한국흑염소 보습코기관의 형태학적 관찰

박창남^{1,†} · 양원준^{1,†} · 배연지^{1,†} · 이용덕¹ · 강완철² · 안미정³ · 신태균^{1,*}

¹제주대학교 수의과대학 수의학과, ²제주특별자치도 동물위생시험소, ³제주대학교 의학전문대학원
(접수: 2012년 12월 28일, 수정: 2013년 2월 7일, 게재승인: 2013년 2월 15일)

A morphological study of vomeronasal organ of Korean black goat (*Capra aegagrus hircus*)

Changnam Park^{1,†}, Wonjun Yang^{1,†}, Yeonji Bae^{1,†}, Yongduk Lee¹, Wanchoul Kang², Meejung Ahn³, Taekyun Shin^{1,*}

¹Department of Veterinary Anatomy, College of Veterinary Medicine, Jeju National University, Jeju 690-756, Korea

²Jeju Special Self-Governing Province, Veterinary Research Institute, Jeju 695-963, Korea

³Department of Anatomy, School of Medicine, Jeju National University, Jeju 690-756, Korea

(Received: December 28, 2012; Revised: February 7, 2013; Accepted: February 15, 2013)

Abstract : The vomeronasal organ (VNO) plays an important role in reproduction and social activities in ruminants including goats. A morphological study on the structure of VNO and its epithelial cells was carried out in Korean black goats. Grossly, the VNO of Korean goats opens into mouth through incisive ducts. Microscopically, the epithelium of VNO consisted of medial sensory epithelium and lateral non-sensory epithelium. Several blood vessels and nerve bundles were observed in the lamina propria encased by vomeronasal cartilage. Immunohistochemical staining showed that protein gene product (PGP) 9.5 was immunostained in the receptor cells of the sensory epithelium and in some cells of the non-sensory epithelium. Galectin-3 was mainly observed in the supporting cells of sensory and non-sensory epithelium. Lectins including wheat germ agglutinin, *Ulex europaeus* agglutinin, *Bandeiraea simplicifolia* lectin Isolectin B4, *Dolichos biflorus* agglutinin and soybean agglutinin used in this study were bound in VNO sensory, non-sensory epithelia as well as in the lamina propria with varying intensity. Collectively, this is a first descriptive morphological study of VNO of Korean black goat with special reference to lectin histochemistry.

Keywords : galectin-3, goat, immunohistochemistry, PGP9.5, vomeronasal organ

서 론

보습코기관(Vomeronasal organ; VNO)은 비강의 바닥 부분에 위치하고, 비중격을 사이에 두고 한 쪽 끝이 막힌 관강 구조로 되어 있으며 동물의 사회적 행동이나 생식행동에 매우 중요한 역할을 하는 특수감각기로 알려져 있다 [5, 7, 8, 12]. 보습코기관의 내강은 보습코 감각상피와 보습코 비감각상피, 두 종류의 상피로 둘러 쌓여 있으며 [27, 31], 보습코 기관 감각상피의 수용세포 축삭은 부후각망울(accessory olfactory bulb)로 직접 연결되어 있어, 이 곳을 통해 들어온 페로몬 정보를 부후각망울로 보내는 역할을 한다 [7, 31]. 페로몬은 동물의 번식과 관련된 행동학적 변화 및 내분비계통의 변화를 유도하는 것으로 알려져 있으며 [14, 32], 특히 암수간의 성적인 행동, 영역 다툼, 암컷의 발정주기 및 성

성숙의 개시에 관여하는 것으로 알려져 있다 [2, 6].

보습코기관은 대부분의 포유 동물에서 존재하는 것으로 알려져 있으며 [24, 32], 반추류의 경우 비강과 연결됨과 동시에 앞니관을 통하여 구강과도 연결된다고 알려져 있다 [22]. 염소의 보습코기관에 관하여 페로몬 수용체 유전자 타입과 보습코 기관에서의 G-단백 분포 양상, 부후각망울의 해부학적 구조와 화학적 특성이 연구되었고 [28, 30], 부후각망울로 뻗어있는 신경섬유의 패턴과 G단백질의 면역조직화학적 발현 양상이 조사된 바 있다 [16]. 지금까지 우제목인 돼지 [19, 25]와 양 [21], 기제목인 말 [29]의 보습코기관에 대한 연구가 광범위하게 진행된 바 있으며 마우스 [31], rat [23] 및 고양이 [24] 등에서도 보습코기관의 일반적 특징이 연구된 바 있다 [27]. 반추류인 한국흑염소에서 보습코기관에 관한 연구로는 상피세포의 광학현미경적 관찰 [15] 및 전자현미경을 활용한 미세구

*Corresponding author

Tel: +82-64-754-3363, Fax: +82-64-756-3354

E-mail: shint@jejunu.ac.kr

[†]The first three authors contributed equally to this work.

조 [9]에 관한 것은 보고된 바 있으나 감각상피의 수용세포와 버팀세포, 비감각상피 및 고유층에 위치한 샘포등에서 당단백의 특이성을 조사한 연구는 거의 수행된 바 없다.

렉틴(lectin)은 다양한 생물학적 과정에서 세포 부착이나 당단백질의 합성, 세포인식 혹은 세포분화에 중요한 인자로 확인되고 있으며 [4], 일반적으로 세포 표면의 당단백과 선택적으로 결합한다고 알려져 있다 [26]. 이러한 당단백과의 결합은 세포간의 상호작용시 중요한 역할을 하며, 다양한 렉틴의 부착여부를 확인함으로써 세포 표면에서 특정 당단백의 발현 여부를 확인 할 수 있다 [10, 13, 25]. 아울러 렉틴은 신경상피에서 당결합 특이성을 구분하는데 활용되면서 뱀 [11], rat [13, 23] 및 영장류인 marmoset [18] 등의 특수감각기인 보습코기관의 신경상피에서 연구된 바 있다. 우제목 보습코기관의 렉틴반응에 관한 연구로는 돼지 보습코기관의 발달과정중 상피세포에서 렉틴의 반응도를 상세히 조사한 바 있으며 [20], 돼지 보습코기관 감각상피의 버팀세포에서 galectin-3가 특징적으로 발현함을 확인하였다 [19].

본 연구에서는 반추동물인 한국흑염소의 보습코기관에 대한 해부학적 특성을 좀 더 자세히 이해하기 위하여 보습코기관의 형태학적 특징과 당단백의 특이성을 조사하고자 하였다.

재료 및 방법

흑염소 보습코기관 채취

제주도에서 사육되는 한국 흑염소(*Capra aegagrus hircus*; 2년생, 암컷)를 5두를 서귀포시청으로부터 기증받아 안락사 후 조직을 채취하였다. 먼저 육안적 특징을 구분하기 위하여 두 개부를 시상단면과 가로단면을 만들어 일반적인 특징을 조사하였다. 그 후, 비강 기저부에 위치한 보습코기관을 분리하였고, 10% 중성포르말린에서 48시간 이상 고정하였다. 동물실험은 제주대학교 실험동물윤리위원회의 일반적인 기준을 따랐다.

탈회 및 조직표본

포르말린으로 고정된 조직은 보습코기관을 둘러싸는 뼈 조직에서 칼슘을 제거하기 위하여 탈회용액(sodium citrate-formic acid method)에 담근 후, 조직이 연화된 다음 통상적인 방법에 따라 파라핀표본을 만들었다 [17]. 파라핀에 포매한 조직은 5 μ m 두께의 절편을 만든 후, Hematoxylin-Eosin(H&E) 염색을 실시하여 조직학적 특징을 조사하였다.

면역조직화학 염색

박절된 조직절편은 파라핀을 제거한 후, 조직을 항체에 반응시키기 전에 내재성 peroxidase를 제거하기 위하여 30% 과산화수소를 3차 증류수에 희석한 용액에 반응시켰다. 또한 비특이적 면역반응을 방지하기 위해 normal blocking serum을 반응시켰다. 1차 항체인 rat anti-galectin-3 antibody (1:500; clone TIB-166TM, M3/38.1.2.8. HL.2; American Type Culture Collection, USA)와 rabbit anti-protein gene product 9.5(PGP9.5) antibody(1:800; Cologne, Germany)를

실온에서 한 시간 동안 반응시킨 후, biotinylated rabbit anti-rat IgG(1:100; Vector Laboratories, USA) 또는 biotinylated goat anti-rabbit IgG(1:100; Vector)를 실온에서 45분간 반응시켰다. 이어서 avidin-biotin peroxidase complex(ABC Elite Kit; Vector)로 45분간 실온에서 반응시켰으며, 각 단계별로 PBS로 분간 3회씩 충분히 세척하였다. 면역 반응이 끝난 조직은 diaminobenzidine substrate kit (Vector)를 활용하여 발색하였다. 양성반응을 나타낸 조직을 hematoxylin으로 대조 염색을 하고, 탈수화 과정 및 투명화 과정을 거친 후 봉입하여 광학현미경으로 관찰하였다.

렉틴 조직화학적 검사

보습코기관 점막상피의 당 결합 특이성을 조사하기 위하여 biotin이 결합된 *Triticum vulgaris*(Wheat germ agglutinin, WGA; Sigma, USA), *Ulex europaeus* agglutinin(UEA-I; Sigma), *Bandeiraea simplicifolia* lectin Isolectin B4(BSI-B4; Sigma), *Dolichos biflorus* agglutinin(DBA; Sigma), *Glycine max*(soybean agglutinin, SBA; Sigma)를 이용하였다. 렉틴반응을 확인하기 위하여 박절된 조직표본은 탈 파라인 과정을 거친 뒤 내재성 peroxidase의 활성을 막기 위해 메탄올에 희석한 0.3% 과산화수소를 30분간 적용하였다. 조직을 PBS로 세척 후 bovine serum albumin을 0.1 M Tris buffer에 2%로 희석하고 30분동안 반응시켰다. 관찰할 렉틴들은 1:100으로 0.1 M Tris buffer에 희석하여 24시간동안 4°C에서 반응시켰다. 이어서 avidin-biotin peroxidase complex(ABC Elite Kit; Vector Laboratories)로 45분간 실온에서 반응시켰으며 각 단계별로 PBS로 5분간 3회씩 충분히 세척하였다. 면역 반응이 끝난 조직은 diaminobenzidine substrate kit(Vector)용액으로 발색시켰다. 그 후 hematoxylin 용액으로 대조 염색하고, 탈수화 과정 및 투명화 과정을 거친 후 봉입하여 광학현미경으로 관찰하였다.

결 과

흑염소 보습코기관의 일반적 특징

한국흑염소 보습코기관의 개구부는 입천장의 앞니관과 연결되어 있었다. 조직학적 소견으로는 보습코기관 내강이 감각상피세포와 비감각상피로 덮혀 있었으며(Fig. 1A), 내강의 외측에는 보습코 샘과 혈관이 분포하고 있었고 특히 등쪽과 배쪽에 많은 수의 샘이 확인되었으며, 분비관이 내강쪽으로 열려 있는 것을 볼 수 있었다(Fig. 1A, boxed area). 보습코 샘은 고유판에 위치하며 도관은 상피 쪽으로 보습코기관 내강에 개구하고 있었다(Fig. 1A).

보습코기관의 단면에서 보습코 비감각상피(vomer nasal non-sensory epithelium, VNSE)는 일반적으로 내강에서 외측에 위치하며 보습코기관을 둘러싸는 연골 바깥에는 비강으로써 거짓중층상피인 호흡상피(respiratory epithelium, RE)로 둘러싸여 있었다(Fig. 1B). 보습코 비감각상피는 거짓중층 섬모원주상피(ciliated pseudostratified columnar epithelium)

Fig. 1. Histological findings of the vomeronasal organ of goat. A: Coronal section through the ventral part of the nasal septum. The vomeronasal cartilage (VNc) is encapsulating the vomeronasal epithelium that lines the lumen (*) and the lamina propria surrounding the vomeronasal epithelium. There are blood vessels (bv) and glands (VNg) under the vomeronasal non-sensory epithelium (VNSE). Vomeronasal nerves (VNn) are mainly spread under the vomeronasal sensory epithelium (VSE). At dorsal and ventral (boxed area) part of lumen, the ducts of glands are opening into junction between VSE and VNSE. B: The higher magnification of nasal respiratory epithelium (RE). C: The higher magnification of VNSE. D: The higher magnification of VSE. H&E stain, Scale bars = 500 μ m (A), 50 μ m (B-D).

로 구성되어 있으며(Fig. 1C), 보습코 비감각상피와 마주보는 내측에는 보습코 감각상피(vomeronasal sensory epithelium, VSE)가 위치하며 보습코 감각상피는 수용세포, 버팀세포 그리고 바닥세포가 관찰되었다(Fig. 1D).

Fig. 2. Immunohistochemical localization of galectin-3 and protein gene product (PGP) 9.5 in vomeronasal organ of Korean black goat. A: The galectin-3 immunoreactivity is positive in the medial vomeronasal sensory epithelium (VSE), lateral vomeronasal non-sensory epithelium (VNSE), ductal epithelium of the vomeronasal gland and the vomeronasal nerve sheath. B: The PGP9.5 immunoreactivity is limited to the VSE and the vomeronasal nerve. The VSE is immunopositive for both galectin-3 in supporting cells and PGP9.5 in receptor cells. Counterstained with hematoxylin. Scale bars = 250 μ m.

흑염소 보습코기관의 면역조직화학 염색

보습코기관의 수용세포와 버팀세포를 확인하기 위해서 galectin-3와 PGP9.5항체를 이용하여 면역화학적 방법을 이용하였다(Fig. 2). Galectin-3는 보습코기관의 비감각상피(Fig. 2A, VNSE; Fig. 3A)에서 강하게 양성인 반면, 감각상피(Fig. 2A, VSE)부위에서는 약하게 나타났다. Galectin-3는 고유층에 위치한 분비도관(Fig. 3C, arrowheads)의 일부 상피세포와 신경집막(Fig. 3D, arrow)에 양성반응을 보였다. 감각상피에서 galectin-3는 버팀세포(Fig. 3B, SC)에서 약하게 면역반응을 보였으나 수용세포(Fig. 3B, RC)에서는 발현되지 않았다.

Table 1. Lectin binding patterns in the vomeronasal organ of the Korean black goat

Structure	WGA	UEA-I	BSI-B4	DBA	SBA
VSE					
Free border	+	±	- ~ ±	- ~ ±	+
Supporting cells	+	±	-	-	-
Receptor cells	+	-	-	-	±
Basal cells	+	+	-	-	+
VNSE					
Free border	+	±	- ~ ±	- ~ ±	+
Pseudostratified epi.	+	+	-	-	+
Lamina propria					
Acini	+	+	+	+	+
Luminal space	+	+	+	+	+
Ductal epithelium	+	+	±	-	+
Blood vessel	+	+	+	-	+

VSE: vomeronasal sensory epithelium, VNSE: vomeronasal non-sensory epithelium, Pseudostratified epi.: pseudostratified columnar epithelium. *Stained sections were arbitrarily scored by three blind observers for the density of positive cells. -: No binding, ±: weakly positive, +: positive.

Fig. 3. Immunohistochemical localization of galectin-3 in vomeronasal organ of Korean black goat. In the vomeronasal respiratory epithelium, galectin-3 is expressed throughout the epithelium (A). The ductal epithelium (C, arrowheads) and vomeronasal nerve sheath (D, arrow) are immunopositive for galectin-3, but not in the acini (C, white arrowhead). Galectin-3 is detected mainly in the apical region of the vomeronasal sensory epithelium (B, arrowheads). Galectin-3 immunoreactivity was seen in supporting cells (SC), but not in the receptor cells (RC). Counterstained with hematoxylin. Scale bars = 50 µm.

Fig. 4. Immunohistochemical localization of protein gene product (PGP)9.5 in vomeronasal organ of Korean black goat. PGP9.5 immunoreactivity is recognized in some of vomeronasal non-sensory epithelium (A, white arrowhead) and intensely immunostained in the receptor cells of the vomeronasal sensory epithelium (B). PGP9.5 is also expressed in the basal region of the vomeronasal sensory epithelium (VSE; B, arrowhead) and the thin processes of the PGP9.5-immunopositive cells reached the apical layer (B, arrow). PGP9.5 is also immunostained in the acini (C) and in the vomeronasal nerve bundle (D, asterisks). Counterstained with hematoxylin. Scale bars = 50 µm.

Fig. 5. Lectin histochemistry of wheat germ agglutinin (WGA: A, F, K), *Ulex europaeus* agglutinin (UEA-I: B, G, L), *Bandeiraea simplicifolia* lectin Isolectin B4 (BSI-B4: C, H, M), *Dolichos biflorus* agglutinin (DBA: D, I, N) and soybean agglutinin (SBA: E, J, O) in the vomeronasal sensory epithelium (VSE: A-E), vomeronasal non-sensory epithelium (VNSE: F-J) and lamina propria (LP: K-O) of the vomeronasal organ of Korean black goats. A-O, counterstained with hematoxylin. Scale bars = 25 µm.

PGP9.5는 비감각상피의 일부 세포에서 강한 양성을 보였다(Fig. 4A, white arrowhead). 아울러 PGP9.5는 감각상피(Figs. 2B and 4)의 수용세포(Fig. 4B, arrow)와 바닥세포(Fig. 4B, arrowhead)에서 양성이 확인되었다. 감각상피에서 양성세포는 둥근 핵과 조롱박 모양의 세포질을 가지고 내강 쪽으로 돌기를 뻗고 있었다. 그리고 고유층에 위치한 샘포(Fig. 4C)와 보습코 신경 다발(Fig. 4D, asterisk)에서 강하게 발색된 것을 확인할 수 있었다.

흑염소 보습코기관의 렉틴 반응 분석

흑염소 보습코기관에서 WGA, UEA-I, BSI-B4, DBA 및 SBA의 반응을 분석한 결과 조사한 다섯가지 렉틴이 모두 양성반응을 보였으나 렉틴의 종류에 따라 점막상피세포별 반응의 강약은 차이가 있었다(Fig. 5) (Table 1).

WGA(Figs. 5A, F, K)는 감각상피(Fig. 5A)에서 수용세포, 버팀세포, 기저세포 및 자유모서리 모두에서 양성반응을 보였으며 비감각상피의 섬모원주상피(Fig. 5F) 및 고유층에 분

포하는 샘포(Fig. 5K)에서도 양성반응을 보였다. UEA-I(Figs. 5B, G, L)은 WGA에 비해 양성반응이 다소 약하게 나타났으나 감각상피에서 바닥세포와 자유모서리 및 버팀세포에서는 일부 양성인 반면 수용세포에서는 음성으로 나타났다(Fig. 5B). 그러나 비감각상피(Fig. 5G) 및 고유층의 샘포와 도관(Fig. 5L)에서는 UEA-I이 양성반응을 나타내었다. BSI-B4(Figs. 5C, H, M)와 DBA(Figs. 5D, I, N)는 감각상피 및 비감각상피의 자유모서리에서 부위에 따라 매우 약한 양성반응을 보였으나 상피세포에서는 음성으로 나타났다. 그러나 고유층에 위치한 샘포에서는 BSI-B4(Fig. 5M)와 DBA(Fig. 5N) 각각 양성반응을 보였다. SBA(Figs. 5E, J, O)의 경우 감각상피(Fig. 5E)에서는 자유모서리, 수용세포 및 바닥세포에서 양성인 반면 버팀세포에서는 양성반응이 거의 관찰되지 않았다. 비감각상피(Fig. 5J)에서는 자유모서리와 일부 섬모원주세포에서 양성이었으며 고유층(Fig. 5O)의 샘포에서는 강한 양성반응을 보였다. WGA, UEA-I, BSI-B4, DBA 및 SBA의 각 렉틴 반응도는 세포형태에 따라 구분하여 요약하였다(Table 1).

고 찰

본 실험은 한국흑염소의 보습코 기관을 해부학적 및 조직학적으로 관찰하였으며, 처음으로 감각상피와 비감각상피를 면역조직화학적으로 구분하였다. 신경세포의 표지 항체인 PGP9.5로 염색한 결과, 한국흑염소의 보습코 기관에서 감각상피의 수용세포는 물론, 비감각상피 사이의 일부 세포에서도 PGP9.5 양성 세포가 관찰되었다. 이와 유사한 결과로, 마우스에서 생후 수일 간, 보습코 비감각상피에서 신경세포 표지항체(VNO₂₄₀)에 양성인 세포가 확인되었으나 성숙하면서 신경세포 표지항원을 가진 세포가 소실되는 것으로 알려져 있다 [3]. 흑염소의 경우, 성숙숙 이후의 보습코 기관 비감각상피에 PGP9.5 양성의 신경세포가 분포하는 것인지 아니면 흑염소에서만 있는 특이세포인지는 명확하지 않으며, 향후 추가확인이 필요할 것으로 생각한다.

흑염소의 보습코기관은 조직학적으로 감각상피의 세포층이 버팀세포, 수용세포, 바닥세포로 명확히 구분된다. 특히 바닥세포의 경우 한 줄로 배열된 점은 바닥세포가 거의 관찰되지 않는 설치류의 보습코기관과 차이가 있었다 [23]. 흑염소의 보습코기관 감각상피에서 한 줄로 분명하게 관찰되는 바닥세포의 특징은 소 [1], 양 [21], 돼지 [19] 등의 우제류에서 관찰된 것과 같은 소견으로써 신경상피의 소실이 있을 경우 바닥세포의 분화를 통해 감각수용세포 또는 버팀세포로 재생가능성이 있는 것으로 생각된다.

한국 흑염소의 보습코기관에서 렉틴 반응도를 분석한 결과 이 실험에서 사용한 다섯 가지 종류(WGA, UEA-I, BSI-B4, DBA, SBA)의 렉틴중 WGA, UEA-I 그리고 SBA는 감각상피 및 비감각상피등의 모든 부위에서 양성반응을 보였으며 이들은 신경상피에 특이하게 반응하는 것으로 나타났다. 다만 수용세포와 지지세포에서의 반응은 렉틴별로 다

양하게 발현되는 것으로 보아 당특이성이 조금씩 차이가 있는 것으로 판단되었다. 한편 BSI-B4와 DBA는 상피세포에서는 음성이지만 자유모서리 표면에서 부위에 따라 BSI-B4와 DBA 양성반응이 관찰되었는데 이는 인접한 상피에서 유래된 것이라기 보다 고유층에 위치한 샘포에서 분비된 것으로 추측된다. 한편 이 실험에서 조사한 모든 렉틴이 샘포에서는 관찰되는 것으로 보아 샘포에서는 다양한 종류의 당단백이 존재하는 것으로 생각된다. 다만 상피의 자유모서리에서 렉틴 반응도가 다른 것은 분비된 양에 따른 차이로 생각된다.

반추동물의 보습코기관에서 렉틴을 조사한 논문은 많지 않으나 양의 보습코기관에서 UEA-I, DBA, BSI-B4와 *Lycopersicum esculentum* agglutinin를 이용하여 분석한 결과 N-acetylglucosamine 계열인 *Lycopersicum esculentum* agglutinin 만 감각상피에서 양성반응을 보인다고 하였다. [21]. 같은 우제류인 돼지의 경우에는 VNO의 감각상피에서 *Lycopersicum esculentum* agglutinin가 양성반응을 보이며 성숙숙이 진행됨과 동시에 UEA-I이 양성반응을 보인다고 한 점으로 고려할 때 [25], 이 실험에서 흑염소의 경우 N-acetylglucosamine group인 WGA, fucose group인 UEA-I이 양성반응을 보인 것은 흑염소의 성숙숙과 관련성이 깊을 것으로 생각되나 향후 성별 연령별 계절별 분석이 필요할 것으로 생각된다.

결론적으로 이 실험결과는 한국흑염소 보습코기관에 관한 형태학적 조사를 통해 감각상피와 비감각상피의 특징을 상세히 설명하였고, 한국흑염소 보습코기관에서 세포별 렉틴반응도를 조사한 첫 연구로써 반추류 가축 보습코기관의 비교 연구에 기초자료가 될 수 있을 것으로 생각된다.

감사의 글

이 논문은 2013학년도 제주대학교 학술진흥연구비 지원사업에 의하여 연구되었음.

참고문헌

1. Adams DR. The bovine vomeronasal organ. Arch Histol Jpn 1986, **49**, 211-225.
2. Chemineau P, Pellicer-Rubio MT, Lassoued N, Khaldi G, Monniaux D. Male-induced short oestrous and ovarian cycles in sheep and goats: a working hypothesis. Reprod Nutr Dev 2006, **46**, 417-429.
3. Clarris HJ, Key B. Expression of glycoproteins in the vomeronasal organ reveals a novel spatiotemporal pattern of sensory neurone maturation. J Neurobiol 2001, **46**, 113-125.
4. Debray H, Decout D, Strecker G, Spik G, Montreuil J. Specificity of twelve lectins towards oligosaccharides and glycopeptides related to N-glycosylproteins. Eur J Biochem 1981, **117**, 41-55.
5. Döving KB, Trotter D. Structure and function of the vomeronasal organ. J Exp Biol 1998, **201** (Pt 21), 2913-2925.
6. Gelez H, Fabre-Nys C. The "male effect" in sheep and goats: a review of the respective roles of the two olfactory systems.

- Horm Behav 2004, **46**, 257-271.
7. **Halpern M, Martínez-Marcos A.** Structure and function of the vomeronasal system: an update. *Prog Neurobiol* 2003, **70**, 245-318.
 8. **Hart BL.** Roles of the olfactory and vomeronasal systems in behavior. *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 1987, **3**, 463-475.
 9. **Ichikawa M, Shin T, Kang MS.** Fine structure of the vomeronasal sensory epithelium of Korean goats (*Capra hircus*). *J Reprod Dev* 1999, **45**, 81-89.
 10. **Jessell TM, Hynes MA, Dodd J.** Carbohydrates and carbohydrate-binding proteins in the nervous system. *Annu Rev Neurosci* 1990, **13**, 227-255.
 11. **Kondoh D, Yamamoto Y, Nakamuta N, Taniguchi K, Taniguchi K.** Lectin histochemical studies on the olfactory epithelium and vomeronasal organ in the Japanese striped snake, *Elaphe quadrivirgata*. *J Morphol* 2010, **271**, 1197-1203.
 12. **Ladewig J, Hart BL.** Flehmen and vomeronasal organ function in male goats. *Physiol Behav* 1980, **24**, 1067-1071.
 13. **Lee W, Ahn M, Park C, Taniguchi K, Moon C, Shin T.** Histochemical study of lectin-binding patterns in the rat vomeronasal organ during postnatal development. *Korean J Vet Res* 2012, **52**, 1-8.
 14. **Leinders-Zufall T, Lane AP, Puche AC, Ma W, Novotny MV, Shipley MT, Zufall F.** Ultrasensitive pheromone detection by mammalian vomeronasal neurons. *Nature* 2000, **405**, 792-796.
 15. **Mo K.** Morphological studies on the vomeronasal organ of Korean native cattle and Korean native goats. *Korean J Vet Res* 1989, **29**, 231-237.
 16. **Mogi K, Sakurai K, Ichimaru T, Ohkura S, Mori Y, Okamura H.** Structure and chemical organization of the accessory olfactory bulb in the goat. *Anat Rec (Hoboken)* 2007, **290**, 301-310.
 17. **Morse A.** Formic acid sodium citrate decalcification and butyl alcohol dehydration of teeth and bones for sectioning in paraffin. *J Dent Res* 1945, **24**, 143-153.
 18. **Nakajima T, Shiratori K, Ogawa K, Tanioka Y, Taniguchi K.** Lectin-binding patterns in the olfactory epithelium and vomeronasal organ of the common marmoset. *J Vet Med Sci* 1998, **60**, 1005-1011.
 19. **Park C, Choi S, Joo HG, Ahn M, Taniguchi K, Shin T.** Galectin-3 immunohistochemistry in the vomeronasal organ of the domestic pig, *Sus scrofa*. *Acta Histochem* 2012, **114**, 713-718.
 20. **Park J, Lee W, Jeong C, Kim H, Taniguchi K, Shin T.** Developmental changes affecting lectin binding in the vomeronasal organ of domestic pigs, *Sus scrofa*. *Acta Histochem* 2012, **114**, 24-30.
 21. **Salazar I, Lombardero M, Alemañ N, Sánchez Quinteiro P.** Development of the vomeronasal receptor epithelium and the accessory olfactory bulb in sheep. *Microsc Res Tech* 2003, **61**, 438-447.
 22. **Salazar I, Sánchez-Quinteiro P, Alemañ N, Prieto D.** Anatomical, immunohistochemical and physiological characteristics of the vomeronasal vessels in cows and their possible role in vomeronasal reception. *J Anat* 2008, **212**, 686-696.
 23. **Salazar I, Sánchez Quinteiro P.** Lectin binding patterns in the vomeronasal organ and accessory olfactory bulb of the rat. *Anat Embryol (Berl)* 1998, **198**, 331-339.
 24. **Salazar I, Sanchez Quinteiro P, Cifuentes JM, Garcia Caballero T.** The vomeronasal organ of the cat. *J Anat* 1996, **188** (Pt 2), 445-454.
 25. **Salazar I, Sánchez Quinteiro P, Lombardero M, Aleman N, Fernández de Trocóniz P.** The prenatal maturity of the accessory olfactory bulb in pigs. *Chem Senses* 2004, **29**, 3-11.
 26. **Sharon N, Lis H.** Lectins as cell recognition molecules. *Science* 1989, **246**, 227-234.
 27. **Takigami S, Mori Y, Ichikawa M.** Projection pattern of vomeronasal neurons to the accessory olfactory bulb in goats. *Chem Senses* 2000, **25**, 387-393.
 28. **Takigami S, Wakabayashi Y, Ohsako S, Ohkura S, Okamura H, Ikai A, Ichikawa M, Osada T.** Fetal development of vomeronasal system in the goat. *Brain Res Dev Brain Res* 2004, **149**, 113-120.
 29. **Taniguchi K, Mikami S.** Fine structure of the epithelia of the vomeronasal organ of horse and cattle. A comparative study. *Cell Tissue Res* 1985, **240**, 41-48.
 30. **Wakabayashi Y, Mori Y, Ichikawa M, Yazaki K, Hagino-Yamagishi K.** A putative pheromone receptor gene is expressed in two distinct olfactory organs in goats. *Chem Senses* 2002, **27**, 207-213.
 31. **Yokosuka M.** Histological properties of the glomerular layer in the mouse accessory olfactory bulb. *Exp Anim* 2012, **61**, 13-24.
 32. **Zufall F, Kelliher KR, Leinders-Zufall T.** Pheromone detection by mammalian vomeronasal neurons. *Microsc Res Tech* 2002, **58**, 251-260.