

ブタの前立腺伝播部(pars disseminata prostatae)上皮における複合糖質の組織化学的研究

誌名	日本大学農獣医学部学術研究報告
ISSN	00780839
著者名	月瀬,東 岡野,真臣
発行元	日本大学農獣医学会
巻/号	41号
掲載ページ	p. 59-67
発行年月	1984年3月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



ブタの前立腺伝播部 (*pars disseminata prostatae*) 上皮

における複合糖質の組織化学的研究*

月瀬 東・岡野真臣**

(獣医解剖学研究室)

昭和58年10月13日受理

緒 言

哺乳類の雄性副生殖腺は、その種属間における微妙な発生過程の相異により、解剖学的形状にかなり差異のあることが知られている (NICKEL *et al.*, 1967; AUMÜLLER, 1979)¹⁻²⁾。例えば、ラットでは前立腺、精囊、尿道球腺を認めるが、イヌにおいては、クルミ状の前立腺を有するのみで、精囊、尿道球腺を欠き、小型の反芻類では、これら三腺を認めるが、前立腺は尿道の粘膜下に入り込んで前立腺伝播部を形成している (DELLMAN & WROBEL, 1976; AUMÜLLER, 1979)^{3,2)}。またブタにおいては、これら三腺のうち、尿道球腺が良く発達するが、前立腺は比較的発達が悪く、ほとんどが伝播部となり、前立腺体となって外部に露出する部分は比較的わずかである (NICKEL *et al.*, 1967)¹⁾。このように種属間における差異が著しい器官であっても、前立腺だけは、いかなる哺乳類でも認めることができる (BRANDES, 1974; CAVAZOS, 1975; AUMÜLLER, 1979)^{4,5,2)}。この事実、前立腺が、雄の生殖機能を営むうえで、生理的に重要な役割を有していることをうかがわせる。

一方、これらの腺から分泌される分泌物の生化学的性状は、動物種によって大きな差が認められ、この分泌物は、哺乳類における精液の安定性に強くかかわり、特に糖質は重要な構成要素であるとされている (MANN, 1964; 1975)⁶⁻⁷⁾。また糖質は、動物の組織細胞においても普遍的に存在していることから、この物質が、生物の生理機能に極めて重要な意義を有していると考えられている (SPICER, 1960; SPICER *et al.*, 1967)⁸⁻⁹⁾。

哺乳類前立腺上皮の糖質に関する組織化学的研究については FRANKS *et al.*, (1964)¹⁰⁾, BRANDES 1966)¹¹⁾, TISELL 1971; 1972)¹²⁻¹³⁾, M. WROBEL (1972)¹⁴⁾, AUMÜLLER (1973)¹⁵⁾, BRANDES (1974)⁴⁾, CAVAZOS

(1975)⁵⁾, AUMÜLLER (1979)²⁾, TSUKISE & YAMADA (1981 a; 1983 a; 1983 b)¹⁶⁻¹⁷⁾ の論文に詳しく記載されている。しかしながら、ブタの前立腺伝播部上皮における複合糖質については、十分な検討がなされていない。

本研究では哺乳類のなかでも、これらの副生殖腺の分泌機能が特に旺盛なブタについて、前立腺伝播部上皮における複合糖質の局在とその性質を新しい糖の組織化学的検出法を適用して解析するとともに、それらの上皮機能との関連性を追究した。

材料および方法

本研究では、ハンブシャー種および中ヨークシャー種の雄ブタ各3頭、計6頭を用いた。供試動物は210~220日齢、体重は100~110kgであった。動物を放血殺後、ただちに骨盤腔を切開して、尿道とともに前立腺伝播部を剔出し、BOUIN 氏液 (常温)、2%酢酸カルシウム10%ホルマリン溶液 (4°C) (LEPPI, 1968)¹⁸⁾ または10%ホルマリン95%エタノール溶液 (4°C) (MCMANUS & MOWRY, 1958)²⁰⁾ で24~48時間固定した。固定後、組織片をアルコール上昇系列にて脱水し、常法に従いパラフィンに包埋した。ついで、組織片をマイクロームで6μmの厚さに薄切し、脱パラフィン後、これらに次のような染色を施し光顕下にて観察した。

1. 組織学的方法

ヘマトキシリン-エオジン (H-E)

2. 組織化学的検出反応

過ヨウ素酸-SCHIFF (PAS) (SPICER *et al.*, 1967)⁹⁾; アルシアン青 (AB) (pH 1.0) (LEV & SPICER, 1964)²¹⁾; AB (pH 2.5) (PEARSE, 1968)²²⁾; 高鉄ジアミン (HID) (SPICER, 1965)²³⁾; 低鉄ジアミン (LID) (SPICER, 1965)²³⁾; 透析鉄-フェロシアニド (DI-FCY) (YAMADA, 1973)²⁴⁾; AB (pH 2.5)-PAS (MOWRY, 1963)²⁵⁾;

Bull. Coll. Agr. & Vet. Med., Nihon Univ., No. 41, p. 59~67(1984).

* Histochemical Analysis of Complex Carbohydrates in the Secretory Epithelium of the Porcine Disseminative Prostate (*pars disseminata prostatae*).

** Azuma TSUKISE and Masaomi OKANO, Lab. Veterinary Anatomy, Coll. Agr. & Vet. Med., Nihon Univ.

テトラゾニウム塩 (PEARSE, 1968)²²⁾; ベルオキシダーゼ標識(PO)-レクチン(LT)-デアミノベンチジン(DAB) (COLLARD & TEMMINK, 1974; KIERNAN, 1975; YAMADA & SHIMIZU, 1977, 1979; STOWARD *et al.*, 1980; TSUKISE & YAMADA, 1981 b)²⁶⁻³¹⁾。レクチンとしては米国 E. Y. 社製の Concanavalin A (Con A), peanut agglutinin (PNA), Soybean agglutinin (SBA), *Ricinus communis* agglutinin-I (RCA), *Ulex europaeus* agglutinin-I (UEA), *Dolichos biflorus* agglutinin (DAB), wheat germ agglutinin (WGA), *Limulus polyphemus* agglutinin (LPA) を適用した。

3. 各組織化学反応の確認および対照

1) 化学的修飾法

複合糖質の遊離基の性質を検索すると同時に検出反応の特異性または選択性を確認するため、次のような実験を行った。

強および弱メチル化-AB (pH 1.0, pH 2.5) (SPICER, 1960)⁸⁾; 強および弱メチル化-ケン化-AB (pH 1.0, pH 2.5) (SPICER, 1960)⁸⁾; 硫酸化 AB (pH 1.0) (YAMADA & HOSHINO, 1972)³²⁾。

2) 酵素消化法

α -アミラーゼ (Sigma, U. S. A.)-PAS: 1mg, α -アミラーゼ/1ml, 0.1M リン酸塩緩衝液, pH 7.0, 37°C, 3時間 (YAMADA, 1972; 武内, 1975)³³⁻³⁴⁾。

シアリターゼ (Boehringer, Germany)-AB (pH 2.5): 100U シアリターゼ/1ml, 0.04M CaCl₂ を含む 0.1M 酢酸緩衝液, 40°C, 12時間 (SPICER *et al.*, 1967)⁹⁾。これらの酵素消化では(a)酵素を省いた緩衝液のみの群, (b)失活させた酵素液で処理した群および(c)無処置群を置いて対照とした。

3) レクチンに対する対照

各レクチンに対する糖特異性を確認するため、次のような糖を 10mM の濃度でレクチン反応液に加え、対照とした。

α -メチル-D-マンノシッドは Con A 用; ラクトースは PNA 用; β -D-ガラクトースは RCA 用; α -L-フコースは UEA 用; α -N-アセチル-D-ガラクトサミンは DBA, SBA 用; N-アセチル-ノイラミン酸は LPA 用。

また、組織内に存在する内因性のベルオキシダーゼの局在を知るために、DAB のみで反応させた対照染色も同時に実施した。

結 果

ブタの前立腺伝播部の腺上皮は単層の円柱上皮からなり、卵円形の核は細胞の基底側に位置していた (Fig. 1)。上皮細胞の核上部にはエオジンに好染する多数の顆粒を

認め、腺腔内には多量の分泌物が貯留している箇所も観察された (Fig. 1)。

上皮細胞内の核上部に認められる顆粒は、PAS で強いし中等度に染まり、腺腔内の分泌物もまた中等度の陽性反応を示した (Fig. 2)。 α -アミラーゼ消化後の PAS 反応においては、上皮細胞の反応性がやや減弱化した。

AB (pH 1.0) を適用すると上皮細胞の遊離端近くが特によく染まり、細胞内の顆粒もわずかに反応した。硫酸化後の AB (pH 1.0) 反応により、上皮細胞の遊離端近くと、間質結合組織の染色性は顕著に増強した (Fig. 3)。弱メチル化および強メチル化後の AB (pH 1.0) 反応は、これらの構造に対する陽性反応をほとんど陰性化した。弱メチル化および強メチル化後のケン化によっても、この AB (pH 1.0) による反応性は回復しなかった。

AB (pH 2.5) 染色においては核上部の顆粒、上皮細胞の遊離端、腺腔内の分泌物が弱いし中等度の陽性反応を呈した。これらの AB (pH 2.5) による陽性反応は弱メチル化および強メチル化により、その反応性が弱められた。一方、弱メチル化あるいは強メチル化後にケン化を行った例では、一部の構造の染色性がやや回復した。核上部の顆粒および腺腔内の分泌物の AB (pH 2.5) に対する反応性はシアリターゼ消化により、明らかに減弱した。

HID, LID 反応において、上皮細胞核上部の顆粒、細胞遊離端、腺腔内の分泌物、間質結合組織などが淡黒紫色に着色したが、これらの結果は AB (pH 1.0, pH 2.5) とほとんど同様であった。

DI-FCY 反応により、核上部の顆粒および腺腔内の分泌物が濃青色に強く染まった。

上皮細胞に AB (pH 2.5)-PAS 反応を適用すると、核上部の顆粒が紫紅色に強く染まり、腺腔の分泌物も中等度に、また間質結合組織も淡青紫色に染った (Fig. 4)。

TZ 反応においては、上皮細胞の核上部が赤褐色に強く染まり、腺腔内の分泌物も中等度の陽性反応を示した (Fig. 5)。

前立腺伝播部上皮細胞の PO-LT-DAB に対する反応は、適用したレクチンの種類により、その染色性に差異が認められた (Figs. 6~12)。PO-Con A-DAB 反応においては、上皮細胞の遊離端および腺腔内の分泌物が特に強く反応し、核上部の顆粒や細胞質は中等度に染まった (Fig. 6)。上皮細胞の染色性は PO-PNA-DAB 反応においては、細胞内顆粒の一部が弱い陽性を呈したが、PO-RCA-DAB 反応では、細胞の遊離端近くが特に染色された (Fig. 7)。PO-UEA-DAB 反応においては、核上部の顆粒、遊離端に近い細胞質および細胞形質膜が顕著な陽

性反応を呈し、また、腺腔内の分泌物も中等度に染った (Fig. 8, 9)。前立腺伝播部上皮細胞のうち、尿道に近い内側の腺上皮が PO-UEA-DAB に対し強い陽性反応を呈したが、尿道から遠い外側の上皮では細胞の自由面および側面の形質膜がわずかに反応したのみであった (Fig. 8)。細胞形質内の顆粒と腺腔内の分泌物は PO-SBA-DAB, PO-DBA-DAB および PO-WGA-DAB 反応ともに中等度に染ったが、細胞遊離端の染色性は PO-SBA-DAD と PO-DBA-DAB の方が明らかに強かった (Figs. 10, 11)。PO-LPA-DAB 反応により、細胞遊離端は顕著な陽性を呈し、核上部の顆粒も弱いし中等度に染った (Fig. 12)。

実験方法で示したごとく、あらかじめ各レクチンに対応する糖を加えておいた対照群の PO-LT-DAB 反応は、前立腺伝播部上皮細胞のすべての構造において、陰性であった。しかし毛細血管内の赤血球は内因性のペルオキシダーゼにより、弱い陽性反応を呈した。

考 察

哺乳類雄性副生殖腺の解剖学的形状の差異は、主として、種属間における胎生期の分化の程度に起因するものであって、例えばヤギの前立腺上皮を構成する細胞の一部に尿道球腺上皮類似の細胞が出現するという (K.-H. WROBEL, 1972; TSUKISE & YAMADA, 1983 a)^{17,36)}。また哺乳類の前立腺上皮細胞の形態をはじめ、ここから分泌される物質の生化学的性状も、動物種によって異なっていることが明らかであり (BRANDES, 1966, 1974; CAVAZOS, 1975; AUMÜLLER, 1979)^{2,4,5,11)}、この上皮細胞から分泌される物質は精子の活性に重要な役割りがあるとされている (CAVAZOS, 1975)⁹⁾。

哺乳類の前立腺上皮における組織細胞化学的研究は、BRANDES (1966)¹¹⁾、HELMINEN & ERICSSON (1970)³⁶⁾、BRANDES (1974)⁹⁾ が酸性フォスファターゼについて、BRANDES (1974)⁹⁾ がアルカリフォスファターゼとアデノシントリフォスファターゼについて、酵素の面から、細胞の生理機能との関連性について追究した。

一方、本上皮の糖質についての組織細胞化学的研究により、ヒトの前立腺細胞には糖タンパク質とシアロムチンの混合物が (FRANKS *et al.*, 1964; AUMÜLLER, 1973)^{10,15)}、イスでは "mucus negative-PAS positive" なタンパク質様の物質が (M. WROBEL, 1972)¹⁴⁾、ネコにおいては硫酸化シアロムチンが (M. WROBEL, 1972)¹⁴⁾、ラットにおいてはシアル酸を含む糖タンパク質が存在すること (TSUKISE & YAMADA, 1981a)¹⁶⁾、更にブタの前立腺体部上皮とヤギの前立腺細胞では、中性並びに酸性糖タンパク質が存在し、酸性糖タンパク質にはシ

ル酸を含むことが明らかになっている (TSUKISE & YAMADA, 1983 a, 1983 b)^{17,18)}。

本研究におけるブタの前立腺伝播部においては、上皮細胞の核上部、腺腔内の分泌物が PAS 反応によって陽性を呈し、この反応は α -アミラーゼ消化によって、その反応性がやや減弱化されることから、本上皮には僅量のグリコーゲンを含むことが明らかである。この結果は数種の哺乳類で得られた結果と一致する (TSUKISE & YAMADA, 1981 a, 1983 a, 1983 b; 日比野ら, 1983)^{16-18,37)} 本上皮細胞は核上部の顆粒、細胞の遊離端、腺腔内の分泌物が、PAS 染色のほか、AB, HID, LID 染色に陽性反応を呈することから、本上皮には中性並びに酸性複合糖質が存在し、これらの染色に反応する細胞の諸構造は、TZ 染色でも反応することから、本上皮における糖質が糖タンパク質として存在していることが理解される。

近年、糖タンパク質に含まれる糖残基と特異的に結合するレクチンが発見され、糖の性質や構造を生化学的に解明するうえで有効な手段となっている (大沢と森, 1979)³⁸⁾。本研究では中性糖残基に特異的に結合するレクチンとして Con A, PNA, SBA, RCA, UEA, WGA を組織染色に適用し、組織内の局所における糖の局在を追究した。

その結果、ブタの前立腺伝播部上皮細胞の核上部に認められる顆粒、細胞の遊離端および腺腔内分泌物は、これらの諸反応に陽性を呈した。この事実から、本上皮における糖鎖には α -D-マンノース、 α -D-グルコース、D-ガラクトース- β -(1 \rightarrow 3)N-アセチル-D-ガラクトサミン、 β -D-ガラクトース、 α -L-フコース、 α -N-アセチル-D-ガラクトサミン、 β -N-アセチル-D-グルコサミンの残基を含むことが明らかである。

ブタの前立腺伝播部上皮細胞において、尿道に近い内側部の腺上皮は、UEA に対する反応が顕著で、特徴的であったが、外側部のそれは、陰性に近かった。TSUKISE & YAMADA (1983 a)¹⁷⁾ の報告によれば、ヤギの前立腺上皮においても一部の細胞が UEA に強く反応し、またブタの前立腺体部では、ほとんどの細胞が UEA に強く反応した。しかし、イス (日比野ら, 1983)³⁷⁾ とラット (月瀬と岡野, 1983)³⁹⁾ の前立腺上皮細胞は、UEA に対してほとんど陰性を示したという。このように、前立腺上皮細胞内の α -L-フコース残基の存在は動物種によってかなり異なり、本研究におけるブタの前立腺伝播部上皮細胞では、一部の細胞に UEA に対し陰性に近いものも認められたことから、他の副生殖腺との個体発生時における分化の差異や、種属間における進化の関連性が示唆されよう。

酸性糖質に対する染色反応では、硫酸化後の AB (pH 1.0) 反応が顕著に増強されたことから、ブタの前立腺伝播部上皮には硫酸基を持った酸性糖が存在する。また、シアリターゼ消化により AB (pH 2.5) 染色がやや減弱化されることから、酸性糖質の一部にシアル酸を含む。本上皮細胞内のシアル酸については、LPA 反応でも核上部の顆粒、細胞遊離端、腺腔内分泌物が陽性を示すことから、N-アセチル-ノイラミン酸残基の存在が明らかである。

上皮細胞内に存在する糖タンパク質は、前立腺伝播部より分泌される糖質の一部となって、精子の生理機能に重要な役割を担っていることは疑いない。

要 約

雄ブタの前立腺伝播部上皮の複合糖質について、その局在と性質を糖の新しい組織化学的検出法を用いて追究した。

本上皮細胞の核上部の顆粒、細胞の遊離端、腺腔内の分泌物には中性並びに酸性糖タンパク質が存在していた。中性糖タンパク質の糖鎖には α -D-マンノース、 α -D-グルコース、D-ガラクトシル- β -(1 \rightarrow 3)N-アセチル-D-ガラクトサミン、 β -D-ガラクトース、 α -L-フコース、 α -N-アセチル-D-ガラクトサミン、 β -N-アセチル-D-グルコサミン残基を含み、酸性糖タンパク質の一部には N-アセチル-ノイラミン酸残基を含んでいた。 α -L-フルコース残基に対する反応は尿道に近い内側部の細胞で顕著であり、外側部のそれは弱いか、陰性に近かった。

本上皮細胞から分泌される糖タンパク質は、精子の生理機能に深く関与しているものと考えられる。

(本論文の要旨は、昭和58年度東京獣医畜産学会において口頭発表した)

文 献

- Nickel, R., A. Schummer and F. Seiferle: (1967) Lehrbuch der Anatomie der Haustiere. (Paul Parey: Berlin & Hamburg) Bd. II, 307~354.
- Aumüller, G.: (1979) Prostate gland. In Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen, Ⅷ/6, Prostate gland and seminal vesicles (edited by Aumüller, G.) (Springer-Verlag: Berlin, Heidelberg, New York) 53~182.
- Dellman, H-D. and K-H. Wrobel: (1976) Male reproductive system. In Textbook of veterinary histology (edited by Dellman, H-D. and E.M. Brown) (Lea & Febiger: Philadelphia) 291~318.
- Brandes, D.: (1974) Fine structure and cytochemistry of male sex accessory organs. In Male accessory sex organs (edited by Brandes, D.) (Academic Press: New York, London) 17~114.
- Cavazos, L.F.: (1975) Fine structure and functional correlates of male accessory sex glands of rodents. In Handbook of physiology (edited by Hamilton, D.W. and R.O. Greep) (American Physiological Society: Washington), Vol. 5, 358~381.
- Mann, T.: (1964) The biochemistry of semen and of the male reproductive tract. (Methuen: London)
- Mann, T.: (1975) Biochemistry of semen. In Handbook of physiology (edited by Hamilton, D.W. and R.O. Greep) (American Physiological Society: Washington), Vol. 5, 467~471.
- Spicer, S.S.: (1960) A correlative study of the histochemical properties of rodent acid mucopolysaccharides. *J. Histochem. Cytochem.* 8, 18~35.
- Spicer, S.S., R.G. Horn and T.J. Leppi: (1967) Histochemistry of connective tissue mucopolysaccharides. In The connective tissue (edited by Wagner, B.M. Smith) (Williams & Wilkins: Baltimore) 251~303.
- Franks, L.M., J.D. O'Shea and A.E.R.C. Thomson: (1964) Mucin in the prostate. A histochemical study in normal glands, latent, clinical and colloid cancers. *Cancer*, 17, 983~991.
- Brandes, D.: (1966) The fine structure and histochemistry of prostatic glands in relation to sex hormones. *Int. Rev. Cytol.*, 20, 207~276.
- Tisell, L-E.: (1971) The growth of the ventral prostate, the dorsolateral prostate, the coagulating glands and the seminal vesicles in castrated adrenalectomized rats injected with oestradiol and/or cortisone. *Acta Endocrinol.* 68, 485~501.
- Tisell, L-E.: (1972) Adrenal effect on the growth of the ventral and dorsolateral prostate in castrated rats injected with oestradiol. *Acta Endocrinol.* 71, 191~204.
- Wrobel, M.: (1972) Histochemische und elektronenmikroskopische Untersuchungen an der Prostata von Hund und Katze. *Zbl. Vet. Med.*, C 1, 93~116.
- Aumüller, G.: (1973) Über Sialomucin-produzierende Zellen der Prostata. *Verh. Anat. Ges.*, 67,

- 233~243.
- 16) Tsukise, A. and K. Yamada: (1981 a) The histochemistry of complex carbohydrates in the scrotum of the boar. *Histochemistry*, **72**, 511~521.
 - 17) Tsukise, A. and K. Yamada: (1983 a) Complex carbohydrates in the secretory epithelium of the goat prostate. *Histochem. J.*, (in press).
 - 18) Tsukise, A. and K. Yamada: (1983 b) The histochemistry of complex carbohydrates in the epithelium lining the prostate, seminal vesicle and bulbourethral glands of the boar. *Acta Anat. Nippon*, **58**, 341.
 - 19) Leppi, T.J.: (1968) Morphochemical analysis of mucous cells in the skin and slime glands of haggfishes. *Histochemie*, **15**, 68~78.
 - 20) McManus, J.F.A. and R.W. Mowry: (1958) Effects of fixation on carbohydrate histochemistry. *J. Histochem. Cytochem.*, **6**, 309~316.
 - 21) Lev, R. and S.S. Spicer: (1964) Specific staining of sulfate groups with alcian blue at low pH. *J. Histochem. Cytochem.*, **12**, 309.
 - 22) Pearse, A.G.E.: (1968) Histochemistry, theoretical and applied. J. & A. Churchill: London, Vol. 1.
 - 23) Spicer, S.S.: (1965) Diamine methods for differentiating mucosubstances histochemically. *J. Histochem. Cytochem.*, **13**, 211~243.
 - 24) Yamada, K.: (1973) The effect of digestion with *Streptomyces hyaluronidase* upon certain histochemical reactions of hyaluronic acid-containing tissue. *J. Histochem. Cytochem.*, **21**, 794~803.
 - 25) Mowry, R.W.: (1963) The special value of methods that colour with acidic and hydroxyl groups in the histochemical study of mucins. With revised directions for the colloidal iron stain, the use of alcian blue 8 GX and their combination with the periodic acid-Schiff reaction. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, **106**, 402~423.
 - 26) Collard, J.G. and J.H.M. Temmink: (1974) Binding and cytochemical detection of cell-bound concanavalin A. *Exp. Cell Res.*, **86**, 81~86.
 - 27) Kiernan, J.A.: (1975) Localization of α -D-glucosyl and α -D-mannosyl groups of mucosubstances with concanavalin A and horseradish peroxidase. *Histochemistry*, **44**, 39~45.
 - 28) Yamada, K. and S. Shimizu: (1977) The histochemistry of galactose residues of complex carbohydrates as studied by peroxidase-labeled Ricinus communis agglutinin. *Histochemistry*, **53**, 143~156.
 - 29) Yamada, K. and S. Shimizu: (1979) The use of peroxidase-labeled *Limulus polyphemus* agglutinin for the histochemistry of sialic acid-containing glycoproteins in light microscopy. *Histochem. J.*, **11**, 457~471.
 - 30) Stoward, P.J., S.S. Spicer and R.L. Miller: (1980) Histochemical reactivity for peanut lectin-horseradish peroxidase conjugate. *J. Histochem. Cytochem.*, **28**, 979~990.
 - 31) Tsukise, A. and K. Yamada: (1981 b) The histochemistry of complex carbohydrates in the epithelium lining the ventral prostate of the rat. *Histochemistry*, **72**, 215~227.
 - 32) Yamada, K. and M. Hoshino: (1972) Morphochemical analysis of epithelial mucosubstances in the gall bladder of the fowl (*Gallus domesticus*). *Histochemie*, **29**, 120~128.
 - 33) Yamada, K.: (1972) Histochemical and cytochemical methods for the study of mucosaccharides. *Protein, Nucleic Acid and Enzyme*, **17**, 775~790.
 - 34) 武内忠男: (1975) 糖質—単純糖質 (新組織化学, 小川和朗, 武内忠男, 森 富編集), (朝倉書店, 東京), 521~530.
 - 35) Wrobel, K-H.: (1972) Histochemische Untersuchungen am Prostataparenchym der Ziege. *Zbl. Vet. Med.*, C **1**, 64~72.
 - 36) Helminen, H.J. and J.L.E. Ericsson: (1970) On the mechanism of lysosomal enzyme secretion. Electron microscopic and histochemical studies on the epithelial cells of the rat's ventral prostate lobe. *J. Ultrastruct. Res.*, **33**, 528~549.
 - 37) 日比野宏江, 月瀬 東, 岡野真臣: (1983) イヌ前立腺上皮糖質の組織化学的研究. 昭和58年度東京獣医畜産学会, 講演要旨17.
 - 38) 大沢利昭, 森 良一: (1979) レクチン (講談社, 東京).
 - 39) 月瀬 東, 岡野真臣: (1983) 雄ラット前立腺ならびに精囊上皮における複合糖質の組織化学的研究. 第96回日本獣医学会, 講演要旨 8.

Explanation of Plates

Plate I

Parts of the disseminative prostate of the boar.

- 1 The glandular epithelium consists of a single layer of low columnar cells containing a basally situated nucleus. H-E stained. $\times 400$.
- 2 Granules of different sizes within the distal cytoplasm and luminal secretions exhibit a positive reaction. PAS stained. $\times 400$.
- 3 The alcianophilia of the free surface and luminal secretions are markedly increased in intensity. CT indicates connective tissue. Sulfated and AB (pH 1.0) stained. $\times 400$.
- 4 Granules of different sizes within the distal cytoplasm and luminal secretions show moderate to strong reaction. AB (pH 2.5)-PAS stained. $\times 400$.
- 5 The glandular epithelial cells and luminal secretions exhibit a positive reaction. TZ stained. $\times 400$.
- 6 The free surface, granules of different sizes within the distal cytoplasm and luminal secretions exhibit moderate to strong reaction. PO-Con A-DAB stained. $\times 400$.

Plate II

Parts of the disseminative prostate of the boar.

- 7 The free surface, granules of different sizes within the epithelial cytoplasm and luminal secretions show a positive reaction. PO-RCA-DAB stained. $\times 400$.
- 8 Intensely reactive glandular epithelial cells are visualized in the central parts of the secretory epithelium.
* indicates urethra. PO-UEA-DAB stained. $\times 40$.
- 9 The free surface, granules of different sizes within the distal cytoplasm and luminal secretions exhibit a markedly positive reaction. PO-UEA-DAB stained. $\times 400$.
- 10 The free surface, granules of different sizes in the distal cytoplasm and luminal secretions exhibit a positive reaction. PO-SBA-DAB stained. $\times 400$.
- 11 Findings are similar as in Plate II-10. PO-WGA-DAB stained. $\times 400$.
- 12 Findings are similar as in Plate II-10. PO-LPA-DAB stained. $\times 400$.

Plate I

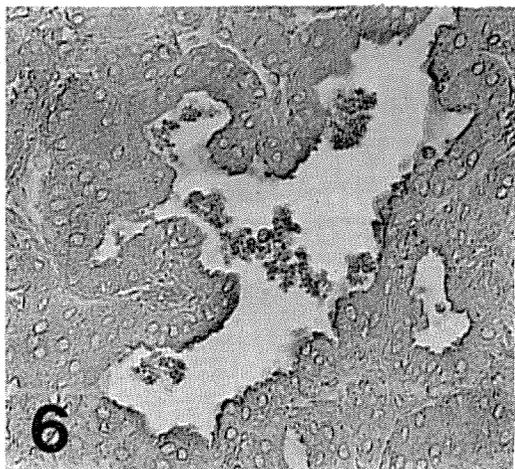
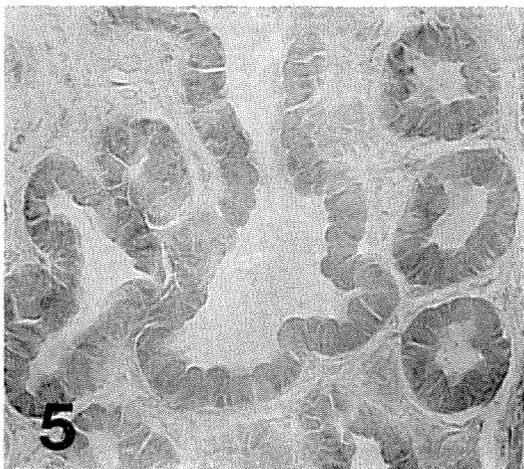
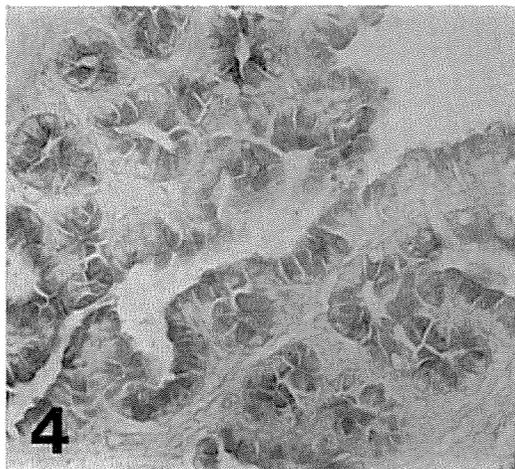
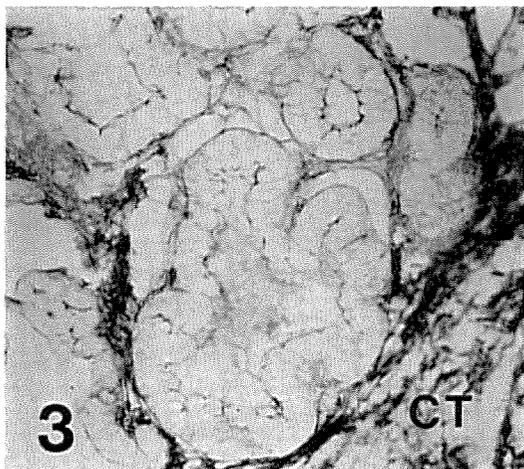
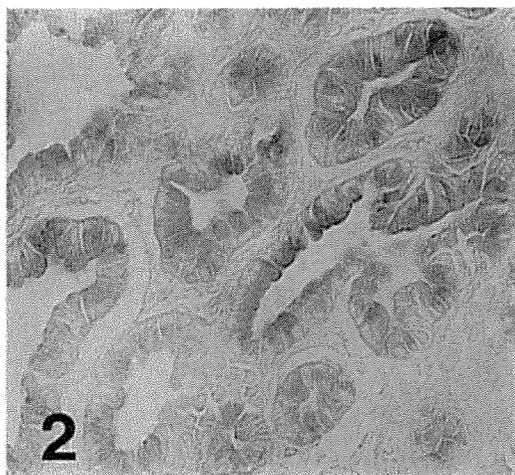
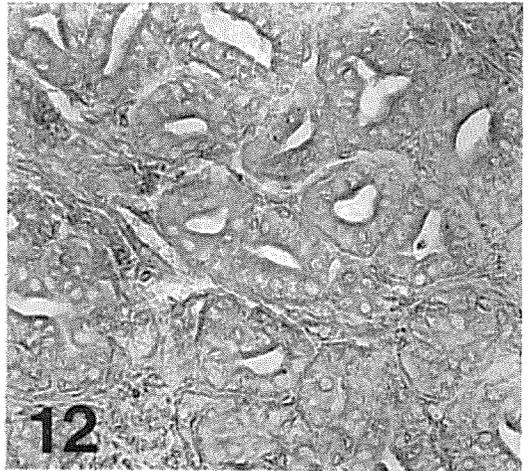
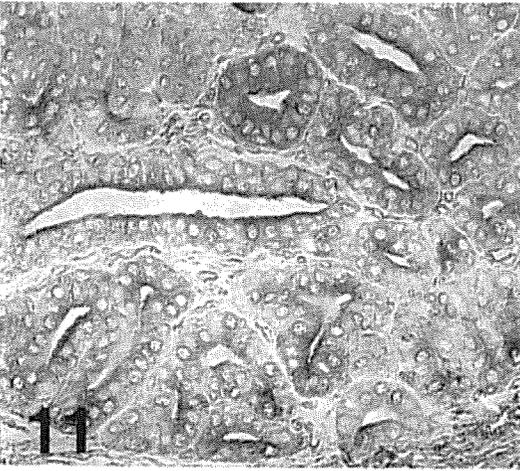
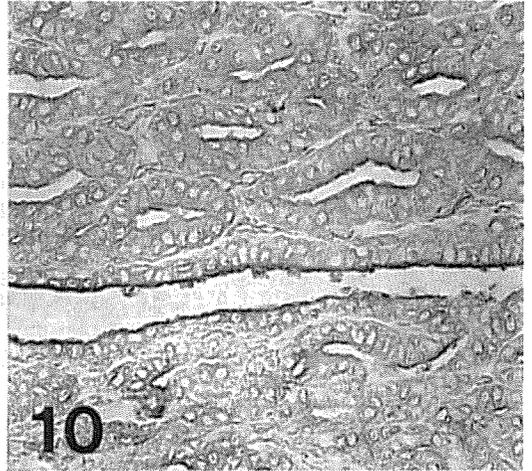
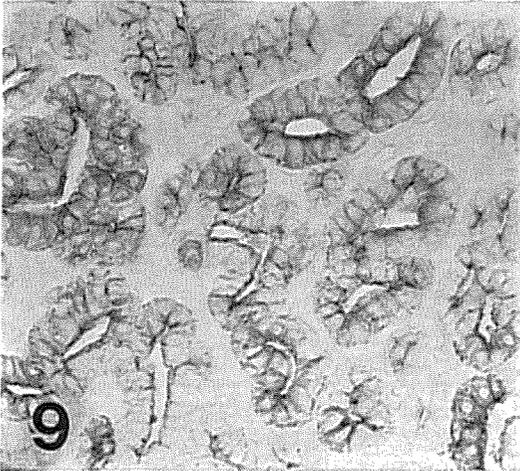
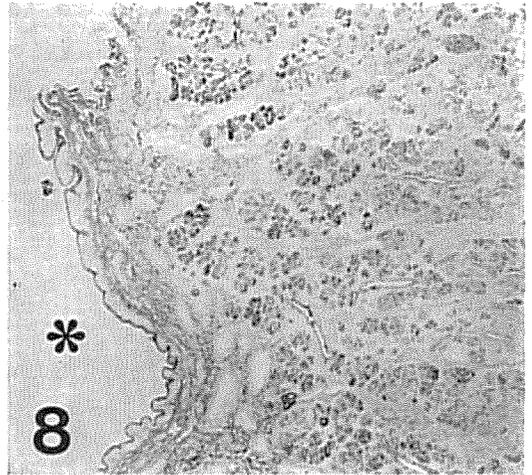
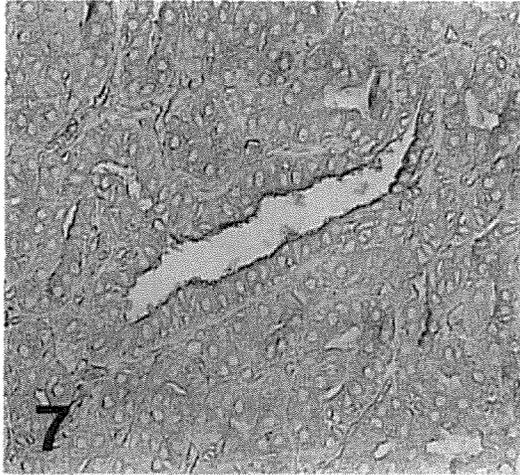


Plate II



Histochemical Analysis of Complex Carbohydrates in the Secretory Epithelium of the Porcine Disseminative Prostate (*pars disseminata prostatae*)

Azuma TSUKISE and Masaomi OKANO

Lab. Veterinary Anatomy, Coll. Agr. & Vet. Med., Nihon Univ.

(Accepted October 13, 1983)

The purpose of this study was to investigate the histochemical localization of complex carbohydrates in the epithelium of the porcine disseminative prostate and to presume the functional activities of the accessory sex organs in the reproductive system of this animal species.

Six young adult boars were examined in the present study. Tissue pieces of the disseminative prostate glands were removed together with the proximal part of the pelvic urethra and fixed in either Bouin's solution, 10% formalin containing 2% calcium acetate, or 10% formalin in 95% ethanol for 24–48 h at 4°C or room temperature. The tissue were dehydrated, paraffin embedded, cut at 6- μ m-thick and stained by the following methods; hematoxylin-eosin (H-E), periodic acid-Schiff (PAS) with or without prior digestion with α -amylase, alcian blue (AB) (pH 1.0), AB (pH 2.5) with or without prior digestion with sialidase, high iron diamine (HID), low iron diamine (LID), dialyzed iron ferrocyanide (DI-FCY), AB (pH 2.5)-PAS, coupled tetrazonium salt procedure (TZ), and the following lectins labeled with horseradish peroxidase (PO) were also used. They were concanavalin A (Con A), peanut agglutinin (PNA), soybean agglutinin (SBA), *Ricinus communis* agglutinin-I (RCA), *Ulex europaeus* agglutinin-I (UEA), *Dolichos biflorus* agglutinin (DBA), wheat

germ agglutinin (WGA), and *Limulus polyphemus* agglutinin (LPA). The color was developed by the peroxidase with diaminobenzidine (DAB) and hydrogen peroxide.

The secretory epithelium of the porcine disseminative prostate consists of a single layer of low columnar cells which contain a basally situated nucleus. The free surface, granules of different sizes in the distal cytoplasm and luminal secretions of the epithelial cells contained neutral and acidic glycoproteins with different saccharide residues such as α -D-mannose, α -D-glucose, D-galactosyl- β -(1 \rightarrow 3)N-acetyl-D-galactosamine, β -D-galactose, α -L-fucose, α -N-acetyl-D-galactosamine, β -N-acetyl-D-glucosamine, and N-acetyl-neuraminic acid. Most remarkable was a stronger reaction in the central part of the secretory epithelium, particularly following the PO-UEA-DAB procedure to demonstrate the saccharide residue of α -L-fucose.

The results reported here have revealed the multiple and precise natures of the glycoproteins secreted and released by the glandular epithelium of the porcine disseminative prostate. The present data are useful not only for correlating the structures with functions of the porcine disseminative prostate but also for the comparative histophysiology of male accessory sex glands in different mammalian species.