

폐흡충증 진단에 있어서 각종 항원의 적용성

고려대학교 의과대학 기생충학교실 및 열대풍토병연구소

이동수 · 정명숙 · 주경환 · 임한종

Studies on the Applicability of Various Antigen Preparations in Immunoblot Diagnosis of Paragonimiasis

Dong-Soo Lee, Myung-Sook Chung, Kyoung-Hwan Joo and Han-Jong Rim

Department of Parasitology and the Institute for Tropical Endemic Diseases, College of Medicine,
Korea University, Seoul, Korea

= ABSTRACT =

A systematic study was conducted to identify and isolate a serologically pertinent antigen with high specific activity and low cross reactivity from *P. westermani* antigen.

Differential centrifugation of the homogenate yield three particulate and one soluble fractions ; the 480×G pellet(Pw1), the 7650×G pellet(Pw2), 100000×G pellet treated with n-butanol(Pw3), and 100000×G supernatant(Pw4). Comparison of antigenicity of these antigens, based upon differential centrifugation, to that of saline extract of *P. westermani* worm(SEP) was performed by SDS-PAGE and immunoblot techniques.

The results obtained were as follows :

1) The ratio of absorbance value of ELISA against paragonimiasis positive pool sera to that of negative sera was highest when using Pw3 as antigen, and that was lowest when using Pw1.

2) Silver stained and SDS-PAGE of each antigen showed 34 and 13 Kd band as common antigen band, but Pw2 did'nt show clear band.

3) By immunoblot, 55 and 34Kd bands using SEP and Pw4 showed strong positive reaction without cross reaction with sera from other helmenthic infections. Using Pw3, 10Kd band was observed as specific band.

In conclusion, Pw3(100000×G pellet urca soluble, treated with n-butanol) and Pw4(100000×G supernatant) were usable for ELISA and immunoblot technique.

서 론

폐흡충증의 진단은 환자의 색담에서 충란을 검

출하는 것이 가장 확실한 방법이나 이소 기생의 경우 객담검사만으로는 진단이 불가능하며, 폐에 기생한 경우에도 충란 검출에 의한 진단이 용이하지

않으므로 혈청학적 진단법으로 이 문제를 보완하고 있다.

Yokogawa et al.(1962)¹⁾은 보체결합반응을 이용하여 폐흡충증 환자의 치료전 항체를 측정 한 바 감염자는 강한 양성반응을 보였으며 치료후 5개월에서 12개월 사이에 음성으로 전환한다는 사실을 밝혀내어 현증 진단 및 치료 판정에 효과적으로 사용할 수 있다고 하였다. 이 후 한천이중확산법(Yogore et al., 1965²⁾; 李 들, 1970³⁾; 崔 및 李, 1981⁴⁾), 간접형광항체법(崔 들, 1975⁵⁾; Cho & Soh, 1976⁶⁾), 효소면역측정법(Cho et al., 1981⁷⁾; Yokogawa et al., 1983⁸⁾; 崔 들, 1984⁹⁾; Soh et al., 1985¹⁰⁾; 李 및 張, 1986¹¹⁾; Imai, 1987¹²⁾)등의 혈청학적 진단법이 개발되어 집단 검사에 있어서 screening test로 쓰이는 피내반응과 더불어 널리 이용되고 있다.

그러나 항원으로 사용하는 기생충의 추출물, 즉, 조항원은 분류학적으로 유사한 기생충과 서로 공유하고 있는 공통 항원 때문에 교차반응을 일으키는 경우가 많다(Hunter et al., 1985¹³⁾; Sadun et al., 1959¹⁴⁾; 朱 및 金, 1965¹⁵⁾; Hillyer et al., 1983¹⁶⁾; Itoh 및 Sato, 1990¹⁷⁾). 그 결과 혈청학적 검사법의 특이도가 낮아지고 위양성 반응의 빈도가 많아져 검사의 신뢰도를 낮추는 원인이 되어왔다. 이를 개선하기 위하여 항원을 정제하여 감수성과 특이성이 모두 높은 폐흡충 항원을 분리해 내려는 연구가 여러 학자들에 의해 시도되었으나(Sadun et al., 1959¹⁴⁾; 金 들, 1983¹⁸⁾; 崔 들, 1986¹⁹⁾), 충체를 구성하고 있는 단백질의 조성이 매우 복잡하여 특이 항원만을 완벽하게 분리한다는 것이 불가능하였다.

최근에는 SDS-PAGE의 강한 단백 분해능력과 이를 blotting하는 방법(Towbin et al., 1979²⁰⁾), 그리고 ELISA의 민감성을 이용한 enzyme-linked immuno-electrotransfer blot(EITB, western blot)을 사용하여 폐흡충증의 특이 항원대 및 항원의 특성을 알고자 하는 연구가 많이 시도되었다(Tsang et al., 1983²¹⁾; Kim et al., 1988²²⁾; Slemenda et al., 1988²³⁾; Joo et al., 1989²⁴⁾; Kong et al., 1991²⁵⁾). 이들 연구의 대부분은 폐흡충에 의해 생긴 항체를 발견하는데 있어서 교차반응을 구별해 낼 수 있는 항원대의 발견, 즉, 특이항원대의 모색을 전제로

연구를 수행하였다.

본 연구는 폐흡충 총체 항원의 원심분리에 따른 여러가지 분획증 background의 영향이 가장 적으면서도 ELISA에서 민감도가 높고, 또 한편으로는 immunoblot 검사에서도 특이항원대가 쉽게 양성으로 나타나는 분획을 찾아 실제 진단에 이용하기 위한 연구의 일환으로 실시하였다.

재료 및 방법

1. 항 원

전남에서 잡은 가재(*Cambaroides similis*)에서 폐흡충 피낭유충을 분리하여 고양이에 경구 투여하고 20주 후에 부검하여 폐흡충을 회수하였다. 이 충체들을 생리식염수와 증류수로 여러차례 세척하여 냉동시켰다.

1) 조항원(saline extract antigen, crude antigen)의 제조

냉동된 충체를 녹인 다음 인산완충액을 가하고 glass homogenizer에 넣은 다음 마쇄하였다. 마쇄된 액을 10,000rpm에서 60분간 원심 분리한 후 상청액을 얻어 항원(SEP: saline extract of *P.westermani*)으로 사용하였다. 단백질 함량은 2.9mg/ml이었다.

2) 원심분리에 의한 항원제조

원심력을 다르게 원심분리하여 여러가지 분획의 항원을 얻어 시용하였다. 제조 방법은 다음과 같다. 냉동된 폐흡충을 사용하기 직전에 37°C에서 급히 녹인 후 5vol.(1/5: w/v)의 cold sucrose/HEPES buffer(0.05M HEPES-NaOH 0.25M sucrose, 2.0mM EDTA, pH 7.2)로 옮겼다. 충체를 glass homogenizer로 마쇄한 다음 부유액을 480×G(max)로 20분간 원심분리하였다. 상청액을 조심스럽게 분리한 다음 7,650×G로 20분간 원심분리하였다. 480×G 침사물은 50ml의 sucrose/HEPES에 재부유시켜 다시 한번 480×G로 원심분리하고 상청액을 7,650G로 20분간 원심분리하였다. 7,650×G 침사물 역시 같은 방법으로 재부유시켜 다시 원심분리하고 상청액을 모아서 100,000×G로 2시간 원심분리하였다. 이때 생긴 소량의 지방층을 suction으로 제거한 다음 상청액은 더 이상의 처리 없이 항원으로 사용하였다. 이를 Pw4로 약칭하였다.

Table 1. Protein contents of each antigen used

Antigen	Nature	Protein(mg/ml)
SEP	Saline extract, crude antigen	2.9
Pw1	480×G pellet, urea soluble antigen	1.23
Pw2	7650×G pellet, urea soluble antigen	1.03
Pw3	100000×G pellet, urea soluble antigen (n-butanol treated antigen)	1.61
Pw4	100000×G supernatant	2.44

이 과정을 항원성의 파괴를 가급적 줄이기 위해서 반드시 4℃, 또는 ice bath에서 실시하고 총 소요 시간을 4시간 이내가 되도록 조절하였다.

480×G, 7,650×G 및 100,000×G의 침사물은 각각 25ml의 cold urea buffer(0.05M Tris-HCl, 8M urea, pH 8.0)에 넣어 Pasteur 피펫으로 다시 부유시키고 MSE Soniprep 150 sonicator를 이용하여 2분간 sonication 하였다. Sonicate된 부유물을 각각 40,000×G로 30분간 원심분리하였고 상침액을 각각 Pw1(480×G pellet), Pw2(7,650×G pellet)로 약칭하였다. 100,000×G 침사물은 15ml의 -90℃로 냉각시킨 n-butanol을 넣어 4℃에서 30분간 magnetic stirrer로 섞은 다음 40,000×G로 15분간 원심분리하였다. 이때에 밑으로부터 침사물, 갈색의 수성층, gelatin상의 부유침사물, 그리고 맨위에 맑은 n-butanol층으로 나뉘는데 이 중 갈색의 수성층을 주사바늘로 뽑아 내어 항원으로 사용하고 Pw3로 약칭하였으며, 각 항원의 단백질 함량은 Table 1과 같다.

2. 혈 청

폐흡충증 환자의 혈청 8례를 사용하였으며, 간흡충 감염자 혈청 4례, 낭미충증 혈청 3례, 스프라가눔 감염자 혈청 3례, 광절열두조충 감염자 혈청 3례 및 비감염자 혈청 4례를 대조로 사용하였다.

3. ELISA

혈청회석 배율은 1 : 400, 항원의 단백질 함량은 2.5µg/ml 되게 하여 사용하였다. Conjugate는 peroxidase conjugated affinity purified goat anti-human IgG, H & L Chain specific(Cappel)를 1 : 5,000으로 회석하여 사용하였고, Dynatech Lab.의 micro ELISA reader로 490nm에서 흡수광량을 측정하였다.

4. SDS-PAGE

SDS-PAGE(sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis)는 Tsang(1983)²¹⁾ 및 주든(1989)²⁶⁾에 기재된 방법에 준하여 실시하였다. 요약하면 다음과 같다. 항원재료는 SDS의 최종농도를 pH 8.0의 urea를 넣은 용액으로 회석하여 2.5%가 되게 한 다음 여기에 항원재료를 0.2µg/µl가 되게 하여 사용하였고 재료는 3~20% linear gradient gel과 8% stacking gel을 이용하여 tracking dye가 resolving gel의 맨 밑에 올 때까지 영동하였다. Sample application의 양은 10µl이며, silver 염색으로 확인하였다.

5. Immunoblot

SDS-PAGE로 분해된 단백질은 Tsang(1983)²¹⁾ 및 주든(1989)²⁶⁾의 방법에 따라 nitrocellulose paper에 blot시킨 다음 PBS-0.3% Tween 20액으로 1 : 200 회석한 여러가지 혈청을 넣어 하룻밤 동안 반응시켰다. 항원대와 부착한 항체는 ELISA법으로 확인하였으며, conjugate의 회석배율은 1 : 2,000, chromogenic substrate는 3,3'-diaminobenzidine(Sigma)으로 발색시켰다.

실험성적

1. 각항원의 ELISA성적

폐흡충에 감염된 사람들의 pool sera 3개와 1개의 음성 pool sera를 이용 각 항원에 대한 ELISA 성적을 보면 Table 2와 같다. 즉, ELISA에 있어서 우수한 결과를 보인다는 것은 양성혈청의 흡광도 값이 높고 상대적으로 음성혈청의 흡광도 값은 낮아야 하며, 다른 질환에 대하여 교차반응이 적어야 한다. 이러한 관점에서 양성치/음성치의 비율을 각 항원

에서 검토한 결과 Pw3은 8.54로 5개의 항원 중 가장 높았으나 각 항원간의 큰 차이는 없었다. 실제 양성혈청의 흡광도 값을 보면 Pw4가 평균 1.858로

제일 높았으며, 다음이 SEP로 1.598 이었고, Pw2는 1.318로 가장 낮았다. 음성혈청에 있어서는 Pw3이 0.177로 가장 낮은 값을 보였으며 Pw4 및 Pw1은 각각 0.221, 0.213으로 다른 항원에 비하여 상대적으로 높은 흡광도를 나타내었다.

Table 2. Positive/negative ratio ELISA absorbance value of each antigen preparations against pool sera of paragonimiasis and normal healthy controls

	Pool (+) sera			Mean		+/- ratio
	A	B	C	(+)	(-)	
SEP	1.551	1.633	1.610	1.598	0.203	7.87
Pw1	1.294	1.547	1.595	1.479	0.213	6.94
Pw2	0.968	1.533	1.454	1.318	0.182	7.24
Pw3	1.294	1.612	1.630	1.512	0.177	8.54
Pw4	1.709	1.896	1.968	1.858	0.221	8.40

2. SDS-PAGE

SDS-PAGE와 silver stain으로 얻은 SEP 및 Pw1-4의 단백질분획은 Fig. 1에 제시한 바와 같다. SEP의 분획은 Joo et al.(1989)²⁴⁾에 기재된 바와 기본적으로 같은 것으로서 간단히 기술하면 다음과 같다. 즉, SEP는 20여개의 단백질분획으로 나타나는 복잡한 구성을 보이는데 그중에서 229, 50, 28, 27, 13, 10 Kd등의 단백질분획이 진하게 염색되었다.

한편 Pw1에서 Pw4까지의 단백질분획들은 근본적으로 SEP와 같은 것으로서 원래 함유하고 있는 단백질량이 각각 다르지만 각 lane에 들어가는 양은 같게 조절했으므로 이에 따라 어떤 단백질분획은 매우 진하게, 또 어떤 단백질분획은 사라져 없어지는 차이점을 나타내었다. 34, 13Kd의 단백질분획은 전반

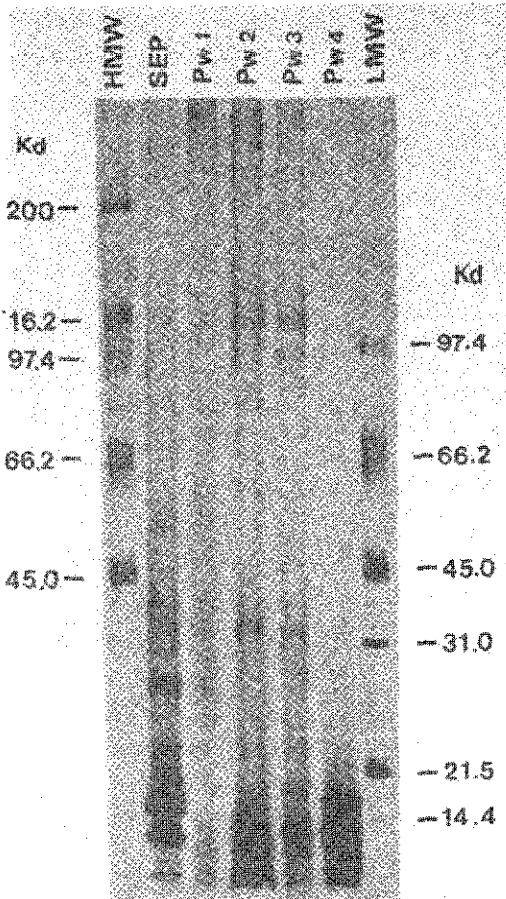


Fig. 1. SDS-PAGE findings of saline extract antigen (SEP) and each fractionated *P.westerni* worm antigens(Pw1~Pw4). 3~20% linear gradient gel with silver stain.

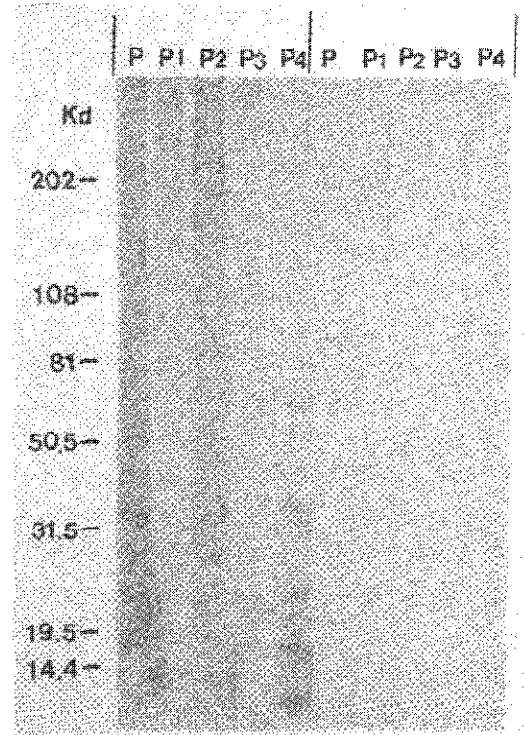


Fig. 2. Immunoblot findings to various antigen preparations in positive and negative pool sera of paragonimiasis.

적으로 나타났으나, SEP, Pw2, Pw3 및 Pw4에서는 진하게 염색되었으며 Pw2의 경우는 뚜렷하게 분획이 나타나지 않았다. Pw4로 갈수록 분자량이 작은 단백질분획의 양이 많아지는 즉 진하게 염색되는 경향을 나타내었다. 즉, Pw4에서는 단백질분획이 주로 21Kd이하에서 진하게 모여 있는 양상을 보였다.

이는 원심분리에 의해 제조된 항원의 성질을 잘 보여주고 있다.

3. 각 항원을 이용한 EITB성적

1) 양성 및 음성 pool sera의 반응

Fig. 2에 표시된 바와 같이 SEP 및 Pw1에서부터 Pw4에 이르기까지 양성혈청에서는 반응하는 항원대가 있으나 음성혈청에서는 반응을 하지않았다. SEP에서 강하게 반응하는 항원대는 229, 116, 91, 60, 50, 34, 31, 21, 17Kd였으며, Pw1에서는 반응하는 항원대는 뚜렷하지않고 전반적으로 background가

발색되는 경향을 나타내었다. Pw2에서는 94, 34 Kd가 강하게 반응하는 항원대로 나타났으며, Pw3에서는 94, 34, 19, 17 및 10Kd가 다소 강한 반응을 나타내었으며, Pw4에서는 34, 31, 23, 21, 17, 10 Kd에서 강하게 반응하였다. 이상의 결과로 보아 Pw3 및 Pw4도 SEP와 더불어 폐흡충에 관한 immunoblot 진단과 연구에 활용될수 있을 것으로 결론 지을 수 있었다.

2) 감염자 혈청에 대한 각 항원의 반응

SEP에서의 결과를 보면 229, 91, 50, 34, 31, 27, 17, 13 및 10Kd 항원대는 일관성있게 폐흡충 감염자 혈청과 반응하여 특이항원대로 생각이 되나 이중 강하게 반응한 31Kd 항원대에서 간흡충 감염자 혈청 2례에서 약하게 교차반응을 보였다. 또한 스파르가눔 감염자 혈청 1례에서 229 및 27Kd의 항원대와 아주 약한 교차반응을 나타내었으며, 17

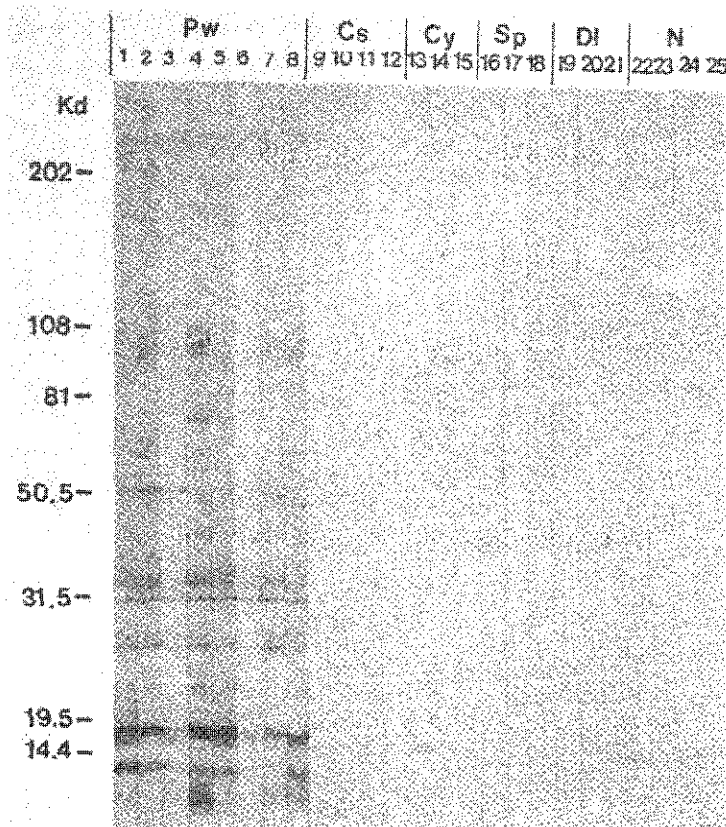


Fig. 3. Immunoblot findings of SEP against various serum preparations.

Pw : paragonimiasis, Cs : clonorchiasis, Cy : cysticercosis

Sp : sparganosis, DI : diphylobothriasis, N : negative controls

Kd항원대는 낭미충 감염자 혈청 및 광절열두조충 감염자혈청, 그리고 대조군 혈청과의 반응을 보였다. 이상과 같은 약간의 교차반응을 제외하면 50, 34, 21, 13 및 10Kd 항원을 특이항원대로 간주하고 진단에 이용할 수 있을 것으로 보인다(Fig. 3).

Pw1 및 Pw2는 뚜렷한 항원대가 보이지 않고 전반적인 background가 발색되는 경향을 나타내었다. 이것은 ELISA에서 양성치/음성치 값이 적게 나타난 것과도 일치함을 보여주었다.

Pw3에서는 17 및 10Kd 항원대가 일관성있게 폐흡충 감염자 혈청과 양성반응을 보였으며, 다른 윤충류 감염자 혈청과는 교차반응이 없었다. 따라서 폐흡충 진단에 있어서 아주 유용할 것으로 사료된다(Fig. 4).

Pw4의 결과에서는 50, 34 및 31Kd 항원대가 폐

흡충 감염자 혈청과는 양성반응을, 다른 윤충류 감염자 혈청과는 교차반응을 보이지 않는 특이항원대로 나타났으며, 강하게 반응한 17Kd 항원대는 약간의 교차반응을 보였다(Fig. 5).

고 찰

폐흡충증은 아직도 우리나라에서 흔히 볼 수 있는 기생충 질환 중의 하나로서 재담이나 대변에서 충란 발견이 쉽게 되지 않으므로 혈청학적 진단법의 적용이 매우 필요한 질환이라고 할 수 있다. 폐흡충증의 진단에 많이 이용되고 있는 ELISA는 민감도와 재현성에 있어서 탁월한 장점들을 지니고 있으나 다른 기생충 질환 감염자의 혈청과 교차반응 또는 비특이성 반응에 따라 민감도 및 특이도에

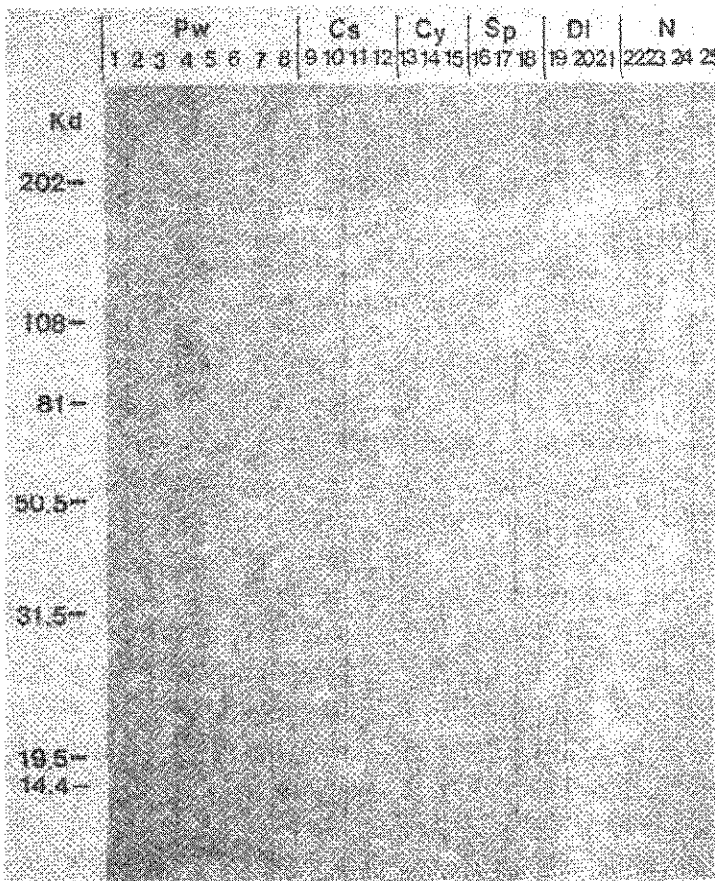


Fig. 4. Immunoblot findings of Pw3 against various serum preparations.
 Pw : paragonimiasis, Cs : donorchiasis, Cy : cysticercosis
 Sp : sparganosis, Dl : diphylobodtriasis, N : negative controls

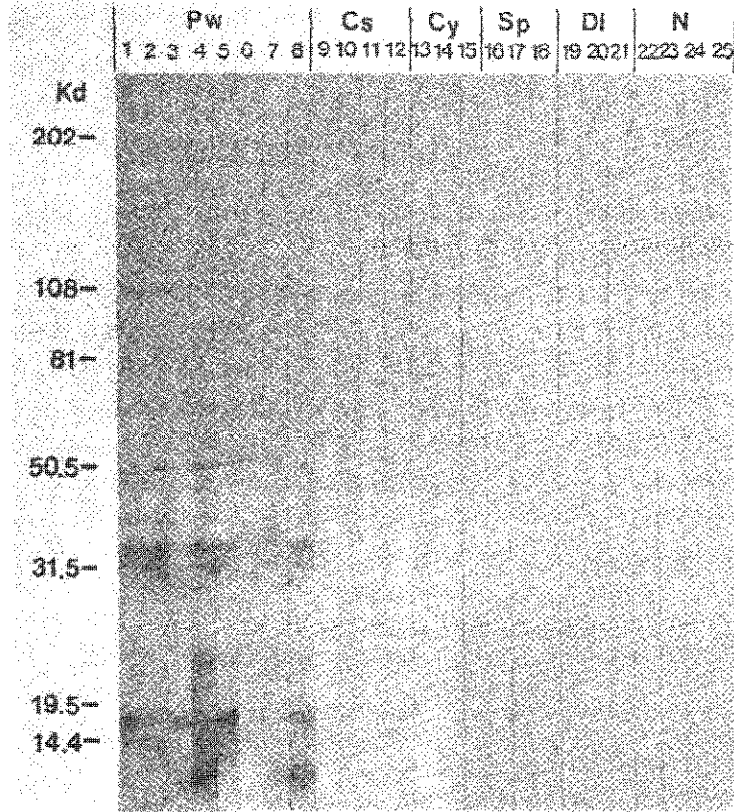


Fig. 5. Immunoblot findings of Pw4 against various serum preparations.
 Pw : paragonimiasis, Cs : clonorchiasis, Cy : cysticercosis
 Sp : sparganosis, DI : diphyllbothriasis, N : negative controls

영향을 받고 있다(金들, 1982²⁷ ; 崔들, 1984⁹). Towbin et al.(1979)¹⁹이 처음 사용하기 시작하여 각종 질환의 진단에도 이용되기 시작한 EITB는 탁월한 SDS-PAGE의 분해력과 blotting, 그리고 ELISA의 민감성을 결합시킨 방법으로 교차반응의 유무와 특이 항원 및 공통항원대를 일견해서 볼 수 있는 검사법이다(Tsang et al., 1983²⁰).

본 실험에서는 원심분리에 의해 제조된 각종 폐흡충 항원의 적용성을 알아 보고자 ELISA와 SDS-PAGE 및 EITB를 실시하였다. 결과 ELISA 성적과 immunoblot에서 얻을 수 있는 효용성이 거의 일치한다는 것이 확인되었다. 즉, ELISA에 의한 흡광도값의 양성과 음성의 비를 기준으로 볼 때 Pw3, Pw4 및 SEP가 Pw1, Pw2보다 우수한 것으로 나타나고 있으며 SDS-PAGE 또는 immunoblot법에서 강한 항원대들 중의 하나인 34Kd를 중심으로 볼 때 폐흡충의 항원중 그 어느 것 보다도 강한 반응을

보이고 있다(Table 2, Fig. 2). 이 결과가 의미하는 것은 ELISA에서 양성반응, 즉, 흡광도값을 올리는 인자들이 Pw3의 경우 34Kd의 항원대에 거의 의존하고 있고 그밖의 항원들은 여타의 다른 항원대에 의존하는 경향이 많은 것이 아닌가 하는 생각을 갖게한다. 이러한 생각은 Fig. 1의 SDS-PAGE를 볼 때 SEP나 Pw4에 비해 Pw3에서 볼 수 있는 항원대가 비교적 단순하다는 점에서 비롯된다. 한편 Pw2의 항원이 다른 항원에 비하여 볼 때 음성대조혈청의 ELISA 흡광도값이 약간 높게나옴을 알 수 있는 바 이와 같은 현상은 immunoblot로 볼 때 어떤 특별한 항원대의 반응보다는 전반적으로 background의 비특이반응에 의한 것으로 간주될 수 있다. Tsang et al.(1985)²⁸에 따르면 background의 반응은 ① nitrocellulose membrane의 전반적인 비특이반응, ② 제 1 항체의 교차반응 또는 impurity에 따른 항원대의 착색, ③ 제 2 항체나 확인 시약에 의한 항원

대의 착색등에 의해 나타난다고 한 바, 본 실험에 나타나는 background의 착색이 어떤 범주에 들어가는지는 확실하지 않다.

34Kd의 항원대가 과연 교차반응이나 비특이반응을 일으키지 않는 항원대인가 하는 문제는 좀 더 검토되어야 한다. Kim et al.(1988)²²⁾은 폐흡충 생리식염수 추출 항원에서 46, 30 및 23Kd의 항원대가 강하게 반응하였으며 그 중에서도 30Kd가 가장 많이 폐흡충 감염자 혈청과 반응하였다고 하였으며, Joo et al.(1989)²⁴⁾의 실험에서는 폐흡충증 환자 혈청과 반응하는 229, 91, 60, 50, 35-31, 27, 25, 21, 17, 11 및 10Kd의 항원대가 일관성있게 반응한다고 하였으며, 그 중에서 91, 60, 35-31, 21, 10Kd 항원대가 강하게 반응하였다고 하였다. 또한 朱 등(1989)²⁸⁾은 폐흡충 총체의 발육단계별 항원성에 대하여 검토한 바 12주 이상된 총체항원인 경우 229Kd에서 조기 감염 진단이 유용하다고 하였다.

Itoh 및 Sato(1988)²⁹⁾은 27 및 50Kd 항원대가 *P.westermani* 감염자 혈청과 강하게 반응하는 항원대라고 하였는데 27Kd 항원대는 *P.miyazakii* 감염자 혈청과 교차반응을 하여 50Kd 항원대가 특이항원대임을 밝혔다. 한편 Slemenda et al.(1988)²³⁾은 약 8Kd의 분자량을 갖는 항원대가 특이항원대라고 하였지만 1례의 schistosomiasis haematobium에서 교차반응을 보였다.

*P.heterotremus*에 관한 연구로 Malecwong et al.(1991)³⁰⁾은 31.5Kd의 항원대가 특이항원대로 반응하였으며, Indrawati et al.(1991)³¹⁾은 35Kd의 항원대가 특이항원대로 반응한다는 것들이 있었다. 이 항원대는 본 실험에서의 34Kd 항원대와 유사하다고 보인다.

이상의 결과로 보아 SEP(saline extract of *P.westermani* worm), Pw4(100000×G supernatant)의 50 및 34Kd 항원대가 폐흡충 감염자 혈청의 진단에 유용할 것으로 보이며, 단순한 단백분획을 보인 Pw3(100000×G pellet urea soluble, treated with n-butanol)의 10Kd항원대도 특이항원대로서 교차반응을 보이지 않았으므로 폐흡충 감염 진단에 유용하다고 사료된다.

결 론

SDS-PAGE 및 EITB를 이용하여 폐흡충증 진단에 있어서 여러가지 항원의 효용성을 검토할 목적으로 폐흡충 조항원(SEP), 그리고 총체 부유액의 480×G 침사물(Pw1) 및 7650×G 침사물(Pw2)의 urea soluble 항원, 100000×G 침사물의 urea soluble 항원에 n-butanol 처리 항원(Pw3) 및 100000×G 상층액(Pw4)에 대한 폐흡충 감염 혈청 및 기타 운충류 감염 혈청의 반응을 대조혈청과 비교검토하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1) 각 항원에 대한 ELISA검사에 있어서 Pw3은 양성혈청/음성혈청의 흡광도값이 비가 8.54로 가장 높았으며, Pw1의 항원은 6.94로 낮았다.

2) SDS-PAGE하고 silver stain한 결과 34, 13Kd의 단백분획은 전반적으로 나타났으나 Pw2의 경우는 뚜렷하게 분획이 나타나지 않았다.

3) EITB의 결과 50 및 34Kd의 항원대가 SEP나 Pw4에서 특이항원대로 나타났으며, Pw3에서는 10 Kd가 특이항원대로 나타났다.

이상의 결과로 보아 Pw3 및 Pw4는 ELISA 및 immunoblot법으로 폐흡충증의 진단에 효과적으로 이용될 수 있을 것으로 생각된다.

References

- 1) Yokogawa M, Tsuji M and Okura T : *Studies on the complement fixation test for paragonimiasis as the method of criterion of cure. Jpn J Parasitol* 11(2) : 117-122, 1962
- 2) Yogore MG, Lewert RM and Marraso ED : *Immunodiffusion studies in paragonimiasis. Am J Trop Med Hyg* 14 : 586-591, 1965
- 3) 李溫永·橫川宗雄·辻守康 : 數種の血清學的術式에 의한肺吸蟲感染血清의抗體測定에 관한研究. 國立保健院報 7 : 307-321, 1970
- 4) 崔源永·李玉蘭 : 實驗的肺吸蟲症의寒天沈降反應. 寄生蟲학잡지 19(2) : 101-108, 1981
- 5) 崔源永·李元永·李玉蘭 : 間接螢光抗體法에 의한肺디스토마症의診斷法研究. 寄生蟲학잡지 13(2) : 152-158, 1975

- 6) Cho KM and Soh CT : *Indirect fluorescent antibody techniques for the serodiagnosis of paragonimiasis and clonorchiasis. Yonsei Rep Trop Med* 7 : 26-37, 1976
- 7) Cho SY, Hong ST, Rho YH, Choi S and Han YC : *Application of micro-ELISA in serodiagnosis of human paragonimiasis. Korean J Parasitol* 19(2) : 151-156, 1981
- 8) Yokogawa M, Kobayashi M, Hata H, Ito J, Tsuji M, Miranda H, Ibanez N, Fernandez E and Guerra A : *Peruvian paragonimiasis : Diagnostic value of the enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA). Jpn J Parasitol* 32 : 317-332, 1983
- 9) 崔鏡吉 · 李駿商 · 林漢鍾 : 肺吸蟲症 診斷에 있어서 ELISA법의 應用에 關한 研究. 高麗醫大論文集 21(1) : 33-40, 1984
- 10) Soh CT, Min DY, Ryu JS and Yong TS : *Study on the reproducibility of ELISA technique for the diagnosis of clonorchiasis and paragonimiasis. Yonsei Rep Trop Med* 16(1) : 1-10, 1985
- 11) 李玉蘭 · 張在景 : 肺吸蟲의 組抗原과 精製抗原에 의한 肺吸蟲 감염 고양이 血清의 免疫酵素反應. 寄生蟲學잡지 24(2) : 187-193, 1986
- 12) Inai J : *Evaluation of ELISA for the diagnosis of paragonimiasis westermani. Trans Roy Soc Trop Med Hyg* 81 : 3-6, 1987
- 13) Hunter GW III, Ritchie LS and Pan C : *Immunological study II. Intradermal tests and their application in the field for the detection of schistosomiasis japonica, paragonimiasis, and clonorchiasis. Military Medicine* 122 : 85-96, 1958
- 14) Sadun EH, Buck AA and Walton BC : *The diagnosis of paragonimiasis westermani using purified antigens in intradermal and complement fixation tests. Military Medicine* 124 : 187-195, 1959
- 15) 朱 一 · 金基昇 : 디스토마 抗原의 精製에 關한 研究 第 1 報. 디스토마 抗原의 精製. 가톨릭대학 의학부논문집 9 : 153-158, 1965
- 16) Hillyer GV and Serano AE : *The antigens of Paragonimus westermani, Schistosoma mansoni and Fasciola hepatica adult worms : Evidence for the presence of cross reactive antigens of Paragonimus westermani. Am J Trop Med Hyg* 32(2) : 350-358, 1983
- 17) Itoh M and Sato S : *Multi-dot enzyme-linked immunosorbent assay for serodiagnosis of trematodiasis. South Asian J Top Med Public Health* 21(3) : 471-474, 1990
- 18) 김석일 · 강신영 · 조승열 : 부분정재 폐흡충 항원의 유용성 검토. 寄生蟲學잡지 21(2) : 257-264, 1983
- 19) 崔源永 · 劉載乙 · 南皓祐 · 崔亨洛 : 肺디스토마 (*Paragonimus westermani*) 感染 고양이 血清에 對한 ELISA 抗體價의 意義. 寄生蟲學잡지 24(2) : 177-186, 1986
- 20) Towbin H, Staehelin T and Gordon J : *Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets : Procedure and some applications. Proc Natl Acad Sci USA* 76 : 4350-4354, 1979
- 21) Tsang VCW, Peralta JM and Simons AR : *Enzyme-linked immunoelectrotransfer blot techniques(EITB) for studying the specificities of antigens and antibodies separated by electrophoresis. Methods in Enzymol* 92 : 377-391, 1983
- 22) Kim SH, Kong Y, Kim SI, Kang SY and Cho SY : *Immunoblot observation of antigenic protein fractions in Paragonimus westermani reacting with human patients sera. Korean J Parasitol* 26 : 239-243, 1988
- 23) Slemenda SB, Maddison SE, Jing EC and Moore DD : *Diagnosis of paragonimiasis by immunoblot. Am J Trop Med Hyg* 39 : 469-471, 1988
- 24) Joo KH, Ahn H, Chung MS and Rim HJ : *Demonstration of species-specific and cross reactive components of Paragonimus westermani crude worm antigen by EITB. Korean J Parasitol* 27(1) : 9-14, 1989
- 25) Kong Y, Kim WB, Kang SY and Cho SY : *Molecular weight of major component proteins in crude saline extract of Paragonimus westermani. Korean J Parasitol* 29(2) : 113-120, 1991
- 26) 주경환 · 홍성철 · 정명숙 · 임한중 : Immunoblot technique을 이용한 폐흡충의 발육단계별 항원 특이성 분석. 寄生蟲學잡지 27(1) : 1-7, 1989
- 27) 金東燦 · 李溫永 · 李鍾秀 · 安順愛 : 페디스토마 증의 管理에 關한 研究 II. 肺吸蟲症의 免疫診斷 : 分泌 排泄 抗原에 의한 ELISA 試驗. 國立保健研究院報 19 : 109-114, 1982
- 28) Tsang VCW, Bers GE and Hancock K : *Enzyme-linked immunoelectrotransfer blot(EITB) in Enzyme-mediated immuno assay Ed, TT NGO and HM Lenhoff, Plenum Publishing Corporation, 1985*

- 29) Itoh M and Sato S : *An antigenic component for the serodiagnosis of paragonimiasis miyazakii*. *Jpn J Parasitol* 37(5) : 347-352, 1988
- 30) Maleewong W, Wongkham C, Pariyanonda S, Intapan P, Pipitgool V, Daenseegaew W and Morakote N : *Antigenic components of Paragonimus heterotremus recognized by infected human serum*. *Parasite Immunol* 13 : 89-93, 1991
- 31) Indrawati I, Chaicumpa W, Setasuban P and Ruangkunaporn Y : *Studies on immunodiagnosis of human paragonimiasis and specific antigen of Paragonimus heterotremus*. *Int J Parasitol* 21(4) : 395-401, 1991