

## 동양달팽이의 위에 대한 조직화학적 및 미세구조적 연구

정 계 현 · 이 용 석

순천향대학교 자연과학대학 생명과학부

= Abstract =

### Histochemical and Ultrastructural Study on the Stomach of a Land Snail, *Nesiohelix samarangae*

Kye-Heon Jeong and Yong-Seok Lee

Department of Biology, College of Natural Science, Soonchunhyang University

A histochemical and ultrastructural study on the stomach epithelium of a land snail *Nesiohelix samarangae* was carried out during the period of June 1996 to May 1997.

The stomach epithelium is simple columnar epithelium and is consisted of three types of columnar cells. Type 1 cell which is majority in number has a brush border with microvilli on the free surface of the cell and contains numerous secretory granules supposed to be neutral mucopolysaccharide. Type 2 cell, elongated conical in shape, is rarely found in the epithelium. This cell also has a brush border with microvilli on its free surface and contains well developed rough surfaced endoplasmic reticulum, Golgi bodies, and secretory granules in various electron densities. This cell seems to produce both of acid and neutral mucopolysaccharides. Type 3 cell, which is morphologically similar to the Type 1 cell, has microvilli and cilia on the free surface and exists in group only in the limited regions of the stomach.

**Key words:** Land snail, Stomach, Histochemistry, Ultrastructure, *Nesiohelix samaranae*

### 서 론

연체동물의 소화기관에 대한 연구는 일반적으로 연체동물의 방대한 종 수에 비하여 대체적으로 미진한 편이나 해부학적 및 형태학적 연구에서는 전새복족류(prosobranch gastropods)의 소화기관을 대상으로 한 연구(Wu, 1965; Lutfy and Demian, 1967; Brown, 1969; Demian and Michelson, 1971; Martoja and

Thiriot-Quievreux, 1975; Sheridan *et. al.*, 1978; Bolognani-Fantin, *et. al.*, 1982)와, 유폐류(pulmonate)의 소화기관에 관한 해부학적 또는 광학현미경적 연구가 수행된 바 있다(Carriker, 1946a, b; Ghose, 1963; Rigby, 1963; Walker, 1972; Bowen, 1970; Rolden and Garcia-Corrales, 1988).

복족류의 소화기관에 관한 전자현미경적 연구는 Graves 등(1979)이 후새복족류(opisthobranch gastropod)인 *Alderia modesta*와 *Elysia chlorotica*의 소화선(digestive diverticula)을 대상으로 한 보고 등이 있을 뿐이었다. 최근 鄭 등(1993)이 한국산 주요 담수 복족류 2종(*Parafossarulus manchouricus*와 *Radix auri-*

본 연구는 1996년도 교육부 기초과학연구소 학술연구구조성비 지원으로 수행되었음

*cularia coreana*)의 소화관에 대하여 미세구조적 연구 결과를 밝힌 바 있다.

본 연구에서는 동양달팽이의 위(stomach)의 상피에 대하여 조직화학적실험을 실시하여 상피세포 함유물들의 성분을 이해하는 동시에 미세구조를 이해하고자 실시되었다.

## 재 료 및 방 법

### 1. 재료

실험 재료는 동양달팽이(*Nesiohelix samarangae*)이며 이는 연체동물문(Mollusca), 복족강(Gastropoda), 유폐야강(Pulmonata), 병안목(Stylommatophora) 달팽이과(Bradybaenidae)에 속하며 서해의 가의도에서 채집하여 실험 기간 동안 연구실에서 사육한 것이다.

동양달팽이의 위를 마취를 하지 않은 상태에서 해부하여 적출하여 사용하였다.

### 2. 방법

조직화학적 연구를 위하여 시료를 10% neutral formalin에 3시간 고정된 후 통상적인 방법에 따라 paraffin에 포매하여 회전용박절기를 사용하여 7  $\mu$ m 두께의 절편을 얻었다. 이 절편들은 세포질의 성분을 확인하기 위하여 Alcian blue 염색과 Mayer와 Mowry 방법에 따라 점액성 시험 염색을 하였고, 또한 PAS-alcian blue와 methylene blue-basic fuchsin 등으로 이중염색을 실시하여 광학현미경으로 관찰하였다.

미세구조 관찰을 위한 시료는 적출한 후 phosphate buffered(pH 7.4) 4°C의 2.5% paraformaldehyde-3% glutaraldehyde로 전고정하고 같은 buffer로 세척한 후 1% OsO<sub>4</sub>로 2시간동안 후고정하였다. 탈수는 acetone series를 통하여 하였으며, Epon 812에 포매하여 ultramicrotome을 이용하여 초박절편을 얻어 uranyl acetate와 lead citrate로 이중 염색하여 전자현미경(JEM1010)으로 관찰하였다.

## 결 과

### 1. 조직화학실험결과

광학현미경으로 관찰한 결과, 위 상피는 세포의 유리표면에 미세융모를 가진 원주세포들로 이루어졌으며

세포들의 일반적 모양은 가늘고 긴 편이었다. 세포의 유형은 Type 1, Type 2 두 가지로 구분되었는데, Type 1 세포는 핵을 세포 전장의 중앙에 가지고 있었다. 핵의 상하 세포질 내에는 일반적으로 과립상 물질이 존재하였다. Type 2 세포들은 모양이 원추형이어서 세포의 상단부가 절편에서 관찰되지 않는 경우가 많았으며 핵의 위치는 세포 전장의 중앙에서 약간 기저막 쪽으로 치우쳐 존재하였다. Type 2 세포는 그 수가 Type 1 세포들에 비하여 유의할 만큼 적었다.

상기의 두 유형의 세포들에 대한 염색성 시험에서 Type 1 세포들은 alcian blue(pH 2.5) 염색에서 세포질은 별 반응을 보이지 않았으나, 핵은 적색으로 염색되었고 세포질의 유리표면은 밝은 청색으로 세포들의 첨단부 세포질은 옅은 적색을 보였다. 한편 Type 2 세포들은 alcian blue 염색에서 세포질 전체에서 밝은 청색을 보였고 핵은 적색을 보였다(Figs. 1, 2).

PAS-alcian blue(pH 2.5) 이중염색에서 Type 1 세포들은 세포질이 적자색으로 염색되었고 핵은 염색되지 않았다. 세포들의 유리표면은 청색으로 반응하였고 세포의 첨단부 선조연은 일반 세포질보다 강한 적자색을 보였다(Fig. 3). Type 2 세포들은 세포질이 부위에 따라 청색과 적색으로 염색되었으며 핵은 역시 염색되지 않았다(Fig. 4).

Mayer의 염색에서 Type 1과 2 세포들은 핵이 공히 흑색으로 염색되었고 세포 상부의 세포질은 첨단부에서는 강한 황색을, 그 이하에서는 약한 황색을 보였다. 그러나, Type 1 세포 내 과립들은 염색에 반응하지 않았고, Type 2 세포들은 전반적으로 강한 청색으로 반응하였다(Figs. 5, 6).

Mowry 염색에서 Type 1 세포들은 세포질이 전반적으로 적자색으로 반응하였고 핵은 청색으로 반응하였다. Type 2 세포들은 세포질이 전반적으로 청색으로 반응하였다.

Methylene blue-basic fuchsin 이중염색에서 Type 1 세포들은 세포 첨단부의 선조연들에서 약한 적색 반응을 보였고, 일반 세포질은 약한 청색반응을 보였다. Type 2 세포에서는 핵은 청색으로 세포질은 청자색으로 반응하였다.

### 2. 미세구조 관찰결과

동양달팽이의 위에 대한 전자현미경적 소견은 광학현미경적 관찰에서 보다 한가지 유형의 세포가 더 관찰되었다. 이 세포를 본문에서 Type 3 세포라고 부르

기로 하고 세 유형의 세포들에 대하여 미세구조를 관찰한 결과는 다음과 같다.

Type 1, 2, 3 세 유형의 세포들의 공통점은 세포의 유리 표면 즉 위의 내강과 연관 표면에는 모두 길이 1.8  $\mu\text{m}$  정도의 미세융모(microvilli)가 발달되어 있었고, 세포들이 기저막과 연관 부위의 원형질막은 위의 세포질 내로 심한 주름을 이루고 있었다(Figs. 10, 11).

Type 1 세포들은 일반적으로 세장하고 상피세포들의 대부분을 이루고 있는 세포들이며, 세포의 중앙에는 장 타원형의 핵을 가지고 있었다. 세포의 유리표면(free surface)에는 미세융모를 가지고 있고 행의 상하 세포질에는 다양한 크기( $\sim 2.0 \times 2.8 \mu\text{m}$ )의 난원형 분비과립(secretory granule)들이 조밀하게 차 있었다. 이 과립들의 전자밀도는 세포질에 비하여 낮아 밝았으며, 과립들 사이 사이로는 조면소포체(rER)가 관찰되었고, 세포 상단부의 세포질 내에서는 많은 수의 미토콘드리아가 관찰되었다(Figs. 9-12). 상피세포들은 이웃한 세포들과 밀착연접(tight junction)과 접착대(zonula adherens) 및 열극연접(gap junction) 등으로 상호 연결되어 있었다(Fig. 12).

Type 2 세포들은 수많은 Type 1 세포들 사이에 가끔씩 개재한 다소간 원추 모양의 원주세포로서 역시 세포의 유리표면에는 미세융모가 존재하였다. 세포질의 전자밀도는 다소 높은 편이고 핵은 세포의 중앙에서 약간 하향한 위치에 존재하였다. 세포질에는 잘 발달한 조면소포체가 가득차 있었고 조면소포체의 내강은 부풀어 있는 경우가 많았다. 또한 세포질에는 골지체가 잘 발달하였고, 모양과 크기가 다양하나 대체로 구형, 난형 및 다각형의 분비과립( $\sim 1.0 \times 1.5 \mu\text{m}$ )들이 존재하였다(Figs. 13, 14). 이 과립들은 Type 1 세포들 내의 과립들보다는 전자밀도가 비교적 높은 것과 중 정도의 전자밀도를 나타내었다.

Type 3 세포들은 Type 1 세포들과 세포질 내 구조가 기본적으로 유사하지만 분비과립이 수적으로 적었으며 세포의 유리표면에는 미세융모 외에 섬모가 존재한다는 점이였다. 이 세포 유형들은 수적으로 지극히 적고 한정된 부위 즉, 위로부터 소화선(digestive gland)으로 연결되는 부위의 고랑에 세포들이 균을 이루고 존재하고 있었다.

## 고 찰

동양달팽이의 위 상피에 대하여 조직화학적 및 미세구조적 관찰을 실시한 바에 의하면 위의 상피는 단층원주상피로서 이를 구성하고 있는 세포들은 세 가지의 유형 즉, Type 1, Type 2, Type 3 로 분류되었으며, 이들의 유리표면에는 한결같이 미세융모가 발달하였는 바 이 미세융모들의 길이(0.8  $\mu\text{m}$ )는 쇠우렁이, *Parafossarulus manchouricus*(정 등, 1933)의 장 상피의 미세융모의 길이(0.5  $\mu\text{m}$ )보다는 약간 길었고, 거머리, *Erpobdella lineata*(장, 1994)의 위상피에서 관찰한 미세융모의 길이(0.2  $\mu\text{m}$ )보다는 훨씬 길었으나, 빈모류인 *Cambarrcola macrodonta*(Jennings와 Gelder, 1979)의 위상피에서 관찰된 미세융모의 길이(1.5  $\mu\text{m}$ )보다는 짧은 것으로 관찰되었다. 미세융모가 발달한 것으로 미루어 보아 상피세포들은 공히 어느 정도의 물질 흡수기능을 가지고 있는 것으로 생각된다.

상피세포 중 수적으로 주종을 이루는 Type 1 세포들은 세포질 내에 다량의 분비과립들을 내포하고 있었는데 이 세포들에 대한 alcian blue(pH 2.5) 염색에서 세포질은 별 반응을 보이지 않았으나, 핵은 적색으로 염색되었고 세포질의 유리표면은 밝은 청색으로 세포들의 첨단부 세포질은 옅은 적색을 보였다(Figs. 1, 2). 산성점액다당류와 중성점액 다당류를 확인하기 위한 PAS-alcian blue(pH 2.5) 이중염색에서 Type 1 세포들은 세포질이 적자색으로 염색되었고 핵은 염색되지 않았다. 세포들의 유리표면은 청색으로 반응하였고 세포의 첨단부 선조연은 일반 세포질보다 강한 적자색을 보였다(Fig. 3). PAS 염색에서 Type 1 세포들은 세포질이 전반적으로 적자색으로 반응하였고 핵은 청색으로 반응하였다. Methylene blue-basic fuchsin 이중염색에서 Type 1 세포들은 세포 첨단부의 선조연들에서 약한 적색 반응을 보였고 일반 세포질은 약한 청색반응을 보였다. 이상의 조직화학적 또는 미세구조적 소견에 의하면 Type 1 세포는 중성 점액다당류임을 알 수 있다.

전자현미경적 관찰에서 세포질의 전자밀도가 다소 높고 조면소포체와 골지체가 발달한 Type 2 세포는 조직화학적인 염색실험에서 그 세포질이 alcian blue 단일염색에서는 밝은 청색으로 반응하였고, PAS-alcian blue(pH 2.5) 이중염색에서 청색과 적자색 두 색이 혼재한 반응을, methylene blue-basic fuchsin 이중염색에서도 청색과 자색의 이중 반응을 보였다(Figs. 3,4,8). 또한 Mowry의 산성점액염색법에서는 강한 청

색으로 반응하였고, Mayer의 염색에서 역시 강한 청색 반응을 보였으며, 전자현미경 관찰에서 Type 2 세포들은 일반적으로 잘 발달된 조면소포체가 세포질 전반에 걸쳐 존재하고 그 내강은 많이 부풀어 있는 경우가 많았고 골지체의 수도 많이 관찰되었으며, 내포된 과립들의 모양과 크기 및 전자밀도 등도 많이 상이한 것을 감안하면 이 세포들은 분비활동이 활발한 세포들이며 부위에 따라 산성 점액다당류와 중성 점액다당류를 함께 분비하고 있는 것으로 사료되나 주로 산성 점액다당류를 생성하며 분비하는 것으로 생각된다.

Type 3 세포들은 위로부터 소화관으로 연결되는 통로가 되는 고랑 등에서 발견되는 바 이는 Type 1 세포들에 비하여 분비과립들을 보다 적게 지니고 있었고, 이들은 위 내에서 점액을 포함한 유체의 흐름에 기여할 것이라고 보는 바 이러한 의견은 일찍이 Carriker(1946b), Owen(1955b), Morton(1960), Smith(1967), Lufti와 Demian(1967), Ponder(1970), Rudman(1972a, b) 및 Roldan과 Garcia-Corrales(1988) 등도 피력한 바 있다. 섬모세포의 수는 최우렁이 *Parafossarulus manchouricus*와 물달팽이, *Radix auricularia coreana*(정 등, 1993)의 식도나 장에서보다 적은 것으로 관찰되었으나 동양달팽이 자체에서 위와 소화기관의 기타 부위와는 아직 비교 관찰이 이루어지지 않아 소화기관 부위에 따른 미세용모의 길이의 차이는 아직 알 수 없다.

Owen(1956)은 Nuclidae(Lamellibranchia)의 소화선(digestive gland) 관찰조건에서 상피세포들이 일정한 모습을 유지하고 있는 것이 아니라 분비환(secretory cycle)에 따라 모습이 변할 것을 시사하였는 바 본 연구에서도 이러한 상황일 것으로 사료는 되지만 구체적으로 확인은 할 수 없었다. 다만 위상피세포들의 생성물 배출 방법은 선세포 내에 이렇다 할 파괴적인 현상이 일어나지 않는 분비 방식이며 가장 보편적인 방식인 부분분비(merocrine secretion) 또는 누출분비(eccrine secretion) 방식인 것으로 사료된다. 본 동양달팽이의 소화기관에 대한 보다 많은 이해는 형태학적 및 생리학적 연구가 많이 수행된 다음에야 가능할 것으로 생각된다.

#### 참 고 문 헌

Boer, H.H. and Kit, K.S. (1990) Histochemical and

ultrastructural study of the alimentary tract of the freshwater snail *Lymnaea stagnalis*. *Journal of Morphology*, 205(1): 97-111.

Bolognani-Fantin, A.M., Bolognani, L., Ottaviani, E. and Franchini, A. (1982) The digestive apparatus of *Murex brandaris* (L.) and *Trunculariopsis trunculus* (L.). *Zeitschrift für Zellforschung und mikroskopische Anatomie*, 96(4): 561-582.

Bowen, I.D. (1970) The fine structure localization of acid phosphate in the epithelial cells of the slug *Arion ater* L. *Protoplasma*, 70: 247-260.

Carriker, M.R. (1946a) Morphology of the alimentary system of the snail *Lymnaea stagnalis appressa* Say. *Transactions of the Wisconsin Academy of Science, Art and Letters*, 38: 1-88.

Carriker, M.R. (1946a) Observations of the alimentary system of the snail *Lymnaea stagnalis appressa* Say. *Biological Bulletin of the Marine Biological Laboratory, Wood's Hole*, 91(1): 88-111.

Clark, G. (1980) Staining Procedures(4th ed.). pp. 512, Williams & Wilkins, Baltimore, London, Los Angeles, Sydney.

Demian, E.S. and Michelson, E. (1971) Histochemistry of the epithelial mucins in the alimentary tract of the snail *Marisa cornuarietis*. *Journal of Morphology*, 135: 213-238.

Ghose, K. (1963) The alimentary system of *Achatina fulica*. *Transactions of the American Microscopical Society*, 82: 149-167.

Graves, D.A., Gibson, M.A. and Bleakney, J.S. (1979) The digestive diverticula of *Alderia modesta* and *Elysia chlorotia* (Ophistobranchia: Sacoglossa). *Veliger*, 21(4): 415-422.

Jennigs, J.B. and Gelder, S.R. (1979) Gut structure feeding and gigestion in the Branchiobdellid *Oligochaeta Cambarrcola macrodonta* Ellis 1912. An ectosymbiote of the freshwater cray fish *Procambarus clarkii*. *Bilo. Bull.*, 156: 300-314.

Lufty, R.G. and Demian E.S. (1967) The histology of the alimentary system of *Marisa cornuarietis* (Mesogastropoda: Ampullariidae). *Malacologia*, 5(3): 375-422.

Martoja, M. and Thiriot-Quievreux, C. (1975) Données histologiques sur l'appareil digestif et la digestion des Atlantidae (Prosobranchia: Heteropoda).

- Malacologia*, 15: 1-27.
- Morton, J.E. (1960) The functions of the gut in ciliary feeders. *Biol. Rev. Cambridge Philos. Soc.*, 35: 92-140.
- Owen, G. (1956) Observations on the stomach and digestive diverticula of the Lamellibranchia. *Quarterly Journal of Microscopical Science*, 97(4): 541-567.
- Ponder, W.F. (1970) The morphology of *Alcithoe arabica* (Gastropoda). *Malacological Review*, 3: 127-165.
- Rigby, J.E. (1963) Alimentary and reproductive systems of *Oxychilus cellarius* (Müller) (Stylomm.). *Proceedings of the Zoological Society of London*, 141: 311-359.
- Roldan C. and Garcia-Corrales, P. (1988) Anatomy and histology of the alimentary tract of the snail *Theba pisana* (Gastropoda: Pulmonata). *Malacologia*, 28(1-2): 119-130.
- Rudman, W.B. (1972a) Structure and functioning of the gut in the Bullomorpha (Opisthobranchia), Part II. Acteonidae. *Journal of Natural History*, 6: 311-324.
- Rudman, W.B. (1972b) Structure and functioning of the gut in the Bullomorpha (Opisthobranchia), Part 3. Philinidae. *Journal of Natural History*, 6: 459-474.
- Sheridan, R., van Mol, J. and Bouillonm J. (1978) Etude morphologique du tube digestif de quelques Turridae (Mollusca, Gastropoda, Prosobranchia, Toxoglossa) de la region de Roscoff. *Cahiers de Biologie Marine*, 14: 159-188.
- Smith, E.H. (1967) The neogastropod stomach, with notes on the digestive diverticula and intestine. *Transactions of the Royal Society of Edinburgh*, 67(2): 23-42.
- Walker, G. (1972) The digestive system of the slug *Agriolimax reticulatus* (Müller): experiments on phagocytosis and nutrient absorption. *Proceeding of the Malacological Society of London*, 40: 33-43.
- Wu, S.K. (1965) Comparative functional studies of the digestive system of the muricid gastropods *Drupa ricina* and *Morula granulata*. *Malacologia*, 3: 211-233.
- 장남섭 (1994) 한국산 거머리(*Erpobdella lineata*) 소화관의 미세구조. 한국전자현미경잡지, 24(3): 34-45.
- 鄭啓憲, 李勳燮, 朴鍾安 (1993) 韓國産 淡水 腹足類 2種의 消化器官에 關한 電子 顯微鏡的 研究. 한국패류학회지, 9(1): 1-16.

---

Received June 14, 1997

Accepted October 8, 1997

## EXPLANATIONS OF FIGURES

**Figs. 1-8.** Light micrographs of the stomach epithelium

**Figs. 1-2.** The stomach epithelium stained with Alcian blue. The nuclei (N) of both of Type 1 (T<sub>1</sub>) and Type 2 (T<sub>2</sub>) cells were stained red, and the cytoplasm of Type 2 (T<sub>2</sub>) cells stained right blue. ×1,200, ×3,000

**Figs. 3-4.** The stomach epithelium stained with a double stain, PAS-Alcian blue. The cytoplasm of Type 1 (T<sub>1</sub>) cells are stained red purple and the cytoplasm of Type 2 (T<sub>2</sub>) cells are stained partially blue and red. ×1,200, ×3,000

**Figs. 5-6.** The stomach epithelium stained with a Mayer's mucin staining method. The general tissues are stained yellow and the nuclei (N) are stained black. The cytoplasm of Type 2 (T<sub>2</sub>) cell is stained cobalt blue. ×1,200, ×3,000

**Fig. 7.** The stomach epithelium stained with a Mowry' acid mucopolysaccharide staining method. The cytoplasm of Type 2 (T<sub>2</sub>) cell positively reacted as dark blue to the stain. ×1,200

**Fig. 8.** The stomach epithelium stained with a double stain, methylene blue-basic fuchsin. The Nuclei (N) of Type 1 (T<sub>1</sub>) and T2 (T<sub>2</sub>) epithelial cells are stained blue and, the cytoplasm of Type 2 (T<sub>2</sub>) cell are positively stained with both stains. ×1,200

**Fig. 9-15.** Electron micrographs of the stomach epithelium

**Fig. 9.** Type 1 cells containing numerous secretory granules(SG). ×6,000

**Fig. 10.** Type 2 cell(T<sub>2</sub>) is located between the Type 1 cells(T<sub>1</sub>). Majority of the epithelial cells is Type 1 cells. ×6,000

**Fig. 11.** Basal protoplasmic membranes of the epithelial cells infolded much into the upper cytoplasm. Muscle layers developed under the basement membrane (BM). ×6,000

**Fig. 12.** Apical cytoplasm of the epithelial cells showing the cell junctions such as tight junction (TJ), zonula adherence (ZA), and gap junction (GJ). Numerous mitochondria (M) are situated in the apical cytoplasm. ×12,000

**Figs. 13-14.** Type 2 cells (T<sub>2</sub>) situated between the neighbouring Type 1 cells.

The cytoplasm is full with developed RER, Golgi bodies(G) and secretory granules. ×10,000

**Fig. 15.** Type 3 cell (T<sub>3</sub>) with microvilli (MV) and cilia (C) on its free surface. Some secretory granules are seen in the apical cytoplasm. ×8,000









