

ウマの腸粘膜における内分泌細胞の光顕的研究

佐藤 元*¹・山下忠幸・山田純三・三須幹男

(帯広畜産大学家畜解剖学教室)

1976年5月31日受理

Light Microscopic Study on the Endocrine Cells
of the Horse Intestinal tractHajime SATO*¹ Tadayuki YAMASHITA,* Junzo YAMADA*
and Mikio MISU*

緒 言

ヒトをはじめ多くの動物の胃および腸粘膜に存在する内分泌細胞はクロム親和性を示し、また銀親和性あるいは銀好性の顆粒を細胞基底側に保有していることから、古くから腸クロム親性細胞あるいは基底顆粒細胞と呼ばれてきた。これらの細胞は1960年代の前半までは一種類の細胞と考えられていたが、その後半に至り光顕レベルでの特殊染色法の発達 (SEVIER & MUNGER, 1965; GRIMELIUS, 1968; SOLCIA *et al.*, 1968, 1969 a, 1969 b) により、また電子顕微鏡を用いての研究により多種類の内分泌細胞が識別され、かつそれらの細胞がすでに知られているいくつかの消化管ホルモンに対応すると考えられるにいたっている。(SOLCIA *et al.*, 1967, 1969 c; CARVALHERIA *et al.*, 1968; ORCI *et al.*, 1968)。

本研究者は藤田ら(1973)が提唱している胃腸膵内分泌系〔Gastro-Entero-pancreatic (GEP) Endocrine System〕の細胞の家畜における光顕的および電顕的研究の一環として、まずウマを対象とし、すでに胃、膵臓について検索を行ってきた(山下ら, 1972, 1974 a, 1974 b, 1975)。本研究では引続き腸管粘膜における内分泌細胞の特殊染色による光顕下での分布状況および出現可能な細胞を考察し、電顕的研究の基礎資料とした。

材 料 と 方 法

材料はウマ(サラブレッド)の2才雌1, 約8カ月齢雄2の計3頭を用い、頸動脈における放血死の直後、腸管の8部位〔十二指腸膨大部, 十二指腸胆膵管膨大部の直後, 空腸, 回腸(回盲口より10 cm 前方), 盲腸(盲腸底), 大結腸(右腹側結腸の中央部), 小結腸(中央部), 直

* Department of Veterinary Anatomy, Obihiro University of Agriculture and Veterinary Medicine, Obihiro 080, Hokkaido, Japan.

*¹ Present address : National Research Institute of Police Science, Chiyoda-ku, Tokyo 102.

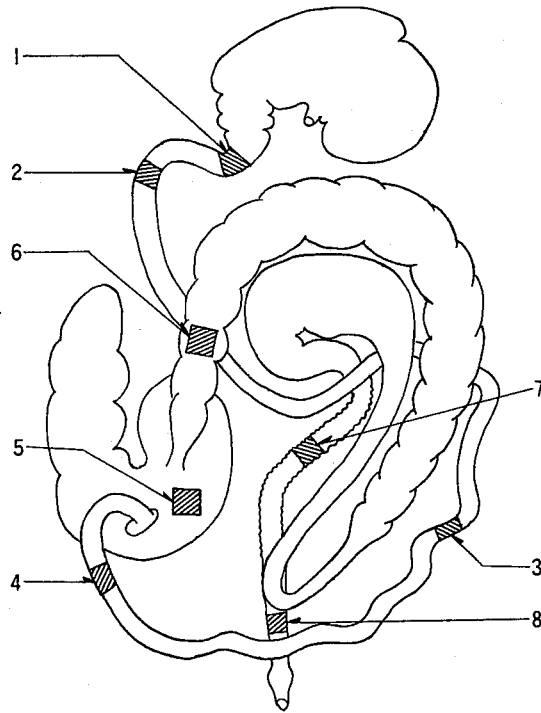


Fig. 1. Material-sampling portions in the intestinal tract of the horse

1. Duodenal ampulla
2. Behind the hepatopancreatic ampulla
3. Jejunum (Central portion)
4. Ileum (About 10cm beyond of the ilial orifice)
5. Caecum (Basal portion)
6. Colon major (Central portion of the right ventral colon)
7. Colon minor (Central portion)
8. Rectum

腸)より採取した。また特殊染色法間の対応のために胃幽門腺部粘膜をも検索に供した。

採取材料は生理食塩水で洗浄し、10%ホルマリン(0.1M 磷酸緩衝液, pH 7.3), プアン液およびヘリー液で固定した。固定後パラフィン包埋し、4~6 μ の切片とした。また幽門腺部、十二指腸膨大部、直腸の3部位については3 μ の連続切片を作成し、内分泌細胞の特殊染色法間の対応に用いた。

上記の3種類の固定液で固定した切片はそれぞれ次の7種の染色法を施し、光顕的に観察した。1) MASSON-HAMPERL 銀親和性反応 (SINGH, 1964; 以下 MASSON 法と略する), 2) ジアゾニウム反応: Diazonium 塩として fast red B (CORIDER & LISON, 1930; F. R. B. と略する) と fast black K (SOLCIA *et al.*, 1969 a; F. B. K. と略する), 3) DAVENPORT 鍍銀法 (HELLERSTRÖM & HELLMAN, 1960; DAVENPORT 法と略する), 4) 鉛・ヘマトキシリン法 (Lead-Hematoxylin method, SOLCIA *et al.*, 1969 b; Pb-Hem. と略する), 5) SEVIER-

MUNGER 鍍銀法 (SEVIER-MUNGER, 1965 ; SEVIER-MUNGER 法と略する), 6) GRIMELIUS 鍍銀法 (GRIMELIUS, 1968 ; GRIMELIUS 法と略する), 7) 塩酸・トルイジン青染色法 (HCl-toluidine blue method, SOLCIA *et al.*, 1968 ; HCl-TB 法と略する)。

結 果

1. MASSON 法による観察所見 (Table 1)

本法では使用した3種類の固定材料とも銀親和性の黒色ないし褐色調の顆粒をもつ細胞が観察した腸の8部位の腸腺上皮細胞間に出現していたが、とくにホルマリン固定のものでよい結果をえた。これら銀親和性細胞は十二指腸膨大部の腸腺細胞間に極めて多く (Fig. 2), 空腸に

Table 1. Distribution of Endocrine Cells in the Intestinal tract by Various Staining Methods for Light Microscopy

	Duodenum		Jejunum	Ileum	Caecum	Colon major	Colon minor	Rectum
	Ampulla duodeni	Ampulla hepato-pancreatica						
MASSON	###	##	##	##	+	+	+	++
F. R. B.	###	###	###	##	+	+	+	++
F. B. K.	###	###	###	##	+	+	+	++
DAVENPORT	++	+	+			+		
Pb-hem. SEVIER*	###	###	##	++	++	++	##	##
MUNGER GRIMELIUS	++	++	++	+	+	+	+	+
HCl-TB	##	++	++	++	+	+	+	##

Abbreviation : MASSON-MASSON's argentaffin reaction ; F.R.B.-First red B used diazonium reaction ; F.B.K. - First black K used diazonium reaction ; DAVENPORT-DAVENPORT silver impregnation ; Pb-Hem.-Lead-hematoxylin method ; SEVIER-MUNGER-SEVIER-MUNGER's silver impregnation ; GRIMERIUS-GRIMELIUS's silver impregnation ; HCl-TB-HCl-toluidine blue method.

+ : Rare, ++ : Few, ## : Rather few, ### : Frequent, ### : Very frequent.

は多数, 回腸ではやや多数出現していた。大腸では盲腸, 大結腸, 小結腸で稀れにみられ, 直腸ではやや増える傾向をみせた。また小腸では銀親和性細胞が腸絨毛上皮細胞間 (Fig. 3) および十二指腸腺細胞間 (Fig. 4) に出現していた。これら銀親和性細胞の黒色円形顆粒は細胞の基底側に集積するほかに, 核周囲にも存在していた。細胞の外形は腸腺細胞の基底側に三角形 (Fig. 5), 紡錘形 (Fig. 6) あるいは基底膜に沿う扁平細胞 (Fig. 7) として存在し, 単独にあるいは2, 3個の小集団で介在していた (Fig. 1)。

2. ジアゾニウム反応による観察所見

この反応にジアゾニウム塩として F. R. B. を用いた場合, ホルマリンおよびブアン固定材料で反応陽性細胞が認められ, F. B. K. を用いた場合にはホルマリン固定材料のみで陽性細胞が認められた。今回の検索8部位におけるジアゾニウム反応陽性細胞の分布とそれらの出現頻度

はさきの MASSON 法におけるそれとほぼ同様であった (Figs. 8, 9)。両ジアゾニウム塩とも陽性細胞の外形は MASSON 法におけると同様で、陽性顆粒は F. R. B. では赤色に、F. B. K. では褐色ないし暗褐色を呈し、細胞基底側のみならず、核周囲、核上部にも存在していた。

また胃幽門腺部、十二指腸膨大部および直腸での連続切片について、MASSON 法とジアゾニウム反応と対応してみると同一の内分泌細胞であることが示されていた (Figs. 10, 11)。

3. DAVENPORT 法

脾臓の島細胞のうち D 細胞を特異的に染める DAVENPORT 原法の HELLERSTRÖM & HELLMAN 変法を腸管粘膜における D 細胞の検索のために使用した。本法ではブアン固定標本でのみ黒褐色の円形顆粒をもつ銀好性細胞が認められ、しかも十二指腸膨大部の腸腺細胞間に少数、十二指腸胆膵管膨大部の直後 (Fig. 12)、空腸および大結腸の腸腺細胞間には稀れに認められたにすぎなかった。これら 4 部位における銀好性細胞は腸腺腺底部に局在し、円形あるいは基底膜に沿って横たわる扁平細胞であった。

4. 鉛・ヘマトキシリン法

本法による陽性細胞は細胞質に暗青色の顆粒を保有する細胞として認められ、今回観察した十二指腸 (Fig. 13) の 2 部位では腸腺細胞間に多数出現し、空回腸、盲腸および大結腸では少数存在し、小結腸 (Fig. 14)、直腸に至ってまたやや増加する傾向を示した。なお小腸ではこれら陽性細胞が腸絨毛上皮細胞間に、また直腸では粘膜表面上皮細胞間にも稀れに認められた。陽性細胞の輪郭は三角形、紡錘形あるいは類円形で、時には円柱形で、その自由面が腸腺腔に達するものもみられた。暗青色の分泌顆粒の多くは核下部に存在するが、核周囲、核上部にも認められた。ヘリー固定標本では無染色標本においてももちろん、本法においても細胞質が黄色を示すところのクロム親和性細胞が観察され (Fig. 13)、これらの細胞は連続切片標本での隣接標本の MASSON 法による銀親和性細胞と一致していた。なおブアン固定標本において鉛・ヘマトキシリン法に陽性な細胞が MASSON 法における銀親和性細胞と一致をみる (Fig. 15, 16) ほか、今回の検索 8 部位すべてにおいて必ずしも一致をみない細胞も比較的多く観察された。

5. SEVIER-MUNGER 法

ホルマリン固定の標本でのみ黒褐色の顆粒をもつ銀好性細胞が観察された。これらの細胞は小腸において少数、大腸において稀れにしか遭遇しなかったが、いずれの部位においても腸腺腺底部に主として認められた (Fig. 17)。小腸においては稀れに腸絨毛の上皮細胞間にも存在していた (Fig. 18)。本法による銀好性細胞は腸腺細胞間においては類円形、三角形あるいは紡錘形を呈し、細胞基底側に銀好性顆粒を多く保有していた。連続切片を用いての本法による銀好性細胞が隣接切片の MASSON 法による銀親和性細胞と一致をみることが胃幽門腺部で知られたが (Fig. 19, 20)、十二指腸膨大部あるいは直腸でも連続切片で両方法による陽性細胞がそれぞれ一致をみることが多かった。しかし必ずしも一致をみない細胞も少数ながら存在していた。

6. GRIMELIUS 法

本法ではブアン固定の標本においてのみ十二指腸から直腸までの全検索部位に銀好性細胞が出現していた。これら銀好性細胞は小腸、大腸とも腸腺細胞間に主として認められたほかに、腸絨毛上皮細胞間および十二指腸腺細胞間にも稀れに認められた。それら細胞は腸腺に出現するものについてみると十二指腸膨大部において最も多く、腸管を下行するに従って漸次減少する傾向を示した (Fig. 21)。しかし小結腸、直腸にいたり再び増加していた。しかも本法による銀好性細胞は類円形、三角形、紡錘形を示すほかに、楔状、桿状等様々な外形を示し、また主として基底側に集積する分泌顆粒も黄色、褐色、暗褐色あるいは黒色と細胞により種々であった。本法での回腸絨毛上皮細胞間に銀好性細胞がその核上部の細胞質が突起状を示して腸管腔に到達しているいわゆる開放型の内分泌細胞と考えられるものがたまたま認められた (Fig. 22)。

7. 塩酸・トルイジン青法

本法には今回の3固定法のうちヘリー固定がもっとも適していたが、このヘリー固定切片標本を60°Cに加熱した0.2 N 塩酸で3時間処理してもなおメタクロマジー (metachromasia) を示す細胞は粘膜固有層に存在する肥満細胞のみであった。一方この塩酸処理で細胞質の分泌顆粒の好塩基性がむしろ増強され、オルソクロマジー (orthochromasia) を示す細胞が腸腺細胞間に認められた。これらの陽性細胞は十二指腸膨大部と直腸において比較的多く、空回腸では少数 (Fig. 23)、盲結腸で稀れであったが、いずれの部位においても主として腸腺腺底部で腺細胞間に出現していた。なお腸絨毛上皮細胞間および十二指腸腺細胞間にも稀れに陽性細胞が認められた。陽性細胞は紡錘形あるいは三角形を示すものもみられたが、多くは類円形を呈していた。連続切片を用いての本法による陽性細胞と隣接切片の MASSON 法による銀親和性細胞とが一致するものも多くみられたが、必ずしも一致をみない細胞も存在していた (Figs. 24, 25)。

考 察

ウマの腸管粘膜について光顕的に7種の特殊染色法を用いて観察したが、MASSON 法およびジアゾニウム反応ではいわゆる腸クロム親和性細胞 (Enterochromaffin cell, 電顕レベルでの EC 細胞) を、また DAVENPORT 法による D 細胞を特異的に染色するのを除き、他の方法では7種あるいは数種の内分泌細胞を同時に染色しているので一概には云えないけれども、総じて内分泌細胞は十二指腸に多数存在し、小腸を下行するに従って漸次減少し、盲腸、大結腸で極めて少なくなり、小結腸、直腸で再び増加する傾向を示した。またこれら内分泌細胞は腸腺細胞の間に単独にあるいは少数個介在し、しかも多くは腸腺の腺底部に存在していた。さらに小腸においては絨毛上皮細胞の間に、十二指腸においては十二指腸細胞の間に単独に存在していた。

以下個々の染色法について光顕レベルでの出現可能な内分泌細胞を考察し、それら細胞の腸管各部位における出現の消長を総括してみたい。

MASSON 法はホルマリン、ハイドロキノンの還元剤を使用しない銀親和性反応であり、本法に陽性を示す細胞は銀親和性細胞 (Argentaffin cell) で、これがクロム親和性物質をもついわゆる腸クロム親和性細胞に一致することが知られている (SINGN, 1964)。またジアゾニウム反応に陽性を示す細胞も腸クロム親和性細胞に一致し、その反応はこの種細胞が保有する分泌顆粒内容のモノアミンであるセロトニン (5-Hydroxytryptamine, 5-HT) によると考えられている (CORIOER & LISON, 1930; SOLCIA *et al.*, 1969 a)。今回の連続切片における観察で MASSON 法による銀親和性細胞が隣接切片のジアゾニウム陽性細胞と全く一致し、腸管の 8 部位で銀親和性細胞とジアゾニウム反応陽性細胞の出現状況がおおむね一致していたことはこれらの細胞がいわゆる腸クロム親和性細胞であって、電顕的観察においての EC 細胞の存在が十分に考えられた。

DAVENPORT 法は膵島の D 細胞を選択的に染めることから (HELLERSTRÖM & HELLMAN, 1960)、本法を腸管粘膜における D 細胞 (Pancreatic D-like cell) の存在を検索するために用いた。今回の検索結果から膵島における D 細胞と全く同一と考えられる細胞が小腸では十二指腸と空腸に、大腸では大結腸にのみごく少数ながら存在することが考えられた。最近藤田 (1975) が D 細胞に想定されるホルモンとしてコレシストキニン-pankreozaimin をあげているが、このホルモンの作用からみて今回のウマの腸管粘膜において十二指腸、空腸に D 細胞が存在することは理解できるとしても、大結腸における出現の意義については理解しがたいところである。しかし POLAK ら (1974) の蛍光抗体法による研究では D 細胞に VIP (vasoactive intestinal peptide) の存在が考えられていることから、全腸管にわたって D 細胞が存在している可能性も考えられる。

鉛・ヘマトキシリン法では陽性細胞が十二指腸で多数認められ、空回腸から盲腸、大結腸にかけて少なく、小結腸、直腸で再びやや増加する傾向を示した。SOLCIA ら (1969 b) は本法で胃腸管の腸クロム親和性細胞が染色されることを見出し、著者らもブアン固定の連続切片で本法の陽性細胞隣接切片の MASSON 法による銀親和性細胞と全く一致するものもあることを認め、この方法が EC 細胞を染め出すことを確認した。SOLCIA ら (1969 b) はさらに本法で胃粘膜における EC 様細胞 (ECL 細胞)、G 細胞および X 細胞 (現在の D 細胞と同じ) も陽性を示すことを見出し、最近 CAPELLA ら (1972) はブタの胃腸管粘膜の内分泌細胞の検索にも本法を用いて、EC 細胞はもちろん ECL-, D-, G 細胞が染まることを報告している。このことは今回の本法を用いた観察で、その陽性細胞と MASSON 銀親和性反応陽性細胞とに一致をみないものもあったことから、ウマの腸管においても EC 細胞および D 細胞のほか、ECL-, および G 細胞も少数ながら存在することが想像される。

SEVIER-MUNGER 法では銀好性細胞が全腸管にわたって存在していたが、他の方法に比べるとそれらの出現は少なかった。神経組織のパラフィン切片における鍍銀法 (SEVIER &

MUNGER, 1965) であるが, SEVIER らによれば腸における銀親和性顆粒が黒染されるとし, また CAPELLA ら (1972) はブタの胃腸管粘膜において本法を用い, EC 細胞が反応するほかに, 本法に反応する EC 細胞以外の細胞も見出して, それらの細胞は ECL 細胞であると考えている。著者らの連続切片における SEVIER-MUNGER 法と MASSON 法との対応から銀好性細胞と銀親和性細胞とが一致する場合 (EC 細胞) と一致しない場合をみている。このことからウマの腸管においてはさきの鉛・ヘマトキシリン法での所見とも勘案して, ECL 細胞の存在が強調される。なお SEVIER-MUNGER 法で EC 細胞と ECL 細胞が同時に銀好性細胞として観察されるならば, それら銀好性細胞が MASSON 法あるいはジアゾニウム反応に陽性な細胞と同数あるいはそれ以上に腸管各部位に出現してよいと考えられるが, 実際には本法による銀好性細胞の出現が少なかった。その理由として本法ではその出来あがり大きなむらがあり, したがって弱染した細胞がみのがされていることが考えられる。

GRIMELIUS 法を用いての今回の観察では MASSON 法, ジアゾニウム法あるいは鉛・ヘマトキシリン法で観察したと同程度あるいは腸管部位によってそれ以上の銀好性の内分泌細胞が観察された。ブタの胃腸管粘膜の内分泌細胞についての CAPELLA ら (1972) の観察によれば, 本法によって EC-, ECL-, G- および D 細胞が銀好性を示すほかに, 弱いながらも L- および S 細胞も銀好性を示すと報告している。今回の観察において銀好性細胞が他の染色法に比べ多様な外形を示し, また銀好性顆粒に種々な色調が認められたことから, CAPELLA らの観察のごとく数種の内分泌細胞がウマの全腸管に存在することが考えられる。

SOLCIA ら (1968) は膵島細胞, 胃腸粘膜の内分泌細胞, 下垂体前葉, 副腎髄質細胞の選択的染色法として塩酸・トルイジン青法を開発し, プアン固定したモルモットの膵島では A 細胞と D 細胞が, 胃腸管で EC 細胞と G 細胞が塩酸での前処理でその塩基性が増強されることを見出した。CAPELLA ら (1972) も本法をブタの胃腸管の内分泌細胞の検索に用い, 胃腸管において EC 細胞と G 細胞が好塩基性を示すほか, ホルマリン・グルタルアルデヒド混合固定においては D 細胞も好塩基性を示し, また膵島においては A 細胞, D 細胞が好塩基性を呈することを報告している。著者らの場合ヘリー固定において好結果を得たが, 連続切片を用いての本法による好塩基性細胞が隣接切片の MASSON 法による銀親和性細胞と一致するものについては EC 細胞が考えられ, 一致をみないものについては G 細胞あるいは D 細胞の存在が考えられる。なお SOLCIA ら (1968) や CAPELLA (1972) らが膵島の A 細胞が本法で好塩基性を示し, また電顕的に大阪ら (1974) が人の十二指腸, 空回腸に A 様細胞を見出していることから, ウマの腸粘膜においても A 様細胞の出現の可能性が考えられる。

結 語

3 例のウマを用い, 腸管 8 部位の粘膜に出現する内分泌細胞に 7 種の特殊染色法を施し, 光

顕的に観察し、次の成績を得た。

1. 光顕下でクロム親和性(ヘリー固定での無染色標本)、銀親和性(MASSON法)およびジアゾニウム反応陽性を示す EC 細胞が全腸管の腸腺に、小腸では絨毛上皮に、また十二指腸では十二指腸腺に認められた。これら EC 細胞は銀好性(SEVIER-MUNGER 法および GRIMELIUS 法)をも示し、鉛ヘマトキシリン法および塩酸トルイジン青法にも陽性を示した。
2. EC 細胞は腸腺に出現するものについては十二指腸でもっとも多く出現し、空回腸においてやや減少し、盲結腸で極めて少なく、直腸に至ってやや増加する傾向を示した。小腸絨毛および十二指腸腺では EC 細胞は稀れであった。
3. DAVENPORT 法で銀好性を示す D 細胞が十二指腸膨大部の腸腺に少数、十二指腸胆膵管膨大部の直後、空腸および大結腸の腸腺にごく少数認められた。
4. SEVIER-MUNGER 法で銀好性を示すが、MASSON 法で銀親和性を示さない細胞が認められ、ECL 細胞と考えられた。これらの細胞は小腸、とくに十二指腸、空腸に出現する可能性が考えられた。
5. 鉛ヘマトキシリン、GRIMELIUS 法および塩酸トルイジン青法による観察から、さらに他種の内分泌細胞、すなわち G-, L-, S- および A 様細胞の存在する可能性が考えられた。しかしこれらの細胞は相対的には少数であって小腸と直腸に存在するものと考えられた。

文 献

- 1) CAPELLA, C. and SOLCIA, E. (1972): The endocrine cells of the pig gastrointestinal mucosa and pancreas. Arch. histol. jap., 35: 1-29.
- 2) CARVALHERIA, A. F., WELSCH, U. and PEARSE, A. G. E. (1968): Cytochemical and ultrastructural observation on the argentaffin and argyrophil cells of the gastrointestinal tract in mammals, and their place in the APUD series of poly-peptide-secreting cells. Histochemie, 14: 33-46.
- 3) CORDIER, R. and LISON, L. (1930): Bull. Histol. Appl., 7: 140, In: 佐野豊 『組織学研究』 591-592, 南山堂, 東京 (1965).
- 4) FUJITA, T. (1968): D cell, the third endocrine element of the pancreas islet. Arch. histol. jap., 29: 1-40.
- 5) 藤田恒夫 (1969): 膵臓の D 細胞, 医学のあゆみ, 69: 12-16.
- 6) 藤田恒夫 (1975): 消化管の内分泌細胞, 医学のあゆみ, 94: 444-449.
- 7) GRIMELIUS, L. (1968): A silver nitrate stain for α_2 cells in human pancreatic islets. Acta. soc. med. Upsal., 73: 243-270.
- 8) HELLERSTRÖM, C. and HELLMAN, B. (1960): Some aspects of silver impregnation of the islets of Langerhans in the rat. Acta. endocrinol., 35: 518-532.
- 9) ORCI, L., PICTET, R., FORSSMANN, W. G., RENOLD, A. E. and ROUILLER, C. (1968): Structural evidence for glucagon producing cells in the intestinal mucosa of rat. Diabetologia, 4: 56-67.
- 10) OSAKA, M., SASAGAWA, T. and FUJITA, T. (1974): Granule release from endocrine cells in acidified human duodenal bulb. An electron microscope study of biopsy material. Arch. histol. jap. 37: 73-94.
- 11) POLAK, J. M., PEARSE, A. G. E., GARAU, J.-C. and BLOOM, S. R. (1974): Cellular localization

- of a vasoactive intestinal peptide in the mammalian and avian gastrointestinal tract. *Gut*, 15: 720-724.
- 12) SEVIER A. C. and MUNGER B. L. (1965): A silver method for paraffin section of neural tissue. *J. neuropath. & Exp. Neur.*, 24: 130-135.
 - 13) SINGH, I. (1964): A modification of the Masson-Hamperl method for staining on argentaffin cells. *Anat. Anz.*, 115: 81-82.
 - 14) SOLCIA, E., VASSALLO, G. and SAMPIETRO, R. ((1967): Endocrine cells in the antro-pyloric mucosa of the stomach. *Z. Zellforsch.*, 81: 474-486.
 - 15) SOLCIA, E., VASSALLO, G. and CAPELLA, C. (1968): Selective staining of endocrine cells by basic dyes after acid hydrolysis. *Stain Technol.*, 43: 257-263.
 - 16) OLCIA, SE., SAMPIETRO, R. and CAPELLA, C. (1969a): Differential stainings of catecholamine, 5-hydroxytryptamine and related compounds in aldehyde-fixed tissue. *Histochemie*, 17: 273-283.
 - 17) SOLCIA, E., CAPELLA, C. and VASSALLO, G. (1969b): Leadhaematoxylin as a stain of endocrine cells, significance of staining and comparison with other selective methods. *Histochemie*, 20: 116-126.
 - 18) SOLCIA, E., VASSALLO, G. and CAPELLA, C. (1969c): Studies on the G cells of the pyloric mucosa, the probable site of gastrin secretion. *Gut*, 10: 379-383.
 - 19) 山下忠幸, 三須幹男 (1972): 馬の胃幽門部粘膜における内分泌細胞の電子顕微鏡的研究, 日獣会誌 34: 122.
 - 20) 山下忠幸, 三須幹男 (1974 a): ウマの隣島細胞の電子顕微鏡的研究 (personal communication).
 - 21) 山下忠幸, 佐藤 元, 三須幹男 (1974 b): 馬の胃底部粘膜における内分泌細胞の電子顕微鏡的研究 (personal communication).
 - 22) 山下忠幸, 佐藤 元, 山田純三, 三須幹男 (1975): 馬の噴門部粘膜における内分泌細胞の電子顕微鏡的研究 (personal communication).

Summary

Eight intestinal portions obtained from three horses were investigated for intestinal endocrine cells by seven selective staining methods under light microscopy. The results obtained in the present study were as follows:

- 1) EC cells, which contained chromaffin and argentaffin cytoplasmic granules reacting to diazonium, were found scattered along the epithelium lining of the intestinal gland (crypts of Lieberkühn) in the whole intestinal tract. These cells were also found in the intestinal villi and the duodenal gland (Brunner's glands). The EC cells, moreover, reacted strongly to SEVIER-MUNGER's and GRIMELIUS' impregnations, and were well stained HCl-toluidine blue.

- 2) EC cells were most numerous in the duodenum, numerous in jejunoleum, rare in the caecum and colon, and somewhat more numerous in the rectum.

- 3) Comparatively few DAVENPORT-blackened D cells were found in the intestinal crypts of the ampulla duodeni. In the duodenum just behind the ampulla hepatopancreatica, jejunum and colon major, D cells were very few, while lacking in other intestinal portions.

- 4) Non-EC cells, which were unreactive to MASSON's argentaffin reaction, but reactive to SEVIER-MUNGER's silver method, were considered to be ECL cells. ECL cells seem to appear in the small intestinal mucosa, especially in the duodenum and the upper

jejunum.

5) Other endocrine cells, that is, G-, L-, S -and A-like cells, seem likely to exist in the small intestinal and rectal mucosa, according to our observation of the intestinal tract using lead-hematoxylin, GRIMELIUS' silver and HCl-toluidine blue methods.

Explanation of Plate

Plate I

- Fig. 2. Several argentaffin cells found in the intestinal crypts of ampulla duodeni. Formalin fixation (Formalin), MASSON's argentaffin reaction (MASSON), $\times 530$.
- Fig. 3. An argentaffin cell found in the intestinal villi of the ampulla duodeni. Formalin, MASSON, $\times 1,060$.
- Fig. 4. An argentaffin cell found in the Brunner's gland of the ampulla duodeni. Formalin, MASSON, $\times 1,060$.
- Fig. 5. A triangle-shaped argentaffin cell observed in the crypt of the jejunum. Formalin, MASSON, $\times 1,600$.
- Fig. 6. A spindle-shaped argentaffin cell observed in the crypt of the ileum. Formalin, MASSON, $\times 1,320$.
- Fig. 7. A flat argentaffin cell observed in the crypt of the ampulla duodeni. Formalin, MASSON, $\times 1,600$.

Plate II

- Fig. 8. Some positive cells (arrows) in the intestinal glandular bottom of the ampulla duodeni. Formalin, Diazonium reaction (F.R.B.), $\times 1,060$.
- Fig. 9. Six positive cells in the glandular bottom of the ampulla duodeni. Formalin, Diazonium reaction (F.B.K.), $\times 1,060$.
- Fig. 10. Three positive cells (arrows) found in the bottom of the pyloric gland. Formalin, Diazonium reaction (F.B.K.), $\times 740$.
- Fig. 11. Three argentaffin cells (arrows) found in the neighboring section of Fig. 10. These cells correspond to the cells of Fig. 10. Formalin, MASSON, $\times 760$.
- Fig. 12. An argyrophil cell (arrow) observed in the glandular bottom of ampulla duodeni. BOUIN's fixation (BOUIN), DAVENPORT's silver impregnation, $\times 1,060$.
- Fig. 13. Two positive cells with dark blue cytoplasm (short arrows) and two chromaffin cells with yellow cytoplasm (long arrows) found in the crypts of the ampulla duodeni. HELLY's fixation (HELLY), Lead-hematoxylin method (Pb-Hem.), $\times 1,060$.
- Fig. 14. Three positive cells with dark blue cytoplasmic granules (arrows) observed in the crypts of colon minor. HELLY, Pb-Hem., $\times 1,060$.

Plate III

- Fig. 15. A positive cell with dark blue cytoplasm (arrow) found in the crypt of the ampulla duodeni. BOUIN, Pb-Hem., $\times 1,060$.

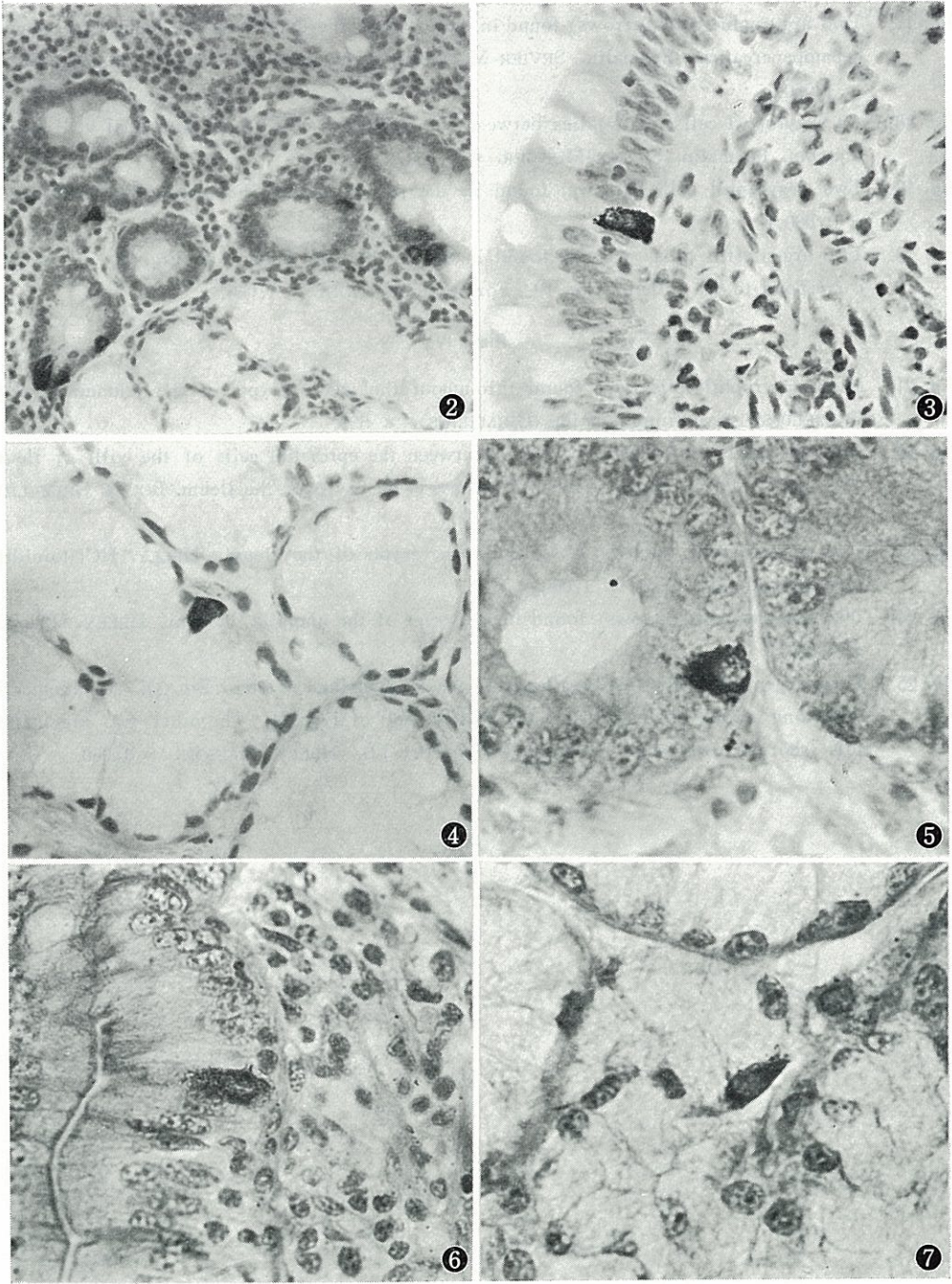
- Fig. 16. An argentaffin cell (arrow) found in the neighboring section of Fig. 15. This cell corresponds to the positive cell of Fig. 15. BOUIN, MASSON, $\times 1,060$.
- Fig. 17. Two argyrophil cells (arrows) found in the crypt of the duodenum just behind the ampulla hepatopancreatica. Formalin, SEVIER-MUNGER's silver impregnation (SEVIER-MUNGER), $\times 1,060$.
- Fig. 18. An argyrophil cell (arrow) lies between the epithelial cells of the intestinal villi of the jejunum. Formalin, SEVIER-MUNGER, $\times 1,060$.
- Fig. 19. Two argyrophil cells (arrows) found in the pyloric gland. Formalin, SEVIER-MUNGER, $\times 1,060$.
- Fig. 20. Two argentaffin cells (arrows) found in the neighboring section of Fig. 19. These cells correspond to the cells of Fig. 19. Formalin, MASSON, $\times 1,060$.

Plate IV

- Fig. 21. Many argyrophil cells were found throughout the whole crypts of the jejunum. BOUIN, GRIMELIUS's silver impregnation (GRIMELIUS), $\times 530$.
- Fig. 22. An argyrophil cell (arrow) is located between the epithelial cells of the villi of ileum. The narrow, apical ending of this cell reaches to the cavity of the ileum. BOUIN, GRIMELIUS, $\times 1,060$.
- Fig. 23. Five positive cells (arrows) observed in the crypts of the ileum. HELLY, HCl-toluidine blue method (HCl-TB), $\times 1,060$.
- Fig. 24. Two positive cells (arrows) found in the crypt of the ampulla duodeni. HELLY, HCl-TB, $\times 1,060$.
- Fig. 25. Three argentaffin cells (arrows) found in the neighboring section of Fig. 24. An argentaffin cell (long arrow) corresponds to the positive cell of Fig. 24. The other two argentaffin cells (short arrows) were not stained with HCl-TB. HELLY, MASSON, $\times 1,060$.

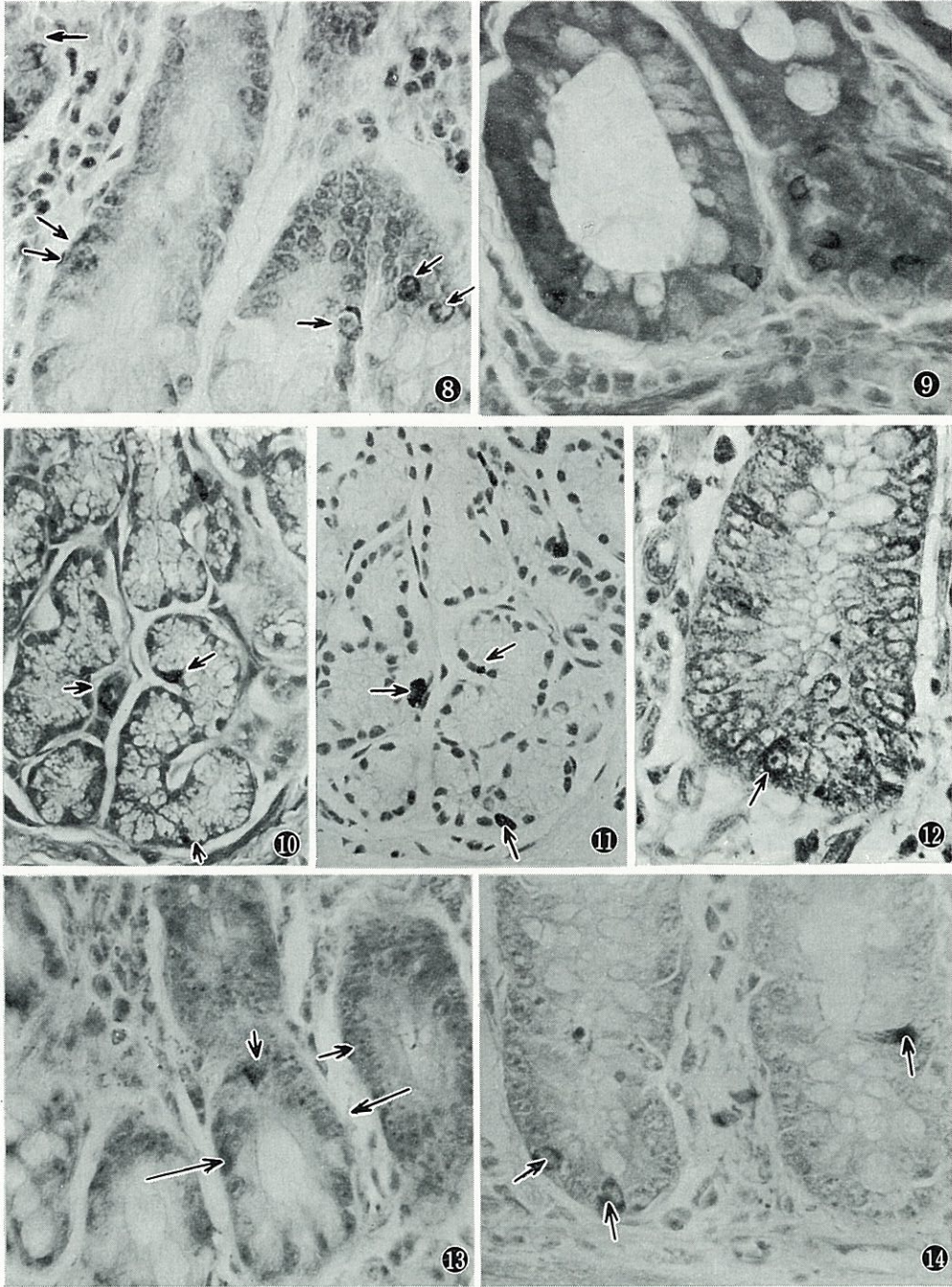
Plate I

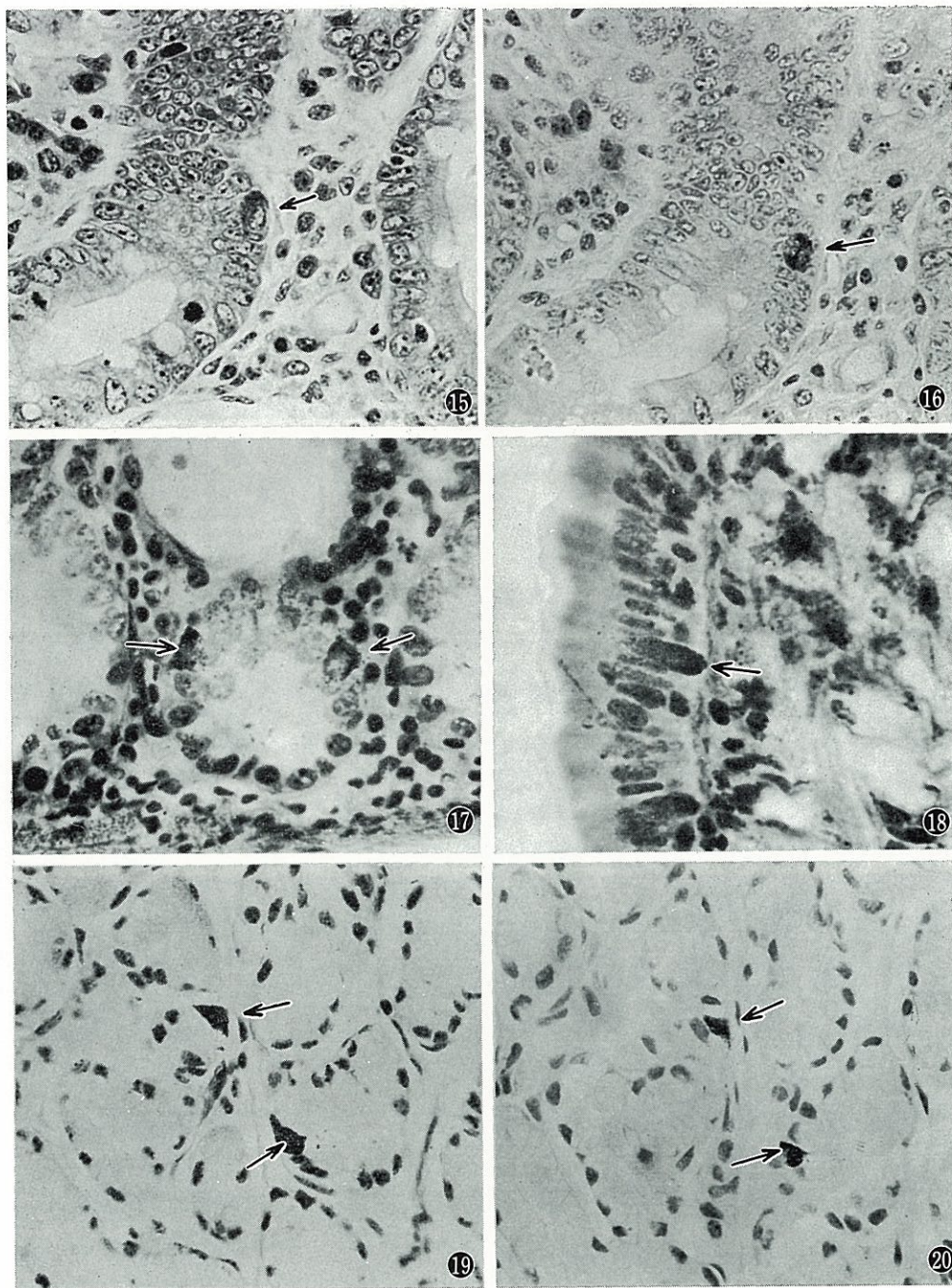
SATO. H *et al.*



SATO, H. *et al.*

Plate II





SATO, H. *et al.*

Plate IV

