

건조상태가 개구리(*Rana nigromaculata*) 피부 점액선에  
미치는 영향에 대한 조직화학적 연구

朴 重 錫  
(慶尙大·科學教育科)

Histochemical Study on the Mucous Gland of the Frog  
(*Rana nigromaculata*) Skin under Dry Conditions

Joong-Suk Park  
(Dept. of Science Education, Gyeong Sang Univ.)  
(1974. 3. 14 접수)

**SUMMARY**

This study was performed in order to know the histochemical changes of mucosubstances in mucous glands under normal and dry conditions.

The frogs, *Rana nigromaculata* Hallowell, were collected near Seoul area in mid-August. The experimental group was retained under dry conditions for 12, 24, 30 and 36 hrs to make a comparison to normal group.

The results obtained were as follows:

1. Mucosubstances in mucous glands of the frog skin contain neutral mucin and sulfated and non-sulfated mucins. Mucosubstances in the cells of the gland neck are neutral mucin, while the gland body is composed of neutral, sulfated and non-sulfated mucins.

2. Mucosubstances in mucous gland of the frog skin decreased distinctly under dry conditions, as is evident from the histochemical properties, the neutral mucins were influenced more clearly than acid mucins.

3. Histochemical compositions of the mucosubstances in the cell of the mucous gland (the gland neck and the gland body) were not changed.

4. The phenomena were considered as a general adaptation syndrome to keep homeostasis.

## 서 론

양서류 피부의 점액질은 체내의 수분 조절, 외부로 부터의 기계적인 자극 등에 대하여 보호 작용을 하는 것으로서, Wilber and Carroll (1940)은 개구리의 점액질 분비는 피부에 항상 습기를 유지시키며, 물속에서의 유효역할을 한다고 하였고, Deyrup (1964), Friedmen et al. (1967), Dapson (1970) 등은 피부선은 호흡과 분비작용을 복합적으로 수행하며, 전해질의 평형을 유지한다고 보고하였다. 또한 개구리의 피부 점액선의 형태 및 발생에 대한 연구로서는 Noble and Noble (1944), Noble (1963), Bovbjerg (1963), Verma (1965), 김 (1973) 등 여러 연구자들에 의하여 상세히 보고되었다. 이상과 같이 양서류 피부선에 대한 형태 및 생리학적인 연구 보고는 비교적 오래전부터 많이 연구되어 왔으나, 피부점액선에 대한 연구는 매우 드물다.

최근 Dapson (1970)은 *Rana pipiens*의 피부 점액선에 대하여, 조 (1972) 등은 참개구리의 피부 점액선에 대해서, 그리고 김 (1973)은 한국산 양서류 10종의 피부 점액선에 대한 비교 조직화학적 연구가 있을 뿐이다.

따라서 저자는 개구리 피부 점액선의 점액질에 대하여 조직화학적으로 그 구성을 명백히 하고 아울러 건조한 상태에 노출시킴에 따른 피부 점액선의 형태학적 변화 및 점액질의 태도를 관찰하고자 본 실험을 실시하였다.

## 재료 및 관찰

본 실험에 사용한 재료는 8월 중순 서울 근교에서 채집한 개구리 (*Rana nigromaculata* Hallowell)로서 정상군과 실험군으로 구분하여 정상군은 채집 직후에, 실험군은 통풍이 잘 되고 온도  $30 \pm 1^\circ\text{C}$ , 습도  $70 \pm 1\%$ 인 건조한 종이 상자에 개체마다 격리 수용한 다음 12시간, 24시간, 30시간 및 36시간만에 희생시켰다.

각군마다 5마리씩, 등쪽(背部)과 배쪽(腹部)의 중앙부로부터 피부를 절취하여 10% 중성 formalin액에 고정된 다음  $5\mu$  두께의 paraffin 절편을 만들었다. 점액질 염색으로는 PAS 반응, alcian blue pH 2.5 (AB 2.5) 및 pH 1.0 염색액 (AB 1.0)에 반응시켰고, 성분상의 판별을 정확히 하기 위하여 PAS-AB 2.5 복합염색도 하였다.

관찰 방법은 Spicer (1963), Spicer and Sun (1967)의 방법에 따라 점액선 세포내에 존재하는 점액질의 정색정도 및 양을 대상으로 하여 전연 반응을 나타내지 않는 경우를 -, 염색반응도가 가장 낮거나 세포질 일부에 매우 적게 나타나는 경우를 +, 염색반응도가 높고 세포질에 충만한 경우를 ##, 둘 사이의 중간 정도인 것을 #로써 표시하였다. 점액질 성분의 조직화학적 판별에 있어서는 Mowry (1963), Bélanger (1963), Spicer (1963), Spicer and Sun (1967) 등이 밝힌 바에 따라 PAS 반응으로서 적자색인 것을 중성점액질, AB 2.5에 청색의 반응을 띤 것을 약산성 점액질, AB 1.0에 청색의 반응을 띤 것을 강산성 황화점액질로 규정하였다.

## 결 과

### I. 정상군

개구리 피부의 등쪽 및 배쪽을 막론하고 점액선(Fig. 1)은 flask 모양으로서 진피 내에 산재성으로 분포하였고, 비교적 큰 내강을 가진 난원형 또는 구형의 분비부가 진피에 비교적 치밀히 발달되어 있는 결합조직성 섬유들에 의하여 싸여 있었으며, 선관(gland duct)은 매우 짧고 내강은 겨우 인식될 정도로 좁으며, 선조의 표피쪽 상부에서 거의 직선상으로 표피를 뚫고 체표에 개구하고 있었다. 점액선의 선관상피는 낮은 입방 혹은 편평형으로서 2~3세포층이 되어 개구부에서는 표피에 이어지고 있었다. 분비부의 세포는 단층상피로서 세포의 위치 및 세포질 내에 함유되어 있는 점액질량의 정도에 따라 약간의 차이는 있지만 대체로 입방형 혹은 원주형의 모습이 되어, 특히 선관에 이어지는 선관 개구부 즉 선경부의 세포들은 입방형, 난원형 혹은 편평형이었다.

점액선 세포의 세포질내 점액질의 양, 분포 및 염색 정도에 있어서도 역시 부위에 따라 큰 차이 없이 대다수 세포의 경우 다량의 점액질을 가지고 있으나, 이들 세포 사이에 거의 점액질을 가지고 있지 않은 휴지기의 세포와 분비과립형성의 초기 또는 분비 후기에 있는 것으로 생각되는 소량의 점액질을 포함하고 있는 세포가 종종 관찰되었다.

선경부 세포의 세포질내 점액질은 미세과립상으로서 대체로 세포질 전반에 걸쳐 존재 하되 핵상부 세포질에 더 많았다. 이들 세포의 점액질은 PAS 반응에 강한 적자색을 띠 지만, AB 2.5 및 AB 1.0 염색에는 전혀 반응을 나타내지 않았다. 선체부의 점액질은 선경부 세포의 점액질 과립에 비하여 굵은 과립상으로서 세포핵 상부의 세포질, 즉 세포 유리단에 묻쳐서 점액질괴를 형성하였고, 핵측부 혹은 핵하부 세포질에는 점액질이 거의 없었다. 이들 세포의 점액질은 PAS 반응에 강한 적자색을, AB 2.5와 AB 1.0 염색에는 모두 짙은 청색을 띠었다(Table 1).

### II. 건조 실험군

#### 1. 건조 12시간군

건조 상태에 12시간동안 노출시킨 동물의 피부 점액선은 등쪽 및 배쪽에 따라 큰 차이 없이 정상군에 비하여 전체적으로 큰 변화는 보이지 않았고 다만 선체부 점액세포의 경우에 점액질의 과다 분비양상으로서 세포 유리단부의 점액질이 세포내강에 돌출되는 현상이 종종 관찰되었다. 그외 선의 모습도 대체로 후라스크 모양을, 그리고 선내강도 난원형 또는 원형을 유지하였다.

선경부 세포들의 점액질은 미세과립상이나 그 밀도가 비교적 성글어 수포상을 띠는 세포가 흔히 관찰되었고 그 염색 정도는 PAS 반응에 적자색을 띠며 염색 정도는 정상군과 비슷하거나 다소 미약하였으며, AB 2.5와 AB 1.0 염색에는 역시 음성이었다. 선체부 세포의 점액질은 대체로 정상군에 비하여 세포질 내에서 다소 흐트러진 경향을 보였고, 점액질의 염색성은 PAS 반응 및 AB 2.5와 AB 1.0 염색에서 정상군과 거의 비슷하거나 다소 미약한 정도로 나타났으나, 이들 세포내 점액질량은 정상군에 비하여 전반적으로 다소 감소하였다(Table 1).

#### 2. 건조 24시간군

건조 상태에 24시간 동안 노출된 동물의 점액선(Fig. 2)은 정상군에 비하여 전반적으로 현저히 위축되어 정상군 보다 크기도 작아졌고, 선내강도 불규칙하게 주그러져 있었으며 선세포도 대체로 현저히 위축되어 세포의 배열이 흐트러졌을 뿐만 아니라 세포질내의 점액질도 전반적으로 훨씬 적은 양을 포함하였다.

점액선 선경부의 세포내 점액질(Fig. 2)은 정상군에 비하여 현저히 감소된 상태에서 매우 소량의 미세과립상 점액질 과립이 세포질 내에서 분산상으로 존재하였다. 점액질의 염색성은 PAS 반응에 미약한 적자색으로서 실험군 중에서 가장 현저한 변화를 보였으며, AB 2.5와 AB 1.0 염색에는 정상군에서처럼 역시 염색되지 않았다. 선체부의 세포질내 점액질은 양적으로 세포에 따라 다소 차이를 보이지만 대체로 정상군 보다 훨씬 적었다. 이들 세포의 점액질은 대체로 PAS 반응에서 정상군과 거의 비슷하거나 다소 옅은 적자색을, AB 2.5와 AB 1.0 염색에서도 역시 정상군 보다 다소 옅은 청색을 띠었다(Table 1).

### 3. 건조 30시간군

점액선(Fig. 3)은 전반적으로 더욱 위축된 상태에서 선모양이 숙으러져 있을뿐 아니라 선상피의 배열과 세포 모습도 매우 불규칙하였다

선경부 세포내 점액질은 건조 24시간군에 비하여 양적으로는 다소 많았으나 정상군 보다는 훨씬 감소되었고 점액질 과립은 비교적 조밀하였다. 선경부 세포의 점액질(Table 1)의 염색성은 PAS 반응에서 건조 24시간군 보다 월등히 강한 적자색으로서 거의 정상군과 비슷한 정색도를 나타내었고, AB 2.5와 AB 1.0 염색에서는 역시 음성이었다. 선체부 점액세포의 점액질은 선경부 세포의 점액질과립에 비하여 역시 굵은 과립상으로서 세포에 따라 다소 차이를 보이나 대체로 소량의 점액질을 포함하고 있는 세포들이 대부분이었고, 점액질의 세포질내 분포상태는 정상군에 비하여 덜 조밀하게 핵상부에 뭉쳐서 존재하였다. 그리고 이들 점액질은 PAS 반응에서 대체로 정상군과 비슷한 정도의 짙은 적자색을, AB 2.5와 AB 1.0 염색에는 건조 24시간군의 것보다 더 진한 정도로서 오히려 정상군과 거의 비슷한 청색을 띠었다.

### 4. 건조 36시간군

점액선(Fig. 4)은 매우 위축되어 점액선 전체가 표면에 평행으로 납작한 모습이어서, 선내강도 매우 불규칙하다.

선경부 세포들의 점액질은 정상군에 비하여 월등히 적은 양으로서 30시간군과 거의 비슷하거나 다소 더 적은 정도였고, 세포질내 점액질과립은 위축된 세포내에서 더 조밀하게 세포질 전반에 존재하였으며, 점액질의 염색성(Table. 1)은 PAS 반응에서 건조 30시간군과 거의 같은 비교적 짙은 적자색(卍~卍卍)이었고, AB 2.5와 AB 1.0 염색에는 염색이 되지 않았다. 선체부 세포도 역시 현저히 위축되어 입방형 혹은 낮은 원주형으로 이들 세포질내 점액질은 굵은 과립상으로 세포핵상부 세포질에 주로 모여있되 양적으로는 정상군 것에 비하여 현저히 감소된 상태로서 그 조밀도는 다소 엉성하였다. 그리고 점액질은 PAS 반응에 비교적 짙은 적자색(卍~卍卍)으로서 건조 30시간군과 비슷하였고 AB 2.5와 AB 1.0 염색에서도 역시 짙은 청색을 띠었다.

## 고찰

점액질의 조직화학적 구분과 생체내의 기본적 분포에 대한 연구로서는 Steedmen (1960)이 alcian blue 8GS 염료를 이용한 후 Mowry (1956)는 AB 2.5가 산성점액에 대하여 선택적으로 염색시킨다는 사실을 밝힘으로써 많은 진전이 이루어졌다.

그후 Mowry (1963), Belanger (1963), Spicer (1963), Spicer and Sun (1967) 등 여러 연구자들이 점액질에 대한 생화학적 분석과 자기방사법, 그리고 alcian blue를 이용한 염색반응을 검토한 결과 alcian blue 염색액의 pH를 2.5~3.0으로 정하였을 때 약산성 점액질이, pH 1.0에서는 강산성황화점액질이 선택적으로 염색됨을 밝혔으며, 또 점액질의 조직화학적 구분에서 AB 2.5—PAS 복합염색 반응의 우수성을 강조하였다. 또한 조직화학적으로 점액질 검출에 널리 이용되는 PAS 반응에서 Vic-glycol군(群)을 지닌 중성점액질이 적자색으로 염색됨은 이미 오래전부터 알려진 사실이다.

양서류의 피부점액선은 피부의 수분 및 전해질의 평형을 유지시키며 나아가 체외의 물리적 자극으로부터 보호적인 작용을 하는 점액질을 생산하는 매우 중요한 외분비선으로서 이들 선으로부터 분비되는 점액질의 화학적 조성에 대해서 Dapson (1970)은 *Rana pipiens*의 피부점액선은 sulfate 및 carboxylic acid를 함유하는 산성점액을 생산한다고 하였고 조동(1972)은 참개구리의 피부점액선 점액질은 황화점액과 비황화점액을 함유하는 산성점액이라고 하였다. 또 김(1973)은 양서류 피부 점액선의 점액질은 종(species)에 따라 그 양적 구성에서 다소 차이는 있지만 대체로 중성, 약산성 및 강산성 점액질로 되어 있다고 하였다.

본 실험성적(Table 1)에서 보던 개구리의 피부 점액선은 등쪽과 배쪽피부에 따라 그 형태나 점액질의 성분상에서 별 차이가 없었고 점액선을 구성하는 선세포의 세포내 점액질은 선의 부위 즉 선경부와 선체부를 이루고 있는 세포에 따라 점액질의 성분상에서 차이를 보였다. 즉 선경부의 세포내 점액질은 순수한 중성점액이며 선체부의 것은 중성 및 산성점액을 함께 포함하되 산성점액중에서도 황화점액질과 비황화점액질을 포함하였다.

이상의 결과에서 피부점액선에 대한 형태나 분포등에 있어서는 대체로 앞의 연구자들과 같은 결과였다. 그러나 점액질과 성분상에 있어서 점액선 전체를 대상으로 한다면 김(1973)의 결과와 대체로 같은 결과이지만 Dapson (1970)과 조(1972)등의 결과와는 차이를 보였을 뿐만 아니라 점액선의 부위별 세포에 따라 점액질의 성분이 다르게 존재하는 사실에 대하여는 이상의 연구자들에서 언급된 바 없다. 따라서 이들 사실이 종간의 차이라고 단정할 수는 없으며 앞으로 보다 깊은 연구검토가 있어야 될 것으로 생각된다.

한편 개구리 피부 점액선에 대한 건조 상태에서의 영향을 밝힌 실험적 보고는 접하지 못하였다. 본 실험결과에서 보면 건조 상태에 노출시킨후 경과시간에 따라 점액선이 전체적으로 현저히 위축되며 분비세포의 배열도 매우 불규칙해짐을 확인하였다. 그리고 점액선의 점액질 태도에 있어서도 건조상태에서 점액질의 화학적조성에는 큰 변화가 없었으나 그 양적인 변화가 매우 현저하였다. 즉 선경부의 중성점액질(Table. 1)은 그 초기부터 감소하여 24시간군에서 현저히 감소하였으며, 30시간군에서는 다소 증가하여 실험

중요군까지 유지되었고 선체부의 점액질은 대체로 노출시간에 따라 감소하되 12시간군 이후에는 감소된 상태로써 계속 유지됨을 관찰하였다.

이와 같은 사실에서 볼 때 건조상태에 대하여 그 성분상에서 중성점액질이 산성점액질에 비하여 더 예민하게 반응하였음을 알 수 있는데, 이것은 건조상태에 노출한 초기에는 점액질이 과다한 분비로서 합성이 이에 미치지 못하고 시간이 경과함에 따라 점차 점액질의 합성과 분비의 균형이 저하된 상태로나마 유지되고 있음을 뜻한다. 따라서 건조상태에의 노출에 대한 피부점액선의 변화는 몸의 항상성을 유지하기 위한 생체적응현상(adaptation syndrome)의 한 표현이라고 볼 수 있다.

## 적 요

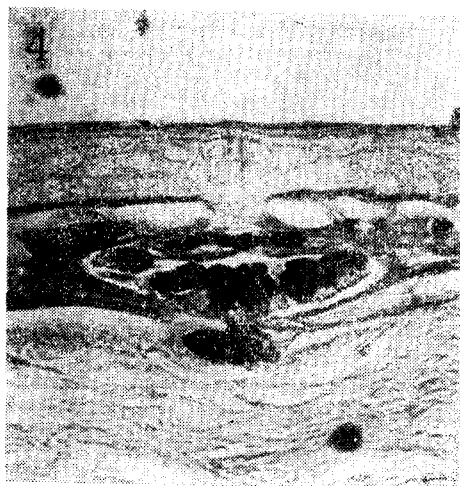
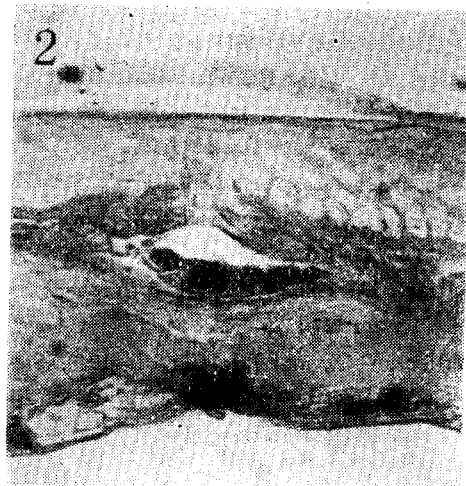
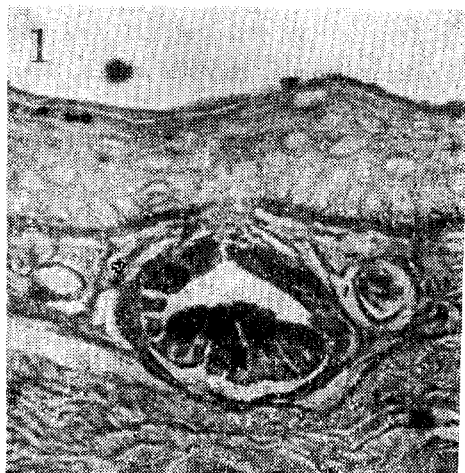
1. 개구리 피부점액선의 점액질은 중성, 약산성 및 강산성황화점액질을 포함하되, 선경부 세포에는 중성점액질만이, 선체부 세포에는 3종류의 점액질 성분이 혼재한다.
2. 피부 점액선의 점액질은 건조상태에서 현저히 감소하며 성분별로 볼 때 산성점액질에 비하여 중성점액질이 더욱 심한 영향을 받는다.
3. 점액선 세포내 점액질은 건조상태에 노출된 시간에 따라 점액질 성분상의 변화는 없다.
4. 이상과 같은 현상은 몸의 항상성을 유지하기 위한 생체적응현상의 일단이라고 생각된다.

## 참 고 문 헌

- Belanger, L.F., 1963. Comparisons between different histochemical and histophysical techniques as applied to mucous secreting cells. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **106** (2) : 364—378.
- Bovbjerg, A., 1963. Development of the glands of the dermal plicae in *Rana pipiens*. *J. Morph.* **113** : 231—243.
- Dapson, R.W., 1970. Histochemistry of mucous in the skin of the frog, *Rana pipiens*. *Anat. Rec.* **166** : 615—626.
- Deyrup, J.S., 1964. Water balance and kidney. *In: Physiology of the Amphibia*. J.A. Moore, ed. New York, Academic Press.
- Friedman, R.T., N.S. Laprode, R.M. Aiyawar and E.G. Hur, 1967. Chemical basis for the (H<sup>+</sup>) gradient across frog skin. *Amer. J. Physiol.* **212** : 962—972.
- Glenn A. Noble, 1963. On the histology of frog skin glands. *Trans. Amer. Micro. Soc.*, **63** : 254—263.
- 김한화, 1973. 한국산 양서류 표면상의 점액분비세포의 조직화학적 연구. *최신회학* **16**(2) : 56—69.
- 조운복, 정덕환, 정진문, 1972. 개구리 피부점액선에 관한 조직화학적 연구. *부산의대 잡지*, **12**(1) : 107—113.
- Mowry, R.W., 1956. Alcian blue technics for the histochemical study of acidic carbohydrates. *J. Histochem. Cytochem.* **4** : 407.
- Mowry, R.W., 1963. The special value of methods that color acidic and vicinal hydroxyl groups in the histochemical study of mucins, with revised direction for the colloidal

- iron stain, the use of alcian blue 8GX and their combinations with the periodic acidic acid-Schiff reaction. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **106**(2) : 402—423.
- Noble, G.A., and E.R. Noble, 1944. On the histology of frog skin glands. *Trans. Amer. Micro. Soc.* **63** : 254—263.
- Spicer, S.S., 1963. Histochemical differentiation of mammalian mucopolysaccharides. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **106**(2) : 379—388.
- Spicer, S.S. & Sun, D.C.H., 1967. Carbohydrate histochemistry of gastric epithelial secretions in dog. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **140** : 762—783.
- Steedman, H.F., 1950. Alcian blue 8GS : A new stain for mucin. *Quart. J. Microbiol. Sci.* **91** : 477—479.
- Verma., K., 1965. Regional differences in skin gland differentiation in *Rana pipiens*. *J. Morph.* **117** : 73—66.
- Willber, C.G., and P.L. Carroll, 1940. Studies on the histology of the glands in the skin of *Anura*. I. The parotoid gland of *Bufo americanus* Holbrook, *Trans. Amer. Micro. Soc.* **59** : 123—128.

## EXPLANATION OF FIGURES



**Fig. 1.** Mucous gland under normal condition in ventral skin of *Rana nigromaculata* AB 2.5-PAS,  $\times 450$

**Fig. 2.** Mucous gland under dry condition (24 hrs) in ventral skin of *Rana nigromaculata* AB 2.5-PAS,  $\times 450$

**Fig. 3.** Mucous gland under dry condition (30 hrs) in dorsal skin of *Rana nigromaculata* AB 2.5-PAS,  $\times 450$

**Fig. 4.** Mucous gland under dry condition (36 hrs) in dorsal skin of *Rana nigromaculata* AB 2.5-PAS,  $\times 450$