

기러기 췌장 내분비세포에 대한 면역조직화학적 연구

이재현 · 구세광 · 이형식*

경북대학교 수의과대학 조직학교실
경산대학교 자연과학대학 기초과학부*

(1999년 3월 16일 접수)

An immunohistochemical study on the endocrine pancreas of the bean goose, *Anser fabalis*, Latham

Jae-hyun Lee, Sae-kwang Ku, Hyeung-sik Lee*

*Department of Histology, College of Veterinary Medicine, Kyungpook National University
Faculty of Basic Science, College of Natural Science, Kyungsan University**

(Received Mar 16, 1999)

Abstract : The regional distribution and relative frequency of the endocrine cells in the pancreas of the bean goose were investigated by immunohistochemical methods using 6 types of the specific antisera.

Spindle shaped serotonin-immunoreactive cells were detected in the exocrine portions. Spherical or spindle shaped glucagon-immunoreactive cells were observed in the exocrine and dark and mammalian type islets. In the dark type islets, numerous cells were dispersed throughout whole islets but they were located in the peripheral regions of the mammalian type islets. No glucagon-immunoreactive cells were detected in light type islets. Round or spherical shaped insulin-immunoreactive cells were observed in the exocrine and dark, light and mammalian type islets. They were observed in the exocrine regions with a few numbers. Extremely rare cells were detected in central portion of the dark type islets but moderate to numerous cells were found in the central regions of the mammalian and light type islets, respectively. Spherical or spindle shaped somatostatin-immunoreactive cells were observed in the exocrine and dark, light and mammalian type islets. A few single cells were detected in the exocrine portions. In the dark type islets, numerous cells were dispersed throughout whole islets but a few to moderate numbers of cells were located in the peripheral regions of the light and mammalian type islets. Moderate numbers of the bovine pancreatic polypeptide-immunoreactive cells were found in the exocrine portions with round, spherical or spindle shape. But no bovine Sp-1/chromogranin-immunoreactive cells were observed in this study.

Key words : bean goose, immunohistochemistry, pancreas, endocrine cells.

서 론

췌장은 외분비부와 내분비부로 구성된 복합샘이며^{1,2} 특히 조류의 췌장은 해부학적으로 등쪽엽, 배쪽엽, 제 3엽 및 비장엽 등 총 4개의 엽으로 이루어져 있다. 또한 췌장섬은 포유류와 달리 3가지 형태 즉, 다수의 A세포 및 소수의 D세포로 구성된 dark 췌장섬(dark type islet), 다수의 B세포와 소수의 D세포로 구성되는 light 췌장섬(light type islet) 및 다수의 B세포와 소수의 A 및 D세포로 구성되는 포유류형(mammalian type, mixed 형)으로 구분된다^{3,4}. 그러나 조류의 췌장에서 내분비세포에 관한 보고는 닭^{3,4}, 집오리⁵ 및 청둥오리^{6,7} 등 일부 조류에서만 수행되어져 있으며 특히 기러기 췌장 내분비세포에 대한 보고는 찾아볼 수 없다.

본 연구에서는 기러기 췌장을 Iwanaga *et al*³의 방법에 따라 외분비부, dark, light 및 포유류형 췌장섬으로 구분하고 serotonin, glucagon, insulin, bovine pancreatic polypeptide(BPP), somatostatin 및 bovine Sp-1/chromogranin(BCG) 항혈청을 이용한 면역조직화학적 방법으로 이들 세포의 부위별 분포 및 출현빈도를 관찰하였다.

재료 및 방법

암·수 구별없이 큰기러기(Bean Goose, *Anser fabalis* Latham) 성체 5마리를 실험에 사용하였고 실험동물은 방혈후 췌장조직을 절취하여 Bouin 액에 24시간 이상 고정하였다. 고정된 조직편들은 에타놀 계열에 탈수한 후 paraffin에 포매하여 3-4 μ m의 연속절편을 제작하였다. 이

후 각 부위의 정확한 조직학적 구조를 확인하기 위하여 hematoxylin-eosin(H-E) 염색을 실시하였다.

면역반응세포를 관찰하기 위하여 peroxidase anti peroxidase(PAP) 법⁸에 의한 면역조직화학적 염색을 실시하였다. 면역조직화학적 염색을 위하여 먼저 파라핀을 제거한 조직절편을 100% methanol과 0.1% 과산화수소(H₂O₂)에 각각 30분간 침적하여 조직내의 내인성 peroxidase를 억제시킨 후 phosphate buffered saline(PBS; 0.01M, pH 7.4)으로 30분간 3회 세척하였다. 이어 비특이적인 면역 globulin의 결합을 방지하기 위하여 normal goat serum으로 실온에서 1시간 전처리한 후 Table 1에서와 같이 1차 항혈청으로 4℃ 냉장고 내에서 24시간 이상 반응시키고 PBS로 30분간 3회 세척하였다. 이후 2차 항혈청인 anti-rabbit IgG goat serum으로 실온에서 1시간 반응시킨 후 PBS로 30분간 3회 세척하였다. 이어 peroxidase anti peroxidase complex(Sigma, USA)로 실온에서 1시간 반응시킨 후 PBS로 30분간 3회 세척하였다. 그후 DAB 용액(3,3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride containing 0.01% H₂O₂ in Tris-HCl buffer(0.05M, pH 7.6)으로 발색시킨 후 Mayer's hematoxylin으로 가볍게 핵 염색을 실시하여 Iwanaga *et al*³의 방법에 따라 외분비부, dark, light 및 포유류형 췌장섬으로 구분하고 광학현미경하에서 관찰하였다.

결 과

기러기 췌장에 출현하는 serotonin, glucagon, insulin, BPP, somatostatin 및 BCG 면역반응세포의 부위별 분포와 출현빈도는 Table 2에 나타내었다.

Serotonin 면역반응세포는 외분비 샘포 사이에서만 극

Table 1. Antisera used in this study

Antisera*	Code	Source	Dilution
Serotonin	BO68082C	BioGenex	1 : 20
Glucagon	PUO390598	BioGenex	1 : 20
Insulin	PUO290395	BioGenex	1 : 500
Bovine pancreatic polypeptide(BPP)	PUO660495	BioGenex	1 : 20
Somatostatin	PUO421295	BioGenex	1 : 20
Bovine Sp-1/chromogranin(BCG)	517210	Incstar, Stillwater	1 : 500

* All antisera were raised in rabbits except for insulin which was raised in a guinea pigs.

Table 2. The relative frequencies of immunoreactive cells in the pancreas of the bean goose

	Exocrine	Endocrine		
		Dark type islet	Light type islet	Mammalian type islet
Scrotonin	±	-	-	-
Glucagon	+	+++	-	+
Insulin	+	±	+++	++
Bovine pancreatic polypeptide	++	-	-	-
Somatostatin	+	+++	++	+
Bovine Sp-1/chromogranin	-	-	-	-

* - : not detected, ± : rare, + : few, ++ : moderate, +++ : numerous.

소수 관찰되었으며 내분비부분에서는 관찰되지 않았다. 이들 면역반응세포들은 타원형 또는 방추형을 나타내며 단독으로 관찰되었다(Fig 1).

Glucagon 면역반응세포는 외분비부, dark 및 포유류형 췌장섬에서 관찰되었으며 light 췌장섬에서는 관찰되지 않았다(Fig 2a-c). 이들 면역반응세포들은 타원형 내지 방추형을 나타내며 소수의 세포들이 외분비 샘포 사이에서 단독으로 분포하였다(Fig 2a). 내분비부인 dark 췌장섬에서는 타원형 또는 방추형의 형태를 나타내는 다수의 면역반응세포들이 섬 전체에 걸쳐 산재되어 관찰되었으며(Fig 2b) 포유류형 췌장섬에서는 중등도의 면역반응세포들이 섬의 가장자리 부분에 국한되어 관찰되었다(Fig 2c).

Insulin 면역반응세포는 외분비부, dark, light 및 포유류형 췌장섬에서 원형 또는 타원형으로 관찰되었다(Fig 3a-d). 외분비부에서는 외분비 샘포 사이에서 단독 또는 2-3개씩 무리지어 관찰되었으며(Fig 3a) 내분비부인 dark 췌장섬에서는 극소수의 면역반응세포가 섬의 중앙 부분에서 관찰되었다(Fig 3b). 한편 light 및 포유류형 췌장섬에서는 다수 또는 중등도의 면역반응세포들이 섬의 안쪽에서 집중적으로 관찰되었다(Fig 3c, d).

중등도의 BPP 면역반응세포들은 원형, 타원형 및 방추형의 형태를 나타내었고 외분비 샘포 사이에서만 관찰되었다(Fig 4)

Somatostatin 면역반응세포는 외분비부, dark, light 및 포유류형 췌장섬에서 타원형 내지 방추형의 형태로 관찰되었다(Fig 5a-d). 외분비부에서는 소수의 세포가 외분비 샘포 사이에서 단독으로 관찰되었고(Fig 5a) 내부분

비부인 dark 췌장섬에서는 섬 전체에 걸쳐 다수의 면역반응세포들이 산재되어 관찰되었다(Fig 5b). 한편 light 및 포유류형 췌장섬에서는 중등도 또는 소수의 면역반응세포들이 섬의 가장자리 부분에 국한되어 관찰되었다(Fig 5c, d).

BCG 면역반응세포는 본 실험의 결과 관찰되지 않았다.

고 찰

기러기 췌장에서 6종의 항혈청에 대한 내분비세포를 관찰하였던 바 BCG를 제외한 5종의 내분비세포들이 면역반응을 나타내었으며 이들 내분비세포들의 부위별 분포 및 출현빈도는 다른 조류와 대체로 유사하였으나 일부 상이한 결과도 관찰되었다.

Serotonin은 평활근 수축작용을 포함한 각종 기능을 담당하며 소화관 내분비계에서는 장크롬친화성 세포에서 분비된다⁹. 한편 조류의 췌장에서 이들 면역반응세포의 분포 및 출현에 대해서는 닭¹⁰, 집오리⁵ 및 청둥오리⁷에서 보고되어 있으며 특히 Ding *et al*¹¹은 동물의 종에 따라 매우 다양한 분포를 나타낸다고 보고하였다. 본 실험의 결과 이들 면역반응세포는 외분비 샘포 사이에서만 극소수로 관찰되어 청둥오리에서 부화후 9주령 이상에서는 외분비부에서만 관찰된다는 Lee *et al*⁷의 보고 및 닭의 췌장에서 이들 면역반응세포들이 주로 췌장 외분비부에 국한되어 관찰된다는 Ding *et al*¹¹의 보고와 일치되는 소견을 나타내었으나 집오리의 췌장에서 dark, light 및 포유류형 췌장섬에서 모두 관찰된다는 Lucini *et al*⁵의 보고 및 닭의 췌장에서 A세포와 serotonin 면역반

용세포들이 공존하여 관찰된다는 보고¹⁰와는 다소 차이를 나타내었다. 그러나 청둥오리의 췌장에서 부화후 7주까지 이들 내분비세포가 내분비 췌장섬에서도 관찰된 바 있어⁷ 성체 이전의 기러기 췌장에서 췌장섬에서의 출현을 배제할 수 없는 바 태생기를 비롯한 연령에 따른 분포 및 출현빈도에 대한 연구가 행해져야 할 것으로 생각된다.

Glucagon은 췌장의 A세포에서 생성되며 주로 당대사에 관여하는 호르몬으로 알려져 있으나 소화관에서는 위수축운동이나 위산분비를 억제하는 작용을 가지고 있다.^{1,2,12} 한편 조류의 췌장에서 이들 면역반응세포의 분포 및 출현에 관해서는 닭³, 집오리⁵ 및 청둥오리⁶에서 보고되어 있다. 이들 보고에서 glucagon 면역반응세포는 주로 dark 췌장섬 전반에 걸쳐 산재되어 있으며 포유류형 췌장섬에서는 가장자리에 국한되어 존재한다. 그러나 light 췌장섬에 있어서 그 출현여부는 닭³에서는 전혀 출현하지 않는다고 하였으나 청둥오리⁶에서는 췌장섬의 가장자리 부분에 극소수의 세포들이 관찰된다고 하여 다소 차이를 나타내고 있다. 본 실험의 결과 기러기 췌장에서 이들 면역반응세포들은 dark 췌장섬 전반에 걸쳐 다수 관찰되고 포유류형 췌장섬의 가장자리와 외분비샘포 사이에서도 소수의 면역반응세포가 관찰되어 이전의 보고들^{3,5,6}과 유사하였다. Light 췌장섬에서는 관찰되지 않아 닭³에서의 보고와 일치하였으나 집오리⁵ 및 청둥오리⁶에서의 보고와는 다소 차이를 나타내었다.

Insulin은 췌장의 B세포에서 분비되며 탄수화물 대사 증진, glucagon 저장촉진, 지방산과 단백질 합성 촉진작용을 가지며 체내 혈당치 감소작용이 강한 polypeptide 호르몬이다.¹² 조류에서 이들 면역반응세포는 주로 light 및 포유류형 췌장섬의 안쪽 부분에 분포하며 일부 조류에서는 dark 췌장섬의 가장자리와 외분비샘포 사이에서도 소수 관찰된다^{3,5,6,13}. 본 실험의 결과 기러기 췌장에서 insulin 면역반응세포들은 주로 light 및 포유류형 췌장섬의 안쪽 부분에 집중 관찰되어 이전의 보고들^{3,5,6,13}과 유사하였다. Dark 췌장섬에서도 극소수의 세포들이 관찰되어 닭의 dark 췌장섬에서는 이들 세포들이 관찰되지 않는다고 한 Iwanaga *et al*³의 보고와는 다소 차이를 나타내었으나 청둥오리의 dark 췌장섬에서 소수의 세포들이 관찰된다는 Lee *et al*⁶의 보고와는 유사하였다. 한편 외분비샘포 사이에서도 소수의 면역반응세포가 관찰된 점은 닭³에서의 보고와 일치하였으나 청둥오리의 췌장

에서 이들 세포의 출현이 연령에 따라 매우 심한 차이를 나타낸다는 Lee *et al*⁶의 보고로 미루어 기러기의 췌장에서 연령에 따른 변화가 수반될 것으로 생각된다.

PP는 36개의 아미노산으로 구성된 polypeptide 호르몬으로서 그 정확한 기능은 밝혀져 있지 않으나 조류에서 위산분비와 간에서 당원분해를 자극한다고 하며¹⁴ 이들 세포는 출생후 급증한다고 알려져 있다^{15,16}. 한편 조류의 췌장에서 이들 면역반응세포들은 주로 외분비샘포 사이에서 관찰된다^{3,7}. 특히 Lee *et al*⁷은 청둥오리의 췌장에서 이들 세포들의 연령에 따른 변화를 관찰했던 바 부화후 일정기간에 걸쳐 췌장섬의 가장자리 부분에서도 관찰되었으나 그 이후 연령에서는 관찰되지 않는다고 하였다. 본 실험의 결과 기러기의 췌장에서 이전의 보고들^{3,7}과 유사하게 외분비샘포 사이에서만 관찰되었다.

Somatostatin은 양의 시상하부에서 최초로 분리된 polypeptide 호르몬으로서 대부분의 호르몬에 대한 억제작용을 나타낸다^{17,18}. 조류의 dark 췌장섬에서는 glucagon과 유사하게 섬 전체에 산재되어 관찰되며 light 및 포유류형 췌장섬에서는 섬의 가장자리 부분에 국한되어 관찰되고 외분비샘포 사이에서도 소수 관찰되어진다^{3,5,6}. 본 실험에서도 이전의 보고들^{3,5,6}과 유사하게 관찰되었다.

Chromogranin(CG)은 여러 종류의 내분비세포에 존재하는 acidic protein으로 amine과 peptide 생산세포의 분비과립에 공존하며¹⁹⁻²² 내분비세포의 marker로 유용하다²³⁻²⁵. 조류의 췌장에서 CG 면역반응세포의 출현에 대해 Takayanaki와 Watanabe²⁶는 닭의 insulin 세포에서 CGA의 면역반응성이 관찰된다고 하였으며 Castaldo *et al*²⁷은 췌장에서 CGA 면역반응세포가 관찰되지 않는다고 하였다. Grube *et al*²⁸은 동물의 종에 따라 매우 다양한 CGA 면역반응세포의 분포를 나타낸다고 하여 동물의 종간의 차이가 인정되고 있다. 한편 본 실험의 결과 BCG 면역반응세포가 관찰되지 않은 점은 동물의 종 차이로 생각된다.

결 론

기러기 췌장에 출현하는 내분비세포의 부위별 분포 및 출현빈도를 관찰하기 위하여 췌장을 외분비부, dark, light 및 포유류형 췌장섬으로 구분하고, serotonin, glucagon, insulin, bovine pancreatic polypeptide(BPP), somatostatin 및 bovine Sp-1/chromogranin(BCG) 항혈청을 이용

하여 면역조직화학적으로 관찰하였다.

타원형 내지 방추형의 serotonin 면역반응세포가 외분비 샘포 사이에서만 단독으로 관찰되었다. Glucagon 면역반응세포는 타원형 내지 방추형의 형태로 외분비부, dark 및 포유류형 췌장섬에서 관찰되었고 light 췌장섬에서는 관찰되지 않았다. 외분비부에서는 소수의 면역반응세포들이 단독으로 외분비 샘포 사이에서 관찰되었으나 dark 췌장섬에서는 다수의 세포들이 섬 전체에 산재되어 관찰된 반면 포유류형 췌장섬에서는 섬의 가장자리 부분에서만 중등도의 세포들이 관찰되었다. Insulin 면역반응세포는 원형 또는 방추형 형태로 외분비부, dark, light 및 포유류형 췌장섬에서 관찰되었다. 소수의 면역반응세포들이 외분비샘포 사이에서 관찰된 반면 내

분비부인 light와 포유류형 췌장섬에서는 중등도 내지 다수의 세포들이 섬의 안쪽에서 관찰되었고 dark 췌장섬에서는 췌장섬의 중앙에서 극소수의 면역반응세포들이 관찰되었다. Somatostatin 면역반응세포는 타원형 내지 방추형의 형태로 외분비 샘포 사이에서 단독으로 관찰되었으며 dark 췌장섬에서는 섬 전체에 걸쳐 다수의 세포들이 산재되어 관찰되었고 light 및 포유류형 췌장섬에서는 섬의 가장자리 부분에서 중등도 또는 소수의 면역반응세포들이 관찰되었다. BPP 면역반응세포는 외분비 샘포 사이에서만 중등도의 원형, 타원형 또는 방추형의 형태로 관찰되었으나 BCG 면역반응세포는 관찰되지 않았다.

Legends for figures

Fig 1. Serotonin-immunoreactive cells in the exocrine regions of the pancreas of the bean goose. $\times 480$, PAP method.

Fig 2. Glucagon-immunoreactive cells in the pancreas of the bean goose.

a. Exocrine regions b. Dark type islet c. Mammalian type islet

a: $\times 480$, b: $\times 120$, c: $\times 240$, PAP method.

Fig 3. Insulin-immunoreactive cells in the pancreas of the bean goose.

a. Exocrine regions b. dark type islet c. Mammalian type islet d. light type islet

a-b: $\times 480$, c-d: $\times 240$, PAP method.

Fig 4. BPP-immunoreactive cells in the exocrine regions of the pancreas of the bean goose. $\times 480$, PAP method.

Fig 5. Somatostatin-immunoreactive cells in the pancreas of the bean goose.

a. Exocrine regions b. dark type islet c. Mammalian type islet d. light type islet

a: $\times 480$, b: $\times 120$, c-d: $\times 240$, PAP method.

참 고 문 헌

1. Banks WJ. Applied veterinary histology. 2nd ed, Williams & Wilkins, 484-485, 1986.
2. Nickel R, Schummer A, Seiferle E. Anatomy of the domestic birds. Verlag Paul Parey, Berlin · Hamburg, 60, 1977.
3. Iwanaga T, Yui R, Fujita T. The pancreatic islets of the chicken. Avian Endocrinol Enviromental and ecological perspectives, 81-94, 1983.
4. Takayanagi M, Okada Y, Kita K, *et al.* Somatostatin-14, and somatostatin-28 in chicken pancreatic islet D-cells. *Tissue Cell*, 28:495-500, 1996.
5. Lucini C, Castaldo L, Lai O. An immunohistochemical study of the endocrine pancreas of duck. *Eur J Histochem*, 40:45-52, 1996.
6. Lee JH, Ku SK, Lee HS. Immunohistochemical study on the insulin, glucagon and somatostatin immunoreactive cells of the pancreas of the duck(*Anas platyrhynchos platyrhynchos*, Linne). *Korean J Vet Res*, 38:239-245, 1998.

7. Lee JH, Ku SK, Lee HS. Immunohistochemical study on the bovine chromogranin, serotonin and bovine pancreatic polypeptide immunoreactive cells in the pancreas of the duck (*Anas platyrhynchos platyrhynchos*, Linne). *Korean J Vet Res*, 38:232-238, 1998.
8. Sternberger LA. Immunocytochemistry 2nd ed, New York, John Wiley & Sons, 104-149, 1979.
9. Solcia E, Creutzfeldt W, Falkmer S, *et al.* Human gastropancreatic endocrine, paracrine cells: Santa Monica 1980 Classification, ed, Grossman MI, Brazier MAB and Lechago J, Academic Press, 159-165, 1981.
10. Watanabe T, Morakami T, Nagatsu I. Immunohistochemical colocalization of glucagon, serotonin and aromatic L-acid decarboxylase in islet A cells of chicken pancreas. *Cell Tiss Res*, 259:67-72, 1990.
11. Ding WG, Fujimura M, Tooyama I, *et al.* Phylogenetic study of serotonin-immunoreactive structures in the pancreas of various vertebrates. *Cell Tiss Res*, 263:237-243, 1991.
12. Ito Z, Fujita T, Kobayashi S, *et al.* 消化管ホルモン, 第1版, 構談社, 東京, 211-249, 1980.
13. Bagnell CA, Baker NK, McMurty JP. Immunohistochemical localization of insulin in the chick embryo during development. *Gen Com Endocrinol*, 73:293-298, 1989.
14. Yamada J, Kitamura N, Yamashita T, Avian endocrinology: Avian gastrointestinal endocrine cells, ed, Mikami S, *Japan Sci Soc Press*, Tokoyo, 67-79, 1983.
15. Larsson LI. Ontogeny of peptide-producing nerves and endocrine cells of the gastro-duodeno-pancreatic region. *Histochemistry*, 54:133-142, 1977.
16. Sundler F, Håkanson R, Hammer RA, *et al.* Immunohistochemical localization of neurotensin in endocrine cells of the gut. *Cell Tiss Res*, 178:313-321, 1977.
17. Ito H, Hashimoto Y, Kitagawa H, *et al.* Ontogeny of gastroenteropancreatic(GEP) endocrine cells in mouse and porcine embryos. *Jpn J Vet Sci*, 50:99-110, 1988.
18. Brazeau P, Vale WR, Burgus N, *et al.* Hypothalamic polypeptide that inhibits the secretion of immunoreactive pituitary growth hormone. *Science*, 179:77-79, 1973.
19. Cetin Y, Grube D. Immunoreactives for chromogranin A and B, and secretogranin II in the guinea pig endocrine pancreas. *Histochemistry*, 94:479-484, 1990.
20. Benedum UM, Baeuerle PA, Konecki DS, *et al.* The primary structure of bovine chromogranin A: a representative of a class of acidic secretory proteins common to a variety of peptidergic cells. *EMBO J*, 5:1495-1502, 1986.
21. Buffa R, Gini A, Pelagi M, *et al.* Immunoreactivity of hormonally characterized human endocrine cells against three novel anti-human chromogranin B(B11 and B13) and chromogranin A(A11) monoclonal antibodies. *Arch Histol Cytol*, 52:99-105, 1989.
22. Fischer-Colbrie R, Lassmann H, Hogn C, *et al.* Immunological studies on the distribution of chromogranin A and B in the endocrine and nervous tissues. *Neuroscience*, 16:547-555, 1985.
23. Lloyd RV, Cano M, Rosa P, *et al.* Distribution of chromogranin A and secretogranin I (chromogranin B) in neuroendocrine cells and tumors. *Am J Pathol*, 130:296-304, 1988.
24. Wankinson A, Tonsson AC, Davison M, *et al.* Heterogeneity of chromogranin A-derived peptides in bovine gut, pancreas and adrenal medulla. *Biochem J*, 1:471-479, 1991.
25. Lundquist M, Arnberg H, Candell J, *et al.* Silver stains for identification of neuroendocrine cells. A study of the chemical background. *Histochem J*, 22:615-623, 1990.
26. Takayanagi M, Watanabe T. Immunocytochemical colocalizations of insulin, aromatic L-amino acid decarboxylase, dopamine-beta-hydroxylase, S-100 protein and chromogranin A in B-cells; of the chicken endocrine pancreas. *Tissue Cell*, 28:17-24, 1996.
27. Castaldo L, Anderozzi G, Anyonucci R, *et al.* Immunohistochemical localization of some endocrine cells in the gastroenteropancreatic system of *Erinaceus europaeus*. *Basic Appl Histochem*, 32:511-521, 1988.
28. Grube D, Aunis D, Bader F, *et al.* Chromogranin A (CGA) in the gastro-entero-pancreatic(GEP) endocrine system I. CGA in the mammalian endocrine pancreas. *Histochemistry*, 85:441-452, 1986.