肝디스토마(*Clonorchis sinensis*) 體表層의

微細構造에 관한 研究

延世大學校 醫科大學 教寄生蟲學室

金 鍾 煥

==Abstract==

Ultrastructure of the Integument of Adult *Clonorchis sinensis*

Chong Hwan Kim

Department of Parasitology, College of Medicine, Yonsei University

Ultrastructural studies on the integument of digenetic trematodes were investigated by several workers (Senft et al.; 1961, Björkman and Thorsell; 1964, Burton; 1966, Erasmus; 1968, Morris and Threadgold; 1967, 1968).

Clonorchis sinensis is a common parasite of human beings in the Far East. But as far little has been written on ultrastructure of the integument of this parasite.

This study was carried out systematically to elucidate the ultrastructure of the integument of adult *C. sinensis*, and the results are summarized as follows:

1. The integument of *C. sinensis* was organized in two parts; the epidermis and the muscular layer.
2. The apical surface and basal surface of the epidermis were covered with typical plasma membrane and irregularly invaginated from the surface. Plasma membrane at perisuckers was extremely folded and appeared as if the epidermis might be divided with the layer.
3. The syncytial epidermis contained mitochondria and numerous secretory bodies, and which was connected by cytoplasmic processes to nucleated epidermal cells lying in the parenchyma.
4. The mitochondriae, the secretory bodies, the granular endoplasmic reticulum, the Golgi bodies and the free ribosomes were present in the perinuclear cytoplasm of epidermal cells, but no organelle was observed in processes of epidermal cell except some secretory bodies.
5. The fibrous layer consists of argentophile fiber and collagenous fiber, in which the circular muscle bundles and longitudinal muscle bundles were embedded. Bundles of muscle fiber are well developed at the perisucker, and mitochondriae in this portion contain many cristae as compared with any other parts of *C. sinensis*.

I. 緒 論

電子顯微鏡을 利用한 二世類吸蟲의 表皮에 關한 微細構造는 1961年 Senft, A.W. 등이 *Schistosoma mansoni*의 表皮를 觀察한 以來 Threadgold(1963) 및 Björkman과 Thorsell(1964)은 *Fasciola hepatica*를, Burton(1964)은 *Haematolechus medioplexus*를, Threadgold(1965)는 *Proteocephalus pollanicoli*를, Bils와 Martin(1966)은 數種의

吸蟲類를, Erasmus(1967)는 *Cyathocotyle bushiensis*를, Burton(1966)은 *Gorgoderina*種을 Morris와 Threadgold(1968)는 또 다시 *Schistosoma mansoni*를 Threadgold(1968)는 *Haplometra cylindracea*를 對象으로 그들 寄生蟲表皮의 微細構造를 各各 研究報告하였다.

그러나 肝디스토마(*Clonorchis sinensis*)에 對한 電子顯微鏡的 研究는 伊藤 等(1966)이 本蟲의 表皮內 顆粒 形成細胞에 關한 報告以外는 文獻上으로 찾아볼 수 없었다.

肝디스토마의 體表層에 關한 微細構造가 아직 究明되

이 있지 않으므로 著者は 電子顯微鏡으로 이를 밝히고 이미 報告된 다른 種 二世類吸蟲의 表皮와 比較하는 同時에 이 吸蟲들의 表皮와 寄生生活과의 關聯性을 追究하여 報告하는 바이다.

II. 實驗材料 및 方法

洛東江에서 採集한 참붕어(*Pseudorasbora parva*)의 魚肉片을 人工消化法에 依하여 消化시켜 메타셀카리아를 分離하였다. 그 메타셀카리아를 體重 約 2 kg 程度の 白色 家兔에 카테타로 經口投與하여 感染시킨 後 60 日 經過된 肝디스토마(*Clonorchis sinensis*)成蟲을 使用하였다.

家兔의 肝臟에서 採取한 活潑히 運動하는 蟲體의 表皮層을 解剖顯微鏡下에서 切取하여 곧 固定液으로 處理하였다.

固定方法是 二重固定法을 使用하였다. 即 0.2 M cacodylate 緩衝液으로 pH 7.2 로 調整한 1.25% glutaraldehyde 溶液에 1~2 時間 0~4°C 에서 前固定한 後 그 試料을 0.2 M cacodylate 緩衝液으로서 洗滌한 다음 1% 오스뮴酸 (pH 7.2)으로서 1 時間 後固定하였다. 固定한 試料을 에탄올 系列로서 脫水하여 Epon 812 (Luft, 1961)로 包埋하였으며 그 試料은 Porter Blum Microtom (MT-2 型)을 使用하여 超薄切片을 만들었다. 切片은 水酸化鉛과 酢酸우라닐에 依한 二重染色後 電子顯微鏡 (Hu-11 型)으로서 觀察하였다.

III. 實驗成績

肝디스토마의 體表層을 表皮 및 筋層으로 區分하여 그 微細構造를 觀察한 所見은 다음과 같다.

1. 表皮

表皮의 遊離表面과 基底表面은 典型的인 原形質膜으로 構成되었고 凹凸이 甚하여 表面積이 擴大되어 있었다. 表皮의 두께는 約 3 μ 程度로서 本蟲의 全體表를 被覆하고 있었다 (第 1, 2 圖). 特히 吸盤周圍에서는 上皮의 基底原形質膜과 基底膜이 相接하여 上皮基質로 陷沒되어 陷入되어 마치 上皮를 分斷하는 것 같은 感을 주고 있으나 吸盤部의 遊離表面은 體部의 遊離表面에 比하여 凹凸이 甚하지는 않았다 (第 3 圖). 表皮의 基質에는 미토콘드리아 分泌顆粒 및 空胞等이 觀察되었으나 核, 골지體, 리보솜, 小胞體 等은 觀察할 수 없었다.

미토콘드리아는 表皮內에 全般的으로 많이 散在되어 있었으며 特히 다른 部位에 比하여 電子密度가 높은 遊離表面 直下部位에는 長徑 約 0.5 μ 程度の 큰 것이多數 分布되어 있었다. 미토콘드리아의 形態는 直徑 約 0.2~0.5 μ 크기의 類圓形 或은 橢圓形이었으며 크레스테가 稀少하였으나 內外 2 重의 膜構造는 뚜렷하였다.

分枝顆粒은 表皮의 全斷面에 많이 散在되어 있었으며

그 形態를 2 種으로 大別할 수 있었다. 即 그 하나는 類圓形 或은 橢圓形으로서 長徑 約 100~150 μ 의 크기였으며 또 다른 型은 細長한 桿狀體로서 幅 約 40 μ , 길이 約 200 μ 이었으며 吸盤 周圍에는 桿狀體의 顆粒이 더욱 많이 分布되어 있었다. 이들 2 型의 顆粒 (第 5 圖)을 擴大하여 觀察한 바 그 表面에는 電子密度가 높은 膜樣構造로서 基質과 境界를 이루고 있었다. 橢圓形 或은 類圓形顆粒에 있어서는 그 内部에 뚜렷한 膜으로서 境界를 이루고 있는 胞狀體가 觀察되었다.

原形質膜 周圍에는 空胞가 認定되었고 그 空胞속에는 表皮에서 散在하고 있는 顆粒들과 類似한 形態의 것들이 觀察되는 것도 있었다.

表皮의 基底原形質膜에 接하여 電子 密度를 달리하는 約 150~180 Å 의 두께를 가진 基底膜으로서 下部의 組織과 境界를 뚜렷이 하고 있었다.

基底膜에 이어서 疎性纖維結合組織이 있었다 (第 2, 3 圖). 이 結合組織의 基質에는 約 45 Å 의 直徑을 가진 膠樣纖維와 格子纖維가 縱橫으로 쫓고 있었으나 吸盤部 結合組織에는 그 纖維構造가 明確하지 않았다. 筋層下의 柔軟組織에는 不規則의 配列된 比較的 큰 類圓形의 核을 가진 細胞가 觀察되었다 (第 7 圖). 그 細胞는 原形質 突起를 내어 樹枝狀으로 分枝되고 數個의 管狀을 이루어서 筋束間의 纖維性結合組織과 基底膜을 穿通하여 그 末端이 表皮에 連結되어 全表皮가 網狀을 이루고 있었다 (第 5, 7 圖). 表皮細胞 核膜 周圍의 細胞質에는 表皮의 基質에서 觀察한 顆粒과 同一한 形態의 顆粒이 여러곳에서 集團의 으로 觀察되었으나 또 管狀의 原形質 突起속에는 顆粒이 더욱 많이 含有되어 있었으나 그 顆粒들은 表皮에서 觀察된 것 보다 小形의 것이 많았다. 이러한 顆粒을 가진 細胞內에는 核, 粗面小胞體, 골지體, 미토콘드리아 및 遊離 리보솜이 認定되었다. 核은 典型的인 核膜으로 境界를 이루며 核內에는 큰 馬蹄形의 仁이 뚜렷하게 觀察되었다 (第 7 圖). 囊狀의 골지體는 核의 周圍에 顆粒 및 리보솜과 여러가지 크기의 卵圓形의 미토콘드리아가 細胞質內에 散在되어 있었고 크레스테는 稀少하였다.

2. 筋層

筋層은 輪走筋束과 縱走筋束이 上下層으로 配列되어 있었고 筋束과 筋束間에는 大型의 管狀胞狀體의 斷面이 觀察되었다 (第 2, 4 圖).

筋束은 그 内部에 約 150 Å 程度の 筋原纖維로 構成되어 있었으며 吸盤部의 筋束은 特히 잘 發達되어 있었다. 吸盤의 筋束에서는 筋形質膜으로 된 뚜렷한 限界膜이 認定되었을 뿐만 아니라 筋이 交叉하는 限界膜에는 約 0.1~0.2 μ 의 길이로 된 테스모솜이 斑點狀으로 觀察되었다 (第 3 圖). 그러나 筋束의 縱斷面에서 어떠한 橫帶

도觀察되지 않았고 筋原纖維사이와 그 周圍에는 約 0.2 ~ 0.9 μ 의 橢圓形의 많은 미토콘드리아가 認定되었고 吸盤部 筋束에 있는 미토콘드리아만은 크레스테가 他部位에 있는 미토콘드리아 보다 顯著하게 많았다(第6圖).

筋束間의 結合組織에는 表皮細胞의 原形質突起의 斷面이 管狀 或은 囊狀으로 나타나고 있었다. 그 管內에는 表皮에서 觀察한 것과 同一한 2型의 顆粒도 多數含有되어 있었다(第4圖). 또한 이 管의 連續이라고 생각되는 末端部가 基底膜을 穿通하여 表皮에 이어져 있는 것이 觀察되었으며 그 斷面上的 管膜은 表皮基底原形質膜에 連續되고 있음이 認定되었다.

IV. 考 察

肝디스토마(*Clonorchis sinensis*)의 體表層에 對하여 Takagi(1962)는 光學顯微鏡에 依한 形態學的 研究에서 角皮, 角皮下筋 및 角皮下細胞로 通稱하였고 朱 및 金(1962)은 外皮를 角質, 角質皮下筋肉組織 및 皮下筋肉細胞로 區分하였으며 鄭(1968)은 角皮와 角皮下體肉細胞로 區分하였으나 著者は 電子顯微鏡의 體表層의 微細構造를 檢索한바 表皮는 柔軟組織에 所在하는 表皮細胞의 原形質突起에 連結되고 그 原形質 突起는 微細管狀으로 構成되어 있음을 觀察할 수 있었다. 이와 같은 研究는 Threadgold(1968)가 개구리의 肺에 寄生하는 *Haplometra cylindracea*에서, Senft等(1961) 및 Morris와 Threadgold(1967, 1968) 등은 人間에 寄生하는 만손썸 住血吸蟲(*Schistosoma mansoni*)에서도 肝디스토마와 같은 觀察報告를 한 바 있었다.

表皮의 遊離表面 및 基底部의 原形質膜에 對해서는 Björkman과 Thorsell(1963, 1964)은 牛, 羊의 膽管에 寄生하는 肝蛭(*Fasciola hepatica*)의 角皮 遊離表面은 原形質膜에 依하여 基底面은 基底膜에 依하여 被覆되었다고 報告하였으나 Burton(1966)은 개구리의 膀胱吸蟲인 *Gorgoderina*種으로서 Erasmus(1967)는 鳥類에 寄生하는 吸蟲인 *Cyathocotyle bushiensis*로 Threadgold(1968)는 *Haplometra cylindracea*에서 表皮의 遊離表面과 基底膜과 接하는 部分은 原形質膜에 依하여 덮혀 있음을 報告한 바와 같이 本 實驗에서도 肝디스토마의 遊離表皮 및 基底膜과 接하는 部分이 典型的인 原形質膜으로 被覆되어 있음을 確認하였다.

Björkman(1964)은 肝蛭의 角皮에는 여러가지 크기의 미토콘드리아가 存在하고 있었으며 이들의 미토콘드리아에는 크레스테가 稀少하였음을 確認하였고 이를 그蟲의 寄生部位와 關聯시켜 嫌氣代謝와 有關하다고 報告한 바 있으나 本 研究에 있어서 肝디스토마의 表皮에도 大中小의 미토콘드리아는 區別되었지만 크레스테가 稀少하였고

다만 代謝作用이 旺盛한 吸盤部內의 筋束間에 있는 미토콘드리아만은 蟲體 他部에 있는 미토콘드리아에 比하여 크레스테가 大端히 많았다.

Burton, P.R.(1964, 1966)은 吸蟲의 種에 따라서 미토콘드리아構造와 表皮에서의 그 分布樣相을 달리 한다고 한 바 있었는데 本 研究에서도 肝디스토마의 部位에 따라 미토콘드리아의 크기와 크레스테의 形態에 差異가 있음을 認定할 수 있었다.

吸蟲體 表皮內에 散在하는 顆粒에 對하여서는 *Gorgoderina*種(Burton, 1966), 肝디스토마(伊藤等, 1966), *Haplometra cylindracea*(Threadgold, 1968) 및 *Schistosoma mansoni*(Morris 및 Threadgold, 1968) 등에서 各各 觀察되었고 그들 顆粒의 크기 및 形態는 種과 部位에 따라 差異가 있음을 報告한 바 있었으나 著者は 肝디스토마의 表皮, 表皮細胞의 原形質突起속과 細胞質 特히 核周圍에 分泌顆粒이 集中의 存在함을 確認하였고 이들 類圓形 및 桿狀形 顆粒의 起源과 性狀에 對해서는 今後 더욱 더 追究하여야 할 問題로 思慮된다.

Burton(1966)은 *Gorgoderina*種에서 柔軟組織속에 있는 表皮細胞의 核周圍에 있는 細胞質에서 만들어진 分泌顆粒이 가느다란 原形質突起를 通하여 表皮에 移動된다고 하였다. Threadgold(1968)는 *H. cylindracea*의 表皮 및 表皮細胞의 模式圖를 提示하고 柔軟組織속에 있는 顆粒을 形成하는 細胞를 tegument cell 이라 하였고 이 細胞의 原形質突起에 依하여 表皮와 直結하여 신시름을 形成하고 있으며 分泌顆粒은 이 原形質突起에 依하여 表皮로 移動된다고 하였다.

肝디스토마의 表皮層에서는 細胞器官으로서 미토콘드리아만을 認定하였으나 柔軟組織에 있는 表皮細胞의 核周圍에는 미토콘드리아, 골지體, 粗面小胞體와 많은 遊離 리보솜을 認定하였다. 粗面小胞體와 골지體가 分泌蛋白質의 合成과 輸送에 關係가 있다고(Porter, 1961) 報告한 事實을 勘案할 때 表皮의 遊離表面部直下에서 觀察된 顆粒은 柔軟組織속에 있는 表皮細胞에서 生成된 後에 表層으로 輸送된 것이라고 생각된다.

表皮의 遊離表面의 주름과 基底原形質膜의 陷入 등은 表皮와 媒質과의 關係 即 物質의 吸入 或은 分泌를 容易하게 할 수 있는 微細構造로 생각되며 特히 口吸盤의 基底原形質膜의 甚한 陷入에 依한 表面積의 擴大와 그 筋層의 分化 및 數 많은 미토콘드리아의 規則的인 配列 등은 榮養 物質의 腸內 吸入을 爲한 活動 에너지와 關聯 있는 것으로 考慮된다.

V. 結 論

肝디스토마의 體表層을 電子顯微鏡의 으로 觀察한 바를

要約하면 다음과 같다.

1) 肝디스토마의 體表層은 柔軟組織속에 있는 表皮細胞와 신시툼을 이룬 表皮와 疎性纖維結合組織에 의하여 結合되어 있는 筋層으로 되어 있으며 表皮의 基底原形質膜에 接하여 基底膜이 있었다.

2) 表皮는 典型的인 原形質膜으로 덮혀 있고 遊離表面이나 基底表面은 陷入되어 表面部를 擴大하고 있었다. 特히 吸盤의 基底原形質膜의 陷入度는 極히 甚하여 表皮를 나누는 境界膜같은 感を 주었다.

3) 表皮의 表層에는 미토콘드리아와 形態가 다른 2種 이상의 分泌顆粒이 認定되었고 筋束直下 柔軟組織內에 있는 表皮細胞의 核周圍細胞質에는 미토콘드리아, 分泌顆粒, 粗面小胞體, 골지體, 遊離리보솜 등이 觀察되었으나 原形質突起에서는 分泌顆粒만이 觀察되었다.

4) 基底膜下の 疎性纖維結合組織은 膠樣纖維와 格子纖維가 認定되었으며 이 結合組織에는 輪走筋束과 縱走筋束이 上, 下 2層으로 埋沒되어 있었다.

5) 筋纖維束은 吸盤部에서 特히 잘 發達되어 있었으며 그 周邊에는 다른 部位에 比하여 比較的 많은 크레스티를 가진 미토콘드리아가 規則적으로 配列되어 있었다.

6) 筋纖維束의 筋形質膜은 表皮下の 結合組織속에서 잘 認定되지 않았고 吸盤部에서 筋形質膜으로 筋束纖維를 싸고 있으며 特히 一定한 間隔으로 데스모솜이 斑點狀으로 認定되었다.

(끝으로 本 論文을 完成함에 있어 始終指導鞭撻하여 주신 延世大學校 醫科大學 寄生蟲學敎室 蘇鎮璋博士님과 敎室員一同 및 延世大學校 理工大學 白景基博士님께 深謝드리는 바입니다.)

參 考 文 獻

- 1) Bils, R.F. and Martin, W.E.(1966): Fine structure and development of the trematode integument, Tr. Am. Micr. Soc., 85:78~88.
- 2) Björkman, N., Thorsell, W., and Lienert, E. (1963): Action of some enzymes on the cuticle of *Fasciola hepatica*, Experientia, 19:3~5.
- 3) Björkman, N. and Thorsell, W. (1964): On the fine structure and resorptive function of the cuticle of the liver fluke, *Fasciola hepatica* L., Exp. Cell. Res., 33: 319~329.
- 4) Burton, P.R. (1964): The ultrastructure of the integument of the frog lung fluke, *Haematoloechus medio-plexus*, J. Morph., 115:305~318.
- 5) Burton, P.R. (1966): The ultrastructure of the integument of the frog bladder fluke, *Gorgoderina* sp.,

J. Parasit., 52:926~934.

- 6) 朱鼎均, 金應南(1962): 肝 吸蟲에 對한 組織化學的研究. (Lipase의 分布에 對하여), 서울醫大雜誌, 3(2): 11~13.
- 7) 鄭奉哲(1968): 1,4-Bis-trichlormethyl-benzol 이 肝디스토마의 形態的 變化에 미치는 影響, 綜合醫學, 13 (1):53~64.
- 8) Erasmus, D.A. (1967): The host-parasite interface of *Cyathocotyle bushiensis* Khan, 1962 (Trematoda: Strigeoidea). II. Electron microscope studies of the tegument, J. Parasit., 53:703~714.
- 9) Erasmus, A.D. (1968): The host-parasite interface of *Cyathocotyle bushiensis* Khan, 1962 (Trematoda: Strigeoidea) III. Electron microscope observations on non-specific phosphatase activity, Parasitology, 58:371~375.
- 10) 伊藤義博, 作本台五郎, 白方隆晴, 草浦晃, 岡好萬, 尾崎文雄, 稻臣成一(1966): 肝吸蟲의 微細構造에 關する研究, 體表層內顆粒について, 日本寄生蟲誌, 15(4): 298~299.
- 11) Luft, J.H. (1961): Improvements in epoxy resin embedding methods, J. Biophys. Biochem. Cytol, 9: 409~414.
- 12) Morris, G.P. and Threadgold, L.T. (1967): A presumed sensory structure associated with the tegument of *Schistosoma mansoni*, J. Parasit., 53:537~539.
- 13) Morris, G.P. and Threadgold, L.T. (1968): Ultrastructure of the tegument of adult *Schistosoma mansoni*, J. Parasit., 54(1):15~27.
- 14) Porter, K.R. (1961): The endoplasmic reticulum: Some current interpretations of its forms and functions. Biological Structure and Function, Vol. 1. Academic Press, New York, pp. 127~155.
- 15) Senft, A.W. Philpott, D.E. and Pelofsky, A.H. (1961): Electron microscope observations of the integument, flame cells, and gut of *Schistosoma mansoni*, J. Parasit., 47: 217~229.
- 16) Takagi, K. (1962): Morphological studies on *Clonorchis sinensis*, Tokushima J. Exp. Med., 9(1):60~66.
- 17) Threadgold, L.T. (1963): The tegument and associated structures of *Fasciola hepatica*, Quar. J. Micr. Sci., 104:505~512.
- 18) Threadgold, L.T. (1965): An electron microscope study of the tegument and associated structures of *Proteocephalus pollanicoli*, Parasitology, 55:467~472.

- 19) Threadgold, L.T. (1968): The tegument and associated structure of *Haplometra cylindracea*, Parasitology, 58:1~7.

寫眞說明

第1圖 肝디스토마의 表皮

原形質膜(P)으로 被覆된 遊離表皮는 凹凸이 甚하고 膜直下에 大形의 미토콘드리아(M)가 觀察된다. 또 數 많은 分泌顆粒(SG)이 分布되어 있으며 곳곳에 空胞(V)가 있다. 表皮基底部의 基底膜(B)과 接하는 곳에도 原形質膜(P)으로 덮혀 있으며 基底膜 下部에 纖維性 結合組織(CT)이 있고 表皮細胞 原形質突起의 端片으로 생각되는 囊狀의 管(C)이 觀察된다. $\times 26,600$.

第2圖 肝디스토마의 表皮와 筋層

基底膜(B) 下部의 纖維結合組織에는 輪走筋束과 縱走筋束의 橫斷面이 觀察되며 筋原纖維(MF)의 斷面이 잘 나타나 있다. 表皮細胞原形質突起의 巨大한 囊狀의 管(C)이 筋束間에 位置하고 그 管内에 顆粒이 認定된다. $\times 26,600$.

第3圖 吸盤部上皮的 縱斷面

遊離表皮에는 分泌顆粒이 많이 散在하고 原形質膜(P)과 基底膜(B)이 接着하여 上皮內質 깊

숙히 들어가 주름을 이루며 結合組織內의 筋層은 잘 發達되어 있다. 筋束과 筋束이 接着하는 部位의 筋形質膜에는 테스모솜(D)이 잘 觀察된다. $\times 20,000$.

第4圖 表皮細胞의 原形質突起縱斷面

筋束間을 쫓고 있는 表皮細胞의 原形質突起(C)의 管内에는 表皮에서 觀察된 分泌顆粒과 同一한 顆粒이 多數 含有되어 있다. $\times 35,000$.

第5圖 表皮의 分泌顆粒

分泌顆粒(SG)을 擴大한 바 桿狀體의 顆粒은 그 内部에 높은 電子密度로 되었으나 類圓形의 顆粒은 그 内部에 胞狀體가 認定된다. $\times 160,000$.

第6圖 吸盤部 筋束의 縱斷面

筋束의 縱斷面에는 筋原纖維(MF)가 있고 數 많은 미토콘드리아가 分布하고 있다. $\times 23,000$.

第7圖 表皮細胞와 核

柔軟組織에 있는 表皮細胞의 核(N)은 큰 馬蹄形 仁(Nu)이 觀察되고 核膜周圍에는 遊離 리보솜, 골지體, 小胞體 등이 잘 觀察되며 表皮에서 본 것과 같은 顆粒들이 있고 原形質突起管(C)에도 顆粒이 認定된다. $\times 80,000$.

第1圖 肝디스토마의 表皮

第2圖 肝디스토마의 表皮와 筋層

第3圖 吸盤部上皮 縱斷面

第4圖 表皮細胞の 原形質突起縦断面

第5圖 表皮の分泌顆粒

第6圖 吸盤部 筋束の縦断面

第7圖 表皮細胞核