

脳下垂体腺腫の電子顕微鏡的研究*

特に chromophobe 腺腫にみられる分泌顆粒について

京都大学医学部外科学教室第1講座(指導: 荒木千里教授)

福 光 太 郎

〔原稿受付 昭和39年1月7日〕

Electron Microscopic Study of the Human Pituitary Adenomas

by

TARO FUKUMITSU

From the 1st Surgical Division, Kyoto University Medical School

(Director : Prof. Dr. CHISATO ARAKI)

There has been a general conception that the chromophobe adenoma of the pituitary gland contains no secretory granules on light microscopic examination, and that it causes panhypopituitarism because of lack of hormonal activity in itself, besides compression atrophy of the remaining non-tumoral pituitary tissue. But there have been some reports suggesting the presence of hormonal activity in the chromophobe adenoma.

If so, it is possible that even in the pituitary adenomas diagnosed as "chromophobe" with a light microscope, electron microscopic examination might reveal some secretory granules in their cytoplasm. This study is the investigation of the human pituitary adenomas—especially chromophobe adenomas—with an electron microscope.

1) The specimens of tumors were obtained from 15 patients operated on over the period 1961 through 1963 in the First Surgical Division and the Department of Ophthalmology of Kyoto University Hospital. Twelve cases of them were chromophobe adenomas, two acidophil and one basophil. A piece of neoplastic tissue obtained surgically was divided into halves immediately, one was fixed in 1% Dalton's chrome-osmium fixative and embedded in methacrylate for the electron microscopic study, and the other was fixed in 10% neutral formalin and embedded in paraffin for the light microscopic study. The latter was stained with H & E, Mallory-Heidenhain's azan and PAS-orange G.

2) Electron microscopic study of the chromophobe adenomas revealed the cytoplasmic secretory granules in all cases (Figs. 1-14), in spite of lacking the granules in light microscopic examination. These secretory granules showed considerable varieties in size, but there was little difference between various specimens taken from the same tumor. Depending upon the size of these granules, chromophobe adenoma can be divided into two groups; one is the small granule group (diameter of granules 70μ to 150μ , about 100μ in average) and the other is the large granule group (diameter of granules 200μ

to $350\text{ m}\mu$, about $300\text{ m}\mu$ in average). In our series of chromophobe adenoma, a large majority belonged to the small granule group. These granules were generally sparse in each cell, and there was a tendency that more granules were found in cells surrounding blood vessels (Fig. 12). In most cases, the secretory granules were found often to be disposed in a row along the plasma membrane (Figs. 1-4), and in small clusters in the Golgi area. Mingled with these sparsely granulated cells, some agranulated cells also were found in some cases.

3) Cells of acidophil adenomas which were accompanied with definite clinical signs of acromegaly, contained many large secretory granules, about $300\text{ m}\mu$ in average diameter (Figs. 15-17). Most of cells contained numerous secretory granules, but sparsely granulated cells also were found among them. The latter might be discerned as chromophobe cells under a light microscope. In the abundantly granulated cells, the granules filled cytoplasm diffusely, but in sparsely granulated cells, the granules were arranged along the plasma membrane (Fig. 16).

4) An interesting finding in electron microscopic examination of basophil adenoma was that differing from normal basophil cells which contain granules of less than $200\text{ m}\mu$ in diameter, these tumor cells contained large granules of about $300\text{ m}\mu$ in average diameter (Figs. 19-20). The size of granules is the same as that in acidophil adenoma, an important fact to be taken into consideration in deciding the nature of granules which are found electron microscopically in chromophobe adenoma.

5) Concerning the secretory granule formation, FARQUHAR and WELLINGS described that in rat pituitary glands secretory granules enclosed by a membrane were frequently found within the Golgi apparatus, suggesting that secretory granule formation may occur within the Golgi apparatus. Human chromophobe adenoma in this series also showed the same pictures (Fig. 13). It is considered, therefore, that secretory granules in cells of human chromophobe adenomas also may be formed within the Golgi apparatus.

6) In chromophobe adenoma, occasionally the following picture was found; the narrow intercellular space widened in several spots, forming saccular spaces, and some of them contained vaguely circumscribed granules which had the same size as, but lower electron density than those in the cytoplasm (Fig. 14). These granules may be considered to have been discharged into intercellular space and on the way of dissolving.

7) The endocrinological nature of the secretory granules in human chromophobe adenoma under an electron microscope still remains as a mystery to the author at present. According to SCHELIN, in appearance and size, the larger granules ($300\text{ m}\mu$ in average diameter) closely resembled acidophil granules and the smaller ones ($100\text{ m}\mu$ in average diameter) basophil granules in the normal anterior pituitary lobe in various experimental animals and man. Therefore he considered that the larger granules are acidophilic and the smaller granules basophilic.

However, there are still some questions about his consideration because of the following evidences;

a) Basophil adenoma contained large granules of $300\text{ m}\mu$ in average diameter as those of acidophil adenoma.

b) If small granules are basophilic, it may be strange that there are so many adenomas

which have small granules electron microscopically, but the basophil adenoma is very rare clinically and light microscopically.

c) The granules which have been identified as basophil granules in the normal animal pituitaries can reach $200\text{m}\mu$ in size, and generally larger than the ones found in human chromophobe adenomas of small granule group.

Thus, the nature of the granules found in human chromophobe adenoma, especially of the small granules, still cannot be so clearly decided at present.

1. 結 言

脳下垂体の chromophobe 腺腫は従来光学顕微鏡的には分泌顆粒が認められず、従つてそれ自身内分泌活性を有せず、残存する正常下垂体組織の圧迫萎縮を来して、臨床的には panhypopituitarism の症状を呈するとされている。然し乍ら、事實はさほど明快でなく、従来からも chromophobe 腺腫であつて hyperpituitarism の症状を呈するものがある事を示唆する報告が数多くみられている。例えば、acromegaly に就いても Angels-tejn¹⁾ は 12 例の acromegaly 患者中、組織学的に acidophil 腺腫であつたのは 2 例のみで、他は chromophobe 腺腫であつたと云い、又 Russfield 等²⁷⁾ は同様 8 例中 1 例のみが acidophil 腺腫であつたと記している。又、chromophobe 腺腫であつて Cushing 氏症候群を来した例も数多く報告されている^{9) 23) 30)}。更に、動物の実験下垂体腫瘍でも、明らかに TSH や STH 等を分泌してゐる、その組織像は chromophobe 腺腫であるという例も知られている¹⁰⁾。

この様に、光学顕微鏡組織学的には chromophil 顆粒が認められず、chromophobe 腺腫と診断されるものであつても、臨床的には hyperpituitarism を示すものがある事は確実であり、その様な例ではやはり腫瘍細胞の分泌機能亢進があると考えられる。

Bailey and Cushing²⁾ は下垂体腺腫をその acidophil 顆粒の量に従つて分類し、定型的な acidophil 腺腫から定型的な chromophobe 腺腫迄漸次移行性があるとしてそれらを 6 型に分つている。即ち、chromophobe 腺腫にも、分泌機能に種々の段階があるとも考えられるのである。一方、臨床的に全く hyperpituitarism を示さない chromophobe 腺腫において、果して全くホルモン分泌が行われていないかどうか興味のある所である。これを追求する方法の一つに電子顕微鏡がある。

最近の電子顕微鏡の発達に伴つて各種動物下垂体の

細胞分類或いは機能的変化の観察は数多く報告されているが^{3)~7) 17) 24)~26) 31) 33) 34)}、これらを見て気付く事は、光学顕微鏡に比較して¹⁸⁾ 電子顕微鏡的には分泌顆粒を全く持たない細胞は極く稀にしか存在しない事である。即ち、この事は明らかに、電子顕微鏡では個々の分泌顆粒が明瞭に認められる為、光学顕微鏡のレベルでは無顆粒細胞—chromophobe 細胞—とみなされるものでも acidophil 或いは basophil 顆粒を有してをり、夫々に分類されうる事を示すのである。

この事から類推すれば、腺腫に就いても、光学顕微鏡的には chromophobe 腺腫であつても、電子顕微鏡的にみれば分泌顆粒を有するものが存在する可能性もあると考えられる。従来動物下垂体の電子顕微鏡的観察の報告を総括すれば、acidophil 細胞は直径約 300 乃至 $400\text{m}\mu$ の大型の、basophil 細胞は直径約 150 乃至 $200\text{m}\mu$ の小型の分泌顆粒を有するとされている。故に、もし chromophobe 腺腫に内分泌活性があるならば、細胞内に分泌顆粒が認められる筈であり、更にその顆粒の大きさ等からその内分泌学的性質をも知り得る可能性もあると考えられる。その為著者は、1961年5月から1963年4月迄の間に京大外科第1講座及び京大眼科学教室において手術的に得られた15例の下垂体腺腫に就いて電子顕微鏡的検索を行ない、chromophobe 腺腫の全例に分泌顆粒の存在を認めたのでそれに就いて報告し、併せて acidophil 及び basophil 腺腫において認められた所見と比較して、chromophobe 腺腫の分泌顆粒の性質について考察を試みた。

2. 材料及び観察方法

1961年5月より1963年4月迄の間に、京大外科第1講座で手術された14例、及び京大眼科学教室の1例、計15例の下垂体腺腫について電子顕微鏡的並びに光学顕微鏡的観察を行なつた。

手術的に得られた組織片を直ちに2分し、1つは光

* 本論文の要旨は第21回日本脳神経外科学会総会（1962年10月、伊勢市）及び第4回神経病理懇話会（1963年3月、京都市）において発表した。

学顕微鏡観察用に10%中性ホルマリン中に固定した。今1つは電子顕微鏡観察用に1% Dalton's chrome-osmium fixative に浸し乍ら約1mm³の小片に細切し、約2時間固定後水洗し、漸強アルコール法による脱水後methacrylate(butylmethacrylate, 7: methylmethacrylate, 3)に包埋した。電子顕微鏡は日立HS-6型を使用した。

光学顕微鏡観察用組織片は10%中性ホルマリン固定後パラフィン包埋をおこない、H. & E., Mallory-Heidenhain's azan, PAS-orange G の各染色を施し観察した。尚methacrylate 包埋ブロックについても厚さ約1μの切片を作製し、H. & E. 及びPAS染色を施して光学顕微鏡で観察し、電子顕微鏡所見と比較した。

又、動物の正常下垂体前葉細胞についても、マウス、ラット及びネコで同様の観察をおこない、比較対照した。

3. 臨床並びに光学顕微鏡所見

15例中、13例は臨床的に下垂体機能亢進症状を呈せず、そのうち12例は光学顕微鏡的には特殊染色をおこなつても顆粒の認められないchromophobe 腺腫であつた。あとの1例は両側視束圧迫を来した示指頭大の腫瘤で、azan染色で青染し、PAS強陽性の多数の顆粒を有する稀なbasophil 腺腫であつた。他の2例はいずれも著明なacromegalyを呈し、組織学的にも両者とも明らかなacidophil 腺腫であつた。

Chromophobe 腺腫中、2例(case 2, 9)はfrontal extensionを呈し、殊にcase 9は右前頭蓋窩の大半を占める超リング大の腫瘍であつたが組織学的には悪性所見は認められなかつた。Case 2はやや異型性を示す例であつた。又、かなり著明な異型性がcase 10において認められた。すなわち細胞及び核の大小不同性強く、核はchromatinに富み、明瞭な核小体を持ち、細胞質はやや塩基好性で、屢々核分裂像が認められ、malignant adenomaと診断される。

Case 3, 5, 6, 7及び9は再発例であり、前回手術時の組織所見も今回と同じくいずれもchromophobe 腺腫であつた。

尚治療のホルモン投与に関しては、case 5が前回手術後Simmonds氏病を来して約半年間内科的に各種ホルモン投与を受け、又case 14もretrobulbar optic neuritisの診断の下に約5ヶ月間prednisolone, ACTHの投与を受けているほか、多くの例が術前処置として手術前日からprednisolone 或いはdexamethasoneの投与を受けて

いる。その他一般臨床並びに組織所見等は表1に示す如くである。

4. 電子顕微鏡所見

A. Chromophobe腺腫

Chromophobe 腺腫の電子顕微鏡所見で最も興味ある事は、光学顕微鏡的には全く顆粒を認めないにも拘らず、全例に分泌顆粒と思われる顆粒の存在を認める事である。これらの顆粒はのちに述べるchromophil 腺腫の顆粒にくらべて1細胞当りの数も少なく、大きさも多くは平均直径約100mμ程度で非常に小型ではあるがその存在は明瞭に認められる。この顆粒を形態学的に分泌顆粒とみなす根拠は、動物下垂体或いは人間のacidophil 腺腫で分泌顆粒とみなされているものと同じ特徴を有している事である。すなわち、1. 小型であつても形態及び電子密度が同じであり、限界膜に包まれたものが認められる事、2. 細胞膜に接して並ぶ傾向を有する事、3. 市川等の報告にみられると同様、細胞間隙へ分泌されてゆくと思われる所見を認める事等による。一般に腫瘍細胞では、屢々性質の不明な大小様々な顆粒が電子顕微鏡的には認められ、著者も種々の脳腫瘍の観察に際してその様な顆粒を認めているが、上に述べた様にchromophobe 腺腫の顆粒はそれらとは明らかに異っている。

この分泌顆粒の大きさから、Schelin²⁹⁾も述べている様にchromophobe 腺腫を2群に分ける事が出来る。すなわち、1つは顆粒の平均直径100mμ前後の小顆粒を有する腫瘍、今1つは平均直径300mμ前後の大顆粒を有する腫瘍である。1腫瘍例についてその顆粒の大きさは略々均一で、大顆粒細胞と小顆粒細胞が混在する所見は得られなかつた。著者の観察例では12例中11例迄が小顆粒群に属するもので、大顆粒腺腫は1例のみであつた。

1細胞当りの顆粒の数も症例によりかなり変動があるが、一般にchromophil 腺腫にくらべて少ない。又、観察したすべての細胞に顆粒を認める例もあるが、顆粒の全く認められない細胞を有する例もあり、顆粒細胞と無顆粒細胞の比率も症例によつて変動がある。但し無顆粒細胞も、1つの超薄切片上で顆粒が認められないのであつて、その細胞が全く顆粒を有しないかどうかは連続切片によつて追及する必要がある。尚一般的に云つて、血管周囲に配列する細胞に顆粒が多く認められる傾向がある(Fig. 12)。

細胞内における分泌顆粒の存在場所としては、広く

表1 一般臨床並びに病理所見

Case No.	Name	Age	Sex	Histological		Macroscopical				Steroids in Urine (mg/day)			BMR	Preoperative Administration of Corticoids
				Cytology	Architecture	Solid or Cystic	Extension	Acromegaly Obesity Libido Premenopausal Amenorrhea	17KS	17OHCS				
										free	total			
1	K.H.	49	M	chromophobe	papillary	solid	no	— — ↓	15.0	0.42	19.10			
2	K.N.	45	F	chromophobe	sinusoidal	solid	frontal extension	— + → +	5.6	0.04	6.23	+2	prednisolone 20mg	
3	H.C.	31	M	chromophobe	diffuse & papillary	solid	no	— — →						
4	T.E.	45	F	chromophobe	papillary & diffuse	solid	no	— — → +	2.0	0.11	5.40	0	prednisolone 10mg	
5	S.H.	49	M	chromophobe	diffuse	cystic	no	— + ↓	10.7	0.04	5.50			
6	T.I.	49	M	chromophobe	diffuse	cystic	no	— — ↓↓				-7.5	dexamethasone 1mg	
7	M.K.	51	M	chromophobe	diffuse	solid	no	— — ↓↓	15.1	0.09	1.35		dexamethasone 1mg	
8	T.A.	35	M	chromophobe	papillary	solid	no	— — ↓	7.0	0.08	3.60			
9	E.T.	37	M	chromophobe	sinusoidal	solid	frontal extension	— — ↓					prednisolone 20mg	
10	Y.E.	27	M	chromophobe	sinusoidal & diffuse	cystic	no	— — →						
11	T.H.	42	M	chromophobe	sinusoidal	cystic	no	— — ↓	11.3	0.11	3.00		prednisolone 20mg	
12	Y.Y.	67	F	chromophobe	sinusoidal	solid	no	— — →					prednisolone 20mg	
13	S.I.	30	M	basophil	diffuse & sinusoidal	solid	no	— — ↓						
14	J.M.	29	F	acidophil	sinusoidal & diffuse	solid	no	+ + → +	6.9			+17.2		
15	S.Y.	31	F	acidophil	diffuse	solid	no	+ — → +		0.06	2.30	+19.0	prednisolone 20mg	

細胞質内に散在する場合もあるが (Fig. 5), 多くは細胞質周辺に、細胞膜に接して並ぶ傾向を有し (Fig. 1~1), 又Golgi野付近にも屢々存在する。

下垂体前葉細胞の分泌顆粒が細胞内でどの様にして生産されるかについては未だ完全に明らかではない。Farquhar and Wellings⁸⁾はラット下垂体で、Golgi apparatus内に、Golgi membraneで囲まれた分泌顆粒と同じ電子密度を有する顆粒が屢々認められる事から、分泌顆粒がGolgi apparatusにおいて形成される事を示唆し、これを支持する研究者が多い^{17) 21) 29) 31) 33)}。著者の腫瘍例でも、分泌顆粒がGolgi野周辺に群がって存在するものがあり、又Golgi apparatus内に限界膜に包まれた顆粒が存在する所見を屢々認める (Fig. 13)。すなわち、平行して走る2枚のGolgi membraneが一部で囊状に拡大し、その中に円形の分泌顆粒と思われる顆粒を包んでをり、時に顆粒が全周を膜で包まれて孤立して存在する場合もある。この様にGolgi apparatus内にある顆粒は、多くが電子密度の高い均質な円形物質の外周に薄い明層を隔ててその外側に限界膜を有するのが認められる。細胞質内に散在する顆粒については限界膜を識別する事は殆どの場合困難であるが、時にGolgi apparatus内にあると同様の限界膜を有するものを認める事が出来る。Farquhar and Wellingsによれば分泌顆粒はGolgi apparatus内で形成されたのち、移動して細胞周辺に貯えられ、適当な時期に細胞外に放出されるのであろうという。

細胞体外への分泌顆粒の放出機序についてはRinehart and Farquhar²⁶⁾は、perisinusoidal spaceに介在する分泌顆粒を含んだ実質細胞の突起が何等かの機序によつてこわれ、分泌顆粒がperisinusoidal spaceに放出されるのであろうと述べている。一方、市川¹⁷⁾はこの様な実質細胞の破壊を伴う分泌機構は不自然と考えてをり、彼のラット下垂体における観察によれば、分泌顆粒が細胞膜に付着する事によつて顆粒限界膜と細胞膜が融合して相互に連絡移行が成立し、この部分の細胞膜が開いて顆粒が細胞間隙へ放出され、融解して血中へ運ばれてゆく狭義のmerocrine分泌と解している。著者の観察した人間のchromophobe腺腫例でも、この市川の見解と似た所見が得られた。すなわちFig. 14の如く、相隣る平行した2枚の細胞膜にはさまれた狭い細胞間隙が広くなつて囊状を呈している部分が所々にみられ、その中に細胞内分泌顆粒と同じ大きさの顆粒が認められる。これらは細胞体内にみられるものよりも電子密度低く、輪郭もやや不鮮明で、おそらく細胞間

隙へ放出され、融解してゆく過程にあるものと考えられる。

次にcytoplasmic organellesに就いて記せば、

Golgi apparatus: 動物下垂体で電子顕微鏡的に分泌顆粒の全く認められない狭義のchromophobe細胞ではGolgi apparatusは全く認められない (Farquhar and Rinehart) か、有つてもきわめて発達不良である (市川、山田他) のに比して、著者の観察した人間のchromophobe腺腫では一般に発達良好であり、分泌顆粒の認められない細胞に於いても同様である。形態は核の一側に限局して渦巻状を示すもの、或は細胞質全体に拡る様な著明な発達を示すもの等多様である。Severinghausはラット下垂体で、acidophil細胞とbasophil細胞はそのGolgi apparatusの形が異り、chromophobe細胞ではその両方の形があつて、将来分化してゆく方向を示すのであろうと考えているが、これは動物の種類によつて異り、人間やマウス等には当てはまらないとも考えられている¹⁰⁾し、本研究における人間下垂体chromophobe腺腫のGolgi apparatusも上述の如く多様な形態を示し、一定の傾向に統一する事は困難な様に思われ、Golgi apparatusの形から細胞の種類を推測する事は難かしい。Golgi apparatusの形は、細胞の種類にもよるであろうが、Wolfe³²⁾も云う如く個々の細胞の機能相に関係する所も大であると考えられる。Golgi apparatusが分泌顆粒の形成に関与しているであろうと思われる所見は先に記したが、個々の細胞における分泌顆粒の数とGolgi apparatusの発達の程度は必ずしも平行関係を示さない。

Endoplasmic reticulum: 発達の程度は種々であるがいずれの症例にも認められる。一般に層状構造をとるものよりも、空胞状をなして細胞質全体に拡るものが多いが、時に著明な層状構造を示すものが見られる。組織学的に異型性を示す2例 (case 2, 10) において、著明な層状構造をとるものが多く見られた。

Mitochondria: 形態や数は様々であり、cristaは一般に平行な櫛状を示さず、乱れた配列をとるものが多い。Golgi野の周辺にmitochondriaが介在する所見は市川等も記しているが著者の例でも同様な所見が認められた。

核及び細胞質: 核は一般に円形乃至楕円形を示すが、indentationも屢々認められる。殊にcase 2に於いてはindentationは著明で、不整形の核を有するものが多い。又この例では細胞体も不規則で、長い突起を出して入り組み、或いは他の細胞を取り囲む様な像を示

し、細胞質の電子密度も個々の細胞によつて多様であり、電子顕微鏡的にも polymorphic であると言える (Fig. 6)。

尚細胞質内に、分泌顆粒と異つた種類の、高電子密度の顆粒状物質が屢々見られる。すなわち、電子密度は分泌顆粒よりもずっと高く、均質無構造で限界膜を有せず、形は略々球形のものが多く、大きさは大小様々である。が時に内部に空胞状の構造を有する事がある。類似の物質は一般に腫瘍細胞では屢々みられ、殊に下垂体腺腫においては小型のものは分泌顆粒とまぎらわしい事もあるが、電子密度がきわめて高く、大小不揃いで、限界膜を認めず、細胞膜に接着する所見もみられない等、容易に区別される。Luse²²⁾, Schelin²⁹⁾等はこれを lipid pigment granule とみなしている (Fig. 9, 10)。

B) Acidophil 腺腫

2 例の acidophil 腺腫について観察したが、いずれも臨床的に明らかな acromegaly を呈した例である。

電子顕微鏡的にはすべての細胞に、動物下垂体で acidophil 細胞とみなされているものと同様に、平均直径 300m μ 前後の大型の分泌顆粒が多数認められる。顆粒は多少大小不同性があり、稀ではあるが小は直径 200m μ 、大は 500m μ 前後のものも存在する。

光学顕微鏡的には acidophil 細胞の間に顆粒の認められない chromophobe 細胞が散在しているのがみられるが、電子顕微鏡的にはこれらは分泌顆粒含有量の多寡で現わされる様である。すなわち、電子顕微鏡では、分泌顆粒で充満した細胞や、極く少数しか有しない細胞もあるが、いずれも分泌顆粒の大きさはほぼ同じである。このことから、いわゆる mixed adenoma は、acidophil 細胞と chromophobe 細胞という異種のものの混合ではなくて、acidophil 細胞のみから成り、分泌顆粒 (acidophil 顆粒) の所有量の少ないものが光学顕微鏡上で chromophobe 細胞とみなされるものと考えられ、Gusek¹²⁾も mixed adenoma の電子顕微鏡的観察で同様の所見を記している。

分泌顆粒の少ない細胞では、顆粒が細胞膜に接して並ぶ所見が明瞭に認められ、又 Golgi vacuole 又は lamella 内に限界膜で包まれた分泌顆粒が存在する所見も屢々見られる。Golgi apparatus は渦巻状を呈するものが多く、一般に明瞭な Golgi 野を形成する。Acidophil 腺腫における顆粒の細胞体外放出機序については、現在迄の所まだ確実な像を認めていない (Fig. 15

～17)。

C) Basophil 腺腫

Basophil 腺腫はいわゆる microadenoma として存在する事が多く、外科的治療の対象となる程大きなものは極めて稀であるが、この例は示指頭大に達し、強い視力障害を来した珍しい例である。

電子顕微鏡所見で興味ある事は、何れの細胞も平均直径約 300m μ の大型の分泌顆粒を有している事である。Acidophil 腺腫同様、顆粒の大きさには幅があり、直径約 200m μ から 400m μ のものも見られるが多くは 300m μ 前後であり、顆粒の大きさだけから云えば acidophil 腺腫のそれと同じである。動物下垂体で basophil 細胞とみなされているものの顆粒は直径 150 乃至 200m μ で、この例よりもずっと小型である。

顆粒そのものの形態、細胞内小器官等については特記すべき事は無い。細胞膜に接して分泌顆粒が並ぶ所見は前 2 者同様に認められる (Fig. 19)。

尚この例において屢々核内に封入体様の構造物を認める。すなわち、核質内に略々円形の、明らかに細胞質よりも電子密度の低い均質な、vacuole 様の部分があり、その内部に限界膜に包まれた電子密度の多様な組織片の如きものを容れている。RNA 顆粒、細胞内小器官、或いは分泌顆粒等は全く含まず、又核質との境は一層の限界膜が認められるのみで、核の indentation による細胞質の断面とは考えられず、完全に核内に孤立した一種の封入体或いは空胞と思われるがその本質に関しては現在の所、尚明らかでない (Fig. 18)。

5. 考 察

著者は電子顕微鏡的観察により、人間の chromophobe 腺腫もまた分泌顆粒を有する事を明らかにし、同時にその産生、分泌像と思われるものを認めたので、昭和 37 年 10 月伊勢市で開かれた第 21 回日本脳神経外科学会においてこれを発表した。同じ頃スウェーデンの Schelin も、人間下垂体腺腫の電子顕微鏡所見について発表した中で、やはり chromophobe 腺腫に分泌顆粒が認められる事を報告している。

この分泌顆粒の産生については、Golgi apparatus 内に Golgi membrane に包まれた分泌顆粒と同じ形態・電子密度を有する顆粒が存在するという Farquhar and Wellings やその後の研究者の報告と同様の所見を認めることから、Golgi apparatus において形成されるものと考えられる。

これらの顆粒は細胞質内に散在し、或いは Golgi 野周辺に群在する事もあるが、多くは細胞周辺に、細胞膜に接して並び、且つそれらが細胞間腔へ放出されると思われる所見を得た。すなわち、顆粒が細胞膜に接する事によつて顆粒限界膜と細胞膜間に連続移行が成立し、その部分が開いて顆粒が細胞間腔へ放出され、融解して血中へ運ばれるものと思われる。

人間の chromophobe 腺腫は、その所有する分泌顆粒の大きさから、電子顕微鏡的には大別して2種に分ける事が出来る。すなわち、1つは平均直径100m μ 前後の小型の顆粒を有する群であり、今1つは平均直径300m μ 前後の大型顆粒を有する群である。1つの腺腫例に就いてその有する顆粒は略々同じ大きさであり、兩種の細胞の混合から成る腺腫は見られなかった。

人間下垂体腺腫の電子顕微鏡的研究は、これ迄にも2, 3の報告がある。Luse²²⁾は acidophil 腺腫7例、chromophobe 腺腫19例の観察から、acidophil 腺腫は直径500m μ の分泌顆粒を、chromophobe 腺腫は直径100乃至250m μ の分泌顆粒を有すると述べているが詳細には触れていない。Gusek¹²⁾は2例の acromegaly 例に就いて報告しているが1例は光学顕微鏡的に mixed adenoma、他の1例は chromophobe (少数の acidophil 細胞を含む) であり、電子顕微鏡的にはいずれも100乃至500m μ の顆粒を持っているという。一方、Schelin²⁹⁾は chromophobe 腺腫13例、acromegaly 10例を観察し、acromegaly 例は平均直径約300m μ の分泌顆粒を有し、一方 chromophobe 腺腫では顆粒の大きさに2種あつて、平均直径約300m μ の分泌顆粒を有する例と、平均直径約100m μ の分泌顆粒を有する例とがあり、その性質については、前者は acidophil 顆粒であり、後者は basophil 顆粒であろうと推論している。

ひるがえつて、動物正常下垂体細胞の電子顕微鏡的観察では、その細胞内顆粒が分泌顆粒である事は既に確認されてをり、内分泌学的性質に従つてその大きさが異つている事が知られている。ラットに就いては Farquhar and Rinehart は先ず acidophil, basophil 及び chromophobe の3種の細胞を分類し、更にその後の実験で6種の前葉ホルモンに対応する夫々の細胞の同定を試みた⁵⁾⁻⁷⁾⁻²⁵⁾。すなわち acidophil 細胞は STH 分泌細胞 (顆粒直径350m μ) と prolactin 分泌細胞 (顆粒直径600m μ) の2種、basophil 細胞は TSH 分泌細胞、LTH 分泌細胞、FSH 分泌細胞の3種に分けられるという。ACTH については Farquhar⁴⁾ は、前葉において colloid を含む小 follicle を作る細胞を認め、この follicle が

cortisone 投与等の ACTH 蓄積を来す条件下では増大し、逆に副腎部分切除等の ACTH 放出を来す条件下で縮少する事から、この細胞が ACTH 分泌細胞であり、ACTH はこの follicle 内に貯蔵されているのではないかと考えている。

一方マウスに就いても、Barnes³⁾は Romeis—Herlant の光学顕微鏡の分類に対応して5種の分泌細胞を区別している。すなわち、 α 細胞は STH 分泌細胞で分泌顆粒の直径350~400m μ 、 ϵ 細胞は prolactin 分泌細胞で顆粒は楕円形で長径200~400m μ 、短径100~200m μ 、 δ 細胞は TSH (顆粒直径50~100m μ)、 γ 細胞は LTH (顆粒直径100~200m μ)、 β 細胞は FSH (顆粒直径150~250m μ) を夫々分泌するものとし、各細胞の形態や血管に対する配置等にもそれぞれ特徴があるという。

又、Hartley, McShan and Ris¹³⁾、及び Hymer and McShan¹⁶⁾等はラット下垂体前葉の differential centrifugation により各種の大きさの顆粒を分離して夫々の分画のホルモン活性を測定し、ほぼ Farquhar 等と同じ結果が得られる事を認めている。

然し乍ら Barnes も述べている如く、下垂体の電子顕微鏡的細胞分類は動物の種類によつてかなり異なる様であり、殊に人間下垂体前葉細胞についてその様な細かな分類を試みる事は困難な様である。そのため、動物の正常細胞を基準にして人間下垂体腺腫細胞でみられた分泌顆粒の性質を論ずるのはかなりの困難がともなう。

著者の人間下垂体腺腫に就いて見れば、臨床的に acromegaly を呈した明らかな acidophil 腺腫例ではいずれも平均直径約300m μ の大型顆粒を有してをり、従来報告と全く一致している。Lundin and Schelin²¹⁾の estrogen 長期間投与によるラットの acidophil 腺腫でも電子顕微鏡的には同様の大型顆粒が認められてをり、上述の acromegaly にみられる大型顆粒が STH を含む acidophil 顆粒である事は確実であろう。然し乍ら、臨床的に機能亢進を示さない chromophobe 腺腫中、同じ様な大型顆粒を有する例については、直ちにこの顆粒が acidophil 顆粒であつて、その腫瘍が acidophil 腺腫であるとするには少々困難が伴うのである。更にもう一方の、小型顆粒群については問題は一層複雑である。

これら小型顆粒群の直径100m μ 前後という大きさは、動物下垂体を参考にすればこれに対応するものとして basophil 顆粒がある。その中でも最も小型のものは TSH 分泌細胞の顆粒で、ラットで直径120~140m μ

(Farquhar and Rinehart, Perdue and McShan), マウスで50~100 $m\mu$ (Barnes) とされてをり、大きさから云えば最もこれに近いが、著者の例中臨床的に甲状腺機能亢進を示した chromophobe 腺腫は無く、これらの顆粒を TSH 顆粒と考える根拠は無い。Hymer and McShan は differential centrifugation により、140 $m\mu$ 以下の小顆粒と microsomal material との混合分画に最も ACTH 活性が高い事から、ACTH が 140 $m\mu$ 以下の小顆粒に含まれる可能性もある事を指摘している。然し乍ら、先にも記した様に動物によつて分泌細胞にかなりの差があり、顆粒の大きさも異なるので動物正常下垂体での所見から人間下垂体腺腫細胞の性質を類推する事は危険が伴う。

人間正常下垂体については Engström, Hamberger and Schelin の電子顕微鏡的研究があるが、彼等によれば、人間では2種の顆粒細胞が認められ、1つは直径約100 $m\mu$ の顆粒を有し、今1つは直径約300 $m\mu$ の顆粒を有してをり、前者は basophil 細胞、後者は acidophil 細胞と同定されるという。この所見から、彼等のうちの1人である Schelin は、人間の chromophobe 腺腫にみられる直径100 $m\mu$ 前後の小型顆粒を basophil 顆粒であろうと推測している。すなわち、小顆粒腺腫を basophil 腺腫の系列に属するものとみなしているのである。

著者は未だ人間下垂体正常細胞を電子顕微鏡的に観察する機会を得ていないが、然し乍ら臨床的に機能亢進症状は認められなかつたが光学顕微鏡的には azan 染色で青染し、PAS 反応陰陽性の顆粒を豊富に有する、basophil 腺腫と考えられる1例を電子顕微鏡的に観察したのである。しかるにこの例では予想に反して、前述の様に平均直径約300 $m\mu$ の大型の顆粒が認められたのである。basophil 腺腫でこの様な大型顆粒がみられたという事は極めて興味ある事実である。顆粒の大きさから云えば acromegaly を呈する acidophil 腺腫細胞と同じ大きさの顆粒を basophil 腺腫細胞が有しているという事実は、人間下垂体腺腫の電子顕微鏡的細胞分類に1つの困難を感じさせる。すなわち、先に記した chromophobe 腺腫中の大型顆粒群についても直ちにそれを acidophil と断定する事が出来ず、一方小型顆粒群を basophil と推論するにもためらいを感じさせるのである。少なくとも腺腫に関しては顆粒の大きさはその内分泌学的性質の指標たり得ないと云えるかも知れぬ。

或いはこの著者の1例は極めて稀な例外と考えられるかも知れない。然し乍ら、Schelin の考える様に小型

顆粒が basophil であるとするならば、著者の観察した chromophobe 腺腫例の殆どが小型顆粒群に属するものであつた事実から見ると、この様に多数の submicroscopic basophil 腺腫が存在するのに、実際に光学顕微鏡的にも認められる明瞭な形をとるものが極めて稀であるという事は奇異に感じられる。

この様に chromophobe 腺腫にみられる顆粒、殊に小型顆粒の内分泌学的性質については疑問の点が多いのであるが、下垂体腺腫の場合、副腎皮質や性腺等の target organ との機能の相関も考慮されねばならず、その際腫瘍細胞が正常細胞と異つた生物学的環境、性格を有する以上、顆粒も特殊な形態をとり得るという事も考えられる。

6. 結 語

従来光学顕微鏡のレベルにおいて、その可能性について諸説のあつた chromophobe 腺腫のホルモン分泌に関して、電子顕微鏡的観察によりその分泌顆粒の存在を認めると共に、産生、分泌像と思われるものをとらえる事が出来た。

Chromophobe 腺腫は電子顕微鏡的には、それが所有する分泌顆粒の大きさにより、およそ2種に分ける事が出来る。すなわち、平均直径約300 $m\mu$ の大型顆粒を有する腺腫と、平均直径約100 $m\mu$ の小型顆粒を有する腺腫である。その性質に関しては、正常下垂体にみられる分泌顆粒との比較等から、前者は acidophil、後者は basophil とみなす説もあるが、然し乍ら後者の小型顆粒は動物において basophil 顆粒と同定されているものよりも小型である事、chromophobe 腺腫中、小型顆粒群が大多数であるにも拘らず、光学顕微鏡的に認められる明らかな basophil 腺腫が実際上きわめて稀である事、更に又、1例の非常に稀な basophil 腺腫にみられた顆粒は直径約300 $m\mu$ 前後の大型顆粒であつて、acidophil 腺腫にみられる顆粒と大きさの点で区別がつかない事などから、chromophobe 腺腫にみられるこれら分泌顆粒の性質については、早急に結論する事は困難であり、尚種々の角度からの検討を要するものと思われる。

稿を終るにあたり、終始御指導をたまわつた荒木千里教授、景山直樹講師並びに電子顕微鏡について御助言をいただいた皮膚科特別研究室西占貢教授にあつく感謝いたします。又、終始御協力いただいた外科研究室浅草和子嬢に深く感謝します。尚症例中、case 14は

眼科学教室の御厚意により提供されたもので、ここに記して感謝の意を表します。

参 考 文 献

- 1) Angelstein, I.: Beitrag zur Pathogenese der Akromegalie. Dtsch. Z. Nervenhe., **170** : 337, 1953.
- 2) Bailey, P. & Cushing, H. : Studies in acromegaly- VII. The microscopical structure of the adenomas in acromegalic dyspituitarism (fugitive acromegaly). Am. J. Path., **4** : 545, 1928.
- 3) Barnes, B. G. : Electron microscope studies on the secretory cytology of the mouse anterior pituitary. Endocrinology, **71** : 618, 1962.
- 4) Farquhar, M. G. . "Corticotrophs" of the rat adenohypophysis as revealed by electron microscopy. Anat. Rec., **127** : 291, 1957. (abstract)
- 5) Farquhar, M. G. & Rinehart, J. F. : Electron microscopic studies of the anterior pituitary gland of castrate rats. Endocrinology, **54** : 516, 1954.
- 6) Farquhar, M. G. & Rinehart, J. F. : Cytologic alterations in the anterior pituitary gland following thyroidectomy : an electron microscope study. Endocrinology, **55** : 857, 1954.
- 7) Farquhar, M. G. & Rinehart, J. F. : Further evidence for the existence of two types of gonadotrophs in the anterior pituitary of the rat. Anat. Rec., **121**, 394, 1955. (abstract)
- 8) Farquhar, M. G. & Wellings, S.R. : Electron microscopic evidence suggesting secretory granule formation within the Golgi apparatus. J. Biophysic. & Biochem. Cytol., **3** : 319, 1957.
- 9) Fuller, C. J. & Russell, D. S. : Chromophobe adenoma of the pituitary associated with Cushing's syndrome. Lancet, **2** : 181, 1936.
- 10) Giok, K. H. : An experimental study of pituitary tumours. Springer, Berlin. 1961.
- 11) Green, J. D. & van Breemen, V. L. : Electron microscopy of the pituitary and observations on neurosecretion. Am. J. Anat., **97** : 177, 1955.
- 12) Gusek, W. : Vergleichende licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen menschlicher Hypophysenadenome bei Akromegalie. Endokrinologie, **42** : 257, 1962.
- 13) Hartley, M. W., McShan, W. H. & Ris, H. : Isolation of cytoplasmic pituitary granules with gonadotropic activity. J. Biophysic. & Biochem. Cytol., **7** : 209, 1960.
- 14) Hedinger, C. E. & Farquhar, M. G. : Elektronenmikroskopische Untersuchungen von zwei Typen acidophiler Hypophysenvorderlappenzellen bei der Ratte. Schweiz. Z. allg. Path., **20** : 766, 1957.
- 15) Hymer, W. C. & McShan, W. H. : Isolation of cytoplasmic pituitary granules by column chromatography. J. Cell Biol., **13** : 350, 1962.
- 16) Hymer, W. C. & McShan, W. H. : Isolation of rat pituitary granules and the study of their biochemical properties and hormonal activities. J. Cell Biol., **17**, 67, 1963.
- 17) 市川 厚 : ラット下垂体前葉の電子顕微鏡的研究. 解剖学雑誌, **34**, 460, 1959.
- 18) 稲本 晃 : 日本人脳下垂体前葉各種細胞比率の統計学的研究. 日外宝函, **20**, 308, 1943.
- 19) Kamat, V. B. et al. : The intracellular localization of hormonal activity in transplantable thyrotropin-secreting pituitary tumors in mice. J. Biophysic. & Biochem. Cytol., **7** : 219, 1960.
- 20) Löblich, H. J. & Knezevic, M. : Elektronenoptische Untersuchungen nach akuter Schädigung des Hypophysen-Zwischenhirnsystems. Beitr. z. Path. Anat., **122** : 1, 1960.
- 21) Lundin, P. M. & Schelin, U. : Light and electron microscopical studies on the pituitary in stilbol-treated rats. Acta Path. Microbiol. Scand., **54**, 66, 1962.
- 22) Luse, S. A. : Electron microscopy of brain tumors. in Biology and treatment of intracranial tumors. ed. Fields, W. S. & Sharkey, P. C., C. C. Thomas, Springfield, 1962.
- 23) Mellgren, J. : The anterior pituitary in hyperfunction of the adrenal cortex : an anatomical study with special reference to syndrome Morgagni and notes on prostatic hypertrophy. Acta Path. Microbiol. Scand., suppl., **60** : 1, 1945.
- 24) Peterson, R. R. : An electron microscopic study of pituitary basophiles in the guinea pig. Anat. Rec., **127** : 346, 1957. (abstract)
- 25) Rinehart, J. F. & Farquhar, M. G. : Electron microscopic studies of the anterior pituitary gland.

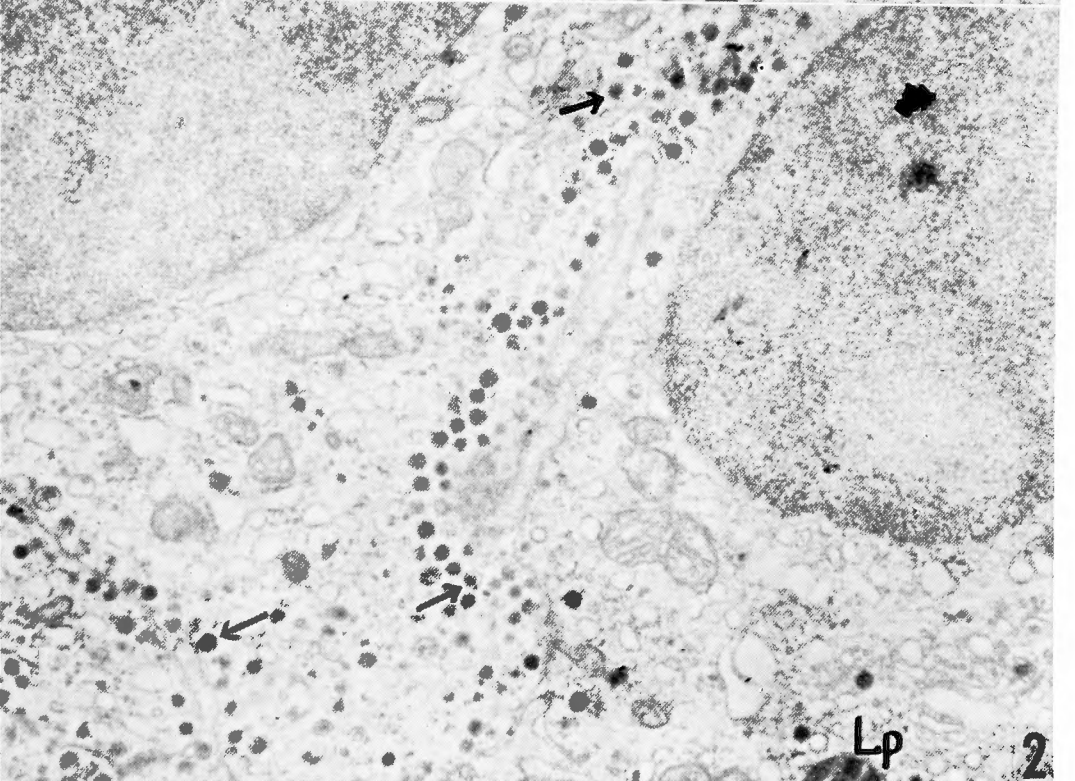
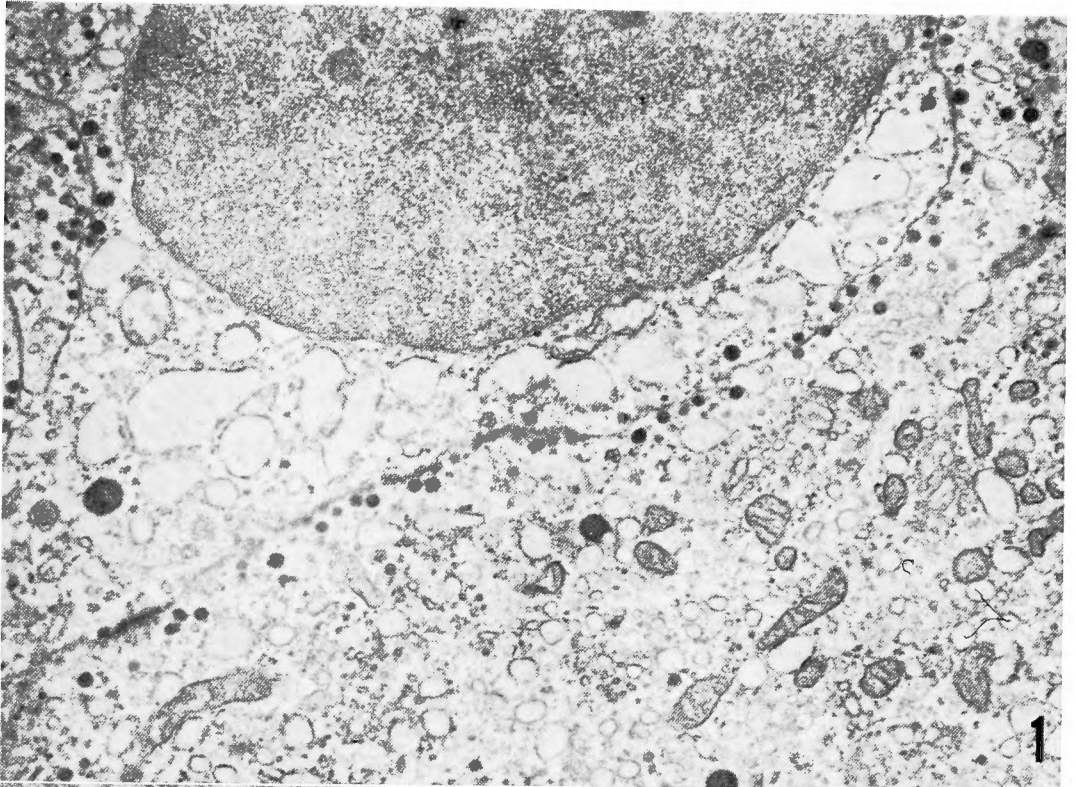


Fig. 1 Chromophobe adenoma. The cells contain few small secretory granules which disposed along the plasma membranes. Well developed endoplasmic reticulums and Golgi apparatuses composed mainly of vesicles are seen. ($\times 18000$)

Fig. 2 Chromophobe adenoma. Some of the granules are surrounded by a limiting membrane, which is often separated from the contents by a less dense layer (arrows). ($\times 18000$)

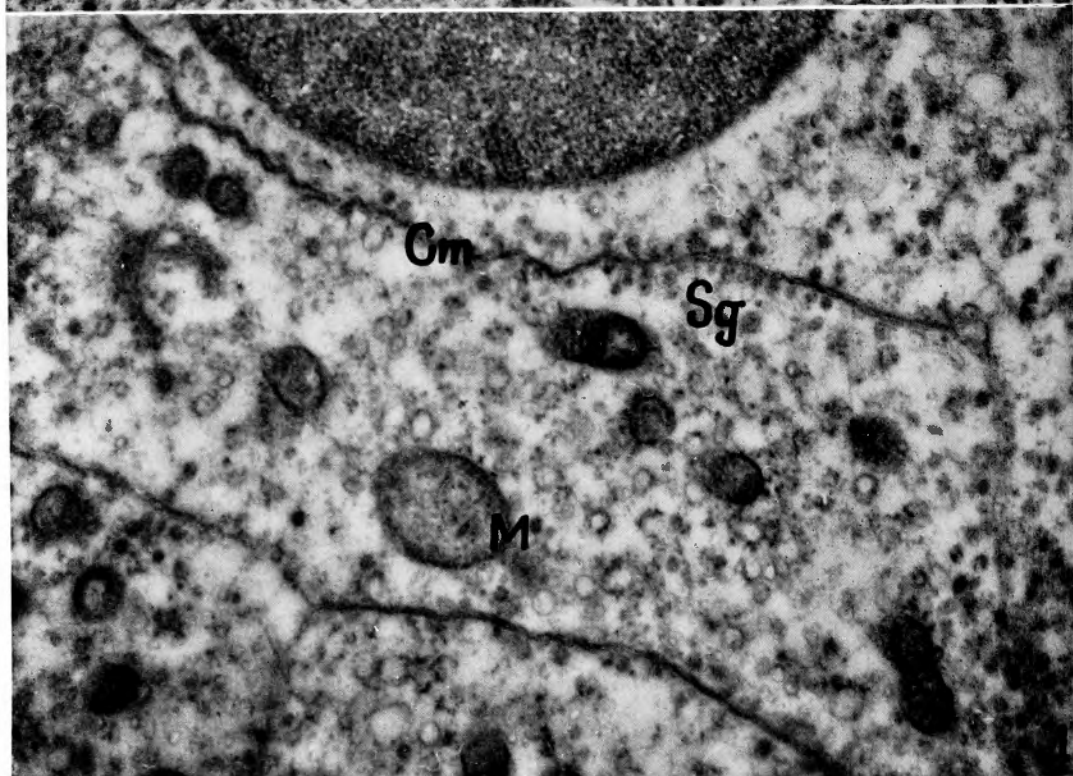
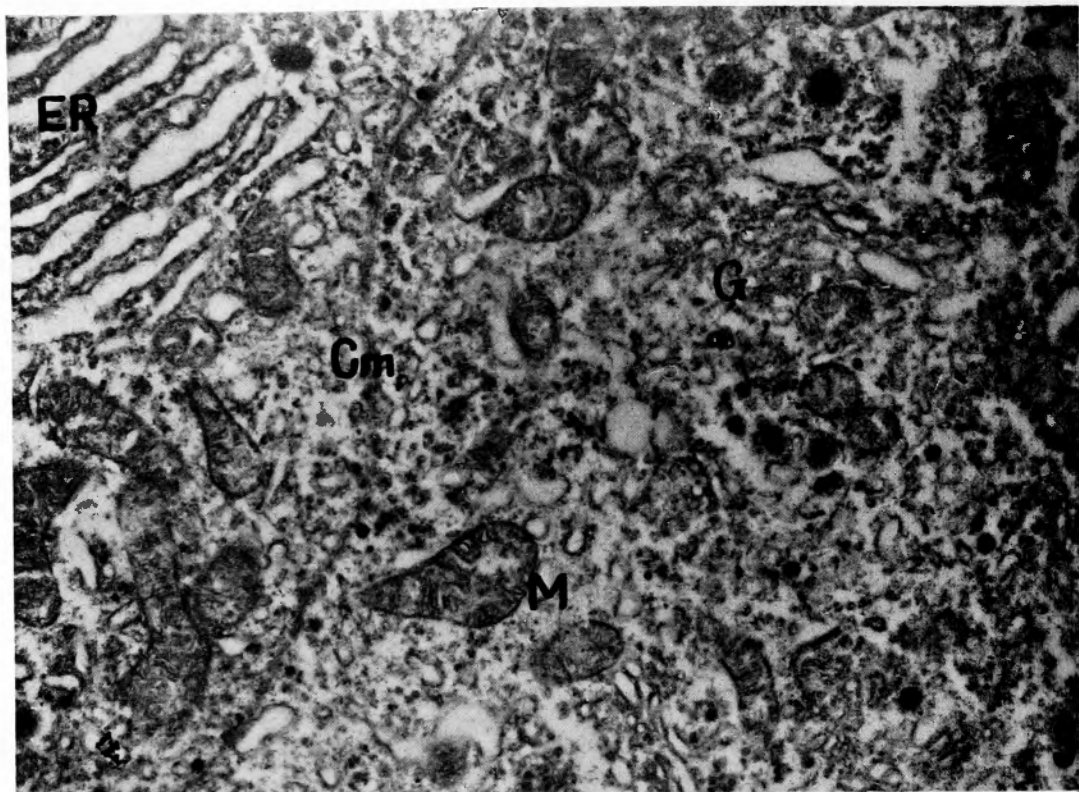


Fig. 3 Chromophobe adenoma. Well developed cytoplasmic organelles. Lamellar structure of the endoplasmic reticulum is prominent. Small secretory granules are arranged along the plasma membranes. ($\times 24000$)

Fig. 4 Chromophobe adenoma. Arrangement of small secretory granules along the plasma membranes. ($\times 21000$)

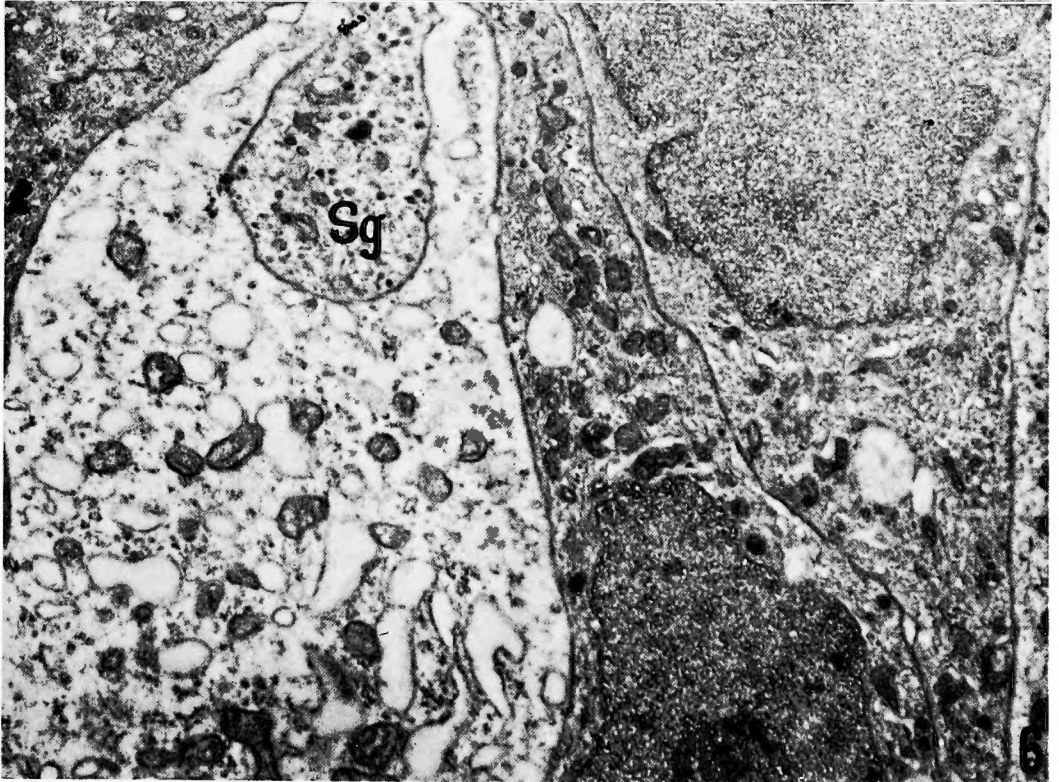
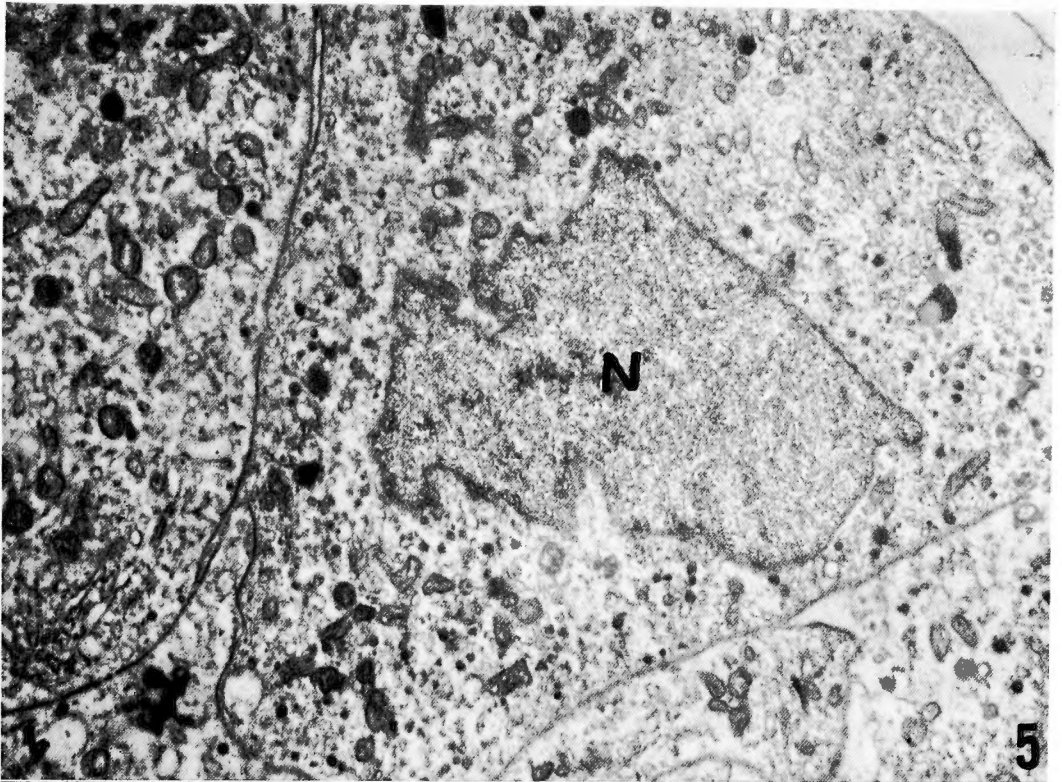


Fig. 5 Chromophobe adenoma. Many small secretory granules are dispersed in the cytoplasm (right), and no tendency to arrange along the plasma membrane is found. There is an irregular shaped nucleus. ($\times 15000$)

Fig. 6 Chromophobe adenoma. There are considerably polymorphic appearances. Electron density of the cytoplasm and amount of secretory granules are varied from cell to cell. ($\times 15000$)

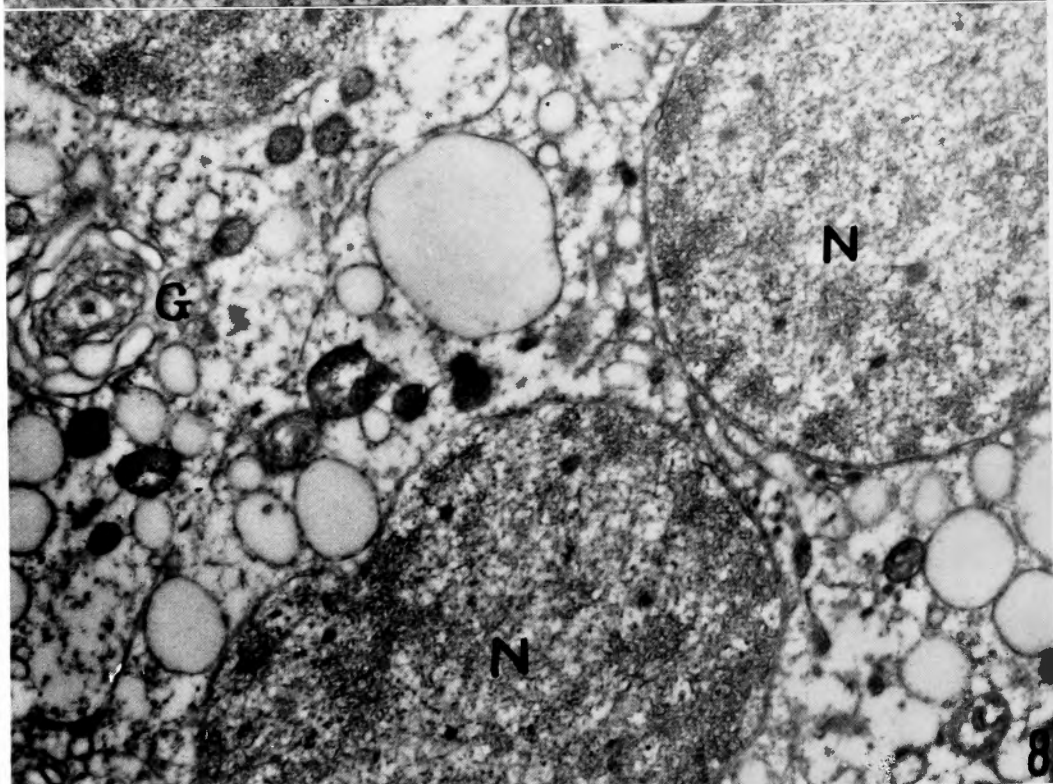
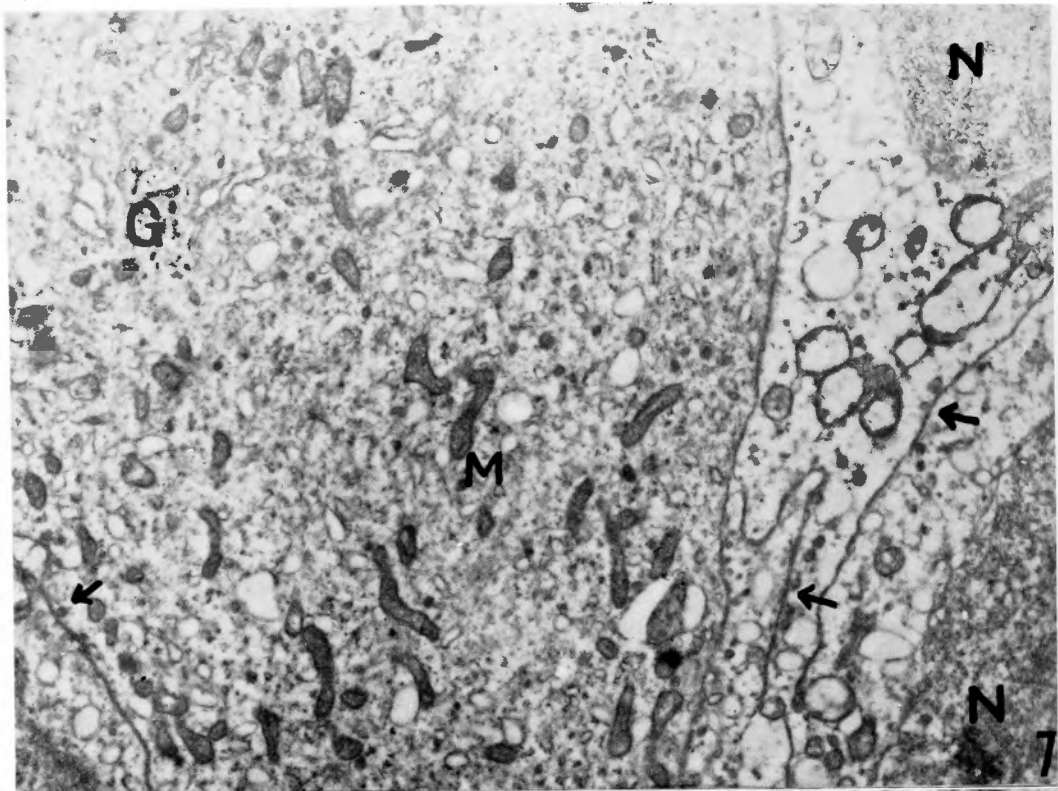


Fig. 7 Chromophobe adenoma. Abundant cytoplasm and fairly well developed cytoplasmic organelles. Small secretory granules are scattered sparsely in the cytoplasm and some of them are also arranged along the plasma membranes (arrows). ($\times 18000$)

Fig. 8 Chromophobe adenoma. Cytoplasm contains many vacuoles of various size and a few or no secretory granules. The cell on the right has two nuclei. Golgi apparatus of the left cell forms a whorl-like shape. ($\times 15000$)

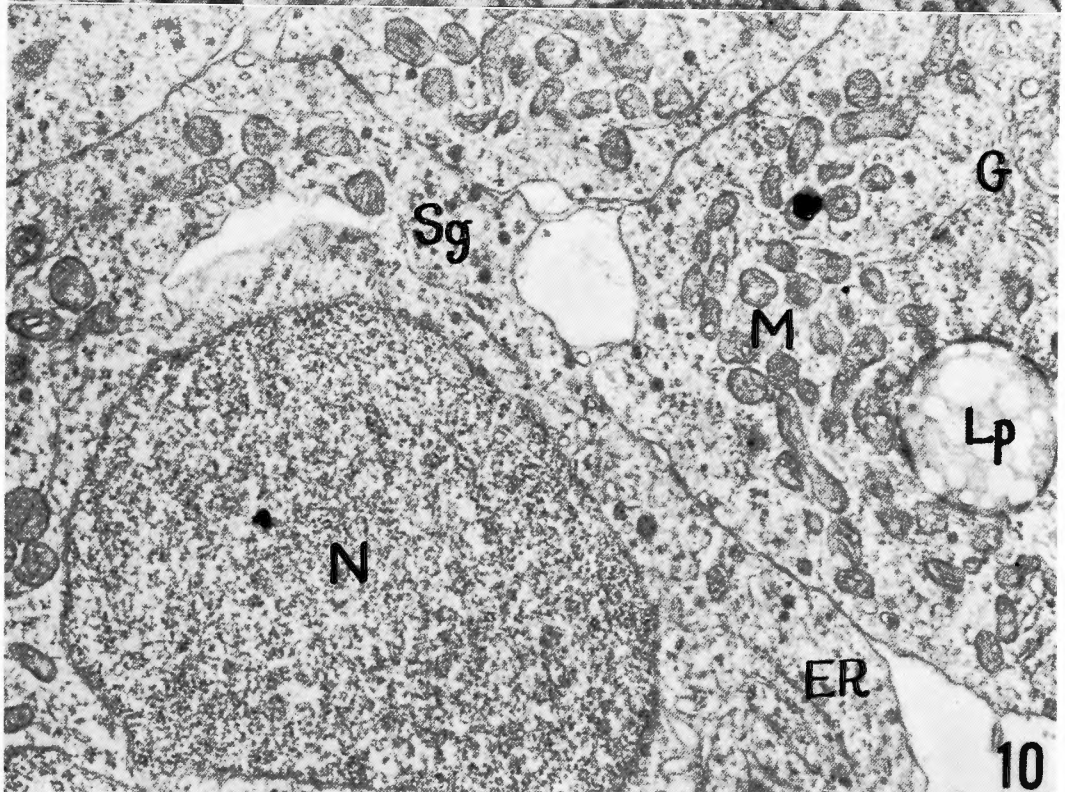
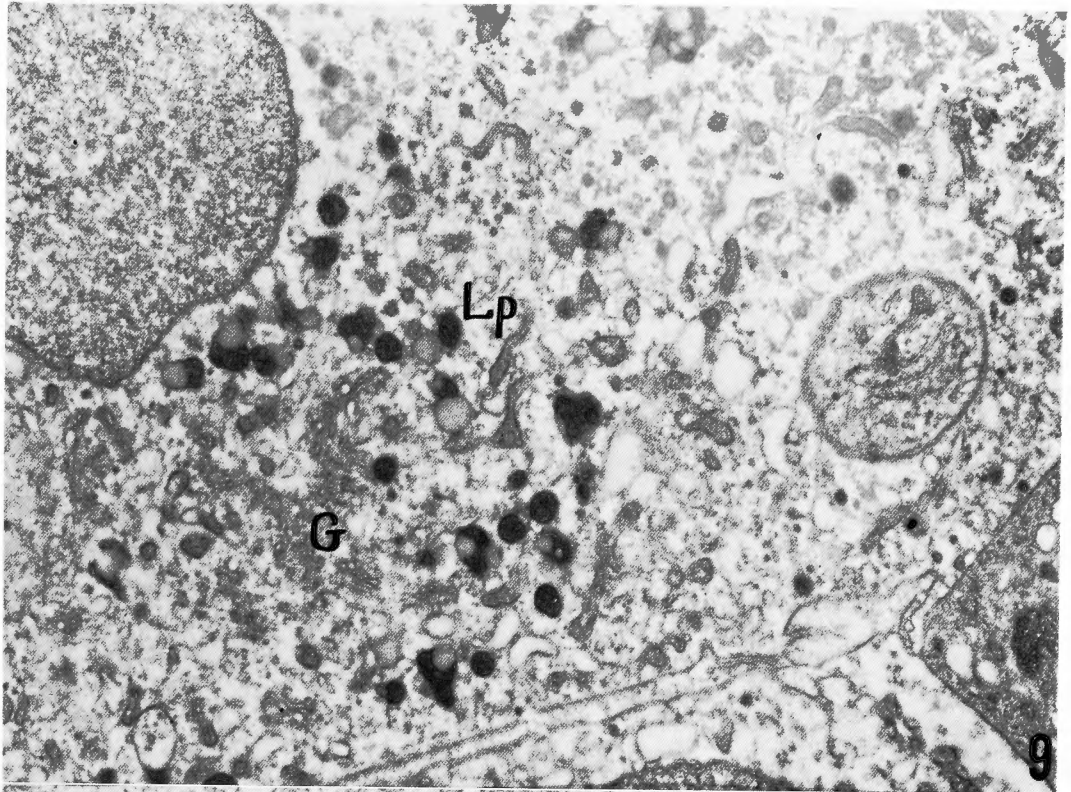


Fig. 9 Chromophobe adenoma. Many irregular shaped, various sized lipid pigment granules are seen. They have higher electron density than the secretory granules, and some of them enclose one or more vacuolar formations. ($\times 15000$)

Fig. 10 Chromophobe adenoma. Sparsely granulated cells. There is a lipid pigment granule of considerably large size. ($\times 15000$)

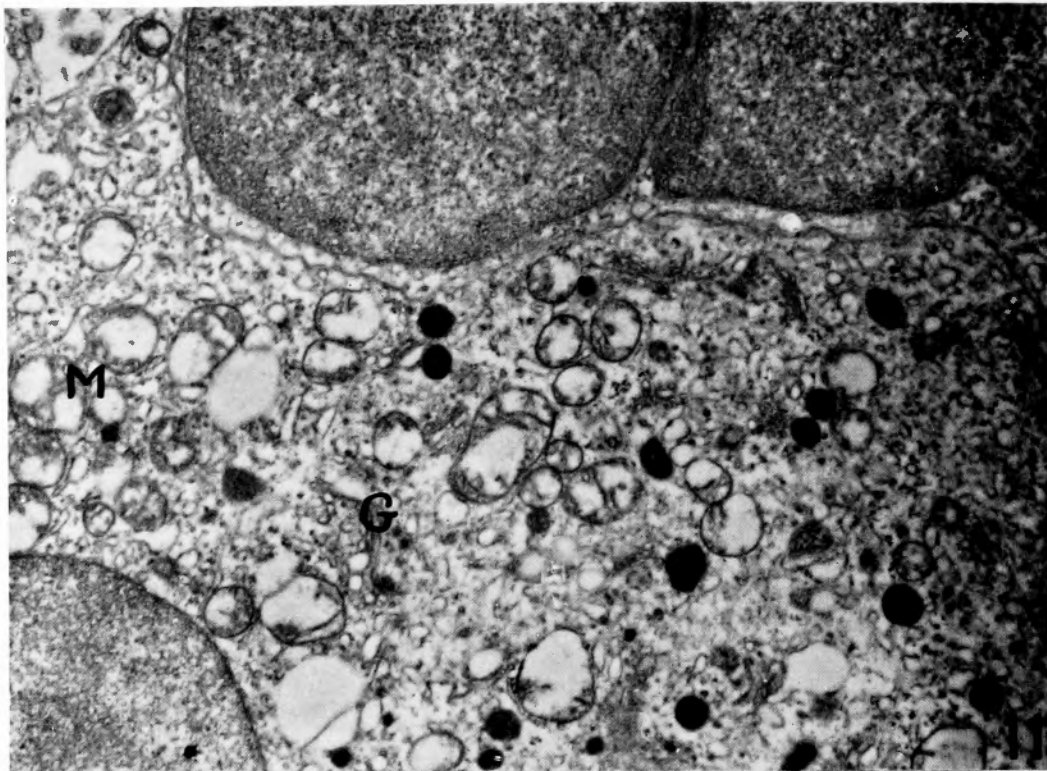


Fig. 11 Chromophobe adenoma cells of large granule type. Secretory granules of about $300\text{m}\mu$ in average diameter are seen in or adjacent the Golgi area, and some of them are surrounded by a limiting membrane. ($\times 15000$)

Fig. 12 Perivascular portion of a chromophobe adenoma of small granule type. More abundant secretory granules are found in cells surrounding blood vessel. ($\times 18000$)

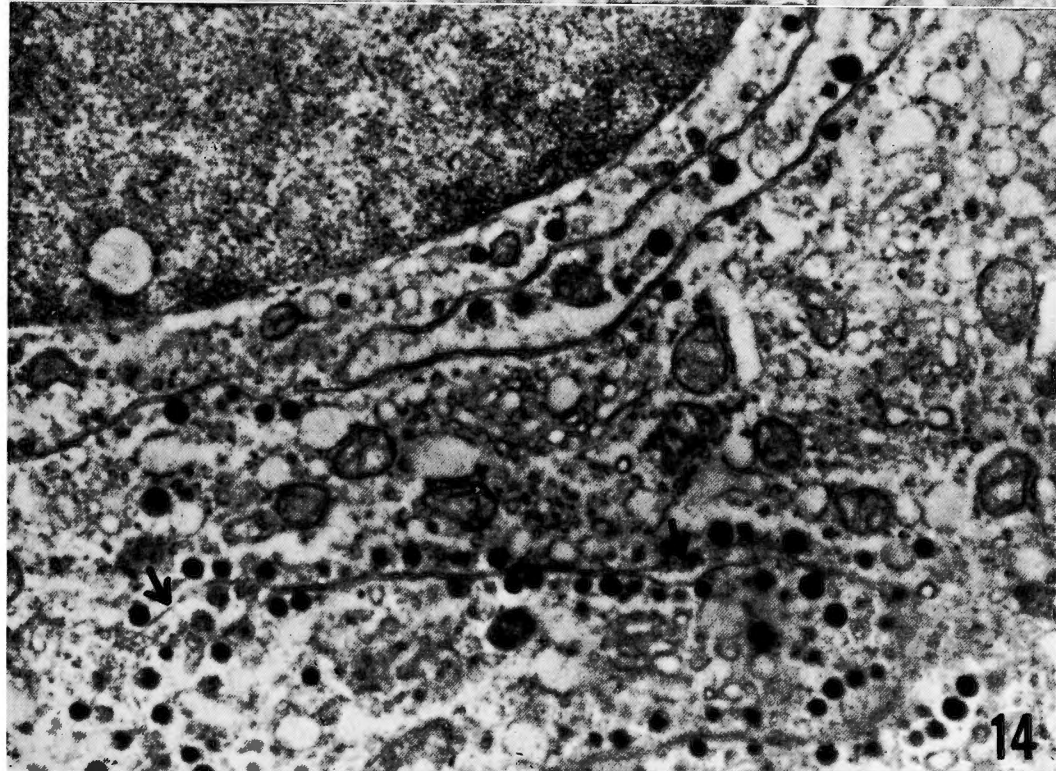
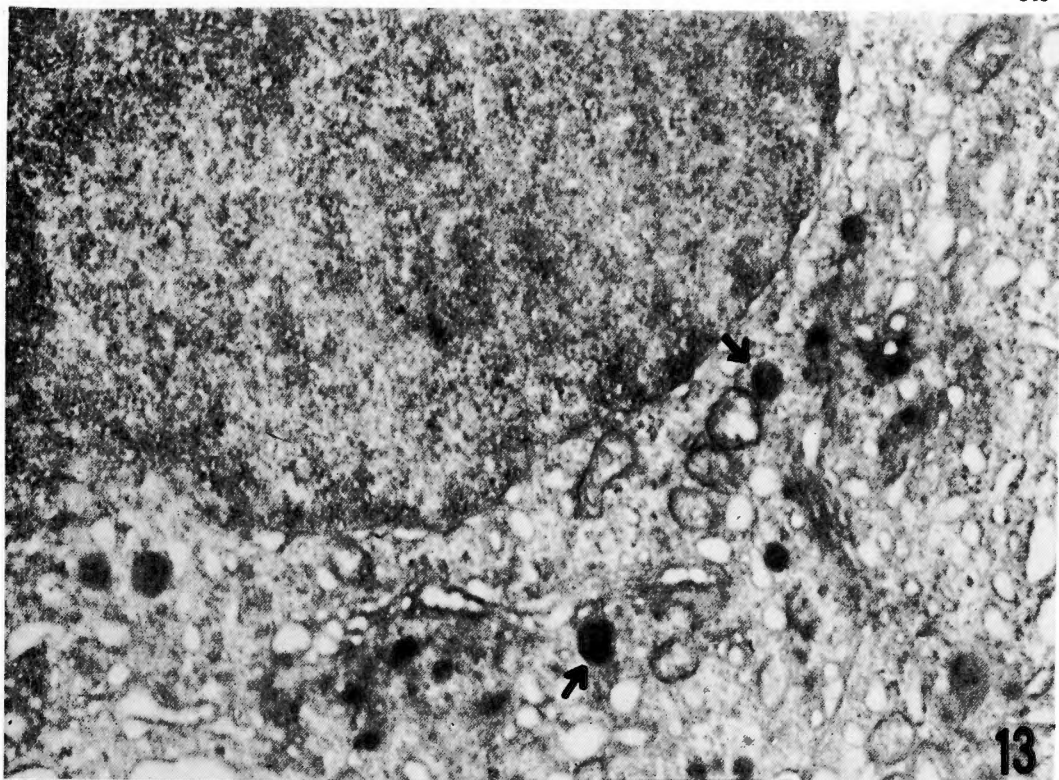


Fig. 13 Chromophobe adenoma. Secretory granules surrounded by a limiting membrane are found within the Golgi apparatus (arrows), suggesting secretory granule formation within it. ($\times 25000$)

Fig. 14 Chromophobe adenoma. Narrow intercellular space surrounded by neighbouring two cell membranes widened in several spots (arrows) and forms saccular intercellular spaces. Within these spaces vaguely circumscribed granules are found, which had the same size but lower electron density than those in the cytoplasm. These granules are considered to be discharged into intercellular space and on the way of dissolving. ($\times 24000$)

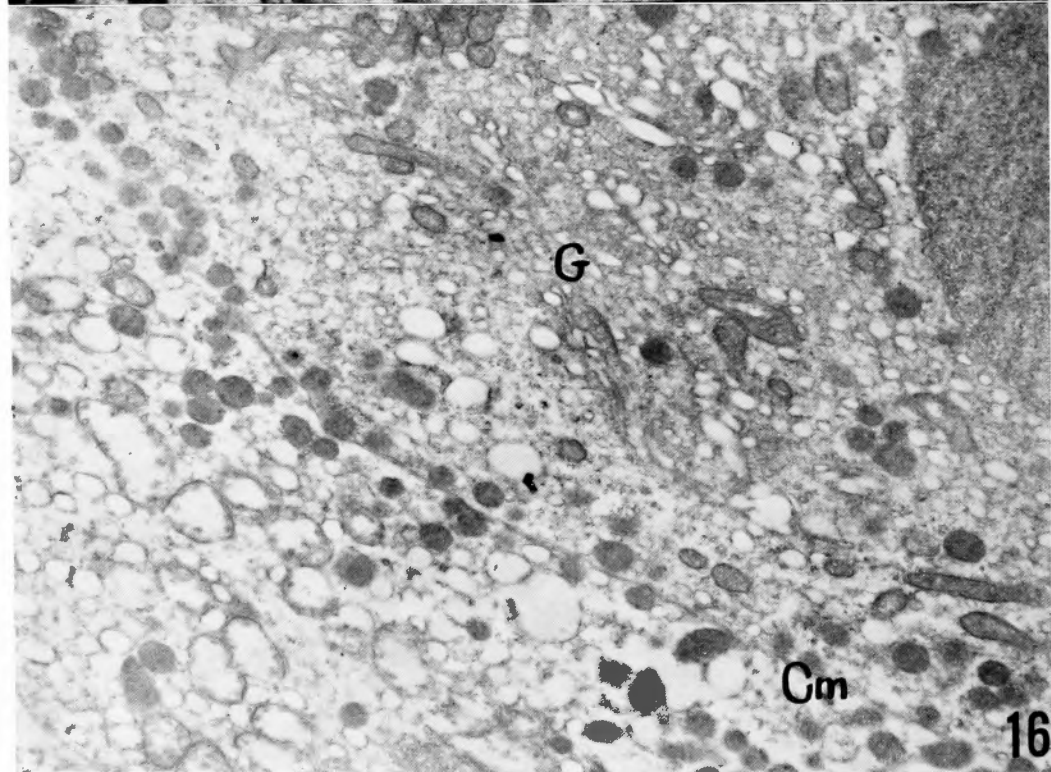
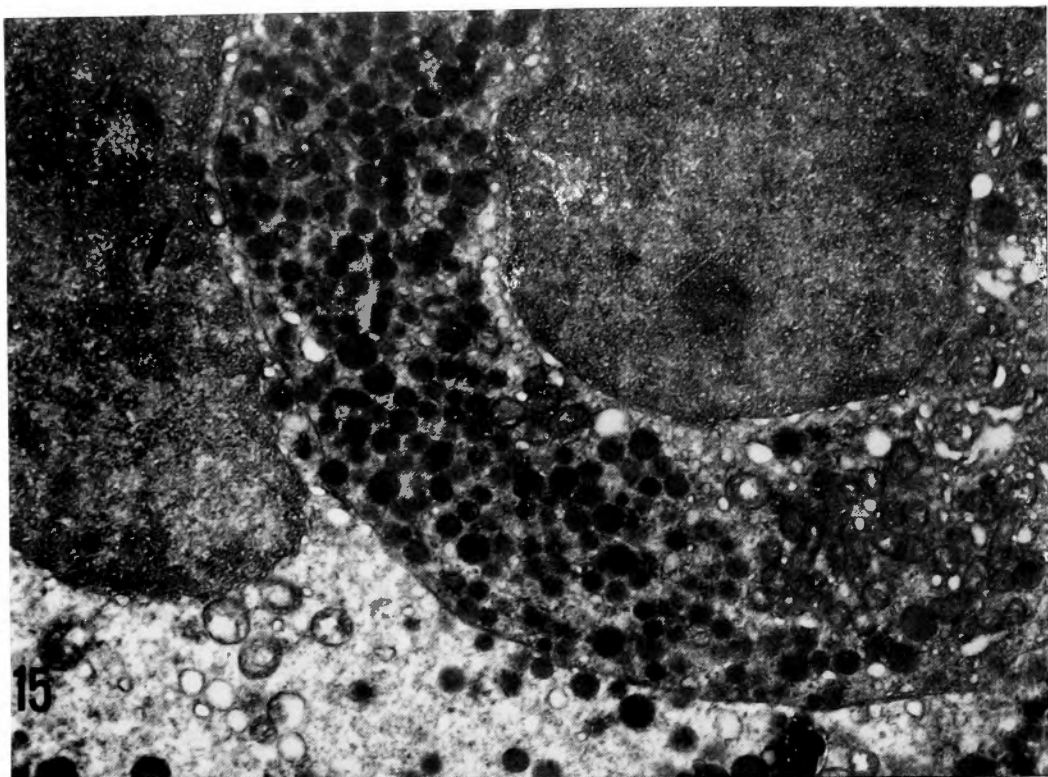


Fig. 15 Acidophil adenoma. The cells contain large secretory granules about $300\text{m}\mu$ in average diameter. The right upper cell densely granulated and the left lower cell sparsely. ($\times 15000$)

Fig. 16 Acidophil adenoma. These two cells are sparsely granulated. The granules averaged some $300\text{m}\mu$ in diameter. They are mostly arranged in a row along the plasma membranes. ($\times 15000$)

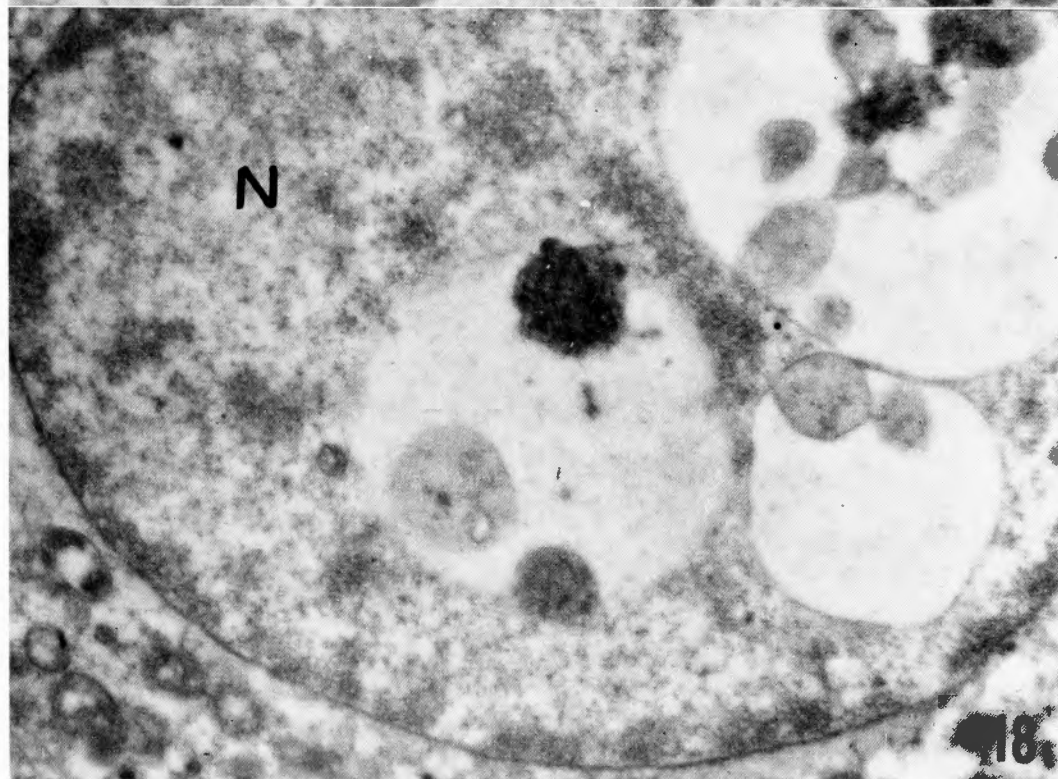
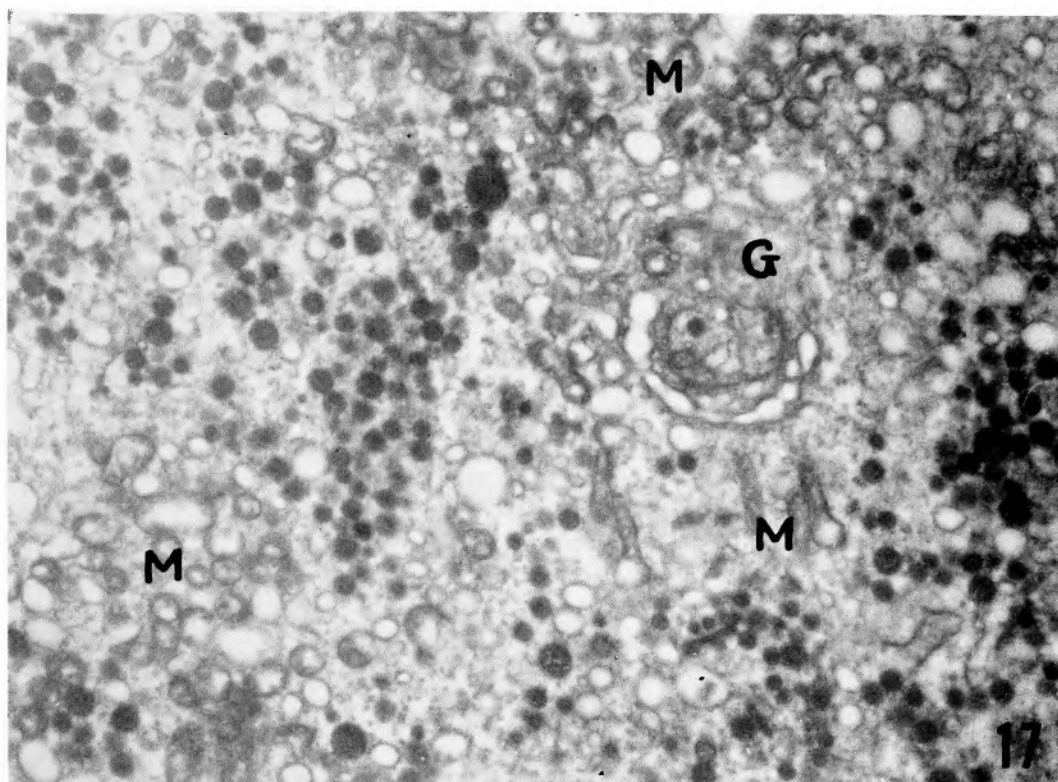


Fig. 17 Acidophil adenoma. Mostly large but various sized secretory granules are found in a cytoplasm. Golgi apparatus is surrounded by secretory granules and small mitochondria. ($\times 12000$)

Fig. 18 Basophil adenoma. The nucleus includes inclusion vacuoles, which contain several fragment of tissue-like structures of variable electron densities. ($\times 16000$)

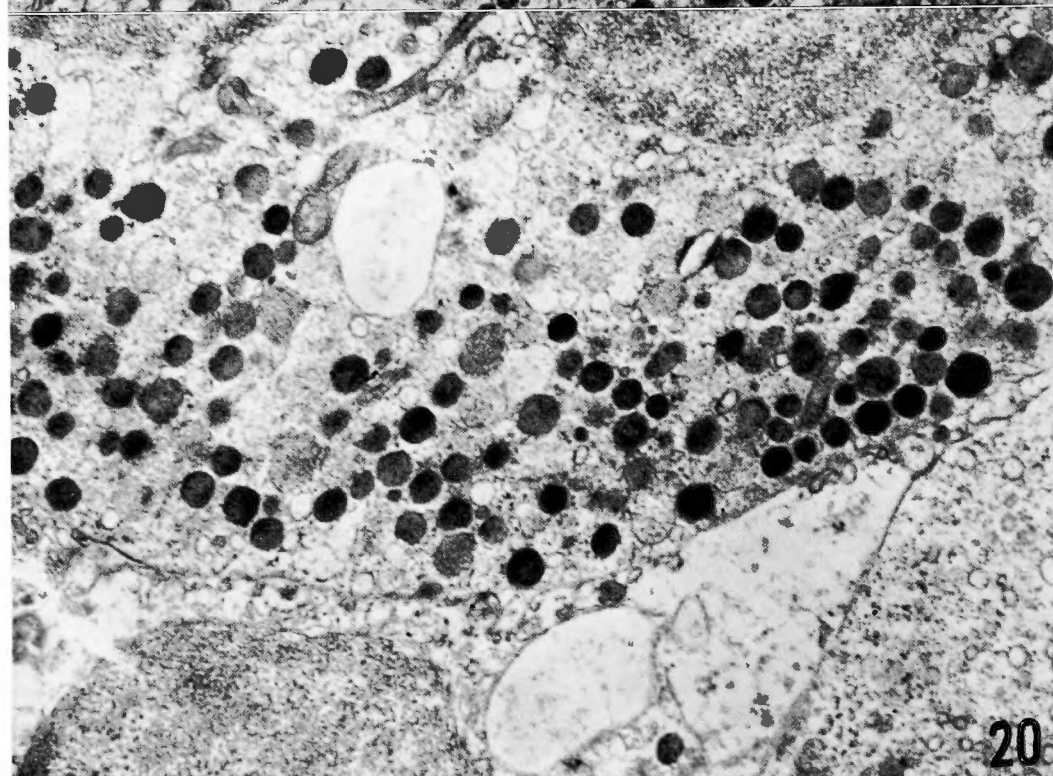
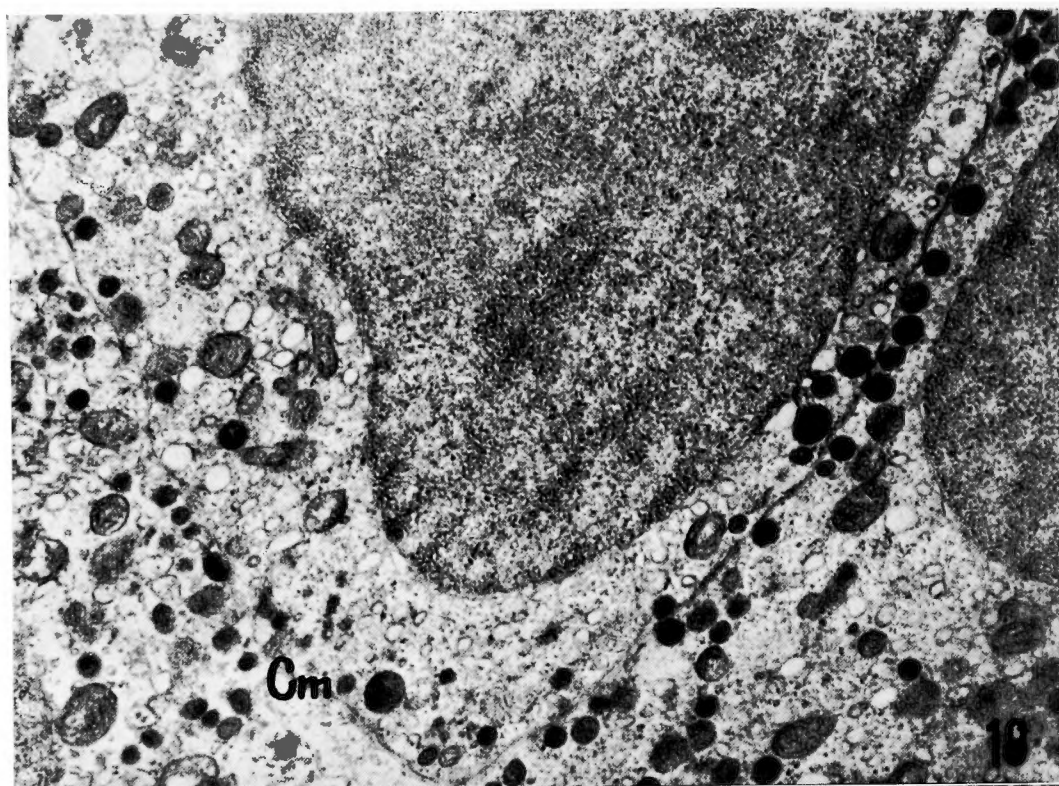


Fig. 19 Basophil adenoma. Large secretory granules are found in the cytoplasm of these cells. They are similar to the acidophil granules in size and also have a tendency to be arranged along the plasma membranes. ($\times 15000$)

Fig. 20 Basophil adenoma. A more densely granulated basophil. Vacuoles are found in the cytoplasm. ($\times 15000$)

- J. Histochem. Cytochem., **1** : 93, 1953.
- 26) Rinehart, J. F. & Farquhar, M. G. : The fine vascular organization of the anterior pituitary gland. An electron microscopic study with histochemical correlation. *Anat. Rec.*, **121** : 207, 1955.
- 27) Russfield, A. B., Reiner, L. & Klaus, H. : The endocrine significance of hypophyseal tumors in man. *Am. J. Path.*, **32**, 1055, 1956.
- 28) Russfield, A. B. : The adenohypophysis. in *Analytical Pathology*, ed. Mellors, C., McGraw-Hill Book Co., New York, 1957.
- 29) Schelin, U. : Chromophobe and acidophil adenomas of the human pituitary gland. A light and electron microscopic study. *Acta Path. Microbiol. Scand., suppl.*, **158** : 1, 1962.
- 30) Thompson, K. W. & Eisenhardt, L. : Further consideration of the Cushing's syndrome. *J. Clin. Endocrinol.*, **3** : 445, 1943.
- 31) 富宿 丈 : うさぎの下垂体前葉の電子顕微鏡的研究. *医学研究*, **30** : 1064, 1960.
- 32) Wolfe, J. M. : Cytochemical studies of the anterior hypophysis of rats receiving estrogen. *Am. J. Anat.*, **85** : 309, 1949.
- 33) Yamada, K. & Sano, M. : Electron microscopic observations of the anterior pituitary of the mouse. *Okajima's Folia Anat. Jap.*, **34** : 449, 1960.
- 34) 山田光雄他 : 白鼠下垂体前葉細胞の機能的変化の電子顕微鏡的観察. *J. Electronmicroscopy (Japan)*, **9** : 51, 1960.

附 図 説 明 略 号

N : nucleus	G : Golgi apparatus
NI : nucleolus	ER : endoplasmic reticulum
Cm : cell membrane	M : mitochondria
Sg : secretory granule	Lp : lipid pigment granule