

실마리세포(Clue cell)의 미세구조에 관한 연구

A Study on Microstruture of Clue cell

박 미 순*, 장 병 수**

한서대학교 대학원 보건의료학과*,
한서대학교 보건학부 피부미용학과**

Park mi-soon*, Chang byung-soo**

Dept. of Health Care, Graduate School, Hanseo
University*, Dept. of Cosmetology, Hanseo
University**

요약

질염 환자의 Pap. 염색 도말 표본에서 실마리세포(clue cell)는 쉽게 관찰되었으며 이들 세포 주변에서 젖산균(lactobacilli)은 확인되지 않았다. 주사전자현미경상에서 편평상피세포(squamous epithelial cell) 표면을 덮고 있는 *Gardnerella vaginalis*들은 biofilm을 형성하고 있었다. 무정형의 biofilm 물질은 세균 표면을 매끄럽게 덮고 있거나 세균과 세균 사이를 연결시켜주고 있었다. *Gardnerella vaginalis*는 구균과 간균의 형태로 직경이 약 0.3 μ m-0.6 μ m 크기로 다양하였으며 세포벽 표면에는 작은 돌출된 물질들에 의해서 피복되어 있고, 일부 세균들은 분열양상을 나타냈다.

I. 서론

세균성질증은 가임기 여성들에게 감염되어 질 분비물의 분비와 불쾌한 냄새를 유발함으로써 상당한 스트레스를 주게 된다[1]. 그러나 감염된 여성의 약 50%는 증상이 나타나지 않는다[2].

세균성질증은 성교를 통해 전 세계적으로 전파되는 유행성 질환이다. 세균성질증의 발생 원인은 다인성으로 기회감염균에 의한 질내 정상 젖산균총의 감소 현상이 관찰되었다. 이에 대한 초기 기작은 명확하게 밝혀져 있지 않았다[3][4]. 또한, 세균성질증은 오랜 기간 방치하면 고위험군의 HIV 감염뿐 만 아니라 골반염(pelvic inflammation disease), 수술 후 감염(postoperative infection), 자궁 경부염(cervicitis), 자궁내막염(endometritis), 융모양막염(chorioamnionitis), 난관염(salpingitis), 난소염(oophoritis) 및 조산아 출생(preterm birth) 등을 포함한 산부인과적 질환을 증가시킬 수 있다 [5].

세균성질증의 치료는 일차 진료 후 60-70% 치료율을 나타내고 있는데 이중 20-30% 환자는 3개월 이내에 재발하는 것으로 보고되고 있다.

현재 국내에서 세균성질증의 임상진단으로 Pap. 염색과 Gram 염색을 통한 *Gardnerella vaginalis*의 존재 유무와 clue cell의 광학현미경 관찰 및 PCR의 발현을 통한 연구가 진행되어 왔다. 그러나 질경검사를 통하여 직접 채취한 질 점막 찰과 검체물에 존재하는 탈락된 질 상피세포와 다양한 미생물들의 세포학적 미세구조적 특성에 대한 연구는 미흡한 상황이다. 본 연구는 질 찰과 검체물에서 *Gardnerella vaginalis*의 미세구조적 특성과 이들 세

균들에 의해서 형성된 Clue cell들의 현미경상의 미세구조적 특성을 확인하였다.

II. 연구내용 및 방법

1. 실험 재료

실험재료는 H병원에서 질내 염증성 질환으로 내원한 환자 중에 세균성 질증으로 Pap smear의 판독결과가 확인된 액상시료를 사용하였으며, 보건복지부 지정 공용기관 생명윤리위원회의 심의 승인(과제관리번호: P01-201405-BS-03)을 받은 후 진행하였다. PCR 반응에 사용된 *Gardnerella vaginalis* 양성 샘플(KCTC 5097)은 한국미생물자원센터로부터 분양받아 사용하였다.

2. 주사전자현미경 관찰

액상 Vial에 들어있는 시료를 전자현미경 시료 제작을 위하여 원심분리기(HA1000-6, Hanil, Korea)로 1,000rpm에서 원심분리 시킨 후 상등액은 버리고 침전된 시료만 남긴 후 2.5% paraformaldehyde-glutaraldehyde(4 $^{\circ}$ C, phosphate buffer, pH 7.4)로 2시간 동안 전고정하였다. 이어서 위와 동일한 방법으로 원심분리 시킨 후 인산완충용액(4 $^{\circ}$ C, 0.4 M phosphate buffer, pH 7.4)으로 10분씩 3회 수세한 다음 1% OsO₄(4 $^{\circ}$ C, phosphate buffer)로 2시간 후고정하였다.

고정이 끝난 재료는 인산완충용액(4 $^{\circ}$ C, 0.4 M phosphate buffer, pH 7.4)으로 3회 수세한 다음, ethanol 농도(70%, 80%, 90%, 95%, 100%) 상승순으로

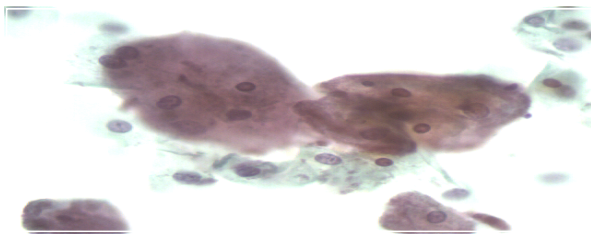
탈수하여 isoamyl acetate로 치환하였다. 처리된 각각의 재료는 임계점건조기(critical point dryer, Hitachi SCP-II, Japan)에서 건조시킨 후, ion coater(JFC-1100)를 사용하여 20 nm 두께로 금 도금(gold coating)한 다음 주사전자현미경(JSM-840 A, Hitachi, Japan)으로 20 kV에서 관찰하였다.

Ⅲ. 결과 및 고찰

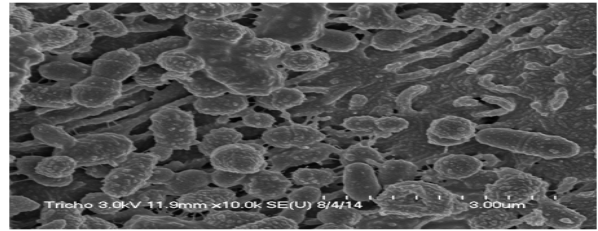
세균성 질증에 감염된 환자의 검체물을 채취하여 Pap. 염색을 실시한 다음 광학현미경으로 관찰한 결과 실마리 세포(Clue cell)를 확인할 수 있었다. 광학현미경상에서 실마리 세포 주변에서 젖산균(lactobacilli)은 관찰되지 않았고 백혈구도 드물게 분포하고 있었다. 또한, 이들 상피세포 표면에는 간균 또는 구균이 혼합된 구간균(coccobacilli)이 세포표면 전체를 덮고 있었으며 세포 가장자리 경계는 불명확한 상태로 관찰되었다. (그림. 1)

세균표면에 부착된 *Gardnerella vaginalis*들은 직경이 약 $0.3\mu\text{m}$ 크기의 구균들이 대부분을 차지하고 있었고 일부 직경이 약 $0.6\mu\text{m}$ 의 간균들이 존재하고 있었다(그림. 2). 또한 간균과 구균의 세포벽 표면에는 작은 돌출된 물질들에 의해서 피복되어 있고, 이들 일부 세균들은 이분법에 의해서 분열되기 직전의 형태로 관찰되었다.

또한 이들 상피세포 표면에는 *Gardnerella vaginalis*들이 biofilm을 형성해서 세균 표면을 덮고 있거나 세균과 세균 사이를 연결시켜주고 있는 것으로 관찰되었다. 전자현미경상에서 *Gardnerella vaginalis*에 의해서 형성된 biofilm은 무정형의 형태로 이들 물질에 잠겨있는 세균들의 표면은 매끄럽게 관찰되었다. (그림. 2)



▶▶ 그림 1. Light micrography showing the presence of clue cells on the microscopic examination of vaginal smear. Pap. stain, 400X.



▶▶ 그림 2. Scanning electron micrograph of showing *Gardnerella vaginalis* cocco-bacilli coated by biofilm

■ 참고 문헌 ■

- [1] Gergova, RT., Strateva, TV., Mitov I “*Gardnerella vaginalis*-associated bacterial vaginosis in Bulgarian women,” The Brazilian Journal of infectious diseases, vol. 17, No. 3, pp. 313-318, 2013.
- [2] Hay P., “Bacterial vaginosis,” Medicine, Vol. 33, No.10, pp. 58-61, 2005.
- [3] Giacomini, G., Calcinai, A., Moretti, D., Cristofani, R., “Accuracy of cervical/vaginal cytology in the diagnosis of bacterial vaginosis,” Sex Transm Dis, Vol. 25, pp. 24-27, 1998.
- [4] Sweet, RL., “Gynecologic conditions and bacterial vaginosis : Implications for the non-pregnant patient,” Infect Dis Obstet Gynecol, Vol. 8, pp. 184-190, 2000.
- [5] Swidsinski, A., Mendling, W., Loening-Baucke, V., Swidsinski, S., Dörffel, Y., Scholze, J., Lochs, H., Verstraelen, H., “An adherent *Gardnerella vaginalis* biofilm persists on the vaginal epithelium after standard therapy with oral metronidazole,” American Journal of Obstetrics & Gynecology, Vol. 198, No.97, pp. 1-6, 2008.