

계통발생에 따른 각종 척추동물의 췌장 내분비세포에 관한 면역 세포화학적 연구 II. 파충강, 양서강 및 어강에 관하여

김남중 · 권혁방* · 최월봉

한림대 학교 의과대학 해부학교장, 전남대학교 자연과학대학 생물학과*

척추동물(7목 23종)의 췌장에서 insulin(B)세포, glucagon(A)세포, somatostatin(D)세포 및 pancreatic polypeptide(PP)세포 등을 면역세포화학법으로 동정하여 이들의 출현율, 분포양상 및 형태 등을 계통별로 비교하였다.

파충강의 거북목, 양서강의 유미목 및 어강의 악상어목 들을 제외한 모든 종에서 췌도의 형성을 관찰할 수 있었으며, 췌도를 구성하는 내분비세포의 크기에는 계통간의 차이가 있었다. B세포는 파충강의 것이 가장 크고, 양서강, 어강의 순이었으며 A와 PP세포는 양서강, 파충강 및 어강의 순서였다. D세포는 양서강의 것이 가장 컸고, 다음이 어강이었으며, 파충강의 것이 가장 작았다. 이들 세포의 모양은 B세포의 경우 양서강과 어강에서는 원형, 난원형 및 방추형이었으며, 파충강에서는 원추형 및 쌔기형 등 다양한 모습이었다. A세포는 어강에서는 원형, 난원형 및 방추형이 고르게 나타났고, 파충강과 양서강에서는 원주형, 다각형 및 쌔기형이 나타났다. D세포는 모든 동물에서 원형, 난원형 및 방추형이 관찰되었고, 특히 파충강에서는 원추형 및 쌔기형도 나타났다. PP세포는 주로 방추형 및 난원형이 대다수이었으며 간혹 원형 또는 다각형 등의 모습도 나타났다. 각 내분비세포의 출현율은 파충강 및 어강 들에서는 B, A, D 및 PP세포 순이었으나, 양서강에서는 B, A, PP 및 D세포 순으로 나타났다. B와 PP세포는 양서강, 어강 및 파충강 순서로 출현하였고, A세포는 파충강, 어강 및 양서강의 순서이었으며 D세포는 어강, 파충강 및 양서강의 순서였다. 췌도 내에서의 세포의 분포 위치는 세포의 종류에 따라 차이를 보여 B세포의 경우 대다수 동물들에서 중앙부에 균등하게 분포하였으나 A, D 및 PP세포는 주로 췌도 주변부에 분포하였고, 어강에서의 D세포는 췌도 중앙부에서도 관찰되었다. 일반적으로 파충강 및 양서강에서는 외분비 선포조직에서도 내분비세포들이 출현하였으나, 어강에서는 내분비세포가 전혀 출현하지 않았다. 양서강 및 어강 들의 일부 종에서는 췌관상피에서도 드물게 나타났다.

KEY WORDS: Reptilia, Amphibia, Pisces, Pancreatic endocrine cells, Immunocytochemistry

척추동물의 췌장은 종에 따라 그 모양과 위치에 다소 차이는 있으나 각종 단백질, 탄수화물 및 지질분해효소 등을 포함한 소화액을 분비하는 외분비선과 더불어 체내 혈당조절에 영향을 미치는 hormone을 분비하는 내분비선으로 되어 있다. 내분비부는 췌도를 형성하며 이곳에 insulin(B), glucagon(A), somatostatin(D) 및 pancreatic polypeptide(PP) 분비세포들이 분포하고 있다. 이를 4종의 호르몬분비세포 이외에도 몇 종의 peptide들이 췌장에서 분비된다고 최근에 알려지고 있다. 내분비계를 연구하는데 중요한 세포로 이용되고 있는 췌장을 대상으로 최근 세포조직화

학적 방법(Kobayashi and Ali, 1981), 면역형광 향체법 및 면역조직화학적 방법(Orci, 1982; Choi, et al., 1988) 등을 이용하여 이들 내분비세포의 분포상태와 세포질조성에 관한 연구가 여러 학자들에 의해 활발히 진행되고 있다.

각급 척추동물의 췌장 내분비세포의 분포양상에 관한 연구를 요약하면 다음과 같다. Rhoten과 Smith(1978)는 도마뱀(*Anolis carolinensis*)에서, Rhoten(1984) 등은 뱀(*Thamnophis sirtalis*)에서, Yamada 등(1986)은 악어(*Caiman latirostris*)에서 췌도 내분비세포의 출현빈도가 B, A 및 D세포의 순으로 차이 지며, 외분비실질내에서도 이들 세포

의 일부가 관찰된다고 보고하였다며 특히 뱀의 PP세포는 대부분 외분비선질안에 출현한다고 기술하였다. 반면 Hellerstöm과 Asplund(1966)는 뱀(*Crotalus viridis helleri*와 *Vipera berus berus*)에서, Rhoten과 Hall(1981)은 노미뱀(*Anolis carolinensis*)에서, Rhoten(1987)은 Nile아이(*Crocodilus niloticus*)에서 체도내의 A세포가 B세포보다 더 많이 출현한다고 보고 한 바 있으므로, 종에 따라 이를 대부분비세포의 출현빈도도 역시 차이를 보이는 것으로 보인다.

El-Salhy 등(1982)은 양사강의 개구리(*Rana temporaria*)와 두꺼비(*Bufo orientalis*)의 경우 B세포가 많고 A세포와 PP세포는 비슷한 양상으로, (*i.e.*) D세포가 가장 적게 출현하며 이를 세포는 외분비선질에서도 관찰된다고 보고하였다. 한편, Kaung과 Elde(1980)은 개구리(*Rana pipiens*)에서 D세포만이 외분비선질속에서 출현한다고 기술하였다.

일본어류 가운데 윤상어(Yui and Fujita, 1986)는 체도를 형성하지 않고, 체관상피속에 B, A 및 D세포들이 분포하며, 가오리(Sekine and Yui, 1981)에서는 이를 대부분비세포에 추가하여 PP세포도 존재함이 알려져 있다. Wagners와 McKeown(1981)은 중국에서, Rombout 등(1986)은 영국에서 D세포가 A세포에 비해 더 많이 출현하고, B세포 및 D세포는 체도 중앙에, A세포 및 PP세포는 체도 주위에 위치한다고 보고하였다. 반면에 메기(McNeill *et al.*, 1984)와 베어(Hansen *et al.*, 1987) 등에서는 PP세포가 체장이나 부위에서도 관찰되지 않았다고 보고하였다.

이상과 같은 결과들은 주로 동물 분류학상 몇몇 종에 국한된 단편적인 보고로서 계통간의 차이에 관한 세계적이고 상세한 보고는 아직 없었다. 이 연구는 파충강, 양사강 및 이강에 속하는 여러 종의 동물을 위한 체계를 제작하여, 이를 대부분비세포의 출현비율, 분포양상 및 각 세포의 형태등이 계통에 따라 어떤 차이가 있는지를 조사하여 체장내분비계를 이해하는데 기초자료를 제공하고자 시행하였다.

재료 및 방법

실험동물

실험동물을 강원도 지역에서 포획한 파충강 2목 8종, 양사강 2목 8종 및 이강 3목 7종으로서 성숙한 동물을 암수 구별없이 사용하였다. 상세한 내용은 다음과 같다.

A. 파충강(Reptilia)

I. 거북목(Testudinata)

- 자라 *Amyda macckii* Braut
- 날쌘아이 *Geoclemys reevesii*(Gray)

II. 뱀목(Squamata)

- 유혈루이 *Rhadophis tigrina lateralis* Berthold
- 능구렁이 *Dinodon rufozonatum rufozonatum* Cantor
- 무지개 *Enhydris ruvodorsata* Cantor
- 살모사 *Aegistodon blomhoffii brevicaudus*
- 까치살모사 *Aegistodon saxatilis*
- 쇠살모사 *Aegistodon caliginosus*

B. 양사강(Amphibia)

I. 유희목(Urodea)

- 앙원 *Diemyctylus pyrrhogaster*

II. 뿐미목(Anura)

- 참개구리 *Rana nigromaculata* Hallowell
- 흠개구리 *Rana rugosa* Schlegel
- 금개구리 *Rana nigromaculata coreana* Okada
- 뚝방산개구리 *Rana temporaria dybowskii* Günther

- 정개구리 *Hyla arborea japonica* Günther

- 무당개구리 *Bombina orientalis* Boulenger
- 두꺼비 *Bufo bufo gargarizans* Cantor

C. 이강(Pisces)

I. 잉어목(Cyprinida)

- 봉어 *Carassius carassius*(Linné)
- 배기 *Parasilurus asotus*(Linné)
- 물동사개 *Pseudobagrus sp*
- 사자사리 *Liobagrus mediadiposalis* Mori
- 향어 *Cyprinus carpio mudi*

II. 청어목(Clupeida)

- 송어 *Orcorhynchus masoni*(Brevoort)

III. 야생어목(Lamnida)

- 무俦상어 *Scylliorhinus torazame*(Tanaka)

조직표본 작성

각 동물을 마취, 경추단구 및 단수도살 등의 방법으로 희생시켰다. 희생 시킨 즉시 각 동물의 복장을 열어 채장을 위치를 확인하고 일정부위의 채장을 자을 선취한 다음 Bouin액에 24시간 고정하였다. 고정된 조직을 50% ethanol로 세척하여, picrofuran을 완전히 제거하고 일정한 단수과성을 가진 paraffin에 포매하였다. 그 후 5 μm 두께의 연속절편을 자성하였으며 자성된 조직절편을 일정한 간격을 두고 선성하여 hematoxylin-eosin(H-E) 염색, peroxidase antiperoxidase(PAP, Nakane, 1968; Sternberger, 1970)와 avidin-biotin-peroxidase complex(ABC, Hsu et al., 1981)을 이용한 단일, 이중 및 삼중 면역세포화학적 염색을 시행하였다.

면역세포화학적 염색

면역세포화학 염색에 이용한 1차 항체는 rabbit anti-human glucagon(1:300), somatostatin(1:200), pancreatic polypeptide(1:800) 및 guinea pig anti-rabbit insulin(1:200) 등의 대체 항체는 항원체(polygonal antibody, DAKO)이었다. 2차 항체로는 PAP법에서는 horseradish peroxidase(HRP) conjugated anti-rabbit IgG(Bio-Yeda, Israel)를 0.1 M PBS에 1:200으로 희석하여 사용하였으며, ABC법에서는 biotinylated anti-rabbit IgG(BioMakor, 1:200)와 extravidin peroxidase(BioMakor, 1:200)를 사용하였다. Peroxidase에 대한 기질로는 반응결과 갈색을 나타내는 3,3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride(DAB, Sigma), 홍청색을 띠는 4-chloro-1-naphthol(Sigma) 및 적색을 띠는 3-amino-9-ethylcarbazole(AEC, Sigma) 용액을 각각 사용하였다. 정색반응을 마친 절편은 Harris hematoxylin으로 해 염색을 하였으며 대종 염색 반응을 실시하기 위해 1차 염색반응을 실시했던 동일 절편을 0.2 M glycine-HCl buffer(pH 2.2)

용액에 차리하여 조직내에 부착된 항체를 세기한 다음 두번쩨에 사용한 1차 항체 및 HRP conjugated anti-rabbit IgG에 적용시켜 발색한 후 이를 chrome-glycerin jelly로 봉입하였다.

통계처리

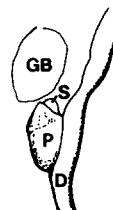
항체염색된 조직절편을 우선 광학현미경하에서 검강한 후, 각 동물별로 열 속절편을 입외로 백하여 조직절편속에 출현하는 채로 50개 이상을 입으로 선택하고, 이를 체도판에 출현하는 각종 배분비례포의 분포상과 모양 등을 관찰하였으며, 그 출현율을 맵문율로 환산하였다. 실험 결과는 ANOVA test로 통계적 유의성($p < 0.01$ 혹은 $p < 0.05$)을 검정하였다.

결 과

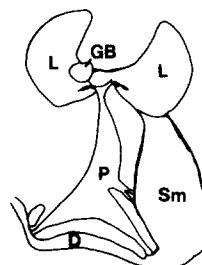
췌장의 해부학적 구조

파충강의 사라와 난쟁이의 췌장을 길고 충실히 신체로자 심이자 장사이에 끼어 있었고, 맴부의 보

A. reptilia



B. amphibia



C. pisces

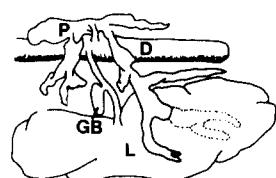


Fig. 1. Diagrammatic illustrations showing the pancreas in relation to the surrounding organs of different vertebrate group. D: duodenum, GB: gall bladder, L: liver, P: pancreas, S: spleen, Sm: stomach.

든 동물에서는 십이지장과 비장 근처에서 막대모양 또는 난원형을 띤 치밀한 선체였다. 양서강에서 유미목과 무미목의 각 동물들에서는 간, 위 및 십이지장 사이에 3-5개의 돌기를 뱃구멍한 선체로 되어있었다. 이강의 경우 두릅상어에서는 충실한 진 선체로서 십이지장 사이에 위치하였고, 향어, 붕어, 메기, 눈동자개 및 총어 등에서는 육안으로 체장을 확인하기 어려웠다(Fig. 1).

조직학적 소견

파충강

H-E로 염색한 체장조직을 관찰하였을 때 거북목의 자라와 남생이의 경우에는 내분비부가 외분비성 선질내에 내분비세포들이 산만적으로 무리지어 있었다. 그러나 뱀목의 각 동물들에서는 외분비부로부터 명확히 구분된 크고 불규칙한 모양의 체도가 확인되었으며, 체도내에서는 밝게 보이는 내분비세포들의 세포질속에 크고 작은 분비관들이 모세혈관에 맞닿고 있었고 각 내분비세포들은 띠(band) 혹은 끈(cords)을 형성하였다(Fig. 6). 한편 특이하게도 까치살모사에서는 체장에 인접한 비장속에 서도 체도가 관찰되었다(Fig. 7).

A. Insulin(B) 면역반응세포

B세포는 주로 뱀목의 모든 종에서 체도안에 전반적으로 산재되어 있었고(Figs. 5, 10, 14), 외분비부인 선포의 외층에 일렬로 배열되거나 한개 또는 여러개가 뭉쳐서 존재하였다(Fig. 15). 거북목의 자라와 남생이의 경우에는 소혈관에 접하는 선포외층에 일렬로 배치되었거나 내분비세포들이 모여 무리를 형성하기도 하였다(Fig. 16). B세포 출현율(평균 45.5%)은 거북목의 자라(45.1%)와 남생이(36.9%)에서 종 사이에 유의한 차이가 있었다. 뱀목의 살모사 및 쇠살모사(평균 54.5%)에서는 유혈목이, 능구렁이 및 까치살모사(평균 44.7%)에서 보다 높았고, 무자치(38.9%)에서 가장 낮았다. 한편 파충강의 B세포 출현율(평균 45.5%)은 사람(77.8%)에 비교하여 유의하게 낮았다(Fig. 2). B세포의 크기(평균 $17.6 \mu\text{m} \times 6.7 \mu\text{m}$)는 쇠살모사의 것($20.7 \mu\text{m} \times 6.3 \mu\text{m}$)

이 가장 커고, 자라의 것($15.0 \mu\text{m} \times 7.3 \mu\text{m}$)이 가장 작았으며, 뱀목의 것(평균 $18.4 \mu\text{m} \times 6.2 \mu\text{m}$)은 거북목의 것($15.0 \mu\text{m} \times 8.3 \mu\text{m}$)보다 커다(Table 1). 세포의 모습은 거북목과 뱀목의 까치살모사의 것은 원형, 난원형 및 방주형이었고, 능구렁이, 무자치, 살모사의 것은 난원형, 쇄기형 및 원주형이었으며, 다른 종들에서는 다양하게 나타났다. 대부분 세포들은 진 세포돌기가 모세혈관에 접하는 극성을 보였으며, 해우 모든 종에서 원형 및 난원형이었다.

B. Glucagon(A) 면역반응세포

A세포의 출현율(평균 35.7%)은 자라(32.0%)와 남생이(36.3%)에서 비슷하였고 능구렁이(47.7%)와 무자치(46.4%)에서도 비슷하였다. 그러나 기타 다른 종들은 상호간에 유의한 차이를 보였다(Fig. 2). 본 세포들은 뱀목에서 체도의 중앙 및 주변에 고루 분포하였고(Figs. 5, 10, 17) 외분비부의 선포속 및 선포사이에서도 소수 출현하였다. 거북목의 자라와 남생이에서는 A세포가 선포외층에 일렬로 배열되어 있거나 날개로 분포하였으며(Fig. 18) 그 모습이 자라에서는 원형 및 난원형이었고, 남생이에서는 방주형인 것도 있었다. 뱀목의 능구렁이에서는 세포의 형태가 난원형 및 쇄기형이었고 까치살모사의 것들은 원형, 난원형 및 다각형이었으며, 기타 종들의 것은 다양한 모양이었다. 일반적으로 A세포는 주로 모세혈관 쪽으로 세포진돌기를 내고 있었다. A세포의 크기(평균 $18.6 \mu\text{m} \times 7.4 \mu\text{m}$)는 능구렁이와 살모사의 것(평균 $22.4 \mu\text{m} \times 6.3 \mu\text{m}$)이 자라의 것($12.8 \mu\text{m} \times 8.5 \mu\text{m}$)에 비해 커고, 뱀목의 다른 종들에서도 자라복의 것에 비해 커다(Table 1).

C. Somatostatin(D) 면역반응세포

D세포는 뱀목에서 주로 체도의 주변부에 분포하였으나(Figs. 5, 10, 20), 능구렁이, 유혈목이 및 쇠살모사 들에서는 체도 중앙에도 나타났으며(Fig. 19), 외분비부인 선포사이에도 소수 나타났다. 그러나 거북목에서는 소혈관주위의 선포외층에 단독 또는 여러개가 모여 무리를 이루었다. D세포의 출현율(평균 17.0%)은 거북목(평균 17.

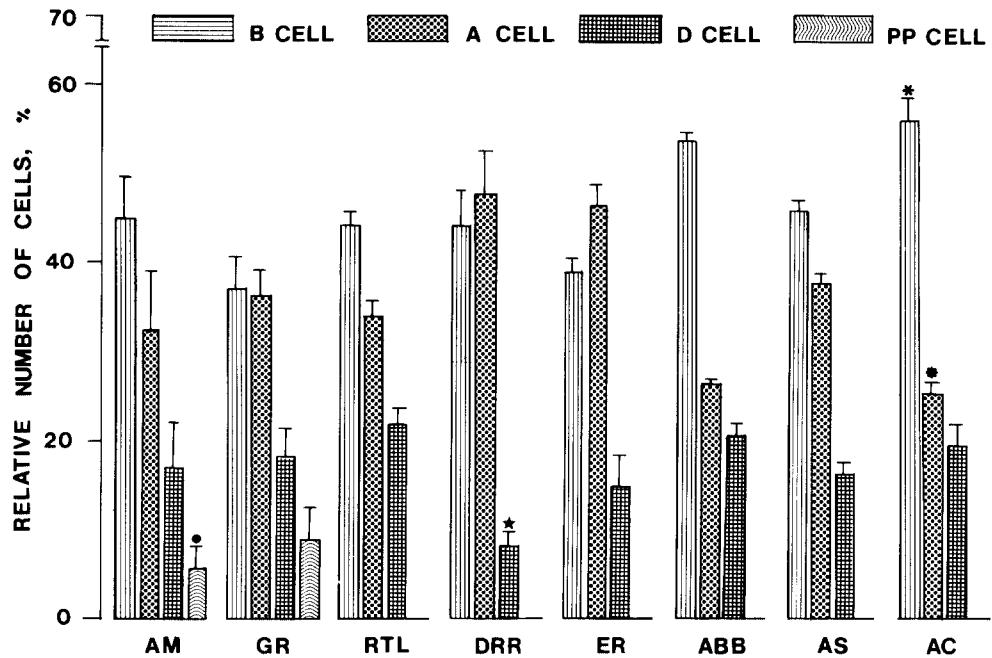


Fig. 2. Relative number (Mean \pm SD) of pancreatic endocrine cells in the reptilian pancreas. AM, *Amyda maackii*; GR, *Geoclemys reevesii*; RTL, *Rhadophis tigrina lateralis*; DRR, *Dinodon rufozonatum*; ER, *Enhydris rufodorsata*; ABB, *Akistrodon blomhoffii brevicaudus*; AS, *Akistrodon saxatilis*; AC, *Akistrodon caliginosus*. *, **, ★: p < 0.01, ●: p < 0.05, when compared with those of human.

Table 1. Sizes of insulin (B), glucagon (A), somatostatin (D) and pancreatic polypeptide (PP) cells in the reptilian pancreas.

Species	B cell	A cell	D cell	PP cell
<i>Amyda maackii</i>	15.0 \times 7.3	12.8 \times 8.5	13.5 \times 7.9	15.3 \times 6.8
<i>Geoclemys reevesii</i>	15.0 \times 9.3	15.3 \times 8.5	14.8 \times 8.0	17.3 \times 8.0
<i>Rhadophis tigrina lateralis</i>	17.3 \times 6.5	19.5 \times 7.8	16.5 \times 7.0	—
<i>Dinodon rufozonatum rufozonatum</i>	20.0 \times 5.0	22.5 \times 6.0	18.5 \times 6.4	—
<i>Enhydris rufodorsata</i>	16.5 \times 5.5	21.5 \times 5.8	14.3 \times 6.3	—
<i>Akistrodon blomhoffii</i>	20.0 \times 6.4	22.3 \times 6.5	15.3 \times 6.2	—
<i>Akistrodon saxatilis</i>	16.0 \times 7.3	16.3 \times 8.8	15.3 \times 8.5	—
<i>Akistrodon caliginosus</i>	20.7 \times 6.3	18.7 \times 7.0	15.7 \times 7.0	—

*Long axis (μm) \times Short axis (μm)

7%)의 자라와 남성이에서 서로 비슷하였으며, 뱀목(평균 16.8%)에서는 유혈목이와 살모사, 무자치와 까치 살모사, 살모사와 쇠살모사들에서 서로 비슷하였다(Fig. 2). 세포의 모양은 거북목의 경우 자라에서는 원형, 난원형 및 방주형이었고, 남성이에서는 원형도 나타났다. 뱀목의 경우 유혈목이, 까치 살모사 및 쇠살모사들에서는 원형, 난원형 및 방주형이었고, 다른 종들에서는 그

모습이 다양하였다. 해의 모습은 거북목의 남성이, 뱀목의 유혈목이, 능구렁이 및 무자치에서는 원형 및 방주형이었으나 다른 종들에서는 원형 및 난원형이었다. 또한 D세포의 세포질 분비관은 주로 모세혈관쪽에團재되어 있었다. D세포의 크기(평균 $15.5 \mu\text{m} \times 7.2 \mu\text{m}$)는 능구렁이의 것 ($18.5 \mu\text{m} \times 6.4 \mu\text{m}$)이 가장 커고, 자라의 것 ($13.5 \mu\text{m} \times 7.9 \mu\text{m}$)이 가장 작았으며, 뱀목의

다른 종들에서는 거북목의 것에 의해 깊다(Table 1).

D. Pancreatic polypeptide(PP) 면역반응세포

뱀목의 모든 종에서 PP세포는 관찰되지 않았다. 그러나 거북목(평균 7.2%)의 경우에는 4종류의 대분비세포 가운데 가장 낮게 나마 출현하였다. 사라(5.6%)와 남생이(8.8%)에서는 출현 정도에 유의한 차이가 있었다(Fig. 2). PP세포들은 주로 선포속에 분포하였다(Fig. 21), 그 모습은 자라에서 대부분 방주형이었고, 남생이의 것은 모양이 매우 다양하였다. 자라 PP세포의 핵의 모양은 원형 및 난원형이었고, 남생이에서는 주로 난원형 및 방주형이었다. PP세포의 크기(평균 $16.3 \mu\text{m} \times 7.4 \mu\text{m}$)는 사라의 것에 비해 남생이의 것이 비교적 깊다(Table 1).

양서강

H-E염색의 결과 양서강의 무미복에 서는 체장의 대분비부와 외분비부의 구분이 분명하지는 않았으나, 뾰족한 결합조직성 피막으로 둘러싸인 불규칙한 모양의 체도가 관찰되었으며, 특히 두꺼비의 경우 그리고 농군 체도가 관찰되었다(Fig. 8). 무미복 체도내의 대분비세포는 대부분 뾰족한 형성하거나 치밀하게 풍자 있는 반면 유미복의 영원에서는 특이하게도 체도를 형성하지 않았다.

A. Insulin(B) 면역반응세포

B세포의 모양은 종에 관계없이 대체로 난원형, 원주형 및 방주형이었고 때로는 원형 및 주체형인 경우도 있으나, 이를 세포의 핵은 세포의 모습과 비슷하여 주로 원형 및 난원형이었고, 원주형 및 방주형도 드물게 나타났다. B세포의 분비파립은 인접한 모세혈관쪽으로 편재하는 경향을 보였다. B세포의 크기(평균 $16.3 \mu\text{m} \times 9.2 \mu\text{m}$)는 영원의 것($19.9 \mu\text{m} \times 14.0 \mu\text{m}$)이 가장 깊고, 성개구리의 것($13.3 \mu\text{m} \times 7.3 \mu\text{m}$)이 가장 작았으며, 꼭 뱀 세포는 유미복의 것이 무미복의 것에 비해 대체로 깊다(Table 2). B세포들은 주로 체도속에 단일하게 분포하였고, 체도이외의 선포속이나 선포사이에서도 나타났다(Figs. 5, 22). 두

아개도 무당개구리에서는 B세포가 체관상피에서 간혹 관찰되었다(Fig. 23). 반면 유미복의 영원의 경우 체도가 형성되지 않았고, 주로 선포속과 선포사이에 B세포가 위치하였다(Fig. 11). B세포의 출현율(평균 48.0%)은 참개구리, 성개구리 및 두꺼비의 경우가 비슷하였고, 옹개구리, 북방산개구리 및 무당개구리에서 비슷하였다(Fig. 3).

B. Glucagon(A) 면역반응세포

A세포의 크기(평균 $17.6 \mu\text{m} \times 9.8 \mu\text{m}$)는 영원의 것($25.8 \mu\text{m} \times 14.1 \mu\text{m}$)이 가장 깊고, 참개구리의 것($13.4 \mu\text{m} \times 7.4 \mu\text{m}$)이 가장 작았으며, 대체로 모든 유미복의 것이 무미복의 것에 비해 깊다(Table 2). A세포의 모습은 대다수 종에서 주로 난원형, 방주형 및 다각형이었으며, 핵은 일반적으로 원형 또는 난원형이었으나 때로는 방주형도 보였다. A세포의 출현율(평균 22.3%)은 참개구리와 옹개구리, 북방산개구리와 무당개구리에서 비슷하였다. 성개구리와 두꺼비에서도 서로 비슷하였다(Fig. 3). 또한 A세포는 무미복의 대다수 종에서 체도의 주변부 뿐만 아니라 선포속이나 선포사이에서도 다수 출현하였다(Figs. 5, 25). 특히 무당개구리에서는 A세포가 체관상피에서도 몇개가 관찰된 반면, 영원에서는 선포속이나 선포사이에서만 A세포가 관찰되었다(Figs. 22, 24).

C. Somatostatin(D) 면역반응세포

D세포의 모습은 각 동물에서 대체로 난원형 및 방주형이었으나, 원형 및 다각형인 것도 소수 관찰되었고, 핵은 난원형 및 방주형이었고 때로는 원형인 것도 있었다. 세포의 분비파립은 인접한 모세혈관 쪽으로 편재하는 경향이었다. D세포의 크기(평균 $17.6 \mu\text{m} \times 9.2 \mu\text{m}$)는 영원의 것($26.7 \mu\text{m} \times 11.7 \mu\text{m}$)이 가장 깊고, 참개구리의 것($14.3 \mu\text{m} \times 7.5 \mu\text{m}$)이 가장 작았으며, 대체로 유미복의 것에 비해 무미복의 것이 작았다(Table 2). D세포의 주위 분포부위는 무미복의 경우 체도 주위이었으나(Figs. 5, 12, 26) 일부 세포에서는 외분비성 실질인 선포속과 선포사이에서도 관찰되었다. 무당개구리의 경우 D세포

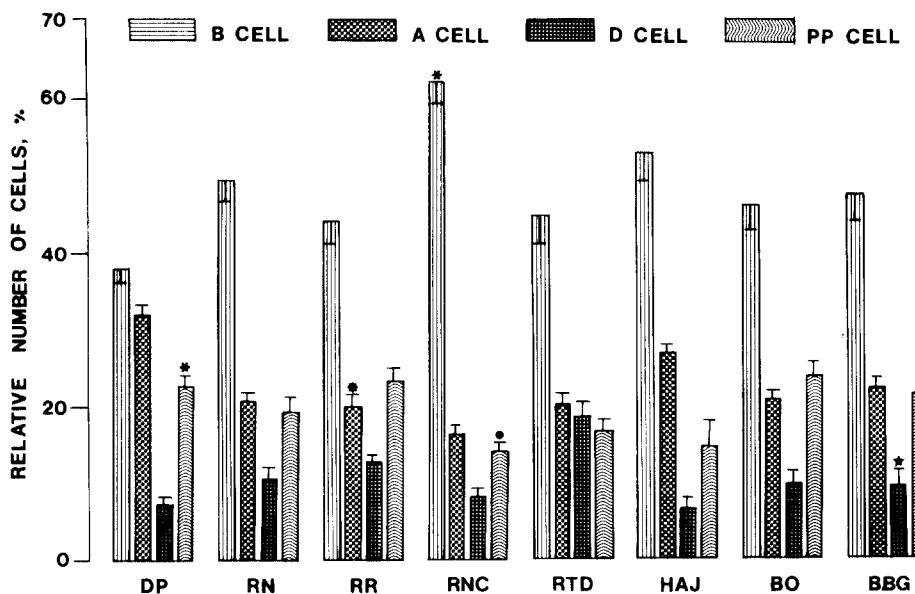


Fig. 3. Relative number (Mean \pm SD) of pancreatic endocrine cells in the amphibian pancreas. DP, *Diemyctylus pyrrhogaster*; RN, *Rana nigromaculata*; RR, *Rana rugosa*; RNC, *Rana nigromaculata coreana*; RTD, *Rana temporaria dybowskii*; HAJ, *Hyla arborea japonica*; BO, *Bombina orientalis*; BBG, *Bufo bufo gargarizans*. *; p < 0.01, when compared with those of human.

Table 2. Sizes of pancreatic insulin (B), glucagon (A) somatostatin (D) and pancreatic polypeptide (PP) cells of the amphibian.

Species	B cell	A cell	D cell	PP cell
<i>Diemyctylus pyrrhogaster</i>	19.9 \times 14.0*	25.8 \times 14.1	26.7 \times 11.7	26.3 \times 13.5
<i>Rana nigromaculata</i>	13.9 \times 8.9	13.4 \times 7.4	14.3 \times 7.5	13.3 \times 8.2
<i>Rana rugosa</i>	19.2 \times 7.4	17.1 \times 10.6	19.2 \times 10.1	17.0 \times 10.0
<i>Rana nigromaculata coreana</i>	17.3 \times 9.5	16.0 \times 8.5	15.8 \times 9.3	16.0 \times 9.0
<i>Rana temporaria dybowskii</i>	13.5 \times 10.0	15.0 \times 9.8	15.5 \times 9.5	16.5 \times 9.8
<i>Hyla arborea japonica</i>	13.3 \times 7.3	15.3 \times 7.5	15.3 \times 6.5	14.5 \times 8.0
<i>Bombina orientalis</i>	14.0 \times 10.0	18.3 \times 10.5	17.3 \times 10.3	17.3 \times 9.5
<i>Bufo bufo gargarizans</i>	19.4 \times 6.3	19.5 \times 9.7	16.9 \times 8.3	21.6 \times 9.7

*Long axis (μm) \times Short axis (μm)

가 체관상피에서 소수 관찰되 반면 (Fig. 27), 유미복의 영원은 선포속과 선포출사이에서만 나타났다. D세포의 출현율(평균 16.3%)은 참개구리와 무당개구리에서 비슷하였고, 굽개구리와 두꺼비에서 서로 비슷하였다 (Fig. 3).

D. Pancreatic polypeptide(PP) 면역반응세포

PP세포의 모양은 각 동물에서 난원형이거나 혹은 긴 세포돌기를 내고 있는 방추형이 있고, 산

혹 원형 및 다각형인 경우도 있었으며, 핵은 원형, 난원형이 대부분이지만 방추형도 소수 있었다. PP세포의 분비관립은 주로 혈관쪽으로 편재되어 있었다. PP세포의 크기(평균 17.8 $\mu\text{m} \times$ 9.7 μm)는 영원의 것(26.3 $\mu\text{m} \times$ 13.5 μm)이 가장 커었으며, 참개구리의 것(13.3 $\mu\text{m} \times$ 8.2 μm)이 가장 작았으며, 대체로 유미복의 것이 무미복의 것 보다 컼다 (Table 2). PP세포의 출현율(평균 19.4%)은 유개구리, 무당개구리 및 두꺼

마늘에서 서로 비슷하였고, 굽개구리, 복방산개구리 및 정재구리에서도 서로 비슷하였다(Fig. 3). PP세포는 주로 무미복의 경우 췌도의 주변 뿐만 아니라 신포속 및 신포사이에서도 흔히 관찰되었고(Figs. 5, 12, 28, 29), 무당개구리에서는 췌관상피층에도 소수 출현하였다. 반면 유미복의 영원에서는 주로 외분비성 질질에 시만 관찰되었다.

어강

본 연구에서 조사한 대부분의 아류 췌장내분비부는 분명한 결합조직성 피막에 쌓여 있고 둥근 췌도로 구성되어 외분비성 질질과 구분되었다(Fig. 9). 그러나 송어의 경우 장점막하층에서 췌도가 관찰되었으며 두루상어에서는 췌도를 관찰할 수 없었다. 췌도 내분비세포들은 구조양을 형성하였으며, H-E염색으로는 여러 종류의 내분비세포를 동정하기 어려웠다.

A. Insulin(B) 면역반응세포

B세포는 대부분 종에서 다양한 모습으로 나타났다. B세포의 크기(평균 $16.2 \mu\text{m} \times 8.0 \mu\text{m}$)는 두루상어의 것($19.3 \mu\text{m} \times 13.0 \mu\text{m}$)이 가장 커고, 눈동자개의 것($11.0 \mu\text{m} \times 5.3 \mu\text{m}$)이 가장 작았으며, 복 벼로는 악상어복, 청어복 및 잉어복 순으로 작았다(Table 3). B세포의 핵은 대부분 원형, 난원형이었으며 이따금 방추형도 나타났다. B세포는 대체로 췌도 전반부에 산재되어 있었으나(Figs. 5, 30) 두루상어에서만은 췌관상피에 일을 지어 분포하였다(Fig. 31). B세포의 출현율(평균 47.6%)은 종에 따라 차이가 있었으나, 눈동자개와 자가사리가 비슷하였다(Fig. 4).

B. Glucagon(A) 면역반응세포

A세포의 크기(평균 $15.5 \mu\text{m} \times 7.6 \mu\text{m}$)는 두루상어의 것($19.0 \mu\text{m} \times 11.0 \mu\text{m}$)이 가장 커고, 눈동자개의 것($12.8 \mu\text{m} \times 5.0 \mu\text{m}$)이 가장 작았으며 복 벼로는 악상어복, 청어복 및 잉어복 순으로 작았다(Table 3). A세포의 모습은 일반적으로 난원형 또는 방추형이었고, 핵의 모습은 원형 또는 난원형이었으며 때로는 방추형인 경우도 있었다. A세포의 출현율(평균 30.8%)은 종 사이

에 유의한 차이가 있었으나, 어강의 봉이와 눈동자개에서 비슷하였다(Fig. 4). A세포는 주로 췌도의 주위에 위치하였으나(Figs. 5, 32), 잉어복의 배기, 눈동자개 및 향어와, 청어복의 송어에서 췌도 중앙에서도 관찰되었다(Fig. 13). 그러나 두루상어의 경우는 A세포가 췌관상피에서만 관찰하였다(Fig. 33).

C. Somatostatin(D) 면역반응세포

D세포의 모양은 일반적으로 긴 돌기를 갖는 난원형 및 방추형이 대다수였으나, 원형 혹은 다각형인 경우도 있었으며 핵의 모양은 주로 원형, 난원형 및 방추형을 띠었다. D세포의 크기(평균 $16.7 \mu\text{m} \times 7.6 \mu\text{m}$)는 두루상어의 것($20.3 \mu\text{m} \times 11.5 \mu\text{m}$)이 가장 커고, 봉어의 것($13.5 \mu\text{m} \times 3.5 \mu\text{m}$)이 가장 작았으며, 복 벼로는 악상어복, 청어복 및 잉어복 순으로 작았다(Table 3). D세포는 주로 췌도의 중앙부와 주변부에 고루 분포하였고(Figs. 5, 13, 34), 두루상어의 경우 췌관상피에 시만 관찰되었다(Fig. 35). 어강에서 D세포 출현율(평균 17.9%)은 봉어, 배기 및 자가사리 등에서 비슷하였으나, 다른 종 사이에는 차이가 있었다(Fig. 4).

D. Pancreatic polypeptide(PP) 면역반응세포

PP세포는 잉어복의 배기, 눈동자개 및 자가사리에서 췌도 주위에 출현하였고(Figs. 5, 36, 37), 봉어, 향어, 송어 및 두루상어 등에서는 췌장 어느 부위에서도 전혀 관찰되지 않으니 점이 특이하였다. PP세포 크기(평균 $12.9 \mu\text{m} \times 5.7 \mu\text{m}$)는 배기의 것($14.8 \mu\text{m} \times 5.8 \mu\text{m}$)이 가장 커고, 자가사리의 것($11.0 \mu\text{m} \times 6.3 \mu\text{m}$)이 가장 작았다(Table 3). PP세포의 모양은 주로 방추형이었고 별모양, 난원형 및 원형인 것도 있었으며, 핵은 주로 원형 또는 난원형이었으나 이따금 방추형인 경우도 있었다. PP세포는 주로 췌도의 주위에 분포하였으나, 배기에서는 췌도 중앙에서도 관찰되었다. PP세포의 출현율(평균 3.7%)은 눈동자개와 자가사리에서 비슷하였다(Fig. 4).

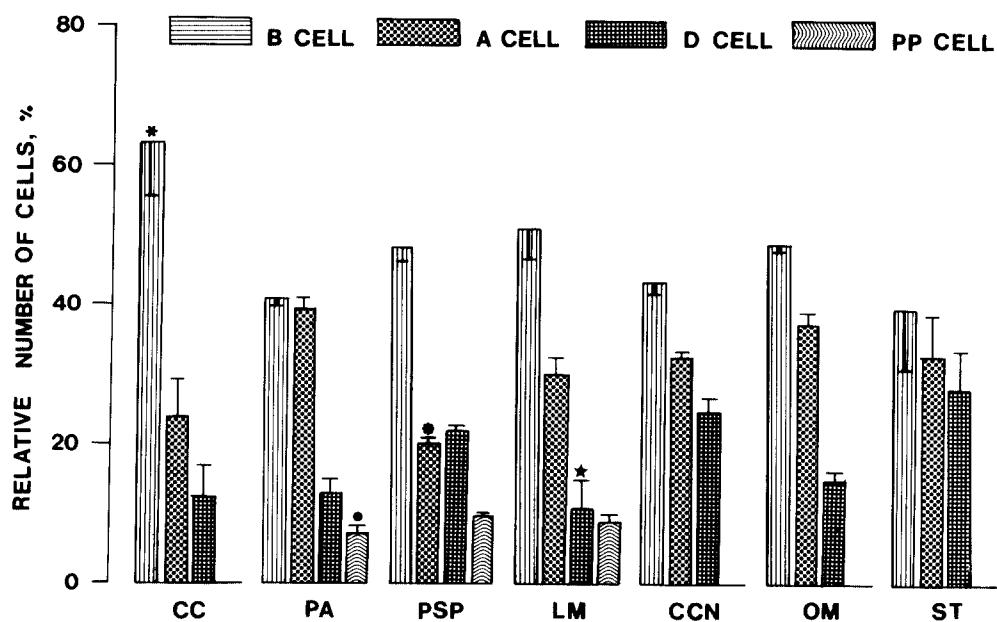


Fig. 4. Relative number (Mean \pm SD) of pancreatic endocrine cells in the pisces pancreas. CC, *Carassius carassius*; PA, *Parasilurus asotus*; PSP, *Pseudobagrus* sp.; LM, *Liobagrus mediadiposalis*; CCN, *Cyprinus carpio nudo*; OM, *Orcorhynchus masou*; ST, *Scylliorhinus torazame*. *, **, ●, ○: $p < 0.01$, when compared with those of human.

Table 3. Sizes of pancreatic insulin (B), glucagon (A), somatostatin (D) and pancreatic polypeptide (PP) cells of the pisces.

Species	B cell	A cell	D cell	PP cell
<i>Carassius carassius</i>	19.5 \times 7.0	16.3 \times 5.8	13.5 \times 3.5	—
<i>Parasilurus asotus</i>	16.3 \times 6.0	15.8 \times 6.0	15.0 \times 8.0	14.8 \times 5.8
<i>Pseudobagrus</i> sp	11.0 \times 5.3	12.8 \times 5.0	15.0 \times 4.8	12.8 \times 5.0
<i>Liobagrus mediadiposalis</i>	14.0 \times 5.5	12.8 \times 6.5	17.3 \times 6.0	11.0 \times 6.3
<i>Cyprinus carpio nudo</i>	14.8 \times 7.5	15.3 \times 7.8	16.3 \times 7.3	—
<i>Orcorhynchus masou</i>	18.5 \times 11.8	16.8 \times 11.0	19.8 \times 11.8	—
<i>Scylliorhinus torazame</i>	19.3 \times 13.0	19.0 \times 11.0	20.3 \times 11.5	—

*Long axis (μm) \times Short axis (μm)

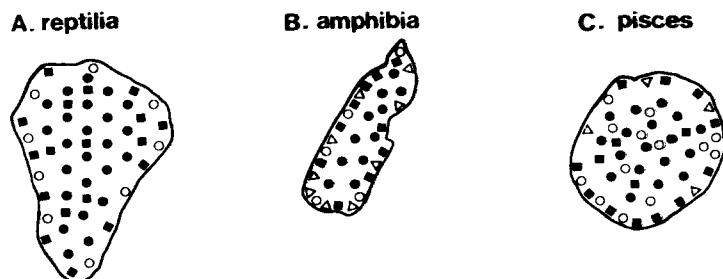


Fig. 5. Representative maps displaying the distribution of insulin (●), glucagon (■), somatostatin (○) and pancreatic polypeptide (△) cells in the pancreatic islet of different vertebrate groups.

고찰

췌장은 그 형태와 위치가 동물에 따라 다소 차이가 있는데, 파충강의 방울뱀, 독사, 악어, 도마뱀 및 사라 뿐은 둥글거나 길쭉한 모양의 선체 (Hellerström and Asplund, 1966; El-Salhy and Grimelius, 1981; Rhoton and Hall, 1981)이며, 양서강의 두꺼비 및 개구리 등 (*R. pipiens*, *R. temporalis*, *R. tigrina*, *R. ridibunda* and *R. catesbeiana*)은 긴 돌기를 가진 불규칙한 모양의 선체로 되어 있다 (Hellman and Hellerström, 1962; Lange, 1967; Khann and Kumar, 1973; El-Salhy et al., 1982). 연골어류(상어 및 칠성장어)와 경골어류(대구, 잉어, 송어 및 폐어) 등의 췌장조직은 담낭, 담관의 점막, 비장과 유분수 사이 그리고 식도와 소장연결부 등에서 외분비조직에 싸여 있거나 내분비부만 독립적으로 존재한다 (Thomas, 1970; Kobayashi and Ali, 1981; Hansen et al., 1987).

본 연구에서 조사한 각급 척추동물 췌장의 형태는 계통에 따라 다소 차이가 있었다. 파충강의 사라와 남생이에서는 충실한 선체로 되어 있었고, 뱀목의 모든 동물에서는 간상 및 난원형을 띤 선체이었으며, 양서강의 유미목과 무미목에서는 3-5개의 돌기를 가진 불규칙한 모양의 독립된 하나의 선체로 되어 있었다. 어강의 경우 두릅상어에서는 포유동물과 그 형태가 유사한 치밀한 장기였고, 경골어류(향어, 봉어, 베기, 눈동자개, 자가사리 및 송어)에서는 간질질, 담관, 식도와 장의 연결부에서 미만성으로 분포되어 있었다. 본 연구에서 관찰된 동물에 따른 췌장의 모양과 위치의 차이는 췌장의 발생 및 분화과정에서 관찰되는 특징들이다 (Thomas, 1940).

Thomas (1940)는 연골어류에서 췌장의 내분비 세포의 구성에 따라 다음과 같이 췌장을 3군으로 분류하였다. 즉, 내분비세포가 췌관상피에만 존재하는 원시형 췌장(primitive pancreas), 췌관으로부터 파생된 세포로 구성된 중간형 췌장(intermediate pancreas), 그리고 췌관상피에는 소수의 내분비세포가 분포하고 작은 내분비세포

들이 삼을 형성하는 고등형 췌장(advanced pancreas) 등으로 구분하였다. 본 연구대상의 하나인 두릅상어의 췌장은 Thomas 분류방식에 따를 때 원시형 췌장에 해당됨을 알 수 있었고, 사라와 남생이의 경우 중간형 췌장에 속하며, 파충강의 뱀목, 양서강의 무미목 및 어강의 잉어목과 칠어목 등의 것들은 고등형 췌장에 속하는 것으로 생각되었다.

본 연구에서 조사한 B세포와 PP세포의 밴도는 양서강, 어강 및 파충강의 순서로 감소하였다. A세포의 밴도는 파충강, 어강 및 양서강 순으로 작아졌고, D세포의 출현율은 어강, 파충강 및 양서강 순으로 출현하였다. 각 내분비세포의 출현율의 순서를 보면, 파충강 및 어강에서는 B세포가 가장 높고, 그 다음이 A세포, D세포 순이었으며, PP세포가 가장 낮았다. 특이하게도 양서강에서는 PP세포가 D세포에 비해 높게 나타났다. 이러한 현상은 pancreatic polypeptide는 위산 분비의 조절과 긴밀한 관계가 있다는 보고(Polak et al., 1976)를 감안할 때 서식지에 따른 식이와 영양의 차이로 인해 하동동물의 위장관과 췌장의 구조가 고등동물의 그것과 매우 다름을 시사하는 것으로 해석된다.

두꺼비와 개구리(Kaung and Elde, 1980; El-Salhy et al., 1982)에서는 B세포가 췌도의 중앙 혹은 주변부에 위치한 반면, 악어와 뱀(Rhoten, 1984; Yamada et al., 1986), 개상어(El-Salhy, 1984), 가오리(Yoshida et al., 1983) 및 폐어(Hansen et al., 1987) 등에서는 췌도의 중앙부에 위치한다는 보고가 있었다. 본 연구의 결과 B세포는 파충강의 뱀목, 양서강의 무미목 및 어강의 잉어목과 청어목에서 췌도내에 전제적으로 균등하게 분포함을 알 수 있었다. 이러한 결과는 동물에 따라 다소 차이는 있었으나 상기의 학자들의 보고와 대동소이 하였다.

본 연구의 조사 결과로는 여러 동물의 췌장 외 분비성 실질인 선포와 췌관상피에서도 B세포가 관찰되었다. 즉 파충강 및 양서강의 무미목 등에서 선포내 및 선포사이에서 B세포가 관찰되었다. 또한 양서강의 무당개구리, 어강의 향어와 두릅상어에서는 췌관상피내에서도 B세포가 출현하였다. 이러한 사실은 두꺼비(El-Salhy et al.,

1982), 악어(Yamada et al., 1986) 및 개상어(El-Salhy, 1984) 등에서 선포 또는 체관상피에 B세포가 출현한다는 보고에 비추어 계통간에 분포양상이 다양하다는 것을 알 수 있다.

본 연구에서 각종 척추동물의 체장 A세포는 대부분이 체도 내에 분포하였고 외분비성 질질내에서도 소수 관찰되었다. 파충강(뱀목), 양서강(무미복) 및 이강(잉어복과 청어복)에서 A세포는 주로 체도의 주변부에 위치하였으나, 어강의 일부 종(메기, 눈동자개, 향어 및 송어)에서는 체도 중앙부에서도 분포하였으며, 대부분 동물의 선포속이나 선포사이에서 A세포가 출현하였다. 과거 연구자들로 동물실험에서 개구리(El-Salhy et al., 1982), 악어와 뱀(Rhoten, 1984; Yamada et al., 1986), 및 가사미(Yoshida et al., 1983) 등에서 A세포가 체도의 주변부에 위치하고 있다고 보고한 바 있으며, 두꺼비와 개구리(Kaung and Elde, 1980; El-Salhy et al., 1982), 악어(Yamada et al., 1986) 및 잉어(Rombout et al., 1986) 등에서는 외분비성 질질내에서 A세포가 출현한다는 보고도 있었다. A세포가 체도 주변부 이외에도 외분비신진 내에 출현하는 것으로 나타난 본 연구의 결과를 여러 학자들의 결과와 비교할 때 계통간에 종에 따른 차이는 있으나 본 연구의 결과가 기존의 보고들과 거의 일치함을 알 수 있다. 다만 양서강의 무당개구리 및 이강의 두릅상어의 경우 체관상피에서도 A세포가 간혹 관찰되는 것으로 미루어 보아 동물에 따라 체장내 A세포의 분포양상이 다양할 것을 알 수 있었다.

과거 연구자들의 체장내 D세포의 분포상태에 대한 보고를 보면, 역시 동물에 따라 다소 차이가 있다는 것을 알 수 있다. 즉 양서강의 두꺼비와 개구리(Kaung and Elde, 1980; El-Salhy et al., 1982), 파충강의 뱀(Rhoten, 1984) 및 어강의 페어(Hansen et al., 1987) 등에서는 D세포들이 체도의 주변부에 분포한다고 보고 되었고, 잉어(Rombout et al., 1986), 송어(Wagner and McKeown, 1981) 등에서는 체도의 중앙부에서 관찰되었다고 보고되었다.

본 연구에서도 파충강의 뱀목(유혈복이, 까치살모사 및 쇠살모사), 양서강의 무미복 및 어강(붕어, 눈동자개, 자가사리 및 향어) 등에서 D세

포들이 체도의 주변부에서 관찰되었고, 파충강의 뱀목(능구렁이, 무자치, 살모사 및 까치살모사)과 어강(붕어, 눈동자개, 자가사리 및 송어)에서 D세포가 체도의 중앙부에서도 관찰되었다. 따라서 D세포의 분포는 동물에 따라 차이가 있다는 것을 확인할 수 있었다. 한편 양서강을 제외한 대부분 동물들은 선포속과 선포사이에 D세포가 출현하는 것으로 나타났다. 이러한 사실은 과거 연구자들에 의해 양서강의 개구리(El-Salhy et al., 1982), 파충강의 악어(Yamada et al., 1986), 어강의 페어(Hansen et al., 1987) 등에서 보고된 바 있다. 본 조사에서 양서강의 무당개구리, 어강의 두릅상어에서는 체관상피에서 D세포가 출현하였다.

PP세포들은 양서강 및 어강 등에서는 체도의 주변부에 분포하고, 이강의 베기등은 체도 중앙부에서도 분포하는 것이 관찰되었는데, 이 결과는 개구리와 두꺼비(El-Salhy et al., 1982), 잉어(Rombout et al., 1986) 및 악어(Yamada et al., 1986) 등에서 여러 학자들에 의해 보고된 것과 일치하였다. 그러나 본 연구에서는 특이하게도 어강의 일부 종(붕어, 향어, 송어 및 두릅상어) 그리고 뱀목의 모든 종에서 PP세포가 관찰되지 않았으며, 이와 같은 결과는 동물에 따라 체장내 분비세포의 출현양상이 뚜렷하게 다름을 보여주는 것으로 해석된다. El-Salhy 등(1982)은 두꺼비와 개구리에서, Yamada 등(1986)은 악어에서, Rhoten과 Smith(1978)은 도마뱀에서, 그리고 Rhoten(1984)은 뱀에서 PP세포가 선포속과 선포사이에 출현한다고 보고하였다. 또한 El-Salhy(1984)는 개상어에서, Sekine와 Yui(1981)는 가오리 등에서, PP세포가 체관상피에서도 관찰된다고 보고하였다. 양서강에서 PP세포가 선포사이 및 선포속에서 관찰된 본 실험의 결과는 앞선 보고들과 거의 일치하였다. 그러나 뱀목에서는 PP세포가 출현하지 않았으며, 무당개구리에서는 특이하게도 PP세포가 체관상피에서도 출현하여 동물에 따라 PP세포의 분포양상에 뚜렷한 차이가 있음을 보여주었다.

본 연구의 결과를 요약하여 볼 때 척추동물 체장의 내분비세포들은 주로 체도안에 위치하였으나, 외분비질질에서도 도물게 나타남을 알 수 있

았다. 또한 각 세포의 크기와 모양은 계통-간에 많은 차이를 보였으며, 일반적으로 고등동물 일수록 4종의 대분비세포 가운데 B세포가 많이 출현 하였고 PP세포가 드물 반면 하등동물에서는 B세포가 고등동물에 비해 드물며 반면 PP세포가 많이 출현하였다. 이러한 각 대분비세포의 분포와 출현율의 차이는 서식처의 환경적 요인과, 식이에 따른 각 동물의 소화 및 당내사과정의 차이에 따른 제2항상성 유지를 위한 생리적 요인과 관계있을 것으로 생각된다(Norris, 1980).

인용문헌

- Choi, W. B., C. D. Choi, M. H. Won, J. E. Seo, and N. J. Kim, 1988. Immunocytochemical study on endocrine cells containing insulin, glucagon, somatostatin and pancreatic polypeptide in the pancreas of the hedgehog, *Erinaceus Koreanus*. *Kor. J. Zool.* **32**: 111-121.
- El-Salhy, M., 1984. Immunohistochemical investigation of the gastro-enteropancreatic (GEP) neurohormonal peptides in the pancreas and gastrointestinal tract of the dogfish, *Squalus acanthias*. *Histochemistry* **80**: 193-205.
- El-Salhy, M. and L. Grimelius, 1981. Immunocytochemical localization of Gastrin C-terminus, Gastric inhibitory peptide (GIP) and Endorphin in the pancreas of lizards with special reference to the hibernation period. *Regul. Peptide* **2**: 97-111.
- El-Salhy, M., E. Wilander, and G. Abu-Sinna, 1982. The endocrine pancreas of anuran amphibians: A histological and immunocytochemical study. *Biomed. Res.* **3**: 579-589.
- Hansen, G. N., B. L. Hansen, and P. N. Jorgensen, 1987. Insulin-, glucagon- and somatostatin-like immunoreactivity in the endocrine pancreas of the lungfish, *Neoceratodus forsteri*. *Cell Tiss. Res.* **248**: 253-261.
- Hellerström, C. and K. Asplund, 1966. The two types of A cells in the pancreatic islets of snakes. *Z. Zellforsch.* **70**: 68-80.
- Hellman, B. and C. Hellerström, 1962. Cellular composition of the islets of Langerhans in the bullfrog, *Rana catesbeiana*. *Acta anat.* **48**: 149-155.
- Hsu, S. M., L. Raine, and H. Fanger, 1981. Use of avidin-biotin-peroxidase complex (ABC) in immunoperoxidase techniques: A comparison between ABC and unlabeled antibody (PAP) procedures. *J. Histochem. Cytochem.* **29**: 577-580.
- Kaung, H. C. and R. P. Elde, 1980. Distribution and morphometric quantitation of pancreatic endocrine cell types in the frog, *Rana pipiens*. *Anat. Rec.* **196**: 173-181.
- Khanna, S. S. and S. Kumar, 1973. Cellular composition of the pancreatic islets of the common Indian frog, *Rana tigrina*. *Acta anat.* **36**: 524-531.
- Kobayashi, K. and S. S. Ali, 1981. Cell types of the endocrine pancreas in the shark, *Scylliorhinus stellaris* as revealed by correlative light and electron microscopy. *Cell Tiss. Res.* **215**: 475-490.
- Lange, R., 1967. Licht- und elektronenmikroskopische Identifizierung der Zelltypen im Inselapparat des Frosches *Rana ridibunda*. *Z. Zellforsch.* **82**: 156-172.
- McNeill, D. L., J. E. Brinn, and D. J. Hetcher, 1984. Immunocytochemical study of the pancreatic islet system of the channel catfish. *Anat. Rec.* **209**: 381-384.
- Nakane, P. J., 1968. Simultaneous localization of multiple tissue antigen using the peroxidase-labelled antibody method: A study on pituitary glands of the rat. *J. Histochem. Cytochem.* **16**: 119-122.
- Norris, D. O., 1980. *Vertebrate Endocrinology* 3rd ed., pp. 242-267. Lea & Febiger, Philadelphia.
- Orci, L., 1982. Macro- and micro-domains in the endocrine pancreas. *Diabetes* **31**: 538-564.
- Polak, J. M., T. E. Adrian, M. G. Bryant, S. R. Bloom, P. H. Heitz, and A. G. E. Pearse, 1976. Pancreatic polypeptide in the insulinomas, gastrinomas, and glucagonomas. *Lancet* **1**: 328-330.
- Rhoten, W. B., 1984. Immunohistochemical 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 hormones in the pancreas of the lizard, *Anolis carolinensis*. *Anat. Rec.* **199**: 89-97.
- Rhoten, W. B. and P. H. Smith, 1978. Localization of four polypeptide hormones in the Saurian pancreas. *Am. J. Anat.* **151**: 595-601.
- Rombout, J. H. W. M., C. P. M. Van der Grinten, F. M. Peeze Binkhorst, J. J. Taverne-Thiele, and H. Schooneveld, 1986. Immunocytochemical identification and localization of peptide hormones in the gastro-entero-pancreatic (GEP) endocrine system of the mouse and a stomachless fish, *Barbus conchonius*. *Histochemistry* **84**: 471-483.
- Sekine, Y. and R. Yui, 1981. Immunohistochemical study of the pancreatic endocrine cells of the ray, *Dasyatis akajei*. *Arch. histol. jap.* **44**: 95-101.
- Sternberger, L. A., P. H. Hardy, J. J. Cuculis, and H. G. Meyer, 1970. The unlabeled antibody enzyme method

- of immunocytochemistry: Preparation and properties of soluble antigen-antibody complex (Horseradish peroxidase-antihorseradish peroxidase) and use in identification of spirochetes. *J. Histochem. Cytochem.* **18**: 315-333.
- Thomas, N. W., 1970. Morphology of endocrine cells in the islet tissue of the cod *gadus callarias*. *Acta Endocrinol.* **63**: 679-695.
- Thomas, T. B., 1940. Islet tissue in the pancreas of the elasmobranchii. *Anat. Rec.* **76**: 1-17.
- Wagner, G. F. and B. A. McKeown, 1981. Immunocytochemical localization of hormone-producing cells within the pancreatic islets of the rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Cell Tiss. Res.* **221**: 181-192.
- Yamada, J., V. J. M. Campos, N. Kitamura, A. C. Pache-
- co, T. Yamaschita, and N. Yamnaihara, 1986. An immunohistochemical study of endocrine cells in the pancreas of *Caiman latirostris* (Alligatorinae), with special reference to pancreatic motilin cells. *Biomed. Res.* **7**: 199-208.
- Yoshida, K., T. Iwanaga, and T. Fujita, 1983. Gastro-entero-pancreatic (GEP) endocrine system of the flatfish, *Paralichthys olivaceus*: An immunocytochemical study. *Arch. histol. jap.* **46**: 259-266.
- Yui, R and T. Fujita, 1986. Immunocytochemical studies on the pancreatic islets of the ratfish, *Chimera monstrosa*. *Arch. histol. jap.* **49**: 396-377.

(Accepted June 1, 1991)

*Immunocytochemical Studies on the Pancreatic Endocrine Cells of Phylogenetically Different Vertebrates II. Reptilia, Amphibia, and Pisces

Nam Jung Kim, Hyuk Bang Kwon,* and Wol Bong Choi (Department of Anatomy, College of Medicine, Hallym University, Chunchon 200-010, Korea; Department of Biology,* Chonnam National University, Kwangju 550-757, Korea)

This study was conducted to investigate the distribution, frequency, and morphology of various types of pancreatic endocrine cells in three classes of vertebrate species, 8 species from Reptilia; 8 from Amphibia; and 7 from Pisces.

In hematoxylin-eosin stained sections, the pancreas from Testudinata of Reptilia, from Urodela of Amphibia and Lamnida of Pisces were noted to contain diffuse endocrine tissue instead of segregated islets. In the immunostained sections, four types of pancreatic cells could be identified, namely, glucagon positive A cell, insulin positive B cell, somatostatin positive D cell, and pancreatic-polypeptide positive PP cell. The size of the each endocrine cell according to the animal species was noted to be as follows: B-cell; Reptilia > Amphibia > Pisces, A-cell and PP cell; Amphibia > Reptilia > Pisces, D-cell; Amphibia > Pisces > Reptilia. No significant differences were noted in the shapes of endocrine cells among the animal species used in this study. The shapes of cell was generally round or oval, and sometimes fusiform or wedge-shaped. Most abundant cell type in the islets of all animals was B-cell, next was A-cell, and the least abundant were D-cell and PP-cells. PP-cells were outnumbered by D-cells in Amphibia, but were far less in number than the D-cells in other vertebrates. The average order of frequencies in B-cell and PP cell among the animal species was Amphibia, Pisces, Reptilia. In the case of A-cell, the frequency was in the order of Reptilia, Pisces, Amphibia and, in the case of D-cell, was Pisces, Reptilia, Amphibia. The distribution of B-cells in the vertebrates was throughout the islet, and these of A-cells and D-cells were generally at the islet periphery but, D-cells in the Pisces were also present in the central region of the islet. The distribution of PP-cells, a fewer cell type, located peripherally in the islet. In pancreases of Reptilia and Amphibia, a few isolated endocrine cells were observed within the exocrine acinus tissue, and occasionally in the epithelium of pancreatic duct. However in Pisces, none of the endocrine cells were found in the exocrine parenchyma.

Explanation of Figures

- Fig. 6.** A pancreatic islet (outlined by dotted line) of the snake, *Dinodon rufozonatum rufozonatum*, with H-E staining is shown to have numerous endocrine cells along the blood vessels. $\times 500$.
- Fig. 7.** A intrasplenic pancreatic islet (encircled by dotted line) of the snake, *Agkistrodon saxatilis*, stained with H-E is shown to have enhanced acidophilia than the surrounding splenic tissue. $\times 300$.
- Fig. 8.** Pancreatic islet (outlined by dotted line) of the toad, *Bufo bufo gargarizans*, stained with H-E is shown to be composed mainly of endocrine cells arranged in cords. $\times 500$.
- Fig. 9.** Pancreatic islet (encircled by dotted line) of the teleostei, *Parasilurus asotus*, stained with H-E is shown to be sharply demarcated by connective tissue capsule from the exocrine pancreatic tissue. $\times 500$.
- Fig. 10.** A triple immunostained pancreatic islet with ABC method for B-, A- and D-cells of the snake pancreas, *Agkistrodon saxatilis*, is shown. B-cells (brown) and A-cells (greyish-blue, arrowheads) are distributed throughout islet. D-cells (red, arrow) are present at the periphery of the islet. $\times 500$.
- Fig. 11.** A double immunostained pancreatic tissue with ABC method for B-cells (brown) and A-cells (greyish-blue, arrows) of the newt, *Diemyctylus pyrrhogaster*, is shown. B-cells and A-cells are dispersed in the exocrine parenchyma. $\times 500$.
- Fig. 12.** A double immunostained pancreatic islet with ABC method for D-cells (brown) and PP-cells (greyish-blue) of the toad, *Bufo bufo gargarizans*, is shown. The both cell types are generally confined to the periphery of islet. $\times 500$.
- Fig. 13.** A double immunostained pancreatic islet with ABC method for D-cells (brown) and A-cells (greyish-blue, arrows) of the teleostei, *Cyprinus carpio nudu*, is shown. D-cells and A-cells are scattered throughout the islet. $\times 500$.
- Fig. 14.** Pancreatic tissue of snake, *Agkistrodon saxatilis*, immunostained with anti-insulin serum by the PAP method shows an islet with numerous B-cells along the blood vessels. $\times 500$.
- Fig. 15.** Pancreatic tissue of snake, *Agkistrodon blomhoffii brevicaudus*, immunostained with anti-insulin serum by the PAP method shows isolated B-cells (arrows) among the exocrine acinar cells. $\times 500$.
- Fig. 16.** Pancreatic tissue of snapping turtle, *Amyda maackii*, immunostained with anti-insulin serum by the PAP method shows B-cells aligned along the blood vessels. $\times 500$.
- Fig. 17.** Pancreatic tissue of snake, *Rhadophis tigrina lateralis*, immunostained with anti-glucagon serum by the PAP method shows an islet with abundant A-cells arranged along the small blood vessels. $\times 500$.
- Fig. 18.** Pancreatic tissue of korean terrapin, *Geoclemmys reevesii*, immunostained with anti-glucagon serum by the PAP method shows A-cells (arrows) aligned around the capillaries. $\times 500$.
- Fig. 19.** Pancreatic tissue of snake, *Dinodon rufozonatum rufozonatum*, immunostained with anti-somatostatin serum by the PAP method shows many D-cells scattered throughout the islet. $\times 500$.
- Fig. 20.** Pancreatic tissue of snake, *Enhydris rufzonatum*, immunostained with anti-somatostatin serum by the PAP method shows D-cells located in the periphery of islet. $\times 500$.
- Fig. 21.** Pancreatic tissue of snapping turtle, *Amyda maackii*, immunostained with anti-pancreatic polypeptide serum by the PAP method shows PP-cells among the exocrine acini. $\times 500$.
- Fig. 22.** Pancreatic tissue of toad, *Bufo bufo gargarizans*, immunostained with anti-insulin serum by the PAP method shows an islet composed mainly of B-cells. $\times 500$.
- Fig. 23.** Pancreatic tissue of frog, *Bombina orientalis*, immunostained with anti-insulin serum by the PAP method shows a B-cell (arrow) between the pancreatic duct cells. $\times 500$.
- Fig. 24.** Pancreatic tissue of newt, *Diemyctylus pyrrhogaster*, immunostained with anti-glucagon serum by the PAP method shows A-cells (arrows) among the acinar cells. $\times 500$.
- Fig. 25.** Pancreatic tissue of the frog, *Hyla arborea Japonica*, immunostained with anti-glucagon serum by the PAP method shows a few A-cells (arrow) at the periphery of islet and in the exocrine acini. $\times 500$.
- Fig. 26.** Pancreatic tissue of toad, *Bufo bufo gargarizans*, immunostained with anti-somatostatin serum by the PAP method shows an islet with some D-cells at its periphery. $\times 500$.
- Fig. 27.** Pancreatic tissue of frog, *Rana nigromaculata coreana*, immunostained with anti-somatostatin serum by the PAP method shows two D-cells (arrows) in the pancreatic duct epithelium. $\times 500$.
- Fig. 28.** Pancreatic tissue of frog, *Bufo bufo gargarizans*, immunostained with anti-pancreatic polypeptide serum by the PAP method shows clusters of PP-cells along the peripheral border of islet. $\times 500$.
- Fig. 29.** Pancreatic tissue of frog, *Hyla arborea Japonica*, immunostained with anti-pancreatic polypeptide serum by the PAP method shows many PP-cells. $\times 500$.
- Fig. 30.** Pancreatic tissue of teleostei, *Cyprinus carpio nudu*, immunostained with anti-insulin serum by the PAP method shows an islet with abundant B-cells. $\times 500$.

Fig. 31. Pancreatic tissue of cat shark, *Scylliorhinus torazame*, immunostained with anti-insulin serum by the PAP method shows a few isolated B-cells (arrows) in the pancreatic duct epithelium. $\times 500$.

Fig. 32. Pancreatic tissue of teleostei, *Liobagrus mediadiposalis*, immunostained with anti-glucagon serum by the PAP method shows A-cells at the periphery of islet. $\times 500$.

Fig. 33. Pancreatic tissue of teleostei, *Scylliorhinus torazame*, immunostained with anti-glucagon serum by the PAP method shows A-cells (arrows) in the pancreatic duct epithelium. $\times 500$.

Fig. 34. Pancreatic tissue of teleostei, *Cyprinus carpio nudu*, immunostained with anti-somatostatin serum by the PAP method shows D-cells scattered throughout the islet. $\times 500$.

Fig. 35. Pancreatic tissue of cat shark, *Scylliorhinus torazame*, immunostained with anti-somatostatin serum by the PAP method shows deeply stained D-cells in the pancreatic duct epithelium. $\times 500$.

Fig. 36. Pancreatic tissue of the teleostei, *Liobagrus mediadiposalis*, immunostained with anti-pancreatic polypeptide serum by the PAP method shows a small number of PP-cells (arrows) at the periphery of islet. $\times 500$.

Fig. 37. Pancreatic tissue of teleostei, *pseudovagrus sp.*, immunostained with anti-pancreatic polypeptide serum by the PAP method shows a small number of PP-cells (arrows), at the periphery of islet. $\times 500$.

