

실험적 Endotoxin Shock 에 있어서의 체장외분비 및 내분비세포의 초미형태학적 연구

계명대학교 의과대학 병리학교실

권 건 영 · 정 재 홍

경북대학교 의과대학 병리학교실

손 태 중

서 론

생체에 대해서 미량으로 특이적인 작용을 나타내며, 이로 인하여 상해를 받아, 때로는 죽음의 위험까지도 가져오는 동·식물의 독소는 그 강열한 생리적 작용때문에 선사시대부터 많은 사람들의 관심을 끌어왔다. 이들 가운데서 세균독소의 발견은 세균의 배양과 동정법등이 확립된 후인 근대에 이르러서였다. 즉 외독소는 1885년 Roux 와 Yersin¹⁾에 의한 diphtheria 균이 치사성 물질을 생산한다는 것을 발견한 때로부터 그리고 내독소는 1892년 Pfeiffer²⁾에 의해 외독소 이외의 균체 독소가 cholera 균 및 그람음성균에 있다는 것을 발견한 때로부터 각각 알려져서 지금에 이르고 있다. 그간 생화학적, 분자생물학적 및 면역학적 수기의 진보에 의해 이 방면의 연구는 매우 활발하게 이루어져서 이에 대한 생체의 작용기전 및 그 화학적 본체에 대해 많은 지견이 알려졌다¹⁻¹²⁾. 이들을 요약하면 먼저 생체에 대해서는 한편으로는 발열, 출혈, 괴사, 즉, Shwartzman 현상, 치사등 생체에 대해 불리한 장애 작용을 나타내고 다른 한편으로는 감염방어작용, interferon 유발작용, adjuvant 작용, 항종양작용등 생체에 유리한 작용을 나타내는 등 하나의 물질로서는 너무도 다양하고도 폭넓은 생체반응을 나타내며, 그 작용기전은 첫째로는 생체에 침입한 endotoxin 이 직접 생체내의 액체성분, 예를들면 고밀도 지단백, 보체, plasminogen, Hageman factor 등과 결합하여 작용하든가

또 둘째로는 생체에 들어간 endotoxin 이 표적세포에 들들면 혈소판, 혈관내피세포, 과립구, 망내계세포, 임파구등 주로 중배엽계 세포에 작용하여 각각 이를 자극내지 상해하여 간접적으로 각종 mediators 를 방출케 하여 생체반응을 유발한다는 것이다. 이와같이 endotoxin 의 자극에 의해 직접적이든 간접적이든 자극받은 세포나 물질에서 방출될 것이라 생각되고 있는 mediator 로서는 endogenous pyrogen, interferon, prostaglandin, serotonin, kinin, plasminogen activating factor, colony stimulating factor, leukocytosis inducing factor, tumor necrotizing factor, macrophage activating factor(MAF), migrating inhibitory factor(MIF)등이다. 그리고 endotoxin 에 의해서 공격을 받는 주된 장기는 폐, 소화관, 신장, 심장, 간장, 체장등이다(multiple organ failure theory). 또 화학적으로는 endotoxin 에 대한 분리 정제가 이루어져 그 주된 성분은 균체의 세포벽 성분인 lipopolysaccharide, 특히 lipid A 가 강력한 독성을 지니며, 이에 대한 분자 model 도 등장하고 있다.

이와같이 endotoxin 은 100년에 걸친 오랜 연구의 역사로 분리 정제도 이루어졌고, 생체에 대한 작용기전에 대해서도 상당한 정보가 얻어졌으나 아직도 이에 대한 이해는 결코 충분하다고 할 수는 없다. 예를들면 상기한 endotoxin 에 의한 고등동물에서 볼 수 있는 상반되고도 폭넓은 작용, 즉 발열, 괴사, 출혈 및 치사에 이르는 장애작용과, 감염방어작용, interferon 생산, 항종양작용, adjuvant 작용등의 방어반응이, 하나의 물질로 일어나는 반응으로 생각해도 좋은지^{1,10,13)},

* 접 수 : 1985년 7월 26일

이들의 작용의 기전을 endotoxin 으로 자극받은 세포에서 방출되는 상기한 각종 mediator 라 한다면 그 mediator 의 본태는 무엇인지¹⁴⁾, 생체에 투여한 endotoxin 의 행방은 어딘지, 각 장기의 장애작용은 endotoxin 에 의한 일차적인 작용인지¹⁵⁾, 아니면 이차적인 작용인지¹⁶⁾등 아직도 해명해야 할 많은 문제들이 제기되고 있을 뿐 아니라 최근에는 유전자 조작을 통한 유전적 기법을 활용하여 이 독소에 대한 균일한 분자형태를 작성하고자 하는 움직임이 보이고 있기도 하다^{17,18)}. 그리고 또 endotoxin 속시에 있어서 각 장기의 역할중 체장은 근년에 Lefer 등^{19,20)} 및 Lefer^{21,22)}에 의한 myocardial depressant factor(MDF)의 제창과 Tilney 등²³⁾에 의한 상기한 multiple organ failure(MOF) theory 등의 관점에서 체장 lysosome 효소의 동태가 속의 발생기전에 있어서 중요한 역할을 할 것이라고 생각되고 있으나 아직도 이에 대해서는 잘 밝혀 있지 않다.

그리하여 저자는 상기한 문헌적 지견을^{24~26)} 토대로 하여 원쥐에 endotoxin 을 복강내로 투여하여 속을 유발시켜 그 경시적 변화를 투과 및 주사 전자현미경으로 관찰하고 나아가서는 lysosome 의 표지효소인 acid phosphatase(ACPase)를 지표로 한 전자현미경적 효소세포화학적 방법을 이용하여 endotoxin 투여시의 체장의 상태 발생기전 특히 체장 lysosome 효소와 분비과립의 효소와의 상호관계의 일단을 초미형태학적 측면에서 해석해 보고자 이 연구를 계획하였다.

재료 및 방법

1) 실험동물

체중 200 gm 내외의 Sprague-Dawley 종 수컷 원쥐를 일정기간 사육하고 건강이 양호하다고 인정된 것을 골라 실험에 사용하였다.

2) 실험방법

실험동물은 대조군과 실험군으로 나누었다. 대조군은 생리식염수 0.3 ml 를 복강내에 주입한 군이고 실험군은 endotoxin(E. coli 026 : B₆, Bacto-lypopolysaccharide, Difco, USA)를 생리식염수에 5 mg/ml 로 용해시켜 체중 1 kg 당 7.6 mg 을 복강내에 투여한 군이다. endotoxin 투여후 30분, 1, 2, 4, 6 및 8시간 췌에 각각 5마리씩 체장을 절취하여 다음과 같은 방법으로 관찰하였다.

(1) 광학현미경적 관찰 : 실험후 동물들을 즉시 도살

하여 체장을 적출한 후 이중전자염색과 효소세포화학적 검색자료를 먼저 채취하고 나머지는 광학현미경적 검색자료로 이용하였다. 이들은 10%중성 포르말린에 고정하고 파라핀 포매를 한후 3~4 μ m 의 박절편으로 하여 H & E, PAS, elastic, PAM 및 PTAH 염색을 하여 관찰하였다.

(2) 이중 전자염색에 의한 전자현미경적 관찰 : 상기 방법으로 적출한 체장조직편을 신속하게 1 mm³의 크기로 잘라서 2.5% glutaraldehyde(이하 GA)용액(0.1 M, phosphate buffer pH7.4, 0~4°C)으로 2시간 전고정을 하고 같은 phosphate buffer 로 세척한 후, 1% OsO₄용액(0.1 M phosphate buffer, pH 7.4)에 2시간 후고정을 하였다. 다시 같은 buffer 용액으로 세척을 하여 계열 에칠알콜로 탈수를 하고 propylene oxide 로 치환한 후 Luft 방법²⁷⁾에 의한 epon mixture 로 포매하여 35°C 에 12시간, 60°C 에 12시간, 60°C 에 48시간동안 방치하여 열중합을 시켰다. 초박절은 Sorvall MT 5000형 ultramicrotome 에 Dupont diamond knife 를 부착하여 회백색의 간섭색을 나타내는 초박절편을 만들어 Reynolds 방법²⁸⁾에 의한 uranyl acetate 와 lead citrate 로 이중 전자염색을 하여 Hitachi H-600형 전자현미경으로 가속전압 75 KV 로 관찰하였다.

(3) 전자현미경적 효소세포화학적 관찰 : Lysosome 의 각 형태를 구분하고 또한 lysosome 내의 ACPase 에 대한 활성의 정도를 관찰하기 위하여 lysosome 내 에 함유된 가수분해 효소인 ACPase 를 지표로 하여 전자현미경적 효소조직화학적 검색을 하였다. 즉 상기 방법으로 적출된 체장의 절편을 약 5×3×2 mm 의 크기로 자른 다음 Karnovsky 의 방법²⁹⁾에 준하여 1.25% GA 와 2% paraformaldehyde 의 혼합액(0.1 M cacodylate buffer, pH 7.4, 4°C)에 3시간 고정한 후 2.5% GA(0.1 M cacodylate buffer, pH 7.4)로 고정하면서 microslicer(DTK-1000, Osaka, Japan)로 40 μ m 의 절편을 만들어 0.1 M, cacodylate buffer, pH 7.4로 세척한 후 다시 0.1 M trismaleic acid buffer, pH 5.0으로 세척하여 Barka-Anderson 등의 방법³⁰⁾에 준하여 0.1 M tris-maleic acid buffer, pH5.0과 1.25% sodium- β -glycerophosphate, pH 5.0에 0.2% lead nitrate 를 가하여 만든 반응액에 실온에서 15분간 반응시켰다. 그후 0.1 M tris-maleic acid buffer, pH 5.0으로 충분히 세척하여 0.1 M cacodylate buffer, pH 7.4로 세척한 뒤 2% OsO₄(1 M cacodylate buffer, pH 7.4)용액에 2시간 고정시켜 계열에칠알콜로 탈수를, propylene oxide 로 치환한 후 유리판 위

에서 Epok 812로 포매하여 Sorvall MT 5000형 ultramicrotome으로 회백색의 간섭색을 지니는 초박질편을 만들어 uranyl acetate로 단염색을 하여 역시 H-600형 전자현미경으로 관찰하였다. 또 효소반응의 특이성을 검색하기 위하여 1.25% sodium- β -glycerophosphate 기질을 제거한 반응액과 저해제로서 0.01 M NaF를 첨가한 반응액으로 각각 봉쇄실험과 저해실험을 하였다.

(4) 주사전자현미경적 관찰 : 각 군에서 2마리씩을 임의로 선택하여 양와위로 고정시켜 복부의 정중선을 따라 개복하고 좌심실로 생리식염수를 주입하면서 우심방을 절개하여 혈관내의 혈액을 제거한 후 즉시 2% GA와 2% paraformaldehyde를 혼합한 고정액으로 관류하여 고정시킨 후 체장을 절취, 1×1×4 mm 정도 크기로 잘랐다. 이것을 다시 1% OsO₄(1/15 M phosphate buffer, pH 7.4)로 1시간동안 후고정을 한 후 같은 buffer 용액으로 수세를 한 다음, 25% dimethyl sulfoxide(DMSO)로 40분간, 그리고 50% DMSO로 밤을 새운 후 액체질소로 동결하여 본 교실에서 제작한 할단장치에서 냉각된 면도칼로 조직을 할단하였다. 할단된 조직은 50% DMSO 용액으로 녹여서 1/15 M phosphate buffer 용액으로 세척한 후 1% OsO₄로 다시 고정하고 1/15 M phosphate buffer 용액으로 세척하였다. 0.1% OsO₄ 용액으로 20°C의 조건하에서 3일간 etching 한 후 1% OsO₄와 2% tannic acid를 사용하여 conductive staining를 실시한 후 계열에칠 알콜로 탈수를, isoamyl acetate로 시침투를 시켜 Hitachi, HCP-2형 임계점 건조기(critical point dryer, CPD)로서 액체 이산화탄소를 사용하여 임계점 건조를 하였다. 건조된 시료는 Eiko 회사제 IB-3형 ion-coater에서 순금을 사용하여 증착을 한 후 Hitachi S-520형 주사전자현미경으로 관찰하였다.

성 적

임상적 소견 : Endotoxin을 복강내에 투여한 실험군의 동물들은 대체로 2시간이 경과한 후 무기력해지고 음식물을 거의 섭취하지 않았다. 그후 시간이 경과함에 따라 움직임이 더욱 둔해졌고 호흡이 빨라지며 타액분비가 증가되고 설사를 하는 것도 있었으며 실험기간중 사망한 동물은 약 33%였다.

1) 병리학적 소견

(1) 육안적소견 : 생리 식염수를 투여한 대조군에서

는 별다른 이상소견이 없었다. Endotoxin을 투여한 군에서는 경하거나 심한 충혈이 체장에서 관찰되었다.

(2) 광학현미경적 소견 : 대조군에서는 외분비부와 내분비부에 이상소견이 관찰되지 아니하였다. Endotoxin을 투여한 군에서는 외분비부와 내분비부에 30분에는 아무런 변화가 없었고 1시간후에는 경한 부종과 충혈이 있었고, 2시간째에는 부종과 충혈이 좀더 현저하였고, 이와 더불어 외분비 및 내분비세포의 세포질에 공포와 혈관주위에 부종도 나타났다. 4시간후에는 2시간후의 변화와 더불어 소동맥 중막의 공포화가 나타났다. 6시간후에는 4시간후의 변화와 더불어 외분비 및 내분비세포들의 세포질의 염색성의 저하와 공포가 더욱 뚜렷해졌고, 소동맥 중막의 공포도 더욱 많이 관찰되었다. Elastic 염색에서 혈관의 탄력섬유는 시간의 경과에 따라 세동맥에서 내탄력층이 부분적으로 소실되는 소견을 보여주었으며 PAS와 PAM 염색으로 혈관 내피세포의 기저막을 관찰하였으나 별다른 변화를 보여주지 않았고, PTAH 염색에서는 6시간이 경과한 군에서 혈관의 일부에서 혈전형성을 보여주었다.

(3) 전자현미경적 소견

① 이중전자염색법에 의한 검색소견 :

대조군 : 외분비조직의 선방세포들은 보통 5개내지 8개의 피라밋 모양을 정하면서 선방을 형성해 있었으며 이들세포의 핵은 대체로 둥글고 세포질의 기저부에 위치하며 핵내에는 미세한 과립상의 염색질이 주로 핵막의 내면과 핵소체 주위에 분포되어 있었으며 핵소체는 과립상 및 섬유상의 구조물로 구성되어 핵의 변연부쪽으로 위치해 있었다. 핵막은 여러개의 pore를 가지며 때때로 rough-surfaced endoplasmic reticulum(RER)의 내강과 연결되어 있었다. 세포의 기저부에는 잘 발달된 층상구조의 RER로 뭉뭉히 차여져 있었고 다수가 평행하게 배열하여 편평한 양상을 정하고 있었다. RER 상호간에는 가끔 교동하는 문합부가 관찰되었다. 세포의 기저부에는 RER과 함께 상당수의 mitochondria를 관찰할 수 있었으며 이들은 많은 cristae를 가지면서 기질내에는 전자밀도가 높은 과립들을 포함하고 있었다. Golgi장치는 주로 핵의 상부에 위치하며 층판상, 소포상 그리고 공포상등으로 이루어져 있었으며 분비과립은 대부분이 둥글고 전자밀도가 아주 높은 과립 즉 성숙한 과립들이었는데 주로 선방쪽의 세포질에서 관찰되었으며 분비과립내에는 전자밀도가 높은 미세한 과립을 포함하면서 한층의 막으로 둘러싸여 있었다. Lysosome은 주로 Golgi장치 근처에 분포하고 있으며 대부분이 primary lysosome의 형태를

지니며 간혹 pre-lysosome 이 관찰되었으나 secondary lysosome 또는 post-lysosome 은 거의 관찰되지 않았다. 그리고 침단부에는 선강내로 돌출해 있는 잘 발달된 미용모들이 관찰되었다(Fig. 7).

내분비세포들은 Langerhans 섬을 만들면서 췌장조직의 여기저기에서 산재되어 있었는데 외분비세포들과 비교하였을 때 전반적으로 전자밀도가 낮았으며, 핵은 세포의 중심부에 위치하였고 둥글며 핵내에는 euchromatin 이 많았으며 세포질에는 고전자밀도를 지닌 과립과 함께 mitochondria, RER 그리고 Golgi 장치 등 세포 소기관들이 관찰되었다. 세포질내에 분포한 과립들은 그 크기나 모양이 세포에 따라 다양하며 대체로 세가지의 형태를 보여주었다. 즉 alpha(A)세포는 주로 Langerhans 섬의 변연부에 분포하고 있었고 그 세포질내의 과립들은 모양이 둥글며 과립내에는 비교적 균질한 고전자밀도를 가진 core 를 함유하며 과립의 변연부에는 전자밀도가 낮은 halo 를 가지고 있었다.

Beta(B)세포는 가장 많은 수를 차지하면서 주로 Langerhans 섬의 중심부에 위치하였고 그 세포질내에는 대체로 둥근 과립들이 관찰되었다. 이 과립들은 그 내부에 crystal 양의 전자밀도가 높은 core 를 가지면서 그 변연부는 전자밀도가 아주 낮았다. Delta(D)세포들도 alpha 세포들과 마찬가지로 주로 Langerhans 섬의 변연부에 위치하였으나 그 수는 적었으며 세포질내에는 alpha 및 beta 세포들의 과립과 비교하여 전반적으로 전자밀도가 떨어지나 그 크기는 비교적 크며 대체로 구상을 정하였고 과립들의 크기와 전자밀도는 다양하였다. Langerhans 섬에는 이들 내분비 세포들과 함께 풍부한 모세혈관이 분포하여 신장의 사구체와 유사한 형태를 보여주었다(Fig. 14).

췌장의 외분비세포 및 내분비세포들과 함께 췌장을 구성하는 간질조직에는 잘 발달된 동맥 및 세동맥들이 관찰되었고 선방세포들 사이에도 모세혈관들을 볼 수 있었다. 이들 세동맥과 모세혈관들은 한층의 내피세포들로 둘러싸여져 내강을 이루고 있으며 그 내피세포들의 핵은 둥글고 세포질은 핵이 위치한 부위를 제외하고는 대체로 얇았으며 혈관내면을 덮고 있었다. 이들 혈관벽의 근육층은 그 발달이 미약하였으나 동맥의 벽은 두꺼우면서 한층의 내피세포와 그 하부에 잘 발달된 근육층을 가지고 있고, 낮은 전자밀도를 지닌 내탄력판(internal elastic lamina)의 구조를 볼 수 있었다. 이들 대조군의 소견들은 Bloom³¹⁾등, Leeson³²⁾등 및 Johannessen^{33,34)}이 기술한 정상 췌장의 소견과 거의 동일하였다.

2) 실험 군

(1) 외분비세포 : Endotoxin 투여 30분후 외분비세포의 세포질내 여기저기에서 변성된 RER 이나 mitochondria 등을 함유하면서 그 기질의 농도가 낮은 구조물 즉 prelysosome 이 다수 관찰되었다. Endotoxin 투여 후 1시간에는 30분에서 보다 pre-lysosome 들이 좀 더 많이 관찰되었고 여기에 더하여 막성구조물, 과립성구조물과 분비과립과 같은 것들을 함유하면서 그 기질의 농도가 높은 구조물 즉 secondary lysosome 들이 여기저기에서 관찰되었다(Fig. 8). 이때 mitochondria 에는 경한 종창과 cistae 의 부분적인 소실이 있었으며 RER 에는 부분적인 총상배열의 혼란과 수포성분의 증가가 있었고 Golgi 장치에는 수포성분이 증가되었다. 분비과립들은 그 수가 약간 감소되면서 일부의 과립들은 전자밀도가 낮아져 주위와의 경계가 불규칙해지고 또한 불분명해졌다(Fig. 9). Endotoxin 투여 2시간에는 세포질내 여러곳에서 pre-lysosome 이 출현하였고 secondary lysosome 도 많이 관찰되었는데 이들 내용물에는 전자밀도가 높은 원형의 것, 불규칙한 막성성분, 과립상인 구조물등으로서 모두 변성된 것들이었다(Fig. 10). 이때 mitochondria 는 종창이 좀더 심하였고 cristae 의 감소도 현저하였다. RER 은 1시간에서 보다 수포성 변화가 더 현저하였고 ribosome 의 탈락이 자주 관찰되었으며 RER 의 총상배열이 혼란되거나 파괴되는 소견을 관찰할 수 있었다.

Golgi 장치에는 1시간째와는 별다른 차이가 없었다. 분비과립은 더욱 감소되었으며 많은 과립들의 내용물은 전자밀도가 낮고 그 한계막도 불분명하여졌다. Endotoxin 투여후 4시간에는 2시간의 소견에 비하여 그 정도가 좀 더 심한 편이었다. Endotoxin 투여후 6시간에는 2시간 및 4시간에 출현하였던 secondary lysosome 이 더욱 많아졌고 또한 myeline figure, 구불구불한 막성구조물, 총상의 구조물과 전자밀도가 매우 높은 원형의 구조물등을 함유하는 post-lysosome 들이 많이 관찰되었으며 이들은 주로 세포의 중앙부와 선강쪽에 면한 침단부에 위치하였으며 일부는 세포의 변연부에서도 관찰되었다. 또한 mitochondria 의 종창은 4시간에서 보다 더욱 심하였고 cristae 의 감소도 현저하였다. RER 은 부분적으로 총상구조들을 남겨둔 채 대부분이 수포성 또는 공포성 변화를 보였으며 Golgi 장치에서도 수포상구조 또는 총상 구조들이 적어지고 공포상구조들이 많이 증가되었다(Fig. 11). 그리고 분비과립의 수는 현저히 줄어들었다. Endotoxin 투여후

Table 1. Transmission electron microscopic findings of exocrine cells in rat pancreas after endotoxin treatment

Findings	Time observed		
	30'~1 hr	2~4 hrs	6~8 hrs
Lysosome			
Pre-lysosome	+~#	#~#	+
Secondary	+	+	#
Post-lysosome	-	+	#
Mitochondria			
Swelling	+	+	#
Cristae, decreased	+	+	#
RER			
Disorganization	-	+~+	#
Vesiculation	+	+	+
Vacuolization	-	+	++~#
Ribosomal shedding	-	+	+
Golgi apparatus			
Number	-	+~+	+
Vesicle	+	+	+
Lamellae	+	+	+
Vacuole	+	+	#
Secretory granule			
Number, decreased	-~+	++~#	+~+
Excretion	+	+	+
Microvilli			
Number	+	+	+
Flattening	-	+	+

-: Absent +: Mild
 ++: Moderate #: Severe

8시간에는 6시간의 것과 별다른 차이가 없었으나 그 변화의 정도는 더욱 심하였고 이때는 post-lysosome 이 특히 많이 출현하였으며 mitochondria, RER, Golgi 장치등에도 상기한 변성성 변화들이 현저하였다(Fig. 12). 또한 분비과립들은 상당수가 전자밀도가 낮아졌고 그 한계도 불규칙하고 불분명하여졌다(Fig. 13). 선강은 endotoxin 투여 2시간 이후부터는 시간이 경과할수록 확장되면서 microvilli의 수는 감소되어 편평한 모양을 보여주었다. 이상의 외분비세포에서 관찰된 소견들을 도표로서 그리고 도식으로 나타내었을 때 다음과 같았다(Table 1 및 Fig. 1, 2, 5, 6).

(2) 내분비세포: Endotoxin 투여 30분에는 별다른 소견이 없었고 1시간에서 세포질의 경한 부종과 함께

Table 2. Transmission electron microscopic findings of endocrine cells in rat pancreas after endotoxin treatment

Findings	Time observed		
	30'~1 hr	2~4 hrs	6~8 hrs
Edema	-	+	+~++
Lysosome			
Pre-lysosome	+~++	+	+
Second. lysosome	-	+~++	+
Post-lysosome	-	+~++	+
Mitochondria			
Swelling	+	+~++	+
Cristae	+	+	+
Size, decreased	-	+	+
RER			
Vesicle	-	+	+
Vacuole	-	+~++	+
Ribosomal shedding	-	+	+
Golgi apparatus			
Number	-	+	+
Vesicle	+	+	+~++
Lamellae	+	+	+~++
Vacuole	+	+	#

-: Absent +: Mild
 ++: Moderate #: Severe

여러곳에서 외분비세포에서 관찰된 것과 거의 같은 구조를 지닌 primary lysosome 과 pre-lysosome 이 나타났다. Mitochondria 는 경한 종창을 보였으며 RER 은 부분적으로 수포상을 정하였고 Golgi 장치에도 수포성내지 공포성성분이 증가하였다. 이와함께 beta 세포내의 과립들은 그 수가 약간 감소함을 보였으나 다른 종류의 과립들은 별 변화가 없었다. Endotoxin 투여 2시간후에는 prelysosome 과 함께 secondary lysosome 이 출현하기 시작하였으며(Fig. 15), mitochondria 는 종창과 함께 cristae 의 모양이 불규칙하였고 RER 은 수포상의 소견을 정하며 그 막에 붙어있는 ribosome 이 일부 탈락하였다. 4시간이 경과한 후에는 이들의 변화가 현저해 지면서 RER 은 그 층상구조가 단절되었고 수포상 및 공포상의 구조를 보여주었으며, Golgi 장치는 공포상 소견을 보이면서 그 수가 증가하였다. Beta 세포는 과립의 일부가 빈 공간을 보여주는 소견이 관찰되었다(Fig. 16). Endotoxin 투여 6시간이 지나면서 secondary lysosome 의 수는 더욱 증가하였

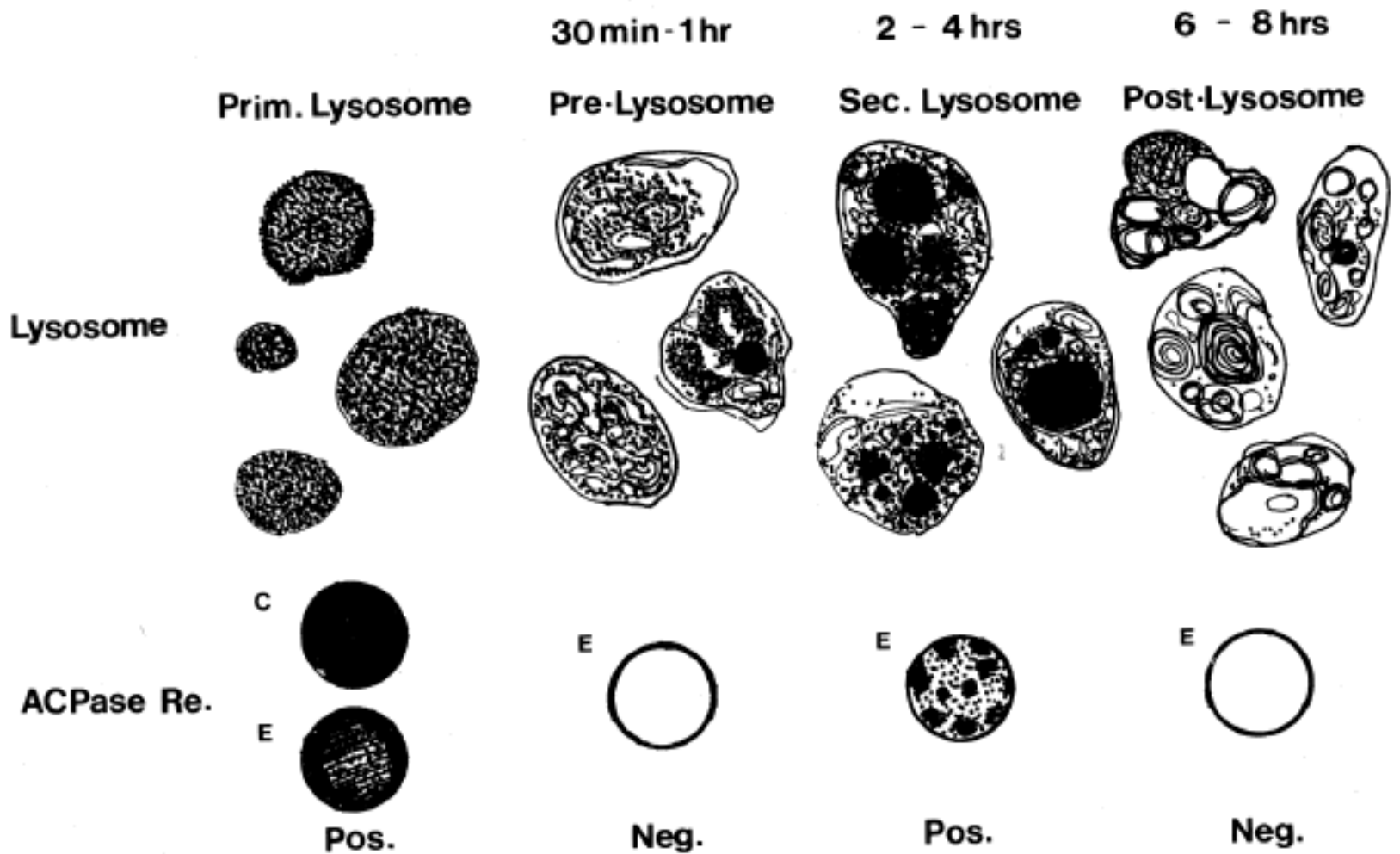


Fig. 1. Schematic presentation of ultrastructural changes of lysosomes and results of acid phosphatase reaction after endotoxin treatment.

C: Control group E: Experimental group Pos.: positive Neg.: negative

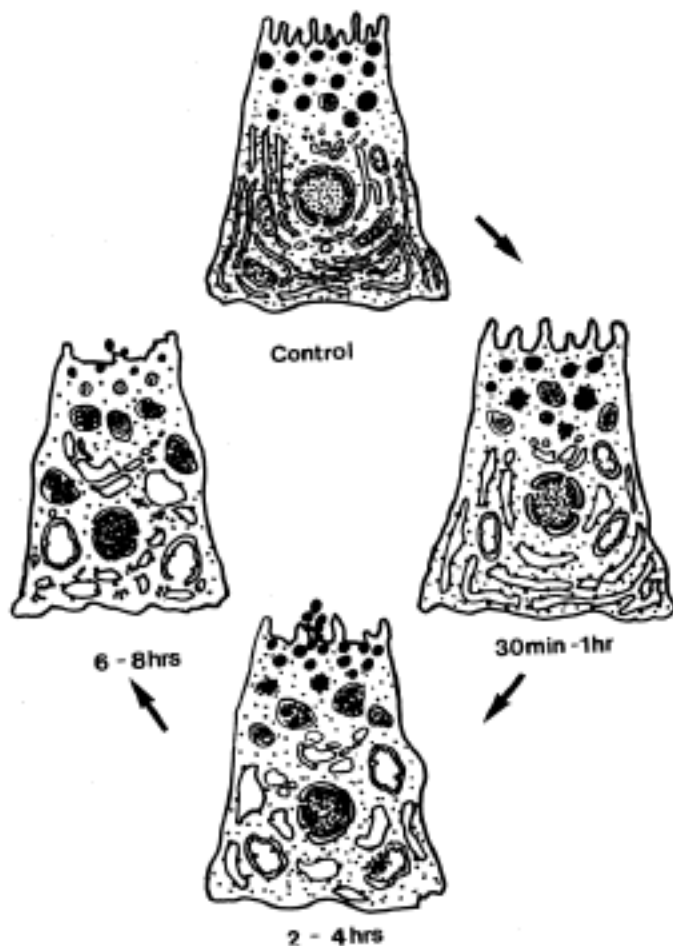


Fig. 2. Schematic presentation of ultrastructural changes of pancreatic acinar cell after endotoxin treatment.

고 post-lysosome도 관찰되었는데 이들내에는 막성구조물과 일부 변성된 미세과립들을 포함하였다. Mitochondria는 종창과 함께 여러곳에서 cristae의 형태가 불규칙하였으나 mitochondria의 크기는 오히려 작아졌으며 그 내부에는 전자밀도가 높은 과립들이 산재하였고, RER은 종상구조의 단절과 수포상 및 공포상의 소견을, Golgi장치는 그 수가 많아지면서 공포상구조를 보였다. Endotoxin투여 8시간이 지나서는 6시간째의 소견과 큰 차이가 없었으나 post-lysosome의 수가 더욱 많아지고 세포질내에 mitochondria의 크기가 작아지면서 농축된 소견을 보였으며 Golgi장치는 대부분 공포상을 정하였다(Fig. 17). 내분비세포에서 관찰된 이러한 소견은 본질적으로 외분비세포에서 관찰된 소견들과 큰 차이가 없었으나 그 변화의 정도는 대체로 경한 편이었다. 이상의 내분비세포에서 관찰된 소견을 도표로 나타내면 다음과 같았다(Table 2).

(3) 세동맥 및 모세혈관의 변화: Endotoxin투여 30분부터 혈관 내피세포에서는 세포질내에 경한 종창, pinocytotic vesicle의 증가가 보였고 mitochondria, RER 그리고 Golgi장치에 경한 종창이 일어났다. 1시간째부터는 30분째보다 더욱 현저하여져서 혈관 내강

Table 3. Transmission electron microscopic findings of vascular structures in rat pancreas after endotoxin treatment

Findings \ Site	Time					
	30' ~ 1 hr		2~4 hrs		6~8 hrs	
	Endo	Exo	Endo	Exo	Endo	Exo
Endothelial cell						
Swelling	+	+	++	++	###	###
Vacuolar change	-	+	+	++	++	##
Detachment	-	-	+	+	+	+~++
Cytoplasm						
Mitochondria						
Swelling	-	-	+	+	++	++~##
RER						
Vesiculation	-	+	+	+~++	++	++
Ribosomal shedding	-	+	+	+	++	++
Golgi apparatus						
Vacuolar change	-	+	+	+~++	++	++
Nucleus						
Margin irregularity	-	-	+	+	+	+
↑ Heterochromatin	-	-	+	+	++	++
Lumen						
Narrowing	-	-	+	+	+~++	++
Fibrin	-	-	+	+	++	++
Leukocyte	-	-	+	+	+	+
Microthrombi	-	-	+	+	+	+~++

-: Absent +: Mild ++: Moderate ###: Severe †: Increased
 Endo: Endocrine portion Exo: Exocrine portion

쪽으로는 종창된 세포질의 일부가 돌출되어 움모 모양 또는 덩어리를 이룬 구조를 볼 수 있었고, 내강에는 부정형의 물질 또는 적혈구등이 분포해 있었다. 기저막의 두께는 대조군의 것과 비교하여 별 변화가 없었으며 기저막에 면한 세포질에 다수의 pinocytotic vesicle이 관찰되었다. Endotoxin 투여 2시간후의 혈관내피세포에는 전반적으로 종창이 더욱 심하며 많은 pinocytotic vesicle이 출현하였고 종창된 세포질은 내강으로 돌출하였다(Fig. 18). 내피세포는 그 두께가 상당히 불규칙해졌고 내피세포들 사이는 간격이 넓어져 있었다(Fig. 19). 세포질 내에서는 mitochondria의 종창과 cristae의 소실 그리고 RER의 수포상 구조와 ribosome의 탈락, 그리고 Golgi 장치의 종창이 심하였고 핵내에는 heterochromatin이 증가되었다. 혈관의 내강은 내피세포의 부종으로 인하여 좁아져 있었으며 fibrin, 적혈구 및 부정형물질 등으로 채워져 있었다(Fig. 18). 이러한 변화들은 4시간후에 더욱 현

저해되었으며 이때는 핵의 변연부가 불규칙하였고 세포질의 종창 및 공포화의 소견이 더욱 심하여졌다. 종창된 세포질은 내강으로 돌출하는 소견을 보여주었고 혈관의 내강은 매우 좁아져 있었다. 또한 세포질 내에는 세포소기관들의 변성이 심하여졌으며 그 수가 줄어들기 시작하였다. Endotoxin 투여 6시간에는 세포소기관들의 감소와 함께 mitochondria는 cristae의 소실과 종창, 그리고 그 막의 일부가 파열되었으며 내피세포는 심하게 종창되었고 많은 소포상 구조물이 출현하였으며 혈관의 내강은 더욱 좁아져 있었다. 또한 간질조직에 현저한 부종의 소견을 볼 수 있었다(Fig. 20). 이러한 소견은 endotoxin 투여후 8시간이 지나면서 더욱 심하여 미세혈관들의 내강에 fibrin, 적혈구, 혈소판 및 변성된 호중구 등으로 엉긴 혈전을 만들어 혈관을 거의 폐쇄하고 있었다. 그리고 이들 변성된 호중구나 다른 염증세포들의 세포질 내에는 수포상 구조물, lamellated bodies, 지방적 그리고 전자밀도가 높

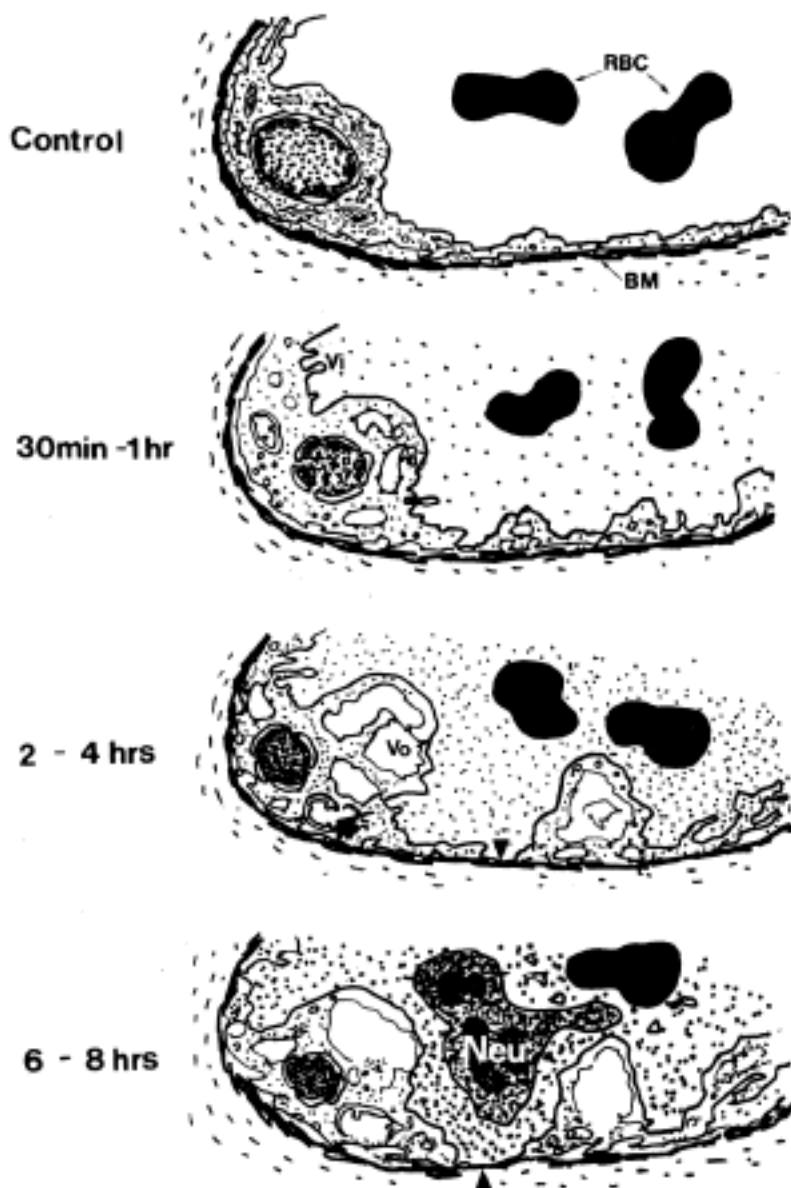


Fig. 3. Schematic presentation of ultrastructural changes on endothelium of capillaries and arterioles.
Arrow: Rupture of mitochondria; Arrow head: Widening of fenestration.

은 다수의 과립들이 있었고 핵은 전반적으로 농축되면서 heterochromatin 을 많이 함유하고 있었다(Fig. 21).

혈관내피세포에서 관찰된 이러한 소견은 외분비 조직이나 내분비조직과 유사하였으며 동맥과 세동맥 그리고 모세혈관 및 세정맥에 이르기까지 그 변화의 성상 및 정도는 비슷하였다. 이상의 혈관의 변화를 도표와 도식으로 나타내면 다음과 같았다(Table 3 및 Fig. 3).

① 전자현미경적 효소세포화학적 소견 : 이미 언급한 바와 같이 각종 lysosome 의 형태를 세포화학적으로 확실히 구분하고 이들 lysosome 내의 ACPase 에 대한 활성의 정도를 관찰하기 위하여 쥐장 외분비 세포내에 출현하였던 lysosome 을 전자현미경적 효소세포화학적 방법을 통하여 관찰하여 보았다. 즉 pre-lysosome 의

구조를 가지는 것은 ACPase 의 활성이 모두 검출되지 않았으나 primary lysosome 은 대조군에서는 lysosome 전체에 균질한 활성을 보여주는데 비하여 endotoxin 투여 후 나타나는 primary lysosome 은 주로 그 중심부에 ACPase 활성이 전반적으로 매우 약하게 나타나거나 혹은 lysosome 의 변연부에서 그 활성이 뚜렷하였다. Secondary lysosome 에서는 ACPase 활성이 lysosome 내에 균질하게 나타나지는 않고 활성을 나타내는 부위와 나타내지 않는 부위등 그 양상이 불규칙하였으며 post-lysosome 에는 ACPase 활성이 거의 나타나지 않았다(Fig. 1, 22, 23).

② 주사전자현미경적 소견

대조군 : 쥐장 외분비세포들은 대체로 둥근형 또는 타원형을 정하면서 선방을 이루고 이들이 여러개가 모여 소엽을 구성하고 있었다. 선방의 각 외분비세포들은 대체로 타원형 또는 피라밋형을 보이며 핵은 세포질의 기저부에 위치해 있었고 주변에 잘 발달된 총관상의 RER 과 mitochondria 가 분포하였으며 침단부에는 크기가 대체로 일정한 분비과립들이 모여 있었다. 그리고 선방세포들 사이, 또는 소엽들 사이에 혈관이 있었는데 그 내피세포들은 일정한 형태의 주름을 이루면서 세포의 장축이 혈류의 방향과 일치하여 배열해 있었다(Fig. 24).

실험군 : Endotoxin 투여 후 1시간이 지나면서 혈관내피세포들은 경한 종창이 일어나며 부분적으로 세포질이 덩어리를 이루면서 내강으로 돌출하는 양상을 볼 수 있었다. Endotoxin 투여 2시간 후 내피세포는 종창이 뚜렷하였고, 굵은 주름을 형성하여 혈관의 내면이 불규칙하게 되었고, 내피세포의 표면에는 다수의 음모양의 구조가 나타났다. 그리고 세동맥과 모세혈관은 내강이 좁아져 있었으며 정맥은 확장되었고 내강에는 적혈구와 백혈구등으로 뭉뭉히 차여져 있었다(Fig. 25). Endotoxin 투여 후 4시간에는 2시간의 변화가 좀더 현저하였으며 내피세포들은 전반적으로 굵은 주름과 덩어리를 이룬채 심한 굴곡으로 혈관내면이 상당히 불규칙하였으며 혈관이 분지하는 부위에서는 이들 내피세포의 종창으로 인하여 그 내강이 좁아져 있는 듯하였다(Fig. 26). 또한 내피세포들 사이의 접합부가 분리되고 내피세포들이 혈관벽으로 부터 부분적으로 탈락하는 소견이 관찰되었다. 이러한 변화들은 시간이 갈수록 점차 심하였으며 소엽간에 위치한 동맥이나 소엽내의 세동맥 그리고 선방세포들 주변에 산재한 모세혈관에서도 비슷한 양상을 보여 주었다. Endotoxin 투여 6시간이 지난후 혈관내피세포의 변화는 더욱 심하

Table 4. Scanning electron microscopic findings of vascular structures in rat pancreas after endotoxin treatment

Findings	Time observed		
	30' ~ 1 hr	2~4 hrs	6~8 hrs
Endothelium			
Swelling & bleb	+	+~++	++~###
Disarrangement	+	++	###
Microvillous change	+	+	++
Gaps in cell junctions	+	+~++	++
Fold & gully	+	++	###
Detachment & Tearing	-	+	+~++
Lumen			
Narrowing	-	+	++
Congestion	+	++	++
Microthrombi	-	+	+

-: Absent +: Mild ++: Moderate ###: Severe

여졌는데 그 내강에는 각종 혈구 성분들이 엉겨 혈전 모양의 구조물을 형성하여 그 내강을 폐쇄하는 것으로 보여지는 소견이 관찰되었다(Fig. 27). 그리고 부분적으로는 혈관벽으로부터 내피세포의 일부가 탈락되고 내피세포들 사이가 찢어지는 것과 같은 소견도 관찰되었다(Fig. 28). 또 혈관의 내강은 내피세포의 종창과 돌출된 덩어리로 인하여 상당히 불규칙하고 좁아져 있었다(Fig. 29). 췌장의 분비 및 내분비세포에 있어서는 1시간째부터 외분비세포의 분비과립의 수가 감소하는 것과 같은 소견(Fig. 30, 31)이 관찰되었을 뿐 그밖의 특기할 소견은 없었다(Table 4).

고 찰

Endotoxin 을 실험동물에 투여하면, 투여량, 동물의 종류, 투여방법등에 따라 그 반응의 정도에는 다소 차이가 있을지 모르나, 일반적으로 폐, 소화관, 신장, 심장, 간장, 췌장을 비롯하여 그밖의 장기나 조직이 상해를 받는다(multiple organ failure theory)고 알려져 있다³⁸⁻⁴⁰⁾. 그러나 이들 각장기나 조직의 상해가 endotoxin 으로 인한 일차적인 작용인지, 아니면 2차적인 작용인지 그리고 각 장기마다 동일한 기전에 의해 상해를 받는지에 대해서는 논란이 많다^{43,44)}.

그리하여 저자는 endotoxin 투여로 인한 췌장외분비 및 내분비세포의 상해기전의 일단을 알아보기 위하여 Sprague-Dawley 종 흰쥐에 E. coli, endotoxin 을 제

중 kg 당 7.6 mg 를 복강내에 주입하고 시간의 경과에 따라 췌장조직을 적출하여 그 형태학적 변화를 광학현미경, 투과전자현미경 및 주사전자현미경으로 관찰하고 나아가서는 lysosome 내의 ACPase 의 활성을 전자현미경적 효소세포화학적 방법으로 검색하였던 바, 광학현미경으로는 외분비부 및 내분비부에 1시간부터 경한 간질의 부종과 충혈이 일어나기 시작하여 2시간에는 이들 변화가 좀더 심하여지고 여기에 더하여 세포질의 공포화 및 혈관주위의 부종이 출현하였고, 4시간에는 6시간에서의 변화와 더불어 소동맥 중막에 공포가 출현하였고, 6시간 및 8시간에는 상기한 모든 변화들이 더욱 현저해졌고 이와 더불어 내·외분비세포의 염색성의 저하가 출현하였다. 투과 전자현미경으로는 외분비세포에 있어서는 endotoxin 투여후 30분에 있어서는 pre-lysosome 의 경한 증가만을, 1시간에서는 pre-lysosome 의 증가와 secondary lysosome 의 출현, mitochondria 의 종창 및 crista 의 감소, RER 의 총상배열의 혼란, 수포성 성분의 출현, Golgi 장치의 공포성분의 증가, 그리고 분비과립에 있어서는 과립의 수적 감소 및 그 내용물의 전자밀도 감소등 주로 변성성 변화들이 관찰되었는데, 이들 소견은 시간이 경과할수록 더 심하여지는 경향이였다. 내분비세포에서의 소견도 외분비 세포의 소견과 질적으로 거의 같았으나 출현시간이 늦어서 1시간내지 2시간후부터 출현하였고 그 정도는 경한 편이였다.

모세혈관에서는 endotoxin 투여후 30분부터 혈관주위의 부종, 내피세포의 종창, pinocytotic vesicle 의 증가, 내강의 확장, 충혈등이 일어나기 시작하여 1시간 이후에는 이들 변화가 더욱 심하여져서 내피세포 핵의 농축, heterochromatin 의 증가, 세포간격의 확장, 세포질의 내강으로의 돌출, pinocytotic vesicle 의 증가등이 현저해졌으며 2시간 이후에서는 이들 현상이 더욱 심하여지고 아울러 내피세포의 파괴와 미소혈전의 형성등이 관찰되었다. 전자현미경적 효소세포화학적 관찰에서는 pre-lysosome 과 post-lysosome 에서는 ACPase 활성이 출현하지 않았으나, primary 에서는 균질하거나 부분적으로 감소된 활성이, 그리고 secondary lysosome 에는 부분적인 활성이 나타났다.

주사전자현미경으로는 외분비 및 내분비 세포에서는 특기할 이상을 관찰할 수 없었고, 혈관 특히 모세혈관, 세동맥 및 정맥에는 내피세포의 종창, 수포형성, 배열의 불규칙, 내강의 협착, 충혈 및 미소혈전 형성등이 endotoxin 투여후 1시간부터 관찰되었으며, 6시간째부터는 내피세포의 단열이 관찰되었다. 이들 형태

학적 변화를 시간적으로 보면, 혈관내피세포의 현저한 상해와 외분비세포내에 경한 pre-lysosome의 증가→간질의 부종→혈관내 혈전형성→외분비세포 및 내분비세포 소기관의 변성성 변화→pre-lysosome의 현저한 증가→secondary lysosome의 증가→post-lysosome의 증가등의 순이었다. 그런데 이들중 endotoxin 투여후 가장 먼저 나타난 변화는 혈관내피세포의 변성성 변화와 외분비세포에 있어서의 경한 pre-lysosome의 증가였는데 이 가운데 내피세포의 변화가 가장 현저하였고, 또 이와 관련된 것으로 생각되는 간질의 부종 및 혈관내 혈전형성등이 연이어 일어났으며 반면에 외분비세포내의 경한 pre-lysosome 증가와 이에 후속된 변화들로 생각되는 secondary lysosome 및 post-lysosome의 증가는 간질의 부종, 혈전형성등 변화가 현저하여지고 외분비세포 및 내분비세포 소기관의 퇴행성 변화가 일어난 후에 뚜렷하여지는 점으로 보아 외분비세포의 pre-lysosome의 증가는 혈관내피세포의 상해보다 늦게 일어나는 변화로 해석하여도 무방하리라 생각된다. 따라서 본 실험에 있어서 내피세포의 상해 및 이와 관련된 변화들이 매우 중요하다고 생각된다.

Endotoxin 투여로 인한 체장 상해기전에 대해서 Janoff 및 Zeligs⁴¹⁾는 endotoxin이 백혈구에 작용하여 lysosomal enzyme을 유리시켜, 내피세포에 상해를 일으키고 이로 인하여 체장에 허혈상태가 초래되어 세포가 상해를 받을 것이라 하였고, McGrath 및 Stewart⁴²⁾는 endotoxin이 내피세포에 직접 작용하여 내피세포상해를 일으키고 이로 인하여 체장실질세포가 상해될 것이라 하였다. 또한 Lillehei⁴³⁾는 endotoxin 투여후에 미소 순환계의 확장이 먼저 일어나고 이로 인하여 혈류가 완만해져서 혈관벽에 혈구가 부착되어 이어서 혈구성분의 변성이 일어나며 아울러 내피세포의 상해가 일어난다고 하였고, 그리고 竹内⁴⁴⁾는 endotoxin 속시에는 혈관수축이 가장 중요한 변화라고 하였으며, Constantinides와 Robinson⁴⁵⁾은 endotoxin이 혈중에 들어가면 이것이 혈장이나 세망내피계 세포에 작용하여 각종의 vasoactive amine을 유리시켜 이것이 내피세포 상해 및 혈관벽의 평활근의 수축을 일으키고, 이차적으로 순환장애가 일어나 실질세포에 상해를 일으킨다고 하였다.

이상의 것을 요약하면 endotoxin을 실험동물에 투여하면 이것이 직접 혈관 내피세포에 작용하여 그 혈관이 지배하는 영역의 세포나 조직을 상해할 것이라는 설⁴²⁾, 백혈구를 상해하여 혈관내피세포에 상해를 일으

킬 것이라는 설^{41,46,48)} 그리고 체액내지 세망내피계에 파탄을 일으켜 여기에서 여러가지 vasoactive amine인 각종 mediators, 예를들면 전술한 endogenous pyrogen, serotonin, kinine, plasminogen activating factor, colony stimulating factor, prostaglandin, leukocytosis inducing factor, macrophage activating factor, migrating inhibitory factor 등을 유리시켜 내피세포에 간접적으로 상해를 일으키고 혈관투과성을 증가시킨다(trigger mechanism)는 설^{4,47,48)}로 구분할 수 있다. Endotoxin 투여로 인한 세포상해의 상기한 세가지 설중 Janoff 및 Zeligs의 설과 Constantinides 및 Robinson의 설은 다같이 내피세포의 상해는 백혈구와 세망내피계 및 체액변화로 인한 이차적인 변화란 점에서는 공통된다.

상기한 지금까지의 endotoxin으로 인한 작장기 상해에 관한 학설과 저자의 실험성적을 비교하여 볼 때 endotoxin으로 인한 체장의 상해기전은 endotoxin이 직접적으로 외분비 및 내분비세포에 작용하여 상해를 주는 것보다는 endotoxin이 혈관내피세포에 상해를 먼저 주어 이로 인하여 2차적으로 외분비 및 내분비세포가 상해를 받는 것으로 보여진다. 이는 앞에서도 언급한 바와 같이, 저자의 실험성적을 보면 endotoxin 투여후 가장 먼저 나타난 변화는 외분비세포에 있어서의 pre-lysosome의 경한 증가와 혈관내피세포에 있어서의 종창, pinocytotic vesicle의 증가, mitochondria의 종창등을 특징으로 하는 퇴행성 변화였다. 이들 초기에 나타난 두가지 현상중 외분비세포에서 관찰된 pre-lysosome의 증가는 이것과 관련이 있다고 생각되는 외분비 및 내분비 세포내의 RER의 수포화, ribosome의 탈락, Golgi 장치의 공포화, mitochondria의 종창 및 cristae의 소실등이 내피세포 상해와 관련이 있다고 생각되는 간질의 부종, 미소혈전 형성과 같은 소견보다 늦게 나타난 사실은 의의가 있는 성적으로 보인다. 즉 다시 말하면 endotoxin이 혈류에 들어가면 먼저 내피세포에 작용하여 거기에 상해를 일으키고 이로 인하여 그 삼투압이 상승되어 혈관주위에 부종을 일으키고 또 혈전형성을 용이하게 하며 혈전형성으로 말미암아 부종은 더욱 심해져서 이 혈관이 지배하는 영역의 세포나 조직에는 산소가 결핍되고 그 결과 각 소기관 즉 mitochondria, RER, Golgi 장치등에 상해가 초래될 것이라 생각된다. 이점에 대해서는 Jones⁴⁹⁾등의 보고와 일치가 된다. 그러나 그외의 연구자들 즉 Weil⁵⁰⁾, Naqui⁵¹⁾, Janoff 및 Weissmann⁵²⁾ 등은 endotoxin 투여로 인한 체장의 세포상해는 내피

세포 상태를 통한, 혹은 vasoactive amine 을 통한 허혈상태와도 관계되겠지만 그것보다는 endotoxin 의 직접적인 상태를 더욱 강조하고 있다. 이점에 대해서는 본 실험에서 실질세포에 대한 endotoxin 의 직접적인 작용을 전혀 배제할 수는 없으나 상기한 바와 같이 endotoxin 투여후 각종 세포의 상해정도와 시간적 관계를 고려한다면 endotoxin 의 표적세포는 실질세포보다는 혈관내피세포로 보여지며 실질세포에 대한 endotoxin 의 직접적인 작용을 규명하기 위해서는 실질세포의 배양등을 이용한 연구가 뛰어나야 할 것으로 생각된다.

다음으로 본 실험에서 관찰된 소견중 각종 lysosome 의 증가는 전 실험기간을 통하여 볼 수 있었고 또 매우 저명한 소견이라 생각된다. Lysosome 은 1959년 de Dure 에 의해 발견되어 그간 광범위한 연구가 행해져서 생화학적으로나, 형태학적으로나 많은 새로운 지견들이 알려지게 되었다⁵³⁾. 이들을 요약하면 생화학적으로는 발견 당시에는 5종류의 가수분해 효소 즉 ACPase, ribonuclease, cathepsin, deoxyribonuclease 및 β -glucuronidase 가 있다는 것이 알려졌으나 지금은 상기한 효소를 포함하여 약 70종의 가수분해 효소가 발견되었는데, 이들은 세포내에 있는 여러 효소들 중에서 생체를 구성하는 거대분자의 분해에 관여한다는 점으로 미루어 보아 세포내에 있어서의 이들 물질의 소화 처리를 담당하는 것으로 알려져 있다⁵⁴⁾. 또 형태학적으로는 그 분포에 있어서 발견 당시에는 주로 간세포의 Galgi 장치 및 모세담관 주위에서 관찰되었지만 지금은 적혈구나 세균류를 제외한 거의 모든 동물이나 식물의 세포에서 발견할 수 있다⁵⁵⁾. 그리고 lysosome 은 그 형태가 다양하여 처음에는 여러가지 이름으로 불리워졌으나 de Dure 및 Wattiaux⁵⁶⁾에 의해 pre-lysosome, lysosome 및 post-lysosome 의 세가지로 나누고 lysosome 은 다시 primary 및 secondary lysosome 으로 구분하고 있다. 이들의 형태학적 특징으로는 pre-lysosome 은 한층의 한계막으로 싸이고 전자밀도가 아주 낮은 기질내에 세포질의 구조물과 유사한 것 예를들면 RER, mitochondria 등이 함유되어 있고 ACPase 활성을 나타내지 않는 것, primary lysosome 은 한층의 한계막으로 싸이고 그 안에 균질한 크기의 과립이 고르게 함유되어 있고 ACPase 의 활성은 균질하게 나타나는 것, secondary lysosome 은 pre-lysosome 과 primary lysosome 이 융합하여 형성된 것으로서 이들의 두 구조가 융합된 상태이거나 또는 융합이 완전히 이루어져 있더라도 그 안에 각종 막성

내지 과립성 구조물이 있으며, ACPase 활성을 나타내기는 하나 부분적으로 나타내는 것, 그리고 post-lysosome 은 한층의 한계막으로 싸이고 그 기질의 전자 밀도는 아주 낮고, 그 안에 myeline figure 나 이와 유사한 섬유성 구조물 내지 막성 구조물을 함유하고 ACPase 활성은 나타내지 않는 것 등으로 구분된다.

이상의 lysosome 에 관한 지금까지의 기능적 및 형태학적 특성을 토대로 본 실험에서 관찰된 lysosome 의 형성과정을 보면, 먼저 endotoxin 투여후 30분에 외분비세포에서는 pre-lysosome 이 약간 증가하였다가 그후 RER, mitochondria, Galgi 등 세포내 중요 소기관의 변성이 점차 현저하여짐에 따라 그 수가 증가하고, 또 이어서 각종 형태의 secondary lysosome 이 증가하고, 그후 post-lysosome 이 증가되었다. 그리고 이러한 변화는 내분비세포에서도 endotoxin 투여후 1시간부터 나타났다. 이와같은 현상은 endotoxin 투여로 인하여 체장외분비 및 내분비세포에 허혈상태가 일어나 이로 인하여 변성을 일으킨 각종 세포내 소기관을 처리하기 위하여 먼저 pre-lysosome 이 형성되고 이것이 primary lysosome 과 융합하여 secondary lysosome, 그리고 post-lysosome 으로 이행되어 갔다는 것을 입증해 준다. 따라서 본 실험에서의 lysosome 의 증가는 endotoxin 투여로 인하여 상해받은 체장외분비 및 내분비 세포의 소기관을 처리, 소화하기 위한 방어적 반응으로 해석된다. 또 이들의 구별은 ACPase 활성도로서도 증명하였다. 이와 아울러 분비과립의 감소가 endotoxin 투여후 1시간부터 관찰되었는데, 이것 역시 endotoxin 투여로 인한 허혈상태의 결과, 이를 생산하는 RER, Golgi 장치등의 퇴행성 변화와 관계가 있으리라고 생각된다.

그리고 본 실험에서는 광학현미경 및 투과전자현미경적 관찰이외에 주사전자현미경으로도 외분비 및 내분비세포와 혈관의 변화를 관찰하였는데, 이로써 알 수 있었던 것은 혈관내피세포의 변화였다. 즉 투과전자현미경에서 관찰된 혈관내피세포의 종장, 혈관강의 협착, 미소혈전의 형성, 그리고 내피세포의 단열 등이 3차 원적으로 관찰된 것은 큰 수확이라고 생각된다. 이것은 아직도 다른 연구자들의 보고가 없기 때문에 이들 소견의 해석에 있어서는 비교할 수 없기에 유감스럽게 생각하는 바이다. 이 문제에 대해서는 이후의 연구에 기대되는 바가 크다.

이상의 여러 연구자들의 보고를 종합하고 또 저자의 성적을 이들과 비교하였을 때 endotoxin 에 의한 체장의 상해 발생기전에 대해서는 아직도 많은 논란의 여

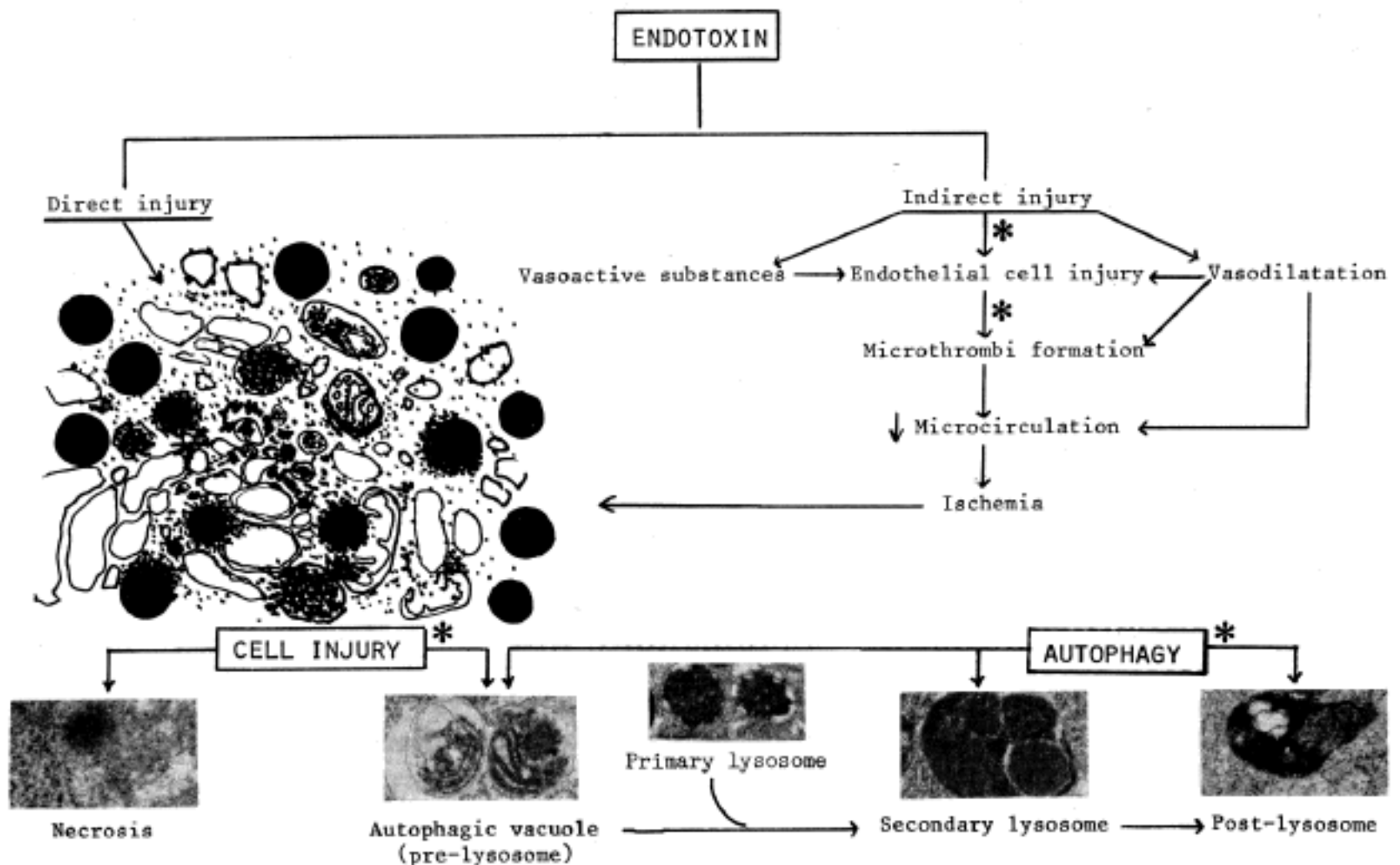


Fig. 4. Suggested mechanism of pancreatic injury by endotoxin.(summary from proposals of Weil⁵⁰⁾, Naqui⁵¹⁾, Janoff⁵²⁾ as well as our experimental results*)

지가 남아 있다고 생각되며, 이 모든 것이 해명되기까지는 많은 시간이 요하리라고 생각된다. 그러나 광학현미경, 투과전자현미경, 주사전자현미경으로 관찰하고, 여기에 전자현미경적 세포화학적 방법론까지를 동원하여 행한 본 연구의 성적으로 미루어 볼 때, endotoxin에 의한 췌장 상해기전은 다음과 같이 설명할 수 있으리라고 생각된다(Fig. 4). 즉 혈중에 들어간 endotoxin은 어떤 경로를 밟든 내피세포에 먼저 상해를 주어 이로 인하여 그 주위의 간질에 부종이 일어나고, 이 두가지가 더욱 심하여져서 미소혈전을 형성하며 췌장의 외분비 및 내분비세포에 허혈상태를 초래하여 그 결과 먼저 mitochondria의 oxidative phosphorylation에 장애를 일으켜 ATP생산이 감소되고, 이어서 RER, Golgi 장치등에 퇴행성 변화가 오며, 또 이들 단백질 합성계에 상해가 오므로서 분비과립이 감소되고, 이들 상해받은 세포소기관을 소화, 처리하기 위하여 먼저 pre-lysosome이, 이어서 secondary 및 post-lysosome이 증가하는 것으로 생각된다. 물론 Russel 및 그밖의 연구자들이 말하는 trigger mecha-

nism 즉 혈중에 유입한 endotoxin이 trigger가 되어 혈류중의 vasoactive amine을 유리하여 이들 chemical mediator가 내피세포를 상해하고 또 미소혈전을 형성하여 모세혈관의 투과성을 항진시켜, 췌장의 분비세포 및 내분비세포에 허혈상태를 만들어 상기한 퇴행성변화를 야기할 가능성과^{4,47,48)} 또 한편으로는 Weil⁵⁰⁾, Naqui⁵¹⁾, Janoff 및 Weissmann⁵²⁾등이 말하는 직접설 즉 혈류에 들어간 endotoxin이 직접적으로 외분비 및 내분비세포를 상해할 것이란 것을 또한 배제할 수 없다.

요 약

저자는 endotoxin으로 인한 췌장의 외분비 및 내분비세포의 상해기전의 일단을 알아보기 위하여 Sprague-Dawley종 흰쥐에 endotoxin을 체중 1kg당 7.6mg을 복강내에 투여한 후 30분, 1, 2, 4, 6, 8시간에 췌장을 절취하여 광학현미경, 투과전자현미경 및 주사전자현미경으로 검색하고 아울러 lysosome내의 ACPase의

활성을 전자현미경적 효소세포화학적 방법으로 관찰하였다. 그 성적을 요약하면 다음과 같다.

광학현미경으로는 외분비부 및 내분비부에 1시간후부터 경한 간질의 부종과 중혈이 일어나기 시작하여 2시간째에는 이들 변화가 좀더 심하여졌고 또 여기에다 더하여 세포질의 공포화 및 혈관주위의 부종이 출현하였고, 4시간후에는 2시간후의 변화와 더불어 소동맥중막의 공포가 출현하였고, 6시간 및 8시간째에는 상기한 모든 변화들이 더 심하여지고 또 여기에 내·외분비세포의 염색성의 저하가 일어났다.

투과전자현미경으로는 외분비세포에 있어서는 endotoxin 투여후 30분에 있어서는 경한 pre-lysosome의 증가만을, 1시간에는 prelysosome이 더욱 증가되었고, 여기에 더하여 secondary lysosome의 출현, mitochondria의 종창 및 cristae의 감소, RER의 증상배열의 혼란, 수포성 성분의 출현, Golgi 장치에서는 공포성분의 증가, 그리고 분비과립에 있어서는 과립의 숫적 감소 및 그 내용물의 전자밀도가 감소하는 등 주로 변성성변화들이 출현하였는데, 이들 소견은 시간이 경과할수록 더 심하여지는 경향이였다. 내분비세포에 있어서의 변화는 외분비세포에 있어서의 소견과질적으로 거의 같았으나 출현시간이 늦어서 1시간내지 2시간째부터 나타났으며 그 정도는 경한 편이였다.

모세혈관에 있어서는 endotoxin 투여후 30분부터 혈관주위의 부종, 내강의 확장, 중혈, 내피세포에는 세포질의 부종, pinocytotic vesicle의 증가등이 일어나기 시작하여 1시간 이후에는 이들 변화가 더욱 심하여져서 내피세포 핵의 농축, heterochromatin의 증가, 세포간격의 확장, 내피세포 세포질의 강내로의 돌출, pinocytotic vesicle의 증가등이 매우 현저하여졌고 2시간 이후에는 이들 현상이 더욱 심해졌고 여기에다 내피세포의 파괴와 미소혈전의 형성등이 관찰되었다. 전자현미경적 효소세포화학적 관찰에서는 pre-lysosome과 post-lysosome에서 ACPase 활성이 인지되지 않았으나, primary lysosome에서는 균질한 활성이, secondary lysosome에서는 부분적인 활성이 나타났다.

주사전자현미경으로는 외분비 및 내분비세포에서는 특기할이상을 관찰할 수 없었고, 혈관 특히 모세혈관, 세동맥 및 정맥에는 내피세포의 종창, 수포형성, 배열의 불규칙, 내강의 협착, 중혈 및 미소혈전등이 endotoxin 투여후 1시간 부터 관찰되었으며, 6시간후 부터는 내피세포의 단열이 관찰되었다.

이상의 성적으로 보아 endotoxin 투여로 인한 체장

상해 발생기전은 endotoxin을 실험동물에 투여하면, 이는 혈류에 들어가서 혈관내피세포에 먼저 상해를 주고 이로 인하여 혈관내의 액체성분이 혈관밖으로 유출되어 그 주위조직에 부종을 일으키고 나아가서는 혈전을 형성하여 외분비 및 내분비 세포로 가는 혈류의 감소내지 정지를 일으켜 그 결과 외분비 및 내분비세포내의 각 구조물에 퇴행성변화가 일어나며 이 퇴행성물질을 소화, 처리하기 위하여 먼저 pre-lysosome, 이어서 primary lysosome 및 secondary lysosome이, 그리고 마지막으로 post-lysosome이 증가하는 것이라 믿어진다. 그러나 이때 혈류에 들어간 endotoxin이 직접 외분비 및 내분비세포에 도달하여 상해할 가능성도 있다고 사료된다.

REFERENCES

- 1) 本間遜, 岩水眞昭, 丹羽允, 吉甲昌男: 内毒素一その構造と活性: 醫齒藥出版 東京(1983) pp1-9
- 2) Pfeiffer R: Untersuchungen uber das cholera gift. Z Hyg Infektr 11:393, 1982
- 3) Westphal O: Bacterial endotoxins. Intern Archs Allergy Appl Immun 49:1, 1975
- 4) Nakamura S, Morita T, Harada Suzuki T, Iwanaga S, Takahashi K, Niwa M: A clotting enzyme associated with the hemolymph coagulation system of horseshoe crab (*Tachypleus tridentatus*): Its purification and characterization. J Biochem 92:781-792, 1982
- 5) Morgan, WTJ, Partidge WM: Studies in immunochemistry 6. The use of phenol and of alkali in the degradation of antigenic material isolated from *Bact. Dysenteriae*(Shiga). Biochem J 35:1140-1163, 1941
- 6) Goebel WF, Binkley F, Perlman E: Studies on the Flexner group of dysentery bacilli 1. The specific antigen of shigella dysenteriae (Flexner) J Exptl Med 81:315-330, 1945
- 7) Galanos C, Luderitz O, Rietschel ET, Westphal O: Newer aspects of the chemistry and biology of bacterial lipopolysaccharides with special reference to their lipid A component. Intern Rev Biochem 14:239, 1977
- 8) Watson J, Ribelt R: Genetic control of responses to bacterial lipopolysaccharides in mice

- I. Evidence for a single gene that influences mitogenicity and immunogenic response to lipopolysaccharides. *J Exp Med* 140:1147, 1974
- 9) Iseki S, Sakai T: Artificial transformation of O-antigens in Salmonella E group II. Antigen-transforming factor in bacilli of subgroup E. *Proc Japan Acad* 29:127, 1953
- 10) 植竹久雄: 内毒素의 化學的 構造. 細菌内毒(本間 週, 齋藤相久, 河西信彦, 丹羽 允編). 東京, 1973, pp83
- 11) Nowotny A: Chemical and biological heterogeneity of endotoxins. *Microbial Toxins*, edited by Weinbaum G, Kadis S, Ajl SJ, New York, Academic Press, 1971, pp309
- 12) Watson J, Ribelt R: Genetic control of response to bacterial lipopolysaccharides in mice II. A gene that influences the activity of a membrane receptor for lipopolysaccharides. *J Immunol* 114:1462, 1975
- 13) 吉田昌男: エンドトキシンの話. 金原出版株式會社, 東京, 1981, pp109
- 14) Uhr JW: The effect of bacterial endotoxin on the newborn guinea pig. *J Exp Med* 115:685, 1962
- 15) Benacerraf B, Thorbecke GJ, Jacoby D: Effect on endotoxin toxicity in mice. *Proc Soc Exp Biol Med* 100:796, 1959
- 16) Kind LS: Sensitivity of Pertussis inoculated mice to endotoxin. *J Immunol* 82:32, 1959
- 17) Glode LM, Jacques A, Mergenhagen SE, Rosenstreich DL: Resistance of macrophages from C₃H/HeJ mice to the in vitro cytotoxic effects of endotoxin. *J Immunol* 119:162, 1977
- 18) Watson J, Kelly K, Whitlock C: Genetic control of endotoxin sensitivity In *Microbiology*, Washington, DC, 1980, pp4
- 19) Lefer AM, Barenholz Y: Pancreatic hydrolases and the formation of a myocardial depressant factor in shock. *Am J Physiol* 223:1103, 1972
- 20) Lefer AM, Martin J: Origin of myocardial depressant factor in shock. *Am J Physiol* 218:1423, 1970
- 21) Lefer AM: Blood-borne humoral factors in the pathophysiology of circulatory shock. *Circ Res* 32:129, 1973
- 22) Lefer AM: Mechanisms of cardiodepression in endotoxin shock.(Suppl) 1:1, 1979
- 23) Tilney NL, Bailey GL, Morgan AP: Sequential system failure after rupture of abdominal aortic aneurysms. *Ann Surg* 178:117, 1973
- 24) 정종구, 손태중: Endotoxin의 肺傷害 發生機轉에 關한 超微形態學的 研究. 경북의대잡지(인쇄중).
- 25) 김병천, 이선경, 손태중: Endotoxin의 腎傷害 發生機轉에 關한 超微形態學的 研究. 부산의대잡지(인쇄중)
- 26) 최동수, 배한익, 김용진, 김중길, 박정식, 손태중: Endotoxin 投與로 因한 肺細胞系의 變化에 關한 超微形態學的 研究. 경북의대잡지 24(2):205, 1983
- 27) Luft JH: Improvement in embedding method. *J Biopsy. Biochem Cytol* 9:409, 1961
- 28) Reynolds ES: The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy. *J Cell Biol* 17:208, 1963
- 29) Karnovsky MJ: A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of osmolality for use in electron microscopy. *J Cell Biol* 27:137, 1965
- 30) Barka T, Anderson PJ: *Histochemistry, Theory Practice and Bibliography*, New York, Hoeber Harper & Row 1965, pp239
- 31) Bloom W, Fawcett DW: *A textbook of histology ed. 10th* WB Saunders Co, Philadelphia, London, Toronto, 1975, pp726
- 32) Leeson TS, Leeson CR: *Histology ed 4*, WB Saunders Co, Philadelphia, 1981, pp374
- 33) Johannessen JV: *Electron microscopy in human medicine VII. Digestive system*, McGraw-Hill, New York, 1980, pp212
- 34) Johannessen JV: *Electron microscopy in human medicine X. Endocrine organs*, McGraw-Hill, New York, 1981, pp189
- 35) Rangel, DM, Byfielk JE, Adomian Stevens GH, Fronkalsrud EW: Hepatic ultrastructural response to endotoxin shock. *Surgery* 68:503-511, 1970
- 36) Hoffmann EO, Trejo RA: *Ultrastructural*

- changes in the liver of baboons following lead and endotoxin administration. *Lab Invest* 30: 311, 1974
- 37) Wardle N: Acute renal failure in the 1980s: The importance of septic shock and of endotoxemia. *Nephron* 30:193, 1982
- 38) Wardle EN: Endotoxemia and the pathogenesis of acute renal failure. *QJI Med* 44:389, 1975
- 39) Coalson JJ, Hinshaw LB, Guenter CA: The pulmonary ultrastructure in septic shock. *Exp Mole Pathol* 12:84, 1970
- 40) McKay DG: Vessel wall and thrombogenesis-endotoxin. *Thromb Diath Haemorrh* 29:11, 1973
- 41) Janoff A, Zeligs JD: Vascular injury and lysis of basement membrane in vitro by neutral protease of human leukocytes. *Science* 161:702, 1968
- 42) McGrath JM, Stewart GJ: The effects of endotoxin on vascular endothelium. *J Exp Med* 129:833, 1969
- 43) Lillehei RH: The nature of irreversible shock. *Ann Surg* 160:682, 1964
- 44) 竹内 正 : 腎内血管 收縮の形態學と 腎内血行動態. *日病會誌* 63:63, 1974
- 45) Constantinides P, Robinson M: Ultrastructural injury of arterial endothelium I. Effects of pH, osmolarity, anoxia and temperature II. Effects of vasoactive amines. *Pathology* 88:99, 1969
- 46) Vergheze MW, Prince M, Synderman R: Genetic control of peripheral leukocyte response to endotoxin in mice. *J Immunol* 124:2468, 1980
- 47) Benacerraf B, Sebastyen MM: Effect of bacterial endotoxins on the reticuloendothelial system. *Fed Proc* 16:860, 1957
- 48) Michalek SM, Moore RN, McGhee JR, Rosenstreich DL, Mergenhagen SE: The primary role of lymphoreticular cells in the mediation of host response to bacterial endotoxin. *J Infect Dis* 141:55, 1980
- 49) Jones RT, Garcia JH, Mergner WJ, Pendergrass RE, Valigorsky JM, Trump BF: Effects of shock on the pancreatic acinar cell. *Arch Pathol* 99:634, 1975
- 50) Weil MH, Maclean LD: Studies on the circulatory changes in the dog produced by endotoxin from gram-negative microorganism. *J Clin Invest* 35:1191, 1956
- 51) Naqui J, Tranter DG: Bacteremic shock as an acute medical emergency. *Lancet* 1:1357, 1965
- 52) Janoff A, Weissmann G, Zweifach BW, Thomas L: Pathogenesis of experimental shock IV. Studies on lysosomes in normal and tolerant animals subjected to lethal trauma and endotoxemia. *J Exptl Med* 116:451, 1962
- 53) Dure C, Wattiaux R: Functions of lysosomes. *Ann Rev Physiol* 28:435, 1966
- 54) Pitt D: *Lysosomes and cell function*, Longman, London, 1975, p38

= Abstract =

Ultrastructural Changes in the Exocrine and Endocrine Cells of Rat Pancreas in Endotoxin Shock

Kun Young Kwon, M.D.* Chai Hong Chung, M.D.* and Tae Joong Sohn, M.D.*

* Department of Pathology, Keimyung University School of Medicine

+ Department of Pathology, Kyungpook University School of Medicine

This study was carried out to investigate the morphological changes in the exocrine and endocrine glands of rat pancreas treated with endotoxin.

Thirty-five male Sprague-Dawley rats, maintained on a stock diet, weighing 200.0 gm. average, were divided into two experimental groups.

Group 1. Control group.

Five rats. Intraperitoneal injections of 0.3 ml normal saline only.

Group 2. Endotoxin-treated group.

Thirty rats. 7.6 mg of endotoxin per kg. of body weight was administered intraperitoneally.

Each of 5 experimental animal was sacrificed 30 minutes, 1, 2, 4, 6 and 8 hours after endotoxin treatment, followed by examinations of histochemical, light and electron microscopy of both transmission and scanning modes.

The results were as follows:

A. Light microscopic findings:

A mild interstitial edema and hyperemia were noted 1-hour after endotoxin treatment. Cytoplasmic vacuolization at 2-hour level (2-hours after endotoxin administration), diminished staining quality of both endocrine and exocrine cells at 6-hour level.

B. Electron microscopic examination:

a. Transmission electron microscopy.

The acinar cells of pancreas showed a mildly increased pre-lysosome at 30-minute level. At 1-hour level, appearance of secondary lysosome was noted in addition to the findings of mitochondrial swelling and decreased cristae; disarray and vacuolization of the RER; vacuolar change of Golgi apparatus. At 6-hour level, post-lysosomes. The changes in the endocrine glands were similar to the findings of exocrine glands just described with time lag of 1 to 2 hours. The endothelial cells of capillaries show swelling and pinocytotic vesicle formation, protrusion of the cytoplasmic processes into the capillary lumen and increased heterochromatin at 1-hour level. These findings became more prominent as time lapses. The lumen of the endothelium tends to be narrowed, filled with fibrin and other blood cell components which later terminated with

occasional complete occlusion by the formation of thrombi.

b. Histochemical study:

Primary lysosomes of the control group revealed a strong reaction of the acid phosphatase whereas the endotoxin treated group with less reactivity limited in the peripheral zones of the lysosomes. Secondary lysosomes with partial reactions. However, the pre-lysosomes and post-lysosomes failed to demonstrate any acid phosphatase activity at all.

c. Scanning electron microscopy:

The endothelial cells of the capillaries, arterioles and venules demonstrated increased microvillous activity, broad bleb formation, cytoplasmic protrusion into the luminal spaces and microthrombi formation at 1-hour level. Six-hour level onward there noted a junctional disruption and partial detachment from the subendothelium of the wall.

It can be concluded, therefore:

When the endotoxin enters the blood stream, it elicits endothelial injury followed by both exudation with resultant edema of the surrounding tissue and concomitant vascular occlusions due to thrombosis. This vascular occlusion, in turn, causes ischemic degenerative changes of the cells of exocrine and endocrine glands of the pancreas which are followed by digestions of degradational materials from the injured cells through the lysosomal phagocytic system. Besides the above pathogenetic pathway, one can not rule out the possibility of the direct effects of the endotoxin to the cells of exocrine and endocrine cells of the pancreas also so rendered.

Key for abbreviations

A: Artery	Ly: Lysosome, primary
Ac: Acini	Lyp: Lysosome, post
Ar: Arteriole	LyS: Lysosome, secondary
Au: Autophagosome(Pre-lysosome)	M: Mitochondria
BL: Basal lamina	N: Nucleus
BM: Basement membrane	Neu: Neutrophil
En: Endothelial cell	Pc: Pericyte
EnC: Endocrine cell	Plt: Platelet
ExC: Exocrine cell	RBC: Red blood cell
F: Fibrocyte	RER: Rough endoplasmic reticulum
G: Golgi apparatus	Sg: Secretory granule
Gr: Granule	V: Vein
Gr β : Beta granule	Ve: Venule
GrD: Delta granule	Vi: Microvilli
Is: Interstitium	Vo: Vacuole
Lo: Lobule	WBC: White blood cell
Lu: Lumen	

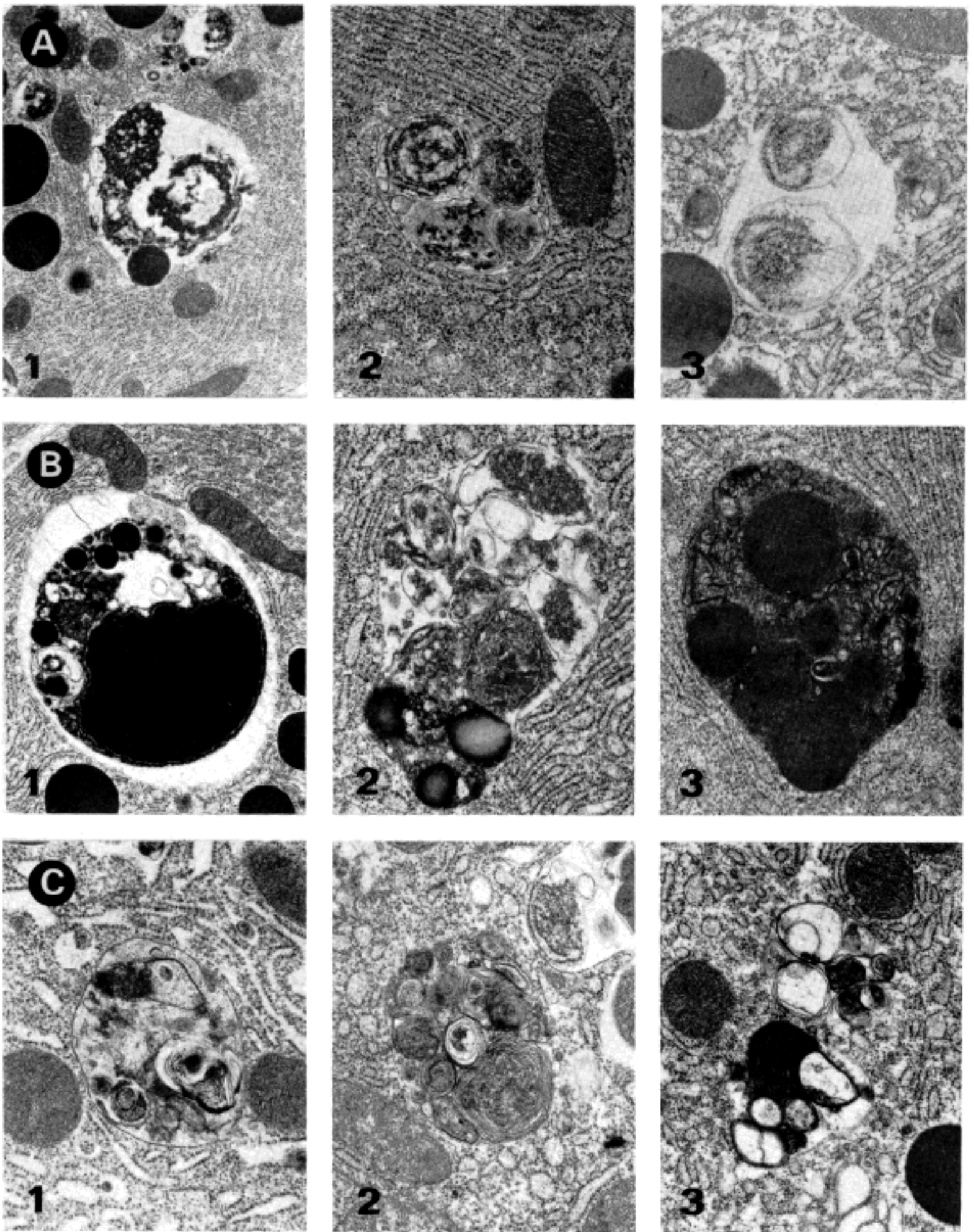


Fig. 5. Various patterns of lysosomes (A to C)
A: Pre-lysosome (1 to 3), B: Secondary lysosome (1 to 3)
C: Post-lysosome (1 to 3)

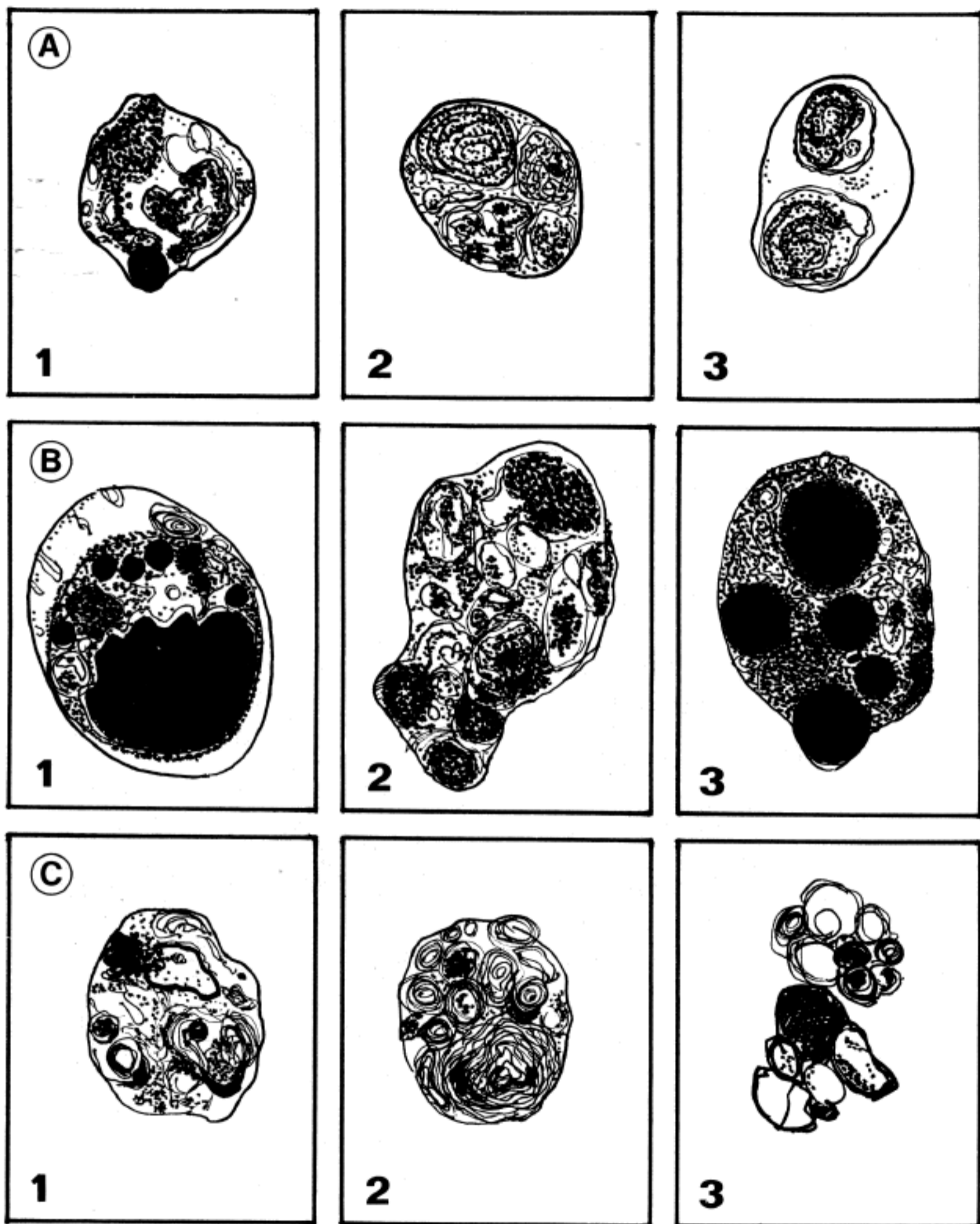


Fig. 6. Schematic presentation of various patterns of lysosomes (Fig. 5).

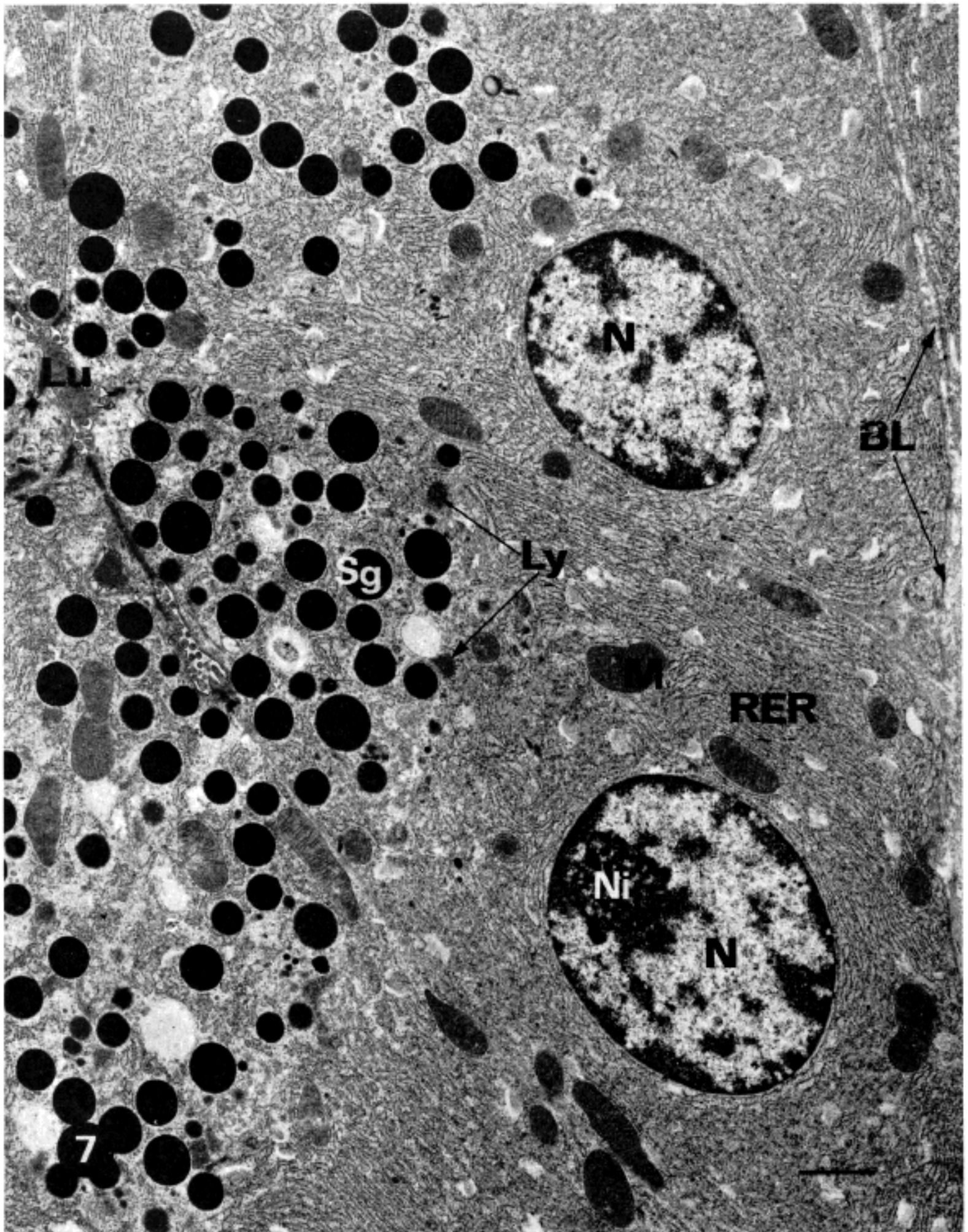


Fig. 7. Exocrine cell, pancreas, rat, control. The acinar cells show numerous secretory granules and some primary lysosomes in the apical portion, and well defined lamellated RER and mitochondria in the perinuclear cytoplasm of basal portion. Uranyl acetate and lead citrate. ($\times 4,000$)

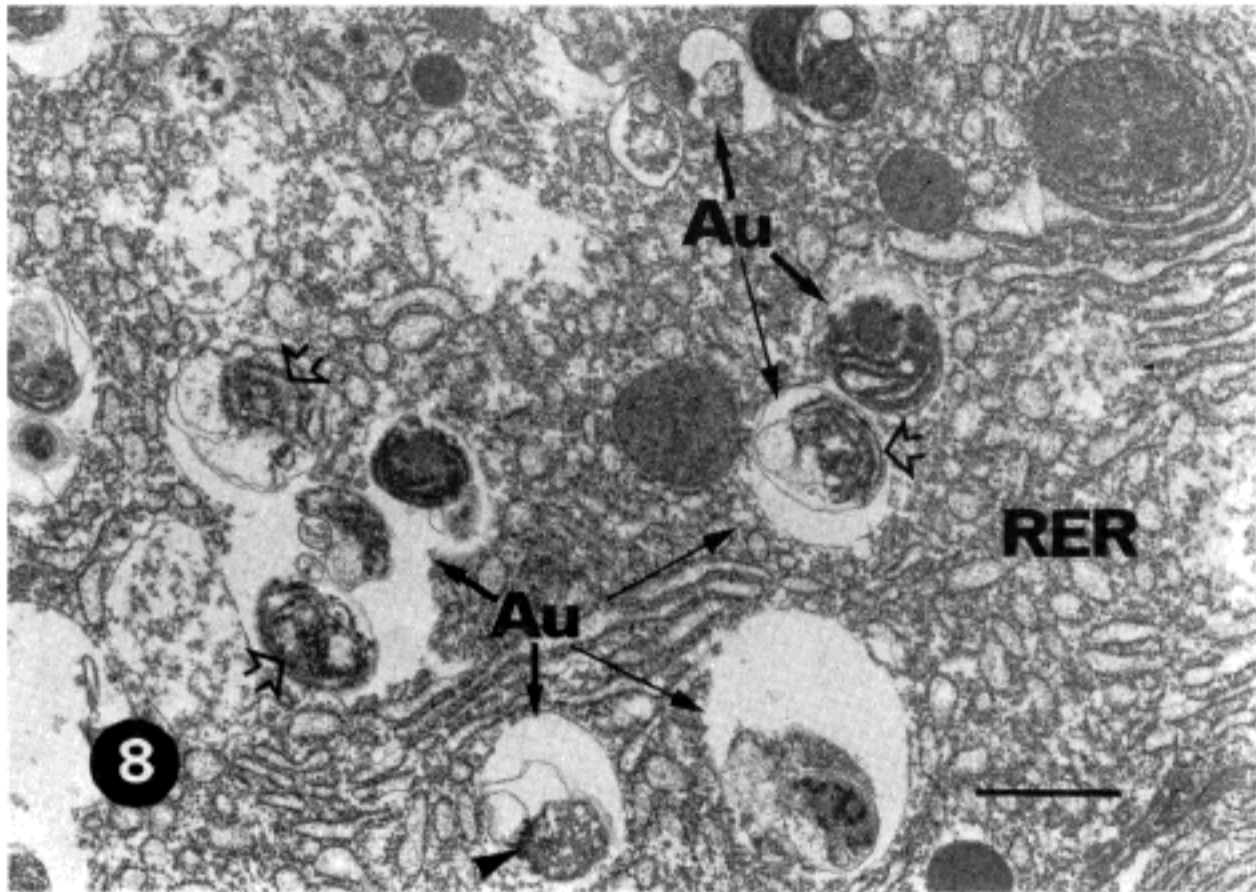


Fig. 8. Exocrine cell, pancreas, rat, 1 hour after injection of endotoxin. Autophagosomes are markedly increased and RERs are vesiculated. The autophagosomes contain degenerated cellular organelles such as RER (arrow), mitochondria (arrow head) or granular particles. Uranyl acetate and lead citrate. ($\times 17,000$)

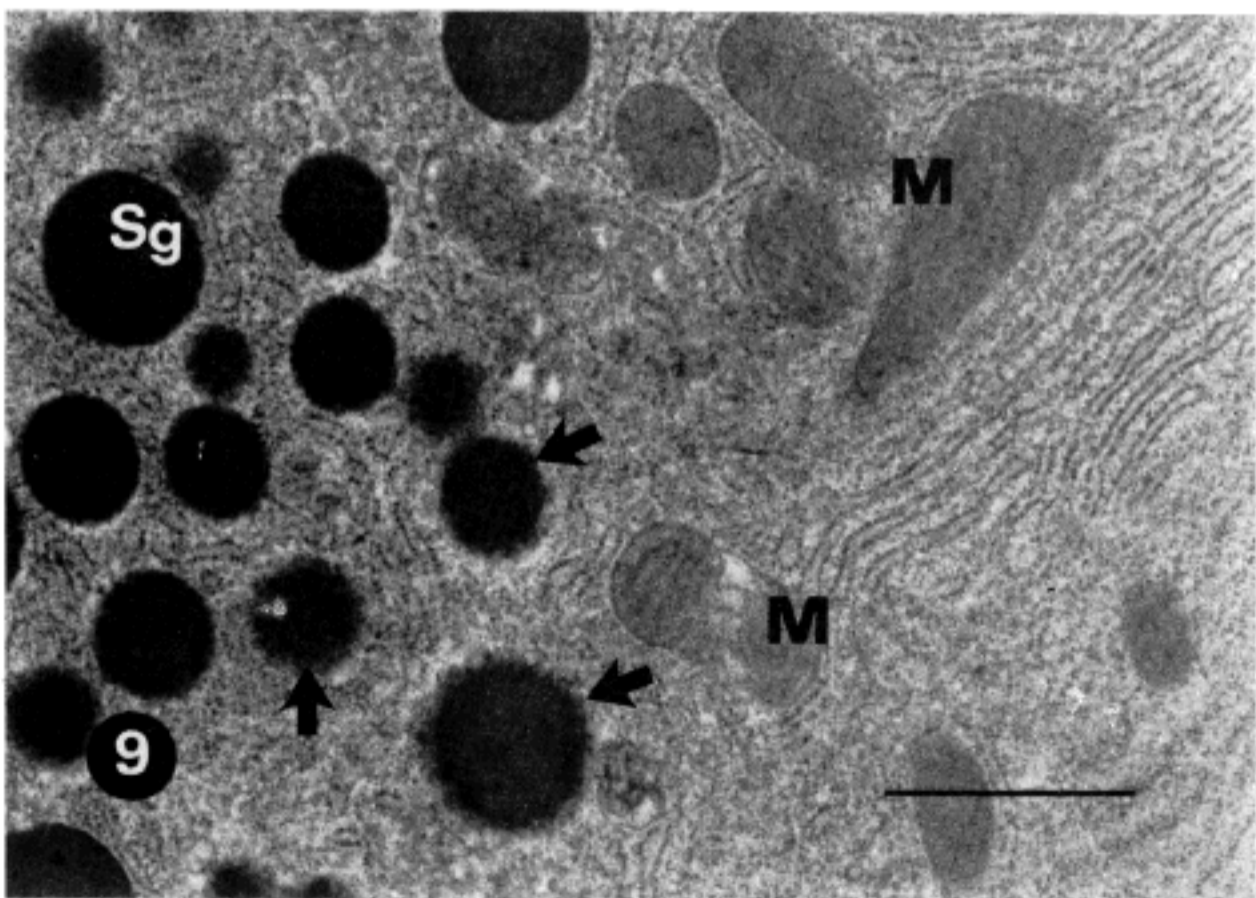


Fig. 9. Exocrine cell, pancreas, rat, 1 hour after injection of endotoxin. Decreased electron density of secretory granules with blurring of the membrane (arrow) is present. The mitochondria show mild swelling, and variable size and shape. Uranyl acetate and lead citrate. ($\times 29,000$)

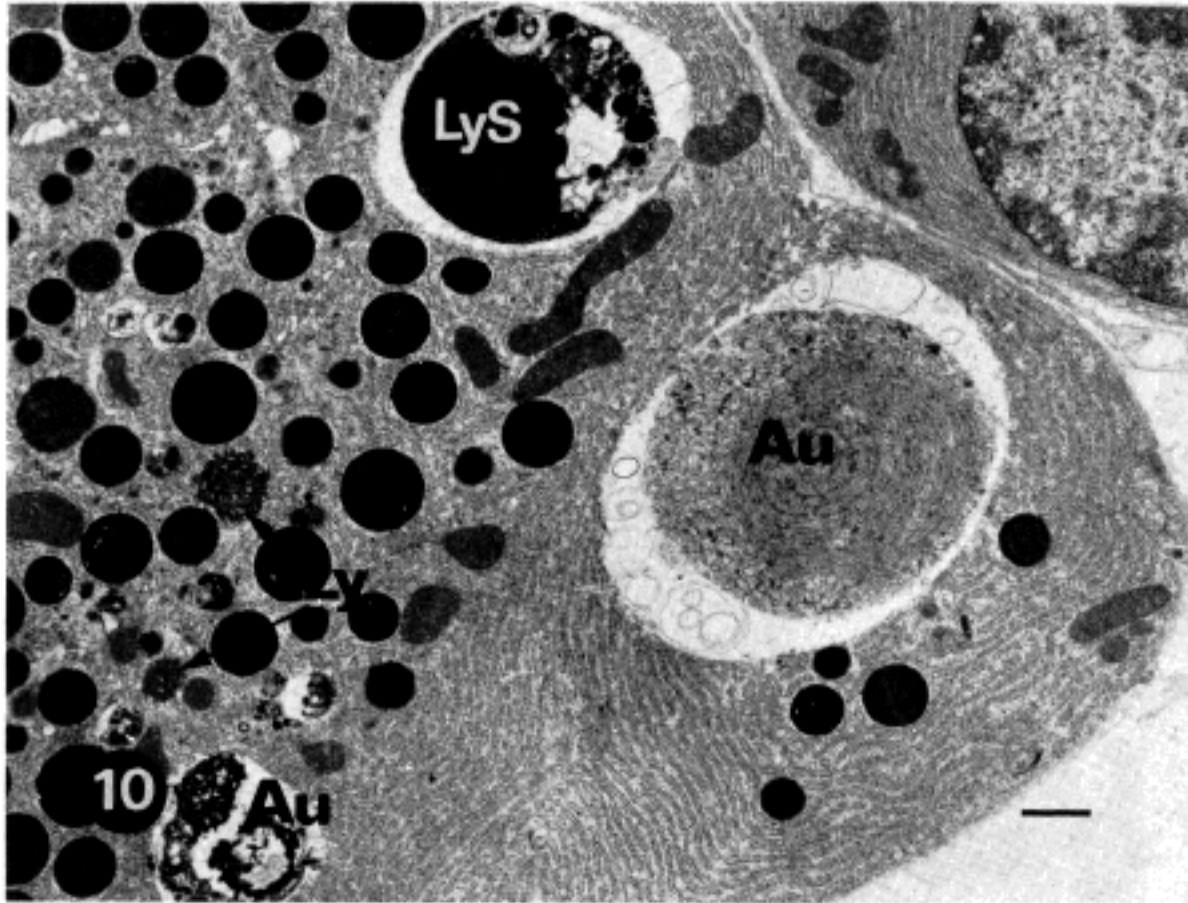


FIG. 10. Exocrine cell, pancreas, rat, 2 hours after injection of endotoxin. Numerous autophagosomes and primary lysosomes are found. Secondary lysosome containing electron dense, round structures or granular particles is noted. Uranyl acetate and lead citrate. ($\times 8,000$)

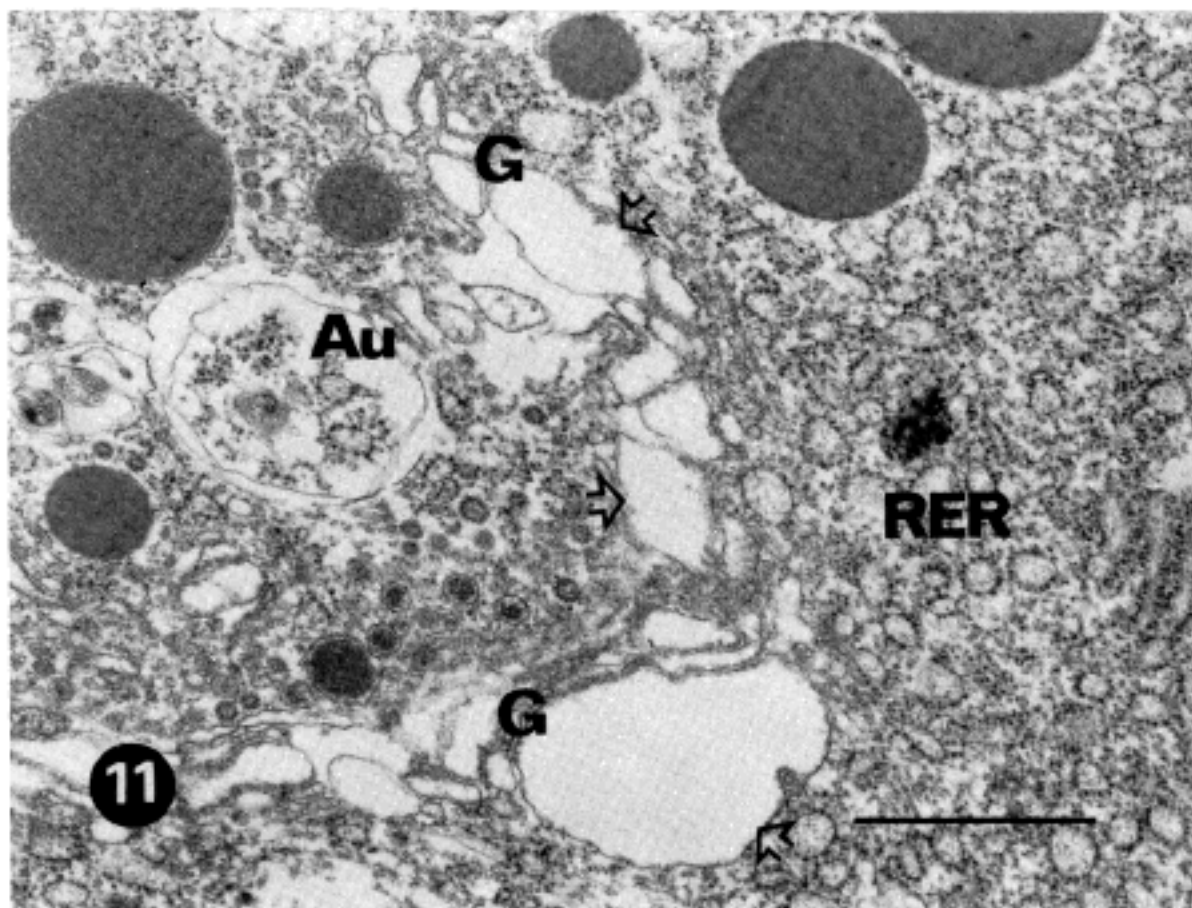


FIG. 11. Exocrine cell, pancreas, rat, 6 hours after injection of endotoxin. The Golgi apparatus show increase in number and marked vacuolization (arrow). RERs are mostly vesicular in shape. Uranyl acetate and lead citrate. ($\times 29,000$)

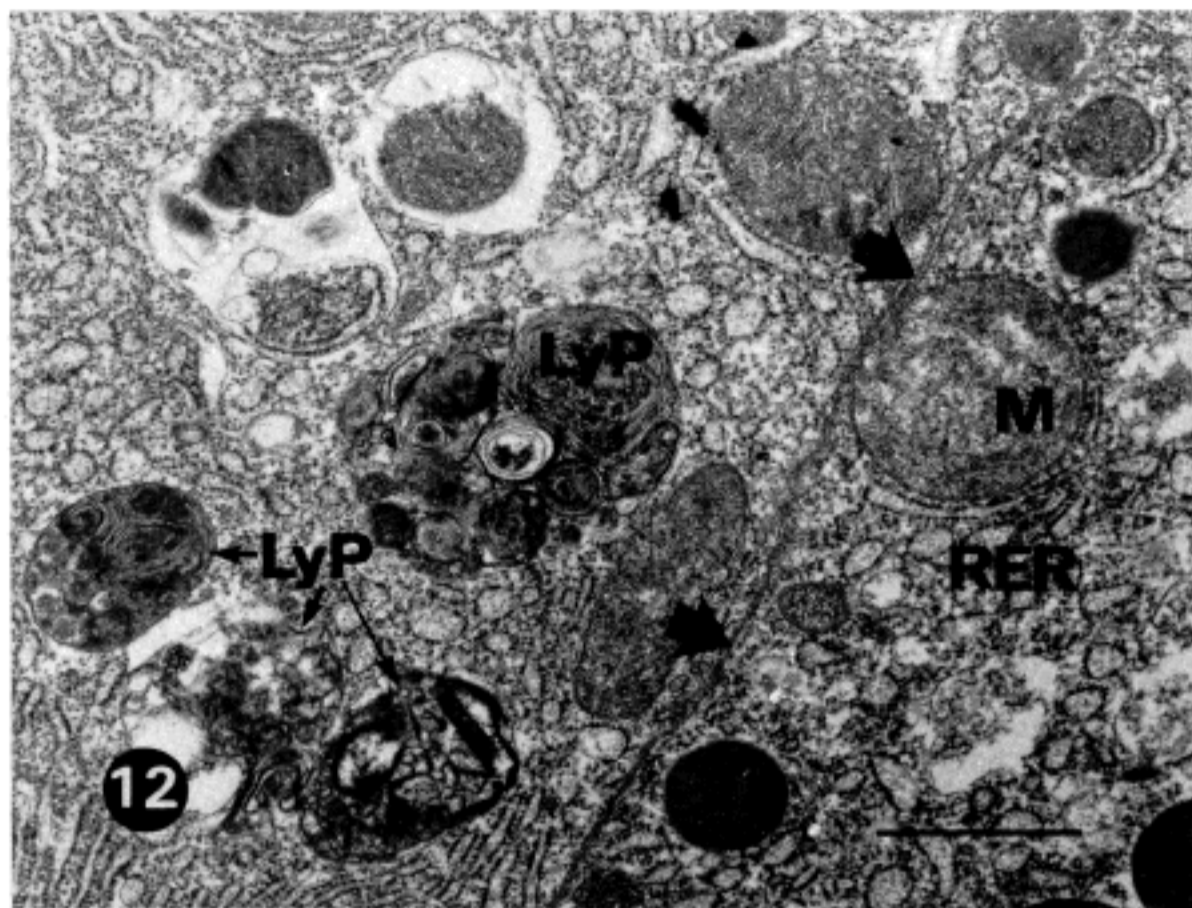


Fig. 12. Exocrine cell, pancreas, rat, 8 hours after injection of endotoxin. Numerous post-lysosomes having lamellated bodies or myeline figure like structures are located adjacent to the cell margin(arrow). RERs are diffusely vesiculated. Uranyl acetate and lead citrate. ($\times 25,000$)

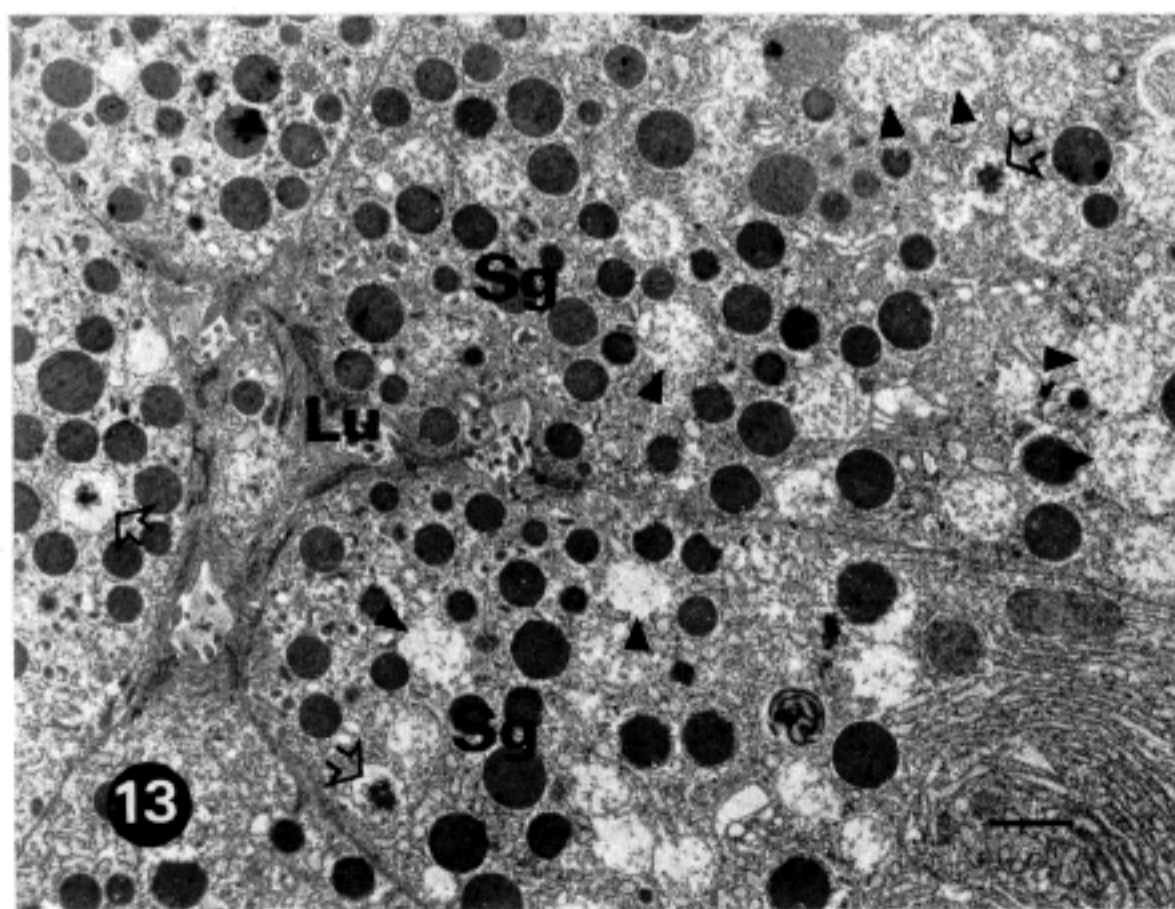


Fig. 13. Exocrine cell, pancreas, rat, 8 hours after injection of endotoxin. Noted are markedly decreased electron density of secretory granules (arrow) and some secretory granules devoid of intragranular materials(arrow head). Uranyl acetate and lead citrate. ($\times 10,000$)

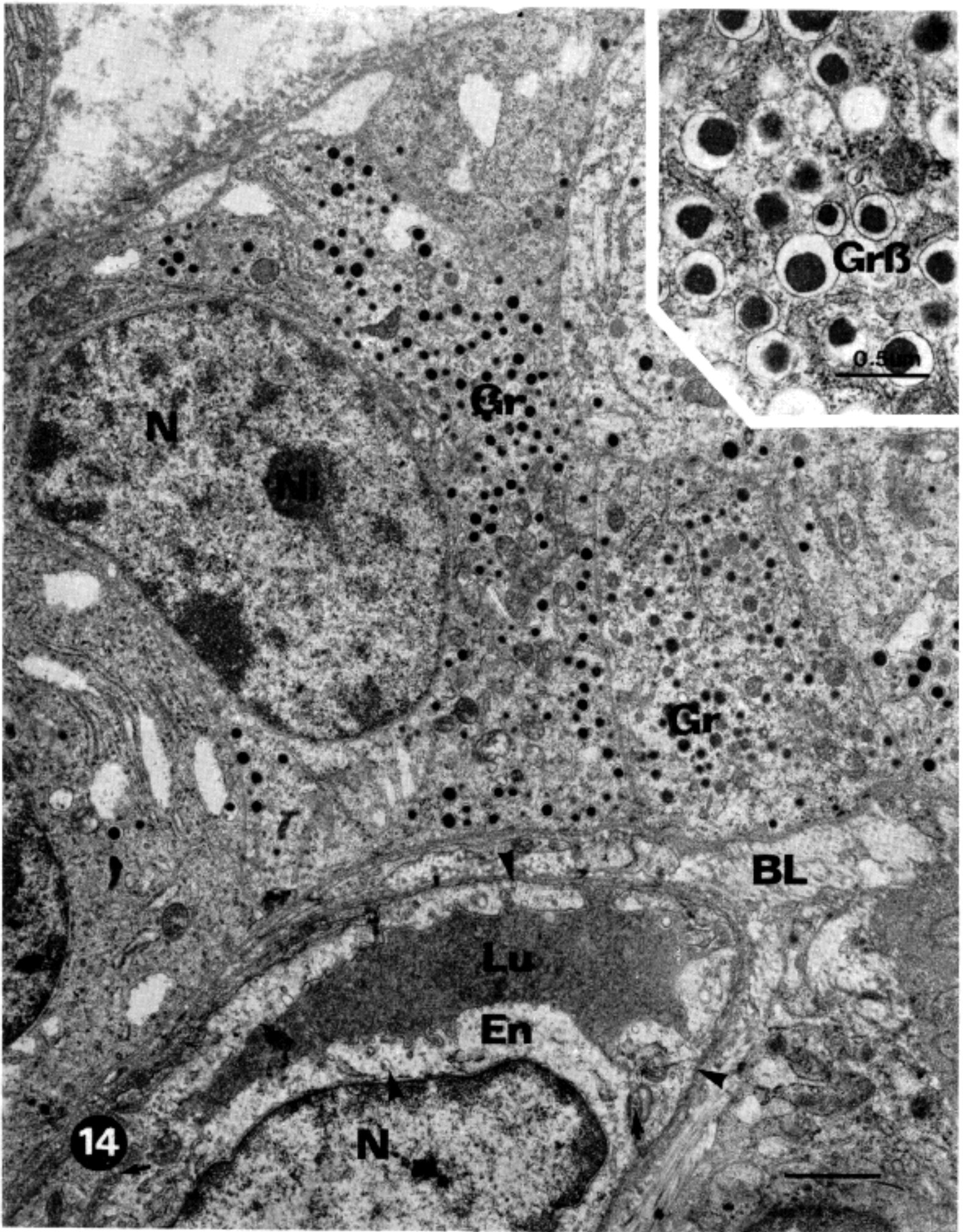


Fig. 14. Endocrine cells, pancreas, rat, control. The endocrine cells show mainly beta cells with many membrane-bound round granules. The capillary endothelium shows nucleus and regularly thickened cytoplasm having some organelles, intercellular junctions (arrow) and many pinocytotic vesicles (arrow head). $\times 9,000$. Inset is magnified beta granules. The beta granules contain electron-dense, round or crystal-like cores. Uranyl acetate and lead citrate. ($\times 34,000$)

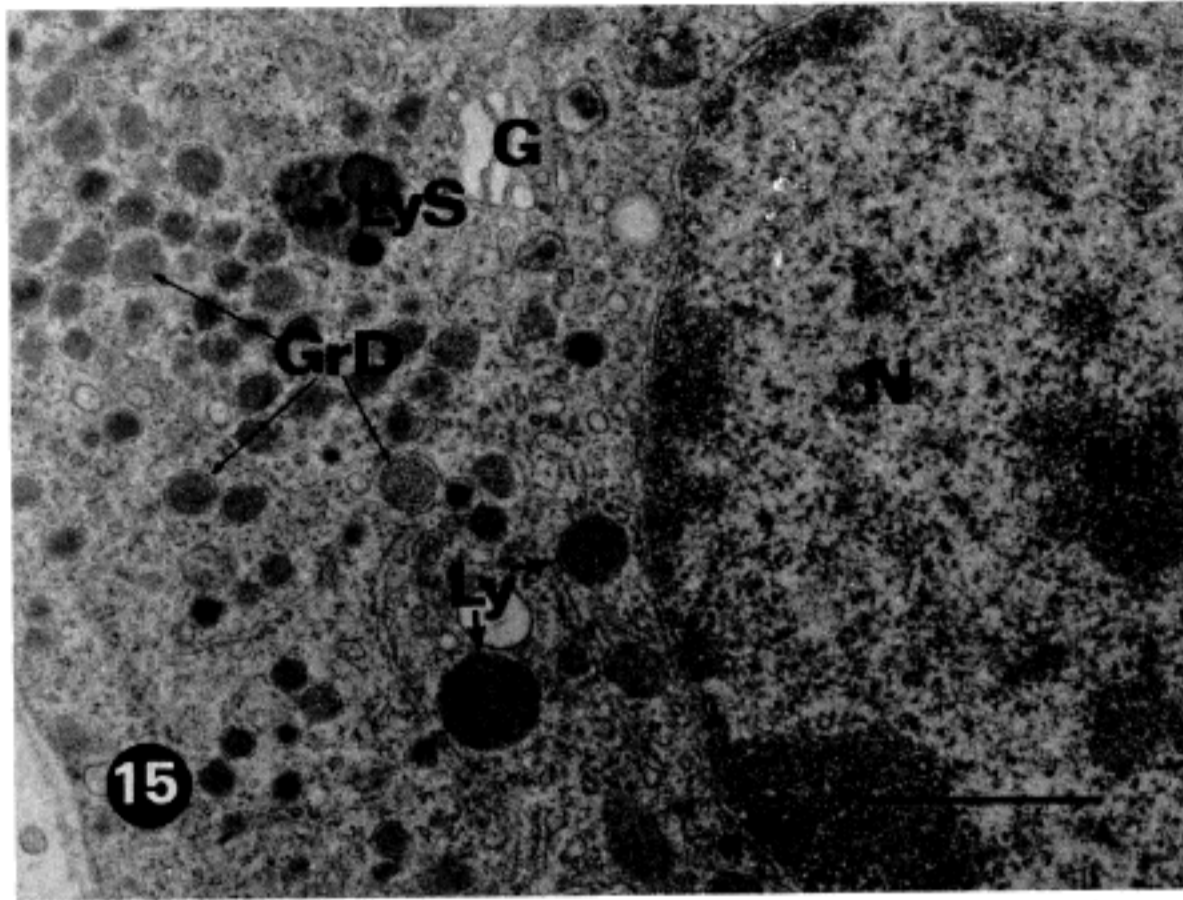


Fig. 15. Endocrine cell(delta cell), pancreas, rat, 2 hours after injection of endotoxin. Primary and secondary lysosomes are observed. Also present many delta granules with less electron dense core, Golgi apparatus and slightly disarranged RERs. Uranyl acetate and lead citrate. ($\times 29,000$)

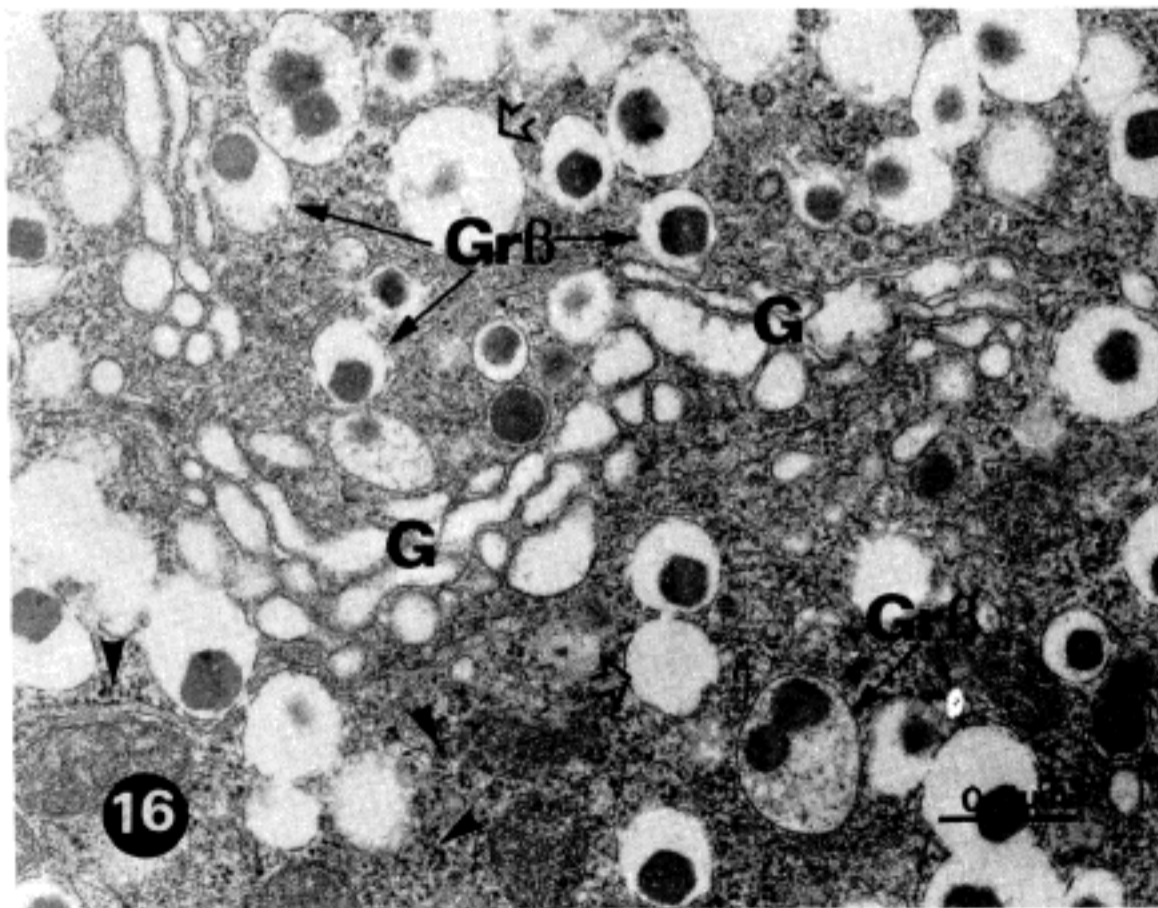


Fig. 16. Endocrine cell(beta cell), pancreas, rat, 4 hours after injection of endotoxin. Golgi apparatus are increased in number and vacuolated. RERs show vesiculation and ribosomal shedding (arrow head). The beta granules are partially evacuated their contents and reveal vacant cavities (arrow). Uranyl acetate and lead citrate. ($\times 34,000$)

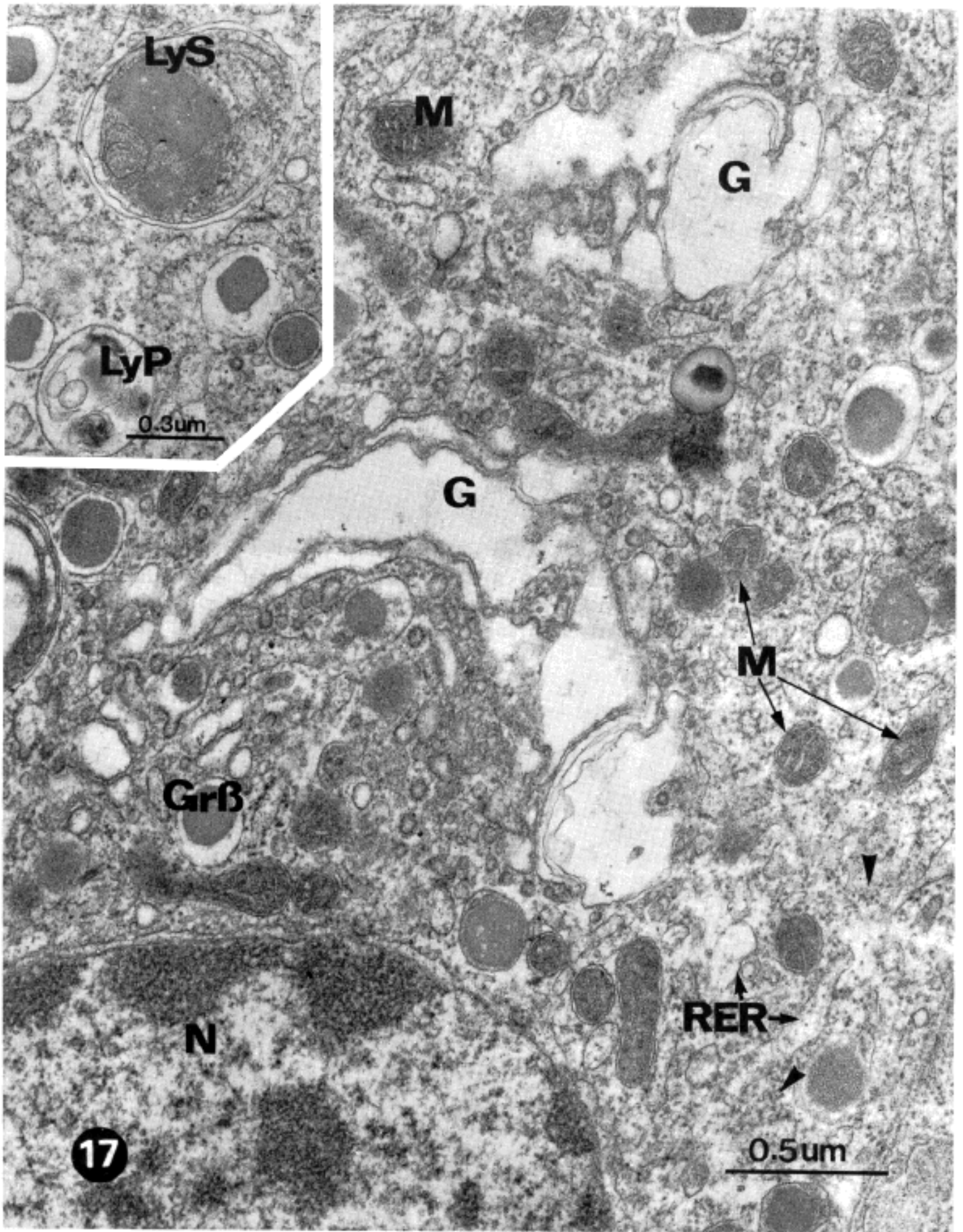


Fig. 17. Endocrine cell(beta cell), pancreas, rat, 8 hours after injection of endotoxin. Markedly vacuolated Golgi apparatus, vesicular or vacuolated RERs with ribosomal shedding and free ribosome are noted. The contracted mitochondria show disarranged cristae and electron-dense granules of the matrix. Uranyl acetate and lead citrate. ($\times 60,000$)



Fig. 18. Endothelial cell, capillary, pancreas, rat, 2 hours after injection of endotoxin. The endothelial cell shows swelling, vesiculation or vacuolation of the cytoplasm and loss of cytoplasmic organelles. The luminal surface showing irregular protrusion of the endothelial cytoplasm (arrow) and focal villous formation (arrow head) filled with amorphous materials and a red blood cell. Uranyl acetate and lead citrate. ($\times 17,000$)

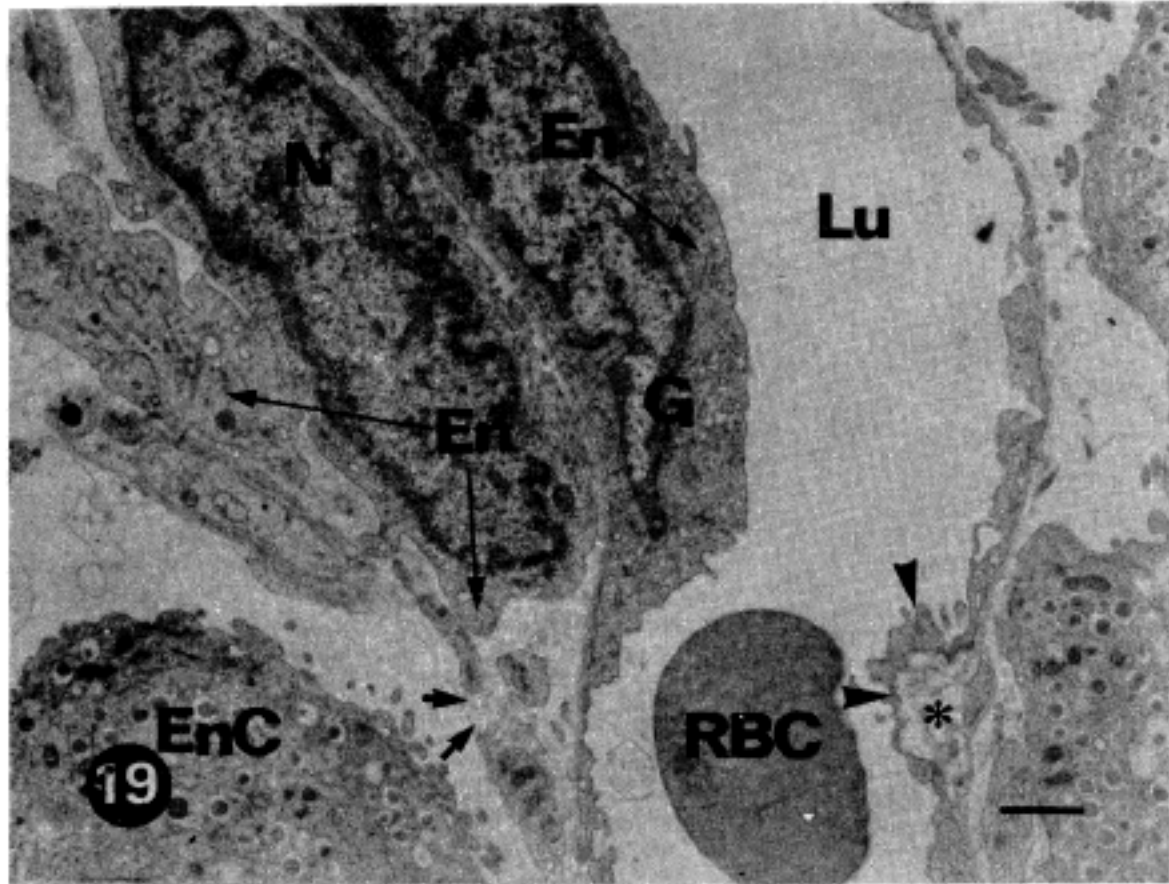


FIG. 19. Endothelial cell, capillary, pancreas, rat, 2 hours after injection of endotoxin. Two capillaries are closely attached. Marked protrusion of cytoplasmic process due to endothelial swelling(*) is noted (arrow head). Also the luminal surface of the endothelium shows rather thinning and focal widening of fenestrae (arrow). Uranyl acetate and lead citrate. ($\times 10,000$)

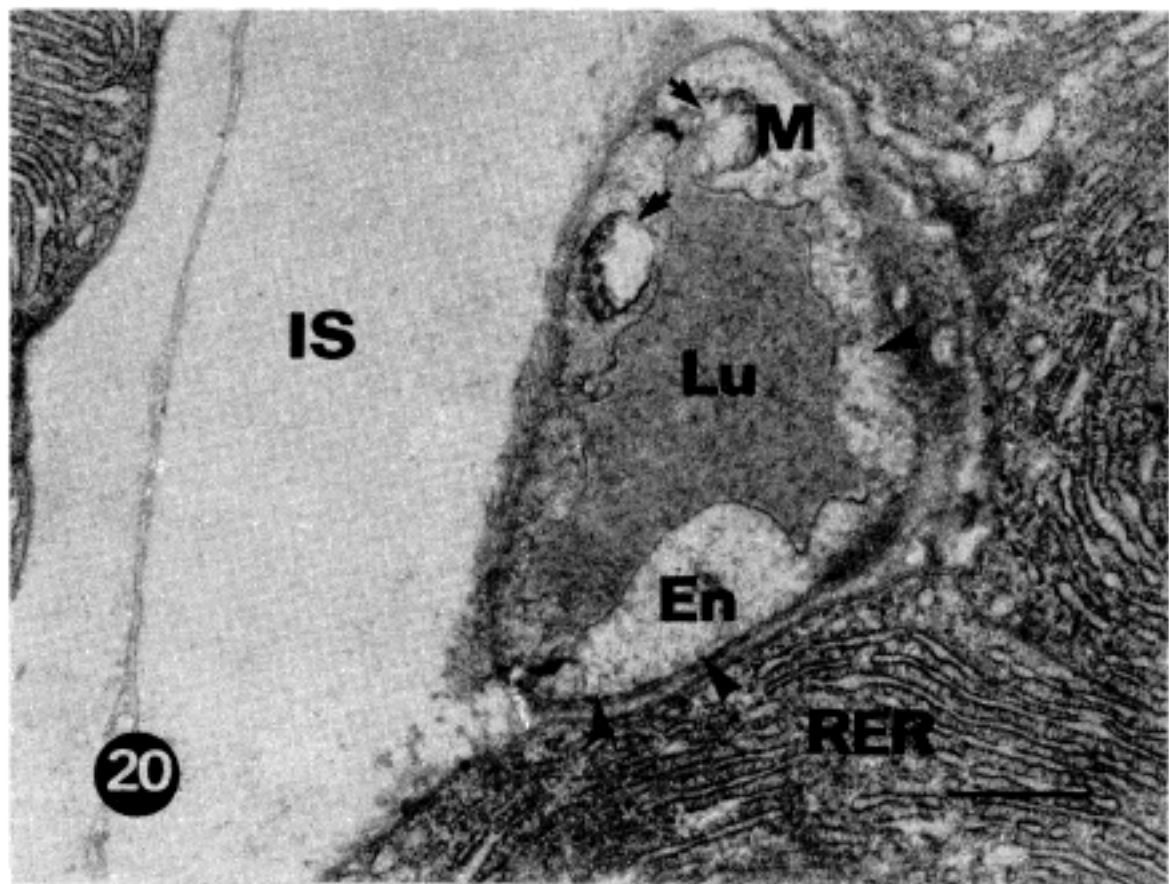


FIG. 20. Capillary and interstitium, pancreas, rat, 6 hours after injection of endotoxin. The endothelial cell shows marked swelling and rupture of mitochondria (arrow), and many pinocytotic vesicles (arrow head). The capillary lumen is markedly narrowed and filled with amorphous or fibrinoid materials. The free surface of the endothelium is almost flattened. The interstitium shows extensive edematous change. Uranyl acetate and lead citrate. ($\times 17,000$)

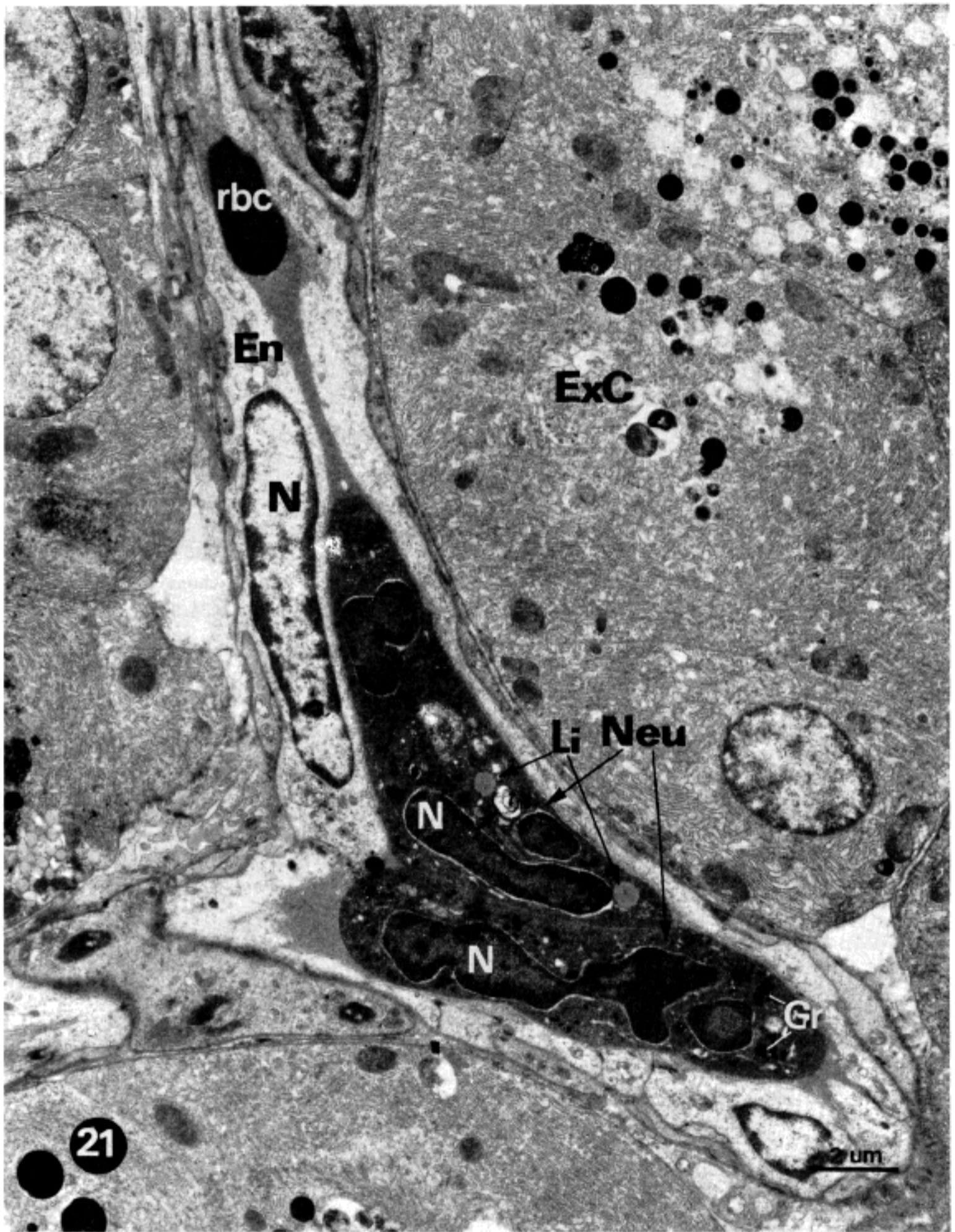


Fig. 21. Capillary, pancreas, rat, 8 hours after injection of endotoxin. The capillary lumen is extensively narrowed and crowded with degenerated neutrophils, amorphous materials and red blood cells. The neutrophils show hyperchromatic nuclei, lamellated bodies(arrow), vesicles, lipid droplets and electron dense granules. Uranyl acetate and lead citrate. ($\times 9,000$)

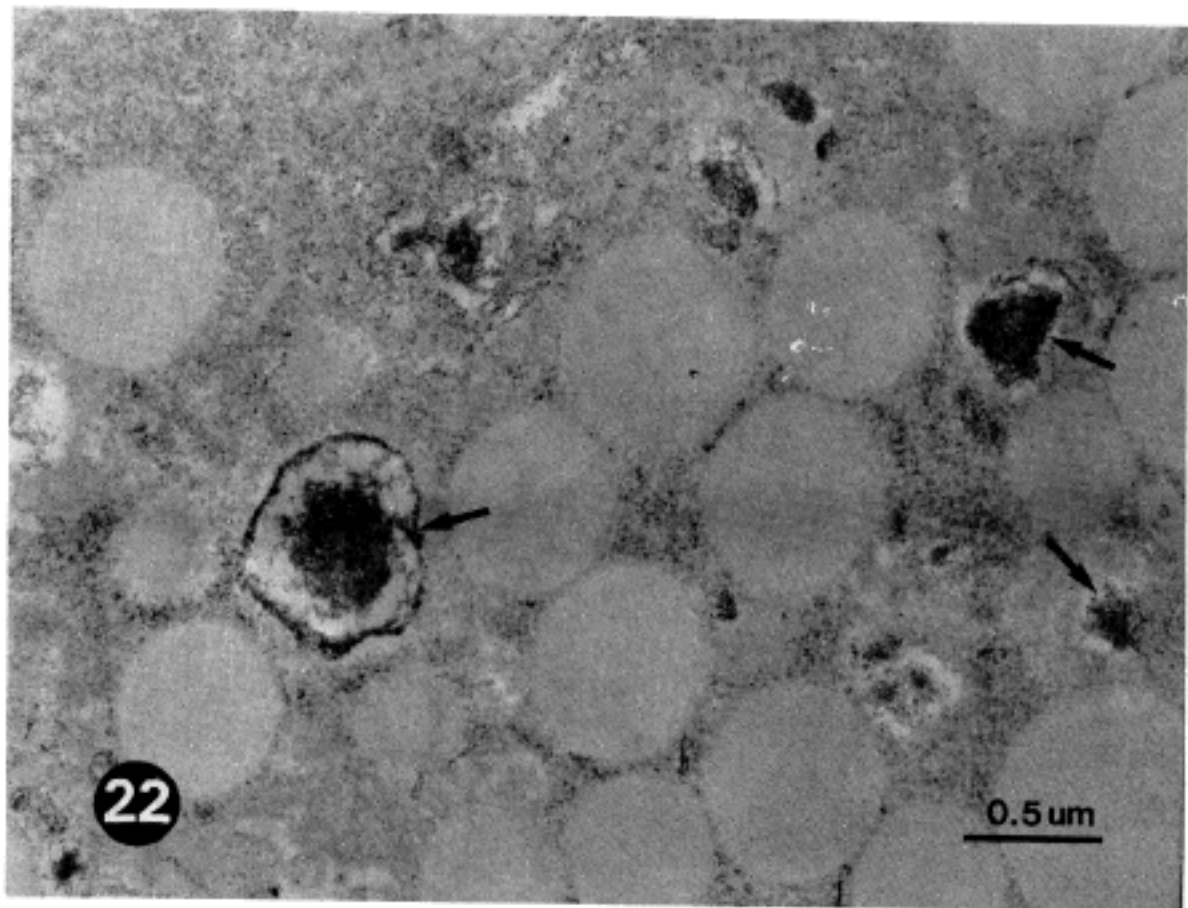


Fig. 22. Exocrine cell, pancreas, rat, control. The primary lysosomes show homogeneously distributed electron-dense reactive products(arrow). Acid phosphatase stain. ($\times 34,000$)

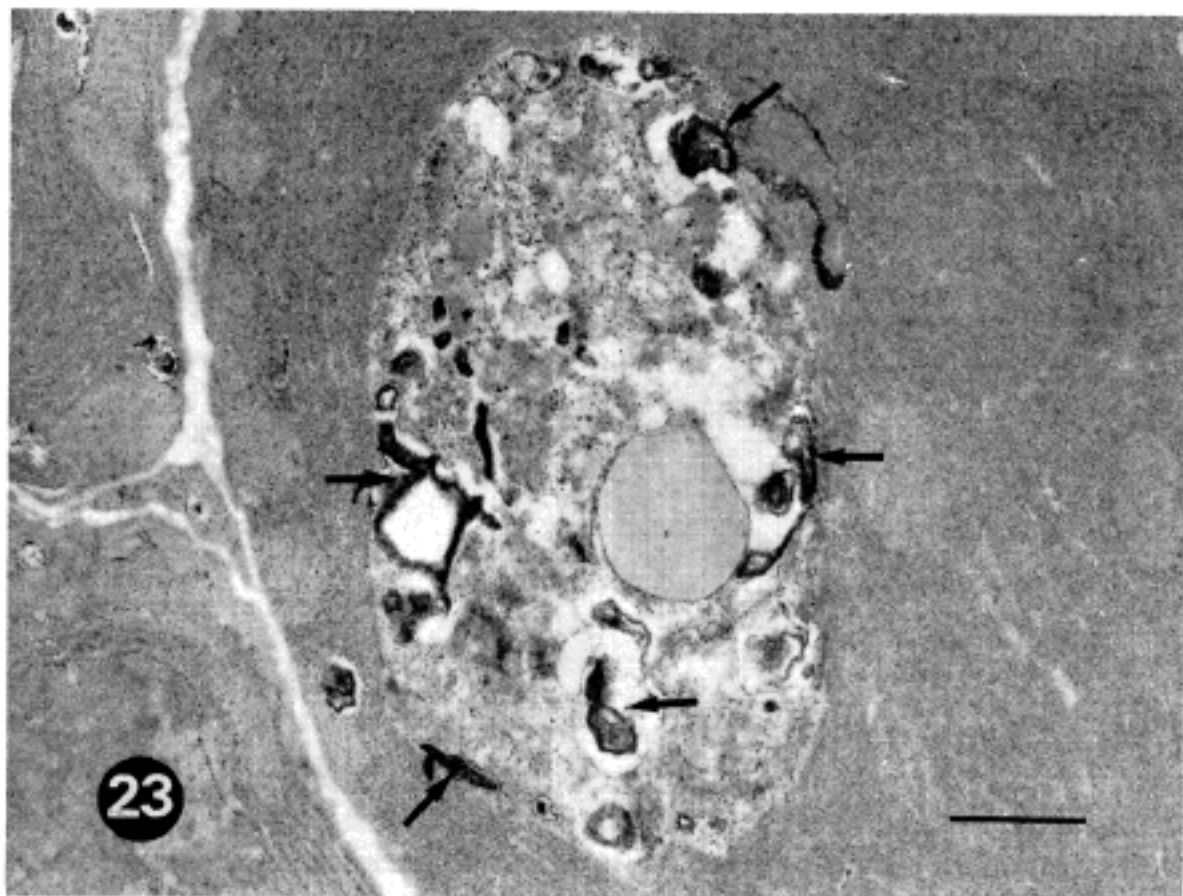


Fig. 23. Exocrine cell, pancreas, rat, 6 hours after injection of endotoxin. Electron-dense reactive products(arrow) are seen on the peripheral zone of the secondary lysosome. The electron-dense reactive products are detected in irregular pattern. Acid phosphatase stain. ($\times 17,000$)

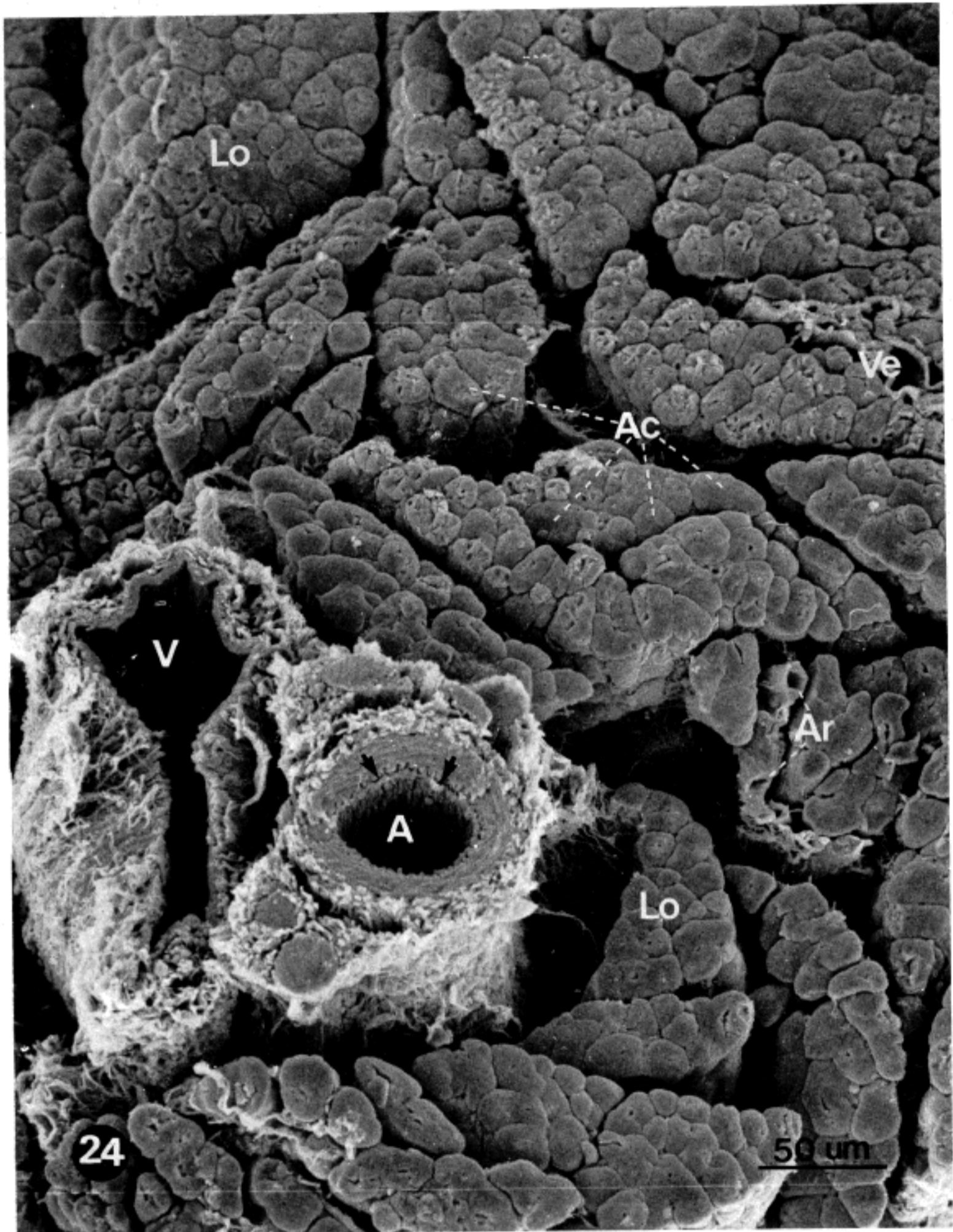


Fig. 24. Pancreas profile, rat, control. Scanning electron microscopic features of pancreatic tissue. Well defined lobular structures with scattered acini, artery and vein, arterioles, venules and interstitium are observed. ($\times 1,500$)

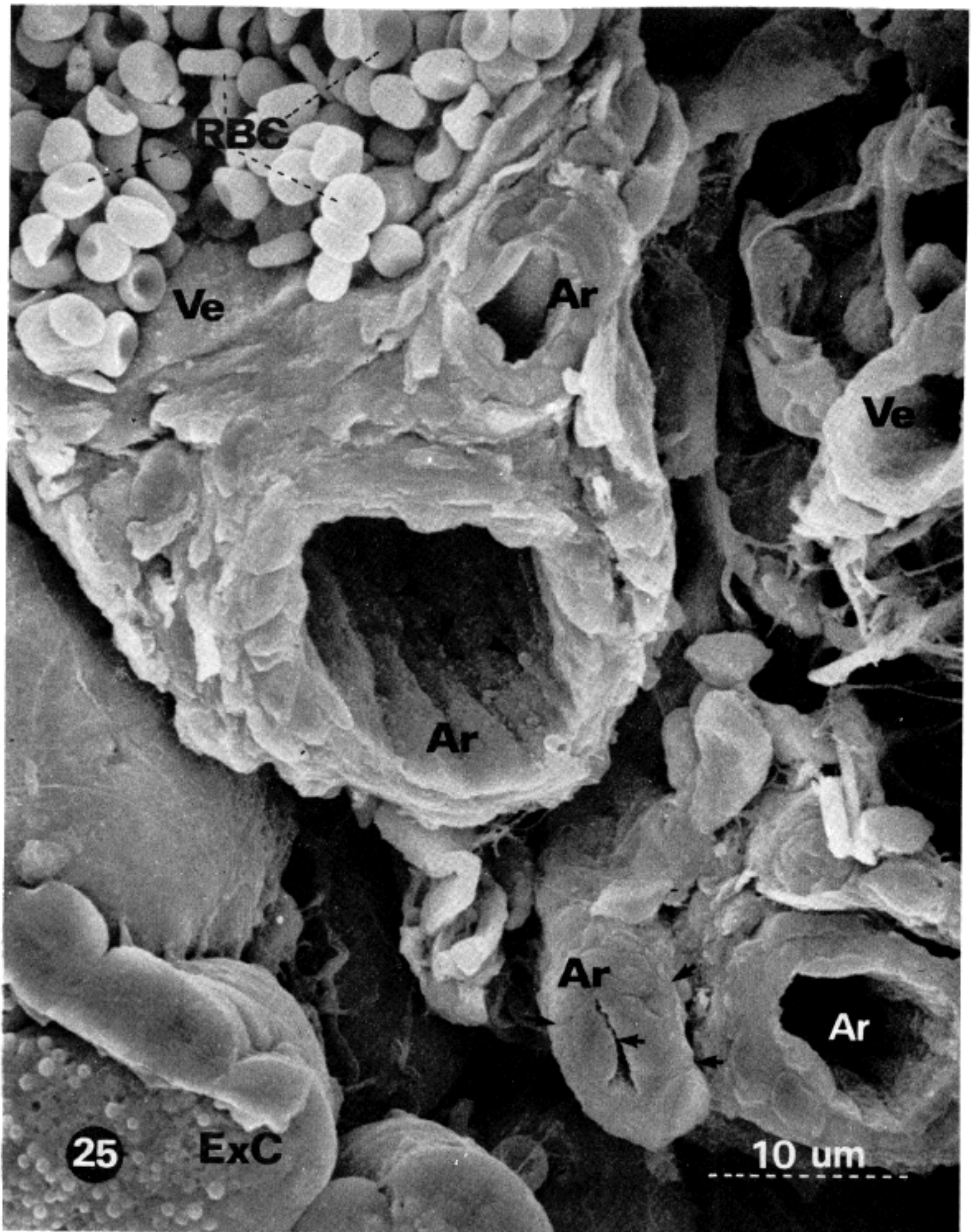


Fig. 25. Arteriole and venule, pancreas, rat, 2 hours after injection of endotoxin. The luminal surfaces of the endothelium show mild swelling, disarrangement, focal microvillous changes (arrow head). The arteriolar walls show prominent thickening with luminal narrowing (arrow). The lumen of the venule is crowded with red blood cells. SEM. ($\times 14,000$)

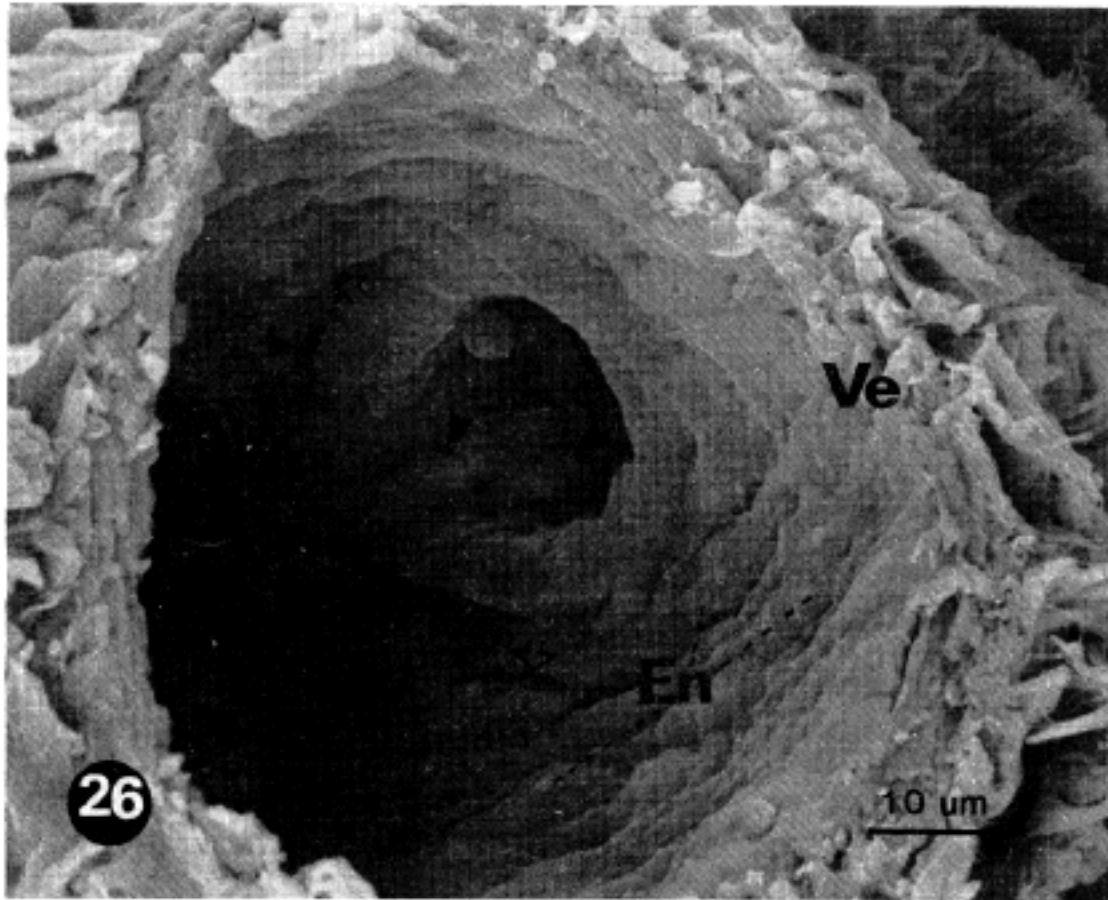


Fig. 26. Venule, pancreas, rat, 4 hours after injection of endotoxin. The opening portion of the venular branch shows marked swelling and irregularity of the endothelium (arrow head). The luminal surface shows also mild degree of endothelial folds and gullies. (SEM, $\times 2,000$)

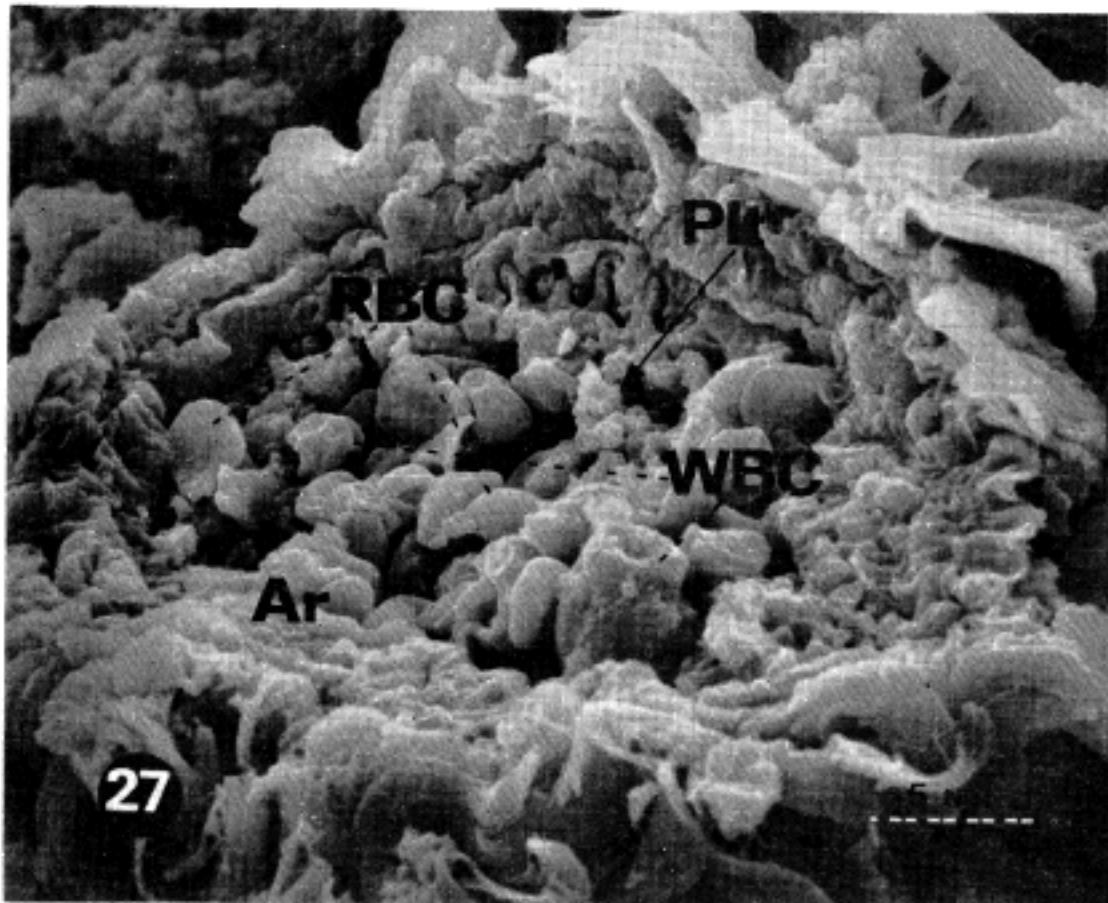


Fig. 27. Arteriole, pancreas rat, 6 hours after injection of endotoxin. The luminal surface is crowded with red blood cells, white blood cells and some platelet particles which form thrombus-like pattern and obliterate the vascular lumen. (SEM, $\times 4,000$)

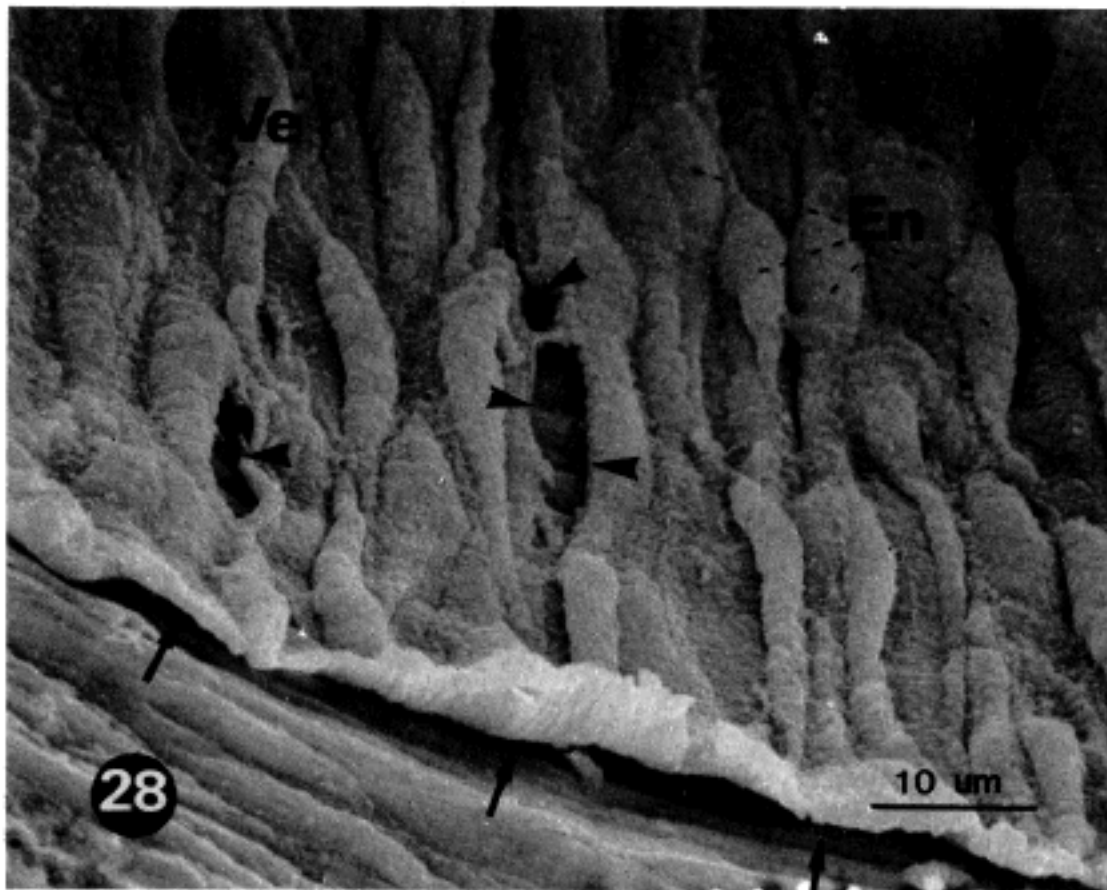


Fig. 28. Venule, pancreas, rat, 8 hours after injection of endotoxin. Focal tearing (arrow head) and detachment (arrow) are seen. (SEM, $\times 2,000$)

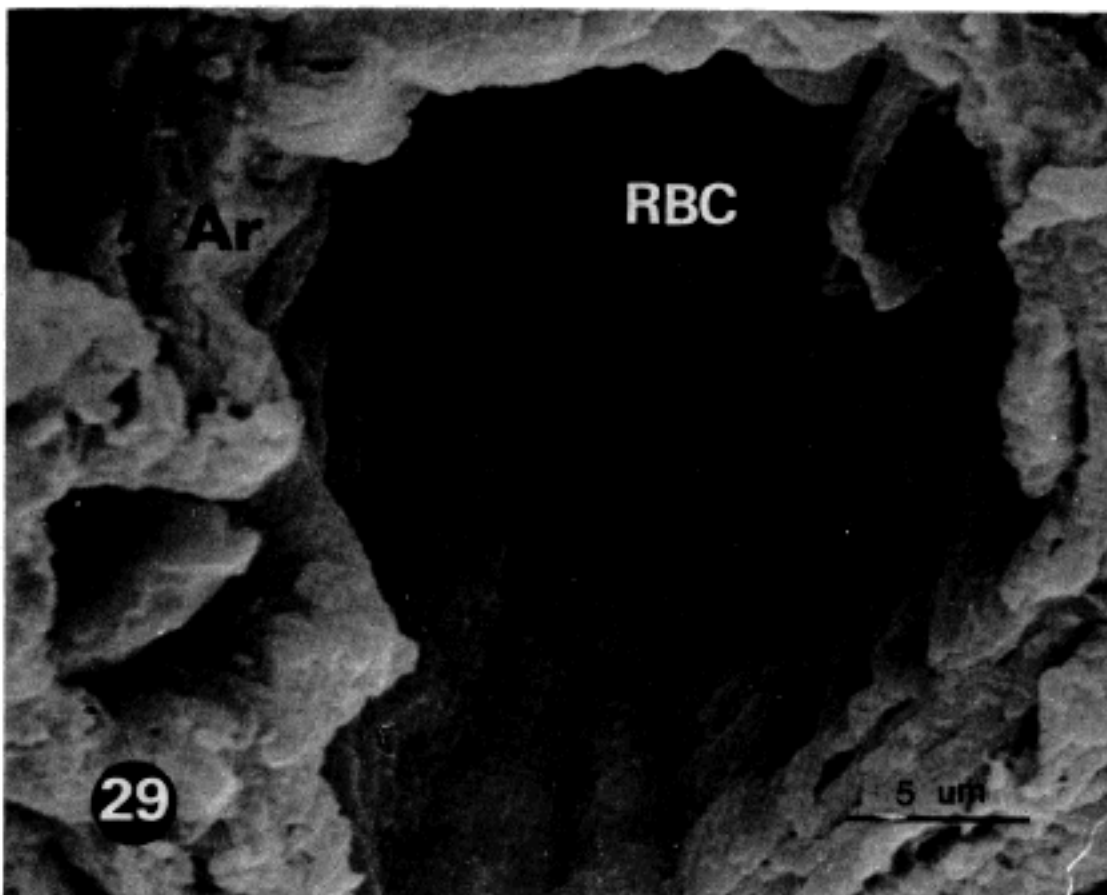


Fig. 29. Arteriole, pancreas, rat, 8 hours after injection of endotoxin. The contracted luminal surface of the endothelium, shows marked swelling, irregularity folds and gullies (arrow). (SEM, $\times 5,000$)

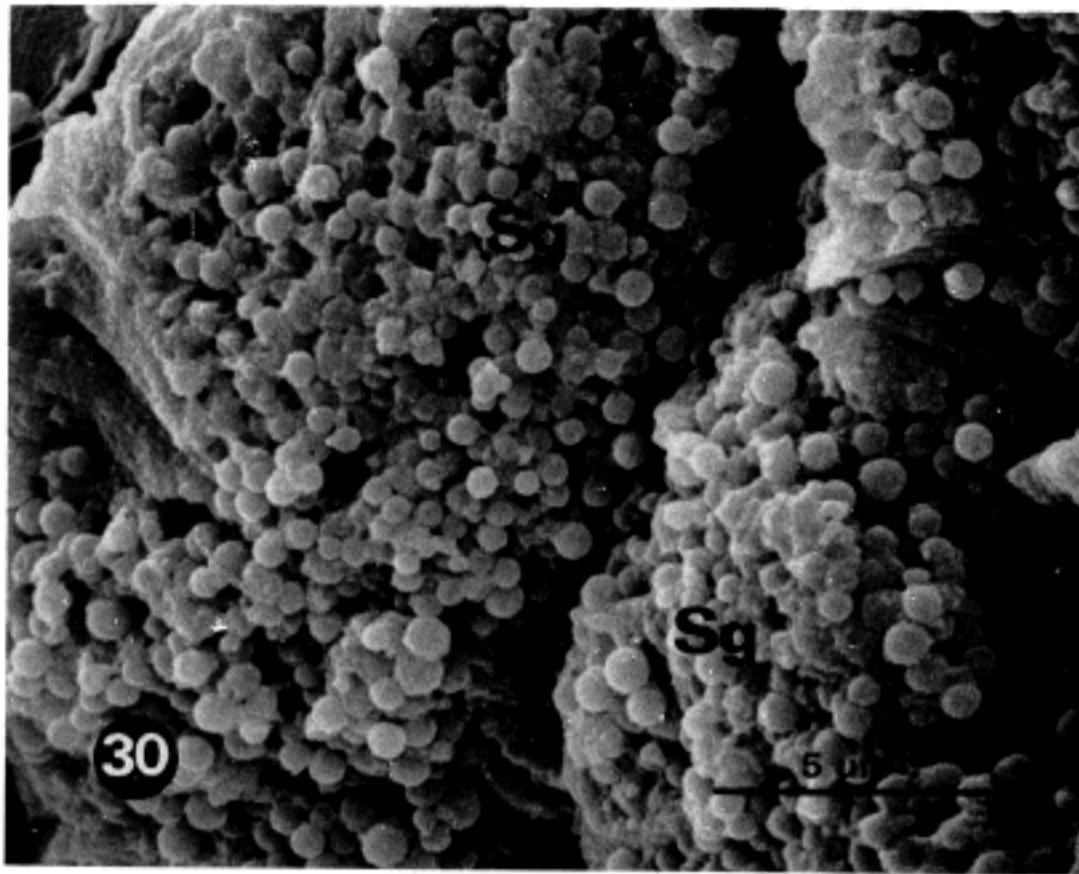


Fig. 30. Exocrine cell, pancreas, rat, 4 hours after injection of endotoxin. Decreased secretory granules are present on the apical portion. (SEM, $\times 7,000$)

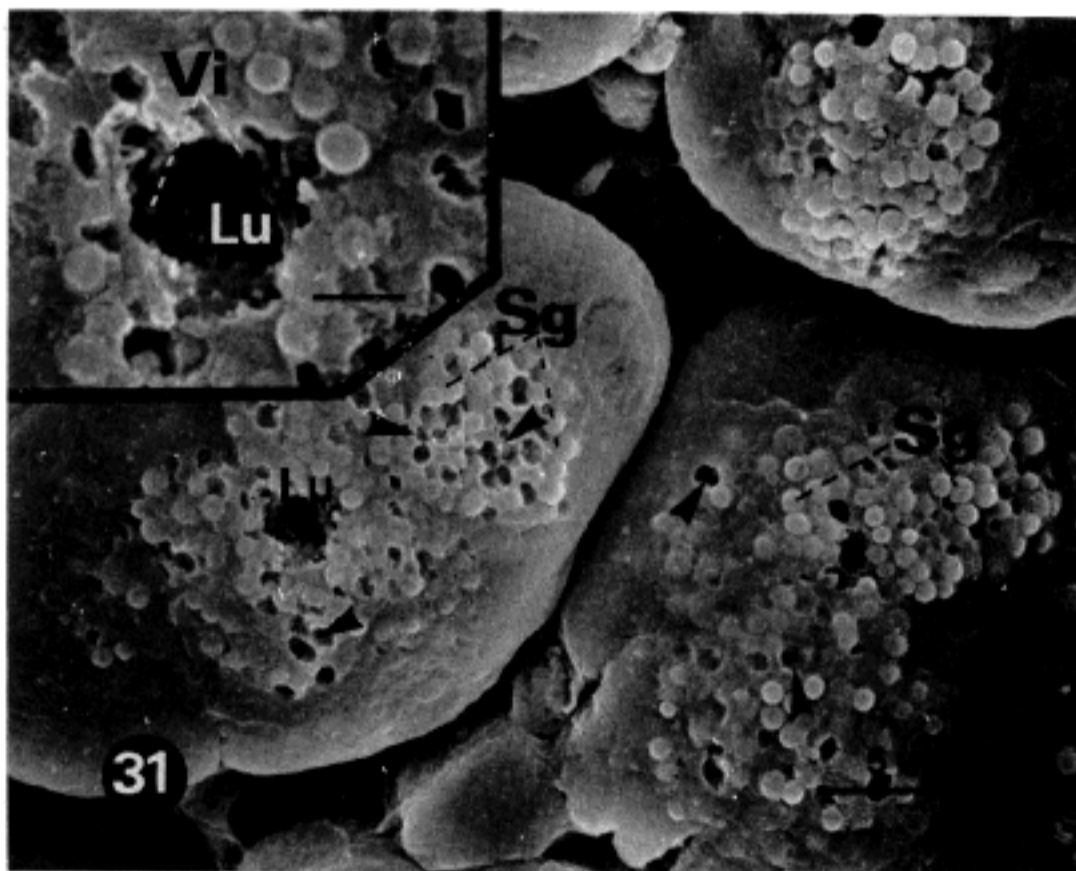


Fig. 31. Exocrine cell, pancreas, rat, 8 hours after injection of endotoxin. The apical portions of the exocrine cells show markedly decreased secretory granules with empty spaces (arrow head). The apical lumen shows dilation with a few remaining microvilli. $\times 4,500$. Inset is magnification of the apical lumen. (SEM, $\times 11,000$)