

Cobalt⁶⁰ 照射蛔虫卵의 마우스 感染實驗

李 玉 蘭 · 尹 百 鉉 · 崔 源 永

가톨릭大學 醫學部 寄生蟲學敎室

우리나라에서 寄生蟲感染率은 일반적으로 農村이 都市보다 높다 따라서 이제까지의 糞尿處理對策은 모두가 農村에 集中되고 있었다. 그러나 莫大한 人口를 수용하고 있는 都市에서 放出되는 糞量을 고려 할때에 寄生蟲豫防對策上 都市에서 나오는 人糞을 再考하지 않을수 없다고 본다.

최근 우리 나라에서도 각종 同位元素가 비교적 廉價로 大量 생산되므로서 學術연구상 各方面에 利用되게 되었다. 특히 寄生蟲學分野에 있어서도 寄生蟲卵殺滅目的으로 Cobalt⁶⁰ 照射가 큰 利用價値를 갖었으리라는 점에 注目을 끌고 있다.

朱들(1970)은 Cobalt⁶⁰ 을 蛔虫卵에 照射하고 이것을 培養하면서 終時的으로 虫卵의 發育狀態를 관찰하여 Cobalt⁶⁰ 照射의 虫卵殺滅效果를 意義가 있다고 보고한 바 있다.

著者들은 이點에 着眼하여 Cobalt⁶⁰ 을 照射한 虫卵이 生體內에서 어떤 發育樣相을 취하는가를 보기 위하여 蛔虫卵을 一定期間 培養한후 Cobalt⁶⁰ 을 照射하고 마우스에 투여 하여 그감염상태에 대하여 검토 하였다.

材料 및 方法

1) 虫 卵

蛔虫卵은 馬場洞 屠殺場에서 屠殺直後の 돼지로 부터 蛔虫卵을 生理食鹽水內에 수집하여 實驗室에 운반하였다. 蛔虫을 生殖孔 前後 2cm 부위를 切開하여 子宮을 꺼낸후 0.4% NaOH 용액에 넣어 tissue grinder 로 갈고 gauze 로 여과한 후 이 液으로 3回 원침세척 하였다. 그후 NaOH 의 제거를 위하여는 水道물로 3回 세척하고 다음의 實驗群으로 各各 나누었다.

Table. 1. Development of Ascaris eggs after irradiation with Cobalt⁶⁰ (in percentage)

Group	Units of irradiation	Weeks after irradiation															
		Developed eggs															
		1				2				3				4			
		O.	T.	F.	M.	O.	T.	F.	M.	O.	T.	F.	M.	O.	T.	F.	M.
		"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"
I	control	62	23	11	4	26	4	8	62	0	4	8	88	2	1	3	94
II	200,000 r.a.d. ※	56	31	13	0	11	25	25	8	5	5	20	70	5	5	4	86
III	300,000 "	78	17	5	0	30	20	35	15	3	5	28	64	3	7	20	70
IV	500,000 "	97	3	0	0	46	32	22	0	10	12	24	54	10	10	23	57
V	1,000,000 "	100	0	0	0	94	2	4	0	71	12	10	7	44	28	21	7

※ r.a.d.; Radiation absorbed dose

O : 1 Cell stage

F : 4 Cell stage

T : 2 Cell stage

M : Morula stage

Table 2. Development of *Ascaris* eggs after irradiation with Cobalt⁶⁰ cultured for 3 days at 29°C before irradiation

Group		Unit of irradiation		Weeks after irradiation															
				1				2				3				4			
				Developed eggs				Developed eggs				Developed eggs				Developed eggs			
		O.	T.	F.	M.	O.	T.	F.	M.	O.	T.	F.	M.	O.	T.	F.	M.		
I	control	20	18	41	21	6	14	8	72	0	4	6	90	0	3	2	95		
II	200,000 r.a.d.	14	35	32	9	8	16	20	56	4	5	12	79	2	4	17	77		
III	300,000 "	18	39	36	7	9	20	24	47	3	3	22	72	0	7	20	73		
IV	500,000 "	38	35	25	2	16	23	56	5	14	14	21	51	15	10	24	51		
V	1,000,000 "	80	20	0	0	64	18	18	0	58	20	13	9	45	29	16	10		

O : 1 Cell stage

F : 4 Cell stage

T : 2 Cell stage

M : Morula stage

ㄱ) 分離直後의 虫卵

ㄴ) 3日培養한 虫卵

ㄷ) 2週培養한 虫卵

ㄹ) 4週培養한 虫卵

5 ml의 生理食鹽水를 넣은 Cap 시험관(1.5×12 cm pyrex 硝子製) 각각에 이들 4群의 虫卵 100,000~150,000個씩을 넣었다.

2) Cobalt⁶⁰照射

原子力研究所의 Cobalt⁶⁰을 사용하였다. 이들 4群의 시험관에 各各 Cobalt⁶⁰ 20萬 r.a.d. 30萬 r.a.d. 50萬 및 100萬 r.a.d.씩을 照射하였으며 許容量을 500 curie, 線源으로 부터의 距離는 8 cm 時間은 2~10時間, 照射當時의 氣溫은 28°C 이었다.

3) 培養

2% Formalin 용액에 蛔虫卵을 넣어 培養하였으며培養은 모두 29°C의 孵卵器를 사용하였다. 2% Formalin 용액은 隔日마다 交換하였으며 蛔虫卵을 마우스에 經口投與할때는 生理食鹽水로 3回세척한후 投與하였다.

4) 觀察方法

ㄱ) 分離直後와 3日培養卵은 照射後 4週까지 繼續培養하면서 1週日 間격으로 發育狀態를 현미鏡下에서 관찰하였으며 卵細胞의 分化를 單細胞期 二細胞期 四細胞期 및 桑實期以上 仔虫包有卵의 4群으로 나누어서 百分比를 算出하였다.

ㄴ) 2週培養卵과 4週培養卵을 Cobalt⁶⁰照射後 다시 培養하여 兩群 모두 배양한지 5週와 8週가 되었을때 12~15 gm의 마우스에 2,000個의 蛔虫卵을 各群에 20萬 r.a.d. 30萬 r.a.d. 50萬 r.a.d. 및 100萬 r.a.d. 照射群別로 6마리씩에 대하여 vinyl tube를 利用하여 經口投與하였다. 投與後 4.5.6日 이되는 날에 各群마다 2마리씩의 마우스를 剖檢하여 肝과 肺의 全景을 各各 HCl-pepsin 液으로 37°C에서 4時間 消化시킨 다음에 水道물로 2~3回 洗淨세척한후 沈渣物중에서 幼虫을 觀察하였다.

實驗成績

1) Cobalt⁶⁰을 照射하지 않고 29°C의 孵卵器에서 2% Formalin 液을 隔日로 갈아주면서 培養하였던 第1群은 第1表와 같이 培養 1週後에는 15%만이 四細胞期以上으로 發育되었으나 培養 4週後까지에는 97%가 發育하였다.

2) Cobalt⁶⁰照射後 培養 1週後의 成績은 對照群은 15%, 20萬 r.a.d. 照射群은 13%, 30萬 r.a.d. 照射群은 5%, 50萬 r.a.d. 以上 照射群에서는 전혀 발육란을 볼수 없었다.

3) Cobalt⁶⁰照射 培養 4週後에는 對照群이 97%, 20萬 r.a.d. 照射群이 90%, 30萬 r.a.d. 群이 90%, 50萬 群이 80%로서 照射는 虫卵發育에 큰영향을 미치지 않았으나 100萬 r.a.d. 群에서는 28%만이 發育되어 Cobalt⁶⁰照射의 영향이 크다고 생각되었다.

4) 新鮮虫卵을 照射한것과 3日培養후에 照射하고 다시 4週間 培養시킨후의 蛔虫卵의 발육상태를 비교하면 第1表와 第2表의 百分比에서와 같이 意義있는 差異를 볼 수 없었다.

5) 2週培養後 Cobalt⁶⁰을 照射하고 3週와 6週동안 배양한 蛔虫卵을 投與한 마우스를 剖檢한바 第3表에서와 같이 20萬 r.a.d. 群과 30萬 r.a.d. 群에서는 5週培養群은 少數의 幼虫이 발견되었고 8週培養群은 이보다도 少數의 幼虫을 볼 수 있었다. 한편 50萬 r.a.d. 群과 100萬 r.a.d. 群은 5週培養 및 8週培養群에서는 모두 幼虫이 발견되지 않았다.

6) 4週배양 후 Cobalt⁶⁰을 照射하고 各各 1週 및 4週培養한것은 第4表에서와 같이 20萬 r.a.d. 群과 30萬 r.a.d. 群은 5週培養群이 8週培養群보다 훨씬 多數의 幼虫이 발견 되었으나 50萬 r.a.d. 群과 100萬 r.a.d. 群에서는 모두 幼虫이 발견되지 않았다.

7) 5週培養群에서 照射前 2週培養群과 4週培養群을 비교하면 後者에서 幼虫이 많이 발견되었다.

8) 對照群에서는 第5表에서와 같이 5週培養群이나 8週培養群이 나마우스에 經口投與한후 體內의 幼虫의 발견율은 差異가 없었으나 投與 4日後에는 肺보다 肝에서 거의 비슷하게, 그리고 6日後에는 오히려 肺에서 肝보다 多數의 幼虫이 발견 되었다.

考 察

寄生虫殺卵實驗으로는 저항력이 강하고 알기 쉬운 蛔虫卵이 흔히 이용되며 本實驗에서도 蛔虫卵을 사용하였다. 動物에 대한 感染實驗으로는 豊田(1932)는 人工孵化法으로 얻은 多數의 犬蛔虫卵을 마우스에 經口感染시킨바 48시간후에는 幼虫이 肝臟과 肺臟에 移行한

것을 보았다고 하며 Oshima(1961)도 蛔虫의 마우스 感染實驗에서 投與後 44~48時間안에 肝과 肺에서 98%의 幼虫을 발견하였다고 한다. 한편 吉田(1917)도 마우스에다 蛔虫卵을 투여시킨바 3~5日後에 肝 및 肺에 幼虫이 移行된다고 하였다. 森下(1953)는 마우스에서 蛔虫卵 투여후 肝에서는 2日째에 肺에서는 5~9日 사이에 幼虫이 가장 많이 나타난다고 하였다 또한 林(1963)은 마우스에 犬蛔虫卵을 감염시킨바 5日째까지는 肝과 肺에서 幼虫數가 증가하나 그후 점차 減少된다고 하였다. 이같은 여러사람들의 成績에 依하여 本實驗에서도 經口投與후 4, 5, 6日째에 剖檢하여 肝과 肺에서 幼虫을 檢索하였던바 投與한지 4日後에는

Table 3. The number of larvae in the lung and liver of mice infected with *Ascaris* eggs that were irradiated with Cobalt⁶⁰. The eggs were cultured for 2 weeks at 29°C before irradiation

Unit of irradiation	Days after infection	Mouse No.	※ No. of larvae Liver	of larvae Lung	Mouse No.	※※ No. of larvae Liver	of larvae Lung
200,000 r.a.d.	4	13	7	0	37	1	0
		14	8	0	38	2	0
	5	15	2	0	39	0	0
		16	5	2	40	1	1
	6	17	3	0	41	1	0
		18	4	1	42	0	1
300,000 r.a.d.	4	19	7	0	43	0	0
		20	5	0	44	0	0
	5	21	2	2	45	0	1
		22	1	0	46	0	0
	6	23	5	2	47	2	0
		24	5	0	48	0	1
500,000 r.a.d.	4	25	0	0	49	0	0
		26	0	0	50	0	0
	5	27	0	0	51	0	0
		27	0	0	52	0	0
	6	29	0	0	53	0	0
		30	0	0	54	0	0
1,000,000 r.a.d.	4	31	0	0	55	0	0
		32	0	0	56	0	0
	5	34	0	0	57	0	0
		34	0	0	58	0	0
	6	35	0	0	59	0	0
		36	0	0	60	0	0

※ : Incubation for 5 weeks, 3 weeks after irradiation.

※※ : Incubation for 8 weeks, 6 weeks after irradiation.

肺보다 肝에서 그리고 5日後에는 肺와 肝이 비슷하게 또한 6日後에는 肝보다 肺에서 幼虫이 많이 발견되었다. 殺卵目的으로의 Cobalt⁶⁰ 照射의 利用은 일찌기 Villella 등(1958)이 250,000 r.p.c. 의 Cobalt⁶⁰ 照射로 實驗動物의 肝臟內 蛔虫幼虫의 發育이 抑制된다고 하였고 齊藤(1957)는 蛔虫卵의 各發育時期에 따르는 Cobalt⁶⁰ 照射의 感受性の 差異를 검토한바 卵細胞의 分化에 따라서 γ 線에 대한 感受性이 높아지고 細胞分裂의 最盛期라고 생각되는 早期桑實期에 최고에 달한다고 하였다. 門多(1957)도 역시 早期桑實期에 최대의 感受性이 나타난다는 點에 대해서 意見이 一致하였다. 本實驗에서는 新鮮蛔虫卵과 照射前 一定期間 培養후 照射한 虫

卵에서 仔虫包有卵만을 對象으로 經口投與 시켰기 때문에 이들成績과 直接比較는 할수 없으나 新鮮한 蛔虫卵을 照射한 群과 3日배양후 照射한 群을 約 1個月 培養시킨후 관찰한바 發育虫卵의 百分比에 差異를 볼수 없었던것으로서 虫卵의 細胞分化 初期에는 Cobalt⁶⁰ 照射에 대한 感受性에 變化가 없다고 생각된다. 한편 照射線量의 증가에 따르는 虫卵發育의 억제를 朱들(1970)의 成績과 비교하면 新鮮卵을 20萬 r.a.d. 照射한 群에서 發育卵의 萬分比는 朱들(1970)의 2週배양후와 4週培養후에 各各 60%와 94%였던것에 대하여 本實驗에서는 64%와 90%로서 有意한 差異를 認定할수 없었으나 100萬 r.a.d. 照射群의 4週배양후가

Table 4. The number of larvae in the lung and liver of mice infected with *Ascaris* eggs that were irradiated Cobalt⁶⁰. The eggs were cultured for 4 weeks at 29°C before irradiation

Unit of irradiation	Days after infection	Mouse No.	※ No. of larvae Liver	of larvae Lung	Mouse No.	※※ No. of larvae Liver	of larvae Lung
200,000 r.a.d.	4	61	41	7	85	26	8
		62	48	5	86	11	2
	5	63	21	13	87	4	0
		64	30	18	88	6	0
	6	65	11	24	89	3	13
		66	8	15	90	4	3
300,000 r.a.d.	4	67	32	4	91	3	0
		68	18	2	92	7	2
	5	69	27	5	93	0	1
		70	12	1	94	2	0
	6	71	5	2	95	0	1
		72	2	3	96	2	3
500,000 r.a.d.	4	73	0	0	97	0	0
		74	0	0	98	0	0
	5	75	0	0	99	0	0
		76	0	0	100	0	0
	6	77	0	0	101	0	0
		78	0	0	102	0	0
1,000,000 r.a.d.	4	79	0	0	103	0	0
		80	0	0	104	0	0
	5	81	0	0	105	0	0
		82	0	0	106	0	0
	6	83	0	0	107	0	0
		84	0	0	108	0	0

※ : Incubation for 5 weeks, 1 week after irradiation.

※※ : Incubation for 8 weeks, 4 weeks after irradiation.

前者는 3.5 % 였었는데 本實驗에서는 28 % 로서 若干의 差異가 있었다.

마우스에 대한 感染實驗은 照射前과 照射後를 합하여 5週 및 8週培養群으로 나누고 다시 이들은 照射前培養 2週와 4週群으로 나누어 결국 4群으로 만들었는데 이 모든群에서 40萬 r.a.d. 以上을 照射한 群에서는 마우스 感染이 共通의으로 抑制되었다. 따라서 in vitro 에서 一部 發育卵이 발견된 것도 感染能力은 喪失된것이라고 思料된다. Oshima(1961)에 依하면 室溫에서 24~55日 培養한 蛔虫卵은 感染實驗에서 거의 같은 感染力을 나타내었다고 하였는데 本實驗에서도 照射하지 않은 5週培養卵과 8週培養卵의 마우스에 대한 感染成績은 거의 같으므로 이成績과 一致하였다. 그러나 Cobalt ⁶⁰ 을 照射한 5週培養卵과 8週培養卵의 마우스 感染은 前者에서 훨씬 多數의 幼虫이 발견되었다. 한편 같은 5週培養群에서도 照射前 4週培養卵이 2週培養卵보다 多數의 幼虫이 발견되었는바 이것은 같은 仔虫包有卵이라 하더라도 照射前 2週培養群이 4週培養群보다 Cobalt ⁶⁰ 에 대한 感受性이 높기때문이라고 推測된다. 前述한바와 같이 50萬 r.a.d. 와 100萬 r.a.d. 를 照射한후에 얻은 仔虫包有卵은 마우스에 대하여 感染力이 없었는데 마우스에 投與할때에도 20萬 r.a.d. 와 30萬 r.a.d. 群의 仔虫包有卵의 大部分이 室溫에서 운동성이 있었는데 反하여 50萬 r.a.d. 群에서는 약 40 %, 100萬 r.a.d. 群에서는 약 15 % 만이 운동성이 있었다

結 論

Cobalt ⁶⁰ 의 寄生虫卵照射가 마우스感染에 미치는 影響을 검토하고자 蛔虫卵을 使用하여 新鮮虫卵과 3日培養虫卵 2週培養虫卵 및 4週培養虫卵에다 照射시켜 新鮮虫卵과 3日培養虫卵을 試驗管에서 계속 배양하고 2週 및 4週培養후 照射한 虫卵은 마우스에게 經口投與 一定期間후에 剖檢하여 蛔虫卵의 마우스 感染을 관찰하였다.

1) Cobalt ⁶⁰ 照射線量の 증가에 따라서 虫卵의 發育은 抑制되었으나 新鮮虫卵과 3日培養후에 照射한 蛔虫卵사이의 虫卵의 發育差異는 인정할수 없었다.

2) 照射하고 4週後의 시험관에서는 20萬 r.a.d 群은 90 %, 100萬 r.a.d. 群은 28 % 만이 발육하여 後者에서 현저하게 虫卵發育이 抑制되었다.

3) 照射群에서는 照射前에 2週培養群이 4週培養群보다 마우스感染이 抑制되었다.

4) 照射群에서 총배양 8週群이 총배양 5週群보다 마우스感染이 抑制되었다.

5) 對照群에서는 5週배양후에 虫卵을 投與하거나 8週배양후에 投與하거나 마우스感染에는 差異를 인정할수 없었다.

6) 本實驗에서 마우스感染을 막을수 있는 Cobalt ⁶⁰, 照射線量은 50萬 r.a.d. 以上이라고 推測되었다.

文 獻

Oshima Tomoo (1961). Standardization of techniques for infectivity mice with *Toxocara canis* and observations on the normal migration routes of the larvae J. Parasit. 47 : 652-656.

Villella, J.B., Gould, S.E. and Gombery, H.J.(1958). cited from textbook of parasitology, Belding, D. L., 3rd. Ed. P.468 Appleton-Century-Crafts, Inc. New York, U.S.A.

林漢鍾(1963). "마우스"組織內 犬蛔虫 및 豚蛔虫 仔虫의 分布에對하여 寄生蟲學잡지 1 : 37-45.

朱一·金柄七·李根培(1967). Cobalt ⁶⁰ 照射가 蛔虫卵에 미치는 影響. 가톨릭大學 醫學部 論文集 13 : 473~477.

朱一·李煜鉉·禹昌奎·李根培(1970). Cobalt ⁶⁰ 照射가 糞便內 蛔虫卵의 發育에 미치는 影響. 寄生蟲學잡지 8 : 1-4.

Table 5. The number of larvae in the lung and liver of mice infected with *Ascaris eggs*

Days after infection	Mouse No.	※ No. of larvae Liver	of larvae Lung	Mouse No.	※※ No. of larvae Liver	of larvae Lung
4	1	38	16	7	16	7
	2	42	13	8	23	17
5	3	26	25	9	28	25
	4	23	25	10	25	41
6	5	16	59	11	16	89
	6	14	41	12	14	27

※ : Cultured for 5 weeks before infection.

※※ : Cltured for 8 weeks before infection.

吉田貞雄(1917)・森下薫著 蛔虫 及 蛔虫症에서 引用
P. 112.
森下薫(1953). 蛔虫 及 蛔虫症 113—114 永井書店日
本.
門多魁(1958). 放射線의 蛔虫生態에 미치는 영향에 관

한 研究 (5) Cobalt ⁶⁰의 蛔虫卵 感染能에 미치
는 영향에 대하여, 日本寄生虫誌 7: 69—73.
齊藤照三(1957). 放射性物質 Cobalt ⁶⁰照射에 의한 蛔
虫卵殺滅에 관한 研究. 發育時期에 따른 感受性
差異, 日本寄生虫誌 6: 175-181.

=Abstract=

The experiments on the infectivity to mice of the *Ascaris* eggs irradiated with Cobalt ⁶⁰

Ok Ran Lee, Baek Hyun Yun and Won Young Choi

Department of Parasitology, Catholic Medical College, Seoul

In order to find out a valuable control measure for soil-transmitted parasites, the infectivity in mice of *Ascaris* eggs irradiated with Cobalt ⁶⁰ were examined.

The results were summarised as follows.

- 1) In vitro, *Ascaris* eggs irradiated with larger doses of Cobalt ⁶⁰ developed poorly, and no difference was found between fresh eggs and those cultured for a few days.
- 2) *Ascaris* eggs irradiated with doses of 200,000 rad. developed at the rate of 90 % after 4 weeks, whereas those irradiated with 1,000,000 rad. developed 28%.
- 3) *Ascaris* eggs irradiated with Cobalt ⁶⁰ after 2 weeks of culture were poor in development compared with those of 4 week culture.
- 4) Eggs cultured for 5 weeks showed weaker infectivity in mice than those cultured for 8 weeks.
- 5) In the control groups, the infectivity in mice of *Ascaris* eggs was remained the same between 5 and 8 weeks.
- 6) The minimum dose of Cobalt ⁶⁰ irradiation effective for preventing infectivity in mice was estimated to be 200,000 rad.