한국전자현미경학회지 제 30 권 제 3 호 2000
Korean J. Electron Microscopy 30(3), 265~272(2000)

한국산 낙지 (*Octopus minor*) 상완신경절의 미세구조

장 남 섭*
목원대학교 자연과학대학 생명과학부

Ultrastructure of Brachial Ganglion in Korean Octopus, *Octopus minor*

Nam Sub Chang*
Department of Biology, Mokwon University, Taejon 302-729, Korea
(Received June 20, 2000)

ABSTRACT

In this study, the brachial ganglion of *Octopus minor* was investigated with light microscope and electron microscope, and the following results were obtained.

The brachial ganglions of the octopus, round in shapes, are located under each of suckers. Their sizes are proportional to those of the suckers.

A brachial ganglion of round shape consists of cortex and medulla. In cortex, nerve cells exist collectively while neuropiles in medulla.

Three kinds of nerve cells (large, middle, and small neurons) are found in the cluster of nerve cells. The small one is a round cell of about 0.9 μm in diameter while the middle and large ones are an elliptical cell of 1.6 × 1.3 μm and an ovoid cell of 2.8 μm in diameter, respectively. All of those cells look light due to their low electron densities, in which cell organelle are not well developed. It was also observed that the middle neurons are surrounded by median electron-dense neuroglial cells of pyramidal shapes and about 0.6 × 0.4 μm in sizes.

In the neuropiles of medulla, dendrites and axons of various sizes make a complex net.

They contain four kinds of chemical synaptic vesicles-electron-dense synaptic vesicle of 100 nm in diameter, median electron-dense synaptic vesicle of 90 nm in diameter, electron-dense cored synaptic vesicle of 90 nm in diameter, and electron-lucent synaptic vesicle of 50 nm in diameter.

Key words : Brachial ganglion, Nerve cell, Ultrastructure

서 론

두족류(Cephalopoda)의 흡반(sucker)은 상완(brachial arm)이나 촉수각(tentacular arm) 등의 배측에 두 줄로 줄지어 부착되어 있는 나팔모양의 기관으로 물체에 부착하여 기어다니거나, 먹이를 포획하는 등 중요한 일을 수행하는데 사용하고, 경우에 따라서는 외

본 논문은 2000년도 목원대학교 학술 연구비 지원에 의해 수행되었음.
* Correspondence should be addressed to Dr. Nam Sub Chang, Department of Biology, Mokwon University, Taejon 302-729, Korea. Ph.: (042) 829-7582, FAX: (042) 823-9717, E-mail: nschang@mokwon.ac.kr
Copyright © 2000 Korean Society of Electron Microscopy

부로부터의 물리적 화학적 자극을 받아들일 수 있는 민감한 감각기관의 역할까지도 수행하는 것으로 잘 알려져 있다. 이러한 흡반을 Rossi & Graziadei (1958) 그리고 Graziadei (1962, 1964)들은 해부학적으로 누두부, 흡반부 그리고 병부 등 3부위로 나누어 관찰하였다.

흡반의 감각기관으로서의 역할은 화학적 자극과 물리적 자극 그리고 전기적 자극까지도 받아들일 수 있는 화학감수기, 기계적감수기 그리고 전기적감수기 등을 흡반의 상피조직과 근육조직들 사이에 갖추고 있다는 점이다(Von Uexküll, 1894; Giersberg, 1926; Ten-Cate, 1928; Rowell, 1963, 1966; Well, 1963, 1964).

즉, Graziadei (1959)는 오징어류 흡반속 큐티클 누두부를 감싸고 있는 상피조직 속에서 기계적 자극을 받아들일 수 있는 다극신경원 (multipolar neuron)을 관찰하였으며 이 신경원 이외도 화학감수기와 전기감수기를 구성하는 신경원도 *Supia officialis* (Graziadei, 1964, 1965)와 *Lolliguncula brevis* (Santi & Graziadei, 1975), *Octopus variabilis* (Chang, 1992), *Sepiella maindroni* (Chang, 1993) 등의 상피조직과 그 밑 기저막 아래 결합조직에서 각각 광학 및 전자현미경을 통해 확인한 바 있다.

그러나 흡반을 구성하고 있는 상완내 상완신경절의 해부학적 연구는 지금까지 광학현미경 수준에 머물러 있었으며 (Martoza & May, 1956; Rowell, 1963, 1966), 전자현미경을 사용한 연구로 Young (1972)과 Kier (1985) 그리고 Kier & Smith (1990)가 있다. 그러나 이들은 상완신경절내 신경세포의 크기만을 언급했을 뿐 그들의 미세구조와 신경망내의 연접소포에 관한 상세한 연구는 미진한 실정이다.

이에 본 연구에서는 한국산 낙지 (*Octopus minor*)를 사용 상완신경절의 미세구조를 상세히 연구하고자 본 실험을 시도케 되었다.

재료 및 방법

1. 실험재료

한국산 낙지 (*Octopus minor*)를 변산반도 일대에서 포획한 후 실험실로 운반하여 바닷물과 모래 그리고 형광등이 켜진 수조에서 2~3일간 사육하면서 흡반의 기능에 대한 관찰을 수행한 후 실험재료로 사용하였다.

2. 실험방법

한국산 낙지를 30% ethyl alcohol로 마취시킨 다음, 10개의 다리 중 하나를 택해 실험에 사용할 수 있도록 적당한 크기로 잘라낸 다음, 2.5% paraformaldehyde-3% glutaraldehyde로 1시간 30분 전고정을 하고, 이어서 O_sO_4로 2시간 후고정을 하였다. 고정이 끝난 재료는 0.2 M phosphate buffer (pH 7.3)로 3회 세척을 하고, ethanol 농도순으로 탈수시킨 후 통상법에 의하여 Epon 812로 포매를 하였으며 60°C 파라핀오븐에서 40시간 경화시켰다.

Epon블록은 LKB-V ultramicrotome을 사용하며 1 μm 두께의 박절편을 만들고 이를 methylene blue-basic fuchin 이중염색 (이하 m-b 이중염색이라 칭함)을 한 후 광학현미경하에서 정확한 부위를 확인한 다음 초박절편을 만들었다. 초박절편을 uranyl acetate와 lead citrate로 이중염색을 한 다음, JEM 100CX-II 투과전자현미경 (80 kV)으로 관찰하였다.

결 과

낙지 (*Octopus minor*)의 상완 (brachial arm) 중앙을 관통하고 있는 상완신경절 (brachial ganglion)의 횡단면은 수질부 (medulla)와 피질부 (cortex)가 뚜렷이 구분되었던 바, 수질부에는 주로 신경섬유로 구성된 신경망 (neuropil)이, 피질부에는 신경세포로 구성된 두터운 세포층이 분포하고 있는 둥근 형태를 보였다.

이들 상완신경절 외측에는 잘 발달된 두터운 환상근층 (두께, 15 μm)과 얇은 종주근층 (두께, 3 μm)에 의해 견고하게 둘러싸고 있었으며, 이들은 다시 다양한 두께의 결합조직층과 상피조직층으로 둘러싸여 있었다 (Fig. 1).

1. 상완신경절 (brachial ganglion)

낙지의 상완 신경절은 각각의 흡반 밑에서 둥근형태로 관찰되었는데 그들의 크기는 흡반의 크기에 비

례하였으며 피질부와 수질부로 구분되었다.

1) 피질부 (cortex)

피질부는 주로 다양한 크기의 신경세포(nerve cell)들이 집단적으로 두터운 층(두께, 6 μm)을 이루면서 수질부의 신경망(neuropil)을 감싸고 있었다(Figs. 1, 2).

피질부 신경세포들은 그 크기에 의해 3종류(소, 중, 대형)로 각각 구분되었다. 소신경세포(small neuron)인 경우 직경이 0.9 μm 정도로서 둥글고 전자밀도가 밝게 관찰되었는데 이들은 세포질에 비해 매우 큰 둥근 핵(직경, 0.76 μm)을 소지하고 있었다. 핵 또한 염색질 등이 밝게 관찰되고 세포질에서는 세포소기관 등이 거의 관찰되지 않았다(Fig. 3).

중신경세포(medium neuron)인 경우는 직경이 1.7 × 1.3 μm 정도로 난원형을 하고 있었으며 이들이 소지한 핵은 직경이 1.3 μm 정도로서 세포질에 비해 비교적 컸다. 핵과 세포질 모두 밝게 관찰되었으며 세포소기관은 거의 관찰되지 않았다(Fig. 3). 대신경세포(large neuron)는 2.9 μm 정도 크기의 난원형 세포로서 1.5 μm 정도 크기의 둥근 핵을 소지하고 있었다. 핵질 속에는 둥근 인(직경 0.2 μm)과 매우 작은 염색질들이 고르게 분산되어 있어 매우 밝게 관찰되었으며 세포질에는 세포소기관이 관찰되지 않아 매우 단순해 보였다(Fig. 4).

이들 소, 중, 대 신경세포들은 상완신경절 속에서 무질서하게 혼재되어 있기보다는 크기에 따라 비교적 무리 지어 나타나는 현상을 보였다.

또한 중신경세포인 경우에는 0.6 × 0.4 μm 정도 크기의 방추형 신경교세포(neuroglia)에 의해 둘러싸인 경우도 있었는데 이들 신경교세포들은 전자밀도가 비교적 높은 큰 핵을 소지하고 있고, 세포질은 핵 주위에서 약간 보일 뿐 이였다(Fig. 5).

2) 수질부 (medulla)

수질부를 구성하는 신경망(neuropil)은 그 형태가 타원형체로, 하단부는 좌, 우로 약간 벌려져 있고 중앙에는 신경망을 좌, 우로 구분 짓는 듯한 선조가 보였다. 그 밑에는 상완동맥혈관이 달리고 있었다(Fig. 1).

신경망속에는 많은 수의 축삭돌기(axon)와 수상돌기(dendrite)가 존재하였는데, 이들 속에서 3종류의 전자밀도가 높은 연접소포(electron-dense synaptic vesicle)와 투명 연접소포(lucent synaptic vesicle)들이 관찰되었다.

연접소포들은 전자밀도가 매우 높고 직경이 100 nm 정도인 electron-dense synaptic vesicle과 전자밀도가 중등도이면서 직경이 90 nm 정도인 medium electron-dense vesicle 그리고 중앙에 전자밀도가 높은 둥근 핵을 밝은 띠로 둘러싼 electron-dense cored vesicle (직경, 90 nm) 등 3종류가 각각 확인되었다(Figs. 6, 7, 8).

투명연접소포(electron-lucent synaptic vesicle)는 그 직경이 50 nm 정도로서 전자밀도가 높은 연접소포들의 크기에 비해 1/2 ~ 1/4에 불과하였으며, 전자밀도는 낮아서 밝게 관찰되었다. 이처럼 신경연접내 소포들은 모두 4종이 관찰되었다.

이들 소포들은 축삭돌기나 수상돌기 속에서 고르게 혼재되어 나타나는 경우가 가장 많았으나, 경우에 따라서는 한 종류만이 무리지어 나타나는 경우도 드물지만 관찰되었다.

고 찰

낙지류(*Octopus vulgaris*)의 상완(brachial arm)내부는 한 개의 상완신경삭(brachial nerve cord)이 길이로 달리고 있으며, 상완신경삭은 각기 흡반의 위치에 따라 일정한 간격으로 상완신경절(brachial ganglion)을 형성한 후 흡반신경절(sucker ganglion)을 거쳐 흡반의 상피조직 및 결합조직에까지 그들의 말단을 뻗고 있었다(Graziadei, 1965).

상완신경절의 단면은 수질부 중앙에 신경망(neuropil)이 발달해 있고 그 주위 피질부에는 신경세포들로 둘러싸인 perikaryal layer가 위치한다고 하여(Graziadei, 1965), *Octopus minor*를 재료로 한 본 실험의 결과와 같았다. 이어 상완신경절의 크기와 상완신경절내 신경세포의 수는 흡반의 크기와 밀접한 관계가 있어 상완의 가느다란 끝 부위로 갈수록 흡반 크기와 수는 감소하고, 몸체에 가까울수록 증가한다고 하였는데, 이와 같은 현상은 본 실험의 결과와도 일치한다.

Young (1971)은 *Octopus vulgaris*의 상완신경절에서 피질부에 위치하고 있는 신경세포들이 신경망에 근접해 있을수록 그 크기는 작아지는 반면 멀어질수록 크기는 증가한다고 하였는데, *Octopus minor*를 재료로 한 본 실험에서도 Young (1971)이 관찰한 바 있는 매우 작은 신경세포 (Young은 microneuron이라 칭함)는 물론 이보다 2배 정도 큰 신경세포들도 관찰할 수 있었는데 이들은 대부분 서로 밀접되어 있고, 핵과 세포질은 전자밀도가 낮아서 밝게 관찰되었다.

그러나 핵질 속의 인들은 염색질로 두텁게 둘러싸여 있거나 인 내부에 염색질이 결손된 둥근 공간을 내포한 경우도 간혹 관찰되고 있어 이와 같은 현상은 두족류에서 매우 드물게 나타나는 현상이라 하겠다.

또한 다리 (arms) 및 흡반 (suckers)에서의 신경근연접 (neuromuscular synapse)에 관한 연구는 Barber와 Graziadei (1966) 그리고 Graziadei (1966)가 있었다.

Schipp와 Schäfer (1969) 그리고 Kling & Schipp (1987) 등은 오징어류 *sepia officinalis*의 신경근연접에서 small synaptic vesicle (직경 30~50 nm)과 electron-dense cored synaptic vesicle (직경 60~100 nm) 그리고 large electron-dense synaptic vesicle (직경 131~200 nm) 등 3종류의 화학연접소포를 관찰한 바 있으며, Gray (1970)는 *Octopus vulgaris*의 중추신경계인 vertical lobe에서 electron-dense cored synaptic vesicle과 synaptic vesicle 등 2종류의 연접소포를, Santi와 Graziadei (1975) 그리고 Bone et al. (1982)은 오징어류 Lolliguncula brevis의 흡반신경절에서 synaptic vesicle만을 각각 관찰한 바 있어, synaptic vesicle (직경 50 nm)과 electron-dense cored synaptic vesicle (직경 100 nm), dense cored synaptic vesicle (직경 90 nm) 그리고 medium electron-dense cored synaptic vesicle (직경 90 nm) 등 4종류의 화학연접소포들이 관찰된 본 실험과는 그 결과가 약간 달랐다.

그러나 연접소포의 크기에 있어서는 Kling & Schipp (1987)의 연구결과와 비슷하였고 다만 본 실험에서는 131~200 nm 크기의 대형 연접소포는 관찰되지 않았다.

감사의 말씀

본 논문은 2000년도 목원대학교 학술 연구비 지원에 의해 수행되었음. 본 논문이 나올때까지 도와준 한종민, 김상원 조교와 이영희양에게도 고마움을 전합니다.

참 고 문 헌

Barber VC, Graziadei P: Cephalopod synaptic organization. Proc. 6th Int. Congr. Electron Microsc. (Kyoto, Maruzen, Tokyo) 2 : 433-434, 1966.

Bone Q, Packard A, Pulsford AL: Cholinergic innervation of muscle fibers in squid. J Mar Biol Assoc U.K. 62 : 193-199, 1982.

Chang NS: Secretory and Contractile sensory receptor cells in the Sucker of Korean *Octopus variabilis*. Korea J Zool 35 : 441-427, 1992.

Chang NS: Mucous and Sensory receptor cells in Korean Squid. Korean. J. Zool. 36 : 293-303, 1993.

Giersberg H: Uber den chemischen sinn von *Octopus vulgaris*. Lmk Z vergl physiol 3 : 827-838, 1926.

Gray EG: The fine structure of the vertical lobe of *Octopus* brain. Philos Trans R Soc Lond Biol 258 : 379-395, 1970.

Graziadei P: Contribution la connaissance des connexions interneuronales dans le ganglion étoilé de *Sepia officinalis*. Acta Anat. 36 : 1-19, 1959.

Graziadei P: Receptors in the Suckers of *Octopus*. Nature Lond 195 : 57-59, 1962.

Graziadei P: Electron microscope of some primary receptor in the Sucker of *Octopus vulgaris*. Z Zellforsch 64 : 510-522, 1964,

Graziadei P: Electron microscope observation of some peripheral synapses in the sensory pathway of the Sucker of *Octopus vulgaris*. Z Zellforsch 65 : 363-379, 1965.

Graziadei P: The Ultrastructure of the motor nerve endings in the muscles of cephalopodes. J Ultrastruct Res 15 : 1-13, 1966.

Kier WM: The musculature of squid arms and tentacles : Ultrastructure evidence for functional differences. J Morphol 185 : 223-239, 1985.

Kier WM, Smith AM: The morphology and mechanics of

Octopus suckers. Biol Bull 178 : 126-136, 1990.

Kling G, Schipp R: Comparative ultrastcutural and cytochemical analysis of the cephalopos systemic heart and its innervation. Experientia 43 : 511-525, 1987.

Martoja P, May RM: Comparaison de l'innervation brachiale des cephalopodes *Octopus vulgaris* Lam. et *Sepia rondoleti* Leach. Arch Zool Exp Gen 94 : 1-60, 1956

Rossi F, Graziadei P: Nouvelles contributins a'la connaisance IV. Le patrimoine nerveux de la ventousa de l'*Octopus vulgaris*. Acta Anat SuppI 32 : 1-79, 1958.

Rowell CHF: Excitatory and inhibitory pathway in the arm of *Octopus*. J Exp Biol 40 : 257-270, 1963.

Rowell CHF: Activity of interneuron in the arms of *Octopus* in response to tentacle stimulation. J Exp Biol 44 : 589-605, 1966.

Santi PA, Graziadei PPC: A light and electron microscope study on intraepithelial putative mechanoreceptor in Spuid Suckers. Tissue and Cell 7 : 688-702, 1975.

Schipp R, Schäfer A: Vergleichende elektroenmikroskopische Untersuchungen an den zentralen Herzorganen von Cephalopoden (*Sepia officinalis*). Feinstruktur und Funktion der Kiemenherzen. Z. Zellforsch. 101 : 367-379, 1969.

Ten-Cate J: L innervation des ventouses chez *Octopus vulgaris*. Arch Neerl physiol 13 : 307-422, 1928.

Von Uexk ll: Physiologishe untersuchungen an *Eledon moschata* 11. Die reflexe des Arms Z Biol 30 : 179-183, 1894.

Well MJ: The orientation of *Octopus*. Ergeb Biol 26 : 40-54, 1963.

Well MJ: Tactile discrimmaton of surface cuvature and shape by the *Octopus*. Exp Biol 41 : 433-445, 1964.

Young JZ: The Anatomy of the Nervous System of *Octopus vulgaris*. Oxford: Clarendon Press 1971.

Young JZ: The organization of a cephalopod ganglion. Philos Trans R Soc Lond Biol 263 : 409-429, 1972.

<국문초록>

낙지 *Octopus minor*의 상완 신경절을 광학현미경과 전자현미경을 통해 관찰한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

낙지의 상완신경절은 각각의 흡반 밑에서 둥근 형태로 관찰되었는데 그들의 크기는 흡반의 크기에 비례하였다.

둥근 형태의 상완신경절은 피질부와 수질부 두 부분으로 구분되었던 바, 피질부에서는 신경세포의 집단이, 수질부에는 신경망이 위치해 있었다.

신경세포의 집단에서는 3종류(소, 중, 대형)의 신경세포들이 관찰되었는데 소신경세포는 직경이 0.9 μm 정도인 둥근 형태의 작은 세포인데 비해 중신경세포는 직경 1.6×1.3 μm 정도인 타원형세포였다. 대신경세포는 직경이 2.8 μm 정도 크기의 난원형의 큰 세포로 확인되었고 이들 3종류의 세포들은 모두 전자밀도가 낮아서 밝게 관찰되었으며 세포소기관의 발달은 미진하였다. 또한 중신경세포인 경우에는 0.6×0.4 μm 정도 크기의 전자밀도가 중등도인 방추형 신경교세포에 의해 둘러싸여 있었다.

수질부의 신경망에서는 다양한 크기의 수상돌기와 축색돌기들이 복잡한 그물형태를 하고 있었다. 이들은 돌기내에서 4종류의 화학연접소포(chemical synaptic vesicle)들을 소지하고 있었는데, 전자밀도가 매우 높고 직경이 100 nm 정도인 electron-dense synaptic vesicle과 전자밀도가 중등도이며 직경이 90 nm 정도인 median electron-dense synaptic vesicle 그리고 중앙에 전자밀도가 높은 둥근 핵을 포함하는 직경 90 nm 정도의 electron-dense cored synaptic vesicle 등이 관찰되었다. 그러나 전자밀도가 투명한 연접소포(electron-lucent synaptic vesicle)는 직경이 50 nm 정도로 가장 작은 형태를 하고 있었다.

FIGURE LEGENDS

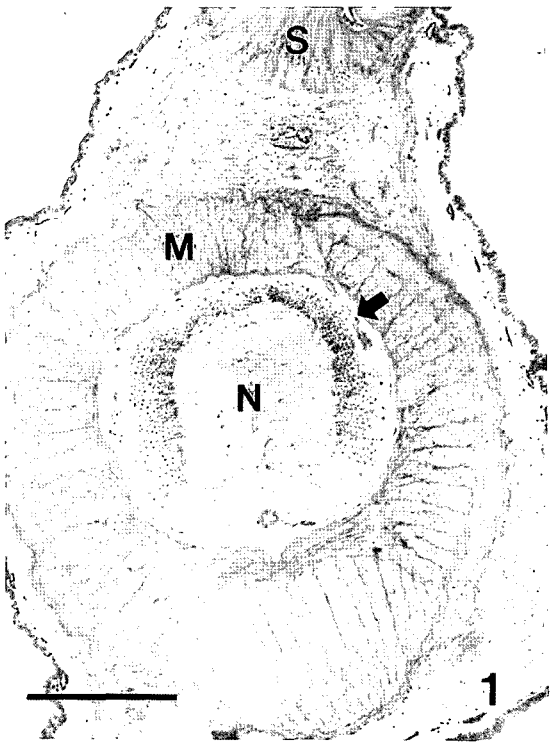
Fig. 1. Light micrograph showing the longitudinal section of the brachial ganglion (arrow) in the arm. methylene blue-basic fuchsin double staining. M, muscle layer; N, nerve; S, sucker. Scale bar = 200 μm.

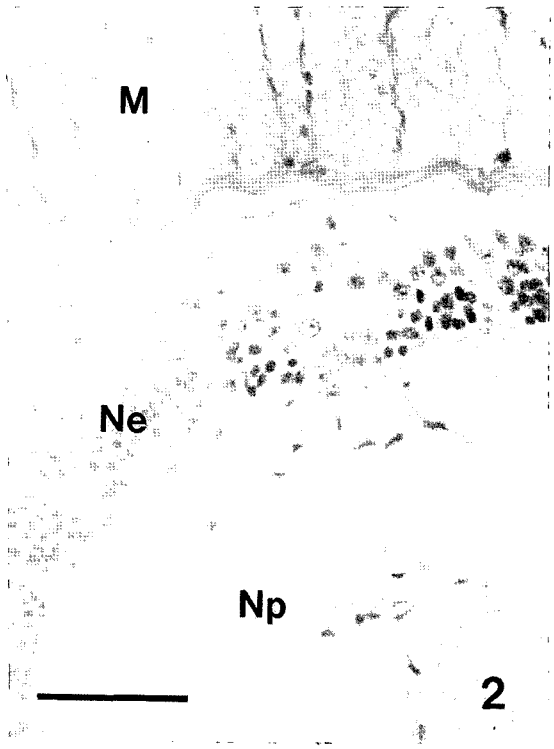
Fig. 2. Magnification of fig. 1. M, muscle layer; Ne, neuron; Np, neuropil. methylene blue-basic fuchsin double staining. Scale bar = 50 μm.

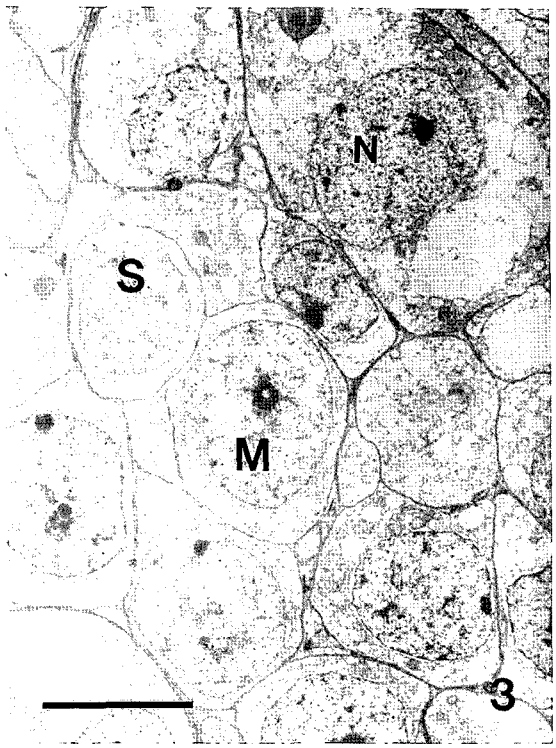
Figs. 3, 4. Electron micrographs showing the small (S), medium (M) and large-size (L) neurons in the brachial ganglion. N, neuron; Nu, nucleolus. Scale bars = 10 μm, 20 μm.

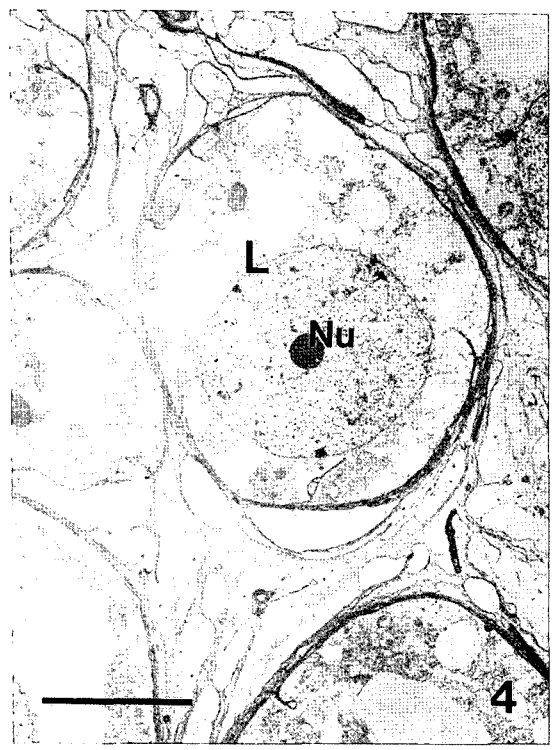
Fig. 5. Electron micrograph showing the medium-size neuron surrounded by the neuroglial cell (arrow). N, nucleus. Scale bar = 5 μm.

Figs. 6–8. Electron micrographs showing the electron-dense vesicles (arrow), medium electron-dense vesicles (arrowhead), electron-dense cored vesicles (open arrowhead) and electron-lucent vesicles (open arrow) in the neuropils. Scale bars = 1 μm, 1 μm, 1 μm.


S
M
N
1

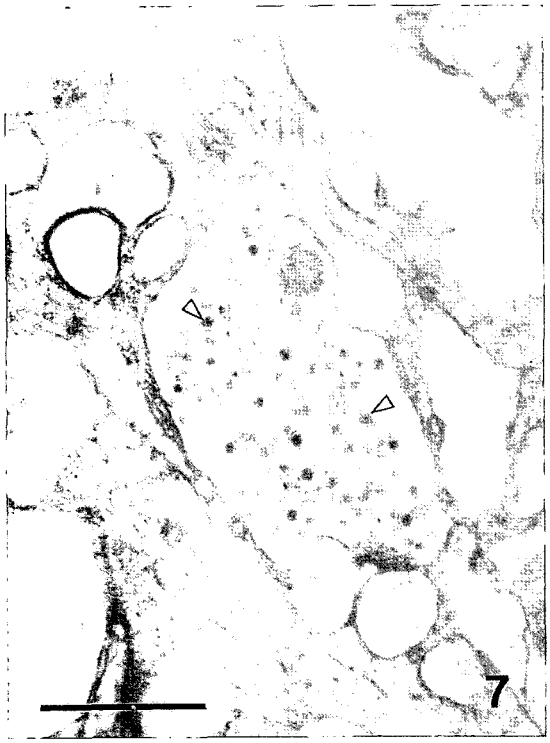

M
Ne
Np
2


N
S
M
3


L
Nu
4

N
N
5

6


7

8