

蒸溜水 및 生理食鹽水에 露出된 흰쥐 表皮細胞의 微細形態學的 研究*

啓明大學校 醫科大學 皮膚科學 教室

朴璋煥 · 朴義守 · 宋浚榮

慶北大學校 醫科大學 病理學 教室

方 希 娟 · 郭 精 植

==Abstract==

Ultrastructural Study of Epidermal Cells Exposed to Distilled Water and Saline in Rat

Jang Whan Park, Eui Soo Park, Joon Young Song

*Department of Dermatology, Keimyung University
School of Medicine, Taegu, Korea*

Hee Yeun Bang, Jyung Sik Kwak

*Department of Pathology, Kyungpook National University
School of Medicine, Taegu, Korea*

The author studied ultrastructural changes of the skin induced by exposure to the water. Rats were exposed on the distilled water and physiologic saline of their legs for 8, 16, 24, 36 and 48 hours respectively. Exposed skins were examined by light and electron microscopes.

The results obtained were summarized as follow:

Light microscopically, exposed skin showed edema and mild inflammatory infiltration on the dermis and subcorneal abscess formation from 8 hours, which were more prominent after 16 hours and increasing in intensity till 24 hours, but remained in same degree after that time.

서 론

물은 가장 폭넓은 용매이며 모든 유기체의 구성 성분 중 가장 많은 부분을 차지하고 있다. 그리고 세포내에서 영양분의 수송, 대사반응 및 화학적 에너지의 수송을 가능하게 하는 매체로서 생명유지에 필수적인 요소이다. 따라서 사람도 다른 생명체와

마찬가지로 생명을 유지하기 위해 매일 일정량의 수분을 항상 섭취해야 하며, 일상생활을 영위하면서 사람의 피부는 끊임없이 물과 접촉하고 있다. 그러나 이러한 물도 과량 섭취되었을 때, 전해질과 수분의 대사장애가 일어나 체내평형이 깨어지고 생명의 위협을 받는다는 것은 주지의 사실이나 체포역시 물에 장기간 노출되면 피부의 부종과 염증이 일어나는등 유해한 효과를 초래할 수가 있다. 실제

* 본 논문은 1984년도 계명대학교 동산의료원 임상연구 보조비로 이루어졌음.

로 주부, 요리사, 농부등 물과 접촉이 잦은 사람들에서 피부의 염증이 잘 일어난다는 다수의 연구가 보고되고 있다.¹⁻⁵⁾ 이들에 의해 밝혀진 바로는 물이 직접 생체피부에 유해한 작용을 하는것은 아니나 표피의 각질층을 변화시켜 세균이나 진균등의 성장을 촉진하고 발한을 억제하거나 화학물질에 대한 피부로의 투과성을 증가시키므로 housewife's eczema, warm water immersion syndrome, paddy foot, 혹은 비특이성 피부염등이 초래된다고 한다. 최근 귀를 이용한 광학현미경적 연구에서 물에 장기간 노출된 피부에는 표피의 수포성변과 진피의 부종, 염증등의 변화가 일어나고 물에 대한 방어적 역할이 파괴되므로 최초의 손상은 각질층에 일어난다고 보고 한 바 있다.⁶⁾ 그러나 이들의 연구는 시간 이상의 장기간동안 물에 노출된 경우로서 실제로 일상생활속에 그다지 경험할 수가 없다. 그래서 저자는 피부가 물에 노출된 초기의 변화를 전자현미경적으로 관찰하여 물이 표피세포에 미치는 영향과 그 기전의 일단을 규명코자 흰쥐를 증류수 및 생리식염수에 노출시켜 경시적으로 검색하였으며 그 결과를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

재료: 체중 250gm 정도의 Sprague-Dawley 계 수컷을 일정한 사육한 후 건강이 양호하다고 인정되는 것을 골라 실험에 사용하였다.

방법: 실험동물들을 철사로 된 귀틀에 넣어서 오른쪽 뒷다리를 귀틀의 아래쪽 바깥으로 빼내어 다리를 펴서 철사로 고정하였다. 항온수조에 38°C의 무균처리된 증류수와 생리식염수를 각각 넣어 귀의 다리만 대퇴부까지 침수되도록 귀틀을 항온수조에 넣어 고정시켰다. 실험동물들은 증류수와 생리식염수에 침수된 후 8, 16, 24, 36 및 48시간 째에 각각 2마리씩 침수된 대퇴부의 피부를 채취 관찰하였으며 무처치 비교군으로는 침수되지 않은 왼쪽 대퇴부의 피부를 관찰하였다. 광학현미경적 검색을 위해서는 ether 마취하여 채취된 조직은 10%중성 formalin에 고정한후 paraffin 포매하고 hematoxylin-eosin 염색을 하여 관찰하였다.

전자현미경적 검색을 위해서는 채취된 조직은 즉시 2.5% glutaraldehyde 용액(0.1M, cacodylate buffer, pH 7.4, 4°C)에서 1mm³ 크기로 세절하여 2시간 동안 전고정한후 cacodylate 완충용액으로 수세하고 1% OsO₄ 용액(0.1M, cacodylate buffer,

pH 7.4, 실온)에 2시간 동안 후고정을 하였다. 고정된 조직은 cacodylate 완충용액으로 수세하고 계열 ethanol 용액으로 탈수시킨후 propylene oxide 로 침투시켜 Luft 방법⁷⁾에 의한 epon 혼합물로 포매하였다. 포매된 조직은 Ultramicrotome MT-2B에 du pont diamond knife를 사용 두께 60nm로 초박절한뒤 Reynolds 방법⁸⁾에 의해 Uranyl acetate와 lead citrate로 염색한뒤 Jeol JEM 100-CX 전자현미경으로 관찰하였다.

성 적

광학현미경적 소견: 무처치 비교군에서는 각질층의 두께가 얇았으며 표층은 한두겹의 층상모양이고, 파립층쪽의 각질은 균질한 호산성을 나타내었다. 표피는 3~6층의 세포로 되어 있었고 파립층의 세포는 분명한 keratin 파립을 세포내에 풍부하게 함유하고 있었다. 유극층은 2~3층의 편평상피로 되어 있으며 세포 사이에는 세포간교(intercellular bridge)가 뚜렷하였다. 핵은 타원형으로 밝게 보였다. 기저층의 세포는 세포질이 약간 푸르게 보이며 핵의 모양이 다각형 혹은 원형을 나타내었고 유극층의 것보다 진하게 염색되었다. 기저막은 hematoxylin-eosin 염색에서 구별이 잘 되지 않았다. 진피의 유두부는 세포수가 적었고 가는 섬유질의 모양을 나타내었으며 교원섬유로 되었으며 혈관주위에 간혹 염증세포가 출현해 있었다. 실험군으로서 증류수에 8시간 동안 노출된 피부의 소견은 표피세포의 국소적인 탈락과 각질층하부에 호중구의 침윤이 있었으나 그외의 각질층, 유극층, 기저층에서의 이상 소견은 없었다. 진피의 유두부는 거의 일정하게 경한 부종이 일어났으며 호중구가 간혹 흩어져 있었다. 진피의 깊은 곳에서는 부종이 좀 더 심하였고 혈관주위에 다수의 호중구, 호산구 및 임파구가 침윤되어 있었으며 혈관은 충혈이 일어나 있었다. 이러한 변화들은 증류수에 16시간 노출된 피부에서 더욱 현저하였으며 이때에는 표피의 기저세포의 부종, 세포간격의 확장이 일어나 있었고 간혹 각질층하부에 수포 및 농포가 형성된 곳도 있었다. 24시간째에 이르러 상기한 진피 및 표피의 변화들은 더욱 저명하였으며 그 이후 36~48시간째의 소견은 24시간째와 비슷하였다. 그리고 생리식염수에 노출시킨 피부에서는 변화들의 종류와 출현의 시기가 상기한 증류수군의 것과 유사하였으며 유의한 차이는 없었다 (Fig. 1 및 2)

전자현미경적 소견 : 비교군에서의 각질층은 3~4겹의 층상으로는 주름진 띠 모양을 나타내었으며 이들세포에서는 핵과 세포소기관은 없었으며 전자밀도가 중등도인 미세한 과립들로 되어 균일하게 보였으며 인접한 세포사이에 간혹 desmosome 이 분포해 있었다. 과립층은 1~2겹의 과립세포로 형성되어 있었고 세포질내에서는 전자밀도가 높은 무정형의 크고 작은 keratohyalin 과립이 저명하게 잘 나타나 있었다. 이들 주위에는 미세한 tonofilament 의 다발들이 분포해 있었으나 세포기관은 거의 볼수 없었다. 핵은 비교적 편평한 모양으로 표피의 장축에 평행하게 위치해 있었으며 heterochromatin 의 양이 비교적 적어 밝게 보였다. 유극층의 세포는 2~3층으로 세포질내에는 장원섬유의 다발이 가장 풍부하였으며 이들의 범열은 매우 불규칙하였다. 이들사이에는 당원 과립이 골고루 분포되어 있었고 간혹 mitochondria 와 RER 들이 있으나 발달은 매우 빈약하였다. 핵은 윤곽이 불규칙하였으며 heterochromatin 이 많아 어둡게 보였다. 이들 세포의 경계는 매우 불규칙하였으며 desmosome 과 interdigitation 이 잘 발달되어 있었다. 기저층의 세포는 표피의 세포들 가운데 장원섬유가 가장 적었으며 세포질 전반에 걸쳐 당원과립이 고르게 분포되어 있었으며 mitochondria 와 RER 이 상기한 층의 세포에 비하여 좀더 발달되어 있었다. 핵은 heterochromatin 이 많아 전자밀도가 높았으며 핵소체는 잘 보이지 않았다. 기저세포에 면하여 있는 기저막은 투명판(lamina lucida)과 기저판(basal lamina)이 뚜렷하였고 두께가 일정하여 그 윤곽은 명확하였다. 기저막에 접해 있는 기저세포의 형질막에는 많은 hemidesmosome 이 일정한 간격으로 분포되어 있었다. (Fig. 3) 이러한 소견은 다른 연구자의 보고와 일치하였다. 실험군으로 증류수에 8시간 동안 노출시킨 표피세포의 미세구조의 변화는 각질층의 keratin 은 비교군의 소견과 유사하였으며 세포사이의 desmosome 도 잘 보존되어 있었다. 과립층의 세포는 keratohyalin 과립, 장원섬유, 핵 등 비교군과의 차이는 없었고 인접세포와의 desmosome 도 잘 보존되어 있었다. 이시기의 특징적인 변화로서 유극층 이하의 세포들에서 나타나 있었는데 세포사이의 간격이 넓어져 각 편평상피 세포들은 많은 물기를 형성해 있었으며 이렇듯에서는 desmosome 도 소실되고 없었다. 이러한 세포간격의 확장파 desmosome 의 소실은 기저세포에서도 일어나 있었는데 기저막의 윤곽과 불규칙하였다. 장원섬유의 양, 세포소기

관의 분포등의 변화는 현저하지 않았으나 간혹 공포의 출현 mitochondria 의 종창등이 일어난 곳이 있었다(Fig. 4). 이러한 변화의 정도는 증류수에 노출된 시간의 많음에 따라 좀더 저명해졌으나 48시간째까지에서의 변화는 그다지 차이가 없었다. 기저세포, 유극세포등에서는 세포사이의 간격이 넓어지고 desmosome 은 소실되었으며 이 속에 간혹 삼출액으로 인정되는 무정형의 과립상 물질들이 축적되어 있기도 하였으나 과립층의 세포에서는 인접세포와의 간격에 이상이 없었고 desmosome 도 잘 보존되어 있었다. 또한 세포질내의 keratohyalin 과립의 분포도 대조군에서의 경우와 유사하였고 증류수에 노출된 시간이 48시간째인 경우에서도 과립층은 잘 보존되어 있었다(Fig. 5 및 6). 그리고 이때의 각질층에서도 층상의 각세포 사이 간격이 약간 넓어졌으나 각질의 구조에는 변화가 일어나지 않았다(Fig. 7). 이러한 소견들은 증류수 노출군과 생리식염수 노출군에서 서로 유의한 차이는 없었다.

고 찰

물이 피부에 미치는 영향은 피부의 살아있는 세포의 상태를 초래하는 것이 아니라 죽어있는 조직 즉 각질층에 장애를 초래하여 그 결과 피부표면의 방어적 기능이 상실되고 수분이 투과하여 결국은 각질층의 탈락이 초래된다고 한다.^{4,6,10} 그리고 피부의 방어막인 각질층이 탈락되면 미생물을 위시한 주위환경 인자들의 침투가 용이해지고 땀의 분비가 억제되어 여러종류의 피부질환이 발생된다고 한다. 따라서 물에 장기간 노출된 피부의 변화들은 물의 직접적인 작용이라기 보다 각질층의 장애에 의한 2차적인 결과로 보고있다.¹⁰⁻¹² 그러나 Swan 및 Jolly¹¹는 흰쥐를 사용한 그들의 실험에서 물에 가장 저항력이 있는 세포로서는 각질층과 기저층의 세포로 추정하였다. 그런데 각질층의 주성분인 각질은 물에 불용성이며 견고한 조직으로 물에 대한 저항력은 있으나 장기간 물에 노출되었을 때 어떻게 탈락이 이루어지는지 그리고 기저층의 세포가 물에 대한 저항이 있다면 진피 및 피하조직의 부종과 기저층하의 수포 형성은 어떻게 형성 되는지, 그리고 Swan 과 Jolly¹¹는 1일 단위로 관찰하였기 때문에 실제로 일상생활에 이 정도의 장기간 물에 노출될 수 있는 경우는 거의 없다. 그래서 이보다 짧은 시간동안 노출된 피부는 어떤 변화가 초래되는지도 궁금하다. 그래서 본 실험은 비교적 단기간 물에 노

출된 경우에서의 표피세포미세구조의 변화를 경시적으로 관찰하였으며 그 특징적 소견은 다음과 같다. 광학현미경적으로는 증류수에 8시간 노출된 피부에서 이미 진피의 부종이 일어나 있었으며 국소적으로 각질층하에 농포가 형성되었다. 그리고 16시간째에는 기저세포 및 유극세포의 부종, 세포간격의 확장이 있었으며 이러한 변화는 48시간째까지 비슷하였다. 전자현미경적으로는 전 실험군에서 세포간격의 확장, 기저막과 기저세포 사이의 확장, desmosome의 감소, 세포질내의 mitochondria 증창등이 기저세포와 유극세포에 일어났으며 각 질층과 파립층의 변화는 없었다. 그리고 증류수 및 생리식염수 사용에 대한 현저한 차이도 없었다. 이상의 성적을 보면 물에 가장 저항력이 있는 세포는 각질층과 파립세포로 생각된다.

각질은 물에 불용성이며 편평세포에 비해 견고하기 때문에 물을 통과시키지 못하며 따라서 각 질층이 물에 대해 저항력이 강하다는 것은 다른 연구자들의 의견과 일치된다. 그런데 본 실험의 결과 물에 48시간까지 노출되어 유극층의 세포는 세포사이 간격이 확장되고 그 사이에 삼출액이 들어 있는 데도 파립세포 사이는 비교적과 같이 세포는 서로 밀착되어 있었고 desmosome도 잘 보존되어 있었다. 이러한 소견은 물이 각질층이나 파립층을 통해서 들어오는 것이 아니라 표피의 기저막쪽에서 들러움을 입증해 준다. 그리고 물에 8시간 노출된 경우 이미 기저세포와 유극세포는 세포간격이 확장되어 desmosome의 수도 감소되었는데 48시간동안 노출시킨 경우에도 파립세포의 이상이 없었다는 것은 파립세포 사이의 접합장치에, 유극세포나 기저세포와 차이가 있지 않을까 생각된다. 실제로 본 실험에서 유극세포와 파립세포 사이에는 세포간격의 확장이 일어나 있었으나(Fig. 4) 파립세포들 사이는 전혀 변화가 없었다. 이는 세포간 접합장치의 차이에 기인하지 않을까 생각된다. 즉 desmosome은 세포사이로 물이나 수용성 물질의 통과가 가능하나, tight junction은 인접된 세포막이 바로 접해 있어 물질의 통과를 저지하는 방어작용을 해준다. 실제로 사람의 피부에서는 극세포에 이러한 tight junction이 있다.³⁾ 본 실험에서 tight junction은 확인되지 않았으나 세포사이에 물이 침투되어 가는 것을 막을 수 있는 구조적인 장벽이라면 tight junction 밖에 생각할 수가 없다. 그러므로 이점에 대해서는 앞으로 규명되어야 할 과제로 생각된다. 그리고 본 실험에서 물에 8시간 노출된 경우에 이미 각

질층 하부에 농포가 형성되어 있었다. 이는 각질이 물에 저항력이 많지만 조직이 딱딱하기 때문에 편평상피세포에 비해 기계적인 작용에 잘 부서지기 쉽다. 그래서 8시간째에도 농포가 생긴다는 것은 이미 손상받은 각질을 통해 물이 침투해 들어가서 2차적으로 백혈구의 침윤이 일어난 것으로 보인다. 만약 정상적인 각질층을 통해 물이 침투해서 일으킨 변화라면 국소적으로 일어날 수 없으며 정도의 차이는 있으나 광범위하게 일어나야 할 것이다. 이와 대조적으로 16시간째부터 일어난 표피세포의 부종 및 세포 간격의 확장은 광범위하게 일어나 있어 서로가 비교되는 소견이다. 물이 표피의 부착선을 통해 침투하는 과정에서 삼투압이 미치는 영향을 알아보기 위해 생리식염수와 증류수를 사용하여 이를 비교하였으나 유의한 차이가 없었다. 따라서 삼투압 자체가 표피세포의 형태적 변화에 크게 영향준다고 볼 수가 없다. 그러나 본 실험은 증류수와 생리식염수의 피부침투율을 조사한 것이 아니기 때문에 이들이 단위시간에 얼마나 피부로 들어갈 수 있으며 또한 얼마나 흡수되는지는 다른 방법으로 규명해야 할 것이다.

요 약

저자는 물에 노출된 피부의 표피세포에 일어나는 변화를 경시적으로 광학 및 전자현미경적 방법에 의해 검색하여 물이 표피세포에 미치는 영향과 그 기전의 일단을 규명하고자 흰쥐를 증류수 및 생리식염수에 노출시켜 8, 16, 24, 36 및 48시간째에 관찰하였으며 그 결과를 요약하면 다음과 같다.

광학현미경적으로는 물에 노출된 8시간째에 진피의 부종과 경한 염증세포의 침윤이 일어났으며 표피에는 국소적으로 각질층하의 농포가 출현하였다. 16시간째에는 표피의 기저층에 광범위한 부종이 일어났으며 각질층하의 농포 및 수포가 조금 증가되었다. 이러한 소견은 24시간까지는 증가되었으나 그 이후에는 현저한 변화가 없었다.

전자현미경적으로는 각질층에서 부분적인 탈락이 있었으나 각질의 미세구조의 변화는 일어나지 않았다. 파립층의 세포들도 세포내 keratohyalin파립이나 세포사이의 접합장치의 양적, 구조적 변화는 없었다. 극층 및 기저층의 세포들은 물에 노출된 8시간째부터 세포사이 간격의 확장, desmosome의 손실, 세포막의 pilopodia의 출현, 세포내 mitochondria의 증창 및 공포출현과 세포의 괴사등이 일어

났으며 기저막은 심하게 주름져 있고 이와 접촉된 기저세포의 hemidesmosome의 소실도 현저하였다. 그리고 물에 노출된 시간에 따른 변화의 차이는 그다지 현저하지 않았으며 증류수 및 생리식염수를 사용한 실험군에서 그 소견의 차이는 별로 없었다.

이상의 소견으로 보아 물에 장기간 노출된 피부의 표피에서는 기저세포가 일차적인 상태장소로 생각되며 각질층과 과립층의 세포들이 물의 침투에 대한 방어작용이 가장 클 것이라 생각된다.

따라서 물에 의한 피부의 손상은 피부부속선을 따라 물이 침투되어 표피의 기저막을 통해 표피 세포 사이로 물이 들어 갈 것으로 생각된다. 그리고 삼투압의 차이는 표피의 형태적 변화에 큰 영향을 미치지 못 할 것으로 생각된다.

참 고 문 헌

1. Suskind, R.R., Meister, M. M., and Scheen, S. R.: Cutaneous effects of household synthetic detergents and soaps. Arch. Dermatol., 88 : 117-124, 1963.
2. Blank, I. H., and Dawes, R.K.: The water content of the stratum corneum. IV. The importance of water in promoting bacterial multiplication on cornified epithelium, J. Invest. Dermatol., 31 : 414-420, 1958.
3. Editorial: Warm-water immersion foot, syndrome. J. A. M. A., 200 : 716-723, 1967.
4. Taplin, D., Zaias, N., and Blank, H.: The role of temperature in tropical immersion foot syndrome. J.A.M.A., 202 : 546-556, 1968.

5. Willis, I.: The effects of prolonged water exposure on human skin. J. Invest. Dermatol., 60 : 166-170, 1973.
6. Jolly, M., and Swan, A.G.: The effect on rat skin of prolonged exposure to water. Brit. J. Dermatol., 103 : 387-393, 1980.
7. Luft, J.H.: Improvement in epoxyresin embedding method. J. Biophys. Biochem. Cytol., 9 : 409-414, 1961.
8. Reynold, E.S.: The use of lead citrate at high pH as an electron micron microscopy. J. Cell Biol., 17 : 208-214, 1963.
9. Rhodin, J.A.G.: An atlas of ultrastructure. W. B. Saunders Co., Philadelphia, p.132, 1963.
10. Fritch, M.C., and Stoughton, R.B.: Effect of temperature and humidity on penetration of C¹⁴ acetylsalicylic acid in excised human skin. J. Invest. Dermatol., 41 : 307-313, 1963.
11. Arnold, L.: Relationship between certain physicochemical changes in the cornified layer and the endogenous bacterial flora of the skin. J. Invest. Dermatol., 5 : 207-215, 1942.
12. Stillman, M.A., Hindson, T. C., and Maibach, H.I.: The effects of pretreatment of skin on artificially induced miliaria and hypohidrosis. Brit. J. Dermatol., 84 : 110-119, 1971.
13. Breathnach, A.S.: An Atlas of the Ultrastructure of Human Skin. Churchill, Livingstone, London, p.116, 1971.

<박장환 외 논문 사진부도 I>



Fig. 1. Skin, rat, exposed to warm distilled water for 8 hours. The epidermis shows subcutaneous abscess(arrows). The papillary dermis(PD) is markedly edematous. H-E stain, 400X.



Fig. 2. Skin, rat, exposed to warm distilled water for 16 hours. The epidermis shows intra- and intercellular edema of basal cells and prickly cells (arrow heads). Edema of papillary dermis is persistent(*) H-E stain, 400X.

<박장환 외 논문 사진부도 2>

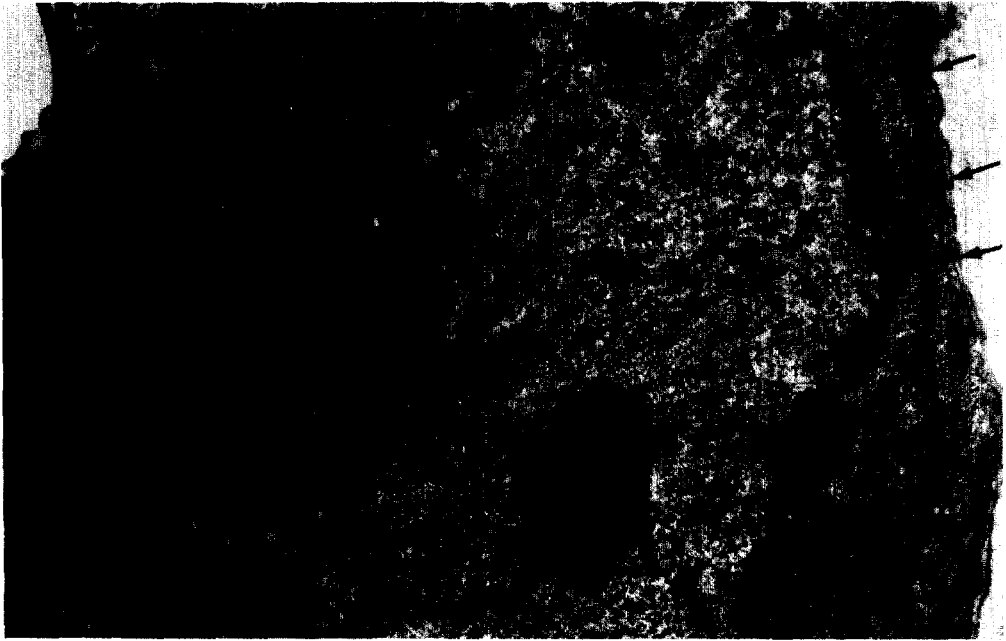


Fig. 3. Skin, rat, control group. The basement membrane shows smooth and regularly arranged hemidesmosomes(arrow). Tonofilaments are well demonstrated in the basal cell(BC) cytoplasm and desmosomes(arrow heads) are distinct between squamous cells. Granular cells(GC) contain electron dense keratohyaline granules. The corneum(C) is thin. 8,000X.

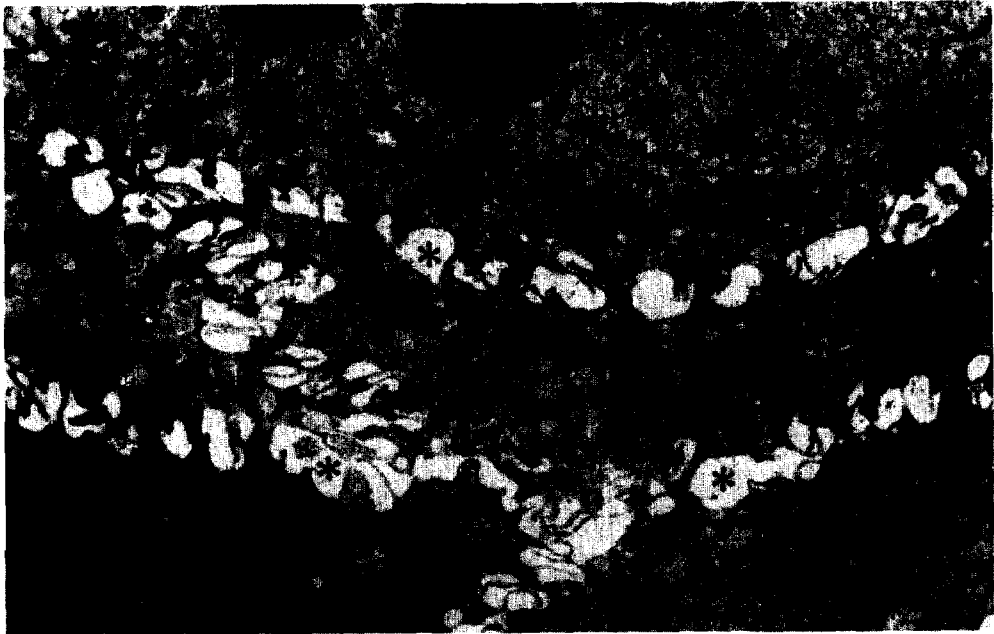


Fig. 4. Granular cells and prickle cells, rat, exposed to warm distilled water for 16 hours. Widening of intercellular spaces and loss of desmosomes(*) are demonstrated between the granular cells(GC) and prickle cells(PC). But desosomes and intercellular spaces between granular cells are intact (arrow heads). 8,000X.

〈박장환 외 논문 사진부도 3〉



Fig. 5. Basal cells to granular cells, rat, exposed to warm saline for 36 hours. Widening of intercellular spaces and loss of desmosomes are persistent(*). The spaces between basal cells and basement membrane are also widened(arrows). But granular cells(GC) are intact 8,000X.



Fig. 6. Prickle cells and granular cells, rat, exposed to warm distilled water for 48 hours. Intercellular edema(*) prominent in prickle cell layer(PC). But granular cells(GC) show intact desmosomes (arrow heads) and intercellular spaces 8,000X.

〈박장환 외 논문 사진부도 4〉



Fig. 7. The corneum, rat, exposed to warm distilled water for 48 hours. The keratin in the stratum corneum conjunctum and disjunctum is intact compared to control group. 8,000X.