

Immunogold법에 의한 한국재래산양 샘뇌하수체의 성샘자극세포에 관한 연구

이인세 · 이흥식 · 송승훈 · 윤성태 · 황인구 · 서제훈* · 강태천** · 원무호**

서울대학교 수의과대학 · 서울대학교 의과대학*
한림대학교 의과대학**
(1999년 10월 18일 접수)

Immunogold studies on the gonadotropes in adenohypophysis of the Korean native goat

In-se Lee, Heungshik S. Lee, Seung-hoon Song, Sung-tae Yoon, In-koo Hwang,
Je-hoon Seo*, Tae-cheon Kang**, Moo-ho Won**

College of Veterinary Medicine, College of Medicine, Seoul National University
College of Medicine, Hallym University***

(Received Oct 18, 1999)

Abstract : There have been a number of studies of gonadotropes secreting LH and FSH in the adenohypophysis, but the pattern of hormone storage and secretion of these cells still remains a controversial matter. In this study, we examined whether gonadotropes contained both of LH and FSH, and if so, how these hormones were distributed within the secretory granules. Hypophyseal sections of Korean native goat were simultaneously immunostained for LH and FSH antisera by protein A-gold technique.

It was found that most gonadotropes contained both FSH and LH, but hormone storages in the secretory granules were some different among cells. Three types of gonadotropes were identified by the shape and size of the secretory granules and their hormone storage patterns. One type(I) of gonadotropes contained oval secretory granules, which immunoreactivity for FSH and LH were very weak. The size of secretory granules ranged from 160 to 310nm in diameter. Most granules contained both FSH and LH, but some contained only one of them. In another type(II) of gonadotropes, the immunoreactivity and hormone storage patterns of the secretory granules were similar to those of type I cells. However, the secretory granules were round in shape and larger in size than those of type I. The other gonadotropes(type III) were distinctly distinguished by plenty of hormones in their secretory granules which were densely packed with numerous immunolabelled gold particles.

These data are some inconsistent with other results that have been obtained in other ruminants

이 논문은 1997년도 한국학술진흥재단의 자유공모과제(97-001-G00161) 연구비에 의하여 연구되었음.
Address reprint requests to Dr. In-se Lee, College of Veterinary Medicine, Seoul National University, Suwon 441-744, Republic of Korea.

like as cattle and sheep.

Key words : gonadotropes, FSH, LH, immunogold, hypophysis.

서 론

샘너하수체에서 호르몬분비세포는 주로 원위부분에 가장 많이 포함되어 있다. 현재까지 알려진 바로는 성장 자극세포(somatotrope), 젖샘자극세포(mammotrope), 갑상샘자극세포(thyrotrope), 성샘자극세포(gonadotrope) 및 부신피질자극세포(corticotrope) 등의 호르몬분비세포가 원위부분에 존재하는 것으로 보고되어 있다. 얼마전까지만 하더라도 이들 호르몬분비세포는 각각 한 가지의 호르몬만을 분비하는 것으로 알려졌다.

그러나 최근에는 면역조직화학방법에 의하여 여러동물에서 몇몇 샘너하수체의 호르몬분비세포에는 여러가지 호르몬이 함께 공존하고 있음이 밝혀지고 있다¹⁻¹¹. 따라서 하나의 세포는 하나의 호르몬만 분비한다는 1세포1호르몬설(one cell one hormone theory) 이외에 하나의 세포에서 다수의 호르몬이 분비된다는 1세포다호르몬설(multihormonal cell theory)의 개념이 도입되었다.

현재까지 난포자극호르몬(follicular stimulating hormone, FSH)과 황체형성호르몬(luteinizing hormone, LH)을 함께 함유한 성샘자극세포(gonadotrope)¹²⁻¹⁵와 성장자극호르몬(growth hormone, GH), 젖샘자극호르몬(prolactin, PRL)을 함께 함유한 성장/젖샘자극세포(somatomammotropes) 등의 다호르몬분비세포가 밝혀졌다. 이외에도 PRL, FSH 및 LH의 세가지 호르몬을 함유한 세포도 보고되고 있다¹⁶.

이들 호르몬이 세포내 분비과립에 존재하는 상태도 세포의 종류 또는 보고자에 따라 차이가 많다. 성샘자극세포의 경우 FSH와 LH가 각기 서로 다른 분비과립에 포함되어 있는가 하면 한 분비과립에 두 호르몬이 함께 들어있는 경우도 보고되고 있다. 심지어는 LH, FSH 및 PRL이 하나의 분비과립에 함께 들어있는 다호르몬분비과립(multihormonal secretory granules)도 보고되고 있다¹⁶⁻²⁰.

그러나 이러한 보고들은 단순히 하나의 세포가 여러 호르몬을 분비한다는 보고에 그쳤을 뿐 다호르몬분비세포의 분포에 대한 자세한 분류나 그 특징은 아직까지 보

고 없으며 이들 다호르몬분비세포의 분비패턴 및 과립의 호르몬 함유상태에 관한 형태학적 보고는 극히 드문 실정이다.

또한 이러한 다호르몬분비세포에 관한 연구보고들은 대부분 토끼, 랫드, 햄스터 등과 같은 실험동물을 대상으로 하고 있다. 따라서 이들 실험동물과는 발생, 임신, 분만 및 비유생리 등의 번식상태가 다른 새김질동물류에 이러한 동물의 뇌하수체호르몬분비세포에 대한 해부학적 정보를 그대로 적용하는 데는 한계가 있다.

따라서 본 연구는 새김질동물을 대상으로 한 각종 연구에 실험동물로 많이 사용되고 있는 한국재래산양을 대상으로 하여 성샘자극세포의 호르몬분비상태를 알아보고자 하였다. 즉, immunogold법을 적용한 포매후 면역조직화학법에 의한 전자현미경적 관찰을 통하여 LH와 FSH를 함유하고 있는 성샘자극세포의 미세구조와 분비과립의 형태, 과립의 호르몬함유상태 등을 규명하고자 하였다.

재료 및 방법

실험동물 및 조직처리: 체중 15kg 내외의 한국재래산양 암·수 각 4마리를 사용하였다. 실험동물은 Rompun (한국, Bayer 화학)으로 마취시켜 왼쪽총목동맥을 통하여 방혈시키고 계속 1,000ml 당 heparin 1,000 unit를 함유한 saline 용액으로 관류세척하였다. 이어서 4℃의 0.1M phosphate buffer(pH 7.4)액에 녹인 4% paraformaldehyde 용액으로 관류고정하였다. 관류고정이 끝난 동물은 두 개강을 열고 뇌하수체를 적출해낸 다음 동일 고정액에서 4시간 추가고정하였다. 고정이 끝난 조직은 0.1M phosphate buffered saline(PBS, pH 7.4)으로 잘 씻은 다음 30%, 50%, 70%, 80%, 90% 및 95% ethanol을 이용하여 탈수시켰다. 이때 30% 및 50% ethanol 과정은 0℃에서 수행하였으며 70%에서 95% 과정은 -20℃에서 수행하였다. 탈수가 끝난 조직은 Lowicryl(Polyscience, USA)로 치환, 포매한 후 -20℃에서 자외선(ultraviolet ray, UV)을 조사하

여 중합시켰다.

중합이 끝난 조직은 1 μ m 두께의 얇은 절편을 만들어 toluidine blue로 염색하여 세포의 상태를 확인한 다음 ultramicrotome을 이용하여 아주 얇은 절편을 제작하였다. 이렇게 만들어진 아주 얇은 절편은 300 mesh nickel grid에 얹어 면역조직화학반응을 실시하였다.

면역조직화학반응 및 전자현미경관찰 : 먼저 비특이적인 면역반응을 방지하기 위해 조직절편을 1% ovalbumin으로 30분간 반응시킨 후 일차항체인 rabbit anti-rat LH로 4 $^{\circ}$ C에서 8시간 반응시켰다. 반응이 끝난 조직은 0.1M PBS로 5분간 3번 반응항체를 씻어낸 다음 금입자의 크기가 20nm인 protein-A gold로 3시간 반응시켰다. 모든 반응이 끝난 조직은 0.1M PBS로 조직에 남아있는 반응물질을 씻어낸 다음 증류수로 다시 한번 행구었다. 이어서 같은 grid의 반대쪽면을 대상으로 하여 rabbit anti-rat FSH를 이용하여 동일한 방법으로 면역염색을 하였다. 이때는 protein-A gold 5nm와 10nm의 금입자가 부착된 것을 사용하였다.

면역조직화학반응이 끝난 조직은 lead citrate와 uranyl acetate로 이중염색하여 투과전자현미경(Zeiss EM 109)으로 면역반응된 세포를 확인하여 관찰한 다음 사진촬영을 하였다.

결 과

한국재산양 샘뇌하수체에서 FSH와 LH 항체에 모두 반응하여 다호르몬분비세포(multihormonal cell) 기능을 갖는 성생자극세포의 분포상태와 미세구조를 immunogold법에 의한 전자현미경적방법으로 관찰한 결과는 다음과 같다.

샘뇌하수체에서 대부분의 성생자극세포는 한 세포에 FSH 항체와 LH 항체에 함께 반응한 분비과립을 갖고 있었다.

성생자극세포는 크기가 13 \times 34 μ m(짧은 폭 \times 긴 폭)인 긴 타원형이거나 또는 이보다 짧은 12 \times 21 μ m 크기의 난원형 세포가 대부분이었으나 간혹 중간크기의 입방형 세포도 관찰되었다. 핵은 원형으로 세포의 중앙에 있거나 약간 한쪽으로 치우쳐 있었다(Figs 1-2).

성생자극세포는 전자밀도가 낮거나 중등도인 난원형 또는 원형의 분비과립을 간직하였다. 분비과립은 모양과 크기 및 면역반응 정도에 따라 대체로 세 가지 형의

세포로 구분 관찰되었다.

이 중 한 세포(I형 세포)는 작은 것과 큰 것의 분비과립이 각각 150 \times 160nm와 280 \times 310nm인 비교적 작고 난원형인 분비과립을 갖고 있었다. 이 세포는 FSH에만 반응한 과립과 LH에만 반응한 과립 및 두 호르몬 모두에 반응한 과립 등 세 종류의 분비과립이 모두 들어있었다. 그러나 항체에 반응한 금입자는 대체로 성글게 부착하였다(Figs 1a, b).

다른 한 성생자극세포(II형 세포)는 분비과립의 크기가 240 \times 460nm로 I형 세포에 비하여 크고 전자밀도도 좀더 높게 관찰되었다. 과립의 형태도 대부분 원형으로써 난원형의 과립을 갖는 I형 세포와 뚜렷하게 구분되었다. 이 세포도 3종류의 분비과립을 모두 갖고 있었으며 반응한 금입자 역시 성글게 부착하였다(Figs 1a, c).

또 다른 성생자극세포(III형 세포)는 분비과립이 난원형인 것과 원형인 것이 섞여 있었으며, 과립의 크기는 280-430 \times 440nm로 II형 세포의 과립과 크기가 비슷하였다. 그러나 항체에 대한 면역반응은 강하게 나타나서 거의 모든 분비과립에서 FSH와 LH 모두에 반응한 금입자가 치밀하게 부착하였으며 하나의 호르몬에만 반응한 과립은 거의 관찰되지 않았다. 그러나 대부분의 과립에서 FSH 보다는 LH에 더 강한 반응을 보였다(Figs 2a, b).

고 찰

하나의 성생자극세포가 FSH와 LH를 모두 함유한다는 사실은 Philfer *et al*¹²에 의한 초기 면역학적연구에서 처음 밝혀졌다. 이후 계속된 면역조직화학 및 전자현미경적 연구에 의하여 생쥐¹⁴, 원숭이²¹, 사람¹⁶ 및 새끼질동물^{15,22} 등에서 성생자극세포의 많은 수가 FSH와 LH를 동시에 분비한다는 사실이 밝혀졌다.

이들 호르몬분비세포의 미세구조를 동정하는데 있어서는 전자현미경으로 그 세포에 함유된 분비과립의 크기와 형태 및 전자밀도 등을 비교 관찰하는 것이 중요한 감별기준이 되고 있다. 근래에는 protein-A gold법을 이용한 전자현미경적 연구를 통하여 분비과립에 들어있는 호르몬의 종류까지 밝혀냄으로서 한가지 이상의 호르몬을 간직한 세포가 더욱 분명하게 동정되고 있는데 이 방법을 통하여 세 가지 이상의 호르몬을 같이 분비하는 다호르몬세포가 있음도 보고되고 있다. 즉, Newman *et al*¹⁶은 사람의 샘뇌하수체에서 FSH와 LH를 모두 갖고 있

는 성샘자극세포가 PRL도 함께 갖고 있었으며, PRL과 ACTH를 함께 갖는 세포도 있음을 보고하였다. Bassetti *et al*²³도 소에서 GH, PRL, TSH, LH 등 네가지의 서로 다른 호르몬을 갖고 있는 이외에도 secretogranins와 chromogranins 등의 물질도 함께 갖고 있는 세포가 있다고 보고하였다.

본 연구에서는 초박절편의 양쪽 면에 크기가 서로 다른 protein-A gold 입자를 부착시킨 FSH와 LH 항체를 반응시킴으로써 각 호르몬을 함유한 분비과립을 비교적 분명하게 동정할 수 있었다. 이러한 방법에 의하여 대부분의 성샘자극세포가 FSH와 LH를 함께 함유하고 있음이 관찰되었다. 그러나 세 가지 이상의 호르몬을 함께 갖고 있는 성샘자극세포는 관찰할 수 없었다.

대부분의 동물에서도 성샘자극세포는 FSH와 LH 중 하나만을 분비하기도 하지만 대부분의 세포는 두 호르몬을 모두 분비한다고 보고되고 있다^{13,15,22,25}. 그러나 Bastings *et al*²⁶은 소에서 FSH와 LH를 함께 갖고 있는 세포는 없었다고 보고하였다. 이는 같은 새김질동물인 양²⁵이나 산양^{10,22}에서 성샘자극세포중 두 호르몬을 모두 갖고 있는 세포가 가장 많이 관찰되었다는 보고와는 상반되는 결과였다.

FSH와 LH가 한 세포에 함께 들어있는 경우에도 서로 다른 분비과립에 들어있다는 보고²⁷와 한 분비과립에 함께 들어있다는 보고¹⁵가 양분하고 있다.

본 실험에서 FSH와 LH를 함께 갖고 있는 성샘자극세포는 과립의 모양과 반응성에 따라서 분비과립이 난원형이면서 항체에 약하게 반응한 I형 세포와 좀더 큰 원형의 과립으로 역시 반응상태가 약한 II형 세포 및 난원형과 원형의 분비과립이 섞여 있으면서 강한 면역반응을 보인 III형 세포의 세 가지 형으로 구분 관찰할 수 있었다. 이는 지금까지 보고된 성샘자극세포와 비교하여 볼 때 분비과립의 크기는 한 세포 안에서 작은 것에서 큰 것에 이르기까지 일정한 범위 안에서 차이가 있다 하더라도 과립의 형태는 대체로 균일한 것으로 보고되고 있는 것과는 다른 결과였다.

이 중 III형 세포는 가장 강한 분비활동을 갖는 성샘세포로 생각되었는데 거의 모든 과립은 FSH와 LH 모두에 강한 반응을 보였으나 FSH 보다는 LH에 보다 더 강하게 반응하였다. 이러한 결과는 원숭이²¹, 한국재래산양²² 등 대부분의 동물에서 LH가 FSH 보다 더 강한 면역반응성을 보였다는 보고와 같은 결과였다.

한편 약한 면역반응을 보인 I형 세포와 II형 세포는 호르몬의 활성이 약하거나 분비가 끝난 세포일 것으로 생각되는데 두형의 세포중 하나는 FSH를, 다른 하나는 LH를 더 많이 함유했던 세포로 생각된다. 한편 Newman *et al*¹⁶은 사람의 성샘자극세포 중에는 FSH와 LH가 함께 들어있는 과립에 PRL도 들어있는 경우가 있다고 보고하였으나 본 실험에서는 이러한 예를 관찰할 수 없었다.

위에서 관찰된 바와 같이 하나의 세포에 여러 호르몬이 함께 들어있다는 사실은 이들 세포가 어떻게 생성되며 또한 이 호르몬들의 분비기능이 어떻게 조절될 수 있는가에 대한 의문이 생기게 된다. 이러한 의문은 FSH와 LH를 분비하는 성샘자극세포에서 보다는 PRL과 PRL을 함께 분비하는 GH/PRL 세포에서 더 많이 제기되고 있다. 왜냐하면 FSH와 LH는 주로 성샘에 작용하여 난포의 발육과 성장 등 생식현상에 있어서 서로 유기적으로 관련된 기능을 공유하고 있지만 GH와 PRL은 그 작용부위가 뼈끝(epiphysis)과 젖샘으로 서로 다르며 그 기능 역시 서로 다르기 때문이다.

GH/PRL 세포의 기원에 대해서는 PRL 세포와 GH 세포가 융합되어 형성된다는 설, 어느 한 호르몬을 아직 분비하지 않은 stem cell이라는 설 및 PRL 세포에서 GH 세포로 변하거나 또는 그 반대로 바뀌는 과정의 세포라는 설 등 여러 가설이 제기되고 있다^{8,16,28,29}.

이러한 가설을 성샘자극세포에 적용해볼 경우 우선 두 세포가 융합되어 형성된다는 설은 이들 두 세포가 융합되었을 경우 세포의 크기가 FSH 세포 또는 LH 세포에 비하여 두 배 가량 커야 하고 핵도 여러 개가 관찰되는 다핵세포이어야 할 것이다. 또한 FSH와 LH도 서로 다른 분비과립에 들어있어야 할 것이다. 그러나 한국재래산양의 경우에는 성샘자극세포의 크기가 다른 세포와 유사하고 다핵세포가 관찰되지 않았으며 거의 모든 과립이 두 호르몬을 함께 갖고 있는 점에서 이 가설은 한국재래산양의 경우에는 합당하지 않은 것으로 사료된다.

분비과립을 아직 분비하지 않은 stem cell이라는 설도 두 호르몬이 각기 다른 과립에 들어있다면 어느 정도 가능하겠지만 FSH와 LH가 같은 과립에 함유되어 있는 상태에서 최종적으로 1개 종류의 과립만을 함유한 세포로 변환될 수 없기 때문이다.

따라서 분비과립이 FSH에서 LH로 변화하거나 또는 LH에서 FSH로 바뀌는 과정의 세포라는 가설이 가장 설득력이 있는 것으로 생각된다. 즉, 생리적인 변화에 따라

estrogen 등 다른 호르몬의 영향을 받아 호르몬 생산의 비육이나 생산속도에 차이를 일으켜 하나의 분비과립에 한 종류의 호르몬만 들어있거나 상대적으로 훨씬 많은 양이 들어있게 될 것으로 생각된다.

다호르몬분비세포에서 두 종류 이상의 호르몬이 서로 독립적으로 분비되는 기전에 대하여도 여러 주장이 제기되고 있다^{5,14,23}.

Payette *et al*¹⁴은 FSH/LH 세포에서 FSH와 LH가 서로 다른 과립에 들어있다면 각기 다른 조절신호에 의하여 조절되는 두 번째 messenger가 여러 과립의 세포의유출(exocytosis)을 야기함으로써 두 호르몬을 서로 달리 분비시킬 것이라고 하였다. 그러나 FSH와 LH가 하나의 과립에 공존해 있다면 더욱 복잡한 기전에 의하여 두 호르몬을 서로 달리 방출시킬 것이라고 하였다. 예를 들면 methlxanthine과 cAMP 유도체는 *in vitro*에서 LH 방출을 촉진시키고 FSH 방출은 억제한다고 보고되어 있다. 이는 이들 호르몬과립의 subset들이 cAMP의 변화에 서로 다르게 반응하는 것을 의미하는 것으로, 세포 안의 cAMP가 상승하면 어떤 호르몬과립에서는 세포의유출이 야기되지만 다른 과립에서는 세포의유출이 야기되지 않음으로써 서로의 분비가 조절된다는 것이다.

또한 이들 세포에서의 호르몬분비는 시상하부 등의 각종 분비촉진 및 억제호르몬 이외에도 몸에 가해지는 안팎의 여러 요인에 의하여 영향을 받을 것으로 생각된다. 아울러 이 세포들의 보다 정확한 생리적 기능에 대하여는 여러 번식상태의 동물들 대상으로 한 *in vivo* 또는 *in vitro* 실험이 수행되어야 가능할 것으로 생각된다.

이상의 결과들은 한국재래산양 샘뇌하수체에서 성샘 자극세포는 분비과립의 형태 및 FSH와 LH를 함유하고 있는 상태에 따라 몇 가지 형태로 구분관찰되었으며 이

는 다른 동물과 다소의 차이가 있음을 보여준 것이었다. 또한 본 연구결과는 샘뇌하수체의 기타 분비세포도 여러 호르몬을 동시에 분비할 것이라는 가능성을 제시한 것으로 여겨진다.

결 론

한국재래산양 샘뇌하수체에서 성샘자극세포의 미세구조와 분비과립의 호르몬 함유상태 등을 규명하기 위하여 protein-A gold 법에 의한 면역조직화학염색을 실시하여 전자현미경으로 관찰한 바 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 대부분의 성샘자극세포는 한 세포내에 FSH와 LH를 모두 함유하였으나 이들 호르몬이 분비과립내에 존재하는 상태는 차이를 보였다. 성샘자극세포는 분비과립의 크기, 모양, 호르몬 저장상태에 따라 3가지 형태로 구분되었다.

2. I형 세포는 FSH와 LH에 면역반응성이 매우 약한 타원형의 분비과립을 함유하였으며 직경이 160~310nm였고, 대부분의 분비과립은 FSH와 LH를 모두 함유하고 있었다. 소수의 분비과립은 하나의 호르몬만을 함유하고 있었다. II형 세포의 분비과립은 면역반응성과 호르몬의 함유상태가 I형 세포와 유사하였으나 분비과립이 원형이었으며 크기도 더 컸다. III형 세포는 매우 강한 면역반응성을 보여 다른 것과 뚜렷이 구별되었으며 거의 모든 분비과립이 FSH와 LH 모두를 가지고 있었다.

이러한 결과는 소나 면양 등 다른 새김질동물에서 얻은 결과와 차이를 보인 것으로 호르몬 분비기전에도 약간의 차이가 있을 것으로 생각된다.

Legend for figures

(All electron micrographs were taken from grid mounted sections double immunoreacted by protein-A gold particles for two of FSH, LH, GH, PRL and ACTH antisera with different sizes. Arrows indicate the area of magnification showed in successive micrographs.)

Fig 1. Electron micrographs of two types of gonadotropes immunoreacted by protein-A gold particles for FSH(5nm) and LH(20nm) antisera(a). One of the cells(left top) contains small and electron-lucent secretory granules(b), while the other one(right top) contains round and electron-dense secretory granules(c). Most secretory granules contain both of FSH and LH, but the immunoreactivities are weak. Bar = 10 μ m(a), 0.4 μ m(b, c)

Fig 2. Electron micrographs of another types of gonadotropes immunoreacted by protein-A gold particles for FSH(10nm) and LH(20nm) antisera. This cell contains small secretory granules with moderate electron density(a). The secretory granules are oval or round in shape and lots of immunoreacted gold particles for FSH and LH are attached to them(b). Bar=10 μ m(a), 1 μ m(b).

참 고 문 헌

1. Fumagalli G, Zanini A. In cow anterior pituitary, growth hormone and prolactin can be packed in separate granules of the same cell. *J Cell Biol*, 100: 2019-2024, 1985.
2. Basetti M, Spada A, Arosio M, *et al.* Morphological studies on mixed growth hormone(GH)-and prolactin (PRL)-secreting human pituitary adenomas. Coexistence of GH and PRL in the same secretory granule. *J Clin Endocrinol Metabol*, 62:1093-1100, 1986.
3. Papka RE, Yu SM, Nikitovitch-Winer MB. Use of immunoperoxidase and immunogold methods in studying prolactin secretion and application of immunogold labelling for pituitary hormones and neuropeptides. *Am J Anat*, 175:289-306, 1986.
4. 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.
5. Nikitovitch-Winer MB, Atkin J, Maley BE. Colocalization of prolactin and growth hormone within specific adenohypophyseal cells in male, female, and lactating female rats. *Endocrinology*, 121:625-630, 1987.
6. Beckers A, Courtoy R, Stevenaert A, *et al.* Mammotrophs in human pituitary adenomas as revealed by electron microscopic double gold immunostaining method. *Acta Endocrinol*, 118:503-512, 1988.
7. Sánchez J, Bernabe A, Navarro JA, *et al.* Immunogold identification of prolactin cells of goats in anoestrus, pregnancy and milk production: Ultrastructural Variations. *Acta Anat*, 143:118-126, 1992.
8. Thorpe JR, Ray KP, Wallis M. Occurrence of rare somatomammotrophs in ovine anterior pituitary tissue studied by immunogold labelling and electron microscopy. *J Endocrinol*, 124:67-73, 1989.
9. Thorpe JR, Wallis M. Immunocytochemical and morphometric studies of mammotrophs, somatotrophs and somatomammotrophs in sheep pituitary cell cultures. *J Endocrinol*, 129:417-422, 1990.
10. 이인세, 이홍식, 강태천 등. 한국재래산양 뇌하수체의 성샘자극세포에 관한 전자현미경적 연구. 대한수의학회지 36:763-771, 1996.
11. 이인세, 이홍식, 강태천 등. 한국재래산양 뇌하수체의 성장자극세포와 젖샘자극세포에 관한 면역조직화학적 연구. 대한수의학회지 38:488-496, 1998.
12. Phifer RF, Midgley AR, Spicer SS. Immunohistologic and histologic evidence that follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone are present in the same cell type in the human pars distalis. *J Clin Endocrinol Metabol*, 36:125-141, 1973.
13. Childs(Moriarity) GV, Ellison DG, Garneer LL. An immunocytochemist view of gonadotropin storage in the adult male rat: Cytochemical and morphological heterogeneity in serially sectioned gonadotropes. *Am J Anat* 158:397-409, 1980.
14. Payette RF, Gerson MD, Nunez EA. Two types of secretory granules in gonadotrophs: discrimination by the simultaneous EM immunocytochemical localization of serotonin and β -follicle stimulating hormone. *Anat Rec*, 219:394-401, 1987.
15. Shiino M, Hirano N, Miyajima M. Distribution of gonadotrophins within the anterior pituitary cells of the musk shrew(*Suncus murinus L.*). *Anat Rec*, 233: 83-88, 1992.
16. Newman GR, Jasani B, William ED. Multiple hormone storage by cells of the human pituitary. *J Histochem Cytochem*, 9;37:1183-1192, 1989.
17. 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.
18. Sasaki F, Ichikawa Y, Yamauchi S. Immunohistological analysis in the distribution of cells in the fetal porcine adenohypophysis. *Anat Rec*, 233:135-142, 1992.
19. Shimada T. Immunohistochemical localization of keratin in bull, goat, and sheep anterior pituitary glands. *Cell Tiss Res*, 267:251-260, 1992.
20. Ikeda H, Yoshimoto T, Kovacs K, *et al.* Cushing's disease due to female gonadotroph adenoma of the pi-

- tuitary. *Clin Endocrinol Oxford*, 43:383-386, 1995
21. Girod C, Dubois MP, Trouillas J. Immunohistochemical localization of FSH and LH in the pars distalis of vervet (*Cercopithecus aethiops*) and baboon (*Papio hamadryas*) pituitaries. *Cell Tiss Res*, 217:245-257, 1981.
 22. 이인세, 이홍식, 강태천 등. 한국재래산양 샘뇌하수체의 생식샘자극세포에 관한 면역조직화학적 연구. 대한해부학회지, 1997;30:649-657.
 23. Bassetti M, Hunter WB, Zanini A, et al. Colocalization of secretogranins/chromogranins with thyrotropin and luteinizing hormone in secretory granules of cow anterior pituitary. *J Histochem Cytochem*, 38:1353-1363, 1990.
 24. Childs GV, Hyde C, Naor Z, et al. Heterogeneous luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone storage patterns in subtypes of gonadotropes separated by centrifugal elutriation. *Endocrinology*, 113:2120-2128, 1983.
 25. Thomas SG, Clarke IJ. The positive feedback action of estrogen mobilizes LH-containing, but not FSH-containing secretory granules in ovine gonadotropes. *Endocrinology*, 138:1347-1350, 1997.
 26. Bastings E, Beckers A, Reznik M, et al. Immunocytochemical evidence for production of luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone in separate cells in the bovine. *Biol Reprod*, 45:788-796, 1991.
 27. Farnworth PG. Gonadotrophin secretion revisited. How many ways can FSH leave a gonadotroph? *J Endocrinol*, 145:387-395, 1995.
 28. Porter TP, Hill JB, Wiles CD, et al. Is the Mammototrope a transitional cell for the functional interconversion of growth hormone- and prolactin-secreting cells? Suggestive evidence from virgin, gestating, and lactating rats. *Endocrinology*, 127:2789-2794, 1990.
 29. Porter TP, Wiles CD, Frawley LS. Evidence for bidirectional interconversion of mammotropes and somatotropes: Rapid reversion of acidophilic cell types to progesterational proportions after weaning. *Endocrinology*, 129:1215-1220, 1991.
-