

胎兒 十二指腸 內分泌細胞群集의 形態 및 免疫組織化學의 特性

金恩希¹ · 金坤燮² · 洪惠南³

¹韓國體育科學研究院 스포츠醫學室, ²慶尙大學校 獸醫科大學 生化學教室, ³蔚山大學校 醫科大學 解剖學教室

임신 26주, 27주의 생명력이 없는 한국인 태아 2예를 대상으로 십이지장 점막에서의 장 내분비세포군집(일부 일본인 학자들이 명명한 "Segi's cap")의 출현, 형태 및 구조를 관찰하고, 이들 세포군집에서 내분비세포들의 존재 및 면역조직 화학적 특징들을 관찰하고자, 파라핀조직절편과 냉동박절 후 hematoxylin과 eosin염색, Azan염색, Gomori법, 그리고 면역조직화학염색 표본을 제작, 관찰하여 다음과 같은 결과들을 얻었다. 세포들의 군집 형태는 장 내강을 향해서는 오목한 형태였고, 기저막을 향해서는 볼록한 형태였다. 군집을 이룬 세포들은 중층을 이루었고, 술잔세포도 장 내강쪽에서 관찰되었다. 또한, 내강쪽에 위치한 세포들의 경우 미세융모들의 줄무늬가장자리는 관찰되지 않았다. Leu-enkephalin, somatostatin, substance P, vasoactive intestinal polypeptide 및 5-HT 항혈청을 이용하여 면역조직염색한 결과, somatostatin 양성반응세포와 5-HT 양성반응세포만이 관찰되었다. 이들 somatostatin 양성반응 세포와 5-HT 양성반응세포들은 대개가 원추형의 세포들로서 개구형을 이루고 있음을 관찰할 수 있었다.

KEY WORDS: Enteroendocrine cell, Duodenal villi, Human fetus, Immunohistochemistry

사람과 포유류의 위장관에는 amine 또는 활성 peptide를 분비하는 15종류 이상의 腸內分泌細胞들이 존재하며(Solcia *et al.*, 1981; Calingasan *et al.*, 1984; Choi *et al.*, 1986; Leeson *et al.*, 1988; Junqueira *et al.*, 1989), 이들 세포들은 그 분비물의 화학적 성질에 따라 분포상태 및 형태가 다르고, 세포질 내 세포소기관들의 미세구조에도 차이가 있다(Varkonyi *et al.*, 1974; Fujita *et al.*, 1977; Brube *et al.*, 1979; Iwanaga *et al.*, 1980; Solcia *et al.*, 1981; Calingasan *et al.*, 1984; Leeson *et al.*, 1988; Junqueira *et al.*, 1989). 이들 세포에서 분비되는 腸호르몬의 기능은 인접한 상피세포나 근육층 및 혈관의 평활근 섬유에 일차적으로 작용하거나(Furness *et al.*, 1987; Stumpf, 1988), 자율신경계와 더불어 위장관의 연동운동

및 소화작용에 직접 또는 간접적으로 관여하고 있음(Yamada *et al.*, 1984; Furness *et al.*, 1987; Stumpf, 1988)이 면역형광항체법 또는 면역조직화학적 방법등에 의하여 밝혀져 있다(Kobayash *et al.*, 1980; Ahlman *et al.*, 1981; Rombout *et al.*, 1982; Grube *et al.*, 1989; Krause *et al.*, 1989; Thompson *et al.*, 1990).

일반적으로 성인에 있어서 위장관에 존재하는 내분비세포들은 위나 소장에서의 다른 세포들과 마찬가지로 상피세포들 사이에서 미만성으로 존재(Fujita *et al.*, 1977)하고 있다. 그러나 내분비세포들이 발생과정에서 일시적으로 군집을 형성하여 나타나다가 소실된다는 것은 매우 흥미 있는 사실이다.

Segi(1935, 1936)는 임신 5개월 이상된 태아의 십이지장과 공장 시작부위의 용모 꼭대기부분

에서 장내분비세포들이 군집을 이루는 것을 처음으로 발견하였으며, Watanabe(1961)와 Osaka(1975)등도 십이지장에서 장내분비세포들의 군집 현상을 발견한 바 있다.

1980년 Iwanaga등은 Segi(1935, 1936)가 발표한 세포들의 특성을 재검토하여 동일한 성적을 얻었다. 이에 1980년 Kobayashi등(1980)은 장 용모 꼭대기에 나타나는 이들 장내분비세포들의 군집을 "Segi's cap"으로 명명하였다.

이러한 장내분비세포군집인 Segi's cap에 관하여 태아를 대상으로 한 연구보고로는, Segi(1935, 1936)이외에 Watanabe(1961), Osaka(1975), Kobayashi등(1980)과 Iwanaga등(1980) 및 김(1990)에 의한 연구들이 있다.

한편, 동물들을 대상으로 장내분비세포군집에 관한 연구 보고로서 Yamada등(1981)은 축우와 돼지의 태자에서 Segi's cap의 출현을 발표한 바 있으며, Kuramoto등(1983)은 소의 태자에서, 그리고 Ito등(1985)은 돼지의 태자에서 각기 Segi's cap을 관찰 보고한 바 있다.

이렇듯, 장내분비세포군집에 관한 연구들은 주로 일본인 연구자들에 의하여 Segi's cap으로 명명되어 시행되었으나, 인태아를 대상으로 한 연구는 거의 없는 실정이며, 더우기 이들의 출현 및 소실시기에 대해서는 김(1990)이 일부 보고한 바 있으나, 기능, 존재부위 및 존재하는 동물들에 대해서는 아직 자세히 밝혀져 있지 않다.

본 실험의 목적은 Segi's cap으로 명명되는 장내분비세포군집에 대한 형태학적 및 면역조직화학적 특징을 구명하는데 있다. 이를 위하여 임신 26주, 27주된 한국인 태아 2예를 대상으로 십이지장 점막에서 장내분비세포군집의 출현양상 및 형태학적 변화와 특징들을 관찰하였으며,

leu-enkephalin(leu-ENK), somatostatin (SOM), substance-P(SP), vasoactive intestinal polypeptide(VIP) 및 5-hydroxytryptamine(5-HT)등의 5가지 항체를 사용하여, 세포군집내에 존재하는 peptide와 amine들을 함유한 내분비세포들의 존재와 면역조직화학적 특징을 실험하여 관찰하였다.

재료 및 방법

1. 실험 대상

자연유산 및 치료적인 목적을 위해 인공유산된 임신 26주, 27주된 생명력이 없는 한국인 태아 2예를 대상으로 하였으며, 임신기(태령)의 분류는 Moore(1988)와 Patten(1953)에 의거하여 정하였고, 각각의 임신기, 성별, 좌고 (정둔장, crown-rump length), 체중등은 표 1에서와 같으며 이들 대상들은 각기 파라핀 포매, 냉동박 절용 시료제작에 사용되었다.

2. 실험 방법

태아는 유산된 후 바로 개복하여 십이지장 부위를 채취하였으며, 파라핀포매를 위한 조직절편은 Helly's 액이나 10% buffered formalin 용액에 고정한 다음, 각 부위에 따른 4 μ m의 연속절편을 만들고 균등한 간격의 조직절편을 선택하여 통상조직표본 제작과정에 준하여 hematoxylin 과 eosin 염색, 세포들의 형태구분을 위하여 Azan 염색(Fredrick, 1972) 및 크롬친화성과립들을 구분하기 위하여 Gomori 방법(Fredrick, 1972)으로 염색하였다. 또한 4 μ m 파라핀절편을 이용하여 Hsu등(1981)에 의한 면역조직염색을 시행하였다.

Table 1. Morphometrics of the human fetuses examined in this study

Fetus No.	C-R length* (mm.)	Body weight (gm.)	Gestational period (weeks)	Sex
1	250	690	26	M
2	260	1000	27	M

*: crown-rump length

M: male

한편, 조직을 파라핀에 포매시키는 경우, 알코올, xylene 등의 유기용매와 비교적 높은 열(58°C~60°C)을 거쳐야 하기 때문에 상당량의 호르몬이 누출되는 단점(Piekut et al., 1983)을 고려하여 냉동박절을 시행하였다. 이 때에는 조직을 적출하여 Zamboni용액에 고정한 후 다시 30% sucrose를 함유한 0.1M phosphate buffer에 4°C에서 2일 내지 3일간 보관하였다. 이들 조직은 freon gas를 이용하여 급속냉각시킨 뒤 냉동박절기를 사용하여 8 µm의 두께로 연속절편을 만들고 미리 준비한 gelatin-coated slide에 붙여 냉동기에 수분이 소실되지 않도록 보관한 다음, 조직절편을 Hsu등(1981)의 방법으로 면역조직염색 하였다.

1) 면역조직염색

- (1) 0.1M phosphate buffer(이하는 PB로 표기함)로 10분간 3회 수세하였다.
- (2) 0.05M phosphate buffered saline(이하는 PBS로 표기함)으로 10분간 3회 수세하였다.
- (3) 4% normal goat serum으로 2일간 4°C에서 반응시켰다.
- (4) Primary antiserum으로 2일간 4°C에서 반응시켰다.
- (5) 0.3% Triton X-100이 함유된 0.05 M PBS에 10분간씩 3회 수세하였다.
- (6) Biotinylated anti-rabbit IgG (Vector)로 2시간동안 실온에서 반응시켰다.
- (7) 0.3% Triton X-100이 함유된 0.05 M PBS에 10분간씩 3회 수세하였다.
- (8) Avidin-biotin-peroxidase complex

(Vector)로 실온에서 2시간 반응시키고

- (9) 0.05 M PBS로 10분간씩 3회 수세하였다.
- (10) 0.003% hydrogen peroxide 함유 3,3-diaminobenzidine tetrahydrochloride(Sigma)(50 mg/100 ml PBS) 용액으로 발색반응을 일으켜 현미경으로 확인하였다.
- (11) 조직슬라이드를 수돗물에 수세한 후
- (12) 36°C에서 12시간 이상 건조시킨 후 탈수와 투명화 과정을 거쳐 봉입한 후 광학 현미경으로 관찰하였다.

2) 항혈청

본 실험에 이용한 leu-enkephalin을 비롯한 5종류의 항체를 표 2에서와 같은 적정수준으로 희석하여 1차항체로 사용하였다.

형태학적 특징은 Nikon 현미경을 이용하여 관찰 및 사진촬영하였으며, Diastar(Reichert) 현미경과 연결된 Quantimet 520(Cambridge Instruments) image analyzer 및 camera lucida를 이용하여 그림묘사 하였다.

결 과

1. 세포군집의 출현양상 및 형태

26주 및 27주 태아의 십이지장 상피에서는 많은 수의 세포군집을 지니는 용모들이 관찰되었는데, 전체 용모들의 1/3 정도에서 세포군집이 발견되었다(도 1). 세포군집은 용모끝의 비교적 넓은 부위에 걸쳐 형성되어 있었으며, 세포군집을 형성하는 세포수도 상당히 많았다. 이 시기에 세

Table 2. Antisera used in this study

Antisera raised against*	Working dilution	Sources
Leu-enkephalin	1:4000	Incstar Co. U.S.A.
Somatostatin	1:1000	BioGenex Laboratory
Substance-P	1:4000	Incstar Co. U.S.A.
Vasoactive intestinal-polypeptide (VIP)	1:2000	Incstar Co. U.S.A.
5-hydroxytryptamine	1:4000	Incstar Co. U.S.A.

*All the antisera was raised in rabbit.

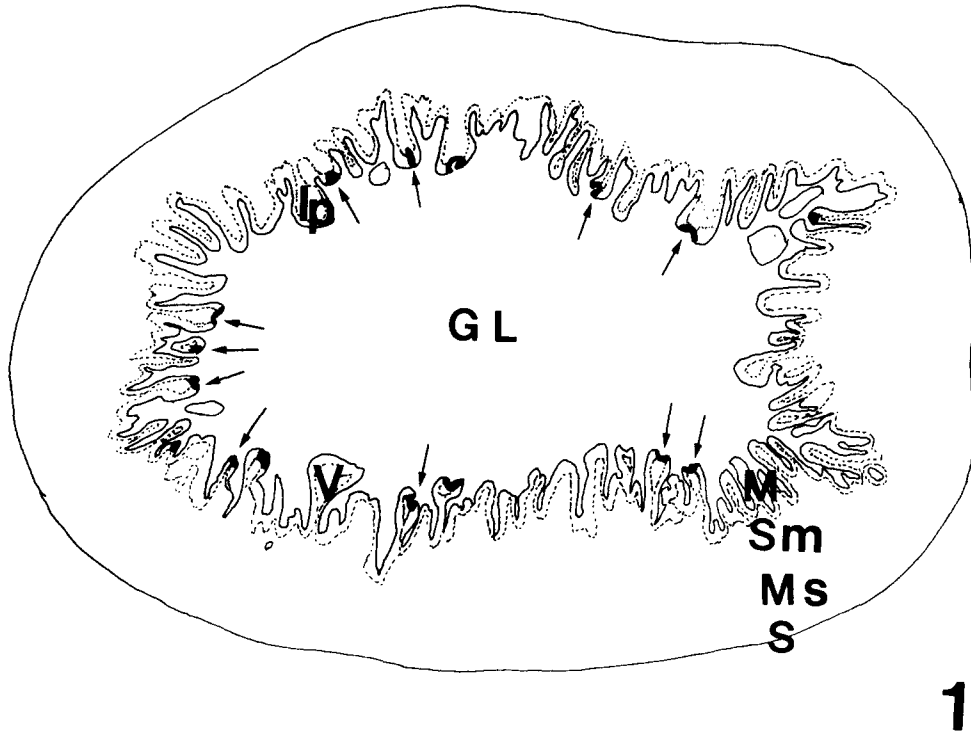


Fig. 1. Semischematic drawing of cross section of the duodenum of a human fetus, 27 weeks of gestation, shows the distribution of the aggregations of enteroendocrine cells (arrows). Aggregation of enteroendocrine cells is located on the top of some intestinal villi (V). The duodenal wall consists of mucosa (M), submucosa (Sm), muscularis (Ms) and serosa (S). The lamina propria (lp) makes up the core of the villus. GL: gut lumen.

포군집을 형성하는 대부분의 세포들은 중층을 형성하였으며, 많은 수의 술잔세포도 장 내강쪽으로 위치하고 있었다. 군집세포들은 장내강을 향해서는 오목한 형태였고, 기저막을 향해서는 점막고유관쪽으로 볼록한 형태였다. 이때 각 용모 정점에서 세포군집의 오목한 부분은 용모의 정점에서 다소 옆으로 치우쳐 위치하고 있었다(도 2A*B, 3A*B, 4A*B, 5A*B). 또한 기저면과 접하는 부분은 내강과 접하는 부분보다 더 넓은 부분을 차지하였고, 오목한 면을 형성하는 내강쪽의 세포들은 다른 흡수세포들의 외면과는 달리 미세융모들의 줄무늬가장자리가 관찰되지 않았다. 또한 이시기에 특징적인 용모형태가 관찰되었는데 용모의 끝부분이 볼록하게 부풀어 있는 형태였다.

2. 면역조직화학적 특성

Leu-enkephalin, somatostatin, substance-P 및 vasoactive intestinal polypeptide 및 5-HT 항체를 이용하여 4 μ m 두께의 파라핀절편과 8 μ m 두께의 냉동박절편을 이용하여 Hsu 등(1981)의 방법으로 염색한 결과는 표 3과 같다.

Table 3. Immunoreactivity against antisera in the aggregation of enteroendocrine cells

Antiserum	Immunoreactivity
Somatostatin	positive
5-hydroxytryptamine	positive
Leu-enkephalin	negative
Substance-P	negative
Vasoactive intestinal-polypeptide	negative

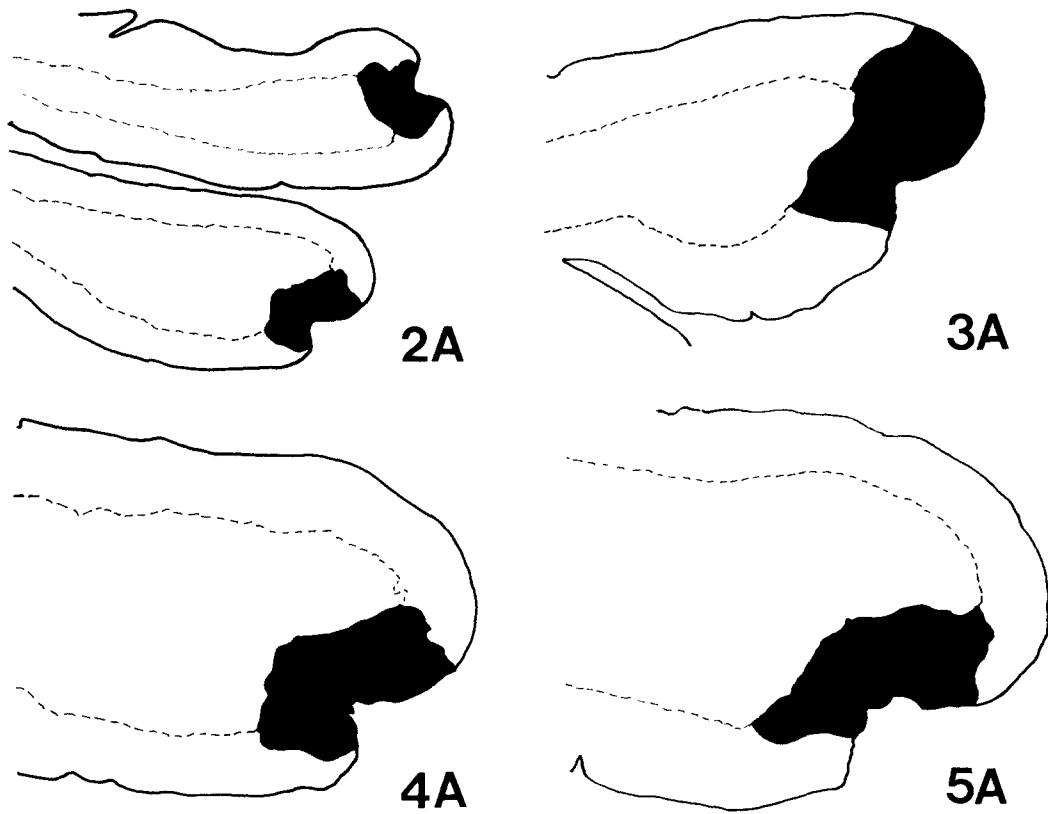


Fig. 2A-5A. Schematic drawings of the aggregation of enteroendocrine cells in the duodenal mucosa of a human fetus, 27 weeks of gestation.

Somatostatin 면역양성반응세포(도 6, 7, 8)와 5-HT 면역양성반응세포(도 9)만이 관찰되었을 뿐 enkephalin, substance-P 및 vasoactive intestinal polypeptide 양성반응 세포들은 관찰되지 않았다.

Somatostatin 면역양성반응세포들의 형태학적 특징은 원추형의 세포들이 대부분 개구형의 형태를 나타내었고, 세포군집을 형성하는 세포들 중 상당수를 차지하고 있었다. 4 μm 두께의 파라핀조직절편에서 양성반응을 보인 세포들은 주로 기저부에서 많이 관찰되었다.

5-HT 면역양성반응세포들은 원형 또는 원추형의 형태로 관찰되었으나 원추형의 세포들이 더 많이 관찰되었고, 세포군집을 형성하는 세포들 중 상당수를 차지하였으며, 5-HT 면역양성 세포들이 somatostatin 면역양성반응세포보다

더 많은 비율로 분포함을 알 수 있었다.

고 찰

일반적으로 성인에 있어서 위장관에 존재하는 내분비세포들은 위나 소장에서의 다른 세포들과 마찬가지로 상피세포들 사이에서 미만성으로 존재(Fujita *et al.*, 1977)하고 있다. 그러나 내분비세포들이 발생과정에서 일시적으로 군집을 형성하여 나타나다가 소실된다는 것은 매우 흥미 있는 사실이다.

Segi(1935, 1936)는 임신 5개월이상된 태아의 십이지장 용모 꼭대기부분에서 64개의 핵을 포함하는 장내분비세포들의 군집을 처음으로 보고하였다. Watanabe(1961)와 Osaka(1975)

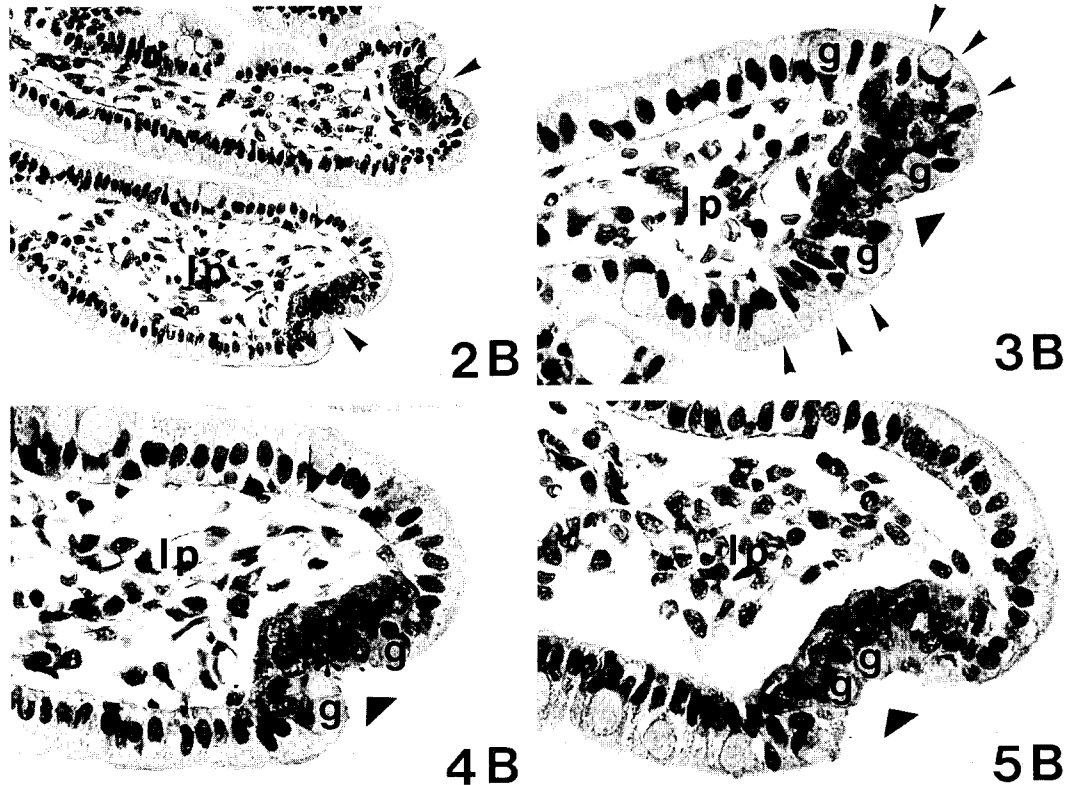


Fig. 2B-5B. Photomicrographs of the top of the duodenal villi of a human fetus, 27 weeks of gestation. Aggregations of enteroendocrine cells (*) are formed by 20 odd cells and some Goblet cells (g) are also included. The cells formed strata. The top of the villi is more or less bulged (arrow). The apical pole of the aggregations of enteroendocrine cells is concave toward the gut lumen (arrow), while they are convex toward the basal membrane. The concave surface of the aggregations of enteroendocrine cells was devoid of microvilli. lp: lamina propria. H.E. 2B.: $\times 400$. 3B-5B.: $\times 800$.

도 태아에서 장내분비세포들의 군집현상을 발표한 바 있다. Kobayashi 등(1980)과 Iwanaga 등(1980)은 Segi(1935)의 논문을 재발견하고 장내분비세포들의 특성을 실험하여 동일한 결과들을 확인한 후 장 용모의 꼭대기부분에서 관찰되어지는 장내분비세포들의 군집을 "Segi's cap"으로 명명하였다.

Segi's cap은 태아의 십이지장에서 주로 발견되어졌으며(Segi, 1935; Segi, 1936; Watanabe, 1961; Iwanaga *et al.*, 1980; Kobayash *et al.*, 1980), 소(Kuramoto *et al.*, 1983), 돼지(Ito *et al.*, 1985, Yamada *et al.*, 1981) 등의 동물에서도 보고되어 있다.

대체로 이들 Segi's cap의 출현은 임신후반기로 알려져 있으며 그들의 전반적인 형태도 유사

한 것으로 보고되어 있다.

내분비세포군집의 출현빈도를 보면, Segi(1935)는 임신 5개월 이상된 태아의 거의 모든 용모에서 세포군집이 발견된다고 하였으나 본 실험결과에서는 전체용모의 1/3 정도에서 세포군집이 발견되었다. 또한 Kuramoto 등(1983)과 Ito 등(1985)의 동물실험에서는 소장상부 용모의 40% 정도에서 발견되어진다고 하였다. 이렇게 볼 때 이는 종족간의 차이가 있는 것으로 사료되어진다.

내분비세포군집의 형태를 보면, 군집세포들은 장 내강을 향해서는 오목한 형태를, 기저막을 향해서는 점막고유관쪽으로 볼록한 형태를 보였다. 기저면이 장 내강과 접하는 부분보다 더 넓은 부분을 차지하였고, 오목한 면을 형성하는 장 내강

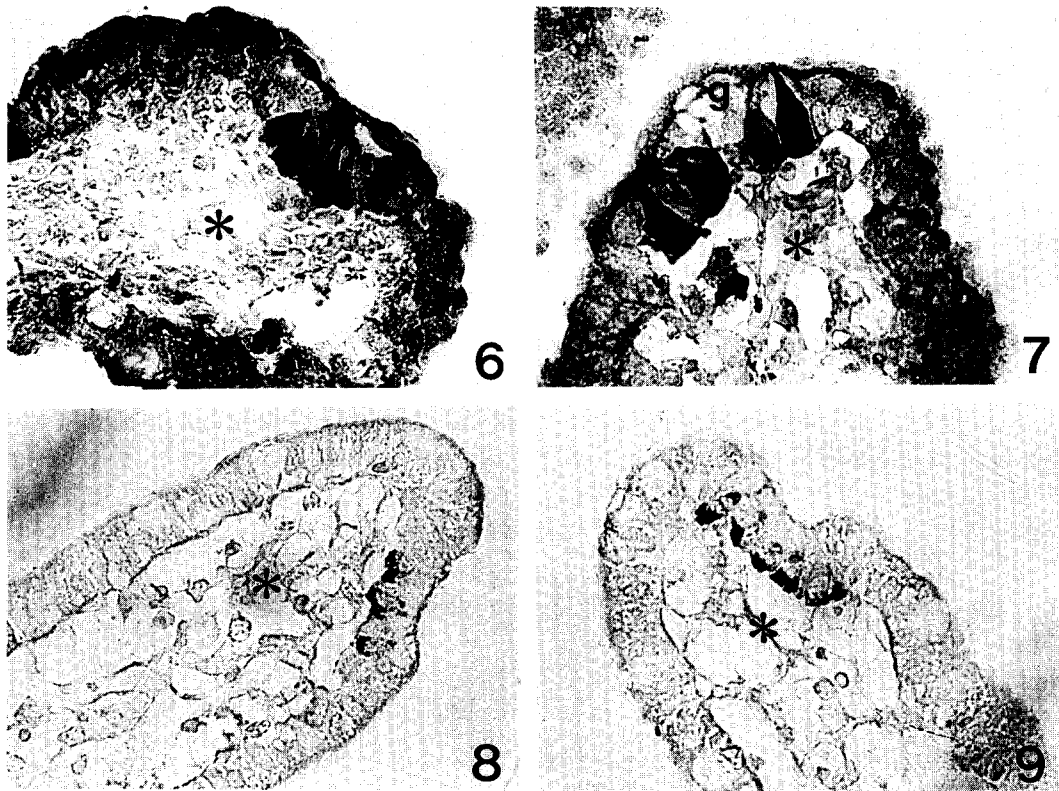


Fig. 6. Somatostatin containing cells in the aggregation of enteroendocrine cells, frozen section. 27 weeks of gestation. *: lamina propria. $\times 800$. **Fig. 7.** Somatostatin containing cells in the aggregation of enteroendocrine cells, frozen section. 26 weeks of gestation. g: Goblet cell, *: lamina propria. $\times 800$. **Fig. 8.** Somatostatin containing cells in the aggregation of enteroendocrine cells, paraffin section. 27 weeks of gestation. *: lamina propria. $\times 800$. **Fig. 9.** 5-HT containing cells in the aggregation of enteroendocrine cells, paraffin section. 27 weeks of gestation. *: lamina propria. $\times 800$.

쪽의 세포들은 다른 흡수세포들의 외면과는 달리 미세융모들의 줄무늬가장자리가 관찰되지 않았다. 또한 군집을 이룬 세포들의 내강쪽에서는 술잔세포들도 일부 관찰되었는데 이러한 결과들은 Segi(1935, 1936)의 결과와 유사함을 보였다. 이 시기의 또 다른 특징은 세포들이 중층을 이루었고, 융모의 끝부분이 불룩하게 부풀어 있는 듯한 형태를 나타내었다. 융모의 정점에서 약간 옆으로 비긴 위치에서 세포군집의 오목한 부분들이 관찰되었으며 이곳에서는 어떤 물질들이 장 내강 쪽으로 분비되는 양상을 보이기도 하였다

이러한 내분비세포군집의 기능에 대해서보면, Kuramoto 등(1983)은 송아지가 수유를 하기 전에는 세포군집이 발견되었으나 출생 며칠 후 수유를 시작 한 때에는 발견되지 않았다고 하였

으며, Ito 등(1985)의 돼지의 실험결과에서도 초유를 섭취한 후에는 세포군집이 소실된 것으로 보고하였다. 이러한 소실시기로 미루어 Kobaya-shi와 Segi(1984)는 세포군집의 기능을 출생 후 장 내강의 갑작스러운 변화에 대처하기 위한 일련의 호르몬을 분비하는 것으로 발표하였다.

이렇듯 세포군집이 태아기에 일시적으로 출현하여 임신기 후반에 소실되는 점으로 미루어 볼 때, 세포군집은 임신중기와 후반기 동안 태아에 있어서 생리학적으로 중요한 기능을 수행하는 것으로 생각되며, 양수와 장 내강의 변화에 따른 외부환경을 감지하는 태아에서의 감각기관으로서의 기능을 수행할 것으로 생각된다.

면역조직화학적 특성에 관하여 보면, Moxey

와 Trier(1977)는 13종류의 내분비세포가 태아의 소장에서 발견된다고 하였으나, 군집내에 존재하는 장내분비세포들은 아직 자세히 분류되지 않고 있다.

특수항체를 이용한 면역조직화학기법으로 연구한 결과들(Iwanaga *et al.*, 1980; Kobayashi *et al.*, 1980a; Kobayashi *et al.*, 1980b)에 의하면 세포군집 내에서는 somatostatin, gastrin, motilin 면역 양성세포들이 발견되어진다고 하였다. CCK-PZ, secretin 및 pancreatic peptide 면역양성세포들도 장 상피에서 가끔 발견되어지나 용모 꼭대기부분에서 군집을 형성하지는 않는다고 하였으며 VIP, substance-P, insulin 면역양성반응 세포들은 태아 장점막에서 관찰되지 않는다고 하였다.

Yamada 등(1981)의 소를 대상으로 한 연구에서는 substance-P 면역양성세포들이 존재한다고 하였으며, Ito 등(1985)의 돼지를 대상으로 한 연구에서는 BPP, CCK, GIP 및 leu-enkephalin 면역양성세포들이 존재한다고 보고하였다. 그러나 본 실험에서는 leu-enkephalin, somatostatin, substance-P, vasoactive intestinal polypeptide 및 5-HT 항혈청을 이용한 결과, 단지 somatostatin 양성반응 세포와 5-HT 양성반응세포만이 관찰되었다.

본 실험의 결과, somatostatin 양성반응세포는 대부분 원추형을 나타내었고 개구형으로 존재하였으며, 군집을 형성하는 세포들 중 상당수를 차지하는 것으로 관찰되었다. 그러나 태아 장내분비세포군집에 관한 면역조직화학적 연구는 Iwanaga 등(1980)이 처음으로 somatostatin 양성반응세포와 motilin 양성반응세포를 관찰한 바 있으며, Kobayashi와 Segi(1984)에 의하면 somatostatin 양성반응세포는 거의 대부분이 Fujita 등(1977)의 분류에 따라 개구형으로서 gastrin, motilin 양성반응세포들과 합쳐 군집 세포의 10% 정도를 차지한다고 하였다.

Somatostatin은 기능적으로 하수체에서 성장호르몬 분비를 억제하는 호르몬으로서 이를 분비하는 somatostatin 세포는 중추신경계 이외의

신체 각 부분의 미만성내분비계(diffuse endocrine system), 특히 위, 장, 췌장등에 분포하는 것으로 알려져 있으며, 위장관 점막상피에 분포하는 somatostatin 세포는 음식물에 의한 기계적 작용을 수용하는 기계적수용기(mechanoreceptor)로서의 작용(Kusumoto *et al.*, 1979; Larsson *et al.*, 1979; Yamada *et al.*, 1985) 뿐 만 아니라 somatostatin을 분비하여 위산분비를 억제시키거나 위장관의 운동성을 감소시키고, 장 벽을 통한 영양물질의 흡수를 감소시킨다(Arnold *et al.*, 1980; Shapiro *et al.*, 1981). 또한 gastrin과 cholecystokinin 등의 성장자극효과를 방해하는 작용을 한다(Kerstin, 1989)고 알려져 있다.

본 실험결과 5-HT 양성반응세포는 세포군집 내에서 다수 발견되었으며, 세포형태는 원형 또는 원추형으로 다양하였으나 원추형세포가 더 많았고 또한 개구형으로 존재하였으나, 태아 장에서의 5-HT 양성반응을 보인 세포들에 관한 연구들을 거의 찾아볼 수 없어 그 형태 및 기능을 비교해 보기는 어려웠다.

이러한 5-HT는 monoamine계에 속하며 대부분이 위장관 및 기타 내장 기관의 내분비세포에 들어있으며 중추신경계에도 소량이 존재(Nemoto *et al.*, 1983; Dey *et al.*, 1984)하는 것으로, 위장관에서의 기능은 위산분비 억제와 소화관 연동운동에 관여하는 것으로 알려져 왔다(Brazeau *et al.*, 1973; Guyton, 1986). 한편 신경관에 출현하는 5-HT함유세포는 다른 신경세포들의 분화 및 발달에 영향을 준다(Park *et al.*, 1988)고 하였으나 소화관의 점막상피 및 세포군집내에 존재하는 이들 세포의 기능에 대하여서는 앞으로 더 자세한 연구들이 수행되어야 할 것으로 사료된다.

본 실험결과 알게 된 somatostatin 양성반응 세포와 5-HT 양성반응세포 이외의 세포군집내에 존재하는 장내분비세포 종류와 그들의 형태학적 특징 및 기능을 이해하기 위해서는 전자현미경적 연구와 면역조직화학법 및 추적물질을 이용한 방법들을 병행하여 세포들의 형태학적 특징과

이들 세포들의 기능 연구가 더 필요할 것으로 사료된다.

참고문헌

- Ahlman, H., H.N. Bhargava, A. Dahlstrom, I. Larsson, B. Newson, and G. Pettersson, 1981. On the presence of serotonin in the gut lumen and possible release mechanisms. *Acta Physiol. Scand.* **112**(3): 263-269.
- Arnold, R. and P.C. Lankish, 1980. Somatostatin and the gastrointestinal tract. *Clin. Gastroenterol.* **9**: 733-753.
- Brazeau, P., W. Val, and R. Burgus, 1973. Hypothalamic polypeptide that inhibits the secretion of immunoreactive pituitary growth hormones. *Science* **179**: 77-79.
- Brube, D. and W.G. Forssman, 1979. Morphology and function of entero-endocrine cells. *Horm. Metab. Res.* **11**: 603-620.
- Calingasan, N.Y., N. Kitamura, J. Yamada, J. Oomor, and T. Yamashita, 1984. Immunocytochemical study of the gastroenteropancreatic endocrine cells of the sheep. *Acta Anat.* **118**: 167-170.
- Choi, W.B., M.H. Won, H.J. Park, and J.E. Seo, 1986. Immunocytochemical identification of gastrin, glucagon, somatostatin and CCK-8 secreting cells in the gastrointestinal mucosa of the rhesus monkey. *Korean J. Anat.* **19**: 181-197.
- Dey, R.D. and J. Hoffpauir, 1984. Ultrastructural immunocytochemical localization of 5-hydroxytryptamine in gastric enterochromaffin cells. *J. Histochem. Cytochem.* **32**: 661.
- Frederick, A.P., 1972a. Gomori's method to demonstrate chromaffin granules. In: *Manual of Histopathological staining Method.* New York, John Wiley and Sons, pp.212-213.
- Frederick, A.P., 1972b. Heidenhain's Azan-carmin aniline blue method. In: *Manual of Histopathological Staining Methods.* New York, John Wiley and Sons, pp.103-105.
- Fujita, T. and S. Kobayashi, 1977. Structure and function of gut endocrine cells. *International Review of Cytology Suppl.* **6**: 187-233.
- Furness, J.B., M. Costa, A. Rokaeus, T.J. McDonald, and B. Brookse, 1987. Galanin-immunoreactive neurons in the guinea-pig small intestine: their projections and relationship to other enteric neurons. *Cell Tissue Res.* **250**(3): 607-615.
- Grube, D., G. Bargsten, Y. Cetin, and S. Yoshie, 1989. Chromogranins in mammalian GEP endocrine cells: their distribution and interrelations with costored amines and peptides. *Arch Histol. Cytol.* **52**: 91-98.
- Guyton, A.C., 1986. Secretory functions of the alimentary tract. In: *Textbook of Medical Physiology.* 7th ed., Philadelphia, W.B. Saunder Co., pp.770-786.
- Hsu, S.M., L. Raine, and H. Fanger, 1981. The use of avidine-biotin-peroxidase complex (ABC) in immunoperoxidase technique: A comparison between ABC and unlabeled antibody (PAP) procedure. *J. Histochem. Cytochem.* **29**: 577-580.
- Ito, H., J. Yamada, N. Kitamura, T. Yamashita, and N. Yanaihara, 1985. Histological and immunohistochemical studies of the Segi's cap, a large aggregation of endocrine cells on the intestinal villi of porcine fetuses and neonates. *Arch Histol. Jap.* **48**(4): 399-409.
- Iwanaga, T., S. Kobayashi, T. Fujita, and N. Yanaihara, 1980. Immunocytochemistry and ultrastructure of Segi's cap. *Biomedical Research* **1**: 117-129.
- Junqueira, L.C., J. Carneiro, and O.K. Robert, 1989. *Basic Histology.* 6th ed., Connecticut, Prentice-Hall International Inc., p.85.
- Kerstin, U.M., 1989. The gastrointestinal tract in growth and reproduction. *Scientific American* **261**: 60-65.
- Kim, E.H., 1990. Structural and immunohistochemical characteristics of the aggregations of enteroendocrine cells in the duodenum of human fetuses. Graduate school of Kyungpook National University.
- Kobayashi, S., T. Iwanaga, T. Fujita, and N. Yanaihara, 1980. Do enterochromaffin (EC) cells contain motilin?. *Arch Histol. Jap.* **43**(2): 85-98.
- Kobayashi, S., and M. Segi, 1984. Gut paraneurons and Segi's cap. In: *Ultrastructure of endocrine cells and tissues.* Motta PM (ed), Boston, Martinus Nijhoff Publishers, pp.127-135.
- Kobayashi, S., T. Iwanaga, and T. Fujita. 1980. Segi's cap: huge aggregation of basal-granulated cells discovered by Segi (1935) in the small intestine of human fetus. *Arch Histol. Jap.* **43**: 79-83.
- Krause, W.J., J. Yamada, and J.H. Cutts, 1989. Enteroendocrine cells in the developing opossum small intestine and colon. *J. Anat.* **162**: 83-96.
- Kuramoto, H., J. Yamada, N. Kitamura, T. Yamashita, and N. Yanaihara, 1983. An immunohistochemical and ultrastructural study of Segi's cap, a large aggregation of gut endocrine cells, in bovine fetuses. *Arch Histol. Jap.* **46**(5): 701-711.
- Kusumoto, T., T. Iwanaga, S. Ito, and T. Fujita, 1979. Juxtaposition of somatostatin cell and parietal cell in the dog stomach. *Arch Histol. Jap.* **42**: 459-465.
- Larsson, L.I., N. Goltermann, L. Magistris, J. Rehfeld, and T.W. Schwartz, 1979. Somatostatin cell processes

- as pathway for paracrine secretion. *Science* **205**: 1393-1395.
- Leeson, T.S., C.R. Leeson, and A.A. Pararo, 1988. *Text/Atlas of Histology*. Philadelphia, W.B. Saunders Co., pp.434-456.
- Moore, K.L., 1988. *The Developing Human-Clinically oriented Embryology*. 4th ed., Philadelphia, Saunders Co., pp.87-103.
- Moxey, P.C., and J.S. Trier, 1977. Endocrine cells in the human fetal small intestine. *Cell Tissue Res.* **183**: 33-50.
- Nemoto, N., A. Kawaoi, T. Okano, H. Ushiyama, H. Sato, and T. Shikata, 1983. Immunohistochemistry of serotonin (5-HT) in the human gut endocrine cells. An application of ultrastructural immunohistochemistry. *Acta Histochem. Cytochem.* **16**: 577.
- Osaka, M., 1975. Fine structure of the basal-granulated cells in human fetal duodenum. *Arch Histology Jap.* **38**: 307-319.
- Park, K.A., J.E. Lee, W.T. Lee, I.H. Chung, and T.S. Shin, 1988. Immunocytochemical study on the development of serotonin containing neurons in the gut of rat embryos. *Korean J. Anat.* **21**(2): 369-375.
- Patten, B.M., 1953. *Human Embryology*. 2nd ed., New York, Blakiston Company.
- Piekut, D.T., 1983. Casey SM. Penetration of immunoreagents in vibratome sectioned brain. *J. Histochem. Cytochem.* **31**: 669.
- Rombout, J.H., and J.J. Taverne-Thiele, 1982. An immuno-cytochemical and electronmicroscopical study of endocrine cells in the gut and pancreas of a stomachless teleost fish, *barbus conchonus*. *Cell Tissue Res.* **227**(3): 577-593.
- Segi, M., 1935. Über eine aus chromaffine-Darmzellen bestehende Struktur auf den Zotten von Menschenembryo. *Acta Anat. Nippon.* **8**: 276-280.
- Segi, M., 1936. Über die Entwicklung der verschiedenen Granulazellen in Darmepithel des Menschenembryo. *Acta Anat. Nippon.* **9**: 850-937.
- Shapiro, B., K. Pienta, A. Heldsinger, and I. Vinik, 1981. Somatostatin is an agonist and noncompetitive antagonist of gastrin in oxyntic cell function. *Endocrinology* **109**: 1117-1121.
- Solcia, E., W. Creutzfeldt, S. Falkmer, T. Fujita, M.H. Greider, M.I. Grossman, D. Grube, R. Hakason, L.I. Larsson, J. Lechago, K. Levin, J.M. Polak, and W. Rubin, 1981. Human gastroentero-pancreatic endocrine-paracrine cells: Santa Monica 1980 Classification. In: *Cellular basis of chemical messengers in the digestive system*. London, Academic Press, pp.159-165.
- Stumpf, W.E., 1988. Vitamin D-soluble the heliogenic steroid hormone: somatotrophic activator and modulator, Discoveries from histochemical studies lead to new concepts. *Histochemistry* **89**(3): 209-219.
- Thompson, E.M., Y.E. Price, and N.A. Wright, 1990. Kinetics of enteroendocrine cells with implications for their origin: a study of the cholecystokinin and gastrin subpopulations combining tritiated thymidine labelling with immunocytochemistry in the mouse. *Gut* **31**(4): 406-411.
- Varkonyi, T., G. Gergely, and V. Varo, 1974. The ultrastructure of the small intestinal mucosa in the developing human fetus. *Scand. J. Gastroent.* **6**: 495-500.
- Watanabe, K., 1961. Study on the basal-granulated cells in the intestinal epithelium of human fetuses. *Acta Anat. Nippon.* **36**: 4-5.
- Yamada, J., N. Kitamura, and T. Yamashita, 1985. The relative frequency and topographical 5-HT, and neurotensin-immunoreactive cells in the proventriculus of seven species of birds. *Arch. Histol. Jap.* **48**: 305-314.
- Yamada, J., H. Kuramoto, T. Iwanaga, T. Yamashita, M. Misu, and N. Yanaiharu, 1981. Segi's cap, a large aggregation of endocrine cells on the intestinal villi, occurs also in cattle and pig fetuses. *Arch. Histol. Jap.* **44**: 193-197.
- Yamada, T., A.H. Soll, J. Park, and J. Elashoff, 1984. Autonomic regulation of somatostatin release studies with primary culture of canine fundic mucosal cells. *Am. J. Physiol.* **247**: 567-573.

(Accepted September 25, 1993)

Structural and Immunohistochemical Characteristics of the Aggregations of Enteroendocrine Cells in the Duodenum of Human Fetuses

Eun Hee Kim¹, Gon Sup Kim² and Hea Nam Hong³

(¹Department of Sport Medicine, Korea Sport Science Institute, ²College of Veterinary Medicine, Gyeongsang National University, ³College of Medicine, Ulsan University)

To investigate the structural and immunohistochemical characteristics of the aggregations of enteroendocrine cells in the duodenal mucosae from 2 human fetuses of the 26 weeks and 27 weeks of gestation, paraffin and frozen section slides were employed. Slides were stained with hematoxylin and eosin, Azan, Gomori, and immunohistochemistry. The results obtained were as follows: The aggregations of enteroendocrine cells were observed in the fetus of 26 and 27 weeks of gestation. The shapes of cell aggregations were concave toward gut lumen and convex toward basal lamina. The cells of aggregation formed strata and Goblet cells were observed at the gut luminal surface. Basal granulated cells in the aggregations were devoid of microvilli. Only somatostatin- and 5-HT-immunoreactive cells were found in aggregations in immunohistochemical preparations using leu-enkephalin, somatostatin, substance P, vasoactive intestinal polypeptide and 5-HT antisera. These somatostatin-, 5-HT-immunoreactive cells were cone in shape and positioned open in type. 5-HT-immunoreactive cells were more widely distributed than somatostatin-immunoreactive cells.