

豚肺虫症の免疫に関する研究

1. X線照射感染子虫の免疫賦与効果

大 西 堂 文

大阪府立大学農学部家畜内科学教室 (指導 野田亮二教授)

(1968年10月18日 受領)

緒 言

近時、寄生虫病予防の目的で、生ワクチンの効果が検討され、既にある種の寄生虫病では実用化の段階に達するに至っている。すなわち、Jarrett *et al.* (1957, 1958, 1959a, 1960) が *Dictyocaulus viviparus* において、X線照射減弱生子虫ワクチンによる免疫賦与に成功して以来、同氏ら (1959b) は *Haemonchus contortus*, Dow *et al.* (1959, 1961) は *Uncinaria stenocephala*, Gordon *et al.* (1960) は *Trichostrongylus colubriformis*, Zaiman *et al.* (1961) は *Trichinella spiralis*, Sokoli'c *et al.* (1961) は *Dictyocaulus filaria*, Varga (1964) は *Ascaridia galli*. Miller (1964) は *Ancylostoma caninum* において、それぞれ同様の方法によるワクチンの効果を認め、またこれらについて多くの研究者により追試が行なわれた。

X線照射が寄生虫の発育に有害な影響を与えることは、古く Tyzzer & Honeij (1916) が *Trichinella spiralis* について報告しており、その後 Levin & Evans (1942), Gould *et al.* (1955) は、X線照射を行った同虫の感染子虫をラットに感染させると、成虫にはなるが子虫を産まず、これらのラットに本虫を再感染させることによってある程度の免疫の発達が証明されたと報告した。以上の他にも、多くの寄生虫において種々の免疫学的研究がなされており、今日の発展が導かれたものといえよう。

現在、線虫において強力な防禦免疫を与え得る抗原として、最も有力視されているものは、第4期子虫またはその代謝産物である。また Soulsby (1961) は、線虫症に適当と思われる免疫法を次のようにまとめている。すなわち、(1) 一定数の正常感染子虫の接種、(2) 近縁種の感染、(3) 弱毒株の感染、(4) 純培養汚液の接種、(5) 人工的減弱感染子虫の接種などである。

Metastrongylus apri は、わが国はもちろん、世界各地の豚に広く浸淫して大きな被害を与え、畜産上重大な

問題となっている線虫である。しかしながら、本虫の免疫学的研究はほとんどなされておらず、わずかに Becht (1960) が、正常感染子虫の接種によって得た免疫血清と子虫との反応を報告しているにすぎない。

以上の観点から、著者は本症の免疫学的基礎研究の一環として、実験動物にモルモットを用い、X線照射減弱生子虫ワクチンの免疫賦与効果を調べ、興味ある結果を得たので報告する。

材 料 と 方 法

1. 予備実験

本実験に先立ち、ワクチン調製に用いるに適当な概略のX線照射量を知る目的で、感染子虫に 2×10^4 (I群)、 4×10^4 (II群)、 6×10^4 (III群)、 8×10^4 (IV群) の4段階のX線照射を行ない、その他に対照群として正常感染子虫接種群 (V群) を設けた。各群3頭のモルモットを用い、それぞれの子虫の感染力を、接種後30日目の検出虫体数によって調べた。

実験動物と飼育：実験開始1週間前、250~350gのハートレー系雄モルモットを1頭ずつケージに入れ、健康状態を観察した。飼料は全期間を通じてオリエンタル酵母 K. K. 製 RC-5 を用い、最初は1日1回 35g を与え、体重の増加とともに 55g まで増量し、また給水は毎日行なった。なお室温は 25~35°C であった。

感染子虫：自然感染豚より採集した本虫の成熟雌虫を磨砕して含子虫卵を採取し、これを 24°C の孵卵器内で人工的に飼育したシマミズ *Eisenia foetida* に感染させて、20日後に感染子虫を得た。すなわち、ミミズの環帯後端で切断し、その頭側を磨砕し、pH 1.0 に調整した適量の 1% 塩酸ペプシン液を加え、38°C で約1時間振盪消化後、40メッシュの金網で濾過、その濾液を 1,000 rpm で5分間遠沈し、さらに生食水を加え、同様にして2回洗浄、その沈渣に適量の生食水を加えて感染子虫浮遊液を調製した。

X線照射：子虫浮游液調製後、直ちにX線照射を行なった。すなわち、試料を直径9 cmのシャーレに深さ0.5 cmまで入れ、以下の条件下で連続照射、所定量に達するごとに2分間休憩し、その間に攪拌後、必要量を取り出した。

照射条件：200 KVp, 深部治療用レントゲン, 電流20 mA, フィルター 0.5 mm Cu+0.5 mm Al, 照射距離19.8 cm, 線量率 490 r/min, 回転台を使用した。

子虫接種：モルモットは接種前後24時間ずつ計48時間絶食させた。X線照射後4°Cに保存し、20時間後再び徐々に室温にもどした子虫浮游液から、1頭あて1,000隻を経口的に接種した。なお、対照に用いた正常感染子虫も、X線照射を除いて、全く同一条件下に置いた。

虫体の検出法：気管・気管支および肺を摘出後、気管より生食水を数回加圧注入し、内部をよく洗浄、得た液をピーカーに保存した。その後1%塩酸ペプシン液を加圧注入し、そのまま約1時間、38°Cで振盪消化、遠沈後、その沈渣と先きの洗浄液を実体顕微鏡下で詳細に観察して虫体の検索を行なった。

2. 本実験

本実験の概要はTable 2の通りである。すなわち、A群はワクチン調製に用いた正常感染子虫接種群で5頭、B, C, D群はそれぞれX線 3×10^4 , 4×10^4 , 5×10^4 r照射子虫ワクチン接種群で各7頭、E群は非免

験・攻撃対照群で5頭、F群は無処置対照群で7頭のモルモットを使用した。免疫接種後25日目に、A群1頭、B, C, D群各2頭ずつを剖検し、肺の肉眼的病変、気管・気管支および肺内の虫体数を調べた。同日、F群を除く残りすべてに、正常感染子虫による攻撃を行ない、20日後すべてのモルモットを剖検し、肺の肉眼的病変、気管・気管支および肺内の虫体数を調べた。また実験期間中の呼吸数、発咳、食欲、体重など、本実験に重要と思われる臨床諸症状を観察した。なお、実験動物とその飼育法、感染子虫の採集、X線照射ならびに虫体の検出法は予備実験と同様の方法で行なった。ただし、動物室は実験期間中 $20 \pm 4^\circ\text{C}$ に保った。

子虫接種：モルモットは予備実験と同様、接種時に絶食させた。免疫接種では、X線照射後予備実験と同様にして保存した子虫を、1頭あて1,000隻、また25日後の攻撃接種には、調製後15時間経過の正常感染子虫を530隻ずつ経口的に接種した。

呼吸数の測定：測定は12~13時の間(室温 $20 \pm 1^\circ\text{C}$)に、モルモットが静止している状態で、ケージの外部より行なった。15秒間、3回の平均値より1分間の呼吸数を算出した。

発咳の観察：10~13時の間に行なった。

食欲：1日の飼料摂取量/1日の給飼量 $\times 10$ の式より求めた値で食欲の程度を表わした。

体重の測定：給飼前に行なった。

Table 1 Preliminary experiment: Infectivity of *M. apri* infective larvae irradiated with various doses of X-ray to guinea pigs

Group	No. of guinea pigs	Infective larvae inoculated		Worm count (Days from infection to death)	Worm count at necropsy on the 30th day after infection
		X-ray dose (roentgen)	No. of larvae		
I	3	2×10^4	1,000	{ 100 (21)	27 7
II	3	4×10^4	1,000	{	0 0 0
III	3	6×10^4	1,000	{	0 0 0
IV	3	8×10^4	1,000	{	0 0 0
V	3	—	1,000	{ 379 (16) 190 (17) 225 (23)	

Table 2 Outline of the experiment

Group	Immunizing phase (25 days)			Challenge phase (20 days)		
	No. of guinea pigs	Vaccination		No. of guinea pigs necropsied on the 25th day after vaccination	Challenge	
		X-ray dose (roentgen)	No. of larvae		No. of larvae	No. of guinea pigs
A	5	0	1,000	1		
B	7	3×10^4	1,000	2	530	4*
C	7	4×10^4	1,000	2	530	5
D	7	5×10^4	1,000	2	530	5
E	5				530	4*
F	7			2		4*

*A guinea pig died from diarrhea on the 4th day after challenge infection.

成 績

1. 予備実験

予備実験の結果は Table 1 に示した。すなわち、I 群ではV群と比べて検出虫体は少なかったが、なお相当数の虫体を認めた。しかし、虫体の発育はV群のそれより劣った。II, III, IV群からは全く虫体が検出されなかった。

2. 本実験

B, E, F 群の各1頭は、下痢により攻撃後4日目に斃死したので、攻撃以後の成績を省いた。ワクチン接種から25日間（以後免疫期と称す）、および攻撃接種から20日間（以後攻撃期と称す）における斃死率、肺の肉眼的所見および検出虫体数は Table 3 に示した。

斃死率：免疫期ではA群の5頭中4頭が、また攻撃期ではE群の4頭中2頭が肺虫症により斃死したが、その他の群で斃死したものはなかった。

検出虫体：免疫接種後25日目の剖検による検出虫体数は、A群では131隻、B群では30および46隻、C, D群ではすべて0隻であった。またB群の虫体の発育程度は、A群のそれより劣っていた。攻撃後17および19日目に斃死したE群では、それぞれ39および91隻の虫体を検出した。また20日目の剖検では、B群の1頭から1隻、E群の2頭より107および169隻の虫体を検出したが、その他ではすべて0隻であった。なおB群からの1隻は雌虫で、発育程度はE群のそれに比べて非常に劣っていた。

肺の肉眼的所見：免疫接種後25日目の剖検で、A, B群では高度の肺胞性気腫と閉塞性無気肺部とを認めた

が、C, F群では全く病変は見られず、D群では肺表面近くに2,3の粟粒大灰白色結節を認めた。攻撃後20日目の剖検では、B群の1頭に軽度の気腫と中等度の脾変を認めたが、B群の残り、およびC, D群では認むべき病変はなかった。E群の病変はA群のそれとほぼ同様であったが、やや無気肺部が少なかった。

各群における平均呼吸数の変化および発咳を認めた期間は Fig. 1 に示した。

呼吸数：各測定日におけるE群とその他の群との差を“t”検定を用いて検討した。なお免疫期にはF群をE群に加えた。免疫期においては、A群では7日目より有意的($P < 0.001$)な増加を認めたが、14日目以後は斃死が続出したので図から省いた。B群では7~10日目の間に増加の傾向($0.05 < P < 0.1$)を示し、12~24日目の間に有意的($P < 0.001$)な増加を認め、ピークは14日目であった。C, D群では全く増加を認めなかった。攻撃期においては、E群では8日目より有意的($P < 0.001$)な増加を認め、14日目にピークに達し、以後減少し、死に至ったものもあったので、16日目以後は図から省いた。B群では免疫期に引き続き、6日目までなお促進の傾向($0.05 < P < 0.1$)を認め、8日目に再び有意的($0.01 < P < 0.02$)に増加し、以後徐々に減少し、12日目以後差はなくなった。C群では増加を認めず、D群では6日目から増加の傾向($0.05 < P < 0.1$)を認め、8日目には有意差($0.01 < P < 0.02$)を認めたが、増加の程度は少なく、10日目より再び差はなくなった。

発咳：免疫期においては、A群では5日目から斃死前まで認めた。B群では8~22日目、C群では10~22日目、D群では9~21日目の間に認めたものもあったが、

Table 3 Immunizing activity produced by the administration of X-irradiated *M. apri* infective larvae at different levels to guinea pigs

Group	Deaths	Immunizing phase						Challenge phase				
		Worm count at necropsy	Macroscopic lesions of lungs			Deaths	Worm count at necropsy	Macroscopic lesions of lungs				
			Pulmonary emphysema	Obstruction atelectasis	Pulmonary nodules			Individual count	Group total	Pulmonary emphysema	Obstruction atelectasis	Pulmonary nodules
A	4/5	{ 312(13)* 201(15)* 216(20)* 148(20)* 131 }	+++ +++ +++ +++ +++ +	+++ ++ ++ ++ ++ +	— — — — — —	0/4	{ †(4)** 0 0 0 0 1 }	1	— — — — — +	— — — — — +	— — — — — —	
B	0/7	{ 30 46 }	++ ++	++ ++	— —	0/5	{ 0 0 0 0 0 }	0	— — — — — —	— — — — — —	— — — — — —	
C	0/7	{ 0 0 }	— —	— —	— —	0/5	{ 0 0 0 0 0 }	0	— — — — — —	— — — — — —	— — — — — —	
D	0/7	{ 0 0 }	— —	++ ++	++ ++	0/5	{ 0 0 0 0 0 }	0	— — — — — —	— — — — — —	— — — — — —	
E		{ †(4)** 39(17)*** 91(19)*** 107 169 }	— — — — — —	— — — — — —	— — — — — —	2/4	{ †(4)** 39(17)*** 91(19)*** 107 169 }	406	— — — — — —	++ ++ ++ ++ ++ ++	— — — — — —	

— : Absent. + to +++ : Degree of change present.

() * : Days from vaccination to death. † () ** : Died from diarrhoea (Days from challenge to death). () *** : Days from challenge to death.

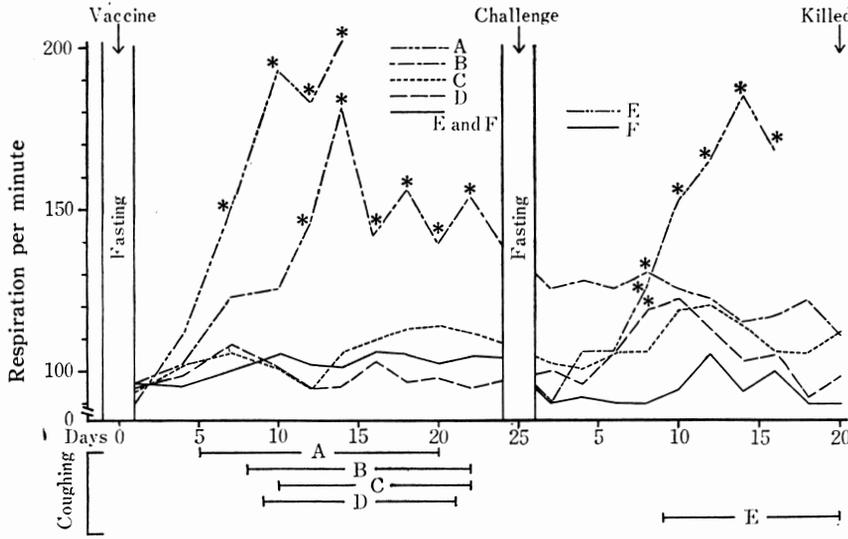


Fig. 1 Mean respiratory rate and coughing.

Each asterisk shows that the difference between each group and group E using "t" test is significant ($P < 0.02$).

その他の群では全く認めなかった。攻撃期においてはE群では9日目より認めたが、その他の群では全く認めなかった。

食欲：食欲の増減は Fig. 2 に示した。F群と各群との差の検定には、Wilcoxon の "U" 検定 ($P < 0.05$) を用いた。なお免疫期ではE群をF群に加えた。免疫期においては、A群では9日目以後有意的に減少した。13日目以後は斃死のため図から省いた。B群では11~17日目の間に有意的に減少、以後増加し、21日目から差が

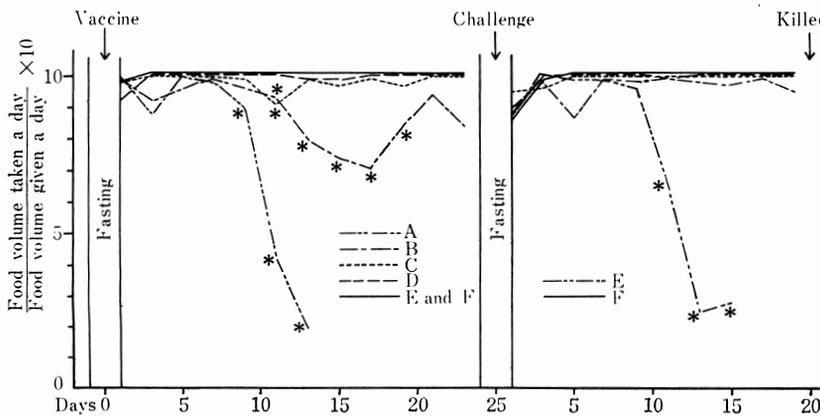


Fig. 2 Appetite.

Each asterisk shows that the difference between each group and group E using Wilcoxon's "U" test is significant ($P < 0.05$).

なくなった、C群では11日目に有意的な減少を認めたが、13日目には旧に復した。D群では全く変化を認めなかった。攻撃期においては、E群では11日目以後有意的に急激な減少を示したが、15日目以後は斃死のため図から省いた。その他の群ではいずれも変化が見られなかった。なお免疫および攻撃接種後4、5日間、各群とも食欲の動揺があったが有意的なものではなかった。

体重：平均増体重は Fig. 3 に示した。すなわち、前検査日からの増体重を "t" 検定を用いてF群のそれと比較した。なお免疫期ではE群をF群に加えた。免疫期においては、A、B、C群では10~13日目に有意的 ($P < 0.05$) な減少を認めた。その後、A群では斃死のため図から省いた。B群では、18日目まで、体重の増加は停滞の傾向 ($0.05 < P < 0.1$) を示し、以後差はなくなった。C群では16日目以後差がなくなった。D群では全く差を認めなかった。攻撃期においては、E群では14日目以後有意的 ($P < 0.01$) に減少したが、その他の群では差は認められなかった。

考 察

過去の研究を総括すると、種によって多少の差はあるが、線虫においてワクチン調製に適当なX線照射量は、 $2 \times 10^4 \sim 10 \times 10^4$ r の範囲内とされている。

Metastrongylus apri におけるこの種の報告は未だないが、本虫においてもこの範囲内であろうことは十分推察される。従って予備実験では、X

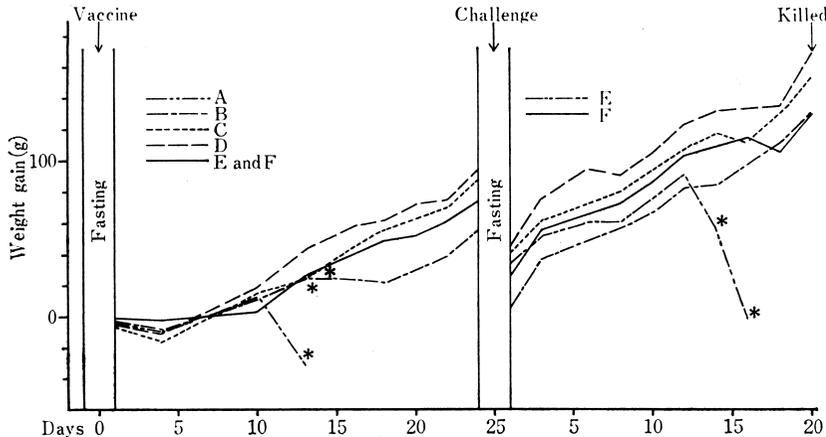


Fig. 3 Mean of the weight gain.

Each asterisk shows that the difference between each group and group E using "t" test is significant ($P < 0.05$).

線照射量 2×10^4 , 4×10^4 , 6×10^4 , 8×10^4 r を用いたが、その結果、 4×10^4 r 以上の照射感染子虫接種群の気管・気管支および肺内に虫体を認めなかった。このように、 4×10^4 r 前後が宿主に被害を与えずに感染を成立させ得る、すなわち生ワクチン調製に適した X 線照射量であろうと推察された。この成績をもとに本実験では、 3×10^4 , 4×10^4 , 5×10^4 r の線量を用いた。

免疫および攻撃に用いた子虫数の決定には明らかな根拠はない。しかし、Dunn & White (1954, 1957), 谷口ら (1957, 1958), 玉崎 (1962) および Zukorvić & Wikerhauser (1964) らの、本虫のモルモットにおける感染実験から、正常感染子虫 1,000 または 530 隻の接種により、ほとんどのモルモットは斃死することが予想され、この接種量はワクチンの効果判定に好都合であると考えられた。

攻撃接種日の決定については、上述の著者らは、接種後約 7 日目にほとんどの正常第 4 期子虫は肺に達すると報告しているが、X 線照射子虫では、この期間の多少の延長が予想される。そしてこの時期が抗原として重要な役割を果す時期であるとされており、また一般に防禦抗体の発達には、ワクチン接種後 2 週間以上を要するとされ、Jarrett *et al.* (1958) らの *Dictycaulus viviparus* での研究においても、ワクチン接種後 25 日目より抗体の産生を認めているところから、本虫においても抗体が産生されるとすれば、少なくとも免疫接種後 25 日目以後には、ある程度の免疫効果が発揮されるものと期待される。以上の判断から、攻撃をワクチン接種後 25 日目

とした。

攻撃後の剖検は、虫体の成長、寄生による臨床症状の発現および回復、発咳による虫体の自然排出の可能性などを考慮して 20 日目とした。

さて、今回の実験成績を考察すると、攻撃後 20 日目の剖検による気管・気管支および肺内からの検出虫体数は、B 群計 1 隻、C, D 群計 0 隻、F 群計 406 隻であり、このことから、X 線 3×10^4 , 4×10^4 または 5×10^4 r 以

ずれの照射減弱生子虫ワクチンの 1 回経口接種によっても、強力な免疫賦与効果が得られることが判明した。

しかし、B 群では攻撃時すなわち免疫接種後 25 日目の剖検で、検出虫体数 30 および 46 隻と、相当数の感染を許し、また免疫期には呼吸数の増加、発咳、食欲の減退、体重の減少など寄生による影響も認められ、斃死例こそなかったものの宿主に与えた被害も大きかった。C, D 群では、攻撃時の検出虫体数は 0 隻であったが、C 群では免疫期に発咳とわずかな食欲の減退および体重の減少を認め、D 群でも発咳が認められた。このことから、C, D 群においても、ある程度の虫体が肺に達したが、宿主に多大の被害を与えることなく、速やかに死滅または排出されたものと推察される。なお攻撃時の剖検により、D 群の肺に見られた粟粒大の灰白色結節が、寄生性のものかどうかは不明であった。

攻撃期においては、B, D 群では 8 日目に呼吸数のわずかな増加を認めたが、その他の症状はなかった。しかし、この呼吸数の増加は有意的なものであり、時期的に見ても、おそらく攻撃子虫が肺に達したことによるものと推察される。しかしこの症状も速やかに回復し、また 25 日目の剖検による検出虫体数も、B 群計 1 隻、D 群計 0 隻であることから、この場合も虫体はすぐに死滅または排出されたものと考えられる。また C 群では検出虫体数 0 隻で、なんらの臨床症状も認められなかったが、B, D 群の例から、ある程度の子虫は肺に達したものと想像される。なお、B 群において検出された 1 隻の虫体が、免疫接種由来のものか、攻撃接種由来のものかは不明で

ある。

免疫および攻撃接種後数日間、呼吸数、食欲、体重に動揺が見られたが、これは接種前後各 24 時間の絶食による影響であろう。また攻撃後 4 日目の下痢による斃死は、攻撃時の絶食あるいは子虫浮游液の経口接種の影響ではないかと思われる。

総 括

Metastrongylus apri の X 線照射減弱生子虫ワクチンの免疫賦与効果を調べるために、モルモットを用いて実験した。すなわち、X 線 3×10^4 (B 群)、 4×10^4 (C 群) または 5×10^4 r (D 群) 照射感染子虫を、免疫接種に 1 頭あて 1,000 隻、また 25 日後の攻撃接種に正常感染子虫 530 隻を、それぞれ経口的に接種した。攻撃 20 日後にすべてを剖検し、気管・気管支および肺内の検出虫体数から免疫賦与効果を、また攻撃時の剖検所見および実験期間中の呼吸数の変化、発咳、食欲の増減、体重の変化など重要と思われる臨床諸症状から、ワクチンの副作用を検討した。その結果、攻撃 20 日後の平均検出虫体数は、B 群 0.3 隻、C、D 群 0 隻、攻撃対照群 101 隻であり、いずれのワクチンにおいても優れた免疫賦与効果を認めた。しかし、攻撃時の剖検において、B 群では相当多数の虫体を検出し、C、D 群では虫体を認めなかった。また免疫期に、B 群では呼吸促進、発咳、食欲の減退、体重の減少を認めたが、C 群では発咳およびわずかな食欲減退と体重の減少を、D 群では発咳を認めたにすぎなかった。攻撃期においては、B、D 群に軽度の一時的な呼吸数の増加を認めたが、その他の症状は見られなかった。

以上の成績から、X 線 3×10^4 、 4×10^4 または 5×10^4 r 照射減弱生子虫ワクチンのいずれの 1 回経口接種によっても、優れた免疫賦与効果の得られることが判明したが、ワクチン調製に適する X 線量は $4 \times 10^4 \sim 5 \times 10^4$ r、特に 5×10^4 r 附近が最適であると考えられる。

稿を終るに臨み、終始御指導と御校閲を賜った野田亮二教授を初め、種々助言を賜った橋爪敬三郎名誉教授、ならびに一色於菟四郎名誉教授に深甚の謝意を表わします。また X 線照射に当たり、御指導と御便宜を賜った大阪府立放射線中央研究所、武田篤博士初め研究員諸氏、材料採取に当たり、終始御便宜を賜った堺市立と畜場、船津昌技師初め検査官諸氏、また絶えず援助していただいた野田周作講師、堀江牧夫助手および教室員諸氏に深く感謝の意を表わします。

なお本論文の要旨は、日本寄生虫学会第 22 回西日本支部大会 (1966, 松山)、および第 36 回日本寄生虫学会総会 (1967, 岐阜) において発表した。

文 献

- 1) Dow, C., Jarrett, W. F. H., Jennings, F. W., McIntyre, W. I. M. and Mulligan, W. (1959): The production of active immunity against the canine hookworm *Uncinaria stenocephala*. J. Amer. vet. med. Ass., 135, 407-411.
- 2) Dow, C., Jarrett, W. F. H., Jennings, F. W., McIntyre, W. I. M. and Mulligan, W. (1961): Studies on immunity to *Uncinaria stenocephala* infection in the dog—double vaccination with irradiated larvae. Amer. J. vet. Res., 22, 352-354.
- 3) Dunn, D. R. and White, E. G. (1954): Lungworms (*Metastrongylus* spp.) in pigs, and their development in the guinea pig. Nature, 174, 1193-1194.
- 4) Dunn, D. R. and White, E. G. (1957): Studies on the pig lungworm (*Metastrongylus* spp.). III. Experimental infection of guinea pig. Brit. vet. J., 113, 308-315.
- 5) Gordon, H. McL., Mulligan, W. and Reinecke, R. K. (1960): *Trichostrongylus colubriformis* in the guinea pig. Studies with irradiated larvae. Aust. vet. J., 36, 466-471.
- 6) Gould, S. E., Gomberg, H. J., Bethell, F. H., Villella, J. B. and Hertz, C. S. (1955): Studies on *Trichinella spiralis*. IV. Effect of feeding irradiated trichinella larvae on production of immunity to re-infection. Amer. J. Path., 31, 933-963.
- 7) Jarrett, W. F. H., Jennings, F. W., McIntyre, W. I. M. and Mulligan, W. (1959b): Studies on immunity to *Haemonchus contortus* infection—vaccination of sheep using a single dose of X-irradiated larvae. Amer. J. vet. Res., 20, 527-531.
- 8) Jarrett, W. F. H., Jennings, F. W., McIntyre, W. I. M., Mulligan, W., Sharp, N. C. C. and Urquhart, G. M. (1959a): Immunological studies on *Dictyocaulus viviparus* infection in calves—double vaccination with irradiated larvae. Amer. J. vet. Res., 20, 522-526.
- 9) Jarrett, W. F. H., Jennings, F. W., McIntyre, W. I. M., Mulligan, W. and Urquhart, G. M. (1957): The natural history of parasitic bronchitis with notes on prophylaxis and treatment. Vet. Rec., 69, 1329-1340.
- 10) Jarrett, W. F. H., Jennings, F. W., McIntyre,

- W. I. M., Mulligan, W. and Urquhart, G. M. (1958): Irradiated helminth larvae in vaccination. Proc. roy. Soc. Med., 51, 743-744.
- 11) Jarrett, W. F. H., Jennings, F. W., McIntyre, W. I. M., Mulligan, W. and Urquhart, G. M. (1960): Immunological studies on *Dictyocaulus viviparus* infection. Immunity produced by the administration of irradiated larvae. Immunology, 3, 145-151.
 - 12) Levin, A. J. and Evans, T. C. (1942): The use of roentgen radiation in locating an origin of host resistance to *Trichinella spiralis* infections. J. Parasit., 28, 477-483.
 - 13) Miller, T. A. (1964): Effect of X-irradiation upon the infective larvae of *Ancylostoma caninum* and the immunogenic effect in dogs of a single infection with 40 Kr-irradiated larvae. J. Parasit., 50, 735-742.
 - 14) Sokolić, A., Jovanić, M., Nevenić, V., Sofrenović, D., Cuperlović, K. and Movsesijan, M. (1961): Vakcinacija ovaca zracenim larvama *Dictyocaulus filaria*. II. Ispitivanje imunogene vrednosti vaccine. Vet. Glas., 15, 635-645.
 - 15) Soulsby, E. J. L. (1961): Immune mechanisms in helminth infections. Vet. Rec., 73, 1053-1058.
 - 16) 玉崎幸二 (1962): 豚肺虫に関する研究. II. モルモットへの豚肺虫の感染. 日獣誌, 24, 65-68.
 - 17) 谷口守男・小峰直之・平本喜久夫 (1957): 豚肺虫 *Metastrongylus elongatus* Dujardin, 1845 に関する研究. 1) 補助宿主に関する研究. 東獣畜雑誌, 8, 1-11.
 - 18) 谷口守男・小峰直之・平本喜久夫・花山裕男 (1958): 豚肺虫 *Metastrongylus elongatus* Dujardin, 1845 に関する研究. 2) 補助宿主に関する研究. 東獣畜雑誌, 9, 12-18.
 - 19) Tyzzer, E. E. and Honeij, J. A. (1916): The effect of radiation on the development of *Trichinella spiralis*. J. Parasit., 3, 43-56.
 - 20) Varga, I. (1964): Immunization experiments with irradiated larvae. I. Studies on the effects of X-rays on eggs and larvae of *Ascaridia galli*. Acta vet. hung., 14, 95-103.
 - 21) Zaiman, H., Howard, R. G. and Miller, C. J. (1961): Immune response in rats infected with *Trichinella spiralis* larvae subjected to roentgen radiation. Amer. J. trop. Med. Hyg., 10, 215-219.
 - 22) Zuković, M. and Wikerhauser, T. (1964): The guinea pig as host in experimental metastrongylosis of pigs. Vet. Arh., 34, 279-282.

AbstractIMMUNOLOGICAL STUDIES ON *METASTRONGYLUS APRI* INFECTIONI. IMMUNIZING ACTIVITY PRODUCED BY THE ADMINISTRATION
OF X-IRRADIATED LARVAE TO GUINEA PIGS

TAKAFUMI ONISHI

(*Department of Veterinary Medicine, College of Agriculture,
University of Osaka Prefecture*)

Batches of infective larvae collected from earthworms, *Eisenia foetida*, artificially infected with embryonated eggs of *M. apri* and kept at 24°C for about 20 days were treated with 3×10^4 , 4×10^4 or 5×10^4 roentgens of X-rays. For vaccination a dose containing 1,000 irradiated larvae was orally administered to each guinea pig. On the 25th day they were challenged each with 530 normal larvae; all were killed 20 days after this challenge infection to estimate, from the number of worms in lungs, the degree of protection conferred by the irradiated larvae. Average of 0.3 worms were recovered from the group receiving 3×10^4 r. irradiated larvae, but no worm from each group receiving 4×10^4 or 5×10^4 r. irradiated larvae in contrast to average of 101 worms from the untreated controls. However, the 3×10^4 r. Group was found to have many grown worms on the postmortem examination done on the 25th day after vaccination and showed such symptoms as loss of appetite and of body weight, increased respiratory rates and coughing in the immunizing phase, while no worms were recovered from each of the remaining groups. The 4×10^4 r. Group showed a little loss of appetite and coughing, but no symptoms except coughing in the 5×10^4 r. Group. During the challenge phase there were few symptoms in all groups.

It is concluded that irradiation with about 5×10^4 r. may be suitable for preparing the larval vaccine.