

조피볼락, 응치놀래기, 송곳니베도라치 및 졸복 식도 점액세포의 복합당질에 대한 Lectin 조직화학

정길남 · 이응희 · 조기진 · 정권순 · 조운복*

부산대학교 사범대학 생물교육과

Received March 14, 2004 / Accepted April 19, 2004

Lectin Histochemistry of the Glycoconjugates in the Esophageal Mucous Cells of *Sebastes schlegeli*, *Halichoeres poecilopterus*, *Bryzoichthys lysimus* and *Takifugu pardalis*. Gil-Nam Jeong, Eung-Hee Lee, Gi-Jin Jo, Kwun-Soon Jung and Un-Bock Jo. Department of Biology Education, Pusan National University, Busan 609-735, Korea – This study attempts to investigate lectin binding patterns of the glycoconjugates of the esophageal mucous cells in four teleostean species, i. e., *Sebastes schlegeli*, *Halichoeres poecilopterus*, *Bryzoichthys lysimus* and *Takifugu pardalis*. To investigate glycoconjugates of esophageal mucous cells, nine biotinylated lectins (DBA, SBA, PNA, BSL-1, RCA-1, sWGA, UEA-1, LCA and Con A) were applied with ABC method. Esophageal mucous cells of *Sebastes schlegeli* and *Halichoeres poecilopterus* were mixed with large, medium sized and small mucous cells. But these cells of the other species only were mixed with medium sized and small mucous cells. The lectin binding pattern of esophageal mucous cells depends on the species; *Sebastes schlegeli* was stained with DBA, SBA, BSL-1, RCA-1 and sWGA, *Halichoeres poecilopterus* with DBA, SBA, PNA and sWGA, *Bryzoichthys lysimus* with SBA and sWGA, *Takifugu pardalis* with all lectins except DBA, LCA and Con A, respectively. All the mucous cells of *Sebastes schlegeli* were stained with DBA, SBA and sWGA, while small mucous cells with BSL-1 besides these lectins. In *Halichoeres poecilopterus*, the large mucous cells reacted with PNA, medium sized mucous cells with DBA, SBA and sWGA, and small mucous cells with DBA and SBA, respectively. Medium sized mucous cells of *Bryzoichthys lysimus* were stained with sWGA, and small mucous cells with SBA and sWGA. In *Takifugu pardalis*, all mucous cells reacted with SBA, PNA and RCA-1, but medium sized mucous cells with sWGA and UEA-1 besides these lectins. Especially DBA and SBA lectins showed a strong binding to all mucous cells of *Sebastes schlegeli*. In *Halichoeres poecilopterus*, PNA binding were notable in large mucous cells, and SBA binding in medium sized and small cells, respectively. However, SBA, PNA, sWGA and UEA-1 lectins of *Takifugu pardalis* showed a strong binding to medium sized mucous cells, but RCA-1 binding which small mucous cells were notable.

Key words – Esophageal mucous cells, Lectin, Fishes

경골어류의 식도상피는 다른 척추동물과 같이 중층편평상피로 덮여 있으나 상피층내에 점액세포들이 나타나는 점이 다르며[1,2,16] 이들 점액세포들은 식도내강에 점액질을 분비하여 음식물이 운반될 때 거친 먹이 조각들로부터 식도의 내면을 보호한다[18]. 특히 경골어류의 식도는 어종에 따라 다양한 점막 주름이 발달되어 있으며 크기가 다른 점액세포들이 출현한다[18,33,34,37].

경골어류 식도 점액세포 분비물의 조직화학적 성상은 어종에 따른 차이가 있을 뿐만 아니라 동종내 개체간에도 차이가 있다[18,32,33,35-37]. 경골어류의 식도는 섭취한 음식물을 인두로부터 위까지 수송하기 위한 도관으로서의 기능외에 형태적인 복잡성과 점액세포들에서 분비되는 점액질의 성상으로 보아 소화과정에서 어떤 기능을 담당하고 있는 것으로

추정된다[18].

Lectin은 당단백질로서 탄수화물의 특정한 당 잔기에 높은 친화성을 가지고 있어[6] 복합당질의 탄수화물 분자의 성상을 조직화학적으로 규명하는데 유용한 도구로 사용된다[20-23,28].

어류의 점액질은 수용성 당단백질로[7] 중성 pH에서 음전하를 띠게 하는데 관여하는 sialic acid 잔기를 함유하며[11] 또한 mannose, glucose, glucosamine, galactose 및 galactosamine과 같은 당과 serine, threonine과 같은 아미노산[7]을 함유한다. 이들 점액질의 polyanionic mucous layer는 삼투조절[10], 기계적 손상과 감염에 대한 보호[7] 및 소화작용[18]에 관여한다.

경골어류 식도 점액세포의 복합당질에 대한 prelectin 연구는 많이 되어 있으나 lectin에 대한 연구는 없었다. 본 연구에서는 경골어류 중 현재까지 연구된 바 없는 조피볼락, 응치놀래기, 송곳니베도라치 및 졸복 식도 점액세포의 복합당질을 lectin 조직화학으로 연구하였다.

*Corresponding author

Tel : +82-51-510-2696, Fax : +82-51-514-8576

E-mail : ubjo@hyowon.cc.pusan.ac.kr

재료 및 방법

실험동물의 처치 및 고정

본 실험에 사용한 경골어류는 횃대목(Scorpaeniformes) 양볼락과(Scorpaenidae)의 조피볼락 *Sebastes schlegeli* Hilgendorf, 농어목(Percida) 놀래기과(Labridae)의 용치놀래기 *Halichoeres poecilopterus* (Temminck et Schlegel), 장갱이과(Stichaeidae)의 송곳니베도라치 *Bryzoichthys lysimus* (Jordan et Snyder) 및 복어목(Tetraodontiformes) 참복과(Tetraodontidae)의 줄복 *Takifugu pardalis* (Temminck et Schlegel)을 사용하였다.

실험 동물을 희생시킨후 흉복강을 절개하여 식도의 중간 부를 절취한 후 10% 중성 포르말린용액에 24시간동안 고정 한 다음 수세과정을 거친 후 각급 알콜에서 탈수과정, 투명 화과정을 거쳐 paraplast (용점 56~58°C)에 포매하여 6 µM 두께의 연속절편을 만들었다.

조직학적 구조

식도의 조직학적 구조를 관찰하기 위하여 hematoxylin-eosin (H-E) 염색과 PAS 반응[14]을 실시하였다.

복합당질에 대한 lectin의 조직화학

식도 점액세포의 복합당질의 당 잔기를 검색하기 위해 탈 파라핀한 조직을 3% methanolic hydrogen peroxide에 실온에서 30분간 처리하고, PBS (phosphate buffer saline, 0.01 M, pH 7.4)로 10분간 3회 세척한 후 비특이성 반응을 없애기 위하여 1% bovine serum albumin 용액에 실온에서 30분간

두었다가 압지로 부드럽게 용액을 제거시킨 후 4°C에서 습도를 유지하면서 9가지의 biotinylated lectin (Vector Lab., Burlingame, C.A., USA) 중 DBA, PNA, BSL-1, sWGA 및 UEA-1은 Hepes buffer (10 mM Hepes 용액, pH 7.5, 0.15 M NaCl, 0.1 mM Ca²⁺, 0.045% sodium azide)에, LCA와 Con A는 상기 Hepes buffer에 0.01 mM의 Mn²⁺이 포함된 용액에, RCA-1은 phosphate 용액(10 mM phosphate buffer, pH 7.5, 0.15 M NaCl, 0.085% sodium azide)에 Table 1과 같은 농도로 희석하여 24시간 동안 반응시켰다.

PBS로 세척한 후 ABC kit (avidin-biotin-peroxidase complex, Vector Lab.) 시약에 실온에서 60분간 반응시켰다. 다시 PBS로 세척한 후 TB (Tris buffer, 0.05 M, pH 7.6)에 0.02% 3,3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride (Sigma)와 0.01% H₂O₂를 혼합한 용액에 실온에서 약 10분간 발색시켰다. TB에 10분간 세척하고 다시 PBS에 10분간 세척한 후 증류수로 세척하여 Mayer's hematoxylin으로 대조 염색한 후 polymount (polyscience, USA)로 봉입하였다.

Lectin의 반응정도는 음성은 0, 혼탁적인 반응은 ±, 약한 반응은 +, 중등도의 반응은 ++, 강한 반응은 +++, 매우 강한 반응은 ++++ 등으로 표시하였다.

결 과

식도점막의 일반 조직학적 구조

조피볼락, 용치놀래기, 송곳니베도라치 및 줄복의 식도점막은 상피와 고유판으로 이루어진 점막중주름이 잘 발달되어 있었고, 일차·이차 주름은 어종에 따라 다소 형태적인

Table 1. Lectin used to identify carbohydrate residues

Lectin	Origin	Major sugar specification	Common name	Concentration (µg/ml)	Binding inhibitor
DBA	<i>Dolichos biflorus</i>	α -N-acetyl-D-galactosamine	<i>Dolichos biflorus</i> agglutinin	10	α -N-acetyl-D-galactosamine
SBA	<i>Glycine max</i>	α / β -N-acetyl-D-galactosamine	Soybean agglutinin	10	α / β -N-acetyl-D-galactosamine
PNA	<i>Arachis hypogaea</i>	Galactose- β -1,3-N-acetyl-D-galactosamine	Peanut agglutinin	10	Lactose
BSL-1	<i>Bandeiraea simplicifolia</i>	α -D-galactose	<i>Bandeiraea simplicifolia</i> lectin-1	10	Lactose
RCA-1	<i>Ricinus communis</i>	β -D-galactose	<i>Ricinus communis</i> agglutinin-1	5	Lactose
sWGA	<i>Triticum vulgare</i>	β -N-acetyl-D-glucosamine	Succinylated wheat germ agglutinin	5	β -N-acetyl-D-glucosamine
UEA-1	<i>Ulex europaeus</i>	α -L-fucose	<i>Ulex europaeus</i> agglutinin-1	10	α -L-fucose
LCA	<i>Lens culinaris</i>	α -D-mannose, α -D-glucose	<i>Lens culinaris</i> agglutinin	3	α -D-methyl-mannose
Con A	<i>Canavalia ensiformis</i>	α -D-mannose, α -D-glucose	<i>Concanavalin A</i>	2	α -D-methyl-mannose

차이가 있었다. 조피볼락의 식도는 키가 낮고 아래가 넓은 일차 주름에 곳곳에 이차 주름이 발달되어 있었으나 용치놀래기와 송곳니베도라치는 좁고 긴 일차 주름에 이차 주름이 형성되어 있었고, 졸북은 유곽형의 일차 주름에 이차 주름이 나타났다.

4종의 어류 식도 점막 상피는 중층편평상피로 되어 있었으나, 조피볼락과 용치놀래기에는 중층편평상피로 덮인 일차 주름사이에 단층입방상피로 덮인 일차 주름이 간혹 나타났다. 식도의 점막상피층에서 조피볼락과 용치놀래기의 단층입방상피내에는 점액세포들이 나타나지 않았으나 중층편평상피내에는 점액세포들이 많이 나타났으며 크기, 형태 및 분포는 어종에 따라 현저한 차이를 보였다.

조피볼락의 식도 점액세포들은 식도상피 표층아래에 주로 한층, 간혹 두세층으로 단층입방상피를 제외한 식도 점막상피 전체에 걸쳐 나타났고 구형, 타원형 및 곤봉형의 큰 점액세포와 중간 점액세포가 대부분이었으며 구형, 곤봉형의 작은 점액세포도 소수 관찰되었다(Fig. 10).

용치놀래기 식도 점액세포들은 식도상피 표층아래에 주로 한층, 간혹 두세층으로 배열하고 있었으며 단층입방상피로 된 작은 일차 주름을 제외한 상피전체에 걸쳐 나타났다. 구형, 타원형의 큰 점액세포와 타원형, 곤봉형의 중간 점액세포가 대부분이었으며 구형, 타원형의 작은 점액세포도 소수 나타났다(Fig. 11).

송곳니베도라치(Fig. 7)와 졸북(Fig. 12)의 점액세포들은 식도 점막상피 전체에 걸쳐 표층아래에 주로 한층, 간혹 여러층으로 배열된 것도 있었으며 점액세포의 모양은 구형, 타원형이었고 중간형 크기가 대부분이었으며 작은 점액세포도 소수 관찰되었다.

전체적으로 볼 때 조피볼락, 용치놀래기 및 졸북의 식도에서 점액세포의 수가 많았고 송곳니베도라치에는 그 수가 적었다.

식도 점액세포의 복합당질에 대한 lectin의 조직화학적 성상

조피볼락, 용치놀래기, 송곳니베도라치 및 졸북 식도 점액세포의 복합당질에 대한 lectin의 결합양상은 Table 2에서 보는 바와 같다.

조피볼락

식도의 큰 점액세포는 DBA (Fig. 1)와 SBA에 약한 반응 내지 중등도 반응을, 대부분의 큰 점액세포는 RCA-1 (Fig. 10)과 sWGA에 미약한 반응을(Fig. 13), BSL-1에는 대부분이 반응이 없었으나 소수의 큰 점액세포가 약한 반응 내지 중등도 반응을 나타내었고(Fig. 9) 그 외의 lectin들에는 반응이 없는 것으로 보아 α/β -N-acetyl-D-galactosamine을 소량 내지 중등량, β -D-galactose와 β -N-acetyl-D-glucosamine을 미량, 소수의 큰 점액세포는 α -D-galactose을 소량 내지 중등량 함유하고 있었다.

식도의 중간 크기 점액세포는 DBA (Fig. 1)와 SBA에 약한 반응 내지 중등도 반응을, BSL-1 (Fig. 9), RCA-1 (Fig. 10) 및 sWGA (Fig. 13)에는 미약한 반응 내지 약한 반응을 보였는데 이들 점액세포 중에는 BSL-1과 RCA-1에 반응을 보이지 않는 것도 있었고 그외의 lectin들에는 반응이 없는 것으로 보아 α/β -N-acetyl-D-galactosamine을 소량 내지 중등량, α -D-galactose, β -D-galactose 및 β -N-acetyl-D-glucosamine을 미량 내지 소량 함유하고 있는 것으로 나타났다.

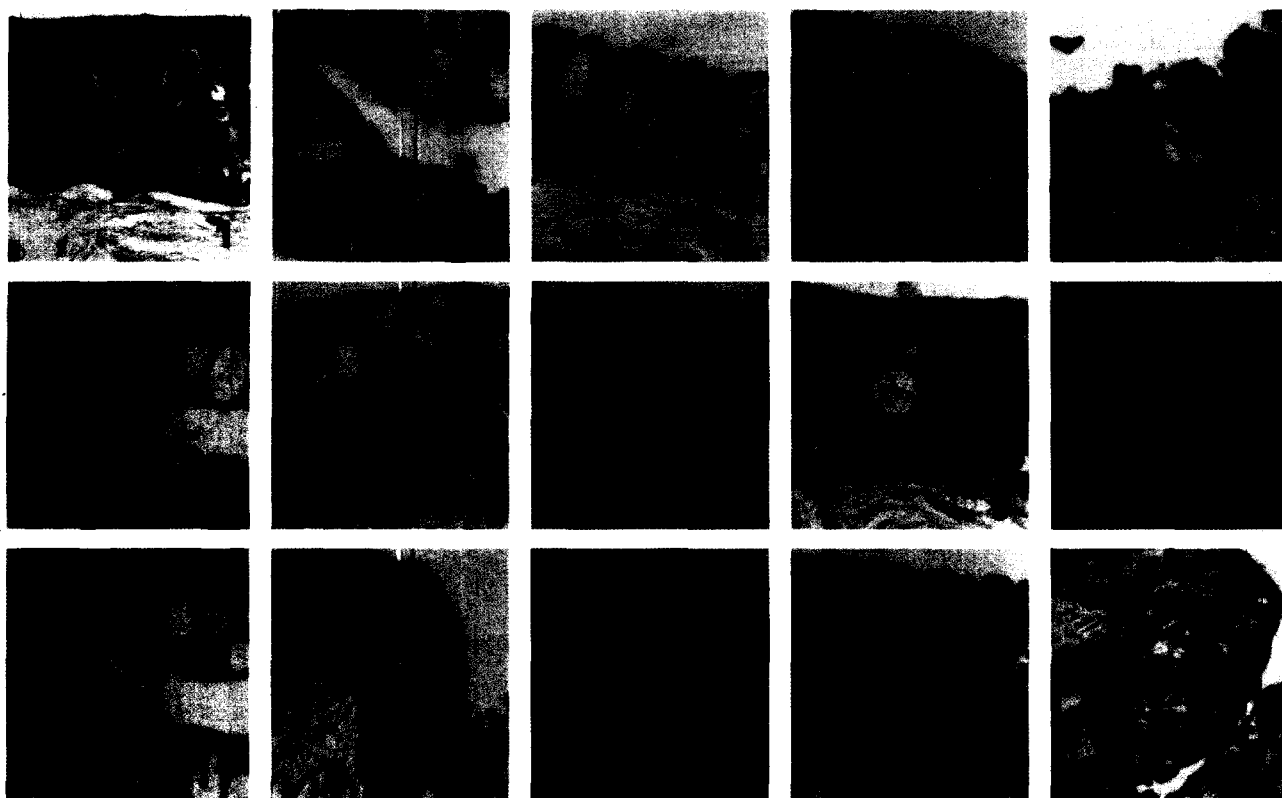
식도의 작은 점액세포는 SBA와 BSL-1 (Fig. 9)에 약한 반응 내지 중등도 반응을, RCA-1에 전혀 반응을 보이지 않는 소수의 작은 점액세포를 제외하고는 DBA (Fig. 1), RCA-1 (Fig. 10) 및 sWGA (Fig. 13)에 미약한 반응 내지 약한 반응을 보였으며 그 외의 lectin들에는 반응이 없는 것으로 보아 β -N-acetyl-D-galactosamine과 α -D-galactose를 소량 내지 중등량, α -N-acetyl-D-galactosamine, β -D-galactose 및 β -N-acetyl-D-glucosamine을 미량 내지 소량 함유하고 있었다.

용치놀래기

식도의 큰 점액세포는 PNA에 중등도 내지 강한 반응을(Fig. 6), DBA (Fig. 2), SBA 및 sWGA에 대해서는 대부분의 큰 점액세포는 반응을 보이지 않았으나 소수의 큰 점액세포가 미약한 반응 내지 약한 반응을 보였으며 그외의 lectin들에는 반응을 보이지 않는 것으로 보아 galactose- β -1,3-N-acetyl-D-galactosamine을 중등량 내지 상당량 함유하고 있었으며 소수의 큰 점액세포는 α/β -N-acetyl-D-galactosamine과 β -N-acetyl-D-glucosamine을 미량 내지 소량 함유하고 있었다.

식도의 대부분의 중간 크기 점액세포는 DBA (Fig. 2)와 SBA에 약한 반응 내지 중등도 반응을 보였으나 반응을 보이지 않거나 미약한 반응을 보이는 중간 크기 점액세포도 있었다. sWGA에는 대부분의 중간 크기 점액세포가 미약한 반응 내지 약한 반응을 보였고 소수의 중간 크기 점액세포는 PNA (Fig. 6)에 미약한 반응 내지 중등도 반응을 보였으며 그 외의 lectin들에는 반응이 나타나지 않는 것으로 보아 대부분의 중간 크기 점액세포는 α/β -N-acetyl-D-galactosamine을 소량 내지 중등량, β -N-acetyl-D-glucosamine을 미량 내지 소량 함유하며 소수의 중간 크기 점액세포는 galactose- β -1,3-N-acetyl-D-galactosamine을 미량 내지 중등량 함유하고 있는 것으로 나타났다.

식도의 작은 점액세포는 SBA에 약한 반응 내지 중등도 반응을, DBA에는 반응이 없는 것에서부터 중등도 반응까지 다양하게 나타났으며(Fig. 2), PNA에 대부분의 작은 점액세포는 반응을 보이지 않았으나 소수의 작은 점액세포가 약한 반응 내지 중등도 반응을 보였고(Fig. 6) 그외의 lectin들에는 반응이 없는 것으로 보아 β -N-acetyl-D-galactosamine을 소량 내지 중등량, α -N-acetyl-D-galactosamine은 없는 것에서 중등량 까지 함유하며, 소수의 작은 점액세포는 galactose- β -



- Fig. 1. DBA binding pattern in the esophageal mucous cells of *Sebastes schlegeli*. The large and medium sized cells showed weak to moderate positive reaction, while the small cells showed trace to moderate positive reaction. $\times 400$.
- Fig. 2. DBA binding pattern in the esophageal mucous cells of *Halichoeres poecilopterus*. The most large cells remained unreactive, the most medium sized cells showed trace to moderate positive reaction, and the small cells remained unreactive or showed weak to moderate positive reaction. $\times 400$.
- Fig. 3. DBA binding pattern in the esophageal mucous cells of *Takifugu pardalis*. The large, medium sized and small cells remained unreactive. $\times 400$.
- Fig. 4. SBA binding pattern in the esophageal mucous cells of *Bryzoichthys lysimus*. The most large cells remained unreactive, while the medium sized cells showed trace to weak reaction. $\times 400$.
- Fig. 5. SBA binding pattern in the esophageal mucous cells of *Takifugu pardalis*. The medium sized cells showed weak to moderate reaction, while the small cells showed trace to weak reaction. $\times 400$.
- Fig. 6. PNA binding pattern in the esophageal mucous cells *Halichoeres poecilopterus*. The large cells showed moderate to intense reaction, but the most medium sized and small cells remained unreactive. $\times 400$.
- Fig. 7. PNA binding pattern in the esophageal mucous cells of *Bryzoichthys lysimus*. The medium sized and small cells remained unreactive. $\times 400$.
- Fig. 8. PNA binding pattern in the esophageal mucous cells of *Takifugu pardalis*. The medium sized cells showed moderate reaction, but the small cells showed trace to weak reaction. $\times 400$.
- Fig. 9. BSL-1 binding pattern in the esophageal mucous cells of *Sebastes schlegeli*. The most large cells remained unreactive, the medium sized cells showed no reaction or trace to weak, while small cells showed weak to moderate reaction. $\times 400$.
- Fig. 10. RCA-1 binding pattern in the esophageal mucous cells of *Sebastes schlegeli*. Most large cells showed trace reaction, while the medium sized and small cells remained unreactive or showed trace to weak reaction. $\times 400$.
- Fig. 11. RCA-1 binding pattern in the esophageal mucous cells of *Halichoeres poecilopterus*. All the mucous cells remained unreactive. $\times 400$.
- Fig. 12. RCA-1 binding pattern in the esophageal mucous cells of *Takifugu pardalis*. The most medium cells showed weak reaction, while the most small cells showed weak to moderate reaction. $\times 400$.
- Fig. 13. sWGA binding pattern in the esophageal mucous cells of *Sebastes schlegeli*. The most large cells showed trace reaction, while the medium sized and small cells showed trace to weak reaction. $\times 400$.
- Fig. 14. sWGA binding pattern in the esophageal mucous cells of *Bryzoichthys lysimus*. The most medium sized cells showed weak reaction, and the small cells showed weak reaction. $\times 400$.
- Fig. 15. sWGA binding pattern in the esophageal mucous cells of *Takifugu pardalis*. The most medium cells showed weak to moderate reaction, but the most small cells remained unreactive. $\times 400$.

Table 2. Lectin histochemistry of the glycoconjugates in the esophageal mucous cells of *Sebastes schlegeli*, *Halichoeres poecilopterus*, *Bryzoichthys lysimus* and *Takifugu pardalis*

Species	Cells	Stains								
		DBA	SBA	PNA	BSL-1	RCA-1	sWGA	UEA-1	LCA	Con A
<i>Sebastes schlegeli</i>	L	+~++	+~++	0	0>+~++	±>+	±>+	0	0	0
	M	+~++	+~++	0	0, ±~+	0, ±~+	±~+	0	0	0
	S	±~++	+~++	0	+~++	0, ±~+	±~+	0	0	0
<i>Halichoeres poecilopterus</i>	L	0>±~+	0>±~+	++~+++	0	0	0>±	0	0	0
	M	±~+++>0	+~+++>±, 0	0>±~++	0	0	±~+>0	0	0	0
	S	0, +~++	+~++	0>±~++	0	0	0	0	0	0
<i>Bryzoichthys lysimus</i>	M	0	0>±	0	0	0	+>±	0	0	0~±
	S	0	±~+	0	0	0	+	0	0	0~±
<i>Takifugu pardalis</i>	M	0	+~++	++	0>±	+>0, ±	+~+++>±	+~+++>0	0	0~±
	S	0	±~+	±~+	0>±	+~+++>0	0>±	0>±~+	0	0~±

Degrees of staining : +++, very intense ; ++, intense ; +, moderate ; ±, weak ; 0, absent Abbreviations : L, large mucous cell ; M, medium sized mucous cell ; S, small mucous cell ; >, most marked.

1,3-N-acetyl-D- galactosamine을 소량 내지 중등량 함유하고 있는 것으로 나타났다.

송곳니배도라치

식도의 중간 크기 점액세포는 Con A에 반응이 없거나 미약한 반응을, SBA에는 대부분의 중간크기 점액세포가 반응이 없었으나 소수의 세포에서 미약한 반응을 보였다(Fig. 4). sWGA에 대부분의 중간 크기 점액세포는 약한 반응을 보였으나 소수의 세포에서 미약한 반응을 보였고(Fig. 14) 그외의 lectin들에는 반응이 없는 것으로 보아 α-D-mannose와 α-D-glucose를 함유하지 않거나 미량 함유하며 소수의 중간 크기 점액세포는 β-N-acetyl-D-galactosamine을 미량, β-N-acetyl-D-glucosamine을 미량 내지 소량 함유하는 것으로 나타났다.

식도의 작은 점액세포는 sWGA에 약한 반응을(Fig. 14), SBA에 미약한 반응 내지 약한 반응을(Fig. 4), Con A에는 반응이 없거나 미약한 반응을 나타내었고 그외의 lectin들에는 반응이 없는 것으로 보아 β-N-acetyl-D-glucosamine을 소량, β-N-acetyl-D-galactosamine을 미량 내지 소량, α-D-mannose와 α-D-glucose를 함유하지 않거나 미량 함유하는 것으로 나타났다.

줄복

식도의 중간 크기 점액세포는 SBA에 약한 반응 내지 중등도 반응을(Fig. 5), PNA에는 중등도 반응을 나타내었다(Fig. 8). RCA-1(Fig. 12), sWGA(Fig. 15) 및 UEA-1에는 반응이 없거나 미약한 반응을 보이는 소수의 중간 크기 점액세포를 제외하고는 대부분이 약한 반응 내지 중등도 반응을 나타내었고 그외의 lectin들에는 반응이 없는 것으로 보아 β-N-acetyl-D-galactosamine을 소량 내지 중등량, galactose-β-1,3-N-acetyl-D-galactosamine을 중등량 함유하며, 대부분의

중간 크기 점액세포가 β-N-acetyl-D-glucosamine과 α-L-fucose를 소량 내지 중등량, β-D-galactose를 소량, α-D-galactose, α-D-mannose 및 α-D-glucose를 함유하지 않거나 미량 함유하는 것으로 나타났다.

식도의 대부분의 작은 점액세포는 RCA-1에 약한 반응 내지 중등도 반응을 보였으나 반응을 보이지 않는 작은 점액세포도 소수 관찰되었으며(Fig. 12), SBA (Fig. 5)와 PNA (Fig. 8)에는 미약한 반응 내지 약한 반응을 보였다. BSL-1, sWGA (Fig. 15) 및 UEA-1에 대해서는 미약한 반응을 보이는 소수의 작은 점액세포를 제외하고 대부분의 작은 점액세포는 반응을 보이지 않았고 Con A에는 반응이 없거나 미약한 반응을 보였으며 그 외의 lectin들에는 반응이 없는 것으로 보아 대부분의 작은 점액세포가 β-D-galactose를 소량 내지 중등량 함유하며 β-N-acetyl-D-galactosamine과 galactose-β-1,3-N-acetyl-D-galactosamine을 미량 내지 소량 함유하고 있었다. 소수의 작은 점액세포는 α-D-galactose, β-N-acetyl-D-glucosamine 및 α-L-fucose를 미량 함유하며 α-D-mannose와 α-D-glucose를 함유하지 않거나 미량 함유하는 것으로 나타났다.

고 찰

일반적으로 어류 식도는 고등 척추동물과 같이 큰 종주름이 잘 발달되어 있으며 점막상피는 중층편평상피로 덮여있고 상피내에 많은 점액세포가 분포되어 있음은 오래전부터 여러 연구자들에 의하여 기재되었다[1-3,16,18,31,33-37]. 이 점액세포의 형태는 배상세포의 형태를 하거나[4] 전형적인 배상세포와 다른 형태를 하고 있으며[19,32-34,37], 이 점액세포들의 분포는 어종에 따라 차이가 있다고 하였다.

본 연구에 사용한 어종에서도 위의 보고와 같이 어류 식

도에는 큰 일차 주름이 잘 발달되어 있었는데 어중에 따라 차이가 있어 조피볼락은 키가 낮고 아래가 넓으며 용치놀래기와 송곳니베도라치는 가늘고 길며, 줄복은 주름 길이가 짧고 상부가 무딘 유곽형이었으며 4종 모두 일차 주름에 작은 이차 주름이 형성되어 있었다.

점막상피는 4종 모두 중층편평상피로 되어 있었는데 조피볼락과 용치놀래기에서는 단층입방상피로 된 이차주름이 곳곳에 나타난 점이 특이하였으며, 이 단층입방상피로 덮힌 이차 주름은 상피가 특수화된 것으로 식도호흡장치로 사료된다.

본 연구에서는 Reifel과 Travill[18]처럼 세포의 형태를 나누지 않고, 조운복과 최인장[37], 이숙희와 조운복[33], 정권순 등[34]처럼 국소적인 분포와 형태 및 크기에 따라 관찰하였다. 조피볼락과 용치놀래기에서 식도점액세포들은 큰 점액세포, 중간 점액세포 및 작은 점액세포들이 섞여 있었으며, 송곳니베도라치와 줄복의 점액세포들은 중간 및 작은 점액세포들이 섞여 있었다. 이와같은 결과는 Reifel과 Travill[18], 조운복과 최인장[37], 이숙희와 조운복[33], 정권순 등[34]의 보고와 같이 어중에 따라서 점액세포는 형태적 차이뿐만 아니라 크기 및 국소적인 분포에도 차이가 있음을 밝혀주고 있는데 이것은 어중에 따른 특성이라고 사료된다.

경골어류 식도점막상피 점액질의 조직화학적 연구는 많으나 복합당질에 대한 lectin의 조직화학적 성상에 대한 연구는 전혀 없었다. lectin의 조직화학적 성상에 대해서는 사람의 공장[27], 쥐의 창자상피[5], 척추동물의 작은창자 배상세포[13] 및 흰쥐 결장근위부 배상세포[30]가 연구되어 있으며, 경골어류를 대상으로 한 것은 잉어 아가미 과립세포 및 점액세포[8], 감성돔 창자 배상세포[13]가 보고 되어 있다.

복합당질의 일종인 당단백질은 oligosaccharide side chain을 가지며 100여종의 hexose 중 glucose, mannose, fucose, galactose, N-acetyl-D-glucosamine 등이 포함되어 있다[12]. 복합당질은 세포표면 및 내강면에 분포하고 그 다양성은 세포의 기능, 조성, 구조, 물리화학적 변형 및 세포의 인지에 따라 변이성이 심하며[9,12], 세포의 분화, 형태 형성에 따라 잔기가 완성되므로 분화정도에 따라 그 분포와 양에는 차이가 있다[17,29]. 복합당질은 당 잔기에 대해 높은 친화성 및 특이성을 가진 단백질 또는 당단백질인 lectin으로 조직화학적 분석이 가능하기 때문에[5,15,25,26] 본 연구에서는 이제까지 한번도 연구된 적이 없는 경골어류 식도 점액세포의 복합당질에 대한 lectin의 결합양상을 분석하였다.

식도 점액세포들의 lectin 결합양상은 본 연구에서 어종과 점액세포의 크기에 따라 차이가 있어 조피볼락의 모든 점액세포들은 DBA, SBA, RCA-1 및 sWGA에 반응을 보이고 중간 및 작은 점액세포는 이들 lectin 외에 BSL-1에도 반응을 나타내었다. DBA와 SBA에는 모든 점액세포들이 약한 반응 내지 중등도 반응을, 대부분의 큰 점액세포는 RCA-1과 sWGA에 미약한 반응을, 중간 및 작은 점액세포는 RCA-1에 반응이 없거나 미약한 반응 내지 약한 반응을, sWGA에 미

약한 반응 내지 약한 반응을 보였다. BSL-1에 중간 점액세포는 반응이 없거나 미약한 반응을, 작은 점액세포는 약한 반응 내지 중등도 반응을 보였다.

용치놀래기에서는 DBA와 SBA에 대부분의 중간 및 작은 점액세포와 약간의 큰 점액세포가 반응을 나타내나 sWGA에는 대부분의 중간 점액세포만 반응이 나타나고, PNA에 모든 점액세포와 약간의 중간 및 작은 점액세포가 반응을 나타내었으며 그 외의 lectin들에는 반응이 없었다. 모든 큰 점액세포는 PNA에 중등도 내지 강한 반응을, 중간 및 작은 점액세포는 SBA에 약한 반응 내지 중등도 반응을, 대부분의 중간 점액세포는 DBA와 sWGA에 미약한 반응 내지 중등도 반응을, 미약한 반응 내지 약한 반응을 각각 나타내었다.

송곳니베도라치의 대부분의 중간 점액세포와 작은 점액세포는 sWGA에 약한 반응을, Con A에는 반응이 없거나 미약한 반응을 보였으며, 작은 점액세포는 SBA에 미약한 반응 내지 약한 반응을 나타내었으나 그 외의 lectin들에는 반응이 없었다.

줄복의 중간 점액세포는 SBA에 약한 반응 내지 중등도 반응을, PNA에 중등도 반응을, RCA-1에 약한 반응을 그리고 sWGA와 UEA-1에는 대부분의 중간 점액세포에서 약한 반응 내지 중등도 반응을 나타내었다. 작은 점액세포는 SBA와 PNA에 미약한 반응 내지 약한 반응을, RCA-1에 약한 반응 내지 중등도 반응을 나타내었고 Con A에는 중간 및 작은 점액세포 모두 반응이 없거나 미약한 반응을 나타내었으나 그 외의 lectin들에는 반응이 없었다.

조피볼락의 점액세포에서 DBA와 SBA의 양이 많고, 용치놀래기에서는 큰 점액세포에서 PNA 양이, 중간 및 작은 점액세포에서 SBA 양이, 줄복의 경우 중간 점액세포에서 SBA, PNA, sWGA 및 UEA-1의 양이, 작은 점액세포에서 RCA-1의 양이 많았다.

Harris와 Hunt[7]는 어류의 점액질은 생화학적 연구에서 대부분 sialic acid 잔기와 glucose, mannose, glucosamine, galactose 및 galactosamine을 함유한다고 했는데 본 연구에서는 어중에 따라 당잔기에 차이가 있어 위의 보고와 상이함을 알 수 있다. 또한 Hidalgo 등[8]은 잉어의 아가미 점액세포는 WGA, DBA 및 SBA에 반응하나 PNA에 반응하지 않는다고 하였으며, Madrid 등[13]은 감성돔의 창자 배상세포는 PNA, WGA, DBA 및 SBA에 반응하는 세포와 반응하지 않는 세포가 섞여 있었으나 Con A에는 반응하지 않는다고 하였다.

본 연구와 위의 연구들에서 보면 어중에 따라 lectin 결합양상에 차이가 있는데 Hidalgo 등[8]의 언급처럼 lectin 결합양상이 점액세포를 구분하는데 특이하게 유용한 것 같고 또한 어종간의 점액세포의 결합양상은 종간의 특이성에 기인하는 것으로 생각되며 같은 종에서도 점액세포의 lectin의 결합양상이 다른 것은 김기림 등[30]이 흰쥐 결장 근위부의 슬관세포가 놓여 있는 부위에 따라 복합당질의 당 잔기가 다르

게 나타나는 것은 아마도 점액세포의 성숙과정과 기능이 각각 다름을 나타내주는 것으로 생각된다고 한 것처럼 어류 식도 점액세포들의 성숙 과정 또는 어류 식도의 특이한 기능에 기인하는 것으로 사료되나 앞으로 이에 대한 연구가 더 있어야 할 것으로 생각된다.

요 약

경골어류인 조피볼락, 용치놀래기, 송곳니베도라치 및 졸복 식도 점액세포의 복합당질 성상을 biotinylated lectin인 DBA, SBA, PNA, BSL-1, RCA-1, sWGA, UEA-1, LCA 및 Con A로 연구하였다. 조피볼락과 용치놀래기는 큰·중간 및 작은 점액세포가 섞여 있었고, 송곳니베도라치와 졸복은 중간 및 작은 점액세포들이 섞여 있었다. 식도 점액세포들의 lectin 결합양상도 어종에 따라 차이가 있었으며 조피볼락은 DBA, SBA, BSL-1, RCA-1 및 sWGA에, 용치놀래기는 DBA, SBA, PNA 및 sWGA에, 송곳니베도라치는 SBA 및 sWGA에 각각 반응을 하였으며 졸복은 DBA, LCA 및 Con A를 제외한 모든 lectin에 반응하였다. 조피볼락의 모든 점액세포에는 DBA, SBA 및 sWGA가, 작은 점액세포에는 이 외에 BSL-1이 반응하였다. 용치놀래기의 큰 점액세포에서는 PNA가, 중간 점액세포에는 DBA, SBA 및 sWGA가, 작은 점액세포에는 DBA와 SBA가 반응하였다. 송곳니베도라치의 중간 점액세포에는 sWGA가, 작은 점액세포에는 SBA와 sWGA가 반응하였으며 졸복은 모든 점액세포에 SBA, PNA 및 RCA-1가, 중간 점액세포에는 이 외에 sWGA와 UEA-1이 반응하였다. 특히 조피볼락의 점액세포에서 DBA와 SBA의 양이 많고, 용치놀래기에서는 큰 점액세포에서 PNA 양이, 중간 및 작은 점액세포에서 SBA 양이 많았으며, 졸복의 경우 중간 점액세포에서 SBA, PNA, sWGA 및 UEA-1의 양이, 작은 점액세포에서 RCA-1의 양이 많았다.

참 고 문 헌

- Andrew, W. 1959. *Textbook of comparative histology*. pp. 229-285, Oxford University Press, New York.
- Andrew, W. and C. P. Hickman. 1974. *Histology of the vertebrates*. pp. 264-291, Mosby Co., Saint Louis.
- Bucke, D. 1971. The anatomy and histology of the alimentary tract of the carnivorous fish, the pike *Esox lucius*. *J. Fish Biol.* **3**, 421-431.
- Curry, E. 1939. The histology of the digestive tube of the carp (*Cyprinus carpio communis*). *J. Morph.* **65**, 53-65.
- Etzler, M. F. and M. L. Branstrator. 1974. Differential localization of cell surface and secretory components in rat intestinal epithelium by use of lectin. *J. Cell Biol.* **62**, 329-343.
- Goldstein, I. J. and C. E. Hayes. 1978. The lectins: carbohydrate-binding proteins of plant and animal. *Adv. Carbohydr. Cytochem. Biochem.* **35**, 127-340.
- Harris, J. and S. Hunt. 1973. Epithelial mucins of the atlantic salmon (*Salmon salar* L.). *Biochem. Soc. Trans.* **1**, 153-155.
- Hidalgo, J., A. Velasco, I. Sánchez Aguayo and P. Amores. 1987. Light microscopic characterization of glycoconjugates in secretory cells of the carp (*Cyprinus carpio*) gill epithelium. *Histochemistry* **88**, 65-73.
- Howard, D. R., P. Ferguson and J. G. Batsicis. 1981. Carcinoma associated cytostructural antigenic alteration; Detected by lectin binding. *Cancer.* **47**, 2872.
- Hughes, G. M. 1980. Functional morphology of fish gills *In: Lahlon B (ed) Epithelial transport in lower vertebrates*. pp. 15-36, Cambridge University Press, London.
- Kirschner, L. B. 1978. External charged layer and Na⁺ regulation *In: Alfred Benzon Symposium 11, Osmotic and volume regulation*. pp. 310-321, Academic Press, New York.
- Leppi, T. J. and R. J. Stoward. 1965. On the use of testicular hyaluronidase for identifying acid mucins in tissue sections. *J. Histochem. Cytochem.* **13**, 406.
- Madrid, J. F., J. Ballesta, M. T. Castells and J. A. Marin. 1989. Characterization of glycoconjugates in the intestinal mucosa of vertebrates by means of lectin histochemistry, *Acta. Histochem. Cytochem.* **22(1)**, 1-14.
- McManus, J. F. A. 1984 (AFIP modification). Periodic acid Schiff's reaction. *Stain Techn.* **23**, 99-108.
- Ohara, S., K. Ischihara, M. Kakei, Y. Azuumi and K. Hotta. 1982. Distribution of mucosal macromolecular glycoprotein in rat stomach, *Comp. Biochem. Physiol.* **72**, 309-311.
- Patt, D. I. and G. R. Patt. 1969. *Comparative vertebrate histology*. pp. 146-205, Harper and Row, New York.
- Plenderleith, M. B., L. L. Wright and D. J. Snow. 1992. Expression of lectin binding in the superficial dorsal horn of the rat spinal-cord during prenatal and postnatal development. *Dev. Brain Oes.* **68**, 103-109.
- Reifel, C. W. and A. A. Travill. 1977. Structure and carbohydrate histochemistry of the esophagus in ten teleostean species. *J. Morph.* **152**, 303-314.
- Reifel, C. W. and A. A. Travill. 1978. Gross morphology of the alimentary canal in ten teleostean species. *Anat. Anz.* **144**, 441-449.
- Schulte, B. A. and S. S. Spicer. 1983a. Light microscopic detection of sugar residues in glycoconjugates of salivary glands and the pancreas with lectin-horseradish peroxidase conjugates. *I. Mouse Histochem. J.* **15**, 1217-1238.
- Schulte, B. A. and S. S. Spicer. 1983b. Light microscopic histochemical detection of terminal galactose and N-acetylgalactosamine residues in rodent complex carbohydrates using a galactose-oxidase-Schiff sequence and peanut lectin-horseradish peroxidase conjugate. *J. Histochem. Cytochem.* **31**, 19-24.
- Schulte, B. A. and S. S. Spicer. 1983c. Light microscopic histochemical detection of sugar residues in secretory glycoproteins of rodent and human tracheal glands with lectin-horseradish peroxidase conjugates and the galactose

- oxidase-Schiff sequence. *J. Histochem. Cytochem.* **31**, 391-403.
23. Schulte, B. A. and S. S. Spicer. 1985. Histochemical methods for characterizing secretory and cell surface sialoglycoconjugates. *J. Histochem. Cytochem.* **33(5)**, 427-438.
 24. Sharon, N. and H. Lis. 1989. Lectins as cell recognition. *Science* **177**, 949-959.
 25. Spicer, S. S., B. A. Schulte, G. N. Thomopoulos, R. T. Parmley and M. Takagi. 1983. Cytochemistry of complex carbohydrates by light and electron microscopy : Available methods and their application. pp. 163-211, In Wagner, B. A. (eds.), *Connective tissue disease*, Williams and Wilkins, Baltimore.
 26. Suzuki, S., S. Tsuyama and F. Murata. 1982. Post-embedding staining of rat gastric mucous cells with lectins. *Histochemistry* **73**, 563-575.
 27. Vecchi, M., G. Torgano, M. Monti, E. Berti, D. Agape, M. Primignani, G. Ronchi and R. Franchis. 1987. Evaluation on secretory glycoconjugates in normal human jejunum by means of lectin histochemistry. *Histochemistry* **86**, 359-364.
 28. Watanabe, M., T. Muramatsu, H. Shirane and K. Ugai. 1981. Discrete distribution of binding sites for *Dolichos biflorus* agglutinin (DBA) and for peanut agglutinin (PNA) in mouse organ tissue. *J. Histochem. Cytochem.* **29**, 779-790.
 29. Zhou, X. H., H. Kawakami and H. Hirano. 1992. Changes in lectin binding pattern of leydig-cells during fetal and postnatal development in mice. *J. Histochem.* **24**, 354-360.
 30. Kim, K. L., S. C. Moon, S. Y. Baek, J. B. Kim and B. S. Kim. 1995. Differential glycoconjugate expression in the goblet cells of the rat proximal colon. *J. Pusan Med. Coll.* **35(1)**, 1-7.
 31. Kim, Y. K. 1972. Comparative histochemical study on the mucosa of the digestive tract of fresh water fishes. *J. Sci., Pusan Natl. Uni.* **14**, 135-160.
 32. Im, M. S. and H. S. Kwun. 1983. Histochemical study on mucosubstances of the mucous cells in teleostean esophagus. *J. Catholic Med. Coll.* **36(4)**, 803-812.
 33. Yi, S. H. and U. B. Jo. 1986. Histochemical study on mucosubstances of the esophageal mucous cells in the teleosts. *J. Mol. Bio., Pusan Natl. Uni.* **1**, 29-39.
 34. Jung, K. S., M. S. Hong, G. J. Jo and U. B. Jo. 2000. Histochemical study on glycosaminoglycans of esophageal mucous cells in *Agramus agramus*, *Inimicus japonicus*, *Epinephelus chlorostigma* and *Helicolenus dactylopterus*. *Korean J. Life Sci.* **10(2)**, 1-8.
 35. Jo, U. B. and H. C. Park. 1972. Comparative study on the digestive mucosa of frogs and fishes. *J. Pusan Natl. Uni.* **13**, 383-403.
 36. Jo, U. B. 1974. Histochemical studies on the acid mucosubstances in the mucosa of alimentary tract of lower vertebrates. *Korean J. Anat.* **7(1)**, 19-30.
 37. Jo, U. B. and I. J. Choi. 1983. Histochemical study of the properties of mucosubstances on the esophageal mucous cells in five teleostean species. *J. Sci., Pusan Natl. Uni.* **35**, 239-247.