

나일틸라피아의 임파조혈조직내 大食細胞 分布變化에 관한 病理組織學的 研究

이남실 · 김지영 · 정현도 · 허민도

부산수산대학교 어병학과

경골어류의 질병진행과정에 따른 임파조혈조직내 대식세포의 분포변화 특성을 밝히고자 *Edwardsiella tarda*균과 그 분비독소인 Extracellular products(ECP)를 각각 진골어류의 일종인 틸라피아에 복강 주사한 후, 임상증상을 발현하지 않은 개체에 대하여 비장 및 두신의 병리조직학적 변화를 경시적으로 조사하였다. *E. tarda* 생균을 주사 1일후, 비장에서는 주로 유초동맥을 중심으로, 두신에서는 조혈 조직전반에 걸쳐 대식세포 집단이 출현하였다. 또한 이 집단들은 시간이 경과함에 따라 MMC와 유사한 밀집구조를 이루었고, 1주째에는 이들 응집체가 더욱 치밀해지면서 주위의 실질은 어느 정도 회복경향을 보였다. 대식세포 집단은 2주째가 되면서 대부분 사라졌고, 거의 정상적 조직배열상을 보였다. ECP 주사에 의한 비장과 두신의 경시적 조직학적 변화는 생균주사의 경우와 매우 유사하였으나 생균주사의 경우에 비해 대식세포의 응집이 더욱 빠르게 일어났을 뿐 아니라, 주사 후 1시간째의 비장 및 두신조직에서도 유초동맥의 증식비후(비장) 또는 대식세포 집단의 출현(두신)이 인정되었다. 따라서 *E. tarda* 생균 또는 그 ECP를 틸라피아에 주사했을 경우, 증상발현 이전에 비장 및 두신내 대식세포의 분포상태가 현저히 변화하는것을 관찰하였으며, 임파조혈조직내의 이와 같은 대식세포 행동특성은 에드워드스증(Edwardsiellosis) 또는 기타 감염증의 조기진단을 위한 중요한 병리조직학적 정보로 활용될 수 있을 것으로 사료되었다.

Key Words : Lymphomyeloid tissues, Macrophages, Ellipsoids, Edwardsiellosis, Early diagnosis

어류의 질병에 관한 병리학적 또는 병리조직학적 연구는 비교적 많다. 그러나 그 대부분은 실험적인 예가 아니라 자연발생 병증예에 거의 한정된 연구 보고일 뿐 아니라 병변에 대한 기술내용도 매우 빈약한 실정이다. 게다가 병리조직학적 검사대상이 일반적으로 빈사 또는 폐사개체로 질병의 초기병변에 대한 정보를 거의 찾을 수 없다.

본 연구실예 수행해 온 각종 자연발생질병예에 대한 병리조직학적 검사결과에 의하면 임파조혈조직의 변화는 질병마다 매우 다양하기 때문에 이와

같은 조직소견에 병리학적 해석을 가하기 어려운 경우가 매우 많았다. 일반적인 어류의 비장은 조직학적으로 포유류와 상당히 다르다. 어류의 비장은 정상적으로 백색수와 적색수의 명확한 구분없이 적혈구, 임파구, 대식세포, 세망세포 등의 세포성분이 균질하게 섞여 있으며 절단방향에 따라 길쭉하거나 둥근형태의 단층벽구조의 유초동맥(Ellipsoid)이 비장조직전체에 고루 분포하고, 소수 또는 다수의 Melanomacrophage center(MMC)들이 맥관계 주위로 분포한다. 한편 정상두신은 대부분 성숙 및

미성숙혈구, 세망세포, 대식세포 등으로 이루어진 실질영역과 이들 사이에 맥관계 주변의 기질영역이 균질하게 배열되어 있으며, 곳곳에 혈관계와 밀접하여 소수의 MMC를 형성하고 있다.

그러나 임파조혈조직의 구조는 각종 질병상태에서 심하게 변형된 경우를 자주 볼 수 있다. 이와 같은 조직배열구조상 변화는 주로 조혈세포 및 대식세포의 분포특성 변화에 기인하는 것으로 생각되지만 이에 대한 체계적인 연구는 거의 없는 실정이다.

특히 대식세포는 어류의 면역계 형성에 매우 중요한 세포성분으로 포유류의 경우와 같이 각종 질병에 따른 유발병소내에서 활발한 탐식능을 갖는 것으로 알려져 있고 만성병소에서 육아종성병변(Granulomatous lesion)을 유도하며 거대세포(Giant cell)나 유사피세포(Epitheloid cell)와 같은 세포로 형태변화를 일으키기도 한다. 장기내에 출현하는 MMC 분포나 형성에 관련한 연구를 제외하고는 임파조혈장기내에서 대식세포의 분포특성에 관하여 자세히 기술되어 있는 경우는 없고 특히 질병의 진행과정에서의 연구에도 전혀 없다.

각종질병 중 어류의 에드워드증(Edwardsiellosis)은 흔히 접하는 임상예이며 병리조직학적으로도 비교적 잘 연구되어 있는 질병중의 하나이다. 그 병리학적 증상은 주로 농양성병변을 위주로 한 각종 병변이 유발되고 특히 대식세포의 출현 및 그 집락형성과 육아종성병변(Granulomatous inflammation)의 출현이 매우 특징적이라 할 수 있다(Kaige *et al.*, 1986; Miyasaki and Kaige, 1985; Gutierrez and Miasaki, 1994). 대식세포는 비장 및 신장에서 각종 크기의 집단으로 혈관주위에서 출현하며, MMC와 유사한 형태를 나타낸다(Ellis *et al.*, 1976; Ferguson, 1976b; Secombes and Manning, 1980). 에드워드증에 관한 병리조직학적 연구는 다수에 이르나 임파조혈장기내 대식세포의 분포특성에 관하여 구체적으로 기술한 보고에는 찾기 어려우며, 질병진행경과에 따른 특성을 규명하고자한 연구에도 없다. 따라서 본 연구는 각종어류의 질병시에 대

식세포를 비특이적 방어계의 일원으로서 그 중요성을 인식하고 질병진행경과에 따른 임파조혈조직내 대식세포의 행동특성을 추적하기 위하여 감염성 질병의 한 예로서 에드워드증을 선택하였으며 생균(*Edwardsiella tarda*)과 그 외독소(Extracellular product)를 틸라피아 복강내에 주사한 다음 비장 및 두신조직내 대식세포의 경시적인 분포양상을 조사하였다.

재료 및 방법

1. 실험어

나일틸라피아(*Oreochromis niloticus*)는 부산수산대학교 부속양어장에서 분양받아(체중 50~60g, 체장 13~15cm) 연구실에서 약육을 실시한 후, 수온 22~25℃의 순환여과식수조에서 2주간 순치하였다. 실험어는 100ℓ들이 정치식유리수조에 수용하고 air pump로 지속적인 산소공급을 해 주었다. 사료는 순치기간에는 공급하였으나 실험기간중에는 공급하지 않았다.

2. 균액의 조제 및 주사

감염세균 및 생균현탁액의 준비

Edwardsiella tarda H-4 세균은 1993년 동해안 양어장에서 에드워드증에 걸린 넙치로부터 분리동정하여 부산수산대학교 어병학과 진단학 실험실에 보존되어 있던 것을 분양받아 사용하였다.

Deep freezer 내에 -80℃로 동결보존되어 있던 균주를 온도 28℃에서 TSB(Tryptic Soy Broth, Difco) 배지에 18시간 전배양하여 활성화시킨 후 다시 같은 온도에서 24시간 재배양하였다. 배양액은 원심분리를 통하여 집균한 후 멸균 PBS(Phosphate Buffered Solution)로 현탁, 단계회석하여 평판계수하였고, 남은 균액은 주사용으로 하였다.

균액의 주사

질병의 진행과정 또는 회복과정에 있는 개체를

얻을 수 있도록 하기위해 예비실험을 통해 복강내 주사할 균액의 농도는 어체당 5.0×10^6 cell로 정하였다. 멸균식염수 0.1ml에 이 농도의 균액이 희석되도록하여 멸균 Tuberculin syringe를 사용하여 복강장기가 손상되지 않도록 충분한 주의를 기울이면서 총 30마리씩 주사하였다. 한편 대조군에는 멸균 PBS를 주사하였다.

3. Extracellular product(ECP)의 제작 및 주사

ECP의 제작

동결보존종의 *E. tarda* H-4 균주를 온도 28°C의 TSB 배지에서 18시간동안 전배양한 후 대량배양할 TSB 배지에 접종하여 같은 온도에서 24시간동안 진탕배양하였다. 이 배양액은 10,000g에 30분간 원심분리하여 상청액(Supernatant)을 Millipore filter (0.45µm)에 통과시켜 무균화한 후 PEG(Polyethylene glycol) #20,000을 사용하여 4°C에서 농축시켰다. 이 농축액내 단백질량은 Wetlaufer(1962)에 의한 방법으로 흡광도 280nm=3.514를 1mg/ml로 하였으며, 측정하여 농축상태로 보관하였다가 주사 직전에 희석하여 사용했다.

ECP의 주사방법

예비실험에서 어체당 30µg의 단백질농도의 ECP 주사한 후 관찰하여 특기할 임상증상을 발현하지 않으면서 생균주사와 유사한 조직반응을 확인하여 본 실험에서도 상기의 방법으로 제작된 농축 ECP를 주사직전에 멸균 PBS로 희석하여 어체당 30µg이 들어가도록 총 40마리에 복강주사하였다. 대조군에 대하여는 멸균 PBS 만을 주사 하였다.

4. 병리조직학적 검사

빈사 및 폐사에는 즉시 부검하였고 생균주사의 경우는 주사 후 주사 후 1, 3, 5, 7, 10 및 14일째, ECP주사의 경우는 주사 후 1, 3, 6 및 12시간째와 1, 3, 5 및 7일째에 생존무증상에 및 대조군의 개체에 대하여 각각 5마리씩 부검하였다. 부검은 각 개체를

후두부에서 척수절단(Spinal severing) 한 후 개복하여 내외부 소견을 관찰기록한 후 전 장기를 부완액(Bouin's solution)에 일차고정하였다. 고정 24~48 시간 후 어체의 비장 과 두신은 일차고정액과 같은 고정액에 재고정한 후 일련의 과정을 거쳐 시료를 처리하였고, Rotary형 Microtome을 사용하여 4~5µm의 박편을 얻어 HERRIS' Hematoxylin-Eosin (H-E) 염색하여 광학현미경으로 검경을 하였다. 필요에 따라 해당조직내 결합조직의 변화를 관찰하기 위해 Azan(Heidenhain's Azan)으로 염색하였다.

결 과

1. *E. tarda* H-4 생균의 주사에 따른 병리조직학적 소견

폐사예에 대하여도 조직고정을 실시하였으나 본 연구결과에는 각 부검시점까지 특기할만한 임상증상을 발현하지 않은 생존개체에 대한 병리조직학적 소견만을 제시하였다. 또한, 부검시에 이들 각 개체의 장기로 부터 *E. tarda* H-4 균의 재분리를 시도하였으나 검출되지 않았다.

비장의 병리조직학적 소견

비장은 주사 1일째에 조직내 유초동맥벽을 구성하는 거의 모든 대식세포가 비후소견을 보였다. 비장의 대식세포의 세포질은 과립상 소견으로 밝게 보였고 이 중 일부의 대식세포는 변성소견을 보였으며 적비수내에도 크고 세포질이 밝은 세포수가 증가하여 전체적으로 밝게 보였다. 그리고 유초동맥벽 대식세포의 세포질은 과립화 소견을 보이는 등 약간의 변성소견을 보인 것 외에는 실질내에 심한 변성이나 괴사소견은 관찰되지 않았다(Fig. 1-1). 주사 3일후의 비장에서는 원형의 대식세포집단이 관찰되었으며 전체적으로 심한 공포화 소견을 보였고 여기에는 변성 적혈구와 핵농축소견을 보이는

괴사세포가 혼재하고 있었다. 또한 이 대식세포 집단의 중심에는 1개 내지 2개의 적혈구가 찬 거의 내피로만 구성된 혈관내강이 자주 인정되었으며 이들은 주로 세동맥과 유초동맥의 내강에 해당하는 것들이다. 이와 같은 대식세포 집단사이 또는 이들과 밀접한 장소에 비교적 건강한 대식세포로 싸인 유초동맥들이 다수 관찰되었다(Fig. 1-2). 주사 후 1주일째에는 건강한 유초동맥의 수적 증가와 함께, 대형화된 원형의 대식세포 집단이 관찰되었으며, 주사 3일째와는 달리 공포화 소견은 심하지 않았을 뿐 아니라 그 집합구조도 더욱 치밀하여 MMC와 유사한 구조를 나타내었다. 이 집단을 구성하는 일부의 대식세포는 한계가 명확하고 원형인 대형의 세포질 공포를 갖고 있었으며 경우에 따라서는 내부에 세로이드양의 색소물질을 함유하고 있었다(Fig. 1-3). 주사 2주째의 비장에서는 이전과 같은 대형의 대식세포 집단은 더 이상 관찰되지 않았고 대신에 황갈색 내지 흑색의 멜라닌을 함유한 비교적 소형의 MMC들이 관찰되었으며 MMC 및 유초동맥 주위에는 현저한 입파구의 침윤소견을 볼 수 있었다(Fig. 1-4).

두신의 병리조직학적 소견

두신은 비장의 경우와 마찬가지로 주사 후 1일째에 조직반응이 인정되었고 창백한 영역으로 두신전반에 걸쳐 출현하였다. 그러나 이 창백한 세포영역은 그 한계가 불명확하였고 대체적으로 원형인 대식세포인 것으로 확인되었다. 동시에 대식세포군을 제외한 부분은 짙은 호염성 및 조혈성 세포들로 구성되어 있었으며, 비장의 경우와는 달리 대식세포의 세포질이 과립상 소견을 보이지 않았다. (Fig. 2-1). 주사 후 3일째의 두신에서는 이들 대식세포 집단내에 각종 크기의 공포화 소견을 볼 수 있었으나 같은 시기의 비장과 같이 심하지 않았고 지방공포와 같이 한계가 명확하였다. 또한 일부의 세포질내 공포는 색소를 함유하고 있었으며 농축 핵을 가진 괴사세포와 혼재하고 있었다(Fig. 2-2). 주사 후 1주일째 두신인 경우, 3일째와 같은 대식세포

집합체는 MMC와 유사한 형태를 나타냈으며 그 크기 및 수에 있어서는 감소경향을 보였다. 대식세포집단의 상대적 크기를 감안할 때 3일째의 경우에 비해 색소의 침착량이 더욱 많았고 대식세포의 핵은 농축소견을 보였다. 이들 대식세포집단 주위로 입파구의 침윤이 있었고 이 집단들을 제외한 두신영역에는 조혈세포로 구성되는 호염성영역이 거의 관찰되지 않았고 대조의 정상조직소견과 매우 유사하였다(Fig. 2-3). 한편 2주일째의 두신조직은 거의 대조두신조직과 유사한 배열상을 나타내었으며 곳곳에 아직 멜라닌 및 세로이드를 함유한 소형의 MMC가 확인되었다(Fig. 2-4).

2. Etarda H-4 ECP 주사에 따른 병리조직학적 소견

ECP 주사 후 체색흑화와 같은 가벼운 소견을 보이는 예는 가끔 있었으나, 특기할 만한 임상증상은 전 실험어에서 관찰되지 않았고, 장기의 부검 육안소견상으로도 경미한 비종이나 간장의 경미한 울혈 정도만을 나타내었다.

비장의 병리조직학적 소견

ECP 주사 후의 비장에서는 생균주사의 경우와 유사하게 경시적인 조직학적 변화가 야기되었다. ECP 주사후 1시간째 비장의 유초동맥벽이 비후 및 공포화 소견을 보였으며 유초동맥을 제외한 적비수영역에서도 대식세포수의 증가를 볼 수 있었다. 그러나 생균주사의 경우와는 달리 유초동맥벽 대식세포는 세포질의 과립화 소견은 인정되지 않았다(Fig. 3-1). 생균주사 후 출현하는 대식세포 집단은 유초동맥과의 관계가 불분명하였던 반면, ECP 주사 후 1일째의 대부분의 대식세포 집단은 유초동맥을 중심으로 하여 형성된 경우가 많았고 다른 시기에 비해 그 한계도 명확하였다. 대식세포집단 내에서 공포소견은 역시 인정되었으나 생균주사 3일째의 비장과 같이 그 수는 많지 않았다 (Fig. 3-2). 주사 후 3일째에도 유사한 변화가 지속되었고

주사 5일 후의 비장표본에서는 대식세포집단은 거의 관찰되지 않았고 유초동맥벽도 대조와 유사한 소견을 나타내었다(Fig. 3-3). 한편 주사 후 10일째의 비장에서는 대조군과 유사한 조직소견을 보였으며 생균주사의 경우와 같이 소형의 MMC만이 소수 관찰되었다(Fig. 3-4).

두신의 병리조직학적 소견

두신은 비장과 마찬가지로 주사 후 1시간째부터 조직내에 두드러진 대식세포의 변화가 인정되었고, 그 경시적 추이는 생균주사시의 경우와 유사하였다. 또한 두신전역에는 주로 대식세포로 구성된 밝은 영역이 나타났으나 생균주사시와 달리 명확한 원형의 윤곽을 갖는 집단을 형성하지 않았다(Fig. 4-1). 주사 1일후의 두신에서는 주위 조직성분과 경계가 비교적 분명한 대소의 밝고 둥근 대식세포 집단이 형성되어 있었고 이들 사이에는 짙은 호염성의 세포들(조혈세포 및 임파구)이 집단을 이루었으며, 비장의 경우와 같이 한계가 명확한 대식세포 집단을 형성하고 있었다(Fig. 4-2). 주사 5일후의 두신에서 대식세포 집단들은 수적감소를 보였고 그 집합구조가 치밀하여 주변조직과의 경계가 명확하였으며 통상의 MMC 구조와 유사하였다. 내부에는 많은 공포소견이 인정되었고 그 형태는 주사 1주일째의 비장이나 3일째의 두신내 대식세포 집단의 것과 유사하여 둥글고 한계가 분명하였으며 어떤 공포 내에는 색소를 함유하고 있는 경우가 있었다(Fig. 4-3). 주사 후 1주일째의 두신에서는 대조군의 조직과 유사한 소견이었으며, 색소를 함유한 소형의 MMC가 소수 관찰되었고 주위에 임파구의 침윤상이 두드러졌다(Fig. 4-4).

고찰

임파조혈장기는 어체의 생리 또는 병리학적 조건에 따라 영향을 가장 쉽게 받을 수 있는 장기중의 하나로, 심한 전신성 감염증에서와 같이 병변의 형성으로 실질세포 뿐만 아니라 세망성 지지구조

까지 파괴가 일어날 수도 있으나 질병의 심도에 따라서 단순히 조혈세포의 증생이나 대식세포의 분포변화에 그쳐 고유세망구조에 있어서는 큰 변화를 초래하지 않는 경우도 있을 수 있다.

탄말액주사에 의한 임파조혈조직내의 탄말 분포와 형태에 관해서는 MMC의 분포 및 형성을 통하여 이미 알려진 내용들이 많이 있다. 비활성입자 또는 항원성 물질이 어체내로 도입되었을 경우, 이들은 비장의 유초동맥이나 신장의 조혈조직내 분포하고 있는 대식세포에 의해 우선 포식되며(Ellis, 1980; Secombes and Manning, 1980), 시간이 경과함에 따라서는 비실질내 MMC내로 이동하거나, 경우에 따라서 새로운 장소에 MMC를 형성한다(Ferguson, 1976 b; Lamers and Paramentis, 1985; Lamers, 1986).

E. tarda 생균 주사하여 폐사한 어체의 경우, 망상구조나 실질의 변성변화소견이 일반적이며 대식세포의 분포변화는 인정되지 않았다. 이에 반해 *E. tarda* 생균 주사군의 생존어체와 ECP 주사군 모두 인정할만한 임상소견의 발현이 없었으나 비장 및 두신의 조직변화는 임파조혈실질의 변성변화 보다 주로 대식세포의 형태 및 그 분포상의 변화였다. 생균주사군은 주사후 3일째에 내부에 심한 공포화 소견을 가지며 주변조직과의 경계가 명확한 대식세포집단이 형성되었고, 반면 ECP의 경우에는 주사 후 1일 또는 2일내 일어났다. 폐사된 경우가 어체의 방어한계를 벗어난 질병진행의 결과로 본다면, 외부임상소견의 발현이 없이 생존했음에도 불구하고 비장과 두신조직에서 나타나는 본 실험에서의 소견은 감염이후 질병진행에서 어체내 방어를 통한 회복과정을 나타내고 있다고 볼 수 있다.

일반적으로 *E. tarda*의 병원성은 세균세포의 최외층을 둘러싸는 점액이 숙주세포에 대한 부착을 도우고 숙주로부터 자신을 보호하게 되며 Hemolysin이나 Dermatoxin 등의 외분비효소(Exotoxin)를 생산함으로써 어체내로 침입한다고 알려져 있다(Ullah and Arai, 1983a, b). 또한 Stanley *et al.*, (1994)

는 동일 균종인 *Edwarddiella ictaluri*의 경우, 세균에서 분리된 일종의 단백질이 용혈성 또는 연골용해성(Chondrolysis)을 가지고 있어 이들이 숙주 조직에 독작용을 발휘한다고 보고하였다. 본 연구에서는 생균주사 후 1시간째 조직소견은 관찰하지 않았기 때문에 조직소견 변화의 인식시기를 서로 비교하기는 곤란하지만 생균주사의 경우에 비해 명확한 대식세포집단의 형성시기에 있어 분명한 차이를 보였다. 생균주사의 경우는 세균독소가 영향을 주기 위해서는 증식기를 필요로 하나, ECP 주사의 경우에는 이 시기가 생략된 것에 기인한 결과일 수 있다. 게다가 각종 세균의 ECP에 대한 조직학적 반응이 생균주사시보다 빠르게 나타난다는 보고는 많이 이루어져 있다(Fouz *et al.*, 1995; Lamas *et al.*, 1994; Stanley *et al.*, 1994). 그러나 생균주사균의 경우, 주사 1일째의 조직학적 변화가 현저했던 것으로 미루어, ECP 주사시 보다 빠르지 않더라도, 최소한 이 보다 훨씬 이전에 대식세포의 상당한 분포변화가 있었음을 예상할 수 있다.

임파조혈조직에서의 비활성 입자물질의 처리과정(Lamers and Parmentier, 1985; Ellis *et al.*, 1976)이 면역상태의 활성조건에서는 매우 빠르고 명확하였다(Park and Huh, 1995). 그러나, 본 연구결과에서 대식세포의 분포양상은 주사후 1시간(ECP 투여군) 또는 1일째(생균주사군)에서 분명하게 달라져 있었다. 이 결과는 특이적면역계의 본격적인 활성이 있기 이전의 상황으로 *E. tarda*균이나 그 외독소의 적용으로 초기에 임파조혈조직의 조직학적 배열양상에 큰 변화를 야기할 수 있으며, 특히 대식세포분포의 변화특성은 병리조직학적 측면에서 매우 의의있는 소견으로 사료되었다. 어류에서의 방어체계는 포유류에 비해 비특이적 반응계의 역할이 특이적 면역계보다 더욱 강조되어야 하는 것(Carr, 1976; Weir, 1977)으로 보고 있기 때문에 이와 같은 대식세포의 분포변화는 충분히 예상될 수 있다. 포유류의 경우, 면역계의 활성시 임파절의 임파여포가 커지고 종자중심수의 증가 및 그 크기의

증가를 보인다고 알려져 있으나 이것은 특이적 면역계와의 관련성을 지적하는 소견이므로 어류의 경우와 직접적인 비교는 곤란한 것으로 생각된다.

어류 질병은 증상의 발현시점에서 임상가에 의해 대부분 인식되며, 특히 세균성 질병은 임상증상이 발현한 시점에서는 통상의 약물요법으로 제어하기 무척 어렵게 된다. 세균에 의해 감염은 이루어졌으나 아직 현증으로 이행되지 않은 단계는 어체의 생리적 기능 특히 방어계 활성은 최대의 활성상태에 있거나 최소한 그 활성이 크게 손상받지 않은 상태에 있다고 볼 수 있다. 일반적으로 세균감염증 치료의 경우, 약물에 의한 세균증식 억제작용 내지 살균작용과 함께 숙주자체의 방어기능활성이 어느 정도 뒤따라야 그 치료효과를 기대할 수 있다(홍, 1993). 통상 세균성질병에 대한 숙주의 조직반응은 세균의 종류 및 그 독력의 차이에 따라 방어기전의 양상도 서로 다르고 조직손상 또는 병증의 심도는 해당세균이 생산한 물질에 대한 숙주반응폭에 좌우된다(Roitt *et al.*, 1989). 따라서 본 연구의 *E. tarda* 감염에 의한 임파조혈장기의 조직소견과 기타 생물학적으로 인한 감염시의 동 장기의 조직소견은 다르게 나타날 수도 있다. 그러므로 현증의 발현이전에 각 질병특이적인 조직학적 변화를 임파조혈장기에서 인식할 수 있다면 보다 효과적인 치료대책을 강구할 수 있을 것이다.

이상의 결과에서 틸라피아에 대한 *E. tarda* 감염 또는 그 외독소 주사시 현증의 발현이전 단계에서 임파조혈장기내 대식세포의 분포상태가 현저히 변화함을 알 수 있었다. 이와 같은 대식세포 분포변화특성은 *E. tarda* 감염증의 조기진단을 위한 중요한 병리조직학적 정보로서 활용될 수 있을 것으로 사료되며, 기타 각종 감염증에 있어 임파조혈조직의 초기반응 특성을 밝히는 연구가 지속되어야 할 것이다.

참 고 문 헌

- Carr, I. : The RES and the mononuclear phagocyte system. In : The Reticuloendothelial System in Health and Disease(ed. by S.M.Reichard, M.R. Escobar and H. Fridman), pp.3-9, Plenum Press, New York, 1976.
- Ellis, A. E. : Antigen-trapping in the spleen and kidney of the plaice *Pleuronectes platessa* L. J. Fish Dis., 3 : 413-426, 1980.
- Ellis, A. E., Munroe, A. L. S. and Roberts, R. J. : Defence mechanisms in fish 1.A study of the phagocytic system and the fate of intraperitoneally injected particulate material in the plaice(*Pleuronectes platessa* L.). J. Fish Biol., 8 : 67-78, 1976.
- Ferguson, H. W. : The relationship between ellipsoids and melano-macrophage centres in the spleen of turbot(*Scophthalmus maximus*). J. Comp. Pathol., 86 : 377-380, 1976b.
- Fouz, B., Novoa, B., Toranzo, A. E. and Figueras, A. : Histopathological lesion caused by *Vibrio damsela* in cultured turbot, *Scophthalmus maximus*(L.) : inoculations with live cells and extracellular products. J. Fish Dis., 18 : 357-364, 1985.
- Gutierrez, M. A. and Miyazaki, T. : Responses of Japanese eels to oral challenge with *Edwardsiella tarda* after vaccination with FormalinKilled Cells or lipopolysaccharide of the bacterium. J. Aqua. Animal Health, 6 : 110-117, 1994.
- Kaige, N., Miyazaki, T. and Kubota, S. S. : A histopathological study of Edwardsiellosis in Tilapia-Experimental Infection. Fish Pathol., 21 : 95-99, 1986.
- Lamas, J., Santos, Y., Bruno, D. and Toranzo, A. E. : A Comparison of Pathologica changes caused by *Vibrio anguillarum* and its Extracellula products in Rainbow trout. Fish Pathol., 29 : 79-89, 1994.
- Lamers, C. H. J. and Parmentier, H. K. : The fate of intraperitoneally injected carbon particles in cyprinid fish. Cell Tissue Res., 242 : 499-503, 1985.
- Lamers, C. H. J. : Histopathology of a primary immune response against *Aeromonas hydrophila* in carp(*Cyprinus carpio* L.). J. Exp. Zool., 238 : 71-80, 1986.
- Miyazaki, T. and Kaige, N. : Comparative histopathology of Edwardsiellosis in Fishes. Fish Pathol., 20 : 219-227, 1985.
- Park, J. H. and Huh, M. D. : Histopathological studies on melano-macrophage centres (MMC's) in spleen and head kidney of immuno-modified tilapia, *Oreochromis niloticus*. J. Fish Pathol., 7(2) : 83-182, 1994.
- Roitt, I. M., Brostoff J. and Male, D. K. : Immunology, Published by the C.V.Mosby company, St.Louis 2nd ed. 16 : 7-16.13, 1988.
- Secombes, C. J. and Manning, M. J. : Comparative studies on the immune system of fishes and amphibians : antigen localization in the *Cyprinus carpio* L. J. Fish Dis., 3 : 399-412, 1980.
- Stanley, L. A., Hudson, J. S., Schwedler, T. E. and Hayasaka, S. S. : Extracellular products associated with virulent and avirulent strains of *Edwardsiella ictaluri* from Channel Catfish. J. Aqua. Animal Health, 6 : 36-43, 1994.
- Ullah, M. A and Arai, T. : Pathological activities of the naturally occurring strains of *Edwardsiella tarda*. Fish Pathol., 18 : 65-70, 1983a.

Ullah, M. A and Arai, T. : Exotic substances produced by *Edwardsiella tarda*. Fish Patol., 18 : 71-75, 1983 b.
Weir, D. M. : Immunology. An outline for students

of medicine and biology, 4th edn. Churchill Livingstone, New York, 1977.

홍사석 : 이우주의 약리학 강의, 의학문화사, 제3판, 545-582, 1983.

Legends of figures

Figure 1. Histological structure of spleen after live *E. tarda* injection.

- 1) 1day after *E. tarda* injection : Note prominent ellipsoids(e) with enlarged sheathing cells which have granulated pale cytoplasm. Pale-staining large cells(arrows) are also increased in red pulp, which makes the whole tissue become bright. H-E($\times 200$).
- 2) 3days after *E. tarda* injection : Round and markedly vacuolated macrophage aggregations (arrows) with internally located vessel lumens are observed normally appearing ellipsoids(e) are also seen between the aggregations. H-E($\times 200$).
- 3) 1week after *E. tarda* injection : Note the round, compact and large macrophage aggregation with the mild degree of vacuolation(*). H-E($\times 200$).
- 4) 2weeks after *E. tarda* injection : Only small-sized MMCs(arrow) containing pigments(yellow brown to black) are seen with lymphocytic infiltration(ly). The cellular composition in red pulp appeared to be nearly restored to normal. H-E($\times 200$).

Figure 2. Histological structure of head kidney after live *E. tarda* injection.

- 1) 1day after *E. tarda* injection : Brightly-stained, rounded areas mainly composed of macrophages(*) are seen throughout the parenchyma. Also note the deeply basophilic hemopoietic region(circle). H-E($\times 200$).
- 2) 3days after *E. tarda* injection : A markedly enlarged and dense macrophage aggregations(*) contains rounded cytoplasmic vacuoles and pyknotic nuclei. Pigments are seen within some of the vacuoles. H-E($\times 200$).
- 3) 1week after *E. tarda* injection : Macrophage aggregations(*) show more rounded outlines with peripheral lymphocytic infiltration(ly). Note mildly pyknotic macrophages and relatively large amount of pigments. The parenchymal structures appear to be normal. H-E($\times 200$).
- 4) 2weeks after *E. tarda* injection : Normally appearing parenchymal arrangement with lymphocytic infiltration. Small-sized MMCs containing melanin pigments(arrow) are scattered throughout the tissue with lymphocytic sheath(ly). H-E($\times 200$).

Figure 3. Histological structure of spleen after ECP injection.

- 1) 1hour after ECP injection : Ellipsoids appears to be active, accomanying mild hypertrophy. Bright areas in red pulp are also recognized due to the increase in number of macrophages. H-E($\times 200$).
- 2) 1day after ECP injection : Ellipsoids(e) are markedly enlarged and some of their walls are vacuolated(arrow) with the simultaneous increase in number of macrophages in red pulp. H-E($\times 200$).
- 3) 5days after ECP injection : Ellipsoidal fibrous components(e) are completely restored but no macrophage aggregations are abserved. Azan($\times 200$).
- 4) 10days after ECP injection : The overall structure of the spleen are completely restored to normal. H-E($\times 200$). Ellipsoid(e)

Figure 4. Histological structure of head kidney after ECP injection.

- 1) 1hour. after ECP injection : A number of bright areas are recognized throughout the tissue but not organized to have any circularly circumscribed patterns. H-E($\times 200$).
- 2) 1day after ECP injection : Note circumscribed macrophage aggregations (*). A large number of basophilic hemopoietic cells are also seen between the macrophage aggregations(circle). H-E($\times 200$).
- 3) 5days after ECP injection : A relatively small number of vacuolated macrophage aggregations(*) are observed. Parenchyma are nearly restored to normal histological structure. H-E($\times 200$).
- 4) 1week after ECP injection : A few number of aggregations containing melanin pigments are noted(arrow), markedly infiltrated by lymphocytes(ly). H-E($\times 200$).

FIGURE. 1

FIGURE. 2

FIGURE. 3

FIGURE. 4

Histopathological studies on the macrophage behavior in lymphomyeloid tissues of tilapia, *Oreochromis niloticus*

Nam-Sil Lee, Jee-Young Kim, Hyun-Do Jeong, Min-Do Huh

*Department of Fish Pathology, College of Fisheries Science, National
Fisheries University of Pusan 608-737, Korea*

To elucidate the distributional pattern of macrophages within lymphomyeloid tissues according to the disease process, tilapias, teleostean fish, were intraperitoneally injected with live *Edwardsiella tarda* and its extracellular product(ECP) respectively. And then histopathological examination for the spleen and head kidney were carried out for the individuals which had not any clinical signs. In the group injected with live *E. tarda*, macrophages were appeared in a number of groups throughout the head kidney and just around ellipsoids of spleen at the first day after the injection. With time elapsed, groups of macrophages were densely organized into MMC-like structures with showing some degree of recovery in histological arrangement. At the 2nd week, overall structures of the lymphomyeloid tissues became normal, accompanying the disappearance of most of macrophage groups. Also in case of ECP injection, quite similar findings were observed in both organs but dense aggregation of macrophage groups was more rapidly occurred. Moreover, macrophage collections and hypertrophied ellipsoids were recognized at 1hour after the injection of ECP in head kidney and spleen, respectively. These results suggested that characteristic behaviors of macrophages in lymphomyeloid tissues would be used as important morphological criteria for early diagnosis of edwardsiellosis or possibly of other infectious diseases.

Key Words : Lymphomyeloid tissues, Macrophages, Ellipsoids, Edwardsiellosis, Early diagnosis