

## 肝吸虫에 대한 組織化學的 研究\*

### Histochemical Studies on Clonorchis Sinensis

釜山大學校 醫科大學 寄生蟲學教室

서울大學校 醫科大學 解剖學教室

<指導 羅世振 教授>

朱鼎均

#### I. 緒論

우리나라 風土病으로 알려져 있는 肝吸虫症은 肺吸虫症과 같이 國民保健上 가장 중요한 問題의 하나이다.

肝吸虫에 관한 研究는 McConnel<sup>1)</sup>가 Calcutta에서 中國人의 肝內에서 처음으로 本吸虫을 發見, Cobbold<sup>2)</sup> 외 虫體를 검색하여 이를 Distoma sinensis 라고 命名하고 Leukart<sup>3)</sup>은 本虫을 Distoma spathulatum 이라고 命名하였다.

Baelz<sup>4)</sup>는 日本에서 發見된 本虫을 檢査하여 大小二種說을 提唱하고 大型은 Distoma hepatis innocum, 小型을 Distoma hepatis endemicus, s. perniciosum 이라고 報告하였으나 Blanchard<sup>5)</sup>, Leuckart<sup>3)</sup>, Iijima<sup>6)</sup> 등은 Baelz 說에 對하여 一種說을 主張하였다. Blanchard<sup>5)</sup>는 本吸虫을 Opisthorchis sinensis 라고 報告하였다. Looss<sup>7)</sup>는 本吸虫의 構造를 檢査하여 새롭히 Clonorchis라는 屬을 設定하여 Opisthorchis 屬과 區別하였다.

Looss<sup>7)</sup>는 Baelz 說을 支持하고 大型을 Clonorchis sinensis 라고 부르고 小型을 Clonorchis endemicus 라 불렀으나 兩者間에 區別이 困難하였으므로 信憑性은 稀簿하다 하겠다.

小林<sup>8,9,10)</sup>은 實驗的 및 形態學的 比較研究結果 東洋에 있는 肝 Distoma 는 單一種이라는 것과 本虫의 第2中間宿主는 主로 鯉科(Cyprinidae)인 淡水魚類가 된다는 것을 立證하였다.

武藤<sup>11,12,13,14)</sup>은 本吸虫의 第1中間宿主가 Parafossarulus striatulus var, japonicus 임을 發見하고 磯田 및 二共同研究者는 『五位鰐』에서 本虫의 自然感染을 報告하였으나 小堀<sup>15)</sup>는 이를 追試하여 險性이 있다고 報告하였다.

Khaw<sup>16)</sup>, Faust<sup>17)</sup>는 本吸虫의 虫卵은 仔虫包藏卵이라고 하며 仔虫은 卵殼內에서는 容易하게 運動하지 못하며 長時間 水中에 두어도 孵化하지 않고 第1中間宿主에 섭취된 後에 비로서 孵化한다고 報告하고, 長野<sup>18)</sup>,

Faust<sup>17)</sup>等은 第1中間宿主에 섭취된 後에 孵化를 立證하였다.

武藤<sup>11,12)</sup>은 Parafossarulus striatulus var, japonicus 中에서 一種의 cercaria 를 證明하고 이를 無感染인 『金魚』에 感染시켜 虫體를 획득하였다.

武藤<sup>11,13)</sup>, 長野<sup>18,19)</sup>等은 Parafossarulus striatulus var, japonicus 的 分布와 吸虫症의 流行과 大體로 一致함을 報告하였다.

武藤<sup>13,14)</sup>, 伊藤<sup>20)</sup>等은 水中에 遊出한 cercaria 의 生物學的性質에 對하여 調查하여 魚體內에 있는 metacercaria 가 成熟하기 까지는 25~26日을 要한다고 하며 그以前에 있어서는 設或 終宿主에 섭취된다 하여도 感染되지 않는다고 하였다.

算<sup>21)</sup>은 流行地에서 住民의 食生活狀態를 調查한 바 그中 94%가 淡水魚를 生食하며 36%가 本吸虫에 感染되었다고 한다.

小林<sup>10)</sup>도 人體寄生은 淡水魚類의 生食에 의하여 되는 것이라고 報告하였다.

腸內寄生虫에 관한 組織化學的 研究業蹟을 찾어보면 橫川, 吉村<sup>22)</sup>등은 肺吸虫에 대한 核酸, glycogen, phosphatase 등의 分布를, 岡村, 松下<sup>23)</sup>等은 蠕虫에 있어서의 lipase, phosphatase, glycogen 및 核酸의 分布를, 松下 및 그의 共同研究者<sup>24)</sup>들은 蛲虫類의 phosphatase의 分布를 報告하였다.

吉村, 橫川<sup>22)</sup>는 大肺吸虫 cercaria 的 mucoid gland의 形態에 관하여, 羽田野<sup>25)</sup>는 有棘頭口症 幼虫의 組織化學的研究와 幼虫과 終宿主의 組織反應에 對한 組織化學的研究를, 內田<sup>26)</sup>는 고래(鯨)에 기생하는 Anisakis physetirs, Anisakis catodontis 的 體內核酸 glycogen, fat의 分布를, 石川<sup>27)</sup>는 蠕虫의 筋體壁筋의 構造에 對하여, 山口<sup>28)</sup>는 鈎虫의 幼虫의 대한 조직화학적 연구를, 竹下<sup>29)</sup>는 螺虫의 核酸의 分布를 報告하였다.

Rogers<sup>30)</sup>는 羊의 擴張條虫과 豚蛔虫의 alikaline phosphatase의 分布를, Bullock<sup>31)</sup>는 鱗과魚類에 寄生하는 鈎頭虫 Acanthocephala 의 alkaline phosphatase Lip-

\*本論文의 要旨는 1959年第1回 大韓寄生蟲學會 學術大會席上에서 發表하였음.

ase 糖原質 및 脂質의 分布에 對하여, Kemnitz<sup>40)</sup>는 蠕蟲體內의 糖原質, 脂質의 分布를, 田代<sup>41, 42)</sup>는 人蠕蟲及 豚蠕蟲體內의 脂肪 및 糖原質의 分布를, 鈴木<sup>43)</sup>는 豚蠕蟲의 糖原質에 관한 研究等 많은 업적이 發表되었고 이方面的 研究가 枚舉할 수 없는 티이다.

그러나 肺吸虫에 대한 組織化學的研究로서는 澤田<sup>32)</sup>의 吸虫類各 發育段階에 있어서의 glycogen 과 脂肪에 대한 報告와 Kajiro<sup>34)</sup>의 人體 및 動物의 寄生體內 glycogen의 分布를, 高木<sup>35)</sup>는 肝吸虫의 微細構造에 대하여 報告한 바 있으나, 특히 新로운 組織化學的 證明法으로서 檢討를 加한 것은 著者, 寡聞敘는 것 같다. 이에 著者は 肝吸虫의 成虫을 材料로 하여 組織化學的 觀點에서 虫體代謝가 가장 重要하다고 생각되는 各種物質의 分布와 虫體의 組織學的 微細構造를 追究할 目的으로 本實驗을 尋圖하여 詳細히 比較觀察하고 興味 있는 所見을 얻으므로 報告하는 바이다.

## II. 研究材料와 그 方法

本研究에 供한 材料로서는 成熟한 肝吸虫을 使用하였다. 肝吸虫은 釜山醫科大學 病理學教室과 陸軍中央醫務試驗所에서 取扱한 屍體에서 剖檢時 採集된 것 들이다. 採取한 成虫은 直接 中性 formalin, absolute alcohol cool aceton 및 Carnoy 氏液에 固定處理하여 paraffin 包埋 혹은 凍結切片을 만들어 各種物質 檢索을 為한 特殊染色法으로 染色한 後 檢鏡하였다.

染色方法 및 그 所見은 各項에서 說明하였다.

## III. 研究所見

### 1) Potassium<sup>36, 37)</sup>의 分布

新鮮組織을 凍結切片을 作成한 後 Macallum 變法<sup>56, 62, 63)</sup>으로 染色하였다. 所見은 다음과 같다.

體壁組織<sup>8, 9, 22, 47)</sup>은 角質, 角質皮下層 및 網狀組織으로 區分되어 있는데 角質은 同質無構造이고 構造는 層狀 혹은 線條狀으로 配列되어 있다. 角質皮下層은 普通三層으로 構成되어 있고 最外層은 橫走, 中間層은 縱走最內層은 斜走한다. 角質皮下層細胞는 主로 紡錘形이고 圓形核이 細胞中央에 位置하고 있다. 一部細胞는 西洋梨子型 혹은 星芒狀으로 數個의 原形質突起를 가졌다. 이것으로 相互結合하여 網狀을 만든다.

網狀組織<sup>8, 9, 22, 47)</sup>은 泡狀形 혹은 網狀을 有하여 網狀組織核 形狀은 角質皮下層細胞의 核과 恰似하다. 各細胞로부터 數個의 突起가 나오며 突起는 거의 波狀으로 行走하여 隣接器官과 接合된다. 突起속에는 纖維狀構造를 가졌다. 이 網狀組織細胞들은 子宮, 貯精囊, 皮下筋肉層, 吸盤 및 咽頭의 周邊에 多이 있다.

Potassium染色所見은 角質은 淡黃褐色을 有하여 均等하게 着色되었고 陽性微細顆粒도 發見하지 못하였다.

角質皮下層은 角質과 性似한 所見을 보여주며 網狀組織細胞에 比하여 極히 微細한 大小不同 黑褐色 顆粒이 diffuse하게 나타났다.

網狀組織細胞에 있어서는 部分으로 黑色으로 濃染되는 部分과 黑褐色으로 淡染되는 部分이 있어 染色像이 區區하였다. 顆粒形態에서도 大小不同한 黑色顆粒이 集簇되어 塊狀을 有한 部分도 있으나 一般的으로는 大小不同한 黑色微細顆粒이 平等하게 分布되어 있었다.

消化器<sup>8, 9, 22, 47)</sup>: 吸盤은 半球狀器官이며 그 內腔은 角質로 둘러싸였다. 細胞는 一層으로 巨大細胞뿐이다.

筋肉層은 外側은 縱走, 中間部는 放射狀으로 行走하고 內側은 橫走한다.

食道: 內腔은 角質로 被覆되어 있고 筋肉層은 外側은 縱走, 內側은 橫走하는 2層으로 되었다.

腸壁은 單層方形 혹은 圓柱狀上皮細胞로 구성되었다. 筋肉層은 食道部와 性似하다.

腸內容은 膽汁, 血球, 上皮細胞, 粘液等이 들어 있다.

消化器에 對한 potassium 染色像은 다음과 같다.

吸盤은 本染色에서 比較的的形態가 均一한 淡黑褐色 微細顆粒으로 均等하게 染色된다. 그러나 上記한 다른 組織과 比하면 微弱한 染色反應을 나타낸다.

食道은 吸盤의 染色所見과 類似하며 腸에서도 腸內容에 있어 濃黑色으로 染色된 顆粒이 塊狀으로 集簇한 것을 보여주며 腸壁에서도 部分으로 微細顆粒이 集簇되어 線狀으로 腸內腔面에 附着되어 있는 濃黑色 顆粒을 有하였다.

生殖器<sup>8, 9, 22, 47)</sup>: 卵黃腺 子宮 및 子宮內虫卵은 本染色에서 黑褐色 顆粒狀으로 濃染되었다.

子宮虫卵은 특히 卵殼이 黑染되었으며 卵黃腺은 子宮에 比하여 濃染되었다. 그러나 雄性生殖器인 睾丸 輪精管等은 前者에 比하여 淡黑褐色으로 淡染되었고 顆粒形態로 鮮明하지 못하였다.

### 2) Calcium<sup>36, 27)</sup>의 分布

虫性 formalin 과 absolute alcohol로 固定한 後 凍結切片作成하여 Kóssa 硝酸銀法<sup>54, 57, 62, 63)</sup>과 alizalin, S 直接證明法<sup>54, 63)</sup>으로 染色하였다. 그 所見은 다음과 같다.

角質은 Kóssa 法으로 淡黃色으로 染色되어 alizalin, S 法으로는 淡紅青色으로 着色된다. 이것은 兩法 모두 角質에서는 calcium를 證明할 수 없는 것으로 생각된다.

角質皮下層筋肉細胞 및 網狀組織은 Kóssa 法으로 黑色 微細顆粒狀으로 染色되었다.

Alizalin, S 法으로는 Kóssa 法과 같은 鮮明한 染色所見은 얻지 못하였으며 淡青紅色을 有한 極히 적은 顆粒이 分布함을 보았다.

消化器系: 口吸盤, 咽頭, 食道 및 腸上皮細胞等은 Kóssa 法으로 濃染되어 淡黑褐色 顆粒을 有함으로 判定하기 困難하였다.

Alizalin, S法으로는 상기조직이 보다 淡紅色으로 着色되었다. 이것은 隱性을 의미한다. 상기한바 Kóssa法과 alizalin, S染色上 着色狀態의 差異는 虫體의 幼若 및 年齡에 의하여 생긴것이 아닌가 생각된다.

生殖器系: 睾丸, 子宮, 子宮內虫卵 및 卵黃腺等은 Kósea法으로 黑色으로 染色된다. 卵黃腺은 腺胞體가 Kóssa法으로 濃染되는 部分과 淡染되는 部分이 있어 染色像이 區區하다. 子宮壁은 微細黑色顆粒이 均等하게 配列되어 있고 子宮內虫卵은 卵殼은 深黑褐色이며 均等하게 着染되고 卵黃細胞은 黑褐色으로 開闊開闊 黑色으로 濃染된 顆粒이 發見된다.

睾丸 外廓部에서도 染色像이 鮮明하지 않으나 精細胞는 虫卵에 比하여 深染되나 微弱한 染色反應을 呈하였다.

Alizalin, S法으로도 상기한바 Kóssa法 染色所見과 恒似하다. Kóssa法에 比하여 染色像이 鮮明치 못하였다.

### 3) Magnesium의 分布<sup>36,37)</sup>

Alcohol 固定後, Paraffin 包埋 切片作成하여 alkaline hypoiodite法<sup>62,63)</sup>으로 染色하였다. 本法으로서는 虫體全臟器中 magnesium을 證明하지 못하였다.

### 4) 鐵의 分布<sup>36,37)</sup>

中性 formalin 固定後, paraffin 包埋 切片作成하고 Perls Stieds法<sup>62,63)</sup>으로 染色하였다. 鐵染色法은 여리方法이 있다.

여기에서는 直接可證性 鐵染色法을 實施하였다. 그 染色所見은 다음과 같다.

角質은 本染色法으로 何等 反應하지 않으며 染色되지 않았다.

角質皮下層과 網狀組織은 淡青藍色 혹은 青綠色을 呈한 顆粒들이 散在하고 있음을 보았으며 顆粒은 一般的으로 小形이였고 둥근 모양을 하고 있었다.

口吸盤, 咽頭, 食道와 盲腸에서는 一般的으로 染色反應이 微弱하나 그中 腸上皮細胞에서는 前者에 比하여 多少 強하였다. 腸上皮細胞는 极히 적은 青色顆粒이 線狀으로 配列되어 있으며 吸盤, 咽頭 및 食道部에서는 筋肉內에大小不同한 青綠色 顆粒이 分散되어 있었다.

睾丸組織內에서는 本染色에 微弱한 反應을 呈하였고 子宮 및 卵巢는 前者에 比하여 強하였다. 鐵의 分布를 判定하기 困難하였다. 그러나 子宮內虫卵과 卵黃腺은 青藍色顆粒이 濃染되고 卵黃腺에서는 顆粒이 集簇하여 塊狀을 呈하였다.

### 5) 糖原質의 分布<sup>22,32,33,35)</sup>

虫體를 中性 formalin液과 Carnoy氏液으로 固定하여 paraffin 包埋한 후 切片作成하고 Periodic Acid-Schiff反應<sup>54,56,57,62,63)</sup>(以下 P.A.S로 略)과 Best carmin法<sup>62,63)</sup>으로 染色하였다.

上記 P.A.S反應은 糖原質以外에 多糖質을 染色시킴

으로 切片을 唾液으로 糖原質을 消化시킴으로서 確認하고 Best carmin染色과 比較觀察하여 糖原質을 決定하였다.

體壁組織中 角質은 P.A.S反應에 多少 反應을 보여 赤紫色을 呈示하였다. 그러나 唾液反應으로 染色되지 않으므로 角質에는 糖原質의 分布를 確證하기 困難하였다.

角質皮下層筋肉細胞內에는 P.A.S反應에 赤紫色으로 染色되는 微細顆粒이 diffuse하게 配列되어 있다. 그러나 陽性所見을 가진 部分中 唾液反應으로 一部는 消失되고 一部는 消失되지 않은 部分도 있었다.

Best carmin染色所見은 P.A.S反應에 比하여 錐敏하지 못하며 染色된 顆粒은 前者에 比하여 크고 柔軟한 感을 呈하였다.

이것은 筋肉組織內에는 糖原質以外에 単糖質이 分布되어 있음을 立證하는 것이라고 생각된다.

網狀組織間은 Best carmin染色에 一般的으로 強陽性이다. 그 染色所見은 大小不同의 顆粒이 集簇하여 部分的으로 塊狀으로 赤染되는 것이 組織間에 分散되고 있다.

P.A.S反應도 赤紫色으로 濃染되나 唾液反應에 의하여 용이하게 消褪되었다.

특히 Best carmin染色과 P.A.S反應의 현저한 部分은 口吸盤 및 腸上皮細胞와 生殖器系中 子宮, 卵巢周邊이였다.

卵黃腺의 腺細胞의 胞體內에는 Best carmin染色으로粗大한 微細顆粒이 充滿하여 있다. P.A.S反應에 대하여는 濃赤紫色으로 染色된 顆粒이 均等하게 分布되어 있다.

卵巢에서의 糖原質의 分布는 Best carmin染色과 P.A.S反應으로 잘 染色되지 않는다. 詳記하면 卵巢의 外廓周邊部 細胞群에는 小形圓形細胞가 群集하여 있으며 中心部는 큰 核을 가진 細胞가 配列하고 있다. 外廓周邊部細胞群은 Best carmin染色으로 星色되고 細胞가 鮮明하게 보이지 않으나 中心部細胞은 前者에 比하여 鮮明하였다.

P.A.S反應所見은 外廓周邊部細胞群은 赤紫色으로 均一하게 染色되었다. 唾液反應으로도 消失되고 있었다. 그러나 中心部細胞는 前者에 比하여 赤紫色으로 染色되나 唾液反應으로 一部褪色하는 것 있다. 即 卵巢細胞中 糖原質을 保有하고 있음을 알 수 있다.

子宮의 上皮細胞와 子宮壁筋肉細胞에서는 Best carmin染色에 反應하지 않았으며 P.A.S反應으로 染色된 部分도 唾液反應으로 消褪되지 않았다.

子宮內虫卵은 虫卵中 卵殼이 完成된 卵黃細胞에서 Best carmin染色으로 赤紅色으로 P.A.S染色되었고 反應으로도 赤紫色으로 染色되었다.

睾丸은 그 外廓部가 未分化된 精細胞로 配列되어 있으며 中心으로 移行함에 따라 分化된 精細胞가 配列되었다. 精細胞는 P.A.S反應으로 赤紫色으로 星色되어

唾液反應으로 消褪되지 않았다. Best carmin 染色으로 도 잘 染色되지 않으며 染色像이 鮮明하지 못하여 濃淡의 差가 部分의로 현저한 部分이 있었다.

消化器系中 口吸盤, 咽頭와 食道部는 Best carmin 染色으로 配列되어 있다.

P.A.S反應所見도 赤紫色으로 濃染된 顆粒이 不規則하게 응합되어 마치 둘을 쌓아 올린듯한 形狀를 하였다. 그러나 唾液反應 結果 色調가 消褪되었다. 腸上皮細胞에서는 筋肉層과 其底部는 P.A.S反應으로 赤紫色으로 濃染되고 上皮細胞는 前者에 比하여 淡染되었다.

Best carmin 染色에 있어서도 前 P.A.S反應所見과一致되었다.

#### 6) 核酸의 分布<sup>22, 35, 47)</sup>

核酸의 分布를 完明하기 위하여 Feulgen-Rossmbeck反應<sup>54, 56, 57, 62, 63)</sup> 과 Taft法<sup>62, 63)</sup> 및 Stein et Gerarde法<sup>62, 63)</sup>, toluidin blue, Kurnick-Pollister法<sup>62)</sup>을 實시하였고 兼하여 核酸除去試驗을 위하여 Erickson, Sax et Ogur法<sup>62, 63)</sup>, Schneider法<sup>62, 63)</sup>을 併行하였다.

本研究에서도 前述한 바와 같이 Carnoy氏液 formalin, alcohol 固定液과 中性 formalin으로 固定한 후 paraffin 包埋 切片을 作成하여 각종 特殊染色을 實施하여 얻은 所見은 다음과 같다.

體壁組織中 角質은 Feulgen反應과 Taft法으로 赤紫色으로 染色되나 Erickson, Sax et Ogur法과 Schneider法으로 完全히 除去되므로 核酸은 分布되어 있지 않다.

角質皮下層筋肉細胞는 一般的으로 Feulgen反應에 紅色으로 淡染되고 Taft染色으로는 pyronine好性 細胞中 점점이 methylgreen으로 染色된 核이 散在하고 있다. 따라서 細胞體內核質에는 desoxyribonucleic acid(以下 D.N.A로 略記)가 分布하고 있고 細胞內에는 ribonucleic acid(以下 R.N.A로 略記)가 分布하고 있음을 알았다.

Stein et Gerarde法과 Taft法을 比較觀察한 바 固定液의 PH에 의하여 反應程度의 差가多少 있음을 확인하였다.

Taft法 固定液의 pH는 7.0~6.9이였고 Stein et Gerarde法 固定液의 pH은 5.6~6.8이였다.

染色所見上 後者가 前者에 比하여 染色이 鮮明하였고 判讀이 容易하였다. 核酸反應을 確認하기 위하여 Erickson, Sax et Ogur法을 實施한 바 角質皮下層細胞에서는 methylgreen好性과 Pyronine好性이 현저히 不良하여지며 完全히 消褪되어 D.N.A와 R.N.A의 分布를 確認하였다.

더욱 정확을 期하기 위하여 Schneider法을 實시하여 그 所見과 前者所見과 比較하였던 바 同一하였다.

網狀組織에 대한 Feulgen反應所見은 赤紫色으로 染

色된 微細顆粒이 散在하고 있었다. Taft法과 Stein et Gerarde法으로는 pyronine好性顆粒이 methylgreen好性顆粒보다 強하며 methylgreen好性顆粒은 巨大細胞內에서 散見되었다. Schneider法으로 R.N.A陽性部가 消去된 후에도 一部 淡紅色으로 着染된 것도 있어 共染된 것으로 생각하고 判定을 주저하였으나 Erickson, Sax et Ogur法으로도 上記한 바 所見과 同一하여 大部分의 色調가 消褪된 것으로 보아 R.N.A陽性이라고 볼 수 있다.

그러나 상기 所見을 확정하기 위하여 Toluidine blue法을 實시하였던 바 網狀組織細胞가 青紫色 혹은 青綠色으로 星色함으로 R.N.A의 分布는 확실하다.

卵黃腺의 腺細胞는 Taft法과 Stein et Gerarde法으로 pyronine에 好染되어 赤紅色으로 色調된다. 또한 腺細胞核內에는 methylgreen에 好染되어 綠色으로 染色된다.

一般的으로 卵黃腺에서는 部分의로 pyronine好性이 methylgreen好性보다 强한 感이 있다. feulgen反應은 弱한 反應을 보여 주며 淡赤紫色으로 着色된다.

Erickson, Sax et Ogur法과 Schneider法을 併行하여 상기 所見을 확인하였던 바 一部에서는 核酸이 消去되지 않음을 알았다. 따라서 卵黃腺에는 D.N.A와 R.N.A가相當히 分布되어 있다고 본다.

橫川, 吉村<sup>22)</sup>는 肺吸虫에 있어서 卵黃腺內의 R.N.A는 虫卵殼의 主成分이 되는 蛋白體의 碇石이 된다고 하였다.

卵巢에서도 卵黃腺과 類似한 核酸의 分布를 볼 수 있었다. Feulgen反應과 Taft法 Stein et Gerarde法의 染色所見도 卵黃腺의 所見과 類似하였다. 따라서 卵巢에는 R.N.A와 D.N.A의 分布가相當히 많음을 알았다. 그러나 卵巢被膜直下 小型未分化卵母細胞에서는 R.N.A와 D.N.A가 混合하여 分布되어 있다. 또한 中心部의 分化된 細胞體 특히 核이 分化되어 가는 細胞群에서는 R.N.A가 D.N.A보다 많이 分布되어 있음이 相違할 뿐이다.

其他 輸卵管上皮細胞에서도 R.N.A와 D.N.A가 混合 分布되어 있다.

子宮壁筋細胞, 子宮上皮細胞에서도 Feulgen反應, Taft法과 Stein et Gerarde法所見과 Schneider法, Erickson, Sax et Ogur法所見이 卵黃腺 및 卵巢의 核酸分布와 怡似하다. 그러나 子宮에서는 卵細胞가 子宮內含有比에 의하여 R.N.A와 D.N.A의 分布에 差異가 없게 된다. 一般的으로 子宮에서는 R.N.A 分布가 D.N.A보다 향상 많은 分布를 보여 주고 있다.

睾丸은 Feulgen反應에서 赤染된 微細顆粒이 密集되어 있다. 특히 睾丸邊緣部보다 中心部 細胞內에서 현저하게 赤染된 微細顆粒이 配列되어 있다. Taft法과 Stein

et Gerarde 法으로는 周邊部에는 Pyronine 好性이 강하여 赤紅色의 微細顆粒이 罗列되어 있고 中心部는 Methylgreen 好性細胞가 罗列되어 있다. Schneider 法과 Erickson, Sax et Ogur 法으로 잘 消去되었다. 이상 所見으로 보아 睾丸의 精細胞內에는 D.N.A 가 豐富하게 分布되어 있다고 생각된다.

腸上皮細胞는 Taft 法과 Stein et Gerarde 法으로 pyronine 好性으로 紅染되며 특히 上皮細胞 基底部 色調가 濃厚하다. methylgreen 好性으로 青綠染色된 것도 基底部細胞核에서 散見할 수 있다.

Feulgen 反應은一般的으로 弱하며 淡赤紫色으로 呈色되나 判定하기 困難하다. Schneider 法과, Erickson, Sax et Ogur 法으로는 消去되어 黃綠色으로 보여지며 一部綠色으로 보여지나 大部分色調가 消去됨으로 R.N.A의 分布를 확증하기 위하여 困難하다고 생각된다.

腸壁筋層에서도 前者와 같은 所見을 보여주어 核酸의 分布를 확증하지 못하였다.

### 7) Phosphatase 的 分布<sup>22, 35, 47, 48, 49)</sup>

前述한 바와 같이 剖檢時に 採取된 虫體는 곧冷 acetone 으로 고정하여 ice box 內에 所定期間 두었다가 實驗하였다.

Alkaline phosphatase 는 高松法<sup>48, 62, 63)</sup>으로, acid phosphatase 는 武內, 田上法<sup>49, 50, 62, 63)</sup>을 利用하여 檢索하였다. 研究所見은 다음과 같다.

體壁組織의 角質과 角質皮下層基底膜은 高松法<sup>48)</sup>으로 淡黑褐色으로 均等하게 染色되었다. 武內, 田上法<sup>49)</sup>으로도 淡黑褐色 微細顆粒이 均等하게 配列되었다. 角質皮下層筋肉細胞에서도 상기한바 소견과 동일하였다. 따라서 acid phosphatase 와 alkaline phosphatase 가 모다 弱한 陽性反應을 显하였다. 網狀組織은 武內·田上法으로나 高松法으로 角質과 角質皮下層에 比하여 濃染되며 武內·田上法으로는 高松法에 比하여 濃染되었다. 즉 acid phosphatase 가 alkaline phosphatase 보다 多少 強하게 反應되었다고 생각된다.

口吸盤과 咽頭는 武內, 田上法으로 黑褐色으로 濃染되고 高松法으로는 黃褐色으로 染色되었다.

腸上皮細胞는 高松法과 武內·田上法으로 모다 黑褐色으로 染色되었다. 腸壁筋肉細胞도前述한 바 上皮細胞와 같은 所見이었다.

排泄囊은 武內田上法으로 濃黑褐色으로 染色되나 高松法으로는 比較的 淡染되었다.

卵黃腺 및 導管壁은 acid phosphatase 와 alkaline phosphatase 가 모다 陽性으로 나타났다. 卵巢는 兩者染色法으로 比較的 黑褐色으로 濃染되었다.

子宮上皮細胞는 武內·田上法으로 黑褐色으로 濃染되며 粗大微細顆粒이 分散되어 있었다.

高松法으로는 前者에 比하여 顆粒의 크기가 細小하며 染色像도 比較的 黑褐色으로 淡染되었다.

虫卵과 卵黃細胞는 武內田上法에 濃染되며 卵殼은 淡染되었다. 一般的으로 雌性生殖器系에 있어서는 acid phosphatase 가 alkaline phosphatase 보다 更強하게 反應하는 傾向이 濃厚하였다.

睾丸은 acid phosphatase 와 alkaline phosphatase 모두 陽性으로 나타났다. 그中에서도 acid phosphatase 가 更強하게 反應되었다.

### 8) 脂質의 分布<sup>22, 31, 32, 33, 35)</sup>

採取된 新鮮虫體를 곧 中性 formalin 고정 후 凍結切片을 작성하였다.

특수 염색법으로 Daddi 染色法<sup>54, 62, 63)</sup>과 Smith-Kleeburg 染色法<sup>62, 63)</sup>으로 檢色하였다. 그 所見은 아래와 같다.

體壁組織을 Daddi 氏 Sudan III로 淡黃赤色으로 染色되는 部分이 散在되어 있다. 특히 角質과 角質皮下層은 大部分이 染色되지 않음을 보아 Sudan III에 잘 反應하지 않는 것으로 생각된다.

또한 Smith-Kleeburg 法으로 nile blue sulfate 染色像을 觀察한 바 青紫色으로 染色되나 1% acetic acid 溶液으로 一定時間 作用시킨 結果 變色됨으로 共染된 것으로 생각된다. 網狀組織間에는 sudan III 染色으로 赤橙色으로 濃染되는 顆粒이 많으며 部分의 塊狀 혹은大小不同의 微細顆粒이 染色된다. nile blue sulfate 染色으로도 sudan III 染色보다 顆粒形態가 鮮明하게 染色되어 大小不同의 微細顆粒狀으로 染色됨을 보았다. 脂肪染色으로 濃染되는 部分은 口吸盤과 腸吸盤 사이에 網狀組織間內物質이며 그밖에도 腸上皮細胞와 子宮周邊 網狀組織間에 脂質分布가 많은 것으로 생각된다. 卵黃腺은 Sudan III 染色으로 잘 染色되지 않으며 部分의 赤色 혹은 橙色으로 淡染된다. nile blue sulfate 染色으로도 淡染되며 細胞內의 微細顆粒을 確認하기 困難하였다.

卵巢周邊部 細胞群에 있는 小形圓形細胞는 Sudan III 染色으로 赤色으로 淡染된다.

Nile blue sulfate 染色도 青紫色으로 淡染되며 顆粒이 分明치 못하여 一見 共染된 感을 주므로 1% acetic acid 溶液에 充分히 處理를 加하고 水洗도 精到히 한 所見으로는 顆粒의 分布가 확실하였다.

卵巢中央部 細胞群은 sudan III 染色에 있어서 大小의 顆粒이 赤橙色으로 染色되었다. 또한 nile blue sulfate 染色으로도 前者와 같은 각양의 顆粒이 青紫色으로 鮮明하게 染色되었다.

受精囊은 sudan III 染色과 nile blue sulfate 染色上 모두 好染되며 周邊部와 中心部間에 染色性의 差를 發見하지 못하였다. 受精囊 内容 細胞는 脂質染色上 一見 diffuse 하게 着色된 塊狀으로 나타난다.

子宮壁筋肉細胞에서는 卵巢所見과 性似하다. 그러나 子宮起始部와 子宮體部를 比較하여 보면 Sudan III 染色上 前者가 淡染되고 後者가 濃染되었다. 특히 子宮內

虫卵으로 分化가 잘된 卵黃細胞에서는 sudan Ⅲ 染色으로 赤橙色으로 好染되었다. 또한 nile blue sulfate 染色所見도 前者와 같이 青紫色으로 染色되었다.

睾丸은 sudan Ⅲ 染色으로 濃染되는 細胞도 있고 淡染되는 細胞도 散在하고 있어 染色性이 區區하였다. 그러나 nile blue sulfate 染色으로는 sudan Ⅲ 染色과 같은 所見이 있기는 하나 그 程度가 심하지 않았다.

腸은 sudan Ⅲ 染色으로 赤橙色으로 濃染되어 盲腸末端部가 현저하게 染色되고 그 밖에 吸盤도 濃染되었다.

Nile blue sulfate 染色으로도 sudan Ⅲ 染色 所見과 性似하나 吸盤部에 metachromasy 가 현저하여 腸末端部에는 심한 metachromasy 는 없었다.

#### IV. 考 察

著者は 肝吸虫體의 各組織을 여러 組織化學的 檢索法에 依하여 檢討하여 다음과 같은 結果를 얻었다.

Potassium 는 生殖器系器官內에 豊富하게 分布되어 있으며 특히 子宮, 子宮內虫卵과 卵黃細胞, 卵黃腺 및 輸卵管等이 濃染되어 強陽性이다. 그 밖에는 모두 隱性이었다<sup>36, 37)</sup>.

Calcium 은 體壁組織에서 陽性이며 消化器系器官中 吸盤, 咽頭食道 및 腸上皮細胞에 나타나며 alizalin, S 染色으로 赤紫色 혹은 Kóssa 染色으로는 黑色으로 染色되었다. 그러나 生殖器系器官中 雌性生殖器는 大部分 隱性이였다. 단지 雄性生殖器官인 睾丸과 輸精管은 強陽性이었다<sup>36, 37)</sup>.

Magnesium 은 全장기中에서 證明하지 못하였다<sup>36, 37)</sup>.

鐵은 角質에서 隱性이였고 網狀組織은 青藍色으로 淡染되었다. 吸盤, 食道와 腸管 및 그 內容은 陽性이였다. 또한 卵黃腺을 除外한 生殖器官은 隱性이였다.

以上 著者が 實驗에서 얻은 成績과 先人들의 研究을 比較考察하여 보면 山田, 兵藤<sup>38)</sup>은 蠕虫에 대하여 組織化學的으로 Ca, K, Fe, Mg, Cu, Mn. 等의 分布를 調査發表하였으며 Ca과 Fe는 程度 및 分布의 差異는 있으나 中腸上皮, 角質皮下層, 側線과 正中線 및 基礎組織에서 證明하였다.

山田, 村上, 鈴木<sup>37)</sup>는 豚蛔虫에 대하여 組織化學的으로 Ca, Mg, Fe, Mn, Cu, Al, Zn, Ag, Hg, S. Co. 的 分布를 調査한바 部位에 따라 程度 및 分布에 差異가 있다고 하였다. 即 Mn, Cu는 어느 장기중에서도 證明하지 못하고 Ca과 Fe, Mg의 分布는 前記 山田, 兵藤<sup>36)</sup>의 業蹟과 類似하였다. 이는 興味있는 것으로 생각된다.

本實驗에서 Ca, K의 分布는 生殖器系장기中에 大部分이 分布되어 있었으며 특히 角質皮下層筋肉細胞와 網狀組織에서는 Ca은 確證되었으나 K은 確證되지 못한 것으로 보아 山田, 兵藤<sup>36)</sup>의 蠕虫에서의 成績과 山田, 村

上<sup>37)</sup>의 豚蛔虫에서의 成績과 比較하여 K의 分布는 動物에 따라多少 差異가 있음을 알았다.

Nowinskis, Saez<sup>55</sup>는 脊柱動物의 組織細胞에서 K-ion과 Ca-ion은 特히 外被를 硬化하게 하는데 큰 意義가 있다하여 그 中에서도 Ca-ion含有에 따라 左右된다고 한다. Na-ion과 K-ion은 前者와 反對로 外被를 軟化한다고 하며 Na-ion과 K-ion이 많을 때에는 外被를 分散된다고 한다. 一方 細胞質이 表面膜形成에도 Ca-ion과 K-ion이 필요하다고 하며 Na-ion은 그 形成作用을 抑制한다고 하였다. 특히 K가 雌性生殖器系器官內에相當히 分布되어 있는 것으로보아 卵殼形成에 큰 意義를 갖고 있다고 생각되며 Nowinskis, Saez의 說과 比較하여 볼때 K와 Ca이 虫體內에 있어서 役割이 至大하다고 생각된다.

勝沼<sup>38)</sup>는 動物體內의 鐵分은 細胞의 顆粒에 結合하여 存在하고 그 有無多少는 細胞의 機能과 密接한 關係가 있다고 하였다. 특히 鐵分은 上皮細胞內에 多量으로 含有되어 있으며 支持組織과 Glia 細胞등에는 깊은 장기과 할지라도 部位에 따라 生理的 病理學的 傾向에 따라 그 反應에 強弱의 變化가 심하다고 하였다.

肝吸虫에 있어서는 消化器系上皮細胞와 網狀組織內 鐵分 分布狀況을 考察하여 보면 상기한바 事實과 符合되며 肝吸虫에 있어서도 鐵分은 細胞의 組織呼吸等과 緊密한 聯關係이 있는 것으로 생각된다.

若林<sup>39)</sup>는 蠕虫體成分으로서의 鐵에 대한 報告中 蠕虫體內에 있어서의 鐵은 他動物에 있어서와 같이 自己生活力を 保持하기 위하여 必要한 無機營養素라고 하였다.

吸虫類의 糖原質의 分布에 관한 先人們의 報告中 橫川, 吉村<sup>22)</sup>는 肺吸虫의 糖原質의 分布는 網狀組織, 卵黃腺, 子宮內虫卵의 卵黃細胞와 角質皮下層筋肉細胞내에 현저하다 하였다. 또한 糖原質以外의 糖質(所謂 多糖質)은 角質皮下層筋肉細胞, 卵黃腺, 卵巢, 睾丸과 子宮內虫卵의 卵黃細胞에도 分布되어 있다고 報告하였다.

肝吸虫에 있어서의 糖原質의 分布는 角質皮下層筋肉細胞, 網狀組織, 子宮內虫卵, 卵黃細胞, 口吸盤, 咽頭, 食道와 腸壁細胞에 反應이 陽性으로 나타났다. 또한 角質 卵黃腺, 卵巢, 睾丸과 受精囊等에는 糖原質以外의 糖質이 分布되어 있음을 보아 橫川, 吉村<sup>22)</sup>가 發表한 바 肺吸虫의 糖原質의 分布와 거의 一致됨을 알 수 있다. 그러나 分布程度와 部位에多少 差異가 있는 것 같다. 상기의 성적으로 미루어 보건대 糖質은 主로 糖原質로서 虫體의 主要器官인 生殖器系의 장기와 腸等의 支持組織인 網狀組織內에 分布하고 있음이 알려졌다. 澤田<sup>22)</sup>는 肝吸虫의 各發育段階에 있어서 糖原質의 分布를 검색한바 있고 岡村, 松下<sup>23)</sup>는 蠕虫에 對하여 糖原質의 分布를 검색하여 상기한바 성적과 同一한 所見을 報告하였다.

肝吸虫에 있어서도 糖原質의 저장부위가 主로 上述한 각主要장기의 支持組織인 網狀組織에 糖原質이 많이 分布되어 있는 것은 각主要장기의 新陳代謝와 密接한 關係가 있는 것으로 생각된다.

組織內에 豐富히 저장된 糖原質은 아마도 宿主에서 섭취된 血液과 體液內 糖原質에 由來하는 것으로 보며 장관벽을 통하여 일단 網狀組織內에 贯장되였다가 主要장기의 生理的作用에 消費되는 것으로 생각된다.

其外에 糖原質은 比較的 豐富하게 角質皮下層筋肉細胞와 子宮內虫卵에 저장되어 있다. 角質皮下層筋肉細胞內의 糖原質은 虫體의 運動에 所要되는 energy 源이 될 것이며 卵細胞內의 糖原質은 卵細胞分化에 必要한 energy 源이 되는 것으로 생각된다. 糖原質以外의 多糖質에 대하여는 아직 分明치 않으며 그 分布狀態가 糖原質의 分布部位와 並行하고 있음을 알았다.

著者는 肝吸虫의 虫體內 核酸分布狀況을 細胞化學的觀點으로 검색하여 보았다.

R.N.A는 卵黃腺에 극히 豐富하게 分布되어 있으며 그밖에 角質皮下層筋肉組織, 卵巢, 睾丸과 子宮에도 相當히 分布되어 있었다<sup>22, 35, 47)</sup>.

D.N.A는 睾丸과 卵巢에 豐富하게 分布되어 있으며 子宮內虫卵에서도 R.N.A가 相當히 分布되어 있었다. 其他 腸上皮細胞에는 R.N.A가 若干 分布되어 있다.

上記 모든 성적으로 각 장기내에 D.N.A와 R.N.A의 分布에 特性이 있음을 알았다. 橫川, 吉村<sup>22)</sup>는 肺吸虫內核酸分布를 調査하고 R.N.A가 卵黃腺에 豐富하게 分布되었으며 그밖에 角質皮下層筋肉細胞, 卵巢, 睾丸과 子宮등에도 卵黃腺에 뜻지 않게 分布되어 있다고 한다. 卵黃腺에서 R.N.A는 本吸虫의 卵殼形成에 關與하는 것으로 推定된다고 하였다. 또 生殖器官과 卵黃細胞內에 있는 D.N.A는 細胞內에 分布하고 있는 糖原質과 같이 生殖器官과 卵細胞의 發育分化에 關與한다고 하였다. 한편 D.N.A는 특히 睾丸과 卵巢內에 豐富히 分布되어 있으며 D.N.A의 Turn over는 細胞의 分裂과 關係하고 있는 点으로 보아 意味가 있다고 報告하였다. 肝吸虫에서도 R.N.A는 卵黃腺에 豐富히 分布하며 角質皮下層筋肉細胞, 卵巢와 睾丸등에 分布하고 있음은 橫川吉村<sup>22)</sup>가 報告한 바 肺吸虫과 類似한 성격이였으며 高木<sup>35)</sup>가 肝吸虫의 微細構造에서 報告한 바와도 一致된다. D.N.A의 分布狀況도 橫川, 吉村의 報告와 符合된다.

肝吸虫에 있어서도 卵黃腺內의 R.N.A는 卵殼形成에 關與하는 蛋白體의 碳石이 되는 것으로 생각되며 卵黃細胞內의 R.N.A는 細胞內 糖原質과 같이 卵細胞의 發育分化에 關與한다고 생각된다. R.N.A는 細胞化學的, 生化學的 觀點에서 免疫蛋白形成에 가장 重要한 位置를 占하고 있다고 생각된다.

Casperson<sup>44)</sup>는 R.N.A와 蛋白質成分 關係를 立證한

바 있다. Caspelson에 의하면 細胞內 染色體의 heterochromatin이 histone合成에 關與하고 合成된 histone은 核仁에 集積되고 다음에 移動하여 核膜에 沿하여 核內部에 모여지고 核膜을 통하여 그外部에 R.N.A合成을 促求하여 그結果 細胞質內 R.N.A量이 上昇하고 따라서 蛋白質合成이 促進된다고 說明하였다.

Koller<sup>45)</sup>는 『細胞分裂 初期에는 核膜은 消失되고 核仁도 보이지 않으나 分裂終期에는 다시 核膜과 核仁이 보여 있다. 이와같은 interaction을 생각하는 것은 自然의이라고 하였으며 특히 核仁에 包含한 R.N.A는 細胞質과 混合되어 蛋白質을 合成한다고』하였다.

Theorell<sup>46)</sup>는 成長機轉中에 일어나는 蛋白質의 合成과 R.N.A의 增量關係를 觀察하고 다음과 같은 結論을 하였다. 即 R.B.C의 stem cell로 부터 mature cell로 成長分化하는 過程中 R.N.A의 量의 變化를 본즉 stem cell이 成長하는 동안은 R.N.A 量이 增加하나 成長이 그 最終段階에 이르면 R.N.A 量은 減少된다. 그리하여 成長이 끝나고 Hb이 생기기始作할때는 R.N.A.는 零으로 된다. 그때부터 나타나기 시작하는 Hb는 그 量이漸次 增加되어 드디어 分化가 끝난 赤血球의 量에 達한다고 하였다. 그리고 成長에 諸요한 蛋白質의 合成은 R.N.A 量의 增加가 直接關係가 있다고 하였다.

有岡<sup>47)</sup>도 橫川吸虫의 核酸分布를 細胞化學的으로 검색하여 吉村, 橫川<sup>22)</sup>의 성적에 比하여 分布에 程度의 差는 있으나 거의 一致된 業蹟을 發表하였다. 그는 橫川吸虫의 發育中 蛋白合成이 旺盛하게 되는 部位에는 R.N.A가 많이 分布되고 있음은 新陳代謝가 旺盛한 까닭이라고 하였고 染色體에 있어서 遺傳因子蛋白合成은 細胞分裂時에 D.N.A가 本質的 意義가 있다고 하였다.

Alkaline phosphatase<sup>22, 23, 24, 25, 28, 29, 30, 48)</sup>의 分布는 排泄囊과 腸上皮細胞 子宮上皮細胞와 卵黃腺에 많이 分布되었고 Acid phosphatase<sup>22, 23, 24, 25, 28, 29, 30, 49, 50)</sup>는 角質外皮, 角質皮下層筋肉細胞와 消化器의 口吸盤 및 咽頭와 腸上皮細胞에 많이 分布되었다. Rogers<sup>50)</sup>는 條虫의 角皮 및 蠕虫의 中腸上皮細胞에 Acid phosphatase가 分布하고 있음을 報告하였고 上記 部位가 含水炭素吸收와 緊密한 關係가 있다고 하였다. Bullock<sup>51)</sup>도 亦是 蠕虫 中腸上皮細胞中에 acid phosphatase가 分布하고 있음을 報告하고 이것이 glucose와 脂肪吸收에 關聯이 있다는 것을 推定하였다.

山口<sup>28)</sup>는 日本住血吸虫에 있어서 抱雌管에 面한 虫體의 角質에 acid phosphatase와 alkaline phosphatase가 分布하고 있음을 證明하고 이 部位가 영양吸收에 關係 있는 것으로 생각한다고 하였다.

岡村, 松下<sup>23)</sup>는 蠕虫側線에 acid phosphatase가 強陽性으로 나타나는 것을 注目하고 人體에 있어서도 肝과 腎에서와 같은 含水炭素의 合成과 脂肪合成 및 分解過

程에서 생기는 物質의 排泄등과 緊密한 關聯을 갖고 있지 않는가 생각하고 있다고 하였다.

吉村, 橫川<sup>22)</sup> 등은 肺吸虫에 있어서 生殖器管과 虫卵內에 Alkaline phosphatase와 acid phosphatase가 分布하고 있으며 이것은 細胞의 發育增殖에 意義가 있다고 하였으며 특히 alkaline phosphatase는 性機能發現에도 重要한 意義가 있다고 하였다.

高木<sup>35)</sup>는 alkaline phosphatase는 卵細胞 卵黃細胞와 腸에 많이 分布하고 있으나 他기관에서는 그 分布를 찾지 못하였다고 하였다. acid phosphatase는 alkaline phosphatase와 거의 같은 分布를 하고 있으나 腸에서는 分布를 보지 못하였다고 한다.

以上과 같은 諸氏의 성적과 肝吸虫의 phosphatase 分布所見을 比較하면 分布의 程度와 部位에 있어多少 差異가 있었다. 著者は 排泄囊과 腸上皮細胞 子宮上皮細胞 卵黃腺에 acid phosphatase가 많이 分布하고 있음을 본데 對하여 高木<sup>35)</sup>의 성적과 差異가 있다. 이는 stibnal의 作用으로 虫體內에 變化를 일으킴에 原因하지 않는가 생각된다. 著者の 業蹟에서는 角質, 口吸盤, 角質皮下層筋肉細胞中에도 acid phosphatase와 alkaline phosphatase가 거의 같은 分布狀을 보여주고 있으나 高木<sup>35)</sup>는 上기 部位에서는 phosphatase의 分布는 없든가 혹은 极히 微量分布한다고 하였다. 이는 肝吸虫에서도 虫體의 영양吸收와 排泄과 發育增殖等에 phosphatase가 緊密한 關係를 가지고 있는 關係에서 由來함이 아닌가 생각된다.

脂肪肝吸虫內의 脂質<sup>22, 32, 33, 35, 40, 41, 42, 43, 47, 51, 52, 53)</sup> 分布는 角質에는 없으며 網狀組織內에는 相當히 分布되어 있다. 그밖에 消化器管中에도 前者에 比하여 程度의 差는 있으나 比較的 많이 分布되어 있고 生殖器管中에도 많이 分布되고 있다. 특히 卵黃細胞內에 脂質의 分布가 현저하다.

寄生虫體內脂質의 分布를 검색한 先人들의 업적은 그리 많지 않다. 村松<sup>52)</sup>는 蠕虫體內脂肪質의 分布를 조사하여 脂肪酸은 中腸組織에서 cholesterinester도 역시 中腸組織에서 볼 수 있었다고 하였다. 그러나 岡村 松下<sup>23)</sup>는 蠕虫의 體內脂肪質 分布中 脂肪酸과 cholesterinester을 腸組織에서 證明하지 못하였다고 하였고 關<sup>53)</sup>은 蠕虫體의 中性脂肪과 其他脂質의 分布에 있어서 岡村, 松下<sup>23)</sup>의 報告成績과 거의同一하였다고 報告하고 있다. 그러나 關<sup>53)</sup>은 脂肪酸은 角質皮下層, 側線과 中腸組織에서는 證明되었으나 cholesterinester에 관한 성적은 岡村, 松下<sup>23)</sup>의 성적과同一하였다고 하였다.

澤田<sup>32, 33)</sup>는 肝吸虫의 脂質分佈를 조사한바 老齡體에 있어서는 卵黃腺 卵巢, 睾丸 受精囊과 子宮 및 虫卵等에 있어서 細胞數가 감소되고, 實質細胞, 角質皮下組織에는 糖原質量이 현저하게 감소되고 이에 反하여 脂肪

量은 增加한다고 報告하였다. 특히 老齡體에서는 退行性變化가 일어나고 있다고 하였다.

同氏는 吸虫類의 各發育段階에 있어서 糖原質과 脂肪에 關하여 顯微化學의 作用으로 研究하여 糖原質의 消長과 脂質의 增加에는 抗的 혹은 並行의 消長을 하지 않는것이라고 하였다.

人體內에 있어서는 脂肪質은 細胞內에 單獨으로 있는 것이 아니고 glycerin과 結合하여 中性脂肪으로 혹은 glycerin과 磷酸과 結合하여 phospholipid로 存在한다고 한다. 病的狀態에 있어서는 脂肪酸이 單獨으로沈着할 수 있다고 하였다.

상기한바 事實에 의거 虫體內에서는 sudan III染色에서 赤橙色으로 染色되는 것으로 미루워 보아 丹脂肪質과 主로 結合하여 있고 단독으로 있는 것은 全然 없던가 극히 드문 것이 아닌가 생각된다.

Bullock<sup>31)</sup>는 Acanthocephala의 脂肪의 分布를 報告하고 그中에서 燃脂質의 意義는 脂質의 輸送에 있다고 하였다. 아직 酵素化學의 細胞化學的研究가 되지 않을 적에는 肝吸虫의 生理作用에 대한 연구는 脂肪과 glycogen의 細胞化學的研究와 그 量의 變化 혹은 酵素의 定量的證明으로서 그의 生理作用을 推察하였던 것이다. 著者は 新組織化學的研究法을 利用하여 phosphatase와 核酸의 分布를 究明하고 또한 각종 물질의 分布를 검색하여 肝吸虫의 生理作用을 한거름 더 규명할 수 있음은 意義있는 것으로 생각한다.

## V. 結論

1. 著者は 肝吸虫의 成虫에 대하여 細胞化學的觀點에서 虫體內에 分布하고 있는 各種物質의 分布狀과 微細構造를 追究할 目的으로 本實驗을 實施하였다.

2. Potassium은 雌性生殖器系 子宮, 虫卵 卵黃腺과 卵黃細胞가 強陽性으로 나타났으며 其他 장기에서는 證明하지 못하였다.

3. Calcium은 角質, 角質皮下層筋肉細胞, 網狀組織과 腸上皮細胞等은 弱陽性이고 子宮, 虫卵 卵巢와 輸卵管等은 陽性이고 睾丸은 強陽性이었다.

4. Magnesium은 虫體 모든 장기中에서 證明하지 못하였다.

5. 鐵은 角質皮下層과 網狀組織에서는 欽陽性이며 腸에서는 強陽性이었다. 子宮, 卵巢 受精囊等은 陰性이었고 卵黃腺은 陽性이었다.

6. 糖原質은 網狀組織, 角質皮下層筋肉細胞와 虫卵의 卵黃細胞에 豐富하게 分布되어 있다.

7. 糖原質以外의 多糖類도 糖原質의 分布와 並行되어 있다.

8. R.N.A.는 卵黃腺에 極히 豐富하게 分布되어 있으며 그外에 角質皮下層筋肉細胞과 腸上皮細胞, 卵巢 및

睾丸, 子宮에도 R.N.A. 가相當히 分布되어 있다.

9. D.N.A. 는 睾丸과 卵巢에 豐富히 分布되어 있다.

10. Alkaline phosphatase 는 腸上皮細胞, 排泄囊, 子宮上皮細胞와 卵黃腺 및 睾丸等에 豐富하게 分布되어 있었다.

11. Acid phosphatase 는 口吸盤, 角質, 角質皮下層筋肉細胞, 卵黃腺과 腸上皮細胞等에 豐富하게 分布하였다.

12. 脂質은 角質皮下層筋肉細胞와 網狀組織, 口吸盤과 盲腸에 豐富하게 分布되어 있었다.

獨華會에 있어 研究의 機會을 준 陸軍醫務監 鄭熙燮准將과 始終 指導校閱하여 주신 龍世振教授에게 滿腔의 謝意를 表하며 本研究에 助言을 아끼시지 않 은 朴英集副教授, 張信堯副教授에게 深謝한다.

### Abstract

## Histochemical Studies on Clonorchis sinensis

Jung Kyun Chu, M.D.

Department of Parasitology, College of Medicine  
Pusan National University

Department of Anatomy  
College of Medicine, Seoul National University  
(Director : Prof. Sae Jin Rha)

Histochemical studies on the liver fluke, *Clonorchis sinensis* (Cobbold, 1875), were carried out as one of the histophysiological studies of the liver flukes.

Surveys were made on the distribution of nucleic acid, phosphatase, glycogen, fatty substances, and inorganic substances.

### 1. Inorganic substances

Inorganic iron is found abundantly in the intestine, and it is shown weakly in the cuticula and reticular tissue.

Magnesium is not found.

Potassium is shown strongly in the female reproductive organ (uterus, vitelline glands, and eggs).

Calcium is shown prominently in the reticular tissue, cuticula, epithelium of the intestine, testes and ovary.

### 2. Glycogen

1) Glycogen is richly found in the reticular tissue, vitelline glands and eggs in the uterus.

2) Polysaccharides aside from glycogen are observed in the subcuticular muscle cells, ovary, testes and eggs in the uterus.

### 3. Nucleic acids

1) Ribonucleic acid is found abundantly in the vitelline glands, ovary, testes and eggs and it is shown

weakly in subcuticular muscle cells, epithelium of the intestine and uterus.

2) Desoxyribonucleic acid is richly found in the testes and ovary.

### 4. Phosphatase

1) Alkaline phosphatase is detected most prominently in the epithelium of the intestine, epithelium of the uterus, excretory sac, testes and vitelline glands.

2) Acid phosphatase is shown most strongly in the oral sucker, pharynx, esophagus, subcuticular muscle cells, vitelline glands and epithelium of the intestine.

### 5. Fatty substances

1) Fatty substances are prominently found in the reticular tissue, subcuticular muscle cells.

2) Fatty substances also are found abundantly in the oral sucker and intestine.

3) It is shown weakly in the reproductive organs.

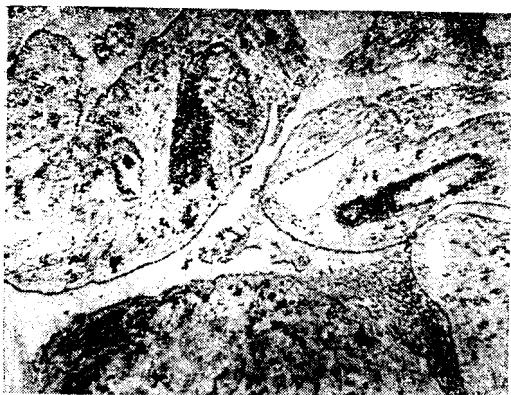
The author discussed about the relations among carbohydrates, nucleic acids, phosphatase and inorganic substances in the metabolic process of the worm.

### REFERENCES

- 1) McConnel J. F. P.: *Rem. on the anat. path. Rel. of a new spec. of liver-fluke*, *Lancet*, 1877:271, 1878:406.
- 2) Cobbold, T.: *The new human fluke*, *Lancet*, 2:423, 1875.
- 3) Leukart, R.: *Die menschl. paras.*, 2:871, 1876.
- 4) Baelz, E.: *Über einige neue parasiten des menschen*, Berlin, *Wochenschr.*, 1883:235.
- 5) Blanchard, R.: *Trait de zool. Med.*, 1:618, 1886.
- 6) Iijima, J.: *Distoma endemicus*, *J. coll. sc. mp. univ. japan* 1, 47, 1886.
- 7) Looss, A.: *On some paras. in the mus of the school of trop med. liver-pool*, *Ann. Liverp. school of trop med.*, 1:123, 1907.
- 8) Kobayasi, H.: *On life history and morphology of Clonorchis sinensis*, *Ctrbl. Bakt.*, XXV, :209, 1915.
- 9) Kobayasi, H.: *On the life history and morphology of the liver distoma (Clonorchis sinensis)*, *Aus den Mitteilungen der Medizinischen Fachschule zu Keijo*, 1817.
- 10) 小林晴治郎: 支那に於ける肝臟デスマ症, 朝鮮醫學第42卷 1923.
- 11) 武藤昌知: 肝デスマの第一中間宿主について病理學會誌, VIII 1918.
- 12) 武藤昌知, 児玉克己: 鮎, 鯉, 金魚等が肝デスマの第二中間宿主としての意義について, 中央醫學, 第141號, 1918.
- 13) 武藤昌知: 肝デスマ感染の經路についての研究 (第

- 一) 醫事新聞第1025號, 1918.
- 14) 武藤昌知, 児玉克己: 肝ヂストマ感染の經路についての研究(第2) 醫事新聞 第1026號, 1919.
- 15) 小堀鉢太郎: 肝ヂストマの第2中間宿主の研究, 補遺 愛知醫學 第34卷第2號 1927.
- 16) Khaw, O. K.: *The hatching phenomena of Clonorchis ova, Proc. soc. Exptl Med.*, 22:872.
- 17) Faust, E. C.: *Studies on clonorchis sinensis, The Amer. Journ. hygiene monographic series, No.8.*
- 18) 長野寛治: 肝ヂストマの水感染について, 岡山醫學誌 第433, 1926.
- 19) 長野寛治: 岡山縣下における肝ヂストマ第1中間宿主「マメタニシ」の分布について, 岡山醫學誌第444號, 1927.
- 20) 伊藤鉢太郎: 肝ヂストマツエルカリアの生物學的研究 愛知醫學誌 第33卷 第2號, 1926.
- 21) 篠繁, 前川鼎, 戸出軍兵: 肝ヂストマ流行地に於ける淡水魚の攝取及使用水の處置の該症罹患に及ぼす影響 岡山醫學誌 第385號, 1922.
- 22) 吉村裕之, 横川宗雄: 肺吸虫の生理(III), 日本寄生虫學誌 第7卷 第4號, 1957.  
横川宗雄, 吉村裕之: 大平肺吸虫セルカリアの *mucoïd glands* 形態に就て, 日本寄生虫學誌 第7卷 第6號, 1957.
- 23) 岸村一郎, 松下文雄: 蚓虫の組織化學的研究 (*lipase, phosphatase, glycogen, 核酸の分布*), 慶應醫學會誌 第31卷補5號, 1957.
- 24) 松文下雄, 寺下昭三, 内田早苗, 谷田未高: 條虫類の *phosphatase* の組織化學的研究, 慶應醫學會誌 第31卷補4號, 1957.
- 25) 羽田野那知: 有棘類口虫に關する研究, 慶應醫學會誌 第31卷, 補3號, 1958.
- 26) 内田早苗, *Anisakis* の組織化學的研究, 慶應醫學會誌 第32卷 補3號, 1958.
- 27) 石川道雄: 蚓虫の筋, 體壁筋構造, 日本寄生虫學誌 第7卷 第3號, 1957.
- 28) 山口正: 寄生性蠕虫類の組織化學的研究 日本寄生虫學誌 第4卷, 第7卷, 第1號, 1958.
- 29) 竹下貞子: 蟻虫の組織化學的研究, 日本寄生虫學誌 第5卷, 1956.
- 30) Rogers, W.P.: *Histological distribution of alkaline phosphatase in helminth parasites, Nature*, 195: 374, 1947.
- 31) Bullock, W.L.: *Histological studies on the acanthophala (the distribution of glycogen and fatty substance)* *J. morph.*, 84:201, 1947.
- 32) 澤田卓: 吸虫類發育各段階に於ける糖原質及び脂肪の顯微化學的研究, 愛知醫學誌 第32卷 第6號, 1925.
- 33) 澤田卓: 老齡なる範形二口虫體に於ける糖原質及び脂肪に就ての顯微化學的研究, 醫事新聞誌 第2456號, 1926.
- 34) Y. Kajiro.: *On the glycogen content of some parasitic worm infesting man and domestic animals, J. Path.*, 17, 1927.
- 35) 高木一孝: 肝吸虫の微細構造, 日本寄生虫學誌, 第9卷 第4號, 1960.
- 36) 山田正明, 兵藤允美: 蚓虫の組織化學的研究, 日本寄生虫學誌 第7卷 第3號 1957.
- 37) 山田正明, 村上亮一, 鈴木康民: 線虫の組織化學的研究, 日本寄生虫學誌 第8卷 第3號, 1959.
- 38) 勝沼精謙: 組織鐵について, 滿洲醫誌 第7卷 2號 1927.
- 39) 若林一夫: 蚓虫體成分としての鐵について, 慶應醫誌, 第21卷, 1941.
- 40) Kemnitz, G.V.: *Die morphologische stoffwechsel bei Ascaris lumbricoides, Arch. zellforsch.*, 7:463, 1912.
- 41) 田代重護: 人及豚蛔虫體内の糖原質及び脂肪の分布, 日本病理學會誌, 第17卷 2069, 1926.
- 42) 田代重護: 蚓虫體内の糖原質及び脂肪の分布 児科雜誌 第316卷 1927.
- 43) 鈴木嘉文: 蚓虫體の糖原質について 慶應醫誌 第18卷 第11號, 1936.
- 44) Casperson, T.: *Scand. arch. Physiol. Suppl.* 73, 8, 1936.
- 45) Koller, P.C.: *Symp. Soc. Exp. Biol. Vol. 1* 1947.
- 46) Theorell, B.: *Cold Spr. Harb. Symp.*, Vol. 12, 1947.
- 47) 有岡壽: 横川吸虫の組織化學的研究 慶應醫學會誌 第32卷 補5號, 1957.
- 48) 高松英雄: *phosphatase* の組織化學及び生化學的研究 東京醫誌 第3116, 2868, 1939.
- 49) 武内忠雄, 田上正昭: 酸性 *phosphatase* の組織化學的證明法, 醫學と生物學 第19卷, 216, 1951.
- 50) 田上正昭: 酸性 *phosphatase* の組織化學研究 慶應醫學會誌, 第29卷, 1954.
- 51) 村田良平: 蚓虫の發育各段階に於ける糖原質と脂肪の消長博愛醫誌 第3卷 230—265, 1950.
- 52) 村松: 人體寄生虫の類脂肪について, 北越醫誌 第42卷, 1950.
- 53) 關豊吉: 豚蛔虫の脂肪について, 慶應醫誌, 第18卷, 1938.
- 54) Lison, L.(今泉正譯): 組織化學及細胞化學, 理論と方法 白水社發行, 1953.
- 55) Nowinski, et Saez.: *General Cytology*(鶴上三郎譯) 朝倉書店, 1954.
- 56) Gomori, G.: *Microscopic histochemistry, Univ. Chicago Press*, 1957.
- 57) Lillie, A.B.: *histopathologic technic and practical histochemistry Philadelphia and Toronto*, 1954.
- 58) Chandler, Asa, C.: *Introduction to parasitology, John, Wiley and son* 1952.
- 59) Belding, D.L.: *Textbook of clinical parasitology, Appleton-Century-Croft.* 1952.
- 60) Faust and Russel.: *Clinical parasitology. Lea and Febiger*, 1957.
- 61) 徐丙高: 臨床寄生虫學, 一潮閣, 1961.
- 62) 市川收: 細胞化學, 本田書店, 1957.
- 63) 岡本耕造, 上田政雄, 前田隆英: 顯微鏡的組織化學, 醫學書院, 1958.

>朱鼎均 論文寫眞附圖 ①<



第1圖 生殖器와 角質皮下層筋肉細胞의 K染色 (Macalum法)

卵巢와 角質皮下層細胞에 大小不同黑色顆粒이 散在 혹은 集簇되어 塊狀을 示す。 Zeiss 10×10



第2圖 Ca染色(Kossa法)

腹吸盤腸壁에 黑褐色顆粒이 不規則하게 集結되어 있고 子宮壁, 卵黃腺과 虫卵等에는 큰 顆粒狀으로 比較的濃染된다. Zeiss 10×10



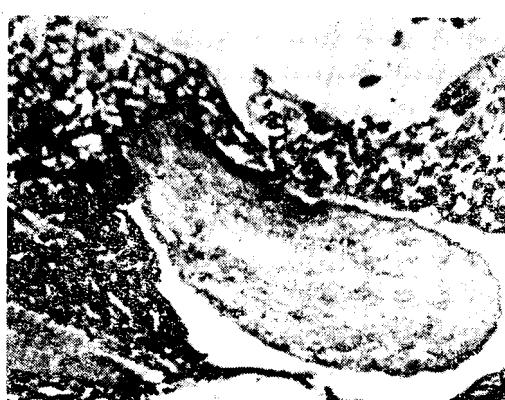
第3圖 鐵染色(Perls-Stieda法)

網狀組織細胞는 小圓形顆粒狀으로 淡青綠色을 示す하고 卵黃細胞는 小圓形顆粒狀으로 青綠色으로 染色됨。  
Zeiss 10×10



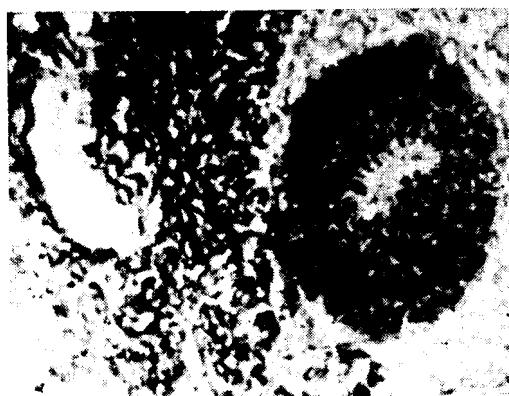
第4圖 鐵染色(同上)

卵黃腺의 腺細胞는 集結되어 塊狀을 示す하고 濃青綠色으로 染色됨. Zeiss 10×10



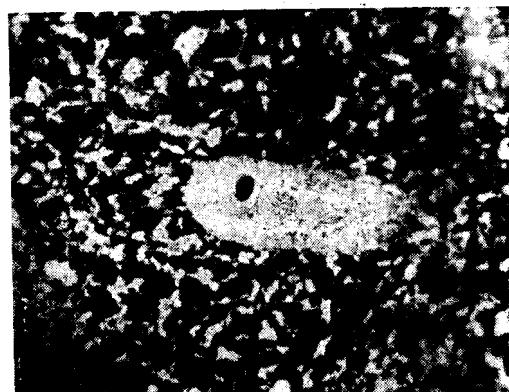
第5圖 卵巢는 PAS反應에 赤紫色으로 染色되며 細胞形態는 小形圓形細胞가 群集됨을 示す, 腸上皮細胞는 腸壁筋肉層보다 淡染되나 均等하게 赤紫色을 示す。 Zeiss 10×10

》朱鼎均 論文寫眞附圖 ②《



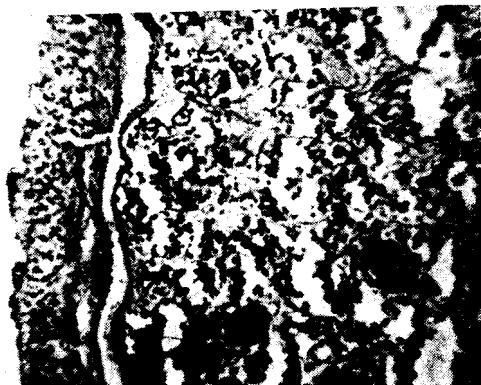
第6圖 腹吸盤과 網狀組織은 細胞가 相互融合되어 塊狀을 示す하며 濃赤紫色으로 染色됨. (PAS反應)

Zeiss 10×10



第7圖 網狀組織은 大小不同星芒形細胞과 相互融合하여 網狀組織間에 分散되어 赤染됨. (Best carmin 染色)

Zeiss 10×10



第8圖 角質皮下層細胞는 梨子形細胞가 不規則하게 亂列되고, 腸上皮細胞의 圓柱狀細胞는 規則的으로 配列되어 紫赤色을 示す하고 卵黃細胞와 受精囊細胞는 微細顆粒으로 diffuse하게 赤紫色을 示す한다. (P.A.S反應)

Zeiss 5×10

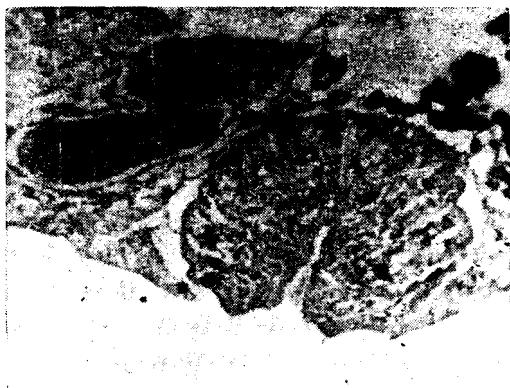


第9圖 第8圖와 怡似하나 卵黃腺部의 腺細胞는 大小不同한 微細顆粒으로 密集하여 있으며 赤紫色을 示す. (P.A.S反應) Zeiss 5×10



第10圖 卵巢는 小形圓形細胞가 群集하여 methylgreen 好染되는 核이 集結되어 있다. (Taft法), Zeiss 10×10

>朱鼎均論文寫眞附圖 ③<



第11圖 腹吸盤巨大細胞는 methylgreen에 好染되며 卵黃細胞도 methylgreen에 好染되나 그外 細胞는 pyronine 好性으로 染色되었다. (Stein et Gerarde法)  
Zeiss 10×10



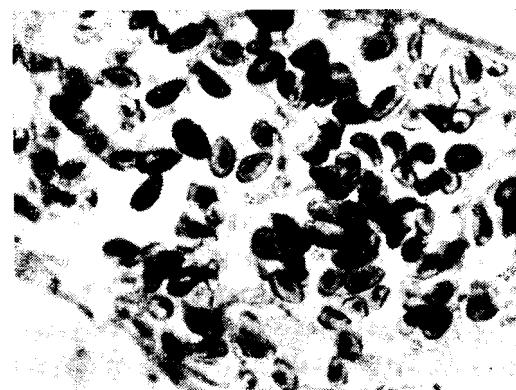
第12圖 卵巢內는 小形圓形細胞가 群集되어 있으며 卵黃細胞도 Feulgen 反應에 紫赤色으로 核이 染色되었다.  
(Feulgen 反應) Zeiss 10×10



第13圖 腹吸盤의 巨大細胞는 Feulgen 反應에 赤紫色으로 呈示됨. Zeiss 10×10

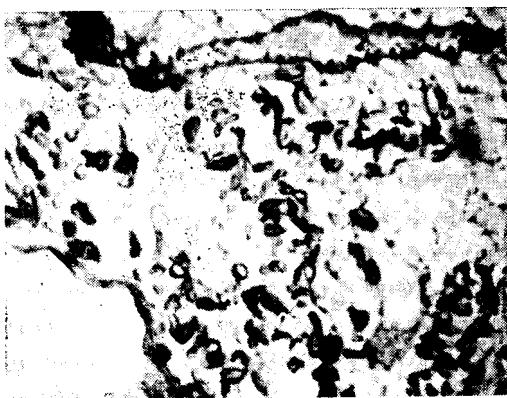


第14圖 腸上皮細胞는 acid phosphatase 染色으로 黑褐色微細圓形顆粒이 腸內面에 均等하게 配列됨. 網狀組織細胞間에는 小圓形顆粒이 散在하고 있음.  
Zeiss 10×10



第15圖 卵黃細胞는 acid phosphatase 染色으로 黑褐色으로 均等하게 染色됨. Zeiss 10×10

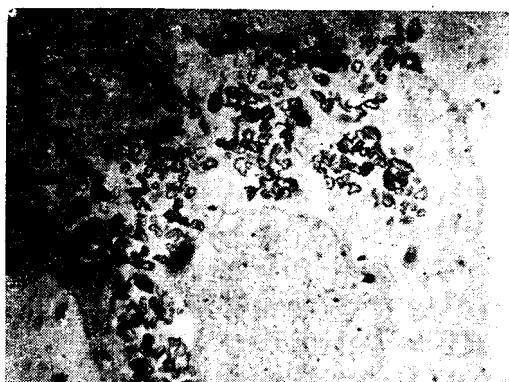
》朱鼎均 論文寫眞附圖 ④《



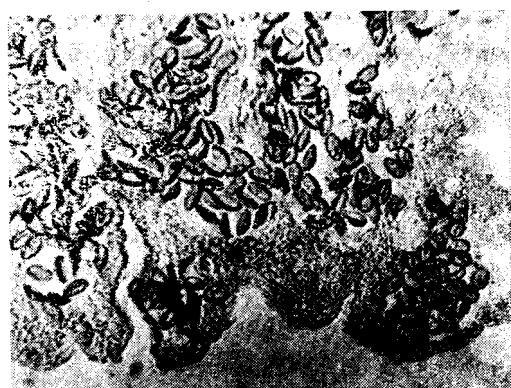
第16圖 腸, 子宮壁과 虫卵은 alkaline phosphatase染色에서 淡黑褐色으로 染色됨. Zeiss 10×10



第17圖 卵巢와 子宮 및 卵黃細胞의 染色도 第16圖와 같음. Zeiss 10×10



第18圖 卵巢는 小圓形細胞가 密集되어 있으며 周邊部보다 中央部細胞가 nile blue染色에 鮮明한 青藍色을 示함. Zeiss 10×10



第19圖 角質皮下層과 網狀組織細胞는 極微細한 颗粒으로 均等하게 配列되어 있음. (Nile blue法)  
Zeiss 10×10



第20圖 虫卵과 腸上皮細胞와 網狀組織細胞는 Sudan III染色으로 多小光輝를 가진 微細顆粒으로 赤橙色으로 染色됨. (Daddi法) Zeiss 10×10