

한국재래산양 뇌하수체의 성샘자극세포에 관한 전자현미경적 연구

이인세 · 이흥식 · 강태천 · 원무호*

서울대학교 수의과대학 해부학교실

한림대학교 의과대학 해부학교실*

(1996년 6월 11일 접수)

Electron microscopic studies on the gonadotropes in the hypophysis of the Korean native goat

In-se Lee, Heungshik S. Lee, Tae-cheon Kang, Moo-ho Won*

Department of Anatomy, College of Veterinary Medicine, Seoul National University

*Department of Anatomy, College of Medicine, Hallym University**

(Received Jun 11, 1996)

Abstract : Ultrastructures of hypophyseal gonadotropes were studied in the hypophysis of the Korean native goat by electron microscopic immunohistochemistry with antisera to follicle stimulating hormone(FSH) and luteinizing hormone(LH).

1. Gonadotropes in the adenohypophysis were observed in the pars distalis and the pars tuberalis, but not in the pars intermedia.

2. FSH cells were round or oval in shape, and contained two types of round secretory granules, i.e., small and large granules. Small secretory granules were electron-dense and 180-275nm in diameter. Large secretory granules were less electron-dense than small granules and 485-555nm in diameter.

3. LH cells were round or oval in shape and also contained two types of secretory granules, the size of which were smaller than that of FSH cells. Small secretory granules were electron-dense and 160-230nm in size. The size of large secretory granules were 315-415nm with moderate electron densities.

Key words : FSH, immunohistochemistry, Korean native goat, LH.

* 이 연구는 1995년도 한국과학재단 연구비지원(과제번호 : 951-0612-046-1)에 의해 수행되었음.

Address reprint requests to Dr. In-se Lee, College of Veterinary Medicine, Seoul National University, Suwon 441-744, Republic of Korea.

서 론

뇌하수체(hypophysis)는 발생학적으로 구강외배엽(oral ectoderm)으로부터 분화된 샘뇌하수체(adenohypophysis)와 간뇌(diencephalon)의 바닥이 아래쪽으로 내려와 형성된 신경뇌하수체(neurohypophysis)의 두 부분으로 이루어져 있다¹².

이중 대부분의 호르몬분비세포를 함유하고 있는 부분은 샘뇌하수체로서 원위부분(pars distalis), 용기부분(pars tuberalis) 및 중간부분(pars intermedia)의 세 부분으로 구성되어 있다.

샘뇌하수체에서 호르몬분비세포는 주로 원위부분에 가장 많이 포함되어 있다. 현재까지 알려진 바로는 성장자극세포(somatotrope), 젖샘자극세포(mammotrope), 갑상샘자극세포(thyrotrope), 성샘자극세포(gonadotrope) 및 부신피질자극세포(corticotrope) 등의 호르몬분비세포가 원위부분에 존재하는 것으로 보고되고 있다³⁻¹⁰.

이중 성샘자극세포는 성샘의 기능을 조절하는 중요한 호르몬인 황체형성호르몬(luteinizing hormone, LH)과 난포자극호르몬(follicle stimulating hormone, FSH)을 분비하는 세포로서 원위부분과 용기부분에서 주로 동모양모세혈관에 가까이 위치해 있는 것으로 알려지고 있다^{11,12}. 종전의 조직화학염색법에 의하면 성샘자극세포에는 두 종류의 세포가 있어서 이중 하나는 LH를, 다른 하나는 FSH를 분비하는 것으로 알려져 왔다. 그러나 근래 항체를 이용한 면역조직화학법에 의한 연구에 의하면 대부분의 성샘자극세포는 LH와 FSH의 두 가지 호르몬을 모두 생산하지만 일부 세포는 이 두 호르몬을 각각 독립적으로 분비한다고 보고되어 있다. 또한 하나의 성샘자극세포에서 LH와 FSH가 같은 분비과립에 존재하는지 또는 서로 다른 과립에 존재하는지에 대한 연구도 이루어지고 있으나 아직 명확하게 밝혀지지 않고 있다¹³⁻¹⁸.

지금까지 새김질동물류 뇌하수체의 성샘자극세포에 관한 연구는 소, 양, 산양을 대상으로 한 연구가 소수 보고되고 있다¹⁷⁻²¹. 그러나 같은 새김질동물류에 있어서도 큰새김질동물에 속하는 소는 일년내내 발정이 오는 연중다발정동물인데 비하여, 작은새김질동물인 양과 산양은 가을에서 겨울에 걸쳐 발정이 오는 번식계절을 갖는 동물이어서 성샘의 계절적 변화가 많다. 따라서 양과 산양은 발정기와 비발정기의 계절성이 명확하기 때문에

번식과 관계된 각종 연구에 좋은 연구대상동물로 여겨지고 있다^{22,23}. 이런 점에서 한국재래산양은 조사료의 이용률이 높고 질병에 강한 체질때문에 값비싼 젖소나 한우 또는 양을 대신하여 새김질동물을 대상으로 하는 많은 연구에 이용되고 있다. 근래에는 한국재래산양을 대상으로한 해부학적 연구 및 각종 번식생리와 관련된 연구가 많이 수행되고 있다²⁴⁻²⁹. 그러나 번식과 관련된 내분비계통의 연구에 있어서 필수적으로 전제되어야 할 뇌하수체에 관한 연구는 극히 드물며 특히 성샘자극세포에 대한 면역조직화학적 연구는 전무한 실정에 있다.

따라서 본 연구에서는 포매후 면역조직화학법에 의한 전자현미경적 관찰을 통하여 이들 성샘자극세포의 미세구조, 과립의 형태 등을 밝혀 새김질동물을 대상으로 하는 내분비 및 번식계통의 각종 연구 및 임상실험을 위한 해부학적 기초자료를 제공할 목적으로 수행되었다.

재료 및 방법

실험동물 및 조직처리 : 체중 15kg 내외의 한국재래산양 암·수 각 4마리를 사용하였다. 실험동물은 Rompun (Bayer Korea Co.)으로 마취시켜 왼쪽총목동맥을 통하여 방혈시키고 계속 1000ml 당 heparin 1000IU를 함유한 saline 용액으로 관류세척하였다. 관류세척이 끝난 동물은 4℃의 0.1M phosphate buffer(pH 7.4)에 녹인 4% paraformaldehyde-0.2% glutaraldehyde용액으로 관류고정하였다. 관류고정이 끝난 동물은 두개강을 열고 뇌하수체를 적출해내어 세절한 다음 관류고정액과 동일한 고정액에서 하룻밤 고정시켰다. 고정이 끝난 조직은 2% osmium tetroxide에서 30분간 후고정한 다음 통상방법에 따라 알콜로 탈수하여 Polybed resin(Polyscience U.S.A.)에 포매하여 40℃에서 24시간, 60℃에서 48시간 중합시켰다.

면역조직화학반응 및 전자현미경 관찰 : 포매된 조직은 Ultramicrotome (Reichert Jung, U.S.A.)을 이용하여 1μm 두께의 semithin 절편을 제작한 후 계속하여 초박절편을 제작하였다. 제작된 semithin 절편은 Maxwell의 방법³⁰에 따라 KOH 2g을 absolute methanol 10ml, propylene oxide 5ml에 녹인 용액에서 3분간 반응시켜 resin을 제거하였다. Resin이 완전히 제거된 조직절편은 streptavidin-biotin peroxidase 방법으로 FSH 또는 LH에 대한 면역조직화학반응을 수행하였다.

조직은 먼저 비특이적 반응을 방지하기 위하여 nor-

mal goat serum에서 2시간 반응시켰다. 이후의 면역조직 화학반응에 이용된 모든 항체는 3% normal goat serum 및 0.1% Triton-X 100이 함유된 0.1M phosphate buffered saline(PBS, pH 7.4)에 희석하여 사용하였다.

1차항체는 rabbit anti-human luteinizing hormone(LH, Dako, U.S.A.)과 rabbit anti-human follicle stimulating hormone(FSH, Dako, U.S.A.)의 희석용액을 각각 1:4로 다시 희석하여 사용하였다. 조직은 1차항체로 4℃에서 하룻밤동안 반응시킨 후 2차항체인 biotinylated-goat anti-rabbit IgG(Zymed, U.S.A.)를 1:200으로 희석하여 상온에서 2시간 반응시켰다. 이어서 1:200으로 희석한 peroxidase conjugated streptavidin (Zymed, U.S.A.)에 상온에서 1시간 반응시켰다. 이상 각 단계의 반응 후에는 PBS(pH 7.4)액으로 4~5차례 세척하였다.

항원항체반응이 끝난 조직은 0.003% 과산화수소와 0.05% DAB(3,3'-diaminobenzidine tetrachloride, Sigma, U.S.A.)가 함유된 Tris buffer(pH 7.4)용액에서 10~15분간 발색시켰다.

반응이 끝난 semithin 절편은 광학현미경으로 관찰하여 FSH 및 LH에 양성반응을 보인 세포를 확인한 후 인접 초박절편에서 이와 동일한 세포를 전자현미경으로 확인하여 촬영하였다. 전자현미경은 ZEISS EM 109 투과전자현미경을 사용하였다.

결 과

한국재산양 뇌하수체에서 성샘자극세포를 항원항체반응에 의한 면역조직화학염색법에 의하여 관찰한 바 생뇌하수체 원위부분과 용기부분에서 이들 호르몬분비 세포가 확인되었다. 성샘자극세포는 FSH 항체에 면역반응을 보인 세포(FSH 세포)와 LH항체에 면역반응을 보인 세포(LH 세포)로 구분 관찰되었다(Figs 1-4).

FSH세포는 타원형의 세포로 세포질은 밝게 관찰되었다. 이 세포의 핵은 비교적 밝았으며 형태는 원형 내지 타원형으로 약간 편심적으로 위치하였고 뚜렷한 핵소체를 지녔다. FSH세포는 원형의 전자밀도가 다소 높은 분비과립을 함유하였다. 분비과립의 직경은 180~555nm이었으나, 대체적으로 직경 180~275nm의 크기를 갖는 작은 과립과, 485~555nm의 큰 과립으로 구분관찰되었다. 이 중 큰 분비과립은 과립의 경계가 분명하였고 전자밀도는 중등도였으며, 작은 분비과립은 경계가 불분명한

것이 많았으나 전자밀도는 큰 분비과립에 비하여 약간 높았다(Fig 1, 2). 이들 소견을 암수가 동일하였다.

LH세포는 암수 모두 원형 또는 타원형의 세포로서 세포질은 FSH세포보다 약간 어둡게 관찰되었다. 핵은 편심적으로 위치하였고 형태는 원형 내지 타원형으로 1~2개의 뚜렷한 핵소체를 지녔으며 핵막의 함입이 관찰되었다. 이 세포의 분비과립은 대부분 원형으로 전자밀도는 대체로 높은 편이었다. 분비과립은 직경이 160~415nm로 FSH세포의 분비과립에 비하여 약간 작았다. LH세포의 분비과립도 직경 315~415nm의 큰 분비과립과 직경 160~230nm의 작은 과립으로 구분관찰되었고 큰 분비과립이 작은 분비과립에 비하여 전자밀도가 낮았으나 과립의 경계는 보다 뚜렷하였다(Figs 3, 4).

FSH세포와 LH세포 모두에서 과립형질내세망, 골지복합체 등 세포소기관의 발달은 미약하였다.

고 찰

생뇌하수체의 성샘자극세포에 대한 초기의 형태학적 연구는 Farguhar와 Rinchar³¹가 거세에 반응하는 두가지 형의 세포를 동정해낸 이래 Purves와 Griesbach³², Rennels³³ 등이 쥐에서 두가지 형의 성샘자극세포가 존재함을 보고하였다. 그후 Shiino와 Rennels³⁴가 쥐에서 면역형광항체법을 이용하여 성샘자극세포의 하나는 FSH를, 다른 하나는 LH를 함유하고 있음을 증명하였다.

성샘자극세포에 대한 전자현미경 관찰은 Farguhar와 Rinchar³¹에 의하여 처음 FSH세포와 LH세포의 두 형의 세포가 보고된 이래 Kurosumi와 Oota³⁵, Childs *et al*³⁶이 쥐에서 두 가지 형의 성샘자극세포를 전자현미경으로 구분하였다. 새끼질동물의 경우 Mikami³⁷가 소에서, Dacheux와 Dubois^{11,38}가 소와 양에서 성샘자극세포의 전자현미경적 구조를 보고한 바 있다. 그러나 이들 연구자는 성샘자극세포에서 FSH세포와 LH세포를 구분할 수 있는 명확한 기준은 제시하지 못하였다. 그러나 근래 고도로 정제된 당단백질호르몬의 항체를 이용한 면역조직화학적 기법에 의하여 보다 분명한 성샘자극세포의 미세구조가 밝혀지고 있다^{14,15,17,39}.

한국재산양의 뇌하수체를 대상으로 한 본 실험에서는 FSH와 LH에 대한 항혈청을 이용하여 면역조직화학적 반응을 일으킨 세포를 박절편에서 확인한 다음 이를 인접 초박절편에서 전자현미경으로 관찰하였기 때문에

FSH세포와 LH세포를 분명하게 구분할 수 있었다. 이 결과 FSH와 LH세포 모두 난원형의 세포로 핵은 비교적 크고 편심적으로 위치하였으며 뚜렷한 핵소체를 지녔다. 이러한 결과는 Dacheux와 Dubois^{11,38}가 소와 양에서 성샘자극세포가 중간 크기의 원형 또는 난원형 세포로 큰 핵이 편심적으로 위치하였다는 보고와 유사한 결과였다. 그러나 이들 연구자가 소에서 높은 전자밀도를 갖는 세포가 나타나기도 한다고 하였는데 이는 본 실험에서 LH세포의 세포질이 FSH에 비하여 다소 높은 전자밀도를 갖는 것으로 보아 LH세포에 해당하는 세포일 것으로 생각된다.

내분비세포의 미세구조를 동정하는데 있어서는 그 세포에 함유된 분비과립의 크기나 전자밀도를 비교 관찰하는 것이 가장 중요한 감별기준이 되고 있다. 성샘자극세포의 경우 분비과립은 동물 또는 종간에 따라 많은 차이를 보이는데 쥐의 경우 Childs *et al*⁶은 평균 250nm 크기의 분비과립을 함유한다고 하였으나 Inoue와 Kurosumi⁴⁰는 FSH세포는 최대 500nm까지의 큰 과립을, LH세포는 250-300nm의 작은 과립을 함유한다고 하였다. 소의 경우에도 Mikami³⁷는 220-300nm와 250-300nm의 과립을, Dacheux와 Dubois³⁸는 200-400nm의 규칙적인 구형의 분비과립을 함유한다고 하였다.

한국재래산양의 경우 FSH세포는 직경이 180-555nm, LH세포는 160-415nm로 FSH세포의 분비과립이 LH세포의 분비과립에 비하여 다소 크게 관찰되었으나 두 세포 모두 과립의 크기에 있어서 차이의 폭이 컸다. 그러나 이것은 다양한 크기에서 오는 차이가 아니라 대체적으로 큰 과립과 작은 과립의 두 무리로 구분할 수 있는 크기의 차이로서 FSH세포는 과립직경이 180-275nm와 485-555nm, LH세포는 160-230nm와 315-415nm의 크기를 갖는 두 무리로 구분할 수 있었다. 이는 Bassetti *et al*¹⁵이 소의 성샘자극세포에서 직경 170-250nm의 작은 과립과 300-500nm의 큰 과립으로 구분 관찰한 결과와 유사하였다. 또한 Navarro *et al*²⁰이 산양의 성샘자극세포가 141-244nm와 244-400nm의 두 종류의 분비과립을 함유한다는 보고와도 유사한 결과였다.

Iwama *et al*⁴¹은 새김질동물인 사향노루에서 성샘자극세포는 직경이 150-250nm인 구형의 작은 과립과 최대 1500nm에 이르는 크고 불규칙한 분비과립을 함유한다고 보고하였으나 한국재래산양의 경우 이 정도까지 큰 과립은 관찰되지 않았다. 같은 사향노루에서 Shiino *et*

*al*¹⁷은 protein A-gold법에 의한 연구로 작은 분비과립은 전자밀도가 높은 구형의 과립인 반면 큰 과립은 전자밀도가 보다 낮은 불규칙한 형태로서 FSH와 LH는 대체로 큰 과립과 작은 과립 모두에서 관찰된다고 하였다. 그러나 FSH에만 반응한 것은 일부 작은 과립에서만 관찰되는 반면, LH에만 반응한 것은 큰 과립과 작은 과립 모두에서 관찰되어 과립에 따라 LH와 FSH의 함량에 차이가 있음을 보고하였다.

본 실험에서도 FSH와 LH세포 모두 큰 과립이 작은 과립에 비하여 전자밀도가 낮았으나 형태는 고른 원형을 유지하고 있어 큰 과립의 형태가 불규칙하다는 소³⁸나 사향노루^{17,41}의 경우와 상이하였다. 그러나 본 연구에서 각각 FSH와 LH항체에 반응한 세포를 전자현미경으로 확인한 결과라고 하더라도 이들 FSH세포와 LH세포가 각각 FSH와 LH만을 함유하고 있다고 단정할 수는 없고 어느 정도의 LH와 FSH를 함께 포함하고 있을 것이라는 개연성을 배제할 수 없다. 따라서 보다 확실한 동정을 위하여는 protein A-gold법 등을 이용한 추가적인 연구가 계속되어야 할 것으로 생각된다.

결론

한국재래산양 뇌하수체에서 성샘자극세포의 미세구조를 규명하기 위하여 streptavidin-biotin peroxidase법으로 rabbit anti-human FSH와 rabbit anti-human LH에 대한 면역조직화학반응을 실시하여 광학 및 전자현미경으로 관찰한 바 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 성샘자극세포는 샘뇌하수체 원위부분과 윗부분에서 관찰되었으며, LH항체에 면역반응한 세포(LH세포) 및 FSH항체에 면역반응한 세포(FSH세포)가 관찰되었다.
2. FSH세포는 원형 또는 타원형의 세포로 원형의 분비과립을 함유하였다. 분비과립은 전자밀도가 높은 직경 180-275nm의 작은 분비과립과 이보다 낮은 전자밀도를 지닌 직경 485-555nm의 큰 분비과립으로 구분 관찰되었다.
3. LH 세포는 원형 또는 타원형의 세포로 분비과립의 크기는 FSH 세포에 비하여 다소 작았다. 분비과립은 원형으로 160-230nm의 작은 분비과립과 315-415nm의 큰 분비과립으로 구분 관찰되었다.

Legends for figures

Figs 1-2. Electron micrographs of gonadotropes immunostained with anti-FSH serum(FSH cell).

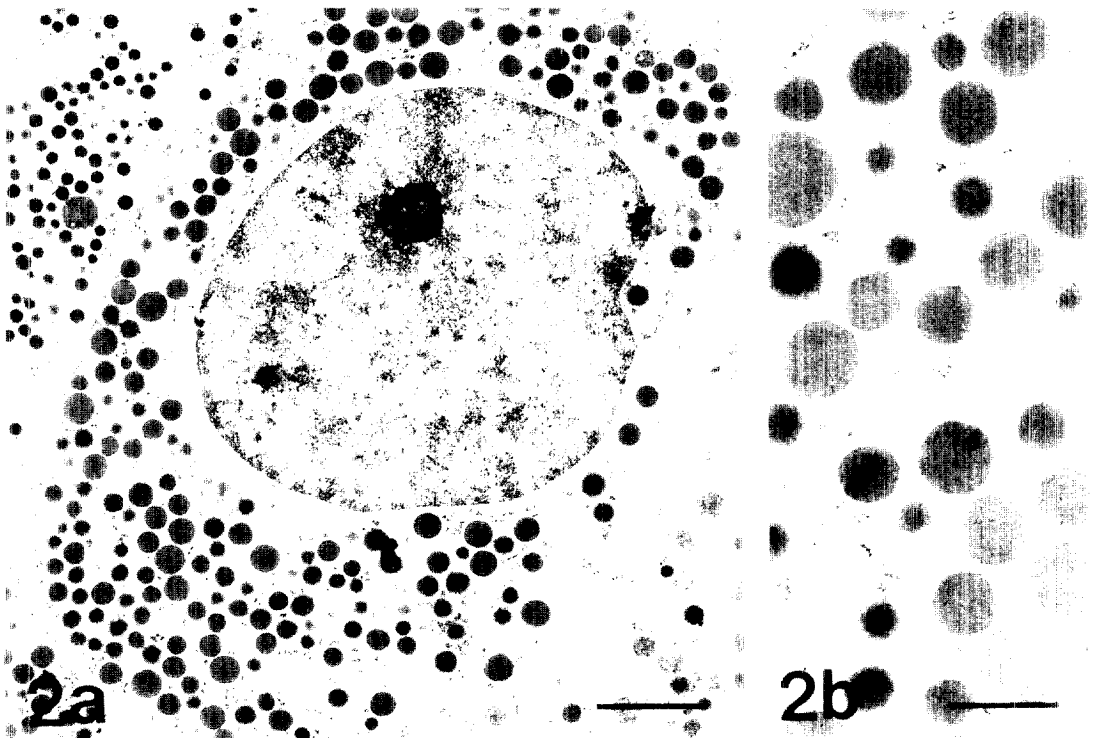
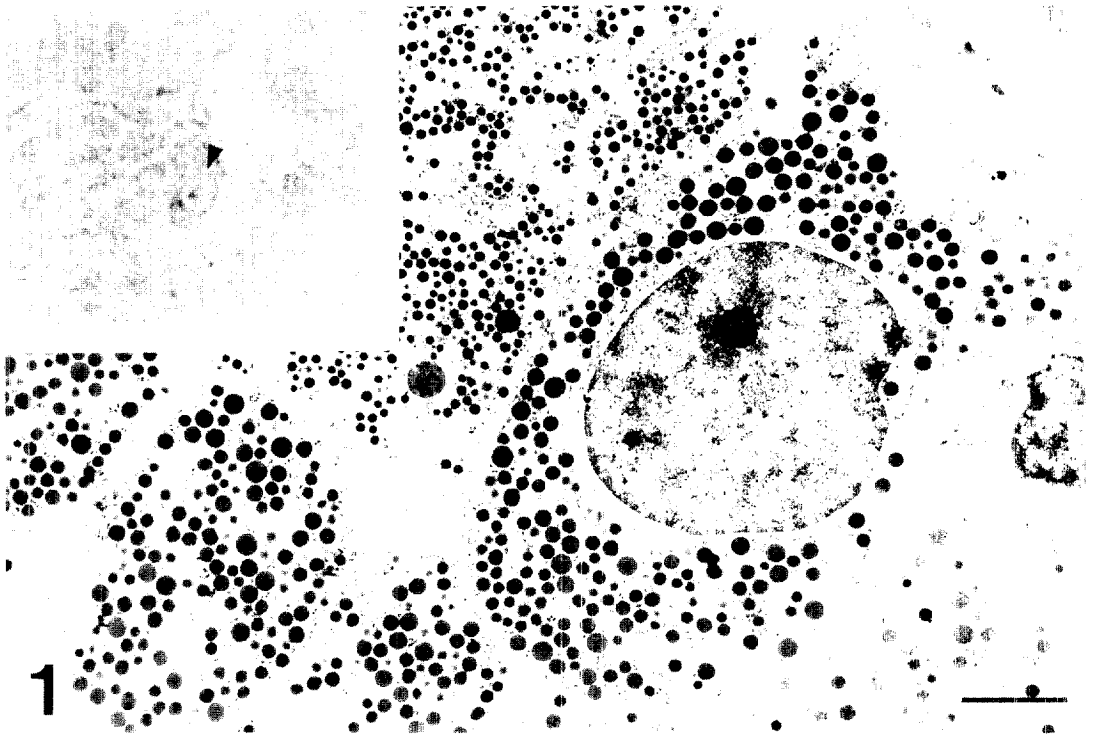
Fig 1. FSH cell is identified in the semithin(insert, arrow head, $\times 400$) and adjacent ultrathin sections by post-embedding immunohistochemical method. Bar= $2.33\mu\text{m}$

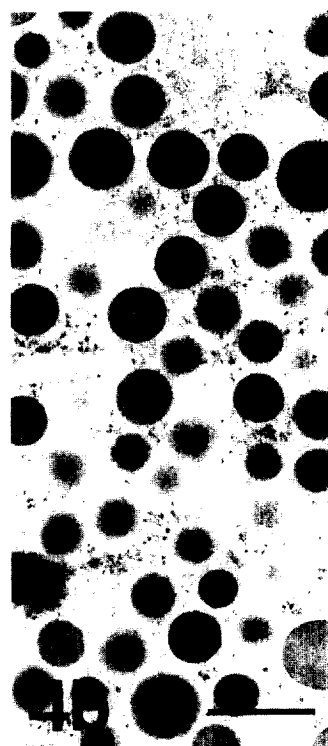
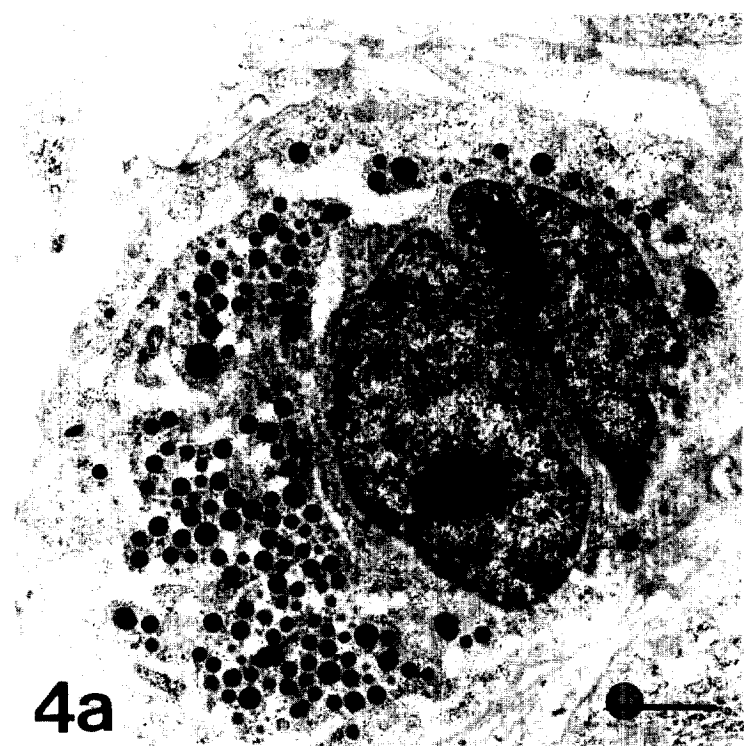
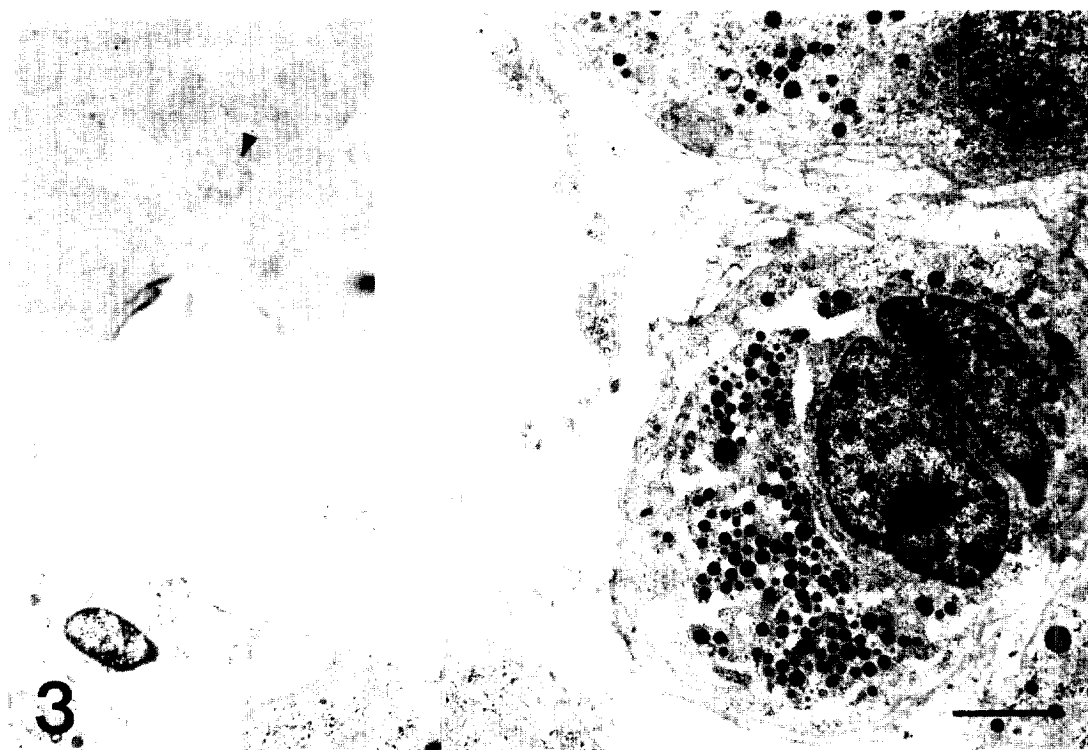
Figs 2. High magnification of Fig 1. FSH cell is oval in shape and contains electron dense secretory granules(a). This cell contains both small round-shape granules and large round-shape granules. Bar= $1.59\mu\text{m}$ (a), $0.58\mu\text{m}$ (b)

Figs 3-4. Electron micrographs of gonadotropes immunostained with anti-LH serum(LH cell).

Fig 3. The LH cell is demonstrated in the semithin(insert, arrow head, $\times 400$) and in adjacent ultrathin sections by post-embedding immunohistochemical method. Bar= $2.33\mu\text{m}$

Figs 4. High magnification of Fig 3. LH cell also contains both small round-shape granules and large round-shape granules. Bar= $1.59\mu\text{m}$ (a), $0.58\mu\text{m}$ (b).





참 고 문 헌

1. Dyce KM, Sack WO, Wensing CJG. *Textbook of veterinary anatomy*. Saunders, Philadelphia, 205-207, 1987.
2. Evans HE. *Miller's anatomy of the dog*. 3rd ed. Saunders, Philadelphia, 560-567, 1993.
3. Clarke JR, Purves HD. Two types of acidophil cell in the adenohypophysis of the sheep. *J Endocrine*, 20:26-27, 1960.
4. Dekker A. Pituitary basophils of the Syrian hamster: An electron microscopic investigation. *Anat Rec*, 158: 351-368, 1967.
5. Mikami SI, Dalmon T. Cytological and cytochemical investigations of the adenohypophysis of the sheep. *Arch Histol Jap*, 29:427-445, 1968.
6. Mikami SI. Light and electron microscopic investigations of six types of glandular cells of the bovine adenohypophysis. *Z Zellforsch*, 105:457-482, 1970.
7. Heath E. Cytology of the pars anterior of the bovine adenohypophysis. *Amer J Anat*, 127:131-158, 1970.
8. Tassell R, Kennedy JP. Tinctorial differentiation of the cell types in the pars anterior of the sheep. *Aust J Biol Sci*, 25:1249-1257, 1972.
9. Yamaguchi T, Hoshino T, Tamate H. Functional morphology of the anterior pituitary gland. I. The cell types and distribution in the anterior pituitary of pigs of different sexes and ages. *Tohoku J Agr Res*, 24:41-53, 1973.
10. Poole MC, Kornegay III WD. Cellular distribution within the rat adenohypophysis : A morphometric study. *Anat Rec*, 204:45-53, 1982.
11. Dacheux F, Dubois MP. LH-producing cells in the ovine pituitary. An electronic microscopic immunocytochemical study. *Cell Tiss Res*, 188:449-463, 1978.
12. Kotsuji F, Hosokawa K, Tominaga T. Daily administration of gonadotrophin-releasing hormone increases pituitary gonadotroph number and pituitary gonadotrophin content, but not serum gonadotrophin levels, in female rats on day 1 of dioestrus. *J Endocrinol*, 132:395-400, 1992.
13. Tougard C, Picart R, Tixier-Vidal A. Immunocytochemical localization of glycoprotein hormones in the rat anterior pituitary. A light and electron microscope study using antisera against rat β subunit: A comparison between preembedding and postembedding methods. *J Histochem Cytochem*, 28:110-114, 1980.
14. Payette RF, Gershon MD, Nunez EA. Colocalization of luteinizing hormone and serotonin in secretory granules of mammalian gonadotrophs. *Anat Rec*, 215:51-58, 1986.
15. Bassetti M, Huttner WB, Zanini A, et al. Co-localization of secretogranins/chromogranins with thyrotropin and luteinizing hormone in secretory granules of cow anterior pituitary. *J Histochem Cytochem*, 38: 1353-1363, 1990.
16. Kurosumi K. A review: Classification and ultrastructures of the anterior pituitary cells and their role in function of hormone secretion. *Kaibogaku Zasshi*, 66:421-451, 1991.
17. Shiino M, Hirano N, Miyajima M. Distribution of gonadotrophins within the anterior pituitary cells of the musk shew(*Suncus murinus* L.). *Anat Rec*, 233:83-88, 1992.
18. Pelletier J, Counis R, de Reviers MM, et al. Localization of luteinizing hormone beta-mRNA by in situ hybridization in the pars tuberalis. *Cell Tissue Res*, 267:301-306, 1992.
19. Hashimoto S, Fumagalli G, Zanini A, et al. Sorting of three secretory proteins to distinct secretory granules in acidophilic cells of cow anterior pituitary. *J Cell Biol*, 105:1579-1586, 1987.
20. Navarro JA, Gomez MA, Bernabe A, et al. Structural and ultrastructural modifications of adenohypophyseal gonadotropic cells in goat(*Capra hircus*) in anoestrus, gestation and milk production. *Histol Histopathol*, 7: 379-384, 1992.
21. Shimada T. Immunohistochemical localization of Keratin in bull, goat, and sheep anterior pituitary glands. *Cell Tissue Res*, 267:251-260, 1992.
22. Yoon SB, Moon HC, Kim CK. Comparative anatomy of the Korean native goat. I. Muscles of the thoracic

- limb. *Korean J Vet Res*, 14:135-150, 1974.
23. Jainudeen MR, Hafez ESE. *Reproduction in farm animals*. 5th ed. Lea & Febiger, Philadelphia:315-323, 1987.
 24. 이인세 : 한국재산양의 선하수체에 관한 조직학적 연구. 서울대학교 대학원 박사학위논문, 1-56, 1984.
 25. 이인세, 이홍식. 한국재산양의 선하수체 분비세포에 관한 전자현미경적 연구. *한국전자현미경학회지*, 14:52-65, 1984.
 26. 이홍식, 이인세, 조사선 등. 단크론 항체를 이용한 한국재산양의 Vasopressin 및 Oxytocin 분비세포 동정에 관한 조직화학적 연구. *농시논문집*, 30:25-35, 1987.
 27. 이인세, 이홍식, 조사선 등. 단크론 항체를 이용한 한국재산양 Oxytocin 분비세포의 전자현미경적 연구. *농시논문집*, 31:29-40, 1988.
 28. 최한선, 박영준, 강병규 등. 한국재산양의 발정주기중 혈장 progesterone 농도변화와 조기임신진단에의 응용. *대한수의학회지*, 32:259-266, 1992.
 29. 변명대. 산양에 있어서 분만후 자궁의 변화. *가축번식학회지*, 17:209-220, 1993.
 30. Lucogue JM, Roth J. Colloidal gold and colloidal silver-metallic makers for light microscopic histochemistry. In : *Technique in immunocytochemistry vol 3*. Bullock GR Petrusse P ed., Academic press NY:204-234, 1995.
 31. Farquhar MG, Rinehart JF. Electron microscopic studies of the anterior pituitary gland of castrated rats. *Endocrinology*, 54:516-541, 1954.
 32. Purves HD, Griesbach WH. The site of follicle stimulating and luteinizing hormone production in the rat pituitary. *Endocrinology*, 55:785-793, 1954.
 33. Rennels EG. Two tinctorial types of gonadotrophic cells in the rat hypophysis. *Z Zellforsch Mikrosk Anat*, 45:464-471, 1957.
 34. Shiino M, Rennels EG. Immunohistological observations of gonadotrophs in the anterior pituitary gland of the rat. *Jap J Zootech Sci*, 12:505-510, 1968.
 35. Kurosumi K, Oota Y. Electron microscopy of two types of gonadotrophs in the anterior pituitary glands of persistent estrous and diestrous rats. *Z Zellforsch*, 85:34-46, 1968.
 36. Childs(Moriarity) GV, Ellison DG, Garner LL. An immunocytochemist's view of gonadotropin storage in the adult male rat: Cytochemical and morphological heterogeneity in serially sectioned gonadotropes. *Am J Anat*, 158:397-409, 1980.
 37. Mikami SI. Light and electron microscopic investigations of six type of glandular cells of the bovine adenohypophysis. *Z Zellforsch*, 105:457-482, 1970.
 38. Dacheux F, Dubois MP. Ultrastructural localization of prolactin, growth hormone and luteinizing hormone by immunocytochemical techniques in the bovine pituitary. *Cell Tiss Res*, 174:245-260, 1976.
 39. Newman GR, Jasani B, Williams ED. Multiple hormone storage by cells of the human pituitary. *J Histochem Cytochem*, 37:1183-1192, 1989.
 40. Inoue K, Kurosumi K. Ultrastructural immunocytochemical localization of LH and FSH in the pituitary of the untreated male rat. *Cell Tissue Res*, 235:77-83, 1984.
 41. Iwama Y, Nakano T, Hasegawa K. Immunohistochemical study of adenohypophysial gonadotropes in the musk shrew, *Suncus murinus L*. *Okajimas Folia Anat Jpn*, 67: 333-337, 1990.