

may go over or under the chick heart fibroblast with equal facility. In some cases when the MCIM passes over the leading edge of the fibroblast, the fibroblast contracts and so does the MCIM cell. The contraction of the MCIM cell is unlike that seen in normal contact inhibition in that it is very violent; the whole cell frequently contracting into a round mass as though it had come detached from its substrate. Its substrate i.e. the fibroblast surface has in fact been suddenly withdrawn. This phenomenon does not occur when the MCIM cell passes under the fibroblast, as in this case its substrate is the glass cover slip.

The occurrence of non-reciprocal contact inhibition means that the methods of analysis frequently used to estimate the amount of contact inhibition in particular cells need to be closely scrutinized. Methods such as the observation of fixed preparations and the counting of

overlaps would not distinguish between mutual or non reciprocal contact inhibition. It is possible that the only true estimate is that obtained from direct collision analysis.

*Résumé.* On a constaté jusqu'ici, in vitro, que deux cellules entrant en contact cessent ou continuent toutes deux de se mouvoir. Cette action n'est toujours pas réciproque. Ainsi lorsqu'une cellule cancéreuse de souris rencontre un fibroblaste de cœur de poulet elle continue à se mouvoir tandis que ce dernier s'arrête.

JOAN E. M. HEAYSMAN

*Department of Zoology and Comparative Anatomy,  
University College, London W.C.1 (England),  
15 June 1970.*

### Ultrastructure de la glande mammaire humaine non cancéreuse

L'ultrastructure de la glande mammaire humaine non cancéreuse a fait l'objet de plusieurs publications (WAUGH et HOEVEN<sup>1</sup>, MURAD et al.<sup>2</sup>, TOKER<sup>3</sup>, BÄSSLER et SCHÄFER<sup>4</sup>, ARCHER et OMAR<sup>5</sup>). Nous rapportons donc ici uniquement les conclusions de nos observations qui complètent les données déjà exprimées par ces différents auteurs.

*Le matériel étudié* concerne 2 cas de gestation (l'un au 5<sup>e</sup> mois, l'autre au 9<sup>e</sup> mois), 15 cas d'adénose, 1 cas de gynécomastie, 13 cas de fibro-adénome et 2 cas de fibro-adénome intracanaliculaire cellulaire ou tumeur phyllode. Les prélèvements fixés à l'acide osmique et inclus dans l'araldite ont été examinés au microscope électronique Zeiss EM9.

*Résultats.* 1. Les cellules de la glande mammaire humaine non cancéreuse peuvent être ciliées. ARCHER et OMAR<sup>5</sup> relatent la présence de cils dans les cellules épithéliales de la glande mammaire humaine normale et tumorale. Nous même, nous avons observé des cellules épithéliales et des cellules myoépithéliales (Figure 1) ciliées dans 2 cas d'adénose et des fibroblastes ciliés dans 4 cas de fibro-adénome. L'un de nous avait d'ailleurs déjà signalé<sup>6</sup> cette présence de cils dans la glande mammaire chez la souris. La signification de ces cils, rencontrés dans un grand nombre de cellules variées, est encore inconnue. Leur plus grande fréquence dans la glande mammaire de souris jeune permet de supposer qu'ils pourraient représenter des vestiges de caractères embryonnaires.

2. Les canalicules intracytoplasmiques, que WELLINGS et ROBERTS<sup>7</sup>, SYKES et al.<sup>8</sup> considèrent comme pathognomoniques du cancer mammaire ont été rencontrés fréquemment dans tous les cas étudiés (Figure 2). Cette observation confirme les résultats de ARCHER et OMAR<sup>5</sup>. Dès 1968, l'un<sup>6</sup> de nous avait également rapporté la présence de ces canalicules dans la glande mammaire de quelques rongeurs à divers stades physiologiques. Ces canalicules intracytoplasmiques ne peuvent donc, en aucun cas, être considérés comme caractéristiques des structures cancéreuses, mais témoignent, à notre avis, d'une prolifération avec ramification des structures mammaires. Ils peuvent également, comme le suggèrent ARCHER et OMAR<sup>5</sup>, représenter de simples invaginations des lumières glandulaires avoisinantes.

3. La membrane basale, entourant les structures glandulaires, peut former de volumineux replis. Ces replis,

signalés par BÄSSLER et SCHÄFER<sup>4</sup> dans leur étude de 5 cas de gynécomastie, ont été observés dans plusieurs de nos cas d'adénose et de tumeur bénigne. Notre étude de la glande mammaire animale<sup>6,9</sup> nous avait révélé que ces replis ne sont pas, comme le pensent BÄSSLER et SCHÄFER, la conséquence d'une prolifération de cellules myoépithéliales mais au contraire celle d'une régression des structures glandulaires. La dégénérescence des cellules épithéliales, particulièrement bien visible dans l'involution après sevrage, entraîne une diminution du diamètre de l'alvéole et un plissement de la basale devenue trop grande.

4. Nous n'avons pas constaté de différence morphologique entre les cellules du stroma de la glande mammaire dysplasique et celles de la glande mammaire tumorale, à part une plus grande irrégularité nucléaire des fibroblastes dans le cas des tumeurs phyllodes. Dans tous les cas étudiés, les réactions péricyaires sont nombreuses et actives et certains fibroblastes possèdent des portions de membrane basale et de fines fibrilles intracytoplasmiques témoignant de leur origine péricytaire. Cette observation infirme les conclusions de MURAD et al.<sup>2</sup> qui estiment qu'il existe une différence fondamentale entre les cellules du stroma de glande mammaire normale et celles du fibro-adénome, les cellules du stroma dans le fibro-adénome étant les seules, d'après ces auteurs, à être dérivées de péricytes.

5. Dans 5 cas de fibro-adénome, nous avons rencontré des particules de glycogène disséminées ou groupées en amas dans le cytoplasme de plusieurs cellules épithéliales et de rares cellules myoépithéliales (Figure 3). Cette présence de glycogène, que nous avons déjà constatée

<sup>1</sup> D. WAUGH et ELLEN VAN DER HOEVEN, Laboratory Investigation 2, 220 (1962).

<sup>2</sup> T. M. MURAD, M. H. GREIDER et D. G. SCARPELLI, Am. J. of Path. 51, 663 (1967).

<sup>3</sup> C. TOKER, J. Ultrastruct. Res. 21, 9 (1967).

<sup>4</sup> R. BÄSSLER et A. SCHÄFER, Virchows Arch. Abt. A. Path. Anat. 348, 356 (1969).

<sup>5</sup> F. ARCHER et M. OMAR, J. of Path. 99, 113 (1969).

<sup>6</sup> J. GIRARDIE, Z. Zellforschung 87, 478 (1968).

<sup>7</sup> S. R. WELLINGS et P. ROBERTS, J. Natl. Cancer Inst. 30, 269 (1963).

<sup>8</sup> J. A. SYKES, L. RECHER, P. H. JERNSTROM et J. WHITESCARVER, J. Natl. Cancer Inst. 40, 195 (1968).

<sup>9</sup> J. GIRARDIE, C. R. Acad. Sc. Paris 226, 883 (1968).

dans les cellules mammaires d'un cancer mucipare<sup>10</sup> a été rapportée dans la glande mammaire humaine normale par SYKES et al.<sup>8</sup>.

6. Chez la femme gestante, comme chez d'autres mammifères<sup>6</sup>, l'apparition dans les cellules mammaires des deux principaux composants de la sécrétion lactée, n'est pas simultanée. En effet, la sécrétion lipidique est déjà importante au 5<sup>e</sup> mois de la gestation alors que les

cellules épithéliales sont dépourvues de grains protéiques. La condensation du matériel protéique avec formation de grains n'est d'ailleurs que débutante dans nos prélèvements de fin de gestation effectués sur une patiente lors de l'exérèse de son épithélioma mammaire. Cependant, de nombreux grains protéiques ont été observés par WAUGH et HOEVEN<sup>1</sup> dans des glandes mammaires de femme en fin de grossesse. Nous pensons, dans notre

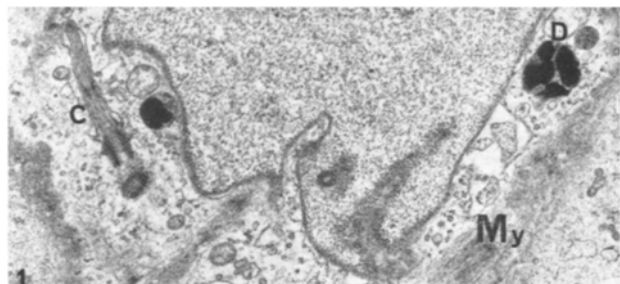


Fig. 1. Adénose: cellule myoépithéliale ciliée (C) contenant des corps denses particuliers (D). My, myofibrilles.  $\times 12\ 000$ .

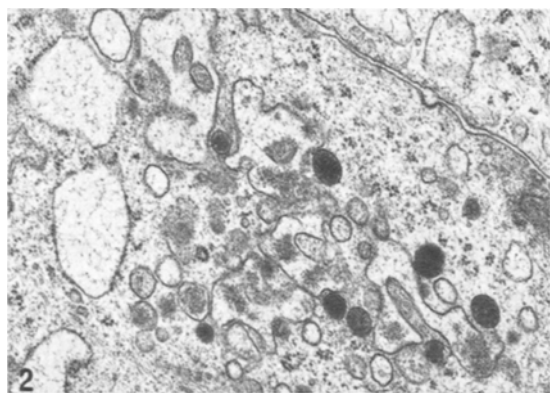


Fig. 2. Gynécomastie. Canalicule intracytoplasmique bordé de vacuoles à contenu plus ou moins dense représentant la sécrétion intracellulaire.  $\times 18\ 000$ .

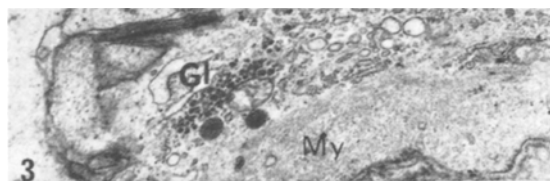


Fig. 3. Fibro-adénome: particules de glycogène (Gl) contenues dans des cellules myoépithéliales. My, myofibrilles.  $\times 12\ 000$ .

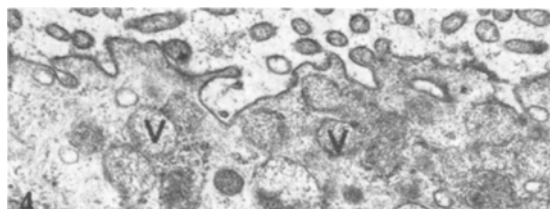


Fig. 4. Adénose. (V) Vacuoles de sécrétion de même aspect que la sécrétion mucoïde du cancer colloïde.  $\times 18\ 000$ .

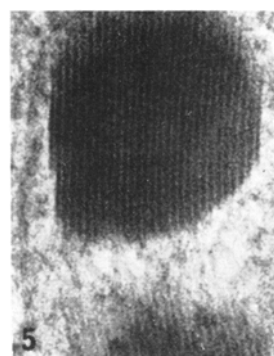


Fig. 5. Gestation. Structure tubulaire des corps denses particuliers.  $\times 60\ 000$ .

cas particulier, que la faible condensation de la sécrétion protéique doit être une conséquence de la présence du cancer.

7. L'activité sécrétoire des cellules épithéliales de la glande mammaire humaine dysplasique et tumorale se réduit généralement à de rares inclusions lipidiques et à quelques corps denses de type lysosome. Cette activité est tout à fait comparable à celle observée dans la glande mammaire de quelques rongeurs en phase de repos<sup>6</sup>. En outre, il existe dans les cellules épithéliales de la glande mammaire humaine non cancéreuse des petites vacuoles contenant un matériel granulaire plus ou moins dense. Elles se rencontrent fréquemment dans les zones golgiennes, à la partie apicale des cellules et tout particulièrement en bordure des canalicules intracytoplasmiques (Figure 2). Nous avons constaté la présence de ces vacuoles à la fois chez la femme et chez l'homme (Figure 2) alors que BÄSSLER et SCHÄFER<sup>4</sup> rapportent l'absence de sécrétion cellulaire dans leurs cas de gynécomastie. Ces vacuoles, qui se déversent dans les cavités glandulaires (souvent PAS+), correspondent vraisemblablement, comme le suggèrent ARCHER et OMAR<sup>5</sup>, à la sécrétion de mucopolysaccharides mise en évidence à l'aide de tests histochimiques par SPICER et al.<sup>11</sup> dans les lésions mammaires bénignes. D'ailleurs dans 2 cas d'adénose et 1 cas de fibro-adénome, nous avons observé une augmentation du nombre et de la taille de ces vacuoles (Figure 4) dont l'aspect apparaît alors absolument identique à celui que nous avons décrit<sup>10</sup> dans les cellules mammaires du cancer mucipare.

8. Enfin, dans 2 cas (celui de fin de gestation et 1 d'adénose), nous avons observé dans toutes les cellules myoépithéliales, et uniquement dans ces cellules, des corps denses particuliers à structure tubulaire orientée (Figures 1 et 5). Ces corps, que nous n'avons jamais

<sup>10</sup> C. M. GROS et J. GIRARDIE, Bull. cancer 54, 225 (1967).

<sup>11</sup> S. S. SPICER, R. D. NEUBECKER, C. WARREN et J. C. HENSON, J. Natn. Cancer Inst. 29, 963 (1962).

rencontrés auparavant dans des structures mammaires, restent énigmatiques bien qu'ils rappellent certaines inclusions type lysosome signalées par ROWLATT<sup>12</sup>.

**Summary.** Striking cytological features of the non-malignant human mammary gland are reported. The most important of them are 1. In gynecomastia, epithelial cells produce secretion like the epithelial cells of dysplastic and tumoral female mammary gland. 2. In pregnancy, the lipid synthesis appears earlier than the protein

synthesis. 3. Lamellar osmiophilic inclusions have been found within myoepithelial cells in two cases.

CH. M. GROS et J. GIRARDIE

*Université de Strasbourg, Chaire d'Electro-Radiologie, 11, rue Humann, F-67 Strasbourg (France), 22 juin 1970.*

<sup>12</sup> C. ROWLATT, J. Ultrastruct. Res. 22, 393 (1968).

## Die Transformation von Mesothelzellen in Hyaluronsäure produzierende Siegelringzellen<sup>1</sup>

Das Auftreten von Siegelringzellen im grossen Netz von Kaninchen und Meerschweinchen nach experimenteller Reizung des Peritoneums wurde erstmals von RANVIER<sup>2</sup> und später vereinzelt von BORST<sup>3</sup>, v. BRUNN<sup>4</sup> und ERSKIND<sup>5</sup> beschrieben.

Bei unseren Untersuchungen, die sich mit pathologischen Veränderungen der Mesothelzellen unter dem Einfluss verschiedener Reize beschäftigen, konnten wir feststellen, dass auch die i.p. Injektion von Phytohämagglutinin eine Transformation der Mesothelzellen in Siegelringzellen induzieren kann. Über die morphologischen Aspekte dieser Reaktion soll im folgenden kurz berichtet werden.

**Material und Methode.** Die Untersuchungen wurden an 4 Wochen alten männlichen Ratten durchgeführt. Die Tiere erhielten 1 ml PHA-P (Difco Laboratories, Detroit, USA) i.p. injiziert. 12, 24 und 48 h nach der Injektion wurden die Tiere in Äthernarkose dekapitiert. Vom parietalen Peritoneum wurden Häutchenpräparate nach der Methode von BENEKE et al.<sup>6</sup> angefertigt, die Peritonealflüssigkeit wurde auf Objektträgern ausgestrichen. Folgende Färbungen wurden vorgenommen: Färbung nach Pappenheim, Hämatoxylin-Eosin-Färbung (zum Teil nach Silberimprägnation der Mesothelzellgrenzen) und Alzianblaufärbung.

**Ergebnisse und Diskussion.** 12 h nach der Injektion findet sich ein zellarmer Peritonealerguss. Die versilberbaren Zellgrenzen, die bei normalen Tieren schmal sind (Figur 1), erscheinen jetzt verbreitert. Bei Tieren, die 24 h nach der Injektion getötet wurden, enthielt die Peri-

tonealhöhle grosse Mengen einer fadenziehenden Flüssigkeit. Bei der chemischen Untersuchung<sup>7</sup> dieser Flüssigkeit konnte Hyaluronsäure in einer Konzentration von etwa 50 mg/100 ml nachgewiesen werden (andere Mukopolysaccharide fanden sich nicht). Weder in der Peritonealflüssigkeit von Kontrolltieren noch in der Injektionslösung war Hyaluronsäure enthalten. In den Ausstrichpräparaten fanden sich neben neutrophilen Granulozyten und Rundzellen mit Zytoplasmavakuolen grosse Zellen, die solitäre oder mehrkammerige Vakuolen enthielten und meist einen randständigen Zellkern aufwiesen (Figur 2). Diese Siegelringzellen wurden durch das Ausstreichen meist lädiert, wodurch es zum Austritt des Zytoplasmeeinschlusses kam. In einzelnen Zellen konnten jedoch mit der Alzianblaufärbung mukoide Substanzen nachgewiesen werden.

<sup>1</sup> Die Untersuchungen wurden mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft durchgeführt.

<sup>2</sup> L. RANVIER, C. r. Acad. Sci., Paris 172, 842 (1891).

<sup>3</sup> M. BORST, Sitzungsber. physik. med. Gesellsch. Würzburg 1900, 26; Virchows Archiv 162, 94 (1900).

<sup>4</sup> v. M. BRUNN, Ziegler Beitr. 30, 417 (1901).

<sup>5</sup> L. ERSKIND, *Experimentelle Untersuchungen über die Biologie des Peritoneums* (Det Norske Videnskaps-Akademie Oslo; J. Kommissjon Hos Jakob Dybvad, Oslo 1940).

<sup>6</sup> G. BENEKE, H. W. FEIGEL und W. MOHR, Gerontologia, im Druck (1970).

<sup>7</sup> Für die chemischen Untersuchungen der Peritonealflüssigkeit danken wir Herrn PD Dr. Dr. H. GREILING, Chemisches Zentrallabor an der Medizinischen Fakultät der Rhein-Westfälischen Hochschule Aachen.

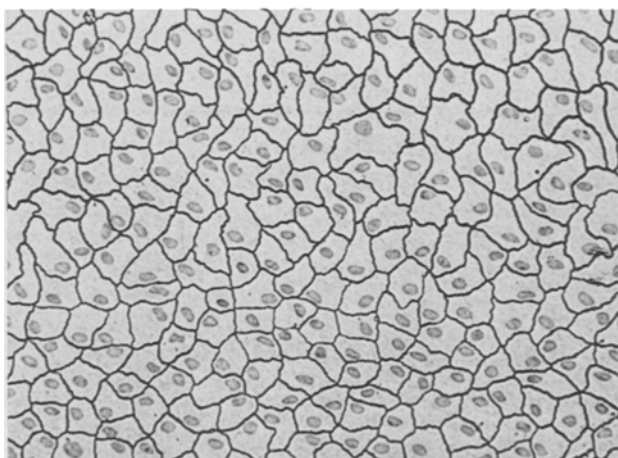


Fig. 1. Mesothelzellverband eines Kontrolltieres; Färbung: H.E., Versilberung der Zellgrenzen.  $\times 132$ .

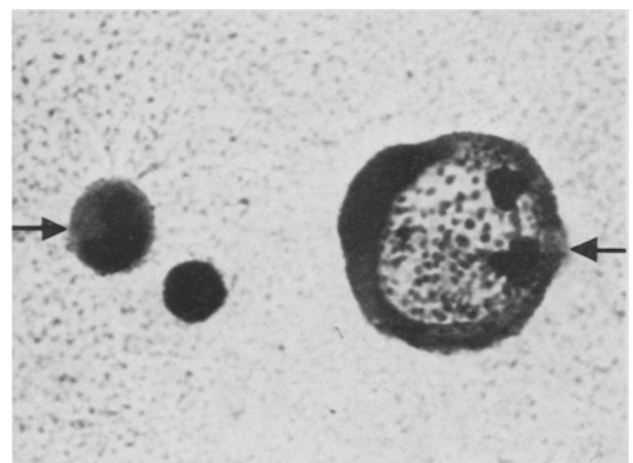


Fig. 2. Peritonealausstrich, 24 h nach PHA i.p. Pfeil 1: Siegelringzelle. Pfeil 2: Rundzelle. Färbung: Pappenheimfärbung.  $\times 1350$ .