한국전자현미경학회지 제 34 권 제 2 호 2004
Korean J. Electron Microscopy 34 (2), 121~130 (2004)

간흡충에 감염된 실험쥐 담관 섬유모세포의 미세구조적 변화

김 수 진*, 민 병 훈
한림대학교 자연과학대학 생물학과

Ultrastructural Change of the Bile Duct Fibroblast at Infected Rat with *Clonorchis sinensis*

Soo Jin Kim* and Byoung Hoon Min
Department of Biology, Hallym University
(Received May 20, 2004; Accepted June 7, 2004)

ABSTRACT

In this study, ultrastructural change of the bile duct fibroblast at infected rat with *Clonorchis sinensis*, and the distribution of lectin receptors and actin protein in cultured bile duct infected with *Clonorchis sinensis*. It explored using colloidal gold label complex with lectin WGA purified from wheat germ (*Triticum vulgaris*) and anti actin antibody purified actin (43 kDa) isolated from chicken back muscle.

The lectin WGA with protein A gold complex labeled sections of the cultured fibroblast revealed gold particles specifically distributed on the multi vesicular form Golgi complex and cell surface of the fibroblast.

The actin antibody with protein A gold complex labeled sections of the cultured fibroblast revealed gold particles specifically distributed on the cytoplasm of the fibroblast. Labeling of cultured fibroblast in rat bile duct infected with *Clonorchis sinensis* was then quantified and compared to that of cultured Fibroblast in Rat Bile duct.

These results indicate that lectin WGA receptors are located in the multi vesicular form Golgi complex in the cytoplasm to the cytoplasmic process of the Rat bile duct fibroblast infected with *Clonorchis sinensis*. Therefore, the GlcNAc and NeuNac regions on the cell surface and cytoplasmic process appear to be functionally associated with cell recognition and protection from other cell of the tissue, and linked with secretion and exocytosis of the fibroblst cytoplasm. GlcNAc and NeuNAc product in the multi vesicular form Golgi complex then it is transported to cell surface. Actin protein is many appears that infected fibroblast rather than normal fibroblast. The fibroblast of infected with *Clonorchis sinensis* are against of the physical and chemical stimulation. Then development of cytoplasmic process is relative some stimulation.

Key words : Actin, *Clonorchis sinensis*, Fibroblast, Lectin WGA

이 논문은 2003년 한림대학교 학술연구비의 지원으로 연구되었음.
* Correspondence should be addressed to Prof. Soo Jin Kim, Department of Biology, College of Natural Science, Hallym University Chunchon, Kangwon-Do 200-702, Korea. Ph.: 033-248-2091 Fax: 033-242-1434, E-mail: sjkim@hallym.ac.kr

서 론

간흡충(*Clonorchis sinensis*) 감염에 의한 숙주의 담관염이 오랜 기간 진행되면 담관 주위 조직의 섬유화가 계속되어 담관성 경변증(biliary cirrhosis)으로 이행되며, 담관 상피세포의 변성에서 유래된 담관암(cholangiocarcinoma)이 발생할 수 있는 것으로 보고되었다(Belamaric, 1973; Purtillo, 1976; Flavell, 1981; Schwartz, 1986; Choi et al., 1988; Sher et al., 1989; Kim et al., 1989).

담관상피조직에 분포하는 섬유모세포(fibroblast)는 결합조직을 구성하는 세포의 한 종류로서 세포질 돌기들이 잘 발달된 형태적 특징이 있으며 결합조직 전체에 분포하고 있는 것으로 알려져 있다(Bloom & Fawcett, 1972). 섬유모세포는 형태적 변형이 쉬운 특성을 지니고 있으며, 주위의 환경에 따라 지방세포, 힘줄세포, 연골세포 및 골세포 등 다양한 형태를 나타내기도 하고(Kang & Ko, 1994), 대부분 결합조직 내에 고정되어 분포하고 있지만 염증이나 조직 배양에서 세포들이 이동하기도 한다(Bloom & Fawcett, 1972). 섬유모세포는 기질로 단백질과 탄수화물 복합체를 생성하며, 미세섬유를 구성하도록 하는 단백질 구성 성분을 방출하여 조직을 발달시키며, 조직이 손상되었을 때 상처부위로 이동하여 대량의 콜라겐 층을 형성되어 손상된 조직이 복구되기도 한다(Albert & Bray, 1994). 그리고 섬유모세포 돌기가 세포의 증식이나 이동에 관여 할 뿐만 아니라 새로운 기질에 정착하여 상처 치유를 돕게 한다(Clark & Henson, 1998).

Fujino et al. (1990)은 하등 동물인 흡충류의 일종인 *Schistosoma japonicum*과 *Paragonimus ohirai*에서 표피와 맹관 상피 표면에 sialic acid가 존재하며 충체가 숙주의 조직 사이로 이동할 때 숙주의 면역계로부터 자신을 방어하고 생존하는데 중요한 역할을 하는 물질인 것으로 보고 한 바 있다. 이들의 당단백 말단들은 식물세포에서 분리된 여러종류의 lectin을 이용하여 구별이 가능하고(Damjanov, 1987), Myllyharju & Nokkala (1996a,b)는 lectin을 이용하여 세포분열 중기의 염색체에도 분포한다고 보고하였다. 동물의 각막 표면의 mucin에도 sialic acid가 존재함이 lectin에 의하여 알려지기도 하였다(Kim & Park, 1999). 따라서 lectin은 세포표면에 일정 성분의 당질이 포함되어 있는지 밝히는데 중요한 역할을 한다(Spicer & Schulte, 1992).

그러나 조직 복구시 섬유모세포의 증식, 이동 및 표면의 다양한 분화 형태 그리고 미세 구조적 특성이나 당단백질의 분포 등에 관한 보고가 미흡할 뿐만 아니라 특히 기생충감염에 의한 세포 상해에서 나타나는 섬유모세포의 미세구조와 세포표면의 분자구조 변화는 보고된 바 없었다.

따라서 본 연구에서는 간흡충에 감염된 실험쥐의 담관과 정상 실험쥐의 담관에 존재하는 섬유모세포를 분리하여 배양한 후 배양된 섬유모세포의 미세구조적 변화와 세포 표면에 존재하는 sialic acid와 actin protein의 분포를 전자현미경으로 관찰하여 간흡충 감염에 따른 세포표면의 미세구조 변화를 비교검토 하였다. 특히 세포 표면에 존재하는 sialic acid 및 actin 단백질의 섬유모세포 내에서 생성경로와 세포질 외로 분비되는 과정을 확인하고 정상세포와 감염세포 사이에 세포 변이를 비교 검토 하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 재 료

1) 실험동물

본 실험에서는 간흡충에 감염된 실험쥐(*Sprague Dawley Albino Rat*)와 대조군을 사용하였으며, 간흡충에 감염된 담관 조직을 얻기 위하여 참붕어(*Pseudorasbora parva*) 근육에서 분리한 간흡충 피낭유충을 각 각 50개씩 체중 200 g의 실험쥐에 경구 감염시킨 후, 3～4개월 후 실험쥐의 담관으로 부터 간흡충의 충체를 확인하고 담관조직을 적출한 뒤 섬유모세포를 분리하여 25 mL, 125 mL 배양용기에서 1주일 배양하여 실험 재료로 사용하였다.

2) 세포배양배지

배지는 High Glucose Dulbecco's Modified Eagle Medium (HG-DMEM; Gibco cat. # 12800-058) 1 L packge를 3차 증류수에 녹이고 sodium bicarbonate 3.7 g, 2-

Mercaptoethanol 3.5 μL/L, ethanolamine 1.2 μL/L, bovine insulin 1 μg/mL, HEPES 10 mM가 되게 한 뒤, 10% bovine serum과 50 μL/mL uridin이 포함되게 제작되었으며, 사용 전 37°C water bath에서 온도를 37°C까지 상승시켜 사용하였다.

3) Lectin (WGA)

당단백 말단 sialic acid (GlcNAc와 NeuNAc)의 분포를 확인하기 위하여 Wheat germ (*Triticum vulgaris*)으로부터 분리된 lectin의 일종인 WGA (wheat germ agglutinins)에 황금입자가 표지된 WGA-Gold colloidal particles (15 nm)를 사용하였다.

4) 항체 (Anti Actin)

세포내의 actin protein을 확인하고자 chicken back muscle로부터 분리된 43 kD의 Rabbit polyclonal antibody (InnoGenex AP-0980-01)를 사용하고, 전자현미경적인 관찰을 위해 protein A gold complex (15 nm)를 사용하였다.

2. 방 법

1) 세포배양

간흡충 감염 실험쥐의 담관으로 부터 분리된 섬유모세포는 제작된 배지 용액이 첨가된 25 mL 배양용기에 주입하고 36.5°C, 4.5% CO_2 incubator에서 1주일 배양하였다. 배양용기 바닥에서 배양된 섬유모세포들은 Nikon TMS 도립현미경으로 관찰하였다.

2) 전자현미경 관찰을 위한 Lectin (WGA) 표지

배양용기에 부착되어있는 섬유모세포는 0.25% trypsin을 처리하여 배양용기로부터 분리한 후 1% paraformaldehyde와 1% glutaraldehyde 고정액 (pH 7.4)으로 전고정 하였다. 전고정된 세포들은 2% osmium tetroxide 고정액으로 2시간 고정하여 세척하고 탈수하여 Lowicryl HM 20으로 포매하였다. 포매된 세포들은 절편을 제작하여 황금표지 WGA를 반응시키고 uranyl acetate와 lead citrate로 이중 염색하여 Zeiss EM 109형 전자현미경으로 관찰하였다.

3) 전자현미경 관찰을 위한 항체반응

배양용기에 부착되어 있는 섬유모세포는 0.25% trypsin을 처리하여 배양용기로부터 분리한 후 1% paraformaldehyde와 1% glutaraldehyde 고정액 (pH 7.4)으로 전고정 하였다. 전고정된 2% osmium tetroxide 고정액으로 2시간 고정하여 ethanol에 탈수하여 Lowicryl HM 20으로 포매하였다. 포매된 세포들은 절편을 제작하여 actin항체를 반응시키고 Protein A gold complex를 2시간 반응시킨 후 uranyl acetate와 lead citrate로 이중 염색하여 Zeiss EM 109형 전자현미경으로 관찰하였다.

결 과

실험쥐 담관에서 분리된 섬유모세포와 간흡충 (*Clonorchis sinensis*)에 감염된 실험쥐 담관으로 부터 분리된 섬유모세포를 배양 후 24시간, 48시간, 72시간, 1주일 간격으로 관찰한 결과 섬유모세포들은 세포 돌기가 형성되고, 배양용기 바닥에 부착하여 성장하기 시작하였다. 그러나 간흡충에 감염군 섬유모세포는 감염되지 않은 세포보다 세포질 돌기의 발생 수가 증가하고 시간이 경과할수록 세포분열이 50% 정도로 감소하고 있는 것으로 관찰되었다. 대조군 실험쥐 담관에서 분리된 섬유모세포의 경우에는 길고 납작한 세포질에 돌기의 수는 2~4개의 일반적인 형태로 관찰되며, 세포분열의 속도는 24시간동안 2~3회 정도 분열하는 것으로 관찰되었다. 그러나 간흡충 감염군은 세포질의 크기가 비대해지고 세포의 형태는 변형이 이루어지며 분열속도는 3~4회인 것으로 관찰되었다. 대조군과 감염군의 실험쥐 담관에서 분리된 섬유모세포를 배양한 후 투과전자현미경으로 관찰한 결과 세포의 형태는 두 가지 모두 구형으로 관찰되었으나 세포표면에는 부분적으로 세포질 돌기가 나타나는 것이 관찰되었다(Figs. 1, 2).

대조군 실험쥐 담관에서 분리된 섬유모세포의 경우 세포질과 핵이 잘 발달되어 있고, 세포질 돌기와 multivesicle 형태의 골지복합체 및 포낭형의 조면소포체 등이 발달되어 있었다. 핵 주위에 포낭형 조면소포체에 부착된 polysome형태의 리보좀은 특이하게 관찰되었으며, 핵 주위에 미토콘드리아가 발달되어 분포하고 있는 것으로 관찰되었다. 특히 조면소포체 주위에 multivesicle 형태의 골지복합체와 세포질 공포들이 연관되

어 있는 것으로 관찰되었다(Fig. 1).

간흡충 감염군 실험쥐 담관으로부터 분리한 섬유모세포는 미세소관에 의한 세포질 돌기들이 다수 발달하고 세포질의 물질들이 결손된 것으로 추측되는 공포가 다수 관찰되었다. 다양한 종류의 팽대해진 포낭형 조면소포체와 세포질 공포 및 전자밀도가 높은 다양한 액포들도 세포질에서 다수 관찰되었다. 핵 주위의 조면소포체표면에는 리보좀들이 높은 밀도로 분포하고, 다양한 형태의 과립들과 많은 수의 미세섬유가 관찰되었다(Fig. 2).

세포질에 존재하는 actin단백을 확인하고자 chicken back muscle로부터 분리된 43 kD에 대한 rabbit polyclonal antibody를 대조군과 감염군의 섬유모세포들에 반응시키고 전자현미경으로 관찰한 결과 대조군의 섬유모세포들에는 세포질에 glycogen입자들이 풍부한 세포질에 팽대해진 조면소포체가 발달되었으며 미분화된 세포돌기들이 관찰되었으나 황금입자들은 드물게 반응하고 있음이 관찰되었다(Fig. 3). 그러나 간흡충감염군의 섬유모세포들은 세포질돌기에 황금입자들이 다수 표지된 것으로 관찰되어 핵주위에서 합성된 actin단백들은 세포표면으로 이동되었을 때 actin단백 항체에 대하여 반응하는 것으로 관찰되었다. 또한 세포질에 팽대 해진 조면소포체 주위와 multi-vesicle 형태의 골지 복합체나 세포질 공포 주변 그리고 조면소포체 주위에 저밀도의 황금입자가 관찰되어 조면소포체에서 합성된 actin단백이 세포표면으로 이동되어 세포돌기를 구성하였을 때 actin단백 항체에 반응정도가 높은 단백질 집단을 이루는 것으로 확인되었다(Fig. 4).

세포표면의 분자구조의 변화 중 당단백 말단인 sialic acid (GlcNAc와 NeuNAc)의 분포를 확인하기 위하여 Wheat germ (*Triticum vulgaris*)으로부터 분리된 lectin의 일종인 WGA (wheat germ agglutinins)에 황금입자가 표지된 WGA를 대조군과 감염군의 섬유모세포들에 반응시킨 결과 대조군의 섬유모세포 세포질에는 다양한 형태의 multi- vesicle이 관찰되었다. 대조군의 섬유모세포는 다양한 multi-vesicle들은 Golgi복합체와 연관된 부분도 있었으며, 이들 multi-vesicle에는 0.1 μm^2 당 18±3개의 lectin WGA 황금입자가 표지 된 것으로 관찰되었다. 따라서 이들 액포들은 세포표면의 당말단인 sialic acid (GlcNAc, NeuNAc)와 연관이 있는 것으로 확인되었다(Fig. 5). 대조군의 세포질에 표지된 황금입자들은 공포와 액포형태의 구조물에 한정되어 분포하고 핵 주위와 세포표면에서 동일한 황금입자의 표지가 관찰되어 당말단들은 세포핵주위에서부터 세포표면에 이르기까지 액포의 일종으로 관찰되는 multi-vesicle들과 연관된 Golgi복합체에 분포하는 것으로 확인되었다. 그러나 포낭형 조면소포체에는 황금입자의 표지가 관찰되지 않아 대조군의 당말단은 포낭형 조면소포체와 직접적인 연관성이 없는 것으로 확인되었다(Fig. 7).

감염군의 섬유모세포에는 조면소포체 주위에 소형의 액포가 분포하고 이들의 소형액포에는 0.1 μm^2 당 26±3개의 lectin WGA 황금입자가 표지된 것으로 관찰되었다. 이들의 소형액포들은 소포체 및 핵 주위에서 세포표면에 이르기까지 분포하는 것으로 관찰되었다. 따라서 세포표면의 당말단인 sialic acid (GlcNAc, NeuNAc)를 포함하는 소형의 액포들이 세포내부에서 세포표면으로 이동하고 이 과정에서 세포질에서 합성된 당말단은 액포들에의하여 포장된 것과 세포질에 다양한 형태의 소포낭으로 분포하는 것으로 확인되었다(Fig. 6). 감염군의 세포들은 세포돌기형성이 증가하고 세포표면에 미세융모의 발달이 관찰되면서 lectin WGA 황금입자가 표지 된 것이 관찰되었다. 감염군의세포에서 lectin WGA 황금입자가 표지는 세포질보다 세포표면의 미세융모를 중심으로 미세융모의 표면과 기저부위에 표지되고 세포질에는 액포의 표면으로 특이하게 표지 된 것이 관찰되었다. 따라서 당말단인 sialic acid는 미세융모의 표면과 세포표면의 액포에 분포하는 것으로 확인되었다(Fig. 8).

고 찰

상피조직에 많이 분포하는 섬유모세포는 결합조직을 구성하는 세포의 한 종류로서 세포질 돌기들이 잘 발달된 형태적 특징이 있으며 결합조직 전체에 분포하고 있는 것으로 알려져 있다(Bloom & Fawcett, 1972). 섬유모세포는 섬유모세포의 일종으로 원형질막표면에는 다양한 종류의 당단백 말단들이 분포하고, 섬유의 생성, 세포의 인식, 막투과, 세포의 포식과 분비, 막 효소

활성 등 여러 가지 세포의 기능을 수행하는데 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다(Brondes, 1973; Fem, 1985; Damjanov, 1987). 이 세포들은 대부분 결합조직 내에 고정되어 분포하고 있지만 염증이나 조직 배양 시에는 세포들이 이동하기도 한다(Bloom & Fawcett, 1972). 그리고 일반적인 섬유모세포에는 골지 복합체와 소포체의 발달이 미약하나 발육 또는 재생중인 결합조직 내에 분포하는 섬유모세포는 골지 복합체와 소포체가 잘 발달되어 있는 것으로 보고된 바 있다(Albert & Bray, 1994).

대조군 실험쥐 담관에서 분리된 섬유모세포들은 일반적인 형태로 관찰되며 세포질과 핵이 잘 발달되어 있고, 핵 주위에 포낭형 조면소포체에 부착된 polysome형태의 리보좀과 미토콘드리아가 발달되어 분포하고 있는 것으로 관찰되었다. 따라서 대조군의 실험쥐 담관에서 분리된 섬유모세포와 일반적인 섬유모세포의 특성성인 세포돌기, 세포표면 및 세포질을 구성하고 있는 것으로 생각되었다.

섬유모세포는 형태적 변형이 쉬운 특성을 가지고 있어 주위의 환경에 따라 지방세포나 힘줄의 힘줄세포, 연골 및 뼈를 구성하는 연골세포와 골세포 등 다양한 형태를 나타내기도 한다(Kang & Ko, 1994). 간흡충에 감염된 담관은 간흡충의 물리적 자극과 대사산물 및 분비물 등의 화학적 자극에 의해 담관염이 일어나고, 간흡충이 성장할 때 충체 주위의 담관 상피세포의 증식, 담관 상피세포의 탈락, 점액세포의 화생, 담관 주위의 염증 그리고 섬유화가 일어나고(Hou, 1955; Bhamarapravati et al., 1978; Lee et al., 1978a; Min & Soh, 1986; Cha et al., 1991), 담관암 및 담석증 등의 임상 소견을 보이는 것으로 보고 된 바 있다. (Sullivan & Koep, 1980).

간흡충 감염군 실험쥐 담관으로부터 분리한 섬유모세포는 미세소관에 의한 세포질 돌기들이 다수 발달하고 세포질의 물질들이 결손된 것으로 추측되는 공포들과 다양한 종류의 포낭형 조면소포체 그리고 세포질 공포 및 전자밀도가 높은 다양한 액포들도 세포질에서 다수 관찰되었다. 핵 주위의 조면소포체 표면에는 리보좀들이 높은 밀도로 분포하고, 다양한 형태의 과립들과 많은 수의 미세섬유가 관찰되었다. 이는 간흡충이 감염되어 대사산물 및 분비물 등의 화학적 자극에 의한 담관염과 간흡충이 성장할 때 물리적 자극으로 충체 주위의 담관 상피세포의 증식, 담관 상피세포의 탈락, 점액세포의 화생, 담관 주위의 염증 그리고 섬유화 등이 일어나는 현상으로 담관암 및 담석증을 유발하는 과정에서 나타나는 섬유세포의 형태적 변형으로 생각된다. 그뿐만 아니라 물리화학적 자극이 세포내 물질대사를 변화시켜 형태적 변화를 일으킬 것으로 생각된다.

섬유모세포는 세포돌기가 형성되는 것이 특징으로 세포돌기는 섬유모세포의 종류와 배양시간, 환경 등에 따라 다양한 형태로 나타나고 세포의 돌기는 세포질에서 형성된 높은 밀도의 actin단백을 포함하는 망상구조의 미세섬유로 구성되며 세포표면형성, 세포운동과 이동, 세포인식 등에 중요한 역할을 한다(Fem, 1985; Damjanov, 1987).

본 실험에서는 대조군과 간흡충 감염 실험쥐 담관으로 부터 분리한 섬유모세포에 actin단백 항체를 반응시키고, protein A gold complex를 표지하여 전자현미경으로 관찰한 결과 미세섬유 형성에 주로 관여하는 actin 단백은 간흡충이 감염된 담관의 섬유모세포에 풍부하게 분포하며, 특히 세포질 돌기가 발달한 세포표면에 높은 밀도로 분포하는 것이 확인되었다. 따라서 간흡충에 의하여 상해 받은 세포가 물리화학적 자극에 의한 적응으로 단백질 합성이 증가하는 것으로 생각되었다. 단백질 합성의 증가는 조면소포체를 증가시키고 이동된 단백질에 의하여 multi-vesicular 형태의 Golgi복합체가 생성되고, 세포질 표면으로 이동하여 세포질돌기 형성하는 것으로 추측되었다. 또한 actin 단백은 세포골격 세포질유동과 연관성이 있으므로 세포표면적의 증가와 세포질 돌기의 수적증가는 감염으로 인한 섬유모세포가 상처 치유 및 복구를 위해 세포 내 물질대사의 변화 양상으로 사료된다.

섬유모세포 돌기가 세포의 증식이나 이동에 관여 할 뿐만 아니라 새로운 기질에 정착하여 상처 치유를 돕게 한다(Clark & Henson, 1998). 이때 세포표면이나 돌기 표면에 존재하는 당단백질이 관여하는 것으로 알려져 있다(Brighton & Pollack, 1991). 세포 표면에 존재하는 당단백 말단은 세포의 막 수송 및 면역항체에 대한 세포 인식, 세포의 이동과 주변 세포와 연관 관계를 위한 인식 등에 중요한 역할을 하는 것으로 보고 된

바 있다(Peters, 1979; Schauer, 1982; Rogers, 1986; Juliet, 1999). 세포의 인식에 관여하는 당단백질 말단 많은 종류가 알려져 있으며, 그 중 sialic acid들은 보편적으로 세포 표면에 많은 양이 분포하는 것으로 보고된 바 있다(Bouchard, 1976).

대조군의 섬유모세포는 다양한 형태의 multi-vesicle들과 연관된 Golgi복합체가 관찰되고, 이들 multi-vesicle에는 lectin WGA 황금입자가 표지 된 것으로 관찰되었다. 이들 multi-vesicle은 세포표면의 당말단인 sialic acid와 연관이 있는 것으로 확인되었다. 그리고 대조군의 세포질에 표지된 황금입자들은 공포와 액포 형태의 구조물에 한정되어 분포하고 핵 주위와 세포표면에서 동일한 황금입자의 표지가 관찰되었다. 따라서 세포표면의 당말단들은 세포핵주위에서 형성되어 multi-vesicle들과 연관된 Golgi복합체를 거쳐 세포표면에 이동되어 분포하는 것으로 생각되었다. 그러나 포낭형 조면소포체에는 황금입자의 표지가 관찰되지 않아 대조군의 당말단은 포낭형 조면소포체가 포함하는 단백질과는 구성성분이 상이하거나 전구물질인 것으로 사료된다.

*Hymenolepis nana*와 *Hymenolepis microstoma*에서 표피의 microtritches에 sialic acid가 분포하여 숙주로부터 충체 내로 영양물질을 흡수하는데 있어서 세포막 투과성에 관여함을 밝혔고(Schmidt & Peters, 1987), 기생충의 표피조직 세포막에도 sialic acid가 존재하여 기생충의 노폐물질의 분비 등 물질대사 숙주 면역계에 관여한다고 했다. 이와 같이 sialic acid는 동물 조직의 여러 세포에 존재하며 다양한 기능을 수행하는 것으로 알려져 있다(Pappas & Read, 1972; Ruff & Read, 1973; Lumsdem, 1974). 섬유모세포의 세포 표면에 당단백질 말단의 분자 구조물로 lectin WGA 수용체인 sialic acid는 세포 인식과 세포의 물질대사 등 섬유모세포의 다양한 기능에 관여하고 많은 양이 분포하고 있는 것으로 알려져 있다(Myllyharju, 1996a,b). 이들 물질의 세포 내에서 생성과정과 분비과정은 세포질의 조면소포체에서 생성된 단백질은 세포질 multi-vesicle형 골지 복합체를 형성시키고, multi-vesicle형 골지 복합체는 세포막으로 이동되어 일부 세포 돌기를 형성하기도 하며, 세포돌기 부근에는 lectin WGA 황금입자의 관찰이 보고되었다. (Kim et al., 1999, 2000)

감염군의 섬유모세포에는 조면소포체 주위에 소형의 액포가 분포하고 이들의 소형액포에는 lectin WGA 황금입자가 표지된 것으로 관찰되었다. 이들의 소형액포들은 소포체 및 핵 주위에서 세포표면에 이르기까지 광범위하게 분포하는 것으로 관찰되었으므로 세포표면의 당말단인 sialic acid를 포함하는 소형의 액포들이 세포내부에서 세포표면으로 이동하고 이 과정에서 세포질에서 합성된 당말단은 액포들에 의하여 세포질에 다양한 형태의 소포낭으로 분포하는 것으로 생각된다. 일부 소포낭들은 multi-vesicle과 연관이 있는 것으로 관찰되어 감염군의 섬유모세포에서 당말단인 sialic acid는 소포낭 형태와 multi-vesicle형태로 세포내에서 세포표면의 미세융모에 이르기까지 이동하는 것으로 생각되었다.

이상의 결과로 간흡충 감염 실험쥐로부터 분리된 섬유모세포는 actin단백으로 구성된 세포돌기가 잘 발달하고, 세포내 조면소포체에서 형성된 단백질이 소포낭 형태와 multi-vesicle형태의 Golgi복합체와 연관되어 당말단인 sialic acid로 전환되어 세포표면에 이동되어 분포하는 것으로 생각된다. 간흡충 감염으로 물리 화학적 자극으로 형성되어 세포표면에 분포하는 당말단인 sialic acid는 세포내 물질대사의 활성, 세포질 돌기의 수적인 증가 와 세포표면의 미세구조적 변이를 유발하는 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

Albert B, Bray D: Molecular biology of the cell. third edition, New York, Garland publishing Inc., pp. 1179 1180, 1994.

Barondes SH: Soluble lectins : a new class of extracellular proteins. Science 223 : 1259, 1973.

Belamaric J: Interahepatic bile duct carcinoma and C. Sinensis infection in Hong Kong. Cancer 31 : 468 473, 1973.

Bhamarapravati N, Thamavit W, Vajrasthira S: Liver changes in hamsters infected with a liver fluke of man, Opisthorchis viverrini. Am Society of Trop Med Hyg 27 : 787 794, 1978.

Bloom W, Fawcett DW: A texebook of histology. tenth edition, Saunders, USA, pp. 171 172, 1972.

Bouchard P, Moroux Y, Tixier R, Monsigny M: An improved

method for purification of wheat germ agglutinin (lectin) by affinity chromatography. Biochimie 58 : 1247 1253, 1976.

Brighton CT, Pollack SR: Scientific basis for clinical applications of electric fields in soft tissue repair. Electromagnetics in Biology and Medicine pp. 275 290, 1991.

Cha SH, Lee JH, Rim HJ: Histopathological changes of the bile duct in the experimental animals by the superinfection of Chlonorchis sinensis. Korea Univ Med J 28 (3) : 741 757, 1991.

Choi BI, Park JH, Kim YI, Yu ES, Kim SH, Kim WH, Kim CY, Han MC: Peripheral cholangiocarcinoma and clonorchiasis : CT finding. Radiology 169 : 149 153, 1988.

Clark RAF, Henson PM: The molecular and cellular biology of wound repair. Plenum Press, USA, 1988,

Damjanov I: Biology of disease: Lectin cytochemistry and histochemistry. Lab Invest 57 (1) : 5 20, 1987.

Fem T: Demonstration by monoclonal antibodies that carbohydrates structures of glycoproteins and glycolipids are onco developmental antigens. Nature 314 : 53, 1985.

Flavell DJ: Liver fluke infection as an aetiological factor in bile duct carcinoma of man. Trans Roy Soc Trop Med Hyg 75 : 814 824, 1981.

Fujino T, Harata Ishii Y: Lectin receptors in the gut epithelium of Schistosoma japnicum and Paragonimus ohirai. Jpn J Parasitol 39 (5) : 455 461, 1990.

Hou PC: The pathology of Chlonorchis sinensis infestation of the liver. J Pathol Bacteriol 70 : 53 64, 1995.

Kang HS, Ko JS: Histology. 2nd Ed., Komoonsa, Seoul, Korea, 1994. (Korean)

Kim EK, Park JW: Lectin Histochemistry of the mucin on corneal epithelial surface in rabbit. J Korean Ophthalmol Soc 40(7) : 26 31, 1999.

Kim SJ, Hahm SY: Fine Structural Characterization and localization of Lectin receptor in the cultured fibroblast. Korean J Electron Microscopy 31(1) : 49 57, 1999.

Kim SJ, Nahm HW, Lee JS, Joo KW: The localization of lectin receptors in the tissue of the Paragonimus westermani. Korean J Electron Microscopy 30(1) : 87 95, 2000. (Korean)

Kim YI, Yu ES, Kim ST: Intraductal variant of peripheral cholangiocarcinoma of the liver with Chlonorchis sinensis infection. Cancer 63 : 1562 1566, 1989.

Lee SH, Shim TS, Lee SM, Chi JG: Studies on pathological changes of the liver in albino rats infected with Chlonorchis sinensis. Korean J Parasit 16 : 148 155, 1978a.

Lumsden RD: Relationship of extrinsic polysaccharides to the tegument glycocalx of cestodes. J Parasitol 60 : 374 375, 1974.

Min HK, Soh CT: The effect of a carcinogen, dimethylnitrosamine, incholangiocarcinoma in the albino rats experimentally infected with Chlonorchis sinensis metacercaria. Yonsei Rep Trop Med 17 : 1 10, 1986.

Myllyharju J, Nokkala S: Glycoproteins with N acetyl glucosamine and mannose residue in chinese hamster metaphase chromosomes. Hereditas 124 : 251 259, 1996a.

Myllyharju J, Nokkala S: Fucosylated glycoproteins in chinese hamster metaphase chromosomes. Hereditas 125 : 285 288, 1996b.

Pappas PW, Read CP: Trypsin inactivation by intact Hymenolepis diminuta. J Parasitol 58 : 864 871, 1972.

Peters BP, Ebisu S, Goldstein IJ, Flashner M: Interaction of wheat germ agglutinin with sialic acid. Biochemistry 18 : 5505 5511, 1979.

Purtillo DT: Clonorchiasis and hepatic neoplasm. Trop Geogr Med 28 : 21 27, 1976.

Rogers GN, Herrler G, Paulson JC, Klenk HD: Inflenza C viruses 9 0 acetyl N acetylneuraminic acid as a high affinity receptor determinant for attachment to cells. J Biol Chem 261 : 5947 4915, 1986.

Ruff MD, Read CP: Inhibition of pancreatic lipase by Hymenolepis diminuta. Mol Biochem Parasitol 10 : 99 109, 1973.

Schauer R: Chemistry, metabolism, and biological functions of sialic acid. Adv Carbohyd Chem Biochem 40 : 131 234, 1982.

Schmidt J, Peters W: Localization of glycoconjugates at the tegument of the tapeworms Hymenolepis nana and H. microstoma with gild labelled lectins. Parasitol Res 73 : 80 86, 1987.

Sher L, Iwatsuki S, Lebeau G, Zaiko AB: Hilar cholangiocarcinoma associated with clonorchiasis. Dig Dis Science 34 (7) : 1121 1123, 1989.

Spier SS, Schulte BA: Diversity of cell glycocomjugates shown histochemically : A perspective. J Histochem Cytochem 40 : 1 38, 1992.

Sullivan WG, Koep LJ: Common bile duct obstruction and cholangiohepatitis in clonorchiasis. JAMA 243 : 2060 2061, 1980.

<국문초록>

동물의 결합조직에 분포하고 있는 섬유모세포(fibroblast)는 결합조직을 구성하는 세포의 한 종류로서 세포질 돌기들이 잘 발달된 형태적 특징이 있는 것으로 실험쥐 담관의 경우 간흡충 등의 기생충에 의하여 물리, 화학적 상해를 받았을 때 세포변이가 유발될 뿐만 아니라, 담관암세포로 전이되기도 하는 것으로 알려져 있다. 따라서 저자 등은 실험쥐의 담관이 기생충에 의한 상해를 받았을 때 섬유모세포의 세포 표면과 세포질의 변화를 알아보고자 실험쥐 담관에서 섬유모세포를 분리하여 전자현미경으로 확인하고 다음과 같은 결과를 얻었다.

대조군 실험쥐 담관의 섬유모세포들은 일반적인 형태로 세포돌기, 세포표면 및 세포질을 구성하고 있었으나 간흡충 감염군 실험쥐 담관의 섬유모세포는 미세소관에 의한 세포질 돌기들이 다수 발달하고 다양한 종류의 포낭형 조면소포체 그리고 세포질에 전자밀도가 높은 다양한 액포, 높은 밀도의 리보좀을 포함하는 조면소포체, 다양한 형태의 과립 및 많은 수의 미세섬유가 관찰되는 형태적 변화가 관찰되었다.

간흡충에 감염된 담관의 섬유모세포는 간흡충에 의하여 상해 받은 세포가 물리화학적 자극에 의한 적응으로 단백질 합성이 증가하며 multi vesicular 형태의 Golgi복합체가 생성되고, 세포질돌기 형성하는 것으로 확인되었다. 세포질에 광범위하게 분포하는 multi vesicle은 당말단인 sialic acid를 포함하고 세포내에서 세포표면의 미세융모에 이르기까지 이동하는 것으로 확인되었다.

이상의 결과로 간흡충 감염 실험쥐로부터 분리된 섬유모세포는 actin단백으로 구성된 세포돌기가 잘 발달하고, 세포내 조면소포체에서 형성된 단백질이 Golgi복합체에서 당말단인 sialic acid로 전환되어 세포표면에 분포하게 된다. 이는 간흡충 감염으로 물리 화학적 자극 자극받은 섬유세포가 미세구조적 변화를 유발하는 것으로 확인되었다.

FIGURE LEGENDS

Fig. 1. Transmission Electron Microscopical observation of the fibroblast in a rat bile duct. It was observed nucleus (N), rough endoplasmic reticulum (RER) and cytoplasmic process (CP) in the cytoplasm. Scale Bar = 1 μm, × 16,800

Fig. 2. Transmission Electron Microscopical observation of the fibroblast in a rat bile duct which was infected with *Clonorchis sinensis*. Swelling endoplasmic reticulum (R ER) and microvilli of cytoplasmic process (CP) were observed. Scale Bar = 1 μm, × 16,800

Fig. 3. Transmission Electron Microscopical observation of the fibroblast which was reacted with anti-actin antibody and Protein A gold complex in a rat bile duct. Gold particles were slightly labeled on the cytoplasm. Scale Bar = 1 μm, × 48,000

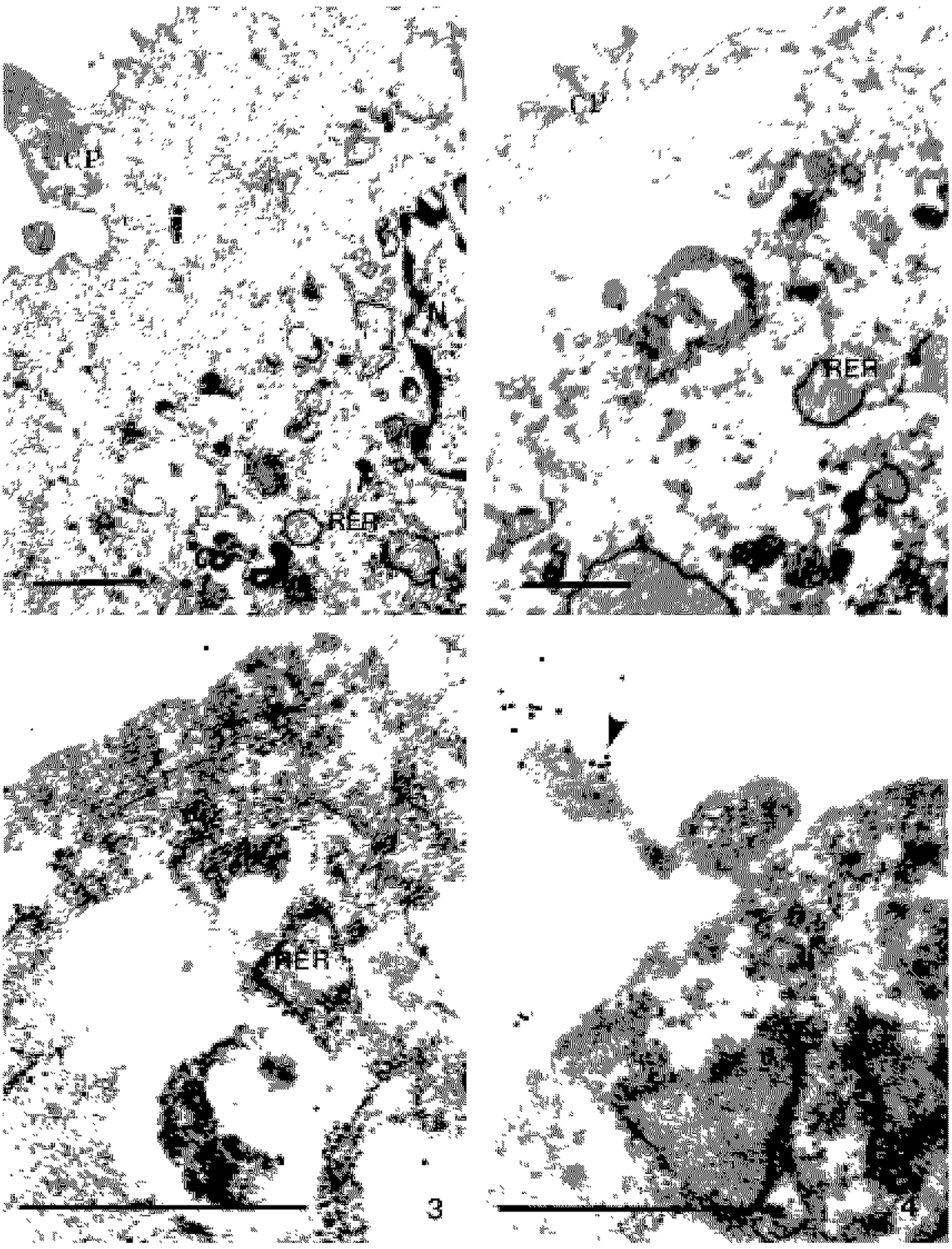
Fig. 4. Transmission Electron Microscopical observation of the fibroblast which was reacted with anti-actin antibody and Protein A gold complex in a rat bile duct which was infected with *Clonorchis sinensis*. Gold particles were labeled on the cytoplasmic process (CP). Scale Bar = 1 μm, × 48,000

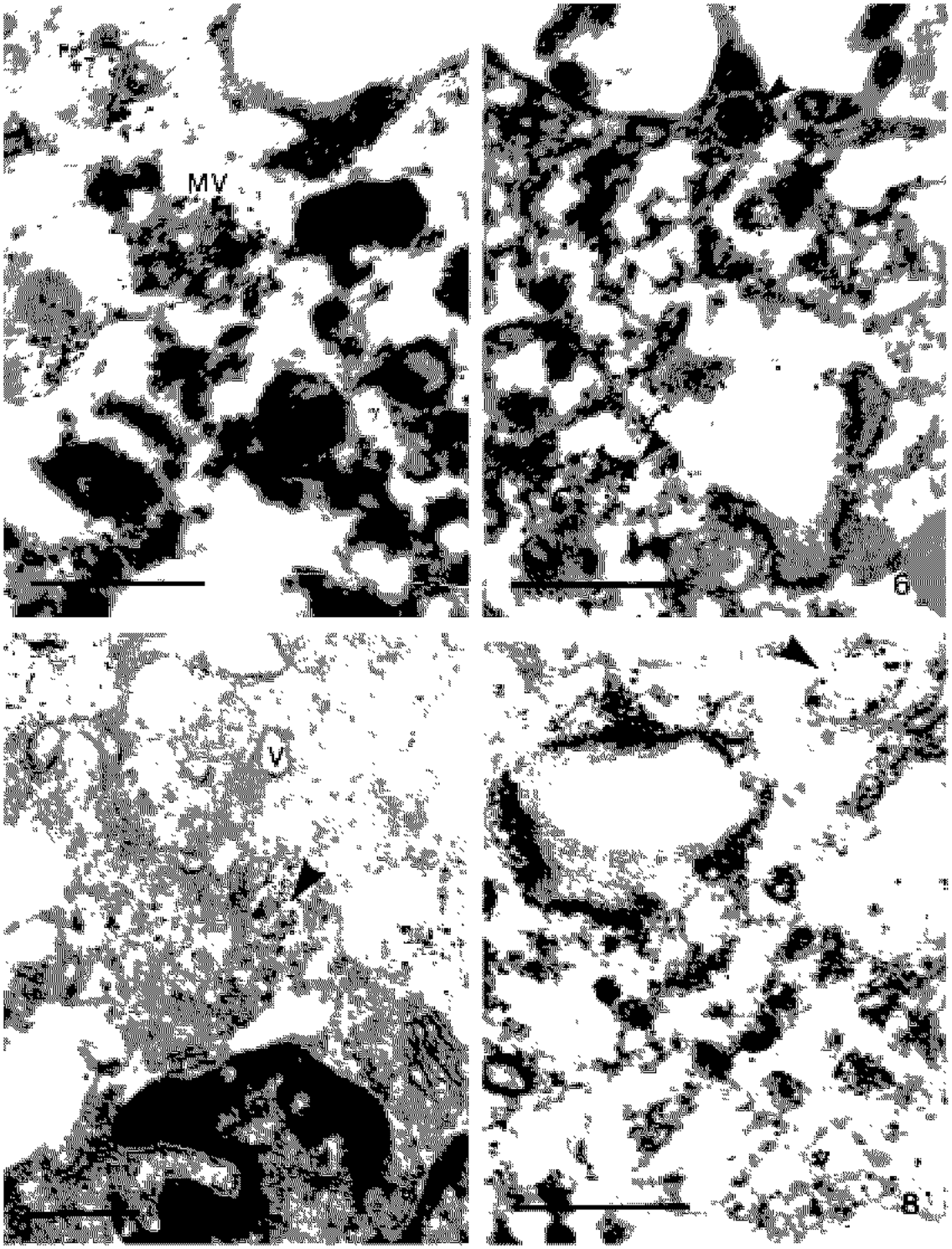
Fig. 5. Transmission Electron Microscopical observation of the fibroblast which was reacted with lectin WGA gold complex in a rat bile duct. Gold particles were specifically labeled on the multi-vesicle form Golgi complex (MV). Scale Bar = 1 μm, × 28,000

Fig. 6. Transmission Electron Microscopical observation of the fibroblast which was reacted with lectin WGA gold complex in a rat bile duct. Gold particle were specifically labeled on the multi-vesicle form Golgi complex and small vesicle (arrow head). Scale Bar = 1 μm, × 28,000

Fig. 7. Transmission Electron Microscopical observation of the fibroblast in a rat bile duct which was infected with *Clonorchis sinensis*. Fibroblast which was reacted with lectin WGA gold complex. Gold particles were specifically labeled on the multi-vesicula onthe cytoplasm (arrow head). Scale Bar = 1 μm, × 16,800

Fig. 8. Transmission Electron Microscopical observation of the fibroblast which was reacted with lectin WGA gold complex in a rat bile duct. Gold particle were specifically labeled on the multi-vesicula and small vesicles on the cytoplasm (arrow head). Scale Bar = 1 μm, × 28,000


CP
N
RER
CP
RER
RER
3
4


MV
6
V
B