

생쥐 피부 손상 후 재생에 관한 전자현미경적 연구

임형수 · 황덕호

서울대학교 의과대학 해부학교실

생쥐의 피부에 외과적인 절제를 하여 손상시킨 후, 재생시 시간 경과에 따른 laminin, fibronectin 그리고 collagen type IV의 출현 및 분포 양상을 관찰하기 위한 일환으로 제 1일과 제 3일에 시간별로 조직을 채취하여 냉동초미세박절법으로 면역조직화학을 시행한 후 전자현미경적으로 관찰하였다.

건강한 ICR 계 생쥐 15마리를 외과적으로 생쥐 등에 피부 손상(길이 2 cm, 폭 0.5 mm, 깊이 2 mm)을 가하고 봉합은 하지 않은 상태로 정상적인 사육을 하였다. 조직은 손상 후 제 1일과 제 3일에 채취하였으며, 정상 대조군은 손상을 가하지 않은 피부를 사용하였다. 절취된 조직(실험군 당 5 마리씩)은 4% paraformaldehyde와 0.02% glutaraldehyde 혼합액으로 2 시간 고정된 후 완충액으로 수세하여 반응을 중단시켰다. 2.3 M sucrose와 20% PVP를 냉동보호제로 사용하여 1차로 Freon gas로 얼린 다음 2차로 액체질소에 냉각시켜 냉동시험관에 보관하고 -80 °C에서 준초박절편을 제작하여 원하는 부위를 확인 후, -110 ~ -120 °C에서 80 nm의 두께로 초미세박절을 시행하였다.

면역조직화학은 Rabbit anti-laminin, fibronectin, collagen IV 혈청을 1차 항체로 사용하고 수세 후 2차 항체인 면역금(6 nm)이 표지된 Goat anti-rabbit 항체를 차례로 표지한 다음, 2% polyvinylalcohol과 0.003% uranyl acetate 혼합액으로 중금속 염색을 한 후, 투과전자현미경으로 80 KV에서 30,000배의 배율로 관찰하였다.

정상 대조군에서 생쥐의 상피는 2-3층 정도로 나타났으며 각각의 각질세포는 면역조직화학을 시행하여 전자현미경으로 관찰하였을 때, fibronectin과 laminin 그리고 collagen IV가 표지되었다. 실험군에서 손상 후 제 1일에 상피는 수축되었으며 세포질 돌기를 내어 세포 상호간에 연결을 이루고 있었고,

진피층에서는 apoptotic body를 형성하여 apoptosis의 양상을 나타내는 세포가 다수 관찰되었다. 세포의 핵은 분획화(fragmentation)되어 있었고 핵막의 주변부를 따라 염색질이 농축화(condensation)되어 있었다. 면역조직화학을 시행하여 관찰하였을 경우, fibronectin과 laminin 그리고 collagen IV가 이들에서는 표지되지 않았다. 손상 후 제 3일에는 계속적으로 apoptotic body를 형성하여 apoptosis의 양상을 나타내는 세포들이 많이 출현하였고, 면역조직화학을 시행하여 관찰하였을 때, 세포질 내에서는 fibronectin과 laminin 그리고 collagen IV가 일부분에서 다량으로 표지되었다.

이상의 결과로 피부의 각질세포는 fibronectin과 laminin 그리고 collagen IV를 분비하며 진피에서 apoptosis의 양상을 나타내는 apoptotic body가 손상 후 제 1일부터 나타나기 시작하여 계속적으로 손상 후 제 3일에도 출현한다. 이 apoptosis를 일으키는 세포는 손상 후 제 3일부터 fibronectin과 laminin 그리고 collagen IV를 분비한다.



Figure 1. Typical apoptotic body of a cell in dermis after injury (3 days). Note the nucleus with chromatin condensation. Bar= 200 nm



Figure 2. Typical apoptotic body of a cell in dermis after injury (3 days). Immunogolds are labelled for laminin. N: Nucleus, Bar= 500 nm