

양서류 피부 과립선의 미세구조*

金翰華 · 盧鏞泰 · 鄭英和 · 池永得
(가톨릭大學 醫學部 生物學教室)

Ultrastructure of the Granular Glands in the Amphibian Skin

Han-Hwa Kim, Yong-Tai Noh, Young-Wha Chung and Young-Duk Chi
(Department of Biology, Catholic Medical College)

(Received May 28, 1979)

SUMMARY

The authors observed the ultrastructure of the granular glands in the amphibian skin with an electron microscope.

The specimens from the experimental animals (*Bombina orientalis*, *Bufo bufo gargarizans*, *Rana nigromaculata* and *Rana rugosa*) were fixed in 2.5% glutaraldehyde-paraformaldehyde fixative in phosphate buffer at pH 7.2 prior to fixation in 1% osmium tetroxide, dehydrated in graded ethanol and acetone, embedded in Epon 812 mixture, and sectioned with a LKB-ultramicrotome.

The ultrathin sections were contrasted with uranyl acetate and lead citrate and observed with a JEOL-100B electron microscope.

The results were as follows:

1. The granular gland in the amphibian skin consisted of the glandular epithelial and the myoepithelial cells.
2. The epithelial cells of the granular gland in the amphibian skin consisted of the dark cells but the light cells were also observed in that of *Bombina orientalis*.
3. The granular glands of the amphibian skin were in holocrine fashion.
4. The nuclei of the epithelial cells of the amphibian cutaneous granular glands were round or oval and showed small and large

* 이 논문의 연구는 1978년도 가톨릭중앙의료원 학술연구조성비로 이루어진 것임.

infoldings of nuclear envelope. Heterochromatins were mainly distributed near the nuclear envelope.

Mitochondria were mainly distributed in the perinuclear portion and rough-surfaced endoplasmic reticulums were developed in the cytoplasm but smooth-surfaced endoplasmic reticulums were not well developed.

5. Secretory granules were round or oval and electron-dense and less electron-dense granules were observed.

6. The authors infer that the differences in electron density of the secretory granules in the granular glands of the amphibian skin are due to difference in the concentrations of secretory substances as related to the processes of its formation, and that those chemical components are identical.

서 론

양서류 피부선은 점액선과 과립선으로 구성되며 (Noble, 1931; Noble & Noble, 1944), 자기보호, 피부호흡 및 피부내 전해질평형을 유지하는데 관여한다 (Fuhrman, 1967; Brodie, 1968; Dapson, 1970; Lutz, 1971).

이 선들의 원기는 개구리 (*Rana pipiens*)의 경우 변태 XIII 시기에 표피내 처음 출현 하며, 과립선은 변태 XVIII~XX 시기에, 점액선은 변태 XX~XXV 시기에 분화 발달되며 (Bovbjerg, 1963), 개구리 (*Rana nigromaculata*)에서는 선의 원기가 변태 XV 시기에 출현하여 변태 XX~XXV 시기에 현저하게 분화하여 수적 증가를 보인다 (Kim *et al.*, 1975).

양서류 피부점액선은 산성점액질을 분비하는 것으로 알려지고 있으나 (Dapson, 1970; Kim *et al.*, 1975), 과립선은 그 분비물질울 단정할 수는 없지만 독성을 가지고 있는 것은 사실이며 (Michl & Kaiser, 1963; Albuquerque *et al.*, 1971; Lutz, 1971), 개구리 (*Rana pipiens*)에서 과립선은 carbohydrate, carboxylic acids, tyrosine 그리고 sulfur를 갖는 amino acid가 많은 과립을 갖는 세포선 (cellular gland)과 primary catecholamine과 sulfur를 갖는 amino acid를 함유한 phospholipoprotein으로된 과립을 갖는 내강선 (luminal gland)으로 구분하여 보고되었을 뿐이다 (Dapson *et al.*, 1973).

양서류 피부점액선 상피세포의 미세구조에 관하여는 일부 연구보고가 있으나 (Kim *et al.*, 1978; Hoffman & Dent, 1978), 과립선 상피세포의 미세구조에 대한 보고는 접한 바 없다.

이상과 같이 양서류 피부과립선에 대하여 생리학적, 약리학적, 조직학적 및 조직화학적 연구가 다소 행하여 졌으나 선상피세포의 미세구조에 대하여는 밝혀진 바 없어 국내 서식하는 양서류중 무미류 수종을 택하여 양서류 피부과립선 상피세포에 대한 미세구조를 밝히고자 본 실험을 시행하였다.

재료 및 방법

본 연구에 사용된 동물은 서울 근교에서 채집된 무미목 3과 4종으로 무당개구리 (*Bombina orientalis* Boulenger), 두꺼비 (*Bufo bufo gargarizans* Cantor), 개구리 (*Rana nigromaculata* Hallowell) 및 올개구리 (*Rana rugosa* Schlegel)이었다.

이들의 배부 피부조직을 pH 7.2에서 0.1 M phosphate으로 완충시킨 2.5% glutaraldehyde-paraformaldehyde액과 1% osmium tetroxide에 전후 고정하여 각급 ethanol과 무수 acetone으로 탈수한 후 Epon 812 mixture에 포매하여 35°C, 45°C 및 60°C에서 중합시켰다.

포매된 조직은 LKB ultramicrotome으로 초박절표본을 만들어 uranyl acetate와 lead citrate으로 염색하여 JEOL-100B형 전자현미경으로 관찰하였다.

결 과

양서류 피부과립선은 단포상선으로 진피내 선분비부와 표피내 분비관으로 구성되며, 선분비부는 기저막과 접한 근상피세포와 이와 접하여 선 내측에 위치한 선상피세포로 이루어졌다. 선상피세포는 많은 분비과립들을 가져 내강은 거의 분비과립으로 채워져 있어 내강선을 형성하였다. 선상피세포의 핵은 기부에 위치하였고, 분비과립을 제외한 소량의 세포질이 핵 인접부에 있었으며, 소수의 세포소기관들이 관찰되었다.

양서류 피부과립선의 상피세포는 암세포로 구성되었으며, 무당개구리에서는 명세포도 관찰되었다. 배출기의 암세포와 명세포간의 세포막은 뚜렷하였으며, 중에 따라 암세포들간의 세포 경계를 명확히 구분하기는 어려웠다.

양서류 피부과립선은 전분비를 하였으며, 분비과립은 구형 또는 난형으로 높은 전자밀도를 보였으며, 다소 약한 전자밀도를 보이는 과립들도 관찰되었다.

중별로 과립선 상피세포의 미세구조를 보면 다음과 같다.

무당개구리 : 무당개구리의 피부과립선 상피세포는 전자밀도가 높은 암세포와 전자밀도가 낮은 명세포가 관찰되었다 (Fig. 1, 2, 3). 암세포의 핵은 원형 내지 타원형이었으며, 크고 작은 핵경합요가 상하로 평행하게 마치 손가락모양으로 갈라지는 분지상을 보이는 불규칙한 핵들이 다수 관찰되었다 (Fig. 1, 3). 핵 중앙부에는 핵소체가 있었고, heterochromatin은 주로 핵경 인접부에 분포하였고 핵질내에도 산재하였다.

분비과립을 제외한 세포질은 전자밀도가 높아 어둡게 보였고 구형 또는 타원형의 mitochondria가 세포질내에 산재하였으나 특히 핵주변부에 다소 많이 출현하였다. Rough-surfaced endoplasmic reticulum (RER)은 전세포질에 산재해 있으며 주로 핵하부 및 핵측부에 위치하였고, smooth-surfaced endoplasmic reticulum (SER)은 소수 관찰될 뿐이었다 (Fig. 4). 이들은 매우 작은 vesicle들을 많이 이루고 있었고, 그 전자밀도는 낮았다.

분비과립들은 상부 세포질에 위치하고, 핵의 크기 정도로 매우 컸으며, 구형 또는 난형을 이루었고, 전자밀도가 높은 것과 낮은 것이 관찰되었는데 핵 인접부에 위치한 과립

들은 크기가 작았고, 전자밀도는 낮았으며 과립을 싸는 단일막도 관찰할 수 있었다.

명세포는 전체적으로 전자밀도가 낮아 밝게 보였다. 핵은 원형 내지 타원형으로 핵경함요가 적었고, heterochromatin이 핵경 인접부에 소수 산재하였고, 세포질내에는 세포 소기관들이 적어 밝게 보였다 (Fig. 2, 3).

상피세포와 결합조직사이에는 hemidesmosome으로 연결되었으며, 선상피세포와 근상피세포 그리고 선상피세포들 간에는 desmosome들을 형성하였다. 선상피세포와 근상피세포들 간에는 서로 밀접하여 intercellular space가 매우 좁았으며, 선이 분비능을 갖게 됨에 따라 특히 분비과립들이 위치하는 선 중심부에서는 선상피세포들 간에 경계가 불확실하였다.

두꺼비 : 두꺼비에서는 선상피세포의 핵은 원형 또 타원형으로 크고 작은 핵경함요가 불규칙하게 깊게 형성되었으며, heterochromatin은 주로 핵경 인접부에 많이 몰려 있었다 (Fig. 5). 세포질은 전자밀도가 중등도였으며, 구형 또는 타원형을 이루는 많은 mitochondria가 핵 주변부에 비교적 다수 산재하였고, RER은 전세포질에 위치하였으며 특히 근상피세포와 인접한 기부 세포질에 잘 발달되었고, 핵 주변에서는 SER이 비교적 발달하였으며, vesicle이 다수 관찰되었다.

분비과립은 핵상부 및 선강부를 채우고 있었으며 대부분 높은 전자밀도를 보이는 것이 관찰되었다. 높은 전자밀도를 보이는 과립들은 인접세포질과 경계가 명확하지만 일부 면에서 마치 불규칙한 실과같은 돌기가 과립면으로부터 나와 있는 것이 관찰되었다 (Fig. 6).

선상피세포와 근상피세포 사이에 intercellular space가 어느정도 발달함을 볼 수 있었다 (Fig. 5, 6).

개구리 : 개구리 피부과립선 상피세포의 핵은 원형 내지 타원형으로 작은 핵경함요가 많았으며, 핵질내에 heterochromatin이 소수 산재하고 주로 핵경 인접부에 위치하였다. Mitochondria는 세포질에 소수 산재하였는데 특히 핵하부와 핵측부에 위치하였다. RER은 핵 주변 세포질에 발달되었지만 SER은 미약하였다. 핵상부 및 선강부에는 거의 분비과립으로 차 있었는데 과립들은 전자밀도가 높은 것과 다소 약한 것들이 관찰되었다.

선상피세포와 근상피세포 사이에 intercellular space가 발달하였으며 특히 basal infolding이 발달하여 상피세포내로 깊게 올라와 매우 큰 포상의 구조물을 이루는 것을 볼 수 있었다 (Fig. 7, 8).

옴개구리 : 옴개구리의 과립선 상피세포는 핵이 원형 또는 타원형으로 작은 핵경함요가 다수 관찰되었으며 핵소체가 핵 중앙부에 위치하였고 heterochromatin이 핵질내에 소수 산재해 있었는데 주로 핵경 인접부에 몰려 있었다. 핵상부 및 선강부에는 전자밀도가 높은 과립들로 차 있었으며, 이들은 구형 또는 타원형을 이루었다. Mitochondria는 핵 주변부에 산재해 있었고, RER과 free ribosome들은 핵하부 세포질에 잘 발달되었으며 SER은 소수 관찰되었고, 세포 자유면에는 소수의 mirovilli가 관찰되었다. 선상피세포와 근상피세포 사이에 intercellular space는 다소 발달함을 볼 수 있었다 (Fig. 9, 10).

고 찰

양서류의 피부과립선은 주로 phospholipoprotein, primary catecholamine 및 sulfur-

containing amino acid로 이루어진 분비물을 분비하며 (Dapson *et al.*, 1973), 피부의 전 해질 평형유지 및 보호능을 갖는다고 생각된다.

본 실험에 사용된 무미류의 피부과립선의 구조는 분비부와 분비관으로 구성되고, 분비부는 분비세포와 근상피세포로 이루어졌는데 이는 무미류 및 유미류에서 Noble과 Noble (1944), Bovbjerg (1963) 및 Hoffman과 Dent (1977, 1978)들에 의한 보고와 일치하는 것이었다.

본 실험에서 무미류 과립선의 선분비세포는 암세포로 규정되었으며, 무당개구리에서는 명세포도 관찰되었다. 무당개구리에서만 명세포가 관찰된 것은 특이한 사실이며, 이 명세포가 세포소기관들이 적은 것으로 미루어 암세포의 퇴행성 단계에 있는 세포인지 또는 그 기원이 암세포와 다른 세포인지는 더욱 연구될 과제라고 생각된다.

과립선의 분비세포내에는 RER이 매우 발달되고 매우 큰 과립들을 가지며 mitochondria가 어느정도 다수 출현하는 양상을 보였는데 이는 다른 분비선세포에서 일반적으로 볼 수 있는 것으로 무미류 (Kim *et al.*, 1978)와 유미류 (Hoffman & Dent, 1978)의 피부점액선에서와 일치하는 것이라고 볼 수 있다.

분비세포내 분비과립은 구형 또는 난형을 이루며 uranyl acetate와 lead citrate에 강하게 염색되는 매우 강한 전자밀도를 보였으나, 무당개구리의 경우 핵의 바로 상부에 위치한 분비과립들은 그 상부에 위치한 분비과립들 보다 다소 작았고 그 전자밀도도 낮은 양상을 보였으며, 과립을 싸는 단일막도 명확히 관찰되어 성숙전 과립의 양상을 보였다.

과립선의 분비형태를 보면 분비세포가 분비과립을 형성하고 형성된 분비과립들이 매우 크게 성숙되는 선강부를 완전히 채우고, 분비세포들 간의 경계가 불확실하게 되어 선강부를 채운 거의 과립들로 된 부위에서 세포 경계부를 찾기는 어려웠으며, 핵이 위치한 기부에서는 desmosome들로 연관된 세포막을 관찰할 수 있었으나 intercellular space는 매우 미소하였다. 분비세포의 핵들도 무당개구리의 경우 핵경합요가 매우 심하여 마치 핵이 손가락 모양으로 갈라져 핵이 작은 소편들로 갈라지는 양상을 보여 퇴행성 세포로 생각되었고, 근상피세포와 분비세포사이에서 intercellular space가 매우 발달되고 특히 개구리에서 분비세포 세포막의 basal infolding이 심하게 일어나 매우 큰 포상의 구조물을 형성하여 분비세포의 기부가 근상피세포와 연관관계를 잃고 떨어져 나가기 위한 어떤 기작이 이루어지는 것 같이 보였다. 분비세포의 자유면은 옥개구리의 경우 microvilli가 관찰되기도 하였으나 다른 종들에서는 분비과립들을 갖는 상부 세포질이 선강부를 채워 관찰되지 않았으며, 분비관으로 통하는 부위에서는 과립들과 인접 세포질이 분비관을 통과하여 피부표면으로 과립 형태로 분비되는 것을 볼 수 있었다. 한편 Hoffman과 Dent (1978)는 도롱뇽에서 과립선의 근상피세포가 매우 발달되어 분비세포의 잔유물을 압축함으로써 전분비의 효과를 나타낸다고 보고한 바 있다. 이와 같은 사실들로 미루어 양서류의 과립선은 전분비를 하는 것으로 생각할 수 있으며, 이와는 다르게 양서류의 피부점액선은 부분분비를 하는 것으로 보아 (Kim *et al.*, 1978; Hoffman & Dent, 1978) 과립선과 점액선은 같은 피부선이지만 분비물질이 다르고 분비정도 전혀 다른 형태를 취한다고 할 수 있을 것이다.

요 약

양서류 피부과립선의 미세구조를 관찰하기 위하여 무더양서류인 무당개구리 (*Bombina orientalis*), 두꺼비 (*Bufo bufo gargarizans*), 개구리 (*Rana nigromaculata*) 및 움개구리 (*Rana rugosa*)의 피부조직을 2.5% glutaraldehyde-paraformaldehyde (pH 7.2)와 1% osmium tetroxide에 전후 고정한 후 ethanol과 acetone으로 탈수, Epon 812 mixture에 포매하여 LKB ultramicrotome으로 초박절표본을 만들어 uranyl acetate와 lead citrate으로 염색하여 JEOL-100B형 전자현미경으로 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 양서류 피부과립선은 선상피세포와 근상피세포로 이루어졌다.
2. 양서류 피부과립선의 선상피세포는 암세포들로 구성되었으나 무당개구리에서는 명세포도 관찰되었다.
3. 양서류 피부과립선은 전분비를 하였다.
4. 양서류 피부과립선 상피세포의 핵은 원형 내지 타원형으로 크고 작은 핵경함요를 보였고, heterochromatin은 주로 핵경 인접부에 많았다. 세포질에는 mitochondria가 핵 주변부에 비교적 많이 산재하였고, rough-surfaced endoplasmic reticulum은 핵 주변부에 발달하였지만 smooth-surfaced endoplasmic reticulum은 미약하였다.
5. 분비과립들은 구형 또는 난형으로 높은 전자밀도를 보였으며 다소 약한 전자밀도를 보이는 과립도 관찰되었다.
6. 양서류 과립선내 분비과립들이 같은 세포내에서 다소 전자밀도의 차이를 보이는 것은 분비과립의 형성단계에 따른 농도 차이에 기인하며 그 화학적 조성은 유사하다고 생각된다.

참 고 문 헌

- Albuquerque, E.X., J.W. Daly and B. Witkop, 1971. Batrachotoxin: Chemistry and pharmacology. *Sci.* **172** : 995-1002.
- Bovbjerg, A., 1953. Development of the glands of the dermal plicae in *Rana pipiens*. *J. Morph.* **113** : 232-243.
- Brodie, E.D., 1968. Investigations on the skin toxin of the adult rough skinned newt, *Taricha granulosa*. *Copeia* **2** : 307-313.
- Dapson, R.W., 1970. Histochemistry of mucus in the frog, *Rana pipiens*. *Anat. Rec.* **166** : 615-626.
- Dapson, R.W., A.T. Feldman and D.L. Wright, 1973. Histochemistry of granular (poison) secretion in the skin of the frog, *Rana pipiens*. *Anat. Rec.*, **177** : 549-560.
- Fuhrman, F.A., 1967. Tetrodotoxin. *Sci. Am.* **217** : 60-71.
- Hoffman, C.W. and J.N. Dent, 1977. Effects of neurotransmitters upon the discharge of secretory product from the cutaneous glands of the red-spotted newt. *J. Exp. Zool.* **202** : 155-162.

- Hoffman C.W. and J.N. Dent, 1978. The morphology of the mucous gland and its responses to prolactin in the skin of the red-spotted newt. *J. Morph.* **157** : 79–98.
- Kim, H.H., Y.T. Noh and Y.W. Chung, 1975. Histological and histochemical studies on the cutaneous glands according to the development of frog, *Rana nigromaculata*. *Korean J. Zool.* **17** : 51–60.
- Kim, H.H., Y.T. Noh, Z.W. Chung and Y.D. Chi, 1978. The ultrastructure of the mucus secreting cells in the amphibian skin. *Korean J. Zool.* **21** : 29–39.
- Lutz, B., 1971. Venomous toads and frogs. In: *Venomous Animals and their Venoms* (W. Bucherl and E.E. Buckley, editors). Academic Press, New York **2** : 423–473.
- Michl, H. and E. Kaiser, 1963. Chemi und Biochemie der Amphibiengifte. *Toxicons* **1** : 175–228.
- Noble, G.K., 1931. The biology of the amphibia. McGraw-Hill, New York.
- Noble, G.K. and E.R. Noble, 1944. On the histology of frog skin gland. *Trans. Amer. Micro. Soc.* **63** : 254–263.

EXPLANATION OF FIGURES

- Fig. 1.** The secretory cells of the granular gland in *Bombina orientalis*. It shows several nuclei of the dark cells (D) and two light cells (L). The large electron dense and the small less dense granules are observed. Lateral secretory cell membranes are not well observed. X 2,900.
- Fig. 2.** The dark cell (D) and the light one (L) of the granular gland in *Bombina orientalis*. Few organelles are observed in the light cell. X 6,600.
- Fig. 3.** The dark cell (D) and the light one (L) of the granular gland in *Bombina orientalis*. Deep infoldings (i) of the nuclear envelope in the dark cell are formed and splitted into finger-like forms. Rough-surfaced endoplasmic reticulums are well developed in the dark cell. X 8,000.
- Fig. 4.** The basal cytoplasm of secretory cells (SC) and a part of myoepithelial cell (MC) of the granular gland in *Bombina orientalis*. The secretory cells have many small vesicles and well developed rough-surfaced endoplasmic reticulums. It shows several desmosomes (d) formed between the secretory cells and between the secretory and the myoepithelial cell. X 5,300.
- Fig. 5.** The secretory cell (SC) of the granular gland in *Bufo bufo gargarizans*. Deep infoldings (i) of nuclear envelope are formed in the secretory cell. Many small pinocytotic vesicles (p) in the peripheral cytoplasm of the myoepithelial cell are shown. X 11,000.
- Fig. 6.** The secretory granules of the the granular gland in *Bufo bufo gargarizans*. Those are round in shape. A part of secretory granular membrane does not clearly surround. It seems to show an interrelation between the secretory substance and the perigranular cytoplasm. X 8,800.
- Fig. 7.** Four secretory cells (SC) and myoepithelial cells (MC) of the granular gland in *Rana nigromaculata*. Many infoldings of nuclear envelope in the secretory cells

are formed. It is difficult to identify lateral secretory cell membrane. There are many large electron dense secretory granules in the secretory cells. The basal infoldings (bi) are well developed to become large alveolar structures. X 3,600.

Fig. 8. The secretory cells (SC) and the myoepithelial ones (MC) of the granular gland in *Rana nigromaculata*. Several large alveolar structures resulted from basal infoldings (bi) are shown. X 4,000.

Fig. 9. The secretory cell of the granular gland of *Rana rugosa*. It shows two oval secretory granules and many mitochondria (m) distributed diffusely in the cytoplasm. Especially, rough-endoplasmic reticulums are well developed. X 8,800.

Fig.10. The secretory cell of the granular gland in *Rana rugosa*. There are many oval secretory granules (sg), and mitochondria (m) distributed diffusely. Microvilli (v) are shown in the free surface of the secretory cell. X 8,800.







