

고슴도치 췌장 내분비부의 Glucagon(A), Insulin(B), Somatostatin(D) 및 Pancreatic Polypeptide(PP) 분비세포에 대한 면역세포화학적 연구

최월봉 · 최창도 · 원무호 · 서지은* · 김남중

한림대학 의학부 해부학교실, *이화여자대학교 자연과학대학 생물학과

고슴도치(*Erinaceus koreanus*)의 췌장 각 부위별에 출현하는 glucagon(A)세포, insulin(B)세포, somatostatin(D) 세포 및 pancreatic polypeptide(PP)세포 등 4종의 내분비세포의 출현빈도, 분포상태, 모양 및 크기 등을 관찰하고자 췌장을 비장부와 십이지장부로 구분하고 이를 각각 근위부, 중간부 및 원위부로 세분한 후 면역세포화학적 방법을 시도하여 광학현미경하에서 검경하였던 바 다음과 같은 결론을 얻었다.

Glucagon(A) 세포의 크기는 $13 \mu\text{m} \times 9.5 \mu\text{m}$ 였고 그 모양은 원형, 난원형 및 추체형을 띠고 있었으며 췌도의 주변부와 외분비 실질사이에 분포하고 있었다. A세포의 출현빈도는 비장부의 모든 부위에서 24.5%-30.5%, 십이지장부의 원위부에서는 30.1%로 관찰되었으나 십이지장부의 근위부와 중간부에서는 2.6%-5.2%로 관찰되었다.

Insulin(B) 세포의 크기는 $11.6 \mu\text{m} \times 9.4 \mu\text{m}$ 로서 원형 또는 난원형을 띠었고 췌도내에 균등하게 분포하고 있었으며, 비장부의 모든 부위와 십이지장의 원위부에서는 63.5%-68.9%, 십이지장부의 근위부와 중간부에서는 35.9%-55.6%로 출현하였다.

Somatostatin(D) 세포는 크기가 $12.6 \mu\text{m} \times 9.1 \mu\text{m}$ 로서 췌도의 주변부와 외분비 실질사이에 나타났으며 세포의 출현빈도는 비장부와 십이지장부의 모든 부위에서 2.6%-5.9%로서 소수 관찰되었다.

Pancreatic polypeptide(PP) 세포는 크기가 $12.8 \mu\text{m} \times 8.5 \mu\text{m}$ 였고 세포의 모양은 원형, 난원형 및 추체형 등 다양하였으며 췌도의 주변부와 외분비실질간에 주로 분포하고 있었다. PP세포의 출현빈도는 십이지장부의 근위부와 중간부에서는 각각 42.5%, 55.4%로서 관찰된 반면 비장부의 모든 부위와 십이지장부의 원위부에서는 0.5%-2%로서 소수 출현하였다.

KEY WORDS: *Erinaceus koreanus*, Endocrine cells, Immunocytochemistry

척추동물의 췌장은 동물에 따라 그 모양과 위치가 다소 차이는 있으나 각종 단백질, 탄수화물 및 지질분해효소 등을 포함한 소화액을 분비하는 외분비선과 더불어 체내혈당의 조절에 영향을 미치는 hormone을 분비하는 내분비선으로서 특히 내분비부는 췌도를 형성하여 이곳에서 insulin, glucagon, somatostatin 분비세포들이 분포하고 있음은 주지의 사실이다. 최근 세포조직화학적 방법(Kobayashi and Ali, 1981), 면역형광항체법 및 면역세포화학적 실험방법(Romb-

out *et al.*, 1979; Schweisthal *et al.*, 1981) 등을 이용하여 이들의 내분비세포의 분포상태와 세포질 조성에 관한 연구가 여러 학자들에 의해 활발히 진행되고 있다. 더욱 최근에는 pancreatic polypeptide외에 몇 종의 peptide분비세포가 확인되었다.

이들 내분비세포들 중 insulin 분비세포에서 분비되는 insulin은 혈당량을 감소시키며(Grodky *et al.*, 1967; Honey and Weir, 1979), glucagon은 주로 간 세포에 작용하여 당원분해를 촉진시켜 혈당량을 증가시킨다고 보고된 바 있다(Dobbs *et al.*, 1975). 한편 시상하부에서 분비되

본 연구는 한림대학 연구조성비로써 이루어졌음.

는 신경호르몬인 somatostatin은 하수체에서의 성장호르몬의 분비를 억제시킴은 물론이요 췌장의 내분비부에서도 분비되어 insulin과 glucagon의 분비조절 및 영양의 항상성을 유지시키며 당뇨병 연구에 중요한 내분비호르몬으로 연구 보고된 바 있다(Gerich *et al.*, 1974; Elde and Parsons, 1975; Schusdziarra *et al.*, 1978; Kirisch, 1980). 최근 여러 학자들에 의해 연구 대상이 되어온 pancreatic polypeptide(PP)는 Kimmel 등(1975) 및 Baetens 등(1977)의 조류 및 사람의 췌도 실험에서 각각 avian pancreatic polypeptide(APP) 및 human pancreatic polypeptide(HPP)라고 처음 명명한 이래 Sundler 등(1977) 및 Baskin 등(1984)은 수종의 포유류에서, Rhoten과 Hall(1981) 및 Rhoten(1984, 1987)은 파충류에서, Klein과 Noorden(1980), Johnson 등(1982)은 경골어류 등에서 본 세포가 출현하고 있음을 보고한 바 있었으나 아직 정확한 생리학적 기전에 대해서는 알려져 있지 않지만 Polak 등(1976)에 의한 조류의 위 실험결과에 의하면 pancreatic polypeptide가 위산분비를 촉진시키고 또한 간에서의 당원분해능을 자극시킨다고 기술한 바 있다.

한편 각종 동물의 췌장 부위별에 따른 췌도내에 출현하는 내분비 세포의 분포양상에 관하여는 계통발생학적 측면에서 몇몇 학자들에 의해 연구가 이루어져 왔다. 즉 Orci 등(1982)은 흰쥐에서 glucagon세포가 다수 출현하는 췌도(glucagon-rich islet)는 췌미, 췌체 및 췌두상부에서, pancreatic polypeptide세포가 다수 출현하는 췌도(pancreatic polypeptide-rich islet)는 췌두부의 중앙 및 하부에 주로 분포한다고 보고하였으며 Gersell 등(1979)은 사람 및 개 등에서의 pancreatic polypeptide세포의 분포는 insulin 및 glucagon 세포의 분포양상과 반비례한다고 기술한 바 있다. 그러나 동물에 따라 췌도내에 출현하는 4종류의 내분비세포 즉, 부위별에 따른 분포상태에 대한 연구보고는 아직 미흡한 편이며 고슴도치 췌장 내분비세포에 대한 연구보고는 저자들의 과문인지 아직 접하지 못하였다.

이상과 같은 사실에 비추어 본 연구는 계통발생학적 연구의 일환으로 식충목에 속하는 고슴

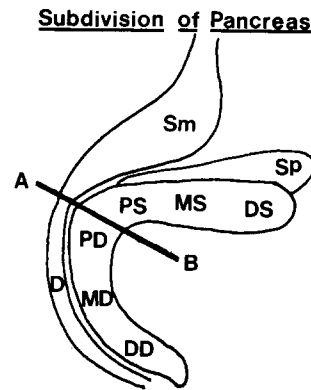


Fig. 1. Diagrammatic representation of the areas in the hedgehog pancreas. Proximal(PS), middle(MS) and distal(DS) portions of splenic region and proximal(PD), middle(MD) and distal(DD) portions of duodenal region. Line AB divides into each region. D: duodenum, Sm: stomach, Sp: spleen.

도치의 췌장 내분비에 분포하는 내분비세포 즉 insulin, glucagon, somatostatin 및 pancreatic polypeptide(PP) 분비세포의 각 부위별에 따른 분포상태와 세포모양 등을 면역세포화학적 방법을 통하여 관찰하고자함이 본 실험의 소의이다.

재료 및 방법

실험동물 및 조직처리

본 실험에 사용된 동물은 강원도 설악산에서 서식하는 식충목(insectivora)에 속하는 고슴도치 (*Erinaceus koreanus*)로서 활동기인 5월 중순경에 포획하여 ether로 마취하여 복강을 열고 즉시 췌장을 적출하고 주체관을 중심으로 췌장을 십이지장부와 비장부로 각각 구분한 다음 췌관으로부터 각 부위를 근위부, 중앙부 및 원위부로 세분하여(Fig. 1) 조직을 절취한 후 Bouin고정액에 4°C에서 고정한 다음 조직을 50% ethanol에 2-3일간 세척하여 picrin산을 완전히 제거한 후 일정한 탈수과정을 거쳐 paraffin포매를 하였다. 그 후 5 μ m두께로 연속절편을 작성하였으며 작성된 조직절편을 일정한 간격을 두고 선정하여 hematoxylin-eosin, 면역세포화학적 방법인 PAP의 단일염색 및 이중염색을 시행하였다(Nakane, 1968; Sternberger, 1979).

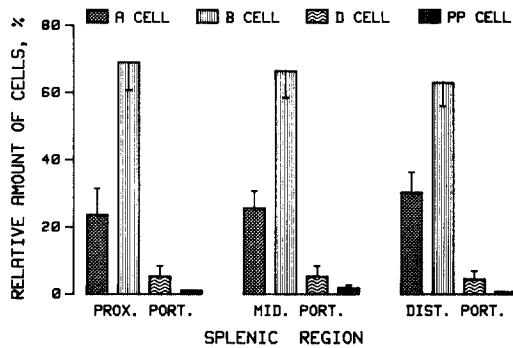


Fig. 2. Relative amount of pancreatic endocrine cells in each portions of the splenic region of hedgehog pancreas.

면역세포화학적 염색

면역세포화학적 염색에 이용한 1차 항체는 rabbit anti-human glucagon, insulin, somatostatin 및 pancreatic polypeptide(Dakopatts, USA)로서 각각 1:300, 1:200, 1:200 및 1:800으로 희석하여 사용하였으며 2차 항체는 효소가 표지된 horseradish peroxidase conjugated anti-rabbit IgG(Bio-yeda, Israel)를 1:250으로 희석하여 사용하였다. Peroxidase에 대한 기질액은 반응 결과 갈색을 나타내는 3,3'-diaminobenzidine 4 HCl(DAB)과 회청색을 띄는 4-Cl-1-naphthol용액을 각각 사용하였다. 즉 DAB는 Tris buffer(TB, 0.15 M, pH 7.3)에 용해(20 mg/100 ml)시킨 후 H₂O₂를 0.003%가 되도록 첨가하였고 4-Cl-1-naphthol은 ethanol에 녹여(50 mg/5 ml) 100 ml의 TB를 섞어 여과시킨 다음 H₂O₂가 0.003%가 되도록 첨가하여 사용하였다. 정색반응을 마친 절편은 Mayer hematoxylin으로 분별염색을 하였으며 이중염색 반응을 실시하기 위해 1차 염색반응을 실시했던 동일표본을 0.2 M glycine-HCl buffer(pH 2.2) 용액에 처리하여 조직내에 부착된 항체를 제거한 다음 두번째에 사용할 1차 항체 및 효소가 표지된 horseradish peroxidase conjugated anti-rabbit IgG에 처리하여 4-Cl-1-naphthol용액에서 자색반응을 확인한 후 이를 chrome-glycerin jelly로 봉입하였다.

항체염색된 조직절편은 우선 광학현미경하에

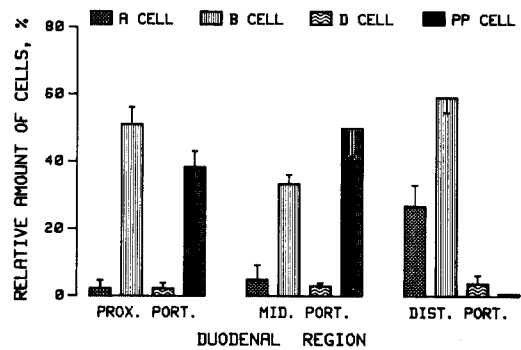


Fig. 3. Relative amount of pancreatic endocrine cells in each portions of the duodenal region of hedgehog pancreas.

서 검경한 후 췌장 각 부위별에 따른 연속절편을 임의로 택하여 조직 절편에 출현하는 세포 100개 이상을 선택하여 선택된 세포내에 출현하는 각종 내분비세포의 분포상 및 모양등을 관찰하였으며 각 부위별의 분포비율을 100분율로 환산하였다.

결 과

췌장의 내분비세포의 출현빈도는 동물 종류에 따라 부위별 차이가 있었음을 고려하여 췌장을 비장부와 십이지장부로 구분하였고 다시 이를 근위부, 중간부 및 원위부로 세분하여 췌장에 출현하는 glucagon(A) 세포, insulin(B) 세포, somatostatin(D) 세포 및 pancreatic polypeptide(PP) 세포의 출현빈도, 출현상태, 모양 및 크기 등을 관찰하였다. 일반염색표본에서 고습도치 췌장의 내분비세포들은 소혈관 주위와 췌장선포 사이에 대소 크기의 세포에 산재하고 있었으며 세포 속에서는 동양모세혈관간에 밝은 세포들이 모여 불규칙하게 열을 지어 나타났으나 H.E. 염색표본에서는 각종 내분비세포들을 쉽게 식별할 수 없었다.

Glucagon(A)세포

Glucagon항체에 양성반응을 보인 세포의 세포내 출현율은 비장부의 근위부에서 24.6%, 중간부에 26.3%, 원위부 30.5%로서 세부별에 차이

가 없이 비교적 높은 비율을 보였으나 십이지장의 근위부에서는 2.6%, 중앙부 5.2%로서 비장부에 비해 현저히 낮은 분포 비율을 보였다. 그러나 십이지장부의 원위부에서는 30.1%의 높은 출현율을 보여 비장부의 분포비율과 비슷하였다(Figs. 2 & 3).

A세포의 주분포지는 췌도의 주변부에 분포하고 있었고 외분비 실질 사이에서도 드물게 관찰되었으며 세포의 모양은 원형, 난원형 및 추체형 등 다양하였고 그 크기는 $13\mu\text{m} \times 9.5\mu\text{m}$ 였다(Figs. 4b, 5b, 6b, 7a, 8a, 9a & 10a).

Insulin(B)세포

Insulin항체에 양성반응을 보인 B세포의 출현율은 비장부의 근위부, 중간부 및 원위부에 각각 68.9%, 65.9% 및 63.5%, 십이지장부의 원위부 64.9%로서 비슷한 출현율을 보였으나 십이지장부의 근위부 및 중간부에서는 각각 55.6%와 35.9%로서 낮은 분포율을 보였다(Figs. 2 & 3). 본 세포는 췌도내에 균등 분포하고 있었으며 세포의 모양은 대다수가 원형 및 난원형을 띠고 있었고 크기는 $11.6\mu\text{m} \times 9.4\mu\text{m}$ 였다(Figs. 4a, 5a, 6a, 7b, 8b, 9b & 10b).

Somatostatin(D)세포

Somatostatin항체에 양성반응을 보인 D세포는 비장부와 십이지장의 모든 부위에서 2.6%-5.9%의 비교적 낮은 비율로 관찰되었으며(Figs. 2 & 3) 세포는 주로 췌도 주변에 분포하고 있었고 췌도 이외의 외분비 실질사이의 결합조직에서도 소수 출현하였다. 또 세포의 모양은 원형 및 난원형의 세포가 대다수였고 크기는 $12.6\mu\text{m} \times 9.1\mu\text{m}$ 였다(Figs. 4b, 5b, 6b, 7c, 8c, 9c & 10c).

Pancreatic polypeptide(PP)세포

Pancreatic polypeptide항체에 양성반응을 보인 세포의 분포비율은 십이지장부의 근위부에서 42.5%, 중간부에 55.4%로서 비교적 높은 출현율을 보였으나 십이지장부의 원위부와 비장부의 모든 부위에서는 0.5%-2%로서 최소한 출현율을 보였다(Figs. 2 & 3). PP세포는 췌도의 중앙

및 주변부에 산재하거나 외분비 실질사이의 결합조직에서도 출현하고 있었으며 세포의 모양은 원형, 난원형 및 추체형 등 다양하였고 크기는 $12.8\mu\text{m} \times 8.5\mu\text{m}$ 였다(Figs. 4a, 5a, 7d, 8d, 9d & 10d).

고 찰

췌장은 그 형태와 위치가 동물에 따라 다소 차이가 있는데 사람의 경우 태생기 중 배아형성 단계에서 췌두의 전부, 췌체 및 췌미는 배측 췌아에서 췌두의 후부와 구상돌기는 복측 췌아에서 각각 발생이 되어 장의 회전에 의하여 실질 부분이 융합하여 삼각주 모양을 띤 치밀한 실질장기를 형성하게 됨은 이미 잘 알려진 사실이다(Spooner *et al.*, 1970; Like and Orci, 1971; O'Rahilly and Müller, 1978). 그밖에 개, 말 및 돼지 등 대다수 포유동물에서는 췌장의 모양이 사람의 것과 다소 차이가 있으나 치밀한 실질장기로 형성되어 있는 (Nickel *et al.*, 1979) 반면에 설치류의 토끼, 흰쥐 및 생쥐 등은 불규칙한 모양으로 장간막에 미만성으로 분포하고 있으며 비장부와 십이지장부로 구분되어 있다(Munger *et al.*, 1965; Baetens *et al.*, 1979; Lundquist *et al.*, 1979; Orci, 1982).

본 실험에 이용된 고슴도치 췌장은 대부분 포유동물의 췌장과 같이 치밀한 실질장기로 되어 있으나 그 모양이 비장과 십이지장 사이에 걸쳐 말굽형(C자형)으로 길게 뻗어 있기에 저자들은 설치류의 경우와 같이 비장부와 십이지장부로 구분하였으며 아직 고슴도치 췌장발생에 대한 자세한 문헌에 접하지 못하였으나 아마도 비장부는 배측 췌아로부터 십이지장부는 복측 췌아로부터 발생되어 융합 형성된 것으로 추측된다. 이와 같이 췌장의 발생과 그 모양이 동물에 따라 차이가 있기에 췌장 속에 출현하는 각종 내분비 세포의 분포상태도 상이함을 과거 몇몇 연구자들에 의해 기술된 바 있다(Orci *et al.*, 1976; Gersell *et al.*, 1979; Baskin *et al.*, 1984; Rhoten, 1984, 1987). 따라서 저자들은 고슴도치 췌장 각 부위별에 출현하는 glucagon, in-

sulin, somatostatin, pancreatic polypeptide 분비세포들을 면역세포화학적 방법을 이용하여 비교 관찰하였다.

췌장 각 부위에서 glucagon세포의 출현율에 대한 과거 학자들의 연구에 의하면 Orci 등(1978)과 Gersell 등(1979)은 사람 및 개, Baetens 등(1979)은 흰쥐, Lundquist 등(1979)은 생쥐, 그리고 Rhoten(1987)은 악어의 췌장에서 glucagon 세포는 복측부에 비해 배측부에서 다수 출현된다고 하였는데 이와같은 사실을 본 실험결과와 비교하여 볼 때 고슴도치의 glucagon세포는 비장부(배측부)에서 높은 분포율을 보이므로써 여러 학자들의 결과와 유사한 결과를 보였으나 십이지장부의 근위부와 중간부에서는 소수 출현하였는데 반해 원위부에서는 다수 관찰되어 십이지장부의 glucagon세포의 분포는 특이한 양상을 띠고 있음을 알게 되었다.

Insulin세포의 출현율에 대한 연구보고를 살펴보면 사람 및 개(Orci *et al.*, 1978; Gersell *et al.*, 1979)에서는 췌체와 췌미에서, 생쥐(Lundquist *et al.*, 1979)에서는 배측부에서 다수 출현하였으나 악어(Rhoten, 1987)의 경우는 특이하게도 배측부와 복측부에서 다같이 소수 분포하고 있음을 시사하였다. 이는 저자들의 고슴도치 insulin 세포의 결과와 비교하여 볼 때 비장부(배측부)와 십이지장부의 원위부에는 4종류의 췌장 내분비세포들 중 가장 많이 출현한 것으로 보아 포유동물의 연구결과와 일치하였으나 파충류와는 상당한 차이를 보였는데 이는 동물 계통간의 체질 또는 체내에서 영위하는 호르몬의 균형에 의해 야기되는 것이 아닌가 사료된다.

고슴도치 췌장내분비세포 중 somatostatin분비세포에 대한 저자들의 실험 결과를 보면 비장부(배측부) 및 십이지장부(복측부)에 다같이 소수 출현하였는데 이는 Orci등(1978)의 사람 경우와 비교할 때 본 세포는 배측부와 복측부에서 소수가 관찰된다고 하여 고슴도치의 경우와 비슷하였으나 다른 포유동물 및 파충류에서의 분포양상과는 다소 차이를 보였다. 즉 Baetens 등(1979) 및 Lundquist 등(1979)의 흰쥐와 생쥐에서 본 세포가 배측부에 다수 출현하는 반면에 복측부에서는 소수 관찰되었다고 기술하였고

Rhoten(1987)의 악어에서는 배측부와 복측부에서 본 세포가 다수 출현되었다고 하여 사람을 비롯한 고슴도치의 결과와 약간의 차이가 있음을 알게 되었다.

Pancreatic polypeptide세포의 출현율에 대한 과거 몇몇 학자들의 견해를 살펴보면 사람 및 개(Larsson *et al.*, 1976; Orci *et al.*, 1978; Gersell *et al.*, 1979), 흰쥐 및 생쥐(Lundquist *et al.*, 1979; Orci, 1982) 그리고 악어(Rhoten, 1987)에서는 복측부에 많이 출현한 반면 배측부에서는 희소하게 관찰되었다고 하여 본 실험결과에서 본 세포가 십이지장부의 근위부 및 중간부, 즉 복측부에서 다수 출현한 사실은 과거 여러 연구결과와 상호 유사한 분포 양상을 보였으나 일부 십이지장부의 원위부와 비장부에서는 낮은 출현 비율을 보인 것은 다소 차이가 있음을 알게 되었다.

한편, 각종 동물의 췌장내분비계를 구성하는 내분비세포들의 분포상태에 대한 과거 연구자들의 결과를 살펴보면 glucagon세포에 대하여 Orci 등(1978)의 사람, Lundquist 등(1979)의 생쥐 실험에서 본 세포는 췌도의 주변부에 분포한다고 보고하였고 Orci 등(1976)과 Baetens 등(1979)은 쥐, Rhoten(1987)은 악어에서 본 세포가 췌도 주변과 췌도내에 산재성으로 존재하거나 혹은 소집단을 형성하며 분포하고 있음을 시사한 바 있는데 이는 저자들의 결과에서 본 세포가 주로 췌도의 주변부에 분포한다는 사실과 상호 부합하였으나 특이하게도 췌장의외분비실질(exocrine parenchyma)사이인 결합조직 내에서도 소수 관찰됨은 아직 타 학자들에 의해 기술된 바 없는데 이는 아마도 동물의 종에 의한 것이 아닌가 추측된다.

본 실험에서의 고슴도치 췌장 insulin세포의 분포상태를 살펴보면 세포가 췌도내에 집단을 형성하여 균등 분포하고 있었는데 이러한 결과는 대부분의 포유동물의 분포양상과 비교하여 볼 때 사람 및 개(Gersell *et al.*, 1979), 흰쥐와 생쥐(Orci *et al.*, 1978; Lundquist *et al.*, 1979)의 실험결과와 호상 일치된 결과를 보였다. 그러나 고슴도치의 insulin세포의 극소수가 glucagon세포와 같이 외분비 실질사이에도 관찰되어 다소

특이한 분포 양상을 띠고 있었다.

과거 문헌에서 somatostatin세포의 분포상태에 대해서는 동물의 종에 따라 서로 상이한 보고가 있었다. 즉 흰쥐 및 토끼(Alumets *et al.*, 1977), 생쥐(Lundquist *et al.*, 1979) 및 뱀(Rhoten, 1984)에서는 주로 췌도 주변에 분포한다고 하였는데 개, 고양이 및 닭(Alumets *et al.*, 1977) 등에서는 췌도의 주변과 외분비 실질사이에서도 관찰됨이 보고되었다. 이는 저자들의 결과에서 본 세포가 주로 췌도의 주변부와 외분비 실질간에서도 소수 관찰된 사실을 비루어 개, 고양이 및 닭의 경우와 상호 일치하였으나 설치류 및 파충류와는 다소 차이가 있었다.

끝으로 pancreatic polypeptide세포의 내분비부에서의 분포상태에 대하여 Adrian 등(1976) 및 Polak 등(1976)은 사람, Lundquist 등(1979)은 생쥐, Rhoten(1984)은 뱀에서 본 세포가 췌도의 주변 및 외분비 실질 사이에서 관찰된다고 하였는데 이는 저자들의 고슴도치 결과와 비교하여 볼 때 수적인 차이는 다소 있었으나 호상부합하였으며 동물에 따른 종간의 차이는 없음을 알게 되었다.

이상과 같은 결과를 종합하여 볼 때 고슴도치 췌장 각 부위별에 출현하는 췌장내분비세포들의 분포비율과 분포상태가 사람을 비롯한 수종의 포유동물 및 파충류와 다소 차이가 있음이 인지되었다.

인용문헌

- Adrian, T. E., S. R. Bloom, M. G. Bryant, J. M. Polak, P. H. Heitz, and A. J. Barnes. 1976. Distribution and release of human pancreatic polypeptide. *Gut* **17**:940-944.
- Alumets, J., F. Sundler, and R. Hakanson. 1977. Distribution, ontogeny and ultrastructure of somatostatin immunoreactive cells in the pancreas and gut. *Cell Tiss. Res.* **185**:465-479.
- Baetens, D., F. Malisse-Lagae, A. Perrelet, and L. Orci. 1979. Endocrine pancreas: Three-dimensional reconstruction shows two types of islets of Langerhans. *Science* **206**:1323-1324.
- Baetens, D., De Mey, and W. Gepts. 1977. Immunohistochemical and ultrastructure identification of the pancreatic-polypeptide-producing cell(pp-cell) in the human pancreas. *Cell Tiss. Res.* **185**:239-246.
- Baskin, D. G., K. C. Gorry, and W. Y. Fujimoto. 1984. Immunohistochemical identification of cells containing insulin, glucagon, somatostatin and pancreatic polypeptide in the islets of Langerhans of the guinea pig pancreas with light and electron microscopy. *Anat. Res.* **208**:567-578.
- Dobbs, R. E., H. Sakurai, H. Sasaki, G. Faloona, I. Valverde, D. Baetens, L. Orci, and R. H. Unger. 1975. Glucagon: Role in the hyperglycemia of diabetes mellitus. *Science* **187**:544-547.
- Elde, R. P. and J. A. Parsons. 1975. Immunohistochemical localization of somatostatin in cell bodies of the rat hypothalamus. *Am. J. Anat.* **144**:541-548.
- Gerich, J. E., M. Lorenzi, V. Schneider, J. H. Karam, J. Rivier, R. Guillemin, and P. Forsham. 1974. Effects of somatostatin on plasma glucose and glucagon levels in human diabetes mellitus. Pathophysiologic and therapeutic implication. *N. Engl. J. Med.* **291**:544-547.
- Gersell, D. J., R. I. Gingerich, and M. H. Greider. 1979. Regional distribution and concentration of pancreatic polypeptide in the human and canine pancreas. *Diabetes* **28**:11-15.
- Grodsky, G. M., L. L. Bennett, D. F. Smith, and F. G. Schmid. 1967. Effects of pulse administration of glucose or glucagon on insulin secretion *in vitro*. *Metabolism* **16**:222-233.
- Honey, R. N. and G. C. Weir. 1979. Insulin stimulates somatostatin and inhibits glucagon secretion from the perfused chicken pancreas-duodenum. *Life Sci.* **24**:1747-1750.
- Johnson, D. E., B. C. Noe, and G. E. Bauer, 1982. Pancreatic polypeptide(PP)-like immunoreactivity in the pancreatic islets of the anlgfish(*Lophius americanus*) and the channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Ant. Rec.* **204**:61-67.
- Kimmel, J. R., L. J. Hayden, and H. G. Pollock. 1975. Isolation and characterization of a new pancreatic polypeptide hormone. *J. Biol. Chem.* **25**:9369-9376.
- Klein, C. and S. V. Noorden. 1980. Pancreatic polypeptide(PP)-and glucagon cells in the pancreatic islets of *Xiphophorus helleri* H. (Teleostei). Correlative immunohistochemistry and electron microscopy. *Cell Tiss. Res.* **205**:187-198.
- Kobayashi, K. and S. S. Ali. 1981. Cell types of the endocrine pancreas in the shark *Scyliorhinus stellaris* as revealed by correlative light and electron microscopy. *Cell Tiss. Res.* **215**:475-490.
- Krisch, B. 1980. Differing immunoreactivities of somatostatin in the cortex and the hypothalamus of the rat. A light and electron microscopic study. *Cell Tiss. Res.* **212**:457-464.

- Larsson, L.-I., F. Sundler, and R. Håkanson. 1976. Pancreatic polypeptide— a postulated new hormone: identification of its cellular storage site by light and electron microscopic immunocytochemistry. *Diabetologia* **12**:211-226.
- Like, A. A. and L. Orci. 1971. Embryogenesis of the human pancreatic islets: A light and electron microscopic study. *Diabetes* **20**:511-534.
- Lundquist, I., F. Sundler, B. Ahren, J. Alumets, and R. Håkanson. 1979. Somatostatin, pancreatic polypeptide, substance P, and neurotensin: Cellular distribution and effects on stimulated insulin secretion in the mouse. *Endocrinology* **104**(3):832-838.
- Munger, B. L., F. Caramia, and P. E. Lacy. 1965. The ultrastructural basis for the identification of cell types in the pancreatic islets: II. Rabbit, dog and opossum. *Z. Zellforsch.* **67**:766-798.
- Nakane, P. K. 1968. Simultaneous localization of multiple tissue antigen using the peroxidase-labeled antibody method: A study on pituitary glands of the rat. *J. Histochem. Cytochem.* **16**:557-560.
- Nickett, R., A. Schummer, and E. Seiferle. 1979. *The viscera of the domestic mammals*, 2nd ed., Springer-Verlag New York. pp. 119-122.
- O'Rahilly, R. and F. Müller. 1978. A model of the pancreas to illustrate its development. *Acta anat.* **100**:380-385.
- Orci, L. 1982. Macro- and micro-domains in the endocrine pancreas. *Diabetes* **31**:538-564.
- Orci, L., D. Baetens, M. Ravazzola, Y. Stefan, F. Malaisselagae. 1976. Pancreatic polypeptide and glucagon: non-random distribution in pancreatic islets. *Life Sci.* **19**:1811-1816.
- Orci, L., F. Malaissel-Lagae, D. Baetens, and A. Perrelet. 1978. Pancreatic polypeptide rich regions in the human pancreas. *Lancet* **2**:1200-1201.
- Polak, J. M., T. E. Adrian, M. G. Bryant, S. R. Bloom, P. H. Heitz, and A. G. E. Pearse. 1976. Pancreatic polypeptide in insulinomas, gastrinomas, vipomas, and glucagonomas. *Lancet* **1**:328-330.
- Rhoten, W. B. 1984. Immunocytochemical localization of four hormones in the pancreas of the garter snake, *Thamnophis sirtalis*. *Anat. Rec.* **208**:233-242.
- Rhoten, W. B. 1987. Quantitative immunocytochemical analysis of the endocrine pancreas of the Nile crocodile. *Am. J. Anat.* **178**:103-115.
- Rhoten, W. B. and C. E. Hall. 1981. Four hormone in the pancreas of the lizard, *Anolis carolinensis*. *Anat. Rec.* **199**:89-97.
- Rombout, J. H. W. M., L. H. P. M. Rademakers, and J. P. van Hees. 1979. Pancreatic endocrine cells of *Barbus conchonus* (Teleostei, Cyprinidae), and their relation to the enteroendocrine cells. *Cell Tiss. Res.* **203**:9-23.
- Schusdziarra, V., E. Lipp, V. Harris, R. E. Dobbs, P. Raskin, L. Orci, and R. H. Unger. Studies of the physiology and pathophysiology of the pancreatic D cell. *Metabolism* **29**(9), Supl. 1:1227-1232.
- Schweisthal, M. R., L. D. Clark, and J. L. Shevell. 1981. The staining of pancreatic delta cells for light microscopy. *Stain Technol.* **56**:25-28.
- Spooner, B. S., B. T. Walther, and W. J. Rutter. 1970. The development of the dorsal and ventral mammalian pancreas *in vivo* and *in vitro*. *J. Cell Biol.* **47**:235-246.
- Sternberger, L. A. 1979. Immunocytochemistry, 2nd ed., pp. 104-169, John Wiley & Sons, New York.
- Sundler, F., R. Håkanson, I. Lundquist, and L.-I. Larsson. 1977. Effect of alloxan on rat pancreatic polypeptide (PP) cells. *Cell Tiss. Res.* **178**:307-312.

(Accepted February 24, 1988)

Immunocytochemical Study on Endocrine Cells Containing Insulin, Glucagon, Somatostatin and Pancreatic Polypeptide in the Pancreas and of the Hedgehog, *Erinaceus koreanus*

W. B. Choi, C. D. Choi, M. H. Won, J. E. Seo*, N. J. Kim, (Dept. of anatomy, Hallym University, Chunchön 200-010; *Dept. of Biology, Ewha Womans University, Seoul 120-750, Korea)

This study was attempted to investigate the regional distribution and shapes of pancreatic endocrine cells in the hedgehog, *Erinaceus koreanus*, by the immunocytochemical PAP methods (Nakane, 1968; Sternberger, 1979).

The tissue specimen taken from the splenic and duodenal regions of pancreas (proximal, middle and distal portions, respectively) were fixed with Bouin solution and the sections (5 μ m) were followed by simple and double staining with 2 substrates, DAB and 4-Cl-1-naphthol. The results were as following:

Glucagon(A) cells, 13 \times 9.5 μ m in size, were found in the islets periphery and among the

exocrine parenchyma. A cells were abundant in all the portions of splenic region and distal portion of duodenal region in contrast to a few in the proximal and middle portion of duodenal region. The shapes of the A cells were round, oval and pyramidal types.

Insulin(B) cells, $11.6 \times 9.4 \mu\text{m}$ in size, were round or oval in shape and located throughout the islets. B cells were the most numerous cell types in all portions of splenic region and distal portion of duodenal region as compared with the other portions.

Somatostatin(D) cells, $12.6 \times 9.1 \mu\text{m}$ in size, were round or oval in shape and found in the islets periphery and scattered in the exocrine parenchyma. These cells were rare in all the portions of splenic and duodenal region.

Pancreatic polypeptide(PP) cells of various type, $12.8 \times 8.5 \mu\text{m}$ in size, were found in the islets periphery and among the exocrine parenchyma. PP cells were numerous in the proximal and middle portion of duodenal region, but rarely scattered in the other portions.

Legends to Figures

Fig. 4a. Double immunocytochemical staining of insulin (brown) and pancreatic polypeptide immunoreactive cells (blue) of proximal portion in splenic region of the pancreas. Numerous insulin cells (B cells) are distributed throughout the islet and a pancreatic polypeptide cell (PP cell, arrow) is shown in the center of islet. X310.

Fig. 4b. Serial section of Fig. 4a. A few of somatostatin immunoreactive cells (D cells, brown, arrows) and many glucagon immunoreactive cells (A cells, blue) are usually distributed at periphery of pancreatic islet. X310.

Fig. 5a. Localization of B cells(brown) and PP cells (blue) of middle portion in duodenal region of pancreas. B cells are found in groups throughout islet, whereas most of PP cells are distributed at islet periphery and a few of cells (arrows) are noted between exocrine parenchymal acini. X310.

Fig. 5b. Serial section of Fig. 5a. D cells (brown) and A cells (blue, arrow) are rarely distributed at periphery of islet. X310.

Fig. 6a. Double immunostaining of B cells (brown) and PP cells (blue) of distal portion in duodenal region. Numerous B cells are distributed throughout pancreatic islet. Notes a few of PP cells which are mainly found at islet periphery. X310.

Fig. 6b. Serial section of Fig. 6a. A few of D cells (brown) are scattered in islet periphery and many A cells (blue) are generally distributed at periphery of islet. X310.

Fig. 7a. In proximal portion of splenic region, glucagon immunoreactive cells by simple PAP staining are round oval and pyramidal in shape and mainly distributed at islet periphery. X310.

Fig. 7b. Adjacent section of Fig. 7a. B cells are distributed in group throughout islet. X310.

Fig. 7c. Adjacent section of Fig. 7a. D cells are mainly located in islet periphery and a somatostatin cell (arrow) is shown between exocrine parenchymal acini. These cells (inlet, X1,250) are round or oval in shape. X200.

Fig. 8a. Immunocytochemical staining of A cells of distal portion in splenic region. Most of glucagon secreting cells are mainly found in islet periphery and a cell (arrow) is located between exocrine parenchymal acini. X200.

Fig. 8b. Adjacent section of Fig. 8a. B cells are distributed in group throughout islet. X200.

Fig. 8c. Adjacent section of Fig. 8a. Some somatostatin immunoreactive cells are mainly located at islet periphery. The D cell (inlet, X1250) is shown oval in shape. X200.

Fig. 8d. PP cells of distal portion of splenic region. A few of these cells are found in islet and a cell (arrow) is noted between exocrine parenchymal acini. X310.

Fig. 9a-9d. Pancreatic endocrine cells in four adjacent sections of middle portion in duodenal region. Some A cells are scattered in islet (Fig. 9a, X310). Fig. 9b showed that numerous B cells are distributed in group throughout islet (X310). Note some D cells which are mainly located at islet periphery (Fig. 9c, X310). Fig. 9d showed that many PP cells of cluster are found at periphery of islet. X310.

Fig. 10a. Glucagon immunoreactive cells of cord type are mainly found at islet periphery of distal portion in duodenal region. X500.

Fig. 10b. Adjacent section of Fig. 10a. Numerous insulin secreting cells are found in groups in islet. X500.

Fig. 10c. Adjacent section of Fig. 10a. A somatostatin cell (arrow) is noted at islet periphery. X500.

Fig. 10d. Immunostaining of PP cells of distal portion in duodenal region. A few of these cells are found in islet and a cell (arrow) is shown between exocrine parenchymal acini. X500.

