

닭 태자의 근육위와 유문부에 대한 조직학적 및 면역조직화학적 연구

이재현 · 구세광 · 이형식*

경북대학교 수의과대학
경산대학교 자연과학대학 생물학과*
(1998년 7월 8일 접수)

Histological and immunohistochemical studies on the gizzard and pylorus regions of the chicken embryos

Jae-hyun Lee, Sae-kwang Ku, Hyeung-sik Lee*

*College of Veterinary Medicine, Kyungpook National University
Department Biology, College of Natural Science, Kyungsan University**

(Received July 8, 1998)

Abstract : Histological changes, distributions and relative frequencies of bovine Sp-1/ chromogranin (bCG)-, serotonin-, gastrin-, cholecystokinin-8(CCK-8)-, somatostatin-, S-100 protein-, polypeptide YY(PYY)- and glucagon-immunoreactive cells were investigated in the gizzard and pylorus of the chicken embryos from 10 days of incubation to hatching. Histologically, the pseudostratified columnar epithelium were observed from 10 days of incubation to 15 days of incubation, thereafter these epithelium were differentiated to simple columnar epithelium, gastric gland and/or mucosal gland.

In the gizzard, bCG-immunoreactive cells were observed from 19 days of incubation and S-100 protein-immunoreactive cells were detected from 15 days of incubation to 18 days of incubation. No serotonin-, gastrin-, CCK-8-, somatostatin-, PYY- and glucagon-immunoreactive cells were found in this region.

In the pylorus, bCG-, gastrin- and somatostatin-immunoreactive cells were observed from 16 days of incubation respectively, thereafter these cells were increased with ages. CCK-8-immunoreactive cells were detected on hatching and S-100 protein-immunoreactive cells were detected from 16 days of incubation to 18 days of incubation. No serotonin-, PYY- and glucagon-immunoreactive cells were observed in this region.

Key words : chicken, embryos, immunoreactive cell, gizzard, pylorus.

서 론

근육위는 조류에 존재하는 특이기관으로 기계적 작용에 의하여 음식물을 유미(chyme) 상태로 변화시킨다^{1,2}. 근육위의 구조는 종과 식이습성에 따라 다양하며³, 특히 곡물을 주식으로 하는 조류에서 발달되어 있다⁴. 유문부는 소장의 기시부인 십이지장 상부와 근육위를 연결하는 부위로 성체에서 이들의 조직학적 구조는 비교적 잘 밝혀져 있으나^{5,6}, 태생기의 일령에 따른 조직학적 변화에 대한 보고는 극히 드물다.

한편 특이항체를 이용한 면역조직화학적 방법에 의하여 오리^{7,8}, 메추리^{9,10}, 비둘기¹¹, 닭^{12,15}, 벌새¹⁶ 및 여러 조류¹⁷의 근육위와 유문부에서 somatostatin, neurotensin, serotonin, gastrin, cholecystokinin, chromogranin, motilin, glucagon, avian pancreatic polypeptide, substance P 및 gastrin-releasing peptide 등 여러 종류의 면역반응세포가 존재한다고 보고되어 있으며, 이들 면역반응세포들은 실험동물의 종에 따라 다양한 분포 및 출현빈도를 나타내고 있다. 그러나 조류 태자의 근육위와 유문부에 있어서 내분비세포의 출현시기와 분포에 대해서는 오리⁷, 메추리^{9,18} 및 닭^{14,19,20}에서 극히 단편적인 보고가 있을 뿐이며, 이들 면역반응세포들의 출현시기도 사용한 실험동물에 따라 많은 차이를 나타내고 있다.

본 연구에서는 부란 10일부터 부화직후까지의 닭 태자에 있어서 일령에 따른 근육위와 유문부의 조직학적

변화와 bovine Sp-1/chromogranin, serotonin, gastrin, cholecystokinin-8, somatostatin, S-100 protein, polypeptide YY 및 glucagon 면역반응세포들의 출현시기, 분포 및 출현빈도를 관찰하였다.

재료 및 방법

닭 수정란(Harvard Co., USA)을 부화기(KE 300, EUN JO incubator Co., Korea)로 습도 70%, 온도 37.8℃의 조건 하에서 부화시켰으며, 부화일수는 20~21일이었다. 닭 태자는 Hamburger와 Hamilton²¹의 방법에 따라 부란 10일(Stage 36), 11일(Stage 37), 12일(Stage 38), 13일(Stage 39), 14일(Stage 40), 15일(Stage 41), 16일(Stage 42), 17일(Stage 43), 18일(Stage 44), 19일(stage 45) 및 부화직후(Stage 46)에서 각각 5마리씩 실험에 사용하였다.

부화계란에서 개체를 채취한 후 근육위와 유문부를 절취하였으며, 부화직후에는 방혈후 근육위와 유문부 부위를 절취하여, Bouin 액에 24시간 이상 고정하였다. 고정된 조직은 에타놀 계열에 탈수한 후 paraffin에 포매하였으며 3~4µm의 연속절편을 제작하였다. 각 조직절편은 hematoxylin-eosin(H-E) 염색을 실시하여 조직학적 구조를 확인하였다.

일령에 따른 면역반응세포를 관찰하기 위하여 peroxidase anti peroxidase(PAP) 법²²에 의한 면역조직화학적 염색을 실시하였다. 면역조직화학적 염색을 위하여 먼저 파라핀을 제거한 조직절편을 100% methanol과 0.1% 과

Table 1. Antisera used in this study

Antisera	Code	Source	Dilution
Bovine SP-1/chromogranin	517210	Incstar, Stillwater	1 : 500~1,000
Serotonin	BO68082C	BioGenex	1 : 20
Gastrin	PUO190796	BioGenex	1 : 20
Cholecystokini-8	8652015	Immunonuclear Corp, Stillwater	1 : 500
Somatostatin	PUO421295	BioGenex	1 : 20
S-100 protein	PUO580695	BioGenex	1 : 25
Polypeptide YY	R 841303-2	Milab, MALMö, Sweden	1 : 1,000
Glucagon	PUO391095	BioGenex	1 : 20

*All antisera were raised in rabbits.

산화수소(H₂O₂)에 각각 30분간 침적하여 조직내의 내인성 peroxidase를 억제시킨 후, phosphate buffered saline (PBS; 0.01M, pH 7.4)으로 30분간 3회 세척하였다. 이어 비특이적인 면역 globulin의 결합을 방지하기 위하여 normal goat serum으로 실온에서 1시간 전처리한 후 Table 1에서와 같이 1차 항혈청을 희석하여 4℃ 냉장고 내에서 24시간 이상 반응시키고, PBS로 30분간 3회 세척하였다. 이후 2차 항혈청인 anti-rabbit IgG goat serum으로 실온에서 1시간 반응시킨 후 PBS로 30분간 3회 세척하였다. 이어 peroxidase anti peroxidase complex(Sigma, USA)로 실온에서 1시간 반응시킨 후 PBS로 30분간 3회 세척하였다. 그후 DAB 용액(3,3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride containing 0.01% H₂O₂ in Tris-HCl buffer(0.05M, pH 7.6)으로 발색시킨 후 Mayer's hematoxylin으로 가볍게 핵염색을 실시하여 광학현미경하에서 관찰하였다.

결 과

닭 태자의 근육위와 유문부 상피는 부란 10일부터 부란 15일까지 거짓층원주상피(pseudostratified columnar epithelium) 형태를 나타내었으며, 근육위는 부란 16일부터 위샘(gastric gland)의 형성이 관찰되었다. 또한 부란

17일부터는 위샘이 가로로 길게 신장되기 시작하여 이후 성체 근육위와 같은 점막이 관찰되었다. 유문부에서는 부란 15일부터 점막 주름(gastric fold)이 형성되기 시작하였으며, 부란 16일에서부터는 점막 기저부에서 샘 조직의 형성이 관찰되었고, 부란 17일부터는 성체에서와 유사한 점막층이 관찰되었다. 또한 근육위에서는 부란 16일부터, 유문부에서는 부화직후에서부터 관강표면(luminal surface)에 두꺼운 각화층(keratin layer, keratinoid)이 관찰되었다. 한편 부란 10일부터 점막층(tunica mucosa), 점막아래조직(tunica submucosa), 근육층(tunica muscularis) 및 장막층(tunica serosa)이 근육위와 유문부에서 뚜렷히 구별되어 관찰되었다(Fig 1a-f).

Bovine Sp-1/chromogranin(bCG) 면역반응세포들은 근육위와 유문부에서 각각 부란 19일과 16일부터 극소수로 관찰되기 시작하여 이후 연령에 따라 증가되었다(Table 2, 3). 이들 면역반응세포들은 근육위에서는 주로 원형, 타원형의 형태로 점막 상부에서 관찰되었으며, 유문부에서는 부란 16일부터 18일까지는 주로 점막 기저부에서 타원형으로 관찰되었으나 그 이후 연령에서는 원형 또는 방추형의 세포가 점막 기저부와 상부에서 관찰되었다(Fig 2a, b).

Gastrin 면역반응세포들은 실험 전기간동안 근육위에

Table 2. The distributions and relative frequencies of the endocrine cells in the gizzard of the chicken embryos with incubation periods

	bCG*	Ser	Gas	CCK	Som	S-100	PYY	Glu
10 days of incubation	- **	-	-	-	-	-	-	-
11 days of incubation	-	-	-	-	-	-	-	-
12 days of incubation	-	-	-	-	-	-	-	-
13 days of incubation	-	-	-	-	-	-	-	-
14 days of incubation	-	-	-	-	-	-	-	-
15 days of incubation	-	-	-	-	-	±	-	-
16 days of incubation	-	-	-	-	-	+	-	-
17 days of incubation	-	-	-	-	-	+	-	-
18 days of incubation	-	-	-	-	-	±	-	-
19 days of incubation	±	-	-	-	-	+	-	-
Hatching	±	-	-	-	-	+	-	-

*bCG : bovine Sp-1/chromogranin, Ser : serotonin, Gas : Gastrin, CCK : Cholecystokinin-8, Som : somatostatin, S-100 : S-100 protein, PYY : polypeptide YY, Glu : glucagon.

** - : not detected, ± : rare, + : a few.

서는 관찰되지 않은 반면 유문부에서는 부란 16일부터 소수 관찰되기 시작하여, 이후 일령에 따라 증가되었다 (Table 2, 3). 유문부에서 이들 면역반응세포들은 점막 전체에 산재되어 출현하였으며 주로 타원형, 원형 및 방추형의 형태로 관찰되었다(Fig 3a, b).

Cholecystokinin-8(CCK-8) 면역반응세포들은 부화직후의 유문부에서 극소수로 출현하였으며(Table 2, 3), 주로 방추형의 형태로 점막 상부에서 관찰되었다(Fig 4).

S-100 protein(S-100) 면역반응세포들은 근육위와 유문부에서 각각 부란 15일과 16일부터 18일까지 관찰되었으나 부란 19일부터는 관찰되지 않았다(Table 2, 3). 이들 세포들은 주로 점막 중간부에서 원형 또는 타원형의 형태로 소수 관찰되었다(Fig 5a, b).

Somatostatin 면역반응세포들은 근육위에서는 관찰되지 않았으며, 유문부에서는 부란 16일부터 소수의 면역반응세포들이 점막 기저부에서 관찰되기 시작하여, 이후 일령에 따라 증가되었다(Table 2, 3). 이들 면역반응세포들은 부란 16일에서 17일까지는 주로 점막 기저부에서 방추형을 나타내었으나 이후의 일령에서는 원형 또는 방추형의 형태로 점막 상부에서 소수, 점막 기저부에서 다수 관찰되었다(Fig 6a, b).

한편 본 실험에서 serotonin, polypeptide YY(PYY) 및

glucagon 면역반응세포들은 근육위와 유문부에서 관찰되지 않았다(Table 2, 3).

고 찰

조류의 근육위와 유문부는 샘위에 연속되는 부위로 십이지장과 연결되어 있으며 다른 소화관과 같이 점막층, 점막아래조직, 근육층 및 장막층으로 구성되어 있으나 관강면(luminal surface)은 두꺼운 각화층(keratin layer, keratinoid)으로 덮혀 있다^{1,5,6}. 본 실험에서 닭 태자의 근육위와 유문부는 부란 17일부터 성체와 유사한 점막층이 관찰되었으며, 근육위는 부란 16일부터, 유문부는 부화직후부터 두꺼운 각화층의 형성이 관찰되었다. 이 같은 결과로 보아 닭 태자의 근육위와 유문부는 태생 후기에 완전히 분화되는 것으로 생각되며, 이와 유사한 보고를 찾아볼 수 없는 바 정확한 분화시기는 알 수 없어 다른 조류와 비교하기가 곤란하다.

닭 태자의 소화관내에 있어서 chromogranin(CG) 면역반응세포의 분포에 대하여 Salvi *et al*^{14,23}은 CGA와 CGB가 거의 대부분의 serotonin 면역반응세포와 공존한다고 하였으며, Castaldo와 Lucini⁸는 오리에서 CGA가 위장관 전체에 걸쳐 다수 분포한다고 하였다. 본 실험에서

Table 3. The distributions and relative frequencies of the endocrine cells in the pylorus of the chicken embryos with incubation periods

	bCG*	Ser	Gas	CCK	Som	S-100	PYY	Glu
10 days of incubation	-**	-	-	-	-	-	-	-
11 days of incubation	-	-	-	-	-	-	-	-
12 days of incubation	-	-	-	-	-	-	-	-
13 days of incubation	-	-	-	-	-	-	-	-
14 days of incubation	-	-	-	-	-	-	-	-
15 days of incubation	-	-	-	-	-	-	-	-
16 days of incubation	±	-	+	-	+	±	-	-
17 days of incubation	±	-	++	-	++	±	-	-
18 days of incubation	±	-	+++	-	++	±	-	-
19 days of incubation	+	-	+++	-	+++	-	-	-
Hatching	+	-	+++	±	+++	-	-	-

*bCG : bovine Sp-1/chromogranin, Ser : serotonin, Gas : Gastrin, CCK : Cholecystokinin-8, Som : somatostatin, S-100 : S-100 protein, PYY : polypeptide YY, Glu : glucagon.

** - : not detected, ± : rare, + : a few, ++ : moderate, +++ : numerous.

도 이와 유사하게 근육위와 유문부에서 각각 부란 19일과 16일에서부터 관찰되기 시작하여 일령에 따라 증가하였으나 이들 면역반응세포들의 빈도는 극소수 또는 소수로 관찰되어 이전의 보고^{8,14,23}와는 다소 상이한 결과를 나타내었다. 또한 이들 면역반응세포들의 출현시기에 관하여 *Salvi et al*¹⁴은 닭 태자의 근육위와 유문부에서 CGA 및 CGB 면역반응세포가 각각 부란 12일부터 관찰된다고 보고하여, 본 실험결과보다 다소 빠른 소견을 나타내었다. 이상에서 bovine Sp-1/chromogranin은 닭 태자의 근육위와 유문부에 있어서 내분비세포의 marker로서 적당하지 않을 것으로 생각된다.

조류의 소화관내에서 serotonin 면역반응세포의 분포에 대해 *Castaldo와 Lucini*⁸는 오리에서 전 장관에 걸쳐 분포한다고 하였으며, *Yamaguchi et al*⁹은 메추리의 근육위에서 극소수의 면역반응세포가 존재한다고 하였고, *Richardson et al*¹⁶은 벌새에서 유문부를 제외한 위장관 전체에서 관찰된다고 하였으나 비둘기⁷와 닭^{12,13}의 근육위와 유문부에서 이들 면역반응세포들이 관찰되지 않는다고 하였다. 또한 *Yamada et al*¹⁷은 조류의 근육위에서 serotonin 면역반응세포의 분포를 관찰한 결과 실험동물의 종류에 따른 종간의 차이를 보고한 바 있다. 본 실험의 결과, 닭 태자의 근육위와 유문부에서는 serotonin 면역반응세포들이 전 일령에서 관찰되지 않았으며, 그 이유는 정확히 알 수 없다.

조류의 근육위와 유문부에 있어서 gastrin 면역반응세포의 분포는 오리⁸에서 근육위와 유문부에, 메추리¹⁰, 비둘기¹¹, 닭^{12,13} 및 벌새¹⁶에서는 유문부에만 관찰된다고 한다. 또한 메추리 태자⁹의 경우, 부란 15일부터 극소수의 세포들이 관찰된다. 본 실험에서는 실험 전기간을 통하여 근육위에서는 관찰되지 않은 반면 부란 16일부터 유문부에서 관찰되어 메추리¹⁰, 비둘기¹¹, 닭^{12,13} 및 벌새¹⁶에서의 소견과 대체로 일치되었다. 한편 이 부위에서 이들 면역반응세포들의 출현시기에 대해 *Yamaguchi et al*⁹은 메추리의 근육위에서 부란 15일부터 관찰되기 시작한다고 하여, 본 실험의 결과와는 다소 상이하였다. 그러나 유문부에 있어서 이들 면역반응세포의 출현시기에 관한 보고는 찾아볼 수 없어 비교하기 곤란하다.

Somatostatin 면역반응세포는 오리⁸, 닭¹²의 근육위와 유문부에서 관찰되며, 비둘기¹¹에서는 유문부내에서만 관찰된다고 알려져 있고, *Yamada et al*¹⁷은 조류의 근육위에서 이들 면역반응세포를 관찰한 결과, 비둘기를 제

외한 조류의 근육위에서 관찰되나 분포 및 빈도는 종간의 차이가 인정된다고 하였다. 본 실험의 결과 닭 태자의 근육위에서는 실험 전기간에 걸쳐 관찰되지 않았으나 유문부에서는 부란 16일부터 관찰되어 닭의 유문부와 근육위에서 모두 관찰된다는 이전의 보고¹²와는 다소 상이하였으며 유문부에서만 관찰된다는 비둘기¹¹에서의 보고와는 일치하였다. 한편 *Rawdon과 Andrew*¹³는 이들 면역반응세포들이 부화직후의 닭 근육위에서는 관찰되지 않는다고 하였으나 성체에서는 근육위에서도 관찰된다는 *Yamanaka et al*¹²과 *Yamada et al*¹⁷의 보고로 미루어 보아 근육위에서 이들 면역반응세포의 출현시기가 다른 세포보다 늦은 것으로 생각되나 부화직후에서 성체에 걸친 기간에서 이와 유사한 보고를 찾아볼 수 없고, 본 실험에서도 출생직후까지만 관찰하였기 때문에 정확한 출현시기는 알 수 없다.

S-100 protein은 척추동물의 뇌에서 최초로 확인된 단백질로서²⁴ 근래에 들어서는 비신경성 조직내에서도 발견되어진다고 하며²⁵⁻²⁷, 오리에서는 췌장섬의 내분비세포, 신장의 근위극세포 및 집합세포의 상피에서도 면역반응을 나타낸다고 보고되어져 있다²⁸. 또한 닭에서는 임파기계에 존재하는 dendritic cell에서도 면역반응성을 나타낸다고 한다²⁹. 본 실험의 결과 닭 태자의 근육위와 유문부에서도 일정기간 동안 극소수 또는 소수의 면역반응세포들이 관찰되었으나 아직까지 이들 S-100 protein의 기능이나 의의가 명확히 밝혀지지 않았으므로 이 부위에서 이들 면역반응세포들의 출현 의의는 알 수 없다.

PYY 면역반응세포는 포유류의 경우 소장 원위부와 대장에서 주로 관찰되는 반면 조류에 있어서는 소장 상부에서만 관찰된다^{15,30,31}. 그러나 본 실험에서는 실험 전기간을 통하여 관찰되지 않아 닭 태자의 근육위와 유문부에서는 태생기 동안 출현하지 않는 것으로 생각된다. 한편 조류의 근육위와 유문부에 있어서 glucagon 면역반응세포의 분포에 대하여 *Yamanaka et al*¹²은 닭의 유문부에서 극소수의 entero-glucagon 면역반응세포가 관찰되거나 근육위에서는 관찰되지 않는다고 하였고, *Saito et al*¹¹은 비둘기의 근육위와 유문부에서는 이들 면역반응세포들이 관찰되지 않는다고 하였다. 또한 *Rawdon과 Andrew*¹³는 부화직후의 닭에서 소수의 면역반응세포가 유문부에서 관찰된다고 보고하였으며, *Yamada et al*¹⁷은 메추리, 오리 및 갈매기의 근육위에서는 이들 세포가 소

수 관찰되는 반면 비둘기, 피리새, 닭 및 솔개에서는 관찰되지 않는 등 식이습성에 따른 종간의 차이를 인정할 바 있다. 본 실험에서는 근육위와 유문부에서 이 세포를 관찰할 수 없었다.

결 론

부란중인 닭 태자 근육위와 유문부의 일령에 따른 조직학적 변화와 bovine Sp-1/chromogranin(bCG), serotonin, gastrin, cholecystokinin-8(CCK-8), somatostatin, S-100 protein, polypeptide YY (PYY) 및 glucagon 면역반응세포의 출현시기, 분포 및 출현빈도를 관찰하였던 바, 점막 상피는 부란 10일부터 15일까지 거짓중층원주상피(pseudostratified columnar epithelium) 모양을 나타내었으며, 이후 단층원주상피(simple columnar epithelium), 위샘(gastric gland)

또는 점막샘(mucosal gland)으로 분화되어 부란 17일부터는 성체와 유사한 구조를 나타내었다.

근육위에서는 bCG 면역반응세포가 부란 19일부터 관찰되었으며, S-100 protein 면역반응세포들은 부란 15일부터 부란 18일까지 관찰되었다. serotonin, gastrin, CCK-8, somatostatin, PYY 및 glucagon 면역반응세포는 본 실험에서 관찰되지 않았다.

유문부에서는 bCG, gastrin 및 somatostatin 면역반응세포들이 각각 부란 16일부터 관찰되기 시작하였으며, 이후 연령에 따라 증가되었다. CCK-8 면역반응세포들은 부화직후에서 극소수만 관찰되었고, S-100 protein 면역반응세포들은 부란 16일에서 18일까지 관찰되었다. 한편 serotonin, PYY 및 glucagon 면역반응세포들은 본 실험에서 관찰되지 않았다.

Legends for figures

Fig 1. Histological profiles of the gizzard and pylorus regions of the chicken embryos.

- a. Gizzard regions of 10 days of incubation
 - b. Gizzard regions of 17 days of incubation
 - c. Gizzard regions of hatching
 - d. Pylorus regions of 11 days of incubation
 - e. Pylorus regions of 17 days of incubation
 - f. Pylorus regions of hatching
- a-f : $\times 120$, H-E stain.

Fig 2. bCG-immunoreactive cells in the gizzard and pylorus regions of the chicken embryos.

- a. Gizzard regions of 19 days of incubation
 - b. Pylorus regions of 19 days of incubation
- a, b : $\times 480$, PAP method.

Fig 3. Gastrin-immunoreactive cells in the pylorus regions of the chicken embryos.

- a. 16 days of incubation
 - b. 19 days of incubation
- a, b : $\times 480$, PAP method.

Fig 4. CCK-8-immunoreactive cells in the pylorus regions of the chicken embryos at hatching.

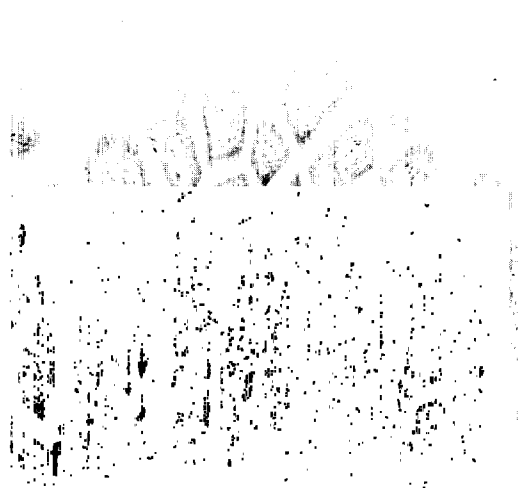
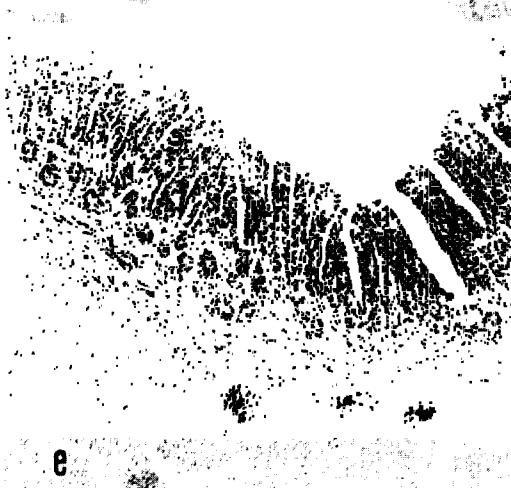
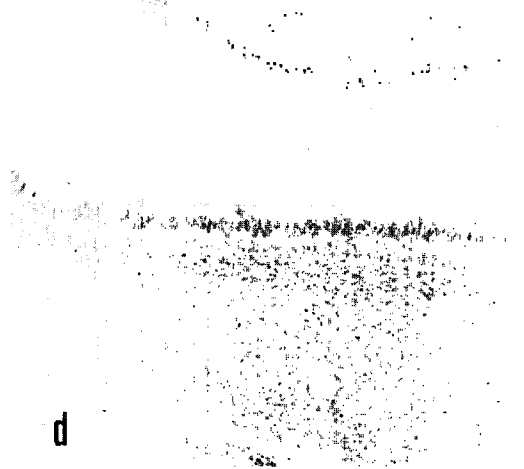
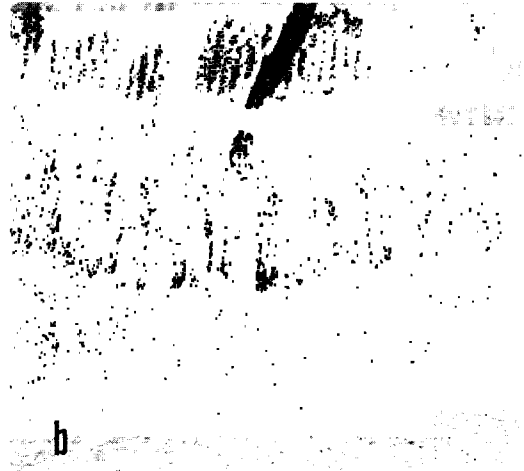
$\times 480$, PAP method.

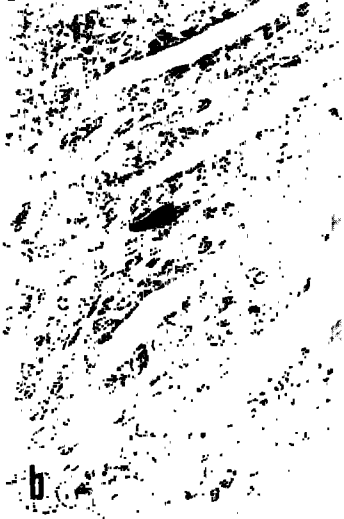
Fig 5. S-100 protein-immunoreactive cells in the gizzard and pylorus regions of the chicken embryos.

- a. Gizzard regions of 17 days of incubation
 - b. Pylorus regions of 18 days of incubation
- a, b : $\times 480$, PAP method.

Fig 6. Somatostatin-immunoreactive cells in the pylorus regions of the chicken embryos.

- a. 16 days of incubation
 - b. Hatching
- a : $\times 480$, b : $\times 240$, PAP method.





참 고 문 헌

1. Nickel R, Schummer A, Seiferle E. Anatomy of the domestic birds. Springer-Verlage, New York, Heidelberg, Berlin, 46-50, 1977.
2. Yamada J, Kitamura N, Yashita T. The relative frequency and topographical distribution of somatostatin-, GRP-, APP-, glucagon-, 5-HT-, and neurotensin-immunoreactive cells in the proventriculus of seven species of birds. *Arch Histol Jap*, 48:305-314, 1985.
3. Pernkopf E, Lehner J. Vorderdrum. In : ed by Bolk L, G pper E, Kallius E, *et al.* Handbuch der vergleichenden anatomie der wirbelitere. Bd 3, Urban & Schwarzenberg, Berlin-Wien, 422-441, 1937.
4. Kent GC. Comparative anatomy of vertebrates. 5th ed, Mosby. St Louis, 325-329, 1983.
5. Hodges RD. The histology of the fowl. Academic Press, London, 47-54, 1974.
6. Bank WJ. Applied veterinary histology. 2nd ed, Williams & Wilkins, Baltimore, 412-415, 1986.
7. Castaldo L, Lucini C. Ontogenesis of some endocrine cells in the duck gastrointestinal tract. *Eur J Histochem*, 38:319-326, 1994.
8. Castaldo L, Lucini C. An immunohistochemical study on the endocrine cells in the gastrointestinal tract of domestic duck. *Eur J Basic Histochem*, 35:131-143, 1991.
9. Yamaguchi S, Yamada J, Kitamura N, *et al.* Histological and immunohistological study on ontogeny of the endocrine cells in the quail gizzard. *Gegenbaurs Morphol Jahrb Leipzig*, 133:71-78, 1987.
10. Yamada J, Yoshino M, Yamashita T, *et al.* Distribution and frequency of gastrin cells in the digestive tract of the japanese quail. *Arch Histol Jap*, 42: 33-39, 1979.
11. Saito T, Yamada J, Kitamura N, *et al.* An immunohistochemical study on the distribution of endocrine cells in the gastrointestinal tract of domestic pigeon(*Columba livia* var *domestica*). *Z Mikrosk Anat Forsch Leipzig*, 103:237-246, 1989.
12. Yamanaka Y, Yamada J, Kitamura N, *et al.* An immunohistochemical study on the distribution of endocrine cells in the chicken gastrointestinal tract. *Z Mikrosk Anat Forsch Leipzig*, 103:237-246, 1989.
13. Rawdon BB, Andrew A. An immunohistochemical survey of endocrine cells in the gastrointestinal tract of chicks at hatching. *Cell Tiss Res*, 220:279-292, 1981.
14. Salvi E, Buffa R, Renda TG. Ontogeny, distribution and amine/peptide colocalization of chromogranin A- and B-immunoreactive cells in the chicken gizzard and antrum. *Anat Embryol Berl*, 192:547-555, 1995.
15. El-Shally M, Wilander E, Grimelius L, *et al.* The distribution of polypeptide YY(PYY)- and pancreatic polypeptide(PP)-immunoreactive cells in the domestic fowl, *Histochemistry*, 75:25-30, 1982.
16. Richardson KC, Yamada J, Woller RD. An immunohistochemical study of the gastrointestinal endocrine cells of the new Holland honeyeater, *Phylidornyris novaehollandiae*, *Aust J Zool*, 36:483-496, 1988.
17. Yamada J, Kitamura N, Yamashita T, *et al.* Immunohistochemical studies on the endocrine cells in avian gizzard. *Biomed Res*, 7:39-45, 1986.
18. Kayama T, Yamada J, Yamashita T, *et al.* Ontogeny of the endocrine cells in the pylorus regions of the japanese quail. *Res Bull Obihiro Univ*, 11:1-11, 1978.
19. Alumets J, H kanson R, Sundler F. Distribution, ontogeny and ultrastructure of pancreatic polypeptide(PP) cells in the pancreas and gut of the chicken. *Cell Tiss Res*, 194:377-386, 1978.
20. Alison AC. The ontogeny and distribution of glucagon- and pancreatic polypeptide-immunoreactive cells in the gastrointestinal tract of the chicken. *Anat Embryol*, 182:605-610, 1990.
21. Hamburger V, Hamilton HL. A series of normal stages in development of duck embryo. *J Morphol*, 88:49-92, 1951.
22. Sternberger LA. Immunocytochemistry. 2nd ed, John Wiley & Sons, New York, 1979.
23. Salvi E, Buffa R, Renda TG. Ontogeny, distribution and amine/peptide content of chromogranin A- and B-immunoreactive endocrine cells in the small and large

- intestine of the chicken. *Anat Embryol Berl* , 194:89-98, 1996.
24. Moore BW. A soluble protein characteristic of the nervous system. *Biomed Biophys Res Comm* , 19:739-744, 1965.
 25. Girod C, Durand N, Raccurt M. A comparative study of immunocytochemical localization of S-100 protein in the monkey, *Macaca iris* and albino rat test. *Biom-ed Res* , 7:333-337, 1986.
 26. Girod C, Durand N, Raccurt M. Immunostaining of a cell type in the islets of Langerhans of the monkey *Macaca iris* by antibodies against S-100 protein. *Cell Tiss Res* , 247:11-16, 1987.
 27. Molin SO, Rosengren L, Baudier J, *et al* . S-100 alpha-like immunoreactivity in tubules of rat kidney, *J Histochem Cytochem* , 33:367-374, 1985.
 28. Sugimura M, Miura M, Suzuki Y, *et al* . S-100 immunoreactive cells in non-nervous duck tissues. *Avian Pathol* , 18:503-510, 1989.
 29. Gallego M, del-Cacho E, Arnal C, *et al* . Immunocytochemical detection of dendritic cell by S-100 protein in the chicken, *Eur J Histochem* , 36:205-213, 1992.
 30. Lundberg JM, Tatemoto K, Terenius L, *et al* . Localization of the polypeptide YY(PYY) in gastrointestinal endocrine cells and effects on intestinal blood flow and motility, *Proc Natl Acad Sci USA* , 79: 4471-4475, 1982.
 31. Lee HS, Ku SK, Lee JH. An immunohistochemical study on the endocrine cells in the intestine of the Korean tree squirrel, *Sciurus vulgaris corea*. *Korean J of Lab Anim Sci* , 13:173-178, 1997.
-