

넙치 (*Paralichthys olivaceus*) 피부상피층의 미세구조

김재원*, 진 평, 진영국¹, 이정식¹
부경대학교 해양생물학과, ¹여수대학교 어병학과

Ultrastructure on the Integumentary Epidermis of the Bastard Halibut, *Paralichthys olivaceus* (Teleostei: Pleuronectidae)

Jae Won Kim*, Pyung Chin, Young Guk Jin¹ and Jung Sick Lee¹
Department of Marine Biology, Pukyong National University, Pusan, 608-737, Korea
¹Department of Fish Pathology, Yosu National University, Yosu, 550-749, Korea
(Received April 12, 2002; Accepted May 24, 2002)

ABSTRACT

The structure of integumentary epidermis is studied in the bastard halibut, *Paralichthys olivaceus* based on the light and transmission electron microscope. Epidermal layer consists of supporting cells, unicellular glands and accessory cells. The supporting cells were classified into superficial cell, intermediated cell and basal cell. Superficial cell of epidermal layer is squamous or cuboidal and the surface is covered with numerous microridges. The supporting cells are connected to another cell with membrane interdigitations and desmosomes. And tonofilaments are developed in the cortical cytoplasm. Gland cells are classified into mucous cell and club cell. By the histochemical studies of the epidermal secretions the mucous materials are identified as neutral polysaccharides. Club cell has numerous vacuoles and microfilaments in the cytoplasm. Also chloride cells are observed in the epidermis, its cytoplasm is occupied numerous mitochondria.

Key words : Epidermis, *Paralichthys olivaceus*, Ultrastructure

서 론

어류는 얇은 피부를 경계로 하여 체액과 삼투압의 차이가 있는 수중에서 생활하고 있다. 다른 척추동물과 달리 포피의 살아 있는 세포가 직접 외부 환경과 접촉하고 있으며(Hawkes, 1974), 그로 인해 겪게 되는

삼투압의 불균형과 환경적인 유해성분 등에 직면하게 되기 때문에 여러 가지 형태의 특이한 구조를 갖고 있다.

어류 피부계의 미세구조에 대한 연구로는 해수적용과 prolactin처리에 따른 guppy, *Poecilia reticulata* 포피의 미세구조 연구(Schwerdtfeger, 1979), 금붕어 당김새사의 온도 적응(Whitear, 1989), 산성수에 노출된

이 논문은 1999년 한국학술진흥재단의 신진연구인력 연구장려금에 의하여 연구되었음.

* Correspondence should be addressed to Dr. Jae Won Kim, Department of Marine Biology, Pukyong National University, Pusan 608-737, Korea.
Ph.: 051-620-6146, FAX: 051-628-7430, E-mail: kjw01@hanmail.net

Copyright © 2002 Korean Society of Electron Microscopy

잉어, *Cyprinus carpio* 피부의 세포반응 (Iger & Wendelaar Bonga, 1994), 희석된 해수에 노출된 협엽성 담수어류 잉어, *Cyprinus carpio* 피부세포의 미세구조 (Abraham et al., 2001) 등의 보고를 들 수 있으며, 이외의 많은 연구자들이 행한 피부의 조직학적 및 미세구조학적인 관점의 연구 결과 수서동물의 피부계는 서식지의 환경 변화 및 생리적 상태에 따라 다양하게 변화한다는 것이다.

본 연구는 저서성 어류인 넙치, *Paralichthys olivaceus*의 피부계를 조직학적인 방법으로 관찰하여 추후 이들 어류의 생활 환경 및 생리적 변화와 관련된 피부계 변화 양상에 관한 연구의 기초 자료를 제공하고자 하였다.

재료 및 방법

본 연구에 사용된 넙치는 전장 35.0 cm 이상의 성체들이다. 채집 즉시 아가미 뚜껑 뒤의 등쪽에서 피부조직을 절취하여 고정하였다.

광학현미경 조직표본은 파라핀 절편법으로 두께 4~6 μm 으로 제작되었으며, 제작된 조직표본은 Mayer's hematoxylin과 0.5% eosin (H-E)의 비교염색, Mallory 삼중염색, periodic acid-Schiff (PAS) 반응 그리고 alcian blue-periodic acid-Schiff (AB-PAS, pH 2.5) 반응을 실시하였다.

투과전자현미경 (TEM)의 조직표본 제작은 절취한 피부조직을 0.1 M phosphate buffer (pH 7.2)로 완충시킨 2.5% glutaraldehyde 용액으로 4°C에서 2~4시간 동안 전고정하였다. 그리고 1% osmium tetroxide (OsO_4)로 4°C에서 2시간 동안 후고정 하였다. 고정이 끝난 조직은 0.1 M phosphate buffer로 세척하고 ethanol을 이용하여 실온에서 15분 간격으로 단계별로 탈수하여 Epon 812에 포매하였다. 포매된 조직은 두께 0.5 μm 의 semithin section과 70 nm의 ultrathin section을 하였다. Ultrathin section은 copper grid (200 mesh)에 올려 uranylacetate와 lead citrate 용액으로 이중염색하여 투과전자현미경 (JEM-1200EXII, JEOL)으로 관찰하였다.

결 과

1. 광학현미경 관찰

넙치 피부계는 외부로부터 기저막과 조직학적 특징에 의해 상피층과 진피층으로 구분할 수 있었다 (Fig. 1). 상피층은 5~7층의 상피세포들로 구성된 다층구조로서 지지세포, 선세포 그리고 부속세포들로 구성되어 있었으며, 외부로부터 표면층 (superficial layer), 중간층 (intermediate layer), 기저층 (basal layer)으로 나눌 수 있었다. 지지세포는 표면층을 구성하는 표면세포 (superficial cell)와 중간층과 기저층을 구성하는 중간세포 (intermediate cell)와 기저세포 (basal cell)로 각각 구분할 수 있었고, 선세포는 점액세포 (mucous cell)와 곤봉상 세포 (club cell)로 구분할 수 있었다 (Fig. 2).

점액세포들은 주로 상피층의 표층에서부터 중간층까지 분포하였다. 이들은 H-E 염색과 (Fig. 2) Mallory 삼중염색에서는 공포형태로 나타났지만 (Fig. 3), AB-PAS (pH 2.5) 염색에서는 연한 적색으로 반응하였고 (Fig. 4), PAS 반응에서는 강하게 반응하여 진한 적색을 보여 중성 다당류의 점액을 함유하는 것으로 판단되었다 (Fig. 5).

곤봉상세포들은 상피층의 표층에서부터 기저층까지 분포하는데, 이들 세포의 세포질은 H-E 염색 (Fig. 2)에서 eosin에 약하게 반응하였고 Mallory 삼중염색 (Fig. 3)에서는 옅은 청색으로 반응하였다.

부속세포로서 염세포 (chloride cell)가 관찰되었는데 이들 세포는 주로 상피층의 표면층에 위치하고 있었다. H-E 염색에서 염세포의 세포질은 점액세포의 세포질처럼 공포상으로 나타났으나 다소 불투명하였으며 (Fig. 2), Mallory 삼중염색에서는 약한 양성 반응을 보였다 (Fig. 3).

기저막 아래의 진피층은 결합조직층으로 위쪽의 소성결합조직층 (loose connective tissue)과 아래쪽의 치밀결합조직층 (dense connective tissue)으로 구분되었고 상피층보다는 훨씬 두껍게 나타났다 (Fig. 1). 진피층은 AB-PAS (pH 2.5) 반응에서 alcian blue에 약한 양성을 나타냈으며 (Fig. 4), 색소세포들은 상피층의 기저막과

인접한 진피층에서 주로 관찰되었다(Fig. 2).

2. 투과 전자현미경 관찰

상피층을 구성하는 지지세포는 표면세포, 중간세포, 기저세포로 구분되었다(Fig. 6). 상피층의 지지세포 가운데 가장 바깥쪽에 위치하는 표면세포의 형태는 편평형 또는 입방형이었다. 핵은 세포질 하부에 타원형으로 존재하고 전자밀도가 낮은 미세한 염색질 과립들이 핵질 내에 흩어져 있지만 핵막 주변에서는 전자밀도가 높은 이질염색질이 존재하고 있었다. 세포질에는 골지체와 미토콘드리아를 비롯한 여러 종류의 세포소기관들이 관찰되었으며 membrane interdigitation 구조가 뚜렷하였고 표면세포와 중간세포의 원형질막에서는 부착단(desmosome)이 발달되어 있었다(Fig. 7). 표면세포의 자유면에서는 높이 200 nm 내외의 미세융기(microridge)들이 잘 발달되어 있었고, 이들 미세융기의 표면은 미세한 섬유상막인 glycocalyx로 덮혀 있었다(Fig. 8).

중간세포는 표면세포층과 기저세포층의 가운데 존재하는 세포들로서 형태는 타원형에 가깝고 핵의 형태는 원형에 가까웠다. 전자밀도가 낮은 미세한 염색질 과립들이 핵질 내에 흩어져 있었지만, 핵막 주변에서는 전자밀도가 높은 이질염색질이 존재하고 있었다. 세포질은 수질부와 피질부로 뚜렷이 구분되었는데, 수질부에는 미토콘드리아와 골지체 등의 세포소기관들이 분포하고 있었으며 피질부에는 미세섬유의 발달이 현저하였다(Fig. 9). 중간세포와 중간세포 사이의 원형질막에서는 membrane interdigitation 구조가 더 뚜렷하였고 부착단(desmosome)이 잘 발달되어 있었다(Fig. 10).

기저세포들은 일렬로 위치하고 있었고, 형태는 원주형이었으며, 타원형에 가까운 핵은 세포질의 상부에 위치하고 있었다. 핵의 진정염색질의 전자밀도는 표면세포와 비슷하게 나타났다. 세포질은 수질부와 피질부로 뚜렷이 구분되었는데, 중간세포들과 마찬가지로 수질부에는 세포소기관들이 분포하고 있었으며 피질부에는 미세섬유의 발달이 현저하였다. 주변의 기저세포와는 원형질막의 membrane interdigitation과 부착단의 발달을 볼 수 있었다(Fig. 11).

선세포는 단세포 형태의 점액세포와 곤봉상세포로 구분할 수 있었다.

점액세포는 장경 약 15~25 μm 의 타원형으로 세포질의 상부에는 막을 가진 전자밀도가 다양한 다수의 분비과립을 가지고 있었다(Fig. 12). 세포질의 기저부에서는 불규칙한 형태의 핵과 잘 발달된 조면소포체, 관상의 미토콘드리아 그리고 cisternae와 소낭 구조가 발달된 골지체들이 관찰되었다(Fig. 13).

곤봉상 세포들은 장경 10~20 μm 의 타원형으로 세포질의 피질부는 잘 발달된 미세섬유 다발이 차지하고 있었다. 세포질 상부에는 원형의 분비성 물질들이 다수 관찰되었으며, 핵은 타원형으로 기저부에 위치하고 있었다(Fig. 14).

부속세포인 염세포의 형태는 장방형이었으며, 핵은 긴 원추형으로 세포질의 하방에 위치하고 있었다. 핵의 중심부와 핵막 주변에는 전자밀도가 높은 이질염색질이 존재하고 있었다. 세포질의 대부분은 크리스테가 발달된 미토콘드리아들이 차지하고 있었으며, 글리코겐 과립들이 전반적으로 고루 분포하고 있었다(Fig. 15).

진피층에서는 색소세포(pigment cell), 섬유세포(fibrocyte), 콜라겐섬유(collagen fiber), 비늘, 혈구 등이 관찰되었다. 흑색세포는 세포질에 전자밀도가 높은 색소과립을 함유하고 있었고(Fig. 16), 진피층의 대부분을 차지하는 콜라겐 섬유들은 교대로 분포하고 있었으며, 콜라겐 섬유들 사이의 섬유세포는 편평형으로 세포의 대부분을 핵이 차지하고 있었다(Fig. 17).

고 찰

어류의 피부계는 수서환경에서 유래되는 물리, 화학, 생물학적인 외부자극원에 대하여 일차적인 보호 기능을 수행하게 된다. 이러한 피부계는 크게 상피층과 진피층으로 구성되고 각각은 다양한 기능 수행을 위한 여러 종류의 세포들과 부속기관을 발달시킨다.

넙치 피부계는 상피층과 진피층으로 구성된다. 상피층은 지지세포와 선세포들로 이루어지고 진피층은 치밀결합조직층으로 콜라겐 섬유, 섬유세포, 색소세포 등을 포함하고 있는 구조로서 cottid, *Pseudoblennius*

cottoides (Sato, 1978), 뱀장어, *Anguilla japonica* (Park et al., 1995a), 농어, *Lateolabrax japonicus* (Lee & Kim, 1999), 베도라치, *Pholis nebulosa* (Lee et al., 2000), 문치가자미, *Limanda yokohamae* (Lee et al., 2000)와 마찬가지로 경골어류 피부계의 일반적인 구조와 같다고 할 수 있다.

넙치 피부계 표면세포에서 관찰되는 요철형태의 미세융기(microridge)는 외상이나 기계적 자극에 대한 생물학적 방어 기능과 점액세포에서 분비된 점액 물질을 어류의 체표에 유지시켜줌으로써 물과의 마찰력을 감소시켜 유연력을 높이는 구조로서(Hawkes, 1974), 뱀장어, *Anguilla japonica* (Park et al., 1995a), 농어, *Lateolabrax japonicus* (Lee & Kim, 1999), 베도라치, *Pholis nebulosa* (Lee et al., 2000), 문치가자미, *Limanda yokohamae* (Lee et al., 2000) 등에서도 관찰되었으며, 이러한 미세융기의 표면에 실모양의 glyco-calyx가 덮고 있는 것은 세균, 기생충 또는 곰팡이와 같은 이물질에 대한 인지 능력에 관여한다고 보고하였다(Park et al., 1995a).

경골어류의 피부계를 구성하는 상피세포와 일부 분비세포들의 세포질에서 관찰되는 미세섬유는 당김 세사(tonofilament)로서 이들 세포의 형태유지와 주변의 물리·화학적 자극원에 대하여 능동적으로 대처하는 구조적 특징으로 보고하였다(Henrikson & Matoltsy, 1968). 본 연구에서도 넙치 피부계 상피층을 구성하는 일부 세포의 세포질 피질부에서 관찰되는 미세섬유와 membrane interdigitation 구조도 이와 같은 기능을 위한 구조적 특징으로 판단된다.

넙치 피부계의 상피층에서는 지지세포 이외에 흔히 배상세포(goblet cell)라 불리는 점액세포(mucous cell), 곤봉상세포(club cell), 염세포(chloride cell) 등의 선세포 및 부속세포가 관찰되었다. 넙치 피부계 상피층의 점액세포들의 미세구조적 특징은 금붕어, *Carassius auratus* (Jeong & Moon, 1994), 뱀장어, *Anguilla japonica* (Park et al., 1995b), 농어, *Lateolabrax japonicus* (Lee & Kim, 1999), 베도라치, *Pholis nebulosa* (Lee et al., 2000), 문치가자미, *Limanda yokohamae* (Lee et al., 2000)와 일치하였다. 그리고 점액세포의 점액물질은 금붕어, *Carassius auratus* (Jeong & Moon, 1994), 뱀장어, *Anguilla japonica* (Park et al., 1995b), 미꾸리,

Misgurnus anguillicaudatus (Park & Kim, 1999), 문치가자미, *Limanda yokohamae* (Lee et al., 2000) 등의 경우에는 산성으로 보고되었지만 넙치의 경우에는 AB-PAS에 적색으로 반응하여 베도라치, *Pholis nebulosa* (Lee et al., 2000)와 같은 중성점액으로 나타났다.

어류에 있어서 점액세포의 분비조절기작에 관해서는 잉어, *Cyprinus carpio*의 경우에는 외부 환경변화에 대한 방어기작으로 점액세포를 자극하는 뇌하수체 호르몬인 prolactin이 어체 주위로 점액분비를 촉진하여 수계와 경계를 가진다고 알려져 있으나(Abraham et al., 2001), 넙치에서는 이러한 기작이 알려진 바 없으므로 추후 환경변화에 따른 점액세포의 변화와 내분비조절 기작에 대한 연구가 병행되어야 할 것이다.

어류 피부 상피층의 곤봉상세포는 어종 및 시기에 따라 미세구조와 그 분포정도의 차이를 보인다. 넙치 곤봉상세포의 형태 및 구조적인 측면에서 membrane interdigitation의 발달, 세포질 피질부에서 미세섬유의 발달은 뱀장어, *Anguilla japonica* (Park et al., 1995b), 농어, *Lateolabrax japonicus* (Lee & Kim, 1999), 문치가자미, *Limanda yokohamae* (Lee et al., 2000)의 곤봉상세포와 공통적인 특징을 보였지만, 이들 어류에서 볼 수 있는 다각형의 핵과 커다란 중심공포에서는 서로 다른점을 보였다.

Abraham et al. (2001)은 잉어, *Cyprinus carpio*가 고 염분의 환경에 노출되었을 때, 이들 곤봉상세포는 수적으로 증가하며, 식작용(phagocytosis)과 apoptotic 활성을 강하게 보여준다고 보고하였다. 하지만 이들 곤봉상세포는 점액세포와는 다른 차원의 방어에 중요한 역할을 담당하는 것으로 생각되므로 곤봉상세포의 활성변화에 대한 조절기작 역시 추후 연구되어야 할 과제이다.

부속세포인 염세포는 어류의 아가미에서 주로 관찰되는 세포로서 어류의 삼투조절에 관여하는데, 유티고기, *Kryptopterus bicirrhis* (Korte, 1979), 송사리, *Fundulus heteroclitus* (Karnaky, 1986)와 문치가자미, *Limanda yokohamae* (Lee et al., 2000)의 피부에서도 보고되었다. 역시 본 연구의 넙치 피부에서 관찰된 염세포도 이들 어류에서 보고된 미세구조와 유사하였다.

감사의 글

본 연구는 1999년 학술진흥재단의 신진연구인력 연구장려금에 의하여 연구되었으며, 이에 감사드립니다.

참고 문헌

- Abraham M, Iger Y, Zhang L: Fine structure of the skin cells of a stenohaline freshwater fish *Cyprinus carpio* exposed to diluted seawater. *Tissue and Cell* 33 (1): 46-54, 2001.
- Hawkes JW: The structure of fish skin. 1. General organization. *Cell Tiss Res* 149: 147-158, 1974.
- Henrikson RC, Matoltsy AG: The fine structure of teleost epidermis. I. Introduction and filament containing cells. *J Ultrastruct Res* 21: 194-212, 1968.
- Iger Y, Wendelaar Bonga SE: Cellular responses in the skin of carp, *Cyprinus carpio* exposed to acidified water. *Cell Tiss Res* 275: 481-492, 1994.
- Jeong YK, Moon MJ: Integumental secretory cells in goldfish, *Carassius auratus*. L. *Korean J Electron Microscopy* 24: 1-10, 1994.
- Karnaky KJ: Structure and function of the chloride cell of *Fundulus heteroclitus* and other teleosts. *Am Zool* 26: 209-224, 1986.
- Korte GE: Unusual association of 'chloride cells' with another cell type in the skin of the glass catfish, *Kryptopterus bicirrhus*. *Tissue and Cell* 11: 63-68, 1979.
- Lee JS, An CM, Huh SH: Integumentary ultrastructure of the blenny, *Pholis nebulosa* (Teleostei: Pholidae). *J Korean Fish Soc* 33: 148-152, 2000.
- Lee JS, Kang JC, Baek HJ: Ultrastructure on the integumentary epidermis of the marbled sole, *Limanda yokohamae* (Teleostei: Pleuronectidae). *Korean J Electron Microscopy* 30: 303-310, 2000.
- Lee JS, Kim JW: Fine structure of the integumentary supporting cell and gland cell of the sea bass, *Lateolabrax japonicus* (Teleostei: Moronidae). *Korean J Electron Microscopy* 29: 417-426, 1999.
- Park IS, Kim JJ, Jo UB, Park SO: Fine structural changes in the eel epidermis according to sea water adaptation. I. Epithelial cell. *Korean J Zool* 38: 26-37, 1995a.
- Park IS, Kim JJ, Jo UB, Park SO: Fine structural changes in the eel epidermis according to sea water adaptation. II. Mucous cell and club cell. *Korean J Zool* 38: 38-47, 1995b.
- Park JY, Kim IS: Structure and histochemistry of skin of mud loach, *Misgurnus anguillicaudatus* (Pisces, Cobitidae), from Korea. *Korean J Ichthyol* 11: 109-116, 1999.
- Sato M: Light and transmission electron microscopy of the granular cell in the skin epidermis of a cottid, *Pseudoblennius cottoides*. *Japanese J Ichthyol* 24: 231-238, 1978.
- Schwerdtfeger WK: Morphometrical studies of the ultrastructure of the epidermis of the guppy, *Poecilia reticulata* Peter, following adaptation to seawater and treatment with prolactin. *Gen Comp Endocrinol* 38: 476-483, 1979.
- Whitear M: Temperature adaptation in tonofilaments of goldfish. *Arch Biol* 100: 109-115, 1989.

< 국문초록 >

넙치의 피부 상피층은 지지세포, 선세포와 부속세포들로 구성된다. 지지세포는 표면세포, 중간세포 및 기저세포로 구분된다. 선세포는 점액세포와 곤봉상세포, 부속세포는 염세포가 관찰된다. 표면세포는 편평형 또는 입방형이며 미용기들이 잘 발달되어 있다. 지지세포는 membrane interdigitation 구조와 부착반에 의해서 다른 세포들과 잘 연결되어 있고 세포질 피질부에 당김세사가 잘 발달되어 있다. 점액세포는 타원형으로 충성다당류의 점액을 함유하는 것으로 확인된다. 곤봉상세포는 세포질에 많은 액포와 미세섬유다발을 관찰할 수 있다. 부속세포인 염세포 세포질의 대부분이 미토콘드리아로 가득 채워져 있다.

FIGURE LEGENDS

- Fig. 1.** Histology of the skin of the bastard halibut, *Paralichthys olivaceus*. The skin consists of epidermal layer (EI) and dermal layer (DI). Dct: dense connective tissue, Lct: loose connective tissue, S: scale, Sl: subcutaneous layer.
- Fig. 2.** Section of epidermal layer showing the stratified structure. Bm: basal membrane, Cc: club cell, Ch: chloride cell, Mc: mucous cell, Pc: pigment cell.
- Fig. 3.** Section of epidermal layer with Mallory triple stain.
- Fig. 4.** Section of epidermal layer with AB-PAS reaction.
- Fig. 5.** Section of epidermal layer with PAS reaction. Note the mucous cell of positive in Schiff's solution.
- Fig. 6.** Electron micrographs of the epidermal layer. Bc: basal cell, Ic: intermediate cell, Sc: superficial cell.
- Fig. 7.** Superficial cell of the epidermal layer. Note the microridges (Mr) and membrane interdigitation (Mi). Ic: intermediate cell, Mf: microfilaments, N: nucleus.
- Fig. 8.** Microridges covered with glycocalyx (Gc) of the superficial cell.
- Fig. 9.** Intermediate cells of the epidermal layer. Note the membrane interdigitation and desmosome.
- Fig. 10.** Desmosomes between intermediate cells.
- Fig. 11.** Basal cell of the epidermal layer. Note the well developed membrane interdigitation and microfilaments in the cortical cytoplasm.
- Fig. 12.** Mucous cell. Note the numerous membrane bounded secretory granules (Sg).
- Fig. 13.** Basal area of mucous cell. Note the well developed rough endoplasmic reticula (rEr) and Golgi apparatus (Ga).
- Fig. 14.** Club cell showing the numerous vacuole (V) and microfilaments in the cytoplasm.
- Fig. 15.** Chloride cell. Note the numerous mitochondria (Mf) in the cytoplasm.
- Fig. 16.** Pigment cells of the dermal layer. Mg: melanin granules.
- Fig. 17.** Section of the dermal layer showing the well developed collagen fibers (Cf) and hemocyte (Hc). Fc: fibrocyte.





