

# Morphine Hydrochloride로 인한 흰쥐 장간막 비만세포의 형태학적 변화에 대한 전자현미경적 연구

姜 浩 錫  
연세의대 해부학교실

金 昌 煥  
고려대학교 이공대학 생물학과

## Electron Microscopic Studies on the Rat Mast Cells Induced by Morphine Hydrochloride

Ho Suck Kang and Chang Whan Kim\*

Department of Anatomy, Yonsei University College of Medicine

Department of Biology, Korea University\*

### ABSTRACT

The effects of morphine HCl on the mesenteric mast cells were studied the electron microscopy.

The results of the observations are as follows :

1. In the experimental group for intravenous injection of morphine HCl 12 mg/kg, the granules appeared cluster, granular lysis and an electron transparent appearance. Frequently, some granules appeared in the extracellular space.
2. In the experimental group for intravenous injection of morphine HCl 24 mg/kg, it was observed that the formation of a clear halo or a space around each granule. Many altered granules showing a reticular texture (type 2) are observed in the cytoplasm.
3. From the results mentioned above, it is suggested that rat mesenteric mast cell granules were affected by morphine HCl.

### I. 서 론

Ehrlich(1879)가 처음으로 肥滿細胞(Mast Cell)에 관하여 기술한 후 여러학자들에 의해서 그 본태와 기능에 관한 연구가 계속되어 왔다. 특히 이들 비만세포내 과립들은 toluidine blue와 같은 염기성 색소에 특수하게 염색되는 것은 잘 알려진 사실이다.

비만세포 과립의 이염성은 heparin(Holmgren과 Wilander, 1937)으로 구성된 acid mucopolysaccharides의 존재에 의해서 나타나며 그 밖에 이들 과립내에는 histamine(Riley와 West, 1953), hyaluronic acid(Asboe-Hansen, 1952) 및 serotonin(Benditt 등, 1955) 등의 물질을 함유하고 있음이 밝혀져 있다. MacIntosh와 Paton(1949)은 포유동물 조직에서 육안적인 조직 변화를 나타내지 않고 공통적으로 histamine을 유리시키는 각종 화학적 물질을 총칭하여 histamine 유리인자라고 하였으며

Alam등(1939), Riley와 West(1955) 및 Perry(1956)는 실험동물에서 화학적 histamine 유리인자인 curare, d-tubocurarine, Compound 48/80 등을 투여하여 비만세포에서 histamine을 유리시켰다. 이러한 화학물질에 대한 비만세포와의 관계에서 비만세포는 조직내에 물질을 분비하며, 혈액응고에 중요한 역할을 하고 근육의 수축 및 혈관의 투과성을 증가시킨다는 등으로 알려져 있으나 자세한 기능은 아직 잘 알려져 있지 않다.

한편 흑종의 천연 또는 합성 마약도 histamine을 유리한다고 보고되었는데 Lewis(1927), Goodman과 Gillman(1941)은 morphine과 흑종의 천연 또는 합성 마약제가 histamine을 유리하여 간접적으로 저혈압을 일으킨다고 하였다.

이와같이 비만세포내 과립은 여러가지 histamine 유리인자에 의해서 탈과립 현상이 일어나며 morphine HCl과 같은 histamine 유리인자에 의해서 비

만세포가 탈과립되는 것은 Park 등(1970)에 의해 광학현미경하에서 관찰된 바 있다.

한편 비만세포의 미세구조에 관해서 여러 학자들은 전자현미경을 이용하여 비만 세포의 조직학적 구조를 많이 다루어 왔다.

그러나 전자현미경하에서 morphine HCl로 인하여 야기되는 흰쥐 장간막 비만세포내 과립 및 미세구조의 형태학적인 변화를 관찰한 바 없어 이것을 보다 상세히 규명하고자 본 실험을 시행하였다.

## II. 재료 및 방법

실험동물은 체중 약 200Gm 정도의 건강하고 성숙한 흰쥐 (Sprague-Dawley 종)를 사용하였다.

대조군은 1 ml의 생리식염수 용액을 흰쥐 尾정맥내로 주사한 후 4 시간후에 도살하였다.

실험군은 morphine HCl 12mg/kg 를 투여한 실험군 및 24 mg/kg 를 투여한 실험군으로 각각 나누어 흰쥐 尾정맥내로 주사하고 대조군과 동일한 방법으로 처리하였다. 처리후 0.1M의 1% OsO<sub>4</sub> (pH 7.4)로 2 시간 고정하였고 고정된 재료는 70% 알콜로 부터 무수 알콜까지 단계적으로 탈수시키고 Epon 812로 매몰하였다. 그 후 Sorvall MT-2 Porter Blum Ultramicrotome으로 약 500Å의 두께로 잘랐다.

이것을 Uranyl acetate와 Lead Citrate로 염색하였으며 Hitachi Model HU-11E 전자현미경으로 관찰하였다.

## III. 결 과

### 1. 생리식염수 1 ml를 주사한 대조군 :

대조군의 정상 흰쥐 장간막 비만세포는 세포질내의 과립과 핵에 의해서 다른 결합조직세포와 쉽게 구별할 수 있었다.

이들 비만세포는 그 형태가 절단면에 따라 타원형, 방추형, 혹은 다각형등을 나타내며 원형질막은 짧은 돌기를 가지고 있다. (Fig. 1).

핵은 대부분이 타원형으로 나타나는데 밀집된 과립들에 의해서 핵막의 표면이 불규칙하게도 나타난다.

세포질은 Fig. 2에서 보는 바와 같이 미토콘드리아, 골지장치 및 중심체등의 세포내 소기관을 볼 수 있다.

세포질내 과립들은 절단면에 따라 원형, 타원형 및 표주박형 등 여러가지 형태를 나타내며 이들의 과립은 비교적 동질성 (Type 1)인것, 망상 (Type 2)인것 및 혼합성 (Type 3)인 것이 혼재하여 나타났다 (Fig. 3).

### 2. Morphine HCl 12 mg/kg를 주사한 실험군 :

흰쥐 尾정맥내로 morphine HCl 12mg/kg 를 주사한 실험군에서는 Fig. 4에서 보는바와 같이 세포 전형의 현저한 변화는 일어나지 않았다.

세포질내 과립의 형태는 대조군과 비슷하였거나 몇몇 과립들은 변형된 형태로 나타났다.

즉 과립이 cluster (Fig. 5), 혹은 과립의 용해 (granular lysis) (Fig. 6)를 일으켰으며 또 과립내의 투명화된것 (Fig. 7)도 나타났다.

또한 원형질막에 인접된 과립들 가운데는 가끔 원형질막의 부분적 과열로 세포밖으로 탈과립 (Fig. 8)되는 현상을 관찰할 수 있었다.

대부분의 과립은 Type 1 과 Type 2 였고 Type 3 은 볼 수 없었다.

### 3. Morphine HCl 24 mg/kg를 주사한 실험군 :

Morphine HCl 24 mg/kg 를 尾정맥내로 주사한 군에서도 역시 세포 전형의 변화는 일어나지 않았다 (Fig. 9).

그러나 대부분의 과립은 그 주위에 전자밀도가 없는 halo를 형성하였고 원형질막의 부분적인 과열로 과립이 세포 밖과 접해 있거나 혹은 완전히 탈과립된 현상을 관찰할 수 있었다.

또한 과립은 Type 1, 2, 3이 혼재하며 다른군에 비해서 Type 2가 증가된 현상을 볼 수 있었다 (Fig. 10).

## IV. 고 찰

비만세포의 과립이 histamine 유리인자에 의하여 탈과립 현상이 일어난다는 사실은 광학현미경적으로 여러학자들에 의해서 연구된 바 있고 전자현미경을 이용한 미세구조적인 탈과립 현상에 대해서는 Smith와 Lewis(1957)에 의하여 연구된 이래 여러학자들의 많은 관심을 끌어왔다.

Moriyasu(1970)는 전자현미경하에서 Compound 48/80로 인한 흰쥐 피부 비만세포의 형태학적 변화를 관찰하였고 Lagunoff(1972)는 Polymyxin B를 투여하여 복강내 비만세포의 탈과립 기작에 관해서 연구한 바 있다. 그러나 histamine 유리인자로서 알려지고 있는 morphine HCl에 관한 탈과립 현상의 영향에 관하여 Bhattacharya와 Lewis(1956)는 흰쥐 비만세포에 함유되어 있는 혹은 amine유리에 관한 실험에서 Compound 48/80, reserpine 및 morphine 등의 amine 유리효과를 비교 관찰하기 위하여 morphine HCl을 복강내로 주사한 바 복강내 비만세포는 피하 비만세포의 경우보다 더 심하게 탈과립을 일으킨다고 하였고 Park과 그 공동연구자(1970)는 morphine HCl 12mg/kg를 흰쥐 尾정맥내로 투여한 실험에서 장간막 비만

세포의 탈과립 현상이 일어난다는 등의 사실을 광학현미경적으로 보고한 바 있을뿐 전자현미경적으로 연구된 바는 없다.

이에 저자는 morphine HCl 12mg/kg 및 24mg/kg를 흰쥐 tail정맥내로 주사하여 대조군과 함께 전자현미경적으로 관찰한 바 비만세포의 현저한 탈과립 현상은 볼 수 없었고 원형질막에 인접된 극소수의 과립이 원형질막의 파열로 탈출되었다.

특히 morphine HCl 24mg/kg를 주사한 군에서 과립주위에 전자밀도가 없는 halo 혹은 vacuole 이 형성되었고 과립은 비교적 망상(Type 2)인 것이 대부분이었다. 이러한 현상은 morphine HCl 이 어느정도 약한 histamine 유리인자로서 작용하여 탈과립 현상이 일어나기 전단계 상태로 되며 morphine HCl의 투여량에 따라서도 어느정도 영향이 있는 것으로 생각된다. Moriyasu(1969)는 과립주위의 halo 혹은 vacuole은 Proteolytic enzymes의 유리로 인해서 일어난다고 하였고 Bloom 등(1965, '67, '70), Chakravarty(1967) 등, Horsfield (1965), 그리고 Mann(1969)은 전자현미경 관찰에서 세포의 탈과립은 먼저 과립 주위에 vacuole이 형성되고 각각의 공포가 합쳐서 세포 표면으로 열리어 탈과립을 일으킨다고 보고하였다.

세포질내 과립의 모양은 Moriyasu(1969)가 보고한 원형, 타원형 혹은 guitar 형과 동일한 형태를 나타내나 morphine HCl 12mg/kg를 주사한 실험군에서 과립의 형태는 cluster, 과립의 용해 및 과립 일부분의 투명화 현상등을 일으켰다. 이러한 현상은 morphine HCl의 작용으로 인하여 비만세포내 과립의 형태학적인 변화가 일어나는 것으로 생각되며 더 자세한 기작은 앞으로 해결할 문제로 남아있다.

또한 과립의 투명화 현상을 Moriyasu(1970)는 과립내 물질의 완전한 discharge로 인하여 일어난다고 보고하였다.

한편 Moriyasu(1969)는 흰쥐 피부의 비만세포에 관한 전자현미경적 관찰에서 과립내 물질은 fine particulate material로 구성된 동질성인 과립으로 되어 있으며 Passive Cutaneous anaphylaxis로 인한 흰쥐 비만세포에 관한 전자현미경적 실험에서 과립은 전자밀도를 상실하며 망상구조를 나타낸다고 하였는데 이러한 현상은 고분자 물질의 변화 혹은 discharge 때문이라고 하였다.

Moriyasu(1969)는 대조군에서 과립의 대부분이 동질성이나 여러가지 histamine 유리인자의 투여에서 망상구조를 나타낸다고 보고하였다.

본 실험에서 저자는 과립을 동질성(Type 1)인 것, 망상(Type 2)인 것 및 혼합형(Type 3)인 것

으로 분류하여 관찰한 바 대조군 및 실험군에서 흔히 존재하며 특히 morphine HCl 24mg/kg를 주사한 실험군에서 대부분 과립은 Type 2 이었다. 이것은 morphine HCl이 Compound 48/80 나 Polymyxin B 보다 300 내지 400배나 약하게 작용한다는 Johannesson과 Norn(1963)의 보고와 일치하며 어느정도 과립에 영향을 미치는 것으로 생각된다.

### V. 결 론

1. Morphine hydrochloride로 인한 흰쥐 장간막 비만세포의 형태학적 변화를 전자현미경으로 관찰한 바 morphine HCl 12mg/kg를 주사한 실험군에서 과립들은 Cluster 혹은 과립의 용해를 일으켰으며 과립내 부분적인 투명화 현상이 일어났고 극소수의 탈과립 현상이 관찰되었다.

2. Morphine HCl 24mg/kg를 주사한 실험군에서 과립 주위에 전자밀도가 없는 halo를 형성하였고 망상구조를 가진 과립이 현저하게 증가하였다.

3. 이상의 결과로서 morphine HCl는 비만세포 과립에 영향을 미치는 것으로 사료된다.

### REFERENCES

Alam, M., Anrep, G. V., Barsoum, G. S., Talaat, M. and Weiminger, E.(1939) : Liberation of histamine from the skeletal muscle by curare. *J. Physiol.*, 94:148.

Asboe-Hansen, G. (1950) : Origin of synovial mucin ; Ehrlich's mast cell secretory element of connective tissue. *Ann. of Rheumatic Disease.* 7:149.

Benditt, E. P., Wong, R. L., Arase, M. and Roeper, E. (1955) : 5-Hydroxytryptamine in mast cells. *Proc. Soc. Exp. Biol. N. Y.* 90 :303.

Bhattacharya, B. K., and Lewis, C. P. (1956) : The release of 5-hydroxytryptamine by histamine liberators. *Brit. J. Pharmacol.*, 11 :202.

Bloom, G. D., and Chakravarty, N. (1979) : Time course of anaphylactic histamine release and morphological changes in rat peritoneal mast cells. *Acta Physiol. Scand.* 78 :410.

Bloom, G. D., Fredholm, B., and Haegermark, Ö. (1967) : Studies on the time course of histamine release and morphological changes induced by histamine liberators in rat peritoneal mast cells. *Acta Physiol. Scan.*, 71 :270.

Bloom, G. D., and Haegermark, Ö. (1965) : A study on morphological changes and histamine release

- induced by compound 48/80 in rat peritoneal mast cells. *Exp. cell Res.* 40 :637.
- Chakravarty, N., Gustafson, G. T., and Phil, E. (1967): Ultrastructural changes in rat mast cells during anaphylactic histamine release. *Acta Pathol. Microbiol. Scand.* 71:233.
- Ehrlich, P. (1879): Beiträge Zur Kenntnis der granulierten Bindegewebs-zellen und der eosinophilen Leukozyten. *Arch. Anat. Physiol. Lpz.* 3 :166.
- Goodman, L. S., and Gillman, A. (1941): The pharmacological basis of therapeutics. The Macmillan Company, New York, 3rd ed. p. 247.
- Holmgren, H. and Wilander, O. (1937): Beitrag zur Kenntnis der Chemie und Funktion der Ehrlichschen Mastzellen. *Z. mikrosk.-anat. Forsch.* 42 :242.
- Horsfield, G. I. (1965): The effect of compound 48/80 on rat mast cells. *J. Pathol. Bacteriol.* 90 :599.
- Johannesson, T., and Norn, S. (1965): The effect of morphine on the histamine content of brain and skin in the rat. *Acat Pharmacol. (kbh)*, 20 : 158, 1963. (Cited from *The Mast Cells* by Hans Syele, P. 201.
- Lagunoff, D. (1972): Contributions of electron microscopy to the study of mast cells. *J. of Invest. Derm.* 58 :296.
- Lewis, R. (1927): The blood vessels of the human skin and their responses. London Shaw and Sons, Ltd.
- MacIntosh, F. C., and Paton, W. D. M. (1949) The liberation of histamine by certain organic bases. *J. Physiol.* 109 :190.
- Mann, P. R. (1969): An electron microscope study of the degranulation of rat peritoneal mast cells brought about by four different agents. *Brit. J. Derm.* 81 :926.
- Moriyasu, S. (1969): The fine structure of skin mast cells of the rat. *Hiroshima J. Med. Sci.* 18 : 119.
- Moriyasu, S. (1970): Electron microscopic observations on the morphological changes of rat skin mast cells induced by compound 48/80. *Hiroshima J. Med. Sci.* 19 :41.
- Park, M. S., Kang, H. S., Pak, S. Y., and Choi, K. D. (1970): On the effect of morphine hydrochloride on the mesenteric mast cells of albino rats. *Yonsei Med. J.*, 11 :16.
- Perry, W. L. M. (1956): *Histamine*, Edited by G. E. W. Wolstenholme and C. M. O' Connor, P 242, Little, Brown & Company, Boston.
- Riley, J. F., and West, G. B. (1953): The presence of histamine in tissue mast cells. *J. Physiol.* 120 :528.
- Riley, J. F., and West, G. B. (1955): Tissue mast cells studies with a histamine-liberator of low toxicity (Compound 48/80). *J. Path. and Back.* 69 :269.
- Smith, D. E., and Lewis, Y. S. (1957): Electron microscopy of the tissue mast cell. *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, 3 :9. (Cited from the *J. Invest. Derm.*, 58 :296, 1972)

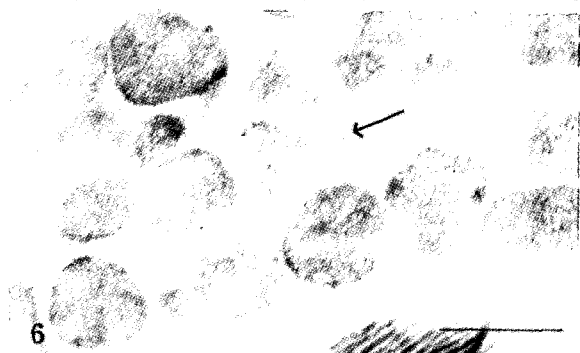
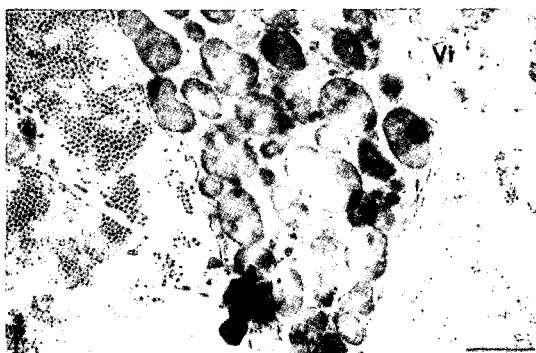
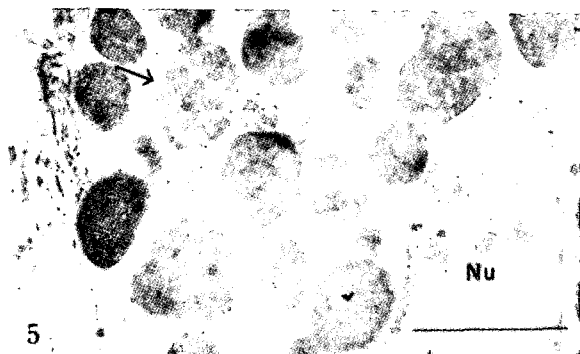
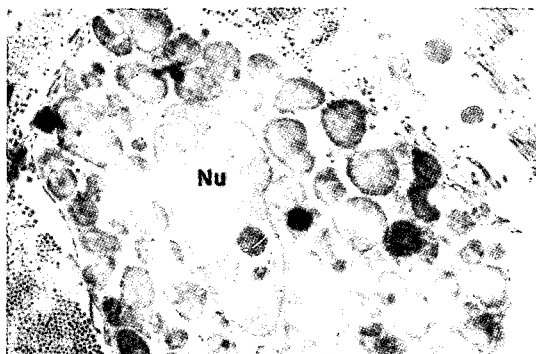
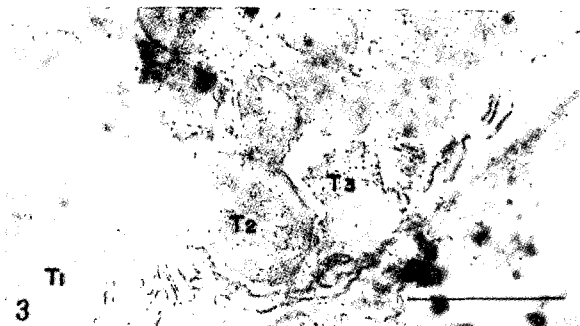
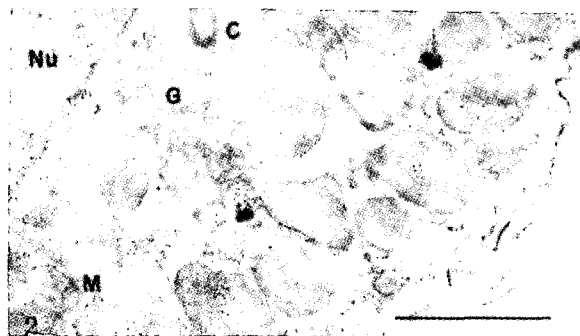
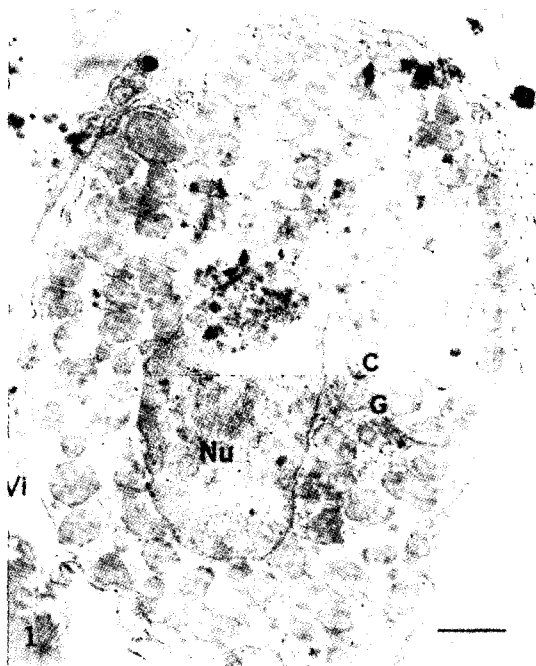


Fig.1-3. Electron micrograph of normal mesenteric mast cell.

Fig.1. The plasma membrane of cell possesses short villous process (Vi).

Fig.2. Note the centriole(C), the Golgi apparatus(G). A few mitochondria were scattered in the cytoplasm.

Fig.3. The cytoplasmic granules were variable in size, shape, and electron density. They were round, oval, or gourd-shaped in the

consisted of homogenous(T1), or reticular substances(T2) and showed occasionally a compound-form(T3).

Fig.4-8. A mast cell in rat mesentery treated with morphine HCl intravenously.

Fig.4. The free surface of the cell showed short villous processes and intact nucleus.

Fig.5. Some granular substance formed a cluster (arrow).

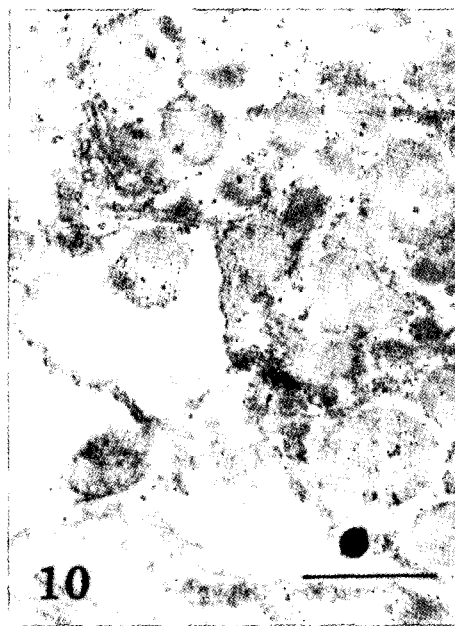
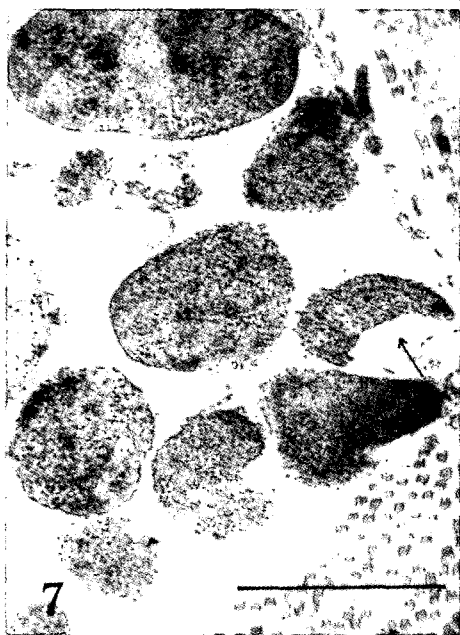


Fig. 7. Agranule seems to appear a electronically transparent (arrow).

Fig. 8. A granule appears in the extracellular space (arrow).

Fig. 9-10. A mast cell in rat mesentery treated with morphine HCl 24 mg/kg intravenously.

Fig. 9. The free surface of the cell showed

short villous processes. One or two granules appeared in the extracellular space.

Fig. 10. Vacuole or halo formation around individual granules were observed. Altered granules showing a reticular texture are observed and frequently mixed from granule was appeared.