

腹腔滲出細胞를 移入받은 마우스에서의 肝吸蟲에 대한 免疫應答*

啓明大學校 醫科大學 小兒科學教室

權 泰 燦 · 姜 眞 無

慶北大學校 醫科大學 寄生蟲學教室

崔 東 翳

緒 論

腹腔滲出細胞를 사용한 寄生蟲免疫에 대한 研究는 Larsh *et al.* (1964)이 선모종에 感染된 donor마우스에서 얻은 腹腔滲出細胞를 normal recipient마우스에 移入한 後 challenge 感染시킨 結果 成蟲의 排出에 有意的 促進效果의 原因이 된 것 같다고 報告한 바가 있다. Larsh 등(1966)은 免疫의 移入實驗에 使用되는 마우스는 同種同系(isologous strain)이어야 하며 非感染 donor마우스에서 얻은 腹腔滲出細胞는 recipient마우스에서 成蟲의 排出에 아무런 效果가 없었다고 報告한 바가 있다.

Lang *et al.* (1967)은 感作 腹腔滲出細胞를 投與한 마우스에 肝蛭에 대한 免疫이 移入되는지 그 與否를 究明하기 위해 肝蛭 被囊幼蟲을 2回 感染시켜 感作한 마우스에서 腹腔滲出細胞를 分離하여 마우스의 腹腔內注射한 다음 본 幼蟲을 challenge 感染시켰던 바 實驗마우스에서는 蟲體가 膽道內에 일찍 移動하였으며 challenge 40日後에는 對照마우스보다 有意의 으로 적은 數의 成蟲을 갖고 있었다고 하며, Kobayakawa *et al.* (1976)은 기니아 피그의 腹腔內에 抗犬絲狀蟲 血清을 投與한 境遇正常 기니아 피그에 移植한 diffusion chamber內에서 正常 腹腔滲出細胞는 犬絲狀蟲 microfilariae에 殺蟲效果를 나타내 있다고 報告한 바가 있다.

Sun (1969)은 肝吸蟲 成蟲에 대한 免疫血清의 作用을 環成蟲検査로 調査한 結果 實驗의 肝吸蟲症動物과 患者的 血清은 本蟲周圍에沈澱物이 形成될 뿐만 아니라 기니아 피그에서 얻은 補體의 存在下에 殺蟲效果를 나타내 있다고 하였으며 Sun 및 Gibson (1969)은 肝吸蟲의 代謝產物은 效果의 抗原이었으나 蟲卵은 抗原性이 없으며 抗體는 明白히 防禦作用을 나타내지 않았다고 한다.

그리나 Goh (1969)는 肝吸蟲 蟲體抽出液을 白鼠의 皮下에 注射한 후 15日과 30日에 challenge 感染시켰던

마 有意的 worm burden의 減少로 獲得免疫이 形成됨을 認定할 수 있었다 하며 趙等(1984)도 實驗의 白鼠에서 肝吸蟲의 單回 및 重複感染에 蟲體回收率과 成長이 對照群에 比해 낮고 不良하였으므로 獲得免疫이 實驗動物에서 形成되는 것으로 報告하였다.

最近 崔 및 殷(1985)는 肝吸蟲의 代謝產物과 蟲體構成物을 Freund adjuvant와 乳濁液(emulsion)을 만들어 마우스를 感作하여 마우스 脾臟에서 plaque形成細胞를 檢出함을 認定한 바가 있다.

그러나 肝吸蟲으로 感作한 마우스의 腹腔滲出細胞를 移入받은 마우스에 肝吸蟲에 대한 免疫의 移入與否는 眾아볼 수 없어 近交系 BALB/c마우스로 紋明하였기에 그 成績을 報告하는 바이다.

材料 및 方法

供試動物：國立保健院에서 分讓받아 繁殖시킨 近交系 BLAB/c마우스, 體重 20~30g을 使用하였다.

肝吸蟲의 被囊 및 脫囊幼蟲：慶南 金海市 仙岩川斗大邱直轄市 東區 琴湖江에서 採集한 참봉어 (*Pseudorasbora parva*)에서 肝吸蟲 被囊幼蟲을 立體顯微鏡下에서 採集하였다.

本 脫囊幼蟲은 Komiya 및 Tajimi (1941)法에 따라서 魚肉을 人工胃液 (稀釋鹽酸 2.0, pepsin 0.3, 蒸溜水 100)에 1對 1比率로 넣어 37°C恒溫槽에서 魚肉を 消化시켜 本 幼蟲을 얻은 다음 人工腸液 (Sodium bicarbonate 0.2, trypsin 0.5, 生理的食鹽水 50.0)에 넣어 37~39°C恒溫槽에서 脫囊幼蟲을 얻었다. 이것을 即時 生理食鹽水로 3回 洗滌한 다음 冷Medium 199 (Difco U.S.A.)에 넣어 實驗에 使用할 때까지 4°C 冷藏庫에 保管하였다.

M-199溶液의 製法：M-199粉末細胞培養培地 (Gibco, Grand Island, New York)을 蒸溜水 (Gibco, Grand Island, N.Y.) 500ml에 溶解시켜 pH가 alkali인 deep orange red색이 되도록 7% sodium bicarbonate液을 加하여 調節하였다. 이 M-199 1 ml當 potassium penicillin G 50 units, streptomycin sulfate 50μg 되도록 penicillin-streptomycin mixture (Whittaker M. A.

* 이 논문은 계명대학교 동산의료원 특수과제 연구비로 이루어졌다.

Table 1. Design of experiments to study the role of peritoneal exudate cells in passive transfer of immunity against *Clonorchis sinensis* in BALB/c mice

Donor mice					Recipient mice		
Group	No.	Infected or immunization	Group	No.	Treatment before challenge infection	Challenge infection	
1	5	20 metacercariae infected orally	1	5	2×10^6 peritoneal exudate cells, injected I.P	20 metacercariae	
2	5	20 excysted larvae injected I.P	2	5	2×10^6 peritoneal exudate cells, injected I.P	"	
			3	5	20 metacercariae infected orally	"	
			4	5	Control	"	

Bioproducts, Walkersville, Md)를 加하여 2倍 原液을 만들었다.

마우스의 感染 및 免疫 : BALB/c마우스, 生後 12~15週된 암컷 10마리를 5마리씩 2群으로 나누어 第 1群의 마우스에는 20마리의 肝吸蟲 被囊幼蟲을 經口感染시켰고 第 2群에는 20마리의 脱囊幼蟲을 0.5mL의 M-199가 들어 있는 tuberculin注射器內에 浮遊시켜 腹腔內注射한 다음 1週後에 同數의 脱囊幼蟲을 같은 方法으로 再注射하였다. 約 1個月 經過한 後 formalin-ether 集卵法(Ritchie, 1948)으로 蟲卵検査하여 肝吸蟲感染을 確認하였다.

腹腔滲出細胞의 採集 : 脱囊幼蟲을 再注射하고 1個月 後에 全 donor 마우스를 頸部骨折로 屠殺하여 70% ethanol에 담근 다음 滅菌된 종이타올 위에서 腹部가위를 향하도록 놓고 鼠蹊部에서 橫으로 切斷하여 腹膜壁을 forceps로 잡아 당기면서 約 4.5mL의 M-199를 腹腔內에 注射하였고 注射器를 그대로 運用 腹膜壁을 막사지한 다음 注射器를 잡아 당겨 腹腔滲出細胞를 얻었다.

生存細胞數의 計算 : 腹腔滲出液에서 生存細胞數의 計算에는 trypan blue exclusion法을 使用하였다. 즉 使用當日 4容量의 0.2% trypan blue와 1容量의 5倍 saline를 混合한 다음 1容量의 trypan blue-saline溶液에 同量의 細胞浮遊液을 加하여 血球計算盤 위에 놓고 非染色生存細胞와 染色된 死滅細胞의 數를 兩者 합하여 200個 헤아려 1mL當 細胞數로 하였다.

마우스에 被囊幼蟲의 感染 : BALB/c마우스 20마리를 實驗群 10마리, 感染對照群 5마리 및 非感染對照群 5마리의 3群으로 나누었다.

實驗群마우스 10마리 중 1群 5마리에는 肝吸蟲 被囊幼蟲을 經口感染시킨 마우스의 腹腔滲出細胞 2×10^6 를, 2群 5마리에는 本 脱囊幼蟲을 注入한 마우스의 腹腔滲出細胞 2×10^6 를 腹腔內 注射하였다.

感染對照群 마우스 5마리에는 本被囊幼蟲을 經口感染시켰으며 非感染對照群 마우스 5마리에는 아무 處置도 하지 않았다.

腹腔滲出細胞의 細胞型은 淋巴球와 單球(單核細胞)가 全滲出細胞의 85%以上을 차지한다고 Howard (1959)에 의해 報告되어 있다.

Challenge感染 : 肝吸蟲의 被囊幼蟲을 移入한 4日後에 實驗群 10마리 마우스와 感染對照群 5마리 마우스에 肝吸蟲 被囊幼蟲 20마리씩을 經口的으로 challenge 感染시켰다.

Worm burden計算과 Jerne plaque assay : 마우스에서 worm burden의 計算에는 1~2cm²의 肝組織을 2枚의 glass板 사이에 놓고 邁切히 壓迫하여 立體顯微鏡下에 蟲體數를 세었다.

Challenge 感染한 마우스 脾臟에서 plaque 形成細胞 즉 免疫細胞의 數를 計測할 수 있는 Jerne plaque assay는 Zaleski法(1981)을 修正한 崔 및 殷(1985)의 方法에 準하였다.

統計分析 : 各群의 마우스에서 얻은 worm burden의 差異에 對한 統計學의 有意性은 paired t-test로 檢定하였다. P值가 0.05보다 크면 有意의 差異로 認定하지 않았다.

成績

Challenge感染후 25~30日의 BALB/c마우스에서 免疫腹腔滲出細胞가 肝吸蟲의 蟲卵生產에 미치는 영향은 표 2와 같이 非處置對照인 第 4群 마우스에서의 eggs per gram (E.P.G.)의 平均值 2,880을 基準으로 하였을 때 肝吸蟲 被囊幼蟲을 經口感染시킨 donor마우스의 腹腔滲出細胞 2×10^6 를 recipient마우스의 腹腔內注入한 第 1群에서의 E.P.G.平均值는 1,800, 그 蟲卵減少數는 1,080($p < 0.05$)였으며 肝吸蟲 脱囊幼蟲을 腹腔內注入한 donor마우스의 腹腔滲出細胞 2×10^6 을 recipient마우스의 腹腔內注入한 第 2群에서의 E.P.G.의 平均值는 920, 그 蟲卵減少數는 1,960($p < 0.05$)으로 第 1 및 第 2群에서는 有意의 蟲卵減少를 認定할 수 있었다. 그러나 肝吸蟲 被囊幼蟲을 經口感染시킨 第 3群마우스에서의 蟲卵減少數는 540 ($p > 0.05$)으로 有意의 蟲卵減少를 認定할 수 없었다.

표 3은 BALB/c마우스에서 免疫腹腔滲出細胞가 肝吸蟲의 worm burden에 미치는 영향을 나타내고 있다. 非處置對照인 第 4群마우스에서의 平均成蟲數는 4.8,

Table 2. Effect of peritoneal exudate cells from immunized or infected mice on egg production of *C. sinensis* in BALB/c mice on day 25 to 30 after challenge infection

Group	No. of mice	No. of metacercariae in challenge infection	Eggs per gram of feces		Difference between immune and control groups	
			Range	Mean	Mean egg reduction No.	Significance
1 (infected)	5	20	600~2,400	10,80	1,080	p<0.05
2 (immunized)	5	20	600~1,800	920	1,960	p<0.05
3 (double infected)	5	20×2*	2,400~6,600	2,300	540	p>0.05
4 (control)	5	20	1,200~4,200	2,880	0	

* Infected twice with 20 metacercariae of *C. sinensis*

Table 3. Effect of peritoneal exudate cells from immunized or infected mice on worm burdens of *C. sinensis* in BALB/c mice with challenge infection

Group	No. of mice	No. of metacercariae in challenge infection	Interval between challenge and necropsy	Adult worm recovered		Worm recovery rate (%)	Significance
				Range	Mean		
1 (infected)	5	20	30	1~4	3.0	15	p>0.05
2 (immunized)	5	20	30	1~3	2.2	11	p<0.05
3 (double infected)	5	20×2*	30	5~11	8.2	21	p>0.05
4 (control)	5	20	30	3~7	4.8	24	

* Infected twice with 20 metacercariae of *C. sinensis*

Table 4. Proportion of viable cells per ml of spleen and suspensions of peritoneal exudate cells in BALB/c mice by trypan blue exclusion

Group	Peritoneal exudate cells per ml			Spleen cells for indirect Jerne plaque assay		
	Total No. of cells ($\times 10^5$)	Mean No. of viable cells ($\times 10^5$)	Viable cells (%)	Total No. of cells ($\times 10^5$)	Mean No. of viable cells ($\times 10^5$)	Viable cells (%)
1 (infected)	2.26	2.20	97.3	7.86	6.87	87.9
2 (immunized)	2.20	2.16	98.2	8.11	7.31	89.6
3 (double infected)	2.08	2.04	98.1	6.87	6.07	87.6
4 (control)	2.30	2.24	97.4	8.20	7.42	90.5

Table 5. Plaque forming cells in the spleen of recipient BALB/c mice day 30 following challenge infection with 10 metacercariae of *C. sinensis*

Group	No. of mice	Viable cells in assay (%)	Plaque forming cells per spleen	
			Range	Mean
1 (infected)	5	87.9	1,200~3,000	2,400
2 (immunized)	5	89.6	1,800~7,200	5,200
3 (double infected)	5	87.6	0	0
4 (control)	5	90.5	0	0

蟲體回収率은 24%였는데, 比하여 제 2群마우스에서의 평균成蟲數는 22, 그回收率은 11%(p<0.05)로서兩群間に有意的成蟲減少를認定할 수 있었다. 이에反하여 第4群과 第1 및 第3群間의 worm burden에서 는 p值가 모두 0.05보다 크므로서相互間に有意의差異를認定할 수 없었다.

BALB/c마우스에서 脾臟細胞와 腹腔滲出細胞浮遊液 ml當 總細胞數와 生存細胞數와의 比率은 표 4와 같이各群에서 第1次免疫에 使用한 腹腔滲出細胞의 總數는 最少 2.08×10⁵, 最大 2.30×10⁵이었으며 그生存細胞率은最低 97.3%로서 거의 대부분의 腹腔細胞가生存해 있었는데, 比하여 間接 Jerne plaque assay에 使用한

脾臟細胞의 總數는 最少 6.87×10^5 , 最大 8.26×10^5 으로서 腹腔滲出細胞細胞의 總數보다 많았다. 그러나 그 生存細胞率은 最低 87.6%, 最高 90.5%로서 腹腔滲出細胞의 그 率(最低 97.3%)보다 낮았다.

肝吸蟲 被囊幼蟲 10個를 challenge感染시킨 30日후 recipient BALB/c마우스의 脾臟에서 plaque形成細胞는 표 5와 같이 肝吸蟲 被囊幼蟲을 經口感染시킨 後再次 本幼蟲을 經口感染시킨 第3群과 非處置對照인 第4群마우스에서는 檢出할 수 없었다. 이에 反하여 本幼蟲을 經口感染시킨 donor마우스의 腹腔滲出細胞를 recipient마우스의 腹腔內注入한 第1群에서의 脾臟當 plaque形成細胞數의 平均値는 2,400, 本脫囊幼蟲을 腹腔內注入한 donor마우스의 腹腔滲出細胞를 recipient마우스의 腹腔內注入한 第2群마우스에서의 그 平均値는 5,200으로서 많이 檢出되었다.

考 索

이번 BALB/c마우스를 모델로 한 研究에서는 肝吸蟲에 대한 免疫이 recipient마우스에 移入됨을 나타내었다.

免疫의 移入에는 感作 donor마우스의 腹腔滲出細胞를 選擇하였으며 donor마우스의 感作에는 正常的 感染 經路인 經口感染과 細胞性 免疫應答을 起起시키기 여부를 알아보기 위해 人為의으로 脱囊幼蟲을 腹腔內注入하는 두가지 感作法을 使用하였다.

Armour 및 Darigie (1974)는 感染된 donor에서 얻은 淋巴系細胞과 血清은 白鼠에서 肝蛭에 대한 免疫을 效果의으로 移入하였다고 하였다. 그러나 肝吸蟲과 肝蛭은 膽道에 도달하는 經路가 全然 다르기 때문에 肝吸蟲에 의해 생긴 獲得免疫을 그대로 肝吸蟲에 適用할 수는 없다.

肝蛭은 腸壁을 뚫고 腹腔內에 들어가 肝實質을 뚫고 膽管內에 달한다. 그러나 肝吸蟲은 十二指腸에서 脱囊한 幼蟲이 Cddi括約筋을 통하여 總輸膽管을 따라 올라가 膽道에 達하기 때문에 組織內에 侵入하거나 組織實質과 直接接觸하지 않는다. 따라서 肝吸蟲은 肝蛭보다宿主의 免疫應答을 덜 起起할 것이다.

大體로 寄生蟲 感染으로 생기는 獲得免疫은宿主의 細胞內에 寄生하는 寄生蟲과宿主의 粘膜에 損傷을 起起시켜 抗原性 物質인 虫體代謝產物을宿主의 細胞內에 侵透시키는 吸蟲類에서는 뿐만 아니라 腸內寄生蟲으로써 虫體代謝產物을 體外로 排泄하는 寄生蟲에서는 현저하지 않다고 알려져 있다.

肝吸蟲의 抗原性 物質인 代謝產物을 마우스 細胞과直接接觸시키기 위해 感作된 donor마우스의 腹腔滲出細胞를 recipient마우스의 腹腔에 注入하였던 바豫想대로 非處置對照群에 比해 有意의 虫卵數의 減少와 worm burden의 減少를 나타내어 生存한 腹腔滲出細胞로 因하여 免疫이 移入됨을 나타내었다. 그러나 肝吸蟲

被囊幼蟲을 經口感染시킨 donor마우스의 腹腔滲出細胞를 腹腔內注入한 recipient마우스에서는 有意의 虫卵 減少는 認定할 수 있었으나 worm burden에서는 有意의 減少가 없었다. 이 點은 感作의 程度가 前者보다 後者에서 弱하기 때문에 일어난 것으로 생각된다.

Larsh 및 Weatherly (1974)에 의하면 免疫의 移入에는 細胞의 種類에 關係없이 大은 수(數百萬個以上)가 必要하고 實驗動物의 腹腔內注入이 가장 便利하며 強力하게 感作된 生存한 細胞를 移入하여야 한다고 報告하였다.

Flavell et al. (1980)과 Sirisinha et al. (1983)은 實驗의 *O. viverrini* 感染 hamster로 本幼蟲에 對한 獲得免疫의 形成與否를 調查하였던 바 本吸蟲에 感染된 hamster는 再感染時에 有意의 防禦免疫을 形成하지 못하였다. 그러나 對照群에 比해 有意의 虫卵 減少를 나타내었다 한다.

Sun 및 Gibson (1969)에 의하면 肝吸蟲의 代謝產物과 排泄物은宿主에 抗原性이 있으며 實驗의 肝吸蟲症動物과 肝吸蟲患者에서 抗體를 찾아볼 수 있었다 하며,崔 및 殷(1985)은 肝吸蟲成蟲의 代謝產物과 虫體構成物로 近交系마우스를 減作하여 間接 Jerne plaque assay로 마우스의 脾臟에서 plaque形成細胞를 檢出함을 처음으로 報告한 바가 있다. 그러나 이렇게 檢出된 抗體가 肝吸蟲 感染에 防禦效果를 나타내는지는 알 수 없다.

이번 肝吸蟲 被囊幼蟲을 challenge感染시킨 마우스의 脾臟에서 plaque形成細胞는 本 脱囊幼蟲을 腹腔內注入한 donor마우스의 腹腔滲出細胞를 移入받은 recipient 마우스에서 가장 많이 檢出되었고, 本 被囊幼蟲을 經口感染시킨 마우스와 非處置對照 마우스에서는 plaque形成細胞를 檢出할 수 없는 점 등으로 미루어 보아 感作方法에 따라서 免疫의 形成 程度가 달랐으며 肝吸蟲의 正常的 經口感染에 의해서는宿主動物에서 防禦作用을 나타낼 程度의 抗體가 생기지 않든지 肝吸蟲 感染을 抗體만의 힘으로는 堪當하지 못하는 것에 起因하는 것으로 생각된다.

腹腔滲出細胞의 移入으로 recipient動物에서 體液性抗體의 生成可能性에 대하여 Larsh et al. (1964)은 旋毛蟲에 感染된 donor마우스의 腹腔滲出細胞를 移入받은 Swiss Webster系 마우스는 小腸에 寄生한 本蟲의 數가 적었는데 比하여 非感染 donor마우스의 그 細胞는 recipient마우스에 아무런 影響을 미치지 않았다 하며 感作細胞를 移入받은 recipient마우스의 血清에는 21日에도 抗體가 生產되지 않는다. 이것이 體液性免疫의 形成을 證明하는 最近方法인 補體結合反應, 血球凝集反應 Agar-gel沈降反應, 融光抗體法 및 enzyme-linked immunosorbent assay 等의 成績에 依據하여 밝혀져 있다.

要 約

感作腹腔滲出細胞가 BALB/c마우스에서 肝吸蟲에 대한 免疫을 移入할 수 있는지 辨明하기 위해 10마리의 donor마우스를 5마리씩 2群으로 나누어 한群에는 20개의 肝吸蟲 被囊幼蟲을 經口感染시켰고 다른群에는 20마리의 本 脱囊幼蟲을 腹腔內注入한 30日 후에 屠殺하여 腹腔滲出細胞를 얻었다.

第1次 感作을 하기 위해 20마리의 recipient마우스를 5마리씩 4群으로 나누어 第1群은 肝吸蟲 被囊幼蟲을 經口感染시킨 donor마우스의 腹腔滲出細胞를 recipient마우스의 腹腔내注入하였고, 第2群은 本 脱囊幼蟲을 腹腔내注入한 donor마우스의 腹腔滲出細胞를 recipient마우스의 腹腔내注入하였으며, 第3群은 20개의 本 被囊幼蟲을 經口感染시켰다. 第4群은 非處置對照群으로 하였다.

第1次 感作한 4日후에 全 recipient마우스에 20개의 本 被囊幼蟲을 challenge 經口感染시켜 30日후에 모두屠殺하여 對照群의 大便 g當 蟲卵數, worm burden 및 脾臟當 plaque 形成細胞數量 基準으로 하여 腹腔滲出細胞에 의한 免疫移入의 與否를 判定하였다.

Donor마우스의 腹腔滲出細胞를 recipient마우스의 腹腔내注入하였을 때 第1群과 第2群마우스에서는 第4群마우스에 比해 大便 g當 蟲卵數의 현저한 減少를 나타내었으나 第3群에서는 그 蟲卵數가 감소되지 않았다. Worm burden은 第2群마우스에서만 第4對照群에 比해 有的 減少를 나타내었으며 plaque形成細胞는 第1群보다 第2群에서 많이 檢出되었고 특히 肝吸蟲 脱囊幼蟲으로 感作한 腹腔滲出細胞를 腹腔내注入 받은 BALB/c마우스에서는 免疫에 移入됨을 알았다.

參 考 文 獻

- Armour, J. and Dargie, J.D. (1974) Immunity of *Fasciola hepatica* in the rats: Successful transfer of immunity by lymphoid cells and serum. *Exp. Parasit.*, 35:381-388.
- 崔東翊, 殷鍾大(1985) 肝吸蟲 代謝產物과 虫體構成物로 感作한 마우스에서의 細胞性免疫. 慶北醫大잡지, 26:318-326.
- Flavell, D.J., Pattanapanyasat, K. and Flavell, S. (1980) *Opisthorchis viverrini*. Partial success in adoptively transferring immunity with spleen cells and serum in the hamster. *J. Helminth.*, 54:191-197.
- Goh, Y.H. (1969) Acquired immunity in albino rats to *Clonorchis sinensis*. *Korean J. Parasit.*, 7(1):32-41.
- Howard, D.H. (1959) Observation on the tissue cultures of mouse peritoneal exudates inoculated with *Histoplasma capsulatum*. *J. Bact.*, 78:69-78.
- 趙星煥, 朱景煥, 林漢鍾(1984) 白鼠에 있어서 肝吸蟲 感染에 대한 獲得抵抗에 관한 연구. 高麗醫大論集, 21(3):29-38.
- Kobayakawa, T., Shinbo, S., Ishiyama, H. and Ma-suda, K. (1976) Killing effect of normal peritoneal exudate cells in guinea pigs on *Dirofilaria immitis* evoked by passive transfer of immune humoral factor. *Jap. J. Med. Sci. Biol.*, 29(6):351-357.
- Komiya, Y. and Tajimi, T. (1941) Metacercariae from Chinese *Pseudorasbora parva*, Temminck and Schiegel with special reference to their excretory system I. *J. Shanghai Sci. Inst.*, 5:69-106.
- Lang, B.Z., Larsh, J.E., Weatherly, H.F. and Goulson, H.T. (1967) Demonstration of immunity to *Fasciola hepatica* in recipient mice given peritoneal exudate cells. *J. Parasit.*, 53:208-209.
- Larsh, J.E., Goulson, H.T. and Weatherly, H.F. (1964) Studies on delayed (cellular) hypersensitivity in mice infected with *Trichinella spiralis*. II. Transfer of peritoneal exudate cells. *J. Parasit.*, 50:496-498.
- Larsh, J.E., Race, G.J., Goulson, H.T. and Weatherly, H.F. (1966) Studies on delayed (cellular) hypersensitivity in mice infected with *Trichinella spiralis*. III. Serologic and histopathologic findings in recipients given peritoneal exudate cells. *J. Parasit.*, 52:146-156.
- Larsh, J.E. and Weatherly, H.F. (1974) Studies on delayed (cellular) hypersensitivity in mice infected with *Trichinella spiralis*. IX. Delayed dermal sensitivity in artificially sensitized donors. *J. Parasit.*, 60:93-98.
- Ritchie, L.S. (1948) An ether sedimentation technique for routine stool examination. *Bull. U.S. Army Med. Dept.*, 8:326.
- Sirisinha, S., Tuti, S., Tawatsin, A., Vichasri, S., Upatham, S. and Bunnag, D. (1983) Attempts to induce protective immunity in hamsters against infection by a liver fluke of man (*Opisthorchis viverrini*). *Parasitology*, 86:127-136.
- Sun, T. (1969) The *in vitro* action of antisera on the adults of *Clonorchis sinensis*. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 63:582-590.
- Sun, T. and Gibson, J.B. (1969) Antigens of *Clonorchis sinensis* in experimental and human infections: An analysis of gel diffusion technique. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 18:241-252.
- Zaleski, M. (1981) Jerne plaque assay. Leaflet printed in the Department of Microbiology, School of

=Abstract=

Passive Transfer of Immunity against *Clonorchis sinensis* by Peritoneal Exudate Cells in Mice

Tae-Chan Kwon, Chin-Moo Kang

Department of Pediatrics, Keimyung University, School of Medicine, Taegu, Korea

Dong-Wik Choi

Department of Parasitology, Kyungpook National University, School of Medicine, Taegu, Korea

This study was undertaken to evaluate the role of peritoneal exudate cells in the transfer of immunity against the liver fluke, *Clonorchis sinensis* in the inbred BALB/c mice.

Ten donor mice were divided into 2 groups. One group consisted of 5 mice was infected orally with 20 metacercariae of *C. sinensis*, and the other group was injected intraperitoneally with 20 excysted larvae. Thirty days after immunization, the peritoneal exudate cells were obtained from the donor mice.

Twenty recipient mice were divided into 4 equal groups for the purpose of primary immunization. The mice of Group I were injected intraperitoneally with 2×10^6 peritoneal exudate cells of the donor mice infected orally, those of Group II were injected intraperitoneally with 2×10^6 peritoneal exudate cells of the donor mice injected intraperitoneally. Those of Group III were injected orally with 20 metacercariae of *C. sinensis*. The group IV mice served as controls.

Four days after the primary immunization all recipient mice were challenged orally with 20 metacercariae of *C. sinensis*, and then killed 30 days after the challenging infection.

When the peritoneal exudate cells were injected into the recipient mice, pronounced reduction in eggs per gram of the feces was found in the mice of Group I and Group II, but no reduction in those of Group III.

In the worm burdens of *C. sinensis*, the number of flukes found in the mice of Group II was only significantly less than those in the control group (IV). In addition the number of plaque forming cells per spleen in the mice of Group II was found larger than those in Group I.

It is likely that donor peritoneal exudate cells transferred to the recipients might result in the production of relative immunity.