

# 日本住血吸虫症の免疫血清学的診断法に関する研究

## (3) Circumoval precipitation Test (COPT) に関する研究

横川 宗雄 佐野 基人 荒木 国興

千葉大学医学部寄生虫学教室

(1967 年 1 月 12 日 受領)

### はじめに

著者らは日本住血吸虫症の免疫血清学的診断法に関する研究第 2 報において、Circumoval Precipitation Test (COPT) に用いる虫卵は、日本住血吸虫感染マウスの腸及び肝臓からトリプシン消化法により分離採集したものがもつともよく、この方法で採集した虫卵は 40 日間以上保存し得ることを明らかにすると共に、本法はその操作も簡単なもので、その信頼性如何によつては、日本住血吸虫症の補助的診断法として広く用い得る可能性のあることを指摘しておいた。本研究では、日本住血吸虫感染動物及び日本住血吸虫症患者血清について COPT を実施し、反応の出現状況及び判定規準等に関する基礎的諸条件についての検討を行った。この際同時に補体結合反応も併用し、両者の成績を比較してその信頼性についても考察を加えた。

### 実験材料および方法

#### 1. 動物実験

感染に用いた日本住血吸虫のセルカリアは福岡県で採集した自然感染の宮入貝からえたもので、感染にさいしては少なくとも 3 コ以上の感染貝からえたセルカリアをよく混じたものを用いた。

すなわち体重 20 g 前後の DDY 系マウスにはセルカリア 20 尾づつ、家兎では 1 キロ当り 100 尾、日本サルでは 1 キロ当り 50 尾の割合で皮下注射法によつて感染させた。

#### 2. 血清

マウスでは感染後、毎週 2~3 匹宛心臓から全採血し、ウサギでは毎週耳静脈から、サルでは毎月 1~2 回前膊静脈からそれぞれ 3~4 cc づつ採血し、血清を分離後凍結保存した。実験に際しては対照血清及び免疫血清とも 56°C 30 分間非動化して用いた。

#### 3. COPT

Oliver-Gonzalez (1954) の原法ではスライド上で、0.05 cc の血清に同量の虫卵懸濁液を加えてよく混ぜた後、カバーグラスをかけて、その周囲をワセリンで封入することになっているが、我々は次の如く行つた。すなわち、非動化した血清を 0.2 cc 宛滅菌小試験管にとり、それに 0.2 cc の日本住血吸虫卵懸濁液を加えてよく混和した後、綿栓をほどこして 37°C の孵卵器内に入れ 24 時間後に判定した。

この際用いた日本住血吸虫卵は感染マウスの肝及び腸管組織からトリプシン消化法で分離後、N/10 食塩水 (0.6%) に保存 (5°C) しておいたもので、0.2 cc の保存液中には約 50 コの成熟卵がふくまれるよう調製した。

判定に際しては、小試験管底に沈澱している虫卵を毛細ピペットで静かに吸上げ、その 2~3 滴をスライドグラス上にとり、カバーグラスを覆つて検鏡した。検鏡に当つては、はじめ弱拡大にて成熟卵をさがし、その卵殻周囲の沈降物の形成の有無は強拡大 (400×) にて精査した。成績は観察した成熟卵数 (少なくとも 30 コ以上) とそのうちで卵殻周囲に沈降物を認めた虫卵数を同時に記入した。この際卵殻周囲の沈降物の形状も詳しく観察記載した。

#### 4. CFT (補体結合反応) の術式

肺吸虫について行つている 50% 溶血法に準じ (横川・栗野, 1956)、補体は 2.5 単位を用い、抗体価が 10 倍以上を示したものを陽性反応とした。

抗原は日本住血吸虫の VBS 抽出抗原 (肺吸虫の VBS 抗原の製法と同じ、横川, 1955) で、その濃度は乾燥虫体重量の 4,000 倍稀釈液を用いた。

### 実験成績

#### 1. COPT における卵殻周囲の沈降物の形状について

各種動物の抗血清では虫卵の卵殻周囲に形成された沈降物には、種々な形態のものがみられたが、大別すると次の3型に分類される。(Fig. 1)

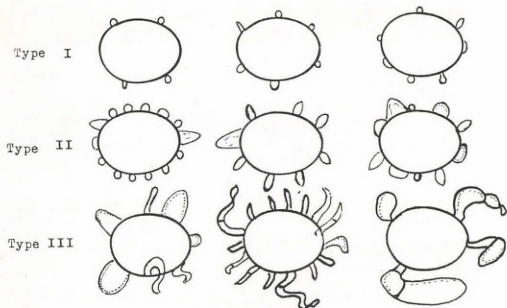


Fig. 1. The type of precipitation of the eggs showed positive reaction in COPT.

1) 第I型は卵殻に形成された沈降物は小球形、或いは半円形の索状物で、その数も少なく、強拡大(400×)でないと確認しがたい場合がある (Fig. 1の Type I, Fig. 2の2)。

2) 第II型は大小種々の胞状物のほかに、剣状の沈降物もみられ、弱拡大(100×)でも容易に確認することが

できる (Fig. 1の Type II, Fig. 2の3, 4)。

3) 第III型は沈降物の形成は著明で、沈降物の方が虫卵より大きい場合がある。この場合は、その沈降物は長大な帯状を呈し、時には卵の長径の3倍にも達することがある。時には横にひだの如きものがあり、あたかも条虫の体節の如き形態を呈するものがみられる (Fig. 1の Type III, Fig. 2の5, 6)

なお第I型の如く沈降物が小さく少数の場合には見落すおそれがあるので、虫卵を回転させて卵殻の全表面を慎重に検鏡することが必要である。なお、上記の3型の分類法は、ただ沈降物の形態の大小及び多小により分けたものであるが、これと血清中の抗体価との関係についても検討してみた。その結果は第I型の沈降物を示す虫卵の陽性率(沈降物形成虫卵数/検査虫卵数)は一般に低いが、第II型、第III型と沈降物が著明になるにつれて、その陽性率も高くなる傾向がみられた (Table 1)。この点については、次の項で更に詳しくふれることにしたい。

2. 感染時期と COTP における沈降物の形状との関係について

日本住血吸虫を実験的に家兎に感染させた後、経時的に COPT を行つたところ、Table 1 の如き結果が得られた。すなわち6例中、5例が3週後に COTP は陽性

Table 1. Results of COPT and CFT for the rabbits experimentally infected with *Schistosoma japonicum*

Rabbit No.	Tests	Weeks after infection										
		1	2	3	4	5	6	9	12	15	16	
1	COPT	-	-	-	-	-	I (20%)	II (39%)	III (66%)			
2	COPT	-	-	II (38%)			III (72%)	III (84%)	III (70%)		III (69%)	
3	COPT	-	-	II (22%)			III (40%)	III (53%)	III (57%)		III (67%)	
4	COPT	-	-	I (16%)			III (50%)	III (61%)	III (63%)		III (52%)	
5	COPT	-	-	II (21%)	II (37%)	III (41%)	III (50%)	III (73%)	III (70%)			
	CFT	-	-	++	+++	+++	+++	+++	+++			
6	COPT	-	-	II (29%)	II (33%)	III (45%)	III (75%)	III (70%)				
	CFT	-	-	+	++	+++	+++	+++				
Control	COPT	-	-	-	-	-	-	-				
	CFT	-	-	-	-	-	-	-				

I, II, III.....Showing the type of the precipitation in COPT.

+ : ×10~20  
 ++ : ×21~80  
 +++ : ×81~ } Showing the antibody titers in CFT.

( ).....Number of parenthesis showed the percentage of the positive eggs to the number of the eggs examined in COPT.

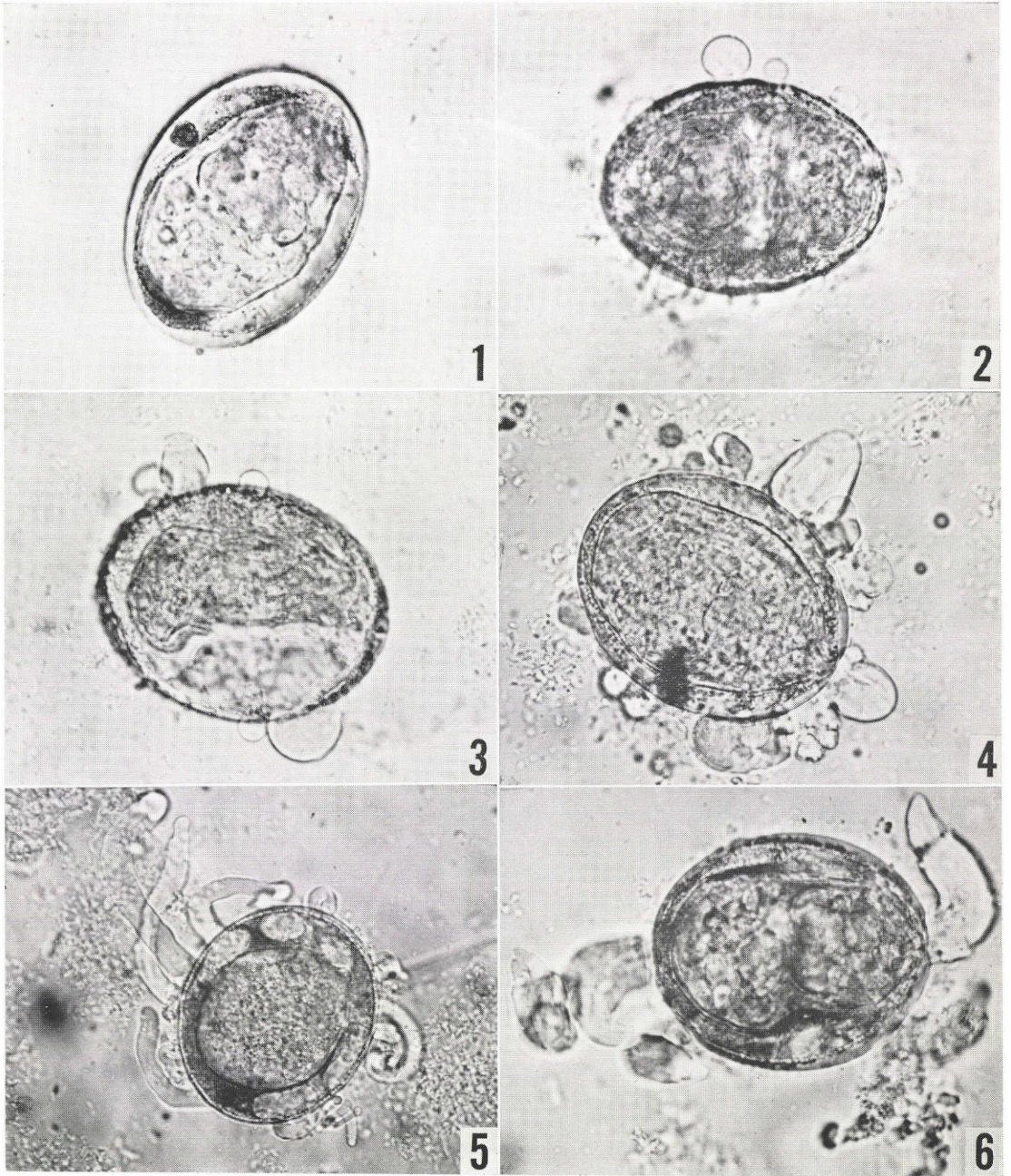


Fig. 2. Shapes of precipitation on egg shell

- 1) Egg without any precipitate in normal serum.
- 2) Type I; showing small globules of precipitate.
- 3-4) Type II; showing big globules and massive precipitates.
- 5-6) Type III; showing band-form precipitate like tapeworm segment.

となつているが、この場合すべて卵殻周囲の沈降物の形態は第 I 型、又は第 II 型に属し、陽性虫卵の率も 16% 乃至 38% と検査虫卵数の 1/2 以下である。然し感染後 5 乃至 6 週以後になると陽性虫卵の率も No. 1 をのぞけば 40~75% となり、その沈降物も第 III 型に属する著明なものも多く、9 週後になると No. 1 をのぞいては、その陽性率は更に高くなり、53~84% の虫卵に第 III 型に属する沈降物の形成がみられた。このことは、No. 5 及び No. 6 の CFT の結果ともよく一致している。すなわち感染後の時日の経過ともに CFT の抗体価は上昇しているが、これと平行して COPT の沈降物の形成も著明となり、陽性虫卵の率も明らかに上昇している。

マウスについての実験結果を示したのが、Table 2 で

Table 2. Results of the COPT and CFT for the mice experimentally infected with *Schistosoma japonicum*

Tests	Week after infection									
	1	2	3	4	5	6	7	10	15	
COPT	0/3	1/3	2/2	2/2	7/7	3/3	2/2	2/2	1/1	
		I	I	II	III	III	III	III	III	
CFT	0/2	0/2	1/3	3/3	2/2		2/2			
			++	+++	+++		+++			

Number of positive mice/Number of mice examined in COPT.  
 I, II, III...Showing the type of precipitation in COPT.  
 +, ++, +++...Showing the antibody titers in CFT.

あるが、この場合は家兎と異なり、全採血したので各検査時のマウスは同一のものではない。然し COPT の結果は、感染後 2 週後で既に 3 例中 1 例が第 I 型の反応を示し、5 週以後では全例に第 III 型に属する著明な沈降物の形成がみられた。同時に行つた CFT の成績では感染後 4 週後に 3 例中 1 例がはじめて陽性となり、5 週以後は常に全例陽性を示し、抗体価も上昇を示している。

感染猿についての成績は次の如くあつた(表は省略) すなわち 9 例の日本猿について、感染後 1 カ月毎に行つた成績であるが、この場合感染後 1 カ月では COPT 及び CFT とも陽性を示したものはなかつたが、2 カ月後には、COPT は 8 例中 7 例が陽性を示した。然し、CFT では未だこの時期にはすべて陰性で、感染後 3 カ月後にはじめて 6 例が陽性を示した。4 カ月後には COPT 及び CFT 共に全例が陽性を示している。日本猿においては、マウス、家兎などの成績と比較し、COPT 及び CFT

の陽性出現の時期が著しくおくれているが、虫卵がはじめて糞便に見出された時期も 70 日~80 日の間であつたことを考えると、日本猿体内での日本住血吸虫の発育が著しく緩慢であつたためと考えられる。この点に関しては別の機会に報告することにした。

3. COPT の判定時間について

COPT の判定時間は原法では 24 時間とされており、前述の成績もすべて 24 時間後の判定結果である。然しもしこれより早期に判定が可能であれば、本法の利用価値は更に高くなると思われる。そこで、この点についての検討を行つた。すなわち住血吸虫感染家兎 3 匹の血清について COPT を行ない、1 時間後、2 時間後、6 時間後、17 時間後、24 時間後、及び 48 時間後の卵殻周囲の沈降物形成の状況を観察した。

Table 3. Relation between the time of immersion of eggs in antiserum and the formation of precipitation

Rabbit No.	Weeks after infection	Times of incubation at 37°C				
		2	6	12	17	24 hours
1	6 weeks	0	7.4% (I)	31.0% (II)	39.1% (III)	49.4%* (III)
2	"	0	14.6% (I)	77.7% (III)	82.4% (III)	82.4% (III)
3	9 weeks	0	20.8% (I)		55.4% (III)	57.4% (III)
4	control	0	0	0	0	0
5	"	0	0	0	0	0

\* The percentage of the eggs showed the precipitation.  
 ( ) Number of parenthesis showed the type of the precipitation in COPT.

結果は Table 3 に示した如く、37°C 2 時間ではいまだ沈降物の形成は全く認められなかつたが、6 時間後にはじめて沈降物の形成が認められた。然し、その沈降物は第 I 型に属するものが多く、陽性卵の出現率もそれぞれ 7.4%、14.6% 及び 20.8% と低率であつた。17 時間後には、沈降物の形成は著明となり、第 II 型の他に第 III 型に属するものが増加し、その陽性率も 39.1%、77.7% 及び 55.4% と高くなつた。その後は著しい変化はなく、24 時間後でもその陽性率はそれぞれ 49.4%、82.4%、57.4% で 17 時間後のそれと殆んど差がなかつた。

なお 48 時間後の成績も 24 時間後のそれと殆んど差はないが、この頃になると雑菌の増殖その他により血清が混濁する場合があるので、むしろ判定が困難となるおそ

れがある。従つて判定時間は17時間乃至24時間後がもつとも適当であると思われる。然し、7時間以後でも判定は必ずしも不可能ではない。なお同時に正常家兔血清についても観察を行ったが、この場合は24~48時間後もすべて陰性であった。

#### 4. 抗血清の濃度とCOPTとの関係

上記の実験はすべて2倍稀釈の抗血清について行ったものであるが、この場合、沈降物の形状及び虫卵の陽性率は、抗体価の強弱と一定の関係のあることが示唆された。そこで沈降物形成と抗体価との関係について検討を加えてみた。すなわち日本住血吸虫感染家兔の血清及び患者血清について、その稀釈濃度とCOPTの沈降物の形状との関係を観察した。

Table 4. Relation between the dilution of the serum and the type of the precipitation in COPT

Serum No.		Dilution of the serum							
		×2	×4	×8	×16	×32	×64	×128	×256
1	rabbits*	(III)	(III)	(III)	(III)	(II)	(II)	(II)	(I)
2		(III)	(III)	(III)	(III)	(II)	(II)	(I)	(-)
1	patients**	(II)	(I)	(I)	(I)	(-)			
2		(I)	(I)	(-)					
Control									
1	rabbits	(-)	(-)						
2		(-)	(-)						
1	human	(-)	(-)						
2		(-)	(-)						
3		(-)	(-)						

\* 9-10 weeks after infection with *S. japonicum*.

\*\* patient with schistosomiasis

その結果は Table 4 の如く、家兔の2例では、それぞれ128倍及び250倍と稀釈倍数が高くなるにつれて、沈降物の形状は第II型或は第I型に属するものが増加し、その陽性率も著しく低下している (Fig. 3)。すなわち、高濃度血清中では沈降物は、第III型を示すものが多く、その陽性率も高いが、血清の濃度が低下するにつれて前述の如く、沈降物も少なくなると同時に虫卵の陽性率との間に一定の関係のある事が明らかとなった。従つてCOPTの成績は、沈降物形成のみられた最終血清稀釈倍数、すなわち抗体価を以て示すことも出来るが、一定稀釈下における沈降物の形状(型)と沈降物形成卵の陽性率を同時に示した方が理解しやすい。特に患者血清では、低稀釈血清でも、Fig. 3に示す如く沈降物の形成は著明でなく、第I型又は第II型に属するものが多かつたが、その陽性率はNo. 1とNo. 2 (Table 1) ではかなりの差が

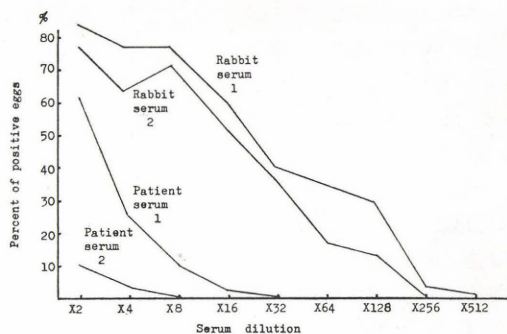


Fig. 3. Relation between the dilution of the serum and the percentage of the positive eggs

あるので、その成績記載に当つては、稀釈倍数と共に沈降物の型とその陽性率を同時に明記することが必要である。

#### 考 察

Oliver-Gonzalez (1954) らは COPT の利点としては

- 1) その実施が比較的容易であること。
  - 2) 可成り鋭敏な反応で種特異性があること。
  - 3) 完全治療と共に比較的早期に陰転するので、治療判定法として用いる。
- などの諸点をあげているが、その反面、短所としては
- 1) 判定が必ずしも容易でないこと。
  - 2) 定量する実際的方法が未だ確定していないこと。
  - 3) 正常血清中でも時折水胞様沈降物をみることもあり、それとの鑑別が容易でないこと。
  - 4) 抗原として用いる虫卵を採集する動物の種類によりその結果が異なること、

などがあげられている。

然し、利点としてあげられている諸点のうちでも種特異性があるという点については、必ずしも十分な研究はなされていない。また短所としてあげられている諸点のうち、その判定が必ずしも容易ではないということ、及び定量する実際方法がないということは、もつとも重要な点で、判定規準の早急な設定がのぞまれるところである。そこで著者らは先づ判定規準の検討と云う点に焦点をしばり、日本住血吸虫感染動物及び患者の血清を用いてCOPTを行い、沈降物の形状、沈降物出現の時間と血清の濃度の関係、その他について実験を行ったので、その結果につき簡単に考察を加えてみる事にする。

#### 1. 沈降物の性状と分類

日本住血吸虫感染動物の血清においても、マンソン住血吸虫の場合と同じく、種々な形を呈する沈降物の形成がみられたが、我々はこれを図示した如く、第Ⅰ型、第Ⅱ型、及び第Ⅲ型の3つに大別してみた。一般には沈降物の形状、大きさなどにより、1+, 2+, 3+及び4+の4段階に分けられているが(Oliver-Gonzalez, 1954)、我々の分類法でも、沈降物陽性を示す虫卵の率は第Ⅰ型、第Ⅱ型、第Ⅲ型の順に高くなっており、成績判定の上に何等不便を感じなかつた。この型と陽性虫卵率とを併用すれば、反応の強弱を或る程度示すことができる。しかし、僅か1~2コの虫卵にのみ沈降物が形成されたような場合には、その判定には慎重を要すると思われる。

## 2. 感染後の COPT 出現時期について

人工的に感染させた動物について経時的にしらべたところでは、先づ家兎では感染後第3週においてはすでに全例にⅠ型及びⅡ型の沈降物の形成がみられ、以後第5週より16週まではⅢ型の著明な沈降物の形成がみられた。マウスでは家兎より更に早く、第2週後には既に微弱ではあるが沈降物の形成がみられ、5週から15週までは家兎と同じく、いずれもⅢ型の著明な沈降物の形成がみられた。しかし、日本サルでは感染2カ月後にはじめて8例中7例に微弱ではあるが沈降物の形成がみられ、4カ月後に他の1例にも沈降物の形成がみられた。然し第Ⅲ型に属するような著明な沈降物の形成はみられなかつた。日本サルの場合感染後70~80日にはじめて虫卵が糞便に見出されていることを考えると、沈降物の出現は虫体の発育と密接な関係があるものと考えられる。同時に行つた CFT の成績も、COPT と極めてよく一致しているが、只 COPT の方がやや早期に出現するものようである。今後更に虫体の発育状況及びその感染濃度と COPT 及び CFT の出現との関係を追求する必要がある。

## 3. 判定時間及び判定標示法について

Oliver-Gonzalez (1954) は抗血清と虫卵は 37°C で2時間後には早いものでは虫卵卵殻に沈降物の形成がみられたと報じているが、著者らの実験では6時間後にはじめて沈降物の形成が認められたが、17時間から24時間後に沈降物の形成がもつとも著明であつた。なお48時間後と24時間後では殆んど大差はないので判定時間は24時間が最適と考えられた。なお COPT の判定結果の標示法については既に述べた如く、各血清稀釈下における沈降物の型及び検査虫卵に対する沈降物形成を示す虫卵のパーセントの両者を示すことが、最ものもぞましいと思わ

れる。然し集団検査法として、感染者のスクリーニングに用いる場合は、先づ陽性か陰性かを決定することが必要である。従つて、2倍稀釈の血清で沈降物の形成の有無を検査すればよいのであるが、慢性例では反応が極めて微弱なことがあるので、その判定は必ずしも容易ではない。この点に関しては改めて報告することにしたい。

然し以上の成績から、COPT は日本住血吸虫症の免疫血清学的診断法としては、CFT と同様なかなり応用価値のあることが明らかにされた。今後更に COPT を広くスクリーニング法にも応用し、その信頼性について検討すると共に、これが治療判定にも役立つか否かも検討してみたい。

## む す び

主として人工的に感染させた家兎、マウス及びサルの各血清について COPT と CFT を試み、併せて自然感染した人血清にも本反応を行い次のような結果をえた。

1) 成熟日本住血吸虫卵は抗血清内で、その卵殻に小水胞状、剣状、帯状等の様々な沈降物を形成する。これを便宜上3型に分類した。すなわち沈降物が小さくてその数の少ないものをⅠ型、胞状乃至小剣状を有するものをⅡ型、更にそれより形の大きいもの或は帯状を示すものをⅢ型とした。これらの形状は血清中の抗体の量とも密接な関係があるものの如く、Ⅰ型からⅢ型と沈降物の形成が著明になるにつれて沈降物を認める虫卵の率も高くなる傾向が認められた。

2) 人工感染動物では128~256倍稀釈血清においてもなお沈降物の形成がみられるが、流行地の患者では沈降物の形成はそれ程著明ではなく抗体価は4乃至16倍を示すにすぎなかつた。

3) 人工感染動物の COPT 陽性の出現時期は感染後家兎では3週、マウスでは2週、サルでは2カ月であつた。同時に行つた CFT の成績もほぼこれと同じ傾向を示した。

4) 抗血清内で沈降物の形成は37°C で6時間後にはじめてみられ、17時間から24時間後にもつとも著明であつた。従つて判定時間は24時間が妥当と思われた。

5) 以上の成績から COPT は日本住血吸虫症の免疫血清学的診断法としてはかなり信頼されるべきものと思われる。従つてこれの集団検査法としての実用化について更に詳しい検討がのぞまれる。

## 文 献

- 1) Anderson, R. I. (1960) : Serological diagnosis of *Schistosoma mansoni*, II. Amer. J. Trop. Med. Hygiene, 9(5), 600-603.
- 2) Bruijning, C. F. A. (1961) : The circumoval precipitin test in experimental *Schistosoma mansoni*. Trop. Dis. Bull., 59, 577-578.
- 3) Cancio, M. (1959) : Electrophoretic isolation of circumoval precipitins in the serum of individual infected with *Schistosoma mansoni*. Exper. Parasitol. 8, 549-556.
- 4) Coit, M. C. (1957) : Experiments on anti-schistosome circumoval precipitating antibody in mice. Am. J. Trop. Med. Hyg., 6, 390.
- 5) Coit, M. C. and Francisco, L. (1965) : A revised method for isolation of *Schistosoma mansoni* egg for biological experimentation, Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 92, 780-782.
- 6) Desala, A. R. (1962) : Preservation of eggs of *Schistosoma mansoni* for the circumoval precipitin test. Am. J. Trop. Med. Hyg., 11, 199-200.
- 7) Oliver-Gonzalez, J. (1954) : Anti-egg precipitin in the serum of human infected with *Schistosoma mansoni*. J. Inf. Dis., 96, 86-91.
- 8) Oliver-Gonzalez, J. (1955a) : Species specificity of the anti-egg precipitin in *Schistosoma* serum. J. Inf. Dis., 97, 95-100.
- 9) Oliver-Gonzalez, J. (1955b) : Immunological aspects of infections with *Schistosoma mansoni*. J. Trop. Med. Hyg., 4, 443-452.
- 10) Oliver-Gonzalez, J. and Desala, A. R. (1963) : Antibody response to immunization with *Schistosoma mansoni* egg antigen antibody complex. Exp. Parasitol., 13, 204-210.
- 11) Rodriguez-Molina, R. and Oliver-Gonzalez, J. (1959) : The circumoval precipitin reaction to *Schistosoma mansoni* in mice treated with Stibophen. Am. J. Trop. Med. Hyg., 8, 565-569.
- 12) Pellegrino, J. (1962) : The circumoval precipitin in the diagnosis of *Schistosoma mansoni*. Trop. Dis. Bull., 60, 46.
- 13) Schofield, F. D. (1959) : The schistosomal complement fixation test. I. Diagnosis value. Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg., 53, 64-70.
- 14) Scorza, J. C. and Scorza, C. (1961) : Beobachtung über die Zirkumovale Präzipitation bei Experimentellen Infektion mit *Schistosoma japonicum*. Z. Trop. Parasitol. 12, 437-444.
- 15) Smither, S. R. (1962) : Stimulation of acquired resistance to *Schistosoma mansoni* in monkey role of egg and worm. Exper. Parasitol., 12, 263-273.
- 16) 横川宗雄・栗野林(1956) : 肺吸虫症の補体結合反応. 日本医事新報, 1703, 27-35.
- 17) 横川宗雄(1956) : 肺吸虫症の皮内反応, 補体結合反応及び凝集反応 (Rapid Flocculation Test) について. 臨床病理, 4(3), 224-230.
- 18) 横川宗雄・佐野基人(1966 a) : 日本住血吸虫症の免疫血清学的診断法に関する研究 (1) Miracidium Immobilization Test (MIT) について. 寄生虫誌, 15(5), 389-393.
- 19) 横川宗雄・佐野基人(1966 b) : 日本住血吸虫症の免疫血清学的診断法に関する研究 (2) Circumoval Precipitation Test (COPT) に使用する感染マウス臓器内虫卵の分離集卵法について. 寄生虫誌, 15(5), 394-397.

**Abstract**

## IMMUNOSERO-DIAGNOSIS OF SCHISTOSOMIASIS JAPONICA

## III. CIRCUMOVAL PRECIPITATION TEST

MUNEO YOKOGAWA, MOTOHITO SANÔ &amp; KUNIOKI ARAKI

(Department of Parasitology, School of Medicine, Chiba University, Chiba, Japan)

Circumoval Precipitation Test (COPT) and Complement Fixation Test (CFT) were tried with the serum of experimentally infected rabbits, mice and monkeys, and also with naturally infected human serum with *Schistosoma japonicum*. The results obtained from the studies were as follows :

1) In anti-serum mature eggs of *S. japonicum* formed, on their eggshells, precipitations of various shapes, such as small globule, sword, band, etc. These precipitations were classified, for convenience, into three groups : I type : precipitations small in form and in number ; II type : precipitations which have shapes of globule or sword ; III type : precipitations which are larger than type II or those which have shapes of band. These precipitation forms seemd to have close relations with the amount of antibody, for a certain tendency was discovered that the more manifest the forms became, that is, from type I to type III, the higher percentage of eggs was found to have precipitations on their shells.

2) With the serum of experimentally infected animals with *S. japonicum*, formation of precipitations in COPT was noticed even in high-diluted solution as 1:256, while with the serum of naturally infected persons in endemic areas of schistosomiasis, formation of precipitations was not so manifest and antibody titer was low as only 1:4 to 1:16.

3) With experimentally infected animals, positive reaction in COPT appeared 3 weeks after infection in rabbits, 2 weeks after infection in mice and 2 months after infection in monkeys. The results of CFT conducted at the same time showed a similar tendency.

4) Precipitations in anti-serum at 37 C first appeared at 6 hours after the incubation and was most manifest during the period from 17 hours to 24 hours. Accordingly, 24 hours after incubation will be the best time for reading the result of COPT.

5) Judging from the above results, COPT is considered to be a fairly reliable method as immunosero-diagnosis of schistosomiasis. Further studies concerning the practicability of this method as the form of mass examination for schistosomiasis will be desired.