

## 문치가자미 (*Limanda yokohamae*) 피부 상피층의 미세구조

이 정 식\*, 강 주 찬<sup>1</sup>, 백 혜 자<sup>2</sup>

여수대학교 어병학과, <sup>1</sup>부경대학교 수산생명의학과, <sup>2</sup>국립수산진흥원 양식개발과

## Ultrastructure on the Integumentary Epidermis of the Marbled Sole, *Limanda yokohamae* (Teleostei: Pleuronectidae)

Jung Sick Lee\*, Ju-Chan Kang<sup>1</sup> and Hea Ja Baek<sup>2</sup>

Department of Fish Pathology, Yosu National University, Yosu 550-749, Korea

<sup>1</sup>Department of Aquatic Life Medicine, Pukyong National University, Pusan 608-737, Korea

<sup>2</sup>Aquaculture Division, National Fisheries Research and Development Institute (NFRDI),

Pusan 619-900, Korea

(Received July 2, 2000)

### ABSTRACT

Ultrastructures on the integumentary epidermis of the marbled sole, *Limanda yokohamae*, were examined by means of 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. The cytoplasm of supporting cells is divided into cortex and medullar part. In the cortex and medullar part, microfilaments and cell organelles are well developed, respectively. Gland cells are present in the superficial and middle epidermis. The cytoplasm of mucous cell reacted to blue in AB-PAS (pH 2.5). Club cell has a roundish central vacuole and well-developed microfilaments in the cytoplasm. Granular cells are occurs in the middle and basal epidermis, and the cytoplasm is occupied with membrane-bounded granules of electron dense. Chloride cells are present in the superficial epidermis, and the cytoplasm is occupied with tubular mitochondria. Three types of pigment cells can be distinguished by electron density of cytoplasmic inclusions.

**Key words** : *Limanda yokohamae*, Epidermis, Ultrastructure

### 서 론

어류는 피부를 경계로 체액과 삼투압의 차이가 있

는 수중에서 생활하므로 육상 척추동물과는 달리 상피세포가 삼투압의 불균형 및 환경적인 유해성분 등에 직접 노출되어 있다.

어류의 피부계는 크게 상피층, 진피층 및 피하조직

\* Correspondence should be addressed to Dr. Jung Sick Lee, Department of Fish Pathology, Yosu National University, Yosu 550-749, Korea. Ph: (061) 640-6270, FAX: (061) 640-6270, E-mail: LJS@yosu.ac.kr  
Copyright © 2000 Korean Society of Electron Microscopy

층으로 구성되고, 상피층을 구성하는 세포들의 종류와 발달정도는 종, 연령, 생활환경 그리고 이들의 생리적 상태에 따라 매우 다양하게 변화한다(Henrikson & Matoltsy, 1968; Burton & Everard, 1991; Eastman & Hikida, 1991; Hertwig et al., 1992; Park et al., 1995a, b; Lee & Kim, 1999).

본 연구는 저서 정착성 어류인 문치가자미의 피부 상피층 구성 세포들의 미세구조를 기재함으로서 추후 이들 어류의 생활환경 및 생리적 변화에 따른 피부부의 변화 양상에 관한 연구의 기초자료를 제공하고자 하였다.

## 재료 및 방법

본 연구에 사용된 문치가자미는 1999년 2월 광양만 인근해역에서 채집된 체장 20.0~21.0 cm의 개체들이다. 채집 즉시 현장에서 아가미 뚜껑 뒤의 등쪽에서 피부조직을 절취하여 고정하였다. 광학현미경 조직표본은 파라핀 절편법으로 두께 5~6  $\mu\text{m}$ 의 횡단면으로 제작하였으며, Mayer's hematoxylin과 0.5% eosin (H-E)의 비교염색과 Mallory 삼중염색 그리고 alcian blue-periodic acid Schiff (AB-PAS, pH 2.5) 반응을 실시하였다. 투과전자현미경 (TEM) 조직표본 제작은 절취한 피부조직을 0.1 M phosphate buffer (pH 7.2)로 완충시킨 2.5% glutaraldehyde 용액으로 전고정하였다. 그리고 1% osmium tetroxide ( $\text{OsO}_4$ )로 4°C에서 2시간 동안 후 고정하였다. 고정이 끝난 조직은 탈수하여 Epon 812에 포매하였다. 포매된 조직은 두께 0.5  $\mu\text{m}$ 의 semithin section 후 70 nm의 ultrathin section을 하였다. Ultrathin section은 uranylacetate와 lead citrate 용액으로 이중 염색하여 투과전자현미경 (JEM-1200 EXII, JEOL)으로 관찰하였다.

## 결 과

문치가자미의 피부부는 대부분의 경골어류와 마찬가지로 상피층, 진피층 및 피하조직층으로 구성되며, 큐티클층은 존재하지 않았다. 피부 상피층은 다층구조이며, 지지세포, 선세포 그리고 부속세포들로 구성되어 있었다(Fig. 1).

지지세포는 세포의 위치와 형태에 따라 외부로부터 표면세포(superficial cell), 중간세포(intermediated cell), 기저세포(basal cell)들로 구분할 수 있었다. 지지세포들의 세포질은 공통적으로 피질부와 수질부로 나누어지는데, 수질부에는 세포소기관의 발달이 현저하며, 피질부에는 미세섬유의 발달이 뚜렷하였다.

표면세포들은 편평형이며 핵은 둥근 삼각형이다. 바깥쪽의 자유면에서는 다수의 미세용기(microridge)들이 발달되어 있으며, 수질부의 세포질에서는 다수의 미토콘드리아들이 관찰되었다(Fig. 2). 표면세포 사이의 원형질막에서는 폐쇄대(zona occludens), 접착대(zonula adherens) 등의 세포간 결합구조가 관찰되었다(Fig. 3).

중간세포들은 표면세포층과 기저세포층 사이에 존재하며, 세포의 형태는 난형에 가깝고 주변의 세포들과는 부착반(desmosome)과 membrane interdigitation으로 연결되어 있다(Fig. 4).

기저세포들은 두께 약 350 nm의 상피층 기저막위에 위치한다. 기저세포의 형태는 낮은 원주형이며, 핵은 타원형으로 세포질의 상부에 위치한다. 원형질막의 부착반과 membrane interdigitation은 지지세포 가운데 가장 잘 발달되어 있었다(Fig. 5).

선세포는 단세포 형태의 점액세포(mucous cell)와 곤봉상세포(club cell)로 구분되었다.

점액세포들은 주로 표층에 분포하였다. 점액세포의 세포질은 H-E 염색에서는 공포형태로 관찰되나, AB-PAS에는 청색으로 반응하여 산성물질질을 함유하는 것으로 나타났다(Fig. 1). 전자현미경으로 관찰 결과 점액세포는 자유면쪽에 하나의 도관을 가지며, 세포질 대부분은 다양한 크기와 형태의 분비과립들이 차지하고 있었다(Fig. 6).

곤봉상세포들은 주로 표층과 중간층에 분포하며, 세포질은 H-E 염색과 AB-PAS 반응에서 모두 공포형태로 세포질은 균질하게 나타났다(Fig. 1). 전자현미경 관찰 결과 크게 두 단계의 곤봉상세포들이 관찰되었다. 미성숙 시기의 곤봉상세포들은 세포질 중앙에 작은 공포를 다수 함유하며, 세포질의 주변부에는 잘 발달된 조면소포체를 가지지만, 미세섬유의 발달은 매우 미약한 편이었다(Figs. 7, 8). 성숙한 곤봉상세포들은 세포질의 수질부에 성숙과정에서 나타나

는 다수의 작은 공포들이 융합되어 형성된 것으로 추측되는 하나의 커다란 중심공포를 가지는데, 중심공포는 세포 전체의 약 50% 이상을 차지하였다. 세포질의 피질부에서는 잘 발달된 미세섬유들이 관찰되지만, 세포소기관의 발달은 매우 미약한 편이며, 신경섬유의 분포가 관찰되었다(Fig. 9).

부속세포는 과립세포(granular cell), 염세포(chloride cell) 및 색소세포(pigment cell)가 관찰되었다.

과립세포는 주로 중간층과 기저층에 존재하고, AB-PAS (pH 2.5)에 약한 적색으로 반응하며, 형태는 원형이다(Figs. 1, 5). 세포질의 대부분은 막을 가진 전자밀도가 높은 과립들이 차지하며, 일부 미토콘드리아가 관찰되었다(Fig. 10).

염세포는 주로 표층에 위치하며, 형태는 장방형이다. AB-PAS 반응에 음성의 결과를 보였으며, H-E 염색 결과 세포질은 미세한 과립을 함유한 공포로 나타났는데(Fig. 1), 전자현미경 관찰 결과 이들 과립의 대부분은 잘 발달된 미토콘드리아들로 확인되었다(Fig. 11).

색소세포는 기저막과 인접한 진피층에 주로 분포하지만, 일부 상피층의 기저막 부위에서 세 종류의 색소세포가 관찰되었는데, 각각은 세포질에 반사소판(reflecting platelet)과 전자밀도가 다른 두 종류의 과립을 함유하고 있었다(Fig. 12).

## 고 찰

문치가자미 피부계는 외부로부터 상피층, 진피층, 피하조직층으로 구성되므로 기본적인 구조는 *Gymnodraco acuticeps* (Eastman & Hikida, 1991), *palembang puffer*, *Tetraodon steindachneri* (Hertwig et al., 1992), *guppy*, *Poecilia reticulatus* (Moon, 1995), *뱀장어*, *Anguilla japonica* (Park et al., 1995a), *농어*, *Lateolabrax japonicus* (Lee & Kim, 1999), *베도라치*, *Pholis nebulosa* (Lee et al., 2000)와 마찬가지로 경골어류의 일반적인 피부계를 가진다고 할 수 있다.

문치가자미의 피부계 표면세포에서 관찰되는 요철 형태의 미세융기(microridge)는 점액세포에서 분비된 점액물질을 어류의 체표에 유지시켜줌으로써 물과의 마찰력을 감소시켜 수영력을 높이며, 생물학적 방어

기능을 효과적으로 수행할 수 있도록 하는 구조로서 (Hawkes, 1974; Mittal et al., 1980), *palembang puffer*, *Tetraodon steindachneri* (Hertwig et al., 1992)와 *농어*, *Lateolabrax japonicus* (Lee & Kim, 1999) 등에서도 볼 수 있다.

본 연구에서 지지세포의 세포질 피질부에서 관찰된 미세섬유와 membrane interdigitation 구조는 세포의 형태유지와 주변의 물리·화학적 자극원에 대하여 능동적으로 대처할 수 있는 특징이다(Henrikson & Matoltsy, 1968).

문치가자미 피부계의 상피층에서는 cottid, *Pseudoblennius cottoides* (Sato, 1979), *금붕어*, *Carassius auratus* (Jeong & Moon, 1994), *베도라치*, *Pholis nebulosa* (Lee et al., 2000)처럼 배상세포(goblet cell)라 불리는 점액세포들이 관찰되었다.

이러한 점액세포의 점액물질은 베도라치, *Pholis nebulosa*의 경우에는 중성이며(Lee et al., 2000), *brown trout*, *Salmo trutta* (Pickering, 1974), *murrel*, *Channa striata* (Mittal & Banerjee, 1975), *Gymnodraco acuticeps* (Eastman & Hikida, 1991), *금붕어*, *Carassius auratus* (Jeong & Moon, 1994), *뱀장어*, *Anguilla japonica* (Park et al., 1995b) 그리고 *미꾸리*, *Misgurnus anguillicaudatus* (Park & Kim, 1999)는 산성이다. 문치가자미의 경우에는 AB-PAS (pH 2.5)에 청색으로 반응하여 점액물질은 약산성으로 확인되었다.

일반적으로 점액세포와 같은 외분비선은 분비양상에 따라 크게 전분비선(holocrine gland)과 부분분비선(merocrine gland)으로 나뉜다. 어류 피부계 점액세포의 점액분비 양상은 *금붕어*, *Carassius auratus*에서 부분분비(merocrine secretion)의 형태를 취하며(Jeong & Moon, 1994), 문치가자미의 경우에도 분비가 활성화된 점액세포에서 세포사 또는 세포성분의 붕괴는 확인되지 않으므로 점액세포의 분비양상은 부분분비 형태를 취한다고 할 수 있다.

곤봉상세포는 경고물질, 항병원성 물질 그리고 페로몬 분비 등의 기능을 가지는데, 이들 세포의 미세구조, 분포 정도, 기능은 어종 및 성장시기 그리고 계절적인 차이를 보인다(Leonard & Summers, 1976; Suzuki & Kaneko, 1986; Irving, 1996).

본 연구에서 곤봉상세포의 기능에 대해서는 구체

적으로 조사된 바는 없으나, 형태 및 구조적인 측면에서 단세포선의 형태, 부착반과 membrane interdigitation의 발달, 커다란 중심공포, 세포질 피질부에서의 미세섬유의 발달은 칠성장어류(Downing & Novales, 1971)와 뱀장어, *Anguilla japonica* (Park et al., 1995b) 그리고 농어, *Lateolabrax japonicus* (Lee & Kim, 1999)의 곤봉상세포와 일치하였다.

분비세포의 분비물 방출은 금붕어, *Carassius auratus*의 경우에는 직접적으로 신경계에 의하여 통제되는데 (Jung & Moon, 1994), 문치가자미의 경우에도 분비기작은 분비세포의 세포막 근처에서 신경섬유의 연결이 확인되었으므로 금붕어와 마찬가지로 신경계에 의하여 통제되는 것으로 판단된다.

문치가자미 피부계 상피층의 과립세포는 금붕어, *Carassius auratus* (Jeong & Moon, 1994)와 마찬가지로 주로 중간층과 기저층에 존재하고, 과립의 체외 방출은 관찰하기 어려웠다.

어류 피부 상피층의 과립세포에 대해서는 보고가 매우 적으며, 과립의 방출양상은 손상된 부위에서 전분비 형태로 이루어 질 것이라고 추측할 뿐이다 (Whitaker, 1986). 따라서 과립세포의 기능과 분비양상 및 과립의 화학적 성분을 확인하기 위해서는 추후의 연구가 필요하리라 본다.

염세포는 경골어류의 아가미에서 주로 관찰되는 이온 조절세포로서 광염성 어류(euryhaline species)의 피부에서 특별히 볼 수 있다(Whitaker, 1986). 피부계에서 염세포의 보고는 본 연구의 문치가자미를 비롯하여 *Esox americanus* (Merrilees, 1974), murrel, *Channa striata* (Mittal & Banerjee, 1975), leptocephalus 시기의 미국산 뱀장어, *Anguilla rostrata* (Leonard & Summers, 1976)와 해수에 적응된 guppy, *Poecilia reticulatus* (Moon, 1995)에 관한 연구를 들 수 있다.

## 참 고 문 헌

- Burton D, Everard BA: The effect of androgen treatment on the epidermis of post-spawned winter flounder, *Pseudopleuronectes americanus* (Walbaum). J Fish Biol 38 : 73-80, 1991.
- Downing SW, Novales RR: The fine structure of lamprey epidermis. II. Club cells. J Ultrastruct Res 35 : 295-303, 1971.
- Eastman JT, Hikida RS: Skin structure and vascularization in the Antarctic nototheniid fish *Gymnodraco acuticeps*. J Morphol 208 : 347-365, 1991.
- Hawkes JW: The structure of fish skin. I. General organization. Cell Tissue 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.
- Hertwig I, Eichelberg H, Hentschel J: Light and electron microscopic studies of the skin of the palembang puffer, *Tetraodon steindachneri* (Teleost, Tetraodontidae). Zoomorphology 111 : 193-205, 1992.
- Irving PW: Sexual dimorphism in club cell distribution in the European minnow and immunocompetence signalling. J Fish Biol 48 : 80-88, 1996.
- Jeong YK, Moon MJ: Integumental secretory cells in goldfish, *Carassius auratus* L.. Korean J Electron Microscopy 24 : 1-10, 1994.
- 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, 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.
- Leonard JB, Summers RG: The ultrastructure of the integument of the American eel, *Anguilla rostrata*. Cell Tissue Res 171 : 1-30, 1976.
- Merrilees MJ: Epidermal fine structure of the teleost *Esox americanus* (Esocidae: Salmoniformes). J Ultrastruct Res 47 : 272-283, 1974.
- Mittal AK, Banerjee TK: Histochemistry and the structure of the skin of a murrel, *Channa striata* (Bloch, 1797) (Channiformes, Channidae). I. Epidermis. Can J Zool 53 : 833-843, 1975.
- Mittal AK, Whitaker M, Agarwal SK: Fine structure and histochemistry of the epidermis of the fish, *Monopterus albus*. J Zool 191 : 107-125, 1980.
- Moon YW: Ultrastructural changes of the epidermis of guppy (*Poecilia reticulatus*) scale adapted to the seawater. Korean J Electron Microscopy 25 : 104-114, 1995.
- 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.
- Pickering AD: The distribution of mucous cells in the epidermis of the brown trout *Salmo trutta* (L.) and the char *Salvelinus alpinus* (L.). J Fish Biol 6 : 111-118, 1974.
- Whitear M: The skin of fishes including cyclostomes. In: Bereiter-Hahn J, Matoltsy AG, Richards KS, eds, Biology of the integument. 2 Vertebrates, Springer-Verlag, New York, pp. 8-77, 1986.
- Sato M: Fine structure of the small and large mucous cells found in the skin epidermis of two cottids, *Pseudoblennius cottoides* and *Furcina* sp.. Japanese J Ichthyol 26 : 75-83, 1979.
- Suzuki Y, Kaneko T: Demonstration of the mucous hemag-

glutinin in the club cells of eel skin. Dev Comp Immun 10 : 509-518, 1986.

### < 국문 초록 >

문치가자미의 피부 상피층은 지지세포, 선세포 그리고 부속세포들로 구성된다. 지지세포는 표면세포, 중간세포 및 기저세포로 구분된다. 지지세포들의 세포질은 공통적으로 피질부와 수질부로 나누어지는데, 수질부에는 세포 소기관의 발달이 현저하며, 피질부에는 미세섬유의 발달이 뚜렷하다. 선세포들은 상피의 표면층과 중간층에 존재한다. 점액세포의 세포질은 AB-PAS에 청색으로 반응하였다. 곤봉상세포는 세포질에 원형의 중심공포와 발달된 미세섬유들을 가진다. 과립세포는 주로 중간층과 기저층에 존재하고, 세포질의 대부분은 막을 가진 전자밀도가 높은 과립들이 차지한다. 염세포는 주로 표층에 위치하며, 세포질의 대부분은 잘 발달된 미토콘드리아들이 차지한다. 색소세포는 세포질에 존재하는 함유물의 전자 밀도에 따라 세 종류로 구분할 수 있다.

## FIGURE LEGENDS

- Fig. 1.** Integumentary system of the marbled sole, *Limanda yokohamae* consists of epidermal layer (El) and dermal layer (Dl). Section showing the stratified type of epithelium. Bm: basal membrane, Cc: club cell, Ch: chloride cell, Gc: granular cell, Mc: mucous cell, Pc: pigment cell.
- Fig. 2.** Electron micrograph of superficial cell of epidermal layer. Note the developed microridges (Mr). Mf: microfilaments, Mt: mitochondria, N: nucleus.
- Fig. 3.** Intercellular junction between superficial cells. Mr: microridges, Za: zonula adherens, Zo: zonula occludens.
- Fig. 4.** Intermediated cell of epidermal layer. Mf: microfilaments, N: nucleus.
- Fig. 5.** Basal cell and granular cell of epidermal layer. Bm: basal membrane, D: desmosome, Gc: granular cell, Mf: microfilaments, Mt: mitochondria, N: nucleus.
- Fig. 6.** Section of mucous cell showing the numerous secretory granules (Sg) in the cytoplasm. N: nucleus.
- Fig. 7.** Section of immature club cell showing the numerous small vacuoles (Sv). N: nucleus.
- Fig. 8.** High power view of Fig. 7 showing the well-developed rough endoplasmic reticula (rEr).
- Fig. 9.** Section of mature club cell showing the well-developed central vacuole (Cv) and microfilaments (Mf). Mi: membrane interdigitation, N: nucleus, Na: nerve axon, Nm: nerve myeline.
- Fig. 10.** Granular cell has membrane-bounded granules (G) of high electron density. Mt: mitochondria, N: nucleus.
- Fig. 11.** Section of chloride cell showing the well-developed mitochondria (Mt) in the cytoplasm. Ap: apical pit.
- Fig. 12.** Pigment cells of three type. Note the melanin granules (Mg), carotenoid granules (Cg) and reflecting platelets (Rp).





