

## 청둥오리 위 내분비세포에 대한 면역조직화학적 연구

구세광 · 이형식\* · 이재현

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

### Immunohistochemical study on the stomach of the duck, *Anas platyrhynchos platyrhynchos* Linne

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

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

**Abstract** : The relative frequency and distribution of bovine chromogranin(BCG)-, serotonin-, somatostatin(SOM)-, and S-100 protein-immunoreactive cells in the proventriculus, gizzard and proventriculus-gizzard junction(P-G junction) of the duck(*Anas platyrhynchos platyrhynchos*, Linne) were studied using immunohistochemical methods.

BCG-, and SOM-immunoreactive cells were detected in all ages of this study in the proventriculus and the gizzard, and BCG-immunoreactive cells were also detected in the P-G junction. SOM-immunoreactive cells were detected rarely on occasions only in 1 week, 2 weeks, 3 weeks and 9 weeks after hatching. But no S-100 protein-immunoreactive cells were detected in this study.

**Key words** : duck, stomach, somatostatin, serotonin, bovine chromogranin, S-100 protein, immunohistochemistry.

## 서 론

조류의 위는 포유류와는 달리 해부학적 및 기능적으

로 샘위(proventriculus)와 근육위(gizzard)로 구성된다<sup>1,2</sup>. 또한 조류에 있어서 somatostatin(SOM), serotonin, gastrin releasing polypeptide, glicentin, motilin, substance P, avian pancreatic polypeptide 등의 분포가 보고되었으며, 이들

Address reprint requests to Dr. Sae-kwang Ku, College of Veterinary Medicine, Kyungpook National University, Taegu 702-701, Republic of Korea.

내분비세포는 동물 간, 소화관의 부위별 및 사용한 항혈청에 따라 다양한 분포와 출현빈도를 나타낸다고 하였다<sup>3-10</sup>. 그러나 조류의 샘위와 근육위에 있어서 연령에 따른 내분비세포의 변화에 대한 보고는 극히 드물다<sup>6-8</sup>.

따라서 본 연구에서는 청둥오리의 샘위와 근육위에서 연령에 따른 bovine chromogranin(BCG), serotonin, somatostatin 및 S-100 protein 면역반응세포의 발현양상을 관찰하고자 하였다.

## 재료 및 방법

대구광역시 달성공원에서 분양받은 청둥오리(*Anas platyrhynchos platyrhynchos*, Linne)의 수정란을 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 위를 샘위, 근육위 및 샘위와 근육위의 연결부로 구분 절취하여 Bouin 액에 24시간 이상 고정하였으며, 고정한 조직은 에타놀 계열에 탈수한 후 파라핀 포매를 실시하고 3~4 μm의 연속절편을 제작하였다. 각 조직절편은 조직학적 구조를 확인하기 위하여 hematoxylin-eosin(H-E) 염색을 실시하였다.

또한 각 절편은 PAP 법<sup>11</sup>으로 면역염색을 실시하였으며, 이때 사용된 항혈청 및 희석배율은 Table 1에 나타내었다. 비특이적인 반응을 억제하기 위하여 normal goat serum을 처리하였으며, DAB 용액(3,3'-diaminobenzidine tetra-hydrochloride containing 0.01% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> in HCl buffer(pH 7.6))으로 발색시킨 후 Mayer's hematoxylin으로 핵염색을 실시하여 광학현미경으로 관찰하였다.

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
S-100 protein	PUO580695	BioGenex	1 : 25

\* All antisera were raised in rabbits.

## 결 과

BCG 및 somatostatin 면역반응세포의 연령에 따른 부위별 출현빈도는 Table 2, 3에서 보는 바와 같다.

즉, BCG 면역반응세포는 실험 전 연령에 걸쳐 샘위, 근육위 및 이들의 연결부에서 주로 원형 또는 세포질 돌기를 가지는 방추형을 나타내었다. 부란 23일에서부터 부화후 2주까지는 샘위에서 가장 높은 빈도를 보였으며, 근육위와 연결부에서는 유사한 빈도로 관찰되었으나 부화후 3주령에서 32주령까지는 근육위, 샘위 및 연결부순의 출현빈도를 보였다. 또한 부화후 32주령에서는 세부분 모두 유사한 빈도를 나타내었다. 이들 세포들은 주로 근육위와 연결부에서는 상피와 점막 기저부에서, 샘위에서는 점막밑샘(submucosal gland)과 점막상피 부분에서 관찰되었다(Fig 1a-e).

Somatostatin 면역반응세포들은 샘위와 근육위 부위에서 실험 전 연령에 걸쳐 관찰되었으나 연결부에서는 부화후 1주, 2주, 3주 및 9주에서만 극소수로 분포하였다. 이들 면역반응세포들은 원형 또는 짧거나 긴 세포질 돌기를 가진 방추형의 형태를 나타내었으며, 근육위와 연결부에서는 점막상피 또는 기저부에서 관찰되고, 샘위에서는 점막상피 및 기저부에 소수, 점막밑샘에서 주로

Table 2. The relative frequency of BCG-immunoreactive cells in the stomach of the duck

	Proventriculus	Gizzard	P-G junction*
23 days of incubation	++	±	±
at hatching	++	±	±
1 week	++	+	+
2 weeks	+	+	±
3 weeks	+	+	±
5 weeks	+	++	±
6 weeks	++	++	+
7 weeks	+	++	+
9 weeks	+	+++	+
10 weeks	+	+++	+
32 weeks	+	+	+

\* ±, rare; +, a few; ++, moderate; +++, numerous.

\* P-G junction : proventriculus-gizzard junction.

관찰되었다. 이들 somatostatin 면역반응세포의 출현빈도는 생위에서 실험 전 연령에 걸쳐 가장 다수로 관찰되었으며 근육위, 연접부의 순으로 나타났다. 또한 생위에서는 연령에 따라 증가하는 것으로 관찰된 반면, 근육위에서는 부란 23일경부터 부화후 7주까지는 소수 관찰되나 그 이후에는 극소수의 출현빈도를 나타내었다(Fig 2a-e).

한편 serotonin 면역반응세포는 부화후 5주령의 근육위에서만 극소수로 관찰되었으며(Fig 3), S-100 protein 면역반응세포는 전 연령에서 출현하지 않았다.

## 고 찰

조류의 위에 있어서 chromogranin(CG) 면역반응세포에 대한 보고는 매우 적으며, Takayanagi *et al*<sup>12</sup>은 닭의 체장에서 CG 반응세포가 B세포에 공존한다고 보고하였으며, D'Este *et al*<sup>13</sup>은 bovine secretogranin II가 상피와 신경요소에 반응을 보이며, 이들 세포들은 부위와 동물종에 따라 매우 다양하다고 하였다. 본 연구에서는 실험 전 연령에 걸쳐 생위, 근육위, 및 연접부의 상피와 점막 기저부위에서 관찰되어 D'Este L *et al*<sup>13</sup>의 보고와 유사하였으며, 이들 CG 면역반응세포는 다양한 내분비세포 및 내분비기관에 존재하는 산성 단백질 계통으로 대부분의 amine과 peptide 산생세포의 분비과립에 공존하므

로 내분비세포의 marker로 알려져 있으며<sup>14-20</sup>, 본 실험에서도 다양한 종류의 내분비세포가 marker 된 것으로 생각된다.

조류의 위에서 somatostatin 면역반응세포의 출현은 각종 조류에서 생위와 근육위 모두에 존재한다고 보고되어져 있으며<sup>3,4,6,7,9,10</sup> 본 실험의 결과에서도 실험 전 연령에 걸쳐 생위와 근육위부분에서 관찰되어 이들 보고들과 일치하는 경향을 나타내었다. 또한 닭 및 벌새의 생위부분에서는 이들 somatostatin 면역반응세포들이 근육위보다 다수 관찰되며, 근육위에서는 발생말기에서부터 성체에 이르기까지 극소수의 면역반응세포가 관찰된다는 보고<sup>6</sup>와도 대체로 일치하였다. 그러나 비둘기<sup>7,10</sup>의 근육위에서 somatostatin 면역반응세포가 관찰되지 않는다는 소견과는 차이를 나타내었다. 이 같은 차이는 동물종간의 차이로 생각되나 사용한 항혈청도 다소 영향을 미칠 것으로 생각되어, 금후 더 상세한 연구가 수행되어야 할 것으로 생각된다.

Serotonin은 평활근 수축작용 및 기타 여러기능을 담당하며, 소화관 내분비계에서는 장크롬친화세포에서 분비된다고 알려져 있다<sup>21</sup>. 본 연구에서는 부화후 5주령의 근육위에만 극소수 관찰되었다. Yamanaka *et al*<sup>3</sup>은 닭의 생위에서만 소수 관찰되며 근육위에서는 전혀 관찰되지 않는다고 하였고, Richardson *et al*<sup>5</sup>은 벌새에서 생위와 근육위 모두에서 관찰된다고 한 바 이들 소견과는 다소 차이를 나타내었으나 메추리의 근육위에서 부란중 일부 및 부화후 일정기간동안 극소수의 면역반응세포가 관찰된다는 것<sup>6</sup> 및 오리의 생위에서는 serotonin 면역반응세포가 관찰되지 않는다는 Yamada *et al*<sup>9</sup>의 보고와는 대체로 일치하였다.

한편 S-100 protein은 척추동물의 뇌에서 최초로 확인된 단백질로서<sup>22</sup> 근래에 들어서는 비신경성 조직내에서도 발견되어진다고 보고된 바 있으며<sup>23-25</sup>, 특히 오리에서는 체장섬의 내분비세포, 신장의 근위극세관 및 집합세관의 상피에서 면역반응성을 나타낸다고 한다<sup>26</sup>. 그러나 본 연구에서는 S-100 protein 면역반응세포가 전혀 관찰되지 않았다.

이상에서 청둥오리의 위에서는 BCG, somatostatin 및 serotonin 면역반응세포가 관찰되며, 이 중 BCG 및 somatostatin 면역반응세포는 생위와 근육위에서 실험 전 연령을 통해 관찰되었으나 serotonin은 부화 5주령의 근위에만 극소수 관찰되었고, S-100 protein 면역반응세포는 실

Table 3. The relative frequency of SOM-immunoreactive cells in the stomach of the duck

	Proventriculus	Gizzard	P-G junction
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; +, a few; ++, moderate; +++, numerous.

\* P-C junction : proventriculus-Gizzard junction.

험 전 연령을 통해 관찰되지 않았다. 그러나 이들 BCG, somatostatin 및 serotonin 면역반응세포 이외의 내분비세포의 존재 및 연령에 따른 더 많은 연구가 수행되어야 할 것으로 생각된다.

## 결 론

청둥오리의 샘위, 근육위 및 이들의 연결부에 있어서 BCG, serotonin, somatostatin 및 S-100 protein 면역반응세포의 연령에 따른 분포 및 출현빈도를 관찰하기 위하여

면역조직화학적으로 관찰하였던 바 샘위와 근육위에서 BCG 및 somatostatin 면역반응세포는 실험 전 연령에 걸쳐 관찰되었으나 연결부위에서는 BCG 면역반응세포는 실험 전 연령을 통해 관찰되었으며, SOM 면역반응세포는 부화후 1주, 2주, 3주 및 9주에서만 극소수로 관찰되었다.

한편 serotonin 면역반응세포는 부화후 5주령의 근육위에서만 극소수로 관찰되었고, S-100 protein 면역반응세포는 실험 전 연령에서 관찰되지 않았다.

## Legends for figures

Fig 1. BCG-immunoreactive cells in the stomach of the duck.

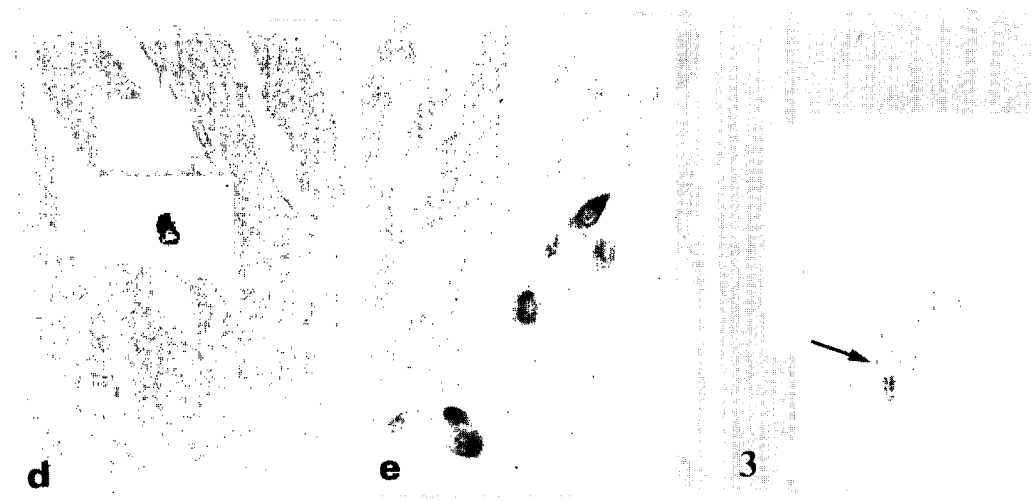
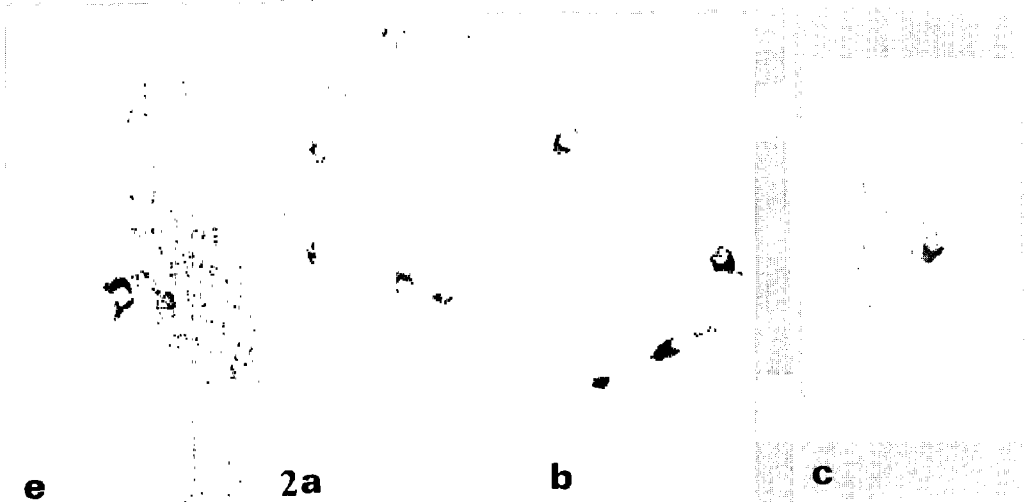
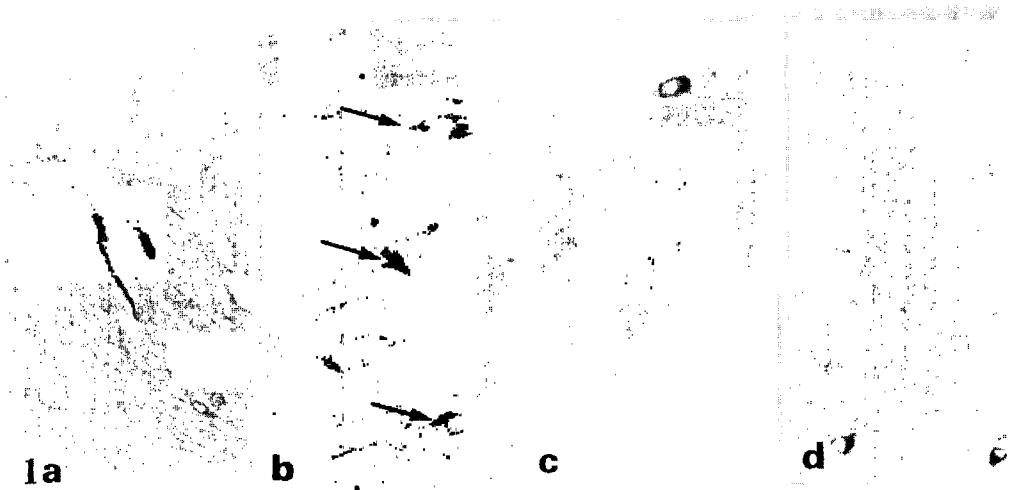
- a. Proventriculus of 23 days of incubation.
  - b. Gizzard of 23 days of incubation.
  - c. P-G junction of 1 week after hatching.
  - d. Gizzard of 6 weeks after hatching.
  - e. Proventriculus of 32 weeks after hatching.
- a-e; × 480, PAP method.

Fig 2. SOM-immunoreactive cells in the stomach of the duck.

- a. Gizzard of 23 days of incubation.
  - b. Proventriculus of 1 week after hatching.
  - c. Gizzard of 2 week after hatching.
  - d. P-G junction of 5 weeks after hatching.
  - e. Proventriculus of 5 weeks after hatching.
- a-e; × 480, PAP method.

Fig 3. Serotonin-immunoreactive cells in the stomach of the duck.

- × 480, PAP method.



## 참 고 문 헌

1. Nickel R, Schummer A, Seiferle E. Anatomy of the domestic birds. Verlag Paul Parey, Berlin and Hamburg, 40-61, 1977.
2. Hodges RD. The histology of the fowl. Academic Press, London, 35-112, 1974.
3. Yamanaka Y, Yamada J, Kitamura N, *et al.* An immunohistochemical study on the distribution of endocrine cells in the chicken gastrointestinal tract. *Z Mikrosk Anat Forsch*, 103:437-446, 1989.
4. Martinez A, Lopez J, Barrenechea MA, *et al.* Immunocytochemical and ultrastructural characterization of endocrine cells in chicken proventriculus. *Cell Tiss Res*, 263:541-548, 1991
5. Richardson KC, Yamada J, Wooller RD. An immunohistochemical study of the gastrointestinal endocrine cells of the new Holland honeyeater, *Phylidonyris novaehollandiae*. *Aust J Zool*, 36:483-496, 1988.
6. Yamaguchi S, Yamada J, Kitamura N, *et al.* Histological and immunohistochemical study on the ontogeny of endocrine cells in the quail gizzard. *Gegenbaurs Morphol Jahrb*, 133:71-78, 1987.
7. Yamaguchi S, Yamada J, Kitamura N. *et al.* Ontogeny of the endocrine cells in the quail proventriculus. *Z Mikrosk Anat Forsch*, 100:981-989, 1986.
8. Kayamori T, Yamada J, Yamashita T, *et al.* Ontogeny of the endocrine cells in the pyloric region of Japanese quail(*Coturnix coturnix japonica*). *Res Bull Obihiro Univ*, 11:1-11, 1978.
9. Yamada J, Kitamura N, Yamashita T. The relative frequency and topographical distribution of somatostatin-, GRP, APP, Glucagon-, 5-HT-, and Neurotensin-immunoreactive cells in the proventriculus of seven species of birds. *Arch Histol Jap*, 48:305-314, 1985.
10. Yamada J, Kitamura N, Yamashita T, *et al.* Immunohistochemical studies on the endocrine cells in avian gizzard. *Biomed Res*, 7:39-45, 1986.
11. Sternberger LA. Immunocytochemistry. 2nd ed, New York, John Wiley & Sons, 104-149, 1979.
12. 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.
13. D'Este L, Buffa R, Renda T. Phylogenetic aspects of the occurrence and distribution of secretogranin II. immunoreactivity in lower vertebrate gut. *Arch Histol Cytol*, 57:235-252, 1994.
14. Cetin Y, Grube D. Immunoreactives for chromogranin A and B, and secretogranin II in the guinea pig endocrine pancreas. *Histochemistry*, 94:479-484, 1990.
15. 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.
16. 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.
17. 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.
18. 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.
19. 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.
20. 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.
21. 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.
22. Moore BW. A soluble protein characteristic of the nervous system. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 19:739-744, 1965.
  23. Girod C, Durand N, Raccurt M. A comparative study of immunocytochemical localization of S-100 protein in the monkey *Macaca irus* and the albino rat test. *Biomed Res*, 1:333-337, 1986.
  24. Girod C, Durand N, Raccurt M. Immunostaining of a cell type in the islets of Langerhans of the monkey *Macaca irus* by antibodies against S-100 protein. *Cell Tiss Res*, 247:11-16, 1987.
  25. Molin SO, Rosengren L, Baudier J, *et al*. S-100 alpha-like immunoreactivity in tubules of rat kidney. *J Histochem Cytochem*, 33:367-374, 1985.
  26. Sugimura M, Shirogane D, Atoji Y, *et al*. S-100 protein immunoreactive cells in non-nervous duck tissues. *Avian Pathol*, 18:503-510, 1989.
-