서 울의 대 잡 지 제14권 제1호
The Seoul Journal of Medicine
Vol. 14, No. 1, March, 1973

Perphenazine hydrochloride가 흰쥐 腦下垂體 prolactin에 미치는 影響에 關한 免疫組織化學的硏究

Effect of Perphenazine Hydrochloride on the Prolactin Cells of Rat Pituitary Glands

서울大學校 醫科大學 外科學敎室

朴 哲 圭·白 相 豪·朴 吉 秀

緖 論

中樞神經系統에 作用하는 많은 種類의 藥劑가 內分泌系統에까지 적지 않은 影響을 주고 있다는 事實이 알려짐에 따라 많은 內分泌學者들은 이 興味있는 問題에 對하여 繼續的인 追究를 함으로써 自律神經安靜劑를 包含하는 여러 藥劑들이 中樞神經의 一部分인 視床下部에 作用하고 그에 따라 가장 密接한 關係에 있는 腦下垂體 및 標的器官에 連鎖的인 反應을 일으킬수 있음이 밝혀졌다.

이들은 實際로 臨床에서 患者에게 治療目的으로 投與하는 가장 普遍的인 chlorpromazine (Sulman 等 1956, Polishuk 1956, Talwalker 等 1960, Yokoyama 等 1966, Sherman 1971), perphenazine (Danon 等 1963, Mishinsky 等 1966, Turkington 1972[1]), reserpine (Grönroos 等 1959, Benson 1960, Yokoyama 等 1966, Turkington 1972[1]), methyldopa (Pettinger 等 1963, Turkington 1972[1]), L-dopa (Turkington 1972[2], Kansal 等 1972), catecholamines(Kamberi 等 1971), imipramine (Turkington 1972[1]), ergot alkaloids (Wuttke 等 1971)等을 使用하여 臨床實驗 또는 動物實驗을 한 結果 어떤 藥劑들은 hormone의 分泌를 促進시키기도하고 反對로 어떤 藥劑들은 分泌를 抑制하기도하는 現象을 觀察하였고 또 같은 藥劑라 하더라도 어느 特定한 hormone에 對해서는 分泌促進을 하며 同一器官內에서도 또다른 hormone에 對해서는 分泌抑制機能을 가진것을 알게되었다.

이러한 藥劑中의 하나인 perphenazine hydrochloride는 腦下垂體 前葉으로 하여금 prolactin 分泌를 促進하게 하고 L-dopa는 prolactin分泌를 抑制하는 것으로 알려져 있다. 前記한 硏究者들은 perphenazine이 視床下部中의 prolactin inhibitory factor (PIF)를 生成하는 神經核에 作用하여 PIF生成을 抑制함으로써 制禦裝置가 풀려진 腦下垂體前葉으로 하여금 prolactin을 放出하게 한다는 機轉을 그들의 實驗結果를 根據로 하여 解釋하고 있다. 그러나 이러한 一連의 現象들을 硏究함에 있어 그들은 모두가 血淸內의 prolactin 濃度를 測定함으로써 結果를 얻은 것이고 直接 腦下垂體前葉의 組織所見을 觀察한 報告는 하나도 없다.

이러한 點에 着眼하여 著者는 perphenazine의 prolactin分泌促進效果, L-dopa의 抑制效果 및 estradiol의 投與가 先行된 動物에서의 perphenazine 效果의 差異等을 調査함으로써 이들의 投與가 內分泌器官 特히 腦下垂體前葉 및 그의 標的器官인 卵巢와 乳腺에 어떤 特異한 組織學的 變化를 가져오는지를 明確히 究明하기 爲하여 本實驗을 施行하였다.

材料 및 方法

實驗動物

Sprague-Dawley系의 處女흰쥐(平均體重 150gm) 52마리를 使用하였다. 이들은 10個 實驗群으로 나누어 定해진 處置를 한뒤 豫定日에 屠殺하였으며 實驗期間中에 食餌와 물은 自由로이 取하도록 하였고 動物室은 人工照明(낮 14時間, 밤 10時間)으로 밤낮의 길이를 一定하게 하였으며 溫度의 急激한 變化 및 騷音을 可能한 限 避하도록 努力하였다.

藥物處置

各實驗群의 動物數 및 投與藥物을 第1表에 集約하였

Table 1. Drug treatment protocols

Group	No. of rats	Prime treatment[1]	Main treatment[2]	Additional treatment[3]	Days of sacrifice after last treat.
Ⅰ	5	—	saline sol. (control)	—	20
Ⅱ	5	—	perphenazine 3mg/day, 1 day	—	1
Ⅲ	5	—	perphenazine 3mg/day, 1 day	—	5
Ⅳ	8	—	perphenazine 3mg/day, 1 day	—	10
Ⅴ	3	—	perphenazine 3mg/day, 1 day	—	20
Ⅵ	6	—	perphenazine 3mg/day, 1, 5, 10, 15th day	—	5
Ⅶ	6	—	perphenazine 3mg/day 1, 5, 10, 15th day	L-dopa 4mg/day, 5days	1
Ⅷ	4	estradiol 0.2ml/day for 10 days	saline solution	—	1
Ⅸ	5	estradiol 0.2ml/day for 10 days	perphenazine 3mg/day, 1 day	—	1
Ⅹ	5	estradiol 0.2ml/day for 10 days	perphenazine 3mg/day, 5 days	—	5

*1.2.3: Route of administration: 1) subcutaneous injection 2) intraperitoneal injection 3) per os

다. 即 第Ⅰ群은 生理的食鹽水만을 注射한 正常 對照群이고 나머지 9個群은 이를 estradiol 前處置群(第Ⅷ～第Ⅹ群)과 前處置를 받지 않은 群(第Ⅱ～Ⅶ群)으로 나누었고 後者의 境遇는 各動物마다 perphenazine hydrochloride (Trimine, Young-Jin Pharm. Co.) 3mg을 8時間間隔으로 3回에 나누어 1日間 腹腔內注射로 投與하여 最終注射 1日後(第Ⅱ群), 5日後(第Ⅲ群), 10日後(第Ⅳ群), 20日後(第Ⅴ群)에 犧牲시켰으며 第Ⅵ群은 perphenazine을 5日間隔으로 4回(1日注射量은 同量)注射하고 最終注射 5日後에 屠殺하였고 第Ⅶ群은 第Ⅵ群과 同一한 處置를 한後 이어서 L-dopa(Roche Pharm. Co.) 4mg/day를 5日間 連續으로 經口 投與하였다.

Estradiol primed rats는 모두 하루 2回 (9.00a.m., 6.00p.m.)에 걸쳐 estradiol benzoate (Sam Il Pharm. Co.) 各 0.1ml (1,000 I.U.)씩 10日間을 皮下로 注射하였다. 그後 第Ⅷ群은 生理的食鹽水를 第Ⅸ群은 perphenazine 3mg/day를 1日間, 第Ⅹ群은 perphenazine 3 mg/day를 5日間 連續 投與하였다.

組織處理過程

豫定日에 斷頭로 屠殺한 흰쥐에서 即時 腦下垂體와 乳腺을 摘出하여 一部는 Bouin's solution에, 나머지 一部는 10% formalin에 各各 固定하였고 副腎, 卵巢 및 腦下垂體는 摘出하여 固定前에 重量을 計測하였다. Bouin's solution에서 4～5時間 固定한 組織은 70% alcohol로 數日間에 걸쳐 固定液成分中의 하나인 picric acid의 黃色이 消失될때까지 자주 液을 交換하면서 洗滌해 냈다. 그後에는 通常方法에 따라 高濃度의 alcohol로 脫水, xylene을 거쳐 paraffin에 包埋하였고 6μ 두께의 連續切片을 製作하였다.

抗 體

酵素標識抗體法에 使用한 두 種類의 特異抗體는 다음과 같은 過程을 거쳐 얻었다. 第1抗體인 rabbit anti-ovine prolactin (以下 anit-prolactin으로 略記)은 精製한 ovine prolactin을 complete Freund adjuvant에 섞어 토끼에 注射하여 얻은 免疫血淸이고 第2抗體인 sheep anti-rabbit gamma globulin (以下 anti-RGG로 略記)은 精製한 正常토끼의 gamma globulin을 亦是 complete Freund adjuvant와 함께 緬羊에 免疫하여 얻었다. 이 緬羊免疫 血淸은 다시 低溫에서 ammonium sulfate 鹽析法으로 數次에 걸쳐 分劃하여 gamma globulin을 얻었고 凍結乾燥法으로 粉末을 만들어 거기에다 horseradish peroxidase type Ⅱ (Sigma Chem. Co., St. Louis, Mo.)를 bifunctional reagent인 FNPS (p, p'-difluoro-m, m'-dinitrodiphenyl sulfone)를 使用하여 化學的으로 結合시켰다. 酵素標識抗體인 이 horseradish peroxidase labeled sheep anti-rabbit gamma globulin (以下 anti-RGG-peroxidase로 略記)에서 標識되지 않은 遊離酵素 및 變性된 標識抗體를 除去하기 爲하여 다시 ammonium sulfate 鹽析法으로 精製한後 低溫에서 透析을 거쳐 少量씩 分瓶하여 使用할때까지 −40°C에 保管하였다.

抗體는 使用前에 各各 抗原과 特異的인 反應을 일으킬수 있음을 Ouchtalony의 agar diffusion method로 確認하였고 組織切片上에서는 第1抗體는 1:80 稀釋

液, 第2抗體는 1:25 稀釋液으로도 充分히 免疫學的結合을 할 수 있는 力價를 가졌음이 證明되어 本實驗에서의 모든 反應은 上記한 比率로 稀釋하여 使用하였다. 그 밖에 第2抗體는 必然的으로 附隨되는 組織과의 非特異反應을 最少限으로 줄이기 爲해 acetone으로 乾燥시킨 흰쥐 肝臟粉末로 2回에 걸쳐 吸着시켜 使用하였다.

Prolactin 顆粒染色

Nakane 等 (1966, 1967[1], 1967[2])의 酵素標識抗體法 (enzyme-labeled antibody method)으로 腦下垂體前葉의 組織切片上에서 prolactin 顆粒을 간직한 細胞들을 特異的으로 染色하였다. 脫 paraffin한 切片들을 水洗한뒤 4°C의 pH 7.4, 0.05M phosphate buffered saline (以下 PBS로 略記)으로 15分間 洗滌하고 抗體로 處理하였다. 第1抗體인 anti-prolactin 液으로 組織切片을 덮고 室溫에서 30分間 反應시켰다. 이때 乾燥되면서 抗體濃度의 變化가 일어날 可能性에 對備하여 시계접시로 slide glass 全體를 덮었으며 濕度를 繼續 維持시키기 爲하여 젖은 濾過紙를 바닥에 깔아 놓았다. 反應後에는 다시 4°C의 PBS로 約 30分間 洗滌하였으며 3次에 걸쳐 新鮮한 PBS로 交換해 줌으로써 切片上에 剩餘抗體가 남아 있지 않도록 하였다. 이어서 第2抗體인 anti-RGG-peroxidase도 같은 方法으로 反應시켰으며 PBS로 洗滌을 한뒤 標識된 酵素인 horseradish peroxidase에 對하여 組織化學的反應을 施行하였다. Karnovsky의 方法에 따라 0.05M, pH7.6의 tris buffer에 3, 3′-diaminobenzidine을 飽和시키고 H_2O_2를 0.001%가 되도록 加한 液에 切片을 30~40分間 浸漬시키고 그後 蒸溜水로 充分히 洗滌을 한뒤 1% osmium tetroxide로 呈色强化와 後固定을 하였다. 反應이 끝난 切片은 다시 水洗, 脫水를 거쳐 xylene을 通過시킨뒤 balsam으로 封入하여 檢鏡하였다. 乳腺組織은 通常方法에 따라 6μ의 paraffin 切片을 만들어 hematoxylin-eosin 染色과 Masson's trichrome 染色을 各各 施行하여 腺胞 및 管系를 檢鏡하였다. 그밖의 動物들은 實驗期間中 繼續 體重의 變化 및 estrus cycle의 變化를 測定記錄하여 參考로 하였다.

檢鏡基準

腦下垂體는 同一群의 것을 水平位置로 同時에 包埋하여 亦是 水平斷으로 連續切片을 만들어 同一水準의 每10枚의 切片들을 選擇, 450倍 擴大의 光學顯微鏡下에서 特異的으로 染色된 prolactin 細胞를 計數하여 統計處理하였다.

乳腺組織은 一般結合組織, 脂肪組織, 腺組織(乳腺以外), 血管分布狀況, 腺胞 및 管系를 觀察, 正常對照群과 比較하여 觀察者가 定한 基準에 따라 그 多寡, 高低等을 記號로 表示하였다.

成 績

臟器重量의 變化

卵巢, 副腎 및 腦下垂體의 重量 平均値를 第2表 및 第1, 2, 3圖에 一括하여 表示하였다. 卵巢의 重量平均値는 第Ⅰ群 (對照群)이 39.5mg이었고 第Ⅱ群~第Ⅴ群

Table 2. Weight of ovary, adrenal gland, pituitary gland of the rat after various treatment (M±S.D.)

Group	Ovary	Adrenal gland	Pituitary gland
Ⅰ	39.5±3.7	27.3±2.1	9.7±1.7
Ⅱ	38.4±2.9	27.4±1.9	9.5±1.9
Ⅲ	34.9±3.9	28.7±3.0	10.1±1.9
Ⅳ	38.2±4.0	25.7±2.7	9.8±1.7
Ⅴ	39.8±1.8	24.4±3.5	9.6±1.8
Ⅵ	28.2±1.7*	31.2±1.2*	10.6±2.1
Ⅶ	25.5±1.5*	32.6±1.5*	10.3±2.1
Ⅷ	29.8±2.6*	25.6±3.8	10.9±2.3
Ⅸ	30.6±4.1*	25.8±4.1	10.7±2.0
Ⅹ	28.0±3.2*	31.3±1.9*	10.9±2.2

*Values of p for differences between treatment and control group was less than 0.05.

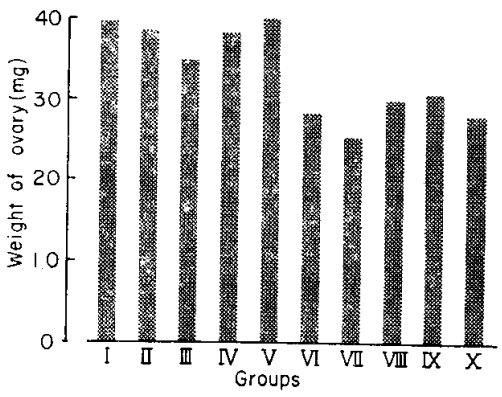

Fig. 1. Weight of ovaries of rats which had been treated with various drugs. Ovaries from group Ⅵ-Ⅹ revealed significant decrease in weight.

의 境遇는 34.9~39.8mg 으로서 對照群의 그것과 큰 差異가 없었으나 第Ⅵ群~第Ⅹ群의 卵巢重量平均値는 모두 25.5~29.8mg 으로서 對照群과 比較할때 意義있는 減少를 보여 주었다.

副腎의 重量은 正常對照群의 平均値 27.3mg 과 比較할때 第Ⅱ, Ⅲ, Ⅳ, Ⅴ, Ⅷ, Ⅸ群은 모두 24.4~28.7mg 으로서 큰 差異가 없었으나 第Ⅵ, Ⅶ 및 Ⅹ群은 31.2~32.6mg 範圍안에 있어 對照群과 比較할때 意義있는 增加를 나타냈다. 腦下垂體는 全群에 걸쳐 그 重量平均値가 9.6~10.9mg 으로서 實驗群과 對照群과는 큰 差異가 있음을 發見하지 못하였다.

卵巢重量의 가장 顯著한 減少를 보인 것은 第Ⅶ群이었으며 減少가 있는 이들 第Ⅵ~Ⅹ群은 모두가 長期間 perphenazine의 投與를 받았거나 또는 perphenazine 投

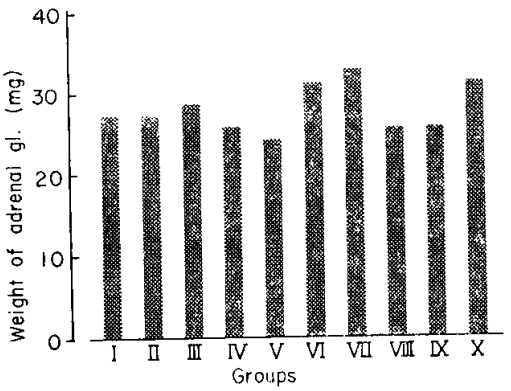

Fig. 2. Weight of adrenal gland of rats which had been treated with various drugs. Weight of group VI, VII and X increased compared with the other groups.

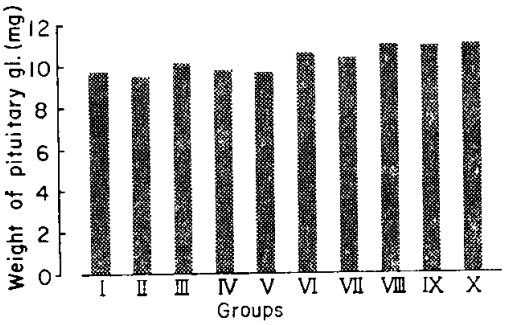

Fig. 3. Averages of weight of rat pituitary glands. No marked differencies are recognized between the experimental and control groups.

Table 3. Effects of various treatments on the prolactin cell counts and their reaction findings to the immunohistochemical staining

Group	No. of Prol. cells (M±S.D)	Staining intensities of prolactin	Status of prol. granules
Ⅰ	139.3±48.7	ⅲ	well packed
Ⅱ	95.6±22.8*	ⅱ	moderately packed
Ⅲ	109.9±30.3*	ⅱ	moderately packed
Ⅳ	125.8±38.1	ⅲ	moderately packed
Ⅴ	130.6±40.2	ⅲ	well packed
Ⅵ	115.2±45.4*	+	less packed
Ⅶ	86.4±35.7*	+	less packed
Ⅷ	105.7±40.5*	ⅱ	moderately packed
Ⅸ	98.8±30.1*	ⅱ	moderately packed
Ⅹ	83.4±21.6*	+	moderately packed

*Values of p for differences between treatment and control group was less than 0.05.

與의 長短期에 關係없이 estradiol로 前處置가 된 實驗群들이었고 副腎에서 重量의 增加를 보인 것은 estradiol 前處置與否와 關係없이 perphenazine을 長期間投與한 群 (第Ⅵ, Ⅶ群)이었다.

Prolactin 細胞의 變化

Anti-prolactin 및 anti-RGG-peroxidase로 染色한 切片들에서 陽性反應을 보인 prolactin 顆粒은 진한 褐色으로 나타났으며 其他 細胞 또는 anti-prolactin 代身에 normal rabbit serum (NRS)을 使用한 對照群의 淡黃色背景과는 明確한 對照를 이루었으나 一部 實驗群에서는 分泌顆粒의 排出로 또는 顆粒 그 自體의 反應程度 弱化로 좀 흐린 褐色을 띠는 것도 있었다.

Prolactin 細胞數는 正常對照群의 139.3에 比하여 全實驗群에서 이보다 낮은 數値를 보였으나 그中에서도 perphenazine 長期投與群 또는 estradiol 前處置群들인 第Ⅵ~Ⅹ群들이 더욱 낮은 數値를 보였고 (第Ⅵ群 : 115.2, 第Ⅶ群 : 86.4, 第Ⅷ群 : 105.7, 第Ⅸ群 : 98.8, 第Ⅹ群 : 83.4) 主로 perphenazine 短期投與群인 第Ⅱ~Ⅴ群中에서는 投與後 1日 및 5日만에 屠殺한 第Ⅱ群 (95.6) 및 Ⅲ群(109.9)만이 낮은 數値를 보였다(第3表 및 第4圖).

Prolactin 顆粒의 酵素抗體 및 이에 따르는 diaminobenzidine 液에서의 酵素染色反應結果로 나타난 呈色程度는 第3表에 表示된바와 같이 一般的으로 prolactin 細胞數가 작았던 實驗群수일록 弱하였고 細胞數가 많았던

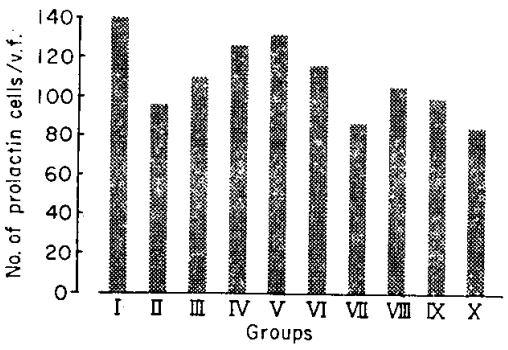

Fig. 4. Numbers of prolaction cells from rat pituitary glands which had been treated with various drugs. Pituitary glands from group Ⅱ, Ⅷ and Ⅹ showed obvious decrease in cell number.

實驗群일수록 呈色反應도 强하였다(Fig. 5의 ①~④). 顆粒의 細胞內 稠密度는 이러한 傾向과 반드시 一致되지는 않았으나 이것 亦是 작은 細胞數, 낮은 呈色度일 境遇 대개는 細胞內의 顆粒도 稠密한 程度가 낮았고 反對인 境遇에는 比較的顆粒이 稠密하게 차 있었음을 觀察할수 있었다. 이러한 基準에서 가장 呈色反應度가 强하였던 群은 第Ⅰ, Ⅳ 및 Ⅴ群이었고 가장 弱하였던 群은 第Ⅵ, Ⅶ, Ⅹ群이었다(Fig. 5의 ⑤⑥). Prolactin 顆粒의 稠密度가 가장 높았던 것은 對照群인 第Ⅰ群과 第Ⅴ群動物의 腦下垂體에서 觀察되었고 perphenazine을 長期投與한 第Ⅵ, Ⅶ群은 反對로 가장 성근 稠密度를 나타냈다. 그 밖의 群들에서는 모두 中等度의 稠密度를 보였다.

Prolactin 細胞의 形態는 圓形, 卵圓形, 또는 突起를 가진 不規則한 形態等 一律的이 아니었으며 實驗群과 對照群에서의 形態의 差異는 明確하지 않았고 그 크기에 있어서도 正確한 基準을 잡을수가 없어 斷言하기 어려웠다.

乳腺의 變化

正常對照群을 包含한 모든 實驗群의 乳腺은 그 周圍組織들을 比較的 넓게 切除하여 觀察하였고 觀察所見을 第4表에 要約하였다.

對照群에서 腺胞 및 管의 周圍는 膠原纖維를 主로한 豐富한 量의 結合組織으로 둘러싸여 있었고 腺胞 및 管 그 自體의 發育은 매우 不良하여 腺의 內腔은 좁은 間隔만을 認定할 수 있었다(Fig. 6의 ①③). 腺胞의 上皮에서는 細胞增殖을 볼수 없었고 細胞의 自由緣이 破壞된 痕跡도 觀察할수 없었다. 細胞質안에 空胞는 없었으며 核은 大略 中間部位에 位置하고 있었다. 分泌管은 매우 드물었으며 觀察된 少數의 管에서 上皮細胞의 增殖은 볼수 없었고 細胞의 높이는 大略 立方形의 것이었

Table 4. Histological findings of mammary glands of rats which have been treated with vairous drugs

Structures	Group									
	Ⅰ	Ⅱ	Ⅲ	Ⅳ	Ⅴ	Ⅵ	Ⅶ	Ⅷ	Ⅸ	Ⅹ
Connective tissue	⫴	⫴	⫴	⫴	⫴	⫲	⫲	⫲	⫲	⫲
Adipose tissue	±	±	+	±	±	⫲	⫲	⫲	⫲	⫲
Vascularity	+	+	+	+	+	⫴	⫴	⫴	⫴	⫴
Glandular tissue	+	+	+	+	+	⫲	⫲	⫲	⫲	⫲
Ducts										
epithelial proliferation	—	—	—	—	—	⫲	⫲	⫴	⫴	⫴
height of epithelium	N	N	N	N	N	H	H	H	H	H
number	+	+	+	+	+	⫲	⫲	⫴	⫴	⫴
Alveoli										
cell proliferation	—	+	±	±	+	⫴	⫴	⫴	⫴	⫴
membrane broken	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+
vacuoles in cells	—	—	—	—	—	±	±	+	+	+
contents of lumen	—	A	—	—	—	AC	AC	AC	AC	AC
location of nucleus	M	M	M	M	M	M	M	B	B	B

Symbols : ⫴:abundant ⫲:moderate +:scanty ±:neglisible N:normal H:higher A:albuminous mass C:loose cells M:midlle B:basal

으며 管腔內에 때로 albuminous mass가 染色된 것을 觀察할수 있었다. 周圍의 結合組織속에 少數의 血管分布가 있었으며 脂肪組織은 거의 없었고 乳腺을 除外한 其他 粘液腺이 間或 存在하였다.

實驗群의 乳腺에서 가장 顯著한 變化를 보인 것은 腺胞 및 管의 發達, 脂肪組織의 增殖 및 相對的인 結合組織의 減少였다. 即 perphenazine을 注射한지 1日만에 腺胞의 모양은 若干의 變化를 나타내기 始作하여 5日後 10日後, 20日後에까지도 그 狀態가 持續되었다. 腺胞의 모양은 圓形 또는 楕圓形에서 不規則한 輪廓으로 變하였으며 內腔 亦是 不規則한 모양이 되었으나 그 밖의 所見들은 正常群과 큰 差異가 없었다.

가장 顯著한 變化를 보인 것은 第Ⅵ～Ⅹ群들로서 腺胞의 細胞들은 매우 活潑한 增殖現象을 나타냈고 自由緣의 細胞는 破壞된것도 있었으며 細胞內에 空胞가 많이 觀察되었다 (Fig. 6의 ②④). 核은 perphenazine 長期投與群(第Ⅵ, Ⅶ群)에서는 大略 中間位置였고 estradiol로 前處置한 群(第Ⅷ～Ⅹ群)에서는 底邊으로 치우쳐 있었다. 腔內에서는 多數의 細胞片이 albuminous mass 속에 섞여 있음이 또한 觀察되었다(Fig. 6의 ⑤). 分泌管 亦是 上皮細胞가 大略 圓柱形에 가까운 모양을 나타냈으며 細胞의 增殖도 觀察 되었다. 管의 數는 顯著히 增加되었다. 相對的으로 結合組織은 減少되었고 脂肪組織이 눈에 띠게 增加되었으며 腺組織(粘液腺) 및 血管의 數도 顯著히 增加되었음을 觀察할수 있었다. 分泌管의 增加는 estradiol 前處置群에서 더욱 뚜렷한 것 같았다

考　　按

Prolactin 顆粒染色의 特異性

腦下垂體前葉에서 分泌되는 最小限 6가지의 hormone을 各各 特異的으로 染色할수 있는 方法은 從來의 一般的인 組織化學反應으로는 不可能한 것으로 알려져 있다. 이러한 點에서 分子構造가 다른 各 hormone을 選擇的으로 染色하는데 適用되기 始作한 보다 合理的인 方法의 하나가 免疫組織化學的反應이다. 이 方法은 1942年에 Coons 等이 最初로 開發한 螢光抗體法이 그 起原이 되며 그 以後로 短點이 많이 補完되고 또 技術的으로도 向上되어 hormone 뿐만 아니라 微生物, 組織內抗原, 腫瘍等을 研究하는데 廣範圍하게 適用되고 있다.

이러한 方法으로 動物體內의 hormone 들을 組織切片上에서 染色한 業績들이 많이 報告되어있다. 腦下垂體에서는 growth hormone (Leznoff 等 1960, Beck 等 1966), thyroid stimulating hormone (Brozman 1967), adrenocorticotropic hormone (Marshall 1951, Leznoff 等 1962), prolactin(Emmart 等 1963, 1965), luteinizing hormone (Midgley 1963, Monroe 等 1969), follicle stimulating hormone (Koffler 1964)等이 그 代表的인 報告이고 그 밖의 內分泌器官의 것으로는 human chorionic gonadotropin (Midgley 等 1962[1], 1962[2]), parathyroid hormone (Hargis 等 1964, Perkin 等 1968) 等이 있다.

比較的 最近에 Nakane 및 Pierce (1966, 1967[1] 1967[2])에 依해 開發된 酵素標識抗體法은 그 根本原理는 螢光抗體法과 恰似하나 特異性과 實用面에서 보다 더 높이 評價되고 있는 것으로서 이 方法을 利用하여 hormone을 組織切片上에서 染色한 報告로서는 Baker 等 (1969)의 growth hormone 및 prolactin, Baker 等 (1970)의 adrenocorticotropin, Baik 等 (1969)의 luteinizing hormone, follicle stimulating hormone, 沈等(1970)의 human chorionic gonadotropin, Nakane (1968[1], 1968[2], 1968[3], 1970)의 三重染色 및 luteinizing hormone에 關한 研究等이 있다.

本論文에서 使用된 anti-prolactin의 特異性에 對해서는 이미 豫備實驗을 거쳐 證明된바 있어 李等(1973)은 同一抗體를 使用하여 imipramine hydrochloride를 投與한 흰쥐 腦下垂體에서 prolactin을 選擇的으로 染色할 수 있었음을 報告한바 있다.

Perphenazine 投與와 prolactin 細胞

實驗結果에서 나타난바와 같이 perphenazine을 投與한 흰쥐 腦下垂體에서 prolactin 細胞數가 意義있는 減少를 보인 것은 投與量의 差異(長期 또는 短期投與에 依한)에도 있었지만 그보다도 短期投與라 할지라도 그것이 estradiol 前處置가 있었는지 與否에 따라 差異가 있었고 또 같은 perphenazine 單獨의 短期投與에서도 投與後 日數에 따라 差異가 있음을 보여 주었다. Prolactin은 그 細胞數뿐만 아니라 顆粒 自體의 染色에 따른 呈色度 및 細胞內稠密度에서 나타난바와 같이 낮은 呈色 및 낮은 稠密度는 細胞內에서 많은 prolactin이 放出되었음을 意味한다고 보아서 無理가 없으며 實際로 細胞計數와 이들 呈色度, 稠密度가 聯關性 있는 變化를 보인 結果에서 prolactin 細胞數의 變動된 意味를 다음과 같이 解釋할수가 있다. 即 다른 內分泌細胞들의 境遇가 그렇듯이 prolactin 細胞도 perphenazine의 影響으로 顆粒의 放出이 急激히 일어남에 따라 細胞內에는 顆粒이 거의 다 放出되거나 아니면 大部分이 放出되었을 境遇 稠密度는 낮아지고 거의 다 放出된 狀態에서는 anti-prolactin이 結合될만한 量이 못되므로 實際로 그 細胞는 殘存되어 있더라도 染色上으로는 無顆粒狀態이므로

陰性으로 나타난 것으로 보아야 할 것이다. 全實驗期間이 比較的 짧은 것을 考案할때 去勢後 적어도 60日 乃至 90日 사이에 LH 細胞數가 實際로 增加되었다는 沈等(1972)의 發表를 보더라도 perphenazine 投與에 따른 細胞數의 減少는 細胞自體의 消滅이라기 보다는 無顆粒에 따른 潛在라고 解釋하는 것이 보다 妥當하며 다른 一面에서 觀察할때 細胞數의 減少는 곧 prolactin의 放出을 뜻하는 것으로 分析될수도 있다.

Perphenazine의 prolactin 分泌效果에 對해서는 많은 實驗報告가 있다. Danon 等 (1963)은 腦下垂體의 組織培養液에 視床下部組織을 同時에 培養한 것에서는 腦下垂體를 單獨培養한 境遇보다 prolactin 分泌가 더욱 減少되었음을 觀察하고 視床下部에 prolactin 分泌抑制物質이 들어 있을 것임을 主張하였다.

Mishkinsky 等 (1966)은 토끼의 腦 여러 部位에 perphenazine을 注入한後 乳腺의 發育與否를 觀察한 結果 正中隆起(median eminence)에 注入된 群의 乳腺은 正常對照群 및 其他部位 注入群에 比해 顯著한 乳腺의 發育이 있었으며 또 乳液分泌까지도 促進시켰음을 報告하였고 Yokoyama 等 (1966)은 chlorpromazine 및 reserpine을 投與後 乳腺分泌效果를 觀察報告한바 있다.

Turkington (1972[1])은 精神科患者 및 高血壓患者를 對象으로 perphenazine을 治療量만큼 投與한 結果 血中 prolactin 濃度가 產後授乳期의 境遇처럼 顯著히 上昇되었으며 비슷한 結果를 動物實驗에서도 얻었음을 報告하면서 筋肉注射後 30分만에 上昇이 始作되었고 投藥을 中斷하고난 2—3週日後까지도 上昇된 prolactin 濃度는 持續되었다고 報告하고 있다.

上記한 硏究者들의 結果와 著者의 結果를 比較하였을때 本實驗에서 prolactin 細胞가 perphenazine 投與 1日後 顯著히 減少된 것이 이러한 prolactin의 分泌에 따른 것임을 立證하는 것으로 解釋되고 그後 時日이 經過됨에 따라 차츰 回復되는 傾向이 prolactin 分泌顆粒의 再現에 따른 染色된 細胞數의 增加로 나타난 것으로 分析될수 있다. Perphenazine을 5日 間隔으로 連續 投與한 第Ⅵ群 및 第Ⅶ群에서는 이러한 回復이 될 機會가 없이 繼續 放出됨으로써 細胞數가 낮아진 것으로 보이며 L-dopa를 追加로 投與한 第Ⅷ群에서는 prolactin 分泌效果를 抑制하는데 失敗한것으로 보인다. Turkington (1972[2])은 上昇된 血中 prolactin 濃度 및 乳液分泌를 가진 患者 14名에게 L-dopa를 長期間 投與한 結果 prolactin 濃度가 正常으로 낮아졌으며 乳液分泌도 中止되었음을 報告하면서 L-dopa가 特發性인 乳液分泌를 治療하기에 適切한 藥劑임을 主張하였다. 著者의 實驗에서는 L-dopa의 prolactin 分泌抑制效果의 失敗가 投與期間이 너무 짧았던데 起因된 것으로 보인다. Estradiol로 前處置한 實驗群中 短期 및 長期間 perphenazine을 投與한 動物에서 prolactin 細胞數가 減少된것은 上記한 根據에서 合理的인 것으로 解釋되나 estradiol 處置後 saline을 投與한 群에서도 prolactin 細胞數가 減少된것은 estradiol의 某種의 機轉에 依한 效果인것 같으며 그 機轉을 分析하기에는 本實驗으로서는 不足함이 있다고 본다.

Perphenazine 投與와 乳腺

Perphenazine이 視床下部에 作用함으로써 prolactin 分泌抑制物質의 生成이 制禦되고 따라서 腦下垂體에서는 prolactin이 活潑하게 合成, 分泌될것이라는 理論은 前記한 實驗例들을 通해 많은 硏究者들에게 認定을 받고 있으며 이러한 prolactin의 分泌에 따른 2次的인 效果 即 標的器官에의 影響에 對해서도 많은 硏究業績이 報告되어 있다.

Grönroos 等 (1959)은 chlorpromazine 및 reserpine을 投與한 흰쥐에서 對照群에 比하여 顯著히 乳腺이 發達되었음을 報告하였고 Talwalker 等 (1960)은 chlorpromazine 投與는 prolactin과 ACTH의 分泌를 모두 促進시키며 腦下垂體摘出과 estradiol 治療를 併行한 흰쥐에서는 chlorpromazine을 包含한 自律神經安靜劑가 乳腺의 發達 및 乳液分泌를 시킬수 없었음을 報告하면서 이러한 藥劑들의 效果는 乳腺에 直接 作用하는 것이 아니고 腦下垂體를 經由하여 乳腺에는 2次的으로 影響을 미치고 있으며 estradiol로 前處置한 動物에서도 prolactin이나 ACTH가 各各 單獨으로는 乳腺分泌를 시킬수 없다고 主張하였다. Yokoyama 等 (1966)도 chlorpromazine이 乳腺의 腺胞를 發達 維持시킬수 있음을 報告하였다.

이와같은 chlorpromazine 또는 repserpine의 效果는 perphenazine에서도 낮은 投與量으로 同一한 效果를 가져온다(De Wied 1967)는 點에서 Turkington (1971)은 實際로 perphenazine, fluphenazine, chlorpromazine, promazine, imipramine, amitriptyline 等을 投與한 實驗에서 若干의 差異는 있었으나 모두가 prolactin 分泌 및 乳腺發達에는 同一한 作用을 가졌음을 發表하였다.

本實驗에서도 이러한 結果는 一致되었으며 perphenazine의 連續投與 및 estradiol의 前處置로서 乳腺은 顯著히 發達되었고 分泌管의 增殖, 乳液 分泌의 現象등이 觀察됨으로써 perphenazine은 1次的으로 prolactin 分泌를, 2次的으로는 乳腺의 發達에 影響을 미치고 있다

는 證據가 明白하다.

Perphenazine 投與와 卵巢 및 副腎

Perphenazine 또는 chlorpromazine이 腦下垂體—副腎軸에 어떤 作用을 미친다는 事實은 Georges 等 (1953), Holzbauer 等 (1954) 및 Munson (1963)等에 依해 알려졌고 또 確認되었으며 이러한 影響은 細胞內의 微妙한 變化뿐만 아니라 長期間의 投與로서 副腎의 肥大가 온다는 事實도 알려졌다 (Olling 等 1956, Reiss 1956, Hormia 等 1958, Sulman 1959, Ashford 等 1962, Betz 等 1963, Talwalker 等 1960).

本實驗에서는 組織學的인 變化의 觀察은 施行하지 않았으며 다만 重量의 變化만을 보았는데 그 結果에서 副腎은 長期間의 perphenazine 連續投與群에서 肥大에 따른 重量의 增加가 있었음이 確認되었고 이 現象은 prolactin 細胞 또는 乳腺과는 달리 estradiol의 前處置와는 直接的인 關聯이 없음이 알려졌다. 이러한 副腎의 肥大로 이에 따른 副腎皮質의 hormone 分泌增加가 있었을 것으로 推測되고 그것은 prolactin 및 estradiol 等과 協同하여 乳腺發育을 더욱 도왔을 것으로 생각된다.

한편 卵巢에 미치는 影響에 對한 많은 報告들은 性成熟의 遲延(Jarrett 1963), 性腺發達의 不良(Nagata 1957), 排卵의 抑制(Barraclough 等 1957), 卵巢重量의 減少(Sulman 1959)등을 主張하였으며 實際로 이것은 chlorpromazine 또는 perphenazine의 投與가 prolactin의 分泌는 促進시키는 한편 FSH의 分泌는 이를 抑制함으로써 나타나는 現象이라고 解釋되고 있다.

本實驗에서 나타난 結果는 卵巢의 重量만을 觀察한 것으로서 減少된 傾向은 perphenazine의 長期連續投與와 關聯이 있는 것으로 보이나 estradiol을 前處置로서 投與하고 短期間의 perphenazine을 投與한 實驗群에서도 減少된 結果는 單純한 重量計測만을 가지고 그 可能性 및 合理性을 分析할 길이 없다.

結　　論

Perphenazine hydrochloride가 흰쥐 腦下垂體前葉의 prolactin 細胞와 그의 標的器官의 하나인 乳腺에 미치는 影響을 組織切片上에서 觀察하기 爲하여 perphenazine을 短期間 또는 長期間 投與한 實驗群과 estradiol 前處置後 perphenazine 投與群等 10個群으로 나누어 腦下垂體와 乳腺을 摘出하여 各各 酵素標識抗體法과 通常染色으로서 그 變化를 觀察하고 卵巢 및 副腎의 重量變化를 計測한바 다음과 같은 結論을 얻었다.

1. Perphenazine은 短期間의 投與로도 흰쥐 腦下垂體 prolactin의 分泌를 顯著히 促進시킨다.

2. Prolactin 細胞數의 減少는 投與後 1~5日內에 明白하고 10日以上 經過되면 다시 原狀으로 回復된다.

3. 長期間의 perphenazine 連續投與 및 estradiol의 前處置는 이 現象을 더욱 甚하게 하였다.

4. Prolactin 分泌促進은 2次的으로 乳腺의 發達을 가져왔고 이것은 副腎의 亢進된 機能이 協助된 것으로 보인다.

5. 副腎은 perphenazine의 長期投與로 그 重量이 增加되고 卵巢는 反對로 減少되는 傾向이 있다.

ABSTRACT

Effect of Perphenazine Hydrochloride on the Prolactin Cells of Rat Pituitary Glands

Chul Kyu Park, Sang Ho Baik, and Kil Soo Park

Dept. of Gen. Surgery, College of Medicine, Seoul National University

The effect of perphenazine hydrochloride on the prolactin cells of rat pituitary glands and mammary glands were studied. Virgin rats which had been primed with 0.2ml of estradiol for 10 days or not primed were injected with perphenazine intraperitoneally for 1 day or repeatedly every 5 days for 15 days. Sections of pituitary glands from them were carried out to stain the prolactin cells immunohistochemically using the specific anti-prolactin and anti-RGG labeled with peroxidase. Sections of mammary glands were stained with hematoxylin and eosin. Cell counts were made from 10 representative section of corresponding levels of each gland, and the following results were obtained.

Even in lower dose of perphenazine, 3mg/day for 1 day, releasing effect of prolactin granules were apparent. Perphenazine produced a significant decrease in prolactin cell counts and in the intensities of staining reaction which were recovered 20 days after injection to almost same levels of control group.

The higher doses of perphenazine also developed the proliferation of lobulo-alveolar structure of the mammary glands. In estradiol-primed rats either lower or higher doses of perphenazine could revealed the same findings in both of pituitary and mammary glands.

There were significant increase in adrenal weight and decrease in ovarian weight.

REFERENCES

1. Ashford, A. and Shapero, M.: *Effect of chlorpromazine, reserpine, benachyzine and phenobarbitone on the release of corticotrophin in the rat. Brit. J. Pharmacol. 19:458, 1962.*
2. Baik, S.H., Lee, K.H., Rha, B.J. and Kang, J.B.: *Immunohistochemical localization of LH and FSH in the rat pituitary gland. Kor. J. Anat. 2:61, 1969.*
3. Baker, B.L., Midgley, A.R. Jr., Gersten, B. E. and Yu, Y.Y.: *Differentiation of growth hormone and prolactin-containing acidophils with peroxidase-labeled antibody. Anat. Rec. 164:163, 1969.*
4. Baker, B.L., Pek, S., Midgley, A.R. Jr. and Gersten, B.E.: *Identification of the corticotropin cell in rat hypophysis with peroxidase labeled antibody. Anat. Rec. 166:557, 1970.*
5. Barraclough, C.A. and Sawyer, C.H.: *Blockade of the release of pituitary ovulating hormone in the rat by chlorpromazine and reserpine: possible mechanisms of action. Endocrinology 61:341, 1957.*
6. Beck, J.S., Ellis, S.T., Legge, J.S., Porteous, I.B., Currie, A.R. and Read, C.H.: *Characterization of an antiserum to human growth hormone and the localization of the hormone in the normal adult adenohypophysis J. Path. Bact. 91:531, 1966.*
7. Benson, G.K.: *Further studies on effects of tranquilizing drugs on mammary involution in the rat. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 103:132, 1960.*
8. Betz, D. and Ganong, W.F.: *Effect of chlorpromazine on pituitary-adrenal function in the dog. Acta Endocrinol. (Copenh.) 43:264, 1963.*
9. Brozman, M.: *Histochemical localization of ACTH and TSH in the human hypophysis. Acta Histochem. 26:261, 1967.*
10. Danon, A., Dikstein, S. and Sulman, F.G.: *Stimulation of prolactin secretion by perphenazine in pituitaryhypothalamus organ culture. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 114:366, 1963.*
11. De Wied, D.: *Chlorpromazine and endocine function. pharm. Rev. 19:251, 1967.*
12. Emmart, E.W., Spicer, S.S. and Bates, R.W.: *Localization of prolactin within the pituitary by specific fluorescent antiprolactin globulin. J. Histochem. Cytochem. 11:365, 1963.*
13. Emmart, E.W., Bates, R.W. and Tuner, W. A.: *Localization of prolactin in rat pituitary tumor using fluorescent antibody. J. Histochem. Cytochem. 13:182, 1965.*
14. Georges, G. and Cahn, J.: *Couple hypophysosurrenalien et hibernation. Anesth. Anolg. 10: 409, 1953 (Cited from Turkington 1972).*
15. Grönroos, M., Kalliomaki, J.L., Keyerilainen, T.O. and Marianen, P.: *Effects of reserpine and chlorpromazine on the mammary glands of the rat. Acta. Endocrinol. (Copenh.) 31:154, 1959.*
16. Hargis, G.K., Yakulis, V.J., Williams, G.A., and White, A.A.: *Cytological detection of parathyroid hormone by immunofluorescence. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 117:836, 1964.*
17. Holzbauer, M. and Vogt, M.: *The action of chlorpromazine on diencephalic sympathetic activity and on the release of adrenocotrophic hormone. Brit. J. Pharmacol. 9:402, 1954.*
18. Hormia, A., Kangas, S. and Hormia, M.: *The modifying effect of hydrocortison acetate on the chlorpromazine caused changes of the adrenal cortex in the white rat. Ann. Med. Exp. Biol. Fenn, 1958 (Cited from Turkington 1972).*
19. Jarrett, R.J.: *Some endocrine effects of two phenothiazine derivatives, chlorpromazine and perphenazine in the female mouse. Brit. J. Pharmacol. 20:497, 1963.*
20. Kamberi, I.A., Mical, R.S. and Porter, J.C.: *Effect of anterior pituitary perfusion and intraventricular injection of catecholamines on prolactin release. Endocrinology 88:1012, 1971.*
21. Kansal, P.C., Buse, J., Talbert, O.R. and Buse, M.G.: *The effect of L-dopa on plasma growth hormone, insulin, and thyroxine. J.Clin. Endocrinol. 34:99, 1972.*
22. Koffler, D. and Fogel, O.: *Immunofluorescent localization of LH and FSH in the human adenohypophysis. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 115:1080, 1964.*
23. 李洸鎬, 白相豪, 張家鏞, 金炳曄: *Imipramin*이 흰쥐 胎仔 및 母體에 미치는 實驗畸形學的硏究(Ⅱ) 中央醫學 *24:491, 1973.*
24. Leznoff, A., Fishman, J., Goodfriend, L., McGarry, E., Beck, J. and Rose, B: *Localization of fluorescent antibodies to human growth hormone in human anterior pituitary glands. Proc.*

Soc. Exp. Biol. Med. 104:232, 1960

25. Leznoff, A., Fishman, J. Talbot, M., Mcgarry, E.E., Beck, J.C. and Rose, B.: *The cytological loclization of ACTH in the human pituitary. J. Clin. Invest. 41:1720, 1962*
26. Marshall, J.M., Jr.: *Localization of adrenocorticotropic hormone by histochemical and immunochemical methods. J. Exp. Med. 94:21, 1951.*
27. Midgley, A.R. Jr. and Pierce, G.B. Jr.[1]: *Immunohistochemical localization of human chorionic gonadotropin. J. Exp. Med. 115:289, 1962.*
28. Midgley, A.R. Jr., and Pierce, G.B. Jr.[2]; *Immunohistochemical localization of human chorionic gonadotropin in embryonal carcinoma and trophoblastic tissues. Fed. Proc. 21:198, 1962.*
29. Midgley, A.R.: *Immunofluorescent localization of human pituitary luteinizing hormone. Exp. Cell Res. 32:606, 1963.*
30. Mishkinsky, J., Laitos, E.K. and Sulman, F.G.: *Initiation of lactation by hypothalamic implantation of perphenazine. Endocrinology. 78:919, 1966.*
31. Monroe, S.E. and Midgley, A.R. Jr.: *Immunofluorescent localization of rat luteinizing hormone. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 130:151, 1969.*
32. Munson, P.L.: *Pharmacology of neuroendocrine blocking agents. In:Advances in Neuroendocrinology, 1963 (Cited from De Wied 1967).*
33. Nagata, G.: *Influence of chlorpromazine upon the pituitary function, especially corticotropin and gonadotropin secretion. 1957 (Cited from De Wied 1967)*
34. Nakane, P.K., Sri Ram, J. and Pierce G.B.: *Enzyme-labeled antibodies for light and electron-microscopic localization of antigens. J. Histochem. Cytochem. 14:789, 1966.*
35. Nakane, P.K. and Pierce, G.B[1].: *Enzyme-labeled antibodies:preparation and application for the localization of antigens. J. Histochem. Cytochem. 12:929, 1967.*
36. Nakane, P.K. and Pierce, G.B.[2]: *Enzyme-labeled antibodies for light and electron micros copic localization of tissue antigens. J.Cell Biol. 33:307, 1967.*
37. Nakane, P.K.[1]: *Simultaneous localization of multiple tissue antigens using the peroxidase-labeled antibody method: A study on pituitary glands of the rat. J.Histochem. Cytochem. 16: 557, 1968.*
38. Nakane, P.K.[2]: *Studies with peroxidase-labeled antibody during post-partum release of luteinizing hormone in the rat. 4th European Regional Conference on Electron Microscopy 193. Rome, 1968.*
39. Nakane, P.K., Rebar, W. and Midgley, A.R.[3]: *Changes in rat pituitary cell containing luteinizing hormone (LH) during post-partum LH release studied with peroxidase-labeled antibody method. Excerpta Medica 157:103, 1968.*
40. Nakane, P.K.: *Classifications of anterior pituitary cell type with immunoenzyme histochemistry. J.Histochem. Cytochem. 18:9, 1970.*
41. Olling, C.G., and De Wied, D.: *Inhibition of the release of corticotrophin from the hypophysis by chlorpromazine. Acta Endocrinol. (Copenh.) 22:283, 1956.*
42. Perkin. A.B., Bader, H.I., Tashjian, A.H. and Goldhaber, P.: *Immunofluorescent localization of parathyroid hormone in extracellular spaces of the bovine parathyroid gland. Proc. Soc. Exp. Biol. (N.Y) 128:218, 1968.*
43. Pettinger. W.A., Horwitz, D., Sjoerdsma, A.: *Lactation due to methyl-dopa. Brit. Med. J. 1:1460, 1963.*
44. Polishuk, W.Z. and Kulesar, S.: *Effects of chlorpromazine of pituitury function. J. Clin, Endocrinol. 16:292, 1956.*
45. Reiss, M.: *Endocrine concomitants of certain physical psychiatric treatments. J.Clin. Exp. Psychopath. 17:244, 1956.*
46. Sulman, F.G. and Winik, H.Z.: *Hormonal effects of chlorpromazine. Lancet. 1:161, 1959.*
47. Sherman, L., Kim, S., and Benzamin, F.: *Effect of chlorpromazine on serum growth-hormone concentration in man. New Eng. J. Med. 284:72, 1971.*
48. 沈載道, 李懸式, 白相豪：妊娠 各 週期에 있어서의 *HCG*의 免疫組織化學的 染色. 大韓解剖學會誌 *3:23, 1970.*
49. 沈載道, 白相豪：去勢가 숫 흰쥐 腦下垂體 *LH*細胞에 미치는 免疫組織化學的 硏究. 서울의대잡지 *13:61, 1972.*
50. Sri Ram, J., Nakane, P.K., Rawlinson, D.G. and Pierce, G.B.: *Enzyme-labeled antibodies for ultrastructural studies. Fed. Proc. 25:732, 1966.*
51. Talwalker. P.K., Meites. J., Nicoll, C. S.

and Hopkins, T. F. : *Effects of chlorpromazine on mamary glands of rats. Amer. J. Physiol. 199:1073, 1960.*

52. Turkington, R. W. [1] : *Prolactin secretion in patients treated with various drugs. Arch. Int. Med. 130:349, 1972.*
53. Turkington, R. W. [2] : *Inhibition of prolactin secretion and successful therapy of the Forbes-Albright syndrome with L-dopa. J. Clin. Endocrinol. 34:306, 1972.*
54. Wuttke. W. E., Cassell, E. and Meites, J., 1971 (*Cited from Turkington 1972* [2]).
55. Yokoyama, A. and Sawyer, C. H. : *Effects of reserpine and chlorpromazine on the milk ejectic reflex in lactating rats. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 121:370, 1966.*

Legends for Figures

Fig. 5. Photomicrographs of rat pituitary glands stained with anti-prolactin and anti-RGG-peroxidase.

1) Group Ⅰ (control): Numerous prolactin cell are stained intensely. ×450

2) Group Ⅱ: Marked reduction of intensities of prolactin granules and decrease of cells in number are obvious. ×450

3) Group Ⅳ: Intensities of prolactin granules are not even. Arrows indicater the prolactin cells of which granules are released partially. ×450

4) Group Ⅵ: Reduction of intensities and decrease of cell number are apparent. ×450

5) Higher magnification (×1,000) of prolactin cells from control pituitary gland.
p: prolactin cells, s: sinusoid.

6) Higher magnification (×1,000) of prolactin cells from pituitary gland of group Ⅵ.
g: gonadotrophs, p: prolactin cells

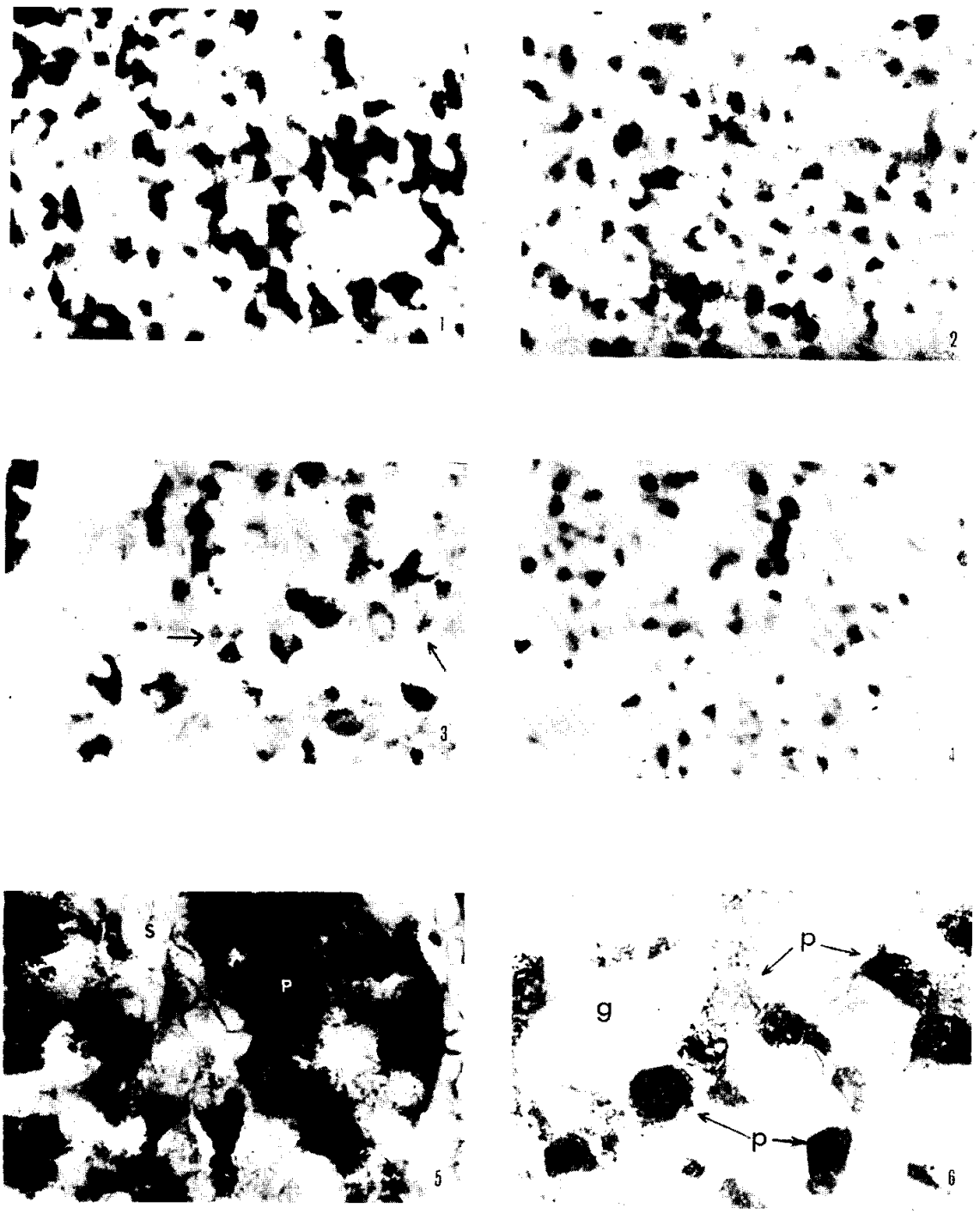

Fig. 5.

Fig. 6. Photomicrographs of rat mammary glands. H-E stained.

1) Group Ⅰ (control): Lobulo-alveolar development is primitive and only the narrow lumen (arrow) is visible, c:surrounding connective tissue. ×100

2) Group Ⅵ: Considerable lobulo-alveolar development is induced. ×100

3) Higher magnification (×450) of picture 1)

4) Higher magnification (×450) of picture 2)

5) Group Ⅷ: Note the obvious proliferation of alveolar cells and loose cells deposited in albuminous mass in the lumen (lm). ×450

6) Group Ⅹ: Lumen (lm) became larger and irregular. Compare to that of picture 3) of same magnification.

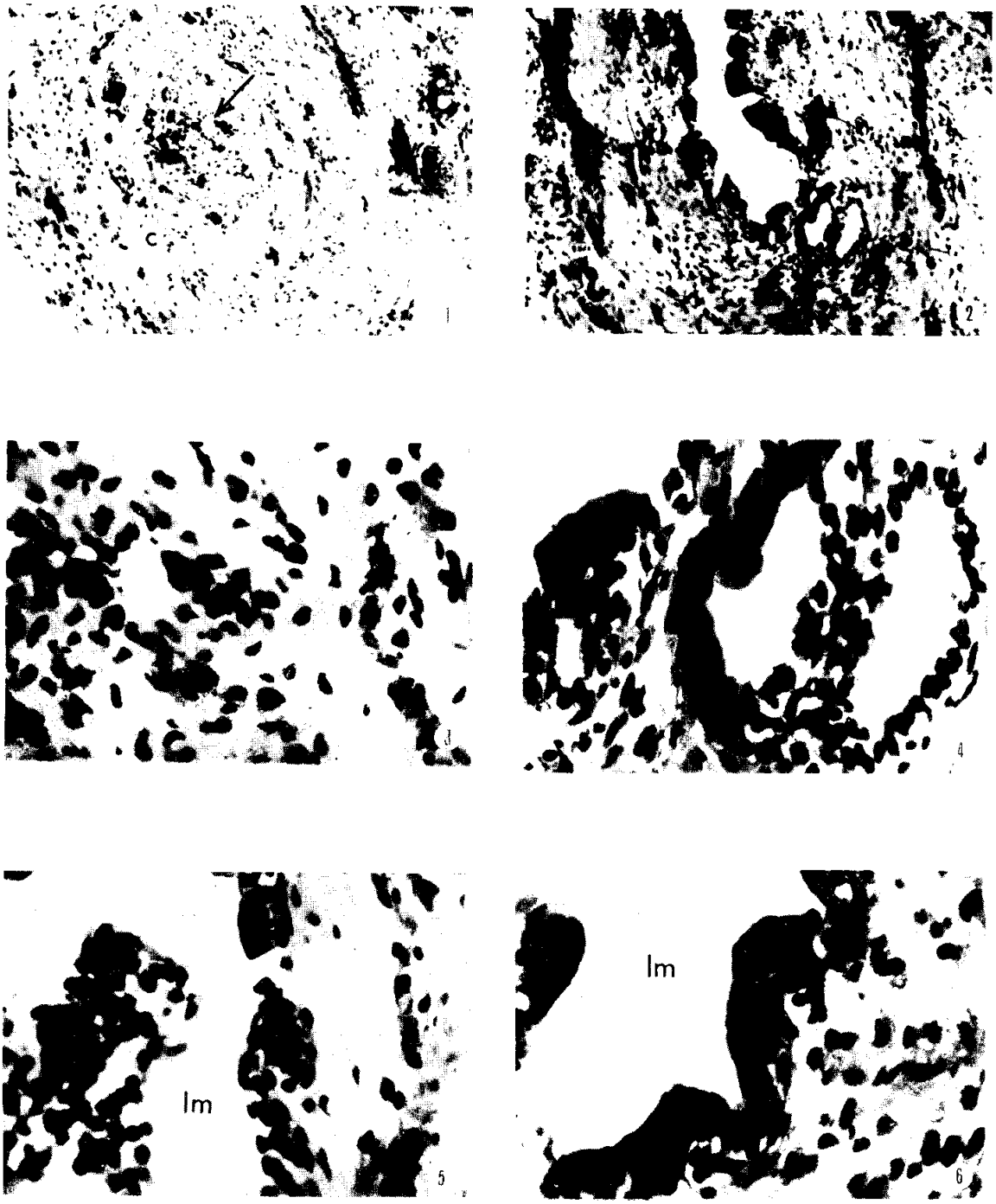

Fig. 6.