

脾全剔犬における Estrogen 投与の影響, 特にその下垂体前葉の組織学的変化について

金沢大学医学部第2外科学教室 (主任: 本庄一夫教授)

八 田 辰 四 郎

[原稿受付 昭和40年6月4日]

Influence of Estrogen Administration in Totally Depancreatized Dogs, with Special Reference to Histological Changes of the Anterior Pituitary

by

TATSUSHIRO HATTA

From the 2nd Department of Surgery Kanazawa University, Medical School
(Director: Prof. Dr. Ichio Honjo)

Postoperative observations were carried out in totally depancreatized dogs with administration of estrogen and insulin under various conditions. Histological changes of the anterior pituitary was studied with Aldehydefuchsin-Azan double staining and PAS staining, and proportion of acidophils, basophils and chromophobes was calculated following the method of Rasmussen and Herrick. The obtained results are summarized as follows.

- 1). Estrogen has the effect of preventing postoperative weight loss.
- 2). Estrogen has no particular effect on the postoperative blood sugar level.
- 3). Estrogen has the effect of preventing development of fatty liver observed after total pancreatectomy.
- 4). Estrogen has the effect of prolonging the survival time after total pancreatectomy.
- 5). In the histological findings of the anterior pituitary in animals treated with insulin alone after total pancreatectomy, a decrease in chromophils and an increase in chromophobes were observed, as postoperative days passed.
- 6). Histological changes of the anterior pituitary in animals treated with estrogen alone after total pancreatectomy behaved similarly as those in animals treated with insulin alone.
- 7). In animals treated with insulin and estrogen after total pancreatectomy, acidophils were observed for long histologically in the anterior pituitary compared with those of other groups.
- 8). Acidophils rapidly decreased in the histological findings of the anterior pituitary of animals without any administration, while an increase in chromophobes and proliferation of the connective tissue could be observed. Basophils were fairly preserved in these animals.
- 9). Marked degeneration was observed in AF negative cells of basophils in animals treated with estrogen after total pancreatectomy.

10). In the findings of PAS staining, PAS reaction within the cells of the anterior pituitary coincided with the behavior of basophils in all groups, whereas the reaction of the connective tissue was marked in groups of insulin administration, estrogen administration and without any administration. In animals simultaneously treated with insulin and estrogen after total pancreatectomy, PAS reaction of the connective tissue was mild.

11). There was no difference due to the sexuality of the experimental animals in these findings.

Histological findings of the anterior pituitary after total pancreatectomy in animals without any administrations suggested rapid postoperative insufficiency of hypophyseal function, and those of animals treated with insulin administration and estrogen administration suggested gradual postoperative decay of the function. In animals simultaneously treated with insulin and estrogen, the findings revealed that hypophyseal function was well preserved for longer compared with those of other groups.

目 次

I 緒 言

II 実験材料ならびに実験方法

A 実験材料

B 実験方法

1 腺全剝術

2 実験動物の分類

3 体重ならびに血糖値の測定

4 下垂体の染色

5 下垂体前葉細胞の類別

III 実験成績

A 正常犬における下垂体前葉組織所見

B 腺全剝犬における術後経過ならびに下垂体前葉組織所見

1 腺全剝 Insulin 単独投与群

2 腺全剝 Estrogen 単独投与群

3 腺全剝 Insulin-Estrogen 併用投与群

4 腺全剝薬剤無投与群

IV 総括ならびに考按

V 結語

I 緒 言

Minkowski²³⁾(1889)は腺剝出をすれば確実に糖尿病が発症すると発表して以来、多くの研究者が糖尿病の病態生理を研究するため、実験的に腺剝動物を作成して来た。近代医学の進歩はホルモン剤、抗生物質、麻酔、輸液等の各分野に大きな発展を遂げ、臨床方面におけるこれらの適用は拡大され、今日では腺の悪性腫瘍に対して腺全剝を施行することも容易である。しかし間脳下垂体系を中心とする甲状腺、副腎、腺、性腺等の相互関係ならびにそれ等によつて惹き起される物質代謝機構は甚だ複雑を極め、腺全剝後の病態生理についてはまだ解明されない問題が多く存在している。

最近我々の教室において西川²⁶⁾(1963)が、腺全剝犬における性腺の変化を追求している際、雌犬にGTHを投与したところ尿中Estrogenの増量に平行して、従来のInsulin投与のみで管理した実験犬に比較すると、術後一般状態が良好に経過し体重の減少も少

ない事実を発見した。そこで私は腺全剝犬にEstrogenを投与し、その術後経過を観察すると同時に、糖代謝、脂質代謝ならびに副腎皮質に及ぼす影響を検討するための協同研究者を得て、その病態生理の一端を知る事が出来た。私はここに腺全剝後Estrogen投与が下垂体前葉に及ぼす影響について、下垂体前葉に現われた組織学的変化を研究した。

II 実験材料ならびに実験方法

A 実験材料

体重10kg前後の成熟雄犬を使用し、雌雄同数とした。

B 実験方法

1 腺全剝術

手術はイソゾールによる経静脈麻酔のもとに行なつた。犬の十二指腸及び腺は後腹膜腔から遊離しているため、全剝は腺と十二指腸壁との間の剝離さえ慎重に行なえば甚だ容易である。

2 実験動物の分類

Insulin ならびに Estrogen の投与条件により実験動物を次の4群に分けた。

- (1) Insulin 単独投与群
- (2) Estrogen 単独投与群
- (3) Insulin-Estrogen 併用投与群
- (4) 薬剤無投与群

以上に加え正常犬を比較対照とした。

Insulin は結晶 Insulin を体重毎1から2単位を1日2回に分割筋注した。Estrogen は Estradiol Benzoate を使用し、1日量体重毎500から2000単位を連日投与した。

薬剤無投与群とは Insulin も Estrogen も与えない群で、各群とも肝底護剤ならびに消化剤を使用せず、また Insulin 以外の血糖降下剤も使用しなかつた。

3 体重ならびに血糖値の測定

早朝空腹時において臍全剝犬の体重を測定した後採血し血糖値を測定した。血糖測定には Somogyi-Nelson³⁶⁾ 光電比色定量法を採用した。

4 下垂体の染色

臍全剝後生存日数1週から10週の間で実験動物を犠牲にして、下垂体を剔出し、Susa液に3時間から5時間固定後、重量を測定し、型通りパラフィン包埋後、下垂体を水平断面の位置において、厚さ4ミクロンの切片をその上部、中部、下部より夫々取り出し、標本を作成して次の染色を施した。

- (1) Hematoxylin-Eosin 染色 (H-E染色)
- (2) Aldehyde-fuchsin-Azan 染色 (AF-Azan 染色)
- (3) Periodic acid Schiff-Hematoxylin 染色 (PAS-HX 染色)

AF 染色は Gomori 法を Azan 染色は Mallory 法を採用した。Azan 染色中 Anilinblue の代りに lightgreen を使用した。

5 下垂体前葉細胞の類別

以上の染色により下垂体前葉細胞の質量的変化を検討した。AF-Azan 染色による下垂体前葉細胞の色別は、(1) 酸好性細胞は Carmine 赤色または Orange 赤色、(2) 塩基好性細胞中 AF 陽性細胞 (AF(+)) は紫色または紫紅色、AF 陰性細胞 (AF(-)) は緑色または青緑色、(3) 色素嫌性細胞は着染しないかまたは淡灰緑色、(4) 結合組織は緑色、(5) 弾力線維は紫色に着染する。PAS 染色により PAS 反応物質は紅色に着染するが、下垂体前葉においては主として Muco 及び Glycoprotein 中の LH, FSH, TSH の動態が検討され

る。細胞の量的変化の検討は、一般に Rasmussen and Herrick³⁴⁾ (1922) の方法が基準となつていたので、各種細胞の分布についての百分率はこれに従つた。即ち下垂体の上部、中部、下部より夫々作成された標本を各々顕微鏡で1000倍油浸にして観察し4型に分類して百分率を算出した。1症例につき約60から100視野を観察し、約6000から12000個の細胞を数えた。

III 実験成績

A 正常犬における下垂体前葉組織所見

AF-Azan 染色により前葉細胞は酸好性細胞、塩基好性細胞、色素嫌性細胞の3型に分け、更に塩基好性細胞をAFに陽性の細胞とAFに陰性の細胞の2種類に区別した。

(1) 酸好性細胞

Romeis³⁵⁾ (1940) の α 及び ϵ 細胞に相当するもので、Azocarmine 及び Orange G に好染する顆粒を多数含んでいる。塩基好性細胞より小型で円形または橢円形を呈し、前葉の中央部、後側方部に密集している。細胞境界は明瞭で核はやや偏心位をとり胞体内の顆粒は充満している。又時々核に接して顆粒の全くない明るい部分が見られるが、これは Golgi 装置の陰像に相当するものである。数量では色素好性細胞の大部分を占めている。

H-E 染色では桃紅色に染まり、PAS 染色では反応を示さない。

(2) 塩基好性細胞

AF-Azan 染色では AF に陽性の細胞と AF に陰性の細胞の2種類に区別される。AF(+)細胞は Romeis の β 細胞に相当し、AF(-)細胞は θ 細胞に相当する。球形、橢円形、多稜形または不規則な形を示し、比較的大型の細胞で発現率は少ない。

AF(+)細胞は前葉の中心部に散在し、紫色または赤紫色に染まる顆粒を多数含み、核は暗調を呈するものが多く或は比較的大な顆粒を含む細胞も見られる。このような粗大顆粒は濃紫色に着染している。空胞化は殆ど認められない。

AF(-)細胞は前葉の前端部または洞様毛細管に接するものが多く、比較的明瞭な細胞境界を示し、核は大きく明調性を帯びている。緑色または青緑色の顆粒は比較的大で、空胞化がしばしば見られる。その退化型は細胞境界は比較的明瞭であるが、胞体内には Carmine 赤色の核小体1~2個と微量の淡緑色顆粒を含むのみで、色素嫌性細胞と殆ど区別し難い。塩基好

第1表 正常犬における下垂体前葉細胞の分類 AF-Azun 染色

犬番号	性	体重 kg	下垂体重量 mg	酸好性細胞 %	塩基好性細胞 AF(+) %	AF(-) %	色素嫌性細胞 %
1	♂	10.0	63	40.2	2.7	4.4	52.7
2	♀	9.5	71	44.5	2.4	4.8	48.3
3	♂	10.5	75	48.5	4.6	2.5	41.4
4	♀	8.0	63	42.3	4.8	4.7	48.2
5	♂	7.5	57	42.1	5.0	2.7	50.2
6	♀	8.0	64	54.4	4.5	2.3	38.8
7	♂	8.0	69	51.8	4.3	2.8	41.1
8	♀	15.0	87	49.3	5.1	3.6	42.0
平均		標準誤差		46.6 ± 1.80	4.2 ± 1.16	3.5 ± 0.36	45.7 ± 1.72

性細胞はH-E染色ずではわかに青色を呈するが，PASでは明らかに紅色に反応する。

(3) 色素嫌性細胞

境界の不明瞭な明調性の細胞で Romeis の細胞に相当する。酸性色素にも塩基性色素にも殆ど着染しない。これには種々の型が認められ、1個の酸好性の核小体を見える小型の核を有する細胞は Romeis の未分化細胞に相当すると考えられ、また微量な顆粒を有するもの、細胞境界の比較的明瞭なものは、酸好性細胞或は塩基好性細胞に発達する移行型が逆に退化の変形と考えられる。これらの型を区別して分類することは甚だ困難なので、全を一括して色素嫌性細胞として取り扱った。

これらの細胞は下垂体前葉の側方部または中央部にしばしば集団となつて見られる。

H-E 染色では強染性で、PAS 染色ではわずかにくすんだ紅色の反応を示している。

(4) 結合組織

下垂体前葉は微細な結合組織によつていくつかの腺胞に分けられ、その間に洞様毛細管が走行している。この結合組織は AF-Azun 染色では緑色に着染され、PAS染色では淡紅色の反応を示す。症例によつては毛細管腔にコロイド状のPAS陽性物質を含んでいる。

以上正常犬8例における下垂体前葉細胞の分類比率は第1表に示し、前葉組織像は第8図に示した。

B 腭全剔犬における術後経過ならびに下垂体前葉組織所見

1 腭全剔 Insulin 単独投与群

術後経過：実験犬は術後24時間から48時間を経て、

早朝空腹時血糖値が300mg/dlに上昇した後、体重毎2単位の結晶 Insulin を朝夕2回に亘つて分割筋注した。実験犬は術後の回復につれて、煩渴、多尿、脂性下痢等の糖尿病特有の症状を呈し、体重も次第に減少した。血糖値は早朝空腹時において300mg/dl前後に保たれるよう管理された。術後の経過中多くの犬は Ileus、十二指腸潰瘍、腹膜炎を併発して急死した。しかし偶発疾患を免がれ、摂食も良好で、そのため Insulin 投与が円滑に出来れば、術後3週以上生きさせることは可能で、経過途中で Insulin 量を急激に減らすことさえしなければ、脂肪肝の発生は認めなかつた。術後当初より Insulin 量を体重毎1単位として投与しても、早朝空腹時血糖値が上昇の傾向を示す以外は、2単位の場合と同じ経過を辿つた。

下垂体前葉組織所見：下垂体前葉細胞の量的比率は第2表に示す如く、術後4週まで生存したNo.1、No.2、No.3の実験犬では酸好性細胞と色素嫌性細胞の比は比較的平衡を保ち、塩基好性細胞はわずかに減少の傾向を示している。術後4週以後生存したNo.4、No.5、No.6の実験犬では酸好性細胞は著減し、塩基好性細胞も減少を示し、逆に色素嫌性細胞は増加している。

組織の質的変化では第3表及び第9図に示す如く、酸好性細胞はNo.1、No.2、No.3の実験犬では胞体内顆粒は正常犬に比較してわずかな減少を示すにすぎず、比較的着染は良好である。No.4、No.5、No.6の実験犬では胞体内の顆粒は著減し、核の融解、濃縮、細胞萎縮等の像を示すものが多く見られた。

塩基好性細胞中 AF(+) 細胞はNo.4、No.5、No.6の実験犬では、胞体内顆粒の減少、空胞化を認めたが、

第2表 腺全別犬 Insulin 単独投与群における下垂体前葉細胞の分類 AF-Azin 染色

犬番号	性	体重 (絶食時) kg	下垂体重量 mg	酸好性細胞 %	塩基好性細胞		色素嫌性細胞 %	生存日数日	Insulin u/kg	Estrogen u/kg
					AF(+) %	AF(-) %				
1	♀	9.0(8.5)	62	43.3	2.3	3.8	50.6	9	2	—
2	♀	8.5(7.0)	53	40.1	2.6	2.2	55.1	25	2	—
3	♂	10.0(8.0)	45	38.9	2.1	1.5	57.5	28	2	—
4	♂	8.5(6.0)	41	25.2	0.9	1.3	72.6	30	2	—
5	♀	8.0(6.5)	41	37.1	1.8	1.3	59.8	35	2	—
6	♂	9.5(5.0)	40	21.5	1.6	1.1	75.8	46	2	—
平均				34.3	1.9	1.9	61.9			
標準誤差				±3.60	±0.24	±0.41	±4.10			

第3表 腺全別犬 Insulin 単独投与群における下垂体前葉組織所見

犬番号	性	生存日数日	酸好性細胞		塩基好性細胞				結合組織	PAS 反応	
			顆粒	空胞	AF(+)		AF(-)			細胞内	結合組織その他
1	♀	9	±	±	±	±	+	—	±	—	+
2	♀	25	±	±	±	±	+	—	±	±	+
3	♂	28	±	±	±	±	±	—	±	—	+
4	♂	30	—	+	=	+	±	±	+	—	±
5	♀	35	—	±	—	+	±	±	+	—	+
6	♂	46	=	+	—	+	—	+	+	—	—
			±	正常犬とほぼ同程度		—	正常犬より減少				
			+	正常犬より増加		=	正常犬より著減				
			+	正常犬より著増							

AF (—) 細胞はNo. 6 を除いて著変を示さず、反つて正常犬よりも空胞化の傾向が少なかった。

結合組織はNo.1, No.2, No. 3の実験犬ではそれ程著明な増殖を示さず、No.4, No.5, No. 6の実験犬では毛細管腔の増生肥大と共に増殖が著明となっている。

PAS 染色ではNo.1, No.2, No. 3の実験犬では胞体内に淡紅色の反応を示す細胞が散見され、結合組織及びコロイドは紅色の反応を示しているが、No.1, No.5, No. 6の実験犬では胞体内、結合組織共に反応は減じている。

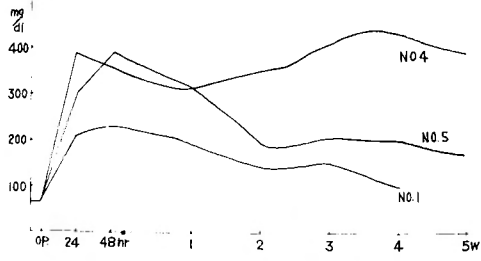
2 腺全別 Estrogen 単独投与群

術後経過：腺全別後 Insulin を与えずに Estrogen のみを投与しても、3 週前後の生存は可能である。腺全別には慎重な注意が払われ腺組織の一片も残さなかった。死亡剖見時においても腺組織の残留がないことを確認した。実験犬には血糖降下剤、肝庇護剤ならびに消化剤を一切与えずに、術後の経過を観察したが、一般状態はかなり良く保たれ、体重減少は術後3 週頃ま

では Insulin 単独投与群と同程度であり、薬剤無投与群に比較すればはるかに良好な経過を示した。

早朝空腹時の血糖値の変動は第1 図に示す如く、術後高血糖 (300mg/dl~400mg/dl) を維持するもの、一時的に血糖低下 (200mg/dl) を示すもの等、一定の傾向を認めなかった。Estrogen 投与量は体重毎 500 単位から 2000 単位の間で投与されたが、有意の差は認めなかった。

第1 図 腺全別犬 Estrogen 単独投与群における早朝空腹時血糖値の変動 (代表例)



第4表 腺全別犬 Estrogen 単独投与群における下垂体前葉細胞の分類 AF-Azum 染色

犬番号	性	体重 (kg)	下垂体重量 (mg)	酸性細胞 %	塩基性細胞 AF(+) %	細胞 AF(-) %	色素嫌性細胞 %	生存日数 (日)	Insulin u/kg	Estrogen u/kg
1	早	13.0(9.0)	74	32.6	1.7	2.3	63.4	21	—	500
2	♂	9.0(7.5)	68	40.5	2.8	1.9	54.8	21	—	1000
3	早	7.5(4.0)	60	41.9	3.2	1.8	53.1	22	—	500
4	早	8.0(6.5)	59	42.9	2.2	1.6	53.3	24	—	1000
5	♂	11.5(9.0)	72	37.0	2.1	1.9	59.0	25	—	1000
6	♂	15.0(10.5)	57	31.6	2.4	0.7	65.3	30	—	2000
平均				37.8	2.4	1.7	58.1			
標準誤差				±1.96	±0.28	±0.21	±2.15			

第5表 腺全別犬 Estrogen 単独投与群における下垂体前葉組織所見

犬番号	性	生存日数 (日)	酸性細胞		塩基性細胞 AF(+)		細胞 AF(-)		結合組織	PAS 反応	
			顆粒	空胞	顆粒	空胞	顆粒	空胞		細胞内	結合組織その他
1	早	21	±	±	—	±	±	±	+	—	++
2	♂	21	±	±	±	±	—	+	±	±	++
3	早	22	±	±	±	±	—	+	±	±	++
4	早	24	±	±	±	±	—	++	+	—	+
5	♂	25	±	±	±	±	—	++	++	—	+
6	♂	30	—	+	±	±	=	++	++	—	+
± 正常犬とほぼ同程度 — 正常犬より減少											
+ 正常犬より増加 = 正常犬より著減											
++ 正常犬より著増											

実験犬は術後3週を過ぎて後は、次第に衰弱し始めた。しかし脂肪肝の発生は術後早期に死亡した犬を除き認めなかつた。

下垂体前葉組織所見：下垂体前葉細胞の量的比率は第4表に示す如く、No.2、No.3、No.4の実験犬では酸性細胞と色素嫌性細胞の比は比較的平衡を保ち、No.1、No.5、No.6では酸性細胞は減少し、色素嫌性細胞が増加している。塩基性細胞はAF(+)細胞、AF(-)細胞共に減少の傾向を示し、特にAF(-)細胞では著明である。

組織の質的变化では第5表及び第10図に示す如く、酸性細胞はNo.6を除き、他の実験犬は比較的胞体内の顆粒は充たされ変性細胞は殆ど見られなかつた。塩基性細胞中AF(+)細胞は変化に乏しく、これに反しAF(-)細胞は顆粒減少、空胞化、核融解等の変性が著明に見られた。

結合組織はNo.5、No.6の実験犬では毛細管腔の増生肥大と共に著明な増殖を示し、他の実験犬は中等度

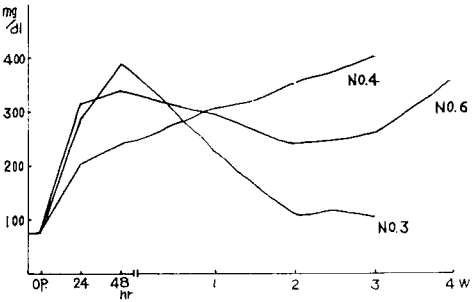
に止まっていた。

PAS 染色では全例において前葉中淡紅色の反応を示す細胞が散見され、結合組織及びコロイドの着染が著明となつている。

3 腺全別 Insulin-Estrogen 併用投与群

術後経過：術後 Insulin と Estrogen を併用投与して管理すると、他群に比較して最も良好な経過を示す。

第2図 腺全別犬 Insulin-Estrogen 併用投与群における早朝空腹時血糖値の変動 (代表例)



第6表 腺全剝犬 Insulin-Estrogen 併用投与群における下垂体前葉細胞の分類 AF-Azan染色

犬番号	性	体重 (死亡時) kg	下垂体重量 mg	酸好性細胞 %	塩基好性細胞 AF(+) %	塩基好性細胞 AF(-) %	色素嫌性細胞 %	生存日数 日	Insulin u/kg	Estrogen u/kg
1	♂	10.0(8.5)	75	73.2	1.7	0.9	21.2	26	2	2000
2	♂	11.5(10.0)	83	61.1	1.8	0.6	36.5	28	1	1000
3	♀	8.5(7.5)	66	69.7	2.2	0.3	27.8	34	1	1000
4	♂	10.0(8.0)	59	58.6	0.9	2.5	38.0	40	1	1000
5	♀	11.0(9.5)	71	68.3	0.6	0.3	30.8	41	2	2000
6	♀	10.0(7.5)	62	34.0	0.3	0.1	65.6	68	1	2000
平均				60.8	1.3	0.8	37.1			
標準誤差				±5.80	±0.30	±0.36	±6.07			

第7表 腺全剝犬 Insulin-Estrogen 併用投与群における下垂体前葉組織所見

犬番号	性	生存日数 日	酸好性細胞		塩基好性細胞 AF(+)				結合組織	PAS 反応	
			顆粒	空胞	顆粒	空胞	顆粒	空胞		細胞内	結合組織その他
1	♂	26	+	±	±	±	—	+	±	—	±
2	♂	28	+	±	±	±	—	+	±	—	±
3	♀	34	+	±	±	±	—	+	±	—	—
4	♂	40	+	±	—	±	±	±	+	±	±
5	♀	41	+	±	—	±	=	+	±	—	—
6	♀	68	—	±	=	+	=	+	+	—	—

± 正常犬とほぼ同程度 — 正常犬より減少
+ 正常犬より増加 = 正常犬より著減
++ 正常犬より著増

術後煩渴、多尿、脂性下痢等は明らかな改善を示し、体重減少も他群に比較してはるかに少なく、術後4週以上も容易に生存した。血糖値に関しては第2図に示す如く、術後当初より Insulin 量を一定にして管理したにも拘わらず、早朝空腹時血糖値は一定の傾向を示さなかつた。

下垂体前葉組織所見：下垂体前葉細胞の量的比率は第6表に示す如く、術後5週前後まで生存した No.1, No.2, No.3, No.4, No.5 の実験犬では、酸好性細胞は増加の傾向を示し、色素嫌性細胞は逆に減少を示した。塩基好性細胞は両型とも減少し、特に AF(−) 細胞は No.4 を除き他はいづれも著減を示した。しかし生存日数の最も長い No.6 においては酸好性細胞は減少し、色素嫌性細胞が増加している。

組織の質的变化では、第7表及び第11図に示す如く、No.6 を除く他の実験犬では全て、前葉全体に亘つて Carmine 赤色に着染された顆粒を充滿した酸好性細胞が配列している。細胞はやや肥大し、核に接して

Golgi 装置の陰像がしばしば見られた。塩基好性細胞中 AF(+) 細胞は No.1, No.2, No.3 の実験犬では変化に乏しく、No.4, No.5 の実験犬では顆粒を減少し、No.6 においては顆粒の著減を示した。特に AF(−) 細胞では No.4 の実験犬を除き他はいづれも顆粒の著減、空胞化、核融解等の変性が著明に認められた。

結合組織の増殖は比較的少なく、PAS染色は全例において細胞内には著明な反応を示さず、結合組織も淡紅色の反応に止つている。

4 腺全剝薬剤無投与群

術後経過：術後 Insulin も Estrogen も与えないと2週以内には必ず死亡する。脂肪肝は高度で必発である。術後初期は比較的元気に経過し、食欲もかなり良好であるが、その後急激に衰弱し始め、体重減少も他群に比較して最も著明である。

下垂体前葉組織所見：下垂体前葉細胞の量的比率は第8表に示す如く、全例において酸好性細胞の著明な減少と色素嫌性細胞の著明な増加を示している。しか

第 8 表 腭全別犬薬剤無投与群における下垂体前葉細胞の分類 AF-Azan 染色

犬番号	性	体 重 (死時) kg	下垂体重量 mg	酸 好 性 細胞 %	塩 基 好 性 細胞 AF(+) %	塩 基 好 性 細胞 AF(-) %	色素嫌性 細胞 %	生存 日数 日	Insulin u/kg	Estrogen u/kg
1	早	10.0(8.0)	51	22.6	2.9	5.2	69.3	5	—	—
2	合	8.0(6.5)	45	18.1	4.5	2.3	75.1	6	—	—
3	合	7.5(5.5)	48	15.4	5.8	1.7	74.1	7	—	—
4	合	10.5(8.5)	63	23.7	3.6	5.5	67.2	7	—	—
5	早	10.0(7.0)	56	15.5	2.0	4.0	78.5	10	—	—
6	早	8.0(5.5)	60	16.2	2.3	3.8	77.7	14	—	—
平 均				18.6	3.5	4.2	73.7			
標 準 誤 差				±1.50	±0.58	±0.47	±1.85			

第 9 表 腭全別犬薬剤無投与群における下垂体前葉組織所見

犬番号	性	生存 日数 日	酸 好 性 細胞		塩 基 好 性 細胞				結合 組織	PAS 反 応	
			顆粒	空胞	顆粒	空胞	顆粒	空胞		細胞内	結合組織その他
1	早	5	—	+	±	±	+	±	+	+	+
2	合	6	—	+	±	±	+	±	+	±	+
3	合	7	=	+	+	±	+	±	+	+	+
4	合	7	—	+	±	±	+	±	+	+	+
5	早	10	=	+	=	+	—	+	+	—	±
6	早	14	=	+	=	+	=	+	+	=	±

± 正常犬とはほぼ同程度 — 正常犬より減少
+ 正常犬より増加 = 正常犬より著減
+ 正常犬より著増

し塩基好性細胞は比較的良好に維持され、特に AF (－) 細胞はわずかに増加の傾向を示している。

組織の質的变化では第 9 表及び第 12 図に示す如く、全例において酸好性細胞は胞体内の顆粒を減じ、核融解、空胞化、細胞萎縮の変性を多く認めた。細胞の輪郭のみを止めて色素嫌性細胞と殆ど区別し難いものも多く存在した。

塩基好性細胞中 AF (＋) 細胞は No.1, No.2, No.3, No.4 の実験犬では変化に乏しいが、AF (－) 細胞は特異な様相を呈し、No.1, No.2, No.3, No.4 の実験犬では胞体内に青緑色または緑色に着色された均等な物質を充し、空胞化や核融解等の変性を殆ど認めない。No.5, No.6 の実験犬では塩基好性細胞の両型共顆粒を減じ、多くの変性細胞を認める。

結合組織は全例において毛細血管の増生肥大と共に増殖を示し、特に No.5, No.6 の実験犬では著増を示していた。

PAS 染色では No.1, No.2, No.3, No.4 の実験犬では

細胞内に著明な反応を認め、結合組織もかなり濃染を示し、No.5, No.6 の実験犬では細胞内、結合組織とも反応は薄れている。

以上 4 群における腭全別後の経過ならびに下垂体前葉組織所見からは、雌雄に有意な差を認めなかった。

下垂体重量では、Insulin-Estrogen 併用投与群は絶対値において他群より増量を示しているが、比体重では各群とも有意を認めなかった。

人体における腭全別の 1 症例を経験し、代謝不全を惹き起して衰弱死し、その下垂体を検索したところ、酸好性細胞は全般に胞体内顆粒を著しく減じ、空胞化、細胞濃縮等の退行変性が多く見られた。しかし塩基好性細胞は両型とも一部顆粒を著減した細胞も見られたが、大部分の細胞は顆粒を充満させて配列していた。PAS 染色では細胞内及び結合組織ともに著明な PAS 反応を示し、管腔にはコロイド状の PAS 反応物質が充満していた。この所見は腭全別薬剤無投与群における像と酷似するものであるが、標本を染色する以

前に、既に下垂体を矢状断で作成されていたため前葉細胞の量的な計算は出来なかつた(第13図)。

IV 総括ならびに考按

Romeis³⁵⁾ (1940) は Kres-Azan 法を用いて前葉細胞を α , β , α , γ , ϵ 細胞の5型に分けた。この中で塩基性色素に染まる β 細胞と α 細胞の2種について、Gomori¹¹⁾ (1950), Halmi¹³⁾ (1952) は Romeis と同様の染色法によつても両型の区別は不可能なることを報告するに及び、下垂体前葉の形態学とその機能を結びつける組織化学に新しい段階を迎えるに至つた。即ち、Gomori¹¹⁾ (1950) は新しい弾力線維染色法として Aldehyde-fuchsin 法を発表し、この染色法により白鼠下垂体前葉の塩基好性細胞を明らかに2つの型に区別し得た。また Ne Manus²²⁾ (1946) の創始した糖蛋白体を証し得るPAS染色で Catchpol⁵⁾ (1949) は始めて下垂体のホルモン含有量の検索を試みた。

一方下垂体前葉機能の研究では、Houssay¹⁷⁾ (1931) は臍別犬において下垂体を除去したところ糖尿病が消滅し、その犬に下垂体前葉エキスを投与すると糖尿病が再発することを発見した。以来今日まで多数の研究者により下垂体前葉は糖代謝、脂質代謝に重要な役割を有することが判明し、一方間脳下垂体系の内分泌機構も次第に明らかにされて来た。

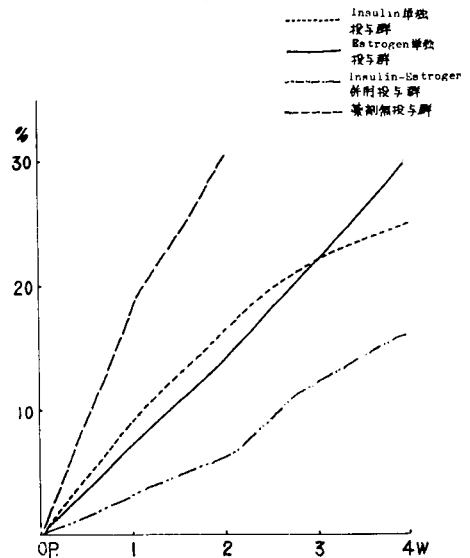
下垂体前葉機能は数種ホルモンによつて代表される。即ち GH, TSH, GTH (FSH, LH), Prolactin, ACTH である。これらホルモンの分泌細胞に関する研究は今日まで数多くなされて来た。GH は Benda³⁾ (1900) により、Prolactin は Ladman²⁰⁾ (1954) により酸好性細胞から分泌するとされ、FSH, LH は Purves and Griesbach²⁹⁾³⁰⁾ (1952) により AF (-) 細胞から分泌するとされた。私の実験において AF (-) 細胞の退行性変化が Estrogen を投与した群に多く認められたが、Estrogen が性ホルモンとして AE (-) 細胞と密接な関係を有していることを立証している。TSH は Purves and Griesbach³¹⁾³²⁾ (1956) により AF (+) 細胞より分泌するとされた。ACTH の分泌細胞に関してはまだ確定した説はなく、多元性の起源を求めるものが多い。

臍全別後に惹き起された下垂体前葉の組織学的変化の特徴は、Insulin も Estrogen も投与しないと早期より酸好性細胞に著変を認め、Insulin のみを投与すると術後時日の経過と共に酸好性細胞と AF (+) 細胞に変化を認め、Estrogen のみの投与では Insulin 投与の場

合同様に酸好性細胞と AF (-) 細胞に変化を認める。Insulin と Estrogen を併用すると酸好性細胞に変化は少なく塩基好性細胞の両型とも著変を認める。これら下垂体前葉の形態学的所見からその機能の変化を説明するには多くの困難に出あう。しかし当教室において協同研究者により臍全別後に観察されて来た種々の実験成績と、前記下垂体前葉組織所見との間に、いくつかの関連性が認められ、次の事項について考按した。

(1) 臍全別後の体重減少

第3図 臍全別犬各群における術後体重減少率 (三輪による)



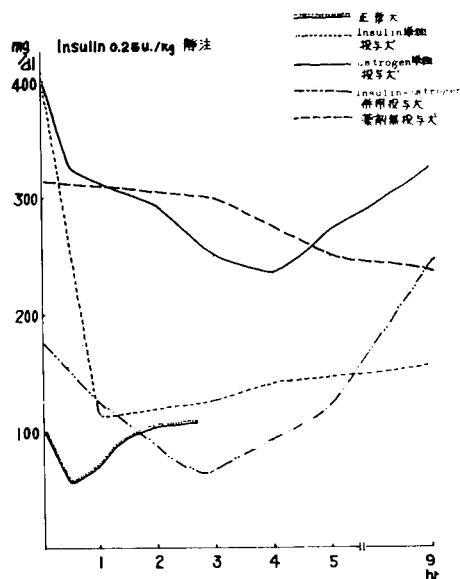
Li, Evans¹⁹⁾ (1948) はラッテに GH を投与し体重の増加と共に体内蛋白の増加を認め、GH による成長促進作用の本体は水分と蛋白の増加によるものと述べている。また Milman²¹⁾ (1950) は臍別出猫において GH の窒素貯溜作用を研究し、GH は Insulin の存在下では著明な窒素貯溜作用を認めるが、GH または Insulin のどちらが欠けても窒素貯溜作用は認め難いと述べている。第3図に示す如く、臍全別後 Insulin-Estrogen 併用投与群では他群と比較して体重減少が最も少ない事実を観察しているが、この結果の多くは教室の深谷⁸⁾の成績において Insulin-Estrogen 併用投与群の脂肪の消化吸収が他群に比較して著明に好転していることに基因するが、一方併用投与群における下垂体前葉において比較的長期に亘り酸好性細胞が維持されている組織所見から、Milman が述べた如く Insulin 存在下の

GH の作用も考えられ得る。

(2) 臍全別後の Insulin 感性

Bodo²⁾(1950)は下垂体別出犬において, Insulin 感性試験を行なつた際に Insulin 投与量を次第に減少せざるを得ない状態となつてくることを観察した。即ち一定の Insulin 量を持続すると遂には低血糖ショックに陥る。しかし実験犬にあらかじめ GH を投与しておくと同様の Insulin 感受性を獲得する事を明らかにした。

第4図 臍全別犬各群の術後2週目における Insulin 感性 (三輪による)



教室の三輪²⁴⁾の成績によれば, 第4図に示す如く, 臍全別後の Insulin 感性試験において, Insulin 単独投与群では Insulin 静注後血糖が最低値に至りその後血糖の回復状態が著明におそく, また回復せずに平行または低血糖ショックに陥る実験犬も見られ, Estrogen 単独投与群の術後3週以上経たものも同じ傾向を辿ってくる。この成績は糖原の予備力にも関係すると考えられるが, 下垂体前葉機能が大きな役割を演じていると思われる。即ち Insulin 単独投与群, Estrogen 単独投与群の前葉細胞において術後の経過と共に色素好性細胞特に酸好性細胞が減少し色素嫌性細胞が増加している所見を示しているが, これら前葉所見は前記実験成績と照合してその機能の不全状態を示していると考えられる。本庄, 長谷川²⁵⁾(1954)は臍全別の研究において既にこれらの事実を観察しているが, 一方三輪の

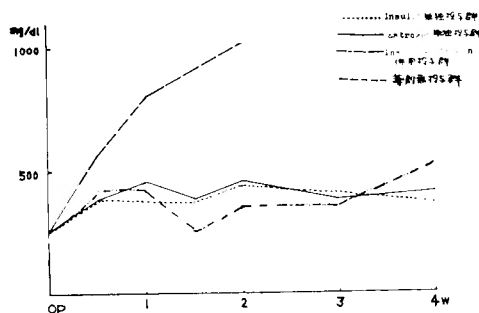
実験において, 従来の Insulin のみの投与に加え Estrogen を併用投与して管理すると, 術後4週以上を経てもなお Insulin の感受性は良好に保たれている事実を観察した。Insulin-Estrogen 併用投与群に観察されたこの成績は前記前葉組織所見と照合して臍全別後の糖代謝に関し前葉機能をかなり保持している現象の結果と考えられ得る。

(3) 臍全別後の脂質代謝

Payne²⁶⁾(1949)は GH や ACTH ばかりでなく TSH, Prolactin, GTH, 下垂体後葉ホルモン等にも脂質動員作用を有しているの, 脂質動員因子を特定のホルモンのみに帰せられないと述べている。これは下垂体の脂質代謝機構がいかに複雑であることを示している。

臍全別後脂肪肝の発生は薬剤無投与群では必発であ

第5図 臍全別犬各群における血清中総脂質の変動 (谷口による)

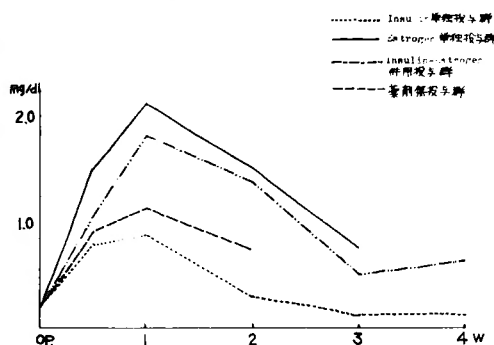


るが, Insulin を投与すると発生は防止せられる。しかし Estrogen のみを投与しても術後早期に死亡した犬を除きその発生は殆ど認めていない。教室の谷口²⁶⁾の実験によれば血清中総脂質の変動は第5図に示す如く, 臍全別後薬剤無投与群では著明に上昇するが, 他群はいずれも中等度の上昇に経過していた。これらの成績は Estrogen が脂質代謝機構に直接に作用していると考えられるが, 他方下垂体の脂質代謝機構を介して影響を及ぼしていることも十分に考えられる。

Stadie²⁷⁾(1941)は臍別出動物の肝切片では正常よりも Ketone 生成は充進しているが, 下垂体別出動物 (Houssay 動物) では殆ど Ketone の生成が見られず, Ketone 体生成には下垂体が必要であると述べている。また一般に GH に Ketogenic activity を有することが知られているが²⁸⁾, Benett⁴⁾(1948)は GH の Ketogenic action は Ketone 体の利用の障害でなく, その生産過剰の結果であると述べている。

教室の三輪の成績によれば, Ketone 体の発生は第

第6図 腺全別犬各群における血中アセトン体の変動(三輪による)



6図に示す如く、術後 Estrogen 投与群では明らかに増加を示している。Estrogen を投与した場合 Ketone 体が増量するのは、恐らく上記 Benett が述べた如く Ketone 体の利用の障害でなくその生産過剰の結果によるものと考えられ、ここでも Estrogen の下垂体および腎臓が問題となる。しかし下垂体の組織学的変化からはその機構を明らかにする事が出来なかつた。

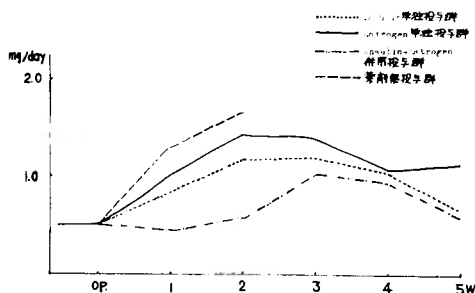
(4) 腺全別後の副腎皮質機能

友成³⁸⁾(1957)は ACTH 分泌細胞を追求し、酸好性細胞及び塩基好性細胞にも夫々特有な変化を認め、ACTH の産生細胞は一元的でなく多元的に考える必要のあることを説いている。このように下垂体前葉と副腎皮質とは密接な関係を有しているにも拘わらず、ACTH の分泌細胞は現在未だ判明していない。

O'Donnell²⁷⁾(1951)は動物に ACTH を長期間投与すると、毯状層の境界の不明瞭化とその束状層への移行が認められると述べている。

教室の藤田⁹⁾の成績によれば腺全別後 Estrogen 単独投与群、薬剤無投与群において副腎皮質の脂肪は著

第7図 腺全別犬各群における尿中 total 17-KSの変動(藤田による)



減し、組織所見においても、O'Donnell の観察した ACTH 投与時と類似の変化を観察した。これに反し Insulin-Estrogen 併用投与群では著明な脂肪沈着を認め、組織上の変化も比較的著しくはない。17KS、17OHCS の変動では、第7図に示す如く、術後薬剤無投与群、Estrogen 単独投与群において上昇を示し、Insulin 単独投与群は中等度の上昇に経過し、Insulin-Estrogen 併用投与群では比較的正常に近い値を辿っている。

以上の成績は薬剤無投与群では下垂体における ACTH の分泌が亢進し、Estrogen 単独投与群、Insulin 単独投与群では多少とも ACTH の分泌亢進を抑制していると考えられ、Insulin-Estrogen 併用投与群では ACTH の分泌が比較的正常近く営まれていると考えられる。

以上の結果を総合すると、下垂体前葉副腎系の機能は薬剤無投与群では急激な不全に陥り、Insulin-Estrogen 併用投与群では比較的長期に亘りその機能を保持しているものと考え得る。

(5) 腺全別後の下垂体前葉における PAS 反応

PAS 染色による反応は PAS 陽性物質の量的な局在性を示している。下垂体前葉における PAS 陽性物質は主として TSH、LH、FSH であるが、前葉細胞内に強度の反応を示すのはホルモンの産生貯蔵期と見做され、細胞内の反応が減じ結合組織の着染が著明となるのはホルモン分泌期に相当すると見做される⁴⁰⁾。

正常犬では一般に細胞内の反応が強く結合組織はそれ程著明ではない。腺全別後 Insulin も Estrogen も投与しないと細胞内及び結合組織ともに強度の反応を示してくるが、これは術後急激な内分泌不全と代謝失調に適応しようとして、ホルモンの産生、貯蔵、分泌期の各相が相次いで出現している所見と考えられる。Insulin 及び Estrogen のいずれかを投与すると、術後4週前後では細胞内の反応は淡く、結合組織の着染が著明となつていくが、これは PAS 陽性ホルモンの分泌は亢進しているが Insulin または Estrogen がその産生貯蔵を抑制している所見と考えられる。Insulin-Estrogen 併用投与では細胞内細胞外ともに PAS 反応は薄れているが、これは前葉組織中における PAS 陽性ホルモンが僅少となつていくことを示している。

(6) 実験成績における雌雄差について

実験動物を雌雄同数として下垂体前葉細胞の比率を検討したが有意の差は認め得なかつた。これには次の理由が考えられる。

(i) 脾全剝により糖代謝の障害のみならず, 脾の有する他の重要な機能も共に消失し, それまで保たれていた代謝調和が雌雄差を超えて著明に崩れるためであろう。

(ii) 実験犬に投与された Estrogen 量は, 生体内に産出する量をはるかに超えるため, 雌雄ともに同等の効果を生ずるためであろう。

(iii) 実験犬における性周期, 年令, 種族, 環境及び餌等は一切考慮に入れなかった。下垂体の腺細胞は性の相違のみならず, 年令, 生理, 季節等によつて著しく変動するものといわれているが⁴³⁾, 実験動物が犬ではこれらを統一する事は全く困難であつた。

以上下垂体前葉の形態学とその機能とを, 脾全剝後の各分野における実験成績の上に結びつけて考察したが, ホルモンの相互関係, 物質代謝機構は単純なものでなく, 多くの未知の現象が生体内に惹き起されていることは論を俟たない。

Houssay¹⁵⁾(1954)は脾部分切除犬において, 糖代謝に対して Estrogen の効果を認め, その効果は残部脾組織のランゲルハンス島におけるβ細胞の肥大と増生に基因するものとし, 更にまた一部 Estrogen の末梢性作用及び下垂体への影響を示唆している。当教室における脾全剝犬の実験においては Estrogen の効果を残部脾組織の増生肥大に帰することは出来ないが, Houssay の暗示した Estrogen の末梢性効果と下垂体への影響を一部実証したものと考えられる。

脾全剝後の管理に際し, Insulin も Estrogen も与えずに放置すれば, 実験犬は短時日のうちに内分泌不全と代謝障害に陥つて死亡する。脂肪肝は脂質代謝障害の結果としての現象であり, その下垂体前葉組織所見は, 術後急激に招来された内分泌不全に総力をあげて抵抗し, 遂には力尽きて崩れゆく現象と見做される。これに反し Estrogen のみを投与しても, 術後早期の代謝不全を耐え抜いた後は, 薬剤無投与犬に比較すれば, 生存日数, 体重減少, 脂質代謝等の実験成績に明らかな好結果を認め得た。殊に Insulin-Estrogen 両者の併用投与は最も効果的であり, その病態生理には従来の Insulin 単独投与よりも多くの改善された事実を観察して来た。そしてそれらの改善が Houssay dog と根本的に相違している点は下垂体機能を保持していることである。即ち脾全剝後 Insulin-Estrogen 併用投与群における下垂体前葉の組織学的変化は, 他群に比較してかなりその機能を保持している所見を示している。

V 結 語

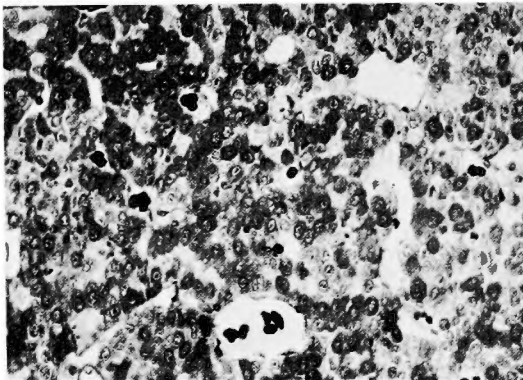
Estrogen ならびに Insulin を種々の条件で投与した脾全剝犬の術後経過を観察し, その下垂体前葉の組織学的変化を AF-Azan 染色, PAS 染色によつて検討し, 前葉細胞の比率を Rasmussen-Herrick 法で算出した。結果を要約すれば次の通りである。

- 1) Estrogen は術後の体重減少を抑制する。
 - 2) Estrogen は術後の血糖値に特別の影響を与えない。
 - 3) Estrogen は術後の脂肪肝の発生を抑制する。
 - 4) Estrogen は術後の生存日数を延長させ得る。
- 脾全剝後の下垂体前葉所見では
- 5) Insulin 単独投与群では術後時日を経ると共に色素好性細胞は減少し, 色素嫌性細胞は増加する。
 - 6) Estrogen 単独投与群では術後 Insulin 単独投与群とはほぼ同様の推移を辿る。
 - 7) Insulin-Estrogen 併用投与群では術後長期に亘り他群と比較して酸好性細胞は維持されている。
 - 8) 薬剤無投与群では術後早期より酸好性細胞は減少し, 色素嫌性細胞の増加及び結合組織の増殖を示す。しかし塩基好性細胞はかなり保持されている。
 - 9) AF(-) 細胞は Estrogen 投与により著明な退化変性を示す。
 - 10) PAS 染色では各群とも前葉細胞内の PAS 反応は塩基好性細胞の動態と一致しているが, 結合組織の反応は薬剤無投与群, Insulin 単独投与群, Estrogen 単独投与群では術後初期においては著明であり, その後は減弱の傾向を示す。Insulin-Estrogen 併用投与群では全例において著明な反応を示さない。
 - 11) 以上の実験成績には雌雄差を認めない。

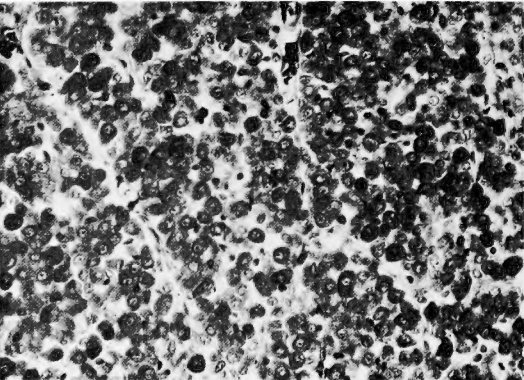
以上脾全剝後の下垂体前葉の組織学的変化は, 薬剤無投与群では術後急激に, Estrogen 単独投与群及び Insulin 単独投与群では術後比較的徐々に下垂体機能不全に赴く所見と見做され, Insulin-Estrogen 併用投与群では他群に比較して長期に亘りその機能をよく保持し, 脾全剝後に惹き起された各臓器間の代謝失調をかなり軽減せしめ得る。

本論文の要旨は第37回, 第38回日本内分泌学会総会及び第8回日本糖尿病学会総会において発表した。

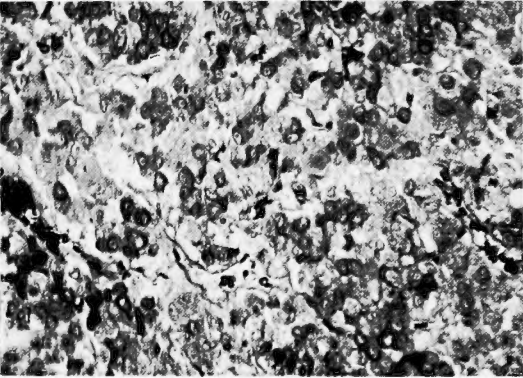
稿を終るにあたり終始御懇切な御指導並びに御校閲を賜つた恩師本庄一夫教授に深く感謝の意を表すると共に御協力をいただいた脾剝研究グループ各位に謝意を表する。また Estrogen の提供をいただいた帝國臓器製薬の御厚情に感謝する。



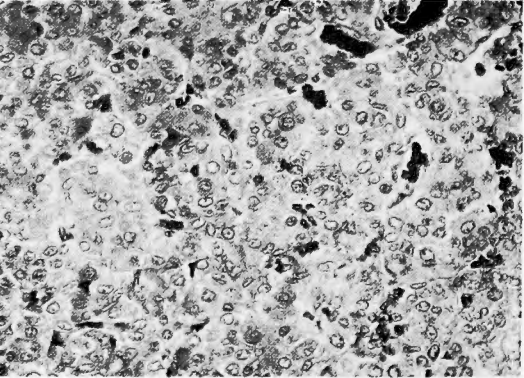
第8図 正常犬(No. 3)下垂体前葉中部
AF-Azan 染色 ×300



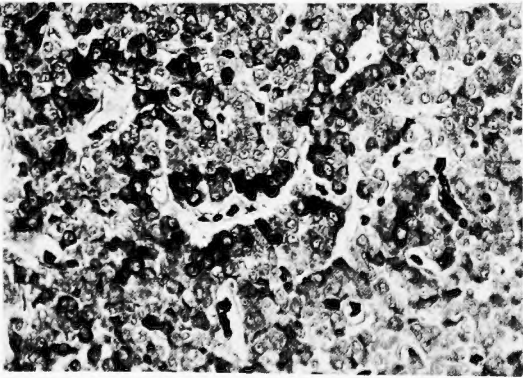
第11図 胼全剔犬 Insulin-Estrogen 併用投与群
(No. 3) 下垂体前葉中部
AF-Azan 染色 ×300



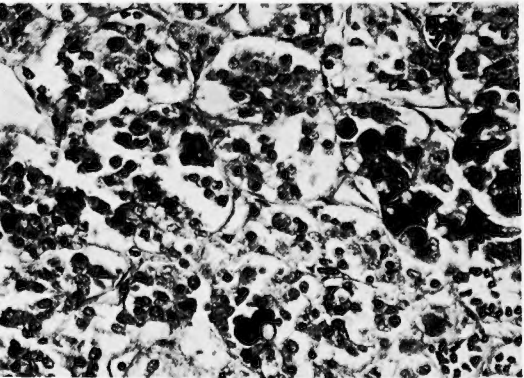
第9図 胼全剔犬 Insulin单独投与群(No. 3)
下垂体前葉中部 AF-Azan染色 ×300



第12図 胼全剔犬薬剤無投与群(No. 3)下垂
体前葉中部 AF-Azan 染色 ×300



第10図 胼全剔犬 Estrogen 单独投与群
(No. 5) 下垂体前葉中部
AF-Azan 染色 ×300



第13図 胼全剔人体例 下垂体前葉
AF-Azan 染色 ×300

文 献

- 1) Aikawa, K.: Studies on adrenocortical function in insulintreated completely depancreatized dog. Arch. Jap. Chir. **31** : 21, 1962.
- 2) Bodo, R. C., M. Kurtz, A. Ancowitz and S. P. Kiang : Anti-insulin and diabetogenic action of purified anterior pituitary Growth hormone. Am. J. physiol. **163** : 310, 1950.
- 3) Benda, C. : Beiträge zur normalen und pathologischen histologischen der menschlichen Hypophysis cerebri. Berl. Klin. Wschr. **37** : 1205, 1900.
- 4) Bennett, L. L., R. E. Kreiss, C. H. Li, and H. M. Evans : Production of ketosis by growth and adeeno-corticotrophic hormones. Am. J. physiol. **152** : 210, 1948.
- 5) Catchpole, H. R. : Distribution of glycoprotein hormones in the anterior pituitary gland of the rat. J. Endocrinol. **6** : 218, 1949.
- 6) Compbell, J., Davidson, I. W. F., Snair, W. D. and H. P. Lei : Diabetogenic effect of purified Growth hormone. Endocrinol. **46** : 273, 1950.
- 7) Dostoiwshy, A. : Ueber den Bau der Vorderlappen des Hirnanhangs. Arch. Mikr. Anat. **26** : 592, 1886.
- 8) 深谷一桂 : 膝全剝犬における Estrogen 投与の影響. 日本内分泌学会雑誌. **40** : 594, 1964.
- 9) 藤田俊太郎 : 膝全剝犬における Estrogen 投与の影響. 日本内分泌学会雑誌. **40** : 594, 1964.
- 10) Goldberg, R. C. and I. L. Chaikoff. On the occurrence of six cell types in the dog anterior pituitary. Anat. Rec. **112** : 265, 1952.
- 11) Gomori, G. Aldehyde-fuchsin. : a new stain for elastic tissue. Am. J. Clin. pathol., **20** : 655, 1950.
- 12) Hasegawa, M. : Histologic changes of the anterior hypophysis after total pancreatectomy experiments in dogs. Arch. Jap. chir., **24** : 154, 1955.
- 13) Halmi, N. S. : Two types of basophils in the anterior pituitary of the rat and their respective cytophysiological significance.
- 14) 本庄一夫 : 膝全切除の臨床と実験. 日本外科学会雑誌 **55** : 795, 1954.
- 15) Houssay, B. A. et al. : Production or prevention of some types of experimental diabetes by estrogens or corticosteroids. Acta. Endocrinol. Copenhagen. **17** : 146, 1954.
- 16) Houssay, B. A. et al : Prebention of experimental diabetes with adrenal steroids. Endocrinol. **54**: 550, 1954.
- 17) Houssay, B. A. and Biassotti, A. : Pancreadiabetes und Hypophyse beim Hund. Arch. f. Ges. Physiol. : **227** : 664, 1931.
- 18) Kaneda, R. : Thyroid and pancreas : Thyroid function of the completely depancreatized dog treated with insulin. Arch. Jap. chir., **31** : 1, 1962.
- 19) Li, C. H. and H. M. Evans : Biochemistry of pituitary growth hormone. Recent. Prog. Hormone Research. **3** : 3, 1948.
- 20) Ladman, A. J. and R. J. Barnett : Histochemical demonstration of proteinbound sulfhydeys and disulfide groups in cell of the anterior pituitary. Endocrinol. **54** : 335, 1951.
- 21) Milman, A. E. and J. A. Russell : Some effects of purified pituitary growth hormone on Carbohydrate metabolism in rat. Endocrinol. **47** : 114, 1950.
- 22) Mc Manus, J. F. A. : Histological demon Stration of mucin after periodic acid. Natur, **158** : 202, 1946.
- 23) Mering, J. V., U. O. Minkowsky. : Diabetes mellitus nach pankreasextirpation. Arch. f. exper. path. u. pharmakol., **26** : 371, 1889.
- 24) 三輪哲郎 : 膝全剝犬における Estrogen 投与の影響. 日本内分泌学会雑誌 : **40** : 594, 1964.
- 25) 中尾 健 : 脳下垂体ホルモン : 医学書院 1957.
- 26) Nishikawa, M. : Estrogen Response in totally pancreatized female dogs under insulin treatment. Arch. Jap. Chir., **33** : 21, 1964.
- 27) O' Donnell, W. M. et al : Human adrenal Cortex after administration of ACTH and Cortisone, morphologic changes. : Arch. Int. Med., **88** : 28, 1951.
- 28) Payne, R. W. : Studies on fat-mobilizing factor of anterior pituitary gland : Endocrinol. **45** : 305, 1949.
- 29) Purves, H. D. and W. E. Griesbach : Staining of the thyrotrophic cells of the rat pituitary by the Gomori stain. Endocrinol. **49** : 427, 1951.
- 30) Purves, H. D. and W. E. Griesbach : The site of trytrophin and gonadotrophin production in the rat pituitary studied by Mc Manus-Hotchkiss staining for glycoprotein. Endocrinol. **49** : 244, 1951.
- 31) Purves, H. D. and W. E. Griesbach : Changes in the gonadotrophus of the rat pituitary after gonadectomy. Endocrinol. **56**: 374, 1955.
- 32) Purves, H. D. and W. E. Griebach : Changes in the basophil cells of the rat pituitary after thyroidectomy. J. Endocrinol. **13** : 365, 1956.
- 33) Philipp, E. : Ueber den Zusammenhang von Histologie und innersekretorischer Wirkung des Hypophysen-vorderlappens. Zbl. Gynäkol. **54** : 3076, 1930.
- 34) Rasmussen, A. and Herrick, R. : A method for the volmentlic study of the human hypophysis

- cerebri with illustrative results. Proc. Soc. Exper. Biol. and Med. **19** : 416, 1922.
- 35) Romeis, B. : Hypophyse. Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen. herausgegeben von W. V. Möllendorff. Bd. **6** : 2/III, Springer, Berlin, 1940.
- 36) Somogyi, M. : A photometric adaptation of the Somogyi method for the determination of glucose. J. Biol. Chem. **153** : 375, 1944.
- 37) Stadie, W. C., Zapp, J. A. Jr., Lukens, F. D. W. : Intermediary metabolism in diabetes mellitus. The norformation of acetic acid and the ratio ketone body increase of fatty acid decrease in livers of diabetic animals. J. B. C., **137** : 75, 1941.
- 38) 友成淑夫 : 下垂体前葉における ACTH 分泌細胞に関する研究. 解剖誌, **32** : 149, 1957.
- 39) 谷口哲大 : 豚全剔犬における Estrogen 投与の影響. 日本内分泌学会雑誌, **40** : 594, 1964.
- 40) 豊田正輝, 吉山政巳, 西川光夫 : 脳下垂体の組織化学. ホと臨床, **3** : 1429, 昭30.
- 41) Wolfe, J. M. : Cytochemical studies of the anterior hypophyses of rats receiving estrogen. Am. J. Anat. **85** : 309, 1949.
- 42) Wolfe, J. M., R. Cleveland and M. Campbell : Cyclic histological variations in the anterior hypophysis of the dog. Z. Zellforsch. **10** : 420, 1933.
- 43) 吉村穉嗣 : 日本人脳下垂体前葉各種細胞の統計的観察. 日本法医学雑誌 **4** : 138, 1950.
- 44) 吉岡 一 : 豚切除. 日本外科学会雑誌 **55** : 766, 1954.
- 45) 吉村不二夫 : 脳下垂体の解剖. ホと臨床, **3** : 1409, 昭30.