

広東住血線虫感染ラット血清に認められる 免疫複合体—免疫複合体と 感染虫体数との関連—

佐藤 良也* 高井 昭彦* 渡部 久実*
大鶴 正満* 山下 隆夫†

(昭和54年10月8日 受領)

緒 言

住血性寄生虫の感染では、虫体より持続的に産生される各種の代謝産物が抗原として直接流血中に放出され、その一部は循環抗原として流血中に検出されたり (Gold *et al.*, 1969; D'Alesandro, 1972; Smith *et al.*, 1972; 平田・阿久沢, 1975; Deelder *et al.*, 1976; 平田, 1976), 多量の免疫複合体を形成して流血中を循環していることが知られている (Greenwood and Whittle, 1976; Houba *et al.*, 1976; Bout, *et al.*, 1977; Smith *et al.*, 1977). 近年, かかる免疫複合体によって引き起こされる様々の炎症性組織障害が注目を集め, 寄生虫感染症においても, 慢性ないし急性の糸球体腎炎や播種性血管炎, 血管周囲炎などがマラリア, トリパノソーマ, 住血吸虫症などにおいて報告されている (Houba *et al.*, 1971; Lambert and Houba, 1974; Nagle *et al.*, 1974; Blackett and Ngu, 1976; Poltera *et al.*, 1976; Moriearty and Brito, 1977; WHO-Report, 1977).

このような観点から, 著者らはこれまで, 広東住血線虫 (*Angiostrongylus cantonensis*) 感染ラットを用い, その血清中の免疫複合体の動態とその中で本線虫由来の抗原物質の検出状況を調べてきた. その結果, 感染ラット血清中にはポリエチレングリコール (PEG) の存在下で沈澱する成分が著明に増加し, これで正常ラットを免疫することによって, そのラットには本線虫抗原に対する特異抗体が産生されること, また, この沈澱を酸性緩衝液で解離, 溶解したものと本線虫抗原に対する抗体との間での Ouchterlony 法によっても 著明な沈澱線を

認めたことなどから, 感染虫体由来する抗原物質とこれに対する特異抗体が多量の免疫複合体を形成していることを指摘した (佐藤ら, 1978). 続いて, 沈澱中の抗原検出状況を感染経過とともに検討したところ, 抗原は3週目と8週目に著明な2つのピークとして検出され, 恐らく第2のピークでは虫体の発育にともなつた新たな抗原物質が関与しているものと思われた (高井ら, 1978).

これまでの成績は, 多数感染をうけたラットについて検討したものであり, 今回は多数感染と少数感染の2群のラットを用い, 免疫複合体形成の動態と抗原の検出状況について比較し, 若干の考察を試みたので報告する.

材料および方法

1) 幼虫の採取およびラットへの感染

広東住血線虫は, 奄美諸島の与論島で採集したアフリカマイマイ (*Achatina fulica*) より得た第3期幼虫 (山下ら, 1978) を, 中間宿主に *Biomphalaria glabrata*, 終宿主にウイスター系ラット (*Rattus norvegicus*) を用いて実験室内で継代維持しているものを使用した. 第1期幼虫の感染後, 40~50日目の *B. glabrata* を0.1%ペプシン溶液 (0.7%塩酸を含む) で37C, 2時間消化して得た第3期幼虫を, 実体顕微鏡下で正確に数え, 7個体ずつ2群のラットに各々20, 80隻宛, 金属ゾンデを用いて経口的に投与した. 感染ラットからの採血は尾静脈より行ない, 血液は37Cに2時間置いて直ちに血清を分離した.

2) 虫体全抽出液

感染ラット肺動脈より採取した雌雄成虫を生理食塩水で洗浄し, 乳鉢で充分磨砕後, 凍結乾燥を行なつた. 脱脂のため, この乾燥粉末に充分量の冷アセトンを加え,

* 新潟大学医学部医動物学教室

† 山形大学医学部寄生虫学教室

10分間攪拌した後、3,000rpm, 30分間遠心し、沈渣に抗生物質添加リン酸緩衝食塩水 (PBS), pH 7.2 を加え、4 C で48時間スターラーで攪拌抽出を行なった。抽出液は10,000rpm, 30分間遠心し、その上清液を全抽出液 (WWE) として、蛋白量を15mg/ml に調整して使用した。

3) 抗血清の作製

WWE に対する抗血清 (Anti-WWE) は、ラットを用いて作製した。WWE を等量の Freund's complete adjuvant (ヤトロシ) と充分混和し、その0.2ml をラットの皮下および筋肉内に十数カ所に分けて接種した。この免疫処理を10日間隔で5回行ない、最終免疫から2週間後に全採血して血清を分離した。

4) 免疫複合体および抗原の検出

血清中の免疫複合体およびその中の抗原の検出は、前報 (佐藤ら, 1978; 高井ら, 1978) と同様、6.0% PEG による非特異的沈澱法で行なった。

免疫複合体量は、ホウ酸緩衝液 (pH 8.3, $\mu=0.1$) で12.0%とした PEG (平均分子量7,500) 溶液と等量混合した血清を4 C に一晩放置し、生じた沈澱 (PEG-ppt) を3,000rpm, 20分間遠心して集め、これを血清の50倍量の0.1 N NaOH に完全に溶解して、280 μ の吸光度によって測定した。感染後の PEG-ppt 量の増加は、感染前の血清の PEG-ppt 量との吸光度の差として示した。

PEG-ppt 中の抗原物質の検出には、血清0.5ml より得た PEG-ppt を0.3ml のクエン酸緩衝液 (0.02M, pH 3.2) に溶解し、さらに4 C に一晩放置して抗原と抗体の結合を充分に解離させた後、Anti-WWE との間で Ouchterlony 法 (Ouchterlony, 1958) を行なった。Ouchterlony 法には、ペロナール・塩酸緩衝液 (pH 8.6, $\mu=0.025$) で1.2%になるように加熱溶解したアガロース (Behringwerke) をガラス板上に流して固めた厚さ1.5mm の寒天平板を用い、これに直径12mm と6 mm の穴を5 mm の間隔で開け、各々に溶解した PEG-ppt と Anti-WWE を満たして、4 C, 48時間反応させた。今回は、別に直径6 mm の WWE 孔も開け、PEG-ppt 中の抗体検出も同時に行なった。

5) PEG-ppt 中の抗原の分析

免疫複合体を形成している抗原の分析は、PEG-ppt を家兎に免疫して得た抗血清 (Anti-PEG-ppt) によって行なった。感染後20日と50日目の血清の PEG-ppt を、用いた血清と等量の PBS に溶解し、これと Freund's complete adjuvant を等量混和したもの2.0ml を2羽の家兎に各々免疫した。免疫処理は7日間隔で7回行ない、

最終の免疫処理から2週間後の血清を使用した。この抗血清を正常ラット血清で完全に吸収し、WWE との間で免疫電気泳動法を行なった。免疫電気泳動法 (Scheidegger, 1955) は、Ouchterlony 法と同じ寒天平板を用い、抗原孔に入れた WWE を80V 定電圧で4時間泳動させた後、これより5 mm の位置に泳動軸と平行に作製した溝に Anti-PEG-ppt を満たして4 C で48時間反応させた。

実験成績

1) 免疫複合体量と抗原検出率

Table 1 には、感染後70日にわたって、10日間隔で採取したラット血清の PEG-ppt 量の増加とその中の抗原検出状況および70日目での回収虫体数をまとめて示した。ラット No. 1 ~ No. 7 は幼虫20隻感染群、No. 8 ~ No. 14 は80隻感染群であるが、各々より2 ~ 19, 33 ~ 77隻の成虫体を回収した。PEG-ppt 量の増加は、明らかに20隻感染群が80隻感染群に比べて少ない傾向がみられ、特に寄生虫体数がわずかに2隻であったラット No. 1 では、60日目を除いて殆んど PEG-ppt 量の増加はみられず、5 と6隻の成虫体を回収した No. 2 および No. 3 のラットでも感染後30日以前での PEG-ppt 量の増加はあまりみられなかつた。20隻感染群の他の4個体は、20日目までにかかなりの増加を示したが30日目には減少し、全体として、20隻感染群での PEG-ppt 量の増加は40日目以降において著明であつた。これに対して No. 8 ~ No. 14 の80隻感染群では10 ~ 20日目までに著しい PEG-ppt 量の増加がみられ、途中、一時的に PEG-ppt 量の減少する個体が見られたが、70日間にわたって高い PEG-ppt レベルを示したものが多かつた。

これらラットの PEG-ppt 中の抗原検出状況は寄生虫体数が2および5隻と少なく、PEG-ppt 量も著明な増加を示さなかつた2個体を除き、すべての個体が実験期間中に抗原が陽性となつた。しかし、20隻感染群では、抗原陽性となつた5個体のうち、2個体はわずかに60日目に抗原が検出されたのみであり、残り3個体でも40日以前に抗原陽性となるものはなかつた。これに対し、80隻感染群では、1個体を除いてすべて20日目までに抗原陽性となり、そのうち4個体は30 ~ 40日目に一時的に抗原は検出されなくなつたが、50日目には再び全個体が陽性となつた。また、Ouchterlony 法による沈降線として検出される抗原は、20隻感染群では全般に弱く、80隻感染群では50日目以降、かなり強い沈降線として検出されるものが多かつた。Fig. 1 には、その1例として No. 6

Table 1 Circulating immune complexes and antigen during the course of *A. cantonensis* infections in rats, and correlation between these data and the worm burdens of individual rats

Rat No.		Days after infection							No. of adult worms recovered
		10	20	30	40	50	60	70	
1	PEG-ppt* Antigen	0.02 (-)	0.01 (-)	0.01 (-)	0.03 (-)	0.01 (-)	0.13 (-)	0.02 (-)	2(♀ 1, ♂ 1)
2	PEG-ppt Antigen	0.02 (-)	0.03 (-)	0.01 (-)	0.05 (-)	0.10 (-)	0.18 (-)	0.20 (-)	5(♀ 2, ♂ 3)
3	PEG-ppt Antigen	0.02 (-)	0.08 (-)	0.01 (-)	0.13 (-)	0.05 (-)	0.23 (+)	0.13 (-)	6(♀ 4, ♂ 2)
4	PEG-ppt Antigen	0.05 (-)	0.19 (-)	0.12 (-)	0.20 (-)	0.16 (-)	0.08 (+)	0.21 (-)	13(♀ 8, ♂ 5)
5	PEG-ppt Antigen	0.07 (-)	0.21 (-)	0.06 (-)	0.10 (-)	0.18 (+)	0.20 (+)	0.51 (+)	15(♀ 8, ♂ 7)
6	PEG-ppt Antigen	0.14 (-)	0.12 (-)	0.07 (-)	0.30 (-)	0.16 (-)	0.23 (+)	0.15 (+)	15(♀ 10, ♂ 5)
7	PEG-ppt Antigen	0.10 (-)	0.15 (-)	0.07 (-)	0.29 (-)	0.34 (+)	0.16 (+)	0.19 (+)	19(♀ 10, ♂ 9)
8	PEG-ppt Antigen	0.11 (-)	0.07 (-)	0.06 (-)	0.09 (-)	0.18 (+)	0.23 (+)	0.19 (-)	33(♀ 10, ♂ 23)
9	PEG-ppt Antigen	0.12 (+)	0.29 (+)	0.17 (+)	0.12 (-)	0.21 (+)	0.27 (+)	0.26 (+)	35(♂ 21, ♂ 14)
10	PEG-ppt Antigen	0.10 (-)	0.17 (+)	0.17 (-)	0.16 (+)	0.11 (+)	0.13 (-)	0.13 (-)	38(♀ 13, ♂ 25)
11	PEG-ppt Antigen	0.19 (+)	0.46 (+)	0.41 (+)	0.37 (-)	0.53 (+)	0.43 (+)	0.17 (+)	42(♀ 24, ♂ 18)
12	PEG-ppt Antigen	0.19 (+)	0.28 (+)	0.30 (+)	0.13 (-)	0.10 (+)	0.14 (+)	0.18 (-)	43(♀ 23, ♂ 20)
13	PEG-ppt Antigen	0.18 (+)	0.26 (+)	0.37 (+)	0.45 (+)	0.29 (+)	0.24 (+)	0.33 (+)	49(♀ 22, ♂ 27)
14	PEG-ppt Antigen	0.16 (+)	0.24 (+)	0.18 (+)	0.26 (+)	0.42 (+)	0.18 (+)	0.42 (+)	77(♀ 33, ♂ 44)

The amounts of circulating immune complexes were spectrophotometrically determined by measuring the absorbancy at 280 m μ of serum polyethylene glycol precipitates, and the increase of the complexes was determined by subtracting pre-infection value from post-infection values. The score in parentheses denotes the degree of the contents of antigenic materials in the precipitates, as assessed by Ouchterlony analysis. The evaluation was established as follows: ++: strongly positive reaction; +: weakly positive reaction; -: negative reaction. Rats Nos. 1 to 7 and Nos. 8 to 14 were infected with 20 and 80 larvae, respectively. * polyethylene glycol precipitate.

と No. 13のラットについて行なつた Ouchterlony 法の結果を示した。しかし、同時に行なつた PEG-ppt 中の抗体検出では、両群ともすべての個体が実験期間を通して陽性であつた。

このような PEG-ppt 量の増加と抗原検出率を両群の間でさらに比較するために、Fig. 2 に 2 群の PEG-ppt 量の増加状況を、その平均値と個々の値の範囲で、また、Fig. 3 にはその抗原検出率を示した。80 隻感染群での PEG-ppt 量の増加は 20 日目ではほぼ平衡状態に近い高い値を示したのに対し、20 隻感染でのそれは、20 日目に

一時的な増加をみせたが、その程度は小さく、両群の間の差は 30 日以前において著明であつた。しかし、20 隻感染群でも 40 日目以降、PEG-ppt 量は増加を示し、平均値でみるかぎり、60、70 日目ではあまり大きな差は認められなくなつた。両群の間の差は、抗原の検出率においてさらに著明であり、20 隻感染群では 40 日以前に抗原陽性となる個体はなく、60 日目の 71.1% (5/7) をピークとして、抗原は 50 日目以降にのみ陽性となつた。これに対し、80 隻感染群では 20 日目に 7 個体中 6 個体 (85.7%) が抗原陽性となり、40 日目に 42.9% (3/7) に低下し

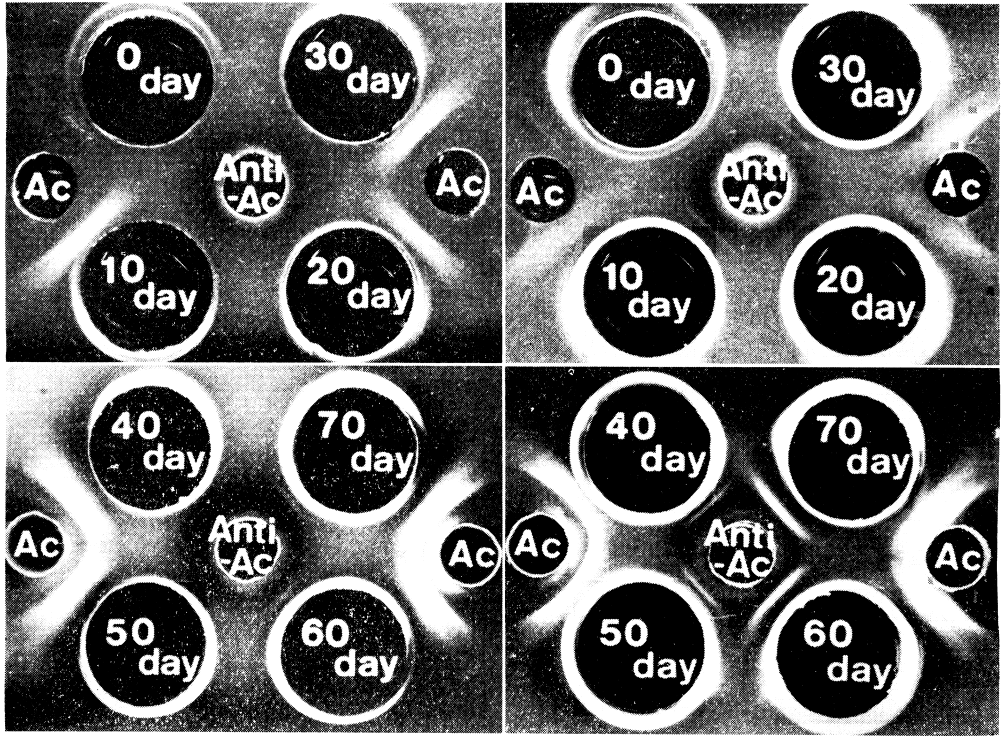


Fig. 1 Ouchterlony plates showing the presence of antigen and antibody in serum PEG-precipitates from No. 6 rat (two left figures) infected with 20 larvae and No. 13 rat (two right figures) infected with 80 larvae. Large wells were filled with the dissolved precipitates obtained at different times after infection and small wells were with antiserum against whole worm extract (Anti-Ac) and whole worm extract (Ac), respectively.

たが、50日目には100% (7/7) となり、明らかな2つのピークを示した。

以上の結果をもとに、PEG-ppt 量の増加と抗原の検出状況を雌成虫寄生数との関連で示したのが Fig. 4 である。一般に PEG-ppt 量の増加が著しいほど抗原陽性となる場合が多いが、両者の間に厳密な関連はみられなかった。雌成虫の寄生数が10隻以下の個体では、40日以前に抗原陽性となる個体はなかったが、50日目以降では、4隻以上の雌成虫が寄生していた個体はすべていずれかの時期に抗原陽性となった。

2) PEG-ppt 中の抗原の分析

感染後20日目と50日目に抗原が陽性であった個体の PEG-ppt を各々プールし、これを家兎に免疫して得た Anti-PEG-ppt と WWE との間で行なった免疫電気泳動法の結果を Fig. 5 に示した。20日目の PEG-ppt に対する抗血清は WWE との間で原点付近に1本の沈降

線を形成し、50日目の PEG-ppt に対する抗血清では2本の沈降線を認めた。このうち、1本は20日目の PEG-ppt に対する抗血清との間で形成された沈降線と同じ易動度を示すものであった。

考 察

広東住血線虫感染ラット流血中に形成される免疫複合体について、これまでの検討結果をもとに、ここでは幼虫20隻と80隻を感染させた2群のラットについて、その免疫複合体量の増加と抗原検出状況とを比較してみた。80隻感染群では感染後20日目で PEG-ppt 量が平衡状態に近い高い値を示すようになり、抗原も20日目に85.7% (6/7)、40日目には42.9% (3/7) に低下したが、50日目には再び100% (7/7) が陽性となり、前報 (高井ら, 1978) において幼虫100隻を感染させたラットで得られた成績とはほぼ一致する結果を得た。他方、20隻感染群で

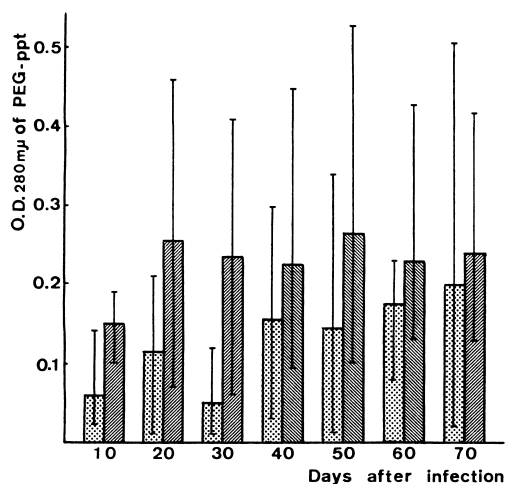


Fig. 2 Increase in absorbancy at 280m μ of serum PEG-precipitates of rats infected with 20 (▨) and 80 (▧) larvae. Each value is the arithmetic mean of 7 rats and vertical bar represents the range of values.

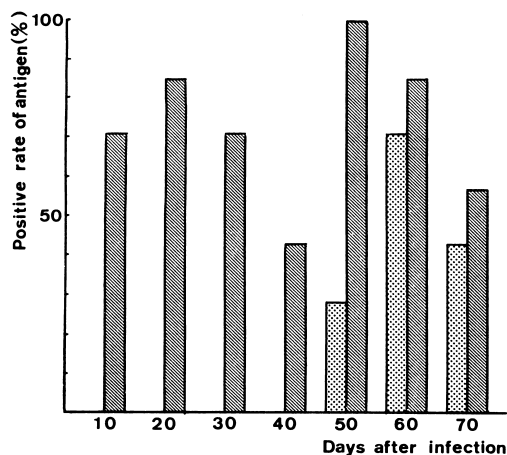


Fig. 3 Per cent positive of antigen in serum PEG-precipitates during the course of infection in rats. ▨: Sera from rats infected with 20 larvae, ▧: Sera from rats infected with 80 larvae.

は、30日以前に著しい PEG-ppt 量の増加を示す個体は少なく、PEG-ppt 量の増加は40日以降において著明であった。また、抗原の検出も60日目の71.1% (5/7) をピークとして、50日目を以降にのみ陽性となった。PEG-ppt 量の増加については、前報 (佐藤ら, 1978) でも50

隻と100隻感染群で同様の比較を行ない、両群の間で大きな差を認めることはできなかったが、全般に50隻感染群での PEG-ppt 量が少なく、この場合にも、両群の間での差は3週目までの血清において大きい傾向がみられた。これらの結果より、本線虫感染にともなう感染初期での免疫複合体形成には感染虫体数の多少が密接に関連しているものと思われた。20隻感染群においても、感染後期での免疫複合体量の増加や抗原の検出が著明であったことは、虫体の発育生長にともなう抗原量の増加あるいは産卵とそれに続く多数の孵化幼虫に由来する抗原量の増加が原因と考えられた。しかし、ラット体内における本線虫の発育状況を検討した結果では、虫体の発育はむしろ感染後20日の間で著しく、30日以降ではそれほど虫体は大きくならないことが報告されており (山下ら, 1975)、80隻感染群で PEG-ppt 量が感染後20日目までに平衡状態に近い値まで増加することや20隻感染群で20日目に PEG-ppt 量が一時的に増加する個体がみられることと考え合せると、虫体の発育、生長にともなう抗原量の増加は感染初期での免疫複合体量の増加に影響を与えていると思われた。これらのラットの中で一時的に PEG-ppt 量が減少したり、PEG-ppt 中に抗原が検出されなくなる原因は不明であるが、20隻感染群での PEG-ppt 量の増加と抗原の検出が、糞便中に第1期幼虫の検出されるようになる40日頃 (Mackerras and Sanders, 1955) から著明となり、80隻感染群での抗原検出率の第2のピークが50日目であったことなどから、感染後期での免疫複合体形成には虫卵および第1期幼虫に由来する新たな抗原物質の関与が示唆された。事実、20隻感染群であっても雌成虫の寄生数が8隻以上の個体では感染後期での抗原の検出が著明であり、また、PEG-ppt 中の抗原物質の分析から、感染初期でのそれは免疫電気泳動法による沈降線として1本が検出されたのみであったが、感染後期ではこの沈降線を含む2本が認められた。感染後期の PEG-ppt 中に見出されるようになった抗原物質が本線虫のいずれの発育段階に由来するものであるかは検討していないが、住血吸虫や回虫など、ある種の蠕虫類では発育段階に応じた異なる抗原組成をもつことが知られており (Oliver-Gonzalez and Levine, 1962; Sadun *et al.*, 1965; Justus and Ivey, 1969; Williams and Soulsby, 1970)、本線虫の場合には虫卵から何らかの抗原物質が遊離されていること (奥ら, 1978) や第1期幼虫の散在する肺病変部に多量の線虫抗原が含まれていること (神谷・神田, 1973) が知られている。感染初期では免疫複合体量の増加や抗原の検出率が両群の間で著

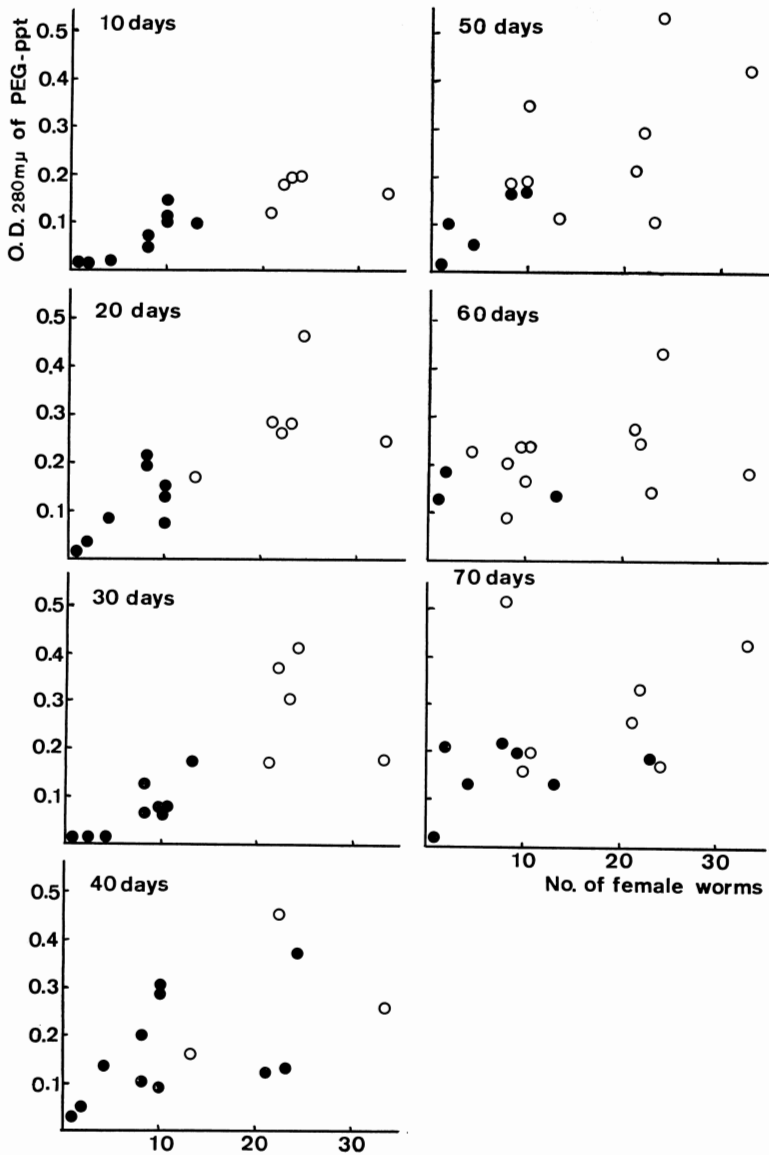


Fig. 4 Serum PEG-precipitates levels and antigen detections during the course of infections in rats, in relation to female worm burdens. Each point represents PEG-precipitates levels, as determined by measuring increase in absorbancy at $280\text{ m}\mu$ of the precipitates, also showing antigen positive (○) and negative (●).

明な差を示しながら、感染後期でのそれらにはあまり大きな差を認めなかつた原因は不明であるが、抗原の検出状況を Ouchterlony 法による沈降線の強さとして比較した場合、感染後期でのそれは80隻感染群で明らかに強く、免疫複合体形成に關与する抗原物質はやはり80隻感染群が20隻感染群に比べてかなり多いことが示唆され

た。

本線虫以外で、以上に述べたような観点から免疫複合体の形成を調べた報告はみられないが、 Manson 住血吸虫の場合、100隻のセルカリアを感染させたマウスでは感染後44~90日という比較的後期に著しい免疫複合体の増加がみられること (Bout *et al.*, 1977), 800隻のセル

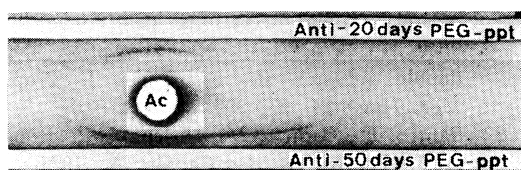


Fig. 5 Immunoelectrophoretic analysis of antigenic component in serum PEG-precipitates of rats at 20 and 50 days after infection. After electrophoresis of whole worm extract (Ac), throughs were filled with antisera (Anti-PEG-ppt) of rabbits immunized with the PEG-precipitates obtained at 20 and 50 days.

カリヤを感染させたラットでは、感染後5週目と12~14週目をピークとした免疫複合体量の増加を示したこと (Santro *et al.*, 1978) などが報告されている。これらの報告と今回の実験結果を考え合せると、血液寄生蠕虫類の感染にともなう免疫複合体形成では、多数感染によってもたらされる感染初期での免疫複合体形成と、少数感染の場合であつても、産卵や幼虫の産出にともなう感染後期での免疫複合体形成を考慮しなければならないと思われた。

結 語

広東住血線虫感染ラット血清中に検出される免疫複合体の動態を調べる目的で、第3期幼虫20隻および80隻を感染させた2群のラットについて、血清中の免疫複合体量とその中で本線虫抗原の検出状況を6.0%ポリエチレングリコールによる非特異的沈澱法で比較した。

80隻感染群では、感染後10日目で著しい沈澱量の増加を示し、20日目には平衡状態に近い高い値を示すようになった。また、沈澱中の抗原検出率も20日目に85.7% (6/7)、40日目には42.9% (3/7) に低下したが、50日目には100% (7/7) となり、明らかな2つのピークを示した。

これに対し、20隻感染群では感染後30日以前に沈澱量の著しい増加を示す個体は少なく、抗原も40日目には全く検出されなかった。しかし、40日目以降、沈澱量は次第に増加し抗原も60日目の71.1% (5/7) をピークとして、50日目以降に検出されるようになった。

また、沈澱中の抗原物質は、免疫電気泳動法により、20日目で1本、50日目では2本の沈降線として検出された。

このことから、感染初期の免疫複合体形成には感染虫体数の多少が密接に関連しており、感染後期でのそれには、産卵とそれに続く多数の第1期幼虫の孵化による新たな抗原物質の増加が関連しているものと考えられた。

文 献

- 1) Blackett, K. and Ngu, J. L. (1976): Immunological studies in congestive cardiomyopathy in Cameroon. *Brit. Heart J.*, 38, 605-611.
- 2) Bout, D., Santro, F., Carlier, Y., Bina, J. C. and Capron, A. (1977): Circulating immune complexes in schistosomiasis. *Immunology*, 33, 17-22.
- 3) D'Alesandro, P. A. (1972): *Trypanosoma lewisi*: Production of exoantigens during infection in the rat. *Exp. Parasit.*, 32, 147-164.
- 4) Deelder, A. M., Klappe, H. T. M., van den Aardweg, G. J. M. J. and van Meerbeke, E. H. E. M. (1976): *Shistosoma mansoni*: Demonstration of two circulating antigens in infected hamsters. *Exp. Parasit.*, 40, 189-197.
- 5) Gold, R., Rosen, F. S. and Weller, T. H. (1969): A specific circulating antigen in hamsters infected with *Schistosoma mansoni*. Detection of antigen in serum and urine, and correlation between antigenic concentration and worm burden. *Amer. J. Trop. Med. Hyg.*, 18, 545-552.
- 6) Greenwood, B. M. and Whittle, H. C. (1976): Complement activation in patients with Gambian sleeping sickness. *Clin. Exp. Immunol.*, 24, 133-138.
- 7) 平田瑞城・阿久沢 実 (1975): 日本住血吸虫の感染動物にみられる循環抗原について. 1. 実験的感染ウサギにおける循環抗原の検出及び性状. *寄生虫誌*, 24, 250-254.
- 8) 平田瑞城 (1976): 日本住血吸虫感染動物にみられる循環抗原について. 2. 感染マウスにおける循環抗原の出現状況. *寄生虫誌*, 25, 396-401.
- 9) Houba, V., Allison, A. C., Adeniyi, A. and Houba, J. E. (1971): Immunoglobulin classes and complement in biopsies of Nigerian children with the nephrotic syndrome. *Clin. Exp. Immunol.*, 8, 761-774.
- 10) Houba, V., Lambert P., H., Voller, A. and Soyawo, M. A. O. (1976): Clinical and experimental investigation of immune complexes in malaria. *Clin. Immunol. Immunol.*

- path., 6, 1-12.
- 11) Justus, D. E. and Ivey, M. H. (1969): *Ascaris suum*: Immuno-electrophoretic analysis of antigens in developmental stages. *Exp. Parasit.*, 26, 290-298.
 - 12) 神谷正男・神田鍊蔵 (1973): 広東住血線虫感染ラット肺病変部にみられる抗原について. *寄生虫誌*, 22(増), 68.
 - 13) Lambert, P. H. and Houba, V. (1974): Immune complexes in parasitic diseases. *Prog. Immunol.*, II, Brent, L. and Halborow, J. (eds), 57-67. North Holland Pub. Co., Amsterdam.
 - 14) Mackerras M. J. and Sanders, D. F. (1955): The life history of rat lungworm, *Angiostrongylus cantonensis* (Chen) (Nematoda: Metastrongylidae). *Aust. J. Zool.*, 3, 1-25.
 - 15) Moriearty, P. L. and Brito, E. (1977): Elution of renal antischistosome antibodies in human schistosomiasis mansonii. *Amer. J. Trop. Med. Hyg.*, 26, 717-722.
 - 16) Nagle, R. B., Ward, P. A., Lindsley, H. B., Sadun, E. H., Johnson, A. J., Berkaw, R. E. and Hildebrandt, P. K. (1974): Experimental infections with African trypanosomiasis. VI. Glomerulonephritis involving the alternate pathway of complement activation. *Amer. J. Trop. Med. Hyg.*, 23, 15-26.
 - 17) Ouchterlony, Ö. (1958): Diffusion-in-gel methods for immunological analysis. *Prog. Allergy*, 5, 1-78.
 - 18) 奥祐三郎・福本真一郎・神谷正男 (1978): 広東住血線虫における Circumoval- および Micro-precipitation reaction. *寄生虫誌*, 27(増), 70.
 - 19) Oliver-Gonzalez, J. and Levine, D. M. (1962): Stage specific antibodies in experimental trichinosis. *Amer. J. Trop. Med. Hyg.*, 11, 241-244.
 - 20) Poltera, A. A., Cox, J. N. and Owor, R. (1976): Pancarditis affecting the conducting system and all valves in human African trypanosomiasis. *Brit. Heart J.*, 38, 827-837.
 - 21) Sadun, E. H., Schoenbechler, M. J. and Bentz, M. (1965): Multiple antibody response in *Schistosoma mansonii* infections. Antigenic constituents in eggs, cercariae and adult (excretions and secretions) determined by flocculation reactions, cross absorption and double diffusion studies. *Amer. J. Trop. Med. Hyg.*, 14, 977-995.
 - 22) Santro, F., Capron, M., Joseph, M., Rousseaux-Prevost, R. and Capron, A. (1978): Circulating antigens and immune complexes in *Schistosoma mansonii*-infected rats. Characterization by radioimmunoprecipitation-PEG assay (RIPEGA). *Clin. Exp. Immunol.*, 32, 435-442.
 - 23) 佐藤良也・渡部久実・大鶴正満・山下隆夫 (1978): 広東住血線虫感染ラット血清中に認められた抗原-抗体複合物. *寄生虫誌*, 27(増), 35.
 - 24) Scheidegger, J. J. (1955): Une micro-methode de l'immuno-electrophorese. *Intern. Arch. Allergy*, 7, 103-110.
 - 25) Smith, A. R., Karr, L. J., Lykins, J. D. and Ristic, M. (1972): Serum-soluble antigens of malaria. A review. *Exp. Parasit.*, 31, 120-125.
 - 26) Smith, M. D., Verroust, P. J., Morel-Margogier, L., Geniteau, M. and Coulaud, J. P. (1977): A study of the presence of circulating immune complexes in schistosomiasis. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 71, 343-348.
 - 27) 高井昭彦・佐藤良也・渡部久実・大鶴正満・山下隆夫 (1978): 広東住血線虫感染ラット血清中の抗原-抗体複合物——抗原の検出状況——. *寄生虫誌*, 28, (1・補), 19.
 - 28) WHO-Report (1977): The role of immune complexes in disease. WHO-Geneva, Technical report series, 606, 27-44.
 - 29) Williams, J. F. and Soulsby, E. J. L. (1970): Antigenic analysis of developmental stages of *Ascaris suum*. 1. Comparison of eggs, larvae and adults. *Exp. Parasit.*, 27, 150-162.
 - 30) 山下隆夫・佐藤良也・白木公・大鶴正満・鈴木俊夫 (1975): 広東住血線虫のラット, マウスおよびモルモット体内における発育. *寄生虫誌*, 24, 114-121.
 - 31) 山下隆夫・斉藤豊・佐藤良也・大鶴正満・鈴木俊夫 (1978): 奄美諸島—与論島における広東住血線虫の調査. *寄生虫誌*, 27, 143-150.

Abstract

CIRCULATING IMMUNE COMPLEXES IN RATS INFECTED WITH
ANGIOSTRONGYLUS CANTONENSIS—RELATION BETWEEN
IMMUNE COMPLEXES AND WORM BURDEN—

YOSHIYA SATO, AKIHIKO TAKAI, HISAMI WATANABE,
MASAMITSU OTSURU

(*Department of Medical Zoology, Niigata University*
School of Medicine, Niigata, Japan)

AND

TAKAO YAMASHITA

(*Department of Parasitology, Yamagata University*
School of Medicine, Yamagata, Japan)

Circulating immune complexes in sera of rats infected with 20 or 80 larvae of *Angiostromyulus cantonensis* were studied by the precipitation method with 6.0% polyethylene glycol, in relation to the worm burden.

In rats infected with 80 larvae, the precipitates (PEG-ppt) increased considerably as early as 10 days after infection and reached nearly a plateau level at the 20th day. Two peaks of detection rate of antigen in the PEG-ppt, 85.7% (6/7) and 100% (7/7), were observed at the 20th and 50th day, respectively.

On the other hand, the increase of PEG-ppt in rats infected with 20 larvae was not remarkable in sera obtained within 30 days, and antigen was also not detected in the PEG-ppt for the first 40 days. The PEG-ppt, however, increased significantly at the stages later than 40 days and antigen became positive in 71.1% (5/7) of the infected rats during the 50th to 70th day.

The antigen in the PEG-ppt was detected as an immunoelectrophoretic precipitin band at the 20th day, and another band was seen at the 50th day.

From the results mentioned above, it was considered that the formation of immune complexes in early stages of infection with the parasite was closely related with the degree of worm burden, but in later stages, another antigen derived from eggs and the 1st-stage larvae hatched, seemed to be concerned with the formation of immune complexes.