

이학석사 학위논문

조피볼락(*Sebastes schlegeli*)의
비장 협조직에 대한 광학 및
전자현미경적 연구



이 논문을 이학석사 학위논문으로 제출함

2002년 2월

부경대학교 대학원

어 병 학 과

최 희 정

최희정의 이학석사 학위논문을 인준함

2001년 12월 15일

주 심 이학박사 김 기 홍



부 심 이학박사 정 현 도



위 원 농학박사 허 민 도



목 차

Abstract	i
I. 서 론	1
II. 재료 및 방법	4
1. 실험어의 유지 및 임상적 건강 개체 선별	4
2. 광학 및 전자현미경적 표본 제작법	5
(1) 광학현미경 표본 제작	5
(2) 투과전자현미경 표본 제작	8
III. 결 과	9
1. 정상 조피볼락에서의 비장 협조직의 형태학적 소견	9
(1) 광학현미경적 관찰결과	9
(2) 투과전자현미경적 관찰결과	12
IV. 고 찰	14
V. 요 약	18
VI. 결과그림 및 그림설명	19
VII. 감사의 글	26
VIII. 참 고 문 헌	28

Light and electron microscopy on the splenic ellipsoids of Rockfish,
Sebastes schlegeli.

Hee-Jung Choi

*Department of Fish Pathology, Graduate School,
Pukyong National University*

ABSTRACT

The light and electron microscopic morphology of splenic ellipsoids of rockfish, *Sebastes schlegeli*, were investigated. Ellipsoids in the spleen tissue stained with hematoxylin and eosin revealed a number of bright areas distributed evenly throughout the splenic pulp under light microscope. Depending on sectional planes, the shapes of the ellipsoids were circular, elongated or branched. Endothelium of the ellipsoidal capillary was composed of a single layer of cuboidal endothelial cells. Moreover, the capillary wall was surrounded by several single-layered euchromatic cells. Between ellipsoid and pulp, a bright area was noted. Although fibrous matrix was not obvious in HE-stained preparations, it was clearly visible in Gomori's periodic acid-methenamine silver stains. The ellipsoidal cells were confined as euchromatic macrophages and heterochromatic reticular cells arrayed in a single row in electron microscopy. Cuboidal epithelium of the inner capillary was characterized by the presence of discontinuous basal laminae. However, the reticular basal laminae were continuous with reticular fibres between ellipsoidal cells.

Ellipsoidal macrophages and reticular cells were interdigitated with their abundant cytoplasmic processes. Erythrocytic remnants being under lysosomal digestion were often detected in the macrophages. Discontinuous but thick bands of reticular fibres were clearly delineated from the neighboring pulp. Pulp area between ellipsoids was filled with a number of cells, mainly erythrocytes and lymphocytes. From the results, we could summarize that the ellipsoidal structure of rockfish spleen was different from that of other species reported previously, particularly in the ultrastructures of endothelial type of capillary, amount of reticular fibres and electron densities of endocytotic vesicles, even though the two comparisons were basically similar in the rest parts of the structure.

key word : ultrastructures · ellipsoid · spleen · Rockfish · *Sebastes schlegeli*

I. 서 론

조피볼락(*Sebastes schlegeli*)은 90년대 이후 인공종묘 생산이 보편화되고 안정적, 계획적 종묘 확보가 가능하며, 우리나라 해산 연안 가두리 양식의 대표적인 어종의 하나이다. 그 생산량은 연안 가두리 양식량 전체의 40% 전후에 달하고 있으나, 최근 연이은 원인불명의 질병으로 조피볼락 양식업에 많은 피해를 입고 있다. 이러한 질병에 대한 정확한 진단 및 예후판정을 위해서는 숙주체내에서 일어나는 병리학적인 변화에 관한 연구정보가 절실히 요구된다.

어류에서 질병 시 각종 병리학적인 변화를 수반할 수 있는 장기 중의 하나로 비장을 들 수 있다. 비장은 질병 이환 시 육안적으로 색조 및 크기 등의 변화를 나타내는 경우가 흔할 뿐 아니라 조직학적 변화 내용도 매우 다양한 것으로 알려져 있다. 특히 조직학적으로는 비수 내 모세혈관의 대부분을 둘러싸고 있으며, 대식세포에 의한 포식성 구조인 협조직(ellipsoids)을 중심으로 한 변화가 대부분을 이루고 있다. 따라서 협조직의 조직학적 변화 내용은 어체의 각종 생리학적 및 병리학적인 변화를 반영한다고 볼 수 있다. 따라서, 어류의 비장 내에서 일어나는 각종 형태학적 변화 내용에 대한 병리학적인 해석을 가하기 위해서는 협조직의 정상적인 조직 구조를 보다 분명히 해놓을 필요가 있다.

협조직이란 세망세포(reticular cell)와 큰포식세포(macrophage)로 이루어진, 동맥성 모세혈관을 둘러싸는 포식성 구조를 지칭한다. 어류를 포함한 거의 모든 척추동물에 존재하는 것으로 알려져 있으며(Zapata *et al.*, 1990), 동물 종에 따라 그 크기와 수에 있어 상당한 차이를 보이는 것으로 되어 있다(Suzuki *et al.*, 1977; Hatae, 1978; Blue & Weiss, 1981; Buysens *et al.*, 1984; Olah *et al.*, 1994). 이와 같은 협조직은 포유류 중에서는 특히 돼지와 고양이에서 잘 발달되어 그 크기가 크고, 분포수가 많은 것으로 알

려져 있다.

어류에서 협조직의 형태에 관한 연구는 그렇게 많지 않으며, 약 6어종에 7편의 연구 논문이 있다(Zwillenberg, 1964; Graf & Schluns, 1979; Fulop & McMillan, 1984; Quesada *et al.*, 1990; Espense *et al.*, 1995a; Atsuta *et al.*, 1999; Kang, 2000). 협조직은 경골어류 중 진골류에서 특히 잘 발달되어 있는 것으로 알려져 있으며, 어종에 따라 협조직이 관찰되지 않거나(Ferguson, 1989; Zapata & Cooper, 1990), 발달 정도의 차이가 있는 것으로 알려져 있다(Lamers & Parmentier, 1985; Atsuta *et al.*, 1999). 그러나 뱀장어의 경우, 협조직의 존재유무에 대하여 연구결과가 서로 일치하지 않고 있다(Atsuta *et al.*, 1999). 협조직이 존재하는 경우에는 그 기본구조에 있어 고등척추류의 경우와 큰 차이가 없는 것으로 되어 있다. 그러나, 초미세구조에 있어 내피세포간의 결합에 있어 포유류와 차이를 보이고, 내피세포 및 기저판의 형태, 내피세포 내의 미세사 존재유무(intermediate filaments)에 있어서는 어종에 따른 차이를 보이는 것으로 알려져 있다(Zwillenberg, 1964; Hatae, 1978; Graf & Schluns, 1979; Fulop & McMillan, 1984; Buysens *et al.*, 1984; Quesada *et al.*, 1990; Espense *et al.*, 1995a; Atsuta *et al.*, 1999; Uehara, 1999; Kang, 2000).

어류의 협조직의 기능은 다른 동물 종과 크게 차이가 없고, 모세혈관벽의 지지와 함께 순환혈액 중의 이물질 포식, 노쇠 혈구들을 처리하는 기능을 갖는 곳으로 알려져 있다(Van Muiswinkel *et al.*, 1991; Dalmo *et al.*, 1997; Press *et al.*, 1999).

본 연구의 목적은 해산 경골어류의 일종인 조피볼락을 대상으로 정상적인 비장 협조직의 형태를 광학 및 전자현미경적 기법으로 관찰하여 이미 보고된 다른 어종과의 차이와 그 내용을 분명히 하여 관련기능을 조명하고, 본 어종의 질병개체에서 일어나는 협조직의 변화를 해석하는데 기초자료로 삼고자 하는데 있다.

II. 재 료 및 방 법

1. 실험어의 유지 및 임상적 건강개체 선별

체중 80~130 g, 체장 13~18 cm인 양식산 조피볼락(*Sebastes schlegeli*)을 실험실 내 순환여과식 수조에 수용하여 사료를 급이 하면서 약 2주간의 순치 기간을 두었다. 실험기간 동안에는 조피볼락을 지속적으로 포기(泡氣)중인 수온 18℃인 정치식 수조에 다시 옮겨 수용하였고, 실험이 완료될 때까지 사료공급을 하지 않았다. 각 조피볼락에 대하여는 외부소견 관찰, 세균학적 및 기생충학적 검사, 혈액학적 검사 그리고 부검 내 부소견 관찰을 통한 통상적인 임상적 검사에서 이상이 없는 개체를 20마리를 선별하여 조직학적 검사에 사용하였다.

이 중 혈액학적 검사는 hematocrit측정과 혈액 도말 표본에 대한 광학현미경적 검사를 통하였다. Hematocrit측정은 heparin처리 모세관에 혈액을 흡입하여 3,000 rpm에서 15분간 원심분리하여 측정하였으며, 35-45%의 범위에 드는 개체를 정상으로 하였다. 도말 혈액표본은 methanol에 고정한 후 May-Giemsa 와 PAS 염색을 실시하여 혈구세포의 이상유무 및 내용을 관찰하였다.

2. 광학 및 전자 현미경 표본 제작법

(1) 광학 현미경 표본 제작

a. Hematoxylin-esoine(HE) 염색표본

Ethyl aminobenzoate 100 ppm으로 마취 후 부검을 실시하였다. 개복 즉시 각 개체로부터 비장조직을 절취하여 5 mm이내의 두께로 잘라 부완액(Bouin's solution)에 전고정하고, 2차 고정은 1차 고정 후 24시간만에 동일 고정액을 사용하여 실시하였다. 2차 고정 24시간만에 수세하고, 70%에서 100% 순차농도 알코올에 탈수하였다. 자일렌(xylene) 투명화하여 파라핀 친화시키고, 파라핀 포매 후 microtome (Reichert-Jung 820, Leica)을 사용하여 5 μ m두께의 박편을 얻었다. 통상적인 수순에 따라 HE염색을 실시하였다.

b. 특수염색 표본제작

비장 내 섬유성 세망구조를 확인하는 동시에 광학현미경 수준에서 협조직의 윤곽을 명확히 표현하는 염색법을 가리기 위하여 4가지 기질 염색법을 적용하였다. 또한 협조직 내 hemosiderin의 축적유무 및 그 정도를 알기 위하여 Prussian blue reaction을 적용하였다. 그 각 염색 수순은 다음과 같다.

(a) Mallory's aniline blue collagen 염색(수순 및 결과)

HE염색표본 제작시 박절된 표본에 대하여 다음과 같은 수순으로 염색하였다.

탈 파라핀, 함수과정 및 수세 이후 Weigert's iodine 10분간 처리하고, 5% sodium thiosulfite 수용액으로 iodine을 제거하였다. Acid fuchsin으로 1분간 처리하고 Aniline blue solution으로 1시간 처리한 뒤 수세, 탈수, 투명화 및 봉입을 하였다.

교원섬유 및 세망섬유는 청색으로 양성반응을 나타내며, 핵은 적색, 적혈구는 노란색으로 반응을 나타낸다.

(b) Modified Heidenhain's Azan 염색(수순 및 결과)

HE염색표본 제작시 박절된 표본에 대하여 다음과 같은 수순으로 염색하였다.

탈 파라핀, 합수과정 및 수세 이후 Azocarmine 수용액으로 56℃ incubation에서 1시간 반응시킨 뒤 0.1% aniline alcohol로 10분간 분별한 뒤, 1% acetic acid alcohol로 1분간 탈색정지를 하였다. 5% phosphotungstic acid 15분간 처리 한 뒤 Aniline blue-Orange G 수용액으로 15분간 대조 염색하여 수세, 탈수, 투명화 및 봉입을 하였다.

세망섬유, 교원섬유 및 기저막은 진한 청색으로 나타내며, 핵과 적혈구는 적색 반응을 나타낸다.

(c) Periodic Acid Schiff (PAS) 염색(수순 및 결과)

HE염색표본 제작시 박절된 표본에 대하여 다음과 같은 수순으로 염색하였다.

탈 파라핀, 합수과정 및 수세 이후 1% periodic acid 10분간 처리하고, Sciff's reagent 용액에서 발색될 때까지 처리하였다. NaHSO₃ 용액에 2분간 3회 처리 한 뒤 수세 후 Harris' Hematoxylin 용액에 10초간 처리하고 수세, 탈수, 투명화 및 봉입을 하였다.

세망섬유, 기저막 및 당원은 적색 내지 자색 반응을 나타내며, 핵은 청색 반응을 나타낸다.

(d) Gomori's periodic acid-methenamine silver 염색(수순 및 결과)

HE염색표본 제작시 박절된 표본에 대하여 다음과 같은 수순으로 염색하였다.

탈 파라핀, 함수과정 및 수세 이후 0.5% potassium metabisulfite 수용액으로 2분간 산화시킨 후 potassium metasulfite 수용액으로 과량의 manganate를 제거하고 Ferric ammonium sulfite 수용액으로 3분간 감작하였다. 수세 후 silver 용액으로 1분간 처리하고, formalin으로 3분간 환원시킨 뒤 Gold chlorid 용액으로 1분간 조색하였다. sodium thiosulfate 수용액으로 2분간 처리하고, light green solution으로 2분간 대조 염색한 뒤 수세, 탈수, 투명화 및 봉입을 하였다.

기저막과 세망섬유는 검정색으로 양성반응을 나타내며, 나머지는 초록색으로 반응을 나타낸다.

(e) Prussian blue reaction

HE염색표본 제작시 박절된 표본에 대하여 다음과 같은 수순으로 염색하였다.

탈 파라핀, 함수과정 및 수세 이후 10% potassium ferrocyanide로 10분간 처리하고, HCl-ferrocyanide 용액으로 56°C incubation에서 30분간 반응하였다. 수세 후 nuclear fast red 용액으로 10분간 핵을 염색 한 뒤 수세, 탈수, 투명화 및 봉입을 하였다.

3가철(ferric iron)은 청색으로 양성반응을 나타내며, 핵은 적색으로 관찰된다.

(2) 투과전자현미경적 관찰

개복 후 비장을 신속히 절취하여 냉장된 2.5% glutaraldehyde액 내에서 약 1 mm로 세절하고 동액에 4℃에서 하룻밤 동안 전고정하였다. 0.1 M phosphatic buffer (pH 7.0-7.4)에 세 차례 각 10분간 씩 수세하였다. 4℃에서 1% osmium tetroxide 용액에 2시간 동안 후고정을 실시하고 0.1 M phosphatic buffer (pH 7.0-7.4)에 세 차례 각 10분간 씩 수세한 후 50%에서 100%까지 순차농도의 ethanol에서 탈수하였다. Propylene oxide(PO)에서 치환 후 PO : Epon혼합물 (1 : 1)로 침투한 후 Epon혼합물 (Epon812, DDSA, NMA 및 DMP-30)과 함께 열중합 holder에 넣어 oven내에서 40℃에서 12시간, 60℃에서 48시간 순으로 열중합 시킨다. semithin section을 1% toluidine blue 단염색 하여 필요한 부위를 선별·trimming하고, ultrathin section하여 uranyl-acetate와 lead citrate 이중염색 후 투과전자현미경(HITACHI H-7500)으로 관찰하였다.

III. 결 과

1. 정상 조피블락에서의 비장 협조직의 형태학적 소견

(1) 광학현미경적 관찰 결과

a. HE 염색표본

HE염색표본에서 비장은 단층의 mesothelial layer와 직하의 얇은 eosin호성의 교원섬유층으로 이루어진 얇은 피막에 의하여 둘러싸여 있었으며, 비장 실질부로 향하여 달리는 trabeculae(비주)가 관찰되었다(fig.1-1). 비장의 실질은 피막직하 부분을 제외하고는 명확한 구분 없이 적색수 사이에 백색수가 흩어진 상태로 관찰되었다. 대부분이 적혈구가 많이 분포한 splenic cord(비색)가 차지하고 있었다. 협조직은 비장 전반에 걸쳐 밝게 나타나는 영역으로 다수 인지되었고 주위로 melano-macrophage center와 임파구들이 관찰되었다(fig.1-2).

또한 협조직은 망상조직 간질 내에 eosin호성의 밝은 부분으로 대개 임파골수성 세포 집단이 둘러싸고 있다. 이 임파골수성 조직은 주로 분화중의 혈구, 임파구 및 큰포식세포로 구성되어 있었다. 협조직은 절단방향에 따라 원형, 장방형 또는 분지형으로 관찰되었으며(fig.1-3), 직각방향으로 절단된 것으로 생각되는 원형의 것(fig.1-4)은 그 직경이 17.5~27.5 μm 이었다.

이러한 협조직은 단층의 혈관 내피층 바깥으로 다른 한 층의 세포층으로 구성되어 있었으며, 내강에는 한 두 개의 적혈구 또는 백혈구가 관찰되기도 하였다. 협조직 중앙의 모세혈관의 내피는 단층의 입방형 세포로 구성되어 있었으며, 내피세포는 이염색질

이 풍부한 핵이 세포의 대부분을 차지하였으며, 그 형태는 불규칙하였다. 혈관내피의 기저 영역에는 밝고 내피세포보다 큰 핵을 가진 세포가 둘러싸고 있었으며, 탄말과 phenylhydrazine을 주사한 개체에서는 여기에 탄말 또는 적혈구가 탐식되었다.

b. Mallory's aniline blue collagen 염색표본

비장의 피막과 협조직 전체가 양성반응을 보였다. 이 중에서도 협조직 가장자리와 모세혈관 내피 하 기저 영역에서 강한 반응을 보였다(fig.2-1). 따라서, 협조직의 구조와 비수와의 경계부 윤곽을 HE염색 표본에서 보다 더욱 분명히 관찰되었다.

c. Modified Heidenhain's Azan 염색표본

풍부한 섬유구조가 확인이 되었으며, 저배율에서 협조직은 그 경계부인 섬유구조가 양성반응으로 청색으로 염색이 되어 쉽게 관찰되었다(fig.2-2). 내강으로 돌출된 내피세포 핵은 분홍색으로 나타나고 적혈구는 적색으로 나타났다. 협조직 내 집(sheath)을 이루는 세포층의 세포핵은 크고 난원형으로 내피세포 보다는 연하게 염색되었다. MMC는 진한 적색으로 나타났으며, 피막과 비수 내 지주구조가 연한 청색으로 양성으로 나타났다.

d. PAS 염색표본

협조직 내 내피세포와 협조직 내 세포층 사이가 양성반응을 보였다(fig.2-3). 내피세포와 적혈구는 청색으로 관찰이 되었으며, 협조직의 가장자리는 두껍고 진한 자색으로 염색되었고 MMC와 이를 둘러싼 피막부도 양성으로 나타났다.

e. Gomori's periodic acid-methenamine silver 염색표본

내피세포의 얇은 기저부 및 협조직의 가장자리, 즉 비수와의 경계부를 강한 양성으로 나타냄으로써 HE염색법에서는 구별이 어려운 섬유성 구조를 확인할 수 있었으며 (fig.2-4), 여기에서 적용한 모든 염색법 중 협조직의 형태를 가장 명확히 나타내었다.

f. Gomoris' prussian blue reaction

적색의 핵을 가진 비장수부와 갈색의 MMC가 관찰되는데, MMC 내에는 약한 hemosiderin 양성반응을 보였으나, 모든 협조직 내에서는 음성반응을 나타내었다 (fig.3-1).

(2) 투과전자현미경적 관찰 결과

황단 협조직은 직경이 약 27 μm 로, 저배율에서 동심원적 구조로서 나타났고 가장자리에는 높은 전자밀도의, 풍부한 세망섬유가 확인되어 주위의 비수와 명확한 구분이 되었다(fig.4-1). 협조직 혈관의 내강에는 통과 중에 있는 적혈구 내지 백혈구가 소수로 확인되었으며, 5~6개 입방형 세포로 구성된 내피가 확인된 모세혈관의 일종이었다. 그 바깥 층에는 풍부한 세포질 돌기로 인하여 세포간 경계구분이 쉽지 않았으나, 단층으로 배열된 큰포식세포와 세망세포의 존재를 확인할 수 있었다. 협조직 내 세망섬유는 내피 세포의 기저부에서 불연속적으로 분포하였고, 큰포식세포와 세망세포 사이에서는 얇은 층으로 분포하였고, 가장자리에서는 두껍게 불연속적으로 분포하였다.

협조직이 에워싸는 모세혈관 입방형 내피(fig.4-2)는 세망섬유에 의한 불연속성 기저판이 확인되었고 광학현미경에서 확인된 바와 같이 매우 다분엽성의 불규칙한 큰 핵을 가진 세포로 확인되었다. 내피세포의 핵은 핵막 가까이에 이질염색질(heterochromatin)이 풍부하게 분포하고 있었다. 전자밀도가 높은 과립들과 rER, mitochondria와 등이 관찰되었으며, 세포질의 기저측과 내강측에 중등도의 전자밀도를 가진 둥근 포음소포(pinocytotic vesicle)가 다수 분포하고 있었다. 이들 내피세포 사이에서는 교통반(gap junction)이 확인되었다.

협조직 내 큰포식세포(fig.4-4)는 핵이 불규칙하며 진정염색질(euchromatin)이 풍부하였다. 핵소체가 확인되었으며, 많은 세포질 돌기를 내어 이웃한 세포와 복잡한 각지름긴 형태를 보였고, 세포질 내에는 mitochondria, rER, ribosome, primary lysosome, secondary lysosome, 소화중의 노쇠 적혈구들의 세포질 잔체 등이 관찰되었다. 한편 세망세포(fig.4-3)는 길고 가는 세포질 돌기가 방사상으로 뻗어 있고, 이웃한 비수로 이어

져 있었다. 핵은 큰포식세포보다 이질염색질(heterochromatin)이 풍부하였다. 세포질은 전자밀도가 높게 나타났으며, 이들 세포 중 드물게 rER과 높은 전자밀도의 원형 과립, 작은 Golgi체, 다수의 free libosome이 관찰되기도 하였다.

Splenic cord(비장끈)을 구성하는 중등도의 전자밀도를 갖는 세망세포들은 부착반에 의하여 서로 연결되어 있었고, 이 사이에 적혈구, 임파구, 큰포식세포, 형질세포 등의 각종 세포성분들을 관찰할 수 있었다.

IV. 고 찰

본 실험의 결과 조피볼락의 비장 협조직은 서로간의 경계가 불명확한 큰포식세포와 세망세포가 단세포층의 협조직 실질을 이루고 있었다. 이 협조직이 둘러싸게 되는 혈관은 단층의 입방형내피를 갖는 모세혈관으로 분류되었다. 이 내피는 세망섬유에 의한 불연속성 기저판을 갖고 있었으며, 협조직의 비수와의 경계부위인 가장자리는 두터운 세망섬유가 불연속성으로 차지하고 있었다.

광학현미경 수준에서 협조직의 관찰은 통상의 HE염색에서도 가능하나, 본 연구에서 적용한 섬유성 기질염색 표본을 관찰한 결과, 협조직 자체나 주변의 비수내 세포 층의 변화 내지 변성변화를 수반할 경우, 그 경계 및 윤곽을 분명히 할 수 있는 특수염색법이 적절할 것으로 사료된다. 특히 Gomori's periodic acid-methenamine silver 염색법은 기질을 짙게 염색하므로 가장 추천할 만한 염색법이 될 수 있다. 그러나, 질병 시 협조직 기질의 양적 변화를 수반한다면 특수염색법의 결과가 다를 수도 있을 것이다. Kang(2000)은 LPS주사한 틸라피아에서 정상 협조직에서보다 두꺼워진 세망섬유를 관찰할 수 있었다고 하였다.

이러한 조피볼락 협조직의 구조에 있어서는 이미 보고된 다른 어종의 경우와 유사한 것으로 나타났으나, 모세혈관 내피가 입방형의 세포로 구성되어 있다는 점에서 붕장어 (Atsuta *et al.*, 1999), 무지개송어(Espense *et al.*, 1995a), 잉어(Graf & Schluns, 1979)에서와 유사한 것으로 생각된다. 이러한 입방형 혈관내피는 사람(Blue & Weiss, 1981)과 고양이(Dustin, 1975)에서도 관찰이 되는데, 이러한 내피를 통하여 협조직 벽을 적혈구나 임파구가 쉽게 통과한다고 하였다. 사람의 경우, lymph node에서 입방형의 모세

혈관이 관찰되며 이는 입파구가 통과할 수 있는 특이구조라고 보고된 바 있기에 그 기능과의 연관성을 언급하고 있다(BuysSENS *et al.*, 1984). 그러나, 어류에서 이를 입증할 수 있는 연구결과는 아직 없다.

내피세포 사이에서는 사람(BuysSENS *et al.*, 1984)과 rat(Uehara, 1999)의 경우와 같이 tight junction은 인정되지 않았으나 다른 어종과 같이 교통반 만은 확인할 수 있었다. 내피세포 내 포음소포의 전자 밀도가 낮은 다른 어종과는 달리 중등도의 전자밀도를 나타내었다. 이러한 전자밀도의 차이는 포음소포 내 포함물질에 차이를 암시하지만, 다른 보고에서 이러한 차이를 언급한 경우는 없었다. 다만, 이러한 차이는 혈관 내 물질의 내용을 반영하는 것이기 때문에 표본제작 당시의 일시적인 생리적 조건과도 관계가 있을 수 있다고 생각된다.

조피볼락 협조직의 전자현미경적 소견에서 세망섬유가 세포간질과 협조직 경계에 두 겹께 분포하고 있는 것으로 나타났다. 그러나, 잉어(Graf & Schluns, 1979), 농어(Quesada *et al.*, 1990), 개복치(Fulop & McMillan, 1984) 및 틸라피아(Kang, 2000)에서는 세망섬유로 된 기저판이 존재하지 않는 것으로 기술하고 있다. 한편, Zwillenberg(1964)는 무지개송어에서 연속성의 기저판이 존재하는 것으로 보고하였다. 그러나 Espense등(1995)은 같은 무지개송어에서, Atsuta(1999)는 붕장어에서 불연속성의 기저판의 존재를 보고하였다. 이와 같은 기저판을 포함한 세망섬유의 분포차이가 기능적으로 의미하는 바에 대한 연구는 앞으로 이루어져야 할 내용이지만, 혈구세포 또는 이물의 협조직을 통한 이동특성을 물리적으로 간섭할 가능성을 배제할 수 없다.

협조직 내 세망섬유는 성글게 짜여진 가는 (평균 45nm) 원섬유들로 구성되어 있으며,

발생 중이나 염증과정 그리고 상처의 치유 동안에 많이 형성되나 이 때 대부분의 결합 조직 내 세망섬유는 대부분 아교섬유로 점차 대체되는 것으로 알려져 있다. 협조직 내 세망섬유는 협조직을 구성하는 큰포식세포 기능의 일부일 수 있으며, 이 세포에 의한 기질물질의 변화일 가능성도 배제할 수 없다(Adams & Hamilton, 1992). 잉어의 경우를 제외하면 협조직을 구성하는 세포가 세망세포와 큰포식세포인 것으로 보고하고 있다. 조피블락의 경우에도 세망세포가 같이 확인되었기 때문에 세망섬유의 생성은 큰포식세포의 기능과는 별개일 수 있다.

Schweigger-Seidel(1863)은 이미 injection technique를 사용하여 협조직의 높은 투과성에 대해 보고하였다. 본 연구에서 조피블락의 협조직 모세혈관은 대개의 포유동물의 혈관의 직경 30~40 μ m 보다는 좁지만, 혈관 벽 주변에 큰포식세포가 존재하며, 불연성의 기저판을 가지는 조직학적 특징으로 보아, 간장의 경우에서와 같이 일종의 동양모세혈관으로서 기능을 가져 조직과 혈액 사이의 물질교환을 매우 용이하게 할 것으로 사료된다.

혈관으로 들어간 거대분자는 내피세포의 교통반을 통과하여 협조직 내 공간으로 들어가고, 이것은 포음작용과 함께 모세혈관벽을 통한 수송기전의 하나로 중요하다고 보고되어 있다. 농어(Quesada *et al.*, 1990)에서는 협조직 혈관 내피세포의 다수의 포음세포는 내피세포를 통한 수송과 관련이 있다고 하였다. 잉어(Graf & Schluns., 1979), 틸라피아(Kang, 2000), 무지개송어(Espense *et al.*, 1995)와 농어(Quesada *et al.*, 1990)의 경우에는 내피세포에서 핵막과 인접한 세포질 부에서 미세섬유가 확인되어 모세혈관 내강의 직경조절과 관련하여 언급하고 있으나 조피블락에서는 이러한 미세섬유를 확인하지 못하였다. 붕장어(Atsuta *et al.*, 1999)에서는 미세섬유에 대한 언급이 없었다.

본 연구결과에서는 협조직 내피세포를 통과 중인 세포를 직접적으로 관찰하지는 못하였으나, 협조직 큰포식세포 세포질 내 소화 중에 있는 다수의 적혈구 잔체를 관찰할 수 있었기 때문에, 개복치(Fulop & McMillan, 1984)를 제외한 다른 경골어류에서와 같이(Graf & Schluns, 1979; Quesada *et al.*, 1990; Espense *et al.*, 1995; Atsuta *et al.*, 1999; Kang, 2000) 적혈구의 파괴가 협조직에서 일어난다는 것을 간접적으로 시사한다.

이상의 결과로부터 조피볼락의 비장 협조직은 이미 보고된 다른 어종과 기본적으로 유사한 조직학적 구조를 하고 있었다. 그러나 초미세구조에서는 내피세포의 형태, 세망섬유의 분포량, 세포질 내 포음소포의 전자밀도 등에 있어 차이가 관찰되어 기 보고된 어종 중 같은 해산어인 붕장어의 협조직과 매우 유사한 것으로 사료되었다.

V. 요 약

조피볼락(*Sebastes schlegeli*) 비장 내 분포하는 협조직(ellipsoids)의 조직학적 형태를 알기 위하여 광학 및 전자현미경을 통한 관찰을 실시하였다. 협조직은 HE염색 표본에서 비수 전반에 걸쳐 골고루 산재하는 밝은 영역으로 나타났다. 절단방향에 따라 원형, 장방형 또는 분지형으로 관찰되었다. 협조직 모세혈관의 내피는 단층의 입방형세포로 구성되어 있었다. 내피세포의 기저역에는 내피세포보다 밝고 큰 핵을 가진 세포가 둘러싸고 있었으며 비수와의 경계부 협조직은 밝게 염색되었다. HE염색에서 불명확하였던 협조직 내의 섬유성 기질은 Gomori's periodic acid-methenamine silver 염색에서 가장 명확하였다. 전자현미경적으로 협조직은 큰포식세포와 세망세포로 구성된 단층의 세포층에 해당하였다. 중심부의 모세혈관은 입방형 내피로 구성되어 있었으며, 세망섬유에 의한 불연속성 기저판을 가지고 있었다. 협조직 내 큰포식세포와 세망세포는 세포질 돌기가 풍부하였으며, 이들 사이에는 세망섬유가 분포하였다. 큰포식세포는 세망세포에 비하여 진정염색질이 풍부하였으며, 세포질 내에는 소화 중에 있는 적혈구 잔체가 자주 관찰되었다. 협조직 가장자리인 비수와의 경계부에는 두터운 불연속성의 세망섬유가 둘러싸고 있었다. 협조직 사이 비수역에는 적혈구 및 임파구가 주를 이루는 각종 세포가 분포하였다. 이상의 결과로부터 조피볼락의 비장 협조직은 이미 보고된 대부분의 다른 어종과 기본적으로 유사한 조직학적 구조를 하고 있었다. 그러나 초미세구조에서는 내피세포의 형태, 세망섬유의 분포량, 세포질 내 포음세포의 형태에 있어 차이가 있는 것으로 나타났다.

표제어 : 초미세구조 · 협조직 · 비장 · 조피볼락 · *Sebastes schlegeli*

VI. 결과그림 및 그림설명

Figure 1. The ellipsoidal capillaries on the routine HE-stained splenic preparation of rockfish, *Sebastes schlegeli*.

Fig. 1-1. Cap, dense collagenous connective tissue of splenic capsule; T, trabeculae continuous with capsule; circle, a transversely-sectioned ellipsoidal capillaries. $\times 200$.

Fig. 1-2. SA, splenic arteries; SV, splenic vein; circles, ellipsoidal capillaries; PN, peripheral nerve; MMC, melano-macrophage center; Ly, accumulation of infiltrated lymphocytes. $\times 200$.

Fig. 1-3. Ellipsoidal capillaries of various orientations. Circles, transversely sectioned, oval or spherical; Mark of open Y, a trifurcate ellipsoidal capillary. $\times 400$.

Fig. 1-4. Higher magnification of Fig. 1-3. En, endothelial cells of ellipsoidal capillaries; C, sheathed cells with eosinophilic cytoplasm. $\times 1,000$.

Figure 1

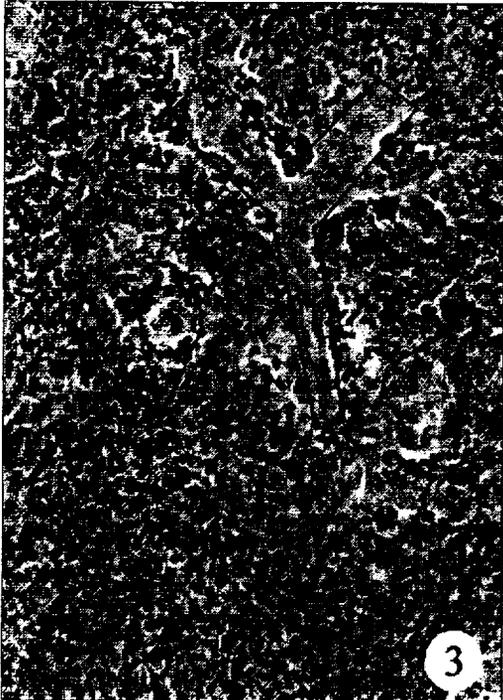
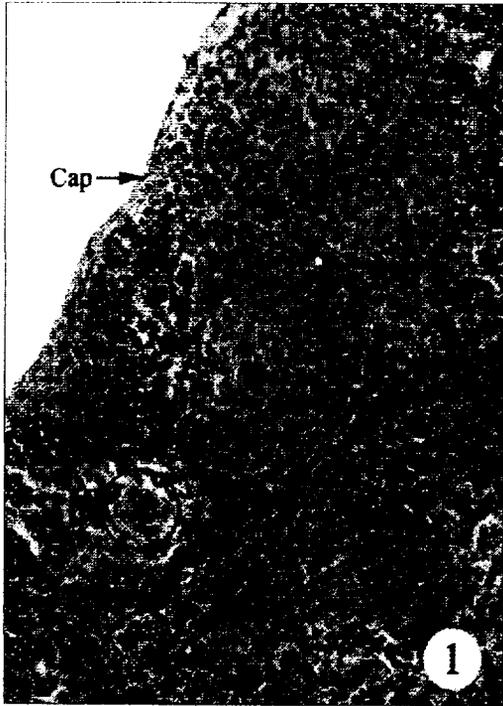


Figure 2. The ellipsoidal capillaries on the preparations specifically stained spleen of rockfish, *Sebastes schlegeli*.

Fig. 2-1. Mallory's aniline blue collagen stain. Circles, splenic ellipsoidal capillaries. ×1,000.

Fig. 2-2. Modified Heidenhain's Azan stain. Circles, splenic ellipsoidal capillaries. ×1,000.

Fig. 2-3. PAS stain. Circles; splenic ellipsoidal capillaries. ×1,000.

Fig. 2-4. Gomori's periodic acid-methenamine silver stain. Circles; splenic ellipsoidal capillaries. ×1,000.

Figure 2

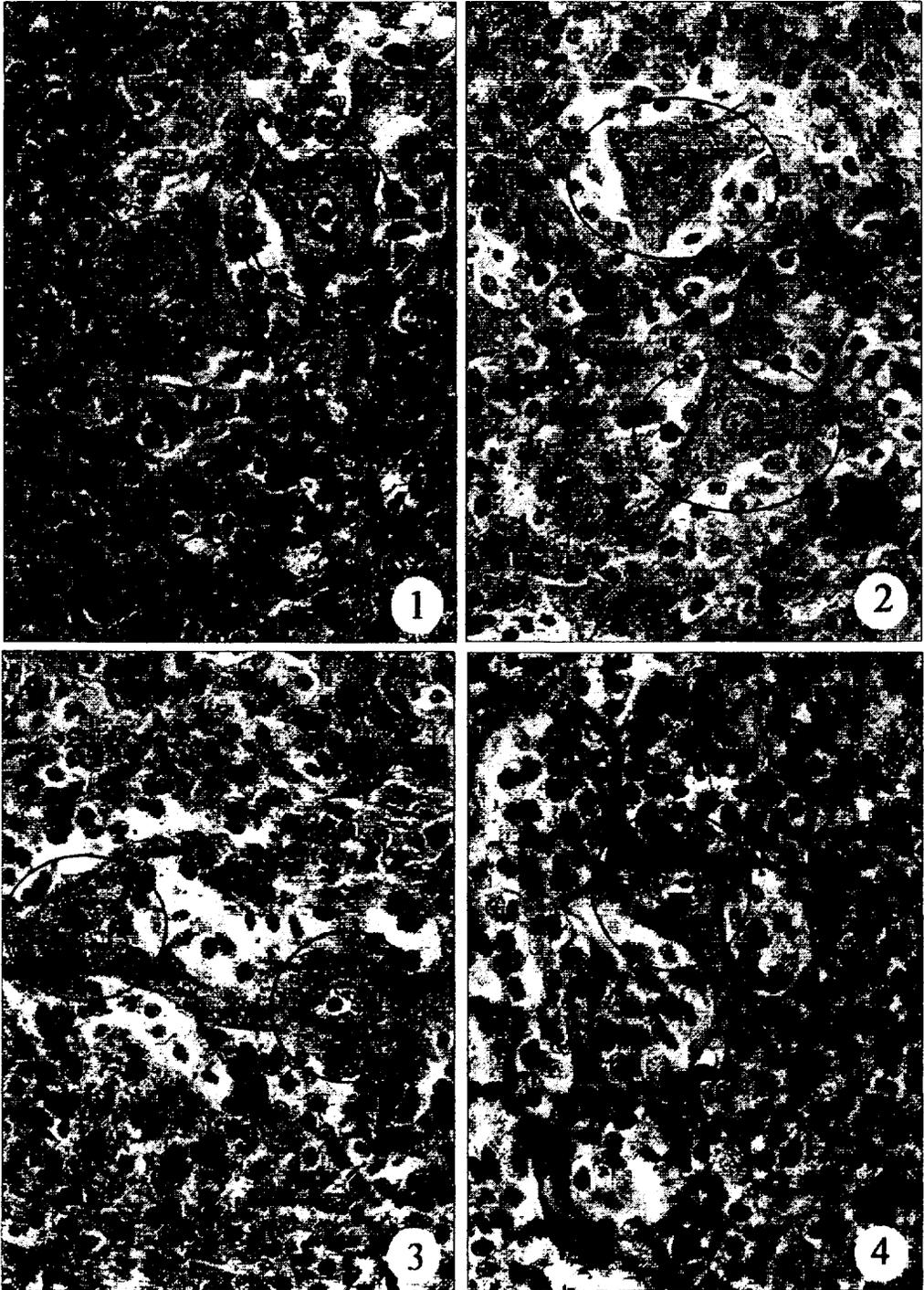


Figure 3. Splenic tissue applied with Prussian Blue Reaction of rockfish, *Sebastes schlegeli*. Circle; ellipsoidal capillaries. $\times 1,000$.

Figure 3

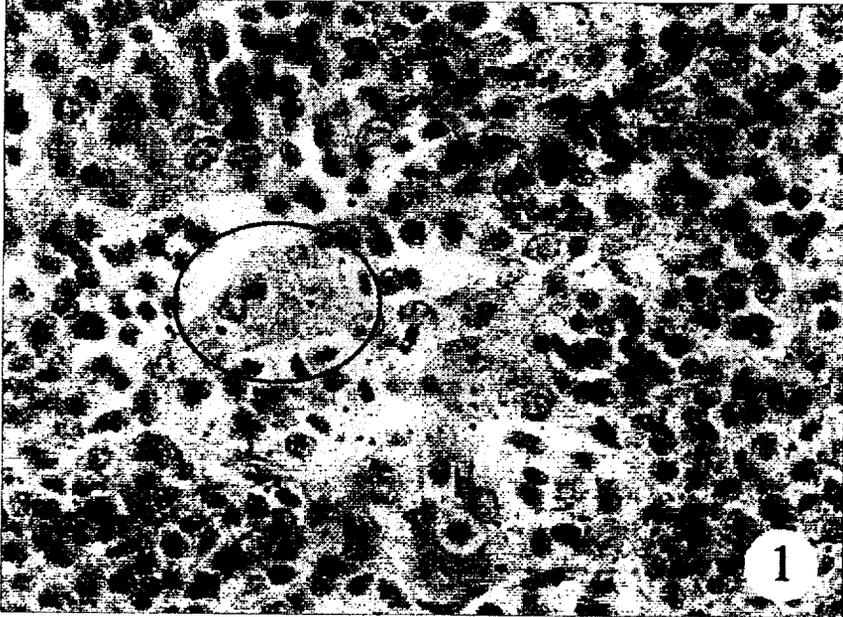


Figure 4. Transmission electron microscopic appearance of the ellipsoidal capillary of rockfish, *Sebastes schlegeli*.

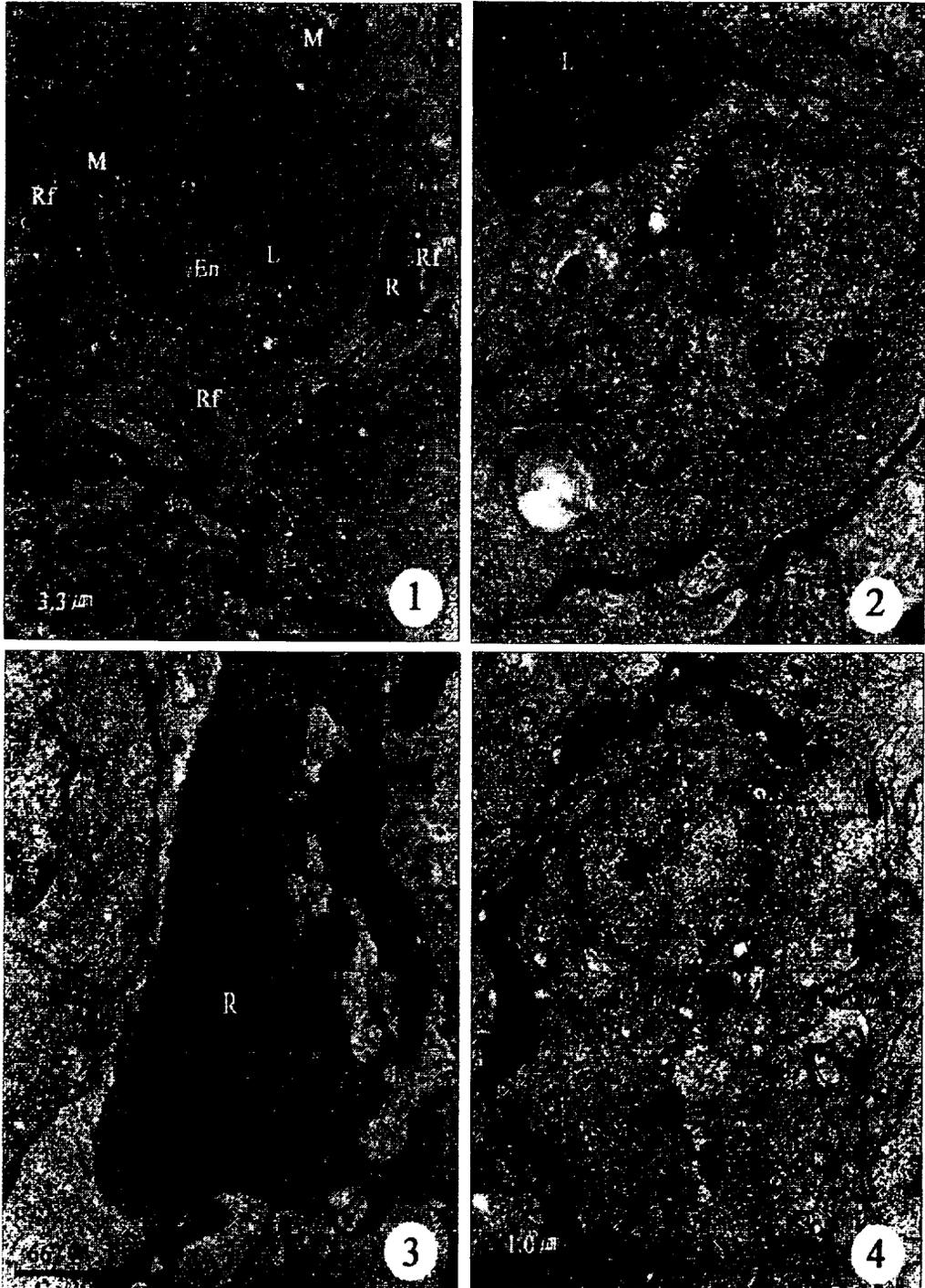
Fig. 4-1. A cross-sectional view of an ellipsoidal capillary. En, Endothelial cell; M, macrophages; R, Reticular cells; Rf, Reticular fiber; L, a lymphocyte passing through. bar= $3.3\mu\text{m} \times 3,000$.

Fig. 4-2. Highly magnified endothelium of an ellipsoidal capillary. L, lymphocyte; N, nucleus; circles, pinocytotic vesicles; arrows, discontinuous basal lamina; arrowheads, cellular junctions. bar= $667\text{nm} \times 15,000$.

Fig. 4-3. An ellipsoidal reticular cell(R). En, Endothelial cell. bar= $667\text{nm} \times 15,000$.

Fig. 4-4. An ellipsoidal macrophage. arrows, secondary lysosomes; N, nucleus. bar= $1\mu\text{m} \times 10,000$

Figure 4



VII. 감사의 글

부족한 저의 논문을 읽어주시는 모든 분들께 감사 드리며, 대학원 생활에 많은 도움과 격려를 주신 분들께 감사하는 마음으로 이 글을 적어 봅니다. 먼저 본 논문이 완성되기까지 인생과 학문에 대한 자세를 지도해 주신 지도교수 허민도 교수님께 머리 숙여 깊은 감사의 말씀을 드립니다. 바쁘신 중에도 논문을 심사해 주시고 부족한 부분을 보완 및 지도해 주신 김기홍 교수님, 정현도 교수님께 감사 드립니다. 늘 관심 가져주신 박수일 교수님, 정준기 교수님, 강주찬 교수님께도 감사의 마음을 전하고자 합니다. 제가 앞으로 어떤 인생을 걸을지 모르지만 이 2년의 세월은 저에게 항상 힘을 줄 것입니다.

논문을 쓰는 동안, 가장 힘들었던 부분인 전자현미경에 대해 가르침과 흥미를 일깨워 주시고, 끊임없이 격려해주신 백병원 조극래 선생님, 김영숙 선생님, 공동실험실습관 강순배 선생님 그리고 이남실 선배님께 감사 드립니다. 여러 번의 실험에도 불구하고 늘 흔쾌히 실험어를 구해 주셨던 배찬민 선배님과 박정희 선배님께 감사 드립니다.

바쁘신 중에서도 변함 없는 배려와 관심으로 지켜봐 주신 수산진흥원 이해영 연구사님, 조규태 연구사님과 최동립 연구사님께 감사의 마음을 전합니다.

실험기간 동안 항상 곁에 있어주고, 모든 일을 함께 했던 실험실 식구들, 멀리 있지만 연구실의 학형으로서 모범을 보여주신 무근선배, 정희언니, 찬민선배, 재상선배, 남실언니, 병열선배, 윌라언니, 수정언니, 재연언니께 감사 드리고, 무한한 발전이 있으시길 기원합니다. 그리고 언제나 힘든 일도 마다 않고 실험실을 지켜주는 형길선배, 갑민선배, 효주에게 감사 드리며, 휴일에도 늦은 시간까지 막바지 실험을 함께 해준 재영, 미정, 나영에게 감사 드립니다. 까다로웠던 조피볼락 순치 때문에 고생만 한 명한선배, 성진선배, 용수 그리고 수권환경실험실의 승엽에게도 감사하며, 실험실의 귀여운 혜정,

지연, 성자 모두 정말 감사 드립니다.

바쁜 시간 속에서도 후배 실험에 많은 조언을 해주신 덕찬선배, 정훈선배, 민호선배, 정수선배, 윤정언니, 재범선배, 경진선배와 늘 힘이 되어주었던 우리 96동기들과 93학번 선배들에게도 이 감사의 마음을 전합니다.

항상 옆자리를 지키며 힘이 되어준 민정언니, 민진언니, 수진언니, 경숙, 경이, 선영, 2은미, 선경, 민규 그리고 여러 친구들에게도 이 지면을 빌어 감사 드립니다.

끝으로 하느님과 정신적으로나 물질적으로 항상 저에게 힘이 되어주신 저의 부모님께 감사 드리며, 동생 은정, 민정 그리고 철환에게 작지만 이 결실을 나누고 싶습니다.

Ⅶ. 참고 문헌

- Adams, D. O. and Hamilton, T. A. (1992) : Macrophages as destructive cells in host defense. In *Inflammation : basic principles and clinical correlates*. 2nd eds. Gallin, J. I., I. M. Goldstein and R. Synderman pp.637-662. Raven Press, Ltd., New York.
- Atsuta, S., Watanabe, T., Nakamura, H., Kono, M. and Furukawa, K. (1999) : Well developed splenic ellipsoids in Japanese Conger *Conger myriaster*. *Fisheries Scie.* 65(1):79-83.
- Blue, J. and Weiss, L. (1981) : Periarterial macrophage sheaths (ellipsoids) in cat spleen- an electron microscope study. *The American Journal of Anatomy.* 161:115-134.
- Buysens, N., Paulus, G. and Bourgeois, N. (1984) : Ellipsoids in the human spleen. *Virchows Arch [Pathol Anat].* 403:27-40.
- Dalmo, R. A., Ingebrigtsen, K. and Bogwald, J. (1997) : Non-specific defence mechanisms in fish, with particular reference to the reticuloendothelial system (RES). *J. Fish Dis.* 20:241-273.
- Dustin, P. (1975) : Ultrastructure and function of the ellipsoids of the spleen. Their relationship with fat metabolism and red blood cells. *Haematologica.* 60:136-155.
- Espenes, A., Press, C. McL., Dannevig, B. H. and Landsverk, T. (1995) : Investigation of the structural and functional features of splenic ellipsoids in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Cell Tissue Res.* 279:469-474.
- Ferguson, H. W. (1989) : *Systemic Pathology of Fish.* pp.90-94. Iowa State University Press/ Ames, USA.
- Fulop, G. M. I. and McMillan, D. B. (1984) : Phagocytosis in the spleen of the sunfish *Lepomis* spp. *J. Morphol.* 179:175-195.
- Graf, R. and Schluns, J. (1979) : Ultrastructural and histochemical investigation of

- the terminal capillaries in the spleen of the carp (*Cyprinus carpio* L.). Cell Tissue Res. 196:289-306.
- Hatae, T. (1978) : Electron microscope studies on the ellipsoid of the cat spleen with special reference to the filaments in the endothelial cell. Arch. histol. jap. 41:177-186.
- Kang, J. Y. (2000) : Light and electron microscopy on the ellipsoid of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. 부경대학교 이학석사 청구논문. pp.1-33.
- Lamers, C. H. J. and Parmentier, H. K. (1985) : The fate of intraperitoneally injected carbon particles in cyprinid fish. Cell Tiss. Res. 242:499-503.
- Olah, I., Kupper, A. and Ducz, P. (1994) : Schweigger-seidel sheath or ellipsoid in the spleen of guinea hen. Acta Biologica Hungarica. 45:375-386.
- Press, C. McL. and Evensen, O. (1999) : The morphology of the immune system in teleost fishes. Fish & Shellfish Immunology. 9:309-318.
- Quesada, J., Villena, M. I. and Agulleiro, B. (1990) : Structure of the spleen of the sea bass (*Dicentrarchus labrax*) : A light and electron microscope study. J. Morphol. 206:273-281.
- Schweigger-Seidel, F. (1863) : Untersuchungen über die Milz. Virchows Arch. path. Anat. 27:460-504.
- Suzuki, T., Furusato, M., Takasaki, S., Shimizu, S. and Hataba, Y. (1977) : Steroscopic scanning electron microscopy of the red pulp of dog spleen with special reference to the terminal structures of the cordal capillaries. Cell Tissue Res. 182:441-453.
- Uehara, K. and Miyoshi, M. (1999) : Tight junction of sinus endothelial cells of the rat spleen. Tissue & Cell. 31(6):555-560.
- Van Muiswinkel, W. B., Lamers, C. H. J. and Rombout, J. H. W. M. (1991) : Structural and functional aspects of the spleen in bony fish. Res. Immunol. 142:362-366.

Zapata, A. G. and Cooper, E. G. (1990) : The spleen. The immune system: Comparative histology. John Wiley. Chichester. 150-218.

Zwillenberg, H. H. L. (1964) : Bau und Funktion der Forellenmilz. Bern-Stuttgart:Hans Huber.