

흰쥐 눈물샘의 Prolactin 존재에 관한 면역전자현미경적 연구

박 경 호 · Wood, R.L.*

Immunoelectron Microscopic Localization of Prolactin in Rat Exolacrimal gland

Park, Kyung-Ho and Richard L. Wood*

(Received November 23, 1992)

ABSTRACT

Prolactin has been reported to be present in the tear film of humans and prolactin-like immunoreactivity has been detected by immunofluorescence in acinar cells of the lacrimal glands of humans and rats. The present study was aimed at clarifying the intracellular distribution of the prolactin-like immunoreactivity, using the electron microscope immunogold technique. The lacrimal gland acinar cells have two types of secretory granules: 1) Secretory granules containing flocculent materials irregularly shaped and are often coalesced. 2) Secretory granules are fairly round and contain homogenous materials of a moderate electron density. The density of the granular content varies even within a single cell. We found prolactin-like reactivity in secretory granules, some smaller cytosolic vesicles, Golgi cisternae and nuclei in acinar cells from intact glands of rat. Our present results are consistent with the conclusion that prolactin is present in lacrimal cells. The presence of prolactin reactivity in the nucleus suggests that prolactin may be a regulatory factor modulating gene expression.

서 론

눈물샘에서 분비되는 눈물에는 전해질(electrolytes), 당단백(glycoproteins), 영양 물질(nutrients), 면역글로부린(immunoglobulines)과 성장인자(growth factor)가

들어있다(Botelho, 1964; Ohashi *et al.*, 1989). 적당량의 눈물 생산은 안구표면의 상태를 알맞은 상태로 유지시키는 데 필수적이다. 눈물의 생산이 적어지면 눈이 마르게되어 안구의 운동에 지장을 주게된다.

눈물샘의 형태, 기능과 질병에 대한 감수성(susceptibility)은 성에 따라 차이가 있다. Sjogren's 증후군의

순천향대학교 의과대학 해부학교실

Dept. of Anatomy, Soonchunhyang University

*남가주대학교 의과대학 해부세포생물학교실

Dept. of Anatomy and Cell Biology, Southern California University

본 연구는 1990년도 대학교수 국비해외파견 계획에 의하여 이루어졌음.

출현빈도는 여성이 남성보다 10배 가량 높은 경향이다 (Molina *et al.*, 1986). 암회귀의 경우 눈물샘 포상세포의 크기는 수회귀의 것보다 작다 (Cornell-Bell *et al.*, 1985). 또한 암회귀의 눈물샘은 분비물 성분의 농도가 수회귀보다 낮으며 (Sullivan *et al.*, 1984a, b), 면역글로부린의 분비량도 적으나 (Sullivan and Allansmith, 1985), 눈물의 분비량은 수회귀의 것보다 많다 (Sullivan and Allansmith, 1986). 눈물샘의 구조와 기능성에 따라 차이를 보이는 것은 시상하부-뇌하수체-생식선 축 (hypothalamic-pituitary-gonadal axis)에 의한 것이라는 주장이 있다. 그 예로 수회귀를 거세하면 눈물의 양이 증가하고 (Sullivan and Allansmith, 1986), 눈물 구성성분의 농도가 낮아지며 (Sullivan *et al.*, 1984a), Ig A의 분비도 감소한다고 한다 (Sullivan *et al.*, 1984b). 그와는 반대로 건강한 쥐에 testosterone을 투여하면 눈물 구성성분의 농도가 높아지고 Ig A의 분비도 증가하지만, 뇌하수체를 제거한 쥐에서는 이러한 영향이 나타나지 않는다. 대조적으로 뇌하수체를 제거한 수회귀는 눈물의 양 (Sullivan and Allansmith, 1986)과, 면역글로부린의 분비가 감소되고, 눈물의 구성성분의 농도가 낮아진다 (Sullivan and Allansmith, 1987).

눈물샘의 성차이에 따른 차이점이 호르몬의 영향에 의한 것이라는 증거는 많지 않으나 peptide hormone 과 neuropeptide가 눈물의 분비에 영향을 준다는 증거는 있다. adrenocorticotrophic hormone (ACTH) (Jahn *et al.*, 1982; Cripps *et al.*, 1987), α -melanocyte stimulating hormone (α -MSH) (Jahn *et al.*, 1982), vasoactive intestinal peptide (VIP) (Dartt *et al.*, 1984; Cripps and Bernnett, 1990) 등은 분비를 촉진하고, enkephalin은 VIP와 cholin성 물질인 carbachol의 자극에 의한 눈물 분비를 억제하는 작용을 한다고 한다 (Cripps and Patchen-Moor, 1989).

prolactin은 뇌하수체 peptide의 일종으로 성차이에 따른 눈물샘의 이형현상(dimorphism)을 나타내는 데에 관여할 가능성이 높다고 생각된다. 암회귀의 혈장 내 prolactin 양이 수회귀보다 약 두배가량 높다고 한다 (Wise *et al.*, 1980; Wuttke, 1975). 또한 Frey 들 (1986)은 사람의 눈물과 눈물샘의 상피세포와 주위 결합 조직내의 임파구에서 prolactin 면역반응성을 보였다. Mircheff 들 (1992)은 면역형광방법을 이용하여 흰쥐 눈물샘에서 prolactin의 존재를 확인했다. 이 연구의 목적

은 흰쥐 눈물샘의 상피세포에 prolactin 면역반응성이 존재하는지를 알아보고, 존재한다면, prolactin의 세포내 분포를 알아보기 위하여 전자현미경적 immunogold 방법을 이용하여 시행하였다.

재료 및 방법

본 실험에서는 생후 6주에서 8주된 Sprague Dawley 계 암회귀를 사용하였으며, sodium pentobarbital (Nembutal, 5mg/100gm body weight)을 복강에 주사하여 마취시킨 후, 심장을 통하여 관류고정한 다음 눈물샘을 적출하였다. 면역세포화학염색을 위해서는 4% paraformaldehyde-1% glutaraldehyde 혼합액(0.1 M phosphate buffer, pH 7.4)를 사용하였으며, 눈물샘의 형태를 관찰하기 위해서는 1.5% paraformaldehyde-2.5% glutaraldehyde 혼합액(0.1 M phosphate buffer, pH 7.4)으로 일차고정한 후, osmium tetroxide로 이차고정 하였다. 전자현미경으로 눈물샘의 prolactin 면역반응성을 관찰하기 위하여는 포매후 염색법(postembedding-method)을 이용하였다. 고정된 조직을 세척액(0.1M phosphate buffer, pH 7.4)으로 씻은다음 ethanol로 단계적으로 탈수를 시킨 후 LR White에 포매하였다. 중합방법은 gelatin capsule에 LR White액과 조직을 넣고, 공기와의 접촉면을 최소한이 되도록 한다음 50°C 항온기에서 12시간 중합시켰다. 포매된 조직을 1 μ m 두께의 절편을 만들어 광학현미경으로 관찰하여 위치를 확인하고, 60~70 nm 두께의 전자현미경 관찰용 표본을 만들어 pallodion막을 입힌 nickel grid에 붙인 다음, immunogold 염색을 시행하였다. 면역염색은 sodium m-periodate로 처리한 다음, 비특이적 면역반응을 제거하기 위해서는 bovine serum albumin(BSA, Sigma)을 사용하였으며, 완충용액은 tris buffered saline (TBS; 20mM Tris buffer+200mM NaCl+0.01% Na₂S₂O₃)을 사용하였다. 1차항체는 rabbit anti ovine prolactin(ICN chemicals)을 1:3,000으로 희석하여 사용하였다. 2차항체는 biotin이 표지된 goat anti rabbit Ig G(희석 비율 1:500, Amersham)를 사용하였고, 표지항체로는 streptavidin gold(희석 비율 1:100, Amersham)를 사용하였는데 그 방법은 아래와 같다(표 1). 면역염색된 절편을 uranyl acetate액에 5분, lead citrate액에 2분

Table 1. Procedure for the immunogold method

| |
|---|
| 1. LR white sections on pallodion coated 300 mesh nickel grids |
| 2. Saturated sodium m-periodate in distilled water (DW), 20 min |
| 3. DW wash, 5×5min |
| 4. 1% BSA in TBS, 1h |
| 5. Rabbit anti ovine prolactin or rabbit nonimmunized Ig G, 1: 3,000 dilution in 0.1% BSA in TBS, 4°C overnight |
| 6. 0.1% BSA in TBS wash, 5× 5min |
| 7. Biotinylated goat anti rabbit Ig G, 1: 500 dilution in 0.1% BSA in TBS, 1h |
| 8. 0.1% BSA in TBS wash, 5×5min |
| 9. Streptavidin-gold, 10nm size, 1: 100 dilution in TBS, 1h |
| 10. DW wash, 3×2min |

간 염색한 후, JEM 100 CX II 전자현미경으로 관찰하였다.

결 과

본 실험에서 관찰한 흰쥐 눈물샘포상세포는 피라미드 모양을 하고 있었으며, 작은 내강 주위를 둘러싸고 있었다(Fig. 1a). 과립형질내세막은 세포의 저부에 잘 발달되어 있었으며, 골지복합체는 핵과 분비과립사이에 잘 발달되어 있었고, 골지복합체주변부에는 새로 생겨나는 과립들이 관찰되었다. 사립체는 세포질 전반에 분포하였으며, 분비과립은 크기와 전자밀도가 다양하였고, 세포질상부에 분포하였다. 분비과립들은 막으로 싸여있었으며, 형태적으로 두 종류 즉, 중간정도의 전자밀도를 가지며 둥근모양을 한 과립과, 크기가 약간 크며 전자밀도가 약하며 과립사이의 융합현상이 자주 관찰되는 과립을 구별할 수 있었다(Figs. 1a, b). 대부분의 경우, 한 세포 속에는 두 종류의 과립중 한가지만을 갖고 있었으나, 두 종류의 과립을 모두 가진 세포도 간혹 관찰되었다(Fig. 1b).

LR white에 포매한 흰쥐 눈물샘포상세포는 막구조가 명확하지 않았으나, 통상적인 방법에 의해 epon에 포매한 조직의 형태와 동일하였다. 핵은 세포의 하부에 위치하며, 그 주위에 과립형질내세막이 잘 발달되어 있었고, 분비과립은 세포질 상부에 모여 있었다(Fig. 2).

면역염색의 양성대조군으로 사용한 마우스의 뇌하수체에서 prolactin 면역반응성이 특이적으로 한 종류의 분비과립에 나타나는 것이 관찰되었다(Fig. 3). 그러나 음성대조군으로 사용한 조직에서는 prolactin 면역반응성이 관찰되지 않았다(Fig. 4). prolactin 항체를 사용

하여 흰쥐 눈물샘포상세포의 prolactin 반응성을 전자현미경으로 보면, 금입자가 분비과립(Figs. 5, 7), 골지복합체의 수조(Figs. 5, 7), 핵(Fig. 8), 세포질내의 소포(Figs. 5, 6)들에서 관찰되었는데, 그 중에서도 표지된 금입자의 수효는 분비과립의 경우가 가장 많았다.

고 찰

눈물샘은 크게 두가지 종류 즉, 위눈물샘(superior lacrimal gland, 여러개의 분비관을 갖고 있으며 위결막낭의 외측에 개구)과 아래눈물샘(inferior lacrimal gland, 한개의 분비관을 갖고 있으며 결막낭의 외측 끝에 개구)으로 나눌 수 있다. 위눈물샘은 사람, 토끼, 개, 말, 낙타, 소 등에 있는데, 안구의 등쪽에 위치하며, 아래눈물샘은 설치류, 토끼, 식충류 등에 존재하며 안구의 배쪽에 위치하고 있다(Sakai, 1989). 토끼는 두 종류의 눈물샘 즉, 위눈물샘과 아래눈물샘을 모두 갖고 있으며, 한 종류의 눈물샘이 위치만 달리하고 있는 것이라 했다(Herzog and Miller, 1972; Okami *et al.*, 1992). 즉 흰쥐의 두 종류의 눈물샘은 발생학적 기원이 동일하며, 조직학적으로도 차이가 없다고 하였으므로, 본 실험에서는 다루기가 쉬운 안구의 눈물샘을 택하여 실험에 사용하였다.

흰쥐 눈물샘의 형태는 다른 연구자들의 보고와 일치하였다. 그러나 분비과립에 대하여는 한종류의 분비과립만을 가지고 있다는 주장과 두가지 종류의 분비과립을 함께 갖고 있다는 주장이 있다. 즉 분비과립은 한가지 종류로서, 전자밀도에 차이가 약간 보이는 것은 과립의 성숙정도의 차이라는 주장(Ichikawa and Nakajima, 1962; Putaney *et al.*, 1978; Hayashi *et al.*, 1990)과,

전자밀도가 높은 장액성 과립과 전자밀도가 낮은 점액성 과립의 두가지 종류가 존재한다는 주장이 있다(Scott and Pease, 1959; Essner, 1971; Hand and Oliver, 1977; Sampson *et al.*, 1982). 본 실험에서는 두 종류의 분비 과립이 관찰되었는데, 과립의 크기는 작으며 전자밀도가 비교적 높고 막으로 둘러싸인 과립과 크기가 약간 크며 전자밀도가 약한 물질이 차 있으며, 과립사이의 융합 현상이 많이 발견되는 과립이 관찰되었다.

눈물샘에는 prolactin 면역반응성이 존재하고 있으며, 눈물샘포상세포는 prolactin에 대한 수용체와 prolactin을 생산할 수 있는 능력을 갖고 있다. 또한 외인성 prolactin은 carbachol에 의해 자극된 분비를 억제하는 기능을 갖고 있다(Mircehff *et al.*, 1992)고 했다. 본 실험에서 대부분의 prolactin 면역반응성은 골지복합체의 수조와 세포질내 소포와 분비과립 안에 나타났는데, 이것은 눈물에서 볼 수 있는 prolactin 면역반응성(Frey *et al.*, 1986)이 분비과립의 유입에 의한다고 할 수 있다. prolactin이 눈물샘 안에서 autocrine 또는 paracrine의 조정자(mediator)로 중요한 역할을 할 것이라는 주장과 prolactin의 수용체(receptor)가 눈물샘포상세포에 존재하는 것은 세포내의 면역 반응성이 혈액으로부터 유입되었다고 가정을 할 수 있다(Mircehff *et al.*, 1992). 외인성(exogenous) prolactin이 다른 여러 종류의 세포에서 표면수용체(surface receptor)에 결합한 다음 세포 내에 유입된다는 증거가 많이 있다(Costrow and Rodgers, 1986; Huhtaniemi *et al.*, 1983). 쥐의 간세포에는 세포내의 prolactin 수용체와 유사한 성장호르몬 수용체가 골지복합체에 농축되어 있다고 했다(Bergeron *et al.*, 1978; Costlow and Rodgers, 1986).

이러한 사실들은 순환중인 prolactin이 수용체에 결합한 후 호르몬-수용체 복합체를 형성한 후 세포내로 유입되어 골지복합체로 이동한다고 가정할 수 있다. 이때 prolactin은 수용체에서 떨어져 분비과립에 포장될 수가 있다(Mircehff *et al.*, 1992)고 했는데, 본 실험에서도 prolactin 면역반응성이 골지복합체의 수조와 세포질내의 소포에서 발견되었다. 그러나 수컷쥐의 눈물샘은 mRNA를 함유하고 있으므로 prolactin을 자체적으로 생산할 수 있다(Mircehff *et al.*, 1992)고 한다. 한편 눈물샘과 마찬가지로 몸 밖으로 액체를 분비하는 땀샘에서도 prolactin을 생산한다(Robertson *et al.*, 1989)는

점은 매우 흥미로운 일이다. Mircehff 등(1992)은 암컷쥐의 눈물샘에서 prolactin mRNA를 발견하지 못한 것은 눈물샘포상세포내에는 prolactin의 양을 조절하는 기구가 존재할 가능성이 있다고 했다. 즉 수컷쥐나 어린 암컷쥐의 경우 혈액으로부터 prolactin을 충분히 섭취하지 못하면 조절기구는 prolactin 생산을 유도하게 된다. 성숙한 암컷쥐의 경우처럼 혈액으로부터 얻어지는 prolactin의 양이 충분하면 눈물샘포상세포의 prolactin 생산은 억제된다. 또한 젖샘세포를 배양할 때 prolactin을 투여하면 casein mRNA의 전사(transcription)가 2~4 배 증가한다는 보고(Gyvette *et al.*, 1979)와, 흰쥐 간세포의 핵에서 prolactin이 protein kinase C를 수백배 증가시키는 작용을 한다(Buckley *et al.*, 1988)는 보고에 비추어 볼 때, 본 실험에서 prolactin 면역 반응성이 핵에 나타나는 것은 유전자 발현을 조절하는 인자로서 prolactin이 작용하기 때문인 것 같다. 이 가설을 증명하기 위해서는 조절기구가 감지하는 물질이 눈물샘에서 만들어진 prolact인지, 뇌하수체에서 만들어진 prolact인지, 아니면 두가지가 모두 되먹이기(feed back)작용에 의한 것인지를 밝히는 자세한 실험이 필요하다.

결 론

prolactin이 사람의 눈물속에 존재함이 알려졌고, 사람과 흰쥐의 눈물샘에서 prolactin 면역반응성이 면역형광항체방법에 의하여 밝혀졌다. 본 실험에서는 prolactin 면역반응성의 세포내 분포를 명확히 밝히기 위하여, 전자현미경을 이용한 immunogold 방법을 사용하였다. 흰쥐 눈물샘포상세포에는 두가지 종류의 분비과립이 존재하고 있다. 1) 분비과립의 모양이 둥글고 중간정도의 전자밀도를 가지고 있으며, 한 세포내에서도 전자밀도의 차이를 나타내는 과립과, 2) 낮은 전자밀도를 가지고 있으며 모양이 불규칙한 과립으로서, 과립사이의 융합 현상이 자주 관찰되는 과립이 관찰되었다. 한편 prolactin 면역반응은 분비과립, 세포질내의 소포, 골지복합체의 수조와 핵에서 관찰되었다. 핵에 prolactin이 존재하는 것은 유전자발현을 조절하는 인자로 prolactin이 작용하기 때문인 것 같다.

REFERENCES

- Bergeron, J.J.M., B.I. Posner, Z. Josefsberg and R. Sikstrom. 1978. Intracellular polypeptide hormone receptors. The demonstration of specific binding sites for insulin and human growth hormone in Golgi fractions isolated from the liver of female rats. *J. Biol. Chem.* 253, 4058-4066.
- Botelho, S.Y. 1964. Tears and the lacrimal gland. *Sci. Am.* 211, 78-86.
- Buckley, A.R., P.D. Crowe and D.H. Russell. 1988. Rapid activation of protein kinase C in isolated rat liver nuclei by prolactin, a known hepatic mitogen. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 85, 8649-8653.
- Cornell-Bell, A.H., D.A. Sullivan and M.R. Allansmith. 1985. Gender-related differences in the morphology of the lacrimal gland. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 26, 1170-1175.
- Costlow, M.E. and Q.R. Rodgers. 1986. Subcellular localization of prolactin receptors in mammary tumor cells. *Exp. Cell Res.* 163, 159-164.
- Cripps, M.M., B.B. Bromberg, K. Patchen-Moor and M.H. Welch. 1987. Adrenocorticotrophic hormone stimulation of lacrimal peroxidase secretion. *Exp. Eye. Res.* 45, 673-683.
- Cripps, M.M. and D.J. Bennett. 1990. Peptinergic stimulation and inhibition of lacrimal gland adenylate cyclase. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 31, 2145-2150.
- Cripps, M.M. and K. Patchen-Moor. 1989. Inhibition of stimulated lacrimal secretion by [D-Ala²] Met-enkephalinamide. *Am. J. Physiol.* 257, G151-G156.
- Dartt, D.A., A.K. Barker, C.Vailant and P.E. Rose. 1984. Vasoactive intestinal polypeptide stimulation of protein secretion from rat lacrimal gland acini. *Am. J. Physiol.* 247, G502-G509.
- Essner, E. 1971. Localization of endogenous peroxidase in rat exorbital lacrimal gland. *J. Histochem. Cytochem.* 19, 216-225.
- Frey, W.H., J.D. Nelson, M.L. Frick and R.P. Elde. 1986. Prolactin immunoreactivity in human tears and lacrimal gland: possible implications for tear production. pp.798-807. In: F.J. Holly (ed.), *The Preocular Tear Film in Health, Disease and Contact Lens Wear*. The Dry Eye Institute, Lubbock.
- Guyette, W.A., R.J. Matusik and J.M. Rosen. 1979. Prolactin-mediated transcriptional and posttranscriptional control of casein gene expression. *Cell* 17, 1013-1023.
- Hand, A.R. and C. Oliver. 1979. Relationship between the Golgi apparatus, GERL and secretory granules in acinar cells of the rat exorbital lacrimal gland. *J. Cell Biol.* 74, 399-413.
- Hayashi, K., C. Reddy, L. Hanninen, G. Wolf and K. R. Kenyon. 1990. Pathologic changes in the exorbital lacrimal gland of the vitamin A-deficient rat. *Invest. Ophthalm. Vis. Sci.* 31, 187-196.
- Herzog, V. and F. Miller. 1972. The localization of endogenous peroxidase in the lacrimal gland of the rat during postnatal development. *Electron microscope cytochemical and biochemical studies.* *J. Cell Biol.* 53, 662-680.
- Huhtaniemi, I.T., D.W. Warren and K.J. Catt. 1983. Development of heterologous down-regulation of lactogen receptors in the rat testis. *Mol. Cell Endocrinol.* 29, 287.
- Ichikawa, A. and Y. Nakajima. 1962. Electron microscopic study on the lacrimal gland of the rat. *Tohoku J. Exp. Med.* 77, 136-149.
- Jahn, R., U. Padel, P.-H. Porsch and H.-D. Soling. 1982. Adrenocorticotrophic hormone and alpha-melanocyte-stimulating hormone induce secretion and protein phosphorylation in the rat lacrimal gland by activation of a cAMP-dependent pathway. *Eur. J. Biochem.* 126, 623-629.
- Mircheff, A.K., D.W. Warren, R.L. Wood, P.J. Torriello and R.L. Kaswan. 1992. Prolactin localization, binding and effects on peroxidase release in rat exorbital lacrimal gland. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 33, 641-650.
- Molina, R., T.T. Provost, F.C. Arnett, W.B. Bias, M.

- C. Hochberg, R.W. Wilson and E.L. Alexander. 1986. Primary Sjogren's syndrome in Men. Clinical, serologic and immunogenetic features. *Am. J. Med.* 80, 23-31.
- Ohashi, Y., M. Motokura, Y. Kinoshita, T. Mano, H. Watanabe, S. Kinoshita, R. Manabe, K. Oshiden and C. Yanaihara. 1989. Presence of epidermal growth factor in human tears. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 30, 1879.
- Okami, T., A. Yamamoto, T. Takada, K. Oomori, M. Uyama and Y. Tashiro. 1992. Ultrastructural localization of Na⁺, K⁺-ATPase in the exorbital lacrimal gland of rat. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 33, 196-204.
- Putney, JR, J.W., C.M. Vandewalle and B.A. Leslie. 1978. Stimulus-secretion coupling in the rat lacrimal gland. *Am. J. Physiol.* 235, C188-C198.
- Robertson, M.T., H.R. Alho and A.A. Martin. 1989. Localization of prolactin-like immunoreactivity in grafted human sweat glands. *J. Histochem. Cytochem.* 37, 625-628.
- Sakai, T. 1989. Major ocular glands (Harderian gland and lacrimal gland) of the musk shrew (*Suncus murinus*) with a review on the comparative anatomy and histology of the mammalian lacrimal glands. *J. Morphol.* 201, 39-57.
- Sampson, H.W., D.E. Bowers, M.S. Cannon and I. Piscopo. 1982. Intracellular calcium localization in stimulated and non-stimulated extraorbital lacrimal glands of rats. *Tissue & Cell* 14, 735-749.
- Scott, B.L. and D.C. Pease. 1959. Electron microscopy of the salivary and lacrimal glands of the rat. *Am. J. Anat.* 104, 115-161.
- Sullivan, D.A. and M.R. Allansmith. 1985. Hormonal influence on the secretory immune system of the eye: androgen modulation of IgA levels in tears of rats. *J. Immunol.* 134, 2978-2982.
- Sullivan, D.A. and M.R. Allansmith. 1986. Hormonal modulation of tear volume in the rat. *Exp. Eye. Res.* 42, 131-139.
- Sullivan, D.A. and M.R. Allansmith. 1987. Hormonal influence of the secretory immune system of the eye: endocrine interactions in the control of IgA and secretory component levels in tears of rats. *Immunol.* 60, 337-343.
- Sullivan, D.A., K.J. Bloch and M.R. Allansmith. 1984a. Hormonal influence on the secretory immune system of the eye: endrogen control of secretory component production by the rat exorbital lacrimal gland. *Immunol.* 52, 234-246.
- Sullivan, D.A., K.J. Bloch and M.R. Allansmith. 1984b. Hormonal influence on the secretory immune system of the eye: androgen regulation of secretory component levels in rat tears. *J. Immunol.* 132, 1130-1135.
- Wise, J., M.A. Morris and S. Handeager. 1980. Measurement of prolactin. *Clin. Ob. Gyn.* 23, 315.
- Wuttke, W. 1975. Prolactin in laboratory animals. *Acta Endocr.* 78 (Suppl 193), 151.

FIGURE LEGENDS

Fig. 1a, b. Electron micrographs of the epon embedded rat exorbital lacrimal gland.

Secretory granules have contents of variable opacity. In the cell at lower right (Fig. 1a), secretory granules have moderate electron dense material. In the cell at right, secretory granules have contents of lower opacity. The membranes are not entirely distinct and many of the granules have coalesced (asterisks). Some cell (Fig. 1b) contains two types of secretory granules. L: Lumen G: Golgi complex N: Nucleus

Fig. 2. Electron micrographs of the LR white embedded rat exorbital lacrimal gland.

Nucleus basally located and surrounded by granular endoplasmic reticulum (ER). Secretory granules (sg) of low electron density are accumulated in the apical cytoplasm. N: Nucleus

Fig. 3. Electron micrographs of the epon embedded mouse pituitary gland. Secretory granules of the upper cell (mammothroph) are labeled with gold particles. Gold particles are not observed in the lower cell and lumen.

Electron micrographs of the LR white embedded rat exorbital lacrimal gland. In figures 5, 6, 7 and 8, ultrathin sections were incubated with rabbit and ovine prolactin antibody and figure 4, with the same concentration of nonimmunized rabbit Ig G as a control, followed by staining with streptavidin-gold. Diameter of gold particles was 10 nm.

Fig. 4. Electron micrographs of the LR white embedded rat exorbital lacrimal gland.

No gold particles are observed in the control experiment.

Sg: Secretory granule M: Mitochondria N: Nucleus

Fig. 5. Electron micrographs of the LR white embedded rat exorbital lacrimal gland.

Note the prominent gold particles labeled secretory granules (Sg). Golgi cisternae (G) and cytosolic vesicles stained with gold particles. Granular endoplasmic reticulum (ER) and mitochondria (M) are not labeled with gold particles. N: Nucleus

Fig. 6. Electron micrographs of the LR white embedded rat exorbital lacrimal gland.

Gold particles are bound to the secretory granules (Sg) and small vesicle (arrowhead). No gold particles are observed in the mitochondria (M) and granular endoplasmic reticulum (ER). G: Golgi complex

Fig. 7. Electron micrographs of the LR white embedded rat exorbital lacrimal gland.

Many gold particles are bound the secretory granules (Sg) and some gold are labeled Golgi cisternae (G) are labeled with gold particles.

Fig. 8. Electron micrographs of the LR white embedded rat exorbital lacrimal gland.

Nucleus (N) and secretory granules (Sg) are labeled with gold particles. Gold particles are not observed in mitochondria (M) and cytoplasm. G: Golgi complex





