

다람쥐 (*Tamias sibiricus asiaticus* Gmelin)

소장 점막 상피세포의 전자현미경적 연구

노영복 · 정경아 · 정지숙 · 김정삼 · 김일

조선대학교 자연과학대학 생물학과

동면동물인 다람쥐를 활동기와 동면기로 나누어 소장 점막 상피세포인 원주세포와 점액세포의 미세구조 변화를 투과전자현미경을 이용하여 관찰하였다. 활동기의 원주세포에서는 많은수의 미토콘드리아와 과립형질내세망을 관찰 할 수 있었다. 동면기의 원주세포에서는 많은수의 리보솜을 관찰 할 수 있었다. 활동기의 점액세포에서는 크고 많은수의 점액과립과 세포소기관으로 미토콘드리아와 과립형질내세망을 관찰 할 수 있었으며 현저한 분비작용을 관찰 할 수 있었다. 동면기의 점액세포에서는 수와 크기에서 감소된 점액과립과 활동기보다 증가된 리보솜을 관찰 할 수 있었으며 분비작용은 활동기에 비해 감소 하였다.

KEY WORDS: Hibernation, Electron Microscopy, Ground Squirrel, Small Intestine, Columnar Cell, Mucous Cell

포유류는 외부온도의 변화에 관계없이 일생동안 높고 일정한 체온을 유지하다가 체온이 낮아지게 되면 심장이나 신경계와 같은 생리적인 조절시스템의 기능저하가 일어나게 된다. 몇몇의 설치류를 포함한 동면동물들은 동면하는 동안 그들의 생리적인 기능을 유지하고 극도의 저체온상태(hypothermia)를 겪으며(Lyman, 1982; Branes, 1989), 신진대사가 현저히 저하된 상태에서도 열발생기전이 없어지는 것이 아니고 극히 섬세한 체항상성(homeostasis)을 효율적으로 유지하는 것이 특징이다(Mrosovsky, 1968). 최근에는 생존한 채 월동하기 위한 적응으로서 세포의 응결에 대한 내성(tolerance)이 많은 지상 곤충과 양서류, 그리고 간조의 해양 무척추동물에서도 보고되고 있다(Schmid, 1982; Block, 1982; Murphy, 1983; Storey and Storey, 1984). 이와같이 동면을 하는 동물에 대한 기전 및 생리적 변화에 대해서 많은 연구가 이루어졌으며 최근에는 동면을 유도하는 물질을 분리, 추출하여 이식수술 과정에서 주요 장기를 보존하는데 응용코자하는 응용의학면에서도 주목을 받고 있다(Storey and Storey,

1990; Chien *et al.*, 1991).

또한 동면하는 포유동물의 먹이 소비는 봄에 각성(arousal)한 후 증가하기 시작하여 늦여름에 최대가 되고 동면하는 시기가 도래함에 따라 가을에 점차로 감소하는 주기성(annual feeding rhythm)을 보인다. 이러한 먹이 섭취 패턴의 변화(즉, 규칙적인 소화 및 흡수작용을 할때, 소장이 음식물에 접하지 않을때, 그리고 소화분비가 아주 높은 수준일때)에 따라 위장관의 기능을 변화시킬 수(Carey, 1990) 있다. 동면하지 않는 종의 경우 먹이 섭취의 변화가 장의 구조와 기능을 변화시킬 수 있고, 동면하는 포유동물의 경우 연주기(yearly cycle)가 소화작용, 체중, 그리고 대사율에 격렬한 계절적 변화를 일으킨다(Toth, 1980)는 것은 잘 알려져 있다.

포유동물의 위장관은 계속적이고 빠르게 재생되는 단층의 세포로 구성되어 있고 4개의 주요한 분화된 형태의 세포가 이 단층원주상피세포를 구성하고 있다(Reuss *et al.*, 1990). 이들 분화된 형태의 세포에는 소장 원주상피세포가 대부분을 차지하고 있으며 재생에 관련된 원주세포 혹은 장세포(enterocyte)(Evans *et al.*, 1989;

Pfeiffer *et al.*, 1987; Potten *et al.*, 1988), 조절된 과정을 통하여 점액을 분비하며 보호작용을 하는 배상세포(goblet cell)(Lloyd *et al.*, 1991; Oliver and Specian, 1991; Rogers *et al.*, 1991; Specian and Oliver, 1991), 소화관 상피세포의 1%를 구성하는 장내 분비세포(enteroendocrine cell), 그리고 장관의 은와(crypt)부위에 특징적으로 분포하여 용해소체를 생성하고 박테리아에 대한 식작용 및 항미생물질(antibacterial substances)를 분비하여 장내의 미생물상(bacterial milieu)을 조절하는 Paneth cell(Erlandsen and chase, 1972; Satoh and Vollrath, 1986; Satoh *et al.*, 1990)등이 있다. 이러한 장상피세포에 대한 연구 가운데 동면 동물에 관한 연구로서 Toth(1980)는 다람쥐(*Spermophilus lateralis*) 소장 Paneth cell의 미세구조적 변화에 관하여, Geuze(1971)는 개구리 장점막의 구조적 변화에 대하여, Pudney와 Fawcett(1984)는 다람쥐 위장관의 계절 주기적 변화에 대하여, 최 등(1987)은 고슴도치 위장관에 대하여, 그리고 오 등(1986)은 박쥐 Paneth cell의 미세구조에 대하여 보고 하였고, 일반 포유동물에 관한 연구로서 Satoh 등(1990)은 여러 포유동물의 Paneth cells의 미세구조에 대하여, Cheng과 Leblond(1974 a, b, c)는 쥐 소장의 상피세포에 대하여, 대부분이 동면동물 혹은 항온동물의 소장 상피세포를 구성하는 한 가지 형태의 세포에 대한 단편적인 소견이 대부분이고 계절 주기에 따른소장의 점막 상피세포의 형태적·기능적 변화상은 잘 알려져 있지 않으며 종(species)에 따른 차이인지 그 의견이 일치하지 않는 점이 많고 이러한 연구가운데 장관 점막의 상피세포를 구성하는 주요 세포형태에 관한 계절 주기적 변화에 대한 연구는 희소하다.

이에 소화과정과 직접적으로 관련되어 있는 소장 점막 상피세포중 원주세포와 점액세포의 미세구조적, 그리고 형태학적 변화를 동면동물의 하나인 다람쥐를 택하여 동면기, 활동기 로 나누어 계절주기별로 고찰함으로써 정상적인 소장 상피세포의 형태와 기능적 특성을 밝히는데 도움이

되리라 사료되어 본 실험을 수행하였다.

재료 및 방법

본 실험에 사용된 동물은 설치목(rodentia)의 다람쥐(*Tamias sibiricus asiaticus* Gmelin)로 동면기(12월-2월), 활동기(7-8월)로 나누어 자연상태로 무등산 일대에서 시기별로 10씩 채집하여 사용하였다.

실험동물은 ether로 마취하여 흉곽을 개방한 후 좌심실로 saline을 관류시킨 다음 연속해서 2% glutaraldehyde-2.5% paraformaldehyde (Millonig's phosphate buffer, pH 7.2)혼합 고정액을 관류시킨후 소장 조직을 절취하고 동일 고정액에 4시간 침적하여 전고정하고 같은 완충액으로 완충시킨 1% Osmium tetroxide (OsO_4)에 후 고정하였다. alcohol과 propyleneoxide를 사용하여 탈수하고 propyleneoxide와 epon을 사용하여 침투과정을 거친 다음 epon 812로 포매한후 MT 2000 초박절편기(ultramicrotome)으로 두께 1 μm 의 초박절편을 만들어 uranyl acetate 와 lead citrate 로 2중 염색하여 Jeol 2000 FX II형 전자현미경으로 관찰하였다. 그리고 전자현미경을 통해 얻어진 각 세포의 사진을 image analyzer를 이용하여 각 세포의 크기와 폭, 세포내 과립과 핵의 크기, 그리고 세포내에서 과립이 차지하는 비율등을 측정하였다.

결과

활동기

원주세포

소장 상피에 가장 많은 수로 존재하고 있으며 세포의 길이는 핵의 2.5배이며 핵은 원형, 타원형의 형태를 갖추고 있으며 세포질은 많은 수의 미토콘드리아와 과립형질세사를 갖추고 있고 적은 수의 유리 리보솜이 관찰 되었다(Fig. 1)

이웃한 세포와는 부착반을 형성하며 유리면에는 길고 다수의 미세융모가 존재한다(Figs. 1, 2)

점액세포

소장의 다른 상피세포 즉 Paneth cell과 장내 분비세포의 분비과립과 구분이 되는 점액과립과 과립형질세망에 의해 특징지워지는 세포로 소장 상피전역에 걸쳐 분포한다.

점액과립은 많은 수로 치밀하게 존재하고 있으며 미토콘드리아와 과립형질내세망을 관찰할 수 있었다 왕성한 분비 활동을 하고 있었다(Fig. 3).

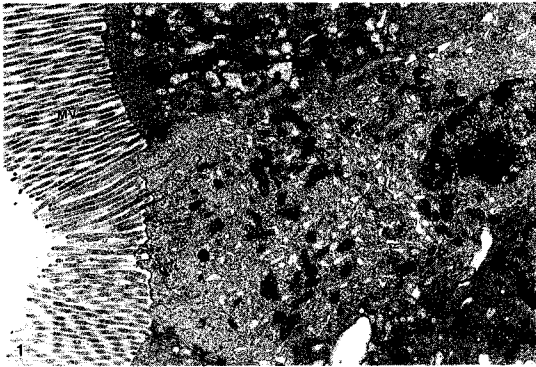


Fig. 1. Columnar cell of the small intestine in the active stage contain many mitochondria (M) and microvilli (MV). $\times 6000$.

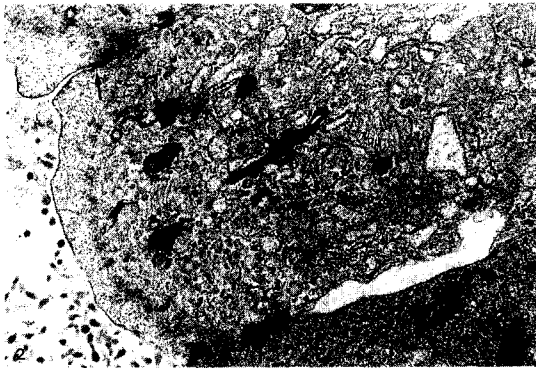


Fig. 2. Columnar cell of the small intestine in the active stage observed rough endoplasmic reticulum (rER). Upper portion made up gap junction (arrow) with neighbor cell. $\times 12000$.

동면기

동면기 장 점막은 활동기에 비해 커다란 변화 없이 대체적인 모습은 활동기의 것과 유사 하였으나 세포내 소기관의 변화를 관찰 할 수 있었다.

원주세포

세포의 길이는 핵의 2배 정도가 되며 그 모양은 활동기의 것과 같은 모습을 하고 있다

세포질은 많은 수의 미토콘드리아와 유리 리보솜을 관찰 할 수 있었으나 미토콘드리아의 수는 활동기에 비해 그 수가 감소 하였다. 과립형질 세망은 활동기에 비해 많이 감소 하였음을 관찰 할 수 있었으며 유리 리보솜의 수는 활동기에 비해 많이 증가 하였다(Fig. 4).

점액세포

점액과립의 크기와 수가 활동기에 비해 작게 존재하며 과립의 간격이 활동기에 비해 덜 치밀하게 존재하고 있다(Fig. 5). 세포질에서는 많은 유리 리보솜을 관찰할수 있었으며 활동기에 비해 과립형질 세망과 미토콘드리아의 수도 적게 나타나고 다른 세포내 소기관의 관찰이 어려웠다(Fig. 6).

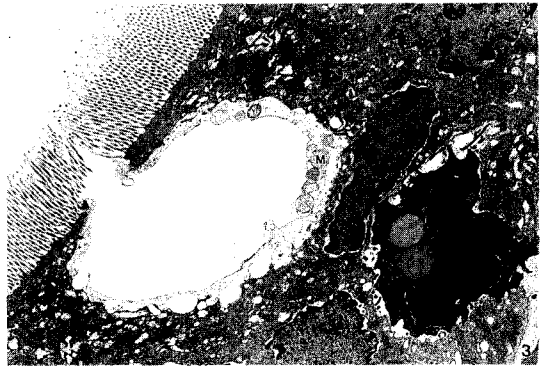


Fig. 3. Mucous cell of the small intestine in the active stage observed mitochondria (M) and excellent secretory working. $\times 4000$.

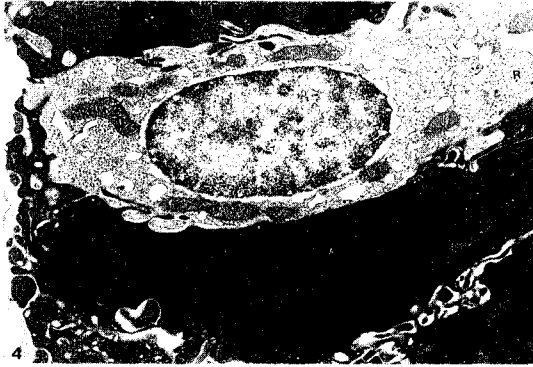


Fig. 4. Columnar cell of the small intestine in the hibernate stage observed excellent mitochondria (M) and free ribosome (R). $\times 5000$.

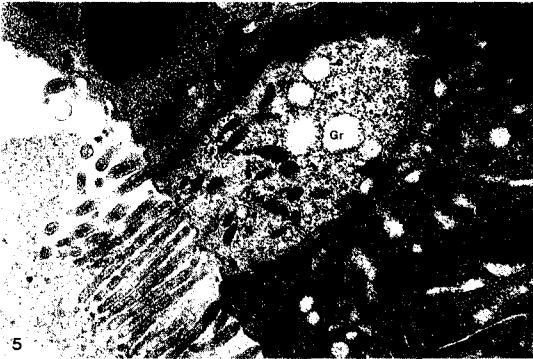


Fig. 5. Mucous cell of the small intestine in the hibernate stage observed free ribosome (R) and loose granules (Gr). $\times 15000$.

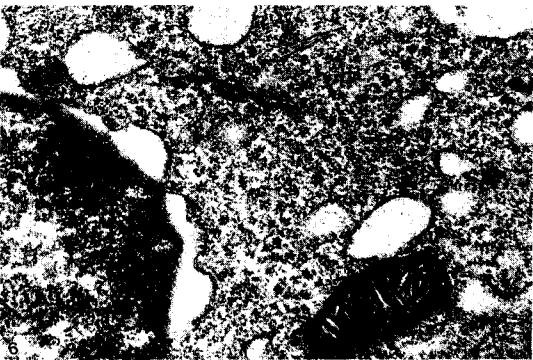


Fig. 6. Mucous cell of the small intestine in the hibernate stage observed free ribosome (R) $\times 20000$.

고찰

많은 동물들은 지구상에서 계속 살아남기 위해서 여러가지 어려움을 직면하게 되는데 이러한 어려움을 이겨내기 위해서 생물학적인 전략을 갖게된다. 하나는 이주이고 다른 하나는 동면이다 (Mrosovsky, 1968). 이주현상은 조류에서 관찰할 수 있는데 새들이 이주를 선택하게 되는 것은 온도, 빛의 양, 식량 그리고 생식선과 같은 호르몬의 작용에 의해서 일어난다(Alerstam, 1990).

동면은 동면동물이 주변환경의 변화에 항상성을 효율적으로 유지하기 위해 생체적응 현상으로 활동을 거의 정지하고 무감각에 가까운 상태나 혼수상태로 들어가면서 신진대사가 현저히 저하된 상태에서도 열발생기전이 없어지는 것이 아니고 극히 섬세한 체항상성을 효율적으로 유지하는 것이다(Allen, 1967; Branes, 1989; Lyman and Chatfield, 1955).

동면중에도 그들의 몸안에서는 계속해서 물질대사가 이루어지나 활동기에 비해 체온, 대사율, 심장박동, 호흡등의 많은 기능이 크게 감소되어진다. 동면은 이주에서와 마찬가지로 같은요인에 의해서 이루어진다(Lyman, 1955; Oh and Kang, 1979; Pengellery and Fisher, 1961).

다람쥐의 소장점막 부위에 나타난 원주세포과 점액세포의 활동기의 상태는 사람을 비롯한 대부분의 포유류와 일치한 양상을 보였다(Cheng, 1974; Cheng and Ieblond, 1974a; Evans *et al.*, 1989; Lloyd *et al.*, 1991; Oliver and Specian, 1991; Pfeiffer *et al.*, 1987; Potten *et al.*, 1988; Rogers *et al.*, 1991; Specian and Oliver, 1991)

다람쥐의 원주세포는 활동기에는 다수의 미토콘드리아와 과립형질세망을 관찰할 수 있는 반면 동면기에서는 많은 수의 유리리보솜을 관찰할 수있었다. 이와 같은 특징은 Cheng(1974b)의 성숙한 원주세포와 일치하였다.

Cheng(1974)의 미성숙한 원주세포는 과립형질세망은 잘 관찰할 수 없고 대신 많은 유리리

보소음을 관찰할 수 있다고 하여 동면기의 원주 세포와 일치하였음을 알 수 있었다.

다람쥐의 점액세포에서 활동기에는 치밀하게 찬 크고, 많은 수의 점액 과립에 비해 동면기의 점액과립은 수와 크기 그리고 치밀성에 있어 작고 점액의 사이 간격이 큼을 관찰할 수 있었다. 이것은 미성숙한 세포나 비정상적인 상태의 세포와 일치하였다(Cheng, 1974a; Cooper and Warkel, 1978).

활동기의 세포의 세포질은 동면하지않은 동물에서와 같이 많은 수의 과립형질세망과 미토콘드리아를 관찰할 수 있어 일치 하였다. 점액과립의 분비물의 방출이 매우 왕성하게 일어나는 것을 관찰할 수 있었다. 동면기의 세포에서는 세포질에서는 유리리보솜이 크게 증가되어지고 미토콘드리아의 수도 감소 하였으며 점액 과립 분비 활동은 활동기에서 처럼 왕성하지는 않지만 드물게 일어나는 것을 관찰할 수가 있어 전혀 관찰할 수 없었다고 하는 Toth(1980)와는 상반되었지만 동면기간중 점액질 생성, 둔화 및 억제가 되어지더라도 점액세포의 기능이 없어지는것이 아니라 둔화된 상태로 되어 있음을 알 수 있었다(최 등, 1987).

이와 같은 일련의 구조적 변화로 보아 동면기의 대부분 동물 조직의 활성이 저하됨으로 원주 세포와 점액세포는 동면기에 대사작용의 저하로 분비과립의 합성과 점액과립 형성 과정이 낮추어져 분비물의 방출이 저하된다고 생각된다.

사사

이 논문은 1993년도 조선대학교 학술연구비의 지원을 받아 연구 되었음.

인용문헌

Alerstam, T., 1990. Bird Migration, Cambridge University Press, pp.5-25.
 Allen, G.M., 1967. Bat II. Dover Publication Inc., pp. 154-162.

Block, W., 1982. Cold hardness in invertebrate poikilotherms. *Comp. Biochem. Physiol. A.* **73**: 581-593.
 Branes, B.M., 1989. Freeze avoidance in a mammal: Body temperatures below 0°C in an arctic hibernator. *Science.* **244**: 1593-1595.
 Carey, H.V., 1990. Seasonal changes in mucosal structure and function in ground squirrel intestine. *Am. J. Physiol.* **259**: R385-392.
 Cheng, H., 1974 Origin, differentiation and renewal of the four main epithelial cell types in the mouse small intestine. I. Mucous cell. *Am. J. Anat.* **141**: 481-502.
 Cheng, H. and C.P. Leblond, 1974a. Origin, differentiation and renewal of the four main epithelial cell types in the mouse small intestine. I. Columnar cell. *Am. J. Anat.* **141**: 461-480.
 Cheng, H. and C.P. Leblond, 1974b. Origin, differentiation and renewal of the four main epithelial cell types in the mouse small intestine. I. Enteroendocrine cell. *Am. J. Anat.* **141**: 503-520.
 Cheng, H. and C.P. Leblond, 1974c. Origin, differentiation and renewal of the four main epithelial cell types in the mouse small intestine. IV. Paneth cell. *Am. J. Anat.* **141**: 521-536.
 Chien, S., P.R. Oeltgen, J.N. Diana, X. Shi, S.P. Nilekani, and R. Sally, 1991. Two-day preservation of major organs with autoperfusion multiorgan preparation and hibernation induction trigger. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* **102**: 224-234.
 Cooper, P.H. and R.L. Warkel, 1978. Ultrastructure of the goblet cell type of adenocarcinoin of the appendix. *Cancer* **42**: 2887-2895.
 Erlandsen, S.L. and D.G. Chase, 1972. Paneth cell funtion: phagocytosis and intracellular digestion of intestinal microorganism. *J. Ultrastruct. Res.* **41**: 296-318.
 Evans, M.J., R.A. Cox, S.G. Shami, B. Wilson, and C. G. Plopper, 1989. The role of basal cells in attachment of columnar cells to the basal lamina of the trachea. *Am. J. Resp. Cell. Mol. Biol.* **1**: 483-489
 Geuze, J.J., 1971. Light and electron microscope observations on the gastric mucousa of the frog. *Z. Zellforsch.* **117**: 103-117.
 Lloyd, S., M.K. Wijesundera, and E.J. Soulsby, 1991. Intestinal changes in puppies infected with toxocara canis. *J. Comp. Pathol.* **105**: 93-104.
 Lyman, C.P., 1982. In: Hibernation, and Torpor in Mammals and Birds (Lyman, C.P., J.S. Willis, A. Malan, and L.C.H. Wang, eds.). Academic Press, New York, pp.1-11.
 Lyman, C.P. and P.O. Chatfield, 1955. Physiology of

- hibernation mammals. *Physiol. Rev.* **335**: 403-425.
- Mrosovsky, N., 1968. The adjustable brain of hibernators. *Sci. Am.* **218**: 110-118.
- Murphy, D.J., 1983. Freezing resistance in intertidal invertebrates. *Annu. Rev. Physiol.* **45**: 289-299.
- Oh, Y.K. and H.S. Kang, 1979. A study of mechanism on hibernation. *Yonsei. Med. J.* **40**: 17-32.
- Oliver, M.G. and R.D. Specian, 1991. Intracellular variation of rat intestinal mucin granules localized by monoclonal antibodies. *Anat. Rec.* **230**: 513-518.
- Pengelly, E.T. and K.C. Fisher, 1961. Rhythmical arousal from hibernation in the golden-mantled grouna squirrel. *Can. J. Zool.* **39**: 105-120.
- Pfeiffer, C.J., D.C. Pfeiffer, and S. Szabo, 1987. Early ultrastructural changes in rat duodenalmucosa associated with cysteamine-induced ulcer. *Exp. Mol. Pathol.* **48**: 102-113.
- Potten, C.S., S.A. Roberts, S. Chwalinski, M. Loeffler, and U. Paulus, 1988. Scoring mitotic activity in longitudinal sections of crypts of the small intestine. *Cell. Tissue. Kinet.* **21**: 231-248.
- Pudney, J. and D.W. Fawcett, 1984. Seasonal exchanges in fine structure of the ductuli efferentes of the ground squirrel. *Citellus lateralis* (say). *Anat. Rec.* **208**: 383-399.
- Reuss, S., E.C. Hurlbut, J. Speh, and R.Y. Moore, 1990. Neuropeptide Y localization in Telencephalic and diencephalic structures of the ground squirrel brain. *Am. J. Anat.* **188**: 163-174.
- Rogers, D.G., M.L. Frey, and A. Hogg, 1991. Conjunctivitis associated with a Mycoplasma-like organism. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* **198**: 450-452.
- Satoh, Y., M. Yamano, M. Matsuda, and K. Ono, 1990. Ultrastructure on Paneth cells in the intestine of various mammals. *J. Electron. Micr. Tech.* **16**: 69-80.
- Satoh, Y. and L. Vollrath, 1986. Quantitative electron microscopic observations on Paneth cells in germ-free and ex-bermfree wister rats. *Anat. Embryol.* **173**: 317-322.
- Schmid, W.D., 1982. Survival of frogs in low temperature. *Science* **215**: 697-698.
- Specian, R.D. and M.G. Oliver, 1991. functional biology of intestinal goblet cell. *Am. J. Physiol.* **280**: 183-193.
- Storey, K.B. and J.M. Storey, 1984. Biochemical adaptation for freezing tolerance in the wood frog. *Rana sylvatica*. *J. Comp. Physiol.* **155**: 29-36.
- Storey, K.B. and J.M. Storey, 1990. Frozen and alive. *Sci. Am. Dec.* **263**: 62-67.
- Toth, D.M., 1980. Ultrastructural changes in paneth cells during hibernation in the ground squirrel *Spermophilus lateralis*. *Cell. Tissue. Res.* **211**: 293-301.
- 오수자, 차정호, 정진용, 1986. 김박쥐 Paneth세포의 미세구조: 활동기와 동면기에서의 비교. *대한해부학회지* **19**: 363-374.
- 최월봉, 원무호, 서지은, 1987. 고슴도치 십이지장 점막의 장내분비세포의 미세구조. *한국전자현미경학회지* **17**: 83-97.

(Accepted June 9, 1995)

**An Electron Microscopic Study on the Mucosal Epithelial Cell in the Small Intestine
of Ground Squirrel, *Tamias sibiricus asiaticus* Gmelin.**

Young-Bok Roh, Kyung-A Chung, Ji-Sook Chung, Jung-Sam Kim, and Il Kim (Department of
biology, College of Natural Science, Chosun University, Kwangju, 501-759, Korea)

We investigated ultrastructural change of small intestinal mucosal epithelial cell, columnar cell and mucous cell, of hibernating ground squirrel during activating and hibernating stages. In active columnar cells, many mitochondria and rough endoplasmic reticulum were observed. In hibernating columnar cells, more free ribosome than rough endoplasmic reticulum were observed. In active mucous cells, large and many mucosal granules, mitochondria and rough endoplasmic reticulum were observed. Mucosal granules have been secreted excellently. In hibernating mucous cells, small and little mucosal granules and many free ribosome were observed.