

면역억제에 의한 마우스의 *Cryptosporidium* 발현 실험

서울대학교 의과대학 기생충학교실 및 풍토병연구소, 영남대학교 의과대학 소아과학교실*

및 서울대학교 의과대학 소아과학교실**

채종일 · 신손문* · 윤종구** · 유재란 · 이순형

요 약 : 실험용 마우스(ICR)에 프레드니솔론을 주어 인공적으로 면역억제시키면서 *Cryptosporidium* 발현 여부를 7주 동안 관찰한 바 다음과 같은 결과를 얻었다. 면역억제 1주 후부터 마우스 대변에서 *Cryptosporidium*의 oocyst (크기 4~6 μm)가 검출되었고 2주 후부터 마우스가 사망하기 시작하였다. 대변에서 oocyst가 검출된 마우스의 소장 절편을 H & E 염색하여 광학현미경으로 관찰한 결과 *Cryptosporidium*은 공장 하부에서 호발하였으며 장 용모의 점막 상피세포 표면에 접같이 붙은 모습으로 무수히 발견되었고 호염기성이었으며 크기는 직경 2~4 μm 정도 되었다. 이들의 여러 발육 단계에 대해 주사 전자현미경 및 투과 전자현미경으로 입체구조를 관찰하였으며 그 결과 총체의 종은 *C. parvum*으로 동정하였다. 항균제(tetracycline, trimethoprim-sulfamethoxazole)를 면역억제제와 함께 투여한 실험군에서도 *Cryptosporidium*이 발현되었으나 면역억제제 만을 투여한 실험군의 마우스보다 수명을 다소 연장시킬 수 있었다. 이 실험 결과 우리 나라에도 *Cryptosporidium*(*C. parvum*)이 존재하고 있음을 확인하였으며 인체 감염태가 있을 가능성을 짐작할 수 있었다.

Key words: *Cryptosporidium*, prednisolone, mouse, immunosuppression, opportunistic infection

서 론

*Cryptosporidium*은 파충류, 어류, 조류, 포유류 등 척추 동물의 호흡기, 소화기 등에 기생하는 원충류의 하나로 마우스의 위선(gastric gland)에서 처음 발견되어 *Cryptosporidium muris*로 명명되었으며(Tyzzer, 1907), 이어서 마우스 소장에서 *C. parvum*(Tyzzer, 1912) 등이 보고되기 시작하였고 지금까지 각종 동물에서 약 20여 종이 알려져 있다(Fayer and Ungar, 1986). 최근에 와서 이 원충(특히 *C. parvum*)은 인체 감염을 일으킨다는 것이 알려졌고(Nime *et al.*, 1976; Meisel *et al.*, 1976; Current, 1989), 특히 AIDS 등 면역 기능이 저하 또는 결핍된 환자에게 극심하고 만성적인 설사를 유발하여 생명에 위협을 초래하게 하는 등 인체의 중요한 병원체의 하나로 밝혀지게 되어 관심이 높아지고 있다(Ma *et al.*, 1983; Soave *et al.*, 1984). 이 원충은 현재 세계 20개국 이상에서 보고되어 있으며(Fayer and Ungar, 1986), 개발도상 국가에서는 설사 환자의 3~13%, 선진국에서는 설사 환자의 0.6~7.3%가 *Cryptosporidium*에 의한 것이라고 한다(Janoff and Reller, 1987).

그럼에도 불구하고 우리 나라에서는 지금까지 인체 cryptosporidiosis 증례는 물론 동물에 있어서도 *Cryp-*

*tosporidium*의 존재 여부조차 밝혀져 있지 않은 형편이다. 따라서 이 연구에서는 우리 나라의 실험용 마우스에 *Cryptosporidium* 감염이 있는지를 알아볼 목적으로 다음과 같은 실험을 수행하였다. 첫째, 마우스에 대해 외부에서 *Cryptosporidium*을 감염시키지 않고 면역억제 효과가 있는 prednisolone만을 주입했을 때 *Cryptosporidium*이 발현되는가를 확인함으로써 국내 실험용 마우스에 있어서 본 원충의 존재 여부를 증명하고자 하였고, 둘째 몇가지 항균제를 prednisolone과 함께 주입함으로써 항균제 주입이 *Cryptosporidium* 발현에 미치는 효과를 관찰하는 한편, 셋째 발현된 총체의 형태를 광학 및 전자현미경으로 관찰하고자 한 것이다.

재료 및 방법

1. 마우스의 면역 억제

ICR 마우스 수컷 약 13~15 g 정도의 것을 실험군 60마리, 대조군 5마리로 총 65마리를 사용하였다. 실험군은 3군으로 나누어 I 군은 prednisolone(1.0 mg)을 2일에 한 번씩 근육 내로 주사하였으며 먹는 물로는 수도물을 매주 2회 갈아 주었다. II 군은 prednisolone(1.0 mg)을 2일에 한 번씩 근육 내로 주사하였으며 먹는 물에 tetracycline(1 mg/ml)을 타서 매주 2회 갈아 주었다. III 군은 prednisolone(1.0 mg)을 2일에 한 번씩 근육 내로 주사하였으며 먹는 물에 trimethoprim-sulfamethoxazole(1 mg/ml)을 타서 매주 2회 갈아 주었다.

* 이 연구는 1988년도 서울대학교 의과대학 기초의학 전홍연구비의 보조로 이루어졌음.

마우스는 실험군 당 20마리를 사용하였고 한 cage에 5마리씩 보관하였다. 대조군과 실험군 모두에서 먹이는 같은 것으로 주었으며 제한하지 않았다.

2. 대변 검사

면역억제시킨 마우스의 대변을 매주마다 한 번씩 다음과 같은 modified acid fast 염색 방법(Casemore et al., 1985)으로 검사하였다. 즉, 마우스의 대변을 동량의 2.5% potassium dichromate(K₂Cr₂O₇) 용액에 섞은 후 직경 53 μm의 체로 거른 다음 3,000 rpm에서 15분간 원심분리하였다. 상층액은 버리고 침전물만을 취하여 10% formalin과 ether를 넣고 흔들어 다시 원심분리하고 침전물만을 취하여 slide glass에 얇게 도말한 후 공기 중에서 말리고 methanol로 3분간 고정하였다. Carbol fuchsin에 염색하고 3% acid alcohol로 탈색한 다음 methylene blue로 대조 염색하고 ×200, ×400 및 ×1,000 배율로 관찰하였다.

3. 장 절편 채취

대변 검사에서 oocyst가 검출된 마우스 및 대조군 마우스를 경추탈구법으로 희생시키고 개복하였다. 개복 후 위 유문부(pylorus)로부터 10 cm, 회맹부(ileocecal junction)로부터 10 cm 부분의 소장 및 맹장을 각각 길이 2 cm 정도로 절편을 채취한 다음 일부는 10% 중성 포르말린에, 일부는 2.5% glutaraldehyde에 고정하였다.

4. 광학현미경적 관찰

마우스로부터 채취한 장 절편을 10% 중성 포르말린에 고정한 후 탈수 과정을 거쳐 파라핀에 포매하였고 4 μm 두께로 깎은 다음 통상적인 H & E 염색을 시행하였다.

5. 주사 전자현미경적 관찰

마우스로부터 채취한 2 mm 크기의 장 조직을 2.5% glutaraldehyde에 고정한 후 0.1M PBS액으로 세척하고 탈수 과정을 거친 후 냉동 건조시켰다. 금으로 coating 한 후 Zeol JSM-T300으로 관찰하고 필요한 부분은 사진 촬영하였다.

6. 투과 전자현미경적 관찰

마우스로부터 채취한 1 mm 크기의 장 조직을 2.5% glutaraldehyde에 고정한 후 0.1M PBS 액으로 세척하고 1% OsO₄로 후고정(postfixation)하였다. 0.2M PBS 액으로 세척 후 탈수하였고 propylene oxide에 처리 후 epoxy resin으로 포매하였다. 70 nm 두께로 초박편 절편을 뜬 후 uranyl acetate와 lead citrate로 이중 염색하고 Zeol 100 CX2로 관찰한 후 필요한 부분은 사진 촬영하였다.

결 과

1. 대변에서 oocyst 검출률

대조군을 제외한 각 실험군에서 면역억제 후 1주가

지나자 oocyst가 검출되었다. Modified acid fast 염색에서 oocyst는 빨간 색으로 관찰되었으며 검은 색의 점이나 vacuole이 보이기도 하였으며 sporozoites가 들어 있는 것도 있었다. 반면에 세균이나 곰팡이를 비롯한 기타 대변 성분들은 methylene blue에 대조 염색되어 파란 색으로 관찰되었다(Fig. 1). 관찰된 oocyst는 4~6 μm 정도의 크기였다. 각 실험군에서 oocyst의 크기나 형태의 차이는 관찰되지 않았다.

2. 광학 현미경적 소견

대변검사서 oocyst가 검출된 마우스의 소장과 맹장을 관찰한 결과 대부분 소장에서 Cryptosporidium이 관찰되었는데 소장 중에서도 회맹부 전방 10 cm 되는 부위에 가장 호발하였고 맹장에서는 관찰되지 않았다. H & E 염색하에서 Cryptosporidium은 호염기성으로 관찰되었으며 용모 점막 상피세포 표면에 점 같은 층체가 무수히 붙어있는 모습이었고 크기는 2~4 μm까지 다양하였다(Fig. 2). 용모의 형태나 키, 용모 대 선와의 비율은 대조군과 큰 차이가 없었고 용모의 기질 내에도 대조군과 별다른 차이가 관찰되지 않았으며 각 실험군 간에도 차이가 없었다.

3. 주사 전자현미경적 소견

용모 표면의 미세 용모 사이에 각 발육 단계별 Cryptosporidium이 관찰되었다(Fig. 3). 특히 merozoites를 포함하고 있는 type I meront가 관찰되었으며 크기는 3 μm 정도 되었다(Fig. 4).

4. 투과 전자현미경적 소견

점막 상피세포의 솔번연 사이에서 숙주세포와 밀착되어 있는 Cryptosporidium의 trophozoites와 macrogametes 등 몇가지 발육단계를 발견할 수 있었다(Fig. 5 & 6). Trophozoites는 둥글거나 다원형이었으며 두 겹의 숙주세포에서 유래한 막(pellicle)으로 둘러싸여 있었고 크기는 직경 2.0~2.5 μm 정도 되었다. 큰 핵과 핵 속의 nucleolus가 매우 특징적이었다(Fig. 5). Macrogamete는 trophozoites와 흡사하였으나 매우 잘 발달된 endoplasmic reticulum과 여러 가지 granule과 vacuole이 관찰되었다. 또 pellicle에 의해 둘러싸여 있었으며 숙주세포와 연결된 곳에 feeder organelle도 관찰되었다. 크기는 직경 3.5 μm 정도 되었다(Fig. 6). 이상의 형태학적 소견은 C. parvum에 일치하였다.

5. 항균제 병합 투여시 Cryptosporidium 발현률의 차이

대조군과 실험군에서 Cryptosporidium의 발현 양상을 7주 동안 관찰하고 매주마다 대변검사를 하여 양성률을 관찰하였다. 대조군에서는 1주에서 7주까지 항상 양성이었으나 실험군 중 I 군(prednisolone만 투여)에서는 1주 후 70%의 마우스 대변에서 oocyst가 검출되었고 II 군(prednisolone과 tetracycline 투여)에서는 40%, III 군(prednisolone과 trimethoprim-sulfamethoxazole 투여)에서는 55%에서 양성이었다. I 군에서는 3주까

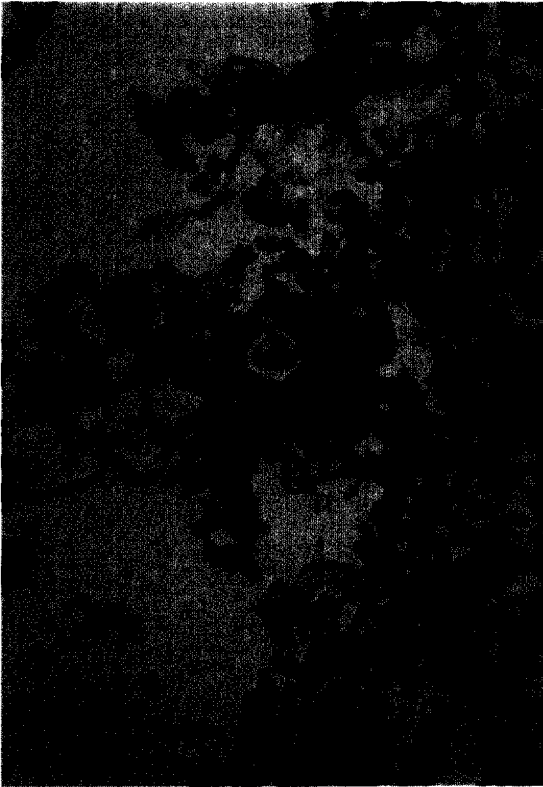


Fig. 1. A *Cryptosporidium* oocyst (O) containing 4 sporozoites, modified acid-fast stain.

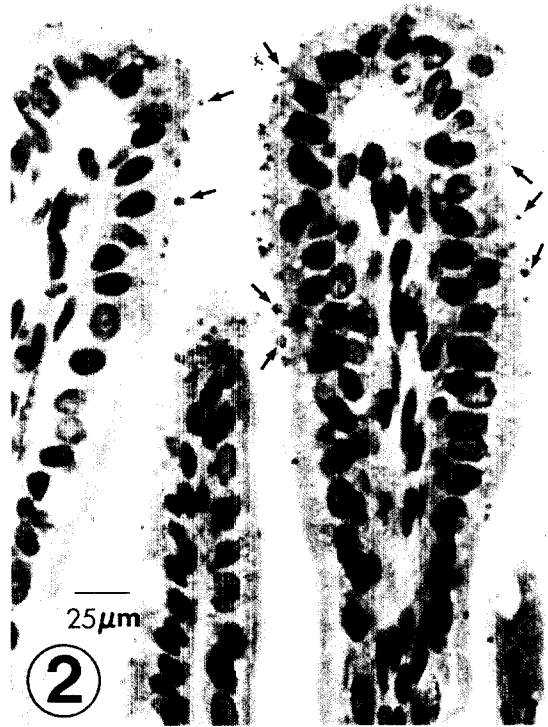


Fig. 2. Lower jejunal section of a mouse showing numerous *Cryptosporidium* developmental stages (arrows) on the epithelial surface of villi. H & E stain.

지 모든 마우스에서 *Cryptosporidium*이 발견되었으나 결국 모두 사망하였다. II군에서는 5주 후 모든 마우스에서 *Cryptosporidium*이 발견되었고 7주까지 20마리 중 9마리의 마우스가 살아 남았다. III군에서는 5주까지 5마리의 마우스가 대변검사서 음성인 채로 사망했으나 6주 후 모든 마우스에서 양성이었다. 7주 후까지 살아 남은 마우스는 4마리였다.

이상의 결과는 항균제의 병합 투여가 *Cryptosporidium* 발현률에 별다른 영향을 미치지 않는으나 마우스의 수명을 연장시키는 효과가 있음을 나타내고 있었다. *Cryptosporidium*이 발견된 마우스에서는 각 실험군 간에 병리 소견의 뚜렷한 차이가 관찰되지 않았다. 각 실험군의 마우스별 대변검사 결과는 Table 1과 같다.

고 찰

이 연구는 국내에 *Cryptosporidium* 원충이 존재하는가를 밝히기 위한 목적으로 시행한 것으로서 실험용 마우스에서 그 존재를 처음으로 확인하였다. 면역 억제시킨 마우스에 감염형인 oocyst를 인공적으로 주입하지 않고도 *Cryptosporidium*이 발견된 것은 면역 억제 기간 중 새로운 감염이 일어나 쉽게 정착한 결과일 수

도 있으나 이보다는 오히려 이미 장내에 존재하던 것이 숙주 면역 기능이 저하되자 발현된 결과일 가능성이 훨씬 크다. 그러나 앞으로 이 점을 더욱 확고히 하기 위해서는 면역 억제를 시키지 않고 마우스의 자연 감염 상황을 세밀히 조사할 필요가 있다고 생각된다.

*Cryptosporidium*은 마우스의 면역 기능을 저하시킨 뒤 1주가 지나자 대조군을 제외한 모든 실험군에서 발견되었는데 이는 비슷한 실험을 시행했던 Wagner and Das(1986)의 결과보다 1주가 빠른 것이다. 이와 같은 차이는 면역 억제의 시기나 방법에 있어서 Wagner and Das(1986)의 경우 dexamethasone 1 mg/ml을 먹는 물에 타서 주었고 본 실험에서는 prednisolone 1 mg을 근육 내로 주사하였으므로 투여 약제의 용량, 투여 방법 등에 차이가 있었기 때문으로 생각된다. 결국 본 실험에서는 면역 기능의 저하가 더 빠르고 강하게 나타났던 것으로 해석할 수 있겠다.

*Cryptosporidium*의 숙주 체내 분포는 매우 광범위할 수 있어 사람이나 마우스, 소 등에 있어서 식도로부터 직장 에 이르기까지 모두 *Cryptosporidium*이 기생할 수 있으며 호흡기나 담도에 기생한 예도 보고된 적이 있다(Current et al., 1983; Forgacs et al., 1983; Blumberg et al., 1984; Dobbins and Weinstein, 1985). 이

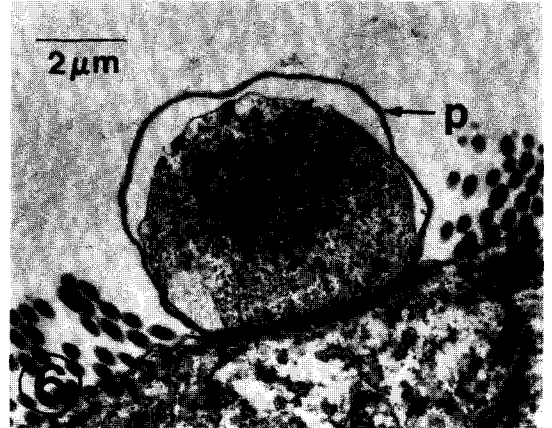
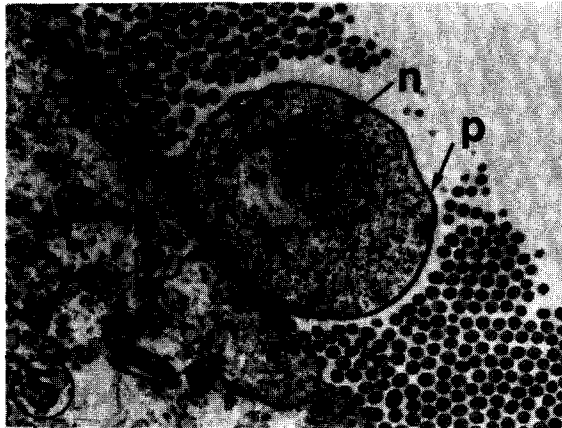
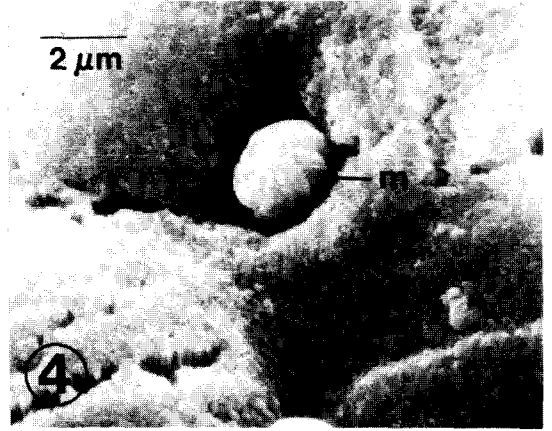


Fig. 3. Scanning electron microscopy of *Cryptosporidium*(arrows) attached on the epithelial surface of jejunal villi.
Fig. 4. Scanning electron microscopy of a type I meront with eight merozoites(m).
Fig. 5. Transmission electron micrograph of a developing trophozoite surrounded by a pellicle(p), and with a large nucleus(n) and prominent nucleolus(nu).
Fig. 6. Transmission electron micrograph of an early macrogamete surrounded by a pellicle(p), and with various sized granules.

실험에서는 총체가 소장 중에서도 특히 회맹부로부터 10 cm 전방의 하부 공장에서 호발하였으며 상부 공장이나 맹장에서는 거의 관찰되지 않았다. *Cryptosporidium*의 발현과 함께 마우스 대부분이 설사를 하는 것이 관찰되었으며 개복시 육안적으로 장 내용물에 거품과 수분이 많이 포함되어 있었고 장이 팽대되어 있었다. 이 실험에서는 식도나 위, 직장, 담도, 호흡기계 등은 관찰하지 않았다. *Cryptosporidium*에 감염된 숙주에서 소장의 병리 소견은 일반적으로 용모 기질 내에 림프구와 단백 세포의 침윤이 있고, 신와의 길이가 증가되며 용모의 둔화 등이 관찰되는 것으로 알려져 있다 (Meisel *et al.*, 1976; Weisburger *et al.*, 1979; Andreani *et al.*, 1983). 그러나 이번 실험에서는 용모 기질의 소견이나 용모 대 신와의 비율 등이 대조군의 경우와 큰 차이가 없었다. 이는 본 실험의 경우 prednisolone

을 투여하여 면역 기능을 저하시켰기 때문에 이와 함께 염증 반응의 강도가 현저히 저하되었기 때문으로 해석된다(Claman, 1975).

마우스의 소장에서 관찰된 *Cryptosporidium*은 H & E 염색 하에서 호염기성이었으며 숙주의 소장 점막 상피세포 표면에 점상으로 붙어있는 것이 관찰되어 언뜻 세포의 기생(extracellular parasitism)을 하는 것처럼 보였으나 투과 전자현미경 관찰에서 숙주 세포막의 일부로 형성된 pellicle에 의해 둘러싸여 있어 세포내 기생 총체임을 확인할 수 있었다. 또 총체의 여러 발육 단계 중 특히 trophozoite와 macrogamete가 투과 전자현미경에서 가장 흔히 관찰되었고 주사 전자현미경 하에서도 6~8개의 merozoite를 포함하는 type I meront가 관찰되어 이 총체를 *Cryptosporidium* sp.의 원충으로 진단할 수 있었다.

Table 1. The results of stool examination for *Cryptosporidium* oocysts by modified acid-fast stain in 3 experimental groups of mice

| Mouse Serial No. | Group I (pd ^a only) | | | | | | | Group II (pd+tc ^b) | | | | | | | Group III (pd+tm-sm ^c) | | | | | | | | | | | | | |
|------------------------|--------------------------------|---|----|---|---|---|---|--------------------------------|---|----|---|----|---|---|------------------------------------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|----|---|---|---|
| | Experimental period(week) | | | | | | | Experimental period(week) | | | | | | | Experimental period(week) | | | | | | | | | | | | | |
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | | | | | | | |
| 1 | - | + | * | | | | | + | + | ** | | | | | | | | | | | | - | * | | | | | |
| 2 | - | + | * | | | | | + | + | ** | | | | | | | | | | | | - | * | | | | | |
| 3 | - | + | * | | | | | - | + | | + | * | | | | | | | | | | - | - | * | | | | |
| 4 | - | + | * | | | | | - | + | | + | * | | | | | | | | | | + | + | * | | | | |
| 5 | - | + | * | | | | | - | + | | + | * | | | | | | | | | | + | + | * | | | | |
| 6 | + | + | * | | | | | - | + | | + | * | | | | | | | | | | + | + | * | | | | |
| 7 | + | + | * | | | | | - | + | | + | ** | | | | | | | | | | - | - | - | * | | | |
| 8 | + | + | * | | | | | - | + | | + | * | | | | | | | | | | + | + | + | * | | | |
| 9 | + | + | * | | | | | + | + | | + | ** | | | | | | | | | | + | + | + | * | | | |
| 10 | + | + | * | | | | | - | + | | + | | + | + | * | | | | | | | + | + | + | ** | | | |
| 11 | + | + | * | | | | | - | + | | + | | + | + | * | | | | | | | + | + | + | ** | | | |
| 12 | + | + | * | | | | | - | + | | - | | + | + | | + | + | | | | | + | + | + | + | * | | |
| 13 | + | + | * | | | | | - | + | | + | | + | + | | + | + | | | | | - | + | + | + | + | * | |
| 14 | + | + | ** | | | | | - | + | | + | | + | + | | + | + | | | | | + | + | - | - | - | * | |
| 15 | + | + | ** | | | | | - | + | | + | | + | + | | + | + | | | | | + | + | + | + | + | * | |
| 16 | - | - | + | * | | | | + | - | | + | | + | + | | + | + | | | | | + | + | + | + | + | * | |
| 17 | + | + | + | * | | | | + | + | | + | | - | + | | + | + | | | | | - | - | - | - | + | + | + |
| 18 | + | + | + | * | | | | + | + | | + | | + | + | | + | + | | | | | - | - | + | - | + | + | + |
| 19 | + | + | + | * | | | | + | + | | + | | + | + | | + | + | | | | | - | + | + | + | + | + | + |
| 20 | + | + | + | * | | | | + | + | | + | | + | + | | + | + | | | | | - | + | + | + | + | + | + |

All experimental mice were negative for oocysts before the experiment.

*expired **sacrificed

pd^a: prednisolone, tc^b: tetracycline, tm-sm^c: trimethoprim-sulfamethoxazole

Cryptosporidium 속(genus)에는 현재까지 속주의 종류, 기생 부위 등에 따라 20여종(species)이 알려져 있으나 이들이 모두 독특한 종인지에 대해서도 아직은 논란이 많다. 즉 Tzipori *et al.* (1980a)은 이들 모두를 같은 종으로 하여 type species인 *C. muris*만을 인정하고 있는 반면 Levine(1984)은 4가지 종 즉 *C. muris*, *C. crotali*, *C. meleagridis*, *C. nasorum*을 인정하고 있다. 그러나 Upton and Current(1985)는 rodent host에 있어서 *C. muris*와 *C. parvum*을 구별할 수 있다고 하였고 전자는 oocyst가 비교적 크고(6.5~7.9 μm) 위선(gastric gland)에 주로 기생하는데 비해 후자는 oocyst가 작고(5.3~6.5 μm) 소장애 주로 기생하는 점이 다르다고 하였다. 이번 연구에서 마우스 대변에서 검출된 oocyst는 그 크기가 직경 4~6 μm 정도로 비교적 작은 편이었고 총체의 전자현미경적 소견과 총체가 소장에서 검출된 점 등을 종합할 때 *C. parvum*으로 동정할 수 있었다. 특히 이 종은 인체 cryptosporidiosis를 일으키는 주요 종으로 알려져 있으므로(Upton and Current, 1985; Current, 1989) 국내에도 인체 감

염의 유행이 있을 가능성을 상기해야 할 것으로 생각된다.

Cryptosporidium 감염에 대한 진단은 1978년 이전에는 생검 조직에서 총체를 확인하는 것이었으나(Nime *et al.*, 1976), noninvasive한 방법으로 소의 대변에서 oocyst를 찾는 진단 방법이 Pohlenz(1978)에 의해 처음 고안된 후 Tzipori *et al.* (1980b)에 의해 사람 대변에서도 oocyst를 발견하고자 하는 노력이 이루어지게 되었다. 그 후 수십 가지의 다양한 대변 도말 표본의 염색 방법이 개발되었는데 그 중에서도 modified acid fast 염색이 가장 특이하고 유용하여 현재까지 가장 널리 쓰이고 있다(Pohlenz *et al.*, 1978; Fayer and Ungar, 1986). 이 연구에서는 Casemore *et al.* (1985)의 방법을 약간 변형시켜 사용하였는데 oocyst만 특이하게 염색되었고 진균이나 다른 대변 내 성분과 쉽게 구분할 수 있었다.

항균제를 투여한 군에 있어서 *Cryptosporidium*은 그 발현 시기의 빠르고 늦은 차이는 있으나 결국은 모두 발생하여 항균제의 뚜렷한 예방 효과를 관찰할 수 없

었다. 그러나 항균제를 주지 않은 군에 비해 항균제 투여 군에서 마우스의 수명을 다소 연장시킬 수는 있었다. 이는 결국 prednisolone 투여에 의한 면역억제가 *Cryptosporidium* 뿐만 아니라 *Pneumocystis*와 같은 다른 기회 감염성 원충이나 기타 세균들도 발현시키게 되어 폐렴 등으로 사망할 수 있으며 항균제가 이러한 폐렴 등을 부분적으로 예방했기 때문임을 간접적으로 보여준 것이라 할 수 있겠다.

어쨌든 이 연구를 통하여 국내 실험용 마우스에서 *Cryptosporidium*의 존재를 처음으로 확인하였으므로 앞으로는 인체 감염례를 찾아내어 우리 나라에서의 감염원, 역학적 특성 등을 밝히야 하겠다. 또한 세계적으로도 아직 적절한 치료법, 예방법 등이 개발되어 있지 않은 상황이므로 앞으로 이에 대한 활발한 연구가 수행되어져야 할 것으로 믿어진다.

참 고 문 헌

- Andreani, T., Modigliani, R., Le Charpentier, Y., Galian, A., Brouet, J.C., Liance, M., Loachance, J.R., Messing, B. and Vernisse, V. (1983). Acquired immunodeficiency with intestinal cryptosporidiosis: possible transmission by Haitian whole blood. *Lancet*, 1:187-191.
- Blumberg, R.S., Kelsey, P., Perrone, T., Dickersin, R., Laquaglia, M. and Ferruci, J. (1984) *Cytomegalovirus* and *Cryptosporidium* associated acalculous gangrenous cholecystitis. *Am. J. Med.*, 76: 1118-1123.
- Casemore, D.P., Armstrong, M., and Sands, R.L. (1985) Laboratory diagnosis of cryptosporidiosis. *J. Clin. Pathol.*, 38:1337-1341.
- Claman, H.N. (1975) How corticosteroids work. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 55(3):145-151.
- Current, W.L. (1989) *Cryptosporium* spp. In Parasitic Infections in the Compromised Host (ed. P.D. Walzer and R.M. Genta). Marcel Dekker, Inc. New York and Basel.
- Current, W.L. Reese, N.C., Ernst, J.V., Bailey, W.S., Heyman, M.B. and Weinstein, W.M. (1983) Human cryptosporidiosis in immunocompetent and immunodeficient persons. Studies of an outbreak and experimental transmission. *New Eng. J. Med.*, 308:1252-1257.
- Dobbins, W.O. and Weinstein, W.M. (1985) Electron microscopy of the intestine and rectum in acquired immunodeficiency syndrome. *Gastroenterology*, 88:738-749.
- Fayer, R. and Ungar, B.L.P. (1986) *Cryptosporidium* spp. and cryptosporidiosis. *Microbiol. Rev.*, 50: 458-483.
- Forgacs, P.A., Tarshis, A., Ma, P., Federman, M., Mele, L., Silverman, M.L. and Shea, J.A. (1983) Intestinal and bronchial cryptosporidiosis in an immunodeficient homosexual man. *Ann. Intern. Med.*, 99:793-794.
- Janoff, E.N. and Reller, L.B. (1987) *Cryptosporidium* species, a protean protozoa. *J. Clin. Microbiol.*, 25(6):967-975.
- Levine, N.D. (1934) Taxonomy and review of the coccidian genus *Cryptosporidium*(Protozoa, Apicomplexa). *J. Protozool.*, 31:94-98.
- Ma, P. and Soave R. (1983) Three-step stool examination for cryptosporidiosis in 10 homosexual men with protracted watery diarrhea. *J. Infect. Dis.*, 147:824-838.
- Meisel, J.L., Perrera, D.R., Meligro, C. and Rubin, C.E. (1976) Overwhelming watery diarrhea associated with *Cryptosporidium* in immunosuppressed patient. *Gastroenterology*, 70:1156-1160.
- Nime, F.A., Burek, J.D., Page, D.L., Holscher, M.A. and Yardley, J.H. (1976) Acute enterocolitis in human being infected with the protozoan *Cryptosporidium*. *Gastroenterology*, 70:592-598.
- Pohlenz, J.H., Moon, H.W., Cheville, N.F., and Bemrick, W.J. (1978) Cryptosporidiosis as a probable factor in neonatal diarrhea of calves. *J. Am. Vet. Med. Ass.*, 172:452-457.
- Soave, R.R., Danner, R.L., Honig, C.L., Hart, C.C., Nash, T. and Roberts, R.B. (1984). Cryptosporidiosis in homosexual men. *Ann. Intern. Med.*, 100: 504-511.
- Tyzzer, E.E. (1907) A sporozoan found in the peptic glands of the common mouse. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 5:12-13.
- Tyzzer, E.E. (1912) *Cryptosporidium parvum*(sp. nov.) a coccidium found in the small intestine of the common mouse. *Arch. Protistenkd.*, 26:349-412.
- Tzipori, S., Angus, K.W., Campbell, I. and Gray, E.W. (1980) *Cryptosporidium*: evidence for a single species genus. *Infect. Immun.*, 30:884-886.
- Tzipori, S., Angus, K.W., Gray, E.W. and Campbell, I. (1980) Vomiting and diarrhea associated with cryptosporidial infection. *New Eng. J. Med.*, 303: 818.
- Upton, S.J., and Current, W.L. (1985) The species of *Cryptosporidium*(Apicomplex: Cryptosporidiidae) infecting mammals. *J. Pathol.*, 71:625-629.
- Wagner, E.D. and Das, M.R.P. (1986) *Cryptospori-*

dium and *Pneumocystis* in the immunosuppressed mouse. *Jpn. J. Parasitol.*, 35(4):273-278.
Weisburger, W.R., Hutcheon, D.F., Yardley, J.H., Roche, J.C., Hillis, W.D. and Charache, P. (1979)

Cryptosporidiosis in an immunosuppressed renal transplant recipient with IgA deficiency. *Am. J. Clin. Pathol.*, 72:473-478.

==Abstract==

Experimental activation of cryptosporidiosis in mice by immunosuppression

Jong-Yil Chai, Son Moon Shin*, Chong Ku Yun**, Jae-Ran Yu and
Soon-Hyung Lee

*Department of Parasitology and Institute of Endemic Diseases, College of Medicine,
Seoul National University, Seoul 110-460, Department of Pediatrics*, College of
Medicine, Yeung Nam University, Daegu 705-600, and Department of
Pediatrics**, College of Medicine, Seoul National University,
Seoul 110-744, Korea*

Cryptosporidium, a coccidian parasite first described by Tyzzer (1907) from a laboratory mouse, has become an important human enteric pathogen causing overwhelming diarrhea especially in immunocompromised patients such as AIDS. This parasite has been reported from over 20 countries and is recognized as a cosmopolitan species. In Korea, however, there has been no report on human as well as animal cryptosporidiosis. This study was performed so as to verify the presence of *Cryptosporidium* in Korea by activating the parasite from laboratory mice by immunosuppression.

Total 65 conventionally-bred ICR mice including a control (5 mice) and 3 experimental groups (20 each) were used for this study. Group I was immunosuppressed with prednisolone injection (1 mg IM, every other day) for 7 weeks. Group II (prednisolone injection and tetracycline administration) and Group III (prednisolone injection and trimethoprim-sulfamethoxazole administration) were prepared to observe the effect of antibacterial agents on the activation of cryptosporidiosis.

In fecal examinations of mice *Cryptosporidium* oocysts (4~6 μm in size) were detected from 1 week after the start of immunosuppression and the mice began to die. In H-E stained tissue sections of the lower jejunum, numerous very small (2~4 μm), dense, ovoid or spherical, slightly basophilic bodies were seen attached on the free border of mucosal epithelial cells. In scanning and transmission electron microscopic observations, these organisms were identified as various developmental stages of *Cryptosporidium*. The species is considered to be *C. parvum*. Cryptosporidiosis was activated not only in Group I but also in Group II and III, indicating no protective effects of the antibacterial agents used, although the mice in Group II and III lived longer than those in Group I.

The present study confirmed that *Cryptosporidium* exists in laboratory mice bred in Korea, and predicts possible occurrence of human cryptosporidiosis in Korea.

[*Korean J. Parasit.*, 28(1):31-37, March 1990]