

## 청둥오리 Fabricius 낭에 대한 조직학적 및 면역조직화학적 연구

이재현 · 구세광 · 이형식\*

경북대학교 수의과대학  
경산대학교 자연과학대학 생물학과\*  
(1998년 5월 16일 접수)

### Histological and immunohistochemical studies on the endocrine cells in the bursa of Fabricius of duck, *Anas platyrhynchos platyrhynchos* Linne

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

College of Veterinary Medicine, Kyungpook National University  
Department of Biology, College of Natural Science, Kyungsan University\*  
(Received May 16, 1998)

**Abstract** : The histological profiles and endocrine cells in the bursa of Fabricius of the duck (*Anas platyrhynchos platyrhynchos*, Linne) were studied at 23 days of incubation, at hatching, 1 week, 2 weeks, 3 weeks, 5 weeks, 6 weeks, 7 weeks, 9 weeks, 10 weeks and 32 weeks after hatching. Histologically epithelium of bursa Fabricius were pseudostratified columnar and simple columnar epithelium. Numerous lymphatic follicles and well developed plica were observed in this study. The sections were reacted immunohistochemically using antisera specific to bovine chromogranin(BCG), serotonin and somatostatin antisera using immunohistochemical methods. A few number of BCG-immunoreactive cells were detected from 23 days of incubation to 5 weeks after hatching and serotonin-immunoreactive cells were also observed from 23 days of incubation to 3 weeks after hatching. No somatostatin-immunoreactive cells were detected in this study.

**Key words** : duck, bovine chromogranin(BCG), serotonin, somatostatin, immunoreactive cells, bursa Fabricius.

## 서 론

Fabricius 낭은 조류 특이 의 기관으로 원시항문 유래이

며, 총배설강 배쪽으로 개구하는 맹낭으로 단층원주 또는 거짓중층원주상피로 덮여 있는 일차 임파기관으로 성성숙기까지 발달하였다가 이후 퇴축하는 기관으로 알려져 있으나<sup>1-8</sup>, 연령에 따른 조직학적 변화에 대한 보고

Address reprint requests to Dr. Jae-hyun Lee, College of Veterinary Medicine, Kyungpook National University, Taegu 702-701, Republic of Korea.

는 극히 드물다. 또한 근래에 들어서는 progesteron receptor와 같은 성호르몬<sup>9-13</sup>, vimentin을 이용한 dendrite 세포<sup>14-16</sup>, B세포와 T세포의 subset<sup>17,18</sup> 및 기타 spectrin<sup>19</sup>, Trk neurotrophin receptor-like protein<sup>20</sup>, 1, 25 dihydroxy-vitamin D<sub>3</sub> receptor<sup>21</sup>, cytokeratin 16 및 18<sup>22</sup>, bursin<sup>23</sup> 및 S-100 protein<sup>24</sup> 등에 대한 면역조직화학적 연구가 수행되어져 왔으나 Fabricius 낭이 소화관과 발생학적 및 위치적으로 밀접한 관련이 있음에도 불구하고 내분비세포에 대한 면역조직화학적 연구는 거의 찾아볼 수 없다. 따라서 본 연구에서는 연령에 따른 청둥오리의 Fabricius 낭의 조직학적 변화와 bovine chromogranin(BCG), serotonin 및 somatostatin 면역반응세포의 출현빈도 및 분포를 관찰하고자 하였다.

## 재료 및 방법

대구광역시 달성공원에서 분양받은 청둥오리(*Anas platyrhynchos platyrhynchos*, Linne)의 수정난을 부화기(KE 300, EUN JO Incubator company)로 습도 70%, 온도 35.8℃의 조건하에서 부화하였으며, 부화일수는 26~28일이었다. 청둥오리를 부란 23일과 부화직후, 부화후 1주, 2주, 3주, 5주, 6주, 7주, 9주, 10주 및 32주로 구분하여 각 5마리씩 실험에 사용하였다. 실험동물은 방혈후 Fabricius 낭을 절취하여 Bouin 액에 24시간 이상 고정하였으며, 고정된 조직은 에타놀 계열에 탈수한 후 파라핀포매를 실시하고 3~4µm의 연속절편을 제작하였다. 각 조직절편은 조직학적 구조를 확인하기 위하여 hematoxylin-eosin(H-E) 염색을 실시하였다.

또한 각 절편은 PAP 법<sup>25</sup>으로 면역조직화학적 염색을 실시하였으며, 이때 사용된 항혈청 및 희석배율은 Table 1에 나타내었다. 비특이적인 반응을 억제하기 위하여 normal goat serum을 처리하였으며, DAB 용액(3,3'-diamino-

benzidine tetrahydrochloride containing 0.01% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in HCl buffer(pH 7.6))으로 발색시킨 후 Mayer's hematoxylin으로 가볍게 핵염색을 실시하여 광학현미경으로 관찰하였다.

## 결 과

청둥오리의 Fabricius 낭은 조직학적으로 부란 23일부터 거짓층원주상피로 덮혀 있었으며, 피질과 수질로 구분되는 다수의 lymphatic follicle이 관찰되었다. 또한 이들 follicle 사이에서는 넓은 결합조직층이 관찰되었다. 부화시에는 신생 follicle의 형성이 관찰되었으며, 부화후 1주령에서부터는 follicle 사이의 결합조직층에서 임파구의 축적이 관찰되었다. 부화후 3주령부터는 상피의 일부가 단층원주상피로 피복되었고, 부화후 32주령에서는 follicle 사이의 결합조직층의 증가에 의한 퇴축이 관찰되었다. 또한 실험 전 일령에서는 비교적 잘 발달된 세로주름(plicae)이 관찰되었다(Fig 1).

BCG, serotonin 및 somatostatin 면역반응세포의 분포 및 출현빈도는 Table 2에 나타난 바와 같다. 즉, BCG 면역반응세포는 부란 23일부터 부화후 5주령까지에서만 관찰되었다. 부란 23일에는 이들 면역반응세포들이 상피와 follicle의 수질내에서 관찰되었으며, 부화시부터 부화후 5주령까지는 상피세포내에서만 관찰되었다. 그러나 부화 6주령 이후부터는 관찰되지 않았다. Serotonin 면역반응세포는 부란 23일령부터 부화후 3주령까지만 관찰되었으나 6주령 이후부터는 관찰되지 않았다. 부란 23일에는 극소수의 면역반응세포들이 상피에서 관찰되었으나, 부화시부터 부화후 1주령까지는 주로 상피와 follicle의 피질과 수질경계부에서 관찰되었고, 부화후 2주령과 3주령에는 상피에서만 관찰되었다. BCG 및 serotonin 면역반응세포들은 주로 원형 또는 방추형으로 관찰되었으나 이들 두 세포들의 공존은 관찰되지 않았다. 한편 somatostatin 면역반응세포는 전 일령에 걸쳐 관찰되지 않았다(Fig 2, 3).

## 고 찰

Fabricius 낭은 일차 임파기관으로 성적 성숙기까지는 증가되었다가 이후 퇴축하는 기관으로 알려져 있으며<sup>1\*</sup> 본 연구에서도 부란 23일경부터 실험 전 일령에 걸쳐 수질과 피질이 잘 구분된 follicle들이 관찰되었으며, 부

Table 1. Antisera used in this study

Antisera*	Code	Source	Dilution
Bovine chromogranin(BCG)	517210	Incstar	1 : 500-1,000
Serotonin	BO68082C	BioGenex	1 : 20
Somatostatin	PUO421295	BioGenex	1 : 26

\* All antisera were raised in rabbits.

화후 32주령에서는 퇴축이 관찰되어 이전의 소견들과 일치하였다<sup>1-6</sup>.

한편 chromogranin은 각종 내분비세포 및 내분비기관에 존재하는 acidic protein으로 다양한 종류가 있으며 신경조직에서와 같이 대부분의 amine, peptide 산생세포의 분비과립에 공존하고<sup>26-29</sup>, 내분비세포의 marker로 유용하다고 알려져 있다<sup>30-32</sup>. 한편 serotonin은 평활근 수축작용을 주로 담당하며, 소화관 내분비계에서는 장크롬친화성세포에서 분비된다고 알려져 있다<sup>33</sup>. 또한 somatostatin은 양의 시상하부에서 최초로 분리된 peptide계 호르몬으로서 위장관 내분비세포나 신경세포, 중추신경계에서 확인되며<sup>34</sup>, 대부분의 호르몬에 대한 억제작용을 나타낸다고 보고되어 있다<sup>35</sup>. 그러나 Fabricius 낭에서 이들 내분비세포에 대한 보고는 전혀 찾아볼 수 없다.

본 연구의 결과 BCG 면역반응세포들은 부란 23일부터 부화후 5주령까지, serotonin 면역반응세포는 부란 23일부터 부화후 3주령에서 관찰되었으며, BCG 면역반응세포는 부란 23일에 상피와 follicle의 수질내에서 관찰된 이후 부화후 5주령까지는 상피부분에서만 관찰되었다.

Serotonin 면역반응세포는 부란 23일과 부화후 2주 및

3주에서는 상피에서 관찰되었으며, 부화시와 부화후 1주령에서는 follicle의 피질과 수질 경계부위에서도 관찰되었으나 somatostatin 면역반응세포는 실험 전 연령에 걸쳐 관찰되지 않았다. BCG 및 serotonin 면역반응세포들이 부란 및 부화후 초기에 출현하고 부화후 5주 이후부터 관찰되지 않은 것은 소화관과 함께 Fabricius 낭이 초기 분화되면서 일부 세포들이 고립되어 나타났다가 부화후기 Fabricius 낭의 기능분화로 인해 소실되는 것으로 생각되어진다. 한편 BCG 면역반응세포는 본 연구에서 BCG 및 serotonin의 공존이 관찰되지 않은 점으로 보아 이들 두 세포 이외에 다른 종류의 내분비세포들도 존재할 것으로 생각된다. 한편 Somatostatin은 소화관에서 다른 내분비세포들보다 비교적 늦게 출현한다고 알려져 있으나<sup>34</sup>, 본 연구에서는 BCG 및 serotonin 면역반응세포들의 출현시점에도 불구하고 somatostatin 면역반응세포들이 전혀 관찰되지 않은 점으로 보아 Fabricius 낭에는 이 세포가 존재하지 않은 것으로 생각된다.

이상에서 청둥오리의 Fabricius 낭에는 부란시와 부화후 일정기간동안 BCG 및 serotonin 면역반응세포가 존재한다는 것을 알 수 있었으나 기타 다른 종류의 내분비세포의 존재유무에 대해서는 금후 더 많은 연구가 수행되어야 할 것으로 생각된다.

Table 2. The relative frequencies of immunoreactive cells in the bursa of fabricius of the duck

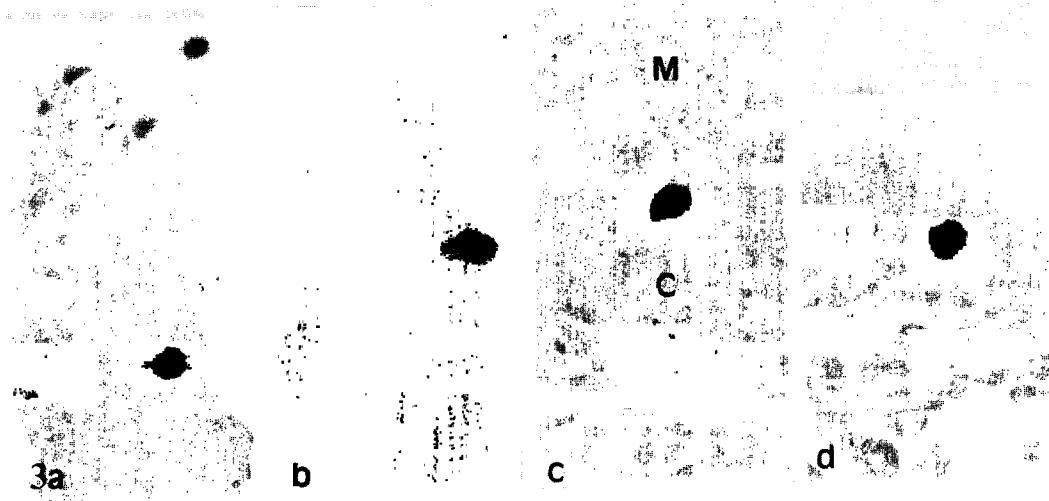
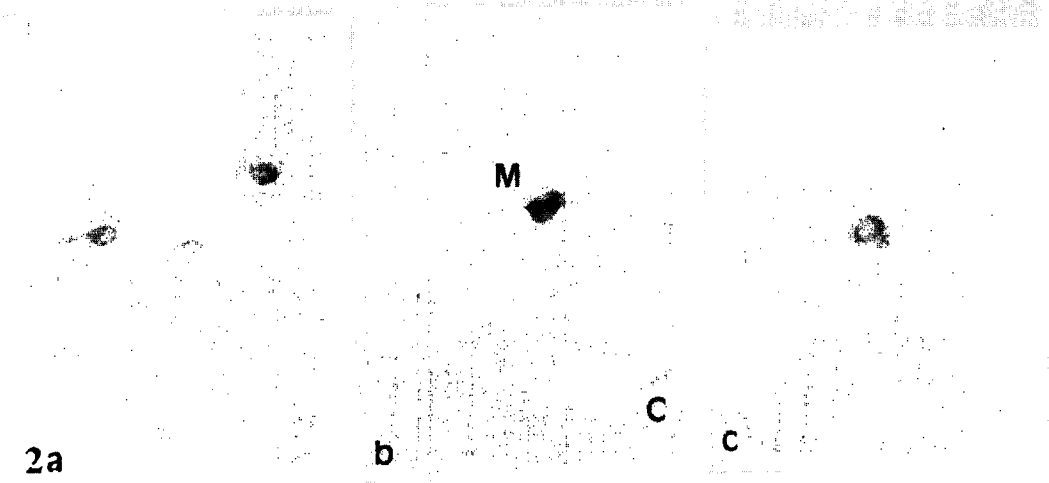
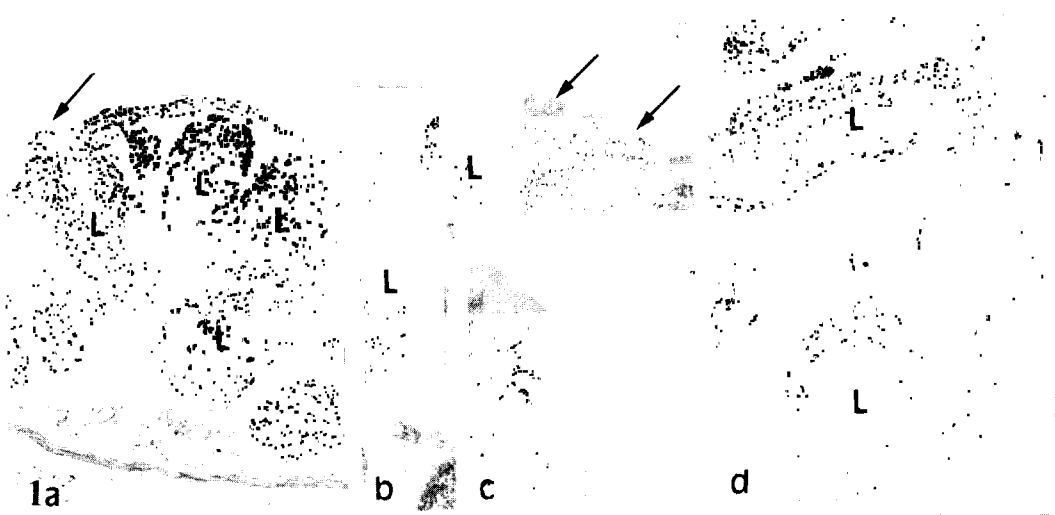
	BCG	Serotonin	Somatostatin
23 days of incubation	+	+	-
at hatching	+	++	-
1 week	+	+	-
2 weeks	+	+	-
3 weeks	+	+	-
5 weeks	±	-	-
6 weeks	-	-	-
7 weeks	-	-	-
9 weeks	-	-	-
10 weeks	-	-	-
32 weeks	-	-	-

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

## 결론

부란 23일, 부화직후, 부화후 1주, 2주, 3주, 5주, 6주, 7주, 9주, 10주 및 32주의 청둥오리 Fabricius 낭에서 조직학적 및 면역조직화학적으로 관찰하였던 바 조직학적으로 청둥오리의 Fabricius 낭은 주로 거지원주상피와 단층 원주상피로 피복되어 있었으며, 다수의 lymphatic follicle과 비교적 잘 발달된 세로 주름(plicae)들이 관찰되었다. 또한 BCG, serotonin 및 somatostatin 항혈청으로 이용하여 면역조직화학적 염색을 실시하였던 바, BCG 면역반응세포는 부란 23일경에서부터 부화후 5주령까지, serotonin 면역반응세포는 부란 23일경에서 부화후 3주령까지 소수로 관찰되었으나 somatostatin 면역반응세포는 실험 전 연령에 걸쳐 관찰되지 않았다.





- secretory-dendritic cells studied with anti-vimentin monoclonal antibody. *Anat Rec*, 233:111-120, 1992.
15. Ciriaco E, Laura R, Mammola CL, *et al.* Age-related changes in the secretory-dendritic cells of the pigeon bursa of Fabricius: an immunohistochemical and ultrastructural study. *Anat Anz*, 176:571-575, 1994.
  16. Olah I, Kendall C, Glick B. Anti-vimentin monoclonal antibody recognizes a cell with dendritic appearance in the chicken's bursa of Fabricius. *Anat Rec*, 232: 121-125, 1992.
  17. Honjo K, Hagiwara T, Itoh K, *et al.* Immunohistochemical analysis of tissue distribution of B and T cells in germfree conventional chickens. *J Vet Med Sci*, 55: 1031-1034, 1993.
  18. Khan MZ, Hashimoto Y. An immunohistochemical analysis of T-cell subsets in the chicken bursa of Fabricius during postnatal stages of development. *J Vet Med Sci*, 58:1231-1234, 1996.
  19. Moriya O. Spectrin localizations in the chicken bursa of Fabricius at different stages of development. *Acta Histochem*, 98:1-7, 1996.
  20. Ciriaco E, Dall'Aglio C, Hannestad J, *et al.* Localization of Trk neurotrophin receptor-like proteins in avian primary lymphoid organs (thymus and bursa of Fabricius). *J Neuroimmunol*, 69:73-83, 1996.
  21. Petrini M, Biandri F, Dolfi A, *et al.* Distribution of the 1, 25 dihydroxy-vitamin D<sub>3</sub> receptor in the bursa of Fabricius of chicken. *Experientia*, 47:838-841, 1991.
  22. Dolifi A, Giannessi F, Bianchi F, *et al.* Ultrastructural and immunohistochemical study on bursa follicle medulla cells in Gallus domesticus. *Z Mikrosk, Anat Forsch*, 104:401-411, 1990.
  23. Viamontes GI, Audhya TK, Babu U, *et al.* Immunohistochemical localization of bursin in epithelial cells of avian bursa of Fabricius. *J Histochem Cytochem*, 37:793-799, 1989.
  24. Atoji Y, Kato A, Masegi T, *et al.* S-100 immunoreactive cells in the spleen and bursa of Fabricius of broiler chickens. *J Comp Pathol*, 104:281-288, 1991.
  25. Sternberger LA. Immunocytochemistry 2nd ed, New York, John Wiley & Sons, 104-149, 1979.
  26. Cetin Y, Grube D. Immunoreactives for chromogranin A and B, and secretogranin II in the guinea pig endocrine pancreas. *Histochemistry*, 94:479-484, 1990.
  27. 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.
  28. 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.
  29. 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.
  30. 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.
  31. Wakinson 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.
  32. 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.
  33. Solcia E, Creutzfeldt W, Falkmer S, *et al.* Human gastroenteropancreatic endocrine, paracrine cells: Santa Monica 1980 classification, ed, Grossmann MI, Brazier MAB and Lechago J, Academic Press, 159-165, 1981.
  34. 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.
  35. Brazeau P, Vale WR, Burgus N, *et al.* Hypothalamic polypeptide that inhibits the secretion of immunoreactive pituitary growth hormone. *Science*, 179:77-79, 1973.