

모체의 당뇨병이 흰 쥐 태자 폐세포의 glycosylation에 미치는 영향

울산대학교 의과대학 해부학 교실
홍혜남·김동호

= Abstract =

Effects of Maternal Diabetes on Glycosylation in Fetal Rat Lung

Hong Hea Nam and Kim Dong Ho

Department of Anatomy, University of Ulsan College of Medicine, Asan Medical Center

This study was to investigate the effects of maternal diabetes on glycosylation in the lung of the fetal rat using lectin histochemistry.

Maternal diabetes was induced by intraperitoneal injection of streptozotocin(75mg/kg the body weight) into pregnant Sprague-Dawley rats on the 7th day of gestation. Fetuses of streptozotocin-induced diabetic rats exhibited delayed lung maturation and reduced air space. In lectin histochemistry, the binding of Maclura pomifera(MPA) to fetal lungs from diabetic mothers was reduced, but no significant changes in the binding of Concanavalin A(ConA), Wheat germ agglutinin(WGA)), Ricinus communis I (RCAI) and Ulex eupopaeus I(UEAI) were noted. Because the MPA has affinity to terminal N-acetyl-D-galactosamine residues constantly linked O-glycosidically to serine or threonine, the present finding may indicate that maternal diabetes interfere with the processes of O-linked glycosylation in fetal rat lung.

Key Words : Maternal diabetes, Glycosylation, Lectin histochemistry

I. 서론

세포의 표면에는 carbohydrate를 포함하는 macromolecules들이 있는데, 이들 glycoconjugates는 발생과정 중에 있어서 세포와 세포간의 인식, 상호작용을 하는 중요기능을 가지고 있다고 알려져 있다. 그 중에서 carbohydrate와 protein의 공유결합으로 이루어진 당단백(glycoprotein)은 외부환경에 반응하는 중간조절자의 역할을 하며, 성장과 분화과정을 정상적으로 이끌어 가는 조직특이적인(tissue-specific)

기능을 나타내고 있어,¹ 병리현상 혹은 발생과정시 그 중요성이 부각되고 있다. 발생중에 있는 조직의 상피세포들이 연속적으로 세포표면의 glycoprotein을 발현시키는 것으로 보아 태자기(fetal period)때 glycoprotein의 기능이 강조되며,⁶ neoplasia에서 당뇨병에 이르기까지 직, 간접적인 glycoprotein의 역할에 관하여 관심이 모아져 왔다.

알려진 바와 같이 당뇨병(diabetes mellitus)은 여러 종류의 세포들에게 영향을 끼쳐 기능의 변화를 초래하는 병적 현상중 하나로 그 작용기작을 밝히기 위한 많은 연구가 수행되어 왔다. Chandramouli

등³이 간세포를 재료로 하여 세포표면의 glycoprotein 조성에 diabetes가 미치는 영향을 보고한 이래, diabetes가 세포막 carbohydrate 조성의 변화를 가져온다는 것이 여러 종류의 세포를 대상으로 한 실험에서도 발표되었다.^{4,5} Diabetes의 영향으로 기능의 변화가 유발되는 장기가운데 폐는 먼저 역학(mechanics)기능에 심한 장애를 초래하며, 전체 폐용량(total lung capacity)이 감소되는 것⁶으로 알려져 있다.

특히 모체가 당뇨병에 걸리면 모체의 hyperglycemia가 태자에게서 hyperinsulinemia를 유발시키며,^{7,8} 이 효과가 태자 폐에 미치는 영향은 크다. 당뇨병에 걸린 모체에서 채취한 태자의 폐를 대상으로 한 실험에서 성장이 지연되고⁹ 형태적으로 변형이 생겼으며,¹⁰ lipid의 대사과정에 변이가 초래되었으며,¹¹ 호흡곤란증(respiratory distress syndrome; RDS)을 유발시키는 효과는 정상군에 비해 6배가 높은 것으로 보고된 바 있다.¹² 그러나 모체의 당뇨병으로 인한 태자 폐조직의 여러 변화를 세포표면의 glycoprotein 조성의 변화와 연관시키려는 시도는 극히 적었는데, Dixon과 Jersild¹³가 Concanavalin A(ConA)와 Wheat germ agglutinin(WGA)등 두 종류의 lectin을 사용하여 binding pattern을 관찰한 것 이외에는 그다지 알려진 결과가 없다.

세포표면에 나타나는 glycoprotein은 세포질 내의 조면내형질망(rough endoplasmic reticulum: RER)에서 합성되기 시작하는데, 최종 glycoprotein을 형성하기까지 여러 단계의 합성과정을 거치게 된다. Protein에 oligosaccharide가 부착되는 당질화(glycosylation)과정은 asparagine잔기의 NH₂기에 부착되는 N-linked glycosylation과 serine이나 threonine 잔기의 hydroxyl group에 부착되는 O-linked glycosylation의 두 과정이 존재한다.¹⁴ 그러므로 세포표면에서 발견되는 oligosaccharide는 각 당질화과정의 산물로서 나타나게 되는데, 이를 각각의 oligosaccharide에 특이적으로 결합하는 lectin을 probe로 사용하여 관찰할 수 있게 된다. 예를 들어 N-linked glycosylation의 최종산물인 α -mannose나 galactose 등은 ConA와 Ricinus communis I(RCA)등과 결합하게 되며, O-linked glycosylation의 주산물인 N-acetylgalactosamine은 Maclura pomifera(MPA)와 반응을 나타내는 것으로 알려져 있다.

따라서 본 실험은 streptozotocin을 투여하여 모체에 유발된 당뇨병이 태자 폐세포의 glycosylation과정에 미치는 영향을 lectin histochemistry를 사용하여 알아보고자 계획되었다.

II. 대상 및 방법

1. Streptozotocin 투여

실험동물은 체중 200~250 g 내외의 Sprague-Dawley계의 female rat를 사용하였다. Mating시킨 후 vaginal smear에서 sperm이 발견된 날을 임신 0일로 계산하여 임신 7일째 되는 날 streptozotocin (Sigma Chemical Co.)을 투여하였다. Streptozotocin은 75mg/kg을 50mM citrate buffer(pH 4.0)에 녹여 intraperitoneal injection을 하였으며, 대조군은 동량의 buffer를 투여하였다. 투여 2일후 glucose analyzer로 rat의 blood를 측정하여 serum glucose치가 300 mg/dl 이상인 rat를 실험군으로 사용하였다.

2. Lung preparation

1) 일반적 처치

임신 19일과 21일째 되는 날 penobarbital로 임신한 쥐를 마취시킨 뒤 cesarean section을 하여 양막과 함께 fetus를 절개해 낸 뒤 얼음위에 올려 hypothermia상태로 만든다. 재빨리 decapitation한 뒤 왼쪽 폐의 일정부위를 제거해 내어 normal saline에 담근다.

2) 동결표본 제작

Saline에서 2번 수세한 폐조직을 filter paper로 옮겨 잠시 건조시킨 뒤 -30°C에서 미리 차게 해 둔 isopentane용액에 넣어 자르기 전까지 deep freezer에 보관해 둔다. Tissue section은 crystat에서 5 μ m 두께로 잘라 poly-L-lysine으로 coating한 slide에 붙여 냉장고에 보관한다.

3) Histoiresin표본 제작

폐조직을 2% paraformaldehyde-1% glutaraldehyde 고정액(PH 6.8)으로 4~8시간 고정하고 glycomethacrylate로 포매한 뒤 60°C oven에서 overnight 시킨다. Tissue section은 Supercut(Leica Instrument

Ltd.)을 사용하여 1 μ m로 잘라 poly-L-lysine으로 coating한 slide에 붙인다.

3. Lectin histochemistry

1) Lectins

실험에 사용된 lectin의 종류와 binding specificity, 각 lectin의 inhibitor를 Table 1에 나타내었다.

Table 1. Lectins used in this study.

Lectin	Carbohydrate specificities	Inhibitory sugar
Concanavalin A (ConA)	α -D-glucose	α -Methyl-D-mannose
Wheat germ agglutinin(WGA)	N-acetyl-D-glucosamine N-acetyl-neuraminic acid	N-acetyl-D-glucosamine
Ricinus communis I(RCAI)	β -galactose	lactose
Maclura pomifera(MPA)	N-acetyl- α -galactosamine, α -galactose	menthyl- α -D-galactosamine
Ulex europaeus I(UEAI)	α -L-fucose	α -L-fucose

Lectin은 모두 biotinylated lectin(Vector Laboratories Inc.)을 구입하였으며, inhibitory sugar의 농도는 0.2M, 각 lectin의 농도는 20 μ g/ml로 사용하였다.

2) Lectin staining

Slide를 0.3% H₂O₂용액에 30분간 처리하고 PBS (100mM phosphate buffer, 1mM CaCl₂, 0.9% NaCl)로 잘 수세한 뒤 1% bovine serum albumin(BSA)으로 전처리를 하였다. BSA를 blotting으로 제거한 뒤 각 lectin을 working solution으로 만들어 조직을 염색하였으며, 이 때 inhibitory sugar를 첨가해 준 lectin solution을 따로 만들어 lectin specificity도 함께 조사하였다. 4°C에서 18시간동안 overnight시킨 뒤

PBS로 잘 수세하여 avidine-biotin-complex 용액으로 60분간 incubation하고, PBS로 수세한 뒤 3,3-diaminobenzidine 4HCl(DAB, 0.02%) - H₂O₂(0.01%) 용액으로 20~30분간 발색시켰다. Tris buffer, PBS 그리고 증류수로 수세한 뒤 hematoxylin으로 counterstain하여 관찰하였다.

4) Morphometric analysis

임신 21일째의 실험군과 대조군 historesin 표본을 methylene blue로 염색한 뒤 각 표본당 임의로 10곳을 선정하여 형태학적 계측을 하였다. Quantimet 520 Image Analyzer(Cambridge Instrument Co.)를 이용하여 bronchiolar epithelium과 mesenchymal cell 그리고 air space등이 차지하는 면적을 계측하여 비교하였다.

III. 결 과

정상적인 폐 발달단계에 비추어 볼 때 rat의 태자기 19일째는 세관기(canalicular stage)를 나타내고 21일째는 폐포낭기(terminal sac stage)를 형성한다. 당뇨병이 유발된 모체의 태자 폐조직과 정상 태자 폐조직을 관찰해 보면 태자기 19일에서 큰 차이를 보이지 않다가 태자기 21일째 폐 발달과정의 차이를 나타내었다. 즉 정상 폐조직은 폐포낭기를 형성하고 잘 발달된 bronchiolar system을 나타내며, 납작한 상피세포가 폐포를 싸고 있는 것이 관찰되었는데, 실험군의 폐조직에서는 부분적으로 두꺼운 격막을 가진 세관이 남아 있고, 입방형 상피세포로 둘러싸인 gland의 모양과 유사한 air space가 관찰되었다. Image Analyzer를 이용하여 두 군의 폐조직을 형태학적으로 계측한 결과를 Table 2에 나타내었다.

Table 2. Morphometry of fetal lungs of normal and diabetic mothers.

Experimental conditions	Fetal period	Bronchiolar epithelial cells	Alveolar epithelial cells and mesenchymal cells	Air spaces
Normal	21	4.3%	56.8%	38.2%
Diabetic	21	4.0%	74.2%	22.1%

Table 3. Binding-intensities of ConA on the fetal rat lung.

Experimental conditions	Fetal period	Binding sites					
		Bronchiolar epithelium(IS)		Mesenchyme(IS)		Alveolar area(IS)	
Normal	19	+	(-)	-	(-)	++	(-)
	21	++	(-)	+	(-)	++	(-)
Diabetic	19	+	(-)	+	(-)	++	(-)
	21	++	(-)	+	(-)	++	(-)

Abbreviations : +, weakly positive : ++, moderately positive : +++, strongly positive : -, negative : IS, sections pretreated with inhibitory sugar.

Table 4. Binding intensities of WGA on the fetal rat lung.

Experimental conditions	Fetal period	Binding sites					
		Bronchiolar epithelium(IS)		Mesenchyme(IS)		Alveolar area(IS)	
Normal	19	++	(+)	+	(-)	+++	(+)
	21	+++	(++)	+	(-)	+++	(++)
Diabetic	19	++	(++)	-	(-)	+++	(++)
	21	++	(+)	-	(-)	++	(++)

Abbreviations : +, weakly positive : ++, moderately positive : +++, strongly positive : -, negative : IS, sections pretreated with inhibitory sugar.

Bronchiol을 형성하는 상피세포의 모양은 tall columnar로 두 군에서 서로 비슷하였으며, 차지하는 면적도 별반 차이를 보이지 않았다. 그러나 초기 폐포를 형성하는 주변의 폐포 상피세포와 mesenchymal cell이 차지하는 면적은 실험군에서 더 높게 나타났으며, 따라서 air space는 실험군에서 낮은 면적 비율을 나타내었다.

당뇨병이 유발된 군과 정상군의 태자 폐조직을 ConA로 staining한 결과를 Table 3에 나타내었다. ConA의 binding specificity를 확인하기 위하여 0.2M의 α -D-methyl-mannose를 lectin에 첨가하여 처리

한 결과도 함께 나타내었다.

ConA의 binding affinity는 두 군의 폐조직에서 큰 차이를 보이지 않았으며, 21일 표본에서 19일 표본보다 좀더 강한 결합양상을 관찰할 수 있었다. Inhibitory sugar를 처리한 표본에서는 거의 ConA의 결합양상을 관찰할 수 없었다.

Table 4는 당뇨병이 유발된 군과 정상군의 태자 폐조직에 있어 WGA의 결합양상을 나타내었다. 이때 inhibitory sugar로 사용된 것은 N-acetyl-D-glucosamine이다.

Table 5. Binding intensities of UEAI on the fetal rat lung.

Experimental conditions	Fetal period	Binding sites					
		Bronchiolar epithelium(IS)		Mesenchyme(IS)		Alveolar area(IS)	
Normal	19	+	(-)	-	(-)	-	(-)
	21	+	(-)	-	(-)	+	(-)
Diabetic	19	+	(-)	-	(-)	+	(-)
	21	+	(-)	-	(-)	-	(-)

Abbreviations : +, weakly positive : ++, moderately positive : +++, strongly positive : -, negative : IS, sections pretreated with inhibitory sugar.

WGA의 반응특색은 bronchiolar epithelium과 alveolar area에 강한 결합력을 보이는 것과, inhibi-

tory sugar를 첨가했음에도 완전히 blocking이 되지 않고 약하거나 중간 정도의 반응이 나타난 것이

다.

주로 fucose잔기에 특이적으로 반응하는 것으로 알려진 UEAI의 결합분포양상을 두 군의 폐조직에서 관찰한 결과는 Table 5와 같다. 이 때 사용된 inhibitory sugar는 α -L-fucose이다.

전체적으로 UEAI의 폐조직에 대한 결합력은 낮아 정상군 21일째 군의 bronchiolar epithelium과

alveolar area를 둘러싸고 있는 상피세포의 자유면에서 약한 양성반응이 나타났을 뿐이었다. Inhibitory sugar를 첨가한 표본에서는 거의 반응이 나타나지 않는다.

RCAI lectin과 lactose를 inhibitory sugar로 첨가해 준 lectin의 결합양상은 Table 6에 나타나 있다.

Table 6. Binding intensities of RCAI on the fetal rat lung.

Experimental conditions	Fetal period	Binding sites					
		Bronchiolar epithelium(IS)		Mesenchyme(IS)		Alveolar area(IS)	
Normal	19	+++	(-)	+	(-)	+++	(-)
	21	+++	(-)	++	(-)	+++	(-)
Diabetic	19	+++	(-)	-	(-)	+++	(-)
	21	+++	(-)	+	(-)	+++	(-)

Abbreviations : +, weakly positive : ++, moderately positive : +++, strongly positive : -, negative : IS, sections pretreated with inhibitory sugar.

RCA는 태자기 19일과 21일 모두에서 그리고 실험군과 정상군에서 강한 결합력을 나타내었다. bronchiolar epithelium이나 alveolar epithelium에서도 특히 luminal surface쪽의 결합반응이 관찰되었으며, 정상군 21일 표본에서는 mesenchyme에 중간 정도

의 양성반응이 나타났다. Inhibitory sugar로 인하여 결합반응은 거의 blocking되었음을 관찰하였다.

MPA lectin과 0.2M의 methyl- α -D-galactosamine을 inhibitory sugar로 사용한 실험결과를 Table 7에 정리하였다.

Table 6. Binding intensities of MPA on the fetal rat lung.

Experimental conditions	Fetal period	Binding sites					
		Bronchiolar epithelium(IS)		Mesenchyme(IS)		Alveolar area(IS)	
Normal	19	+	(-)	+	(-)	+	(-)
	21	+++	(-)	+	(-)	+++	(-)
Diabetic	19	+	(-)	-	(-)	-	(-)
	21	+	(-)	-	(-)	+	(-)

Abbreviations : +, weakly positive : ++, moderately positive : +++, strongly positive : -, negative : IS, sections pretreated with inhibitory sugar.

정상군에서 시기에 따른 차이가 나타난 곳은 alveolar area로 19일째 표본에서 드문드문 결합반응을 보여 주다가 21일째는 전반적인 강한 반응을 나타내었다. 이에 비해 실험군에서는 전반적으로 약한 양성 반응이 부분적으로 나타났을 뿐 시기에 따른 차이도 관찰할 수 없었다. Inhibitory sugar를 처리한 표본에서 결합반응이 나타나지 않은 것으로 보아 MPA는 methyl- α -D-galactosamine에 specific함을 확인할 수 있었다.

IV. 고 찰

세포면에 존재하는 glycoprotein의 다양성은 합성시 oligosaccharide가 부착되는 polypeptide의 종류와 oligosaccharide side chain이 광범위하게 modification되기 때문이다.¹⁵ Glycoprotein의 형성은 조면내형질망(rough endoplasmic reticulum : RER)에서 protein이 합성되면서부터 시작된다. 합성된 protein에

oligosaccharide가 부착되는 초기 당질화(initial glycosylation)과정이 ER의 luminal surface에서 일어난다는데 asparagine 잔기의 NH₂기에 부착된다 하여 N-linked glycosylation이라 부른다. ER에서 만들어진 N-linked oligosaccharide는 계속적인 'trimming'과 'processing'과정을 거쳐 최종 glycoprotein을 형성하는데 이 과정은 주로 Golgi apparatus에서 일어나게 된다.¹⁴

세포면에서 발견되는 N-linked oligosaccharide에는 크게 두 종류가 있는데, high-mannose oligosaccharide와 complex oligosaccharide이다. High-mannose type은 새로운 sugar의 첨가없이 나타나게 되어 ConA lectin 과 결합하게 되며, complex type은 Golgi apparatus에서 계속적인 processing으로 복잡한 terminal region을 가지나 그 side chain이 다시 잘려져 N-acetylglucosamine 혹은 galactose를 갖게 되어¹⁴ WGA와 RCA등에 반응을 나타내게 된다.

한편 아직까지 그 pathway가 완전히 밝혀지지 않은 또 다른 glycosylation 과정이 있는데, protein의 serine이나 threonine잔기의 hydroxyl group에 oligosaccharide가 부착되는 O-linked glycosylation이 그것이다. O-linked glycosylation의 초기 당질화 과정은 Golgi apparatus의 cis side에서 일어나는데, 주로 N-acetylgalactosamine을 가지게 되어 MPA등의 lectin과 결합하게 된다.¹⁶

Streptozotocin을 투여하여 모체에 당뇨병을 유발시킨 태자의 폐조직을 다섯 종류의 lectin으로 염색한 뒤 binding affinities를 대조군과 비교해 보았을 때 큰 차이를 나타내지 않은 lectin은 우선 ConA와 RCA를 들 수 있다. 두 lectin이 결합특이성을 갖는 terminal sugar는 α -D-mannose와 β -galactose이며 이 특이성은 inhibitory sugar의 첨가염색시 양성반응이 일어나지 않은 것으로 확인되었다. 또한 α -D-mannose와 β -galactose는 N-linked oligosaccharide에 속한다. 역시 N-linked glycoprotein을 찾아가는 WGA의 경우 21일 군에서 실험군의 결합반응이 감소되는 양상을 보였으며 N-acetylglucosamine을 첨가한 표본에서도 반응이 나타난 것으로 보아 조직의 sialic acid에 WGA가 결합한 것으로 생각된다.

한편 대조군과 비교하여 결합반응이 상당히 감소되어 나타난 MPA의 경우 주로 N-acetyl-D-galac-

tosamine과 결합되는데, 이 sugar는 O-linked glycosylation 과정을 통해 발현된다고 서술한 바 있다. 따라서 실험군의 lectin특이성은 N-linked oligosaccharide와의 결합능에는 별 차이를 보이지 않은 반면 O-linked oligosaccharide와의 결합반응은 감소되어 나타났으므로 O-linked glycosylation 과정중 어느 단계가 저해된 것이 아닌지 추측된다.

Lectin을 사용한 실험을 통하여 β -galactose에 결합하는 RCAI은 type I pneumocyte, N-acetyl-D-galactosamine과 결합하는 MPA는 type II pneumocyte에 특이적으로 반응을 하는 것으로 알려져 있다.^{17,18} 따라서 실험군에 나타난 MPA의 반응감소는 type II pneumocyte의 숫적 감소와 미분화에 따른 것이라 추정할 수도 있다.

본 실험은 streptozotocin의 투여시기를 임신후로 택하였기 때문에 Deuchar¹⁹의 지적처럼 이 효과가 maternal diabetes 단독으로 유발된 것이 아니고 streptozotocin의 직접적인 효과가 관여하였을지도 모른다. 그러나 streptozotocin은 모체에서 재빨리 대사되고 excretion되어 그 직접적인 효과는 사라진다¹³고 하였으므로 모체에 유발된 당뇨병의 효과로 인정하여도 될 것으로 생각한다.

이상으로 살펴본 바와 같이 streptozotocin으로 유발된 모체의 당뇨병은 태자 폐조직에서 O-linked oligosaccharide의 감소를 가져왔는데, 이를 type II pneumocyte의 기능변화와 관련시키기 위해서는 O-linked glycosylation 과정에 대한 전자현미경적 연구를 함께 진행시켜야 할 것으로 생각된다.

요 약

Streptozotocin으로 유발된 모체의 당뇨병이 태자 폐세포의 당질화(glycosylation) 과정에 미치는 영향을 알아보기 위하여 태자기 19일과 21일째의 폐조직을 ConA, WGA, UEAI, RCAL, MPA등의 lectin으로 염색하여 결합양상을 조사하였으며, image analyzer를 사용하여 형태학적인 계측을 시행하여 얻은 결과는 아래와 같다.

태자기 21일째의 폐조직에서 bronchiolar epithelium이 차지하는 면적은 두 군에서 비슷하였으나 alveolar epithelial cell과 mesenchymal cell이 차지하

는 면적의 비율은 실험군이 74.2%, 정상군이 56.8%를 나타내었으며, air space의 면적비율은 실험군에서 낮게 나타났다.

다섯 종류의 lectin으로 조직화학염색을 시행한 결과 α -mannose, N-acetylglucosamine, fucose, β -galactose와 각각 결합하는 ConA, WGA, UEAI, RCAI의 binding affinities는 정상군과 큰 차이를 나타내지 않았으나 N-acetyl-D-galactosamine과 결합하는 MPA의 binding intensity는 실험군에서 감소되어 나타났다. 이는 streptozotocin으로 유발된 모체의 당뇨병이 태자 폐조직의 O-linked glycosylation과정 중 어느 단계를 저해시켜 나타난 결과가 아닌가 추측된다.

참 고 문 헌

1. Brownell AG : Cell surface carbohydrates of preimplantation embryos as assessed by lectin binding. *J.Supramol. Struct.* 1977 ; 7 : 223-234
2. Sato M, Yonezawa S, Uehara H, Arita Y, Sato E, and Muramatsu T : Differential distribution of receptors for two fucose-binding lectins in embryos and adult tissue of the mouse. *Differentiation* 1986 ; 30 : 211-219
3. Chandramouli V, Williams S, Marshall JS, Carter JR : Cell surface changes in diabetic rats : Studies of lectin binding to liver cell plasma membranes. *Biochem. Biophys. Acta* 1977 ; 465 : 19-33.
4. Durand G, Dumont JP, Appel M, et al. : Effect of streptozotocin diabetes on sialic acid content and glycoprotein of isolated hepatocytes. *Horm. Metab. Res.* 1980 ; 12 : 247-251.
5. Jacobs LR : Alterations in labeling of cell surface glycoproteins from normal and diabetic rat intestinal microvillous membrane. *Biochem. Biophys. Acta* 1981 ; 649-161.
6. Schuyler, MR, DE Niewoehner, SR Inkley, and R Kohn : Abnormal lung elasticity in juvenile diabetes mellitus. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1976 ; 113 : 37-41.
7. Steinke J and Driscoll SG : The extractable insulin content of pancreas from fetuses and infants of diabetic and control mother. *Diabetes* 1965 ; 14 : 573-578.
8. Obenshain SS, Adam PAJ, King KC, et al. : Human fetal insulin response to sustained maternal hyperglycemia. *N.Engl.J.Med.* 1970 ; 283 : 566-569.
9. Tyden O, Beme C, Eriksson V : Lung maturation in fetuses of diabetic rats. *Pediatr. Res.* 1980 ; 14 : 1192-1195.
10. Sosenko IRS, Frantz ID, Roberts RJ, Meyrick B : Morphologic disturbance of lung maturation in fetuses of alloxan diabetic rabbits. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1980 ; 122 : 687-696.
11. Rhoades RA, Filler DA, Vannata B : Influence of maternal diabetes on lipid metabolism in neonatal rat lung. *Biochem. Biophys. Acta.* 1979 ; 572 : 132-138.
12. Robert MF, Neff RK, Hubbell JP, Tawach HW, Avery ME : Association between maternal diabetes and the respiratory-distress syndrome in the newborn. *N. Engl. J. Med.* 1976 ; 294 : 357-360.
13. Dixon MT, Jersild RA Jr. : Diabetic pregnancy. Changes in lectin binding to the surface of rat lung alveolar epithelial cells. *Am. J. Pathol.* 1983 ; 113 (3) : 389-395.
14. Albert B, Bray D, Lewis J, Raff M, Robert K and Watson JD : *Molecular biology of the cell.* 2nd ed. Garland Publishing, Inc. 1989 ; 446-458.
15. Ueno G and Lim DJ : Heterogeneity of glycoconjugates in the secretory cells of the chinchilla middle ear and eustachian tubal epithelia : A lectin-gold lytochemical study. *J. Histochem. Cytochem.* 1991 ; 39 : 71-80.
16. Ihida K, Tsuyama S, Kashio N and Murata F : Subcompartment sugar residue of gastric surface mucous cells studied with labeled lectins. *Histochem* 1991 ; 95 : 329-335.
17. Brandt AE : Cell surface saccharides of rat lung alveolar type 1 and type 2 cells. *Fedn. Proc. Fedn. Am. Socs. Exp. Biol.* 1982 ; 41 : 755.
18. Joyce-Brady MF and Jerome SB : Ontogeny of pulmonary alveolar epithelial markers of differentiation. *Dev. Biol.* 1990 ; 137 : 331-348.
19. Deuchar EM : Effects of streptozotocin on early rat embryos grown in culture. *Experientia* 1978 ; 34 : 84-85.