한국전자현미경학회지 제 30 권 제 4 호 2000
Korean J. Electron Microscopy 30(4), 357~365(2000)

Zinc 대사와 관련된 Paneth 세포활성의 변화에 관한 조직화학적연구

조승묵, 김성준, 박승국, 강태천, 원무호*
한림대학교 의과대학 해부학교실

Do Paneth Cells Regulate the Zinc Body Burden?

Seung Mook Jo, Sung Jun Kim, Seung-Kook Park,
Tae-Cheon Kang and Moo Ho Won*
Dept. Anat., Coll. Med., Hallym Univ., Chunchon 200-702, Korea
(Received September 25, 2000)

ABSTRACT

Paneth cells have been suggested to contribute to the elimination of excess metals into the intestinal lumen. The purpose of this study was to investigate the changes of the zinc pools in rats subjected to functional loading with zinc salt by mean of both light and electron microscopical autometallography (AMG). Wistar rats were administrated with zinc chloride (20 mg/kg body weight) intraperitoneally dissolved in 1 ml distilled water. The control group received 1 ml saline IP. After further one hour the animals were transcardially perfused with 0.4% sodium sulphide dissolved in 0.1 M PB followed by 3% glutaraldehyde solution for 10 minutes. Pieces of ileum were frozen with solid CO_2 and sectioned on a cryostat. The sections (20 μm) were autometallographically developed. Sections selected for EM were reembedded on top of a blank Epon block, from which ultrathin sections (100 nm) were cut. The ultrathin sections were double stained with uranyl acetate (30 min) and lead citrate (5 min), then examined under electron microscope. Studies of comparable sections from control and zinc loaded animals with the AMG selenium method gave quite different results. The control animals demonstrated a weakly positive staining in the cytoplasm of the Paneth cells. In the electron microscope the AMG silver grains were found to be located in the cytoplasm, while the electron dense secretary granules and other cell organelles were void of staining. Few AMG grains were located at the apical surface of the Paneth cells.

In sections from zinc loaded rats, the AMG grains were seen in abundance in the lumen of the Lieberkuhn crypts at light microscopic levels. At EM levels the zinc revealing silver grains were located in the cytoplasm as in the controls, but much more AMG grains were shifted into the secretary granules. Furthermore, profound AMG grains were found in the lumen of the crypts and surrounding vessels. And a few grains were seen in the endothelium. The AMG technique demonstrated a pattern of AMG grains in the Paneth cells that strongly suggests a transport of zinc ions through these cells.

Key words : AMG, Ileum, Paneth cells, Rat, Zinc

이 논문은 1997년도 대한의사협회 학술비 지원에 의한 것임.
* Correspondence should be addressed to Dr. Moo Ho Won, Department of Anatomy, College of Medicine, Hallym University, Okchon-1-Dong Chunchon 200-702, Korea. Ph.: 033-240-1614, FAX: 033-256-1614, E-mail: mhwon@sun.hallym.ac.kr
Copyright ⓒ 2000 Korean Society of Electron Microscopy

서 론

파네스세포(Paneth cell)는 사람을 포함해 거의 모든 포유동물의 소장샘(small intestinal crypt)의 기저부에 위치해 있는 상피세포이다. 세포생물학적으로 파네스세포는 췌장의 외분비세포(pancreatic exocrine cell)와 같은 효소형성세포(zymogenic cell)가 갖고 있는 분비세포의 특징을 보인다. 따라서 파네스세포는 일반적으로 소화기능과 관련되어 여러 종류의 소화효소를 분비하고 있다. 그외 대표적인 파네스세포의 기능으로는 포식작용(phagocytosis)을 들 수 있는데, 특히 장내 미생물을 소화할 수 있는 과립을 분비한다(Erlandsen & Chase, 1972a, b; Peters & Vantrappen, 1975; Masty & Stradley, 1991; Takehana et al., 1998). 즉, 그 분비과립에는 항미생물 펩타이드(antimicrobial peptide)가 들어 있어 생체 장관점막의 방어(mucosal host defense)와 밀접한 관련이 있다(Selsted et al., 1992; Mallow et al., 1996). 또한 성숙한 파네스세포는 growth factor를 분비하는데, 이들 물질은 주로 세포질의 꼭대기쪽에 있는 분비과립에 집중되어 있다. 뿐만 아니라 파네스세포는 수분과 염분의 운반을 조절한다(Bry et al., 1994). 그 외에도 발생학적으로 장샘의 발달과정(crypt-villus unit)에서 중요한 역할이 있는 것으로 믿어진다(Mathan, 1987; Bry, 1994). 한편, 파네스세포는 소장의 내강(lumen)으로 들어온 미량원소(trace elements) 및 중금속류(heavy metals)를 흡수하거나 과잉의 경우 분비를 함으로써 체내 이들 물질의 항상성(homeostasis)유지에 일부 관여할 것임을 시사하는 연구보고 있다(Sawada et al., 1994; Mullins & Fuentealbla, 1998).

한편 파네스세포는 많은 양의 아연(zinc, Zn)을 함유하고 하고 있으며(Mager et al., 1953; Elmes, 1976; Sawada et al., 1991), 이러한 사실은 여러 가지 조직화학법(histochemistry), 특히 자가방사기록법(autoradiography) (Millar et al., 1961; Dencker & Tjalve, 1979; Johnson & Evans, 1982), 엑스선 미량분석(X-ray microanalysis) (Jones & Elmes, 1981; Dinsdale D, 1984, 1986) 등에 의하여 이미 증명되었다. Millar et al. (1961)이 ^{65}Zn을 랫드에 투여하였던 결과 회장의 파네스세포에 집중되며, 특히 파네스세포의 꼭대기(apex) 쪽 분비 과립(secretory granule)에서 가장 높은 분포를 보였다. 최근들어 Danscher et al. (1985)의 전자현미경적 AMG 연구에 의하면 랫드에는 뚜렷이 구분되는 2개의 zinc pool이 있다. 즉, 파네스세포내 zinc는 분비 과립(secretory granule)에 있는 것과 사이토졸(cytosol)에 흩어져 존재하고 있다. 이들의 연구결과는 본 연구자들로 하여금 생체가 특정한 생리적인 변화에 따라 파네스세포의 기능이 달라질 것과 이때 파네스세포내 Zn의 분포에도 어떤 변화가 보일 것이라는 가설을 설정하는 근거가 되었다.

이에 연구자는 과량의 Zn에 노출된 랫드와 생리식염수만을 투여한 랫드의 회장내 파네스세포를 대상으로 AMG로 염색한 후 그 분포의 변화를 광학 및 전자현미경에서 관찰함으로써 위에서 예측된 가설, 즉 과량의 금속류에 노출된 상황에서 체내 항상성유지를 위한 파네스세포의 보상기능의 가능성을 형태학적으로 규명하고자 본 연구를 시작하였다.

재료 및 방법

1. 실험군 배정

이번 연구에서는 성숙한 수컷 랫드(Wistar)를 30마리를 실험동물로 사용하였다. 우선 아무런 처치도 하지 않은 정상군, 생리식염수만을 복강주사한 대조군, 그리고 $ZnCl_2$를 복강투여한 투여군 등 3개의 실험군으로 나누어 각 군에 10마리씩 배정하였다.

2. 약물 투여

투여군의 동물은 Halothane으로 흡입마취시킨 후 $ZnCl_2$ (20 mg/kg)를 생리식염수 5 ml에 녹여 복강(i.p.)에 주사한 후 2시간에 이르러 관류고정(perfusion fixation)을 비롯한 AMG를 준비하였다. 반면 대조군 동물에는 생리식염수(5 ml)만을 복강 주사한 후 투여군과 똑 같은 방법을 거쳤다.

3. 조직 채취

위에서 언급한 바와 같이 각 실험동물은 약물주사 후 2시간에 이르러 일련의 AMG를 시작하였다. 우선

각 동물에 Pentobarbital (50 mg/kg, i.p.)로 깊게 마취시킨 후 조직내 Zinc 이온(Zn^{2+})을 침전시킬 목적으로 5% Sulfide-3% Glutaraldehyde (GA) 혼합액 (in 0.1 M PB, pH 7.4)을 실험동물 마리당 200 ml를 10분에 걸쳐 심장을 통해 관류하였다. 관류고정 후 회장(ileum)의 일부-맹장으로부터 5 cm 위쪽-를 떼어내어 3% GA에 실온에서 2시간 동안 추후고정을 한 다음 계속해서 30% sucrose에 담가 가라앉을 때 까지 기다렸다. 가라 앉은 회장조직은 Dry Ice 혹은 CO_2 gas를 이용하여 빨리 얼리고, Freezing microtome 위에서 20 μm 두께의 가로절편 (transverse section)을 작성하였다.

이렇게 잘려진 회장 조직절편은 gelatine이 발라진 유리슬라이드에 올린 후 실온에서 약 10분간 건조시키고 나서 조직화학법이 준비될 때 까지 −20°C 냉동실에 보관하였다. 이번 연구에서 소장의 여러 부위에서 회장을 택한 이유는 파네스세포가 십이지장이나 공장보다 훨씬 많은 수로 분포하기 때문이었다(Elmes, 1976).

4. Autometallography (AMG)

회장조직내 Zn^{2+}을 찾기 위한 조직화학법으로는 Danscher (1985)의 방법을 이용하였다. 여기서 AMG법을 간단히 요약하면, 몇가지 화학물질의 일정한 혼합비율로 만들어진 AMG developer가 준비되어야 한다. 유리Jar에 조직절편이 부착된 유리슬라이드를 끼워 놓고, 준비된 Developer를 실온에서 들이 붓고는 가볍게 흔들어 준다. 이어서 Jar를 26°C로 유지하며, 어둡게 밀폐된 흔들물통(Shaking water bath)에 옮겨 60분간 기다린다. 그 후 Jar를 꺼내어 Developer를 따라 내고 40°C 수돗물로 몇 차례 헹군다. 그 후 알코올과 자일렌 등을 이용한 탈수과정 및 청명과정을 거쳐 반영구적인 광학현미경 조직표본을 완성하였다. 전자현미경 관찰을 위한 실험으로 고정된 회장조직의 일부를 떼어낸 후 Vibratome을 사용하여, 100 μm 두께의 회장 가로절편을 만들어 유리그릇에 모았다. 이어서 조직절편내 Zn^{2+}을 위한 AMG법은 위에서 말한 동일한 방법으로 하되 단지 다른점은 슬라이드와 Jar를 이용하지 않고, 유리그릇안에서 염색이 이루어졌다. 전자현미경적 절편을 만들기 위해 일반적인 전자현미경 포매과정을 거쳐, Ultramicrotome에서 2

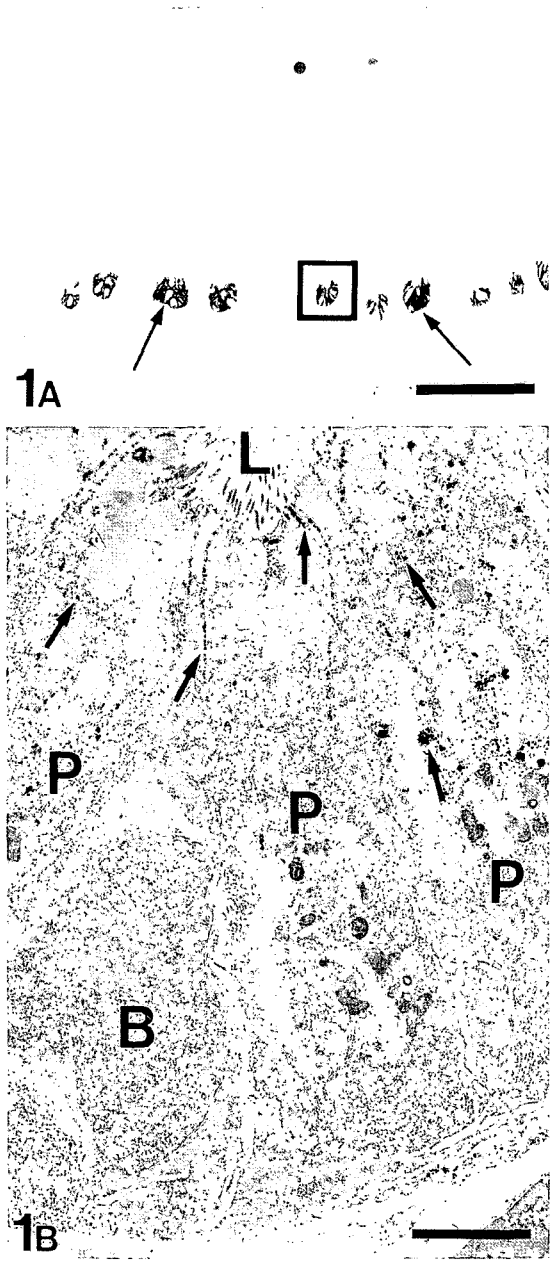

Fig. 1. Light (A) and electron (B) microscopical demonstrations of autometallographically detectable zinc in Paneth cells (P) of the normal rats. Arrows and a rectacle in A indicate AMG-stained Paneth cells and selected area for electron micrograph in B, respectively. Note that AMG grains (small arrows) are concentrated in the apical regions of Paneth cells. Abbreviations; B: basal cell, L: lumen of intestinal gland. Scale bars: 250 μm in A, 10 μm in B.

μm semithin section을 만들어 광학현미경으로 관찰하고, 필요한 부위를 찾아 100 nm의 thin section을 만들어 우라닐과 납을 이용한 이중염색을 시행한 후 전자현미경하에서 관찰하였다.

결 과

정상군과 대조군의 랫드에서 관찰된 파네스세포내 Zn의 AMG 소견은 특별한 차이는 보이지 않았다. 반

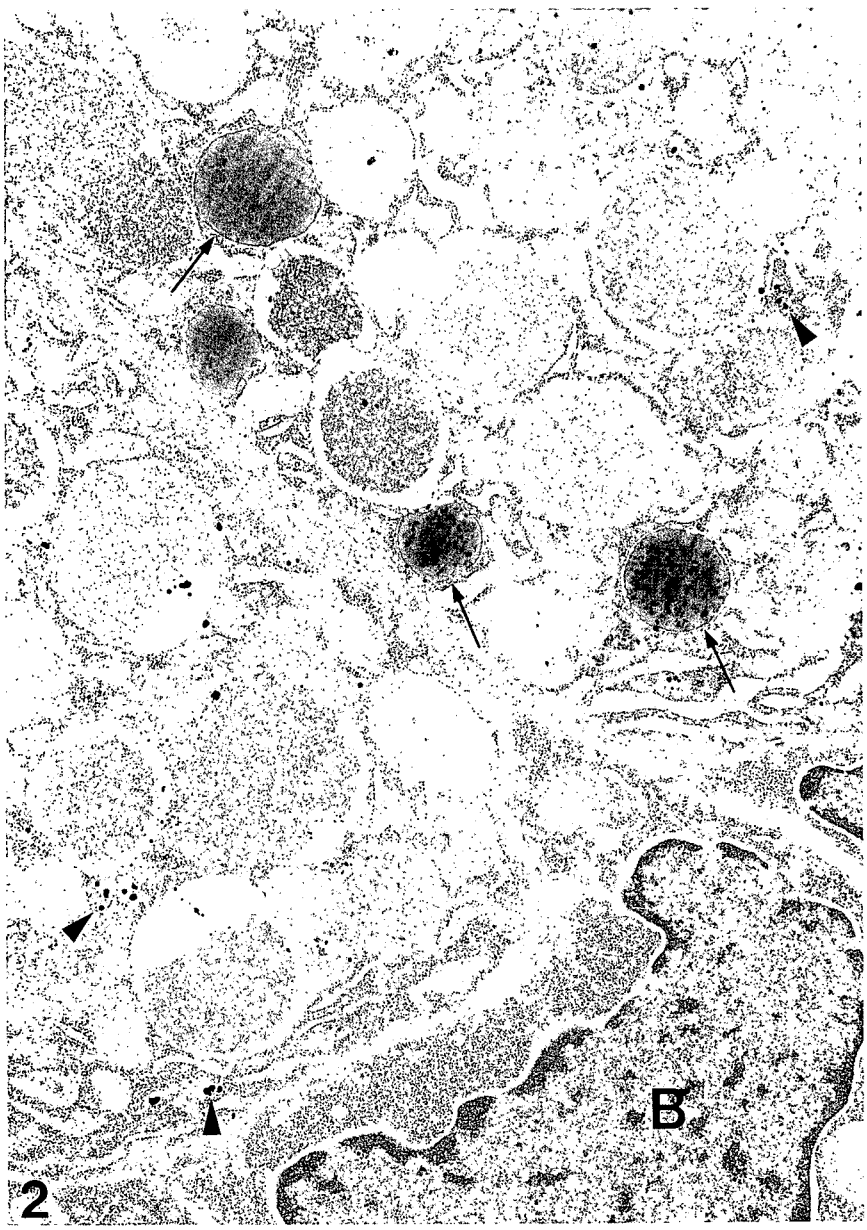

Fig. 2. Electron micrograph showing AMG grains on Paneth cells (P) of the normal rats. Note that the more electron-dense secretory granules (arrows) show higher concentration of the AMG compared to low ones. Some amount of AMG grains are also found in their cytosol (arrowheads). Basal cells (B) are absolutely avoid of AMG grains. Scale bar indicates 1 μm.

면에 $ZnCl_2$ 투여군과는 매우 상이한 소견을 보였다.

1. 광학현미경적 관찰

정상군 및 대조군의 랫드에서 관찰된 파네스세포는 장샘의 기저부(base of the intestinal gland)에 위치하였다. 이들 세포는 Zn에 대한 AMG 염색결과 짙은 갈색의 도은성염색(silver stain)을 띠었으며, 주로 파네스세포의 위쪽(apical part)에서 강한 염색성이 관찰되었다(Fig. 1A).

반면 투여군의 조직표본에서는 파네스세포내 분비과립(secretory granule)에서 가장 강한 AMG 염색이

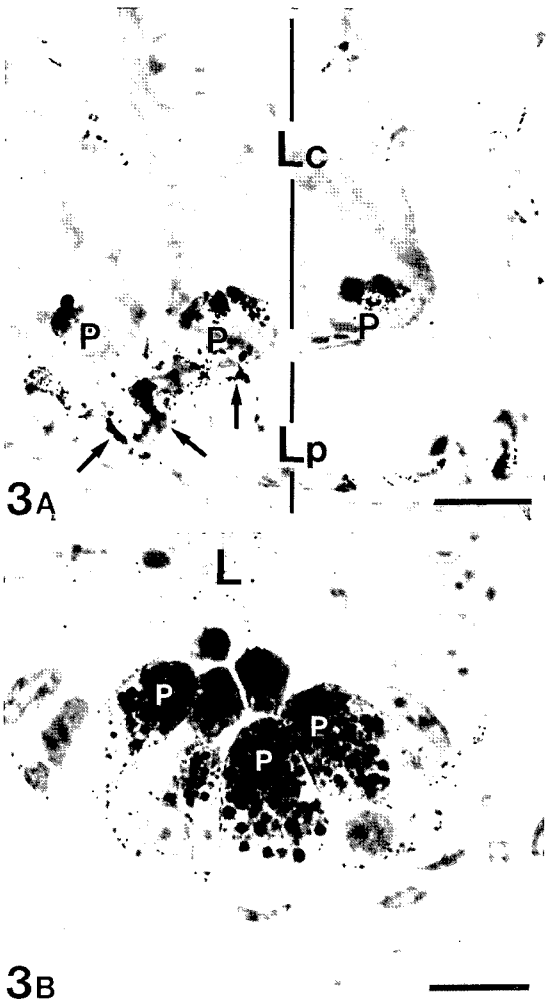

Fig. 3. Photomicrographs showing autometallographic dectectable zinc ions in Paneth cells (P) of the treated rats with $ZnCl_2$ (20 mg/kg, i.p.). A is taken from 20 μm-thick cryosection, while B is 2 μm-thick plastic section. The AMG staining is not only within the base of Lieberkuhn crypt (Lc), but also throughout the lamina propria (Lp, arrows). Note the scattered AMG grains in the Lumen (L) of Lc. Scale bars indicate 100 μm in A, 20 μm in B.

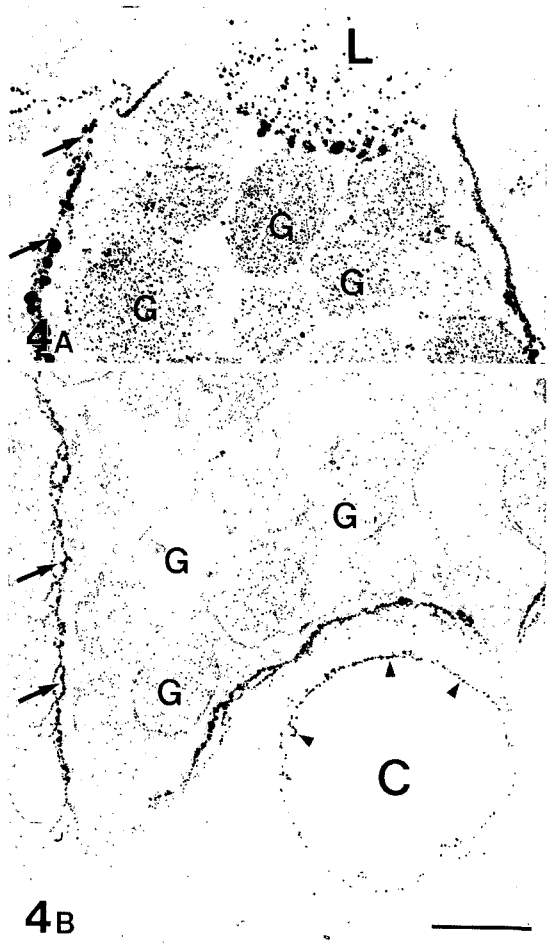

Fig. 4. Electron micrographs taken from Paneth cell (P) of the $ZnCl_2$-overloaded (20 mg/kg, i.p.) rats. A and B are taken from the apical and basal part of the Paneth cell, respectively. Note the difference in the concentration of AMG grains on the secretory granules (G) located in the apical and basal parts. Much higher concentration of the AMG grains are found in the apical regions including lumen (L) of the intestinal gland and intercellular space (arrows) compared to those of the basal part including capillary (C, arrowheads) in the lamina propria. A and B are the same magnification. Scale bar indicates 2 μm.

관찰되었다. 뿐만 아니라 파네스세포 이외 장샘 내강(lumen of the intestinal gland), 세포사이공간(intercellular space), 고유판(lamina propria) 등에서도 뚜렷한 AMG 염색이 관찰되었다(Figs. 3A, B).

2. 전자현미경 소견

정상군 및 대조군의 파네스세포에서 관찰된 AMG 염색으로 보여진 은과립(silver grains)은 원형 또는 난원형이었으며, 그 크기는 작고, 크고, 중간크기로 다양하였다. 대부분의 AMG grains은 파네스세포의 위쪽에 위치하였고, 약간의 grains은 파네스세포의 기저부(basal part), 세포사이공간과 장선 내강에 분포하고 있었다(Fig. 1B). 이러한 AMG grain은 파네스세포내 뚜렷이 구분되는 2가지 분포로 나뉘어져 있었다. 즉, 첫째로 대부분의 grains은 세포질내 소기관과 직접 관련되어 있지 않은채로 사이토졸에 흩어져 있었고, 일부는 파네스세포의 분비과립에 위치하였는데, 후자의 경우 크기가 작고, 전자밀도가 높은(electron dense) 분비과립이 전자밀도 낮고 크기가 큰 분비과립보다 훨씬 많은 AMG grain들을 갖고 있었다(Fig. 2).

반면에 $ZnCl_2$ 투여군의 파네스세포는 세포의 크기와 모양이 정상군과 대조군의 것과는 매우 다른 모습이었다. 즉, 그 크기가 증가하고, 과립형질내세망(RER) 및 분비과립 등 세포소기관의 양이 증가되는 등 전반적으로 Hypertrophy 소견을 보였다. 뿐만 아니라 세포사이공간과 고유판내 혈관내에서도 많은 grain들이 관찰되었다(Figs. 4A, B). 대조군의 것과 비교할 때 AMG grain의 양과 분포양상에 상당한 차이

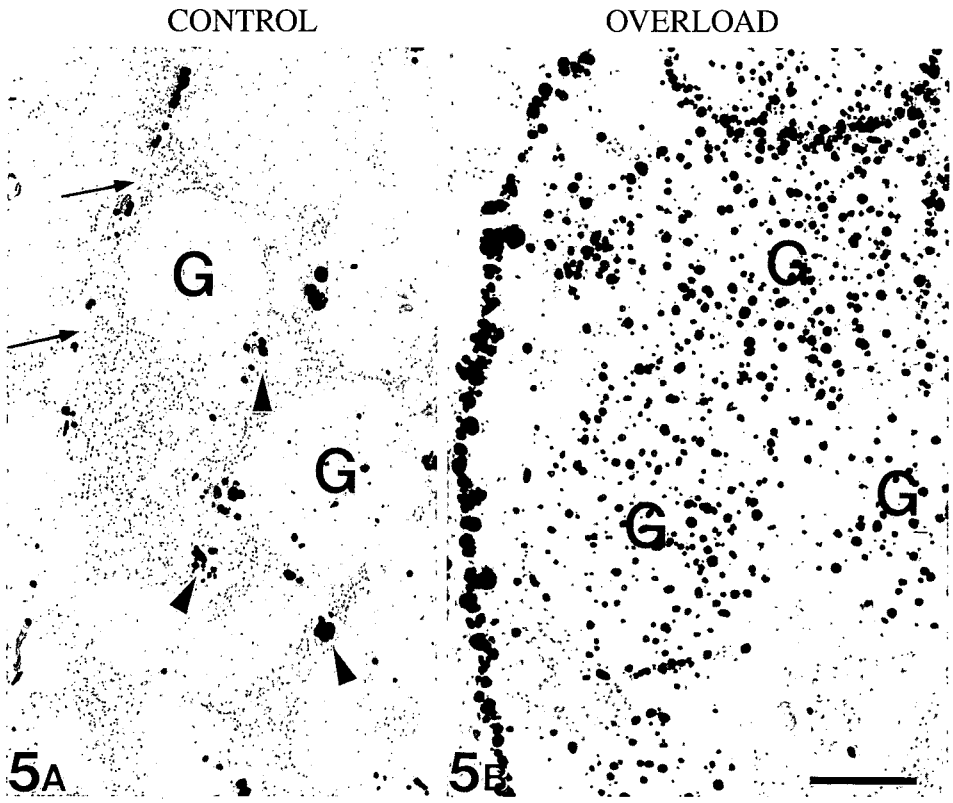

Fig. 5. Electron micrographs comparing the general pattern of AMG staining between the control and $ZnCl_2$-treated (20 mg/kg, i.p.) groups. There are two different zinc pools in Paneth cell both of the normal and treated rats. One is on the secretory granules (G) and the other is confined within the cytosol (arrowheads). Note some shift in the population of AMG grains from the cytosol to the secretory granules in Paneth cell of the treated rats as compared with that of the normal rats. Arrows indicate the intercellular space. A and B are the same magnification. Scale bar: 0.5 μm.

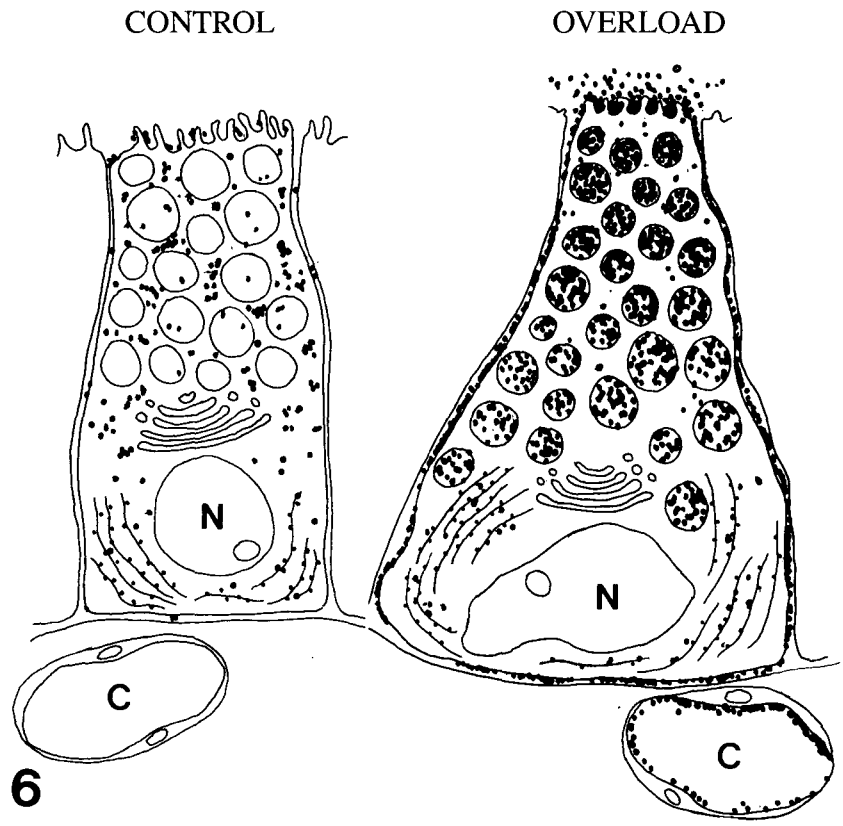

Fig. 6. Schematic drawings showing the difference of AMG staining pattern between the control and $ZnCl_2$-overloaded rats. Note the imaginary direction of excretory pathway of the excess zinc from the capillary to lumen of the intestinal gland in the $ZnCl_2$-overloaded rats. Abbreviations; N: nucleus, C: capillary.

를 보였는데, 우선 관찰된 grain들의 수에서 훨씬 많은 수로 관찰되었고, 그 분포에서는 AMG grains이 사이토졸보다는 분비과립쪽에 훨씬 더 많이 위치하였다 (Figs. 5A, B). 이상의 결과는 랫드에 인위적으로 과량의 Zn를 투여하면, 이를 생체밖으로 배출하기 위해 우선 장샘내 파네스세포들이 혈관으로부터 장관 내강쪽으로 과잉의 Zn를 퍼냄으로써 Zinc 대사에 항상성(homeostasis)을 유지하는 노력이 동반된다는 본 연구의 가설을 뒷받침한다(Fig. 6).

고 찰

위장관에 들어온 Zn가 소장에서 어떻게 흡수되는지 그 기전에 관해서 아직까지 정확히 알려진 바 없으나 구리 및 망간 등의 미량원소(trace elements)와 비슷한 방식을 취할 것으로 기대된다. 구리의 경우 상피세포를 가로 지르는 방식(transcellular pathway)과 세포와 세포사이공간을 통하는 방식(paracellular pathway)으로 흡수된다고 알려져 있다(Steel & Cousins, 1985; Hoadley et al., 1987). Okamoto (1951)가 Dithizone을 이용한 조직화학법으로 랫드 소장 장샘의 기저부에 위치한 파네스세포에 다량의 Zn가 존재한다는 사실을 보고한 이후, 이들 세포가 Zn대사에 밀접하게 관련되어 있을 가능성이 꾸준히 제기되어 왔다. 즉, 파네스세포가 과잉의 Zn를 분비함으로써 항상성(homeostasis)을 유지하려는 노력으로 간주되었다. 그러나 이에 관한 대부분의 연구들은 본 연구와 같은 형태학적 결과를 보여주지 못하였고, 특히 전자

현미경을 이용한 미세구조적소견은 전혀 보고되지 않았다.

정상군 및 대조군의 파네스세포내에 관찰된 AMG grains의 분포가 2개의 Zn pool로 구분되었음은 Danscher (1985)의 연구결과와 전반적으로 일치한다. 본 연구에서는 크기가 작고, 전자밀도가 높은 분비과립에서 반대로 크기가 크고 전자밀도가 낮은 과립에 비해 훨씬 많은 수의 AMG grains이 관찰되었다. 이러한 사실은 Zn가 파네스세포내 분비과립의 발달과정과 관계되어 있음을 시사하는 매우 귀중한 연구결과로 여겨지며, 아직까지 이에 관한 보고를 접하지 못하였다.

반면에 과량의 $ZnCl_2$를 복강내 인위적으로 투여한 랫드의 파네스세포에서는 정상 및 대조군의 소견과 뚜렷이 구분되었다. 우선 파네스세포내 소기관들이 증가하고, 세포가 비대되었음은 전반적인 세포의 활성이 증가되어 있음을 의미한다. 특히 대부분의 AMG grains이 사이토졸보다는 분비과립에 위치하고 있음은 생체내 과잉의 Zn를 체외로 퍼내기 위한 수단으로 분비과립이 이용되는 것으로 생각된다. 이를 뒷받침하는 또 다른 소견으로는 세포의 기저부에서 관찰된 분비과립과 내강에 가까운쪽에 위치한 분비과립에 존재하는 AMG grains의 양이 분명한 차이를 보이는 것이다. 뿐만 아니라 파네스세포의 주변, 즉 고유판에 위치한 모세혈관, 세포사이공간 및 장샘의 내강에서 많은 수의 AMG grains이 관찰되었음도 이러한 사실을 뒷받침한다.

본 연구의 결과는 사실상 Zn 대사에 있어서의 파네스세포의 기능은 주로 분비와 관련있을 것으로 생각되며, zinc-deficient 상태의 랫드 파네스세포에는 조직화학적인 방법에 반응하는 Zn가 전혀 관찰되지 않았다는 기존의 연구보고(Mager et al., 1953; Elmes, 1976; Sawada et al., 1991)와 일치한다. 그러나 zinc deficiency가 장기화 될 경우에는 파네스세포가 생체에서 필요한 양의 Zn를 유지하기 위한 또 다른 역할이 예상된다. 파네스세포는 2~3주 간격으로 장 상피에서 박리되는데 이때 단순히 내강쪽으로 떨어져 나가는 대신 주위 상피세포(crypt-based columnar cell)에 의해 포식됨으써 체내 Zn의 양을 조절하는 것으로 알려져 있다(Sawada et al., 1994; Mullins & Fuentealbla, 1998). 이러한 사실은 랫드 회장내 파네스세포가 Zn 대사에 있어서 항상성(homeostasis) 유지에 필요한 중요한 조절장치(regulatory apparatus)임을 시사한다.

감사의 글

저자들은 본 논문에 필요한 사진작업에 애써주신 한 석, 이경진 기사에게 깊은 감사를 드립니다. 또한 대한의사협회 학술비 지원(1997년도)에도 감사드립니다.

참 고 문 헌

Bry L, Falk P, Huttner K, Ouellette A, Midtvedt T, Gordon JI: Paneth cell differentiation in the developing intestine of normal and transgenic mice. Proc Natl Acad Sci. 25; 91(22): 10335-9, 1994.

Danscher G, Thorlacius-Ussing O, Rungby J, Moller-Madsen B: Selenium in the Paneth cells. Sci Total Environ. 15; 42(1-2): 189-92, 1985.

Danscher G, Rytter Norgaard JO: Ultrastructural autometallography: a method for silver amplification of catalytic metals. J Histochem Cytochem. 33(7): 706-10, 1985.

Dencker L, Tjalve H: An autoradiographic study on the fate of 65Zn in zinc-rich tissues in some rodents. Med Biol 57(6): 391-7, 1979.

Dinsdale D: Ultrastructural localization of zinc and calcium within the granules of rat Paneth cells. J Histochem Cytochem 32(2): 139-45, 1984.

Elmes ME: The Paneth cell population of the small intestine of the rat-effects of fasting and zinc deficiency on total count and on dithizone-reactive count. J Pathol 118(3): 183-91, 1976.

Erlandsen-SL, Chase DG: Paneth cell function: phagocytosis and intracellular digestion of intestinal microorganisms. I. Hexamita muris. J Ultrastruct Res 41(3): 296-318, 1972.

Erlandsen-SL, Chase DG: Paneth cell function: phagocytosis and intracellular digestion of intestinal microorganisms. II. Spiral microorganism J Ultrastruct Res 41(3): 319-33, 1972.

Hoadley JE, Leinart AS, Cousins RJ: J Physiol 252: G825-

G831, 1987.

Johnson WT, Evans GW: Tissue uptake of zinc in rats following the administration of zinc dipicolinate or zinc histidinate. J Nutr 112(5) : 914-9, 1982.

Jones JG, Elmes ME: The quantification of zinc in the mucosal cells of human small intestine using x-ray microanalysis. Scand. J Gastroenterol Suppl 70 : 37-48, 1981.

Mager M, McNary WF Jr, Lionetti F: The histochemical detection of zinc. J Histochem Cytochem 1 : 493, 1953.

Mallow EB, Harris A, Salzman N, Russell JP, DeBerardinis RJ, Ruchelli E, Bevins CL: Human enteric defensins. Gene structure and developmental expression. J Biol Chem 23; 271(8) : 4038-45, 1996.

Masty J, Stradley RP: Paneth cell degranulation and lysozyme secretion during acute equine alimentary laminitis. Histochemistry 95(5) : 529-33, 1991.

Mathan M, Hughes J, Whitehead R: The morphogenesis of the human Paneth cell. An immunocytochemical ultrastructural study. Histochemistry 87(1) : 91-6, 1987.

Millar MJ, Vincent NR, Mawson CA: An autoradiographic study of the distribution of zinc-65 in rat tissues. J Histochem Cytochem 9 : 111, 1961.

Mullins JE, Fuentealba IC: Immunohistochemical detection of metallothionein in liver, duodenum and kidney after dietary copper-overload in rats. Histol Histopathol 13(3) : 627-33, 1998.

Peters T, Vantrappen G, Sawada M, Takahashi K: The Paneth cell: a source of intestinal lysozyme. Gut 16(7) : 553-8, 1975.

Sawada S, Midorikawa O: Selective killing of Paneth cells by intravenous administration of dithizone in rats. Int J Exp Pathol 72(4) : 407-21, 1991.

Sawada M, Horiguchi Y, Abujiang P, Miyake N, Kitamura Y, Midorikawa O, Hiai H: Monoclonal antibodies to a zinc-binding protein of rat Paneth cells. J Histochem Cytochem 42(4) : 467-72, 1994.

Selsted ME, Miller SI, Henschen AH, Ouellette AJ: Enteric defensins: antibiotic peptide components of intestinal host defense. J Cell Biol 118(4) : 929-36, 1992.

Takehana K, Masty J, Yamaguchi M, Kobayashi A, Yamada O, Kuroda M, Park YS, Iwasa K, Abe M: Fine structural and histochemical study of equine Paneth cells.Anat Histol Embryol 27(2) : 125-9, 1998.

<국문초록>

포유류 장샘 상피세포의 하나인 파네스세포(Paneth cell)는 여러 가지 금속류를 함유하고 있으며, 생체가 과잉의 이들 금속류에 노출되거나 부족할 때에 장 내강을 통해 제거하거나 흡수함으로써 금속류의 항상성에 기여한다고 알려져 있다. 이번 연구는 이러한 연구보고에 근거하여 금속류중에서 zinc를 실험적으로 과량투여한 후 파네스세포내 zinc의 분포에 어떤 변화가 초래되는 지를 광학 및 전자현미경적 autometallography (AMG)로 관찰함으로써 파네스세포의 zinc와 관련된 세포생물학적 기능을 규명하고자 하였다. Wistar 랫드에 체중 당 20 mg의 zinc chloride를 생리식염수 5 ml에 녹여 복강주사한 후 2시간에 이르러 0.1 M phosphate buffer (PB)에 녹인 0.5% sodium sulphide-3% glutaraldehyde 혼합액으로 관류고정하였다. 회장(ileum)의 일부를 Dry Ice나 CO_2 gas로 얼린 후 cryostat을 이용하여 20 μm 두께의 조직절편을 만들어 몇 단계의 AMG법을 시행하였다. 이와는 별도로 EM용으로 선택된 회장절편은 일련의 전자현미경 표본제작과정을 거쳐, 100 nm 두께의 thin section을 만들어 uranyl-lead 이중염색후 전자현미경으로 관찰하였다.

Zinc를 투여한 동물에서 관찰된 소견은 생리식염수만을 투여한 대조군의 것과 비교할 때 큰 차이를 보였다. 우선 대조군에서는 파네스세포의 꼭대기(apex) 부위에서 낱알모양을 띤 AMG 양성반응 구조물(AMG grain)들이 분비과립과 사이토졸(cytosol)에서 관찰되었고, 세포사이공간에서도 적은 양의 grain이 분포하고 있었다. 반면 zinc를 투여한 랫드의 파네스세포에서는 AMG 입자가 이상의 부위에서 훨씬 많은 양의 grain이 분포해 있었으며, 특히 분비과립에서는 가장 높은 농도로 관찰되었다. 더욱이 대조군에서 관찰되지 않았던 장샘의 분비관(Lieberkuhn crypt) 및 고유판 혈관의 내에서도 많은 grain이 관찰되었다. 이상의 결과를 요약하면 과량의 zinc에 노출된 생체는 혈관을 경유하여, 파네스세포의 분비과립을 매개로 하여, 장관의 내강쪽으로 과잉의 zinc를 퍼내고 있는 모습을 보인다. 따라서 연구자는 파네스세포가 생체내 zinc의 양을 조절하는데 중요한 역할이 있을 것으로 본다.