

돼지악구충(*Gnathostoma hispidum*) 제3기 유충의 표면 미세구조

손운목^{1)*}, 이진하¹⁾, 홍성중²⁾, 우호춘³⁾, 이순형⁴⁾

경상대학교 의과대학 기생충학교실¹⁾, 중앙대학교 의과대학 기생충학교실²⁾, 제주대학교 농과대학 수의학과³⁾,
서울대학교 의과대학 기생충학교실 및 풍토병연구소⁴⁾

초록: 중국산 수입 미꾸리에서 검출한 돼지악구충(*Gnathostoma hispidum*)의 early third-stage larva(EL₃)와 EL₃를 마우스에 실험감염시킨 후 4주에 최수한 advanced third-stage larva(AdL₃)의 표면 미세구조를 주사전자현미경으로 관찰하였다. 미꾸리 및 마우스로부터 획득한 충체들을 0.1 M cacodylate buffer로 몇 차례 씻고 2.5% glutaraldehyde 용액으로 고정하였으며 탈수, 건조, 표면처리 등의 과정을 거친 후 한국 ISI사의 DS-130C 주사전자현미경으로 관찰하였다. 충체의 전단에는 반달 모양의 구순이 구강을 중심으로 좌우에 1쌍 돌출되어 있었으며 각 구순에는 한 개의 작은 amphid를 중심으로 양쪽에 labial papillae가 한 개씩 존재하였다. Head bulb에 배열되어 있는 모든 소구들은 끝이 날카롭고 후방으로 휘어져 있었으며 갈고리 모양이었다. EL₃의 전 체표면에는 가로주름(transverse striation)이 나 있었고 각 주름에는 피극(cuticular spine)들이 일정한 간격으로 배열되어 있었다. 충체의 앞 부위 체표면에는 길이 약 1.8 μm의 단단인 피극이, 중간부위와 후반부의 체표면에는 약 0.75 μm 길이의 피극이 배열되어 있었다. AdL₃의 앞 부위 체표면에는 길이 약 4.5 μm의 끝이 뾰족한 피극이, 중간 부위에는 약 1.75 μm 길이의 피극이 배열되어 있었으며 뒷 부위 체표면에는 벨벳형의 체표주름(velvety cuticular folds)과 미세한 피극이 분포하였다. 충체의 정중면 7번과 8번 가로주름 사이에 한 개의 cervical papilla가 분포하였고 후방 약 1/4 지점에서 한 개의 body papilla가 관찰되었다. 타원형의 배설공은 17번과 18번 가로주름 사이에서 개구하였다. 이상에서 EL₃와 AdL₃ 간에 성장 발육에 따른 미세구조의 차이는 인정되나 근본적인 것은 대동소이하다. 그러나 관찰된 특징적인 SEM 소견들이 악구충의 유충 감별에 도움을 줄 수 있을 것으로 생각된다.

서론

악구충(genus *Gnathostoma*)은 일종의 조직기생 선충류로서 전 세계적으로 문헌상 약 20여 종이 기록되어 있다. Miyazaki(1960)는 이들 중 상당수가 먼저 기술된 종과 같은 종(synonym)이라고 하면서 type species인 *G. spinigerum*을 비롯하여 *G. hispidum*, *G. turgidum*, *G. doloresi*, *G. nipponicum*, *G. americanum* 및 *G. procyonis* 등 7종을 독립된 종으로 인정하였다. 그러나 그후 그는 *G. miyazakii*, *G. malaysiae* 및 *G. vietnamictum* 등 3종을 추가하여 10종을 독립된

종이라고 하였고(Miyazaki, 1991), Daengsvang(1980)은 *G. didelphis*와 *G. brasiliense*를 포함하여 12종을 독립된 종이라고 하였다. 이들 중 돼지악구충(*G. hispidum*)은 1872년에 Fedtschenko에 의하여 Turkestan의 야생돼지와 헝가리의 집돼지 위벽에서 처음 발견되어 기록되었으며 그 후 중국에서도 집돼지에 많이 감염되어 있음이 역학조사를 통하여 밝혀졌다(Chen, 1936, Wang et al., 1976, Huang et al., 1986).

우리 나라에서는 Kim(1973)이 경남산 가물치 213마리를 조사하여 1마리에서 유극악구충(*G. spinigerum*)의 제3기 유충 2마리를 검출하였고 Lee et al(1988)은 수막뇌염으로 미군 병원에 입원한 태국 여성으로부터 유극악구충 한 마리를 검출하여 수입 증례로 보고한 것을 제외하고는 거의 연구된 바 없었으나 근래에 와서 중국산 수입 미꾸리를 통하여 일본악구충(*G. nipponicum*)과 돼지악구

• 논문접수 1996년 8월 16일, 수정재접수 1996년 8월 26일

*별책 요청 저자

충이 국내로 유입되고 있음이 밝혀지면서 의학적 관심이 높아지고 있다(Sohn et al., 1993, Sohn and Lee, 1996).

한편, 전자현미경의 등장으로 생물체의 미세구조 관찰이 용이하게 되었고 주사전자현미경을 이용하여 관찰된 기생충의 표피 미세구조는 종 동정에 있어서 보조적인 자료로 활용되는 것으로 알려져 있다. 악구충의 경우, 광학현미경의 수준에서 피극의 분포범위에 따라 크게 두 군으로 나뉘었는데(Miyazaki, 1966) 근래에 와서 피극의 형태 및 분포를 보다 면밀하게 관찰 비교하게 되었으며 악구충속 총체의 head bulb 상에 분포하는 소구(hooklet)의 수 및 형태를 주사전자현미경으로 관찰하여 종 동정에 유용한 자료로 활용할 수 있게 되었다.

따라서 이 연구는 조직 침입 선충으로 임상적 중요성이 높은 악구충속에 대한 기초적인 지견을 얻고자 중국산 수입 미꾸리로부터 획득한 패지악구충의 EL₃(early third-stage larva)와 이 EL₃를 마우스에 실험감염시킨 후 회수한 AdL₃(advanced third-stage larva)의 표피 미세구조를 주사전자현미경으로 비교 관찰하였다.

재료 및 방법

1. EL₃ 및 AdL₃의 획득

담수어 도매상으로부터 구입한 중국산 수입 미꾸리를 실험실로 운반한 후 근육과 내장으로 분리하여 각각 믹서로 마쇄하였다. 마쇄한 근육과 내장을 인공소화액(pepsin-HCl 용액)으로 36°C 배양기에서 소화시켰으며 소화된 내용물의 상층액이 맑아질 때까지 생리식염수를 갈아넣어 주었다. 상층액이 어느 정도 맑아졌을 때 입체해부현미경하에서 EL₃를 분리 수집하였다. 미꾸리로부터 분리 수집한 EL₃를 5마리의 마우스에 각각 10마리씩 경구 감염시켰으며 감염 후 4주에 마우스를 도살하고 점질을 벗긴 다음 인공소화시켜 AdL₃를 분리 수집하였다.

2. 주사전자현미경용 시료 제작 및 관찰

미꾸리 및 실험감염 마우스로부터 획득한 총체를 0.85% 생리식염수와 0.1 M cacodylate 완충액(pH 7.4)으로 3-4회 씻은 후 2.5% glutaraldehyde 용액으로 고정하였다. 고정한 총체들을

다시 동일한 완충액으로 3-4회 씻고 ethanol series를 거치면서 탈수하였으며 acetone 용액으로 치환시킨 후 ABT(model CP-5A) critical point dryer로 건조시켰다. 건조된 총체의 표면을 ion sputtering coator(Bio-Rad, E 5300)로 처리한 후 주사전자현미경(ISI사, DS-130C)으로 가속전압 15 KV 하에서 관찰하였다.

결 과

1. EL₃의 표면 미세구조

총체의 전단에는 구순이 돌출되어 있었고 그 뒤로 4줄의 소구(hooklet)가 배열되어 있는 head bulb가 이어졌으며 그 뒤 체표면에는 미세한 피극(cuticular spine)이 일정한 간격으로 배열되어 있는 약 190줄의 가로주름(transverse striation)이 후단까지 분포하였다(Fig. 1). 반달 모양의 구순은 구강을 중심으로 좌우에 1쌍 돌출되어 있었으며 각 구순에는 조그마한 하나의 amphid를 중심으로 양쪽에 하나씩 labial papillae가 존재하였다. Head bulb에 배열되어 있는 4줄의 소구 중 첫 줄의 것이 크기가 다소 작았으나 모든 소구들이 끝이 날카롭고 후방으로 휘어져 있었다(Figs. 2 & 3). Head bulb 바로 뒤 체표면에는 약 2.8 μm 간격으로 가로주름이 나 있었고 각 주름에는 약 1.8 μm 길이의 피극이 약 2.5 μm 간격으로 배열되어 있었으며(Fig. 4). 총체의 정중면 7번과 8번 가로주름 사이에서 한 개의 cervical papilla가 관찰되었다(Fig. 5). 타원형의 배설공은 17번과 18번 가로주름 사이에서 개구하였고 약 3.4 × 1.3 μm 크기이었다(Fig. 6). 중간 부위의 체표면에는 약 2.5 μm 간격으로 가로주름이 있었고 각 주름에는 약 0.75 μm 길이의 피극이 배열되어 있었다(Fig. 7). 총체 후방 약 1/3지점 체표면에는 약 1.5 μm 간격으로 가로주름이 나 있었고 각 주름에는 약 0.75 μm 길이의 피극이 약 3.5 μm 간격으로 배열되어 있었으며 총체 후방 1/4 지점 체표면에는 약 2.5 × 1.5 μm 크기의 body papilla가 하나 분포하였다(Fig. 8). 항문은 총체 후단 복측에 개구하였으며 그 주위에는 가로주름과 가시들이 분포하지 않았다(Fig. 9).

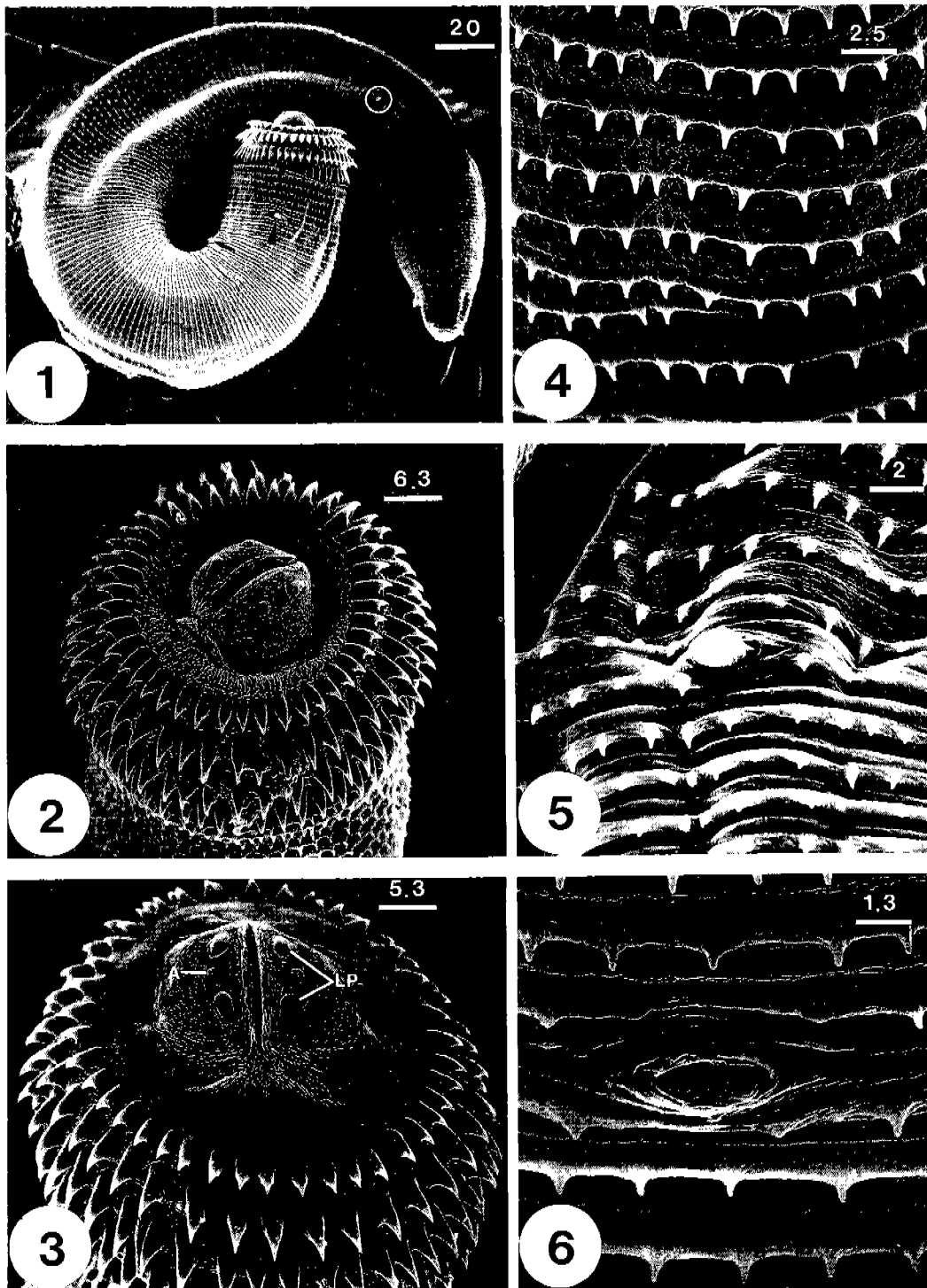
→

Figs. 1-9. Scanning electron microscopic (SEM) view of the EL₃ of *G. hispidum* from the viscera of Chinese loach.

Fig. 1. Whole body view of an EL₃. Arrow head: cervical papilla; arrow mark: excretory pore; encircled: body papilla. **Fig. 2.** Four transverse rows of hooklets curved posteriorly on the head bulb. **Fig. 3.** Frontal view of the head bulb shows an amphid (A) and two labial papillae (LP) on each lip. **Fig. 4.** Cuticular spines on the transverse striations of anterior part of the body. **Fig. 5.** A cervical papilla located between the 7th and 8th transverse striations. **Fig. 6.** An ellipsoidal excretory pore opens between the 17th and 18th striations.

2. AdL₃의 표면 미세구조
충체의 전단에 위치한 입 부위와 head bulb의

형태는 EL₃와 대동소이하였다. Head bulb에 분포하는 소구들은 새의 부리와 같이 후방을 향하여 구부러져 있었고 길이의 약 2/3 정도가 표피에 덮여



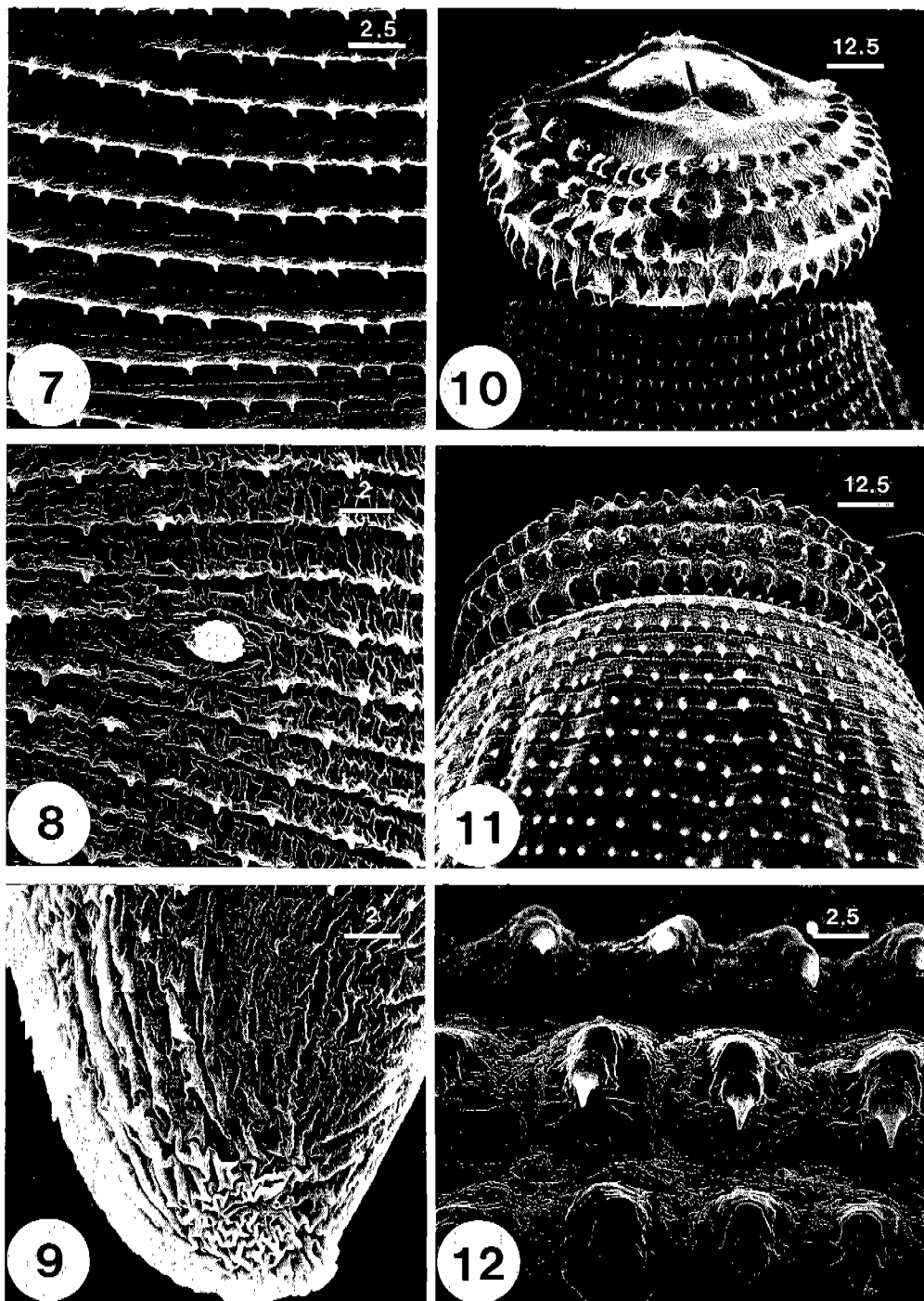


Fig. 7. Cuticular spines on the striations of middle part of the body. **Fig. 8.** A dome-like body papilla is located on the posterior one quarter of the body. **Fig. 9.** Ventral view of posterior end of the body. **Figs. 10-18.** SEM view of the AdL₃ of *G. hispidum* recovered from mice infected with EL₃. **Fig. 10.** Head bulb bearing 4 transverse rows of hooklets and 2 lips. **Fig. 11.** Dorsal view of the anterior end. **Fig. 12.** Beak-like hooklets on the head bulb of Fig. 11 are curved posteriorly and covered with tegument.

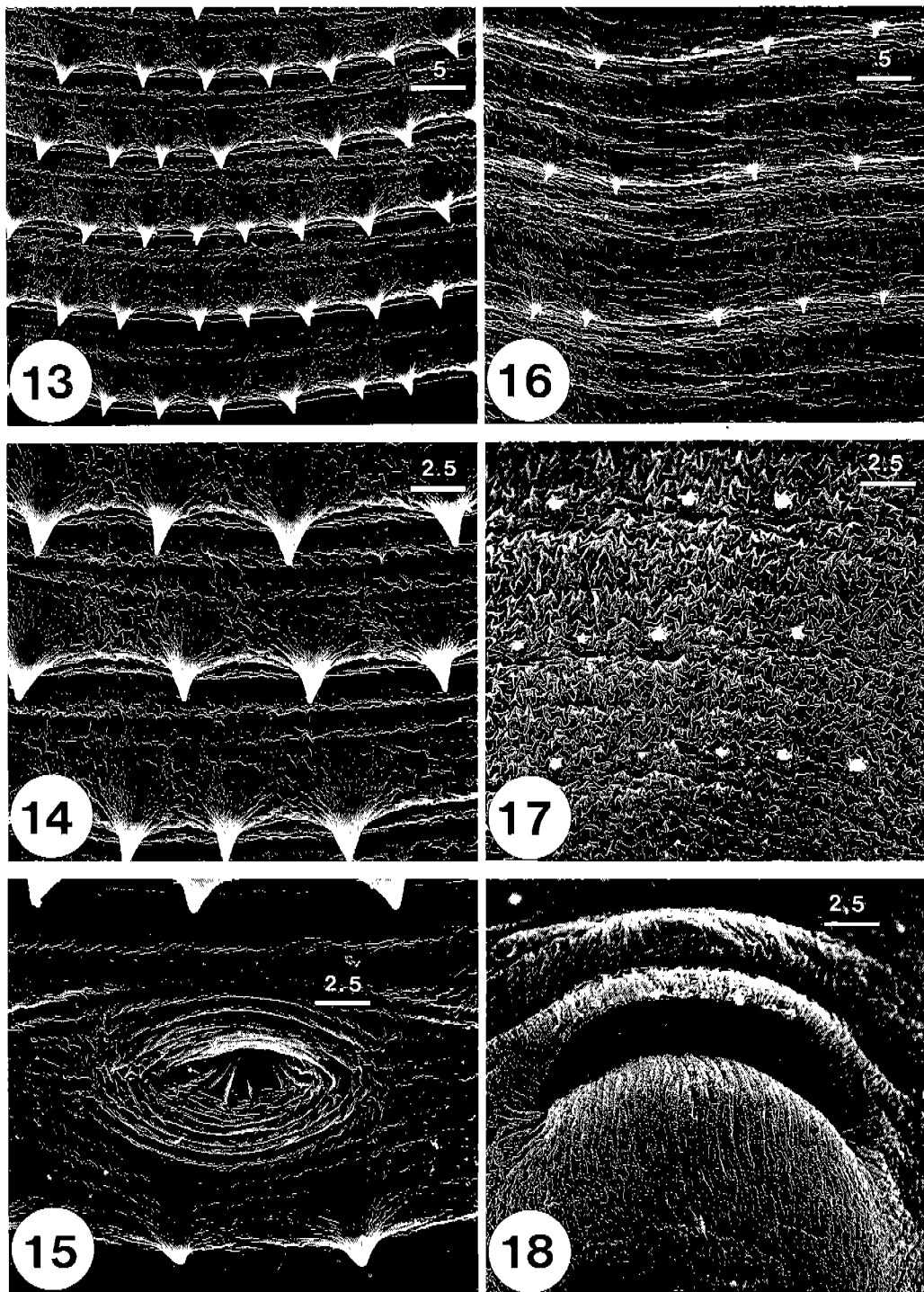


Fig. 13. Cuticular spines and transverse striations on the anterior part of the body. **Fig. 14.** Magnification of the portion in Fig. 13. Note the sharp-tipped spines and cuticular folds. **Fig. 15.** An oval-shaped excretory pore with circular foldings. **Fig. 16.** Cuticle on the middle part of body of which spines and striations are sparsely distributed. **Fig. 17.** Cuticular folds and dot-like spines on the posterior part of the body. **Fig. 18.** A crescentic anus and the adjacent cuticle without spines.

있었다(Figs. 10-12). Head bulb와 배설공 사이의 체표면은 약 7.5 μm 간격으로 가로주름져 있었으며 각 주름에는 길이 약 4.5 μm 의 끝이 뾰족한 피극이 거의 일정한 간격으로 배열되어 있었다(Figs. 13 & 14). 17번째와 18번째 가로주름 사이에서 관찰되는 배설공은 크기가 약 12.5 \times 8.0 μm 이며 타원형이었다(Fig. 15). 충체 중간 부위의 체표면은 약 12.5 μm 간격으로 가로주름져 있었고 각 주름에는 약 1.75 μm 길이의 피극이 배열되어 있었다(Fig. 16). 충체 후반부의 체표면에는 웅단형의 체표주름(velvety cuticular folds)이 발달되어 있는 관계로 가로주름의 형태가 뚜렷하지 않았지만 점상(dot-shape)의 피극이 줄지어 배열되어 있었다(Fig. 17). 초생달 모양의 항문은 충체의 후단 복측에 개구하였고 약 15.0 \times 2.5 μm 크기이었다. 항문 주위 및 후방에는 가로주름과 피극이 분포하지 않았다(Fig. 18).

고 찰

악구충은 피극의 분포에 따라 전 체표면에 피극이 분포하는 근과 전반부 체표면에만 피극이 분포하는 근으로 크게 나뉜다. 돼지악구충을 비롯하여 *G. doloresi*, *G. procyonis* 등은 전자에 속하고 유극악구충, 일본악구충, *G. turgidum* 등은 후자에 속하는 것으로 알려져 있다(Miyazaki, 1960). 근래에 와서 주사전자현미경을 이용하여 악구충 표면에 있는 피극의 형태 및 분포를 보다 면밀하게 관찰하여 비교하게 되었다. Ratamarápee(1982)는 유극악구충의 성충 및 제3기 유충의 표피 미세구조를 비교 관찰하였고 Anantaphruti et al.(1982)은 유극악구충 AdL₃의 미세구조를 관찰하였으며 Koga and Ishii(1987)는 자연감염 뱀에서 분리수집한 *G. doloresi* AdL₃의 표피를 관찰하였다. Scholz and Dittrich(1990)는 자연 감염 고양이로부터 획득한 유극악구충 미성숙 자충의 표피 미세구조 관찰에서 충체 후반부에 피극이 존재하지 않는 것이 아니고 미세하고 흔적적인 피극들이 드문 드문 분포한다고 하였다. 돼지악구충의 경우, Koga et al.(1984)이 중국에서 얻은 것과 실험감염 돼지로부터 회수한 암수 성충의 표피 미세구조를 비교하였고 Kondo et al.(1984)은 EL₃, AdL₃ 및 성충 암컷의 표피 구조를 관찰한 바 있는데 성충의 표피구조 관찰에 중점을 둔 관계로 유충에 대한 관찰 소견은 그 내용이 다소 부실하였다.

이 연구에서 돼지악구충 EL₃의 전반부 체표에 분포하는 피극의 길이는 약 1.8 μm 이었고 중간부와 후반부 체표면에는 약 0.75 μm 길이의 피극이 분포하였는데 이것은 Kondo et al.(1984)의 소견(0.8~1.7 μm)과 거의 일치하였다. 그러나 AdL₃의 경우, 전반부의 체표면에는 약 4.5 μm 의 피극

이 분포하였고 중간 부위에는 약 1.75 μm 의 피극이, 후반부에는 점상의 피극이 분포하였는데 이는 Kondo et al.(1984)의 소견(2.3~4.1 μm)과 차이가 있었다. 본 연구에서 EL₃의 cervical papilla가 7번째 가로주름과 8번째 가로주름 사이에서 관찰되었는데 Kondo et al.(1984)은 11번째와 12번째 가로주름 사이에서 관찰된다고 하여 다소 차이를 보였다. *G. doloresi*의 cervical papillae의 위치도 연구자에 따라 차이가 있으며 이와 같은 차이는 충체의 개체 차이로 인정된다(Miyazaki and Ishii, 1952; Mako and Akahane, 1985; Koga and Ishii, 1987).

이 연구에서 EL₃와 AdL₃ 사이에 근본적인 미세구조의 차이는 인정되지 않았다. EL₃에 비해 AdL₃가 많이 성장 발육된 관계로 head bulb에 분포하는 소구의 수 및 크기, 체표면의 부위별 가로주름과 피극의 수 및 크기 등에서 적고 많음 및 작고 큼의 차이가 있을 뿐이었다. 그 외에 피극의 분포라든가 cervical papilla, body papilla, 배설공 등의 형태 및 위치 등 근본적인 것들은 대동소이하였다.

악구충은 특징적인 head bulb를 가지고 있고 이 head bulb에는 갈고리 모양의 소구가 줄지어 배열되어 있는데 이 소구의 배열상태 및 수가 종 동정에 중요한 열쇠가 된다. 극동지방에는 type species인 유극악구충을 비롯하여 일본악구충, *G. doloresi* 및 돼지악구충 등이 분포하는 것으로 알려져 있는데 그들 중 일본악구충은 head bulb에 3줄의 소구가 배열되어 있기 때문에 다른 셋과 쉽게 감별이 되고 *G. doloresi*는 제2열에 가장 많은 수의 소구가 배열되어 있는 것이 특징이라서 나머지 둘과 감별이 된다. 유극악구충과 돼지악구충은 제1열에서 제4열로 가면서 배열된 소구의 수가 점차 늘어나는 공통점을 가지지만 유극악구충이 돼지악구충에 비해 매 열 공통적으로 많은 소구를 가지며 모든 열에서 40개 이상의 소구가 배열되어 있는 것으로 알려져 있어 감별이 가능하다(Koga et al., 1985). 이 연구를 통하여 Koga et al.(1985)과 Sohn et al.(1996)이 광학현미경으로 관찰하였던 돼지악구충의 EL₃와 AdL₃의 head bulb 형태 및 소구의 배열상태를 주사전자현미경으로 확인한 셈이 된다. 그리고 광학현미경으로 검출하기 어려운 labial papillae, amphids, cervical papilla, excretory pore, body papilla 등의 형태 및 위치를 관찰하였고 head bulb와 head bulb에 배열되어 있는 소구의 수 및 형태, 체표면에 있는 가로주름과 피극의 형태 및 분포양상 등을 확인하였는데 관찰한 소견들이 악구충의 유충 감별에 도움을 줄 수 있을 것으로 생각된다.

REFERENCES

- Anantaphruti M, Setasubun P, Daengsvang S, Vajrasthira S (1982) Electron microscopy of the advanced third-stage larvae of *Gnathostoma spinigerum*. *Southeast Asian J Trop Med Pub Health* **13**: 531-540.
- Chen HT (1936) Parasites in slaughter houses in Canton. Part 1. Helminths of Kwangtung hogs. *Lingnan Sci J* **15**: 31-44.
- Daengsvang S (1980) A monograph on the genus *Gnathostoma* and gnathostomiasis in Thailand. Southeast Asian Medical Information Center, Tokyo.
- Fedtschenko AP (1872) Zoological observations. 2. *Gnathostoma hispidum*, a new parasite of swine. *Izvest Imp Obsh Liub Estestvozn Moskra* **10**(1): 106-111 (in Russian).
- Huang WC, Xia BF, Koga M, Ishii Y (1986) A survey on *Gnathostoma hispidum* Fedtschenko, 1872 in Jiangxi, People's Republic of China. *Jpn J Parasitol* **35**(3): 223-227.
- Kim YK (1973) A study on *Gnathostoma* (1) An investigation into the geographical distribution of larvae on the second and third stage in Gyengsang Nam do. *Bull Pusan Nat Univ (Natur Sci)* **15**: 111-116 (in Korean).
- Koga M, Ishibashi J, Ishii Y, Hasegawa H, Choi DW, Lo TY (1985) Morphology and experimental infections of gnathostome larvae from imported loaches, *Misgurunus anguillicaudatus*. *Jpn J Parasitol* **34**: 361-370 (in Japanese).
- Koga M, Ishii Y (1987) Surface morphology of the advanced third-stage larva of *Gnathostoma doloresi* - An electron microscopic study -. *Jpn J Parasitol* **36**: 231-235.
- Koga M, Ishii Y, Akahane H, Mao SP (1984) Scanning electron microscopic comparison of adult *Gnathostoma hispidum* Fedtschenko, 1872 from China with a male *Gnathostoma* sp. obtained experimentally from a pig in Japan. *Jpn J Parasitol* **33**: 407-414 (in Japanese).
- Kondo K, Akao N, Takakura Y, Ohnishi Y, Konishi Y, Yoshimura H (1984) Scanning electron microscopy (SEM) of larvae and adult worms of *Gnathostoma hispidum*. *Jpn J Parasitol* **33**: 577-586 (in Japanese).
- Lee SH, Hong ST, Chai JY (1988) Description of a male *Gnathostoma spinigerum* recovered from a Thai woman with meningoencephalitis. *Korean J Parasitol* **26**(1): 33-38.
- Mako T, Akahane H (1985) On the larval *Gnathostoma doloresi* found in a snake, *Dinodon semicarinatus* from Amami-Oshima Is., Japan. *Jpn J Parasitol* **34**: 493-499.
- Miyazaki I (1960) On the genus *Gnathostoma* and human gnathostomiasis, with special reference to Japan. *Exp Parasitol* **9**: 338-370.
- Miyazaki I (1966) *Gnathostoma* and gnathostomiasis. *Progress of Medical Parasitology in Japan* **3**: 531-586.
- Miyazaki I (1991) An illustrated book of helminthic zoonoses, p368-409. International Medical Foundation of Japan, Tokyo.
- Miyazaki I, Ishii Y (1952) On a gnathostome larva encysted in the muscle of salamander, *Hynobius*. *Acta Med (Fukuoka)* **22**: 467-473.
- Ratanarapee S (1982) Fine structures of *Gnathostoma spinigerum*: a comparative SEM study between an adult worm and a third stage larva. *J Med Ass Thai* **65**: 642-647.
- Scholz T, Ditrich O (1990) Scanning electron microscopy of the cuticular armature of the nematode *Gnathostoma spinigerum* Owen, 1836 from cats in Laos. *J Helminthol* **64**: 255-262.
- Sohn WM, Kho WG, Lee SH (1993) Larval *Gnathostoma nipponicum* found in the imported Chinese loaches. *Korean J Parasitol* **31**(4): 347-352.
- Sohn WM, Lee SH (1996) Identification of larval *Gnathostoma* obtained from imported Chinese loaches. *Korean J Parasitol* **34**: 161-167.
- Wang P, Sun Y, Zhao Y (1976) On the development of *Gnathostoma hispidum* in the intermediate host with special reference to its transmission route in pigs. *Acta Zool Sinica* **22**: 45-52.

=Abstract=

Surface ultrastructures of the third-stage larvae of *Gnathostoma hispidum*

Woon-Mok SOHN,^{1)*} Jin-Ha LEE¹⁾, Sung-Jong HONG²⁾,
Ho-Choon WOO³⁾ and Soon-Hyung LEE⁴⁾

Department of Parasitology¹⁾, College of Medicine, Gyeongsang National University, Chinju 660-280,
Department of Parasitology²⁾, College of Medicine, Chung-Ang University, Seoul 156-756,
Department of Veterinary Medicine³⁾, College of Agriculture, Cheju National University, Cheju 690-756,
Department of Parasitology and Institute of Endemic Diseases⁴⁾,
Seoul National University College of Medicine, Seoul 110-799, Korea

A scanning electron microscopic study was performed to observe the surface ultrastructures of the third-stage larvae of *Gnathostoma hispidum*. The early third-stage larvae (EL₃) were collected from the viscera of Chinese loaches by the artificial digestion method. The advanced third-stage larvae (AdL₃) were recovered from mice experimentally infected with EL₃. Both larval worms were fixed with 2.5% glutaraldehyde, dehydrated in graded alcohol, dried in critical point dryer, and coated with gold. The specimens were observed with a SEM (DS-130C). On the head bulb of both larval stage, the mouth had a pair of lateral lips of equal size and of half moon shape. Each lip had a couple of labial papillae and a small amphid located between the two papillae. The hooklets on the head bulb had single-pointed tips and curved posteriorly. The cuticular spines of EL₃ were larger and more densely distributed in the anterior area (about 1.8 μm in length) and gradually decreased in size and number posteriorly. The cuticular spines in the anterior area of AdL₃ were sharp-pointed and about 4.5 μm in length, and those in the middle area were about 1.75 μm. The velvety cuticular folds and dot-like cuticular spines were distributed in the posterior area. A cervical papilla was located between the 7th and 8th transverse striations. A dome-like body papilla was located at the posterior 1/4 of body. An ellipsoidal excretory pore was located between the 17th and 18th striations. From the above results, it is suggested that the characteristic SEM findings obtained from this study may be helpful on the species identification of larval *Gnathostoma*.

Key words: *Gnathostoma hispidum*, third-stage larva, Chinese loaches, SEM, surface ultrastructure

[Korean J. Parasitol. 34(3): 169-176, September 1996]