

논우렁이 觸手 칼라세포(Collar Cell)의 微細構造에 관한 研究

宋容直 · 金字甲 · 金昌煥

The Fine Structure of Collar Cell in Tentacles of Chinese Mystery Snail, *Cipangopaludina chinensis malleata* Reeve

Song, Yong Jik, Woo Kap Kim and Chang Whan Kim

(Received November 10, 1987)

Abstract

There are groups of large monopolar cells containing numerous secretory inclusions in the muscular and connective tissue. These cells contain the electron-lucent vesicles in the size of 0.5~0.9 μ m, which are secreted to the exterior of the tentacle through their cytoplasmic processes projected to the epithelial layer. Secretory material can be seen accumulating in swollen portions of the granular endoplasmic reticulum. It is postulated that this material is transported to the Golgi-complex and thus the limiting membrane of the inclusions is derived from the Golgi-membrane. An electron lucent material secreted from these cells seems to be similar to fibrous electron lucent material filled in the brush border of the epidermis.

緒 論

논우렁이 觸手(tentacle)의 結合組織내에는 단독으로 또는 무리를 지어 分布하는 單極形 細胞들이 있다. Lane(1962)은 이세포를 칼라세포(collar cell)라 하였다. 또한 그는 이 세포들은 腹足類(gastropod) 중 陸棲 柄眼目(stylommatophoran)의 觸手에만 존재한다고 報告한 바 있다. Jobert(1871), Simroth(1876), Yung(1911), Demal(1955) 등은 이 세포를 分泌細胞라 하였고, Flemming(1872),

Retzius(1892), Lane(1962) 등은 神經分泌細胞라 하였다.

한편 Rogers(1969)는 *Helix aspersa*의 眼觸手(optic tentacle)에 分布하는 칼라細胞의 微細構造의 研究에서 이 세포집단에는 神經의 軸索이 많이 分布되어 있어 神經의 影響을 많이 받으나 이 細胞의 分泌物이 神經分泌物과는 차이가 있음을 지적하였고, Kataoka(1976)는 *Limax flavus*의 이 細胞에는 ER이나 Golgi 장치가 매우 발달되었고 특히 電子密度가 透明한 커다란 分泌物을 많이 합

유하고 있어서 分泌細胞라는 견해를 밝힌 바 있었다.

本 研究는 水棲 腹足類 前鰓亞綱(prosobranchia)에 속하는 눈우렁이(*Cipangopaludina chinensis malleata*) 觸手 및 頭部의 結合組織 내에 존재하는 칼라細胞의 微細構造를 밝히고, 陸棲 달팽이류(pulmonata, stylommatophoran)의 것과 比較 관찰하였다.

材料 및 方法

京畿道 南楊州郡 八堂에서 採集한 눈우렁이(*Cipangopaludina chinensis malleata* R.)를 實驗材料로 사용하였다. 解剖顯微鏡하에서 觸手を 적출하여 2.5% paraformaldehyde-glutaraldehyde에서 3시간 前固定한 후 Sörensen's phosphate buffer (pH 7.2)로 3회 세척하였고 1% O_3O_4 로 3시간 後固定하여 같은 완충액으로 세척하였다. 통상적인 방법에 따라 固定된 材料를 알코올과 아세톤으로 탈수시킨 뒤 Epon-Araldite 混合液에 包埋하였다.

包埋된 材料를 Sorvall MT-II형 및 LKB-V형 ultramicrotome으로 절편을 만들었다. 두꺼운 절편은 toluidine blue, methylene blue, basic fuchsin 및 periodic acid-Schiff's(PAS) sol.으로 染色하여 光學顯微鏡으로 관찰하였고 超薄切片은 uranyl acetate 및 lead citrate(Reynolds, 1963)로 二重染色하여 JEM 100 CX-II 電子顯微鏡(80kV)으로 관찰하였다.

結 果

칼라세포는 筋肉 및 結合組織層에 주로 무리를 지어 分布하였으며(Fig. 1, 2), 이 세포의 모양은 대체로 球形 내지 單極形(monopolar)으로(Fig. 8) 모두 上皮쪽을 향하고 있었다. 또 일부의 세포들은 그들의 細胞質突起가 上皮 내에까지 뻗어 있었다(Fig. 1, 9). 이 세포의 細胞質은 hematoxylin-eosin에서는 잘 染色되지 않았으며, 鍍銀標本에서는 黃色 내지 褐色으로 染色성을 나타내며(Fig. 1), PAS 反應에서는 陽性反應을 나타내었다(Fig. 2).

한편 細胞質 내에서는 透明한 分泌物質로 채워진 다수의 透明質小胞(electron-lucent inclusion)가 관찰되었는데 때로는 막성구조물이 포함되어 있기도 하였다(Fig. 4, 5). 또한 透明質小胞 내에 포함되어 있는 것과 類似的한 物質은 膨大된 ER의 內腔에서도 관찰되었으며, 그 末端部에서는 透明質을 함유하는 小胞가 형성되는 構造도 관찰되었다(Fig. 6). 한편 Golgi 장치는 5~8개의 小槽(cistern)로 구성되었고 小槽 末端部에서도 透明한 分泌物로 患料되는 小胞들이 존재하였다. 透明質小胞의 直徑은 보통 0.5~0.9 μ m이었다. 미토콘드리아는 이 細胞의 核 주변부와 Golgi 장치 주위에서 다수 분산되어 있었으며(Fig. 3), 리소좀과 유사한 構造物도 간혹 관찰되었다(Fig. 7).

核은 세포의 중앙에 흔히 위치하였고 그 形態는 매우 不規則하였으며 異質染色質을 많이 包含하고 있었다(Fig. 3~5). 한편 觸手上皮의 브리시보오더(brush border)는 질산에 陽性反應을 나타내었다(Fig. 1).

考 察

Lane(1962)에 의하면 칼라細胞는 陸棲달팽이류 중 觸手끝에 눈이 있는(眼觸手; optic tentacle) 柄眼目の 觸手에서만 發見된다고 하였다. 그러나 이 세포들은 前鰓亞綱에 속하는 눈우렁이(눈이 觸手의 기부에 있음)에는 觸手 뿐만 아니라 頭部 및 口器에까지도 널리 分布되었고 筋纖維 주위의 結合組織내에 특히 무리를 지어 出現하는 것이 特徵의이다.

上皮에 연결해 있는 칼라세포의 細胞質突起는 上皮내에까지 突出하여 이들 세포로부터 형성된 分泌性物質들이 이 細胞質突起를 통해서 觸手 밖으로 分泌되는 것으로 확인되었다. 칼라세포는 上皮까지 뻗은 細胞質突起 때문에 神經分泌細胞라 報告된 바도 있으나(Flemming, 1872; Retzius, 1892; Lane, 1962), 세포질내에 分泌物인 透明質顆粒이 많이 함유되어 있는 점으로 미루어보아 神經分泌細胞라고 간주할 수는 없고, 分泌細胞가 흔히 풍부히 포함하는 ER과 Golgi장치가 발달되고 Golgi장치의 성숙부위 小胞내에 分泌性 透明顆粒이

포함되어 있는 점 등으로 보아 分泌細胞로 思料된다. Jobert(1871)를 비롯하여 Simroth(1876), Yung(1911), Demal(1955) 및 Kataoka(1976) 등은 이 細胞를 單純히 分泌細胞라는 見解를 밝힌 바 있다.

Rogers(1971a, b)는 *Helix aspersa*의 眼觸手表面에 발달된 브러시 보오더(刷刺緣)는 섬세한 纖維性物質로 덮여 있는데 이 物質은 粘液細胞로부터 分泌된 것이 아니라 칼라세포의 細胞質突起로부터 分泌된 것이라 하였는데, 本研究에서도 눈우렁이 觸手上皮의 브러시 보오더에서 透明한 섬유성물질이 확인되었다. 또한 브러시 보오더의 外皮는 alcian blue에 陽性反應을 나타내어 이 物質은 粘液細胞로부터 分泌된 酸性多糖類인 것으로 이미 확인된 바 있다(Song 등, 1985).

또한 칼라세포(Rogers, 1969)에는 神經의 軸索 또는 軸索終末(axon terminal)이 分布되어 있어서 이 세포의 分泌物形成 및 分泌는 神經에 의해 調節된다고 하였으나 本實驗에 사용된 눈우렁이에서는 칼라세포 주위에서 軸索이나 軸索終末이 관찰되지 않았다.

칼라세포의 分泌物質 형성과정에 대해서는 골지장치에서 생성된다는 견해(Scharrer와 Brown, 1961; Mollenhauer와 Whalley, 1963)와 ER로부터 골지장치로 이행된다는 견해(Carro와 Palade, 1964)가 보고된 바 있는데 本實驗에서는 分泌性 透明顆粒들이 ER 팽대부위 및 골지장치의 인접부에서 많이 관찰되었으므로 이 分泌物質의 생성은 ER 및 골지장치와 밀접한 관계가 있는 것으로 사료된다.

Lane(1963)은 組織化學的 實驗에 근거하여 칼라세포의 分泌性 小胞는 phospholipid(Cerebroside)를 함유하며 이런 물질은 이 動物이 有毒性蛋白質과 같은 化學的 物質로부터 保護받기 위한 것이라 설명하고 있다. 分泌物이 rER로부터 生成된다는 사실은 이것을 암시하여 지지해 주는 것이다.

이 세포의 分泌物이 排出되는 機作에 관하여 Pelluet과 Lane(1961)은 칼라세포를 paraldehyde fuchsin으로 염색한 재료에서 分泌物을 觸手に 分布된 血管 주변에서 관찰하고 觸手神經節 밑에 있

는 인접血管을 통하여 分泌된다는 假設을 세웠고, Lane(1963)이나 Rogers(1969) 등은 칼라세포의 세포질돌기를 통하여 觸手 밖으로 分泌된다고 記述한 바 있다. 本實驗에서도 질산은(silver nitrate)으로 染色한 試料에서 칼라세포체와 그것의 細胞質突起가 陽性反應을 보였으며 그것의 돌기로부터 分泌된 分泌物이 觸手의 外皮에서 光學顯微鏡으로 확인되었으며, 이것은 Lane(1963) 및 Rogers(1969)의 實驗結果와 일치하였다. 또한 이 세포가 質산은에 陽性反應을 나타내는 점으로 보아 神經分泌細胞임을 暗示한 Flemming(1872) 및 Lane(1962)의 見解와도 相通되는 일면을 보여주고 있으나 神經分泌顆粒은 電子密度가 높고 또 이곳에 軸索이 관찰되지 않은 점 등으로 보아 神經分泌顆粒과 무관한 것으로 간주된다. 또 이 세포의 分泌物은 다른 軟體動物의 神經分泌物과는 다르다(Rosenbluth, 1963; Rohnisch, 1964; Nolte, 1965; Boer 등, 1968).

Eakin과 Ferlatte(1973)는 *Helix aspersa*의 눈再生에 관한 실험을 통하여 칼라세포는 觸手神經節과 눈再生에 관련이 있다고 보고한 바 있다. *Helix aspersa*의 眼觸手を 除去한 실험을 통하여 Lane(1963) 및 Pelluet과 Lane(1961) 등은 칼라세포는 卵子の 成熟 및 分化를 억제시키고 精子形成을 促進시킨다고 암시한 바 있으나, Rogers(1969)는 이 세포의 실제적인 機能에 대해서는 精確한 結論을 내리지 못하였고, Kataoka(*Limax flavus*, 1976)는 分泌細胞로서의 機能만을 기술하였다. 그러나 눈우렁이에서는 上皮의 브러시 보오더에 있는 섬유성 투명물질이 이 세포의 分泌物과 類似할 뿐만 아니라 鍍銀標本에서도 陽性反應을 나타내는 점 등으로 미루어 이 세포 分泌物의 機能은 외부 환경으로부터 上皮의 感覺細胞에 刺戟傳達를 促進시켜 주고, 다른 한편으로는 有毒物의 침투를 막는 barrier로서의 役割을 하는 것으로 思料된다.

結 論

눈우렁이 觸手의 筋肉 및 結合組織層 내에서는 單極型의 칼라세포들이 단독으로 또는 무리틀지어 관찰되었다. 이 세포들은 0.5~0.9 μ m 크기의 분

泌性 透明質小胞들을 다수 포함하였으며 그 分泌物은 上皮까지 뺀 細胞質突起를 통하여 觸手 밖으로 分泌되었다. 分泌物은 膨大된 ER의 內腔 속에서 형성 축적되며 다시 골지장치로 운반되고, 이곳에서 Golgi-membrane으로 포장된 透明質小胞로 성숙되는 것으로 思料되었다. 또한 이 세포의 分泌物은 上皮的 브러시 보오더를 채우고 있는 섬세한 纖維性 物質과 유사하였다.

References

Boer, H.H., J.W., Slot and J. Van Aan An del. 1968. Electron microscopical and histochemical observations on the relation between medio-dorsal bodies and neurosecretory cells in the Basommatophoran snails *Lymnaea stagnalis*, *Ancylus fluviatilis*, *Australorbis glabratus* and *Planorbarius corneus*. Z. Zellforsch. 87, 435~450.

Caro, L.G. and G.E. Palade. 1964. Protein synthesis, storage and discharge in the pancreatic exocrine cell. J. Cell Biol. 20, 473~495.

Demal, J. 1955. Essai d'histologie comparee des organes chemorecepteurs Gasteropodes. Mem. Acad. oy. Mer Belg. 29, 1~83.

Eakin, R.M. and M.M. Ferlatte. 1973. Studies on eye regeneration in a snail, *Helix aspersa* J. Exp. Zool. 101, 81~96.

Flemming, W. 1872. Zur Anatomie der Land schnecken fuhler und Zur Neurologie der Mollusken. Z. Wiss. Zool. 22, 365~372.

Jobert, C. 1871. Contribution a l'etude du systeme nerveux sensitif. J. Anat.(Paris) 7, 611~632.

Kataoka, S. 1976. Fine structure of the epidermis of the optic tentacle in a Slug, *Limax flavus*(L.). Tiss. Cell 8, 47~60.

Lane, N.J. 1962. Neurosecretory cells in the optic tentacles of certain pulmonates. Q.J. Microsc. Sci. 103, 211~226.

Lane, N.J. 1963. Microvilli on the external surfaces of gastropod tentacles and body-walls. Q.J. Microsc. Sci. 104, 495~504.

Mollenhauer, H.H. and W.G. Whaley. 1963. An observation on the functioning of the Golgi apparatus. J. Cell Biol. 17, 222~225.

Nolte, A., H. Breucker and D. Kuhlmann. 1965. Cytosomale Einschlusse und Neurosekret Im Nervengewebe Von Gastropden. Zeitschrift fur Zellforschung 68, 1~27.

Pelluet, D. and N.J. Lane. 1961. The relation between neurosecretion and cell differentiation in the ovotestis of slugs (Gastropoda: pulmonata). Can. J. Zool. 39, 789~806.

Retzius, G. 1892. Das sensible Nerven system der Mollusken. Biol. Unters. 4, 11~18.

Reynolds, E.S. 1963. The use of lead citrate in electron microscopy. J. Cell Biol. 17, 208~212.

Rogers, D.C. 1969. The fine structure of the collar cells in the optic tentacles of *Helix aspersa*. Z. Zellforsch. 102, 113~128.

Rogers, D.C. 1971a. Surface specializations of the epithelial cell at the tip of the optic tentacle, dorsal surface of the head and ventral surface of the foot in *Helix aspersa*. Z. Zellforsch. 114, 106~116.

Rogers, D.C. 1971b. The fine structure of sensory neurons and their processes in the optic tentacles of *Helix aspera*. Z. Mikrodsk. Amat. Forsch. (Leipzig) 84 1, s. 52~64.

Rohnisch, S. 1964. Untersuchungen zur Neurosekretion bei *Planorbarius corneus* L. (Basommatophora). Z. Zellforsch. 63, 767~798.

Rosenbluth, J. 1963. The visceral ganglion of *Aplysia californica*. Z. Zellforsch. 60, 213~236.

Scharrer, E. and S. Brown. 1961. Neurosecretion. XII. The formation of neurosecretory granules in the earthworm *Lumbricus terrestris* (L). Zellforsch. 54, 530~540.

Simroth, H. 1976. Übers die Sinneswerkzeuge

- die einheimischen Weichtiere. Z. Wiss. Zool. 26, 227~292. Korean J. Electron Microscopy 15, 80~88.
- Song, Y.J., C.S. Kim and C.W. Kim. 1985. Ultrastructure of the tentacular epithelium in *Cipangopaludina chinensis malleata*(Reeve). Yung, E. 1911. Anatomie d'une malformation du grande tentacule de l'escargot (*Helix pomatia*). Rev. Suisse Zool. 19, 339~382.

Figure Legends

- Figs.1-2.** Light micrographs of the connective tissue containing lots of collar cells.
- Fig. 1.** Section through the tentacle showing the cytoplasmic processes projected from collar cells in the connective tissue into the epithelium. Silver nitrate stain. $\times 500$.
- Fig. 2.** Light micrograph of the connective tissue containing lots of collar cells. Periodic acid-Schiff's reaction and basic fuchsin stain. $\times 1,200$.
- Figs. 3-9.** Electron micrographs of collar cells in the connective tissue.
- Fig. 3.** Electron micrograph of a collar cell containing a number of mitochondria in the central part of the cell, as well as clear inclusions and electron-dense granules. $\times 9,000$
- Fig. 4.** Lower magnification of connective tissue containing two collar cells with many clear inclusions (CN) and small electron-dense granules. $\times 15,000$.
- Fig. 5.** A collar cell showing the highly-developed endoplasmic reticulum (ER) in the cytoplasm. $\times 37,000$.
- Fig. 6.** Another profile of two collar cells containing endoplasmic reticulum and clear inclusions (CN). $\times 39,000$.
- Fig. 7.** Electron micrograph of a collar cell possessing a well-developed Golgi complex in the central part of the picture. $\times 35,000$.
- Fig. 8.** Section through two collar cells projecting their cytoplasmic processes into the connective tissue. $\times 20,000$
- Fig. 9.** Electron micrograph of connective tissue containing many cytoplasmic processes (CP) projected from the collar cells toward the epithelium. $\times 14,000$.





