

鶏の下垂体の顕微分光測光法的研究 : I. 下垂体腺 葉細胞の色素親和性とその吸収曲線

高原, 斉
九州大学農学部畜産学第二教室

岩元, 久雄
九州大学農学部畜産学第二教室

岡本, 正夫
九州大学農学部畜産学第二教室

<https://doi.org/10.15017/23168>

出版情報 : 九州大学農学部学藝雑誌. 28 (4), pp.203-213, 1974-06. 九州大学農学部
バージョン :
権利関係 :

鶏の下垂体の顕微分光測光法的研究

I. 下垂体腺葉細胞の色素親和性とその吸収曲線

高原 齊・岩元久雄・岡本正夫

九州大学農学部畜産学第二教室
(1974年3月30日受理)

Microspectrophotometrical Studies of the Hypophysis in the Domestic Fowl (*Gallus domesticus*)

I. Affinity of Dyes and the Absorption Spectra in the Adenohypophyseal Cells

HITOSHI TAKAHARA, HISAO IWAMOTO
and MASAO OKAMOTO

Laboratory of Animal Husbandry II, Faculty of Agriculture,
Kyushu University, Fukuoka

緒 言

脊椎動物の下垂体は脳の腹位にあり、細い下垂体柄で間脳と連絡し、腺葉と神経葉の2部から構成される。前者は末端部 *Pars distalis*、隆起部 *Pars tuberalis* および中間部 *Pars intermedia* の3部位からなるが、鳥類では中間部が欠如している。Rahn (1939) は鶏の下垂体腺葉末端部が細胞構成の異なる前部腺体 (cephalic lobe) と後部腺体 (caudal lobe) からなることを報告し、その後 Rahn *et al.* (1941) は18種類の鳥類の下垂体腺葉について、さらに Wingstrand (1951) は22種類の鳥類でその事実を確認した。

Mikami (1958) は各種の実験条件下において2部位の細胞構成および腺細胞の変化を検討し、前部腺体から GTH (生殖腺刺激ホルモン)、TSH (甲状腺刺激ホルモン) および ACTH (副腎皮質刺激ホルモン) が分泌され、後部腺体から GH (生長ホルモン) および GTH が分泌されることを明らかにした。さらに Mikami *et al.* (1969) は前部腺体から LTH (黄体刺激ホルモン) が分泌されることを示唆し、結局鶏の下垂体腺葉からは6種類のホルモンが分泌されるといわれている (GTH には FSH=卵胞刺激ホルモンと LH=黄体形成ホルモンとの2種類がある)。また、

Kleinholz *et al.* (1939, 1940) は鶏の前部腺体が MSH (メラニン細胞刺激ホルモン) を多量に含有すると報告しており、松尾 (1954) は前部腺体にある V 細胞がこのホルモンに関連するのであろうと推察していることから、このホルモンの分泌も考えられる。

以上のことから鶏の下垂体腺葉の細胞構成とホルモン分泌との関連を究明することは同腺葉の生理機能を考察するにあたって非常に重要なことである。電顕的にも見上 (1969) は white crowned sparrow や鶏の下垂体腺葉細胞構造を観察し、その機能的意義について詳細に報告している。

本研究は従来からの光顕的な組織細胞学的研究を土台として顕微分光測光法により鶏の下垂体腺葉の細胞構成と生理機能の関連を追究するまったく新しい試みを目的としたものである。まず、従来から腺細胞の分類によく使われる種々の染色法を使用して各種腺細胞の色素親和性とその吸光特性を追究し、若干の知見を得たので報告する。

実験材料および方法

実験材料は福岡県種鶏場より導入した白色レグホーン種雄鶏35羽で、飼養条件は孵化直後より全期間を通じ所定の配合飼料 (日配) を用いて自由採食とし、

飲水も自由摂取とした。140~150日齢で断頭屠殺し、直ちに材料採取した。下垂体腺葉は秤量後直ちに昇汞ホルマリン液に入れて24時間固定、所定通りパラフィン包埋後3~4 μ の連続切片を作製した。用いた染色法は次の9つの方法である。

1. Goldberg & Chaikoff (1952) の trichrome 染色
2. 同法の変法(加藤ら, 1952)
3. Goldberg & Sheveringhaus の染色: 松尾(1954)の論文より引用
4. 松尾(1954)の tetrachrome 染色
5. PAS 染色 (McManus, 1946)
6. Gomori (1950) の aldehyde fuchsin 染色
7. PAS-methyl blue 染色
8. PAS-Heidenhain の鉄ヘマトキシリン染色
9. PAS-松尾の tetrachrome 染色

顕微分光測光法ではオリンパス顕微分光光度計(Type A-IV)を使用した。分光測光は1,000倍の強拡大(油浸系レンズ使用)で腺細胞を確認し、細胞質に直径2.5~4.9 μ のスポットを照射して測定した。その場合、細胞膜や核の影響を受けないように、明らかに細胞質部と認められる場所のみを選んで測定した。また、使用した色素の吸光特性を知るため、あらかじめ0.01~0.001%単独溶液を作り、同装置内蔵のマクロ測定装置を使用して吸収曲線を求めた。

組織細胞学的観察

鶏の下垂体腺葉は前部腺体、後部腺体および隆起部の3部位に分けられ(Fig. 1)、細胞構成もそれぞれ異なるが、本研究では前二者の細胞構成について観察を行なった。一般に下垂体腺細胞の細胞型の表現は

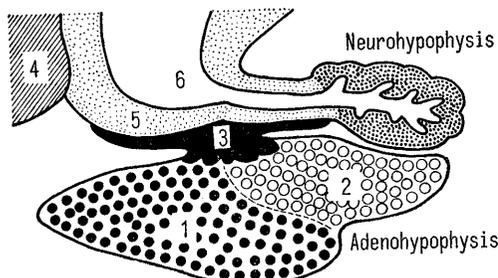


Fig. 1. Diagram of median section of the hypophysis in the domestic fowl. 1: Cephalic lobe, 2: Caudal lobe, 3: Pars tuberalis, 4: Optic chiasma, 5: Median eminence, 6: Third ventricle.

van Oordt (1965)の各細胞の生理機能(ホルモン分泌)に即した命名法が適切であるといわれるが、鶏の下垂体腺葉で直ちにそれを適用するにはまだ不明確な点が多く、本研究では腺細胞の色素嗜好性により分類した Matsuo *et al.* (1969)の命名法を使用した。

酸好性細胞

酸好性細胞は後部腺体に観察されるが、まれに前部腺体にも混在することがある。Goldberg & Chaikoffの trichrome 染色や松尾の tetrachrome 染色で黄赤色~紫赤色を呈するもので、細胞の形態は多くは大形卵円形で毛細血管に接してみられる。松尾の tetrachrome 染色では orange G に対する親和性が強く黄橙色を呈する細胞 (orange acidophils) と、acid fuchsin を取つて紫赤色に染まる細胞 (red acidophils) を区別することができた。

Orange acidophils は後部腺体のさらに後位に多くみられ、卵円~多角形の細胞で細胞質内には orange G 好染の粗大顆粒を均一に含有している。核は大きく円形~卵円形で、核小体も明瞭で大きい。核小体はしばしば acid fuchsin に濃染する。Heidenhain の鉄ヘマトキシリン染色では orange G 好染の粗大顆粒が黒色に染色され、他の塩基好性細胞などから明瞭に識別される。PAS 染色にはほとんど反応しない。

Red acidophils は後部腺体の前位(下垂体腺葉全体では中央寄り)に多く観察され、細胞質顆粒が acid fuchsin 好染で紫赤色を呈する。細胞の大きさは orange acidophils とほぼ同じであるが、多角形~円柱状の細胞が多い。Heidenhain の鉄ヘマトキシリン染色では orange acidophils と同様に黒色に染色され、両者を区別することは困難である。PAS 染色にはほとんど反応しない。

塩基好性細胞

塩基好性細胞は aniline blue, methyl blue および methyl green に強い親和性を示す。本細胞は下垂体腺葉全体に亘り観察され、通常卵円~多角形の大きな細胞で細胞膜が明瞭である。核は大きくて細胞の周辺部に位置することが多く、1~2個の明瞭な核小体を有する。上記の塩基性色素で染色すると細胞質顆粒が微細で淡く染まる細胞 (light basophils) と、同顆粒が粗大で濃く染まる細胞 (deep basophils) が区別され、これらは PAS 染色を組み合わせることでよりさらに明瞭に識別することができる。しかし、塩基好性細胞の中には PAS 染色に反応しないものもみられ、PAS 染色のみで塩基好性細胞を識別することは困難である。Heidenhain の鉄ヘマトキシリン染色に

は反応しない。

両好性細胞

両好性細胞は前部腺体にのみみられる。従来、この細胞は酸好性系細胞 (acidophilic cells) といわれるが、松尾の tetrachrome 染色では acid fuchsin と methyl green を同時にとつて紫色に染色される。細胞は一般に小さく、形は種々で卵円～多角形または円柱状を呈する。Heidenhain の鉄ヘマトキシリン染色では黒色に染まり、酸好性系細胞であることを示すのであるが、PAS 染色にも弱い陽性反応を示し、さらに methyl blue, acid violet にも染色される。Gomori の aldehyde fuchsin 染色にも陽性を示す。

色素嫌性細胞

この細胞は下垂体腺葉全体に亘つて観察され、細胞質の少ない小形の細胞である。毛細血管に接することは比較的少なく、細胞索の中央に位置することが多い。核は小さいが明るく、明瞭な核小体を有する。細胞質顆粒は少なく色素をほとんど取らない。この細胞は古くから未分化の細胞であると考えられており、上記各種腺細胞への移行型と思われる細胞も多く観察された。

下垂体小胞その他

各種腺細胞は不規則な索状にならぶ細胞索を作り、

その間には緻密に交錯する洞様毛細血管が存在している。このような腺細胞群に囲まれてしばしば colloid を含む小胞が観察された。小胞は後部腺体にあるものが特に大きく、内包する colloid は methyl green に濃染し、PAS 染色にも強い陽性反応を示す。小胞上皮細胞は繊毛を有する単層円柱上皮で、塩基性色素に好染する。

下垂体腺葉内にはこの他にしばしばリンパ組織が観察される。本研究でも 35 例中 7 例で同組織を観察した。

顕微分光測光法による測定結果

まず最初に本研究で使用した色素についてそれぞれ単独溶液を作り吸収曲線を求めた結果、Fig. 2 に示すような吸収スペクトルを得た。すなわち、orange G は 480 m μ 付近に最大吸収がみられ、以下 acid fuchsin は 543m μ , basic fuchsin は 560m μ , aniline blue は 605m μ , methyl green は 634m μ , methyl blue は 645m μ 付近でそれぞれ最大吸収がみられた。また、methyl green は 410~415m μ で極大吸収がみられ、特異的な吸収曲線が得られた。次に染色識別された細胞について被染色物質 (細胞質顆粒) の吸収曲線を求めた結果、Fig. 3 から Fig. 11 に示すような

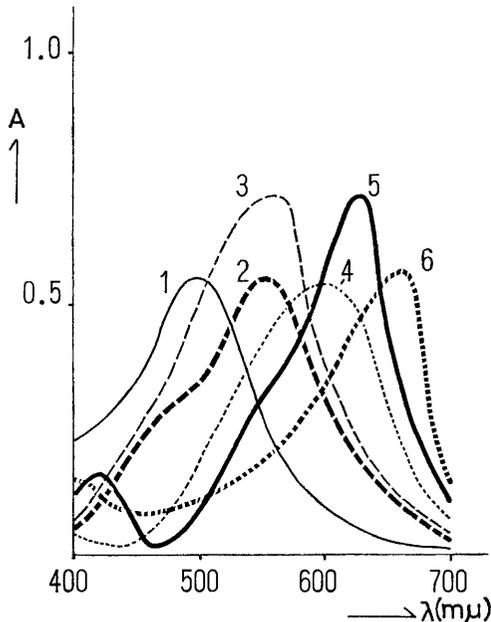


Fig. 2. Absorption spectra of several stains used in this study. 1: Orange G, 2: Acid fuchsin, 3: Basic fuchsin, 4: Aniline blue, 5: Methyl green, 6: Methyl blue.

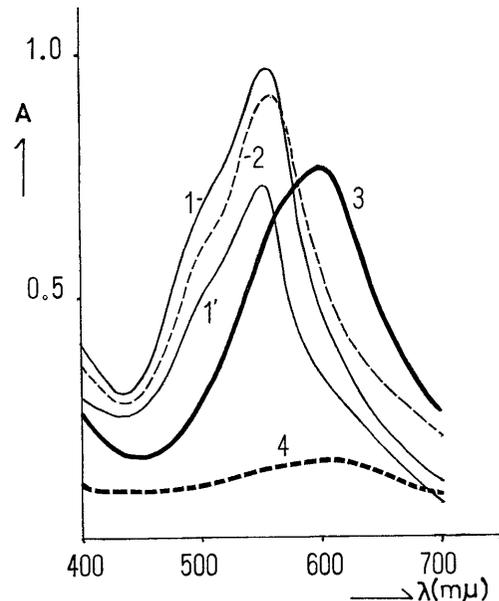


Fig. 3. Absorption spectra in various cell types stained with Goldberg & Chaikoff trichrome method. 1, 1': Acidophils, 2: Amphophil, 3: Basophil, 4: Chromophobe.

吸収特性が得られた。

Goldberg & Chaikoff の trichrome 染色 (Fig.3)

この染色法には orange G, acid fuchsin および aniline blue の3種類の色素を使用した。本法で識別した各腺細胞の吸光特性から基本的に酸好性細胞と塩基好性細胞を区別することはできるにしても、酸好性細胞を細かく orange acidophils と red acidophils に識別することは不可能である。さらに両好性細胞では aniline blue に対する親和性が比較的弱いのにに対し、acid fuchsin の吸光特性が強く現われているため、酸好性細胞から区別することは困難である。塩基好性細胞は aniline blue の吸光特性を有し、他の酸好性細胞からは識別されるが、細かく2種類の塩基好性細胞に区別することはできなかった。

Goldberg & Chaikoff の trichrome 染色の変法 (Fig.4)

Goldberg & Chaikoff の trichrome 染色では orange G と acid fuchsin の混合液を作り、両色素を同時に作用させたが、この加藤ら (1952) による変法は orange G 染色と acid fuchsin 染色を別々に行なう改良法である。そのため、顕微分光測光法的には酸好性細胞と両好性細胞を識別することができた。すなわち、両細胞とも最大吸収は $543\text{m}\mu$ でみられた

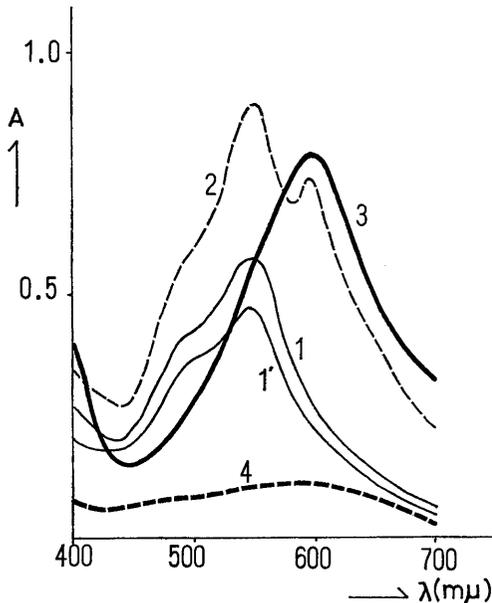


Fig. 4. Absorption spectra in various cell types stained with modified Goldberg & Chaikoff trichrome method. 1, 1': Acidophils, 2: Amphophil, 3: Basophil, 4: Chromophobe.

が、酸好性細胞は $480\text{m}\mu$ に、両好性細胞は $605\text{m}\mu$ にそれぞれ極大吸収が出現した。これは両好性細胞で acid fuchsin に対する親和性がやや低くなり、相対的に aniline blue の影響が大きく現われた結果であろう。しかし、酸好性細胞をさらに細かく2種類に分けることはできなかった。塩基好性細胞は aniline blue の吸光特性を示し、基本的に酸好性細胞や両好性細胞と区別することはできたが、さらに細かく2種類に分けることはできなかった。

Goldberg & Sheveringhaus の染色 (Fig.5)

この方法は先の染色法の中で aniline blue の代りに methyl green と acid violet の混合液を使用したもので、それにより塩基好性細胞と両好性細胞の最大吸収が $634\text{m}\mu$ 付近でみられた。両好性細胞の細胞質顆粒は methyl green に対して強い親和性を有するものと思われ、求めた吸収曲線では $543\text{m}\mu$ での acid fuchsin による吸光度よりさらに強い吸光度が得られた。酸好性細胞は $543\text{m}\mu$ 付近で最大吸収がみられ、Goldberg & Chaikoff の trichrome 染色の場合と同様に細かく2種類に分けることはできなかった。

松尾の tetrachrome 染色 (Fig. 6)

この方法は orange G 染色液, acid fuchsin 染色

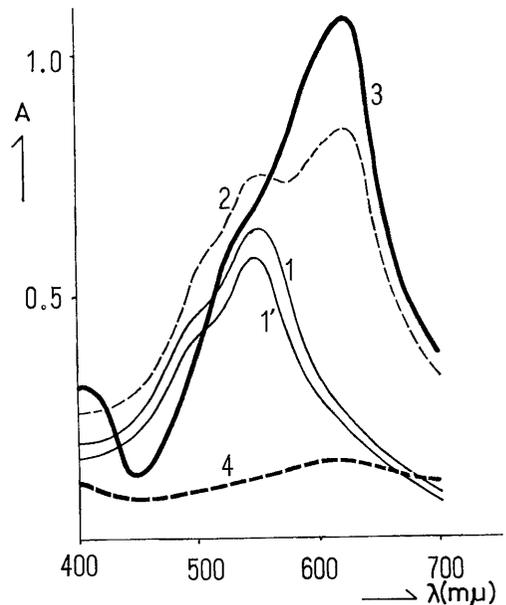


Fig. 5. Absorption spectra in various cell types stained with Goldberg & Sheveringhaus method. 1, 1': Acidophils, 2: Amphophil, 3: Basophil, 4: Chromophobe.

液および methyl green と acid violet の混合液に入れるそれぞれの染色時間を改良したもので、それにより顕微分光測光法的には各種腺細胞の識別が可能になる。

Orange acidophils と red acidophils はともに $543m\mu$ 付近で最大吸収がみられたが、同時に $480m\mu$ 付近で極大吸収が認められ、orange acidophils でとくにそれが強く現われたので容易に両者を区別することができた。

両好性細胞, light basophils および deep basophils はすべて $634m\mu$ 付近に最大吸収, $415m\mu$ 付近に極大吸収が認められたが、その他に deep basophils と両好性細胞では $543m\mu$ 付近で、さらに両好性細胞では $480m\mu$ 付近で極大吸収が認められ、それぞれの腺細胞を識別することができた。

このように本染色法で各種腺細胞の識別が容易になったのはそれぞれの染色液での染色時間を改良したため得られた結果であろう。

PAS 染色 (Fig. 7)

この染色で陽性反応を示す腺細胞は塩基好性細胞と両好性細胞である。しかし、それらの細胞群がすべて陽性を示すとはかぎらず、PAS 染色に全く反応しない細胞もある。この染色性の違いは個々の細胞の生理状態により異なるものと思われる。これらの細胞の他に下垂体腺葉の基材である被膜の結合組織や小胞内 colloid も PAS 陽性反応を示す。PAS 陽性反応を示す物質の吸収曲線は $560m\mu$ に最大吸収がみられ、とくに小胞内 colloid のそれは典型的な basic fuchsin の吸収曲線の様相を示した。これは同 colloid が小胞内で比較的均一な分布を示す物質であることによると思われる。

Gomori の aldehyde fuchsin 染色 (Fig. 8)

この方法で染色識別される腺細胞は両好性細胞であるが、その他に一部の小胞内 colloid と結合組織が弱い陽性反応を示す。この染色液には basic fuchsin を含んでいるが、PAS 染色における basic fuchsin の吸光特性とは違ってこの染色による被染色物質の吸収曲線では最大吸収が $540m\mu$ 付近に移行し、特異的に変化している。

PAS-methyl blue 染色 (Fig. 9)

この染色により塩基好性細胞と両好性細胞が陽性反応を示すが、酸好性細胞は染まらない。各細胞の吸収曲線を求めると、deep basophils は $560m\mu$ に最大吸収, $645m\mu$ に極大吸収がみられたが、light basophils と両好性細胞では逆に $645m\mu$ に最大吸収, $560m\mu$ に

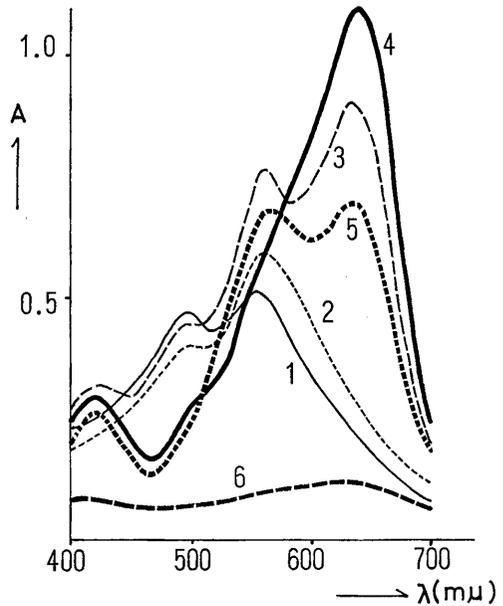


Fig. 6 Absorption spectra in various cell types stained with Matsuo tetrachrome method. 1: Orange acidophil, 2: Red acidophil, 3: Amphophil, 4: Light basophil, 5: Deep basophil, 6: Chromophobe.

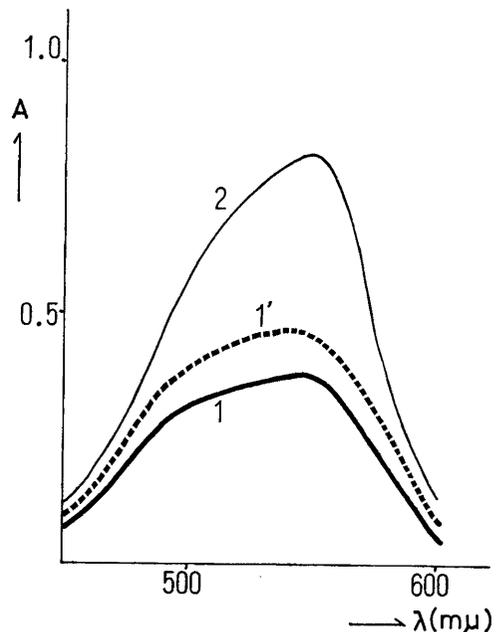


Fig. 7. Absorption spectra of basophils and the colloid in the caudal lobe reacted to PAS stain. 1, 1': Basophils, 2: Colloid.

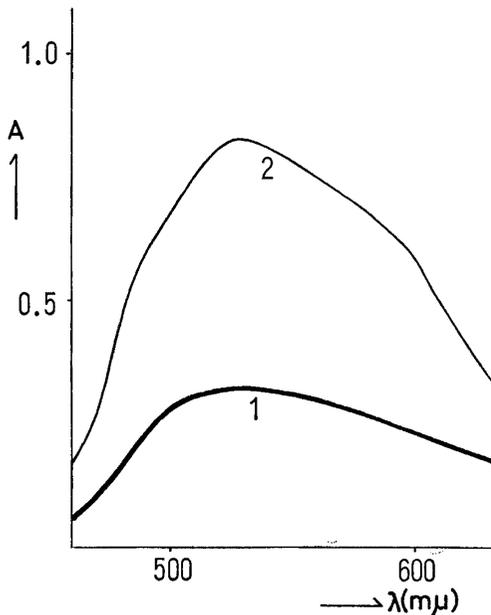


Fig. 8. Absorption spectra of the amphiphil and the colloid in the cephalic lobe reacted to Gomori aldehyde fuchsin stain. 1: Amphiphil, 2: Colloid.

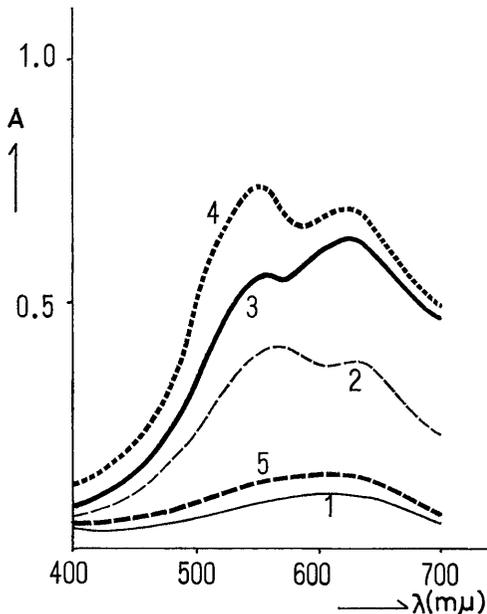


Fig. 9. Absorption spectra in various cell types stained with PAS-methyl blue method. 1: Acidophil, 2: Amphiphil, 3: Light basophil, 4: Deep basophil, 5: Chromophobe.

極大吸収がみられた。これは PAS 染色に対する反応が deep basophils で他の 2 細胞より強いことを示唆する。Light basophils と両好性細胞はその吸光特性から両者を区別することが困難である。

PAS-Heidenhain の鉄ヘマトキシリン染色 (Fig. 10)

この染色を行なうと酸好性細胞と両好性細胞がヘマトキシリン色素を取つて黒色に染色され、一部の塩基好性細胞が PAS 染色で赤紫色に染め分けられる。顕微分光測光法的にみると、ヘマトキシリンに染まつた細胞質顆粒は可視部波長全域に吸光性を示し、その特徴をみつけることが困難である。しかし、両好性細胞は PAS 染色にも陽性を示すので、560 μ 付近に最大吸収がみられ、わずかに酸好性細胞と区別することができた。一部の塩基好性細胞は PAS 染色の場合と同様に 560 μ 付近で最大吸収を示した。

PAS-松尾の tetrachrome 染色 (Fig. 11)

組織細胞学的観察でこの染色により酸好性細胞と塩基好性細胞を各々さらに細かく 2 種類に分別したが、顕微分光測光法的にも各種腺細胞の識別が容易であつた。すなわち、前部腺体では 4 型、後部腺体では 5 型の腺細胞を識別することができた。

後部腺体酸好性細胞の吸収曲線を求めると、いずれも 543 μ に最大吸収が認められるが、orange acidophils で 480 μ 付近に極大吸収がみられることから red acidophils と区別することができる。

前部腺体両好性細胞は 560 μ 付近に最大吸収がみられ、634 μ 、415 μ 付近にそれぞれ極大吸収が認められた。

下垂体腺葉全域に分布する塩基好性細胞はすべて同じような吸光特性を示した。すなわち、634 μ 付近に最大吸収がみられ、415 μ 付近に極大吸収がみられる、いわゆる methyl green の吸光特性をそのまま示した。しかし、deep basophils では 560 μ 付近でさらに極大吸収が現われるので、light basophils と区別することが可能であつた。

色素嫌性細胞はわずかに methyl green を摂取しているものと思われ、634 μ 、415 μ 付近でわずかに吸光性を示したが、全体として吸光度が低いので他の腺細胞と識別することができる。

考 察

下垂体は脊椎動物の体の内分泌協関の中でも中心的役割を演じており、ホルモン分泌細胞の生理機能を論ずるにはまず下垂体組織の発生起原から考察する必要

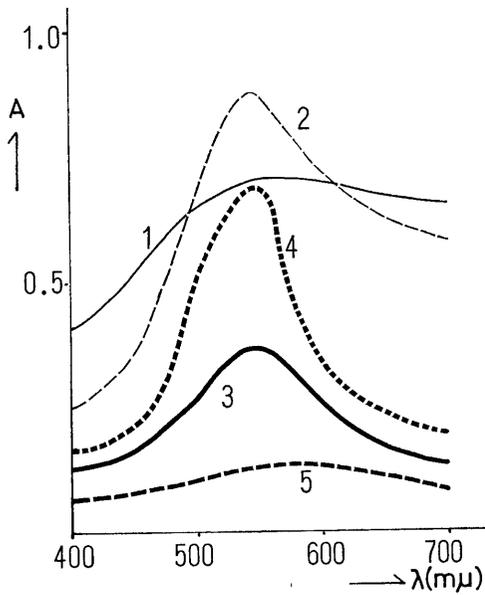


Fig. 10. Absorption spectra in various cell types stained with PAS-Heidenhain iron hematoxylin method. 1: Acidophil, 2: Amphophil, 3: Light basophil, 4: Deep basophil, 5: Chromophobe.

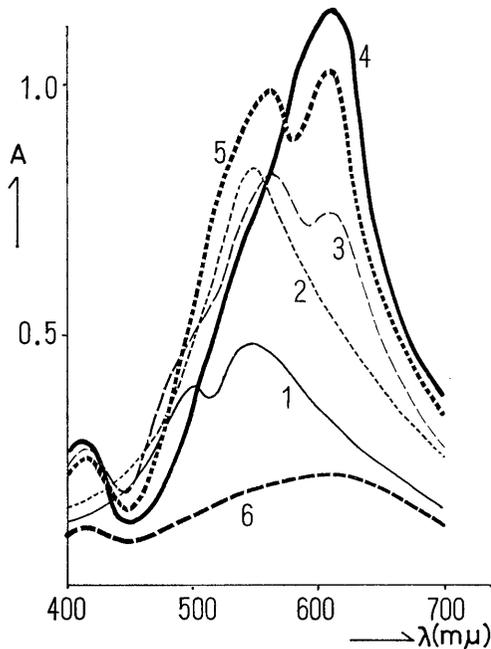


Fig. 11. Absorption spectra in various cell types stained with PAS-Matsuo tetrachrome method. 1: Orange acidophil, 2: Red acidophil, 3: Amphophil, 4: Light basophil, 5: Deep basophil, 6: Chromophobe

がある。一般に脊椎動物の下垂体は腺葉と神経葉からなる。腺葉は口腔粘膜上皮から分化独立(口腔外胚葉起原)した腺体であるが、神経葉は間脳壁が突出してできた漏斗突起(神経外胚葉起原)で、両者はまったく性格を異にしている。また、鳥類の下垂体腺葉が前部腺体と後部腺体に分別されるのは哺乳類ではみられないことで、鳥類の下垂体腺葉の研究を推し進めるためには、まず脊椎動物全般に亘る系統発生学的関連を問題にしなければならない。

Wingstrand (1951) は哺乳類の下垂体腺葉全体が鳥類の後部腺体に相当するという見解を報告した。また、Dawson (1937), Hanström (1950) は哺乳類の下垂体腺葉前下部に *Zona tuberalis* という特別の部位があることを報告し、Wilson (1952) は鶏の前部腺体がこの部位に一致するとした。現在では鶏の後部腺体はほぼ哺乳類の下垂体腺葉と一致するといわれるが、前部腺体が哺乳類を含む他の脊椎動物の下垂体腺葉のどの部位に相当するのかということは、非常に興味ある問題で、今後さらに比較形態学的、生理学的に追究する必要がある。

従来、内分泌腺の研究は1つの細胞から1種類のホルモンが分泌されるという基本概念をもつて行われている。この考え方にはまだ多くの問題が残っているが、鶏の下垂体腺葉の細胞学的研究もこの概念を基盤として進められてきた。Romeis (1940) をはじめとする多くの研究者は哺乳類の下垂体腺葉の細胞型を詳しく分類したが、鳥類では哺乳類のそれに比較すると細かい分類は不可能で、未解決の問題が多い。

鶏の下垂体腺葉の前部腺体と後部腺体は光学顕微鏡下で容易に識別することができる。すなわち、後部腺体には orange G, acid fuchsin で染まる酸好性細胞 (orange acidophils と red acidophils) の存在により特徴づけられるが、前部腺体にはこれらの酸好性細胞は存在せず、その代わりに酸、塩基両色素に染まる両好性細胞が観察されることで特徴づけられる。

酸好性細胞

後部腺体の酸好性細胞は哺乳類で見られる通常の酸好性細胞に相当するものである。哺乳類ではさらに α 細胞と ϵ 細胞に分類されたが(Goldberg & Chaikoff, 1952; 山岡, 1954), 鶏では1種類の酸好性細胞しか識別されていなかった。それは deep staining acidophils (Rahn, 1939; Rahn *et al.*, 1941) または A_1 cells (Payne, 1946; Wingstrand, 1951) といわれた細胞である。Matsuo *et al.* (1969) は white crowned sparrow で後部腺体の酸好性細胞を細か

く orange acidophils, red acidophils および small acidophils の 3 種類に分類した。本研究でも鶏の後部腺体で前 2 者を観察識別することができたが、small acidophils は観察することができなかつた。この 2 種類の酸好性細胞は色素親和性の点から分類したもので、顕微分光測光法的にも明瞭に識別することができた。これは光学顕微鏡下で肉眼的に識別された細胞型が吸光特性という物理的の面から客観的に証明されたことになる。しかしながら、これらの細胞型とそれぞれの生理機能との関連についてはまだ不明の点が多い。後部腺体の酸好性細胞から GH が分泌されることは Payne (1949) をはじめとするこれまでの多くの研究により明らかにされているが、それが 2 種類の酸好性細胞のどの細胞から分泌されるのか、それともただ単に同一細胞の機能相の違いにもとづく染色性の違いなのか現時点では判断することができない。

後部腺体の 2 種類の酸好性細胞と前部腺体の両好性細胞は Heidenhain の鉄ヘマトキシリン染色で黒色に染まり、塩基好性細胞など他の腺細胞から鮮明に識別される。しかし、これらの細胞の吸光特性を顕微分光測光法的にしらべると、可視部波長全域で吸光性を示し、特徴のない吸収曲線を有することがわかつた。これはヘマトキシリン色素が南米産の樹液から抽出精製された天然色素であり (Lillie, 1969)、化学的にも複雑な構造を示すことから当然の結果ともいえる。これまで、ヘマトキシリンは細胞学的に核質や細胞質顆粒の染色によく使用されていたが、その染色法をそのまま顕微分光測光法に使用することは困難であろう。

両好性細胞

前部腺体に分布する両好性細胞について、松尾 (1954) はこの腺細胞が酸好性系細胞であることは認められたものの、自ら考案した tetrachrome 染色により紫色に染まることから V 細胞と呼び他の腺細胞から区別した。この腺細胞は light staining acidophils (Rahn, 1939; Rahn *et al.*, 1941), A₂ cells (Payne, 1943; Wingstrand, 1951) に該当するもので、生理学的には ACTH 分泌 (Mikami, 1958) または MSH 分泌 (松尾, 1954) の可能性が報告されている。

この腺細胞が酸、塩基の両色素に染まるいわゆる両好性細胞であることは、顕微分光測光法的に明らかに証明される。松尾の tetrachrome 染色を施した後、この細胞の吸収曲線を求めると 634m μ に最大吸収が認められ、543m μ に著明な極大吸収が出現した。これは methyl green と acid fuchsin に対する色素親

和性が強いことを意味するものである。ただし、PAS 染色を併用すると basic fuchsin の影響が強くなり現われ、acid fuchsin に対する色素親和性の影響がその中に包含されてしまう。

塩基好性細胞

鶏の下垂体腺葉内塩基好性細胞は腺体全域に広く分布し、生理学的には GTH (FSH と LH) および TSH を分泌するものと考えられている。Mikami (1958) は正常鶏の下垂体腺葉で後部腺体の塩基好性細胞が前部腺体のそれより一般に大形であるが、その染色性には相違が認められないことを報告した。しかし、彼は甲状腺除去することにより前部腺体が著明に肥大し、この部位に限局して液胞化した大形の塩基好性細胞が出現することから、Payne (1944) にならつてこの細胞を甲状腺除去細胞 (thyroidectomy cell) であると判定した。TSH 分泌細胞が前部腺体に局在することには異論もあるが (Yasuda, 1953; Tixier-Vidal *et al.*, 1969)、岡本ら (1974) も甲状腺除去鶏で前部腺体に甲状腺除去細胞が出現することを確認しており、現在では TSH 分泌細胞の前部腺体局在説が有力である。

哺乳類の下垂体腺葉では aldehyde fuchsin 染色により TSH を分泌する塩基好性細胞が特異的に染色識別され (Halmi, 1952; 椎野, 1962)、 β 細胞として他の塩基好性細胞 (δ 細胞) から区別されているが、鶏の下垂体腺葉内塩基好性細胞はこの染色法に反応せず、この方法で TSH 分泌細胞を識別することはできない。本研究ではむしろ両好性細胞が aldehyde fuchsin に陽性反応を示すので、哺乳類と鳥類における TSH (前駆物質) の色素に対する反応機構は異なるものと思われる。

Matsuo *et al.* (1969) は white crowned sparrow の下垂体腺葉全域で塩基好性細胞を light basophils と deep basophils に区別し、それらが年間の生殖過期や光刺激などにより量的に変動することを明らかにした。本研究でも鶏の下垂体腺葉で同様に light basophils と deep basophils を識別することができた。しかし、Matsuo *et al.* (1969) はこれらが生理的に同じホルモンを分泌する細胞で、機能相により染色性を異にするものであろうと報告している。Light basophils と deep basophils は前述の酸好性細胞の場合と同じように細胞質顆粒の色素親和性を基準にして区別したもので、松尾の tetrachrome 染色に PAS 染色を組み合わせることにより一層鮮明に識別することができた。

顕微分光測光法的にも両者は明らかに区別され、とくに deep basophils の粗大な細胞質顆粒が強い PAS 陽性であることから特異的な吸収曲線を示し、より一層両者を区別することが可能である。

Purves *et al.* (1951) は哺乳類の下垂体で、見上 (1955) は鶏の下垂体でそれぞれ塩基好性細胞が PAS 陽性であることを報告した。高原ら (1964) は PAS 陽性反応を示す細胞質顆粒の吸収曲線を顕微分光測光法的に求めると、560 μ 付近に最大吸収が認められ、反応物質と吸光度との間に定量的な比例関係、いわゆる Lambert-Beer の法則が成立することをすでに明らかにしている。Sally *et al.* (1962) は *in vitro* で下垂体ホルモン (FSH, LH, TSH, ACTH) の Schiff 試薬に対する反応性をしらべ、ヒトの下垂体組織内に含まれる同物質の定量が可能であることを報告した。本研究では塩基好性細胞、両好性細胞の細胞質顆粒および小胞内 colloid が PAS 陽性であり、顕微分光測光法的にも典型的な basic fuchsin の吸光特性が得られたので、今後さらにこれらの定量的研究を進める予定である。

要 約

白色レグホーン種雄鶏35羽の下垂体腺葉で細胞学的に分類した各種細胞型とその細胞の色素親和性について顕微分光測光法的に研究し、次のような結果を得た。

1. 鶏の下垂体腺葉内腺細胞は細胞学的に酸好性細胞、塩基好性細胞、両好性細胞および色素嫌性細胞の4基本型に分類することができた。塩基好性細胞 (light basophils と deep basophils に分けられる) と色素嫌性細胞は腺体全域に分布するが、酸好性細胞 (orange acidophils と red acidophils に分けられる) は後部腺体に、両好性細胞は前部腺体に限局して観察された。

2. 酸好性細胞は orange G や acid fuchsin などの酸性色素に好染し、顕微分光測光法によりそれらの細胞の吸収曲線を求めると、543 μ 、480 μ に特異吸収がみられ、2種類の細胞型を分類することができた。

3. 塩基好性細胞は methyl green や methyl blue などの塩基性色素に好染する。さらに松尾の tetrachrome 染色に PAS 染色を組み合わせることによって light basophils と deep basophils の2種類の細胞型を明瞭に識別することができた。顕微分光測光法的にも本染色法により前者は 634 μ に、後者は 560 μ と 634 μ にそれぞれ吸光特性を示すことで明瞭

に識別できた。

4. 両好性細胞は松尾の tetrachrome 染色により紫色に染色されるが、これは顕微分光測光法的にみると酸性色素と塩基性色素を同時に取っていることを証明した。本細胞の吸収曲線を求めると、634 μ 、543 μ 、480 μ および 415 μ の各波長域で特異吸収がみられた。

5. 顕微分光測光法は鶏の下垂体腺葉細胞の分別に有効な方法であり、本研究で使用した9種類の染色法の中で PAS-松尾の tetrachrome 染色を用いることが最適であつた。

文 献

- Dawson, A. B. 1937 The relationships of the epithelial components of the pituitary gland of the rabbit and the cat. *Anat. Rec.*, **69**: 471-485
- Goldberg, R. C. and I. L. Chaikoff 1952 On the occurrence of six cell types in the dog anterior pituitary. *Anat. Rec.*, **112**: 265-274
- Gomori, G. 1950 Aldehyde fuchsin: a new stain for elastic tissue. *Amer. J. Clin. Path.*, **20**: 665-666
- Halmi, N. S. 1952 Differentiation of two types of basophils in the adenohypophysis of the rat and the mouse. *Stain Technol.*, **27**: 61-64
- Hanström, B. 1950 The pituitary in some south-american and oriental mammals. *Lunds universitets årsskrift N. F. Avd. 2.*, **46**: 3-20
- 加藤嘉太郎・石橋武彦・松尾信一・山岡 誠 1952 Goldberg & Chaikoff 法の変法の提唱。日畜会報, **23** (別号): 2
- Kleinholz, L. H. and H. Rahn 1939 The distribution of intermedin in the pars anterior of the chicken pituitary. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **25**: 145-147
- Kleinholz, L. H. and H. Rahn 1940 The distribution of intermedin: a new biological method of assay and results of tests under normal and experimental conditions. *Anat. Rec.*, **76**: 157-172
- Lillie, R. D. 1969 *Biological Stains*. 8th ed. Williams & Wilkins, Baltimore, pp. 341-347
- McManus, J. F. A. 1946 Histological demonstration of mucin after periodic acid. *Nature*, **158**: 202
- 松尾信一 1954 鶏の下垂体前葉の酸好性系細胞について。日畜会報, **25**: 63-69
- Matsuo, S., A. Vitums, J. R. King and D. S. Farner 1969 Light-microscope studies of the

- cytology of the adenohipophysys of the white-crowned sparrow, *Zonotrichia leucophrys gambellii*. *Z. Zellforsch.*, **95**: 143-176
- 見上晋一 1955 鶏の下垂体前葉の細胞化学的研究II. 日畜会報, **26**: 245-251
- Mikami, S. 1958 The cytological significance of regional patterns in the adenohipophysys of the fowl. *J. Fac. Agr., Iwate Univ.*, **3**: 473-545
- 見上晋一 1969 鳥類下垂体前葉の微細構造と機能との関連. ホルモンと臨床, **17**: 34-43
- Mikami, S., A. Vitums and D. S. Farner 1969 Electron microscopic studies on the adenohipophysys of the white-crowned sparrow, *Zonotrichia leucophrys gambellii*. *Z. Zellforsch.*, **79**: 1-19
- van Oordt, P. G. W. J. 1965 Nomenclature of the hormone-producing cells in the adenohipophysys. *Gen. Comp. Endocr.*, **5**: 131-134
- 岡本正夫・高原 齊・岩元久雄 1974 雄鶏の去勢および甲状腺除去が、その諸器官に及ぼす影響の組織学的検討. 九大農芸誌, **28**: 98-104
- Payne, F. 1943 The cytology of the anterior pituitary of broody fowls. *Anat. Rec.*, **86**: 1-13
- Payne, F. 1944 Anterior pituitary-thyroid relationships in the fowl. *Anat. Rec.*, **88**: 337-350
- Payne, F. 1946 The cellular picture in the anterior pituitary of normal fowls from embryo to old age. *Anat. Rec.*, **96**: 77-91
- Payne, F. 1949 Changes in the endocrine glands of the fowl with age. *J. Gerontol.*, **4**: 193-199
- Purves, H. D. and W. E. Griesbach 1951 The site of thyrotrophin and gonadotrophin production in the rat pituitary studied by McManus-Hotchkiss staining for glycoprotein. *Endocrinol.*, **49**: 244-264
- Rahn, H. 1939 The development of the chick pituitary with special reference to the cellular differentiation of the pars buccalis. *J. Morph.*, **64**: 483-517
- Rahn, H. and B. T. Painter 1941 A comparative histology of the bird pituitary. *Anat. Rec.*, **79**: 297-311
- Romeis, B. 1940 Innersekretorische Drüsen II: Hypophyse. In "Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen," Bd. 6. herausgegeben von W. Möllendorff, Teil 3. Springer Verlag, Berlin.
- Sally, B. F. and B. Thorell 1962 Spectrophotometry of the periodic acid-Schiff reaction with pituitary hormones *in vitro* and in histological sections. *J. Cell Biol.*, **13**: 239-247
- 椎野昌隆 1962 家畜の下垂体前葉の細胞学的研究I. 豚の下垂体前葉の細胞型. 宮大農研究時報, **8**: 12-22
- 高原 齊・加藤嘉太郎 1964 犬の汗腺の構造と機能に関する研究. 日畜会報, **35**: 123-130
- Tixier-Vidal, A., B. K. Follett and D. S. Farner 1969 The anterior pituitary of the Japanese quail, *Coturnix coturnix japonica*. The cytological effects of photoperiodic stimulation. *Z. Zellforsch.*, **92**: 610-625
- Wilson, M. E. 1952 The embryological and cytological basis of regional patterns in the definitive epithelial hypophysys of the chick. *Amer. J. Anat.*, **91**: 1-49
- Wingstrand, K. G. 1951 *The structure and development of the avian pituitary*. C. W. K. Gleerup, Lund
- 山岡 誠 1954 家畜の下垂体前葉の酸好性細胞について. 九大農芸誌, **14**: 449-454
- Yasuda, M. 1953 The two types of basophils in the fowl pituitary. *Arch. histol. jap.*, **5**: 327-335

Summary

The 35 adenohipophysys of the White Leghorn cocks were prepared for this study. Relationship between the cell types and the affinity of dyes was investigated with microspectrophotometrical method. Results obtained in this study are as follows:

1. Basic four cell types, acidophils, basophils, amphophils and chromophobes, have been distinguished in the pars distalis of the domestic fowl by cytological observation. Basophils of the two types, light and deep, and chromophobes are similarly distributed in both the cephalic and the caudal lobe. Amphophils are confined in the cephalic lobe and two types of acidophils, orange and red, are found only in the caudal lobe.

2. Acidophils are well stained by acid dyes, such as orange G or acid fuchsin. By microspectrophotometry, they are subdivided into two types. The absorption maximum of the cytoplasmic granules stained with those dyes has been observed at the wave length of 480m μ in one group of acidophils, whereas in the other group has been

observed at $543m\mu$.

3. Basophils are well stained by basic dyes, such as methyl green or methyl blue. Two types of basophils, light and deep, can be distinguished obviously with PAS-Matsuo tetrachrome stain. Cytoplasmic granules of the light basophils show the absorption maximum at the wave length of $634m\mu$, but the granules of the deep basophils show a peak at the wave length of $560m\mu$ followed by the maximum absorption at $634m\mu$.

4. Amphophils are violet or purple in color with the Matsuo-tetrachrome stain. Absorption spectra of the cytoplasmic granules in these cells show that these cells are well stained by acid and basic dyes simultaneously. Three peaks of absorption were recognized at the wave length of $543m\mu$, $480m\mu$ and $415m\mu$ followed by the maximum absorption at $634m\mu$.

5. It was shown that the microspectrophotometrical observations provided more detailed informations in the discrimination of adenohipophyseal cell types than usual histological methods. PAS-Matsuo tetrachrome staining was the most suitable among nine staining techniques used in the present study.