

무당개구리 (*Bombina orientalis*) 피부 상처치유과정 중 표피의 재형성

정 문 진*, 문 명 진¹

KIST 생명공학연구소 면역조절 연구그룹, ¹단국대학교 자연과학대학 생물과학부

Remodeling of the Epidermis during Skin Wound Healing in *Bombina orientalis*

Moon-Jin Jeong* and Myung-Jin Moon¹

Immune Regulation Research Unit, Korea Research Institute of Bioscience and
Biotechnology, KIST, Taejon, 305-600

¹Department of Biological Sciences, Dankook University, Cheonan 330-714

(Received March 26, 1999)

ABSTRACT

Remodeling of epithelial cells during wound healing in the skin of the Korean fire-bellied toad, *Bombina orientalis*, were examined using the scanning and transmission electron microscopical analyses. Artificial wounds were induced on the dorsal surface of the skin by excision, and reared in special cages with normal diets for up to 31 days after injury.

From 4 days after wounding, regenerated epithelial cells are more rapidly migrated to wounding area, and remodeling of tissue components are proceeded gradually. Especially, formation of basal lamina between regenerated epithelium and dermis, and reconstruction of cellular junctions such as desmosomes (among the regenerated epithelial cells) and hemidesmosomes (between basal epithelial cells and basal lamina) are detected through fine structural analysis from 10 days after injury. Parakeratosis of regenerated epithelial cells observed during 16 to 19 days after wounding.

Key words : Remodeling, Epidermis, Skin, Wound healing, *Bombina orientalis*

서 론

동물의 상처치유(wound healing) 반응은 생명체의

가장 기본적인 자기 방어 수단으로 내재적 또는 외
적인 자극에 의하여 유도된 세포의 손상을 치유하고
복구하는 과정을 의미한다(McGee et al., 1988). 생물
체의 손상된 상처가 치유되거나 재생되는 과정은 그

* Correspondence should be addressed to Dr. Moon-Jin Jeong, Immune Regulation Research Unit, Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology, KIST, 52 Eoeun-dong, Taejon, 305-600, Korea. Ph: (042) 860-4186, FAX: (042) 860-4593, E-mail: jeongmj4@kribb4680.kribb.re.kr

생물의 초기 발생이나 성장, 또는 노화의 한 과정과 본질적으로 동일하므로 상처 치유반응에 의한 세포나 조직의 분화를 연구함으로써 초기 발생에 대한 많은 정보를 얻을 수 있다(Adzick et al., 1985; Kistler & Ihara, 1989; Whitby & Ferguson, 1991).

궁극적으로 피부의 상처가 치유되는 현상은 상피세포의 이동에 의한 것으로(Ortonne et al., 1981; Clark et al., 1982), 상처 부분에 이접한 상피세포가 상처를 복구하기 위한 가장 기본적이고도 실질적인 반응임이 확인되었다(Diegelmann et al., 1986). 특히 표피가 수행하는 대부분의 기능이 상피세포 중 각질화된 각질세포로부터 기인하는 것으로 알려져 있으므로(Watt, 1983), 상피 각질세포의 이동(migration)와 재배열(rearrangement)을 일으키는 요인을 확인하게 되면 실질적으로 상처 치유과정의 본질을 이해할 수 있을 것으로 예측된다.

상처치유반응에 의한 피부 상피세포의 이동과 분화 경로를 탐색하기 위해서는 포유동물의 경우 인간의 피부와 유사한 조직학적 특성을 가진 실험용 설치류가 적합하며, 이 경우 태생 직후의 생쥐를 선별하여 실험에 사용될 수 있을 것이다(Cheng et al., 1988). 실제로 상처 치유와 관련된 연구들의 상당 부분이 실험용 생쥐를 대상으로 시행되고 있다. 그러나 이 경우 상피세포의 초기 이동 과정의 분화 경로를 확인하기 위해서는 태생기 이전의 실험재료에 대해 미세 수술을 행하여야 하고, 다시 이를 일정기간 보육하여야 하는 등, 상당히 까다로운 실험 조건을 충족시켜야 한다는 난점을 가지고 있다(Barbul et al., 1989; Siebert et al., 1990a, b).

포유류의 중층상피는 두꺼워서 상처가 봉합되는 동안 상피세포들이 장벽의 형태로 무리를 지어 이동하는지 아니면 각기 독립적으로 이동하는지 확인되지 않았다. 이동 기작에 관한 대부분의 연구는 물질을 유도하거나 조직배양, 세포배양을 이용하였다(Pang et al., 1978). 포유류의 피부상피와 유사한 조직 구성을 지니며, 단일 서식환경에서 생활하는 포유류에 비해 육상과 수중에 적응하며 서식하는 양서류는 상처에 효과적으로 반응할 것으로 생각된다. 그러나, 양서류 상피를 이용한 상처치유에 관한 연구는 현재까지 대부분이 초보적인 단계에 머물고 있다(Dunlap,

1980; Repesh & Oberpriller, 1980; Yamanaka & Eguchi, 1981).

따라서, 본 실험은 생물의 상처치유 반응에 대한 정립된 모형을 제시하고, 상처 치유과정 중 피부 조직세포의 이동과 분화를 규명하기 위한 연구의 일환으로, 양서류에 속하는 무당개구리를 대상으로 이미 발표된 상처 초기반응(Jeong & Moon, 1998a)과 진피 치유과정(Jeong & Moon, 1998b)에 이어 회복기간중 피부 상피세포의 이동과 재배열과정을 미세구조적인 측면에서 분석 보고하고자 한다.

재료 및 방법

실험실에서 항온처리($26 \pm 2^\circ\text{C}$)한 후 사육한 무당개구리(*Bombina orientalis* Boulenger) 성체를 실험재료로 사용하였다. 성체 배피의 녹색발현부위를 시중에서 시판되는 양면 면도칼을 이용하여 $1 \times 1 \text{ mm}^2$ 의 크기로 피부의 진피 부위까지 절개하였다. 인위적으로 피부의 일정 부위에 유도한 상처를 항온 수조 속에서 상처의 완전 회복시점까지 사육하였고, 상처 부위의 자연 치유과정을 관찰하였다.

실험재료를 적출한 다음, 2.5% paraformaldehyde-glutaraldehyde(4°C , phosphate buffer, pH 7.2)에 1시간 고정한 후, 다시 해부현미경하에서 적출된 피부중 녹색발현 부위만을 세분하였다. 세분된 각 조직들은 다시 동일 고정액 내에서 1시간 동안 충분히 고정하였다. Sorenson's phosphate buffer(4°C , pH 7.2)로 10분씩 3회 세척한 후, 1% OsO_4 (4°C , phosphate buffer, pH 7.2)로 2시간 후고정 하였다. 이어서 동일 완충용액을 사용하여 충분히 세척하여 에탄올 농도상승 순으로 탈수하였다. 탈수를 마친 조직은 propylene oxide로 치환하여 Epon 혼합액(Polyscience)에 포매한 뒤, 진공건조오븐(Yamato, Japan)에서 60°C 로 48시간 중합하였다.

포매한 시료는 ultramicrotome(LKB Co., Sweden)으로 준 초박절편을 제작하여 1% toluidine blue(1% borax)로 염색하였다. 이어서 초박절편을 제작하여 copper grid에 부착시킨 다음, uranyl acetate와 lead citrate로 이중 염색하여 JEM 100 CX-II형 투과 전자현미경으로 80 kV에서 관찰하였다.

인위적으로 유발한 피부의 상처 부위를 확인하고, 피부 상피세포의 이동 형태를 관찰하기 위해 적절한 시료를 Nation (1983)의 방법에 따라 4% glutaraldehyde (0.1 M cacodylate buffer, pH 7.2) 용액에 2시간 고정하였다.

동일 완충용액으로 여러 번 수세한 다음, 중류수로 5분간 수세하고, 에탄올 농도 순으로 탈수한 뒤, Hexamethyldisilazane (HMDS, Sigma)로 건조시킨 후, Polaron Sputter Coater (Bio-Rad, USA)로 gold plasma를 피복하였다. 완성된 시료는 JEOL 840A형 주사 전자현미경으로 15 kV에서 관찰 및 촬영하였다.

결 과

상처 유도 4일 후 재생되는 상피세포들은 3~4층을 형성하였으며, 세포들의 크기는 상층에서 하층으로 갈수록 크게 신장되었고, 세포간의 간격 또한 세포층의 기저부를 향할수록 넓었다(Plate 1-1).

기저층에 위치한 세포는 원주형인 위쪽 세포를 향하여 세포질 돌기들을 내어 데스모소음을 형성하여 연결되어 있었다. 핵은 세포질의 대부분을 차지할 정도로 크고, 기저막이 형성되었으며, 헤미데스모소음 역시 관찰되었다. 이 세포들은 재생되어 이동한 뒤 인접세포들과 가늘고 긴 세포질 돌기를 뺀 데스모소음을 형성하는 등 세포간의 결합이 진행중인 것으로 확인되었다(Plate 1-2). 형성된 기저막에 부착된 세포들 사이에는 원기세포들이 위치하고 있었으며, 이 세포들은 불규칙한 난형 또는 타원형으로 세포의 크기는 다른 세포들에 비해 작게 관찰되었고, 핵은 난형으로 세포의 대부분을 차지하고 있었다(Plate 1-3).

기저층 위로 위치한 세포들의 세포질에는 대부분 케라토히알린 과립으로 채워져 있었으며, 정상조직의 각질층에 해당하는 지역에서는 세포의 핵이 남아있는 상태로 관찰되었다. 이러한 상피의 재생과 성장은 7일까지도 이어졌으며(Plate 1-4, 5), 10일 후 기저층에 위치한 세포의 기저부위에는 기저막에 헤미데스모소음이 형성되었으며, 상층의 세포들과의 세포간격도 좁아졌다. 이외는 대조적으로 기저층세포 상부에 위치한 세포는 형태가 극도로 불규칙하게 관찰되었

으며, 가늘고 긴 세포질 돌기를 내었고, 다른 세포들과는 데스모소음으로 연결되어 관찰되었다(Plate 1-6, 7).

재생된 상피층의 세포들의 간격은 시간이 경과함(13일 후)에 따라 조밀해졌으나(Plate 2-1), 세포의 크기는 신장되었다(Plate 2-2). 기저층 위쪽 중간층에 위치한 세포들은 세포질 내에 케라토히알린 과립을 지니고 있었으며, 정상조직의 이행 상피층에 속하는 과립층의 세포들은 이미 투명층과 각질층으로 이행되기 전에 퇴화하기 시작하였다(Plate 2-3).

과립층에 위치한 세포들 중 일부는 부정형의 큰 세포형태를 취하고 있었으며, 세포질에는 대부분 당김미세섬유들이 분포하고 있었고, 전자밀도가 높은 케라토히알린 과립도 관찰되었다. 과립층 세포들과 투명층 세포 사이의 연결은 이미 대부분 소실되었으며, 각질층에 인접한 투명층 세포의 표면에서는 용모돌기가 관찰되었다(Plate 2-4, 5). 16일 후 각질화가 진행되었던 세포들은 이미 탈락되어 관찰되지 않았으며, 과립층의 세포들은 19일 후에는 퇴화되어 관찰되었다(Plate 2-6, 7).

무당개구리 정상 피부는 각질을 형성하는 각질세포로 이루어진 다섯 층으로 구성되어 있었으며 각질화 과정이 관찰되었다. 즉, 기저세포는 기저층에 수많은 돌기를 내고 있었으며, 교원 섬유가 망상구조를 이루는 결합조직과 연결되어 있었고 이 기저층의 세포들이 이행된 가시층의 세포들은 기저세포보다 다소 크고 데스모소음을 갖는 돌기를 내어서 서로 밀접하게 연결되어 있었다. 세포질에는 많은 당김미세섬유를 포함하며, 유사분열이 활발하게 이루어지고 있었다. 가시층 위의 세포들은 세포질에 케라틴의 전구물질인 케라토히알린 과립들을 지니고 있었으며, 투명층의 세포로 이행되면서 케라틴 물질이 축적되었고, 투명층에서 이행된 세포들은 각질층으로부터 탈락되었다. 그러나, 상처 유도후 16일에서 19일 사이에 집중적으로 관찰된 parakeratosis는 정상 피부 상피조직과 비교하여 투명층의 세포들이 각질층으로 이행되지 않은 채 핵이 남아 있는 형태적인 차이점이 관찰되었으며, 이러한 과정은 회복기간 중 재형성 기간 동안 진행되었다(Fig. 1).

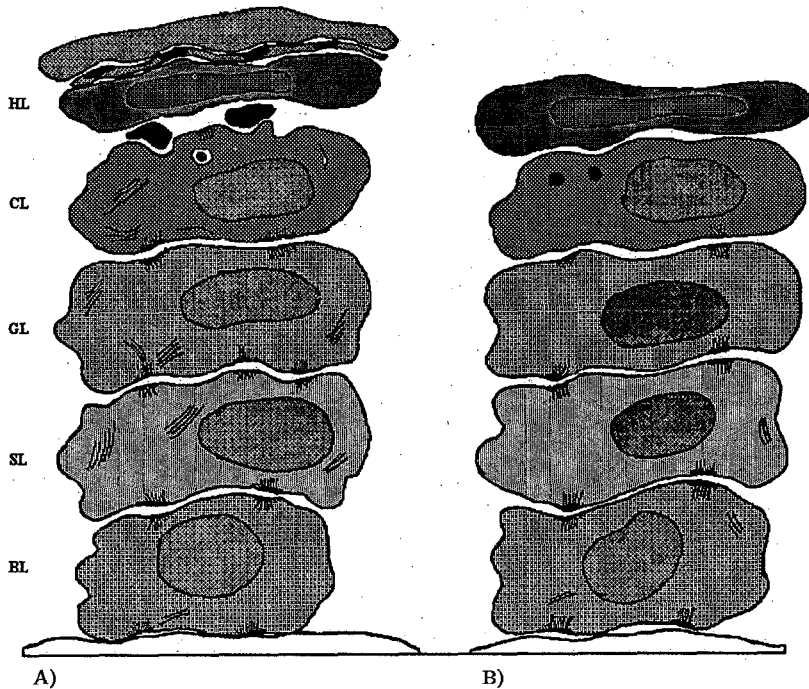


Fig. 1. Comparison of difference between keratinization and parakeratosis process during wound healing in *Bombina orientalis*. A), normal keratinization; B), parakeratosis. BL, basal layer; SL, spinous layer; GL, granular layer; CL, clear layer; HL, horny layer

고 찰

상처 봉합(wound closure)에 관여하는 세포들은 주로 인접한 상피조직에서 유래되며, 모발의 경우 모낭의 외근세포층 그리고 한선에서 유래된다(Pang et al., 1978; Gill & Atwood, 1981). 양서류에서는 상피조직의 기저층뿐만 아니라 투명층의 세포들이 상처부위로 유주하며(Repesh & Oberpriller, 1980), 포유류에서는 기저층 위 유극층의 세포들이 이동한다(Alexander, 1981). 발생중인 닭의 피부에서 발생중인 주피는 상피보다 먼저 이동한다(Thevenet, 1981, 1983). 각막조직에서는 이동하는 세포들이 서로 가깝게 밀착된 상태로 라멜라를 형성하며, 또 다른 세포에 가깝게 이동하여 세포들간에 느슨하게 벌어진 사이를 밀착시킨다(Honda et al., 1982). 이주상피의 세포내 공간은 확장되어 있고, 데스모소움도 거의 없는 상태를 유지

하며, 올챙이 상피조직의 경우 표피성 세포들은 기저 세포들이 아래쪽에 자리를 잡음으로써 수동적으로 움직이는 것으로 생각되고 있다(Radice, 1980a, b).

무당개구리의 상처봉합은 상처유도 후 1일부터 3일 사이에 현저하게 관찰되었으며, 기저층과 투명층(Jeong & Moon, Unpublished results)으로 부터 재생된 상피세포는 정상형이었다. 세포간은 데스모소움에 의해 연결되어 있었다. 상처주변에 위치한 상피세포는 2일이 경과된 시료관찰에서 상처 아래쪽으로 이동하였으며, 세포들 간의 결합은 유지하면서 신장된 것을 확인할 수 있었다. 3일이 경과된 조직에서 상처 중앙부위로 이동한 세포들은 타원형의 편평 세포였으며, 세포표면은 대부분 가시와 같은 짧은 돌기를 내고 있었고, 세포간에는 데스모소움으로 이루어진 세포다리를 형성하고 있었다(Jeong & Moon, 1998a). 사슴뿔(Goss, 1973)을 대상으로 한 피부 재생연구에서, 뿔(antler)의 재생은 상피세포가 비후 되면서 병질의 원

위 끝을 덮음으로서 이루어진다고 하였다. 토끼 귀에 생긴 구멍의 재생은 상처 끝에서 상피세포들이 결합 조직 쪽으로 긴 혀와 같이 길게 성장됨으로서 진행 된다고 하였다. 이처럼 아래로 성장하는 세포들은 발생 중인 재생아를 둘러싼다. 이러한 상피의 유도효과는 어린아이의 손가락 재생에서도 유사하게 발견되었고, urodele의 사지에서도 관찰되었다(Illingworth, 1974).

본 실험에서 상처 유도 4일 후 재생되는 상피세포들은 3~4층을 형성하였으며, 세포들의 크기는 상층에서 하층으로 갈수록 크게 신장되어 있음이 관찰되었다. 세포 간격 또한 세포층의 기저부를 향할수록 넓어졌다. 기저층에 위치한 세포는 Repesh & Oberpriller (1980)의 관찰 결과와 동일하게 세포질 돌기들을 내어 테스모소움이 형성되어 있었고, 원주형이었다. 기저막이 형성된 세포들 사이에는 원기세포들이 위치하고 있었으며, 이 세포들은 불규칙한 난형 또는 타원형으로 세포의 크기는 다른 세포들에 비해 작게 관찰되었다. 상피조직이 재생될 때는 원기세포들의 분열과 이동이 동반되어야 하므로, 무당개구리 상피는 시간이 경과함에 따라 상처가 치유될 것으로 사료된다.

생쥐의 발가락을 절단하였을 때 재생아가 형성되지 않을 경우 재생은 이루어지지 않으며, 고등 척추동물 상처에서 상피는 미분화된 진피성 세포의 탈분화를 유도하는 기능이 없고, 재생아 형성이 일어나지 않으면 상흔조직이 발달하게 된다고 하였다(Tassava & Olsen, 1982; Liversage & McLaughlin, 1983; Tassava et al., 1983).

위에서 언급된 것처럼 재생아 형성의 유무가 상처의 치유에 직접적인 관련이 있는 것으로 보아, 상처 유도시 재생아와 동일한 역할을 하는 것으로 생각되었던 원기세포들이 상피세포들의 기저부에서 관찰되었으며, 정상조직과 동일한 조직구성을 형성 할 것으로 추측되었다. 본 연구에서 치유된 시점으로 확인된 31일 경의 상피조직의 관찰 결과 역시 추측했던 점과 일치되는 조직구성을 이루고 있었다.

이동 중인 상피세포의 앞쪽이 다른 세포들과 접하면, 이동이 거의 순간적으로 멈추고 세포들이 차곡차곡 쌓여, 상처 중앙부위에서 상피의 두께는 점차로

두꺼워 진다(Repesh & Oberpriller, 1980; Gill & Atwood, 1981). 그리고, 사람의 경우, 수분유실을 막는 방어 벽으로서 기능은 재생되는 상피조직이 정상적으로 각질화세포의 기능을 지닐 수 있을 때까지 parakeratosis가 일어남으로서 복구된다(Matoltsy et al., 1962). 파충류에서 피부가 수분 투과성 장벽의 기능을 할 수 있도록 복구되는 것은 종에 따라 상당한 차이를 나타내며, 증식되는 각질화세포는 정상조직과 유사하게 형성되며 특이한 발생구조는 나타나지 않는다고 알려져 있다(Lillywhite & Maderson, 1982).

본 연구에서 무당개구리 피부의 상처회복 기간동안 관찰된 parakeratosis는 재생되는 상피세포들이 회복기간 동안에 사람의 경우와 유사하게 수분유실을 막는 방어벽으로서의 기능을 하며, 또한 허물을 벗는데 관여하는 것을 알 수 있다.

감사의 글

본 연구는 1998년도 과학기술 기초중점연구비의 지원에 의한 것임 (과제번호: 기초과학연구비 1998-015-000207).

참 고 문 헌

- Adzick NS, Harrison MR, Glick PL, Becksted JH, Villa RL, Scheuenstuhl H, Goodson WH: Comparison of fetal, newborn, and adult wound healing by histologic, enzyme histochemical, and hydroxyproline determinations. *J Pediatr Surg* 20: 315-319, 1985.
- Alexander SA: Patterns of epidermal cell polarity in healing open wounds. *J Surg Res* 31: 456-462, 1981.
- Barbul A, Shawe T, Rotter SM, Efron JE, Wasserkrug HL, Badway SB: Wound healing in nude mice: A study on the role of lymphocytes in fibroplasia. *Surgery* 105: 764-769, 1989.
- Cheng CY, Martin DE, Legget CG: Fibronectin enhances healing of excised wounds in rats. *Arch Dermatol* 124: 221-234, 1988.
- Clark RAF, Lanigan JM, DellaPelle P, Manseau E, Dvorak HF, Colvin RB: Fibronectin and fibrin provide a provisional matrix for epidermal cell migration during wound closure. *J Invest Dermatol* 79: 264-276, 1982.

- Diegelmann RF, Lindblad WJ, Cohen IK: A subcutaneous implant for wound healing studies in humans. *J Surg Res* 40: 229-240, 1986.
- Dunlap MK: Cyclic AMP levels in migrating and non-migrating newt epidermal cells. *J Cell Physiol* 104: 367-373, 1980.
- Gill BP, Atwood JR: Reciprocity and helicity used to relate mEGF and wound healing. *Nurs Res* 30: 68-72, 1981.
- Goss RJ: Wound healing and antler regeneration. In: Maibach HI, Rovee DT eds, *Epidermal Wound Healing*, pp. 27-48, Year Book Med, Publ, Chicago, 1973.
- Honda H, Ogito Y, Higuchi S, Kani K: Cell movements in a living mammalian tissue: Long-term observation of individual cells in wounded corneal endothelial of cats. *J Morphol* 174: 25-39, 1982.
- Illingworth CM: Trapped fingers and amputated finger tips in children. *J Pediatr Surg* 9: 853-858, 1974.
- Jeong MJ, Moon MJ: Early healing responses of the skin wounds in the Korean fire-belleid toad, *Bombina orientalis*. *Korean J Electron Microscopy* 28: 329-343, 1998a. (Korean)
- Jeong MJ, Moon MJ: Morphological analysis of the dermal wounds healing responses in *Bombina orientalis*. *Korean J Electron Microscopy* 28: 329-343, 1998b. (Korean)
- Kistler A, Ihara S: Requirement of serum factors for wound closure of embryonic skin *in vitro*. *Ann Plast Surg* 23: 479-487, 1989.
- Lillywhite HB, Maderson PF: Skin structure and permeability. In: Gang C, Pough FH, eds, *Biology of the Reptilia*, pp. 397-442, Academic Press, London, New York, 1982.
- Liversage RA, McLaughlin DS: Effects of delayed amputation on denervated forelimbs of adult newt. *J Embryol Exp Morphol* 75: 1-10, 1983.
- Matoltsy AG, Schragger A, Matoltsy MN: Observations on regeneration of the skin barrier. *J Invest Dermatol* 38: 251-253, 1962.
- McGee GS, Davidson JM, Buckley A, Sommer A, Woodward SC, Aquino AM, Barbour R, Demetiou AA: Recombinant basic fibroblast growth factor accelerates wound healing. *J Surg Res* 45: 145-157, 1988.
- Nation JL: A new method using hexamethyldisilazane for preparation of soft insect tissue for scanning electron microscopy. *Stain Technol* 58: 347-351, 1983.
- Ortonne JP, Loning T, Schmitt D, Thivolet J: Immunomorphological and ultrastructural aspects of keratinocyte migration in epidermal wound healing. *Virchow Arch* 392: 217-230, 1981.
- Pang SC, Daniels WH, Buck RC: Epidermal migration during the healing of suction blisters in rat skin: A scanning and transmission electron microscopic study. *Am J Anat* 153: 177-192, 1978.
- Radice GP: The spreading of epithelial cells during wound closure in *Xenopus laevis*. *Dev Biol* 76: 26-46, 1980a.
- Radice GP: Locomotion and cell-substratum contacts of *Xenopus* epidermal cells *in vitro* and *in situ*. *J Cell Sci* 44: 201-223, 1980b.
- Reפש LA, Oberpriller JC: Ultrastructural studies on migrating epidermal cells during the wound healing stage of regeneration in the adult newt, *Notophthalmus viridescens*. *Am J Anat* 159: 187-208, 1980.
- Siebert JW, Burd DAR, McCarthy JG: Fetal wound healing: A biochemical study of scarless healing. *Plast Reconstr Surg* 43: 571-579, 1990a.
- Siebert JW, Burd DAR, McCarthy JG, Weinzwieg J, Ehrlich HP: Fetal wound healing: A biochemical study of scarless healing. *Plast Reconstr Surg* 85: 495-502, 1990b.
- Tassava RA, Olsen CL: Higher vertebrates do not regenerate digits and legs because the wound epidermis is not functional: A hypothesis. *Differentiation* 22: 151-155, 1982.
- Tassava RA, Treece DP, Olsen CL: Effects of partial denervation on the newt blastema cell cycle. In: Tassava RA, Treece DP, Olsen CL, eds, *Limb Development and Regeneration*, pp. 537-545, Liss, New York, 1983.
- Thevenet A: Wound healing of the integument in the 5-day chick embryo. *Arch Microsc Morphol Exp* 70: 227-244, 1981.
- Thevenet A: Cicatrisation de la peau d'embryon de poulet de 7 jours cultivee *in vitro*. *Arch Microsc Morphol Exp* 72: 23-46, 1983.
- Watt FM: Involucrin and other marks of keratinocyte terminal differentiation. *J Invest Dermatol* 81: 100-103, 1983.
- Whitby DJ, Ferguson MWJ: The extracellular matrix of lip wounds in fetal, neonatal and adult mice. *Development* 112: 651-668, 1991.
- Yamanaka H, Eguchi G: Regeneration of the cornea in adult newts: Overall process and behavior of epithelial cells. *Differentiation* 19: 84-92, 1981.

<국문초록>

무당개구리 상처치유 과정 중 재생되는 피부 상피세포의 형태학적 특성을 관찰하기 위하여 투과전자현미경을 이용하였다. 상처유도 후 재형성과정 중의 표피는 재생되는 상피세포에 의해 3~4층을 형성하였으며, 세포들의 크기는 상층에서 하층으로 갈수록 크게 신장되어 있음이 관찰되었다. 세포 간격 또한 세포층의 기저부를 향할수록 넓어졌다. 기저층에 위치한 세포는 세포질 돌기들을 내어 데스모소움이 형성되어 있었고, 원주형이었다. 기저막이 형성된 세포들 사이에는 원기세포들이 위

치하고 있었으며, 이 세포들은 불규칙한 난형 또는 타원형으로 세포의 크기는 다른 세포들에 비해 작게 관찰되었다.

따라서, 상피조직은 재생될 때 원기세포들의 분열과 이동이 동반되어야 하므로, 무당개구리 상피는 시간이 경과함에 따라 정상조직과 동일하게 재생될 수 있을 것으로 생각된다. 본 연구에서 상처가 치유된 시점으로 확인된 31일 경의 상피조직의 관찰 결과 역시 추측했던 점과 일치되어 정상과 동일한 조직학적 구성을 이루고 있었다. 또한 재형성 과정 중 상피는 피부가 정상조직으로 형성되기 전까지 수분유실을 막는 방어벽으로서의 기능과 허물을 벗는데 관여하는 것으로 확인되었다.

FIGURE LEGENDS**Plate 1.**

1. TEM image of regenerating epithelial cells at 4 days post wounding. Regenerating epidermis is composed of three or four layers. Scale bar indicates 4 μm .
- 2, 3. Epithelial cell of basal area in wound region. Hemidesmosome of this cell is formed in basal membrane of settled epithelial cell. Stem cells (SC) between these cells does not formed junction. Arrows indicate hemidesmosome. All scale bars indicate 2 μm .
4. Photomicrograph of dorsal skin after 7 days post wounding. Connective tissue is newly formed in wound area. Scale bar indicates 10 μm .
5. Electron micrograph of migrating epithelial cells at 7 days after injury. Spine like processes are seen in flat and irregular epithelial cells. Scale bar indicates 5 μm .
6. SEM image of a wound 10 days post-injury. There are a rest shape epithelial cells in basal region. Scale bar indicates 5 μm .
7. Epithelial cell located in basal region is large cytoplasm and desmosomes (Dm) are seen basal lamina. Scale bar indicates 5 μm .

Plate 2.

- 1, 2. SEM images of epithelial cells at 13 days post wounding. Scale bar of figure 1 indicates 10 μm . Scale bar of figure 2 indicates 2 μm .
3. TEM image of transitional epithelial cells at 13 days after injury. Scale bar indicates 4 μm .
- 4, 5. Enlarged and amorphous shape cells are seen in granular layer. Cytoplasm of these cells contain numerous keratin and electron dense keratohyalin granules (KG). Transitional cells located in clear layer are seen lucid electron dense other than cells. All scale bars indicate 2 μm .
- 6, 7. Parakeratosis of granular epithelial cells during late healing phase. parakeratosis is observed between 16 days and 19 days after wounding. All scale bars indicate 2 μm .

PLATE 1

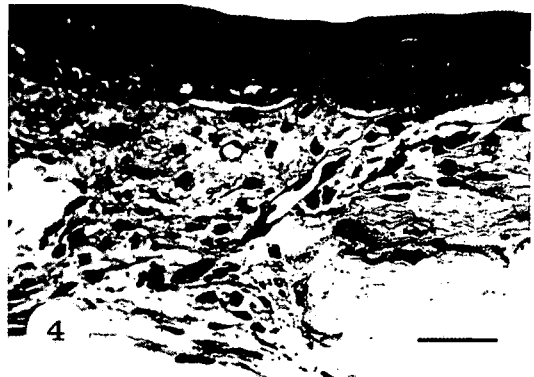
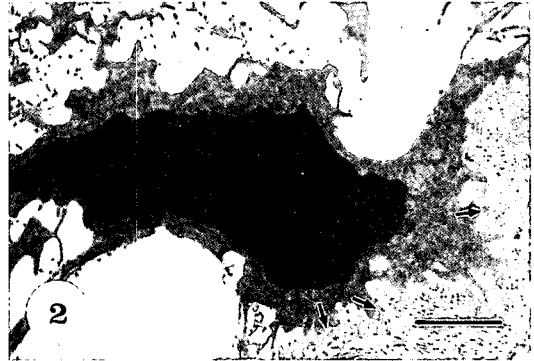


PLATE 2

