

## [초청 강연]

### Broad tapeworms (Diphyllobothriidea): multiple routes to human hosts and a new classification of human-infecting taxa

Tomáš Scholz

Institute of Parasitology, Biology Centre of the Czech Academy of Sciences,  
Branišovská 31, 370 05 České Budějovice, Czech Republic

Broad tapeworms (Cestoda: Diphyllobothriidea) are the principal agents of diphyllobothriosis and diplogonoporosis, which are the most common fish cestodoses with an estimated 20 million people infected worldwide. They are caused by eating raw or undercooked fish. Sparganosis is a more serious disease caused by the larvae of the genus *Spirometra*, which occurs throughout much of the (sub)tropics. It is caused by the consumption of raw snakes and frogs, and drinking water contaminated by infected copepods. Both diseases are caused by several species, but the frequency by which the transition to humans has occurred has never been studied. Using a phylogenetic framework of 30 species of diphyllobothriidean cestodes based on large and small nuclear ribosomal RNA subunits (ssrDNA, lsrDNA), large subunit mitochondrial ribosomal RNA (rrnL) and cytochrome c oxidase subunit I (cox1), we hypothesize that humans have been acquired as accidental hosts four times across the tree of life of diphyllobothriideans. In this study, *Diplogonoporus* is determined to be the junior synonym of *Diphyllobothrium*. Furthermore, we divide the latter polyphyletic genus into (i) the resurrected genus *Dibothriocephalus* to include freshwater and terrestrial species including *Dibothriocephalus dendriticus*, *Dibothriocephalus latus* and *Dibothriocephalus nihonkaiensis* as the most common parasites of humans, and (ii) the genus *Diphyllobothrium* to accommodate parasites from cetaceans including the type species *Diphyllobothrium stemmacephalum* and *Diphyllobothrium balaenopterae* n. comb. known also from humans.

## [초청 강연]

### Holotomography (HT) techniques for non-invasive label-free 3D images of live cells and tissues

YongKeun Park

Department of Physics, KAIST, Daejeon, Republic of Korea;

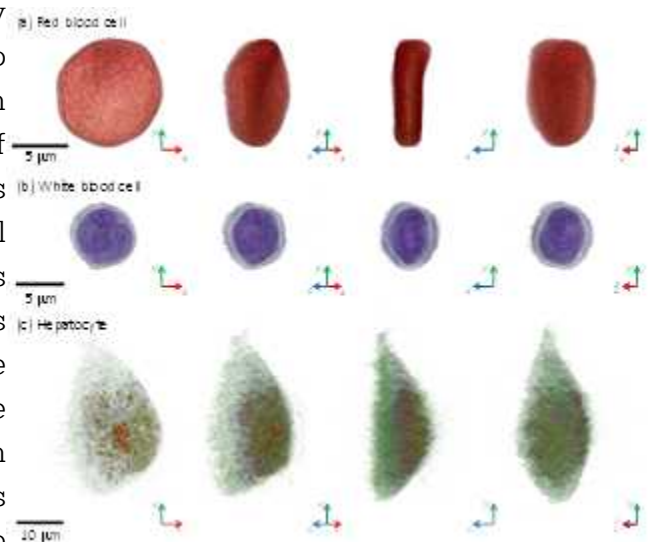
Tomocube Inc., Daejeon, Republic of Korea

Email: yk.park@kaist.ac.kr

Holotomography (HT) uses a laser interferometry to measure 3-D refractive index (RI) distribution. HT serves as a powerful tool for imaging small transparent objects, such as biological cells and tissues. HT is an optical analogous to X-ray computed tomography (CT); HT measured multiple 2-D holograms of a sample with various illumination angles, from which a 3-D RI distribution of the sample is reconstructed by inversely solving the wave equation.

Unlike conventional fluorescence-based imaging techniques, HT provides label-free 3-D imaging capability. Without any fixation or labeling, 3-D images of live cells can be obtained with high spatial resolution (down to 110 nm). Furthermore, HT provide quantitative imaging capability : RI maps of a cell are precisely and quantitative measured, from which various cellular analysis can be followed.

In this talk, we will present the recently developed 3-D holotomography setup using a dynamic mirror device. In particular, we will discuss the principle of HT techniques and the previous application in the field of hematology, cell biology, neuroscience, and infectious diseases [1-4]. The outcome demonstrates outstanding visualization of 3D refractive index maps of live cells, which will be potentially used in various applications in biology and medicine. we will also discuss about the commercialization of the technique.



**Figure. 3-D Images of representative biological cells.**

**KEY WORDS:** quantitative phase imaging, optical diffraction tomography, holotomography, label-free imaging, 3D microscopy

[1] K. Lee et al., *Sensors* 13, 4170 (2013).

[2] S. Shin, K. Kim, J. Yoon, and Y. Park, *Optics Letters* 40, 5407 (2015).

[3] K. Kim and Y. Park, *Nature Communications*, 8:15340 (2017)

[4] Holographic deep learning for rapid optical screening of anthrax spores, *Science Advances*, in press

## [교육 프로그램]

### Parasitology in Motion III: *Ctenocephalides canis* is the dominant flea species of dogs in the Republic of Korea

Kyu-Sung Ahn<sup>1</sup>, Shin-Eui Huh<sup>1</sup>, Sang-Woo Seol<sup>1</sup>, Ha-Jung Kim<sup>2</sup>, Kuk-Hyun Suh<sup>2</sup>,  
Sung-Shik Shin<sup>1</sup>

*Department of Parasitology<sup>1</sup> and Internal Medicine<sup>2</sup>, College of Veterinary Medicine,  
Chonnam National University*

#### Introduction :

The dominant flea species infesting dogs in the United States and western Europe is *Ctenocephalides felis felis* while *C. canis* is the dominant flea species in some countries in the central and eastern Europe, Argentina and Ireland. *C. orientis* (syn. *C. felis orientis*), on the other hand, is prevalent among domestic animals in Asian countries such as India and Thailand. Although we have previously reported that 6.8% of dogs in an animal shelter in Gwangju, Korea was infested exclusively with *C. canis*, the epidemiological survey on flea species in dogs has not been carried out in Korea.

#### Material and Method :

From April 2016 to October 2017, adult fleas were collected from domestic dogs from eight areas of southwestern region of Korea: Damyang, Hampyung, Jangsung, Jindo, Naju, Yeongam, Yeongwang and Gwangju. Study animals were healthy outdoor dogs that lived in rural areas. Skin of a total of 116 (57 females and 59 males) dogs were thoroughly examined and an average of 2.3 adult fleas were collected per animal.

#### Results :

Thirty three dogs (28.4%) were infested with fleas, and all were infested with *C. canis* based on the morphological characteristics: a bluntly rounded head, a short stout dorsal incrustation, the first spine of the genal ctenidia being equal to or less than half the length of the second spine and the dorso-posterior margin of the hind tibia bearing two notches with stout setae between the postmedian and apical setae. One dog from Jindo was co-infested with *C. orientis*, but no dogs were infested with *C. felis*.

#### Conclusions :

Considering that *C. canis* has been reported to be more prevalent among rural outdoor dogs and wild canids whereas *C. felis felis* are more prevalent among urban dogs, an exclusively rural and outdoor population of dogs investigated in this study might have influenced the biased infestation status of flea species in dogs from Korea. This is the first report on the distribution of flea species infesting dogs in Korea.

# **01 IL-6 produced by prostate epithelial cells stimulated with *Trichomonas vaginalis* promotes proliferation of prostate cancer cells by inducing polarization of M2 macrophages**

Ik-Hwan Han, Jung-Hyun Kim, Myoung-Hee Ahn, Jae-Sook Ryu

*Department of Environmental Biology & Medical Parasitology, Hanyang University  
College of Medicine*

## **Introduction :**

*Trichomonas vaginalis* (*Tv*) as a protozoan parasite causing sexual transmitted disease was observed in human tissue of prostatitis, benign prostatic hyperplasia (BPH) and prostate cancer (PCa). IL-6 as the mediator of chronic inflammation has been known to induce progression of prostate cancer, and to influence on polarization of M2 macrophage that main component of tumor-associated macrophage. Here, we investigated whether the IL-6 produced by human prostate epithelial cells stimulated with *Tv* could induce the polarization of M2 macrophages and promote progression of PCa by the polarized M2 macrophages.

## **Material and Method :**

Conditioned medium of RWPE-1 cells was prepared by infection without (CM) and with *Tv* (TCM). Conditioned medium of macrophages was prepared by incubation with CM (M-CM) or TCM (M-TCM).

## **Results :**

Prostate epithelial cells (RWPE-1) infected with *Tv* produced IL-6 and chemokines such as CCL2 and CXCL8. When human macrophages were treated with conditioned medium of prostate epithelial cells co-cultured with *Tv* (TCM), it resulted in polarization of M2-like macrophage by increased production of IL-10 and TGF- $\beta$ , and the expression of CD36 and arginase-1 mRNA known as M2 macrophage markers. Moreover, proliferation of the M2-like macrophages was also increased by TCM. However, blockade of IL-6 signaling with IL-6 receptor antibody and JAK inhibitor (Ruxolitinib) inhibited differentiation of M2 macrophage polarization and proliferation of macrophages. To determine progression of prostate cancer cells by crosstalk between macrophage and inflamed prostate epithelial cells by *Tv* infection, PCa cells (PC3, DU145 and LNCaP) were treated with conditioned medium of macrophages stimulated with TCM (M-TCM). Proliferation and migration of PCa cells were significantly increased by M-TCM.

## **Conclusions :**

Our findings suggest that IL-6 induced by *Tv* infection in prostate may be one of the important factors altering the tumor microenvironment promoting progression of PCa through induction of M2 macrophage polarization.

## 02 가시아메성 각막염 마우스 실험동물모델 개발

손혜진<sup>1</sup>, 박아영<sup>2</sup>, 강희경<sup>1</sup>, 서가은<sup>1</sup>, 정석률<sup>2</sup>, 신호준<sup>1</sup>

아주대학교 의과대학 미생물학교실<sup>1</sup>, 남서울대학교 임상병리학과 분자진단연구소<sup>2</sup>

### Introduction :

가시아메바성 각막염 (acanthamoebic keratitis) 은 콘택트렌즈를 착용하거나 각막이 벗겨진 경우에 가시아메바 감염에 의해 흔히 발생되며, 각막상피세포를 뚫고 기질층까지 침범하여 심한 경우 실명까지 이르게 하는데, 주로 카스텔란 가시아메바 (*Acanthamoeba castellanii*) 및 *A. polyphaga* 등에 의해 발생함. 가시아메바에 의한 아메바성 각막염 발병기전을 이해하고 유용한 치료약제의 개발 등을 위해 *in silico* 동물모델이 필수적인데, 본 연구는 작은 실험동물 (마우스) 을 이용한 각막염 동물모델을 개발하고자 하였음.

### Material and Method :

8 주령 (18-20 g) 마우스 복강 내로 Zoletil (0.1 ml/100 g) 을 주입하여 마취시킨 뒤, 각막 마취를 위해 0.5% alcaine eye drop 을 적용하였음. Surgical blade 로 격자 모양으로 여러 번 (실험에 따라 다양한 횟수 적용) 스크래치 낸 후, *A. castellanii* 영양형 (trophozoites)  $3 \times 10^6$  개를 2 mm 콘택트렌즈 위에 놓고 마우스 눈에 넣음. 6 호 봉합사로 가시아메바와 벗겨진 각막 사이의 완전한 접착이 일어날 수 있도록 양쪽 눈의 눈꺼풀을 봉합함. 반대쪽 눈에는 인산염완충액을 처리 (대조군) 하고 세균 동시감염을 막기 위하여 tarivid 안연고를 도포하였음. 감염 6 일 후 (연구결과에 다양한 조건 기술), 봉합된 것을 제거하고 각막을 육안으로 관찰하였음.

### Results :

다양한 실험결과, 네 마리 마우스 안구의 스크래치를 가로 및 세로로 5 번 강하게 시행한 실험에서 6 일째부터 106 일까지 네 마리 모두에서 가시아메바성 각막염을 관찰할 수 있었음. 재현성과 가시아메바 접종 후 며칠 째부터 각막염이 발생하는 지 본 실험결과, 관찰 24 시간 후에 봉합사를 제거하고 확인하였는데 각막염이 약하게 발생하였으며, 48 시간째에는 육안으로도 식별이 쉽게 가능할 정도로 가시아메바성 각막염이 발생하였음.

### Conclusions :

본 실험 결과 가시아메성 각막염 마우스 실험동물모델 개발할 수 있었으며, 추가 실험으로 안구 (각막) 조직 내에서의 가시아메바의 식별 및 PCR 법을 이용한 가시 아메바 유전자 증폭 등의 확인실험을 진행하고 있고, 이런 결과로부터 얻어진 가시아메바성 마우스 각막염모델은 추후의 많은 연구에 중요한 모델이 될 것임.

### **03 Neuroprotective effect of intracranial chronic *Toxoplasma gondii* infection in cerebral ischemia**

Bong-Kwang Jung<sup>1</sup>, Seung Hak Lee<sup>2,3</sup>, Hyemi Song<sup>1</sup>, Han Gil Seo<sup>2</sup>, Byung-Mo Oh<sup>2</sup>, Jong-Yil Chai<sup>1</sup>

*Institute of Parasitic Diseases, Korea Association of Health Promotion, Seoul 07653, Republic of Korea<sup>1</sup>, Department of Rehabilitation Medicine, Seoul National University Hospital, Seoul 03080, Republic of Korea<sup>2</sup>, Department of Rehabilitation Medicine, Incheon Workers Compensation Hospital, Incheon 21417, Republic of Korea<sup>3</sup>*

#### **Introduction :**

*Toxoplasma gondii* is an obligate intracellular protozoan pathogen and can invade various organs of the host body and even forms tissue cysts in the central nervous system. It is known that the tissue cyst of toxoplasma interacts with host brain cells in various ways and has a neuroprotective effect on neurodegenerative diseases. The purpose of this study is to investigate the neuroprotective effects of chronic *T. gondii* infections in cerebral ischemia.

#### **Material and Method :**

In the experimental group, *T. gondii* (ME49 strain) was injected through intraperitoneal route 4 weeks before the MCAO surgery. The neurobehavioral effects of cerebral ischemia were assessed by measurement of Garcia score and Rotaroad behavior tests after surgery. After behavioral tests, the volume of brain ischemia was measured by TTC staining and the changing of genes and proteins expression was analyzed to investigate the protective effects of toxoplasma chronic infection.

#### **Results :**

On the third day after cerebral ischemia, corrected infarction volume was significantly reduced in infected group, and the neurobehavioral function of the infected group was significantly better than control group. We found that *T. gondii* chronic infection induces the HIF-1 $\alpha$  expression in the brain before MCAO and the preconditioning by *T. gondii* infection may reduce the neural deficits associated with ischemia. Furthermore, *T. gondii* infection also increased the expression of VEGF after cerebral ischemia and may provide the brain ischemic tolerance.

#### **Conclusions :**

Chronic intracerebral infection of *T. gondii* causes neuroprotective effects in mouse cerebral ischemia and reduces the volume of cerebral infarction with better neurobehavioral function. The results have demonstrated that *T. gondii* chronic infection may be a promising preconditioning to induce brain ischemic tolerance through the promotion of angiogenesis via the regulation of HIF-1 $\alpha$ , VEGF expression.

## 04 비만동물모델에서 선모충 감염에 의한 비만 억제

강신애, 최준호, 이다인, 김혜진, 박성희, 유학선  
부산대학교 의학전문대학원 기생충학 및 열대의학교실

### Introduction :

비만은 서구화된 식생활, 운동부족, 장내 기생충 감염의 감소 등 다양한 원인으로 증가하고 있다. 면역학의 발달로 인하여 비만이 다양한 면역반응이 관여하는 만성염증과 밀접한 관련이 있음을 밝혀냈다. 이전 연구에서는 선모충에 감염된 마우스는 고지방식이를 해도 비만이 잘 유도되지 않았고 초기 염증에 관여하는 대식세포가 유의적으로 낮음을 확인할 수 있었다. 본 연구에서는 비만 유도 후 선모충 감염으로 인한 비만 억제 능력이 있는 지 또한 비만대사 관련 유전자 발현량의 변화를 관찰하였다.

### Material and Method :

정상마우스를 6주간 고지방식이를 하여 비만을 유도한 뒤, 선모충 근육 유충 250 개를 비만 유도한 마우스에 감염 시킨 후, 고지방식이를 유지하여 선모충 감염으로 인한 비만 지표 측정을 통해 비만 억제 효과를 확인하였고, 선모충 감염 소장 조직 내에서 비만대사관련 유전자 변화 양상을 확인하기 위해 선모충 감염 마우스의 소장에서 Affymetrix GeneChip mouse 2.0 ST array 통해 확인하였다.

### Results :

고지방식 + 감염군에서 고지방식\을 하여도 고지방식 + 비감염군에 비해 선모충 감염으로 인해 비만 지표가 유의적으로 낮았다. 또한 비만 유도 시 증가되는 초기 염증에 관여하는 M1 대식세포와 염증유발사이토카인이 고지방식+비감염군 보다 고지방식+감염군에서 유의적으로 낮았으며, 반대로 M2 대식세포는 유의하게 증가하였다. 소장조직 내 선모충 감염으로 발현이 2배 이상 발현차이를 나타낸 유전자는 50 개로 분석되었다(P-value < 0.05). 그 중 gene ontology 정보를 이용하여 분석한 결과 biological process 에서 지방대사와 관련된 8 개의 유전자의 발현이 유의하게 변화하였고, molecular function 에서도 지방분해효소활성에 관련된 5 개의 유전자의 발현이 유의하게 변화하였다.

### Conclusions :

선모충 감염 후 M1 대식세포 및 염증유발사이토카인이 감소하였고, 비만지표가 유의적으로 낮았다. 또한 소장 내 지방대사와 관련된 여러 유전자의 발현의 변화가 확인되었다.

## 05 신규 항말라리아 화합물의 후보 표적 물질 동정

여선주, Dong-Xu Liu (Vietnam), Do Thi Hoang Kim (Vietnam), Hyun Park  
원광대학교, 의과대학, 감염생물학, 인수공통감염병연구센터

### Introduction :

말라리아 약제 내성으로 신규 항말라리아제 개발이 요구되고 있다. 본 연구에서 신규 항말라리아 화합물인 SKM13의 후보 표적 물질을 발견하였다.

### Material and Method :

항말라리아의 mechanism을 규명하기 위해 *Plasmodium falciparum* (FCR3)에 IC50의 농도로 6시간동안 처리한 뒤 2D 전기영동법으로 변화된 단백질 profile을 확인한 뒤, 변화된 spot에 대해 Liquid Chromatography and Mass Spectrometry에 의해 peptide를 분석하여 최종 단백질의 identity를 확인하였다. 동정된 단백질들을 재조합 단백질로 발현시킨 뒤 효소 활성 측정 시스템을 구축하였고 SKM13의 효소 활성 억제효과를 확인하였다. 또한 IFA와 Western blot을 통해 SKM13의 표적 후보 단백질이 말라리아의 분화 단계에 미치는 영향을 분석하였다.

### Results :

2D 전기영동법으로 분석한 결과, 감소된 spot은, *P. falciparum* Elongation-factor 1 (EF-1 $\alpha$ )으로 동정되었다. 이를 유전자 재조합단백질로 개발하여 효소 활성을 측정한 결과 SKM13은 EF-1 $\alpha$ 의 효소 활성을 억제하였다. 또한, SKM13은 IFA와 Western blot을 통해 특히 Ring stage에서 *P. falciparum* EF-1 $\alpha$ 을 억제하고 있음이 확인되었다.

### Conclusions :

신규 항말라리아 화합물 SKM13은 Ring stage의 *P. falciparum* (FCR3) EF-1 $\alpha$ 를 억제함으로써 항말라리아 효과를 가져왔다.



## 06 New transdermal type-antimalarial drug development research

Hye-Sook Kim<sup>1,2</sup> (Japan), Machiko Makita<sup>2</sup> (Japan), Ryoka Ishi<sup>2</sup> (Japan), Mayuko Miyoshi<sup>2</sup> (Japan), Yuji Kurosaki<sup>3</sup> (Japan) and Kyung-Soo Chang<sup>4</sup>

*Division of International Infectious Diseases Control, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences, Okayama University, Okayama, Japan<sup>1</sup>, Division of International Infectious Diseases Control, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Okayama University, Okayama, Japan<sup>2</sup>, Division of Pharmaceutical Formulation Design, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences, Okayama University, Okayama, Japan<sup>3</sup>, Department of Clinical Laboratory Science, College of Health Sciences, Catholic University of Pusan, Busan, Korea<sup>4</sup>*

### Introduction :

Malaria is a severe parasitic disease. For treatment of the disease, artemisinin-based combination therapy (ACT) is recommended by WHO. However, recent reports show the emergence of malaria parasites resistant to ACT. Thus, innovation for new antimalarial drugs has become much needed. We synthesized endoperoxides, 1,2,6,7-tetraoxa-spiro[7.11]nonadecane (N-89) and its derivative 6-(1,2,6,7-tetraoxa spiro[7.11]nonadec-4-yl) hexan-1-ol (N-251) and found that they have strong antimalarial activities against *Plasmodium falciparum* in human erythrocytes cultured *in vitro* as well as against *Plasmodium berghei* in mice *in vivo*. In the study, we try to improvement of the compounds for easy to use in malaria patients and infants together.

### Material and Method :

Synthetic method of N-89 and N-251 are refer by our previous reported papers and the compounds were dissolved in mixed PEG solutions for use. The hair-cutting mice were used as antimalarial and pharmacokinetic study. Transdermal size of 6 to 8 cm<sup>2</sup> in mice and treatment schedule was once a day or 2 times per day for 3 days in the study. During the experiments, we checked the parasitemia and blood concentration of the compounds in each point in mice together.

### Results :

Typical 4-day suppressive test, ED50 value of N-89 for transdermal treatment is 15 mg/kg and the result was similar to other treatment route of N-89. The antimalarial activity of N-89 in transdermal route, parasitemia was decreased and finally didn't observed in mice after 3-days treatment. Then, parasites in mice didn't any recurrence or recrudescence and finally, mice cured with no any side effects. To pharmacokinetic study, blood level of N-89 was sustained about 10 ng/ml for 12 hrs and 2 times per day treatments will be need to cure for malaria parasites in mice.

### Conclusions :

We found transdermal-N-89 formula shows antimalarial and long lasting activity for *Plasmodium* parasites. Now we are plan to develop the suitable formulation of the compounds for human use.

# YS1 설치류 말라리아 (*Plasmoudim berghei*) 의 Pbs28 발현하는 바이러스 유사입자 백신 효능

이동훈<sup>1, 2</sup>, 이수화<sup>1, 2</sup>, 주기백<sup>1, 2</sup>, 강해지<sup>1, 2</sup>, 문은경<sup>1</sup>, 전복실<sup>1</sup>

경희대학교 의과대학 의동물학교실<sup>1</sup>, 경희대학교 일반대학원 기초의과학과<sup>2</sup>

## Introduction :

말라리아는 전 세계적으로 매년 30 억 명이상이 감염 위험 노출되어 있으며, 약 2 억 5 천 명에서 5 억 명이 감염되며, 이 중 100 만 명 이상이 사망하는 기생충 질환이다. 현재까지 말라리아 치료제는 지속적으로 개발되고 있지만, 클로로퀸, 아르테미시닌 등에서 내성을 갖는 말라리아원충이 나타나고 있다. 본 연구는 설치류 말라리아인 *Plasmodium berghei*의 ANKA strain 에서 ookinete surface antigen-like protein (Pbs28) 을 포함하는 바이러스 유사입자를 제조하여 마우스 모델에서의 백신 효과를 보고자 한다.

## Material and Method :

*P. berghei*의 Pbs28 및 인플루엔자 바이러스 matrix protein 1 (M1) 유전자를 각각 클로닝을 하였다. Baculovirus expression system 을 이용하여 *P. berghei*의 Pbs28 과 인플루엔자 바이러스 M1 을 발현하는 각각의 Baculovirus 를 생산하였다. 인플루엔자 바이러스 M1 을 core protein 으로 구성하고, *P. berghei*의 Pbs28 을 발현하는 바이러스 유사입자 (Virus-like particles, VLPs) 백신을 제조하였다. 생산한 VLPs 를 투과전자현미경 (Transmission electron microscopy, TEM) 및 Western blot 으로 확인하고 마우스에 흡입 경로 접종 (Intranasal) 을 하였다. 바이러스 유사입자가 접종된 마우스에서 혈청을 분리하여 항체 생성 반응 여부를 확인하였고, *P. berghei*의 원충을 감염시킨 (challenge infection) 후 마우스의 면역반응, 생존율 및 기생충혈증 (parasitemia) 를 확인하였다.

## Results :

*P. berghei*의 Pbs28 이 발현하는 바이러스 유사입자 (VLPs) 백신이 성공적으로 제조되었다. 바이러스 유사입자 백신에 접종된 마우스는 *P. berghei*의 원충을 복강경로의 감염 전 및 감염 후 모두에서 말라리아 특이 IgG 및 IgG2a 항체반응이 높게 나타났다. 비장 세포를 분리하여 면역세포를 분석한 결과 면역화 된 마우스에서 많은 수의 CD4+ T cell, CD8+ T cell 및 Total B Cell 이 검출되었다. 또한 바이러스 유사입자 접종한 마우스에서 생존율이 높게 나타났으며, 기생충혈증 분석 결과 바이러스 유사입자를 접종한 마우스에서 *P. berghei*의 원충이 많이 감소되었다.

## Conclusions :

*P. berghei*의 Pbs28 을 발현하는 바이러스 유사입자 백신은 마우스에서 체액성 및 세포성면역을 일으킨다. *P. berghei*의 원충 감염에 의한 기생충혈증을 감소시키고, 마우스의 생존율을 높게 나타나는 것으로 확인된 바 예방백신으로의 가능성이 제시하였다.

## **YS2** 독소포자충 rhoptry protein 18 및 microneme protein 8을 발현하는 바이러스 유사 입자 백신의 시너지 효능

이수환<sup>1</sup>, 이동훈<sup>1</sup>, 강해지<sup>1</sup>, 주기백<sup>1</sup>, 전복실<sup>2</sup>

경희대학교 일반대학원 기초의과학과<sup>1</sup>, 경희대학교 의학전문대학원<sup>2</sup>

### **Introduction :**

독소포자충은 전 세계의 약 20% 인구에서 감염보고가 되어있다. 독소포자충의 rhoptry protein 18 (ROP18) 과 microneme protein 8 (MIC8) 은 독소포자충이 숙주 내로 침입하고 증식하기 위한 필수 단백질이다. 본 연구에서는 독소포자충의 ROP18 과 MIC8 을 발현하는 바이러스 유사입자 (virus-like particle, VLP) 백신에 의해 유도되는 면역반응과 시너지 효과를 동물모델 (마우스) 에서 관찰하고자 한다.

### **Material and Method :**

Baculovirus expression system 을 이용하여 곤충세포에서 독소포자충의 ROP18 과 인플루엔자 바이러스 matrix protein 1 (M1) 을 포함하는 VLP (ROP18 VLPs) 와 MIC8 과 M1 을 포함하는 VLP (MIC8 VLPs) 를 생성하였다. 제조된 VLPs 를 전자현미경 및 western blot 으로 확인하고, 마우스의 비강내로 접종하였다. 그룹은 ROP 18 VLPs 단일접종군, MIC8 VLPs 단일접종군, ROP18+MIC8 VLPs 혼합접종군, 비접종군으로 나누었으며, 2 차 접종 4 주 후 독소포자충을 복강 내로 감염시켜 나타나는 면역반응, 염증반응 및 생존기간을 조사하였다.

### **Results :**

VLPs 혼합접종군은 단일접종군에 비해 기생충 중화반응, 세포성 면역 (CD4+, CD 8+ T cell, memory T cell) 반응에서 시너지 효과를 보였다. 또한 VLPs 혼합접종군은 기생충 감염에 의한 비장의 염증 사이토카인 (INF-gamma, IL-6) 및 apoptosis 반응 및 복강 내 기생충 증식 반응이 현저히 감소하였다. 결과적으로 단일접종군에 비해 혼합접종군의 마우스는 생존기간이 증가하였다.

### **Conclusions :**

이러한 결과는 ROP18 및 MIC8 을 발현하는 VLPs 혼합 백신이 단일 VLP 백신과 비교하여 시너지 효과가 있음을 입증한다. 따라서 ROP18 + MIC8 VLPs 혼합 백신은 독소포자충증에 대한 잠재적인 백신으로서의 가능성이 있다.

### **YS3** Invasion inhibitory of *Plasmodium vivax* antibodies of monkey and human-adapted *P. knowlesi* parasites into erythrocytes

Fauzi Muh<sup>1</sup> (Indonesia), Seong-Kyun Lee<sup>1</sup>, Jin-Hee Han<sup>1</sup>, Ji-Hoon Park<sup>1</sup>, Rafiul Hoque<sup>1</sup> (Bangladesh), Moh. Egy Rahman Firdaus<sup>1</sup>, Takafumi Tsuboi<sup>2</sup> (Japan), Osamu Kaneko<sup>3</sup> (Japan), Eun-Taek Han<sup>1</sup>

*Department of Medical Environmental Biology and Tropical Medicine, School of Medicine, Kangwon National University, Chuncheon, Gangwon-do, Republic of Korea<sup>1</sup>, Proteo-Science Center, Ehime University, Matsuyama, Ehime, Japan<sup>2</sup>, Department of Protozoology, Institute of Tropical Medicine, Nagasaki University, Japan<sup>3</sup>*

#### **Introduction :**

Invasion process in *Plasmodium* species is very rapid and complex process which involved several ligands and receptors interaction. Several ligands have been well identified in *Plasmodium vivax* and *P. knowlesi*, but extensive molecular machinery in invasion makes vaccine development hampered. Hence, a vaccine targeting different species which enable to block the invasion of blood-stage parasites will enormously affect to elimination program.

#### **Material and Method :**

Thus, this study revealed the importance of finding in possibility of cross-protection from vivax- and/or knowlesi-infection. Several candidates have been selected as potential enormous cross-vaccine development based on identical amino acids domain and B-cell epitope recognition. Cross-reactivity was proved by using *P. vivax* antibodies with *P. knowlesi* parasite by immunofluorescence assay, western blotting, and protein microarray. Cross-invasion inhibition for target antibodies was investigated in monkey and human-adapted *P. knowlesi* parasites.

#### **Results :**

*P. vivax* specific target antibodies successfully recognized *P. knowlesi* parasite which specifically localized in the different subcellular organelles of parasites such as surface, microneme, and rhoptry. Also, antibodies from vivax- and knowlesi-infected patient serum samples recognized common and shared epitope by using specific target recombinant proteins. The most unique of this finding is some *P. vivax* antibodies could be able to block the merozoite invasion of monkey and human-adapted *P. knowlesi* into erythrocytes in concentration dependent manner.

#### **Conclusions :**

Our findings highlighted the notion of cross-protection among vivax- and knowlesi-infected malaria patients. As future direction, this study will facilitate the containment of *P. vivax* *in vitro* culture, and to get attention of broadly vaccine development among *Plasmodium* species.

## **YS4 Identification of erythrocyte binding tropism of *Plasmodium knowlesi* merozoite surface proteins involved in parasite invasion**

Seong-Kyun Lee<sup>1</sup>, Da-Hye Park<sup>1</sup>, Jin-Hee Han<sup>1</sup>, Fauzi Muh<sup>1</sup>, Mohammad Rafiul Hoque<sup>1</sup>, Ji-Hoon Park<sup>1</sup>, Nam-Hyeok Kim<sup>1</sup>, Sung Hun Na<sup>2</sup>, Eun-Taek Han<sup>1</sup>, Osamu Kaneko<sup>3</sup> and Robert W. Moon<sup>4</sup>

*Department of Medical Environmental Biology and Tropical Medicine, School of Medicine, Kangwon National University<sup>1</sup>, and Department of Obstetrics and Gynecology, Kangwon National University Hospital, Chuncheon, Gangwon-do, Republic of Korea<sup>2</sup>; Department of Protozoology, Institute of Tropical Medicine (NEKKEN), Nagasaki University, Japan<sup>3</sup>; Department of Immunology and Infection, Faculty of Infectious and Tropical Diseases, London School of Hygiene and Tropical Medicine, London, United Kingdom<sup>4</sup>*

### **Introduction :**

In South East Asia, newly emerging malaria is now *Plasmodium knowlesi*, a zoonotic parasite infecting cynomolgus macaque monkey, *Macaca fascicularis*, and human. There was report that mechanism of the parasite to invade between two hosts are distinct in genome and transcriptome level. Hence, recombinant merozoite surface proteins for functional study were carried out to characterize the erythrocyte binding tropism.

### **Material and Method :**

The recombinant merozoite surface proteins, MSP1 and MSP1P of *P. knowlesi* (PkMSP1-19 and PkMSP1P-19) were expressed and purified from bacterial protein expression system and were used for immunization into rabbit to gain polyclonal antibody that was used for immunoblot and IFA. The purified proteins were subjected to binding assay with different host erythrocytes.

### **Results :**

The recombinant proteins were successfully expressed and purified as soluble form with His- or GST-tag, and the purity was evaluated in SDS-PAGE. The polyclonal antibody against PkMSP1-19 and PkMSP1P-19 recognized the recombinant protein and parasite. The signal pattern of the proteins were observed as typical merozoite surface protein in parasite. The PkDBP- $\alpha$  was able to bind to cynomolgus, rhesus macaque as well as human reticulocytes, but PkMSP1-19 bound to only human reticulocyte. Interestingly, PkMSP1P-19 bound human reticulocyte as well as cynomolgus erythrocytes, suggesting that it has different binding tropism compared to PkMSP1-19 and PkDBP- $\alpha$ .

### **Conclusions :**

PkMSP1P-19 and PkMSP1-19 showed co-localization in blood-stage parasites, however

different binding tropism indicates that they are selectively necessary for invasion into cynomolgus and/or human erythrocytes.

## **YS5 Orphan nuclear small heterodimer partner plays an important role in host protective immunity to *Toxoplasma gondii* infection**

Byung-Joon Park, Su Jin Bae, Ji Na Lee, Jae-Won Choi, Guang-Ho Cha, Young-Ha Lee, and Jae-Min Yuk

*Department of Medical Science and Department of Infection Biology, Chungnam National University School of Medicine, Daejeon 301-747, Republic of Korea*

### **Introduction :**

SHP (NR0B2; Mouse Genome Informatics accession code, 1346344), is an atypical orphan nuclear receptor superfamily and mainly contributes to transcriptional regulation of diverse metabolic pathways through interactions with various nuclear receptors and transcription factors. We previously reported that SHP is an important negative regulator in endotoxin-induced systemic inflammation, however, the roles of SHP in host protective immune responses against *Toxoplasma gondii* have not been fully identified.

### **Material and Method :**

BMDMs were differentiated for 5–7 days in medium containing macrophage colony-stimulating factor, as described previously. The culture medium consisted of DMEM supplemented with 10% heat-inactivated fetal bovine serum (FBS), 1 mM sodium pyruvate, 50 U/mL penicillin, 50 µg/mL streptomycin, and  $5 \times 10^{-5}$  M 2-mercaptoethanol. Splenocytes were isolated by mechanical disruption, followed by differential centrifugation and resuspension in DMEM. *T. gondii* (RH and GFP-RH) was maintained in ARPE-19 (a human retinal pigment epithelial cell line).

### **Results :**

SHP deficiency resulted in the decreased tissue burden of *T. gondii* ME49 strain. We next determined serum levels of tumor necrosis factor  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) and interleukin-12 (IL-12p40) in *T. gondii*-infected wild type (WT) and SHP deficient mice. SHP deficient mice infected with *T. gondii* ME49 strain showed enhanced generation of TNF- $\alpha$  and IL-12p40 than WT mice with those. Moreover, intracellular survival and proliferation of *T. gondii* in SHP deficient primary macrophages were significantly diminished.

### **Conclusions :**

In consistent of *in vivo* finding, TNF- $\alpha$  and IL-12p40 mRNA expression were highly increased in the SHP deficient macrophages. Taken together, our finding suggested that SHP is a strong suppressor of host innate immune responses upon *T. gondii* infection.

## **YS6** *Trichinella spiralis* infection enhances protective immunity against subsequent infection by respiratory syncytial virus

Ki-Back Chu<sup>1</sup>, Dong-Hun Lee<sup>1</sup>, Hae-Ji Kang<sup>1</sup>, Su-Hwa Lee<sup>1</sup>, Fu-Shi Quan<sup>2</sup>

*Department of Biomedical Science, Graduate School, Kyung Hee University, Seoul, Korea<sup>1</sup>, Department of Medical Zoology, Kyung Hee University School of Medicine, Seoul, Korea<sup>2</sup>*

### **Introduction :**

Respiratory syncytial virus (RSV) is one of the major causative agents of viral bronchiolitis, which is fatal to newborn infants and the immune-compromised elderly. RSV infection induces inflammation and pathophysiology of virus-induced asthma exacerbations. Influenza virus coinfection with *Trichinella spiralis* has shown to ameliorate pathology in mouse lung. In this study, we established the primary infection of helminthic parasite *T. spiralis* in a mouse model. Antibody response, lung inflammatory cytokine and lung virus titer were determined to investigate protective immunity against RSV infection induced by pre-existing *T. spiralis* infection.

### **Material and Method :**

Mice (Balb/c) were orally infected with a single dose of *T. spiralis* larvae (150 larvae per mouse) and subsequently infected with RSV A2 strain ( $3 \times 10^6$  pfu per mouse) (TS-RSV) after 2 weeks via intranasal route. Sera were isolated from blood samples collected at regular intervals. RSV A2-specific IgG and IgE antibody responses and total IgE antibody responses were determined using ELISA. Mice were sacrificed on day 4 post-RSV infection and lung samples were harvested to determine RSV titer, inflammatory cytokine (IFN- $\gamma$ ) and lung T cell population (CD4+, CD8+).

### **Results :**

TS-RSV infection induced significantly higher levels of RSV A2-specific IgG and IgE antibody responses ( $P < 0.05$ ), and total IgE antibody response ( $P < 0.05$ ) compared to single RSV infection. Compared to single RSV infection, TS-RSV infection significantly increased CD4+ and CD8+ T cell responses ( $P < 0.05$ ), reduced pro-inflammatory cytokines response (IFN- $\gamma$ ,  $P < 0.05$ ), and inhibited lung virus titer ( $P < 0.05$ ).

### **Conclusions :**

Our results demonstrate that previous exposure to the helminth *T. spiralis* significantly reduces lung inflammatory cytokine response and inhibits RSV infection, resulting in protective immunity against subsequent infection by RSV.

## 07 Life history of *Brachylaima koreana* n. sp. (Digenea: Brachylaimidae)

Woon-Mok Sohn<sup>1</sup>, Byoung-Kuk Na<sup>1</sup>, Jung-A Kim<sup>1</sup>, Hee-Ju Kim<sup>1</sup>

*Department of Parasitology and Tropical Medicine, and Institute of Health Sciences,  
Gyeongsang National University College of Medicine<sup>1</sup>*

### Introduction :

*Brachyleima koreana* n. sp. was described with adult worms recovered in the striped field mice, *Apodemus agrarius*, from Gurye-gun, Jeollanam-do, Korea. However, the other biological characters of this fluke have not been known yet. Therefore, we conducted the present study to complete the life history of this fluke in the field and laboratory conditions.

### Material and Method :

Survey on the snail intermediate hosts was performed in the field of Gurye-gun, Jeollanam-do, in 3 times for 2015-2017. Collected snails were examined with the digestion and compression techniques. To obtain adult worms, mesocercariae were orally infected to 5 hamsters. Larval and adult worms were observed with a light microscope with micrometer and SEM.

### Results :

Total 50 (71.4%) out of 70 land snails, *Acusta despecta sieboldiana*, were infected with mesocercariae and other larval stages on July, 2016. Mesocercarial density was 26.4 per snail infected. Mature sporocysts were highly branched and had germ balls, developing and/or mature cercariae. Cercariae were elongated, microcercous and 273 x 121  $\mu$ m in average size. Mesocercariae with genital primodia were different in size according to the developmental stages, i.e., 444 x 254, 593 x 321, 731 x 392 and 869 x 357  $\mu$ m respectively. Morphological, growth and development characteristics were observed with juvenile (2-day and 6-day-old) and adult (10-day, 14-day and 18-day-old) worms recovered from hamsters. Tegumental ultrastructures for all stages, i.e., sporocyst, cercaria, mesocercaria, juvenile and adult, were also observed.

### Conclusions :

By the present study, it was confirmed for the first time that a species of land snail, *Acusta despecta sieboldiana*, act as the intermediate hosts of *Brachyleima koreana*, and hamster is a suitable definitive host of this fluke.



## 08 국내 바베스열원충 감염 사례 보고

홍성희<sup>1</sup>, 송봉구<sup>1</sup>, 김성운<sup>1</sup>, 김정현<sup>2</sup>, 서청원<sup>2</sup>, 조신형<sup>1</sup>, 이상은<sup>1</sup>  
질병관리본부 감염병분석센터 매개체분석과<sup>1</sup>, 감염병관리센터 감염병감시과<sup>2</sup>

### Introduction :

바베스열원충증은 *Babesia* spp. 속 원충에 의해 감염되는 참진드기 매개 인수공통기생충증으로서 적혈구에 침입하여 용혈을 일으키는 급성 열성 질환이다. 우리나라는 '05년 난형바베스열원충 감염에 의한 첫 감염 사례가 보고된 바 있다. 본 레는 바베스열원충에 감염 두 번째 사례의 역학조사 및 유전자 분석 결과를 보고하고자 한다.

### Material and Method :

'17년 6월 강원도 횡성에 거주하는 환자가 바베스열원충 감염 의심 사례가 발생하였다. 역학 조사 결과, 환자의 집은 야산 중턱에 있었으며, 환자는 '15년 췌장암으로 췌장과 비장 적출술을 받았고, 야생동물과 접촉 및 진드기에 물린 경험이 있었다. 검체로 박충도말슬라이드를 제작하여 Giemsa 염색 후 검경하였으며, *Babesia* spp.를 위해 18S rRNA 및  $\alpha$ -tubulin을 타겟으로 PCR을 수행하였다. 매개체 내 바베스열원충을 확인하기 위해 환자 집 주변의 진드기를 채집하여 동일하게 PCR을 수행하였고, 염기서열을 분석하여 계통분석을 진행하였다.

### Results :

검경 결과, 적혈구 안에 대형 바베스열원충의 특징인 polymorphic merozoite 형태가 관찰되었다. 18S rRNA 유전자 분석 결과, 양 유래의 바베스열원충 (DQ159075) 유전자와 98% 상동성을 보였고, 이는 '05년 전남 구례군의 국내 첫 바베스열원충 감염 사망 사례의 유전자 염기서열과도 98% 일치하였다. 계통분석 결과, 양 유래의 *B. motasi* 및 *B. ovata*와 매우 높은 근연관계를 보인 반면, *B. microti*, *B. divergens*, *B. venatorum*과는 낮은 근연관계를 보였다. 감염원을 규명하기 위해 사망자의 집 주변에서 참진드기류 597개체를 채집하였으며, 이중 작은소피참진드기 3개체에서 바베스열원충 유전자를 확인하였고, 그 중 1개체는 *B. microti*, 2개체는 양 유래의 바베스열원충 유전자와 98% 상동성을 보였다. 계통분석 결과, '05년과 '17년 바베스열원충 감염 환자의 염기서열과 매우 높은 근연관계를 보였다.

### Conclusions :

본 임상사례는 양 유래의 바베스열원충에 감염되어 있는 집 주변의 진드기에게 물려서 급성 감염이 발생한 것으로, 이는 국내에서 발생한 바베스열원충 감염에 두 번째 사례로 판단된다. 또한 진드기에서 바베스열원충 유전자가 검출된 것으로 보아 우리나라 자연계에서 바베스열원충의 생활사가 이루어지고 있음을 추정할 수 있으며, 특히 작은소피참진드기가 양 유래의 바베스열원충과 쥐바베스열원충의 매개체로서의 역할을 하는 것으로 판단된다.

## 09 국내 야생 조류에서 발견된 주혈흡충 보고: 한국인의 꼬리유충피부염 발생 가능성

최성준<sup>1</sup>, 장진호<sup>2</sup>, 나기정<sup>3,4</sup>, 강예슬<sup>1</sup>, Bia Mohammed Mebarek<sup>1</sup>, 이동민<sup>1</sup>, 박한솔<sup>1</sup>, 강석하<sup>1</sup>, 전형규<sup>1</sup>, 엄기선<sup>1</sup>

충북대학교 의과대학 기생충학교실<sup>1</sup>, 충남야생동물구조센터<sup>2</sup>, 충북대학교 수의과대학 진단검사의학교실<sup>3</sup>, 충북야생동물센터<sup>4</sup>

### Introduction :

Swimmer's itch 로도 불리는 cercarial dermatitis (꼬리유충피부염)는 조류 및 포유류에 기생하는 주혈흡충의 유충이 피부에 침입하여 발생하는 피부 질환이다. 이 질환은 전 세계적으로 발생하며, 100 여종에 이르는 주혈흡충들이 원인체로 알려져 있음에도 불구하고 우리나라에서는 종의 존재 여부가 보고된 적이 없다. 이번 연구에서는 야생조류에서 발견된 주혈흡충류 4 종에 관하여 보고하고, 국내의 cercarial dermatitis 발생 가능성에 관하여 고찰하였다.

### Material and Method :

국내에서 확보된 꿩이갈매기 (n=3), 중대백로, 대백로, 물까마귀, 쇠오리 (각 n=1) 의 내장 혈관에서 발견된 충체를 연구에 이용하였다. 비교적 형태가 온전한 충체는 Semichon's acetocarmine 으로 염색, 슬라이드로 만들어 형태를 관찰하였다. 일부 시료에서는 DNA 를 추출한 후, 28S rRNA 의 염기서열을 확보하였고, GenBank 상에 제공된 다른 주혈흡충의 염기서열과 함께 계통수 분석을 진행하였다.

### Results :

주혈흡충으로 의심되었던 충체들은 모두 암수 성별이 존재하고 수컷에서 gynecophoric canal 이 존재하는 등 주혈흡충의 형태적 특징을 가지고 있었다. 28S rRNA 를 이용한 계통수 분석에서 물까마귀의 충체는 *Bilharziella polonica* 와, 백로류의 충체는 *Gigantobilharzia huronensis* 와 같은 clade 로 묶이는 것을 확인할 수 있었으며, 꿩이갈매기에서 발견된 충체의 경우는 *Austroilharzia terrigalensis* 와 99% 이상의 상동성을 보였다. 쇠오리에서 발견된 충체에서는 염기서열을 확보할 수 없었으나, 형태학적 특징을 기반으로 *Trichobilharzia* spp. 로 동정하였다.

### Conclusions :

형태 및 분자생물학적인 방법을 통한 동정 결과, 이들이 모두 조류의 주혈흡충 인 것을 확인하였다. 계통수의 분석 결과는 이들이 cercarial dermatitis 를 일으킬 수 있는 종임을 나타내고 있었다. 근연종의 중간 숙주가 국내 생태계에 분포하고 있고, 성충에 감염된 조류가 발견된 것을 고려하면 국내에서도 cercarial dermatitis 가 발병하고 있거나, 발병할 가능성이 충분할 것으로 보인다.

## 010 국내 해산어류 및 두족류와 양식어류에서 고래회충 유충 감염조사

백경완<sup>1</sup>, 조신행<sup>2</sup>, 주정원<sup>2</sup>, 신하림<sup>1</sup>, 조진옥<sup>1</sup>, 김현수<sup>1</sup>, 전경윤<sup>1</sup>, 차희재<sup>1</sup>, 옥미선<sup>1</sup>  
고신대학교 의과대학 기생충학, 유전학교실<sup>1</sup>, 질병관리본부 말라리아기생충과<sup>2</sup>

### Introduction :

우리나라는 세계 최대 해산물 소비국 중 하나로 알려져 있으며 활어로 소비되는 어류의 90% 이상이 양식어류로 집계되고 있다. 그러나 자연산 어류에 기생하는 고래회충 유충 감염증이 꾸준히 보고되고 있어 횡감으로 소비되는 자연산 어류 및 양식어류에 대한 고래회충 유충 감염 실태를 정확히 파악하여야 할 필요가 있다. 본 연구에서는 해역별 (서해, 남해, 동해) 자연산 어류의 고래회충 유충 감염 정도 및 우점종 파악과 더불어 양식어류에서의 고래회충 유충 감염 유무를 확인하고자 하였다.

### Material and Method :

각 해역에서 어류 8 종, 두족류 1 종 총 543 마리의 자연산 활어를 각 지역 공판장에서 구매하여 숙주의 복강과 내장에서 고래회충 유충 감염을 조사하였다. 양식어류 5 종 270 마리는 어종별, 양식방법 및 양식장 위치와 연계하여 분석하였다. 이때, 활어의 뱃살에서의 유충 감염도 확인하였다. 어류 보관조건에 따른 유충의 생존율을 조사하기 위하여 염도 및 온도에 따른 고래회충 유충 생존율을 확인하였다. 검출된 유충에 대해 형태학적 차이 및 PCR-RFLP 법을 통해 종 동정을 시행하였다.

### Results :

자연산 어류의 고래회충 유충 감염률은 서해 (58.8%) 가 가장 높았으며 남해 (29.0%), 동해 (25.2%) 순으로 나타났고 광어, 도다리, 전갱이, 조피볼락 등이 감염율이 높았다. 감염된 고래회충 유충의 종 분석 결과, 대부분 *A. pegreffii* (60% - 90%) 로 확인되었다. 일부 어종은 뱃살에서도 고래회충 유충이 발견되었으며 이들 유충도 대부분 *A. pegreffii* 임을 확인하였다. 반면, 양식어류에서는 어종별, 양식방법 및 양식장 위치와 무관하게 고래회충 유충이 발견되지 않았다. 보관조건에 따른 유충의 생존력 조사에서는 4°C 와 25°C 에서 12 시간, 24 시간 보관 후에도 유충은 모두 생존해 있었다. 염도 5‰, 10‰, 15‰ 에서 72 시간 동안 보관한 후 모든 유충이 사멸하였으며 근육 내 유충이 내장 유충에 비해 염도에 보다 취약한 것으로 나타났다.

### Conclusions :

*A. pegreffii*가 우리나라 전해역의 우점종으로 나타났으며 동해에서는 *A. pegreffii* 뿐 만 아니라 *A. simplex*와 *A. typica* 유충도 확인되었다. 근육에서 발견된 유충들도 대부분 (91.7%) *A. pegreffii*임을 알 수 있었다. 또한, 고래회충 유충은 숙주의 생존 여부와 관계없이 숙주의 내장에서 근육으로 이동하는 것을 확인하였다.

## **YS7** First detection of *Echinococcus multilocularis* in rodent intermediate hosts in Turkey

Mohammed Mebarek Bia<sup>1</sup>, Hamza Avcioglu<sup>2</sup>, Esin Guven<sup>2</sup>, Ibrahim Balkaya<sup>2</sup>, Ridvan Kirman<sup>2</sup>, Hatice Gulbeyen<sup>2</sup>, Ali Kurt<sup>3</sup>, Sali Yaya<sup>2</sup> and Sadik Demirtas<sup>4</sup>

*Department of Parasitology & Tropical Medicine, School of Medicine, Chungbuk National University, Cheongju, Chungbuk 28644, Korea<sup>1</sup>, Department of Parasitology, Faculty of Veterinary Medicine, Atatürk University, Erzurum 25240, Turkey<sup>2</sup>, Department of Pathology, Erzurum Regional Education and Research Hospital, Erzurum 25240, Turkey<sup>3</sup>, Department of Biology, Faculty of Arts and Science, Ondokuz Mayıs University, Samsun 55139, Turkey<sup>4</sup>*

### **Introduction :**

*Echinococcus multilocularis* is the causative agent of alveolar echinococcosis (AE), a potentially fatal zoonotic disease. Large parts of Turkey are considered as endemic for *E. multilocularis*. The aim of this study was to determine the occurrence of metacestodes of *E. multilocularis* in wild rodents in Erzurum, an endemic region for human AE in Turkey.

### **Material and Method :**

Trapping animals was conducted between February and December 2016, in 20 counties of Erzurum Province. Rodents were identified at the genus level using the standard morphological criteria. After dissection, they were examined macroscopically for meta cestodes of *E. multilocularis*. Suspicious lesions (e.g. white spots) were excised and preserved in 70% ethanol and 10% formalin for molecular and histopathological examinations.

### **Results :**

Total 498 rodents were examined. Suspected lesions were observed on the livers of 48 rodents, and then partial fragment of mitochondrial 12S rRNA gene was PCR-amplified. Five liver samples exhibited *E. multilocularis* infection and the prevalence of *E. multilocularis* for *Microtus* spp. was 1-3%. All the infected rodents had fertile metacestodes. Infected rodents were morphologically and molecularly analysed and were confirmed to be *Microtus irani* by mitochondrial cytochrome b gene sequence analysis.

### **Conclusions :**

This is the first report of the presence of *E. multilocularis* in rodent intermediate hosts in Turkey. Our findings of all infected *M. irani* with protoscoleces show that this rodent can act as suitable intermediate hosts for *E. multilocularis* in Turkey. It is recommended that molecular analysis should be conducted in addition to gross and histological examinations to determine the presence of *E. multilocularis* in rodents. An extensive survey should be conducted to investigate the prevalence of *E. multilocularis* in definitive hosts (especially fox and dog) in Erzurum Province.

# **011 Analysis of genetic diversity, natural selection and population structure of the C-terminus merozoite surface protein 1P (MSP1P) genes of *Plasmodium knowlesi* from clinical isolates**

Md Atique Ahmed<sup>1</sup> and Eun-Taek Han<sup>1</sup>

*Department of Medical Environmental Biology and Tropical Medicine, School of Medicine, Kangwon National University, Chuncheon, Republic of Korea<sup>1</sup>*

## **Introduction :**

*Plasmodium vivax* merozoite surface protein 1 paralog (PvMSP1P) C-terminal 19 kDa domain is a potential vaccine candidate however, no study has been conducted in the orthologous gene in *Plasmodium knowlesi*. This study was conducted to explore the level of polymorphisms, natural selection and the genetic structure of C-terminus PkMSP1P genes from clinical isolates of Malaysia.

## **Material and Method :**

Forty C-terminus PkMSP1P sequences were obtained from published *P. knowlesi* genomes from clinical isolates originating from four different regions of Malaysia: Sarikei, Betong, Kapit and Peninsular Malaysia. Genetic diversity, polymorphism, natural selection was determined using DNAsp and MEGA 5.0 software. Population structure of parasite was determined using STRUCTURE software.

## **Results :**

A total of 37 polymorphisms were found leading to 27 haplotypes with a haplotype diversity of  $0.954 \pm 0.023$  and genetic diversity ( $\pi=0.0088$ ). There were 20 synonymous and 17 nonsynonymous substitutions. Evidence of strong purifying selection was observed ( $dS-dN=2.03$ ,  $p < 0.05$ ) within the domain supported by negative values for Tajima's D (-1.53), Fu and Li's D\* (-2.08) and F\* (-2.25). Population structure analysis showed that there were 4 sub-population ( $K=4$ ) clusters in Malaysia.

## **Conclusions :**

We have found low genetic diversity and strong evidence of negative selection at the C-terminal *P. knowlesi* MSP1P genes and four sub-populations of parasites in the clinical isolates.

## 012 Dengue 바이러스 매개체인 흰줄숲모기(*Aedes albopictus*)의 유전정보를 활용한 특성 연구

황희주<sup>1</sup>, 정종민<sup>1</sup>, 상민규<sup>1</sup>, 박지은<sup>1</sup>, 민혜린<sup>1</sup>, 신이현<sup>2</sup>, 이옥교<sup>3</sup>, 조신헌<sup>3</sup>, 주영란<sup>3</sup>, 한연수<sup>4</sup>, 이용석<sup>1</sup>  
순천향대학교 생명시스템학과<sup>1</sup>, 곤충기술정보연구소<sup>2</sup>, 질병관리본부 매개체분석과<sup>3</sup> 전남대학교  
식물생명공학부<sup>4</sup>

### Introduction :

흰줄숲모기는 숲모기속에 속하는 종으로 황열바이러스, 지카바이러스, Dengue 바이러스 등의 바이러스 병원체를 전파하는 매개체이다. 현재 해외 흰줄숲모기 유전체 및 전사체 정보는 미국, 이탈리아, 중국 등에서 어느 정도 진행이 된 상태이나 국내에서는 이러한 유전적 분석에 대한 연구가 없어 국내에 자생하는 흰줄숲모기에 대한 연구는 거의 수행되어지지 않은 상태이다. 따라서 본 연구에서 Dengue 바이러스 micmic 을 이용한 비교전사체 분석을 통해 한국산 흰줄숲모기의 유전 정보자료와 감염력 관련 연구의 기초자료를 확보하고자 하였다.

### Material and Method :

흰줄숲모기 시료는 실내 누대 사육계통을 통하여 확보하고, cDNA library 구축, 유전정보 확보 및 분석과 장상피세포의 gene silencing system 구축하는 것으로 수행되었다. 흰줄숲모기의 cDNA library 구축은 Dengue 바이러스 micmic 으로 ssRNA 를 dengue virus 와 가장 유사한 면역유도체로 판단하여 이를 주입한 실험군과 처리를 하지 않은 대조군으로 각각 수행되었으며, Roche 사의 GS-FLX 454 를 활용하여 cDNA random sequencing 을 통하여 대량의 전사체 (transcriptome) 서열 정보를 확보하였고 이를 이용해서 생물정보학적 분석을 통해서 각 개체군의 유전적 차이를 비교하였다.

### Results :

흰줄숲모기의 control 시료와 ssRNA 를 주입한 treatment 두 개체군의 454 GS-FLX 를 이용한 RNA-seq 결과 데이터 생성량은 control 의 경우 약 420,454,595 bases (857,939 reads) 이었고, treatment 의 경우 약 220,018,951 bases (438,654 reads) 이었다.

### Conclusions :

각 실험군 별 NGS 데이터를 assembly 하여 만든 contigs 를 이용해서 각각의 유전자 증감 분석과 다양한 functional annotation 을 통해서 각 개체군에서 다양한 유전자들의 발현 차이를 확인하였기에 추후 추가적인 분석이 필요하다고 판단된다.

## 013 *Spirometra mansonii* 종명의 유효성 검토

전형균, 강예슬, Bia Mohammed Mebarek, 최성준, 이동민, 박한솔, 강석하, 엄기선  
충북대학교 의과대학 기생충학교실

### Introduction :

인체 고충증을 유발하는 회선자궁조충 속 조충으로는 *Spirometra erinaceieuropaei*와 *S. decipiens*가 알려져 있다. 원기재 문헌의 형태학적 특징으로 *S. erinaceieuropaei*는 자궁이 5-7 회 회전하며, *S. decipiens*와 *S. mansonii*는 2-4.5 회 회전하여 *S. erinaceieuropaei*는 이들과 형태학적으로 구분 되나 *S. decipiens*와 *S. mansonii*는 서로 구분이 어렵다. 그러나 *S. erinaceieuropaei*는 *S. mansonii*와 동종 명으로 사용되고 있어 종명에 대한 학술적 혼란을 초래하고 있다. 이 연구에서는 *S. mansonii* 종명의 유효성에 대하여 검토 하고자 한다.

### Material and Method :

국내의 개 (n=12), 너구리 (n=3), 고양이 (n=14), 닭 (n=7) 등으로부터 수집한 성충 36 개체와 인체 고충 (n=50), 뱀 고충 (n=904) 등을 형태 및 유전자분석에 사용하였으며 GenBank 에서 수집한 846 개의 미토콘드리아 유전자 염기서열을 분석에 사용하였다.

### Results :

*S. erinaceieuropaei*와 *S. decipiens*를 자궁의 형태 및 8% 이상의 미토콘드리아 유전자 염기서열 상이도로 두 종을 서로 구분하였다. 일본, 중국, 태국, 인도네시아 등에서 *S. erinaceieuropaei*으로 보고된 미토콘드리아 *cox1* 전체 염기서열의 상이도를 분석한 결과 형태학적으로 동정된 *S. erinaceieuropaei*와 8.8-9.4%로 나타났으며 *S. decipiens*와는 97.6-100% 상동성을 보여 *S. decipiens*를 *S. erinaceieuropaei*로 오동정한 결과를 관찰하였다. 또한 *cox1* 전체 염기서열 내 변이는 0-2.4%로 한 가지 미토콘드리아 유전자형만 관찰되어 *S. decipiens*의 유전자형만 존재하는 것을 알 수 있었다.

### Conclusions :

이상의 결과 *S. erinaceieuropaei*는 *S. decipiens*와 형태학적, 유전학적으로 구분되어 동종이 아닌 별개의 종으로 존재한다. *S. mansonii*는 현재 *S. erinaceieuropaei*의 synonym 으로 되어 있으나 형태학적, 유전학적으로 *S. erinaceieuropaei*와는 다르며 오히려 *S. decipiens*와 구분되지 않아 *S. decipiens*의 synonym 인 것으로 판단된다.

## 014 메타고니무스속 흡충의 진화계통학적 특징 분석: 3rd mt-tRNA Leu의 존재

이동민, 강예슬, Bia Mohammed Mebarek, 최성준, 박한솔, 전형규, 엄기선  
충북대학교 의과대학 기생충학교실

### Introduction :

지금까지 13 과 35 종 흡충의 미토콘드리아 게놈이 서열화되었다. 이들 데이터는 고도의 유사성을 보여주는 동시에 이 분야의 연구에 유용한 분류학적 계통수를 보여준다. 하지만 어느 연구에서도 미토콘드리아 tRNA에 대한 흡충의 기본패턴에 대하여 다루지는 않고 있다. 일부 anthozoa, 원생동물, 균류 및 식물에서와 같이 tRNA 유전자의 독특한 기본패턴은 계통학적으로 중요한 의미를 갖는다. 그러나 인접한 분류군의 tRNA 기본패턴에서 벗어나 소수의 tRNA 유전자가 결손되거나 삽입이 되었을 때 진화생물학적으로 좋은 특징이 될 수 있으나 장흡충 계통의 미토콘드리아 관련 데이터는 아직 충분히 축적되지 않은 상태이다. 이 연구는 대표적인 장흡충인 메타고니무스의 미토콘드리아 게놈 서열을 분석함으로써 유전정보를 제공하고 흡충의 미토콘드리아 tRNA 기본패턴에 대한 설명을 시도하였다.

### Material and Method :

GenBank에서 대표적인 진행생물분류군 (Metazoa, Fungi, Plant, Protozoa)의 mtDNA, tRNA에 관한 분석을 통하여 흡충 mt-tRNA의 기본패턴을 비교하고, 메타고니무스 전체 미토콘드리아 염기서열 및 다른 흡충분류군(n=35)의 유전정보와도 서로 비교분석하였다.

### Results :

tRNA 유전자는 일반적으로 다른 무척추동물의 것과 유사하였고, 대부분의 tRNA에서 클로버 잎 (cloverleaf) 구조가 유추되었다. 모든 흡충에서 paired dihydrouridine (DHU) arm이 빠져 있는 tRNA-S와 tRNA-A가, 주혈흡충 등 일부 종에서는 쌍을 이루는 DHU-arm의 유무에 관계없이 다른 구조가 관찰되었다(*S. mansoni*, *S. japonicum*, *P. westermani*). 이번 연구에서는 특히 메타고니무스 종에서 세 번째 tRNA-L의 존재를 확인할 수 있었다.

### Conclusions :

일반적으로 아미노아실 수용체 스템에서 비표준 pairing의 일반적인 존재는 이러한 tRNA의 post-transcriptional editing이 일어날 수 있음을 시사한다. 이 연구는 메타고니무스 종에는 세 번째 류신 tRNA가 존재한다는 사실을 새로이 밝혔으며, 우리는 이 발견을 메타고니무스종의 진화계통적 특징으로 제안한다.



# **P1 Study on specific gene associated with carcinogenesis by *Clonorchis sinensis* and N-nitrosodimethylamine on host cell using transcriptome sequencing**

Eun-Min Kim<sup>1</sup>, Tai-Soon Yong

*Department of Environmental Medical Biology and Arthropods of Medical Importance Resource Research Bank, Institute of Tropical Medicine, Yonsei University College of Medicine, Seoul 03722, Korea<sup>1</sup>*

## **Introduction :**

*Clonorchis sinensis*, the most prevalent parasite in Korea, has been reclassified as Group I bio-carcinogen for cholangiocarcinoma (CCA) in humans by IARC in 2009. *C. sinensis* associated cholangiocarcinoma (CCA) is still unknown.

## **Material and Method :**

In human cholangiocyte line, H69 cells were continuously exposed to N-nitrosodimethylamine (NDMA) and excretory-secretory product of *C. sinensis* (ESP) over one year.

## **Results :**

H69 cells that were continuously exposed to ESP of *C. sinensis* and NDMA showed cancer-like characteristics including cell proliferation was more than 5.7 times and the proportion of cells in the G2/M phase increased up to 42% compare to non-treated H69 cells. Based on these results, whole-transcriptome sequencing was performed to compare the genome-wide gene expression patterns of H69 stimulation with NDMA and/or *C. sinensis* ESP with non-treated H69. A total of 1301 differentially expressed genes (DEGs) were identified, 521 of which were up-regulated and 780 were down-regulated. Gene ontology and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes enrichments revealed that numerous DEGs belong to cancer-relevant genes, involved in cell cycles, cell proliferation, and cell adherent-relevant pathways. Among them, we focused on the P53 signaling genes and found that two genes increased and eight genes decreased from a number of their genes.

## **Conclusions :**

In conclusion, these data suggest that the P53 and K-ras signal plays a key role in regulation of cell proliferation, which may cause cholangiocarcinoma under stimulation by ESP of *C. sinensis* and NDMA.

## **P2** *In silico* characterization of nuclear receptor superfamily in *Clonorchis sinensis*

Won Gi Yoo, Ji-Yun Lee, Fuhong Dai, Sung-Jong Hong

*Department of Medical Environmental Biology, Chung-Ang University College of Medicine, Seoul 06974*

### **Introduction :**

Nuclear receptors (NRs) are a superfamily of transcription factors important in key biological, developmental and reproductive processes. However, the understanding and characterization of nuclear receptors in *Clonorchis sinensis* is limited.

### **Material and Method :**

We annotated the *C. sinensis* NRs and compared them to other species, primarily through functional motifs and phylogenetic analysis.

### **Results :**

*C. sinensis* contains 27 NRs spanning six NR subfamilies of NR0 to NR5 except for NR6 subfamily. Seven of the 27 receptors phylogenetically were grouped into the NR2 subfamily, primarily involved in energy metabolism and resource allocation. Some NRs, such as NR4A3 and THA, show strong conservation with human NRs. A novel group of 10 receptors were identified in *C. sinensis* that groups with NR0B clade, but forms its own sub-clade.

### **Conclusions :**

Most of the receptors identified in *C. sinensis* have homologs with human NRs examined with the exception of the NR6 group and novel receptors. These groups of receptors may harbour functions that are intrinsic to parasitic physiology.

### **P3 Development of detection element for immunoassay to detect Zika virus**

Do Thi Hoang Kim<sup>1</sup>, Seon-Ju Yeo<sup>1</sup>, Ga-Eun Seo<sup>2</sup>, Hae-Jin Sohn<sup>2</sup>, Ho-Joon Shin<sup>2</sup>, Hyun Park<sup>1</sup>

*Zoonosis Research Center, Department of Infection Biology, School of Medicine, Wonkwang University, Iksan, Republic of Korea<sup>1</sup>, Department of Microbiology, Ajou University School of medicine, Suwon 164, Republic of Korea<sup>2</sup>*

#### **Introduction :**

Zika virus has been associated with Guillain-Barré syndrome and the microcephaly syndrome in fatal and newborn. This study introduces a strategy to produce monoclonal antibodies which promise as a good candidate for Zika Diagnostic System.

#### **Material and Method :**

Zika virus was cultured in Vero cell and titrated by TCID<sub>50</sub> method. Zika envelop protein domain I and domain II (EI-II) were expressed in *E. coli* system using pET21b system. These proteins were then purified and the antigens were immunized in mouse to produce monoclonal antibodies (mAbs). Six mAbs candidates were screened by ELISA with EI-II antigen and Zika virus.

#### **Results :**

Two out of six mAbs candidates showed high efficiency detection Zika virus and Zika EI-II antigen.

#### **Conclusions :**

Zika envelop protein domain I and domain II (EI-II) were essential to make efficient detection material to develop a Zika Diagnostic System.

## **P4 Development monoclonal antibody targeting chikungunya virus envelope 1 protein**

Nguyen Chien Huu<sup>1</sup>, Seon-Ju Yeo<sup>1</sup>, Ga-Eun Seo<sup>1</sup>, Hae-Jin Sohn<sup>2</sup>, Ho-Joon Shin<sup>2</sup>, Hyun Park<sup>1</sup>

*Zoonosis Research Center, Department of Infection Biology, School of Medicine, Wonkwang University, Iksan, Republic of Korea<sup>1</sup>, Department of Microbiology, Ajou University School of medicine, Suwon 164, Republic of Korea<sup>2</sup>*

### **Introduction :**

The effective of monoclonal antibody to detect chikungunya virus infectious disease is urgently requested in diagnostic field to treat patient efficiently. In this study, E1 envelope of chikungunya virus was developed to generate a monoclonal antibody (MAb), capable of detecting the virus specifically.

### **Material and Method :**

Chikungunya virus E1 recombinant antigen was expressed in *E. coli* system and confirmed by Western blot analysis. Monoclonal antibodies are typically developed after immunization with chikungunya virus E1 antigen. Efficient candidate monoclonal antibodies were screened by immunoassays.

### **Results :**

Two candidate MAb2B5 and 2C8 showed the positive signal with Immunofluorescence (IFA), Western blot, Sandwich ELISA against recombinant antigen and virus.

### **Conclusions :**

*E. coli*-expressed recombinant envelop protein E1 was useful to develop monoclonal antibodies specific chikungunya virus.

## **P5** Development of monoclonal antibodies for the diagnosis of *Plasmodium vivax*

Nguyen Thi Phuong Linh<sup>1</sup>, Hyun Park<sup>1</sup>, Jinyoung Lee<sup>1</sup>, Dong-Xu Liu<sup>1</sup>, Ga-Eun Seo<sup>2</sup>, Hae-Jin Sohn<sup>2</sup>, Jin-Hee Han<sup>3</sup>, Eun-Taek Han<sup>3</sup>, Ho-Joon Shin<sup>2</sup>, Seon-Ju Yeo<sup>13</sup>  
*Zoonosis Research Center, Department of Infection Biology, School of Medicine, Wonkwang University, Iksan, Republic of Korea*<sup>1</sup>, *Department of Microbiology, Ajou University School of Medicine, and Department of Biomedical Science, Graduate School of Ajou University, Suwon, Republic of Korea*<sup>2</sup>, *Department of Medical Environmental Biology and Tropical Medicine, School of Medicine, Kangwon National University, Chuncheon, Republic of Korea*<sup>3</sup>

### **Introduction :**

*Plasmodium* lactate dehydrogenase (pLDH) is a strong target antigen for the determination of infection by *Plasmodium* species specifically. However, a more effective antibody is needed due to the low sensitivity of the current antibody in many immunological diagnostic assays.

### **Material and Method :**

In this study, recombinant PvLDH was experimentally constructed and expressed as a native antigen to develop an effective *P. vivax*-specific monoclonal antibody (mAb). Two mAbs (2CF5 and 1G10) were tested using enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and immunofluorescence assays (IFA), as both demonstrated reactivity against pLDH antigen. Of the two antibodies, 2CF5 was not able to detect *P. falciparum*, suggesting that it might possess *P. vivax*-specificity.

### **Results :**

The detection limit for a pair of two mAbs-linked sandwich ELISA was 31.25 ng/mL of recombinant antigen for sandwich ELISA. The *P. vivax*-specific performance of mAbs-linked ELISA was confirmed by *in vitro*-cultured *P. falciparum* and *P. vivax*-infected patient blood samples.

### **Conclusions :**

The two new antibodies possessed the potential to detect *P. vivax* and will be useful in immunoassay.

## P6 기생충 유래 펩타이드의 피부 콜라겐 합성 활성화 및 상처 치유 효과

박미경<sup>1,2</sup>, 김혜진<sup>1</sup>, 강신애<sup>1</sup>, 최준호<sup>1</sup>, 이다인<sup>1</sup>, 박성희<sup>1</sup>, 백경완<sup>1</sup>, 유학선<sup>1</sup>

부산대학교 의학전문대학원 기생충학교실<sup>1</sup>, 고신대학교 의과대학 기생충학유전학교실<sup>2</sup>

### Introduction :

콜라겐은 피부와 뼈를 구성하는 주요 기질 단백질로, 주로 피부의 견고성, 결합력, 세포의 지탱, 그리고 세포의 분화 유도에 관여하는 것으로 알려져 있다. 이러한 콜라겐 단백질은 피부 재생, 피부 주름 개선 및 세포 노화 방지에 이용하기 위하여 화장품이나 의약품의 대상으로 연구되어 왔다. 사람을 포함하여 동물에 기생하는 선모충 (*Trichinella spiralis*) 은 숙주로부터 자신을 보호하기 위해서 콜라겐을 다량으로 분비하도록 유도하여 보호막을 형성하는 것으로 알려져 있다. 선모충이 분비하는 단백질 중 어떤 단백질이 숙주세포의 콜라겐 합성을 조절하는지 알아보고 해당 재조합 단백질을 이용하여 피부 재생 효과를 확인하고자 하였다.

### Material and Method :

기생충 유래 분비배설 단백질에서 콜라겐 합성을 촉진하는 유효 펩타이드 TS 15-1c 를 면역스크리닝법으로 찾아내었다. 생쥐의 섬유아세포에 처리하여 콜라겐 합성과 관련된 유전자들의 발현을 확인하였다. 또한 TS 15-1c 의 피부 재생 효과를 확인하기 위하여, C57BL/6 생쥐의 귀에 UV 를 조사하여 상처를 낸 후 귀에 TS 15-1c 펩타이드를 처리하였다. 귀 조직 내 콜라겐 합성의 변화와 조직병리학적 변화를 Sirius red collagen staining 과 H&E staining 으로 확인하였다.

### Results :

TS 15-1c 를 처리하였을 때, 섬유아세포의 제 1 형 콜라겐 발현이 증가하였고 콜라겐 합성과 관련된 유전자인 TGF- $\beta$ , p-Smad2/3 의 발현이 증가하였다. 또한 staining 결과를 확인하였을 때, TS 15-1c 펩타이드를 처리한 마우스의 귀 조직 내 콜라겐 합성이 증가하였고 상처가 빨리 치유되었다.

### Conclusions :

TS 15-1c 처리 시 인위적으로 유도한 귀의 조직 상처가 빨리 치유되는 것을 확인하였고 이 과정에서 제 1 형 콜라겐 합성의 증가가 관련 있을 것으로 사료된다. 실험 결과를 토대로 TS 15-1c 펩타이드가 항산화, 조직재생, 주름개선에 도움을 주는 물질로 개발되어질 수 있을 것으로 생각된다.

## P7 선모충 감염 시 림프조직에서 일어나는 IL-4 분비 T세포의 변화 양상

이다인<sup>1</sup>, 송소명<sup>1</sup>, 조유나<sup>2</sup>, 박성희<sup>1</sup>, 김혜진<sup>1</sup>, 최준호<sup>1</sup>, 강신애<sup>1</sup>, 백경완<sup>1</sup>, 유학선<sup>1</sup>

부산대학교 의학전문대학원 기생충학교실<sup>1</sup>, 부산대학교 의학전문대학원 해부학교실<sup>2</sup>

### Introduction :

IL-4는 제 2형 도움 T 세포 아집단의 표지 사이토카인으로서 제 2형 도움 T 세포 아집단 분화 유도 및 작동 사이토카인 모두로 작용한다. 제 2형 도움 T 세포 아집단의 분화는 연충감염에 의하여 활성화되며 연충 살해에 기여하는 IgE, 비만세포 그리고 호산구-매개적인 반응을 자극하게 된다. 선모충(*Trichinella spiralis*) 감염 시 IL-4와 제 2형 도움 T 세포 아집단의 증가는 이미 많은 연구들을 통하여 증명되어있다. 하지만 어떤 타입의 세포들이 IL-4를 분비하며 주된 조절 기전을 가지는지에 대해서는 아직 연구되어진 바가 없다.

### Material and Method :

C.129-II4tm1Lky/J 마우스 (IL-4 GFP express) 에 선모충 경구감염을 시키고, 각 2주와 4주 후 마우스의 지라와 장간막 림프절 및 사지 주변 림프절을 분리하여 유세포 분석을 통해 기생충 감염으로 인한 숙주내의 IL-4 분비 T 세포의 분화 양상을 측정하였다.

### Results :

선모충 감염 후 2주 (장침입기) 와 4주 (근육침입기) 모두에서 IL-4를 분비하는 T (IL4<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> T) 세포 숫자가 유의적으로 증가하는 것을 확인하였다. 그 중 기억세포가 특히 높은 수준으로 증가하였는데, 림프절로 순환하는 주요-기억 T 세포와 림프절로 순환하지 않고 조직 내의 상피세포에 존재하는 작동-기억 T 세포 모두가 증가하였다. IL-4 분비-대식세포의 증가도 확인할 수 있었고, 반대로 B 세포의 감소와 IL-4 분비-자연 살해 세포의 감소를 확인할 수 있었으나 IL-4 분비-자연 살해 T 세포가 증가하는 것을 확인하였다.

### Conclusions :

기생충 감염 동안 숙주 내에서 일어나는 IL-4를 분비할 수 있는 다양한 세포의 변화를 확인할 수 있었다. 특히 IL-4 분비-기억세포의 증가가 IL-4의 분비 조절에 크게 관여할 것으로 사료된다.

## P8 단방조충 포낭액에 의한 알레르기 호흡기 염증반응 개선

김혜진, 강신애, 최준호, 이다인, 박성희, 백경완, 유학선  
부산대학교 의학전문대학원 기생충학교실

### Introduction :

이전의 많은 연구들을 통해 기생충 및 기생충 유래 성분들이 숙주의 면역반응을 조절하고 다양한 알레르기 및 염증을 억제하는 효과가 있음이 확인되었고, 자가 면역 질환을 포함한 다양한 질환의 치료법으로 주목 받고 있다. 단방조충 (*Echinococcus granulosus*)은 목축을 기반으로 하는 지역의 사람 및 가축에 감염하여 포충증을 일으킨다. 이미 단방조충의 포충액이 조절 T (CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup> T) 세포를 활성화한다고 알려져 있지만 정확한 기전이나 동물모델을 이용한 전임상실험은 미흡한 실정이라서 이번 연구에서 단방조충 유래 물질이 알레르기 호흡기 염증반응에 미치는 영향에 대하여 실험을 진행하였다.

### Material and Method :

단방조충에 감염된 사람에서 얻은 포충액(cyst fluid) 을 C57BL/6 마우스에 1 mg 농도로 이틀 간격, 7 회 경구 투여하였다. 그 후, OVA/Alum 을 사용하여 마우스에 천식을 유도하였고, 기도 저항값 (Penh score) 측정, 기도세척액 내 염증세포의 침윤 정도, ELISA, FACS 를 통하여 알레르기 호흡기 염증반응의 면역학적 변화를 관찰하였다.

### Results :

천식을 유도한 마우스들은 모두 기도저항값이 증가하였고, 기관지 세척액내 호산구를 비롯한 면역세포가 증가하였고, Th2, Th17 관련 시토카인의 농도가 높아졌다. 그러나 포충액을 투여한 후 천식을 유도한 마우스에서는 기도저항값과 기관지 세척액 내 호산구의 수가 천식을 유도한 그룹보다 유의적으로 감소하였다. 또한 기관지 세척액의 Th2, Th17 사이토카인의 농도도 낮아지고 항염증 사이토카인인 IL-10 과 TGF- $\beta$  의 농도가 유의적으로 증가하였다. 폐의 림프절 및 지라의 면역세포를 FACS 로 분석하였을 때, 천식을 유도한 마우스에 비하여 포충액 투여 후 천식을 유도한 그룹에서 IL-4<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> T 세포의 수가 감소하였고 조절 T 세포의 수가 증가하였다.

### Conclusions :

단방조충 포충액이 조절 T 세포를 활성화 시킨 후 Th2 알레르기 호흡기 염증반응을 완화시키는 것으로 사료된다.



## P9 미용 콘택트 렌즈에서 가시아메바 부착성 확인

박성희<sup>1</sup>, 이다인<sup>1</sup>, 이지은<sup>2</sup>, 강신애<sup>1</sup>, 김혜진<sup>1</sup>, 최준호<sup>1</sup>, 백경완<sup>1</sup>, 유학선<sup>1</sup>

부산의전원 기생충학교실<sup>1</sup>, 안과학교실<sup>2</sup>

### Introduction :

미용 콘택트 렌즈는 시력 향상뿐 아니라 눈의 미용 효과가 있어 청소년부터 많이 사용하지만 사용법에 대한 교육이 부족하며, 미용 콘택트 렌즈를 사용한 사람이 일반 콘택트 렌즈를 사용한 사람보다 미생물에 의한 각막염에 더 자주 걸린다는 보고가 있다. 가시아메바 각막염은 흔하지 않지만 매우 위험한 질병이며, 콘택트 렌즈 착용과의 연관성이 매우 높다. 렌즈에 부착된 아메바가 핵심적 감염원이며, 부착력은 병원성과 매우 관련이 깊다. 이전 연구에서 일반 콘택트 렌즈에서의 가시아메바 부착력은 확인된 바 있으며, 이번 연구에서 미용 콘택트 렌즈에서의 가시아메바 부착성을 확인하고자 하였다.

### Material and Method :

각막염 환자유래 가시아메바 (*Acanthamoeba lugdunensis* KA/E2) 영양형을 시중에 판매되고 있는 일반 콘택트 렌즈 2 종류 [원데이 아큐브 모이스트 (CL-1day), 아큐브 2 (CL-2 weeks)], 와 미용 콘택트 렌즈 2 종류 [원데이 아큐브 디파인 (cosmetic CL-1day) 아큐브 2 디파인 (cosmetic CL-2 weeks)]를 보관용기에 함께 18 시간 배양한 뒤 렌즈에 부착된 아메바 수와 부착된 부위를 현미경으로 관찰하였다. 또한 다목적용액 (Multipurpose Solution) 인 옵티프리 익스프레스를 각 콘택트 렌즈에 6 시간 처리한 후 같은 방법으로 검사한 후 주사형 전자현미경 (FE-SEM) 으로 렌즈 표면을 확인하였다.

### Results :

각 미용 콘택트 렌즈에서 일반 콘택트 렌즈보다 가시아메바 영양형 부착이 유의적으로 높은 것이 확인되었으며, 이러한 아메바 부착과 아메바의 위족이 미용콘택트 렌즈의 거친 컬러부분에서 더 많이 관찰되었다. 그러나 다목적용액을 처리한 콘택트 렌즈에서는 가시아메바 부착이 유의하게 감소하는 것이 확인되었다.

### Conclusions :

결론적으로 미용렌즈 사용 시 가시아메바 부착성에 대한 인식은 사용자에게 유용하며, 미용 콘택트 렌즈의 위험성에 대한 교육도 반드시 필요하다.

## **P10** Prevalence of internal parasites in wild boars (*Susscrofa coreanus*) from South Korea

Kyu-Sung Ahn<sup>1</sup>, Shin-Eui Huh<sup>1</sup>, Sang-Woo Seol<sup>1</sup>, Ha-Jung Kim<sup>2</sup>, Kuk-Hyun Suh<sup>2</sup>, Sung-Shik Shin<sup>1</sup>

*Department of Parasitology<sup>1</sup> and Internal Medicine<sup>2</sup>, College of Veterinary Medicine, Chonnam National University*

### **Introduction :**

The increase of wild boars in Korea has caused serious problems such as the invasion of human residential area and damage to agricultural crop. Also, wild boars can be an important source for domestic swine diseases such as foot-and-mouth disease, porcine reproductive and respiratory syndrome, brucellosis, salmonellosis, and mycoplasmosis. Furthermore, wild boars can play an important role as the reservoir host for parasitic diseases of domestic pigs and humans such as trichinellosis, ascariasis and toxoplasmosis. In the present study, we investigated prevalence of internal parasites recovered in wild boars from south Korea.

### **Material and Method :**

Gastrointestinal tracts of 144 Korean wild boars hunted in mountains in the south-western part of South Korea between 2008 and 2017 were examined for their visceral helminths. The intestine was slit open lengthwise and the mucosa and contents were examined carefully in a separate container.

### **Results :**

This survey of 144 wild boars revealed the highest prevalence for *Metastrongylus* spp. (72.2%), followed by *Globocephalus samoensis* (50.0%), *Bourgelatia diducta* (49.3%), *Stephanurus dentatus* (37.5%), *Trichuris suis* (25.0%), *Capillaria* sp. (5.6%) whereas *Ascaris suum* (3.5%) showed the lowest prevalence. Although prevalence of *A. suum* is the lowest number, actual infection rate is expected to be higher than rate of this study. Because most wild boars of our study were more than a year and it is supposed to get out to intestine with reached mature age.

### **Conclusions :**

This study showed that the risk of exposure to infection of internal parasites in wild boars is considerably high in southwestern regions of Korea. Although high infection of internal parasites in wild boars was found, the infection of internal parasite has not been reported in Republic of Korea in domestic pigs for nearly thirty years due to the qualitative improvement of swine farm operation.

## P11 기생선충 내 유전자 Micro injection 기술의 확립

최준호, 강신애, 이다인, 김혜진, 박성희, 유학선  
부산대학교 의학전문대학원 기생충학 및 열대의학교실

### Introduction :

유전자 변형 기술은 생명체내 다양한 유전자의 기능을 이해하고 응용하는데 많은 역할을 하였다. 단세포 생물은 비교적 유전자 변형기술이 간단하지만 다세포 생물은 단세포 생물과 달리 복잡한 기관을 가지고 있어 생식세포를 타깃으로 하거나 특정 부위의 세포의 유전자만 변형시켜야 하므로 매우 힘들다. Knock out mouse 제작이나 *Caenorhabditis elegans*의 형질변환에 널리 사용되고 있는 Micro injection 기술은 다세포 생물을 대상으로 유전자를 조작하는 방법으로 매우 유용한 방법이다. Micro injection 을 가지고 기생충의 유전자를 변형시키는 기술은 그리 많이 알려진 기술은 아니다. 이번 연구에서 연구팀은 선모충 (*Trichinella spiralis*) 제 1기 유충 [1st stage larvae (L1)]을 대상으로 micro injection 을 이용하여 사람의 anti-TNF alpha 유전자 주입을 시도해 보았다.

### Material and Method :

*T. spiralis* L1 에 감염된 C57BL/6 마우스의 근육을 소화시켜 L1 larva 를 얻었다. Micro-injection 에 사용될 plasmid 는 pPV230.13 과 pWPT-GFP 이며, pPV230.13 에는 사람의 anti-TNF alpha 유전자 염기서열을 삽입하였다. 재조합 plasmid 를 IM-300 Microinjector (NARISHIGE) 를 이용하여 *T. spiralis* L1 larva 의 genital primordium 에 주입하였다.

### Results :

pPV230.13\_TNF-alpha 와 pWPT-GFP 를 주입한 *T. spiralis* L1 의 genital primordium 부위에 형광을 나타내는 것을 총 100 마리 중 5 마리에서 관찰할 수 있었으며, 주입된 plasmid 는 3 일간 *T. spiralis* L1 larva 의 체내에서 유지되는 것을 확인할 수 있었다.

### Conclusions :

Micro injection 을 사용하여 *T. spiralis* L1 larva 에 유전물질을 전달해주는 plasmid 를 삽입하는 것이 가능함을 알 수 있었고, Plasmid 전달 효율에 관련한 추가적인 연구가 필요하였다.

## **P12 Identification of Duffy binding protein domain of *Plasmodium ovale curtisi* (PocDBP) involved in reticulocyte invasion**

Mohammad Rafiul Hoque<sup>1</sup>, Jin-Hee Han<sup>1</sup>, Myat Htut Nyunt<sup>2</sup> (Myanmar), Seong-Kyun Lee<sup>1</sup>, Fauzi Muh<sup>1</sup>, Ji-Hoon Park<sup>1</sup>, Feng Lu<sup>3</sup>, Jun Cao<sup>3</sup>, Sung-Hun Na<sup>4</sup>, Eun-Taek Han<sup>1</sup>  
*Department of Medical Environmental Biology and Tropical Medicine, School of Medicine, Kangwon National University, Chuncheon, Gangwon-do, Republic of Korea<sup>1</sup>, Department of Medical Research, Yangon, Myanmar<sup>2</sup>, Jiangsu Institute of Parasitic Diseases, Wuxi, China<sup>3</sup>, Department of Obstetrics and Gynecology, Kangwon National University Hospital, Kangwon National University<sup>4</sup>*

### **Introduction :**

*Plasmodium ovale curtisi* (Poc) infection reports increased substantially in several areas of the world within few years. Indeed, a little entity of Poc parasite biology is known to date, specifically invasion mechanism of this neglected malaria parasite remains obscure. In this study, we characterize the binding domain of Duffy binding protein of *P. ovale curtisi* (PocDBP) as an important ligand for the reticulocyte invasion.

### **Material and Method :**

Using the bioinformatics tools, we analyzed the PocDBP (PocGH01\_00129200) gene sequence with orthologs of other *Plasmodium* spp. We selected the homologous region of *P. vivax* DBP erythrocyte binding in PocDBP here named PocDBP-RII and amplified the sequence from the gDNA of Poc infected patient blood sample. Recombinant protein of PocDBP-RII was expressed by *E. coli* system and used for analysis of reticulocyte binding activity using FACS together with immune serum production from rabbit. Binding specificity was proven by treating the reticulocyte by trypsin, chymotrypsin and neuraminidase.

### **Results :**

PocDBP has five exons like PvDBP or PkDBP $\alpha$  with one signal peptide and transmembrane domain. PocDBP-RII region were conserved that indicate similar binding activity in these proteins. The level of conservation in the deduced amino acid sequence in 5' cysteine rich region was found ~ 44% between the PvDBP and PocDBP. The reticulocyte specific binding activity of PocDBP-RII was significantly higher than the erythrocyte binding activity and in a concentration dependent manner. The erythrocyte binding reduced significantly by chymotrypsin treatment and inhibited by anti-PocDBP-RII IgG.

### **Conclusions :**

We found conserved domain sequences of PocDBP gene compared with other *Plasmodium* spp. and had specific binding activity to reticulocyte. This finding suggests that PocDBP is an important ligand for the reticulocyte invasion by *P. ovale curtisi*.

## P13 약용식물 유래추출물의 항말라리아 효과 및 면역반응 유도능 평가

윤혜수<sup>1</sup>, Sylvatrie-Danne Dinzouna-Boutamba<sup>1</sup>, 주소영<sup>1</sup>, 홍연철<sup>1</sup>, 정동일<sup>1</sup>, 구윤경<sup>1</sup>  
경북대학교 의과대학 기생충학교실<sup>1</sup>

### Introduction :

열대열 말라리아 원충 (*Plasmodium falciparum*) 에 의한 열대열 말라리아는 매년 전 세계적으로 약 2억명의 환자가 발생하며, 그 중 약 44만 명이 사망하는 치사율이 높은 질병이다. 이에 열대열 말라리아 치료를 위하여 클로로퀸이 사용되고 있으나, 내성 말라리아 원충의 출현으로 치료에 난항을 겪게 되었다. 이후, 아르테미시닌 (artemisinin)이 개발되었으며, 아르테미시닌 기반 복합 치료법으로 처방되고 있다. 그러나, 최근 아르테미시닌에 대한 내성 열대열 말라리아의 보고가 이어지면서, 새로운 항말라리아 약물의 개발이 필요하다. 본 연구에서는 약물효과를 보이는 식물유래 추출물들을 선별하여 열대열말라리아 배양과 쥐말라리아 동물실험모델을 이용한 실험을 통해 항말라리아 효과를 평가하고자 하였다.

### Material and Method :

클로로퀸 감수성 열대열 말라리아 원충주 (Pf3D7 strain) 에서 식물유래 추출물 5종의 항말라리아 효과를 분석하고, 효과가 좋은 2종 (*Phellinus baumii*와 *Petasites japonicus*)을 골라 Pf3D7 strain 과 클로로퀸 내성 원충주 (PfDd2) 에서 항말라리아 효과를 평가하였다. 또한, 현미경 분석과 유세포 분석, ELISA 법을 이용하여, 쥐말라리아에서 *P. japonicus* 추출액의 항말라리아 효과 및 면역반응 유도능을 평가하였다.

### Results :

Pf3D7 strain 실험에서 대조군의 원충율이 1.33%인데 비해, *P. baumii*, *P. japonicus* 추출물 (100 µg/ml), 클로로퀸 처리군 (10 µg/ml)은 각각 0.29%, 0.12%, 0.06%의 원충율을 보였다. PfDd2 strain 에서는, 대조군이 2.87%인 것과 비교하여 *P. baumii*, *P. japonicus* 추출물, 클로로퀸, 아르테미시닌 (10 µg/ml) 은 각각 0.91%, 0.19%, 0.60%, 0.11%의 원충율을 나타냈다. 위 추출물 중 *P. japonicus*는 *P. berghei*를 가진 마우스에서도 대조군의 원충율이 30.76%인 것과 비교하여 200, 400, 600(mg/kg) 농도의 *P. japonicus* 추출물이 각각 21.57%, 21.21%, 19.25%의 원충율로 다소 말라리아 성장 억제 효과를 보였으며, ELISA 실험에서 증가된 TNF-α와 IFN-γ 수치를 보였다.

### Conclusions :

시중의 항말라리아 약물과 비교하여, *P. japonicus* 추출물이 클로로퀸 감수성(Pf3D7) 및 클로로퀸 내성 (PfDd2) 원충주, 쥐말라리아에서 유효한 말라리아 성장 억제 효과를 보였다. *P. japonicus*를 차세대 항말라리아 약물 후보군으로 개발하기 위해 *P. japonicus* 추출물에서 약물 활성 물질을 분리하여 항말라리아 효과를 평가할 예정이다.

## **P14** Establishment of functional interaction assay between *Plasmodium*-infected RBC surface protein and endothelial cell receptor by chip-based protein microarray

Ji-Hoon Park, Nam-Hyeok Kim, Jin-Hee Han, Fauzi Muh, Mohammad Rafiul Hoque, Eun-Taek Han

*Department of Medical Environmental Biology and Tropical Medicine, School of Medicine, Kangwon National University, Chuncheon, Korea*

### **Introduction :**

Cytoadherence of malaria parasitized-RBC (pRBC) to vascular endothelial cell in the blood vessel is highly associated with rosetting and cerebral malaria. This prevents the parasite from being removed into the spleen, resulting in blocking the blood vessels, which develop complications in malaria patients. Thus, it is considered important to investigate whether pRBC surface protein is responsible for cytoadherence on endothelial cells (ECs) by chip-based protein microarray.

### **Material and Method :**

pRBC surface proteins and EC receptors were selected using bio-informatics tools and their recombinant proteins were expressed in NS0 cell, Sf 21 cell and WGCF system. Then we normalized binding of pRBC surface-EC receptors on the amine-coated slide and performed interaction screening of these proteins and detected activity via fluorescence-conjugated antibodies by chip-based protein microarray.

### **Results :**

Binding activity of pRBC surface and EC recombinant proteins were followed by dose-dependent manner. Using the optimal concentration of recombinant proteins (200 ng/ul of PfEMP1 and 100 ng/ul of CD36), specific binding of the CIDR $\alpha$  domain of PfEMP1 was found in CD36 significantly but not in ICAM-1 and VCAM-1.

### **Conclusions :**

We can readily explore a high-throughput screening of interactions between pRBC proteins and human EC receptors for discovery of novel pRBCs-EC cell binding molecules and/or inhibitors by using chip-based protein microarray as a proof of concept.

## P15 우리나라 4개 하천에 서식하는 어류의 흡충류 피낭유충 감염상

조재은<sup>1</sup>, 송혜미<sup>1</sup>, 정봉광<sup>1</sup>, 홍수지<sup>1</sup>, 이건훈<sup>1</sup>, 손운목<sup>2</sup>, 노경우<sup>3</sup>, 서상욱<sup>4</sup>, 주정원<sup>5</sup>, 조신행<sup>5</sup>, 채종일<sup>1</sup>

한국건강관리협회 기생충병연구소<sup>1</sup>, 경상대학교 의학전문대학원 기생충학교실<sup>2</sup>, 전북보건환경연구원<sup>3</sup>, 경북보건환경연구원<sup>4</sup>, 질병관리본부 매개체분석과<sup>5</sup>

### Introduction :

경제성장과 함께 대대적인 기생충 관리사업의 시행에 따라 국내 토양매개성 연충류의 인체 감염률은 현저히 낮아졌으나, 식품매개성 흡충류인 간흡충 및 이형흡충류 등의 감염률은 현재까지도 일정한 수준을 유지하고 있다. 이에 따라, 흡충류의 주요 인체 감염원인 담수어의 피낭유충 감염 실태를 파악하기 위해 이 연구를 수행하였다.

### Material and Method :

경상북도 군위군 위천 (낙동강 수계), 영덕군 오십천 (낙동강 수계), 전라북도 완주군 봉동천 (만경강 수계) 및 전라북도 순창군 오수천 (섬진강 수계) 에서 2017년 7월 담수어를 채집하여 조사하였다. 각 조사 지역에서 채집한 담수어를 실험실로 냉장 운반하고 어종을 동정한 후 각 개체별로 길이와 무게를 재고 인공소화법으로 검사하였다.

### Results :

간흡충 피낭유충은 4개 조사지역 모두에서 검출되었고, 검출 어종은 칼납자루, 돌고기, 피라미, 가시납지리, 황어, 은어, 동자개였다. 특히, 경북 위천은 중등도 유행지역으로 이 지역 돌고기는 100% (11/11) 의 높은 감염률과 마리당 평균 171.3개의 높은 감염강도를 나타내었다. 후고이형흡충속 (*Metagonimus* sp.) 의 피낭유충은 영덕군 오십천 및 완주군 봉동천에서 검출되었고, 검출 어종은 황어, 은어, 피라미, 돌고기였다. 가장 감염률이 높은 어종은 오십천의 은어로 64.3% (9/17) 의 감염률을 나타내었으나 개체 당 평균 5.7개의 피낭유충이 감염되어 감염강도는 그다지 높지 않았다. 가시입이형흡충속 (*Centrocestus* sp.) 의 피낭유충은 4개 조사지역 모두에서 검출되었고 피라미와 갈겨니에서 높은 감염률 및 감염강도를 나타내었다. 특히 위천은 중등도 유행지역이며 참갈겨니 100% (11/11), 피라미 93.8% (15/16)의 높은 감염률과 평균 337.2개의 높은 감염강도를 나타내었다. 위의 3종류 외에도 동양담낭흡충 (*Metorchis orientalis*), *Metacercaria hasegawai* 등 다양한 종류의 피낭유충이 검출되었다.

### Conclusions :

우리나라 4개 하천에 서식하는 담수어의 피낭유충 감염상을 확인하였다. 특히 간흡충과 가시입이형흡충속은 여전히 낙동강 수계에서 높은 감염률 및 감염강도를 나타내고 있었다. 국민들의 식품매개성 질환에 대한 관심이 증가함에 따라 어류매개성 흡충류에 대한 지속적인 조사와 감시가 필요하다고 판단된다.

## P16 세종·대전시 일부 지역의 담수패류 분포와 유미유충 감염실태 조사

나영언<sup>1</sup>, 이재형<sup>2</sup>, 최인욱<sup>2</sup>, 이용석<sup>3</sup>, 김현주<sup>4</sup>, 이영하<sup>2</sup>

충남대학교 환경생물시스템연구소<sup>1</sup>, 충남의대 감염생물학교실<sup>2</sup>, 순천향대학교 생명시스템학과<sup>3</sup>,  
농촌진흥청 국립농업과학원 유해생물팀<sup>4</sup>

### Introduction :

세종시 및 대전시 유성구 지역 내 하천 및 논·밭의 패류 분포 및 이들 패류의 유미유충 감염 여부를 조사하여, 대도시 근교 담수 패류의 역학적 특성에 관한 기초 정보를 얻고자 연구를 수행하였다.

### Material and Method :

2016년에는 6월부터 10월까지 그리고 2017년 6월부터 7월까지 세종시 및 대전시 유성구 내 논, 수로 및 하천 7개 지점에서 925개의 담수패류를 채집한 후 종 분포와 채취한 담수패류의 유미유충 감염 실태를 조사하였다.

### Results :

채집된 총 925개의 담수패류는 분류학적으로 6과 9속 9종이었으며, 이들은 각각 *Lymnaea peruvia* (애기물달팽이), *Radix auricularia* (큰입물달팽이), *Physa acuta* (원돌이물달팽이), *Cipangopaludina chinensis* (논우렁이), *Gyraulus convexiusculus* (또아리물달팽이), *Hippeutis cantori* (수정또아리물달팽이), *Segmentina hemisphaerula* (배꼽또아리물달팽이), *Semisulcospira libertina* (다슬기), 및 *Parafoussarulus manchouricus* (쇠우렁이) 이었다. 종별로 분류시 애기물달팽이는 7개 모든 지점에서 발견되었으며, 다음으로 원돌이물달팽이, 또아리물달팽이, 수정또아리물달팽이, 배꼽또아리물달팽이가 5개 지점에서 채취되었다. 채집된 패류에서 *Metagonimus*, *Paragonimus* 및 *Echinostoma* 종의 유미유충이 검출되었으며, 이들은 3개 지점에서 채취한 *Semisulcospira*, *Gyraulus*, *Hippeutis*, *Parafoussarulus*, *Segmentina*, *Austropeplea*, *Radix* 패류에서 분리되었다.

### Conclusions :

지역별, 개체별 담수패류의 분포는 차이가 있지만은, 세종시와 대전시 유성구 지역 일부 하천 및 논에서 다양한 민물 패류가 존재하고 채취한 흡충류에서 유미유충이 발견되었으며, 이러한 조사 결과는 대도시 근교 담수패류의 역학적 특성을 이해하는데 기초자료로 사용될 수 있겠다.



# **P17** 톡소포자충에 의한 C57BL/6과 BALB/c 마우스 수지상세포의 세포 특이 마커 및 사이토카인 발현 비교

이재형, 최인욱, 차광호, 육재민, 이영하

충남대학교 대학원 의과학과 및 의과대학 감염생물학교실

## **Introduction :**

톡소포자충 (*Toxoplasma gondii*) 은 세포내 기생 원충의 일종으로 사람을 포함한 대부분의 온혈동물에 감염을 일으킬 수 있다. C57BL/6 와 BALB/c 는 실험실에서 많이 사용되는 마우스 종으로 톡소포자충에 대한 감수성이 많은 차이를 보이는 것으로 알려져 있으나, 골수유래 수지상세포 (Bone Marrow derived Dendritic Cells: BMDC) 를 이용한 면역학적 연구는 많이 이루어지지 않았다.

## **Material and Method :**

DC 는 정상 C57BL/6 과 BALB/c 마우스에서 골수 세포를 분리한 후 여기에 GM-CSF 를 넣고 6 일 동안 분화 시켜 사용하였다. 마우스별 DC 에 톡소포자충 RH 주를 감염시킨 후 시간대별로 DC 의 대표적인 마커인 CD40, CD86, MHC II, CD80 의 발현량을 유동세포분석법으로 측정하였다. 또한 마우스별 DC 내 톡소포자충 감염률과 생성되는 사이토카인의 생산량을 PCR 로 비교하였고 웨스턴 블로팅으로 신호전달체계의 차이를 분석하였다.

## **Results :**

DC 의 대표적인 마커인 CD40, CD86, MHC II, CD80 은 DC 의 성숙정도를 나타내는 것으로, 6 일 동안 DC 를 분화시킨 결과 BALB/c 마우스 DCs 에서 더 많이 발현되었다. 톡소포자충 감염 DC 의 세포 특이 마커를 비교한 결과 BALB/c 마우스에서 더 많이 발현되었다. 또한 톡소포자충의 SAG-1 발현량을 측정한 결과 BALB/c 마우스 보다 C57BL/6 마우스 DC 가 더 많이 감염되어 있었으며 IFN- $\gamma$ , IL-12p40, IL-1 $\beta$ , TGF- $\beta$  발현량을 측정한 결과 BALB/c 마우스에서 더 높게 발현되었다. 웨스턴 블로팅 결과, C57BL/6 와 BALB/c 마우스 Dc 의 MAPK subtype 의 인산화 정도는 유의한 차이를 보이지는 않았다.

## **Conclusions :**

톡소포자충에 감염 DC 의 세포 특이 마커 및 사이토카인 발현량을 비교한 결과, C57BL/6 마우스보다 BALB/c 마우스 DC 가 더 많은 발현량을 보였으며, 이러한 선천면역반응의 차이가 두 마우스 간 서로 다른 감수성을 보이는 것으로 판단된다.

## **P18** Evaluation of immunogenicity in mice vaccinated with *Toxoplasma gondii* infected dendritic cells derived exosomes via ocular administrations

Hyemi Song<sup>1</sup>, Bong-Kwang Jung<sup>1</sup>, Eun-Do Kim<sup>2</sup>, Kyoung Yul Seo<sup>2</sup> and Jong-Yil Chai<sup>1</sup>  
*Institute of Parasitic Diseases, Korea Association of Health Promotion, Seoul, Korea<sup>1</sup>,  
Department of Ophthalmology, Eye and Ear Hospital, Severance Hospital, Institute of  
Vision Research, Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea<sup>2</sup>*

### **Introduction :**

The exosomes derived from dendritic cells can induce protective immune responses as alternative cell free vaccines. Exosomes can display functional MHC class I and class II with peptides from stimulated pathogens and T-cell costimulatory molecules on their surface. In this study, we investigated the immunogenicity of exosomes derived from *Toxoplasma* infected dendritic cells (Toxo DC exo) with cholera toxin (CT) as cell free vaccine against *T. gondii* via ocular route.

### **Material and Method :**

BALB/c mice were immunized via mucosal routes including ocular route with TLA or Toxo DC exo mixed with CT. Mice were immunized three times at 2-week intervals and we quantified serum (IgG) and mucosal (IgA) immunoglobulin from tear, saliva, fecal, vaginal wash. After vaccination, mice were challenged i.p. with 10 tissue cysts of *T. gondii* and survival rates were monitored daily and the brain tissue cysts load was evaluated using qRT-PCR.

### **Results :**

Mice vaccinated with TLA + CT or Toxo DC exo + CT elicited significant higher humoral and mucosal immune responses in comparison with mice treated PBS or con DC exo, whereas the group immunized via ocular route with Toxo DC exo + CT induced significant *T. gondii*-specific Abs in only serum and tear and vaginal wash sample. And the density of *T. gondii* tissue cysts and survival rate in infected mice brain was significantly reduced those that of control group.

### **Conclusions :**

We demonstrated that ocular immunization with Toxo DC exo stimulate systemic and local antibody responses and help reduce the worm burden of *T. gondii* infection. And exosomes cell-free vaccine can induce the protective immune response and is an attractive potential tool for a human vaccination strategy against intracellular protozoan parasite such as *T. gondii*.

## P19 청줄돔에서 발견한 흡충 3종의 국내 첫 보고

강예슬<sup>1</sup>, Bia Mohammed Mebarek<sup>1</sup>, 최성준<sup>1</sup>, 이동민<sup>1</sup>, 박한솔<sup>1</sup>, 전형규<sup>1</sup>, 고준철<sup>2</sup>, 엄기선<sup>1</sup>  
충북대학교 의과대학 기생충학교실<sup>1</sup>, 국립수산물과학원 제주수산연구소<sup>2</sup>

### Introduction :

현재까지 청줄돔 (*Chaetodontoplus septentrionalis*) 에서는 *Paragyliuchen chaetodontis* (Yamaguti, 1934), *Hurleytrematoides japonicus* (Kamegai 1970), *Antorchis chaetodontis* (Yamaguti, 1934, Machida, 1975), *Antorchis tsushimaensis* (Machida, 1971, Machida, 1975) 등 총 4 종의 장흡충이 보고되었다. 일본에서 보고된 이들 흡충의 숙주 정보와 동종 (synonym) 여부에 관한 논쟁 또한 있어왔다. 이 연구에서는 제주에서 채집된 청줄돔을 대상으로 연충류 기생충 조사를 하여 보고하고자 한다.

### Material and Method :

2016 년 3 월 4 일부터 2017 년 5 월 24 일까지 해양환경 및 어획시험조사를 통해 제주연안에서 해역별 (신창, 신흥, 사계, 가파도) 로 채집된 청줄돔을 대상으로 기생충 조사를 실시하였고, 장에서 3 종의 흡충류 기생충을 발견하였다. 충체의 일부를 10% 포르말린에 고정한 후 아세트카민 염색하여 광학현미경으로 내부형태를 관찰하였다.

### Results :

4 개 해역에서 잡힌 총 11 마리의 청줄돔에서 *P. chaetodontis*와 *A. chaetodontis*를 각각 239 마리, 1300 마리 발견하였고, 신창과 사계 지역에서 잡힌 총 8 마리의 청줄돔에서 *H. japonicus* 115 마리를 발견하였다. *H. japonicus*의 경우 신흥과 가파도에서는 발견되지 않았다. 발견된 3 종의 흡충은 형태학적 특징을 기반으로 각각 *Paragyliuchen chaetodontis*, *Hurleytrematoides japonicus*, *Antorchis chaetodontis*로 동정하였다.

### Conclusions :

이상 3 종의 흡충은 모두 일본에서만 발견되었으며 국내에서는 보고되지 않았다. 1934 년 Yamaguti 가 *P. chaetodontis*와 *A. chaetodontis*의 숙주로 기록한 *Chaetodon* sp. (Chaetodontidae) 는 관련 연구자들에 의해서 잘못된 숙주 정보라고 판단되고 있다. 이번 연구를 통해서, 채집 일시와 채집 장소 그리고 감염된 기생충 종을 고려하였을 때, Yamaguti 의 기록은 청줄돔 (*Chaetodontoplus septentrionalis*) 이 옳았던 것으로 판단된다. 또한 우리 연구는 *A. chaetodontis*로 동정한 표본의 흡반 관찰을 통하여 *A. tsushimaensis*가 *A. chaetodontis*의 동종일 수 있다는 가능성을 확인하였다. 확증을 위해서는 추후 또 하나의 중요한 형태학적 분류키인 저정낭의 형태관찰이 필요할 것으로 판단된다.

## P20 해산어류 성대에서 발견한 국내 미기록 단생흡충 1종 보고

이동민, 강예슬, Bia Mohammed Mebarek, 최성준, 박한솔, 전형규, 엄기선  
충북대학교 의과대학 기생충학교실

### Introduction :

성대 (*Chelidonichthys kumu*) 는 선명한 주홍색의 몸과 큰 가슴지느러미가 특징적인 바다 물고기로 주로 서해안에서 잡히며 어량은 풍부하지 않지만 일본에서는 중요 행사 때 사용하는 고급 어종이다. 성대의 아가미에서 단생흡충 1 종을 발견하였으나 국내에서는 기록을 찾을 수 없어 이를 동정하였다.

### Material and Method :

2017 년 5 월 3 일 포항시 죽도시장에서 구입한 성대의 아가미에서 수집한 충체를 10% 포르말린에 고정한 후 Semichon's Acetocarmin 염색하여 형태적으로 관찰하였다.

### Results :

몸체는 길쭉한 타원형이며 앞뒤로 잘 발달된 흡착 기관이 있다. 구형인 고환 2 개는 몸통 중간에 대칭으로 위치한다. 고환 바로 앞쪽으로 구형의 난소가 자리 잡고 있다. 후방 헵터는 원반모양으로 10 개의 근육성 썩터로 나뉘어 있다. 후방 헵터 중앙에 3 쌍의 갈고리 (hook) 를 가지고 있으며 갈고리 사이에 썩터가 없는 것을 특징으로 관찰하여 *Trochopus hobo* 로 동정하였다.

### Conclusions :

*Trochopus hobo* 는 일본에서 1942 년 Yamaguti 에 의해 처음 발표되었다. 지금까지 *T. hobo* 는 일본에서만 보고되었지만 한국에서도 보고가 됨으로써 분포지역이 더 넓을 것으로 파악된다. 단생흡충목에 대한 국내 연구가 미흡한 상황에서 추가적인 조사가 이루어져야할 대상으로 판단한다.

## **P21 *Plasmodium vivax* merozoite surface protein 1 paralog (PvMSP1P) B-cell epitope mapping and parasite invasion inhibitory monoclonal antibodies identification**

Jin Hee Han<sup>1</sup>, Cheng Yang<sup>2</sup>, Fauzi Muh<sup>1</sup>, Md Atique Ahmed<sup>1</sup> (India), Rafiul Hoque<sup>1</sup>, Jee-Sun Cho<sup>3</sup>, Myat Htut Nyunt<sup>4</sup>, Seong-Kyun Lee<sup>1</sup>, Ji-Hoon Park<sup>1</sup>, Nam-Hyeok Kim<sup>1</sup>, Hye-Yoon Jeon<sup>5</sup>, Kwon-Soo Ha<sup>5</sup>, Myat Phone Kyaw<sup>4</sup>, Bruce M. Russell<sup>3</sup>, Laurent Renia<sup>3</sup>, Ho-Joon Shin<sup>6</sup>, Sung Hun Na<sup>7</sup>, Eun-Taek Han<sup>1</sup>

*Department of Medical Environmental Biology and Tropical Medicine, School of Medicine, Kangwon National University<sup>1</sup>, Department of Parasitology, Wuxi Medical School, Jiangnan University, Wuxi, Jiangsu, China<sup>2</sup>, Department of Microbiology, Yong Loo Lin School of Medicine, National University of Singapore<sup>3</sup>, Department of Medical Research, Yangon, Myanmar<sup>4</sup>, Department of Molecular and Cellular Biochemistry, Kangwon National University School of Medicine, Kangwon National University<sup>5</sup>, Department of Microbiology, and Molecular Science and Technology, Ajou University<sup>6</sup>, Department of Obstetrics and Gynecology, Kangwon National University Hospital, Kangwon National University<sup>7</sup>*

### **Introduction :**

*Plasmodium vivax* invades reticulocytes in the human blood stream using complex mechanisms which involves diverse parasite protein and host red blood cell receptors interactions. *P. vivax* merozoite surface protein 1 paralog (PvMSP1P) which are newly discovered for erythrocyte adhesive antigen and widely spread on the merozoite surface at schizont stage. The approximately 19 kDa of two epidermal growth factor-like domains at the C-terminus of PvMSP1P (PvMSP1P-19) was strongly induce acquired-immune response in *P. vivax* patients.

### **Material and Method :**

PvMSP1P-19 specific peptides were produced to determine acquired-immune response on vivax patient using peptide array method with each different country field isolate. The monoclonal antibodies were used for functional epitope mapping on PvMSP1P-19 by COS-7 cell based binding inhibition assay and peptide array. To determine mAbs functional activity, invasion inhibition assay were performed with *P. knowlesi*.

### **Results :**

1BH9-A10 as IgG1 isotype showed direct erythrocyte binding inhibitory effect. The 1BH9-A10 was recognized peptide C1755 position (1,755-1,772 amino acid [aa.] position). However, the human adapted *P. knowlesi* inhibits invasion significantly by 2AF4-A2 and 2AF4-A6. The 2AF4-A2 and 2AF4-A6 was recognized peptide C1818 position (1,818-1,835 amino acid [aa.] position). In natural exposure of *P. vivax* patient, the S1764 (1,764-1,781 aa.), E1773 (1,773-1,790 aa.) and N1791 (1,791-1,808 aa.) were significantly induce humoral immune response.

### **Conclusions :**

This work provides B-cell epitope and inhibitory monoclonal antibodies identification of PvMSP1P-19 for protection of *P. vivax* invasion. In this study, findings can be helpful in future for the development of PvMSP1P-19 based specific single epitope antibodies for prevent *P. vivax* invasion.

## P22 국내산 다슬기에서 발견된 pleurolophocercous cercariae의 분자생물학적 구분

이선경<sup>1</sup>, 최성준<sup>2</sup>, 강예슬<sup>2</sup>, Bia Mohammed Mebarek<sup>2</sup>, 이동민<sup>2</sup>, 박한솔<sup>2</sup>, 강석하<sup>2</sup>, 전형규<sup>2</sup>, 엄기선<sup>2</sup>

충북대학교 의과대학<sup>1</sup>, 기생충학교실<sup>2</sup>

### Introduction :

다슬기(*Semisulcospira libertina*)는 다양한 *Metagonimus* 종의 제 1 중간숙주로 알려져 있다. 다슬기에서 검출되는 *Metagonimus*의 꼬리유충 동정은 흡반 주변 소극의 배열, 화염세포식과 같은 형태학적 특징을 기반으로 이루어지지만, 이 방법에는 훈련된 전문가가 필요하고, 형태적으로 유사한 종의 경우 오동정 될 수 있는 단점이 있다. 이 연구에서는 다슬기에서 검출한 pleurolophocercous cercariae 를 분자생물학적인 방법으로 구분해 보고자 하였다.

### Material and Method :

2017년 4월에서 7월까지, 충북 영동군 황간면 금강 상류, 경남 밀양시 동천천, 전남 구례군 간문천에서 다슬기 (n=1243, 474 및 242) 를 확보하였다. 각 다슬기는 페트리접시에 0.5% saline 과 함께 담아 파쇄한 후 실체 현미경으로 관찰하여 pleurolophocercous cercariae 를 검출하였다. 지역별 5~7 시료에서 DNA 를 추출하였고, 28S rRNA 및 Mitochondria 의 COI partial gene 염기서열을 확보, GenBank 상에 제공된 염기서열을 이용하여 계통수를 분석하였다.

### Results :

각 지역의 다슬기에서 pleurolophocercous cercariae 는 각각 7/1243, 6/474, 112/242 마리에서 양성이었다. 계통수 분석결과는 DNA 의 분석 위치에 상관없이 비슷한 양상을 나타냈다. 금강에서 검출된 꼬리유충은 모두 *Metagonimus*에 속하지 않았으며, GenBank 상에 부합되는 염기서열이 없이 2개의 독립적인 그룹을 이루었다. 간문천의 경우 모두 *M. yokogawai*와 일치하였다. 동천천에서 확보한 염기서열의 대부분은 금강에서 확인된 그룹 중 하나와 함께 clade 를 이루었으나, 한 시료에서 기존의 *Metagonimus* 종들의 염기서열과 명백히 구분되는 새로운 염기서열을 얻을 수 있었다.

### Conclusions :

Pleurolophocercous cercariae 의 경우 전문가의 형태학적 동정 없이도 염기서열 분석을 통한 종 구분이 가능함을 밝혀내었으며, 기존에 알려지지 않았던 새로운 장흡충 종이 국내 생태계에 존재하고 있음을 확인하였다.

## **P23** First detection of *Ehrlichia chaffeensis* in Korean native goats in Ulsan Province, Republic of Korea

Keun-Ho Kim<sup>1</sup>, Hyun-Ji Seo<sup>1</sup>, Byung-Chan Jin<sup>2</sup>, Mi-Sun Yoo<sup>1</sup>, Kwang-Won Sun<sup>2</sup>, Seong-Jin Jeong<sup>2</sup>, Bang Hun Hyun<sup>1</sup>, Yun Sang Cho<sup>1\*</sup>

*Parasitic and Insect Disease Laboratory, Bacterial Disease Division, Animal and Plant Quarantine Agency, Gimcheon, Gyeongsangbuk-do, Republic of Korea*<sup>1</sup>, *Livestock Hygiene Division, Ulsan Metropolitan Health and Environment Research Institute, Nahm-gu, Ulsan, Republic of Korea*<sup>2</sup>

### **Introduction :**

Ehrlichiae is gram-negative, obligatory intracellular bacteria, and one of zoonotic pathogens. In this study, we examined the antigenic prevalence of *Ehrlichia chaffeensis* in goats for the first time in the Republic of Korea using PCR.

### **Material and Method :**

To examine antigenic prevalence of *Ehrlichia* spp, 20 goat farms from Ulsan were selected from March to November, 2016. GEPs and GEPas primer which can detect 16S rRNA gene of *Ehrlichia* spp were used for PCR.

### **Results :**

Specific amplification products were detected in *E. chaffeensis* in 1 of 452 (0.22%) samples collected in this study. One positive goat was from a grazing and confined farm as breeding type. The positive PCR product was showed above 99.9% sequence similarity of *E. chaffeensis* 16S rRNA.

### **Conclusions :**

This is the first study on the prevalence of *E. chaffeensis* in goats in the Republic of Korea. Our findings provide an update on the status of *E. chaffeensis* infection in Korean native goats in Korea, and may serve as the basis of future investigations on the significance of this zoonosis in Korea.

## **P24** Molecular detection and epidemiology of *Anaplasma* species in Korean native goats in Ulsan Province

Hyun-Ji Seo<sup>1</sup>, Byung-Chan Jin<sup>2</sup>, Keun-Ho Kim<sup>1</sup>, Mi-Sun Yoo<sup>1</sup>, Kwang-Won Sun<sup>2</sup>, Seong-Jin Jeong<sup>2</sup>, Bang Hun Hyun<sup>1</sup>, Yun Sang Cho<sup>1\*</sup>

*Parasitic and Insect Disease Laboratory, Bacterial Disease Division, Animal and Plant Quarantine Agency, Gimcheon, Gyeongsangbuk-do, Republic of Korea*<sup>1</sup>, *Livestock Hygiene Division, Ulsan Metropolitan Health and Environment Research Institute, Nahm-gu, Ulsan, Republic of Korea*<sup>2</sup>

### **Introduction :**

In this study, molecular surveillance of *Anaplasma* spp. in Korean native goats, which were highly susceptible to tick-borne anaplasmosis, was examined for the first time in the Republic of Korea.

### **Material and Method :**

To investigate the molecular surveillance of anaplasmosis in Korean native goats, 20 goat farms in Ulsan were selected from March to November, 2016. A total of 452 goat blood samples were collected.

### **Results :**

A total of 49/452 (10.84%) were positive by PCR for *Anaplasma* spp. Positive samples carried out sequence analysis for the 16S rRNA gene of *Anaplasma* spp. Ten of 452 (2.21%) were showed 100% degrees of similarity to *Anaplasma* spp. In addition, 39 of 452 (8.62%) were showed 99.0~100% degrees of similarity to *Anaplasma bovis*.

### **Conclusions :**

In this study, a molecular surveillance was conducted to detect *Anaplasma* spp. and *A. bovis*. These findings suggest that the infection rate of Korean native goats may be very high and further investigation of anaplasmosis of Korean native goats will be needed to prevent this neglected tick-borne zoonosis.



## **P25** Serological surveillance of *Toxoplasma gondii* of dog and cat sera in 2017

Keun-Ho Kim<sup>1</sup>, Hyun-Ji Seo<sup>1</sup>, Mi-Sun Yoo<sup>1</sup>, Kyu-Won Kwak<sup>1</sup>, Bang Hun Hyun<sup>1</sup>, and Yun Sang Cho<sup>1\*</sup>

*Parasitic and Insect Disease Laboratory, Bacterial Disease Division, Animal and Plant Quarantine Agency, Gimcheon, Gyeongsangbuk-do, Republic of Korea<sup>1</sup>*

### **Introduction :**

*Toxoplasma gondii* is an obligate intracellular parasite involved in the pathogenesis of toxoplasmosis. Purpose of this study is to investigate the serological surveillance of *T. gondii* in dog and cat serum samples in the Republic of Korea.

### **Material and Method :**

A total of 516 serum samples from dogs and cats were randomly collected from nine areas in ROK from 2017. These samples were tested using commercial toxoplasmosis multi-species ELISA kit (IDvet, France).

### **Results :**

The serum samples collected from dogs and cats were tested for *T. gondii* antibody by IgM antibody capture ELISA for screening assay. Fourteen of 516 dog and cat serum samples were positive for *T. gondii* antibodies, of which positive sample of pet dog was 1/180 (0.6%), those of pet cat 4/88 (4.5%), and those of abandoned dog 9/248 (3.6%).

### **Conclusions :**

In this study, serological surveillance of pet cats and pet and abandoned dogs was conducted to detect the antibody of *T. gondii* and the serological positivity was confirmed. Therefore, further studies should be continuously performed for the prevention of human toxoplasmosis.

## **P26** Characterization of erythrocyte binding tropism of Duffy binding protein region II in *Plasmodium vivax* and *P. knowlesi*

Seong-Kyun Lee<sup>1</sup>, Da-Hye Park<sup>1</sup>, Jin-Hee Han<sup>1</sup>, Muh Fauzi<sup>1</sup>, Mohammad Rafiul Hoque<sup>1</sup>, Ji-Hoon Park<sup>1</sup>, Nam-Hyeok Kim<sup>1</sup>, Eun-Taek Han<sup>1</sup>, Osamu Kaneko<sup>2</sup> and Robert W. Moon<sup>3</sup>

*Department of Medical Environmental Biology and Tropical Medicine, School of Medicine, Kangwon National University, Chuncheon, Gangwon-do, Republic of Korea*<sup>1</sup>, *Department of Protozoology, Institute of Tropical Medicine (NEKKEN), Nagasaki University, Japan*<sup>2</sup>, *Department of Immunology and Infection, Faculty of Infectious and Tropical Diseases, London School of Hygiene and Tropical Medicine, London, United Kingdom*<sup>3</sup>

### **Introduction :**

Duffy binding protein (DBP) plays essential role during parasite invasion in *Plasmodium vivax* and *P. knowlesi*, and most primates have Duffy antigen receptor for chemokines (DARC) as a receptor of DBP. However, infection of *P. vivax* and *P. knowlesi* parasite was limited to specific host only in generally duffy dependent. In this study, the erythrocyte binding tropism of DBP was evaluated to identify the common feature of the protein in various hosts.

### **Material and Method :**

The genes encoding DBP ligand domain (DBP region II) of *P. vivax* and *P. knowlesi* were cloned and the recombinant proteins were expressed and purified with His-tag. Protein binding assay was carried out with RBC from Rhesus macaque, Cynomolgus macaque, Saimiri monkey as well as human erythrocyte. The DBP region II and DARC sequence information was retrieved and aligned for phylogenetic tree.

### **Results :**

Twelve-cysteine residues were completely conserved in DBL between *P. vivax* and *P. knowlesi*, indicating common structure of the proteins. The recombinant DBP region II proteins were successfully expressed and purified as soluble form from bacterial protein expression system. In erythrocyte binding assay, both proteins bound to Rhesus macaque and Cynomolgus macaque, natural and experimental host for *P. knowlesi*, respectively. *P. vivax* DBP bound to human erythrocyte, but not to Saimiri monkey erythrocyte. Interestingly, it was reported that *P. vivax* enable to infect Saimiri monkey, suggesting that *P. vivax* exploits duffy independent pathway for saimiri monkey infection. Even though a number of ape and new world monkey can be infected by *P. vivax* in previous reports, our erythrocyte binding tropism of *P. vivax* DBP was not responsible for such infection.

### **Conclusions :**

*P. vivax* DBP enable to bind to old world monkey erythrocyte, but not to *Saimiri* monkey. It is required that the erythrocyte binding tropism is whether different in other new world monkeys.

## **P27** Establishment of panning method to select cytoadherent *Plasmodium falciparum* infected-RBC to human endothelial cells

Nam-Hyeok Kim, Ji-Hoon Park, Jin-Hee Han, Fauzi Muh, Moh. Egy Rahman Firdaus, Seong-Kyun Lee, Eun-Taek Han

*Department of Medical Environmental Biology and Tropical Medicine, School of Medicine, Kangwon National University, Chuncheon, Korea*

### **Introduction :**

Malaria induced by *Plasmodium falciparum* can lead sequestration at human microvascular endothelial cells. Therefore the interaction between parasitized RBCs (pRBCs) and human microvascular endothelial cells is one of the important factors for severe malaria cases. Thus to investigate this interaction mechanism, we developed an *in vitro* panning assay to investigate the cytoadherence of parasitized RBC (pRBC) to human microvascular endothelial cell line.

### **Material and Method :**

Late trophozoite- and schizont-stages enriched *Plasmodium falciparum* 3D7 parasites were added to confluent monolayers of human brain endothelial cell line HBEC-5i plated in 60 mm petridishes. The infected erythrocyte suspension was resuspended every 30 mins by gently rocking in during 75 min incubation at 37°C. Unbound erythrocytes were removed and fresh RBCs (uninfected RBCs, uRBCs) were added to culture plate and then incubated overnight at 37°C. The next day, RBCs resuspended and transferred to a new flask. The level of binding was assessed by Giemsa stain. This step was repeated 4 times after allowing 3 to 4 cycles of parasite growth between panning. Then the number of bound pRBCs on HBEC-5i per 100 cells was counted in every panning.

### **Results :**

After the fourth panning on HBEC-5i cell line, the number of bound pRBCs on HBEC-5i per 100 cells increased 4 fold compared with the first trial of panning. But, in the forth panning, the number of bound pRBCs on HBEC-5i per 100 cells was not significant compared with the fourth panning. The infected erythrocytes exhibited a concentrate binding pattern to a subpopulation of HBEC-5i cells before selection and a more diffuse binding pattern of the entire population of cells during repeated panning up to 4 times.

### **Conclusions :**

In this study, we successfully established *P. falciparum*-endothelial cell panning and it is useful for understanding the binding interaction, parasite selectivity and endothelial binding phenotypes.

## **P28** *Isoparorchis hypselobagri* (Digenea: Isoparorchidae) in Korea: Infection status in fish host and morphological characteristics

Woon-Mok Sohn<sup>1</sup>, Byoung-Kuk Na<sup>1</sup>, Jung-A Kim<sup>1</sup>, Hee-Ju Kim<sup>1</sup>

*Department of Parasitology and Tropical Medicine, and Institute of Health Sciences, Gyeongsang National University College of Medicine<sup>1</sup>*

### **Introduction :**

We described here the infection status and morphological characteristics of *Isoparorchis hypselobagri* (Digenea: Isoparorchidae), which is associated with the ink spot disease in fish hosts.

### **Material and Method :**

Total 1,370 freshwater fishes collected in Yangcheon (Stream) in Sancheong-gun, Gyeongsangnam-do were examined by the artificial digestion methods to survey the infection status of zoonotic trematode metacercariae for 4 years (2013-2016). Collected larval and adult isoparorchid worms were observed with a light microscope with micrometer and SEM.

### **Results :**

Adult and larval worms of *I. hypselobagri* were detected in 38 (8.4%) out of 451 fish in 4 species, i.e., *Pungtungia herzi*, *Acheilognathus koreensis*, *Squalidus japonicus coreanus* and *Odontobutis platycephala*, examined. The infection density was 1.1 worm per fish infected. They were mainly found in the subcutaneous tissues and abdominal cavities. Nodules with worms in the subcutaneous tissues were revealed as the blue ink-colored. Adults leaf-like, 21.6 x 9.835 mm in average size. The ratio of body length to body width was 2.2:1. Oral sucker subterminal, 1.03 x 1.22 mm. Pharynx muscular, 0.55 x 0.54 mm. Esophagus very short. Ceca convoluted, terminated near the posterior end. Ventral sucker anterior 1/3.75, 1.985 x 2.098 mm. The ratio of ventral sucker to oral sucker was 1.81:1. Testes round to elliptical, both sides of ventral sucker, 1.43 x 1.33 mm. Vitellaria highly dendritic, posterior 1/3 level. Eggs operculated, embryonated, 52 x 32 µm in size.

### **Conclusions :**

By the present study, 4 species of fish, i.e., *P. herzi*, *A. koreensis*, *S. japonicus coreanus* and *O. platycephala*, are to be listed as the fish hosts of *I. hypselobagri*, and additionally, the morphological characteristics are to be redescribed.

## **P29** Infection status of zoonotic trematode metacercariae in fishes from two sites of Tamjingang (River) in Jeollanam-do, Korea

Ki-Bok Yoon<sup>1</sup>, Sook Park<sup>1</sup>, Hyun-Cheol Lim<sup>1</sup>, Doo-Young Jeon<sup>1</sup>, Woon-Mok Sohn<sup>2</sup>,  
Byoung-Kuk Na<sup>2</sup>, Jung-A Kim<sup>2</sup>, Hee-Ju Kim<sup>2</sup>, Shin-Hyeong Cho<sup>3</sup>

*Division of Microbiology, Jeollanam-do Institute of Health and Environment*<sup>1</sup>,  
*Department of Parasitology and Tropical Medicine, and Institute of Health Sciences,*  
*Gyeongsang National University College of Medicine*<sup>2</sup>, *Division of Vectors and Parasitic*  
*Diseases, Centers for Disease Control and Prevention*<sup>3</sup>

### **Introduction :**

Tamjin river basin has been known as an endemic area of zoonotic trematode infections. The present study was performed to reveal the recent infection status of zoonotic trematode metacercariae in fishes from 2 sites of Tamjingang (River) in Jeollanam-do, Korea.

### **Material and Method :**

We collected total 338 (in 15 spp.) and 322 (12 spp.) fishes from 2 sites (middle reaches in Jangheung-gun and lower reaches in Gangjin-gun) of Tamjingang in 2017. Collected fishes with ice were transferred to our laboratory and each of them were examined by artificial digestion method.

### **Results :**

The metacercariae of *Clonorchis sinensis* were detected in 82.0% (among 128 fish in 7 spp.) and 79.0% (133 fish in 6 spp.) fishes from Jangheung and Gangjin, and their densities were 31.7 and 61.0 per fish infected. Those of *Metagonimus* spp. were found in 53.2% (among 286 fish in 13 spp.) and 69.9% (289 fish in 11 spp.) fishes from 2 sites, and their densities were 157 and 187 per fish infected. *Centrocestus armatus* metacercariae were detected in 94.6% (among 111 fish in 3 spp.) and 88.2% (68 fish in 4 spp.) fishes, and their densities were 1,538 and 497 per fish infected. The other species of zoonotic trematode, i.e., *Echinostoma* sp., *Echinochasmus* sp., *Metorchis orientalis* and *Clinostomum complanatum*, metacercariae were also found in fishes from 2 sites of Tamjingang.

### **Conclusions :**

By the present study, it was confirmed that zoonotic trematode metacercariae are still prevalent in fishes from Tamjingang, although their endemicity are more or less different by the fish species and surveyed areas.

# **P30** Biological and morphological characteristics of *Echinostoma* sp. originated from the metacercariae detected in *Filopaludina* sp. snails from Pursat Province, Cambodia

Jong-Yil Chai<sup>1</sup>, Keon-Hoon Lee<sup>1</sup>, Bong Kwang Jeong<sup>1</sup>, Jaeun Cho<sup>1</sup>, Woon-Mok Sohn<sup>2</sup>, Byoung-Kuk Na<sup>2</sup>, Jung-A Kim<sup>2</sup>, Hee-Ju Kim<sup>2</sup>, Virak Khieu<sup>3</sup>

*Institute of Parasitic Diseases, Korea Association of Health Promotion*<sup>1</sup>, *Department of Parasitology and Tropical Medicine, and Institute of Health Sciences, Gyeongsang National University College of Medicine*<sup>2</sup>, *National Center for Parasitology, Entomology and Malaria Control, Ministry of Health, Cambodia*<sup>3</sup>

## **Introduction :**

It was reported that lots of school children are to be infected with *Echinostoma revolutum* in Pursat Province, Cambodia. However, the further studies on this echinostomiasis have not been performed yet. Therefore, our team surveyed the intermediate and definitive hosts of echinostomes in Pursat Province, Cambodia.

## **Material and Method :**

We collected lots of snails in small streams, irrigation ditches, ponds and paddies in the field, and purchased snails and fish in a local market of Pursat Province on May 2017. Collected snails and fishes with ice were transferred to our laboratory and each of them were examined by artificial digestion method.

## **Results :**

Total 23 (1-8) echinostome metacercariae were detected in 12 (60.0%) out of 20 *Filopaludina* sp. snails purchased in a local market of Pursat Province. The metacercariae were round, 163-190 (174) × 163-188 (173) μm, having a thin cyst wall, a head collar armed with collar spines, and excretory granules. The adult worms recovered from a hamster at day 20 post-infection, were elongated, ventrally curved, and 6.40-8.20 (7.27) × 1.08-1.65 (1.35) mm in size. The head collar was distinct, bearing 37 collar spines with 5 end-group ones on each side. Ovary transversely elliptical, 2 testes vertically elliptical and tandem. Eggs operculated, ovoid and 108-133 × 63-98 μm. In scanning electron microscopy, the head collar was prominent, with 37 collar spines. Scale-like tegumental spines were densely distributed on the whole body surface except for the posterior end. Sensory papillae were distributed mainly on the tegument around the 2 suckers.

## **Conclusions :**

By the present study, It was confirmed that *Filopaludina* sp. snails act as the second intermediate host and hamster is a suitable definitive host of this 37-collar-spined complicated species of *Echinostoma*. However, the species name of this fluke should be clarified in near future with further studies including the molecular genetic analysis.

### **P31** Larval *Gnathostoma spinigerum* detected in Asian swamp eels, *Monopterus albus*, purchased from a local market of Pursat Province, Cambodia

Jong-Yil Chai<sup>1</sup>, Keon-Hoon Lee<sup>1</sup>, Bong Kwang Jeong<sup>1</sup>, Jaeun Cho<sup>1</sup>, Woon-Mok Sohn<sup>2</sup>, Byoung-Kuk Na<sup>2</sup>, Jung-A Kim<sup>2</sup>, Hee-Ju Kim<sup>2</sup>, Virak Khieu<sup>3</sup>

*Institute of Parasitic Diseases, Korea Association of Health Promotion*<sup>1</sup>, *Department of Parasitology and Tropical Medicine, and Institute of Health Sciences, Gyeongsang National University College of Medicine*<sup>2</sup>, *National Center for Parasitology, Entomology and Malaria Control, Ministry of Health, Cambodia*<sup>3</sup>

#### **Introduction :**

It has been known that Asian swamp eel, *Monopterus albus*, is to be heavily infected with *Gnathostoma* sp. larvae in some Southeast Asian countries. However, this zoonotic nematode has not been reported in Cambodia yet. Therefore, we surveyed swamp eels purchased from Pursat Province in Cambodia.

#### **Material and Method :**

Total 9 Asian swamp eels, *Monopterus albus*, were collected from a local market in Pursat Province on May 2017. Collected eels with ice were transferred to our laboratory and each of them were examined by artificial digestion method.

#### **Results :**

Total 15 larval gnathostomes (1-5 larvae) were detected in 5 (55.6%) swamp eels. Collected larvae, advanced third-stage larvae (AdL3), were 2.58-3.83 (3.25 in average) mm in length and 0.375-0.425 (0.386) mm in width. The characteristic head bulb (0.104 x 0.218 mm in average size) with 4-5 rows of hooklets, muscular long esophagus (1.048 mm) and 2 pairs of cervical sac (0.615 mm) were observed in specimens for light microscopy. The number of hooklets in the 1st, 2nd, 3rd, and 4th row was 41, 44, 47, and 51 in average respectively. As the SEM findings, characteristic 4-5 rows of hooklets on the head bulb, acervical papilla, tegumental spines regularly arranged in the transverse striations and an anus were well observed. Based on these morphological characters, they were identified as the AdL3 of *Gnathostoma spinigerum*.

#### **Conclusions :**

By the present study, it was confirmed for the first time that Asian swamp eel, *Monopterus albus*, is to be the fish intermediate host of *G. spinigerum* in Pursat Province, Cambodia.

## **P32** Apical asparagine-rich protein of *Plasmodium vivax* (PvAARP) elicit cross-reactivity and invasion inhibitory of primate malaria parasite *P. knowlesi* into host erythrocytes

Fauzi Muh<sup>1</sup>, Myat Htut Nyunt<sup>1,2</sup>, Seong-Kyun Lee<sup>1</sup>, Jin-Hee Han<sup>1</sup>, Ji-Hoon Park<sup>1</sup>, Rafiul Hoque<sup>1</sup>, Takafumi Tsuboi<sup>3</sup>, Osamu Kaneko<sup>4</sup>, Eun-Taek Han<sup>1</sup>

*Department of Medical Environmental Biology and Tropical Medicine, School of Medicine, Kangwon National University, Chuncheon, Republic of Korea<sup>1</sup>, Department of Medical Research, Yangon, Myanmar<sup>2</sup>, Proteo-Science Center, Ehime University, Matsuyama, Ehime, Japan<sup>3</sup>, Department of Protozoology, Institute of Tropical Medicine, Nagasaki University, Japan<sup>4</sup>*

### **Introduction :**

The *Plasmodium falciparum* apical asparagine (Asn)-rich protein (AARP) is one of malarial proteins, and it has been studied as a candidate component of a malaria subunit vaccine. Basic characterization of PvAARP has been performed, with a focus on its immunogenicity and localization. In this study, we further analyzed the immunogenicity of PvAARP, focusing on the longevity of the antibody response, cross-species immunity and invasion inhibitory activity by using the primate malaria parasite *Plasmodium knowlesi*.

### **Material and Method :**

*P. knowlesi* YH1 was maintained in monkey erythrocytes. The *in silico* prediction of linear B-cell epitopes was conducted in the N-terminus of PvAARP. Anti-PvAARP-N antibody was raised and used for this study. Cross-reactivity was proved by immunofluorescence and western blot analysis using *P. knowlesi* parasites. Invasion inhibition activity was analyzed with gradient concentration of IgG purified from animal immune serum samples.

### **Results :**

We found that vivax malaria patient sera retained anti-PvAARP antibodies for at least one year without re-infection. Recombinant PvAARP protein was strongly recognized by *knowlesi* malaria patients. Antibody raised against the PvAARP N-terminus (PvAARP-N) reacted with the apical side of the *P. knowlesi* merozoites and inhibited erythrocyte invasion by *P. knowlesi* in a concentration-dependent manner, thereby suggesting a cross-species nature of anti-PvAARP antibody against PkAARP. These results can be explained by B-cell epitopes predicted in conserved surface-exposed regions of the AARP N-terminus in both species.

### **Conclusions :**

The long-lived anti-PvAARP antibody response, cross-reactivity, and invasion inhibitory activity of anti-PvAARP support a critical role of AARP during the erythrocyte invasion step by these parasites and suggest that PvAARP induces long-lived cross-species protective immunity against *P. vivax* and *P. knowlesi*.



## **P33** 질편모충으로 감염시킨 전립선기질세포의 증식에 비만세포 tryptase가 미치는 영향

정효영<sup>1</sup>, 김정현<sup>1</sup>, 한익환<sup>1</sup>, 노창석<sup>2</sup>, 류재숙<sup>1</sup>

한양대학교 의과대학 환경의생물학교실<sup>1</sup>, 서울서남병원 내과학교실<sup>2</sup>

### **Introduction :**

만성염증은 전립선비대증과 전립선암 발병에 중요한 역할을 한다. 전립선비대증은 전립선에 있는 기질세포와 상피세포의 증식에 의한 것으로 여겨진다. 우리 실험실의 이전 연구에서 질편모충에 감염된 전립선상피세포와 비만세포와의 crosstalk에 의해 전립선기질세포의 증식을 증명한 바 있다. 활성화된 비만세포에서 생산되는 tryptase는 PAR-2 (Protease activated receptor-2)의 작용에 의해 상피세포 및 섬유아세포의 증식과 혈관형성에 관여한다. 이번 연구에서는 질편모충으로 감염된 전립선기질세포 증식에 비만세포에서 생산된 tryptase가 영향을 주는지 알아보고자 하였다.

### **Material and Method :**

전립선기질세포는 WPMY-1 세포주를, 인체비만세포는 HMC-1 세포주를 사용하였다. 질편모충을 기질세포와 반응시킨 Trichomonads-conditioned medium (TCM)을 비만세포와 반응시켜, mast cell-TCM (M-TCM)을 만들었다. M-TCM에 포함된 tryptase가 기질세포의 증식을 일으키는지 측정하였다. cytokine과 tryptase는 ELISA로 측정하였다. 기질세포의 증식을 wound healing assay로 측정하였다.

### **Results :**

기질세포에 질편모충을 감염시켰을 때 cytokine (CCL2, CXCL8) 생산이 증가하였고, TCM은 비만세포의 이동을 증가시켰다. 비만세포를 TCM으로 자극하였을 때 CXCL8,  $\beta$ -hexosaminidase와 tryptase가 증가하였다. tryptase를 함유하고 있는 M-TCM을 기질세포에 넣었을 때, TCM에 비해서 기질세포의 증식을 일으켰다. 그러나 PAR-2 억제제의 처리는 증식을 감소시켰다.

### **Conclusions :**

질편모충에 감염된 전립선기질세포는 비만세포의 migration을 유도하였으며, 이동한 비만세포는 전립선기질세포와 상호작용을 통해서 tryptase의 생산을 증가시켜, 전립선기질세포의 증식을 일으켰다. 따라서 비만세포의 tryptase는 전립선기질세포 발달을 촉진시킨다고 생각한다.

## **P34** CREBH deficiency enhances resistance to *Toxoplasma gondii* Infection in macrophage through activation of AMPK signaling

Jina Lee<sup>1,2</sup>, Ji Hye Kim<sup>1,2</sup>, Su-Jin Bae<sup>1,2</sup>, Byung-Joon Park<sup>1,2</sup>, Jae-Won Choi<sup>1,2</sup>, Guang-Ho Cha<sup>1,2</sup>, Young-Ha Lee<sup>1,2</sup>, Jae-Min Yuk<sup>1,2</sup>

*Department of Medical Science, Chungnam National University Graduate School, Republic of Korea<sup>1</sup>, Department of Infection Biology, Chungnam National University School of Medicine, Republic of Korea<sup>2</sup>*

### **Introduction :**

*Toxoplasma gondii* is an obligate intracellular protozoan capable of manipulation at diverse cellular responses related to the activation of host defense system. Previous studies suggested that cAMP responsive element-binding protein H (CREBH), an essential endoplasmic reticulum (ER)-bound transcription factor, control the expression of various genes involved in metabolic pathways and acute inflammatory response. However, the roles of CREBH in the regulation of protective immune responses against *T. gondii* have been largely unknown.

### **Material and Method :**

Here we first examined whether CREBH deficiency affects the susceptibility to *T. gondii* infection. CREBH deficient mice showed significant decrease of cyst burden in brain tissues.

### **Results :**

Moreover, intracellular *T. gondii* proliferation was highly decreased in bone marrow-derived macrophages (BMDMs) isolated from CREBH deficient mice than wild type (WT). To identify acting mechanism of CREBH in the regulation of *T. gondii* infection, we compared the activation of autophagy and AMPK signaling in WT- or CREBH-deficient BMDMs, respectively. Our results showed that CREBH deficiency resulted in not only the enhanced formation of autophagosome, but also increased the phosphorylation of AMP-activated protein kinase via calcium/calmodulin-dependent protein kinase activity in BMDMs infected with *T. gondii*.

### **Conclusions :**

Taken together, these finding bring novel function of CREBH for the regulation of autophagy activation during *T. gondii* infection.

## **P35** 2016년 국내 급성 설사 질환자의 장관감염성 원충 실험실 감시 결과

마다원, 조신형, 이상은

질병관리본부 감염병분석센터 매개체분석과

### **Introduction :**

국내 「감염병의 예방 및 관리에 관한 법률」에 따라 감염병의 유행여부를 조사하기 위하여 전파 속도가 빠르고 위해정도가 큰 장관감염증을 지정감염병으로 분류하여 표본감시를 수행하고 있다. 장관감염증을 유발하는 수인성원충으로는 작은와포자충, 람블편모충, 이질아메바, 원포자충 등 4종이 있으며, 급성설사질환자 감시사업 (Enter-Net) 을 통하여 확보된 설사 검체를 대상으로 4종 원충에 대한 발생 현황과 각 원충별, 지역별, 월별 및 성별 현황을 간략하게 보고하고자 한다.

### **Material and Method :**

2016년 1월부터 12월까지 강원과 경기를 제외한 15개 시·도 보건환경연구원과 연계된 지역별 병·의원 70 곳에 설사질환으로 내원하는 환자들의 분변 1,710건을 수거하여 gDNA를 추출한 후 병원체별 특이 유전자 (이질아메바: SSU, 람블편모충:  $\beta$ -giardin, 작은와포자충: COWP, 원포자충: 18S rRNA)를 대상으로 각각 Nested-PCR법을 실시하여 원충별 양성률을 조사하였다.

### **Results :**

그 결과 총 0.88% (15건)의 양성률을 확인하였으며, 원충별 양성률은 람블편모충 0.58% (10건), 작은와포자충 0.29% (5건)를 보였으며, 이질아메바와 원포자충은 검출되지 않았다. 월별 양성률은 8월 (3.26%, 6건/184건)이 가장 높았으며, 다음이 6월 (1.88%, 3/160건)이었다. 지역별로는 제주, 서울, 대전 순으로 각각 5% (2/40건), 3.94% (5/124건), 3.08% (4/130건) 검출되었고, 연령별로는 1~10세가 5건 (434건)으로 양성 건수가 가장 높았으며, 다음으로 60세 이상이 3건 (489건)이었다. 성별로는 남성이 1.04% (8/768건), 여성이 0.92% (7/758건)으로 나타났다.

### **Conclusions :**

2016년도 검사결과를 미국, 일본 등의 양성률 (2% 이상)과 비교해 볼 때, 매우 낮았으며, 우리나라에서 집단적으로 발생할 가능성이 매우 낮음을 추정할 수 있다. 그러나 분석 방법을 간편화하고 환자발생 즉시 현장에서 진단할 수 있는 시스템이 구축된다면 원충의 특성상 보다 많은 환자를 찾을 수 있을 것으로 판단된다. 향후 매개체 분석과에서는 안정된 표본감시와 집단 환자 발생 시 신속한 진단과 감염경로 파악 및 오염원을 규명하기 위하여 진단법 개선 및 전국 시·도 보건환경연구원으로 진단법 이관 등의 지속적인 노력을 기울이고 있다.

## **P36** 톡소포자충 유래 단백질 GRA16의 암세포사멸 유도과 암세포 내 작용 기작

서승환<sup>1</sup>, 김상균<sup>1</sup>, 신은희<sup>1</sup>

서울대학교 의과대학 의학과 기생충학교실<sup>1</sup>

### **Introduction :**

암세포 내 HAUSP 억제는 소포체 (ER) stress 의 증가를 유발하여 세포사멸을 유도하는 것으로 알려져 있다. 최근에는 톡소포자충 (*Toxoplasma gondii*) 유래 단백질인 Granule protein 16 (GRA16) 도 세포 내 HAUSP 와 결합하여 세포주기를 억제하는 것으로 밝혀져 있으나, 그에 관한 자세한 기전은 아직 밝혀진 바 없다. 본 연구에서는 H1299 lung carcinoma cells 를 이용하여 GRA16 과 HAUSP 결합이 암세포 내 세포사멸을 유도하는 것을 확인한 후 그 기전으로써 활성산소종 (ROS) 과 소포체 (ER) 스트레스와의 관련성을 새롭게 제안하고자 한다.

### **Material and Method :**

*T. gondii* RH 주 tachyzoite 에서 GRA16 을 타깃으로 하여 레트로바이러스 플라스미드 (pBABE-HA II) 를 이용한 클로닝을 진행하였다. 제작한 플라스미드는 레트로바이러스 패키징 세포 (Platinum-A) 에 형질주입하고 이를 암세포에 처리함으로써 GRA16 을 지속적으로 발현하는 stable cell line 을 제작하였다. 이 세포 주에서 GRA16 의 지속적 발현에 의한 세포 생존 능, ROS 생성, ER 스트레스 관련 유전자 발현 및 암세포 사멸 유도를 분석하였다.

### **Results :**

본 연구 결과, GRA16 이 없는 암세포 (empty-cells) 대비, GRA16 stable cell line 에서는 세포 생존 능이 32-55%로 낮게 나타났으며, ROS 측정결과는 반대로 GRA16-stable cells 이 empty-cells 에서 보다 47-50% 더 많은 ROS 생산을 유도하였다. 실시간 정량 연쇄 증합 반응 (qPCR) 을 통한 ER stress 관련 유전자 발현을 조사한 결과, GRA16-stable cells 에서 보다 높은 발현을 나타냈다. 유세포 분석법을 통해 암세포사멸을 확인한 결과도 GRA16-stable cells 에서 더 많은 세포사가 확인되었다 (21%).

### **Conclusions :**

원충유래 단백질인 GRA16 이 암세포의 세포사멸을 유도하는 기전으로 암세포 내 HAUSP 와 결합하여 ROS 유도 및 ER stress 증가를 가져와 세포사멸을 유도하는 작용기작을 새롭게 제시하였다.

## **P37** 삼일열말라리아에 대한 재조합 아데노바이러스 및 백시니아바이러스 백신주 병용 요법의 구축

김태윤<sup>1</sup>, 홍성희<sup>1</sup>, 신현일<sup>1</sup>, Wanlapa Roobsoong<sup>2</sup>, 조신형<sup>1</sup>, 이상은<sup>1</sup>

질병관리본부 감염병분석센터 매개체분석과<sup>1</sup>, Mahidol Vivax Research Unit, Mahidol University Faculty of Tropical Medicine<sup>2</sup>

### **Introduction :**

우리나라의 삼일열말라리아는 환자수가 감소함에 따라 말라리아 퇴치 단계로 진입하게 되었지만 삼일열말라리아의 잠복특성에 따른 무증상 환자 및 재발/재감염이 빈번하여 효과적인 백신 개발이 시급하다. 본 연구는 삼일열말라리아에 대한 재조합 아데노바이러스 및 백시니아바이러스 백신주를 제작하고 이들 백신주의 병용 요법의 효능을 알아보기 위해 수행되었다.

### **Material and Method :**

사람 아데노바이러스 백신주 HuAd5 및 백시니아바이러스 백신주 KVAC C7L 에 삼일열원충 merozoite surface protein 1 의 33 kDa domain (PvMSP133) 을 클로닝한 재조합 바이러스 백신주 2 종 (HuAd5-PvMSP133, KVAC C7L-PvMSP133) 을 제작하였다. C57BL/6 및 BALB/c 마우스에 HuAd5-PvMSP133 을 접종하고 2 주 후 KVAC C7L-PvMSP133 을 접종하여 면역반응을 분석하였다. 백신주 접종 마우스에 쥐열원충을 감염시켜 말초혈액 내 원충률을 측정하였다. 백신주 접종 마우스의 혈청을 이용해 삼일열원충의 적혈구 침범에 대한 억제능을 조사하였다.

### **Results :**

C57BL/6 마우스에 두 백신주를 병용 접종한 결과 PvMSP133 에 대한 전체 IgG 가 증가하였다. Immunoglobulin subtype 별 분석 결과, IgG2a 보다 IgG1 의 증가가 두드러진 것으로 나타났다. 이들 마우스에서 분리한 splenocyte 를 CD8+ T 세포 특이적인 PvMSP133 펩타이드로 자극하면 IFN- $\alpha$  를 분비하는 것을 확인하였다. 그러나 BALB/c 마우스의 경우 백신주 접종에 따른 면역반응이 활발하게 나타나지 않았다. 두 백신주를 병용 접종한 C57BL/6 마우스에 쥐열원충을 감염시킨 결과, 말초혈액 내 원충률이 대조군에 비해 약 6% 감소하였으며, 마우스의 생존률도 증가하였다. 이들 마우스의 혈청은 태국 삼일열말라리아 환자에서 분리한 삼일열원충의 새로운 적혈구 침범을 약 50% 억제하였다.

### **Conclusions :**

이상의 결과는 삼일열말라리아에 대한 백신으로서 재조합 아데노바이러스 및 백시니아바이러스 백신주 병용 요법이 효과적임을 보여주고 있다. 향후 간세포기를 포함하여 보다 다양한 감염기의 삼일열원충 항원을 발현하는 HuAd5 및 KVAC C7L 백신주를 개발하여 잠복에 따른 삼일열말라리아의 재발을 막고 약제 내성 충주 발생에 대비하고자 한다.

## **P38** Omega-3 fatty acid-induced autophagy is essential for the inhibition of intracellular survival of *Toxoplasma gondii* in murine macrophages

Jae-Won Choi<sup>1,2</sup>, Jina Lee<sup>1,2</sup>, Su-Jin Bae<sup>1,2</sup>, Byung-Joon Park<sup>1,2</sup>, Young-Ha Lee<sup>1,2</sup>, Jae yul Kwon<sup>3</sup>, Guang-Ho Cha<sup>1,2</sup>, Jae-Min Yuk<sup>1,2</sup>

*Department of Medical Science<sup>1</sup>, Department of Infection Biology<sup>2</sup>, Department of Medical Education<sup>3</sup>, Chungnam National University School of Medicine, Daejeon 301-747, Republic of Korea.*

### **Introduction :**

Docosahexaenoic Acid (DHA), dietary omega-3 fatty acid, has been reported to play multifunctional roles in the growth and functional development of the brain in infants. Recent studies also demonstrated that DHA is an attractive agent to inhibit the survival of various cancer cells through the activation of autophagic cell death. Despite this, the roles of DHA during protozoa infection is largely unknown. Here, we demonstrated that DHA treatment attenuated intracellular survival of *Toxoplasma gondii* by promoting autophagy activation in bone marrow-derived macrophages (BMDMs).

### **Material and Method :**

BMDMs were pre-treated by DHA and infected with *T. gondii* GFP-RH strain (MOI1) for 24 hours. The proliferation of *T. gondii* was examined by fluorescence microscopy. BMDMs were treated with Wortmannin (100nM, 1 hour) and 3-MA (10 iM, 2hours), then DHA was added for 18 hours. The cells were fixed and stained with LC3 (green) for primary antibody, and for secondary antibody, we used 488 anti-rabbit LC3, then DAPI (blue) for nuclei. BMDMs were pre-treated by DHA and infected with *T. gondii* GFP-RH strain (MOI1) for 24 hours. The proliferation of *T. gondii* was examined by fluorescence microscopy. FAT-1 and WT mice were infected by 100 cysts got from infected mouse brain (both group n=5) for 3 weeks, then sacrificed for homogenizing brain in 1 ml of PBS.

### **Results :**

DHA treatment led to the significant inhibition of *T. gondii* proliferation, however, these effects were effectively attenuated by pretreatment of autophagy-specific inhibitors, such as 3-MA and wortmannin. FAT-1, an important enzyme for synthesis of Omega 3 from Omega 6, transgenic mice showed substantially decreased cyst burden in infected brains. Moreover, intracellular proliferation of *T. gondii* was also significantly reduced in FAT-1-expressing BMDMs, as compared with wild type (WT).

### **Conclusions :**

Collectively, these results strongly suggested that DHA contributes to the activation of host protection via autophagy induction.

## P39 폐렴간균에 대한 동애등에 유충 추출물의 항 폐렴간균 효능 검증

이동훈<sup>1,2</sup>, 강해지<sup>1,2</sup>, 이수화<sup>1,2</sup>, 주기백<sup>1,2</sup>, 전복실<sup>1</sup>

경희대학교 의과대학 의동물학교실<sup>1</sup>, 경희대학교 일반대학원 기초의과학과<sup>2</sup>

### Introduction :

항생 물질이 곤충에 존재한다는 것이 많이 보고되고 있으며, 곤충들은 새로운 항균 약물의 잠재적 근원으로 부각되고 있다. 폐렴간균 (*Klebsiella pneumonia*) 폐렴은 면역이 억제된 소아에서 기회 감염으로 대엽성 폐렴을 일으키며, 면역체계가 손상된 입원 환자에게 매우 치명적이다. 국내 폐렴간균 폐렴 항생제 대한 내성률이 30-70%로 보고되어 있고, 효과적인 항생제 치료가 어려워졌다. 본 연구에서는 검은 군인 (black fly) 이라 불리는 동애등에 (*Hermetia illucens*) 유충 추출물에서 항균 활성화 펩티드 (peptide) 를 찾아 동물모델 마우스에서 항 폐렴간균 효능을 검증하였다.

### Material and Method :

동애등에 유충에 프로바이오틱스 (Probiotics) 를 접종하고, 면역화 된 유충 체액을 추출하여 크로마토그래피 컬럼으로 전 처리 과정을 실시하였다. 전 처리과정을 거친 분획물들을 농축하여 폐렴간균에 대한 항균활성을 검증하였으며, 검증된 분획물(Fr. 7)을 액체-크로마토그래피를 실시하여 각각의 시료들을 농축하고 CFU (colony forming unit) 측정법으로 항 폐렴간균의 항균활성을 MacConkey agar plate 에서 확인하였다. 항균활성이 있는 HP/F9 를 폐렴간균에 감염된 마우스에 흡입경로 또는 복강경로를 통해 투여하여 치료하였다. 투여 후 36 시간 및 10 일 동안 마우스 몸무게 측정하였고, 마우스 폐를 적출하여 폐렴간균 존재여부를 확인하였으며, H&E 염색법으로 폐 조직의 병리학적 소견을 확인하였다.

### Results :

면역화 된 동애등에 유충 체액 추출물을 크로마토그래피 컬럼을 통해 얻은 분획물(Fr. 7)이 폐렴간균에 대한 항균활성 효과가 있었으며, 분획물을 액체-크로마토그래피를 실시하여 얻은 HP/F9 을 항균활성도를 측정한 결과 대조군에 비해 폐렴간균에 대한 항균활성 효과가 월등하였다. 폐렴간균 감염 후 HP/F9 을 투여한 마우스 폐조직에서 항 폐렴간균을 측정한 결과, 복강경로 투여보다 흡입경로가 더 높은 항균활성 효과를 나타내었다. 또한 기존 상품화 되어있는 항생제보다 월등한 항균활성 효과를 보여주고 있으며, H&E 염색한 폐 조직에서도 대조군 마우스와 비슷한 병리학적 소견이 확인되었다.

### Conclusions :

면역화 된 동애등에 유충 추출물은 흡입경로 뿐만 아니라 복강경로에서도 폐렴간균에 대한 항균활성 효과가 있는 것을 증명 되었고, 상품화된 항생제보다 월등하며, 안정성에 문제가 없는 것으로 확인 된 바 항 폐렴간균 항생제로 사용가능성을 제시하였다.

## **P40** 파울러자유아메바에 의한 target cells에서의 programmed cell death 양상 관찰

강희경<sup>1</sup>, 손혜진<sup>1</sup>, 서가은<sup>1</sup>, 신호준<sup>1</sup>  
아주대학교 의과대학 미생물학교실<sup>1</sup>

### **Introduction :**

파울러자유아메바 (*Naegleria fowleri*) 는 인체와 실험동물에 치명적인 원발성 아메바성 수막뇌염 (primary amoebic meningoencephalitis) 를 유발하는 것으로 알려져 있다. 세포사멸 단계 중 하나인 necroptosis 는 세포사멸 시 기존에 알려진 apoptosis, necrosis 와는 다른 양상을 보이는 programmed cell death 과정이다. 핵심 물질인 RIPK1, RIPK3, MLKL 등이 necrosome complex 를 형성하여 세포사멸에 이르는 것으로 알려져 있다. 파울러자유아메바와 같은 병원성 아메바에 의해 target cell 에서 apoptosis 나 necrosis 과정을 통해 세포사멸에 이른다는 보고는 있으나, necroptosis 에 의한 세포사멸 과정은 미흡하여 본 실험을 통해 확인해보고자 하였다.

### **Material and Method :**

파울러자유아메바를 target cells 인 Jurkat T cell 과 U87MG cell 에 contact system 으로 배양하여 현미경을 통해 형태학적으로 관찰하였다. 또한 파울러자유아메바를 Jurkat T cell 과 U87MG cell 에 contact, non-contact system 으로 배양한 후 supernatant 를 이용하여 NO (nitric oxide), cytotoxicity 를 측정하였다. 또한 necroptosis 에서 NF- $\kappa$ B 를 활성화시킨다고 알려진 중요한 물질 중 하나인 RIPK1 의 발현을 western blot 으로 확인하였다.

### **Results :**

Contact system 에서 파울러자유아메바와 혼합 배양된 target cells 은 배양시간에 따라 세포가 사멸하는 것으로 관찰되었다. Contact 및 non-contact system 하에 target cell 에서 1 시간부터 24 시까지 모두 동일하게 시간에 따라 NO (nitric oxide) 의 분비량이 증가하였으며 또한, 아메바에 의한 target cells 의 *in vitro* cytotoxicity 가 증가하였다. Western blot 을 통해 NF- $\kappa$ B 의 downstream 인 IKB $\alpha$  의 발현 level 을 확인한 결과, 아메바의 lysate 를 처리한 Jurkat T cell 에서는 IKB $\alpha$  의 발현이 감소되었으며, U87MG cell 에서는 증가하는 경향이 관찰되었다.

### **Conclusions :**

본 실험결과, 파울러자유아메바에 의해 target cells 이 세포사멸 과정에 이르는 것으로 생각되어지며, cell death 중의 하나인 necroptosis 에 의한 세포사멸이 발생하는지는 향후 추가적으로 necrosome complex 에 대한 IP 실험이나, ROS 측정 등의 다양한 실험을 통하여 보다 구체적으로 확인해야 할 것으로 생각된다.



# P41 인체 각막상피세포에 대한 카스텔란가시아메바의 *in vitro* 세포독성 및 사이토카인 분비 양상

서가은<sup>1</sup>, 손혜진<sup>1</sup>, 강희경<sup>1</sup>, 정석률<sup>2</sup>, 신호준<sup>1</sup>

아주대학교 의과대학 미생물학교실<sup>1</sup>, 남서울대학교 임상병리학과 분자진단연구소<sup>2</sup>

## Introduction :

카스텔란 가시아메바 (*Acanthamoeba castellanii*) 는 영양형과 포낭형으로 생활사를 가지며, 주로 콘택트렌즈 착용자에서 가시아메바성 각막염 (Acanthamoebic keratitis) 을 유발한다. 본 연구는 *A. castellanii*의 영양형과 포낭형을 유도하여 표적세포인 인체 유래 각막상피세포 (Human corneal epithelial cell) 에 처리함으로써 형태학적 세포변성효과와 *in vitro* 세포독성의 변화를 확인하고, 각막상피세포에서 분비되는 사이토카인 분비 양상을 관찰하고자 하였다.

## Material and Method :

PYG 배지에 배양된 *A. castellanii* 영양형들 ( $5 \times 10^5$ ) 을 포낭형성 배지 (95 mM NaCl, 5 mM KCl, 8 mM MgSO<sub>4</sub>, 0.4 mM CaCl<sub>2</sub>, 1 mM NaHCO<sub>3</sub>, 20 mM Tris-HCl; pH9.0) 에서 포낭형성을 유도하였다. 각막상피세포는 Keratinocyte Basal Medium 배지에서 배양하였다. 아메바의 영양형 ( $5 \times 10^5$ ), 포낭형 ( $5 \times 10^5$ ) 그리고 영양형 ( $2.5 \times 10^5$ ) 과 포낭형 ( $2.5 \times 10^5$ ) 을 각막상피세포 ( $5 \times 10^5$ ) 와 혼합해서 3, 6, 9, 12, 24 시간 동안 배양하였으며, 광학현미경을 사용하여 각막상피세포의 형태학적인 변화를 관찰하였다. 또한, 배양 상층액을 사용하여 *in vitro* 세포독성과 cytokine 의 분비양상을 관찰하였다.

## Results :

*A. castellanii* 영양형 단독으로 배양한 경우보다 포낭형을 혼합 배양한 경우에, 각막상피세포가 시간이 지남에 따라 둥그런 형태로 변화하였으며 죽은 세포들이 많이 관찰되었고, 세포독성이 배양시간이 지남에 따라 증가하였다. 아메바 영양형과 배양한 각막상피세포에서는 IL-1 $\alpha$ , IL-1Ra, IL-8 등의 다양한 cytokine 을 유의적으로 발현하였고, 포낭형만을 배양한 각막상피세포에서는 IL-6, IL-8 의 발현이 관찰되었다. *A. castellanii*의 영양형과 포낭형의 차이에 따른 결과에서 보면, 각막상피세포에 *A. castellanii* 영양형만 또는 영양형과 포낭형을 같이 배양했을 때보다 포낭형만을 배양했을 때 각막상피세포에 대한 강한 세포독성이 관찰되었고, IL-8, IL-1 $\alpha$ , IL-1Ra, IL-6 등의 cytokine 이 분비되는 것이 관찰되었다.

## Conclusions :

결과들을 종합하면, *A. castellanii*의 영양형과 포낭형에 의한 각막상피세포의 세포변성 효과와 다양한 cytokine 의 분비양상 차이는 가시아메바성 각막염 병인기전을 밝힐 수 있는 기초자료로 활용 될 수 있을 것으로 기대된다.

## **P42** 가시아메바의 철 (Fe) 이온 저장에 관여하는 Ferritin 단백질의 동정 및 특성 규명

송민지, Sylvatrie-Danne Dinzouna (Gabon), 구운경, 정동일, 홍연철  
경북대학교 의학전문대학원 기생충학 열대의학교실

### **Introduction :**

금속이온은 가시아메바의 증식과 포낭형성에 있어 필수적인 역할을 수행하는 것으로 알려져 있다. 특히, 철은 세포질 및 세포 소기관에서 DNA 합성, 전자 전달, 산소 결합, 활성산소 대사 등에 이용되며, 이를 위해 다양한 단백질들이 관여하게 된다. 본 연구에서는 세포 내 철 저장 단백질로, 철의 항상성 유지에 필수적인 페리틴 (Ferritin) 을 동정하고 세포생물학적인 특성을 규명하고자 한다.

### **Material and Method :**

가시아메바의 성장 및 증식에 있어서 철 이온의 필요성을 확인하기 위해 철 이온의 농도 변화에 따른 가시아메바 영양형의 세포 증식변화를 확인하였다. 가시아메바 유전체 데이터베이스를 바탕으로 철 이온 저장에 관여하는 단백질의 유전자를 탐색 및 동정하고, GFP 결합 단백질을 이용하여 가시아메바의 영양형과 포낭형에서 이들의 발현 위치를 확인하였다. 또한 가시아메바의 영양형 및 포낭형성 유도 과정 동안 철 이온 저장 단백질의 발현 양상 및 포낭 형성률을 확인하였다.

### **Results :**

가시아메바 영양형의 경우, 철 이온이 감소함에 따라 가시아메바의 증식이 억제되었으며, 특히 96 시간에는 약 30%이상 증식이 저해됨을 확인하였다. 또한, 가시아메바 발현 벡터를 이용하여 세포내 ferritin 의 발현 위치를 확인한 결과, 영양형 및 포낭형 모두에서 세포질에 존재함을 확인하였다. 이후, 포낭 형성 과정에서 ferritin 의 역할을 확인하기 위해, 가시아메바의 영양형과 포낭형성 유도 24, 48, 72 시간에서 ferritin 의 발현 변화를 qRT-PCR 로 확인하였다. Ferritin 의 발현은 포낭 형성 유도 후, 48 시간이 경과 하였을 때 증가 하였으며, 72 시간째 다시 감소하는 경향을 보였다. 그러나 ferritin 의 발현억제와 포낭 형성률에는 유의한 상관관계가 없었다.

### **Conclusions :**

본 연구를 통해, 철 이온의 저장 및 항상성 유지에 중요한 ferritin 을 동정 하였다. 또한 가시아메바의 성장과 증식에 있어 철 이온이 필수적임을 확인하였다.

## P43 간흡충증 진단을 위한 복합항원의 특성 분석

김유정<sup>1</sup>, 이명노<sup>1</sup>, 김현정<sup>1</sup>, 신희은<sup>1</sup>, 백선옥<sup>1</sup>, 이영주<sup>1</sup>, 유원기<sup>2</sup>, 홍성종<sup>2</sup>, 조신행<sup>1</sup>, 주정원<sup>1</sup>  
질병관리본부 매개체분석과<sup>1</sup>, 중앙대학교 의과대학 환경의생물학교실<sup>2</sup>

### Introduction :

간흡충 조항원을 이용한 항체가 검사가 간흡충 감염에 대한 보조 진단으로 활용되고 있다. 조항원은 다른 기생충 감염에 대한 교차반응으로 특이도가 낮으며, 조항원 생산을 위한 실험동물 사용이 불가피하다. 이런 단점을 해결하기 위해 조항원보다 민감도와 특이도가 높은 항원 개발이 요구된다. 이 연구에서는 재조합 항원단백질과 항원펩타이드를 포함한 간흡충 복합항원의 민감도와 특이도를 조사하였다.

### Material and Method :

RDTCsAg1 은 간흡충 항원단백질 2 종 (Cs28GST, Ag17), 항원 펩타이드 2 종 (CsRe4, CsRe10) 이 결합된 복합항원이다. 여기에 간흡충 항원 펩타이드 ProR-pep1 을 연결하여 복합항원 RDTCsAg2 를 설계하였다. 이들을 *E. coli* 에서 발현시켜 재조합단백질을 확보하였다. 간흡충 감염 분석용 혈청 패널 (그룹 1- 총란 양성/항체가 양성 47 건, 그룹 2-총란 양성/항체가 음성 48 건, 그룹 3- 총란 음성/항체가 양성 20 건, 그룹 4- 총란 음성/항체가 음성 23 건) 138 개를 분석에 사용하였다. 복합항원의 민감도와 특이도는 모세관기반 면역이적법 (Wes) 을 통해 비교하였다.

### Results :

총란 양성자에 대한 간흡충 조항원의 민감도는 40% (47/95), 특이도는 53% (23/43) 였다. RDTCsAg1 의 민감도와 특이도 각각 63% (60/95), 70% (30/43) 였으며, RDTCsAg2 의 민감도와 특이도는 각각 71% (67/95), 60% (26/43) 로 나타났다. 그룹 1 과 그룹 2 각각에 대한 RDTCsAg1 의 민감도는 64% (30/47), 63% (30/48) 였으며, RDTCsAg2 민감도는 66% (31/47), 75% (36/48) 였다. EPG 정도에 따른 RDTCsAg1, RDTCsAg2 의 민감도는 EPG 1000 이상에서는 모두 100% (5/5) 였으며, EPG 100~1000 에서는 각각 81% (30/37), 78% (29/37) 로 나타났다. EPG 100 미만에서는 각각 47% (25/53), 62% (33/53) 으로 나타났다.

### Conclusions :

간흡충 재조합 복합항원들의 민감도와 특이도는 조항원에 비해 증가하였다. RDTCsAg2 는 RDTCsAg1 보다 민감도는 증가하였으나 특이도는 감소하였다. 두 복합항원들의 민감도는 EPG 100 이하에서 증가하였으며, RDTCsAg2 는 RDTCsAg1 보다 15% 이상 증가하였다. 이상의 결과는 재조합 복합항원이 간흡충 감염 항체가 진단에 효과적으로 적용될 수 있음을 보여준다. 그러나 총란 검경법을 대체할 수 있는 확인 진단법이 되기에는 불충분한 수준이며, 추가적인 항원 개발과 실험법 개선 등의 노력이 필요한 것으로 사료된다.

## **P44** Antigenicity and immunogenicity of the C-terminal recombinant proteins of the *Plasmodium vivax* merozoite surface protein 1

Sylvatrie-Danne Dinzouna-Boutamba<sup>1</sup> (Gabon), Sanghyun Lee<sup>2</sup>, Su-Min Song<sup>1</sup>, Hae Soo Yun<sup>1</sup>, So-Young Joo<sup>1</sup>, Yeonchul Hong<sup>1</sup>, Dong-Il Chung<sup>1</sup>, Youn-Kyoung Goo<sup>1</sup>

*Department of Parasitology and Tropical Medicine, School of Medicine, Kyungpook National University*<sup>1</sup>, *Pathogen Resource TF, Center for Infectious Diseases, Korea National Institute of Health, Korea Centers for Disease Control and Prevention*<sup>2</sup>

### **Introduction :**

The C-terminal region of *Plasmodium vivax* merozoite surface protein 1 (PvMSP1) is a high antibody response inducer, and is currently being developed as candidate malaria vaccine antigens. Beside its high genetic diversity, recombinant proteins constructs were designed by including the 19 kDa and 33 kDa fragments of two pathogenic strains infecting vivax malaria patients in Korea.

### **Material and Method :**

Four recombinant proteins: PvMSP1-19, which is genetically conserved; two representative strains (Sal 1 and Belem) of the PvMSP 1-33 corresponding to a variable portion; and rPvMSP-1C combination of the 3 constructs above; were produced in *E. coli*. The antigenicity was evaluated by detecting specific antibodies using sera from 221 vivax malaria patients by enzyme linked immunosorbent assays; and the immunogenicity of the recombinant proteins was studied in mice.

### **Results :**

Of the 221 samples, 89.59%, 64.25%, 47.96%, and 95.93% were seropositive for PvMSP1-19, PvMSP1-33 Sal 1, PvMSP1-33 Belem, and rPvM SP-1C, respectively. And, 45.25% of the total samples showed simultaneously seropositivity for antibodies specific to all the recombinant proteins. However, antibodies specific to rPvMSP-1C were the most prevalent. The immunogenicity of all recombinant antigens was confirmed by the high levels of Total IgG and IgG subclasses in the groups of immunized mice vs. control group. In addition, high plasma levels of pro-inflammatory response (TNF- $\beta$ ) and cytokines induced such as IL-2, IL-4, IL-10, IL-12 and IFN- $\gamma$  were greatly higher in the group of rPvMSP-1C immunized mice.

### **Conclusions :**

Our results confirmed that *P. vivax* MSP-1 antigens are immunogenic; suggesting that the recombinant proteins rPvMSP-1C may be useful for monitoring the seroprevalence statute of individuals. Moreover, its high immunogenicity could be considered in potential vaccine development.

## **P45** 2016년 국내 삼일열말라리아 MSP-1 유전자의 유전적 다양성 분석

신현일, 구보라, 조신형, 이상은

질병관리본부 감염병분석센터 매개체분석과

### **Introduction :**

말라리아 원충의 메로조이트 표면 단백질 (Merozoite Surface Protein, MSP) 은 항원성 및 면역원성을 유발하는 대표적인 단백질로서, 유전적 변이가 다양해 유전형 분석에 많이 이용되며, 크게 3 가지 (Sal-1a/b, Belem, Recombinant) 형으로 구별된다. 국내의 경우, 1993 년 삼일열 말라리아가 재출현한 이후부터 분석한 결과, 1993 년~2002 년까지는 Recombinant 만 존재하다가, 2003 년에 Sal-1a, Sal-1b 및 Belem 이 추가적으로 나타난 이후 2015 년까지 3 가지 유형이 모두 나타나고 있다. 본 조사에서는 2016 년 삼일열원충의 MSP-1 유전형을 분석하여 국내 삼일열원충의 유전적 변이 및 새로운 유형 출현 여부를 확인하고자 하였다.

### **Material and Method :**

2016 년 신고된 삼일열말라리아 환자 중 혈액이 확보된 439 건에서 gDNA 를 추출하였다. 삼일열 원충의 MSP-1 의 inter-species conserved block (ICB) 5 와 ICB 6 를 PCR 로 증폭하여 염기서열을 분석하였다. MSP-1 의 유전형은 2016 년과 최근 3 년 ('13~'15) 간을 비교하였고 지역 및 대상군별로는 2016 년에 대해서 유전자 및 아미노산 변이를 비교하였다.

### **Results :**

2016 년의 MSP-1 유전형은 Belem-1/Recombinant/Sal-1 이 각각 22/46/32%로 나타났다. 이는 최근 3 년 ('13~'15) 간 23/37/40%로 나타난 것과 달리 Recombinant 가 9% 증가하였고, Belem-1 과 Sal-1 이 각각 1%와 8% 감소하는 양상을 보였다. 지역별로는 파주시, 강화군, 연천군에서 Recombinant 가 각각 40, 44, 46%로 Sal-1 (각각 37, 36, 33%) 보다 높게 나타났으나, 인천시와 김포시의 경우에는, Sal-1 이 44, 42%로 Recombinant (28, 31%) 보다 높게 나타났다. 철원군은 Recombinant 와 Sal-1 이 각각 45 와 44%로 비슷한 비율로 나타났다. 대상군별로는 민간인의 경우, 23/42/35%의 비율로 나타난 반면, 군인에서는 20/55/25%의 비율을 보여, 군인에서 Recombinant 유형이 높게 나타났다.

### **Conclusions :**

2016 년 국내 삼일열말라리아의 MSP-1 유전자는 Belem-1, Recombinant, Sal-1 3 종의 유전형이 혼재되어 나타나며, Recombinant 와 Sal-1 의 증감이 매년 반복되어 나타나고 있다. 특히, 강화군, 파주시, 연천군, 철원군에서 Recombinant 의 비율이 인천시, 김포시에서 보다 높게 나타났다. 또한, 해당지역 군인에서도 Recombinant 의 비율이 민간인에 비해 높게 나타났다. 향후 DMZ 와 가까운 지역에서 Recombinant 유형이 높게 나타나는 것에 대한 추가적인 조사 및 특성 연구가 필요할 것으로 판단된다.

## **P46** 간흡충 감염자의 담관질환과 Cytokine 유전자형 분석

김현정, 이명노, 신희은, 이영주, 백선옥, 조신형, 주정원  
질병관리본부 매개체분석과

### **Introduction :**

간흡충은 담관에 기생하여 생화학적, 물리적 자극에 의한 세포손상 및 변형을 일으키며 손상부위에서 섬유화가 일어나, 지속적인 자극을 통해 담관암에 원인을 제공하는 것으로 보고되어있다. 국제 암 연구소 (IARC) 에서는 간흡충을 생물학적 발암물로 규정하고 있다. 간흡충 감염 후 담관질환으로 발병하는 과정에서 면역반응 조절인자인 사이토카인이 간흡충 감염 후 담관질환 발병에 영향을 미칠 것으로 예상할 수 있다. 이 연구에서는 간흡충 양성자의 사이토카인 유전자형을 분석하여 담관 질환 발병과의 상관성을 알아보고자 하였다.

### **Materials and Methods :**

간흡충 유행지역주민 193 명을 대상으로 간흡충 감염 진단을 실시하였다. 대변검체에서 간흡충란 검경을 통해 감염을 확인하였고, 간흡충 조항원 ELISA 법으로 간흡충 항체가를 측정하였다. 사이토카인 5 종(TNF- $\alpha$ , TGF- $\beta$ 1, IL-10, IL-6, IFN- $\gamma$ )에 대하여 Cytokine genotyping tray 를 이용하여 유전자형을 분석하였다. 또한 간·담도 초음파검사를 통하여 간흡충에 의한 담관질환(담도확장) 유무를 확인하였다. 사이토카인 유전형에 따른 간흡충 감염과 간병변 차이는 SPSS chi-square 검정으로 확인한 후  $p < 0.05$  일 경우 통계적 유의성을 부여하였다.

### **Results :**

조사대상자 193명 중 간흡충란 양성자는 99명, 음성자는 94명이었다. 간흡충 양성자(충란 양성, 항체가 양성) 49명의 담도확장 유무에 따른 사이토카인 유전자형을 분석하였다. 간흡충 양성자 중 IL-10 GCC/ATA 유전형은 8명이었으며, 담도확장이 나타나지 않았다( $p < 0.05$ ). 따라서 다른 cytokine 유전자보다 IL-10 유전자가 간흡충 감염이 간병변 유발과 관련이 있음을 확인 할 수 있었다.

### **Conclusions :**

면역조절에 있어 주요한 역할을 하는 사이토카인은 유전자형에 따라 활성화에 차이를 나타내는 것으로 알려져 있다. 간흡충 감염과 담관질환 발생에 있어서 사이토카인의 유전자형에 따른 상관관계를 분석한 많은 연구가 이루어지고 있다. 이번 연구를 통해 간흡충 양성자의 사이토카인 유전자형과 담관 질환의 밀접한 관계를 파악하여 예방적 관리에 활용하고자 한다.

## **P47** Prevalence of *Gymnophalloides seoi* metacercariae in oysters from three western coastal islands of Korea

Hyemi Song<sup>1</sup>, Bong-Kwang Jung<sup>1</sup>, Jaeeun Cho<sup>1</sup>, Sooji Hong<sup>1</sup>, Keon-Hoon Lee<sup>1</sup>, Eui-Hyug Hoang<sup>2</sup>, Jisu Kang<sup>3</sup>, Jini Lim<sup>4</sup>, Hana Lee<sup>5</sup>, Jong-YilChai<sup>1</sup>

*Institute of Parasitic Diseases, Seoul<sup>1</sup>, Health Examination Management Bureau, Seoul<sup>2</sup>, Daejeon-Chungnam Branch, Daejeon<sup>3</sup>, Jeonbuk Branch, Jeonju<sup>4</sup>, Gwangju-Jeonnam Branch, Gwangju<sup>5</sup>, Korea Association of Health Promotion, Korea*

### **Introduction :**

*Gymnophalloides seoi* is an intestinal trematode in the family Gymnophallidae and infects humans through eating raw oysters *Crassostrea gigas*. The fluke was estimated to infect about 49% in a highly endemic area (Aphae Island, Shinan-gun, Jeollanam-do, Korea) and causes symptoms such as gastrointestinal troubles and diarrhea. In this study, we investigated the prevalence of *G. seoi* metacercariae in oysters from 3 western coastal islands of Korea.

### **Material and Method :**

We collected 150 natural oysters from 3 islands (Yubu Island, Munyeo Island, Aphae Island), which were main habitats of the Palearctic oystercatcher *Haematopus ostralegus* which is known as a natural definitive host and examined using artificial digestion methods.

### **Results :**

The positive rate of *G. seoi* metacercariae was 74% (27/50) in oysters from Yubu Island (Janghang-eup, Seocheon-gun, Chungcheongnam-do), 54% (27/50) from Munyeo Island (Okdo-myeon, Gunsan-si, Jeollabuk-do) and 70% (35/50) from Aphae Island (Aphae-eup, Sinan-gun, Jeollanam-do). The intensity of infection per oyster was 2.4 metacercariae in Yubu Island, 1.5 metacercariae in Munyeo Island and 2.3 metacercariae in Aphae Island.

### **Conclusions :**

We confirmed that natural oysters are highly infected with *G. seoi* in three western coastal islands. However, the infection density was generally low. We concluded that Palearctic oystercatcher *Haematopus ostralegus* plays a major role for spreading *G. seoi* infection in oysters and additional investigations are needed for finding endemic area along the western coast inhabiting the migratory birds in Korea.

## **P48** 국내 유입 *Plasmodium malariae* 및 *P. brazilianum* 사례 보고

구보라, 신현일, 조신형, 이상은  
질병관리본부 감염병분석센터 매개체분석과

### **Introduction :**

우리나라는 1993년 비무장지대에서 근무하던 군인이 삼일열말라리아로 확진된 이후, 지속적으로 삼일열말라리아 환자만 발생하고 있다. 최근에는 해외여행 및 국제교류의 증가로 외국에서 유입되는 말라리아 증가하고 있으며, 특히 아프리카 (70.5%) 와 아시아 (27.1%) 지역에서 주로 유입되었다. 열대열말라리아 (69.2%)가 가장 많았으며, 삼일열말라리아 (17.0%), 난형열말라리아 (2.5%) 및 사일열말라리아 (1.3%) 순으로 나타났다. 본 연구에서는 2017년 국내 유입된 사일열말라리아 3건의 진단 및 유전자 특성을 분석하였다.

### **Material and Method :**

형태학적 방법으로 환자의 혈액검체 (전혈) 를 이용하여 박충 및 후충 슬라이드를 제작하고 Wright-Giemsa 염색 후 광학현미경 (X1,000) 으로 검경하였다. 유전자적 방법으로 전혈로부터 gDNA 를 추출하여 말라리아 원충의 18S rRNA 유전자를 타겟으로 하는 nested PCR 을 수행한 후, 염기서열을 분석하여 말라리아 종간 감별진단을 실시하였다.

### **Results :**

2017년 르완다 (1건) 및 나이지리아 (2건) 에서 입국한 3명에 대하여 현미경 검경을 실시한 결과, 모두 말라리아 원충 형태로는 관찰되었으나 종간의 전형적인 특징을 확인할 수 없었다. 또한 말라리아 감별진단키트 (malaria Ag P.f/Pan Rapid) 에서도 종간 감별이 되지 않았다. 그러나 전혈에서 DNA 를 분리하여 Nested PCR 을 실시한 결과 144bp 의 사일열원충 특이밴드가 증폭되었고 이를 염기서열 분석한 결과 *P. malariae*로 확진 (100% 상동성) 되었고, 1건의 르완다 유입 사일열말라리아 계통분석 확인 결과 원숭이에서 발견되는 *P. brazilianum*과 99% 상동성이 확인되었다.

### **Conclusions :**

2016년 WHO 와 미국 CDC 의 국가별 말라리아 발생 현황에 따르면, 르완다와 나이지리아는 열대열말라리아가 각각 90 과 85% 이상으로 주로 열대열말라리아가 유행하고 있지만, 최근 사일열말라리아 사례가 각각 르완다 1건, 나이지리아 2건씩 보고됨에 따라 두 국가 모두 사일열말라리아가 존재하고 있을 것으로 판단된다. 앞으로 국내 말라리아 퇴치 및 효율적인 예방관리를 위해 우리나라로 유입되는 말라리아에 대한 신속한 진단을 위해 유전자 검사 및 감시가 요구되며, 유입 경로의 정확한 파악을 위한 신뢰도 높은 역학조사가 필요할 것으로 판단된다. 특히 아프리카 지역에서 유입되는 말라리아의 경우 유전자검사를 통한 종 감별이 필요하다는 것을 확인하였다.



## **P49** Traditional herbal extracts from *Stellaria dichotoma* var. *lanceolata* inhibits *Mycobacterium abscessus*-induced proinflammatory responses

Su jin Bae<sup>1,2</sup>, Ji na Lee<sup>1,2</sup>, jae won choi<sup>1,2</sup>, Byung joon Park<sup>1,2</sup>, Young-Ha Lee<sup>1,2</sup>, Jae yul Kwon<sup>3</sup>, Guang Ho Cha<sup>1,2</sup> and Jae-Min Yuk<sup>1,2\*</sup>

*Department of Medical Science*<sup>1</sup>, *Department of of Infection Biology*<sup>2</sup>, *Department of Medical Education*<sup>3</sup>, *Chungnam National University School of Medicine, Daejeon 301-747, Republic of Korea.*

### **Introduction :**

*Stellaria dichotoma* var. *lanceolata* is belong to the family of Caryophyllaceae and acts as the traditional herbal medicine for syndrome of liver and kidney deficiency manifested as bone-steaming, strain fever, tidal fever and night sweat, but its roles during *Mycobacterium abscessus* (*M. abs*) infection remains still unknown. Here, we investigated whether the extracts from *Stellaria dichotoma* var. *lanceolata* exhibits antimicrobial effects against *M. abs*. *M. abs* infection triggered the mRNA and protein expression of tumor necrosis factor  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) and interleukin-6 (IL-6) in murine bone marrow-derived macrophages (BMDMs).

### **Material and Method :**

Cell cultures BMDMs were differentiated for 5-7 days in medium containing macrophage colony-stimulating factor, as described previously. The culture medium consisted of DMEM supplemented with 10% heat-inactivated fetal bovine serum (FBS), 1 mM sodium pyruvate, 50 U/mL penicillin, 50  $\mu$ g/mL streptomycin, and  $5 \times 10^{-5}$  M 2-mercaptoethanol. Splenocytes were isolated by mechanical disruption, followed by differential centrifugation and resuspension in DMEM. Preparation of herbal medicine The Herbal medicine was dissolved in 10% DMSO PBS and diluted with plain DMEM (*Bupleurum scorzonrifolium* Wild, *Bupleurum falcatum* Linne, *Stellaria dichotoma* Linne var. *lancelota* Bge, *Bupleurum. Faluctum*)

### **Results :**

*M. abs* infection rapidly activated nuclear factor  $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) and mitogen-activated protein kinase (MAPK) signaling, which is effectively inhibited by pretreatment of the extracts, as well as the generation of proinflammatory cytokines. Moreover, oral administration of the extract improved the survival of mice intravenously infected with *M. abs*. Collectively, these results strongly suggested the possibility as novel protective agents against *M. abs* infection.

### **Conclusions :**

Herbal extract from *Stellaria dichotoma* var. *lanceolata* has an anti-inflammatory effects on *Mycobacterium abscessus*-infected murine macrophages.

# P50 RNA-seq법을 통한 파울러자유아메바 포낭에서 과발현된 profilin 유전자 클로닝

손혜진<sup>1</sup>, 서가은<sup>1</sup>, 강희경<sup>1</sup>, 김종현<sup>2</sup>, 신호준<sup>1</sup>

아주대학교 의과대학 미생물학교실<sup>1</sup>, 경상대학교 수의과대학 기생충학교실<sup>2</sup>

## Introduction :

자유생활을 하는 아메바인 파울러자유아메바 (*Naegleria fowleri*) 는 인체나 실험동물의 비강을 통해 뇌를 침입하여 원발성 아메바성 수막뇌염을 야기한다. 치사율이 95%이상에 달하는 이 감염에 대한 병인유전자 연구가 필요 하지만 이들 유전자들의 대한 정보는 미흡한 실정이며, 이는 파울러자유아메바의 RNA 염기서열을 해독하기 어려운 점에 기인한다. 본 연구는 파울러자유아메바를 RNA 염기서열분석 (RNA-seq) 법을 통하여 영양형 및 포낭형성과 관련된 유전자를 탐색하였으며, 그 중 분화와 성장에 특이적으로 발현하는 *profilin* 유전자를 클로닝하였다.

## Material and Method :

파울러자유아메바의 영양형 및 포낭형으로부터 RNA 를 분리하고, sequencing library 를 제작하여 차세대 유전체 분석법 (NGS) 를 이용한 RNA-seq 법 (*de novo* assembly) 을 실시하였고 11,254 개의 RNA 염기서열정보를 얻었으며, 그 중 *profilin* 으로 예측되는 정보를 이용하여 다양한 primer 들을 제작하여 PCR 을 통해 완전한 파울러자유아메바 *profilin* 유전자 염기서열을 얻었다. 파울러자유아메바 *profilin* 유전자 (Nf-*profilin*) 를 TOPO 벡터에 클로닝 및 *E. coli* 발현 시스템을 이용하여 발현하였고, Ni-NTA agarose 를 이용하여 Histidine 이 tagging 된 재조합 Nf-*profilin* 단백질 정제하였으며, anti-Histidine 항체를 이용하여 재조합 Nf-*profilin* 발현을 확인하였다.

## Results :

파울러자유아메바 포낭형에서 비교적 많이 발현되는 *profilin* 유전자는 약 435 bp 의 염기서열 (135 개의 아미노산서열) 로 이루어져 있으며, 약 15 kDa 의 분자량을 가진 것으로 관찰되었다. 근연종인 *N. gruberi*, *Acanthamoeba* sp.와는 각각 83%, 38%의 상동성을 보였다. 재조합 Nf-*profilin* 단백질 (His- tag) 의 발현 유무를 anti-Histidine 항체로 실험한 결과, 약 21-23 kDa 에서 발현됨을 확인하였다.

## Conclusions :

파울러자유아메바의 영양형 및 포낭형에서 특이적으로 발현되는 유전자들의 RNA 염기서열을 분석하여 얻어진 정보들은 아메바들의 감염에 관련된 병인유전자 연구 및 환경 저항성 연구에 중요한 기초자료가 되며, 특히 *profilin* 유전자를 세포골격을 형성하는 actin 과의 상호연관관계를 밝힘으로써 치명적인 원발성 아메바성 수막뇌염 병인기전을 이해하기 위한 첫걸음이 될 것으로 사료된다.

## **P51** PI3K/Akt dependent down-regulation of FAF1 promoted IRF3 mediated *T. gondii* growth

Fei-Fei Gao<sup>1</sup>, Hei-Gwon Choi<sup>1</sup>, In-Wook Choi<sup>1</sup>, He-Kyoung Kim<sup>1</sup>, Jae-yul Kwon<sup>2</sup>,  
Jae-Min Yuk<sup>1</sup>, Young-Ha Lee<sup>1</sup>, Guang-Ho Cha<sup>1</sup>

*Department of Medical Science<sup>1</sup>, Department of Medical Education<sup>2</sup>, College of  
Medicine, Chungnam National University, Daejeon 301-131, Korea*

### **Introduction :**

Fas-associated factor 1 (FAF1), which was first determined as a component of apoptosis signaling pathway, is a ubiquitin receptor containing multiple ubiquitin related domains and is known for promoting degradation. Recently, it was reported that FAF1 is involved in the regulation of a virus-triggered IFN- $\beta$  signaling pathway by inhibiting the nuclear import of phosphorylated IRF3 thus preventing the cellular antiviral response. However, the regulation mechanism of FAF1, especially in the immunity system is not fully understood, yet. Therefore, we studied how FAF1 modulates immune response related transcription factor activity upon infectious pathogen.

### **Material and Method :**

FAF1 expression altered by *T. gondii* or T.gESA were analysed using Western blot and RT-PCR. The intracellular IRF3 translocation by *T. gondii* or nucleotide was monitored by Western blot analysis with compartment fractionated host cell lysates. The mRNA expression levels of ISGs after *T. gondii* infection or nucleotide treatment were measured by Real Time-PCR.

### **Results :**

FAF1 expression level was reduced by *T. gondii* infection and PI3K/Akt inhibitors reversed *T. gondii* induced FAF1 down-regulation. *in silico* analysis for the FAF1 promoter sequence showed that the presence of FRE which is a conserved binding site of FoxO1 transcription factor, and indeed, FoxO1 overexpression enhanced intracellular FAF1 level, meanwhile, FoxO1 gene silencing reduced it. We also found that *T. gondii*-induced FAF1 down-regulation is correlated with enhanced transcriptional activity of IRF3. Inhibition of PI3K/Akt pathway had no effect on IRF3 phosphorylation level but blocked IRF3 nuclear import and ISGs transcription even in the presence of IRF3 activators.

### **Conclusions :**

These results suggest that *T. gondii* infection-driven FAF1 down-regulation is essential for IRF3 nuclear translocation to activate the transcription of ISGs and thereby *T. gondii* proliferation.

## **P52** 이질아메바에 자극에 의한 Jurkat T 세포내의 Hypoxia inducible factor (HIF)-1 의 발현에 있어서의 calpain의 역할 조사

이영아, 민아림, 신명헌

연세대학교 의과대학 환경의생물학교실 및 열대의학연구소

### **Introduction :**

조직침범 기생원충인 이질아메바의 숙주세포사멸능력은 면역회피 및 조직병리기전과 매우 밀접한 관련이 있다. Hypoxia inducible factor-1 (HIF-1) 은 저산소환경에 대한 다양한 세포반응을 조절하는 HIF-1 $\alpha$  와 HIF-1 $\beta$  로 구성된 이형이량체 전사조절인자이다. HIF-1 $\alpha$  는 산소농도 의존적으로 발현이 조절되는데 정상산소농도에서는 HIF-1 $\alpha$  는 ubiquitin-proteasome pathway 를 통해 빠르게 분해된다고 알려져 있다. 몇몇 감염병 질환모델에서 HIF-1 $\alpha$  의 발현변화가 나타남이 보고되었으나 이질아메바에 의한 숙주세포 내 HIF-1 $\alpha$  의 발현에 대한 연구는 전혀 이루어지지 않았다. 따라서 본 연구에서는 이질아메바의 자극에 의해 변화하는 숙주세포내의 HIF-1 $\alpha$  의 발현감소에 대한 calpain 의 관련성을 조사하였다.

### **Material and Method :**

이질아메바 (HM-1:IMSS) 주를 사용하였고 숙주세포로는 Jurkat T 세포를 사용하였다. 아메바와 숙주세포의 비율을 10:1 또는 25:1 의 비율로 5-30 분 동안 각각 반응시킨 후 숙주세포내의 HIF-1 의 발현을 western blot 과 FACS 를 통해 조사하였다.

### **Results :**

이질아메바에 자극에 의해 Jurkat 세포의 HIF-1 $\alpha$  의 발현이 아메바 농도 의존적으로 감소함이 관찰되었다. 그러나 이러한 아메바에 의한 HIF-1 $\alpha$  의 감소는 아메바의 lysate 와 ESP 를 각각 숙주세포에 처리했을 때에는 전혀 나타나지 않았다. 이는 살아있는 이질아메바의 접촉에 의해서만 Jurkat 세포내의 HIF-1 $\alpha$  의 발현이 감소됨을 알 수 있었다. 또한 calpain 의 억제제인 calpeptin 을 전처리한 숙주세포에 이질아메바를 첨가하면 아메바에 의해 유도된 숙주세포 HIF-1 $\alpha$  의 감소가 대조군에 비해 회복됨이 관찰되었다.

### **Conclusions :**

이질아메바는 접촉을 통해 Jurkat 세포내의 HIF-1 $\alpha$  의 발현을 감소시키며 이러한 과정에 calpain 이 관련됨을 알 수 있었다. 이에 대한 상세한 세포내 기전연구가 필요할 것으로 생각된다.

## **P53** Anti-parasite effect of *Cynanchi atrati Radix* is mediated by regulation of HIF-1 $\alpha$

Fei-Fei Gao<sup>1</sup>, Hei-Gwon Choi<sup>1</sup>, In-Wook Choi<sup>1</sup>, He-Kyoung Kim<sup>1</sup>, Jae-yul Kwon<sup>2</sup>,  
Jae-Min Yuk<sup>1</sup>, Young-Ha Lee<sup>1</sup>, Guang-Ho Cha<sup>1</sup>

*Department of Medical Science<sup>1</sup>, Department of Medical Education<sup>2</sup>, College of  
Medicine, Chungnam National University, Daejeon 301-131, Korea*

### **Introduction :**

Some medicinal plants or their active compounds have been revealed as novel candidate for drugs to control parasite development or growth. *Cynanchi atrati Radix* has been traditionally used as an anti-inflammatory agent to treat febrile diseases, acute urinary infection or subcutaneous pyogenic infection with invasion of the pathogenic factors. This research aims to find out its effect on the growth of *Toxoplasma gondii*, an obligate intracellular protozoan pathogen.

### **Material and Method :**

The activity of immune related signaling pathway in response to *C. atrati* was analysed using Western blot. The host ROS production after *C. atrati* treatment was measured with fluorescent superoxide probe, DHE (Dihydroethidium). And the *T. gondii* growth mediated by *C. atrati* was measured by FACS and ICC-supported microscopic counting.

### **Results :**

Both the FACS and ICC-supported microscopic counting of *T. gondii* in host cell showed that *C. atrati* dramatically suppressed *T. gondii* proliferation without inducing cell death. *C. atrati* has no effect on intracellular ROS levels or apoptosis, however, it significantly inhibited HIF-1 $\alpha$  pathway, and loss of HIF-1 $\alpha$  stability was responsible for the effect. Gene silencing of HIF-1 $\alpha$  restrained the growth of *T. gondii* and the proteasome inhibitor MG-132 reversed the inhibiting effect of *C. atrati* on *T. gondii* proliferation.

### **Conclusions :**

The results suggest that HIF-1 $\alpha$  is indispensable for *T. gondii* growth and survival. *C. atrati* is capable of suppressing *T. gondii* growth by activating HIF-1 $\alpha$ . Our results indicates the pharmaceutical potential of this plant, *C. atrati Radix*, as a candidate for anti-parasitic drug for *T. gondii*.

## **P54** *Toxoplasma gondii*-induced host PI3K/AKT activity controls intracellular ROS generation and its proliferation in dendritic cell

Hei-Gwon Choi<sup>1</sup>, Fei Fei Gao<sup>1</sup>, In-Wook Choi<sup>1</sup>, Jae-Yul Kwon<sup>2</sup>, Jae-Min Yuk<sup>1</sup>, Young-Ha Lee<sup>1</sup>, Guang-Ho Cha<sup>1</sup>

Dept. Of Medical science<sup>1</sup>, Dept. Of Medical Education<sup>2</sup>, College of Medicine, Chungnam National University, Deajeon 301-131, Korea

### **Introduction :**

To replicate, *Toxoplasma gondii* actively invades host cells, including immune cells, and dendritic cells (DCs) are one of the first innate immune cells to encounter *T. gondii* after the parasite crosses the intestinal epithelium. Being an early source of IL-12 driving protective Th1 responses, ablation of DCs results in failure to mount protective immunity and lethal outcome in murine toxoplasmosis. However, *T. gondii* requires intact DC as a carrier to infiltrate host central nervous system (CNS), without being detected or eliminated by host defense system. The mechanism by which *T. gondii* avoids innate immune defense of host cell, especially in the dendritic cell is still under debate

### **Material and Method :**

To minimize basal Akt activity of DC2.4 cell, The cell was incubated in FBS-free RPMI1640 media for 4 hr before infection experiment. After pre-starvation, live *T. gondii* or TgESA were infected or treated, for 24 hrs, respectively. *T. gondii*-induced gene expression change was monitored by RT-PCR and protein phosphorylation and expression was monitored any Western blot *T. gondii* invasion and proliferation were analyzed by FACS and ICC using laser confocal microscopy Host intracellular ROS level was measured by FACS and fluorescent microscope using DHE or DCF-DA

### **Results :**

We examined the role of host PI3K/AKT signaling pathway activation by *T. gondii* in its proliferation in dendritic cell. *T. gondii* infection or *T. gondii* excretory/secretory antigen (TgESA) treatment to the murine dendritic cell line DC2.4 induced AKT phosphorylation, and PI3K inhibitor treatment effectively reduced the *T. gondii* proliferation but had no effect on the infection rate and invasion rate. Furthermore, it is found that *T. gondii* or TgESA can reduce H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced intracellular reactive oxygen species (ROS) as well as host endogenous ROS via PI3K/AKT pathway activation. While searching for the main source of the ROS, we found that NADPH oxidase 2 (NOX2) and NADPH oxidase 4 (NOX4) expression were significantly reduced by *T. gondii* infection or TgESA treatment, which is in correlation with previous observation about host ROS reduction by identical treatments. Inhibition of NADPH oxidase activity with diphenyleneiodonium chloride (DPI) partially reduced endogenous ROS and thereby increased *T. gondii* proliferation.

### **Conclusions :**

These findings suggest that the manipulation of the host PI3K/AKT signaling pathway and NOX4 expression by *T. gondii* is an essential mechanism for down-regulation of host intracellular ROS, and therefore, survival and proliferation of *T. gondii*

## P55 간흡충 감염에 따른 간 및 기타담도병변 영향분석

신희은<sup>1</sup>, 이명노<sup>1</sup>, 김현정<sup>1</sup>, 백선옥<sup>1</sup>, 이영주<sup>1</sup>, 조신행<sup>1</sup>, 김양희<sup>2</sup>, 임상용<sup>3</sup>, 주정원<sup>1</sup>  
질병관리본부 매개체분석과<sup>1</sup>, 경상남도 함안군보건소<sup>2</sup>, 한국건강관리협회<sup>3</sup>

### Introduction :

전국 시군구 암발생 통계에 따르면 2004 년부터 2013 년까지 담낭 및 기타 담도암은 낙동강 인 근지역에서 높은 발생률을 보인 것으로 나타났다. 특히 과거 간흡충 감염률이 10%대로 높았던 남강유역 거주민에서 전국 최고 발생률을 보여, 이번 조사에서는 간흡충 감염이 간 및 기타담도 병변에 어떠한 영향을 주는지 알아보고자 실시하였다.

### Material and Method :

2017 년 1 월부터 9 월까지 남강유역 거주민 5,114 명을 대상으로 설문조사, 대변 (MGL) 및 혈액 검사 (AST 등 13 종) 를 실시하였다. 대변검사는 Formalin-Ether 침전법을 적용하여 현미경검사로 확인하였고, 이를 바탕으로 간흡충 총란 양성군 (n=143) 및 음성대조군 (n=176) 을 선정하여 간·담도 초음파검사를 진행하였다.

### Results :

총 5,114 건 중 간흡충 감염률은 5.3% (n=270) 로 나타났다. 성별로는 남자 (7.6%) 가 여자 (4.1%) 보다 약 2 배 높은 양성률을 보였고, 연령별로는 남성에서 60 대 (11.7%), 여성에서 50 대 (5.6%) 에서 높은 양성률과 감염정도를 보였다. 설문결과 음주자, 흡연자, 과거 기생충 감염이력 이 있는 자, 민물고기 섭취자에서 그렇지 않은 그룹보다 간흡충 감염률이 높게 나타났다. 간흡충 양성군의 혈액소견 중 GGT, eosinophil 및 monocyte 에서만 음성군보다 유의성 있는 수치를 보였고, 초음파검사에서는 간내 담관확장과 다발성 간낭종 소견에서 간흡충 총란 양성군 (35.7%, 3.5%) 이 음성군 (30.7%, 1.7%) 보다 높은 병변률을 보였다. 특히, 간내 담관확장은 EPG 100 이상에서 60.7%, 200 이상에서 81.3%, 500 이상에서 100%를 보여, 간흡충 감염정도가 증가할수록 비례적으로 높아졌다.

### Conclusions :

간흡충 한마리가 인체에 감염 시 하루 평균 4,000 개의 총란이 배출되는 것으로 알려져 있다. 이번 조사에서 간내 담관확장은 EPG 10 미만 그룹과 음성군 간에는 큰 차이를 보이지 않았으나, 100 이상부터는 간내 담관확장이 크게 증가하여 성충 5 마리 이상 감염 시 (1 마리 감염 시, EPG 20 개 배출) 간 병변에 뚜렷한 영향을 주는 것으로 나타났다. 간흡충증은 임상증상 없이 만성감염으로 이어지기 쉬운 질환으로 잘 알려져 있는데, 간흡충 감염자 중 EPG 100 이상인 경우 간병변 위험성이 상대적으로 크므로, 향후 암발생 및 간·담도계 질환으로 발전할 가능성이 높다 할 수 있다. 따라서, 간흡충 감염정도 측정은 필수적으로 이뤄져야 할 것이며, 이 결과는 간흡충 증 환자의 합병증 예방에 있어 매우 중요한 자료가 될 것으로 판단된다.

## **P56** 가시아메바의 증식 및 분화에 있어 sirtuin 단백질의 역할 규명

주소영, 송민지, Sylvatrie-Danne Dinzouna-Boutamba, 정동일, 구윤경, 홍연철  
경북대학교 의과대학 기생충학 열대의학교실

### **Introduction :**

인간의 생활 환경 주변에 널리 분포하는 가시아메바는 피부염, 아메바성 각막염 또는 육아종성 아메바성 뇌염을 유발 할 수 있으며 영양형의 형태로 증식하는 한편 생존에 불리한 환경에 처하면 포낭을 형성하여 생존을 유지한다. 본 연구는 효모에서부터 사람에 이르기까지 수명연장과 함께 영양 결핍, 열 등의 스트레스에 반응하는 것으로 알려진 Sir2 단백질 (AcSir2) 을 가시아메바에서 동정하고 세포생물학적 기능을 영양형과 포낭형에서 살펴보았다.

### **Material and Method :**

영양형 및 포낭 형성을 유도한 가시아메바에서 AcSir2의 발현을 real-time PCR을 이용하여 측정하였고 가시아메바 발현 벡터를 이용해 세포 내 발현 양상을 확인하였다. AcSir2 과발현 가시아메바의 증식과 포낭형성율을 측정하였고 FACS을 이용하여 세포 크기와 세포주기 변화를 관찰했다.

### **Results :**

영양형의 경우 AcSir2 단백질을 과발현시킨 가시아메바에서 세포 크기 증가와 함께 증식이 빨라지는 것이 관찰되었으며 세포주기 중 G2/M기에 머물러 있는 가시아메바의 비율이 높게 나타났다. AcSir2의 세포 내 위치를 확인한 결과 영양형과 포낭형 모두 핵과 세포질에 분포되어 있는 것을 알 수 있었다. 한편, 영양형과 포낭형에서 Sir2의 발현양상을 비교한 결과 포낭형성을 유도한 후 AcSir2의 발현이 유의하게 증가하는 것을 확인하였다. AcSir2를 과발현되는 가시아메바의 포낭 형성을 유도하였을 때 포낭 형성 속도가 빨라졌으며 특히 가시아메바 포낭형성에 필수적인 것으로 알려진 EMCP, EMSP와 같은 단백분해효소들과 catalase, cellulose synthase 등의 발현이 급격히 증가하는 것을 확인하였다.

### **Conclusions :**

이러한 결과는 AcSir2가 가시아메바의 영양형의 증식뿐만 아니라 포낭형성에 관여하는 단백질들의 regulator로 작용하여 가시아메바의 성장 및 분화에 있어 필수적인 역할을 하는 것으로 사료된다.



## P57 미얀마 열대열원충 apical membrane antigen-1 유전자의 유전적 다형성 및 자연선택

강정미<sup>1,2</sup>, Hu'o'ng Giang Lê<sup>1,2</sup> (베트남), Thị Lam Thái<sup>1,2</sup> (베트남), 이진영<sup>3</sup>, 전호종<sup>4</sup>, Khin Lin<sup>5</sup>(미얀마), 손운목<sup>1</sup>, 김동수<sup>4</sup>, 나병국<sup>1,2</sup>

경상대학교 의과대학 기생충학·열대의학교실<sup>1</sup>, 경상대학교 융합의과학과 BK21 플러스 바이오항노화사업팀<sup>2</sup>, 원광대학교 의과대학 감염생물학교실<sup>3</sup>, 인하대학교 의과대학 열대의학교실<sup>4</sup>, Department of Medical Research Pyin Oo Lwin Branch, Pyin Oo Lwin, Myanmar<sup>5</sup>

### Introduction :

열대열원충의 apical membrane antigen-1 (PfAMA-1) 은 분열소체의 표면 단백질 중 하나로 말라리아 백신 후보 물질로 알려져 있다. 그러나 PfAMA-1의 유전적 다형성은 효과적인 말라리아 백신 개발에 중요한 걸림돌이 되고 있다. 이 연구에서는 미얀마 말라리아 환자에서 분리한 열대열원충에서 PfAMA-1 유전자의 유전적 다형성과 자연선택을 분석하였다.

### Material and Method :

미얀마 말라리아 환자에서 분리한 58 개의 열대열원충 분리주에서 genomic DNA 를 분리하였다. 분리한 genomic DNA 를 주형으로 PfAMA-1 전체 유전자 부위를 증폭하여 클로닝하고 염기서열을 분석하였다. PfAMA-1의 유전적 다형성과 자연선택은 DNASTAR, MEGA6 와 DnaSP 프로그램을 이용하여 분석하였다.

### Results :

총 58 개의 미얀마 열대열원충 분리주에서 증폭한 PfAMA-1 유전자를 분석한 결과 83 개의 단일 염기치환 (SNPs) 이 관찰되었으며 미얀마 PfAMA-1 은 37 개의 haplotypes 로 구분되었다. SNPs 에 의해 유도된 56 개의 비동의적 아미노산 변이는 PfAMA-1 의 domain I 과 domain III 부위에 주로 분포하였다. 미얀마 PfAMA-1 에서 관찰된 아미노산 변이 양상은 global PfAMA-1 에서 관찰된 아미노산 변이와 매우 유사하였다. 미얀마 PfAMA-1 의 자연선택을 분석한 결과 positive natural selection 이 작용하고 있었으며 유전자 재조합도 높은 빈도로 나타났다. Global PfAMA-1 에서 관찰된 대부분의 아미노산 변이는 RBC-binding site, B-cell epitopes 와 IUR region 에서 확인되었으며, 아미노산 변이가 나타난 주요 B-cell epitopes 부위에는 자연선택이 작용하고 있었다.

### Conclusions :

미얀마 PfAMA-1 을 포함한 global PfAMA-1 은 유전적 다형성을 나타내며 대부분의 아미노산 변이는 domain I 과 domain III 에 위치하는 B-cell epitopes 부위에 집중되어 있었다. 이상의 결과는 global PfAMA-1 에서 나타나는 유전적 다형성과 자연선택이 숙주의 면역반응과 밀접한 연관성이 있음을 제시해 준다.

## **P58** Genetic diversity and natural selection in the C-terminal 42-kDa region of merozoite surface protein-1 in Myanmar *Plasmodium falciparum* population

Thị Lam Thái<sup>1,2</sup> (Vietnam), Hu'o'ng Giang Lê<sup>1,2</sup> (Vietnam), Jung-Mi Kang<sup>1,2</sup>, Jinyoung Lee<sup>3</sup>, Hojong Jun<sup>4</sup>, Khin Lin<sup>5</sup>, Woon-Mok Sohn<sup>1</sup>, Tong-Soo Kim<sup>4</sup>, Byoung-Kuk Na<sup>1,2</sup>  
*Department of Parasitology and Tropical Medicine, Gyeongsang National University School of Medicine*<sup>1</sup>, *BK21Plus Team for Anti-aging Biotechnology and Industry, Department of Convergence Medical Science, Gyeongsang National University*<sup>2</sup>, *Department of Infection Biology, Zoonosis Research Center, School of Medicine, Wonkwang University*<sup>3</sup>, *Department of Tropical Medicine, Inha University School of Medicine*<sup>4</sup>, *Department of Medical Research Pyin Oo Lwin Branch, Pyin Oo Lwin, Myanmar*<sup>5</sup>

### **Introduction :**

The C-terminal 42 kDa region of the merozoite surface protein 1 of *Plasmodium falciparum* (PfMSP-142) is the target of immune protection, therefore it is considered as a promising candidate antigen for blood stage malaria vaccine. However, genetic diversity encoding this region, within and among global *P. falciparum* populations, is one of the critical hurdles for effective vaccine development. The aim of this study is to analyze genetic diversity and the effect of natural selection in PfMSP-142 among Myanmar *P. falciparum* population.

### **Material and Method :**

A total of 69 *P. falciparum* clinical isolates from Myanmar malaria patients were used in this study. The PfMSP-142 region was amplified by PCR, cloned and sequenced. The genetic structure and natural selection of the region were analyzed by MEGA4 and DnaSP programs.

### **Results :**

Myanmar PfMSP-142 displayed genetic diversities and the polymorphisms were scattered throughout block 15 to block 17. The overall pattern of genetic polymorphisms observed in Myanmar PfMSP-142 was similar to those of global isolates, but few novel amino acid changes were also identified in Myanmar PfMSP-142. Genetic diversity of Myanmar PfMSP-142 was relatively lower than those of PfMSP-142 from other geographical regions, but evidences for natural selection were found.

### **Conclusions :**

Our results extend understanding of the nature of the Myanmar *P. falciparum* population and have significant implication for the development of malaria vaccine based on PfMSP142.

## **P59** CysLTs receptor is required for migration and exocytotic degranulation in human mast cells induced by *Trichomonas vaginalis*-derived secretory products

민아림, 신명현

연세의대 환경의생물학교실 및 열대의학연구소

### **Introduction :**

*Trichomonas vaginalis* is a sexually transmitted parasite that causes vaginitis in women. Mast cells are important effector cells of tissue inflammation during infection with parasites. Cysteinyl leukotrienes (CysLTs) are a family of inflammatory lipid mediators synthesized from arachidonic acid by a variety of cells, including mast cells and eosinophils. Although *T. vaginalis*-derived secretory products (TvSP) have been shown to induce migration and exocytosis in mast cells, information regarding the signaling mechanisms between mast cell activation and TvSP is limited.

### **Material and Method :**

We measured the amount of cysLTs secreted by *T. vaginalis*. We pretreated a cysLT receptor antagonist, Bay U-9773, to HMC-1 cells. After that, we checked that ROS generation, migration and CD63 expression by FACS analysis and migration assay.

### **Results :**

Herein, we found that CysLT receptor is essential for migration and exocytotic degranulation in human mast cells. First, we found that *T. vaginalis* secreted LTC<sub>4</sub>, LTD<sub>4</sub> and LTE<sub>4</sub> itself. And modified *T. vaginalis* did not secreted CysLTs, compared to control. TvSP-induced migration and exocytotic degranulation were inhibited by pretreatment of Bay u-9773 in HMC-1 cells.

### **Conclusions :**

Taken together, our results suggest that CysLT receptor is important for mast cell activation induced by *T. vaginalis*-derived secretory products.

## **P60** 한국 연근해산 어류에서 검출된 고래회충 유충 종 판별을 위한 ARMS의 최적 조건 확립 및 검증

김현수, 백경완, 신하림, 조진옥, 전경운, 차희재, 옥미선  
고신대학교 의과대학 기생충학, 유전학교실

### **Introduction :**

Anisakis 속에는 9 종 이상의 형태학적으로는 뚜렷이 구별되지 않는 종들이 혼재되어 있다. 근래에는 분자생물학적 기법을 적용하여 일반적으로 *Anisakis simplex*로 알려진 종 내에서도 *A. pegreffii* 나 hybrid 종이 섞여있는 것으로 보고되고 있다. *Anisakis* sp. 동정을 위해 사용되는 대표적인 방법은 제한효소절편길이다형성 (RFLP) 으로, PCR 증폭산물의 정제 및 제한효소처리까지 많은 시간과 비용이 요구된다. 본 연구에서는 *Anisakis* 종의 신속 정확한 판별을 위해 ARMS (Amplification-refractory mutation system) 을 적용하여 PCR 단계에서 *Anisakis* 종 구분을 확정하고자 하였다.

### **Material and Method :**

어류의 복강과 내장에서 총 78 마리의 고래회충 유충을 확보하였다. 종 감별을 위해 ARMS 시스템을 이용한 프라이머 세트를 제작하여, *A. pegreffii*, *A. simplex*, *A. typica*, 및 hybrid 종이 각각의 특이적인 밴드패턴을 나타낼 수 있도록 Outer 프라이머 (비특이적 서열) 와 Inner 프라이머 (특이적 서열) 를 통해 PCR 조건을 최적화하고 실제 아니사키스 유충에 적용하였다. 이후 유전자 시퀀싱을 통한 교차검증으로 최종적으로 아니사키스 종판별의 신뢰도를 검증하였다.

### **Results :**

총 78 마리의 아니사키스 유충에서 ARMS 를 적용하여 실험한 결과 64 마리의 *A. pegreffii*, 3 마리의 *A. simplex*, 2 마리의 *A. typica* 및 9 마리의 hybrid 가 확인되었으며 *A. pegreffii*의 경우 아가로즈겔상에서 380 bp 와 130 bp 의 밴드가 형성되었고, *A. simplex*의 경우 380 bp, 280 bp, *A. typica* 380 bp, hybrid 380 bp, 280 bp, 130 bp 의 밴드가 형성되었다. Outer 프라이머를 통해 증폭되는 380 bp 의 PCR 산물은 아니사키스의 모든종에 공통으로 나타나는 밴드로써 positive control 로 작용하는 것으로 판단하였다.

### **Conclusions :**

ARMS 시스템을 이용한 방법은 SNP 의 검출 및 대립유전자의 유무를 확인하기 위해 주로 행해지는 방법으로써 아직까지 종판별에 적용된 사례는 없다. 본 연구는 ARMS 가 PCR 조건의 최적화를 통해 one-step PCR 만으로 아니사키스 종을 신속 정확하게 판별할 수 있는 시스템으로 기존의 RFLP 를 통한 종 판별법의 단점을 보완할 수 있는 시스템인 것으로 판명되었다. 이는 유전자 시퀀싱의 교차검증을 통해 100%의 신뢰도를 가지는 것으로도 확인되었다. 이러한 결과는 연근해산 어류에서 검출되는 고래회충유충 종판별에 ARMS 가 유용하게 적용될 수 있음을 시사한다.

## **P61 Genetic polymorphism and natural selection of circumsporozoite surface protein in *Plasmodium falciparum* Myanmar isolates**

Hu'o'ng Giang Lê<sup>1,2</sup> (Vietnam), Thị Lam Thái<sup>1,2</sup> (Vietnam), Jung-Mi Kang<sup>1,2</sup>, Khin Lin<sup>3</sup>, Woon-Mok Sohn<sup>1</sup>, Tong-Soo Kim<sup>4</sup>, Byoung-Kuk Na<sup>1,2</sup>

*Department of Parasitology and Tropical Medicine, Gyeongsang National University School of Medicine<sup>1</sup>, BK21Plus Team for Anti-aging Biotechnology and Industry, Department of Convergence Medical Science, Gyeongsang National University<sup>2</sup>, Department of Medical Research Pyin Oo Lwin Branch, Pyin Oo Lwin, Myanmar<sup>3</sup>, Department of Tropical Medicine, Inha University School of Medicine<sup>4</sup>*

### **Introduction :**

*Plasmodium falciparum* circumsporozoite protein (PfCSP) is one of the leading malaria vaccine candidates, but a comprehensive genetic polymorphism of the protein among global isolates of *P. falciparum* is a critical impeding factor for effective vaccine development. In this study, we analyzed genetic polymorphism and the effect of natural selection in Myanmar PfCSP.

### **Material and Method :**

Blood samples collected from Myanmar patients with falciparum malaria were used in this study. Full-length gene for PfCSP was amplified by nested PCR, cloned into the TA cloning vector and then sequenced. The genetic polymorphism and natural selection of Myanmar and global PfCSP were analyzed using the DNASTAR, MEGA6 and DnaSP programs.

### **Results :**

The central repeat region of PfCSP was highly polymorphic in Myanmar PfCSP. Meanwhile, the N-terminal and the C-terminal non-repeat domains were conserved among Myanmar PfCSP with low level of genetic diversity. Comparative analysis of the central repeat region of Myanmar PfCSP to those for global PfCSP demonstrated that difference numbers of repeats were observed among the PfCSP; Asian PfCSP had NANP repeats ranged from 40 to 43, but African and Venezuela PfCSP had 36 and 37 NANP repeats. Comparison of the C-terminal non-repeat region between Myanmar PfCSP and global PfCSP indicated that they shared similar nucleotide diversity patterns, in which most nucleotide diversity was found at Th2R/Th3R epitope regions.

### **Conclusions :**

These results provide useful information for the understanding the population structures of Myanmar PfCSP as well as global PfCSP. These results also provide valuable insight for the development of PfCSP-based vaccine.

## P62 16S rRNA 프로파일링을 통한 큰다리먼지진드기의 세균총 연구

김주영<sup>1</sup>, 이명희<sup>1</sup>, 이진영<sup>1</sup>, 이인용<sup>1</sup>, 황연지<sup>2</sup>, 용동은<sup>2</sup>, 용태순<sup>1</sup>

연세대학교 의과대학 환경의생물학교실, 열대의학연구소 및 의용절지동물은행<sup>1</sup>, 진단검사의학교실 및 세균내성연구소<sup>2</sup>

### Introduction :

집먼지진드기가 알레르기 질환을 일으킴에 있어 집먼지진드기의 세균총이 면역조절작용을 할 수 있다. 아직까지 집먼지진드기 세균총에 초점을 맞춘 차세대 염기서열분석 기술을 이용한 연구는 없었다. 이 연구에서는 16S rRNA 프로파일링을 비롯하여 몇 가지 일련의 실험을 통해 큰다리먼지진드기의 세균총을 밝히고자 하였다.

### Material and Method :

의용절지동물은행에서 사육하는 큰다리먼지진드기에서 세균총의 DNA 를 확보하여 16S rRNA 의 V3V4 를 타겟으로 하여 Illumina 사의 Miseq 을 이용하여 차세대 게놈 시퀀싱을 진행하였다. 결과를 검증하기 위하여 16S rRNA 클로닝, 집먼지진드기 파쇄액의 미생물배양을 했다. 세균총의 분포를 확인하기 위해 집먼지진드기 조직으로 그람염색, 은염색, 면역형광염색을 진행하였다.

### Results :

16S rRNA 프로파일링에서 *Bartonella* 속과 *Enterococcus* 속이 큰다리먼지진드기의 세균총의 99%를 차지하는 것으로 나타났으며 이는 16S rRNA 클로닝과 집먼지진드기 파쇄액 미생물배양에서도 확인이 되었다. 그람염색과 항 *Enterococcus* IgG 를 이용한 면역형광염색에서 그람양성균인 *Enterococcus*가 집먼지진드기의 장내와 분변에 분포하는 것을 확인했다. 은염색과 항 *Bartonella* IgG 를 이용한 면역형광염색에서 *Bartonella*가 집먼지진드기의 실질에 분포하는 것으로 나타났다.

### Conclusions :

16S rRNA 프로파일링으로 *Enterococcus*와 *Bartonella*가 집먼지진드기의 고유 세균총으로 발견되었다.

## **P63** 차세대 게놈 시퀀싱을 이용한 종에 따른 집먼지진드기 장내 세균총 비교

이진영<sup>1</sup>, 김주영<sup>1</sup>, 이명희<sup>1</sup>, 이인용<sup>1</sup>, 남성현<sup>1</sup>, 용태순<sup>1</sup>

연세의대 환경의생물학교실, 열대의학연구소, 의용절지동물소재은행<sup>1</sup>

### **Introduction :**

집먼지진드기는 알레르기의 주요한 알레르겐 중 하나이다. 집먼지진드기의 알레르겐은 많이 연구되어 왔지만, 집먼지진드기의 장내 세균총과 알레르기의 연관성에 대한 연구는 아직 미흡한 상태이다. 집먼지진드기의 종과 사육 환경에 따라 알레르기를 유발하는 정도가 다르다는 연구 결과를 토대로, 같은 조건에서 사육하였을 때 집먼지진드기의 종에 따른 장내 세균총의 분포와 알레르기 유발 능력의 차이를 비교 분석하는 것이 본 연구의 목적이다.

### **Material and Method :**

알레르기를 일으킨다고 많이 알려진 세 종의 집먼지진드기 (큰다리먼지진드기, 세로무늬먼지진드기, 긴털가루진드기) 를 무균 사육하여 장내 세균총을 동정한다. 기존의 생어 시퀀싱을 보완한 차세대 게놈 시퀀싱을 이용하여 집먼지진드기 종에 따른 장내 세균총 차이를 분석하고, 이러한 차이가 각 집먼지진드기 종의 알레르기 유발능력에 영향을 미치는지 확인하여 알레르기를 일으키는 특정 균주를 동정한다.

### **Results :**

무균배지에서 동일한 조건으로 사육한 세 종의 집먼지진드기의 장내 세균총을 분석한 결과 큰다리먼지진드기와 긴털가루진드기는 비슷한 패턴의 세균총이 분포하는 반면 무균배지에서 사육한 세로무늬먼지진드기의 장내 세균총은 다른 두 종과 다른 패턴이며 장내 세균총이 거의 분포하지 않는 결과를 확인하였다.

### **Conclusions :**

차세대 게놈 시퀀싱을 이용하여 무균배지에서 사육한 세 종의 집먼지진드기의 장내 세균총을 확인하였을 때, 종에 따라 장내 세균총의 분포가 다른 것을 관찰하였다. 장내 세균총의 차이가 알레르기를 유발하는 능력에 끼치는 영향에 대한 추가적인 연구가 필요하다.

## P64 램블편모충 gamma-tubulin small complex의 역할 규명

김주리, 박순정

연세대학교 의과대학 환경의생물학교실, 열대의학연구소

### Introduction :

진핵생물에서 microtubule (MT) 를 polymerized 하기 위해서는  $\gamma$ -tubulin 과 이 단백질과 결합하는 단백질들의 결합체인  $\gamma$ -tubulin small complex ( $\gamma$ TuSC) 가 필요한 것으로 알려져 있다. 램블편모충에서도  $\gamma$ -tubulin 의 존재가 알려져 있지만 이 단백질이 어떻게 MT 의 assembly 에 관여하는지는 알려진 바가 없다. 따라서 본 연구에서는 알려진 램블편모충 MT 결합단백질인 end-binding protein 1 (EB1) 과  $\gamma$ -tubulin, 그리고  $\gamma$ TuSC 의 구성 단백질들의 기능을 살펴보고자 하였다.

### Material and Method :

Gamma-tubulin 과 램블편모충 MT 결합 단백질인 EB1 과의 결합관계를 co-immunoprecipitation (co-IP) assay, glutathione S-transferase (GST) pull-down assay, 그리고 yeast two-hybrid assay 로 조사하였다. 또한 hemagglutinin (HA)-tagged  $\alpha$ -tubulin 을 발현하는 램블편모충을 제작하여 이 단백질의 발현 위치를 관찰하였다. 그리고  $\alpha$ -tubulin 단백질의 합성을 저해하는 modified nucleotide 인 morpholinos 를 처리하여 감소된 양의  $\gamma$ -tubulin 을 만드는 램블편모충에서의 다양한 형질 변화를 관찰하였다.

### Results :

Co-IP assay, GST pull-down assay, yeast two-hybrid assay 를 통해  $\gamma$ -tubulin 과 EB1 두 단백질 간의 결합을 확인하였다. 또한 HA-tagged  $\gamma$ -tubulin 을 침전시키는 방법으로도 두 단백질간의 결합을 확인하였다. 램블편모충  $\gamma$ -tubulin 은 영양형에서는 basal body 와 median body 에 위치하며, 세포분열 과정에서는 basal body 에 발현하는 것이 관찰되었다.  $\gamma$ -tubulin knock-down 램블편모충은 느린 growth rate 을 보였고, 세포분열시, cytokinesis 에는 영향을 미치지 않음을 알 수 있었다.  $\gamma$ -tubulin knock-down 램블편모충의 median body volume 은 통계적으로 유의하게 4.5% ( $p=0.004935$ ) 줄어들었으며, flagella axoneme 의 경우, MT central pair 가 형성되지 않은 경우가 증가됨을 알 수 있었다. 또한  $\gamma$ -tubulin 과 결합 단백질인 EB1 과  $\gamma$ -tubulin complex protein (GCP) 2 와 3 에 대한 knock-down 램블편모충에서도 median body volume 의 축소와 flagella axoneme 의 MT central pair 형성에 이상이 있음이 관찰되었다.

### Conclusions :

이러한 결과는 램블편모충  $\gamma$ -tubulin 단백질이 MT 결합 단백질인 EB1 단백질과 GCP2, GCP3 단백질과의 상호관계를 통해 MT 로 구성된 median body 와 flagella 형성에 관여하여 램블편모충의 growth 에 영향을 준다는 것을 보여준다.



## **P65** 병원성 가시아메바와 비병원성 가시아메바의 분비단백질 비교 분석

문은경<sup>1</sup>, 최현서<sup>1</sup>, 공현희<sup>2</sup>, 전복실<sup>1</sup>

경희대학교 의과대학 의동물학교실<sup>1</sup>, 동아대학교 의과대학 기생충학교실<sup>2</sup>

### **Introduction :**

가시아메바는 인체에 감염되어 육아종성 아메바뇌염, 아메바성 각막염 및 피부염 등을 일으킬 수 있다. 아메바성 각막염은 드물게 발생하지만 진단 및 치료가 어려워 시력저하 또는 상실 등의 심각한 후유증이 남을 수 있다. 본 연구에서는 병원성 가시아메바와 비병원성 가시아메바의 분비 단백질을 총체적으로 비교 분석하여 아메바성 각막염의 주요 원인이 되는 병독성 인자를 찾아내고자 하였다.

### **Material and Method :**

병원성 및 비병원성 가시아메바를 7일 동안 배양한 후, 각각의 배양액을 모아 농축한 다음 pH 4-7 IPG strip 과 10% gel 에서 2DE 분석을 수행하였다. 병원성 가시아메바에서 5 배 이상 높은 발현을 보이는 단백질을 추출하여 액체크로마토그래피 질량분석기로 분석하였다.

### **Results :**

전체 분비단백질 중 병원성 가시아메바와 비병원성 가시아메바에서 2 배 이상 발현차이를 보이는 단백질은 총 123 개가 확인되었다. 병원성 가시아메바에서 증가하는 단백질 34 개, 정성증가 단백질 7 개, 감소하는 단백질 65 개, 정성감소 단백질 17 개가 확인되었는데, 이중 5 배 이상 높은 발현을 보이는 20 개의 단백질을 분석한 결과, oxygen-dependent choline dehydrogenase, periplasmic-binding protein 을 포함하는 hypothetical proteins 및 여러 종류의 단백분해효소가 포함되어 있는 것으로 확인되었다.

### **Conclusions :**

병원성 가시아메바에서 현저하게 높은 발현을 보이는 단백질들에 대한 정보는 가시아메바 감염 증의 기작을 이해하는 데 도움을 줄 뿐만 아니라, 아메바성 각막염 치료제 개발에도 중요한 정보를 제공할 것으로 생각된다.

## **P66** The first reported case of human taeniasis caused by *Taenia saginata* in Myanmar

Eun Jeong Won<sup>1</sup>, Bong-Kwang Jung<sup>2</sup>, Hyemi Song<sup>2</sup>, Mi-Seon Kim<sup>2</sup>, Hyun-Seung Kim<sup>2</sup>, Keon Hoon Lee<sup>2</sup>, Min-Jae Kim<sup>3</sup>, Myung Geun Shin<sup>1</sup>, Jong Hee Shin<sup>1</sup>, Soon-Pal Suh<sup>1</sup>, Sung-Jong Hong<sup>4</sup>, Woon-Mok Sohn<sup>5</sup>, Thi Thi Htoon<sup>6</sup>, Htay Htay Tin<sup>6</sup>, Jong-Yil Chai<sup>2,\*</sup>  
*Department of Laboratory Medicine, Chonnam National University Medical School, Gwangju, South Korea<sup>1</sup>, Institute of Parasitic Diseases, Korea Association of Health Promotion, Seoul, South Korea<sup>2</sup>, Department of Medicine, Asan Medical Center, Seoul, South Korea<sup>3</sup>, Chung-Ang University College of Medicine, Seoul, South Korea<sup>4</sup>, Gyeongsang National University School of Medicine, Jinju, South Korea<sup>5</sup>, National Health Laboratory, Ministry of Health, Yangon, Myanmar<sup>6</sup>*

### **Introduction :**

*Taenia saginata* infestation is one of the most common cestode infestations in humans, however, its distribution can be affected by dietary habit. Here, we reported the first case of Taeniasis caused by *T. saginata* in Myanmar.

### **Material and Method :**

On stool examination survey performed by the National Health Laboratory, Ministry of Health and Sports in Myanmar, ova of *Taenia* species were found in two brothers who lived in the monastic school.

### **Results :**

An 8-year-old boy was an younger brother of them and he had no abdominal symptoms such as nausea, vomiting, abdominal pain, diarrhea, or constipation. He said that active moving pieces were found in stool since a year before and he had treated with albendazole 4-month ago. A 10-year-old boy was an older brother of them and he had no abdominal symptoms but upper respiratory infection symptoms. Stool samples were collected after medication of praziquantel (10 mg/kg orally once) and then several segments were found. Acetocarmine stain was performed for expelled segments and more than 13 uterine segments filled with eggs were observed. The genomic DNA was extracted from segments and then the *mitochondrial cox1* gene was amplified according to the previous report. Sequencing of the 502 bp *cox1* gene showed 98.8-99.6% identity with *T. saginata*; but 93.8-94.4% identity was seen with *T. asiatica*. The neighbor-joining tree revealed that our cases were phylogenetically close to *T. saginata* reported from various Asian countries but far from *T. asiatica* or *T. solium*.

### **Conclusions :**

To the best of our knowledge, this is the first case of Taeniasis caused by *T. saginata* in Myanmar. Although epidemiological survey on *T. saginata* has not been performed in Myanmar yet, there is a possibility of Taeniasis due to consumption of undercooked beef or pork as a peculiar dietary habit. Due to lacking of information on Taeniasis in Myanmar up to now, it is important to investigate the prevalence and associated risk factors further.

## **P67** Proliferation of prostate epithelial cells by IL-6 released from proliferated stromal cells induced by *Trichomonas vaginalis* infection

김정현<sup>1,2</sup>, 한익환<sup>1</sup>, 김용석<sup>3</sup>, 노창석<sup>4</sup>, 류재숙<sup>1,2</sup>

한양대학교 환경의생물학교실<sup>1</sup>, 의생명공학전문대학원<sup>2</sup>, 생화학분자생물학교실<sup>3</sup>, 서울서남병원 내과학교실<sup>4</sup>

### **Introduction :**

Chronic inflammation has a role in the pathogenesis of benign prostatic hyperplasia (BPH) and prostate cancer. BPH is pathologically characterized by the proliferation of stromal and epithelial cell types in the prostate, and the two types of cells interacted with each other. In our previous study, we demonstrated that the proliferation of prostate stromal cells induce by BPH epithelial cells stimulated with *T. vaginalis* via crosstalk with mast cells. In this study, we investigated whether inflammatory mediator (especially IL-6) released from the proliferated stromal cells may cause proliferation of BPH epithelial cells.

### **Material and Method :**

To measure the proliferation of BPH epithelial cells, the CCK-8 assay and wound healing assay were used. ELISA, RT-PCR, western blotting and immunofluorescence were used to measure the production and expression of inflammatory mediators including IL-6, IL-6 receptor and growth factors.

### **Results :**

Proliferation of prostate stromal cells was confirmed to induce by inflammation of BPH epithelial cells stimulated with *T. vaginalis* via crosstalk with mast cells. When the culture supernatant of the proliferated prostate stromal cells was added to BPH epithelial cells, the epithelial cells were proliferated, and the expression of cyclin D1, FGF2 and Bcl-2 was increased. In addition, blocking the IL-6 signaling pathway with anti-gp130 antibody (anti-IL-6R antibody) or ruxolitinib (JAK1/2 inhibitor) suppressed the proliferation of BPH epithelial cells as well as reduced expression of IL-6, IL-6R and STAT3.

### **Conclusions :**

IL-6 released from proliferated prostate stromal cells induced by BPH epithelial cells inflamed by *T. vaginalis* may induced proliferation of BPH epithelial cells by epithelial-stromal interaction.