

흰쥐 부신수질 아민성세포의 분비과정에 관한 전자현미경적 관찰

류 임 주 · 엄 창 섭 · 서 영 석

Some Ultrastructural Observations of the Secretory Processes in Rat Adrenal Medullary Aminergic Cells by TAGO Method

Rhyu, Im Joo, Chang Sub Uhm and Young Suk Suh

(Received December 18, 1991)

ABSTRACT

To clarify the exocytotic features in adrenal medullary aminergic cells, the authors observed rat adrenal medulla prepared by the TAGO method with transmission electron microscope.

Rat adrenal medulla contains two types of aminergic cells, adrenergic and noradrenergic, as described. They were present as a group. In a single group both adrenergic and noradrenergic cells were present, but the same kind of cells showed the tendency forming small groups. Adrenergic cells were characterized with the granules having relatively electroluscent cores. These granules were relatively uniform in size, and the cores filled the granules with only thin halos. Noradrenergic cells were characterized with the granules of various size and forms. Most of the cores of these granules were generally more electron-dense than those of the adrenergic cells and only partly filled the granules without forming the halos. But, some granules were very similar in the shape and electron density as those of the adrenergic cells. Even empty-looking granules were present.

Exocytotic figures with the classical omega figures were observed in both types of aminergic cells, but they were more frequent in adrenergic cells. These figures were mainly present along the plasma membranes toward the capillary. The excreted materials could be identified in the cleft of the omega figures. Apocrine-like secretory patterns but without cytoplasmic rims were identified in noradrenergic cells. Some vesicles, possibly formed from the cytoplasmic tubular systems were released. Some irregular lamellar structures of varying sizes were also observed.

They looked like membranous structures sneaking through the plasma membranes. We could not, however, found any evidences of their involvement in exocytotic processes. These were present toward the capillaries and found only in the adrenergic cells.

The authors conclude that the secretory processes in adrenal chromaffin cells may include not only the classical exocytotic processes but also the unusual direct secretions of granules or parts of cellular organelles. The membranous lamellar structures may indicate the remnants of excreted granules or functionally inactive excess membranes of the organelles removed from the cytoplasm.

서 론

부신수질에 존재하는 아민성세포는 그 성격상 자율신경계의 절후신경에 해당되며 형태상으로 보면 신경내분비세포로 분류할 수 있고 염색상의 특징에 따라 호크롬성세포(chromaffin cell)로 분류되는 세포이다(Williams and Warwick, 1980). 이들 세포에서 분비되는 물질에는 노르아드레날린과 아드레날린이 있으며 서로 다른 세포에 의하여 교감신경계의 절전섬유의 조절을 받아 분비되는 것으로 알려져 있으며(Norman and Litwack, 1987) 미세구조적으로는 조면내형질세망, 미토콘드리아, 골지장치 등이 잘 발달되어 있고(Al-Lami, 1970), 많은 분비과립을 가지고 있는데, 노르아드레날린 과립은 원형 혹은 타원형으로 전자밀도가 높은 내용물을 가지고 있으며 아드레날린 과립은 이보다는 전자밀도가 다소 떨어지고 주위에 흐린 테두리를 가지고 있는 것이 특징이다(Coupland *et al.*, 1964).

아민성세포의 분비과정에 관하여는 다른 내분비세포와 유사할 것으로 보는 견해가 많아 전형적인 exocytosis의 과정에 의하여 모두 아니면 하나도 없음(all or none)의 법칙에 의하여 분비되는 것으로 생각되어 분비과립속에 같이 들어있는 enkephalin, dopamine β -hydroxylase, ATP 등과 같이 분비되는 것으로 알려져 왔다(Norman and Litwack, 1987).

이에 저자들은 이들 물질이 아민성세포에서 분비되는 과정을 형태적으로 살펴보는 것은 차후의 연구에 있어서 기본 자료로 중요할 것으로 사료되어 특히 내분비세포의 분비과정 관찰에 유용한 것으로 알려져 있는 Roubos들(1980)이 개발한 탄닌산-그루타르알데히드-오스미움 고정법에 의하여 조직을 처리함으로써 아민성세포의 분비과정을 살펴보기 위하여 본 실험을 시도하였다.

재료 및 방법

실험재료로는 체중 200~250 gm 내외의 Sprague-Dawley계 정상 흰쥐를 성별에 관계없이 사용하였다.

각 실험동물은 urethane (50%, 0.25 ml/체중 100 gm)을 복강내로 투여하여 마취한 후 개흉하여 심장을 노출시키고 14 gauge의 주사바늘을 좌심실을 통하여 상행대동맥에 삽입하여 유입케한 후 우심방을 절제하여 유출케하고 먼저 Heparin (2 I.U./ml)을 첨가한 생리식염수로 혈액을 씻어내고 계속하여 고정액을 180 cm H₂O의 압력으로 관류하여 고정하였다.

고정액은 Roubos들(1980)의 원법에 따라 2.5% glutaraldehyde, 0.1 M tannic acid, 0.1 M phosphate buffer, pH 7.4가 되도록 제작하여 사용하였다.

고정된 동물은 즉시 복강을 절개하고 부신을 제거하여 부신수질을 세절한 후 동일 고정액에 담가 30분 동안 침적고정한 후 1% osmium tetroxide로 2시간 동안 후고정하였고 식에 따라 Epon 혼합액(EM bed-812)에 포매하였다. 포매된 조직은 유리칼 혹은 다이아몬드칼로 잘라 lead citrate와 uranyl acetate로 이중염색을 시행한 후 JEM 100CX 투과형 전자현미경으로 관찰하였다.

결 과

1. 부신수질의 아민성세포의 일반적 미세구조

부신수질에는 이미 여러 연구자들이 기술한 바와 같이 아드레날린함유세포와 노르아드레날린함유세포의 2가지 아민함유세포가 존재하고 있었다(Williams and Warwick, 1980; Coupland *et al.*, 1964). 이들 세포는 전체적으로 1층의 기저막에 의하여 둘러싸여진 집단을 형성하고 있었는데 한 집단 내에는 2가지 종류의 아민함

유세포가 공존하고 있었고, 같은 종류끼리 소집단을 형성하고 있었으며 개개의 세포는 기저막으로 둘러싸여 있지 않았다.

이들 세포의 세포질은 수많은 분비과립들로 채워져 있었고 그 사이사이에 원형으로부터 막대형에 이르는 미토콘드리아, 과립내형질세망, 유리리보솜체, 골지소체 등이 잘 발달되어 산재되어 있었고, 세포의 주변부에서는 미소관도 관찰할 수 있었다(Fig. 1). 아민함유세포의 과립은 두 종류의 세포에서 차이가 있었는데, 아드레날린 함유세포의 경우에는 과립속에 비교적 전자밀도가 낮은 물질이 중심부에 심을 형성하고 가장자리로 하얀 테두리를 가지고 있는 원형과립이 주종을 이루고 있었으며 과립심의 전자밀도는 과립마다 차이가 있었는데 노르아드레날린 과립보다는 전자밀도가 낮았다(Fig. 1). 노르아드레날린 함유세포의 과립은 형태가 원형으로부터, 타원형, 부정형 등 다양하였으며 속에는 전자밀도가 높은 물질이 심을 형성하고 있었는데 그 위치가 과립의 한쪽에 치우쳐 있는 경우가 많아 주변에 흰 테두리를 형성하지 않는 것이 대부분이었다(Fig. 2).

아민성세포들의 표면은 비교적 평탄하고 세포 사이는 좁은 간격을 두고 떨어져 있었는데 세포 사이에는 많은 용모양 돌기를 가지고 있고 부착반을 통하여 서로 묶여져 있는 부위도 있어 마치 간의 담모세관과 유사한 형태를 보이는 곳도 흔히 관찰되었다(Fig. 1). 세포의 사이에 위치하는 좁은 공간속에는 여러 형태의 연결소포를 함유한 신경종말이 아민함유세포와 연결을 형성하는 모양이 자주 관찰되었다(Figs. 3a, 3b).

2. 분비양상

아민함유세포의 분비양상은 몇 가지로 구분되어 관찰되었다. 제일 흔한 형태는 전형적인 오메가 모양(*omega figure*)의 함요를 보이는 형태로 두 종류의 아민함유세포에서 흔히 관찰되었으며 주로 기저막을 면하고 있는 세포막에서 관찰되었다. 오메가 모양의 함요와 기저막 사이에는 막으로 싸여있지 않은 원형과립 모양의 전자밀도가 높은 물질이 들어 있었는데 그 밀도는 대체적으로 세포의 과립속에 들어있는 내용물과 유사하였다(Figs. 4a-4c).

두번째의 형태는 세포질의 조면내형질세망의 일부분 내지는 과립이 막에 쌓여 있는 채로 그대로 방출되는 형상으로 주로 노르아드레날린 함유세포에서 관찰되었으

며 그 위치는 기저막쪽이 아니라 세포들 사이의 공간쪽에 위치하고 있었다. 그러나 간혹 아드레날린함유세포의 세포막과 기저막 사이의 오메가 모양의 함요속에서 이와같은 방식으로 분비되었을 것으로 판단되는 소포를 관찰할 수 있었으며 이들 세포 사이의 공간에서는 유사한 소포를 관찰할 수 없었다(Figs. 5a-5d).

이외에 특이한 소견으로 주로 아드레날린 함유세포의 기저막쪽 세포질에서 형태가 일정하지 않은 소체들이 관찰되었다. 이들 소체의 속은 층판상으로 배열된 막성구조물로 채워져 있었으며 이들중 일부가 기저막쪽의 세포막과 기저막 사이의 세포 바깥에 위치하여 마치 분비된 것같이 보였다. 이들은 한 세포에서도 일부분의 세포질에 국한되어 있었으며 대개 혈모세관과 좁은 공간을 통하여 직접 면하고 있는 부위에서 관찰되었는데 세포간극으로 나온 이들 구조물이 기저막을 지나 혈모세관쪽으로 이동하는 양상도 흔히 관찰되었다. 노르아드레날린함유세포에서는 이와같은 막성 구조물은 드물게 관찰되었는데 아드레날린함유세포에서 관찰되는 막성구조물보다 더 느슨하게 배열되어 있었다(Figs. 6).

고 찰

노르아드레날린이나 아드레날린 등 카테콜아민계의 물질은 교감신경계 등 신경계의 여러 부위에서 신경전달물질로 작용하는 중요한 물질로(Marshall, 1984) 부신수질에 존재하는 아민성세포에는 특히 이들 물질을 함유한 과립이 많이 존재하고 있을 뿐 아니라 접근도 용이하여 이 분야 연구의 좋은 재료로 알려져 있다(Unsicker, 1983). 부신수질에 존재하는 아민성세포에는 아드레날린과 노르아드레날린을 함유한 두 가지가 있으며, 이들 세포의 분비과립이 독특한 미세구조상 특징을 가지고 있어 서로 쉽게 구분된다는 것은 잘 알려진 바와 같다(Williams & Warwick, 1980; Coupland *et al.*, 1964; Norman & Litwack, 1987). 본 연구에서도 기존의 연구결과와 같이 두 종류의 아민함유세포를 쉽게 구분하여 관찰할 수 있었으며 세포의 특성도 기존의 연구결과와 큰 차이가 없었다.

아민성세포에 존재하는 아민계 물질은 분비과립속에 위치하므로 formaldehyde나 glyoxylic acid를 이용한 형광현미경적 연구를 통하여 쉽게 접근할 수 있으나(Björklund *et al.*, 1972; Grillo *et al.*, 1974) 이러한

방법으로는 이들 물질의 분비과정을 구조적으로 살펴보는 쉽지 않다. 이들 과립의 분비과정은 통상 내분비세포의 분비과정과 유사한 것으로 알려져 있어 전형적으로는 세포내의 분비과립이 세포막과 융합하여 오메가형태의 구조를 형성한 후, 과립속의 내용물이 세포밖으로 빠져 나가고 남은 분비과립의 막구조는 다시 세포질속으로 운반되어 재사용되는 것으로 생각되고 있다(Norman and Litwack, 1987; Unsicker and Chamley, 1977). 본 연구에서도 위와 같은 오메가형의 막융합을 통한 분비형태가 가장 많이 관찰되어 기존의 연구결과를 뒷받침해주고 있다. 그러나, 이외에 관찰된 과립이 통채로 배출되거나 세포내소기관의 일부가 분비되는 것같이 보이는 형태는 조직의 처리과정에서 실수로 발생한 인공산물이 아니라면 저자들의 짧은 지식으로는 아직까지 보고된 바 없는 것으로, 분비과정에 있어서의 이들의 중요성에 관하여는 앞으로 심도깊은 연구가 진행되어야 할 것으로 사료된다. 막성구조물의 형태로 관찰된 분비물은 탄닌산에 의한 인지질의 변형으로 생긴 인공산물인지 실제로 분비물인지, 혹은 분비되고 남은 분비과립의 막이 제거되고 있는 것인지는 본 연구만으로는 확실하게 판단할 수 없으므로 앞으로 계속적인 연구가 진행되어야 할 것으로 사료된다. 그러나, 이들 구조물이 주로 혈모세포과 인접한 부위의 세포질과 세포막과 연관되어 있는 점으로 미루어 이들 막성구조물은 과도하게 분비되고 남은 과립의 막을 제거하는 수단일 가능성이 많은 것으로 판단된다.

본 실험에서 사용된 실험방법은 내분비세포에서 분비되는 물질속에 섞여 있는 펩타이드성분 혹은 단백질성분을 분비 직후에 탄닌산으로 고정화시켜 이동을 방해함으로써 분비현상으로 대표되는 오메가형 형상의 관찰빈도를 높이기 위하여 고안된 방법으로(Roubos *et al.*, 1980; Endo and Nishiitsutsuji-Uwo, 1982) 주로 곤충의 내분비세포의 연구에 응용되어 왔다. 흰쥐에 대하여 본 실험방법을 적용한 예는 거의 없어 엄과 서(1990)가 본 방법의 변형을 사용하여(Morris and Pow, 1988; Pow and Morris, 1988) 흰쥐의 상경교감신경절에 응용한 보고만을 접할 수 있었다. 부신수질에 본 방법을 적용한 보고는 아직까지 접하지 못하였고, 통계적인 처리를 하지 않아 확실하게 단언할 수는 없지만 본 방법에 의하지 않은 부신수질에서와 큰 차이를 보이지 않아 부신수질에서는 통상적인 분비과정의 관찰빈도를 올리는

데에는 그다지 유용한 방법으로 볼 수는 없을 것 같다. 다만, 통상의 방법에서는 관찰되지 않는 비전형적인 분비과정으로 사료되는 소견, 즉 세포내소기관으로부터의 직접적인 분비현상이나 막성구조물의 출현 등은 탄닌산의 조직에 대한 효과와 더불어 흥미깊은 소견으로 사료되므로 앞으로 부신수질세포의 분비를 증가시키는 여러 조작을 시행한 후 같은 방법으로 관찰하면 보다 좋은 결과를 기대할 수 있으리라 판단된다. 아울러 부신수질의 아민성세포속에 공존하는 opiate양 물질(Schultzberg *et al.*, 1978)이나 dopamine β -hydroxylase(Norman and Litwack, 1987) 등은 oxytocin이나 vasopressin 과는(Morris and Pow, 1988) 달리 탄닌산에 의하여 전자밀도가 높은 물질로 침전되지 않는 성질을 지니고 있을 가능성도 있다고 사료된다.

결 론

부신수질에 존재하는 아민성세포의 분비과정을 살펴보기 위하여 흰쥐에 탄닌산-그루타르알데히드-오스미움 고정법을 시행하여 관찰한 결과 다음과 같은 결과를 얻었다.

부신수질에는 과립의 모양에 따라 아드레날린세포와 노르아드레날린세포를 확실하게 구분할 수 있었다. 아드레날린세포의 과립은 비교적 전자밀도가 낮은 물질이 중심부에 심을 형성하고 주위에 테두리가 있는 원형이었으며 노르아드레날린세포의 과립은 일정한 형태를 갖추고 있지 못하였으며 속에는 전자밀도가 높은 물질이 심을 형성하고 있었으나 한쪽에 치우쳐져 있어 테두리를 형성하지 않는 것이 많았다.

이들 세포의 분비형태는 전형적인 오메가 모양의 함요를 띠고 있는 것이 제일 많았고, 분비과립이 직접 혹은 세포질속의 조면내형질세포의 일부분이 배출되는 형태도 관찰되었다. 드물게 모세혈관 부근에서 막성구조물이 세포밖으로 배출되는 형태가 관찰되었다.

이상의 결과로 미루어 볼 때 부신수질의 아민성세포의 분비과정은 단순하지 않고 복잡한 것으로 사료된다.

REFERENCES

- Al-Lami, F. 1970. Follicular arrangements in hamster adrenomedullary cells: light and electron

- microscopic studies. *Anat. Rec.* 168, 161-178.
- Björklund, A., B. Falck and C. Owman. 1972. Fluorescence microscopic and microspectrofluorometric techniques for the cellular localization and characterization of biogenic amines. In: *Methods of Investigative and Diagnostic Endocrinology*, Ed.: Berson SA, Vol. 1: The thyroid and biogenic amines. Eds: Rall JE, Kopin IJ, North-Holland Publ. Co. pp. 318-368.
- Coupland, R.E., A.S. Pyper and D. Hopwood. 1964. A method for differentiating between noradrenaline- and adrenaline-storing cells in the light and electron microscope. *Nature* 201, 1240-1242.
- Endo, Y. and J. Nishiitsutsuju-Uwo. 1982. Exocytotic release of secretory granules from endocrine cells in the midgut of insects. *Cell Tissue Res.* 222, 515-522.
- Grillo, M.A., L. Jacobs and J.H. Jr. Comroe. 1974. A combined fluorescence histochemical and electron microscopic method for studying special monoamine-containing cells (SIF cells). *J. Comp. Neur.* 153, 1-14.
- Marshall, K.C. 1984. Catecholamines and their actions in the spinal cord. In: *Handbook of spinal cord*. Vol. 1: Pharmacology, Ed.: Davidoff RA, Marcel Dekker Inc. pp. 275-328.
- Morris, J.F. and D.V. Pow. 1988. Morphological and immunocytochemical evidence for exocytotic release of granules from multiple anatomically distinct compartments of magnocellular axons in the neural lobe of rats and mice. *J. Anat.* 158, 213-214.
- Norman, A.W. and G. Litwack. 1987. *Hormones*. Academic Press Inc., Orland. pp. 449-482.
- Pow, D.V. and J.F. Morris. 1988. Exocytosis of dense-cored vesicles from synaptic and non-synaptic release sites in the hypothalamus of the rat. *J. Anat.* 158, 214-216.
- Roubos, E.W., R.M. van der Wal-Divendal. 1980. Ultrastructural analysis of peptide-hormone release by exocytosis. *Cell Tissue Res.* 207, 267-275.
- 엄창섭, 서영석. 1990. 세포화학적 방법에 의한 흰쥐 상경교감신경절의 전자현미경적 연구. *고의대논집.* 27(1), 33-47.
- Unsicker, K. and J.H. Chamley. 1977. Growth characteristics of postnatal rat adrenal medulla in culture. *Cell Tissue Res.* 177, 247-268.
- Unsicker, K. 1983. Cell and tissue culture studies on the sympathoadrenal system. In: *Autonomic Ganglia*. Ed.: Elfvin L-G, John Wiley & Sons Ltd., Chichester. pp. 475-505.
- Williams, P.L. and R. Warwick. 1980. *Gray's Anatomy*. 36th British Ed., W.B. Saunders Co., Philadelphia. pp. 1456-1461.

FIGURE LEGENDS

- Fig. 1.** Electron micrograph of a portion of adrenaline-containing cell. Note the abundance of the secretory vesicles and their regular shapes with dense cores. Rough endoplasmic reticulum and mitochondria are scattered between the granules. At the upper right side of this micrograph a canal with microvilli is found formed by the adjacent two cells. $\times 19,400$.
- Fig. 2.** Electron micrograph of a portion of noradrenaline-containing cell. Note the irregular size and shape of the secretory granules. Well developed Golgi apparatus and a single cilia is present. $\times 27,000$.
- Fig. 3a.** Electron micrograph showing two nerve terminals forming synapses with noradrenaline-containing cell. The left terminal forms typical asymmetrical synapse, and the right terminal forms reciprocal synapse with the chromaffin cell. $\times 19,400$.
- Fig. 3b.** Electron micrograph showing a nerve terminal forming synapse in the recess of the noradrenaline

cell. Note also the microtubules and a junction formed between adjacent cells. $\times 27,000$.

Fig. 4a-4c. Electron micrograph showing the classical omega figures with dense densities within the pits indicating exocytosis (arrowheads). In Fig. 4b, a vesicle is also present within the pit. Adrenaline-containing cells (4a and 4b) and noradrenaline containing cell (4c). $\times 27,000$.

Fig. 5a-5d. Electron micrograph showing the direct budding of rough endoplasmic reticulum (5a arrow) and some vesicles probably formed by the budding (5a and 5b arrowheads). Note the direct release of secretory vesicles in 5c (arrow) and vesicles probably formed by the direct release in 5d (arrowhead). Adrenaline-containing cell (5d) and noradrenaline containing cells (5a, 5b and 5c). $\times 27,000$.

Fig. 6. Electron micrograph showing peculiar lamellar body in the periphery of the adrenaline-containing cell. Note the similar lamellar structures in the extracellular space (arrowheads) and classical exocytotic pits containing both the secreted material and vesicles. $\times 27,000$.





