

## 징거미새우, *Macrobrachium nipponense* 정소 구성세포의 미세구조와 기능

김대현 · 강정하\* · 한창희\*\*

국립수산진흥원 수산과학관, \*국립수산진흥원 생물공학과, \*\*동의대학교 생물학과

### Ultrastructure and Role of Somatic Cells in *Macrobrachium nipponense* Testis

Dae-Hyun KIM, Jung-Ha KANG\* and Chang-Hee HAN\*\*

Fisheries Science Museum, National Fisheries Research and Development Institute, Pusan 619-900, Korea

\*Biotechnology Division, National Fisheries Research and Development Institute, Pusan 619-900, Korea

\*\*Department of Biology, Dong-Eui University, 614-054, Korea

Ultrastructure and function of testis somatic cells in freshwater prawns *Macrobrachium nipponense* were studied. The paired testes of the prawn were elongated, united at their anterior end, which lay between the dorsal surface of the hepatopancreas and the heart. Each testis consisted of a large number of seminiferous cords compactly held together by connective tissue. A seminiferous cord was composed of an outer layer of simple squamous epithelium, a basement membrane, the closely packed germ cells and sustentacular cells of the germinal ridge, and an inner layer of simple cuboidal epithelial cells. Leydig cell-like cells in an angular areas filling the space of the seminiferous cords were observed. The nuclei of Leydig cell-like cells were characterized by a distinct nucleolus. The simple squamous epithelial layer was composed of flattened cells lying on a basement membrane. The nuclei of the flattened cells were often overlapped in a layer, and the cytoplasm of the cells was observed just near the nuclei. The sustentacular cells were complex in morphology. These cells had relatively small cell bodies from which long cytoplasmic extensions ramified reached the space of germ cells in the germinal ridge. The nuclei of sustentacular cells usually exhibited angular profiles and located most commonly at the periphery of the cords. Cells of simple cuboidal epithelium located between germinal ridge and lumen of seminiferous cord, and part of the cells were adjacent to basal lamina. The cuboidal epithelial cells contained numerous mitochondria, the well-developed rER, the well-developed Golgi complex, and irregularly shaped nuclei. Transition vesicles appeared on the *cis* side of the Golgi complex. The large vesicles on the *trans* side of the complex appeared to fuse to form a membrane-bound structure. A number of pits on the cell apex suggested exocytotic activity for secretion of the sperm supporting matrix.

Key words: Germ cell, Germinal ridge, Simple cuboidal epithelium, Sustentacular cell, Testis, *Macrobrachium nipponense*

### 서 론

갑각류의 정소를 구성하고 있는 체세포의 존재에 관해서는 다양한 종에서 보고되고 있지만 (Rocchi Brasiello, 1968; Itaya, 1979; Hinsch, 1980; Dougherty and Sandifer, 1984; Chow et al., 1991), 이들 세포의 구조와 기능에 대해서는 거의 알려진 바 없고 단지, 정자발생동안 분비작용, 식세포작용 그리고 nutritive activity에 관여하는 것으로 추측되고 있다 (Hinsch, 1980; Haley, 1984; Hryniewiecka-Szyfter and Tyczewska, 1991). 한편, 체세포의 용어에 관해 유영류 (새우류)에서는 영양세포 (nurse cell or nutritive cell), 보행류 (가재와 게류)에서는 intercalary cell로 사용되고 있지만, 이들 용어 외에 여포세포 (follicle cell), 세르토리 세포 (Sertori cell), 부속세포 (accessory cell) 그리고 지주세포 (sustentacular cell) 등 다양하게 사용되고 있다 (Hryniewiecka-Szyfter and Tyczewska, 1991; Harrison and Humes, 1992).

징거미새우류의 체세포 종류와 기능에 대해서는 수컷생식기관의 구조와 기능에 관한 보고에서 단편적으로 언급된 내용 (Sagi, et al., 1988; Kim and Han, 1998)과 지주세포와 생식세포간의 세포결합에 대한 보고 (Dougherty and Sandifer, 1984)를 제외하고는 거의 알려진 바 없다.

저자들은 징거미새우, *M. nipponense*의 수컷 생식조절 기구를 구명하기 위한 연구의 일환으로 정소를 구성하고 있는 체세포의 종류와 이들의 미세구조적 특징과 기능을 조사하였다.

### 재료 및 방법

본 연구에 사용된 징거미새우는 99년 5월부터 99년 8월까지 부산광역시 해동수원지 지류에서 매일 새우통발로 포획하여 동의대학교 동물 사육실에 설치되어 있는 FRP 수조 (120\*×250\*×70<sup>cm</sup>)에 옮겨 자연조건하에서 사육하였으며, 먹이로는 보리새우용 배합사료를 공급하였다. 징거미새우의 정소는 성숙한 수컷 (평균 두흉갑장 22~26 mm)을 저배율 현미경하에서 절취한 후, Bouin's 용액에 24시간 고정하였다. 고정된 각 조직들은 상법인 paraffin 절편법으로 5~6 μm 두께의 연속 절편하여 조직표본을 만들었다. 절편된 조직은 Hansen's haematoxylin-eosin으로 비교 염색하였다. 정소의 미세구조를 관찰하기 위하여 정소를 2.5% glutaraldehyde (0.2M phosphate buffer, pH 7.2)에 4시간 동안 1차 고정한 후, 1% osmium tetroxide에 2시간 동안 후 고정하여 ethyl alcohol series로 탈수하였다. 포매는 Epon 812를 사용하였다. 절편은 ultramicrotome (LKB, Nova, Sweden)을 사용하여 60~90 nm 두께

로 만든 후, uranyl acetate와 lead citrate로 이중 염색하였다. 염색된 조직은 200 mesh copper grid에 부착한 후, 투과형 전자현미경 (JEM 1200EX-II, JEOL, Japan)으로 관찰하였다.

## 결 과

본 종의 정소는 좌우 한 쌍의 소엽으로 이루어져 있으며, 각 소엽은 결합조직으로 연결된 다수의 세정관들로 구성되어 있다. 세정관은 생식세포와 haematoxyline에 농염되는 핵을 가진 지주세포, 내강을 형성하고 있는 낮은 입방상피세포 그리고 각 세정관의 제일 바깥쪽을 둘러싸고 있는 단층편평상피세포들로 구성되어 있다 (Fig. 1-A and B). 동일한 정소 내의 각각의 세정관은 발생단계가 다른 생식세포가 관찰되는 반면, 하나의 세정관에서는 일부 미분화예비세포 (undifferentiated reservoir cell)를 제외한 생식세

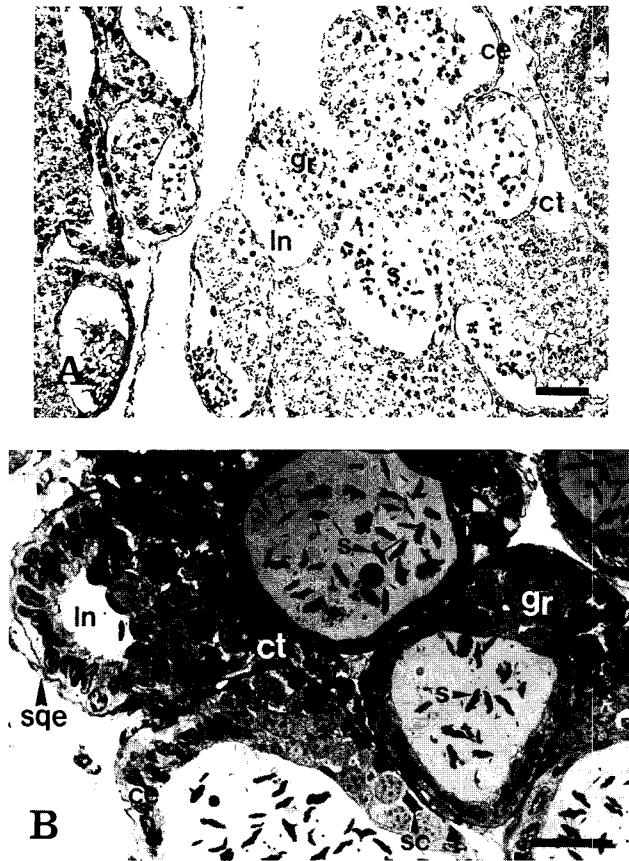


Fig. 1. *Macrobrachium nipponense*. Transverse sections of testis. A: Seminiferous cords in the testis. B: Detailed view of seminiferous cord. A seminiferous cord is enclosed by a squamous epithelial layer and has two sub-compartments inside; a germinal ridge composed of the closely packed germ cells and sustentacula cells and a lumen surrounded by cuboidal epithelial cells. cuboidal epithelial cell (ce); connective tissue (ct); germinal ridge (gr); lumen of seminiferous cord (ln); sperm (s); sustentacular cell (sc); simple squamous epithelial cell (sqe). Scale bars represent 20  $\mu$ m.

포들은 거의 동일한 발생단계의 생식세포들이 지주세포와 밀착되어 생식세포대를 형성하고 나머지 부분은 입방상피세포로 둘러싸여 내강을 이루고 성숙정자로 채워져 있다 (Fig. 1-A and B).

투과형 전자현미경을 이용하여 관찰된 정소의 각 세정관사이의 결합조직 내에는 Leydig cell-like cell이 관찰되는데, 핵은 붉은 염색질과립과 크고 분명한 인을 가지며, 세포질에서는 미토콘드리아와 소포체들이 관찰되고 전자밀도는 낮다 (Fig. 2-A).

각 세정관의 제일 바깥은 단층편평상피가 측면으로 연결되어

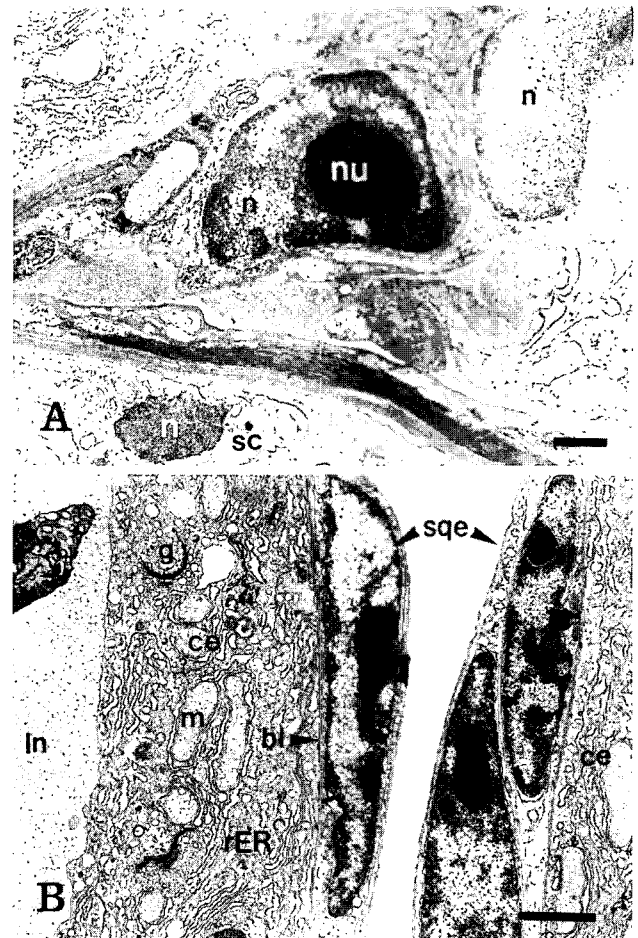


Fig. 2. *Macrobrachium nipponense*. Transmission electron micrograph of Leydig cell-like cells and simple squamous epithelial cells from the testis. A: Leydig cell-like cells in an angular area filling the space of the seminiferous cords. B: The micrograph showing outer layer of the seminiferous cord surrounded by cuboidal epithelial layer, basal lamina and simple squamous epithelial layer. Simple squamous epithelium lie on a basement membrane. The nuclei of the flattened cells are often overlapped in a layer, and the cytoplasm of the cells is observed just near the nuclei. basal lamina (bl); cuboidal epithelium (ce); Golgi complex (g); lumen of seminiferous cord (ln); mitochondria (m); nucleus (n); nucleolus (nu); rough endoplasmic reticulum (rER); sustentacular cell (sc); simple squamous epithelium (sqe). Scale bars represent 1  $\mu$ m in A, and 2  $\mu$ m in B.

있고, 종단면에서 핵은 방추형이고 핵 주위에서만 소량의 세포질이 관찰된다. 그리고 종종 이웃한 세포와 포개져 있다 (Fig. 2-B). 단층 편평상피 내측으로는 기저판과 낮은 입방상피층이 배열해 있다. 입방상피세포는 생식세포대와 내강을 가로질러 (Fig. 3-A) 기저판과 접하여 있는 입방상피세포와 연결되어 내강을 형성하고 있다 (Fig. 3-B). 세포질에는 잘 발달된 조면소포체, 횡 방향의 크리스테가 발달된 미토콘드리아가 다수 분포하고 있고, 상피세포의 자유면으로는 Golgi 복합체들이 매우 발달되어 있는데, 조면소포체와 Golgi 복합체의 블록한 형성면 사이에는 전이소낭이, Golgi 복합체의 성숙면에서는 분비소낭이 관찰된다 (Fig. 4-A). 그리고 내강의 자유면 가까이에는 sperm supporting matrix와 거의 동일한 전자밀도를 갖는 분비소낭 (Fig. 4-B and C)과 크고 작은 홈 (Fig. 4-C)들이 관찰된다.

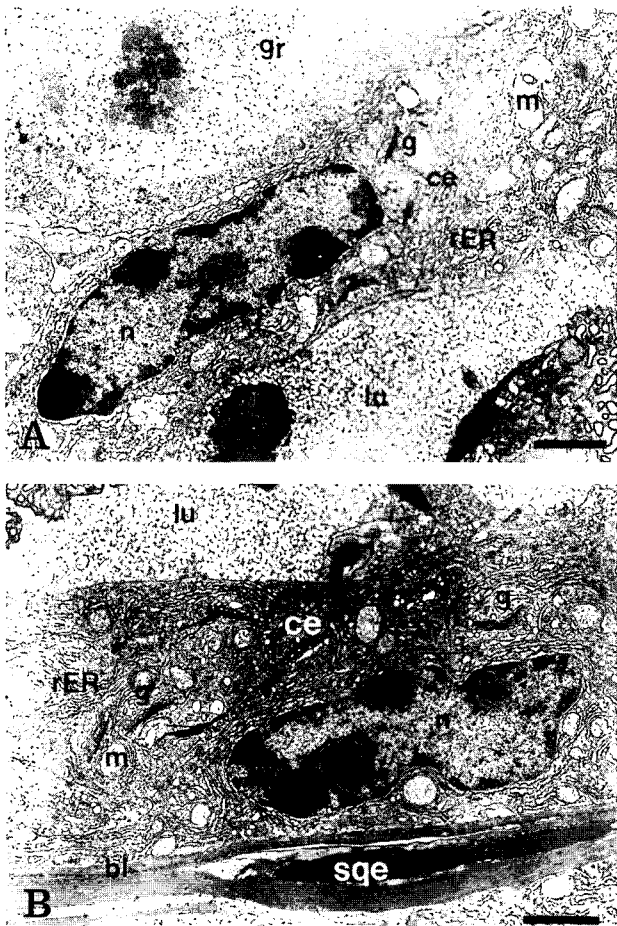


Fig. 3. *Macrobrachium nipponense*. Transmission electron micrograph of cuboidal epithelial cells from the seminiferous cord. A: Cells of cuboidal epithelium located between germinal ridge and lumen of seminiferous cord. B: Cells of cuboidal epithelium adjacent to basal lamina. basal lamina (bl); cuboidal epithelium (ce); Golgi complex (g); germinal ridge (gr); lumen of seminiferous cord (lu); mitochondria (m); nucleus (n); rough endoplasmic reticulum (rER); simple squamous epithelium (sqe). Scale bar represents 2  $\mu$ m.

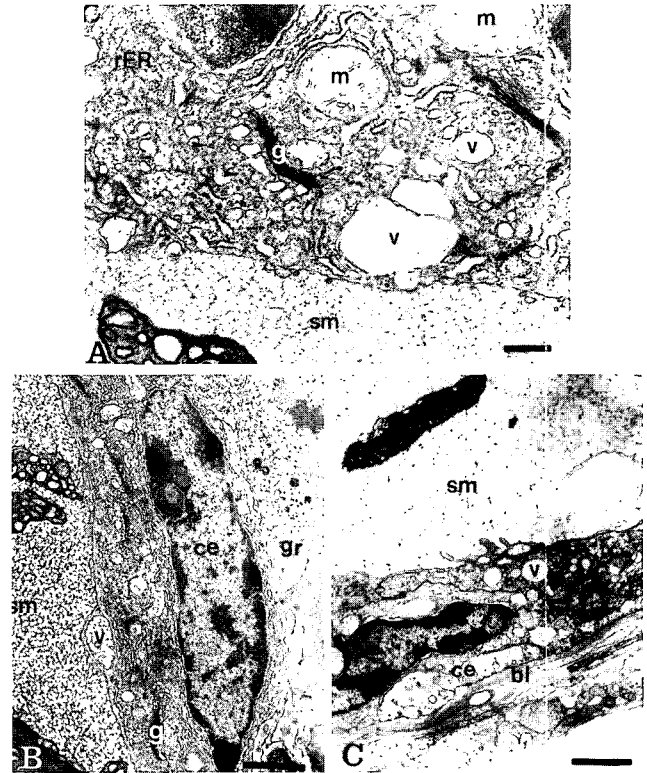


Fig. 4. *Macrobrachium nipponense*. Transmission electron micrograph of apices of cuboidal epithelial cells from the seminiferous cord. A: A Golgi complex active in producing sperm supporting matrix is characterized by transition vesicles (small arrowhead) on the cis side and large vesicles on the trans side of the complex. B~C: Apex of cuboidal epithelial cells. A number of membranous vesicles which have a material similar to the sperm supporting matrix are moving toward the lumen side of membrane to erupt into the lumen at the membrane. basal lamina (bl); cuboidal epithelium (ce); Golgi complex (g); germinal ridge (gr); sperm supporting matrix (sm); vesicle (v). Scale bars represent 200 nm in A, and 2  $\mu$ m in B and C.

지주세포는 생식세포에 비해 그 수가 현저히 적고 비교적 일정한 간격을 두고 생식세포들 사이에 위치하지만, 대부분 생식세포대의 기저판과 접하고 있어 기저판과 생식세포사이에는 지주세포에 의해 분리되어 있다 (Fig. 5-A and B). 지주세포의 세포질의 윤곽은 불분명하다. 지주세포의 핵은 대부분 각져 있고, 크고 현저한 인이 핵의 중심부에 위치하고 있다. 세포질에는 조면소포체, 미토콘드리아 등의 세포소기관이 잘 발달되어 있고, 지주세포와 생식세포의 세포막은 서로 밀착되어 있다 (Fig. 5-A and B).

## 고 찰

한 쌍의 소엽으로 구성된 정소는 결합조직으로 연결된 많은 세정관으로 이루어져 있고 각 소엽의 선단은 연결되어 있으며, 세정관이 생식세포대와 내강으로 구분되는 구조 (Kim and Han, 1998)는 다

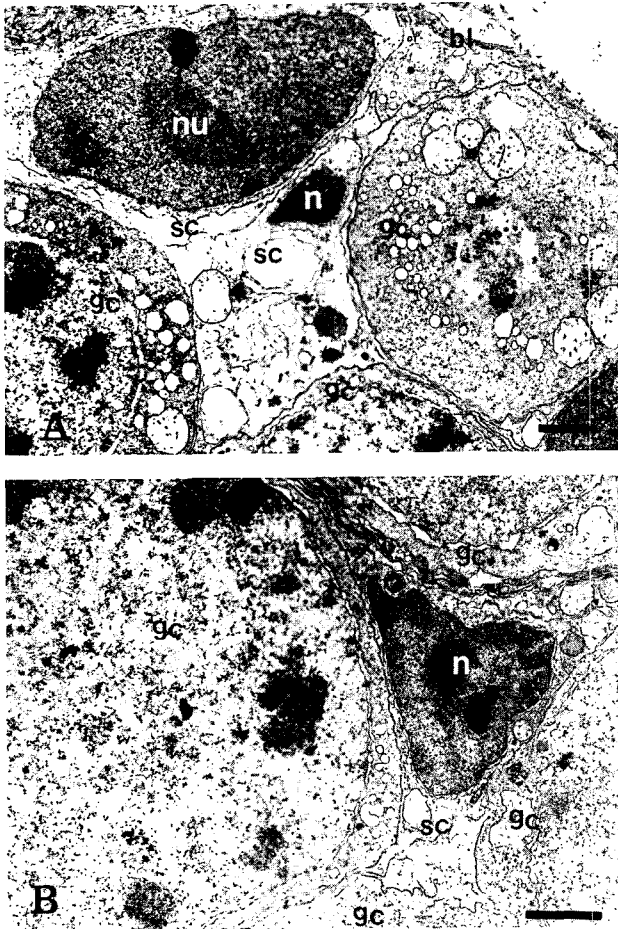


Fig. 5. *Macrobrachium nipponense*. Transmission electron micrograph of sustentacular cells in the germinal ridge. A: Sustentacular and germ cells. The nuclei of sustentacular cells are usually angularly shaped and are located commonly along the basal lamina. Cytoplasmic extensions of these cells rested on basal lamina, which surrounded each seminiferous cord and separated the germ cells from the basal lamina. B: Sustentacular cells among the germ cells apart from the basal lamina. basal lamina (bl); germ cell (gc); nucleus (n); nucleolus (nu); sustentacular cell (sc). Scale bar represents 2  $\mu$ m.

른 징거미새우류와 동일하였다 (Dougherty and Sandifer, 1984; Sagi et al., 1988; Butcher and Fielder, 1994). 세정관을 둘러싸고 있는 단층편평상피세포와 세정관을 연결하는 결합조직 내 Leydig cell-like cell의 존재는 다른 징거미새우류에서는 보고된 바 없으며, 세정관이 단층편평상피로 둘러싸여 있는 구조는 *Crangon septemspinosa* (Asenault and Clattenburg, 1979)에서 보고된 바 있다. 한편, Leydig cell-like cell의 구조와 기능에 관해서는 포유류를 대상으로는 많은 연구들이 진행되었지만, 갑각류의 정소구성 세포들 가운데 이 세포의 구조와 기능에 관한 보고는 찾아 볼 수 없었으며 보다 자세한 연구가 진행되어야 할 것으로 생각된다.

본 종의 생식세포는 기저판과 직접 접하여 있지 않고 지주세포에 의해 기저판과 분리되어 있으며, 지주세포의 형태는 생식세포

와 생식세포 사이에 주로 위치하고 있어 매우 불규칙한 형태이고 생식세포와 밀착되어 있다. 이러한 지주세포의 형태와 위치는 *M. rosenbergii*와 거의 동일하였다 (Dougherty and Sandifer, 1984).

동일한 정소 내의 각각의 세정관은 발생단계가 다른 생식세포가 관찰되는 반면, 하나의 세정관에서는 일부 미분화예비세포를 제외한 생식세포들은 거의 동일한 단계의 생식세포들로 이루어져 있는데, 이러한 정자형성의 동기화에 관해서는 여러 종의 보리새우류 (Lu et al., 1973)와 징거미새우류 (Arsenault et al., 1979)에서 보고된 바 있다.

Dougherty and Sandifer (1984)는 *M. rosenbergii*의 생식세포와 지주세포간의 간극결합에 관한 보고에서 이러한 동시성은 정모세포와 정모세포는 desmosome-like junction과 간극결합으로, 정모세포와 지주세포간에는 intermediate-like junction과 간극결합으로 연결되어 있지만, desmosome-like junction과 intermediate-like junction의 경우 정자발생 동안에 이들의 기능은 명확하지 않는 반면, 간극결합을 통해서 세포간 정보교환이 이루어진다고 보고하였다. 본 연구에서는 생식세포와 체세포간의 세포결합에 관해서는 조사하지 않았지만, *M. rosenbergii*와 유사한 생식패턴을 갖는 본 종에서도 거의 동일한 세포결합을 갖는 것으로 생각된다.

내강을 형성하고 있는 낮은 입방상피세포의 세포질에는 잘 발달된 조면소포체와 Golgi 복합체를 가지며 이들 세포소기관에서 생합성된 물질들이 모여 분비소낭을 형성하고, 분비소낭 내의 물질은 세정관의 sperm supporting matrix와 거의 동일한 전자밀도를 가지며, 자유면으로 많은 홈들이 존재하는 점으로 보아 엑소사이토시스에 의해 내강으로의 물질분비가 이루어지는 것으로 판단되어, 본 종의 입방상피세포는 sperm supporting matrix 즉, 정포형성에 관여하는 물질을 생산하는 기능을 갖는 것으로 판단된다. 그리고 Kim and Han (1998)은 본 종의 성숙정자와 sperm supporting matrix는 수정관의 기부에서 말단부까지 이동하면서 수정관의 상피세포들로부터 분비되는 물질에 의해 정포가 완성되는 것으로 보고한 바 있다. Hryniewiecka-Szyfiter and Tyczewska (1991)는 등각류의 일종인 *Saduria entomon*의 정소는 생식세포 외에 accessory cell로 구성되어 있고, accessory cell은  $^3\text{H}$ -leucine과  $^3\text{H}$ -uridine에 강하게 결합될 뿐만 아니라 pyronin에도 강한 친화력을 나타냄으로서 이들 체세포는 단백질 생산세포로 보고한 바 있다. 본 종의 입방상피세포는 조면소포체와 Golgi 복합체, 그리고 횡 방향의 크리스테가 발달된 미토콘드리아 등의 세포소기관이 잘 발달되어 있는 점으로 보아 단백질 생산세포로 판단되지만, 물질의 특성을 정확히 규명하기 위해서는 세포화학적 연구가 진행되어야 할 것으로 생각된다. Chow et al. (1991)은 보리새우류인 *Penaeus setiferus*와 *P. vannamei*의 체세포는 세정관 내에서 내강을 형성하며, 정자발생단계에 따라 다양한 형태와 기능을 갖는 선포세포 (acinar cell)의 일종으로 추측한 바 있고, 등각류인 *Oniscus asellus*와 단각류인 *Armadillidium vulgare* (Reger and Fain-Maurel, 1973; Itaya, 1979)의 체세포들은 정포 내에서 정자를 둘러싸는 extracellular tubule을 생산하는 기능을 갖는 것으로 보고한 바 있다.

## 요 약

징거미새우의 정소는 간체장의 배면 측상부에서 심장사이에 위

치하며, 한 쌍의 소엽으로 이루어져 있고 각 소엽의 선단은 서로 연결되어 있다. 그리고 각 소엽은 수많은 세정관이 결합조직으로 연결되어 있다. 각 세정관은 생식세포와 지주세포가 밀착되어 있는 생식세포대를 제외한 부분은 낮은 입방상피에 의해 내강이 형성되어 있고, 세정관의 제일 바깥은 단층편평상피로 둘러싸여 있다. 세정관 사이에는 결합조직 외에 Leydig cell-like cell도 관찰된다. 단층편평상피세포는 얇은 측면으로 연결되어 있고 종종 이웃한 세포와 포개져 있다. 지주세포는 생식세포에 비해 그 수가 현저히 적고, 대부분 생식세포대의 가장자리에 위치하고 있다. 지주세포의 세포질은 기저판과 접해 있어 기저판과 생식세포 사이는 지주세포의 원형질에 의해 분리되어 있다. 지주세포의 핵은 대부분 각져 있고, 크고 현저한 인이 핵의 중심부에 위치하고 있다. 낮은 입방상피세포는 세정관의 기저판과 접하고 있는 기저면과 일부는 생식세포대와 내강 사이에 위치하고 있다. 입방상피세포의 세포질에서는 횡 방향의 크리스테가 발달된 미토콘드리아, 충상구조의 조면소포체 그리고 Golgi 복합체들이 매우 발달되어 있다. 그리고 조면소포체와 Golgi 복합체의 불룩한 형성면 사이에는 전이소낭이, Golgi 복합체의 성숙면에서는 분비소낭이 관찰되며, 상피세포의 선단에 수많은 홈들이 존재하는 점으로 보아 exocytosis에 의해 내강으로의 물질 분비가 이루어지는 것으로 판단된다.

### 참 고 문 헌

- Arsenault, A.L., R.E. Clattenburg and P.H. Odense. 1979. Spermiogenesis in the shrimp, *Crangon septemspinosa* Say. Can. J. Zool., 57, 486~498.
- Butcher, A.R. and D.R. Fielder. 1994. The reproductive anatomy of male freshwater prawns *Macrobrachium australiense* (Holthuis, 1890) in southeast Queensland. Invert. Reprod. Devel., 26, 205~212.
- Chow, S., W.J. Dougherty and P.A. Sandifer. 1991. Unusual testicular lobe system in the white shrimp *Penaeus setiferus* (Linnaeus, 1761) and *P. vannamei* Boone, 1931 (Decapoda, Penaeidae); A new character for dendrobranchiata? Crustaceana, 60, 304~318.
- Dougherty, W.J. and P.A. Sandifer. 1984. Junctional relationships between germinal cells and sustentacular cells in the testis of a palaemonid shrimp. Tissue Cell, 16, 115~124.
- Haley, S.R. 1984. Spermatogenesis and spermatophore production in the Hawaiian red lobster *Enoplometopus occidentalis* (Randall) (Crustacea, Nephropidae). J. Morphol., 180, 181~193.
- Harrison, F.W. and A.G. Humes. 1992. Decapod crustacea. In Krol, R.M., W.E. Hawkins and R.M. Overstreet (ed), Microscopic anatomy of invertebrate. Vol. 10, Wiley-Liss, Inc.
- Hinsch, G.W. 1980. Spermatogenesis in a hermit-crab *Coenobita clypeatus*. II. Sertoli cells. Tissue Cell, 12, 255~262.
- Hryniewiecka-Szyfter, Z. and J. Tyczewska. 1991. The histology of the male reproductive system of *Saduria entomon* (Linnaeus, 1758) (Isopoda, Valvifera). Crustaceana, 60, 246~257.
- Itaya, P.W. 1979. Microscopic investigation of the formation of spermatophores of *Armadillidium vulgare*. Cell Tiss. Res., 196, 95~102.
- Lu, C.C., W.H. Clark and L.E. Franklin. 1973. Spermatogenesis of the decapod *Penaeus setiferus*. J. Cell Biol., 59, 202.
- Kim, D.H. and C.H. Han. 1998. Structure of the male reproductive system in the freshwater prawn *Macrobrachium nipponense*. Korean J. Life Science. 8, 582~588 (in Korean).
- Reger, J.F. and M.A. Fain-Maurel. 1973. A comparative study on the origin, distribution and fine structure of extracellular tubules in the male reproductive system of species of isopods, amphipods, schizopods, copepods, and cumacea. J. Ultrastruct. Res., 53, 252~260.
- Rocchi Brasiello, A. 1968. Autoradiographic study of ribonucleic acid synthesis during spermatogenesis of *Asellus aquaticus* (Crust. Isopoda). Exptl. Cell Res., 53, 252~260.
- Sagi, A., Y. Milner and D. Cohen. 1988. Spermatogenesis and sperm storage in the testes of behaviourally distinctive male morphotypes of *Macrobrachium rosenbergii* (Decapoda, Palaemonidae). Biol. Bull., 174, 330~336.

2000년 7월 22일 접수  
2000년 9월 9일 수리