増加する。この特殊な小胞と Mit. の内部とは構造が似ており, Mit. の限界膜の開裂部を通じて両者が深い相互関係を有する。

脂質顆粒については ACTH の投与期間が長いほど減少が著明である。正常では球形のこの顆粒が種々の形になって Mit. や小胞体との接触面積が増大してくる。Lever⁶⁾や坂元¹⁵⁾等が報告している空胞形成はこの

脂質顆粒内には認めなかつた。又、脂質顆粒の血管腔内への直接の分泌像は認められなかつた。

次いで球状層に対する影響についての観察所見を述べることにする。

既に光顕像にて ACTH が球状層にも刺激的に作用することが報告されており、電顕像でも Lever⁶⁾ が同様の結果を報じている。我々の所見でも ACTH 投与後 1 週間群で既に球状層の Mit. は束状層と同様に膨大、或いは長さが延長し棍棒状になる。又、I 型 Mit. の filament 状内膜突起は数が増加し、蛇行して複雑になり、移行型 Mit. となる。更に刺激が続く場合は限界膜の開裂も起る (Fig. 9)。

球状層の脂質顆粒は ACTH 投与 3 週間の群で若干減少するが、束状層ほど強い減少はない。しかし、Fig. 9 の如く、脂質顆粒の集団を桿状に長くなつた Mit. が取り囲んでいる興味ある所見が観察された。

Microbody の増加も起り、殊に被膜隣接細胞でこの傾向が著しいように思われる。

b) 脳下垂体摘出の影響

束状層及び網状層では術後 1 週間群で既に機能低下像が認められる。Mit. は萎縮し、内部の電子密度が高まり、構造は不明瞭になつてくる (Fig. 12)。萎縮が高度になると Mit. の matrix の電子密度は更に高まり、終には無構造の顆粒になる。網状層ではこの顆粒がいくつか集合して大きな塊を形成しているものも認められた (Fig. 13)。

小胞体、Golgi apparatus 及び palade 顆粒も減少する。脂質顆粒は粗大化する。原形質の電子密度が高まつてくるため、細胞は暗調を帯びてくる。

球状層は脳下垂体摘出により幅が厚くなり、移行層の幅も厚くなることが既に報告されているが (Deane & Greep 1946²³⁾)、本実験でも術後 1 週間目から球状層の幅は厚くなり、移行層の幅も拡大してくる。しかし、Mit. は 1 週間目ではむしろ内膜の構造が複雑化し、移行型 Mit. に近い像を呈していた。Lever⁶⁾ は術後 9 週の群で Mit. の萎縮が起ると報じているが、本実験では術後 8 週で Mit. の内膜突起が減少し、その突起の間にオスミウム好性物質が沈着し、構造が不明瞭になつてくる。

小胞体、Golgi apparatus も同様に減少してくる。

(3) Na/K 比の低下及び DOCA 投与の影響

a) KCl 投与による Na/K 比の低下

Na/k 比の低下が球状層より Aldosterone 分泌を促進させ、逆に Na/K 比の上昇が分泌を抑制することが知られている²⁴⁾²⁵⁾。

KCl 投与後 11 時間にて、脳下垂体摘出及び非摘出ラット群共に球状層の organella の形態の変化が惹起される。この変化は ACTH で刺激された場合と似ている。即ち Mit. は膨化し、I 型 Mit. の filament 状の内膜突起は数が増加すると同時に不規則に蛇行し、移行型 Mit. になる (Fig. 15)。Mit. の数も増加し、中には限界膜の開裂しているものもある。この開裂部を通じて Mit. 内部と周辺の細胞質とが接触している。一部の Mit. の内部に数本の細管が束になつている像がみられる。Lever⁷⁾ もこの構造を指摘しており、cluster と称している。彼はこの cluster と Golgi 膜と形態が似ていることから Golgi apparatus から Mit. が形成されると仮定している。しかし、この cluster の断面をみると、Golgi 膜の断面像とは異なり、かなり多数の細管が束になつている (Fig. 15)。又、位置的にも Golgi apparatus とは異なり、核から遠く離れた細胞膜に近い場所の Mit. にもこの cluster が認められる。以上の事実から Lever の仮定は肯定し難い。

vesicular type の小胞体及び Golgi apparatus も著明に発達する。脂質顆粒は数、大きさ共にあまり変化しない。

KCl 投与後 24 時間の群では、11 時間の群よりやや organella の変化が少なくなっている。

b) DOCA 投与の影響

投与開始後 5 週で、皮質全層に萎縮が起るが球状層の変化が最も著しい。

Mit. は萎縮し、内膜の構造は単純になる。即ち filament 状の内膜突起は短かく真直になり、数も減少する。そのため球状層内層になつても Mit. は I 型を呈する。減少した cristae の間に電子密度の高い物質が沈着し、Mit. の構造は不明瞭になつてくる (Fig. 16)。この Mit. の萎縮の状態は脳下垂体摘出時と同一であ

る。

小胞体及び Golgi apparatus も減少し、細胞は暗調を呈する。かかる暗細胞の増加は DOCA 投与5週間の群の方が8週間の群より著明である。Sarason²⁶⁾或いは Deane & Greep²⁴⁾は DOCA が球状層の脂質顆粒を撰択的に減少させると報告しているが、Selye & Stone²⁷⁾は減少を認めていない。著者の実験では、Sudan B 染色で、光顕的にも DOCA 5週間投与群で軽度の減少、8週間群で高度の減少を観察し、オスミウム固定による電顕的観察でも同様に脂質顆粒の高度の減少が認められる。

脳下垂体摘出の場合、球状層の脂質顆粒はほとんど変化しないか、むしろ粗大化する傾向にあるが、これと比較すると、DOCA 投与の場合減少が起るのは特異的な変化である。

(4) Chorionic Gonadotrophin 投与の影響

Chorionic Gonadotrophin (C.G.T.) を投与すると束状層内層及び網状層外層の Mit. に特異的な変化が起る。即ち C.G.T. 投与3週でこの層の Mit. の内部に管状構造が生じ、II B型になる。6週目になるとこの管状構造が拡大し、内部に電子密度の低い物質を満たす空胞様の構造になる (Fig. 14)。しかしながら、球状層及び束状層外層の Mit. は変化しない。

ACTH で刺激すると Mit. の限界膜は開裂するが、C.G.T. の場合かかる像は認め得なかつた。両者の Mit. の形態の変化の相違を模式的に Fig. A にて示した。

Vesicular type の小胞体も束状層内層及び網状層外層では軽度の増加を示す。Golgi apparatus はほとんど不変である。

網状層の内層、即ち juxtamedullary layer は C.G.T. でも ACTH でも刺激を受けない。この層はもはや機能を有しない degeneration に陥つた細胞の層とみなされる。

4. 考按及び総括

副腎皮質の Mit. 小胞体等の各 organella は皮質の機能に応じて形態が変化するが、次の諸点を中心に考察をすすめて、Steroid Hormone の生合成におけるこれら organella の役割を明らかにしようと試みた。

即ち、(1) Mit. の新生と形態の変化 (2) 副腎皮質の機能と Mit. 及び小胞体の形態の変化との相互関係 (3) 副腎皮質の organella の微細構造に立脚した Functional zonation への批判である。

(1) Mit. の新生と形態の変化

a) Mit. の新生

Mit. の起源については未だ定説なく、従来の説には microbody より新生されるというもの (Rouiller & Bernhard²²⁾及び Belt³⁾、Golgi apparatus から形成されるというもの (Lever⁷⁾)がある。microbody から形成されるという説は本邦では高木²⁸⁾が支持している。Belt はラット副腎皮質束状層に Rhodin²⁹⁾が腎臓の電顕像で名付けた microbody と同一の構造の顆粒 (0.2 μ)を見出しており、Mit. と脂質顆粒の両方の前駆体と考えた。この microbody を同定する場合、Mit. 或いは脂質顆粒が切線方向に接する面で薄切された時の像との鑑別が問題となり、かなり困難である。著者は直径0.2~0.3 μ の中等度の電子密度の顆粒で、一層の限界膜を有するものを microbody とみなした。この microbody は成熟ラット副腎では球状層の被膜隣接細胞に見られ、未熟ラットでは球状層内層、束状層外層に至るまで認められる。又、ACTH で刺激すると、Mit. が増加すると同時に microbody も増加する。このように Mit. の新生が促されるような時 microbody が増加すること、比較的未熟な細胞に多いこと、かつ若干の microbody は不明瞭ながら、cristae 様の内膜構造を有することなどから、microbody が Mit. へと進展すると考えられる。

次に、Lever は Mit. の内膜と Golgi 膜とが似ていることから、Golgi 膜から Mit. 新生の可能性を推測しているが、KCl 投与時副腎の項で述べた如く、両者の断面の構造が異なっている点、又、未熟ラットでは Golgi 膜に似た構造の Mit. が発見されなかつた点などから、Golgi 膜を Mit. の前駆体とは考え難い。

さて、この microbody の前駆体は如何なるものであろうか。Belt はこれについては記載していないが、高木²⁹⁾は滑面小胞体内へ微細顆粒状基質が蓄積して生ずるのではないと想像している。未熟ラットの球状

層及び束状層の細胞, 並びに成熟ラットの被膜隣接細胞等発生学的に未熟と考えられる細胞には微細顆粒が多く存在し, これらの顆粒が集合した像が見出されることなどから, やはりこの可能性もあると考えられる。

b) Mit. の形態の変化

既述の如く, 副腎皮質の Mit. は I 型と II 型とに大別することが出来, I 型は II 型より発生学的に未熟であり, 機能的にも活性が低い。何故なら, 第一に, I 型は未熟ラット副腎皮質, 成熟ラットでは被膜隣接細胞など比較的未分化の細胞に多い。鶏ヒナ副腎細胞の Mit. もこの I 型を呈する(藤田⁹⁹)。

第二に, ACTH 或いは Na/K 比低下などの刺激が加わると, I 型 Mit. の内膜突起の数が増加すると共に蛇行し, 時に断裂して複雑になり II 型に近い構造, 即ち移行型になる。逆に, 脳下垂体摘出, DOCA 投与などで抑制すると, Mit. の内膜構造は比較的単純な I 型を呈することがある。

以上の理由から, I 型 Mit. から II 型 Mit. への進展を Fig. A の如く想定した。

Rana esculata の副腎の電顕像でも, Geyer¹¹⁾ は Mit. にやはり著者の I 型及び II 型に相当する型を区別し, I 型から II 型への移行を推測している。

(2) 副腎皮質機能と Organella の構造の変化との相互関係

a) 機能亢進時の Mit. 及び小胞体の変化

ACTH 或いは Na/K 比低下などにより束状層或いは球状層の機能が亢進すると, I 型 Mit. 及び II 型 Mit. 共に限界膜の一部が開裂し, Mit. の内部と周辺の細胞質との接触が起る。かかる時, 細胞質には vesicular type の小胞体, Palade 顆粒, 直径 0.04μ の特殊な小胞成分が増加している。これらの形態と Mit. 内部の形態とが極めてよく相似しており, かつ両者の間に接触の起ることから, Mit. 内部と周辺の細胞質の小胞体, 顆粒と密接な関係にあることがわかる。

これらの小胞体, Palade 顆粒, 特殊な小胞成分は, 生化学的には microsome として一括される。Hayano et al¹⁸⁾ は副腎皮質の細胞内においては, 全ての Corticoid の生合成は Mit. の表面で行なわれ, microsome fraction に存在する 3β -ol-dehydrogenase, soluble fraction に含まれる 17-及び 21-dehydrogenase などの所謂 extramitochondrial enzymes は, Mit. の表面に附着して活性化され, ACTH はこの活性化を促進するとし, Mit. と microsome の関係が密接であると主張しているが, 電顕的事実とよく合致する。ACTH は酵素蛋白の生合成をも促進するが (N. Saba³¹⁾), ACTH で刺激した場合, Palade 顆粒が増加することは新しい酵素蛋白の合成の結果と解される。

b) 脂質顆粒について

脂質顆粒の形成については, 未熟ラットの観察所見の際述べた如く, 滑面小胞体内にオスミウム好性物質が沈着して, これが次第に集積し, 融合して脂質顆粒が形成され则认为している。高木²⁸⁾, Suzuki³²⁾ 等は, 肝細胞の脂質顆粒は滑面小胞体内に形成されると報告しているが, Suzuki の脂質顆粒形成の各段階を示す電顕像と, 副腎皮質細胞内の脂質顆粒の様々な状態の電顕像とは非常によく相似している。

Belt³⁾ は microbody の内部に電子密度の高い物質の沈着を認めており, microbody は Mit. のみでなく, 脂質顆粒の前駆体でもあろうと推察している。

既述の如く, Lever は Mit. の内部に電子密度の高い物質が沈着して, これが次第に増大して脂質顆粒になると報じているが, Mit. 内部に脂質顆粒の沈着が認められるのは, 網状層の髄質近接細胞のごく一部の Mit. で, 他の層の細胞の Mit. では極めて稀である。脳下垂体摘出ラットの萎縮した副腎ではこれが増加してくる。Mit. 内部への沈着が進むと全体が 1 個の粗大な脂質顆粒になる。これら大小種々の粗大顆粒が集合して大きな塊状を呈する場合もある (Fig. 13)。この Mit. の変化は Rouiller & Bernhard²³⁾ のいう硝子変性に相当する。この変性顆粒は球状層及び束状層に存在する小胞体から形成される脂質顆粒とは区別して考えるべきであろう。

ACTH で刺激すると, 正常では球形の脂質顆粒は種々の不定な形に崩れるが, Mit. がこれに密接に附着している。恐らく Mit. はこの脂質顆粒の代謝に関与しているのであろう。

脳下垂体を摘出すると束状層, 網状層では脂質顆粒は粗大化するのに反し, DOCA を投与して球状層の

機能を抑制すると、脂質顆粒は消失する。従つてこの脂質顆粒の消長は、機能との関連を求める際、適当な指標とはいえない。むしろ Mit. 小胞体及び Palade 顆粒の変化が、忠実に皮質の機能を反映する。

Lever⁶⁾, 坂元¹⁵⁾は脂質顆粒の内部に空胞形成を報じ、機能と結び付けているが、オスミウム固定が不充分だつたりすると、脂質顆粒内に同様の空胞形成が起り、人工的变化との区別が困難である。Fig. 6 の脂質顆粒内の空胞は人工産物とみなされる。我々の種々の実験では、機能の変化に伴つて空胞が形成されることはなく、従つて、この空胞に機能的意義はつけ難い。

(3) Functional zonation の問題

a) 球状層と脳下垂体との関係

副腎皮質機能局在論は Swan (1940) により提唱され、Greep & Deane¹⁾によつて確立された。この説は生化学の領域においても、牛の副腎皮質の各層の slice を基質液中で incubate した実験で、18-oxydase の活性は球状層だけに証明され、17-hydroxydase は束状層、網状層に、3 β -dehydrogenase と 21-hydroxylase の活性は両方の層に証明され、酵素分布の局在が確かめられた (Stachenko & Giroud³²⁾, Ayres³⁴⁾).

この機能局在論は、球状層と脳下垂体との関係について種々の議論がなされている。

Deane & Greep³³⁾は、脳下垂体摘出により球状層は萎縮せず、逆に幅が広がつてくることから、この層の自律性を強調している。

しかし、ACTH を投与すると球状層の脂質顆粒が減少することが報告されており (Wexler & Rinfret³⁵⁾) 人においても ACTH を投与すると Aldosterone 排泄量が増加する (Bartter et al³⁶⁾).

本実験でも、ACTH を投与すると球状層の Mit. 及び小胞体に機能亢進像が現われ、脳下垂体を摘出すると術後 8 週目に球状層の Mit. 小胞体に機能低下像を認めている。

故に、球状層の機能は Na/K 比の変動によつて調節されるが、一方では脳下垂体前葉の影響を受けているとみなすのが妥当であろう。

b) 束状層及び網状層の機能について

ACTH を投与すると、束状層外層の Mit., 小胞体等の organella が最も著明な機能亢進像を呈し、脳下垂体を摘出すると、やはりこの束状層外層の organella が一番強い機能低下像を示す。

しかるに、Chorionic gonadotrophin を投与すると、束状層内層及び網状層外層の organella に変化が起る。即ち II 型 Mit. の内部に管状構造があらわれ、C.G.T. 投与後 6 週の群では、これが更に拡大し、内部に電子密度の低い物質を満した空胞様の胞体に変化する。既述の如く、かかる Mit. の変化は ACTH 投与の場合とは異なる。

西川³⁷⁾は尿中 17-KS の分割の年令的推移を研究し、老年期に入り睾丸機能が減退すると、睾丸由来の androsterone + etiocholanolone 分割が減少するが、その時、下垂体 gonadotrophin が増加して、副腎皮質の網状層に働いてこの分割の比較的増加を惹起することを報じた。その論文の中で、皮質ホルモンの前段階物質に対して ACTH と gonadotrophin が異なつた酵素系を賦活し、一方は cortisone, hydrocortisone 他方は androsterone 及び etiocholanolone へ導くと推論している。ACTH 投与と C.G.T. 投与の場合とで、Mit. の形態の変化がかくの如く異なつてゐることは、この推論の裏付けといえる。

又、束状層内層及び網状層外層の Mit. の形態が、gonadotrophin 投与によつて特異的に変化することから、この層は副腎性性ホルモンの代謝に関与していることがわかる。

5. 結 論

未熟及び成熟ラット副腎皮質を電子顕微鏡にて観察し、Mit. の新生と進展の問題を明らかにすると共に、ACTH 投与、脳下垂体摘出、KCl 投与による Na/K 比の低下、DOCA 投与、C.G.T 投与等の実験を行ない、副腎皮質の微細構造と機能との関連に対する考察を行なつて、次の結論を得た。

(1) Mit. は内膜の構造から cristae 或いは filament 状の内膜突起を有する I 型と、蜂窩状の内膜構造を呈する II 型とに分類される。前者は球状層、後者は束状層及び網状層に主として分布する。

Mit. は microbody から形成されると推定される。ラットが成熟するに従い、或いは機能が亢進すると、I 型 Mit. の内膜突起が蛇行して複雑になり、断裂して II 型 Mit. に移行する。

機能亢進状態が更に続くと、Mit. 限界膜のごく一部は開裂し、Mit. 内部と周辺の小胞体等との接触が起る。

(2) ACTH 投与及び脳下垂体摘出により、束状層のみならず球状層の organella の形態も変化し、これと同様の変化が、Na/K 比の低下及び DOCA 投与の際も起る。よつて球状層の機能は Na/K 比の変動により調節されるが、一方、脳下垂体前葉の影響も受けていることがわかる。

(3) C.G.T. 投与により、束状層内層及び網状層外層の II 型 Mit. の内部に管状構造が生じ、更に投与を続けると 6 週間にはこれが拡大し、空胞様の胞体に変化する。

稿を終るに当り、終始御懇篤なる御指導と御校閲を賜つた恩師西川光夫教授に深甚なる感謝を捧げ、併せて常に御教示を戴いた共同研究者室根博士に謝意を表する。同時に電顕的観察ならびに撮影に御協力下さつた新潟大学電子顕微鏡室技術員齋藤信氏に感謝する。

本論文の要旨は、第32, 33および34回日本内分泌学会総会において発表した。

文 献

- 1) GREEP, R.O. and H.W. DEANE : Ann. N.Y. Acad. Sci., 50 : 596, (1949).
- 2) BOTELLALLUSIA, J. : Archiv. Gynäkologie ; 17 : 183, (1952).
- 3) CHESTER JONES, I : The Adrenal Cortex, Cambridge University Press. (1957).
- 4) BRAUNSTEINER, H., K. FELLINGER and F. PAKESCH : Wien. Z. Inn. Med., 36 : 281, (1955).
- 5) LEVER, J.D. : Am. J. Anat., 97 : 3, (1955).
- 6) LEVER, J.D. : Endocrinol., 58 : 163, (1956).
- 7) LEVER, J.D. : J. Bioph. Biochem. Cytol., 2 : No. 4, Suppl. 313, (1956).
- 8) BELT, W.D. : J. Bioph. Biochem. Cytol., 4 : 337, (1958).
- 9) De ROBERTIS, E.D.P. and D.D. SABATINI : J. Bioph. Biochem. Cytol., 4 : 667, (1958).
- 10) ROSS, M.H., G.D. PAPPAS, J.T. LANMAN and J. LIND : J. Bioph. Biochem. Cytol., 4 : 657, (1958).
- 11) GEYER, G : Acta histochem., 8 : 223, (1959).
- 12) ASHWORTH, C.T., G.J. RACE and H.H. MOLLENHAUER : Am. J. Path., 35 : 425, (1959).
- 13) ZELANDER, T. : J. Ultrastructure Res., Suppl. 2 : 1, (1959).
- 14) 本陣良平, 泉外美, 中村俊男 : 解剖誌, 32 : 附録16回中部地方会抄録 1, (1957).
- 15) 坂元栄 : 日内分泌誌, 35 : 711 (1959).
- 16) 吉村不二夫 : 日内分泌誌, 37 : 495 (1961).
- 17) 齊藤真 : 日産婦誌, 12 : 11 (1960).
- 18) HAYANO, M., N. SABA, R.I. DORFMAN and O. HECHTER : Recent Prog. Hormone Research. 12 : 79 (1956).
- 19) NISHIKAWA M., I. MURONE and T. SATO : Electron Microscopic Investigations of the Adrenal Cortex. Endocrinol., (in press).
- 20) BEAMS, H.W., T.N. TAHMISIAN and R.L. DEVINE : J. Biophysic. and Biochem. Cytol., 1 : 197, (1955).
- 21) POWER, E.L., C.F. EHRET, L.E. ROTH and O.T. MINICK : J. Biophysic. and Biochem. Cytol., Z. Suppl. : 341, (1956).
- 22) ROUILLER, C. and W. BERNHARD : J. Biophysic. and Biochem. Cytol., Z. Suppl. 355, (1956).
- 23) DEANE, H.W. and R.O. GREEP : Am. J. Anat., 79 : 117, (1946).
- 24) DEANE, H.W. and R.O. GREEP : Endocrinol., 43 : 133, (1948).
- 25) SINGER, B. and M.P. STARKE-DUNNE : J. Endocrinol., 12 : 130, (1955).
- 26) SARASON, E.L. : Arch. Path., 35 : 373, (1943).
- 27) SELYE, H. and H. STONE : On the Experimental Morphology of the Adrenal Gland. American Lecture Series. Springfield, Illinois : C.C. Thomas. (1950).
- 28) 高木文一 : 「日本の医学の1959年」(第15回日本医学会総会学術集会記録, 東京) 1 : 70.
- 29) RHODIN, J : Correlation of Ultrastructural Organization and Function in Normal and Experimentally changed proximal Convolted Cells of the Mouse Kidney. Karolinsk Institut, Stockholm. (1954).
- 30) 藤田尚男, 安田勝, 永田士郎 : 日内分泌誌, 37 : 260 (1961).
- 31) SABA, N : Biochem. Societ.

佐藤論文附図(その3)

- Symposia, 18: 96, (1960). 32) SUZUKI, Y.: J. Electronmicroscopy, 9: 24 (1960).
 33) STACHENKO, J. and C.J.P. GIROUD: Endocrinol., 64: 730, (1959). 34) AYRES, P.J.:
 Biochem. Societ. Symposia, 18: 50, (1960). 35) WEXLER, B.C. and A.P. Rinfret: Endocrinol.,
 57: 608, (1955). 36) RARTTER, F.C., I. H. MILLS, E.G. BIGLIERI and C. DELEA: Recent
 Prog. Hormon Research, 15: 311, (1959). 37) 西川光夫: 最新医学, 10: 1091, (1955); 老年病
 学, II: 343, (1957), 金原出版.

写真説明

略号説明

M: mitochondria E: endoplasmic reticulum L: lipid granule m: microbody N: nucleus
 G: Golgi apparatus S: sinusoid R: red blood cell.

- Fig. 1 正常成熟ラット球状層のⅠ型 Mit. と脂質顆粒. 写真左下の所見は小胞体内に脂質顆粒が沈着して
 くる状態と考えられる. 25.000×
 Fig. 2 正常成熟ラット束状層のⅡA型 Mit. 16.000×
 Fig. 3 正常成熟ラット網状層の暗細胞と明細胞, ⅡB型の Mit. が明細胞に認められる. 12.000×
 Fig. 4 正常成熟ラット束状層外層, Ⅰ型 Mit. とⅡ型 Mit. の移行型が認められる. 24.000×
 Fig. 5 生後5日の未熟ラット球状層, Ⅰ型 Mit. が散見される. 24.000×
 Fig. 6 生後5日の未熟ラット束状層, Ⅱ型 Mit. 及び microbody が認められる. 15.000×
 Fig. 7 生後10日の未熟ラット球状層, 脂質顆粒にⅠ型 Mit. が接している. 30.000×
 Fig. 8 生後10日の未熟ラット束状層, Ⅱ型 Mit. 及び microbody が認められる. 生後5日のラットに比
 しⅡ型 Mit. がかなり増加してきている. 16.000×
 Fig. 9 ACTH-Z 投与後2週間目のラット球状層, Ⅰ型 Mit. が移行型 Mit. に変る. 桿状に延びている
 Mit. (M₁) も認められる. 数個の脂質顆粒が集合して集団を形成し, それを Mit. が取り囲んでいる
 像が認められる. 核の附近に Golgi apparatus が発達している. 10.000×
 Fig. 10 ACTH-Z 投与後3週間のラット束状層, Ⅱ型 Mit. の限界膜が開裂し, Mit. 内部と細胞質との交
 流がみられる. (矢印A) 又, 小胞体が細胞膜に開口している像が認められる. (矢印B) 8.000×
 Fig. 11 脳下垂体摘出後8週間のラット球状層, Ⅰ型 Mit. の内部構造は不明瞭となる. 10.000×
 Fig. 12 脳下垂体摘出後1週間のラット束状層, Mit. の内部構造不明瞭となり, 小胞体も減少. このため細
 胞全体が暗調を呈す. 10.000×
 Fig. 13 脳下垂体摘出後4週間のラット網状層, 脂質顆粒がいくつか集合し, 一つの大きな塊となつている.
 (矢印) 8.000×
 Fig. 14 Chorionic gonadotrophin 投与後6週, Mit. 内部に管状構造があらわれ, その一部は空胞様の胞
 体に変化するが, この胞体内部は電子密度の低い物質で満たれている. (矢印) 10.000×.
 Fig. 15 KCl 投与11時間後球状層, Mit. の増加及び膨大が起る. 一部の Mit. 内には数本の束になつてい
 る細管が認められる. 10.000×
 Fig. 16 DOCA 投与5週間後の球状層, Mit. の内部構造は不明瞭となり, 同時に matrix の電子密度は高
 まり, Mit. は時調を呈する. 10.000×
 Fig. 17 DOCA 投与8週間, 被膜(Cap.)から球状層(Z. gl)及び束状層(Z. fas)の一部まで含む切片, 脂質
 顆粒の減少している状態がよくわかる. En: Subcapsular sinus の内皮細胞. 3.800×