NDSL
National Digital Science Library

전라도, 제주도 유적의 고기생충 조사

Paleoparasitological investigation of remains in Jeolla-do and Jeju-do

주관연구기관	단국대학교 산학협력단
연구책임자	서민
발행년월	2011-11
주관부처	문화재청
사업관리기관	국립문화재연구소
NDSL URL	http://www.ndsl.kr/ndsl/search/detail/report/reportSearchResultDetail.do?cn=TRKO201200010642
IP/ID	14.49.138.138
이용시간	2017/11/03 09:14:48

저작권 안내

① NDSL에서 제공하는 모든 저작물의 저작권은 원저작자에게 있으며, KISTI는 복제/배포/전송권을 확보하고 있습니다.

② NDSL에서 제공하는 콘텐츠를 상업적 및 기타 영리목적으로 복제/배포/전송할 경우 사전에 KISTI의 허락을 받아야 합니다.

③ NDSL에서 제공하는 콘텐츠를 보도, 비평, 교육, 연구 등을 위하여 정당한 범위 안에서 공정한 관행에 합치되게 인용할 수 있습니다.

④ NDSL에서 제공하는 콘텐츠를 무단 복제, 전송, 배포 기타 저작권법에 위반되는 방법으로 이용할 경우 저작권법 제136조에 따라 5년 이하의 징역 또는 5천만 원 이하의 벌금에 처해질 수 있습니다.

KiSTi
www.kisti.re.kr

보안과제( ), 일반과제(o) NRICH-1107-B10F-1

문화유산융복합연구

전라도, 제주도 유적의 고기생충 조사

Paleoparasitological investigation of remains in Jeolla-do and Jeju-do

단국대학교 산학협력단

국립문화재연구소

IP : 14.49.138.138, 2017-11-03 09:14:47

제 출 문

국립문화재연구소장 귀하

이 보고서를 2011년 문화유산융복합연구(R&D) 사업 “ 전라도, 제주도 유적의 고기생충 조사(단국대학교산학협력단/서 민) ”과제의 최종보고서로 제출합니다.

2011. 11 .28

주관연구기관명 : 단국대학교산학협력단

주관연구책임자 : 서 민

IP : 14.49.138.138, 2017-11-03 09:14:47

용역연구개발과제 최종보고서

과제번호	NRICH-1107-B10F		
단위과제명	한반도 고기생충지도 작성		
과 제 명	국문	전라도, 제주도 유적의 고기생충 조사	
	영문	Paleoparasitological studies on the archaeological remains of Jeolla-do and Jeju-do	
주관 연구기관	기 관 명	소 재 지	기 관 장
	단국대학교 산학협력단	경기도 용인시	방성일
주관 연구책임자	성 명	소속 및 부서	전 공
	서 민	의과대학 기생충학교실	의학(기생충학)
총 연구기간	2011년 3월 25일 ~ 2011년 11월 30일(8개월)		
총 연구개발비	88,200천원		
총참여연구원	4명 (책임연구원: 1명, 연구원: 0명, 연구보조원: 1명, 보조원: 2명)		

관계규정과 모든 지시사항을 준수하면서 이 용역연구개발연구사업을 성실히 수행하고자 다음과 같이 용역연구개발과제최종보고서를 제출합니다.

2011년 11월 28일

주관연구책임자 : 서 민 (서명 또는 인)

주관연구기관장 : 방성일 (직 인)

국립문화재연구소장 귀하

IP : 14.49.138.138, 2017-11-03 09:14:47

연구용역 제안요구서(RFP)			
사업명	문화유산융복합연구		
단위과제명	한반도 고기생충 지도작성		
과제명	전라도, 제주도 유적의 고기생충 조사		
연구기간	2011.3.25 ~ 2011.11. 30	연구비	88,200,000원
연구과제유형	기초연구(○)	응용연구( )	개발연구( )
연구필요성	○ 인류의 식생활, 보건환경, 질병 등 생활상연구를 위한 고기생충자료 미비 ○ 과거 한반도에서 유행한 고기생충에 대한 학술연구 전무		
연구목표	○ 과거 전라도, 제주도에서 유행한 고기생충 분포 자료 확보 ○ 1차년도에서 얻은 샘플의 PCR 검경을통한 원충류 연구기법 확립		
주요 연구내용	○조사지역 선정 및 표본자료 채집 -고고학자의 자문을 거쳐 전라도와 제주도 대상 유적지 선정 ○ 고기생충란 검경 및 분자생물학적 분석 -윤충류, 원충류 (람블편모충, 이질아메바, 대장아메바 등) 분자생물학적 동정 ○ 장흡충(전라도), 유구조충(제주도)의 시대별 분포 비교연구 ○ 기생충란의 잔존 및 검출 환경 변수의 특성화 (사례 및 선행연구 검토)		
최종성과물	○ 최종 결과보고서 30부 ○ SCI급 논문 1편 이상 게재 (연구종료 후 2년 이내) ○고기생충란 영구 프레파라트 제작/제출(유적지, 종, 시대별 1점) ○결과보고서 등 디지털자료 DVD 3매(기초자료 포함)		
용역수행 시 요구사항	○ 과제 종료시 연구 산물은 국가소유 원칙(Raw data 포함) ○ RFP의 내용은 반드시 수행하는 것을 원칙으로 함 ○ 연구 성과를 언론매체 등을 통해 홍보할 시 본 소와 협의하에 이루어져야 함 ○ 고고학적 유적의 구분과 시료 채취 부위가 구체적이고 명확해야 함 ○ 연구과정시 채집된 시료(토양) 중 기생충란이 발견된 시료(유적지, 유구별 1점) 일부를 연구소와 협의하여 제출해야 함 (대조시료 포함) ○ 검경된 고기생충란과 비교할 수 있는 현대 기생충란 및 성충 사진을 첨부해야 함		
기대성과 및 활용방안	○ 전라도와 제주도 지역 유적지 내 고기생충 분포 자료 구축 ○ 기생충의 진화 및 지역별 생활사에 대한 정보 획득		

IP : 14.49.138.138, 2017-11-03 09:14:47

목 차

Ⅰ. 총괄연구개발과제 요약문

1. 국문요약문 ····· 6

2. 영문요약문 ····· 8

Ⅱ. 총괄연구개발과제 연구결과

제1장 총괄연구개발과제의 목적 및 필요성 ····· 10

제2장 총괄연구개발과제의 내용 및 방법 ····· 23

제3장 총괄연구개발과제의 최종결과 및 고찰 ····· 33

제4장 총괄연구개발과제의 연구성과 ····· 46

제5장 총괄주요연구 변경사항 ····· 48

제6장 총괄참고문헌 ····· 49

제7장 총괄첨부서류 ····· 51

Ⅲ. 제(O)세부연구개발과제 연구결과

제1장 세부연구개발과제의 요약문 ·····

제2장 세부연구개발과제의 목적 ·····

제3장 세부연구개발과제의 내용 및 방법 ·····

제4장 세부연구개발과제의 결과 및 고찰 ·····

제5장 세부참고문헌 ·····

IP : 14.49.138.138, 2017-11-03 09:14:47

총괄연구개발과제 연구결과

IP : 14.49.138.138, 2017-11-03 09:14:47

Ⅰ. 총괄연구개발과제 요약문

국문 요약문

과 제 명	전라도, 제주도 유적의 고기생충 조사		
중심단어	고기생충, 전라도, 제주도, 장흥군, 회충, 편충		
주관연구기관	단국대학교 산학협력단	주관연구책임자	서 민
연구기간	2011.3.25 ~ 2011.11.30		

본 연구에서는 지난해에 이어 전라도와 제주도 지역의 고기생충 조사를 하고자 했다. 경기도와 충청도, 강원도 지역은 미라와 회곽묘에서 기생충란을 발견한 예가 제법 있지만, 전라도 지역은 7세기 경으로 추정되는 광주 신창동 유적을 제외하면 고고학적 샘플에서 기생충란이 발견된 예가 없다. 또한 제주도 지역은 최근까지도 Taenia sp.가 유행했던 곳이지만, 이 지역에 대한 고기생충학적 조사가 시행된 적은 아직까지 없다. 따라서 이들 지역의 고기생충학적 조사는 우리나라에서 처음으로 시도되는 것으로, 충란을 발견한다면 나름의 의미가 있을 것으로 추측됐다. 이를 위해 발굴작업이 시행되는 유적에서 토양샘플을 채취, 실험실로 가져와 현미경으로 검경한 결과 전라남도 장흥군 향양리의 배수로로 추정되는 유구에서 회충과 편충이 각각 2개씩 발견됐다. 발견된 유물로 보아 조선시대 후기로 추측되며, 농사와 관계가 있을 것으로 생각된다. 이곳을 제외하곤 전라도 다른 지역에서 기생충의 알은 발견되지 않았다. 화장실로 추정되는 유구는 물론이고 민묘와 회곽묘 등 기생충이 나올 확률이 높은 곳에서도 기생충란을 찾을 수 없었는데, 이는 전라도의 환경이 충란보존에 적합하지 않기 때문으로 생각된다. 제주도의 6지역을 답사한 결과 기생충의 알을 하나도 찾지 못했다. 특히 14-16세기에 만들어진 공동묘지에서도 기생충의 알이 나오지 않았는데, 그곳의 토양이 사토라 충란 보존이 힘들었을 것으로 추측된다. 현미경 검경 이외에 PCR에서도 기생충의 알은 물론이고 원충류의 포낭을 찾을 수 없었다. 이것 역시 기생충의 DNA가 보존되기엔 환경이 적합하지 않았던 게 원인이며, 장흥군의 배수로처럼 저습한 지역에 대한 조사가 이루어진다면 좋은 결과를 얻을 수 있으리라 생각되었다. 1차 년도의 연구에서 얻은 샘플을 재조사한 결과 충남 예산의 회곽묘에서 우리나라 최초로 요충알을 발견했으며, 충남 당진의 회곽묘에서는 참굴큰입흡충의 충란이 다수 발견되어 과거에는 이 흡충의 유행지가 지금보다 넓었을 것으로 생각되었다. 본 연구의 대상지역은 아니지만 부산 가덕도의 신석기유적을 PCR로 조사한 결과 인골주위 토양에서 편충란이 발견되었는데, 현재 이에 대한 추가 작업이 진행 중이다. 염기서열 조사 결과 편충으로 확인된다면 우리나라에서 가장 오래된 편충을 발견한 것으로 의미가 크리라 생각된다.

IP : 14.49.138.138, 2017-11-03 09:14:47

주관연구책임자 의견	
연구의 범위	-전라도와 제주도의 고고학적 유적 22곳에서 샘플을 채취, 고기생충학 검사를 시행하였다. -유적의 성격은 지석묘, 민묘, 회곽묘 등을 주로 조사했고, 제주도에서는 조선시대 공동묘지를 중심으로 샘플을 채취했다. -유적들 중 전라남도 장흥군에 있는 조선시대 배수로에서 회충과 편충란이 발견되었다. 나머지 유적에서는 기생충의 알을 발견하지 못했다. -화장실이나 묘자리 등 충란이 나올 가능성이 높은 샘플은 윤충류와 원충류의 primer를 이용해 PCR 진단을 실시했지만 양성 반응을 얻지 못했다.
연구의 한계점	-발굴 자체가 예전보다 줄어들어 연구에 어려움이 있었다. -효율적인 충란검출 방법을 찾은 후에 연구를 시작했더라면 더 좋은 결과를 가져올 수도 있었을 것이다. -전라도와 제주도의 토양 환경이 충란 보존에 좋지 않아 기생충란 발견이 힘들었다. -전라도에서 기대했던 저습지가 그다지 많지 않았고, 요코가와흡충 등의 장흡충류를 전혀 발견하지 못했다.
인용시 주의사항	-전라남도 장흥군 향양리의 배수로 유적에서 회충과 편충의 알이 나온 것은 전라도 지역을 통틀어 두 번째로 발견된 성과다. -유적은 조선시대로 추정되며, 농사를 지을 때 쓴 비료와 관계가 있을 것 같지만 이에 대해서는 추가적인 조사가 필요하다. -전라도와 제주도에서 기생충란을 발견하지 않았다는 게 그 당시 이 지역의 기생충 감염률이 낮았다는 의미보다는 충란 보존 환경이 좋지 않았을 가능성이 높다.
주관부서 연락처	단국의대 기생충학교실 (☎)

IP : 14.49.138.138, 2017-11-03 09:14:47

Summary

Title of Project	Paleoparasitological investigation of remains in Jeolla-do and Jeju-do		
Keywords	paleoparasitology, Jeolla-do, Jeju-do, Changheung-gun, Ascaris, Trichuris		
Institute	Dankook Univ. Academic-Industrial Coordination Group	Principal Investigator	Min Seo
Project Period	Conclusion of a contract ~ 2011. 11. 30		

In this study, paleoparasitological investigations were done on remains of Jeolla-do and Jeju-do. Parasites eggs had been discovered in the archaeological remains of Gyeonggi-do, Chungcheong-do, Gangwon-do, but were not discovered in those of Jeolla-do except for the Shinchang-dong, Jeollabuk-do. In addition, *Taenia* spp. have been prevalent in Jeju-do until recently, but paleoparasitological survey was not done on this area. Hence, the discovery of parasite eggs from the remains in these areas should be meaningful. The soil samples from the remains in these areas were collected, and transported to the laboratory for the parasitological examination. The examination on drain-like construction in Changheung-gun, Hyangyang-ri revealed two *Ascaris lumbricoides* eggs and two *Trichuris trichiura* eggs. This construction was supposed to be built in Joseon Era, and seemed to be related with the agriculture. However, no parasite eggs were discovered in other areas including toilet-like constructions and various tombs. This might be resulted from that the environment has not been suitable for the preservation of parasite eggs, as seen in the case of cemetry of Jeju-do. PCR examination could not reveal the presence of parasite eggs or protozoan cysts, being resulted from the hostile environment. These results suggested that investigations on the low, swampy place could produce a better outcome. On the other hand, the sample from the tomb with lime-soil mixture barrier (LSMB) of 17th century revealed the eggs of *Enterobius vermicularis*, for the first time in Korea. The discovery of *Gymnophalloides seoi* eggs in Dangjin, Chungcheongnam-do suggested the possibility that *G. seoi* had been distributed wider in the past than in present. In addition, PCR examination of the bones from Gadeok-do, Gyeongsangnam-do revealed the presence of T. trichiura, and follow-up study are being accomplished. According to the result, it could be the important discovery in paleoparasitology of Korea.

IP : 14.49.138.138, 2017-11-03 09:14:47

Opinion of Principal Investigator	
Scope	-Soil samples were collected from 22 archaeological remains of Jeolla-do and Jeju-do, and examined for the presence of parasite eggs. -The remains were the dolman or tombs with lime-soil mixture barrier (LSMB), and the cemetery built in Joseon Era was the main target of Jeju-do. -The drain-like construction of Changheung-gun, Jeollanam-do were proved to be positive for *Ascaris* and *Trichuris* eggs. Other remains revealed no parasite eggs. -PCR examinations were done on the constructions such as toilet like structure or tombs, where the egg-recovery was possible. However, PCR examination could not find any helminth eggs or protozoan cysts.
Limitation	-The study had a difficut due to the fact that the number of excavations were reduced in comparison with average years. -Prior to the sample collection, the effective egg-recovery method should be established. -The environment of Jeolla-do and Jeju-do were not suitable for the preservation of pasite eggs, resulting in rare discovery of parasite eggs. -The low, swampy areas were rare in Jeolla-do, and the intestinal trematodes such as *Metagonimus yokogawai* could not be discovered.
Direction for Citation	-The discovery of Ascaris and Trichuris eggs in the drain-like construction of Changheung-gun, Hyangyang-ri is the second outcome of paleoparasitology in Jeolla-do. -The remain was supposed to be the Joseon Era, and related with the human manure. Additional study should be followed. -The rarity of parasite eggs in the remains of Jeolla-do and Jeju-do does not mean the low parasite infection rate in these areas, but due to the hostile environment for egg preservation.
Supervisory Office	Dept of Parasitology, College of Medicine, Dankook University

IP : 14.49.138.138, 2017-11-03 09:14:47

총괄 연구과제 요약

과제 고유번호	NRICH-1107-B10F			공개가능여부	
단위과제명	한반도 고기생충지도 작성				
과 제 명	전라도, 제주도 유적의 고기생충 조사				
연구책임자	성 명	서 민		주민등록번호	
	소속 기관명	단국대학교 의과대학			
	전자우편			전화번호	

○ 연구목표 (400~600자)

우리나라에서 고기생충학 연구가 시작된 지 6년여가 흘렀지만, 전라도와 제주도 지역에 대한 제대로 된 조사가 이루어진 적은 없다. 또한 그간의 연구에서 회충과 편충 등 윤충류만 주로 발견되었을 뿐 원충류 포낭이 아직 발견된 바 없다. 본 연구에서는 제주도와 전라도 지역의 고고학적 유적에서 샘플을 채취, 현미경으로 검경함으로써 이 지역에 유행했던 기생충에 대해 알아보고자 했다. 또한 그 샘플들을 PCR로 조사해 원충류의 존재 여부를 확인하고자 했다.

○ 연구내용 (1000~1200자)

1) 조사지역 선정 및 표본자료 채취
-고고학자의 자문을 거쳐 전라도와 제주도의 유적지 22곳을 선정, 샘플을 채취하였다.
-회곽묘와 민묘, 공동묘지 등과 화장실로 추정되는 유구에서 집중적으로 샘플을 채취했다.

2) 현미경 검경 및 분자생물학적 분석
-채취한 샘플을 처리한 후 현미경으로 검경해 기생충란의 존재여부를 판별하였다. 화장실이나 인골이 발견된 곳은 가져온 샘플을 모두 검경하여 기생충란을 찾아본다.
-전라도 지역에서는 요코가와흡충 등 장흡충류의 충란이, 제주도에서는 최근까지도 유행했던 Taenia spp.의 충란을 찾아보려 했다.
-채취한 샘플에서 DNA를 뽑아 회충, 편충 등 윤충류와 이질아메바, 람블편모충, 대장아메바 등 원충류에 대한 primer를 제작, PCR을 시행함으로써 이들의 존재 여부를 판별하고자 했다.

3) 새로운 충란의 발견
-1차년도에 채취한 샘플을 재검경함으로써 이전까지 발견하지 못했던 충란이 있는지 확인하고자 했다.

4) 한반도 고기생충지도의 전라도 & 제주도 부분 완성
-지금까지 제대로 조사가 이루어지지 않은 전라도와 제주도 지역의 고기생충 지도를 작성함으로써 과거 유행했던 기생충 감염의 기초자료를 제공하고자 했다.

IP : 14.49.138.138, 2017-11-03 09:14:47

○ 연구성과(응용분야 및 활용범위포함) (400~600자)

-채취한 샘플 중 전라도 장흥군 향양리의 배수로에서 회충과 편충의 알이 각각 2개씩 발견되었다. 출토유물로 보아 조선시대의 것으로 추정되며, 농사와 관계가 있을 것으로 생각되었다. 이는 전라도 지역의 고기생충 샘플에서 두 번째로 검출된 기생충란으로 그 의미가 있다.
-그 밖의 지역에서는 기생충의 알을 찾을 수가 없었다. 전라도 지역의 저습지 발굴이 상대적으로 적었고, 제주도는 토양 자체가 충란의 보존에 적합하지 않은 것으로 추정되었다.
-채취한 샘플의 PCR 조사에서도 원충류 포낭은 물론이고 윤충류의 충란도 발견되지 못했다. 다만 부산 가덕도 샘플의 PCR에서 편충란에 양성이 나와 이에 대한 후속 연구가 진행 중에 있다.
-1차년도에서 채취한 충남 예산의 회곽묘 샘플에서 요충란 3개가 나왔는데, 이는 아시아에서 최초로 발견된 요충란으로 그 의미가 있다.

○ 총괄 참여연구원

세부과제 번호	성 명	주민등록번호(앞번호만)	세부과제 번호	성 명	주민등록번호(앞번호만)
	서 민			이혜정	
	김재입			이수민	

Keywords (5개 내외)						
	한글	고기생충	전라도	제주도	회충	편충
	영문	paleoparasitology	Jeolla-do	Jeju-do	*Ascaris lumbricoides*	*Trichuris trichiura*

* 연구목표, 연구내용, 연구성과를 서술형으로 기재함
* 연구성과는 그간의 연구결과 및 기대성과를 서술함

IP : 14.49.138.138, 2017-11-03 09:14:47

Ⅱ. 총괄연구개발과제 연구결과

제1장 총괄연구개발과제의 목적 및 필요성

1.1 총괄연구개발과제의 목표

● 고기생충학은 미라와 고분, 토양 등의 샘플에서 기생충의 흔적을 찾는 학문으로, 고기생충학을 통해 획득한 지식은 인간과 기생충의 상호관계, 기생충의 전파 경로와 인류의 이동에 관한 정보를 알게 해준다.

● 수백년 전까지만 해도 인구 밀집에 영향을 미치는 요인 중 가장 중요한 것이 기생충 질환이었으므로 (Cockburn, 1967), 고기생충 연구는 의학적 견지에서 뿐 아니라 인류의 진화와 관련된 사건들을 이해하는 데 있어서도 유용한 학문이라 할 수 있다.

● 2001년 양주미라가 발견된 이후 우리나라에서도 고기생충학 연구가 시작되었지만, 본격적인 연구가 시작된 것은 본 연구진이 참여한 2005년 이후다. 그 결과 조선시대에도 우리나라 60, 70년대에 유행했던 기생충들이 비슷하게 분포했을 것으로 추정되며, 폐흡충의 감염률이 높고 흡충류의 감염률이 다소 낮은 등 그때와 다른 양상도 관찰할 수 있었다. 하지만 지금까지의 고기생충 연구는 미라와 고분 등 조선시대 샘플들을 대상으로 했다는 한계가 있었고, 조선시대 이전 한반도의 기생충 감염상황에 대한 조사는 전무한 상황이다. 따라서 전국 각지에서 발굴이 진행 중인 유적들의 기생충 감염상을 조사할 수 있다면 과거 사람들의 건강상태를 비롯해 당시의 사회상에 대해 많은 것을 알 수 있을 것이다.

● 고기생충학은 고고학자들과의 학제간 연구가 필요한 분야로, 용도를 알 수 없는 구조물에서 기생충알이 검출된다면 그곳이 화장실로 쓰였거나 분뇨를 저장하는 곳이라는 사실을 추측할 수 있다. 실제로 2010년 국립문화재연구소의 지원으로 충남 지역의 유적들을 조사한 결과 5-7세기경으로 추정되는 유구에서 기생충란이 검출되어유구의 용도를 파악하는 데 도움을 준 바 있다.

● 그전까지의 고기생충 연구에서는 주로 회충과 편충, 폐흡충 등 잘 알려진 기생충란이 발견된 반면 충남 지역의 오래된 유적에서는 표주박이형흡충 (*Pygidiopsis summa*)이 최초로 발견되어 관심의 대상이 되기도 했다. 이런 성과를 바탕으로 다른 지역의 유적들을 조사한다면 기존의 것과는 다른 기생충란을 찾을 수 있을 것이며, 한반도 고기생충 지도의 많은 부분을 작성할 수 있을 것이다. 따라서 본 연구에서는 전라도와 제주도의 유적들에 대한 고기생충 조사를 시행하고자 하였다.

● 한반도에서 농사가 시작된 시기는 대략 청동기 시대로 추정된다. 전라도에 논이 많음을 감안하면, 전라도 지역은 농경지의 기생충 감염상황을 조사할 수 있는 최적의 장소라고 할 수 있다. 또한 굴을 매개로 감염되는 참굴큰입흡충 (*Gymnophalloides seoi*)의 인체감염이 세계 최초로 발견된 것처럼, 바닷물과 담수가 만나는 전라도의 해안가는 지금도 장흡충 감염률이 높은 곳이다. 따라서 전라도 지역을 조사한다면 지금까지 발견되지 않았던 다양한 기생충란을 찾는 것도 가능할 전망이며, 당시 사람들이 즐겨 먹었던 음식도 추정할 수 있을 것이다.

● 내륙과 격리된 제주도는 또 다른 기생충 감염 양상을 보일 것으로 추측된다. 제주도는 유구조충 (*Taenia solium*)의 오랜 유행지로, 제주도 유적을 조사한다면 2010년 연구를 수행하는 과정에서 한 차례만 발견된 적이 있는 유구조충의 알을 더 많이 찾을 수도 있을 것이다. 또한 이집트의 2천년 전

IP : 14.49.138.138, 2017-11-03 09:14:47

미라에서 유구조충의 유충인 유구낭미충증을 확인한 바 있는데 (Bruschi et al., 2006), 제주도의 유적에서 인체 조직을 발견할 수 있다면 유구낭미충의 흔적을 찾는 것도 가능할 전망이다.

- 1970년대 지속적인 기생충 관리사업으로 박멸되기 전까지 제주도는 사상충의 오랜 유행지이기도 했다. 3천년 전 이집트의 미라에서 사상충의 조직소견이 발견된 바 있는데 (Tapp & Wildsmith, 1992) 제주도의 인체 조직에서 사상충이 발견된다면 그것만으로도 고기생충학계에 커다란 업적이 될 것으로 생각한다.
- 이와 같은 이유로 본 연구에서는 전라도와 제주도의 유적을 중심으로 고기생충 연구를 수행하고자 하였다.

1.2 총괄연구개발과제의 목표달성도

◦ 연구개발목표에 입각한 연구목표의 달성도 및 관련 분야 연구에의 기여도 등을 기술함

연구목표	달성도	기여도
고고학자 등 관련 학자그룹과의 밀접한 연계, 협조	-각 지역의 고고학자들과 긴밀한 협조하에 연구를 수행하였다.	고고학자들과 연계된 연구에 있어서 표준적인 방법을 정립함.
전라도와 제주도에서 샘플을 채취	-전라도에서 16곳, 제주도에서 6곳의 유적에서 샘플을 채취했다. -발굴 자체가 줄어들어 기대보다 많은 유적지를 조사하지 못했다.	이전까지 전라도와 제주도의 고기생충 조사는 제대로 이루어진 적이 없다.
전라도와 제주도의 유적에서 기생충란 발견	-전남 장흥군의 배수로에서 편충과 회충란을 각각 2개씩 발견함. 이 배수로는 조선후기의 것으로 추정되며, 농사와 관계가 있을 것으로 추측 -다른 곳에서는 기생충란을 전혀 발견하지 못함 -충란을 찾기 위해 보다 효율적인 방법이 필요했으나, 이에 대한 노력이 부족했음 -1차년도에 수집한 샘플을 뒤지던 중 충남 예산의 회곽묘에서 참굴큰입흡충의 충란 발견	-전남 장흥군에서 충란이 나온 것은 농사를 지을 때 썼던 퇴비 때문으로 추측 -충남 예산은 참굴큰입흡충의 유행지가 아니므로 과거에는 보다 넓은 유행지를 가지고 있음이 입증됨

IP : 14.49.138.138, 2017-11-03 09:14:47

윤충란과 원충포낭의 분자생물학적 동정 및 원충류 연구기법 확립	-전라도와 제주도 유적에서 얻은 샘플의 PCR 결과 윤충류와 원충류에 대해 양성반응을 얻지 못했다. -남아있는 샘플을 가지고 계속 PCR 수행 예정으로 있음; 고고학적 샘플에 있어서 원충류포낭 검출방법 정립이 시급 -원충류 연구는 PCR보다 면역학적 방법을 시도하는 게 더 나았을 듯 -다만 본 연구의 대상지역인 전라도와 제주도는 아니지만, 부산 가덕도의 신석기시대 인골 샘플의 PCR에서 편충이 양성으로 나옴.	-가덕도 유적은 지금부터 8천년 전으로 추정되는, 현재까지 발견된 가장 오래된 충란 -윤충란에 있어서 PCR의 역할을 입증
미발견 충란의 발견	-작년 연구에서 수집한 샘플을 재검경한 결과 충남 당진의 회곽묘에서 요충란 3개를 발견함	-우리나라 고고학적 샘플에서 최초로 요충란을 발견함
장흡충(전라도), 유구조충(제주도)의 시대별 분포 비교연구	-서해안의 저습지에서 장흡충의 충란을 찾아내지 못함 -제주도에서 유행한 *Taenia* 등의 충란을 발견하지 못함	-서해안과 제주도에서 유행한 기생충을 찾는데 실패
고기생충지도 작성	-고기생충지도 중 전라도 지역에서 발견된 충란을 추가함	-고기생충 연구의 기초적 자료로 활용 가능

1.3 총괄국내·외 기술개발 현황

◦ 국내·외 관련분야에 대한 기술개발 현황과 연구결과가 국내·외 기술개발 현황에서 차지하는 위치 등을 기술

1) 서울시청 유적의 고기생충 조사

조선시대 한양의 중심지였던 경복궁, 육조거리, 병기창 등의 토양을 채취, 고기생충학 검사를 시행함으로써 당시의 생활상을 알아보려는 연구가 있었다. 연구결과 당시 한양의 토양층에서 회충과 편충, 간흡충과 광절열두조충 등 여러 기생충의 충란이 다량 검출되었다. 이 결과 조선시대 사람들의 기생충 감염률은 꽤 높았을 것으로 추정되며, 토양 샘플의 보존 상태만 좋다면 그 이전 시대에서도 기생충의 알을 찾을 수 있을 것이다.

IP : 14.49.138.138, 2017-11-03 09:14:47

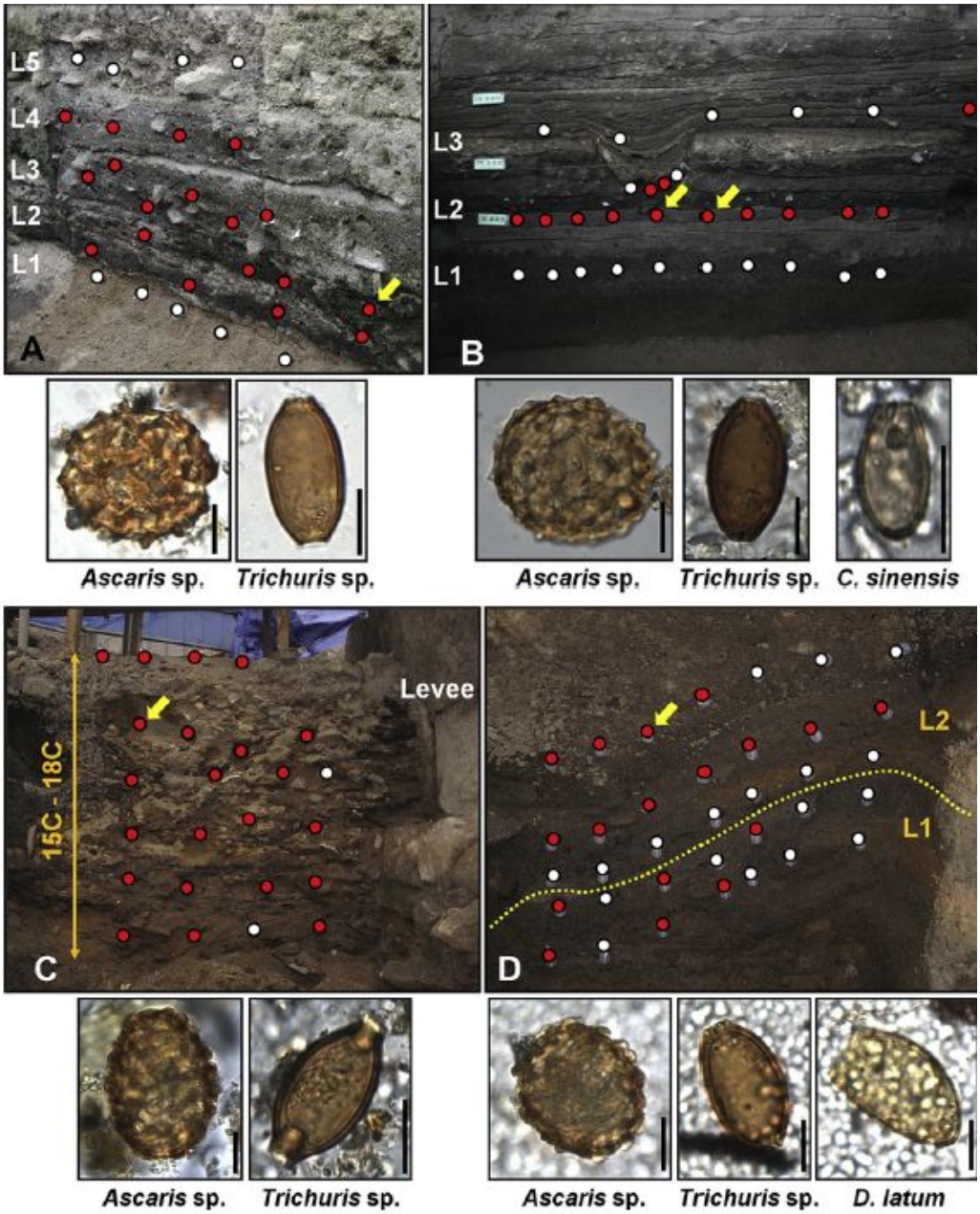


그림 1. 서울시청 지역에서 발견된 기생충란

2) 오래된 간흡충란의 PCR

경북 왜관의 회곽묘에서 발견된 간흡충의 PCR 진단을 시도한 결과 ITS1, ITS2, CO1 gene을 증폭할 수 있었다. 이로써 토양샘플에서 간흡충의 PCR screening이 가능해졌고, 이를 통해 간흡충의 기원을 아는 게 가능해졌다. 경북 왜관에서 나온 간흡충은 기존 한국의 간흡충란과 100% 일치했고, 중국, 일본, 러시아, 베트남의 것과도 100% 일치해 우리나라의 간흡충이 이들 나라로부터 전파된 것이 아닌지 추측할 수 있었다.

IP : 14.49.138.138, 2017-11-03 09:14:47

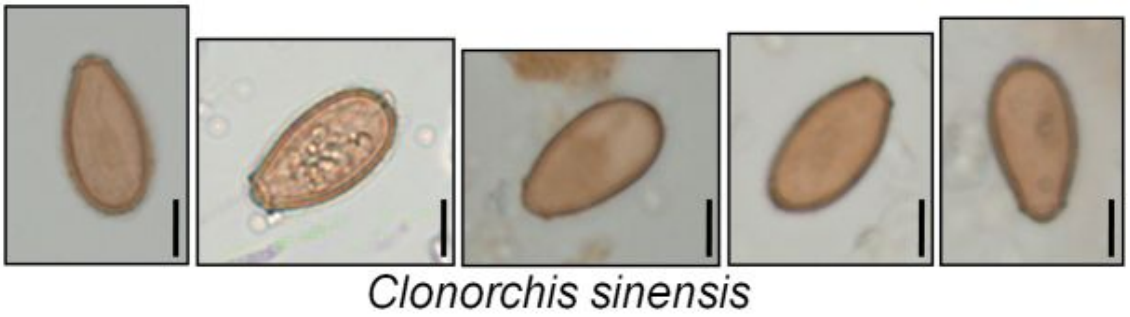


그림 2. 경북 왜관에서 발견된 간흡충란

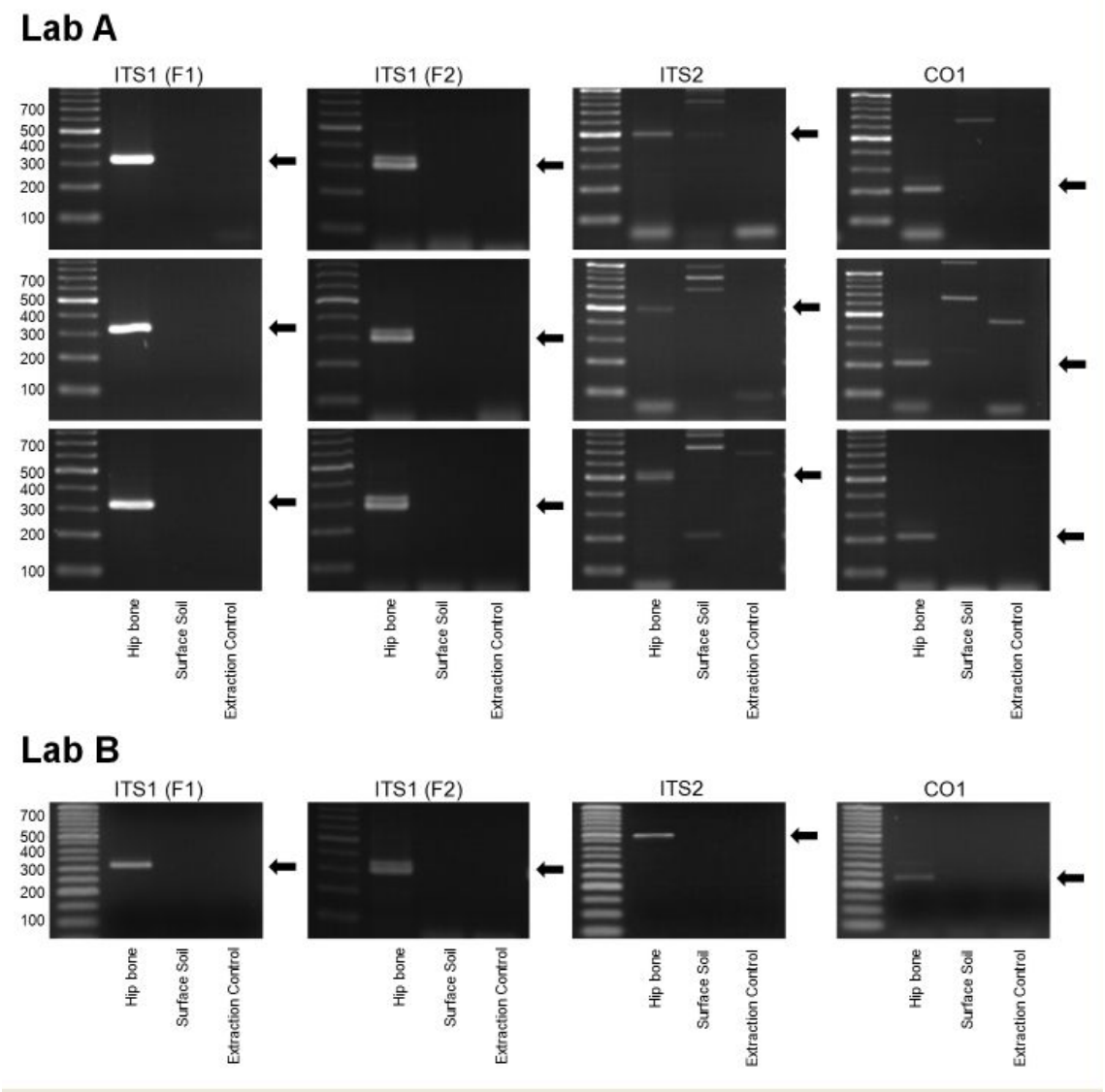


그림 3. 간흡충 gene의 PCR 증폭

IP : 14.49.138.138, 2017-11-03 09:14:47

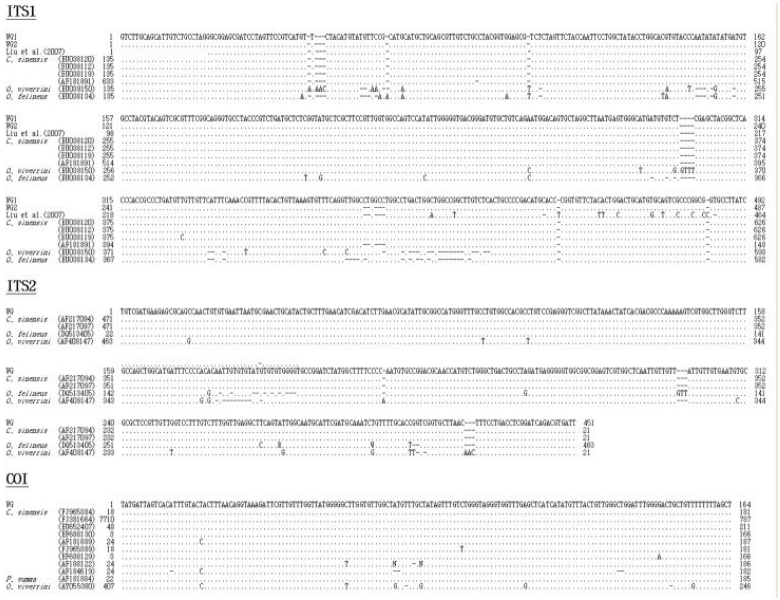


그림 4. 경북 왜관에서 발견된 간흡충란의 서열분석 및 비교

3) 요충 발견

요충은 충란벽이 얇아 환경이 좋지 않으면 오래 보존되기 힘들다. 고기생충 샘플에서 요충란은 주로 미국에서 발견되었고, 페루나 칠레 등에서 발견된 바 있다. 하지만 신대륙 이외에는 발견된 경우가 드물고, 우리나라에서는 아직 발견된 적이 없었다. 본 연구에서는 17세기 미라의 분변에서 요충란이 발견됨으로써 고기생충학의 저변을 넓히는 데 기여할 수 있었다.

TABLE V

Enterobius vermicularis finds, locality, country and date from ancient remains

Archaeological site/mummy	Country	Date	References
Danger Cave, Utah	USA	7837 BC ± 630	Fry & Hall 1969, Fry & Moore 1969
Dirty Shame rockshelter, Oregon	USA	6,300 years	Hall 1976
Tilviche, Iquique	Chile	4100 - 1950 BC	New finding
Hogup Cave, Utah	USA	4010 BC - 1 AD	Fry & Hall 1969, Fry & Moore 1969
Huarmey Valley	Peru	2277 BC ± 181	Patrucco et al. 1983
Hinds Cave,Texas	USA	2100 - 600 BC	Reinhard 1988b
Tulán, San Pedro Atacama	Chile	1080 - 950 BC	Ferreira et al. 1989b
Caserones, Tarapaca Valley	Chile	400 BC - 800 AD	Araujo et al. 1985
Clyde's Cavern, Utah	EUA	2300 years	Hall 1972
Big Bone Cave, Tennessee	EUA	2177 ± 145 BP	Faulkner et al. 1989
Han Dynasty mummy, Hunam province	China	2100 years	Wei 1973
Turkey Pen Cave, Utah	USA	1600 years	Reinhard et al. 1987
Clyde's Cavern, Utah	USA	460 - 1500 AD	Hall 1972
Canyon del Muerto, Arizona	USA	600 AD ± 95	El-Najjar et al. 1980
Rio Zape, Durango	Mexico	600 AD	Reinhard et al. 1989
Big Horn Sheep Ruin, Utah	USA	900 - 1250 AD	Gardner & Clary 1987
Mesa Verde, Arizona	USA	900 - 1250 AD	Stiger 1977
Chaco Canyon, New Mexico	USA	920 - 1200 AD	Reinhard et al. 1987, Reinhard & Clary 1986
Wetherill Mesa, Colorado	USA	1000 years	Samuels 1965
Elden Pueblo, Arizona	USA	1070 - 1250 AD	Hevly et al. 1979, Reinhard et al. 1987
Antelope House, Arizona	USA	1075 - 1250 AD	Fry & Hall 1975, Reinhard et al. 1987
Salmon Ruin, New Mexico	USA	1200 - 1275 AD	Reinhard et al. 1987
Inscription House, Arizona	USA	1250 - 1300 AD	Fry & Hall 1973
Göttingen	Germany	Medieval Age	Herrmann 1985
Greenland	Denmark	1475 AD ± 50	Hansen 1986
Pie de Palo	Argentina	pre-Columbian	Zimmerman & Morilla 1983

표1. 고기생충학 샘플에서 발견된 요충란

4) 새로운 충란검출 방법에 관한 연구

고기생충 샘플에서 충란을 발견하는 과정은 쉽지 않았다. 샘플을 rehydration시키면 충란의 변형이 심해지기 때문인데, 0.5% trisodium phosphate로 rehydration시키는 방법이 개발된 이후엔 이 방법이 표준 검경법으로 자리잡았다 (Callen & Cameron, 1960). 하지만 이 방법으로는 샘플 중 극히 일부밖에 검경할 수가 없어 보다 효율적인 충란검경 방법이 필요하다. 그래서 이를 위해 여러 방법이 제기된 바 있다.

IP : 14.49.138.138, 2017-11-03 09:14:47

-우선 비중의 차이를 이용해 충란만을 띄우는 floatation 방법이 있지만, 이는 고기생충 샘플에서는 성공률이 높지 않다 (1968, Pike).

GENERAL

Recovery of Helminth Eggs from Archaeological Excavations, and their Possible Usefulness in providing Evidence for the Purpose of an Occupation

HELMINTH eggs vary widely in their structure and, consequently, in their ability to resist desiccation and destruction. But usually theirs is the most resistant stage in the life-cycle of the worm and any conclusions to be made, concerning early helminthic infections, are most likely to come from recognition of these eggs. These have been recovered from three sources: mummified or otherwise preserved bodies, formed stools and soil from cesspits or similar structures. While the first two sources can provide more positive identification of the origin of the eggs, it is from the third source that the greatest variety of species has been obtained, presumably because they accumulate over a period of time. Here is reported an investigation in which soil from a Roman Age occupation at Owlesbury, near Winchester, was examined in the hope that positive identification of eggs might provide some clue to the nature of the occupation, to supplement the archaeological evidence. I have reviewed the literature on similar investigations[1].

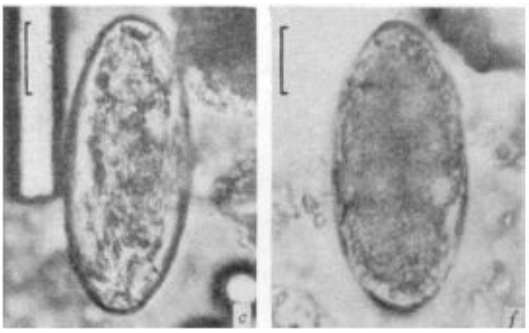


Fig. 1. *a*, Ascarid egg, lacking mammillated layer. *b*, *Dicrocoelium* egg with operculum partly open. *c*, Trichurid or capillarid egg. *d*, Type *A* egg, thin walled, containing remains of embryo. *e*, Type *B* egg with thick shell. *f*, Type *C* egg, thin shelled with germinal mass. All scales 0·01 mm.

and also from an adjacent field were examined concurrently and compared.

Small quantities of pit soil were thoroughly ground in a mortar, soaked for a week or more in 0·5 per cent trisodium phosphate[2] and then washed with water and sieved. Flotation techniques failed with this material so sievings were examined directly in water. Surface soil samples were treated similarly.

그림 5. Floatation 방법이 고기생충샘플에 적합하지 않다는 pike의 논문 (Nature, 1968)

-충란을 HCl로 disaggregation시킨 뒤 25 ㎛의 mesh로 걸러 샘플을 거르고, zinc bromide를 이용해 충란을 띄우는 방법도 제기된 바 있다. 저자는 이 방법이 기생충란과 화분(pollen)을 동시에 관찰하는 데 적합하다고 주장한다.

Journal of Archaeological Science 1992, **19**, 261–264

Methods for Extracting Pollen and Parasite Eggs from Latrine Soils

Peter J. Warnock[a] and Karl J. Reinhard[b]

(*Received 14 February 1991, revised manuscript accepted 12 April 1991*)

Previous standard procedures for processing soil samples, particularly latrine or cesspit soils, for both pollen and parasites required two separate and individual subsamples per singular sample processed, one subsample for each, pollen and parasites.

Standard processing procedures for parasite eggs follow variations of methods with the deletion of the acetolysis step, as acetolysis destroys parasite eggs. After reviewing the processing procedures for both pollen and parasites, we concluded that the procedures for processing latrine soils containing both were identical except for the additional step of acetolysis for pollen samples. Therefore, it is possible to process a single sample for both pollen and parasites, separating the sample into two subsamples only at the point before acetolysis, when the parasite processing is completed.

그림 6. 기생충란과 화분을 동시에 관찰하는 방법.

IP : 14.49.138.138, 2017-11-03 09:14:47

-하지만 고기생충학계에서는 rehydration에 이은 직접 검경법을 더 선호하는 추세다. 아래 Fugassa et al.(2006)의 연구는 고기생충학적 성과를 정량화하는 방법을 제시했는데, 단순히 rehydration 뒤 현미경 검경을 통해 충란을 발견했다.

Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Vol. *101*(Suppl. II): 29-33, 2006

Quantitative paleoparasitology applied to archaeological sediments

Martín H Fugassa/+, Adauto Araújo*, Ricardo A Guichón**

Departamento de Biología, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad Nacional de Mar del Plata, calle Funes 3350, Mar del Plata (7600), Buenos Aires, Argentina *Escola Nacional de Saúde Pública-Fiocruz, Rio de Janeiro, RJ, Brasil
**Departamento de Biología, Universidad Nacional de Mar del Plata y Universidad Nacional del Centro, Buenos Aires, Argentina

Three techniques to extract parasite remains from archaeological sediments were tested. The aim was to improve the sensibility of recommended paleoparasitological techniques applied in archaeological remains. Sediment collected from the pelvic girdle of a human body found in Cabo Vírgenes, Santa Cruz, Argentina, associated to a Spanish settlement founded in 1584 known as Nombre de Jesús, was used to search for parasites. Sediment close to the skull was used as control. The techniques recommended by Jones, Reinhard, and Dittmar and Teejen were used and compared with the modified technique presented here, developed to improve the sensibility to detect parasite remains. Positive results were obtained only with the modified technique, resulting in the finding of Trichuris trichiura *eggs in the sediment.*

Sediments were rehydrated in trisodium phosphate 0.5% aqueous solution (Callen & Cameron 1960). Quantitative techniques applied in paleoparasitology were used. According to Jones (1982), 3 g of dry sediment were rehydrated in 42 ml of trisodium phosphate 0.5% aqueous solution. Five samples of the same material were made. A 50 µl drop of rehydrated sample was used to prepare ten slides to microscopic analysis. Reinhard et al. (1992) quantitative sedimentation technique was also tested, adding *Lycopodium* tablets containing known quantities of spores (12542 spores). Counting spores and parasite eggs allow calculating how many eggs are in each gram of feces [(eggs counted/spores counted)*12542/sediment weight = eggs parasites by g sediment].

Jones modified technique consists in increasing six times sediment concentration due to the high quantity of sand in the sediment. Five preparations were made for each sample, each one of 5 g of the sediment in 10 ml of 0.5% trisodium phosphate solution. Fifty slides were prepared of each sample using 50 µl drops of shacked and mixed solution and observed at the microscope. Macroscopic hard concretions were observed in one sample.



Fig. 2: burial human remains of Nombre de Jesús archaeological site, Cabo Vírgenes, Santa Cruz, Argentina.

그림 7. 고기생충학적 결과의 정량화에 대한 Fugassa et al. (2006)의 논문

-2006년 벨기에 지역을 조사한 논문은 315 µm, 160 µm, 50 µm, 25 µm 크기의 mesh를 사용해 충란만을 골라 검경했다. 이 방법의 좋은 점은 충란의 크기가 25-90 µm 사이에 있으므로 다른 debris는 제외하고 충란만을 고를 수 있다는 것이다. 충란이 서 있을 경우 25 µm mesh에서 빠져나갈 수 있으며, filter하는 과정에서의 손실이 있다는 게 단점일 수 있지만, 많은 샘플을 효율적으로 검경하는 좋은 방법일 듯하다.

IP : 14.49.138.138, 2017-11-03 09:14:47

Paleoparasitological remains revealed by seven historic contexts from "Place d'Armes", Namur, Belgium

Gino Chaves da Rocha/+,Stephanie Harter- Lailheugue**, Matthieu Le Bailly**,
Adauto Araújo, Luiz Fernando Ferreira, Nicolau Maués da Serra-Freire*,
Françoise Bouchet**

The paleoparasitological analysis - The material was processed according to Bouchet et al. (1999). Samples were rehydrated for, at least, 72 h in the 0.5% aqueous trisodium phosphate solution (Callen & Cameron 1960). A 5% glycerinated solution was added to reinforce the rehydration of more petrified elements. The material was then crushed in a mortar. The suspension was treated in an ultrasonic device (Sonorex 103K) at 60°C for 1 min under 3000 rpm and strained through 315 µm, 160 µm, 50 µm, and 25 µm meshes. The last two screenings were treated with flotation (densities 1.04 to 1.0) and sedimentation (1500 rpm for 5 min) techniques. Twenty slides of each sample were examined, as recommended by standard procedures (Araújo et al. 1998). The images were registered and treated by the SAISAM Microvision Instruments program. Processed samples were stored into hemolysis tube with caps and preserved in 1 ml 10% formalin solution to avoid microorganism development.

그림 8. 벨기에 지역의 고기생충학 검경에 관한 논문. 여러 크기의 mesh를 사용해 충란을 걸렀다.



그림 9. 고기생충 샘플 검경에 사용할 수 있는 mesh. 왼쪽 것이 50 µm, 오른쪽 것이 25 µm,

6) 원충류 검경

-이질아메바 등의 원충류는 포낭의 벽이 얇아 오래 보존되기가 어렵다. 하지만 포낭에 있는 glycoprotein을 면역학적 방법으로 검출할 수 있는데, monoclonal antibody를 이용해 미국과 유럽에서 발견된 분화석이나 latrine soil로부터 람블편모충의 항원을 검출한 논문도 있다 (Goncalves et al., 2002). 문헌에 따르면 현재까지 현미경으로 직접 포낭이 관찰된 경우는 딱 한번 있었다. 아래는 현재까

IP : 14.49.138.138, 2017-11-03 09:14:47

지 발견된 원충류의 목록이다.

Protozoa finds, locality, country and date from ancient remains

Archaeological site/mummy	Country	Date	References
Entamoeba spp.			
Nahal-Mishmar [a]	Israel	160 AD	Witenberg 1961
Huari	Peru	Pre-Columbian	Fouant et al. 1982
Alto Ramirez	Chile	Pre-Columbian	Fouant et al. 1982
Atacamenha	Chile	Pre-Columbian	Fouant et al. 1982
Cabuza	Chile	Pre-Columbian	Fouant et al. 1982
Tihuanaco	Chile	Pre-Columbian	Fouant et al. 1982
El Plomo, Santiago [b]	Chile	Pre-Columbian	Pizzi & Schenone 1954
Inca mummy	?	ca. 1500 AD	Pike 1967b
Giardia duodenalis			
Andes	?	3000 - 500 BP	Allison et al. 1999
Big Bone Cave, Tennessee	USA	2177 BP ± 145	Faulkner et al. 1989
Nahal-Mishmar	Israel	160 AD	Witenberg 1961
Antelope House, Arizona	USA	1200 AD	Gonçalves et al. 2002
Lübeck	Germany	1600 AD	Gonçalves et al. 2002
Namur	Belgium	18th century AD	Gonçalves et al. 2002
Chilomastix mesnili			
Nahal-Mishmar	Israel	160 AD	Witenberg 1961
Cryptosporidium parvum			
Andes	?	3000 - 500 BP	Allison et al. 1999
Cyclospora cayetanensis			
Andes	?	3000 - 500 BP	Allison et al. 1999
Isospora belli			
Andes	?	3000 - 500 BP	Allison et al. 1999
Sarcocystis hominis			
Andes	?	3000 - 500 BP	Allison et al. 1999

a: Entamoeba histolytica; b: E. coli?

그림 10. 고기생충학 샘플에서 발견된 원충류의 종류와 연대 (Goncalves et al., 2003)

면역학적 방법 이외에도 샘플에서 DNA를 뽑아 증폭함으로써 원충류를 진단한 경우도 있다. 아래 사진은 megacolon 증상을 보였던 500년 전 미라에서 크루즈파동편모충의 존재를 PCR로 증명한 경우다.

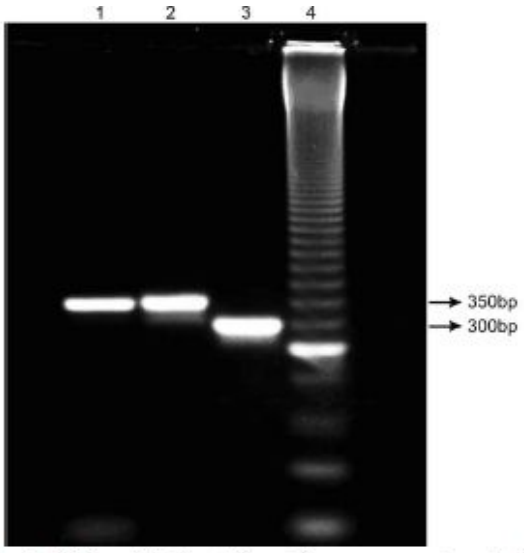


Fig. 3: PCR amplification of the mini-exon gene non-transcribed spacer region visualized on 3% agarose gel electrophoresis; Lane 1: aDNA from LBIV soft tissue sample; Lane 2: *T. cruzi* I genotype; Lane 3: *T. cruzi* II genotype; Lane 4: 50 bp DNA ladder (Invitrogen); Lane 5: PCR negative control.

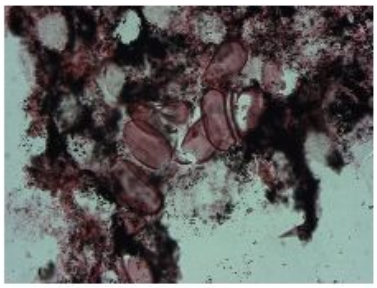
그림 11. 500년 전 미라로부터 *Trypanosoma cruzi*를 PCR로 증명한 논문 (Fernandez et al., 2008)

7) 고기생충을 이용한 기생충의 이동경로 추정

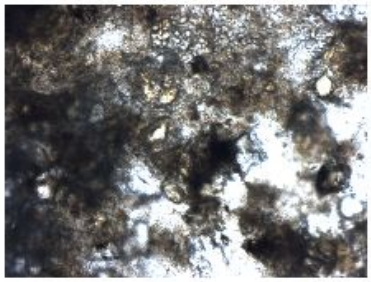
고기생충학을 함으로써 얻을 수 있는 것 중 하나는 인류나 기생충의 이동 과정을 추정할 수 있다는 것이다. 즉 고기생충학 샘플에서 나온 충란을 PCR로 증폭하고 서열을 분석한 뒤 다른 나라의 서열과 비교해 본다면 그 기생충의 기원을 짐작할 수 있다. 본 연구진은 2009년 하동에서 발견된 미라가 폐흡충

IP : 14.49.138.138, 2017-11-03 09:14:47

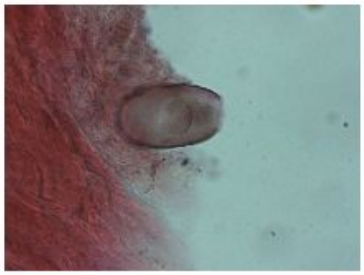
에 다량 감염되어 있음을 발견했고, 그 충란으로부터 DNA를 뽑아 PCR로 증폭시켰다.



폐조직 section, H&E 염색



간조직에서 발견된 폐흡충란



간조직 section, H &E 염색

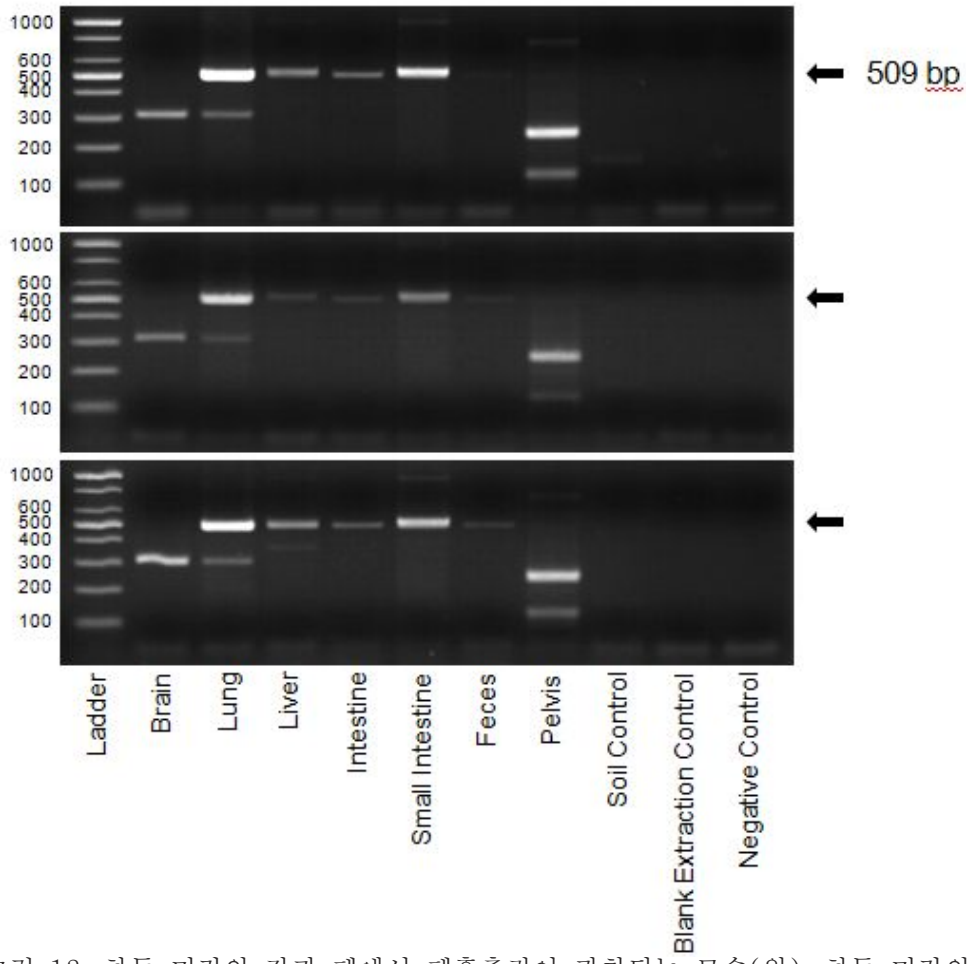


그림 12. 하동 미라의 간과 폐에서 폐흡충란이 관찰되는 모습(위). 하동 미라의 폐흡충에 대한 각 장기별 PCR 결과. 폐와 간, 소장, 분변에서 폐흡충의 PCR에 양성이 나왔다.

얻어진 PCR을 토대로 염기서열 분석을 시행했고, 그 서열을 다른 지역 폐흡충의 DNA 서열과 비교했다. 분석결과는 그림 13과 같다.

IP : 14.49.138.138, 2017-11-03 09:14:47

Species	Access.No.	identity(%)	Origin
P. westermani	(AF333278)	100	South Korea: Haenam
P. westermani	(U96907)	100	strain originated in Hyogo, Japan
P. westermani	(AF333277)	99	South Korea: Youngam
P. westermani	(AF333276)	99	South Korea: Bogil Island
P. westermani	(U96908)	99	Karapai, Taiwan
P. westermani	(FJ434987)	99	Viet Nam: Quangtri
P. westermani	(AB354217)	98	Thailand: Surat Thani
P. westermani	(AB354218)	98	Thailand: Surat Thani
P. westermani	(U96909)	98	Sungai Wa, Malaysia
P. westermani	(DQ836243)	98	India: Meghalaya
P. westermani	(DQ836246)	97	India: Arunachal Pradesh
P. westermani	(DQ351845)	97	India: north-east
P. westermani	(AB354214)	97	Thailand: Saraburi
P. westermani	(AF159604)	97	Thailand:Nakorn Nayok Province
P. skrjabini	(AY618735)	92	China: Yunnan Province
P. skrjabini	(AB325516)	92	India: Manipur
P. skrjabini	(AY618752)	92	China: Hubei Province
P. skrjabini	(AY618747)	92	China: Sichuan Province
P. siamensis	(AF159605)	95	Thailand: Nakorn Nayok Province
P. siamensis	(AB354222)	95	Thailand: Prachin Buri
P. miyazakii	(AY618742)	92	China:Fujian
P. hokuensis	(AY618756)	92	China:Yunnan
P. proliferus	(EU401805)	92	China: Yunnan Province
P. heterotramus	(AB354221)	92	Thailand: Saraburi
P. heterotramus	(DQ836248)	91	India: Arunachal Pradesh
P. mexicanus	(AF538946)	91	Guatemala
P. bangkokensis	(AB248091)	91	Thailand: Surat Thani
P. bangkokensis	(FJ615228)	90	Laos: Hinheub, Vientiane
P. harinasutai	(AB354219)	90	Thailand: Saraburi
P. africanus	(AB298779)	90	Cameroon
P. africanus	(AB298780)	89	Cameroon
P. paishuihoensis	(AB471886)	89	Thailand: Chanthaburi
E. cenocopiosus	(AF159602)	93	China:Fujian

그림 13. 하동미라의 폐흡충 서열과 다른 지역 폐흡충 서열의 비교분석

이 결과를 토대로 했을 때 하동 미라의 폐흡충은 이전에 우리나라 해남에서 발견된 폐흡충과 100% 일치했고, 일본의 Hyogo 지방에서 발견된 폐흡충과도 100% 일치했다. 이상의 결과로 보아 하동 지방에서 유행하던 폐흡충이 일본의 Hyogo 지방으로 간 게 아닌가 추측된다. 한편 하동미라의 폐흡충은 대만, 베트남의 서열과도 99% 일치도를 보여 추후 연구를 통해 이들 지역과의 연관성도 알아볼 필요가 있다. 이는 고기생충학을 통해 기생충의 이동 경로를 추측할 수 있는 연구사례라 하겠다.

제2장 총괄연구개발과제의 내용 및 방법

◦ 총괄연구개발과제의 이론적, 실험적 연구방법, 연구내용을 객관적으로 기술함

1) 조사지역 선정

● 전라도와 제주도에 위치한 고고학적 유적 중 발굴이 가능한 곳을 모두 조사했다. 현장을 방문한 뒤 고고학자들이 화장실로 쓰였을 것으로 추정한 유구에서 샘플을 채취했고, 민묘나 회곽묘 등 사람이 묻혀있던 곳에서도 빠짐없이 샘플을 채취했다. 그밖에 함정유구 등 사람이나 동물의 분변이 존재할 가능성이 있는 곳에서도 샘플을 채취했으며, 용도 불명의 유구도 기본적으로 샘플을 채취했다. 유적의 연도는 청동기시대부터 조선시대까지 다양했으며, 표2는 본 연구에서 샘플을 채취한 유적들이다.

IP : 14.49.138.138, 2017-11-03 09:14:47

표2. 조사 대상 유적지의 위치와 시기

	지역	시기	발굴기관	성격	샘플수	결과
1	여수 웅천동 송현마을	BC1500-400 (청동기시대)	동북아지석묘연구소	무덤유적	22	negative
2	담양 월산면 화방리	청동기시대~삼국시대	태산문화유산연구원	논	93	negative
3	광주 남구 송하동	청동기시대	대한문화유산연구센터	농경지	19	negative
4	나주시 다시면 회진리	고려시대	전남문화재연구소	가마	4	negative
5	나주시 다시면 회진리	고려시대	동북아지석묘연구소	주거지	12	negative
6	전북 익산 송학동	원삼국?	전북문화재연구소	?	28	negative
7	장흥읍 향양리 구월평마을	청동기시대	전남문화재연구소	토광묘, 도랑	29	negative
8	장흥군 장평면 용강리 장평삼거리	철기시대, 고려말	동신대 문화박물관	고려 말 민묘, 철기시대 주거지	95	negative
9	순천시 해룡면 성산리	4-5세기	마한문화연구원	주거지	27	negative
10	나주시 삼영동 택촌	고려 말	마한문화연구원	밭	8	negative
11	나주시 다시면 회진리	고려시대	전남문화재연구소	주거지, 도랑	36	negative
12	제주시 용담2동	BC3세기~AD4세기	제주고고학연구소	주거지	23	negative
13	제주시 삼양2동 삼양초등학교 개축부지	BC7세기	제주고고학연구소	화장실 추정 구덩이	2	negative
14	제주 외도 성지 요양원	AD1-4세기	제주고고학연구소	수혈유구	1	negative
15	제주도 서귀포 화순리 유적	2,000년 전 추정	제주고고학연구소	수혈유구	21	negative
16	장흥군 향양리 구월평마을	청동기 시대	대한문화재연구소	함정유구, 토광묘	35	negative
17	장흥군 향양리 구월평마을	조선 & 청동기	전남문화재연구소	회곽묘, 토광묘, 저습지	21	저습지에서 편충 2개, 회충 2개 나옴
18	전라남도 곡성군 신리	철기시대 추정	영해문화유산연구소	수혈유구	28	negative
19	제주도 제주시 애월읍 금성리	14-16세기	제주고고학연구소	공동묘지	18	negative

IP : 14.49.138.138, 2017-11-03 09:14:47

	지역	시기	발굴기관	성격	샘플수	결과
20	제주도 서귀포시 화순리, 다른 유적지	2000년 전 추정	제주고고학연구소	배수로, 용도불명 유구	21	negative
21	전남 장흥군 향양리	고려, 조선	전남문화재연구소	배수로, 민묘, 회곽묘	49	negative
22	순창 무수	4-5세기 (백제)	전북문화재연구소	주거지	1	negative
계	총 22곳에서 샘플 채취				593	한군데서만 양성

● 전라도와 제주도에 22곳의 유적지를 조사했고, 전남 장흥군 향앙리처럼 발굴의 진척도에 따라 여러 차례 방문한 지역도 있다. 시기별로 보면 청동기시대가 9곳, 원삼국~삼국시대가 5곳, 고려시대 6곳, 조선시대 3곳이었다.
● 유적의 성격은 무덤, 주거지, 밭, 농경지 등으로 다양했으며, 함정으로 쓰였던 유구도 포함되었다.

2) 샘플채취

● 샘플 채취는 혹시 있을지 모르는 기생충란과 기생충의 DNA를 찾고자 하는 목적으로 이루어졌다.
● 샘플 채취시 contamination을 최대한 방지하기 위해 멸균된 방호장구와 멸균된 1회용 수습도구를 사용하는 한편, 시료에 접촉한 인원을 최소하기 위하여 작업자 이외의 인원에 대하여는 샘플 채취를 마칠 때까지 출입을 제한했다.
● 샘플채취시 화장실로 추정되는 유구에서는 집중적으로 샘플을 채취하였다. 현미경 검경시에도 다른 유구에서 채취한 샘플은 샘플당 약 50회 가량을 검경한 반면, 화장실 추정 유구는 DNA 채취용으로 남겨둔 샘플을 제외하곤 거의 모든 샘플을 검경해 기생충란 유무를 판정하였다.
● 샘플채취 방법은 벨기에의 Namur 유적의 샘플채취 (da Rocha et al., 2006)에 사용되었으며 경주 월성군 해자의 샘플채취(Shin et al., 2009)에도 사용된 방법을 이용하였다. 즉 그 당시의 토양층을 찾아 거기에 50 ml 튜브를 꽂은 다음 튜브를 빼냄으로써 토양샘플을 채취했는데, 화장실로 추정된 유구에서는 손삽으로 땅을 파서 담는 방법도 병행함으로써 보다 많은 샘플을 얻기 위해 노력했다.
● 대조군으로 사용할 흙은 고분에서 반경 1미터 이내의 위치에서 표토 5센티 정도를 긁어내어 사용했다.
● 아래는 샘플을 채취한 유적의 모습이다.

IP : 14.49.138.138, 2017-11-03 09:14:47

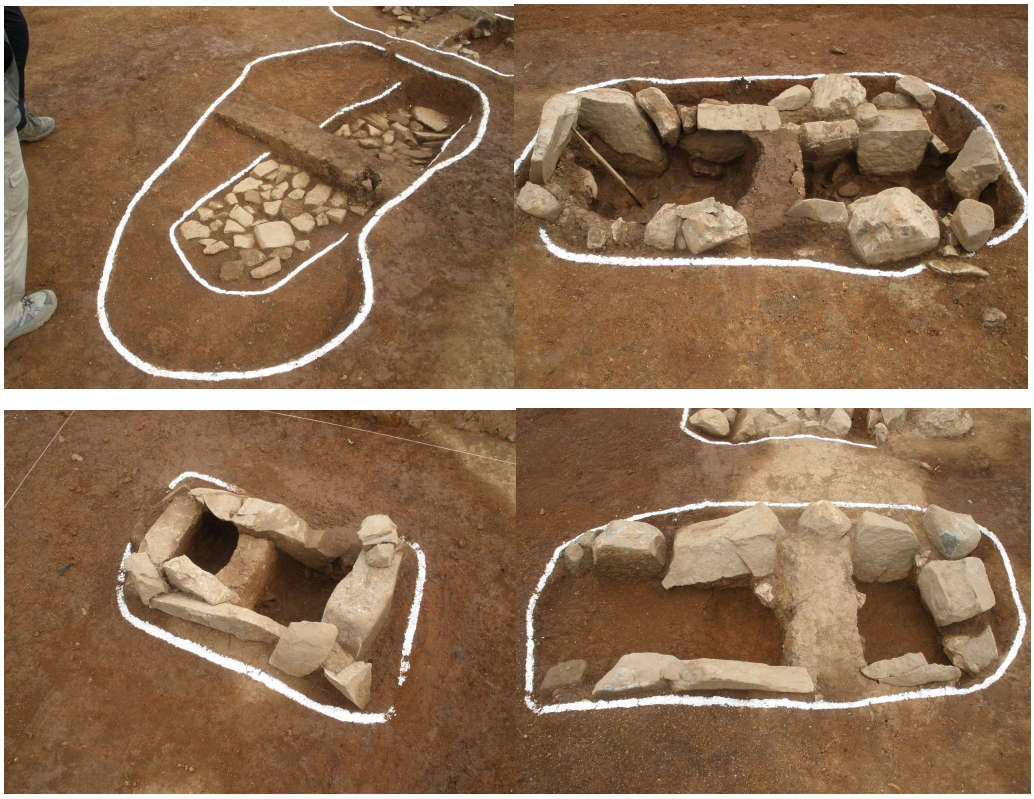


그림 14. 여수 웅천동 송현마을 유적. 청동기시대



IP : 14.49.138.138, 2017-11-03 09:14:47

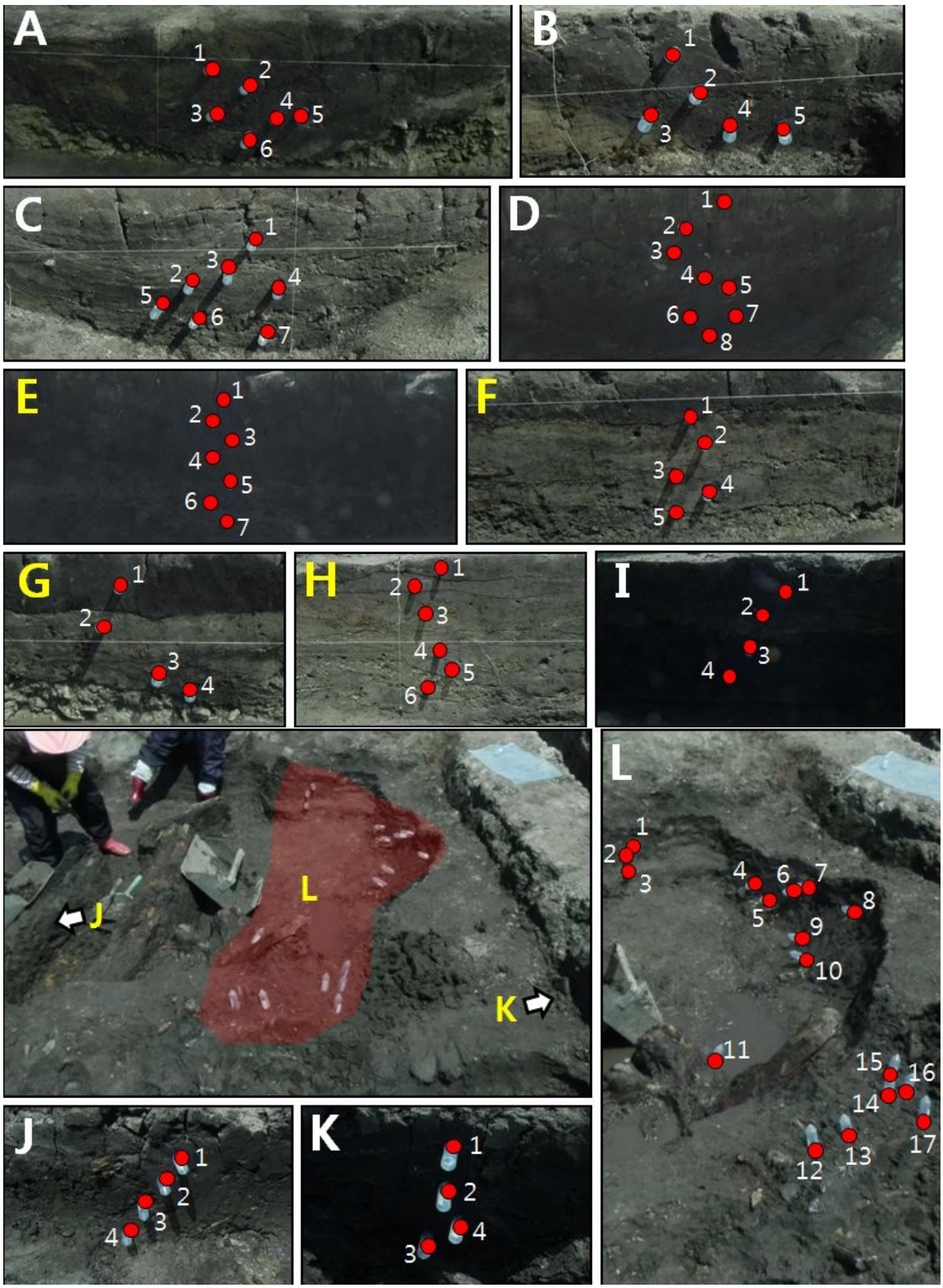


그림 15. 담양 월산면 화방리. 청동기~삼국시대

IP : 14.49.138.138, 2017-11-03 09:14:47



그림 16. 광주 남구 송하동. 청동기시대

IP : 14.49.138.138, 2017-11-03 09:14:47

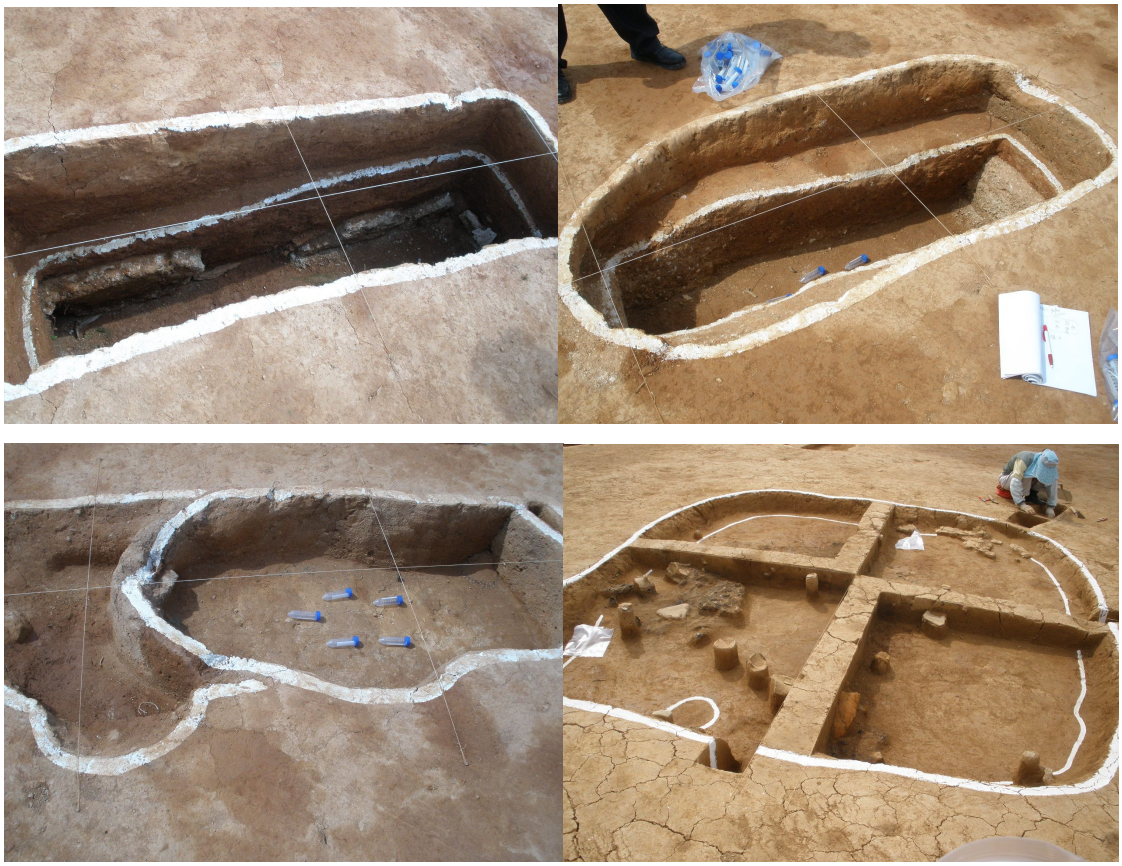


그림 17. 나주시 다시면 회진리. 고려시대.

IP : 14.49.138.138, 2017-11-03 09:14:47



그림 18. 전남 장흥군 향양면 구월평마을. 청동기시대



IP : 14.49.138.138, 2017-11-03 09:14:47



그림 19. 장흥군 장평면 장평삼거리 고속도로건설부지. 고려말.

IP : 14.49.138.138, 2017-11-03 09:14:47



그림 20. 순천시 해룡면 성산리. 4-5세기.

IP : 14.49.138.138, 2017-11-03 09:14:47



그림 21. 나주시 삼영동 택촌. 고려말~조선초.



그림 22. 제주시 용담2동. BC3세기~AD4세기

IP : 14.49.138.138, 2017-11-03 09:14:47



그림 23. 제주도 서귀포 화순리 유적. 2000년 전 추정.



그림 24. 장흥군 향양리 구월평마을. 청동기시대 함정유구.

IP : 14.49.138.138, 2017-11-03 09:14:47



그림 25. 장흥군 향양리 구월평마을. 조선시대 회곽묘 & 청동기시대 민묘 & 배수로



IP : 14.49.138.138, 2017-11-03 09:14:47



그림 26. 전남 곡성군 신리. 철기시대.



그림 27. 제주시 애월읍 금성리. 14-16세기 공동묘지.

IP : 14.49.138.138, 2017-11-03 09:14:47



그림 28. 전남 장흥군 향양리 구월평마을. 고려 & 조선시대.

IP : 14.49.138.138, 2017-11-03 09:14:47

● 그림 29는 이번 조사에서 샘플을 채취한 장소를 지도상에 표시한 것이다.

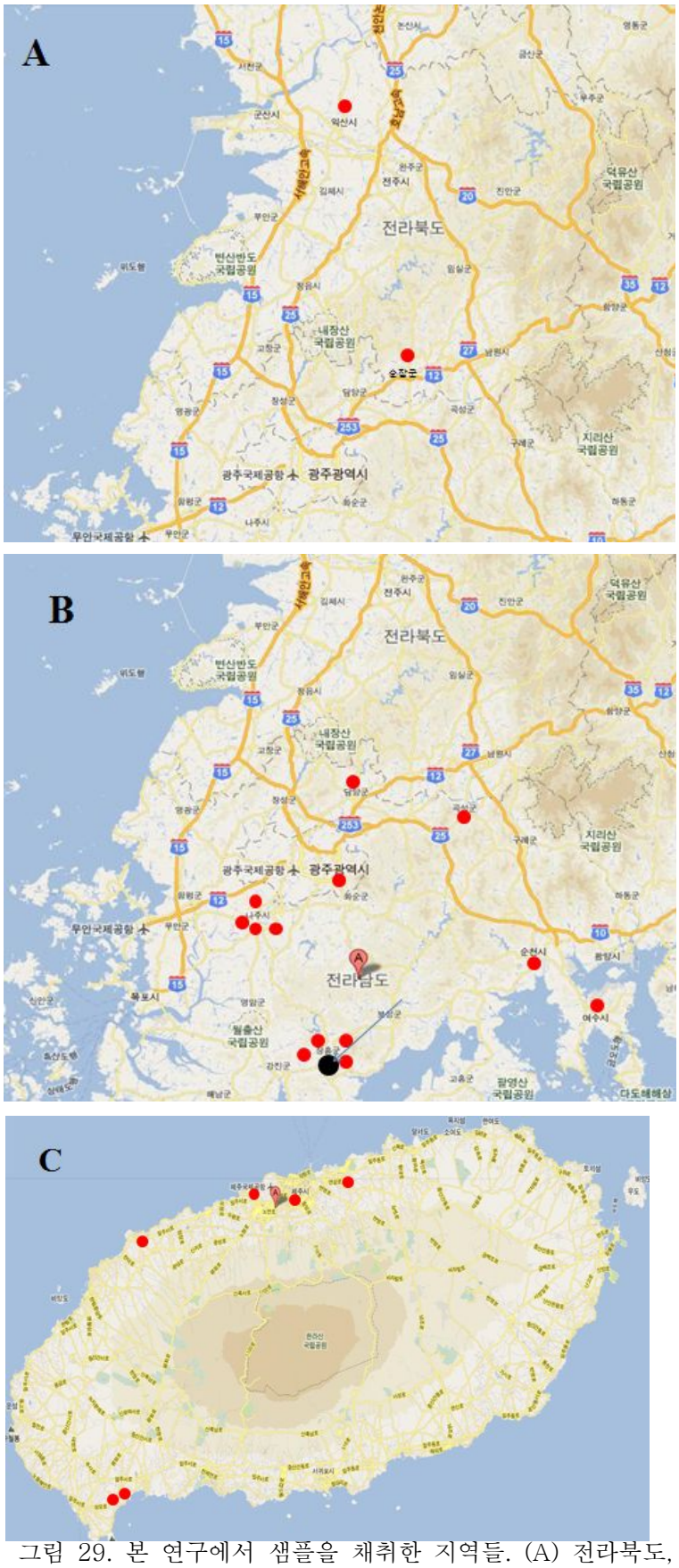


그림 29. 본 연구에서 샘플을 채취한 지역들. (A) 전라북도, (B) 전라남도, (C) 제주도. 화살표로 표시된 원은 기생충의 충란이 나온 지역임.

IP : 14.49.138.138, 2017-11-03 09:14:47

3) 고기생충 샘플의 rehydration 및 검경

-확보한 샘플은 완전 밀봉해 연구실로 운반한 뒤 Callen & Cameron (1960)의 방법으로 검경했다. 즉 샘플을 10g씩 50 ml 튜브에 넣고 0.5% trisodium phosphate solution으로 일주일간 rehydration시켰다.

-Rehydration된 흙을 여러 겹의 거즈로 거른 뒤 trisodium phosphate solution으로 세척했다.

-샘플을 하루 동안 침전시킨 뒤 상층액을 버리고 남은 흙은 20 ml trisodium phosphate solution에 녹인다.

-샘플 10 ㎕를 슬라이드글라스에 떨어뜨리고 커버글라스로 덮은 뒤 광학현미경으로 검경했다. 화장실로 의심되는 샘플은 전부 다 관찰했으며, 다른 샘플들도 최소 30개의 표본을 관찰해 양성/음성 여부를 판정했고, 충란이 나온 경우 개수를 기록했다.

제3장 총괄연구개발과제의 최종결과 및 고찰

◦ 총괄연구개발과제의 연구결과, 해석 및 다른 결과와의 비교분석 등에 대해 고찰하고 결론을 서술함

I. 기생충란 검경

● 총 22곳의 유적지 중 한 곳에서만 기생충의 충란이 발견되었다. 충란은 회충 2개, 편충 2개로 충란의 보존 상태는 그리 좋지 않았지만, 특징적인 형태와 크기로 인해 종 동정이 가능했다 (그림 30). 충란이 나온 곳은 전남 향양리 구월평마을 유적지의 배수로로 추정되는 6개의 토층 중 최상층의 것으로, 출토된 유물을 분석한 결과 조선 후기의 것으로 확인됐다. 본 유적은 농사를 지을 때 배수로로 쓰였던 곳으로 생각되며, 여기서 기생충란이 발견된 것으로 보아 농사를 지을 때 쓴 비료로 인해 기생충란에 오염된 것이 아닌가 추측된다.

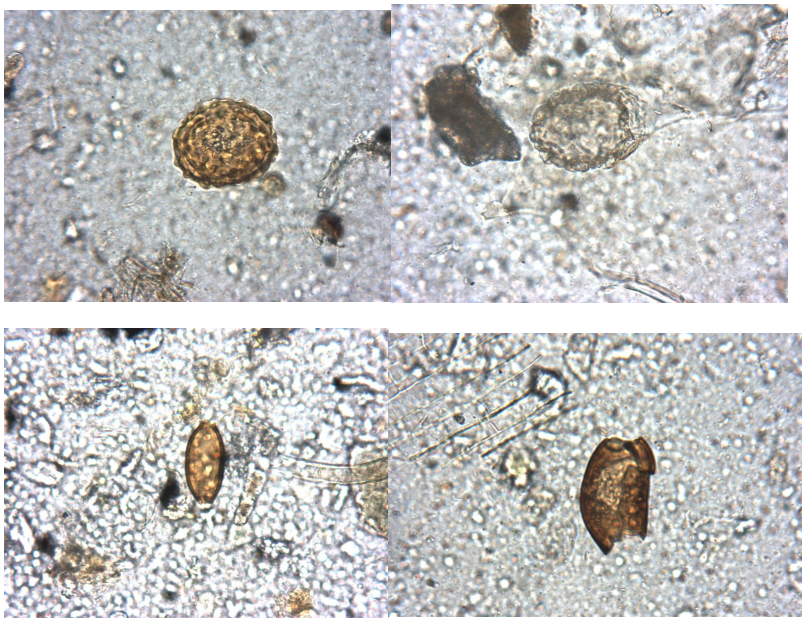


그림 30. 장흥 향양리 구월평마을의 배수로에서 발견된 회충란(위쪽)과 편충란.

IP : 14.49.138.138, 2017-11-03 09:14:47

● 이 충란이 발견된 이후 같은 유적지의 배수로에 가서 여러 곳의 샘플을 채취했지만, 기생충의 충란은 더 나오지 않았다. 그렇다 해도 이 충란의 발견은 이번 연구의 유일한 성과로, 이들이 오랜 기간 보존될 수 있었던 것은 배수로의 습한 환경 때문으로 추정되며, 향후 샘플채취를 할 때는 습한 곳 위주로 할 필요가 있다는 걸 시사해 준다.

● 제주도에서 발견된 14-16세기경의 인골 주위 샘플에서도 기생충란은 나오지 않았다. 이는 인골이 묻힌 땅이 모래가 많은 사토성으로, 충란 보존에 적합하지 않음이 입증됐다. 또한 고고학자에 의하면 제주도의 토양이 산성이라는 점이 사토성이 아닌 흙에서도 충란이 발견되지 않은 이유를 설명해 준다. 예를 들어 제주도 삼양초등학교 부지의 유구는 고고학자에 의하면 화장실이 유력했고, 본 연구팀의 판단에도 화장실일 가능성이 농후했다. 하지만 채취한 샘플을 거의 다 보는 식의 면밀한 조사를 했음에도 불구하고 충란이 발견되지 않았고, 회충과 편충, Taenia에 대해 PCR을 시행한 결과 양성 반응을 얻지 못했다. 물론 그 유구가 화장실이 아니었을 가능성도 높지만, 제주도의 토양 환경이 좋지 못했다는 점이 Taenia 등 제주도에서 유행했던 기생충란을 찾지 못한 이유 중 하나가 아닐까 싶다.

● 장흥군 장평면 장평삼거리의 고려 말 민묘 18구에서도 충란을 발견하는 데 실패했다. 당시의 기생충 감염률을 고려해보면 회곽묘와 달리 민묘는 기생충란의 보존에 그리 좋은 환경이 아님을 알 수 있었다. 이 결과로 보아 여수 웅천동의 지석묘에서도 기생충란이 발견되지 않았던 것도 당연하다 할 수 있겠다.

● 하지만 서울시청의 오래된 유적에서 기생충알이 다량 발견되었고, 기생충알을 발견한 토양층이 저습한 곳이 아니었다는 점을 고려하면 회곽묘처럼 외부와 차단된 곳이 아니어도 기생충란을 찾을 가능성은 있다. 아마도 과거의 한양은 인구가 20만에 달하는 큰 도시였고, 거리에 뿌려진 기생충알도 그만큼 많았던 게 이런 결과를 초래한 게 아닐까 싶다. 올해 발굴한 전라도와 제주도의 유적에는 인구밀집지역이 드물었다는 점이 기생충란을 발견하지 못한 한 가지 이유가 될 듯하다.

● 본 연구가 시작되기 전에도 전라도 지역의 유적 조사가 어려울 것임은 예상된 바 있다. 경기도와 강원도에서는 조선시대 미라가 완벽하게 보존된 채로 나온 바 있으며, 경상도에서는 하동 지방에서 두 번의 미라가 나온데다 월성군에서는 통일신라 시대의 토양에서 편충과 회충 등 기생충의 알이 다량 발견된 바 있다. 하지만 전라도에서는 익산 왕궁리와 광주 신창동 저습지에서만 기생충의 알이 발견되어 상대적으로 빈도가 적었다. 또한 이 지역에서 미라가 발굴된 적이 한 번도 없는 것 역시 전라도 지역 토양의 보존력이 낮다는 걸 보여준다. 회곽묘 자체도 드물지만, 장흥군의 사례에서 보듯 가끔씩 발견되는 회곽묘의 보존 상태도 그리 좋지 않았고, 본 연구에서 회곽묘의 바닥면을 샅샅이 조사했지만 기생충의 충란이 발견되지 않았다. 추후에는 전라도 지역의 경우 저습지 위주로 샘플을 채취하는 것이 그나마 기생충란 발견 확률을 높일 것으로 생각되며, 제주도에 대해서도 충란 발견 확률을 높이기 위한 고민이 있어야 할 것으로 보인다. 아울러 제주도와 전라도 지역에서 충란이 잘 보존되지 않는 이유에 대한 분석이 있어야 하며, 이는 문화재발굴기관과 협조해서 이루어져야 할 것이다.

● 올해의 성과가 그리 좋지 못했던 것은 발굴 자체가 줄어든 탓도 있다. 실제로 접촉을 했던 발굴기관 중 많은 수가 발굴에서 손을 뗀 상태였고, 전반기 샘플 채취에 도움을 줬던 동북아지석묘 연구

IP : 14.49.138.138, 2017-11-03 09:14:47

소나 마한문화연구원, 대한문화유산연구센터 등은 하반기에 아예 발굴작업을 하지 않고 있었다. 경상도와 강원도 지역의 고기생충 조사가 성공적으로 이루어지기 위해서는 2012년부터 발굴이 좀 더 활발하게 이루어져야 할 것이다.

● 본 연구에서 사용된 충란 검출법은 샘플의 일부만 검경을 하는 것으로, 부여군 구아리 유적처럼 충란이 많은 경우에는 별 문제가 안되지만, 충란 숫자가 적다면 발견되지 않을 확률이 있었다. 진도 보고회의 이후 심사위원들의 지적에 따라 화장실이나 묘자리 등 충란이 있을 확률이 높은 유구의 토양은 전 샘플을 다 보는 등의 노력을 했지만, 충란이 발견되지 않았다. 이상의 결과로 보아 다른 방법을 썼다 해도 충란을 발견했을 확률은 그리 높지 않아 보이지만, 추후 연구를 위해서는 충란 발견 확률을 높이기 위한 고민이 있어야 할 것으로 보인다. 특히 벨기에 지역의 고기생충 조사를 위해 사용되었던 mesh를 이번 연구에서 쓰지 못한 것은 아쉬운 부분이다. Mesh를 쓸 경우 일정 부분 충란이 소실되긴 하지만, 많은 샘플을 효율적으로 볼 수 있다는 점에서 추후 고기생충 연구를 위해 필요할 것으로 보인다.

II. 연쇄효소중합반응(PCR)

● 각각의 샘플에서 DNA를 뽑아 회충, 편충, 간흡충, 폐흡충, *Taenia* spp., 이질아메바, 람블편모충 등 7가지 primer에 대한 PCR을 수행하였지만 양성 반응을 얻지 못했다. 특히 담양군 월산면 화방리, 제주시 삼양초등학교, 장흥군 장평삼거리 샘플 등 충란 보존 가능성이 높은 지역에서 DNA를 추출해 PCR을 여러 번 시도했지만 양성 반응을 얻지 못했다.

● 이상의 결과로 보아 전라도와 제주도의 토양은 충란 뿐 아니라 DNA 보존에도 그다지 좋지 않은 환경임을 알 수 있었다. 하지만 원충류의 경우 PCR을 시행할 때 positive control을 같이 넣어서 PCR을 시행해야 하는데, 본 연구진이 갖고 있는 샘플이 없어서 부득이하게 양성 대조군이 없이 PCR이 시행되었다. 회충, 편충, 간흡충 등 기존에 PCR을 성공한 샘플이야 문제가 없겠지만, 원충류의 경우 양성이 나오지 않은 게 PCR 자체의 문제일 수도 있어, 꼭 DNA 보존의 문제로만 해석될 수 없다. 따라서 추후에라도 양성 대조군을 넣고 PCR을 시행하는 과정이 필요할 것으로 보인다.

● 원충의 경우 포낭이나 DNA가 보존되어 있을 확률이 희박하므로 immunoassay를 통한 분석이 더 널리 사용된다. 즉 이질아메바 등의 포낭에 있던 glycoprotein을 면역학적 방법으로 검출함으로써 원충류의 존재 유무를 판별하는데, 추후 연구에서는 PCR과 더불어 면역학적 방법도 시도되어야 할 것으로 보인다.

● 본 연구의 대상지역은 아니지만 부산 가덕도에서 발견된 8천년 전으로 추정되는 신석기유적에서 인골 26구가 발견된 바 있는데, 그 중 12개의 인골에서 골반 부위의 샘플을 채취해 이에 대한 분석을 시도했다. 샘플을 rehydration한 뒤 현미경으로 검경한 결과 충란을 발견할 수 없었지만, 이 샘플에서 DNA를 뽑아 회충과 편충에 대해 PCR을 시행한 결과 12개의 샘플 중 한 곳에서 편충란에 양성이 나왔다. 시료의 양이 많지 않아 sequencing에 성공하지 못했지만, 이 작업이 성공적으로 수행된다면 우리나라에서 가장 오래된 윤충란을 발견하게 되는 것이며, 충란 개수가 적을 때 screening 방법으로 PCR의 가치가 고기생충학 샘플에서도 증명되는 의미가 있다.

IP : 14.49.138.138, 2017-11-03 09:14:47



그림 31. 가덕도 신석기유적 발굴현장. PCR에서 편충란에 양성반응이 나온 샘플은 인골 10번으로, 아래쪽 사진 두 개다.

● 이 과정에서 사용한 회충과 편충의 primer는 다음과 같다.

회충 (*Ascaris lumbricoides*)	
Primers for *Ascaris lumbricodes* 18s subunit ribosomal RNA gene (Accession number U94366.1; GI 2772623)	
ASC67 (123bp)	Asc6: CGA ACG GCT CAT TAC AAC AG
	Asc7: TCT AAT AGA TGC GCT CGT C
ASC89 (99bp)	Asc8: ATA CAT GCA CCA AAG CTC CG
	Asc9: GCT ATA GTT ATT CAG AGT CAC C
ASC1011 (147bp)	Asc10: CCA TGC ATG TCT AAG TTC AA
	Asc11: CAR AAA WTC GGA GCT TTG GT
편충 (*Trichuris trichiura*)	
Primers for *Trichuris trichiura* small subunit DNA ribosomal RNA gene (Accession number DQ118536)	
T. trichiura (188bp)	Forward: GCT CGT AGT TGG ATT GCG GAT GT
	Reverse: TCC ATG CAC CAC GGT TCA AGC

● PCR 과정은 94℃ 7분에 이어 94℃ 45초, 56℃ 45초, 72℃ 45초를 45 cycle 반복한 뒤 72℃에서 7분간 반응시켰다. PCR 결과는 그림 32와 같다.

IP : 14.49.138.138, 2017-11-03 09:14:47



그림 32. 가덕도에서 발견된 인골 주위 토양에 대한 PCR 반응. 인골 10번에서 채취한 샘플에서 편충에 양성 반응이 나왔다.

III. 새로운 충란의 발견

● 1차년도 연구대상이었던 충청도 지역에서 얻은 샘플을 재검경해 새로운 충란이 있는지 여부를 알아보았다. 2010년 충남 당진에서 발견된 17세기 회곽묘의 미라 조직을 모두 검경한 결과 그간 우리나라의 고고학적 샘플에서 한번도 발견되지 않았던 요충 (Enterobius vermicularis)의 충란이 발견되었다. 위에서 말한 것처럼 요충은 그 껍질이 단단하지 않아 미국이나 칠레, 아르헨티나 등 신대륙을 제외하면 잘 발견되지 않고, 로마 시대의 latrine과 이집트의 미라에서 발견된 게 전부였다. 그런 면에서 이번 우리나라 샘플에서 요충란을 발견한 건 의미가 있다. 미라의 장조직을 검경한 결과 폐흡충란 2개, 회충란 8개와 더불어 요충란 3개가 발견되었다. 요충란의 크기는 50.3 ㎛ x 28.2 ㎛였다. 그림 24-25은 요충이 발견된 미라와 거기서 나온 요충란의 모습이다.

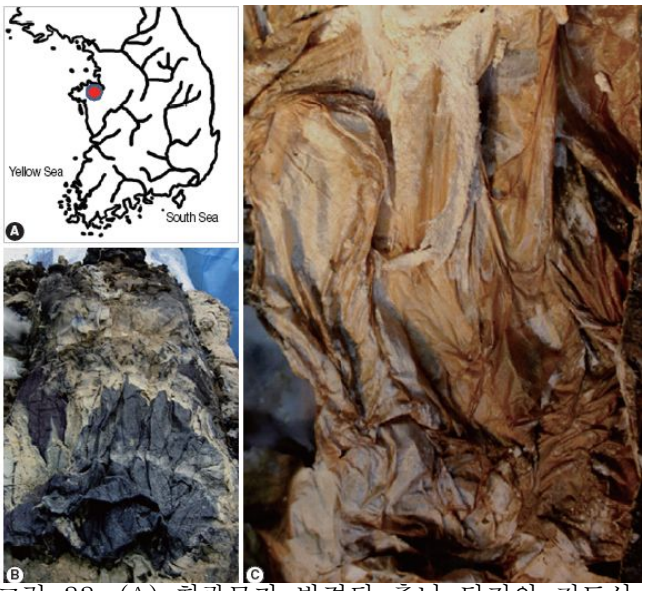


그림 33. (A) 회곽묘가 발견된 충남 당진의 지도상 위치. (B) 회곽묘에서 발견된 미라의 모습. 여성 미라였고, 1630년에 제작된 것으로 확인됐다. (C) 미라에서 얻은 장조직.

IP : 14.49.138.138, 2017-11-03 09:14:47

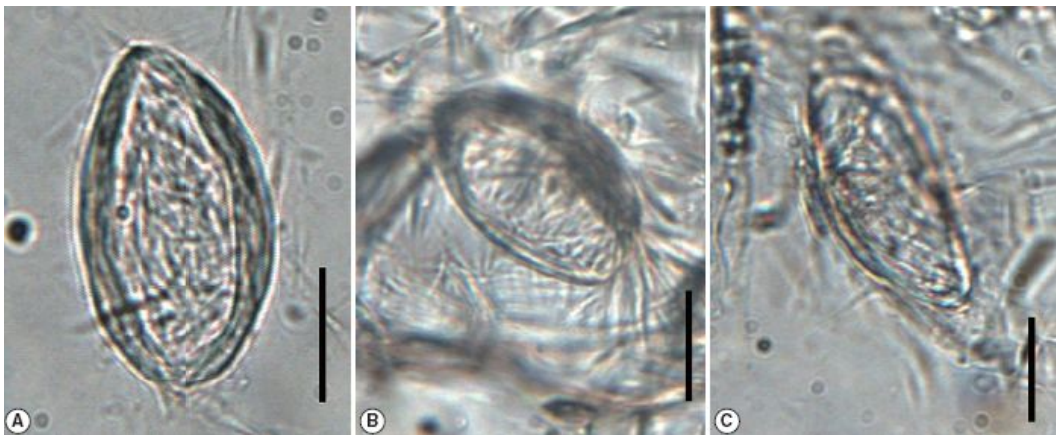


그림 34. 미라에서 발견된 요충란의 모습. Bar = 20 ㎛.

- 본 결과는 2011년 Korean Journal of Parasitology 49호에 게재됐으며, 그 증빙서류는 총괄첨부서류에 첨부했다.
- 이밖에 충남 당진에서 발견된 16세기 남성 미라의 분변에서 편충, 요코가와흡충, 간흡충 이외에 참굴큰입흡충의 충란을 새롭게 발견했다. 참굴큰입흡충은 크기 19.9 ㎛ x 12.1 ㎛로 현재 발견되는 참굴큰입흡충의 범주에 들었으며, 타원형에 egg shell이 얇은 특징적인 모습을 갖고 있었다.
- 참굴큰입흡충은 전남 신안군을 중심으로 유행지가 형성되어 있을 뿐 다른 지역에서는 잘 발견되지 않는데, 2008년 경남 하동에서 발견된 17세기 여성 미라에서 다량의 참굴큰입흡충이 발견된 바 있다. 이는 과거에 참굴큰입흡충의 유행지가 지금보다 넓었다는 추측을 하게 해주는데, 한 건만 가지고 이런 주장을 하기엔 근거가 부족했고, 그 당시 살았던 여성이 우연히 신안에 여행을 왔던 결과일 수도 있었다. 하지만 이번에 충남 당진의 미라에서 참굴큰입흡충이 발견됨으로써 400년 전에는 이 흡충의 유행지가 보다 넓었지만 그 이후 환경의 변화로 인해 유행지가 신안군 일대로 축소된 거라는 주장에 힘이 실리게 됐다. 본 연구결과는 Journal of Parasitology에 투고됐으며, 현재 revision 중이다. 그림 26은 이번 미라에서 발견된 충란들이다.



그림 35. 충남 당진의 미라에서 발견된 기생충란들. (A) 간흡충, (B) 요코가와흡충, (C) 편충, (D) 참굴큰입흡충과 편충, (E & F) 참굴큰입흡충. Bar = 10 ㎛.

IP : 14.49.138.138, 2017-11-03 09:14:47

IV. 종합 및 논의

● 전라도와 제주도에서 593개의 샘플을 채취한 결과 전라남도 장흥군의 조선시대 유적에서만 회충과 편충란이 각각 2개씩 검출되었다. 이는 광주 신창동과 익산 왕궁리에 이은 전라도 지역에서 충란이 발견된 세 번째 유적으로 의미가 있다.

● 그렇긴 하지만 딱 한 곳에서만 충란이 발견됨으로써 '한반도 고기생충 지도'를 만든다는 당초의 취지를 살리지 못했다. 이 지역에서 기생충란이 잘 나오지 않은 이유는 환경상의 문제로 인해 충란이 잘 보존되지 못한 게 가장 클 것으로 생각되며, 이를 위해 이 지역의 토양과 습도, 당시 인구 등 여러 가지 분석이 필요할 것으로 생각된다.

● 고기생충 샘플의 검경시 치밀한 문헌조사를 통해 보다 효율적인 방법의 정립이 필요했지만, 너무 기존 방법에만 매달린 것도 기생충란 발견을 잘 하지 못한 이유로 추측된다. 이번 기회에 mesh 등을 이용한, 기생충의 발견 확률을 높일 수 있는 새로운 처리방법을 확립하는 게 급선무이다.

● 본 연구에서 애초 목표로 삼았던 원충류의 발견에 실패했다. 원충류는 포낭의 벽이 워낙 얇아 충란보다 훨씬 발견하기 어려우므로 좀 다른 차원의 접근이 필요할 것으로 보인다. PCR 등이 일반적으로 생각할 수 있는 방법이지만, 해외의 유적에서 원충류가 발견된 경우는 현미경 검경에서 포낭을 관찰한 1례를 제외하면 대부분 면역학적 방법을 통한 진단이었다. 따라서 너무 PCR에만 매달리기보다는 원충류의 glycoprotein을 인지할 수 있는 면역학적 방법의 개발이 필요할 것으로 보이며, 이를 위해 전라도와 제주도의 샘플보다는 보존 환경이 더 좋았던 1차년도 (2010년) 샘플들을 대상으로 시행하는 것이 바람직할 것으로 보인다.

● 본 연구를 통해 그간 발견되지 않았던 요충의 충란을 발견할 수 있었다. 그간의 연구를 통해 우리나라에 유행했던 윤충류 대부분이 발견된 바 있지만, 요충과 구충은 아직 한번도 발견된 적이 없었다. 추후 구충을 발견하기 위한 노력이 필요하며, 구충의 벽이 워낙 얇다는 걸 감안할 때 PCR을 통한 진단도 필요할 것으로 보인다.

본 연구 결과 기존의 '한반도 고기생충지도-조선시대 이후'에 전라남도 장흥의 회충, 편충이 추가되고, 충남 당진에 요충 등이 추가되었으며, 그 결과는 그림 36과 같다.

IP : 14.49.138.138, 2017-11-03 09:14:47

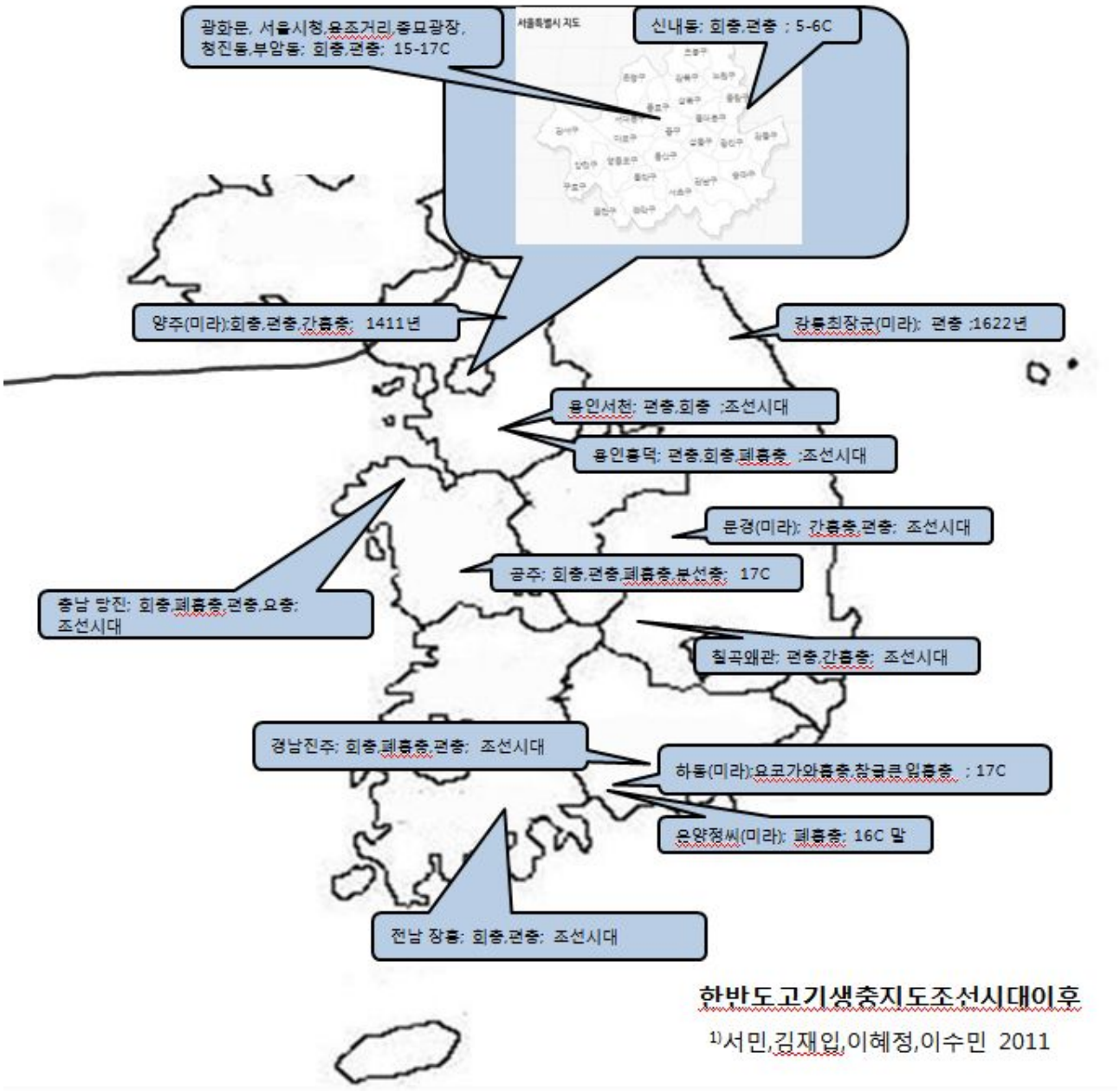


그림 36. 2011년 한반도 고기생충 지도-조선시대 이후

IP : 14.49.138.138, 2017-11-03 09:14:47

제4장 총괄연구개발과제의 연구성과

4.1 총괄활용성과

총괄과제명	전라도, 제주도 유적의 고기생충 지도작성
총괄과제책임자	서민 /단국의대/기생충학

(가) 정책활용

-전라도와 제주도 지역의 오래된 화장실을 찾는 데 성공하지 못했지만, 고고학자들과의 긴밀한 협조하에 연구가 지속된다면 이들 지역에서 어떤 형태의 유구가 화장실로 쓰였는지 파악할 수 있을 것이다.
-이번 연구에서도 전라도 지역의 저습지에서 충란이 발견됨에 따라 앞으로의 연구는 저습지를 중심으로 이루어져야 할 것으로 보인다.
-고기생충학 연구에서는 현미경적 검경으로 전 샘플을 다 관찰하는 것이 아직은 PCR보다 검출률이 높은 방법임이 입증됐다. 고고학적 샘플에 적용될 보다 민감한 PCR 방법의 고안이 차후 과제가 될 것으로 보인다.

(나) 언론홍보 및 대국민교육

-전라도 장흥군의 배수로에서 회충란과 편충란이 발견되었다. 이 지역의 정확한 연대가 파악되고 유구의 용도가 농업생산과 관련된 것으로 밝혀진다면 당시의 생활상을 알 수 있는 좋은 자료가 될 것이다.
-부산 가덕도의 신석기유적은 지금부터 8천년 전의 것으로, 여기서 발견된 편충란의 염기서열분석이 성공적으로 이루어진다면 우리나라에서 발견된 가장 오래된 기생충란으로 그 의미를 획득하게 될 것으로 보인다.
-이번 연구에서 발견된 요충란은 신대륙 이외의 지역으로는 세 번째 발견으로 그 의미가 크다.

(다) 연구논문

번호	논문제목	저자명	저널명	ISBN 또는 ISSN	집(권)	페이지	Impact factor	국내/국외	SCI급/KCI급/비KCI급
1	*Enterobius vermicularis* eggs discovered in coprolites from a Medieval Korean mummy	Shin DH, Oh CS, Chai JY, Lee HJ, Seo M	Korean J Parasitology	0023-4001	49(3)	323-326	0.8	국내	SCIE
2	Sixteenth-century *Gymnophalloides seoi* infectiuon identified on coast of Korean peninsula	Shin DH, Oh CS, Chai JY, Ji MJ, Lee HJ, Seo M	Journal of Parasitology	0022-3395			1.2	국외	SCI

IP : 14.49.138.138, 2017-11-03 09:14:47

(라) 학술발표

번호	발표제목	발표자	학회명	발표지	연월일	발표형태	국내/국제
1	부여군 구아리에서 백제시대 화장실 추정 유구의 발견	이혜정, 서민, 신동훈	대한기생충학회		10/27-28/2011	포스터	국내
2	서울시의 오래된 유적에서 광절열두조충 충란의 발견	이혜정, 서민, 신동훈	대한기생충학회		10/27-28/2011	포스터	국내

(마) 지식재산권

번호	출원/등록	특허명	출원(등록)인	출원(등록)국	IPC분류

(바) 타연구/차기연구에 활용

-본 연구결과 미흡하지만 한반도 고기생충지도의 전라도 지역을 표시할 수 있게 됐다.
-본 연구에서 얻은 샘플에 대해 추후 연구를 계속함으로써 의미있는 결과를 얻을 가능성도 배제할 수 없다.
-본 연구에서 얻은 노하우를 이용해 어떤 환경에서 충란이 잘 보존되는지를 파악할 수 있게 됐다.
-고기생충학 샘플에 대한 PCR 방법의 기초적 지견을 마련할 수 있게 됐다.

(사) 기타

-본 연구에서 얻은 성과는 고고학회나 고병리학회에서 발표됨으로써 고고학과 기생충학 연구의 지속적인 협동연구를 가능하게 할 것이다.
-이 연구를 바탕으로 해외의 고고학적 유적 조사를 수행할 경우 의미있는 결과가 나올 수 있을 것이다.

4.2 총괄활용계획

● 본 연구에서 축적된 연구자료는 향후 고고학 연구의 시야를 넓히는 데 큰 도움이 될 것이며, 특히 화장실 관련 유구를 찾는 데 도움이 될 수 있을 것이다.

● 본 연구를 통해 얻은 인적 네트워크는 추후에도 기생충학과 고고학이 연계해 연구할 수 있는 기회를 제공할 것이다.

● 본 연구에서 얻은 자료들은 추후에 이어질 연구와 더불어 과거 우리나라에서 유행한 기생충을 파악하는 데 기초적 지견을 제공할 것이다.

제5장 총괄주요연구 변경사항

◦「용역연구개발과제계획서」와 비교하여 변경된 내용을 명시

IP : 14.49.138.138, 2017-11-03 09:14:47

제6장 총괄참고문헌

◦ 단독과제인 경우에만 작성

1. Cockburn A (1967) Infectious diseases: Their Evolution and Eradication, Thomas, Springfield.

2. Bruschi F, Masetti M, Locci MT, Ciranni R, Fornaciari G (2006) Short report: cysticercosis in an Egyptian mummy of the late Ptolemaic period. Am J Trop Med Hyg 74: 598-9.

3. Tapp E, Wildsmith K (1992) Apud Sandinson AT, Tapp E (1998) Disease in ancient Egypt. In A Cockburn, E Cockburn, TA Reyman (eds), *Mummies, Disease & Ancient Cultures*, 2nd ed., Cambridge University, Cambridge, p. 38-58.

4. Pike AW (1968) Recovery of helmith eggs from archaeological excavations, and their possible usefulness in providing evidence for the purpose of an occupation. Nature 219: 303-304.

5. Warnock PJ, Reinhard KJ. Methods for extracting pollen and parasite eggs from latrine soils. J Archaeol Sci 1992; 19: 261-264.

6. Fugassa MH, Araujo A, Guichon RA. Quantitative paleoparasitology applied to archaeological sediments. Mem Inst Oswaldo Cruz 2006; 101: 29-33.

7. Rocha GC, Harter-Lailheugue S, Bailly M, Araujo A, Ferreira LF, Serra-Freire NM, Bouchet F. Paleoparasitological remains revealed by seven historic contexts from 'Place d'Armes', Namur, Belgium. Mem Inst Oswaldo Cruz, 2006; 101: 43-52.

8. Callen EO, Cameron TNM. A prehistoric diet revealed in coprolites. New Sci 1960; 8: 35-40.

IP : 14.49.138.138, 2017-11-03 09:14:47

9. Goncalves MLC, Araujo A, Ferreira LF. Human intestinal parasites in the past: new findings and a review. Mem Inst Oswaldo Cruz 2003; 98: 103-118.

10. Goncalves MLC, Araujo A, Duarte R, Silva JP, Reinhard K, Bouchet F, Ferreira LF. Detection of Giardia duodenalis antigen in coprolites using a commercially available enzyme immunoassay. Trans R Soc Trop Med Hyg.

11. Fernandes A, Iniguez AM, Lima VS, et al. Pre-columbian Chagas disease in Brazil: Trypanosoma cruzi I in the archaeological remains of a human in Peruacu Valley, Minas Gerais, Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz 2008; 103: 514-516.

IP : 14.49.138.138, 2017-11-03 09:14:47

ISSN (Print) 0023-4001
ISSN (Online) 1738-0006

Korean J Parasitol Vol. 49, No. 3: 323-326, September 2011
http://dx.doi.org/10.3347/kjp.2011.49.3.323

■ BRIEF COMMUNICATION

Enterobius vermicularis Eggs Discovered in Coprolites from a Medieval Korean Mummy

Dong Hoon Shin[1,2], Chang Seok Oh[1,2], Jong-Yil Chai[3], Hye-Jung Lee[4] and Min Seo[4,*]

[1]Department of Anatomy, Seoul National University College of Medicine, Seoul 110-799, Korea; [2]Anthropology and Paleopathology Lab, Institute of Forensic Medicine, Seoul National University College of Medicine, Seoul 110-799, Korea; [3]Department of Parasitology and Tropical Medicine, Seoul National University College of Medicine, and Institute of Endemic Diseases, Seoul National University Medical Research Center, Seoul 110-799, Korea; [4]Department of Parasitology and Research Center for Mummy, College of Medicine, Dankook University, Cheonan 330-714, Korea

Abstract: While the presence of pinworm eggs in archaeological samples has been reported by many researchers in the New World, those have been detected very scarcely in the Old World, especially in East Asian countries. In fact, many parasite species were recovered from the archeological remains in Korea, eggs of *Enterobius vermicularis* had not been found. Recently, a female mummy buried in the 17th century was discovered in the Joseon tomb from Dangjin-gun, Chungcheongnam-do, Korea. After rehydration process for 12 days, investigations were carried on the luminal surface of the colon. From them, 3 eggs of *E. vermicularis* were recovered. They were elliptical, transparent with a thin egg shell, 50.3±5.2 μm (length) and 28.2±3.9 μm (width) in size. This is the first discovery of *E. vermicularis* eggs in East Asia.

Key words: *Enterobius vermicularis*, mummy, egg, 17th century

Paleoparasitologists in Korea have examined ancient human samples from archeological fields in Korea, studying parasite infections prevalent in the past. Parasite eggs or larvae remained in mummies of Joseon Dynasty (1392-1910 AD) or in soil sediments from archeological sites became invaluable resources for studying ancient parasites that had infected Korean population. We have reported various ancient parasite species, including *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiura*, *Metagonimus yokogawai*, *Clonorchis sinensis*, *Paragonimus westermani*, *Gymnophalloides seoi*, *Strongyloides stercoralis*, and *Trichostrongylus* spp. [1-3]. However, even though some parasite eggs (e.g. pinworms and hookworms) were known to be one of the most common parasite species infecting Korean population, we still did not observe them in ancient samples.

In particular, the pinworm, *Enterobius vermicularis*, is a helminth infecting nearly a billion people worldwide in all socioeconomic levels [4,5]. The parasite can be transmitted from host to host without stages in soil or intermediary hosts. In case of New World countries, the presence of pinworm eggs in archeological samples has been reported by many researchers. Briefly, *E. vermicularis* infection was proven among parasitological samples from ancient people in North America. The parasite eggs were found in a 10,000-year-old human coprolite from Utah, USA, one of the oldest human coprolites ever found and in the mummies' coprolites from several North American archaeological sites [6]. *E. vermicularis* infection was also identified in ancient Andean peoples. The pinworm eggs were observed in ancient coprolites from Chile, Peru, and Argentina [6].

However, interestingly enough, *E. vermicularis* has been detected very scarcely in the Old World [5,7]. Up to the present, there were only 2 reports of *E. vermicularis* eggs in Roman latrines [8] and in an Egyptian mummy [9]. Especially in case of East Asian countries, there were no reports on the presence of *E. vermicularis* in archeologically obtained samples. In this regard, the current case, a new Joseon mummy discovered in an archeological site of Korea, should be significant to concerned researchers in Korea. We found well-preserved *E. vermicularis* eggs, at this moment, showing the first-ever evidence for the preservation of ancient pinworm eggs in archeologically obtained samples from East Asian countries.

On August 2008, a female mummy was discovered in the Joseon tomb from Dangjin-gun, Chungcheongnam-do, Korea (Fig. 1A). Based on the tree-ring test, the tomb was confirmed to be constructed in 1630s AD [10]. After the mummy was mov-

* Received 5 July 2011, revised 4 August 2011, accepted 8 August 2011.
* Corresponding author (bbenji@naver.com)

© 2011, Korean Society for Parasitology
This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

IP : 14.49.138.138, 2017-11-03 09:14:47

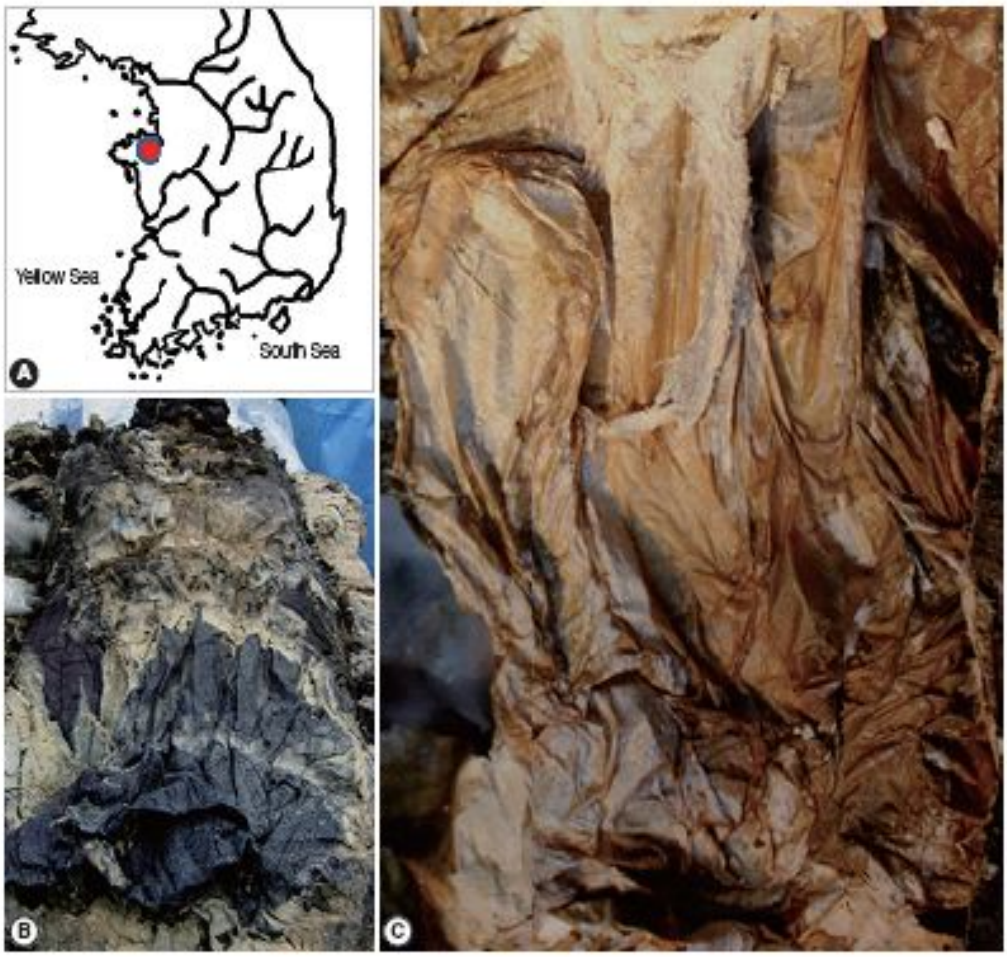


Fig. 1. (A) The location of Dangjin-gun (red dot), Chungcheongnam-do, Korea, where the female mummy was discovered. (B) The female mummy, presumably buried in 1630s AD. (C) The mummified intestines were dissected from the abdominal cavity.

ed to our laboratory, the researchers wearing sterilized gowns, gloves, head caps, and masks removed the clothes wrapped around the dead body (Fig. 1B). Anthropologists dissected the abdominal cavity in which mummified intestines were preserved very well (Fig. 1C). We collected parasitological samples from luminal surfaces of ascending, transverse, and descending colons.

Obtained samples were rehydrated in 0.5% trisodium phosphate solution for 12 days with occasional shaking [11]. They were then filtered through multiple-layered gauze, after which, were precipitated for a day. After the upper turbid layer was discarded, the precipitates were dissolved again in 0.5% trisodium phosphate solution. The solution was finally dropped onto slides for examination under a light microscope (BH-2, Olympus, Tokyo, Japan). The sizes of the parasite eggs were measured.

In the light microscopic observation, we observed 2 eggs of *Paragonimus westermani*, 8 of *Ascaris lumbricoides*, and 3 of *Enterobius vermicularis*. As for *E. vermicularis* eggs, the average size was 50.3±5.2 μm (length) by 28.2±3.9 μm (width). *E. vermicularis* eggs showed typical characteristics; small, elliptical, and transparent with a thin eggshell (Fig. 2). The average size of *A. lumbricoides* eggs was 66.0±5.7×50.9±6.8 μm, and those of *P. westermani* were 75.5±1.7×48.3±1.8 μm in the state of operculum-missing.

Besides the common paleoparasitological interest on whether specific species of parasites infected people buried in ancient tombs, studies on *E. vermicularis* have special meaning to concerned researchers. Briefly, it is considered that the human-*E. vermicularis* relationship started in pre-hominid times, having evolved in Africa, and then dispersed to other continents by prehistoric human migrations [6,12,13]. Interestingly enough, many paleoparasitologists believed that ancient pinworms crossed the Bering Land Bridge with its human host during

IP : 14.49.138.138, 2017-11-03 09:14:47

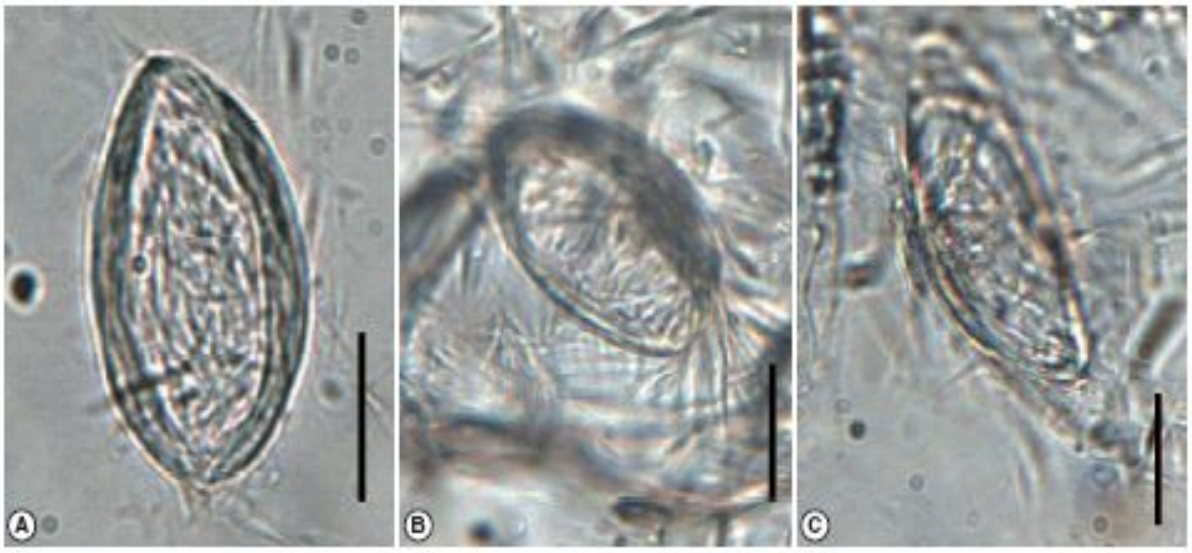


Fig. 2. Microscopic examination of 3 *Enterobius* eggs recovered from the mummy. Bar=20 μm.

their first migration to the Americas even if transpacific routes have also been postulated by some paleoparasitologists [6].

However, though there were many reports on the presence of *E. vermicularis* in the samples from archeological fields, observation of parasite eggs was very rarely reported from East Asian countries in spite of its endemicity. Of course, the preservation status varies in different species of parasite eggs. Relatively poorer preservation status of *E. vermicularis* eggs was well noted for archeologically obtained fecal remains [6,14]. However, considering that *E. vermicularis* infection reached very high prevalence as shown in some prehistoric coprolites containing ancient eggs [5,15], the absence of reports on the presence of *E. vermicularis* eggs from East Asian countries looks very strange.

For the past several years, though we have tried to locate the ancient *E. vermicularis* eggs in many samples from archeological fields, we could not find any. In this regard, the current report on the ancient *E. vermicularis* eggs from several-hundred-year old Joseon mummy could be a contribution to future studies over the issue. In addition, we showed the possibility that ancient *E. vermicularis* eggs could also be remained in the samples from archeological sites in East Asia for the first time. Though we are not sure why ancient *E. vermicularis* eggs in Old World countries were not preserved as perfectly as seen in New World counterparts, more detailed and cautious examinations on the archeological samples could provide invaluable information on the migration of ancient pinworms crossing the Bering Land Bridge with its human host.

ACKNOWLEDGEMENTS

This study was funded by the National Research Institute of Cultural Heritage, 2011, Korea (NRICH-1107-B10F-1).

REFERENCES

1. Seo M, Guk SM, Kim J, Chai JY, Bok GD, Park SS, Oh CS, Kim MJ, Yil YS, Shin MH, Kang IU, Shin DH. Paleoparasitological report on the stool from a Medieval child mummy in Yangju, Korea. J Parasitol 2007; 93: 589-592.
2. Seo M, Shin DH, Guk SM, Oh CS, Lee EJ, Shin MH, Kim MJ, Lee SD, Kim YS, Yi YS, Spigelman M, Chai JY. *Gymnophalloides seoi* eggs from the stool of a 17th century female mummy found in Hadong, Republic of Korea. J Parasitol 2008; 94: 467-472.
3. Shin DH, Chai JY, Park EA, Lee W, Lee H, Lee JS, Choi YM, Koh BJ, Park JB, Oh CS, Bok GD, Kim WL, Lee E, Lee EJ, Seo M. Finding ancient parasite larvae in a sample from a male living in late 17th century Korea. J Parasitol 2009; 95: 768-771.
4. Lukes J, Horák A, Scholz T. Helminth genome projects: All or nothing. Trends Parasitol 2005; 21: 265-266.
5. Iñiguez AM, Reinhard KJ, Araújo A, Ferreira LF, Vicente AC. *Enterobius vermicularis*: Ancient DNA from North and South American human coprolites. Mem Inst Oswaldo Cruz 2003; 98: 67-69.
6. Gonçalves ML, Araújo A, Ferreira LF. Human intestinal parasites in the past: New findings and a review. Mem Inst Oswaldo Cruz 2003; 98: 103-118.
7. Bouchet F, Guidon N, Dittmar K, Harter S, Ferreira LF, Chaves SM, Reinhard K, Araújo A. Parasite remains in archaeological sites. Mem Inst Oswaldo Cruz 2003; 98: 47-52.
8. Herrmann B. Parasitologisch-epidemiologische auswertungen mittelalterlicher kloaken. Z Archaol Mittelalters 1985; 13: 131-

IP : 14.49.138.138, 2017-11-03 09:14:47

161.
9. Horne PDJ. First evidence of enterobiasis in ancient Egypt. J Parasitol 2002; 88: 1019-1021.
10. Chungnam Institute of History and Culture, Dangjin Uduri Yujok (II). Gongju. 2010, p 553-562.
11. Van Cleave HJ, Ross JA. A method for reclaiming dried zoological specimens. Science 1947; 105: 318.
12. Hugot JP, Reinhard KJ, Gardner SL, Morand S. Human enterobiasis in evolution: Origin, specificity and transmission. Parasite 1999; 6: 201-208.
13. Iñiguez AM, Reinhard K, Carvalho Gonçalves ML, Ferreira LF, Araújo A, Paulo Vicente AC. SL1 RNA gene recovery from *Enterobius vermicularis* ancient DNA in pre-Columbian human coprolites. Int J Parasitol 2006; 36: 1419-1425.
14. Reinhard KJ, Hevly RH, Anderson GA. Helminth remains from prehistoric Indian coprolites on the Colorado Plateau. J Parasitol 1987; 73: 630-639.
15. Reinhard KJ. Mummy studies and archaeoparasitology. In Cockburn A, Cockburn E, Reyman TA, eds, Mummies, Disease and Ancient Cultures. Cambridge, UK: Cambridge University Press. 1998, pp 377-380.

IP : 14.49.138.138, 2017-11-03 09:14:47