

## 卵巣除去未成熟マウスの乳腺の血管におよぼすエストロゲン およびプロジェステロン投与の影響

松元光春・西中川 駿・大塚閏一

(家畜解剖学研究室)

平成4年8月10日 受理

### Effects of Estrogen and Progesterone on the Blood Vessels of Mammary Gland in Ovariectomized Immature Mice

Mitsuharu MATSUMOTO, Hayao NISHINAKAGAWA and Junichi OTSUKA

(Laboratory of Veterinary Anatomy)

#### 緒 言

妊娠、泌乳という生理的变化にともなって、マウスの乳腺実質は、budが分化、増殖して腺胞を形成し、そこに分布する血管は、とくに泌乳期に最も密になることが知られている<sup>1, 2, 11, 16, 21, 23</sup>。著者らはこれまで妊娠、泌乳および離乳期における乳腺の実質と血管構築ならびに毛細血管の微細構造との関連を観察し、血管の立体構築ならびに内皮細胞の飲小胞の数、辺縁ヒダおよび微絨毛様突起の長さの変化は、泌乳期を頂点とした機能形態と深い関連を有することを指摘した<sup>13</sup>。

一方、乳腺実質の発達は、下垂体、卵巣などから分泌されるホルモンによって支配されており、未成熟期に卵巣を除去すると、乳腺の導管の伸長ならびにbudの増殖、分化は停止することが知られている<sup>4, 25</sup>。また、成熟期に卵巣を除去すると、導管ならびにbudは退縮するが、血管分布はそれほど影響を受けず、これにestradiolを単独またはestradiolおよびprogesteroneを併用投与すると、実質の発達とその血管分布が密になることが報告されている<sup>16, 21</sup>。

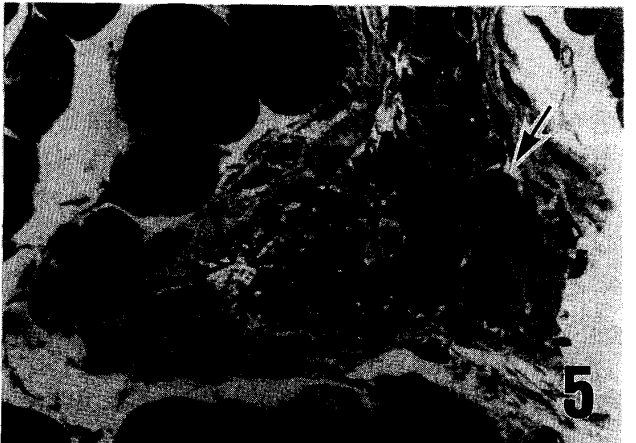
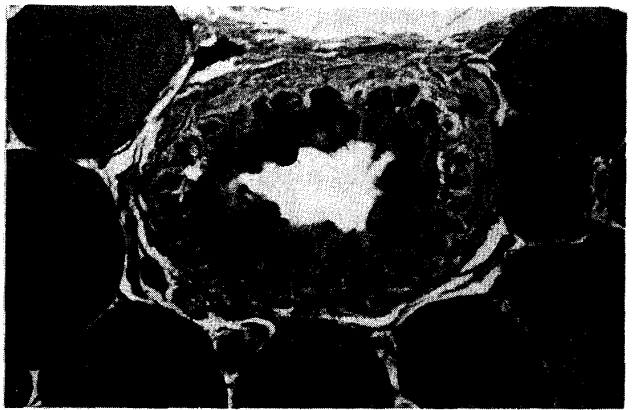
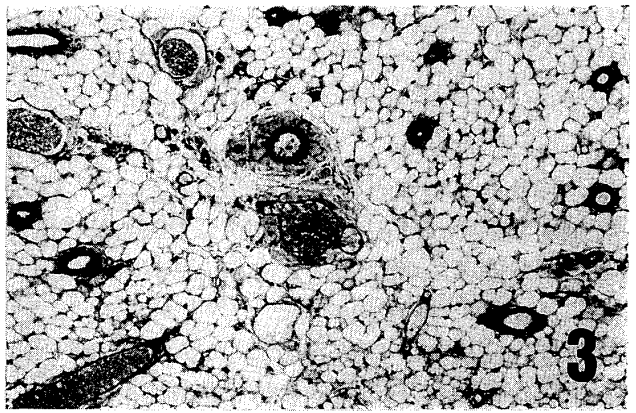
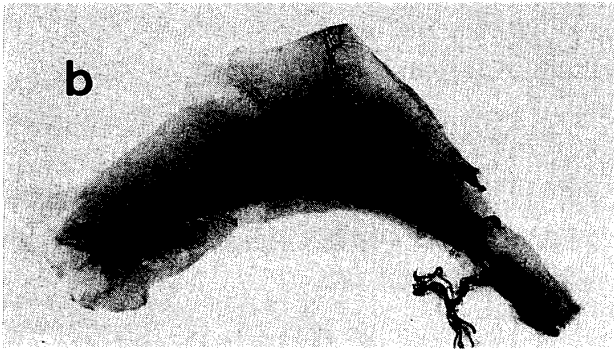
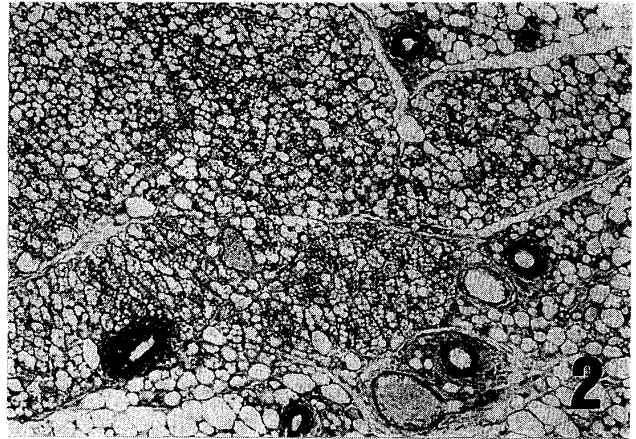
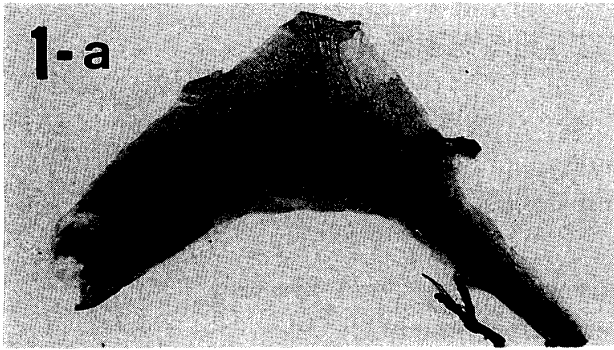
著者らは前報<sup>13</sup>で、未成熟マウスの卵巣を除去し、成熟時に卵巣ホルモンの投与を行い、腹鼠径部第1乳腺に分布する主要血管の外径、乳腺実質および間質の発達程度ならびに乳腺上皮細胞と毛細血管内皮細胞の超微細構造がエストロゲンとプロジェステロンの併用投与によって著しく発達することを報告した。そこで今回は、ホルモン投与時期の相違による差を前報と比較することを目的として、未成熟マウスの卵巣を除去し、エストロゲンおよびプロジェ

ステロン投与を行い、それらのホルモンが乳腺の血管構造におよぼす影響を形態計測、光顕および透過電顕を用いて検索した。

#### 材料と方法

材料にはJCL-ICR雌マウス50例を用いた。マウスは生後21日齢で、ペントバルビタールナトリウム麻酔下で背側臍部より卵巣摘出を行い、8日後の29日齢よりsesame oil (Control群), estradiol (E投与群, 20  $\mu$ g/ml in sesame oil), progesterone (P投与群, 20mg/ml in sesame oil) および同濃度のestradiolとprogesteroneの併用 (E+P投与群) をそれぞれ0.1mlずつ隔日に7回投与し、最終投与日の2日後(43日齢)に検索した。また、対照として同日齢の無処置マウスを用いた。マウスは市販の飼料(MF, オリエンタル酵母K.K)と水を自由に摂取させた。

検索方法は前報<sup>13</sup>と同様で、腹鼠径部第1乳腺に分布する主要血管である深腸骨回旋動・静脈、浅後腹壁動・静脈の外径を測定した。次に、腹鼠径部第1乳腺のwhole mount標本作製し、乳腺実質および実質の発達予定域を示す乳腺域(以下、fat padと記す)の面積を画像解析装置(Nikon Cosmozone Is)を用いて測定した。一方、乳腺の光顕用試料は常法によりパラフィン包埋後、6  $\mu$ mの切片を作製して、hematoxylin-eosin, azanおよび弾性線維(Weigert's resorcin fuchsin法)染色を施した。また、透過電顕用試料は、腹鼠径部第1乳腺の小片を2.5%グルタルアルデヒドと2%オスミウム酸で二重固定し、常法によりEpon 812に包埋した。1  $\mu$ mの厚切り切片は1% toluidine blueで染色し、



- Fig. 1. Whole mount samples of the first abdomino-inguinal mammary gland in an intact (a) immature mouse, and an ovariectomized immature mouse treated with sesame oil (b), estradiol (E) (c), progesterone (P) (d) and E+P (e), respectively.  $\times 2.2$ .
- Fig. 2. Cross section near the inguinal lymph node of the mammary gland of an ovariectomized immature mouse treated with P. Numerous multilocular fat cells are accumulated around the main vessel. H-E stain.  $\times 175$ .
- Fig. 3. Cross section near the inguinal lymph node of the mammary gland of an ovariectomized immature mouse treated with E+P. Fat cells are mostly of the unilocular type. Many ducts and buds are scattered in the adipose tissue. H-E stain.  $\times 175$ .
- Fig. 4. Mammary duct of an ovariectomized immature mouse treated with sesame oil. A few capillaries are located around the duct. Semithin section stained with toluidine blue.  $\times 1,000$ .
- Fig. 5. Mammary alveolus of an ovariectomized immature mouse treated with E+P. Alveolar epithelial cell shows mitotic figure (arrow). Many capillaries are located around the alveolus. Semithin section stained with toluidine blue.  $\times 1,000$ .

光顕で検索した。超薄切片は酢酸ウラニルとクエン酸鉛で二重染色を施し、透過電顕 (JEM 100 C) で加速電圧80kVで観察した。

## 結 果

### 1. 乳腺実質および fat pad の面積

まず、whole mount 標本で乳腺実質の発達状態をみると、無処置群の導管は鼠径リンパ節と背側端との中間位まで広がり、分枝も多く、また、bud も数多くみられた (Fig. 1a)。Sesame oil のみを投与した Control 群の導管は鼠径リンパ節付近までみられるが、分枝は少数で、end bud は萎縮していた (Fig. 1b)。E 投与群の導管は鼠径リンパ節をこえて伸長しているものの分枝は少なかった。しかし、導管の径は太く、end bud は大きく膨らんでいた (Fig. 1c)。P 投与群の導管はほぼ鼠径リンパ節まで伸長し、E 投与群より分枝が多かったが、end bud

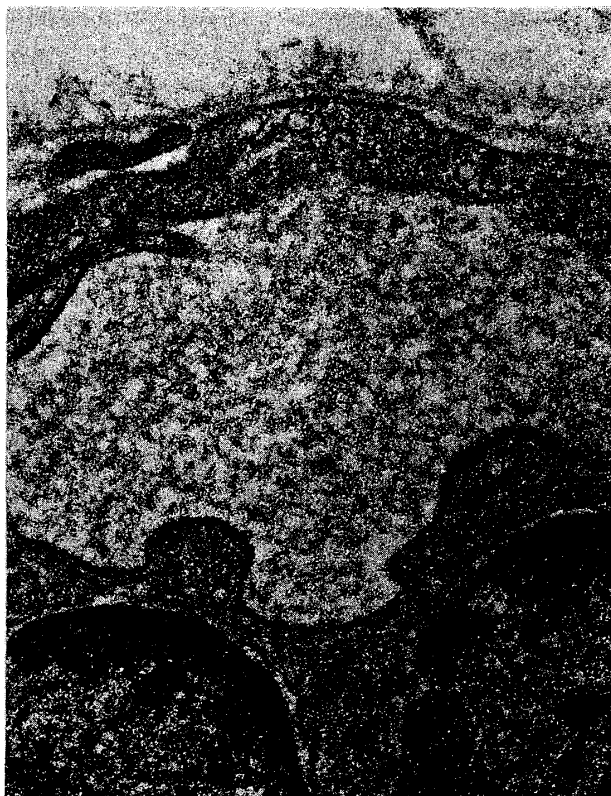
は退縮していた (Fig. 1d)。E+P 投与群の導管は E 投与群よりさらに伸長し、分枝は無処置群よりも多くみられ、また、bud の増殖および分化も著しかった (Fig. 1e)。

Whole mount 標本における乳腺実質および fat pad の面積の測定結果と指数 (実質/fat pad, %) を Table 1 に示した。Fat pad の面積は、卵巣除去群と無処置群との間に有意差はみられなかった。一方、実質の面積は、無処置群では  $90.5 \pm 5.3 \text{mm}^2$  (平均値  $\pm$  標準誤差) であり、Control 群、E および P 投与群より有意に大きかった。卵巣除去群では、E+P 投与群が  $85.2 \pm 5.6 \text{mm}^2$  と他の 3 群より有意に大きく、次いで E 投与群が  $66.0 \pm 3.5 \text{mm}^2$  で、Control 群および P 投与群より有意に大きかった。P 投与群 ( $45.7 \pm 4.3 \text{mm}^2$ ) は Control 群 ( $22.6 \pm 2.7 \text{mm}^2$ ) より有意に大きかった。なお、fat pad 内に占める実質の割合は実質面積とまったく同じ傾向を示した。

Table 1. Area of fat pad and parenchyma ( $\text{mm}^2$ ) of the first abdomino-inguinal mammary gland in mice, and index (parenchyma/fat pad, %). Each value shows mean  $\pm$  SEM.

	Intact n = 6	Ovariectomy			
		Control n = 14	E n = 10	P n = 10	E + P n = 9
fat pad	$172.8 \pm 11.5$	$178.3 \pm 5.4$	$183.4 \pm 6.0$	$197.3 \pm 8.2$	$192.8 \pm 5.7$
parenchyma	$90.5 \pm 5.3$	$22.6 \pm 2.7$	$66.0 \pm 3.5$	$45.7 \pm 4.3$	$85.2 \pm 5.6$
index	$52.8 \pm 3.0$	$12.8 \pm 1.6$	$36.1 \pm 1.9$	$22.8 \pm 1.4$	$44.3 \pm 2.6$

Control, E and P indicate sesame oil, estradiol and progesterone administration, respectively.



- Fig. 6. Epithelial cells of a mammary duct in an ovariectomized immature mouse treated with P.  $\times 12,000$ .  
 Fig. 7. Capillary around a mammary duct in an ovariectomized immature mouse treated with P.  $\times 30,000$ .  
 Fig. 8. Epithelial cells of a mammary bud in an ovariectomized immature mouse treated with E+P. L; lipid droplet.  $\times 12,000$ .  
 Fig. 9. Capillary beneath a mammary bud in an ovariectomized immature mouse treated with E+P. Note numerous pinocytotic vesicles in the endothelial cells.  $\times 24,000$ .

Table 2. Diameters of blood vessels of mammary gland in mice ( $\mu\text{m}$ ). Each value shows mean  $\pm$  SEM.

	Intact n=12	Ovariectomy			
		Control n=18	E n=14	P n=14	E+P n=10
<i>A. circumflexa ilium profunda</i>	137.5 $\pm$ 7.8	118.0 $\pm$ 8.0	132.1 $\pm$ 8.8	132.1 $\pm$ 7.6	145.0 $\pm$ 12.2
<i>V. circumflexa ilium profunda</i>	725.0 $\pm$ 28.0	623.6 $\pm$ 24.7	753.5 $\pm$ 31.7	678.5 $\pm$ 20.1	852.5 $\pm$ 40.9
<i>A. epigastrica caudalis superficialis</i>	150.0 $\pm$ 8.1	137.5 $\pm$ 9.3	146.4 $\pm$ 8.6	142.8 $\pm$ 9.6	152.5 $\pm$ 10.1
<i>V. epigastrica caudalis superficialis</i>	406.2 $\pm$ 10.7	391.6 $\pm$ 9.4	408.9 $\pm$ 8.9	405.3 $\pm$ 10.8	426.7 $\pm$ 12.4

Control, E and P indicate sesame oil, estradiol and progesterone administration, respectively.

## 2. 血管の外径

腹鼠径部第1乳腺の腰部から入る深腸骨回旋動・静脈と、鼠径部から入る浅後腹壁動・静脈の外径を測定した。各血管の大きさは左右で差がなかったのので、左右をまとめてTable 2に示した。

深腸骨回旋動脈の外径は、E+P投与群が最も大きい傾向を示した。深腸骨回旋静脈では、E+P投与群が最も大きく、次いでE投与群、無処置群、P投与群およびControl群の順で、E+P投与群はControl群、P投与群より、また、E投与群はControl群よりそれぞれ有意に大きかった。浅後腹壁動脈の外径は、各群間に有意の差が認められなかったが、浅後腹壁静脈では、E+P投与群がControl群より有意に大きかった。

## 3. 組織学的観察

乳腺内の組織構造の差異をみるために、深腸骨回旋動・静脈の乳腺への進入部位、鼠径リンパ節の前後および浅後腹壁動・静脈の乳腺への進入部位の4部位について各群間の比較を行った。

無処置群では、導管およびbudの細胞は立方形で、核は大きくて明るく、円形ないし卵円形を呈するものが多かった。間質は、各部位ともほとんどunilocular脂肪細胞で占められ、乳腺内主要動、静脈の周囲（以下、中央部と略す）にmultilocular脂肪細胞が散在あるいは集塊をなしていた。Control群では、実質の上皮細胞は萎縮し、円柱状で、核は暗くて楕円形であった。脂肪細胞は、multilocular型がかなり多くみられ、鼠径リンパ節の部位ではunilocular型より広い面積を占め、数個の小葉ではmultilocular型のみで構成されていた。E

投与群の導管およびbudの細胞および脂肪細胞は無処置群と同様の構成であった。P投与群では、導管およびbudの細胞はControl群のものと類似していた。脂肪細胞は各部位とも、中央部にmultilocular型が多くみられ、この型の脂肪細胞のみで構成されている小葉もみられた（Fig. 2）。E+P投与群では、導管およびbudの上皮細胞は無処置群のものと類似していたが、budにmitosisが多く観察され、また、一部に腺胞の形成も認められた（Fig. 5）。脂肪細胞は鼠径リンパ節の部位および浅後腹壁動・静脈の進入部位の中央部にmultilocular型がわずかにみられた（Fig. 3）。

一方、導管やbudに分布する毛細血管の断面は、無処置群では、平均約3個みられたが、Control群（Fig. 4）およびP投与群では、平均約2.5個と少なかった。E投与群では、無処置群と同程度の毛細血管が分布し（平均約3.5個）、E+P投与群では、血管の分布密度はさらに高かった（平均約4個、Fig. 5）。

## 4. 電顕的観察

無処置群の乳腺導管およびbudの上皮細胞の核は、楕円形でクロマチンが辺縁部にあるもの、不整形で深い切痕を有しクロマチンが多く、塊状になっているものがみられた。細胞質内には、円形あるいは短桿状のミトコンドリア、糸状のrERおよびリボゾームが散在し、ゴルジ装置はほとんど発達していなかった。また、budの上皮細胞には小さな脂肪滴を1ないし数個もつものもみられた。Control群およびP投与群（Fig. 6）では、上皮細胞の核はさらに不整形で深い切痕を有し、クロマチンが多く塊

状になっている部位もあった。細胞質は狭く、小器官も少なく、ゴルジ装置も発達していなかった。E投与群では核が円形のものもみられ、ミトコンドリア、リボソームが多く、rER、ゴルジ装置がやや発達していた。また、小さな脂肪滴を2ないし数個もつ細胞もみられた。E+P投与群の上皮細胞は、核が円形ないし卵円形でクロマチンが少なく核周囲に凝集しているものが多く、ミトコンドリア、リボソームが多く、rER、ゴルジ装置が卵巣除去群の中で最もよく発達していた (Fig. 8)。核下部あるいは核上部に径が $0.5\sim 1.5\mu\text{m}$ の脂肪滴を数個から十数個もつ細胞もみられた。

一方、導管や脂肪細胞に分布する毛細血管は、無処置群では飲小胞は多いが、被覆小胞はきわめて少なく、また、短い辺縁ヒダと微絨毛様突起を有していた。EおよびE+P投与群 (Fig. 9) では、Control群およびP投与群 (Fig. 7) より飲小胞が数多くみられ、また、辺縁ヒダおよび微絨毛様突起がやや長かった。

## 考 察

乳腺では、エストロジェンが導管の伸長に、プロジェステロンが腺胞の発育に作用していることはよく知られている<sup>15,20</sup>。今回の実験で、卵巣を摘出すると、乳腺実質はほとんど摘出時の状態で停止していた。この状態の時にエストロジェンおよびプロジェステロンを単独あるいは併用投与すると、乳腺の発達は、E+P投与群で最大で、次いでE投与群であった。E+P投与群では、導管の分枝およびbudの増殖、分化の程度は無処置群と同程度に達していた。これらの所見は、エストロジェンおよびプロジェステロンの作用によって、乳腺の発達が促進されるという過去の報告<sup>15,21,24</sup>とよく一致している。また、P投与群はE投与群と比較して分枝が多かったが、このことはプロジェステロンの単独作用によるものかあるいは他のホルモンとの相互作用によって起こったのかは今回の実験では明らかにできなかった。

今回の実験で、実質の発達予定域を示すfat padの面積は各群間で差がみられなかったが、組織学的にはEおよびE+P投与群の方がControl群およびP投与群と比較して中央部のmultilocular脂肪細胞が少なく、このことは前報<sup>10</sup>と一致している。しかしながら、いずれの群もmultilocular脂肪細胞のみで構成される小葉が検索した4部位のすべてに

みられたことは前報と異なっていた。マウスの乳腺脂肪細胞は生後50日齢でその種類と大きさが確立すると報告されており<sup>10</sup>、本実験が50日齢以前に行われているので、脂肪細胞も発育中ではあるが、エストロジェンがmultilocular型からunilocular型への移行を促進している可能性があることが示唆される。また、脂肪細胞の発達は血管床の形成を伴うので、脂肪組織が乳腺実質の発達のベースになっているという考え<sup>2,3,17,18</sup>を支持している。

Haslam and Shyamala<sup>10</sup>によれば、乳腺脂肪組織中にはエストロジェンレセプターが乳腺上皮細胞中とほぼ同量含まれるが、プロジェステロンレセプターはそのほとんどが上皮細胞中に存在し、さらにその合成はエストロジェンの調節下におかれているという。また、Shyamala and Ferenczy<sup>20</sup>は乳腺のfat padおよび上皮細胞はestradiolに反応し、少なくとも乳腺上皮細胞の増殖に関して、乳腺fat padはエストロジェンが作用する最初の部位であろうと述べている。EおよびE+P投与群で、導管の伸長とbudの増殖および分化ならびにfat padの脂肪細胞の変化がみられたのに対し、P投与群で実質および脂肪組織の形態がControl群と類似していた。これらの所見から、エストロジェンが乳腺上皮細胞の増殖と分化を引き起こし、さらにプロジェステロンレセプターの調節に作用していることが示唆される。

一方、乳腺内の血管分布について、前報<sup>12</sup>で、E単独投与よりもE+Pを投与した方が腺胞、導管の発育が促進され、それらの周囲には毛細血管叢が発達することを報告した。今回の実験においても、E+P投与群では導管周囲に毛細血管叢が形成されていたことが確認された。血管の増加により乳腺内を循環する血液量が増加することが推測された。

Forbesら<sup>5-9</sup>は、卵巣および子宮静脈の外径がステロイドホルモンの投与によって変化することから、これらの静脈がホルモンに直接反応する可能性のあることを示唆している。一方、Perrot-Appianatら<sup>19</sup>は免疫組織化学的方法を用いて子宮の動脈の平滑筋細胞にエストロジェンおよびプロジェステロンレセプターが存在することを報告している。前報<sup>10</sup>で腹鼠径部第1乳腺に分布する深腸骨回旋静脈ならびに浅後腹壁静脈の外径が、E+Pの投与により有意に増大することを報告し、また、今回の検索においても同様の所見が得られた。従って、深腸骨回旋動・静脈ならびに浅後腹壁動・静脈の動態を明らか

にするためには両ホルモンレセプターの存在を確認する必要がある。

Mills and Topper<sup>14)</sup>は妊娠中期のマウス乳腺を器官培養し、腺胞上皮細胞は、インシュリン、ハイドロコチゾンおよびプロラクチンの存在下で微細構造の変化が完成すると報告し、このことはこれら3種類のホルモンが乳腺上皮細胞の機能的分化に影響をおよぼしていることを示している。また、著者らは前報<sup>12)</sup>で、乳腺の上皮細胞および毛細血管の超微細構造はとくにE+P投与により発達することを報告した。今回の実験で得られた所見を前報のものと比較すると、上皮細胞の分化の程度が低かったことから、ホルモンに対する感受性が低いことが推測される。しかし、毛細血管の微細構造は、上皮細胞の分化の程度に対応して変化していたことから、卵巣ホルモンと乳腺実質および血管の発達との間に密接な関連があることが示唆される。

### 要 約

21日齢で卵巣除去したマウスの腹鼠径部第1乳腺に分布する主要血管である深腸骨回旋動・静脈および浅後腹壁動・静脈の外径と、乳腺実質ならびに間質の変化におよぼすエストロゲン (E) とプロゲステロン (P) の影響について、形態計測、光顕および透過電顕を用いて検索した。

1. 腹鼠径部第1乳腺のfat padの面積は、各群間で差はなかったが、実質の面積ならびに指数(実質/fat pad, %)は、E+P投与群が最も大きく、次いでE投与群、P投与群、Control群の順で、各群間に有意の差がみられた。

2. 深腸骨回旋静脈の外径は、E+P投与群がP投与群およびControl群より、また、E投与群がControl群より有意に大きかった。浅後腹壁静脈の外径は、E+P投与群がControl群より有意に大きかった。

3. 乳腺間質の脂肪細胞は、EおよびE+P投与群でunilocular型がより多くみられた。乳腺実質に分布する毛細血管はE+P投与群で最も密で、次いでE投与群であった。

4. 電顕的観察では、とくにE+P投与群の乳腺上皮細胞にミトコンドリア、リボゾームの増加、ゴルジ装置、rERの発達ならびに脂肪滴の増大が認められ、毛細血管内皮細胞でも、飲小胞の増加、辺縁ヒダおよび微絨毛様突起の長さの増大が認められた。

以上の結果より、乳腺脂肪組織は、実質の発達のベースとなることが示唆された。また、E+Pの投与により乳腺および血管の発達が促されることが明らかとなった。

### 文 献

- 1) Cole, H. A. : The mammary gland of the mouse, during the estrous cycle, pregnancy and lactation. *Proc. Roy. Soc. B.*, 114, 136-161 (1933)
- 2) Dabelow, A. : Der Entfaltungsmechanismus der Mamma. I. Das Verhalten von Gefäßsystem und Drüsenbaum während der Laktationsentwicklung der Mamma bei Maus, Ratte, Meerschweinchen und Kaninchen. *Gegenbaurs Morphologisches Jahrbuch*, 73, 69-99 (1933)
- 3) Faulkin, L. J. Jr. and DeOme, K. B. : Regulation of growth and spacing of gland elements in the mammary fat pad of the C3H mouse. *J. Natl. Cancer Inst.*, 24, 953-969 (1960)
- 4) Fekete, E., Woolley, G. and Little, C. C. : Histological changes following ovariectomy in mice. I. dba High tumor strain. *J. Exp. Med.*, 74, 1-8 (1941)
- 5) Forbes, T. R. and Glassen, G. : Steroid compounds, vasodilation, and vasoconstriction in the mouse. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 141, 237-239 (1972)
- 6) Forbes, T. R. and Taku, E. : Steroid pellets and venous diameter in orchidectomized, ovariectomized, and ovariectomized - hysterectomized mice. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 144, 356-358 (1973)
- 7) Forbes, T. R. and Taku, E. : Vein size in intact and hysterectomized mice during the estrous cycle and pregnancy. *Anat. Rec.*, 182, 61-66 (1975)
- 8) Forbes, T. R. and Taku, E. : 16  $\alpha$ -hydroxy-progesterone as a sex hormone antagonist : Effect on venous diameters in the female mouse. *Anat. Rec.*, 182, 67-70 (1975)
- 9) Forbes, T. R. and Kapadia, S. E. : Specific response of ovarian and uterine veins of mice to sex hormones. *Am. J. Anat.*, 147, 325-328 (1976)
- 10) Haslam, S. Z. and Shyamala, G. : Relative distribution of estrogen and progesterone receptors among the epithelial, adipose, and connective tissue components of the normal mammary gland. *Endocrinology*, 108, 825-830 (1981)
- 11) Iwamatsu, S., Nishinakagawa, H. and Otsuka, J. : Changes of venous size in mouse mammary glands from virgin through pregnancy, lactation, and post-weaning. *Jpn. J. Vet. Sci.*, 50, 1262-1263 (1988)
- 12) 松元光春・西中川 駿・大塚 閏一 : 卵巣除去マウスの

- 乳腺組織ならびにその血管の構造におよぼすホルモン投与の影響. 鹿大農学術報告, No. 41, 13-20 (1991)
- 13) Matsumoto, M., Nishinakagawa, H., Kurohmaru, M., Hayashi, Y. and Otsuka, J. : Pregnancy and lactation affect the microvasculature of the mammary gland in mice. *J. Vet. Med. Sci.*, 54, 937-943 (1992)
- 14) Mills, E. S. and Topper, Y. J. : Some ultrastructural effects of insulin, hydrocortisone, and prolactin on mammary gland explants. *J. Cell Biol.*, 44, 310-328 (1970)
- 15) Nandi, S. : Endocrine control of mammary gland development and function in the C3H/He mouse. *J. Natl. Cancer Inst.*, 21, 1039-1063 (1958)
- 16) 西中川 駿 : 哺乳動物乳腺の血管系に関する解剖学的研究. 鹿大農学術報告, No. 20, 1-55 (1970)
- 17) 西中川 駿・大塚閔一 : 卵巣除去下におけるマウス乳腺の血管分布について. 日獣誌, 35, 481-486 (1973)
- 18) 西中川 駿・谷川 学・大塚閔一 : マウス乳腺の脂肪組織に関する形態学的研究. I. 乳腺脂肪組織の生後発達 - 特に腹腔内脂肪組織との比較 -. 鹿大農学術報告, No. 26, 59-66 (1976)
- 19) Perrot-Appanat, M., Groyer-Picard, M. T., Garcia, E., Lorenzo, F. and Milgrom, E. : Immunocytochemical demonstration of estrogen and progesterone receptors in muscle cells of uterine arteries in rabbits and humans. *Endocrinology*, 123, 1511-1519 (1988)
- 20) Shyamala, G. and Ferenczy, A. : Mammary fat pad may be a potential site for initiation of estrogen action in normal mouse mammary glands. *Endocrinology*, 115, 1078-1081 (1984)
- 21) Soemarwoto, I. N. and Bern, H. A. : The effect of hormones on the vascular pattern of the mouse mammary gland. *Am. J. Anat.*, 103, 403-435 (1958)
- 22) Topper, Y. J. and Freeman, C. S. : Multiple hormone interactions in the developmental biology of the mammary gland. *Physiol. Rev.*, 60, 1049-1106 (1980)
- 23) Turner, C. W. and Gomez, E. T. : The normal development of the mammary gland of the male and female mouse. II. Extrauterine. *Mo. Agr. Exp. Sta. Res. Bull.*, 182, 21-43 (1933)
- 24) Turner, C. W. and Gomez, E. T. : The experimental development of the mammary gland. I. The male and female albino mouse. *Mo. Agr. Exp. Sta. Res. Bull.*, 206, 3-16 (1934)
- 25) 横山 昭・正田陽一 : 未成熟マウスの乳腺発育に於ける性的差異. I. 正常発育と去勢の影響. 日畜会報, 23, 165-171 (1953)

### Summary

Effects of estrogen and progesterone on the development of the first abdomino-inguinal mammary gland and on the associated blood vessels in ovariectomized immature mice were investigated morphometrically, and light and electron microscopically. Although there were no significant differences in the area of the fat pad of the mammary gland among the experimental groups, the area of the mammary parenchyma and diameters of the blood vessels supplying the mammary gland, i.e., *A. et V. circumflexa ilium profunda* and *A. et V. epigastrica caudalis superficialis*, reached the maximal value in ovariectomized mice treated with estradiol (E) + progesterone (P). Similarly, the blood capillaries around buds and ducts of the mammary gland were most densely distributed in E+P treated mice. In the adipose tissues of the mammary stroma in intact immature mice, fat cells were of multilocular type in the peripheral region around the main vessel, and of unilocular type in the other part. In E and E+P treated mice, however, fat cells were dominantly of unilocular type. These findings suggest that the formation of mammary fat tissue may occur in advance of that of the mammary parenchyma. By TEM, epithelial cells of the mammary parenchyma had numerous mitochondria and ribosomes, well-developed Golgi apparatus and rER, and a large number of lipid droplets. Endothelial cells of blood capillaries had also numerous pinocytotic vesicles, longer marginal folds and microvillous processes. Each organelle in these two cell types increased in number or developed to the greater degree in E+P treated mice than the other experimental groups. These observations prove the development of the mammary gland and the associated blood vessels induced by the administration of E+P in ovariectomized immature mice, and indicate a close relationship between ovarian steroid hormones and the development of the mammary parenchyma and vasculature.