

## 肝吸虫感染白鼠에 있어서의 沈降反應抗體出現의 推移

慶南 陝川郡 保健所

< 指導教授 : 洪 在 雄\* >

鄭 昌 生

—Abstract—

### Gel Precipitation Reaction in Rats experimentally infected with Clonorchis sinensis

Chang Sang Chung, M. D.

*Hapchon Gun Health Center*

In the diagnosis of parasitic helminthic diseases, the value of examining and identifying the parasitic eggs and/or adult parasites from patient's urine or stool are well appreciated. However, these methods have a limited value in the diagnosis of tissue or intracellular parasitism, and we have to rely on supplementary methods such as immuno-serological test. The author tested the value of gel precipitation reactions as a diagnostic method of clonorchiasis by observing the appearance of bands in rats experimentally infected with *Clonorchis sinensis*. And the therapeutic effect of CIBA 35'058-Ba was evaluated by this serological method.

The antigen was prepared from the adult worms infected in rabbits by Tsuji method. Rats infected with 40 metacercariae each were bled on 7, 14, 21, 26, 28, 39, 42(43), 49(53) days after infection to observe the appearance of precipitin bands by both Oucetrlony method and immunoelectrophoresis. Fifteen rats were separately infected and treated with CIBA 35'058-Ba in dose of 15mg/kg of body weight.

The following results were obtained:

1. It was observed that there exist individual variations in the appearance of the first precipitin band with the range of 2-4 weeks after infection.
2. The number of precipitin bands was increased until 6-7 weeks after infection. In all cases, 3 precipitin bands were appeared by Oucetrlony method and 6-7 bands were appeared by immunoelectrophoresis after 6-7 weeks of infection.
3. It was hardly possible to notice any change in the number of bands after the administration of CIBA 35'058-Ba. This result suggested that the drug has no effect on clonorchiasis which was confirmed by the autopsy of the experimental rats.

\* 서울대학교 보건대학원

## 緒 論

寄生蠕虫性疾患의 確定診斷은 患者의 糞便, 尿 혹은 組織에서 그 虫卵이나 虫體를 證明하는 것이 중요하다. 그러나 移行幼線虫症이나 組織內寄生虫症의 境遇는 그 診斷法만으로는 困難하거나 不可能한 경우가 많다. 이 러하 境遇에는 大部分 免疫血清學的인 手法이 利用되어 補助的 診斷法으로서 利用되고 있다.

今般 著者는 肝吸虫症의 免疫血清學的 診斷法의 하나로서 Gel內의 沈降反應을 利用할 것을 시도한바 基礎的 檢討로서 感染白鼠에 實驗的으로 「메타세카리아」를 投與하여 그 抗體價의 推移를 觀察하였으므로 그 成績을 報告하는 바이다. 또 더불어서 新藥 CIBA 35'058-Ba를 投與하여 그 效果判定法으로서 Gel內의 沈降反應을 實施하였으므로 그 成績에 對한 것도 같이 記述한다.

## 實驗材料 및 方法

實驗에 사용한 肝吸虫은 金海의 淡水魚에서 分離採集

한 「메타세카리아」를 實驗的으로 家兔에 經口感染시켜 2個月後에 그 家兔를 解剖하여 얻은 成虫이다. 그 肝吸虫 成虫은 辻(1974)의 方法에 따라 0.1% 食鹽水로 抽出하여 凍結乾燥한 것을 抗原으로 使用하였다.

感染 Rat는 體重 200g前後에 Wister系 Rat에 同一한 「메타세카리아」를 各各 40個씩 經口投與하고 感染後 7日, 14日, 21日, 26日, 28日, 39日, 42日(또는 43日), 49日(또는 53日) 및 63日만에 眼窩穿刺에 의하여 採血하여 分離한 血清을 抗體價 測定用으로 使用하였다.

이 Rat들을 5마리씩 3群으로 나누어 A群은 「메타세카리아」 感染後 21日째부터 5日間 B群은 「메타세카리아」 感染後 40日째부터 10日間 各各 CIBA 35'058-Ba를 每日 15mg/kg씩 投與하고 C群은 對照로 삼아 無處置로 觀察하였다.

Gel內沈降反應으로는 Qucterlony法 및 免疫電氣泳動法을 辻(1974)의 方法에 準하고 支持體로서는 全部 0.9% agarose를 使用하고 抗原은 0.1%食鹽水抽出 乾燥粉末을 20mg/0.1ml로 溶解한 것을 使用하고 Rat血清은 3倍로 농축한 것을 免疫電氣泳動時 使用하였다.

**Table 1.** Number of precipitin bands by Qucterlony Method in experimentally infected rats which were treated by CIBA 35'058-Ba

Group	Rat No.	1	2	3	No. of band									
					26days			39days		43days			53days	
					Tx始	Tx中(A)	Tx終(A)	Tx終13일(A)						
A	1	0	0	0			2	3						
	2	0	0	0			2	2						
	3	0	0	2			2	1						
	4	0	死											
	5	0	0	1			死							
B	1	0	0	1			2	Tx直前(B)		Tx中(B)		Tx(5)일(B)		
	2	0	0	0			1	3	3	3	3	3	3	
	3	0	0	0			2	2	3	2	3	3	3	
	4	0	0	0			1	3	3	3	3	3	3	
	5	0	0	1			2	3	2	2	3	3	4	
C	1						1	2		3			3	
	2													
	3						1		1	2			3	
	4						1		2	3			3	
	5						1		3	3			3	

\*No. of meta cercaria administrated 40 each

Tx: CIBA 35'058-Ba 15mg/kg

A, B group: Tx                      C group: Control

Table 2. Number of Precipitin bands by immunoelectrophoresis

Group	Rat No.	1	2	3	No. of band										
					26days	4	5	39days	6	43days	7	53days	9		
				Tx始	Tx中(A)	Tx終(A)	Tx後13일(A)								
A	1	0	0	0		4	5								
	2	0	0	0		1	3								
	3	0	0	2		3	5								
	4	0	死												
	5	0	0	1											
B	1	0	0	1		3	Tx直前(B)	Tx中(B)	Tx終(5일)(B)						
	2	0	0	0		3	4	4	7	6					
	3	0	0	0		2	5	5	6	7					
	4	0	0	0		2	5	4	7	6					
	5	0	0	1		3	7	7	8	7					
C	1	0	0	0		4					7				7
	2	0	0	死											
	3	0	0	1		3		6		7					6
	4	0	0	3		3		4		5					5
	5	0	1	1		4		6		7					6

Tx: CIBA 35'058-Ba 15mg/kg  
 A, B, group: Tx C group: control

實驗成績

實驗成績은 別表 1, 2 및 圖 1와 같다. 卽 Qucterlony 로서는 빠른것은 14日째 血清부터 1개의 沈降帶가 出現 하기 始作하여 시간이 經過할수록 沈降帶數가 增加하는 경향을 제시했고, 剖檢時의 63日째는 모두 3~4個의 沈降帶가 나타난 것을 볼 수 있었다. 免疫電氣泳動法에서도 同一하게 빠른 것은 14日째 血清부터 1개의 沈降帶가 證明되어 63日째에는 어느 것에나 5~7個의 沈降帶가 認定되었다.

CIBA 35'058-Ba 投與에 있어서는 感染後 21日부터 5日間 投與한 A群도 感染後 40日부터 10日間 投與한 B群도 그 沈降帶數의 增加傾向은 圖 1에 보는 것과 같이 對照群과의 사이에 有意差는 볼 수 없으며 本劑가 肝吸虫 感染經過中 治癒되었을 때 나타나는 抗體價의 減少를 發見할 수 없었다.

또한 剖檢後의 虫體回收數도 A群 B群 對照群과의 사이에 差는 認定되지 않았다.

考 察

寄生蠕虫類의 Gel內 沈降反應에 관한 研究는 「만손」

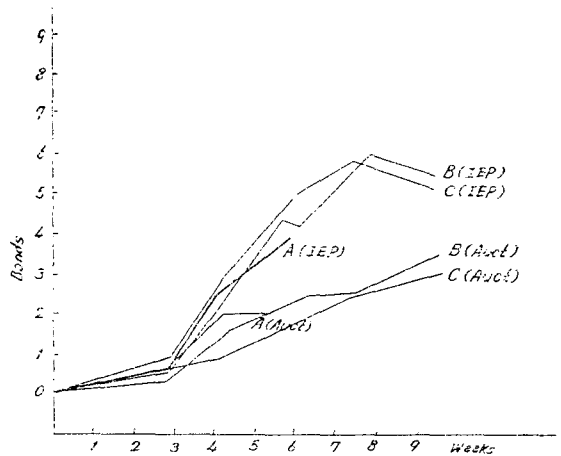


Fig 1. Number of precipitin bands by Immunoelectrophoresis and Qucterlony method \*A, B, group: Tx A for 5 days, B for 10 days C group: control Tx by using CIBA 35'058-BA 15mg/kg

住血吸虫에 관한 Bignet(1964)의 報告를 始初로하여 최근 눈부신 發展을 보고 있다.

특히 免疫電氣泳動法을 使用하여 Specific band의 證明은 形態學的 診斷이 困難할 때의 寄生虫 感染症의 診

斷에 附隨的으로 큰 意義를 가지는 것으로 알려져 있다. 이 Specific band는 Bignet<sup>19)</sup>, Capron<sup>19)</sup>, Kagan<sup>19)</sup> 辻<sup>19)</sup> 등에 의해서 이미 日本住血吸虫, 「만손」住血吸虫 「빌할즈」住血吸虫 肺吸虫, 宮崎肺吸虫 佐渡肺吸虫, 肝蛭, 包虫 人蛔虫 豚蛔虫 犬蛔虫 「아니사키스」, 廣東住血線虫 등에 認定되어 있다.

肝吸虫에 關해서는 感作血清을 使用하여 他種寄生虫 抗原과의 交叉反應成績을 李(1977) 등이 報告한 것이 있으며 아직은 그 Specific band를 인정하는데까지는 도달치 못하였다. 李<sup>19)</sup>는 同時에 肝吸虫患者血清 數例에 對해서도 免疫電氣泳動法을 試驗하고 全例에 沈降帶를 認定하고 本法이 肝吸虫症의 診斷法으로서 가치가 있다는 것을 示唆하는 成績을 얻고 있다.

그러나 주로 담낭, 담관에 寄生하는 肝吸虫일때 그 抗體가 極히 낮은 일도 있고 現在 日本에 있어서의 症例와 같이 輕感染일때는 그 沈降帶가 認定되지 않을때도 있다.

이와같이 感染되었으면서도 沈降帶가 나타나지 않는 것은 肝吸虫의 感染數 感染時期, 檢査를 爲해서 採血하는 時期等의 問題를 생각할 수 있다.

이번에 著者は 白鼠를 使用하여 實驗的으로 肝吸虫을 感染시켜 그 沈降帶의 出現時期 및 抗體價의 推移에 關한 檢討를 하였다.

그 結果는 實驗成績에서 설명한 바와 같다. Qucterlony에서는 빠른 경우 感染 2週後에 1개의 沈降帶를 발견했고 늦은 경우라도 感染 4週後는 1~2개의 沈降帶를 認定할 수 있었다. 電氣泳動法에서도 빠른 경우 感染 2週에 1개, 늦은 경우 感染 4週後엔 1~4개의 沈降帶를 발견할 수 있었다.

이와같이 實驗的으로 同數의 「메타세카리아」를 感染시켜도 沈降帶出現의 時期는 個體에 따라 差를 볼 수 있다. 이런 것은 白魏에 大平肺吸虫「메타세카리아」를 感染시켰을때 全例에서 1週後에는 2~3개의 沈降帶가 認定된다는 辻(1970) 등의 報告에 比하면 흥미롭다. 다만 肝吸虫感染의 경우에는 그 後에는 大平肺吸虫때와 같이 沈降帶數는 漸增傾向을 보인다.

感染 6~7週後에는 Qucterlony에 있어서는 平均 3개의 沈降帶가, 免疫電氣泳動으로서는 6~7개의 沈降帶가 보인다.

따라서 사람 肝吸虫症때에도 한번의 採血로 Gel內 沈降反應이 陰性일지라도 2~3週後에 再檢査를 施行하면 그 抗體를 證明할 수 있는 일이 아닌가 생각된다.

本法을 治療判定法의 하나로서 利用하는 것을 시도하여 國內에서 새로이 合成한 CIBA 35'058-Ba를 白鼠에 投與하고 그 沈降帶數의 推移를 觀察하였다.

肺吸虫症일때 特效藥인 Bithionol을 投與하면 그 沈降帶數가 治療直後부터 漸減傾向을 提示하는 것으로 알려져 있으나 이번 實驗의 境遇는 CIBA 35'058-Ba를 投與하여도 그 抗體價는 全然 變動하지 않아서 本劑가 肝吸虫症에 對하여 無効인 것이 아닌가 하는 成績을 얻었다.

實驗後의 白鼠의 剖檢成績으로서도 그 虫體回收率은 對照群과의 사이에 差異를 볼 수 없었고 本劑가 肝吸虫症에 對하여는 無効라는 結論에 到達하였다.

肝吸虫症의 治療劑로서는 아직 特效藥은 없고 現在 日本에서는 從來부터 「안티몬」劑와 「에메친」等を 使用하여 왔고 最近 林은 Bilevon을 使用하여 처음으로 좋은 成績을 얻고 있는 段階이다.

먼저 記述한 바와 같이 肝吸虫의 Specific band는 아직 確定되어 있지 아니함으로 그 試驗의 하나로서 著者도 肝蛭과의 사이의 交叉試驗 및 吸收試驗을 하였다. 吸收試驗은 辻(1974)의 方法에 準하였다. 그 結果 抗肝蛭血清과 肝吸虫抗原의 사이에 5개의 沈降帶를 認定하여 吸收後血清으로서는 그중 3개가 消失되어 있었다. 그러나 肝吸虫抗原에 比해서 肝蛭抗原이 抗原價가 強하므로 그 完全吸收는 大端히 困難하다.

이번의 實驗만으로서는 Specific band를 確定하지는 못하였지만, 今後 이와같은 方法으로 檢討를 계속 하고자 한다.

## 結 論

著者は 肝吸虫「메타세카리아」를 白鼠에 40個씩 經口 投與하여 그 抗原價推移를 Qucterlony 및 免疫電氣泳動法에 의하여 다음과 같은 成績을 얻었다.

1) 「메타세카리아」를 投與後 最初의 沈降帶가 發見된 것은 感染後 2~4週째로서 白鼠의 個體差가 있는 것을 보였다.

2) 感染後 日數가 經過하면 沈降帶數는 漸增傾向을 提示하고 感染後 6~7週째에는 Qucterlony로 3個, 免疫電氣泳動으로 6~7개의 많은 沈降帶를 全例에서 보았다.

3) 合成劑 CIBA 35'058-Ba를 投與하여도 抗原價의 變動을 볼 수 없었고 感染白鼠의 剖檢에서는 對照群과의 사이에 感染虫件數의 差異가 없었다.

4) 吸收試驗에 依한 肝吸虫과 肝蛭과의 共通抗原性 및 Specific band의 檢討를 하였으나 肝蛭抗原價가 強하여 結論을 얻지 못하였다.

(本 論文의 欄筆에 있어 日本 廣島大學 醫學部 寄生虫學教室의 辻守康教授의 도움에 깊은感謝를 드립니다.)

## REFERENCES

1. 辻守康 寄生蠕虫類의 免疫電氣泳動에 관한 研究  
*Japanere Journal of Parasitology Vol. 20, No. 4, 251-252 Aug. 1971.*
2. 辻守康 免疫電氣泳動法에 의한 寄生虫學領域의 연구  
醫學のわゆみ, 67(10):531-536, 1968.
3. M. Tsuji and M. Yokogawa: *Studies on the immunodiffusion tests of Schistosoma Japonicum Research in Filariasis & Schistosomiasis 2:165-177, 1972.*
4. 辻守康 寄生虫檢査, 特히 血清反應에 관하여, *The Journal of Clinical Science 7卷 2月號*
5. 辻守康 數種寄生蠕虫類의 感作血清에 의한 免疫電氣泳動의 比較研究  
*Japanese Journal of Parasitology Vol. 24, No. 4, 227-236, Aug. 1975.*
6. M. Tsuji: 肺吸虫症의 補體結合反應과 그 術式에 대하여
7. TRAN VAN KY, M. Tsuji, A. Capron and T. Vaucelle: *Characterization of the Types of Enzymic activities in Freshly Crushed Paragonimus Westerni Antigens after Immuno electrophoresis in Agarose, Hiroshima Journal of Medical Sciences Vol. 17, No. 2, June, 1968.*
8. M. Yokogawa, Koyama, H. Yoshimura and C.S. TSAI: *Therapeutic effect of 1·4-bis-trichloromethylbenzol in animals experimentally infected with Clomorchis Sinensis: The Journal of Chiba Medical Society Vol. 41, No. 3, pp. 286-296, 1965.*
9. 李駿商 肺吸虫의 免疫電氣 泳動에 관한 研究, 高麗大學校醫科大學雜誌 12(2): 487-493, 1975.
10. M. Yokogawa, M. Tsuji & T. Okura: *Studies on the complement fixation test for paragonimiasis As the Method of criterion of cure Jap. Journal of Parasitology Vol. 11, No. 2, 117~122, 1962.*
11. M. Yokogawa, M. Tsuji, K. Araki & T. Nomoto: *Clinical observations on the treatment of C. Sinensis Patients with 1·4-bis-trichloromethylbenzol Jap. Journal of Parasitology Vol. 14, No. 6, 526-533, Dec. 1965.*
12. 崔源永: 木林公彦, 辻守康 實驗的 肝디스토마症의 驅虫效果判定을 爲한 免疫電氣泳動法 대한기생충학회 제18회 학술대회초록 1976.
13. 李駿商 肝臟 肺吸虫의 免疫診斷에 관한 實驗的 研究, 高麗大學校醫科大學雜誌 14(1):55-72, 1977.