

家鷄 網膜의 電子顯微鏡的 研究

白 景 基·崔 春 根

(延世大·理工大·生物學科)

An Electron Microscopy of the Retina in the *Gallus domesticus* B.

Kyung Ki Paik and Choon Keun Choi

(Dept. of Biology, Yonsei University)

(1972. 5. 6 수리)

ABSTRACT

This investigation was undertaken to establish the ultrastructural organization of the retina in domestic fowl (*Gallus domesticus* B.) comparing with the ultrastructure that has been indicated in other Aves by several workers.

The electron microscope observations were made on selected segments of retinal tissue prefixed for 2 hrs in 1.25% glutaraldehyde buffered with 0.2 M cacodylate at pH 7.2 and then postfixed in cold 1% osmium tetroxide in 0.4 M cacodylate buffer for 2 hrs. After postfixation, tissues were dehydrated in alcohol series, embedded in Epon 812 mixture from propylene oxide and stained with saturated uranyl acetate and $Pb(NO_3)_2$ solution. Specimens were examined with a Hitachi HS-7S electron microscope.

The pigment epithelial cells contain numerous mitochondria with prominent dense granules and several changeful shaped Golgi bodies.

The internal fine structure of the receptor outer segments revealed the characteristic stacks or arrays of bimembranous disks.

The ellipsoid outer portion of the cone inner segments is composed of a tightly packed mass of extraordinarily large mitochondria.

The outer limiting membrane is seen to contain many junctional complexes, the fibrillar material of which is electron-dense.

緒 論

鳥類 網膜의 電子顯微鏡的 構造는 Sjöstrand(1953),
De Robertis(1956), Yamada(1957), Tanaka(1959),

Tokuyasu and Yamada (1959), Wolken (1961),
Brown (1963), Hollenberg and Bernstein (1966),
Young (1967) 등에 의하여 研究報告된 바 있다.

本 研究는 家鷄(*Gallus domesticus* B.)의 網膜構造
에 關하여 主로 視細胞를 中心으로 視細胞의 外節과 內

節, 外境界膜 및 外顆粒層과 連結되는 synapsis와 synapitic area를 電子顯微鏡의으로 研究調査한 바 몇 가지 새로운 事實이 밝혀져 그 結果를 報告하는 바이다.

實驗材料 및 方法

實驗材料로는 家鷄(*Gallus domesticus* B.)의 網膜을 使用하였다. 網膜組織을 0.2M cacodylate buffer 溶液으로 調整한(Palade, 1952) 1.25% glutaraldehyde 溶液(pH 7.2)에 1~2°C의 冷室에서 1~2時間 前固定한 후 上記 緩衝液으로 洗滌한 다음 pH 7.21% 四酸化 오스미움酸에 같은 冷室에서 2時間 後固定하였다. 二重固定된 試料를 에탄올系列로서 脫水하고 最終의으로 propylene oxide로서 完全脫水시켜 Epon 812 混合液으로 包埋하여 超薄切片을 만들었으며, 水酸化鉛(Luft, 1961)과 醋酸우라닐(Millonig, 1961)로서 二重染色하여 HITACHI HS-7S型 電子顯微鏡으로 觀察하였다.

觀察 結果

1. 網膜色素上皮細胞

網膜色素上皮細胞層은 두께가 0.3~0.5 μ 되는 一層의 基底膜에 依하여 脈絡膜과 境界를 이루고 있으며 基底膜 內面의 網膜色素上皮表面에는 0.05~0.1 μ 정도의 無數히 많은 纖毛性的 管狀構造가 配列되어 있으며 全細胞質에 있는 管狀構造의 終端部는 膨大되어 囊狀을 이루어 核의 周邊을 감싸고 있다(Fig. 1).

色素上皮細胞質에는 橢圓形이며 크기가 0.5~1 μ 정도의 뚜렷한 櫛을 갖고 있는 미토콘드리아들이 緻密하게 密集되어 나타나고 있으며 核 周邊部에는 골지체로 생가되는 纖維性的 層板構造가 散在되어 特徵적인 構造를 하고 있다(Figs. 1, 2).

視細胞 쪽으로 向한 細胞質에는 數 많은 미토콘드리아 群에 連해서 直徑이 0.1~0.5 μ 정도의 電子密度가 높은 色素顆粒들의 層이 形成되어 있으며 그 사이에는 複雜하게 엉켜있는 纖維性物質들로 되어 있는 網狀構造들이 나타나고 있다(Figs. 2, 3). 이 色素上皮細胞는 數 많은 細胞의 突起를 視細胞 쪽으로 내어 視細胞의 外節部位까지 延長되어 있으며 그 細胞突起 內에는 色素顆粒이 存在하여 視細胞의 外節部位에서 觀察되고 있다(Fig. 4). 色素上皮細胞의 核은 二重膜으로 된 核膜에 依하여 內膜에 染色質이 附着되어 더욱 뚜렷하게 보이

며 核內에 고루 分布되어 있는 染色質의 電子密度는 낮으나 中心部에는 微細顆粒의 集積으로 된 仁이 觀察되고 있다(Fig. 1).

2. 網膜視細胞와 外境界膜

網膜의 視細胞들 사이에는 纖維性物質들이 無數히 存在하고 있음이 特徵이다(Fig. 8).

單層으로 되어 있는 網膜視細胞에는 桿狀體細胞와 錐狀體細胞가 함께 나타나고 있는데 桿狀體纖維를 쫓아서 核을 含有하고 있는 桿狀體細胞體의 核은 錐狀體細胞의 核보다 크기가 작으며(長徑 3.5~4 μ , 短徑 1~1.5 μ) 電子密度는 더욱 짙게 나타나고 있으며 少量의 細胞質을 갖고 있는 反面 錐狀體細胞核은 약간 肥大된 狀態로 나타나고 있다(Figs. 8, 9).

橢圓形的 視細胞核은 細胞의 前極端 外核層에 位置하고 있으며 外境界膜에 依하여 大部分의 細胞質部分과 區分되어 있는데 이 外境界膜은 視細胞核들의 部位를 따라서 存在하고는 있으나 光學顯微鏡下에서 보이는 것처럼 一連의 膜狀構造가 아니라 複雜하게 이루어져 있는 row of junctional complex 狀態로 나타나고 있음이 觀察되었다(Figs. 5, 8).

外境界膜 部位에서 잘록해진 視細胞質 部近에는 總房狀의 纖維들의 橫斷面이 集團을 이루어 存在하며 電子密度가 아주 짙게 密集되어 있어 윤곽이 뚜렷하고 또한 球狀의 顆粒들도 多數 存在하고 있다(Fig. 5). 外境界膜 안쪽의 視細胞質에는 크기가 一定치 않고 모양도 여러가지인 不整形의 油球(oil globules)들이 나타나며 空胞狀 顆粒狀 層板狀의 構造를 하고 있는 典型的인 골지體가 잘 나타나 보인다(Fig. 9).

視細胞核의 前端은 桿狀體小球(rod spherules) 및 錐狀體小足(cone pedicles)들로서 空胞狀이거나 顆粒狀의 synapsis와 連結되어 外核層과 接하게 되어 있다(Fig. 5).

色素顆粒의 突起들이 密集되어 있는 곳까지 뻗어 있는 視細胞의 外節은 두께가 0.01~0.03 μ , 폭이 2 μ 정도인 二重膜圓盤(double membrane disks)으로 構成되어 있는 層板狀 構造로서 이들 圓盤들은 끝에서 짧은 突起에 依해서 서로 連結되어 있으며 50Å 두께의 膜으로 싸여 있다(Figs. 4, 10).

視細胞의 外節과 內節과의 移行部에는 數 많은 胞狀體의 密集狀과 미토콘드리아들을 볼 수 있으며 몇가닥의 縱原纖維에 依해서 外節과 內節이 連結되어 있다(Figs. 4, 6).

視細胞의 內節은 無數히 많은 미토콘드리아의 集團

으로 構成되어 있는데 이들의 形態는 여러 모양으로 變形되어 있어서 小胞型 또는 顆粒型 등으로 나타나며, 內部の 櫛은 이완된 狀態를 하고 있다.

또한 內節의 側端에는 많은 유리 라이보솜들이 均一하게 分布되어 있으며 球狀의 全 內節은 두께 0.03 μ 정도의 二重膜으로 싸여져 있다(Figs. 6, 8, 10).

論議 및 結論

Yamada (1957)와 Tanaka (1959) 등은 참새, 비둘기, 십자매 등의 鳥類에서 De Robertis (1956)와 Young (1967) 등은 토끼와 개구리에서 網膜色素上皮細胞의 微細構造를 研究한바 있는데 여기에서는 脈絡膜과 境界를 이루고 있는 上皮細胞의 基底膜 全面을 通하여 微細한 管狀構造가 多數 突出되어 나타나고 있으며 많은 數의 미토콘드리아가 細胞核 周邊에 散在하고 있다. 家鷄의 網膜色素上皮細胞의 微細構造도 Yamada, Tanaka, De Robertis 등의 다른 動物에서의 觀察結果와 거의 一致하고 있으나 미토콘드리아들이 散在되어 있는 特殊한 層이 核을 감싸고 있으며 核 周邊에 몇개의 纖維性 골지體가 나타나고 있으며 基底膜의 管狀構造에 많은 라이보솜들이 附着되어 있어 마치 粗面小胞體 모양으로 觀察되고 있음이 家鷄에서의 特徵인 構造이었다. 그러나 거의 모든 脊椎動物의 網膜色素上皮細胞에는 纖維性物質의 構成分이 많음을 추정할 수 있으나 이러한 物質들의 網膜에서의 特殊한 作用에 對해서는 生理學的인 研究가 뒤따라야겠다. 많은 數의 미토콘드리아들이 網膜上皮細胞에서 集團을 이루고 있는 것은 高等한 脊椎動物에서 뿐만 아니라 複眼을 갖고 있는 下等動物인 甲殼類(Wolken and Gallik 1965, Eguchi 1965)에서나 昆蟲類(Yasuzumi and Deguchi 1958, Eguchi 1971)의 網膜細胞에서도 볼 수 있는 現象으로서 모든 眼球의 構造인 特徵인 것으로 생각되며 眼球가 받는 빛의 세기에 따라서 미토콘드리아의 數, 크기, 內部櫛의 모양등이 여러 形態로 變化한다는 것은 이미 알려진 바 있다 (Sjöstrand, Tanaka, Hollenberg and Bernstein, Eguchi, Yasuzumi, Young, Dowling).

家鷄이 있어서 視細胞 外櫛쪽으로 뾰고 있는 網膜上皮細胞의 內細胞質에는 미토콘드리아層에 連해서 網狀의 纖維性物質들과 더불어 空胞狀의 顆粒들이 多數存在하고 있는데 이는 비둘기와 참새에서도 나타나는 構造이며 (Tanaka 1959) 電子密度가 높은 色素顆粒들이 많이 存在하고 있음은 鳥類에서 뿐만 아니라 모든 動物

의 眼球에서 볼 수 있는 現象이다.

이미 알려진 바와 같이 網膜의 視細胞들은 光刺戟의 受容器로서 光線은 이들 細胞에 도달하기 前에 먼저 全 網膜層을 貫通하여야 하며 視細胞의 外側部가 光線에 對하여 感受性이 있는 部位로 믿어지고 있는데 (Sjöstrand 1953, Smelzer 1961, Hollenberg 1966) 이들 視細胞의 外節은 그 先端이 色素上皮細胞의 纖維樣突起와 色素顆粒突起에 依하여 둘러싸여 있으며 계속해서 圓으로 橢圓形의 視細胞內節을 形成하고 있는데 De Robertis나 Sjöstrand는 기니아픽에서, Yamada와 Tanaka는 참새와 비둘기에서 家鷄에서와 같은 見解를 밝힌 바 있다. Sjöstrand는 外節의 한쪽은 16~18個의 原纖維가 1個의 纖維束이 되어 이것에 依해서 內節과 連結되어 있다고 하였으며 De Robertis, Yamada, Tanaka 등은 外節에 계속되어 있는 橢圓體에는 미토콘드리아 集團의 다른 쪽에 여러 形態의 油球들이 存在한다고 서술한바 있는데 家鷄에서는 外節과 內節과의 移行部에서 2~3個의 縱原纖維(tonofibrils)와 變形된 미토콘드리아로 생각되어지는 胞狀體의 密集를 볼 수 있었으며 이들 胞狀體들은 外節과 內節에서의 빛의 傳導에 特殊한 역할을 하는 것 같다. 비둘기에 있어서 內節의 內部構造인 미토콘드리아들의 櫛이 매우 伸長되어 있다고 Tanaka가 밝혔는데 이는 家鷄의 內節에서도 같은 現象으로 나타나고 있다. 그러나 개구리나 토끼 기니아픽 등 다른 脊椎動物의 視細胞 內節에서는 미토콘드리아가 伸長되어 있지 않으며 또한 櫛의 構造도 뚜렷한 點으로 보아 이러한 미토콘드리아 內部構造의 극심한 變化現象은 鳥類에서만 나타나는 特徵인 것으로 생각되어진다.

Tanaka, Yamada 등은 外境界膜은 一層의 膜이 아니고 表面은 凹凸이 많고 視細胞로 通하는 孔 以外에도 많은 數의 不規則한 孔들이 나타나고 있으며 이 膜은 視細胞를 둘러싸는 電子密度가 높은 纖維樣構造라고 밝힌 바 있다. 그러나 家鷄에서 觀察한 著者の 見解로는 外境界膜을 中心으로 해서 視細胞의 核들이 外顆粒層을 向하여 질서정연하게 나타나고 있으며 그 部位에 特別한 纖維들이 密集되어 存在하며 또한 多數의 顆粒들이 모여있는 點으로 미루어 보아 外境界膜은 視細胞들을 支持해 주는 作用을 하는 特殊한 網으로 생각된다. 外境界膜이 뚜렷한 視細胞核 部位에 있는 總房狀纖維들의 反對側에는 多數의 球狀空胞들이 集中的으로 모여있는데 이러한 現象은 家鷄에서 뿐만 아니라 모든 脊椎動物의 視細胞에서 觀察되는 構造物이다. 視細胞의

核이 外境界膜 밖으로 突出되어 外顆粒層에서 末端이 扁形으로 膨大되고 synaptic vesicles가 나타나고 있으며 Tanaka, De Robertis, Brown 등이 이미 서술한 바 있는 synapsis가 無數히 나타나 synaptic area를 形成하게 되는데 視細胞들은 錐狀體小足과 桿狀體小球로서 外顆粒層과 連結되고 있음은 高等動物의 網膜視細胞에서 共通的인 特徵이며 이로서 視細胞層은 풀이 나게 된다.

要 約

닭(*Gallus domesticus* B.)의 視細胞 外節과 內節의 移行部에는 他 脊椎動物에서 흔히 觀察되는 纖維가 極히 적었는데 이것은 鳥類視細胞의 特徵이며 內節에 많은 미토콘드리아가 存在함은 모든 脊椎動物에서와 같은 現象이지만 鳥類에서는 內部 櫛의 構造가 多樣하게 變化되어 나타나고 있다. 視細胞核 部位에 存在하는 外境界膜의 屈曲이 심한 것도 닭에서뿐 아니라 참새나 비둘기 등 鳥類에서 보이고 있는 特徵의인 構造이지만 外節의 層板 構造라든가 色素上皮細胞, 外顆粒層과의 連結部位등 一般的인 視細胞의 構造들은 거의 모든 脊椎動物에서 비슷하게 나타나고 있음을 알 수 있었다. 一般的인 電顯方法으로 實驗하였으나 보통 쓰이고 있는 phosphate buffer代身 cacodylate buffer를 사용한 것이 다를 뿐이다.

文 獻

Brown, P.K., I.R., Gibbons and G., Wald, 1963. The visual cells and visual pigment of the mudpuppy, *Necturus*. *J. Cell Biol.* **19** : 79.
 De Robertis, E., 1956. Electron microscope observations on the submicroscopic organization of the retinal rods. *J. Biophys. Biochem. Cytol.* **2** : 319.
 De Robertis, E., and C.M., Franchi, 1956. Electron microscope observations on synaptic vesicles in synapsis of the retinal rods and cones. *J. Biophys. Biochem. Cytol.* **2** : 307.
 Dowling, J.E., 1965. Foveal receptors of the monkey retina: Fine structure. *Science* **147** : 57.
 Eguchi, E., 1965. Rhabdon structure and receptor

potentials in single crayfish reticular cells. *J. Cell. Comp. Physiol.* **663** : 411-430.
 Hollenberg, M.J., and M.H., Bernstein, 1966. Fine structure of the photoreceptor cells of the ground squirrel. *Am. J. Anat.* **118** : 359.
 Luft, J.H., 1961. Improvement in epoxy resin embedding method. *J. Biophys. Biochem. Cytol.* **9** : 409.
 Millonig, G.A., 1961. Modified procedure for lead staining of thin sections. *J. Biophys. Biochem. Cytol.* **11** : 736.
 Palade, G.E., 1952. A study of fixation for electron-microscopy. *J. Exp. Med.* **95** : 285.
 Polyak, S.L. 1941. The Retina. Chicago University Press.
 Sjöstrand, F.S., 1953. The ultrastructure of the outer segments of rods and cones of the eye as revealed by the electron microscope. *J. Cell. Comp. Physiol.* **43** : 15.
 Tanaka, A., 1959. Electron microscopic studies on the retina. *J. Elect. Micros. Japan* **7** : 112.
 Tokuyasu, K., and E., Yamada, 1959. The fine structure of the retina studied with the electron microscope. *J. Biophys. Biochem. Cytol.* **6** : 225.
 Wolken, J.J., 1961. The photoreceptor structures. *Int. Rev. Cytol.* **11** : 192-201.
 Wolken, J.J., and G.J., Gallik, 1965. The compound eye of a crustacean, *Leptodora kindtii*. *J. Cell Biol.* **26** (3) : 968-973.
 Yamada, E. et al., 1957. The ultrastructure of the retina. *J. Elect. Micros. Japan.* **6** : 42.
 Yasuzumi, G. and N., Deguchi, 1958. Submicroscopic structure of the compound eye as revealed by electron microscopy. *J. Ultrastruct. Res.* **1** : 259-270.
 Young, R.W., 1967. The renewal of photoreceptor cell outer segments. *J. Cell Biol.* **33** : 61.

Figures

Explanation of Figures

Figures 1, 2. Nuclear region of the pigment epithelial cell. Single basement membrane containing with fibrillar tubules boundaries a pigment epithelial cell between the choroid membrane. The cytoplasm contains mitochondria (M), fibrillar reticulum structure and many pigment granules (pg). $\times 15,000$, $\times 15,000$

Figure 3. Pigment epithelium contains many pigment granules and vacuolar pigment processes. $\times 23,000$

Figure 4. Survey electron micrograph of a section of retina illustrating the relationship between a cone photoreceptor and adjacent pigment epithelium. Mitochondria, M; pigment granules, pg; receptor, outer segment, Os; receptor, inner segment, Is. $\times 27,000$

Figures 5, 8, 9. Electron micrograph of vertical section of visual cells in the retina. The outer limiting membrane (Om) is

seen to contain many junctional complexes, the fibrilla material (f) of which is electron-dense. Inner part of a cone photoreceptor with a nucleus (N) showing many long connecting fibers, oil globules (Oi), and rough endoplasmic reticulum (Er). In the middle part of figure 5 can be seen many cone synaptic pedicles (Sy) and invaginated dendritic processes. Golgi complex, G; visual cell, V; outer plexiform layer, Opl. $\times 9,000$, $\times 16,000$, $\times 22,000$

Figures 6, 7, 10. Vertical section showing an enlargement of the junction between the inner and outer segment of the cone. The outer segment (Os) consists of a pile of membrane limited disks. The inner segment is occupied with compressed mitochondria (M) of varying size and ribosomes. $\times 27,000$, $\times 16,000$, $\times 27,000$.









