

## 複合 Vitamin 過量投與로 인한 腎近位曲細尿管 上皮細胞의 微細構造變化

洪淳德 · 張仁浩

慶北大學校農科大學農化學科 · 慶北大學校農科大學獸醫學科

## Electron Microscopic Study on the Changes of the Epithelial Cells of Proximal Convolted Tubule due to Overdosage of Vitamin Complex

Soon-Duck Hong · In-Ho Jang

College of Agriculture, Kyung-Pook National University, Taegu, Korea

(Received December 24, 1977)

### Abstract

After administering overdosage of vitamin A, D & E to the matured female chicken, the changes of the epithelial cells of the proximal convoluted tubule were observed and the results were summarized as follows.

In the group treated with 2.5 ml of Rovisol, the mitochondria were slightly swollen and free ribosomes were mildly increased.

The mitochondria were more swollen, microvilli were somewhat irregular and fused chondriosphere were noted when the chicken were treated with 7.5 ml of Rovisol. When the thicken were treated with 12.5 ml of Rovisol the cell sap was markedly edematous so that the cellular organelles seemed to reduce. Also noted were chondriosphere and increased free ribosomes. According to the results of this study it is considered that the changes of the epithelial cells of proximal convoluted tubules of the matured hens after administering overdosage of vitamin complex are mainly cellular swelling and are reversible ones.

### 緒 論

Vitamin은 蛋白質, 脂肪 및 炭水化合物과 더불어 動物體가 正常的인 代謝機能을 유지하는데 必要不可缺한 有機物로서 그 作用機轉은 상당히 복잡하며 vitamin의 種類에 따라서 각기 다르다. (1,2,3)

Vitamin의 作用은 酵素나 hormone과 直接關聯

성은 있으나 vitamin은 주로 外部로부터 섭취되어야 하지만 酵素와 hormone은 動物體內에서 生成된다. Vitamin은 酵素的 構成 또는 活性化 및 助酵素로서 作用하며 vitamin이 不足되면 酵素作用이 원활치 못하여 生體內의 모든 代謝가 순조롭게 進行될수 없다. 그러므로 vitamin을 닭의 飼料에 適當量添加하여 飼育하던 幼雛에서는 發育促進을

成鷄에 있어서는 産卵이 促進되지만<sup>(4,5,6)</sup> 過量이나 適當量일지라도 長期間 投與하면 오히려 逆效果를 招來한다는것은 이미 잘 알려져 있다. Vitamin 을 必要以上 섭취했을 때는 vitamin 과잉증(hypervitaminosis)인 毒作用이 일어난다. 그러나 이것은 極히 多量을 섭취했을 때의 경우이고 실제로는 별문제가 되지 않는다고 알려져 왔지만 近來에 와서는 vitamin A, D의 과잉증이 주목되고 있다. Vitamin A 과잉증의 경우는 脫毛, 肝肥大 骨膜肥厚症이 나타나고 vitamin D 과잉증때는 血清 calcium의 增加, calcium 침착, 腎臟障病 및 血管硬化等の 症勢를 볼수있다.

그러므로 著者는 닭의 飼料添加劑로 使用하고 있는 Rovisol (vitamin A, D & E 複合劑)을 適當量 또는 過量投與했을 때 닭 腎近位曲細尿管上皮細胞의 微細構造에 어떤 變化가 일어나는가를 觀察코져 本實驗을 시도하였다.

## 實驗材料 및 方法

### 1. 實驗動物

市中에서 販賣되고있는 配合飼料로 飼育한 體重 2 kg 前後의 白色레그혼 암닭 8 首를 實驗動物로 使用하였다.

### 2. 實驗方法

1) 對照群 보통配合飼料로 飼育한 群

2) 實驗群 Group 1: Rovisol (vitamin A: 50,000 IU, vitamin D: 5,000 IU, vitamin E: 20 IU/ml)을 1 일 2.5 ml 投與群

Group 2: Rovisol을 1 일 7.5 ml 投與群

Group 3: Rovisol을 1 일 12.5 ml 投與群

3) 微細構造觀察試料製作法 前記한 各 group의 投與量을 飲料水 100 ml 에 溶解시켜 10日 間投與한 다음 腎臟組織을 切取하여 組織의 크기를 1 mm<sup>3</sup>으로 細切한 다음 2.5% glutaraldehyde 溶液과 0.1M Phosphate buffer (pH 7.4)에 0.25 M sucrose를 溶解시켜 만든 等張液을 使用하여 0°~4°C에서 1時間 固定한 후 buffre 液으로 glutaraldehyde를 充分히 洗滌해 내고 Palade 固定液<sup>(7)</sup>으로 0°~4°C에서 30分間 固定하였다. 脫水는 常法에 따라 ethyl alcohol의 graded solution으로, Penetration은 propylene oxide로 그리고 embedding은 Luft<sup>(8)</sup>方法에 依하여 Epon mixture로서 하였다. Cutting은 Poter-Blum Ultramicrotome MT 2B type로 glass knife를 使用하여 400~500 Å으로 薄切한 후 Reynolds<sup>(9)</sup>의 二重染色을하여 Hitachi-

Hu-11 C type 전자현미경으로 觀察하였다.

## 實驗結果

### 1. 對照群

核은 大體로 細胞體의 中心部에 位置해서 대체로 타원형이고 그 變연은 平滑하였다. Chromatin은 대체로 核전반에 均一하게 分布하여 euchromatin의 양상을 나타내나 核膜근처에서는 약간 농축되어 heterochromatin의 양상을 나타내었다. 核小體는 뚜렷하지 않았으나 어떤 細胞에서는 상당히 크며 微細한 섬유상 物質의 덩어리를 이루고 있었다. Mitochondria는 核 주변에 풍부 하였으며 원형, 난원형 혹은 곤봉형의 상당히 다양한 모양으로 섞여 있었으나 核上部에는 주로 원형내지 난원형, 核下部에는 주로 곤봉형이 많았다. Cristae는 比較的 조밀한 편이며 matrix의 electron density는 細胞質의 基質에 比하여 상당히 높은 편이었다. Ribosome은 細胞質전반에 고르게 散在해 있으며 이들은 대개 유리형이고 polysome을 形成하고 있었다. Rough-surfaced endoplasmic reticulum (rER)은 細胞質전반에 散在해 있으나 그 數는 比較的 적은 편이었고 모양은 대체로 관상을 나타내나 간혹 소포상을 나타내기도 하였다. Smooth-surfaced endoplasmic reticulum (SER)은 比較的 적은편이었고 細胞質전반에 散在해 있었다. Lysosome은 細胞質의 근데 근데에 比較的 많이 나타나며 대체로 전자밀도가 높은 均質한 內容物을 含有하고 있으나 어떤것은 空腔性 內容物을 含有하고 있기도 하였다. Golgi complex는 도처에 나타나며 어떤 細胞에서는 잘 發達해있으나 大部分의 細胞에서는 그 發達이 현저하지는 않았다. 細胞質 基質은 中정도의 전자밀도를 보이며 대체로 微細한 과립들로 充滿되어 있었다. 細胞質의 첨단부에는 무수한 microvilli로 덮혀있었으며 대체로 비슷한 직경 및 길이를 갖이고 있었으나 어떤 部位에서는 약간 불규칙 하기도 하였다. 이 microvilli 層下部는 比較的 細胞內 小器管이 없고 coated vesicle 들만 充滿한 層이 存在하였는데 이는 哺乳動物의 胃腸管粘膜細胞에서 보이는 terminal Web와 유사한 構造였다. 이 層의 넓이는 대체로 2,000~3,000 Å 사이였다. 이웃 細胞사이의 細胞間 間격은 대체로 150~200 Å으로 比較의 一定한 間격을 유지하였으며 근데 근데에서 desmosome의 形成을 인정할수 있었다. 細胞體의 기저부에는 기저층 細胞膜이 함몰하여 소위 basal intussusception을 形成하고 함몰부

사이의 細胞質에는 桿狀의 mitochondria 가 位置하였다. 그러나 이 構造는 哺乳動物에서 보이는것과 같은 정도에 이르지 않는았다. 이상과 같은 近位尿管上皮細胞의 構造는 Spargo<sup>(10)</sup> 및 그밖의 研究者들<sup>(11,12,13,14)</sup>의 結果와 유사하였다. (Fig. 1)

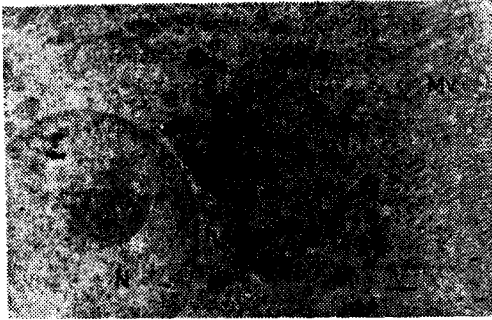


Fig. 1. Proximal Convolved Tubule, Kidney, Hen, Control. Nucleus(N) shows smooth margin and prominent nucleoli (Ni). In cytoplasm, various organelles such as mitochondria (M), Golgi complex and rER are well noted. Numerous microvilli (Mv) are present in left. X 4000

## 2. 實驗群

1) Vitamin A, D & E 1日 2.5 ml 10日間投與群細胞는 전체적으로 腫脹되어 細胞質內 小器管들이 상대적으로 감소한것같은 느낌을 주었다. Microvilli는 腫脹되어 不規則한 모양을 나타내었고 basal intussusception도 腫脹되어 細胞膜의 함몰이 덜 뚜렷하였다. 核에는 對照群에 比하여 별다른 異常所見을 認知할 수 없었다. 細胞質小器管에는 mitochondria의 輕微한 腫脹 및 rER의 膜으로부터 ribosome의 輕度의 脫落等を 볼수있었으나 유리 polysome, sER, Golgi 장치 等에는 義意있는 變化는 없었다. 細胞의 첨단부측 microvilli 下部 卽 哺乳類胃腸管의 上皮細胞에서의 terminal web에 相當하는 部分은 상당히 넓어져서 약 4,000~5,000 Å에 達하였으며 이곳에는 coated vesicle이 풍부하였으나 그 數는 對照群에 比하여 상대적으로 減少해있었다. (Fig. 2)

2) Vitamin A, D & E 1日 7.5 ml 10日間投與群細胞의 腫脹은 더 심하여 microvilli들은 거의 正常形態를 잃고 不規則한 모양으로 서로 엉켜있었다. 細胞質에도 腫脹이 심하여 基質이 훨씬 넓어지고 細胞內小器管들은 엉성하게 分布되어 그

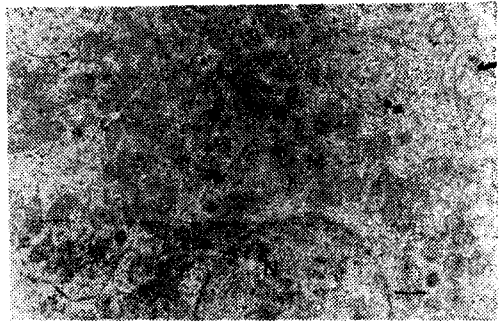


Fig. 2. Proximal Convolved Tubule, Kidney, Hen, Treated with Rovisol of 2.5ml. Mitochondria(M) are slightly swollen and somewhat irregular in shape. Free ribosomes are mildly increased. X 4000

數가 상당히 減少된것같은 양상을 나타내었다. Mitochondria는 中程度로 腫脹되고 어떤곳에서는 이들의 융합상을 나타내기도 하였으며 lysosome도 輕度로 增加하였다. 核은 대체로 圓形으로 나타났고 特記할만한 變化는 없었다. (Fig. 3)

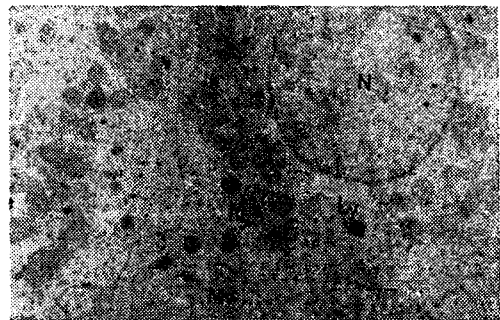


Fig. 3. Proximal Convolved Tubule, Kidney, Hen, Treated with Rovisol of 7.5ml. Nucleus (N) is rather intact. Mitochondria(M) are more swollen. In areas, some primary lysosomes(Ly) are noted. Microvilli (Mv) are somewhat irregular. X 4000

3) Vitamin A, D & E 1日 12.5 ml 10日間投與群細胞의 腫脹이 너무 심하여 胞胞質內에는 小器管들이 드문 드문 보일뿐 전자밀도가 낮은 基質이 거의 대부분을 차지하고 있었다. Microvilli는 腫脹되어 不規則한 모양으로 서로 엉켜 있었으며 胃腸管上皮細胞의 terminal web에 相當하는 部分

도 상당히 넓어져서 coated vesicle 및 다른 小空胞들이 分布되어 있었다. 細胞의 기저부측에는 basal intussuseption 이 거의 평평해져서 매끈하였다. rER 은 ribosome 이 脱落되어 smooth 한 것이 많았고 mitochondria 는 중정도로 腫脹되었다. (Fig. 4)



Fig. 4. Proximal Convoluted Tubule, Kidney, Hen, Treated with Rovisol of 12.5ml. Cell sap is markedly edematous so that cellular organelles seem to reduce. And also noted are chondriosphere(Ch) and increased free ribosomes. Brush border is slightly widened (lower left). X 4000

### 考 察

Vitamin 은 生體의 代謝作用에 關與하는 有機觸媒劑로서 特히 動物의 成長發育過程에서는 必要不可缺한 營養素이다. 現在까지 알려진 20여종의<sup>(15)</sup> vitamin 中에서도 A 와 D는 脂溶性으로서 缺乏에 依한 諸症狀 뿐만 아니라 過量 섭취時에도 여러가지 毒作用이 誘發됨으로 使用上 注意가 要求되고 있다. Vitamin A는 病的狀態가 아닌以上 體外로 排泄되지 않고 組織內에 蓄積되어 주로 肝 및 脾臟의 腫大를 이끄키며 vitamin D는 calcium 의 血中濃度を 높이므로 腎, 關節, 心筋 및 肺 등에 石灰症을 若起<sup>(16)</sup>시키는 등 이들 vitamin 의 過量 섭취시엔 여러가지 組織傷害의 症狀가 나타난다. 最近 養鷄의 企業的成長과 더불어 飼料의 成分配合에도 많은 研究가 進行되어 適當量의 vitamin 을 添加하여 飼育하면 幼雛에서는 發育이 促進되고 成鷄에 있어서는 産卵이 促進된다고 알려져 있다. 그러나 만약 過量投與時에는 오히려 逆效果가 나타날 것이라는 報告도 있어 學界의 注目이 되고 있다. 한편 腎臟은 全血量의 約1/4이 通過하는 主要臟器이며 特히 近位曲細尿管上皮細胞는 사구體에

서 濾過된 物質들의 再吸收 및 分泌의 機能을 가지기 때문에 血液內成分의 差異에 따라 가장 敏感하게 作用받는 細胞이다. 그래서 著者는 vitamin A, D 및 E 複合劑인 Rovisol 의 1日基準量을 (2.5 ml) 對照實驗群으로 하여 1日 7.5 ml 및 12.5 ml 를 10日間投與한 後 腎近位曲細尿管上皮細胞의 變化를 微細形態學적으로 檢索한 것이다.

本實驗成績을 總括하면 다음과 같다.

2.5 ml 基準量投與群에는 mitochondria 의 輕한 腫脹, rER 에서 ribosome 의 脱落等を 보였으며 7.5 ml 投與群에서는 이들 所見外에 內腔에 面한 microvilli 가 不規則하게 腫脹되어 있었고 가끔 lysosome 이 增加되어 있었다. 12.5 ml 投與群에서는 前述한 細胞內小器管들의 腫脹이 더욱 甚하여진 경향이었고 細胞基質에도 腫脹이 현저하게 나타났었다. 以上の 成績을 綜合하여 볼때 vitamin A 및 D의 過量投與로 因한 腎上皮細胞의 變化는 주로 細胞膜構造에 透過性의 異常을 招來한 것으로 推定된다. 卽 本實驗에서 投與量에 따른 程度의 差異는 있으나 各群共히 細胞基質을 비롯한 小器管들에 腫脹性 變性を 나타내고 있다. 腫脹性變性은 一般的으로 細胞傷害의 가장 初期의 變化로서 細胞膜의 透過性이 充進되거나 細胞內 energy 가 充分하지 못할때 볼수있는 可逆의 所見이다. 잘알려져 있는바와같이 細胞內에는 주로 potassium 과 magnesium 이 存在하며 細胞外에는 sodium 과 calcium 이 溶解되어 있어서 半透過性의 細胞膜을 사이에 두고 所謂 Gibbs—Donnan 平衡을 維持하고 있다. 그래서 正常狀態에서는 細胞內 sodium 이 蓄積되면 sodium pump 의 方法으로 能動的 排出을 하게되는 것이다<sup>(17)</sup>. 그러나 그 原因이 무엇이든간에 細胞에 傷害가 주어지면 mitochondria 에서의 oxidative phosphorylation 이 障礙되어 ATP生産이 저하되고 따라서 energy 가 不充分해지므로 細胞內에서는 sodium 을 排出할 能力이 없어져서 細胞는 腫脹性變性を 이끄키게 된다. 그러므로 細胞腫脹이 있을때 가장 敏感하게 反應하는 細胞內小器管은 역시 mitochondria 이며 Lucy等<sup>(18)</sup>도 vitamin A를 溶解시킨 試驗管內 實驗에서 mitochondria 의 腫脹이 제일먼저 일어남을 報告한바있다. 本實驗에서도 Rovisol 2.5 ml 를 投與한群에서 부터 mitochondria 의 腫脹이 若起되었으며 投與量이 增加함에 따라 腫脹의 程度는 더욱 甚하여지는 所見을 나타낸 點으로 보아 上記한 說明에 符合되는 것이라 할수있다. 그러나 Jnoff 및 McCluskey<sup>(19)</sup>는 guinea

pig 에 過量의 vitamin A를 投與한 結果 acid phosphatase 의 activity 가 현저하게 減少되는것을 觀察하고 vitamin A에 依한 細胞의 腫脹은 細胞膜의 透過性亢進에 起因하기보다는 오히려 lysosome 膜의 不安定性에 依한 變化라고 說明하고 있다. 그러나 아직까지 여기에 對한 確實한 機轉은 알려져 있지 않으며 더욱이 本實驗成績만으로는 言及하기 어려운 問題라고 생각된다. 또 本實驗에서 나타난 輕度의 lysosome 增加는 그 形態가 대부분 primary lysosome 이었으므로 破壞된 小器管을 消化處理하기 위한 增加하기 보다는 腫脹性變性에 수반된 適應反應으로 봄이 타당할것 같다. 가끔 rER의 膜으로부터 ribosome 이 脫落되어 있으며 곳곳에서 rER이 擴張된곳이 있는데 이들 역시 細胞內 腫脹性變性에 따른 二次的 所見으로 生覺되어진다. 따라서 적어도 vitamin 의 過量投與에 依한 腎近位曲細尿管上皮細胞의 變化는 細胞活動의 核心인 蛋白合成에는 별다른 障礙를 주지않는 輕微한 適應反應이라 思料된다.

### 要 約

成熟雌鷄에 過量의 vitamin A, D 및 E를 投與하고 腎近位曲細尿管上皮細胞에 若起되는 微細構造의 變化를 觀察한바 그 結果를 要約하면 다음과 같다.

1日 2.5 ml의 基準量을 投與한 群에서는 mitochondria의 輕한 腫脹 및 rER에서 ribosome의 輕度의 脫落이 있으며, 7.5 ml 投與群에서는 細胞의 腫脹이 좀더 甚해져서 基質이 넓어져 보였고 mitochondria는 中等度의 腫脹을, 곳에 따라서는 서로 융합한 chondriosphere의 形成도 볼수있었다. 12.5ml 投與群에서는 上記한 所見들이 더욱 甚하여지는 傾向이었다.

以上的 研究結果로보아 vitamin 過量投與에 依한 腎近位曲細尿管上皮細胞의 變化는 細胞腫脹을 主로하는 輕微한 可逆的變化로서 成鷄에 對한 vitamin 過量投與는 腎近位曲細尿管上皮細胞에 큰 影響을 주지 않는것으로 思料된다.

### 參 考 文 獻

- 1) Harrow, B. and Mazur, A.: *Textbook of Biochemistry*, W. B. Saunders, Philadelphia (1968).
- 2) 藤田秋治外: 生化學, 養賢堂 (1970).
- 3) 韓仁圭, 申相柱: 家畜營養學, 文運堂 (1967).
- 4) 須藤 浩: 飼料學講義, 養賢堂, 79 (1970).
- 5) 韓仁圭: 家畜營養學, 集賢社 (1968).
- 6) Ray Ewing: *Poultry Nutrition*, Ray Ewing Book Publishing Co., California (1962).
- 7) Palade, E. S.: *J. Exp. Med.*, **95** 285 (1952).
- 8) Luft, J. H.: *J. Biophysic. and Biochem.*, **9**, 409 (1961).
- 9) Reynolds, E. S.: *J. Cell Biol.*, **17**, 208 (1963).
- 10) Spargo, F. H.: *Structure of Kidney, The Kidney*, The Williams and Wilkins Co., Baltimore, **8**, 18 (1966).
- 11) Fujibayashi, T.: *The Cell*, **7**, 15 (1975).
- 12) 坂口 弘: 電子顯微鏡による細胞組織圖譜Ⅲ, 泌尿器, 醫學書院 (1967).
- 13) Sakaguchi, H.: *The Cell*, **14**, 2 (1972).
- 14) 高木文一, 鈴木昭男: 마우스正常尿管各部의 電子顯微的研究, 日腎誌, **3**, 53 (1961).
- 15) 李根培外: 生化學, 博愛出版社, 146 (1971).
- 16) Beeson, P. B., and McDermott, W.: *Textbook of Medicine*, 1447~1448, W. B. Saunders, Philadelphia (1971)
- 17) Robbins, S. L., and Angell, M.: *Basic Pathology*, 16, W. B. Saunders, Philadelphia (1967).
- 18) Lucy, J. A., Luscombe, M., and Dingle, J. T.: *J. Biochem.*, **89**, 419 (1963).
- 19) Janoff, A., and McCluskey, R. T.: *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.*, **110**, 586 (1962).