

## 메기 소화관의 S-100 protein 면역반응세포에 관한 연구

이재현 · 박기대 · 구세광\* · 이형식\*\*

경북대학교 수의과대학 조직학교실 · (주)동화약품 중앙연구소 약리독성연구실\*  
경산대학교 자연과학부 생물학전공\*\*  
(2000년 6월 10일 게재승인)

### S-100 protein-immunoreactive cells in the gastrointestinal tract of the Catfish, *Silurus asotus*

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

Department of Histology, College of Veterinary Medicine, Kyungpook National University,  
Pharmacology & Toxicology Lab.

Central Research Laboratories, Dong-Wha Pham. Ind. Co.\*

Department of Biology, Faculty of Natural Science, Kyungsan University\*\*

(Accepted by Jun 10, 2000)

**Abstract** : Distribution of S-100 protein-immunoreactive cells in the gastrointestinal tract of the catfish, *Silurus asotus* was investigated by PAP method. S-100 protein-immunoreactive cells were mainly observed just under the epithelium of the gastrointestinal tract. Immunoreactive cells were distributed numerously in the stomach and moderately in the middle part of the intestine, however, a few in the upper and lower part of the intestine.

**Key words** : S-100 protein, immunoreactive cells, catfish, gastrointestinal tract.

## 서 론

척추동물의 신경계에 특이적 단백질로 처음 분리동정된 S-100 protein<sup>1</sup>은 분자량이 21,000의 막에 의해 둘러싸인 가용성 단백질이며<sup>2</sup>, Ca<sup>2+</sup>과 결합하는 능력을 가지고 있다<sup>3</sup>.

이 물질은 포유류에서는 중추신경계 특히 뇌하수체의

Glial cell<sup>4</sup>과 말초신경계의 Schwann cell<sup>5</sup>에 함유되어 있으며, 무척추동물에서는 신경세포와 Glial cell<sup>6,7</sup>에 함유되어 있다.

최근 면역조직학적 연구에서 S-100 protein이 각종 포유동물의 비신경조직의 여러 세포에서 면역반응을 나타내고 있으며<sup>8-12</sup>, 조류의 비신경조직에서도 S-100 protein 면역활성세포를 보고하고 있다<sup>13-16</sup>.

그러나 현재까지 어류의 소화기계에서 S-100

Address reprint requests to Dr. Jae-hyun Lee, Department of Histology, College of Veterinary Medicine, Kyungpook National University, Taegu 702-701, Republic of Korea. E-mail : jahlee@knu.ac.kr

protein 면역반응세포에 관한 연구는 찾아볼 수 없는 바, 본 연구에서는 메기의 소화관에 있어서 면역조직화학적 방법으로 S-100 protein 면역반응세포의 부위별 분포 및 출현빈도를 관찰하였다.

## 재료 및 방법

시중에서 구입한 5마리의 메기에서 위와 장의 상부, 중간부 및 하부의 각 조직을 절취하여 Bouin 액에 고정하였다. 고정된 조직은 paraffin 포매후 3-5  $\mu\text{m}$ 의 절편을 제작하고 각 부위를 확인하기 위하여 hematoxylin-eosin 염색을 실시하였다.

면역조직화학적 검색을 위하여 조직절편을 탈paraffin 한 후, 100% methanol과 0.1%  $\text{H}_2\text{O}_2$  phosphate buffered saline(PBS, 0.01M, pH 7.3)에 각각 30분씩 침적하고 PBS로 10분씩 3회 세척하였다. 이어 조직내 비특이적 반응을 차단하기 위해 normal goat serum으로 실온에서 1시간 처리 후 peroxidase anti-peroxidase(PAP)법<sup>17</sup>에 의해 1차 항혈청(S-100 protein, BioGenex, PU0580695, 1 : 25)으로 4 $^{\circ}\text{C}$  냉장고에서 24시간 반응시킨 후 PBS로 10분씩 3회 세척하였다. 이후 2차 항체인 anti-rabbit IgG goat serum(1 : 100)으로 실온에서 1시간 반응시킨 후 PBS로 10분씩 3회 세척하였다. 이어 PAP complex(Sigma, USA)로 실온에서 1시간 반응시킨 후 DAB(3,3-diaminobenzidine containing 0.01%  $\text{H}_2\text{O}_2$  in HCl buffer)로 발색시켰으며 Mayer's hematoxylin으로 핵염색을 실시하여 광학현미경으로 관찰하였다. 대조군은 1차 항체인 S-100 protein 대신에 normal goat serum으로 반응시켰다.

## 결 과

메기의 소화관에서 S-100 protein 면역반응세포의 형태는 위에서는 주로 긴 원추형으로 나타났으며(Fig 1a-c) 그외 장의 각 부위에서는 원추형을 보였다(Fig 2-4). 또한 메기 소화관의 S-100 protein 면역반응세포는 점막상피의 바로 아래에 분포하는 것이 특징이었으며, 위 또는 장의 샘조직에서는 전혀 관찰되지 않았다. 한편 위에서는 다수의 면역반응세포가 출현하였으며, 다음으로 중등도의 세포가 장의 중간부에서 관찰되었으나 기타의 장윗부분 및 아랫부분에서는 소수의 세포가 관찰되었다.

## 고 찰

본 실험에서 메기의 소화관에서 S-100 protein 면역반응세포는 위에서 다수로, 장의 중간부에서 중등도로 기타 부위에서 소수의 출현빈도를 나타내었으며, 세포의 형태는 주로 긴 방추형이었고 점막상피의 바로 아래에 분포하였다.

포유류에서 S-100 protein 면역반응세포의 비신경조직에서의 분포는 뇌하수체, 갑상샘, 부갑상샘, 부신, 심장, 폐, 췌장샘, 림프절, 비장, 연골, 지방조직<sup>9-12,17-24</sup> 등에서 관찰되며, 특히 림프성 조직에서는 사람피부의 Langerhans 세포<sup>25</sup>, 림프절의 histocyte<sup>26</sup>, rat, 개, 산양의 follicular dendritic cell<sup>27-29</sup>, 개와 산양 림프절의 tingible body macrophage<sup>29</sup> 그리고 guinea pig 림프성 조직의 giant dendritic cell<sup>30</sup>에서 관찰된다. 또한 조류의 비신경성 조직에서 S-100 protein 면역반응세포는 닭의 췌장샘, 샘위의 상피, 신장의 집합관상피 등과 고환의 Sertoli cell 및 난세포<sup>13</sup>, 비장과 Bursa of Fabricius<sup>14</sup>에서 관찰되며, 오리에서는 췌장샘, ultimobranchial body, 뇌하수체의 내분비세포와 interlobular bile duct, gall bladder, 신장세관, 부고환, 뇨관 등의 상피세포에 분포한다<sup>15</sup>. 한편 소화관에서 S-100 protein 면역반응세포는 사람에서 S-100  $\alpha$ 와  $\beta$  protein이 위 속속목과 표면점액세포 그리고 소장의 음세포와 흡수상피세포<sup>10</sup>에서 동정되고 있다.

닭에서는 샘위의 상피세포와 장샘<sup>13</sup>에서 S-100 protein 면역반응세포가 원형 및 피라미드형을 나타내며 장샘에서는 방추형을 나타낸다. 또한 오리에서는 샘위, 근육위 및 장의 음세포와 용모상피에서 S-100 protein 면역반응세포가 출현하며 형태적으로는 내분비세포 모양을 나타내었다<sup>30</sup>. 그러나 현재까지 어류에서 S-100 protein 면역반응세포의 분포에 대한 보고는 찾아볼 수 없다. 포유류와 조류의 결과를 어류의 그것과 비교하기에는 약간의 무리가 있으나, 본 실험에서 메기의 소화관에 출현하는 S-100 protein 면역반응세포의 형태는 조류의 그것과 유사하였으나 분포장소가 점막상피 바로 아래라는 점이 닭<sup>13</sup>이나 오리<sup>15</sup>와 상이하였으며, 이같은 차이는 종 특이성에 의한 것으로 사료된다.

S-100 protein 면역반응세포의 의의와 기능에 대해서는 아직 정확히 알려져 있지 않다. 그러나 Donato<sup>8</sup>는 이 물질이 뇌의 기억물질로서 뇌하수체에서 prolactin의 분비

자극 또는 신세뇨관의 pH, 전해질 및 수분함량을 조절한다고 하였고, Atoji *et al*<sup>13</sup>은 항원산생세포에서 면역반응과 관련이 있을 것으로 추정하였다. 또 Haimoto *et al*<sup>10</sup>은 S-100  $\alpha$  protein이 심근 및 slow-twitch muscle의 수축과 관련하는 대사에 관여하며 지방세포의 S-100  $\beta$  protein은 지방분해에 관여할 것으로 생각하였다. 본 실험의 결과로 S-100 protein 면역반응세포가 메기의 소화관에 분포하는 의의에 대해서는 알 수 없으며 이에 대한 연구가 더 수행되어야 할 것으로 생각된다.

## 결 론

메기 소화관에서 S-100 protein 면역반응세포를 PAP 법에 의해 부위별 분포와 출현빈도를 검색하였던 바, 위에서 다수로, 장의 중간부에서 중등도로, 기타 장의 윗부분 및 아랫부분에서 소수의 면역반응세포가 관찰되었다. 또한 이 세포는 위와 장의 점막상피 바로 아래에 분포하였으며 형태는 주로 긴 방추형을 나타내었다.

## Legends for figures

Fig 1a-c. A number of S-100 protein immunoreactive cells (IC) were observed just under the epithelium of the catfish stomach.  
a :  $\times 175$ ,      b :  $\times 175$ ,      c :  $\times 350$ .

Fig 2. Two S-100 protein IC were observed in the upper part of the catfish intestine.  
 $\times 350$ .

Fig 3. Some S-100 protein IC were observed in the middle part of the catfish intestine.  
 $\times 350$ .

Fig 4. Two S-100 protein IC were observed in the lower part of the catfish intestine.  
 $\times 350$ .



## 참 고 문 헌

1. Moore BW. A soluble protein characteristic of the nervous system. *Biochem Biophys Res Commun*, 19:739-744, 1965.
2. Zomzely-Neurath CE, Walker WA. Nervous system-specific protein : 14-3-2 protein, specific enolase, and S-100 protein. ed. by Bradshaw RA and Schneider DM: *Proteins of the nervous system, 2nd ed. Raven press*, New York, pp. 1-57, 1980.
3. Isobe T, Okuyama T. The amino-acid sequence of S-protein(PAP 1-b protein) and its relation to the calcium-binding proteins. *Eur J Biochem*, 89:379-388, 1978.
4. Boyes BE, Kim SU, Lee V, *et al.* Immunohistochemical co-localization of S-100b and the glial fibrillary acid protein in rat brain. *Neuroscience*, 17:857-865, 1986.
5. Hachisuka H, Mori O, Sakamoto F, *et al.* Immunohistological demonstration of S-100 protein in the cutaneous nervous system. *Anat Rec*, 210:639-646, 1984.
6. Shtark MB, Gainutdinov KL, Khichenko VI, *et al.* S-100, a brain-specific protein : localization and possible role in snail nervous system. *Cell Mol Neurobiol*, 1: 289-299, 1981.
7. Endo Y, Endo T. Immunohistochemical demonstration of S-100 protein in the brain neurosecretory cells of invertebrates(insect and earthworms). *Neurosci Lett*, 90: 11-14, 1988.
8. Donato R. S-100 protein. *Cell Calcium*, 7:123-145, 1986.
9. Vanstapel MJ, Gatter KC, Wolf-Peters C, *et al.* New sites of human S-100 immunoreactivity detected with monoclonal antibodies. *Am J Clin Pathol*, 85:160-168, 1986
10. Haimoto H, Hosoda S, Kato K. Differential distribution of immunoreactive S100- $\alpha$  and S100- $\beta$  proteins in normal nonnervous human tissues. *Lab Invest*, 57:489-498, 1987.
11. Iwanaga T, Fujita T, Masuda T, *et al.* S-100 protein-immunoreactive cells in the lymph node and spleen of the rat. *Arch Histol Jap*, 45:393-397, 1982.
12. Kameda Y. Ultrastructural immunogold localization of vimentin and S-100 protein in guinea pig pars tubercularis. *J Histochem Cytochem*, 44:511-518, 1996.
13. Atoji Y, Takayanagi K, Suzuki Y, *et al.* Immunohistochemical demonstration of S-100 protein in the chick non-nervous tissues. *Zool Sci*, 7:747-753, 1990.
14. Atoji Y, Kato T, Masegi T, *et al.* S-100 immunoreactive cells in the spleen and bursa of Fabricius of broiler chickens. *J Comp Path*, 104:281-288, 1991.
15. Sugimura M, Miura M, Suzuki Y, *et al.* S-100 immunoreactive cells in non-nervous duck tissues. *Avian Path*, 18:503-510, 1989.
16. Sugimura M, Shirogane D, Atoji Y, *et al.* A comparative study on S-100 protein-immunoreactive cells in lymph nodes. *Jpn J Vet Sci*, 52:1015-1021, 1990.
17. Sternberger LA. Immunocytochemistry, 2nd ed, New York, John Wiley & Sons, pp. 104-149, 1979.
18. Nakajima T, Yamaguchi H, Takahashi K. S-100 protein in folliculostellate cells of the rat pituitary anterior lobe. *Brain Res*, 191:523-531, 1980.
19. Shirasawa N, Yamaguchi S, Yoshimura F. Granulated folliculo-stellate cells and growth hormone cells immunostained with anti-S 100 protein serum in the pituitary gland of the goat. *Cell Tissue Res*, 237:7-14, 1984.
20. Girod C, Trouillas J, Dubois MP. Immunocytochemical localization of S-100 protein in stellate cells(folliculo-stellate cells) of the anterior lobe of the normal human pituitary. *Cell Tissue Res*, 241:505-511, 1985.
21. Girod C, Trouillas J, Raccurt M, *et al.* Immunocytochemical localization of S-100 protein in stellate cells (folliculo-stellate cells) of the adenohypophysis in the monkeys *Macaca irus* and *Cercopithecus aethiops*. *Cell Tissue Res*, 246:237-242, 1986.
22. 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 Tissue Res*, 247:11-16, 1987.
23. Zabel M, Surdyk J, Biela-Jacek I. Immunocytochemical study of the distribution of S-100 protein in the parathyroid gland of rats and guinea pig. *Histochemistry*,

- 86:97-99, 1986.
24. Cinti S, Gigolini M, Morrioni M, *et al.* S-100 protein in white preadipocytes: an immunoelectromicroscopic study. *Anat Rec*, 224:466-472, 1989.
  25. Cocchia D, Michetti F, Donato R. Immunochemical and immunocytochemical localization of S-100 antigen in normal human skin. *Nature*, 294:85-87, 1981.
  26. Semba M, Kawai K. Immunohistochemical reactivity of phagocytic and non-phagocytic histocytes in lymph nodes with lysozyme,  $\alpha$ -1-antichymotrypsin, S-100 protein, alkaline phosphatase, and acid phosphatase. *Okayama Folia Anat Jpn*, 66:61-68, 1989.
  27. Cocchia D, Tiberio G, Santarelli R, *et al.* S-100 protein in "folliculo dendritic" cells of rat lymphoid organs. *Cell Tissue Res*, 230:95-103, 1983.
  28. Ushiki T, Iwanaga T, Masuda T, *et al.* Distribution and ultrastructure of S-100 immunoreactive cells in the human thymus. *Cell Tissue Res*, 235:509-514, 1984.
  29. Sugimura M, Ishimaru H, Atoji Y, *et al.* S-100 protein  $\alpha$  subunit immunoreactivity of follicular dendritic cells in germinal centers of canine and caprine lymph nodes. *Jpn J Vet Sci*, 49:1183-1185, 1987.
  30. Sugimura M, Atoji Y, Suzuki Y. S-100 protein immunoreactive cells in lymphoid tissue of duck, guinea pig, dog, pig and cow. *Acta Anat Nippon*, 63:111, 1988.
-