

폐조직내 *Pneumocystis carinii*의 전자현미경적 관찰

권태정 · 서영훈 · 김정숙

Ultrastructural observation of *Pneumocystis carinii* in the human lung tissue.

Kwon T.J., Y.H. Seo, C.S. Kim.

Abstract

P. carinii is a protozoan which induces an often fatal pneumonitis in a variety of compromised patients. The ultrastructure of *P. carinii* was studied in a male infant with pneumocystitis pneumonia associated with hypogammaglobulinemia. Four principal structural varieties-small trophozoites, large trophozoites, mature cyst and empty cyst were identified. The ultrastructure of these organisms was similar to the cases previously reported. Relevance of the morphologic findings to the functional aspect were discussed.

서 론

*P. carinii*는 선천성 면역결핍증이 있는 영유아와 조산아, 장기 이식후 또는 악성종양의 치료를 위해 면역억제 치료를 받고 있는 환자, 기타 쇠약한 사람 등 전반적으로 면역기능이 저하된 사람에서 기회감염으로 폐염을 유발하는 미생물로서 분류학상 원충류(protozoa)에 속한다(Huang과 Marshall, 1970; Stago등, 1980; Natale등, 1981). *P. carinii*에 의하여 유발된 폐염은 조직학적 소견이 매우 특징적이어서 폐포강이 포말성 물질로 채워져 있으면서 그 안에 다수의 원형 또는 반원형의 충체를 포함하고 폐포세포의 증식과 함께 폐포격막에 단핵세포 특히 형질세포가 침윤된다(Barton과 Campbell, 1969; Weber등, 1977; Robbins와 Cotran, 1979). 그러나 때로는 약물 치료의 영향으로 폐포격막의 염증반응 및 섬유화가 심해지고 육아종, 다핵세포, 석회화 등의 비특이적인 소견을 보이기도 한다(Weber등, 1977). 삼출물내의 충체를 동정하기 위하여 각종 특수염색이 고안되었고(Pintozzi등, 1979), 전자현미

경으로 충체를 관찰한 결과(Barton과 Campbell, 1969; Ham등, 1971; Campbell, 1972; Johannesson, 1979) trophozoite, cyst, sporozoite(intracystic bodies)등 여러 형태를 갖는 것이 확인되었으며 이로 인하여 *P. carinii*의 생활사를 이해하는 데 많은 도움을 주었다. 본 교실에서는 최근 저면역글로부린혈증(hypogammaglobulinemia)과 동반되어 Pneumocystosis로 사망한 생후 7개월 된 남아의 폐조직에서 각종 형태의 *P. carinii* 충체를 관찰할 기회가 있어 그 미세구조적 특징을 기술하고 기능적인 측면을 고찰해 보고자 한다.

병 력

환아는 생후 7개월 된 남아로서 약 3개월 전부터 가래를 동반한 기침, 포유불량, 무력증 및 구강내 candidiasis를 주소로 입원하였다. 과거력상 출생시부터 설사증이 있는 것 이외에는 특별한 사항이 없었고 이학적소견에서 cachexia와 탈수증이 있으면서 호흡이 고르지 못하였다. 흉부 X-선 검사 결과 광범위한 폐염과 폐기종이 있었으며, 입원 당시의 혈액검사는 Hgb 9.8

gm%, Hct 31.7%, WBC 10900(Seg. 83, Eosino. 3, Lympho. 13, Mono. 1)로서 심한 빈혈증세를 보였으나 그 후 Hgb과 Hct는 정상으로 되었고 대신 백혈구가 28,800으로 증가하였다. 또한 IgG가 14mg/dl(정상; 375~1500), IgA가 8mg/dl(정상: 100)로 현저히 감소되어 있어서 선천성 저감마글로부린혈증이 있음을 알 수 있었다. 환자는 호흡부전이 심하여 입원 당시부터 산소를 투여하였으나 별 효과를 보지 못하고 2일 후에 사망하였으며 사망 즉시 폐의 necropsy를 시행하였다.

재료 및 방법

Necropsy한 폐조직은 10% 중성 formalin에 고정한 후 paraffin에 포매하여 6μ 두께로 박절한 다음 hematoxylin-eosin 염색을 시행하여 광학 현미경으로 관찰하였다. 전자 현미경적 검사를 위해서는 조직 일부를 세절하여 3% glutaraldehyde(pH 7.4)로 전고정한 후 1% osmium tetroxide(pH 7.4)로 후고정하였고 통상적 방법에 의한 ethanol 탈수 및 epon 포매를 거쳐 초박절편을 만들어서 uranyl acetate와 lead citrate로 이중염색한 후 Hitachi H-500형 투과 전자 현미경으로 관찰하였다.

결 과

1. 광학현미경 소견

보내 온 폐조직의 양이 매우 적어서 정확한 진단을 내릴 수는 없었고 다만 폐포격막이 두꺼워져 있으면서 만성 염증세포가 침윤되어 있어서 간질성 폐염으로 생각되었다(Fig. 1).

2. 전자현미경 소견

폐포강내 포말성 물질내에서 발견된 총체는 형태학적으로 *P. carinii*에 해당되었으며 그 생활사에 따라 매우 다양한 모양을 보였는데 대개 4종류의 형태 즉 세포막이 얇은 소영양형 (small trophozoite)과 대영양형 (large trophozoite), 세포막이 두꺼운 성숙낭형 (mature cyst)과 공허낭형 (empty cyst)으로 이루어져 있었다.

(1) 소영양형

소영양형은 보통 원형으로서 크기가 대략 1.3~1.5μ 이고 두층의 막으로 둘러싸여 있었으며 세포막으로 부터 membrano-tubular structure들이 형성되어 그 중 일부는 세포막에 부착되어 있고 나머지는 분리되어 있었다. 핵은 하나이고 핵막이 부분적으로 소실되어 있었으며 핵인의 구조도 볼 수 있었다. 세포질내에는 조면소포체와 ribosome으로 생각되는 작은 과립들이 산재해 있었다(Fig. 2).

(2) 대영양형

대영양형의 크기는 약 4.8×2.5μ~3.7×1.5μ 정도였고 많은 위족(pseudopodia)을 형성하고 있어 매우 다양한 형태를 취하고 있었다. 총막(pellicle)은 소영양형과 마찬가지로 많은 membrano-tubular structure가 총막에 부착되어 있거나 분리되어 존재하였다. 핵은 보통 하나로서 핵인 구조를 볼 수 있었고 핵막은 핵의 대부분을 둘러싸고 있었으나 부분적으로는 소실되어 있었다(Fig. 3). 세포질내에는 중등도의 glycogen과립, ribosome, 지질양물질, 막으로 둘러싸인 공포 및 mitochondria 등이 존재하였고 기타 조면소포체, Golgi체 등은 관찰되지 않았다(Fig. 4).

(3) 포자소체 (sporozoite)를 내포하고 있는 성숙낭형

성숙낭형의 크기는 약 4μ이고 두꺼운 막으로 둘러싸여 있었는데 막의 두께는 약 800~930Å이었고 3층으로 구성되어 있었다. 내층은 가늘고 전자밀도가 높은 파동막으로 구성되어 있었고, 중간층은 전자밀도가 낮은 과립성 물질로 구성되어 있었으며, 외층은 중간층보다는 얇고 전자밀도가 높으면서 과립성 물질의 덩어리가 그 외측에 군데 군데 부착되어 있었다. 성숙낭형은 1개 내지 5개의 포자소체를 내포하고 있었으며 성숙낭형의 총막과 포자소체 사이에는 glycogen과립, 지질양물질, 공포 및 막성구조 등이 존재하였으나 기타 소기관들은 볼 수 없었다(Fig. 5). 포자소체는 평균 크기가 1.3~1.7μ으로서 소영양형과 비슷한 모양의 2층 막으로 둘러싸여 있었는데 성숙낭형의 내부에 있는 막성구조가 부분적으로 이 막과 연결되어 있었다(Fig. 6). 대부분의 포자소체는 핵이 한개였고 핵막은 비교적 분명하였으나 핵인은 뚜렷하지 않았다. 세포질내에는 glycogen으로 생각되는 다수의 과립들이 주로 핵 주위에 존재하였으나 다른 소기관들은 관찰되지 않았다.

(4) 공허낭형

가장 많이 볼 수 있는 형태로서 보통 낮 또는 반월형 모양을 취하고 있었으며 다수의 membrano-tubular structure들이 총체의 외막에 밀착되어 있거나 그 부근에 밀집되어 있었다. 총체의 pellicle은 3층으로 구성되어 있었고 결손없이 잘 유지되어 있었다. 총막의 모양은 성숙낭형과 비슷하였으나 내막이 소실되면서 전자밀도가 낮은 중간막이 부분적으로 매우 두꺼워져 있고 심한 경우에는 양쪽의 중간막이 맞닿아 있기도 하였다. 세포질내에는 지질양물질, 공포, dense body 및 소과립 등이 관찰되었으나 핵이나 포자소체는 볼 수 없었다(Fig. 7, Fig. 8).

고 찰

*P. carinii*의 생활사를 보면 영양형(trophozoite)이 성숙하여 증막이 두꺼워지면서 낭형(cyst)이 되고 다시 핵분열에 의하여 최고 8개의 포자소체(sporozoite)를 형성하는 성숙낭형이 되는데 이 성숙낭형이 파열하면서 포자소체를 방출하게 되고 이들이 다시 영양형으로 발달하게 된다(Campbell, 1972; Johannesson, 1979; Pintozzi 등, 1979). 본 관찰에서도 *P. carinii*의 모든 형태가 다 인정되었는데 각 형태는 과거에 실험적 또는 감염된 사람의 폐에서 보고된 사례들(Barton과 Campbell, 1967; Barton과 Campbell, 1969; Campbell, 1972; Sueishi 등, 1977; Johannesson, 1979)과 기본적으로 대동소이 하였다. 소영양형은 크기가 2.0μ 이하로서 보통 핵이 하나이고 세포질은 매우 단순하여 소수의 조면소포체(RER)와 mitochondria만을 볼 수 있었다. 대영양형은 보통 $4.5\sim 5\mu$ 정도였고 세포질내에 다량의 glycogen과 지질양물질을 포함하고 있었다. 성숙낭형은 대략 5μ 으로 증막이 두껍고 3층으로 구성되어 있었으며 8개 이하의 포자소체를 갖고 있었고 세포질내에 glycogen, 막성구조 및 공포 등이 존재하였다. 포자소체는 그 크기가 평균 1.5μ 으로 세포막이 소영양형과 흡사하였고 핵은 하나였으며 glycogen 과립을 제외한 세포질내의 내용물은 분명치 않았다. 가장 흔히 볼 수 있는 공허낭형은 초승달 모양으로 증막이 부분적으로 매우 두꺼워져 있으면서 세포질내 내용물이 소량의 glycogen, 막성구조 및 dense body 등으로 이루어져 있었다. 소영양형에서는 세포질내 소기관이 조면소포체와 ribosome 정도에 불과하나 대영양형 또는 낭형의 형태로 성숙되어 갈수록 glycogen과 지질양물질 mitochondria 및 공포의 수가 증가하는 것은 glycogen이 포자소체의 형성에 필요한 에너지 공급원이 되고 지질양물질은 세포막 형성에 필요하기 때문인 것으로 알려져 있다(Barton과 Campbell, 1969). *P. carinii*가 영양분을 얻는 경로는 분명치 않으나 세포질내에 cytochrome, Golgi체, lysosome 등이 없으므로 최소한 탄식 또는 가수분해에 의존하지는 않는 것으로 생각되고 있다(Barton과 Campbell, 1969). 소영양형과 낭형은 pseudopodia가 없는 반면 대영양형은 filopodia 또는 pseudopodia가 있으므로 운동성이 있음을 추측할 수 있고(Campbell, 1972), 이는 주로 대영양형이 I형 세포세포나 대식세포에 접근하여 I형세포를 피사시키고 결과적으로 II형세포의 증식 및 염증반응을 일으키는 현상(Lanken 등, 1980)과 맥을 같이 하는 것으로 생각

할 수 있었다. 본 연구에서는 보내 온 조직이 너무 적어서 숙주세포와의 상관관계를 파악하기는 어려웠고 다만 증체가 어떤 숙주세포내에도 기생 또는 침입하지 않음을 알 수 있었다. 성숙낭형이 포자소체를 형성하고 난 후에는 세포질내에 있던 대부분의 소기관들이 변성을 일으켜서 소수의 구조들만이 잔존하게 되는 것으로 보고되었는데 이는 본 관찰 결과와 일치되는 소견으로 생각되었으며 포자소체의 증막이 세포질내에 잔존해 있는 막성구조와 종종 연결되어 있는 점으로 미루어 보아 막성구조가 증막형성과 밀접한 관계가 있는 것으로 추측되었다.

Barton과 Campbell(1969)은 공허낭형의 증막에서 결손을 발견하고 포자소체가 이 결손부위를 통하여 탈출하지만 그 탈출 순간이 관찰되지 않는 것은 이 과정이 매우 빠른 속도로 진행되기 때문이라고 주장하였으나 본 관찰에서는 그와 같은 결손은 볼 수 없었다. Pentamidine isethionate로 치료 후에 남아 있는 증체가 대부분 공허낭형의 형태이고 증체 내부에서 핵 또는 포자소체를 볼 수 없으므로(Campbell, 1972) 낮 또는 초승달 모양의 증체가 감염성이 없는 공허낭형임은 분명한 것으로 생각된다. 증체의 주변에서 증체를 둘러싸고 있는 membrano-tubular structure는 세포막이 얇은 영양형에서는 증막과 직접 연결되어 있고 증막의 구조와 거의 동일한 소견을 보임으로써 증막으로부터 형성되는 듯한 인상을 주고 있으나 증막이 두꺼운 낭형에서는 증체의 외막에 밀착되어 있을 뿐 직접적으로 연결되어 있지는 않았다. 이 구조에 대해서는 아직도 그 본질 또는 기능이 확실히 알려져 있지 않으나 변성된 증체에서는 이 구조를 볼 수 없고 증체 주위에서 서로 anastomosing network를 이루고 있으므로 증체간 또는 숙주세포와 증체간에 대사물질을 전달하는 데 중요한 역할을 하고 있는 것이 아닌가 추측되었다(Barton과 Campbell, 1967; Ham 등, 1971). Murphy 등(1977)은 주사전자현미경적 검사 결과 각 증체가 anchoring fiber에 의해 숙주세포에 부착되어 있을 뿐 아니라 심세한 fibril에 의해 서로 연결되어 있음을 관찰하였고 이들 fiber 또는 fibril이 투과 전자현미경상 tubule의 형태를 취하는 것을 확인함으로써 이들이 결국 membrano-tubular structure에 해당됨을 밝혀냈고 이 구조가 증체의 지지 또는 정박(anchorage)의 역할 뿐만 아니라 대사물질의 교환 및 조달에 필요한 통로 역할을 한다고 주장하였다. 따라서 현재로서는 membrano-tubular structure가 영양형의 세포막으로부터 형성되고 대사물질의 교환 및 조달에 관여하는 것으로 이해하는 것

이 타당할 것으로 생각되었다.

결 론

선천성 저면역결로부린혈증과 동반된 Pneumocystosis 를 생후 7개월 된 남아의 폐에서 경험하여 원인균인 *Pneumocystis carinii*의 형태를 전자현미경적으로 관찰 하고 그 형태학적 특징 및 기능적인 측면을 문헌고찰 하였다.

참고문헌

Barton E.G. Jr., Campbell W.G. Jr(1967): Further observation on the ultrastructure of Pneumocystis. Arch Path 83 : 527.

Barton E.G., Campbell W.G. (1969): *Pneumocystis carinii* in lungs of rats treated with cortisone acetate; ultrastructural observations relating to the life cycle. Am. J. Path. 54 : 209.

Campbell W.G. (1972): Ultrastructure of Pneumocystis in human lung; life cycle in human pneumocystosis. Arch. Path. 93 : 312.

Ham, E.K., Greenberg, S.D., Reynolds, R.C. (1971): Ultrastructure of *Pneumocystis carinii*. Exp. Mol. Pathol. 14 : 362.

Huang, S.N., Marshall, K.G, (1970): *Pneumocystis carinii* infection, a cytologic, histologic and electron microscopic study of the organism. Am. Rev. Resp. Dis. 102 : 623.

Johannessen, J.V. (1979): Electron microscopy in human medicine. Vol. 6. McGraw-Hill Co., New

York, p.431.

Lanken, P.N., Minda, M., Pieta, G.G., Fishman, A.P. (1980): Alveolar response to experimental *Pneumocystis carinii* pneumonia in the rat. Am. J. Path. 99 : 561.

Murphy, M.J., Pifer, L.L., Hughes, W.T. (1977): *Pneumocystis carinii* in vitro; a study by scanning electron microscopy. Am. J. Path. 86 : 387.

Natale, R.B., Yagoda, A., Brown, A., Singer C. (1981): Combined *Pneumocystis carinii* and *Nocardia asteroides* pneumonitis in a patient with an ACTH-producing carcinoid. Cancer 47 : 2933.

Pintozi, R.L., Blecka L.J., Nanos, S. (1979): The morphologic identification of *Pneumocystis carinii*. Acta. cytologica. 23 : 35.

Robbins, S.L., Cotran, R.S. (1979): Pathologic basis of disease. 2nd ed., W.B. Saunders, Co., Philadelphia, London, Toronto, p.457.

Stagno, S., Pifer, L.L., Hughes, W.T., Brasfield, D. M., Tiller, R.E. (1980): *Pneumocystis carinii* pneumonitis in young immunocompetent infants. Pediatrics. 66 : 156.

Sueishi, K., Hisano, S., Sumiyoshi, A., Tanaka, K. (1977): Scanning and transmission electron microscopic study of human pulmonary pneumocystosis. Chest. 72 : 2.

Weber, W.R., Askin, F.B., Dehner, L.P. (1977): Lung biopsy in *Pneumocystis carinii* pneumonia. Am. J. Clin. Path. 67 : 11.

Figure Legends

- Fig. 1.** Lung tissue showing thickening of the alveolar septa with chronic inflammatory cells infiltration and foamy exudates without clearly visible organisms. H-E stain, $\times 450$.
- Fig. 2.** Electron microphotograph of small trophozoite showing a single nucleus(Nu) with a nucleolus and scant cytoplasmic organelles. The membrano-tubular structures appear to be arising from a pellicle(p). $\times 62,500$.
- Fig. 3.** Electron microphotograph of large trophozoites showing pseudopodia and abundant membrano-tubular structures(mt) around the organisms. $\times 25,000$.
- Fig. 4.** Higher magnification of the large trophozoite revealing abundant glycogen particles(gl) and mitochondria(Mi). $\times 32,500$.
- Fig. 5.** Electron microphotograph showing thick walled mature cyst containing 5 sporozoites(Sz). $\times 30,000$.
- Fig. 6.** Pellicle of the sporozoite appearing to be formed from membranous structures(m) within the cytoplasm of the mature cyst. $\times 75,000$.
- Fig. 7.** Two empty cysts after expulsion of sporozoites showing crescent shape with focal thickening of the

pellicle(p), lipid-like globules(Li) and dense bodies. $\times 25,000$.

Fig. 8. Higher magnification of Fig. 7 showing thick wall and anastomosing network of membrano-tubular complexes(mt). $\times 30,000$.







