

아프리카 왕달팽이 (*Achatina fulica*) 내장신경절 및 우 체벽신경절에 관한 연구 II. 미세구조적 방법

장 남 섭

목원대학교 자연과학대학 생명과학부

Studies on the Visceral Ganglion and Right Parietal Ganglion in the African Giant Snail, *Achatina fulica* II. Ultrastructural Method

Nam Sub Chang

Department of Biology, Mokwon University, Taejon 302-729, Korea

(Received February 24, 2001)

ABSTRACT

Five kinds of neurosecretory cells (type-A, B, C, D and E) and neuropiles surrounding them were observed in the visceral ganglion and the right parietal ganglion of the African giant snail, *Achatina fulica*, by transmission electron microscopy.

Type-A cells (diameter, 35 μm) are the most popular cells in the cortex of the two ganglions, which are of triangular or irregular forms. In their cytoplasm, there are found large granules of 1 μm in diameters and small round granules of about 0.1 μm in diameters. Small granules are classified into the ones of high electron density and the others of middle electron density.

Type-B cells (diameter, 19 \times 12 μm) are evenly distributed over various portions of cortex and medulla of the two ganglions. They are similar to type-A cells in shapes. The cytoplasm of type-B cells is crowded with high electron dense granules of about 0.1 μm . Round granules of about 0.7 μm in diameters are also found but rarely.

Type-C cells are the smallest cells whose sizes are about 8 \times 6 μm . Each of them contains a large nucleus of about 6 \times 5 μm . Its cytoplasm is full of electron dense granules of about 0.23 μm , each of which is actually an assembly of tiny granules of about 0.03 μm .

Type-D cells are middle-size cells of about 28 \times 20 μm , which take ellipsoidal or irregular forms. They are found in the cortex more than in the medulla. Their cytoplasm looks dark due to the high electron density and, in it, two kinds of round granules whose sizes are 1.6 μm and 0.6 μm , respectively, are observed.

Type-E cells are large cells of about 100 \times 50 μm , which are rarely found in the upper and middle portions of the two ganglions. The nucleus of the cell, which is very large (70 \times 30 μm) for the cytoplasm, contains

* Correspondence should be addressed to Dr. Nam Sub Chang, Department of Biology, Mokwon University, 800 Doan-dong, Seo-Gu, Taejon 302-729, Korea. Ph.: 042-829-7582, Fax: 042-829-7580, E-mail: nschang@mokwon.ac.kr
Copyright © 2001 Korean Society of Electron Microscopy

electron dense round granules of diverse sizes (diameters, 1~0.2 μm). The surface of the cell protrudes filopodia of various forms and phagocytizes decrepit cells.

Neuropiles are surrounding the neurosecretory cells. In nerve fibers, synaptic vesicles are observed, which are classified into six classes according to their electron densities, sizes and shapes.

Key words : Right parietal ganglion, Ultrastructure, Visceral ganglion

서 론

연체동물 병안목 (stylommatophora) 달팽이류의 중추신경계 (central nervous system)로부터 신경분비세포 (neurosecretory cell)를 관찰하기 위한 방법으로 Wendelaar-Bonga (1970) 및 Peute & Karner (1967)가 개발한 AB/AY 염색법과 Romeis (1968) 염색법이 많이 이용되어 왔다. 이 방법을 통하여 *Lymnea stagnalis*의 중추신경계로부터 신경분비세포를 분류하는데 성공하였으며 최근에는 면역항체법인 면역조직화학법 (immunohistochemical method)을 이용 뇌신경절의 light green cell (LGC)이 neuropeptide를 신경종말 (nerve ending)으로부터 비연접상태 (nonsynapse)인 외포현상 (exocytosis)에 의해 분비한다는 사실을 확인한 바 있다 (Buma et al., 1984; Joosse, 1988; Heumen & Roubos, 1990).

이어, Hoek et al. (1992)과 Smit et al. (1993a, b)은 *Lymnaea stagnalis*의 내장신경절 (visceral ganglion)으로부터 light yellow cell (LYC)를 확인하고 이들로부터 3개의 서로 다른 neuropeptides (LYCP-I, LYCP-II 그리고 LYCP-III)가 분비되고, 이어 multi-peptide precursor protein을 합성한다고 하였다.

그러나 이와 같은 연구는 소수의 복족류 (gastropoda)에만 국한되고, 신경분비 세포가 분포된 중추신경계 (뇌신경절, 좌,우 체벽신경절, 내장신경절, 흉막신경절 그리고 족신경절 등)의 전반적인 구조와 분포상황을 연구한 논문은, 최근 식용으로 널리 이용되고 있는 아프리카 왕달팽이 *Achatina fulica* 뇌신경절 (cerebral ganglion)의 신경분비세포 (neurosecretory cell)에 대한 미세구조 (Chang, 1999)와 면역조직화학적 연구 (Chang & Han, 1999) 등이 있다.

이에 본 연구에서는 *Achatina fulica*의 내장신경절

(visceral ganglion) 및 우 체벽신경절 (right parietal ganglion)의 신경분비세포 종류 및 성장조절에 관여하는 neuropeptide 분비세포의 분포상태 (I)에 대한 발표에 이어, 이들 신경분비세포에 따른 미세구조 (II)를 연구하고자 본 연구를 시도케 되었다.

재료 및 방법

1. 실험재료

2000년 4월경 경기도 근교의 달팽이 사육농원에서 아프리카 왕달팽이 (*Achatina fulica*)를 실험실로 옮겨 사육 관찰한 후 실험재료로 사용하였다.

2. 실험방법

식용 아프리카 왕달팽이를 30% ethyl alcohol로 마취시킨 다음 촉각 아래 머리부위를 절개하여 뇌신경절을 위시해서 중추신경계 전체를 적출하였으며, 실험에 사용할 수 있도록 부위별로 잘라낸 후, 2.5% paraformaldehyde-3% glutaraldehyde로 1시간 30분 전고정하고, 이어서 OsO_4 로 2시간 후고정하였다. 고정이 끝난 재료는 0.2M phosphate buffer (pH 7.3)로 3회 세척하고, ethanol 농도순으로 탈수시킨 다음, 통상법에 따라 Epon 812에 포매하였으며 60°C 파라핀 오븐에서 40시간 경화시켰다.

Epon블럭은 LKB-V ultramicrotome을 사용하여 1 μm 두께의 박절편을 만들고 이를 methylene blue-basic fuchsin 이중염색 후, 광학현미경하에서 정확한 부위를 확인한 다음, 초박절편을 만들었다. 초박절편은 uranyl acetate와 lead citrate로 이중염색 한 후, Hitachi H-600 투과전자현미경 (80 kV)으로 관찰하였다.

결 과

아프리카 왕달팽이 내장신경절 (visceral ganglion)과 우 체벽신경절 (right parietal ganglion)을 투과전자현미경으로 관찰한 결과, 6종의 신경분비세포들 (A, B, C, D, E 그리고 F형 등)과 그 주위를 둘러싸고 있는 신경망 (neuropile) 등으로 구성되어 있었다.

1. 신경분비세포 (neurosecretory cell)

1) A형 세포 (Type-A cell)

이 세포는 직경이 $35\mu\text{m}$ 정도인 삼각형 또는 불규칙한 세포로서 세포질 대비 큰 핵을 소지하고 있었다. 핵질은 전자밀도가 낮아서 밝게 보였으며, 직경 $4.5\mu\text{m}$ 정도인 둥근 큰 인과 과립상의 많은 이질염색질들이 핵질 내 고루 분산되어 있었다.

세포질은 중등도의 전자밀도를 보였으며 둥근 형태의 사립체와 글리코겐 입자도 관찰되었다. 그 이외 직경이 $1\mu\text{m}$ 인 큰 과립과 $0.1\mu\text{m}$ 정도되는 작은 과립들도 관찰되었는데 작은 과립들은 전자밀도가 높은 과립과 전자밀도가 중등도인 과립 등 두 종류로 구분할 수 있었다 (Figs. 1, 2).

2) B형 세포 (Type-B cell)

이 세포는 크기가 $19 \times 12\mu\text{m}$ 정도로, 크기와 형태가 A형세포와 비슷하여 삼각형 모습을 하고 있었다. 이들 역시 세포질 대비 큰 핵을 소지하고 있었으며 핵질은 전자밀도가 낮아서 밝게 보였고, $1.6\mu\text{m}$ 정도 크기의 전자밀도가 낮은 둥근 인을 소지하고 있었다. 인 주위에는 다양한 크기의 이질염색질과립들이 분산되어 나타났으며, 이들은 불규칙한 형태의 이중핵막에 의해 둘러싸여 있었다.

세포질내에는 많은 과립성 소포체와 약간의 둥근 사립체 그리고 $0.1\mu\text{m}$ 정도 크기의 전자밀도가 높은 과립들이 세포질을 가득 채우고 있었다. 또한 도블지만 $0.7\mu\text{m}$ 정도 크기의 전자밀도가 높은 둥근 큰 과립들도 관찰되었다.

특히 B형 세포를 감싸는 신경섬유 중 일부는 신경종판을 B형세포의 신경세포체 내로 삼입하고 있었으며, 이들은 $0.1\mu\text{m}$ 정도 크기의 신경분비소포 (electron

dense vesicle)들로 가득 차 있었다 (Figs. 4, 5).

3) C형 세포 (Type-C cell)

이 세포는 크기가 $8 \times 6\mu\text{m}$ 정도인 가장 작은 신경분비세포로서 $6 \times 5\mu\text{m}$ 정도 크기의 큰 핵을 소지하고 있었다. 핵질은 밝고 과립상 또는 막대상의 큰 이질염색질을 4~5개 정도 소지하고 있었는데, 이들은 이중막이 뚜렷한 핵막으로 둘러싸여 있었으며 내측 핵막에는 이질염색질들이 가깝게 모여있는 특이한 모습을 보였다.

핵 주위의 세포질에는 $0.23\mu\text{m}$ 정도 크기의 전자밀도가 높은 분비과립들로 가득 차 있었는데, 이 과립들은 $0.03\mu\text{m}$ 정도 크기의 매우 작은 과립들이 둥글게 모여 있는 특이한 모습을 보였다. 그러나 세포소기관들은 거의 확인되지 않았으며 다만 세포상단에서 약간의 미세융모만이 관찰되었다 (Figs. 6, 7).

4) D형 세포 (Type-D cell)

이 세포는 $28 \times 20\mu\text{m}$ 정도 크기의 중형세포로서 타원형 또는 불규칙한 형태를 보였다. 핵질은 밝았고 다양한 크기의 많은 이질염색질이 고르게 분산되어 있었다. 인은 거의 관찰되지 않거나 매우 작은 (직경 $1.2\mu\text{m}$) 형태였다.

세포질은 전자밀도가 비교적 높아 보였고 판상구조의 골지체와 과립성소포체 그리고 지방과립들이 다수 관찰되었다. 또한 크기가 다른 두 종의 전자밀도가 높은 둥근 과립들 (직경 1.6 및 $0.6\mu\text{m}$)이 지방과립과 혼재되어 나타났다 (Fig. 8).

5) E형 세포 (Type-E cell)

이 세포는 $100 \times 50\mu\text{m}$ 정도 크기의 대형신경분비세포로서 핵 또한 $70 \times 30\mu\text{m}$ 크기로 세포질에 비해 매우 컸다. 핵질은 전자밀도가 비교적 낮아 밝게 보였으며, 다양한 크기인 (직경 $4.5 \sim 1\mu\text{m}$) 6개의 인들이 관찰되는 특징을 보였다. 인 주위에는 많은 과립상의 이질염색질이 고르게 분산되어 있었고 핵막은 비교적 불규칙하였다.

세포질은 전자밀도가 중등도였고 약간의 지방입자와 용해소체 그리고 크기가 다른 종류 (직경 1 및 $0.2\mu\text{m}$)의 전자밀도가 높은 둥근 과립들이 가끔 관찰되었다.

세포 표면으로부터 사상족(filopodia)이 형성되어 이물질이나 죽은 세포입자들을 포식하였다(Fig. 3).

2. 신경망(neuropiles)

내장신경절과 우 체벽신경절을 구성하고 있는 신경분비세포들은 신경섬유들로 이루어진 신경망으로 대부분 둘러싸여 있었는데, 신경섬유 속에는 다양한 종류와 크기의 연접소포(synaptic vesicles)들이 존재하였다.

이들은 전자밀도가 높은 소포(직경 0.17~0.1 μm)와 전자밀도가 중등도인 소포(직경 0.17~0.1 μm) 그리고 투명한 소포(직경 0.14~0.1 μm)들로 이루어져 있었는데, 이들은 여러 종류의 신경분비세포들로부터 형성, 분비된 후 신경섬유를 통해 신경종말(nerve ending)을 향해 이동중인 것으로 사료되었다.

소포들은 한계막(limiting membrane)으로 둘러싸여 있으며, 대부분은 여러 종류가 혼재되어 있었으나 투명소포 만은 동일집단으로만 이루어져 있는 경우가 많았다(Fig. 9).

고 찰

아프리카 왕달팽이(*Achatina fulica*)의 좌 체벽신경절(left parietal ganglion)은 우 체벽신경절(right parietal ganglion)에 비해 훨씬 작고 내장신경절(visceral ganglion)과는 일정한 간격을 통해 연결되어 있는 반면, 우 체벽신경절은 이보다 훨씬 크고 내장신경절과는 밀접히 연결되어 있어 좌, 우 양반구로 된 나비모습을 하고 있었다.

Chang et al. (2000)은 면역조직화학적 방법을 통해 내장신경절과 우 체벽신경절들을 각각 관찰한 결과 직경 200 μm 정도의 초대형세포가 AB/AY 염색반응에서 밝은 황색으로 염색되어 LYC(light yellow cell) 세포로 확인된 바 있다.

그러나 병안목(stylommatophora), 유폐류(pulmonate)의 중추신경계인 내장신경절에서 AB/AY 염색으로는 LYC 세포를 확인할 수 없었으나, 면역염색법을 통해서 그들의 존재를 확인할 수 있었다.

특히 Hoek (1992)와 Smit et al. (1993a, b)는 LYC 신경분비세포에서 3개의 서로 다른 neuropeptides

(LYCP-I, LYCP-II 그리고 LYCP-III)의 분비를 확인하고, 이들이 multipptide precursor protein을 합성함을 인지할 수 있었다.

*Achatina fulica*를 재료로 한 본 실험에서도 이 세포가 50~80 μm 크기의 대형세포(E형 신경분비세포)로 확인되었는데, 핵은 세포질에 비해 컸으며 핵질은 전자밀도가 비교적 낮아 밝게 보였고 6개의 많은 인들이 관찰되는 특징을 보였다. 세포질에는 전자밀도가 높은 다양한 크기(직경 0.1~0.3 μm)의 둥근 과립들이 드물게 산재되었으며 사상족(filopodia)을 통한 포식작용도 확인되었다. 그러나 LYC peptides의 검출은 확인되지 않았다.

중추신경계 중 뇌신경절(Cerebral ganglion)을 대상으로 한, Chang (1999)과 Chang & Han (1999)의 연구에서는 이 세포가 60~70 μm 크기로 나타난 바 있고, 세포질내 과립의 크기나 형태 그리고 전자밀도 등이 LGC(light green cell)나 CDC(caudo-dorsal cell)세포와 유사했으며, 외포현상(exocytosis)에 의한 포식작용(phagocytosis)도 관찰되어, 본 실험에서의 E형 신경분비세포(type-E neurosecretory cell)와 동일한 기능을 수행하는 것으로 사료되었다.

A형 세포(type-A cell)은 30 μm 정도 크기의 중형 세포로서 Chang et al. (2000)의 연구에서 YGC(yellow green cell)과 DGC(dark green cell)로 확인된 바 있으며, 내장신경절과 우 측체벽신경절에서 각각 약 400~500개 정도 관찰된 바 있다. 본 실험에서도 이 세포가 30 μm 정도 크기의 삼각형 또는 불규칙한 형태의 세포로서, 0.7 μm 인 큰 과립과 0.1 μm 정도의 작은 과립들을 소지하고 있어 미세구조적 형태에 있어서는 Chang et al. (2000)의 DGC세포와 비슷하였다.

면역조직화학적 방법(immunohistochemical method)을 이용한 Chang (1999)의 연구에서 이 세포는 성장억제에 관여하는 somatostatin 호르몬을 분비하는 세포로 확인된 바 있다.

B형 세포(type-B cell)는 그 크기가 20×12 μm 정도로서 Chang et al. (2000)의 광학현미경을 통한 연구에서는 관찰된 바 없으나, 뇌신경절을 대상으로 한 미세구조적 연구(Chang, 1999)에서는 BGC(blue green cell)로 언급된 바 있다. 이 세포는 CDC세포에 비해 작고, 핵은 세포의 형태에 따라 불규칙했으며

많은 이질염색질들이 핵질 내에 나타났다. 과립의 크기는 $0.1\ \mu\text{m}$ 정도로서, 본 실험의 B형 세포와 비슷하였으나 $0.7\ \mu\text{m}$ 크기의 전자밀도가 높은 큰 과립들은 관찰되지 않았다.

C형 세포 (type-C cell)는 $8 \times 6\ \mu\text{m}$ 정도 크기의 매우 작은 세포로서, 핵 주위의 세포질에는 $0.03\ \mu\text{m}$ 정도 크기의 매우 작은 과립들이 둥근 원형은 이루면서 밀집되어 $0.23\ \mu\text{m}$ 의 과립의 형태를 보였는데, Chang (1999), Chang & Han (1999) 그리고 Chang et al. (2000)은 이 세포가 hematoxyline-eosin 이중염색에서 호산성을 보였고, AB/AY 염색반응에서는 노란색으로 염색된 바 있어 YC (yellow cell) 세포로 규정할 바 있다. Chang & Han (1999)의 전자현미경 관찰에서는 이 세포의 크기가 $9 \times 6.6\ \mu\text{m}$ 정도로 관찰되고, 세포질 속에는 $0.08\ \mu\text{m}$ 정도 크기의 전자밀도가 중등도인 과립들이 흩어져 있어, 본 실험에서의 과립들처럼 소과립의 밀집현상은 볼 수 없었다. 이는 중추신경계인 뇌신경절과 내장신경절 그 이외 여러 신경절에 따라 신경분비세포들의 형태가 조금씩 다르고, 세포의 생리적 주기도 조금씩 차이가 있는 만큼, 앞으로 여러 종들을 대상으로 한 보다 심도있는 연구가 계속 이루어져야 할 것으로 생각된다.

참 고 문 헌

Buma P, Roubos EW, Buijs RM: Ultrastructural demonstration of exocytosis of neural, neuroendocrine and endocrine secretions with an in vitro tannic acid (TARI-) method. *Histochemistry* 80: 247-256, 1984.

Chang NS, Han JM: Immunohistochemical study on the cerebral ganglion of the edible african giant snail, *Achatina fulica*. *Korean J Malacol* 15: 1-11, 1999.

Chang NS: A Ultrastructural Study on the Cerebral Ganglion of the African Giant Snail, *Achatina fulica*. *Korean J Electron Microscopy* 29(3): 303-313, 1999.

Chang NS, Kim SW, Han JM: Studies on the Visceral Ganglion and Right Parietal Ganglion in the African Giant Snail, *Achatina fulica* I. Immunohistochemical method. *Korean J Malacol* 16(1): 1-12, 2000.

Heumen WRA van, Roubos EW: Ultrastructural evidence for synthesis, storage and release of insulin-related peptid-

es in the central nervous system of *Lymnaea stagnalis*. *Neuroscience* 39: 493-500, 1990.

Hoek RM, Li KW, van Minnen J, Geraerts WPM: Chemical characterization of a novel peptide from the neuroendocrine light yellow cells of *Lymnaea stagnalis*. *Mol Brain Res* 16: 71-74, 1992.

Joose J: The hormones of molluscs. In: Laufer H, Downer GH (eds) *Invertebrate Endocrinology* Vol. 3. *Endocrinology of selected invertebrate types*. pp. 89-140. Alan R. Liss, New York, 1988.

Peute J, Karmar JC van de: On the histochemical differences of aldehyd-fuchsin positive material in the fibers of the hypothalamo-hypophyseal tract of *Rana temporaria*. *Z Zellforsch* 83: 441-448, 1967.

Romeis B: *Mikroskopische Technik*. 16nd ed. M nchen-Wien: Oldenbourg Verlag, 1968.

Smit AB, Thijsen SFT, Geraerts WPM: cDNA cloning of the sodium influx-stimulating peptide in the mollusc, *Lymnaea stagnalis*. *Eur J Biochem* 215: 397-400, 1993a.

Smit AB, van Marle A, van Elk R, Bogerd J, van Heerikhuisen H, Geraerts WPM: Evolutionary conservation of the insulin gene structure in invertebrates: cloning of the gene encoding molluscan insulin-related peptide III from *Lymnaea stagnalis*. *J Mol Endocrinol* 11: 103-113, 1993b.

Wendelaar-Bonga SE: Ultrastructure and histochemistry of neurosecretory cells and neurohaemal areas in the pond snail *Lymnaea stagnalis* (L.). *Z Zellforsch* 108: 190-224, 1970.

< 국문초록 >

아프리카 왕달팽이 (*Achatina fulica*)의 내장신경절 (visceral ganglion)과 우 체벽신경절 (right parietal ganglion)을 투과전자현미경을 통해 관찰한 결과 5종류 (type-A, B, C, D 그리고 E)의 신경분비세포 (neurosecretory cell)와 그 주위를 둘러싸고 있는 신경망 등이 관찰되었다.

A형 세포 (직경 $35\ \mu\text{m}$)는 두 신경절의 피질부에서 가장 많이 관찰된 삼각형 또는 불규칙한 세포로서, 세포질에는 직경 $1\ \mu\text{m}$ 인 큰 과립과 $0.1\ \mu\text{m}$ 정도인 작은 둥근 과립들이 관찰되었다. 또한 작은 과립들은 전자밀도가 높은 과립과 전자밀도가 중등도인 과립 등 두 종류로

구분되었다.

B형 세포(직경 $19 \times 12 \mu\text{m}$)는 두 신경절의 피질부와 수질부의 여러 부위에서 고르게 관찰된 세포로서 A형 신경분비세포와 그 형태가 비슷하였다. 세포질 내에는 $0.1 \mu\text{m}$ 정도 크기의 전자밀도가 높은 과립들로 가득찬 반면 둥글고 큰 과립(직경 $0.7 \mu\text{m}$ 정도)들은 드물게 관찰되었다.

C형 세포는 크기가 $8 \times 6 \mu\text{m}$ 정도인 가장 작은 세포로서, $6 \times 5 \mu\text{m}$ 정도인 큰 핵을 소지하고 있었다. 세포질에는 $0.23 \mu\text{m}$ 정도인 전자밀도가 높은 과립들로 가득 차 있었는데, 이들은 $0.03 \mu\text{m}$ 정도 크기의 작은 과립들이 둥글게 모여 있는 특이한 형태였다.

D형 세포는 $28 \times 20 \mu\text{m}$ 정도 크기의 중형세포로서, 타원형 또는 불규칙한 형태를 보였다. 이들은 두 신경절의

수질부와 피질부 중, 피질부에서 가장 많은 수가 관찰되었다. 세포질은 전자밀도가 높아 어둡게 관찰되고 직경 $1.6 \mu\text{m}$ 와 $0.6 \mu\text{m}$ 인 두 종의 둥근 과립들이 관찰되었다.

E형 세포는 크기가 $100 \times 50 \mu\text{m}$ 정도인 대형세포로서 두 신경절의 상단부와 중앙부위에서 드물게 나타났다. 핵은 $70 \times 30 \mu\text{m}$ 정도로 세포질 대비 매우 컸다. 이들은 다양한 크기의 전자밀도가 높은 둥근 과립(직경 $1 \sim 0.2 \mu\text{m}$)을 소지하고 있었으며, 세포의 표면은 여러 형태의 사상족(filopodia)들을 뻗어 노쇠한 세포들을 포식하였다.

신경망(neuropiles)들은 신경분비세포를 둘러싸고 있었으며, 신경섬유 속에서 다양한 종류의 연결소포들(synaptic vesicles)이 관찰되었는데, 전자밀도, 크기 그리고 모양에 따라 6종류로 분류되었다.

FIGURE LEGENDS

- Fig. 1.** Electron micrograph showing the type-A cell. arrow, electron dense granules; N, nucleus; Nu, nucleolus. Scale bar = $10 \mu\text{m}$.
- Fig. 2.** Magnification of Fig. 1. arrow, middle electron dense large granule; arrowhead, electron dense small granule; open arrow, middle electron dense small granule; Ch, chromatin; Er, rough endoplasmic reticulum. Scale bar = $1 \mu\text{m}$.
- Fig. 3.** Electron micrograph showing the type-E cell. arrow, electron dense granule; arrowhead, filopodia; N, nucleus; Nu, nucleolus. Scale bar = $10 \mu\text{m}$.
- Fig. 4.** Electron micrograph showing the type-B cell. arrow, electron dense large granule; arrowhead, nerve fiber; N, nucleus; Nu, nucleolus. Scale bar = $3 \mu\text{m}$.
- Fig. 5.** Magnification of Fig. 4. arrow, electron dense large granule; arrowhead, electron dense small granule; open arrow, nerve ending; Er, rough endoplasmic reticulum; M, mitochondria; N, nucleus; Nf, nerve fiber. Scale bar = $2 \mu\text{m}$.
- Fig. 6.** Electron micrograph showing the type-C cell. Ch, Chromatin; N, nucleus. Scale bar = $2 \mu\text{m}$.
- Fig. 7.** Magnification of Fig. 6. arrow, electron dense granule; Ch, Chromatin. Scale bar = $0.5 \mu\text{m}$.
- Fig. 8.** Electron micrograph showing the type-D cell. arrow, electron dense large granule; arrowhead, electron dense small granule; openarrow, lipid droplet; N, nucleus; Nf, nerve fiber; Nu, nucleolus. Scale bar = $10 \mu\text{m}$.
- Fig. 9.** Electron micrograph showing the six kinds of synaptic vesicles in the nerve fibers surrounding numerous neurosecretory cells. T, neurotubules. Scale bar = $1 \mu\text{m}$.



