

## ***Spirometra erinacei*의 발육에 따른 Esterase와 Phosphatase의 조직 화학적 연구**

곽기훈 · 김창환

경상대학교 자연과학대학 생물학과

*Spirometra erinacei*의 제3기 유충 plerocercoid(sparganum)를 중간숙주인 흰쥐와 종숙주인 고양이에게 감염시켜서 회수한 sparganum과 성충의 non-specific esterase와 acid, alkaline phosphatase의 분포 및 isozyme pattern 변화를 비교하기 위하여 효소조직화학적 방법과 전기영동법을 이용하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

첫째, non-specific esterase는 sparganum과 성체의 근총과 유조직총에 많이 분포하였고 표피총에는 거의 분포가 없었다. 이의 isozyme band pattern은 sparganum에서 7개 성체에서 8개의 isozyme band로 분리되었는데 sparganum과 성체의 major band는 각각 3번과 4번band였다. 둘째, acid phosphatase는 sparganum과 성체의 표피총과 근총에서 많이 분포하였고 유조직총에는 거의 분포가 없었다. isozyme band pattern은 sparganum과 성체에서 각각 3개의 band로 분리되었는데 3번 band가 major band였다. 셋째, alkaline phosphatase는 sparganum과 성체의 표피총과 근총에서 많은 분포를 보였으며 유조직총에서도 상당한 분포가 있었다. isozyme band pattern은 sparganum에서 2개 성체에서 4개가 분리되었는데 sparganum과 성체 모두 2번 band가 major band였다.

**KEY WORDS:** Isozyme pattern, *Spirometra erinacei*, Development

*Spirometra erinacei*는 편형동물문(platyhelminthes)의 촌충강(cestoda)에 속하는 종으로 개구리나 뱀을 제2중간숙주로 이용하여 이들의 조직내에서 유충상태로 기생 생활을 하다가 종숙주의 소화관내에서 성체로 성장하든 기생충으로 알려져 있다 (Hopkins and allen, 1979; Takamoto, 1931). 이들 중간숙주를 사람이 생식하였을 경우에는 충체가 감염되어 sparganosis를 일으킨다 (Belding, 1965; Faust et al., 1970; Kim and Lee, 1966; Lee, 1975). 이 촌충은 유충 시기에는 뚜렷한 기관의 분화없이 성장하다가 종숙주에서 성충이 되면 수많은 편절을 이루면서 생식기관을 비롯한 신경계, 배설계등의 기관이 분화된다 (Noble, 1982; Smyth, 1969). 대사작용에 관한 Pappas와 Read (1975)의 연구에 따르면 유충과 성충시기 모두 소화관이 뇌화된 채체표를 통하여 양분을 흡수한다고 보고하였는데

실제로 체표에서는 지질, 단백질, 다당류 등이 다양 분포하고 있으며 당단백질 합성을 하는 활성대가 있다는 Kwa (1972)의 보고가 이를 뒷받침하고 있다. 1979년 Hopkins와 allen (1979)은 조충류의 양분흡수 기작을 능동수송과 확산으로 보고 하였는데 특히 Bailey와 Fairbrairn (1986)은 지방산과 monoglyceride, sterol같은 지질분자들은 확산에 의하여 흡수한다고 보고 하였다. 체표를 통한 양분흡수를 근거로 *Spirometra erinacei*의 조직내 효소분포에 대해서 Kwa (1972)와 Fukase등 (1984, 1985)에 의하여 많은 보고가 있었으나, 발육에 따른 유충과 성충간의 효소분포나 동위효소유형(isozyme pattern)에 대한 비교는 거의 없었다. 본 연구는 *Spirometra erinacei*의 발육과정에 있어서 non-specific esterase와 acid phosphatase, alkaline phosphatase의 분포 및 동위효소유형의 변화를 비교하기

위하여 조직화학적 방법과 전기영동법을 이용하여 추구한 결과 몇 가지 결과를 얻었기에 이를 보고한다.

## 재료 및 방법

### 실험재료

#### Sparganum

유혈목이(*Natrix trigrina lateralis*)의 피하조직에 기생하고 있는 *Spirometra erinacei*의 제3기 유충 plerocercoid(sparganum)를 적출하여 5 mm 길이의 두부 및 경부만을 남기고 잘라버린 후 생후 2개월된 흰쥐 (*Wistar imanichi albino rat*)에 인공 구강감염 시켰다. sparganum 15마리씩을 감염시킨 흰쥐 20마리를 5마리씩 4개의 실험구를 만들어 사용하였다. 감염 후 10, 30, 50, 70 일이 경과된 후 20일 간격으로 흰쥐를 해부하여 성장 중인 sparganum을 회수해서 실험재료로 사용하였다.

**성체 :** 유혈목이에서 적출한 sparganum을 종숙주인 고양이에게 섭식 감염시켜 사용시킨 후 감염 일로부터 30일이 경과되었을 때 고양이를 해부하여 소장에 기생하고 있는 총체를 회수해서 미성숙편절, 성숙편절, 수태편절로 구분하여 실험재료로 사용했다. 중간숙주와 종숙주에서 회수된 sparganum과 성체를 일부는 살아있는 상태로 곧 바로 냉동절편으로 만들었고 나머지는 생리식염수에 넣어 -30°C 냉동실에 보관하였다가 전기영동의 재료로 사용했다. 이 때 sparganum은 두부(scolex)와 체부(proglottid)를 구분해서 냉동절편을 만들었다.

### 실험방법

#### 효소조직화학적 방법

**냉동절편의 제작 :** 살아있는 총체를 -25°C 조건의 cryostat에서 embedding matrix로 포매시켜 10  $\mu\text{m}$ 의 두께로 냉동절편을 만들어 -30°C 냉동실에 보관하였다가 효소검정 재료로 사용하였다.  
**효소의 검정 :** 총체조직에 발색된 효소의 분포는

표피층(tegument), 근층(epidermal musculature), 유파조직층(parenchymal musculature)으로 구분하여 비교 검정하였다. (1) Non-specific esterase는 azo dye method (Lojda et al., 1979)를 이용하여 0.1M phosphate buffer (pH 7.4) 50 ml에  $\alpha$ -naphthyl acetate 10 mg과 fast blue RR salt 60 mg을 가하여 여파시킨 용액에 실온에서 30분간 incubation시켜 염색하였다. (2) Acid phosphatase는 azo-coupling method (Lojda et al., 1979)를 이용하여 Michaelis solution에 naphthol AS-BI phosphate를 용해시킨 용액 18 ml에 pararosanilin hydrochloride와 HCl을 가한 용액 1.6 ml과 4% NaNO<sub>2</sub> 1.6 ml를 혼합하여 1N NaOH로 pH 5.0으로 맞춘 후 여파시킨 용액에 실온에서 30분간 incubation시켜 효소를 확인하였다. (3) Alkaline phosphatase도 azo-coupling method (Lojda et al., 1979)를 이용하여 fast red TR salt 50 mg을 녹인 0.2M Tris-HCl (pH 8.5) 50 ml에 naphthol AS-MX phosphate 20 mg을 첨가하여 용해시킨 다음 여파시킨 용액에 실온에서 30분간 incubation시켜 효소를 염색하였다.

#### 전기영동에 의한 효소의 검정

Sparganum과 성충을 homogenizer로 균질화한 후 12000g에서 20분간 냉동원심분리하여 취한 상등액을 시료로 사용하였다. Lowry법 (1951)으로서 단백질을 정량한 후 단백질 200  $\mu\text{g}$ 을 함유한 시료를 각 주입구에 주입하여 Davis법 (1964)으로 전기영동 하였다 10% Polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE)를 이용하여 Tris-glycine buffer (pH 8.3)를 전개용액으로 하였고, tracking dye는 0.01%(w/v) bromophenol blue 수용액을 사용했다. 전개는 stacking gel에서는 gel 1 ml당 2.4V, resolving gel에서 gel 1 ml당 3V의 전압을 공급시켜 4°C 조건에서 6시간 전개시켰다. 전개가 끝난 gel은 다음과 같은 방법으로 반응시켜 발색하였다.  
**Non-specific esterase :** Markert와 Hunter의 방법 (1951)에 따라 0.1M phosphate buffer (pH 6.6) 10 ml에 fast-red TR salt 50 mg을 용해시킨 용액과  $\alpha$ -naphthyl acetate 20 ml을 acetone

1 ml에 용해시킨 용액을 혼합하여 만든 반응액에 30분간 실온에서 incubation시켜 발색하였다. Acid phosphatase : Lawrence등의 방법 (1960)에 따라 0.1M acetate buffer 20 ml (pH 4)를 37°C에서 15분간 incubation한 다음  $\alpha$ -naphthyl sodium phosphate 100 mg과 10% magnesium chloride 2방울을 희석시킨 기질용액에 37°C에서 30분간 incubation시켰다. 이어서 fast-violet B salt 50 mg을 녹인 염색액 10 ml을 첨가시켜 계속해서 30분간 더 incubation시켜 발색하였다. Alkaline phosphatase : Allen과 Hyncik의 방법 (1963)에 따라 alkaline phosphatase는 0.033M Tris-HCl buffer (pH 9.5) 10 ml에  $\alpha$ -naphthyl sodium phosphate 10 mg과 fast-red TR salt 10 mg을 가하여 incubation시켜 확인하였다.

## 결 과

### Non-specific esterase

Non-specific esterase는 fast-blue RR salt에 염색되어 녹색으로 발색되었는데 sparganum의 표피층에서는 거의 분포하지 않았고 근층 및 유조직층에서 많이 분포하였다.

발육에 따른 분포차이는 감염 후 10일과 30일이 경과된 sparganum의 표피층에서 미약하나마 약간의 효소 분포가 확인되었으나, 감염 후 50

일과 70일이 경과된 sparganum의 표피층에서는 거의 분포하지 않았다. 성충에서도 표피층의 분포는 거의 없고 근층과 유조직층에서 많이 분포하였다. 성충의 발육에 따른 미성숙편절, 성숙편절, 수태편절과의 효소분포는 뚜렷한 차이가 없었다 (Table 1, Fig. 4-9).

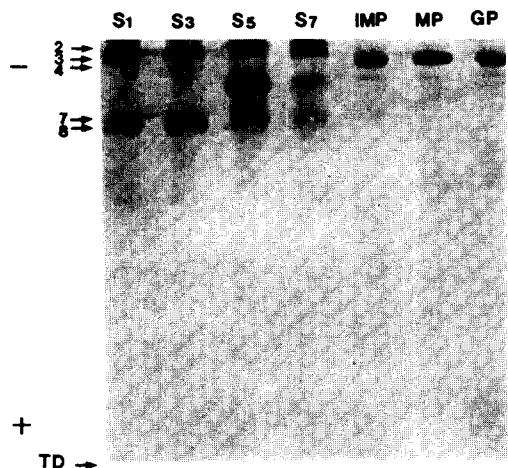


Fig. 1. Isozyme patterns of nonspecific esterase on developing *Spirometra erinacei*.

\*S1: 10Days elapsed sparganum after infection  
S3: 30days elapsed sparganum after infection  
S5: 50Days elapsed sparganum after infection  
S7: 70Days elapsed sparganum after infection  
IMP: Immature proglottid  
MP: Mature proglottid  
GP: Gravid proglottid.

Table 1. General distribution and relative amount of esterase activity on developing *Spirometra erinacei*.

Tissue	Sparagnum				Adult		
	10days	30days	50days	70days	Immature proglottid	Mature proglottid	Gravid proglottid
T	—	—	0	0	—	—	—
	(0)	(—)	(0)	(0)			
EM	+	+	++	++	+	+	+
	(+)	(+)	(++)	(++)			
PM	+++	++	++	+++	++	++	++
	(+++)	(++)	(++)	(++)			

\*( ): Activity in Sparganum scolex.

\*\*T=Teument; EM=epidermal musculature; PM=Parenchymal musculature.

\*\*\*+++, intensely stained; ++, moderately stained; +, slightly stained; 0, positive reaction; —, negative reaction.

Non-specific esterase의 isozyme pattern은 sparganum과 성충에서 각각 7개와 8개의 isozyme band가 나타났는데, sparganum에서는 3번 band가 major band를 이루고 성충에서는 4번 band가 major band를 이루었다. 2번과 7번, 8번 band의 효소활성은 성충보다 유충에서 더 높게 나타났고 5번과 6번 band는 감염후 50일과 70일이 경과된 sparganum에서 감염후 10일과 30일이 경과된 sparganum보다 활성이 더 높게 나타났다 (Fig. 1).

### Acid phosphatase

acid phosphatase는 pararosanilin hydrochloride에 붉은색으로 염색되었는데 sparganum은 표피층과 근층에 많이 분포하였고, 유조직층에는 거의 분포하지 않았다. 체위에 따른 두부와 체부간의 분포차이는 없었으며 감염 후 30일이 경과 된 sparganum에서 다른 발육단계보다 다소 적은 분포를 나타내어 발육에 따른 acid phosphatase의 분포에 차이가 있었다. 성충에서도 표피층 및 근층에 많이 분포하였고 유조직층에서도 미약하나마 약간의 분포가 있었다. 발육에 따른 유충과 성충간의 효소분포는 별다른 차이가 없었다 (Table 2, Fig. 10-15). non-specific esterase의 동위효소유형은 총 3개의 band로 나타났는데 sparganum과 성체 모두 3번 band가 major band를 이루었다. 발육에 따른 유충과 성

충간이 동위효소유형은 별다른 차이가 없었으나 성충의 미성숙편절에서 1번과 2번 band가 성숙편절과 수태편절의 1번과 2번 band에 비해 활성이 높게 나타났다 (Fig. 2).

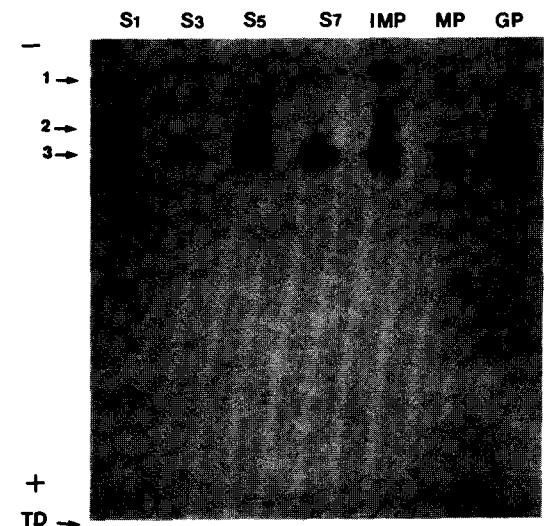


Fig. 2. Isozyme patterns of acid phosphatase on developing *Spirometra erinacei*.

\*S1: 10Days elapsed sparganum after infection  
S3: 30Days elapsed sparganum after infection  
S5: 50Days elapsed sparganum after infection  
S7: 70Days elapsed sparganum after infection  
IMP: Immature proglottid  
MP: Mature proglottid  
GP: Gravid proglottid.

Table 2. General distribution and relative amount of acid phosphatase activity on developing *Spirometra erinacei*.

Tissue	Sparganum				Adult		
	10days	30days	50days	70days	Immature proglottid	Mature proglottid	Gravid proglottid
T	++	+	++	+++	+++	+++	++
	(+)	(+)	(++)	(+++)			
EM	+++	+	+++	++	+++	+++	+++
	(+)	(+)	(++)	(++)			
PM	-	-	-	-	0	0	0
	(-)	(-)	(-)	(-)			

\*( ): Activity in Sparganum scolex.

\*\*T=Tegument; EM=epidermal musculature; PM=Parenchymal musculature.

\*\*\*+++ , intensely stained; ++, moderately stained; +, slightly stained; 0, positive reaction; -, negative reaction.

### Alkaline phosphatase

alkaline phosphatase는 fast-red TR salt에 염색되어 적색으로 나타났는데 유충과 성충 모두 표피층과 근층에서 많이 분포하였으며 유조직층에서도 상당한 분포를 확인할 수 있었다. sparganum의 성장에 따른 발육시기별의 효소분포와 성체 편절간의 효소분포는 별다른 차이가 없었으며 두부와 체부간의 분포도 뚜렷한 차이가 없었다. 성체에서는 유조직층에 비해서 표피층과 근층에 많은 효소가 분포하였는데, 특히 표피층에 많이 분포하였다 (Table 3, Fig. 16-21). alkaline phosphatase의 동위효소유형은 sparganum에서는 2개의 band로 나타났고, 성충에서는 4개의 band로 나타났는데 이중 2번 band가 sparganum과 성충에서 똑같이 major band를 이루었다. 한편 sparganum에서 볼수 없었던 3번과 4번band가 성충에서 나타났는데, 특히 4번band는 수태편절에서 뚜렷한 활성을 보였다. 발육에 따른 sparganum간의 동위효소유형과 성충의 편절간의 동위효소유형은 별다른 차이가 없었다 (Fig. 3).

### 고 찰

존충류의 양분섭취 방법은 체표흡수에 의해 수행되기 때문에 어느 발육단계에서도 소화관의

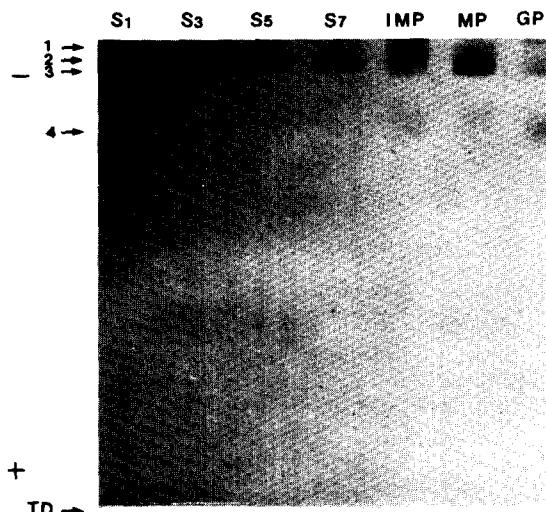


Fig. 3. Isozyme patterns of alkaline phosphatase on developing *Spirometra erinacei*.

\*S1: 10Days elapsed sparganum after infection

S3: 30Days elapsed sparganum after infection

S5: 50Days elapsed sparganum after infection

S7: 70Days elapsed sparganum after infection

IMP: Immature proglottid

MP: Mature proglottid

GP: Gravid proglottid.

구조는 찾아볼수 없다 (Hopkins and allen, 1979; Lee, 1972; Pappas and Read, 1975). Hopkins와 Allen의 보고 (1979)에 따르면 존충류의 양분흡수는 단순히 능동수송 및 확산에 의해 이루어지며 유충시기에는 어떠한 선조직도

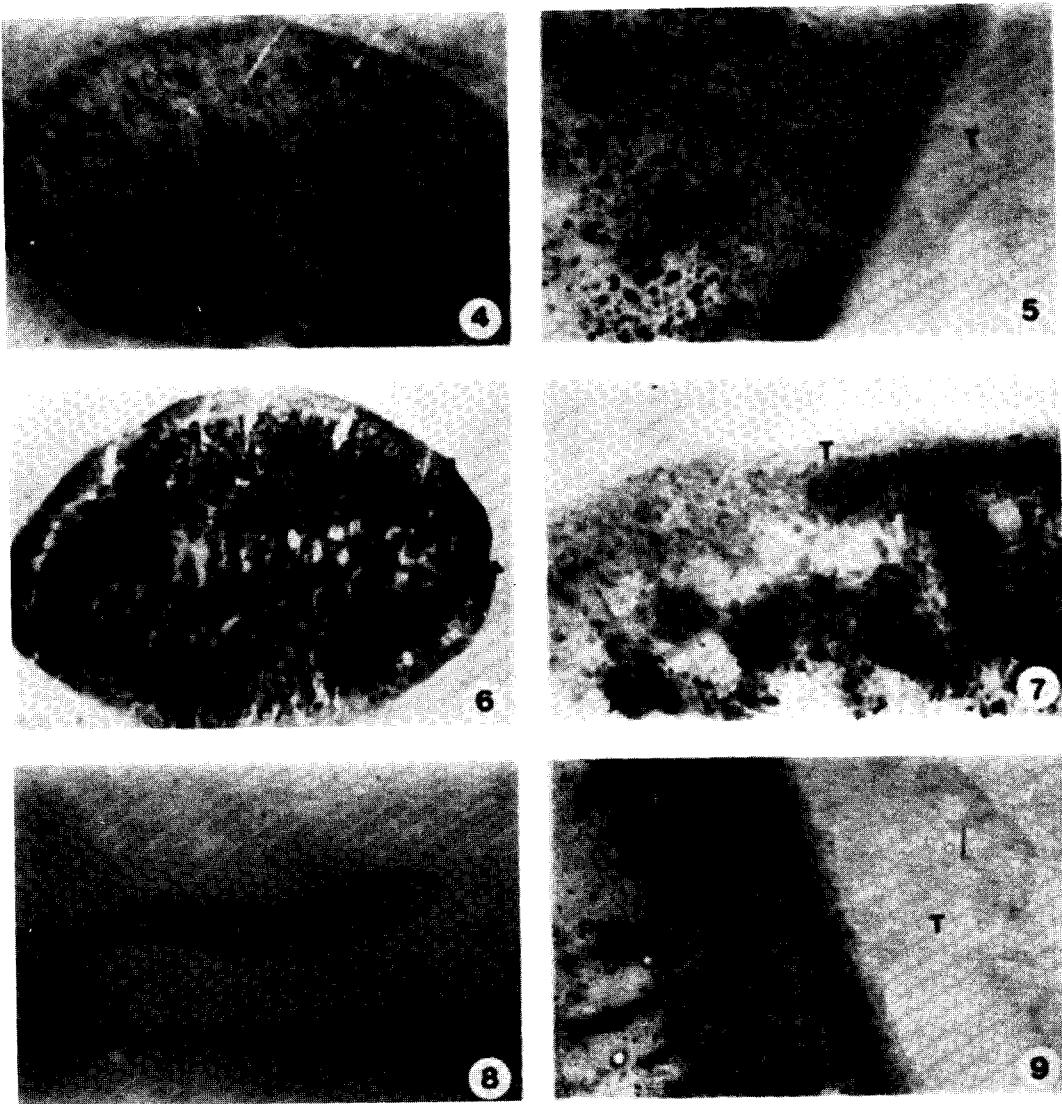
Table 3. General distribution and relative amount of alkaline phosphatase activity on developing *Spirometra erinacei*.

Tissue	Sparganum				Adult		
	10days	30days	50days	70days	Immature proglottid	Mature proglottid	Gravid proglottid
T	+++ (++)	++ (++)	+++ (++)	+++ (++)	+++	+++	+++
EM	+++ (++)	++ (++)	+++ (++)	++ (++)	++	++	++
PM	+	0	0	+	0	0	0
	(+)	(0)	(0)	(+)			

\*( ): Activity in Sparganum scolex.

\*\*T=Teument; EM=epidermal musculature; PM=Parenchymal musculature.

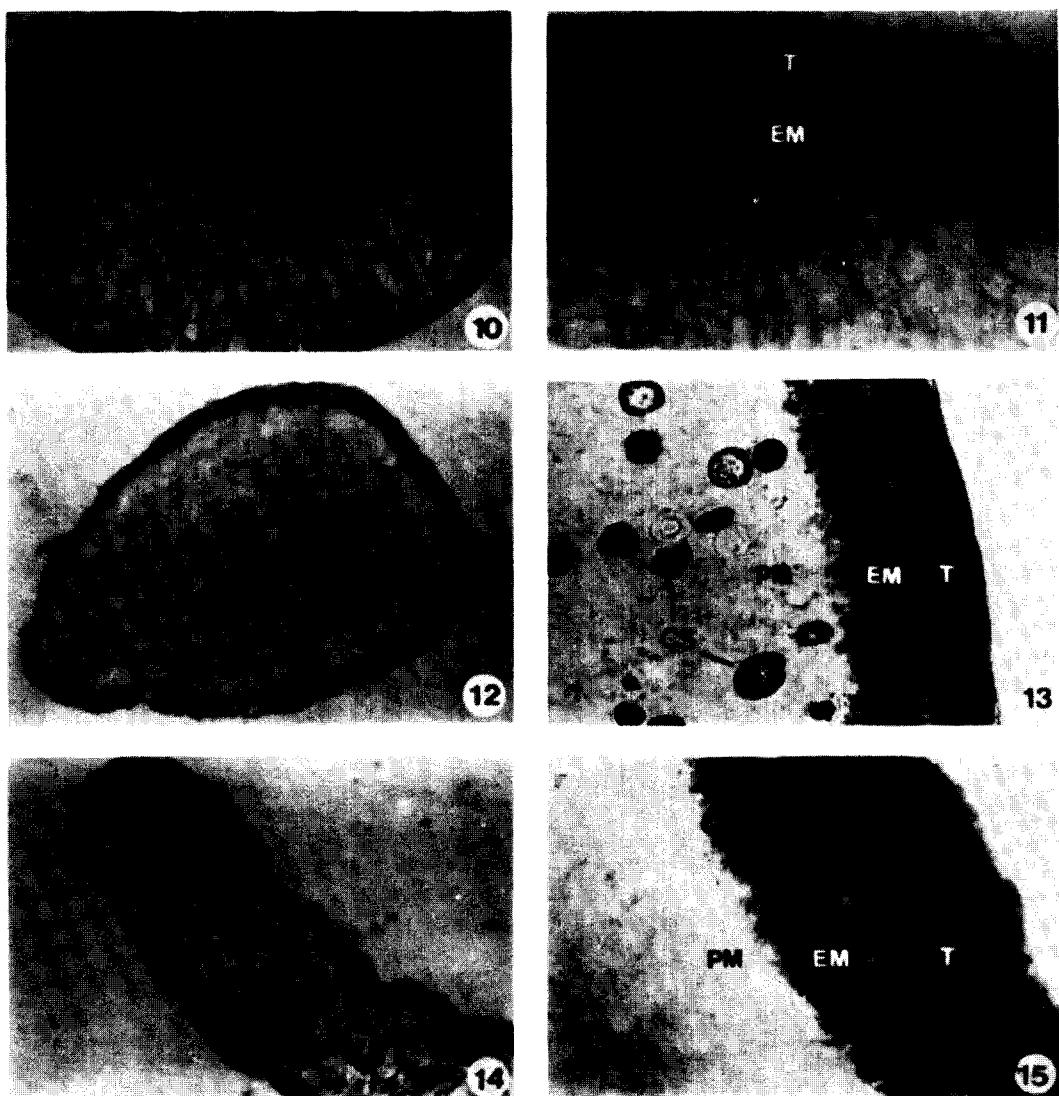
\*\*\*++++, intensely stained; ++, moderately stained; +, slightly stained; 0, positive reaction; -, negative reaction.



**Fig. 4-9.** Histochemical localization of non-specific esterase activity on developing *Spirometra erinacei*. Abbreviations: T=tegument, EM=epidermal musculature, PM=parenchymal musculature.  
4,5. Strobila of sparganum elapsed 10days after infection. (40X, 400X), 6,7. Strobila of sparganum elapsed 50days after infection. (40X, 400X), 8,9. Immature proglottid of adult. (40X, 400X)

볼수 없다고 하였다. 속주체내에서 흡수된 영양 물은 총체의 표피층 및 근층에서 대사작용에 이용되는데 여기에 관여하는 각종효소 특히 가수 분해효소에 대한 연구는 많이 보고되었다. 1959년 Takahashi는 *Spirometra erinacei*와 *Spirometra mansoni*의 조직 화학적 연구에서 총체의 큐티클과 큐티클하부세포에서 acid phosphatase와

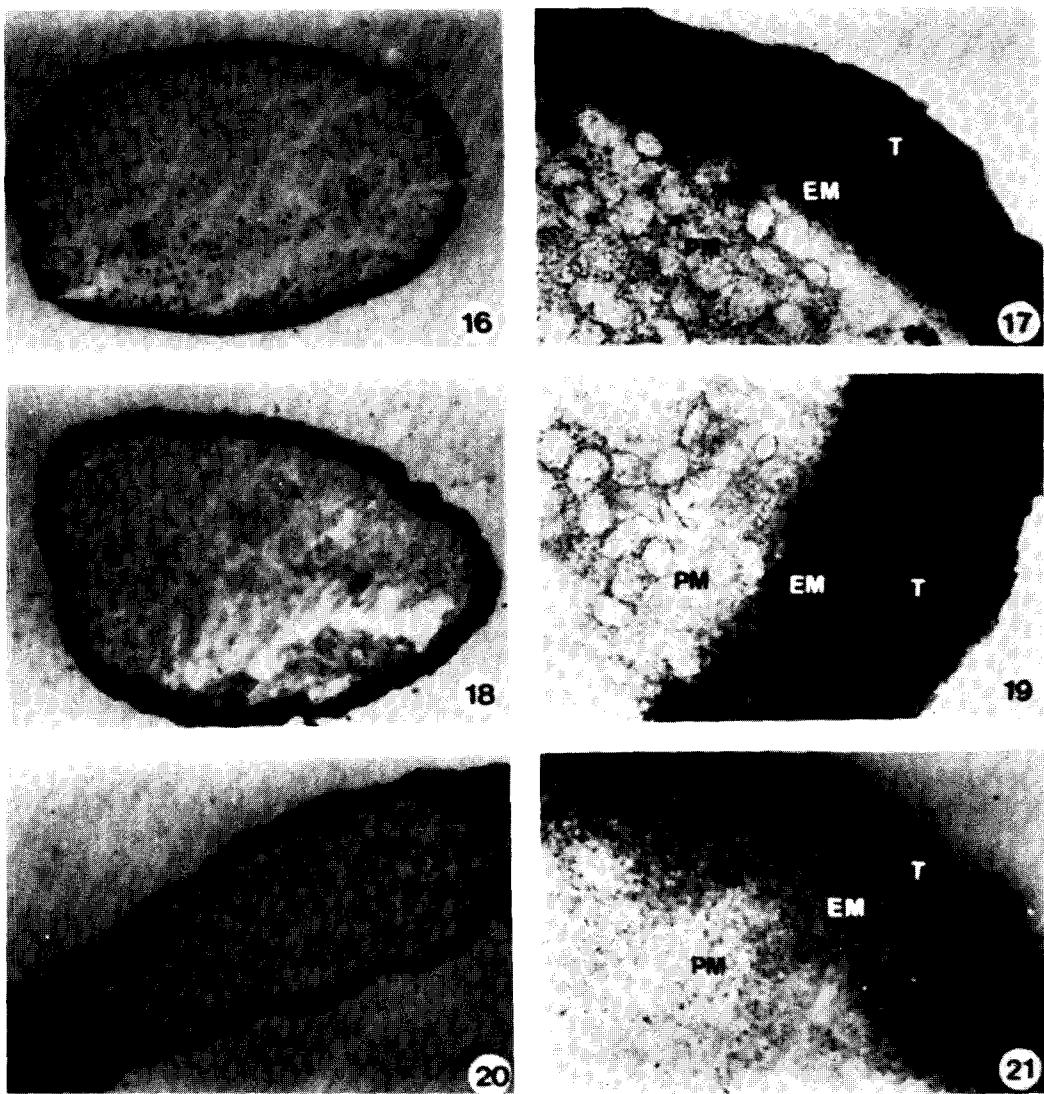
alkaline phosphatase가 다양으로 분포하였다고 보고하였다. 1961년 Saraki의 보고도 *Spirometra erinacei*의 표피층 및 표피층하부에 acid phosphatase와 alkaline phosphatase가 많이 분포함을 보고하여 Takahashi의 보고를 뒷받침 하였는데, 이는 본 실험의 결과에서 나타난 표피층 및 근층에서 많은 분포를 확인한 사실과 일치한다.



**Fig. 10-15.** Histochemical localization of acid phosphatase activity on developing *Spirometra erinacei*. Abbreviations: T=tegument, EM=epidermal musculature, PM=parenchymal musculature, CS=calcareous corpuscles  
10,11. Strobila of sparganum elapsed 30days after infection. (40X, 400X), 12,13. Strobila of sparganum elapsed 70days after infection. (40X, 400X), 14,15. Mature proglottid of adult. (40X, 400X).

1972년 Kwa는 본 종의 sparganum에 있어서 acid phosphatase는 표피층 및 근층에 많이 분포하며 alkaline phosphatase는 표피층에서 많은 분포를 나타낸 반면 근층에서는 다소 미약한 반응을 나타냈다고 보고하다. 본 실험에서는 성충에서 표피층의 분포가 근층보다 높게 나타났는데 이는 Kwa의 보고와 다소 차이를 보였다. 기생

충의 생체내에 분포하고 있는 phosphatase는 충체내 신진대사작용에 있어서 탄수화물과 지질의 분해 및 합성에 관여하거나 또는 탄수화물에서의 지방생성과정에 중요한 역할을 담당하고 있으며, 특히 인산 ester를 가수분해해서 유리인산을 발생하게 하거나 또는 이를 합성하는 작용을 하는 것으로 알려져 있다 (Chu and Lee, 1960).



**Fig. 16-21.** Histochemical localization of acid phosphatase activity on developing *Spirometra erinacei*. Abbreviations: T=tegument, EM=epidermal musculature, PM=parenchymal musculature, CS=calcareous corpuscles 16,17. Strobila of sparganum elapsed 70days after infection. (40X, 400X), 18,19. Strobila of sparganum elapsed 70days after infection. (40X, 400X), 20,21. Gravid proglottid of adult. (40X, 400X).

1964년 Ma는 흡충류 *Clonorchis sinensis*에 대한 효소조직연구에서 acid phosphatase의 조직내 분포는 층체의 표피층에 많이 분포하였고, alkaline phosphatase는 소량으로 분포한다고 보고 했다. 또한 Chu와 Lee의 보고(1960)에 따르면 회충조직에서는 acid phosphatase가 alkaline phosphatase보다 많이 분포함을 보고했다. 본

실험 결과에서 나타난 *Spirometra erinacei*의 표피 층과 근층에 분포하는 alkaline phosphatase는 acid phosphatase에 비하여 더 많은 분포를 나타내어 흡충류와 선충류와는 차이가 있었다. 1967년 Halton의 연구에 의하면 기생충의 체내에 분포하는 alkaline phosphatase는 acid phosphatase와는 달리 체내 합성보다는 외부로부터 흡수

되어 존재하는 것이 더 많다고 보고했다. 연구에서 나타난 alkaline phosphatase의 높은 분포는 이 효소가 속주체내에 다량 분포되어 있다가 충체로 많이 흡수된 것인지 아니면 충체가 흡수한 영양물에 알칼리성 인산화합물이 많기 때문인지는 보다 깊은 연구가 요구된다. 본 연구에서 나타난 동위효소유형은 alkaline phosphatase가 sparganum에서 2개, 성충에서 4개의 band로 나타났고 acid phosphatase는 유충과 성충 모두 3개의 band로 나타났다. 이 중 alkaline phosphatase의 isozyme band중 3번 band가 sparganum에서는 보이지 않다가 성충에서 분리되었는데, 특히 수태편절에서 높은 활성을 보여 생식기관분화 및 충란성숙에 필요한 왕성한 대사활동에 관여하는 효소가 아닌가 사료된다. 1971년 Dickson 등은 본 종에서 각각 1개의 acid phosphatase와 alkaline phosphatase가 분리되었음을 보고하였다. 1964년 Ma는 간흡충에서 3개의 acid phosphatase isozyme band를 분리하였다고 보고했다. 한편 본 실험에서 나타난 non-specific esterase의 분포는 유조직층에 많이 분포하고 표피층의 분포는 거의 없었다. 특히 감염 후 10일과 30일이 경과된 sparganum의 표피층에서는 음성반응을 나타내었다. 충체내에 분포하는 esterase의 역할에 대해서 Lee (1962)는 lipid의 합성 및 분해대사에 관여한다고 보고하였고 Hague와 Saddigi (1984)의 보고는 막투파와 삼투압조절에 중요한 역할을 한다고 보고하였다. 1969년 Davis등의 연구에 따르면 흡충류 *Haematoloechus medioplexus*는 다른 기관에 비해 소화관에서 esterase의 분포가 많았음을 보고하였고, Halton (1967)의 간질 (*Fasciola hepatica*) 조직화학연구에서는 생식기관에 많이 분포한다고 보고했다. *Spirometra erinacei*의 발육에 따른 non-specific esterase의 isozyme band pattern은 sparganum에서 7개 성체에서 8개의 band로 분리되었는데 이 중 sparganum에 없는 4번 band가 성충에서 major band로 나타났다. 이 4번 band는 유충시기와는 달리 성충에서만 나타나는 편절분화에 관여하는 효소가 아닌가 추정되나 좀더 추구해 볼 문제라 여겨진다. 1981년 Agatsuma와 Suzuki는 starch gel을 이용한 *Paragonimus*

*spp*의 효소연구에서 1개의 esterase isozyme band를 분리하였고 Dickson (1971)은 8종의 선충에서 4~5개의 esterase isozyme band를 분리했다. 1985년 Esbenshade와 Triantaphyllou (1985)는 *meloidogyne* 16종을 동정하기 위한 실험에서 18종류의 non-specific esterase의 isozyme band를 분리하여 이 중 6개 band가 종 특이성을 나타냈다고 보고하였다. 본 실험의 결과에서는 7~8개의 band가 나타났는데 이상의 연구 결과들을 종합해 볼 때, non-specific esterase의 isozyme은 acid phosphatase나 alkaline phosphatase의 isozyme에 비해 종에 따라 분포하는 동위효소유형이 다양함을 알 수 있었다. 한편, 본 실험 중 sparganum의 조직에서 일부 흡충류 및 조충류에서 흔히 볼 수 있는 비세포성 석회과립 (Calcareous corpuscles)이 유충시기에 상당히 많이 발견되었다. 이 석회과립의 기능에 대해서는 아직 뚜렷히 밝혀진 바 없으나, Smyth (1969)는 속주 체내에서 분비되는 유해물에 대한 방어물질을 공급하는 역할을 하며, 또한 유충초기의 왕성한 물질대사에 필요한 무기이온의 공급처 역할을 하는 것으로 보고하였다.

### 인용문헌

- Agatsuma, T. and N. Suzuki, 1981. Electrophoretic studies on enzymes in *Paragonimus* spp. I. Comparison of isozyme patterns *P. ohrai* and *P. miyazakii*. *Jap. J. Parasit.* Vol. 30:37-42.
- Allen, J. M. and G. J. Hyncik, 1963. Localization of alkaline phosphatases in gel matrices following electrophoresis. *J. Histochem.* 11:169-175.
- Bailey, H. H. and D. Fairbrairn, 1968. Lipid metabolism in helminth parasites. V. Absorption of fatty acids and monoglycerids from micellar solution by *Hymenolepis diminuta* (Cestoda). *Comp. Biochem. Physiol.* 26:819-836.
- Belding, D. L., 1965. Textbook of parasitology, 3rd Ed. p. 591. Appleton-Century-Crofts Inc. N. Y.
- Chu, J. K. and H. S. Lee, 1960. Histochemical studies on the Relationship between the Ascarides of man and Pig. *Korean Parasitol.* 15-21.
- Davis, D. A., B. J. Bogitsh, and D. A. Nunnally, 1969. Cytocemical and biochemical observations on the digestive trematodes. III. Nonspecific esterase in *haematoloechus medioplexus*. *Exp. Parasitol.*

- 24:**121-129.
- Dickson, D. W., D. Huisingsh, and J. N. Sasser, 1971. Dehydrogenase Acid and alkaline Phosphatase, and Esterase for Chmotaxonomy of selected *Meloidogyne*, *Ditylenchus*, *Heterodera* and *Aphelenchus* spp. *J. Nematology*. **3**:1-17.
- Esbenshade, P. R. and A. C. Triantaphyllou, 1985. Use of enzyme Phenotypes for identification of *melandogyne* species. *J. Nematology*. **17**:6-20.
- Faust, E. C., P. F. Russel and R. C. Jung, 1970. Craig and Faust's Clinical Parasitology. 8th Ed. P. 516. Lea and Febiher. Philadelphia.
- Fukase, T., Y. Matsuda, S. Akihama, and H. Itagaki, 1984. Some hydrolyzing enzymes, especially arginine amidase, in plerocercoids of *spirometra erinacei* (Cestoda; Diphyllobothriidae). *Jpn. J. Parasitol.* **33**:283-290.
- Fukase, T., Y. Matsuda., S. Akihama, and H. Itagaki, 1985. Purification and some properties of cysteine protease of *Spirometra erinacei* Plerocercoid (Cestoda; Diphyllobothriidae). *Jpn. J. Parasitol.* **34**:351-359.
- Hague, M. and A. H. Saddigi, 1984. Esterase activity in some digenetic trematodes. *Jpn. J. Parasitol.* **33**:275-282.
- Halton, D. W. 1967. Studies phosphatase activity in trematoda. *J. Parasitol.* **53**:46-54.
- Halton, D. W. 1967. Histochemical studies of carboxylic esterase activity in *Fasciola hepatica*. *J. Parasitol.* **53**:1210-1216.
- Hopkins, C. A. and L. M. Allen, 1979. *Hymenolepsis diminuta*; the role of the tail in determining the position of the worm in the intestine of the rat. *Parasitology* **79**:401-410.
- Kim, K. C. and K. H. Lee, 1966. A case of Sparganosis (in Korean). *Korean Central U. Med.* **4**:499-501.
- Kwa, B. H, 1972. Studies on the sparganum of *Spirometra erinacei*-I. The histology of the sparganum scolex. *International J. Parasitol.* **2**:23-28.
- Lawrence, S. H., P. J. Melnick, and H. E. Weimer, 1960. a species comparison of serum proteins and enzymes by starch gel electrophoresis *Proc. Soc. Exp. Biol. med.* **105**:572-575.
- Lee, D. E, 1972. The structure of the helminth cuticle. *Adv. Parasitol.* **10**:347-372.
- Lee, D. L, 1962. The distribution of esterases in *Ascaris lumbricoides*. *Parasitology* **52**:214-260.
- Lee, S. H., 1975. Some Aspects of Human Sparganosis. *Korean J. Parasitol.* **13**:60-77.
- Lojda, Z., R. Gossrau; and T. H. Schiebler, 1979. Enzyme Histochemistry. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. new York; 59-71, 71-87, 117-118.
- Lowry, O. H., N. J. Rosenbrough, A. L. Farr, and R. J. Randall, 1951. Protein measurement with the Folin Phenol reagent. *J. Biol. chem.* **193**:265-275.
- Ma, L., 1964. Acid phosphatase in *Clonorchis siensis* *J. Parasitol.* **50**:235-240.
- Markert, C. L. and R. L. Hunter, 1959. The distribution of esterase in mouse tissues. *J. Histochem. Cytochem.* **7**:42-49.
- Noble, E. R., 1982. Parasitology. Lea Febiger Philadelphia; 214-215.
- Pappas, P. W. and C. P. Read, 1975. membrane transport in helminth Parasites. *Exp. Parasitol.* **37**:469-530.
- Saraki, T., 1961. A histochemical study on the nucleic acid in manson's tapeworm (in Japanese: English summary). *Acta Scholae medicinalis in Gifu.* **9**: 176-189.
- Smyth, J. D., 1969. The physiology of Cestodes. San Francisco. W. H. Freeman & Co. Publishers **7**:327-345.
- Takahashi, T., 1959. Studies on *diphyllobothrium mansoni*. II. Histochemical studies on Plerocercoid (in Japanese: english Summary). *Jpn. J. Parasitol.* **10**:669-676.
- Takamoto, S., 1931. Plerocercoids found in frogs and snakes in Korea, with display of specimen of *Sparganum mansoni* from human case found by Dr. Ide (Japanese abstract). *J. Chosen Med.* **21**(11): 1451-1452.

(Accepted July 20, 1988)

---

**Enzyme-Histochemical Studies of Esterase and Phosphatase on Developing  
*Spirometra erinacei***

Ki Hun Kwak and Chang Hwan Kim (Department of Biology, Gyeongsang National University,  
Jinju, 660-701, Korea)

This study was carried out to compare distribution and isozyme pattern of nonspecific esterase, acid phosphatase and alkaline phosphatase on developing sparganum and adult of *Spirometra erinacei* by using enzyme-histochemical method and electrophoresis. The sparganum and adult were recovered from rats and cat that were infected by sparganum. The results obtained were as follows:

Nonspecific esterase had a strong activity in the parenchymal musculature of sparganum and adult, but no detectable level in the tegument. A total of 7 and 8 nonspecific esterase bands were detectable in sparganum and adult, respectively. Of these bands, band 3 and 4 were major bands in sparganum and adult.

Acid phosphatase had a strong activity in the tegument and the epidermal musculature of sparganum, but no detectable level in the parenchymal musculature. A total of 3 bands were detectable in sparganum and adult. Of these bands, band 3 was major band in sparganum and adult.

Alkaline phosphatase had a strong activity in the tegument and the epidermal musculature of sparganum and of adult, but no detectable level in the parenchymal musculature. A total of 2 and 4 bands were detectable in sparganum and adult. Of these bands, band 2 was major band in sparganum and adult.

Based on the present results isozyme band patterns showed qualitative and quantitative changes in each tissues of sparganum and of adult during the development.