

肝吸蟲 成蟲의 마우스腹腔內 注入에 關한 實驗的 研究

中央大學校 醫科大學 寄生蟲學教室

宋 哲 鏞 · 李 純 炯

서울大學校 醫科大學 病理學教室

池 堤 根

結 論

肝吸蟲(*Clonorchis sinensis*)에서 終宿主 體內로의 移行經路에 대해서는 被囊幼蟲(metacercaria)이 口腔, 胃를 거쳐 十二指腸에서 脫囊하고 膽道를 通하여 肝內 膽管속에 寄生하게 된다고 Kobayashi(1912), Mukoyama(1921), Sun et al.(1968)등은 報告한 바 있다. 이때 十二指腸에서 被囊幼蟲이 終宿主의 消化液에 의하여 脫囊되는 機轉은 Faust & Khaw(1927), Seo et al.(1957), Seo(1959)등에 의하여 報告되었다. Wykoff & Lepes(1957)는 被囊幼蟲이 十二指腸에서 脫囊하여 腸을 穿通한 후 腸腔을 거쳐 肝門脈을 通하여 肝의 膽管內에서 寄生할 수도 있다고 하였다.

Iwata(1937)는 肝吸蟲이 重感染일 경우 膽囊은 물론 十二指腸과 脾臟에서도 蟲體가 發見된다고 하였으며, Chan & Teoh(1967)는 肝吸蟲症 患者의 부검을 통해서 脾臟에 나타나는 病理學的 病變을 觀察한 바 있다. 이 밖에 膽管 寄生이 아닌 肝吸蟲症 症例로는 崔 등(1962)이 사람의 橫隔膜下 窩양에서 肝吸蟲 成蟲을 發見하여 報告한 것이 있다.

肝吸蟲이 사람이나 動物에 侵入하여 일으키는 臨床 症狀 및 病理學的 病變에 관하여는 Faust & Khaw(1927), Hoeppli(1933), Hou(1955), Kang(1960), Hahn(1961), Yamagata & Yaegashi(1964), Hou(1965 a&b), Kim et al.(1968), Kim et al.(1974)등 많은 研究가 있으며 이들에 의하면 肝吸蟲의 重感染時 主로 肝硬變症을 併發하게 된다고 하였으나 특히 Hou(1955, 1956, 1964 & 1965b), Kim et al.(1968), Kim et al.(1974), Chung(1975), Chung & Lee(1976)등은 肝吸蟲 感染과 原發性 肝癌과는 밀접한 관계가 있어 肝吸蟲 感染이 原發性 肝癌發生의 先行要因이 될 수 있을 것이라 주장하였다.

이와같은 肝吸蟲에 의한 肝의 病變이 蟲體의 物理的 刺戟에 의한 것인지 代謝에 基因된 化學物質의 刺戟 때문인지 또는 이 두가지가 相乘의로 作用하는 때문 인지는 아직 자세히 밝혀진 바 없으나 Katsurada(1922), Hsü(1938), Hou(1965a)등은 특히 肝吸蟲 感染時에 나타나는 膽管의 病變은 主로 肝吸蟲의 機械的 刺戟에 의한다고 하였다.

한편 Sun & Gibson(1969)은 肝吸蟲의 代謝產物이 組織內에 들어가 뚜렷한 抗原作用을 나타낸다 하였고 最近 Isseroff & Girard(1976)는 吸蟲類의 一種인 肝絛 (*Fasciola hepatica*) 成蟲을 흰쥐 腹腔에 注入시킨 結果, 흰쥐의 膽管周圍徑이 正常 보다 2배가 增加되고, 또 膽管에 病變이 觀察되어 肝絛 感染時 膽管의 病變은 化學的 要因에 의한 것이라 하였다.

著者は 마우스 腹腔內에 肝吸蟲의 成蟲을 實驗的으로 注入하였을 때 일어나는 蟲體 및 宿主 肝組織의 變化를 觀察하고자 期間別로 蟲體 回收率, 蟲體 生存率, 蟲體가 回收된 臟器部位, 蟲體의 크기, 蟲體의 變化등을 調査함과 아울러 肝의 病理組織學的 檢査를 實施하였다.

材料 및 方法

1. 肝吸蟲의 被囊幼蟲 分離와 기네아 픽에의 感染
肝吸蟲의 第二中間 宿主인 참붕어(*Pseudorasbora parva*)를 慶南 金海郡에서 採取하고 人工胃液으로 消化하여 被囊幼蟲을 分離하였다.

分離한 肝吸蟲의 被囊幼蟲을 기네아 픽에 마리당 500 個씩 人工感染 시키고, 2個月間 飼育한 後 屠殺하여 肝吸蟲 成蟲을 收集하였다.

2. 肝吸蟲 成蟲의 마우스 腹腔內 注入

마우스는 雌雄區別 없이 體重 約 25g前後의 健康한 것들 사용하였다.

Table 1. Experimental design

Group	No. of worms inoculated /mouse	Duration								Total No. of mice used	Total No. of worms inoculated
		4 days		10 days		28 day		56 days			
		No. of mice used	No. of worms inoculated	No. of mice used	No. of worms inoculated	No. of mice used	No. of worms inoculated	No. of mice used	No. of worms inoculated		
I	2	5	10	5	10	5	10	5	10	20	40
II	5	5	25	5	25	5	25	4	20	19	95
III	10	5	50	5	50	5	50	5	50	20	200
IV	20	5	100	5	100	4	80	5	100	19	380
Total	37	20	185	20	185	19	165	19	180	78	715

기네아 픽에서 收集한 成蟲을 멸균한 37°C 생리식염수로 數回 세척한 후 에테르로 마취시킨 마우스를 開腹하고 蟲體를 넣은 다음 즉시 縫合하였다. 가급적 이 모든 過程은 무균적으로 조작하였다.

注入 마우스의 數, 注入 蟲體數 그리고 實驗期間은 Table 1에 表示한 實驗計劃과 같다.

3. 蟲體檢査 및 病理組織標本檢査

一定期間 飼育한 마우스는 屠殺하여 開腹하고 蟲體가 位置한 臟器를 確認한 다음 蟲體를 收集하여 37°C 生理食鹽水에 넣어 生死여부를 判定하였다.

이 蟲體들은 다시 포르마린 溶液으로 壓平固定하고 Semichon's acetocarmine 染色을 하여 蟲體의 體長과 體幅을 測定한 다음 蟲體의 生殖器官(卵巢, 精巢, 卵黃腺, 受精囊, 子宮)등의 變化를 기네아 픽에서 처음 收集한 肝吸蟲과 比較 觀察하였다.

한편 屠殺한 마우스의 肝을 즉시 摘出하여 6%포르마린이 含有된 60%알코올 溶液에 固定하고 파라핀 包埋後 5 μ 두께로 組織切片을 만들었으며, 이 切片을 檢

마특시린과 에오신으로 染色하고 鏡檢하여 病變의 有無를 觀察하였다.

實 驗 結 果

1. 蟲體 回收率

蟲體 回收率은 Table 2에서 보는 바와 같이 最高 100%(第 I 群의 4日)로 부터 最低 70.0%(第 III 群의 56日)의 範圍內에 있었는데 注入 蟲體數로 分類한 群間의 蟲體 回收率은 有意한 差異를 보이지 않았다.

期間別로 보면, 모든 群에서 時間이 經過함에 따라 蟲體回收率이 減少함을 보였다. 즉 腹腔內에서 回收된 肝吸蟲의 總數를 期間別로 살펴 보면, 第4日과 第10日 間의 t검정결과 $p < 0.05$ 로 有意한 差를 보였고, 第10日과 第28日, 第28日과 第56日 間의 t검정결과 $p < 0.01$ 로 매우 有意한 差를 보였다. 그러므로 蟲體 回收率이 第10日에서 부터 減少하여 第28日과 第56日에서 더욱 현저히 減少하는 것을 알 수 있었다.

Table 2. Number of worms recovered

Group	No. of worms inoculated /group	Duration								Total	
		4 days		10 days		28 days		56 days		No. of worms recovered	%
		No. of worms recovered	%	No. of worms recovered	%	No. of worms recovered	%	No. of worms recovered	%		
I	10	10	100.0	9	90.0	8	80.0	8	80.0	35	87.5
II	25	23	92.0	22	88.0	21	84.0	16*	80.0	82	86.3
III	50	47	94.0	46	92.0	42	84.0	35	70.0	170	85.0
IV	100	98	98.0	94	94.0	66**	82.5	71	71.0	329	86.6
Total	185	178	96.2	171	92.4	137	83.0	130	72.2	616	86.1

* 16 worms recovered among 20 inoculated worms.

** 66 worms recovered among 80 inoculated worms.

2. 蟲體 生存率

蟲體 生存率は Table 3에 表示한 바와 같이 最高 100% (第Ⅰ群의 4日)로 부터 最低 14.0% (第Ⅲ群의 56日)의 範圍內에 있었다.

注入 蟲體數로 分類한 蟲體 生存率は 有意한 差異를 보이지 않았다.

期間別로 蟲體 生存률을 살펴 보면, 第4日과 第10日間の t검정결과 第Ⅰ, Ⅱ, Ⅲ群에서는 有意한 差를 보이지 않았으나 第Ⅳ群에서는 差異가 認定되었다 ($p < 0.05$).

第10日과 第28日 사이에는 各群에서 모두 有意한 差 ($p < 0.01$)를 보였으며 第28日과 第56日 사이에서도 第Ⅰ群을 除外한 第Ⅱ, Ⅲ, Ⅳ群에서 有意한 差를 보였다 ($p < 0.01$).

全體의으로 볼때 蟲體 生存率は 이미 第4日과 第10日 사이 ($p < 0.05$)에서 부터 減少하기 시작하여 第10日 이후 第56日 사이에서는 더욱 현저히 減少 ($p < 0.01$)되는 樣相을 보였다.

3. 蟲體 發見部位

腹腔 및 腹腔內 各 臟器表面에서 發見된 蟲體의 回收率을 群別로 보면 Table 4와 같다.

腹腔內에 遊離되어 生理的 食鹽水 세척만으로 回收된 蟲體數는 總回收 蟲體數의 90.1%를 차지하였고 그 나머지 蟲體(9.9%)는 胃, 肝, 脾, 腸, 橫隔膜등의 臟器表面에서 回收 되었는데 이들 臟器表面에서 發見된 蟲體는 투명한 被膜으로 싸여 있었고 實質組織內에서 發見된 蟲體는 없었다.

蟲體가 回收된 臟器部位를 期間別로 보면 Table 5와 같고 時間이 經過함에 따라 腹腔에서는 蟲體 回收率이 98.9% (第4日)에서 81.5% (第56日)로 減少되었으나 그 외 臟器의 蟲體 回收率은 一定하지 않았다.

4. 回收 蟲體의 크기

回收된 蟲體의 크기는 Table 6 및 7에서 보는 바와 같다.

群別 回收 蟲體의 平均 體長 및 體幅은 群間에 서로 有意한 差異를 나타내지 않았으나, 回收된 모든 肝吸

Table 3. Number of worms survived

Group	No. of worms inoculated /group	Duration								Total	
		4 days		10 days		28 days		56 days		No. of worms survived	%
		No. of worms survived	%	No. of worms survived	%	No. of worms survived	%	No. of worms survived	%		
I	10	10	100.0	9	90.0	2	20.0	3	30.0	24	60.0
II	25	23	92.0	22	88.0	11	44.0	4*	20.0	60	63.2
III	50	46	92.0	46	92.0	31	62.0	7	14.0	130	65.0
IV	100	98	98.0	90	90.0	49**	61.3	24	24.0	261	68.7
Total	185	177	95.7	167	90.3	93	57.0	38	21.5	475	66.4

* 4 worms survived among 20 inoculated worms.

** 49 worms survived among 80 inoculated worms.

Table 4. Worms recovered from various parts of the body by group

Group	Total No. of worms recovered	Location											
		Abd. cavity		Stomach		Liver		Spleen		Intestine		Diaphragm	
		No. of worms recovered	%	No. of worms recovered	%	No. of worms recovered	%	No. of worms recovered	%	No. of worms recovered	%	No. of worms recovered	%
I	35	29	82.9	3	8.6	2	5.7	1	2.9				
II	82	69	84.1	6	7.3	2	2.4	4	4.9	1	1.2		
III	170	152	89.4	9	5.3	4	2.4	3	1.8	1	0.6	1	0.6
IV	329	305	92.7	12	3.6	7	2.1	4	1.2	1	0.3		
Total	616	555	90.1	30	4.9	15	2.4	12	1.9	3	0.5	1	0.2

Table 5. Worms recovered from various parts of the body by duration

Duration (days)	Total No. of worms recovered	Location											
		Abd. cavity		Stomach		Liver		Spleen		Intestine		Diaphragm	
		No. of worms recovered	%	No. of worms recovered	%	No. of worms recovered	%	No. of worms recovered	%	No. of worms recovered	%	No. of worms recovered	%
4	178	176	98.9	1	0.6			1	0.6				
10	171	155	90.6	6	3.5	4	2.3	4	2.3	2	1.2		
28	137	118	86.1	12	8.8	2	1.5	4	2.9	1	0.7		
56	130	106	81.5	11	8.5	9	6.9	3	2.3			1	0.8
Total	616	555	90.1	30	4.9	15	2.4	12	1.9	3	0.5	1	0.2

Table 6. Worm size recovered before and after inoculation by group

	Total No. of measured	Worm size(mm)	
		Length±S.D.	Width±S.D.
Before inoculation	45	6.57±0.61	2.12±0.17
After inoculation			
I	19	5.76±1.15	1.53±0.23
II	50	5.46±0.99	1.62±0.30
III	70	5.84±0.91	1.76±0.28
IV	114	5.35±1.22	1.67±0.43
Mean		5.60±1.11	1.65±0.37

Table 7. Worms size recovered before and after inoculation by duration

	Total No. of measured	Worm size(mm)	
		Length±S.D.	Width±S.D.
Before inoculation	45	6.57±0.61	2.12±0.17
After inoculation(days)			
4	68	5.24±0.74	1.81±0.30
10	86	5.71±0.98	1.72±0.29
28	51	6.24±0.93	1.68±0.30
56	48	5.20±1.56	1.37±0.47
Mean		5.60±1.11	1.65±0.37

蟲의 平均 體長 (5.60±1.11mm) 및 體幅(1.65±0.37 mm)은 注入前 蟲體의 平均 體長(6.57±0.61mm) 및 體幅(2.12±0.17mm)보다 작았다.

5. 回收 蟲體의 變化

回收한 肝吸蟲의 卵巢, 精巢, 卵黃腺, 受精囊, 子宮 등 生殖器官을 觀察한 結果 注入前 蟲體(Fig. 1)에 比 하여 Fig. 2~6에서 보는 바와 같은 各 器官의 萎縮 變

化를 볼 수 있었다.

이들 生殖器官의 萎縮變化는 群別로 볼 때 注入 蟲體 數와 別로 關係가 없었으나 (Table 8), 時間別로 볼 때 에는 第4日에 이미 卵巢 및 受精囊을 비롯한 各 生殖 器官에 萎縮變化가 오기 시작하였으며, 이러한 變化는 一般的으로 時間이 經過함에 따라 더욱 顯著하게 나타 났다.

Table 8. Atrophic changes of reproductive organs of the worms found by group

Group	No. of worms observed	Ovary		Testis		Vitellaria		Spermatheca		Uterus	
		No. of worms	%	No. of worms	%	No. of worms	%	No. of worms	%	No. of worms	%
I	19	11	57.9	7	36.8	4	21.1	14	73.7	5	26.3
II	50	27	54.0	23	46.0	18	36.0	26	52.0	10	20.0
III	70	24	34.3	43	61.4	34	48.6	45	64.3	22	31.4
IV	114	58	50.9	88	77.2	78	68.4	92	80.7	50	43.9
Total	253	110	43.5	161	63.6	134	53.0	177	70.0	87	34.4

Table 9. Atrophic changes of reproductive organs of the worms found by duration

Duration (days)	No. of worms observed	Ovary		Testis		Vitellaria		Spermatheca		Uterus	
		No. of worms	%	No. of worms	%	No. of worms	%	No. of worms	%	No. of worms	%
4	68	5	7.4	2	2.9	2	2.9	5	7.4	3	4.4
10	86	44	51.2	66	76.7	47	54.7	75	87.2	28	32.6
28	51	25	49.0	49	96.1	41	80.4	51	100.0	20	39.2
56	48	36	75.0	44	91.7	44	91.7	46	95.8	36	75.0
Total	253	110	43.5	161	63.6	134	53.0	177	70.0	87	34.4

6. 肝組織의 病理組織學的 變化

各群에 있어서 나타나는 肝組織의 病理學的 所見은 Table 10에 表示한 바와 같다.

먼저 水症性 變性(hydropic degeneration)을 보던 群이나 時間經過에 關係없이 不規則하게 나타 났으며, 脂肪變性(fatty degeneration)은 少數의 實驗動物에서 만 나타났을 뿐 一般의 所見은 아니었다. 그러나 肝細胞不同症(anisocytosis), 細胞核不同症(anisonucleosis) 그리고 드물지만 巨大細胞症(megalocytosis) (Fig. 11) 및 核分裂像(mitotic figure)을 볼 수 있었으며, 이러한 變化는 특히 注入 蟲體數가 많은 群에서, 그리고 比較的 後期로 갈수록 잘 나타나는 傾向이 있었다. 정상보다 커져있는 肝細胞核은 흔히 濃染되어 있었고 드물게는 2—3개의 核을 가지는 肝細胞도 出現하였다.

肝小葉에서의 變化로는 各群에서 焦點性壞死(focal necrosis) (Fig. 15), 星細胞(Kupffer cell) 增殖, 中心靜脈 擴張(central vein dilatation) (Fig. 10), 類洞構造(sinusoid)의 擴張등이 현저하게 나타났으며, 이러한 變化는 全實驗 期間中 觀察할 수 있는 一定하고 固定的인 所見이었다. 또 中心靜脈 및 門脈枝에서 靜脈炎(Fig. 12, 13, 14)이 빈번하게 觀察되었다.

門脈系의 變化로서 門脈腔의 擴張은 별로 없었고 膽管이 輕度로 擴張된 例를(Fig. 18) 간단히 볼 수 있었

으나 群이나 期間과 關係없는 不規則한 所見이었다. 그리고 肝吸蟲이 膽管內에 寄生할때 나타나는 特異한 病變인 上皮細胞의 腺腫性 增殖(adenomatous proliferation)은 全實驗을 통해서 觀察되지 않았다. 그러나 膽管上皮細胞의 非定型性(epithelial atypia)은 종종 나타났는데 이때 膽管上皮細胞는 扁平化(flattening) 및 不同細胞症(anisocytosis)을 보여 圓柱狀 細胞에서 크기가 일정치 않은 立方形 細胞(cuboidal cell) 또는 扁平細胞로 變하는 것을 觀察할 수 있었다(Fig. 18). 膽管內에는 無構造의 好酸性物質(amorphous eosinophile material)이 차 있는 것을 볼 수도 있었으며 一般적으로 膽管周圍에는 單核球, 好酸球, 形質細胞등 細胞浸潤이 있었는데, 심한 경우에는 細胞浸潤이 토시(cuffing)를 이루어 膽管腔이 오히려 압박된 듯한 所見을 보였다. 動脈炎은 第28日째 第IV群의 1例에서만 나타났을 뿐이며 門脈의 纖維化는 거의 觀察할 수 없었다.

肉芽腫은 肝被膜(liver capsule) 直下部 뿐만아니라 肝實質內에 形成된 것 (Fig. 7, 8, 17)을 빈번히 觀察할 수 있었다. 그런데 被膜과 關聯된 肉芽腫의 蟲卵을 가운데 둔 定型的 肉芽腫에 對하여 肝實質 깊숙히 散在하는 肉芽腫은 그 規模가 작아 一見 焦點性 壞死 같은 印象이나 이들 細胞成分을 보면 分명한 組織球(histocyte)의 集合이 있을뿐 아니라 類上皮細胞(epi-

Table 10. Histopathological changes of mouse liver

		Duration		4 days																
Pathological Change	Group	I					II					III					IV			
	Animal No.	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	3	4	5
Hepatic Cell																				
	Hydropic degeneration	—	+	—	+	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	+	++	+	+	+
	Fatty change	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	±	—	+	—	—	—	—	—
	Anisonucleosis	±	+	—	—	±	—	+	+	—	—	—	—	+	±	+	+	±	++	+
Hepatic Lobule																				
	Focal necrosis	+	—	++	+	+	+++	++	++	++	+	++	++	++	++	++	—	±	+	+
	Kupffer cell proliferation	±	±	+	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	+	++	±	+	+	+
	Central vein dilatation	+	+	+	++	+	++	++	++	+	++	++	+	+	+	++	±	+	+	+
	Sinusoidal dilatation	+	+	+	+	+	++	++	+	+	++	++	+	+	±	+	—	±	—	±
	Phlebitis	—	—	±	±	—	++	++	±	±	+	+	+	±	+	+	—	±	+	—
Portal Tract																				
	Portal widening	—	—	—	—	—	+	+	—	—	+	—	±	—	+	—	—	—	—	—
	Bile duct dilatation	—	—	—	—	—	+	+	—	—	—	+	+	+	+	—	—	—	—	—
	Bile duct proliferation	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Epithelial atypia	—	—	—	+	—	—	—	+	—	+	+	+	—	+	—	—	—	—	—
	Cell infiltration	+	—	±	+	±	++	++	+	+	++	++	+	+	+	±	—	+	±	±
	monocytes	+					+		+	+	+		+		+					
	eosinophils	+					+	+	+	+	+		+		+			±		
	plasma cells				+		+	+	+	+	+		+	+	+				+	
	Arteritis	—	—	—	—	—	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Fibrosis	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—
Others																				
	Granuloma	—	—	—	—	±	+	+	+	—	—	+	+	—	+	+	—	+	—	—
	Capsular							+		+						+		+		
	Intralobular						+	+				+	+			+		+		
	Capsulitis	—	—	—	—	±	+	++	+	±	+	—	+	+	±	+	—	+	±	—
	Parasite & eggs	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	+	—	+	—	—

Pathological Change	Group	10 days														
		I					II					III				
	Animal No.	1	2	3	4	5	1	3	4	5		1	2	3	4	5
Hepatic Cell																
Hydropic degeneration		—	+	—	—	—	—	—	—	±		±	—	—	+	—
Fatty change		—	±	—	—	—	—	—	—	—		—	—	—	—	—
Anisonucleosis		+	+	±	+	—	—	+	±	+		±	+	—	±	+
Hepatic Lobule																
Focal necrosis		±	+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+	+	+
Kupffer cell proliferation		±	+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+	+	+
Central vein dilatation		+	+	+	+	+	+	+	+	±		+	+	+	+	+

Sinusoidal dilatation	+	+	±	+	+	+	+	±	±	±	+	+	±	±	±	±	±	±
Phlebitis	-	-	±	-	±	±	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+
Portal Tract																		
Portal widening	-	-	-	-	-	-	+	+	-	±	±	+	-	-	-	-	-	-
Bile duct dilatation	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+
Bile duct proliferation	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Epithelial atypia	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+
Cell infiltration	+	+	±	+	±	±	+	+	±	+	+	+	+	+	+	-	±	+
monocytes	+	+	+						+	+	+	+	+					+
eosinophils	+	+		+					+	+	+	+	+	+				+
plasma cells	+	+							+	+	+	+	+	+				+
Arteritis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Fibrosis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Others																		
Granuloma	-	-	+	-	-	+	-	±	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
Capsular			+			+			+				+	+		+		+
Intralobular			+							+			+					+
Capsulitis	-	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+
Parasite & eggs	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-

Pathological Change	Duration	4 weeks																			
	Group	I					II					III					IV				
	Animal No.	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	4	5	1	2	3	4	5	
Hepatic Cell																					
Hydropic degeneration		-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	±	-	-	
Fatty change		-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	±	-	-	-	
Anisonucleosis		-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	±	+	
Hepatic Lobule																					
Focal necrosis		±	+	±	+	+	+	+	+	±	+	±	+	+	+	+	+	+	+	+	
Kupffer cell proliferation		±	+	+	±	+	+	+	+	+	+	±	+	+	+	+	+	+	+	+	
Central vein dilatation		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Sinusoidal dilatation		-	+	±	+	+	+	+	±	+	+	+	+	±	+	±	+	+	+	+	
Phlebitis		-	+	-	±	+	+	±	+	±	+	-	+	-	±	+	±	+	+	-	
Portal Tract																					
Portal widening		-	-	-	-	-	+	-	±	-	±	-	-	-	+	-	-	-	-	-	
Bile duct dilatation		-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	-	+	+	-	+	-	
Bile duct proliferation		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Epithelial atypia		±	-	-	-	+	+	+	-	-	+	+	-	+	-	+	+	-	+	-	
Cell infiltration		±	-	±	±	+	+	±	+	+	+	+	±	+	+	+	±	+	+	+	
monocytes						+	+		+	+	+	+		+	+	+		+	+	+	
eosinophils						+	+		+	+	+	+		+	+	+		+	+	+	
plasma cells						+	+			+	+	+		+	+	+		+	+	+	
Arteritis		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	
Fibrosis		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

Others

Granuloma	+	+	-	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-
Capsular					+	+	+	+			+	+	+	+	+			+	
Intralobular		+				+	+		+		+	+	+				+	+	
Capsulitis	+	+	-	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+
Parasite & eggs	+	+	-	+	-	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-

Pathological Change	Group Animal No.	Duration					8 weeks																			
							I					II					III					IV				
		1	2	3	4	5	1	4	5	1	2	3	4	1	2	3	4	5								
Hepatic Cell																										
Hydropic degeneration		—	+	—	+	—	—	+	±	—	+	±	—	±	±	±	—	—	+	±	—	+				
Fatty change		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	±	—	—	—	—	—	—	—					
Anisonucleosis		+	—	+	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	—	+	+					
Hepatic Lobule																										
Focal necrosis		±	±	±	+	±	±	+	+	±	+	+	±	±	+	±	±	+	+	+	±					
Kupffer cell proliferation		+	+	±	+	±	±	+	+	+	+	+	+	+	+	±	±	+	+	+	±					
Central vein dilatation		+	+	±	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±	+	±	+	±					
Sinusoidal dilatation		+	+	±	+	±	+	±	+	+	±	+	+	+	+	+	±	±	+	+	+					
Phlebitis		±	±	+	±	+	+	+	±	+	+	+	+	+	+	+	±	+	+	+	±					
Portal Tract																										
Portal widening		—	—	—	±	+	—	—	—	—	±	—	±	—	±	—	—	—	—	—	+					
Bile duct dilatation		—	—	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	+	+					
Bile duct proliferation		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—					
Epithelial atypia		—	—	+	+	+	+	—	+	—	—	—	+	—	—	—	—	—	+	+	—					
Cell infiltration		+	+	+	±	+	+	+	+	±	+	±	+	±	+	+	+	±	±	+	+					
monocytes		+		+		+	+	+			+	+							+		+					
eosinophils		+		+		+	+	+	+		+	+						+	+		+					
plasma cells		+		+		+	+	+	+		+	+							+		+					
Arteritis		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—					
Fibrosis		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—					
Others																										
Granuloma		+	—	+	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+					
Capsular		+		+		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+					
Intralobular		+		+		+	+					+		+				+								
Capsulitis		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+					
Parasite & eggs		+	—	+	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+					

theloid cell)의 出現도 同伴되고 있었다(Fig. 17). 또 肝의 被膜炎(capsulitis)도 아울러 觀察되었는데(Fig. 9), 第4日에서 아직 肝吸蟲 蟲體가 被膜下에서 發見되지는 않았으나 蟲卵은 發見되었다. 第10日에는 처음으로 肝 被膜下에 壞死된 蟲體가 나타났으며(Fig. 7), 被膜炎의 所見이 大部分의 例에서 觀察되었다. 壞死된 蟲體 內에서 肝吸蟲 各 器官의 構造를 볼 수 없었고 蟲卵만

이 나타났는데 이런 경우 蟲卵을 中心으로 肉芽腫이 形成된 것을 觀察할 수도 있었다(Fig. 7, 8). 역시 이 때에도 肝實質內에서 肉芽腫이 發見되었으나 그 규모가 작아 10~20개의 細胞로 構成되었으며 分明한 組織球가 集結되어 있음을 보였다. 그러나 蟲卵의 切斷面이나 蟲卵이 實質內에서 發見된 例는 전혀 없었다. 이러한 變化는 第28日, 第56日 등 時間이 經過함에 따라

더욱 현저하게 나타났으나 注入 蟲體數와는 關係가 없는 것으로 나타났다.

肝被膜下 및 肝實質에 肉芽腫이 역시 初期보다 많이 出現하였으나 脂肪食細胞(lipophage)는 觀察할 수 없었다. 第56日의 第Ⅲ群에서는 局所性 梗塞이 散發的으로 나타난 例도 있었다(Fig. 16).

考 察

宿主에 따라 肝吸蟲의 發育과 感受性이 다르다는 것은 잘 알려진 사실이다. 개, 고양이, 쥐등은 自然界에서 保有宿主가 되며 토끼와 기네아 피크는 實驗室에서 終宿主로 사용된다. Wykoff (1958)는 토끼와 기네아 피크에서 거의 同等한 感受性을 볼 수 있었으나 흰쥐는 이들 보다 感受性이 낮았다고 하였다.

肝吸蟲에 대한 마우스의 感受性에 관한 研究는 Komiya & Kawana-Tajimi(1953), Rhee & Seo (1968), Yoshimura (1972), Yoshimura et al. (1972)등이 있으나 蟲體의 發育이 一般的으로 좋지 않으며 蟲體 回收率도 比較的 낮아서 다른 實驗動物보다 마우스는 肝吸蟲에 대한 感受性이 낮은 것으로 되어 있다.

Mukoyama (1921)는 肝吸蟲 幼蟲을 토끼 腹腔內에 注入한 바 腹腔 세척액에서 幼蟲을 發見할 수 있었으나 점차 사멸, 소실된다고 하였으며 肝을 비롯한 다른 臟器에서는 幼蟲을 發見하지 못하였다고 하였다. 그러나 肝吸蟲의 成蟲을 마우스 腹腔內에 注入시킨 實驗은 없는 것 같고, 따라서 腹腔內에 注入된 成蟲의 運命에 關해서도 알려진 바가 없는 것 같다.

本實驗에서 마우스 腹腔內에 注入한 肝吸蟲 蟲體 回收率은 注入 蟲體數와는 關係가 없었으나, 注入한 후 時間이 經過할 수록 減少하였다. 그리고 注入蟲體 生存率도 注入后 時間經過에 따라 減少하여 蟲體가 점차 사멸, 소실되는 樣相을 보였다. 마우스 腹腔內에 注入한 肝吸蟲은 90.1%가 腹腔內에서 回收되었으며, 나머지 9.9%가 胃, 肝, 脾, 腸, 橫隔膜 등 腹腔內 臟器表面에서 被膜에 싸여 있는 상태로 發見되었다.

肝吸蟲의 宿主內 移行經路는 被囊幼蟲이 十二指腸에서 脫囊하고 直接 膽수단관을 거쳐 肝內 膽道로 侵入하는 것이 定說이나 Wykoff & Lepes (1957)는 토끼에서 脫囊幼蟲이 腸粘膜炎을 穿通한 후 肝門脈으로 侵入하여 膽管에 到達, 寄生할 수도 있다고 하였다. 그러나 Mukoyama (1921)는 토끼의 膽수단관을 結紮하고 肝吸蟲의 被囊幼蟲을 經口感染시켰을 때 膈강 및 腹腔세척액 그리고 肝內에서 蟲體가 發見되지 않아, 肝吸蟲이 組織을 뚫고 侵入하는 能力은 없다고 報告하였다.

또 Sun et al. (1968)도 흰쥐 및 토끼에서 Mukoyama (1921)와 같은 結果를 얻고, 十二指腸을 통해서 膽管으로 侵入하는 것이 유일한 自然 感染經路라고 밝혔다.

本實驗에서도 腹腔內에 注入한 成蟲은 肝을 비롯한 腹腔內 各 臟器에 選擇的으로 集中하는 傾向은 보이지 않았으며, 또 이들 臟器表面에 附着된 蟲體도 被膜에 싸여 壞死되어 있는 뿐 實質組織內로 侵入한 證據는 찾을 수 없었다.

마우스 腹腔內에서 回收된 蟲體의 크기는 注入前 蟲體의 體長과 體幅에 比하여 작으며 이미 第10日에서 蟲體 後端이 萎縮되는 것도 있었고 第56日에서 回收된 蟲體의 大部分은 壞死되어 있었다. 그리고 蟲體의 受精囊, 精巢, 卵黃腺, 卵巢, 子宮 등 生殖器官은 第4日부터 萎縮變化를 보이기 시작하여 時間이 經過할 수록 더욱 현저하여 지고 第28日 및 第56日에 이르러서는 흔적만 남기거나 各 器官을 區別할 수 없을 정도로 蟲體가 萎縮되는 것을 볼 수 있었다.

이러한 蟲體 回收率 및 生存率의 減少, 回收蟲體의 萎縮과 蟲體 生殖器官 등의 變化는 마우스가 호적숙주가 아니며 또 腹腔이 正常 寄生部位가 아니기 때문에 나타나는 現象이라 생각되며 따라서 마우스 腹腔內의 環境은 肝吸蟲의 發育, 成長 및 生存에 적합치 않은 것으로 생각된다. 本實驗結果로 미루어 肝吸蟲 成蟲을 마우스 腹腔內에 保存하였다가 다른 實驗에 사용할 수 있는 가능성은 없다고 하겠다.

肝吸蟲이 膽管內에 寄生할 때 肝에 나타나는 病理組織學的 病變으로는 膽管의 腺腫性 增殖을 비롯하여 膽管周圍의 細胞浸潤을 동반하는 炎症反應과 膽管周圍 및 門脈間隔의 結締組織 增加, 그리고 肝細胞의 焦點性 壞死, 脂肪變性, 中心靜脈 및 類洞構造의 擴張, 星細胞의 增殖 등이 알려져 있는데 이런 所見들은 오래전부터 많은 學者들에 의하여 밝혀져 왔으며, 近來에도 Kang (1960), Kim (1969), Lee (1967)등은 家兎에서, Yoshimura(1965), Kim(1966)등은 흰쥐에서, Hou(1965 a & b)는 고양이와 개에서 이러한 所見을 다시 確認하였으며, 또 사람에서의 所見은 Hahn(1961), Kim et al. (1968), Chung(1975)에 의하여 報告된 바 있다.

從來에는 肝吸蟲 感染時의 이러한 病變으로 말미암아 肝硬變症이 招來된다고 믿어 왔으나 Gibson & Sun (1971)등은 오히려 Hou(1956, 1964, 1965 a & b)의 주장을 根據로 하여 原發性 肝癌과의 相關關係를 強調하였으며, Kim et al. (1968), Kim et al.(1974), Chung (1975), Chung & Lee (1976)등은 肝吸蟲症이 韓國人의 肝癌에 先行要因이 될 수도 있다고 하였다.

肝吸蟲을 마우스 腹腔內에 注入한 本實驗에서의 肝의 病變을 보면, 膽管을 除外한 肝組織의 變化는 Rhee & Seo (1968), Yoshimura(1972), Yoshimura et al. (1972) 등이 肝吸蟲을 마우스에 經口感染 시켰을때 觀察한 肝組織의 變化와 거의 一致하는 것이었다.

다만 이들은 肝吸蟲이 侵入한 膽管에서 上皮細胞의 腺腫性 增殖, 膽管의 囊狀 擴張 및 肥厚, 膽管周圍, 結締組織 增殖, 細胞浸潤 등이 나타나는 것을 觀察하였으나 本實驗에서는 이와같은 膽管의 變化를 볼 수 없었던 差異가 있을 뿐이다. 이러한 膽管內 肝吸蟲 感染時 膽管에 나타나는 典型的인 病變을 볼 수 없었다는 사실은 肝吸蟲症에서 膽管의 變化過程을 詳述한 Hou (1965a)의 報告, 즉 膽管의 變化를 가져오는 一次的 刺戟이 膽管內 肝吸蟲이 生存과 그 運動이라는 意見을 간접적으로 證명한 것이라 하겠다. 바꾸어 말하면 膽管內에 肝吸蟲이 侵入하지 않아 機械的 刺戟이 없었던 本實驗에서 膽管의 腺腫性增殖이나 肥厚가 나타나지 않은 것은 Hou(1965a)의 주장과 잘 부합되는 것이라 하겠다. 그는 肝吸蟲의 機械的 刺戟으로 膽管上皮細胞의 脫落이 오며 이것이 반복되면 腺腫性 增殖 및 結締組織 增殖이 일어난다고 하였는데 化學物質의 刺戟으로 더욱 심해진다고 하였다.

Hou(1955)는 膽管周圍의 組織反應이 門脈周圍에서 보다 현저하다 하였고, Yoshimura(1972)는 膽管周圍의 組織反應이 肝吸蟲의 어떤 抗原刺戟에 대한 免疫反應일 것이라고 報告하였는데 本實驗에서도 膽管周圍의 細胞浸潤은 比較的 현저 하였다. Sun & Gibson(1969)은 肝吸蟲의 代謝產物이 抗原으로서 組織內에 들어가 抗體를 生産할 수 있다고 하였는데 本實驗에서도 腹腔內 蟲體에서 排出한 代謝產物이 吸收되어 膽管周圍이 組織反應을 일으킬 수도 있을 것으로 생각된다. 또 肝吸蟲이나 그 蟲卵이 肝의 表面이나 被膜下에서 發見되지 않은 時期에도 被膜炎이 나타나고 또 肝實質內에서도 肉芽腫이 形成되는 것으로 미루어 腹腔內의 肝吸蟲에서 排出되는 어떤 抗原이나 化學物質이 이러한 細胞組織反應을 야기하지 않을까 생각된다. 그런데 本實驗에서 中心靜脈이나 門脈腔에 炎症이 있는 것으로 보아 腹腔內에서 吸收된 化學物質이 脈管을 通하여 肝에 到達, 肝細胞의 變性 및 門脈系의 病變을 招來하는 것이 아닌가 생각된다. Hou (1955) 및 Gibson & Sun(1971)도 肝吸蟲 感染에서 脈管系의 病變을 記述한 바 있다. 그리고 宿主 肝組織에 刺戟과 病變을 가져오는 化學物質로서 Hou(1965a)는 肝吸蟲 蟲體가 갖고 있는 copper, cholesterol, tyrosinase 및 transaminase를 提示하였으나, 本實驗에서는 어떠한 代謝物質이 病變을 招

來하는지 알 수 없으며 이 問題는 앞으로 더욱 追究해야 할 것으로 생각된다.

本實驗結果에서 腹腔內 注入한 肝吸蟲은 肝表面에 到達하기는 하나 實質組織을 투과하지 못하고 被膜에 싸여 모두 壞死하는 病理組織 所見이나 蟲體 發見部位 등을 綜合하여 볼 때 肝實質을 穿通하고 正常 寄生部位인 膽管內에 侵入하는 능력은 없는 것 같다.

따라서 膽囊나 최등 (1962)의 症例에서와 같은 十二指腸穿孔 등에 의하여 成蟲이 腹腔內에 遊出하여도 이 蟲體들이 膽管에 까지 到達할 수는 없을 것 같다.

結 論

肝吸蟲(*Clonorchis sinensis*) 成蟲을 마우스 腹腔內에 實驗의으로 注入시키고 一定期間後 回收되는 蟲體의 回收率, 生存率, 發見部位, 크기, 生殖器官의 變化 등을 觀察하였고 아울러 마우스 肝組織의 病理組織學的 檢査를 實施하여 다음과 같은 成績을 얻었다.

1. 蟲體 回收率 및 生存率은 時間이 經過함에 따라 減少되었는데 특히 注入 第28日 이후에 더욱 현저히 減少하였다.

2. 回收된 蟲體中 90.1%가 腹腔에서 나타났고, 나머지 (9.9%) 胃, 肝, 脾, 腸, 橫隔膜 등 腹腔內 臟器 表面에서 被膜에 싸여 發見되었다. 그러나 이들 臟器의 實質組織內에서 發見된 蟲體는 없었다.

3. 回收의 蟲體의 平均 體長과 體幅은 注入前의 平均 體長과 幅보다 작았다. 특히 注入 第10日 후 부터 몇몇 蟲體의 後部가 萎縮되는 것을 觀察할 수 있었다.

4. 回收된 蟲體의 受精囊, 精巢, 卵黃腺, 卵巢 등 生殖器官은 특히 第10日 부터 현저한 萎縮變化를 보았다.

5. 肝組織의 病理組織學的 所見으로는 肝細胞의 水症性 變性, 脂肪變性, 非定型 核의 出現이 있었으며 肝小葉에서도 焦點性 壞死, 肉芽腫 形成, 星細胞 增殖, 中心靜脈 및 類洞構造의 擴張, 靜脈炎 등이 觀察되었다.

門脈系에서는 門脈腔의 擴張, 膽管의 輕度擴張, 膽管上皮細胞의 不定型性 등과 아울러 細胞浸潤을 볼 수 있었는데 膽管의 腺腫性 增殖이나 肥厚, 結締組織 增殖은 觀察되지 않았다.

6. 腹腔內 臟器, 특히 肝表面에서 被膜에 싸여 發見된 蟲體는 壞死되어 있었고, 蟲卵을 中心으로 肉芽腫이 形成된 것도 觀察되었다. 一般的으로 肝被膜에는 被膜炎이 현저하였다.

REFERENCES

- Chan, P.H., and Teoh, T.B. (1967). The pathology of *Clonorchis sinensis* infestation of the pancreas. J. Path. Bact., 93:185-189.
- 최영수, 이영린, 손종하 (1962). 간디스토마충이 발견된 황계막하농양의 1례 보고. 군진의학, 9(2):66-67.
- Chung, C.S., and Lee, S.K. (1976). An epidemiological study of primary liver carcinoma in Busan area with special reference to clonorchiasis. Korean J. Path., 10(1):33-46.
- Chung, K.N. (1975). Pathological studies on primary liver carcinoma observed in Busan area with a special reference to *Clonorchis sinensis* infection. J. Busan Med. Coll., 15(1):217-227.
- Faust, E.C., and Khaw, O.K. (1927). Studies on *Clonorchis sinensis* (Cobbold). Am. J. Hyg., Monogr. Ser., 8:1-207.
- Gibson, J.B., and Sun, T. (1971). Clonorchiasis. In pathology of protozoal and helminthic disease. (Marcial-Rojas ed.), pp. 546-566, Williams and Wilkins Co., Baltimore.
- Hahn, S.S. (1961). Clinical studies of cirrhosis of the liver in Korea. Korean J. Int. Med., 4(6):417-444.
- Hoeppli, R. (1933). Histological changes in the liver of sixty-six Chinese infected with *Clonorchis sinensis*. Chinese Med. J., 47:1125-1141.
- Hou, P.C. (1955). The pathology of *Clonorchis sinensis* infestation of the liver. J. Path. Bact., 70:53-64.
- Hou, P.C. (1956). The relationship between primary carcinoma of the liver and infestation with *Clonorchis sinensis*. J. Path. Bact., 72:239-246.
- Hou, P.C. (1964). Primary carcinoma of bile duct of the liver of cat infested with *Clonorchis sinensis*. J. Path. Bact., 87:239-244.
- Hou, P.C. (1965a). Pathological changes in the intrahepatic bile ducts of cats (*Felis catus*) infested with *Clonorchis sinensis*. J. Path. Bact., 89:357-364.
- Hou, P.C. (1965b). Hepatic clonorchiasis and carcinoma of the bile duct in a dog. J. Path. Bact., 89:365-367.
- Hsü, H.F. (1938). Trans. Xth Congr. F.E.A.T.M. Hanoi, 637-641. (Cited from Komiya, Advances in Parasitology, Ben Dawes ed., Vol., 4, pp. 53-106, 1966, Academic Press, London and New York.)
- Isseroff, H., and Girard, P.R. (1976). Bile duct enlargement induced by *Fasciola hepatica* transplanted intraperitoneally into rats. Program and Abstracts of 51th annual meeting, Am. Soc. Parasit. pp. 53.
- Iwata, S. (1937). Jikken Shokakibyo Gakkai Zasshi, 12(1): 1872-1886. (2): 1887-1898. (Cited from Komiya, Advances in Parasitology, Ben Dawes ed., Vol., 4, pp. 53-106, 1966, Academic Press, London and New York.)
- Kang, T.W. (1960). Studies on the histopathological changes of the liver and other organs in rabbits infected with *Clonorchis sinensis*. Seoul Univ. J., 14:49-79.
- Katsurada, F. (1922). Tokyoigakkai Zasshi, 12(14): 621-632. (Cited from Komiya, Advances in Parasitology, Ben Dawes ed., Vol., 4, pp. 53-106, 1966, Academic Press, London and New York.)
- Kim, D.H. (1966). An experimental study on relationships between clonorchiasis and various hepatotoxic substances in rat. Korean J. Int. Med., 9(1): 33-48.
- Kim, J.H. (1969). A study on the influence of *Clonorchis sinensis* infection on the experimental production of ascites. Korean J. Int. Med., 12(12): 897-910.
- Kim, Y.I., Song, W.Y., Lee, H.P., Lee, Y.H., and Kim, Y.U. (1968). Primary carcinoma of liver induced by *Clonorchis sinensis*. J. Korean Surg. Soc., 10(4):273-281.
- Kim, Y.I., Yang, D.H., and Chang, K.R. (1974). Relationship between *Clonorchis sinensis* infection and cholangiocarcinoma of the liver in Korea. Seoul J. Med., 15(3):247-253.
- Kobayashi, H. (1912). A final report on the study of *Clonorchis*. Saikingaku Zasshi, 202:1-66.
- Komiya, Y. (1966). *Clonorchis* and Clonorchiasis. Advanced in Parasitology, Ben Dawes ed., Vol., 4, pp. 53-106, Academic Press, London and New York.
- Komiya, Y., and Kawana-Tajimi, T. (1953). The development of the excretory system of *Clonorchis sinensis* in its definitive host. Jap. J. Med. Sci. Biol., 6(6):571-575.

- Lee, C.S.(1967). Experimental studies on the effects of some preparations administered to final hosts infected with trematoda. I. The effects of some preparations on the parasitological and pathological findings in the rabbits infected with *Clonorchis sinensis*. Theses Catholic Med. Coll., 12:103-129.
- Mukoyama, T.(1921). Experimental studies on the route of migration by *Clonorchis sinensis* in the final host. J. Jap. Path. Soc., 11:443-446.
- Rhee, C.H., and Seo, B.S.(1968). The host-parasite relations of *Clonorchis sinensis* in mouse—Studies on the development of *C. sinensis* in mouse. Korean J. Parasit., 6(3):101-109.
- Seo, B.S. (1959). The in vitro excystation of metacercaria of *Clonorchis sinensis*. New Med. J., 2(12): 1389-1397.
- Seo, B.S. Hahn, S.S., and Lee, C.K. (1957). Studies the metacercaria of *Clonorchis sinensis*. Seoul Univ. Coll. Theseon, 6:201-209.
- Sun, T., Chon, S., and Gibson, J.B. (1968). Route of entry of *Clonorchis sinensis* to the mammalian liver. Exp. Parasit., 22:346-351.
- Sun, T., and Gibson, J.B. (1969). Antigens of *Clonorchis sinensis* in experimental and human infections. Am. J. Trop. Med. Hyg., 18(2): 241-252.
- Yamagata, S., and Yaegashi, A.(1964). A clinical problems of *Clonorchis sinensis*. In Progress of Medical Parasitology in Japan., Vol. 1, pp.661-721, Meguro Parasitological Museum, Tokyo.
- Yoshimura, H.(1965). Physiological study of *Clonorchis sinensis*. II. Histochemical aspect of the development of the liver fluke in the experimentally infected rats. Jap. J. Parasit., 14(5):445-451.
- Yoshimura, H. (1972). Biological and pathological studies on *Clonorchis sinensis* with special reference to host-relationship. Jap. J. Parasit., 21 (Suppl.): 18-19.
- Yoshimura, H., Ohmori, Y., and Ishigooka, S. (1972). Biological and pathological studies on *Clonorchis sinensis*. I. Development and the fate of the worm in the mouse. Jap. J. Parasit., 21(3):127-134.
- Wykoff, D.E. (1958). Studies on *Clonorchis sinensis*. III. The host-parasite relations in the rabbit and observations on the relative susceptibility of certain laboratory host. J. Parasit., 44:461-466.
- Wykoff, D.E., and Lepes, T.J. (1957). Studies on *Clonorchis sinensis*. I. Observation on the route of migration in the definitive host. Am. J. Trop. Med. Hyg., 6:1061-1065.

==Abstract==

**An Experimental Study on the Mouse Intraperitoneal
Inoculation of the Adult Worm of *Clonorchis sinensis***

Chul Yong Song, Soon Hyung Lee

Department of Parasitology, College of Medicine, Chung-Ang University

Je Geun Chi

Department of Pathology, College of Medicine, Seoul National University

The present experimental study was undertaken to observe the chronological changes of the worm structure of *Clonorchis sinensis* and the pathological findings of the liver when this fluke was inoculated to the mouse intraperitoneally.

The recovery rate, survival rate, location and size of the inoculated worms as well as the pathological changes of the liver were investigated for the comparison among the groups of mice, classified by number of worms and the duration of experiment.

The results obtained were summarized as follows.

1. The recovery and survival rates of the worms decreased especially 28 days after the inoculation.

2. Most of worms (90.1%) were collected from the peritoneal cavity and some of worms were found tightly adherent to the capsules of the liver, spleen, stomach, intestine and diaphragm. There were no worms recovered penetrated in the parenchymes of these organs.

3. The mean worm size after inoculation was smaller than that before inoculation. At the 10th day after the inoculation, the shrinkage of posterior portion of the worm body was observed.

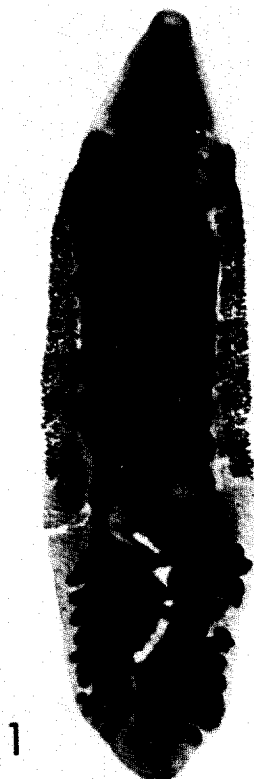
4. Remarkable atrophy in the reproductive organs of the worm, such as spermatheca, testes, vitelline glands and ovary was frequently observed at the 10th day of inoculation.

5. Histopathologically the liver failed to show any parasitic worm inside the intrahepatic biliary system. However, multiple well formed egg-containing granulomas were present along the liver capsule. These necrotic granulomas were occasionally found under the fibrotic liver capsule. Focal necrosis and focal phlebitis together with vascular dilatation were prominent features seen in the liver. The bile duct in the liver showed mild dilation of the lumen, flattening of epithelial cells and periductal small round cell infiltration. Neither adenomatous hyperplasia nor portal fibrosis was seen in the whole experimental groups. Foci of intralobular micro-granulomas were found in some experimental animals.

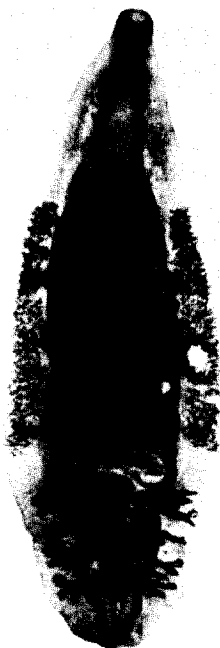
6. The worms recovered in the capsule of the liver were degenerated and necrotized. Usually, there were remarkable capsulitis and granuloma formation around the eggs.

LEGENDS FOR FIGURES

- Fig. 1.** A normal worm (*Clonorchis sinensis*) of control group.
- Fig. 2.** A recovered worm from the abdominal cavity of the mouse, 4 days after the intraperitoneal inoculation. The spermatheca began to atrophy.
- Fig. 3.** This worm was obtained from the abdominal cavity 10 days after the inoculation. Note the shortened posterior portion of the worm.
- Fig. 4.** Atrophy of the spermatheca, testes, ovary, vitellaria and scantiness of eggs in the uterus were observed in the worm, 28 days after the inoculation.
- Fig. 5.** Remarkable atrophy of reproductive organs was visible in this worm, 28 days after the inoculation.
- Fig. 6.** Elongated or shortened worm bodies were obtained 56 days after the inoculation. Note the atrophied reproductive organs.
- Fig. 7.** Photomicrograph of a necrotic granuloma (presumed to be a dead worm) excavating the liver capsule. H&E $\times 40$
- Fig. 8.** Numerous *Clonorchis* eggs are surrounded by epithelioid granulomas. Langhans giant cell is seen. These granulomas are located just beneath the liver capsule. H&E $\times 100$
- Fig. 9.** The liver capsule showing a mild small round cell infiltration (capsulitis) along the surface. H&E $\times 100$
- Fig. 10.** Many dilated venous channels are seen. H&E $\times 40$
- Fig. 11.** Hepatic lobule showing irregularity of nuclear size. H&E $\times 400$
- Fig. 12.** Dilated venous channel is seen in the center, the wall of which is infiltrated with various inflammatory cells. The endothelial cells are also involved in the process. H&E $\times 100$
- Fig. 13.** Focal necrosis and cell collections including histiocytes are seen around a vein (A). Sometimes these cell collections protrude into the vascular lumen (B). H&E $\times 100$ (A) $\times 400$ (B)
- Fig. 14.** Perivascular cell infiltration consists mainly of lymphocytes and histiocytes. H&E $\times 100$ (A) $\times 400$ (B).
- Fig. 15.** An area of focal necrosis in a lobule, showing small round cell infiltration along with liver cell degeneration. Histiocytes are lacking in this area. H&E $\times 100$
- Fig. 16.** Infarction of the liver is seen in the right lower portion.
- Fig. 17.** An intralobular granuloma with definite epithelioid cell component (A) and its magnification (B). H&E $\times 100$ (A), $\times 400$ (B)
- Fig. 18.** An intrahepatic bile duct exhibiting a mild luminal dilatation with eosinophilic secretion, epithelial flattening and a moderate periductal inflammatory cell infiltration. H&E $\times 100$ (A) $\times 400$ (B)



1



2



3



4



5



6



