

山羊の乳腺および乳管洞上皮の微細構造について

村上 隆之*・斎藤 勇夫*・芦沢 広三**

Fine Structure of the Goat's Mammary Glands and the Udder Cisterns

Takayuki MURAKAMI, Isao SAITO and Hirozo ASHZAWA

(1972年5月31日受理)

緒 言

一般に乳の合成および分泌機構に関しては従来よりすこぶる興味もたれ、生化学的見地からはかなりの追究がなされている。近年、形態学的見地からも電子顕微鏡を用い、乳腺細胞の微細構造と乳成分の合成や分泌との関係が追究されるようになった。しかし、それらの多くはマウス^{1~10)}、ラット^{11~13)}などの実験動物に関するものであり、乳用家畜の乳腺を電顕的に観察した報告^{14,15)}は少い。また、牛および山羊の乳房には、分泌された乳汁が一時貯留する乳管洞(乳槽)が大きく発達する^{16,17)}が、その微細構造については全く知られていない。そこで著者らは泌乳期、成熟処女期、乾乳期における山羊の乳腺細胞および乳管洞上皮細胞の微細構造を比較観察し、若干の知見を得たので報告する。

材 料 と 方 法

観察に用いた動物は、泌乳期(3才・2頭, 4才・1頭)、成熟処女期(2才・1頭)および乾乳期(4才・1頭)の山羊(日本ザーネン種)で、それぞれ Somonopenthyll 麻酔下または無麻酔下で乳腺および乳管洞乳腺部を採取、細切し、s-Collidine で緩衝した1%または2%の O_3O_4 水溶液で2~5時間固定。その後、常法に従い Ethanol で脱水、Propyren oxide を通して Epon 包埋とした。超薄切片は PORTER-BLUM MT 1 型超ミクロトームを用いて作製、それに酢酸ウランと硝酸鉛の重染色を施し日立 HU-11 DS 型電子顕微鏡で観察した。また光学顕微鏡の観察には Epon 包埋材料から作製した厚めの切片に toluidine blue 染色¹⁸⁾を施したものをを用いた。

観 察 結 果

1. 泌乳期の乳腺上皮細胞の構造

泌乳中の乳腺腺を光顕的に観察すると、拡張した腺腔内には脂肪滴などの分泌物が多量含まれ、また腺細胞内にも脂肪滴や分泌空胞が認められる。腺胞は単層に配列した円柱状ないし立方状を呈した大型の腺細胞と、その外側を網状に囲む扁平な筋上皮細胞によって構成されている(Fig. 1)。

腺細胞を電顕的に観察すると、丈の高い円柱状の腺細胞(Fig. 2)も、丈の低い立方状の腺細胞(Fig. 3)も、特に前者では細胞体がすこぶる大型であり、球形または楕円形の核の占める割合は小さい。その豊富な細胞質には脂肪滴、カゼイン空胞のほか粗面小胞体(以下 r-ER と略記)、Golgi 装置、mitochondria などがよく発達している。脂肪滴は球形、楕円形、彎入を示すものなど様々

* 家畜解剖学研究室 ** 家畜病理学研究室

な形態を示し、その大きさは腺腔面に近いものほど大型化する傾向がみられる。脂肪滴の周囲には少数の滑面小胞体（以下 s-ER と略記）を認めることが多いが、s-ER やその他の細胞小器官と脂肪滴との直接的な関係は明らかでない (Fig. 4)。細胞表面へ移動した脂肪滴は、その後その基底面で細胞体から絞約離脱 (decapitation) することによって腺腔内に放出される。カゼイン空胞は大型の滑面空胞で細胞の遊離部に多く認められ、その内部には微細顆粒構造を示す電子密度の高い 1～数個のカゼイン粒子と疎で網状を呈する微細線維物を含んでいる。このカゼイン空胞と微細線維物を含む Golgi 空胞との間には移行像が認められ、カゼイン空胞は Golgi 空胞から形成されるように見える (Fig. 5)。細胞遊離部へ移動し細胞表面に達したカゼイン空胞は reverse pinocytosis によってその内容物を腺腔へ放出するようである。Golgi 装置は Golgi 小胞、Golgi 嚢および Golgi 空胞からなる典型的な像を示し、核より上方に位置することが多い。r-ER も発達がよく、扁平な平行配列を示すものや、微細線維状物を含んで拡張したものなどが細胞質全体に広く分布する。mitochondria は球形、楕円形、桿状を呈すものや分岐したものなど種々であるが、mitochondria 内顆粒は存在しない。また free-ribosome, s-ER, tonofilaments などは少ない。腺腔に面した細胞表面には少数の短かい microvilli が認められ、また隣接する腺細胞との接触面はほとんど直線状を呈するか、またはわずかな起伏が見られるのみである。基底膜と接する腺細胞基底面には basal infolding がよく発達する (Figs. 6, 7) が、筋上皮細胞と接する部分ではこれを全く欠除する (Fig. 6) か、または存在しても発達が悪い (Fig. 8)。

2. 成熟処女期の乳腺上皮細胞の構造

この時期の腺胞では、泌乳中のものに比べて小型で、立方状を呈する腺上皮細胞が集合して認められ、腺腔はすこぶる狭小か、または全く欠除している (Fig. 9)。

腺細胞を電顕的に観察 (Fig. 10) すると、腺腔に面する細胞膜には少数の短い microvilli を備え、隣接細胞とは軽度の interdigitation で軽く嵌合している。基底膜と接する部分には泌乳中の腺細胞に見られた著明な basal infolding は全く認めない。また、泌乳中のものに比べて細胞質はすこぶる貧弱で、球形ないし楕円形または強く彎入する核の占める割合が大である。乏しい細胞質全体にわたって明瞭な tonofilaments が豊富に存在し、r-ER, free-ribosome, mitochondria, 限界膜をもった球形または楕円形の dense bodies, 脂肪滴なども少量認められるが、その他の細胞小器官はほとんど認めない。

3. 乾乳期の乳腺上皮細胞の構造

この時期の腺細胞の光顕所見 (Fig. 11) および電顕所見 (Fig. 12) において、電顕的に lysosome 様小体がかかなり多数認められること以外には、処女期のものと大差がない。この lysosome 様小体は一重の限界膜で包まれ、ほぼ球形ないし楕円形を呈する大小種々の小器官で、その内部に数個の小胞を含むもの (Fig. 13)、すこぶる電子密度の高い微粒子を充満するもの (Fig. 14)、複雑な構造物を含むもの (Fig. 15) など区々である。一般に前二者は小さく mitochondria の短径大位のものが大部分であるのに対し、複雑な構造物を含むものは種々の大きさを示すとはいえ、概して大型のことが多い。

4. 乳管洞上皮細胞の構造

乳管洞の上皮細胞を光顕的に観察すると、泌乳期 (Fig. 16)、処女期 (Fig. 18)、乾乳期 (Fig. 20) を通じてその形態に大差は認められず、立方状、円柱状のほか不規則な形態を呈する上皮細胞が 2～3 層に配列している。

これらの上皮細胞を電顕的に観察 (Figs. 17, 19, 21) した場合も同様で、それぞれの微細構造

に大差はないが共通的な所見について述べると次のようである。すなわち、各時期の乳管洞上皮細胞とも、乳管洞に面する表層の洞上皮細胞遊離面には少数の短かい microvilli を備え、隣接細胞との interdigitation は処女期および乾乳期の乳腺上皮細胞のものよりやや複雑である。細胞体は乏しく、核の占める割合が大、また核は種々の程度に彎入を示すものが多い。細胞質中には一定の方向性を示さない tonofilaments が広く分布し、その間に mitochondria, free-ribosome, 限界膜をもった dense bodies などが少数認められるのみである。なお乾乳期の乳管洞上皮細胞では、同時期の乳腺上皮細胞と同様、種々の形態を示す lysosome 様小体にしばしば遭遇する。

考 察

著者らが今回観察した泌乳期、成熟処女期、乾乳期における山羊乳腺上皮細胞の微細構造は、先人が報告したマウス^{1~10)}、ラット^{11~13)}、牛^{14,15)}、山羊¹⁵⁾などの所見とほぼ一致した。

乳成分の合成および分泌に関し、カゼイン空胞内に存在する電子密度の高い粒子は細胞化学的にカゼインであることが証明されており²⁾、その形態形成は電顕所見^{4,12,14)}ならびに H³-leucine 注入後の電顕的オートラジオグラフィ⁵⁾などから、一般に腺外分泌細胞における分泌蛋白と同じメカニズムで合成されると考えられている。すなわち、r-ER に附着する ribosome で合成された蛋白質は r-ER 腔へ放出されたのち、Golgi 装置へ送られ、そこで濃縮されて可視的な顆粒となり、続いて、この顆粒は Golgi 囊の終末拡張部に包まれたまま Golgi 装置から分離してカゼイン空胞が形成されるという。著者らの観察所見もこれらと一致するものであった。またカゼイン粒子の腺腔内への放出機序に関しては、細胞遊離部へ移動したカゼイン空胞が細胞表面に開口し、reverse pinocytosis によって放出が行なわれる^{1,4,7)}とするもの、アポクリン分泌が主たる放出機序で、reverse pinocytosis は副次的な機序である¹³⁾とするもの、またアポクリン分泌、ホロクリン分泌の可能性もある¹⁴⁾とするものなど様々であるが著者らの山羊乳腺細胞における観察結果によるとカゼイン粒子はおもに reverse pinocytosis によって放出されるようである。なお、カゼイン空胞内を満たす透明な物質は乳糖やイオンの水溶液であろうと推定する人¹³⁾もいるが、その本態に関しては明らかではない。他方、乳脂肪滴の形態形成に関しては、ラットにおいて、合成の初期と考えられる小型脂肪滴の近くに s-ER が集まっていることから s-ER が分泌脂肪滴の形成部位であろう¹³⁾と考えるもの、牛、山羊、モルモットにおいて、pinocytotic vesicles によく似た小型の bristle-coat vesicles が脂肪滴の近くに認められるため、これが脂肪の合成や輸送に関与するのではないか¹⁵⁾と考えるもの、またマウスにおいて、特定の細胞小器官と脂肪滴との間に一定の関連性は認められない^{1,5)}とするもの、さらに 9, 10-oleic acid-H³ や 9, 10-palmitic acid-H³ を注入したマウス乳腺の電顕的オートラジオグラフィによる結果から、r-ER で脂肪酸からグリセライドへのエステル化が起こり、その脂質が集合して Golgi 装置を通過することなく滴状の形態を示すに至る⁸⁾とするものなど様々である。著者らは脂肪滴の周囲にしばしば少数の s-ER を認めたが、s-ER やその他の細胞小器官と脂肪滴形成との直接的な関係は見出すことができなかった。この脂肪滴が腺腔へ放出される機序に関しては、細胞遊離部に移送された脂肪滴が細胞膜を腺腔側へ押し出し、遂には decapitation によってその基部から離脱し、腺腔へ放出される^{1,3,8,11~13,15)}という点で一般の見解が一致しており、著者らの所見も同様であった。ただ decapitation によって腺腔へ離脱する際、脂肪滴とともに細胞質の一部をも伴う(アポクリン分泌)とするもの^{12,13,15)}もあるが、山羊の乳腺細胞では、その事象は見られてもごく稀であった。

泌乳中の腺細胞にのみ認められる basal infolding は、マウスやラットよりも牛や山羊のほうが

よく発達するという報告があり¹⁹⁾、またこれは循環血から泌乳中の腺細胞への栄養分通過を早めるためのものであろう¹⁹⁾とも言われている。なお、人腋窩のアポクリン汗腺細胞にも著明な basal infolding が認められる²⁰⁾が、このような構造物は水分輸送や分泌物の吸収に関係ある尿細管上皮細胞、唾液腺の漿液細胞と導管上皮細胞、脈絡叢の上皮細胞、毛様体上皮細胞などでも認められることから、汗腺の basal infolding は、腺を囲む疎性結合織中の血管から水分や水溶性物質を吸収するためのもの²⁰⁾と考えられている。山羊の乳腺細胞では泌乳中にのみ basal infolding が認められることから、これが乳の合成・分泌に何らかの形で関与していることは確かであるが、その直接的な機能は解明できなかった。

乳管洞の機能についてはほとんど知られていない。発情ラットの乳腺大導管において、ズダン好性脂肪滴を含む上皮細胞が散在するのが認められ²¹⁾、また泌乳中マウスの tertiary duct の上皮細胞では電顕的に脂肪滴や乳蛋白粒子が認められるが、上皮細胞が2～3層の配列を示す primary duct ではそのような生合成活動は見られない⁷⁾という。今回観察した山羊の乳管洞上皮細胞においては、泌乳期、処女期、乾乳期を通じてその微細構造にほとんど差が認められず、処女期および乾乳期、すなわち休止期の乳腺上皮細胞の構造と類似しており、乳の合成活動は見られない。従って山羊の乳管洞上皮細胞は乳分泌には関与しないようである。ただ乾乳期の乳管洞上皮細胞においては同時期の乳腺上皮細胞と同様に種々な形態を示す lysosome 様小体がしばしば認められたが、これが endocytosis によるものか、あるいは autophagy によるものかは明らかにすることができなかった。

要 約

泌乳期、成熟処女期、乾乳期の山羊における乳腺および乳管洞（乳槽）乳腺部の上皮細胞を観察し次の所見を得た。

1. 泌乳期の腺胞では大型の腺細胞が単層に配列し、拡張した腺腔内には脂肪滴などの分泌物が多量含まれている。腺細胞の遊離面には少数の短い microvilli が認められ、基底膜に接する基底面には basal infolding がよく発達し、豊富な細胞質には脂肪滴、カゼイン空胞のほか、r-ER、Golgi 装置、mitochondria などがよく発達している。カゼイン粒子は r-ER および Golgi 装置で形成され、おもに reverse pinocytosis によって腺腔へ放出されるようであり、脂肪滴は decapitation によって細胞体から分離放出される。

2. 処女期および乾乳期の腺胞では立方状の腺細胞が集合して認められ、貧弱な細胞質中には tonofilaments が豊富に存在し、r-ER、free-ribosome、mitochondria、限界膜を持った danse bodies、脂肪滴などが少数認められる。なお、乾乳期の乳腺細胞には種々な形態および大きさの lysosome 様小体がかかり多数認められる。

3. 乳管洞上皮細胞は2～3層に配列し、乾乳期のものでは同時期の乳腺細胞に見られたと同様の lysosome 様小体がしばしば認められる。このことを除けば、泌乳期、処女期、乾乳期を通じて、その微細構造に大差は認められず、処女期および乾乳期の乳腺細胞の構造とよく類似している。

この論文の要旨は第73回日本獣医学会（東京、'72）において口演発表した。

終わりに、懇切なる御指導、御助言をいただいた九州大学医学部・山元寅男教授、電顕の使用に際し親切なる御配慮をいただいた本学工学部・小佐井 昭助教授ならびに材料採取時に御協力いただいた本学部・大塚宏光助教授に深甚の謝意を表します。

文 献

- 1) Wellings, S. R., K. B. Deome and R. Dorothy: *J. Nat. Cancer Inst.*, **25** (2), 393-421 (1960).
- 2) Wellings, S. R., B. W. Grunbaum and K. B. Deome: *ibid.*, **25** (2), 423-437 (1960).
- 3) Bargmann, W., K. Eleisohauer und A. Knoop: *Z. Zellforsch.*, **53**, 545-568 (1961).
- 4) Wellings, S. R. and K. B. Deome: *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **4**, 479-485 (1961).
- 5) Wellings, S. R. and J. R. Philip: *Z. Zellforsch.*, **61**, 871-882 (1964).
- 6) Miyawaki, H.: *J. Nat. Cancer Inst.*, **34** (5), 601-623 (1965).
- 7) Sekhri, K. K., D.R. Pitelka and K. B. Deome: *ibid.*, **39** (3), 459-490 (1967).
- 8) Stein, O. and Y. Stein: *J. Cell Biol.*, **34**, 251-263 (1967).
- 9) Murad, T.M.: *Anat. Rec.*, **167**, 17-36 (1970).
- 10) Kosugiyama, M.: *Jap. J. Zootech. Sci.*, **42** (7), 358-360 (1971).
- 11) Chentsov, Y. S.: *Acta Un. Int. Cancr.*, **20**, 1377-1378 (1964).
- 12) Helminen, H. J. and J. L. E. Ericsson: *J. Ultrastruct. Res.*, **25**, 193-213 (1968).
- 13) Kurosumi, K., Y. Kobayashi and N. Baba: *Exp. Cell Res.*, **50** (1), 177-192 (1968).
- 14) Feldman, J. D.: *Lab. Invest.*, **10** (2), 238-255 (1961).
- 15) Wooding, F. B. P.: *J. Cell Sci.*, **9**, 805-821 (1971).
- 16) 加藤嘉太郎：家畜比較解剖図説（下巻），pp. 614-617，養賢堂，東京（1971）。
- 17) 星冬四郎，内藤元男：泌乳，pp. 9-14，東京大学出版会，東京（1968）。
- 18) 山元寅男：解剖誌，**38** (2)，124-128（1963）。
- 19) Bargmann, W. and U. Welsch (1969): cited from 15).
- 20) Kurosumi, K., T. Kitamura and T. Iijima: *Arch. Hist. Jap.*, **16** (4), 523-566 (1959).
- 21) Dempsey, E. W. (1947): cited from "Milk: the Mammary Gland and its Secretion (S. K. Kon and A.T. Cowie)" Volume I, p. 84, Academic Press, New York and London (1961).

Summary

The goat's mammary gland and the gland cisterns of udder cisterns were examined by light and electron microscopy. The specimens from 3 lactating, 1 adult virgin and 1 involuted dry phase female were fixed in ice-cold 1 or 2% O_3O_4 buffered with s-Collidine at pH 7.4. After 2-3 hours of fixation, the tissue blocks were dehydrated in a series of graded ethanol, and embedded in Epon 812. Ultrathin sections for electron microscopy were stained with uranyl acetate and lead citrate, and examined in a Hitachi HU-11 D-S electron microscope. For light microscopy, thicker sections from the same blocks were stained with toluidine blue. The observations are summarized as follows:

1. In lactating mammary alveoli, large glandular cells appear as a single layer. The alveolar lumens are distended with milk. A few small microvilli are present at the luminal surfaces of the secretory cells, and the basal surfaces along the basement membranes show well developed basal infoldings. The cytoplasm has many lipid droplets, casein vacuoles, r-ER, mitochondria and well developed Golgi apparatus. The casein particles seem to be formed at r-ER and the Golgi apparatus and discharged into the lumen by means of reverse pinocytosis. The lipid droplets are released by way of the decapitation.

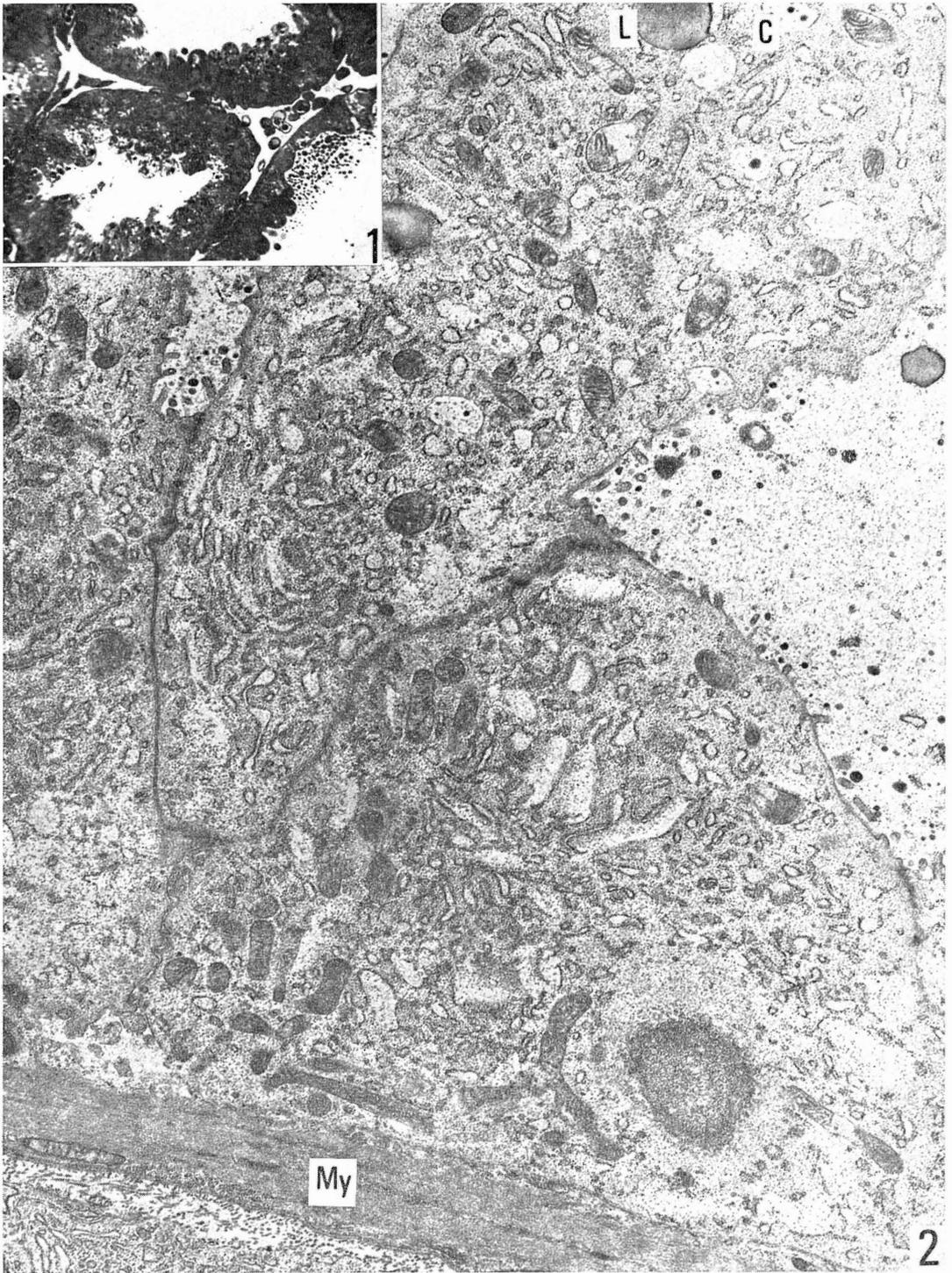
2. In the resting udder from an adult virgin or an involuted dry phase female, cuboidal gland cells gather up to form the alveoli. Although the acinal cells are rich in distinct tonofilaments which are scattered throughout the poor cytoplasm, but contain small numbers of r-ER, free-ribosome, mitochondria, lipid droplets and dense bodies. The cells of involuted dry phase, besides, have a considerable number of various lysosomal bodies.

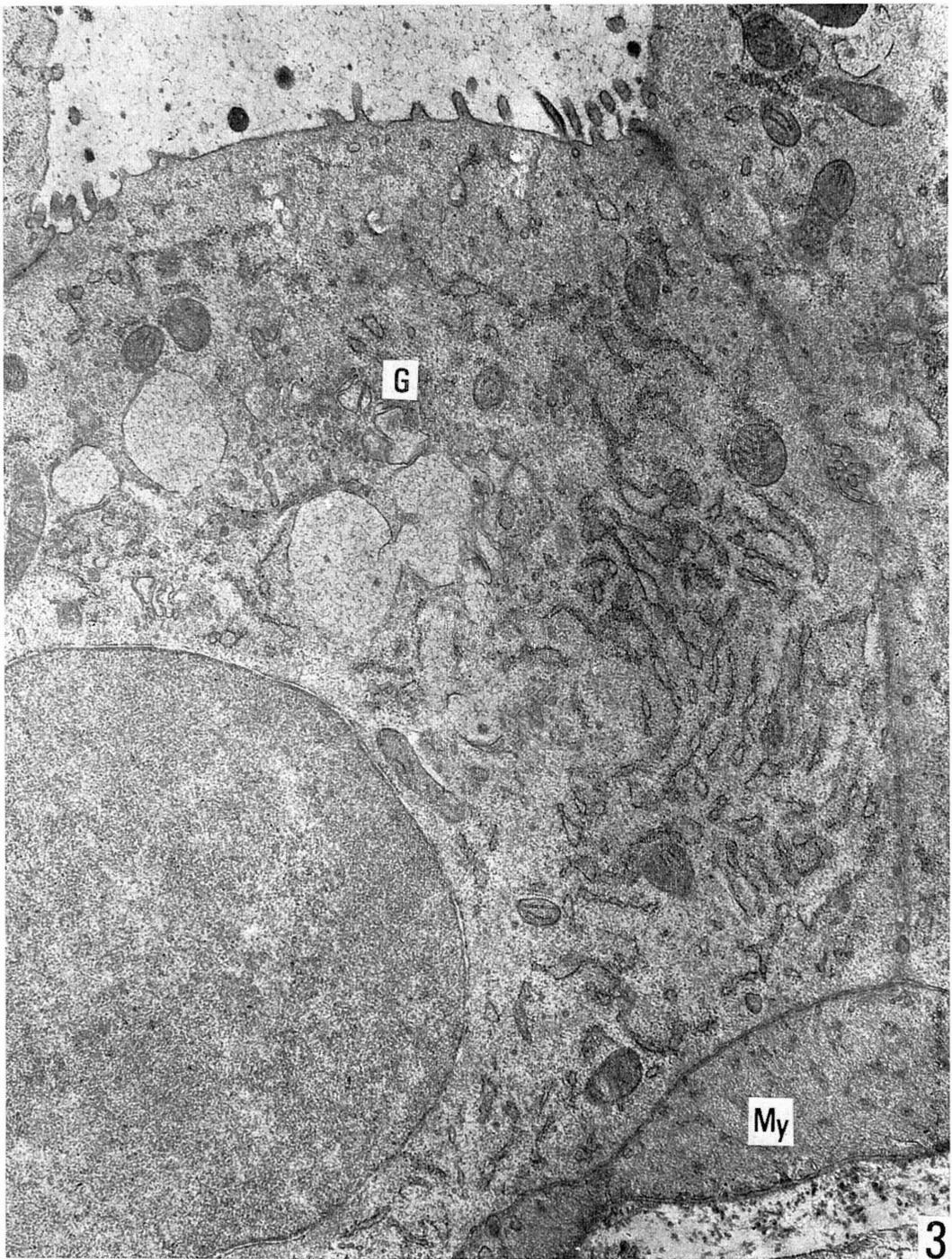
3. The gland cisterns of udder cisterns are surrounded by 2 or 3 layers of

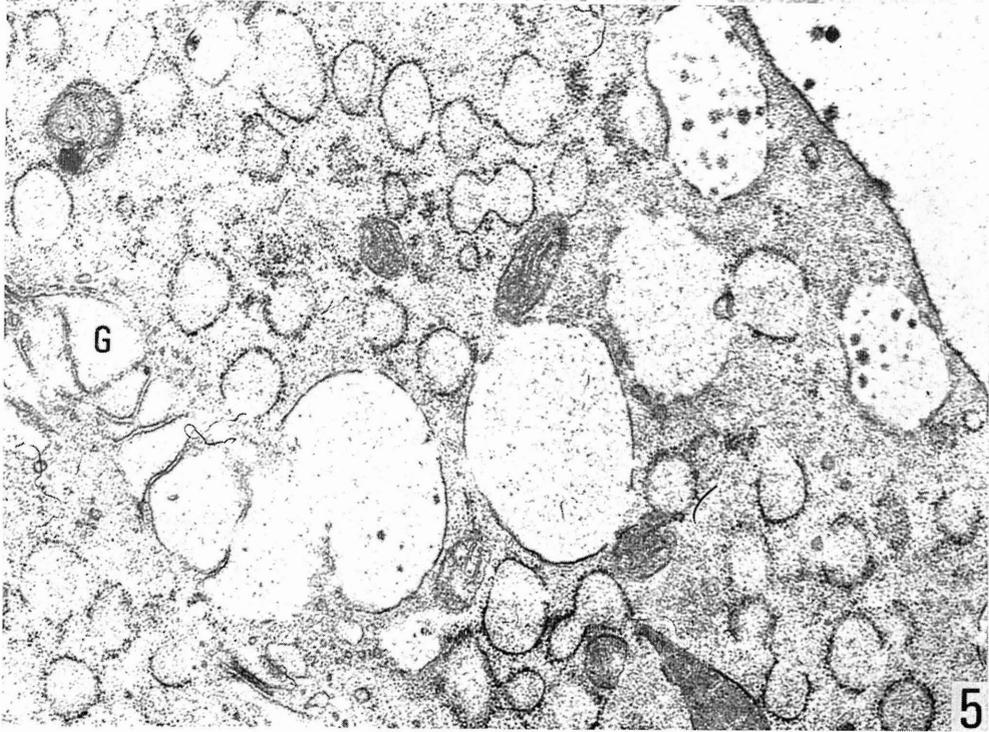
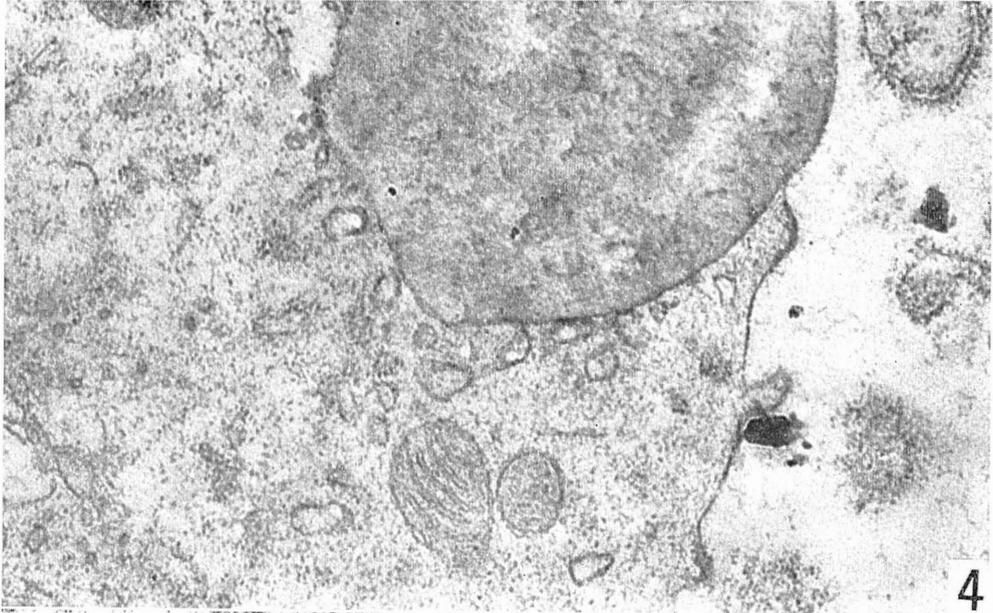
sinus epithelial cells. In the whole examination, the sinus epithelial cells appeared to have no clear distinction of their fine structure and bore a resemblance to the acinal cells of the adult virgin or the involuted dry phase female, but the sinus cells of the involuted dry phase again have a considerable number of various lysosomal bodies.

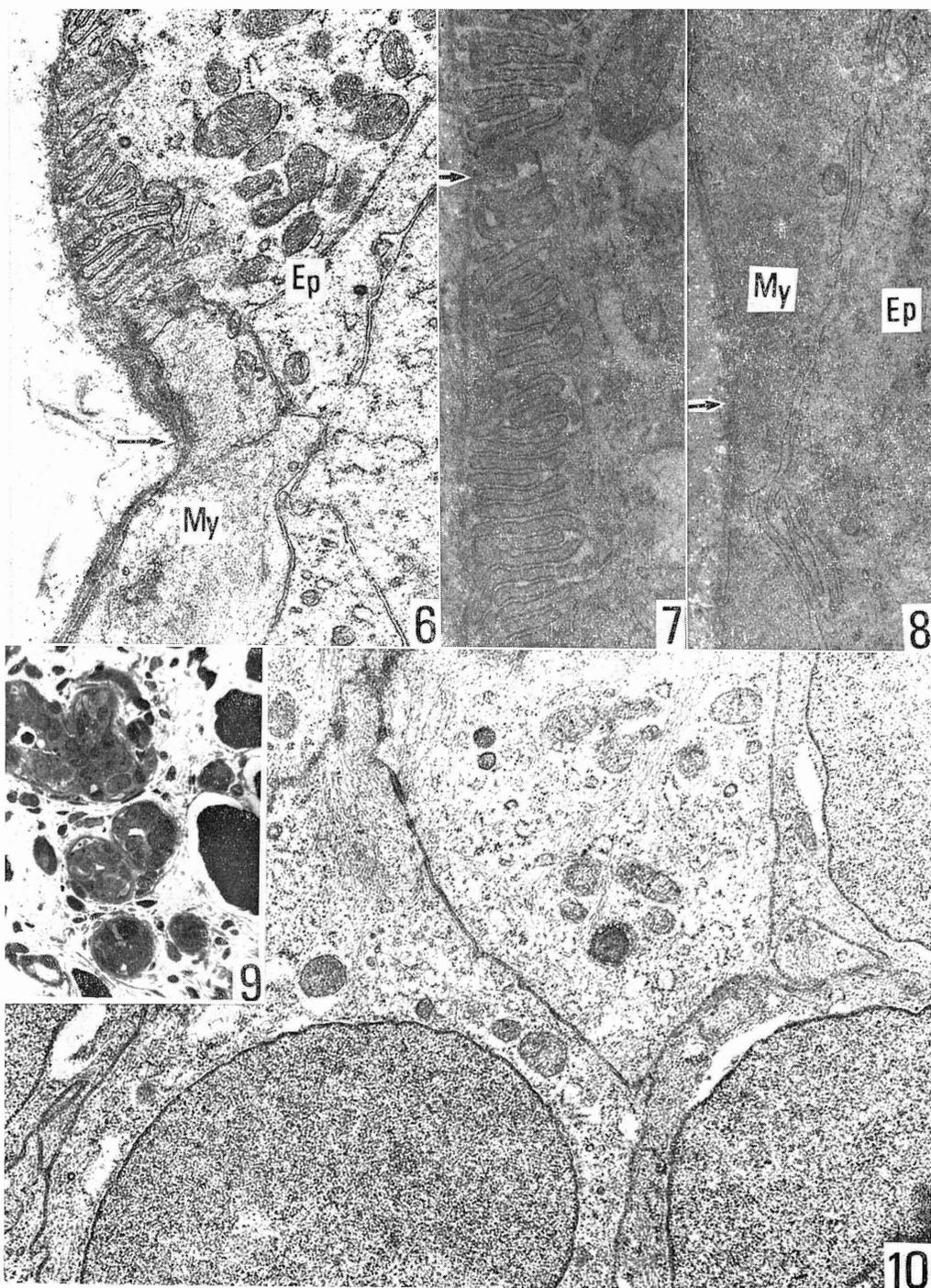
Explanation of Figures

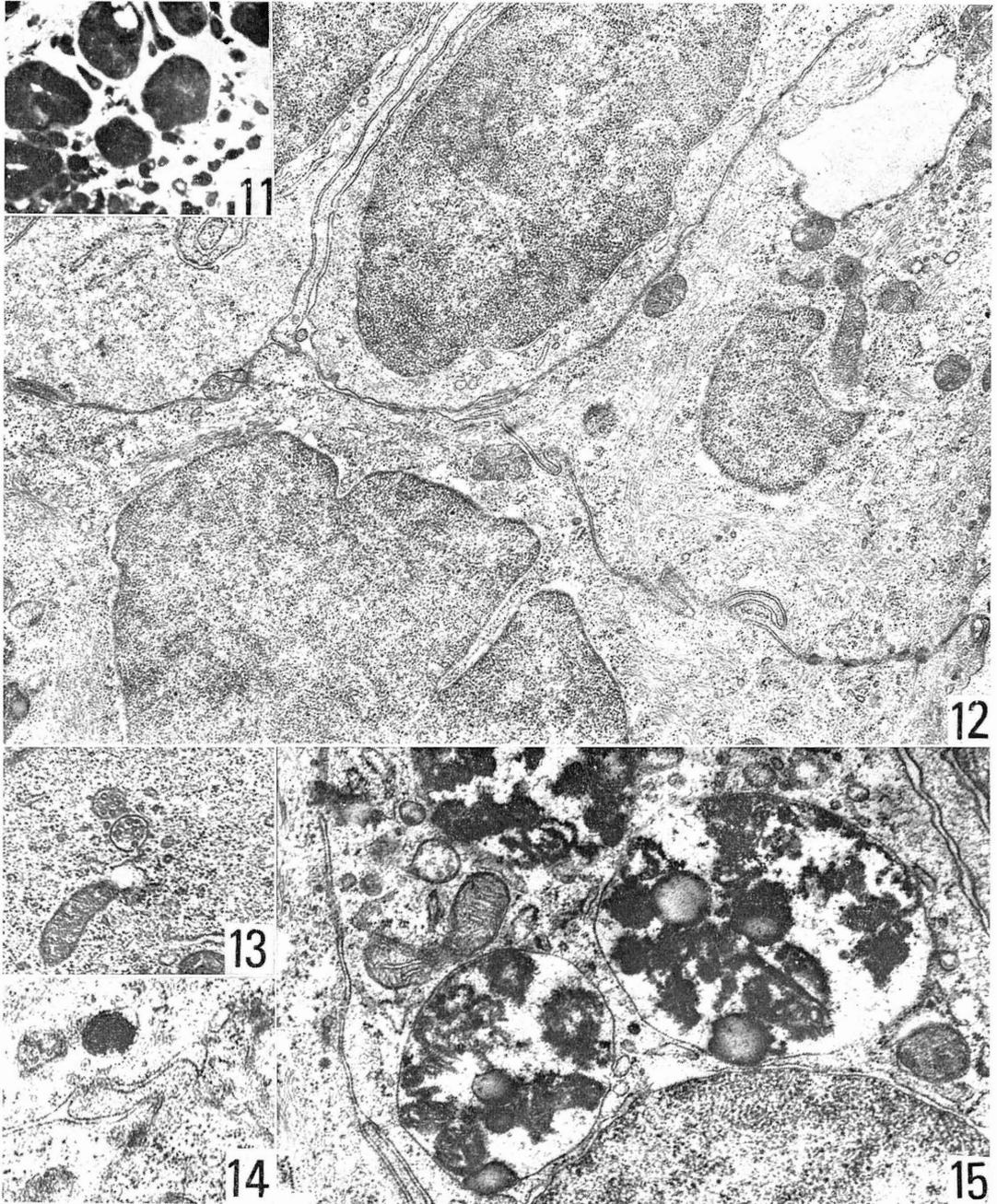
- Fig. 1. Epon embedded and toluidin blue stained section from a lactating udder. $\times 590$.
Fig. 2. Electron micrograph of lactating glandular cells and part of myoepithelium (My). L: lipid droplet, C: casein vacuole. $\times 14,300$.
Fig. 3. Parts of lactating glandular cells and myoepithelium (My). G: Golgi apparatus. $\times 13,600$.
Fig. 4. Lipid droplet in the lactating acinar cell. $\times 26,400$.
Fig. 5. Golgi apparatus (G) and casein vacuoles in a lactating glandular cell. $\times 36,400$.
Fig. 6. Parts of epithelial cells (Ep), myoepithelium (My) and basement membrane (arrow). $\times 30,300$.
Fig. 7. Parts of epithelial cell and basement membrane (arrow). $\times 23,300$.
Fig. 8. Parts of epithelial cell (Ep), myoepithelium (My) and basement membrane (arrow). $\times 16,000$.
Figs. 6-8 show the basal infoldings of lactating glandular cells.
Fig. 9. Light micrograph of goat's udder from a virgin female. $\times 630$.
Fig. 10. Electron micrograph of epithelial cells from a virgin female. $\times 6,200$.
Fig. 11. Epon embedded and toluidin blue stained section from a involuted dry phase udder. $\times 670$.
Fig. 12. Epithelial cells of a involuted dry phase udder. $\times 24,800$.
Fig. 13. Multivesicular bodies in the epithelial cell of a involuted dry phase udder. $\times 31,700$.
Fig. 14. A lysosomal body in the glandular cell of a involuted dry phase udder. $\times 48,000$.
Fig. 15. Large lysosomal bodies at dry Phase. $\times 36,600$.
Fig. 16. The wall of the gland cistern of udder cistern from a lactating goat. $\times 650$.
Fig. 17. Electron micrograph of the sinus epithelial cells from a same block with Fig. 16. $\times 6,900$.
Fig. 18. Light micrograph of the gland cistern of udder cistern from a virgin female. $\times 900$.
Fig. 19. Sinus epithelial cell of a virgin female. $\times 14,500$.
Fig. 20. The gland cistern of udder cistern from a involuted dry phase female. $\times 680$.
Fig. 21. Sinus epithelial cells of a involuted dry phase udder. $\times 18,700$.













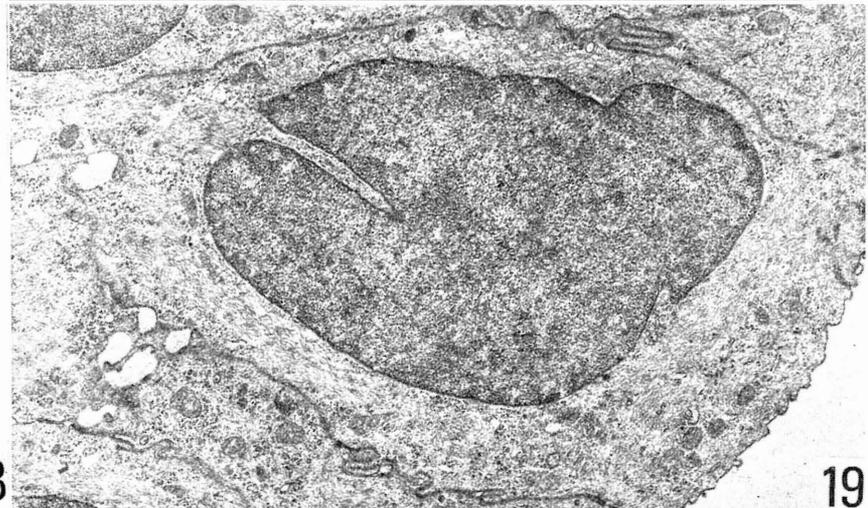
16



17



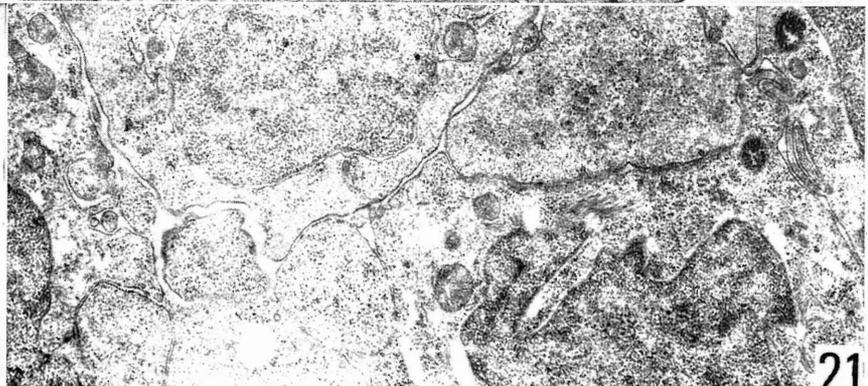
18



19



20



21