

논우렁이 (*Cipangopaludina chinensis malleata* Reeve) 觸手
色素細胞의 微細構造에 關한 研究

宋容直 · 文明珍 · 金宇甲 · 金昌煥
(高麗大學校 理科學 生物學科)

Ultrastructural Study of Tentacular Pigment Cells in the Chinese
Mystery Snail, *Cipangopaludina chinensis malleata* Reeve

Yong Jik Song, Myung Jin Moon, Woo Kap Kim and Chang Whan Kim
(Department of Biology, Korea University)
(1987. 5. 4. 접수)

ABSTRACT

The ultrastructure of the tentacular pigment cells and the origin of the pigment granules in the Chinese mystery snail, *Cipangopaludina chinensis malleata* Reeve, are studied with electron microscope.

Tentacular pigment cells of the snail are the melanophores which contain electron dense melanosomes (melanin pigment granules). Melanophores are distributed among the connective tissues but other kind of dermal chromatophores are not observed.

The epidermal melanin units are observed in the epithelial tissues of the tentacles. Among the several kinds of epithelial cells, only the epithelial supporting cells contain these pigment granules.

Synthesis of the pigment materials is from the rough ER and pigment granules are finally being packaged and released by the Golgi complexes but limiting membrane of these granules are presumed to be originated from the smooth ER.

緒 論

논우렁이는 주로 沼澤地에 서식하는 軟體動物로서 頭頂部에 感覺器官인 觸手(tentacle)를 가지고 있어 外部環境에서 받는 機械的 및 化學的 자극들을 感受하여 腦로 전달하는 기능적 體制를 갖추고 있다(Wright, 1974; Wondrak, 1975). 觸手는 末端結節(terminal knob)과 觸手柄(tentacular stalk)의 두 부분으로 이루어져 있는데, 바깥쪽에 上皮組織이, 그 안쪽의 結合組織 내에는 色素細胞, collar cell 및 筋組織 등이 위치하며 가장 안쪽에는 神經

組織이 자리잡고 있다(Wondrak, 1981, 1984; Song *et al.*, 1985).

軟體動物의 色素細胞는 거의가 melanin 色素를 함유한 黑色素細胞(melanophore)로서, 黑色素細胞는 환경에 따라 體色の變化를 일으켜 保護色을 형성하거나 태양의 자외선을 일부 차단시킴으로써 個體의 안전을 유지하는 기능을 수행하고 있다(Hadley, 1972; Bagnara and Hadley, 1973). 黑色素細胞는 관습적으로 자극에 의하여 신속한 體色變化를 일으키는 變溫脊椎動物이나 無脊椎動物의 것을 melanophore, 현저한 반응이 나타나지 않는 定溫脊椎動物의 것을 melanocyte라고 하는데(Fujii and Novales, 1969; 及川·井出, 1982), 表皮 發芽層 내에서 melanin이 형성된 未分化의 黑色素細胞에 대해서는 특별히 melanoblast라는 用語를 사용하고 있다(Gordon, 1959; Macmillan, 1976).

黑色素細胞에 대한 연구는 주로 變溫脊椎動物의 體色變化와 관련하여 爬蟲類(Zoond and Eyre, 1934; Kleinholtz, 1938; Alexander and Fahrenbach, 1969), 兩棲類(Taylor and Bagnara, 1969; Ide, 1974; Kim *et al.*, 1981; Moon *et al.*, 1983), 魚類(Bikle *et al.*, 1966; Fujii, 1966; Green, 1968; Turner *et al.*, 1975; Moon *et al.*, 1987) 등에서 그 構造와 色素顆粒의 形成過程 등이 밝혀져 있으나 無脊椎動物을 대상으로 한 연구는 매우 미비한 실정이다.

本 研究는 水棲 腹足類인 논우렁이의 觸手 내에 분포하는 色素細胞의 微細構造를 관찰하고 色素顆粒의 形成過程과 세포질내 細胞小器官들과의 상관관계를 形態의인 측면에서 論議하였다.

材料 및 方法

京畿道 八堂 부근에서 採集한 논우렁이(*Cipangopaludina chinensis malleata* Reeve) 成體를 5日間 恒온(20°C) 처리한 후, 實驗材料로 사용하였다.

解剖顯微鏡하에서 摘出해 낸 觸手를 2.5% paraformaldehyde-glutaraldehyde(4°C, pH 7.2, phosphate buffer)와 1% OsO₄(4°C, pH 7.2, phosphate buffer)로 前·後 固定한 다음, ethanol 농도 상승 順으로 脫水하였으며, propylenoxide로 치환하여 Epon-Araldite 혼합액에 包埋하였다.

包埋된 組織은 Sorvall MT-Ⅱ型 및 LKB-V型 ultramicrotome으로 超薄切片을 만들어 uranyl acetate 및 lead citrate로 二重 染色하여 JEM 100 CX-Ⅱ型 電子顯微鏡으로 80kV에서 관찰하였다.

結 果

논우렁이 觸手의 色素細胞는 melanin 色素를 함유한 黑色素細胞(melanophore)만이 眞皮의 結合組織層에서 나타나며, 다른 種類의 眞皮性 色素細胞는 전혀 관찰되지 않았다(Fig. 1). 黑色素細胞의 核은 核膜의 함유가 심한 긴 타원형이며 異質 染色質은 核質에 걸쳐서 分散되어 있고, 방사상의 긴 原形質 突起를 뿜고 있는 細胞質의 내부에는 黑色素顆粒들이 集積되어 있다(Fig. 2).

黑色素顆粒은 電子密度가 극히 높은 직경 0.5 μ m 정도의 球形色素顆粒으로서 한겹의 限

界膜에 의해 둘러 싸여져 있다(Fig. 3). 黑色素顆粒의 분포는 核 주변부에서 비교적 낮는데 이 部位에서는 mitochondria, rER, Golgi 複合體 등의 細胞小器官들이 잘 발달되어 있는 반면(Fig. 4), 原形質 突起의 말단부위로 갈수록 突起는 가늘어지고 顆粒의 분포밀도는 높아져서 細胞質의 대부분이 黑色素顆粒들로만 채워져 있었다(Fig. 5).

黑色素細胞는 보통 基底膜 아래의 結合組織層 내에서 무리를 지어 나타나지만 같은 結合組織層 내에 분포된 collar cell들의 사이나(Fig. 6), 筋組織層 사이(Fig. 7), 그리고 觸手 중앙부의 神經組織 내부에 까지 긴 原形質의 돌기를 뻗고 있는 형태도 흔히 관찰되었다(Fig. 8).

色素顆粒의 生成이 활발한 黑色素細胞의 核膜은 매우 비후되어 있고(Fig. 9) 세포질 전체에 rER과 遊離 ribosome들이 散在되어 있었다(Fig. 10). 잘 발달된 Golgi 複合體들이 顆粒의 주변부에 분포하고 있으며(Fig. 11, 12) sER이 色素顆粒의 限界膜과 연결되어 있는 형태도 관찰되었다(Fig. 13).

結合組織層 내의 黑色素細胞처럼 分化된 細胞의 형태를 갖추고 있지는 않지만 上皮組織의 支持細胞 내에서도 黑色素顆粒들이 존재하는데, 上皮組織을 구성하는 여러 종류의 세포들 중에서 오직 支持細胞에서만 관찰된다(Fig. 14). 支持細胞는 圓柱狀의 上皮細胞로서 타원형의 核은 異質 染色質을 많이 가지고 있고 細胞質에는 많은 空胞(vacuole)들이 형성되어 있으며(Fig. 15) 頂端의 遊離面에는 미세융모(microvilli)가 섬유성 물질인 surface coat에 의해 덮여있다(Fig. 16).

支持細胞의 세포질 내에 함유된 黑色素顆粒은 電子密度가 극히 높고 직경이 $0.5\mu\text{m}$ 정도인 球形 色素顆粒으로서 眞皮의 黑色素細胞에서 관찰된 것과 거의 동일하였다(Fig. 16). 이들 色素顆粒의 주변부에서도 色素顆粒의 形成過程에 관여하는 遊離 ribosome, rER, Golgi 複合體 및 mitochondria 등의 細胞小器官들이 잘 발달되어 있었다(Fig. 17).

考 察

皮膚 色素細胞에는 表皮性 色素細胞(epidermal chromatophore)와 眞皮性 色素細胞(dermal chromatophore)의 2種類가 있는데(Hadley, 1972; 及川·井出, 1982) 眞皮性 黑色素細胞는 黑色素顆粒의 세포내 신속한 집적·확산에 의해 生理的 體色變化(physiological color change)를 일으키는 반면에 表皮性 黑色素細胞는 자외선에 노출된 피부의 暗化和 같은 形態的 體色變化(morphological color change)를 일으키는 것으로 알려져 있다(Parker, 1948; Fujii and Novales, 1969; 及川·井出, 1982).

軟體動物에서 관찰된 色素細胞는 모두 黑色素細胞로서 Barber와 Wright(1969) 및 Rogers(1971)는 각각 *Nautilus macromphalus*와 *Helix aspersa*의 觸手 眞皮層에서 진피성 흑색소 세포를, 그리고 Moir(1977)와 Luchtel 등(1984)은 각각 *Plecopecten magelanicus*와 *Ariolimacx columbianus*의 上皮層에서 표피성 흑색소 세포를 관찰·보고한 바 있다. 그러나 이들은 모두 觸手 眞皮層의 collar cell이나 上皮層의 여러 세포들을 관찰하는 과정에서 단편적으로 얻어진 결과들이기 때문에 黑色素細胞에 대한 形態的 特性들이 상세히 묘사되어 있지 않다.

Hadley와 Quevedo(1967) 및 Quevedo 등(1972)은 表皮細胞 내에 黑色素顆粒을 함유한 表皮性 色素細胞를 表皮性 黑色素單位(epidermal melanin unit)라고 하였으며, 表皮細胞 내

의 黑色素顆粒들은 세포간의 접촉부위를 통해 表皮性 色素細胞로 부터 轉移된 것이라고 하였다. 이에 대해 Ide(1981)는 양서류 *Rana catesbeiana*의 眞皮性 黑色素細胞를 表皮細胞와 함께 조직배양한 실험에서 黑色素細胞의 형태가 주위의 表皮細胞에 의하여 變化함을 관찰하고 表皮性 黑色素細胞는 眞皮性 黑色素細胞로 부터 移行된 것이라고 하였다.

논우렁이의 경우 眞皮 結合組織層과 上皮 支持細胞 내에 존재하는 黑色素顆粒들의 형태나 전자밀도등이 거의 동일하였고, 퇴화중인 黑色素顆粒들이 上皮的 遊離面 쪽으로 이동되고 있는 현상등이 관찰되지만 上皮的 黑色素顆粒들이 眞皮層에서 移行되어진 것인지, 아니면 이들이 서로 다른 原基들로부터 分化된 것인지에 대한 것은 앞으로 發生學的인 연구가 더 이루어져야 하겠다.

黑色素顆粒의 形成過程에는 前驅體인 premelanosome들이 Golgi 複合體로 부터 유래한다는 Golgi complex 起源說(Seiji and Fitzpatrick, 1961; Seiji *et al.*, 1963; Toda and Fitzpatrick, 1971)과 ER에서 부터 유래된 소포의 내부에 Golgi 複合體로 부터 生成된 tyrosinase 함유 소포가 융합됨으로써 이루어진다는 Golgi complex-ER融合說(Turner *et al.*, 1975; Turner and Taylor, 1977; Bagnara *et al.*, 1979) 등이 알려져 있다. 본 실험의 경우 色素顆粒의 生成이 활발한 黑色素細胞의 세포질 전역에 rER이 散在되어 있고 잘 발달된 Golgi 複合體들이 黑色素顆粒의 주변부에 분포하고 있는 점으로 미루어 rER의 ribosome에서 부터 合成된 물질들이 Golgi 複合體를 통해 농축·분비됨으로써 顆粒 내부의 色素 축적이 일어나는 것으로 해석할 수 있다.

그리고 色素顆粒의 形成過程에서 滑面 小胞體와 연결되어 있는 黑色素顆粒들이 관찰되는데, 이는 Turner 등 (1975)이 魚類의 黑色素細胞에서 보고한 것과 일치하는 것으로서 黑色素顆粒의 限界膜 形成에 sER이 관여하고 있음을 시사하는 것이다. 즉, sER로 부터 유래된 小胞로 부터 顆粒의 限界膜이 형성되고 그 내부에 Golgi 複合體 起源의 작은 小胞들이 융합됨으로써 黑色素顆粒이 生成되는 것으로 사료된다.

摘 要

논우렁이(*Cipangopaludina chinensis malleata* Reeve) 觸手に 분포하는 色素細胞의 微細構造 및 色素顆粒의 形成過程을 電子顯微鏡으로 관찰하였다.

觸手の 色素細胞는 melanin 色素顆粒을 함유한 黑色素細胞(melanophore)로서 眞皮的 結合組織層 내에서 긴 原形質의 突起를 뻗고 있으며, 上皮組織의 支持細胞(supporting cell)에서는 表皮性 黑色素顆粒들이 細胞質 내에 함유되어 表皮性 黑色素單位(epidermal melanin unit)를 이루고 있다.

黑色素顆粒의 形成은 細胞質에 잘 발달되어 있는 rER로 부터 合成된 色素物質들이 Golgi 複合體를 거쳐 分泌됨으로써 일어나며, 色素顆粒의 限界膜 形成에는 sER이 관련되는 것으로 관찰되었다.

REFERENCES

- Alexander, N.J. and W.H. Fahrenbach, 1969. The dermal chromatophores of *Anolis carolinensis*

- (Reptiles, Iguana). *Am. J. Anat.* **126**:41-56.
- Bagnara, J.T. and M.E. Hardley, 1973. Chromatophores and color change. Prentice-Hall 56-68.
- Bagnara, J.T., J. Matsumoto, W. Ferris, S.K. Frost, W.A. Turner Jr., T.T. Tchen and J.D. Taylor, 1979. Common origin of pigment cells. *Science* **203**:410-415.
- Barber, V.C. and D.E. Wright, 1969. The fine structure of the sense organs of the cephalopod *Nautilus*. *Z. Zellforsch.* **102**:293-312.
- Bikle, D., L.G. Tilney and K.R. Porter, 1966. Microtubules and pigment migration in the melanophores of *Fundulus heteroclitus* L.. *Protoplasma* **61**:322-345.
- Fujii, R., 1966. Corelation between fine structure and activity in fish melanophore *In*: Structure and control of the melanocyte. Springer-Verlag 114-123.
- Fujii, R. and R.R. Novales, 1969. Cellular aspects of the control of physiological color changes in fishes. *Am. Zool.* **9**:453-463.
- Gordon, M., 1959. Pigment cell biology. Academic Press 37-61.
- Green, L., 1968. Mechanisms of movements of granules in melanocytes of *Fundulus heteroclitus*. *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.* **59**:1179-1186.
- Hadley, M.E., 1972. Functional significance of vertebrate integumental pigmentation. *Am. Zool.* **12**:63-76.
- Hadley, M.E. and W.C. Quevedo Jr., 1967. The role of epidermal melanocytes in adaptive color changes in amphibians. *Advan. Biol. Skin* **8**:337-359.
- Ide, H., 1974. Proliferation of amphibian melanophores *in vitro*. *Develop. Biol.* **41**:380-384.
- Ide, H., 1981. Phenotypic expression pigment cells: Proceeding of 11th international pigment cell conference. *Pigment Cell* 295-299.
- Kim, H.H., Y.T. Hoh, Y.D. Chi and Y.W. Moon, 1981. The ultrastructure of the cutaneous pigment cells in the amphibia. *Korean J. Zool.* **24**:133-144.
- Kleinholtz, L.H., 1983. Studies in reptilian colour changes (II) The pituitary and adrenal glands in the regulation of the melanophores of *Anolis carolinensis*. *J. Exp. Biol.* **15**:474-491.
- Luchtel, D.L., A.W. Martin and I. Deyrup-Olsen, 1984. The channel of the terrestrial slug *Ariolimax columbianus* (Stylommatophora, Arionidae). *Cell Tiss. Res.* **235**:143-151.
- Macmillan, G.J., 1976. Melanoblast-tissue interactions and the development of pigment pattern in *Xenopus* larvae. *J. Embryol. Exp. Morph.* **35**:463-484.
- Moir, A.J.G., 1977. Ultrastructural studies on the ciliated receptors of the long tentacles of the giant scallop, *Placopecten magellanicus* (Gmelin). *Cell Tiss. Res.* **184**:367-380.
- Moon, M.J., J.H. Kim, W.K. Kim and C.W. Kim, 1983. The ultrastructure of the cutaneous pigment cells in *Bombina orientalis*. *Korean J. Electron Microscopy* **13**:12-22.
- Moon, M.J., C.W. Kim and W.K. Kim, 1987. Ultrastructures of the cutaneous chromatophores and pigment granule formation in the goldfish, *Carassius auratus* L. (II) Leucophore and Melanophore. *Korean J. Electron Microscopy* **17**:65-75.
- 及川淳・井出宏之, 1982. 色素細胞(この特異な 集團). 講談社 32~58.
- Parker, G.H., 1948. Animal colour changes and their neurohumours. Cambridge Univ. Press 176-208.
- Quevedo, W.C., 1972. Epidermal melanin units: melanocyte-keratinocyte interactions. *Am. Zool.* **11**:35-41.
- Rogers, D.C., 1971. 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.
- Seiji, M. and T.B. Fitzpatrick, 1961. The reciprocal relationship between melanization and tyrosinase activity in melanosomes (melanin granules). *J. Biochem.* **49**:700-706.
- Seiji, M., K. Shimao, M.S.C. Birbeck and T.B. Fitzpatrick, 1963. Subcellular localization of melanin biosynthesis. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **100**:497-533.
- Song, Y.J., C.S. Kim, W.K. Kim and C.W. Kim, 1985. Ultrastructure of the tentacular epithelium in *Cipangopaludina chinensis malleata* (Reeve). *Korean J. Electron Microscopy* **15**:80-88.
- Taylor, J.D. and J.T. Bagnara, 1969. Melanosomes of the Mexican tree frog, *Agalychnis dacnicolor*. *J. Ultrastruct. Res.* **29**:323-333.
- Toda, T. and T.B. Fitzpatrick, 1971. The biology of normal and abnormal skin (ed. T. Kawamura *et al.*). Tokyo Univ. Press.
- Turner, W.A. Jr. and J.D. Taylor, 1977. Heterochromatin dispersion and blebbing of the nuclear membrane induced by melanophore stimulating hormone. *Exp. Cell Res.* **106**:417-422.
- Turner, W.A. Jr., J.D. Taylor and T.T. Tchen, 1975. Melanosome formation in the goldfish: the role of multivesicular bodies. *J. Ultrastruct. Res.* **51**:16-31.
- Wondrak, G., 1975. The ultrastructure of the sensory cells in the chemoreceptors of the ommatophore of *Helix pomatia* (L.). *Cell Tiss. Res.* **159**:121-140.
- Wondrak, G., 1981. Ultrastructure of the supporting cells in chemoreceptor areas of the tentacles of *Pomatia elegans* Müller (Mollusca, Prosobranchia) and the ommatophore of *Helix pomatia* L. (Mollusca, Pulmonata). *J. Morph.* **167**:211-230.
- Wondrak, G., 1984. Ultrastructure of the sensory epithelia of oral tube, fungiform sensory bodies and terminal knobs of tentacles of *Ovatella myosotis* Draparnaud (Archaeopulmonata, Gastropoda). *J. Morph.* **181**:333-347.
- Wright, B.R., 1974. Sensory structure of the tentacles of the slug *Arion ater* (Pulmonata, Mollusca)
1. Ultrastructure of the distal epithelium, receptor cells and tentacular ganglion. *Cell Tiss. Res.* **151**:229-244.
- Zoond, A. and Erye, 1934. Studies in reptilian color response. *Phil. Trans. Roy. Soc. London B* **223**:27-35.

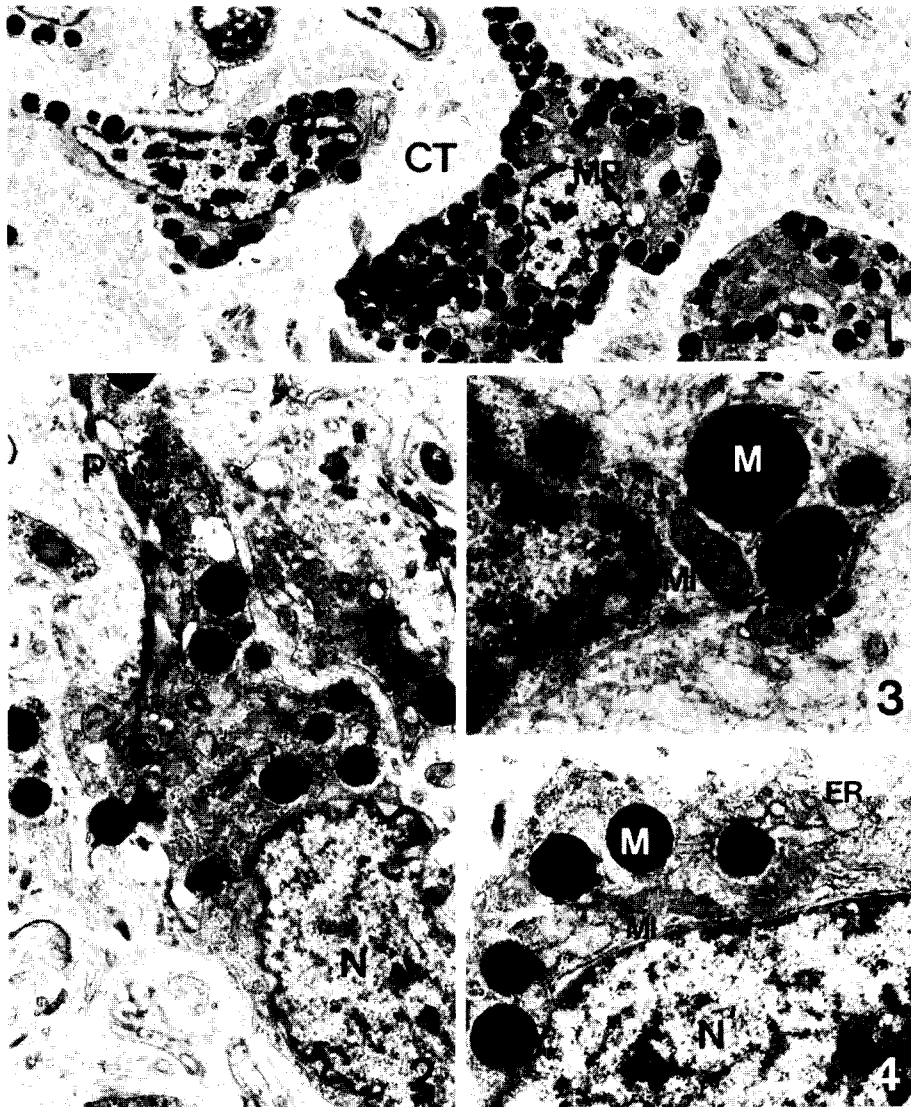


Fig. 1. Tentacular pigment cells of the snail are the melanophores(MP) which distributed among the connective tissues(CT) and other kind of chromatophores are not observed. ($\times 7,200$)

Fig. 2. Melanophores have irregular, ellipsoid shaped nucleus(N) and long cytoplasmic processes(P). ($\times 15,000$)

Fig. 3. Melanosomes(M), melanin pigment granules are seen in oval shapes and had strong electron densities. MI: mitochondrion. ($\times 28,000$)

Fig. 4. At the vicinity of nucleus(N), cell organells such as rough Endoplamic Reticulum(ER) and mitochondria(MI) are well developed but melanosomes(M) are sparsely scattered. ($\times 22,400$)

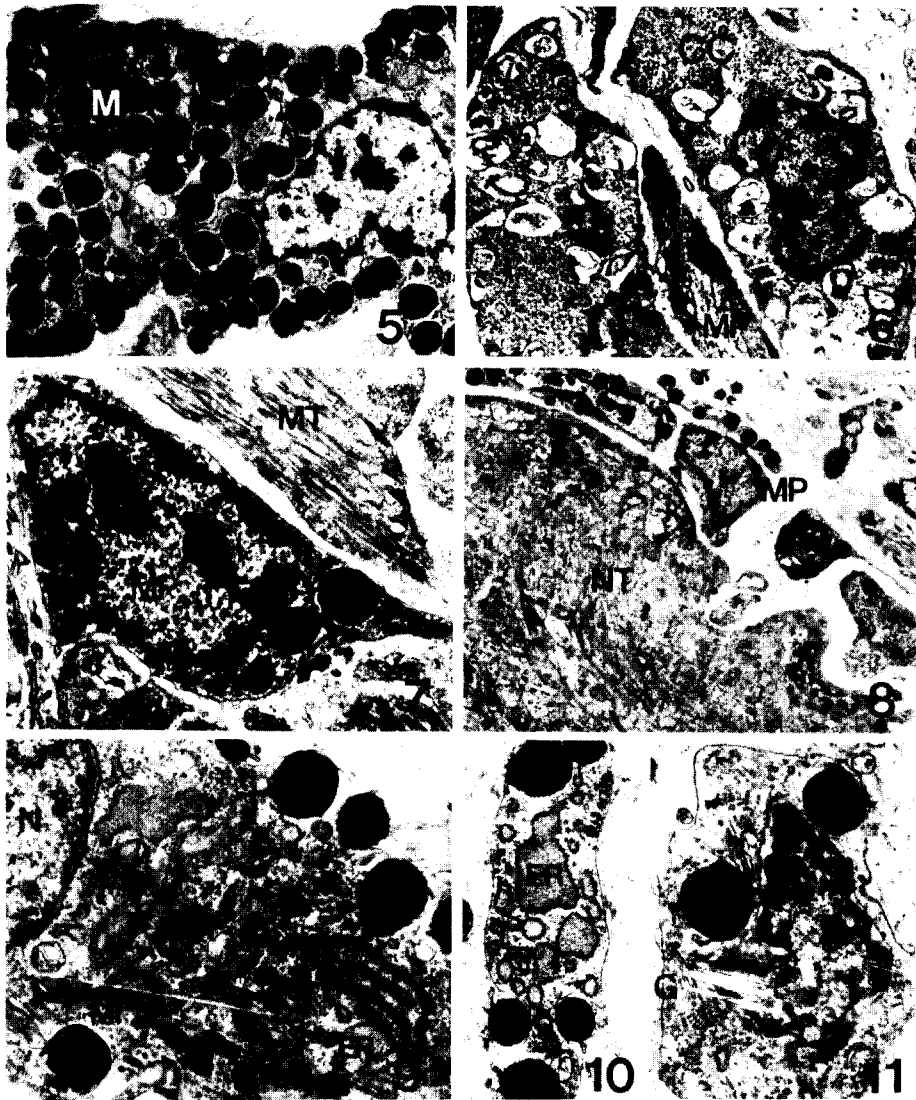


Fig. 5. In the cytoplasmic processes of the melanophores, melanosomes (M) are densely aggregated but cell organelles are sparsely observed. ($\times 5,600$)

Fig. 6. Cytoplasmic process of the melanophores (MP) among the collar cells (CC) of the connective tissue layer. ($\times 7,400$)

Fig. 7. Melanophores (MP) among the muscle tissues (MT). ($\times 14,000$)

Fig. 8. Melanophores (MP) are also distributed among the nervous tissues (NT) which located medial portion of the tentacles. ($\times 5,600$)

Fig. 9. In the cytoplasm of the melanophores, rough Endoplasmic Reticulum (ER) and free ribosomes are well developed. Arrow indicates blebbing of the nuclear membrane. MI: mitochondria, N: nucleus. ($\times 17,200$)

Fig. 10. Pigment materials are synthesized from these rough Endoplasmic Reticulum (ER). ($\times 16,000$)

Fig. 11. Beside the melanosomes, well developed Golgi complexes (G) are also observed. ($\times 22,400$)

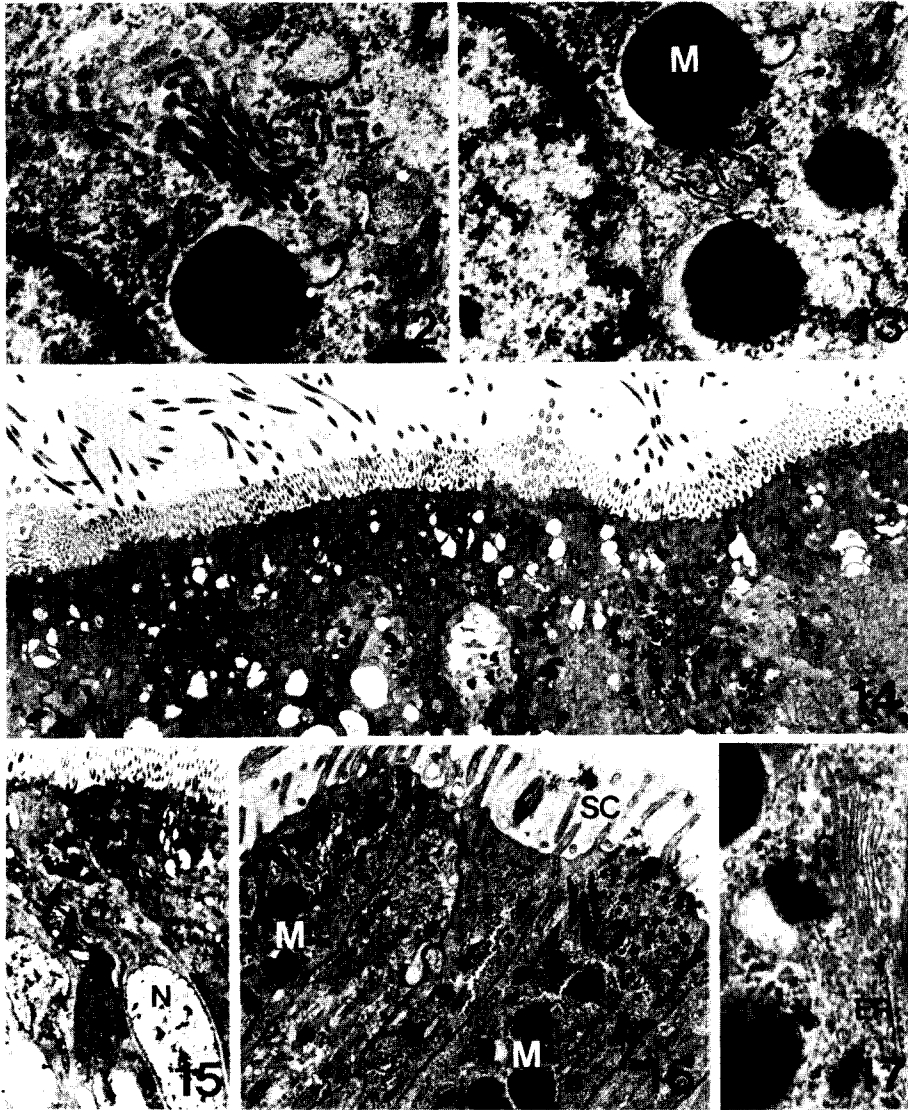


Fig. 12. Pigment granules are finely being packaged and released from the Golgi complexes(G). ($\times 40,800$)

Fig. 13. Mature melanosomes(M) connected to smooth Endoplasmic Reticulum. (arrow). ($\times 40,800$)

Fig. 14. Epidermal melanin units appeared among the supporting cells of the epithelial tissues. ($\times 2,800$)

Fig. 15. The nucleus(N) and cytoplasmic pigment granules(arrow) of the epithelial supporting cell. ($\times 4,000$)

Fig. 16. Electron dense melanin pigment granules(M) are similar to those of dermal melanophores. SC: surface coat. ($\times 14,000$)

Fig. 17. Cell organelles such as Golgi complexes(G) and rER(ER) are also developed in the cytoplasm of these epithelial supporting cells. ($\times 52,000$)