

흰 쥐 신장에서 calbindin-D_{28k} 양성세포의 발생시기에 따른 분포양상 : 면역세포화학적 연구

김진, 김영희, 김인범, 한승호, 차정호, 정진웅
가톨릭대학교 의과대학 해부학교실

사람을 비롯한 포유동물 신장에서 칼슘 재흡수 기전에 중요한 역할을 하는 것으로 알려진 칼슘결합 단백질(calcium binding protein) 중 calbindin-D_{28k} 양성세포의 종류, 출현시기, 및 분포양상을 광학 및 전자현미경적 면역염색을 이용하여 밝히고자 하였다.

실험동물은 Sprague-Dawley계 흰 쥐를 사용하였고, 출생전군은 임신 16일, 18일 및 20일에 출생후군은 1일, 3일, 5일 7일 및 14일에 신장을 고정하였다. 신장은 paraformaldehyde - lysine - periodate로 심장이나 복대동맥을 통하여 관류고정하였고, vibratome으로 50 μ m 두께의 조직절편을 만든 후, calbindin-D_{28k}에 대한 mouse monoclonal antibody (Sigma USA)를 이용하여 포매전 면역색법을 시행하였다. 원위곱슬세관, 연결세관 및 집합관내 사이세포는 포매전 염색법을 시행한 표본을 전자현미경으로 관찰하거나, 1 μ m 두께의 조직절편을 탈 epon한 후 H⁺-ATPase에 대한 rabbit polyclonal antibody를 이용하여 염색한 다음, Vector SG(Vector Laboratories)를 발색하고 광학현미경으로 관찰하여 구분하였다.

calbindin-D_{28k} 양성세포는 원위곱슬세관, 연결세관 및 수질집합관에서는 임신 18일부터 피질집합관에서는 출생 후부터 관찰되었으며, 발생이 진행되면서 점차 그 수가 증가하였다. 그러나 콩팥소체, 근위세관을 포함한 다른 요세관에서는 양성반응을 관찰할 수 없었다. 원위곱슬세관에서 calbindin-D_{28k} 항체에 대한 양성반응은 원위곱슬세관 세포에 나타났고, 사이세포에서는 나타나지 않았다. 연결세관에서 calbindin-D_{28k}는 연결세관세포에서만 양성반응을 보일뿐, H⁺-ATPase에 양성반응을 보이는 사이세포에서는 음성반응을 띄었다. 이러한 현상은 발생이 진행되는 동안 같았다.

집합관의 경우, 출생 전에는 calbindin-D_{28k} 양성세포는 모두 사이세포였으며, 주세포는 모두 음성반응을 띄었다. 사이세포에서의 양성반응은 세포의 종류에 따라 달라서, H⁺-ATPase를 자유면 세포막에 가지고 있는 A형 사이세포는 강한 양성반응을 의는 반면, H⁺-ATPase를 기저외측 세포막에 가지고 있는 B형 사이세포는 약한 양성반응을 띄었다. 속수질집합관내 calbindin-D_{28k} 양성 사이세포는 출생 후 2주 동안 모두 사라졌고, 바깥수질 집합관과 피질 집합관내에서 출생 후 2주부터 사이세포중 일부가 calbindin-D_{28k}에 음성반응을 띄기 시작하였다. calbindin-D_{28k} 양성 주세포는 출생 후 3주부터 피질 및 바깥수질 집합관에 나타나기 시작하였으나 그 수는 많지 않았다.