

## 꼬막(*Tegillarca granosa*) 외투막의 미세구조

마경화 · 이정식\*

여수대학교 수산해양대학 수산생명의학과

### Mantle Ultrastructure of the Granular Ark, *Tegillarca granosa* (Bivalvia: Acridae)

Kyung Hwa MA and Jung Sick LEE\*

Department of Aqualife Medicine, College of Fisheries and Ocean Science, Yosu National University, Yosu 550-749, Korea

Histochemical characteristic and ultrastructure of the mantle of the granular ark, *Tegillarca granosa* are described using light and electron microscopy. The mantle of the clam is composed of outer epidermis, connective tissue and inner epidermis. The simple epidermis consists of supporting cells, ciliated cells of the two types and secretory cells of three types. Connective tissue is composed of matrix, collagen fibers, muscular fibers and hemolymph sinus. The columnar supporting cell is covered with microvilli on the free surface. Ciliated cells are distributed in the inner epidermis with numerous cilia, microvilli and tubular mitochondria. Secretory cells could be classified into three types (A, B and C) with morphological features of the secretory granules. Type A secretory cells contains secretory granules with fibrous materials of high electron density. Type B secretory cells are more abundant than the other cells, and contains secretory granules of membrane-bounded and high electron density. Secretory granules of the type C cells are divided into fibrous core layer and homogeneous peripheral layer. Type B secretory cells are abundant in the both epidermis of marginal mantle, while large number of type A and C secretory cells are evident in the outer epidermis of the central and umbonal mantle. This result showed that the outer and the inner epidermis of the mantle are related with shell formation and cleaning of the mantle cavity, respectively.

Key words: *Tegillarca granosa*, Mantle epidermis, Secretory cell, Ultrastructure

#### 서 론

조개류에서 패각은 외부자극에 대한 일차적인 보호반응을 수행하는 반면, 외투막은 외부의 자극에 생물학적으로 처음 반응하는 기관계로서 자극을 외투강 기관계와 내장 기관계에 전달함과 동시에 외투강내의 모든 기관계를 이차적으로 보호하는 구조이다. 외투막 상피층을 구성하는 세포들은 패각형성물질의 분비와 함께 물질수송, 외투강 내 이 물질 제거, 그리고 영양물 축적 기능을 가지며 아울러 외부자극에 방어하기 위해 점액을 분비한다 (Beverlander and Nakahara, 1967; Neff, 1972b; Prezant, 1985; Wilbur, 1985; Kraeuter and Castagna, 2001).

조개류의 외투막 구조 및 선세포의 종류는 종에 따라 다양하며 (Bubel, 1973, 1984; Morrison, 1993; Garcia-Gasca et al., 1994; Lee, 2002), 특히 외투막을 구성하는 세포들은 수계의 다양한 환경요인의 변화에 대하여 신속하게 반응함으로써 이들 세포의 동향 파악은 개체의 생리적인 상황을 파악할 수 있다 (Neff, 1972a; Bubel, 1984; Morrison, 1993).

본 연구는 우리나라 유용패류의 하나인 꼬막, *Tegillarca granosa*의 외투막 상피층을 구성하는 세포의 종류와 이들의 미세구조 및 조직화학적 특징을 기술하였다.

#### 재료 및 방법

본 연구에 사용된 꼬막, *Tegillarca granosa*은 전라남도 보성군 벌교읍 장도해협에서 채집한 각장 3.5 cm 내외의 성체들이다. 해부 후 패각 가장자리 부위 (marginal zone)와 내장 낭을 덮고 있는 가운데 부위 (central zone) 그리고 각정 부위 (umbonal zone)의 외투막을 절취하여 각각 고정하였다.

광학현미경 표본제작은 재료를 Bouin's fluid에 일정시간 고정한 후 paraffin 절편법으로 두께 4 μm의 연속 절편을 제작하여 Mayer's hematoxylin과 0.5% eosin (H-E) 비교염색, Mallory 삼중염색, periodic acid-Schiff's solution (PAS) 반응, alcian blue-periodic acid-Schiff's solution (AB-PAS, pH 2.5) 반응 그리고 aldehyde fuchsin-alcian blue (AF-AB) 반응을 실시하였다.

투과전자현미경 (TEM) 조직표본 제작은 2.5% glutaraldehyde (phosphate buffer, pH 7.5) 용액으로 전 고정하였으며, 1% osmium tetroxide (OsO<sub>4</sub>)로 후 고정한 다음 0.1 M phosphate buffer로 세척하고 ethanol로 단계별 탈수하여 포매하였다. 그리고 semithin section 후 두께 70 nm의 ultrathin section을 uranylacetate와 lead citrate 용액으로 이중염색하여 TEM (JEM-1200EX II, JEOL)으로 관찰하였다.

조직표본의 조직화학적 반응 후 점액세포의 염색친화도 판정은 Pantone<sup>®</sup> Formula Guide (Pantone Inc., USA)를 기준

\*Corresponding author: ljs@yosu.ac.kr

으로 하였다.

**결과 및 고찰**

꼬막, *Tegillarca granosa*의 외투막은 한 쌍으로 각각 패각과 내장낭 사이에 위치하며, 패각 가장자리 부분을 제외하고는 전체가 얇은 막의 형태였다. 횡단면은 가운데 결합조직층(connective tissue layer)을 중심으로 패각 쪽의 바깥 상피층(outer epidermis)과 외투강 쪽의 안쪽 상피층(inner epidermis)이 위아래를 덮고 있는 구조였다 (Fig. 1, A). 상피층은 단층이었으며, 두께는 가장자리에서 가장 두껍고 중앙부와 각정부에서는 유사하게 나타났다. 바깥 상피층의 정단면에서 선조연(striated border)의 발달을 관찰하기는 어려웠으나 (Fig. 1, B) 안쪽 상피층에서는 발달된 선조연을 관찰할 수 있었다 (Fig. 1, A).

연체동물의 피부계에 해당하는 구조 가운데 하나인 외투막의 상피층은 기저막 위에 놓인 한 층의 세포층으로 얇은 결합조직층에 의해 지지되며, 상피층을 구성하는 주된 세 가지 세포 종류는 상피세포, 섬모세포, 선세포이다 (Bubel, 1984). 이매패류 가운데 *Mercenaria mercenaria* (Neff, 1972a), 진주담치, *Mytilus edulis*와 *Cardium edulis* (Bubel, 1973), 버지니아굴, *Crassostrea virginica* (Morrison, 1993) 그리고 피조개, *Scapharca broughtonii* (Lee, 2002)의 외투막은 가운데 결합조직층을 상피층이 위 아래로 덮고 있는 구조이며, 상피층은 단층으로 상피세포, 섬모세포 및 분비세포들로 구성되어 있

다. 그리고 외투막과 외투막 상피층의 두께는 진주담치, *C. edulis*, *Nucula sulcata* (Bubel, 1973)와 피조개 (Lee, 2002)에서 패각의 주변부에서 중앙부위로 가면서 차츰 감소하는 경향을 보인다. 따라서 본 연구 결과 꼬막 외투막의 전체적인 구조와 상피층의 구성은 앞서 보고된 이매패류의 외투막과 유사한 것으로 확인되었다.

꼬막의 외투막 상피층을 구성하는 세포들은 투과전자현미경 관찰 결과 지지세포, 섬모세포, 분비세포로 구분 할 수 있었다. 지지세포들은 각정부에서는 입방형에 가까웠으나 (Fig. 2, A), 중앙부나 가장자리에서는 원주형으로 (Fig. 2, B) 이들의 높이는 부위별로 다소 차이를 보였다. 지지세포의 자유면에서는 미세융모(microvilli)의 발달이 뚜렷하였으며, 이웃하고 있는 세포들과는 상부측면에 부착띠(zonula adherens)로 연결되어 있었다. 핵은 원형에 가까우며, 핵 내부에서는 이형염색질(heterochromatin)의 발달을 관찰할 수 있었다. 세포질에는 미세섬유와 여러 종류의 세포소기관들이 발달되어 있었는데, 특히 미토콘드리아의 발달이 두드러지게 나타났다 (Figs. 2, A and B).

이매패류에서 외투막은 주로 점액의 분비, 외투강의 정화 및 패각형성에 관여 하지만, 이들 외투막을 구성하는 세포의 종류와 미세구조는 종과 부위에 따라 다양한데 (Kawaguti and Ikemoto, 1962a, b; Saleuddin, 1974; Morrison, 1993), 이러한 구조적 차이는 이들 세포의 조직화학적 특성의 차이를 나타내며, 부위에 따라서 상피층의 두께가 다른 것은 물질의

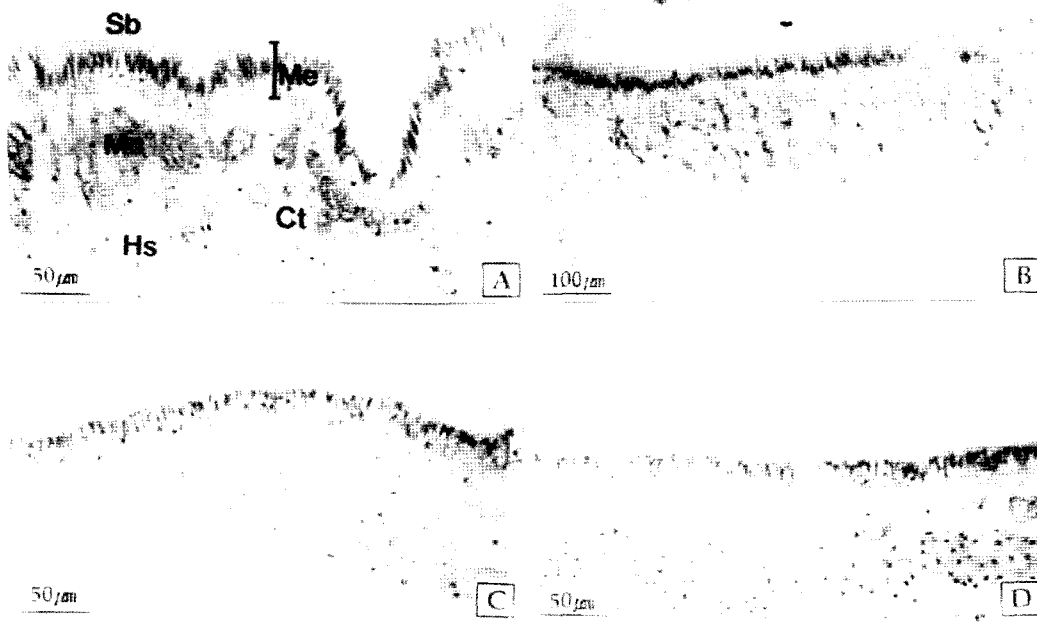


Fig. 1. Histology of the mantle in the granular ark, *Tegillarca granosa*. A: Cross section of the marginal mantle showing the inner epidermis and connective tissue (Ct). Notice the numerous mucous cells (Mc) of alcian blue positive. B: Outer epidermis of the marginal mantle contains numerous mucous cells of PAS positive. C: Inner epidermis of the central mantle contains some mucous cells of alcian blue positive. D: Inner epidermis of the umbonal mantle contains some mucous cells of alcian blue positive. Hs, hemolymph sinus; Me, mantle epidermis; Sb, striated border.

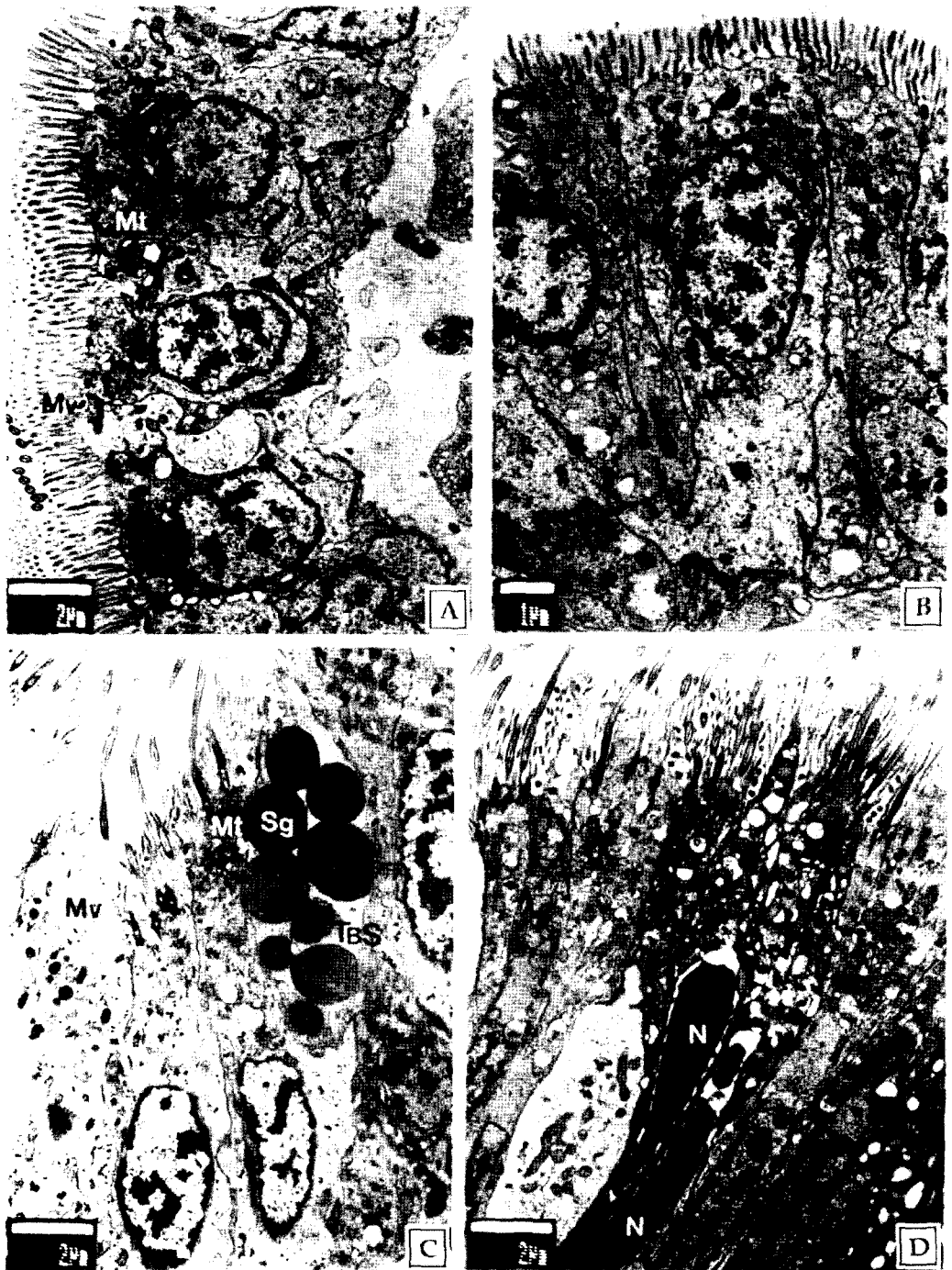


Fig. 2. Ultrastructure of the mantle epidermis in the granular ark, *Tegillarca granosa*. A: Cuboidal supporting cells of the umbonal and central mantle. Notice the microvilli (Mv) on the free surface. B: Columnar supporting cells in the marginal mantle. C: Inner epidermis of the central mantle. Notice the ciliated cells with low electron density and oval nucleus. D: Inner epidermis of the central mantle. Notice the ciliated cells with high electron density and elliptical nucleus. C, cilia; Mt, mitochondria; N, nucleus; Sg, secretory granules; TBS, type B secretory cell; Za, zonula adherens.

분비활성과 연관된다 (Beedham, 1958).

꼬막의 외투막 상피층에서는 두 종류의 섬모세포가 구분되었는데, 이들은 공통적으로 키 작은 원주형 세포로 정단면에

섬모와 미세융모들을 가지고 있었다. 섬모세포 가운데 한 종류는 핵은 타원형으로 세포의 기저부에 위치하며, 원형에 가깝고, 진정염색질 (euchromatin)과 이형염색질의 구분이 뚜

렸하였으며, 세포질 상부에는 다수의 발달된 미토콘드리아를 가지고 있었다 (Fig. 2, C). 다른 한 종류의 섬모세포들은 가늘고 긴 원주형으로 장방형의 핵을 가지며, 핵과 세포질의 전체적인 전자밀도는 다른 종류의 섬모세포 보다 매우 높았다 (Fig. 2, D). 이들 세포의 세포질에서는 골지체와 글리코겐 과립들이 발달되어 있었다 (Fig. 3, A).

외투막 상피층의 섬모세포들에 관해서는 진주담치, *C. edulis*, *N. sulcata* (Bubel, 1973), 버지니아굴 (Morrison, 1993), *Fabulina nitidula* (Kawaguti and Ikemoto, 1962a) 그리고 피조개 (Lee, 2002)에서도 보고되었으며, 이들은 세포질 상부에 발달된 다수의 미토콘드리아를 가지는데, 이와 같은 미토콘드리아의 발달은 이들 세포들의 섬모가 감각모 또는 운동모 (kinocilia)로서 기능을 하는데 필요한 에너지를 공급하기 위한 것으로 판단된다.

꼬막 외투막 상피층에서 분비세포들은 주로 상피세포층의 지지세포들 사이에서부터 결합조직층까지 발달되어 위치한다. 분비세포는 주로 분비과립의 특징에 따라 A, B, C 세 종류로 나눌 수 있었는데, 이들 분비세포는 모두 단세포선이었으며, 세포사나 세포성분이 분비내강에서 관찰되지 않았다. A형 분비세포는 삼각형에 가까운 핵을 가지며 (Fig. 3, D), 막을 가진 분비과립 내에서는 전자밀도가 높은 섬유상 물질들이 관찰되었다. 이들 분비세포들은 다른 두 종류의 분비세포들 보다 전체적으로 전자밀도가 낮았으며, 활성정도에 따라 분비과립은 여러 개가 서로 융합되어 나타나기도 한다 (Fig. 3, B). B형 분비세포들은 다른 두 종류의 분비세포들 보다 분포정도가 높았으며, 막을 가진 분비과립 내에 전자밀도가 높은 균질상의 물질을 가지고 있었다. 분비과립의 전자밀도는 다양하지만 (Fig. 2, C) 전자밀도가 가장 높은 분비과립은 다른 두 종류의 분비세포들의 분비과립 보다 전자밀도가 높았다. 그리고 세포질에서는 다수의 조면미소체와 자유 리보솜의 관찰이 가능하였다 (Fig. 3, C). C형 분비세포는 막으로 둘러싸인 분비과립을 함유하고 있었다. 분비과립내에는 전자밀도가 높은 균질상의 물질이 존재하였고 이를 과립상 또는 섬유상 물질들이 둘러싸고 있었다 (Fig. 3, D).

외투막 상피층을 구성하는 주요한 세포군 가운데 하나인 선세포의 종류와 분비점액의 성상은 종과 부위에 따라 다소 다른 것으로 보고되고 있다. 외투막에서 생산되는 점액물질의 화학성분은 매우 다양하지만, 주로 뮤코다당류와 당단백 그리고 탄수화물로 구성된다 (Prezant, 1981).

버지니아굴의 외투막 상피층에 분포하는 전형적인 패상 점액세포는 중성점액을 가진다 (Morrison, 1993). Pearl oyster, *Pinctada mazatlanica*의 외투막에서는 네 종류의 분비세포가 보고되었는데, 첫 번째는 탄수화물, 산성 단백질, 황화 산성 뮤코다당류 및 갈슘 과립을 함유하며, 두 번째는 산성 뮤코다당류를 분비한다. 세 번째는 단백질 합성에 관여하며, 네 번째는 글리코겐 합성에 관여한다 (Garcia-Gasca et al., 1994). 그리고 피조개의 외투막에서 전형적인 점액세포

형태인 A형 분비세포는 중성과 산성의 뮤코다당류를 함유한다 (Lee, 2002).

외분비선은 구성세포의 수에 따라 단세포선과 다세포선으로 구분되며, 분비양상에 따라 전분비선 (holocrine gland)과 부분분비선 (merocrine gland)으로 구분된다 (Kurosumi et al., 1984). 이와 같은 기준으로 볼 때, Lyonsiidae에 속하는 *Lyonsia*와 *Entodesma*의 외투막 가장자리에서는 다세포선들이 보고되었지만 (Prezant, 1981), *Fabulina nitidula* (Kawaguti and Ikemoto, 1962a), *Musculus senhousia* (Kawaguti and Ikemoto, 1962b), *Mercenaria mercenaria* (Neff, 1972a), 진주담치, *C. edulis*, *N. sulcata* (Bubel, 1973), 버지니아굴 (Morrison, 1993) 그리고 피조개 (Lee, 2002)에서 보고된 분비세포들과 꼬막의 외투막에서 관찰된 분비세포들은 모두 단세포선이었으며, 세포사 또는 세포성분들이 분비 내강에서 관찰되지 않는 점으로 보아 부분분비선으로 추정되었다.

꼬막 외투막에서 점액분비세포들의 분포정도는 광학현미경 관찰결과 바깥 상피층 (Fig. 1, A) 보다는 안쪽 상피층에서 높았으며 (Fig. 1, B), 각정부 (Fig. 1, D)에서 중간부 (Fig. 1, C) 그리고 가장자리 (Fig. 1, A) 쪽으로 갈수록 증가하는 경향을 보였다. 그리고 외투막 조직표본을 AB-PAS (pH 2.5) 반응시킨 결과 바깥 상피층에 위치하는 점액세포들은 붉은색 (158C)으로 반응하여 주로 중성의 뮤코다당류를 함유하는 것으로 나타났으며 (Fig. 1, B), 안쪽 상피층에 분포하는 점액세포들은 푸른색 (2925C)으로 반응하여 주로 산성의 뮤코다당류를 함유하는 것으로 나타났다 (Fig. 1, A).

외투막에서 점액세포와 섬모세포들의 분포위치는 종에 따라 다소 차이가 있는데, *Lymnaca stagnalis*에서 점액세포들은 가장자리의 안쪽 상피층에 주로 분포하며, 이들 세포로부터 분비된 점액은 외투막의 윤활작용에 기여한다 (Timmermans, 1969). *Astarte* 경우 외투막의 outer fold에서는 네 종류의 세포가 구분되었지만 middle fold에서는 한 종류의 세포만이 관찰되었다 (Saleuddin, 1974). 버지니아굴의 경우 바깥 상피층에서는 점액분비세포들의 분포 정도가 높고 섬모와 미세융모의 발달이 미약하지만, 안쪽 상피층에서는 섬모세포와 미세융모가 잘 발달되어 있다 (Morrison, 1993). 전형적인 점액세포 형태의 분비세포들은 이때패류인 *Mercenaria mercenaria* (Hillman, 1968)와 복족류인 *Helisoma duryi eudiscus* (Kapur and Gibson, 1968)에서 패각의 형성에 중요한 역할을 하며, 그리고 이때패류 가운데 진주담치와 *Lamellidans marginalis*에서 패각강 (extrapallial cavity: 패각과 외투막 사이의 공간)을 채우는 체액은 아미노산, 단백질, 뮤코다당류, 유기산, 지질 및 이산화탄소 등을 함유하는데, 이러한 체액의 구성은 패각형성과 관련이 있다 (Wilbur and Saleuddin, 1983).

꼬막과 위에서 언급한 보고에서 볼 수 있는 이와 같은 구조적 특징은 외투막 바깥 상피층은 주로 패각형성에 관여하고 안쪽 상피층은 주로 감각, 정화 및 섭식 기능을 수행하기 위

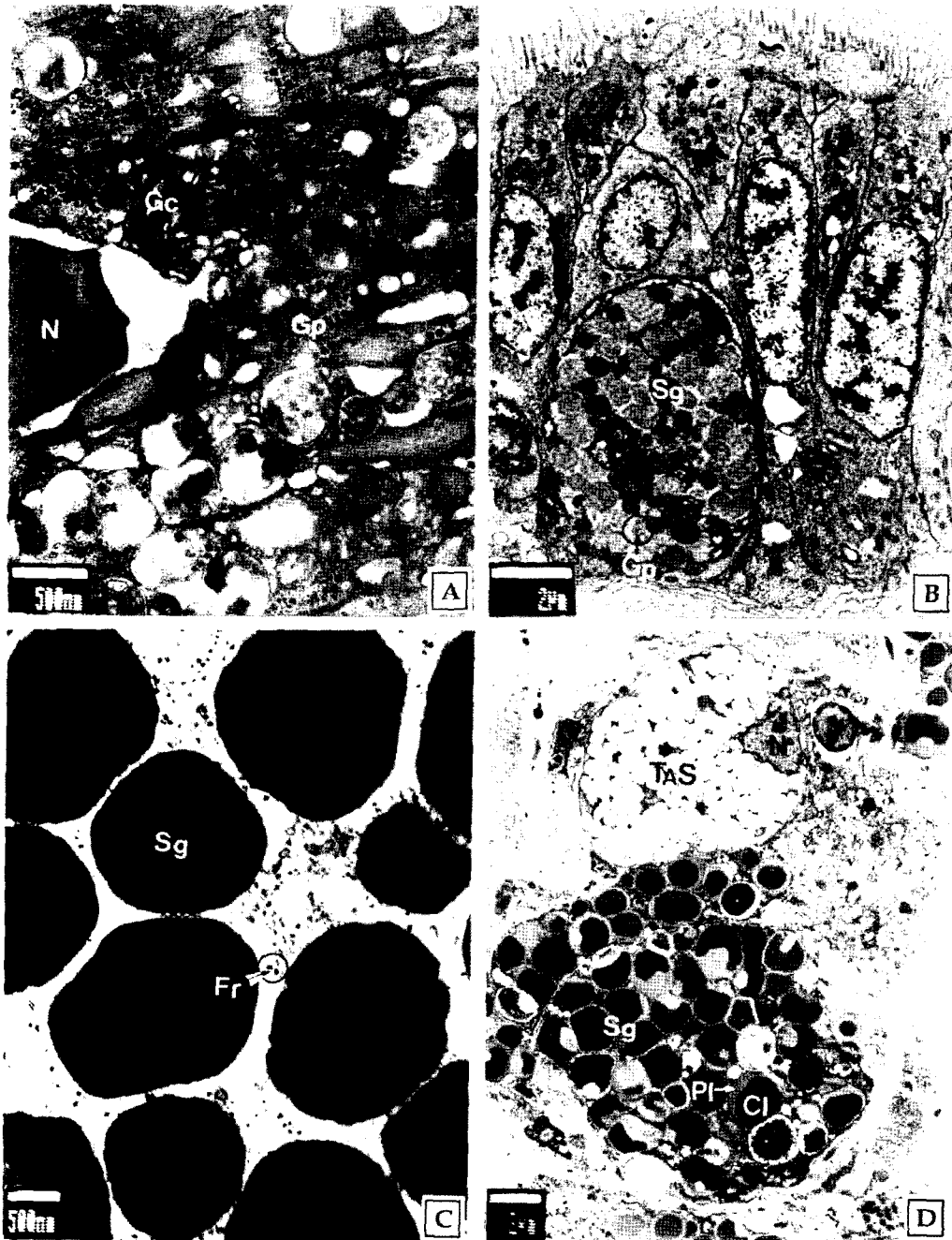


Fig. 3. Ultrastructure of the mantle epidermis in the granular ark, *Tegillarca granosa*. A: Cytoplasm of the ciliated cells with high electron density and elliptical nucleus. Notice the well developed Golgi complex (Gc) and glycogen particles (Gp). B: Type A secretory cell contains secretory granules (Sg) with fibrous materials. C: Secretory granules with high electron density of type B secretory cell. D: Type C secretory cell. Secretory granules are divided into homogeneous core layer (Cl) and fibrous peripheral layer (Pl). Fr, free ribosome; N, nucleus; TAS, type A secretory cell.

한 것으로 생각된다.

꼬막 외투막의 결합조직층은 가장자리에서부터 각정 부분으로 갈수록 얇아지는 경향을 보였다. 결합조직층은 소성결합조직 (loose connective tissue)으로서 대부분 교원섬유와 일부 근섬유가 혼재되어 있었다. 그리고 상피층에서부터 확장된 점액세포와 다양한 직경의 혈림프동 (hemolymph sinus)

이 발달되어 있었으며, 여러 종류의 혈구들이 분포하고 있었다 (Fig. 1, A).

꼬막 외투막의 결합조직층과 유사한 구조는 버지니아굴 (Morrison, 1993), pearl oyster, *P. mazatlanica* (Garcia-Gasca et al., 1994) 그리고 피조개 (Lee, 2002)에서도 보고되었는데, 이러한 소성결합조직층의 구조는 발달된 분비세포의 활성화

다른 세포의 확장을 용이하게 하는데 기여할 수 있는 것으로 생각된다.

## 사 사

이 연구는 여수대학교 교내 학술연구지원으로 수행된 것으로 이에 감사 드립니다.

## 참 고 문 헌

- Beedham, G.E. 1958. Observation on the mantle of the lamellibranchia. Q. J. Microsc. Sci., 99, 181-197.
- Beverlander, G. and H. Nakahara. 1967. An electron microscope study of the formation of the periostracum of *Macrocallysta maculata*. Calif. Tissue Res., 1, 55-67.
- Bubel, A. 1973. An electron microscope investigation of the cells lining the outer surface of the mantle in some marine molluscs. Mar. Biol., 21, 245-225.
- Bubel, A. 1984. Epidermal cells. In: Biology of the Integument, 1 Invertebrates, J. Bereiter-Hahn, A.G. Matoltsy and K.S. Richards, eds., Springer-Verlag, New York, pp. 400-477.
- Garcia-Gasca, A., R.I. Ochoa-Baez, and M. Betancourt. 1994. Microscopic anatomy of the pearl oyster *Pinctada mazatlanica* (Hanley, 1856). J. Shellfish Res., 13, 85-91.
- Hillman, R.E. 1968. Histochemistry of mucosubstances in the mantle of the clam, *Mercenaria mercenaria* I. A glycosaminoglycan in the first marginal fold. Trans. Am. Microsc. Soc., 87, 361-367.
- Kapur, S.P. and M.A. Gibson. 1968. A histochemical study of the development of the mantle-edge and shell in the fresh water gastropod, *Helisoma duryi eudiscus* (Pilsbry). Can. J. Zool., 46, 481-491.
- Kawaguti, S. and N. Ikemoto. 1962a. Electron microscopy on the mantle of a bivalve, *Fabulina nitidula*. Biol. J. Okayama Univ., 8, 21-30.
- Kawaguti, S. and N. Ikemoto. 1962b. Electron microscopy on the mantle of a bivalve, *Musculus senhousia* during regeneration of the shell. Biol. J. Okayama Univ., 8, 31-42.
- Kraeuter, J.N. and M. Castagna. 2001. Biology of the hard clam. Elsevier, New York, 751 pp.
- Kurosumi, K., S. Shibasaki and T. Ito. 1984. Cytology of the secretion in mammalian sweat glands. Int'l. Rev. Cytol., 87, 253-329.
- Lee, J.S. 2002. Ultrastructure of the mantle epidermis in the ark shell, *Scapharca broughtonii* (Bivalvia: Arcidae). Kor. J. Electron Microscopy, 32, 213-222.
- Morrison, C.M. 1993. Histology and cell ultrastructure of the mantle and mantle lobes of the eastern oyster, *Crassostrea virginica* (Gmelin): a summary atlas. Amer. Malac. Bull., 10, 1-24.
- Neff, J.M. 1972a. Ultrastructural studies of periostracum formation in the hard shelled clam *Mercenaria mercenaria* (L). Tissue Cell, 4, 311-326.
- Neff, J.M. 1972b. Ultrastructure of the outer epithelium of the mantle in the clam *Mercenaria mercenaria* in relation to calcification of the shell. Tissue Cell, 4, 591-600.
- Prezant, R.S. 1981. The arenophilic radial mantle glands of the Lyonsiidae (Bivalvia: Anomalodesmata) with notes on Lyonsiid evolution. Malacologia, 20, 267-289.
- Prezant, R.S. 1985. Molluscan mucins: a unifying thread. Amer. Malac. Bull., 1, 35-50.
- Saleuddin, A.S.M. 1974. An electron microscopic studies of the formation and structure of the periostracum in *Astarte* (Bivalvia). Can. J. Zool., 52, 1463-1471.
- Timmermans, L.P.M. 1969. Studies on shell formation in molluscs. Neth. J. Zool., 19, 417-523.
- Wilbur, K.M. 1985. Topics in molluscan mineralization: present status, future directions. Amer. Malac. Bull. (Spec. ed.), 1, 51-58.
- Wilbur, K.M. and A.S.M. Saleuddin. 1983. Shell formation. In: The mollusca, Vol. 4 Physiology, Part 1, A.S.M. Saleuddin and K.M. Wilbur, eds. Academic Press, New York, pp. 235-287.

2003년 3월 11일 접수  
2003년 6월 17일 수리