

꿩 전위의 비만세포에 관한 형태학적 연구

이영훈[†]

전북대학교 치과대학 구강해부학교실, 구강생체과학연구소

Morphological Study on the Mast Cell of Proventriculus in Pheasant (*Phasianus colchicus*)

Y. H. Lee[†]

Department of Oral Anatomy, School of Dentistry and Institute of Oral Bioscience, Chonbuk National University, Jeonju, Korea, 561-756

ABSTRACT Mast cells have been studied extensively in various animals including rats and mice, whereas little is known the morphological data about pheasant mast cells. Here, morphological features of Korean pheasant mast cells are described in this study using light and electron microscopes. For light microscopy, mast cells had many metachromatic granules stained with toluidine blue in the cytoplasm. The fixation with 10% neutral buffered formalin blocked staining of most mast cells but a modified Karnovsky solution proved to be a good fixative. In Korean pheasants, toluidine blue stained more mast cells than did alcian blue. For electron microscopy, the mast cells of the Korean pheasant were round, oval, spindle-like and irregular form and occasionally had a few short cytoplasmic processes. These cells had membrane-bounded granules and poorly developed organelles. Some granules in the cytoplasm of the mast cells had bilayer membrane. Most granules were round shape and the membrane of several granules was concave or convex. The granules were composed of three parts, homogenous, particulate and reticular pattern.

(Key words: pheasant, mast cells, proventriculus, morphology)

서 론

비만세포(mast cells)는 뚜렷한 세포질내 과립(cytoplasmic granules)을 가지고 있고 조직의 광범위한 부위에 분포하고 있는 세포이다. 이 세포들은 과민반응(allergic reactions)에 중요한 역할을 하고 상처치유(wound healing), 섬유소증(fibrosis), 종양(tumors), 자가면역질환(autoimmune diseases), 면역계통(immune systems)과 같은 병태생리학적 조건에 관여하는 것으로 알려져 있다(Mekori and Metcalfe, 2000; Benoist and Mathis, 2002). 또한 비만세포가 기생충의 감염시나 감염초기 염증반응시 숙주를 보호하는 세포라는 새로운 개념을 보고하였다(Galli, 1993).

비만세포는 척추동물 즉, 어류(Roberts, 1978), 양서류(Holmgren, 1938; Setoguti, 1969; Nakao and Uchinomiya, 1974; 송창호 등, 1997), 파충류(Michels, 1922; Sottovia-Filho,

1974), 조류(Wight, 1970; 이영훈 등, 2000), 포유류(Moriyasu, 1969; Taichman, 1970; Steer, 1976; Dvorak, 1989; Fawcett, 1994)에 걸쳐 존재하고 있음이 형태학적 연구로 밝혀졌다. 동물의 종류에 따라 그 모양과 크기에 대한 차이를 살펴보면 생쥐와 흰쥐의 것은 원형 또는 타원형인 것이 많고 사람에서도 그 형태는 비슷하나 크기가 생쥐와 흰쥐의 것보다 작다. 그리고 기니픽의 비만세포는 대부분 긴 방추형이고 (Fawcett, 1994), 닭은 세포 표면이 불규칙한 난원형이 대부분이다(Wight, 1970). 양서류인 도롱뇽(newt, Setoguti, 1969)과 무당개구리(송창호 등, 1997)는 난원형과 방추형, 일정한 형태를 갖지 않는 부정형 등으로 다양하고, 개구리 유생인 올챙이에서는 대부분 원형의 비만세포들이 관찰되었다(Nakao and Uchinomiya, 1974). 비만세포의 과립은 고정액에 따라 다양한 염색성을 나타내는데 그중에서 Carnoy's 용액으로 고정한 표본에서 가장 많은 비만세포들이 관찰되는 것으로 보고되었다.

[†] To whom correspondence should be addressed : yhlee@chonbuk.ac.kr

(Enerbäck, 1966; Strobel et al., 1981; Pipkorn et al., 1988).

이처럼 동물의 종류에 따라 비만세포의 모양이 다르게 관찰되고 있으나 꿩의 비만세포에 관한 형태학적 연구 자료는 거의 보고되어 있지 않고 특히 꿩 비만세포의 미세구조에 관한 연구는 찾아볼 수 없다. 이에 저자는 꿩 전위에서 비만세포의 형태학적 특징을 구명하고자 본 연구를 실시하였다.

재료 및 방법

1. 실험 재료

한국산 성숙꿩(6개월령) 5수를 전라북도 남원시 근교에 소재한 꿩 농장(남원조류)에서 구입하여 본 연구에 사용하였다. 꿩은 전북대학교 수의과대학 수의학과 해부학교실 사육장에서 무제한 자유급식방법으로 사육되었다. 꿩 비만세포의 형태학적 특징을 관찰하기 위하여 케타민(50mg/kg)으로 근육주사하여 마취하고 전위(proventriculus)를 채취하였다.

2. 실험 방법

광학현미경 관찰을 위하여 채취된 조직을 10% 중성포르말린(neutral buffered formalin)과 Carnoy's 용액, Karnovsky 용액으로 4°C에서 24시간동안 고정하였다. 고정된 조직을 0.1 M 인산완충액으로 수세하고 아세톤 용액으로 탈수한 후 glycol methacrylate resin을 침투·포매하였다. 각각의 표본에서 비만세포를 관찰하기 위하여 1.5 μm 연속절편을 제작하였고 toluidine blue (Enerbäck, 1966)와 alkaline-Giemsa (Dvorak, 1989), alcian blue (Wingren & Enerback, 1983)용액으로 염색을 실시한 다음 광학현미경(Olympus VANOX-T, Japan)으로 관찰하고 사진촬영하였다.

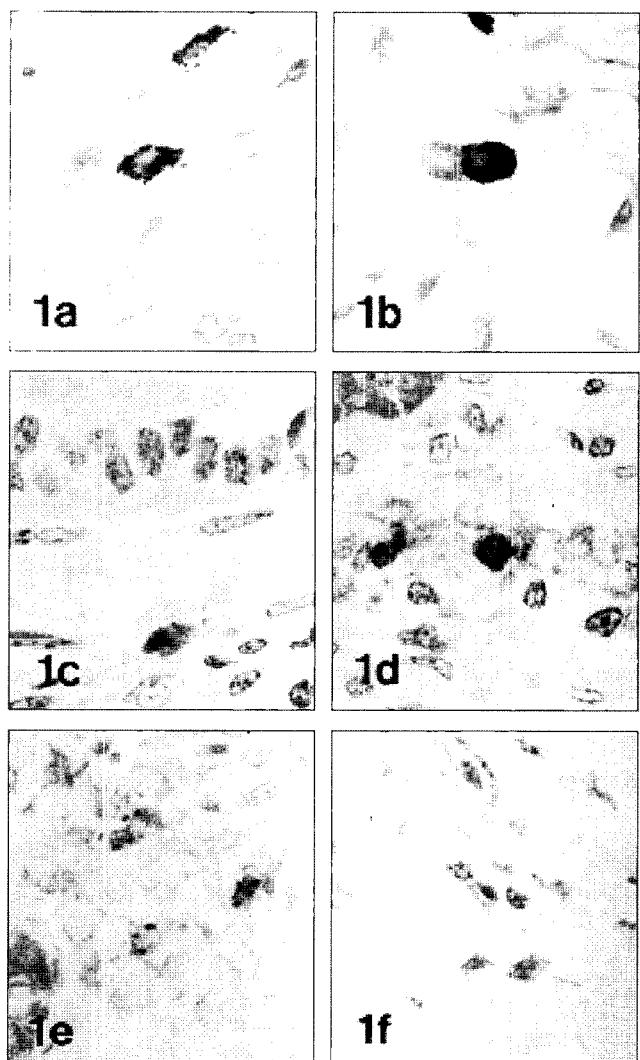
전자현미경으로 미세구조를 관찰하기 위하여 채취된 조직을 세절(1mm³)한 다음 Karnovsky 용액으로 4°C에서 2시간 동안 전고정하였고 0.1 M 인산완충액으로 수세한 다음 osmium tetroxide로 4°C에서 2시간 동안 후고정하였다. 고정된 조직을 일련의 탈수과정을 거친 다음 epon resin을 침투시킨 후 60°C에서 중합포매하였다. 후박절편(1μm)을 작성하여 0.1% toluidine blue 염색으로 비만세포를 확인한 다음 초박절편(80nm)을 제작한 다음 uranyl acetate와 lead citrate로 이중염색을 실시한 후 전자현미경(JEM 1200-EX, Japan)으로 관찰하고 사진촬영하였다.

결과 및 고찰

1. 광학현미경적 관찰소견

한국산 꿩 전위의 비만세포는 원형, 난원형, 방추형 또는 부정형이었고 크기는 8~10μm이었다(Fig. 1). 비만세포는 점막층(mucosa)에 주로 분포하였고 점막하층(submucosa)과 근육층(muscularis), 장막층(serosa)에서는 드물게 관찰되었다.

Karnovsky 용액으로 고정한 표본에서의 비만세포는 alcian



- a) Karnovsky's solution fixation and toluidineblue stain.
- b) Karnovsky's solution fixation and alkaline-Giemsa stain.
- c) Karnovsky's solution fixation and alcian blue stain.
- d) Carnoy's solution fixation and toluidine blue stain.
- e) Carnoy's solution fixation and alkaline Giemsa stain.
- f) Carnoy's solution fixation and alcian blue stainc) Karnovsky's solution fixation and alcian blue stain.

Fig. 1. Mast cells in the proventriculus. × 1,000.

blue와 giemsa, toluidine blue 염색에서 잘 관찰되었다(Figs. 1a-c). Carnoy's 용액으로 고정한 표본에서 비만세포는 alcian blue와 giemsa, toluidine blue 용액에 염색되었으나, 세포질내 과립이 세포외기질로 확산되는 모양으로 관찰되었다(Figs. 1d-f).

흰쥐에서 결합조직에 분포되어 있는 비만세포는 다양한 고정액에 의해서 잘 염색되었고, 점막층에 분포되어 있는 비만세포(mucosal mast cells)는 Carnoy's 고정액과 lead salts가 첨가된 고정액, 낮은 농도의 formaldehyde와 acetic acid의 혼합액으로 고정하였을 경우에만 염색되는 것으로 보고되었다(Enerbäck, 1966). 점막비만세포의 경우 Karnovsky 용액에 비하여 Carnoy's 용액으로 고정했을 때보다 많은 비만세포를 확인되는 것으로 보고되었다(Newlands et al., 1984). 사람에서는 비만세포의 고정액으로 포르말린을 사용했을 경우 점막층과 점막하층에서 염색되는 비만세포의 수가 조직에 분포되어 있는 비만세포의 수보다 현저하게 감소하는 것으로 알려졌다(Strobel et al., 1981; Pipkorn et al., 1988). 돼지에서는 basic lead acetate 용액과 Carnoy's 용액이 포르말린용액 보다 우수한 고정액으로 보고되었다(Pabst and Beil, 1989; Xu et al., 1993). 본 연구에서는 꿩 전위의 점막비만세포를 대상으로 Karnovsky 용액이 가장 우수한 고정액으로 확인되었다. 특히 비만세포는 면역에 관여하는 세포로써 가금의 소화관에 감염 또는 성장기 소화기 장애에서 비만세포의 역할에 중요한 기초자료로 활용될 수 있을 것으로 생각된다.

2. 미세구조적 관찰소견

꿩 전위 비만세포는 불규칙한 난원형 또는 방추형이고 수지상의 세포질돌기를 가지고 있으며 이러한 세포질돌기는 세포 표면과 나란하게 배열되어 있다. 비만세포의 핵은 둑글고 난원형이고 그 표면은 얇은 패임을 가진 모양이며 이중막(double membranes)을 가지고 있다(Fig. 2a).

다수의 리보솜(ribosomes)이 세포질 전체에 분산되어 있고 골지체와 무과립형질내세망(smooth endoplasmic reticulum)은 핵 주위에 위치하고 있으나 과립형질내세망(rough endoplasmic reticulum)은 거의 관찰되지 않았다. 사립체(mitochondria) 수조(cristae)는 비교적 잘 발달되어 있다(Fig. 2a).

비만세포의 세포질 내에는 분비과립(secretory granules)으로 채워져 있고 이러한 과립들은 막으로 둘러싸여 있다. 과립들의 단면 모양은 원형 또는 난원형으로 관찰되었고 다양한 치밀도를 나타내었으며 일부의 과립은 오목하게 험몰되어 있거나 볼록하게 돌출되어 있었다(Fig. 2a). 과립 속의 구조는 동질성(homogenous, type 1), 입자형(particulate, type 2),

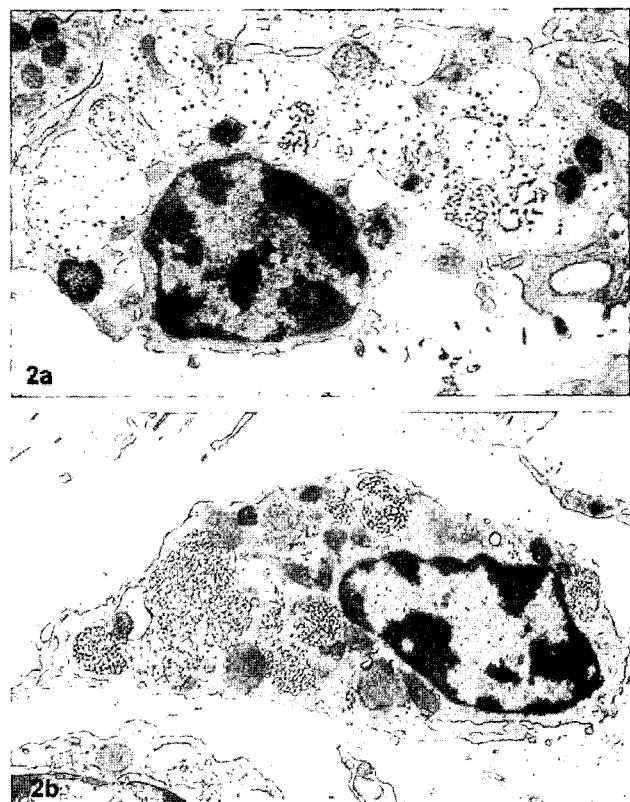


Fig. 2. Electron micrographs of mucosal (a) and connective (b) mast cells in the proventriculus. $\times 31,000$. Most of granules are round or oval shape, their diameter varies between 0.2 to 1.1 μm .

망상형(reticulum, type 3)으로 이루어져 있었다(Fig. 2b).

비만세포는 과립속에 항응고제(anticoagulant)인 해파린/heparin과 혈관확장물질(vasodilators)인 히스타민(histamine)과 세로토닌(serotonin)을 가지고 있고, 형태학적으로 비만세포의 과립은 화학적 조성의 변화에 따라 치밀도가 다르게 나타나는 것으로 알려져 있다(Riley and West, 1953; Benditt et al., 1955; Falck et al., 1964). 가금종에서 닭의 비만세포 과립 미세구조는 다양한 치밀도를 가진 망상형과 입자형으로 이루어져 있는 것으로 보고되었다(Wight, 1970). 본 실험에서 확인된 꿩 비만세포의 미세구조는 닭의 비만세포와 유사하게 관찰되었고 과립 모양의 불규칙한 차이를 확인 할 수 있었다.

적 요

꿩 비만세포는 원형, 난원형, 방추형 또는 부정형이었고 세포질돌기를 가지고 있었다. 꿩 비만세포는 Karnovsky 용

액으로 고정했을 때 가장 좋은 염색성을 얻었고, Toluidine blue로 염색을 했을 때 비만세포의 과립은 이염색성(metachromatic)을 나타내었다. 비만세포의 세포질에는 막으로 둘러싸인 과립과 발달이 미약한 세포소기관으로 채워져 있었다. 비만세포의 과립은 원형과 난원형이었고 일부 과립은 막이 험몰된 오목한 모양과 밖으로 돌출된 볼록한 모양이었다. 과립 속의 구조는 동질성, 입자형 또는 망상형이었다.

인용문헌

- Bennett EP, Wong RL, Arase M, Roceper E 1955 5-Hydroxy-tryptamine in mast cells. Proc Soc Exp Biol Med 90:303-304.
- Benoist C, Mathis D 2002 Mast cells in autoimmune disease. Nature 420:875-878.
- Dvorak AM 1989 Human Mast Cells. 1st Ed, Springer-verlag, Berlin Heidelberg, pp 3-12.
- Enerbäck L 1966 Mast cells in rat gastrointestinal mucosa. I. Effects of fixation. Acta Pathol Microbiol Scand 66:289-302.
- Falck B, Nystedt T, Rosengren E, Stenflo J 1964 Dopamine and mast cells in ruminants. Acta Pharmacol 21:51.
- Fawcett DW 1994 A Textbook of Histology, 12th Ed, New York, Chapman & Hall, pp 157-160.
- Galli SJ 1993 New concepts about the mast cell. New England J Med 328:257-65.
- Holmgren H 1938 Eine neue Methode zur Fixierung der Ehrlichschen Mastzellen, Mit besonderer Berücksichtigung der Chemie der Zellgranula. Ztschr Wisschftl Mikros 55: 419-423. (Cited from The Mast Cells. Butterworths, London, 1965).
- Mekori YA, Metcalfe DD 2000 Mast cells in innate immunity. Immunol Rev 173:131-140.
- Michels NA 1922 Genèse heteroplastique et hemoplastique des labrocytes (Mastzellen) chez les vertébrés inférieurs. C R Soc Biol (Paris) 87:111-116. (Cited from The Mast Cells. Butterworths, London, 1965).
- Moriyasu S 1969 The fine structure of skin mast cells of the rat. Hirashima J Med Scie 18:119-124.
- Nakao T and Uchinomiya K 1974 Fine structure of cytoplasmic granules of tadpole mast cells. J Electron Microscopy 23: 57-60.
- Newlands GF, Huntley JF, Miller HR 1984 Concomitant detection of mucosal mast cells and eosinophils in the intestines of normal and *Nippostrongylus*-immune rats. A re-evaluation of histochemical and immunocytochemical techniques. Histochemistry 81:585-589.
- Pabst R, Beil W 1989 Mast cell heterogeneity in the small intestine of normal, gnotobiotic and parasitized pigs. Int Arch Allergy Appl Immunol 88:363-366.
- Pipkorn U, Karlsson G, Enerbäck L 1988 Phenotypic expression of proteoglycan in mast cells of the human nasal mucosa. Histochem J 20:519-525.
- Riley JF, West GB 1953 The presence of histamine in tissue mast cells. J Physiol 120:528-537.
- Roberts RJ 1978 Fish Pathology. Bailliere Tindall, London, 1st Ed pp 30-32.
- Setoguti T 1969 Electron microscopic study on the newt mast cell, especially its granule-extrusion mechanism. J Ultrastruct Res 27:377-395.
- Sottovia-Filho D 1974 Morphology and histochemistry of the mast cells of snakes. J Morpho 142:109-113.
- Steer HW 1976 Mast cells of the human stomach. J Anat 121:385-389.
- Strobel S, Miller HR, Ferguson A 1981 Human intestinal mucosal mast cells: evaluation of fixation and staining techniques. J Clin Pathol 34:851-858.
- Taichman NS 1970 Ultrastructure of guinea pig mast cells. J Ultrastructure Res 32:284-287.
- Wight PAL 1970 The mast cells of *Gallus domesticus*. I. Distribution and Ultrastructure. Acta Anat 75:100-113.
- Wingren M, Enerbäck L 1983 Mucosal mast cell of the rat intestine: a re-evaluation of fixation and staining properties, with special reference to protein blocking and solubility of the granular glycosaminoglycan. Histochem J 15:571-582.
- Xu LR, Carr MM, Bland AP, Hall GA 1993 Histochemistry and morphology of porcine mast cells. Histochem J 25:516-522.
- 송창호 김형태 채옥희 이선옥 이무삼 1997 무당개구리 혀 비만세포의 미세구조에 관한 연구. 대한해부학회지 30: 29-34.
- 이영훈 채옥희 한의혁 김형태 이무삼 김인식 양홍현 송창호 2000 한국산 꿩 회장의 비만세포에 관한 형태학적 연구. 한국가금학회지 27:255-258.