

메뚜기 체내와 체외에서 혈구생성 경로 추적에 관한 연구

장 병 수
동남보건대학 임상병리과

Study on the Detection of *In vivo* and *In vitro* Hemocytic Pathway in Grasshopper, *Euprepicnemis shirakii*

Byung-Soo Chang

Department of Clinical Pathology, Dongnam Health College, Suwon, Korea
(Received May 30, 2003; Accepted June 16, 2003)

ABSTRACT

A Differentiating pathway of hemocytes *in vitro* and *in vivo* of grasshopper, *Euprepocnemis shirakii* was described using light and electron microscopes. In the interior of body, the stem cells of the hemopoietic organ differentiated into six types of cells respectively which are prohemocyte, plasmacyte, granulocyte I, granulocyte II, spherulocyte and oenocytoid. The formation of these hemocytes was derived from the stem cells surrounded by a reticular cell. Hemopoietic tissue cultured in the insect media differentiated different hemocytes, but none of them underwent any mitotic division. Morphological features of the cultured cells in media were essentially the same as those of the hemocytes differentiated from the stem cells *in vivo*. These results were shown that each stem cell could differentiate into different types of hemocytes. It was confirmed that the stem cells possessed the pluripotent differentiation ability to directly each hemocyte, and that the once formed hemocytes *in vivo* and *in vitro* didn't undergo further transformation to other hemocytes. The maintenance of circulating hemocytes in grasshopper had been depended on the widely spreading hemopoietic organ situated in the upper surface of the dorsal alary muscle and located on the first to eighth segments.

Key words : Grasshopper, Hemopoietic organ, Hemocytic pathway

서 론

곤충은 혈구생성에 관여하는 조혈기관을 가지고 있으며, 이들 조혈기관의 위치는 척추동물과 같이 일

정한 부위에 한정되어 있는 것이 아니고 종에 따라 다양한 부위에 분포하고 있는 것으로 보고되어 왔다. 지금까지 곤충 조혈기관의 위치가 확인된 종은 딱정벌레목, 나비목, 메뚜기목 등의 일부 종에서만 발견되었다(Hoffmann et al., 1974; Francois, 1975; Zachary et

본 연구는 한국과학재단 목적기초연구(R05-2002-000-01338-01) 지원으로 수행되었음.

* Correspondence should be addressed to Dr. Byung-Soo Chang, Department of Clinical Pathology, Dongnam Health College, Suwon 440-714, Korea. Ph.: 031-249-6413, FAX: 031-249-6410, E-mail: bschang@dongnam.ac.kr

Copyright © 2003 Korean Society of Electron Microscopy

al., 1981; Arnold & Hinks, 1983). 보고된 바에 의하면, 솔잎벌 (*Diprion similis*) 유충의 경우 조혈기관은 복부, 흉부, 두부 등에 산재되어 존재하고 있다고 하였으며 (Klein & Coppel, 1969), 노랑초파리 (*Drosophila melanogaster*)의 경우 조혈기관은 등쪽혈관을 따라 존재하고 있다 (Nappi et al., 1984). 또한, Chang et al. (1990)의 보고에 의하면 메뚜기의 조혈기관은 복부 첫번째 마디에서 여덟번째 마디까지 분포하고 있는데, 등쪽혈관을 따라 존재하고 있는 익상근(alary muscle)과 배판(dorsal plate) 사이에 위치하고 있다. 이와 같이 조혈기관은 종에 따라 그 위치가 현저하게 다른 것을 나타냈다.

따라서, 곤충 조혈기관은 특정부위에 한정되어 존재하지 않기 때문에 다른 종의 조혈기관을 추적한다는 것은 많은 연구와 경험을 필요로 한다. 더욱이 조혈기관의 위치가 확인되지 않은 상태에서 특정 종의 혈구분화 경로 및 생성 기작과 조혈기관의 혈구생성에 관한 고유기능 외의 면역반응과 같은 다양한 기능에 관한 연구는 더 이상 진척될 수 없는 실정이다 (Chang, 1997). 이와 같은 조혈기관의 추적에 대한 어려움으로 이들 기관에 관한 연구는 국내외적으로 시행되지 못하고 있는 실정이다.

일반적으로 혈구분화경로는 순환 혈림프에서 원시혈구(prohemocyte)가 무정형혈구(plasmatocyte) 단계를 거쳐 과립혈구(granulocyte)로 분화되고 과립혈구는 소구혈구(spherulocyte), 지방혈구(adipohemocyte), 응고혈구(coagulocyte) 및 편도혈구(oenocytoid)로 분화된다고 알려져 왔다 (Devauchelle, 1971; Gupta, 1985). 또한, Beaulaton (1979)은 누에나방을 대상으로 한 연구에서 원시혈구로부터 형성되는 무정형혈구는 과립혈구와 소구혈구 및 편도혈구로 분화된다고 보고한 바 있다.

그러나, 이와 같은 연구는 순환 혈림프내에서 혈구들의 형태적 특징과 혈구간의 세포학적 유사성으로 제시된 결과로 실질적인 조혈기관에서부터 혈구의 생성과 분화 경로를 추적하여 제시하지는 못하였다.

최근에 Han et al. (1995)은 누에나방(*Bombyx mori*) 유충의 조혈기관을 체외배양을 통하여 다양한 유형의 혈구세포들이 방출되었다고 보고한 바 있으나, 이들 세포의 분화경로에 대해서는 언급하지 않았고,

Kwon et al. (1995)에 의해서 꼬리명주나방(*Sericinus montela*)의 혈구분화를 미세구조적 측면에서 관찰한 결과 줄기세포에서부터 독자적인 경로를 통하여 분화한다는 보고가 있을 뿐이다.

본 연구는 등검은메뚜기의 조혈기관을 적출하여 이들 기관에서 혈구들의 직접적인 생성경로와 혈림프로 분화되어 나가기 전에 각각의 형태와 기능을 부여받은 완성된 혈구들의 형성 유무를 고배율의 전자현미경을 이용하여 규명하고, 이어서 조혈기관의 배양을 통하여 줄기세포(stem cell)에서 혈구가 분화되는 경로를 확인하였다.

재료 및 방법

1. 실험재료

야외에서 채집한 메뚜기를 실험실(25~27°C)에서 사육하여 마지막 탈피가 끝난 건강한 성충을 실험재료로 사용하였다. 실험에 사용할 곤충을 70% ethanol로 수회 소독한 다음 마취시켜 해부현미경하에서 조혈기관만을 적출하였다.

2. 실험방법

1) 투과전자현미경 관찰

조혈기관을 2.5% paraformaldehyde-glutaraldehyde (4°C, phosphate buffer, pH 7.4)에 1시간 동안 전고정하고, 인산완충용액 (4°C, 0.4 M phosphate buffer, pH 7.4)으로 수회 세척한 다음, 1% OsO₄ (4°C, phosphate buffer)로 1시간 동안 후고정하였다. 고정이 끝난 재료는 동일 완충용액으로 세척한 후, ethanol 농도 상승순으로 탈수하고, propylene oxide로 치환하여 Epon-Araldite 혼합액에 포매한 다음, 60°C vacuum drying oven (Yamato, Japan)에서 36시간 동안 중합반응시켰다. 포매된 조직은 초박절편기(ultramicrotome, LKB-2088)로 초박절편(ultra-thin section)을 제작하여 copper grid에 부착시킨 다음, uranyl acetate와 lead citrate로 이중 염색하여 JEOL 100 CX-II형 투과전자현미경으로 100 kV에서 관찰하였다.

2) 주사전자현미경 관찰

조혈기관을 2.5% paraformaldehyde-glutaraldehyde (4°C, phosphate buffer, pH 7.4)와 1% OsO₄ (4°C, phosphate buffer)로 각각 2시간씩 전, 후고정 하였다. 고정이 끝난 재료는 인산완충용액 (4°C, 0.4 M phosphate buffer, pH 7.4)으로 수회 수세한 다음, ethanol 농도 상승순으로 탈수하여 isoamyl acetate로 치환하였다. 처리된 재료는 임계점건조기 (critical point dryer, Hitachi SCP-II)에서 건조시킨 후, JFC-1100 ion coater를 사용하여 20 nm 두께로 금 도금 (gold coating)한 다음 JSM-840 A형 주사전자현미경으로 20 kV에서 관찰하였다.

3) 세포배양

적출된 조혈기관을 100 µg/ml gentamycin, 200 µg/ml streptomycin sulfate, 200 IU/ml peniciline G (SIGMA cat. no. p-7794)를 인산완충 생리식염수 (pH 7.4)에 용해한 항생제로 3회 수세한 다음, TC-100 곤충세포 배양배지 (SIGMA cat. no. T-0907)에 10% fetal calf serum (SIGMA), 0.35 g/L sodium bicarbonate (SIGMA), 50 µg/ml gentamicin (SIGMA) 및 100 µg/ml streptomycin sulfate (SIGMA)를 혼합하여 제조한 세포배양액에 25°C에서 배양하였다.

결 과

메뚜기 체내에서 조혈기관은 복부 첫 번째 마디에서부터 여덟 번째 마디 사이에 존재하고 있으며, 복부의 내강을 구분 짓는 익상근 (alary muscle)에 의해서 소화기계 및 생식기계 등의 다른 기관과 분리되어 있었다. 익상근은 복부 등쪽의 흉부로부터 복부 마디 말단까지 종주하고 있었다 (Fig. 1). 익상근은 중심부위에서 가로로 여러 갈래 분지된 빗살모양의 근육으로 되어 있었고 이들 분지된 근육은 말단부위가 다시 합류하여 복부 측면의 체벽에 부착되어 있었다 (Figs. 2, 3). 분지된 조혈기관에서 성숙되어 분화되는 혈구들은 익상근의 분지된 근육사이를 통하여 혈림프로 방출되는 것이 확인되었다 (Fig. 4).

조혈기관에서 줄기세포 (stem cell)는 망상세포 (reticular cell)에 둘러싸여 있는데, 핵은 세포질의 대부분을

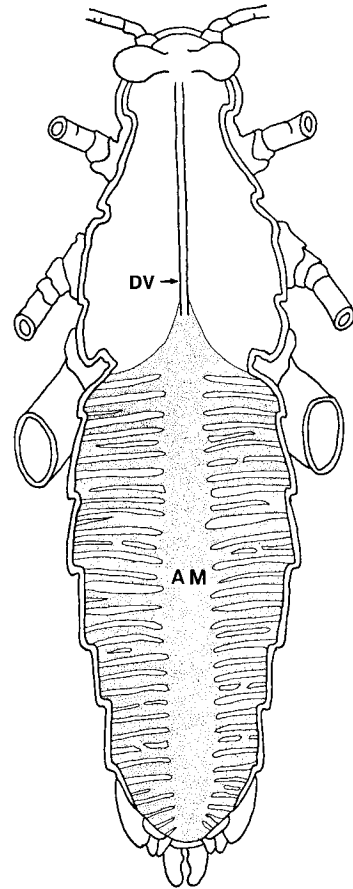


Fig. 1. Ventral dissection of grasshopper showing the alary muscle (AM). The hemopoietic organ situated on dorsal surface of alary muscle. DV: dorsal vessel.

차지하고 있었으며, 망상세포의 핵보다 전자밀도가 높게 나타났다. 또한, 세포질내에는 조면소포체와 골지체가 관찰되었으며, 다른 세포소기관의 발달은 미약하였다 (Fig. 5).

망상세포는 수많은 세포질 돌기를 가지고 있는 것이 특징이며, 이들 세포질 돌기가 그물모양으로 서로 복잡하게 얽혀 있는 세포간극 (intercellular space)에는 많은 섬유성 물질 (fibrous material)들이 산재되어 있었다. 망상세포는 낮은 전자밀도의 염색질을 가진 불규칙한 모양의 핵을 가지고 있었으며, 주변의 줄기세포나 분화중인 혈구의 핵보다 전자밀도가 상대적으로 낮아 쉽게 구별되었다. 세포질에는 조면소포체와

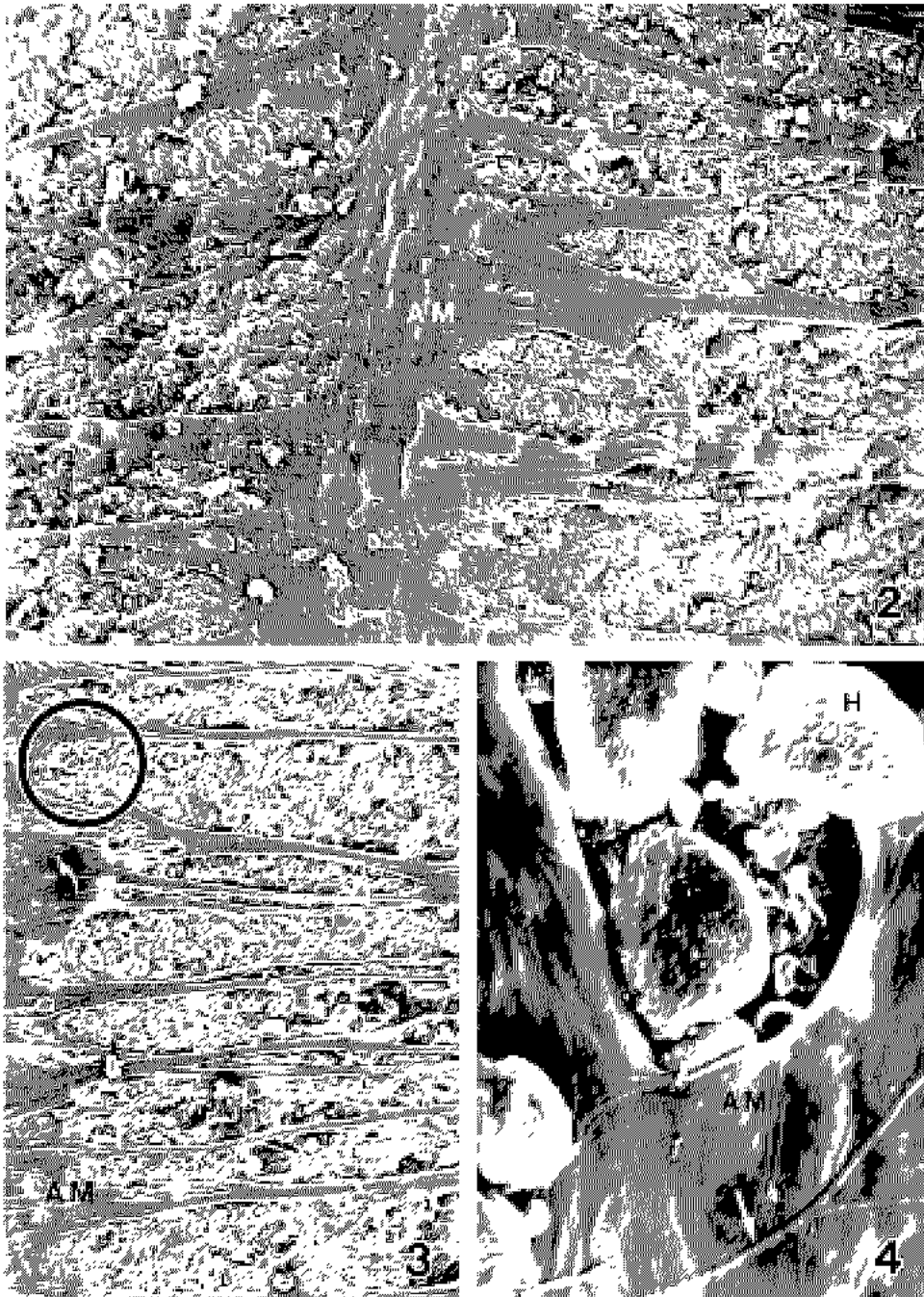


Fig. 2. Scanning electron micrograph of hemopoietic organ. Note that the hemopoietic organ located on dorsal surface of alary muscle (AM). $\times 500$.

Fig. 3. Scanning electron micrograph of alary muscle (AM). The alary muscle divided into several branches. $\times 300$.

Fig. 4. Magnification of circle of Fig. 2 showing matured hemocytes (H) discharging to hemolymph through branches of alary muscle (AM). Arrow: tracheole, $\times 5,000$.

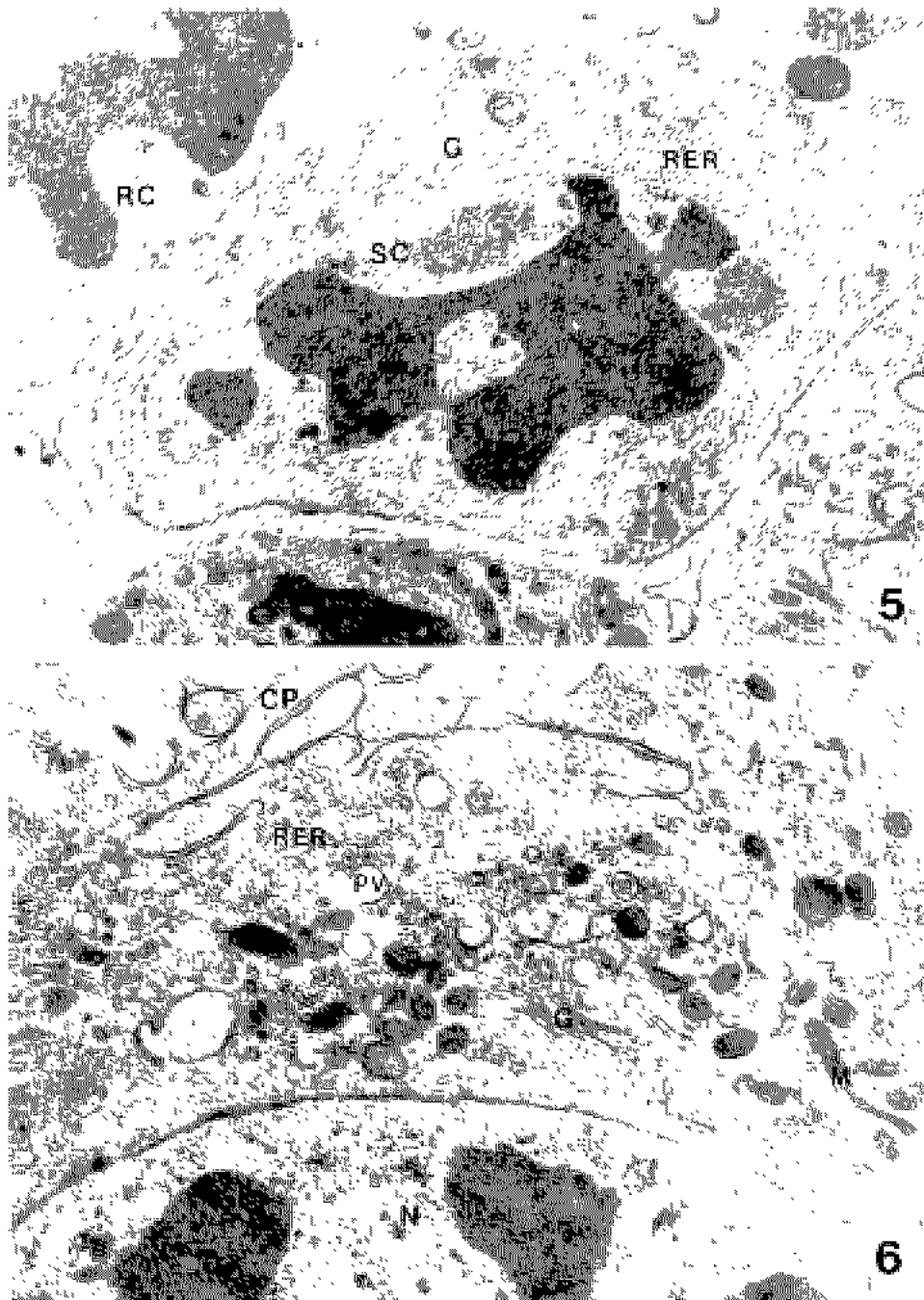


Fig. 5. The stem cell (SC) surrounded by reticular cell (RC) which contains weakly developed cytoplasm. G: Golgi complex, RER: rough endoplasmic reticulum. $\times 15,000$.

Fig. 6. High magnification electron micrograph of reticular cell with numerous pinocytotic vesicles (PV) and rough endoplasmic reticulum (RER). The Golgi complex (G) comprise numerous small vesicles. CP: cytoplasmic process, M: mitochondria, N: nucleus. $\times 38,000$.

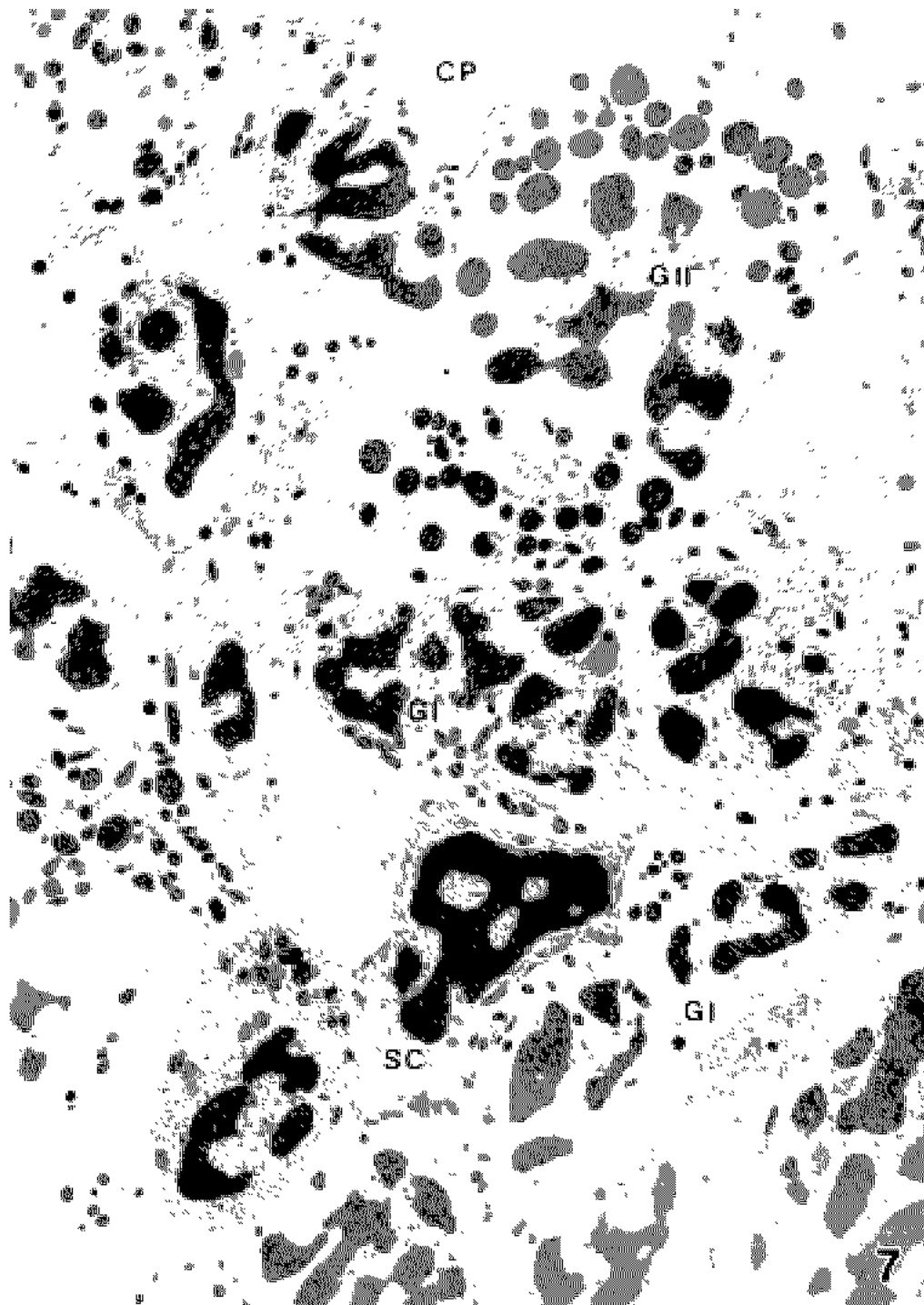


Fig. 7. Transmission electron micrograph of hemopoietic tissue showing differentiating hemocyte and stem cell (SC). G I: granulocyte I, G II: granulocyte II, CP: cytoplasmic process. $\times 5,500$.

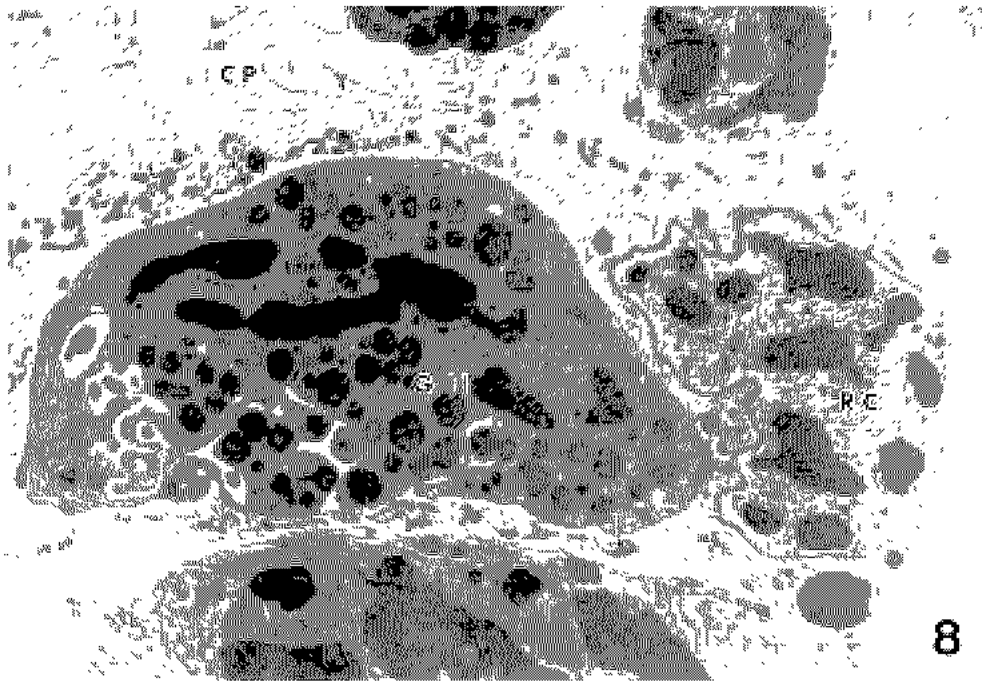


Fig. 8. Differentiating granulocyte II surrounded by reticular cell. Electron dense granules are spherical in shaped and mesure approximately $0.5\sim 0.8\mu\text{m}$ in diameter. CP: cytoplasmic process. $\times 8,000$.

Fig. 9. Scanning electron micrograph of differentiating granulocyte II (G II). Note the reticular cell (RC) enclosing the hemocyte. Arrowhead: cytoplasmic process. $\times 15,000$.

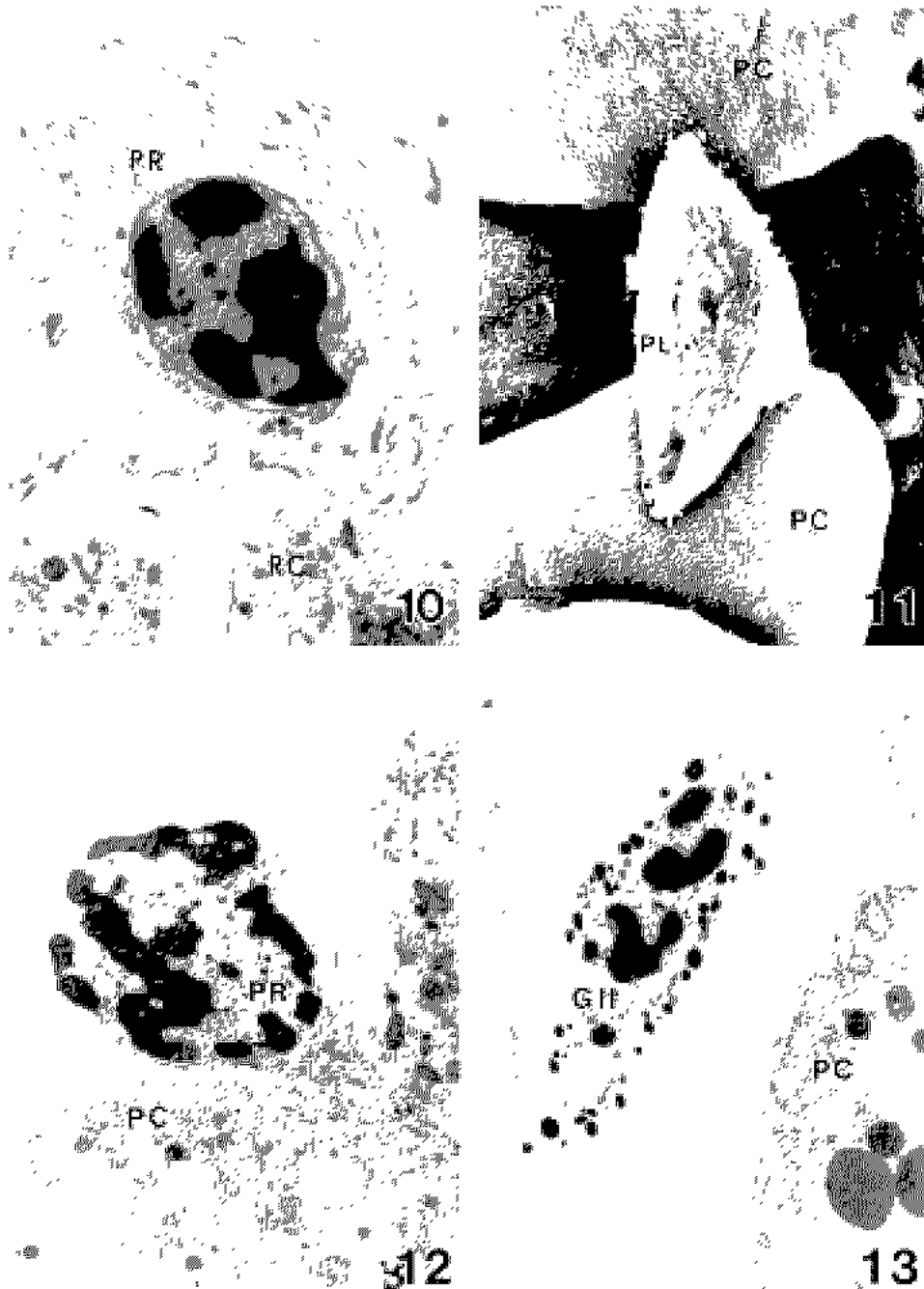


Fig. 10. Differentiating prohemocyte (PR) from hemopoietic organ. RC: reticular cell (RC). $\times 10,000$.

Fig. 11. Scanning electron micrograph of pericardial cells (PC) and differentiating plasmacyte (PL). $\times 5,000$.

Fig. 12. Transmission electron micrograph of hemopoietic tissue showing prohemocyte (PR) discharging from interspace of pericardial cell (PC) to hemolymph. $\times 8,000$.

Fig. 13. Differentiating granulocyte II (G II) from hemopoietic organ. $\times 5,500$.

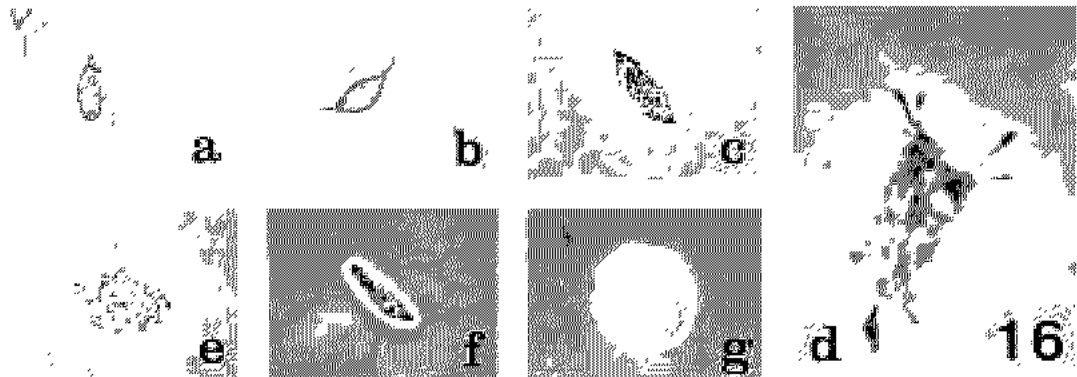
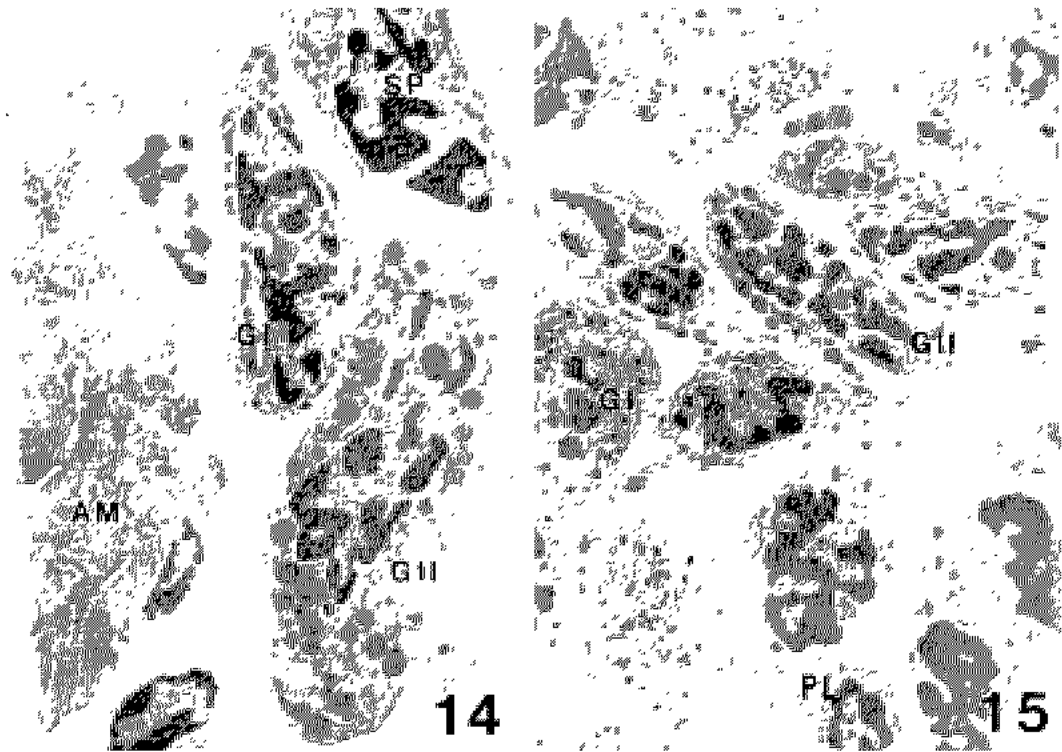


Fig. 14. Differentiating granulocyte I (G I), granulocyte II (G II) and spherulocyte (SP) from hemopoietic organ through the branches of alary muscle (AM). $\times 5,500$

Fig. 15. Differentiating plasmatocyte (PL) and granulocyte II(G II) from hemopoietic organ. $\times 4,000$

Fig. 16. Morphology of culturing hemocytes after 1 day of culture. (a) Prohemocyte, (b) plasmocyte which spindle form, (d) fully spread plasmatocyte, (c) granulocyte I, (e) granulocyte II, (f) spherulocyte, (g) round form oenocytoid.

미토콘드리아가 세포질 전역에 걸쳐 산재되어 있으며 특히, 포음소포(pinocytotic vesicle)가 잘 발달되어

있는 것이 특징으로 나타났다(Fig. 6).

분화중인 철구들은 다량의 철구 덩어리를 형성하

거나(Fig. 7), 하나의 망상세포에 둘러싸여 성숙하는데(Figs. 8, 9), 분화중인 혈구집단에서 과립의 크기가 $0.2 \sim 0.3 \mu\text{m}$ 인 I형 과립혈구와 $0.5 \sim 0.8 \mu\text{m}$ 인 II형 과립혈구들이 집단을 이루어 형성된 상태에서 각각 독립적으로 분화되었으며, 주변에는 망상세포들이 성글게 둘러싸고 있는 것이 관찰되었다(Fig. 7).

망상세포에 둘러싸여 분화중인 II형 과립혈구에서 핵은 엽상의 형태로 세포의 중앙에 위치하고 있었고, 세포질은 대부분 구형의 과립들에 의해서 채워져 있었다. 또한, 망상세포에 둘러싸여 분화중인 과립혈구와 망상세포사이에는 약 40 nm 의 세포 간극을 이루고 있었다(Fig. 8). 주사전자현미경상에서 망상세포는 많은 세포질 돌기를 뻗어서 분화중인 혈구를 둘러싸고 있는 것이 확인되었다(Fig. 9).

줄기세포에서부터 성숙하여 갖 분화된 원시혈구는 망상세포의 세포질 돌기에서부터 분리되었으며 이들 주변에는 많은 섬유성 물질들이 산재되어 관찰되었다(Fig. 10). 조혈기관에서 분화된 각각의 혈구는 조혈기관의 등쪽 위에 분포하고 있는 위심세포들 사이

를 통해서 방출되거나(Figs. 11, 12, 13), 복부 내강을 구분 짓는 익상근의 분지된 근육 가지 사이로 빠져나와 혈림프로 방출되었다(Fig. 14).

주사전자현미경상에서 분화된 무정형혈구가 위심세포들 사이를 통해서 혈림프로 방출되는 것이 확인되었고, 투과전자현미경상에서도 원시혈구(Fig. 12)와, II형 과립혈구(Fig. 13)가 위심세포들 사이로 빠져나오는 것을 확인할 수 있었다.

조혈기관에서부터 분화된 각각의 다양한 혈구들이 익상근의 분지된 근육을 경계로 혈림프로 방출되기 직전에 조혈기관의 내부에서 관찰되었는데(Fig. 14), 이들 무정형혈구, I형 과립혈구, II형 과립혈구 및 소구혈구들이 망상세포의 세포질 돌기에서부터 떨어져나와 혈림프로 방출되는 것을 확인하였다(Fig. 15).

세포배양에서 조혈기관은 배지에 배양 후 24시간 이내에 다수의 혈구세포를 방출하였다. 방출된 혈구의 유형은 원시혈구, 무정형혈구, I형 과립혈구, II형 과립혈구, 소구혈구, 편도혈구 등이 관찰되었다. 특히, 무정형혈구는 방추형이거나 세포질 돌기를 다수 가

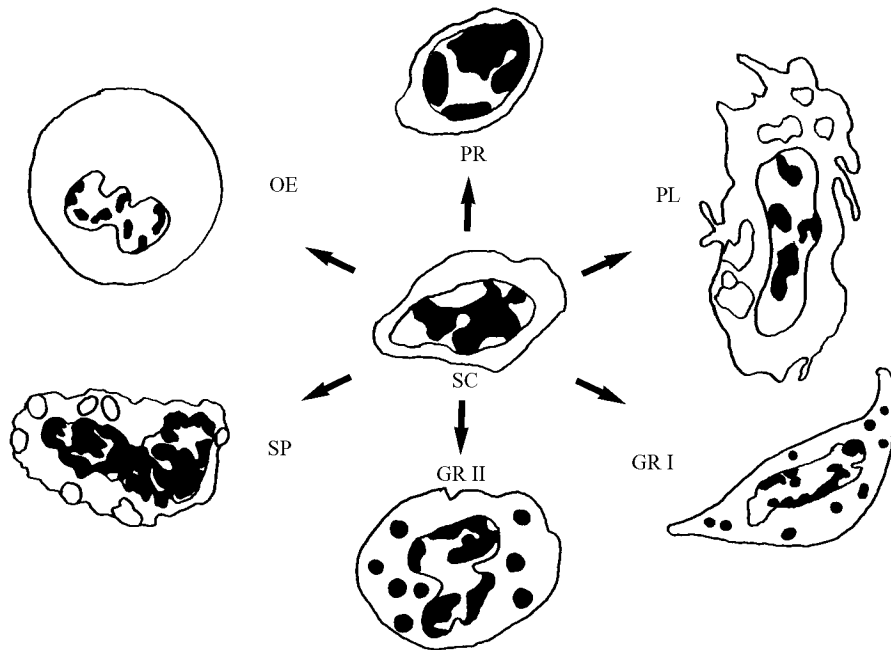


Fig. 17. Diagram of hemocytic pathway of hemopoietic organ in grasshopper. Note that the stem cell (SC) showing directly differentiation to prohemocyte (PR), plasmatocyte (PL), granulocyte I (GR I), granulocyte II (GR II), spherulocyte (SP) and oenocytoid (OE).

지고 있는 상태로 관찰되었다. 또한, 분화된 혈구들 중에서 유사분열 상을 나타내는 세포들은 확인되지 않았다 (Fig. 16).

이와 같이 메뚜기 체내와 체외에서 조혈기관의 줄기세포에서부터 각각의 혈구들이 생성 분화되어 혈림프를 방출되는 것을 확인하였으며, 각 유형의 혈구 분화를 Fig. 17에 모식도로 나타냈다.

고 찰

곤충 혈구는 혈림프를 순환하는 다양한 형태의 중배엽성 세포 집단이다. 혈구의 유형은 세포의 구조와 조직화학적 특성 및 기능적 특성에 의해서 분류되어 왔다 (Sylvia et al., 1983; Gillespie et al., 1997). 메뚜기는 6종류의 혈구 유형을 가지고 있는데 (Chang et al., 1994), 무정형혈구는 10 nm 크기의 금입자 (gold particle)와 같은 작은 이물질의 식세포작용에 주도적으로 관여하고, I형 과립혈구와 II형 과립혈구는 식세포작용과 피낭형성에 중요한 역할을 하는 것으로 보고된 바 있다 (Chang et al., 1991, 1992). 이와 같이 혈림프에서 혈구들은 유형에 따라 다양하고 독특한 기능을 수행하는데, 순환혈구 수의 조절과 기원은 순환혈구의 유사분열과 조혈기관의 조혈작용에 의해서 공급되어 진다고 보고되어 왔다 (Arnold, 1976).

그러나, 다양한 형태의 혈구들이 한 종류의 혈구에서 일시적인 형태적 변화에 의해서 나타나는 것을 의미하는지 또는 고유 특성을 가진 혈구인지에 대하여는 의심의 여지가 남아있다. 그래서 연구자들은 다양한 종류의 혈구 기원에 대하여 동의하지 않았으며 곤충 종에 따라 여러 분화경로가 존재할 것이라고 추측하였다.

혈구분화경로에 관한 연구에서 Arnold & Hinks (1983)는 single-cell theory와 multiple-cell theory의 가설을 제시하였다. Shrivastava & Richards (1965)는 처음으로 밀나방 (*Galleria mellonella*)에서 원시혈구와 과립혈구 및 무정형혈구를 하나의 발생계통으로 언급하였고, 소구혈구와 편도혈구는 서로 다른 계통에서 유래한다고 하였다. 한편, Beaulaton (1979)은 누에나방의 혈구 관찰에서 원시혈구가 과립혈구와 소

구혈구 및 편도혈구를 생성할 수 있는 기능을 가진 무정형혈구로 분화된다고 보고하였다.

혈구기원에 대한 단일계통발생설 (monophyletic theory)은 한 개의 줄기세포가 적당한 조건하에서 다양한 세포형태로 지속적으로 분화되는 것을 말하며, 다계통발생설 (polyphyletic theory)은 각 유형의 혈구들이 서로 다른 줄기세포에서부터 분화된다는 것을 의미한다.

본 연구에서 메뚜기의 혈구분화경로는 조혈기관에 있는 줄기세포에서부터 각각 다른 유형의 혈구들이 분화되었다. 망상세포에 둘러싸인 줄기세포는 직접 원시혈구, 무정형혈구, I형 과립혈구, II형 과립혈구, 소구혈구 및 편도혈구로 분화되어 혈림프를 방출되었으며, 조직배양에서도 동일한 형태의 세포들이 방출되었다. 이와 같은 결과는 줄기세포가 혈림프를 순환하는 특정혈구로 직접 분화된다는 것을 의미하며 혈구발생에 다계통발생설을 입증하는 것으로 줄기세포로부터 각각의 고유기능을 가진 특정혈구가 생성된다는 것을 나타낸다.

Yamashita & Iwabuchi (2001)의 보고에 의하면 누에나방에서 원시혈구는 조혈기관과 혈림프에 존재하고 있으며 이들 세포는 형태적 특징과 방사선 동위원소 추적 등에 의해서 다른 유형의 주요 혈구로 분화되는 줄기세포로 간주하였다. 이러한 이유로 인하여 원시혈구는 자체 유사분열로 증식하고 다른 형태의 혈구로 분화될 수 있는 능력을 가지고 있다고 추측하였다.

그러나 본 연구에서 줄기세포는 조혈기관의 망상세포에 둘러싸여 존재하고 있으며 혈림프를 순환하는 원시혈구와 크기와 구조가 유사하였다. 망상세포에 둘러싸여 분화된 원시혈구는 방출되어 독립된 세포로 혈림프에 존재하였으며, 이들 세포는 순환혈림프에서나 세포배양에서도 전혀 유사분열상을 나타내지 않았다.

또한, 나비목의 *Pseudophusia includens*와 *Spodoptera frugiperda*의 조혈작용에 관한 연구에서 순환혈구의 유지는 조혈기관에서 방출된 혈구와 이미 방출된 순환혈구의 유사분열에 의해서 이루어지며 조혈기관은 중흉 (mesothorax)와 후흉 (metathorax)에 존재하고 있는데 이 부위에서 무정형혈구만이 분화되어

방출된다고 보고된 바 있다(Gardiner & Strand, 2000). 본 연구에서 조혈기관은 나비목과 달리 불연속적인 조직 덩어리로 따로 떨어져 존재하지 않고 복부 등쪽 익상근 위에 전체 부위에 걸쳐 연속적인 판상으로 분포하고 있다. 따라서 연속적으로 넓은 범위에 펼쳐 있는 메뚜기 조혈기관에서 각각의 혈구들은 독자적으로 분화되었다.

이와 같은 결과는 혈구의 분화경로가 곤충의 종에 따라, 변태(metamorphosis)의 양상에 따라 다르다는 것을 의미한다. 즉, 완전변태(complete metamorphosis)를 하는 종에서 대부분의 혈구분화는 혈림프를 순환하는 원시혈구가 지속적으로 형태적 변화를 통하여 다른 유형의 혈구로 전환되지만 불완전변태(incomplete metamorphosis)를 하는 메뚜기와 같은 종은 한정된 조혈기관에 줄기세포가 존재하고 있어서 이들 세포로부터 각각 다른 유형의 혈구들이 독립적으로 분화되는 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

- Arnold JW, Hinks CF: Hemopoiesis in Lepidoptera. I. The multiplication of circulating hemocytes. *Can J Zool* 54 : 1003 1012, 1976.
- Arnold JW, Hinks CF: Hemopoiesis in Lepidoptera. III. A note on the multiplication of spherule cells and granular hemocytes. *Can J Zool* 61 : 275 277, 1983.
- Beaulaton J: Hemocyte and hemocytogenesis in silkworm. *Biochemie* 61 : 157 164, 1979.
- Chang BS, Moon MJ, Han SS, Yoe SM: Ultrastructure of the hemopoietic organ in *Euprepocnemis shirakii* Bolivar. *Korean J Electron Microscopy* 20 : 46 56, 1990. (Korean)
- Chang BS, Yoe SM, Kim WK, Moon MJ: Electron microscopic study on the hemocytic immune responses to the foreign substances in insect. II. Encapsulation. *Korean J Entomol* 21 : 119 131, 1991. (Korean)
- Chang BS, Yoe SM, Kim WK, Moon MJ: Electron microscopic study on the hemocytic immune responses to the foreign substances in insect. I. Response to the gold particles. *Korean J Zool* 35 : 58 69, 1992. (Korean)
- Chang BS, Han SS, Yoe SS: Hemocyte types in adult grasshopper, *Euprepocnemis shirakii*, Bolivar. *Korean J Electron Microscopy* 24 : 93 104, 1994. (Korean)
- Chang BS: Phagocytosis of the reticular cells of hemopoietic organ in Grasshopper, *Euprepocnemis shirakii*, following injection of gold particles. *Korean J Entomol* 27 : 313 322, 1997. (Korean)
- Devauchelle G: Etude ultrastructurale des hemocytes du Coleoptere *Melolontha melolontha*. *J Ultrastruct Res* 34 : 492 516, 1971.
- Francois J: Hemocyte et organ hemopoietique de *Thermobia domestica* (Packard) (Thysanura : Lepismatidae). *J Insect Morphol Embryol* 4 : 477 494, 1975.
- Gardiner EMM, Strand MR: Hematopoiesis in larval *Pseudoplusia includens* and *Spodoptera frugiperda*. *Arc insect Biochem Physiol* 43 : 147 164, 2000.
- Gupta AP: Cellular elements in the hemolymph. In: *Comprehensive Insect Phylogeny, Biochemistry and Pharmacology* (Kerkut, G.A. and L.I. Gilbert, eds.). pp. 401 451, Pergamon Press, New York, 1985.
- Gillespie JP, Kanost MR, Trenzcek T: Biological mediators of insect immunity. *Annu Rev Entomol* 42 : 611 643, 1997.
- Han SS, Lee MH, Yun YT, Kim WK: Haemopoiesis in *in vitro* haemopoietic organ culture of *Bombyx mori* Larvae. *Korean J Entomol* 25 : 281 290, 1995. (Korean)
- Hoffmann DM, Brehelin M, Hoffmann JA: Modifications of the hemogram and of the hemocytopoietic tissue male adults of *Locusta migratoria* (Orthoptera) after injection of *Bacillus thuringiensis*. *J Invert Pathol* 24 : 238 247, 1974.
- Klein MG, Coppel HC: Hemocytic organ in larvae of the introduced pine sawfly, *Diprion similis*. *Ann Entomol Soc Amer* 62 : 1259 1261, 1969.
- Kwon SB, Huh YH, Yang HY: Hemocytic differentiation in *Sericinus montela* Grey. *Korean J Zool* 38 : 313 323, 1995. (Korean)
- Nappi AJ, Kmiecik J, Silvers M: Cellular immune competence of a *Drosophila* mutant with neoplastic hemopoietic organ. *J Invert Pathol* 44 : 220 227, 1984.
- Sylvia CV, Marljo EW, Lee AB, Richard AC: Structural characterization of the hemocytes of *Plodia interpunctella*. *J Morphol* 175 : 1 16, 1983.
- Shrivastava SC, Richards AG: An autoradiographic study of the relation between hemocytes and connective tissue in the wax moth *Galleria mellonella* L. *Biological Bulletin* 128 : 337 345, 1965.

Yamasida M, Iwabuchi K: *Bombyx mori* prohemocyte division and differentiation in individual microcultures. J Insect Physiol 325-331, 2001.

Zachary D, Hoffmann DM, Hoffmann JA, Porte A: Role of the reticulo-hemopoietic tissues of *Locusta migratoria* in the process of immunization against *Bacillus thuringiensis*. Arch Zool Exp Gen 122: 55-63, 1981.

< 국문초록 >

메뚜기 체내와 체외에서 혈구 분화경로를 광학현미경과 전자현미경으로 관찰하였다. 조혈기관에서 혈구의 형성은 망상세포에 둘러싸인 줄기세포에서부터 유래되었으며, 줄기세포에서부터 원시혈구, 부정형혈구, I형 과립

혈구, II형 과립혈구, 소구혈구 및 편도혈구가 각각 분화되는 것을 확인하였다. 곤충배지에 배양된 조혈조직에서 각각 다른 형태의 혈구들이 분화되어 방출되었다. 그러나, 이들 혈구들의 유사분열상은 관찰되지 않았다. 배지의 조혈기관에서 분화된 세포들의 형태학적 특징들은 메뚜기 체내의 조혈기관에서 분화된 세포들과 같았다. 이와 같은 결과는 줄기세포가 각각의 서로 다른 혈구들로 직접 분화하는 것을 의미한다. 본 연구 결과 조혈기관의 줄기세포는 각각의 혈구로 직접 분화할 수 있는 기능을 가지고 있었으며, 체내와 체외에서 한번 형성된 순환 혈구는 다른 혈구의 형태로 변형되지 않았다. 메뚜기에서 순환혈구의 유지는 복부 등쪽 첫 번째 마디에서 여덟 번째 마디 사이의 익상근 위에 광범위하게 존재하고 있는 조혈기관에 전적으로 의존하였다.