

Vergleichende immunhistologische und cytochemische Untersuchungen der Gastrinzenellen beim Menschen

H. MITSCHKE *

Pathologisches Institut der Universität Hamburg (Direktor: Prof. Dr. G. Seifert)

Eingegangen am 10. Mai 1971

Correlative Immunofluorescent and Cytochemical Studies of the Gastrin Cells in the Antral Mucosa of Man

Summary. The cell in the human antral mucosa containing gastrin was identified with immunofluorescent methods using antibodies to synthetic human Gastrin (SHG 2—17). Light microscopic examination of the antral mucosa showed a chronic atrophic gastritis with intestinal metaplasia in most cases. The numerous Gastrin-cells demonstrated a specific immunofluorescence. The Gastrin-cells, however, did not stain on identical sections by the argyrophilic procedure of Grimelius, nor by lead-haematoxylin, carbodiimide reaction or diazonium method. These results confirm the correlative studies of McGuigan and Greider, who demonstrated that the Gastrin-cell in the hog antral mucosa did not stain by argyrophilic or diazonium methods. The Ee-cells with formaldehyde-induced fluorescence are stained by the diazonium method. The G-cells are defined by cytochemical reactions, the Gastrin-cells by immunochemical techniques. The argyrophilic G-cells and the Gastrin-cells are probably two different types of endocrine cells.

Zusammenfassung. Mit einem Antiserum gegen synthetisches Humangastrin (SHG 2—17) wurden die Gastrinzenellen in der Antrumschleimhaut des Menschen immunhistologisch dargestellt. Histologisch zeigte die Magenschleimhaut in den meisten Fällen das Bild einer chronisch-atrophen Gastritis mit enteraler Metaplasie im Antrumbereich. Mit der Immunfluoreszenz waren zahlreiche Gastrinzenellen nachweisbar, die sich auf den identischen Schnitten jedoch weder mit der Versilberung nach Grimelius noch mit der Bleihämatoxylin-, der Carbodiimid- oder der Diazoniumreaktion darstellen ließen. Diese Befunde stimmen mit den Ergebnissen von McGuigan und Greider überein, die in der Antrumschleimhaut vom Schwein gleichfalls keine Korrelation der Gastrinzenellen zu argyrophilen Zellen nachweisen konnten. Die Ee-Zellen mit Formalin-induzierter Fluoreszenz korrelieren zur Diazoniumreaktion. Ein Vergleich der cytochemisch definierten G-Zelle mit den Gastrinzenellen spricht für zwei unterschiedliche Zelltypen mit endokriner Aktivität.

Mit der Extraktion und Strukturaufklärung des Heptadecapeptids Gastrin aus dem Antrum des Menschen sowie mehrerer Tierspecies (Gregory, Tracy u. Mitarb., 1961, 1964a, 1964b, 1966; Bentley u. Mitarb., 1966) und dessen Synthese (Anderson u. Mitarb., 1964) war die Möglichkeit gegeben, Antikörper gegen das Polypeptidhormon Gastrin zu erzeugen. Mit Gastrin-Antisera wurden eimal radioimmunologische Bestimmungen des Gastrinspiegels unter physiologischen (McGuigan u. Mitarb., 1970a) und pathophysiologischen Bedingungen (Byrnes u. Mitarb., 1970; Friesen u. Mitarb., 1970; Hansky u. Mitarb., 1969; McGuigan u. Mitarb., 1968, 1970b; McGuigan, 1970) durchgeführt. Ferner konnten mit der

* Mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

Methodik der Immunfluorescenz Gastrin-bildende oder -speichernde Zellen in der Antrumschleimhaut lokalisiert werden. Die Darstellung der Gastrinzellen mit der Immunfluorescenz gelang erstmals McGuigan (1968b), nachdem er Antikörper gegen synthetisches Hexadecapeptidamid (ICI) erzeugte. Das synthetische Hexadecapeptidamid (SHG 2—17) entspricht der Aminosäuresequenz 2—17 des Humangastrin I. Es war mit Carbodiimid an Rinderalbumin gekoppelt (McGuigan, 1968a). Die in der Antrumschleimhaut des Menschen und beim Schwein nachgewiesenen fluoreszierenden Gastrinzellen konnten nach Umfärbungen weder als argentaffine noch argyrophile Zellen in der Methodik nach Sevier-Munger dargestellt werden.

Bussolati und Pearse (1970) kamen nach gleichartigen Untersuchungen zum Ergebnis, daß die positive Gastrin-Immunfluorescenz im Antrum vom Schwein zu argyrophilen G-Zellen korreliert, die mit der Versilberung nach Grimelius (1964), einer modifizierten Protargolmethode nach Bodian, dargestellt wurden.

Im normalen Pankreas des Menschen konnte Lomsky (1969) mit Antiseren gegen extraktiv hergestelltes Gastrin I und II vom Schwein eine positive Immunfluorescenz in den D-Zellen nachweisen, ein Befund, der von McGuigan u. Mitarb. (1971) bestätigt wurde. Weitere vergleichende immunhistologische und cytochemische Untersuchungen von McGuigan und Greider (1971) zeigten im Gegensatz zu den Befunden von Bussolati und Pearse (1970), daß die Gastrinzellen in der Antrumschleimhaut vom Schwein weder argyrophil noch argentaffin sind.

Zur Häufigkeit und Verteilung der Gastrinzellen bei pathologischen Veränderungen der Magenschleimhaut liegen Befunde von Pearse und Bussolati (1970) vor. Die immunhistologischen Ergebnisse wurden jedoch nicht zu cytochemischen korreliert.

Unsere Untersuchungen sollten daher zur Klärung der Frage beitragen, ob eine Übereinstimmung zwischen der Immunfluorescenz der Gastrinzellen beim Menschen und einer der cytochemischen Reaktionen besteht, wie sie vor allem von Solcia u. Mitarb. (1969a) zur Charakterisierung der G-Zelle angegeben wurden.

Material und Methodik

Antikörper gegen Gastrin: Diese wurden nach dem Verfahren von McGuigan (1968) hergestellt. Synthetisches Humangastrin I (SHG 2—17, Imperial Chemical Industries Ltd.) wurde mit Carbodiimid (Fluka) an Rinderalbumin gebunden. Dieses SHG 2—17-Conjugat wurde in Freundschem Adjuvans complete (Difco) emulgiert und in Kaninchenpfoten injiziert. Die Immunisierung der Kaninchen erstreckte sich über einen Zeitraum von 5 Monaten mit Wiederholung der Injektionen im zweiten und 5. Monat.

Präparation des Gewebes: Magenschleimhaut von plötzlich Verstorbenen unterschiedlichen Alters sowie Operationspräparate des Magens bei Ulcus ventriculi wurden unmittelbar nach der Operation oder etwa 1 Std nach Eintritt des Todes in 10% neutralen Formalin (Formol-Calcium) bei 4 °C etwa 3 Std fixiert, danach dehydriert und über Methylbenzoat schonend in Paraffin eingebettet.

Immunfluorescenz: Diese wurde nach der indirekten Methode durchgeführt. Entparaffinierte Schnitte wurden zunächst mit Anti-Gastrinserum oder mit einer Globulinfraktion des Antiserum inkubiert, danach mehrfach in Phosphatpuffer pH 7,5 gespült. Anschließend wurden die Schnitte mit FITC-markiertem Anti-Kaninchen-y-Globulin-Serum (Behringwerke AG) beschichtet und abschließend mehrfach in Phosphatpuffer pH 7,5 gespült. Das FITC-markierte Anti-Kaninchenglobulin-Serum wurde vor Gebrauch auf einer DEAE-Sephadex-Säule fraktioniert, um die Fraktion mit optimaler Fluorescein-Protein-Bindungsrate zu isolieren.

(Dedmon u. Mitarb., 1965). In Kontrollansätzen wurden die Schnitte zunächst mit Normalserum vom Kaninchen an Stelle des Anti-Gastrinserum inkubiert und anschließend in gleicher Weise weiterbehandelt. Nach Photographie der Immunfluorescenz sowie unspezifischer Fluoreszenzphänomene (Leitz- oder Zeiss-Photomikroskop mit Fluoreszenzeinrichtung) wurden die Schnitte umgefärbt und bei identischer Kreuztischeinstellung erneut photographiert. Zur Umfärbung wurden folgende Methoden angewandt:

1. Versilberung nach Grimalius (1968) mit Inkubation in einer 0,05% wässrigen Silbernitratlösung in Acetatpuffer pH 5,6. Zur Umfärbung wurde die Konzentration des Silbernitrats gering erhöht, ferner die Inkubations- und Reduktionszeit verlängert.
2. Bleihämatoxylin nach Solcia u. Mitarb. (1969 b).
3. Carbobijimidreaktion nach Geyer (1964).
4. Diazoniumreaktion nach Pearse (1960) mit Echtrotsalz B (Chroma).

Ergebnisse

Immunhistologische Befunde. Die mit der Immunfluorescenz dargestellten Gastrinzenellen zeigen eine erhebliche Variabilität der Zellform, die z.T. durch parallele, schräge oder quere Anschnitte der Antrumdrüse mitbedingt ist. Die Zellen besitzen teils eine breitere Basis mit deutlicher Verschmälerung des apikalen Cytoplasma zur Drüseneuchtung hin. Der Kern ist mittelständig, im Gegensatz zu den basalständigen Zellkernen der benachbarten Zellen. Diese Beschreibung der Gastrinzenellen trifft der Form nach auch auf die enterochromaffinen Zellen zu. Häufiger sind die Gastrinzenellen jedoch größer als die benachbarten mucoiden Zellen. Sie sind oval oder triangulär geformt, mit der Zellbasis gegen die Basalmembran der Drüsenepithelien und mit dem Zellapex gegen die Drüseneuchtung gerichtet. Mit der Immunfluorescenz war das unmittelbare Heranreichen an die Drüseneuchtung meist nicht nachweisbar. Die charakteristische apfelgrüne FITC-Fluorescenz ist auf das Cytoplasma der Gastrinzenellen beschränkt, die Zellkerne bleiben ausgespart. Gelegentlich zeigt der basalständige, infranucleäre Teil des Cytoplasma eine kräftigere Fluorescenz, häufiger ist der Zellkern jedoch allseits von einer deutlichen Fluorescenz des Cytoplasma umgeben. Die Gastrinzenellen liegen oft herdförmig gehäuft in den Antrumdrüsen. Einzelne Drüsen sind frei von Gastrinzenellen, während andere mehrere, unmittelbar benachbarte Gastrinzenellen enthielten. Die Zellen zeigen eine recht charakteristische Verteilung im Schleimhautniveau. Sie liegen in einem Bereich vom Drüsenhals bis zum Beginn des unteren Drüsendrittels. Sie sind nur vereinzelt im unteren Drüsendrittel, am häufigsten im mittleren Drittel der Antrumdrüsen nachweisbar (Abb. 1).

Bei gleichzeitig durchgeführten *Kontrolluntersuchungen* mit Normalseren waren Gastrinzenellen nie nachweisbar. Dagegen traten hierbei deutlicher vereinzelt Zellen hervor, die eine mehr gelbliche, Formalin-induzierte Fluorescenz aufwiesen. Diese Zellen lagen häufiger im unteren Drüsendrittel nahe der Basis der Antrumdrüsen. Sie waren besonders zahlreich in Bereichen intestinaler Metaplasie nachweisbar, während die Gastrinzenellen im Verband der erhaltenen Antrumdrüsen lagen. Die fluorescenzmikroskopische Unterscheidung der Gastrinzenellen von der Formalin-induzierten Fluorescenz der Ec-Zellen war in der Antrumschleimhaut beim Menschen neben der Lokalisation besonders durch die unterschiedliche Zellgröße gegeben. Die Ec-Zellen waren deutlich kleiner, ferner erreichte die Fluorescenz der enterochromaffinen Zellen bei weitem nicht die Intensität der Immunfluorescenz von Gastrinzenellen (Abb. 2a und b).

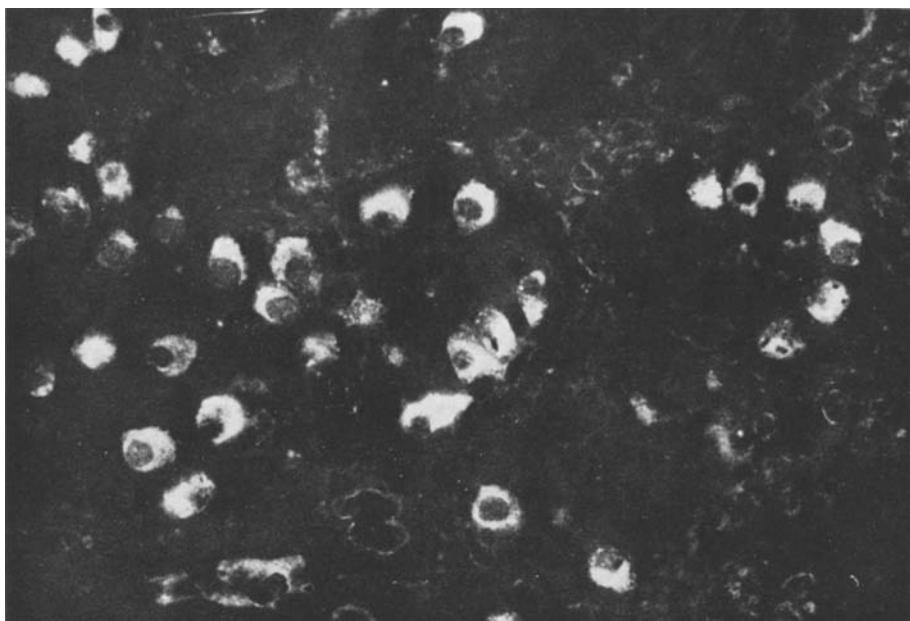


Abb. 1. Immunfluorescenz zahlreicher Gastrinzenellen in der Antrumschleimhaut vom Menschen (indirekte Methode mit Anti-Gastrinserum vom Kaninchen und FITC-markiertem Anti-Kaninchen- γ -Globulin). Vergr. 630 \times

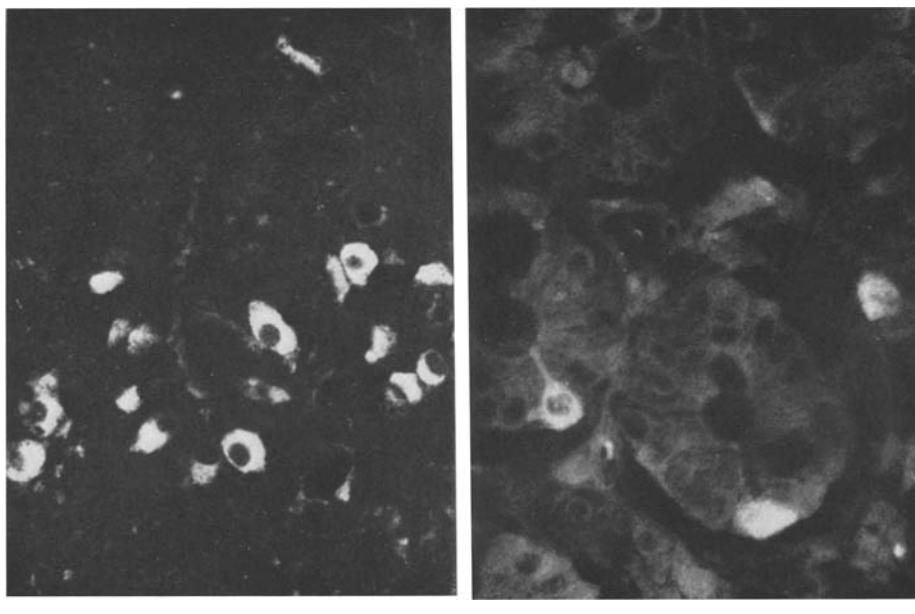


Abb. 2a u. b. Antrumschleimhaut, Mensch. a Immunfluorescenz der Gastrinzenellen. Nach Umfärbung waren diese Zellen nicht argyrophil. b Formalin-induzierte Fluorescenz einzelner Ee-Zellen. Vergr. 630 \times

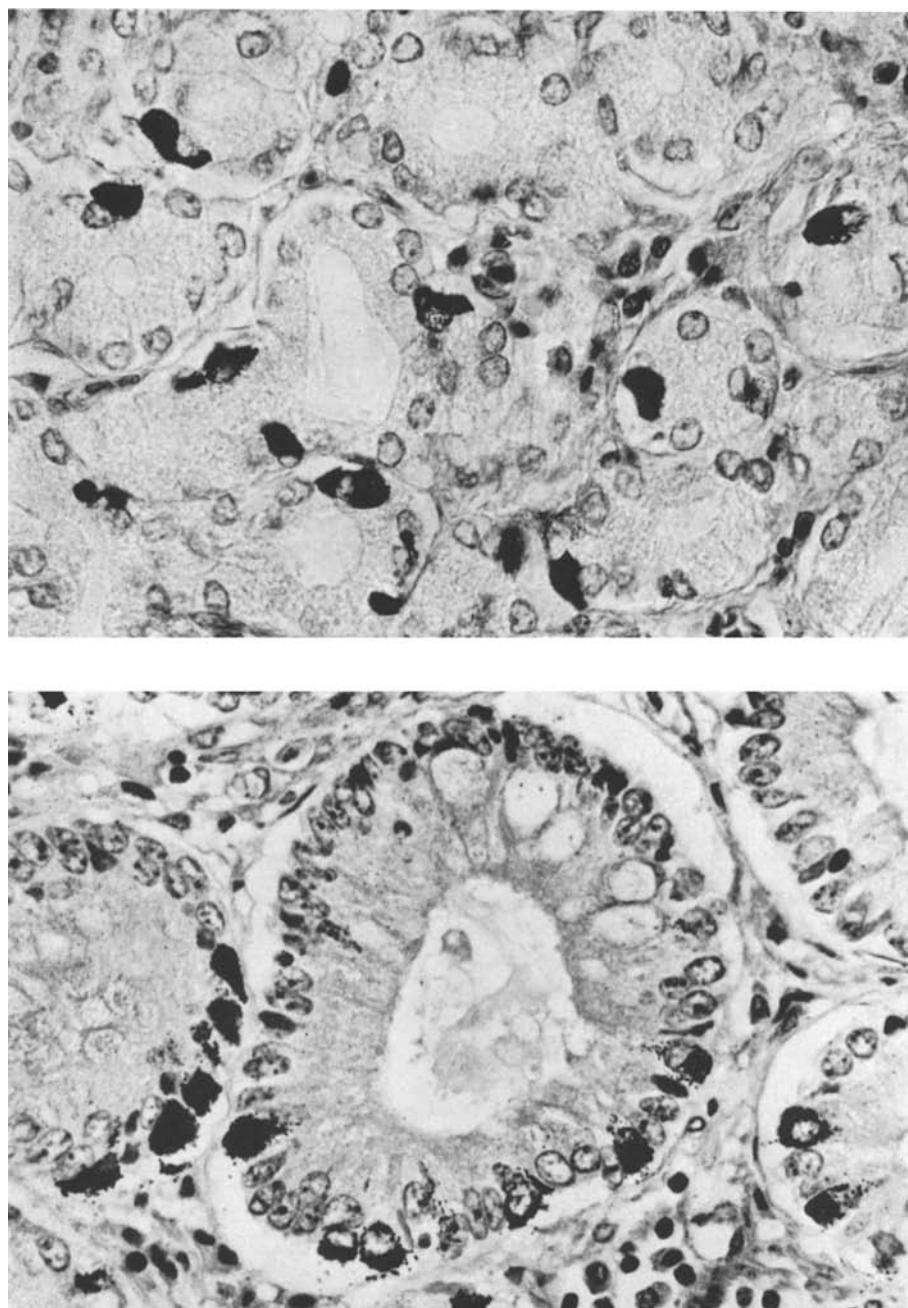


Abb. 3 a u. b. Versilberung nach Grimelius. a Argyophile Zellen in der Antrumschleimhaut des Menschen. b Antrumschleimhaut, Mensch. Zahlreiche argyophile Zellen im Bereich einer intestinalen Metaplasie. Die argyrophilen Zellen ließen sich nicht zur Immunfluorescenz der Gastrinzenellen korrelieren. Vergr. 630×

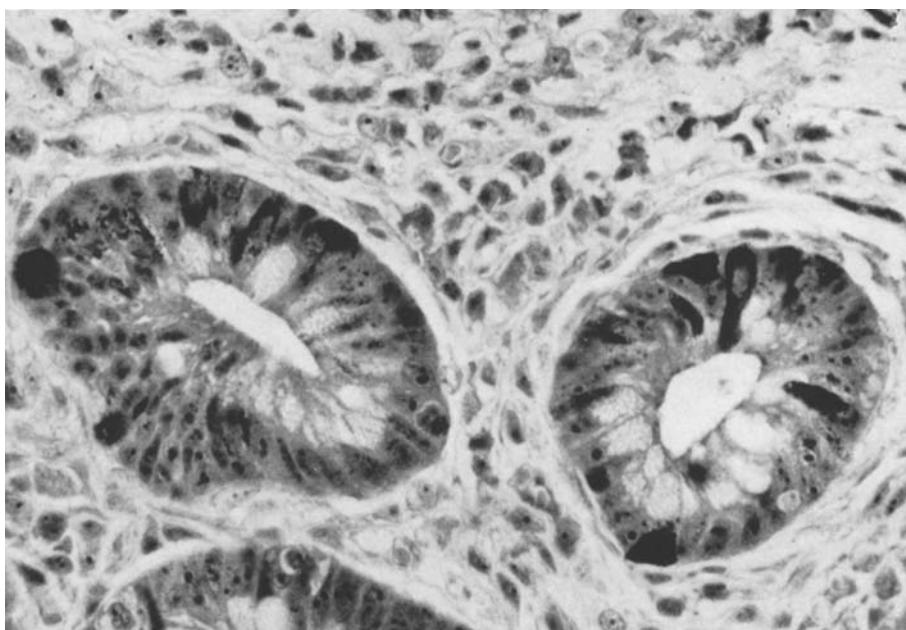


Abb. 4. Antrumschleimhaut, Mensch. Drüsen mit Becherzellen und endokrinen Zellen, die eine positive Bleihämatoxylinreaktion zeigen. Vergr. 630 \times

Die Beurteilung einer pathologischen *Hyperplasie* der Gastrinzel len erwies sich als schwierig, da keine Angaben über die Normalverteilung dieser Zellen bestehen. Von unseren mit der Immunfluoreszenz untersuchten Fällen zeigte nur einer das Bild einer histologisch weitgehend regelrechten Antrumschleimhaut. In den übrigen Fällen bestand eine chronisch-atrophische Gastritis mit intestinaler Metaplasie im Bereich der Antrumschleimhaut, einmal kombiniert mit einem Ulcus ventriculi. Im letzteren Fall waren Gastrinzel len eher spärlich nachweisbar. Dagegen waren in allen Fällen einer chronisch-atro phischen Gastritis, bei denen die Entzündung auch im Magencorpus zu einer partiellen Atrophie der Corpusdrüsen geführt hatte, zahlreiche, oft dicht gelagerte Gastrinzel len nachweisbar. Auch ein Vergleich zu den Abbildungen von Pearse und Bussolati (1970) erlaubt es, diese Befunde als Hyperplasie der Gastrinzel len anzusehen.

Cytochemische Befunde. Mit der Silberimprägnation nach Grimelius wurden einmal weniger Zellen dargestellt als mit der Immunfluoreszenz. Ferner ergaben sich Unterschiede hinsichtlich der Zellokalisation. Die argyrophilen Zellen lagen meist im basalen Drüsendrittel verteilt, und zwar besonders zahlreich in den Bereichen intestinaler Metaplasie. Es bestand keine Korrelation zwischen Gastrinzel len und argyrophilen Zellen (Abb. 3).

Die Bleihämatoxylinfärbung stellte gleichfalls zahlreiche endokrine Zellen überwiegend in den Bereichen intestinaler Metaplasie dar. Charakteristisch war die dichte, granuläre blauschwarze Anfärbung des retronukleären Cytoplasma bereiches. Eine Korrelation zur Immunfluoreszenz der Gastrinzel len ergab sich auch mit dieser Reaktion nicht (Abb. 4).

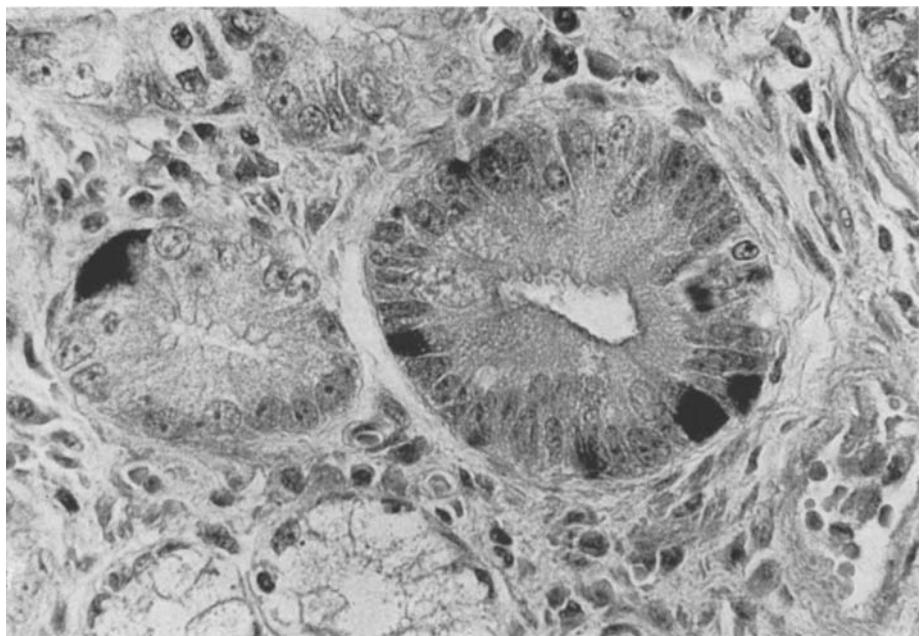


Abb. 5. Endokrine Zellen, vermutlich Ec-Zellen, mit positiver Carbodiimidreaktion in der Antrumschleimhaut des Menschen. Vergr. 630×

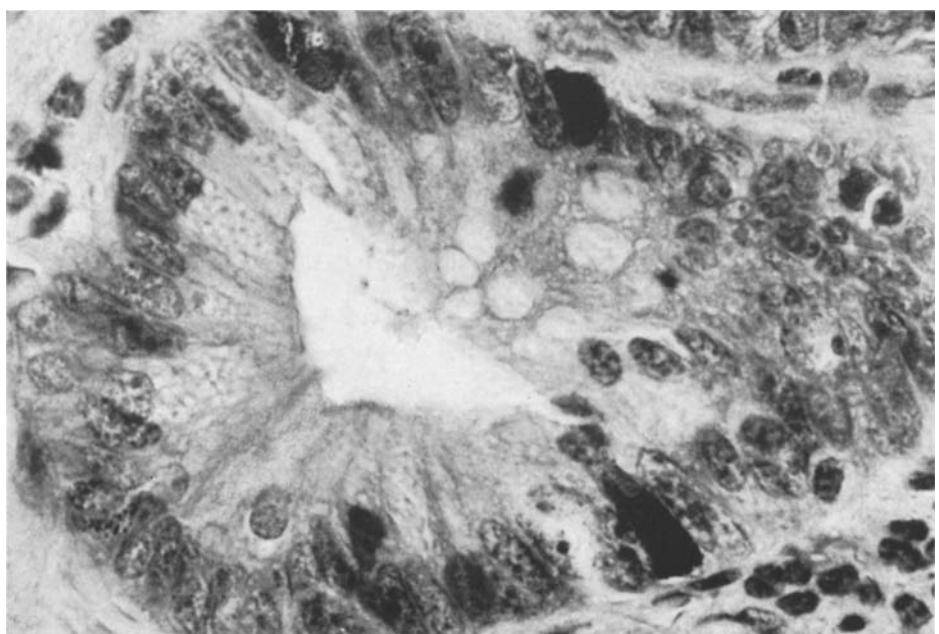


Abb. 6. Ec-Zellen mit positiver Diazoniumreaktion in der Antrumschleimhaut des Menschen. Vergr. 1000×

Die Carbodiimidreaktion stellt Zellen in gleicher Anzahl wie die Versilberung dar. Die zart blau bis violett gefärbten Zellen zeigen gleichfalls in ihrem retro-nuklear gelegenen Cytoplasmabereich eine intensivere Reaktion. Sie liegen vereinzelt innerhalb der mucoiden Drüsen, häufiger in den Bereichen intestinaler Metaplasie. Es war keine Korrelation zur Immunfluorescenz der Gastrinzel len nachweisbar (Abb. 5).

Die Diazoniumreaktion stellt die in den Bereichen enteraler Metaplasie gehäuft liegenden Zellen rot dar. Im Vergleich zur Versilberung und Carbodiimidreaktion ist die Zahl der Diazonium-positiven Zellen geringer. Die Gastrinzel len kommen wesentlich häufiger vor und sind in den Antrumdrüsen lokalisiert, wo Diazonium-positive Zellen kaum nachweisbar waren. Dagegen bestand eine eindeutige Korrelation zwischen Zellen mit Formalin-induzierter Fluorescenz und positiver Diazoniumreaktion (Abb. 6).

Diskussion

Mit der Methodik der Immunfluorescenz wurden erstmals von McGuigan (1968 b) Gastrinzel len in der Antrumschleimhaut von Mensch und Schwein dargestellt. Die Form, Größe und Lokalisation dieser Zellen legte eine Beziehung zu argentaffinen oder argyrophilen Zellen der Magenschleimhaut nahe. Ferner entsprach die Verteilung der Gastrinzel len weitgehend der physiologisch nachgewiesenen maximalen Gastrinaktivität auf Horizontalschnitten der Schleimhaut von Hund und Katze (Bromé u. Mitarb., 1968). Der Nachweis von Gastrinzel len beim Schwein mit Antikörpern gegen synthetisches Humangastrin (SHG 2—17) ist durch die Kreuzreaktion bei nahezu gleicher Aminosäuresequenz des Polypeptidhormons von Mensch und Schwein gegeben. Sowohl bei der ersten (McGuigan 1968 b) wie auch bei späteren Untersuchungen gelang es McGuigan u. Mitarb. (1971) jedoch nicht, die mit der Immunfluorescenz dargestellten Gastrinzel len zu argentaffinen oder argyrophilen Zellen zu korrelieren. Diese Befunde divergieren von anderen Untersuchungen, die eine Korrelation zwischen argyrophilen Zellen in der Methodik nach Grimelius (1964) und der Gastrin-Immunfluorescenz fanden (Bussolati u. Mitarb., 1970).

Die Methodik der Versilberung zum Nachweis der Gastrinzel len wurde besonders von Solcia u. Mitarb. (1965, 1967, 1969 a) untersucht. Sie haben auf Grund vergleichender cytochemischer und elektronenmikroskopischer Befunde zu den D- oder A₁-Zellen der Pankreasinseln sowie einer bestimmten Zellokalisation in der Antrumschleimhaut bei verschiedenen Species neben der intestinalen D- oder X-Zelle (Solcia u. Mitarb., 1970) die G-Zelle als einen endokrinen Zelltyp definiert. Die G-Zelle, die als Produzent des Gastrin angesehen wird, ist argyophil in der Methodik nach Davenport (Hellerström u. Mitarb., 1960) und Grimelius (1964, 1968); sie zeigt nach Säurehydrolyse eine Toluidinblau-Metachromasie sowie Fluorescenz nach Pseudoisocyanin, ferner eine positive Bleihämatoxylinreaktion (Solcia u. Mitarb., 1969 b). Sie ist nicht argentaffin und Diazonium-negativ. Die G-Zellen zeigen weiterhin eine bestimmte Lokalisation im Schleimhautniveau des Antrum. Bei geringer Schleimhautdicke, z.B. bei der Maus, dem Meerschweinchen und Kaninchen, liegen die G-Zellen in der unteren Hälfte der Antrumdrüsen. Beim Menschen sind die G-Zellen auch im mittleren und höheren Drittel der Schleimhaut angeordnet (Solcia u. Mitarb., 1969 a).

Elektronenoptisch sind die G-Zellen durch vorwiegend retronuklear gelegene Sekretgranula ausgezeichnet, die von einer Membran umgeben sind. Oft sind die Zellen degranuliert (Pearse u. Mitarb., 1970b; Forssmann u. Mitarb., 1969a). Weiterhin besitzen die G-Zellen reichlich granuläres endoplasmatisches Reticulum und einen deutlichen Golgiapparat. Gelegentlich ist apikal ein Zellfortsatz nachweisbar, der unmittelbar an das Drüsenumen heranreicht und oberflächlich Mikrovilli besitzt. Die G-Zellen sind ziemlich groß und sicher der häufigste endokrine Zelltyp im Antrum. Die endokrinen Zellen des Magens und Dünndarm wurden elektronenmikroskopisch am eingehendsten bei der Ratte, Hund (Forssmann u. Mitarb., 1969b; Forssmann, 1970) und Katze (Vassallo u. Mitarb., 1969) untersucht. Beim Menschen stellen die G-Zellen einen von vier elektronenmikroskopisch unterschiedenen Zelltypen der Magenschleimhaut dar (Pearse u. Mitarb., 1970b). Sie liegen im mittleren Bereich der Drüsen und sind fast ausschließlich im Antrum nachweisbar. Ihre Sekretgranula sind kleiner als bei den übrigen untersuchten Tierspecies, der Durchmesser beträgt meist weniger als 200 nm. Tierexperimentell lässt sich durch Äthanolininstillation in den Magen eine Entgranulierung erzeugen; nach Atropin oder nach mehrstündigem Fasten enthalten die Sekretgranula reichlich elektronendichtetes Material (Forssmann u. Mitarb., 1969a).

Eine Korrelation der elektronenmikroskopisch identifizierten Zellen zu argyrophilen Zellen ermöglicht die Methode der Silberimprägnation vor der weiteren Aufarbeitung zur elektronenmikroskopischen Untersuchung (Solcia u. Mitarb., 1970; Vassallo u. Mitarb., 1971). Diese Autoren konnten eine argyrophile Reaktion in den Sekretgranula sowie in deren Umgebung nachweisen; es stellten sich die gastrointestinalen Ec-Zellen, die intestinalen S-Zellen, ferner die A-like und die EcL-Zelle des Magens sowie die G-Zelle bei verschiedenen Species und beim Menschen dar, jedoch nicht die X-Zelle. Allerdings bestehen methodische Unterschiede zwischen der Versilberung nach Grimelius (1968), wie sie von Solcia und Vassallo angewandt wurde, und der modifizierten Versilberung nach Bodian (Grimelius, 1964), die von Bussolati und Pearse (1970) in Beziehung zur Immunfluoreszenz der Gastrinzellen gesetzt wurde. Von Forssmann und Orci (1969) wird beschrieben, daß der von ihnen in Beziehung zur Gastrinsekretion gesetzte Zelltyp V, der nach dem Wiesbadener Symposium 1969 der G-Zelle gleichgesetzt wurde, sehr viel häufiger in den Antrumdrüsen vorkommt als die mit der Silberimprägnation dargestellten Zellen. Die elektronenoptische Untersuchung nach vorangegangener Silberimprägnation zeigt zumeist eine Ablagerung von Silbergranula in der unmittelbaren Circumferenz der Sekretgranula, während der osmiophile Kern meist ausgespart bleibt. Eine Ausnahme machen hiervon lediglich die Ec-Zellen (Vassallo u. Mitarb., 1971). Nicht das Polypeptidhormon selbst wäre also für die argyrophile Reaktion verantwortlich.

Mit ansteigenden Serum-Gastrinspiegeln im Alter sowie deutlich erhöhten Werten bei der perniciösen Anämie mit chronisch-atrophischer Gastritis wäre eine entsprechende Vermehrung der Gastrinzellen zu erwarten. Die eigenen Befunde bei chronisch-atrophischer Gastritis mit Ausbreitung der Entzündung auch im Magencorpus können in dieser Richtung gedeutet werden. Allerdings lagen keine radioimmunologischen Gastrinbestimmungen in diesen Fällen vor. Pearse und Bussolati (1970a) berichten über eine Hyperplasie der Gastrinzellen bei

Akromegalie mit Hypersekretion des Magens. Eine Vermehrung argyrophil-metachromatischer Zellen wurde von Solcia u. Mitarb. (1969a) angegeben. Im Radioimmunassay lassen sich jedoch beim Ulcus ventriculi oder duodeni meist keine erhöhten Serum-Gastrinspiegel nachweisen (Hansky u. Mitarb., 1969; McGuigan, 1970; Trudeau u. Mitarb., 1970).

Für die Regulation des Serumgastrinspiegels spielt offenbar der intragastrale pH-Wert eine entscheidende Rolle. Es konnte eine beginnende Inhibition der Gastrinfreisetzung bei einem pH von 3 nachgewiesen werden, mit maximaler Inhibition bei einem pH von 1,5 (zit. nach McGuigan, 1970). Auch konnten die deutlich erhöhten Serumgastrinspiegel bei Patienten mit perniciöser Anämie durch Sondierung von 300 ml einer 0,1 N HCl rasch gesenkt werden (Yalow u. Mitarb., 1970). Es besteht demnach ein direkter Rückkoppelungsmechanismus zwischen der HCl-Produktion der Parietal- oder Belegzellen und der Gastrinsekretion im Antrum. Andererseits lässt sich auch eine direkte trophische Wirkung des Gastrin auf die Parietalzellen nachweisen, indem eine längerdauernde exogene Gastrinstimulation oder eine experimentell induzierte gesteigerte endogene Gastrinfreisetzung zu einer Parietalzellhyperplasie führt (Crean u. Mitarb., 1969). Daher sind bei chronisch-atrophischer Gastritis mit Reduzierung der Parietalzellen und fortschreitender Umwandlung der Corpusdrüsen in mucoide Drüsen, was mit Ausnahme eines in allen unseren, mit der Immunfluoreszenz untersuchten Fällen vorlag, eine gesteigerte Aktivität und Vermehrung der Gastrinzellen im Antrum zu erwarten. Eine Aussage über den Sekretions- oder Speicherungsgrad der Gastrinzellen erscheint jedoch allein mit Immunfluoreszenz kaum möglich, obwohl von Pearse u. Mitarb. (1970a) schwach fluoreszierende und somit entgranulierte Zellen beschrieben wurden. Diese entgranulierten, lichtmikroskopisch im Semidünnschnitt hellen Zellen sollen immunhistologisch noch nachweisbar sein, da mit der Immunfluoreszenz auch das Gastrin intracellulär nachgewiesen wird, bevor es in den Sekretgranula als Speicherform enthalten ist, während die Zellen nach weitgehender Hormonausschüttung durch die Versilberung nicht mehr darstellbar sein sollen (Pearse u. Mitarb., 1970a).

Nach eigenen Befunden und in Übereinstimmung mit den ausführlichen Untersuchungen von McGuigan und Greider (1971) lassen sich in der Antrumschleimhaut vom Menschen und beim Schwein mindestens 3 endokrine Zelltypen unterscheiden:

1. Die Gastrinzele mit der Methodik der Immunhistologie;
2. Die Ec-Zelle mit Formalin-induzierter Fluoreszenz und positiver Diazoniumreaktion;
3. Die argyophile Zelle ohne Formalin-induzierte Fluoreszenz, deren cytochemische Befunde sie in die Gruppe des APUD-Zellsystems einreihen lassen (Pearse, 1969) und im Zusammenhang mit elektronenmikroskopischen Befunden gleichfalls für eine Polypeptidhormonproduktion sprechen (Carvalheira u. Mitarb., 1968).

Nach diesen Ergebnissen kann also die Gastrinzele nicht mit der cytochemisch definierten G-Zelle, die durch eine maskierte Metachromasie (Solcia u. Mitarb., 1968), Argyrophilie nach Davenport (Hellerström u. Mitarb., 1960) oder Grimelius (1964, 1968) und durch eine positive Bleihämatoxylinreaktion (Solcia u. Mitarb., 1970) gekennzeichnet ist, gleichgesetzt werden. Ein zahlenmäßiger Vergleich

ergab, daß sowohl immunhistologisch (McGuigan u. Mitarb., 1971) als auch elektronenmikroskopisch (Forssmann u. Mitarb., 1969a) beim Schwein und bei der Ratte mehr Gastrinzel len oder endokrine Zellen vom Typ V nachweisbar waren als argyrophile Zellen. Unsere Befunde an der Antrumschleimhaut des Menschen stimmen damit überein.

Dieses Ergebnis wird durch Befunde von Lomsky u. Mitarb. (1969) und McGuigan und Greider (1971) kompliziert, die eine positive Immunfluorescenz der A₁- oder D-Zellen der Pankreasinseln beim Menschen mit Antigastrinseren nachwiesen, die zur Argyrophilie nach Hellerström und Hellman (1960) korreliert. Hieraus ergibt sich also ein differentes Verhalten der Gastrinzel len im Magen und Pankreas in Hinsicht auf die Argyrophilie. Die Suche nach einer cytochemischen Reaktion zum lichtmikroskopischen Nachweis der Gastrinzel len in der Antrumschleimhaut ist fortzusetzen, um die immunhistologischen Methoden zu umgehen, die stets ein Anti-Gastrinserum voraussetzen. Ferner ist die immunelektronenmikroskopische Lokalisation dieses Zelltyps mit Peroxidase-markierten Antikörpern (Nakane u. Mitarb., 1967; Nakane, 1970) angezeigt, um den ultrastrukturellen Nachweis der Gastrinproduktion zu erbringen und um die radioimmuno logischen Werte der Serumgastrinspiegel zu morphologischen Befunden der Gastrinzel len in Beziehung zu setzen.

Literatur

- Anderson, J. C., Barton, M. A., Gregory, R. A., Hardy, P. M., Kenner, G. W., MacLeod, J. K., Preston, J., Sheppard, R. C., Morley, J. S.: The antral hormone gastrin. II. Synthesis of gastrin. *Nature (Lond.)* **204**, 933—934 (1964).
- Bently, P. H., Kenner, G. W., Sheppard, R. C.: Structures of human gastrins I and II.. *Nature (Lond.)* **209**, 583—585 (1966).
- Bromé, A., Fyrö, B., Olbe, L.: Localization of gastrin activity in the gastric antrum. *Acta physiol. scand.* **74**, 331—339 (1968).
- Bussolati, G., Pearse, A. G. E.: Immunofluorescent localization of the gastrin-secreting G cells in the pyloric antrum of the pig. *Histochemistry* **21**, 1—4 (1970).
- Byrnes, D. J., Young, J. D., Chisholm, D. J., Lazarus, L.: Serum gastrin in patients with peptic ulceration. *Brit. med. J.* **1970 II**, 626—628.
- Carvalheira, A. F., Welsch, U., Pearse, A. G. E.: Cytochemical and ultrastructural ob servations on the argentaffin and argyrophil cells of the gastro-intestinal tract in mammals, and their place in the APUD series of polypeptidese secr eting cells. *Histochemistry* **14**, 33—46 (1968).
- Crean, G. P., Marshall, M. W., Rumsey, R. D. E.: Parietal cell hyperplasia induced by the administration of pentagastrin (ICI 5,123) to rats. *Gastroenterology* **57**, 147—155 (1969).
- Dedmon, R. E., Holmes, A. W., Deinhardt, F.: Preparation of fluorescein isothiocyanate-labeled γ-globulin by dialysis, gel filtration and ion-exchange chromatography in combination. *J. Bact.* **89**, 734—739 (1965).
- Forssmann, W. G.: Ultrastructure of hormone-producing cells of the upper gastrointestinal tract. In: *Origin, chemistry, physiology, and pathophysiology of the gastrointestinal hormones*, ed. Creutzfeldt. Stuttgart: W. Schattauer 1970.
- Orci, L.: Zur Endokrinologie der Pylorusschleimhaut. I. Experimentelle Beeinflussung der Gastrinzel le. In: *15. Symp. Dtsch. Ges. Endokrinol.* 1969, S. 408—411. Berlin-Heidelberg-New York: Springer 1969a.
- — Pictet, R., Renold, A. E., Rouiller, C.: The endocrine cells in the epithelium of the gastrointestinal mucosa of the rat. *J. Cell Biol.* **40**, 692—715 (1969 b).
- Friesen, S. R., Bolinger, R. E., Pearse, A. G. E., McGuigan, J. E.: Serum gastrin levels in malignant Zollinger-Ellison syndrome after total gastrectomy and hypophysectomy. *Ann. Surg.* **172**, 505—521 (1970).

- Geyer, G.: Histochemical Nachweis von Carboxylgruppen mit der Carbodiimidreaktion. *Acta histochem. (Jena)* **19**, 73—77 (1964).
- Gregory, H., Hardy, P. M., Jones, D. S., Kenner, G. W., Sheppard, R. C.: The antral hormone gastrin: structure of gastrin. *Nature (Lond.)* **204**, 931—933 (1964 b).
- Gregory, R. A., Tracy, H. J.: The preparation and properties of gastrin. *J. Physiol. (Lond.)* **156**, 523—534 (1961).
- — The constitution and properties of two gastrins extracted from hog antral mucosa. *Gut* **5**, 103—114 (1964 a).
- — Grossman, M. I.: Human gastrin: isolation, structure and synthesis. Isolation of two gastrins from human antral mucosa. *Nature (Lond.)* **209**, 583—585 (1966).
- Grimelius, L.: A modified silver protein method for studying the argyrophil cells of the islets of Langerhans. In: *The structure and metabolism of pancreatic islets*, ed. Brolin, S. E., Hellman, B., Knutson, H. Oxford: Pergamon 1964.
- A silver nitrate stain for α_2 cells in human pancreatic islets. *Acta Soc. Med. upsalien.* **73**, 243—270 (1968).
- Hansky, J., Cain, M. D.: Radioimmunoassay of gastrin in human serum. *Lancer* **1969 II**, 1388—1390.
- Hellerström, C., Hellman, B.: Some aspects of silver impregnation of the islets of Langerhans in the rat. *Acta endocr. (Kh.)* **55**, 518—532 (1960).
- Lomský, R., Langr, F., Vortel, V.: Immunohistochemical demonstration of gastrin in mammalian islets of Langerhans. *Nature (Lond.)* **223**, 618—619 (1969).
- McGuigan, J. E.: Immunochemical studies with synthetic human gastrin. *Gastroenterology* **54**, 1005—1011 (1968 a).
- Gastric mucosal intracellular localization of gastrin by immunofluorescence. *Gastroenterology* **55**, 315—327 (1968 b).
- On antibodies to Gastrin: concerning their production, behavioural characteristics, and uses. *Gut* **11**, 363—367 (1970).
- Greider, M. H.: Correlative immunochemical and light microscopic studies of the Gastrin cell in the antral mucosa. *Gastroenterology* **60**, 223—236 (1971).
- Trudeau, W. L.: Immunochemical measurement of elevated levels of gastrin in the serum of patients with pancreatic tumors of the Zollinger-Ellison variety. *New Engl. J. Med.* **278**, 1308—1313 (1968).
- — Studies with antibodies to Gastrin. Radioimmunoassay in human serum and physiological studies. *Gastroenterology* **58**, 139—150 (1970 a).
- — Serum Gastrin concentrations in pernicious anemia. *New Engl. J. Med.* **282**, 358—360 (1970 b).
- Nakane, P. K.: Classifications of anterior pituitary cell types with immunoenzyme histochemistry. *J. Histochem. Cytochem.* **18**, 9—20 1970).
- Pierce, G. B.: Enzyme-labeled antibodies for the light and electron microscopic localization of tissue antigens. *J. Cell Biol.* **33**, 307—318 (1967).
- Pearse, A. G. E.: *Histochemistry*. London: Churchill 1960.
- The cytochemistry and ultrastructure of polypeptide hormone-producing cells of the APUD series and the embryologic, physiologic and pathologic implications of the concept. *J. Histochem. Cytochem.* **17**, 303—313 (1969).
- Bussolati, G.: Immunofluorescence studies of the distribution of gastrin cells in different clinical states. *Gut* **11**, 646—648 (1970 a).
- Coulling, I., Weavers, B., Friesen, S.: The endocrine polypeptide cells of the human stomach, duodenum and jejunum. *Gut* **11**, 649—658 (1970 b).
- Solcia, E., Capella, C., Vassallo, G.: Lead-haematoxylin as a stain for endocrine cells. *Histochemistry* **20**, 116—126 (1969 b).
- Sampietro, R.: Cytologic observations on the pancreatic islets with reference to some endocrine-like cells of the gastrointestinal mucosa. *Z. Zellforsch.* **68**, 689—698 (1965).
- Vassallo, G., Capella, C.: Selective staining of endocrine cells by basic dyes after acid hydrolysis. *Stain Technol.* **43**, 257—263 (1968).
- — Studies on the G-cells of the pyloric mucosa, the probable site of gastrin secretion. *Gut* **10**, 379—388 (1969 a).

- Solcia, E., Vassallo, G., Capella, C.: Cytology and cytochemistry of hormone producing cells of the upper gastrointestinal tract. In: Origin, chemistry, physiology, and pathophysiology of the gastrointestinal hormones, ed. Creutzfeldt, W. Stuttgart: Schattauer 1970.
- — Sampietro, R.: Endocrine cells in the antropyloric mucosa of the stomach. Z. Zellforsch. **81**, 474—486 (1967).
- Trudeau, W. L., McGuigan, J. E.: Serum gastrin levels in patients with peptic ulcer disease. Gastroenterology **59**, 6—12 (1970).
- Vassallo, G., Capella, C., Solcia, E.: Grimalius' silver stain for endocrine cell granules as shown by electron microscopy. Stain Technol. **46**, 7—13 (1971).
- Solcia, E., Capella, C.: Licht and electron microscopic identification of several types of endocrine cells in the gastrointestinal mucosa of the cat. Z. Zellforsch. **98**, 333—356 (1969).
- Yalow, R. S., Berson, S. A.: Radioimmunoassay of gastrin. Gastroenterology **58**, 1—14 (1970).

Dr. H. Mitschke
Pathologisches Institut der Universität
BRD-2000 Hamburg 20, Martinistr. 52
Deutschland