

# 培養液의 成分 및 培養時間의 變化에 따른 肝吸虫의 酸素消費에 미치는 影響

慶北大學校 醫科大學 藥理學教室

<指導 金 鐘 石 教授>

金和雄 · 崔亭坤 · 尹炳午 · 河永昊

## =Abstract=

### Effects of Electrolytes, pH, Glucose, Acetic acid and Propionic acid on Oxygen Consumption in Clonorchis Sinensis

Hwa Woong Kim, M.D., Hyung Kon Choi, M.D.,  
Byung Oh Yun, M.D., and Young Ho Ha, M.D.

Department of Pharmacology, Kyungpook National University, School of Medicine  
Taegu, Korea

(Director: Prof. Chong Suk Kim, M.D.)

Oxygen consumption by Clonorchis sinensis (C.S.) was observed in a medium of valuable pH of KRP, lack of certain electrolytes of KRP and of glucose, acetic acid or propionic acid was added to KRP. The results were as follows.

1. In a different solutions, KRP with or without 0.4%-glucose, 0.9%-saline solution, the variation of oxygen consumption by C.S. was not significant.
2. Oxygen consumption by C.S. was inhibited by the solution of KCl, CaCl<sub>2</sub>, or MgSO<sub>4</sub> in a 0.9% solution of saline.
3. Under the acidity, oxygen consumption was enhanced but under the alkalinity, it was inhibited.
4. Oxygen consumption by C.S. was inhibited by acetic acid or propionic acid in KRP solution.
5. C.S. keeping in KRP solution for a long duration, oxygen cosumption was reduced in the course of time.

## 緒 論

近日試驗管內에서 肝吸虫의 代謝機能을 觀察하기 爲하여 Krebs-Ringer-Phosphate (KRP) 溶液이 medium 으로 많이 利用되고 있으며 藥物의 肝吸虫 代謝에 미치는 影響을 보기 爲해서 KRP 溶液에 藥物을 添加한 業績들이 繽繆 報告되고 있다.

金<sup>1)</sup>은 KRP의 glucose 용액에서 肝吸虫이 pyruvic acid 및 lactic acid 를 生成한다고 報告했고 金<sup>2)</sup>은 glucose 및 酪酸鹽代謝를, 車<sup>3)</sup>는 glucose-KRP 및 leucin-glucose-

KRP 等에 hexachlorophene 을 添加하여 肝吸虫의 酸素消費 및 glycogen 및 蛋白合成等을 觀察한 바 있다.

崔<sup>4)</sup>는 KRP 液에 各種藥物을 添加하여 虫의 酸素消費에 미치는 影響을 보았고 金等<sup>5)</sup>은 KRP 液에서 hexachlorophene 或은 methylene bis (3, 4, 6 trichlorophenoxy acetic acid)와 sodium cholate 와의 虫의 酸素消費抑制에 對한 協同作用을 보았다.

試驗管內에서 虫體의 代謝에는 medium 的 有機 및 無機成分과 pH 等이 重要한 影響을 미칠 것으로 생각된다. Ben Dawes<sup>6)</sup>는 fasciola hepatica 의 medium 上으로서는 KRP

보다 Hedon Fleig 溶液이 가장 좋다고 하였다.

本研究는 試驗管內에서의 肝吸虫의 代謝機能이 medium에 依한 影響을 觀察하기 為한 것으로 于先 KRP 용액을 基本 medium으로 하고 이에 有機營養液을 添加했을 때, 無機電解質 및 pH를 變更했을 때 그리고 虫體를 KRP 液에 그대로 數日間放置하였을 때 等 條件下의 虫體酸素消費에 미치는 影響을 觀察하므로서 앞으로 虫體代謝實驗에 參考資料를 얻기 為하여 企圖된 것이다.

### 實驗材料 및 實驗方法

1. 供試虫：淡水魚에서 採集한 幼虫을 經口感染시켜 60日經過한 肝디스토마 感染家兔의 膽道에서 採取하여 比較的 運動이 活發하고 組織에 損傷을 입지 아니한虫을 골라 使用하였다.

2. 供試藥：Glucose, sodium chloride, potassium chloride, calcium chloride, magnesium sulfate, acetic acid, propionic acid, hydrochloric acid 및 sodium hydroxide 等은 日本和光純藥製 및 獨逸 Merck 製의 一級試藥을 使用하였다.

3. 實驗群：Krebs-Ringer-Phosphate (KRP) 溶液에서 虫의 酸素消費을 본 것을 對照群으로 하고 營養液의 性質에 따라 實驗群을 다음과 같이 分類하였다.

第1群：0.9% NaCl 및 0.9% NaCl에 1.15% KCl, 1.22% CaCl<sub>2</sub> 또는 3.82% MgSO<sub>4</sub>을 加한 各溶液을 (但이의 濃度는 KRP의 組成成分과 同一하다.)

第2群：pH가 2.6, 6.1, 6.4, 7.8, 8.3 및 9.8의 KRP 溶液을

第3群：4×10<sup>-3</sup>의 glucose, 7×10<sup>-3</sup>의 acetic acid, propionic acid 를 添加한 KRP 溶液을

第4群：KRP 영양액에서 24, 48, 72時間동안 放置하였을 때의 酸素消費에 미치는 影響等을 각各 觀察하였다.

以上의 各種 medium에는 penicillin 2,000 unit/ml 와 streptomycin 0.1mg/ml 가 包含되었다.

4. 酸素消費測定裝置：Precision Scientific Co.製의 Warburg manometer 및 reaction vessel (25 ml)을 使用하여 測定하였다.

### 實驗 方法

第1群：Warburg vessel의 主室에 1.8 ml의 0.9% NaCl 溶液을 넣고 可及의水分을 除去한 虫을 Torison Balance로 約 100 mg 을 精秤하여 넣는다. 中央室에는 CO<sub>2</sub>가 除去된 2N-KOH 0.1 ml를 넣고 Azumi Filter paper No 2를 4 cm<sup>2</sup>로 잘라 4回 접어서 넣은 後側室에는 傾注한 後의 主室의 濃度가 0.9%-NaCl, 1.15%-KCl,

1.22% CaCl<sub>2</sub>, 3.82% MgSO<sub>4</sub>가 되도록 各溶液을 각각 0.2 ml를 넣은 後 酸素로 約 1分間 飽和시키고 即時 manometer에 연결하여 38°C의 Warburg浴槽中에 培養시켰다. 30分間 培養한 後에 側室의 液을 主室에 傾注하고 30分마다 虫體가 消費하는 酸素量을 Warburg standard manometric technique에 依하여 測定計算하였다.

第2群 및 第3群：Warburg Vessel의 主室에 1.8 ml의 KRP를 넣고 上記의 方法에 依하여 虫體를 精秤하여 넣는다. 側室에는 2群은 傾注後의 主室의 KRP의 pH가 2.6, 6.1, 6.4, 7.8, 8.3 및 9.8가 될 수 있도록 HCl 및 NaOH 溶液 0.2 ml를 넣는다. 3群은 傾注時 glucose는 4×10<sup>-3</sup>濃度가 되도록 acetic acid와 propionic acid는 (10% NaOH로 中和하여) 7×10<sup>-3</sup>濃度가 되도록 한 溶液 0.2 ml를 넣는다.

中央室에는 各各前述의 方法과 同一하게 2N-KOH 및 濾紙를 넣은 後 Warburg vessel을 約 1分間 酸素로 飽和시킨 後 即時 manometer에 連結하여 一定時間 培養시킨 後 側室의 試料를 主室에 傾注하고 每 30分마다 虫體의 酸素消費量을 測定計算하였다. 中央室의 液體 및 側室液의 傾注方法은 第1群에서와 같다.

第4群：Warburg vessel의 主室에 KRP溶液 2 ml을 넣고 虫體를 上記方法에 依하여 100 mg 內外를 精秤하여 넣은 後 中央室의 液體 및 酸素消費測定 方法은 第1群과 같으나, 第1日에 酸素消費를 測定한 虫을 그대로 放置하여 虫體採取時間으로부터 24, 48, 72時間되는 時間으로부터 30分 間隔으로 180分동안 酸素消費를 測定計算하였다. Vessel內의 KRP는 每 4時間마다 新鮮한 것으로 交換하였다.

6. 効果判定：傾注後에 時間의 經過에 따른 酸素消費를 觀察하여 180分까지의 總變化를 平均한 酸素消費量을 對照群과 比較하여 그 効果를 判定하였다.

### 實驗 成績

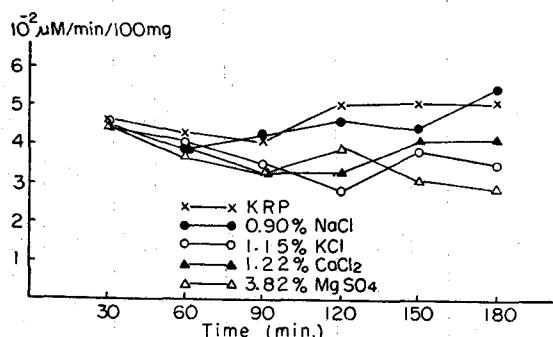
第1群：0.9% NaCl, 1.15% KCl, 1.22% CaCl<sub>2</sub>, 3.82% MgSO<sub>4</sub>의 肝吸虫의 酸素消費에 미치는 影響

培養後 30分間의 酸素消費量을 比較하면 對照群이 4.61×(10<sup>-2</sup> μM/min/100mg; 以下 이를 省略함)이여 側室液을 傾注하기 前의 各群은 NaCl이 4.59, KCl 4.58, CaCl<sub>2</sub>가 4.60, MaSO<sub>4</sub>가 4.56으로 大差 없었다. 側室液을 傾注培養後 30分에서 30分間의 酸素消費는 對照群이 4.28인데 比하여 KCl은 3.91, NaCl은 3.86, MgSO<sub>4</sub>는 3.82, CaCl<sub>2</sub>는 3.63으로서 감소되었다. 60分에서 30分間의 酸素消費는 對照群이 4.12인데 比하여 saline은 4.16로서 거의 變化를 볼 수 없었고 KCl은 3.47, CaCl<sub>2</sub>은 3.44, MgSO<sub>4</sub>는 3.39로서 감소되었다. 90分에서 30分間의 酸素消費는 對照群이 5.01인데 比하

여  $\text{NaCl}$  이 4.65,  $\text{KCl}$  이 2.91,  $\text{CaCl}_2$  가 3.26,  $\text{MgSO}_4$  가 3.92로서 감소되었다. 120 分에서 30 分間은 對照群이 5.08 인데 比하여  $\text{NaCl}$  가 4.42,  $\text{KCl}$  가 3.86,  $\text{CaCl}_2$  가 4.20,  $\text{MgSO}_4$  가 3.15로 亦是 감소된 狀態이며 150 分에서 30 分間은 對照群이 5.14,  $\text{NaCl}$  가 5.48,  $\text{KCl}$  가 3.44,  $\text{CaCl}_2$  가 4.30,  $\text{MgSO}_4$  가 2.99로서  $\text{NaCl}$  은 對照群과 別差가 없으나,  $\text{KCl}$ ,  $\text{CaCl}_2$ ,  $\text{MgSO}_4$ 는 감소를 보였다.

**Table I.** Effect of  $\text{NaCl}$  and  $\text{KCl}$ ,  $\text{CaCl}_2$  or  $\text{MgSO}_4$  in medium of  $\text{NaCl}$  on oxygen consumption by clonorchis sinensis( $10^{-2}\mu\text{M}/\text{min}/100\text{mg}$ )

Time	KRP	0.90% $\text{NaCl}$	1.15% $\text{KCl}$	1.22% $\text{CaCl}_2$	3.82% $\text{MgSO}_4$
(min) 0—30	4.61 ( $\pm 0.15$ )	4.59 ( $\pm 0.18$ )	4.58 ( $\pm 0.09$ )	4.60 ( $\pm 0.24$ )	4.56 ( $\pm 0.13$ )
30—60	4.28 ( $\pm 0.12$ )	3.86 ( $\pm 0.41$ )	3.91 ( $\pm 0.18$ )	3.64 ( $\pm 0.03$ )	3.82 ( $\pm 0.32$ )
60—90	4.12 ( $\pm 0.11$ )	4.16 ( $\pm 0.05$ )	3.47 ( $\pm 0.11$ )	3.44 ( $\pm 0.06$ )	3.39 ( $\pm 0.14$ )
90—120	5.01 ( $\pm 0.09$ )	4.65 ( $\pm 0.14$ )	2.91 ( $\pm 0.34$ )	3.26 ( $\pm 0.25$ )	3.92 ( $\pm 0.01$ )
120—150	5.08 ( $\pm 0.20$ )	4.42 ( $\pm 0.20$ )	3.86 ( $\pm 0.01$ )	4.20 ( $\pm 0.15$ )	3.15 ( $\pm 0.09$ )
150—180	5.14 ( $\pm 0.18$ )	5.48 ( $\pm 0.42$ )	3.44 ( $\pm 0.10$ )	4.30 ( $\pm 0.18$ )	2.99 ( $\pm 0.20$ )
0—180	4.71	4.53	3.69	3.91	3.47
%	100	96	78	83	74



**Fig. 1.** Effects of  $\text{NaCl}$  and  $\text{KCl}$ ,  $\text{CaCl}_2$  or  $\text{MgSO}_4$  in medium of  $\text{NaCl}$  on oxygen consumption by clonorchis sinensis.

大體로 KRP에 比하여  $\text{NaCl}$ ,  $\text{KCl}$ ,  $\text{CaCl}_2$ ,  $\text{MgSO}_4$ 는 酸素消費의 감소를 볼 수 있었으나,  $\text{NaCl}$ 은 輕微한 감소를 보였다. 그런데 培養後 180 分까지의 總酸素消費의 平均量을 比較하면 對照群이 4.71 인데 反하여  $\text{NaCl}$ 가

4.53,  $\text{CaCl}_2$ 가 3.91,  $\text{KCl}$ 가 3.69가  $\text{MgSO}_4$  3.47로서 抑制됨을 볼 수 있었다(第1表 및 第1圖)。

#### 第2群: pH의 變化가 肝吸虫의 酸素消費에 미치는 影響

KRP의 pH가 變化되지 아니한 狀態에서의 各群의 酸素消費量은 4.48, 4.49, 4.47, 4.44, 4.50, 4.55이었으나 側室의  $\text{NaOH}$  및  $\text{HCl}$ 溶液은 傾注하므로서 pH의 變動을 일으킨 後에는 다음과 같다. 傾注 30分後부터 30分間은 對照群이 4.29, pH 2.6에서 8.29, pH 6.1에서는 6.54, pH 6.4에서는 6.98로 顯著히 增加한 狀態를 보였고 pH 7.8에서는 4.10, pH 8.3에서는 3.35, pH 9.8에서 3.02로서 減少를 보였다.

傾注 90分에서 120分간의 30分間은, 對照群이 4.98, pH 2.6에서는 8.42, pH 6.1에서 6.74, pH 6.4에서 5.24이고 pH 7.8에서는 3.76, pH 8.3에서 4.25, pH 9.8에서 3.78이었으며 150分에서 30分間의 虫의 酸素消費는 對照群이 5.14, pH 2.6에서는 5.62, pH 6.1에서는 6.34, pH 6.4에서는 5.28이고 pH 7.8에서는 4.83, pH 8.3에서는 3.82, pH 9.8에서 2.95를 나타내었다.

以上의 成績을 180分까지 總酸素消費의 平均量을 比較하면 對照群이 5.00 인데 比하여 pH 2.6에서 7.01, pH 6.1에서 6.44, pH 6.4에서는 5.85로서 酸素消費의 增加를, pH 7.8에서는 4.46, pH 8.3에서는 3.77, pH 9.8에서는 3.07로서 酸素消費의 減少된 狀態를 나타내었다(第2表 및 第2圖)。

#### 第3群: $4 \times 10^{-3}$ Glucose, $7 \times 10^{-3}$ Acetic acid 및 $7 \times 10^{-3}$ Propionic acid의 肝吸虫의 酸素消費에 미치는 影響

傾注後 30分에서 30分間은 對照群이 3.83, glucose를 添加한 群은 3.96, acetic acid 및 propionic acid를 添加한 群은 각각 2.01 및 2.40이었다. 傾注後 90分에서 30分間은 對照群이 4.30, glucose를 添加한 群은 5.20, acetic acid 및 propionic acid를 添加한 群은 각각 2.03 및 1.66이었다.

傾注後 150分에서 30分間은 對照群이 4.04, glucose를 添加한 群은 4.46, acetic acid 및 propionic acid를 添加한 群은 각각 2.76 및 2.73이었다.

以上의 成績을 180分까지 總酸素消費의 平均量을 比較하면 對照群이 4.10 인데 比하여 glucose를 添加한 群은 4.44로서 輕微한 增加를 보였으나 大差없었으며 acetic acid 및 propionic acid는 2.52 및 2.38로서 顯著한 酸素消費를 볼 수 있었다(第3表 및 第3圖)。

#### 第4群: KRP 영양액에서 24, 48, 72時間 飢餓 시켰을 때 肝吸虫의 酸素消費에 미치는 影響

家兔의 胆道에서 肝吸虫을 採取하여 即時 使用한 群을 對照群으로 했을때 24, 48, 72시간 기아시킨 虫體의 酸

Table II. Effect of a variable pH on the Oxygen consumption by clonorchis sinensis in a medium of KRP ( $\times 10^{-2} \mu\text{M}/\text{min}/100\text{ mg}$ )

Time	Control	pH 2.6	pH 6.1	pH 6.4	pH 7.8	pH 8.3	pH 9.8
(min) — 0	4.48 ( $\pm 0.02$ )	4.49 ( $\pm 0.11$ )	4.47 ( $\pm 0.21$ )	4.44 ( $\pm 0.05$ )	4.50 ( $\pm 0.10$ )	4.55 ( $\pm 0.05$ )	4.36 ( $\pm 0.09$ )
0—30	4.98 ( $\pm 0.18$ )	5.39 ( $\pm 0.03$ )	5.44 ( $\pm 0.01$ )	5.78 ( $\pm 0.02$ )	4.76 ( $\pm 0.01$ )	3.62 ( $\pm 0.17$ )	3.28 ( $\pm 0.03$ )
30—60	4.29 ( $\pm 0.05$ )	8.29 ( $\pm 0.31$ )	6.54 ( $\pm 0.19$ )	6.98 ( $\pm 0.11$ )	4.10 ( $\pm 0.13$ )	3.35 ( $\pm 0.34$ )	3.02 ( $\pm 0.34$ )
60—90	5.38 ( $\pm 0.31$ )	8.69 ( $\pm 0.01$ )	7.44 ( $\pm 0.12$ )	6.58 ( $\pm 0.20$ )	4.90 ( $\pm 0.02$ )	4.15 ( $\pm 0.16$ )	2.88 ( $\pm 0.44$ )
90—120	4.98 ( $\pm 0.07$ )	8.42 ( $\pm 0.01$ )	6.74 ( $\pm 0.10$ )	5.24 ( $\pm 0.41$ )	3.76 ( $\pm 0.21$ )	4.25 ( $\pm 0.16$ )	3.78 ( $\pm 0.17$ )
120—150	5.24 ( $\pm 0.18$ )	6.09 ( $\pm 0.13$ )	6.24 ( $\pm 0.24$ )	5.24 ( $\pm 0.08$ )	4.30 ( $\pm 0.30$ )	3.42 ( $\pm 0.13$ )	2.52 ( $\pm 0.24$ )
150—180	5.14 ( $\pm 0.01$ )	5.62 ( $\pm 0.04$ )	6.34 ( $\pm 0.14$ )	5.28 ( $\pm 0.08$ )	4.83 ( $\pm 0.42$ )	3.82 ( $\pm 0.11$ )	2.95 ( $\pm 0.04$ )
0—180	5.00	7.01	6.44	5.85	4.46	3.77	3.07
%	100	140	128	117	89	75	61

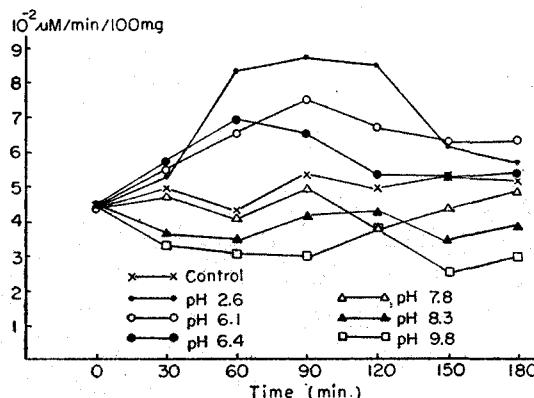


Fig. 2. Effect of a variable pH on the oxygen consumption by clonorchis sinensis in a medium of KRP.

素消耗를 比較하면 다음과 같다. 기아시킨後 24시간 되는 時間으로부터 180分間의 酸素消耗를 每 30分마다 測定한 結果 5.60, 5.40, 4.56, 4.50, 4.36, 4.40 으로서 對照群이 5.73, 5.90, 6.26, 6.13, 6.20, 6.50 일에 比하여 감소된 狀態를 보여 주었고 기아후 48시간 되는 時間으로부터 180分間의 酸素消耗를 每 30分마다 測定한 結果 5.63, 4.73, 5.00, 4.80, 5.26, 4.06 이었고 기아후 72시간 되는 時間으로부터 180分間의 酸素消耗를 每 30分마다 測定한 結果 5.70, 5.40, 5.10, 4.90, 5.06, 4.16 으로서 減少된 狀態를 보여 주었다.

Table III. Effect of glucose, acetic acid (HAc) and propionic acid ( $\text{C}_2\text{H}_5\text{Ac}$ ) on the oxygen consumption by clonorchis sinensis in a medium of KRP ( $\times 10^{-2} \mu\text{M}/\text{min}/100\text{ mg}$ )

Time	Control	$4 \times 10^{-3}$ Glucose	$7 \times 10^{-3}$ HAc	$7 \times 10^{-3}$ $\text{C}_2\text{H}_5\text{Ac}$
(min) — 0	4.44 ( $\pm 0.38$ )	4.50 ( $\pm 0.21$ )	4.45 ( $\pm 0.05$ )	4.48 ( $\pm 0.12$ )
0—30	3.67 ( $\pm 0.21$ )	3.45 ( $\pm 0.21$ )	2.73 ( $\pm 0.13$ )	2.50 ( $\pm 0.12$ )
30—60	3.83 ( $\pm 0.07$ )	3.96 ( $\pm 0.19$ )	2.01 ( $\pm 0.11$ )	2.40 ( $\pm 0.01$ )
60—90	4.20 ( $\pm 0.21$ )	4.31 ( $\pm 0.22$ )	3.26 ( $\pm 0.09$ )	1.86 ( $\pm 0.09$ )
90—120	4.30 ( $\pm 0.14$ )	5.20 ( $\pm 0.10$ )	2.03 ( $\pm 0.19$ )	1.66 ( $\pm 0.24$ )
120—150	4.56 ( $\pm 0.14$ )	5.03 ( $\pm 0.15$ )	2.33 ( $\pm 0.16$ )	3.16 ( $\pm 0.14$ )
150—180	4.04 ( $\pm 0.34$ )	4.66 ( $\pm 0.14$ )	2.76 ( $\pm 0.16$ )	2.73 ( $\pm 0.23$ )
0—180	4.10	4.44	2.52	2.38
%	100	108	62	58

以上의 成績을 기아후 24, 48, 72時間되는 때부터 180分까지의 總酸素消費의 平均量과 比較하면 對照群이 6.12 일에 比하여 기아시킨群에서 24時間群이 4.81, 48

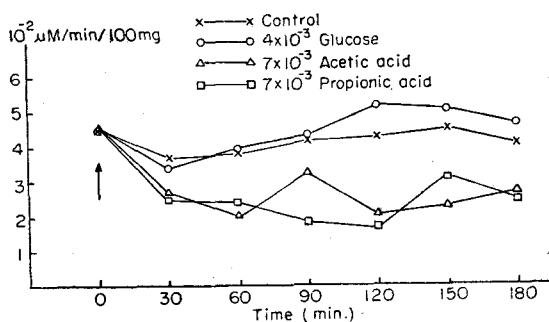


Fig. 3. Effect of glucose, acetic acid and propionic acid on the oxygen consumption by *Clonorchis sinensis* in a medium of KRP.

Table IV. Effect of duration of incubation in KRP on oxygen consumption by *Clonorchis sinensis* ( $\times 10^{-2} \mu\text{M}/\text{min}/100\text{mg}$ )

Time	0	24	48	72hrs.
(min.)				
0 — 30	5.73 ( $\pm 0.22$ )	5.60 ( $\pm 0.05$ )	5.63 ( $\pm 0.23$ )	5.70 ( $\pm 0.37$ )
30 — 60	5.90 ( $\pm 0.09$ )	5.40 ( $\pm 0.11$ )	4.70 ( $\pm 0.09$ )	5.40 ( $\pm 0.07$ )
60 — 90	6.26 ( $\pm 0.09$ )	4.56 ( $\pm 0.36$ )	5.00 ( $\pm 0.17$ )	5.10 ( $\pm 0.10$ )
90 — 120	6.13 ( $\pm 0.30$ )	4.50 ( $\pm 0.45$ )	4.80 ( $\pm 0.13$ )	4.90 ( $\pm 0.09$ )
120—150	6.20 ( $\pm 0.13$ )	4.36 ( $\pm 0.11$ )	5.26 ( $\pm 0.21$ )	5.06 ( $\pm 0.10$ )
150—180	6.50 ( $\pm 0.01$ )	4.40 ( $\pm 0.11$ )	4.06 ( $\pm 0.04$ )	4.16 ( $\pm 0.10$ )
0—180	6.12	4.81	4.91	5.06
%	100	79	80	82

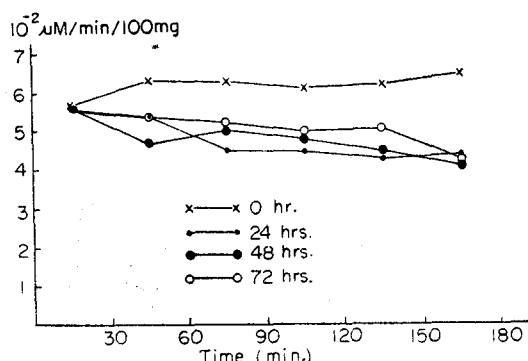


Fig. 4. Effect of duration of incubation in KRP on oxygen consumption by *Clonorchis sinensis*.

時間 및 72時間群이 각각 4.91 및 5.06으로서 酸素消費가 輕微한 減少를 주었다(第4表 및 第4圖)。

## 總括 및 考察

試驗管內에서 寄生虫의 代謝機能을 觀察함에 있어 虫體를 培養하는 營養液의 組成은 虫體의 代謝에 多은 影響을 줄 것이다. Ben Dawes<sup>6)</sup>는 寄生虫의 實驗에서 medium選擇의 重要性을 強調하고 *fasciola hepatica*의 medium으로서는 Hedon Fleig 液이 가장 適當하다고 하였다.

近日 肝吸虫代謝에 關한 研究報告가 種種發表<sup>1,2,3,4,5)</sup>되고 있으나 거의가 KRP를 medium으로 한 것이며, 그中에는 KRP에 glucose, acetate 또는 glycine, leucin等을 添加한 것을 볼 수 있다. Mansour<sup>7)</sup>는 *fasciola hepatica*를 glucose-hedon-fleig medium에서 培養하고 이虫은 glucose를 分解하여 propionic acid 및 acetic acid를 生產하여 利用하고 있다고 報告한 바 있다.

그리나 肝吸虫이 propionic acid를 利用한다는 報告는 없으며 KRP의 電解質 또는 pH等의 變化가 代謝에 미치는 影響을 본 報告도 없다.

本研究에서는 KRP를 基本溶液으로 하고 KRP에 glucose, acetate, propionic acid를 각각 添加했을 때와 KRP의 無機成分의 一部를 除去하고 一部만을 使用했을 때와 KRP의 pH를 變更 또는 KRP溶液에서 虫體를 長期間 保管했을 때 等에 依해서 酸素消費에 미치는 影響을 본 것으로서 그 結果을 總括하면 다음과 같다.

電解質을 變更했을 때 KRP液에 比하여 0.9% NaCl, 1.22% CaCl<sub>2</sub>, 1.15% KCl, 3.82% MgSO<sub>4</sub>等의 順序로 酸素消費가 抑制되었는데 0.9% NaCl에서는 KRP液에 比해서 輕微한 抑制를 보였으나, KCl, CaCl<sub>2</sub>, MgSO<sub>4</sub>等의 存在로서 더욱 抑制된 것을 보았다. 本結果는 短時間 觀察된 本 實驗만으로서 斷言할 수 없으나, 肝吸虫의 短時間 培養에서는 K<sup>+</sup>, Ca<sup>++</sup>, Mg<sup>++</sup>等의 ion의 存在가 반드시 必要한 것은 아닌 것을 意味하며 이들이 存在할 때에는 ion 平衡이 必要한 것으로 생각된다.

pH의 變動에서의 酸素消費는 酸性에서 本 實驗初期부터 大體로 酸度에 平行하여 酸素消費가 增加되나 末期에는 減少되고 있다. 이 結果로 보아 이 作用은 鹽酸의 非特異性인 刺激作用에 依한 것이 아닌가 생각된다. 그리고 NaOH의 鹽基性에서는 그 刺激作用이 弱하며, NaOH는 虫의 lipid 또는 protein에 溶解되어 細胞內로 浸透하여 細胞의 機能을 抑制하는 것이 아닌가 생각된다.

그리고 KRP에 glucose를 添加했을 때는 KRP만에 比해서 酸素消費가 多少 增加되었으나 큰 差는 아닌 것으로서 短時間培養에서 外部에서의 glucose의 添加가 반

드시 必要한 것이 아님을 意味하며, propionic acid 및 acetic acid에 添加의 境遇, 酸素消費가 顯著히 抑制되었는데 이것은 大端히 興味있는 事實로서 Mansour<sup>7)</sup>가 fasciola hepatica는 含水炭素를 分解하여 propionic acid 및 acetic acid를 生產하여 energy로 利用한다고 했으나 肝吸虫에서도 이와 같은 代謝를 하는 것인지 本 實驗만으로 알 수 없으나 萬一 그렇다면 propionic acid 및 acetic acid를 利用할 때는 glucose 및 glycogen等을 分解하여 利用하는 것 보다 酸素消費가 節約되는 것이라고 보아 할 것이며 萬一 이들이 虫體의 正常代謝物質이 아니라면 이들은 虫體代謝에 障害를 일으키는 것이라고 보아야 할 것이다. 要컨데 propionic acid 및 acetic acid의 肝吸虫의 酸素消費抑制機轉에 對해서는 앞으로 더욱 檢討가 必要한 것이라고 생각된다.

### 結論

肝吸虫의 試驗管內 實驗에서 KRP 영양액을 對照群으로 하여 數種電解質, pH의 變化, 培養時間의 經過에 따른 酸素消費의 變化와 glucose, acetic acid, propionic acid에 依한 酸素消費의 變化를 實驗觀察하여 다음과 같은 結果를 얻었다.

1. KRP, KRP-0.4% glucose 및 0.9% saline을 영양液으로 하였을 때 肝吸虫의 酸素消費에 미치는 影響은 거의 없다.
2. KCl, CaCl<sub>2</sub> 및 MgSO<sub>4</sub>는 肝吸虫의 酸素消費를 抑制하였다.
3. 一定한 範圍內에서 KRP의 緩衝性이 消失하여 酸性이된 培地內에서는 酸素消費가 增加하며, 鹽基性이 되

었을 때는 抑制되었다.

4. Acetic acid 및 propionic acid는 肝吸虫의 酸素消費를 抑制하였다.

5. KRP 용액에서 肝吸虫을 數日間放置하였을 때 酸素消費가 減少될 듯하다.

### 參考文獻

- 1) 金鍾石, 崔炳吉 : *Clonorchis sinensis*의 酸素消費 및 嫌氣性解糖反應에 미치는 *Alantlactone*의 影響. 醫學다이제스트, 3:69, 1961.
- 2) 金成大 : 肝吸虫의 C<sup>14</sup>葡萄糖 및 C<sup>14</sup>鹽酸鹽代謝에 關한 研究. 現代醫學, 4:385, 1966.
- 3) 車忠錫 : *Hexachlorophene*의 肝吸虫의 C<sup>14</sup> Glucose 및 C<sup>14</sup> Glycin 代謝에 미치는 影響에 關한 研究. 大韓藥理學雜誌, 2(2):23, 1966.
- 4) 崔亨坤 : 肝吸虫의 酸素消費에 미치는 影響, 大韓藥理學會抄錄集, 13, 1967.
- 5) 金和雄, 金重喨, 尹炳午, 河永昊 : 2,2' methylene bis (3-4-6 trichlorophenoxy acetic acid) 및 sodium cholate의 肝吸虫의 酸素消費 및 殺虫作用, 大韓藥理學雜誌 本號收載, 1968.
- 6) Dawes, Ben: Maintenance *in vitro* of *Fasciola*, *Nature*, 174:654, 1954.
- 7) Mansour, T.E.: Studies on the carbohydrate metabolism of the liver fluke *Fasciola hepatica*, *Biol. Chem.*, 34:456, 1959.