한국전자현미경학회지 제 25 권 제 4 호 1995
Korean J. Electron Microscopy 25(4), 115~123(1995)

개구리 망막에 있는 광수용세포의 미세구조

김 진 숙 · 전 진 석

The Ultrastructure of Photoreceptor Cells in Frog Retina

Kim, Jin Suk and Jin Seok Jeon
(Received November 28, 1995)

ABSTRACT

This study was carried out to observe the functional ultrastructures of photoreceptor cells in frog(*Rana catesbeiana*) retina using transmission electron microscope. The photoreceptor cells are divided into two types-rod and cone cells-consist of outer and inner segment. The long outer segment of rod cell contains dense stacks of membrane and formed vertical and horizontal folds. The outer segment of cone cell is small, and vertical and horizontal folds are not exist. The electron dense cytoplasm of rod cell contains compact mitochondria, Golgi complexes, and endoplasmic reticula.

The inner segment of cone cell shows low electron density and contains a large lipid droplet in the upper part of inner segment. In addition, cone cell contains many mitochondria, Golgi complexes, rough endoplasmic reticula, ribosomes and numerous glycogen particles. It is believed that these ultrastructural characteristics are closely associated with photoreceptive function of photoreceptor cells in frog retina.

Key words : Cone cell, Frog retina, Photoreceptor cell, Rod cell.

서 론

시각기는 빛을 수용하는 수용기(receptor), 이 수용기에 빛을 모아 주는 렌즈계 그리고 수용기에서 발생된 자극을 뇌로 전도하는 신경계로 구분할 수 있다(Beck *et al.*, 1991). 따라서 시각기의 정보처리 과정은 빛이 렌즈계인 각막(cornea), 수정체(lens)를 통과하고 안구 내막인 망막(retina)이라는 고도로 분화된 신경조직에 도달되는 순간 시작된다(Stryer, 1987; Schnapf and Baylor, 1987).

시각기에서 빛을 수용하는 조직은 망막이며, 대부분의 척추동물의 망막 조직은 10층으로 구성되어 있다(Kessel and Kardon, 1979). 외부에서부터 색소상피층(pigment epithelium), 시세포층(photoreceptor cell layer), 외경계막(external limiting membrane), 외과립

계명대학교 자연과학대학 생물학과
Department of Biology, Keimyung University

층(outer nuclear layer), 외망상층(outer plexiform layer), 내과립층(inner nuclear layer), 내망상층(inner plexiform layer), 신경절세포층(ganglion cell layer), 신경섬유층(nerve fiber layer), 및 내경계막(internal limiting membrane)으로 되어 있다.

이들 중 시세포층과 외과립층에 존재하는 시세포(visual cell)에서 빛을 수용하며, 특히 시세포층의 외절에서 최초로 빛에 의한 반응이 유발되므로 시각작용이 시작된다. 따라서 시세포가 광수용세포(photoreceptor cell)로 작용한다(Stryer, 1987). 망막에서 수용된 광자극은 전기적인 신호로 변화되어 시신경을 따라 대뇌의 시피질로 전달되므로 비로소 시각작용이 일어난다. 시각작용은 복잡한 경로를 따라 일어나므로 시각작용을 규명하기 위한 기본적 연구로서 망막의 구조와 기능에 관한 다양한 연구들이 알려져 있다(Lewis *et al.*, 1969; Morrison, 1983; Schnapf and Baylor, 1987; Nathans, 1989).

한편 이러한 시각작용에 장애를 초래할 수 있는 여러 가지 요소들이 산재해 있는데(Pfister *et al.*, 1982; Bedi and Warren, 1983; Gerkowicz *et al.*, 1985; McGuigan *et al.*, 1985; Bresnick, 1989; Rapp *et al.*, 1990; Dominguez *et al.*, 1991; Straatsma *et al.*, 1991), 특히 망막의 변화는 시각에 직접적인 이상을 초래할 수 있으므로 앞으로도 다양한 방면에의 연구가 이루어져야 할 것이다.

따라서 본 연구에서는 망막의 생리적인 특성을 연구하기 위한 기초 작업으로 망막 광수용세포의 미세구조를 관찰하기 위하여 황소개구리(*Rana catesbeiana*)의 망막을 투과전자현미경으로 관찰하고 광수용세포의 미세구조적 특징과 기능적 측면을 고찰하였다.

재료 및 방법

본 실험에 사용된 황소개구리(*Rana catesbeiana*)는 대구 근교에서 채집하여 암수 구별없이 사용하였다.

전자현미경 관찰을 위하여 실험 동물의 안구를 적출하여 2.5% glutaraldehyde(0.1 M phosphate buffer, pH 7.2)에서 30분간 가고정하였다. 가고정된 안구는 각막윤부를 경계로 절개하여 각막, 수정체 등을 제거한 후 안구 내에 있는 초자체를 제거하였다. 적도 후부 지역의 안구에서 망막을 분리하여 1 mm^3의 크기로 세절하여 동일 고정액으로 4 °C에서 3시간 동안 전고정을 실시하였다. 전고정 후 동일 완충액으로 세척하여 1% osmium tetroxide(0.1 M phosphate buffer)에 2시간 동안 실온에서 후고정을 실시하였다.

고정된 시료를 50% ethanol에서부터 농도 상승순으로 탈수한 후 propylene oxide로 치환하였으며, epoxy resin 혼합액에 포매하였다. 제작된 시료를 LKB-V형 ultramicrotome으로 50～60 nm의 두께로 초박절편을 만들어 uranyl acetate와 lead citrate로 이중전자염색을 시행한 후 Hitachi H-7100형 투과전자현미경(KBSI)으로 관찰하였다.

결 과

개구리 망막의 조직층은 포유류와 동일하게 10층으로 구성되어 있으며 최외층은 육각형의 단층세포인 색소상피층이며 이 층에 이어서 광수용세포인 시세포(visual cell)가 존재한다. 시세포는 색소상피층의 첨단부에 존재하는데 색소상피의 첨단부 원형질막은 미세융모(microvilli)를 형성하고 있으며 이들 미세융모 사이에 시세포의 외절이 위치한다. 색소상피세포의 첨단부에는 멜라닌과립이 풍부하며, 특히 미세융모내로 멜라닌과립들이 침투하여 시세포 사이에서 미세융모내의 멜라닌과립들이 관찰되었다. 시세포는 외절과 내절로 구성되어 있으며 외절의 형태에 따라 간상세포와 추상세포로 구분된다. 간상세포의 외절은 긴 막대형이며 추상세포의 외절은 짧고 작은 원추형으로 되어 있다(Fig. 1).

전반적으로 추상세포 보다는 간상세포의 빈도가 높게 나타났다. 시세포들 사이에는 전자밀도가 매우 낮은 Müller 세포가 존재하고 있다. 시세포의 외절은 조밀한 막성원반을 형성하고 있으며 특히 간상세포의 긴 외절은 종횡으로 주름이 형성되어 단면이 손가락 형태를 나타내었다(Fig. 2). 그러나 추상세포의 외절은 작고 짧아서 종횡의 주름은 뚜렷이 관찰되지 않았다(Fig. 3). 광수용세포의 외절과 내절은 연결섬모로 연결되어 있으며 내절 중에서도 외절과 연접된 부위는 직경이 크고 세포질내에 미토콘드리아가 밀집되어 있는 독특한 특징을 나타내었다. 미토콘드리아가 밀집된 지역 하부의 세포질에는 골지복합체, 소포체, 리보소옴 등의 세포소기관이 분포되어 있었

다(Figs. 4, 5).

추상세포의 내절에는 특이하게 글리코겐 입자가 조밀하게 밀집되어 간상세포와 차이점을 나타내었다(Fig. 4). 또한 추상세포의 외절 하부에 직경 5 μm의 원형 지방립이 한 개씩 존재하여 추상세포 특유의 구조를 나타내었다(Fig. 1). 그 밖에 간상세포와 추상세포 내절의 하부에 존재하는 핵의 형태적 차이점이 있다. 간상세포의 핵은 그 모양이 비교적 불규칙적이며 전자밀도가 높고 진하게 관찰되었으나 추상세포의 핵은 원형으로서 전자 밀도가 낮은 특징을 나타내었다(Fig. 1).

한편 시세포의 핵 주변에는 세포질이 거의 존재하지 않았으며, 핵을 전후로 외경계막이 있으며 이 막에는 다수의 desmosome이 관찰되었다. 시세포 외절은 외경계막을 통과하여 색소상피세포에 접하게 된다(Fig. 1). 시세포의 신경 말단은 다음 신경원과 시냅스를 이루고 신경말단 내에는 신경소포가 많이 존재하였으며 연접 부위에 수많은 축삭의 단면들이 관찰되었다. 신경말단의 시냅스 부위에는 시냅스 리본(synaptic ribbon)이 뚜렷이 관찰되었다(Fig. 6).

고 찰

시각작용은 망막의 광수용세포에서 빛을 수용하므로 시작된다. 대부분의 척추동물의 망막에는 간상세포와 추상세포, 두 종류의 광수용세포인 시세포가 존재하고 있다(Schnapf and Baylor, 1987). 그러나 일부 야행성 동물인 쥐, 박쥐, 올빼미, 부엉이 등은 거의 전부 간상체로 구성되며(Young, 1970), 본 실험의 황소개구리의 망막에는 추상세포와 간상세포가 모두 존재하였다. 망막의 기본적인 구성은 모든 척추동물에 있어서 동일한것으로 알려졌으며, 개구리에서도 인간을 비롯한 대부분의 척추동물의 망막과 유사한 구조를 가지고 있다(Cross and Mercer, 1993). 그러나 시세포의 크기는 다른 동물과 비교해 보면 상당히 크고 덜 조밀하게 관찰되었는데, 이러한 특징으로 보아 필름에 비유하면 입자가 조밀하지 못한 필름으로 해상력은 낮을 것으로 추측된다.

시세포의 위치는 망막의 10층 구조 중 시세포층과 외과립층에 해당된다. 망막에는 추상세포(cone cell)와 간상세포(rod cell) 외에도 4종류의 신경세포가 있다.

즉, 양극세포(bipolar cell), 신경절세포(ganglion cell), 수평세포(horizontal cell)와 무축삭세포(amacrine cell) 등이 존재하여 빛에 의한 망막의 흥분을 전달하는데 관여한다(Guyton, 1991). 시세포의 내절 사이에 관찰되는 Müller 세포는 전 망막의 신경세포들 사이에 존재하는 세포로서 첨단부에는 미세융모를 형성하고 여러 층으로 구성된 망막을 지지해 주며, 또한 풍부한 글리코겐과 효소를 함유하고 있어서 신경세포의 보호작용과 절전기능 및 망막의 대사에 관여한다(Fujita and Fujita, 1992). 본 실험에서 뚜렷이 관찰된 외경계막은 Müller 세포의 첨단부 미세융모가 시세포 부위로 돌출되어 시세포의 원형질막과 desmosome 결합으로 나타나는 구조이다. 따라서 외경계막은 시세포들 사이를 지지해 주는 것으로 생각된다. Müller 세포의 미세융모는 시세포간 기질의 이온평형을 감지하는 센서로 알려져 있으며 기저부는 망막의 내경계막을 이룬다(Lee *et al.*, 1991).

시세포 사이에서 다수 관찰되는 과립은 시세포 외층에 있는 색소상피의 미세융모내에 함유된 멜라닌과립이다. 색소상피의 멜라닌과립은 기저부 보다는 시세포가 있는 첨단부에 많이 존재하는데, 시세포에 흡수되지 못한 과잉의 광선을 흡수하고 반사를 방지하는 역할을 한다. 또한 멜라닌과립은 빛에 의해 생성된 세포질내의 자유 라디칼이 시세포 외절에 영향을 미치지 못하게 하는 역할을 한다고 알려져 있다(Howell *et al.*, 1982). 본 실험에서 시세포 사이에서 관찰된 다수의 멜라닌과립도 시세포에서 다른 시세포로 빛이 확산되는 것을 방지해 주면서 광자극이 정확히 작용하도록 한다고 생각된다.

시세포는 연결섬모로 연결된 외절과 내절로 구분되는데 내절부에는 내절, 핵, 신경말단부로 세분화 된다. 시세포는 외절의 형태적 특징에 따라 간상세포와 추상세포로 구분되는데, 개구리의 간상세포의 외절은 추상세포와 다른 종횡의 뚜렷한 주름이 관찰되었다. 이러한 주름은 주로 외절의 표면에서 관찰되고 있으며 그 기능에 대해서는 명확하게 밝혀져 있지 않다.

외절에는 기부에서 세포막이 내부로 함입되어서 만들어진 편평한 원반이 있으며, 마치 접시를 포개어 놓은 것같이 조밀하게 쌓여 있는 막성원반 구조를 형성하고 있다. 이러한 막성원반은 간상세포의 경우 기부에서 말단부로 계속 이동하므로 오래된 원반들은 외절에서 분리되어 색소상피에 의해 탐식된다. 그러므로 색소상피가 온전해야만 시세포외절의 불필요한 노폐물이 제거되어 정상

적인 기능을 수행할 수 있다고 본다. 막성원반의 제거와 동시에 새로운 막성원반의 생성은 외절의 기부에서 계속 일어나는데, 새로운 원반의 생성은 내절에 의해서 이루어진다(Young, 1970).

본 실험 결과에서 시세포 내절에는 소포체, 리보소옴, 골지복합체 등의 세포내 소기관이 풍부하며 특히 상반부에는 미토콘드리아가 풍부한데 이 부위를 엘립소이드(ellipsoid)라 한다. 추상세포의 엘립소이드내에는 큰 지방립이 관찰되었는데 새나 거북 등에서도 존재한다고 알려져 있으며(Fujita and Fujita, 1992), 그 기능은 에너지 공급 및 저장소의 역할을 하는 것으로 생각된다. 시세포의 풍부한 소기관들은 단백질이나 복합탄수화물 등의 물질합성이 활발하다는 것을 시사해 주며 내절에서 생성된 단백질은 새로운 막성원반의 형성을 위해 외절로 이동된다.

이때 물질의 이동은 내외절 사이의 연결섬모를 통해 일어나므로 이 부위의 손상은 내절에서 합성된 단백질을 외절로 운반하지 못하게 하므로 결국 외절의 위축과 변성을 초래하는 망막의 질환을 일으킨다(Barrong *et al.*, 1992). 반면 추상세포 내절에 나타난 풍부한 글리코겐 입자와 활면소포체의 밀집 부위는 파라볼로이드(paraboloid)라 하며 이와같은 구조는 조류 이하의 척추 동물에서 발견되는 구조로서 그 기능은 에너지 공급과 관계가 있다는 생각이다.

외절의 막성원반에는 광수용과정에 필요한 시색소가 존재하며 특히 간상세포의 시색소는 로돕신(rhodopsin)으로 알려져 있다(Ruston, 1975; O'Brien, 1982; Stryer, 1987; Nathans, 1989). 로돕신은 광선에 예민하게 반응하는 화학 물질로 옵신이라는 단백질과 레티넨으로 구성된 복합단백질이다. 로돕신은 막성원반에 모자이크 형식으로 고정되어 있으며 로돕신이 광에너지를 흡수할 때 레티넨은 옵신으로 부터 분리되며 이때 막성원반의 막의 이온 채널의 변화가 일어난다. 이러한 광화학반응은 몇 단계를 거쳐서 일어나며 다시 옵신과 레티넨은 재결합하여 로돕신이 재생된다(Cross and Mercer, 1993). 그러나 원구류, 폐어, 담수산 경골어류, 양서류 등의 망막에는 로돕신 대신 폴피롭신(porphyropsin)이 존재한다고 알려져있다(Fujita and Fujita, 1992).

시세포에서 일어나는 광수용 과정의 반응은 간상세포의 시색소인 로돕신이나 추상세포 시색소의 입체구조의 변화로부터 시작된다. 이러한 입체구조의 변화는 막성원반의 이온채널의 변화를 유발시켜 막전위의 변화를 일으키고 신경전달물질의 분비 감소를 수반한다. 시세포에서 광자극으로 발생된 변화는 다음 신경원을 거쳐 뇌로 시각신호를 전달한다(Albert *et al.*, 1983). 시세포에서 광수용의 반응은 에너지를 필요로 하는 과정이며 시세포 내절에 풍부한 미토콘드리아, 글리코겐 입자, 지방립 등이 에너지 공급과 저장소로서의 기능을 수행할 것이다.

결 론

개구리 망막의 광수용세포는 긴 간상세포와 짧은 추상세포 두 종류이며 외절과 내절로 구성되어 있다. 간상세포의 외절은 라멜라구조를 이루며 수직 및 수평의 불규칙적인 주름이 형성되어 있다. 추상세포는 대조적으로 외절이 작은 원추형으로서 간상세포에서와 같은 수직 또는 수평의 주름은 존재하지 않는다.

간상세포의 내절에는 미토콘드리아가 밀집된 층과 전자밀도가 높은 세포질층에 골지복합체, 소포체 및 부정형의 핵이 관찰되었다. 추상세포의 내절은 전자밀도가 전체적으로 낮으나, 상부에는 전자밀도가 높은 직경 5 μm 크기의 지방립이 특징이다. 또한 간상세포와 같이 미토콘드리아, 골지복합체, 조면소포체, 리보좀 등이 풍부할 뿐 아니라 특이하게 글리코겐 입자가 매우 밀집된 부위가 원형의 핵 상부에서 관찰되었다. 이와 같은 광수용세포의 미세구조적 특징은 광감각의 기능에 필요한 에너지의 생성 및 저장과 새로운 막성 단백질의 합성을 위한 세포내소기관이 발달되어 있음을 보여주는 것이다.

참 고 문 헌

Alberts, B., D. Bray, J. Lewis, M. Raff, K. Roberts and J.D. Watson, 1983. Molecular Biology of the Cell, Garland Publ. Inc., New York pp. 1063-1064.

Barrong, S.D., M.H. Chaitin, S.J. Fliesler, D.E. Possin, S.G. Jacobson and A.H. Milam, 1992. Ultrastructure of connecting cilia in different forms of retinitis pigmentosa. Arch. Ophthalmol. 110:706-711.

Beck, W.S., K.F. Liem and G.G. Simpson, 1991.

Life. Harper Collins Publ. pp.793-801.

Bedi, K.S. and M.A. Warren, 1983. The effects on undernutrition during early life on the rat optic nerve fiber number and size-frequency distribution. J. Comp. Neurol. 129:125-132.

Brensnick, G.H., 1989. Excitotoxins: a possible new mechanism for the pathogenesis of ischemic retinal damage. Arch. Ophthalmol. 107:339-341.

Cross, P.C. and K.L. Mercer, 1993. Cell and Tissue Ultrastructure: Functional Perspective. W.H. Freeman and Co. pp.382-395.

Dominguez, R.D., A.A. Vila-Coro, J.M. Slopis and T.P. Bohan, 1991. Brain and ocular abnomalities in infants with in utero exposure to cocaine and other street drugs, Am. J. Dis. Child 145:688-695.

Fujita, H. and T. Fujita, 1992. Textbook of Histology Part 2. Igaku-Shoin Ltd, Tokyo pp.430-452.

Gerkowicz, K., M. Prost and M. Wawrzyniak, 1985. Experimental ocular siderosis after extrabulbar administration of iron. British J. Ophthalmol. 69:149-153.

Guyton, A.C., 1991. Textbook of Medical Physiology, W. B. Saunders Co. pp.546-559.

Howell, W.L., L.M. Rapp and T.P. Williams, 1982. Distribution of melanosomes across the retinal pigment epithelium of a hooded rat: Implications for light damage, Invest. Ophthalmol. 22:139-144.

Kessel, R.G. and R.H. Kardon, 1979. Tissues and Organs: A Text-Atlas of Scanning Electron Microscopy. W.H. Freeman and Co., San Francisco. pp.84-94.

Lee, S.C., O.W. Kwon and F.H. Davidorf, 1991. Freeze-fracture scanning electron microscopy of the human retina. J. Korea Ophthalmol. Soc. 32:12. 1080-1085.

Lewis, E.R., Y.Y. Zeevi and F.S. Werblin, 1969. Scanning electron microscopy of vertebrate visual receptors. Brain Res. 15:559-562.

McGuigan L.J.B., H.A. Quigley, E. Young and G.A. Lulty, 1985. Drug effects on proliferation and collagen synthesis of conjunctival fibroblast. ARVO Abst. Invest Ophthalmol. Vis. Sci. 26: 125.

Morrison, J.D., 1983. Morphogenesis of photoreceptor outer segments in the developing kitten retina. J. Anat. 136:521-533.

Nathans, J., 1989. The gene for color vision. Sci. Am. 260:42-49.

O'Brien, D.F., 1982. The chemistry of vision. Science. 218:916-966.

Pfister, R., C.A. Peterson and S.A. Hayes, 1982. Effect of topical 10% ascorbate solution on established corneal ulcers after severe alkali burns. Invest Ophthalmol. Vis. Sci. 22:382-385.

Rapp, L.M., B.L. Tolman, C.A. Koutz and L.A. Thum, 1990. Predisposing factors to lightinduced photoreceptor cell damage: retinal changes in matting rats. Exp. Eye Res. 51:177-184.

Rushton, W.A.H., 1975. Visual pigment and color blindness. Sci. Am. 232:64-74.

Schnapf, J.L. and D.A. Baylor, 1987. How photoreceptor cells respond to light. Sci. Am. 256: 32-39.

Straatsma, B.R, D.O. Lightfoot, R.M. Barke and H. Horwitz, 1991. Lens capsule and epithelium in agerelated cataract. Am. J. Ophthalmol. 112:283-296.

Stryer, L., 1987. The molecules of visual excitation. Sci. Am. 257:32-40.

Young, R.W., 1970. Visual cells. Sci. Am. 223:81-88.

FIGURE LEGENDS

Fig. 1. Transmission electron micrograph illustrating two types of photoreceptor cell in frog retina. The outer segment of the rod cell (ROS) is very long but the cone cell (COS) is very short and small. Inner segments of the rod cell (RIS) and cone cell (CIS) contain dense mitochondria (M). The cytoplasm of cone cell contains a large lipid droplet (L) and numerous glycogen particles (GP). The external limiting membrane (ELM) consists of junctional complexs between the inner segments and adjacent Müller cells (MC). CN: Cone cell nucleus, G: Golgi complex, RN: Rod cell nucleus. Bar indicates 5 μm.

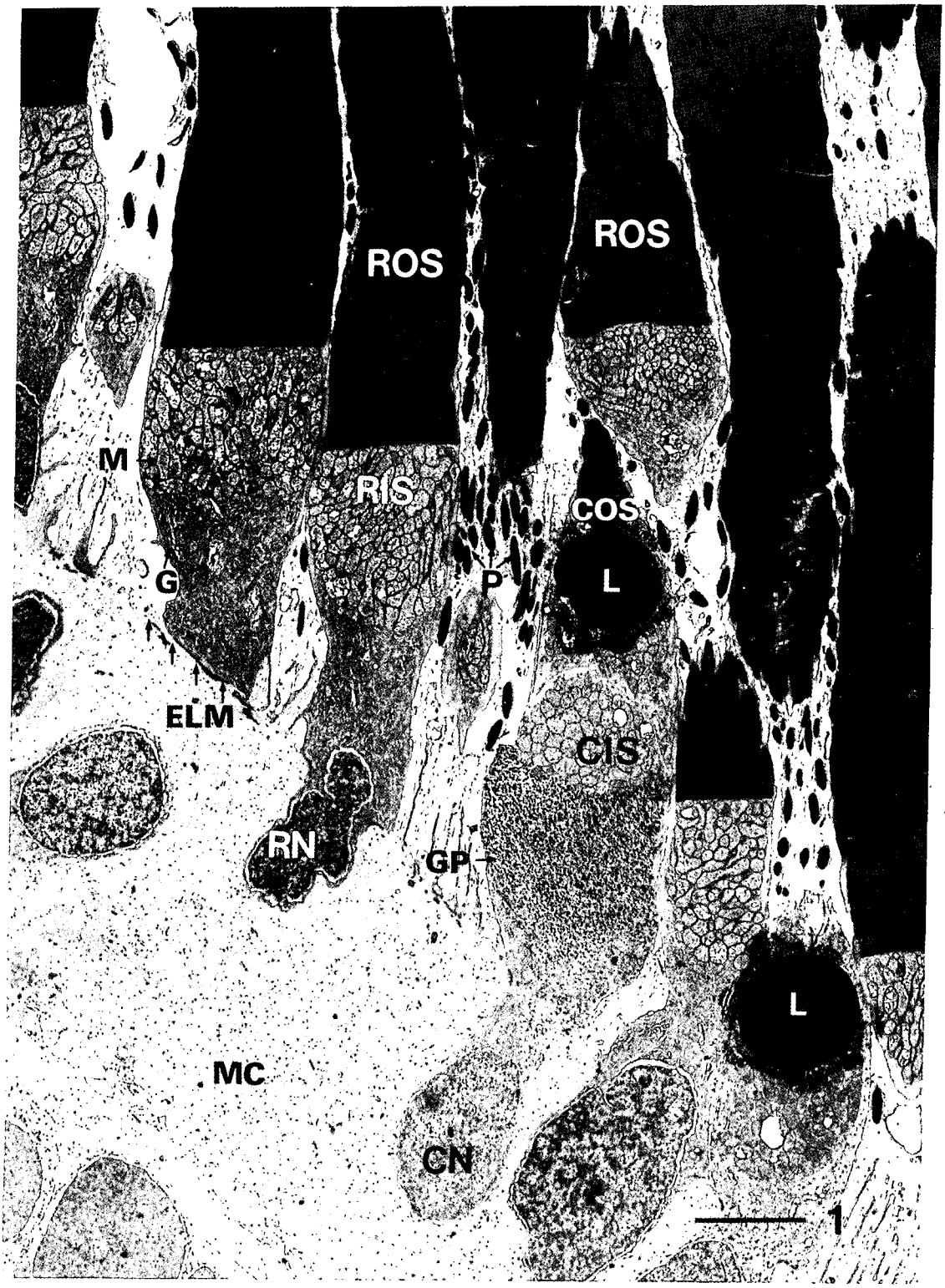
Fig. 2. Electron micrograph of the outer segment of the rod cell (ROS). The outer segment of the rod cell consists of many stacked membranous disks formed by folds of the external cell membrane. The vertical folds (arrow) exist in outer segment of the rod cell. Bar indicates 1 μm.

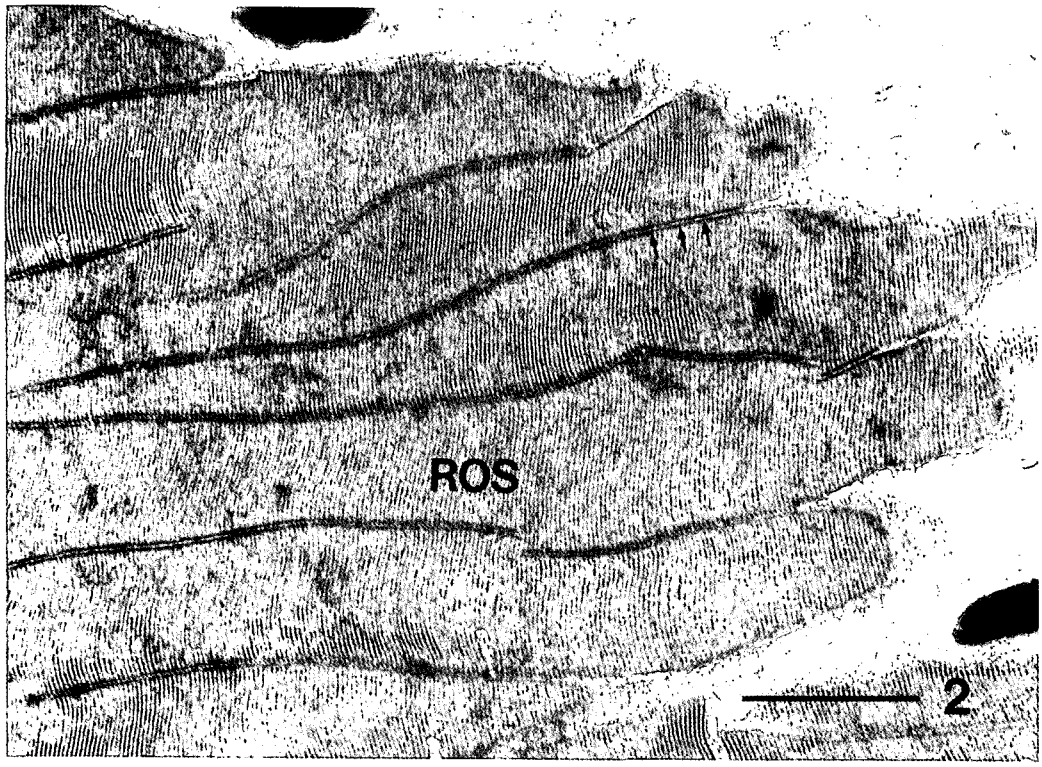
Fig. 3. Electron micrograph of the inner segments and outer segments showing a connecting stalk, which contains connecting cilium (C). COS: Outer segment of cone cell, ROS: Outer segment of the rod cell. Bar indicates 5 μm.

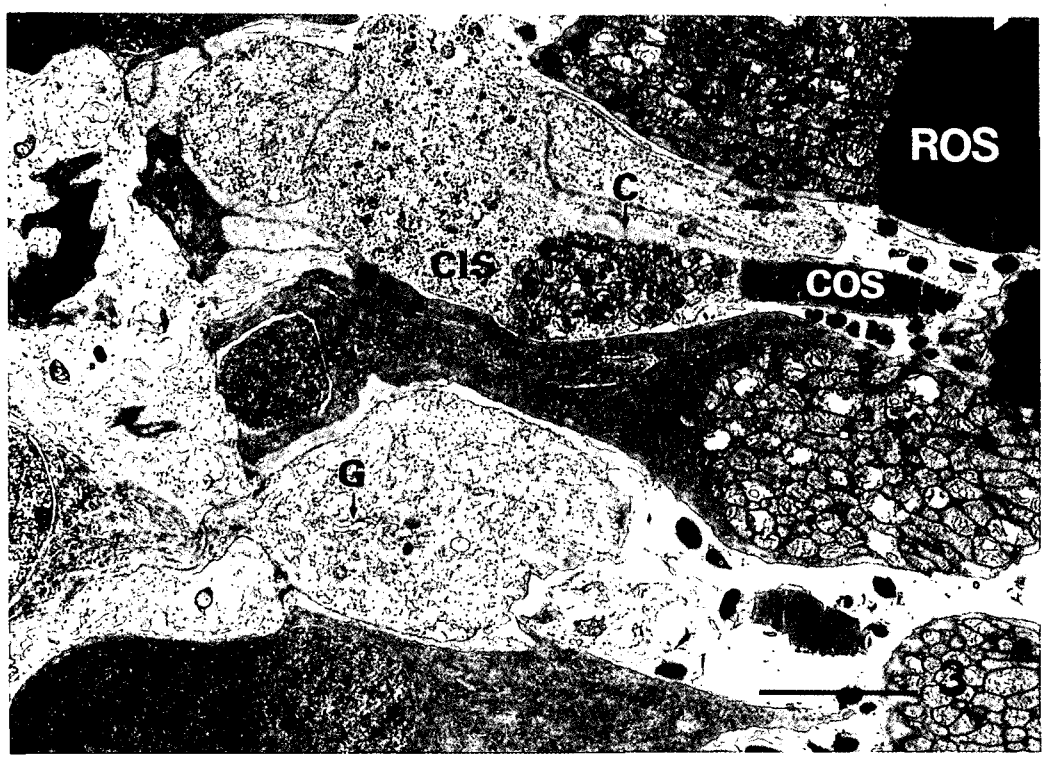
Fig. 4. Electron micrograph of inner segment of the cone cell (CIS), containing many glycogen particles (GP) and smooth endoplasmic reticulum (SER) in the cytoplasm. Bar indicates 1 μm.

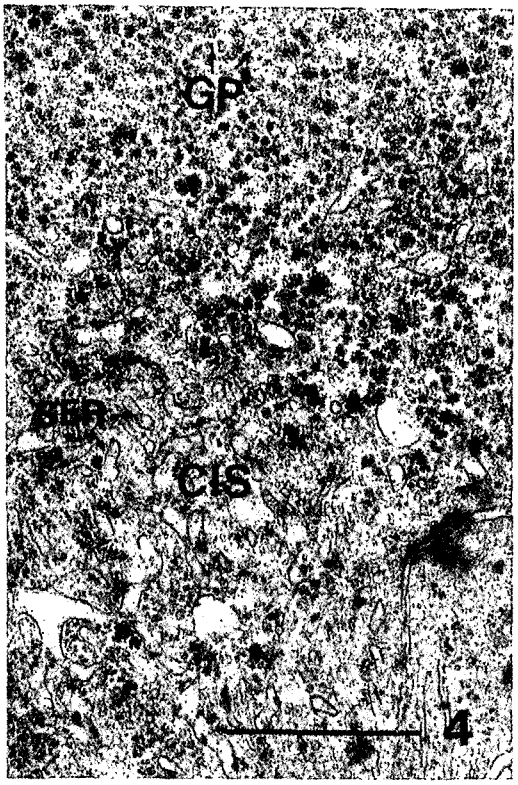
Fig. 5. Electron micrograph of cytoplasm of the rod cell (RIS), it contains many mitochondria (M), Golgi complex (G), rough endoplasmic reticulum (RER) and smooth endoplasmic reticulum (SER). Bar indicates 1 μm.

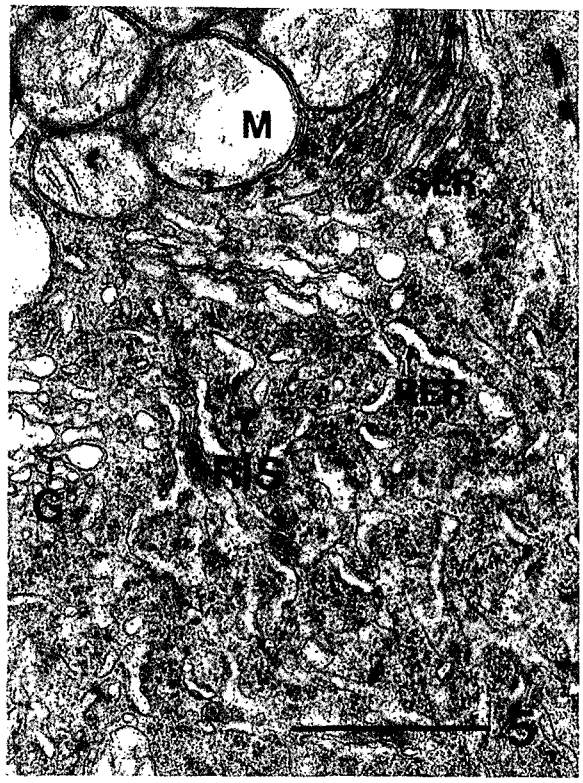
Fig. 6. Electron micrograph showing a synaptic terminal (ST) of the cone cell. The nucleus of the rod cell (RN) is irregular dense and cone cell is large pale (CN). Arrow heads indicate small synaptic vesicles in synaptic terminal of the cone cell. Ax: Axon, MC: Müller cell, SR: Synaptic ribbon. Bar indicates 1 μm.

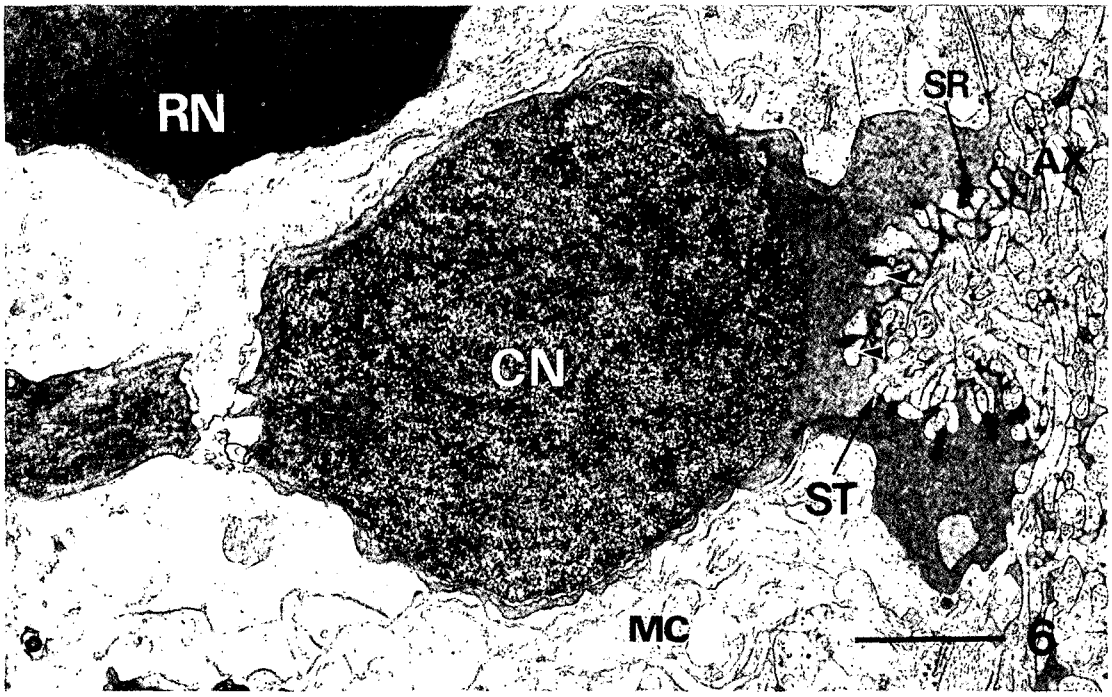

ROS
ROS
M
RIS
COS
G
P
L
ELM
CIS
RN
GP
L
MC
CN
1


ROS
2


ROS
C
CIS
COS
G
3


GP
ER
CLS
4


M
SER
ER
RIS
G
5


RN
SR
AX
CN
ST
MC
6