

## 家畜 및 實驗動物 消化管腺의 構造에 관한 연구 II. 哺乳 mouse 腸粘膜의 細胞再生週期에 대하여

郭 守 東  
경상대학교 수의과대학  
(1991. 10. 20 접수)

### Studies on the digestive gland structures of domestic and experimental animals II. The renewal cycle of the cells in the intestinal mucosa of suckling mouse

Soo-dong Kwak  
College of Veterinary Medicine, Gyeongsang National University  
(Received Oct 20, 1991)

**Abstract :** The turnover time of the mucosal epithelium in the small intestine(jejunum and ilium) and large intestine(cecum), and the cells in the lamina propria of the small intestine was investigated with the radioautography in mice at various times after single injection of  $^3\text{H}$ -thymidine.

Twenty suckling mice were sacrificed at each of the following time intervals after injection : 2 hrs, 1, 3, 5, 7, 14 and 17 days.

1. The labeled index of the epithelial cells in the crypt and the villus of the small intestine averaged 98.7% and 1.3% at 2 hrs, 98.2% and 1.8% at 1 day, 18.7% and 81.3% at 3 days, 6.3% and 93.7% at 5 days, respectively. The labeled index of the epithelial cells of the crypt-base, the upper-crypt and the mucosal surface in the large intestine averaged 71.8%, 28.2% and 0% at 2 hrs, 45%, 54.2% and 0% at 1 day, 17.2%, 54.5% and 28.2% at 3 days, 10.2%, 32.4% and 57.4% at 5 days, respectively. This result suggested that the turnover time of all the epithelial cells migrating from crypts to villi in the direction of the villus tips was calculated to be less than 5 days, and also the longest turnover time was calculated to be no longer than 7 day.

2. The labeled index of the total cells in the lamina propria of the small intestine averaged 6.2-7% at 2 hrs to 5 days, 4.7% at 7 days 2.6% at 17 days and this index is tend to be decreased moderately at 7 days and severely at 17 days. So this result suggested that the turnover time of the cells with the shorter cycle duration in the lamina propria of the small intestine were less than 5 days and that of the cells with the longer cycle duration more than 17 days.

**Key words :** autoradiography, intestine, mucosa, turnover time, mouse.

### 緒 論

動物의 조직을 구성하는 세포들 중에서 성숙된 動物의 神經細胞, 腎絲球體細胞 등은 어릴때를 제외하고는 평생동안 분열하지 않는 休止期에 있으면서 그 기능을 유

지하며 만약 變性壞死되면 再生 보충되지 않고 다른 종류의 細胞로 대체된다.<sup>1</sup>

성숙한 동물에서도 肝臟, 腎臟, 脾臟 등의 實質細胞와 筋細胞 등은 상당기간 有絲分裂이 일어나고 새로 발생된 세포들도 기존 세포들과 같이 계속 그대로 보존되

어진다.<sup>1,2</sup> 그의 신체내 대부분의 세포는 일정 生存期間이 경과하면 변성 탈락되고 새로운 세포가 再生되어 대치됨이 연속되고 있다.<sup>3-16</sup> 그 예로 赤血球는 120일정도<sup>1</sup>, 小腸의 Paneth세포는 23일 정도<sup>4</sup>, 白血球는 3~5일 정도,<sup>1</sup> 睪丸의 曲細精管 上皮는 15일 정도<sup>5</sup>, 脾臟의 導管 上皮細胞는 81일~168일 정도<sup>6</sup>면 변성 탈락되고 새로운 세포로 대치된다.

小腸 및 大腸의 上皮를 구성하는 세포는 腸腺陰窩(crypts)의 基底部의 幹細胞가 분열 증식되어 新生되는데<sup>17</sup> Paneth세포 만든 小腸腺의 陰窩基底部에서 하루로 이동하여 소멸되지만<sup>3-5,8,9,13</sup> 그의 세포들은 小腸絨毛 첨부로 이동한후 탈락 소실하게 된다고 한다.<sup>3-10</sup> 小腸 上皮 세포에 대하여는 腸腺陰窩基底部에서 형성된 후에 첨부로 이동하여 탈락 소실할때까지의 소요기간은 보고자에 따라 또 세포의 種이나 부위에 따라 차이가 많다.<sup>3-10,13,18</sup>

有絲分裂를 하는 세포는 DNA를 合成하는데 이때 <sup>3</sup>H-thymidine을 주입하면 DNA와 결합하여 분열세포의 核內에 silver granules을 보유하여 出現하게 되므로 이러한 방법을 이용하여 조직의 再生과 소멸에 대하여 관찰하고 있는 실정이다.<sup>16</sup>

본 연구는 mouse의 小腸과 大腸에서 세포분열이 일어나는 부위와 분열된 세포의 이동, 소멸되는 주기의 양상을 관찰코자 하는데 있다.

### 材料 및 方法

哺乳중인 mouse(ICR, 6~8g 정도)20마리에 <sup>3</sup>H-thymidine(Du Pont Co, specific activity 2.0 Ci/mM) 1m Ci의 원포장에 생리적식염수 10ml를 가하여 회석한후 哺乳중인 mouse 체중 1g 당 5μ Ci씩 복강내 오전 10시에 주사하고 Table 1과 같이 경과일자별로 부검하여 大腸과 小腸 등 몇 개의 장기를 10% 중성 formalin에 고정하고 통상방법과 같이 paraffin 切片을 만들어 脫 paraffin 하거나 또는 고정조직을 그대로 동결절편을 만들었다. 다음 N.R.M<sub>2</sub> emulsion(Konica)을 1:1 용량으로 증류수를 가하여 40℃로 1~2시간 豫熱하여 液化한 후 조직절편을 暗室에서 침지하고 emulsion에 coating된 조직 slide는 방습제와 함께 밀폐된 상자에 넣어 밀봉하여 4℃의 냉암소에서 4주~6주간 감작시킨 후 暗室에서 20℃가 되도록한 Kodak D-19 現象液에 4~5분간 침지하여 현상한 후 다시 증류수에 水洗하고 Kodak 속성 定着液에 수분간 침지하여 고정한 후 다시 증류수에 수세하고 cresyl echt violet 또는 hematoxylin으로 대조염색을 하고 mount하여 핵내 silver granules을 보유한 세포의 出現양상을 관찰하였다.

### 結 果

腸粘膜炎 上皮의 분열 이동을 관찰하기 위하여 小腸部는 空腸과 回腸을 대상으로 하여 Table 2과 같이 종주로 대부분이 나타난 腸腺陰窩(Liberkühn crypt)와 絨毛들 중에서 腸腺陰窩에서 絨毛의 높이까지로 4등분하였다. 즉, 小腸의 腸腺陰窩의 全部位와 그리고 小腸絨毛는 底部, 中間部, 上部의 3부로 구분하였다. 각 부위별 구분관계는 형태적으로 확대 또는 협소의 명확한 차이가 없는한 균등한 거리간격으로 하였다. 大腸은 盲腸을 대상으로 하여 腸腺陰窩는 基底部와 上部로 2등분하고 그의 表面部를 별도로 구분하여 조사였다.

小腸은 粘膜炎 上皮細胞중 짙은 색의 silver granules이 농축되거나 10개이상 다량 함유하여 有絲分裂의 표지가 된 세포(이하 표지된 세포)의 分布比率를 조사하였던 바 주입후 2시간째(Fig 1, 2)는 腸陰窩部에 98.7%, 腸絨毛部에 1.3%, 1일째는 腸陰窩部에 98.2%, 腸絨毛部에 1.8%, 3일째(Fig 3)는 腸陰窩部에 18.7%, 腸絨毛部에 81.3%였다. 3일째의 경우 絨毛의 부위별로는 底部에 6.9%, 中間部에 16.6%, 上部에 57.8%로 표시된 上皮細胞들은 주로 腸絨毛 上部에 주로 분포되어 있었다. 5일째는 표지가 된 세포수가 많이 감소되어 대부분의 세포의 지속기간이 5일 이하임을 알 수 있는데 腸陰窩部에 6.3%, 腸絨毛部 93.7%였고, 絨毛의 부위별로는 底部에 2.2%, 中間部에 67.9%, 上部에 23.6%로 絨毛의 中間部 이상에 91.5%가 분포되어 대부분이 腸絨毛 上部로 이동되어 있었고, 7일째 부터는 표지가된 세포가 소멸되고 관찰되지 않았다. 그러므로 소장점막 상피세포들은 발생후 粘膜炎 表面으로 탈락되는 소요기간이 5일 이하이며 최장기간이 7일을 초과하지 않음을 알 수 있었다.

大腸은 盲腸(Fig 4, 5)을 대상으로 하여 腸腺陰窩는 基底部와 上部 그리고 粘膜炎 表面部의 3부로 구분하여 관찰하였다. 大腸 粘膜炎 上皮중에서 有絲分裂의 표지가 된 세포들의 分布比率는 주입후 2시간째(Fig 4) 大腸腺陰窩의 基底部에 71.8%, 腸陰窩의 上部에 28.2%였고, 1일째는 基底部에 45.8%, 上部에 54.2%였고, 3일째(Fig 5)는 基底部에 17.2%, 에 上部에 54.5%, 表面에 28.

Table 1. Experimental design

Biopsy time after <sup>3</sup> H-thymidine injection	Number of suckling mouse tested
2hours	2
1day	3
3day	3
5day	3
7day	3
14day	4
17day	2
Total	20

**Table 2.** Distribution of epithelial cells labeled in mucosa of mouse intestine at various times after a single injection of  $^3\text{H}$ -thymine

Hours after injection	Small intestine						Large intestine			
	Total	Crypts	Villi				Total	Base	Upper	Surface
			Subtotal	Lower	Middle	Top				
2hrs	100*	98.7	1.3	0.5	0.8	·	100	71.8	28.2	·
1days	100	98.2	1.8	0.8	0.7	0.3	100	45.8	54.2	·
3days	100	18.7	81.3	6.9	16.6	57.8	100	17.2	54.5	28.3
5days	100	6.3	93.7	2.2	67.9	23.6	100	10.2	32.4	57.4

\*: % of labeled epithelial cells

**Table 3.** Percent of labeled cells in lamina propria of samll intestinal villi of mouse at various times after a single injection of  $^3\text{H}$ -thymidine

Hours after injection	Total	Lower	Middle	Upper
2hours	6.2	5.7	6.4	6.5
1day	6.8	13.6	6.0	3.8
3day	6.3	8.6	5.9	5.2
5day	7.0	4.8	7.8	9.1
7day	4.7	4.2	3.1	4.2
14day	3.7	4.7	3.6	2.9
17day	2.6	2.5	3.0	2.2

3%로 上部와 粘膜表面에 82.8%가 분포되어 있었다. 5일째는 표지된 세포수가 급속히 감소하여 基底部に 10.2%, 上部에 32.4%, 粘膜表面에 57.4%로 上部와 粘膜表面에 89.8%가 분포되어 있었고 7일째 부터는 관찰되지 않았다. 따라서 이들 세포들이 발생된 후 全上皮細胞가 粘膜表面으로 탈락되는 소요기간이 5일 이상 7일 이하임을 알 수 있었다.

小腸粘膜 固有層內 세포의 分裂 및 消長사항을 관찰하기 위하여 小腸絨毛를 底部, 中間部, 上部 등 3部位로 구분하고 固有層內 모든 세포종에 有絲分裂의 표지가된 세포의 비율을 조사하였던 바 Table 3과 같이  $^3\text{H}$ -thymidine 주입후 粘膜固有層의 전체 세포종에 2시간째는 6.2%, 1일째는 6.8%, 3일째는 6.3%, 5일째는 7.0%, 7일째는 4.7%, 14일째(Fig 6)는 3.7%, 17일째는 2.6%로 7일째 부터는 전체 세포종에 표지된 세포수의 비율이 감소되었으나 17일째에도 아직 일부 세포가 잔존하고 있었고 기간이 경과함에 따라 표지된 세포들이 絨毛의 부위별로 일정한 比率의 차이가 없어 이동상을 인정할 수 없었다.

### 考 察

放射線 自記法에서 有絲分裂를 하는 세포가 DNA를 合成할때 나타나는 核內顆粒數의 기준에 대하여는 El-alfy et al<sup>10</sup>은 3개 이상, Meyer와 McGeachie<sup>19</sup>은 4개 이상,

Tsubouch와 Leblond<sup>15</sup>는 5개 이상, Saoff et al<sup>20</sup>은 8개 이상을 가진 세포를 新生된 세포로 간주한 바 있고, 짙은 색의 顆粒을 많이 가진 세포는 DNA合成이 가장 많은 시기의 세포라고 하였다. 본 연구에 사용한 NR-M<sub>2</sub> emulsion은 다른 제품보다 顆粒이 미세한 반면 수가 많으므로 10개 이상을 보유하고 顆粒의 농도가 일정수준 이상으로 짙게 표지된 세포를 分열된 세포로 산정하였다.

消化器官 粘膜上皮細胞는 腸腺의 陰窩에서 분화 증식한 후 Paneth 세포만은 陰窩의 하부로 이동하나<sup>4,9,15</sup> 그의 세포들은 絨毛의 첨부로 이동한 후 탈락됨이 연속되며<sup>3-10, 15</sup>, 신생된 후 소실되는 주기에 대하여 mouse 胃에서 胃腺陰窩의 첨부 세포가 Lee 및 Leblond<sup>12</sup>는 16.1시간, Lee<sup>11</sup>는 2.98일이라고 하였다. mouse의 大腸에서 Thra-sheer<sup>4</sup>는 나이가 증가할수록 소실되는 주기가 길어지는데 그 원인은 複製前期(G 1기)의 연장때문이라고 하며 가장 짧은 어린 mouse가 15시간이며 老衰한 mouse는 19~21시간이라고 하였다. 小腸에서 Uddin et al<sup>18</sup>은 2~3일, Cheng<sup>6-8</sup>은 세포의 種에 따라서 차이가 있으나 평균 3~5일, 大腸에서 Tsubouchi와 Leblond<sup>15</sup>는 세포종에 따라 다르게 8.2일과 23.3일간 지속되는 세포도 있다고 보고한 바 있다.

본 관찰에서는 전체 上皮細胞數에 관계없이 腸粘膜에서 日時別 경과에 따른 부위별 표지세포만의 分布比率를 조사하였으나  $^3\text{H}$ -thymidine 주입후 5일째는 표지된 세포수가 현저히 감소되었음을 확인할 수 있었고 부위별 分布比率도 小腸에서는 腸陰窩部에 6.3%, 腸絨毛部에 93.7%였고, 장용모에서도 특히 中間部와 上部에 91.5%가 집중되었다. 大腸에서도 5일째에 陰窩의 基底部에는 10.2% 뿐이었고, 上部와 表面部位의 합이 89.8%로서 대부분의 표지된 세포가 윗 부위로 분포되어 있음을 알 수 있고, 7일째는 小腸과 大腸의 모두에서 표지된 세포가 관찰되지 않아 모든 腸上皮細胞의 지속기간은 7일 이하임을 알 수 있었다. 이 결과는 Tsubouchi와 Leblond<sup>15</sup>의 腸上皮細胞 지속기간인 8.2일과 23.3일 보다

粘膜固有層내는 여러종의 固走細胞와 遊定細胞가 있는 째았으나 그외의 보고에 보다는 길었다.

으나 본 연구에서 표지된 세포들은 固定細胞인 細網細胞, 纖維母細胞, 內皮細胞 등인 것으로 믿어지며 이들 세포들의 持續期間에 대하여 보고된 바는 없다.

본 조사에서는 小腸粘膜, 固有層을 絨毛의 높이에 따라 3부위로 구분하고 고정세포와 遊走細胞의 전체 세포중에 표지된 세포의 比率을 조사한 바 경과일자별로 표지된 세포들이 5일째까지는 6.2%~7% 範圍로 일자별로 부위에 따라 段階的인 변동사항이 없어 같은 위치에서 再生 消長되고 있음을 알 수 있었고, 7일째는 4.7%로 약간 감소하는 경향이 있었고, 17일째에도 2.6%로 현저히 감소되었으나 계속 殘存하고는 있었다. 이로 보아 固有層내 固定細胞 등도 계속 교체되고 있으나 지속기간은 最小 5일정도 最長은 17일이상으로 粘膜上皮細胞 보다 오래 지속하고 있음을 알 수 있었다.

### 結 論

放射線 自記法으로 mouse 小腸과 大腸粘膜에서 세포 분열이 일어나는 부위와 분열된 세포의 이동 소멸되는 양상을 관찰하기 위하여 哺乳 mouse에  $^3\text{H}$ -thymidine을 주입하여 경과기간 별로 有絲分裂의 표지가된 세포(이하 표지된 세포)들의 分布比率을 조사하였던 바 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 小腸에서 腸陰窩部和 腸絨毛部の 표지된 세포들의 分布比率은 주입후 2시간째는 98.7%와 1.3%, 1일째는 98.2%와 1.8%, 3일째는 18.7%와 81.3, 5일째는 6.3%와 93.7%였다. 大腸에서 腸腺陰窩의 基底部和 上部 그리고 粘膜表面部の 分布比率은 주입후 2시간째는 基底부에 71.8%, 上部에 28.2%였고, 1일째는 基底부에 45.8%, 上部에 54.2%였고, 3일째는 基底부에 17.2%, 上

部に 54.5%, 表面에 28.3%였으며, 5일째는 基底部 10.2%, 上部 32.4%, 表面 57.4%였다. 이상으로 보아 哺乳 mouse 小腸과 大腸粘膜 全上皮細胞는 腸陰窩의 基底部에서 粘膜表面으로 이동하여 탈락할때까지의 지속기간은 5일 이하였고 최장 7일을 초과하지 않았다.

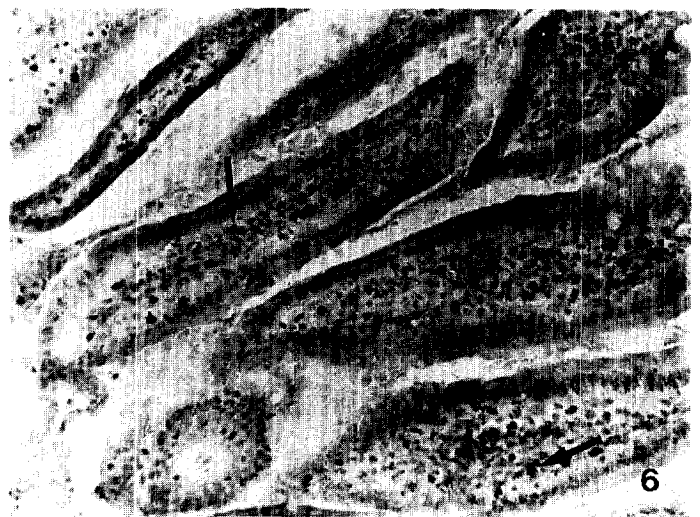
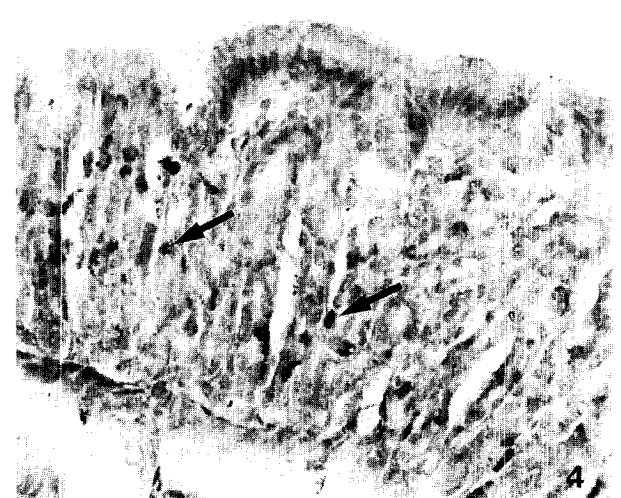
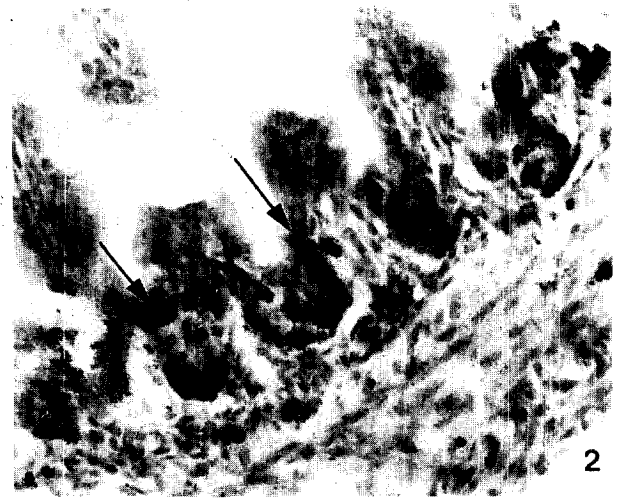
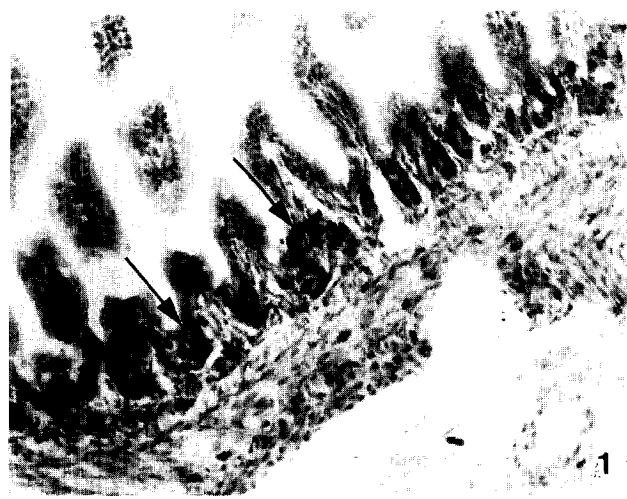
2. 小腸粘膜 固有層내 전체 세포중 표지된 세포들의 比率은 5일째까지는 6.27%로서 경과일자별로 차이가 없어 같은 위치에서 再生 消長되고 있음을 알 수 있었으며, 7일째 4.7%로서 약간 감소하였고, 17일째는 2.6%로서 소수만이 잔존하고 있어 이들 세포들의 지속기간은 最小 5일에서 最長 17일이상 지속하였다.

### 參 考 文 獻

1. Dellmann and Brown. Digestive system in Textbook of veterinary histology. 3rd ed. Lea and Febiger. Philadelphia. 1987; 29~32 and 209~254.
2. Tsubouchi S, Kano E, Suzuki H. Dynamic features of duct epithelial cells in the mouse pancreas as shown by radioautography following continuous  $^3\text{H}$ -thymidine infusion. *Anat Rec* 1986; 214: 46~52.
3. Bjerknes M, Cheng H. The stem-cell zone of the small intestinal epithelium. I. Evidence from Paneth cells in the adult mouse. *Am J Anat* 1981; 160: 51~63.
4. Bjerknes M, Cheng H. The stem-cell zone of the small intestinal epithelium. II. Evidence from Paneth cells in the newborn mouse. *Am J Anat* 1981; 160: 65~75.
5. Cheng H, Leblond CP. Origin, differentiation and renewal of the four main epithelium cell types in the

### Legends for figures

- Fig 1.** Numerous labeled epithelial cells(arrows) are concentrated in the crypts of the small intestine at 2 hours after  $^3\text{H}$ -thymidine injection. Hematoxylin counterstain. X 50.
- Fig 2.** Numerous labeled epithelial cells(arrows) on higher magnification of the crypts in Fig 1 are seen. Hematoxylin counterstain. X 125.
- Fig 3.** The labeled epithelial cells(arrows) are seen on the middle region of the villi in the small intestine at 3 days after  $^3\text{H}$ -thymidine injection. Cresyl echt violet stain. X 50.
- Fig 4.** The labeled epithelial cells(arrows) are seen in the crypts of the large intestine at 2 hours after  $^3\text{H}$ -thymidine injection. Cresyl echt violet stain. X 125.
- Fig 5.** The labeled epithelial cells(arrows) are seen in the free surface and the upper-crypt of the large intestine at 3 days after  $^3\text{H}$ -thymidine injection. Hematoxylin counterstain. X 50.
- Fig 6.** The labeled cells(arrows) are seen in the lamina propria of the villi of the small intestine at 14 days after  $^3\text{H}$ -thymidine thymidine injection. Hematoxylin counterstain. X 50.



- mouse small intestine. I. Columnar cell. *Am J Anat* 1974;141 : 461~480.
6. Cheng H. Origin differentiation and renewal of the four main epithium cell types in the mouse small intestine. II. Mucous cell. *Am J Anat* 1974;141 : 481~502.
  7. Cheng H. Origin differentiation and renewal of the four main epithium cell types in the mouse small intestine. III. Entero-endocrine cells. *Am J Anat* 1974;141 : 503~520.
  8. Cheng H. Origin, differentiation and renewal of the four main epithial cell types in the mouse small intestine. IV. Paneth cells. *Am J Anat* 1974;141 : 521~536.
  9. Cheng H. Leblond CP. Origin, differentiation and renewal of the four main epithial cell types in the mouse small intestine. V. Unitarian theory of the origin of the four epithial cell types. *Am J Anat* 1974;141 : 537~562.
  10. EL-Alfy M, Leblond CP, Lee ER. Dynamic histology of the antral epithium in the mouse stomach : V. Proliferation gradient from the gland base to the isthmus at various times of the day. *Am J Anat* 1987;178 : 65~71.
  11. Lee ER. Dynamic histology of the antral epithium in the mouse stomach : I. Architecture of antral units. *Am J Anat* 1985;172 : 187~204.
  12. Lee ER, Leblond CP. Dynamic histology of the antral epithelium in the mouse stomach : II. Ultrastructure and renewal of isthmal cells. *Am J Anat* 1985;172 : 205~224.
  13. O'connor TM. Cell dynamics in the intestine of the mouse from late fetal life to maturity. *Am J Anat* 1966;118 : 525~536.
  14. Thrasheer JD. Age and the cell cycle of the mouse colonic epithelium. *Anat Rec* 1967;157 : 621~626.
  15. Tsubouchi S, Leblond CP. Migration and turnover of entero-endocrine and caveolated cells in the epithelium of the descending colon, as shown by radioautography after continuous infusion of <sup>3</sup>H-thymidine into mice. *Am J Anat* 1879;156 : 431~452.
  16. Tsubouchi S. Kinetic analysis of epithelial cell migration in the mouse descending colon. *Am J Anat* 1981;161 : 239~246.
  17. 광수동, 이수선, 문은경. 가축 및 실험동물 소화선의 구조에 관한 연구. I. 돼지 맹장 및 결장 장선의 구조에 관하여. *대한수의학회지* 1990;30(1) : 1~8.
  18. Uddin M, Altmann G G, Leblond C P. : Radioautographic visualization of difference in the pattern of (3H)uridine and (3H)orotic acid incorporation into the RNA of migrating columnar cells in the rat small intestine. *J Cell Biol* 1984;98 : 1619~1629.
  19. Meyer GT, McGeachie JK. Angiogenesis in the developing corpus luteum of pregnant rats; A stereologic and autoradiographic study. *Anat Rec* 1988;222 : 18~25.
  20. Skoff RP, Price DI, et al. Electron microscopic autoradiographic studies of gliogenesis in rat optic nerve. I Time of origin. *J Comp Neur* 1976;159 : 313~334.