

한국재래산양 태아 및 신생아의 결장상피 발달에 관한 투과전자현미경적 연구

김종섭, 정순희¹, 원청길¹, 이종환², 조규현, 박수동, 조규원³, 김무장³, 송치원³

경상대학교 수의과대학, 동물의학연구소

¹진주보건대학, ²전남대학교 수의과대학, ³충남대학교 수의과대학

(게재승인 : 2002년 5월 27일)

Transmission electron microscopical study of the developing colonic epithelia in fetuses and neonates in Korean native goat (*Carpus hircus*)

Chong-Sup Kim, Soon-Hee Jung¹, Chung-Kil Won¹, Jong-Hwan Lee², Gyu-Hyen Cho, Soo-Dong Kwak,
Kyu-Woan Cho³, Moo-Kang Kim³ and Chi-Won Song³

Institute of Animal Medicine, College of Veterinary Medicine Gyeongsang National University

¹*Chinju Health College, Chinju Korea, ²College of Veterinary Medicine Chunnam National University*

³*College of Veterinary Medicine Chungnam National University*

(Accepted : May 27, 2002)

Abstracts : The morphological development of colonic epithelia in fetuses between 60-, 90-, and 120-days gestation and neonates of Korean native goat were investigated by transmission electron microscopy. In the 60-day-old fetuses, the colonic epithelial cells contained nuclei, nucleoli, mitochondria, free ribosomes, and short granular and agranular endoplasmic reticula. The zonula occludens, zonula adherens, desmosomes, short microvilli, and masses of glycogen granules were also observed. The goblet cells contained a few secretory granules. In the 90-day-old fetuses, the cell organelles of the colonic epithelial cells were better developed than those in the 60 day old fetuses. Increased number of endoplasmic reticula, digitiform intercellular junctions, mitochondria, and Golgi complexes was observed. The goblet cells contained a lot of secretory granules. In the 120-day-old fetuses, the colonic epithelial cells contained long microvilli and well developed cell organelles. The nuclear cleft and large intercellular space were also appeared. Numerous fibroblasts were seen in the basement membrane. The number of goblet cells was further observed. In the 120 day old fetuses, all colonic epithelial cells shape simple columnar cells. In newborns, the colonic epithelial cells were covered with extensive microvilli. There were many goblet cells with a lot of secretory granules protruding into the intestinal lumen, and some goblet cells secreted their secretory granules into the lumen. In the 60-and 90-day-old fetuses, the colonic epithelial cells appeared to be either simple columnar or stratified columnar depending on areas.

Key words : Korean native goat, colon, development.

서 론

결장상피의 발달에 관한 투과전자현미경적인 연구는 마우스¹, 랫드²⁻⁸, 기니피그⁹, *suncus murinus*^{10,11}, 토끼¹², 소

¹³, 산양¹⁴⁻¹⁸, 사슴¹⁹⁻²² 등 여러 동물²³⁻²⁷에 대한 보고가 있다.

Eastwood 와 Tries³는 16일령 랫드 태아의 결장상피세포층은 2-3층으로, 18일령 태아에서는 7-8층으로 구성되

* Corresponding author : Dr. Chung-kil Won, College of Veterinary Medicine, Gyeongsang National University, Chinju 660-701 Korea (E-mail : wonck@gsnu.ac.kr)

어 있었으나 20일령 태아에서는 단층원주상피로 되어있었고, 술잔세포가 발달하였다고 하였다. Williams와 Bell⁸은 16일령 랫드 태아의 결장상피는 1-3개층으로, 19일령에서는 2-6층으로, 22일령에서는 단층원주상피로 되어있다고 하였다.

Asari *et al*¹³은 3개월령 소 태아의 결장상피에서 원시술잔세포가 출현하였으며, 5~6개월령 태아결장의 장샘(intestinal crypts)내에 술잔세포와 흡수세포 그리고 장용모(intestinal villi)에서 공포화된 세포가 관찰되었다고 하였다.

과과 김¹⁵은 산양의 태아와 신생아의 소장형성에 관하여 보고한 바 있으며, 조 등¹⁷은 산양의 태아와 신생아의 맹장발달에 관하여, 송 등¹⁸은 산양의 태아와 신생아의 십이지장 발달에 관하여 투과전자현미경적으로 보고한 바 있고, 정 등¹⁶은 산양의 태아와 신생아의 결장발달에 관하여 광학 및 주사전자현미경적으로 보고한 바 있다.

이상의 여러 보고들은 주사 및 투과전자현미경적으로 다양하게 연구되어 왔으나 아직 한국재래산양의 태아 및 신생아의 결장 발달에 관한 투과전자현미경적 보고는 없다. 이에 저자들은 한국재래산양의 태아 및 신생아 결장상피의 발달 과정을 투과전자현미경적으로 관찰하여 그 결과를 보고하는 바이다.

재료 및 방법

실험동물

임상적으로 건강하다고 인정되는 2-4세의 경산 한국재래산양(체중 23-33 kg) 8두를 자연교미 시킨 후 임신 60, 90, 120일령 태아와 신생아를 각각 2두씩 사용하였다. 투과전자현미경 표본제작은 결장의 중간부위인 중심급이를 1mm³의 크기로 잘라 0.1M 인산 완충액으로 희석한 2.5% glutaraldehyde 용액에 전고정하였으며, 고정된 조직편은 pH 7.2의 0.1M sodium phosphate buffer 용액으로 1시간 간격으로 3회 수세한 다음 osmium tetroxide로 후고정한 후 70, 80, 90, 95% 및 absolute ethanol로 2시간씩 탈수하였다. 탈수된 조직편은 epon 혼합물에 포매하여 0.5-2.0 μm 두께로 semithin section한 후 toluidine blue로 염색하여 광학현미경으로 검경부위를 결정하였다. 결정된 시료는 다시 60-90nm 두께로 ultrathin section 과정을 거쳐 uranyl acetate 와 lead citrate로 이중 염색하여 투과전자현미경(Hitachi H-600)으로 75 KV에서 촬영하여 사진을 관찰하였다.

결 과

한국재래산양의 60일령 태아의 결장점막에서 상피세

포의 자유면에 짧은 미세용모가 많이 돌아 있었으며, 점막상피세포의 핵막은 불규칙한 톱니모양을 하고 있었고 1~3개의 핵소체를 가지고 있었다(Fig 1a-1d). 세포질내에는 많은 사립체와 짧은 과립 및 무과립형질내세망, 골지복합체 및 용해소체가 관찰되었으며 당원과립이 핵의 위와 아래에 집결되어 있었다. 그리고 사립체에는 능선(crest)이 드물게 배열되어 있었고 인접한 세포들 사이에 세포사이연접이 형성되어 폐쇄띠와 부착반 등이 관찰되었다. 분비과립이 형성된 술잔세포가 출현하였으며, 점막상피는 부위에 따라 중층 또는 단층원주세포로 되어 있었다(Fig 1a-1d).

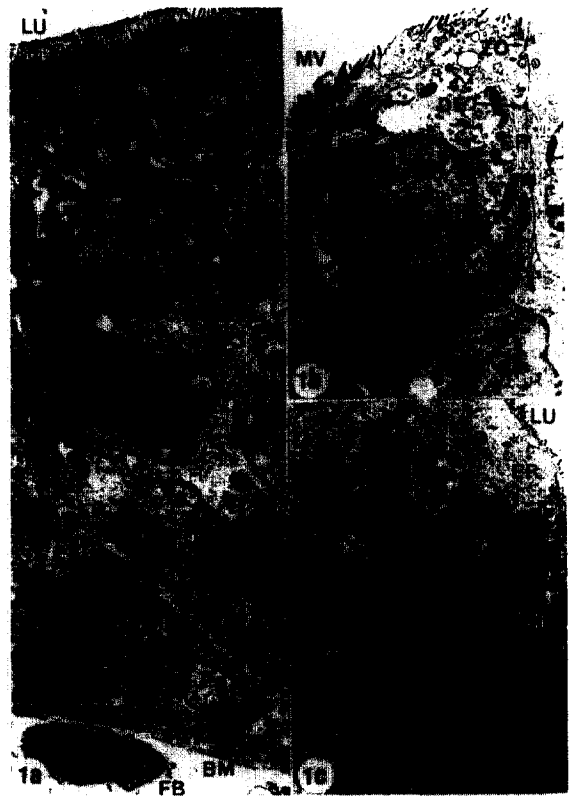


Fig. 1. Electron micrographs showing the colon epithelium in the 60-day-old fetus of the Korean native goat. 1a: The stratified epithelial cells with microvilli (MV), nuclei (N), nucleoli (NO), endoplasmic reticula (ER), mitochondria (MT), glycogen granules (GG), basement membrane (BM), fibroblast (FB) and lumen (LU) are observed. TEM x 5,200. 1b: The zonular occludens (ZO), desmosomes (DE) are observed. TEM x 3,900. 1c: The lysosomes (LY) are observed. The goblet cell contains a lot of mucous droplets. TEM x 5,200. 1d: The Golgi complex (GO) and free ribosomes (R) are observed. TEM x 15,600.

90일령 태아의 결장점막상피세포는 형질막외면의 자유면에 미세융모가 없는 부분도 있었고 세포포함물인 당원과립이 많이 증가되어 있었으며 윤곽이 뚜렷한 점액과립(mucous droplets)이 가득찬 술잔세포가 내강쪽으로 이동되어 있었다(Fig 2b). 인접한 상피세포들 사이에 폐쇄피, 부착반, 손가락모양세포사이연접 등이 발달되어 있었다. 점막상피세포에 핵과 핵소체, 과립형질내세망(granular endoplasmic reticulum), 골지복합체 그리고 사립체 수가 60일령에 비해 증가되었으며 사립체의 능선도 발달되어 있었고, 상피는 60일령 태아와 마찬가지로 부위에 따라 중층 또는 단층원주상피로 구성되어 있었다(Fig 2a, 2b).

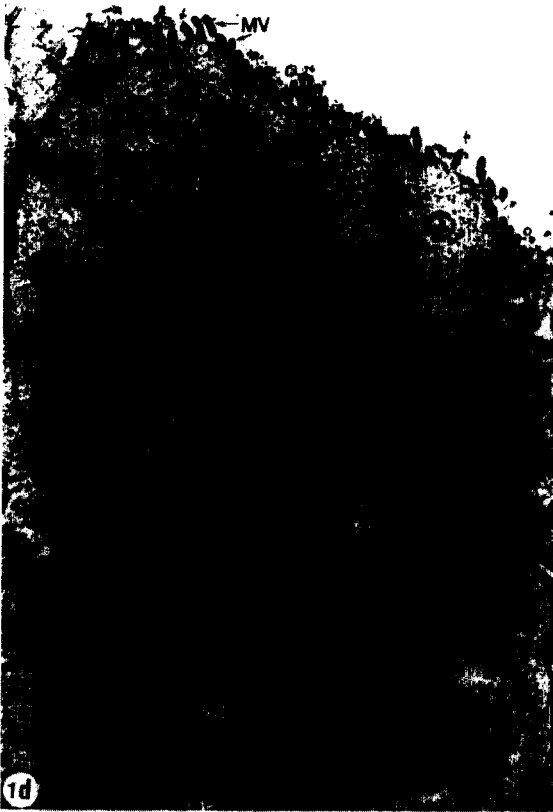


Fig. 2. Electron micrographs showing the colon epithelium in the 90-day-old fetus. 2a: The digitiform intercellular junction (DI), Golgi complex (GO), mucous droplet (MD), lysosome (LY), mitochondria (MT) and desmosome (DE) are observed. The goblet cell (GC) is also developed. TEM x 7,800. 2b: The basement membrane (BM) and fibroblast (FB) are observed. The colonic epithelia were simple columnar in some areas and stratified columnar in others. TEM x 6,500.

120일령 태아 결장점막상피는 단층원주상피로 구성되어 있었다. 90일령의 태아에 비해 세포소기관들이 더욱 발달되어 있었으며, 용해소체도 다수 관찰되었고, 자유 리보소체가 증가하였으며 핵은 기저막쪽으로 이동되어 있었다(Fig 3a). 미세융모의 길이가 증대되어 있었으며 인접한 세포들 사이에 큰세포사이공간(large intercellular spaces)이 출현하였고 핵에 갈라진 틈(nuclear cleft)이 관찰되었으며 기저막에는 섬유모세포가 다수 출현하였다. 분비과립이 가득찬 술잔세포의 수가 많이 증가하였고 잘 발달된 골지복합체도 관찰되었다(Fig 3a, 3b).

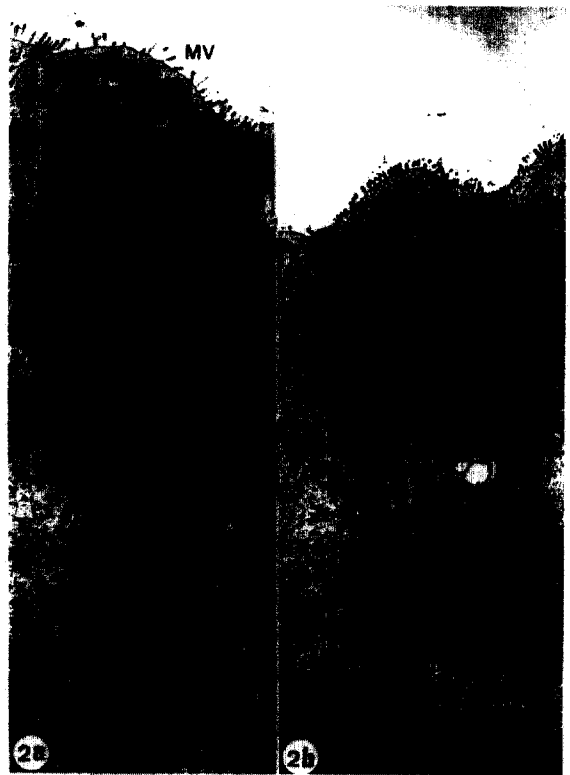


Fig. 3. Electron micrographs showing the colon epithelium in the 120-day-old fetus. 3a: The colonic epithelial goblet cells (GC), mucous droplets (MD) and free ribosomes (R) are observed. TEM x 6,800. 3b: The large intercellular spaces, many of glycogen granules (GG) and nuclear cleft (NC) are observed. The colonic epithelium is composed of simple columnar layer. TEM x 3,400.

신생아의 결장점막상피에서 점막상피세포사이에 산재해 있는 술잔세포가 120일령에 비해 많이 관찰되었으며 이 술잔세포내의 분비과립도 많이 증가되어 있었다. 분비과립이 충전되어 내강쪽으로 돌출된 술잔세포도 있었

다. 핵은 기저막쪽으로 편재되어 있으며 세포질내에 많은 당원과립이 밀집되어 있었다. 내강의 자유면에 미세융모가 뾰뾰이 돋아나 있었고, 세포질소기관들이 120일령에 비해 더욱 발달되어 있었다(Fig 4).

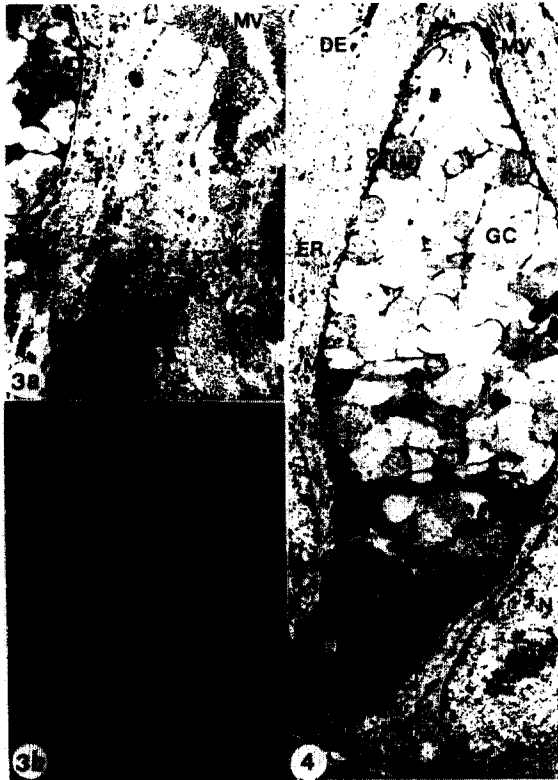


Fig 4. Electron micrograph showing the colon in newborn of the Korean native goat. The goblet cell (GC) contains a lot of the secretory granules protruding into the intestinal lumen. TEM x 6,500.

고 찰

태아기 결장상피의 세포층에 대하여 Eastwood와 Tries³는 16일령 랫드 태아의 결장상피는 2-3층, 17일 태아는 3-5층, 18일령 태아는 7-8층의 세포로 구성되고, 20일령 태아에서는 단층원주상피로 되어 있다고 하였다. Brackett와 Townsend⁴는 13일령 랫드 태아는 단층원주상피로 이루어졌으며, 14일령 랫드태아는 2-3층으로, 15-18일령 랫드 태아는 부위에 따라 중층상피세포, 단층입방 및 원주상피세포로 구성되어 있다고 하였으며, 20일령 태아에서는 단층원주상피로 구성되어 있다고 하였다. Colony와 Neutra⁵는 16일령 랫드 태아에서 2-4층의 중층상피로 되어 있었으나 21일령 태아에서는 단층원주상피로 구성되

었다고 하였다. Williams와 Bell⁸은 16일령 랫드 태아의 결장점막상피세포는 1-3층으로, 19일령 태아에서는 2-6층으로, 21일령 태아에서는 1-3층으로 감소되어, 22일령 태아에서는 단층원주상피로 구성되었다고 하였다.

Kiso *et al*¹¹은 21일령 사향쥐 태아 결장점막상피는 중층상피였으나, 28일령 태아에서 단층원주상피로 되어 있다고 하였다.

Bell과 Williams⁹는 9주령 사람 태아 결장상피는 3-4층, 임신 10-11.5주령 태아에서는 3-5층으로 구성되어 있으나 13주령 태아의 결장상피세포는 단층원주상피로 구성되어 있었다고 하였다.

Wille¹⁴는 10주령 소의 태아 결장은 중층상피세포로 이루어져 있다고 하였고, 조 등¹⁸은 한국재래산양에서 60일령과 90일령 태아의 맹장은 부위에 따라 단층원주상피 또는 중층원주상피로 구성되었으나 120일령 태아에서는 단층원주상피로 구성되었다고 하였다.

본 실험에서 한국재래산양의 60일령 및 90일령 태아의 결장상피는 부위에 따라 단층 혹은 중층원주상피로 구성되어 있었으나 120일령 태아에서는 단층원주상피로 구성되어 있었다. 이는 여러 동물에서^{3-5,8,11,19} 결장의 점막상피의 발달은 임신중반 이후 결장상피세포가 중층에서 단층원주상피로 변화된다는 보고와 일치하였고, 조 등¹⁸의 한국재래산양 맹장상피의 발달에 대한 보고와 유사하였다.

태아기 결장상피에서 술잔세포의 출현에 대하여 Williams와 Bell⁸ 그리고 Helander²은 임신 19일령 랫드 태아의 결장상피세포에 술잔세포가 출현하였다고 하였고, Eastwood와 Trier³는 20일령 랫드 태아에서 술잔세포가 관찰되었다고 하였으며, Brackett와 Townsend⁴, 그리고 Colony와 Neutra⁵는 21일령 랫드 태아의 결장점막에서 술잔세포가 관찰된다고 하였다.

Kiso *et al*¹¹은 24-26일령 사향쥐 태아의 결장점막에 미성숙한 술잔세포가 관찰되었고 28일령 태아에서는 술잔세포가 많이 관찰된다고 하였다.

Asari *et al*¹³은 3개월령 소 태아의 결장에서 원시술잔세포가 출현하였다고 하였으며, 송 등¹⁸은 한국재래산양의 60일령 태아의 십이지장상피에서, 조 등¹⁷은 한국재래산양 90일령 태아의 맹장상피에서 술잔세포가 출현하였다고 하였는데 본 실험에서는 60일령 태아의 결장상피에서 술잔세포가 출현하였다.

태아기 대장의 상피세포의 세포질소기관과 세포포함물에 대하여 Kiso *et al*¹¹은 사향쥐의 21일령 태아 대장점막상피세포에서 작은 사립체, 과립형질내세망, 큰 덩어리 모양의 당원과립, 큰세포사이공간을 관찰할 수 있었고, 24일령과 26일령 태아의 결장상피세포에 미세융모와 골

지복합체, 과립형질내세망등이 많아졌으며 핵은 기저막 가까이에 위치하고 당원과립은 덩어리 형태를 하지 않고 산재되어 있었다고 하였다. 28일령 태아 대장상피에서는 상피세포의 기저부에 핵이 위치하고 세포소기관들은 핵 주위에 아주 잘 발달한 것을 관찰할 수 있다고 하였다.

조 등¹⁷은 한국재래산양 60일령 태아의 맹장 점막상피 세포에서 핵, 핵소체, 짧은 미세융모, 과립형질내세망, 사립체, 그리고 골지복합체가 출현하였으며 덩어리모양의 당원과립도 많이 출현하였고 인접한 세포사이에 부착띠와 부착반이 관찰된다고 하였다. 120일령 태아 맹장상피는 미세융모와 세포소기관들은 더욱 발달되었으며 핵의 모양은 다양한 형태를 하고 있었다고 하였으며, 신생아의 맹장상피세포는 분비과립을 함유한 술잔세포가 내강 쪽으로 돌출되어 있었으며 분비과립을 내강으로 분비하는 것도 있었다고 하였다.

본 실험에서 한국재래산양 60일령 태아 결장점막상피에는 상피세포외에 술잔세포도 관찰되었으며 상피세포의 자유면에는 짧은 미세융모가 많이 돌아 있었고, 1개의 핵에 1-3개의 핵소체가 관찰되었으며, 핵막은 톱니모양으로 불규칙한 모양을 하고 있었다. 세포질내에는 많은 사립체, 짧은 과립 및 무과립형질내세망, 골지복합체 및 용해소체가 관찰되었으며 세포질 내에 당원과립이 핵의 위와 아래에 집결되어 출현하였다. 세포사이에선 인접장치인 폐쇄띠와, 부착반이 형성되어 있었다.

90일령 태아의 결장점막상피세포의 형질막 외면에 미세융모가 없는 부분도 있었다. 결장상피세포의 세포포함물인 당원과립도 60일령에 비해 더 많이 증가되었으며 분비과립이 충만된 술잔세포가 내강쪽으로 이동되었고, 술잔세포들의 분비과립들이 경계면에서 더욱 뚜렷해져 있었다. 세포사이에선 손가락모양 세포사이연접과 폐쇄띠, 부착반 등도 발달되어 있었다. 점막상피세포에는 핵과 핵소체, 과립형질내세망, 골지복합체 그리고 사립체가 증가되어 있었으며 사립체 능선의 수도 증가되어 있었다.

120일령 태아 결장상피세포는 90일령 태아에 비해 세포소기관들이 더욱 발달 되어 있었고, 결장상피세포의 핵에 갈라진 틈이 관찰되었는데, 이처럼 핵이 갈라진 틈에 대해 Porter와 Bonneville²⁸는 박쥐 체장의 내분비샘 베타세포(beta cell)에서도 지적한 바 있다. 점막상피세포는 큰세포사이공간이 출현하였고 기저막에 섬유모세포가 다수 출현하였으며, 핵은 세포기저막쪽으로 이동되어 있었다.

신생아의 결장상피에서 술잔세포의 분비과립은 많이 증가되었고, 분비물이 충만되어 내강쪽으로 돌출된 세포도 있었다. 점막상피세포의 핵은 기저막쪽으로 더욱 편

재되어 있었다.

한국재래산양의 결장상피세포의 세포소기관들은 60일령 태아에서 대부분 관찰할 수 있었고 일령의 증가에 따라 결장상피세포의 발달과정은 맹장상피세포의 발달과정¹⁷과 유사하였다.

결 론

한국재래산양의 태아와 신생아의 결장상피 발달과정을 조사하기 위하여 임신 60, 90, 120일령 태아와 신생아의 결장을 투과전자현미경으로 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

60일령 태아 결장점막상피세포는 사립체, 용해소체, 형질내세망 등 세포소기관의 발달이 미약하였고 그 수도 적었으나 당원과립은 많이 출현하였다. 인접한 세포사이에선 인접장치인 폐쇄띠와 부착반이 관찰되었으며, 내강면에는 미세융모가 발달되어 있었다. 술잔세포도 군데 군데 출현하였으나 분비과립의 윤곽은 뚜렷하지 않았다.

90일령 태아의 결장상피세포에서 골지복합체가 관찰되었으며 사립체와 당원과립의 수가 증가되었고, 손가락모양세포사이연접이 잘 발달되어 있었다. 술잔세포의 분비과립은 윤곽이 뚜렷해졌으며 분비과립이 내강쪽으로 이동되어 있었다.

120일령 태아의 결장상피세포에서는 골지복합체, 사립체, 형질내세망 등 세포소기관들이 잘 발달되었으며 핵이 갈라져 틈이 형성된 세포도 있었고, 인접세포사이에 큰세포사이공간이 관찰되었다. 기저막에 섬유모세포가 다수 관찰되었고 결장상피에 술잔세포도 90일령에 비해 더욱 증가되었다.

신생아 결장점막상피에 술잔세포가 많이 출현하였으며, 분비과립을 많이 함유한 술잔세포가 내강쪽으로 돌출되어 있었고, 분비과립을 내강으로 분비하는 것도 있었다.

60일령 및 90일령 태아의 결장점막상피는 부위에 따라 단층원주 또는 중층상피였으나 120일령 태아에서는 모두 단층원주상피였다.

참고문헌

1. Menard D, Dagenais P, Calvert R. Morphological changes and cellular proliferation in mouse colon during fetal and postnatal development. *Anat Rec*, 238:349~359, 1994.
2. Helander HF. Morphological studies on the development of the rat colonic mucosa. *Acta Anat*, 85:153~176, 1973.

3. Eastwood GL, Trier JS. Epithelial cell proliferation during organogenesis of rat colon. *Anat Rec*, 179:303~309, 1974.
4. Brackett KA, Townsend SF. Organogenesis of the colon in rats. *J Morphol*, 163:191~201, 1980.
5. Colony PC, Neutra MR. Epithelial differentiation in the fetal rat colon. I. plasma membrane phosphatase activities. *Dev Biol*, 97:349~363, 1983.
6. Lacy ER, Colony PC. Localization of carbonic anhydrase activity in the developing rat colon. *Gastroenterology*, 89:138~150, 1985.
7. Morikawa Y, Inoue S, Okada T. Perinatal changes in the population of colonic goblet cells in the rat. *Nippon Juigaku Zasshi*, 50:585~588, 1988.
8. Williams L, Bell L. Asynchronous development of the rat colon. *Anat Embryol*, 183:572~578, 1991.
9. Smith T, Christianson K, Moss R. *et al.* Structural and biochemical differentiation of the guinea-pig colon during foetal development. *Cell Tissue Res*, 242:197~209, 1985.
10. Kurohmaru M, Nishida T, Mochizuki K. Morphological study on the intestine of the musk shrew, *suncus murinus*. *Jpn J Vet Sci*, 42:61~71, 1980.
11. Kiso Y, Oku K, Matsuda H. *et al.* Prenatal and postnatal development of the large intestine in the insectivore *Suncus murinus*, the laboratory shrew. *Anat Rec*, 230:261~266, 1991.
12. Grant TD, Specian RD. Proliferation of goblet cells and vacuolated cell in the rabbit distal colon. *Anat Rec*, 252:41~48, 1998.
13. Asari M, Kashiazaki N, Kawaguchi N. *et al.* Developmental changes in the inner surface structure of the bovine large intestine. *Acta Anat Basel*, 127:137~141, 1986.
14. Wille KH. Ultrastructure of the embryonic intestinal epithelium. *Inst Vet Anat*, 99:415~418, 1986.
15. 박수동, 김종섭. 한국재래산양의 소장형성에 관한 조직학적 관찰. *대한수의학회지*, 25:1~6, 1985.
16. 정순희, 김종섭, 박수동. 한국재래산양의 태아 및 신생아의 결장발달에 관하여. *대한수의학회지*, 35:11~17, 1994.
17. 조규현, 김종섭, 이종환. 한국재래산양의 태아 및 신생아의 맹장발달에 관한 전자현미경적 연구. *대한수의학회지*, 39:425~434, 1999.
18. 송치원, 김종섭, 김무강. 한국재래산양의 태아 및 신생아의 십이지장의 발달에 관한 전자현미경적연구. *한국실험동물학회지*, 14:27~36, 1998.
19. Bell L, Williams LA. A scanning and transmission electron microscopical study of the morphogenesis of human colonic villi. *Anat Embryol*, 165:437~455, 1982.
20. Harmon B, Bell L, Williams LA. An ultrastructural study on the "meconium corpuscles" in rat foetal intestinal epithelium with particular reference to apoptosis. *Anat Embryol*, 169:119~124, 1984.
21. Williams LA, Bell L. An ultrastructural study of meconium corpuscles in human foetal colon. *Anat Embryol*, 171:373~376, 1985.
22. Bell L, Williams LA. The presence and signification of intraepithelial mesenchymal cells in human foetal colon. *Anat Embryol*, 177:377~380, 1988.
23. 윤석봉. 가축비교해부학. 문운당, 서울:288~305, 1990.
24. Dellmann HD. *Textbook of veterinary histology*. Lee & Febiger Co, Philadelphia:182~184, 1993.
25. Mclelland J, King AS. Aves colonic cavities and mesenteries In : Getty R.ed. *The anatomy of the domestic animals*. 5th ed, Saunders Co, Philadelphia: 2:1849~1882, 1975.
26. Sheahan DG, Jervi HR. Comparative histochemistry of gastrointestinal mucosubstances. *Am J Anat*, 146:103~136, 1976.
27. Bloom W, Fawcett DW. *A textbook of histology*, 10th ed, Saunders Co, Philadelphia:658~687, 1975.
28. Porter KR, Bonneville MA. *Fine structure of cells and tissue*, 4th ed, Lea & Febiger Co, Philadelphia:72~74, 1973.