한국전자현미경학회지 제10권 제1,2호 1980
Kor. Jour. Electron Microscopy Vol.10, No.1,2, 1980

인체 피부에 기생한 *Leishmania tropica*의 전자현미경적 관찰

서영훈 · 허규정 · 등영건 · 김정숙* · 이유복*
(연세대학교 의과대학 전자 현미경실. 병리학 교실*)

Ultrastructural Observations of a Human Cutaneous *Leishmaniasis*

Young-Hoon Seo · Kyu-Chung Hur · Young-Kun Deung · Chung-Sook Kim*, M.D. and Yoo-Bock Lee*, M.D.
(Electron microscopy laboratory, *Dept. of Pathology
College of Medicine, Yonsei University)

Abstract

A case of cutaneous leishmaniasis developed in a 48 year old Korean male who returned from middle east was studied by light and electron microscopic observations. Light microscopically, the lesion consisted of heavy chronic ill-defined granulomatous inflammation involving entire thickness of the dermis, composed of mainly histiocytic and small mononuclear cell infiltrations without evidence of necrosis or giant cell formation. Giemsa staining revealed numerous intracellular micro-organisms within histiocytes, showing dark stained central dot surrounded by light stained cytoplasm. Electron microscopically, the organisms were observed mostly ovoid in shape and frequently binary mitotic features within the host cells. Pellicle consisted of double unit membranes and microtubules, which are immediately below these membrane. A long kinetoplast was noted within a very elongated mitochondrion at the center of the organisms and a flagella rose in front of the kinetoplast but ended within the cytoplasm. Large numbers of free ribosomes, occasional Golgi complex and SER were also noted, but RER was seldom found. These ultrastructural features corresponded to promastigote stage of *Leishmania tropica*. In principle, leishmaniasis is a tropical disease and can not be found in temperate zone. However, travel to mideast by many Koreans may contract this disease while they are in endemic regions.

서 론

인체피부에 발생하는 leishmania증은 Trypanosomatidae과에 속하는 *Leishmania tropica*(*L. tropica*)의 감염에 인한 것으로 피부외의 다른부위에서는 생활하지 못하고 주로 여름철에 전파 된다. 이의 유행지역은 지중해 연안, 중동 아시아, 중남미, 아프리카등 열대지방이며 우리나라와 같은 온대 지방에서는 별로 볼 수 없는 질환이다.

Leishmania 편모충류의 생활사는 사람을 포함한 포유동물과 곤충의 상이한 숙주내에서 두가지 즉 amastigote와 promastigote의 상태로 이루어지며 파충류에서도 *Leishmania*가 소수 발견되기는 하지만 원칙적으로 포유류에 국한되어 있다.

*L. tropica*는 phlebctomus속의 흡혈성파리류에 의해 promastigcte의 상태로 사람에게 전파되어져 인체조직내에서는 amastigote의 상태로 존재하고 있다.

*L. tropica*의 미세구조에 대하여는 1950년 Lofgren이 처음 보고하였으나 단지 promastigote stage만을 다루었고 amastigote stage는 후에 Pham등(1970), Gardener(1974) 등에 의해 보고 되었다.

이밖에 *L. donovani*와 *L. mexicana*의 형태에 대해

서는 Rudzinska등(1964), Sanyal과 Sen Gupta(1967) 등이 보고한 바 있다.

상기한 바와 같이 leishmania증은 열대병이고 원칙적으로 온대지방에서는 볼 수 없는 질환이나 근자에 중동지역 진출이 활발해 짐에따라 이지방에 가있는 우리나라 사람에게도 이 질환을 간혹 볼 수 있다. 본 증례도 최근 중동지역에 거주하다 돌아온 한국인에게 발생한 leishmania증이었으며 그 희귀함을 참작하여 광학 및 전자 현미경적 관찰을 하여 보고하는 바이다.

재료 및 방법

본 증례는 사우디 아라비아에서 귀국한 43세의 남자로써 2개월전에 곤충에 물린후 피부에 발생한 병소를 생검하여 광학현미경과 전자현미경으로 관찰하였다.

광학현미경적 관찰을 위하여는 조직을 10% 중성 formaline에 고정한 후 paraffin에 포매하여 박절한 다음 Hematoxylin-eosin과 Giemsa염색을 시행하였으며 전자현미경적 관찰을 위하여는 생검한 조직절편 일부를 세절하여 3% Glutaraldehyde(pH 7.4)로 전고정한 후 1% Osmium tetroxide(pH 7.4)에서 후고정하였고 통상적 방법에 의한 탈수 및 포매를 거쳐 초박절편을 만들어 포화된 *uranyle acetate*와 *lead citrate*로 이중 염색한 후 Hitachi HU-11E형 전자현미경으로 관찰하였다.

관찰소견

광학현미경적 소견으로는 hematoxyline-eosin 염색 분포에서 피부 진피내에 광범위한 만성 염증반응을 보였고 염증세포는 주로 조직구와 임파구및 형질세포로 구성되었고 부분적으로 조직구의 집단적 침윤과 증식을 일으켜 분명하지는 않지만 육아종성양상을 보였다. 거대세포형성이나 괴사현상은 볼 수 없었다.

한편 Giemsa염색상에서는 조직구내에 다수의 소형 미생체를 관찰할 수 있었으며 이 미생체는 농염되는 중심부와 비교적 밝게 염색되는 주변부로 구별이 되었으며 leishmania의 형태학적 특징을 보였다.(Fig. 1,2)

전자 현미경적 관찰결과 충체는 다수가 난원형을 이루고 있었으며 숙주 세포내에서 분열하고 있는 것도 관찰할 수 있었다.(Fig. 3)

각각의 충체를 싸고 있는 Pellicle은 이중막과 microtubule로 이루어져 있으며 tubule들은 다시 가는섬유로 서로 연결되어 있었다.(Fig. 4)

이들 섬유들은 microtubule에 수직하게 배열되어 있으며 또 세로로 잘린 microtubule에서는 이들이 서로 평행하게 배열되어 있는 것을 볼 수 있었다.(Fig. 4,5)

[illegible] 체의 중앙부에 위치하여 충체를 반으로 가로지르며 신장된 mitochondrion의 내부에 존재하였고 횡으로 배열하는 lamella 구조로 이루어져 있었다.(Fig. 6,8)

Flagella는 kinetoplast의 전방에서 수직으로 위치하고 있었으며 세로로 잘린 flagella에서 central tubule과 peripheral doublet tubule을 관찰할 수 있었고 가로로 잘린면에서는 flagella가 9+2구조로 관찰되었다. Flagella의 전단은 세포막 가까이까지 뻗어있으나 세포막 밖으로 나가는 예는 관찰하지 못하였다.(Fig. 6,7)

핵은 원형으로 뚜렷한 인을 가졌고 chromatin은 핵막주위에 모여있는 것을 관찰하였다.(Fig. 3,6)

고 찰

Leishmania species는 처음 광학 현미경으로 관찰하였을때 amastigote와 promastigote가 매우 다르게 나타났기 때문에 전자 현미경의 관찰 결과에 커다란 관심을 가지게 되었으며 Adler가 1964년 자세한 전자 현미경 관찰결과를 발표한 이후 미세구조에 관한 많은 지식을 얻게되었다. *Leishmania tropica*의 미세구조에 대한 여러가지 관찰은 물론 몇가지 예외는 있지만 대부분의 Leishmania species에도 적용이 된다.

Rudzinska (1964)등은 mitochondrion이 길어지고 정교하게 되어지는 것을 amastigote로 부터 promastigote로의 변형과정의 일부로 보고하였으나 후에 Pham (1970)등과 Bray등(1969)이 amastigotes에서 길고 뒤틀린 상태의 mitochondrion을 발견하므로써 이러한 보고에 의문을 제기하게 되었었다. 그러나 Akiyama와 McQuillen(1972)등에 의해 amastigote로부터 promastigote로 변형되는 동안 mitochondrion이 확장된다는 사실이 확실히 밝혀졌다. 본 연구에서도 확장된 mitochondrion과 함께 매우 긴 kinetoplast를 관찰할 수 있었다.

Leishmania충체의 pellicle이 2개의 단위막과 microtubule의 울타리로 싸여 있다는 것은 Rudzinska등(1964)이 발표한 내용과 일치하였다.

Microtubule을 연결하여 주는 섬유에 대해서는 Rudzinska등(1964)이 *L. donovania*에서 처음 관찰하였고 *L. tropica*에서는 Hentzer등(1977)에 의해 보고되었다. 가는 섬유로 서로 연결되어 있는 microtubule의 울타리는 외형을 유지하는 역할을 하는 것으로 생각되고 있다.

Pham등(1970)의 보고와 같이 flagella는 완전히 leishmania 충체내에서만 관찰되었다. Free ribosome은 풍부한데 비하여 SER(smooth endoplasmic reticulum)의 발달은 매우 미약하고 RER(rough E.R.)은

거의 관찰되지 않았다. 이와같이 충체내에 RER의 발달이 없으면서 활발한 pinocytosis를 하고 있는것을 보면 Leishmania충체의 대사는 숙주대사에 의존하는 것으로 생각된다.

이상과 같은 미세구조상의 특징을 종합하여 보면 본 예에서 관찰된 leishmania는 promastigote 단계에 속하는 것으로 생각되었다.

요 약

중동지방에 다녀온 48세의 한국인 남자 피부에 발생한 leishmania증 1예에 대하여 광학 및 전자현미경적 관찰을 하여 문헌 고찰과 아울러 보고하였다.

광학현미경적으로는 조직구 침윤을 주로 하는 만성 육아종성염증반응을 보였고 Giemsa염색상 다수의 leishmania충체를 조직구내에서 관찰할 수 있었다. 전자현미경적으로는 난원형의 단세포 또는 분열중인 충체가 조직구내에 존재하였고 충체는 이중막으로 싸였으며 그 바로밑에 microtubule이 배열되고 세포질내에는 신장된 mitochondrion내에 kinetoplast가 존재하고 그 전방에 flagella가 위치하였으며 기타 다수의 ribosome과 드물게 Golgi complex등을 관찰할 수 있었다. 이와같은 특징은 *Leishmania tropica*의 promastigote stage와 일치하였다.

Leishmania증은 원칙적으로 열대병이나 열대지방과의 접촉이 빈번함에 따라 앞으로 우리나라에서도 보다 많은 증예가 발생할 것으로 사료된다.

REFERENCES

Akiyama, H.J., McQuillan, N.K.(1972); Interaction and transfomation of *Leishmania donovani* within in vitro culture cells an electron microscopical study *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 21:873.

Bray, R.S., Ellis D.S., Bird R.G. (1969); The fine structure of *Leishmania enriettii. Trans. Roy. Soc. Trop. Med.* Hyg. 63:10.

Gardener, P.U. (1974); Pellicle associated structures in the amastigote stage of *Trypanosoma cruzi* and Leishmania species. *Ann. Trop. Med. Parasit.* 68:167.

Hertzer B., Kobayasi T. (1977); The ultrastructure of *Leishmania tropica* in skin lesions. *Acta. Path. Microbiol. Scand. Sect.* 85:153.

Lofgren, R. (1950); The structure of *Leishmania tropica* as revealed by phase and electron microscopy. *J. Bact.* 60:617.

Pham, T.D., Azar H.A., Moscovic E.A., Kurban, A.K. (1970); The ultrastucture of *Leishmania tropica* in the oriental sore. *Ann. Trop. Med. Parasit.* 64:1.

Rudzinska, M.A. d'Alesandro P.A., Trager, W.(1964); The fine structure of *Leishmania donovania* and the role of the kinetoplast in the Leishmania leptomonad transformation. *J. Protozool.* 11:166.

Sanyl, A.B., Sen Gupta P.C.(1967); Fine structure of Leishmania in dermal leishmanoid. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.* 61:211.

Legends of Figures

Figs. 1 & 2.: Giemsa stained sections of the skin show histiocytic and small round cell infiltration and numerous intracytoplasmic micro-organisms containing dark dot within pale cytoplasm. X1,000.

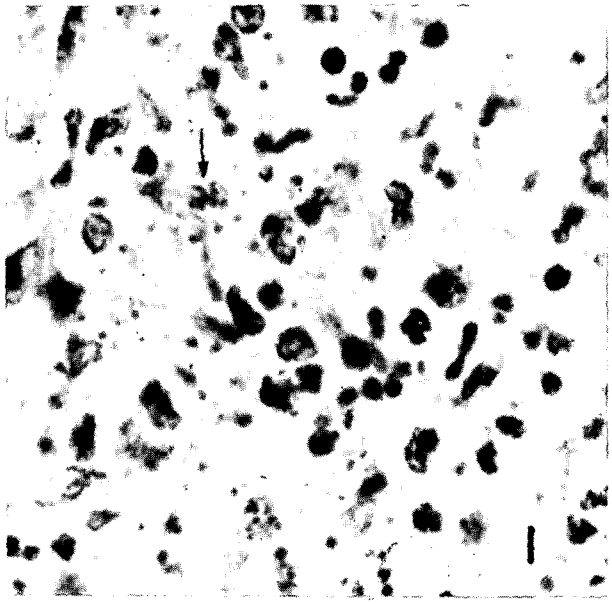
Fig. 3: An electronmicrophotograph shows intracytoplasmic microorganism in mitotic division by binary fission. pellicle, nucleus, kinetoplast(K) and other structures. X40,000.

Figs. 4&5: Higher magnifications of pellicls shows outer double layers of unit membrane and inner microtubules (4) and trangenital (5) sections. X50,000 X125,000.

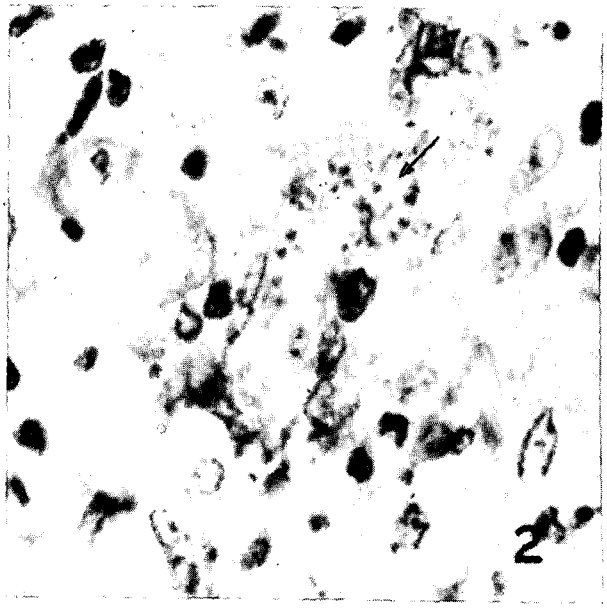
Fig. 6: Two microorganisms just after binary fission show a large nucleus(N), transversely located kinetoplast with cross lamellation(K). and a longitudinal section of flagella(F) which consist of central tubule and peripheral doublet tubules, and arise in front of kinetoplast ending within cytoplasm. X80,000.

Fig. 7: Cross section of flagella (F) shows a typical 9+2 structure. X112,500.

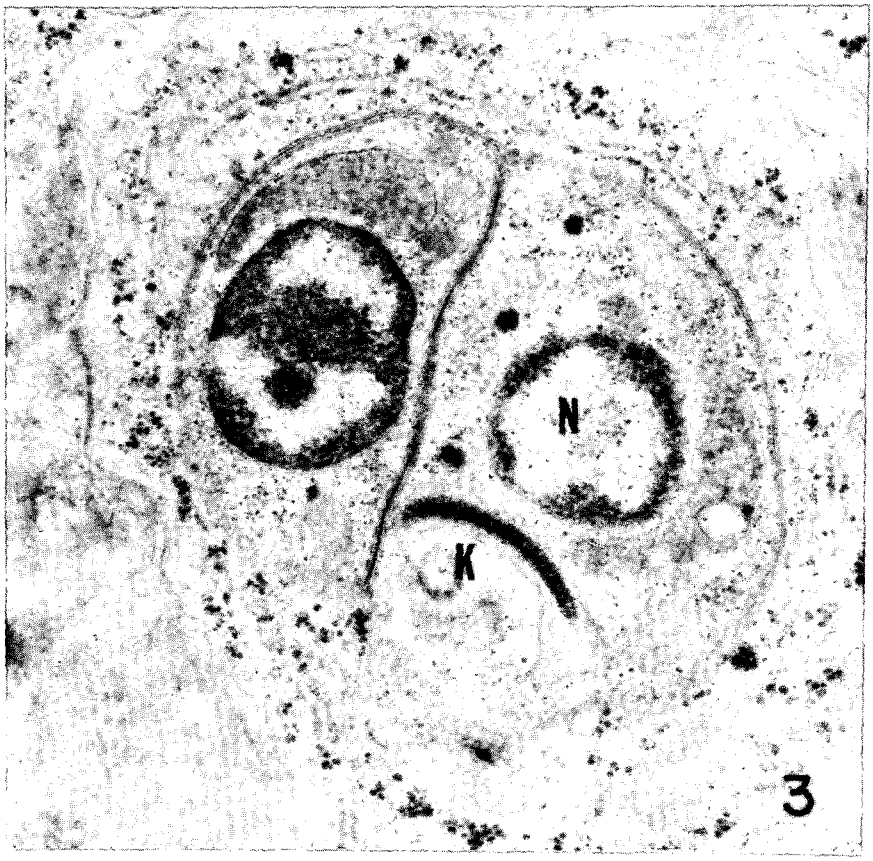
Fig. 8: The picture shows kinetoplast located within a elongated mitochondrion (M), many free ribosomes, and partial degenerative changes. X92,000.



1

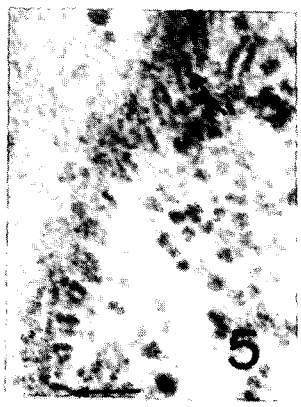


2



3

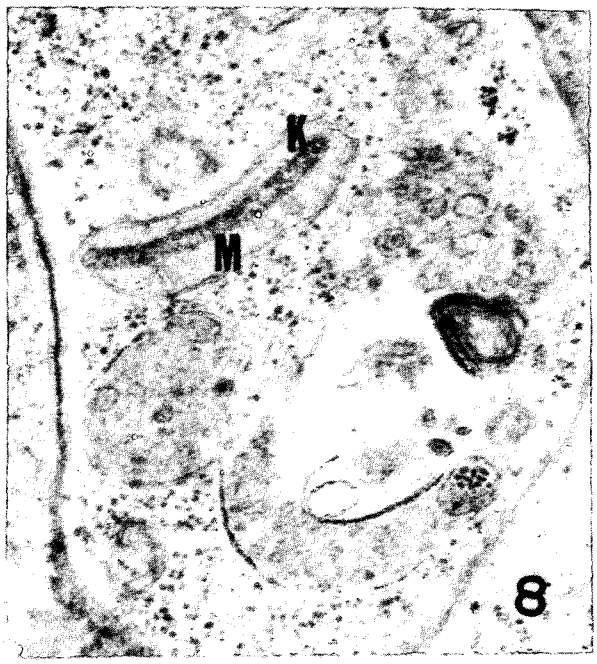
4



5

N
K
K
F
6

F
7


K
M
8