

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

松元光春・西中川 駿・大塚 潤一
(家畜解剖学研究室)
平成2年8月10日 受理

Effects of Ovarian Steroid Hormones on the Mammary Tissue and the Blood Vessels of Mammary Gland in Ovariectomized Mice

Mitsuharu MATSUMOTO, Hayao NISHINAKAGAWA and Junichi OTSUKA
(Laboratory of Veterinary Anatomy)

結 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^{1,2,10,13,17,18}. 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小胞の数, 辺縁ヒダおよび微絨毛様突起の変化は, 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報告した^{11,12}.

一方, 乳腺実質の発達, 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, 乳腺の導管は伸長し, budの分化, 増殖は停止することが知られている^{3,19}. 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またはestradiolおよびprogesteroneを投与すると, 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¹⁷.

そこで今回は, 卵巣除去マウスにホルモン投与を行い, 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毛細血管内皮細胞の微細構造を光学顕微鏡的および電子顕微鏡的に観察し, 卵巣ホルモンが乳腺におよぼす影響を検索した.

材 料 と 方 法

材料にはJCL-ICR雌マウス55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

酔下で背側腰部より卵巣を摘出した. そして68日齢よりsesame oil (Oil投与群), estradiol (E投与群, 20 μ 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 (82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. 検索方法は, ペントバルビタールナトリウム麻酔下で, 腹鼠径部第1乳腺に分布する主要血管 (深腸骨回旋動・静脈, 浅後腹壁動・静脈, Fig. 1) の外径を実体顕微鏡下で接眼マイクロメーター

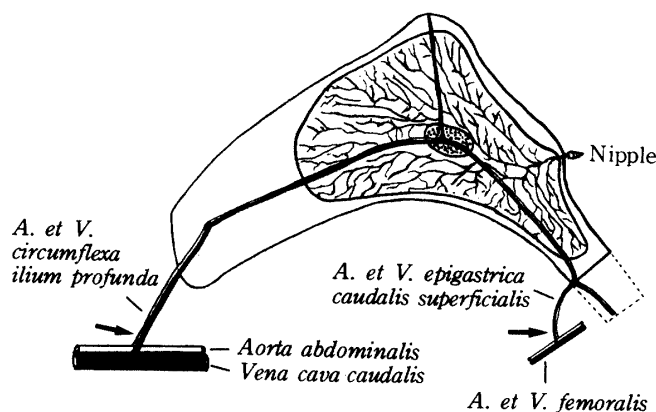


Fig.1. Schematic drawing of the 1st abdomino-inguinal mammary gland. Arrows indicate the measuring point of each vessel.

を用いて測定した. 次に, 左総頸動脈より放血後, 腹鼠径部第1乳腺をTellyesniczky液で固定後, 常法によりwhole mount標本を作成した. 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, 拡大した写真像について画像解析

装置を用いて測定した。一方、乳腺の組織標本は同じ固定液で固定後、常法によりパラフィン包埋し、6 μm の切片を作成して、hematoxylin-eosin, azanおよび弾性線維（Weigert's resorcin fuchsin法）染色を施し、導管, bud, 脂肪組織ならびに血管について観察した。また、透過型電子顕微鏡（以下、電顕と略す）用試料として、腹鼠径部第1乳腺の中心リンパ節前後の乳腺組織を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Epok 812に包埋した。1 μm の厚切り切片は1% methylene blueで染色し、光学顕微鏡で検索した。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、電顕（JEOL 100C）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

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, %）はTable 1に示した。

まず、乳腺実質の発達状態をみると、無処置マウスの導管はfat padのはほぼ全域に広がり、分枝も多く、また、budの分化、増殖も著しかった（Fig. 2a）。OilおよびP投与群の導管は細く、分枝は少数で、end budは導管の径と同程度の大きさであった（Fig. 2b,d）。E投与群の導管は中心リンパ節をこえて伸長しているが、分枝は少なかった（Fig. 2c）。E+P投与群の導管はE投与群よりさらに伸長し、多くの分枝がみられ、また、budの分化、増殖も著しく、無処置マウスのものに類似していた（Fig. 2e）。

これらの実質の面積をみると、無処置マウスは170.9 \pm 29.5mm²であり、卵巣除去マウスより有意に大きかった。卵巣除去マウスにホルモンを投与したものでは、E+P投与群が107.8 \pm 24.3mm²と他の3群より有意に大きく、次いでE投与群が69.9 \pm 19.3mm²で、Oil

Table 1. Area of fat pad and parenchyma(mm²) of the 1st abdomino-inguinal mammary gland in mice, and index(parenchyma/fat pad, %). Each value shows mean \pm SD.

	Intact	Ovariectomy			
		Oil	E	P	E+P
fat pad	238.4 \pm 47.4	255.4 \pm 48.0	261.4 \pm 34.5	283.3 \pm 59.8	261.7 \pm 39.7
parenchyma	170.9 \pm 29.5	38.5 \pm 21.4	69.9 \pm 19.3	34.0 \pm 13.4	107.8 \pm 24.3
index	72.2 \pm 7.1	14.5 \pm 5.9	27.3 \pm 9.0	11.9 \pm 4.0	41.3 \pm 8.4

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

およびP投与群より有意に大きかった。Oil投与群(38.5 \pm 21.4mm²)とP投与群(34.0 \pm 13.4mm²)の間に有意差はみられなかった。Fat padの面積は、卵巣除去マウスと無処置マウスとの間に差はみられなかった。Fat pad内に占める実質の割合をみた指数も実質面積とまったく同じ傾向を示した。

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（Fig. 1），その結果はTable 2に示した。

深腸骨回旋動脈は、左右ともE+P投与群が最も大きく、左側ではE+P投与群が無処置マウス、P投与群より、E投与群がP投与群よりそれぞれ有意に大きく、また、右側ではE+P投与群がP投与群より有意に大きかった。深腸骨回旋静脈は、左側ではE+P投与群が最も大きく、次いで無処置マウス、E、Oil、P投与群の順で、E+P投与群はOil、P投与群より、また、E投与群はP投与群よりそれぞれ有意に大きかった。右側では、さらに無処置マウスがOil、P投与群より、E投与群がOil投与群よりそれぞれ有意に大きかった。

浅後腹壁動脈は、右側ではOil、E、E+P投与群が無処置マウスより有意に大きかった。浅後腹壁静脈は、左右ともE+P投与群が最も大きい値を示したが、各群間に有意の差はみられなかった。

Table 2. Diameters of blood vessels of mammary gland in mice (μm). Each value shows mean \pm SD.

		Intact	Ovariectomy			
			Oil	E	P	E+P
A. circumflexa ilium profunda	L	165.6 \pm 18.6	160.7 \pm 34.9	185.7 \pm 24.3	160.7 \pm 13.3	189.2 \pm 13.2
	R	175.0 \pm 26.7	160.7 \pm 37.7	160.7 \pm 34.9	164.2 \pm 19.6	195.8 \pm 29.2
V. circumflexa ilium profunda	L	828.1 \pm 190.5	710.7 \pm 31.8	800.0 \pm 107.0	685.7 \pm 83.9	896.4 \pm 144.6
	R	750.0 \pm 105.2	642.8 \pm 75.9	810.7 \pm 172.5	628.5 \pm 72.7	735.7 \pm 82.7
A. epigastrica caudalis superficialis	L	150.0 \pm 20.4	175.0 \pm 28.8	160.7 \pm 19.6	175.0 \pm 28.8	167.8 \pm 27.8
	R	150.0 \pm 23.1	196.4 \pm 46.6	187.5 \pm 37.9	192.8 \pm 23.7	185.7 \pm 13.3
V. epigastrica caudalis superficialis	L	415.6 \pm 48.0	382.1 \pm 37.4	410.7 \pm 28.3	410.7 \pm 42.9	414.2 \pm 34.9
	R	434.3 \pm 29.6	392.8 \pm 64.0	400.0 \pm 40.8	408.3 \pm 20.4	432.1 \pm 55.3

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

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、中心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。

無処置マウスでは、導管およびbudの細胞は円柱ないし立方形で、核が大きくて明るく、球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、乳腺内主動、静脈の周囲(以下、中央部と略す)にわずかにmultilocular脂肪細胞がみられた。Oil投与群では、導管およびbudの細胞は萎縮し、円柱状で、核は暗くて長細かった。脂肪細胞は、中央部にmultilocular型がかなり多くみられ、リンパ節の部位ではunilocular型と同程度あるいはそれに近い面積を占めていた。また、浅後腹壁動・静脈の進入部位では、1例がmultilocular脂肪細胞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マウス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Oil投与群のものと類似していた。脂肪細胞は各部位とも比率的にはunilocular型が多いものの、中央部にはmultilocular型が多くみられた(Fig. 3)。E+P投与群では、導管およびbudの細胞は無処置マウス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. 6)。脂肪細胞は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脂肪細胞が数例にわずかにみられた(Fig. 4)。

一方、導管やbudに分布する毛細血管は、無処置マウスでは、6~10数個みられたが、Oil, P(Fig. 5)投与群では、2~数個と少なかった。E投与群では、Oil, P投与群より多くの毛細血管が分布し、E+P投与群では、血管の分布密度はさらに高くなり、無処置マウスと同程度もしくはそれ以上であった(Fig. 6)。

4. 電顕的観察

無処置マウスの導管およびbudの上皮細胞は、核が不整形のものが多く、細胞質内には、球形あるいは短桿状のミトコンドリア、遊離リボゾームが多く、rERはあまり発達せず、ゴルジ装置はほとんど発達していなかった(Fig. 7)。また、budの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。Oil, P(Fig. 9)投与群では、核がさらに不整形で深い切痕を有するものもあり、また、ミトコンドリア、遊離リボゾームが少なく、rERが発達していなかった。E投与群では核が球形のものもみられ、ミトコンドリア

ア、遊離リボゾームが多く、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、核が明るく、球形ないしは卵円形のものも多く、ミトコンドリア、遊離リボゾームが多く、rER、ゴルジ装置が各群の中で最もよく発達していた(Fig. 11)。核下部あるいは細胞頂部に核と同じくらいの大きな脂肪滴をもつ細胞や空胞内に径が100~160nmで電子密度の高い顆粒をもつ細胞もみられた。このような細胞を有する腺胞の腺腔内には、径が80~300nmで電子密度が高~中程度の顆粒や、脂肪滴がみられた。

一方、導管や脂肪細胞に分布する毛細血管は、無処置マウスでは連続型が大部分で、main duct周囲に一部有窓型がみられた。これらの毛細血管は2ないし3個の明調および暗調の内皮細胞で構成されているものが多く、60~90nmの形質膜小胞は多いが、80~100nmの被覆小胞はきわめて少なく、また、短い辺縁ヒダとわずかな微絨毛様突起を有していた(Fig. 8)。E, E+P投与群では、Oil, P投与群より形質膜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(Figs. 10, 12)。

考 察

乳腺の発育には、内分泌腺、とくに卵巣から分泌されるホルモンが大きく関与していることはよく知られている。卵巣が機能しはじめる21日齢でこれを摘出し、成熟期に乳腺を観察すると、その実質はほとんど摘出時の状態で停止していた。この状態の時に合成ステロイドホルモンを単独あるいは併用投与すると、ホルモンの種類により導管の分枝と伸長およびbudの分化、増殖の程度に差がみられた。E+P投与群では、導管の分枝およびbudの分化増殖の程度は無処置マウスと同程度もしくはそれ以上までに達していた。しかし、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。西中川ら¹⁵⁾は、マウスの乳腺脂肪組織の生後発達について、腹腔内脂肪組織との比較を行い、乳腺域は生後50日齢で確立し、他の脂肪組織でも脂肪細胞の種類および大きさは50日齢以降変わらないことを報告している。本実験で、fat padの面積が各群で差がなかったことは、乳腺の脂肪組織が、ホルモン投与開始日齢の68日齢までに他の体脂肪と同じように成長し、脂肪細胞の種類と大きさが安定していたためと考えられる。しかし、組織学的には、fat padの辺縁部をunilocular脂肪細胞、中央部をmultilocular脂肪細胞が占めてい

たが、E, E+P投与群では、中央部のmultilocular脂肪細胞が著しく少なかった。Haslam and Shyamala⁹⁾によれば、乳腺脂肪組織中にはエストロゲンレセプターが乳腺上皮細胞中とほぼ同量含まれるが、プロゲ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ゲン調節下におかれているという。また、Shyamala and Ferenczy¹⁶⁾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はエストロゲンが作用する最初の部位であろうと述べている。E, E+P投与群で、導管の伸長とbudの分化、増殖ならびにfat pad内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Oil投与群とそれほど変わらなかったことは、エストロゲンのないことに起因していると思われる。これらのことは、脂肪組織が乳腺実質の発達に先行して発達し、実質のベースになっているというDabelow²⁾、西中川ら^{14,15)}の考えを支持している。

一方、乳腺内の血管分布について、Soemarwoto and Bern¹⁷⁾は、3ヶ月齢で卵巣除去した処女マウスにestrogenを投与すると血管分布が無処置のものよりも多くなり、毛細血管叢も導管周囲にみられ、また、estrogen+progesteroneを投与すると腺胞、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と報告している。本実験においても、とくにE+P投与群では導管周囲に多数の毛細血管が観察され、乳腺内を循環する血液量が多くなることを示唆している。したがって、それらの血液の帰路となる静脈も血流量が多くなり、その結果として血管の外径が大きくなったと考えられる。ただ、このような変化が深腸骨回旋静脈の方に顕著に現れたのは、この静脈が腹鼠径部第1乳腺への分布域が広いこと、直接後大静脈に合流しているということが考えられる。

Forbesら⁴⁻⁸⁾は卵巣および子宮静脈の外径の変化を、性周期、妊娠、泌乳ならびに卵巣除去、卵巣子宮除去とこれらへのステロイドホルモンの投与について調べ、卵巣、子宮静脈の外径の大きさは卵巣、子宮の有無に影響を受けずに変化し、このことは血管自体がホルモンに直接反応している可能性を示唆している。しかしながら、今回検索した腹鼠径部第1乳腺に分布する主要血管である深腸骨回旋動・静脈ならびに浅後腹壁動・静脈が、乳腺実質の有無にかかわらず、ホルモンに直接反応する可能性があるのかどうかについては、今後、実質除去実験や免疫組織化学等を行って検討したい。

著者ら¹²⁾は先報で、乳腺毛細血管の微細構造を電顕的に観察し、形質膜小胞あるいは小胞の数、辺縁ヒダおよび微絨毛様突起の変化が泌乳期を頂点として、機能形態学的に対応していることを報告した。本実験においても、これらの構造物が、とくにE+P投与群で多く認められたが、物質の取り込みや輸送、血流速度の遅延化などと関連していると考えられ、上皮細胞の分化と密接な関連があるものと思われる。

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ホルモン(E, P, E+P)投与の影響について、計測学的、組織学的ならびに電顕的に検索した。

1. Fat padの面積は、卵巣除去マウスの各ホルモン投与群内で差はないが、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投与群が大きく、Oil, P投与群間には差がなかった。
 2. 腹鼠径部第1乳腺に分布する主要血管の外径は、E+P投与群で最も大きく、次いでE投与群であった。
 3. 乳腺間質の脂肪細胞は、fat padの辺縁部をunilocular型、中央部をmultilocular型で構成されていたが、E, E+P投与群では、unilocular型の脂肪細胞がほとんどを占めていた。
 4. 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。
 5. 電顕的には、とくにE+P投与群の上皮細胞にミトコンドリア、遊離リボゾームの増加、ゴルジ装置、rERの発達ならびに脂肪滴の増大が認められ、毛細血管でも、形質膜小胞、辺縁ヒダおよび微絨毛様突起の増加が認められた。
- 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り、また、腹鼠径部第1乳腺に分布する主要血管の径、ならびに実質細胞および毛細血管の微細構造は、E, E+P投与により変化することが強く示唆された。

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, Meerschweichen und Kaninchen. *Gegenbaurs Morphologisches Jahrbuch*, **73**, 69-99 (1933)
- 3) 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)
- 4) Forbes, T. R. and Glassen. G. : Steroid compounds, vasodilation, and vasoconstriction in the mouse. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **141**, 237-239 (1972)
- 5) 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)
- 6) 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)
- 7) Forbes, T. R. and Taku, E. : 16α -hydroxy-progesterone as a sex hormone antagonist : Effect on venous diameters in the female mouse. *Anat. Rec.*, **182**, 67-70 (1975)
- 8) 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)
- 9) 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)
- 10) 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)
- 11) 松元光春・倉谷裕司・西中川 駿・大塚閏一：マウスの乳腺組織とその血管構築に関する走査電顕的観察—処女, 妊娠, 泌乳および退行期の変化—。鹿大農学術報告, **No.38**, 69-78 (1988)
- 12) 松元光春・倉谷裕司・西中川 駿・大塚閏一：マウス乳腺の実質と毛細血管の構造に関する透過電顕的観察—処女, 妊娠, 泌乳および退行期の変化—。鹿大農学術報告, **No.38**, 79-88 (1988)
- 13) 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)
- 14) 西中川 駿・大塚閏一：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)
- 15) 西中川 駿・谷川 学・大塚閏一：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)
- 16) 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)
- 17) 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)
- 18) Turner, C. W. and Gomez, E. T. : The normal development of the mammary gland of the male and female mouse. II. Extrauterine. *Mo. Agric. Exp. Sta. Res. Bull.*, **182**, 21-43 (1933)
- 19) 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

The effects of ovarian steroid hormones on the mammary tissue and the blood vessels of mammary gland in ovariectomized mice were investigated morphometrically, light and electron microscopically.

The area of fat pad of the 1st abdomino-inguinal mammary gland showed no significance among the respective groups of ovariectomized mice treated with sesame oil(Oil), estradiol(E), progesterone(P) and E+P(Table 1). While on the area of parenchyma of the gland and the index(parenchyma/fat pad, %), the E+P administered group showed significantly largest value among the experimental groups. Those of the E administered group were significantly larger than those of Oil and P administered groups, which showed no significant difference between the two groups (Table 1).

The diameters of the blood vessels supplying the mammary gland, i. e. *A. et V. circumflexa ilium profunda* and *A. et V. epigastrica caudalis superficialis*, were noted to have the largest value in the E+P administered group (Table 2).

The adipose tissues of mammary stroma were composed of multilocular type in the central part of the gland, and were of unilocular type in the other part. But in the E and E+P administered groups fat

cells were mostly of unilocular type.

Blood capillaries around the bud and the duct of the mammary gland were most densely distributed in the E+P administered group among the experimental groups.

Observed electron microscopically, epithelial cells of the bud and the duct of the mammary gland, especially those in the E+P administered group, had numerous mitochondria and free ribosomes, developed Golgi apparatus and rERs, and large lipid droplets. Endothelial cells of blood capillaries in the same group had also numerous vesicles and plasmalemmal vesicles, marginal folds and microvillous processes.

On the basis of these observations, it was assumed that the formation of mammary fat tissues may have occurred in advance of that of mammary parenchyma. It was found that the change of diameters of blood vessels, and the fine structure of epithelial cells of mammary parenchyma and endothelial cells of blood capillaries in the mammary gland, were closely related with the administration of ovarian steroid hormones, especially that of E and E+P.

Explanation of figures.

Each bar in Figs.7-12 indicates 1μ m.

- Fig. 2. Whole mount specimens of the 1st abdomino-inguinal mammary gland of an intact control mouse(a), and an ovariectomized mouse treated with sesame oil(Oil, b), estradiol(E, c), progesterone(P, d) and E+P(e), respectively. Bar=10mm.
- Fig. 3. Tissue section of the mammary gland of an ovariectomized mouse treated with P. Numerous multilocular fat cells are seen in the central part of the gland. H-E stain. $\times 50$.
- Fig. 4. Tissue section of the mammary gland of an ovariectomized mouse treated with E+P. Fat cells are mostly unilocular type. Showing numerous ducts and buds. H-E stain. $\times 50$.
- Fig. 5. Mammary duct treated with P. A few capillaries is located around the duct. Semithin section stained with methylene blue. $\times 400$.
- Fig. 6. Mammary alveolus treated with E+P. Alveolar epithelial cells contain large lipid droplets. Showing numerous capillaries around them. Semithin section stained with methylene blue. $\times 400$.
- Fig. 7. Ductal cells of the mammary gland in an intact control mouse.
- Fig. 8. Capillary neighboring the bud of the mammary gland in an intact control mouse.
- Fig. 9. Epithelial cells of the bud of the mammary gland in an ovariectomized mouse treated with Oil.
- Fig. 10. Capillary beneath the duct of the mammary gland in an ovariectomized mouse treated with E.
- Fig. 11. Epithelial cells of the bud of the mammary gland in an ovariectomized mouse treated with E+P.
- Fig. 12. Capillary beneath the bud of the mammary gland in an ovariectomized mouse treated with E+P. Note numerous vesicles and plasmalemmal vesicles in the endothelial cells.

