

マウス乳腺腫瘍の組織化学的研究

京都大学外科学教室第2講座 (指導: 青柳安誠教授)

戸 谷 源 由

〔原稿受付 昭和34年8月7日〕

A HISTOCHEMICAL STUDY ON THE TUMORS OF THE MAMMARY GLAND OF MICE

by

GENYU TOTANI

From the 2nd Surgical Division, Kyoto University Medical School
(Director: Prof. Dr. YASUMASA AOYAGI)

In recent years many histochemical studies have come to be made on various organs. As for the functions of the mammary gland, the studies have been chiefly on the gland at one of the various stages separately. The author of this report performed the present experiment on mice of the dd and the NA₂ strain, in order to investigate the behaviors of polysaccharide, lipid, alkaline phosphatase and especially nucleic acids, in the mammary gland throughout varying stages... at a normal or active stage, or with mastopathy-like or cancerous changes in it.

METHOD

Thorough inbred mice of the dd and the NA₂ strain, fed on solid diets, were used. For general histological investigation, sections of various tissues were stained with hematoxylin eosin. For nucleic acids, sections were stained by Pyronin-Methyl-green and polysaccharide by PAS, in both cases after fixation in CARNOY's solution. Fat stains were performed with Sudan III on 10% formalin-fixed sections. For alkaline phosphatase GOMORI's stain was used after fixation in chilled acetone; and for the control, sections were also prepared without fixing in a buffered solution of citric acid (with 4.5 to 5.0 pH).

CONCLUSION

1) *Nucleic acids*

In the mammary gland during pregnancy or with mastopathy-like changes in it, RNA increased in parallel with the progression of the tissue. The highest elevation was observed in undifferent cancer cells. On the contrary, DNA was generally constant, showing an increase only at the early progressive stage of the tissue.

2) *Matters positive to PAS*

PAS-positive matters increased as pregnancy or mastopathy-like changes were

advanced, but they were scarcely recognized in the cancer tissue of the gland. The gland revealed PAS-positive granular matters of a little bigger size when mastopathy-like changes were encountered than during pregnancy. The size of PAS-positive granular matters was slightly bigger when mastopathy-like changes were met than during pregnancy. In a period from the later stage of pregnancy through lactation, or when mastopathy-like changes were highly developed, the fluid secreted into the grandular cavity, that is, PAS-positive matters, were observed diffusively transmitted into the glandular epithelia.

3) Polysaccharide

Polysaccharide increased in the grandular epithelia as pregnancy or mastopathy-like changes were advanced, whereas little or none of it could be found in cancer cells.

4) Alkali-Phosphatase

Alkaline phosphatase activity was found slightly elevated in the nuclei of the epithelial cells in proportion to the progression of the tissue, while no elevation of the activity was observed in the plasmas of the same cells. In the secreted matters a slightly remarkable increase in the activity was seen.

5) Histochemical findings of the mammary gland during pregnancy were such the same as those of the gland with mastopathy-like changes in it.

6) It is known that mastopathy-like changes can be produced by (1) repeating 5 times the process of separating the mother from the newborn 5 days after delivery, or (2) imbedding 1.25 mg of estradiol pellet. Histochemical analysis revealed no difference between the mammary glands with the mastopathy-like changes produced by the two methods.

7) No difference in hithochemical findings was observed between the mice of the dd and the NA⁺ strain.

緒 言

近來各組織機能検索にあたり、これを単に組織学的見地のみからでなく、所謂化学的考察を併せ検討する研究の隆盛を來たした。乳腺機能に関しては1947年 Dempsyが白鼠その他について、Alkali-phosphataseの活性度の変動に関して報告して以來 Huseby, Jeff-er, Silver,その他に種々の研究がみられる様になった。わが国においても乳腺機能の組織化学的並びに内分泌学的考察を併せて行つた研究は徳山, 和田, 清水, 西村等により1950年初期に行われている。他方、乳腺組織の微細構造については三宅, 西垣, 黒木, 等の報告がある。これ等は多くは実験動物の正常乳腺組織又は活動期乳腺あるいは乳癌等夫々乳腺の或る組織的な段階における所見のみであるが、1956年阪大谷口が婦人乳腺組織について前癌性変化の組織化学的研究の報告を行つた。これは前癌性変化を伴う乳腺の組織化学的変

化を主に癌性変化を伴う組織との検討をミトコンドリアを中心に核酸, 多糖類, 脂質, その他について検索したものである。以上は何れも比較的個々の組織学的段階における検索が多く、更に系統的連続的な観察を必要と思われるので、私はマウス乳腺について正常乳腺, 活動期腺, マストバチー様変化を伴う乳腺, 更に癌性変化を伴う乳腺組織の組織化学的検索を行なつた。

I 実験方法

A 実験動物

実験に用いたマウスは凡てdd系及びNA⁺系純系マウスで固形飼料によつて飼育。

a) 正常乳腺：生後1ヵ月以後の未経産マウス。

b) 活動期及び退縮期乳腺：妊娠期におけるマウス及び授乳中マウス並びにそれに附随する授乳後退縮期におけるマウス。

c) マストバチー様変化を伴う乳腺：マストバチ

一様変化の作成方法として先に教室の越の採用した2方法を用いた。即ち1)分娩後5日授乳して分離、これを約5回反復したもの及び2)生後約30日位のマウスの鼠蹊部に Estradiol pellet 1.25mgを埋没し50日経過した後更に埋没する方法を3回行なつたマウスの乳腺。

d) 癌性変化を伴なう乳腺：これは前述のマストバチー様変化を伴ない後に癌性に変化したものは勿論であるが、その他の大部分は自然発生癌性乳腺で、平均生後約1年以上を経過し分娩約3～6回を経たマウス。

B 染色方法

- 1) 各組織像検索の為 H・E 染色を作成。
- 2) 核酸染色は Carnoy 氏液固定後 Pyronin-Methylgreen 染色。
- 3) 多糖類染色は Carnoy 氏液固定後 Mac-Manus 氏法による PAS 染色を行い Hämatoxylin による核染色を施行した。
- 4) 脂肪染色は10% Formalin液固定後凍結切片による Sudan III 染色法。
- 5) Alkali-phosphatase 染色は冷 Aceton 液固定後 Gomori 氏染色法。

Ⅱ 検 索 成 績

組織化学的に検索した①核酸、②多糖類、③脂質④ Alkali-phosphatase (以下 al-ph とする) の夫々について a) 正常機能を有する乳腺 b) 活動期乳腺 c) マストバチー様変化を伴なう乳腺 d) 癌性変化を伴なう乳腺についての所見を順を追って記述する。

1. 核 酸

a) 正常乳腺：生後約2～3週目頃のマウス乳腺は、支持組織中に散在性に乳管をみるのみであるが、生後約2ヵ月頃から、末端部が蕾状の乳腺を形成する様になるが、腺腔の拡大は多くの場合認められず、更に分娩等の性週期を経過するに従つてその組織が徐々に増殖の度を増すことは、教室の越によつて記載されている(図1)。この様な正常乳腺において、乳管上皮細胞又は乳腺上皮細胞内には Pyronin 好性物質は殆んど見当らぬか、極く微かに出現するのみである。一方 Methylgreen 好性物質も上皮細胞内に見当らず、その核に中等度の好性を示すのみである(図2)。

b) 活動期乳腺：妊娠・早期における乳腺は先ず急速に乳管の発育が見られ、諸所に芽状の分枝を出す。妊娠末期に入ると急激に腺小葉完成を認め、更に乳汁分泌が認められる様になり、小葉内の小乳管は腺胞様

となりその大きさが略々均等であるが(図3)、分娩後授乳過程を経るに従い小葉内乳管の管腔の大きさは次第に不平等なものとなり、授乳後期には乳腺の大きさも不揃いとなり(図4)、授乳を中止すれば乳腺小葉が次第に減少し結締組織と入れ代り約1ヵ月位で退縮を完了する(図5)。

この様な活動期乳腺において、その変化は特に Pyronin について著しく Methylgreen においては殆んどその変動を認めることが出来なかつた。即ち妊娠早期においてはその腺腔内に中等度の Pyronin 好性を示す分泌貯溜物がみられ、又腺上皮細胞においては一般に Pyronin 好性物質が瀰漫性に現われるが中等度あるいはそれ以下の場合が多い(図6)(図7)(図55)。排泄管腔内には時に中等度の Pyronin 好性の分泌物をみることがある。併し排泄管上皮細胞の Pyronin 好性度は、腺上皮細胞に比較して稍弱いようである。妊娠期が経過し所謂肺胞様の腺小葉形成をみる妊娠末期に至ると漸次 Pyronin 好性度を増し、それは授乳期において最高の好性を示す様になる(図8)。この時期には先にみられた分泌貯溜物の Pyronin 好性度の増加よりも、特にその腺小葉上皮細胞内に著明な増加を認め、瀰漫性に腺上皮細胞原形質に存在するのみでなく、時に顆粒状となり、高度の好性を示す所見が諸所にみられる(図9)。この場合は他の Pyronin 好性を示す腺上皮細胞群に較べて核が稍大きく且 Methylgreen 好性も幾分弱い場合がある。又量的に Pyronin 好性度の高い腺細胞は他の腺細胞より丈が高い様に思われる。顆粒状に出現する Pyronin 好性物質の分布は、細胞底、細胞先端、細胞間等と特にその特徴を認めることが出来ない。他方 Methylgreen 好性度は妊娠期間において、腺細胞核に稍高度に好性を示すが、その妊娠期間中に好性度の著しい変動は認めることが出来なかつた。

退縮期においては、初期に上皮細胞原形質あるいは分泌貯溜物質にその Pyronin 好性を認めることが出来るが、何れも授乳期より好性度は低下し、退縮期の進行につれて好性度は減少して行く。併し Methylgreen 好性度は妊娠期授乳期に較べて退縮期でもその好性度の変動はあまり著しくない(図10)。

c) マストバチー様変化を伴なう乳腺：マウス乳腺のマストバチー様変化は Huseby あるいは藤末等によると、萎縮性の乳管中に結節状増殖を来しているものが最も多い。組織学的に、小乳管の著明な増殖が主体となり結締組織円形細胞浸潤は余り認められない。次

は中乳管の増殖を主体とするもので乳管上皮の増殖拡張、更には乳管の増加と周囲の結締組織増殖等がおこっているものが比較的多いと記載されている(図11)。

このマストパッチー様変化を伴う組織像の核酸分布は、前述の活動期乳腺の Pyronin-Methylgreen の好性に略々一致して Pyronin 好性の変動を認めるが、Methylgreen 好性度の諸変化は認められない。Pyronin 好性度の変動は要約すると、その上皮細胞の増殖度に比例する。即ち乳管上皮細胞及び腺上皮細胞の増殖初期には殆んどその好性物質を認めることが出来ないか、又極く微量に出現するのみであるが、漸次その増殖の度を増し、腺小葉が増殖し肺胞様像を示す段階においては、上皮細胞内あるいは管腔内に中等度又は強度の Pyronin 好性を示し、更に管腔内に上皮の増殖を示す組織像においては、その上皮細胞内の諸所に Pyronin 好性物質が顆粒状に現われ、瀰漫性に存在する Pyronin 好性物質も極めて強度に陽性となる(図12)(図13)(図14)。併し何れの増殖像においても乳管上皮細胞原形質の Pyronin 好性度は肺胞様変化をもつ上皮細胞の Pyronin 好性度より稍低いように思われる。なお分娩後授乳中止を反覆することによって惹起されたマストパッチー様変化の組織像と Estradiol pellet 1.25mg 埋没によって生ずるマストパッチー様変化の組織像との間の Pyronin-Methylgreen の好染性の差異は認められなかった。

d) 癌性変化を伴う乳腺：マストパッチー様変化の組織像が複雑であると同様に、マウス乳癌の組織学的分類も多種多様で、Dunn の様な分類もあるが、私は核酸染色における実験成績によって次の様に分類した。その第1は腺様構造を残している癌腫についてである。これはマウス乳腺の癌性変化の中最も出現度の多いものであつて、いわば分化度の高いものである(図15)。この腺様構造を有する癌細胞の Pyronin 好性度は全般的に中等度である(図16)(図17)(図56)。次に乳嚢様変化あるいは嚢腫様変化を伴う組織像も往々認められるが(図18)(図19)、これ等は何れも腺様構造を有する組織像の一部に混在するものが多く、夫等の Pyronin 好性度は腺様構造を有する組織と大差なく、中等度陽性である。次に結締組織の増殖が著明で腺小葉が圧排された様な組織像を示す癌性変化における(図20) Pyronin 好性度は、腺様組織における前述と同様の好性度を示し、そしてその大部分を占める結締組織細胞においては弱度あるいは中等度に好性を示した。更に腺様構造を失いいわばその最も未分化の状態を示

す単純癌様変化をもつ癌細胞の Pyronin 好性度は、上記何れの癌細胞よりも強度である(図21)(図22)。

以上は形態的に分類した癌組織像の Pyronin 好性度であるが各組織像において Pyronin 好性を決定する要因は次の2つである。即ち1)各癌細胞の示す分化度と2)一定範囲内における癌細胞数である。前者即ち核に大小不同が認められる場合、あるいはその形が著しく異形を示す時、更に細胞が他の癌細胞に較べて稍大きい時(膨化?)等の他に Chromatin に富んだ細胞においてその好性度が増している(図23)(図24)(図25)。

次に壊死を伴う組織像の Pyronin 好性については、その中心部は好性をみないが、壊死組織像の周辺において Pyronin 好性度が増加するのを認めることがありこの場合は比較的 Chromatin に富む場合が多い。

他方 Methylgreen 好性度は、各癌性組織像において細胞核については中等度でその他殆んど変動を認めない。併し Pyronin の呈する赤色と Methylgreen の呈する緑色の混合度から、その Methylgreen の量的変動を確認することは困難であると言うことが出来る。

その他の組織に於ける Pyronin-Methylgreen 好性度の変動はリンパ節において稍特徴的に現われる。即ち正常乳腺におけるリンパ節は、殆んど Pyronin 好性を現わさずに Methylgreen 好性のみが中等度陽性で、乳管上皮細胞の好性度よりも勝っている。活動期乳腺あるいはマストパッチー様変化を示す場合には、その度を増すに従つて Pyronin 好性度を増し、リンパ球の周辺に現われるが、小葉内乳管上皮細胞の好性度を較べると遙かに低い(図26)。又リンパ節に癌性浸潤が波及した場合には、その Pyronin 好性度は増し、瀰漫性に時には顆粒状に好性物質を認めるが、Methylgreen 好性度は殆んど変動を認めない。

また血管内皮細胞における Pyronin-Methylgreen 好性度は略々リンパ節と同一で、筋組織においては Pyronin-Methylgreen の好染性は認められない。

また以上の核酸染色においては dd 系マウス及び NA₁系マウスの両者間の好染性には差異を認めなかった。

2. 多糖類

H・E染色による正常乳腺、活動期乳腺、マストパッチー様変化を伴う乳腺、癌性変化を伴う乳腺の各組織像は夫々核酸染色の検索成績の冒頭に略述してあるので省略する。

尚 Mac-Manus の PAS 染色の対照として各々に水処理を行つたものを作成した。

a) 正常乳腺: 乳管上皮細胞内には弱度から中等度に PAS 陽性物質を認め、その陽性度は 瀰漫性に現われるときは弱度に、線状に細胞の基底部あるいは先端に現われるときは中等度に、時にはまた微細顆粒状にあるいは稍大きい顆粒状に陽性物質を認めることが稀にはある。併し何れも中等度陽性かそれ以下である (図27)(図28)。

次に正常乳腺において、同程度の陽性物質を認めるのは血管内皮細胞で、特に小血管あるいは血管の直角に近い断面を思ふす内皮細胞においては、特に陽性物質の出現は強度で細胞先端から周辺にかけて線状に認めることが出来るが (図29)、通常その基底部及び管腔面に稍強度に陽性顆粒の出現を認めることが出来る。

筋組織においては均等に中等度あるいはそれ以下に PAS 陽性物質を瀰漫性に認めることが出来る。間質における PAS 陽性度は弱度かあるいはそれ以下である。

またリンパ節における PAS 好染性は血管に最も強く、次で被膜及び髄索に現われ、リンパ球の遊走をみる時は網様の陽性物質を認めるが、何れも中等度以下でリンパ球の好染性は殆んど認めることが出来ない。

b) 活動期乳腺: 活動期乳腺の PAS 陽性物質の変動の特色は、その小葉内乳管あるいは乳管腔内の分泌貯溜物質においてみられる (図30)。即ち妊娠早期においては陽性物質を認めることが出来ないが、妊娠が漸次進むにつれて陽性物質の量的増加及び好染性の増加を認めることが出来、特に妊娠末期から授乳期にかけて拡張した小葉内乳管腔内の多量の分泌貯溜物質は、中等度に陽性を示し上皮細胞内に連続的に移行し明瞭な境界を示さなくなる (図31)(図32)。又小葉内乳管上皮細胞の PAS 陽性度については、妊娠中期から末期にかけ中等度でその陽性度の著明な増加は認めにくく、また授乳期における所見は上述の様である。この妊娠各段階を通じて、正常乳腺においてみられた比較的大きい顆粒状の陽性物質は認めることが出来なかつた。

また血管内皮細胞の PAS 陽性度の変化は認められず。筋組織において正常乳腺の場合と異り筋線維の周辺部一端に片寄つて PAS 陽性物質が、微細顆粒状に出現する。併しその好性度は分泌貯溜物質に較べて遙かに低い。またリンパ節の PAS 好性度についてはその変動が認められない。

退縮期初期に腺腔内に貯溜する分泌物は中等度陽性を示し、腺上皮細胞内に移行するが、退縮の進行に伴つて腺腔内の陽性物質は次第に消滅して行く。

c) マストバチー様変化を伴う乳腺: 乳管の拡大及び少数の腺小葉形成を伴う初期マストバチー様変化の PAS 好性度は、正常乳腺の好性度に略々同様で、乳管上皮細胞の PAS 陽性物質は、中等度であつて瀰漫性あるいは顆粒状に現われる。併し正常乳腺に較べるとその顆粒の大きさ及び染色度が増加している (図33)(図34)(図35)(図57)。

その他のものでは差異を認めにくい、腺小葉増殖が進み高度のマストバチー様変化を呈する組織像においては、その腺腔内分泌貯溜物は妊娠期と同様に増加して中等度あるいは大以上の陽性を示し、無構造像あるいは稀に網様構造であるが、乳管上皮細胞との境界は比較的明瞭であり、腺小葉増殖が極めて高度で分泌貯溜物質が極めて多量腺腔内に充滿しているものでは、上皮細胞内の PAS 陽性物質が瀰漫性に分泌物へ移行する像を呈して、明瞭な境界を認めがたいものが諸所に見られる (図36)(図37)(図58)。また著明なマストバチー様変化を示す乳管上皮細胞内には、軽度の増殖像を示す乳管上皮細胞内にみられた様な、好性度の高い大きい顆粒の出現は認められない。また乳管上皮細胞の PAS 陽性度は、中等度あるいはそれ以下で、管腔面から瀰漫性に陽性物質が上皮細胞内に移行していないものでは陽性度は弱い。

更にこの時期における筋組織の陽性度は妊娠後期に記載した様に、筋線維の周辺一端に片寄つて認められるか、あるいは殆んど認められない程低下している。血管内皮細胞においても同様その陽性度の低下を認めるが、リンパ節においては著変を認めない。

PAS 陽性物質においても Estradiol pellet 1.25mg 埋没により出来たマストバチー様変化の乳腺と、分娩後授乳中止によつて生じたマストバチー様変化の乳腺との間には差異は認められなかつた。

d) 癌性変化を伴う乳腺: 前述の様にマウス乳腺の癌性変化には未分化な腺様構造を残さない単純癌様のもの、あるいは成熟度の高い腺様構造を示すもの、又その腺様構造に混在して囊腫を形成するもの、又乳嚢様に増殖するもの、更には繊維腫様に結締組織の増殖したもの等があるが、それ等の細胞内核周辺に PAS 陽性物質は殆んど認められないか微弱な程度に認められるのみである。これ等の癌性諸組織中に、中等度かあるいはそれ以下に PAS 陽性物質の出現するのは、腺腔内貯

溜分泌物又は囊腫内貯溜分泌物、間質組織等であり、時には腫瘍被膜にも陽性物質を認めることがあるが、その中では間質組織の陽性度が稍高い。又稀に細胞膜が微弱な好染性を示すのを認めた(図38)(図39)。その他血管内被細胞あるいはリンパ節等にも殆んどPAS陽性物質を認めることは出来ない。

以上多糖類のPAS染色においてもdd系マウスとNA₂系マウスとの間の検索成績に差異を認めることは出来なかつた。

3 類脂質

a) 正常乳腺: 乳管上皮細胞内の Sudan 顆粒は殆んどみられないか、極めて少量に出現するのみである。之に反して間質には極めて豊富な脂肪組織を認め、一見 Sudan 顆粒のみで他の組織を判別し得ないまでも出現する(図40)。これは勿論凍結切片の厚さにもよるものであろう。

b) 活動期乳腺: その初期においては腺腔内Sudan顆粒は極めて少量で、大きさも中等度以下で小顆粒が大部分を占めるが、腺上皮細胞内の Sudan 顆粒はその量は少なく、分布個所は上皮先端部に稍多く、先端側顆粒は基底側顆粒に較べ稍大きい様に思われるが、小葉間間質と比較すると量的に遙かに少ない。一般に妊娠末期になつて小葉内乳管が肺泡様像を呈する様になると、乳管上皮細胞内及び夫々の管腔内にSudan顆粒が著明に増量する(図41)(図42)(図59)。即ち乳管腔内に大小様々な Sudan 顆粒が充満し、夫々の上皮細胞内にも中等度の大きさを有するものと、小顆粒状のものとが混在しているのを認めることが出来る。授乳期においても略々同様な所見を呈し、稍上皮細胞先端にSudan顆粒の出現が著明なものの様である。退縮期には徐々に上皮細胞内及び管腔内の Sudan 顆粒の減量がみられ、間質組織の Sudan 好染性が増強する(図43)(図44)。

c) マストバチー様変化を伴う乳腺: 初期マストバチー様変化を伴う組織像においては、乳管上皮細胞内及び小葉内乳管上皮細胞内における Sudan 顆粒は極めて少量で小顆粒のものが多く、また管腔内にも Sudan顆粒は極く少量にしか認めることが出来ず、妊娠初期の組織像と著変を認めない。

マストバチー様変化の過程が進むにつれて、小葉内乳管上皮細胞内及び大、中乳管上皮細胞内、更には管腔内に Sudan 顆粒の増加をみるが、妊娠末期に較べて増加の度が稍低く、中等度か稍強い程度で大小様々な大きさで、円形のものあるいは小顆粒状のものが出

現して、その上皮細胞先端部に稍多染する傾向が認められる(図45)(図46)。

d) 癌性変化を伴う乳腺: 癌性変化を伴う様々な組織像の細胞内に、殆んど Sudan 顆粒を認めることは出様ない。間質結締締或は腫瘍周辺の結締締に Sudan顆粒を認めるが、多くは小顆粒状でその量も多くはなく、稀には中等度の大きさの顆粒の出現することがある(図47)(図48)。

細胞内あるいは腺腔内にも時に小顆粒及び中等度大の顆粒の出現を認めるが、何れも上皮細胞について特異の所見を認めることは出来ない。

4 アルカリ・フォスファターゼ

a) 正常乳腺: al-ph に依る正常乳腺の活性度は、一般に微弱なものである。即ち乳管上皮細胞核、筋組織あるいは血管内被細胞核、血球またはリンパ球等において微弱陽性に現われるのみで、上皮細胞原形質内にその活性をみることは出来ない(図49)。

b) 活動期乳腺: 妊娠及び授乳期を通じての al-ph の活性度は、小葉内乳管上皮細胞及び乳管上皮細胞について殆んど不変、弱陽性に経過するのみであり、その他間質細胞、血管内被細胞、リンパ節等についても同様である。併し妊娠過程の進行につれて、その管腔貯溜物質に中等度の活性を生じ妊娠末期から授乳期にかけて最高となり、その時期においては腺小葉及び乳管上皮細胞先端部において al-ph の活性を中等度に認めることが出来る(図51)(図52)。

c) マストバチー様変化を伴う乳腺: マストバチー様各変化においても上皮細胞核の活性度は略々中等度で、組織の変動による活性度の変化を認めることは出来ない。併しマストバチー様変化が高度となり分泌貯溜物質の出現を認める場合に、その分泌物は中等度あるいはそれ以上に活性を示し、腺小葉及び乳管上皮細胞先端部に中等度の活性を認めるが、夫等の所見は妊娠末期及び授乳期の活性度の所見と略々一致している(図52)(図53)(図60)。また血管内被細胞及び筋組織にも弱度に活性を認める。

d) 癌性変化を伴う乳腺: 癌細胞核の al-ph 活性度は略々中等度で核周辺の al-ph 活性は殆んど認めることは出来ない(図54)(図55)。

一般に腺様構造を残している癌組織においてよりも、腺様構造を無くしている癌組織即ち単純癌様構造を示し、更にその癌細胞が密に集っている組織に al-ph の活性度が稍高まつている。又血管内被細胞の al-ph 活性度は中等度である。

考 按

1 核 酸

妊娠期乳腺における核酸の組織化学的研究発表は多くあるが、白鼠について清水は DNA は漸次増加し、授乳期には不変、離乳期に急激に減少し、RNA は泌乳開始と共にその量を増し、15~20日頃最高となり、離乳期には激減するといっている。鵜上は RNA, DNA 共に増加して DNA は15日頃最高となり RNA は授乳5日頃最高となるが、DNA は授乳期においては遙かに低量で以後一定の経過をたどると報告し、定量的には Tuner 等がやはり白鼠について、RNA は妊娠初期より次第に増加し、授乳期に更に増加を続け21~22日頃に最高となり離乳後急激に、減少し一方 DNA は妊娠早期に増量し授乳期には軽度の増加を示すのみであると述べている。また西村は、漸次 RNA を増加し授乳期には最高で機能的に極期にあることを示すと論じている。更に谷口はマストバッチ様変化を伴う婦人乳腺及び乳癌について、増殖性変化につれて胞体内に瀰漫性に染まり未分化な単純癌細胞において特に核の周辺に濃染すると記載している。

ところが、私の検索成績によれば、妊娠期における RNA の変動は諸家の所見と全く一致しているが DNA については妊娠早期に軽度の増加をみる。離乳期に至るまで略々変動をみとめることが出来なかつた。

またマストバッチ様変化を伴う乳腺においてもその増殖の度を増すに従い RNA も増加し、乳癌細胞において更に高度に出現するが、未分化な単純癌様の組織においてよりも、腺様構造を有するものあるいは乳嚢様変化又は嚢腫様変化を伴う組織の方が RNA の出現量が稍低下している、併し RNA の出現を決定づける要因としては 1)細胞核の大小不同及び不整形の著明な組織像 2)一定面積内における癌細胞数によると言う事は出来るのである。前者は未分化の度を表わし、これは青木、杉本、谷口等の所見に一致している。後者は自明の事と考えられる。

また妊娠期乳腺とマストバッチ様変化を伴う乳腺の組織像において妊娠の早期、中期、授乳期の RNA の陽性度とマストバッチ様変化の軽度、中等度、高度なものの RNA 陽性度を比較しても量的に著変は認められない。

また分娩後5日目の授乳中止と分離によつて生じたマストバッチ様変化と Estradiol pellet 1.25 mg埋没によつて生じたマストバッチ様変化を伴う乳腺の両者を比較検討しても、その上皮細胞内の RNA 陽性度には

量的に著変を認めず、従つてマストバッチ様変化の起因による組織化学的差異は認められないと言ひ得るのである。

2 多糖類

PAS 陽性物質に就いてはその検索対象に水処理を行つたのみで mucoprotein, neutral-mucopolysaccharide, glycoprotein, lipoprotein の何れが主体となるか不明であるが、活動期における PAS 陽性物質は西村の記載した妊娠末期から授乳期にかけて腺小葉上皮細胞内の陽性物質の増量がかなり明らかで、退縮期から減少するとの所見に一致する。併し私の検索成績によれば正常乳腺組織内に存在する比較的大きい顆粒状の陽性物質が、妊娠の進行につれて次第に細顆粒となり、遂には無構造様に瀰漫性に連続的に移行している。これは Folley が乳腺機能を腺小葉上皮細胞内における乳汁合成とその乳汁の腺腔内への移行とに大別していることとよく一致している。

また活動期乳腺において、その比較的大きい顆粒状の陽性物質が、妊娠の進行につれて減少するが、マストバッチ様変化を伴う組織像においてはその増殖の過程に永い間存在している。ところがこれに反して癌組織においては殆んど PAS 陽性物質を認めることは出来なかつた。このことは青木の記載している所見に反しているが、乳腺の特に乳癌における PAS 陽性物質の研究は今後に多大の問題を残しているものといえよう。

3 類脂質

脂質に関しては Dempsy が Sudan Black により妊娠13日目の白鼠には Sudan 顆粒を認めずと記し、黒木は妊娠14~16日のマウスに Sudan 顆粒の融合傾向を認めるとして諸家の説は一致しないが、妊娠末期において大脂質顆粒が発生し、あるいは細胞質を変形して更に腺腔内に膨出するとの点で、妊娠過程における Sudan 顆粒の量的変動については同一所見を得ることが出来た。

他方マストバッチ様変化を伴う乳腺の腺小葉上皮細胞においても Sudan 顆粒の出現を認めたが、これは谷口の婦人乳腺に関する所見に反して桑原の乳腺における脂肪代謝について記述している『慢性乳腺症において脂肪代謝の顕著なものは癌化の傾向が強いかあるいは癌の存在を疑う必要がある』との所見に合致するものと考えられる。これはまた婦人乳腺と比較的乳癌発生率の高いマウス殊に dd 系 NA₂ 系マウス乳腺との組織化学的差異も考えなければならぬ事であろう。

4 アルカリ・フォスファターゼ

清水は白鼠乳腺において活性部位は乳腺細胞核、乳

腺濾胞外側に強く現れ、上皮細胞質には弱く現われ、而も正常期、妊娠期の各期に時期的な差異は認められないと記し、また Dempsy によれば、白鼠の発情期において上皮細胞は中等度の活性を示し、妊娠13日で腺小葉上皮細胞の活性は不変であるが、血管内被細胞は著明な活性を示し、授乳期には更に増強すると述べているが、これは Silver の家兎、白鼠、羊における所見に反している。又 Huseby によれば腺上皮細胞の活性度は弱いかあるいは全く認められないと記している。

私は Gomori 氏法により、妊娠期乳腺の活性度を検索したが、その経過の進行につれて腺腔内貯溜物質の活性度が増強することを認め、また腺小葉上皮細胞周辺における活性度の増加することも認めるが、上皮細胞原形質内の活性度の増加を確認することは出来なかつた。なおマストパッチー様変化を伴う乳腺上皮細胞において腺腔内貯溜物質の活性度は妊娠期乳腺の活性度と差異を認められず、上皮細胞の活性度は稍増強すると思われるが確認できるまでに到らなかつた。al-ph に関して、マストパッチー様変化を伴う乳腺及び癌性乳腺における活性度の研究はいままでのところ少なく今後の研究に俟つべきものが多い。

総 括

私は dd 系及び NA_2 系マウス乳腺に就いて正常乳腺、活動期乳腺、マストパッチー様変化を伴う乳腺、癌性変化を伴う乳腺の細胞内変化を核酸を中心として組織化学的方法によつて検索し次の結果をえた。

1) 核酸は妊娠期乳腺及びマストパッチー様変化を伴う乳腺において、その過程の進行と共に RNA は増加し未分化な癌細胞において最も強く現われる反面、DNA はその初期に軽度の増加をみるが一般的に云えば不変である。

2) PAS 陽性物質は妊娠期乳腺及びマストパッチー様変化を伴う乳腺においてその経過と共に増加する。これは核酸と同様であるが、乳癌組織中には認めにくい。また妊娠期に比較してマストパッチー様変化を伴う場合は稍大きい顆粒状陽性物質が多い。なお妊娠末期から授乳期にかけ、あるいは高度なマストパッチー様変化においては腺腔内分泌貯溜物質より腺小葉上皮細胞内へ漸慢性に移行しているのが認められる。

3) 類脂質の量的変動は、妊娠期乳腺及びマストパッチー様変化を伴う乳腺において共に認められた。一方癌細胞においては殆んど類脂質を認めることが出来

なかつた。

4) al-ph の活性は上皮細胞内に殆んど認められず、妊娠、マストパッチー様変化において稍活性度が高まる程度で、之に反して分泌貯溜物質には活性度の昂進を認めた。

5) 妊娠期乳腺とマストパッチー様変化を伴う乳腺の組織化学的検索による量的な変動は略々両者一致した所見を呈した。

6) 分娩後授乳中止5日目分離により生じたマストパッチー様変化の組織化学的所見と、Estradiol pellet 1.25mg埋没によつて生じたマストパッチー様変化の組織化学的所見との間には差異を認められなかつた。換言するすれば、起因子による組織化学所見の差異は認められなかつた。

7) dd 系マウスと NA_2 系マウスの組織化学的所見に差異は認められなかつた。

終始御教示を得た増田強三講師に謝意を表する。

文 献

- 1) Akamatsu, Y.: A histological study of spontaneous and transplanted mammary tumors occurring in a newly segregated high mammary cancer strains and other strains of inbred Mice. Jap. Jour. Cancer Research, (Gann, in Japanese), **47**, 105, 1956.
- 2) 青木卓章: 癌組織の組織化学的研究(第1報). 癌, **43**, 65, 1952.
- 3) 青木卓章: 癌組織の組織化学的研究(第3報). 癌, **45**, 223, 1954.
- 4) 青柳安誠・増田強三: マストパッチー(乳腺症)の診断と治療. 実験治療, **269**, 1, 1954.
- 5) Beatson, G. T.: On the treatment of inoperable cases of carcinoma of the mamma. Lancet, **2**, 104, 1896.
- 6) Dempsy, E. W., Bunting, H. and Wislocki, G. B.: Observations of the chemical cytology of the mammary gland. Am. J. Anat., **81**, 309-342, 1947.
- 7) 藤森正雄: ホルモンと乳癌. 協同医書出版社, 1953
- 8) 藤森正雄: 組織化学及び内分泌学的に見た乳癌の前癌状態, 特にP32依る核酸代謝の研究, 日本外科学会雑誌, **56**, 596, 1955.
- 9) Fujisue, Y.: A histological study on mastopathy. I. Mastopathylike-changes of the mammary gland in mice. Mie Medical J., **6**, 93, 1956.
- 10) Fujisue, Y.: A histological study on mastopathy. Journal of Osaka City Medical Center **5**, 587, 1956. and **6**, 58, 1957.
- 11) 藤末雄: 乳腺症の病理組織学的研究(Ⅱ). 大阪

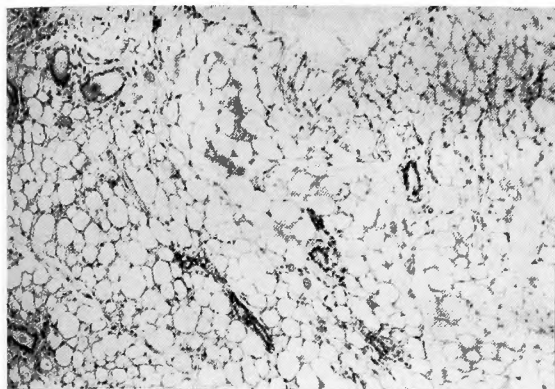


図1 H・E 染色 ×100 標本番号 19 dd系 早 生後 128日, 正常乳腺: 脂肪組織中に乳管, 乳腺が散在する。

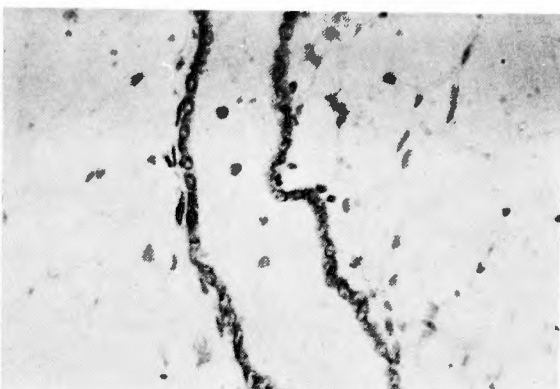


図2 P・M 染色 ×400 標本番号 103. dd系 早 生後 201日, 正常乳腺: 核はM, Gに稍染るも原形質内にPを認めない。

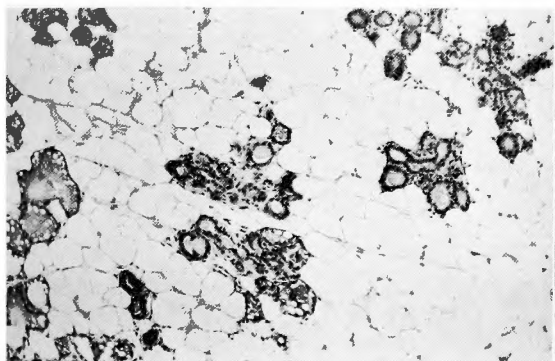


図3 H・E 染色 ×100 標本番号 122 dd系 早 生後 299日, 妊娠期乳腺: 比較的均等大に乳腺が発育している。

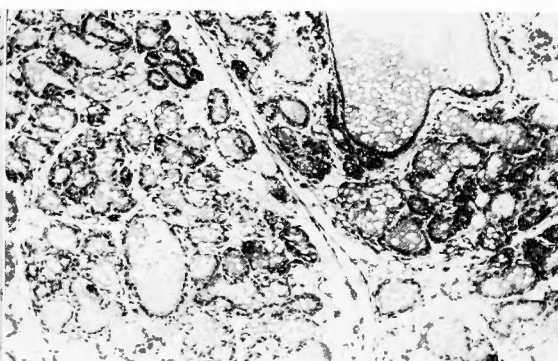


図4 H・E 染色 ×100 標本番号 115 NA₂系 早 生後 306日, 授乳期乳腺: 乳腺の形の不平等及び一部弛緩を思わせる像もみられ, 分泌物に空胞滴様のものが多数出現。

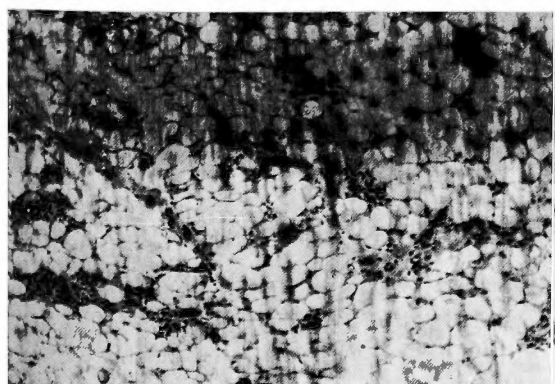


図5 H・E 染色 ×100 標本番号 136 NA₂系 早 生後 306日, 出産2回退縮期乳腺: 円形細胞浸潤を認め略々退縮過程を完了している。

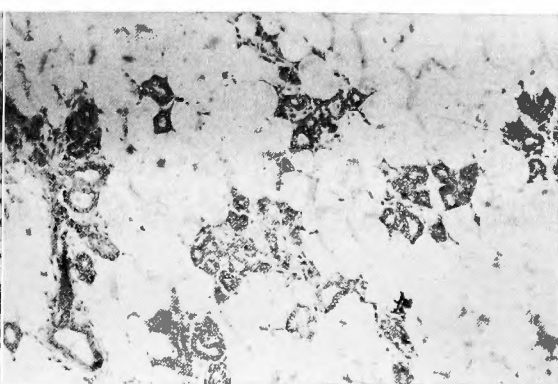


図6 P・M 染色 ×100 標本番号 123 dd系 早 生後 300日, 出産2回妊娠初期乳腺: 上皮細胞核はM・Gに染り原形質内及び腺管腔内にPに薄く染る。

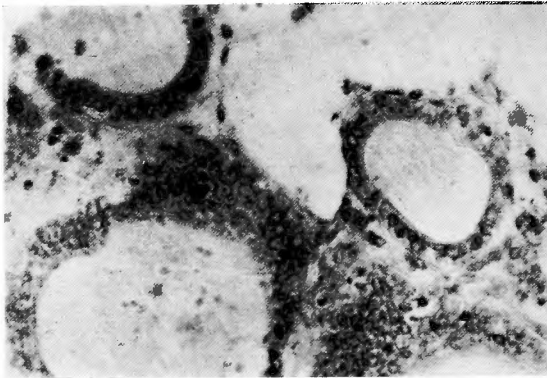


図7 前同 ×400：比較的均等に発育した腺上皮細胞及び腺腔内にPの中等度好性を認める。

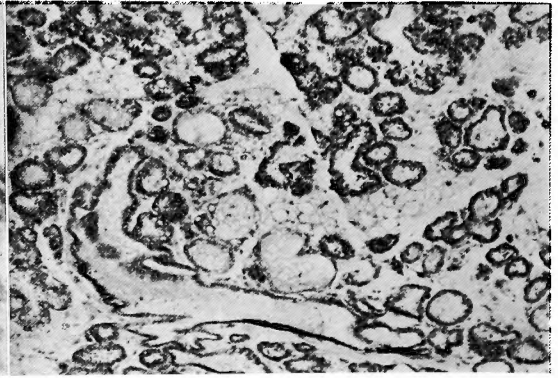


図8 P・M 染色 ×100 標本番号 115 No. 6に同じ授乳期乳腺：形態的にも大きさも不平等で一部に弛緩像を認めPに濃染している。

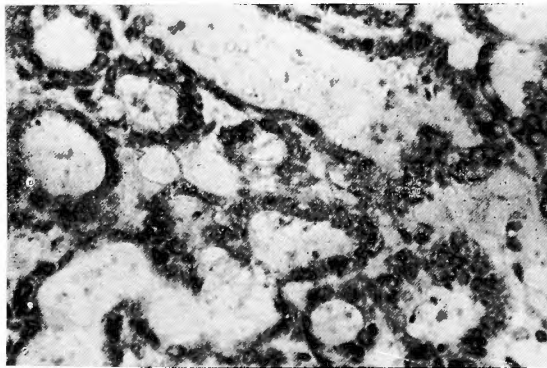


図9 前同 ×400：不整形な乳腺上皮細胞原形質及び腺腔内にP好性物質を多量認める。

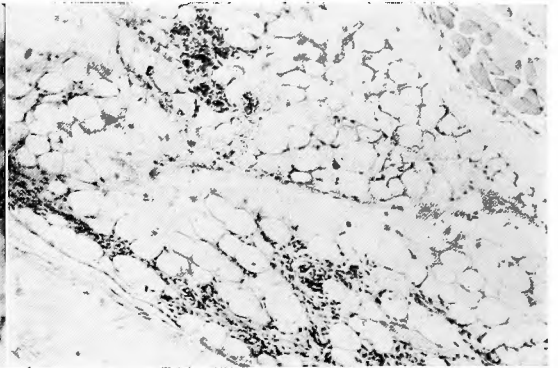


図10 P・M 染色 ×100 標本番号 136 No. 5に同じ退縮期乳腺：円形細胞にM・Gに中等度に染るがその周辺にPを殆んど認めることは出来ない。

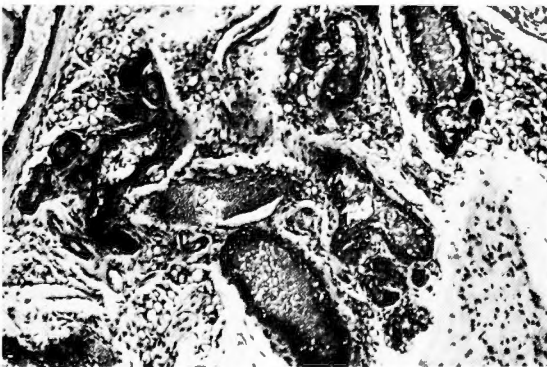


図11 H・E 染色 ×100 標本番号 221 dd系 早 生後339日、マストパチー様変化を伴う乳腺：腺上皮の著明な増殖を認める。

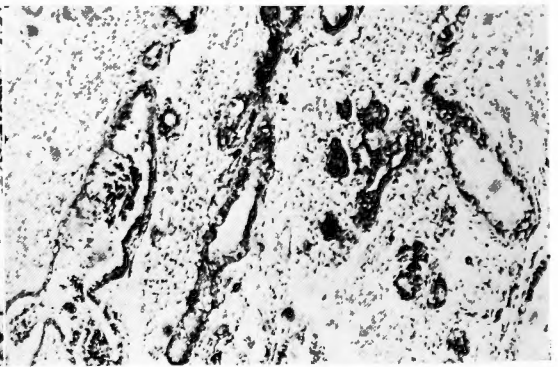


図12 P・M 染色 ×100 前同 M・G 好生は中等度であるが上皮細胞の増殖度に一致してP好性を示し、腺管腔内にも中等度に出現している。

(戸谷 附図)

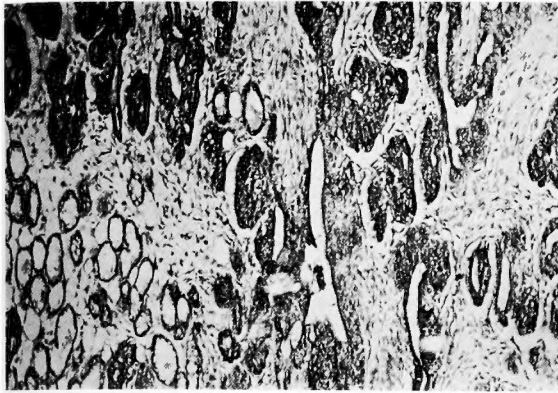


図13 前同 $\times 400$ 強度に好性を示す腔内貯溜物質より上皮細胞内に瀰漫性に移行している。

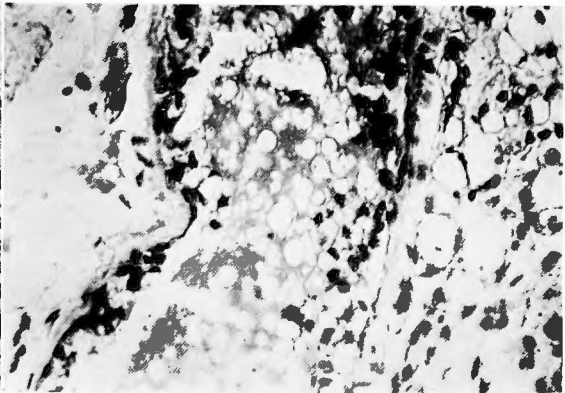


図14 P・M 染色 $\times 100$ 標本番号 218 dd 系 早 生後 427日, 出産 4 回, マストパチー様変化及び妊娠初期乳腺: 左方の増殖像は右方の妊娠像より著明に P 好性を示す。

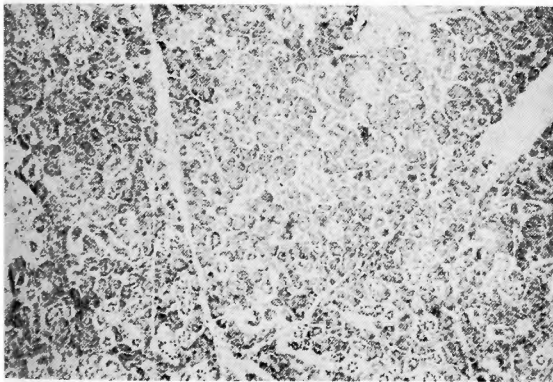


図15 H・E 染色 $\times 400$ 標本番号 72 NA_2 系 早生後 363日, 出産 1 回, 腺様構造を残存した癌組織を示す。

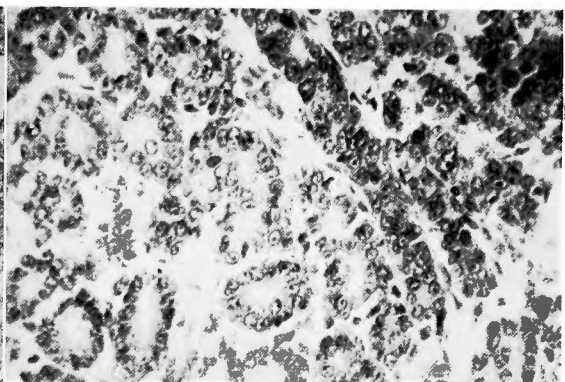


図16 P・M 染色 $\times 100$ 標本番号 52 dd 系 早 生後 431日, 出産 6 回, 腺様構造を残存した癌組織: 比較的 M・G に濃染した癌細胞核周辺に P の強度な好性を示している。

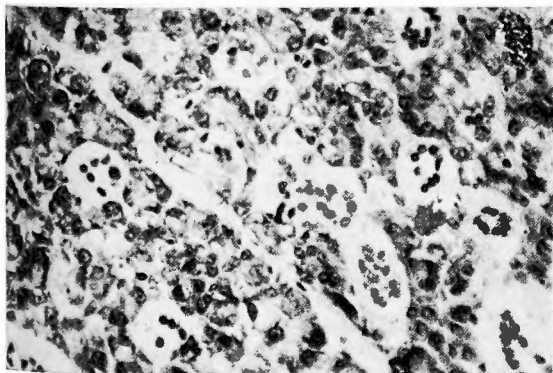


図17 前同 $\times 400$: 癌細胞の大きい細胞の周辺に殊に P 好性が強度に現われている。

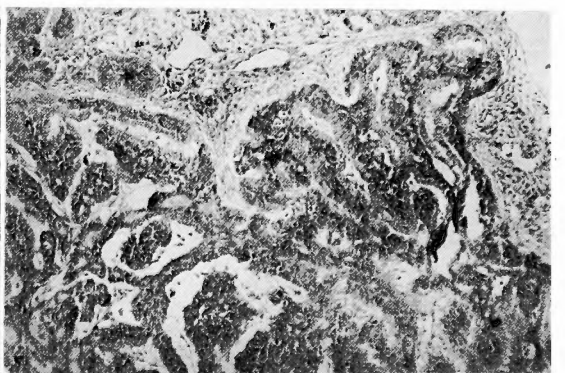


図18 H・E 染色 $\times 100$ 標本番号 51 NA_2 系 早生後 406日, 乳嘴状の像を呈する癌組織像もある。
(戸谷 附 図)

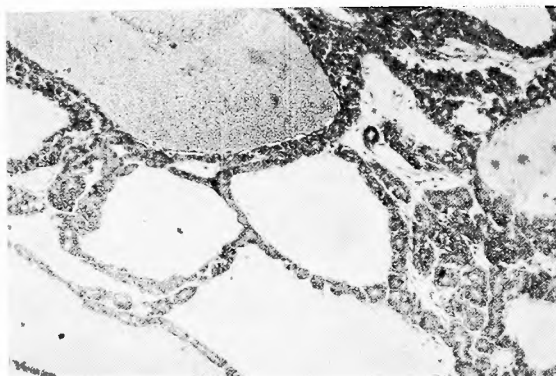


図19 H・E 染色 ×100 標本番号 53 dd系 早 生後
431日, 出産 6 回, 一部に腺様構造を残し囊腫
が形成されている。



図20 H・E 染色 ×100 標本番号 57 dd系 早 生後
327日, 出産 5 回, 増殖した結締組織に圧迫された
様な像を呈し細胞の崩壊を来している癌組織。

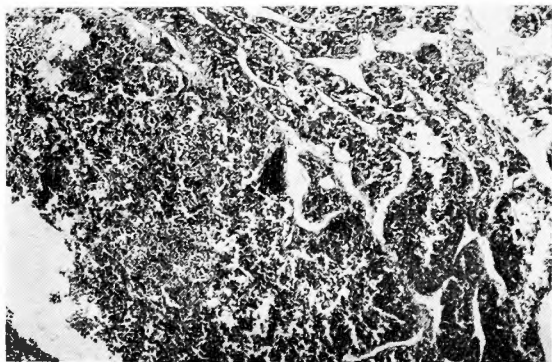


図21 H・E 染色 ×100 標本番号 80 NA₂系 早 生後
200日, 出産 0, 腺構造を全く失った所謂単純癌
様構造を示している。

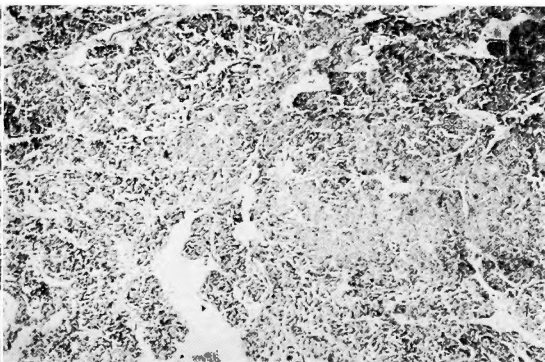


図22 P・M 染色 ×100: 前同 M・G, に中等度に濃染
している核の周辺にPの強度の好性を示してい
る。

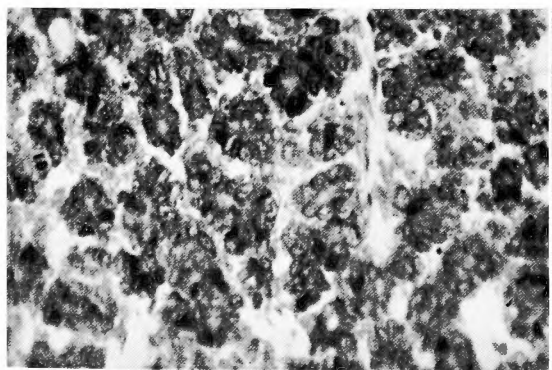


図23 P・M 染色 ×100 標本番号 62 NA₂系 早 生後
422日, 出産 2 回, 腺様構造を示す癌組織の左方
面から右方面において MG・P 共に強度の好染
性を示している。

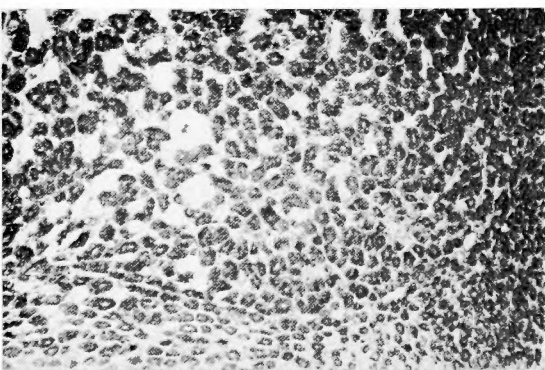


図24 同上 ×400: No. 23'左方面の拡大, 細胞の大き
は比較的平等核の異形及び不平等も認めにく
い。MG・P 中等度陽性である。

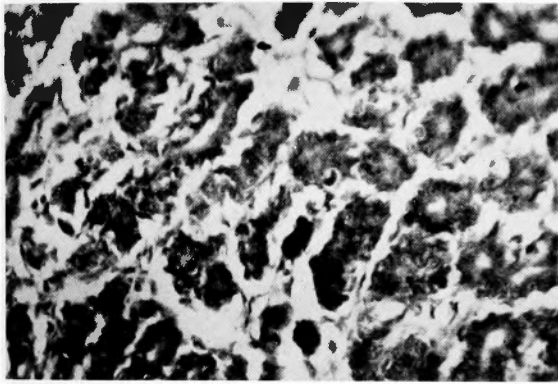


図25 前同 $\times 400$: No. 23 右方面拡大, 細胞の大きさも不平等で, 核の異形大小不同もみられ一部には崩壊を示している. この場合 No. 24 より P の好染性大である.

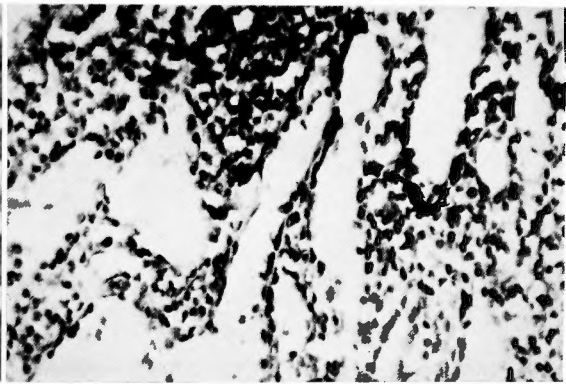


図26 P.M染色 $\times 400$ 標本番号 210 NA_2 系 早 生後 366日, 出産 6 回, 癌組織中のリンパ節: 上辺に癌細胞の浸潤があり正常リンパ節に較べリンパ球周辺の P 好染度は大である.

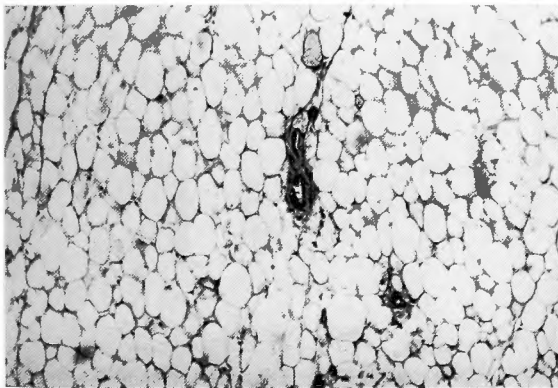


図27 PAS染色 $\times 100$ 標本番号 112 NA_2 系 早 生後 306日, 出産 0, 正常乳腺: 乳腺腺腔面に中等度陽性物質を認める.

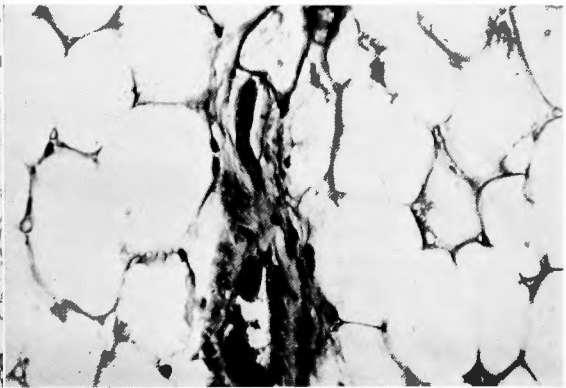


図28 前同 $\times 400$: 腺上皮細胞の腺腔面に於て中等度にPAS陽性物質が存在する.

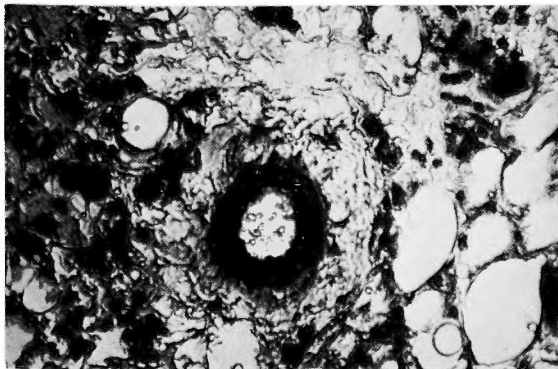


図29 PAS染色 $\times 400$ 標本番号 99 dd系 早 生後 285日, 出産 0, 血管: 血管腔に面して放線状に強度にPAS陽性物質を認める.

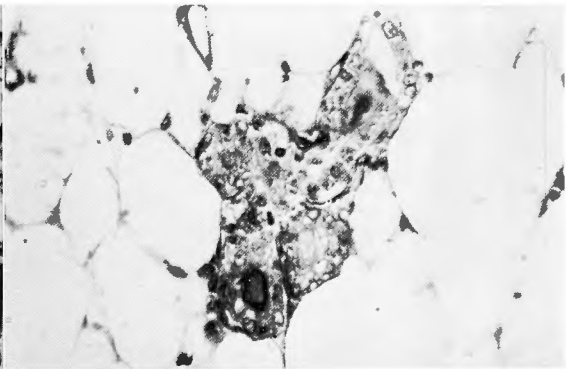


図30 PAS染色 $\times 400$ 標本番号 142 dd系 早 生後 299日, 出産 3 回, 妊娠初期: 腺上皮細胞内及び腺腔中に一部強度にPAS陽性物質を認めるも多くは中等度に瀰漫性である.

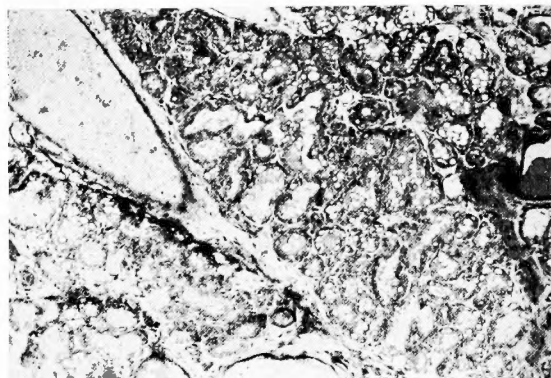


図31 PAS染色 ×100 標本番号 115 No. 6, No. 8 に同じ授乳期乳腺：腺上皮及び腺管内に強度のPAS陽性物質を認める。

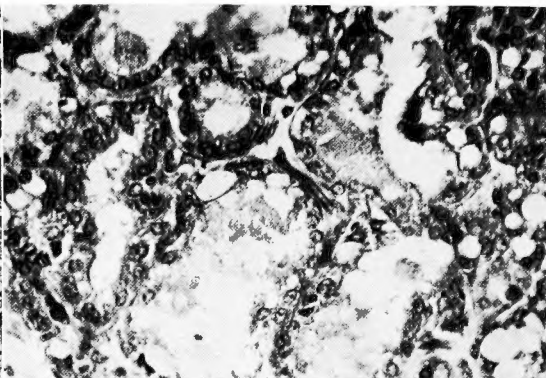


図32 PAS染色 ×400 前同：強度な顆粒状陽性物質は認められないが腺腔内の陽性物質が瀰漫性に腺上皮細胞に移行している。

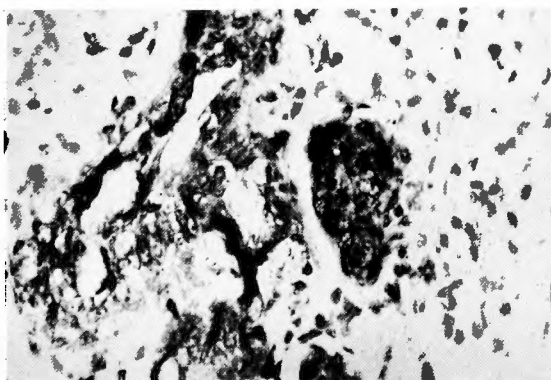


図33 PAS染色 ×400 標本番号 221 dd系 早 生後298日，出産3回，マストパチー様初期変化：軽度の増殖をみた上皮細胞内に中等度陽性に顆粒状物質を認める。

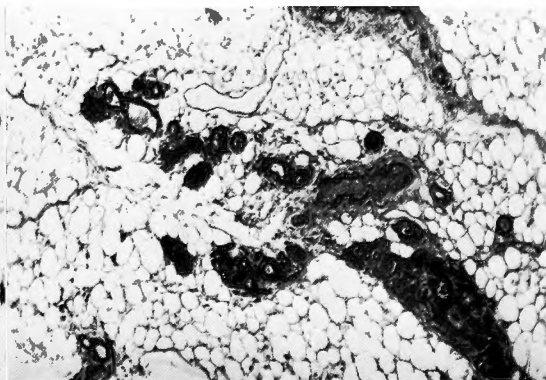


図34 PAS染色 ×100 標本番号 101 dd系 早 生後285日，出産4回，マストパチー様変化：中等度に増殖している腺上皮細胞内に極めて強度に陽性物質が出現している。

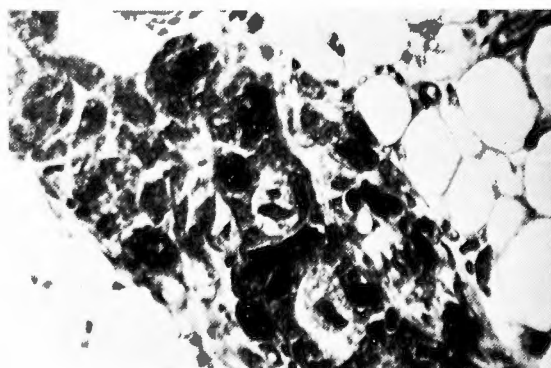


図35 前同 ×400：腺上皮細胞内に細顆粒状から一部塊りと言ひ得る程大きい顆粒状に迄陽性物質が出現している。

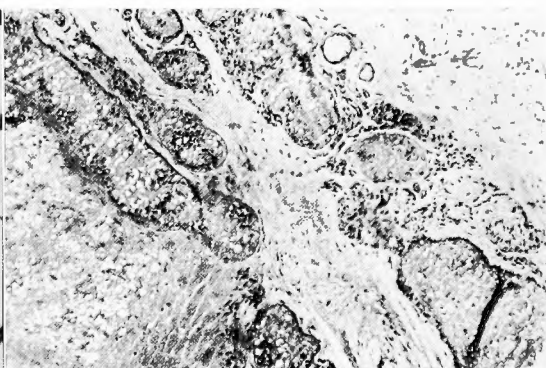


図36 PAS染色 ×100 標本番号 186 dd系 早 生後268日，estradiol pellet 1.25mg 3回埋没，マストパチー様変化：増殖した腺，上皮細胞及び腺腔にPAS内陽性物質を強度に認めるが瀰漫性である。

(戸谷 附図)

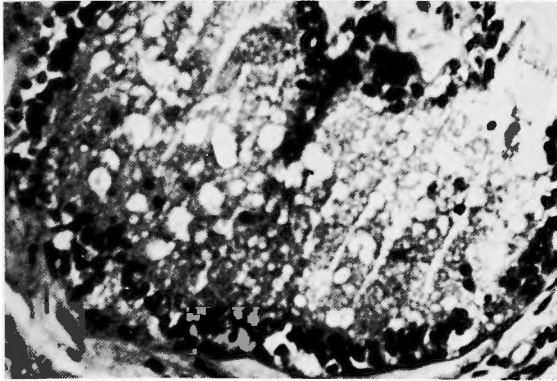


図37 前同 ×400：腺腔より腺上皮細胞に瀰漫性に移行しているPAS陽性物質を認め、上皮細胞の腺腔面に稍強く出現している。

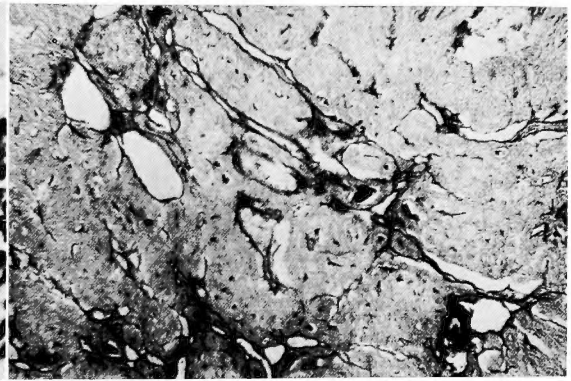


図38 PAS染色 ×100 標本番号 84 dd 系 早 生後492日, 出産4回, 腺様構造を残す癌：癌細胞にはPAS陽性物質は認められず, 腺腔貯溜分泌物に強度に, 被膜には中等度或は夫れ以下に認められるのみである。



図39 PAS染色 ×100 標本番号 62 No. 23, No. 24, No. 25に同じ腺様構造を残す癌：前同

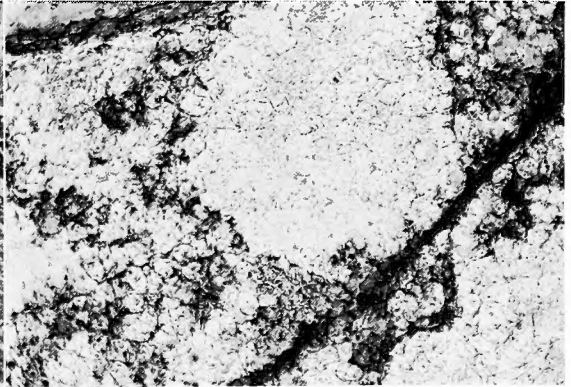


図40 SudanⅢ染色 ×100 標本番号 312dd 系 早 生後56日出産0 正常乳腺：一面に染色されたSudanの中央部を斜に乳管の走っているのが認められるのみである。

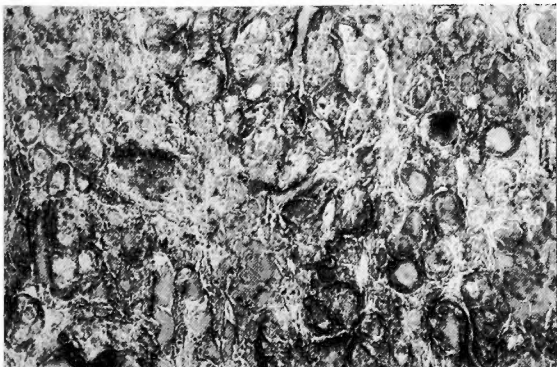


図41 SudanⅢ染色 ×100 標本番号 352 dd 系 早 生後85日, 出産0, 妊娠期乳腺：腺腔を充満しているSudan顆粒或は小さい顆粒等大小様々な脂肪滴を認める。

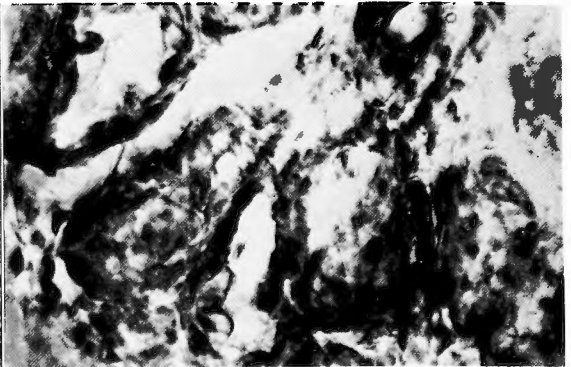


図42 前同 ×400：大小様々な脂肪滴で充満されてその上皮先端に稍強度に Sudan 顆粒を取っているのを認める。

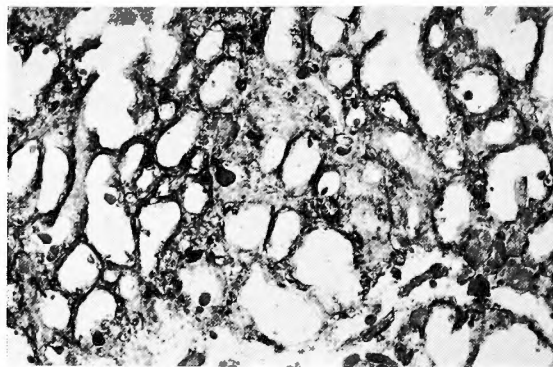


図43 SudanⅢ染色×100標本番号371 NA₂系早 生後124日, 出産1回, 退縮期乳腺: 不整形な腺腔内の脂肪滴はその数・量共に減少している。

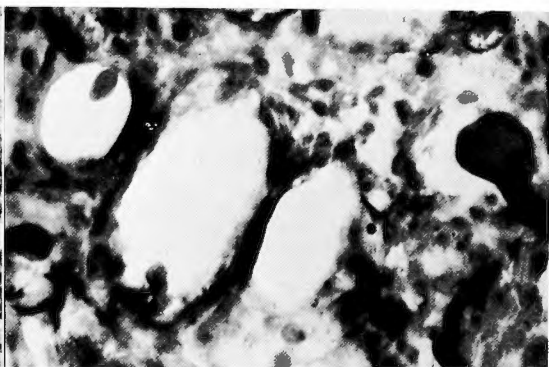


図44 前同×400: 腺腔内の脂肪滴は2~3個にのみ減少し上皮細胞内のSudan顆粒も量的に減少している。

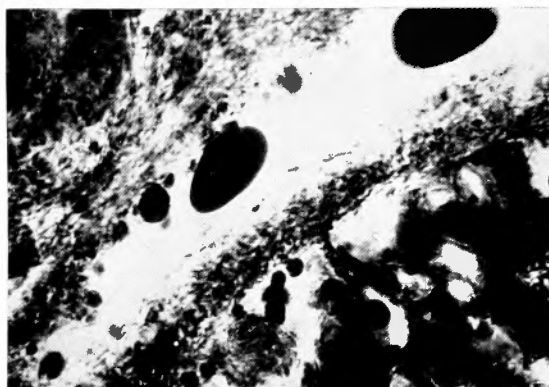


図45 SudanⅢ染色×400 標本番号384 dd系早 生後235日, estradiol pellet 1.25mg 3回埋没, マストパチー様変化: 腺腔に大きな顆粒があり, 上皮細胞内には小さい顆粒を多数認める。

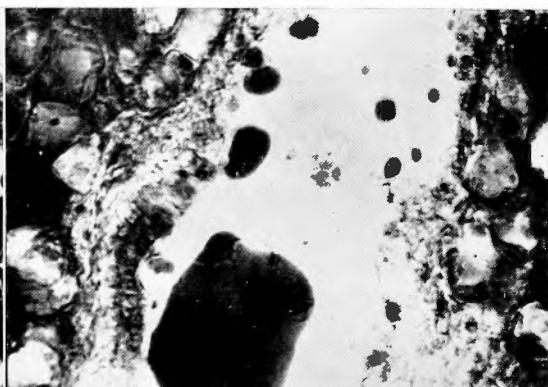


図46 SudanⅢ染色×400 標本番号385 dd系早 生後235日, estradiol pellet 1.25mg 3回埋没, マストパチー様変化: 前同。

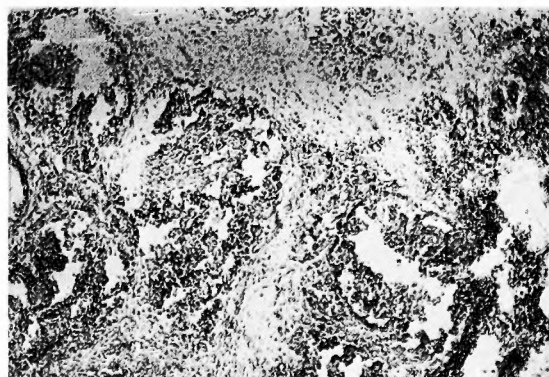


図47 SudanⅢ染色×100 標本番号57 dd系早 生後327日, 出産5回, 腺様癌: 全視野に Sudan 顆粒を殆んど認めることが出来ない。

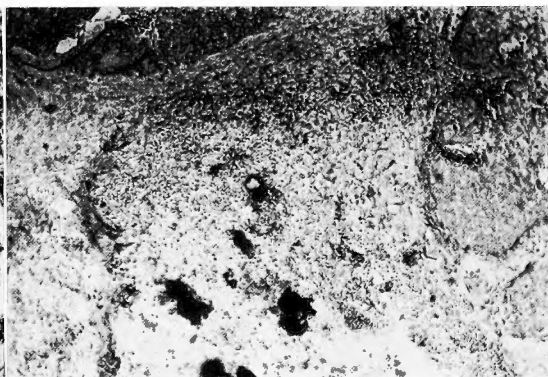
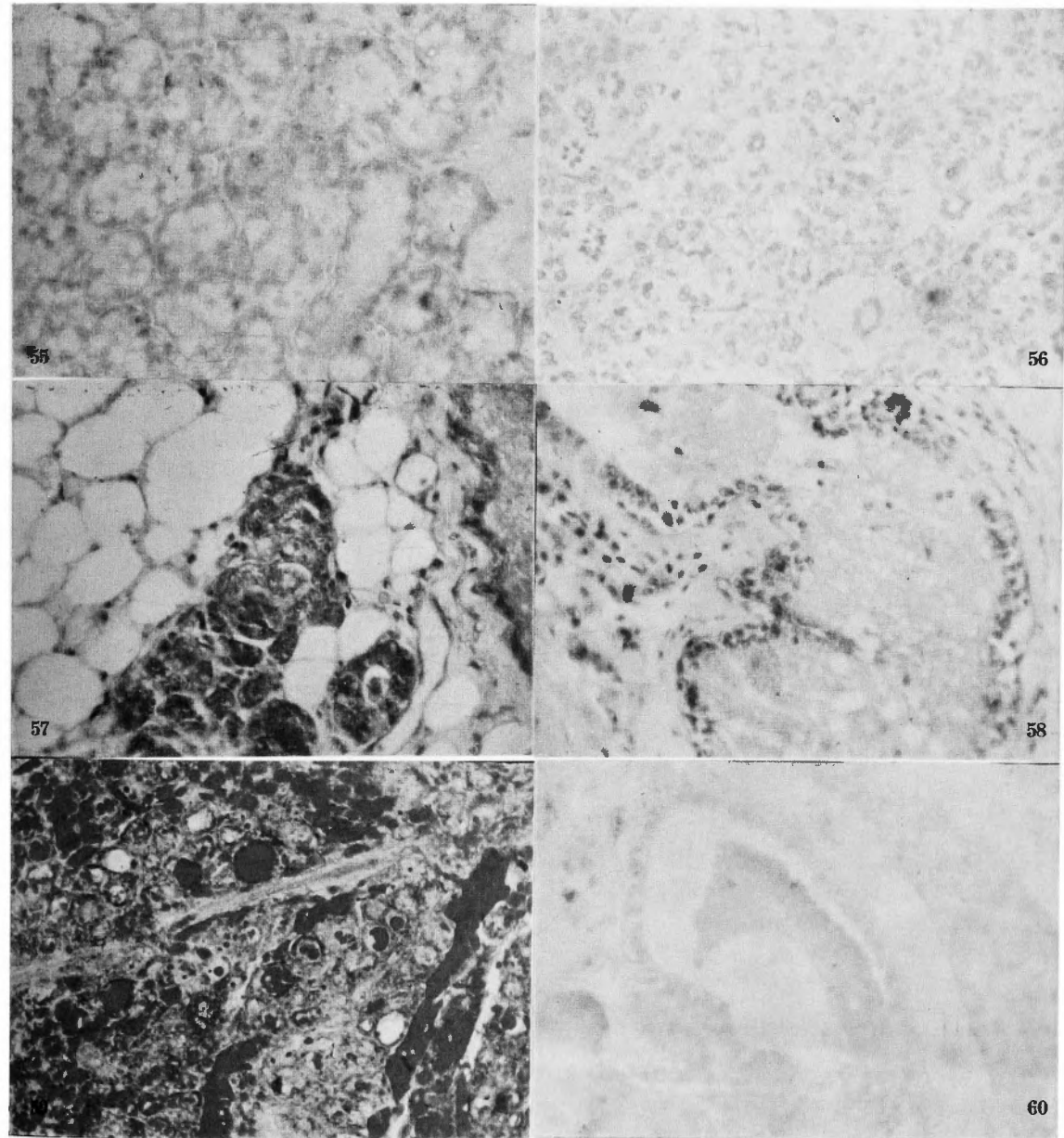


図48 SudanⅢ染色×100 標本番号57 dd系早 生後325日, 出産2回, 腺様構造を残す癌: 腺様組織を残している癌組織中には Sudan 顆粒は認められず間質に小量出現している。

戸谷 附 図



55. P M 染色 ×400 標本番号 154 dd早 生後307日出産2回
妊娠期乳腺: 腺小葉上皮細胞及び腺腔内に中等度陽性の Py を認める
56. P M 染色 ×400 標本番号 52 No.17 に同じ
57. PAS 染色 ×400 標本番号 101 No.34 に同じ
58. PAS 染色 ×400 標本番号 186 No.37 に同じ
59. SudanⅢ 染色×100 標本番号 352 No.41 に同じ
60. al-ph 染色 ×400 標本番号 395 No.53 に同じ

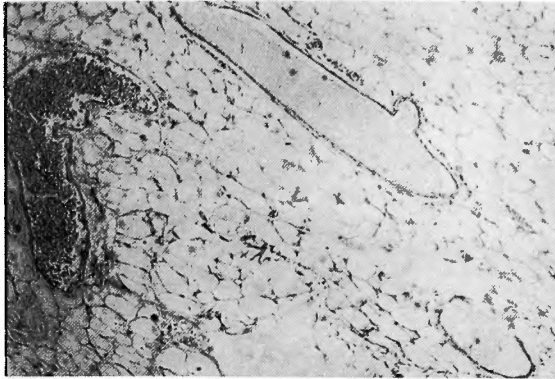


図49 Al-Ph 染色 ×400 標本番号 108 NA₂系 ♂ 生後184日, 正常乳腺: 極く微弱度に上皮細胞核に活性を認め得るだけである。

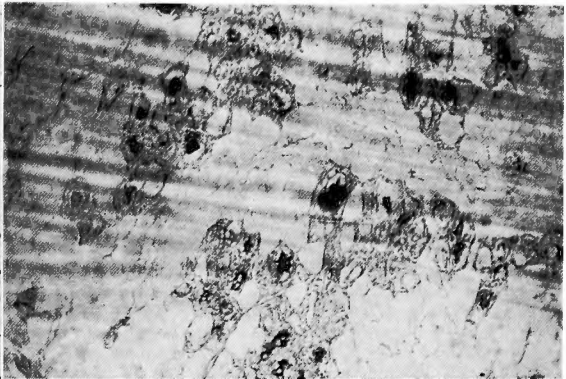


図50 Al-Ph 染色 ×100 標本番号 122 dd 系 早 生後299日, 出産1回, 妊娠期乳腺: 腺上皮細胞核及び分泌貯溜物質に中等度活性を認める。

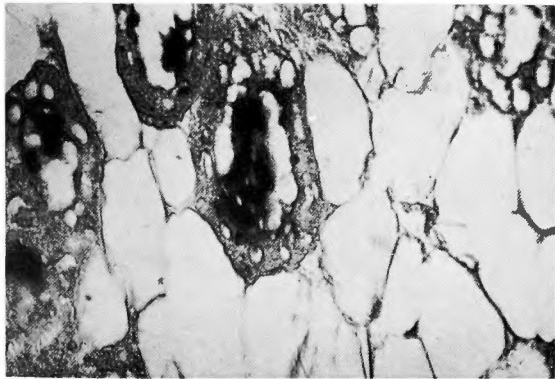


図51 前同 ×400: 分泌貯溜物質及び細胞核に活性を認めるが上皮細胞原形質の活性は認められない。

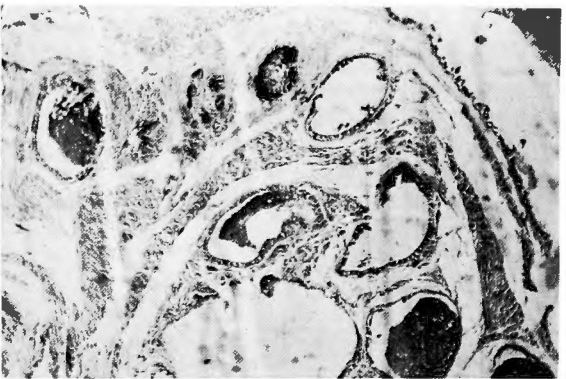


図52 Al-Ph 染色 ×100 標本番号 395 dd 系 早 生後185日, estradiol pellet 1.25mg 2回埋没, マストパチー様変化: 分泌貯溜物質及び核に稍強度に活性を認める。

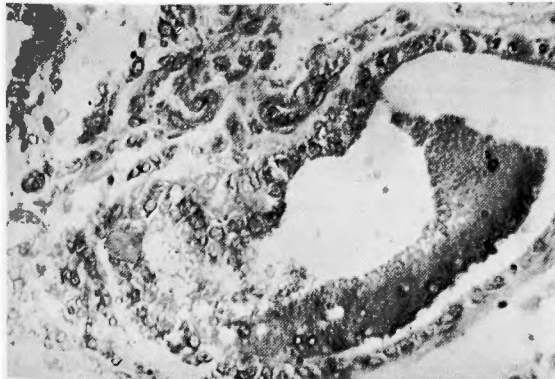


図53 前同 ×400: 上皮細胞原形質の活性度は微弱陽性である。

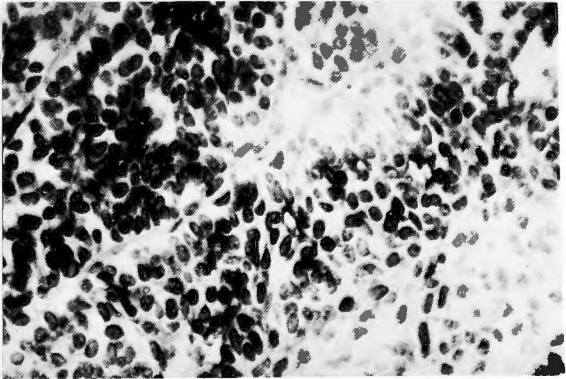


図54 Al-Ph 染色 ×400 標本番号 73 dd 系 早 生後200日, 出産1回, 単純癌: 癌細胞核は中等度活性を示しているが核周辺の活性は全く認められない。

(戸谷 附図)

- 市立大学医学雑誌, **5**, 587, 1956.
- 12) 藤末雄: 乳腺症の病理組織学的研究(Ⅲ). 大阪市立大学医学雑誌, **5**, 593, 1956.
- 13) 藤末雄: 乳腺症の病理組織学的研究(Ⅳ). 大阪市立大学医学雑誌, **6**, 58, 1957.
- 14) 副島謙: マストパチーについて・日本外科宝函 **20**, 737, 1943.
- 15) Grogg, E. and Pearse, A. G. E.: Coupling azo dye method for histochemical demonstration of alkaline phosphatase. *Nature*, **170**, 578, 1952.
- 16) Huseby R. A., L. B. Thomas: Histological and histochemical alteration in the normal breast of patients with advanced breast cancer being treated with estrogenic hormone. *Cancer*, **7**, 54, 1954.
- 17) 市川収: 細胞化学, 1953.
- 18) Jeffers, K. R.: Cytology of the mammary gland of the albino rat. *Am. J. Anat.*, **56**, 257-277, 1935.
- 19) Jeffers, K. R.: Cytology of the mammary gland of the albino rat. *Am. J. Anat.*, **56**, 279-303, 1915.
- 20) Jeffers, K. R.: The cytology of the mammary gland of the bat *Myotis grisescens*. *Am. J. Anat.*, **67**, 1-19, 1940.
- 21) 黒木孝: 乳腺細胞の微細構造. 日大医学雑誌, **7**, 271, 1943.
- 22) Koshi Tetsuya.: Experimental studies on the histogenesis of mammary tumors and sexual hormones. *Arch. Jap. Chir.* **27**, 323, 1958.
- 23) 久留勝: 乳癌について, 特に乳癌とその前癌状態殊に慢性囊腫性乳腺症との関係について. 日本外科学会雑誌, **42**, 1122, 1942.
- 24) 久留勝: 乳腺の汗腺系腫瘍. 日本外科学会雑誌 **42**, 1369, 1942.
- 25) 久留勝: 前癌状態について. 日本外科雑誌, **53**, 537, 1952.
- 26) Lacassagne, A.: Hormonal pathogenesis of adenocarcinoma of the breast. *Am. J. Cancer*, **27**, 217, 1936.
- 27) Lacassagne, A.: A comparative study of the carcinogenic action of certain oestrogenic hormones. *Am. J. Cancer*. **28**, 735, 1936.
- 28) Lacassagne, A.: Relationship of hormones and mammary adenocarcinoma in the mouse. *Am. J. Cancer*, **37**, 414, 1939.
- 29) Leblond, C. P., Stevens, C. E., Bogsroch, R.: Histological localization of newly-formed desoxyribonucleic acid. *Science*, **108**, 531, 1948.
- 30) 増田強三: Mastopathie, 内分泌のつどい. 第**8**集, 346, 1956.
- 31) 増田強三: 乳癌と乳腺症(マストパチー). 診断, **10**, 972, 1952.
- 32) 増田強三: 乳腺腫瘍の形態発生と内分泌. 臨床外科, **12**, 885, 1957.
- 33) 増田強三: 乳癌, マストパチー(乳腺症)の形態発生. 外科研究の進歩, **7**集, 31, 1958.
- 34) 増田強三: 乳腺腫瘍の成立と性腺. 日本内分泌誌, **34**, 847, 1958.
- 35) 増田強三: 腫瘍の成立と内分泌. 最新医学, **13**, 215, 1958.
- 36) Mc. Manus, J. F. A.: The histological demonstration of mucin after periodic acid, *Nature*, **158**, 213, 1946.
- 37) Maeder, L. M. A.: Changes in the mammary gland of the albino rat (*Mus Norvegicus Albinus*) during lactation and involution. *Am. J. Anat.*, **31**, 1-26, 1922.
- 38) 間島進: 囊胞性乳腺症の悪性化について. 日本外科学会雑誌, **56**, 597, 1955.
- 39) 宮原繁也: 乳癌の微細組織学的考察. 日本外科学会雑誌, **34**, 2361, 1933.
- 40) 宮地徹: 腫瘍に於ける核酸の研究. 医学の進歩 第**7**集, 1, 1951.
- 41) 森優: 組織化学(理論と実際). 1949.
- 42) 西垣義明: 正常乳腺の組織学的研究ならびにその Golgi 装置. 日本産婦人科学会雑誌, **3**, 85, 1951.
- 43) 西村豊: 家兎乳腺の組織化学的研究. 阪大医学雑誌, **10**, 6, 1958.
- 44) 清水寛一: 乳腺機能に関する組織化学的研究. 総合研究報告集録生物農学編, 162, 1953.
- 45) 柴谷篤弘: 核酸及び核蛋白. 下巻1951.
- 46) Stein, R. J.: Cytologic demonstration of nucleic acid in tissue culture. *Science*, **111**, 256, 1950.
- 47) 武田進: 腫瘍細胞. 永井書店, 1956.
- 48) 徳山英太郎: 乳腺の悪性腫瘍と良性腫瘍の組織学的ならびに内分泌学的関係. 癌, **46**, 311, 1955.
- 49) The staff of the Vincent Memorial Laboratory of the Vincent Memorial Hospital: The cytologic diagnosis of cancer. Boston Massachusetts, 1950.
- 50) Takuma Ko.: Histological studies on the relation of the adrenal glands and ovaries to the neoplastic diseases of the breast. *Arch. Jap. Chir.*, **27**, 650, 1958.
- 51) 谷口積三: 乳腺に於ける前癌性変化の組織化学的研究. 日本臨床, **14**, 1497, 1956.
- 52) 和田卓: 非活動期乳腺の組織化学的研究. 医学と生物学, **17**, 311, 1950.