寄生蠕虫類 Malic Dehydrogenase 活性에 關한 研究

서울대학교 醫科大學 寄生虫學敎室 및 風土病研究所

李 恩 希 · 徐 丙 高

= Abstract =

Studies on Malic Dehydrogenase Activity in Parasitic Helminths

Eun Hee Lee, and Byong Seol Seo

*Department of Parasitology and Institute of Endemic diseases,
College of Medicine, Seoul National University*

The malic dehydrogenase activity was determined by the modified method of Ochoa (1955) using tissue homogenates of various parasitic heminths.

Worm parasites were mostly collected from local abattoir, and removed from the organ or tissues of the naturally infected animal hosts, and some materials were also obtained from the human hosts. The helminths used in this experiment include 3 kinds of nematodes, 5 kinds of trematodes, and 8 kinds of cestodes.

They were thoroughly washed and homogenized in glass tissue grinder in ice chilled water bath, and then centrifuged. The supernatants were designated as enzyme preparations. The hydrogen concentrations of buffer solution were pH 1.4, 2.7, 3.5, 4.2, 5.2, 7.4, 8.2, 9.3, 10.2, 11.6, and enzymatic reaction of this experiment was performed at incubation temperature of 20, 30, 40, and 50°C. The extinction of Nicotinamide Adenosine Dinucleotide (NAD) was measured by spectrophotometry at the wave length of 340 millimicron.

The results of this experiment were as follows:

1. The malic dehydrogenase activity occurred over all kinds of parasitic helminths used in this study. And the activity on sparganum turned out to be highest.
2. All helminths displayed their maximum activity in the range of alkaline pH.
3. A comparison of the effects of temperature and substrate concentration on the enzyme activity was made among these helminths. However, no definite relationship among them has been detected.
4. The significance of the existence of this enzyme in the helminths was briefly discussed.

緒 論

Malic dehydrogenase (MDH)는 生體組織內 炭水化合物代謝의 好氣의 酸化過程인 TCA cycle에서 malate ⇌ oxalacetate를 觸媒하며 Nicotinamide Adenosine Dinucleotide (NAD; Oxidized Coenzyme I)를 補酵素로 하는 脫水素酵素로서 最近에 이르기 까지 사람의 血清이나 組織內와 其他 動物組織 및 昆蟲에서 MDH의 活性이 證明되었고 또 isozymes들이 發見되었다(Green, 1936; Grimm and Doherty, 1961; Kaplan and Ciotti,

1961; Laufer, 1961; Lowenthal et al., 1961; Thorne et al, 1963; Goldberg and Cather, 1963).

人體에서는 acute myocardial infarction때 血清內에 増量됨으로 臨床의으로 잘 알려져 있고 (Siegel and Bing, 1956; Wacker et al, 1956), 肝損傷을 받은 動物에서 MDH가 血清內에 一時的으로 増加한다는 報告가 있다(李等, 1967).

寄生虫에 있어서는 原虫中 *Plasmodium gallinaceum* (Speck and Evans, 1945; Speck et al. 1946), *Trypanosoma cruzi* (Baernstein, 1952 and 1953),

T. rhodesiense(Williamson, 1953), *Trichomonas vaginalis* (Baernstein, 1961) 등에서 나타난다고 알려졌고 蠕虫類에 있어서는 Saz and Hubbard (1957)가 MDH를 *Ascaris lumbricoides*의 extract에서發見한 以來 Seidman & Entner(1961), Rhodes et al. (1964; 1965), Conde-del Pino (1966) 등이 *A. lumbricoides*와 *Schistosoma*에서 MDH를 證明하였고 Dunagan and Lueue (1966)는 *Acanthocephala*에서 MDH isozyme을 分離하여 *A. lumbricoides*의 그것과 比較하였다. 그러나 아직까지 寄生蠕虫類中 MDH活性이 證明된 虫體는 몇 種에 局限되었으며 optimal pH나 optimal temperature를 究명한 業績은 많지 않다.

本實驗에서는 寄生蠕虫類에 있어서 MDH 活性의 存在 및 寄生虫이 處한 環境條件에 따르는 活性의 變化를 觀察하기 爲하여 16種의 蠕虫體로부터 homogenate를 만들어 pH, 反應溫度 및 基質濃도에 依한 MDH 活性의 變動을 追究하였다. 即 線虫類로는 蛔虫(*A. lumbricoides*), 鷄蛔虫(*Ascaridia galli*), 및 犬糸狀虫(*Diriofilaria immitis*)의 3種을, 吸虫類로는 肝蛭(*Fasciola hepatica*), 脾蛭(*Eurytrema pancreaticum*), 雙口吸虫(*Paramphistomum sp.*), 肝吸虫(*Clonorchis sinensis*) 및 肺吸虫(*Paragonimus westermani*)의 5種 그리고 無鉤條虫(*Taenia saginata*), 有鉤條虫(*Taenia solium*), 豆狀條虫(*Taenia pisiformis*), 犬條虫(*Dipylidium caninum*), 半索裂頭條虫(*Diphyllobothrium mansonii*) 등 5種의 條虫類와 스파가눔(*Sparganum*), 有鉤囊尾虫(*Cysticercus cellulosae*), 無鉤囊尾虫(*Cysticereus fasciolaris*) 등 3種의 條虫類 幼虫의 虫體 homogenate를 補酵素 NAD 및 L-malate의 存在下에서 pH 및 反應溫度, 그리고 基質濃度를 變化시켜서 各 虫體의 MDH 活性을 測定하고 比較觀察하였다.

實驗材料 및 方法

虫體蒐集 : 이 實驗에 使用된 虫體의 蒐集은 原則적으로 李(1967), 朴(1967) 등과 같다.

蠕虫類 16種中 *F. hepatica*, *E. pancreaticum* 및 *Paramphistomum sp.*는 屠獸場에서 各各 소의 肝, 脾, 胃로부터 採取하였고 *A. lumbricoides*는 돼지의 小腸에서 얻었으며, *D. immitis*와 *P. westermani*는 自然感染 또는 人工感染시킨 心臟 및 肺組織에서 *T. pisiformis*, *D. caninum*과 *D. mansonii*는 犬腸에서 採取하였다. 또 *C. sinensis*는 被囊幼虫으로 미리 感染시켰던 家畜를 屠殺하여 그 肝에서 採取하였고 *A. galli*는 닭의 腸에서, *C. fasciolaris*는 쥐의 肝에서 얻었다. 그밖에 *Sparganum*, *C. cellulosae*는 人體에서 手術의 手術으로 摘出した 것이고 *T. saginata*는 患者에게서 自然排出된

것을, *T. solium*은 驅虫劑投與後 排出된 虫體를 實驗에 使用하였다.

以上과 같이 蒐集한 虫體는 冷生理의食鹽水로 잘 씻은 다음 虫體全部를 homogenate 만드는데 使用하였다. 다만 條虫類中 *T. solium* 및 *T. pisiformis*는 大略 未成熟, 成熟, 受胎片節等 셋으로 區分하여 homogenate를 만들었으며 *T. saginata*는 受胎片節만 實驗에 使用하였다.

酵素活性測定 : 各虫體를 李(1967), 朴(1967)의 實驗에서와 같이 虫體를 冷生理의食鹽水로 充分히 씻은 다음 Buffer ml 當 虫體組織 約 1g 程度가 含有되도록 torsion balance로 秤量하여 homogenate를 만들었다. 即 秤量한 虫體組織을 어름이 든 beaker內에 裝置한 glass homogenizer에 넣고 充分히 磨碎한 다음 遠心沈澱(5,000×g, 30分間)하여 沈渣를 除去시킨 上清液을 酵素活性測定에 使用하였다.

以上과 같은 操作으로 만든 各虫體의 homogenate를 써서 Ochoa (1955)의 變法으로 MDH 活性을 測定하였다. 即 0.1ml의 虫體 homogenate를 2.7ml의 0.1 M Tris(hydroxymethyl) aminomethane buffer 또는 citrate buffer와 (Lillie, 1948) 0.1ml NAD (0.0015M) 溶液과 1cm直徑의 cuvette內에서 混合하고 10分間 放置하였다가 0.1ml의 l-malic acid (0.0076M)를 加하고 340mμ에서 spectrophotometry하였다. Optical Density (O.D.)의 變化는 每 30秒마다 3分間 測定하였으며 單位實驗當 6個의 cuvette를 만들어 여기서 얻은 平均値를 1分間の O.D.로 定하였다. 또 酵素活性의 pH에 따르는 變化를 보기 위해서는 citrate buffer의 pH를 1.4, 2.7, 3.5, 4.2, 5.2로 Tris buffer는 7.4, 8.2, 9.3, 10.2, 11.6 으로 調整하여 實驗하였고 反應溫度에 따르는 變化를 보기 위해서는 l-malate를 加하기 前에 測定할 cuvette를 20°, 30°, 40°, 50°C의 Dubnoff metabolic incubator에서 30分間 培養하였다.

Substrate濃度の 變化에 따르는 O.D.의 變化를 보기 爲해서 l-malic acid를 7.6×10^{-4} , 7.6×10^{-3} , 7.6×10^{-2} M 溶液으로 만들어 實驗하였다. 이 實驗에서 酵素的 活性度는 虫體組織 mgN當 1分間の O.D.의 變化로서 表示하였으며 虫體 homogenate의 窒素量은 micro-kjeldahl 法(Frankel and Reitman, 1963)으로 測定하였다.

實驗 結果

[I] MDH活性의 pH에 따르는 變化 : 蠕虫類虫體組織 mgN이 1分間에 各種의 pH에서 나타내는 MDH의 活性을 보면 第 1表와 같다.

Table 1. Malic Dehydrogenase Activities in Various Parasitic Helminths
(Changes in Optical Density per milligram nitrogen of worm tissue)

Species	pH	1.4	2.7	3.5	4.2	5.2	7.4	8.2	9.3	10.2	11.6
<i>A. lumbricoides</i>		0	0	0	0	0	0.10	0.20	0.06	0.51	0.10
<i>A. galli</i>		0	0	0.02	0.04	0.06	0.06	0.41	0.17	0.43	0.07
<i>D. immitis</i>		0	0	0	0.04	0.02	0.03	0.09	0.15	0.22	0.02
<i>F. hepatica</i>		0	0	0.04	0.08	0.05	0.10	0.25	0.73	0.62	0.10
<i>E. pancreaticum</i>		0	0.07	0.08	0.02	0.03	0.21	0.55	0.86	0.94	0.03
<i>Paramphistomum</i> sp.		0	0.01	0.01	0.08	0.08	0.09	0.14	0.32	0.49	0.06
<i>P. westermani</i>		0	0.06	0.07	0.09	0.07	0.09	0.26	0.81	0.22	0
<i>C. sinensis</i>		0	0	0	0	0	0.18	0.12	0.22	0.50	0
<i>C. cellulosae</i>		—	—	—	—	—	0.04	—	—	—	—
<i>C. fasciolaris</i>		—	—	—	—	—	0.06	—	—	—	—
<i>Sparganum</i>		0	0	0	0	0.23	0.75	1.81	2.33	1.58	0
<i>T. saginata</i> (G)		0	0	0	0	0	0.03	0.14	0.29	0.43	0.03
<i>T. solium</i> (G)		0	0	0.14	0.14	0.05	0.04	0.04	0.04	0.03	0.04
" (M)		0	0	0	0.07	0.02	0.21	0.15	0.45	0.51	0.03
" (I)		0	0	0	0.05	0.02	0.05	0.13	0.28	0.41	0.04
<i>T. pisiformis</i> (G)		0	0	0.02	0.05	0.06	0.04	0.02	0.02	0.02	0
" (M)		0	0	0	0.12	0.07	0.01	0.01	0.02	0.01	0.02
" (I)		0	0	0	0.01	0.02	0.02	0.03	0.01	0.14	0.04
<i>D. caninum</i>		0	0	0	0	0	0.42	0.65	1.83	1.59	0
<i>D. mansoni</i>		0	0	0	0	0.41	0.85	1.55	1.19	0.99	0

G; gravid, M; mature, I; immature proglottids. Substrate concentration: $7.6 \times 10^{-3}M$. Incubation temperature: $20^{\circ}C$.

1. 線虫類 : 線虫類3種에 있어서 pH變化에 따르는 O.D.의變化는 (第 1圖)에서 보는 바와 같이 3種의 虫體에서 모두 알칼리性 pH쪽에서 活性이 높았으며 特히 pH 10.2에서 最高値를 나타내었다. 또 *A. lumbricoides*와 *A. galli*는 *D. immitis*와는 달리 pH 8.2에서 다시 작은 peak를 이루어 diphasic한 樣狀을 보였다.

세 虫體의 optimal pH에 있어서의 活性은 *A. lumbricoides*

Fig. 1. MDH activity in 3 kinds of nematodes

Fig. 2. MDH activity in 5 kinds of trematodes

*ricoides*에서 높았으며 다음이 *A. galli* 그리고 *D. immitis*에서 가장 낮았다. 酸性 pH에서는 MDH의 活性은 아주 微少하였다.

2. 吸虫類 : 線虫類에서보다 一般의으로 높은 活性을

보였다. 第2圖에서 나타난 바와 같이 吸虫類에서 MDH의 活性은 線虫類에서와 마찬가지로 알칼리性 pH에서 높았으며, 5種의 虫體는 一定하게 pH 9.0~11.0사이에서 optimal pH를 나타내었다. *F. hepatica*와 *P. westermani*는 pH 9.3에서 最高値를 보였고 *E. pancreaticum*, *Paramphistomum*과 *C. sinensis*는 pH 10.2에서 가장 活性이 높았다.

吸虫類에서는 線虫類中 蛔虫科(*Ascaridae*)와는 달리 5種의 吸虫體에서 모두 하나의 peak만을 이루었다. 吸虫類에 있어서도 酸性 pH에서는 MDH 活性이 微小하였다.

3. 條虫類: 條虫類에서의 MDH의 活性은 第3, 4, 5圖에 나타난 바와 같다. *Taenia saginata*, *T. solium* 및 *T. pisiformis*는 모두 pH 10.2에서 最高値에 達하였으나 裂頭條虫의 幼虫 sparganum은 本實驗에 使用한 條

Fig. 3. MDH activity in 4 kinds of cestodes

Fig. 4. MDH activity in *Taenia solium*

Fig. 5. MDH activity in *Teania pisiformis*

虫類中에서 가장 강한 活性을 보였으며 optimal pH는 9.3이었다. *D. caninum*은 pH 9.3에서 가장 높은 活性을 보였고 *D. mansoni*는 pH 8.2에서 가장 강한 活性을 보였다.

各 成虫體의 optimal pH에 있어서의 MDH의 活性을 比較하여 보면 *D. caninum*에서 가장 높았고 다음이 *D. mansoni*였으며 *Taenia* sp.가 가장 낮았다.

條虫類 片節에 따라 活性差의 有無를 보기 爲하여 未成熟, 成熟, 受胎 세 片節로 區分하고 各各에서의 活性을 比較하여 보면, 이들 虫體의 受胎片節中에서는 *T. saginata*가 第一 높은 값을 나타내었다. 虫體의 部分에 따른 MDH의 活性은 *T. solium*에 있어서는 未成熟, 成熟, 受胎片節中 成熟片節에서 높았고 (第4圖), 이는 *T. saginata*의 受胎片節에서 보다 높은 것이었다. *T. pisiformis*에 있어서는 大體로 MDH의 活性이 아주 낮았으며 未成熟片節이 pH 10.2에서, 成熟片節이 pH 4.2에서 若干의 活性을 보였을 뿐 虫體의 部位에 따른 顯著한 差異는 볼 수 없었다.

〔II〕MDH 活性의 溫度에 따르는 變化: 第2表에서 보는바와 같이 一般적으로 溫度上昇에 比하여 緩慢한 增加를 보였다.

1. 線虫類: 3種의 線虫類에서 MDH의 活性은 20°C ~ 30°C사이의 溫度變化에 對하여 急激한 變化를 認定할 수 없었으나 大體로 *A. lumbricoides*와 *A. galli*에 있어서는 溫度가 높아짐에 따라 徐徐히 增加하여 50°C에서 1.5~2 倍의 O.D.의 變化를 보였으나 *D. immitis*에서는 別로 變動이 없었다(第6圖).

2. 吸虫類: 吸虫類에서는 일제히 溫度上昇에 比例하여 O.D.의 增加를 보였고 50°C에 이르러 가장 높았으나 *Paramphistomum*에서만 30°C에서 若干 낮은 값을 보였다(第7圖).

3. 條虫類: 第8, 9圖에 나타난 바와 같이 一律적인

Table 2. Malic dehydrogenase activities in parasitic helminths by the variation of incubation temperature. (Changes in O.D./mg N/min. of worm tissues)

Species	Temperature °C	20	30	40	50
A. lumbricoides		0.10	0.09	0.10	0.15
A. galli		0.06	0.04	0.07	0.12
D. immitis		0.03	0.03	0.07	0.03
F. hepatica		0.10	0.15	0.19	0.28
E. pancreaticum		0.21	0.26	0.28	0.38
Paramphistomum sp.		0.09	0.06	0.09	0.18
P. westermani		0.09	0.10	0.15	0.20
C. sinensis		0.18	0.23	0.26	0.31
C. cellulosae		0.04	—	—	—
C. fasciolaris		0.06	—	—	—
Sparganum		0.75	1.80	0.68	0.72
T. saginata (G)		0.03	0.07	0.11	0.05
T. solium (G)		0.04	0.09	0.09	0.04
T. pisiformis (G)		0.04	0.05	0.04	0.02
D. caninum		0.42	0.03	0.02	0.05
D. mansoni		0.85	0.80	1.28	0.92

(G); gravid proglottids. pH: 7.4, Substrate concentration; $7.6 \times 10^{-3}M$

Fig. 6. Relation between MDH activity and incubation temperature in nematodes

變化는 볼 수 없었고 아주 不規則한 增減을 보였다.

〔Ⅲ〕MDH 活性의 基質濃度에 따르는 變化

第3表에서와 같이 一律的인 變化는 나타나지 않았다.

1. 線虫類: 基質濃度가 10배 내지 100배 增加함에도 MDH 活性에는 急激한 變化는 없었고 다만 *D. immitis* 에서 7.64×10^{-4} 배 보다 7.6×10^{-2} 배 約 4배가량 높았다(第10圖).

2. 吸虫類: *Paramphistomum* sp.만 除하고는 4種의

Fig. 7. Relation between MDH activity and incubation temperature in trematodes

Fig. 8. Relation between MDH activity and incubation temperature in cestodes (Cyclophyllidae)

虫體에서 다같이 基質濃度의 增加에 따라 活性도 增加하는 樣相을 나타내고 있다(第11圖).

3. 條虫類: 一定한 樣相이 없이 基質濃度가 增加함에 따라 各虫體의 MDH 活性은 不規則하게 變化하였다(第12圖).

考 察

Oda (1963)는 寄生蠕虫類를 그 代謝面에서 세 群으로 大別하였다. 即, ① 全的으로 嫌氣의 代謝를 營爲하며 mitochondria가 분명치 않고 cytochrome이 없으며 解糖에 依하여 lactic acid, ethanol, acetic acid等を 終產物로 남기는 것, ② 嫌氣의 代謝를 主로 하며 好氣의 代謝도 兼하는 것으로 TCA cycle의 酵素群을 갖고 있

Fig. 9. Relation between MDH activity and incubation temperature in larval and adult cestodes (Pseudophyllidae)

Table 3. Malic dehydrogenase activities in parasitic helminths by the variation of substrate concentration. (Changes in O.D./mgN/min. of worm tissue)

Species	Conc.(M)	-4	-3	-2
	7.6×10^{-4}	7.6×10^{-3}	7.6×10^{-2}	
A. lumbricoides	0.11	0.10	0.16	
A. galli	0.04	0.06	0.10	
D. immitis	0.04	0.03	0.18	
F. hepatica	0.06	0.10	0.17	
E. pancreaticum	0.10	0.21	0.28	
Paramphistomum sp.	0	0.09	0.08	
P. westermani	0	0.09	0.21	
C. sinensis	0.09	0.18	0.22	
C. cellulosae	—	0.04	—	
C. fasciolaris	—	0.06	—	
Sparganum	0.84	0.75	0.69	
T. saginata(G)	0.04	0.03	0.04	
T. solium (G)	0.02	0.04	0.33	
T. pisiformis (G)	0.03	0.04	0.01	
D. caninum	0.10	0.42	0.17	
D. mansoni	0.85	0.85	0.90	

(G); gravid proglottids. Incubation temperature: 20°C
pH: 7.4

Fig. 10. Effects of the substrate concentration on the MDH activity in nematodes

Fig. 11. Effects of the substrate concentration on the MDH activity in trematodes

Fig. 12. Effects of the substrate concentration on the MDH activity in cestodes

으며 malic dehydrogenase, succinic dehydrogenase의 活性이 높은 것과 ③ 明瞭한 mitochondria가 있고 TCA cycle의 酵素群을 비롯하여 cytochrome을 포함하는 電子傳達系를 가지고 있어 oxidative phosphorylation에 의하여 energy를 얻는 것이었다. 그리고 그는 第2群에 屬하는 寄生蟲이 實際에 있어서 가장 많이 있다고 하였다.

Malic dehydrogenase는 生體內 炭水化合物 代謝過程中 TCA-cycle에서 NAD를 補酵素로 하여 L-malic acid에 特異하게 作用하여 oxalacetate를 生成하며 또 電子傳達系의 重要한 一員이 되므로 大部分의 寄生蠕蟲類에서 그 活性이 높을 것으로 推測되었다.

本實驗에서는 線蟲類 3種, 吸蟲類 5種 및 條蟲類 幼蟲 2種과 成蟲 5種에서 程度의 差異는 있으나 그 全部에 MDH 活性을 觀察할 수 있었다. 이미 線蟲類中 *A. lumbricoides*에 關해서는 嫌氣의 解糖過程에서 나온 pyruvic acid로 부터 malic acid로 反應이 進行되는 것이 알려져(松山, 1958), Kikuchi等(1959)은 電子傳達系를 觀察하였으며 Rhodes等(1964)은 Starch-gel electrophoresis를 利用하여 3個의 isozyme을 分離하여 宿主의 그것과 比較한 결과 완전히 差를 관찰하였고 그 optimal pH는 8.5라 하였다. 또 Mickaelis constant는 $5.4 \times 10^{-6} M$ 이라 하였고 最高의 活性은 55°C에서 나타났으며 그 以上 또는 그 以下の 溫度에서는 活性이 急激히 低下한다 하였다. 本實驗에서의 結果와는 實驗方法의 差異로 比較하기는 困難하나 optimal pH는 거의 近似한 값을 나타내었고 또 蛔蟲科(Asaridae)에서 나타난 두個의 peak는 isozyme의 存在를 暗示하는 것이 아닌가 생각된다. Dungan and de Luge (1966)도 *A. lumbricoides*에서 두個의 isozyme을 證明하고 *Macranthorhynchus hirudinaceus*의 그것과 比較한바 있다. 本實驗에서 近緣種인 *A. galli*에서도 *A. lumbricoides*와 비슷한 活性을 나타내었다.

糸狀蟲은 體壁에 多量의 glycogen과 mitochondria를 갖고 있으며(阿部等, 1960) *Litomosoides carinii*는 好氣의 代謝를 營爲함이 알려져 있으나(Bueding, 1949; Bueding等, 1952) *D. immitis* 代謝에 關해서는 알려진바가 거의 없고 MDH 活性에 對해서도 知見이 없는듯 하다.

吸蟲類에서는 Conde-del Pino等(1966)이 *Schistosoma mansoni*의 成蟲과 cercaria에서 두個의 isozyme을 分離하고 그 活性을 測定한바 雄蟲이 雌蟲에서 보다 높은 값을 나타낸다 하였다. *F. hepatica*에서는 이미 完全한 TCA cycle이 있는 것이 Bryant等(1962)에 의하여 밝혀졌고 多田等 (1961)은 *P. westermani*에서의 TCA cycle 및 好氣의 代謝를 臟器親和性和 聯關지어 研究하였다. *E. pancreaticum*, *Paramphistomum* sp.,

*C. sinensis*等에 關해서는 알려진바가 거의 없으나 本實驗에서는 MDH 活性의 樣狀은 5種의 吸蟲類에서 相當히 近似하게 나타났다. 그러나 MDH 活性만으로는 여기에서 各吸蟲의 臟器親和性이나 寄生部位가 說明되기는 어렵다.

條蟲類에서의 MDH 活性을 보면 本實驗에서 같은 輪狀吸其類인 *T. saginata*, *T. solium*, *T. pisiformis*에서는 optimal pH가 一致하여 그 近緣關係를 알수 있으나 *D. caninum*에서는 optimal pH와 그 活性에 있어서 差異가 있었다. 더구나 *D. mansoni*의 MDH 活性은 *Taenia* spp.와는 많은 差異를 보이나 그 幼蟲인 *Sparganum*과 比較하여 보면 optimal pH는 一致함을 알수 있었고 幼蟲이 成蟲體보다 MDH 活性이 높음을 알수 있다. 그러나 條蟲類의 MDH 活性에 關한 研究는 別로 많지 않기 때문에 本實驗結果와 比較觀察할 수 없었다.

溫度에 따르는 變化는 一般적으로 溫度上昇에 따라 活性이 높아질 것이 期待되었으나 各蟲體 酵素가 溫度에 對하여 各기 特異하게 反應하므로 各蟲體 MDH의 optimal temperature도 相異하게 나타난 것이라 생각된다. Rhodes等 (1964)은 *A. lumbricoides*의 MDH는 55°C에서 最高의 活性을 나타내며 70°C에서도 最高 活性의 58%가 存在한다고 하였고 一方 Baernstein(1961)은 *Trichomonas vaginalis*에서 0°C 以下 또는 45°C 以上에서는 그 MDH 活性의 消失된다 하였다.

濃도에 따르는 變化도 亦是 蟲體의 種類에 따라 그 活性이 差異를 보였는데 이것도 各蟲體 酵素의 基質濃도에 對한 性狀이 若干 다르다는 것을 말해주는 것이라 생각된다. 一般적으로 基質濃도가 增加함에 따라 酵素의 反應速度가 增加하나 어떤때는 基質濃度の 增加가 抑制의으로 作用할 수도 있음으로 本實驗에서 얻은 結果도 이런데서 基因하지 않으나 생각된다.

이러한 事實들은 寄生蟲 代謝 및 이에 關係하는 酵素群이 寄生蟲의 同一 種屬中에서도 種이나 蟲株에 따라 差異가 있고 生活環境中的 時期나 그 環境에 依해서 變化가 있다는 一面을 보여주는 것이라 하겠다.

結 論

寄生蠕蟲類 16種(線蟲類 3種, 吸蟲類 5種, 條蟲類 8種)에서 蟲體 homogenate를 만들어 Ochoa 變法으로 Malic dehydrogenase 活性을 測定하여 溫度 및 pH, 基質濃도에 따르는 變化를 比較 觀察하여 다음과 같은 結果를 얻었다.

1. 寄生蠕蟲類 16種에서 모두 Malic dehydrogenase의 活性이 觀察되었다.

2. 各虫體 homogenate 모두가 알칼리성 pH에서 最高-
 値의 活性을 나타내었다.
 3. 反應溫度의 上昇에 따라 線虫, 吸虫類에서는 活性
 이 一般의으로 徐徐히 增加하였으나 條虫類에서는 그
 增減이 一定치 無었다.
 4. 基質濃度의 上昇에 따라 大部分의 線虫, 吸虫類에
 서는 活性이 緩慢한 增加를 보였고 條虫類에서는 不規
 則한 變化를 보였다.

References

- 1) 阿部康男, 影井昇, 宇宿不二夫, 大野家後, 川國義
 (1960): 糸狀虫과 糸狀虫症에 關한 研究(下 -3).
*Setaria cervi*成虫 筋肉層에 있어서의 糖質分布와
 電子顯微鏡像에 關해서, 鹿兒島大學醫學雜誌, **12**,
 1425~1432(日文).
- 2) Baernstein, H.D.(1952): Malate system of *Trypanosoma cruzi*. Fed. Proc., **11**, 183.
- 3) Baernstein, H.D.(1953): Malic dehydrogenase
 and related enzymes in the culture form of *Trypanosoma cruzi*. Exp. Parasit., **2**, 390-396.
- 4) Baernstein, H.D.(1961): Malic dehydrogenase in
Trichomonas vaginalis. J. Parasit., **47**, 279-284.
- 5) Bryant, C. and Williams, J.P.G. (1960): Some
 aspects of the metabolism of the liver fluke.
Fasciola hepatica L. Exp Parasit., **12**, 342-376.
- 6) Eueding, E.(1949): Studies on metabolism of
 filarial worm, *Litomosoides carinii*. J. Exp.
 Med., **89**, 107-150.
- 7) Eueding, E. and Charm, B.(1952): Cytochrome,
 cytochrome oxidase and succinoxidase of helminths.
 J. Biol. Chem., **196**, 615-627.
- 8) Conde-del Pino, E., Perez-Vilar, M., Cintron-
 Rivera, A.A., and Seneriz, R. (1966): Studies
 in *Schistosoma mansoni*. I. Malic and Lactic
 dehydrogenase of adult worms and cercariae.
 Exp. Parasit., **18**, 320-326.
- 9) Dunagan, T.T. and de Lague, O.(1966): Isozyme
 patterns for lactic and malic dehydrogenases in
Macracanthorhynchus hirudinaceus (Acanthocephala).
 J. Parasit., **52**, 727-729.
- 10) Frankel, S.F. and Reitman, S. (1963): Clinical
 laboratory methods and diagnosis. 6th Ed. Mos-
 by Co., St. Louis.
- 11) Goldberg, E., and Cather, J.N.(1963): Multiple
 molecular forms of malate dehydrogenase in
 molluscan ova. Am. Zoologist **3**, 486-489.
- 12) Green, D.E.(1936): The malic dehydrogenase of
 animal tissue. Biochem. J. **30**, 2095-2110.
- 13) Grimm, F.C. and Doherty, D.O.(1961): Properties
 of the two forms of malic dehydrogenase
 from beef heart. J.Biol. Chem., **236**, 1980-1985
- 14) Kaplan, N.O. and Ciotti, M.M.(1961): Evolution
 and differentiation of dehydrogenase. Ann.N.Y.
 Acad. Sci., **94**, 701-722.
- 15) Kikuchi, G., Ramirez, J., and Barren, E.S.G.
 (1959): Electron transport system in *Ascaris lumbricoides*. Biochem. Biophys. Acta, **36**, 335-342.
- 16) Laufer, H. (1961): Forms of enzymes in insect
 development. Ann. N.Y. Acad. Sci., **94**, 825-835
- 17) 李璟泰, 李震淳(1967): 血清 및 肝組織 Malic
 dehydrogenase 活性에 미치는 肝損傷의 影響, 中
 央醫學 **12**, 379-385.
- 18) 李純炯(1967): 寄生蠕虫類 Lactic Dehydrogenase
 活性에 關한 研究, 기생충학잡지 **5** (1), 5~16.
- 19) Lillie, R.D. (1948): Histopathologic Technique.
 Blakiston, Philadelphia & Toronto.
- 20) Lowenthal, A., Van Sande, M., and Karcher,
 D. (1961): Heterogeneity of lactic and malic
 dehydrogenase in serum, cerebrospinal fluid,
 and brain extracts in man and sheep. Ann.
 N.Y. Acad. Sci., **94**, 988-995.
- 21) 松山閉(1958): 寄生線虫의 酵素系에 關한 研究. 鹿
 兒島大學醫學雜誌, **10**, 602-624. (日文).
- 22) Ochoa, S. (1955): Malic dehydrogenase from
 pig heart. Methods in Enzymology I. Academic
 Press, N.Y.
- 23) Oda, T. (1963): Advances in enzyme chemistry
 in the field of Parasitology. Jap. J. Parasit.,
12 (4), 267-281.
- 24) 朴貞再, 徐丙禹(1967): 寄生蠕虫類 phosphatase 活
 性에 關한 研究, 기생충학잡지 **5** (3), 115~124.
- 25) Rhodes, M.B., Marsh, C.L., and Kelley, G.W.
 (1946): Studies in helminth enzymology. III.
 Malic dehydrogenases of *Ascaris suum*. Exp.
 Parasit., **15**, 403-409.
- 26) Rhodes, M.B., Marsh, C.L., and Kelley, G.W.
 (1965): Studies in helminth enzymology. VI.
 Immune responses to malic dehydrogenase from
Ascaris suum. Exp. Parasit., **16**, 373-81.
- 27) Saz, H. J., and Hubbard, J.A. (1957): The

- oxidative decarboxylation of malate by *Ascaris lumbricoides*. J. Biol. Chem., **225**, 921-933.
- 28) Seidman, I., and Entner, N. (1961): Oxidative enzymes and their role in phosphorylation in sarcosomes of adult *Ascaris lumbricoides*. J. Biol. Chem. **236**, 915-919.
- 29) Siegel, A., and Bing, R.J. (1956): Plasma enzyme activity in myocardial infarction in dog and man. Proc. Soc. Exp. Biol. & Med., **91**, 604-607
- 30) Speck, J.F., and Evans, E. A. (1945): J. Biol. Chem., **159**, 71-81, (Cited from von Frand, 1952)
- 31) Speck, J. F., Moulder, J. W. and Evans, E.A. (1946): J. Biol. Chem., **164**, 119-114.
- 32) 多田功, 川島健治郎, 濱島房則(1961): 肺吸虫成虫의代謝에 關한 研究. (1) TCA 回路에 關한 研究. 寄生虫學雜誌 **10**, 490. (日文)
- 33) Thorne, C.J.R., Grossman, L.I., and Kaplan, N.O. (1963): Starch-gel electrophoresis of malate dehydrogenase. Biochim. Biophys. Acta, **73**, 193-203,
- 34) Wacker, W.E.C., Ulmer, D.D., and Vallee, H.L. (1956): Metalloenzymes and myocardial infarction. II. Malic and lactic dehydrogenase activities and zinc concentrations in serum. N.E.J. of Med. **255**, 449-453.
- 35) Williamson, J. (1953): Observations on the dehydrogenase activity of normal and drug resistant strains of *Trypanosoma rhodesiense*. Exp. Parasit., **2**, 348-357.