

호르텐스극구흡충의 실험실 내 생활사에 대한 연구

서울대학교 의과대학 기생충학교실 및 풍토병연구소, 인제대학교 의과대학 기생충학교실*

이순형 · 황순옥 · 손운목* · 고원규* · 홍성태 · 채종일

요 약 : 실험실 내에서 호르텐스극구흡충(*Echinostoma hortense*)의 생활사를 유지하면서 여러 가지 생물학적 현상을 관찰하였다. 충란은 29~30°C 항온기에서 배양 약 13일에 miracidium으로 발육하였고, miracidium은 평균 93.8×53.6 μm의 크기였으며 체표에 7~11 μm 길이의 섬모가 밀혀 있었다. Miracidium을 배류 *Lymnaea pervia*에 접촉 감염시켰던 바, 접촉 후 14일에 평균 1.19×0.27 mm 크기의 제 1기 redia로, 30일에는 평균 1.40×0.26 mm 크기의 성숙한 제 2기 redia로 발육하였다. Cercaria는 평균 295.5×145.0 μm의 크기였으며, 두관의 발육이 미약하였고 두극이 관찰되지 않았다. 올챙이에 이 cercaria를 접촉시킨 결과, 모든 올챙이가 감염되었으며 피낭유충 회수율도 평균 88.5%로 높았다. 올챙이로부터 회수한 피낭유충은 타원형이었으며 평균 167.7×129.9 μm의 크기였다. Cercaria감염 후 올챙이 체내에 약 12시간 동안 머문 피낭유충은 마우스에 대한 감염력이 5.0%였으나 점차 증가하여 9일간 머문 것은 90.0%로 최대치를 보였고 이후 감소하여 50일 머문 것은 55.0%의 감염력을 보였다. 피낭유충이 마우스 체내에서 성충이 되기까지는 약 11~12일이 소요되었다. 이상과 같이 실험실 내에서 *E. hortense*의 전 생활사를 완료시키는 데에 최소한 55~58일이 소요되었다.

Key words: *Echinostoma hortense*, life history, miracidium, *Lymnaea pervia*, redia, cercaria, metacercaria

서 론

극구흡충과에 속하는 흡충류는 대부분 조류나 포유류의 소장내 기생하며, 전 세계적으로 수백 여종이 보고되어 있다. 그중 인체 감염을 일으키는 것으로는 9속 16종이 있다고 알려져 있다(홍, 1987). 우리나라에는 *Echinostoma revolutum*, *E. gotoi*, *E. miyagawai*, *E. cinetorchis*, *E. hortense*, *Echinoparyphium recurvatum*, *Echinochasmus japonicus* 등 3속 7종의 극구흡충이 분포하는 것으로 보고되어 있으며(Park, 1938; 주 등, 1973; 조 등, 1981; Eom et al., 1984; Lee et al., 1990), 그중 *E. cinetorchis*, *E. hortense* 및 *E. japonicus* 등 3종의 인체 감염이 각각 알려져 있다(Seo et al., 1980, 1983 & 1985; 양 등, 1985 & 1986; 이 등, 1986 & 1988).

호르텐스극구흡충(*Echinostoma hortense*)은 Asada (1926)에 의해 선종으로 기록되었으며 인체감염은 비교적 근래인 1970년대 중반에 와서야 Tani et al. (1974)에 의해 처음으로 밝혀졌다. 그후 praziquantel과 같은 좋은 약제가 개발되어 감염 증세의 확인이 용이하게 됨에 따라 증례가 증가하는 추세에 있으며 지금까지 문헌상 확인된 증례는 우리 나라만 보아도 69례 이상이다(Seo et al., 1983; 양 등, 1985; 이 등, 1986 &

1988; 위 등, 1987). 이와 같이 인체감염례가 증가함에 따라 *E. hortense*에 대한 여러 각도의 관심이 높아지고 있다. 이런 시점에서 이 흡충에 대한 이해를 넓히기 위해서는 기초적 연구 특히 생활사 및 생물학에 대한 연구가 절실히 요망된다고 하겠다.

*E. hortense*의 생활사에 대한 연구는 주로 일본을 비롯하여 만주, 우리 나라 등지에서 시행된 바 있다. 이 흡충의 제 1 중간숙주로는 담수산 배류인 *Lymnaea japonica*, *L. pervia*(Asada, 1939), *L. ollula*(Komiya, 1965) 및 *Radix auricularia coreana*(안 및 양, 1986) 등이 알려져 있고, 제 2 중간숙주로는 *Rana nigromaculata*, *R. rugosa*, *R. catesbiana* 등 개구리류와 그들의 올챙이(Asada, 1926), *Hynobius naevius*, *H. nebulosus* 등과 같은 도롱뇽의 유태기(Mori, 1935), 미꾸리(*Misgurnus anguillicaudatus*) (Chai et al., 1985), 붕어(*Carassius carassius*) (Ono, 1930), 칼납자루(*Acheilognathus* sp.) (Tani, 1976), 버들치(*Moroco oxycephalus*)(양 등, 1985), 연록 동사리(*Odontobutis obscura interrupta*)(안 등, 1985), 미꾸라지(*Misgurnus mizolepis*)(안 및 양, 1986) 및 물개(*Squalidus coreanus*)(이 등, 1988) 등의 담수어가 제 2 중간숙주로 보고되어 있다. 이 흡충의 자연계 종숙주로는 *Rattus norvegicus*, *R. alexandrius*, *Apodemus agrarius* 등의 설치류(Seo et al., 1964 & 1981)와 개(조 등, 1981)

및 죽제미(Yamaguti, 1939) 등이 보고되어 있다.

그러나 이와 같은 *E. hortense*의 생활사에 대한 연구는 대부분 자연상태에서 관찰한 것이기 때문에 내용이 단편적이며 숙주-기생충 상호관계를 이해하기 위해서는 어느 정도 한계가 있다고 생각된다. 따라서 이 연구에서는 우리 나라의 논 및 수로에 흔히 서식하는 *Lymnaea pervia*와 참개구리의 올챙이를 제 1 및 제 2 중간 숙주로 하고, 마우스를 중숙주로 하여 실험실 내에서 생활사를 유지하면서 관련된 몇가지 현상을 관찰하고자 하였다.

연구재료 및 방법

1. 총란의 획득 및 배양

자연 감염된 미꾸리(*Misgurnus anguillicaudatus*)에서 분리한 피낭유충을 Sprague-Dawley계 흰쥐에 경구 감염시킨 후, 감염 3주에 흰쥐로부터 총체를 회수하였다. 회수한 총체를 Tyrode 용액과 함께 petri dish에 넣은 다음 36°C 배양기 내에서 산란을 유도하였다. 산란된 총란들을 모아 증류수로 2~3회 씻은 후 증류수와 함께 petri dish에 담아 28~29°C 항온기에서 배양하였다.

2. Miracidium 및 epidermal plate의 관찰

배양 13일된 총란을 태양광에 노출시켜 탈각 부화시켰고 탈출한 miracidium을 스포이드로 모아 뜨거운 10% 포르말린(65~70°C)으로 고정한 후 계측 및 관찰하였다. 한편, epidermal plate를 관찰하기 위하여 살아 있는 miracidium을 0.5% 질산은(silver nitrate)용액(65~70°C)에 넣은 후 가라앉혔다. 질산은 용액은 버리고 miracidium을 증류수로 수차례 씻은 후 태양광선 하에 3~10분 정도 방치해 두었다가 다시 증류수로 2~3회 씻었다. 이 miracidium을 glycerine 용액에 담구어 clearing 시키고 glycerine-jelly로 봉입하여 광학현미경 하에서 관찰하였다.

3. Miracidium의 패류 감염

탈각 부화한 miracidium을 실험실 내에서 사육한 *Lymnaea pervia*에 접촉, 감염시켰다. 각각의 conical tip tube에 2ml의 분과 1마리의 snail을 넣고, 5마리의 miracidium을 넣은 후 약 2시간 방치하였다가 snail 사육 수조에 옮겨 사육하였다.

4. 패류 내 유충 기생 및 발육상의 관찰

감염 배의 일부를 감염 후 2시간, 1일, 7일, 16일 및 21일에 각각 5마리씩 Bouin 용액에 고정한 후 수세, alcohol 탈수, xylene 투명화, paraffin 침투 및 포매 과정을 거치고 5 μm의 두께로 연속 절단하였다.

Redia 단계의 발육상을 관찰하기 위하여 일부 감염 배를 파쇄법으로 검사하였으며, 나머지는 cercaria가 유출될 때까지 사육하였다.

5. 올챙이에 대한 cercaria의 감염력 관찰

각각의 100 ml 미이커에 실험실에서 부화 및 사육한

올챙이 1마리와 50 ml의 물을 함께 넣은 다음 30마리의 cercaria를 넣고 약 2시간 정도 방치하는 방법으로 올챙이를 감염시켰으며 감염된 올챙이는 다시 수조로 옮겨 사육하였다. 감염시킨 cercaria 수에 대한 회수된 피낭유충 수의 백분율을 cercaria의 올챙이에 대한 감염성의 지표로 하였다.

6. 마우스에 대한 피낭유충의 감염력 관찰

Cercaria를 올챙이에 감염시킨 후 5시간, 6시간, 12시간, 1일, 3일, 5일, 7일, 9일, 11일, 15일, 20일, 30일 및 50일에 피낭유충을 각각 회수하였다. 회수한 피낭유충을 마우스 3~5마리에 마리당 10개씩 감염시켰다. 실험 감염 2주 후에 마우스를 희생시키고 소장으로부터 총체를 회수하였다. 감염시킨 피낭유충의 수에 대한 회수된 총체수의 백분율(회수율)을 피낭유충의 나이(올챙이 체내에서의)에 따른 감염력의 지표로 하였다.

7. 마우스에서의 총란 산출 시기(prepatent period)

총 5마리의 ICR계 마우스에 각각 10개씩의 피낭유충을 gavage needle로 경구 감염시킨 후 formalin-ether 집란법으로 총란 산출을 관찰하였다.

연구성적

1. 총란 발육

총체가 산란한 총란은 난개(operculum)가 뚜렷하였고, 황금색(golden-yellow)의 난각을 가지고 있었으며 평균 120.6×69.2 μm의 크기였다. 난개 가까이에서 직경 20~24 μm인 둥근 모양의 배세포(germ cell)가 관찰되었고, 난개의 반대편(abopercular side)에서는 난황과 난각 사이의 공간(perivitelline space)이 관찰되었다(Fig. 1).

배양 2일에는 총란내 배세포의 경계가 희미해졌으며 perivitelline space도 사라졌다. 배양 4일에는 총란의 가운데 부위에서 42×45 μm 크기의 배(embryo)가 관찰되었다. 배양 6일에는 난황이 많이 줄어들었으며, embryonic mass가 형성되었다(Fig. 2). 배양 8일에는 난황이 거의 없어졌으며, miracidium의 기본 골격이 형성되었다(Fig. 3). 배양 13일에는 이미 발육이 완료된 miracidium이 들어 있었으며(Fig. 4), 이 총란들을 태양 광선에 노출시키자 곧 탈각 부화하기 시작하였다.

2. Miracidium

탈각 부화한 miracidium은 체표면에 있는 섬모를 이용하여 빠른 속도로 수영하였다. 뜨거운 포르말린에 고정된 후 관찰한 miracidium은 7~11 μm의 섬모로 덮혀 있었으며, 체장은 평균 93.8 μm (79.1~107.1 μm), 체폭은 평균 53.6 μm(45.9~63.8 μm)였다. Miracidium의 절단에는 평균 7.7×5.1 μm 크기의 apical papillae가 존재하였고, 전방 1/6지점 우측에서는 안점(eye spot)이 관찰되었다(Fig. 5).

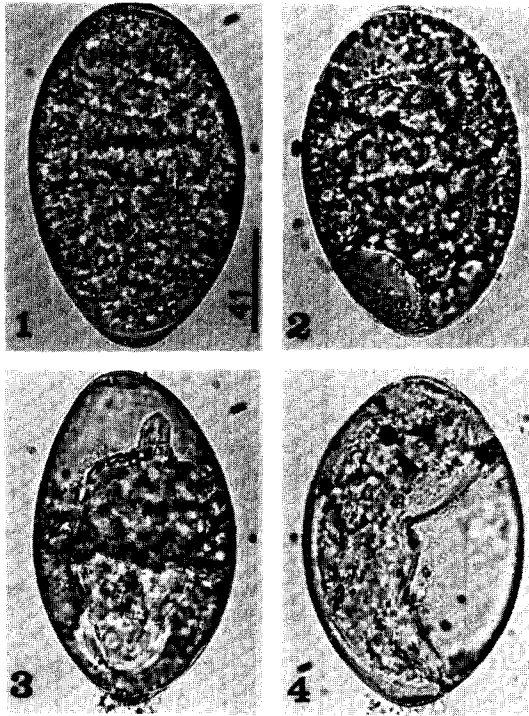


Fig. 1. A newly laid egg of *Echinostoma hortense*.
 Fig. 2. A developing egg after 6 days of incubation.
 Fig. 3. A developing egg after 8 days of incubation.
 Fig. 4. An almost fully-developed egg after 13 days of incubation.

*Bar unit: μm

Epidermal plate는 4개의 열(row)로 이루어졌으며 식(formula)은 6-8-4-2였다. 맨 앞쪽 열은 2개의 배판(dorsal plate)과 2개의 복판(ventral plate) 및 2개의 측판(lateral plate)으로, 둘째 열은 3개의 배판, 3개의 복판 및 2개의 측판으로 이루어져 있었다. 셋째 열은 배판과 복판이 각각 1개씩이고 측판이 2개이었으며, 넷째 열은 2개의 측판으로만 형성되어 있었다(Fig. 6). 첫째 열의 판(plate)은 삼각형 또는 사각형으로 크기 평균 $12.8 \times 15.4 \mu\text{m}$ 이었다. 둘째 열은 직사각형으로

평균 $20.8 \times 12.8 \mu\text{m}$ 이었다. 셋째 열의 판도 길쭉한 모양이며 $33.3 \times 23.0 \mu\text{m}$ 크기였고, 넷째 열은 $25.6 \times 23.0 \mu\text{m}$ 크기였다.

3. 패류 내에서의 유충 기생 및 발육

Miracidium을 *Lymnaea pervia*(Fig. 7)에 접촉하여 감염시킨 후 감염 2시간 된 패류에서는 mantle과 두족(head-foot)에서 유충이 관찰되었다(Fig. 8). 감염 7일 된 패류에서도 대부분 mantle과 두족에서 sporocyst가 관찰되었는데 많이 커져 있었고 germ ball이 관찰되는 것도 있었다(Fig. 9). 감염 16일 된 패류에서는 mantle을 비롯하여 두족, 체강, 소화선 및 그 근처에서 많은 수의 redia가 관찰되었으며, redia 내에는 여러 개(7~9개)의 유충이 들어 있었다(Figs. 10 & 11). 감염 21일 된 패류에서도 mantle을 비롯하여 두족, 체강, 소화관 및 선, 장(intestine) 근처에서 많은 수의 redia가 관찰되었다(Figs. 12 & 13). 패류의 mantle과 두족에서 관찰되는 redia는 체강과 소화관 부근의 것보다 발육이 미진하였다.

4. Redia

Miracidium을 패류에 접촉하여 감염시킨 후 14일에 회수한 redia는 체내에 제 2기(daughter) redia가 들어있는 제 1기 redia로 체장이 평균 1.19 mm , 체폭은 평균 0.27 mm 이었다. 인두는 평균 $0.13 \times 0.11 \text{ mm}$, 맹장은 평균 $0.79 \times 0.12 \text{ mm}$ 의 크기였다. 감염 후 30일에 획득한 redia는 성숙한 제 2기 redia로 체내에는 성숙한 cercaria가 들어 있었다(Figs. 14, 15 & 16). 체장이 평균 1.40 mm , 체폭 평균 0.26 mm , 인두 평균 $0.05 \times 0.05 \text{ mm}$, 맹장은 평균 $0.84 \times 0.07 \text{ mm}$ 크기였다(Table 1).

5. Cercaria

뜨거운 포르말린에 고정된 cercaria는 체장이 평균 $295.5 \mu\text{m}$, 체폭은 평균 $145.0 \mu\text{m}$ 였다. 두관(head crown)의 발육이 미약하였고 두극(collar spine)도 관찰되지 않았다. 구흡반은 충체의 전단에 위치하였고 크기가 평균 $50 \times 52 \mu\text{m}$ 였으며, 충체의 전방 2/3지점에 위치한 복흡반은 평균 $51.5 \times 67.1 \mu\text{m}$ 크기였다. 인두와 복흡반 사이 양측에는 광택성의 배설 과립군이 길게 배열되어 있었다. 꼬리에는 막이나 주름과 같은 구조물이 없었으며, 크기는 평균 $462.8 \times 51.5 \mu\text{m}$ 였다

Table 1. Measurements of *E. hortense* rediae from experimentally infected snails

Days after infection	No. of rediae measured	Length \times width in mm(mean)		
		body	pharynx	caecum
14*	10	0.87~1.94 \times 0.21~0.41 (1.19 \times 0.27)	0.09~0.17 \times 0.07~0.14 (0.13 \times 0.11)	0.54~1.05 \times 0.08~0.26 (0.79 \times 0.12)
30**	10	0.86~1.88 \times 0.18~0.36 (1.40 \times 0.26)	0.050~0.059 \times 0.040~0.054 (0.053 \times 0.047)	0.56~1.04 \times 0.05~0.10 (0.84 \times 0.07)

*The 1st generation rediae

**The 2nd generation rediae

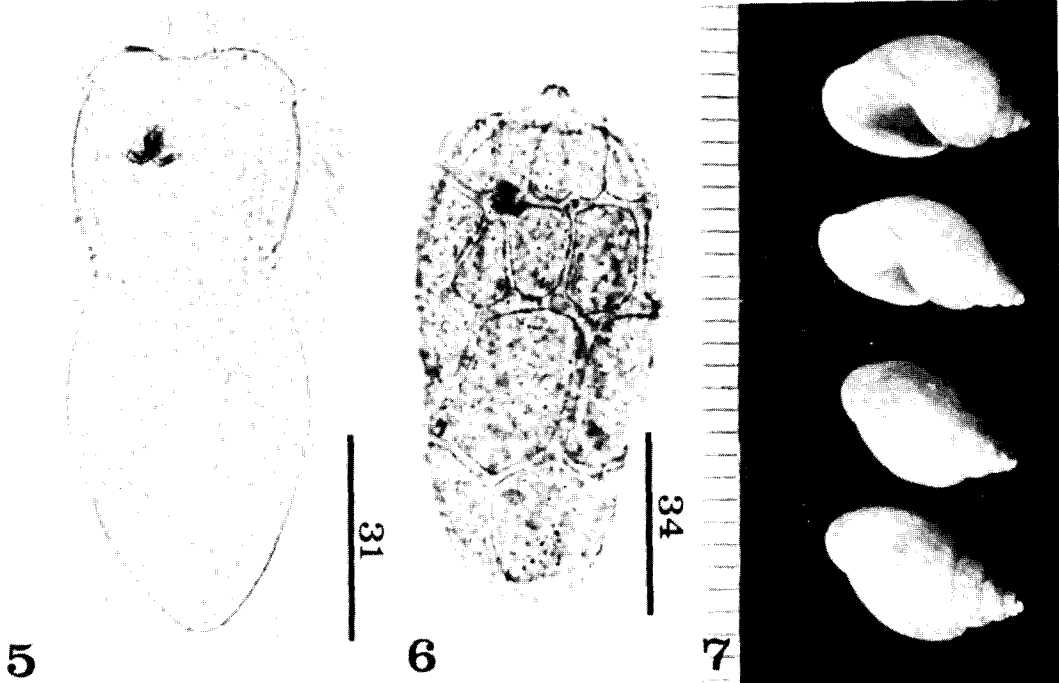


Fig. 5. A miracidium of *E. hortense* showing an eye spot and numerous cilia.

Fig. 6. A miracidium of *E. hortense* showing epidermal plates.

Fig. 7. *Lymnaea pervia*, used as the first intermediate host in this study.

*Bar unit: μm

(Table 2 & Fig. 17).

6. 올챙이에 대한 cercaria의 감염력

올챙이에 cercaria를 접촉, 감염시켰던 바, 대부분의 cercariae가 올챙이의 몸통과 꼬리 경계부의 얇은 체벽

Table 2. Measurements* of *E. hortense* cercariae from experimentally infected snails (in micrometers)

Organs	Length	Width	Mean
Body	252.5~346.5	118.8~173.3	295.5 × 145.0
Tail	435.6~485.1	39.6~64.4	462.8 × 51.5
Oral sucker	43.4~53.6	45.9~56.1	50.0 × 52.0
Ventral sucker	45.9~56.1	58.7~76.5	51.5 × 67.1

*20 specimens were measured.

Table 3. Recovery rates of *E. hortense* metacercariae from experimentally infected tadpoles

No. tadpoles challenged	11
No. cercariae given to each tadpole	30
Total No. cercariae given	330
No. tadpoles infected	11(100%)
No. metacercariae recovered/tadpole (average No.)	20~30(26.5)
Total No. metacercariae recovered	92(88.5%*)
Metacercarial distribution(No.) in body of tadpoles	
gill	71
muscle of posterior trunk	221

*88.5% of the challenged No.

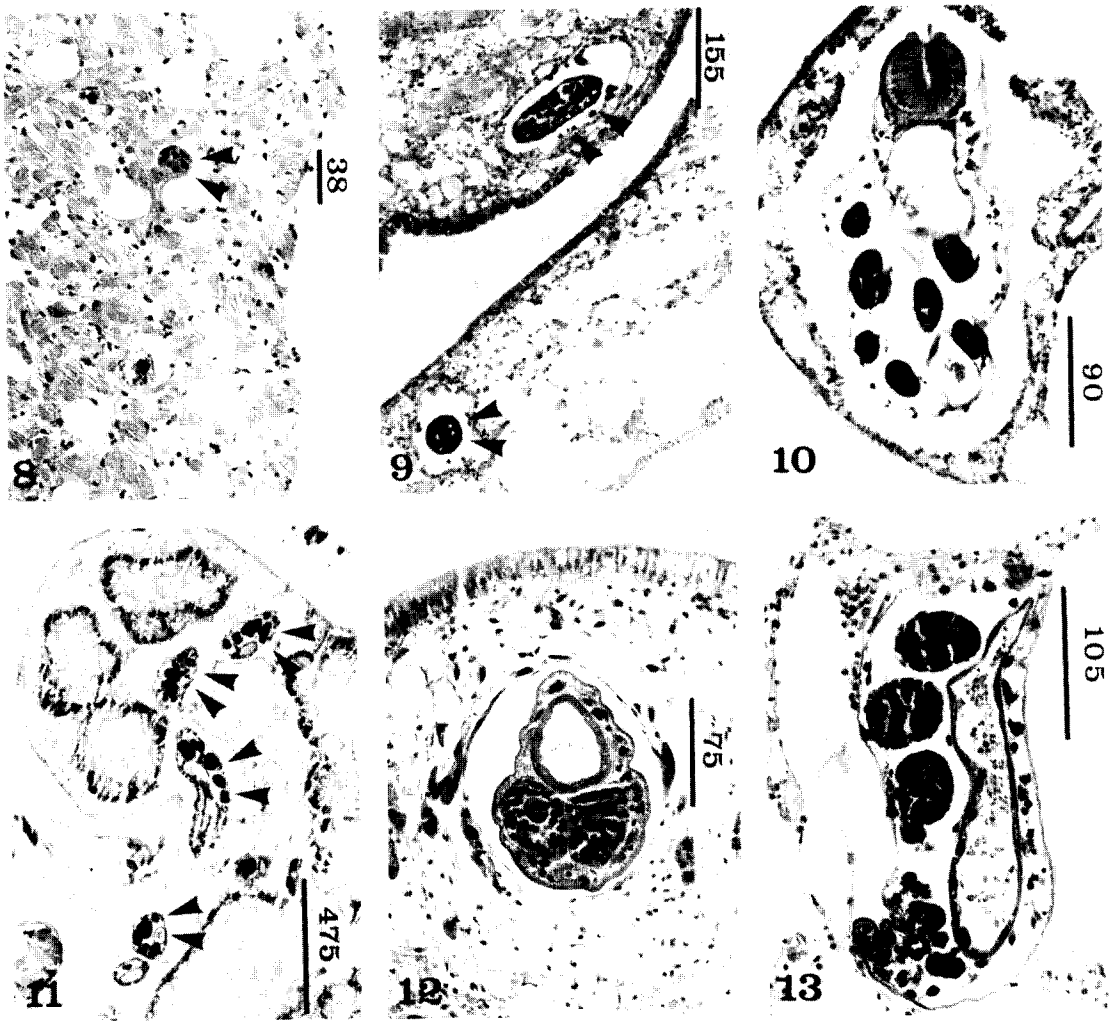


Fig. 8. Sporocysts of *E. hortense* (arrow heads) in the mantle of a snail 2 hrs after miracidial infection.

Fig. 9. Sporocysts of *E. hortense* (arrow heads) in the head-foot of a snail, 7 days after miracidial challenge.

Fig. 10. A redia in the cephalopedal sinus of a snail, 16 days old.

Fig. 11. Rediae (arrow heads) in the digestive glands of a snail, 16 days old.

Fig. 12. A redia in the head-foot of a snail, 21 days old.

Fig. 13. A redia in the hemocele of a snail, 21 days old.

*Bar unit: μm

Table 4. Measurements of *E. hortense* metacercariae from experimentally infected tadpoles

Days after infection	No. of metacercariae measured	Measurement in μm (average)	
		long diameter	short diameter
6 hrs.	20	161.0~174.4 (167.7)	152.9~166.4 (160.7)
1	20	139.5~155.6 (146.5)	123.4~134.2 (129.9)
5	20	156.2~169.4 (160.8)	145.2~156.2 (151.6)

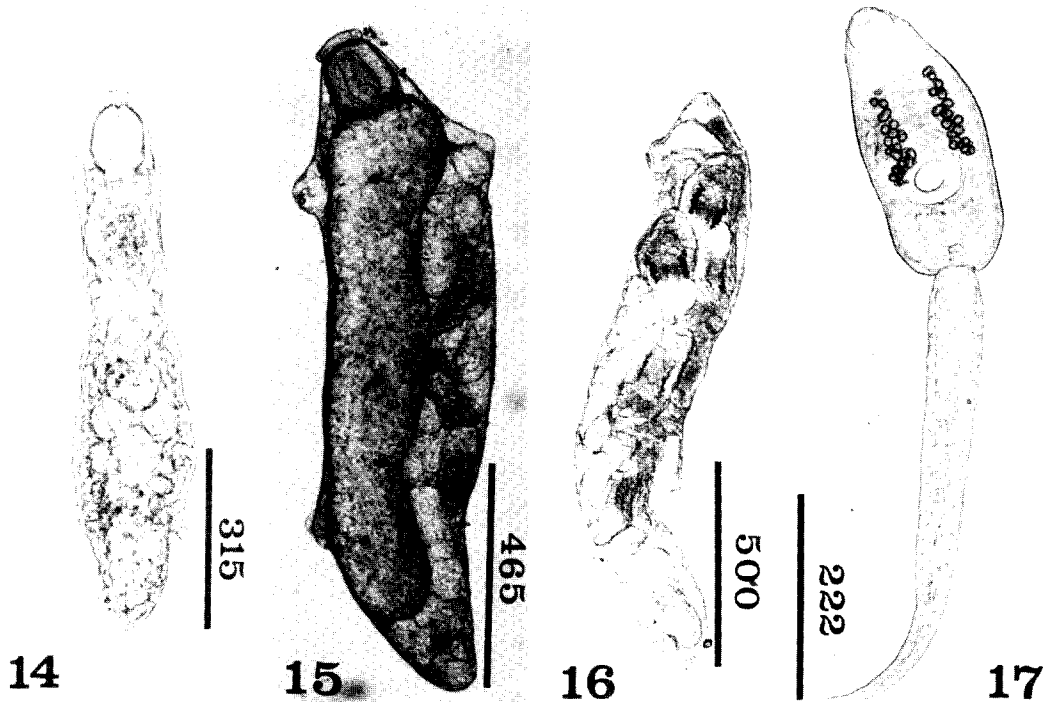


Fig. 14. A first generation redia, 15 days old.
 Fig. 15. A second generation redia, 25 days old.
 Fig. 16. A second generation redia, 30 days old.
 Fig. 17. A cercaria obtained from an experimental snail.
 *Bar unit: μm

Table 5. The infectivity of *E. hortense* metacercariae by the age of infection in tadpoles

Age of metacer. (days)	No. of mice challenged	No. of mice infected	Total No. of metacer. given	Total No. of worms recov.*(%)	Range of recovery rates
5 hrs.	4	0	40	0(0.0)	0~ 0
6 hrs.	3	1	30	1(3.3)	0~ 10
12 hrs.	4	2	40	2(5.0)	0~ 10
1	5	4	50	15(30.0)	0~ 60
3	4	4	40	15(37.5)	10~ 80
5	4	4	40	27(67.5)	50~ 90
7	3	3	30	22(73.3)	70~ 80
9	3	3	30	27(90.0)	80~100
11	3	3	30	27(90.0)	70~100
15	4	4	40	27(67.5)	30~ 90
20	4	4	40	25(62.5)	40~100
30	4	4	40	28(70.0)	50~ 80
50	4	4	40	22(55.0)	20~ 80

*All of worms were recovered after 2 weeks from infection.

으로 침입하였다. 모든 올챙이(11마리)가 감염되었으
 며 올챙이 마리당 평균 26.5개의 피낭유충이 회수되었
 다. 부위별로는 체후벽의 근육에서 75.7%, 아가미에

서 24.3%가 회수되었다(Table 3 & Fig. 18).

7. Metacercaria

실험 감염 올챙이로부터 회수한 피낭유충은 타원형

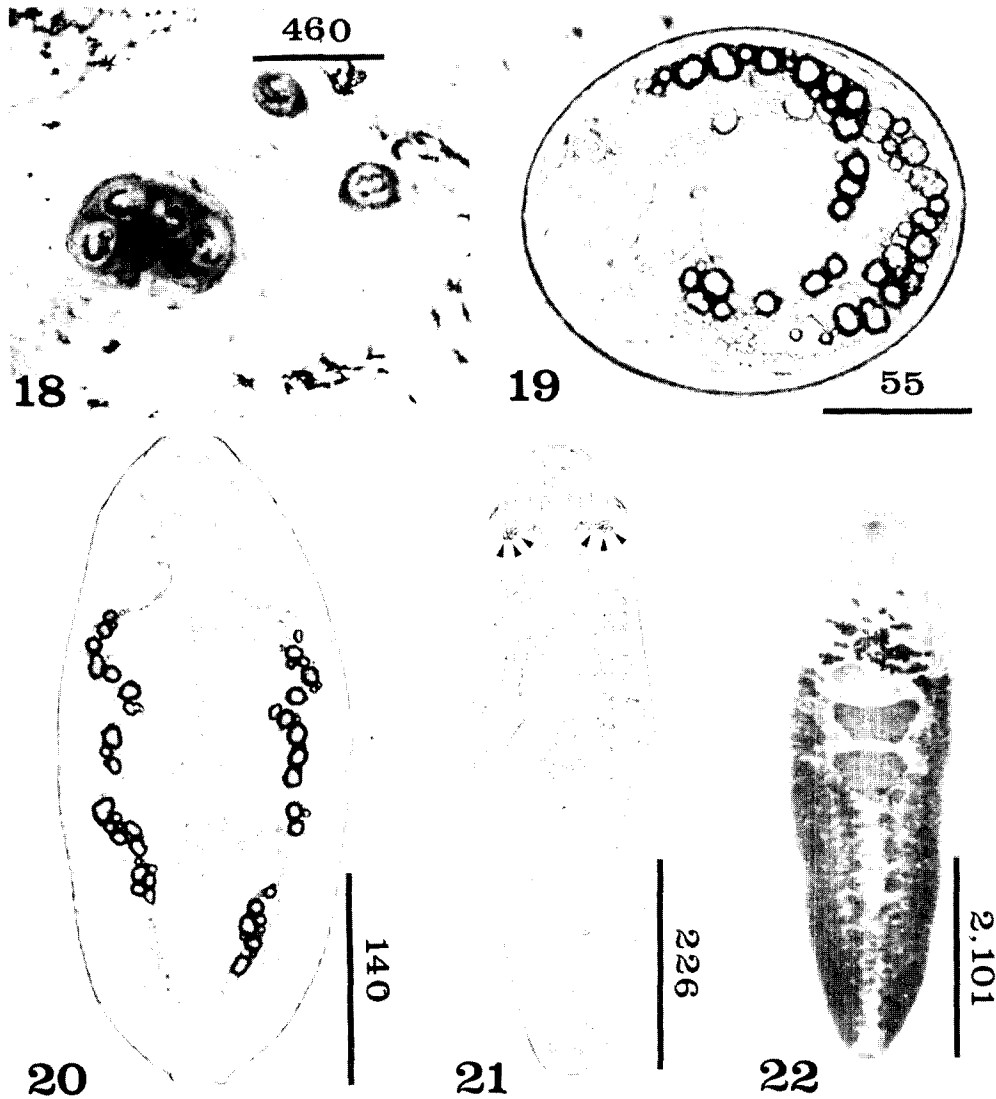


Fig. 18. Metacercariae in the gill of a tadpole.
 Fig. 19. A metacercaria isolated from the gill of a tadpole.
 Fig. 20. An excysted metacercaria showing the collar spines and excretory granules.
 Fig. 21. A three-day old juvenile worm showing 4 end group spines (arrow heads).
 Fig. 22. Adult of *E. hortense* from an experimental mouse 12 days after infection.
 *Bar unit: μm

이었고, 감염 연령에 따라 다소 차이는 있지만 평균 $167.7 \times 129.9 \mu\text{m}$ ($139.5 \sim 174.4 \times 123.4 \sim 166.4 \mu\text{m}$) 크기였다 (Table 4). 특징적인 두극과 배설과립이 잘 관찰되었으며, 탈낭유충은 크기가 평균 $426.0 \times 203.0 \mu\text{m}$ 이었다 (Figs. 19 & 20).

8. 마우스에 대한 피낭유충의 감염력

올챙이 체내에 감염된 기간에 따른 피낭유충의 감염

력을 마우스에서의 총체 회수율로 알아본 바, 약 12시간 동안 올챙이 체내에 머문 피낭유충은 감염력이 5.0% 였으나 점차 증가하여, 9일간 머문 것은 90.0%로 최대치를 보였고, 이후 감소하여 50일 머문 것은 55.0%의 감염력을 보였다 (Table 5).

9. 성충

감염 후 3일에 마우스로부터 회수한 유약충은 체장

Table 6. The period for development of *E. hortense* by stage

Stages	Period (days)
Miracidium	13~14
The 1st generation redia	15
The 2nd generation redia	15~16
Metacercaria	1
Adult worm	11
Total	55~58

평균이 846 μm (792~886 μm), 체폭 평균이 242 μm (229~250 μm)이었다. 복흡반이 총체의 정중앙에 위치하였으며, 두관에서는 4개씩의 end group spine를 포함하여 총 27개의 두극이 관찰되었다(Fig. 21). 감염 후 12일부터 마우스의 대변에 총란이 배출되었으며 감염 후 12일에 마우스로부터 회수한 총체는 크기가 평균 $6.3 \times 1.7 \text{ mm}$ 이었고 완전히 성숙되어 있었다(Fig. 22).

10. 발육기간

총란이 발육하여 부화할 때까지 약 13~14일이 걸리며, miracidium이 패류 체내로 들어간 후 cercaria가 되어 유출될 때까지 약 30~31일이 소요되었다. Metacercaria가 증숙주인 마우스 체내에서 감염력을 가지는 기간이 1일, metacercaria가 총란을 산출하는 성충으로 되는 데에 11~12일이 소요되는 것으로 관찰되어, 결국 총란에서 성충으로 발육하기까지는 약 55~58일이 소요되었다(Table 6).

고 찰

1980년대 말까지 세계 문헌에 기록된 117종의 *Echinostoma*속 흡충 중 생활사가 알려진 것은 *E. porteri* (Fashuyi, 1985) 등을 비롯하여 약 14종 정도이다. *E. hortense*의 경우 1926년에 Asada가 일본에서 처음으로 증간숙주, 증숙주 및 성충에 대하여 기술하였고, Ono (1930)는 만주에서 두극의 수, 식도의 길이, 생식기와 체장의 측정치 등이 *E. hortense*와 다르다는 이유로 *E. campi*라는 새로운 종을 창설하면서 기본적인 생활사에 대하여 기술한 바 있으나 이는 *E. hortense*와 동종으로 인정된다. 한편, 우리 나라에서는 안 및 양 (1986)이 물달팽이(*Radix auricularia coreana*)와 미꾸리틀 제 I 및 제 2 증간숙주로 하고, 흰귀를 증숙주로 하여 이 흡충의 생활사를 연구한 바 있다. 그러나 총란의 발육, epidermal plate의 형태, 패류 내에서의 유충 기생 및 발육상, 올챙이에 대한 cercaria의 감염력, 피낭유충의 마우스에 대한 감염력 등에 관한 내용은 알려진 바 없었다.

*Echinostoma*속 흡충의 총란은 대개 120 μm 내외의 크기를 가지며 미성숙 상태로 배출된다. 종에 따라 차

이가 있으나, 이 총란들은 28°C에서 8~12일 지나면 탈각 부화한다. *E. hortense*의 경우 22~27°C에서 배양 8일부터 난할 발육이 시작되어 10일 후에는 90% 정도가 완숙되고, 12일 후에는 약 70%가 탈각 부화하며, 13일에는 나머지 대부분도 부화한다고 한다(안 및 양, 1986). 이 연구에서도 비슷한 소견을 나타내었다. 배양 전 총란에서 관찰되던 경계가 뚜렷한 배세포(germ cell)가 배양 후 2일에 경계가 희미해지면서 점점 커지고, 배양 6일에 embryonic mass가 형성되면서 난황이 줄어들었다. 배양 8일에는 miracidium의 기본 구조가 만들어졌으며, 배양 13일에 발육이 완성됨이 관찰되었다.

이 실험에서 miracidium의 크기는 평균 93.8 μm (79.1~107.1 μm) \times 53.6 μm (45.9~63.8 μm)로 측정되어 안 및 양(1986)의 측정치인, 103.0 μm (94.0~106.0 μm) \times 51.4 μm (47.2~59.0 μm)와 거의 같았다. 그리고 이 크기는 다른 *Echinostoma*속 miracidium의 크기와도 거의 비슷한 것이었다. 그러나 epidermal plate의 formula는 60년대에 연구된 *E. nudicaudatum*, *E. audyi*, *E. hystricosum*, *E. barbosa*, *E. paraensei* 및 *E. rodrigusei*와 80년대의 *E. porteri* 등이 모두 6-6-4-2인데 반하여, 이 연구에서 관찰한 *E. hortense*의 epidermal plate formula는 6-8-4-2로 이들과는 다를 수 있었다.

Miracidium은 패류의 노출 부위 특히 두부, 족부 측수 및 외투막 등을 통하여 침입한 후 다음 단계 유충의 발육 증식에 적합한 곳으로 이동하게 되는데 이 이동은 기생충 및 숙주에 따라 그 방식이 다르다고 한다. Alicata(1962)는 *Philophthalmus gralli*의 유충이 *Tarabia granifera mauriensis* 패에 침입한 후 혈액 순환계를 따라 이동한다고 하였고, Itagaki and Itagaki(1986)도 *Lymnaea truncatula* 패에서 간질(*Fasciola* sp.)의 sporocysts가 주로 혈류를 따라 소화선 쪽으로 이동하여 그 주위에서 redia로 발육한다고 하였다. Kawanaka (1978)는 간질의 sporocyst가 24시간 이내에 패류의 침입 부위로 이동한다고 하였고, Pan(1965)은 만손혈흡충의 sporocyst가 *Australorbis glabratus* 패에서 자신의 연동 운동에 의하여 이동한다고 하였다. 안 및 강 (1988)은 *E. hortense*의 miracidium 중 *Radix auricularia coreana* 패의 두부, 족부 등 비교적 발달된 근육 조직과 외투막으로 침입한 것들은 침입 부위 주위 조직에 에워싸여 낭이 형성되고, 그 속에서 어느 정도 sporocyst로 성장되나 redia로는 발육하지 않으며, 체내로 이행되지도 않을 것이라고 하였다. 한편 외투막강으로 통하는 패 체막과 연부 조직으로 침입한 miracidium은 체강으로 쉽게 이행되어 정상적인 발육 및 증식 과정을 거칠 것이라고 하였다.

이 연구에서도 *Lymnaea pervia* 패에서 두부, 족부 및 외투막 등에 침입한 유충은 주위 조직에 둘러싸여 있었고, 성장 발육이 지연됨이 관찰되었다. 그러나 감

엄 21일 된 배의 절단 표본에서 두부, 족부 및 외부막에 위치한 유충에서도 장의 단면이 관찰되었다. 따라서 두부, 족부 및 외부막으로 침입한 유충도 sporocyst 단계를 거쳐 redia 단계까지는 성장 발육함을 알 수 있었다. 그러나 이들 유충들의 증식 및 운명에 관해서는 더 면밀히 연구되어야 할 것으로 생각된다.

Echinostoma sp.의 cercaria는 두관에 두극이 존재하는 것이 특징이다(Schell, 1970). 그리고 두극의 수 및 분포는 피낭유충 및 성충의 그것과 일치한다. 이 연구에서도 피낭유충 및 성충에서는 두관의 좌우측에 위치하는 4개씩의 end group spine을 포함하여 27개의 두극이 관찰되었다. 그러나 cercaria 단계에서는 두관의 발육도 미약하였고 두극도 관찰되지 않았다. *E. hortense*의 cercaria에는 본래 두극이 없는 것인지 아니면 cercaria를 뜨거운 포르말린으로 고정할 때 표피 내로 들어가 버린 것인지는 모르나 cercaria 단계에서 두극의 존재 유무 또는 출현에 대해서는 후후 연구가 더 필요하다고 생각된다.

*E. hortense*의 다른 제 2 중간숙주인 미꾸리에서 피낭유충이 검출되는 부위를 살펴보면, Ono(1930)와 Arizono *et al.*(1976)은 아가미 근처 연부 조직, Okahashi(1966)는 장간막, Saito and Tani(1982), Chai *et al.*(1985)은 두부, 후장(distal intestine) 및 항문주위 조직에서 검출하였다. 이와 같이 저자에 따라 조금씩 차이는 있으나 피낭유충의 검출부위는 아가미 또는 크게 두부조직과, 항문주위 또는 후복벽 조직 등으로 나눌 수 있다. 이 실험에서도 대부분의 cercaria가 포복운동으로 기어 분통과 꼬리 경계 부위로 모여 들어 부근의 얇은 체벽을 뚫고 침입함이 관찰되었다. 또한 올챙이로부터 피낭유충을 회수해 본 결과, 올챙이 아가미에서 약 24%, 분통과 꼬리 경계 부위 근처의 근육에서 약 76%가 검출되었다. 아가미에서 회수된 피낭유충은 분명하지 않으나 아마도 올챙이가 물을 흡수할 때 빨려 들어간 cercaria가 피낭한 것으로 생각된다. 한편, cercaria가 올챙이의 몸통과 꼬리 경계 부위에 주로 모이는 이유가 특정 부분 조직에서 cercaria를 유도하는 물질이 분비되기 때문인지, 아니면 침입 부위를 찾다가 우연히 특정 부위로 모이게 되는지, 혹은 다른 이유가 있는지는 아직도 분명하지 않다.

흡충류의 피낭유충이 종숙주에서 감염력을 나타내게 되는 때에는 크게 기생충(피낭유충)측 요인과 숙주측 요인이 작용할 것으로 생각된다. 이 연구에서는 숙주측 요인 중 개체 차를 무시하고 동일 종의 숙주에 일정한 수의 피낭유충을 감염시킨 후 증체회수율을 계산하여 감염력의 척도로 삼았다. 이와 같은 방법으로 감염력을 측정하였을 때, 감염력에 가장 많은 영향을 주는 것은 피낭유충의 활성도(viability) 및 성숙도(maturity)일 것이다. 피낭유충이 제 2 중간숙주 체내에 체류한 기간에 따라 감염력을 측정하는 것은 피낭유충의 성숙도에 따른 감염력의 차이를 알아보는 방법으로,

*Fibricola seoulensis*의 경우 올챙이 체내에서 약 14일 된 피낭유충이 마우스에 대하여 감염력(평균 19%)을 나타내기 시작하여 40일 되었을 때 70%의 회수율을 나타낸 경우 등을 예로 들 수 있다(Lee *et al.*, 1986). *E. hortense*의 경우, Hirasawa(1929)는 *Rana catesbiana*의 올챙이에서 7일 된 피낭유충이 비로서 흰쥐에 대해 감염력을 나타내었다고 하였다. *Rana nigromaculata*의 올챙이와 마우스를 제 2 중간숙주 및 종숙주로 하여 감염력을 알아본 이 연구에서는 올챙이 체내에서 6시간 된 피낭유충 중 약 3.3%가 감염력을 나타내었으며, 9일된 피낭유충은 약 90%가 마우스에서 성충으로 성장하였다.

Tani(1978)는 사람과 여러 실험 동물에서 *E. hortense*의 prepatent period를 조사한 바 있다. 흰쥐, 햄스터 및 마우스에서는 9~12일이 소요되나 토끼와 개에서는 13~15일, 사람에서는 16~17일이 걸린다고 하였다. Seo *et al.*(1985)도 흰쥐 및 사람의 경우 prepatent period가 10~12일 및 16~17일이라고 보고한 바 있다. 마우스를 대상으로 한 이 연구에서는 prepatent period가 11~12일이었다. 이 결과는 Tani(1978)의 결과와 거의 일치하는 소견이었다.

이 연구에서는 *E. hortense*의 전 생활사를 실험실 내에서 유지하는 것이 가능하였으므로 이 흡충의 생물학적인 여러 가지 현상을 비교적 자세히 관찰할 수 있었다고 생각된다. 임상적인 중요성이 높아지고 있는 극구흡충증에 대한 여러 가지 연구에 이 연구의 결과와 방법이 도움이 될 것으로 판단된다.

참 고 문 헌

- 안영검 · 강호석(1988) 물달팽이(*Radix auricularia coreana*)에서 *Echinostoma hortense* 유충의 발육 및 cercaria 유출. 원주의대논문집, 1(1):137-152.
- 안영검 · 양용석(1986) 남한강 유역의 호르텐스극구흡충 감염 실태와 생활사에 관한 연구. 기생충학잡지, 24(2):121-136.
- 안영검 · 양용석 · 정평림 · 이근태(1985) 얼룩동사리(*Odontobutis* sp.)에 피낭한 *Echinostoma hortense* 및 백시어의 감염실험. 기생충학잡지, 23(2):230-235.
- Alicata, J.C. (1962) Life cycle and developmental stages of *Philophthalmus gralli* in the intermediate and final hosts. *J. Parasitol.*, 48:47-54.
- Arizono, N., Uemoto, K., Kondo, K., Matsuno, K., Yoshida, Y., Maeda, T., Yoshida, H. and Muto, K. (1976) Studies on *Echinostoma hortense* Asada, 1926 with special reference to its human infection. *Jpn. J. Parasitol.*, 25(1):36-45 (in Japanese).
- Asada, S. (1926) On a new echinostomatid trematode and its life history. *Trans. Jap. Pathol. Soc.*,

- 16:293-294 (in Japanese).
- Asada, S. (1939) A new species of *Echinostoma* and studies on its life history. *Vol. Jub. Yoshida*, 1:39-69 (in Japanese).
- Chai, J.Y., Hong, S.J., Sohn, W.M., Lee, S.H. and Seo, B.S. (1985) Studies on trematodes in Korea XVI. Infection status of loaches with the metacercariae of *Echinostoma hortense*. *Korean J. Parasit.*, 23(1):18-23.
- 조승열 · 강신영 · 양용석 (1981) 경기도 의정부시 개의 소장 윤충류 감염실태. *기생충학잡지*, 19(1):55-59.
- Eom, K.S., Rim, H.J. and Jang, D.H. (1984) A study on the parasitic helminths of domestic duck (*Anas platyrhynchos* var. *domestica* Linnaeus) in Korea. *Korean J. Parasit.*, 22(2):215-221.
- Fashuyi, S.A. (1985) The life cycle of *Echinostoma porteri* sp. n. (Digenea, Echinostomatidae). *Acta Parasitol. Polon.*, 30:1-9.
- Hirasawa, I. (1929) The experimental study on trematodes with tadpoles of *Rana catesbiana* Show (bull frog) as their intermediate host. *Kumamoto Igakkai Zasshi*, 5:599.
- 주정균 · 조유정 · 정세범 · 원병오 · 윤무부 (1973) 한국 산 야조의 장내 흡충류에 대하여. *기생충학잡지*, 11(2):70-75.
- 홍성태 (1987) 장흡충증. 열대풍토병. 서병실 편저, 보건사회부, 서울, pp.121-134.
- Itagaki, T. and Itagaki, H. (1986) Development of the Japanese liver fluke and pathological changes in the snail host *Lymnaea truncatula*. *Jpn. J. Parasitol.*, 35(6):505-511.
- Kawanaka, M. (1978) On the resistance of *Lymnaea* snails to infection with some larval trematodes I. Comparison of tissue reactions of the snail *L. ollula* and *L. japonica* exposed to *Trichobilharzia brevis* or *Fasciola* sp. *Jpn. J. Parasitol.*, 27:214-224 (in Japanese).
- Komiya, Y. (1965) Metacercariae in Japan and adjacent territories. *Progress of Med. Parasit. in Japan*, vol. 2, pp.1-309.
- Lee, S.H., Chai, J.Y., and Sohn, W.M. (1990) *Echinostoma revolutum* and *Echinoparyphium recurvatum* recovered from house rats in Yang yang-gun, Kangwon-do. *Korean J. Parasit.*, 28(4):235-240.
- Lee, S.H., Shin, S.M., Hong, S.T., Sohn, W.M., Chai, J.Y. and Seo, B.S. (1986) Growth and development of *Fibricola seoluensis* metacercariae in tadpoles. *Korean J. Parasit.*, 24(2):109-114.
- 이상균 · 정낙승 · 고일향 · 고흥일 · 채종일 (1986) *Echinostoma hortense*의 인체 감염 2례. *기생충학잡지*, 24(1):77-81.
- 이상균 · 정낙승 · 고일향 · 손운목 · 홍성태 · 채종일 · 이순형 (1988) 경상북도 청송군 일부 지역의 호르텐스 극구흡충 유행양상. *기생충학잡지*, 26(3):199-206.
- Mori, J. (1935) Experimental studies on whether the cercariae of Echinostomidae develops or not in the larvae of salamander as an intermediate host. *Tokyo Iji Shinshi*, No. 2929:1237-1244.
- Okahashi, K. (1966) Research on *Heterophyes* (2) *Metagonimus yokogawai* parasitic on the loach: Its infection test on birds and its adult form. *Okayama Igakkai Zasshi*, 78:15-24 (in Japanese).
- Ono, S. (1930) The life history of *Echinostoma campi* n. sp. found in the vicinity of Mukden with special reference to the second intermediate host. *Dobutsugaku Zasshi*, 42:7-16 (in Japanese).
- Pan, C.T. (1965) Studies on the host-parasite relationship between *Schistosoma mansoni* and snail *Australorbis glaratus*. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 14:931-976.
- Park, J.T. (1938) A rat trematode, *Echinostoma hortense* Asada, form Korea. *Keijo J. Med.*, 9(4):283-286.
- 양용석 · 안영겸 · 김태승 · 이경원 · 한민희 (1985) *Echinostoma hortense* 인체감염 2례 및 제 2 중간숙주 조사. *기생충학잡지*, 23(1):33-40.
- 양용석 · 안영겸 · 김원천 · 신계철 · 이경원 · 김태승 (1986) *Echinostoma cinetorchis*에 의한 인체감염 2례. *기생충학잡지*, 24(1):71-76.
- Saito, S. and Tani, S. (1982) Comparison of the metacercariae of *Echinostoma hortense* Asada, 1926 and *Echinostoma cinetorchis* Ando et Ozaki, 1923 in loach, *Misgurnus anguillicaudatus*. *Jpn. J. Parasitol.*, 31(4):281-287 (In Japanese).
- Schell, S.C. (1970) How to know the trematodes. W.M. C. Brown Company, Iowa. pp.1-43.
- Seo, B.S., Chai, J.Y. and Hong, S.T. (1985) Studies on intestinal trematodes in Korea XX. *Echinostoma japonicus*. *Korean J. Parasit.*, 23(2):214-220.
- Seo, B.S., Cho, S.Y. and Chai, J.Y. (1980) Studies on intestinal trematodes in Korea I. A human case of *Echinostoma cinetorchis* infection with an epidemiological investigation. *Seoul J. Med.*, 21(1):21-29.
- Seo, B.S., Cho, S.Y., Hong, S.T., Hong, S.J. and Lee, S.H. (1981) Studies on parasitic helminths of Korea V. Survey on intestinal trematodes of house rats. *Korean J. Parasit.*, 19(2):131-136.
- Seo, B.S., Hong, S.T., Chai, J.Y. and Lee, S.H.

- (1983) Studies on intestinal trematodes in Korea VIII. A human case of *Echinostoma hortense* infection. *Korean J. Parasit.*, 21(2):219-233.
- Seo, B.S., Rim, H.J. and Lee, C.W. (1964) Studies on the parasitic helminths of Korea I. Trematodes of rodents. *Korean J. Parasit.*, 2(1):20-26.
- Tani, S. (1976) Studies on *Echinostoma hortense* (Asada, 1926) (2) The intermediate and final hosts in Akita Prefecture. *Jpn. J. Parasitol.*, 25(6):461-467 (in Japanese).
- Tani, S. (1978) Studies on *Echinostoma hortense* (Asada, 1926) (3) Experimental infection in man and laboratory animals. *Jpn. J. Parasitol.*, 27(5):495-501 (in Japanese).
- Tani, S., Yoshimura, H., Ohmori, Y., Kamiya, H. and Yamakoma, H. (1974) A case of human echinostomiasis found in Akita Prefecture, Japan. *Jpn. J. Parasitol.*, 23(6):404-408.
- 위재수 · 이철 · 손운목 · 홍성태 · 채종일 · 이순형 (1987) 충북 음성군 일부 주민의 장내 유충류 감염 및 장흡충의 감염원 조사. *기생충학잡지*, 25(2):238-239.
- Yamaguti, S. (1939) Studies on the helminth fauna of Japan. Trematodes of mammals II. *Jap. J. Med. Sci.* (Part 6. Bact. & Parasit.), 1:131-151.

=Abstract=

Experimental life history of *Echinostoma hortense*

Soon-Hyung Lee, Soon-Wook Hwang, Woon-Mok Sohn*, Weon-Gyu Kho*,
Sung-Tae Hong, and Jong-Yil Chai

*Department of Parasitology and Institute of Endemic Diseases, Seoul National
University College of Medicine, Seoul 110-460, and Department of
Parasitology*, College of Medicine, Inje University, Pusan 614-735, Korea*

The complete life cycle of *Echinostoma hortense* has been maintained in the laboratory, using *Lymnaea pervia* snails and *Rana nigromaculata* tadpoles as the first and second intermediate hosts. ICR mice was used as the definitive host. Within the egg of *E. hortense*, the miracidium was fully matured in 13 days of incubation at 29~30°C. The miracidium was 93.8×53.6 μm in average size, covered with numerous cilia of 7~11 μm length. The epidermal plates were arranged in 6-8-4-2 formula. The first generation rediae (1.19×0.27 mm in average size) were observed in 14 days after miracidial challenge to the snails, and the second generation rediae (1.40×0.26 mm in average size) in 30 days. The average size of the cercaria was 295.5×145.0 μm. Their head crown was poorly developed, and collar spines were not yet observed.

After a cercarial challenge to the tadpoles, all of the tadpoles became infected and the average worm recovery rate was 88.5%. The majority of the metacercariae (75.5%) were recovered from the muscle of the tadpole's posterior body and the rest (24.3%) from their gills. The metacercariae from the tadpoles were elliptical, and 167.7×129.9 μm in average size. The recovery rate of adults from the mice was different by the age of the metacercariae grown in the tadpoles. The metacercariae younger than 5 hrs could not infect mice whereas those older than 6 hrs could infect mice. The recovery rate became higher as the metacercaria matured, with the peak recovery rate of 90.0% at the metacercarial age of 9 days. Thereafter the recovery rate decreased to 55.0% at the age of 50 days. As shown by the above results, the whole life cycle of *E. hortense* has been completed in the laboratory. At least 55~58 days were required to maintain one egg-to-egg cycle of *E. hortense*.

[Korean J. Parasit., 29(2):161-172, June 1991]