

개구리(*Rana nigromaculata*) 발생에 따른 위점막 점액분비세포의
조직학적 및 조직화학적 연구*

金 翰 華·盧 鏞 泰·鄭 英 和
(가톨릭醫大 生物學敎室)

Histological and Histochemical Studies on the Mucous Secreting
Cells of the Gastric Mucosae according to the Development of
Frog, *Rana nigromaculata*

Han-Hwa Kim, Yong-Tai Noh and Young-Wha Chung
(Dept. of Biology, Catholic Medical College)
(1976. 3. 23 접수)

SUMMARY

To observe the changes of mucosubstances of the mucous secreting cells, stomach tissues in frog tadpoles at each stage of metamorphosis were fixed in 10% buffered formalin at 4°C, embedded in paraffin, sectioned to 4 μ m thickness and stained with periodic acid-Schiff(PAS) and alcian blue (AB) of pH 2.5 and pH 1.0. The results obtained were as follows:

1. The reactivities of the surface mucous cells, which exhibited strong PAS-positivity and weak alcianophilia at both pH 2.5 and 1.0, were not changed in metamorphosis stages and the intracellular contents of neutral mucosubstances in the surface mucous cells increased significantly in XXIV and XXV stages of metamorphosis.

2. In the foveolar mucous cells, which appear after metamorphosis XXI, the staining reactivities to PAS, AB of pH 2.5 and 1.0 were the same as that of surface mucous cells during metamorphosis and the alcianophilia were stronger at pH 1.0 than at pH 2.5.

3. The mucus neck cells, which appear after metamorphosis XXIV, exhibited a strong PAS-positive reaction and weak alcianophilia at metamorphosis XXIV but at metamorphosis XXV weak reactivity to PAS and strong alcianophilia at pH 1.0.

*본 연구는 1975년도 문교부 학술연구 조성비로 이루어진 것임

서 론

척추동물 위장관내에 존재하는 점액질은 동물 자체의 점막을 물리적 또는 화학적으로 보호하고 먹이의 소화 및 흡수 기능을 원활히 이끄는 중요한 물질이다.

척추동물 위장관 점막 상피세포내 점액질을 분비하는 세포가 존재한다는 것은 Suchulze (1867)가 위 표면상피세포의 자유면에 미세과립으로 이루어진 점액질이 존재한다고 보고한 이래, 주로 포유류를 대상으로한 위장관 점막상피세포내 점액질에 관한 많은 연구가 행하여 졌다 (Spicer, 1960, 1963). 점액분비세포내 점액질은 조직화학적 및 자기방사법적인 방법으로 그 화학적인 조성을 밝혀, 중성 점액질과 산성 점액질로 대별하고, 산성 점액질은 다시 황화와 비황화 점액질로 구분한다 (Spicer and Durvenci, 1964; Spicer *et al.*, 1965). 위장관내 점액질은 여러가지 자극 즉, 스트레스, 담관결찰, 하수체 적출, 부신적출, 당뇨병상태 및 마취상태의 각종 실험조건에서 현저히 감소된다고 알려진 바 있다 (이, 1970; 송, 1970; 김, 1972; 안 등, 1973; 심·배, 1972; 정, 1973).

양서류 위장관내 점액질은 Möllendorff (1932)와 Cowdry (1963)가 양서류의 위선경부에 점액을 분비하는 세포가 있다고 보고한 이후, Geuze (1971 a,b)는 *Rana esculenta*의 위점막을 광학 및 전자현미경으로 관찰하여 활동기와 동면기의 위점막 점액세포내 점액질의 변화를 밝혔으며, 정 등(1974)은 움개구리(*Rana rugosa*)의 위장관내 점액질을 동면전, 중, 후 및 활동기로 나누어 그 변화상태를 밝히면서, 양서류에서 위체부의 표면상피세포와 점액세포의 경우 주로 중성 점액질을, 소장내 배상세포에서는 중성 및 약산성 점액질을, 그리고 대장의 배상세포에서는 약산성 점액질을 분비한다고 하였다.

척추동물의 위장관내 점액질의 조성 및 그 분포상태를 명확히 규명하는에는 계통발생 및 개체발생에 따른 변화를 추구하는 것이 큰 의의가 있다고 사료되어 양서류의 초기발생이후 변태단계에 따른 위점막 상피세포 및 상피세포내 점액질의 조직화학적 변화에 관한 실험을 시행하였다.

재료 및 방법

본 실험에 사용된 재료는 서울 근교인 의정부지역에서 채집된 개구리 (*Rana nigromaculata* Hallowell)의 유생으로서 변태 I-XXV(Taylor and Kollros, 1946)의 각 단계 별로 5개체를 1 군으로 야외에서 채집 즉시 위체부의 소 절편을 10% formalin완충액(4°C)에 일정시간 고정한 후 paraffin에 포매하여 4 μ m 두께의 조직표본을 만들었다.

제작된 표본은 hematoxylin-eosin, periodic acid-Schiff (PAS), alcian blue pH 2.5 (AB pH 2.5), alcian blue pH 1.0 (AB pH 1.0)으로 염색하였으며, AB pH 2.5-PAS 및 AB pH 1.0-PAS의 중염색을 시행하여 경우에 따라 점액질 구분에 참고하였다 (Spicer and Henson, 1967; Spice *et al.*, 1967).

변태 각 단계에서 위체부 점액분비세포를 표면점액세포, 위소와(胃小窩)점액세포 및 점액세포로 구분하여 관찰대상으로 하였고, 각 염색에 따른 4 μ m 두께의 조직표본의 반응성을 표시하기 위하여 색조에 있어서 그 유무 및 농담의 정도에 따라 정색이 전혀 나타나지 않는것은 -, 겨우 양성으로 약하게 검출되는 것을 ±, 중정도의 양성을 보이는 것을 +, 강한 양성을 보이는 것을 ++으로 표시하였다.

결 과

양서류의 위체부를 이루는 조직은 발생진행에 따라 현저한 변화가 있었다. 초기발생이 후 변태과정중 변태 I~XVIII에서는 거의 비슷한 구조를 보여, 내강과 접하는 점막은 주름이 없는 단층원주상피로 된 표면상피와 결합조직으로 된 고유층으로 되며 그 하부는 근층 및 장막을 이루었다.

변태 XIX와 XX에서는 점막층이 발달하여 주름을 형성하기 시작하였으나 위선은 출현하지 않았다. 변태 XXI이 되면서 점막주름이 더욱 발달하면서 위소와를 이루며 위선이 출현하여 위소와점액세포와 점액경세포도 아울러 관찰되었고, 외근층도 현저히 발달하였으며, 특히 변태 XXII에서 XXV로 되면서 위선이 현저하게 발달하였다. 점액경세포가 분비기능을 보이는 것은 변태 XXIV 이후였는데 변태 XXV에서 변태 XXIV에서 보다 수적으로 현저히 증가하였다.

이들 변태 각 단계에서의 PAS반응 및 AB pH 2.5, pH 1.0 염색에 대한 표면점액세포, 위소와점액세포 및 점액경세포의 반응성을 보면 다음과 같다.

1. PAS반응

표면점액세포, 위소와점액세포 및 점액경세포에 대한 PAS반응은 표 1에서 보는 바와 같다.

Table 1. Reactions of PAS, AB pH 2.5 and AB pH 1.0 stains in the surface mucous, foveolar mucous and mucous neck cells of the gastric mucosae of the frog, *Rana nigromaculata*

Stage of metamorphosis	Surface mucous cells			Foveolar mucous cells			Mucous neck cells		
	PAS	ABpH2.5	ABpH1.0	PAS	ABpH2.5	ABpH1.0	PAS	ABpH2.5	ABpH1.0
XXV	##	+	+	##	±~+	+	+	+	+
XXIV	##	±~+	+	##	±~+	+	+	±	+
XXIII	##	±~+	±~+	##~##	±~+	±~+			
XXII	##	±~+	+	##~##	±~+	+			
XXI	##	+	+	##~##	+	±~+			
XX	##	+	+						
XIX	##	+	±~+						
XVIII	##	+	±~+						
XVII	##	+	±~+						
XVI	##	±~+	±~+						
XV	##	±~+	±~+						
I—XIV	##	±~+	±~+						

변태 각 단계에서 PAS반응에 대한 표면점액세포, 위소와점액세포 및 점액경세포의 양상을 보면 변태 1~XX에서 표면상피세포는 원주형으로 모두 비슷하였는데, 핵상부 핵막 인접 세포질에 점액성 과립들이 소량이지만 중등도의 양성반응을 보였고, 그 상부 세포질에는 점액성 과립들의 분포밀도가 핵막 인접부보다 적었으며, 어떤 세포에서는 거의 점액성 과립을 볼 수 없는 것도 있었다. 표면상피세포 자유면 인접 세포질에는 PAS반응에 강한 양성을 보이는 비교적 큰 점액성 과립들이 많이 모여 점액층을 이루었는데 부위에 따라 그 층의 두께는 차이를 보였다.

변태 XXI~XXIII의 경우 표면상피세포에서는 침부 세포질내 점액성 과립의 함량이

이전 단계에서 보다 증가하였고 부위에 따라 다소 차이를 볼 수 있었다. 위소와점액세포에서는 표면상피세포와 인접한 세포들은 표면상피세포에서와 거의 같은 양상이었으나, 위선에 가까워 질수록 세포내 점액질 함량이 감소하였다.

변태 XXIV와 XXV의 경우 표면상피세포와 위소와점액세포에서 핵상부 세포질에 큰 점액성 과립들이 다량 존재하여 컵모양의 점액괴(粘液塊)를 이루었는데, 변태 XXIV에서 보다 변태 XXV에서 세포내 점액질 함량이 많았고 부위에 따라 차이가 심하였으며, 위소와의 중부에 있는 점액세포들은 위소와의 상하부에 있는 점액세포들 보다 점액질 함량이 많음을 볼 수 있었다. 점액경세포는 난원형 혹은 원통형으로 위선이 형성되어 점차 발달되는 변태 XXI~XXIII에서는 분비기능을 보이지 않았으며 변태 XXIV와 XXV에서 핵상부 세포질에 비교적 균일하게 망상으로 존재하였다.

2. Alcian blue pH 2.5 · pH 1.0 염색

위표면점액세포, 위소와점액세포 및 점액경세포의 alcianophilia는 표 I에서 보는 바와 같다.

위소와점액세포는 변태 XXI이후에서 점막주름이 발달함에 따라 표면점액세포와 구별할 수 있었으며 점액경세포는 변태 XXIV이후에서 분비능을 보였다. 변태 각 단계에서 AB pH 2.5 및 AB pH 1.0 염색에 대한 표면점액세포, 위소와점액세포 및 점액경세포의 양상을 보면, 변태 I~XX에서 표면점액세포의 핵상부핵막 인접세포질은 비교적 균일하게 매우 약한 반응을 보였고, 자유면 인접세포질은 약간 강한 alcianophilia를 보였는데 AB pH 1.0에서 보다는 AB pH 2.5에서 alcianophilia를 보이는 점액질이 많았다.

변태 XXI~XXV의 경우 표면점액세포와 위소와점액세포에서 alcianophilia를 보이는 점액질이 이전 단계에서 보다 오히려 감소하는 경향이었으며, AB pH 1.0에서 보다는 AB pH 2.5에서 alcianophilia를 보이는 점액질이 다소 많았다. 점액경세포에서는 변태 XXIV에서 매우 약한 alcianophilia를 보이는 점액질이 매우 적었으며 변태 XXV에서는 AB pH 2.5 및 pH 1.0에서 전 세포질에 alcianophilia를 보이는 점액질이 망상을 이루었다.

고 찰

척추동물의 위장관 점막내 점액분비세포는 위에서 표면점액세포, 위소와점액세포 및 점액경세포를 들 수 있으며, 장에서는 장상피에 존재하는 배상세포를 들 수 있다.

양서류의 위 점막은 변태 XIX와 XX에서 주름이 형성되고 변태 XXI에서 위선이 출현하여 표면점액세포, 위소와점액세포 및 점액경세포들을 관찰할 수 있으며 변태 XXIV 및 XXV에서 이들의 기능 및 수적인 현저한 증가를 볼 수 있다.

척추동물의 위장관에서 분비되는 점액질중 Vic glycol군을 갖는 중성 점액질은 PAS반응에, 약산성 비황화점액질은 AB pH 2.5염색에, 그리고 강산성 황화점액질은 AB pH 1.0염색에 양성 반응을 보인다는 것은 여러 실험결과로 인정된다(Mcwry, 1963; Spicer, 1963; Spicer and Sun, 1967).

한편 Subbuswamy (1971)는 사람의 장에서 AB pH 2.5-PAS 중염시 배상세포는 소장에서는 적색 또는 자색을 보여 중성 점액질이 많고, 대장에서는 청색을 보여 산성 점액

질이 많다고 하였으며, Mowry와 Winkler (1956)는 균류에서 AB pH 1.0-PAS 중염시 황화된염질은 청색을, 황화점액질이 아닌 점액질은 적색을 나타낸다고 하였다.

양서류 위장관내 점액세포에 관하여 Geuze (1971)는 위체부 표면점액세포는 PAS에 강한 반응을 보이는 컵모양의 점액피를 지니며, 점액경세포는 포유류에서와는 달리 둥근 모양을 하며 Pyronin에 강한 친화성을 보이고 부분 분비를 한다고 하였다.

Lillibrige (1964)는 사람의 위체부 점막상피에 관한 전자현미경적 연구에서 점액세포는 핵상부에 전자밀도가 독특하게 점막된 점액성 과립들을 갖는데, 표면점액세포에서는 뚜렷하지만 위소와점액세포에서 점액경세포로 갈수록 이런 현상은 감소된다고 하였다.

본 실험의 양서류 위체부에서 표면점액세포의 경우 점막주름이 형성되기 이전이나 이후에도 분비물의 조성은 중성점액질이 주를 이루며, 약산성 및 강산성 점액질은 소량이었다. 위소와점액세포의 경우 세포내 점액질의 PAS 및 alcian blue 염색반응은 표면점액세포와 유사하나 위소와 하부, 즉 위선액 가까울수록 세포내 점액질의 소량인 반면 alcianophilia는 비록 약하지만 점차 강해졌으며, pH 2.5에서 보다는 pH 1.0에서 강한 alcianophilia를 보였는데, 이러한 것은 Lillibrige (1964)에 의한 사람에 의와 같았다.

점액경세포의 경우 변태 XXIV에서 난원형 혹은 통상형을 하였는데 전 세포질에 중등도의 PAS반응을 보이는 중성점액질과 약한 alcianophilia를 보이는 산성점액질로 되었으며, 변태 XXV에서는 PAS에 약양성 반응을 보이는 중성 점액질과 강양성 alcianophilia를 보이는 강산성 점액질이 전 세포질에 분포하였는데 이는 *Rana esculenta* (Geuze, 1971 및 움개구리(정 등, 1974)에서와 같았고, 점액경세포가 약간 강한 alcianophilia를 보인 것은 사람 (Lillibrige, 1964)과 박쥐 (Ito and Winchester, 1963)에서와 같았으나, 세포의 모양은 포유류와는 달랐다.

변태 XVIII에서부터 위점막이 주름을 이루기 시작하여 변태 XXI에서 위소와 및 위선이 출현하고, 변태 XXIV와 XXV에서 점액세포들이 현저히 발달하였는데 김과 정(1973)에 의한 변태XXIV, XXV에서 위장관내 은 친화성세포와 은 호성세포들이 현저하게 많이 출현하는 사실들로 미루어 변태 XXIV, XXV에서 점막의 분화가 왕성함에 따라 점액세포도 수적 및 기능적인 면에서 현저히 발달된다고 사료된다.

변태 XXV에서 위점막 점액분비세포내 점액양은 부위에 따라 다양성이었는데 이는 수서에서 양서류의 생활형태의 전환 및 체내 물질대사의 강화에 따른 점액물질의 합성 및 분비능의 강화로 사료된다.

요 약

양서류 발생에 따른 위점막 점액세포의 조직학적 및 조직화학적인 변화를 밝히고자 개구리 (*Rana nigromaculata*) 변태 각 단계의 위체부 조직을 10% formalin 완충액에 고정 (4°C), paraffin에 포매, 4 μ m 두께로 절편한후 periodic acid-Schiff (PAS) 및 alcian blue (AB) pH 2.5, pH 1.0에 반응시켜 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 위 표면점액세포내 점액질은 변태과정에 따라 특이한 변화없이 PAS에 강한 반응을 AB pH 2.5 및 pH 1.0에서는 약한 alcianophilia를 보였으며, 변태 XXIV와 XXV에서 세포내 중성 점액질의 함량이 현저히 증가하였다.

2. 위소와점액세포는 변태 XXI이후에서 볼 수 있었는데 PAS에 강한 반응을, AB pH 2.5 및 pH 1.0에서 약한 alcianophilia를 보였으나, AB pH 1.0에서는 AB pH 2.5에서 보다 강하였고, 변태 XXIV와 XXV에서 세포내 중성 점액질의 함량이 현저히 증가하였다.

3. 분비능을 보이는 점액질세포는 변태 XXIV이후인데 변태 XXIV에서는 PAS에 강양성을, AB pH 1.0에서는 약한 alcianophilia를 보였고, 변태 XXV 이후에는 PAS에 약한 반응을, AB pH 2.5에는 약하고 AB pH 1.0에는 중등도의 alcianophilia를 보였는데 이들 점액질은 전 세포질에 비교적 고르게 분포하였다.

참 고 문 헌

- 김동원, 1972. 하수체 적출과 몇가지 호르몬이 흰쥐위의 점액분비세포에 미치는 영향에 대한 조직화학적 연구. 가톨릭대학 의학부 논문집 22 : 63—75.
- 김한화·경영화, 1973. 개구리(*Rana nigromaculata*) 위장관 점막내의 은 친화성 세포와 은 호성세포에 대한 발생학적 연구. 동물학회지 16 : 119—126.
- 송태선, 1970. 담관결찰이 가토의 위 및 십이지장 점액분비 세포에 미치는 형태학적 영향. 최신의학 13 : 1011—1021.
- 심완식·배선환, 1972. 흰쥐 하수체 적출과 몇가지 호르몬이 결장점액세포에 미치는 영향에 대한 조직화학적 연구. 최신의학 15 : 71—79.
- 안의태·고봉호·이태규, 1973. 전신마취제가 마우스 위장관 점액분비세포에 미치는 영향. 대한 해부학회지 6 : 89—99.
- 이희래, 1970. 동통 및 결박 스트레스가 생쥐 십이지장 점막세포에 미치는 영향. 대한해부학회지 3 : 13—21.
- 정영화·노용태·김한화, 1974. 등면에 따른 옴개구리(*Rana rugosa*) 위장관 점액분비세포에 관한 조직화학적 연구. 동물학회지 17 : 69—80.
- 정희식, 1973. Alloxan당노병이 위장관 점액생성에 미치는 영향에 대한 조직화학적 연구. 가톨릭대학의학부 논문집 24 : 273—285.
- Cowdry, E. V., 1963. Special Cytology. Vol. 1, Hafner Publishing Co. New York pp. 201—223.
- Guze, J. J., 1971 a. Light and electron microscope observations on the gastric mucosa of the frog (*Rana esculenta*). I. Normal structure Z. Zellforsch. 117 : 87—102.
- Ito, S. and R. J. Winchester, 1963. The fine structure of the gastric mucosa in the bat. J. Cell Biol. 16 : 541—577.
- Lillibridge, C.B., 1964. The fine structure of normal human gastric mucosa. Gastroenterology 47 : 269—290.
- Möllendorff, W. V., 1932. Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen, Verdauungsapparat. Verlag von Julius Springer, Berlin. pp. 12—88.
- Mowry, R. W., 1963. The special value of methods that color both vicinal hydroxyl groups in the histochemical study of mucins. Ann. N. Y. Acad. Sci. 106 : 402—423.
- Mowry, R. W. and C. H. Winkler, 1956. The coloration of acid carbohydrates of bacteria and fungi in tissue section with special reference to capsules of *Cryptococcus neoformans*, *Pneumococcus* and *Staphylococcus*. Amer. J. Path. 32 : 628—629.

- Schulze, F.E., 1867. Epithel und Deüsenzellen. *Arch. f. mikr. Anat.* **3** : 137 (Cited from Cowdry, 1963).
- Spicer, S. S., 1960. A correlative study of the histochemical properties of rodent acid mucopolysaccharides. *J. Histochem. Cytochem.* **3** : 18—34.
- _____, 1963. Histochemical differentiation of mammalian mucopolysaccharides *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **106** : 379—388.
- Spicer, S. S. and D. C. H. Sun, 1967. The role of the mucous barrier in the defense of the stomach vs peptic ulceration: carbohydrate histochemistry of gastric epithelial secretions in dog. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **140** : 762—783.
- Spicer, S. S. and J. Durvenci, 1964. Histochemical characteristics of mucopolysaccharides in the salivary and exorbital lacrimal glands. *Anat. Rec.* **149** : 333—358.
- Spicer, S. S. and J. G. Henson, 1967. Methods for localizing mucosubstances in epithelial and connective tissues. In "Methods and achievements in experimental pathology" (Bajusz, E. and G. Jasmin, editors), Vol. 2, pp. 78—112. Kar ger, New York.
- Spicer, S. S., T. J. Leppi and J. G. Henson, 1967. Sulfate-containing mucosubstances of dog gastric mucosa. *Lab. Invest.* **16** : 795—802.
- Spicer, S. S., T. J. Leppi and P. J. Stoward, 1965. Suggestions for a histochemical terminology of carbohydrate-rich tissue components. *J. Histochem. Cytochem.*, **13** : 599—603.
- Subbuswamy, S. G., 1971. Patterns of mucin secretion in the human intestinal mucosa. *J. Anat.* **168** : 291—294.
- Taylor, A. C. and J. J. Kollros, 1946. Stages in the normal development of *Rana pipiens* larvae. *Anat. Rec.* **94** : 7—24.

EXPLANATION OF PLATES (X 525)

- Plate 1.** Gastric mucosa with epithelial cells showed PAS-positive reaction in apical portion in the tadpole at metamorphosis X stage. PAS-hematoxylin.
- Plate 2.** Gastric mucosa with epithelial cells showed PAS-positive reaction in the apical portion in the tadpole at metamorphosis XIX stage. PAS-hematoxylin.
- Plate 3.** Gastric mucosal folds with surface and foveolar epithelial cells showed PAS-positive reaction in the tadpole at metamorphosis XXIII stage. PAS-hematoxylin.
- Plate 4.** Gastric mucosa with strongly PAS-positive foveolar and weakly PAS-positive mucous neck cells in the tadpole at metamorphosis XXV stage. PAS-hematoxylin.
- Plate 5.** Gastric mucosa with surface epithelial cells showed weakly positive alcianophilia at pH 2.5 in the tadpole at metamorphosis XXIV.
- Plate 6.** Gastric mucosa with foveolar epithelial and mucous neck cells showed moderately positive alcianophilia at pH 1.0 in the tadpole at metamorphosis XXV stage.
- Plate 7.** Gastric mucosal folds with surface and foveolar epithelial cells showed strongly positive reaction to AB pH 2.5-PAS in the tadpole at metamorphosis XXIV stage.
- Plate 8.** Gastric mucosal folds with surface and foveolar epithelial cells showed strongly positive to AB pH 2.5-PAS in the tadpole at metamorphosis XXV stage.
- Plate 9.** Gastric mucosal folds with surface and foveolar epithelial cells showed strongly positive to AB pH 1.0-PAS in the tadpole at metamorphosis XXIV stage.

