

금개구리 피부 색소세포의 미세구조

金 翰 華·池 永 得·文 英 花
(가톨릭大學 醫學部 生物學教室)

The Ultrastructure of the Cutaneous Pigment Cells in
Rana nigromaculata coreana Okada

Han-Hwa Kim, Young-Duk Chi and Young-Wha Moon
(Department of Biology, Catholic Medical College)

(Received June 15, 1984)

ABSTRACT

The authors observed pigment cells in the dorsal skin of Korean frog (*Rana nigromaculata coreana* Okada) under an electron microscope. The traits of pigment cells were as follows.

The three kinds of dermal chromatophores were horizontally expanded; adjacent closely contiguous and partially overlapped with one another and there were the intercellular space between a xanthophore and an iridophore, or an iridophore and a melanophore.

1. Xanthophores: Xanthophores were filled with pterinosomes and carotenoid vesicles, the formers of which were evenly distributed in each cell. Pterinosomes were five kinds of types (type I, type II, type III, type IV and type V pterinosomes). Especially typical type II and type III pterinosomes were well observed in the cytoplasm.

2. Iridophores: Xanthophores were closely contiguous to the xanthophore situated above and they were filled with reflective platelets. Mostly these platelets are arranged regularly, that is, in parallel with the surface of skin, but partly, nonparallel.

3. Melanophores: Melanophores were filled with melanin granules, each of which revealed the same electron density. The processes of melanophore extended to bilateral sides of iridophores and melanin granules were dispersed especially in the processes.

* 이 논문의 연구는 1983년도 문교부학술연구조성비 및 가톨릭중앙의료원 학술연구조성비로 이루어 진 것임.

서 론

양서류의 진피내 색소보유세포단위 (dermal chromatophore unit)는 대황세포 (xanthopore), iridophore 및 멜라닌보유세포 (melanophore)로 구성되었으며, 이러한 색소보유세포들은 그들의 색소나 구조, 홀몬에 대한 반응 그리고 생화학적 성질들에 의하여 외부환경에 적응하거나 적으로부터의 방어기작인 보호색을 나타낸다 (Dushane, 1935; Parker, 1948; Bagnara et al., 1968; Taylor and Bagnara, 1972; Ide and Hama, 1976; Schwalm and McNulty, 1980; Kim et al., 1983).

진피내 색소보유세포 중 대황세포는 pterinosomes와 carotenoid vesicles의 색소세포소기관으로 채워져 있었으며, 그중 pterinosomes은 소낭속의 섬유물질 (fibrous materials)과 lamellae층 및 내용물질의 전자밀도의 강등도에 따라 2가지 형의 pterinosomes, 3가지 형의 pterinosomes 및 6가지 형의 pterinosomes로 구분하였다 (Yasutomi and Hama, 1972; Nishioka and Ueda, 1977; Kim et al., 1981; 1983). 대황세포와 평행하게 인접한 iridophore는 장방형 또는 방추형의 reflectosome이라고도하는 reflective platelets의 색소세포소기관으로 채워져 있었고, 분류위치나 생리학적 작용에 있어서 iridophore와 밀접한 연관성이 있는 멜라닌보유세포는 멜라닌을 함유하는 멜라닌파립이 세포질 내에 채워져 있다고 밝혀졌다 (Taylor, 1971; Taylor and Bagnara, 1972; Menter et al., 1978; Butman et al., 1979).

보호색의 발현기진은 각 색소보유세포에 대한 호르몬의 효과에 의해 조절된다. 즉 멜라닌보유세포와 iridophore는 명백하게 형태적으로나 근본적 생리작용에 있어서 구별이 되지만, MSH나 ACTH호르몬은 멜라닌보유세포의 멜라닌파립을 분산시키고 iridophore의 reflective platelets를 집합시킴으로서 피부를 어둡게 하고, epinephrine이나 acetylcholine은 반대로 작용하게 하여 피부를 밝게한다고 보고되었다 (Bagnara and Hadley, 1969).

지금까지 냉혈척추동물 보호색의 발현기작에 대하여 각 색소보유세포들을 대상으로, 여러 실험방법을 이용하여 형태적, 생리학적, 생화학적 및 내분비학적으로 연구되었다 (Dushane, 1935; Yasutomi and Hama, 1972; Ide, 1973; Ide and Hama, 1976; Bagnara et al., 1978; Bowers and Carver, 1978; Butman et al., 1979; Ide and Bagnara, 1980). 그러나 주로 국내에만 서식하는 양서류에 대한 연구로는 도통농, 무당개구리 및 통변기개구리를 재료로 하여 색소보유세포의 미세구조가 밝혀졌을 뿐이다 (Kim et al., 1981; 1983; Moon et al., 1983). 그러므로 본 연구는 한국특산종으로 국내에만 서식하며, 배부피부 색갈이 특이하게 노란색을 띤 녹색으로 외부환경에 적응하고 있는 금개구리 (*Rana nigromaculata coreana* Okada)를 재료로 하여 각 피부 색소보유세포의 미세구조를 규명하고자 시행하였다.

재료 및 방법

본 연구에 사용된 동물은 경기도 금촌과 문산에서 채집된 금개구리 (*Rana nigromaculata coreana* Okada)로서, 환경의 통일을 위하여 암실 사육조에서 1일간 사육한 후에 재료로 사용하였다.

실험방법으로는 이들 배부 피부조직을 pH 7.2에서 0.1 M phosphate액과 2% osmium

tetroxide액에 전후 고정하여 각급 ethanol과 acetone으로 탈수한 후 Epon 812 mixture에 포매하여 35°C 45°C 및 60°C에서 중합시켰다. 포매된 조직은 LKB-ultramacrotome으로 초박절 표본을 만들어 uranyl acetate와 lead citrate으로 염색하여 Jeol-100B형 전자현미경으로 관찰하였다.

결 과

금개구리 피부 색소보유세포는 기저막 아래에 대황세포, iridophore 및 멜라닌보유 세포의 순으로 배열되었다. 대황세포는 pterinosomes와 carotenoid vesicles, iridophore는 reflective platelets, 그리고 멜라닌보유세포는 멜라닌 과립들로 채워져 있었다 (Fig. 1).

대황세포: 대황세포는 기저막을 따라 진피속에 위치하였다. 대황세포의 pterinosomes은 크고 작은 원형내지 타원형이며 (Fig. 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7), 이 pterinosomes은 소낭속의 내용물질에 따라 5가지 형으로 구분되었다. 제 1형 pterinosomes은 소낭속에 내용물이 없고 한계막만이 있는 형태 (Fig. 1), 제 2형 pterinosomes은 소낭속에 섬유기질이 산재해 있는 형태 (Fig. 2, 3, 4), 제 3형 pterinosomes은 소낭속에 소수의 lamellae층을 형성하고 있는 형태 (Fig. 6), 제 4형 pterinosomes은 소낭속에 여러개의 lamellae층을 형성하여 집중적으로 둘러싸고 있는 형태 (Fig. 5, 7), 및 제 5형 pterinosomes은 소낭속에 강등도의 전자밀도를 가진 core를 형성하여 halo 모양을 나타내는 형태가 관찰되었다 (Fig. 6, 7).

위의 구분된 형태에 따라 대황세포는 각기 다른 종류의 pterinosomes으로 채워져 있었다. 대부분 제 1형 pterinosomes으로 된 대황세포 (Fig. 1), 제 2형의 pterinosomes으로 된 대황세포 (Fig. 2), 제 2형과 제 3형 및 제 5형 pterinosomes으로 구성된 대황세포 (Fig. 6)들이 관찰되었다. 이와같이 제 1형, 제 2형, 제 3형 및 제 4형 pterinosomes은 잘 발달되었지만, 제 5형 pterinosomes은 전형적인 소낭구조를 나타내지 않았다.

대황세포의 표면에는 긴 미용모 (microvilli)들이 발달하였으며 (Fig. 6, 7, 8, 9), 대황세포와 대황세포 사이, 대황세포와 iridophore 사이의 intercellular space에서 미용모들은 서로 interdigititation하였고, 특히 대황세포와 iridophore 사이의 intercellular space는 매우 넓으며, 많은 미용모들이 발달하였다 (Fig. 8, 9), Carotenoid vesicles은 작은 원형내지 타원형이며, pterinosome들 사이에 산재된 carotenoid vesicles과 pterinosomes사이의 공간에 영기어 밀접되어 있는 carotenoid vesicles이 관찰되었다 (Fig. 5, 6).

Iridophore: 이 세포의 핵은 중심부 아래에 위치하였고 핵 양측면에는 reflective platelets들로 채워져 있었다 (Fig. 8, 9, 10, 11). 이 reflective platelets은 장방형, 타원형, 방추형 및 다각형이며, 사이의 공간없이 그물망으로 배열되었다 (Fig. 10). Reflective platelets는 서로 같은 방향으로 배열되었으며, 일부분은 이 평행부위와 수직 또는 경사방향으로 배열되었다 (Fig. 8, 9, 10, 11). 2개의 iridophore 사이의 intercellular space에는 iridophore의 미용모가 서로 interdigititation하였고, 이들 세포의 기저부에도 작은 미용모가 관찰되었다 (Fig. 11).

멜라닌보유세포: 멜라닌과립들은 작은 원형내지 타원형으로 멜라닌보유세포에 채워져 있었으며, 이 세포의 돌기도 관찰되었다 (Fig. 10, 12). 멜라닌보유세포의 돌기 속에는 멜라닌과립이 드문드문 산재하였으며, 이 세포 돌기의 가장자리 표면에도 긴 미용모가 관찰되었다 (Fig. 10, 12).

고 찰

양서류는 3종류의 진피내 색소보유세포로 구성되었고, 이들 색소보유세포의 빠른 체색변화는 형태적, 생리적 및 생화학적 측면에서 기술되었다 (Parker, 1948; Wright and Lerner, 1960; Bagnara *et al.*, 1968; Taylor, 1971; Taylor and Bagnara, 1972; Nishioka and Ueda, 1977; Bowers and Carver, 1978).

본 실험에서 금개구리 색소보유세포는 진피속에서 대황세포 iridophore 및 멜라닌보유세포 순으로 배열되어 있었다. 그 중 대황세포는 비교적 큰 pterinosomes과 carotenoid vesicles를 포함하고 있었다. Pterinosomes은 소낭속의 섬유물질과 lamellae층 및 내용물의 강등도에 따라, Yasutomi와 Hama (1972)는 제 1형과 제 2형, Nishioka와 Ueda (1977)은 제 1형 제 2형 및 제 3형, Kim 등 (1981, 1983)은 제 1형, 제 2형, 제 3형, 제 4형, 제 5형 및 제 6형 pterinosomes으로 구분하였는데, 금개구리를 재료로 한 본 연구에서는 제 1형에서 제 5형 pterinosomes까지 구분되었다. 또한 금개구리의 대황세포들은 제 1형, 제 2형 및 제 3형 pterinosomes만으로 구성된 대황세포, 제 2형, 제 3형, 제 4형 및 제 5형 pterinosomes이 세포질에 산재해 있는 대황세포로 구분할 수 있었다. 그중 제 5형 pterinosomes은 전자밀도가 낮고 작은 중심부 (core)로 형성되었으며, 특히 도통놓이나 동면기 개구리에서 본인들이 관찰한 바 있었던 제 6형 pterinosomes (Kim *et al.*, 1981; 1983)은 관찰되지 않았다. 이와같이 각 세포에 따라 pterinosomes 소낭속의 구조물이 침착되는 정도의 차이는 pterinosomes 성숙단계에 따른 색소축적으로 인한 농도의 차이에 기인한다고 사료된다. 그러나 전형적인 제 5형 pterinosomes에서 보다 낮은 전자밀도의 core가 출현하였고, 특히 제 6형 pterinosomes이 관찰되지 않은 것은 Berns와 Narayan (1970)가 *Rana nigromaculata*와 *Rana clamitans*에서 보고한 것과 같이 미약한 색소침착으로 인한 금개구리 배부과부색갈의 얇은색갈발현과 밀접한 연관성이 있다고 생각된다.

양서류에서 색소보유세포 주위에서 피부선 상피세포사이의 intercellular spaces가 발달된 것과 같이 (Farquhar and Palade, 1965; Brodie, 1968; Dapson, 1970; Lutz, 1971), 대황세포들 사이의 intercellular space, 대황세포와 iridophore사이의 intercellular space 및 iridophore와 멜라닌보유세포사이의 intercellular space에 미용모가 발달된 것은 진피 색소보유세포들 사이에 서로 밀접한 연관관계가 있고, 특히 결합조직 속에서 밀접한 형태를 유지하면서 전해질 평형에 중요한 기능을 할 수 있다고 생각한다.

Iridophore의 세포질은 reflective platelets로 채워져 있고, reflective platelets는 여러 방향으로 위치하였다. 이 사실은 Taylor (1971) 그리고 Nishioka와 Ueda (1977)가 보고한 것과 같이 reflective platelets가 빛 반사작용으로 피부표면을 밝게하는 원인이 될 수 있고, 여러 방향으로 reflective platelets가 있는 것은 빛 반사면을 넓히기 위한 것으로 사료된다.

멜라닌보유세포는 멜라닌파립으로 채워져 있으며, 멜라닌보유세포의 돌기 속에도 멜라닌파립이 산재해 있는 것으로 보아 외부환경에 따라 멜라닌파립이 확산되고 집중되는 이동기전을 나타낸다고 보고하였다 (Dushane, 1935; Wright and Lerner, 1960; Bagnara *et al.*, 1968). 본 실험의 금개구리에서도 멜라닌파립이 멜라닌보유세포 돌기 속에 있지만, iridophore 아래에 위치한 멜라닌보유세포돌기 속에는 비교적 적은 멜라닌파립이 일부 산재해 있

었다. 이러한 사실은 미발달된 멜라닌보유세포 둘기 속으로 멜라닌파립의 이동기전이 미약하기 때문이라고 생각된다.

이상 3종류의 색소보유세포 중 대황세포에는 제 1형, 제 2형, 제 3형 및 제 4형 pterinosomes이 발달하였고, iridophore에는 reflective platelets가 발달되었지만, 멜라닌보유세포에는 멜라닌파립을 가진 멜라닌보유세포 둘기가 미발달되었으므로 금개구리가 검은 반점이 없는 피부색을 나타낸다고 사료된다.

요 약

금개구리 (*Rana nigromaculata coreana* Okada) 배부피부의 색소보유세포를 전자현미경으로 관찰하였다. 3종류의 진피 색소보유세포는 서로 평행으로 위치하였으며, 그들 세포들 사이의 intercellular space에 의하여 인접되었다. 각 색소보유세포의 특징은 다음과 같다.

1. 대황세포 : 대황세포들은 서로 밀접하게 접하여 있었다. 그들 세포는 pterinosomes과 carotenoid vesicles로 채워져 있었으며, 그중 pterinosomes은 5가지 형태로 구분되었고 (제 1형, 제 2형, 제 3형, 제 4형 및 제 5형 pterinosomes), 특히 전형적인 제 2형과 제 3형 pterinosomes이 발달되었다.

2. Iridophore: 들은 위에 위치한 대황세포와 인접하였고, 그들은 iridophore reflective platelets로 채워져 있었으며, 이 reflective platelets는 대개 평행하게 배열되었으나, 일부분은 이 평행면과 다른 방향으로 위치하였다.

3. 멜라닌보유세포 : 멜라닌보유세포는 멜라닌파립으로 채워져 있었으며, 이 파립들은 같은 전자밀도를 나타내었다. 멜라닌보유세포의 둘기는 iridophore 양 측면으로 뻗어 있었고, 이 둘기속의 멜라닌파립은 드문드문 분산되어 관찰되었다.

REFERENCES

- Bagnara, J.T., J.D. Taylor and M.E. Hardly, 1968. Dermal chromatophore unit. *J. Cell Biol.* 38: 67-79.
- Bagnara, J.T. and M.E. Hadley. 1969. The control of bright colored pigment cells of fishes and amphibians. *Am. Zoologist* 9:465-478.
- Bagnara, J.T., W. Ferris, W.A. Turner and J.D. Taylor, 1978. Melanophore differentiation in leaf frogs. *Develop. Biol.* 64:149-163.
- Berns M.W. and K.S. Narayan, 1970. An histochemical and ultrastructural analysis of the dermal chromatophores of the variant rannid blue frog. *J. Morph.* 132:169-180.
- Bowers, R.R. and V.H. Carver, 1978. Ultrastructural study of the cutaneous pigment cells of wild-type and albinistic bullfrog, *Rana catesbeiana*. *J. Ultrast. Res.* 64:388-397.
- Brodie, E.D., 1968. Investigations on the skin toxin of the adult rough skinned newt, *Taricha granulosa*. *Copeia* 2:307-313.
- Butman, B.T., M. Obida, T.T. Tchen and J.D. Taylor, 1979. Hormone-induced pigment translocations in amphibian dermal iridophore, *in vitro*: Changes in cell shape. *J. Exp. Zool.* 208:17-34.
- Dapson, R.W., 1970. Histochemistry of mucin in the frog, *Rana pipiens*. *Anat. Rec.* 166:615-626.

- Dushane, G.P., 1935. An experimental study of the origin of pigment cells in amphibia. *J. Exp. Zool.* 72:1-30.
- Farquhar, M.G. and G.E. Palade, 1965. Cell junctions in amphibian skin. *J. Cell. Biol.* 26:263-291.
- Ide, H., 1973. Effects of ACTH on melanophores and iridophores isolated from bullfrog tadpoles. *Gen. Comp. Endocrinol.* 21:390-397.
- Ide, H. and J.T. Bagnara, 1980. The differentiation of leaf frog melanophores in culture. *Cell Differentiation* 9:51-61.
- Ide, H. and T. Hama, 1976. Transformation of amphibian iridophore in colonial culture. *Develop. Biol.* 53:297-302.
- Kim, H.H., Y.D. Chi and Y.W. Moon, 1983. The ultrastructure of the cutaneous pigment cells in the frog, *Rana nigromaculata Hallowell*, during hibernating phases. *Korean J. Zool.* 26:271-282.
- Kim, H.H., Y.T. Noh, Y.D. Chi and Y.W. Moon, 1981. The ultrastructure of the cutaneous pigment cells in the amphibia. *Korean J. Zool.* 24:133-144.
- Lutz, B., 1971. Venomous toads and frogs. In: venomous animal and their venoms. (W. Bucherl and E.E. Buckley, editors) Academic Press, New York 2:423-473.
- Menter, D.G., M. Obika, T.T. Tchen and J.D. Taylor, 1978. Leucophores and iridophores of *Fundulus heteroclitus*: Biophysical and ultrastructural properties. *J. Morph.* 160:103-120.
- Moon, M.J., J.H. Kim, W.K. Kim and C.W. Kim, 1983. The ultrastructure of the cutaneous pigment cells in *Bombina orientalis*. *Korean J. Electron Microscopy* 13:12-22.
- Nishioka, M. and H. Ueda, 1977. An electron-microscopic study on six kinds of color variants induced by radiation in *Rana nigromaculata*. *Sci. Rep. Lap. Amphibian Biol. Hiroshima Univ.* 2:91-101.
- Parker, G.H., 1948. Animal colour changes in vertebrates. 5. Colour changes in amphibia. Animal colour changes and their neurohumours. Cambridge Univ. Press, London 176-208.
- Schwalm, P.A. and J.A. Menulty, 1980. The morphology of dermal chromatophores in infrared reflecting glass-frog, *Centrolenella fleischmanni*. *J. Morph.* 163:37-40.
- Taylor, J.D., 1971. The presence of reflecting platelets in integumental melanophores of the frog, *Hyla arenicolor*. *J. Ultrastruct. Res.* 35:532-540.
- Taylor, J.D. and J.T. Bagnara, 1972. Dermal chromatophores. *Am. Zoologist*. 12:43-62.
- Wright, M.M. and A.B. Lerner, 1960. On movement of pigment granules in frog melanocytes. *Endocrinol.* 12:43-62.
- Yasutomi, M. and T. Hama, 1972. Electron microscopic study on the xanthophore differentiation in *Xenopus laevis*, with special reference to their pterinosomes. *J. Ultrastruct. Res.* 38:421-432.

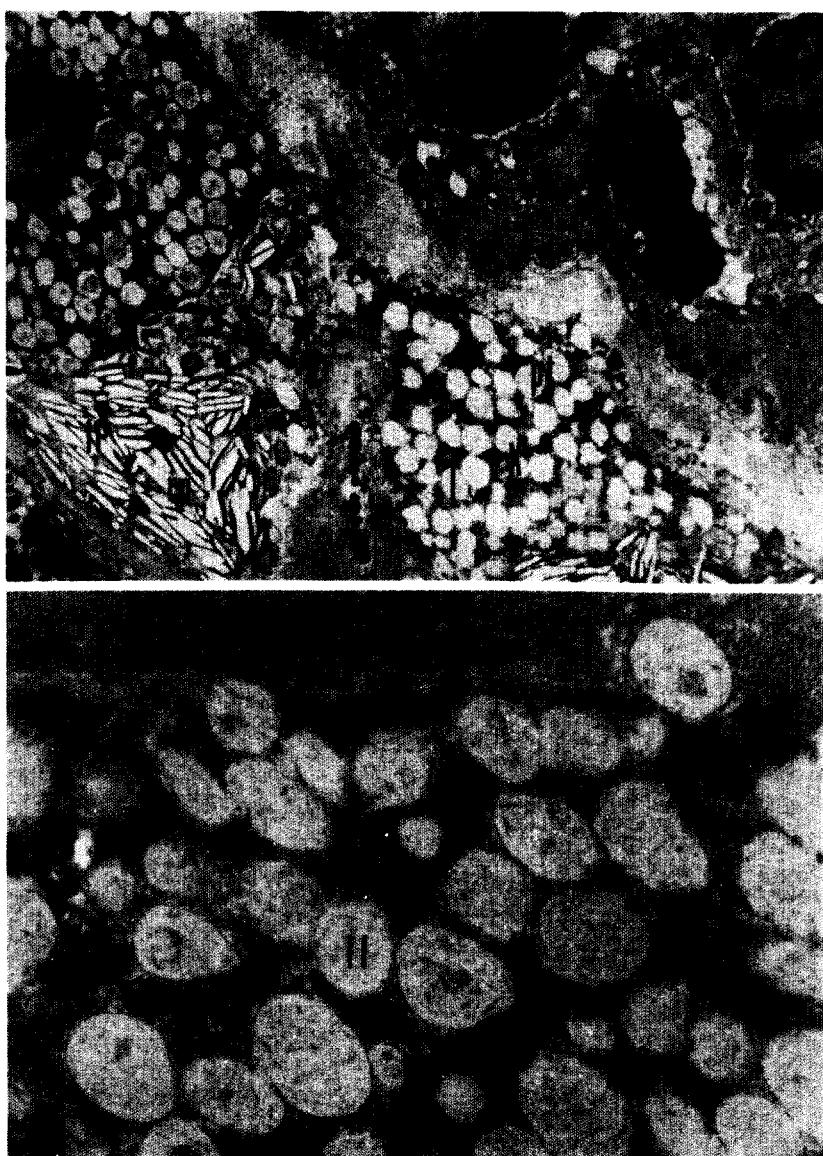


Fig. 1. Three kinds of chromatophores. Xanthophores (X) are filled with pterinosomes (pt) and carotenoid vesicles (cv), iridophores (IP) with reflective platelets (rp) and melanophores with melanin granules (mg). $\times 7,300$.

Fig. 2. Portion of a xanthophore. Type II pterinosomes (II) are well observed. Carotenoid vesicles (cv) are dispersed among the pterinosomes. $\times 22,000$.

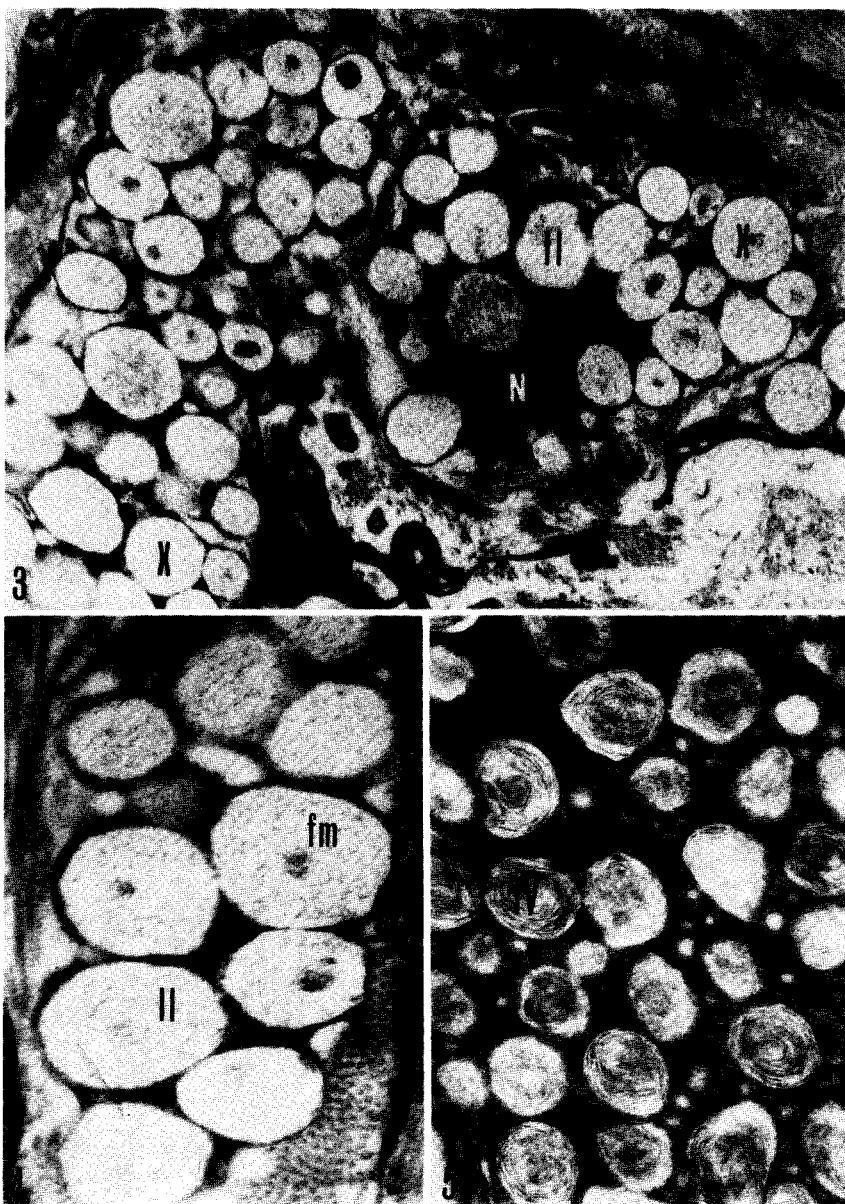
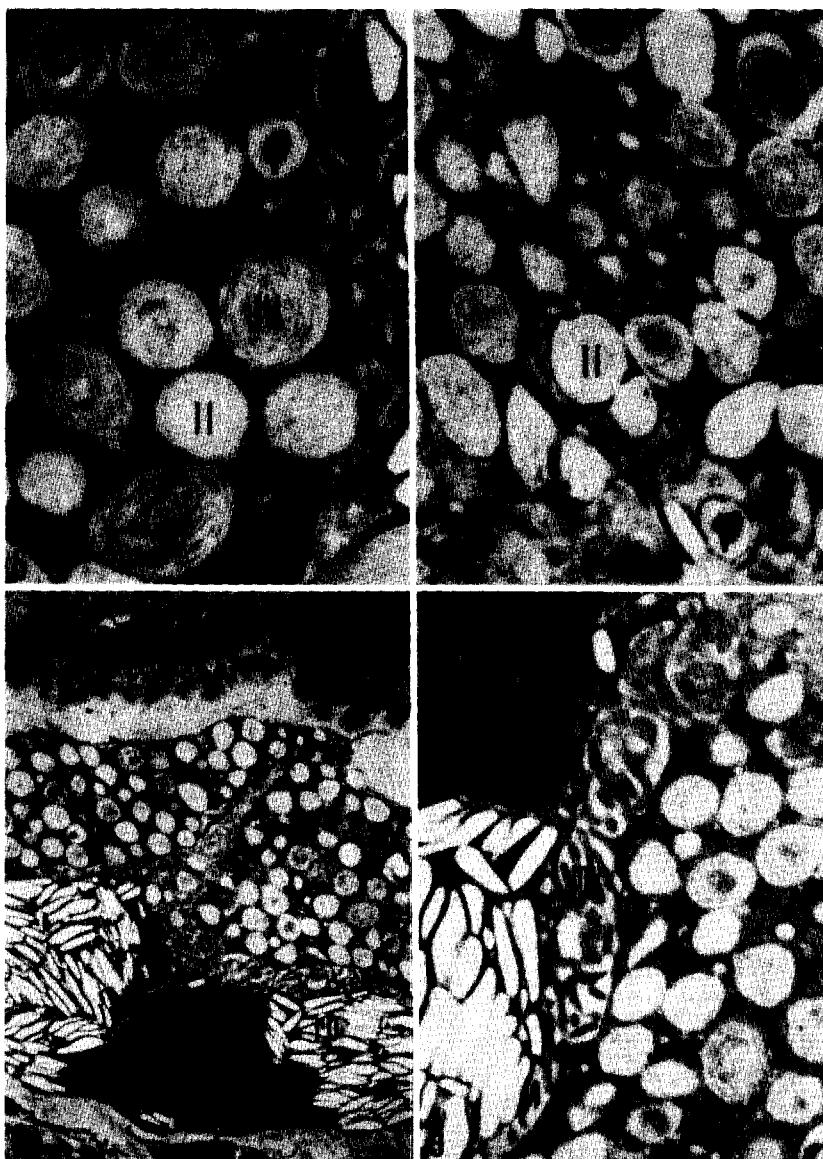


Fig. 3. Portions of two xanthophores (X). A nucleus (N) of a xanthophore is situated in the basal region of that cell. The perinuclear portion is surrounded with type II pterinosomes (II). $\times 14,700$.

Fig. 4. Portion of a xanthophore. Fibrous materials (fm) in type II pterinosomes (II) are well observed. $\times 24,000$.

Fig. 5. Portion of a xanthophore. A xanthophore is filled with type IV pterinosomes (IV) and carotenoid vesicles (cv). $\times 18,000$.



- Fig. 6.** Portion of a xanthophore. Type II (II), type III (III) and type V pterinosomes (V) are shown in the cytoplasm. Carotenoid vesicles (cv) are distributed among pterinosomes. $\times 25,000$.
- Fig. 7.** Portion of a xanthophore. Type II (II), type IV (IV) and type V pterinosomes (V) are dispersed in the cytoplasm. $\times 17,400$.
- Fig. 8.** Two xanthophores and an iridophore. Bilateral sides of nucleus (N) of an iridophore are filled with reflective platelets (rp). $\times 6,600$.
- Fig. 9.** Portions of a xanthophore and an iridophore. Many microvilli (mv) of an iridophore and a xanthophore are well observed in intercellular spaces. $\times 13,000$.

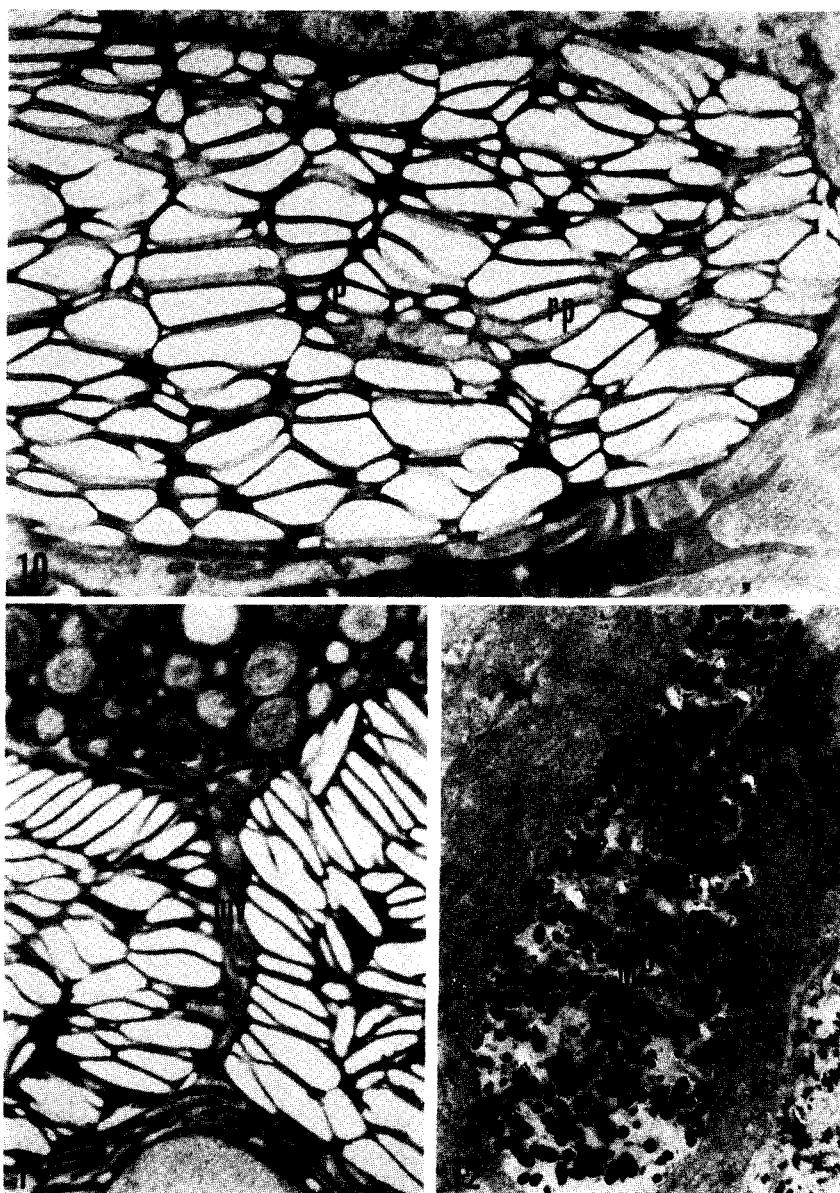


Fig. 10. Portion of an iridophore. An iridophore (IP) is filled with reflective platelets (rp), these are arranged irregularly. A processes (p) of a melanophore is situated under an iridophore. $\times 15,000$.

Fig. 11. Portions of a xanthophore and two iridophores. Microvilli (mv) of iridophores are well developed in intercellular spaces. A few microvilli (mv) in the basal regions of a xanthophore are shown. $\times 14,000$.

Fig. 12. A melanophore (MP) in the dermis. A melanophore is filled with melanin granules (mg). These granules show the same electron density. $\times 7,500$.