

태아 및 흰쥐의 흉선에서 비만세포의 발달에 관한 연구

Studies on the Development of Mast Cells in the Thymuses of the Human Fetuses and Rats

서울대학교 의과대학 해부학교실

차 중 의

서 론

Paul Ehrlich(1877)가 결합조직 내에서 염기성 aniline 색소에 의해 변색성(metachromasia)으로 염색되는 과립을 함유하고 있는 세포를 발견하고 이 세포를 비만세포(mast cell)라고 명명한 이래 비만세포의 염색성, 형태, 분포 및 기원에 대해서는 많은 사람들의 연구의 대상이 되어 왔다.

비만세포는 우리 몸에서 골(bone), 연골(cartilage) 및 반흔조직(scar tissue)을 제외한 결합조직이 있는 모든 부위에서 관찰되며 특히 혈관 주위에 많이 분포하고 있다고 알려져 있다(Michels, 1938).

비만세포의 기원에 대해서는 현재까지도 명확하게 밝혀진 것이 없는데 일반적으로 미분화 간엽세포(undifferentiated mesenchymal cell)에서 기원한다는 설(Holmgren, 1946; Riley, 1953; Combs et al, 1965; Burton, 1967)이 지배적이었지만 최근에는 입과에서 기원한다는 설(Ginsburg와 Sachs, 1962; Ginsburg, 1963; Ginsburg와 Lagunoff, 1967; Burnet, 1965; Csaba와 Olah, 1968; Csaba와 Forgags, 1971; Csaba와 Barath, 1970; Ishizaka 등, 1976)이 많이 대두되고 있으며 이밖에 미장의 조혈세포에서 기원한다는 설(Cantino & Comoglio, 1967)도 있다.

비만세포의 과립은 histamine, heparin, slow reacting substance of anaphylaxis(SRS-A), eosinophil chemotactic factor of anaphylaxis(ECF-A)등을 함유하고 있는데 염기성 aniline 색소에 의해 변색성으로 염색되는 것이 특징이므로 그 염색성에 대해서도 많은 연구가 되고 있으며 동물의 종(species)이나 과립의 성숙 정도에 따라서 염색성에 차이가 많다고 알려져 있다.

따라서 저자는 태아의 흉선에서 태령의 증가에 따른 비만세포의 염색성, 수, 형태 및 분포의 변화를 관찰하고 이것을 흰쥐의 경우와 비교함으로써 비만세포의 성

숙에 따른 변화 및 사람과 흰쥐에서의 염색성의 차이점을 관찰하고 아울러서 비만세포의 기원을 추측하는 기본 자료를 얻기 위하여 본 실험을 시도하였다.

재료 및 방법

실험에 사용한 재료는 태령 3개월에서 10개월(13-14주)에 이르는 48예의 태아(남성 24예, 여성 24예)와 흰쥐 태자 20마리 및 신생 흰쥐 20마리이다.

태아의 경우에는 태령 각 개월 당 6예에서 흉선을 적출하였으며 흰쥐 태자의 경우에는 태령 제 14, 15, 16 및 19일에, 신생 흰쥐의 경우에는 생후 제 0, 1, 2 및 3주에 각각 5마리에서 흉선을 적출하였다. 적출한 흉선은 10% buffered neutral formalin에 고정하여 통상적인 조직처리 과정을 거쳐 paraffin에 포매한 후 5 μ 두께의 연속 절편을 만들어 Periodic Acid-Schiff(PAS), Alcian Blue-Safranin(ABS), Toluidine Blue(TB) 및 Methyl Green-Pyronin(MGP) 염색을 시행하여 광학현미경으로 비교 관찰하였다.

태아의 흉선에서 비만세포의 계수는 PAS염색의 절편에서 관찰되는 모든 비만세포를 계수하여 1mm²당 비만세포의 수로 환산하였다.

결 과

1. 비만세포의 염색성의 변화

태아의 흉선에서는 태령 3개월에는 PAS, ABS, TB 및 MGP 염색에서 모두 비만세포를 관찰할 수 없었다(Table 1).

태령 4개월에는 PAS염색과 ABS 염색에서 비만세포를 관찰할 수 있었으며 TB 염색과 MGP 염색에서는 관찰할 수 없었는데(Table 1) PAS 염색에서는 비만세포의 세포질 전체가 균질성(homogenous)의 적색으로 나타났으며 과립의 형태는 구별하기가 힘들었고 ABS

Table 1. Changes of the stainability of mast cells with increasing age in the human fetuses

month	stain			
	PAS	ABS	TB	MGP
3	—	—	—	—
4	+	+	—	—
5	++	++	±	—
6	++	++	±	—
7	++	++	±	—
8	++	++	±	—
9	++	++	±	—
10	++	++	±	—

염색에서는 alcian blue에 청색으로 염색되는 비만세포가 나타났는데 과립의 형태를 뚜렷하게 구별할 수 있었다.

태령 5개월에서 10개월까지는 PAS 염색과 ABS 염색에서는 비만세포의 염색성이 좋았으나(Fig.1 및 2) TB염색에서는 거의 비만세포를 관찰할 수 없었으며 극소수의 비만세포만이 염색이 되었지만 변색성은 미약했고 MGP 염색에서는 비만세포를 전혀 관찰할 수 없었다(Table 1). 핵은 PAS나 ABS 염색에서는 염색이 안되어 원형이나 타원형으로 나타났으며(Fig. 4 및 5) TB 염색에서는 과립때문에 안보이는 수가 많았으나 간혹 핵이 뚜렷이 나타나는 것도 있었다.

원위태자의 흉선에서는 태령 15일까지는 ABS, PAS, TB 및 MGP 염색에서 모두 비만세포를 관찰할 수 없었으나 태령 16일에는 ABS 염색에서 처음으로 alcian blue에 청색으로 염색되는 비만세포를 관찰할 수 있었다(Table 2).

태령 19일에는 ABS 염색에 대한 비만세포의 염색성이 증가하여 alcian blue에 염색되는 다수의 비만세포

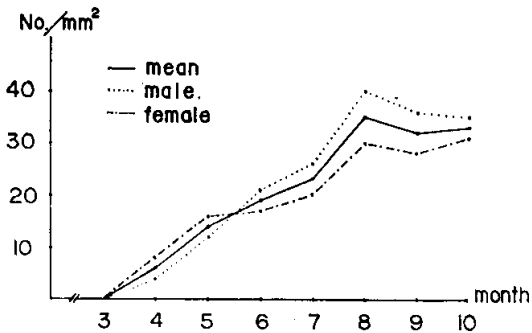


Fig. 1. Changes of the number of mast cells with increasing age in the human fetuses

Table 2. Changes of the stainability of mast cells with increasing age in the rats

age	gestation(day)	stain			
		ABS	PAS	TB	MGP
	14	—	—	—	—
	15	—	—	—	—
	16	+	—	—	—
	19	++	+	+	+
after birth (wk.)	0	++	++	++	++
	1	++	++	++	++
	2	++	++	++	++
	3	++	++	++	++

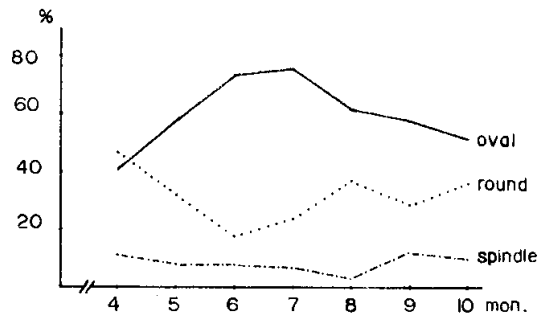


Fig. 2. Changes of the shape of mast cells with increasing age in the human fetuses

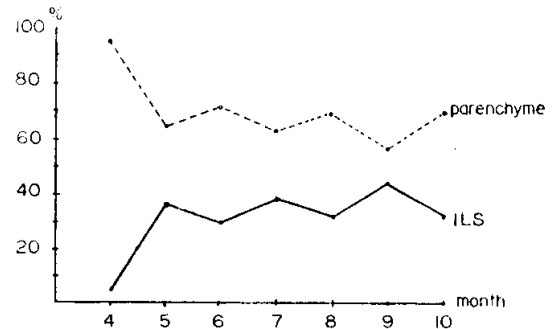
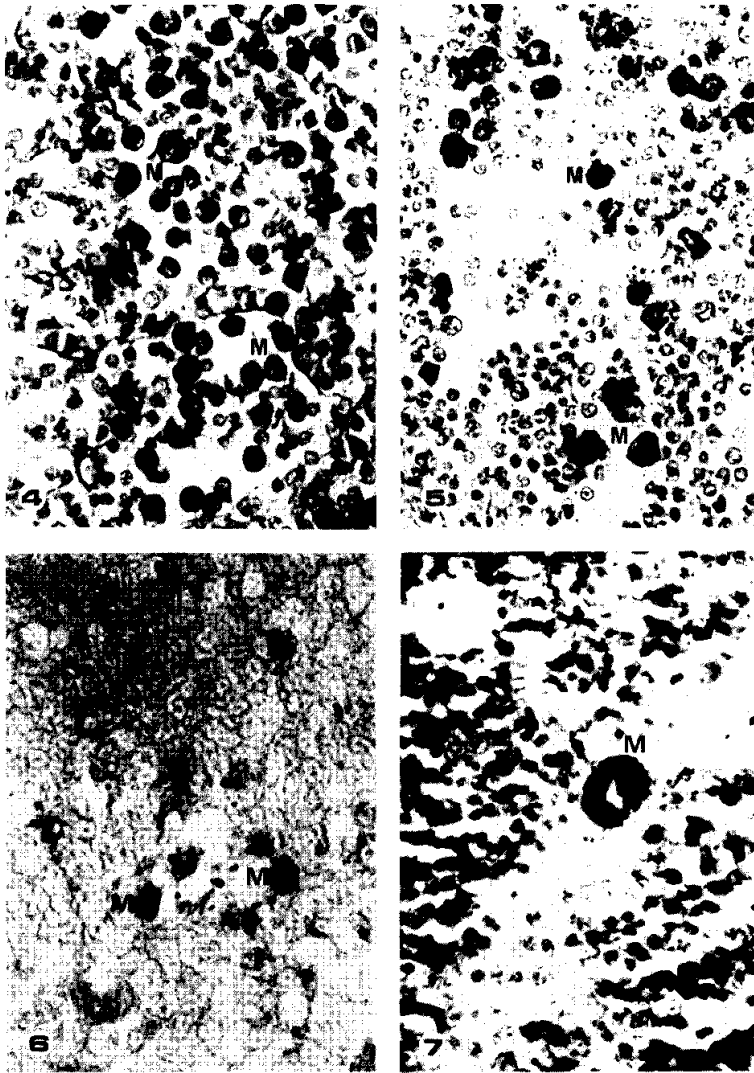


Fig. 3. Changes of the distribution of mast cells with increasing age in the human fetuses

를 관찰할 수 있었으며 PAS, TB 및 MGP 염색에서는 염색성이 낮아서 ABS 염색에 비해 적은 수의 비만세포가 관찰되었다(Table 2).

생후 0일에서 3주까지는 ABS, PAS, TB 및 MGP 염색에서 모두 염색성이 증가하였는데(Table 2) ABS 염색에서는 alcian blue에 청색으로 염색되는 비만세포와 safranin에 적색으로 염색되는 비만세포가 섞여서 나



Explanation of Figures

- Fig. 4.** Human thymus of the 9 months old fetus. Numerous PAS-positive mast cells (M) are seen dark.
M: Mast cell. Periodic Acid-Schiff (PAS) stain, $\times 430$.
- Fig. 5.** Human thymus of the 10 months old fetus. Note the safranin-positive mast cells (M) with distinct granules in their cytoplasm.
M: Mast cell. Alcian Blue-Safranin (ABS) stain, $\times 430$.
- Fig. 6.** Rat thymus of the 19 days old fetus. PAS-positive mast cells are seen in the parenchyme of the thymus. Note their faint stainability in comparison with the human mast cells seen in the Fig. 4.
M: Mast cell. PAS stain, $\times 430$.
- Fig. 7.** Rat thymus of the 19 days old fetus. Note the large size of mast cell (M) in the interlobular septum of the thymus in comparison with the PAS-positive mast cells in the parenchyme seen in the Fig. 6.
M: Mast cell. Toluidine Blue (TB) stain, $\times 430$.

나났으며 TB 염색에서는 변색성이 태령 19일에서 보다 증가하여 진한 자색으로 나타났고 MGP 염색에서는 주황색으로 염색되어 나타났는데 ABS 및 TB 염색에서는 과립의 형태가 뚜렷이 나타났으나 PAS 및 MGP 염색에서는 과립의 형태는 구별할 수가 없었고 세포질 전체가 균질성으로 나타났는데 PAS에 대한 염색성은 태아에 비해 낮아서 비교적 연한 적색으로 나타났다. (Fig. 6)

2. 비만세포의 수의 변화

태아의 흉선에서 비만세포는 태령 3개월에는 전혀 관찰할 수 없었으나 태령 4개월에 처음 나타나기 시작하여 태령의 증가에 따라 비만세포의 수도 증가하여 태령 8개월에는 단위면적 당(mm^2) 비만세포의 수가 가장 많았으며 이후 10개월까지는 거의 변화를 나타내지 않았다(Fig. 1).

성별에 따른 비만세포의 수의 차이는 별로 없었으나 태령 5개월 이전에는 비만세포가 여자에서 약간 많이 나타났고 6개월 이후에는 남자에서 약간 많이 나타나는 경향을 보였다(Fig. 1).

3. 비만세포의 형태의 변화

태아의 흉선에서 비만세포의 형태는 전반적으로 다원형, 원형, 방추형의 순으로 많았는데 태령 4개월과 태령 10개월의 경우를 비교해 보면 타원형의 비만세포는 태령 4개월에는 41%, 태령 10개월에는 37%로 약간 감소했고 방추형의 비만세포는 태령 4개월에는 11%, 태령 10개월에는 10%로 거의 변화가 없었다(Fig. 2).

4. 비만세포의 분포의 변화

태아의 흉선에서 비만세포는 소엽간 격막(interlobular septum)에 비해 실질조직(parenchyme)에서 많이 나타났으며 태령의 증가에 따른 비만세포의 변화를 보면 실질조직에서는 태령 4개월에 95%, 10개월에 68%로 감소하였으나 소엽간 격막에서는 태령 4개월에 5% 태령 10개월에 32%로 감소하였다(Fig. 3).

흰쥐의 흉선에서는 PAS에 염색되는 비만세포는 주로 실질조직에 나타났으나(Fig. 6) TB나 MGP에 염색되는 비만세포는 주로 소엽간 격막에 나타나는 경향을 보였으며 TB나 MGP에 염색되는 비만세포의 크기가 PAS에 염색되는 비만세포에 비해 큰 경향을 보였다(Fig. 7).

고 찰

본 실험에 의하면 태아의 흉선에서 비만세포는 태령 4개월에 처음으로 나타났으며 이후 태령 10개월까지

PAS 및 ABS 염색에서만 주로 관찰할 수 있었는데 이것은 태령 4개월에는 비만세포의 과립이 아직 미성숙 단계에 있기 때문에 비교적 미성숙형의 비만세포를 염색하는 것으로 알려진 PAS와 alcian blue에만 염색된 것이라고 생각된다.

PAS 염색은 원래 mucopolysaccharide를 염색하는 염색법인데 대부분의 비만세포는 PAS 염색에 의해 염색이 되나 일부 비만세포는 염색이 안되는 것으로 알려졌으며(Jorpes 등 1948: Drennan, 1951: Compton, 1952: Rondanelli, 1955: Coupland와 Heath, 1960: Feagler와 McManus, 1964: Benditt와 Lagunoff, 1964: Selye, 1965: Butler, 1971), 비만세포의 과립내에 있는 유일한 acid mucopolysaccharide는 heparin인데(Serafini-Fracassini 등, 1969: Uvnäs 등, 1970: Butler, 1971: Bergavist 등, 1971) PAS에 염색이 되는 비만세포는 과립내에 low-sulfated heparin(약산성)을 가지고 있는 반면에 PAS에 염색이 안되는 비만세포는 과립내에 fully-sulfated heparin(강산성)을 함유하고 있다고 알려졌다(Jorpes 등 1948: Compton, 1952: Selye, 1965).

또한 비만세포의 특성인 변색성은 과립내에 있는 fully-sulfated heparin에 의해서만 나타난다고 알려졌으므로(Jorpes 등, 1948) 태령 5개월에서 10개월의 태아의 흉선에서 TB에 염색되는 비만세포가 극소수 나타나는 했지만 변색성이 미약한 것은 과립내의 heparin이 완전히 sulfation되지 않았기 때문이라고 해석된다.

PAS 염색에서 비만세포의 과립을 명확하게 구별할 수 없는 것은 세포질도 PAS에 의해 과립과 비슷한 색으로 염색이 되기 때문이라고 생각된다(Feagler와 McManus, 1964).

흰쥐 태아의 흉선에서는 태령 16일에 처음으로 alcian blue에 의해 염색되는 비만세포가 나타났는데 이것은 흰쥐의 흉선에서 비만세포가 태령 15일에 처음으로 나타나는 Csaba와 Forgacs (1971)의 보고와 거의 비슷한 결과이다.

ABS 염색은 Spicer (1960)가 개발한 염색법으로서 비만세포종에서 미성숙형은 alcian blue에 의해 청색으로 염색되며 성숙형은 safranin에 의해 적색으로 염색된다고 알려졌다. 본 실험에서는 태령 16일에는 alcian blue에 의해서만 비만세포가 염색되었으므로 alcian blue는 흰쥐에서는 가장 미성숙 단계의 비만세포도 염색할 수 있는 염색법이라고 생각된다.

태령 19일 이후에는 PAS, TB 및 MGP 염색에서도 비만세포가 염색이 되었는데 연속절편상에서 PAS로 염색한 절편과 TB 또는 MGP로 염색한 절편을 비교해

본 결과 PAS에 염색된 비만세포와 TB나 MGP에 염색된 비만세포는 서로 다른 세포라는 것을 알 수 있었으므로 PAS는 변색성을 나타내기 전 단계의 미성숙 비만세포를 염색한다고 생각되며 TB나 MGP는 변색성을 나타낼 정도의 성숙한 비만세포를 염색한다고 생각된다.

MGP염색에서 비만세포는 원래 pyronin의 색인 적색으로 나타나야 정상인데 주황색으로 나타났으므로 비만세포는 MGP 염색에도 변색성이 있다고 볼 수 있다.

태아의 흉선에서 태령의 증가에 따른 단위면적당 비만세포의 수의 변화를 보면 3개월부터 8개월 사이에 비만세포의 생성이 계속 증가하다가 8개월 이후에는 더 이상 증가하지 않는 것을 볼 수 있으며 6개월 이후에는 남자에서 여자에 비해 비만세포의 수가 약간 많았는데 생쥐의 흉선에서는 비만세포의 수가 웅성에서 자성에 비해 많은 것으로 보고되어 있다(Burnet, 1965).

태아의 흉선에서 태령의 증가에 따른 비만세포 형태의 변화를 보면 태령 4개월에 비해 태령 10개월에서 원형의 비만세포는 감소하였고 타원형의 비만세포는 증가하였으므로 비만세포가 성숙함에 따라 원형에서 타원형으로 형태가 변화하였을 가능성도 생각할 수 있다

비만세포의 분포를 보면 태아의 흉선에서는 태령의 증가에 따라 소엽간 격막에서는 증가하였고 실질조직에서는 감소하였으며 전반적으로 소엽간 격막에 비해 실질조직에 비만세포가 많이 나타났고, 흰쥐의 흉선에서는 PAS에 염색되는 미성숙 비만세포는 주로 실질조직에 많이 나타났으며 TB 및 MGP에 염색되는 성숙형의 비만세포는 소엽간 격막에 많이 나타났고 TB나 MGP에 염색되는 비만세포의 크기가 PAS에 염색되는 비만세포에 비해 큰 경향이 있었으므로 이러한 결과들은 비만세포가 실질조직에서 생성되어 성숙함에 따라 소엽간 격막으로 이동한 것을 암시한다고도 생각할 수 있다.

결 론

태아의 흉선에서 태령의 증가에 따른 비만세포의 염색성, 수, 형태 및 분포의 변화를 관찰하고 이것을 흰쥐의 경우와 비교함으로써 비만세포의 성숙에 따른 변화 및 사람과 흰쥐에서의 염색성의 차이점을 관찰하고 아울러서 비만세포의 기원을 추측하는 기본 자료를 얻기 위하여 태령 3개월부터 10개월의 태아와 태령 14일부터 생후 3주의 흰쥐 태자 및 신생 흰쥐에서 흉선을 적출하여 Periodic Acid-Schiff (PAS), Alcian Blue-

Safranin (ABS), Toluidine Blue (TB) 및 Methyl Green-Pyronin (MGP) 염색을 시행하여 광학현미경으로 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 태아의 흉선에서는 태령 4개월에, 흰쥐태자의 흉선에서는 태령 16일에 비만세포가 처음으로 관찰되었다.

2. 태아의 흉선에서는 극소수의 비만세포만이 TB에 염색되었고 변색성도 미약하였으나 흰쥐 태자의 흉선에서는 태령 19일 이후에는 많은 비만세포가 TB에 변색성으로 염색되어 나타났으므로 사람의 비만세포의 성숙은 흰쥐에 비해 늦다고 볼 수 있다.

3. 태아의 흉선에서 단위면적 당 비만세포의 수는 태령의 증가에 따라 점차 증가하여 태령 8개월에 가장 많았으며 이후 10개월까지는 거의 변화가 없었다.

4. 태아의 흉선에서 비만세포의 형태는 타원형, 원형, 방추형의 순으로 많았으며 태령의 증가에 따라 원형보다 타원형의 비만세포가 많은 경향을 보였다.

5. 태아의 흉선에서 비만세포의 분포는 소엽간 격막(interlobular septum)에 비해 실질조직(parenchyme)에 많았으며 태령의 증가에 따라 실질조직에서는 감소하고 소엽간 격막에서는 증가하였고, 흰쥐의 흉선에서는 PAS나 alcian blue에 염색되는 미성숙형의 비만세포는 실질조직에 주로 나타났으며 TB나 MGP에 염색되는 성숙형의 비만세포는 소엽간 격막에 주로 나타났다.

6. 이상의 결과를 종합하면 태아와 흰쥐 태자 사이에는 비만세포의 성숙시기 및 염색성에 많은 차이가 있었으며 태아 및 흰쥐에서의 태령의 증가에 따른 비만세포의 분포의 변화는 비만세포가 임파구에서 기원하였을 가능성을 암시하고 있다고 생각된다.

—ABSTRACT—

Studies on the Development of Mast Cells in the Thymuses of the Human Fetuses and Rats

Chung Ik Cha, M.D.

Department of Anatomy, College of Medicine, Seoul National University

Human fetal thymuses and thymuses of the fetal and neonatal rats were resected to study the changes of the mast cells with maturation by the observation of the stainability, number, shape and distribution of the human mast cells and comparing it with those of

the rat.

The resected thymuses stained with Periodic Acid-Schiff (PAS), Alcian Blue-Safranin (ABS), Toluidine Blue (TB) and Methyl Green-Pyronin (MGP) were observed under the light microscope and the following results were obtained.

1. Mast cells were observed first on the 4th month of gestation in the human fetuses and on the 16th day of gestation in the rat fetuses.

2. A few mast cells were stained with TB with weak metachromasia after 5th month of gestation in the human fetuses but numerous mast cells were stained with TB with strong metachromasia after 19th day of gestation in the rat fetuses, so it seems that the maturation time of human mast cells is retarded than that of the rat mast cells.

3. The number of mast cells per unit area increased with increasing age and peaked on the 8th month, but there was almost no change after that time until 10th month in the human fetuses.

4. The mast cells were oval, round or spindle shaped in the order of frequency and oval shaped mast cells were observed more frequently than the round shaped cells with increasing age in the human fetuses.

5. The mast cells were more numerous in the parenchyme than in the interlobular septum and the number of mast cells decreased in the parenchyme and increased in the interlobular septum with increasing age in the human fetuses, and immature mast cells stained with PAS or AB were observed mainly in the parenchyme and mature mast cells stained with TB or MGP were observed mainly in the interlobular-septum in the rat.

6. From the above results it is thought that there was much differences in the maturation time and stainability of mast cells, and the distribution of mast cells suggests that mast cells may be originated from the lymphocytes.

REFERENCE

- Benditt, E.P. & Lagunoff, D.: *The mast cell: its structure and function. Progr. Allergy* 8:195, 1964
- Burnet, F.M.: *Mast cells in the thymus of NZB mouse. J. Path. Bact.* 89:271, 1965.
- Burton, A.L.: *Histochemical studies on developing mast cells. Anat. Rec.* 150:265, 1964.
- Butler, W.F.: *Variations in the staining of cutaneous mast cells. Histochem. J.* 3:365, 1971.
- Cantino, D. & Comoglio, P.M.: *Données ultrastructurales sur la maturation des mastocytes in vitro. Compte rendu de l'Association des anatomistes* 53:645, 1967.
- Compton, A.S.: *A cytochemical and cytological study of the connective tissue mast cell. Amer. J. Anat.* 91:301, 1952.
- Coupland, R.E. & Heath, I.L.: *Chromaffin cells, mast cells and melanin. I. The granular cells of the skin. J. Endocrin.* 22:59, 1961.
- Csaba, G. & Barath, P.: *Conversion of lymphoid cells into mast cells by phytohemagglutinin. Acta Biol. Acad. Sci. Hung.* 21 (4):421, 1970.
- Csaba, G. Forgacs: *The ontogenesis of mast cells. Acta biol. Acad. Sci. Hung.* 22(4):423, 1971.
- Csaba, G. & Hodinka, L.: *The thymus as the source of mast cells in the blood. Acta biol. Acad. Sci. Hung.* 21 (3):333, 1970.
- Csaba, G. & Olah, I.: *Mechanism of the formation of mast cell granules. I. Ultra-structural and histochemical study in amodel consisting of living cells. Acta biol. Acad. Sci. Hung.* 19:347, 1968.
- Drennan, J.M.: *The mast cells in urticaria pigmentosa. J. Path. Bact.* 63:513, 1951.
- Feagler, J.R. & McManus, J.F.A.: *Extraction resistance of sudan stained mast cells after previous acid treatment. J. Histochem. Cytochem.* 12:530-532, 1964.
- Ginsburg, H.: *The in vitro differentiation and culture of normal mast cells from the mouse thymus. Ann. New York Acad. Sci.* 103:20, 1963.
- Ginsburg, H. & Lagunoff, D.: *The in vitro differentiation of mast cells. J. Cell. Biol.* 35:685, 1967.
- Ginsburg, H. & Sachs, L.: *Formation of pure suspensions of mast cells in tissue culture by differentiation of lymphoid cells from the mouse thymus. J. Nat. Canc. Inst.* 31:1, 1962.
- Haar, J.L.: *Light and electron microscopy of the human fetal thymus. Anat. Rec.* 179:463, 1974.
- Harland, M.: *Early histogenesis of the thymus in the*

- white rat. Anat. Rec.* 77:247, 1940.
- Holmgren, H.J.: *Beitrag Zur Frage der Genese der Zhrlichsen Mastzellen. Acta anatomica* 2:40, 1946.
- Ibrahim, M.Z. M. & Koshayan, P.S.: *Methods of preservation and staining of rat thymus mast cells and their interpretation. Acta Anat.* 89:431, 1974.
- Inhizaka, T. et al: *Development of rat mast cells in vitro. I. Differentiation of mast cells from thymus-cells. J. Immunol.* 116:747, 1976.
- Jorpes, J.E. et al: *The fuchsin-sulfurous acid test after periodate oxidation of heparin and allied polysaccharides. J. Biol. Chem.* 176:277, 1948.
- Kiernan, J.A.: *The development of mast cells in vitro. J. Anat.* 118:517, 1974.
- Michels, N.A.: *The mast cells, In handbook of Hematology* (Downey, H., ed). New York, Hoeber, vol. 1:380, 1938.
- Rondanelli, E.G.: *Biochemistry of specific granules in mastleukoblasts, mastleukocytes and mast cells in normal and pathological conditions. A cytochemical evaluation. Rev. Belge. Path. Med. exp.* 24:329-333, 1955.
- Selye, H.: *The mast cells*: p.42 (Butterworths, London 1965)
- Serafini-Fracassini, A. et al: *The morphology of the heparin-protein macromolecule and its organization in the mast cell granule. J. Ultrastruct. Res.* 28:131, 1969.
- Spicer, S.S.: *Siderosis associated with increased lipofuchsin and mast cells in aging mice. Am. J. Path.* 37:457, 1960.
- Uvnäs' B. et al: *Storage of histamine in mast cells. Acta physiol. Scand.* 78 Suppl.: 336, 1970.