

신장 상해물질이 생쥐 사구체결세포의 미세구조에 미치는 영향

박경호 · 김상철 · 안의태 · 고정식 · 양남길
순천향대학교 의과대학 해부학교실

Ultrastructural Influence of Nephrotoxic Agents on the Juxtaglomerular Cells of Mice

Park Kyung-Ho, Kim Sang-Chul, Ahn E-Tay
Ko Jeong-Sik and Yang Nam-Gil
Dept. of Anatomy, Soonchunhyang University College of Medicine
(Received October 1, 1996)

ABSTRACT

This experiment was performed to study the ultrastructural changes of the juxtaglomerular cell of mice following subcutaneous injection of heavy metallic agents. Male mice were divided into normal and experimental groups. The mice were subcutaneously injected with HgCl_2 (2 mg, 5 mg or 10 mg/Kg/BW) or with $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ (5 mg, 10 mg or 20 mg/Kg/BW). Mice were sacrificed on 6 hours, 3 days and 14 days after the injection. Kidneys were fixed in the 2.5% glutaraldehyde-1.5% paraformaldehyde solution, followed by refixation in the 1% osmium tetroxide solution. Dehydrated blocks were embedded in araldite mixture. The sections were cut on a LKB-V ultratome, and ultrathin sections stained with uranyl acetate and lead citrate were observed with JEM 100CX II electron microscope.

The results were as follow:

1. Juxtaglomerular cell of the experimental groups showed some alterations, especially in the structures of protein synthesis including dilations and degradations of granular endoplasmic reticula, atrophy of Golgi complex, and numerous free ribosomes in the cytoplasm.
2. Juxtaglomerular cells treated groups showed a number of vacuoles, protogranules and some myelin figures in the cytoplasm, especially in the earlier groups.
3. Juxtaglomerular cells of treated groups, contained a large number of secretory granules showing variable electron densities and pleomorphism in later groups (2 weeks).

From the above results, it was concluded that, the mercuric chloride or potassium bichromate induces acute renin release from juxtaglomerular cells of the mice, but many juxtaglomerular cells may secrete prematured secretory granules, or the synthetic system

of the cell can not perform normal function.

Key Words : Nephrotoxic agents, JG cell, Mouse, Ultrastructure

서 론

1925년 Ruyter가 최초로 생쥐신장 사구체맥관극의 수입사구체소동맥벽에 과립을 가진 세포군이 있음을 보고한 후, Goormaghtigh (1939, 1940)는 집토키에서 이들 근상피양세포의 위치와 형태로 보아 사구체결세포(Juxtaglomerular cell)라고 하였으며, 사구체결세포는 혈압상승에 작용하는 물질인 renin을 생산하는 것으로 밝혀졌다(Edelman & Hartroft, 1961; Celio & Iganami, 1981; Taugner *et al.*, 1982; Taugner *et al.*, 1984).

포유류의 신장사구체결세포를 포함하는 주요 구조단위로서 사구체결장치(juxtaglomerular apparatus)라는 용어가 쓰이고 있는데, 사구체의 수입사구체소동맥과 수출사구체소동맥에 있는 사구체결세포, 혈관사이막(mesangium) 및 치밀반(macula densa)으로 구성되어 있다. 이들 가운데서 사구체결세포는 수입사구체소동맥과 수출사구체소동맥벽의 중막에 위치하며, 치밀반은 사구체혈관극에 접하고 있는 원위곱슬세관의 상피세포 집단이고, 혈관사이막은 신장소체의 혈관극과 수입 및 수출사구체소동맥사이에서 사구체속에까지 존재하는 무과립성 세포이다(Barajas & Latta, 1970; Barajas, 1970; Hackenthal *et al.*, 1990).

사구체결세포의 과립에 들어있는 renin은 단백질분해 효소로서 혈장의 angiotensinogen이 angiotensin으로 변화된 후 작용하여 angiotensin I을 형성하고, angiotensin I으로부터 전환된 octapeptide인 angiotensin II는 aldosteron의 분비를 자극하여 요세관 내에서의 염분과 수분의 재흡수를 증가시킴으로써 혈액량과 혈압이 상승하는 일련의 renin-angiotensin-aldosteron system을 형성한다(Hackenthal *et al.*, 1990; Tobian, 1960; Vander, 1967; Hartroft, 1968; Taylor, 1977).

사구체결세포의 과립분비조절기전에 대하여서는 1) 수입사구체소동맥에 가해지는 압력에 따라 사구체결세포의 과립량에 변화가 생긴다는 신장내압력수용설(Tobian, 1960; Reeves & Sommers, 1965; Fray, 1976), 2) 원위곱슬세관을 통과하는 액체내의 Na^+ 농도(Vander, 1967; Thurau, 1964) 혹은 Cl^- 농도(Kotchen *et al.*, 1978; Kotchen *et al.*, 1983)변화가 치밀반을 통하여 사구체결세포에 영향을 준다는 치밀반설, 3) 사구체결세포 및 치밀반에 분포하고 있는 교감신경계의 작용을 강조한 교감신경계설(Ganong, 1972; Forssmann & Taugner, 1977), 4) 사구체혈관사이세포에서의 체액평형관계(fluid balance)가 사구체결세포에 영향을 준다는 체액조절설(Rosivall & Tauger, 1986)등 여러 가지 이론으로 설명하고 있다.

신장상해물질 중 중금속물질들은 일단 인체에 섭취되면 쉽게 배설되지 않고 체내에 축적되어 형태적 또는 생리적 부작용을 일으킨다. 특히 중금속은 인간이 만들거나 파괴할 수 없는 점에서 다른 독성물질들과는 다르다.

수은은 농업 및 산업분야에 널리 사용되어 왔으며 인체에 대한 독성에 관심을 갖게 된 것은 일본에서 Minamata병이 보고된 이후이다. 수은은 원소로서 뿐 아니라, 무기화합물이나 유기화합물로 존재하며 이온화된 수은은 독성이 있다. 특히 신장은 무기수은이 많이 축적되는 장기이며, 유기수은은 대뇌 중에서도 뒤쪽 대뇌피질에 많이 축적된다. 수은은 신장의 근위곱슬세관에 작용하여 빈뇨(oliguria)나 무뇨(anuria)상태를 일으킨다. 염화제이수은($HgCl_2$)은 sulfhydryl group, phosphoryl group 또는 carboxyl group 등에 결합하여서 효소활성에 억제적으로 작용하여 주로 간, 신장 및 소화관에 상해를 주며 대사과정이 비교적 빠르다(Oliver *et al.*, 1951).

크롬(chromium)은 지구상에 풍부한 원소로서 산화 정도에 따라 2가에서 6가까지 존재하는데 3가 크롬이 가장 흔하며, 3가와 6가 크롬이 생물체에 영향을 줄 수 있다. 3가 크롬은 6가 크롬으로 전환되지 않지만, 6가 크롬은 3가 크롬으로 환원되어 쉽게 세포막을 통과하여 세

* 이 논문은 1995년도 순천향대학교 학술연구비 지원에 의해 연구되었음.

포 내에서 독성을 나타낸다. 정상 인체 내에서 크롬이 가장 많이 축적된 곳은 RNA이나 그 곳에서 크롬의 역할이 무엇인지는 알려져 있지 않다(Goyer, 1991). 6가 크롬을 가진 중크롬산칼륨($K_2Cr_2O_7$)은 주로 신장, 간장, 소화관 및 호흡기에 상해를 주며 특히 신장기능에 이상을 초래하여 당뇨와 단백뇨가 생긴다. 동시에 수분의 재흡수 기능이 떨어져 24시간 이내에 오줌의 양이 4배 가량 증가한다(Hewitt et al., 1991). 이와같은 중금속 물질들은 신장의 경우 부위에 따라 상해 정도에 차이가 있지만 주로 근위곱슬세관에 손상을 입히는 것으로 알려져 있다(Ruegg et al., 1987).

신장에서 혈류량의 약 80%가 피질부위를 흐르며, 따라서 중금속물질이나 외부의 이물질이 혈류를 타고 이동되어 수질부위보다 피질부위의 기능을 변화시킬 기회가 더 많다. 근위곱슬세관 세포들은 사구체 여과액을 농축하는 흡수능력이 크기 때문에 중금속 물질이 혈류를 따라 들어 올 경우 이 부위의 세포들이 고농도의 중금속에 노출된다. 중금속 물질이 신장세포에 축적되면 직접 상해를 일으키던가 혹은 일련의 대사과정을 거쳐 독성을 나타낸다(Davis & Berndt, 1994).

세포에 대한 직접 상해는 사립체의 효소에 영향을 주거나, 중금속 물질이 단백질의 중요부위에 공유결합을 하거나, 지질의 과산화작용을 일으켜 세포에 손상을 준다. 중금속류의 간접 상해로서는, 화학물질이 신장의 자율신경계에 직접 작용하여 신장의 혈류를 변화시키거나, 신장사구체의 사구체결세포에서 renin을 분비하여 angiotensin계를 자극하여 혈관을 수축시켜 신장부위의 혈류량을 감소시키게 되므로 조직에 손상을 주게 된다.

중금속물질이 신장조직에 상해작용을 일으키는 기전으로는 첫째, 사구체결세포에서 renin이 분비되므로 혈관을 수축시켜서 신장을 순환하는 혈류량이 감소됨에 따라 산소 공급량이 감소되므로 급성신부전이 발생하며, 둘째는 근위곱슬세관 세포에 중금속물질이 침착 축적됨에 따라 근위곱슬세관 세포들이 손상을 입어 괴사하게 되어 신장질환이 발생한다고 한다.

이와 같은 괴사현상은 신장의 혈관이 수축함에 따라 신장내의 혈액순환이 감소되어 신장조직이 빈혈상태에 빠지기 때문에 발생하는데, 처음 괴사되는 부위를 비교하면 염화제이수은을 투여하면 근위곱슬세관의 곧은 부위(pars recta)에서 많이 발생하며, 크롬을 투여했을 때는

근위곱슬세관의 곱슬부분에 먼저 작용한다(Lock, 1993).

이 실험에서는 중금속 물질 가운데 염화제이수은과 중크롬산칼륨이 함유된 물질이 혈압과 혈액량을 조절하는 물질인 renin을 분비하는 신장의 사구체결세포의 미세구조에 미치는 영향을 연구하였다.

재료 및 방법

이 실험에 사용한 동물은 체중 20~25 g 되는 건강한 ICR계 수생쥐였으며, 신장상해물질로 택한 중금속은 염화제이수은($HgCl_2$)과 중크롬산칼륨($K_2Cr_2O_7$)이었다. 실험동물은 정상군과 중금속투여군으로 구별하였고, 중금속투여군은 염화제이수은군과 중크롬산칼륨군으로 나누었다. 중금속투여군중 염화제이수은군은 투여량에 따라 체중 Kg당 2 mg, 5 mg 및 10 mg 투여군으로, 그리고 중크롬산칼륨군은 체중 Kg당 5 mg, 10 mg 및 20 mg 투여군으로 세분하였다. 염화제이수은과 중크롬산칼륨은 다같이 주사용 증류수에 녹여 2% 용액으로 만들어 실험동물의 등에 피하주사하였으며, 이들 중금속투여군 동물은 투여후 6시간, 3일 및 2주일 후에 도살하였다.

각 군의 실험동물은 단두 도살하였으며, 도살직후 신장의 피질부위에서 소편의 조직을 절취하여 2.5% glutaraldehyde-1.5% paraformaldehyde 혼합액(0.1 M Millonig's phosphate buffer, pH 7.3)으로 일차고정하였고, 이어서 1% osmium tetroxide액(0.1 M Millonig's phosphate buffer, pH 7.3)에 이차고정하였다. 고정이 끝난 조직편은 alcohol과 acetone으로 탈수한 후 araldite혼합액에 포매하였다. 포매된 조직으로부터 1 μ m 두께의 절편을 만들어 0.1% toluidine blue로 염색하였고, 이 절편표본을 광학현미경으로 관찰하여 사구체결세포가 나타나는 곳을 확인하였다. 그리고나서 사구체결세포가 있는 부위를 택하여 LKB-V ultratome으로 60~70 nm 두께의 초박절편을 작성하였고, 이 절편을 uranyl acetate와 lead citrate로 염색한 후 JEM 100 CX II 전자현미경으로 관찰하였다.

결 과

1. 정상군 사구체결세포

정상군 동물의 피질에서 사구체결세포는 사구체에 근접하여 있는 수입사구체소동맥의 중간막에서 관찰되었으며 기저막으로 둘러 싸여 있었다. 핵은 핵막 합입이 다양하게 이루어진 불규칙한 모양으로 편재되어 있었으며, 이질염색질 (heterochromatin)이 핵의 변두리에 많이 모여 수레바퀴의 테두리 모양을 하고 있었고 뚜렷한 핵소체도 관찰되었다.

과립형질내세망, 사립체 및 리보소체 등은 세포질 전반에 고루 분포되어 있었는데, 특히 과립형질내세망은 주로 소포상으로서 내강은 넓고 티끌같은 물질로 차 있었다. 골지복합체와 중심소체는 핵에 근접하여 위치하였다. 사구체결세포에서 근세사는 세포질 주변부에 주로 분포하였으며 세포의 중앙부에서는 거의 관찰되지 않았다. 사구체결세포의 특징적인 구조물인 분비과립, 즉 renin을 함유한 과립은 그 모양과 전자밀도가 다양한 편이지만 일반적으로는 둥글며, 균질의 미세과립상 바탕에 짙은 수초상구조물이 들어있는 독특한 구조를 보였다. 분비과립은 핵 주위에서 세포질이 여유있는 곳에 많으며 세포질돌기에서도 이따금 볼 수 있었으며 과립의 크기는 지름이 약 $1\mu\text{m}$ 정도이었다 (그림 1, 2).

2. 실험군

1) 염화제이수은 투여군

같은 실험군에서도 사구체결세포에 따라서 분비과립의 형상과 크기가 매우 다양하였으며, 대체적으로 투여량보다는 시간경과에 따라 비슷한 변화의 경향을 보였다.

염화제이수은 투여후 6시간군에서는 상당수의 사구체결세포들이 독특한 변화를 보였으나, 많은 다른 세포들은 정상군과 비슷한 모양을 보이기도 했다. 가장 뚜렷한 변화를 보인 구조는 과립형질내세망과 분비과립이었다. 과립형질내세망의 수조는 정상군의 것보다 매우 좁아지고 리보소체가 탈락된 경우가 많았으며, 세포질안에는 리보소체가 증가하면서 세포질의 전자밀도가 높아졌다. 분비과립들은 전자밀도가 매우 다양해져서, 전자밀도가 가장 낮은 것은 과립형질내세망 속의 물질과 거의 같은 전자밀도를 보였으며, 전자밀도가 높은 것은 정상군의 것과 같았다 (그림 3, 2 mg, 6시간군). 일부 세포에서는 중등도의 전자밀도를 보인 분비과립들이 서로 융합하여 엉긴 모습을 보이는데 (그림 4, 5 mg, 6시간군), 심한 경우에는 거대과립의 모양이 다각형 또는 부정형으로서 특

특한 모양으로 변하기도 하였다 (그림 5, 10 mg, 6시간군). 그런데 이들 분비과립안에는 수초구조물이 없거나 변형된 것이 눈에 띄었다.

3일군에서 몇몇 세포에서는 세포질안에 세관상의 형질내세망이 증가하였고, 거대과립이 출현하였다. 거대과립 가운데 어떤 것은 그속에 많은 공포가 생기거나 부분용해의 모습을 보이기도 했다 (그림 6, 5 mg, 3일). 심한 변화를 보인 세포에서는 거대과립의 막이 일부 소실되고 그 속에는 균질한 물질 대신 미세한섬유상 물질이 차 있는가 하면, 분비과립이 빠져나간 것으로 보이는 세포막의 굴곡 부분이 그대로있는 외분비형태의 분비모습도 보였다 (그림 7, 10 mg, 3일).

2주일군에서는 역시 정상군의 세포와 비슷한 세포들이 많았으나 상당수의 세포내분비과립은 보다 다양한 융합현상을 보여서 매우 불규칙한 모양으로 변하기도 하였다. 또 어떤 과립은 심한 공포화변성을 보였다 (그림 8, 2 mg, 2주일). 어떤 세포는 세포질의 전자밀도가 매우 높은 가운데 골지복합체는 심하게 위축되었으며 어떤 과립은 전자밀도가 진한 중심부와 주변의 밝은 부분으로 형성된 이중밀도 구성을 보이기도 했고, 전자밀도가 낮은 저밀도과립이 서로 융합하기도 했다 (그림 9, 5 mg, 2주일).

2) 중크롬산칼륨 투여군

중크롬산칼륨 투여후 6시간군에서도 정상군의 것과 비슷한 사구체결세포도 많았으나 상당수의 세포는 독특한 변화를 보였다. 과립형질내세망의 수조가 확장되고 전체적으로 세포질의 전자밀도가 낮은 밝은 세포가 있는가하면, 과립형질내세망의 수조는 좁고 세포질의 전자밀도가 매우 높은 어두운 세포가 인접하여 출현하였다. 전자밀도가 낮은 밝은세포의 분비과립은 전자밀도가 고르고 모양과 크기가 비슷한 반면, 전자밀도가 높은 어두운 세포의 분비과립은 전자밀도, 모양 및 크기가 다양하였고, 세포질안에는 뚜렷한 수초상구조가 나타나기도 하였는데 이들 세포의 분비과립안의 수초구조는 변형되었거나 소실되었다 (그림 10, 5 mg, 6시간). 어떤 세포에서는 과립형질내세망의 수조가 크게 확장되고 그 속이 전자밀도가 높은 물질로 가득 차 있었다. 이런 세포의 분비과립은 전자밀도가 낮은 뿐 아니라 경계막이 애매하고 서로 융합되는 경향을 보였다. 또 세포질 안에는 이차용해소체들이 상

당수 출현하였다(그림 11, 10 mg, 6시간). 변화가 가장 심한 세포에서는 세포질 일부가 큰 공간으로 변했으며, 그 속에는 미세섬유상 물질로 차있었는데 이런 경우 세포질의 전자밀도가 매우 높아서 분비과립의 전자밀도와 차이가 없었다(그림 12, 20 mg, 6시간).

3일군에서는 전자밀도가 높은 사구체결세포의 수가 증가하며, 대체로 골지복합체가 위축되었다. 어떤 세포의 분비과립들은 심한 공포변성을 보였고, 과립의 모양도 매우 불규칙 하였다(그림 13, 5 mg, 3일).

2주일군에서도 전자밀도가 높은 세포가 많았으며, 이들 세포의 분비과립은 매우 크고 모양이 불규칙하였고, 세포질의 상당부분이 변성되어 미세섬유상 물질로 차있는 큰 공간을 이루는 것이 자주 관찰되었다(그림 14, 10 mg, 2주일).

고 찰

정상군 생쥐의 사구체결세포는 수입사구체소동맥의 중간막안에 위치하고 있으며 기저막으로 둘러 싸여 있었다. 핵은 핵막의 만입이 심하여 불규칙한 모양을 하고 한편으로 편재되어 있으며 과립형질내세망, 사립체 및 리보솜체들은 세포질 전반에 고루 분포되어 있었으며 분비과립은 크고 둥근 성숙분비과립을 함유하고 있었으며 근세사는 사구체결세포의 주변부에서 관찰되었는데 이와같은 결과는 다른 연구자들의 결과와 같았다(Latta & Maunsbach, 1962; Biava & West, 1966a; Tsuda *et al.*, 1971; Bucher & Kaissling, 1973; 김 진, 1985).

사구체결세포의 과립은 그 성숙과정에 따라 3가지로 나눌 수 있다. 첫째 성숙초기의 것인 초기과립(proto-granule)은 마름모형 또는 방추형으로서 결정형 구조가 규칙적으로 나타나며 골지복합체의 내강 혹은 주위에서 관찰되며, 두번째로는 여러 개의 결정형 구조가 하나의 과립속에 합쳐있는 둥근 모양의 중합과립(conglomerate granule)이 되는데, 이때까지도 과립내에 결정형 구조는 존재한다. 세번째는 성숙과립으로서 난원형이거나 과립이 융합되어 막대형으로 보이기도 하고, 과립내에 전자밀도가 높은 물질이 균일하게 포함되어 있으며 결정형 구조는 관찰되지 않는다. 성숙한 과립에서 결정형구조가 나타나지 않는 것은 이들 과립들이 수화(hydration)되거나 효소의 작용에 의한 것이라 하였다(Barajas &

Latta, 1965; Barajas, 1966; Cain & Kraus, 1976; 김재봉과 권홍식, 1978).

Taugner와 Metz(1986)는 성숙한 과립은 마름모형의 결정형구조를 가진 초기 과립이 융합되어 중합과립을 형성한 후 만들어지거나 또는 전자밀도가 낮고 둥근 모양의 미성숙과립(juvenile granule)이 융합되어 만들어진다고 했는데, 결정형구조를 가진 초기과립이 관찰되는 것은 극심한 자극을 받아 renin의 생산이 비정상적으로 급격히 이루어질때 일어나는 현상이라고 주장하였다.

본 실험에서도 중금속 투여후 3일군 이후에서 마름모꼴의 초기과립이 Golgi복합체 주변에서 자주 관찰되는 것은 중금속의 자극으로 사구체결세포에서 renin의 생산이 활발히 일어났다는 것을 뜻하며, 정상군에서 성숙초기형태인 결정형 구조를 가진 과립들이 관찰되지 않았고 과립의 전자밀도가 거의 일정하였는데, 이는 과립의 생성이 서서히 일어나고 방출도 적어서 성숙초기형태의 모습이 관찰될 확률이 적기 때문에 생긴 결과라고 생각된다.

중금속 투여후 후기군에서 과립의 전자밀도가 다양하며 과립의 융합현상이 관찰되는 등 과립의 성숙과정의 모든 형태가 다양하게 관찰되었다는 사실은 과립의 생산이 급격히 증가하였으나 방출은 적기 때문이라고 해석할 수 있다.

사구체결세포의 과립은 renin을 함유하고 있을 뿐만 아니라 다른 효소들도 함유하고 있어 용해소체의 특징을 나타내고 있다(Taugner & Metz, 1986; Gomba *et al.*, 1967; Nemes *et al.*, 1976).

Taugner 등(1986b)은 사구체결세포 과립내에 cathepsin D라는 용해성효소가 함께 존재하여 renin의 분비를 조절하는 과립내분해작용으로 과잉 생산된 renin을 제거한다고 하였다. 한 과립내의 전자밀도가 일부분은 낮고, 일부분은 높은 것은 과잉생산된 renin을 가수분해시키는 과정의 형태학적 표현이라 생각된다.

사구체결세포 과립내의 전자밀도가 낮은 과립에 대하여 Barajas와 Latta(1965)는 성숙과정중 초기의 것이라 하였고, 김재봉과 권홍식(1978)은 말기의 것이라 하였다. 한편 Tsuda(1969)는 성숙된 과립이 배출될 때는 주변부의 전자밀도가 약해진 후, 점차로 과립전체의 전자밀도가 낮아진다고 하였다.

Taugner 등(1986a)은 미성숙과립안의 전자밀도가 낮은 물질은 불활성 renin이며 cathepsin B라는 효소에

의해 활성 renin으로 변화되어 전자밀도가 높은 성숙한 과립으로 된다고 주장하였다.

renin의 생성을 심하게 자극시키면 사구체결세포의 과립이 증가할 뿐만 아니라, 수입사구체소동맥의 중간막에 있는 평활근세포내에 분비과립이 출현하여 사구체결세포로의 이행형 모습을 띠우는 세포가 관찰된다고 한다(Bucher & Kaissling, 1973; Biava & West, 1966b; Cantin *et al.*, 1977). 일반적으로 사구체결세포는 수입사구체소동맥의 중간막에 위치하고 있으며 사구체에서 10~40 μm 떨어진 곳까지 존재하는데 동물의 종이나 병리생리적 조건에 따라 변화한다고 한다. 즉 renin을 생산하는 세포가 존재하는 부분은 자극의 강도에 따라 길어지거나 짧아지게 되어 사구체결세포의 수가 늘거나 줄게 된다고 한다(Hackenthal *et al.*, 1990).

본 실험에서 중금속 투여초기군에서 근세사의 부착부가 사구체결세포의 세포막에 나타나며, 분비과립을 적은 수 함유한 이행형세포들이 사구체에서 멀리 떨어진 수입사구체소동맥에서도 많이 관찰되었는데 이는 중금속투여로 인해 renin생성이 많이 요구됨으로 새로운 사구체결세포가 필요하게 되어 사구체결세포가 비정상적으로 많아졌음을 나타내는 형태적 표현이라 생각된다. 또한 실험군의 사구체결세포내에 중심소체가 자주 관찰되며 세포질 돌기가 줄어들고 세포가 난형형의 모습을 띄어 세포가 다소 커져보였으며 핵의 모양도 둥글고 이질염색질이 많은 세포들이 나타나는데, 이와같은 사실은 Tsuda 등(1971)이 흰쥐의 발생과정중 사구체결세포에서 중심소체가 자주 관찰된다고 하였고, Peter 등(1974)은 흰쥐의 사구체결세포가 비대될때 세포분열모습과 중심소체가 많이 관찰된다는 결과에 비추어 볼 때 사구체결세포의 증식상태와 연관이 있다고 생각된다.

사구체결세포에서 분비과립의 분비방식은 외분비(exocytosis), 용해소체연관분비(lysosome-dependent mode of excretion), 분비물질의 세포질내 용해(intracytoplasmic solubilization of the secretory product)와 원형질막이 세포질내로 함입되어 분비과립 근처까지 들어와 분비되는 방법이 있다고 하였으며, 그 흔적으로 수초상 구조물이 세포사이 공간이나 세포질내에서 관찰된다고 하였다. 일반적으로는 이러한 현상은 정상 상태에서는 잘 관찰되지 않고 커다란 자극을 받은 후의 급격한 분비시 주로 관찰된다고 하였다(Hackenthal *et*

al., 1990).

본 실험에서 중금속투여후 초기군에서 외분비현상의 모습이 관찰되는 것은 사구체결세포가 분비과립을 급격히 분비하기 때문에 나타나는 현상이라 생각된다.

사구체결세포는 활발한 내분비활동에 알맞게 골지복합체와 과립형질내세망이 발달하였는데, 특히 과립형질내세망은 일반적으로 소포상 구조를 띄고 있다. 실험군에서도 많은 사구체결세포는 골지복합체와 과립형질내세망이 발달되어 있었으나, 상당수의 세포에서는 뚜렷한 미세구조적 변화를 보였다. 이들 변화를 보인 세포들에서는 일반적으로 골지복합체는 위축되고 과립형질내세망들은 탈과립화(degranulation), 소포화(vesiculation), 세망확장(dilatation) 등의 변화를 보였다. 세망의 확장이 심한 경우는 세포질의 상당부분을 차지하여 소위 cytoplasmic lake(Ghadially, 1988)를 형성하였다. Ghadially(1988)에 따르면 이같은 변화는 주로 독성물질을 투여한 실험동물의 간세포에서 흔히 보는 현상이며, 광학현미경에서 말하는 "cloudy swelling"의 배경이 되기도 한다. 이와같이 과립형질내세망이 심하게 확장된 모습을 보이는 세포들 가운데 섬유모세포, 연골세포, 활액세포, 형질세포들은 세포내에 과립을 많이 저장하며, 과립형질내세망 속에도 분비물을 축적하는 경우가 있는데, 이를 설명하는 가설로는 1) 분비과립의 합성기능이 왕성하여 운송기능의 감당능력을 초월하는 경우, 2) 과립형질내세망의 형태 이상이나 효소 이상으로 운송기구의 기능저하, 3) 비정상적인 분비과립이 생성되어 운송기구가 운반시키지 못하는 경우 등을 들고 있다(Ghadially, 1988).

본 실험에서 변화를 보인 세포가운데 상당수는 과립형질내세망이 심하게 확장되었으며, 확장된 수조의 속에는 정상군의 것보다 전자밀도가 높은 물질이 차 있었다. 또 과립 가운데 상당수는 전자밀도가 낮아서 형질내세망의 수조 속의 물질과 같은 전자밀도를 보였다. 이와같은 현상은 Ghadially(1988)의 가설에 비추어 생각해보면, 과다생산, 운반기구의 손상, 분비기능 이상 등을 생각할 수 있다. 독성물질이 renin의 분비를 촉발한다는 사실과 사구체결세포의 과립생성에 관여하는 미세구조의 변화를 보면 분비과립이 미성숙상태에서 분비되거나, 과립생성기구의 합성기능의 변화로 불완전한 성숙상태를 보인 과립이 증가하는 것 같다. 따라서 본 실험의 결과로 볼 때

염화제이수은이나 중크롬산칼륨을 투여하면 사구체결세포 가운데 상당수는 합성기능의 장애 또는 미성숙과립의 방출을 일으킬 수 있다고 생각된다.

결 론

본 실험은 중금속 물질이 생쥐의 신장사구체결세포의 미세구조에 미치는 영향을 알아보기 위하여 시행하였다. 성숙한 숫생쥐 (체중 20~25g)를 실험동물로 사용하였으며, 정상군과 중금속투여군으로 나누었다. 중금속투여군은 투여량과 종류에 따라 염화제이수은(HgCl_2)투여군(2 mg, 5 mg, 10 mg/Kg/BW)과 중크롬산칼륨($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$)투여군(5 mg, 10 mg, 20 mg/Kg/BW)으로 나누어, 중금속 투여 후 6시간, 3일 및 2주 후에 도살하여 조직을 절취하였다. 중금속투여는 생쥐의 등쪽에 1회 피하주사하였다.

각군 동물의 신장피질로부터 소편의 조직을 절취하여 2.5% glutaraldehyde-1.5% paraformaldehyde액으로 일차 고정된 후, 1% osmium tetroxide액에 이차고정하였으며, 고정이 끝난 조직은 alcohol과 acetone으로 탈수한 후 araldite혼합액에 포매하였다. 포매된 조직은 LKB-V ultratome으로 60~70 nm 두께의 얇은 절편을 작성하여 uranyl acetate와 lead citrate로 염색한 후 JEM 100 CX II 전자현미경으로 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 염화제이수은과 중크롬산칼륨을 투여한 실험군의 사구체결세포는 단백질합성기구인 과립내형질네세망의 수조확장과 탈과립현상, 골지복합체의 위축과 세포질 속에서 많은 자유리보소체가 관찰되었다.
2. 염화제이수은과 중크롬산칼륨을 투여한 초기실험군의 사구체결세포에서는 세포질에 많은 수의 소포, 초기과립 및 수초상구조물이 관찰되었다.
3. 염화제이수은과 중크롬산칼륨을 투여한 후기실험군의 사구체결세포는 분비과립의 모양과 전자밀도가 다양하였다.

이상의 결과를 종합하면 염화제이수은과 중크롬산칼륨은 생쥐 신장의 사구체결세포에서 renin의 분비를 자극하여 급격한 분비를 일으키기 때문에, 사구체결세포는 미성숙과립을 분비하거나 사구체결세포의 합성기구가 정

상기능을 발휘 못하는 것 같다.

참 고 문 헌

- 김재봉, 권홍식, 1978. 마우스 Juxtaglomerular cell의 발생에 관한 전자현미경적 관찰, 가톨릭대학의학부 논문집 31, 219-237
- 김진, 1985. Streptozotocin을 투여한 흰쥐의 Juxtaglomerular cell의 미세구조, 최신의학 28, 481-490
- Barajas L, 1966. The development and ultrastructure of the juxtaglomerular cell granule, J. Ultrastruc. Res. 15, 400-413
- Barajas L, 1970. The ultrastructure of the juxtaglomerular apparatus as disclosed by three dimensional reconstructions from serial sections: The anatomical relationship between the tubular and vascula components, J. Ultrastruc. Res. 33, 116-147
- Barajas L, Latta H, 1965. The development of the juxtaglomerular cell granule, Anat. Rec. 151, 321
- Barajas L, Latta H, 1970. Structure of the juxtaglomerular apparatus, Circ. Res. 20, 15-28
- Biava CG, West M, 1966a. Fine structure of normal human juxtaglomerular cells. I. General structure and intercellular relationships, Am. J. Path. 49, 679-721
- Biava CG, West M, 1966b. Fine structure of normal human juxtaglomerular cells. II. Specific and nonspecific cytoplasmic granules, Am. J. Path. 49, 955-979
- Bucher O, Kaissling B, 1973. Morphologie des juxtaglomerularen Apparates, Verh. Anat. Ges. 67, 109-136
- Cain H, Kraus B, 1976. The juxtaglomerular apparatus in malignant hypertension of man, Virch. Arch. A. Path. Anat. Histol. 372, 11-28
- Cantin M, Araujo-Nascimento M-de-F, Benchimol S, Desormeaux Y, 1977. Metaplasia of smooth muscle cells into juxtaglomerular cells in the juxtaglomerular apparatus, Arteries and Arterioles of the Ischemic (endocrine) kidney,

- Am. J. Path. 87, 581-602
- Celio MR, Iganami T, 1981. Angiotensin II immunoreactivity coexists with renin in the juxtaglomerular granular cells of the kidney, Proc. Natl. Acad. Sci. 78, 3897-3900
- Davis ME, Berndt WO, 1994. Principles and Method of Toxicology, ed. A.W. Hages, Raven Press, New York, pp.871-894
- Edelman R, Hartroft PS, 1961. Localization of renin in juxtaglomerular cells of rabbit and dog through the use of fluorescent antibody technique, Circ. Res. 9, 1057-1077
- Forssmann WS, Taugner R, 1977. Studies on the juxtaglomerular apparatus. V. The juxtaglomerular apparatus in Tupaia with special reference to intercellular contacts, Cell Tiss. Res. 177, 291-305
- Fray JCS, 1976. Stretch receptor model for renin release with evidence from perfused rat kidney, Am. J. Physiol. 231, 936-944
- Ganong WF, 1972. Sympathetic effects on renin secretion, mechanism and physiological role, Adv. Exp. Biol. 17, 17-32
- Ghadially FN, 1988. Ultrastructural pathology of the cell, 2nd ed., vol. 1, Butterworths, London, pp.413-571
- Gomba Sz, Soltesz BM, Szokoly V, 1967. Studies on the histochemistry of phosphatase enzyme in the juxtaglomerular complex, Histochemie. 8, 264-274
- Goormaghtigh N, 1939. Existence of an endocrine gland in media of the renal arteries, Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 42, 688-689
- Goormaghtigh N, 1940. Histological change in ischemic kidney with special references to the juxtaglomerular apparatus, Am. J. Path. 16, 409-431
- Goyer RA, 1991. Casarett and Doull's Toxicology. The basic science of poisons, ed. M.O. Amdur, J. Doull, C.D. Klaassen, Pergamon Press, New York, pp.623-680
- Hackenthal E, Paul D, Ganten D, Taugner R, 1990. Morphology, physiology, and molecular biology of renin secretion, Physiol. Rev. 70, 1067-1116
- Hartroft PM, 1968. Endocrine pathology, ed. J.M.B. Bloodworth, Williams & Wilkins, Baltimore, pp.614-677
- Hewitt WR, Goldstein RS, Hook JB, 1991. Casarett and Doull's Toxicology. The Basic Science of Poisons, ed. M.O. Amdur, J. Doull, C.D. Klaassen, Pergamon Press, New York, pp.354-382
- Kotchen TA, Galla JH, Luke RG, 1978. Contribution of chloride to the inhibition of plasma renin by sodium chloride in the rat, Kidney Int. 13, 201-207
- Kotchen TA, Guthrie Jr GP, Galla JH, Luke RG, Welch WJ, 1983. Effects of NaCl on renin and aldosteron responses to potassium depletion, Am. J. Physiol. 164-169
- Latta H, Maunsbach AB, 1962. Reactions of the centrolobular region of the glomerulus to the juxtaglomerular apparatus, J. Ultrastruc. Res. 6, 562-578
- Lock EA, 1993. General and Applied Toxicology, Vol. 1, ed. B. Ballantyne, T. Marrs, P. Turner, Stockton Press, New York, pp.507-536
- Nemes Z, Bodolay E, Gomba SZ, 1976. Evidence for lysosomal matrix in the juxtaglomerular cell granules, Acta Histochem. Bd. 55, 80-88
- Oliver J, McDowell M, Tracy A, 1951. The pathogenesis of acute renal failure associated with traumatic and toxic injury. Renal ischemia, nephrotoxic damage and the ischemic episode, J. Clin. Invest. 30, 1307-1351
- Peter St, Lazar J, Gross F, Forssmann WG, 1974. Studies on the Juxtaglomerular apparatus. II. Quantitative morphology after adrenalectomy, Cell Tiss. Res. 151, 457-469
- Reeves G, Sommers SC, 1965. Sensitivity of the renal macula densa to urinary sodium. Proc. Soc. Exp. Biol. & Med. 120, 324-325
- Rosivall L, Taugner R, 1986. The morphological basis of fluid balance in the interstitium of the juxtaglomerular apparatus, Cell Tiss. Res. 243,

525-533

- Ruegg CE, Gandolfi AJ, Nagle RB, Brendel K, 1987. Differential patterns of injury to the proximal tubule of renal cortical slices following in vitro exposure to mercuric chloride, potassium dichromate, or hypoxic conditions, *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 90, 261-273
- Ruyter JHC, 1925. Über einen merkowurdigen Abschnitt der Vasa Afferentia in der Mauseiere, *Z. Zellforsch.* 2, 242-248
- Taugner R, Bührle Ch Ph, Nobiling R, 1984. Ultrastructural changes associated with renin secretion from the juxtaglomerular apparatus of mice, *Cell Tiss. Res.* 237, 459-472
- Taugner R, Hackenthal E, Rix E, Nobiling R, Poulsen K, 1982. Immunocytochemistry of the renin-angiotensin system; Renin, angiotensinogen, angiotensin I, angiotensin II and converting enzyme in the kidneys of mice, rats and tree shrew, *Kidney Int.* 22, S33-S43
- Taugner R, Metz R, 1986. Development and fate of the secretory granules of juxtaglomerular epitheloid cells, *Cell Tiss. Res.* 246, 595-606
- Taugner R, Murakami K, Kim S-J, 1986a. Renin activation in juvenile secretory granules? Immunocytochemical experiments with an anti-serum directed against the prosegment of human renin, *Histochemistry* 85, 107-109
- Taugner R, Yokota S, Bührle CP, Hackenthal E, 1986b. Cathepsin D coexists with renin in the secretory granules of juxtaglomerular epitheloid cells, *Histochemistry* 84, 19-22
- Taylor AA, 1977. Comparative physiology of the renin angiotensin system, *Fed. Proc.* 36, 1776-1780
- Thurau K, 1964. Renal hemodynamics, *Am. J. Med.* 36, 698-719
- Tobian L, 1960. Interrelationship of electrolytes, juxtaglomerular cells and hypertension, *Physiol. Rev.* 40, 280-312
- Tsuda N, 1969. Ultrastructural study of secretory granules in the juxtaglomerular cells. Particularly on formation and extrusion, *Acta Med. Nagasaki* 13, 140-155
- Tsuda N, Nickerson PA, Molteni A, 1971. Ultrastructural study of developing juxtaglomerular cells in the rat, *Lab. Inv.* 25, 644-652
- Vander AJ, 1967. Control of renin release, *Physiol. Rev.* 47, 359-382

FIGURE LEGENDS

Each scale bar indicates 1 μm

Fig. 1. Juxtaglomerular cells of a normal mouse.

The cell contains a heterochromatic nucleus, round or oval secretory granules, and vesicular endoplasmic reticula. The cells are located in the tunica media of afferent arteriole. Note the endothelial cells (E) of the afferent arteriole and the adjacent macula densa cells (MD). The rectaangular portion is enlarged in the figure 2.

Fig. 2. Higher power view of the rectaangular portion of the figure 1.

The cytoplasm contains extensive Golgi complex (G), and abundant vesicular granular endoplasmic reticula, and round or oval secretory granules. Note many fine myelin figures (arrows) within the granules.

Fig. 3. Juxtaglomerular cells of mercuric bichloride-injected mouse, 6 hours following the injection of 2 mg of HgCl_2 .

Secretory granules exhibit various densities. Granules of lowest densities are filled with fine fibrillar materials, and partial loss of limiting membranes are noticed. The granule contains no intragranular myelin figures. Cisterned spaces of granular endoplasmic reticula are reduced.

Fig. 4. A juxtaglomerular cell of the mouse injected with 5mg of mercuric bichloride, 6 hours following the injection.

Many of the granules are fused or conglomerated to a conspicuous large granules. The granule contains no fine myelin figures. Most of endoplasmic reticula are degranulated, and the cytoplasmic matrix is filled with degranulated ribosomes and fine granules.

Fig. 5. A juxtaglomerular cell of the mouse injected with 10mg of mercuric bichloride, 6 hours following the injection.

Endoplasmic reticula are mostly degranulated and reduced in volume. The cytoplasmic matrix are filled with degranulated ribosomes. Some granules are changed in form; the one near deeply invaginated nucleus has rectaangular form (single arrow), the other one has polygonal form (double arrows).

Fig. 6. Giant secretory granules of a juxtaglomerular cell from the mouse injected with 5mg of mercuric bichloride, 3 days following the injection.

A giant secretory granule shows many intragranular vacuoles, and it exhibits lysosome-like changes.

Fig. 7. A portion of a juxtaglomerular cells from the mouse injected with 10 mg of mercuric bichloride, 3 days following the injection.

The membrane bound structures filled with fine fibrillar materials (asterisk) are conspicuous. A omega shaped cell surface (single arrow) contains a globular cytoplasmic mass, and the other omega (double arrows) shows the figure of just-secreted contour.

Fig. 8. A portion of a juxtaglomerular cell from the mouse injected with 2 mg of mercuric bichloride, 2 weeks following the injection.

Secretory granules show complex conglomerations. Some granules exhibit multivacuolar changes, noting the degranulation of autolysis of granules.

Fig. 9. A portion of a juxtaglomerular cell from the mouse injected with 5 mg of mercuric bichloride, 2 weeks following the injection.

The Golgi complex (G) and endoplasmic reticula are severely atrophied, and the cytoplasmic matrix shows higher density. Secretory granules show varying densities; some of which exhibit intragranular myelin malformation (single arrow), mild halo structure around darker core (double arrows), serial fusion of granules (bidirectional arrows), etc.

Fig. 10. A portion of a juxtaglomerular cells from the mouse injected with 5mg of potassium dichromate, 6 hours following the injection.

Portions of a lighter and a darker juxtaglomerular cells are contrasted. The lighter cell contains relatively normal structures. But intragranular myelin figures are disintegrating. The darker cell contains granules of variable densities, some of which show abnormally higher densities and deformations (arrow). Note the myelin malformation of the granular endoplasmic reticulum (double arrows).

Fig. 11. A portion of a juxtaglomerular cell from the mouse injected with 10 mg of potassium dichromate, 6 hours following the injection.

Enormous dilatation of endoplasmic reticulum (asterisk) shows a structure so-called "cytoplasmic lake". It is filled with fine materials. Lysosome-like structures are seen in the center.

Fig. 12. A juxtaglomerular cell from the mouse injected with 10 mg of potassium dichromate, 6 hours following the injection.

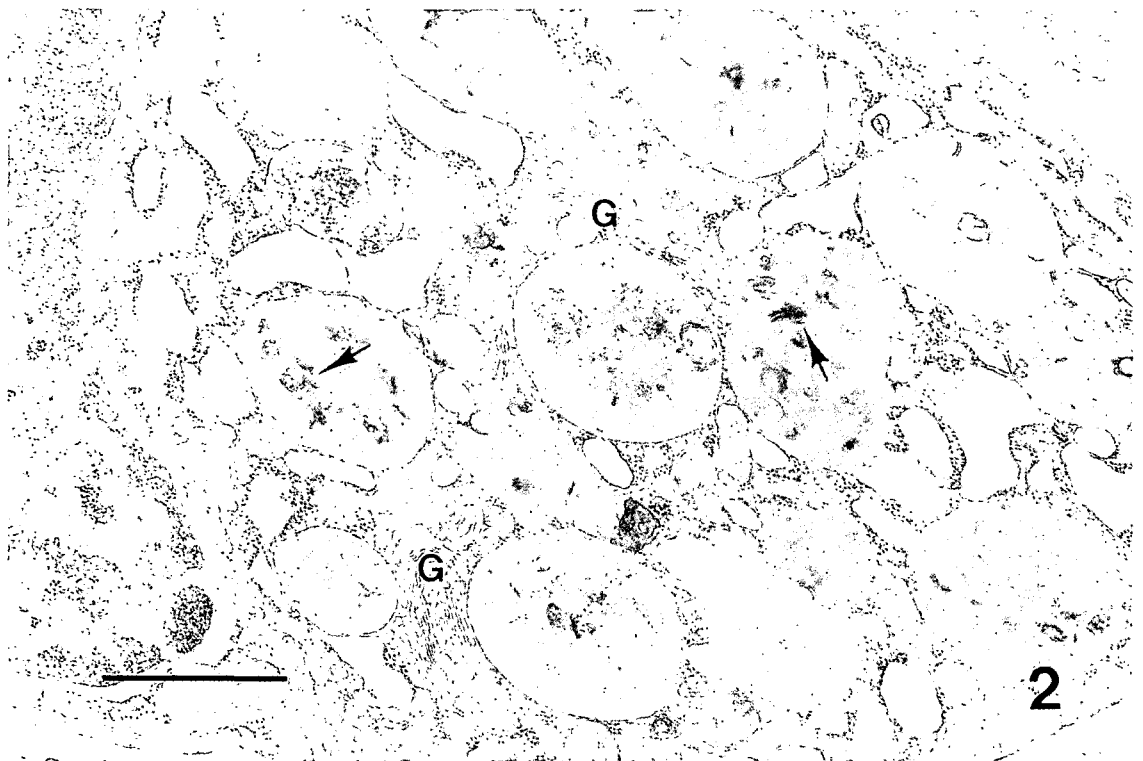
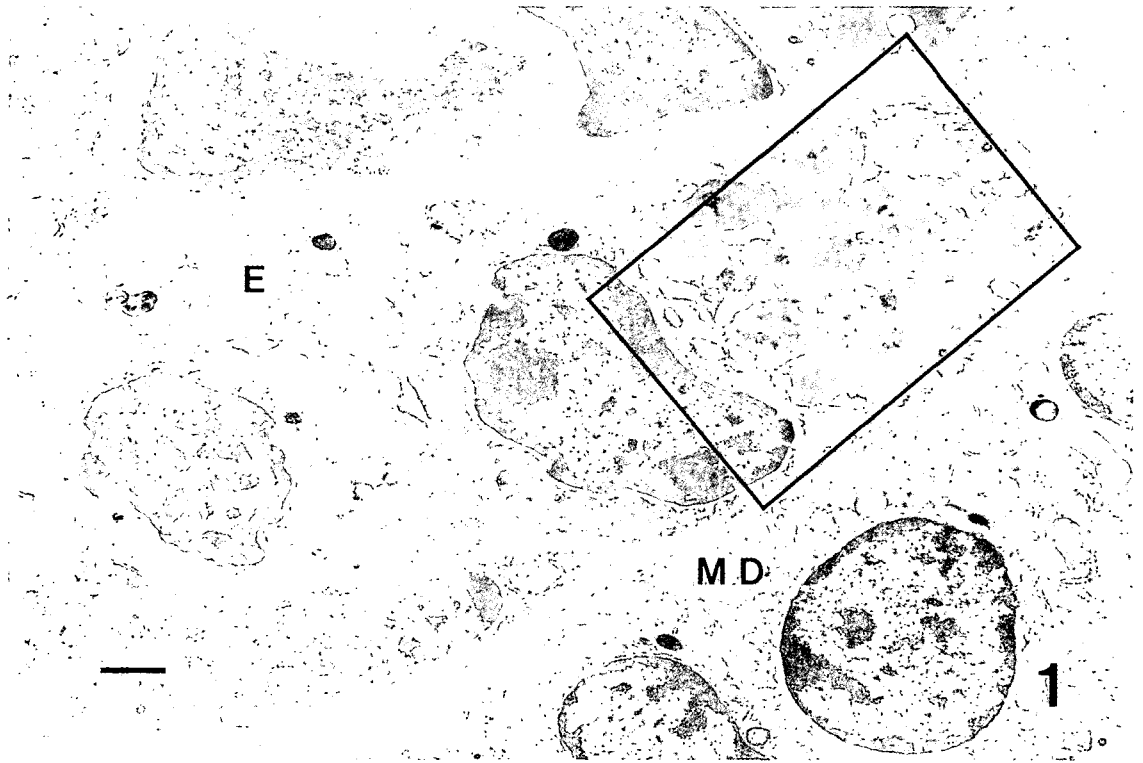
A giant vacuole forms "cytoplasmic lake" (asterisk). The vacuole may be formed from a degranulated and dilated cistern of a granular endoplasmic reticulum. The cytoplasmic matrix are filled compact with degranulated ribosomes, and it shows higher density.

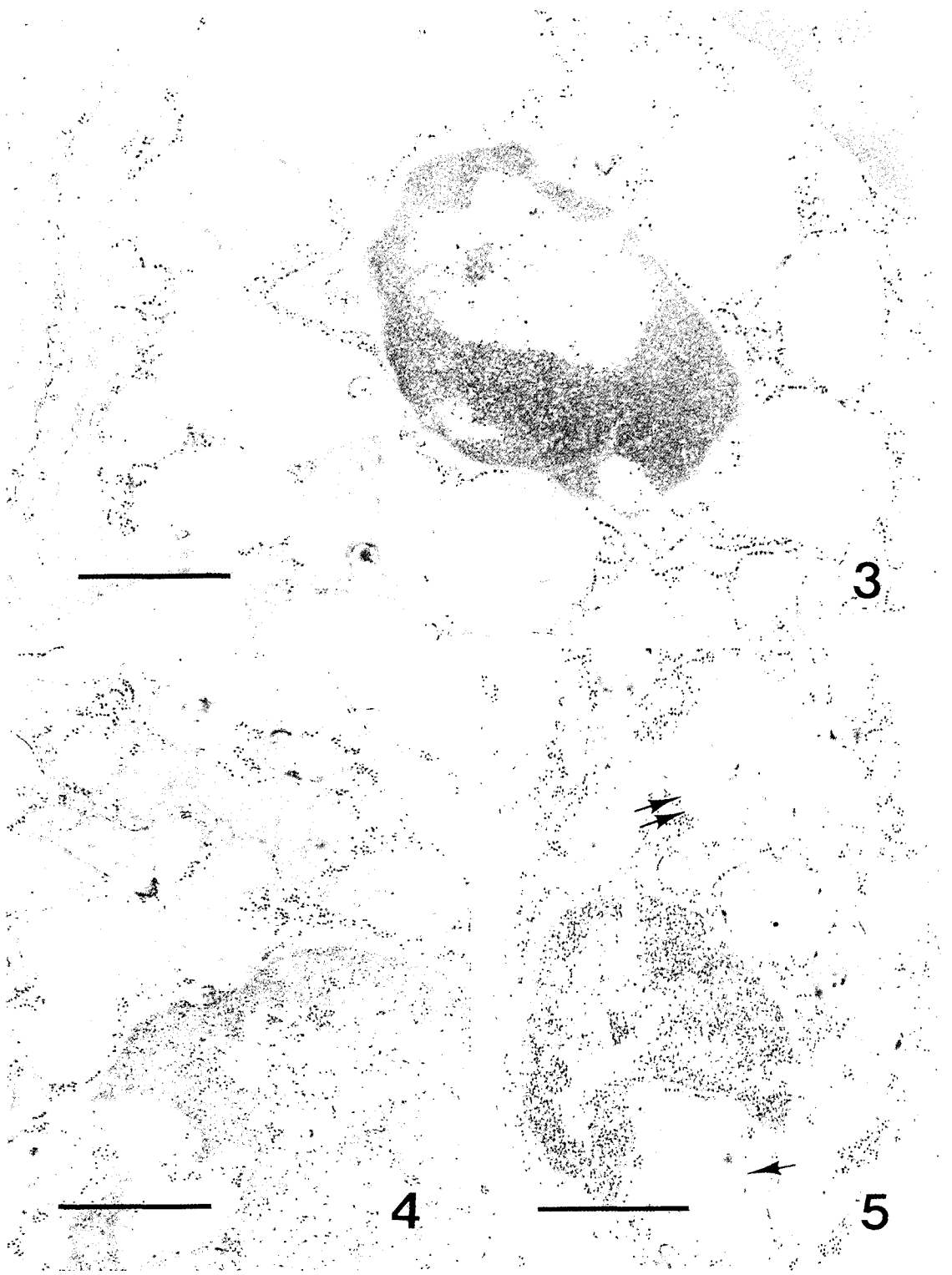
Fig. 13. A portion of a juxtaglomerular complex from the mouse injected with 5 mg of potassium dichromate, 3 days following the injection.

Juxtaglomerular cells with darker granules and cytoplasm, are bounded with their basal laminae, and macula densa cells (MD) are located near the juxtaglomerular cells. Degradations of granules (arrow), intracytoplasmic myelin figure, deformity of granule, fusions or conglomerations of granules are noted.

Fig. 14. A portion of a juxtaglomerular cell from the mouse injected with 10 mg of potassium dichromate, 2 weeks following the injection.

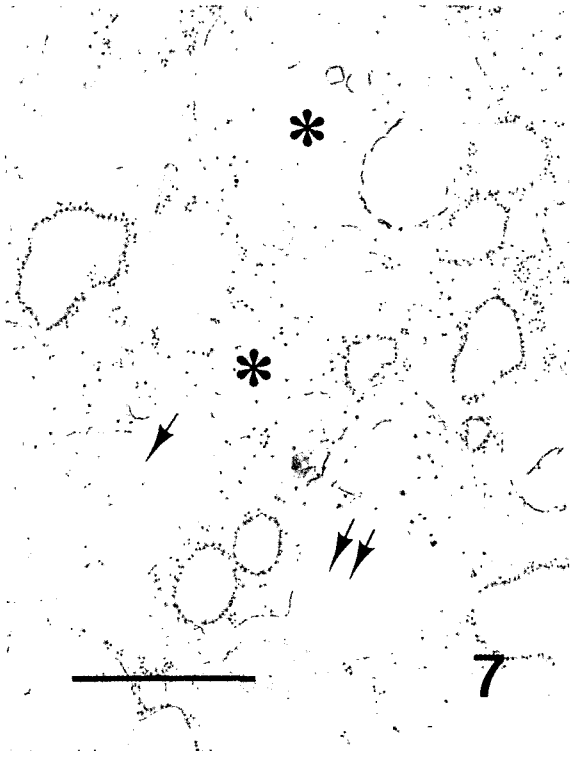
A large "cytoplasmic lake" (asterisk) of dilated endoplasmic cistern is conspicuous. Medium density granules are larger than those of control ones.



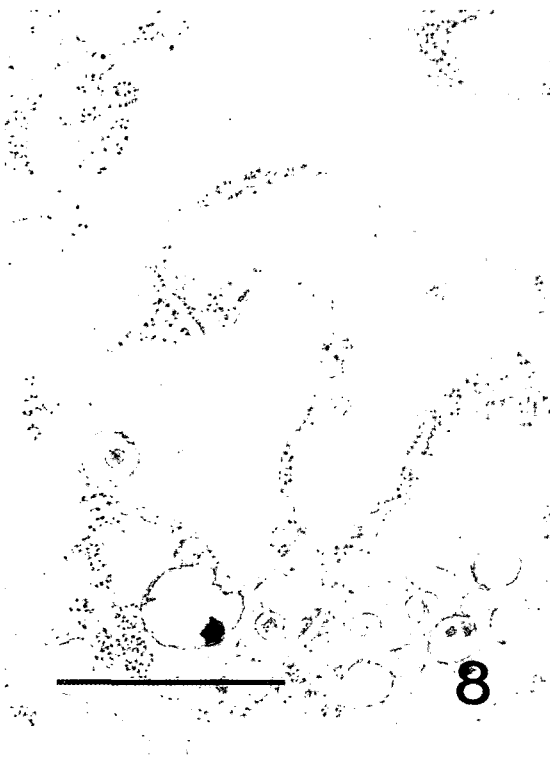




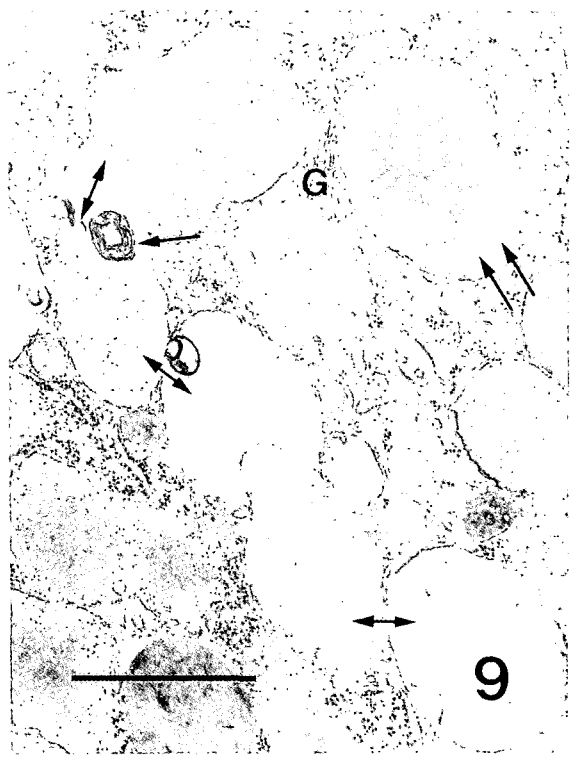
6



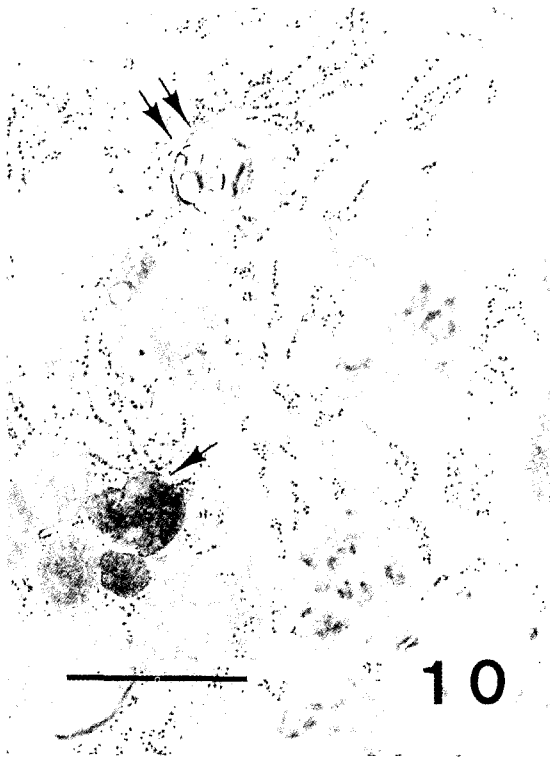
7



8



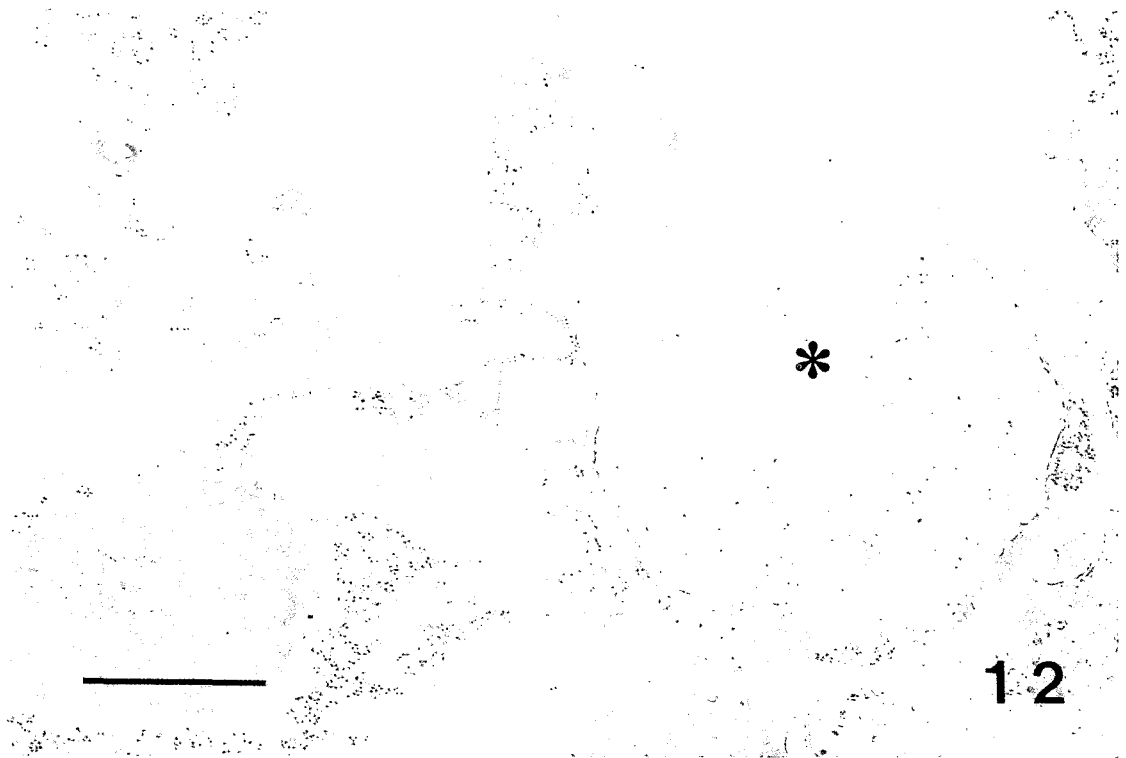
9



10



11



12

