

돌돔 (*Oplegnathus fasciatus*) 피부상피층에 관한 전자현미경적 연구

김재원, 백근욱^{1*}, 백혜자
부경대학교 자원생물학과, ¹부경대학교 해양과학공동연구소

Electron Microscopic Study on the Integumentary Epidermis of the Parrot fish, *Oplegnathus fasciatus*

Jae Won Kim, Gun Wook Baeck^{1*} and Hea-Ja Baek

Department of Marine Biology and ¹Korea Inter-university Institutes of Ocean Science,
Pukyong National University, Pusan 608-737, Korea

(Received May 27, 2004; Accepted June 17, 2004)

ABSTRACT

This study is observed the skin of the parrot fish, *Oplegnathus fasciatus* that related study of epidermal alternation with environmental and physiological change. It composed of supporting cells, unicellular glands and accessory cells.

The supporting cells are classified into superficial cell, intermediated cell and basal cell. Superficial cell of epidermal layer is squamous or cuboidal and contain nucleus of ovoid type. And its free surface has many microridge which covered with glycocalyx. Intermediated cell is ovoid and has a nucleus of round shape. Basal cell is columnar, and nucleus is situated in the upper cytoplasm. Gland cells are classified into mucous cell and club cell. By the histochemical studies of the epidermal secretions the mucous materials react on blue in AB PAS (pH 2.5). Club cell is observed numerous vacuoles and microfilaments in the cytoplasm. The cytoplasm of chloride cells are occupied with numerous mitochondria. Pigment cells are classified into two type. The one contain pigment granules of electron dense, and the other contain reflecting platelets.

Key words : Epidermis, *Oplegnathus fasciatus*, Ultrastructure

서 론

어류는 육상 척추동물과는 상이한 환경에서 서식하기 때문에 피부구조가 다른 것으로 알려져 있다. 어류

의 피부는 수서환경과 생물체 사이의 물과 이온 그리고 거대분자의 교환을 위한 일차적인 장벽을 이루어 환경조건의 변화에 대한 방어기작 등 여러 가지 기능을 수행하게 됨에 따라 여러 가지 형태의 특이한 구조를 갖고 있다.

* Correspondence should be addressed to Dr. Gun Wook Baeck, Korea Inter-university Institutes of Ocean Science, Pukyong National University, Pusan 608-737, Korea. Ph.: 051-620-6213, E-Mail: 1233625@hanmail.net

어류 피부계의 미세구조와 변화양상에 관한 연구로는 틸라피아, *Tilapia mossambica* 피부의 미세구조 (Lanzing & Wright, 1974), 열분적응에 따른 뱀장어 표피 상피세포의 미세구조적 변화 (Park et al., 1995a) 및 희석된 해수에 노출된 협엽성 담수어류 잉어, *Cyprinus carpio* 피부세포의 미세구조 (Abraham et al., 2001) 등의 보고를 들 수 있다.

이러한 많은 연구자들이 행한 피부의 조직학적 및 미세구조학적인 관점의 연구 결과에서 어류 피부계를 구성하는 세포 및 부속 기관의 종류와 발달정도는 서식지의 환경 변화 및 생리적 상태에 따라 다양하게 변화 한다는 것이다.

본 연구는 연안성 어류인 돌돔, *Oplegnathus fasciatus*의 피부 상피층을 조직학적인 방법으로 관찰하여 추후 이들 어류의 생활 환경 및 생리적 변화와 관련된 피부의 변화 양상에 관하여 살펴보았다.

재료 및 방법

본 연구에 사용된 돌돔은 전장 30.0 cm 내외의 성체 10미로서, 채집 즉시 연수절단 방법으로 죽인 다음, 아가미 뚜껑 뒤의 등쪽에서 피부조직을 절취하여 고정하였다.

광학현미경 조직표본은 파라핀 절편법으로 두께 4~6 μm 로 제작되었으며, 제작된 조직표본은 Mayer's hematoxylin과 0.5% eosin (H-E)의 비교염색, periodic acid-Schiff (PAS) 반응 그리고 alcian blue-periodic acid-Schiff (AB-PAS, pH 2.5) 반응을 실시하였다.

투과전자현미경 (TEM)의 조직표본 제작은 절취한 피부조직을 0.1 M phosphate buffer (pH 7.2)로 완충시킨 2.5% glutaraldehyde 용액으로 4°C에서 2~4시간 동안 전고정 하였다. 그리고 1% osmium tetroxide (OsO_4)로 4°C에서 2시간 동안 후고정 하였다. 고정이 끝난 조직은 0.1 M phosphate buffer로 세척하고 ethanol을 이용하여 실온에서 15분 간격으로 단계별로 탈수하여 Epon 812에 포매하였다. 포매된 조직은 두께 0.5 μm 의 semithin section과 70 nm의 ultrathin section을 하였다. Ultrathin section은 copper grid (200 mesh)에 올려 uranylacetate와 lead citrate 용액으로 이중염

색하여 투과전자현미경 (JEM-1200EXII, JEOL)으로 관찰하였다.

결과 및 고찰

돌돔 피부계는 외부로부터 기저막과 조직학적 특징에 의해 상피층과 진피층으로 구분할 수 있으며, 상피층은 다층구조로서 지지세포, 선세포 그리고 부속세포들로 구성된다. 지지세포는 표면층을 구성하는 표면세포 (superficial cell)와 중간층과 기저층을 구성하는 중간세포 (intermediate cell)와 기저세포 (basal cell), 선세포는 점액세포 (mucous cell)와 곤봉상 세포 (club cell), 그리고 부속세포인 염세포 (chloride cell)로 구분할 수 있다 (Figs. 1, 2).

상피층의 지지세포 가운데 가장 바깥쪽에 위치하는 표면세포 바깥쪽의 자유면에서는 다수의 미세융기 (microridge)들이 발달되어 있고, 이들 미세융기의 표면은 미세한 섬유상 막인 glycocalyx로 덮여 있다 (Fig. 3). 그리고 이들 세포 사이의 원형질막에서는 폐쇄대 (zonula occludens)와 접착대 (zonula adherens) 등의 세포간 결합구조가 관찰된다 (Fig. 4). 표면세포의 형태는 편평형 또는 입방형이고 핵은 세포질 하부에 타원형으로 존재하며 전자밀도가 낮은 미세한 염색질 과립들이 핵질 내에 흩어져 있지만 핵막 주변에서는 전자밀도가 높은 이질염색질이 존재한다. 그리고 세포질에는 골지체와 미토콘드리아를 비롯한 여러 종류의 세포소기관들이 관찰된다 (Fig. 5).

돌돔 피부계 표면세포에서 관찰되는 요철형태의 미세융기 (microridge)는 외상이나 기계적 자극에 대한 생물학적 방어 기능과 점액세포에서 분비된 점액물질을 어류의 체표에 유지시켜줌으로써 물과의 마찰력을 감소시켜 유연력을 높이는 구조로서 (Hawes, 1974), 뱀장어, *Anguilla japonica* (Park et al., 1995a), 농어, *Lateolabrax japonicus* (Lee & Kim, 1999), 베타라치, *Pholis nebulosa* (Lee et al., 2000), 문치가자미, *Limanda yokohamae* (Lee et al., 2000) 및 넙치, *Paralichthys olivaceus* (Kim et al., 2002) 등에서도 관찰되었다. 이러한 미세융기의 표면에 실모양의 glycocalyx가 덮고 있는 것은 세균, 기생충 또는 곰팡이와 같은 이물질에

대한 인지 능력에 관여한다고 보고되었다 (Park et al., 1995a).

중간세포는 표면세포층과 기저세포층의 가운데 존재하는 세포들로서 형태는 타원형에 가깝고 핵의 형태는 원형에 가깝다. 전자밀도가 낮은 미세한 염색질 파편들이 핵질 내에 흩어져 있지만, 핵막 주변에서는 전자밀도가 높은 이질염색질이 존재한다. 그리고 세포질은 수질부와 피질부로 뚜렷이 구분되는데, 수질부에는 미토콘드리아와 골지체 등의 세포소기관들이 분포하고 있으며 피질부에는 미세섬유의 발달이 현저하다. 중간세포와 중간세포 사이의 원형질막에서는 membrane interdigitation 구조가 더 뚜렷하고 부착반 (desmosome)이 잘 발달되어 있다 (Fig. 6)

기저막 바로위에 존재하는 기저세포들은 일렬로 배열되어 있고, 형태는 원주형이며, 타원형에 가까운 핵은 세포질의 상부에 위치하고 있다. 핵의 진정염색질의 전자밀도는 표면세포와 비슷하게 나타난다. 세포질은 수질부와 피질부로 뚜렷이 구분되는데, 중간세포들과 마찬가지로 수질부에는 세포소기관들이 분포하고 있으며 피질부에는 미세섬유의 발달이 현저하다. (Fig. 7)

선세포의 한 종류인 점액세포들은 H-E 염색에서 공포형태로 나타나지만 (Fig. 1), AB-PAS (pH 2.5)에서는 청색으로 반응하여 산성물질을 함유하는 것으로 나타났다 (Fig. 2). 점액세포는 장경 약 15~25 μm 의 타원형으로 세포질의 상부에는 막을 가진 전자밀도가 다양한 다수의 분비파편을 가지고 있다. 세포질의 기저부에서는 불규칙한 형태의 핵과 잘 발달된 조면소포체, 판상의 미토콘드리아 그리고 cisternae와 소낭 구조가 발달된 골지체들이 관찰된다 (Fig. 8).

돌돔 피부계 상피층의 점액세포들의 미세구조적 특징은 뱀장어 (Park et al., 1995b), 농어 (Lee & Kim, 1999), 베도라치 (Lee et al., 2000), 문치가자미 (Lee et al., 2000) 및 넙치 (Kim et al., 2002)와 일치하였다. 그리고 점액세포의 점액물질은 금붕어, *Carassius auratus* (Jeong & Moon, 1994), 뱀장어, (Park et al., 1995b), 미꾸리, *Misgurnus anguillicaudatus* (Park & Kim, 1999) 및 문치가자미, (Lee et al., 2000) 등의 경우와 마찬가지로 돌돔 역시 산성점액을 가지는 것으로 나타났다.

돌돔 피부 점액세포의 조직화학적 조성이 잘 발달되어 있는 것은 피부 점액질이 피부의 습기 유지, 호흡작

용 역할 및 유해한 환경변화로 부터 표피를 보호하여 수서환경에 적응할 수 있도록 하기 위한 조직학적 구성의 일부라고 판단된다.

곤봉상세포들은 H-E 염색 (Fig. 1)과 AB-PAS (pH 2.5)반응 (Fig. 2)에서 빈 공포형태로서 나타나며, 세포질은 균질한 물질로 채워진 동일한 결과로 관찰된다. 곤봉상 세포들은 장경 10~20 μm 의 타원형으로 세포질의 피질부는 잘 발달된 미세섬유 다발이 차지하고 있다. 세포질 상부에는 원형의 작은 공포들과 다수의 작은 공포들이 융합되어 형성되기 시작하는 두개의 커다란 공포를 관찰 할 수 있으며, 핵은 타원형으로 기저부에 위치하고 있다 (Fig. 9).

어류 피부 상피층의 곤봉상세포는 어종 및 시기에 따라 미세구조와 그 분포 정도의 차이를 보인다. 돌돔 곤봉상세포의 형태 및 구조적인 측면에서 뱀장어 (Park et al., 1995b), 농어 (Lee & Kim, 1999), 문치가자미 (Lee et al., 2000) 및 넙치 (Kim et al., 2002)의 곤봉상세포와 공통적인 특징을 보이지만, 특히 문치가자미의 미성숙 곤봉상 세포와 거의 비슷하게 관찰하였다.

어류의 체표면 점액질에 주로 곤봉상 세포에서 분비된 단백질 성분, 표층 상피세포에서 분비된 인지질 (phospholipid) 및 점액세포에서 분비된 점액성분들이 결합하여 막성구조를 형성하여 강한 극성을 가지게 됨에 따라 세균이나 곰팡이류의 침입을 막을 수 있다 (Park et al., 1995b). 뱀장어의 어린 개체 (glass eel 또는 pigment eel)가 해수에서 담수로 이동할때 이들 곤봉상세포는 수적으로 증가하고 (Leonard & Summers, 1976), 잉어가 고염분의 환경에 노출될때 역시 수적증가와 식작용 (phagocytosis)과 apoptotic 활성을 강하게 보여준다고 보고되었다 (Abraham et al., 2001). 하지만 이들 곤봉상세포는 점액세포와는 다른 차원의 방어에 중요한 역할을 담당하는 것으로 생각되므로 곤봉상세포의 활성변화에 대한 조절기작은 추후 연구되어야 할 과제이다.

부속세포로서 염세포 (chloride cell)가 관찰되는데 형태는 장방형이다. H-E 염색에서 염세포의 세포질은 점액세포의 세포질처럼 공포상으로 나타나지만 다소 불투명하다 (Fig. 1). 염세포의 형태는 장방형이며, 핵은 타원형으로 세포질의 하부에 위치하고 있다. 핵의 중심부와 핵막 주변에는 전자밀도가 높은 이질 염색질

이 존재하고 있으며, 세포질의 대부분은 크리스테가 발달된 미토콘드리아들이 차지하고 있다 (Fig. 10).

부속세포인 염세포는 어류의 아가미에서 주로 관찰되는 세포로서 해산 경골어류에서 Na^+ 와 Cl^- 을 배설하는 곳으로서 (Payan et al., 1984), 삼투조절 기능에 중요한 역할을 담당하고 있다 (Keys & Willmer, 1932). 돌돔에서 관찰된 염세포의 미세구조는 유리고기, *Kryptopterus bicirrhis* (Korte, 1979), 송사리, *Fundulus heteroclitus* (Karnaky, 1986), 문치가자미, (Lee et al., 2000) 및 넙치 (Kim et al., 2002)의 피부에서 관찰된 것과 유사하였다.

기저막 아래의 진피층은 AB-PAS (pH 2.5)에서 alcian blue에 약한 양성반응을 보인다 (Fig. 2). 색소세포들은 상피층의 기저막과 인접한 진피층에서 주로 관찰되는데, 이들은 세포질에 전자밀도가 높은 색소과립들을 함유한 종류와, 반사소판 (reflecting platelet)을 함유한 두 종류로 구분된다 (Fig. 11).

참 고 문 헌

- Abraham M, Iger Y, Zhang L: Fine structure of the skin cells of a stenohaline freshwater fish *Cyprinus carpio* exposed to diluted seawater. *Tissue and Cell* 33(1): 46-54, 2001.
- Hawkes JW: The structure of fish skin. 1. General organization. *Cell Tiss Res* 149: 147-158, 1974.
- Jeong YK, Moon MJ: Integumental secretory cells in goldfish, *Carassius auratus*. L. *Korean J Electron Microscopy* 24: 1-10, 1994.
- Karnaky KJ: Structure and function of the chloride cell of *Fundulus heteroclitus* and other teleosts. *Am Zool* 26: 209-224, 1986.
- Keys A, Willmer EN: Chloride secreting cells in the gill of fishes with special reference to the common eel. *J Physiol Lond* 76: 368-377, 1932.
- Kim JW, Chin P, Jin YG, Lee JS: Ultrastructure on the integumentary epidermis of the bastard halibut, *Paralichthys olivaceus* (Teleostei: Pleuronectidae). *Korean J Electron Microscopy* 32: 121-129, 2002.
- Korte GE: Unusual association of 'chloride cells' with another cell type in the skin of the glass catfish, *Kryptopterus bicirrhis*. *Tissue and Cell* 11: 63-68, 1979.
- Lanzing WJR, Wright RG: The ultrastructure of the skin of *Tilapia mossambica* (Peters). *Cell Tissue Res* 154: 251-264, 1974.
- 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, Kang JC, Baek HJ: Ultrastructure on the integumentary epidermis of the marbled sole, *Limanda yokohamae* (Teleostei: Pleuronectidae). *Korean J Electron Microscopy* 30: 303-310, 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.
- 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.
- Payan P, Girard JP, Mayer Gostan N: Branchial ion movements in teleosts: the roles of respiratory and chloride cells. In: Hoar WS, Randall DJ, ed, *Fish Physiology*, XB, pp. 36-63, Academic Press, New York, 1984.

<국문초록>

돌돔의 피부는 크게 상피층과 진피층으로 구분되며, 상피층은 지지세포, 선세포 및 부속세포로 구성된다. 지지세포는 표면세포, 중간세포 및 기저세포, 선세포는 점액세포와 곤봉상세포, 그리고 부속세포는 염세포가 관찰된다. 표면세포는 편평형 또는 입방형으로서 타원형의 핵을 가지고, 미세융기(microridge)들이 발달되어 있으며 glycocalyx가 관찰된다. 중간세포는 타원형에 가깝고 원형에 가까운 핵을 가진다. 기저세포는 원주형으로서 핵은 세포질의 상부에 위치한다. 점액세포는 타원형으로 세포질은 타원형의 분비과립이 대부분을 차지하며, AB-PAS (pH 2.5)에

청색으로 반응하였다. 곤봉상세포는 세포질에 많은 액포와 미세섬유다발을 관찰할 수 있다. 부속세포인 염세포는 세포질의 대부분이 미토콘드리아로 가득 채워져 있다. 색소세포는 세포질에 전자밀도가 높은 색소과립들을 함유한 종류와 반사소판을 함유한 종류로 구분된다.

FIGURE LEGENDS

- Fig. 1.** Histology of the skin of the parrot fish, *Oplegnathus fasciatus* with H-E stain. The skin consists of epidermal layer (EI) and dermal layer (DI). The section showing the stratified type of epithelium. Bm: basal membrane, Cc: club cell, Ch: chloride cell, Mc: mucous cell.
- Fig. 2.** Section of epidermal layer with AB-PAS (pH 2.5) reaction. Bm: basal membrane, Cc: club cell, Ch: chloride cell, Mc: mucous cell.
- Fig. 3.** The free surface of superficial cell. Note the microridges (Mr) and glycocalyx (Gc).
- Fig. 4.** Intercellular junction between superficial cells. Za: zonula adherens, Zo: zonula occludens.
- Fig. 5.** Superficial cell of the epidermal layer. Mf: microfilaments, Mr: microridges, Mt: mitochondria, N: nucleus.
- Fig. 6.** Intermediate cells of the epidermal layer. D: desmosome, Mi: membrane interdigitation, N: nucleus.
- Fig. 7.** Basal cell of the epidermal layer. Bm: basal membrane, Mf: microfilaments, N: nucleus.
- Fig. 8.** Mucous cell. Note the numerous membrane-bounded secretory granules (Sg).
- Fig. 9.** Club cell showing the numerous vacuole (V) in the cytoplasm.
- Fig. 10.** Chloride cell. Note the numerous mitochondria (Mt) in the cytoplasm and nucleus (N).
- Fig. 11.** Pigment cells of the dermal layer. Note the melanin granules (Mg) and reflecting platelets (Rp). Bm: basal membrane.



