

집바퀴의 중장 상피조직내에 있는 내분비세포의 미세구조

류 재 혁
인하대학교 이과대학 생물학과

Ultrastructure of Endocrine Cells in the Midgut Epithelium of the Japanese Cockroach, *Periplaneta japonica*

Chai Hyeock Yu
Department of Biology, Inha University, Incheon 402-751, Korea
(Received September 30, 1996)

ABSTRACT

The endocrine cells in the midgut epithelium of the Japanese cockroach, *Periplaneta japonica* were observed by the light and electron microscopy. The midgut epithelium of the last instar larva and adult cockroach consisted of principal columnar cells, regenerative cells, and secretory granular cells. Midgut endocrine cells were positioned basally as a cone-shaped single cell in the epithelium or underneath the regenerative crypt cells. When midgut epithelium grows and the cell composing it transforms, between the endocrine cells and regenerative cells were made desmosome type junction and large vesicular shaped stretches of loose contact. The endocrine cells were characterized by a clear cytoplasm with abundant Golgi complex and numerous secretory granules. The secretory granules in the cell were spherical and electron dense with their diameter of 200~400 nm. The secretory granules have been observed as discharged by exocytosis on the basal and lateral side of the cell.

Key words : Endocrine cells, Midgut epithelium, Japanese Cockroach (*Periplaneta japonica*)

서 론

곤충의 소화관은 각 종마다 형태가 다르지만 전장 (foregut), 중장 (midgut) 그리고 후장 (hindgut) 등 크게 세부분으로 구분되어진다. 그런데 전장과 후장은

외배엽에서 발생되어 장 내면 얇은 cuticle층으로 덮혀 있으며, 전장에서는 음식물의 저장 및 물리적 소화, 후장에서는 물고 이온의 재흡수 기능을 수행한다. 따라서 물질의 분해와 흡수작용 즉 대부분의 소화작용은 중장에서 일어난다. 일반적으로 중장의 상피조직은 원주세포 (columnar cell), 재생세포 (regenerative cell), 배상 세포 (goblet cell), 그리고 내분비세포 (endocrine cell), 등 기능과 형태가 분화된 4종류의 세포들로 구성

* 이 연구는 1995년 인하대학교 연구비 지원에 의하여 수행되었음.

된 단층의 점막상피를 이루고 있다(Chapman, 1985). 그 중 중장 상피의 대부분을 차지하는 원주세포분해된 물질을 장 내강으로부터 흡수하여 체강의 혈림프(hemolymph)로 보내는 소화의 주 기능을 수행하는 세포로서 원형질막과 세포기관들이 분화되어 전형적인 흡수세포의 형태를 가진다. 재생세포는 원주세포가 노화하여 퇴행되면 새로운 원주세포로 대체되거나, 변태할 때 새로운 장상피를 만드는 세포들로서 분화능력을 가지고 있다. 배상세포는 단세포로서 내강이 크게 변형되었으며 점액질을 분비하는 기능을 수행하며 내분비세포는 내분비성 세포로서 분비과립을 갖는 것이 특징이다(Wigglesworth, 1972).

이와 같이 영양물질의 분해와 흡수기능을 수행하는 중장에 관한 연구는 다각적으로 수행되어지고 있는데, 그 중 구성세포와 조직 등의 형태와 구조에 대한 연구로 보고 되었다. 먼저 나비목 곤충인 *Manduca sexta* (Cioffi, 1979), *Hyalophora cecropia* (Anderson & Harvey, 1966) 및 파리목의 모기류인 *Culex pipiens fatigans* (Hecker, 1977), *Culex tarsalis* (Houk, 1977), *Aedes aegypti* (Brown et al., 1985; Glättli et al., 1987)와 파리류인 *Calliphora erythrocephala* (Priester, 1971) 등을 재료로 하여 각종 분화된 상피세포들의 미세구조에 대해 연구된 바 있다. 그리고 세포질내에 분비과립을 갖는 내분비세포에 대한 연구는 파리목에 속하는 *Aedes aegypti* (Brown et al., 1985, 1986; Glättli et al., 1987), *Stomoxys calcitrans* (Lehane, 1976, 1987, 1988) 및 벌목의 *Apis mellifera* (Raes & Verbeke, 1944) 등의 중장 상피조직내에서 관찰보고 되었다. 특히 본 실험 재료인 집바퀴와 같은 과(科)에 속하는 바퀴(*Blattella germanica*)의 중장 상피조직에 있는 내분비세포와 이질바퀴(*Periplaneta americana*)의 중장내 내분비세포에서의 과립이 세포외 유출되는 과정을 관찰 보고한 바 있다(Endo & Nishiitsutsuji-Uwo, 1982). 그리고 Yu (1993)는 본 실험종과 동일한 집바퀴(*Periplaneta japonica*)의 중장 상피세포들의 미세구조를 관찰 보고 하는 내용에서 내분비세포들이 존재함을 언급한 바 있다.

본 연구에서는 집바퀴의 중장 상피조직내에 있는 내분비세포의 형태에 관해 보고 하고자 하는데, 이미 보고된 자료들을 참고하여 내분비세포의 분화된 형태, 즉 미

세구조를 집중 관찰 보고 하고자 한다.

재료 및 방법

본 실험에서는 집바퀴(*Periplaneta japonica* : Blattidae)를 $26 \pm 2^\circ\text{C}$ 되는 항온실에서 인공먹이를 주어 사육하여 그 중 중령유충과 성충을 암 수 구별없이 실험재료로 사용하였다. 상기 재료를 해부 현미경하에서 해부하여 중장(midgut)만을 적출하여 2% paraform-glutaraldehyde (0.1 M 인산완충용액, pH 7.4) 혼합 고정액(4°C)에 12시간 동안 전고정하였다. 그 후 0.1 M 인산완충용액(pH 7.4)으로 3시간 동안 3회 세척한 후 0.1 M osmium tetroxide (0.2% 인산완충용액, pH 7.4)에 2시간 동안 후고정 하였다. 후고정이 끝난 재료들은 증류수로 1시간 동안 3회 세척한 다음 ethyl alcohol과 propylene oxide로 탈수하여 Epon 혼압액에 포매하였다. 포매된 재료는 semi-thin절편을 만들어 methylene blue와 basic fuchsin으로 염색하여 광학현미경으로 조직을 관찰하였다. 그리고 LKB ultratome V를 이용하여 초박절편을 만들어 uranyl acetate (20분간)와 lead citrate (7분간)로 이중염색하여 투과전자현미경(Jem-100CX-II)으로 검경 관찰하였다.

결 과

집바퀴 중령유충과 성충의 중장은 원주세포와 그 기부 사이에 위치하는 작은 재생세포들의 집단과 원추형의 내분비세포들로 구성된 단층의 점막상피였으며, 기저막 주위에는 결합조직이 있어 그 내부에는 신경세포, 기관세지(tracheoles)들이 분포하고 있었다(Fig. 1).

점막상피조직의 대부분을 차지하는 원주세포들은 70~80 μm 높이로서 장 내강에 면한 첨단부 원형질막이 미세용모로 변형되어 "brush border"를 형성하였는데, 미세용모의 길이는 약 2 μm 로서 매우 규칙적으로 배열되었다. 기저부 원형질막은 심하게 주름잡혀 세포질내로 불규칙하게 뻗어 들어가 소관(canaliculi)을 만들어 망상의 basal labyrinth로 관찰되었다. 기저막 주름 사이에는 발달한 미토콘드리아가 밀집되어 있었다. 세포질내에는 과립소포체(rough endoplasmic reticulum=rER)가 발달하였으며 주로 세포의 중앙부, 핵주변부에

서 많이 관찰되었다. 그리고 밀집된 과립소포체 사이에서 골지체와 글리코겐 과립이 가끔 관찰되었다.

점막상피의 기저부에서는 재생세포들이 관찰되었다. 그림 1과 3에서 보는 바와 같이 재생세포들은 5~8개 정도가 집단을 이루어 기저막에 접하고 있었으며 원주세포 기부 사이에 위치하고 있었다. 재생세포의 크기는 장축이 5~12 μm 정도로 작으며 세포질의 전자밀도가 원주세포에 비해 높아 진하게 염색되어 관찰된다. 재생세포의 핵은 세포의 크기에 비해 큰 편이며 중앙에 위치하였고, 미콘드리아 등 세포기관들이 관찰되나 원주세포의 것과 같이 발달하지 않았다. 그리고 원형질막은 대체로 평활하였으나 기저막에 접한면은 기저막 주름에 약간 접혀 있었다.

집바위의 중장 상피조직내에 있는 내분비세포들은 모두 밀면이 기저막상에 접하고 있었으며, 대부분이 재생세포들의 집단 아래 혹은 옆에 밀착하고 있었다. 간혹 원주세포들의 기부 사이에 위치하고 있어 원추형을 이루고 있었다 (Fig. 1). 내분비세포들은 전자밀도가 높은 과립들이 세포질내에 산재해 있어 다른 세포들과 쉽게 구분되

었다. 과립들은 직경이 약 200~400 nm 크기의 막성체를 갖는 구형체이었다 (Fags. 2, 3, 8). 내분비세포들은 methylene blue나 toluidine blue에 염색성을 가지며, 특히 전자현미경에서 과립들이 검게 관찰되는 것은 이 과립들이 osmium tetroxide에 강하게 염색 (osmiophilic)되는 특성을 가졌기 때문이다. 내분비세포와 재생세포들 간에는 치밀반 (desmosome) 형태의 세포연접이 관찰되었으며, 두 세포 간격이 넓은 세포간격을 구성하고 있었다 (Figs. 3, 5, 6, 7, 8). 그리고 두 세포간격 사이에 허족과 같은 원형질돌기도 관찰되었다 (Figs. 6, 7, arrows). 그리고 그림 9에서 보는 바와 같이 분비과립들은 세포외유출 (exocytosis) 방법에 의해 세포 밖으로 분비 되는 것으로 관찰되었다. 이는 측부 원형질막을 통하여 배출되는 경우이고, 기저막과 접한 기저원형질막을 통하여 세포외로 분비되는 경우도 관찰된 바 있다.

고 찰

일반적으로 곤충의 중장 상피는 세포의 형태와 기능에

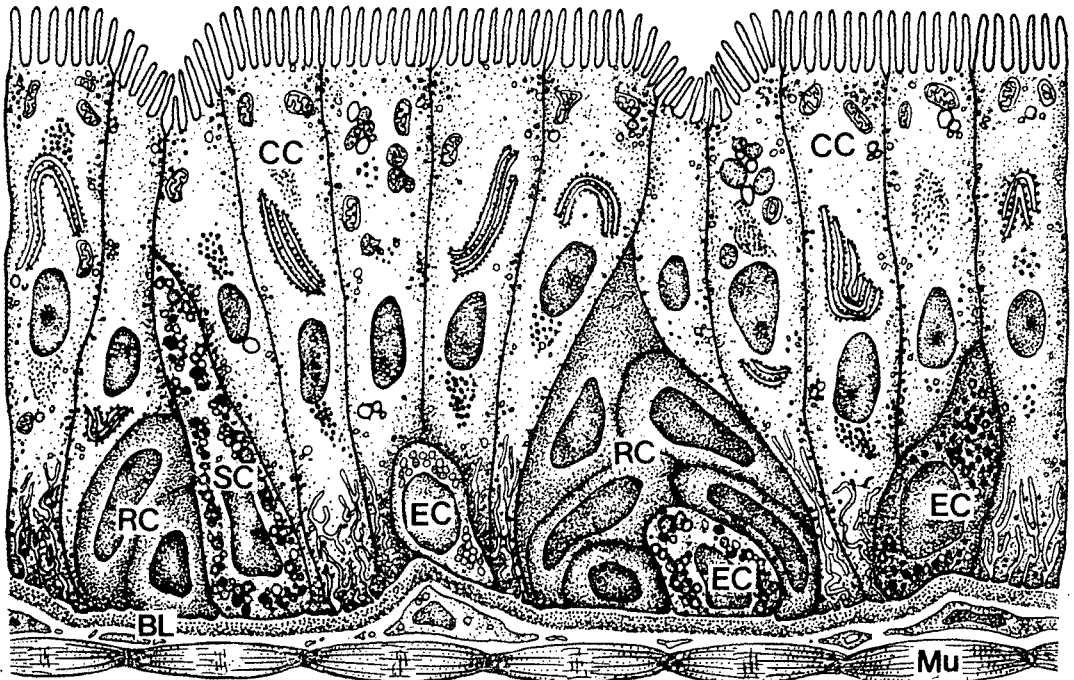


Fig. 1. Diagram of the midgut epithelium in the Japanese cockroach, *Periplaneta japonica*, illustrating the columnar cells (CC), regenerative cell (RC), and endocrine cells (EC). BL, basal lamina; Mu, muscle.

따라 원주세포(흡수세포), 재생세포, 배상세포, 그리고 내분비세포 등 크게 4종류로 구분하는데 분비과립세포는 기능상으로 내분비세포라고도 한다(Chaman, 1985). 원주세포는 영양물질을 흡수하는 기능을 수행하기 때문에 흡수세포라 하며 세포의 높이가 보통 60~80 μm 정도로 길게 발달하였다. 원주세포의 첨단부 원형질막은 미세음모로 변형되어 brush border를 이루며, 기저부 원형질막은 심하게 주름이 잡혀 있으며 이에 내막계가 발달한 미토콘드리아와 접하고 있는데 이는 전형적인 흡수세포형으로서 다른 곤충에서도 관찰되는 공통된 특징이다. 이는 직시목, 바퀴과에 속하는 바퀴(*B. germanica*), 이질바퀴(*P. americana*), 그리고 본 실험 재료인 집바퀴(*P. japonica*)의 중장 상피조직도 유사하였다(Endo & Nishiitsutsuji-Uwo, 1982; Yu, 1993; Yu *et al.*, 1980).

배상세포는 단세포로서 점액질을 생산 분비하는 세포이며, *H. cecropia* (Anderson & Harvey, 1966)나 *M. sexta* (Cioffi, 1979), 그리고 *Helicoverpa zea* (Binder & Bowers, 1994)와 같은 곤충에서 발달한 것으로 보고되었다. 그러나 본 실험 재료인 집바퀴나 이질바퀴, 바퀴 등의 중장 상피 조직내에서는 배상세포가 없는 것으로 확인되었다.

재생세포는 노화된 원주세포가 파괴, 퇴행되면 새로운 장 상피를 구성하는 세포들로 특고기목과 같이 변태를 하지 않는 종을 제외하고는 대부분의 곤충들이 가지는 것으로 사료된다. 재생세포들은 3~4개 혹은 종에 따라서는 8~12개의 세포들이 집단을 이루어 기저상막에 위치한다. 그림 1, 3에서 보는 바와 같이 본 집바퀴의 중장내에도 재생세포들이 발달하였다.

내분비세포들은 원주세포들의 기부사이에 존재하여 원추형을 이루거나(Figs. 5, 8), 재생세포 집단의 아래 혹은 옆에 접하고 있었다(Fig. 3). 이 내분비세포들은 원주세포나 재생세포에 비해 세포질의 염색성이 낮아 밝아 보이는 것이 특징이었다. 이는 골지체는 아주 발달하였고(Figs. 4, 7), 과립소포체와 미토콘드리아가 조금 발달하였을 뿐 그 이외의 다른 세포기관들은 발달하지 않은

단순한 기능을 갖는 세포이기 때문인 것으로 생각된다. 그리고 세포질내에 있는 산재해 있는 분비과립들은 osmium tetroxide에 염색성이 높아 검게 보이며 막성체를 갖는 것이 특징이었다(Figs. 2, 5, 8). 이것은 유

사종인 바퀴나 이질바퀴의 것과 유사함은 물론 모기, 파리 등의 내분비성세포의 과립과도 공통된 특징이었다(Endo & Nishiitsutsuji-Uwo, 1982; Brown *et al.*, 1985; Raes & Verbeke, 1994; Raes *et al.*, 1994). 그런데 과립의 크기는 종마다 조금씩 차이가 있는 것으로 보고되었다. Brown 등(1985)은 모기인 *A. aegypti*의 내분비세포내 과립의 크기는 약 60~120 nm로 보고하였으며, Lehane(1988)은 등에(*S. calcitrans*)의 분비과립의 크기는 평균 450 nm인 것으로 관찰하였다. 그런데 Endo Nishiitsutsuji-Uwo(1982)는 이질바퀴(*P. americana*)의 내분비과립의 크기를 측정하여 200~300, 200~400 그리고 700~800 nm 크기 등 3집단으로 구분하여 보고한 바 있다. 본 집바퀴의 분비과립의 크기는 직경이 약 200~400 nm 크기로 측정되었다(Fig. 5). 한편 Lehane(1976, 1987, 1988)은 피를 빨아먹는 등에(*S. calcitrans*)를 재료로하여 직경이 약 0.45 μm 크기의 분비과립을 갖는 세포와 소화효소를 생산 저장하였다가 장 내강으로 부분분비(merocrine secretion)하는 외부비선 세포를 구분하여 보고한 바 있다. 외부비 세포의 분비 경로는 세포의 첨단부원형질막(apical plasma membrane)을 통하여 장 내강 즉 체외로 분비되는 것이며, 내분비 세포는 분비과립들을 세포의 측부원형질막이나 기부원형질막을 통하여 세포 유출 방법에 의해 체강내로 분비되는 것으로 구분되어진다. 그리고 분비과립의 물질조성에 대하여는 면역세포화학적 방법에 구분되어진다(Brown *et al.*, 1986; Glättli, *et al.*, 1987). 본 실험에서는 면역세포화학적 방법을 시도하지 못하였으나 osmium tetroxide에 염색되는 정도, 막성체를 갖는 것, 그리고 측부 및 기부 원형질막을 통하여 세포유출방법에 의해 분비되는 것 등을 미루어 보아 내분비세포임을 알 수 있었다. 한편 인접한 내분비세포와 재생세포들 간에는 치밀한 형태의 세포연접을 관찰할 수 있었다. 이는 변태시 중장 상피세포의 간세포로부터 분화되는 과정에 나타나는 특징으로 보이며, 특히 세포간격이 넓게 발달하는 것으로 관찰되었다(Figs. 6, 7). 이런 세포연접과 세포간격이 만들어지는 것은 물질의 유동이 잘 이루어지도록 분화된 형태로 여겨지는데 이에 대한 연구는 성장 분화과정과 더불어 연구가 되어져야 할 것으로 생각된다.

결 론

본 실험에서는 실내 사육한 집바퀴(*Periplaneta japonica*)의 종령 유충과 성충을 실험재료로 하여 중장의 상피조직내에 있는 분비과립세포들은 광학 및 전자 현미경으로 관찰하였다. 집바퀴의 상피조직은 원주세포, 재생세포 그리고 내분비세포들로 구성되었다. 내분비세포는 기저막상에 위치하였으며 재생세포 집단의 아래 또는 옆에 밀착하고 있고, 간혹 원주세포 사이의 기저부에 위치하여 원추형을 이루었다. 내분비세포는 다른 세포들에 비해 세포질의 전자밀도가 낮아 밝게 보였고, 골지체가 발달하였으며 미토콘드리아 이외의 세포기관은 분화하지 않았다. 그리고 세포질 직경이 약 200~400 nm되는 분비과립을 갖는 것이 특징인데 이 과립들은 막성계를 가지며 전자밀도가 높아 검게 보였으며 세포의 기저부에 밀집되어 있었다. 이런 분비과립들이 측부 또는 기저 원형질막을 통하여 세포의 유출되는 현상이 관찰되었다.

참 고 문 헌

- Anderson E, Harvey WR, 1966. Active transport by the *Cecropia* midgut. II. Fine structure of the midgut epithelium, *J. Cell Biol.* 31, 107-134
- Binder BF, Bowers WS, 1994. Precocene II-induced changes in the anatomy of midgut goblet cells of last-instar larvae of *Helicoverpa zea* (Boddie) (Lepidoptera : Noctuidae), *Int. J. Insect Morphol. & Embryol.* 23, 127-134
- Brown MR, Crim JW, Lea AO, 1986. FMRF-amide and pancreatic polypeptide-like immunoreactivity of endocrine cells in the midgut of a mosquito, *Tissue & Cell* 18, 419-428
- Brown MR, Raikhel AS, Lea AO, 1985. Ultrastructure of midgut endocrine cells in the adult mosquito, *Aedes aegypti*. *Tissue & Cell* 17, 709-721
- Chapman RF, 1985. Structure of the digestive system. In *Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry, and Pharmacology* (Kerkut, G.A. and Gilbert, L.I. eds.). Vol. 4, Pergamon Press, Oxford. pp.165-211
- Cioffi M, 1979. The morphology and fine structure of the larval midgut of a moth (*Manduca sexta*) in relation to active transport, *Tissue & cell* 11, 467-479
- Endo Y, Nishiitsutsuji-Uwo J, 1982. Exocytotic release of secretory granules from endocrine cells in the midgut of insects, *Cell Tissue Res.* 22, 515-522
- Gättli E, Rudin W, Hecker H, 1987. Immunoelectron microscopic demonstration of pancreatic polypeptide Dipterans, *J. Histochem. Cytochem.* 35, 891-896
- Hecker H, 1977. Midgut ultrastructure of *Culex tarsalis* (Diptera : Culicidae) before and after a bloodmeal, *Tissue & Cell* 9, 103-188
- Houk Ej, 1977. Midgut ultrastructure of *Culex tarsalis* (Diptera : Culicidae) before and after a bloodmeal, *Tissue & Cell* 9, 103-188
- Lehane MJ, 1976. Digestive enzyme secretion in *Stomoxys calcitrans* (Diptera : Muscidae), *Cell Tissue Res.* 170, 274-287
- Lehane MJ, 1987. Quantitative evidence for mero-crin secretion in insect midgut cells, *Tissue & Cell* 19, 451-461
- Lehane Mj, 1988. Size of secretory granules from midgut cells of the stablefly, *Stomoxys calcitrans*, *Tissue & cell* 20, 763-770
- Priester WD, 1971. Ultrastructure of the midgut epithelial cells in the fly *Calliphora erythrocephala*, *J. Ultrastruct. Res.* 36, 783-850
- Rase H, Verbeke M, 1994. Light and electron microscopical study of two types of endocrines cell in the midgut of the adult worker honeybee (*Apis mellifera*), *Tissue & Cell* 26, 223-230
- Rase H, Verbeke M, Meulemans W, Coster WDe, 1994. Organization and ultrastructure of the regenerative crypts in the midgut of the adult worker honeybee (*Apis mellifera*), *Tissue & cell* 26, 231-238
- Wigglesworth VB, 1972. The Principle of Insect Physiology, 7th Ed., Methuen, London, pp. 470-500
- Yu CH, 1993. Ultrastructure of the midgut epithelial cells in the cockroach, *Periplaneta japoni-*

ca. Korean J. Entomol. 23, 73-82
 Yu CH, Kim WK, Kim CW, 1980. Secretory granular cells in the midgut epithelium of the *Blattella germanica* L, Kor. J. Electron Microscopy 10, 27-32

tella germanica L, Kor. J. Electron Microscopy 10, 27-32

FIGURE LEGENDS

- Fig. 2.** Basal portion of an endocrine cell in the midgut epithelium. The electron dense secretory granules(SG) are mainly formed and stored in the basal region of the cell.
 BL, basal lamina; Mi, mitochondria; Nu, nucleus.
- Fig. 3.** The basal portion of the midgut epithelium showing small regenerative cells "nidi" (RC) with prominent nuclei and restricted cytoplasm. And an endocrine cell with numerous secretory granules (SG). BL, basal lamina; IS, intercellular space; LPM lateral plasma membrane; Nu, nucleus.
- Fig. 4.** Numerous secretory granules (SG) and developed Golgi complex (GC) are seen in the cytoplasm of the endocrine cell. Nu, nucleus.
- Fig. 5.** Spherical, unit membrane bound inclusions, 200~400 nm in diameter, with moderate to high osmiophilic contents (secretory granule (SG)), are seen in the endocrine cell. IS, intercellular space; Mi, mitochondria; Nu, nucleus.
- Fig. 6, 7.** Adjacent endocrine cell and regenerative cell, arrow point to cytoplasmic process (⇒) and are made desmosome type junctions (JU) within the epithelium. BL, basal lamina; GC, Golgi complex; IS, intercellular space; Nu, nucleus; SG, secretory granule.
- Fig. 8.** Basal portion of the endocrine cell and columnar cell, the plasma membrane (LPM) of the adjacent cells are made the intercellular space. BL, basal lamina; Mi, mitochondria; Nu, nucleus; SG, secretory granules.
- Fig. 9.** Exocytotic granules release from lateral plasma membrane (LPM) of the endocrine cell.
 BL. basal lamina; Mi. mitochondria; Nu. nucleus.

