

잉어와 넙치에 경구 투여한 β -glucan의 흡수와 조직내 분포

박성우 · 구재근 · 곽중기* · 조만기*
군산대학교 해양과학대학, *동서대학 산업기술연구센터

서론

β -glucan과 같은 면역증강제는 어류의 비특이적 면역반응계를 자극함으로써 질병에 대한 저항성이 증가된다고 보고되고 있지만 거의 대부분이 주사에 의한 결과이다. 경구투여한 다당체는 포유류의 장상피를 통하여 흡수되어 혈류를 따라 운반되어 림프조직내에서 처리되는 것이 밝혀져 (Dalmo et al., 1995)있지만, 어류에서의 흡수와 체내의 분포에 관한 연구는 대서양 연어 (Dalmo et al., 1994, 1995, 1996b)와 대구(Dalmo et al, 1996a)에 정맥주사 또는 항문을 통하여 투여, Sveinbjornsson et al. (1995)의 아민화한 $\beta(1,3)$ -D-glucan을 대서양 연어에 경구 투여 및 Strand & Dalmo(1997)가 난황을 가진 대서양 halibut치어에 FITC표식 β -glucan을 사육수에 첨가하여 조직내로의 흡수와 분포를 조사한 보고가 있을 뿐이다.

본 연구는 잉어와 넙치에 경구투여된 β -glucan의 체내로의 흡수와 조직내의 분포를 FITC 표식 β -glucan을 경구 투여 또는 항문을 통한 투여 및 정맥 주사한 후 소화관, 신장, 비장 및 간장의 조직표본을 만들어 형광현미경하에서 조직학적으로 관찰하였다.

재료 및 방법

군산대학교 부속양어장에서 사육중인 잉어 (평균 체중: 71.3 g)과 부속천해양식 실습장에서 사육중이던 넙치 (평균 체중: 112.7 g)을 사용하였다.

β -glucan의 형광표식은 Dalmo et al. (1996)의 방법에 따라 동결건조한 β -glucan을 50% dimethylsulfoxide 수용액 (DMSO, pH 11)에 용해시켜 DTAF [5- (4,6- dichloro- triazin -2-yl) amino florescein hydrochloride]를 첨가하여 반응시켰다. 반응 후 50% DMSO 수용액에 2일간, 증류수로 1일간 재투석하여 (MW 6,000~8000) 농축시켰다. 농축액에 에탄올을 첨가, 증류수로 3회 세척하여 미부착한 FITC를 제거한 다음 증류수에 재현탁시켜 동결건조하여 냉장고에 보관하였다.

FITC표식 β -glucan을 0.01 M phosphate buffer (PBS, pH 7.2)에 20 mg/ml로 부유시켜 외경 1.81 mm의 폴리에틸렌관을 부착시킨 주사기로써 입을 통하여 0.2ml씩 위의 유문부 또는 항문을 통하여 장내로 투여하였다. 정맥주사는 미부정맥을 통하여 0.1 ml씩 주사하였다. FITC표식 β -glucan을 투여한 어류는 경시적으로 신장, 비장 및 간장 조직을 10% 포르마린을 함유한 0.01 M PBS에 고정된 다음 제작한 파라핀 조직절편을 상법의 염색은 생략하고 형광현미경으로 검경하였다.

결과 및 요약

FITC표식 β -glucan은 형광현미경하에서 노란색으로 발광되었다. 경구투여 및 항문을 통하여 투여한 잉어는 1시간 후에는 전혀 발광이 관찰되지 않았지만 투여 2시간 및 3시간 후에는 장의 후반부의 점막고유층 및 모세혈관에서 관찰되었다. 잉어의 내장기관은 투여 2시간 후에

신장의 림프조직내의 마크로파아지에 탐식되어 또는 비장의 멜라노마크로파아지센터에 집합된 채로 발견되었지만, 간장에서의 발광은 없었다. 투여 1~2일 후에는 신장과 비장에 더욱더 커다란 집합체로서 발견되었다. 녀치는 경구투여 및 항문을 통한 투여 1시간 후에는 장의 관공에는 강한 발광이 있음에도 불구하고 상피에서는 발광이 없었다. 투여 2~3시간 후에 장의 전반부의 점막상피에 입자상으로 발광하는 것이 확인되었지만, 후반부의 장의 점막상피에서는 발광이 확인되지 않았다. 내장기관에서의 발광도 신장의 조혈조직내의 마크로파아지내와 비장의 멜라노마크로파아지센터내의 마크로파아지에 탐식된 집합체로서 발견되었지만, 간장에서의 발광은 없었다. 또 두 어종 모두 경구 투여한 경우가 항문을 통하여 투여한 경우에 비해 적은 양이 발견되는 경향이였다.

정맥주사한 경우에도 1~2일 후에 잉어의 신장의 조혈조직내의 마크로파아지내와 비장의 비정맥 주변의 멜라노마크로파아지센터에 집합체로 발견되었다. 또 이러한 집합체의 크기는 정맥 주사한 경우가 경구투여 또는 항문을 통하여 투여하였을 때 보다 훨씬 많은 경향이였다. 한편 녀치도 정맥 주사 1일과 2일 후에 신장에서는 조혈조직내의 마크로파아지내와 비장의 멜라노마크로파아지센터에 포획된 커다란 집합체로서 확인되었다.

잉어와 녀치에 경구 투여된 FITC표식 β -glucan은 소화관의 장상피를 통하여 흡수되어, 비장의 마크로파아지센터나 류동의 상피세포나 신장의 조혈조직내에 출현하여 특이적인 형광을 발하였음으로 β -glucan의 경구투여는 장의 상피를 통하여 흡수되어 신장과 비장으로 운반되어 비특이 면역계를 자극하는 것으로 나타났다.

참고문헌

- Dalmo, R. A. and J. Bogwald(1996): Distribution of intravenously and perorally administrated *Aeromonas salmonicida* lipopolysaccharide in Atlantic salmon, *Salmo salar* L.. Fish & Shellfish Immunol., 6, 427-441.
- Dalmo, R. A., K. Ingebrigsten, B. Sveinbjornsson, and R. Seljelid(1996a): Accumulation of immunomodulatory laminaran [β (1,3)-D-glucan] in the heart, spleen, and kidney of Atlantic cod, *Gadus morbura* L.. J. Fish Dis., 19, 129-136.
- Dalmo, R. A., K. Ingebrigsten, J. Bogwald, T. E. Horsberg, and R. Seljelid(1995): Accumulation of immunomodulatory laminaran β (1,3)-D-glucan] in the spleen and kidney of Atlantic salmon, *Salmo salar* L.. J. Fish Dis., 18, 545-553.
- Dalmo, R. A., K. Ingebrigsten, T. E. Horsberg, and R. Seljelid(1994): Intestinal absorption of immunomodulatory laminaran and derivatives in Atlantic salmon, *Salmo salar* L.. J. Fish Dis., 17, 579-589
- Dalmo, R. A., J. bogwald, K. Ingebrigsten, and R. Seljelid(1996b): The immunomodulatory effect of laminaran [β (1,3)-D-glucan] on Atlantic salmon, *Salmo salar* L., anterior kidney leucocytes after intraperitoneal, peroral and peranal administration. J. Fish Dis., 19, 449-457.
- Strand, H. K. and R. A. Dalmo(1997): Absorption of immunomodulating β (1,3)-glucan in yolk sac larvae of Atlantic halibut, *Hippoglossus hippoglossus* (L.). J. Fish Dis., 20, 41-49.
- Sveinbjornsson, B., B. Smedsrod, T. Berg and R. Seljelid(1995): Intestinal uptake and organ distribution of immunomodulatory aminated β (1,3)-D-polyglucose in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). Fish & Shellfish Immunol., 5, 39-50.