

# 돼지회충(*Ascaris suum*) 유충 감염력이 재감염에 미치는 영향

연세대학교 의과대학 기생충학교실

宋種述 · 金載診 · 閔得映 · 李根泰

## 서론

돼지회충(*Ascaris suum*)과 숙주와의 관계중 면역학적 연구는 최근에 이르러 활발히 진행되고 있다(Bindseil, 1969a, 1969b & 1970; Kelley 및 Nayak, 1964; Soulsby 및 Stromberg, 1977). 그러나 그 결과들은 기생충의 체강액 항원이나 초감염에 의하여 어느 정도 숙주 면역이 유발되는지의 여부와 특히 어느기관에서 면역반응(방어면역: protective immunity)이 형성되는지에 대해 적지않은 쟁점을 내포하고 있다. Soulsby (1963)는 돼지회충의 성숙란을 감염시킨 토끼의 폐에서 수집한 유충으로부터 추출한 항원으로 기니퓰(guinea pig)에 접종하여 감염을 둔화시킬 수 있다는 것을 제시하였다. 또한 제 2기, 제 3기 돼지회충 유충의 분비물을 기니퓰에 투여함으로써 재감염시 감염능력을 저하시키는데 효과적이라고 Crandall 및 Arian(1965)과 Soulsby(1957)는 보고하였다. 반대로 Martin(1926)과 Sprent 및 Chen(1949)은 마우스에 있어서 회충성충의 추출물이 면역유발에 효과가 없다고 보고하였다. 또한 Schenkel(1972)도 면역된 동물로부터 채취한 혈청을 주사한 마우스에 대한 돼지회충 유충의 감염능력이 크게 저하되지 않는다고 하였으며, Bindseil(1969a, 1969b & 1970)은 면역 유발은 항원의 주사보다는 감염기 충란의 사전투여가 더욱 효과적임을 보여주었다.

한편 마우스, 기니퓰, 토끼와 돼지에 대한 돼지회충 감염실험에서 여러 연구자는 간장이 면역기전의 주도적 역할을 한다고 하였으며(Kerr, 1938; Fallis, 1948; Sprent 및 Chen, 1949; Soulsby, 1961; Taffs, 1968; Johnstone, 1978), 또 다른 연구자들은 장관벽 역시 중요한 역할을 한다고 하였다(Kelley 및 Nayak, 1964; Wagner, 1933; Matoff 및 Tersijski, 1967).

그리고 Bindseil(1969a)은 돼지회충의 성숙란으로 면역시킨 마우스의 폐장에서 유충의 수가 현저하게 감소한 것을 관찰하였고 방어능력이 간장에 있는 것이 아니라 장관이 돼지회충의 면역현상에 있어 중요한 역할을 하며 그 기전은 유충의 난각으로부터의 부화 저지 작용과 장점막 관통을 방해하기 때문이라 하였다.

Grineva(1973)는 재감염된 마우스에서 유충이 이행

하는 동안 유충의 길이와 폭이 대조군에 비해 짧음을 보고 하였다. 또한 Bindseil(1970)은 면역시킨 마우스의 폐장에서 발견된 500  $\mu\text{m}$  이상의 제 3기 유충의 수가 뚜렷이 적으며, 이 제 3기유충은 폐장에서 성숙한 것이 아니라 간장에서 온 것이라 하였다.

본 실험연구는 돼지회충의 성숙충란을 비호적숙주인 마우스에 경구적으로 감염시켰을 때의 이행양상 및 충체의 발육을 관찰하고 이와같은 초감염을 받았던 마우스에 유충을 재감염시켰을 때의 이행양상 및 발육상태를 비교검토하여 돼지회충감염에 대한 면역현상을 재검토하였다.

## 실험재료 및 방법

### 1. 충란의 채집 및 배양

도살된 돼지의 소장에서 수집된 성숙한 돼지회충 암컷에서 자궁말단부(약 3cm)를 떼어내서 수정된 충란을 채취하였다. 5% 차아염소산소다( $\text{NaOCl}$ ) 150ml에 넣어 30분간 처리하여 단배막을 제거한 후 증류수를 넣고 1000 r.p.m.으로 2분간 원심분리하여 3회 씻어낸 다음 그 침사를 여과지에 발라서 0.5%포르말린액에 담그고 25°C내외의 부란기에 넣어 40일 내지 46일간 배양하여 감염기 충란으로 성숙한 것을 사용하였다. 충란의 감염능력을 확인하기 위하여 매 실험마다 예비적인 감염실험을 하였다.

### 2. 실험동물

체중 약 18g 내외의 4, 5주된 건강한 백색 마우스 수컷을 사용하였다.

### 3. 돼지회충 성숙란의 감염

감염기 충란을 마우스 1마리당 약 1,000개씩을 튜버큐린 주사기를 이용하여 위에 직접 주입하였다. 감염시킨 마우스는 3, 5, 7, 10, 15일 및 20일 후에 도살하여 각 장기별로 유충의 수를 세고 크기를 측정하였으며 재감염실험에 있어서는 약 1,000개씩의 충란을 감염시켜 면역시킨 후 50일후에 동량의 충란을 재감염시켰다. 1차감염과 동일한 방법으로 같은 시기에 도살하여 유충의 수와 크기를 계속하여 1차 감염시와 재감염시의 유충의 수와 크기를 비교하였다. 2차감염시 충란의 감염능력을 알아보기 위하여 상기의 방법으로 감염

시켜 3, 5, 7, 10, 15일 및 20일 후에 각각 5마리의 마우스를 도살하여 대조군으로 사용하였다.

#### 4. 유충의 검출

감염시킨 마우스를 도살하여 각 장기별로 분리하고 이들을 잘게 다져 인공소화액(HCl 10ml, pepsin 5g, NaCl 8.5g, 증류수 990ml)으로 소화시키고 Baermann 씨장치(Baermann, 1917)를 이용하여 유충을 수집하였다. 수집한 유충의 수를 세고 임의로 선택한 유충을 현미경하에서 마이크로미터(micrometer)로 그 크기(길이와 폭)를 측정하였다.

#### 5. 항체생성의 검사

감염동물의 혈청내 항체생성을 확인하기 위하여 패지회충 성충의 체강액으로 항원을 제조하였으며 실험동물의 혈청을 분리하여 한천확산법(gel-diffusion)을 시행하였다.

##### 1) 혈청 채취

각 실험시기에 따라 마우스의 경동맥 및 경정맥을 절단하여 혈액을 채취하고 이로부터 분리한 혈청을 한천확산법(gel-diffusion) 시행시까지  $-30^{\circ}\text{C}$ 에 보관하였다.

##### 2) 항원 제조

패지회충 성충의 체강액을 채취하여 이를  $4^{\circ}\text{C}$ 에서 10,000r.p.m.으로 1시간 원심분리한 후 상층액을  $4^{\circ}\text{C}$ 의 증류수에서 72시간 동안 투석하였다. 이때 항원의 단백질 함유량은 20mg/ml였다.

##### 3) 한천 확산법

0.9% agarose의 중앙에 0.1ml의 증류수에 용해된 3mg의 냉동건조 항원을, 그 주위에는 각 실험 혈청 0.1ml씩을 놓아 72시간동안 반응시킨 후 0.85% 식염수에 48시간 담가 둔 다음 증류수로 씻어 건조시키고 Coomassie brilliant blue R 250 (Merck사 제품)으로 염색하여 관찰하였다.

### 결 과

#### 1. 각 군별 장기별 유충의 분포

각 군별로 감염 3, 5, 7, 10, 15일 및 20일 후 1차 감염군은 10마리씩을, 재감염군 및 재감염 대조군은 각각 5마리씩의 마우스를 도살하여 장기별로 유충의 분포를 관찰한 바, 간장에서는 3일 후에 최고로 많은 수의 유충이 관찰되었고(마우스당 평균 21.6마리, 28.8마리 및 21마리), 그후에는 급격한 감소를 보여 1차 감염군과 대조군은 10일후에 전혀 검출되지 않았으나 재감염 실험군은 10일후에 평균 1.4마리가 검출되었고 15일후에 관찰되지 않았다(Table 1 및 Fig. 1, 2). 또 폐장에서는 재감염군은 3일후부터 유충이 검출됐으나 1차감염군과 대조군에서는 3일후에 검출되지 않았으며 5일후에 출현하여 10일후에 가장 많이 검출되었다(각각 평균 14.2마리, 18.3마리). 그러나 재감염군에서는 7일후 최고치에 달하였다가 10일후에는 급격히

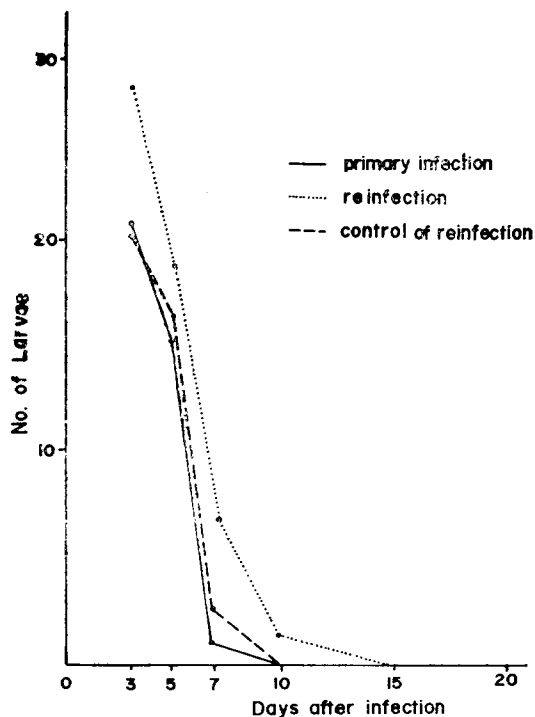
**Table 1.** Distribution of larvae recovered from livers and lungs at various intervals in mice infected with *Ascaris suum* eggs

Days after infection	liver		lung	
	primary infection (range)	reinfec-tion (range)	primary infection (range)	reinfec-tion (range)
3	21.6 (10~36)	28.8 (19~36)	0	0.8 (0~3)
5	15.2 (2~37)	19.4 (9~36)	2.0 (1~13)	0.8 (0~2)
7	1.2 (0~5)	6.6 (4~9)	12.9 (1~29)	6.2 (2~11)
10	0 (0~3)	1.4 (4~47)	14.2 (0~2)	0.6
15	0	0	0	0
20	0	0	0	0

\*10 mice from each group were sacrificed after primary infection.

\*5 mice from each group were sacrificed after reinfection.

감소하여 대조군과 1차감염군과 비슷한 양상을 보인데 반해 7일, 10일후에는 현저한 유충수의 감소를 보이고 있다.



**Fig. 1.** Distribution of larvae detected from lungs in mice infected with *Ascaris suum*.

**Table 2.** Lengths of larvae recovered from livers and lungs of mice following oral infection with 1,000 *Ascaris suum* eggs.

Days after infection	Average lengths( $\mu\text{m}$ ) of larvae recovered from			
	livers		lungs	
	primary infection	reinfection	primary infection	reinfection
3	346.8 $\pm$ 5.00 (32)	346.3 $\pm$ 4.97*	—	395.5 $\pm$ 11.93 (4)
5	730.6 $\pm$ 16.95 (41)	608.6 $\pm$ 18.52**	661.7 $\pm$ 48.93 (13)	309.3 $\pm$ 43.89* (4)
7	852.3 $\pm$ 53.97 (11)	486.3 $\pm$ 27.02**	1205.5 $\pm$ 21.79 (35)	653.2 $\pm$ 27.07** (21)
10	—	527.9 $\pm$ 29.12 (7)	1330.0 $\pm$ 67.61 (28)	1196.3 $\pm$ 78.67* (3)

— Difference between larvae recovered on the same day from primary infection and reinfection

— Numbers in parentheses indicate total number of larvae measured

\*  $p > 0.05$  comparing data from primary infection and reinfection

\*\*  $p < 0.01$

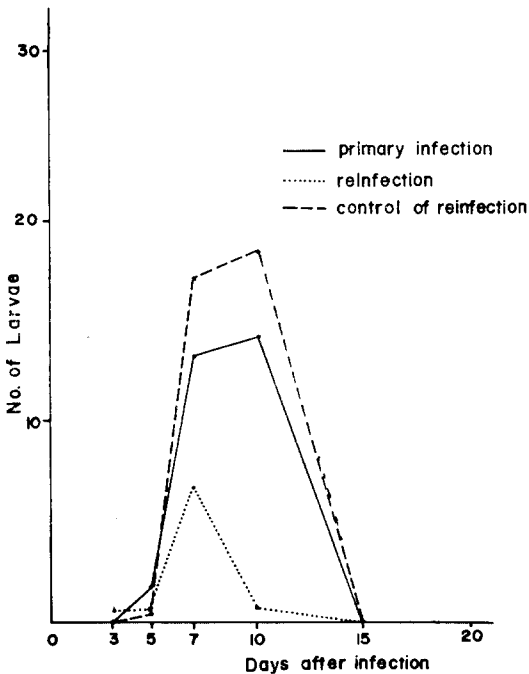
**2. 각 군별 장기별 유충의 크기**

1차감염군과 재감염군은 간장에서 3일후에는 체장어 거의 같았으나( $p > 0.05$ ), 재감염군이 5일후에 평균 608  $\mu\text{m}$ 로 가장 길었고( $p < 0.05$ ), 7일, 10일후에는 별 다른 차이가 없는데 비해 1차감염군은 폐장으로 이행하기 전까지 계속 성숙하여 재감염군과 뚜렷한 차이를 보이고 있다( $p < 0.01$ ) (Table 2, Fig. 3). 또한 유충의 체폭도 3일 후에는 세균이 비슷한 크기이나 재감염

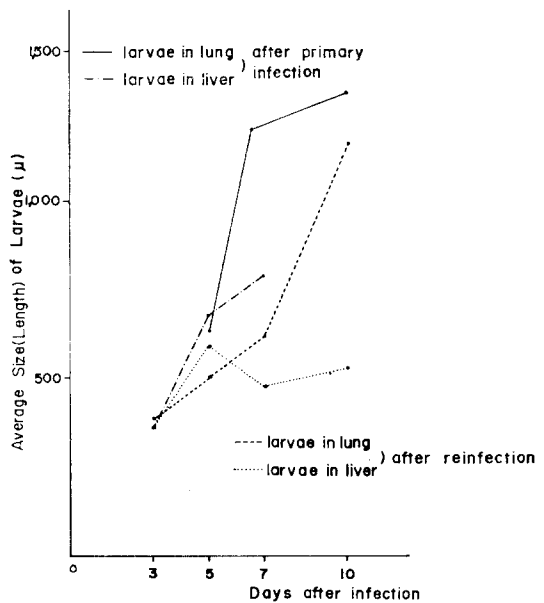
군은 간장에서 7일후에 현저한 감소를 나타내고 있다 (Fig. 4) ( $p < 0.01$ ).

**3. 면역체 산생의 확인**

1차 감염 50일 후에 분리된 혈청에서 면역 한천확산법을 실시한 결과 명확한 침강대가 확인되어 재감염군은 1차 감염에 의해 돼지회충에 대한 면역체가 생성되었음을 알 수 있었다.



**Fig. 2.** Distribution larvae detected from livers in mice infected with *Ascaris suum*.



**Fig. 3.** Average length of *Ascaris suum* larvae recovered from livers and lungs in infected mice.

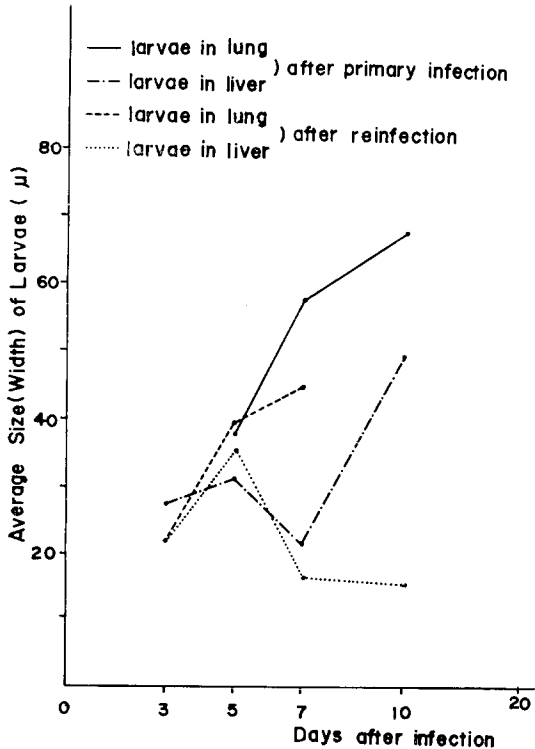


Fig. 4. Average width of *Ascaris suum* larvae recovered from livers and lungs in infected mice.

### 고찰

본 실험에서는 2차감염을 1차감염 50일 후에 시행하였다. 이는 일반적으로 기생충에 대한 항체의 생성이 감염 4~5주 사이임을 감안하였고, 또한 李(1979)의 실험에서 돼지회충에 감염된 마우스의 혈청내의 돼지회충 유충에 대한 형광항체가 50일에서 70일 사이에 가장 높았던 것을 감안하였다. 본 실험에서 돼지회충에 대한 마우스의 항체는 면역확진법에 의해 확인하여 2차감염을 시행하였다.

Jenkins(1968)와 Jeska등(1969)은 토끼, 기니픽과 마우스에서의 유충이행 경로에 따라 감염 4일부터 7일 사이에 간에서 폐로 이행하는 유충의 수가 증가한다고 하였다. 본 실험에서도 감염 후 5일 후까지 간에 나타나는 유충의 수가 여러학자들의 결과와 비슷한 양상을 보였다. 이러한 결과는 재감염 실험군에서도 대조군과 마찬가지로 유충이 장점막을 뚫고 간장으로 이행할 수 있음을 뜻한다. 그러나 그 이후에는 간장에서 폐장으로 이행하는 유충의 수는 재감염군에서 현저히 감소되었으며 이러한 결과는 Bindseil(1969b)과 Soulsby 및 Stromberg(1977)의 결과와 일치하고 있다. 이와같은 결과는 돼지회충 유충이 재감염될 때 마우스의 장관벽에 의한 복강 및 타장기로의 이행이 즉각적으로 저해

되지 않고 있음을 알 수 있으며 감염유충의 성장발육과 이행을 저해하는 요인은 장관외에 있을 것으로 추측된다. 그러나 유충이 장관벽을 뚫고 이행하면서 받은 숙주의 면역학적 저항이 지속적이고 후발성으로 나타나는지는 본 실험결과로는 알 수 없다. Bindseil(1969b)은 면역된 마우스의 유충에 대한 방어기전이 간장에 있는것이 아니라 폐장에 있다고 하였다. 아울러 그는 계속된 실험에서(Bindseil, 1970) 폐장에서 7일 후 갑작스런 제 3기 유충이 출현하는 것은 폐장에서 발육한 유충이 아니라 간장에서 발육한 유충이 이입된 것이라 하였다. 그러나 본 실험에서는 Fig. 3에서와 같이 재감염군은 5일 후에 제 3기 유충이 검출되었으나 7일 및 10일 후에는 유충의 성장현상을 볼 수 없었고 폐장에서는 10일 후까지 계속 발육한 유충이 관찰되었다. 이러한 결과는 폐장에서는 방어기전이 일어나지 않으며 간장에서 폐장으로 이행한 유충은 계속 성장할 수 있음을 추측케한다. Fallis(1948)와 Soulsby(1957)는 재감염 4일 후까지 혈청내에서 새로운 항체생성의 증가가 일어나지 않으며 유충의 성장 또한 거의 억제되지 않는다고 하였으며 이로 인해 이 시기에 유충이 간장에서 두번째 탈피를 하여 제 3기 유충이 된다고 하였다. 이러한 이론은 Fig. 3, 4에서와 같이 재감염군에서 5일 후에 간장에서 제 3기 유충이 출현하는 것과 일치한다. 그러나 감염 7일 이후 폐장에 나타나지 않는 점은 Fallis(1948)와 Soulsby(1957)의 이론과는 부합되지 않는다. 감염 7일 이후에 폐장에 나타나지 않는 것은 감염 후 4, 5일 이후에 간장에서 작용하는 면역기전에 의해 대부분 폐장으로 이행하지 못하고 그대로 간장에 머물며 성장이 억제되어 파괴될 것이라 생각된다. 따라서 10일 후에는 거의 폐장에 출현하지 못하며 대조군에서 검출되지 않는 시기인 10일 후에도 간장에서 검출되는 유충이 이를 뒷받침 한다.

### 결론

돼지회충의 감염기 흥란을 마우스에 재감염시켜 유충의 장기별 시기별 이행양상 및 성장을 관찰한 바 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 재감염군의 유충은 간장에서 감염 10일 후까지 검출되었으나 대조군 및 1차감염군에서는 감염 7일 전에서만 검출되었다.
2. 대조군은 폐장에서 10일 후 유충의 수가 제일 많았으나 재감염 실험군은 7일 후에 가장 많았으며 10일 후에는 극소수만이 검출되었다.
3. 재감염 5일 후 간장에서 제 3기 유충이 검출되었으나 7일 및 10일 후에는 검출되지 않았다.
4. 재감염군의 폐장에서는 감염 5일 이후부터 제 3기 유충이 검출되었다.

이상의 결과로 보아 돼지회충 유충에 면역된 마우스에 있어서 돼지회충 유충이 재감염될 때 장관벽을 통한

이행에는 영향을 받지 않으나 간장으로 이행했을 때에는 간장에서의 면역기전에 의해 유충의 발육이 억제되며 폐장으로의 이행에 영향을 받는 것으로 생각된다.

### 참 고 문 헌

- Baermann, G. (1917) Eine einfache Methode zur Auffindung von Ankylostomum (Nematoden) Larven in Erdproben. Meded Geneesk, Lab. Weltevreden Feestbundel. Batavia, 41-47.
- Bindseil, E. (1969a) Immunity to *Ascaris suum* 1. immunity induced in mice by means of material from adult worms. *Acta Path. Microbiol.*, **77**:218-222.
- Bindseil, E. (1969b) Immunity to *Ascaris suum* 2. investigations of the fate of larvae in immune and nonimmune mice. *Acta Path. Microbiol. Scand.*, **77**:223-234.
- Bindseil, E. (1970) Immunity to *Ascaris suum*. 3. the importance of the gut for immunity in mice. *Acta Path. Microbiol. Scand.*, **78**:183-190.
- Crandall, C.A. and Arean, V.M. (1965) The protective effect of viable and nonviable *Ascaris suum* larvae and egg preparations in mice. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, **14**:765-769.
- Fallis, A.M. (1948) *Ascaris lumbricoides* infection in guinea pigs with special reference to eosinophilia and resistance. *Can. J. Res.*, **26**:307-327.
- Grineva, G.G. (1973) Growth dynamics of *Ascaris suum* larvae migration in animals with primary and repeated infections. *Materialy Nanchnykh Konferentsii Vseoyuzogo Obshchestva Helmintologiv*, **25**:65-68 in *Helminthological Abstract*.
- Jenkins, D.C. (1968) Observations on the early migration of the larvae of *Ascaris suum* Goeze, 1782 in white mice. *Parasitology*, **58**:431-440.
- Jeska, E.L., Williams, J.F. and Cox, D.F. (1969) *Ascaris suum*: larval returns in rabbits, guinea-pigs and mice after low-dose exposure to eggs. *Exp. Parasitol.*, **26**:187-192.
- Johnstone, C., Levental, R. and Soulsby, E.J.L. (1978) The spin method for recovering tissue larvae and its use in evaluating C57BL/6 mice as a model for the study of resistance to infection with *Ascaris suum*. *J. Parasit.*, **64**:1015-1020.
- Kelley, G.W. and Nayak, D.P. (1964) Acquired immunity to migrating larvae of *Ascaris suum* induced in pigs by repeated oral inoculations of infective eggs. *J. Parasit.*, **50**:499-503.
- Kerr, K.B. (1938) The cellular response in acquired resistance in guinea pigs to an infection with pig *Ascaris*. *Am. J. Hyg.*, **27**:28-51.
- Martin, H.M. (1926) Studies on the *Ascaris lumbricoides*. *Res. Bull. Neb. Agric. Exp. Stn.*, **37**:1-78.
- Matoff, K. and Tersijski, A. (1967) Besteht eine Darmphase der erworbenen Immunität gegen *Ascaris suum*. *Z. Tropenmed. Parasit.*, **18**:343-353.
- 이정섭 (1979) 개회충 유충 항원을 이용한 간접 형광 항체 반응에 관한 실험적 연구. 연세대학교 대학원.
- Schenkel, R.H. (1972) Studies on the immune mechanism to *Ascaris suum* in laboratory animals. *Diss. Abs. Int.*, **32B**:6131.
- Soulsby, E.J.L. (1957) Immunization against *Ascaris lumbricoides* in the guinea-pig. *Nature(London)*, **179**:783-784.
- Soulsby, E.J.L. (1961) Some aspects of the mechanism of immunity to helminths. *J. Am. Vet. Med. Ass.*, **138**:355-362.
- Soulsby, E.J.L. (1963) The nature and origin of the functional antigens on helminth infections. *Ann. N.Y. Acad. Scien*, **113**:492-509.
- Soulsby, E.J.L. and Stromberg, B.E. (1977) *Ascaris suum* immunization with soluble antigens in the guinea pig. *Int. J. Parasitol.*, **7**:287-291.
- Sprent, J.F.A. and Chen, H.H. (1949) Immunological studies in mice infected with the larvae of *Ascaris lumbricoides*. 1. Criteria of immunity and immunizing effect of isolated worm tissues. *J. Infect. Dis.*, **84**:111-124.
- Taffs, L.F. (1968) Immunological studies on experimental infection of pigs with *Ascaris suum* Goeze, 1782 VI. The histopathology of the liver and lung. *J. Helminth.*, **42**:157-172.
- Wagner, O. (1933) Immunisierung sversuche bei experimenteller Askaris infektion der Maus. *Z. Immun. Forsch. Exp. Ther.*, **78**:372-382.

**=Abstract=**

**Studies on the Comparative Migration Patterns of *Ascaris suum*  
Larvae between Primary and Re-infected Mice**

Jong-Sool Song, Jae-Jin Kim, Duk-Young Min and Keun-Tae Lee  
*Department of Parasitology, Yonsei University College of Medicine*

In the present study, the effect of primary infection to reinfection with *Ascaris suum* larvae was experimented in mouse model.

Mice were challenged with 1,000 infective stage eggs of *Ascaris suum*. The embryonated eggs were directly introduced into stomach of mice. Reinfection was performed at 50 days after the primary infection with same method as primary infection. Mice were sacrificed 3, 5, 7, 10, 15 and 20 days after infection in both groups respectively. Larvae collected from livers and lungs with Baermann's apparatus were enumerated and measured after sacrifice. Sera of mice were also collected at same time.

The results of the experiment were as follows:

With antigen prepared from coelomic fluid of adult *Ascaris suum* and sera collected from mice before reinfection, the production of antibody in experimental mice was confirmed by the gel-diffusion technique.

In the livers of reinfected mice, the larvae were recovered up to 10 days after challenge, other-while in the primary infected mice, the larvae were observed up to 7 days.

The maximum number of larvae were observed in the lungs of primary infected mice on 10 days after inoculation. In the lungs of reinfected mice, maximum number of larvae were recovered on 7 days after, only few larvae were recovered on 10 days after reinfection.

As regards the growth of the larvae, the third stage larvae, over 500 $\mu$ m in length, appeared in livers at 5 days after reinfection, but it couldn't be found on 7 days and 10 days after challenge.

The third stage larvae continuously developed were observed in lungs of mice from 5 days after reinfection.

In conclusion, it was found that development of larvae in livers of immune mice were probably repressed by the immune mechanisms being rised in livers and defence mechanism is also acting by interfering with the process of larval penetration into the lung from the liver.