

## 고충(sparganum)에서 성장호르몬 유사물질의 면역조직화학적 검출

김명옥 · \*최완성 · 김창환

경상대학교 자연과학대학 생물학과, \*의과대학 해부학교실

흰쥐에 *Spirometra erinacei*의 제 3기 유충(고충 : sparganum)이 감염되었을 때 유충에서 생성된 성장호르몬 유사물질이 흰쥐 성장에 미치는 영향을 조사하기 위하여, 감염 기일이 경과에 따라 흰쥐의 뇌하수체와 유충의 체내에서 성장호르몬 분비세포를 면역조직화학염색으로 검색하였다. 유충의 표피와 표피성 근육층 및 근질 근육층에서 면역반응성을 띄는 성장 호르몬이 동정되었으며 감염시기의 경과에 따라 성장호르몬 분비세포의 수가 점차 증가하였다. 이와는 대조적으로 흰쥐의 뇌하수체에서는 성장호르몬 분비세포의 수가 감염 기일의 경과에 따라 정상대조군에 비하여 점차 감소 하였으며, 감염후 3개월이 경과되면 다시 증가하여 정상대조군의 수준으로 회복되었다. 또한 유충에 감염된 기일의 경과에 따른 흰쥐의 혈중 성장호르몬 농도변화를 dot-ELISA 방법으로 추정된 결과 정상대조군의 성장호르몬의 양과 유의한 차이는 없었다. 결론적으로 유충의 체내에서 생성된 성장호르몬 유사물질이 전이숙주인 흰쥐의 성장을 유도할 것으로 사료된다.

**KEY WORDS:** Sparganum, Growth hormone-like substance, Immunohistochemistry, Dot-ELISA Assay.

고충(sparganum)은 개나 고양이를 종숙주로 하는 조충류인 *Spirometra*속의 제 3기 유충(plerocercoid)으로서 인체에 감염되면 피하조직, 근육 등에 이동함으로써 스파르가눔증(sparganosis)을 일으키는 기생충으로 잘 알려져 있다(Mueller *et al.*, 1963). 이 고충은 생쥐를 숙주동물로 하여 체내에서 충체의 이동경로와 숙주에 미치는 영향 및 진단과 치료법 개발의 연구에 많이 이용되어 왔으며, Mueller (1968)가 생쥐에 고충이 감염되면 생쥐의 체중과 골격의 성장을 촉진 시킨다고 보고한 이래 고충의 감염이 숙주의 성장에 미치는 영향을 규명하기 위하여 많은 연구가 시도되었다(Hirai *et al.*, 1978; Shiwaku and Hirai, 1982). 뇌하수체와 갑상선을 적출한 생쥐에 고충을 감염시킨 결과 숙주의 성장을 유도한다는 보고(Mueller, 1968; 1970; 1974)와 선천적으로 뇌하수체진염의 성장호르몬이 결핍된 Snell dwarf mice에서도 체중과 골격근의 중량 증가를 관찰함(Shiwaku *et al.*,

1983)으로서 고충의 감염은 숙주의 성장호르몬을 매개로 하지않고서도 성장을 유도시킨다고 알려지기 시작했다.

이와 동시에 Ruegamer와 Phares (1974)는 고충에서 성장호르몬 유사물질(growth hormone-like substance)이 존재한다고 보고하였고, 이와 유사한 물질이 고충에서 생성되어 숙주의 성장을 유도한다는 보고가 뒤따랐다(Hirai *et al.*, 1978; 1983). Phares와 Carroll(1984), Phares와 Watts (1988)는 고충에서 분비되어 성장을 촉진시키는 물질이 인슐린과 같은 기능을 가진 인슐린 유사물질(insulin-like factor)로 plerocercoid growth factor(PGF)라 부르고 이것은 somatomedin의 생성 및 증가와 관련이 있음을 보고 하였다. 또한 고충에서 생성된 PGF와 숙주의 성장호르몬과의 관계를 조사한 결과 PGF는 숙주의 뇌하수체에 negative feedback하여 숙주의 성장 호르몬의 합성을 억제하였으며(Sharp *et al.*, 1982), 이는

PGF가 포유동물의 성장 호르몬과 구조적으로 매우 유사하거나 혹은 동일한 활성부위를 갖고 있는 물질임을 강력히 시사하고 있다. 그 후 Phares와 Booth(1987)는 PGF와 항 인체 성장호르몬 항체(anti-human growth hormone antibody)와 교차 반응을 보이고 있어 PGF는 성장호르몬과 매우 유사한 물질임을 확인한 바 있다. 이러한 PGF가 숙주에 미치는 작용은 숙주 지방조직의 탄수화물 대사에 영향을 주고, 인슐린 효과를 직접적으로 지속시키는 somatogenic factor로 작용할 것이라는 보고(Mohammed and Phares, 1986)가 유력하다.

이와 같이 고충이 성장호르몬과 유사한 물질을 생성분비하여 숙주의 여러 생리적인 기능에 영향을 미치고 있으나, 이들에 대한 연구는 대부분 혈액내의 성장호르몬의 농도를 관찰한 것들이고 이들을 직접 생성 분비하는 기본단위인 분비세포에 미치는 영향에 대해서는 관찰한 연구보고가 없었다. 이에 본 연구는 대기숙주인 흰쥐와 고충의 충체에서 각각 성장 호르몬 분비세포의 분포를 면역조직화학적 방법으로 조사하여 고충의 감염에 의한 흰쥐에서 성장호르몬 분비세포의 변화와 고충에서 성장호르몬 유사물질을 분비하는 세포의 분포변화를 면역조직화학적으로 확인하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 고충의 준비와 흰쥐의 감염

유행목의 피하조직에 기생하고 있는 고충을 채집하여 약 5 mm 길이로 두부와 경부가 포함되게 절단하여 체중 약 200 gm의 숫컷 흰쥐(Wistar rat)에 마리 당 15 마리씩을 구강 감염시켰다. 감염 시키지 않은 흰쥐 3 마리를 정상 대조군으로 하고 각각의 실험군에는 3마리씩의 흰쥐를 사용하였다.

### 혈청 준비

고충을 흰쥐에 감염 시킨 후 15일, 30일, 45일, 60일, 75일, 90일 경과할 때마다 감염군의 흰쥐를 마취시켜 심장에서 채혈하여 실온에 1시간 동안

두었다가 4°C 냉장실에 4시간 동안 방치하여 응고 시킨 후 3,000 rpm으로 원심분리하여 혈청을 분리 시켰다. 이 혈청은 사용할 때 까지 -80°C에 보관하였다.

### 뇌하수체 조직 준비

체혈이 끝난 흰쥐의 뇌하수체를 적출하여 무게를 측정 후 생리 식염수로 3회 씻고 4% neutral buffered paraformaldehyde (NBP)로 48시간 고정시킨 다음 capsule에 넣어 흐르는 물에 12시간 수세하였다. 수세한 조직들을 ethyl alcohol과 xylene으로 탈수화, 투명화의 과정을 거쳐 parplast (Polyscience Inc.)로 포매하여 5  $\mu$ m로 횡단연속절편(transverse serial section)을 만들었다.

### Sparganum 조직준비

숙주인 흰쥐의 조직에서 적출한 고충을 4% NBP에 48시간 동안 고정한 후 물로 씻은 다음 충체의 길이를 측정하였다. 이것을 30% sucrose에 1시간 동안 담근 후 O. C. T. compound (American Optics)로 포매하여 냉동 절편기(cryostat)로 5  $\mu$ m 두께의 연속절편을 만들었다.

### 면역조직화학염색

면역조직화학염색에 사용된 조직절편은 뇌하수체의 연속절편이 시작되는 부위로부터 끝나는 부위까지 매 20장 (약 100  $\mu$ m)마다 조직절편을 2장씩 선정하였다. 선정된 조직절편을 gelatin coated slide에 부착시키고 xylene과 ethyl alcohol 그리고 증류수로 탈파라핀과 합수과정을 거친 후, 0.02 M PBS (pH 7.4)로 10분씩 3회에 걸쳐 세척하였다. 면역조직화학적 염색은 Hsu 등(1981)의 방법에 따랐다. 비 특이반응을 줄이기 위하여 정상 염소의 혈청 단백질로 20분 동안 정온반응으로 처리한 후 1 : 5000으로 희석한 rabbit derived anti-rat growth hormone (ucb, Belgium)을 조직절편위에 약 50  $\mu$ l 정도 얹고 이를 습윤상자에 넣어 4°C에서 12시간 동안 정온 반응시켰다. 제 1 항체를 반응시킨 조직은 다시 PBS로 10분씩 3회, 증류수로 20분간 세척하고, 역시 내인성 비 특이반응을 억제 시키기 위하여 0.5%

periodic acid로 3분간 처리한 후 다시 증류수로 20분간, PBS로 10분씩 3회 세척하였다. 제 2 항체인 biotinylated goat anti-rabbit immunoglobulin G(Vector)를 1 : 200으로 희석하여 실온에서 1시간 동안 반응시킨 후 다시 PBS로 10분씩 3회 세척하였고, 이어서 제 3 항체인 avidin-biotin peroxidase complex (Vector)를 1 : 100으로 희석하여 실온에서 1시간 동안 반응시킨 후 다시 PBS로 10분씩 3회 세척하였으며, 뒤이어 기질액을 처리하여 검색액의 정색반응을 관찰하였다. 이때 사용한 기질액은 3-3' diaminobenzidine (Sigma Chem. Co.) 100 mg을 200 ml의 PBS에 포화시켜 정색반응 직전에 nikel chloride(Sinryo, Japan) 80 mg과 0.003%의 hydrogen peroxidase를 첨가하여 사용하였다.

광학현미경하에서 성장호르몬 분비세포가 검색액의 양성반응을 나타낸 것을 확인한 후 alcohol과 xylene으로 탈수와 투명화를 거쳐 Permount (Polyscience)로 봉입하였다.

#### 성장호르몬 양성반응세포 측정

이상의 방법으로 처리한 뇌하수체 조직절편들에서 검색액을 띄는 성장호르몬 양성세포들을 200배의 광학현미경하에서 관찰하여 세포의 수를 계수하였다. 이때 세포의 수는 reticulocyte disc를 이용하여 일정한 시야에 나타나는 양성세포들의 수를 계수하였는데, 각 조직절편의 주변부와 중앙부를 구분하여 각각 일정하게 4부분씩을 선정하여 관찰하여 계수하고 각 실험군과의 차이점을 비교하였다. 통계처리는 student's t-test로 검정하였다.

#### 고충 조직의 면역조직화학적 검사

고충에서도 뇌하수체 조직에서와 같은 방법으로 면역조직화학적 염색을 시행하였다. 각각의 실험군에서 5마리씩의 고충을 각각 사용하여 염색의 편차를 줄였다.

#### 고충과 흰쥐의 혈중 성장호르몬 검사

혈중 성장호르몬을 관찰하기 위하여 Boctor 등 (1987)과 Shaheen 등 (1989)의 방법을 참고로 하여 dot-enzyme-linked immunosorbent assay

(dot-ELISA)를 하였다. 15 × 9.2 cm의 nitrocellulose membrane에 지름 5 mm의 크기로 원형을 만든다음 원형안으로 성장호르몬 marker, 대조군과 실험군의 혈장 및 고충 추출물을 각각 5 μl 씩을 떨어뜨리고 30분 동안 건조시켰다.

그 다음 PBS-3% bovine serum albumin (BSA)-0.05% Tween 20 용액에 1시간 동안 정온반응을 시켜 비특이반응을 줄인 다음 PBS-0.05% Tween 20으로 5분씩 5회 씻은 후에 건조시켰다. 이것은 1 : 500으로 희석한 rabbit derived anti-rat growth hormone을 각각의 spots에 5 μl 씩 침적시킨 후 4°C에서 12시간 동안 반응시키고 nitrocellulose membrane를 0.05% Tween 20으로 5분씩 5회 세척하고, 2차 항체인 biotinylated goat anti-rabbit IgG를 실온에서 30분 동안 반응시킨 후 다시 PBS-0.05% Tween 20으로 5분씩 5회 세척하였다. 이어서 1 : 200으로 희석된 제 3 항체인 avidin-biotin peroxidase complex (ABC)를 실온에서 30분 동안 반응 시켰다. 다시 PBS-0.05% Tween 20으로 세척한 후 증류수로 반응을 정지시켰으며 증류수에 12시간 담가두었다가 실온에서 말렸다.

## 결 과

#### 뇌하수체 조직에서 성장호르몬 분비세포의 동정과 변화

*Spirometra erinacei*의 제 3 기 유충 plerocercoid (고충)을 전이 숙주인 흰쥐에 감염시켜 흰쥐의 뇌하수체에서 성장호르몬에 대한 면역조직화학적 염색을 시행한 결과 일부 세포들이 anti-growth hormone에 선택적으로 염색되었다(Fig. 1). 이때 성장호르몬 양성세포들의 과립들은 세포질 전역에서 고르게 분포하였다. 뇌하수체 조직의 중앙부에서 성장호르몬 양성 세포수는 대조군, 감염 15일, 30일, 45일, 60일, 75일, 90일에 각각 2515.5, 2408.0, 1597.0, 1116.0, 1553.5, 1425.5, 2540.5개로 관찰계수되었고 주변부(peripheral boundary)에서는 각각 3189.5, 2975.0, 2214.5, 1444.0, 1816.0, 1658.0, 3109.0개로 관찰되어 성장호르몬 양성세포의 수의 변화는 중앙부와 주

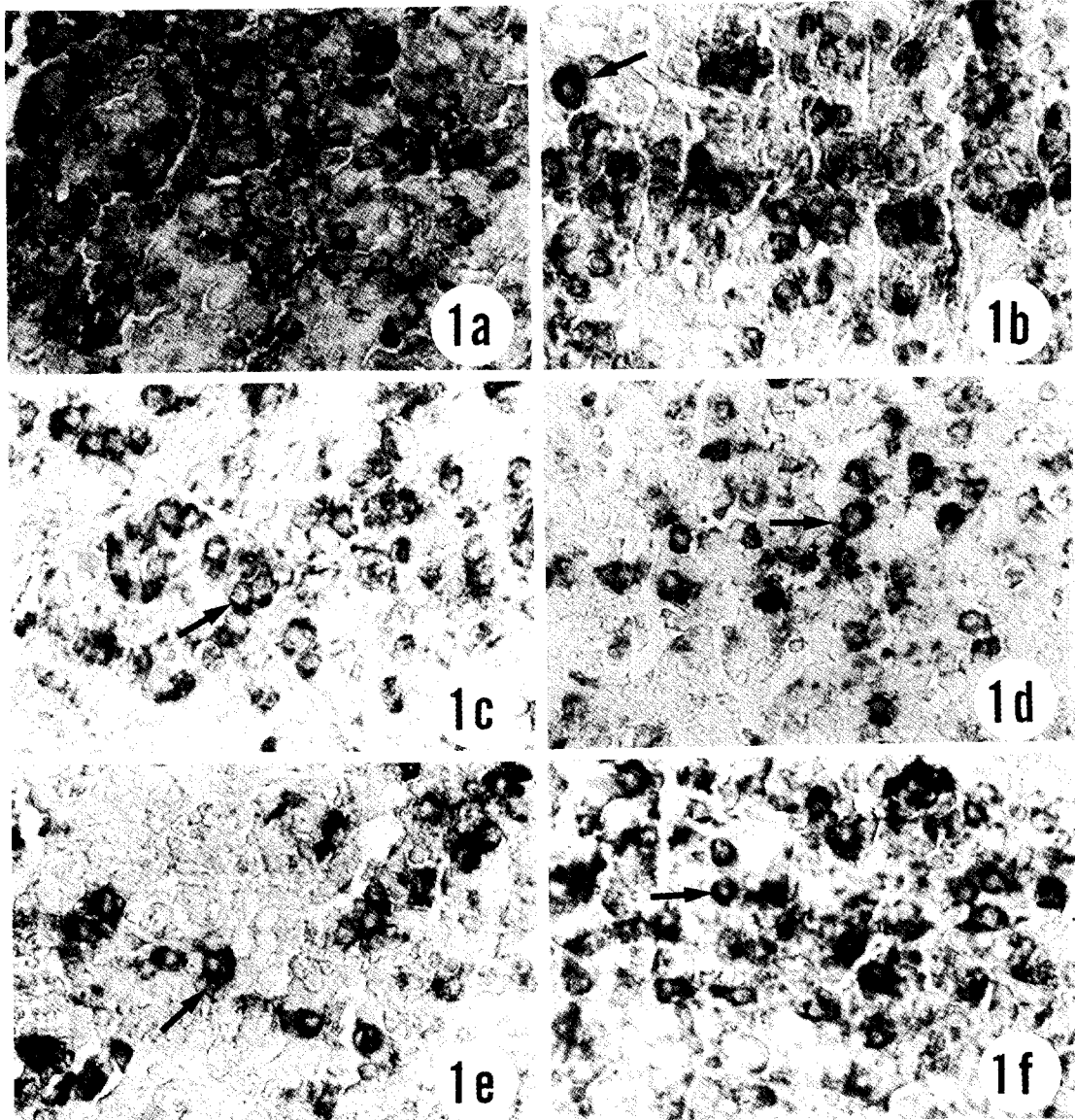


Fig. 1. Immunohistochemical localizations of growth hormone secreting cells in the central region of rat adenohypophysis ( $\times 400$ ). Arrow: Growth hormone secreting cells, a: Normal, b: 15th day of infection, c: 30th day of infection, d: 45th day of infection, e: 60th day of infection, f: 90th day of infection.

변부에서 모두 나타났다(Table 1). 감염 15일과 90일은 대조군에 비교하여 유의한 감소는 없었으나 감염 45일, 60일, 75일에서 급격히 감소하였다( $P < 0.05$ ). 또한 성장호르몬 양성세포의 분포는 전 실험군에서 중앙부와 주변부가 유의한 차이가 있었다( $P < 0.05$ ).

#### 고충 조직에서 성장호르몬 분비세포의 면역조직화학적 동정과 변화

각 실험군 별로 고충의 성장호르몬을 면역조직화학적 방법으로 검사한 결과 표피층(tegumentum), 상피근층(epidermal musculature)에 모두 염색되었고 유조직(parenchymal musculature)에

**Table 1.** Number of the growth hormone secreting cells in adenohypophysis of male rats.

Day after infection	Number of the growth hormone secreting cells		
	Center	Periphery	Total
Normal	2515.5 ± 74.2	3189.5 ± 87.0	5705.0 ± 161.20
15	2408.0 ± 101.2	2975.0 ± 141.0	5383.0 ± 242.2
30	1597.0 ± 131.5	2214.5 ± 10.6	3811.5 ± 142.1
45	1116.0 ± 56.2	1444.0 ± 63.0	2560.0 ± 119.2*
60	1553.5 ± 161.9	1816.0 ± 135.8	3369.5 ± 297.6*
75	1425.5 ± 109.6	1658.0 ± 206.5	3083.5 ± 316.1*
90	2540.5 ± 296.3	3109.0 ± 161.2	5649.0 ± 457.5

The results are expressed as the mean standard deviation of growth hormone secreting cells counted in the representative sections from every 3 rats. \*P < 0.05.

는 아주 약한 반응이 관찰되었다(Figs. 2 and 3). 각 조직에서의 정색반응으로 면역반응성을 비교한 결과 Table 2에 표시된 바와 같이 감염일이 경과 될수록 표피층과 상피근층이 두껍게 염색되었으며 감염 30일째에 이르러 성장호르몬 양성세포가 많이 관찰되었고 60일째에는 가장 많은 세포들이 뚜렷이 관찰되었다. 그러나 90일째에는 표피층과 상피근층에서는 세포가 염색되었으나 유조직층의 세포는 관찰할 수 없었다.

#### 고충과 흰쥐의 혈중 성장호르몬 검출

고충의 추출물과 흰쥐의 혈중에서 성장호르몬의 양을 dot-ELISA로 분석한 결과는 Fig. 4와 같으며 대조군과 실험군의 흰쥐에서 혈중 성장호르몬의 양은 차이가 없었다.

성장호르몬을 marker로 사용한 spot에서와 흰쥐의 혈중분석 결과는 같았으며, 또한 고충의 추출물을 같은 방법으로 반응시킨 결과에서도 정색반응이 나타난 것으로 미루어 고충의 총체에서도 성장호르몬 유사물질이 생성된 것을 확인할 수 있었다.

#### 고 찰

기생충이 만드는 어떤 물질이 숙주의 성장에 미치는 영향에 대해서 많은 연구가 진행되고 있다. Lincicome(1963)와 Fisher(1963)는, *Trypanosoma lewisi*와 *Trypanosoma musculi*에 감염된 쥐에서

무게가 증가함을 보고하였으며 또한 *Spirometra mansonioides* 유충으로 감염된 쥐에서 체중과 골격이 격이 성장하였음을 밝혔으나, 기생충의 감염에 의한 숙주의 성장효과가 진정한 성장인지 단순한 비만에 의한 체중 증가인지는 분명하지 않다. Meyer 등(1965)은 체중 증가의 1차 원인을 지방 합성의 자극으로 보고하였으나 Mueller(1974)는 골격근의 성장을 주 원인이라고 보고하였다. 그 후 숙주 성장은 기생충에서 인슐린 또는 성장호르몬과 같은 활성을 가진 어떤 인자(PGF)를 만들어 숙주에 작용하기 때문이라고 보고하였으나 그 원인은 명확히 밝혀지지 않았다.

지금까지 고충과 숙주의 성장관계에 대한 연구는 대부분 혈액이나 뇌하수체 내에서 이미 생성되어 분비된 호르몬의 농도를 관찰한 것들이고, 이들을 직접 생성, 분비하는 기본 단위인 분비세포에 대해서 형태학적으로 관찰한 연구는 없다. 이에 본 실험은 면역조직화학 방법중 Hsu 등(1981)의 ABC 방법으로 형태학적 연구방법에 중점을 두어 시행하였다. 이외에도 숙주의 혈액과 고충에서의 성장호르몬 변화를 Boctor 등(1987)과 Shaheen 등(1989)의 dot-ELISA 방법으로 측정하여 확인하고자 하였다.

본 실험결과 정상대조군의 경우, 성장호르몬 양성세포의 수는 뇌하수체 전엽의 중앙부보다 주변부에서 많이 분포하였는데 이는 Baker와 Gross(1987)에 의한 생쥐에서의 면역조직화학으로 성장호르몬 분비세포를 관찰한보고와 반대되는 결과이나, Smets 등(1987)에 의한 흰쥐에서 관찰한

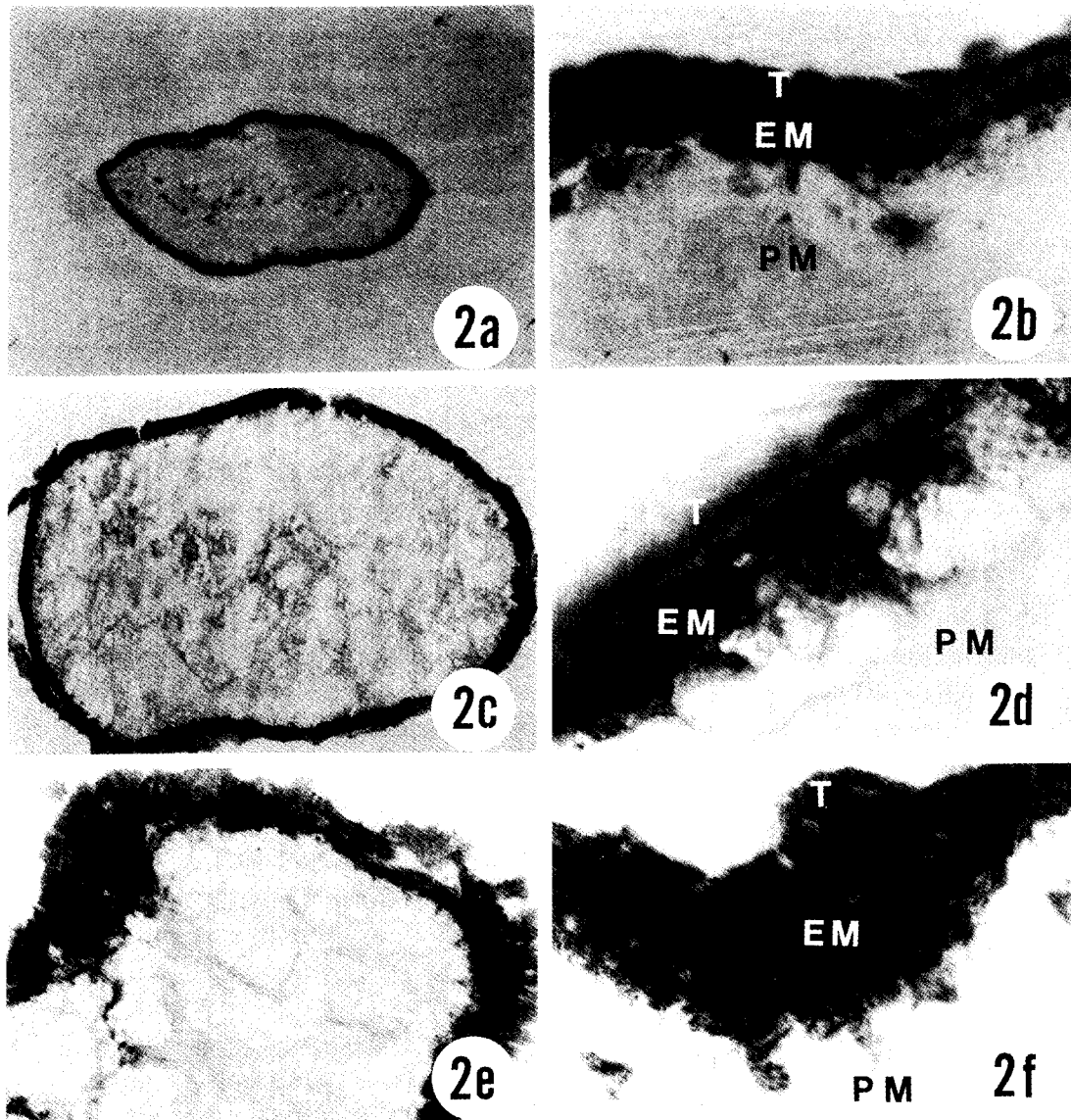
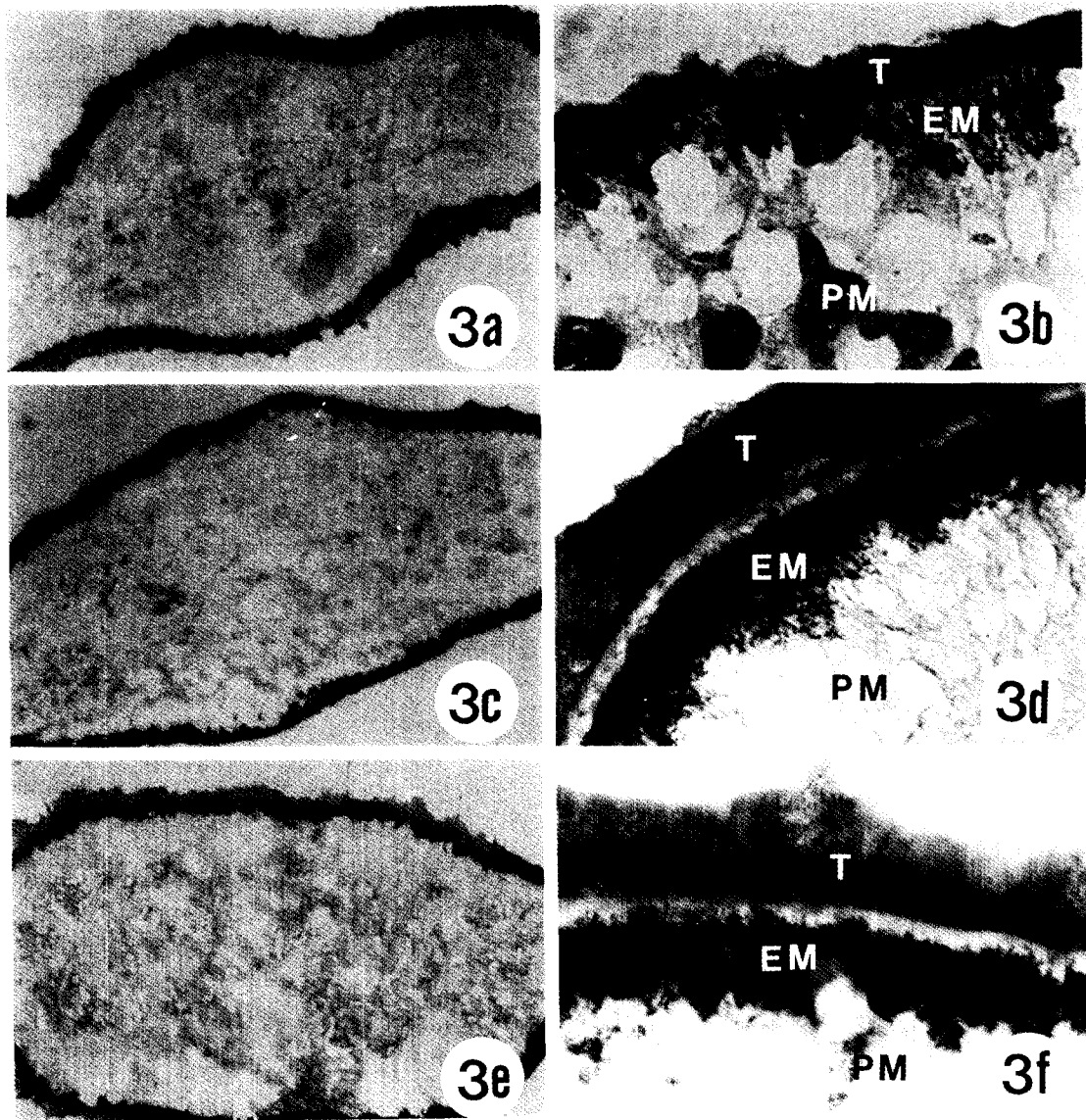


Fig. 2. Location of growth hormone-like immunoreactive substance in sparganum by immunohistochemistry. T = tegumentum, EM = epidermal musculature, PM = parenchymal musculature, a, b: Strobila of sparganum elapsed at or on 15th day of infection (a:  $\times 40$ , b:  $\times 400$ ); c, d: Strobila of sparganum elapsed at or on 30th day of infection (c:  $\times 40$ , d:  $\times 400$ ); e, f: strobila of sparganum elapsed at or on 45th day of infection (e:  $\times 40$ , f:  $\times 400$ ).

결과와는 일치되는 소견으로 나타났다. 또한 성장호르몬 양성세포의 과립은 세포질내 전체에 고루 분포하여 Smets 등(1987)의 관찰과 일치하였다. 생쥐와 흰쥐의 서로 상이한 결과는 실험에 사용되어진 동물의 특이성에 기인한 것으로 생각된다.

고충의 감염시 흰쥐에서 성장호르몬 양성세포의 숫적 변화는 감염 30일부터 의미있는 감소를 보이기 시작하여 45일, 60일, 75일에서 가장 많은 감소를 보인다. 이는 고충을 감염시킨 흰쥐의 뇌하수체에서 성장호르몬을 정량분석한 결과 감염 3주 후부터 정상대조군에 비해 유의한 감소를 보



**Fig. 3.** Location of growth hormone-like immunoreactive substance in sparganum by immunohistochemistry. T = tegumentum, EM = epidermal musculature, PM = parenchymal musculature. a, b: Strobila of sparganum elapsed at or on 60th day of infection (a:  $\times 40$ , b:  $\times 400$ ); c, d: Strobila of sparganum elapsed at or on 75th day of infection (c:  $\times 40$ , d:  $\times 400$ ); e, f: Strobila of sparganum elapsed at or on 90th day of infection (e:  $\times 40$ , f:  $\times 400$ ).

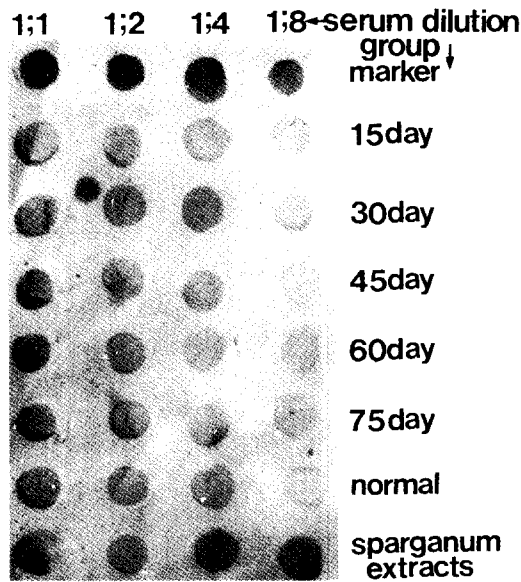
인다는 Garland와 Daughaday 등(1972)의 보고와 일치하는 결과이다. 그러나 감염 90일이되면 정상대조군 및 감염 15일의 수준으로 회복되는데 고충에서 나오는 성장호르몬 유사물질이 초기감염 기간에는 점차 증가하다가 일정기간이 경과된 후에는 감소하기 때문인 것으로 생각된다.

고충 자체내에서 성장호르몬 유사물질의 합성 여부를 규명하기 위하여 성장호르몬에 대한 면역조직화학적염색을 시도한 결과 감염 15일, 30일, 45일, 60일, 75일, 90일째의 모든 고충에서 성장호르몬 양성세포를 확인하였으며 이는 고충의 체내에서 성장호르몬 유사물질이 합성되며 이 물질

**Table. 2.** Intensity of immunohistochemical reaction products to growth hormone in sparganum tissues.

Layer/Day after infection	15	30	45	60	75	90
T	+	+	+++	+++	+++	+++
EM	+	+++	++++	++++	++++	++++
PM	-	+	++	+++	+	-

T; tegumentum, EM; epidermal musculature, PM; parenchymal musculature, ++++; the most intensely stained, +++; intensely stained, ++; moderately stained, +; slightly stained, -; negative reaction.



**Fig. 4.** Growth hormone concentration of marker, sparganum extracts and rats serum (normal and infected serum) by dot-ELISA methods.

은 숙주의 성장호르몬의 구조와 유사할 것으로 추정된다. Steelman 등(1971), Glitzer와 Steelman (1971), Ruegamer와 Phares(1974), Phares와 Carroll(1984), Phares와 Watts(1988)는 고충에 성장호르몬 유사물질이 있다고 보고하였으며 이 유사물질은 인슐린과 같은 기능을 가지는 것이라고 보고하였다. 이와 유사한 보고로서 Hirai 등(1978)은 propylthiouracil(PTU)로 처리한 쥐에서 sparganum 감염은 somatomedin을 유도하여 골격근과 뼈의 성장을 자극한다는 보고와 Meyer 등(1965)과 Phares와 Carroll(1978)은 sparganum에서 나타난 성장호르몬 유사물질이 성장호르몬과 같은 많은 작용을 갖고 있어서 성장을 증가시키거나 자극시킨다는 보고가 있고, *spirometra*

*mansonoides*의 고충은 근육에서 단백질합성, 간에서 ornithin decarboxylase 활성과 경골, 연골에서 세포분열을 자극하고, 또 지방조직에서 직접 그리고 계속적인 인슐린 유사작용을 갖는 성장호르몬과 같은 물질을 만든다는 Steelman 등(1971)의 보고가 있다. 또 Altszuler(1974), Kostyo 등(1984), Merimee와 Rabin(1973)은 *Spirometra mansonoides*의 plerocercoids는 지방조직에 직접적이면서 연속적으로 인슐린과 유사한 효과를 주는 성장호르몬 유사물질을 분비하며 그후 감염의 진행에 따른 항 인슐린 효과는 없다고 보고하였는데 본 실험에서도 sparganum의 성장호르몬을 dot-ELISA로 분석한 결과 감염기일의 경과에 따른 항 인슐린 효과는 나타나지 않았다.

본 실험 결과와 여러 저자들의 보고를 종합하여 볼때 sparganum에서 나온 성장호르몬 유사물질들은 성장호르몬과 같은 기능을 수행하는 것으로 생각되며, 흰쥐를 자극하여 성장은 촉진시키나 feedback inhibition에 의해 흰쥐의 뇌하수체 성장호르몬은 저하될 것으로 생각된다.

Dot-ELISA에 의한 본 실험의 결과로는 감염일에 따른 흰쥐 혈액내 성장호르몬의 변화에는 차이가 없었는데 이는 Garland 등(1972)과, Sharp 등(1982)의 실험결과와 일치하고 있으며 이러한 결과로 미루어 보아 고충이 혈액내로 성장호르몬 유사물질은 방출하나 feedback inhibition에 의해 정상상태로 유지하기 위하여 흰쥐의 뇌하수체 성장호르몬이 저하되어 혈중 성장호르몬의 변화가 없는 것으로 생각된다.

인용문헌

Altszuler, N., 1974. Actions of growth hormone on car-



- bohydrate metabolism. In *Handbook of Physiology: Section F. Endocrinology IV, Part 2, Chapter 31*, pp. 233-252.
- Baker, B. L. and D. Gross, 1978. Cytology and distribution of secretory cell types in the mouse hypophysis as demonstrated with immunocytochemistry. *Am. J. Anat.* **153**: 193-216.
- Boctor, F. N., M. J. Stek, J. B. Peter, and R. Kamal. 1987. Simplification and standardization of dot-ELISA for human schistosomiasis mansoni. *J. Parasitol.* **73**: 589-592.
- Fisher, F. M. 1963. Production of host endocrine substances by parasites. *Ann. N. Y. Acad. sci.* **113**: 63-73.
- Garland, J. T. and W. H. Daughaday, 1972. Feedback inhibition of pituitary growth hormone in rats infected with *Spirometra mansonioides*. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **139**: 497-499.
- Glitzer, M. S. and S. L. Steelman, 1971. The effect of implantation of *Spirometra mansonioides* spargana in the growing rat. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **138**: 610-613.
- Hirai, K., H. Nishida, K. Shiwaku, and H. Okuda, 1978. Studies of the plerocercoid growth factor of *Spirometra erinacei* (Rudolphi, 1819) with special reference to the effect on lipid mobilization *in vitro*. *Jap. J. Parasit.* **27**: 527-533.
- Hirai, K., K. Shiwaku, T. Tsuboi, M. Torii, H. Nishida, and A. Y. Yamane, 1983. Biological effects of *Spirometra erinacei* plerocercoids in several species of rodents. *J. Parasitol.* **69**: 489-499.
- Hsu, S., L. Raine, and H. Fanger, 1981. Use of avidin-biotin peroxidase complex(ABC) in immunoperoxidase technique. *J. Histochem. Cytochem.* **29**: 557-580.
- Kostyo, J. L., S. E. Gennick, and S. E. Sauder, 1984. Diabetogenic activity of native and biosynthetic human growth hormone in the obese (Ob/ob) mouse. *Am. J. Physiol. Res.* **14**: 219-254.
- Lincicome, D. R., 1963. Chemical basis of parasitism. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **113**: 360-380.
- Merimee, T. J. and D. Rabin, 1973. A survey of growth hormone secretion and action: Metabolism. *Clinical and Experimental* **22**: 1235-1251.
- Meyer, F. D., S. Kimura, and J. F. Mueller, 1965. Stimulation of lipogenesis in hamsters by *Spirometra mansonioides*. *J. Parasitol.* **51**: 57-58.
- Mohammed, A. M. and C. K. Phares, 1986. Some biochemical effects of the growth hormone analogue produced by plerocercoids of the tapeworm *Spirometra mansonioides* on carbohydrate metabolism of adipose tissue from normal, diabetic, and hypophysectomized rats. *J. Parasitol.* **72**: 498-506.
- Mueller, J. F., 1968. Growth stimulating effect of experimental sparganosis in thyroid-ectomized and hypophysectomized rats and comparative activity of different species of *Spirometra*. *J. Parasitol.* **54**: 795-801.
- Mueller, J. F., 1970. Quantitative relationship between stimulus and response in the growth-promoting effect of *Spirometra mansonioides* spargana on the hypophysectomized rat. *J. Parasitol.* **56**: 840-842.
- Mueller, J. F., 1974. The Journal of Parasitology: The biology of *Spirometra*. *J. Parasitol.* **60**: 3-14.
- Mueller, J. F., E. P. Hart, and W. P. Walsh, 1963. Human sparganosis in the United States. *J. Parasitol.* **49**: 294-296.
- Phares, C. K. and R. M. Carroll. 1978. Comparison of the effects of the growth hormone factor produced by *Spirometra mansonioides* and growth hormone in diabetic-hypophysectomized rats: Lipid composition. *J. Parasitol.* **64**: 401-405.
- Phares, C. K. and R. M. Carroll, 1984. Insulin-like effected acid synthesis in liver of hamsters infected with plerocercoid of the tapeworm, *Spirometra mansonioides*. *J. Helminthology* **58**: 25-30.
- Phares, C. K. and B. J. M. Booth, 1987. Anti-human growth hormone (GH) antibodies cross-react with the GH-like factor from plerocercoids of the tapeworm *Spirometra mansonioides*. *Endocrinology* **121**: 1839-1844.
- Phares, C. K. and D. J. Watts. 1988. The growth hormone-like factor produced by the tapeworm *Spirometra mansonioides* specifically binds receptors on cultured human lymphocytes. *J. Parasitol.* **74**: 896-898.
- Ruegamer, W. R. and C. K. Phares, 1974. Effects of age on growth and food efficiency response in rats infected with tapeworm larvae. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **146**: 698-702.
- Shaheen, H. L., K. A. Kamal, Z. Farid, N. Mansour, F. N. Boctor, and J. N. Woody, 1989. Dot-enzyme-linked immunosorbent assay (dot-ELISA) for the rapid diagnosis of human faioliasis. *J. Parasitol.* **75**: 549-552.
- Sharp, S. E., C. K. Phares, and M. L. Heidrick, 1982. Immunological aspects associated with suppression of hormone levels in rats infected with plerocercoids of *Spirometra mansonioides* (Cestoda). *J. Parasitol.* **68**: 993-998.
- Shiwaku, K. and K. Hirai, 1982. Growth-promoting effect of *Spirometra erinacei* (Rudolphi, 1819) plerocercoids in young mice. *Jap. J. Parasitol.* **31**: 185-195.
- Shiwaku, K., K. Hirai, M. Torii, and T. Tsuboi, 1983. Effects of *spirometra erinacei* plerocercoids on the growth of Snell dwarf mice. *Parasitol.* **87**: 447-453.
- Smets, G., B. Velkeniers, and E. Finne. 1987. Postnatal development of growth hormone and prolactin cells in male and female rat pituitary. An immunocytochemic-

- al light and electron microscopic study. *J. Histochem. Cytochem.* **35**: 335-341.
- Steelman, S. L., M. S. Glitzer, D. A. Ostind, and J. F. Mueller, 1971. Biological properties of the growth hormone-like factor from the plerocercoid of *Spirometra mansonioides* spargana. *Recent Progress in Hormone Research* **27**: 97-120.
- (Accepted February 29, 1992)

---

**Immunohistochemical Detection of the Growth Hormone-like Substance  
in Sparganum of *Spirometra erinacei***

Myeong Ok Kim, \*Wan Sung Choi, and Chang Hwan Kim (Department of Biology and

\*Department of Anatomy, Gyeongsang National University, Chinju 660-701, Korea)

In this study, we carried out to localize the growth hormone (GH)-like substance in sparganum and to investigate the influence of GH-like substance on the rat pituitary by immunohistochemistry and dot-ELISA. For immunohistochemistry, adult male rats was infected with sparganum for 15, 30, 45, 60, 75, and 90 days, and pituitaries and sparganum itself were dissected out respectively after perfusion with 4% neutral buffered paraformaldehyde. Tissues were embedded and sectioned at the thickness of 5  $\mu$ m. Rabbit anti-rat GH was used as a first antibody and avidin-biotin peroxidase complex (ABC) method was applied. The concentration of GH in rat blood and sparganum was estimated by dot-ELISA using rabbit anti-rat GH and ABC complex. In the pituitary glands of the infected rats, the number of GH secreting cells decreased at 45, 60 and 75 days after first infection, but it retained the normal level at 90 days after infection. The sparganum showed many GH-like substance secreting cells in its tegumentum and epidermal musculature. As infection period was become longer, the tegumentum and the epidermal musculature were stained more intensely. The concentration of GH in the blood of infected rats had no significant difference between the infected and normal groups. Therefore it was strongly suggested that GH-like substance produced by sparganum might stimulate the growth of the infected rat.