

免疫電気泳動による日本住血吸虫の雌雄間における抗原系について

平田 瑞城 阿久沢 実 岡部 浩洋

久留米大学医学部寄生虫学教室

(昭和48年4月21日 受領)

日本住血吸虫の虫体抽出物や、その精製されたものは日本住血吸虫抗原として本症の免疫学的診断や免疫実験に広く用いられている。

住血吸虫抗原の免疫電気泳動法による解析は Capron *et al.* (1966), Tsuji and Yokogawa (1972) の *Schistosoma mansoni*, *S. haematobium* および *S. japonicum* の共通抗原に関する報告にみられている。

住血吸虫は雌雄異体であるため、オス、およびメスに免疫学的差異があることが考えられる。そこで私たちは日本住血吸虫を材料として免疫電気泳動法によつて本虫のオス、メスの抗原系について検索をこころみ、若干の成績をえたので報告する。

材料および方法

感染ウサギより採取した日本住血吸虫成虫をオス、メスに分け、それぞれ生理食塩水で3回洗い、磨砕したのち凍結乾燥を行なつた。

1) 抗原：オス、メスを等量に混合した凍結乾燥虫体30mgに1mlの veronal buffer (pH 8.6, $\mu=0.05$) を加え、凍結融解、磨砕を5回くりかえし、9.000r.p.m., 30分遠心分離、その上清を雌雄両虫体の抗原とした。オスおよびメス抗原についても同様にして作製した。

2) 抗血清：免疫に用いた抗原はオス、メスを等量に混合した凍結乾燥虫体を生理食塩水で1:200に抽出し、9.000r.p.m., 15分遠心分離、その上清を抗原として Freund's complete adjuvant を用いてウサギの足趾部に1週間おきに2回免疫し、3週間後に採血し血清を分離して抗血清とした。抗血清は使用時 $\frac{1}{2}$ に濃縮して使用した。

3) 免疫電気泳動：寒天を支持体として免疫電気泳動を行なつた。寒天平板は veronal buffer (pH 8.6, 0.025M) に1%の割合で Difco の special agar noble

を加え、オートクレーブで溶解し、これをスライドグラス (7.6cm×2.6cm) 上に約2mmの厚さになるように作製した。緩衝液は veronal (pH 8.6, $\mu=0.05$) を使用し、スライドグラス1枚に3mA, 約70分の泳動を行なつた。反応は孵卵器 (37°C) にて24時間、その後室温下に1日放置して沈降線の出現を観察した。泳動平板は写真撮影、およびアミドブラック染色をほどこして沈降線の観察を行なつた。

4) Disc 電気泳動：オス、メス、および雌雄両虫体の凍結乾燥虫体を生理食塩水で1:200に抽出し、上清を分離して試料として用いた。緩衝液は Tris-glycine (pH 8.6) を用い、ガラス管1本に4mAの通電を行ない、Bromphenol Blue が分離ゲル内を約50mm移動後、泳動を停止した。その後アミドブラック染色を行なつてバンドの観察を行なつた。

5) 吸収試験：免疫電気泳動に使用した抗血清1mlに10mgのオス、メスの凍結乾燥虫体粉末を加え、冷室内 (7°C) でときどき攪拌、10日間の吸収を行ない、その後9.000r.p.m., 30分遠心分離し、その上清を抗原吸収をした抗血清として使用した。

成 績

日本住血吸虫のオス、メスについて、それぞれの抗原性を免疫電気泳動により比較検討するため、はじめに雌雄両虫体を抗原とした泳動像について検討した。抗原濃度30mg/mlにおける泳動結果は第1図にみられるように11本の沈降線がみとめられ、すなわち陽極側に4本、中央部に2本、陰極側に5本みとめられた。

これらの沈降線を記号によつて比較すると、Fig 1. に示すように J_1 は陰極側の先端に至んで現われることが特徴的である。 J_2 は陰極側に現われ、先端が陽極側までのびている太く、かつ鮮明な沈降線である。

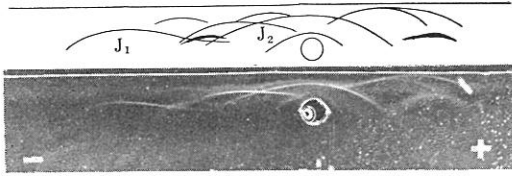


Fig. 1 Immunoelectrophoretic pattern of *Schistosoma japonicum* adult worm (male and female were mixed equivalently in weight).
Antigen concentration: 30mg/ml

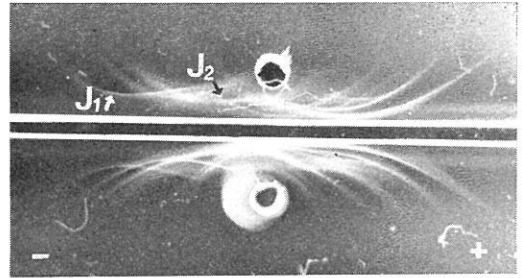


Fig. 3 Immunoelectrophoretic pattern of *Schistosoma japonicum* adult worm (male and female were mixed equivalently in weight).
Antigen concentration: 120mg/ml

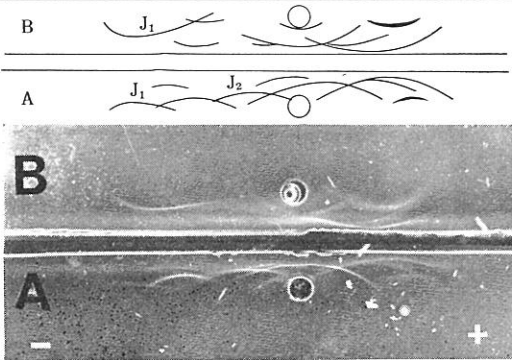


Fig. 2 Comparison in immunoelectrophoretic pattern of adult male and female *Schistosoma japonicum*.
Antigen concentration: 30mg/ml
A; Male of *S. japonicum*
B; Female of *S. japonicum*

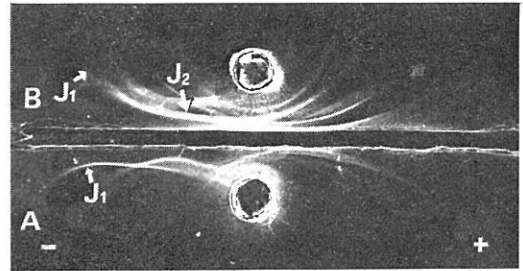


Fig. 4 Comparison in immunoelectrophoretic pattern of adult male and female *Schistosoma japonicum*.
Antigen concentration: 120mg/ml
A; Female of *S. japonicum*
B; Male of *S. japonicum*

同濃度におけるオスおよびメス抗原の泳動の結果は第 Fig. 2 に示すような成績がえられた。

オスの沈降線は10本、メスは9本みとめられ、メスの沈降線はオスのそれよりも弱く観察された。この結果、両者間における明らかな差異は J₁ と J₂ の2本の沈降線にみとめられた。すなわち、J₁ はメスで明らかであるが、オスではこれが不明瞭で、また陰極側におけるのが少ない。J₂ はオスで陰極側に鮮明に現われる沈降線であるが、メスではその位置に、相当する沈降線は欠けていることをみとめた。

抗原濃度30mg/ml でみとめられた J₁ および J₂ についての特徴を確認する目的で抗原濃度を、120mg/ml にかえて観察した結果、Fig. 3 に示すように13~15本の沈降線がみとめられ、30mg/ml 濃度の泳動像に比較して数本の沈降線が増加していた。

オスおよびメスの抗原濃度120mg/ml における泳動の結果は Fig. 4 に示す。

前述したオスとメスにおける J₁ および J₂ の差異については同様な結果が示された。その他の沈降線については泳動像が複雑化するため、それらの差異についての検索は困難であった。

オスおよびメス抗原によって抗血清の吸収をした結果、オス抗原による吸収では沈降線はみとめられず、メス抗原による吸収では数回の吸収試験を行なった結果、4~7本の沈降線がみられた。Fig. 5 はメス抗原によって吸収した場合の泳動像で、J₂ については吸収されずに残存することがみとめられた。

さらに disc 電気泳動によってオスおよびメスの虫体抽出物質の比較を行なった結果、Fig. 6 に示すように、オスおよび雌雄両虫体で8本のバンドがみられ、メスでは6本みとめられた。

考 察

日本住血吸虫のオスおよびメス抗原の比較検討を免疫

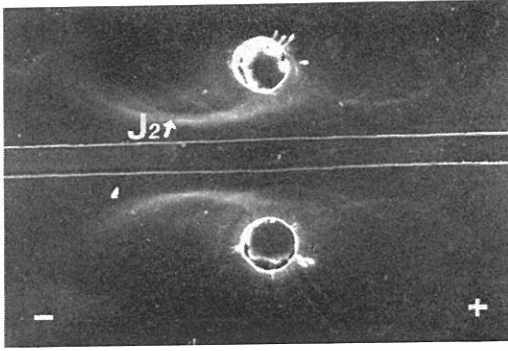


Fig. 5 Immunoelectrophoretic pattern of *Schistosoma japonicum* adult worm, in which the antiserum was absorbed with female.

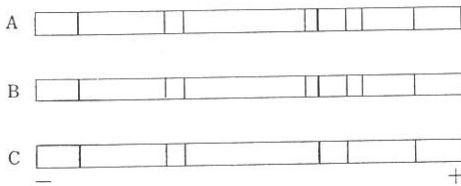


Fig. 6 Disc electrophoretic pattern.

A; *S. japonicum* adult worm (male and female were mixed equivalently in weight).

B; Male of *S. japonicum*.

C; Female of *S. japonicum*.

電気泳動によつて行なつた。その結果、オスにおいて30 mg/ml の抗原濃度で1本、120mg/ml で3~5本の沈降線がメスのそれより多く出現することをみとめた。オス抗原による吸収試験では沈降線は消失し、メス抗原ではオスにだけ現われる J₂ の沈降線の他にメスに現われる沈降線も残つていた。このことから、オスとメスの抗原系を比較すると、オスが複雑な抗原系をもっているものと考えられる。さらに disc 電気泳動によるオスおよびメス虫体の構成蛋白の比較結果からもこのことがみと

められた。

J₂ はオスに特徴的な沈降線で、オス抗原による吸収試験で消失し、メス抗原では残存することがみとめられた。さらに J₁ はメスでより明らかに現われる沈降線であるが、オス抗原による吸収の結果、消失することから大きな差異はないものと考えられる。抗原濃度120mg/ml ではオスでメスより3~5本の沈降線が多かつたが、さらに虫体物質の抽出条件や濃度をかえることによつて両抗原の沈降線に変化し、抗原濃度を高めると複雑な沈降線が出現するため、その比較は困難になる傾向がみとめられた。

まとめ

日本住血吸虫のオスおよびメスの抗原系について比較検討を免疫電気泳動によつて行なつた。

この結果、オスに特徴的な沈降線は陰極側に現われる太く、かつ鮮明な1本の沈降線としてみとめられ、メスではこれが欠けていた。

また、オスはメスに比較して抗原系が多様であると考えられ、このことは disc 電気泳動の結果からもみとめられた。

本論文の要旨は昭和48年4月、第42回日本寄生虫学会において報告した。

文 献

- 1) Capron, A., Vernes, A., Biguet, J., Rosé, F., Clay, A., et Adenis, L. (1966) : Les précipitines sériques dans les Bilharzioses humaines et expérimentales à *Schistosoma mansoni*, *S. haematobium* et *S. japonicum*. Ann. Parasit. hum. comp., 41, 123-187.
- 2) Tsuji, M., and Yokogawa, M. (1972) : Studies on the immunodiffusion tests of *Schistosoma japonicum*. Research in Filariasis and Schistosomiasis. 2, 165-177, Univ. Tokyo Press.

AbstractIMMUNO ELECTROPHORETICAL ANALYSIS OF *SCHISTOSOMA JAPONICUM* ANTIGENS

Mizuki HIRATA, Minoru AKUSAWA and Koyo OKABE

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

The differences in antigenic components of *S. japonicum* male and female worms were investigated by means of immunoelectrophoresis.

The precipitin bands with female extracts were observed weakly compared with those of male. The most significant difference was the depth and sharpness of the cathode side precipitin band observed in male extract, but not in the female extract.

With the absorption test in male extract all the precipitin bands disappeared; while with female extracts 4-7 bands including the characteristic one in male extracts remained. From these findings, it is considered that the antigenic extract of male worms is more complicated than those extracts of female worms.

The above described difference between male and females was confirmed by means of disc electrophoresis.