

動物膵臟內 Enterochromaffin Cell 의 出現 및 5-Hydroxytryptophan-H³ 를 利用한 Serotonin 生合成에 關한 自記放射法的 研究

金 宇 甲*·鄭 壹 千**

(*高大·生物學科 **가톨릭醫大·解剖學敎室)

Morphological and Autoradiographic Studies on the Appearance and Serotonin Biosynthesis in the Enterochromaffin Cells of the Animal Pancreas by Use of 5-Hydroxytryptophan-H³

KIM, Woo Kap* and Il Chun CHUNG**

(*Dept. of Biology, Korea University **Dept. of Anatomy, Catholic Medical College)

(1965. 8. 5. 接受)

SUMMARY

There are few papers on the biosynthesis of serotonin in the enterochromaffin cell in the pancreas. The present studies were performed to clarify this problem by use of autoradiography in the guinea pig injected of 5-HTP-H³ in dose of 1 μ c/g. body weight. The appearance of the above mentioned cells in the pancreas of the rabbit was also studied morphologically. The results are as follows:

1. Enterochromaffin cells were found in the epithelia of all the pancreatic ducts and a few acini of normal male rabbit and most numerous in the intramural pancreatic ducts.
2. The radioautographic silver grains overling the enterochromaffin cells in the guinea pig pancreas are considered to be due to the newly synthesized radioactive serotonin in the cells from injected 5-HTP-H³.

緒 論

5-hydroxytryptamine (5-HT, serotonin) 含量이 가장 많은 곳은 動物體內에서 胃腸管과 血小板인데, 胃腸管 粘膜內 enterochromaffin cells (E.C. Cell)에서 serotonin 이 生合成한다는 것은 Erspamer (1954), Barter and Pearse (1955), Brodie et al (1955; 1956), Benditt and Wong (1957), 李 (1962), 元 (1964) 等에 依하여 研究 되었고 또 鄭 (1963), 金·鄭 (1965)은 serotonin 의 中間代謝物質인 放射性 5-hydroxytryptohan (5-HTP)을 利用하여 海狹 胃腸管 E.C. cells 에 放射能이 存在한다는 것을 自記放射法的으로 立證한 바 있다.

E.C. cell 의 形態의 主特徵은 細胞質內 分泌顆粒의 크롬親和性 및 銀親和性인데 이와 類似한 細胞는 胃腸에서 만이 아니라 他臟器에도 出現한다 하여 Erspamer and Asero (1952), Erspamer (1956)는 總稱해서 enterochromaffin system 이라 하였다.

膵臟은 發生學的으로 胃腸과 밀접한 關係가 있음으로

여기에 있는 E.C. cell 이 胃腸管의 것과 同一한 物質代謝機能을 하는지의 與否를 家兎 膵臟內 E.C. cell 分布와 아울러 海狹를 實驗動物로 하는 自記放射法으로써 檢討하였다.

材料 및 方法

實驗動物은 白色 雄性家兎(2 kg 內外) 5 마리와, 雄性 海狹(250~300 g) 3 마리를 一週間以上 一定한 條件으로 飼育하여 使用하였다. 家兎의 膵臟은 그 小片을 摘出하여 24 時間 orth 液에 固定한 後 3.5% 重크롬酸加里液에 3 日間 浮었다가 常法에 따라 5 μ paraffin 切片을 만듦이 hematoxylin-eosin 重染色과 Masson Hamperl 鍍銀變法을 施行하였다.

海狹은 DL-HTP-H³ (The Radio-Chemical Center, Amersham, Buckinghamshire, England, Specific Activity 927 μ c/mM)을 3 時間 間隔으로 1 μ c/gr (體重)을 2 回 分割하여 腹腔內에 注射한지 2 時間안에 無麻醉 屠殺하였고, 所要組織小片을 摘出하여 orth 液에 固定하였다.

paraffin 法에 依한 3 μ 切片을 stripping-film technique (Kodak "fine-grain autoradiographic stripping plate AR-10")로써 自記放射圖를 作成하였고 (Boyd, 1955; Pelc, 1956), Ehrlich's acid hematoxylin 後染色을 하여 檢鏡하였다.

結果 및 考察

E.C. cell 의 分布 : 細胞의 形態는 腸膜上皮內에 出現하는 E.C. cell 과 類似하였다(Chung, 1934). 胰臟 各部位의 連續切片 標本中에 任意로 10 枚씩을 選擇하여 胰管環切面에 出現하는 E.C. cell 總數를 計算하고 그 一枚中의 算術平均値를 各部位의 比較 E.C. cell 數로 看做하였다(Table 1).

Table 1. The appearance of the enterochromaffin cells in the pancreas and some behaviors of the ducts.

	Height of the duct epithelium	Accessory glands of the duct	Goblet cells in the duct epithelium	Number of E.C. cell
Intramural pancreatic duct	30 \pm 2	+	+	387 \pm 5.2
Main duct of wirsung	24 \pm 1.5	+	+	43 \pm 8.3
Accessory duct of Santorini	21 \pm 2	+	+	31 \pm 13
Interlobar duct	18 \pm 2	\pm	+	10 \pm 3
Interlobular duct	11 \pm 3.5	-	\pm	2 \pm 1
Intercalated duct	5 \pm 1.5	-	-	\pm
Pancreatic acini				\pm

E.C. cell 出現數는 胰管 粘膜上皮細胞의 높이와 管副屬腺 및 上皮細胞內 杯狀細胞가 減少함에 따라 E.C. cell 도 減少하였고, 潤管 및 胰腺胞 (Fig. 4) 內에는 顯微鏡 450 倍視野 3~4 回 觀察에서 적어도 1 個 程度는 나타났었다. 一般적으로 E.C. cell 의 研究者들에 依하면 胃腸粘膜內 E.C. cell 이 가장 많은 곳은 指腸上部라고 하였는데 (Chung, 1934; Tehver, 1930), Table 2 에서 보

는 바와 같이 家兎에서는 腸壁內 胰管 특히 그 開口部 (Fig. 2)에 가장 많았다.

Table 2. Frequency of the E.C. cells in the different portions.

Upper duodenum	Intramural pancreatic duct	Intramural common bile duct
69(11.2%)	387(75.4%)	71(13.4%)

이 細胞의 電子顯微鏡像은 單片的으로 發表된 것이 있으나 (Bloom and Fawcett, 1962; Cowdry and Finerty, 1960; Cansey, 1962) 細胞小器官系에 對한 詳細한 報告가 없는 것은 E.C. cell 이 胃腸膜上皮內 散在性 單腺 細胞임으로 이 細胞의 切片을 쉽게 얻을 수 없기 때문 이 아닌가 생각된다. 그러므로 앞서 말한바와 같이 家兎의 腸壁內 胰管에는 例外로 E.C. cells 이 많이 나타나므로 電子顯微鏡의인 研究에 좋은 材料가 되리라 생각 된다.

E.C. cell 의 5-HTP-H³ 攝取 : 海狗의 胰管 및 銀親和性 細胞가 나타난다는 것은 Kull (1925), Tehver(1930), Chung(1934)에 依하여 이미 發表되었다.

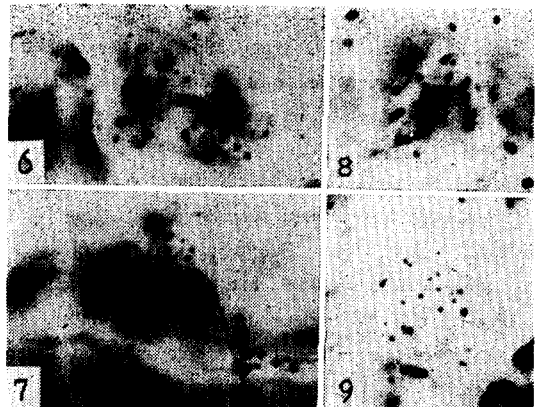
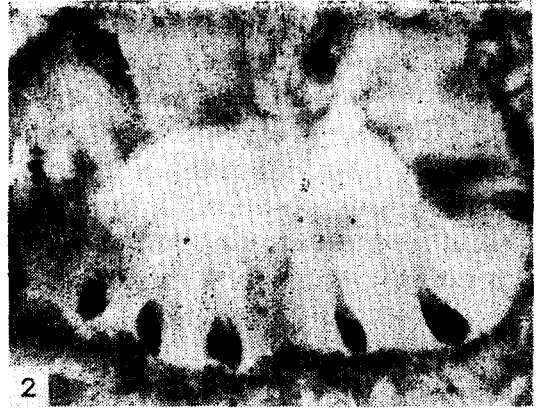
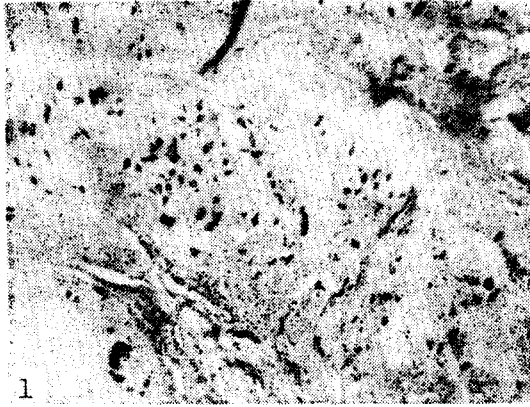
著者들은 앞서 말한바와 같이 放射性同位元素를 使用하고 stripping-film 法으로써 24 週間 露出한 切片에서 H³- β 線에 基因한다고 생각되는 銀粒子가 胰管 (Fig. 5, 6, 7, 8) 및 腺胞 (Fig. 9)에 있는 E.C. cell 에서 觀察되었다. 細胞識別은 orth 液 固定後에 post-chromation 을 거친 標本에서는 E.C. cell 分泌顆粒이 黃色調을 띠므로 本細胞는 쉽게 鑑別할 수 있었으며 H³- β 線에 因한 黑色 銀粒子는 細胞質 範圍內에서 관찰되었다.

Adams-Rey and Nordenstam(1956), Falck et al (1959) 은 副腎髓質과 旁神經節 其他 反芻類의 肝被膜, 皮膚內에 散在하는 3- β 線에 親和性 및 銀親和性인 一部 細胞는 catechol amines 을 多量 含有한다 하여 E.C. cell 과 區別하여 ecterochromaffin cell 이라 하였으며 이 系統의 것

Explanation of Plate I

1. Many E.C. cells (black dots) in the intramural pancreatic duct in the duodenal wall of rabbit, fixed in Orth's fluid and stained with Masson Hamperl's silvering method. (X 100)
2. Eight well developed E.C. cells in the interlobar pancreatic duct of rabbit, fixed in Orth's fluid and stained with Masson Hamperl's silvering method. (X 400)
3. A few E.C. cells in the interlobular pancreatic duct of rabbit, others are as fig. 2. (X 400)
4. A few E.C. cells at the pancreatic acini of rabbit, others are as fig. 2. (X 400)
5. One E.C. cell labelled by 5-HTP-H³ in the main duct of Wirsung of guinea pig, fixed in Orth's fluid and stained with hematoxylin.
6. E.C. cell labelled by 5-HTP-H³ in the interlobar pancreatic of guinea pig, others are as fig. 5. (X 1,400)
7. E.C. cell labelled by 5-HTP-H³ in the accessory gland of the pancreatic duct of guinea pig, others are as fig. 5. (X 1,400)
8. E.C. cell labelled by 5-HTP-H³ in the interlobular pancreatic duct of guinea pig, others are as fig. 5. (X 1,400)
9. E.C. cell labelled by 5-HTP-H³ in the pancreatic acinus of guinea pig, others are as fig. 5. (X 1,400)

Plate I



을 ecterochromaffin system 이라 하였다. 著者들의 이 연구에 依하면 크롬親和性 및 銀親和性인 細胞는 비록 細胞質顆粒 染色性이 ecterochromaffin cells 와 類似하나 投與된 5-HTP-H³ 을 中間代謝物質로서 攝取하여 放射性 serotonin 을 合成함으로 胃腸管 E.C. cell 과 同一한 物質代謝를 하는 enterochromaffin system 에 屬한 者라고 断定하고자 한다. 그리고 또 腸臟에는 重要한 消化酵素를 產出하는 外分泌性 腺胞細胞와 含水炭素中間代謝를 調節하는데 重要한 役割을 맡아 보는 内分泌性 Langerhans 島 以外에 serotonin 代謝에 關與하는 内分泌性 單腺 E.C. cell 이 存在한다는 興味있는 事實도 이 研究로써 밝혀졌다고 한다.

結 論

前述한 方法에 依하여 著者들은 家兎腸臟內的 E.C. cells 分布와 海貍에 5-HTP-H³ 을 1 μc/g(體重)을 投與하여 本細胞가 放射性 serotonin 을 生合成하는지의 興否를 自記放射法에 依하여 觀察하여 다음 몇 가지 結論을 얻었다.

1. 家兎腸臟內 E.C. cells 는 모든 腸管과 少數 腸腺胞에 出現하며, 腸壁內 腸管 特別 그 開口部 粘膜에는 全消化器系中 가장 많은 E.C. cells 의 出現地이다.
2. 海貍의 腸管 및 腺胞內 E.C. cells 은 投與된 5-HTP-H³로부터 放射性 serotonin 을 生合成한다.

文 獻

Adams-Ray, J. and H. Nordenstam, 1956. *Lyon chir.*, 52, 125. in: *Recent advances in anatomy*, 1961.

Barter, R., and A.G.E. Pearce, 1955. Mammalian enterochromaffin cell as the source of serotonin (5-hydroxytryptamine). *J. Pathol. Bacteriol.* 69, 25.

Benditt, E.P. and R.L. Wong, 1957. On the concentration of 5-hydroxytryptamine in mammalian enterochromaffin cells and its release by reserpine. *J. Exper. Med.* 105, 509.

Bloom, W. and D.W. Fawcett, 1962. A text book of histology, 8th edition, Saunders Co.

Boyd, G.E., 1955. *Autoradiography in Biology and Medicine*. Academic Press Inc., New York.

Brodie, B.B., A. Pletscher, and P.A. Shore, 1955. Evidence that serotonin has a role in brain function.

Science 122, 968.

Causer G., 1962. *Electron microscopy*.

鄭壹千, 1934. 腸管ニ於ケル所謂黃色細胞ノ形態學的研究補遺. *朝鮮醫誌* 24.

_____, 1963. C¹⁴ 5-hydroxytryptophan 을 利用한 enterochromaffin cell 의 實驗的 研究. *韓國原子力院論文輯* 3.

Cowdry, E.V. and J.C. Finerty, 1960. Enterochromaffin cell in the gastric fundic gland. A text book of histology, 5th edition.

Erspamer, V. and B. Asero, 1952. Identification of enteramine, the specific hormone of the enterochromaffin cell system, as 5-hydroxytryptamine. *Nature*, 159, 800.

_____, 1954. Pharmacology of indolealkylamines. *Pharmacol. Revs.* 6, 425.

_____, 1956. The enterochromaffin cell system and 5-hydroxytryptamine (enteramin, serotonin). *Triangle* 11, 4.

Falck, B., N.A. Hillarp and A. Trop, 1959. *J. Histochem.* 7, 323. in: *Recent advances in anatomy*, 1961.

金宇甲·鄭壹千, 1965. 豚胃腸管 enterochromaffin cell 의 5-hydroxytryptophan-H³ 및 放射性 serotonin 生合成에 關한 自記放射法의 研究. *가톨릭醫誌* 9.

Kull, H., 1925. Die chromaffinen Zellen des Verdauungstraktes. *Z. Mikr. Anat. Forsch.* 2.

李鉉秀, 1962. Reserpine 에 依한 enterochromaffin cell 의 實驗的 研究. *가톨릭醫誌* 5-6.

Pelc S.R., 1956. The stripping-film technique of autoradiography. *Int. J. Appl. Rad.* 1, 172-181.

Pletscher, A., P.A. Shore and B.B. Brodie, 1955. Serotonin release as possible mechanism of reserpine action. *Science* 122, 374.

_____, _____, _____, 1956. Serotonin as mediator of reserpine action in brain. *J. Pharmacol. Exptl. Therap.* 116, 84.

Tehver, J., 1930. Über die enterochromaffinen Zellen des Haussäugetiere. *Z. Mikr. Anat. Forsch.* 21.

元秉植, 1964. 海貍 胃粘膜上皮의 黃色細胞에 對한 研究, I. 正常 海貍 胃粘膜上皮內的 黃色細胞에 對한 形態學的 研究. *綜合醫誌* 9.