

무당개구리 (*Bombina orientalis*) 진피 상처치유반응의 형태적 분석

정 문 진 · 문 명 진
단국대학교 자연과학대학 생물과학부

Morphological Analysis of the Dermal Wounds Healing Responses in *Bombina orientalis*

Moon-Jin Jeong and Myung-Jin Moon
Department of Biological Sciences, Dankook University, Cheonan 330-714
(Received August 7, 1998; revised September 4, 1998)

ABSTRACT

Dermal wound healing responses in the skin of the toad, *Bombina orientalis*, were examined using transmission electron microscopy. At 12 hours after wounding, debridement and collagenolysis occurred in damaged dermis. Histocyte has a large nucleus and long cytoplasm process. Phagocytic vesicle and lysosome were observed in the cytoplasm. Damaged blood cells were transformed spindle to irregular shape. Autolysis was observed in their cytoplasm. Histocytes are found in poly-band. The irregularly shaped nucleus is located peripheral region in cytoplasm. At 2 days after wounding, partial aggregation of blood cells is observed. Phagocytic activity is observed in histocyte and collagenolytic collagen fibers are scattered.

Fibroblast is observed in the dermis at 3 days after wounding. Clusters of ribosomes and some short cisternae of rough-surfaced endoplasmic reticulum are found in the cytoplasm. In histocyte at 7 days post wounding, various size granules composed of moderately dense material are found the cytoplasm. In this period histocyte is round to rod in profile, with slender processes projecting from the surface. At 7 day after injury, it was observed that formation of connective tissue fibers and amorphous ground substance in regenerating skin.

Key words : Morphological Analysis, Wound Healing, Dermis, Toad, *Bombina orientalis*

서 론

동물의 상처 치유능력은 분류군에 따라, 그리고

동일 분류군의 경우 기관의 종류나 조직의 위치에 따라 상당히 큰 차이를 가지고 있음을 알 수 있다. 일반적으로 하등한 생물군이 고등한 종류에 비해 상처 치유능력이 뛰어난 것으로 알려지고 있다. 포유

동물과 같은 고등한 생물체에서 재생이나 상처치유 능력이 상대적으로 낮은 원인은 정상적인 체세포들이 기능이나 복제과정에 있어서 하등한 동물군에 비해 제한된 능력을 가지고 있기 때문이다 (Clark, 1981; Huguet and Molinas, 1992).

현재까지 진피 상처회복에 관한 대부분의 연구들은 사람을 포함한 포유류를 대상으로 수행되었다. 경골어류인 *Gasterosteus aculeatus*의 진피 상처에서 대식세포, 중성호성백혈구, 림프구, 그리고 산호성 백혈구가 관찰되었는데, 이런 백혈구들은 정상조직에서도 존재하지만, 상처유도 후 많은 수의 백혈구들이 혈액으로부터 상처부위로 이동한다 (Mittal *et al.*, 1978).

동물조직의 상처치유과정은 공통적으로 혈액응고 인자와 중배엽성 결합조직의 일종인 섬유아세포 (fibroblast)의 분화 및 증식과 많은 연관성을 지니고 있다 (Finkelstein *et al.*, 1988; Hallock *et al.*, 1988). 상처 부위에서 혈액을 응고시켜 출혈을 방지하는 즉각적인 반응에 뒤 이어, 중배엽의 간엽조직으로부터 기원한 섬유아세포의 증식에 의해 결합조직이 재생된 후, 상피조직이 분화되는 것으로 보고 있으나 (Longaker *et al.*, 1989), 피부 상처의 치유 과정이 너무나 복잡하고 다양하기 때문에 현재까지 상처 치유반응에 대한 완벽한 기전이 제시되지 않고 있는 실정이다.

따라서, 본 연구는 양서류 피부에 유도된 상처 치유반응을 규명하기 위한 연구의 일환으로 초기 상피 치유반응의 결과에 이어 진피내 상처 치유반응을 미세구조적인 측면에서 분석하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 실험재료

경기도 포천군 심곡리 왕방산 일대에서 5월중 채집한 무당개구리 (*Bombina orientalis* Boulenger) 성체를 실험실에서 항온처리 ($26 \pm 2^\circ\text{C}$)한 후 사육하여 실험재료로 사용하였다.

1) 인위적 피부 손상의 유도

무당개구리 배피의 일정부위를 70% 에탄올로 소독

한 후 시중에서 시판되는 양면 면도칼을 이용하여 $1 \times 1 \text{ mm}^2$ 의 크기로 절개하였다.

2) 상처 치유반응의 확인

인위적으로 피부의 일정 부위에 유도한 상처를 항온 수조 속에서 상처의 완전 회복시점까지 사육하였고, 상처 부위의 자연 치유과정을 관찰하였다. 각각 실험목적에 맞도록 상처부위 피부를 절취하여 시료 제작에 사용하였다.

2. 투과 전자현미경적 방법

실험재료를 생리식염용액 내에서 해부하여 적출한 다음, Karnovsky (1967)의 방법에 따라 제조된 2.5% paraformaldehyde-glutaraldehyde (4°C , phosphate buffer, pH 7.2)에 약 1시간 고정된 후, 다시 해부현미경하에서 부위를 세분하였다. 세분된 각 조직들은 다시 동일 고정액 내에서 1시간 동안 충분히 고정하였다. Sorenson's phosphate buffer (4°C , pH 7.2)로 10분씩 3회 세척한 후, 전자현미경 관찰 시 상의 염색성을 증가시키기 위하여 1% OsO_4 (4°C , phosphate buffer, pH 7.2)로 2시간 후고정 하였다. 이어서 동일 완충용액을 사용하여 충분히 세척하여 에탄올 농도상승 순으로 탈수하였다. 탈수를 마친 조직은 propylene oxide로 치환하여 Epon 혼합액 (Polyscience)에 포매한 뒤, 진공건조오븐 (Yamato, Japan)에서 60°C 에서 48시간 중합하였다.

포매한 시료는 ultramicrotome (LKB Co., Sweden)으로 준 초박절편 (semi-thin sections)을 제작하여 1% toluidine blue (1% borax)로 hot plate (60°C)상에서 2분간 염색하였다. 염색된 시편을 증류수로 세척한 뒤 광학현미경 (Olympus CH30, Japan)으로 저배율에서 고배율까지 관찰하였으며, 이어서 초박절편 (thin sections)을 제작하여 copper grid에 부착시킨 다음, uranyl acetate와 lead citrate로 이중 염색 (Reynolds, 1963)하여 JEM 100 CX-II형 투과 전자현미경 (JEOL, Japan)으로 80 kV에서 관찰하였다.

결 과

1. 염증반응 및 이물질 제거

상처 유도 후 12시간대의 진피에서는 섬유성 잔유물과 피사중의 세포들이 교원섬유 사이에서 관찰되었으며(Fig. 1), 그 진피성 섬유사이로 긴 위축을 내고 있는 조직구가 확인되었다. 조직구의 핵은 세포질의 대부분을 차지하고 있었으며, 위축을 낸 세포질에는 포식작용에 의한 과립들과 리소좀들이 관찰되었다(Fig. 2).

상처 직후부터 다량으로 분비된 점액물질은 24시간이 경과하면서 상처부위를 채워 완전한 poly-band의 형태를 이루었으며, 이 물질은 섬유성 물질로 되었다. 상처로 혈관 밖으로 유출된 적혈구는 poly-band내 또는 상처 주변에서 피사가 진행중인 것으로 관찰되었으며, 이 혈구들은 위축의 형태로 세포질이 불규칙하게 신장되었으며, 세포막에 인접한 세포질에서는 자가용해 작용에 의한 공포가 관찰되었다(Fig. 3). Poly-band 내에서 관찰된 조직구의 평균길이는 8~9 μm였고, 불규칙한 형태이며 위축을 내고 있었다. 세포질의 전자밀도는 전체적으로 높았으며, multivesicular vesicle들이 세포의 한쪽으로 치우쳐 위치한 핵 주변에 위치하고 있었고, 리소좀들이 세포질 내에 산재되었다(Fig. 4). 다른 형태의 조직구의 핵은 한쪽으로 치우쳐 있었고, 불규

칙하게 분지된 형태 또는 세포의 대부분을 차지하며 길게 신장되었다. 세포질 내에는 리보솜들이 산재되어 있었으며, 리소좀들도 관찰되었다. 조직구의 형태는 구형으로 세포질 돌기가 불규칙하게 나있었으며, 세포성 잔유물들을 세포질 돌기로 둘러싸고 있었다(Figs. 5, 6).

2. 교원섬유 분해 및 이물질 제거

유출된 혈구들은 부분적으로 서로 응집되었으며, 혈관 내에 흐르던 혈구는 타원형이었으나, 유출된 혈구들은 시간이 경과함에 따라(2일 후) 세포의 형태가 변형되어 심하게 굴곡되고 수축되었으며, 돌기를 내는 형태로 변하였다. 또한, 세포의 핵도 염색질이 응축되어 핵막주변으로 분포하는 세포피사의 형태학적 특징을 나타내었다(Figs. 7, 8). 상처로 손상되었던 교원섬유는 분해(collagenolysis)되었으며, 이 용해물질은 조직구에 의해서 포식되었다. 세포질 내에는 골지체와 리보솜, 폴리솜들이 분포하고 있었으며, 외부물질을 포식하여 소화중인 전자밀도가 높은 리소좀이 관찰되었다(Fig. 9).

진피조직 내에 위치한 조직구는 구형 또는 원주형으로 핵은 세포의 대부분을 차지하고 있으며 분지된 불규칙한 형태였다. 세포의 주변에는 상처로 손상된 멜라닌과립들이 분해되고 있었다(Figs. 10, 11). Poly-band를 따라 원주형으로 신장된 조직구의 세

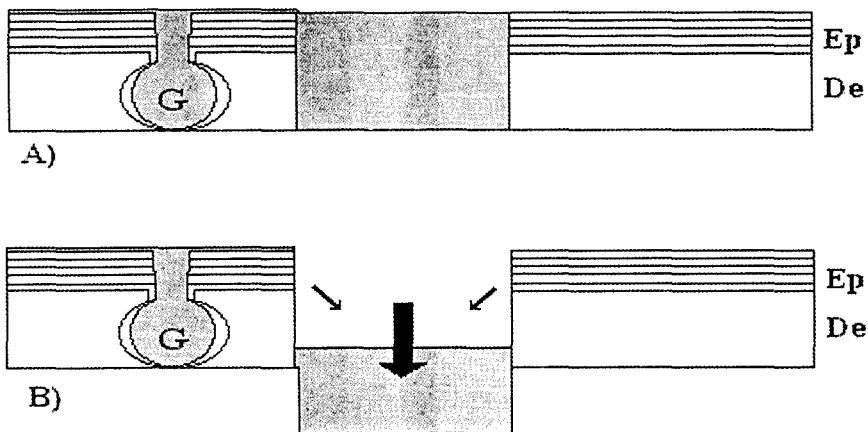


Fig. 18. Detachment direction of scab (poly-band). Small arrows indicate the direction of the epidermal cell movement. Large arrow indicates the direction of removal scab. Ep, epidermis; De, dermis; G, gland; A), after injury; B), 7 days.

포질에는 짧고 작은 돌기들이 관찰되었으며, 세포들 기로 이물질을 포식하여 식포를 형성하였고, 그 아래로 리소좀이 관찰되었으며, 세포질에는 조면 소포체가 산재되어 있었다. Poly-band에 접한 세포질은 부분적으로 짧은 세포질 돌기를 내었으며, 세포의 대부분은 poly-band와 떨어져 있었다(Figs. 12, 13). 상처 유도 후 3일째 poly-band내에서는 활발하게 이물질 제거작업을 하는 조직구들이 관찰되었으며, 이 세포들은 장축이 16~17 μm 로 세포질은 크게 신장되어 있었으며, 세포질 표면으로 다수의 돌기를 내고 있었다. 또한, 진피 내에서도 길게 신장된 형태로 세포질 내에는 주변에 산재되어 있던 멜라닌과립들과 세포성 잔유물들을 포식하여 지니고 있었다(Fig. 14). 상처난 상피에서 비교적 작은 크기의 조직구가 관찰되었으며, 이 세포는 불규칙한 모양의 세포질돌기를 내어 세포성 잔유물을 포식하고 있었다(Fig. 15). 교원섬유분해가 일어나는 부분에서 불규칙한 모양의 조직구들이 관찰되었으며, 이 세포의 세포질 내에는 주변의 교원섬유와 산재되어 있던 멜라닌 과립들을 활발하게 포식하고 있었다(Figs. 16, 17).

상처 후 7일 경 진피 내에서는 이물질 제거반응이 가장 활발하여 상처 잔재물들이 대부분 제거되었으며, 섬유성 물질인 poly-band의 대부분은 조직구들에 의해서 제거되었으며, 내강으로 흡수되었다(Fig. 18). 조직구는 세포질 내에 이물질을 다량 포식하여 전자밀도가 자기 다른 물질들을 세포질에 지니고 있었고, 세포의 핵을 따라 조면 소포체와 골지체 그리고 식포들이 관찰되었다(Figs. 19, 20). Poly-band 내에서 또 다른 형태의 조직구가 관찰되었으며, 세포질은 신장되어 있었다. 이들 세포는 불규칙한 세포돌기를 내며 주변의 작은 이물질을 포식하고 있었으며, 세포질에는 리소좀들과 글라이코겐 입자들이 산재되어 있었다(Figs. 21, 22).

3. 결합조직의 재생

상처가 유도된 조직은 3일 이후부터 손상된 진피의 제거와 재생이 동시에 진행되었고, 교원섬유를 합성하는 섬유아세포가 관찰되었다. 세포질 내에는 조면 소포체와 리보솜이 풍부하게 산재되어 있었

으며, 다수의 미토콘드리아도 관찰되었고, 교원섬유의 평균직경은 0.1~0.15 μm 이었다(Figs. 23, 24).

상처로 생긴 잔재물들이 진피내에서 거의 제거된 시점(7일 이후)에서 교원섬유가 섬유모세포에 의해서 재생되고 있었다. 섬유모세포의 세포질 주변을 따라 현저하게 발달된 조면 소포체가 관찰되었으며, 생성된 교원섬유가 분비소포를 통하여 분비되는 것으로 확인되었다(Figs. 25, 26).

고 찰

상피의 이동속도는 가피와 과립성 조직사이에서 기계적인 방해로 받지만, 상피세포의 교원섬유분해 또는 단백질 분해 그리고 포식능에 의해서 상처 중앙부로의 이동이 촉진된다(Dayan *et al.*, 1983; Im and Hoopes, 1983). 화상으로 인한 상처의 경우 회복이 더디게 진행되며, 이것은 열에 의한 콜라겐 분해가 상피이동을 방해하기 때문이다(Sciubba *et al.*, 1983). 무척추동물 중 절지동물에 속하는 배회성 거미에서는 혈림프의 응고로 형성된 가피와 혈구들로 이루어진 과립조직이 형성된 후 상피세포가 이동하였는데, 이 시기는 상처 후 12일째이며 상처봉합이 종료된 시점은 14일로 확인되었다(Jeong and Moon, 1997).

본 실험의 재료인 무당개구리의 경우 상피세포에 의한 단백질분해와 콜라겐분해는 관찰할 수 없었다. 배회성 거미에서 상처봉합이 14일인 것과 비교하면 1일째에 이미 상피의 이동으로 상처가 봉합된 점으로 미루어 가피의 형성이 없는 경우 상피세포의 이동이 촉진된다는 것을 알 수 있다.

상처 후 진피에서 일어나는 현상들은 조직의 손상 정도에 따라 다양하며 광범위하다. 혈관의 붕괴는 혈액응고를 일으키며, 조직의 붕괴는 kinin cascade와 그 보체를 활성화시켜서 급성염증을 일으킨다. 이것은 혈관의 투과성을 변화시켜 간질액(interstitial fluid)의 전도를 증가하게 한 후 염증반응 세포들을 상처 공간으로 이주하도록 한다(Casley-Smith and Vincent, 1980). 섬유아세포들이 증식하고 교원섬유와 세포외성 기질물질이 대량 합성되면 세포외성 물질과 혈관들이 재형성된다(Castor, 1981; Lacour

and Ortonne, 1983).

본 실험에서도 혈구들은 상처로 손상된 진피의 혈관으로부터 용출되어 응고되었고, 염증반응에 관여하는 세포들이 출현하였다. 진피의 재생과 더불어 섬유아세포들에 의해 교원섬유 등 세포외성 물질의 합성이 관찰되었다. 무당개구리의 진피에서도 현재까지 알려진 방식으로 진피의 재생이 이루어졌는데, 이러한 기작은 생물의 상처치유반응에서 공통적인 현상으로 사료되지만 종에 따라 시간과 치유능력은 상당한 차이점이 있으며, 각각의 진행과정은 독립된 것이 아닌 중첩된 과정으로 이루어져 있음을 확인하였다.

염증반응시 상처부위에서 주로 관찰되는 세포는 다형핵을 지닌 백혈구(polymorphonuclear leukocyte, PMNL)이다(Aho *et al.*, 1983; Hunt *et al.*, 1984). 이 세포들은 팽창된 혈관들에 축적되어 림프구들과 함께 상처지역으로 이동하여 과립조직을 형성하는데, 사람의 경우 잇몸에 생긴 상처에서는 형성되지 않는다(Lundberg *et al.*, 1984). 상처에서 몇 가지 물질들은 다형핵 백혈구에 탈 과립화를 자극하며, superoxide 음이온 생산, 산소 소모 그리고 6탄당 인산단락의 활성화 등 화학주성의 활성을 나타낸다(Tanabe *et al.*, 1983). 화학주성물질은 변성 단백질 또는 단백질의 분해산물인 피브린, leukotriene B₄, 보체조각들, 그리고 박테리아성 요소들로 알려져 있다(Bessis and Boissefleury-Chavance, 1984). 이러한 요인들에 의한 다형핵 백혈구의 친화력은 백혈구 자체의 리소좀 그리고 중성 단백질효소의 분비에 의한(Lundberg *et al.*, 1984).

염증반응 세포들 중 단핵구 이전에 다형핵 백혈구와 림프구가 나타난다. 다형핵 백혈구는 과립조직의 발생과 잔재물의 제거에 필수적이지 않으며, 단핵구 반응의 전구체 이거나 혈관과 섬유아세포의 출현에도 필수적인 것은 아니다(Castor, 1981). 단핵구들은 교원섬유의 유도 펩타이드, C5a 보체, Kallikrein 그리고 림프구 유도와 같은 화학주성요인 등에 의해서 염증부위로 유인된다. 단핵구성 포식세포들은 주로 상처 잔유물을 제거하며, 섬유아세포를 자극하여 교원섬유를 합성하고 혈관형성(angiogenesis)을 유도한다(Castor, 1981; Hunt *et al.*, 1984).

본 실험에서 상처로 인해 혈관 밖으로 유출된 적혈구는 poly-band내 또는 상처 주변에서 응집되었거나 각기 떨어져 있는 상태로 관찰되었고, 이 혈구들의 역할은 초기 회복과정에서 미비하였다. 상처 유도 후 12시간대에서 조직구가 처음으로 관찰되었는데, 진피성 섬유조직 사이로 긴 위쪽을 내고 있었고, 세포질에는 포식작용에 의한 식포들과 리소좀들이 관찰되었다. 또한, 다른 형태의 조직구들도 poly-band내에서 관찰되었고, 세포는 구형 또는 신장된 형태였다. 세포질 돌기는 불규칙하게 나있었으며, 식세포 작용에 의한 소포들이 세포막을 따라 위치하고 있었다. 본 실험의 결과로 혈구세포들의 이물질 제거능은 확인되지 않았고, 조직구는 조직파편과 이물질 등을 포식하였다. 이러한 기능은 상처에 습기가 유지될 때까지 그리고 조직구들이 살아있을 때까지 과립조직에서 유지되는 것으로 확인되었다.

섬유아세포와 내피세포는 보체조각 C5a, C3a, 피브린이 조각난 산물, lymphokines, bacterial peptides 그리고 endotoxin과 같은 화학주성물질에 의해서 유도되며(Orrredson *et al.*, 1983), 미분화된 mesenchymal 세포들과 섬유세포(fibrocyte)들은 상처부위에서 분화한다(Aho *et al.*, 1983). 과립조직내의 초기 조직액은 섬유아세포를 증식시키는 반면, 그이후의 삼출액은 증식을 억제시킨다(Jalkanen *et al.*, 1983). 본 실험에서 상처가 유도된 조직은 3일 이후부터 손상된 진피의 이물질 제거와 재생이 동시에 진행되었고, 이 시기에 섬유아세포가 관찰되었다. 이처럼 섬유아세포는 상처 초기에 출현했음에도 불구하고 실질적으로 다량의 교원섬유들이 진피내에서 재생된 시기는 7일 후인 것으로 미루어 상처로 생긴 잔유물들이 진피내에서 거의 제거되어야만 교원섬유의 합성이 증가하는 것으로 사료된다.

결 론

상처 유도 후 12시간대의 진피에서는 섬유성 잔유물들과 피사중인 세포들이 교원섬유 사이에서 관찰되었으며, 진피성 섬유사이로 긴 위쪽을 내고 있는 조직구가 관찰되었다. Poly-band 내에서 관찰된 조직구의 평균길이는 8~9 μm 였고, 불규칙한 구형이며

부분적으로 위축을 내고 있었다. 세포질의 전자밀도는 전체적으로 높았으며, multivesicular vesicle들이 세포의 한쪽으로 치우쳐 위치하고 있었다. 상처로 손상되었던 교원섬유는 분해되었으며, 이 용해물질은 조직구에 의해서 포식되었다.

상처 유도 후 3일째 poly-band 내에서는 활발하게 이물질 제거작업을 하는 조직구들이 관찰되었으며, 이 세포들은 장축이 16~17 μm 로 세포질은 크게 신장되어 있었다. 교원섬유분해가 일어나는 부분에서 불규칙한 모양의 조직구들이 관찰되었으며, 세포질 내에는 주변의 용해교원섬유와 산재되어있던 멜라닌 과립들을 활발하게 포식하고 있었다. 상처 후 7일 경 진피 내에서는 이물질 제거반응이 가장 활발하여 상처 잔재물들이 대부분 제거되었으며, 섬유성 물질인 poly-band도 거의 제거된 상태로 확인되었다. 상처가 유도된 조직은 3일 이후부터 손상된 진피의 제거와 재생이 동시에 진행되었고, 교원섬유를 합성하는 섬유아세포가 관찰되었다. 상처로 생긴 잔재물들이 진피내에서 거의 제거된 시점(7일 이후)에서 교원섬유가 섬유아세포에 의해서 재생되고 있었다. 따라서 무당개구리 진피의 회복과정에서는 특히, 이물질의 제거는 대부분 조직구에 의해서 이루어졌으며, 혈구의 작용은 미비하였다. 또한, poly-band는 대부분 조직구에 의해서 제거되며 포유류와 절지동물과는 다르게 내강쪽으로 흡수되는 등 독특한 회복 기작을 지닌 것으로 확인되었다.

감사의 글

이 연구는 1997년도 교육부 기초과학육성연구비의 지원에 의한 것임(과제번호: BSRI-97-4443).

참 고 문 헌

- Aho HJ, Viljantom J, Raekallio J, Pelliniemi LJ, 1983. Ultrastructural characteristic of cells in human wound collected by cell stick device, J. Surg. Res. 35, 498-506
- Bessis M, Boislefleury-Chavance A, 1984. Facts and speculation about necrotaxis (chemotaxis toward a dying cell), Blood Cells 10, 5-22
- Casley-Smith JR, Vincent AH, 1980. Variations in the numbers and dimensions of tissue channels after injury, Tissue Cell 12, 761-771
- Castor C, 1981. Autacoid regulation of wound healing. In Handbook of inflammation, ed. L.E. Glynn, Elsevier Press, Amsterdam, pp. 177-209
- Clark RAF, 1981. Potential roles of fibronectin in cutaneous wound repair, Arch. Dermatol. 76, 181-192
- Dayan D, Barr-Nea L, Sandbank M, Binderman I, Mechanic GL, Ishay JS, 1983. Oriental hornet venom enhances wound healing and repair in rat skin, possibly through its collagenolytic activity, Acta Trop. 40, 147-153
- Finkelstein SP, Apostolides PJ, Caday CG, Prosser J, Philips MF, Klagsbrun M, 1988. Increased basic fibroblast growth factor (bFGF) immunoreactivity at the site of focal brain wounds, Brain Res. 460, 253-259
- Hallock GG, Rice DC, Merkel JR, DiPaolo BR, 1988. Analysis of collagen content in the fetal wound, Ann. Plast. Surg. 21, 310-315
- Huguet G, Molinas M, 1992. Changes in epithelial cells in *Hirudo medicinalis* during wound healing, J. Invert. Pathol. 59, 11-17
- Hunt TK, Knighton DR, Thakral KK, Gooson WH, Adrew WS, 1984. Studies of inflammation and wound healing: Angiogenesis and collagen synthesis stimulated *in vivo* by resident and activated wound macrophages, Surgery 96, 48-54
- Im JM, Hoopes JE, 1983. Increases in acid proteinase activity during epidermal wound healing, J. Surg. Res. 35, 159-162
- Jalkanen M, Haapanen T, Lyyk inen AM, Larjava H, 1983. Wound fluids mediate granulation tissue growth phases, Cell Biol. Int. Rep. 7, 745-753
- Jeong MJ, Moon MJ, 1997. Fine structure of the integumentary wound healing process in the spider, *Pardosa astrigera*, Korean J. Entomol. 27.

- 29-41
- Karnovsky MJ, 1967. The ultrastructural basis of capillary permeability studied with peroxidase as a tracer, *J. Cell Biol.* 35, 213-236
- Lacour JP, Ortonne JP, 1983. La cicatrisation, *Ann. Dermatol. Venerol.* 110, 159-173
- Longaker MT, Harrison MR, Langer JC, 1989. Studies in fetal wound healing: (II) A fetal environment accelerates fibroblast migration *in vitro*, *J. Pediatr. Surg.* 24, 793-798
- Lundberg C, Lebel L, Gerdin B, 1984. Inflammatory reaction in an experimental model of open wounds in the rat: The role of polymorphonuclear leukocytes, *Lab. Invest.* 50, 726-732
- Mittal AK, Rai AK, Banerjee TK, 1978. Studies on the pattern of healing of wounds in the skin of a cat-fish *Heteropneustes ossilis* (Bloch) (Heteropneustidae: Pisces), *Z. Mikrosk. Anat. Forsch.* 91, 270-286
- Orredson SU, Knighton DR, Scheuenstuhl H, Hunt TK, 1983. A quantitative *in vitro* study of fibroblast and endothelial cell migration in responses to serum and wound fluid, *J. Surg. Res.* 35, 249-258
- Sciubba JJ, Waterhouse JP, Meyer J, 1983. A fine structural comparison of the healing of incisional wounds of mucosa skin, *J. Oral Pathol.* 7, 214-227
- Tanabe A, Kobayashi Y, Usui T, 1983. Enhancement of human neutrophil oxygen consumption by chemotactic factors, *Experientia* 39, 604-606

FIGURE LEGENDS

- Fig. 1.** At 12 hours after wounding, debridement and collagenolysis occur in damaged dermis. Amorphous dense (ADM) materials are randomly dispersed in this area. Bar indicates 1 μm .
- Fig. 2.** Irregular shape histocyte is observed. This cell has a large nucleus and long cytoplasm process. Phagocytic vesicle and lysosome are seen in the cytoplasm. Bar indicates 2 μm .
- Fig. 3.** Degenerating blood cells (BC) in poly band. Damaged blood cells transform spindle to irregular shape. Autolysis vesicles are observed in their cytoplasm. Bar indicates 2 μm .
- Fig. 4.** Histocytes are found in poly band. The irregularly shaped nucleus is located peripherally in cytoplasm. Moderately dense materials are found throughout the cytoplasm. A few multivesicular vesicles (MV) are observed near the nucleus. Bar indicates 2 μm .
- Fig. 5.** TEM image of histocytes in poly band. The nucleus is lobulated, and the chromatin is condensed peripherally. Bar indicates 4 μm .
- Fig. 6.** Higher magnification of phagocytic vacuole containing cellular debris in histocyte. Bar indicates 1 μm .
- Figs. 7, 8.** Morphological changes are detected in cell shape of the blood cells. At 2 days after wounding, partial aggregation of these cells is observed but is not connected to other cells. Nucleus is shrunken and condensed. Histocyte is seen near the blood cells. Bars indicate 4 μm .
- Fig. 9.** Phagocytic activity is observed in histocyte and collagenolytic collagen fibers is scattered. Large granules composed of moderately dense material are found near the nucleus. Bar indicates 0.5 μm .
- Figs. 10, 11.** Histocytes are found in damaged dermis. Bar of figure 10 indicates 2 μm . Bar of figure 11 indicates 1 μm .

- Figs. 12, 13.** Elongated histocyte is located parallel direction along the poly band. The frontal cell surface in contact with cellular debris is specialized as a ruffled border. This border is produced by complex infoldings of the plasma membrane that delimit irregular cytoplasmic arms (CA). Bar of figure 12 indicates 1 μm . Bar of figure 13 indicates 0.5 μm .
- Fig. 14.** Elongated histocyte appears to be actively phagocytosis and debridement. Large vacuole including melanosome etc. are found in the cytoplasm. Bar indicates 2 μm .
- Fig. 15.** Histocyte of a relatively small size show active phagocytosis. Bar indicates 2 μm .
- Fig. 16.** Histocyte is only a small amount of cytoplasm. Small vesicles, possibly pinocytotic in nature (arrows), are seen along the cell surface. Bar indicates 2 μm .
- Fig. 17.** The apical surface of histocyte in contact with cellular debris is specialized by complex infoldings. The nuclear forms an unusual structure known as the nuclear channel system (NCS, arrows). This system is located at the periphery of the nucleus adjacent to an invagination of cytoplasm into the nuclear contour. Bar indicates 4 μm .
- Figs. 19, 20.** TEM images of histocyte at 7 days post wounding. rER and Golgi apparatus (GA) are found near the nucleus. Various size granules composed of moderately dense material are found the cytoplasm. The phagocytic vacuoles (PhV) which are relatively larger in size have
- Figs. 21, 22.** Histocyte is round to rod in profile, with slender processes projecting from the surface. Free ribosomes are found throughout the cytoplasm. Bar of figure 20 indicates 2 μm . Bar of figure 21 indicates 0.5 μm .
- Figs. 23, 24.** Fibroblast is observed in the dermis at 3 days after wounding. Clusters of ribosomes and some short cisternae of rough-surfaced endoplasmic reticulum (rER) are found in the cytoplasm. Bar of figure 22 indicates 1 μm . Bar of figure 23 indicates 0.4 μm .
- Fig. 25.** Photomicrograph of regenerating skin at 7 day after injury. Note formation of connective tissue fibers and amorphous ground substance. Bar indicates 10 μm .
- Fig. 26.** Small Golgi apparatus (GA) and rER are situated near the nucleus. Scattered collagen fibers (arrows) are seen near the fibroblast. Bar indicates 0.5 μm .

