

吸虫類에 對한 組織化學的 研究

—특히 Carbonic Anhydrase 의 分布—

경희대학교 의과대학 기생충학교실

주 정 균 · 양 용 석 · 조 유 정

서 론

생화학분야에 활용되는 각종 검사 기구가 개선되고 조직화학적 방법과 방사성 동위원소에 의한 추적시험들이 널리 활용되어 이를 이용하여 각종 기생충체에 대한 그의 생리를 규명하였으며 많은 새로운 사실들이 발표되고 있다.

Carbonic Anhydrase 는 아연(亞鉛)을 포함하고 있는 효소로 주로 적혈구, 위벽, 신장 세뇨관벽등에 존재하고 있다. 이 효소는 $CO_2 + H_2O \rightleftharpoons H_2CO_3 \rightleftharpoons H^+ + HCO_3^-$ 의 반응을 일으키며 가수분해(加水分解)와 탈수반응(脫水反應)을 촉매하는 것으로 체내 酸~鹽 평형을 유지하는 것으로 알려져 있다. 특히 이 효소의 분포를 흡충류에서 검색한 업적은 저자들이 과묵한 탓인지 거의 없는 것 같다(Chu, Hong 1963). 따라서 저자들은 기생부위를 달리하는 흡충을 임의로 선정하여 Carbonic Anhydrase 의 분포를 비교검토 할 목적으로 본 연구를 하였으며 흥미있는 성적을 얻었기에 이에 보고하고자 한다.

연구재료와 그 방법

본연구에 사용한 재료는 서울도살장에서 도살한 황우종에서 *Fasciola gigantica* 와 *Paramphistoma orthocoelium* 을 각각 수집하였다. 수집된 충체들은 준비된 0.8% 생리적식염수 용액에 담근후 교실까지 운반하였다. Westerman 폐흡충은 경상남도 남해군 대정천에서 잡은 참게(*Eriocheir sinensis*)로부터 metacercaria 를 분리하여 이를 적은 새마리의 고양이에게 metacercaria 15개씩 경구 감염시키고 30일간 사육하고 곧 살생하여 Westerman 폐흡충을 얻었다.

수집된 흡충들은 찬(冷) acetone으로 고정한 후 정식으로 박절표본을 작성하여 Kurada 法(1953)으로 염색하여 검정 판독하였다. 판독은 세포내에 흑갈색 미세과립으로 나타날때에는 이를 양성으로 판정하였고 따라서 그것을 인정할시에는 Carboinc Anhydrae 가 국재(局在)하고 있다고 판독하였다(Ichikawa 1957 Okamoto 1965).

연구 소 견

1. *Fasciola gigantica*

이 흡충의 외피인 각질과 각질피하층에서는 Carbonic Anhydrase 의 존재를 확인하지 못하였다. 망상조직에서는 조직내에 흑갈색 미세과립상으로 염색되어 있으므로 그의 존재를 확인하였다(Fig. 1) 구흡판, 복흡판과 장관벽에서는 염색상 이를 탐지할 수 있는 양상을 나타내지 않았다. 따라서 Carbonic Anhydrase 의 분포가 없다고 단정되었다. 난황선의 세포내에 흑갈색 미세과립들이 분산하고 있어 Carbonic Anhydrase 가 세포내에 국재하고 있다고 확인하였다(Fig. 2). 난소, 고환과 자궁벽에서는 Carbonic Anhydrase 가 국재하고 있지 않았다. 그러나 흥미있는 사실로 자궁내 충난에서는 흑갈색 미세과립들이 충난에 산재하고 있어서 Carbonic Anhydrase 가 국재하고 있다고 확인하였다(Fig. 3).

2. *Paramphistoma orthocoelium*

이 흡충은 황우의 전위에 기생하고 있으며 그 형태는 원추상으로 선선한 충체는 담홍색으로 식염수내에서 잘 움직인다. 이 흡충에 있어서 각질과 각질피하층조직에서는 Carbonic Anhydrase 의 분포를 확인하지 못하였다. 충체선질인 망상조직에서도 이를 확인하지 못하였다.

구흡판과 장벽, 복흡판 난소와 고환 및 자궁등에서도 이를 확인하지 못하였다. 난황선과 난황세포 및 충란의

* 본논문의 요지는 1971년 제13회 대한 기생충학회 학술대회 석상에서 발표하였음

관각등에서 흑갈색 미세과립들이 나타났으며 (Fig. 4) 일부 충체의 후단부에 있는 배설량벽에도 흑색 미세과립이 분산하고 있음을 확인하였다(Fig. 5).

3. Westerman 폐흡충

폐흡충의 각질세포와 실질세포인 망상조직과 난소, 고환 및 자궁벽 흡판등에는 염색상 특이할만한 양상을 나타내지 않았으므로 Carbonic Anhydrase 분포를 확정하지 못하였다.

그러나 장관벽과 난황선에서는 흑색으로 염색된 미세과립들이 비만성으로 분포하고 있었다(Fig. 6, Fig. 7). 일부자궁내 충란에서도 흑갈색으로 염색된 미세과립상을 발견할수가 있었다.

상기 소견으로 장관벽과 난황선 및 충란에는 Carbonic Anhydrase가 국재하고 있다고 판독하였다.

위소견들을 요약하여 보면 다음과 같다.

Table 1. Distribution of Carbonic Anhydrase in the various trematodes

Species Tissue or organs	Fasciola gigantica	Paramphistoma orthocoelium	Paragonimus westermani
Cuticle	—	—	—
Subcuticular tissue	—	—	—
Reticular tissue	+	—	—
Oral, ventral sucker	—	—	—
Intestine	—	—	+
Vitelline gland	+	+	+
Ovary	—	—	—
Testes	—	—	—
Uterus	—	—	—
Eggs in uterus	+	+	+

고 찰

기생성 윤충류에 있어서 숙주와 기생충간에 영위되는 생리에 관한 많은 업적들이 보고되고 있다. 그러나 충체내 대사에 관하여 앞으로 규명되어야 할 문제가 산적되어 있다. 저자들은 이문제를 규명할 목적으로 기생부위를 달리하는 흡충류를 임의로 선택하여 실험조건을 비교적토하여 보았다. 이연구를 통하여 얻은 소견을 종합하여 보고로 한다.

성적을 종합하면서 각충체가 기생하는 부위에 따라 그 대사과정이 상이하며 각종 효소의 분포가 다르며 혹은

충체의 체구에 따라서 상이함을 알 수 있다. 다시 말하면 발육과정에 따라서 대사과정의 상이가 발생한다는것을 알았다. 각흡충이 기생부위(위, 간, 폐장)를 달리할 때에 각충체내에 국재하고 있는 Carbonic Anhydrase의 분포가 상이하며 반면에 일부분에서는 일치되는 것도있다. 일치된 것은 자궁내에 있는 충란과 난황선에서는 충체가 다물지라도 항상 그의 분포를 확인할수 있었다. 이와같이 난황선과 충란에서 Carbonic Anhydrase가 발견될 수 있는 것은 그부위에서 $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{H}_2\text{CO}_3 \rightleftharpoons \text{H}^+ + \text{HCO}_3^-$ 대사과정이 활발하게 일어나고 있음을 시사하는 것으로 간주된다. 기생부위를 달리 할때에 Carbonic Anhydrase의 분포가 달라지는 것은 무슨 연고일까?

저자들이 실험에 사용한 흡충류중에서 폐흡충은 체내에 많은 적혈구를 보유하고 있음을 육안적으로도 확인할 수 있었다. 반대로 위와 간에 기생하는 Fasciola gigantica와 Paramphistoma orthocoelium에서는 육안적으로 적혈구의 보유를 확인하지 못하였다. 포유동물에서는 Carbonic Anhydrase가 적혈구내에서 $\text{H}_2\text{CO}_3 \rightleftharpoons \text{H}_2\text{O} + \text{CO}_2 \rightleftharpoons \text{H}^+ + \text{HCO}_3^-$ 로 조직대사를 영위하고 있음이 규명되었다. 그러나 폐흡충에서 장내의 적혈구에서는 Carbonic Anhydrase의 국재를 확인하지 못하고 도리어 장벽에서 이를 확인할 수 있음은 흥미있는 소견이라고 생각되었다. 폐흡충의 장벽에서 Carbonic Anhydrase의 분포를 확인하였다는 사실은 조직내에 용존하고있는 CO_2 개스가 장벽을 통하여 장세포내에 들어와서 세포내에 있는 H_2O 와 결합하여 H_2CO_3 가 형성된것이며 세포내에 형성된 $\text{H}_2\text{CO}_3 \rightleftharpoons \text{H}^+ + \text{HCO}_3^-$ 로 분해되어진 것이라고 보는것이 타당하리라고 생각된다. Paramphistoma orthocoelium 배설량벽에서 Carbonic Anhydrase의 분포를 확인하였다. 배설량벽의 Carbonic Anhydrase는 조직액속에 용존하고 있는 CO_2 와 배설량벽세포내에 포함하고 있는 H_2O 가 결합하여 H_2CO_3 로 형성된다. 일부는 가수분해하여 $\text{H}_2\text{CO}_3 \rightleftharpoons \text{H}^+ + \text{HCO}_3^-$ 로 되어 체액의 PH를 유지함에 기여한다고 생각된다. 일반적으로 망상조직에서 Carbonic Anhydrase의 분포를 Paramphistoma orthocoelium와 Paragonimus westermani에서는 확인하지 못하였으나 Fasciola gigantica에서만 망상세포내에서 분포하고 있음을 (Chu, Hong)(1963)등이 발표한 간흡충의 소견과 일치된다. 이는 Fasciola gigantica와 간흡충과 같이 숙주의 담관내에 기생한다는 사실 보나도 그 생리기전에 있어 유사한 작용기전을 보유하고 있는 것으로 생각된다.

결 론

1. 저자들은 기생부위를 달리하는 각종 흡충류에 대하여 Kurada 法을 이용하여 Carbonic Anhydrase 의 분포를 비교검색하여 얻은 성적은 다음과 같다.
2. 巨大吸虫에서 Carbonic Anhydrase 의 分布는 腸上조직, 卵黃腺과 虫卵에서만 확인하였다.
3. 雙口吸虫에서는 Carbonic Anhydrase 의 分布는 卵黃腺과 虫卵에서 확인하였다.
4. 肺吸虫에서는 卵黃腺, 虫卵 外에 장벽에서 Carbonic Anhydrase 의 分布를 확인하였다.

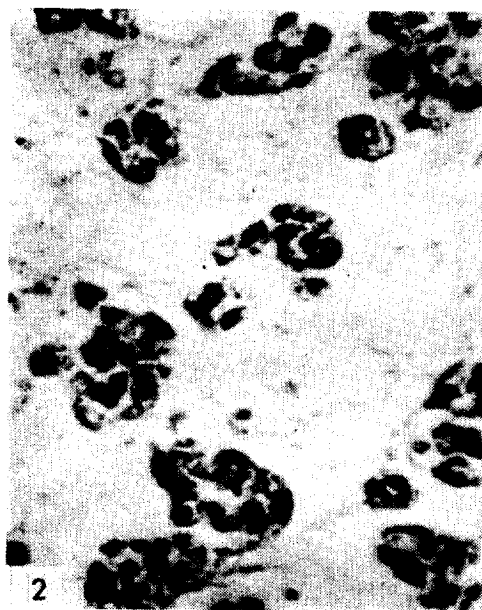
참 고 문 헌

- Faust, E. C., Russell, P. F., Jung, R. C. (1970). Clinical Parasitology 8ed. Lea & Febiger, Philadelphia.
- Harold, A. and Harper (1969). Review of Physiological Chemistry. Lange med. Publ., Los adtos.
- Ichikawa, (1957). Cytochemistry. Nippon Kyokagu., Tokyo.
- Jung Kyun, Chu and Sung moon, Hong (1963). Histochemical studies on Clonorchis sinensis(The distribution of Carbonic Anhydrase)., K. J. Parasit. 1:1, 11-13.
- Kurada, Y. (1935). Histochemical demonstration of Carbonic Anhydrase activity. Stain Tech. 28:5-231.
- Okamoto, Ueda, Maeda and Mitzdani(1965). Microscopic Histochemistry 3rd., Igaku Shoin. Tokyo.
- Watson, J. M. (1960). Medical Helminthology. Baillier Tiudall and Cox. London.

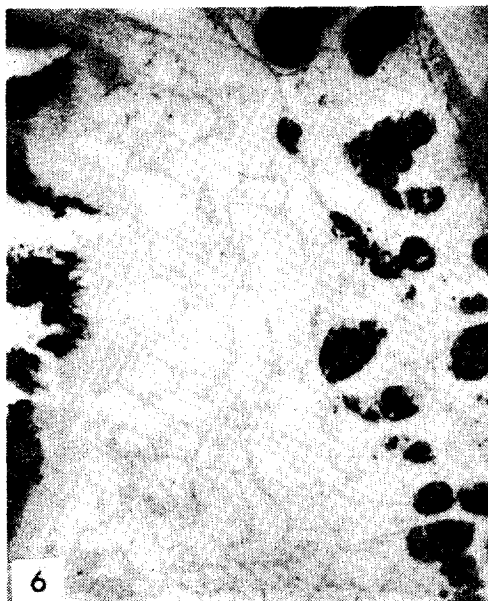
Explanation of Figures

- Fig. 1.** Showing the distribution of Carbonic Anhydrase activity in the reticular tissue cells in *Fasciola gigantica*. (10×40)
- Fig. 2.** Showing the distribution of Carbonic anhydrase Activity in vitelline gland cells in *Fasciola gigantica*. (10×10)
- Fig. 3.** Showing the distribution of Carbonic anhydrase Activity in eggs in the uterus in *Fasciola gigantica*. (10×40)
- Fig. 4.** Showing the distribution of Carbonic anhydrase Activity in eggs in the uterus in *Paramphistoma orthocoelium*. (10×40)
- Fig. 5.** Showing the distribution of Carbonic anhydrase Activity at the excretory cannal in *Paramphistoma orthocoelium*. (10×40)
- Fig. 6.** Showing the distribution of Carbonic Anhydrase activity in the vitelline gland cells and intestinal mucous membrane in the *Paragonimus westermani*. (10×40)
- Fig. 7.** Same above. (10×10)

＞ 朱·梁·趙論文寫真附圖① ＜



＞ 朱·梁·趙論文寫真附圖 ② ＜



=Abstract=

Histochemical study on Trematodes

——Distribution of Carbonic Anhydrase activity——

Jung Kyun Chu, Yong Suk Ryang and You Jung Cho

Department of Parasitology, School of Medicine, Kyung Hee University

The purpose of the present study is to demonstrate the distribution of Carbonic Anhydrase pattern in the various trematodes (*Fasciola gigantica*, *Paramphistoma orthocoelium*, *Paragonimus westermani*) by means of Kurada staining method, and to correlate these findings with the histochemical data and harboring location.

The results are summarized as follows:

1. In *Fasciola gigantica*, Carbonic Anhydrase activity was positive in reticular tissue cells, vitelline gland cells and eggs in the uterus.
2. In *Paramphistoma orthocoelium*, Carbonic Anhydrase activity was positive in the vitelline gland cells and eggs in the uterus.
3. In *Paragonimus westermani*, Carbonic Anhydrase activity was positive in intestinal mucous membrane, vitelline gland cells and eggs.