

## 산왕거미 (*Araneus ventricosus*) 심관과 심근세포의 미세구조

최재영, 문명진\*  
단국대학교 첨단과학부 생물학전공

### Fine Structure of the Heart Tube and Its Cardiac Muscle Cells in the Spider, *Araneus ventricosus*

Jae-Young Choi and Myung-Jin Moon\*

Department of Biological Sciences, Dankook University, Cheonan 330-714, Korea  
(Received December 1, 2003; Accepted December 11, 2003)

#### ABSTRACT

Fine structural characteristics of the heart tube and its cardiac muscle cells in spider, *Araneus ventricosus* are investigated by both of scanning and transmission electron microscopes. The heart tube of the spider is extended mid dorsally along the anterior part of the abdomen, and is consisted of the thin outer layer of connective tissue (epicardium) and the thick muscle layer (myocardium). The myocardium in the spider has a typical fan like spiral structure toward anterior part put across between the muscle fibers. Therefore, it did not give rise to the intima, and muscle cells are in direct contact to the hemolymph. The heart tube appeared to be three pairs of ostia and numerous hemocytes accumulated at the inner surface of the myocardial layer. Among several kinds of the hemocytes, the oenocytoids are the most predominant hemocytes accumulated along the myocardial folds which stretched toward heart lumen. The heart muscle cells are cross striated, branched, and multinucleated. They contain a lot of mitochondria, which provide for the continuous energy demands of the heart. Thread like ganglion on the dorsal side of the heart tube gives off axons that innervate the heart muscle cells.

**Key words :** *Araneus ventricosus*, Cardiac muscle cell, Fine structure, Heart tube, Spider

#### 서 론

생명유지에 있어 가장 중요한 장치중의 하나인 동물의 심장과 심근세포는 종에 따라 매우 다양한 형태로 진화되어 왔다. 폐쇄혈관계를 가지는 다른 고등동물과는 달리 절지동물의 거미류는 개방혈관계를 가지

는데, 심장으로부터 뺀 동맥들이 심장의 펌프작용에 의해 몸 전체로 혈림프를 수송하며 (Foelix, 1996), 공급된 혈림프는 각 조직들 사이로 확산에 의해 이동하며 혈압의 감소에 의해 다시 심장으로 되돌아간다 (Colmorgen & Paul, 1995).

거미의 심장은 관상형의 구조로 인해 흔히 심관(heart tube)이라고 불리며, 복부의 등쪽을 따라 외골격

\* Correspondence should be addressed to Dr. Myung-Jin Moon, Department of Biological Sciences, Dankook University, Cheonan 330-714, Korea.  
Ph.: (041) 550-3445, FAX: (041) 551-9229, E-mail: moonmj@dankook.ac.kr  
Copyright © 2003 Korean Society of Electron Microscopy

바로 아래 부위에 위치한다(Petrunkewitch, 1933). 위심강(pericardial sinus)으로 둘러싸인 심판에는 종에 따라 2쌍에서 5쌍 정도의 심문(ostium)이 형성되어 있고, 이 곳을 통해 혈림프의 유입이 이루어진다(Foelix, 1996). 심문의 개폐는 위심강과 연결된 인대의 수축과 이완에 의해 조절되는 것으로 알려져 있다(Paul, 1990).

거미의 심장박동은 다른 절지동물들과 마찬가지로 신경에 의해 지배를 받는다(Foelix, 1996). Millot (1949)는 일찍이 거미의 동맥성 혈림프가 중추신경계와 심장근의 영향을 받지만, 책허파를 통해 산소를 공급하는 거미류 순환계의 특성으로 미루어 용존된 산소와의 관련성은 그다지 크지 않다는 점을 밝힌 바 있고, Sherman & Pax(1968)는 신경절 내에 심장의 박동을 조절하는 박동원이 존재한다고 보고하였다.

한편, 거미의 심장 내강에는 혈림프로 가득 차 있으며 거기에는 다양한 혈구들이 존재한다(Fahrenbach, 1970; Chang & Yoe, 1995). 거미의 혈구에 대한 연구는 몇몇 연구자들에 의해 수행되어져 왔는데, 일찍이 Deevey (1941), Browning (1942) 등은 거미의 혈구 유형을 투명혈구(hyaline leucocytes), 과립혈구(granular hemocytes)와 탈피혈구(molting hemocytes or leberidocytes)의 세 가지 유형으로 분류하였다. 또한 Sherman (1973)은 타렌틀라 거미의 심장에서 과립혈구(granulocytes), 편도혈구(oenocytoids)와 무정형혈구(plasmacytoids)의 세 가지 혈구유형으로 구분하였고, 무정형혈구의 분화경로를 추적하여 무정형혈구로부터 과립혈구와 편도혈구로 변형됨을 보고한 바 있다.

최근까지 절지동물의 심장과 혈구에 관한 많은 연구가 수행되어져 왔으나(Bohn, 1977; Peake, 1979; Chain & Anderson, 1982; Renwantz et al., 1986) 대부분이 곤충류를 대상으로 이루어졌으며, 이를 거미류에 적용하여 해석하는 과정에서 부분적으로 혼란이 야기되기도 하였다. 따라서 본 연구는 대형의 정주성 거미인 산왕거미를 실험재료로 하여 심판과 심근세포의 미세구조적 특성을 주사 및 투과 전자현미경으로 관찰하고, 이를 곤충류와 비교 고찰하여 거미류 순환계의 특성에 대한 분석을 시도하였다.

## 재료 및 방법

7, 8월 중 단국대학교 천안캠퍼스 주변에서 채집한 왕거미과의 산왕거미(*Araneus ventricosus*)를 실험재료로 사용하였다. 채집한 거미들은 양면이 유리로 된 40×40×10 cm 크기의 목재 사육조에 옮기고 안정화시킨 후, 갈색거저리(*Tenebrio molitor*) 유충을 먹이로 사육하였다. 거미줄을 만드는 행동 습성과 먹이에 대한 거부반응 등을 토대로 발생 단계를 구분하여 암수 성체 각 5 마리씩을 실험에 사용하였다.

심판과 심근의 미세구조를 관찰하기 위하여 공시재료를 이산화탄소로 마취시킨 후, 거미 생리식염용액(Groome et al., 1991)을 사용하여 해부현미경하에서 두흉부를 제거한 후, 복부의 등쪽을 따라 심판을 적출하였다. 적출된 심장은 10% 중성 완충 포르말린 용액에 4시간동안 고정하였다. 고정된 재료는 수세한 다음, ethanol 농도 상승순으로 탈수하고 xylene으로 투명화 처리하여 paraffin으로 포매하였다. 포매된 재료는 각각 종단면과 횡단면으로 5 μm 두께의 연속절편을 제작하여 슬라이드 글라스 위에 신전시켰다. 제작된 절편은 paraffin을 제거하고 수화시켜 Hematoxylin과 Eosin으로 이중 염색하여 광학현미경하에서 관찰하였다.

한편 적출된 시료의 일부는 2.5% paraformaldehyde-glutaraldehyde(Karnovsky, 1965)와 1% OsO<sub>4</sub> 고정용액을 사용하여 전고정 및 후고정하였다. 고정이 끝난 재료는 완충용액(0.1 M phosphate buffer, pH 7.4)으로 세척한 후, ethanol 농도 상승 순으로 탈수하였으며, propylene oxide로 치환하여 Poly/EM Bed-812 embedding medium으로 포매하였다. 포매된 조직은 먼저 ultramicrotome(LKB-2088)으로 준초박절편을 제작한 다음, 1% toluidine blue로 염색하여 광학현미경으로 기관의 일반 구조와 조직의 특성을 관찰하였다. 또한 60~80 nm 두께의 초박절편을 제작하여 copper grid에 부착시킨 다음, uranyl acetate와 lead citrate로 이중 염색하여 JEOL 100 CX II형 투과전자현미경으로 80 kV에서 관찰하였다.

주사전자현미경 관찰을 위한 시료는 2.5% paraformaldehyde-glutaraldehyde 용액과 1% OsO<sub>4</sub> 용액으

로 이중 고정된 후, ethanol 농도 상승순으로 탈수하였다. 절단면 관찰을 위한 시료는 액체질소로 처리하여 면도날을 이용하여 횡단면으로 파쇄하였고, 나머지 시료와 같이 임계점건조기(critical point dryer)로 처리하여 건조시켰다. 이어서 ion coater를 이용하여 표면을 도금한 후, JEOL 840A형 주사전자현미경으로 20 kV에서 관찰하였다.

## 결 과

산왕거미의 심관은 전체적으로 원추형으로 복부마디의 등쪽을 따라 장축방향으로 위치한다(Fig. 1A). 심관의 주위에는 위심강(pericardial sinus)이 형성되어 있고, 심관의 측면 가장자리를 따라 형성된 3쌍의 심문(ostia)은 위심강을 통해 개구되어 있었다(Fig. 1B). 심관을 구성하는 조직은 결합조직인 외막(adventitia)과 근조직의 심근층(myocardium)으로 구성되어 있었다. 외막은 결합조직세포와 교원섬유(collagen fiber)로 이루어진 얇은 막으로 심관의 최외각을 둘러싸고 있었다. 심근층이 내강과 접하는 부위에는 내막(intima)이 존재하지 않았고, 근섬유가 직접 혈림프에 노출되는 구조를 형성하고 있었다(Fig. 1C).

심근층을 구성하는 근섬유는 심관의 종축을 중심으로 나선상의 배열을 이루고 있었으며, 내강부의 근섬유들도 동일한 방향으로 나선상 배열을 이루고 있음이 관찰되었다. 심근층의 근섬유는 명대와 암대의 횡문 패턴을 보여주는 횡문근으로 되어 있었고, 특히 일정 간격으로 분절구조를 형성하고 있음이 확인되었다(Fig. 1D, E). 또한 심관의 배면을 따라 끈과 같이 배열된 신경절이 위치해 있었으며, 그 곳으로부터 여러 갈래의 신경이 분지되고 있었고 심근층과 신경근육간 연결부를 형성하고 있음이 관찰되었다(Fig. 1F).

종단면을 통해 관찰한 거미의 심관은 내부에 가로 방향으로 많은 심근층의 주름이 형성되어 있었으며, 심근층은 별다른 내막 구조없이 직접 내강에 노출되어 있음이 관찰되었다(Fig. 2A). 심근층의 주름 사이에서는 수많은 혈구들이 분포되어 있었고, 이들은 심관의 심근층 조직과 특별한 연결관계를 이루고 있지는 않는 것으로 관찰되었다(Fig. 2B).

심관 내부의 표면 미세구조를 확인하기 위한 주사전자현미경 사진에서, 심근층의 가로 주름구조가 확연히 구분되었는데, 이들은 나선상의 배열을 이루고 있었으며(Fig. 2C, D), 내강부의 혈구들은 주로 심근층의 주름잡힌 부위를 중심으로 광범위하게 부착되어 있음이 확인되었다(Fig. 2E, F).

심관의 내강 쪽에 접해있는 심근세포의 세포질에서는 근원섬유들과 함께 미토콘드리아가 현저하게 발달되어 있었으며 심근세포의 핵에는 진경염색질(euchromatin)이 함유되어 있었다. 특히 심근세포에 함유된 근원섬유에는 Z-line이 뚜렷한 근절구조를 이루고 있었다(Fig. 3A). 근원섬유들 사이에서는 근소포체가 발달되어 있었고 원형질막으로부터 함입된 T-tubule과 결합하여 이조체(dyads) 구조를 형성하고 있었다(Fig. 3B).

혈구들은 난형 또는 불규칙한 모양으로 원형질혈구, 과립혈구, 편도혈구 등 다양한 혈구 유형들이 관찰되었으나 편도혈구가 대부분을 차지하고 있었다. 혈구들 사이에는 특별한 세포간 연결이 없이 밀착되어 있었고, 혈구의 직경은 10~25  $\mu\text{m}$ 로 다양한 크기였다(Fig. 3C). 편도혈구의 핵은 약 5  $\mu\text{m}$ 의 크기로 특징적으로 이질염색질(heterochromatin)이 핵막 주변에 발달되어 있었고 발달된 대형의 인이 관찰되었다. 세포질에는 미토콘드리아와 약간의 조면 소포체, 그리고 유리 리보솜이 산재해 있었고, 특별한 과립성분은 관찰되지 않았다(Fig. 3D).

## 고 찰

거미의 심관은 복부의 등쪽을 따라 외골격 바로 아래에 위치하며 위심강으로 둘러싸여 있다. 혈림프의 유입은 심문을 통해 이루어지며, 위심강과 연결된 인대의 수축과 이완에 의해 심문의 개폐가 조절되는 것으로 알려져 있다(Petrunkovitch, 1933; Paul, 1990; Foelix, 1996).

본 실험에 산왕거미의 심관은 위심강에 둘러싸인 관상의 구조로 외막과 근육층으로 구성되어 있었고, 측면 가장자리에 3쌍의 심문이 관찰되었다. 또한 중앙에 존재하는 심문은 심하게 함입되어 있음이 관찰되

었다. 거미류의 심문은 종에 따라 3쌍에서 5쌍까지 다양한 형태가 보고되어 있는데(Foelix, 1996), 3쌍의 심문을 가지는 것은 왕거미과의 공통적인 특징인 것으로 보인다.

곤충류에서 심장의 역할을 하는 배혈관은 여러 개의 얇은 근육섬유들이 동심원상으로 배열되어 있는 단순한 형태이고, 심장의 바깥부위에는 많은 위심세포(pericardial cells)들과 지방세포들이 존재한다고 보고되었다(Angioy, 1999). 그러나 거미의 심관은 곤충과는 달리 특이한 심장구조를 가지고 있었는데, 거미의 심장근은 결합조직층으로 구성된 외막(adventitia)과 근육층(myocardium)으로 구성되어져 있었다.

그리고 심관의 근육은 심관의 종축을 중심으로 나선상의 배열을 이루고 있었으며, 내강부의 근섬유들도 동일한 방향으로 나선상 배열을 이루고 있음이 관찰되었다. 특히 내막이 없는 특이적인 구조를 이루고 있음이 확인되었는데, 내막이 없이 직접 내강의 혈림프에 노출된 근섬유들은 폐쇄혈관계를 가진 고등동물에서 혈액의 역류를 막는 판막과 유사한 역할을 수행할 것으로 사료된다.

산왕거미 심관의 외막은 결합조직세포와 교원섬유로 이루어진 얇은 막으로 둘러싸고 있었고, 곤충류의 심장 외막에서 관찰되는 위심세포의 존재는 관찰되지 않았다. 산왕거미의 심관 내부를 관찰한 결과, 심근층의 가로 주름구조가 확연히 구분되었고, 혈구는 주로 주름잡힌 부위를 중심으로 광범위하게 분포되어 있음이 확인되었다. 특징적으로 내강의 근육섬유들 사이에 조밀하게 분포된 많은 편도혈구들이 확인되었다.

거미류의 편도혈구는 곤충류에서 세포질에 유리 리보솜과 미토콘드리아, 골지복합체 및 조면소포체 등을 함유하고 있는 혈구의 한 유형으로 보고되어 있으며(Gupta, 1979), 거미류에서는 Sherman(1973), Midttun & Jensen(1978) 등에 의해 심관 내강에서 그 존재가 보고된 바 있는 혈구이다. 산왕거미의 심관에서 관찰된 혈구의 대부분은 이런 편도혈구들이었고, 순환중인 혈구에서는 극히 일부만이 확인되었을 뿐이다. 난형 또는 불규칙한 모양으로 각 세포들 사이에 서로 특별한 연결을 이루지는 않았으나 서로 밀집되어 있었고, 특징적으로 이질염색질(heterocromatin)이 핵막 주변에 밀집되어 있었으며, 핵의 중앙에 인이 뚜렷이

관찰되었다.

Sherman(1973)은 타란툴라 거미의 심장에서 편도혈구들을 관찰하였으며, Midttun & Jensen(1978)은 두 종류의 거미에서 심장 내강에 약 70~80%의 비율로 존재하는 편도혈구들을 보고하였다. 이들에 의해 보고된 편도혈구들은 공통적으로 세포질에 많은 미세소관의 결정체들을 함유하고 있었고 이 결정체들을 혈림프 속으로 방출하는 특성을 지니고 있었다. 결정체는 성숙한 세포에 다량 함유되어 있고 미성숙된 세포에는 소량만이 포함되어 있다고 보고되었다.

Gupta(1979)는 곤충의 편도혈구를 세포의 성숙 단계에 따라 3가지 유형으로 나누었는데 인이 뚜렷하고 유리 리보솜이 세포질에 산재된 미성숙 단계의 혈구와, 미토콘드리아, 조면소포체, 골지체 등의 세포소기관이 발달된 중간단계의 혈구, 그리고 원형질막을 따라 동심원상의 미세섬유들이 분포하고 미세소관의 결정체가 나타나는 성숙 단계의 혈구로 구분하였다. 본 연구에서 관찰된 산왕거미 심관 내부의 편도혈구들은 Gupta(1979)의 분류기준에 따르면 미성숙 단계의 편도혈구로서 핵의 이질염색질은 핵막 주변에 모여 있고 핵의 중앙에 인이 뚜렷하게 관찰되었으며 세포질엔 유리 리보솜과 미토콘드리아, 조면소포체, 골지체 등의 세포소기관들이 확인되었다.

## 참 고 문 헌

- Angioy AM, Boassa D, Dulcis D: Functional morphology of the dorsal vessel in the adult fly *Protophormia terraenovae* (Diptera: Calliphoridae). *J Morphol* 240 : 15 31, 1999.
- Bohn H: Differential adhesion of the haemocytes of *Leucophaea maderae* (Blattaria) to a glass surface. *J Insect Physiol* 23 : 185 194, 1977.
- Browning HC: The integument and moult cycle of *Tegenaria atrica* (Araneae). *Proc Roy Soc London B* 131 : 65 86, 1942.
- Chain BM, Anderson RS: Selective depletion of the plasmatocytes in *Galleria mellonella* following injection of bacteria. *J Insect Physiol* 28 : 377 384, 1982.
- Chang BS, Yoe SM: Electron microscopic study on the hemocytes of the wolf spider, *Pardosa astrigera*. *Kor J Electr Microsc* 25 : 29 38, 1995.

- Colmorgen M, Paul RJ: Imaging of physiological functions in transparent animals (*Agonus cataphractus*, *Daphnia magna*, *Pholcus phalangoides*) by video microscopy and digital image processing. *Comp Biochem Physiol* 111 : 583-607, 1995.
- Deevey GB: The blood cells of the Haitian tarantula and their relation to the moulting cycle. *J Morphol* 68 : 457-451, 1941.
- Fahrenbach WH: The cyanoblast: hemocyanin formation in *Limulus polyphemus*. *J Cell Biol* 44 : 445-453, 1970.
- Foelix RF: *Biology of Spiders* (2nd ed). Oxford Univ Press, London, pp. 52-67, 1996.
- Groome JR, Townley MA, Detschaschell M, Tillinghast EK: Detection and isolation of proctolin-like immunoreactivity in arachnids: Possible cardioregulatory role for proctolin in the orb-weaving spiders *Argiope* and *Araneus*. *J Insect Physiol* 37 : 9-19, 1991.
- Gupta AP: Hemocyte types: their structures, synonymies, interrelationships, and taxonomic significance. In: *Insect Hemocytes*, Gupta AP (ed). Cambridge Univ Press, Cambridge, pp. 85-127, 1979.
- Karnovsky MJ: A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electron microscopy. *J Cell Biol* 27 : 137-138, 1965.
- Midttun B, Jensen H: Ultrastructure of oenocytoids from two spiders, *Pisaura mirabilis* and *Trochosa terricola* (Araneae). *Acta Zool* 59 : 157-167, 1978.
- Millot J: Ordre des araneides (Araneae). In: *Traite de Zoologie*, Grasse P (ed). Masson, Paris, pp. 639-646, 1949.
- Paul RJ: La respiration des arachnides. *La Recherche* 226 : 1338-1357, 1990.
- Peake PW: Isolation and characterization of the haemocytes of *Calliphora vicina* on density gradients of Ficoll. *J Insect Physiol* 25 : 795-803, 1979.
- Petrunkевич A: An inquiry into the natural classification of spiders, based on a study of their internal anatomy. *Trans Connect Acad Arts Sci* 31 : 299-389, 1933.
- Renwranz LR, Mead GP, Ratcliffe NA: The separation of insect haemocyte types on percoll gradients: methodology and problems. *J Insect Physiol* 32 : 167-177, 1986.
- Sherman RG: Ultrastructurally different hemocytes in a spider. *Can J Zool* 51 : 1155-1165, 1973.
- Sherman RG, Pax RA: The heartbeat of the spider, *Geolycosa missouriensis*. *Comp Biochem Physiol* 26 : 529-538, 1968.

#### < 국문 초록 >

왕거미과 산왕거미 (*Araneus ventricosus*)의 심판과 심근세포의 미세구조적 특성을 주사형 및 투과형 전자현미경으로 관찰하였다. 거미의 심판은 복부마디의 등쪽에 분포되어 있고, 심외막과 심근층으로 구성되어 있었다. 심근층의 근섬유들은 종축을 중심으로 나선상의 배열을 이루고 있었고, 내막이 없이 혈림프에 직접 노출되는 구조를 이루고 있었다. 심판의 외부 표면에서는 3장의 심문이 형성되어 있었고, 내강에서는 원형질혈구와 과립혈구, 그리고 편도혈구 등 다양한 유형의 혈구들이 관찰되었다. 특히 심판의 내강을 향해 돌출된 심근돌기 주위에서는 편도혈구들이 대부분을 차지하고 있었다. 편도혈구의 세포질에는 유리 리보솜이 산재되어 있었고 핵에는 이질염색질과 인이 발달되어 있었으나, 심근층 조직과의 특이한 연결은 관찰되지 않았다. 심근층에는 횡문이 형성되어 있었고, Z line을 중심으로 근절의 구조를 이룬 근원섬유의 주위에서는 미토콘드리아와 근소포체가 풍부하게 함유되어 있었다. 심판의 배면을 따라 뻗은 신경질의 축삭들이 심근세포와 신경근육간 연결부를 형성하고 있음이 관찰되었다.

## FIGURE LEGENDS

- Fig. 1.** Scanning electron micrographs of the heart tube in the spider, *Araneus ventricosus*. **A, B.** Heart of the spider has a tubular shape and three pairs of ostia (Os) along the lateral margins. Heart tube has the invagination which separate anterior part from posterior part in the middle ostia. **B, C.** The myocardium has a typical fan-like spiral structure toward anterior part put across among the muscle fibers. **E, F.** The surface of the heart tube is sheathed with adventitia, and thread-like ganglion (Gn) gives off axons that innervate the heart muscle cells. Scale bars = 1  $\mu\text{m}$  (D), 2  $\mu\text{m}$  (B, E, F), and 20  $\mu\text{m}$  (A, C).
- Fig. 2. A, B.** Photo micrographs of the longitudinally sectioned heart tube in the spider *Araneus ventricosus*. The myocardial projections (Mp) stretch toward the heart lumen and numerous hemocytes are observed. **C-F.** Scanning electron micrographs of the heart tube in the spider, *Araneus ventricosus*. There's no inner membrane-intima-at the inner surface of the heart tube, so muscle cells contact to the hemolymph directly. The luminal surface of the heart tube has a lot of myocardial folds and numerous hemocytes are accumulated at the surface of the myocardium in the heart lumen. Scale bar = 500  $\mu\text{m}$  (A), 10  $\mu\text{m}$  (B), 5  $\mu\text{m}$  (C), and 2 (D, E, F).
- Fig. 3.** Transmission electron micrographs of the heart tube in the spider, *Araneus ventricosus*. **A, B.** The heart muscle cells (Mc) are cross striated, branched, and has peripheral euchromatid nucleus (N). They contain a lot of mitochondria (Mi), which provide for the continuous energy demands of the heart. Each myofibril has distinct striations by the sarcomeres which bounded with several Z-lines (Z). **C, D.** Among several kinds of the hemocytes, the oenocytoids are the most predominant hemocytes (He) accumulated along the myocardial folds which were stretched toward heart lumen. Each oenocytoid (Oe) has well developed heterochromatid nucleus and large nucleolus. Cm: circular muscle, Tt: T-tubule. All scale bars = 2  $\mu\text{m}$ .







