

한국 연근해산 두족류 (*Todarodes pacificus* and *Octopus minor*) 시엽 (Optic lobe)내 Serotonin 및 Somatostatin의 분포에 관한 면역전자현미경적 연구

장남섭*, 한종민, 김상원, 이광주¹, 황선종¹, 이정찬²
목원대학교 자연과학대학 생명과학부, ¹충북대학교 의과대학 해부병리과,
²을지외과대학병원 해부병리과

Immuno-Electron Microscopic Studies on the Localization of Serotonin and Somatostatin in the Optic Lobes of Cephalopods (*Todarodes pacificus* and *Octopus minor*) Inhabiting the Korean Waters

Nam-Sub Chang*, Jong-Min Han, Sang-Won Kim,
Kwang-Ju Lee¹, Sun-Jong Hwang¹ and Jung-Chan Lee²
Department of Life Science, College of Natural Science, Mokwon University, Taejon, 302-729, Korea
¹Dept. of Anatomy, Chungbuk National University College of Medicine, Chungju, Korea
²Dept. of Anatomic Pathol, Eulji Univ. Hospital, Taejon, Korea
(Received July 18, 2002; Accepted August 31, 2002)

ABSTRACT

In this study, we carried out immunostaining and immunogold labeling with antibodies to serotonin and somatostatin to examine the characteristics and functions of the neurons that secrete neurotransmitters in optic lobes of *Todarodes pacificus* and *Octopus minor*.

As a result of immunostaining with anti somatostatin, the nerve cells of *Todarodes pacificus* reacted as similar to the anti serotonin, but in *Octopus minor*, only large cells in the outer granule cell layer reacted positively.

In the immunogold labeling with anti serotonin, the nerve cells in the inner granule cell layer and medulla of *Todarodes pacificus* reacted strongly, 30 gold particles being labeled per $0.5 \mu\text{m}^2$ of the cytoplasm. However, in *Octopus minor*, only 17 gold particles were labeled, which stated a weak reaction. On the other hand, in the anti somatostatin case, the nerve cells in the outer and inner granule cell layers and medulla of *Todarodes pacificus* showed strong reaction, 30 gold particles being labeled per $0.5 \mu\text{m}^2$ of the cytoplasm while the nerve cells in the outer granule cell layer of *Octopus minor* reacted weakly, about 3 gold particles being labeled per the equivalent area. As a result of immunostaining and immunogold labeling with two types of antibodies to

* Correspondence should be addressed to Dr. Nam-Sub Chang, Department of Life Science, College of Natural Science, Mokwon University, Taejon, 302-729, Korea Ph.: 042-829-7582, FAX: 042-829-7580, E-mail: nschang@mokwon.ac.kr
Copyright © 2002 Korean Society of Electron Microscopy

each part of the optic lobes, we found that the reactive nerve cells were distributed differently in the two species. In particular, the degree of reactivity to the immunostaining and immunogold labeling appeared stronger in *Todarodes pacificus* than in *Octopus minor*.

Key words : Anti serotonin, Anti somatostatin, Immunogold labeling, Immunostaining

서 론

두족류(cephalopod)의 중추신경계가 고등 척추동물의 중추신경계처럼 분화된 형태와 기능을 나타낸다는 것은 이미 잘 알려진 사실이다(Bullock & Horridge, 1965; Young, 1974, 1979). 특히 Young(1974, 1979)은 감각신경 중추인 시엽(optic lobe)내 무축삭세포(amine cell)와 다극신경세포들(multipolar neurons)의 형태 및 분포에 대해 상세히 언급한 바 있다. 또한 뇌와 시엽내 무축삭세포와 다극신경세포들의 역할과 기능이 신경전달물질의 분포와 밀접한 관계가 있음이 고등동물을 위시해서 무척추동물의 두족류에 이르기까지 많은 연구가 진행되어 왔다(Sano et al., 1982, 1983; Bishop & O'Shea, 1983; Li et al., 1996).

신경전달물질(neurotransmitter)은 포유동물인 경우 중추신경계(CNS)에 약 30여 개의 peptide 물질이 존재한다고 하였는데, 그 중 소수를 제외하고는 중추신경계에서의 기능이 잘 알려져 있지는 않다(Jackson, 1981; Fritsch et al., 1982; LeRoith & Roth, 1984).

연체동물 두족강에 속하는 낙지와 오징어류의 뇌 신경절 및 시엽을 대상으로 한 면역조직화학적 연구는 Juorio(1971)와 Juorio & Killick(1972)가 두족류의 뇌에서 serotonergic neuron의 분포를 연구한 이래 여러 신경전달물질에 대한 면역학적 연구가 시도되어 왔다(Saidel, 1982; Osborne et al., 1986; Feldman, 1986; Uemura et al., 1987; Yamashita et al., 1990; Suzuki et al., 2000).

특히 Feldman(1986)은 오징어류(*Loligo pealei*)의 중추신경계내 존재하는 somatostatin이 척추동물의 somatostatin과 분자구조가 유사하며, 오징어류의 시엽과 뇌에서도 항somatostatin에 양성반응을 나타내는 neuron이 존재함을 입증하였다.

최근 두족류의 시엽과 뇌에서 항-serotonin에 양성

반응을 보이는 세포를 관찰한 연구에는 Uemura et al.(1987)과 Yamashita et al.(1990)이 있고 항-galanin에 양성반응인 세포를 대상으로 한 연구에는 Suzuki et al.(2000)이 있는데, 특히 Suzuki et al.(2000)은 낙지류(*Octopus vulgaris*)의 시엽에서 항 serotonin과 항 galanin에 반응하는 세포가 일치하고 있음도 확인한 바 있다.

이상과 같이 두족류의 뇌신경계와 시엽에서도 척추동물에서 관찰되는 신경전달물질과 유사한 항체반응을 나타내는 세포들이 계속해서 관찰되고 있다.

본 연구에서는 이미 발표된 두족류 시엽내 dopamine과 calbindin의 분포에 관한 연구(Han & Chang, 2002)와 더불어 척추동물에서 다양하게 관찰되는 신경세포들을 무척추동물에서도 확인하기 위한 일환으로 serotonin과 somatostatin에 대한 두 가지 항체를 사용한 면역염색과 면역금표지법을 통해, 한국 연근해에서 서식하고 있는 살오징어와 서해낙지의 시엽내에 존재하는 serotonin성 신경세포와 somatostatin성 신경세포들의 분포상태를 확인하고자 본 실험을 시행하였다.

재료 및 방법

1. 실험재료

본 실험에 사용한 재료는 우리나라 연근해에서 서식하고 있는 살오징어(*Todarodes pacificus*)와 서해낙지(*Octopus minor*)로서, 30% ethyl alcohol을 첨가하여 마취시킨 다음, 눈과 연결되어 있는 머리부위를 절개하여 뇌신경절과 시엽을 적출 하였으며, 실험에 사용할 수 있도록 필요한 부위를 적당한 크기로 잘라낸 다음 면역세포화학적 방법(immunocytochemistry)과 면역금표지법(Immunogold labeling)을 이용, 결과를 관찰하였다.

2. 실험방법

1) 면역세포화학적 방법

4% paraformaldehyde로 24시간 정도 고정을 한 후, 0.1M PBS로 수세한 다음 통상적인 방법으로 파라핀에 포매하였다. 파라핀 포매조직은 5 μ m 두께로 박절하여 APES-coated slide에 부착시킨 다음 xylene으로 파라핀을 제거하였고, 함수시킨 후 실온에서 0.5 M Tris-HCl buffer (pH 7.2~7.6)에 5분간 처리하였다. 이후 3% H₂O₂ 용액에 실온에서 5분간 처리하여 비특이성 반응을 억제시킨 다음 항원 (serotonin 및 somatostatin)에 대한 일차 항체를 조직위에 떨어뜨리고 실온에서 1시간 30분간 반응시켰다. serotonin과 somatostatin에 대한 일차 항체는 각각 polyclonal antibody인 rabbit anti-serotonin, somatostatin (Zymed, California, USA)을 사용하였다. 최적염색을 위한 희석배율을 정하기 위하여 정상대조군을 대상으로, 항원의 항체는 10, 50, 100, 200, 500배로 희석하여 각기 염색하였다.

면역조직화학 염색은 Histostain™-Plus Kit (Zymed Laboratories Inc., USA)를 사용하여 ABC (Avidin-Biotin-Peroxidase Complex) 방법으로 염색하였으며 Link antibody 용액을 첨가하여 실온에서 20분간 반응하였다. 각 단계와 단계 사이에는 0.5 M Tris-HCl buffer (pH 7.2~7.6)로 2회씩 세척하여 각 단계에서 여분의 항체를 제거하였다. 마지막으로 DAB substrate-chromogen 용액을 첨가하여 실온에서 10분간 방치한 후 증류수로 세척하였다. 또한 각 예마다 일차항체 대신 음성대조군 용액 (Zymed Laboratories Inc., USA)을 사용하여 염색을 병행하였으며 갈색으로 염

색된 경우를 양성으로 판독하였다.

2) 면역금표지법

4% paraformaldehyde에 고정 후, 50%와 70% alcohol로 탈수시켰으며, 이어 친수성인 LR white에 침투시킨 다음 37°C에서 48시간 중합시켜 포매하였다. 이후 LKB-V ultramicrotome을 사용하여 1 μ m 두께의 절편을 제작하고 이를 methylene blue로 단일 염색 후 광학현미경하에서 정확한 부위를 확인한 다음, 초박절편을 만들어 formbar-coated nickel grid에 부착시켰다.

조직절편을 포함하고 있는 nickel grid는 조직내 aldehyde 기를 제거하기 위하여 0.5% NaBH₄가 첨가된 PBST-1% BSA (pH 7.2)에 10~20분간 띄워 놓았다. 이어 PBS로 수회 세척한 다음, PBST-1% BSA (pH 7.2)에 10분간 띄워 놓았으며 1:50 (in PBST)으로 희석시킨 항체 (rabbit anti-serotonin and somatostatin)에 띄운 후 40분간 반응시켰다. 비특이적인 반응을 없애기 위해 PBST-1% BSA (pH 7.2)로 여러 번 씻어 내고 protein A gold (10 nm) (1:20 in PBST-1% BSA)와 20분간 반응시켰다. 이어 PBST와 3차증류수로 여러 번 씻어낸 다음 uranyl acetate로 단일염색하여 Hitachi H-600 투과전자현미경 (75 kV)으로 관찰하였다. Kim & Lee (1998)의 방법을 이용하여 세포질 0.5 μ m²당 표지된 금입자의 수를 계산하여 면역항체에 따른 면역반응의 정도를 비교 검토하였다.

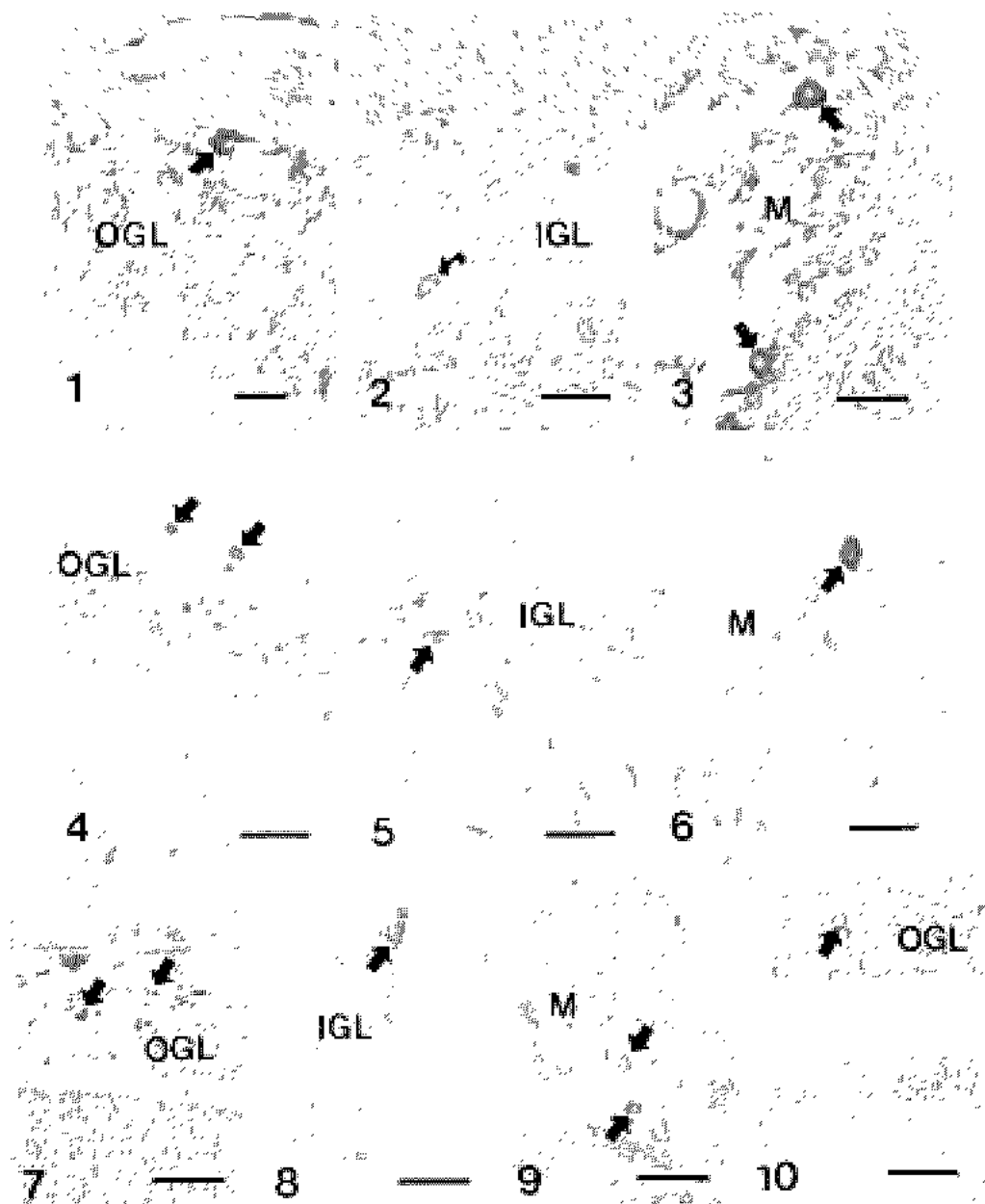
결 과

살오징어와 서해낙지의 시업을 대상으로 회전절편

Table 1. Distribution and degree of immunoreactive cells for two antibodies (serotonin and somatostatin) in optic lobes

		Serotonin		Somatostatin	
		Mean number of cells	Mean number of gold particles / 0.5 μ m ² in cytoplasm	Mean number of cells	Mean number of gold particles / 0.5 μ m ² in cytoplasm
<i>T. pacificus</i>	OGL	1~2	30 \pm 3	1~2	25 \pm 3
	IGL	2~3	33 \pm 3	1~2	20 \pm 2
	M	5~10	28 \pm 3	3~5	30 \pm 3
<i>O. minor</i>	OGL	5	17 \pm 2	1	3 \pm 1
	IGL	1~2	20 \pm 2	-	-
	M	2~3	15 \pm 2	-	-

* Abbreviation : OGL, outer granule ocell layer; IGL, inner granule ocell layer; M, medulla; -, negative reaction.



Figs. 1-3. Light micrographs showing the positive reaction to the anti-serotonin serum in optic lobe of *T. pacificus*. Arrows, serotonin immunoreactive cells; IGL, inner granule cell layer; M, medulla; OGL, outer granule cell layer. Scale bars = 50 μ m.

Figs. 4-6. Light micrographs showing the positive reaction to the anti-serotonin serum in optic lobe of *O. minor*. Arrows, serotonin immunoreactive cells; IGL, inner granule cell layer; M, medulla; OGL, outer granule cell layer. Scale bars = 50 μ m.

Figs. 7-9. Light micrographs showing the positive reaction to the anti-somatostatin serum in optic lobe of *T. pacificus*. Arrows, somatostatin immunoreactive cells; IGL, inner granule cell layer; M, medulla; OGL, outer granule cell layer. Scale bars = 100 μ m.

Fig. 10. Light micrographs showing the positive reaction to the anti-somatostatin serum in optic lobe of *O. minor*. Arrows, somatostatin immunoreactive cells; OGL, outer granule cell layer. Scale bars = 100 μ m.

기 (rotary microtome)를 이용하여 연속절편을 만든 후, serotonin과 somatostatin에 대한 각각의 항체를 면역반응시킨 결과 각 부위별(외과립층, 내과립층 그리고 수질부)로 다양한 반응들이 나타났고, 초박절편을 만들어 각각의 항체를 면역반응시킨 후, 각항체에 반응된 세포들 (serotonin성과 somatostatin성 신경세포)의 반응정도를 확인하기 위해 직경 10nm의 금입자를 사용한 면역금표지법을 시행한 결과 각 항체의

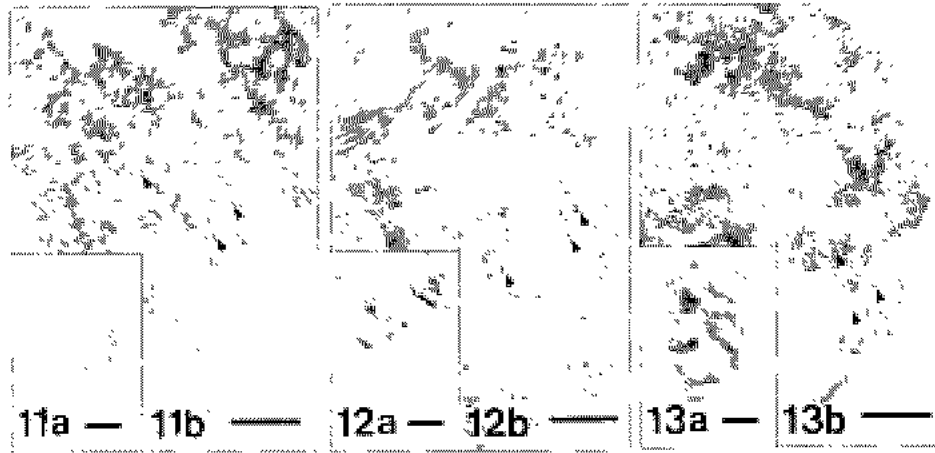
반응정도에 따른 금입자의 수가 다양하게 관찰되었다 (Table 1).

1. 면역세포화학적 결과

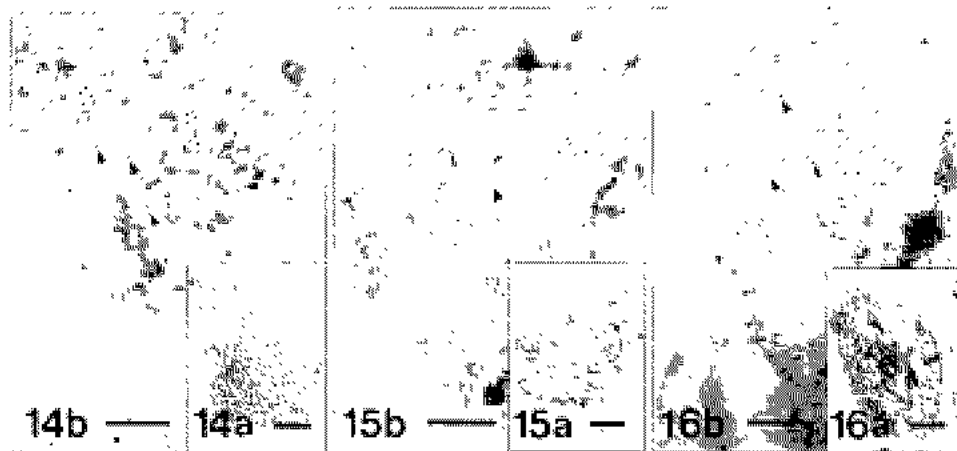
1) Serotonin 면역반응

(1) 외과립세포층

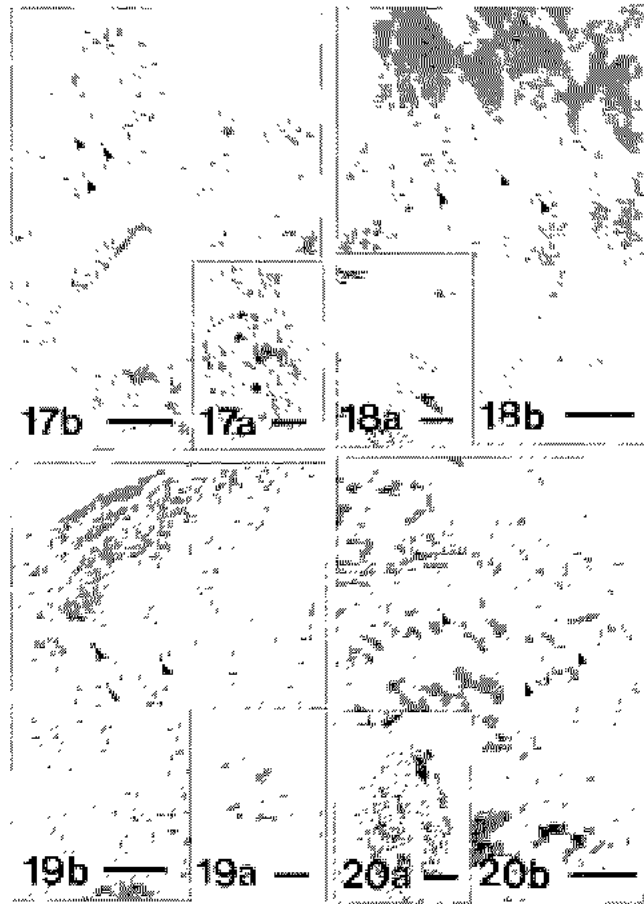
항-serotonin에 대한 양성반응은 살오징어인 경우



Figs. 11-13a, b. Electron micrographs showing the serotonin-like nerve cells appeared in the outer and inner granule cell layers and medulla in optic lobe of *Todarodes pacificus*. Arrowheads, gold particles. Scale bars = 1.5 μ m, 0.3 μ m, 1.5 μ m, 0.2 μ m, 1 μ m, 0.3 μ m.



Figs. 14-16a, b. Electron micrographs showing the serotonin-like nerve cells appeared in the outer and inner granule cell layers and medulla in optic lobe of *Octopus minor*. Arrowheads, gold particles. Scale bars = 1.5 μ m, 0.25 μ m, 1.5 μ m, 0.25 μ m, 1.5 μ m, 0.25 μ m.



Figs. 17-19a, b. Electron micrographs showing the somatostatin-like nerve cells appeared in the outer and inner granule cell layers and medulla in optic lobe of *Tadarodes pacificus*. Arrowheads, gold particles. Scale bars = 1.5 μ m, 0.2 μ m, 5 μ m, 0.25 μ m, 1.5 μ m, 0.2 μ m.

Figs. 20a, b. Electron micrographs showing the somatostatin-like nerve cell appeared in the outer granule cell layer in optic lobe of *Octopus minor*. Arrowheads, gold particles. Scale bars = 1.5 μ m, 0.25 μ m.

외과립세포층의 외측상단 시신경이 연결되는 부위에 위치한 큰 세포(직경 20~30 μ m 정도)들만이 강한 양성반응을 보인 반면 (Fig. 1), 서해낙지인 경우에는 외과립세포층의 상단부위와 중앙부위에서 비교적 다수의 세포들이 고르게 양성반응을 보였다(Fig. 4).

(2) 내과립세포층

살오징어에서는 주로 내과립세포층의 하단부에 있는 큰 세포(직경 15 μ m 정도)들에서 비교적 강한 양성반응이 나타난 반면 (Fig. 2), 서해낙지에서는 내과립세포층의 중앙부위에 위치한 약간의 타원형 세포

들이 약한 반응을 보였다(Fig. 5).

(3) 수질부

살오징어에서는 수질부의 섬을 이루는 세포들 중 5~10개의 세포에서 강한 양성반응을 보인 반면 (Fig. 3), 서해낙지에서는 이보다 적은 1~2개의 세포만이 강한 양성반응을 보였다(Fig. 6).

2) Somatostatin 면역반응

살오징어에서는 외과립세포층의 상단부위와 중앙부위의 3~5개 정도의 세포들만이 강한 양성반응을

보였고 (Fig. 7) 내과립세포층에서는 하단부위의 큰 세포 (직경 30 μm 정도)와 (Fig. 8) 수질부의 세포집단내 3~5개 정도의 세포만이 강한 양성반응을 보인 반면 (Fig. 9), 서해낙지에서는 시엽의 내과립세포층과 수질부에서는 반응이 없었고 외과립세포층의 상단에서 관찰되는 큰 세포 (직경 20 μm 정도)에서만 비교적 강한 양성반응을 보여 (Fig. 10) 살오징어와는 큰 차이가 있었다.

2. 면역전자현미경적 결과

1) Serotonin 면역금표지

살오징어인 경우 외과립 (Fig. 11a) 및 내과립세포층 (Fig. 12a)과 수질부 (Fig. 13a)에서 반응된 세포의 세포질 0.5 μm^2 당 30 \pm 3개 이상의 금입자가 관찰되어 강한 반응을 보인 반면 (Figs. 11b, 12b, 13b), 서해낙지에서는 17 \pm 2개의 금입자가 관찰되어 반응정도에 약간의 차이를 보였다 (Figs. 14-16).

2) Somatostatin 면역금표지

살오징어에서는 외과립 (Fig. 17a) 및 내과립세포층 (Fig. 18a)과 수질부 (Fig. 19a)에서 반응된 세포의 세포질 0.5 μm^2 당 약 20개 정도의 금입자가 관찰되어 강한 반응을 보인 반면 (Figs. 17b, 18b, 19b), 서해낙지에서는 외과립세포층 (Fig. 20a)내 세포의 세포질에서 3개 정도만이 반응을 보여 큰 차이를 보였다 (Fig. 20b).

고 찰

최근 새로 개발된 면역세포화학법을 이용하여 척추동물인 어류 (Sano et al., 1982, 1983), 파충류 (Sano et al., 1983; Wolters et al., 1985), 포유류 (Sano et al., 1982, 1983; Steinbusch, 1981; Takeuchi et al., 1982) 등과 무척추동물인 곤충류 (Bishop & O'Shea, 1983; Nässel & Elekes, 1984), 두 종의 복족류 *Aplysia* (Ono & McCaman, 1984)와 *Hermisenda* (Land & Crow, 1985)의 중추신경계에서 5-hydroxytryptamine (5-HT, serotonin)의 존재를 확인한 바 있다. 두족류를 대상으로 한 biogenic amine의 분포에 관한 생화학적인

연구는 비교적 활발한데 비해 (Juorio, 1971; Juorio & Killick, 1972) serotonergic neuron의 분포에 관한 연구는 비교적 저조한 편이었다 (Youdim et al., 1986; Uemura et al., 1987).

특히 Yamashita et al. (1990)과 Suzuki et al. (2000)은 낙지류 *O. vulgaris*인 경우 serotonin-like immunoreactivity (Ser-IR)가 시엽의 피질부 (외과립층과 내과립층)의 신경세포와 수질부의 섬세포에서도 신경섬유와 더불어 소수의 세포만이 양성반응을 보인다고 하여 본 실험의 살오징어 및 서해낙지의 시엽에서 많은 신경세포가 양성반응을 보인 것과는 대조를 보였다. 또한 Suzuki et al. (2000)은 시엽의 망상층을 구성하는 신경망에서도 serotonin의 면역반응이 확인된다고 하였는데, 본 연구에서는 망상층의 같은 부위에서 이같은 반응이 확인되지 않았다.

Somatostatin (SRIF)은 포유동물의 중추신경계에 널리 분포하고 있는 30여개의 neuropeptide 중의 하나로 Brazeau et al. (1973)가 포유동물의 시상하부에서 처음 분리하였으며, 이들은 뇌하수체 전엽에서 성장호르몬의 분비를 억제하는 것으로 알려졌다. Renaud et al. (1975)는 이 호르몬이 신경전달물질 또는 신경조절물질로서의 역할 (Dodd & Kelly, 1978; Olpe et al., 1980)을 수행함으로써 노인성 치매의 발생과도 깊은 관계가 있다고 하였다 (Davies & Terry, 1981).

Immunoreactive-like somatostatin (ISRIF)은 두족류인 오징어류 *Loligo pealei*의 시엽이나 식도주위신경절의 신경세포에서도 빈번히 관찰된다고 하였다 (Feldman, 1986). 특히 Feldman (1986)은 오징어류 시엽의 면역염색에서 ISRIF의 양성반응이 신경세포, 신경섬유 그리고 신경종판 등에서 고루 나타난다고 하였으며, 시엽의 외측 피질부의 외과립 및 내과립세포층에서는 소수의 세포만이 양성반응을 보인 반면, 신경망으로 둘러싸인 수질부의 섬에서는 많은 세포들이 양성반응을 보여, 본 연구의 살오징어를 대상으로 한 연구 결과와는 비슷하였으나 내과립세포층과 수질부에서는 거의 반응이 없고 외과립세포층의 극히 소수의 세포에서만 양성반응을 보인 서해낙지와는 많은 차이가 있었다.

Suzuki et al. (2000)도 낙지의 시엽에서 galanin과 serotonin의 면역반응을 동시에 확인한 바 있는데,

galanin에 면역반응을 보인 대부분의 세포들은 역시 serotonin에도 같은 면역반응을 보인 것으로 확인되었다. 본 실험에서도 galanin과 serotonin의 면역반응 실험에서 서해낙지인 경우 염색반응의 강도에는 약간의 차이가 있었지만, 이들 두 항체의 면역반응이 외과립세포층(내과립세포층은 제외)과 수질부에서는 반응의 정도가 일치했고, 살오징어에서도 수질부를 제외하고는 외과립세포층과 내과립세포층에서 반응된 세포가 일치해, Suzuki et al. (2000)의 연구결과와 거의 같았다.

면역금표지법 (immunogold labeling) 실험에서는 serotonin과 somatostatin성 신경세포의 세포질내 표지된 금입자의 수가 살오징어와 서해낙지에서 많은 차이가 확인되었다. 살오징어인 경우 serotonin 및 somatostatin성 신경세포의 세포질 $0.5\mu\text{m}^2$ 당 20~33개 정도의 많은 금입자가 표지되었고, 서해낙지에서는 17 ± 2 개와 3개 정도의 소량의 금입자만이 각각 표지되어 서해낙지에 비해 살오징어에서 강한 면역염색을 보여 dopamine 및 cabindin에 대한 연구결과와 (Han & Chang, 2002)와 유사하였다.

참 고 문 헌

- Bishop CA, O'Shea M: Immunoreactive neurons in the central nervous system of an insect (*Periplaneta americana*). *J Neurobiology* 14: 251-269, 1983.
- Brazeau P, Vale W, Burgus R, Ling N, Butcher M, Riner J, Guillemin R: Hypothalamic polypeptide that inhibits the secretion of immunoreactive pituitary growth hormone. *Science* 178: 77-79, 1973.
- Bullock TH, Horridge G: Structure and function in the nervous system of invertebrates. San Francisco: W.H. Freeman and Co. 1965.
- Davies P, Terry RD: Cortical somatostatin like immunoreactivity in cases of Alzheimer's disease and senile dementia of the Alzheimer type. *Neurobiol Aging* 2: 9-14, 1981.
- Dodd J, Kelly JS: Is somatostatin an excitatory transmitter in the hippocampus?. *Nature* 273: 674-675, 1978.
- Fritsch HAR, Moorden SV, Pearse AGE: Gastrointestinal and neurohormonal peptides in the alimentary tract and cerebral complex of *Ciona intestinalis*. *Cell Tissue Res* 223: 369-402, 1982.
- Feldman SC: Distribution of immunoreactive somatostatin (ISRIF) in the nervous system of the squid, *Loligo pealei*. *J Comparative Neurology* 245: 238-257, 1986.
- Han JM, Chang NS: Immuno electron microscopic studies on the distribution of dopamine and calbindin D_{28k} in the optic lobes of Cephalopods (*Octopus minor* and *Todarodes pacificus*) inhabiting the Korean waters. *Korean J Electron Microscopy* 32: 175-183, 2002. (Korean)
- Jackson IMD: Evolutionary significance of the phylogenetic distribution of the mammalian hypothalamic releasing hormones. *Fed Proc* 40: 2545-2552, 1981.
- Juorio AV: Catecholamines and 5 hydroxytryptamine in nervous tissue of cephalopods. *J Physiology* 216: 213-226, 1971.
- Juorio AV, Killick SW: Monoamines and their metabolism in some molluscs. *Comp Gen Pharmacol* 3: 283-295, 1972.
- Kim SJ, Lee JH: A study on the activity of antibodies immunoreaction to the antigen of *Paragonimus westermani*. *Korean J Electron Microscopy* 28: 527-538, 1998. (Korea)
- Land PW, Crow T: Serotonin immunoreactivity in the circumesophageal nervous system of *Hermisenda crassicornis*. *Neurosci Letters* 62: 119-205, 1985.
- LeRoith S, Roth J: Vertebrate hormones and neuropeptides in microbes: Evolutionary origin of intercellular communication. In L. Martini and WF. Ganong (eds): *Frontiers in Neuroendocrinology*. New York: Raven Press, pp. 1-25, 1984.
- Li WP, Lai HW, Cheng SY, Yew DT: Somatostatin positive neurons in the different parts of the brain in normal aging and Alzheimer's disease. *Biol Signals* 5: 343-348, 1996.
- Nassel DR, Elekes K: Ultrastructural demonstration of serotonin immunoreactivity in the nervous system of an insect (*Calliphora erythrocephala*). *Neurosci Letters* 48: 203-210, 1984.
- Olpe HR, Balcar VJ, Bittiger H, Rink H, Sieber P: Central actions of somatostatin. *Eur J Pharmacol* 63: 127-133, 1980.
- Ono JK, McCanan RE: Immunohistochemical localization and direct assays of serotonin containing neurons in *Aplysia*. *Neuroscience* 11: 549-560, 1984.
- Osborne NN, Beaton DW, Boyd PJ, Walker RJ: Substance P like immunoreactivity in the retina and optic lobe of the

- squid. Neuroscience Letters 70 : 65-68, 1986.
- Renaud LP, Martin JB, Brazeau P: Depressant action of TRH, LH RH and somatostatin on activity of central neurons. Nature 255 : 233-235, 1975.
- Saidel WM: Connections of the Octopus Optic lobe : an HRP study. J Comp Neurology 206 : 346-358, 1982.
- Sano Y, Takeuchi Y, Kimura H, Goto M, Kasata M, Kojima M, Matsuura T, Ueda S, Yamada H: Immunohistochemical studies on the processes of serotonin neurons and their ramification in the central nervous system with regard to the possibility of the existence of Golgi's rete nervosa diffusa. Arch Histol Jap 45 : 305-316, 1982.
- Sano Y, Ueda S, Yamada H, Takeuchi Y, Goto M, Kawata M: Immunohistochemical demonstration of serotonin containing CSF contacting neurons in the submammalian paraventricular organ. Histochemistry 77 : 423-430, 1983.
- Steinbusch HWM: Distribution of serotonin immunoreactivity in the central nervous system of the rat cell bodies and terminals. Neuroscience 6 : 557-618, 1981.
- Suzuki H, Yamamoto T, Inenaga M, Uemura H: Galanin immunoreactive neuronal system and colocalization with serotonin in the optic lobe and peduncle complex of the octopus (*Octopus vulgaris*). Brain Research 865 : 168-176, 2000.
- Takeuchi Y, Kimura H, Sano Y: Immunohistochemical demonstration of the distribution of serotonin neurons in the brainstem of the rat and cat. Cell Tissue Res 22 : 247-267, 1982.
- Uemura T, Yamashita T, Haga C, Miyazaki N, Kondo H, Matsushita M: Localization of serotonin immunoreactivity in the central nervous system of *Octopus vulgaris* by immunohistochemistry. Brain Research 406 : 73-86, 1987.
- Wolters JG, Ten Donkelaar HJ, Steinbusch HWM, Verhofstad AAJ: Distribution of serotonin in the brain stem and spinal cord of the lizard *Varanus exanthematicus*: an immunohistochemical study. Neuroscience 14 : 169-193, 1985.
- Yamashita T, Haga C, Hirai K, Uemura T, Kondo H, Kosaka K: Localization of serotonin immunoreactivity in cephalopod visual system. Brain Research 521 : 81-88, 1990.
- Youdim MB, Feldman SC, Pappas GD, Pollard HB: Metabolism and the nature of monoamine oxidase in squid central nervous system. Brain Research 381 : 300-304, 1986.
- Young JZ: The central nervous system of *Loligo*. I. The optic lobe. Philos Trans R Soc Lond Biol 267 : 263-302, 1974.
- Young JZ: The nervous system of *Loligo*. V. The vertical lobe complex. Philos Trans R Soc Lond Biol 285 : 311-354, 1979.

< 국문 초록 >

두족류 *Octopus minor*와 *Todarodes pacificus*의 시엽내 신경전달물질을 분비하는 neuron의 특성 및 기능을 확인하기 위해 serotonin 및 somatostatin의 항체를 사용한 면역염색과 면역금표지법을 시행하였다.

면역염색 결과 항 somatostatin은 살오징어인 경우 항 serotonin 면역반응과 유사하게 나타났지만, 서해낙지에서는 외과립세포층의 큰 세포에서만 반응을 보였다.

항 serotonin을 이용한 면역금표지법은 살오징어인 경우 내과립세포층과 수질부의 신경세포에서는 세포질 0.5 μm^2 당 30개 정도의 금입자가 관찰되어 강한 반응을 보인 반면, 서해낙지에서는 17개 정도의 비교적 약한 반응을 보였다. 항 somatostatin에서는 살오징어의 외과립 및 내과립세포층 그리고 수질부의 반응된 세포의 세포질 0.5 μm^2 당 30개 정도의 금입자가 관찰되어 강한 반응을 보인 반면, 서해낙지의 외과립세포층의 세포에서는 3개 정도의 금입자만이 관찰되어 역시 약한 반응을 보였다.

이와 같이 시엽의 각 부위별 면역염색과 면역금표지법을 시행한 결과 2종류의 항체에 각각 양성반응을 보인 신경세포들이 두 종에서 다양하게 분포하고 있음을 확인했는데 특히 면역염색과 면역금표지법에 관한 반응의 정도를 비교하면 서해낙지에 비해 살오징어에서 비교적 강하게 나타났다.