

## 精囊腺組織の体外培養学的研究

## 第 2 編 男性ホルモンの組織発育に及ぼす影響

大阪医科大学皮泌尿科教室（泌尿器科主任 石神襄次教授）

中 野 順 道

## Studies on the Tissue Culture of the Seminal Vesicle

II. Influences of Male Sex Hormone upon the Growth of the  
Tissue of the Seminal Vesicle

Jundo NAKANO M.D.

*From the Department of Urology, Osaka Medical College**(Director : Prof. Joji Ishigami M.D.)*

In the tissue culture of the Seminal vesicle of guinea-Pigs, influences of addition of male sex hormone (Testosterone propionate) upon the growth of the tissue of the seminal vesicle were studied.

- 1) Male sex hormone exerted definite local action to the tissue of the seminal vesicle in vitro.
- 2) The growth of epithelial cells was obviously stimulated by male sex hormone at the initial stage of the cultivation.
- 3) The growth of fibroblastes was always extremely inhibited by male sex hormone ; only their weak growth was observed about 8 days after the cultivation. Their degenerative changes were observed in a considerably early stage of the cultivation.

## I 緒 言

培養組織の発育は種々の要約に左右されることとは言うまでもない。従つて組織の発育程度或はその形態的变化を指標として、種々の因子が培養組織に及ぼす影響を検索することは重要且つ興味ある研究の1つと云えよう。

この際、鶏胎圧搾液は発育促進物質として最も有効且つ普遍的なものとして知られているが、他に種々の臓器エキス、ビタミン、ホルモン等の培養組織に及ぼす影響が従来多くの人達により検索されている。

精囊腺は生体にあつては主として男性ホルモンの影響のもとに男子副性器としての機能を営むものであり、他方、去勢マウスにおいて男性ホルモン投与により認められる精囊腺の肥大発

育は男性ホルモンの生物学的単位測定の基準として応用されていることも衆知の事実である。この様に生体にあつては精囊腺と男性ホルモンは密接不可分の関係にあることは今や明白である。

著者は *in vitro* において男性ホルモンが精囊腺組織に直接局所的に如何なる影響を与えるかについて、組織培養法を応用し検索した。体外培養における男性ホルモンの泌尿性器に及ぼす影響については、最近では教室の高木、石神等の研究があり、高木は睪丸組織について、石神等は前立腺組織について夫々発育促進作用の存することを認め、また弓削は睪丸及び副性器に対する作用を検索した結果、睪丸に対してはその適量は精細胞発育促進作用を、前立腺及び

精囊腺については明らかな発育促進作用は確認しなかつたが、その徴候は認め得たと報告している。

以下著者の実験成績を概述し、若干の考察をおこない度いと思う。

## II 実験材料及び実験方法

実験材料及び実験方法についての詳細は、すでに第1編において述べたので、本編では簡単に述べる。

### 1 実験材料

#### a 供試組織

主として成熟雄海猿(体重450g前後)を用い、1部では幼弱雄海猿(生後約3週、体重90g前後)を使用し、開腹術により精囊腺を剔出し、その1/2mm<sup>2</sup>細切片を培養に供した。

#### b 支持体

一昼夜絶食せしめた Heparin-Na (5000単位) 添加鶏血漿を用いた。

#### c 発育促進物質

人血清と生理的食塩水を等量に混合した液に9日目の孵化鶏胎の圧搾液を10%の割合に混合せしめたものを使用した。

#### d 添加物質

テストステロン プロピオナート 1mg 1cc 懸濁液を0.1ccとり培地内に添加した。培地内濃度は0.1mg/ccとなる。

### 2 実験方法

Carrel 壺法によりおこなつた。培養術式は第1編で詳細に述べたのでここでは簡単に述べる。

支持体たる Heparin-Na 添加鶏血漿の1滴を Carrel 壺底面に薄く伸ばし、その上に精囊腺組織の小細片を4ヶ宛のせ、更に9日目の孵化鶏胎圧搾液1滴づつを組織片に滴下し、3~4時間放置する。その組織片が充分に固着した時に発育促進物質を1.0cc注入する。次いでテストステロン プロピオナート懸濁液1mg 1ccの0.1ccを添加する。また対照群には男性ホルモンの代りに生理的食塩水0.1ccを注入した。以上のものを37.5°C恒温器内に静置し培養翌日より毎日一定時間に顕微鏡下にその発育状態を観察した。本実験に使用した Carrel 壺培養器数は夫々30ヶである。

## III 実験成績

### 1 発育組織の一般的観察

#### a 培養後2日目の組織群

母組織の1部より上皮性細胞が発育し始める。即ち

舌状突起様乃至半球状の発育を示し、1部ではすでかなりの増殖を呈すが(Fig. 1, 2)。またあるものでは発育は未だ軽度である。

#### b 培養後3日目の組織群

上皮性細胞の発育は僅かに増大し、舌状の突起ではその長径を増す。しかし培養2日目の発育と大差は認められない(Fig. 3, 4)。

#### c 培養後4日目の組織群

上皮性細胞は更に発育を続け、舌状の突起は長径を増すと共にその幅をも増大し(Fig. 5)、また半球状に発育したものは形態がやや複雑化する(Fig. 6)。

#### d 培養後5日目の組織群

上皮性細胞の発育は停止することなく舌状乃至半球状の増殖が認められ、また1部のものでは混棒状に変化する(Fig. 7)。更にあるものではepithelial sheath の上方に遊離して線維性索状物が認められるが、恐らくこれは増殖上皮性細胞の Entdifferenzierung により生じたものと考えられる(Fig. 8)。なおこの時期では未だ線維芽細胞の発育は明らかに認め難い。

#### e 培養後6日目の組織群

この時期は上皮性細胞の発育は最極期と見做して良い。即ち母組織の全周囲に亘つて密な上皮性細胞の発育帯が認められる(Fig. 9, 10)。しかし線維芽細胞の発育は依然として認められない。

#### f 培養後7日目の組織群

6日目に引き続き上皮性細胞の発育は旺盛な感がある。

#### g 培養後8日目の組織群

上皮性細胞の発育は停滞のきざしを見せ、母組織の1部より上皮性細胞に混じて線維芽細胞が線状に発育し始める。更にこの部では上皮性細胞の1部は空胞形成が僅かに認められる(Fig. 11)。

#### h 培養後9日目の組織群

上皮性細胞の発育は明らかに停止し、増殖した上皮性細胞群は培地内に崩壊し遊離しはじめる所見を呈し、個々の上皮性細胞は原形質内に空胞形成などの退行性変化が認められる。更にこれに混じて線維芽細胞の増殖がやや明らかとなるがその程度は弱い(Fig. 12, 13)。

#### i 培養後10日目の組織群

上皮性細胞群にかわつて線維芽細胞の発育がかなり顕著となり、これは母組織よりサークルを描きその周縁に沿つて環状に長径を増すのが特異である(Fig. 14, 15)。この場合個々の細胞は殆んど紡錘形乃至楕円形を呈し、線維細胞或は線維芽細胞を思わせるが、

1部には上皮性細胞を思わせる細胞が混在し、両種の細胞の間に判然と区別し難い部分も認めれる。このことは、この時期に認められる線維芽細胞のあるものは精囊腺上皮細胞の Entdifferenzierung に由来するものではないかと臆測せしめる。

#### j 培養後11日目の組織群

前日と殆んど変化がなく、線維芽細胞及び小数の上皮性細胞群の環状の発育が認められる (Fig. 17, 18)

#### k 培養後12日目の組織群

母組織はやや退縮の傾向をおび、環状に発達した線維芽細胞及び小数の上皮性細胞と見做される細胞集団は、個々の細胞内に空胞形成、顆粒の出現などの退行性変化が生じ、また細胞間の連絡が疎となり崩壊するらしい所見を呈する (Fig. 19,20).

#### l 培養後15日目の組織群

母組織の退縮は明瞭となり、その周辺に退行変化におちいつた線維芽細胞及び上皮性細胞が僅かに認められるに過ぎない (Fig. 21, 22)。すでに発育増殖した細胞群はその過半が退行変化を生じ、培地内に崩壊、遊離消失している。一応培養組織の増殖が終焉し、以後漸次退行萎縮期に移行することが判明する。

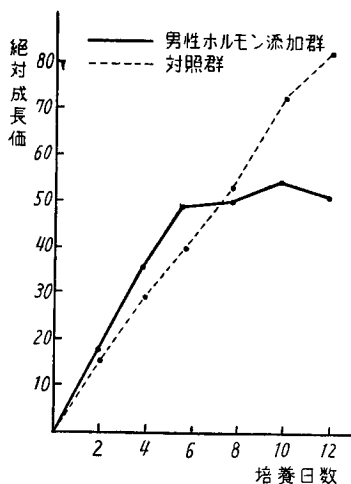
#### m 培養後20日目の組織群

新生組織はすべて崩壊、消失し、萎縮した母組織のみとなる。

#### 2 培養組織の成長価

各実験に使用した培養器数は夫々30ヶで、このうち培養条件及び培養母組織の大きさが略々同一の10ヶを選定し、その平均値より成長価を作成した (成長価については第1編に詳述) また対照群としては前述の生理的食塩水添加のものを用いた。この際培養条件及び培養母組織はテストステロンプロビオナート添加実

成長価曲線



験群と同一とし、比較対照における誤差を僅少とすべく留意したことは云うまでもない。測定をおこなつた日は培養後2日、4日、6日、8日、10日、12日の各日である。

観察各日のテストステロン プロビオナート添加実験群の絶対成長価の平均値は、培養後2日目18.5、4日目34.5、6日目49.0、8日目49.5、10日目52.0、12日目49.5である。対照群では2日目15.0、4日目29.5、6日目40.0、8日目52.0、10日目71.0、12日目80.5であつた。これを曲線で表わすと Tab. 1 の如くである。

#### IV 総括及び考按

以上、海狸精囊腺組織の体外培養に際して男性ホルモンを添加し、その組織発育に及ぼす影響についての実験成績を概説した。

組織培養法においてホルモンを応用し、その組織発育に及ぼす影響について検索した報告を文献上渉猟すると、古く小松 (1913) は臓器エキスが線維芽細胞に及ぼす影響を検索し、稀薄な睪丸エキスは発育促進的に作用すると述べ、Walton (1914) も略々同様の発表をおこなっている。かかる臓器エキスの組織培養への応用は、その後渋谷 (1929)、清水 (1932)、勝木 (1933)、前田 (1937)、後藤 (1940) 等の報告が散見されるが、臓器エキスの場合はホルモンの含有量が微量に過ぎ、内分泌物質以外の他の因子も除外出来ないため正確なデータは期待し得ないものと思われる。次に内分泌製剤に関しては、瀬村 (1929) はアンツイトリン (脳下垂体前葉製剤)、チロキシン及びインシュリン、ピットリリン (脳下垂体後葉製剤) が鶏胎心臓組織の発育に及ぼす影響について検索し、また隠明寺 (1933) は8種の臓器製剤の鶏胎線維芽細胞及び鶏胎脾臓の発育に及ぼす影響を検している。

久保 (1938) ははじめて Androstendione, Testosterone などのステロイドホルモンを虹彩の上皮細胞を対象として応用し、次いで八木 (1938) は睪丸組織に対する Enarmon や Ovahormon の効果を検索した。更に最近に至り Biggers & Claringbold (1953), Lasnitzki (1954), Wagenseil (1956)、高木 (1957, 1958)、石神等 (1959)、Franks (1959)、弓削 (1959) 等が組織培養法における諸種性ホルモ

ンの影響について報告をおこなっている。

しかし男子副性器の体外培養における各種ホルモンの作用を検索した報告は比較的少く、上記のうち Wagneseil は前立腺組織に対する estradiol の影響を、石神等は前立腺組織に対する男性ホルモン及び女性ホルモンなどの影響を検索し、最近では弓削が睪丸及び副性器に対する男性ホルモン及びゴナドトロピンの作用を実験し発表した程度である。上述のかかる研究報告では何れも各種ホルモンが *in vitro* において多少とも直接局所作用を示すものと推定し得る結果であり、また今回の著者の実験成績においても男性ホルモンが培養精囊腺組織に対して直接局所作用をもつと考えてよい成績を示している。

以下、新生組織について、添加男性ホルモンが如何に影響作用するか、*out-growth* による形態学的観察をおこない、若干の考察を加えたい。

#### (1) 上皮性細胞の発育

上皮性細胞は培養後翌日より早くも発育を開始し、2日目ではすでに1部のものではかなりの発育促進が認められる。即ち半球状乃至舌状に上皮性細胞群による突起が形成される。しかし1部の発育帯ではその発育はなお軽度である。3～4日目ではかかる発育帯がその長径及び幅を増大し、且つやや複雑となり徐々に発育増殖する傾向が認められるが、未だ極期ではない。

最も旺盛な発育を示すのは6～7日で、この時期では母組織の殆んど全周に亘つて上皮性細胞の密な発育帯が形成される。しかし8日目に至つて、上皮性細胞は早くもその増殖は停滞のきざしさを見せ、1部では軽度ではあるが、細胞原形質内に空胞形成などの退行性変化が生じてくる。培養9日目では上皮性細胞は明らかにその発育増殖を停止し、発育帯の1部は培地内に崩壊、遊離する所見を示してくる。また個々の上皮性細胞はその原形質内に空胞形成などの退行変化が明瞭となる。

10日目以後では上皮性細胞は漸次退縮傾向を示し、代つて線維芽細胞が上皮性細胞に混在し、発育が活潑化し、特有の環状発育をとげる

に至る。

12日目以後ではかかる上皮性細胞及び線維芽細胞は共に漸次退行変化が強度となり、その過半が培地内に崩壊、消失し、母組織も退縮傾向を示し、その周辺に僅かに新生組織の遺残が認められるに過ぎない状態を呈してくる。

以上要約すると、男性ホルモン添加の場合、上皮性細胞は極めて早期に、且つかなり強く発育が促進されるのが認められる。またその増殖の極期は6～7日で、これは第1編で述べた基礎実験群のそれよりは2～3日早められた感がある。しかし発育の極期における上皮性細胞の増殖形態は、むしろ基礎実験群の方が活潑且つ複雑で、その場合特有な鋪石状、索状網工状及び環状発育などを示すのに対し、男性ホルモン添加群は母組織の殆んど全周に亘る密な *epithelial sheet* を形成するのみで、形態は単純である。

また上皮性細胞の発育停止も8日目に至り早くもその徴候を現わし、以後漸次退行変化におちいり、この時期に線維芽細胞と優劣が入れ換る所見も極めて特異と思われる。

組織培養法ではホルモンの作用が精囊腺組織に一方向的に作用するのみで、生体におけるように下垂体—性腺系の調節が行われず、ためにホルモンの局所作用機序に微妙な問題が生じるのは当然と考えられる。従つてホルモンの培地内添加実験では、その添加量が培養組織の発育に極めて重要な役割を演ずるものと推測される。著者はテストステロン、プロピオナート 0.1 mg/cc 添加による実験をおこなつたが、この場合、i) 上皮性細胞は培養後4日目前後までは明らかに発育促進の傾向を示し、ii) 発育の最盛期と考えられる6～7日目ではむしろ発育は抑制される感があり、iii) 更に8日目以後では空胞形成などの退行変化が早期に出現し、培地内への崩壊、消失も対象実験に比してかなり早められることが判明した。

#### (2) 線維芽細胞の発育

線維芽細胞は本実験において極めて特異な、且つ興味ある発育状態を示すものである。即ち培養後7日目、即ち上皮性細胞の発育が極期に至るまで、その発育は全く認められない。次い

で8日目頃、上皮性細胞の発育が停止する兆候が現われるに至つて始めて、母組織の1部より上皮性細胞に混じて線状の発育開始が認められる。9日目頃より上皮性細胞の退行は明瞭となり、これに反して線維芽細胞の発育は促進されるが、この時期では未だ軽度である。10日目、11日目ではその発育は極期と見做してよく、母組織よりサークルを描きその周縁に沿つて長径を増大する特異な発育帯を形成する。この際個々の細胞は殆んど線維細胞或は線維芽細胞を思わせるが、1部には上皮性細胞を思わせる細胞が混在し、兩種の細胞の間に判然と区別し得ない部分も存在する。12日目以降では、この環状の新生組織に空胞形成などの退行性変化が認められ、漸次細胞間の連絡が疎となり、培地内に遊離、崩壊する傾向を示し、15日目では母組織周辺に僅かにこれら新生組織の遺残を認めるに過ぎない状態となる。20日目以降では萎縮した母組織を認めるのみで、線維芽細胞は全く認められない。

以上要約すると、男性ホルモン添加実験では線維芽細胞の発育は極めて強度に抑制されることが判明する。即ち線維芽細胞は培養後7日目までは全くその発生を認めず、8日目頃より軽度ではあるが徐々に発育を開始し、10日目、11日目に至つて始めて盛んな発育状態を示す。そしてこの場合、前述した如く環状に増殖した線維芽細胞は、これに混じて上皮性細胞を思わせる細胞も存在し、このことはこの時期に発生した線維芽細胞は精囊腺組織内の線維性組織より発生したものと考えるよりは、むしろ上皮性細胞の *Entdifferenzierung* に由るものと推測し得る所見が大である。

さきにおこなつた基礎実験群においても、線維芽細胞の発育はある時期に明らかに抑制された所見を得たが、しかしその場合は培養後4日目頃より軽度ではあるがすでに発生が認められ、14~15日目に至つて最も旺盛な発育を示し、以後20日目に至つてもなお母組織より放射性の発育帯を認めている。即ち線維芽細胞は上皮性細胞の発育増殖期にのみ抑制され、上皮性細胞の発育停止後は旺盛な発育増殖を示し、且

つ長期に亘つてその形態を保持したが、男性ホルモン添加群では培養後15日目では早くも線維芽細胞は殆んど消失し、認められない。

教室の石神等は前立腺組織の体外培養において、男性ホルモンの添加は腺性組織の発育促進及び線維性組織の発育抑制を認めたと報告しているが、著者の実験成績で、精囊腺組織においても略々同様の結果を得たことは興味があり注目してよい。

さて、生体にあつて雄性副性器たる精囊腺は主として睪丸よりの *androgenic activity* によりその生理機能を円滑に遂行しており、除睪によつてこれは速やかに萎縮退行することはよく知られた事実である。勿論かかる男性ホルモン効果は、*in vivo* と *in vitro* においてはその作用機序はおのずから異なるであろうが、著者の実験結果では顕著ではないが男性ホルモンが *in vitro* においても直接精囊腺組織に局所作用をもつことが略々推測し得る。

即ち *in vitro* において男性ホルモンは精囊腺上皮細胞に促進的に働き、ある種の線維細胞抑制物質の分泌を増強せしめる結果、線維芽細胞の発育を極度に抑制するのではなからうか。とすれば本実験によつて生体内の睪丸—副性器間における *androgenic activity* についてある程度の傍証をなし得たものと思われる。

要するにテストステロン・プロピオナート 0.1mg/cc 添加実験では、i) 線維芽細胞の発育は終始極度に抑制され、培養後7日目までは全く発生を認めず、ii) 8日目より徐々に発生し始め、10~11日目で極期となるが、この場合もむしろ上皮性細胞の *Entdifferenzierung* と見做すべき発育状態を示し、iii) またその崩壊、壊死も早期に出現し、培養後15日目頃すでに退行性変化により殆んど消失し、母組織の周囲に僅かにその遺残をとどめるのみとなる。

### (3) 比較成長価について

Tab. 1 に示す如く、テストステロンプロピオナート添加群では培養後7日目までは明らかに対照群に比して成長価は大である。このことは前述した如く男性ホルモン添加の場合は、培養初期では明らかに上皮性細胞の発育促進が認

められることを意味している。8日目以降では逆に対照群がはるかに成長価を増し、曲線は急激に上昇するに反し、男性ホルモン添加群では軽度上昇を示すに過ぎない。即ち男性ホルモン添加群では8日目頃より上皮性細胞の発育は停滞し、線維芽細胞の発育が始まるが、その程度は対照群に比して極めて弱い。他方、対照群では6日目頃より上皮性細胞及びこれに混じて線維芽細胞がかなりの増殖を示し、更に上皮性細胞の発育が略々停止する10日目以降に至つても、なお線維芽細胞は発育を続け、14~15日目頃が最盛期となり20日目以降でも母組織周辺より放射性に長径を保つわけである。

## V 結 語

1. Carrel 法による海狸精囊腺組織の体外培養に際し、男性ホルモン(テストステロンプロピオンート)を添加し、その組織発育に及ぼす影響を検索した。

2. 添加男性ホルモンは培養精囊腺組織に対し、明らかに局所作用を示す所見が得られた。

3. 上皮性細胞は培養初期より4日目前後までは明らかに発育促進の傾向を示し、6~7日目ではむしろ発育は抑制され、8日目以降では漸次退行性変化が認められる。

4. 線維芽細胞の発育は終始極度に抑制され、培養後7日目までは全く発生せず、8日目頃より発育し始め、10~11日目で極期となるが、その程度は比較的弱く、この場合はむしろ上皮性細胞の *Entdifferenzierung* と見做すべき発育状態を示す。またその崩壊、壊死も早期に出現し、15日目頃では母組織の周囲に僅かにその遺残を残すのみとなる。

5. 以上、*in vitro* において局所的に作用せしめた男性ホルモンは培養精囊腺組織に対し、腺性組織では発育促進的に作用し、線維性組織ではその発育を抑制する結果を得た。

文献：最終編に記載する。

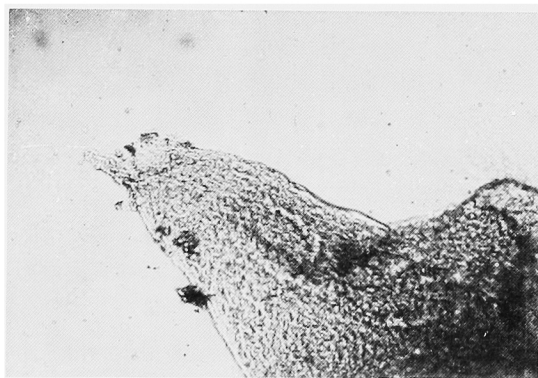


Fig. 1 培養後2日目 (150×)

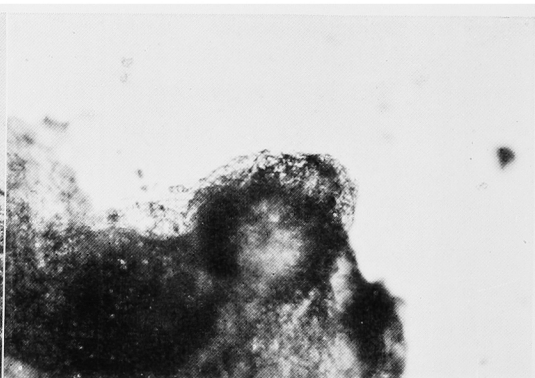


Fig. 2 培養後2日目 (150×)

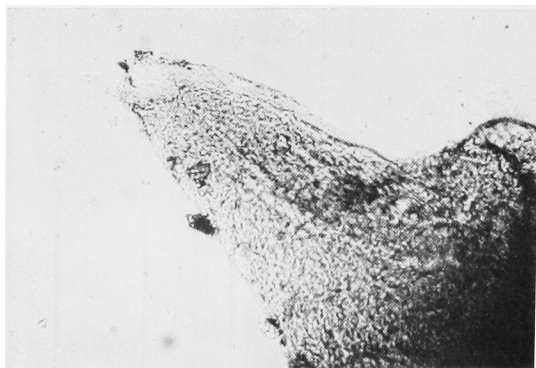


Fig. 3 培養後3日目 (150×)

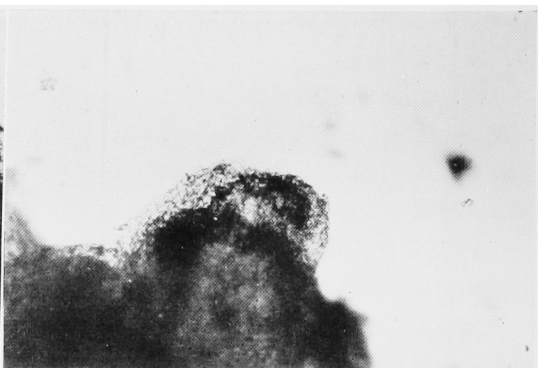


Fig. 4 培養後3日目 (150×)

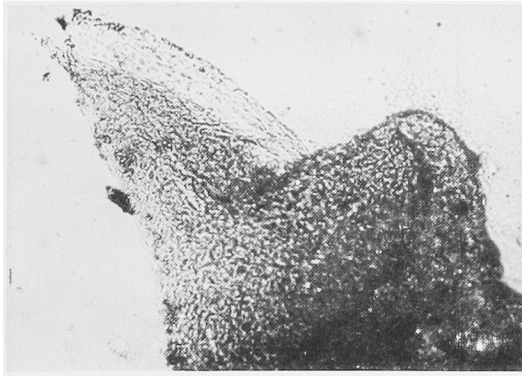


Fig. 5 培養後4日目 (150×)

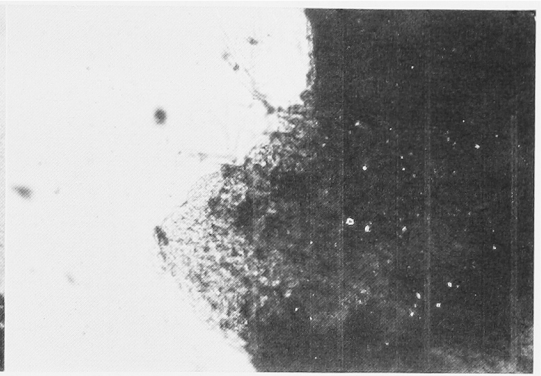


Fig. 6 培養後4日目 (150×)

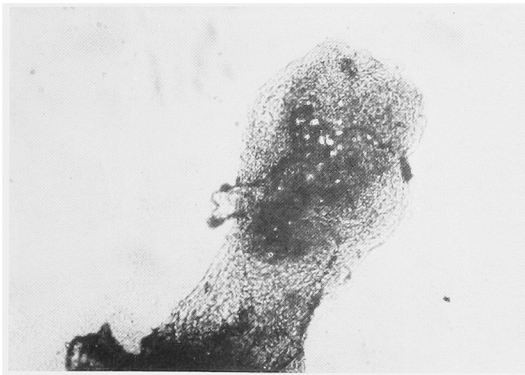


Fig. 7 培養後5日目 (150×)

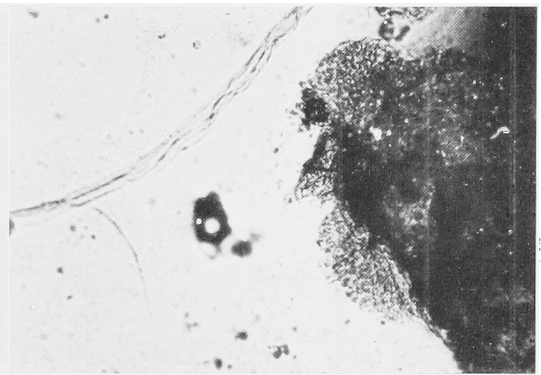


Fig. 8 培養後5日目 (150×)

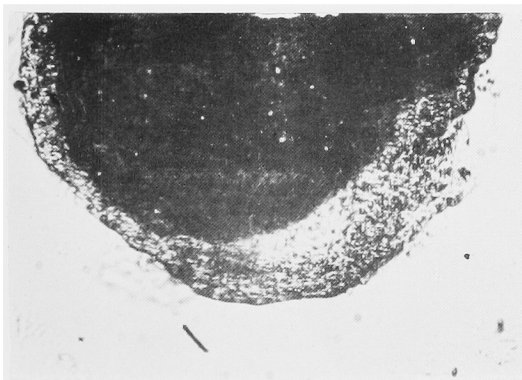


Fig. 9 培養後6日目 (150×)

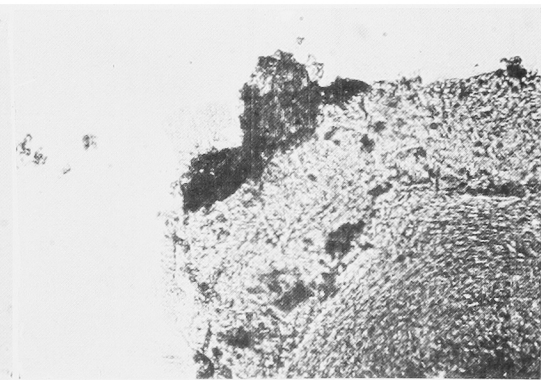


Fig. 10 培養後6日目 (150×)

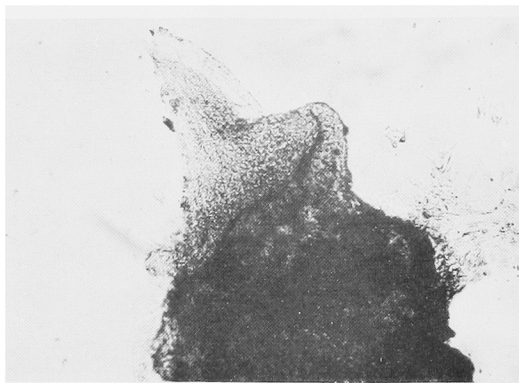


Fig. 11 培養後8日目 (50×)

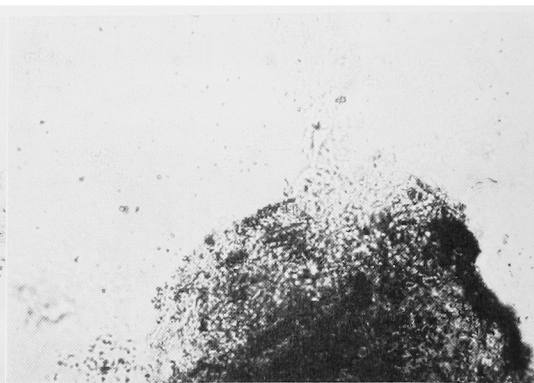


Fig. 12 培養後9日目 (150×)

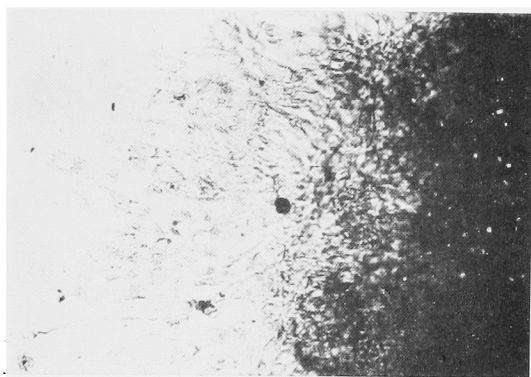


Fig. 13 培養後9日目 (150×)

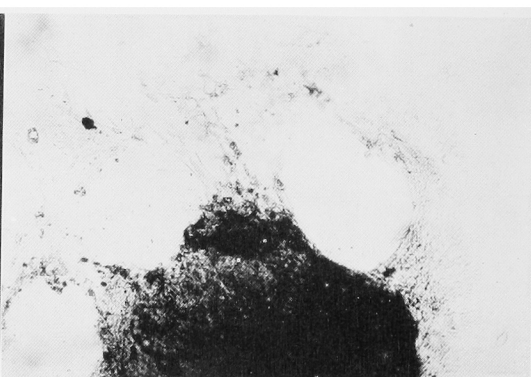


Fig. 14 培養後10日目 (50×)

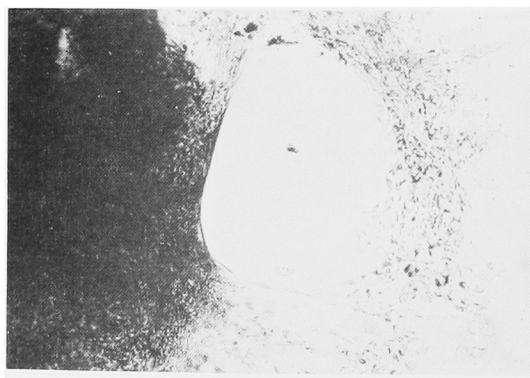


Fig. 15 培養後10日目 (150×)

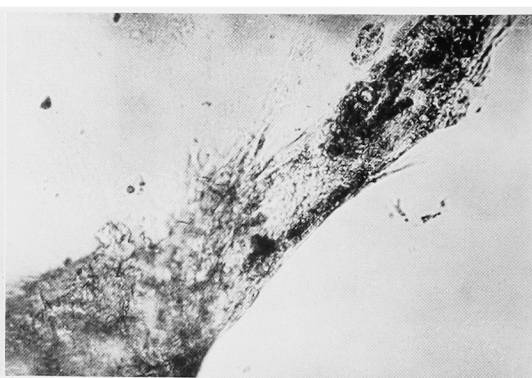


Fig. 16 培養後10日目 (150×)



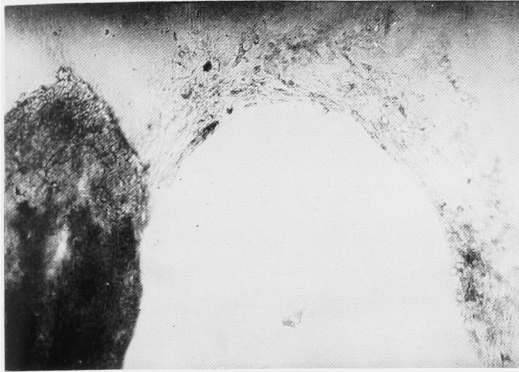


Fig. 17 培養後11日目 (150×)

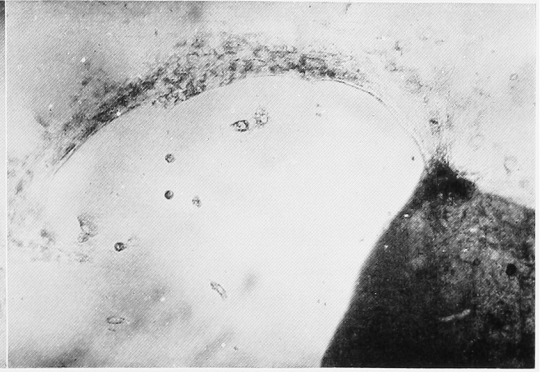


Fig. 18 培養後11日目 (150×)

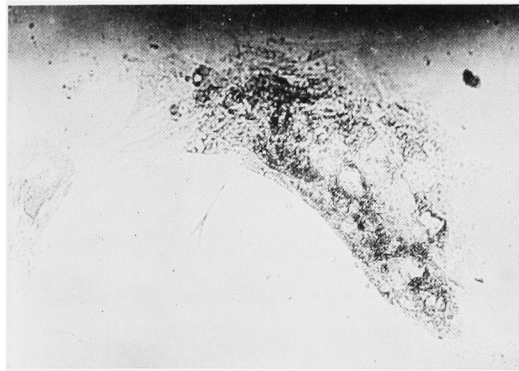


Fig. 19 培養後12日目 (150×)

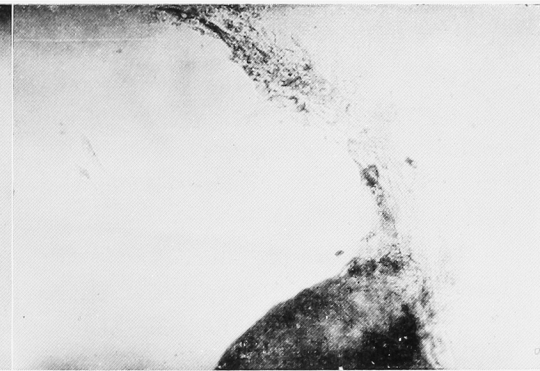


Fig. 20 培養後12日目 (150×)

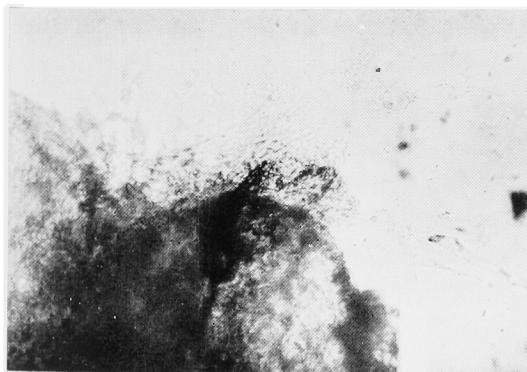


Fig. 21 培養後15日目 (150×)

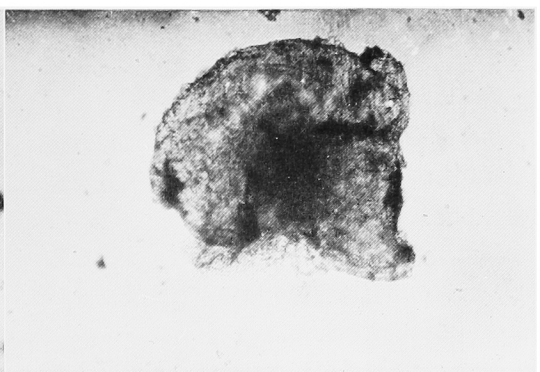


Fig. 22 培養後15日目 (50×)