

## 人糸状虫症の異種糸状虫抗原に対する免疫反応

高岡正敏 田中寛

東京大学医科学研究所寄生虫研究部

神谷正男

聖マリアンナ医科大学病害動物学教室

城間祥行

東京医科歯科大学医学部医動物学教室

(昭和48年6月15日 受領)

### はじめに

人糸状虫症の診断に免疫学的方法を用いる試みは多く行なわれている (Kagan, 1953). Kagan ら (1963) は動物糸状虫を抗原として皮内反応, 血球凝集反応, 補体結合反応等を試みている. また最近, 蛍光抗体法等の方法が Woodruff and Wiseman (1968), Mantovani and Sulzer (1967) 等により検討されているが, いまだ満足な結果は得られていない. 田中ら (1968, 1969) は実験的に *Litomosoides carinii* をコトトラット, *Sigmodon hispidus* に感染させ *L. carinii* 成虫を抗原として間接赤血球凝集反応 (以下 HA), 補体結合反応 (以下 CF) を行い, 感染との一致が93%以上という好成績を示した. このように実験的に感染させた動物の血清で同種抗原を用いた場合の反応は明瞭に感染, 非感染を診断し得た. しかし, 人糸状虫の診断では異種抗原を利用せざるを得ず, その反応の検討を試みた.

本研究では沖縄県のバンクロフト糸状虫マイクロフィリア (mf) 陽性, 陰性者血清, タヒチ島のバンクロフト糸状虫 mf 陽性血清を用い *Litomosoides carinii*, *Dirofilaria immitis* の成虫抽出の異種抗原による HA, CF およびゲル内沈降反応の評価を行った. また実験的な異種間の交叉反応として *L. carinii* 感染のコトトラット血清を *D. immitis* 抗原で HA 反応を行った.

### 方 法

#### 1. HA 反応

用いた HA 反応は *Toxoplasma* 診断の為の Jacobs & Lunde (1957) の方法に準じた. 抗原濃度の測定や人血清検査の際の対照としての標準血清は *Litomosoides carinii* (Lito) 成虫で免疫したウサギ血清を用いた. 用

いた抗原は *Dirofilaria immitis* (Diro), Lito の成虫を pH 7.2 の燐酸緩衝生理食塩水 (PBS-7.2) で抽出し, 抽出液に対して虫体乾燥重量を 1:100 とした. その 0.1ml を小試験管に分注して  $-70^{\circ}\text{C}$  に保存し, 使用毎に取り出すことにした. この抗原と標準血清との間でボックスタイトレーションを行い, 抗原・抗体の力価を決定した. 抗原の力価は Lito 1:8,000, Diro 1:2,000, 標準血清の抗体価は Lito に対して 1:64,000, Diro に対して 1:1,000 であつた. 羊血球は Alsever 溶液で保存され市販されているものを用いた. 羊血球を PBS-7.2 で 5 分間, 3,000rpm で遠沈し 3 回洗浄し, 最終的に PBS-7.2 で 40 倍にしたもの 1ml と 4 万倍のタンニン酸溶液 1ml を  $37^{\circ}\text{C}$  で 15 分間反応させ 5 分毎に振盪した. そののち冷 PBS-7.2 で洗浄し, 生理食塩水 1ml に置き換え, pH-6.4, 0.15M の燐酸緩衝液で最適濃度の抗原と反応させ, 5 分間毎に振盪した. 0.6% の正常ウサギ血清 (NRS) で, 5 分間, 3,000rpm で遠沈して 2 回洗浄し, 最終的に 1ml の NRS で置き換え, 抗原感作タンニン酸血球を作製した.

反応は, あらかじめ, 血清を NRS で 32 倍から 8,000 倍まで 4 倍希釈し, 小試験管 (13mm×100mm) に 0.5ml ずつ分注し, 上記の操作で得た抗原感作タンニン酸血球を 0.05ml ずつ加え, 攪拌し室温で 3 時間放置したあと反応を読み, 抗体価を求めた. 凝集の判定は Jacobs & Lunde の方法に準じ, 反応を 5 段階に分け試験管の底に凝集した血球が大きく円を描き, ふちが不明瞭な状態のものを 3 プラスとして反応終末点とした.

マイクロタイター法を利用した場合は, ほぼ上記の方法に準じたが, 以下の点に変更を加えた.

羊血球は Csizmas (1960) の方法によりホルマリン固定し保存した. 羊血球は PBS-7.2 で 40 倍に浮遊し, タ

ンニン酸処理は1:60,000の濃度で行った。抗原感作後の血球を最終的にNRSに浮遊させるとき、元の血球濃度の1.5倍にうすめた。マイクロタイターの1穴にはNRS稀釈血清3滴(0.075ml)を入れ、そこに抗原感作タンニン酸血球浮遊液を1滴(0.025ml)を加え、セロハンテープで覆ってから、よく振盪して室温に放置した。Tanaka *et al* (1968)により1:32以上の抗体価を示した血清を陽性と判定した。

## 2. CF 反応

方法は小試験管を用い、50%溶血法によるTanaka *et al* (1972)、松田ら(1972)の変法により行なった。被検人血清は、56°C、30分で非動化した。標準血清はHA反応で使ったものと同様の抗Litoウサギ血清を生理食塩水で10倍に希釈し、65°C、20分で非動化と脱抗補体を行なって使用した。抗原は、Lito, Diro成虫をエーテルで脱脂し、Coca溶液で抽出した。抽出液は、Chaffee *et al* (1954)の方法によつた(Chaffee抗原)。Chaffee抗原と標準血清の間でボックスタイトレーションを行い抗原、抗体の力価を決定した。抗原価は、Lito 1:64,000, Diro 1:128,000, 標準血清の抗体価は、Lito に対し1:860, Diro に対して1:1920となつた。稀釈液にはゼラチン加バルビタール生食水(BGS)を使用した。羊血球はAlsever溶液に浮遊されて市販されているものを用いた。羊血球をBGSで3,000rpm、3分、遠沈して3回洗浄し、溶血した色素を波長541m $\mu$ で分光光度計の測定によつて、血球濃度を10<sup>9</sup>/mlに調整した。溶血素は1:100に稀釈して冷蔵庫に保存し、使用毎に最適稀釈にし、稀釈血球と等量に混合して37°C、30分で反応させ、感作血球を作製した。一方、市販されている乾燥補体(東芝化学工業)をGreen溶液で溶解し、BGSで稀釈して補体量、0.2, 0.25, 0.3, 0.4mlを用いた時の溶血量からグラフ法により補体力価を測定した。この反応には、3CH<sub>50</sub>の補体量を使用した。各々の試験管に最適濃度の抗原0.2mlと、10倍より160倍まで2倍稀釈した、検査血清0.2ml, 3CH<sub>50</sub>の補体を0.4ml加え、冷蔵庫内で1晩反応させ、のち感作血球0.2mlを加え、37°C、1時間加熱した。判定は感作血球を、10%、40%、60%、90%と溶血させ、溶血度標準液を作り、各々の間を反応4, 3, 2, 1, 0と5段階に分け肉眼的に判定し、40~60%溶血を反応終了点とした。血清希釈1:10以上で陽性反応を示したものを、陽性血清と判定した(Tanaka *et al* 1969)。

## 3. ゲル内沈降反応

寒天内で二相性の沈降反応を行なつた。手技は、Ouchterlonyの方法で行なつた。バルビタール緩衝液、pH 8.6,  $\mu=0.05$ を使用し、1.5%寒天(Difco Noble Agar)をあらかじめ溶解したのち冷室に保存し、使用毎に溶した。76mm×27mmのスライドグラスに2mlの寒天液をのせ室温で30分放置し、直径15mmの円周上に等間隔に直径3mmの穴を6個、中心に1個あけた。抗原はDiro, Lito, *Angiostrongylus cantonensis*の3種を用い、成虫をPBS-7.2で抽出し、コロージョンバッグ(Sartorius)で濃縮した。ゲルの中心の穴に免疫血清を置き、周囲に抗原の連続2倍稀釈液を入れて最適抗原濃度を求めた結果、乾燥虫体重量の40倍が最適であつた。被検血清の反応は、ゲルの中心の穴に抗原を、囲りに検体血清を入れ冷蔵庫で3日行い、のち生理食塩水で2日間洗浄し、37°Cの孵卵器内で1日乾燥させた。のち標本をCoomassie brilliant blueで1晩染色し、脱染色を約30分間行い、乾燥後、何等かの沈降線が認められたものを陽性と判定した。

## 4. 血清

沖縄県那覇市近郊の*Wuchereria bancrofti*のmf陽性者15検体の血清を採取し、市内病院勤務者でmf陽性になつた経験のない者83検体を集めて両群を比較した。

フランス領タヒチ島で*W. bancrofti*のmf陽性者18名の血清を用いた。この患者はDECの治療をうけ、その前後の血清の反応の比較も行なつた。DEC投与は18日間連続して行ない、1人につき50mg投与から開始して、2日毎に100mg, 150mg, 200mg, 250mg, 300mgと50mgずつ増量し、その後、6日間は男性400mg, 女性300mgを投薬した。

コトナラット血清は、*L. carinii*感染群75, 非感染群56検体を用いた。

## 結 果

### 1. HA 反応

沖縄からのmf陽性血清、15検体、mf陰性血清、83検体をLito, Diro抗原を用いて試験を行つた。結果は、表1に示す様に、Lito抗原で、フィラリア陽性血清15検体中、陰性反応1, 陽性反応14を示し、陰性血清では、83検体中、陰性反応5, 陽性反応78を示した。又Diro抗原では、ミクロフィラリア陽性血清5検体中、陰性4, 陽性11を示し、陰性血清では83検体中、陰性6, 陽性77を示した。各々の抗原でのmf陽性血清群、陰性血清群の抗体価の累積比を出した結果、表2に示す

Table 1 *W. bancrofti* Mf 陽性者15を含む、沖繩の人血清98検体に対する *Litomosoides carinii*, *Dirofilaria immitis*, *Angiostrongylus cantonensis* 抗原を使った HA, CF, ID 反応の成績

Mf	Antigen	Serum reaction					
		HA		CF		ID	
		+	-	+	-	+	-
Positives	Lito	14	1	0	15	0	15
	Diro	11	4	0	15	0	15
Total 15	Ac	/	/	/	/	0	15
Negatives	Lito	78	5	1	82	0	83
	Diro	77	6	0	83	1	82
Total 83	Ac	/	/	/	/	1	82

HA, hemagglutination test

Lito: *Litomosoides carinii*

CF: complement fixation test

Diro: *Dirofilaria immitis*

ID: immunodiffusion test

Ac: *Angiostrongylus cantonensis*

Table 2 沖繩の人血清の HA 反応における抗体価別の頻度累積分布

Antigen: *Litomosoides casinii*

titer 1:	Mf positive		Mf negative	
	No.	cumulative %	No.	cumulative %
32>	1	6.7	5	6.0
32	4	33.3	19	28.9
64	0	33.3	7	37.3
128	2	46.7	20	61.4
250	3	66.7	21	86.7
500	4	93.3	9	97.6
1000	0	93.3	2	100
2000	1	100	0	100
total	15		83	

Antigen: *Dirofilaria immitis*

titer 1:	Mf positive		Mf negative	
	No.	cumulative %	No.	cumulative %
32>	4	26.7	6	7.2
32	2	40.0	12	21.7
64	1	46.7	11	34.9
128	6	86.7	15	53.0
250	2	100	24	81.9
500	0	100	10	94.0
1000	0	100	5	100
total	15		83	

Table 3 *Litomosoides carinii*, *Dirofilaria immitis* 両抗原に対する HA 反応における各血清の抗体価の相関関係 (沖繩人血清)

v/u	32>	32	64	128	250	500	1000	total
32>	1	5	1	0	2	0	1	10
32	2	4	3	2	2	1	0	14
64	1	4	0	5	2	0	0	12
125	1	8	2	3	3	4	0	21
250	1	2	1	9	10	3	0	26
500	0	0	0	3	5	2	0	10
1000	0	0	0	0	0	3	2	5
Total	6	23	7	22	24	13	3	98

u: Lito antigen v: Diro antigen

r=0.470

FS=5.202>F<sub>91</sub>=2.99 Significant

ごとく、Lito 抗原において、陽性血清では、陰性率 6.7%、陽性率 93.3% を示し、陰性血清では、陰性率 6.0%、陽性率 94.0% を示した。Diro 抗原では陽性血清の陰性率 26.7%、陽性率 73.3% で、陰性血清では陰性率 7.2%、陽性率 92.8% を示し、両抗原共に陰性血清・陽性血清で、高率な陽性反応を示した。Lito 抗原、Diro 抗原の各々に対する陽性血清、陰性血清での抗体価別の頻度累積比を比較すると、Lito 抗原では、陽性血清群、陰性血清群がほとんど同様に増加していた。Diro 抗原では、陽性血清群より、むしろ陰性血清群の方が抗体価の高い側に片寄りが認められた。又、各々の血清の Lito, Diro 抗原に対する抗体価の相関関係を表 3 に示した。相関係数  $r=0.470$ ,  $FS=5.202 > F_{91}=2.79$  で測定された F 値が十分大きいことから、相関性が認められ Lito 抗原の方が抗体価は高く現れた。沖繩からの血清を検体としたこの結果から、Lito 抗原、Diro 抗原を用いた HA 反応では、フィラリア症の診断が可能ではなかつた。

タヒチ島からの 18 検体中、32 倍以上の反応を示したものは 9、32 倍以下のものは 9 検体で、*W. bancrofti* 寄生患者血清の 50% が陽性反応を示したにすぎなかつた。しかし、その中、DEC 治療を受け、その後、血清が得られたもの 15 検体 (表 4) についての結果では、12 検体が陽性を示し、陽性率が 80% に上昇した。その内 mf 陽性患者で治療前には HA 反応陰性を示していた 7 検体中、4 検体が陽転した。それは 1 カ月後に採取された血清においても陽性反応を示していた患者については、ほとんどのものが抗体価の変化は認められなかつた。

又陰性反応より陽転しなかつたもの 3 例中 2 例は、治

Table 4 タヒチ島における *W. bancrofti* mf 陽性者の DEC 治療前後の HA 反応

No.	serum no.	Mf density /20mm <sup>3</sup>	1	2	3
1	7	3	250	128	128
2	8	2	250	250	
3	9	5	32>	32>	
4	10	1	64	128	64
5	11	32	32>	32	32
6	12	14	128	128	
7	13	3	32>	32	32
8	14	5	32>	32	128
9	17	20	32>	32	
10	18	4	128	64	
11	20	4	32>	32>	
12	22	5	250	250	
13	23	4	250	250	
14	24	7	32>	32>	
15	25	9	32>		
16	26	64	1000		
17	27	8	32>		
18	28	26	32	32	

1: before treatment

2: immediately after treatment with diethylcarbamazine 18 days after the initiation of treatment

3: about 1 month after the termination of treatment

Table 5 Diro 抗原を用いた HA 反応における *Litomosoides carinii* 感染コトナラット血清に対する抗体価の分布

HA titer	cotton rat	
	infected	non-infected
1: 32>	60	56
32	4	0
64	9	0
128	1	0
250	1	0
total	75	56

療前より2倍から4倍の抗体価の上昇が認められた。総計では、*W. bancrofti* mf 陽性患者で DEC 治療を受ける前には HA 反応で陰性を呈していた者の中、治療後57%の者が陽転した。

実験的に *Litomosoides carinii* をコトナラットに感染させ、mf が陽性になった個体の血清75検体と、感染させていないコトナラットの血清56検体を用いて、異種抗原の反応を試みた。*Dirofilaria immitis* の成虫で作

Table 6 沖縄・タヒチの人血清、コトナラット血清における、*Litomosoides carinii*, *Dirofilaria immitis*, *Angiostrongylus cantonensis* 抗原を使ったゲル内沈降反応の成績

Microfilaria Antigen	Serum reaction						
	Man on Okinawa		Man on Tahiti		Cotton rat		
	+	-	+	-	+	-	
Positives	Lito	0	15	2	16	74	1
	Diro	0	15	0	18	7	68
	Ac	0	15	2	16	6	69
Total		15		18		75	
Negatives	Lito	0	83	/	/	0	56
	Diro	1	82	/	/	0	56
	Ac	1	82	/	/	0	56
Total		83				56	

Lito: *Litomosoides carinii*Diro: *Dirofilaria immitis*Ac: *Angiostrongylus cantonensis*

製した異種抗原で、交叉反応による HA 抗体の検出を試みた結果、mf 陽性血清75検体中、血清希釈32倍以上の反応を認めたもの15 (20%)、32倍以下のもの60検体であった。又非感染血清56検体は全てが32倍以下であった。(表5) 同種抗原を用いた Tanaka *et al* (1968) の結果と比較すると、mf 陽性血清に対し、異種抗原の反応性が低いことが認められた。

## 2. CF 反応

沖縄の血清98検体中の mf 陰性83例中1例が Lifo 抗原に対して抗体価が1:15の反応を示したのみで、他は全て陰性であった(表1)。また、タヒチ島の18人からの38検体についても、Lito 抗原に対し陽性反応を示したものはみられなかった。

## 3. Ouchterlony 法

沖縄の血清について、mf 陽性血清では、Diro, Lito, *Angiostrongylus cantonensis* 抗原(AC)全て陰性反応を示したが陰性血清で Diro, Ac 共に1検体ずつ沈降線を認めた(表6)。

タヒチ島の血清18は Diro 抗原では全て陰性であったが、Lito, Ac 抗原に対してそれぞれ2検体ずつ陽性を示した。そのうち1検体は Lito, Ac 抗原のいずれにも反応した。

Lito 感染コトナラット血清75検体のうち、同種の Lito 抗原に対して74検体が陽性で、1~4本の沈降線が認められた。異種の Diro 抗原に対して7検体(9%)

が陽性で各々1本の沈降線を示し、また、非感染血清56検体はいずれの抗原に対しても陰性であった。

### 考 察

田中ら(1968)は *Litomosoides carinii* を抗原として間接血球凝集反応を行ない、実験的に同虫を感染させたコトナラットにおいて90%を越える一致をみた。又田中ら(1969)はコトナラットと *Litomosoides* の組合せで、補体結合反応を行ない、95%以上の反応の一致を報じた。

人糸状虫症の免疫学的診断では、上記の様な同種抗原の利用が困難なので、動物糸状虫から得られる異種抗原を使わざるをえない。交叉反応を利用した人糸状虫の免疫学的診断の試みは、Warren(1947)、Ridley(1956)、Danaraj *et al*(1959)、田中ら(1970)らのCF反応、Kagan *et al*(1963)、藤田ら(1970)のHA反応の報告があるが、いずれも良い結果は得られていない。

本研究の以前に東京在住の10数名、およびフィラリア症を疑われた本州在住の3例の血清について、Lito抗原を用いてHA反応を行つたが、いずれも陰性であった。これらフィラリア非流行地の人と、mf陽性者間の免疫反応を比較することは实用性に乏しいので、本研究はフィラリア流行地である沖縄県のmf陽性者と陰性者を比較検討した。その結果、糸状虫の既往歴のないmf陰性者でもHA反応により、Lito抗原で94%、Diro抗原では92.8%と高い反応陽性率を示し、逆にmf陽性者の中Lito抗原で6.7%、Diro抗原では26.7%の陰性を示した。またタヒチ島のMf陽性者18名の中50%がLito抗原に対して陰性であった。

HA反応における異種抗原を用いた場合の反応の基本的な状況を知る為、他の寄生虫感染のないコトナラットの感染、非感染群の血清について、Diro抗原を用いて反応を試みた。その結果、感染群の20%が陽性を示したのみで、非感染群は全て陰性を示した。このことから異種抗原で行なつたHA反応では、mf陽性血清に対し十分な鋭敏度がないことが認められた。また人のmf陰性群では交叉反応が高いことから異種抗原を用いたHA反応で人の糸状虫を診断することは極めて困難であることが明らかとなつた。

CF反応における人フィラリアの診断について、田中ら(1970)は、Lito、Diro抗原を用いて約30%に弱陽性反応を認めているが、今回の沖縄県のmf陽性者、タヒチ島のmf陽性者の全てに、陽性反応は認められなかつた。CF反応で沖縄県、タヒチ島の血清とも全て陰性

を示したのは、mf陽性者の血清中に、CF反応を示すのに十分な抗体の産生がおこらないか、CF反応の特異性が高いかによるものと考えられる。

Ouchterlony法では、*Litomosoides* 感染コトナラット血清の場合、Lito抗原に対しては98.7%という高い反応陽性率を示しており、Diro、AC抗原に対して、それぞれ9.3%、8.0%と陽性率を示している。

沖縄県のmf陽性者血清に対して、すべて陰性であったが、わずかにmf陰性者血清の中にDiro、Ac抗原に対して、各1検体が陽性反応を示し、又タヒチ島のmf陽性者血清のなかにLito、Ac抗原に対し、各々2検体に陽性を示すものがあつた。

以上の様にHA、CF、Ouchterlony法によつて、異種抗原を使つた浸淫他の人フィラリア症を診断することは極めて困難であることが認められた。

従来動物実験でDEC治療を行つた前後のHA反応に変化は認められなかつたが、タヒチ島の患者の中、Lito抗原に対して治療前に陰性であつたものが高率に陽性に变化したことは興味深い。

### ま と め

本研究は沖縄で採取したバンクロフト糸状虫のマイクロフィラリア(mf)陽性者を含む98検体、タヒチ島で得たバンクロフト糸状虫陽性者の治療前後の血清を用いて、*Litomosoides carinii* (Lito)、*Dirofilaria immitis* (Diro)を抗原として間接赤血球凝集反応(HA)、補体結合反応(CF)、ゲル内沈降反応(ID)を試みた。又*L. carinii* 実験感染コトナラット血清のHA反応を異種抗原(Diro)を用いて調べ、人糸状虫診断のための方法や、抗原の種類の比較を行なつた。

HA反応：沖縄血清について、Lito抗原でmf陽性血清15中、陽性14、陰性血清83中、陽性78であつた。Diro抗原ではmf陽性血清中11が陽性、mf陰性血清中77が陽性を示した。タヒチで採取した陽性血清18中、Lito抗原で9検体の陽性反応を示した。Diethylcarbamazine治療前にHA反応陰性であつた7検体中4が治療後陽性を示し、陽性率が30%上昇した。この陽性反応は治療後1カ月間も継続していた。*L. carinii* を感染させたコトナラットの血清に対するDiro抗原でのHA反応では、感染血清75中、陽性反応15であつた。この結果、同種抗原を用いた成績での陽性率93%以上と比べ明らかに低いことが認められた。

CF反応：Lito、Diro抗原共に、沖縄血清98、タヒチ血清38検体に対し全て陰性反応を示した。

ID 反応：沖繩，タヒチの血清について，Diro, Lito, *Angiostrongylus cantonensis* の3種抗原に対し，ほとんどのものが陰性反応を示したが，少数の検体に沈降線のみとめたものがあつた。コトナラット血清75検体については，Lito 抗原に対して各々に1～4の沈降線が認められたが，Diro 抗原では陽性率がわずかに9%であつた。又非感染血清56検体は全て陰性であつた。

浸淫地における人血清について検討した結果，HA 反応は特異性に乏しく，異種抗原では CF, ID 反応が現れないことが認められた。

タヒチ島の血清検体を提供された Dr. Denyse Outin-Fabre, Dr. Jean-Paul Moreau, Institute de Recherches Medicales, Papeete, Tahiti, Polynesie Francaise に深謝する。

#### 文 献

- 1) Chaffee, E. F., Bauman, P. M. and Shapio, J. J. (1954) : Diagnosis of schistosomiasis by complement-fixation. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 3, 905-913.
- 2) Csizmas, L. (1960) : Preparation of formalinized erythrocytes. *Proc. Soc. Exp. Biol.*, 103, 157-160.
- 3) Danaraj, T. J., da Silva, L. S. and Schacher, J. F. (1959) : The serological diagnosis of eosinophilic lung (tropical eosinophilia) and its etiological implications. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 8, 151-159.
- 4) Fujita, K., Tanaka, H., Sasa, M., Shichinohe, K., Asai, Y. and Kurokawa, K. (1970) : Cross-reaction among filarial species in hemagglutination test. *Japan. J. Exp. Med.*, 40, 66-77.
- 5) Jacobs, L., and Lunde, M. N. (1957) : A hemagglutination test for toxoplasmosis. *J. Parasit.*, 43, 308-315.
- 6) Kagan, I. G., Norman, L. and Allain, D. S. (1963) : An evaluation of the bentonite flocculation and indirect agglutination tests for the diagnosis of filariasis. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 12, 548-555.
- 7) Kagan, I. G. (1953) : A review of immunologic methods for the diagnosis of filariasis. *J. Parasit.*, 49, 773-798.
- 8) Mantovani, A. and Sulzer, A. J. (1967) : Indirect fluorescent antibody technique for diagnosis of canine filariasis. *Am. J. Vet. Res.*, 28, 351-354.
- 9) 松田 肇・田中 寛・佐々 学 (1972) : 日本住血吸虫感染ウサギにおけるニリダゾール治療後の補体結合，卵沈降反応の経過。寄生虫誌，21, 121-126.
- 10) Ridley, D. S. (1956) : The complement-fixation test in filariasis. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 50, 255-257.
- 11) Tanak, H., Kobayashi, J., Matsuda, H. and Sasa, M. (1968) : Hemagglutination test with *Litomosoides carinii* antigen in the diagnosis of cotton rat filariasis. *Jpn. J. Exp. Med.*, 38, 19-25.
- 12) Tanaka, H., Kobayashi, J., Ishii, A. and Sasa, M. (1969) : Complement fixation test with adult *Litomosoides* antigen in cotton rat filariasis. *Japan. J. Exp. Med.*, 39, 393-398.
- 13) Tanaka, H., Fujita, K., Sasa, M., Tagawa, M., Naito, M. and Kurokawa, K. (1970) : Cross-reactions in complement fixation test among filaria species. *Japan. J. Exp. Med.*, 40, 47-58.
- 14) Tanaka, H., Dennis, D. T., Kean, B. H., Matsuda, H. and Sasa, M. (1972) : Evaluation of a modified complement fixation test for schistosomiasis. *Japan. J. Exp. Med.*, 42, 537-542.
- 15) Warren, V. G. (1947) : Serological relationships between antigenic extracts of four nematodes. *Am. J. Hyg.*, 45, 299-301.
- 16) Woodruff, A. W. and Wiseman, R. A. (1968) : Indirect fluorescent antibody test for serodiagnosis of onchocerciasis. *Exp. Parasit.*, 22, 295-298.

**Abstract**

IMMUNOLOGIC REACTIONS OF HUMAN FILARIASIS TO  
HETEROLOGOUS FILARIA ANTIGENS

Masatoshi TAKAOKA, Hiroshi TANAKA

(*Department of Parasitology, Institute of Medical Science, University of Tokyo*)

Masao KAMIYA

(*Department of Medical Zoology, St. Marianna University School of Medicine*)

Yoshiyuki SHIROMA

(*Department of Medical Zoology, School of Medicine, Tokyo Medical  
and Dental University.*)

Sera from human filariasis were examined for the purpose of selecting methods and antigens appropriate to the diagnosis of human filariasis. Tests were conducted to detect antibodies in 98 sera from Okinawa including microfilaria (mf) positives and from patients on Tahiti with *W. bancrofti* infections by indirect hemagglutination (HA), complement fixation (CF) and Ouchterlony's (ID) tests, utilizing antigens derived from adult *Litomosoides carinii* (Lito) and *Dirofilaria immitis* (Diro). In addition, sera of cotton rats infected with *Litomosoides* in the laboratory were investigated by HA test using heterologous Diro antigen.

HA test: With Lito antigen, of 15 patients infected with *W. bancrofti*, 14 were positive and 78 of 83 mf negative Okinawa sera were also positive. With Diro antigen, 11 of 15 mf positive samples were positive and 77 of 83 mf negative sera showed positive reactions. With Lito antigen, of 18 patients from Tahiti infected with *W. bancrofti*, 9 were positive by HA test before treatment. Of 7 sera which were negative by HA test before treatment with diethylcarbamazine, 4 were found to be positive and 3 remained negative with Lito antigen after treatment. The percentage positive which was 50% before treatment rose to 80% after treatment. This positive reaction was found to persist at least 1 month after treatment. For HA test using Diro antigen with sera of cotton rats infected with *Litomosoides*, 15 of 75 infected sera were positive. The use of the homologous antigen was found to be more sensitive and specific than that of the heterologous antigen.

CF test: In all serum samples, 98 from Okinawa and 38 from Tahiti, the reactions were negative with both antigens.

ID test: For the majority of human sera from Okinawa and Tahiti, the reactions were negative using antigens from Lito, Diro and *Angiostrongylus cantonensis*. In a few sera, however, precipitin bands were recognized. In all 75 sera of cotton rats infected with *Litomosoides*, 1 to 4 precipitin bands were found using Lito antigen, while in the reaction with Diro antigen, the percentage positive was only 9% and all 56 non-infected sera were negative. Consequently the results with HA test are less specific than with CF and ID tests in human sera from infested areas.