

# Chlorpromazine과 Bromocriptine이 흰쥐 腦下垂體 Prolactin 細胞에 미치는 影響에 關한 實驗的 研究

## Experimental Study of Pituitary Prolactin Cells on the Effect of Chlorpromazine and Bromocriptine Administration in Rats

서울대학교 의과대학 신경외과학교실, 병리학교실\* 및 해부학교실\*\*

黃聖男 · 崔吉洙 · 咸毅根\* · 趙士先\*\*

### 結 論

最近의 內分泌學研究의 進歩는 눈부실 程度이며 腦下垂體前葉의 研究에 있어 特히 活潑하여 前葉홀몬의 構造式의 決定 및 合成, 標的細胞에 對한 作用機轉의 解明, 定量法의 改良에 關한 여러 業績이 發表되고 있으며 이들 홀몬의 視床下部 放出促進因子 및 抑制因子等도 뒤이어 發見되었고 그 構造도 점차 밝혀지게 되었다. 더우기 形態學의 으로도 電子顯微鏡을 利用한 前葉細胞의 微細構造가 날날이 밝혀지고 홀몬抗原이 가진 嚴格한 特異性을 利用한 免疫組織化學의 方法의 開發로 前葉細胞의 機能別 同定法이 可能하여졌다.

腦下垂體分泌異常으로 招來되는 高 prolactin症이 無月經, 無排卵, 乳漏, 陰萎, 性機能不全등을 誘發하여 男女不妊症의 重要한 原因이 됨이 밝혀진 것은 放射免疫測定法에 依한 血中 prolactin值의 定量的測定이 可能해진 比較的 最近의 일이다(Forbes等, 1954; Cunningham等, 1977; Kleinberg等, 1977; Carter等, 1978; Bergh等, 1979).

이러한 高 prolactin症의 原因으로는 첫째로 腦下垂體腫瘍을 들수 있으며 過去에 非機能性腫瘍으로 생각되었던 色素嫌性腺腫의 약 70%에서 高 prolactin症이 發見되고 이러한 患者의 不妊原因이 性腺刺戟홀몬 分泌細胞에 미치는 腫瘍의 機械的壓迫뿐 아니라 增加된 prolactin에도 있음이 밝혀졌다.

Prolactin分泌能은 視床下部로 調節되며 그 放出因子에 의해 抑制됨으로 視床下部 또는 視床下部腦下垂體神經路를 破壞하는 여러 疾患이 高 prolactin症의 原因이 되기도 한다. 또한 여러 藥劑가 高 prolactin症을 招來하는데 이들 藥劑는 視床下部에서 depamine을 枯渴시키거나 prolactin細胞의 prolactin inhibitory factor (PIF) 受容體를 遮斷하여 分泌를 增進시킨다.

그밖에도 原因이 確實치 않은 特發性 高 prolactin症

이 있으나 診斷方法이 發展됨에 따라 이런 患者에서 prolactin을 分泌하는 機能性微細腫瘍이 發見되고 있다. 이러한 原因에 依한 高 prolactin症은 血中 prolactin值를 低下시키는 藥劑의 投與로 이에 依한 여러 臨床症勢가 好轉, 消失되고 不妊症이 治療 될 수 있다는 點에서 이에 對한 關心이 增大되고 있다(Besser等, 1972; Rolland等, 1974; Seppala 等 1976; Ambrosi等, 1977; Bergh等, 1979; Spark等, 1979).

高 prolactin症을 誘發시키는 여러 藥劑中 臨床에서 흔히 神經安定劑로 使用되는 chlorpromazine은 視床下部의 機能을 抑制하여 腦下垂體홀몬 分泌를 抑制하나 prolactin에 對해서만은 prolactin 細胞의 PIF受容體를 遮斷하여 高 prolactin症을 일으키므로 이러한 藥劑를 繼續 投與받은 患者에서 無月經, 乳漏등을 觀察할 수 있다. 한편 bromocriptine은 最近 臨床에 導入되어 高 prolactin症으로 인한 不妊症, 乳漏, 末端肥大症, 파킨슨病에 治療劑로 使用되고 있는데 腦下垂體에서 매우 特異하게 prolactin細胞의 PIF 受容體를 刺戟하여 prolactin分泌를 抑制할 뿐 아니라 prolactin細胞의 細胞分裂과 prolactin合成, 腦下垂體의 DNA合成까지 抑制한다는 報告가 있다(Davies等, 1974; Lloyd等, 1975).

또한 bromocriptine의 成長홀몬細胞에 對한 作用은 單純하지 않으나 興味있는 것은 正常人에 投與했을 때는 약간의 成長홀몬分泌 增進 效果를 보이나 成長홀몬 分泌가 非正常的으로 增加되어 있는 狀態에서는 오히려 成長홀몬 分泌 抑制作用을 하며 bromocriptine이 成長홀몬細胞에 對해 prolactin 細胞에서와 같이 直接的인 抑制作用이 있기 때문에 풀이되고 있으나 그 分明한 說明은 아직 되지 않고 있다(Chiodini等, 1974; Camanni等, 1974; Spark等 1979).

Bromocriptine이 prolactin의 合成과 分泌를 抑制하여 增加된 prolactin值를 低下시킨다는데 對해서는 論難의 餘地가 없으나 實際로 生體에 投與했을 때 prola-

ctin細胞 自體에 어떠한 構造的 變化를 招來하는지는 잘 알려져 있지 않으며 단지 臨床에서 散發的으로 prolactin 分泌腫瘍患者에서 이 藥劑의 投與로 腫瘍의 크기가 縮小되었음을 報告하고 있는바로 미루어 bromocriptine이 prolactin의 合成과 分泌抑制뿐 아니라 prolactin細胞에 構造的 또는 形態學的 變化를 招來할 것으로 생각되며 成長홀몬細胞에 對해서도 bromocriptine이 prolactin細胞에서와 마찬가지로 거의 비슷한 作用을 한다는 報告가 많으나 이에 對해서는 더욱 論難이 많다.

最近發展된 放射免疫測定法에 依한 血中 prolactin值의 定量測定과 免疫組織化學의 染色方法에 依한 prolactin 顆粒을 含有한 細胞에 對한 細胞同定이 可能케 되면서 上記한 藥劑를 投與後 血中 prolactin值의 變動 또는 prolactin 細胞의 染色度를 觀察한 研究報告는 있으나(Kleinberg等, 1971; 朴等, 1973; Alfredsson等, 1977) 形態學的 觀點에서 前葉細胞인 prolactin 및 成長홀몬細胞로서 好酸性細胞의 數와 크기의 變動과 prolactin 細胞 및 成長홀몬細胞의 微細構造變化를 觀察한 成績은 찾기 어렵다.

따라서 著者は 흰쥐에 chlorpromazine을 投與하여 人爲的으로 高 prolactin症을 誘發시킨 後 bromocriptine을 投與하여 prolactin細胞와 成長홀몬細胞가 어떠한 構造的變化를 보이는지 究明하기 爲하여 本實驗을 施行하였으며 아울러 이들 藥劑投與後 腦下垂體前葉細胞들의 顆粒內形質細網(rER) 및 Golgi 複合體의 酵素인 NADH diaphorase와 TPPase(thiamine pyrophosphatase)(Pelletier等, 1972; Howell等, 1978)의 酵素活性度를 살피 投藥에 따른 前葉細胞의 早期活性 變化를 觀

察하였다.

## 實驗材料 및 方法

### 1. 實驗動物

平均體重 150gm의 Sprague-Dawley系의 숫컷 흰쥐 120마리를 5個實驗群으로 나누어 藥物處置後 豫定日에 屠殺하였으며 實驗期間中 食餌와 물은 自由로이 取하도록 하였고 日照時間은 13時間程度로 比較的 一定하였으며 溫度和 濕度の 急激한 變化는 없었다.

### 2. 實驗方法

各實驗群의 動物數 및 投藥方法은 表1과 같다. 卽 實驗第 I (A)群은 生理的食鹽水만을 投與한 正常對照群이고 實驗第 II 群은 chlorpromazine(Sam-Sung Pharm.)을 每日 體重 1kg當 7.5mg을 筋肉注射하였으며 이중 實驗(B)群은 이러한 處置를 實驗이 끝날 때까지 繼續 하였고 實驗(C)群은 3日間만 하였다.

實驗第 III 群은 chlorpromazine과 bromocriptine(CB-154, Sandoz) 併合投與群으로 bromocriptine은 每日 體重 1kg當 100 $\mu$ g을 經口投與하였다. 이중 實驗(D)群은 chlorpromazine을 3日間 注射後 이를 中斷하고 bromocriptine을 投與하였으며 實驗(E)群은 두가지 藥劑를 同時에 繼續投與하였다.

가. 組織處理 方法: 藥物投與 始作日로부터 第4日, 7日, 10日, 15日째 屠殺한 흰쥐에서 卽時 腦下垂體, 副腎, 睪丸을 摘出하여 重量을 測定한 後 腦下垂體를 二分하여 그 一部는 Bouin's solution에, 나머지 一部는 glutaraldehyde에 各各 固定하였다.

Bouin's solution에 4~5時間 固定한 組織은 70%

Table 1. Experimental groups and treatment

Experimental groups	No. of rats	Treatment	Days of sacrifice
I. Control	A 22	Saline	4th, 7th, 10th, 15th day after 1st. Tx.
II. Chlorpromazine	B 26	Chlorpromazine 7.5mg/kg/d. continued	"
	C 22	Chlorpromazine 7.5mg/kg/d. for 3 days and discontinued	"
III. Chlorpromazine & Bromocriptine	D 24	Chlorpromazine 7.5mg/kg/d. for 3 days followed by bromocriptine 100 $\mu$ g/kg/d.	"
	E 26	Chlorpromazine 7.5mg/kg/d simultaneously with bromocriptine 100 $\mu$ g/kg/d.	"

alcohol로 數日間に 걸쳐 固定液成分中の 하나인 picric acid의 黃色微이 消失될 때까지 자주 液을 交換하면서 洗滌해 왔다. 그後에는 通常方法에 따라 高濃度の alcohol로 脫水, xylene을 거쳐 paraffin에 包埋하였고 6 $\mu$ 두께의 連續切片을 製作하여 이것을 H-E重復染色, PAS-orange G 및 acid fuchsin-aniline blue 染色을 하였다.

나. 電子顯微鏡的 組織檢査方法: 電子顯微鏡的 觀察을爲해서는 摘出한 組織을 1mm이하로 細切하고 4°C의 2.5% glutaraldehyde溶液(0.1M phosphate buffer pH 7.3)에 2~4時間 固定한 다음 1% osmium tetroxide에 後固定하였다.

Ethanol과 propylene oxide로 脫水하여 Epon 812에 包埋하여 600~900Å의 超薄片을 만들어 uranyl acetate와 lead citrate의 二重染色을 施行한 다음 AEI Corinth 500 電子顯微鏡으로 觀察하였다.

다. 酵素組織化學의 方法: 처음 屠殺한 實驗動物中 各群의 一部는 腦下垂體를 摘出하여 即時 -20°C의 凍結溶媒를 使用하여 凍結切片機(Cryocut, AO社)로 10 $\mu$  두께로 薄切하고 NADH diaphorase와 TPPase의 染色을 다음과 같은 染色方法으로 施行하였다.

**NADH diaphorase:** Farber等의 方法을 使用했으며 0.2M phosphate buffer(pH 7.4) 4ml, nitro BT(1mg/ml), 4ml 蒸溜水 4ml와 NADH 10mg을 混合한 基質溶液을 使用하여 37°C 恒溫器에서 30分間 反應시켰다. 이 方法은 nitro BT를 使用하기 때문에 酵素活性度는 diformazan 生成量에 따라 暗青色으로 나타나게 되므로 細胞內 酵素의 活性는 暗青色 또는 靑紫色의 呈色度에 比例하게 된다(Farber等 1956).

**TPPase:** Gomori 方法을 使用했으며 thiamine pyrophosphate(75mg/7ml) 7ml, 0.2M tris-maleate buffer (pH 7.2) 10ml, 1% lead nitrate 3ml, 0.05% manganese chloride 5ml를 混合한 基質溶液을 使用하여 37°C 恒溫器에서 30分間 反應하였다. 이 方法은 ammonium sulfide를 使用하기 때문에 酵素活性度는 黑色으로 나타나게 되며 酵素의 細胞內 活性度는 黑色의 呈色度에 比例하게 된다(Becker等, 1961, 1962).

### 3. 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 水平斷으로 連續切片을 만들어 同一水準의 切片들을 選擇하였다. 이들을 400倍 擴大의 光學顯微鏡下에서 各切片當 4個의 視野를 任意로 選擇하여 50個의 腦下垂體細胞를 計數하여 切片當 200個의 腦下垂體細胞에 對한 百分率을 얻었으며 이로서 各群의 平均 및 標準偏差를 計算하여 統計處理하였다. 또한 各切片當

無作爲 選別한 10個의 好酸性細胞를 ERMA ocular micrometer를 利用하여 各細胞의 長徑을 얻었으며 이들을 各切片當 平均値를 計算하여 역시 各群別 細胞 크기의 平均과 標準偏差를 計算하여 各群 相互間의 有意水準을 計算하였다.

한편 酵素細胞化學的檢査를 爲해 모든 染色은 同一條件下에서 對照群의 腦下垂體切片을 對照로 施行하여 細胞活性出現度를 判定하여 對照群을 卍로 보고 卐: 低下, +: 高度低下 등으로 相對的으로 表記하였다.

Table 2. Weight of organs after treatment (Mean $\pm$ S.D.)

Groups	Pituitary (mg/100gm)	Adrenals (mg/100gm)	Testes (gm/100gm)
A	3.6 $\pm$ 0.5	18.4 $\pm$ 4.8	1.5 $\pm$ 0.3
B	4.1 $\pm$ 0.5**	23.1 $\pm$ 3.5**	1.9 $\pm$ 0.4**
C	3.8 $\pm$ 0.8	21.4 $\pm$ 3.0*	1.8 $\pm$ 0.3**
D	3.7 $\pm$ 0.5	22.0 $\pm$ 4.2*	1.8 $\pm$ 0.3**
E	3.6 $\pm$ 0.6	24.8 $\pm$ 3.5**	1.9 $\pm$ 0.3**

Values of p for differences between treatment and control group.

\*\* p<0.01

\* p<0.02

## 成 績

### 1. 臟器重量의 變化

腦下垂體, 副腎 및 睪丸의 比體重値를 計算한 뒤 그 平均値를 表 2에 表示하였다. 腦下垂體의 重量平均値는 實驗 A群이 3.6mg, 實驗 C, D, E群이 3.6~3.8mg으로 對照群과 別差異가 없었으나 實驗 B群에서는 4.1mg으로 增加를 보였다. 副腎의 重量平均値는 實驗 A群의 18.4mg과 比較할 때 實驗 B, C, D, E 群에서 21.4~24.8mg으로 增加를 보였다. 睪丸의 重量은 實驗 A群의 1.5gm과 比較할 때 實驗 B, C, D, E群에서 1.8~1.9 gm으로 모두 增加를 보였다.

### 2. 好酸性細胞의 變動 및 形態學의 所見

腦下垂體細胞數에 對한 好酸性細胞數의 百分率은 表 3에 表示한 바와 같으며 各群 사이에 有意한 差異는 없었다.

各群好酸性細胞의 크기는 表 4에 表示하였는데 實驗 A群에 비해 實驗 D, E群의 好酸性細胞들은 認知可能한 程度의 細胞가 核의 濃縮과 細胞質의 減少를 나타내어 多數의 細胞가 萎縮을 보였다.

實驗 B, C群에서는 多少의 細胞가 細胞質의 萎縮을 보였으나 全般的으로는 實驗 A群과 有意한 差異가 없

**Table 3.** Population of acidophils of anterior pituitary(%)

Mean±S.D.

A	B	C	D	E
38.76±1.80	41.71±2.13	42.74±1.81	41.00±1.58	40.28±1.75

**Table 4.** Size of acidophil of anterior pituitary(μ)

Mean±S.D.

A	B	C	D	E
16.5±2.03	16.9±2.24	16.2±1.79	13.6±2.75*	13.3±2.37*

\*Values of p for differences between treatment and control group were less than 0.01.

있다. 同一한 實驗 D 或은 E 群에서도 投藥期間이 오랜 實驗群에서 萎縮된 細胞가 더 많이 觀察되었다(圖 1, 2).

### 3. Prolactin細胞의 微細構造變化

實驗 A 群에서 prolactin 細胞는 그 模樣이 橢圓形 또는 不規則한 形態로 核의 模樣도 대체로 細胞의 模樣에 따라 一定하지 않았고 흔히 核膜의 彎入이 觀察되었다. 가장 뚜렷한 特徵은 圓形, 橢圓形 또는 桿狀形의 分泌顆粒들을 含有하고 있는 點으로 이들은 그 크기가 500~800nm로서 다른 細胞의 顆粒보다 큰편이었으나, 그 數는 比較的 적었다. rER 및 Golgi 複合體는 中等度의 發達을 보였다(圖 11).

實驗 B, C 群에서의 가장 뚜렷한 變化는 顆粒의 周邊部偏在와 顯著한 顆粒消失現象으로 藥劑投與時間이 오래 經過된 것일수록 더욱 甚하였고 反面 rER 및 Golgi 複合體가 時間經過에 따라 顯著히 發達되어 甚한 境遇 rER의 小槽(cisternae)가 半透明한 物質들로 차 있어 甚히 膨大되었고 Golgi 複合體도 核周圍에 廣範圍하게 퍼져있어 흔히 그 周邊部에서 未成熟形으로 보이는 電子密度가 낮은 顆粒들이 觀察되었다(圖 12).

實驗 D, E 群에서 初期에는 顆粒의 停滯外에 正常實驗群에 比하여 本細胞의 큰 變化를 認定할 수 없었으나 점차 細胞小器官, 특히 rER, Golgi 複合體 및 絲粒體(mitochondria)의 出現이 顯著히 減少되었다(圖 13).

Bromocriptine 投與期間이 오래됨에 따라 大部分의 prolactin 細胞의 境界가 不確實해지며 細胞小器官들이 더욱 消失되고 顆粒의 숫자도 減少하였으며 核膜은 不分明해지고 染色質의 凝集을 觀察할 수 있었다. (圖 14, 15, 16).

### 4. 成長홀몬細胞의 微細構造變化

成長홀몬細胞는 300~350nm의 크기가 比較的 均一한 顆粒이 多數 細胞質內에 密集되어 있었으며 實驗 A 群에 比해 實驗 B, C, D, E 群에서 큰 變化를 觀察한 수 없었다(圖 11, 15, 16).

### 5. NADH diaphorase 및 TPPase 活性度の 變化

表 5에 表示한 바와 같이 對照群인 實驗 A 群에 比해 chlorpromazine 繼續投與群인 實驗 B 群에서 腦下垂體前葉細胞의 NADH diaphorase와 TPPase 活性度の 低下를 보였고 chlorpromazine 投與後 經時的으로 觀察한 例에서 一時投與中止한 實驗 C 群에서는 各酵素活性度の 回復을 보였으며 bromocriptine을 併合投與한 實驗 D, E 群에서도 그 活性度の 低下를 보였다(圖 5, 6, 7, 8, 9, 10).

**Table 5.** NADH diaphorase and TPPase histochemistry of anterior pituitary cells

Experimental groups	NADH diaphorase	TPPase
A group	卅	卅
B group	+	+
C group	卅	卅
D group	+	+
E group	+	+

\* Degrees of enzyme activity: 卅 : control 卅 : decreased + : markedly decreased.

### 考 按

Chlorpromazine 投與에 의한 腦下垂體홀몬 變化中 가장 顯著한 것은 血中 prolactin 值의 上昇이다. Kleinberg 等(1971)은 이 藥劑를 正常人에 投與하여 血中 prolactin 值가 急激히 上昇하여 1~2時間內에 最高值에 달하며 6時間後에는 서서히 低下되기 始作함을 觀察하였고 이러한 效果는 L-dopa 投與로 相殺됨을 報告하였으며 Alfredsson 等(1977)은 이 藥劑를 흰쥐에 投與하여 사람에서와 같은 急激한 血中 prolactin 上昇效果와 24時間後에 藥劑投與前의 水準으로 回復됨을 觀察하였다.

Chlorpromazine은 視床下部를 抑制하여 腦下垂體에서 成長홀몬, 性腺刺戟홀몬과 緊張에 의한 副腎皮質刺

戟홀몬분비를 억제하나 prolactin細胞에 대해서는 PIF受容體를 遮斷하여 prolactin 분비를 增進시키는 이미 緒論에서 說明한 바와 같다.

Lysergic acid誘導體인 bromocriptine은 腦下垂體 prolactin細胞에 對해 매우 獨特한 影響을 미치는데 prolactin 細胞의 PIF受容體와 結合하여 prolactin분비를 抑制할 뿐 아니라 視床下部에서 dopamine의 分解를 遲延시켜 主 PIF로 알려진 dopamine值를 增加시키며 繼續投與하면 prolactin細胞의 모든 細胞活動을 抑制하는 複合된 分泌抑制機能을 가지고 있다(Davies 等, 1974; Lloyd等, 1974).

Bromocriptine의 成長홀몬細胞에 對한 影響은 單純하지 않으며 이에 關한 많은 研究報告가 있다. MacLeod等(1972)은 흰쥐 腦下垂體細胞培養에서 bromocriptine이 prolactin細胞와 마찬가지로 成長홀몬細胞에 對해서도 直接的인 抑制作用을 하여 홀몬분비를 低下시킨다고 했으나 Gautvik等(1973)은 prolactin과 成長홀몬을 分泌하는 흰쥐 腦下垂體腫瘍細胞培養實驗에서 bromocriptine이 prolactin 分泌는 抑制하나 成長홀몬分泌에는 아무런 變化를 주지 않았음을 報告했다.

이러한 相反되는 實驗結果에도 不拘하고 最近에는 bromocriptine이 prolactin과 成長홀몬細胞 即 腦下垂體好酸性細胞에 對해 獨特한 抑制作用을 하나 다른 腦下垂體홀몬分泌細胞에 對해서는 거의 影響을 주지 않는다는 說이 有力하다.

흰쥐 生體에서는 bromocriptine을 投與하면 正常人에서는 血中成長홀몬值가 增加하고 末端肥大症患者에서는 減少하는 逆說의 效果를 나타내는데 그 理由는 아직 明確히 說明되고 있지 않다(Chiodini 等 1974; Camanni 等, 1974; Spark等, 1979).

朴等(1973)은 chlorpromazine과 같은 phenothiazine誘導體이며 高 prolactin症을 誘發하는 perphenazine을 흰쥐에 投與한 實驗에서 腦下垂體重量變動은 없다고 하였으나 本實驗에서는 實驗 B群에서 重量增加를 보였다. 물론 朴等の 實驗과는 藥劑의 種類, 投藥容量, 投藥期間이 다르므로 그 結果를 比較함은 無理하겠으나 腦下垂體의 重量增加는 追後 糾明되어야 하리라 믿는다.

Prolactin 또는 成長홀몬分泌腫瘍患者에서 bromocriptine投與는 上昇된 血中홀몬值를 低下시키며 確實치는 않으나 腫瘍의 크기도 縮小시킨다는 主張도 있다. 即 Sobrinho(1978), Landolt 等 (1979), Wass(1979) 등은 prolactin 및 成長홀몬分泌腫瘍患者에 bromocriptine을 投與하여 腫瘍의 크기가 작아지는 것을 電算化斷層攝影으로 確認하였음을 報告한 反面 Dunn等(1977)은 末端肥大症患者에서의 效果는 懷疑의이라고 했으며 Fan-

ghanel-S 等 (1978)은 역시 末端肥大症患者에서 bromocriptine을 投與하고 成長홀몬腫瘍細胞의 微細構造變化를 觀察한 結果 단지 홀몬分泌가 抑制될 뿐 홀몬合成은 抑制되지 않으므로 患者에서 이 藥劑를 單獨으로 使用하는데는 慎重을 기해야 한다고 했으며 Sachdev等 (1975)은 이 藥劑의 腫瘍크기에 미치는 影響이 不確實하므로 手術이나 放射線治療後 補助의으로 또는 老人에서와 같이 手術이나 放射線治療가 適合치 않은 患者에 使用하는 것이 좋다고 하였다.

이렇듯 bromocriptine의 prolactin 및 成長홀몬細胞에 對한 蛋白合成 또는 增殖抑制效果에 對해서는 論難이 많으나 本實驗에서는 bromocriptine이 投與된 實驗 D, E群에서 重量變化는 볼 수 없었다.

高 prolactin症이 副腎肥大를 招來함은 prolactin이 副腎의 스테로이드合成을 抑制하기 때문에 補償의으로 肥大가 된다는 說과 prolactin에 依해 辜丸에서의 testosterone合成이 抑制되어 副腎에서 testosterone이 合成되기 때문이라는 說이 있다.

Harper等(1976)은 bromocriptine投與가 흰쥐 副腎의 重量에는 아무런 變動을 주지 않는다고 했으나 本實驗에서는 chlorpromazine投與群뿐 아니라 bromocriptine과 併合投與群에서도 副腎肥大가 있었는데 이 原因을 밝혀내기 위해서는 血中 prolactin 值의 測定과 副腎에 對한 組織學的 研究가 따라야 할 것으로 생각된다.

高 prolactin症은 女性뿐 아니라 男性에서도 不妊症의 重要한 原因이 되고 있으며 腦下垂體腫瘍을 發見할 수 없는 乏精液症患者의 약 10%에서 高 prolactin症을 찾아볼 수 있다고 한다.(Carter等, 1978).

高 prolactin症이 陰萎, 性機能不全등의 原因이 된다는데는 異意가 없으나 辜丸에 미치는 影響에 對해서는 意見이 一致되지 않고 있다. 即 prolactin이 Leydig細胞의 活動을 抑制하여 testosterone 生成을 低下시킨다는 主張(Fang等, 1974; Cunningham等, 1977; Carter等, 1978)과 反對로 Leydig細胞의 活動을 增進시켜 血中 testosterone值를 增加시키거나 testosterone을 活性形인 DHT(dihydrotestosterone)으로 바꾸는데 必要한 5 $\alpha$ -reductase를 抑制하여 DHT는 增加되지 않는다는 主張도 있다(Mawhinney等, 1974; Rubin等, 1975, 1976; Ambrosi等, 1976; Magrini等, 1976).

本實驗에서 chlorpromazine 投與群에서 辜丸重量增加를 보인것은 前者들의 辜丸萎縮說과는 거리가 먼 實驗結果였다.

朴等(1973)은 흰쥐에서 perphenazine 投與後 腦下垂體를 免疫組織化學染色을 한 結果 prolactin細胞의 數가 減少했음을 觀察하고 이것은 細胞自體의 消滅이 아

나라 顆粒이 大部分 放出되어 染色上으로 陰性으로 나타난 것으로 解釋했으며 이것은 chlorpromazine이 prolactin細胞의 分泌作用을 增進시킨 細胞의 生存이나 增殖에는 影響을 주지 않음을 考慮할 때 妥當한 解釋이라 하겠다. 그러나 bromocriptine은 prolactin과 成長호르몬細胞의 ฮอร์โมน分泌단 抑制하는 것이 아니고 細胞의 蛋白合成이나 分裂에도 抑制作用이 있다는 많은 實驗 및 觀察結果를 綜合해볼 때 비록 chlorpromazine과 併合投與 되었다 할지라도 bromocriptine投與群에서 prolactin 및 成長호르몬細胞인 好酸性細胞의 숫자나 크기에 變動이 있을 것이 豫想되었고 實驗結果 숫자에는 큰 變動이 없었으나 그 크기는 意味있는 縮小를 보였으며 특히 많은 好酸性細胞가 核濃縮과 細胞萎縮을 보였음을 特記할 만한 所見이었다.

Kanematsu等(1979)은 흰쥐의 腦下垂體莖狀部를 切斷하여 prolactin細胞를 電子顯微鏡으로 觀察하여 分泌顆粒이 細胞質의 周邊部에 排列되고 數가 減少하며 Golgi 複合體와 rER의 發達, 未成熟顆粒의 出現등을 볼 수 있었다고 하며 이러한 微細構造變化는 本實驗에서 chlorpromazine을 投與한 實驗群의 微細構造 변화와 一致되는 所見이었다. Bromocriptine投與는 이러한 모든 變化를 效果의으로 抑制하였으며 投藥期間이 持續됨에 따라 光學顯微鏡下에서 觀察되었던 細胞萎縮은 電子顯微鏡下에서도 뚜렷이 觀察되었고 投藥期間이 긴 實驗群에서 萎縮된 細胞의 數는 增加하였고 萎縮程度도 더 甚하였다.

이처럼 萎縮된 細胞들은 모두 prolactin細胞들이었으며 成長호르몬細胞들은 모든 實驗群에서 別다른 變化를 보이지 않았음을 考慮할 때 光學顯微鏡下에서 觀察되었던 萎縮된 好酸性細胞들은 大部分 prolactin細胞들로 생각된다.

腦下垂體호르몬分泌細胞의 活性도를 보기 爲해 rER, 絲粒體 및 Golgi 複合體에 存在하는(Pelletier等, 1972; Howell等 1978) NADH diaphorase와 TPPase 酵素染色結果 chlorpromazine을 繼續投與한 實驗 B群에서 活性도의 增加를 豫測하였으나 오히려 活性도가 低下된 理由는 chlorpromazine의 視床下部에 對한 抑制作用으로 因하여 prolactin細胞以外的 分泌細胞活性抑制(Sherman等, 1971)가 優勢하게 나타났기 때문으로 解釋되며 bromocriptine 投與群에서도 역시 活性도의 低下를 보인 것은 bromocriptine의 prolactin細胞에 對한 抑制作用과 함께 成長호르몬細胞에 對한 分泌刺激 보다 抑制效果가 더욱 優勢하게 나타난 것으로 解釋된다.

## 結 論

Sprague-Dawley系 숫컷 흰쥐 120마리를 5個實驗群(正常對照群, chlorpromazine連續投與群, chlorpromazine一時投與群, chlorpromazine投與後 bromocriptine投與群 및 chlorpromazine과 bromocriptine 同時投與群)으로 나누어 chlorpromazine과 bromocriptine을 投與하고 이들 藥劑가 腦下垂體前葉細胞에 미치는 影響을 觀察코저 本實驗을 施行하였으며 投藥後의 腦下垂體, 副腎, 辜丸의 重量을 計測하였고 腦下垂體好酸性細胞의 數 및 크기의 變動과 好酸細胞인 prolactin과 成長호르몬細胞의 微細構造變化를 觀察하였으며 아울러 藥劑投與에 依한 早期變化로서 酵素活性도를 細胞化學의으로 觀察하여 各實驗群間의 成績을 綜合하여본 結果는 다음과 같다.

1. 腦下垂體前葉의 好酸性細胞 숫자는 藥劑投與에 依한 各實驗群間에 큰 差異가 없었으나 그 크기는 bromocriptine投與群에서 意味있는 縮小를 보였고 濃縮核을 가진 萎縮된 細胞들이 많이 觀察되었다.

2. Chlorpromazine投與時에 prolactin細胞에서는 顆粒의 周邊部偏在, 顯著한 顆粒의 消失 現象과 顆粒內 形質細網 및 Golgi 複合體의 發達을 보였으며 bromocriptine 投與時는 顆粒의 停滯와 細胞小器官의 消失을 보였다. Bromocriptine 投與期間이 오래 될수록 prolactin 細胞의 境界와 核膜이 不分明해지며 細胞萎縮과 核濃縮이 觀察되었다. 成長호르몬細胞는 微細構造에 있어서 모든 實驗群에서 對照群에 비해 큰 變化를 보이지 않았다.

3. Chlorpromazine과 bromocriptine投與는 各實驗群에서 모두 NADH diaphorase와 TPPase의 酵素活性도를 低下시켰으나 投藥中斷은 그 活性도의 回復을 보였다.

## —ABSTRACT—

### Experimental Study of Pituitary Prolactin Cells on the Effect of Chlorpromazine and Bromocriptine Administration in Rats

Sung Nam Hwang, Kil Soo Choi,  
Eui Keun Ham and Sa Sun Cho

Departments of Neurosurgery, Pathology and Anatomy  
College of Medicine, Seoul National University

Hyperprolactinemia which is produced by pituitary tumor, lesions involving hypothalamo-hypophyseal tract and various drugs has important medical significance because of its close relationship with infertility.

Among various drugs which produce hyperprolactinemia chlorpromazine rapidly elevates blood level of prolactin by blocking the PIF receptor of the pituitary prolactin cells.

Bromocriptine is a semisynthetic tripeptide ergot alkaloid and it has high specificity to the prolactin cells. It rapidly lowers blood prolactin level by stimulating the PIF receptor of the prolactin cells at the pituitary level and a few other mechanisms.

Furthermore bromocriptine is known to inhibit growth hormone cells directly though still in a controversy.

Chlorpromazine and bromocriptine were administered to 120 male rats grouped into 5. Pituitary, adrenals and testes were weighed. Pituitary was prepared for light microscopic, electron microscopic and enzyme cytochemical study. By light microscope, the numbers of the acidophils were counted and sizes were measured for statistical analysis and by electron microscope the ultrastructural changes of the prolactin and growth hormone cells were examined.

The results were as follows.

1. By light microscope there was no significant change in numbers of acidophils between each group but there was significant decrease in size of acidophils of combined chlorpromazine and bromocriptine group compared with control and chlorpromazine group.
2. By electron microscope there were severe depletion of prolactin granules and marked development of endoplasmic reticulum and Golgi complex in chlorpromazine group. In combined chlorpromazine and bromocriptine group, there was no significant change of prolactin granules but cellular organelles were markedly decreased in number. With continued bromocriptine administration, cell border and nuclear membrane of the prolactin cell became indistinct and most of the prolactin cells were atrophied with pyknotic nuclei. Growth hormone cells showed no significant changes in each group com-

pared with control group.

3. Enzyme staining of the anterior pituitary showed decreased activities of NADH and TPPase in chlorpromazine group and combined chlorpromazine and bromocriptine group.

## REFERENCES

- Alfredsson, G., Wiesel, F.A. and Skett, P.: *Levels of chlorpromazine and its active metabolites in rat brain and the relationship to central monoamine metabolism and prolactin secretion. Psychopharmacol.*, 53:13, 1977.
- Ambrosi, B., Travaglini, P., Peccoz, P.B., Bara, R., Elli, R., Paracchi, A. and Faglia, G.: *Effect of sulpiride-induced hyperprolactinemia on serum testosterone response to HCG in normal men. J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 43:700, 1976.
- Ambrosi, B., Bara, R., Travaglini, P., Weber, G., Peccoz, P.B., Rondena, M., Elli, R. and Faglia, G.: *Study of the effect of bromocriptine on sexual impotence. Clinical Endocrinol.*, 7:417, 1977.
- Becker, N.H.: *The cytochemistry of anoxic-ischemic encephalopathy in rats. III. Alterations in the neuronal Golgi apparatus identified by nucleoside diphosphatase activity. Am. J. Path.*, 50:243, 1962.
- Becker, N.H., Novikoff, A.B. and Goldfischer, S.: *A cytochemical study of the neuronal Golgi apparatus. Arch. Neurol.*, 5:497, 1961.
- Benker, G., Hackenberg, K., Hamburger, B. and Reinwein, D.: *Effect of growth hormone releasing inhibiting hormone and bromocriptine (CB-154) in states of abnormal pituitary-adrenal function. Clin. Endocrinol.*, 5:187, 1976.
- Bergh, T., Nillius, S.J. and Wide, L.: *Bromocriptine treatment of seven women with primary amenorrhea and prolactin secreting pituitary tumors. Clin. Endocrinol.*, 10:145, 1979.
- Besser, G.M., Parke, L., Edward, C.R.W., Forsyth, I.A. and McNeilly, A.S.: *Galactorrhea: successful treatment with reduction of plasma prolactin levels by brom-ergocryptine. Br. Med. J.*, 3:669, 1972.
- Camanni, F., Massara, F., Belforte, L. and Molinatti, G.M.: *Changes in plasma growth hormone levels in normal and acromegalic subjects following administra-*

- tion of 2-Bromo- $\alpha$ -Ergocryptine. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 40:363, 1975.
- Carter, J.N., Tyson, J.E., Tolis, G., Vlist, S.V., Faiman, C. and Friesen, H.G.: Prolactin secreting tumors and hypogonadism in 22 men. *N. Engl. J. Med.*, 299:847, 1978.
- Chiodini, P.G., Liuzzi, A., Botalla, L., Oppizzi, G., Müller, E.E. and Silvestrini, F.: Stable reduction of plasma growth hormone (hGH) levels during chronic administration of 2-Br- $\alpha$ -ergocryptine (CB-154) in acromegalic patients. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 40:705, 1975.
- Cunningham, G.R. and Huckins, C.: An FSH and prolactin secreting pituitary tumors: pituitary dynamics and testicular histology. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 44:248, 1977.
- Davies, C., Jacob, J., Lloyd, H.M. and Meares, J.D.: DNA synthesis and the secretion of prolactin and growth hormone by the pituitary gland of the male rat: effect of diethylstilboesterol and 2-Br- $\alpha$ -ergocryptine. *J. Endocr.*, 61:411, 1974.
- Dunn, P.J., Donald, R.A. and Espiner, E.A.: Bromocriptine suppression of plasma growth hormone in acromegaly. *Clin. Endocrinol.*, 7:273, 1977.
- Fang, V.S., Refetoff, S. and Rosenfield, R.L.: Hypogonadism induced by transplantable prolactin producing tumor in male rats: hormonal and morphological studies. *Endocrinol.*, 95:991, 1974.
- Fanghanel-S, G., Larraza, O., Arouco, R., Esquivel, R., Martinezcampos, A. and Valverde-R, C.: Serum growth hormone and ultrastructural studies of adeno-hypophysial tissue in bromocriptine treated acromegalic patients. *Clin. Endocrinol.*, 9:289, 1978.
- Farber, E., Steinberg, W.H. and Dunlop, C.E.: Histochemical localization of specific oxidative enzymes. III. Evaluation studies of tetrazolium staining methods for diphosphopyridine nucleotide diaphorase, triphosphopyridine nucleotide diaphorase and the succinic dehydrogenase system. *J. Histochem. Cytochem.*, 4:284, 1956.
- Forbes, A.P., Henneman, P.H. and Griswold, G.C.: Syndrome characterized by galactorrhea, amenorrhea and low urinary FSH: comparison with acromegaly and normal lactation. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 14:265, 1954.
- Gautvik, K.M., Hoyt, R.F. and Tashjian, A.H.: Effect of colchicine and 2-Br- $\alpha$ -ergocryptine methanesulphonate on the release of prolactin and growth hormone by functional pituitary tumor cells in culture. *J. Cell. Physiol.*, 82:401, 1973.
- Harper, M.E., Danutra, V., Chandler, J.A. and Griffith, K.: The effect of 2 Bromo- $\alpha$ -ergocryptine (CB-154) administration on the hormone levels, organ weights, prostatic morphology and zinc concentrations in the male rat. *Acta Endocrinologica*, 83:211, 1976.
- Howell, K.E., Ito, A. and Palade, G.E.: Endoplasmic reticulum marker enzyme in Golgi fractions. What does this mean? *J. Cell. Biol.*, 79:581, 1978.
- Kanematsu, S., Kishi, K. and Mikami, S.: Rise of plasma prolactin and changes in fine structure of the anterior hypophysis after pituitary stalk section in rats. *Endocrinology*, 105:427, 1979.
- Kleinberg, D.L. and Frantz, A.G.: Chlorpromazine stimulation and L-dopa suppression of plasma prolactin in man. *J. Clin. Endocrinol.*, 33:873, 1971.
- Kleinberg, D.L., Noel, G.L. and Frantz, A.G.: Galactorrhea: study of 235 cases including 48 with pituitary tumors. *N. Engl. J. Med.*, 296: 589, 1977.
- Landolt, A.M., Wuthrich, R. and Fellmann, H.: Regression of pituitary prolactinoma after treatment with bromocriptine. *Lancet*, 1:1082, 1979.
- Lloyd, H.M., Meares, J.D. and Jacobi, J.: Effects of estrogen and bromocriptine on the in vivo secretion and mitosis in prolactin cells. *Nature*, 255:497, 1975.
- MacLeod, R.M. and Lehmeyer, J.E.: In Wolstenholme and Knight (eds.), *Lactogenic hormones*, Livingstone, Edinburgh, p.53, 1972.
- Magrini, G., Ebner, J.R., Burckhardt, P. and Felber, J.P.: Study on the relationship between plasma prolactin levels and androgen metabolism in man. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 43: 944, 1976.
- Mawhinney, M.G., Belis, J.A., Thomas, J.A. and Lloyd, J.W.: Effect of prolactin on androgen metabolism by the guinea pig sex accessory organs. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 192:242, 1975.
- Nagulesparen, M., Ang, V. and Jenkins, J.S.: Bromocriptine treatment of males with pituitary tumors..



- hyperprolactinemia and hypogonadism. Clinical Endocrinology*, 9:73, 1978.
- 朴哲圭, 白相豪, 朴吉秀: *Perphenazine hydrochloride* 가 흰쥐 腦下垂體 prolactin에 미치는 影響에 關한 免疫組織化學的研究. 서울의대잡지, 14:61, 1973.
- Pelletier, G. and Novikoff, A.B.: *Localization of phosphatase activities in the rat anterior pituitary gland. J. Histochem. Cytochem.*, 20:1, 1972.
- Rolland, R., Schellenkens, L.A. and Lequin, R.M.: *Successful treatment of galactorrhea and amenorrhea and subsequent restoration of ovarian function by a new ergot alkaloid 2 Bromo- $\alpha$ -Ergocryptine. Clin. Endocrinol.*, 3:155, 1974.
- Rubin, R.T., Gouin, P.R., Lubin, A., Poland, R.E. and Pirke, K.M.: *Nocturnal increase of plasma testosterone in men: Relation to gonadotropins and prolactin. J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 40:1027, 1975.
- Rubin, R.T., Poland, R.E. and Tower, B.B.: *Prolactin related testosterone secretion in normal adult men. J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 42:112, 1976.
- Sachdev, Y., Pan, A.G., Tunbridge, W.M.G., Duns, A., Weightman, D.R. and Hall, R.: *Bromocriptine therapy in acromegaly. Lancet*, 2:1164, 1975.
- Seppala, M., Hirvonen, E. and Ranta, T.: *Bromocriptine treatment of secondary amenorrhea. Lancet*, 2:1154, 1976.
- Sherman, L., Kim, S., Benjamin, F. and Kolodny, H.D.: *Effect of chlorpromazine on serum growth hormone concentration in man. N. Engl. J. Med.*, 284:72, 1971.
- Sobrinho, L.G., Nunes, M.C.P. and Santos, M.A.: *Radiological evidence for regression of prolactinoma after treatment with bromocriptine. Lancet*, 2:257, 1978.
- Spark, R.F. and Dickstein, G.: *Bromocriptine and endocrine disorders. Ann. Intern. Med.*, 90: 949, 1979.
- Wass, J.A.H., Moulton, P.J.A., Thorner, M.O., Dacie, J.E., Charlesworth, M., Jones, A.E. and Besser, G.M.: *Reduction of pituitary tumor size in patients with prolactinoma and acromegaly treated with bromocriptine with or without radiotherapy. Lancet*, 2:66, 1979.

### LEGENDS FOR FIGURES

- Fig. 1.** Anterior pituitary cells of the control group (Gr. A). H&E,  $\times 400$ .
- Fig. 2.** Anterior pituitary cells of the chlorpromazine and bromocriptine group (Gr. E). Note numerous atrophied acidophils with pyknotic nuclei. H&E,  $\times 400$ .
- Fig. 3.** Anterior pituitary cells. Acid Fuchsin Aniline-Blue,  $\times 400$ .
- Fig. 4.** Anterior pituitary cells. PAS-Orange G,  $\times 400$ .
- Fig. 5.** NADH diaphorase activity of the control group. NADH diaphorase,  $\times 100$ .
- Fig. 6.** TPPase activity of the control group. TPPase,  $\times 100$ .
- Fig. 7.** Markedly decreased NADH diaphorase activity of the anterior pituitary cells after chlorpromazine administration (Gr. B). TPPase,  $\times 100$ .
- Fig. 8.** Markedly decreased TPPase activity of the anterior pituitary cells after chlorpromazine administration (Gr. B). TPPase,  $\times 100$ .
- Fig. 9.** NADH diaphorase activity of the anterior pituitary cells recovered moderately after discontinuation of chlorpromazine (Gr. C). NADH diaphorase,  $\times 100$ .
- Fig. 10.** TPPase activity of the anterior pituitary cells recover moderately after discontinuation of chlorpromazine (Gr. C). TPPase,  $\times 100$ .
- Fig. 11.** EM photograph of a prolactin cell (P) and a growth hormone cell (S) of the control group (Gr. A). Secretory granules of the prolactin cell are large and variable in size and shape. Growth hormone cell has abundant and densely packed secretory granules in the cytoplasm.  $\times 3000$ .
- Fig. 12.** Markedly dilated cisternae of rER around the nucleus in the prolactin cell of the chlorpromazine group (Gr. B).  $\times 10,000$ .
- Fig. 13.** With combined bromocriptine administration, retention of secretory granules and decreased cellular organelles are seen in a prolactin cell (Gr. E)  $\times 10,000$ .
- Fig. 14.** With continued bromocriptine administration, nuclear membrane is not clearly visible and clumping of chromatin is seen.  $\times 8,000$ .
- Fig. 15.** Nuclear pyknosis and decrease of secretory granules are seen in the same group. Note relatively intact growth hormone cell near the prolactin cell.  $\times 2,000$ .
- Fig. 16.** Atrophied prolactin cell between the growth hormone cells.  $\times 2,000$ .





