

非標識抗体酵素法による組織内寄生虫同定の試み

2. 蠕虫

鈴木俊夫* 赤尾信明† 山下隆夫‡

(昭和56年8月17日 受領)

Key words: tissue parasites, helminths, unlabeled antibody enzyme method

はじめに

手術, 生検, 剖検などで摘出された臓器組織中に虫体, または虫卵様の異物が見出されたとして病理関係者より同定依頼を受けることがしばしばある. その際, 虫体または虫卵が新鮮でほぼ完全な形が保たれているなら, それらの形態的特徴から同定もさほど困難ではない.

しかし, 送られてくる標本の中には, 虫体の変性崩壊の著しいもの, 虫体の一部のみしか組織中に残っていないもの, さらに虫体または虫卵かも判然としないものなどがあり同定に難渋することも少なくない.

前報において著者らは (1981), Mason *et al.* (1969) ならびに Sternberger *et al.* (1970) によつて考案された非標識抗体酵素法を用いてホルマリン固定・パラフィン包埋切片中のトキソプラズマを特異的に染色する試みについて報告したが, 今回は本法を組織内寄生蠕虫の同定の手段に利用するための検討を行なつたので報告する.

実験材料ならびに方法

1. 感染動物組織ならびに虫体標本

各種蠕虫虫体および虫卵を特異的に染色する条件を決めるため, 実験のおよび自然感染動物からの組織, さらには虫体の10%ホルマリン浸漬標本を用いて予備実験を行なつた. ただし, 用いた材料のホルマリン中での保存期間は下記の如く標本によつてまちまちである.

* 秋田大学医学部寄生虫学教室

† 金沢大学医学部寄生虫学教室

‡ 山形大学医学部寄生虫学教室

ホルマリン浸漬標本からパラフィン切片 (4 μ) までは通常の病理組織切片作製法に従つて行なつた.

a. 日本住血吸虫卵: フィリピン株日本住血吸虫セルカリア50隻を皮下接種して7週経過したマウスの肝臓切片中の虫卵である. なお, 肝臓は摘出後約2年間ホルマリン中に保存されていたものである.

b. マンソン裂頭条虫プレロセルコイドおよび成虫, 広節裂頭条虫成虫, 大複殖門条虫成虫, 無鉤条虫, 多包および単包条虫成虫: いずれも保存期間7年以上経過した標本である.

c. アニサキス幼虫 I および II 型, テラノーバ幼虫, イヌ蛔虫, ブタ蛔虫: いずれも保存期間約3年の標本である.

d. 広東住血線虫未熟虫: 台湾株広東住血線虫3期幼虫50隻を経口投与して20日経過したマウスの脳切片中にみられた未熟虫を用いた. なお, 脳は摘出後10日間固定した.

e. 旋毛虫幼虫: ポーランド株旋毛虫幼虫200隻を経口投与して60日経過したマウスの大腿筋切片中の幼虫で, 5日間固定したものをを用いた.

f. イヌ糸状虫成虫: 秋田市立動物園で斃死したキツネの固定臓器 (20日間) から, イヌ糸状虫の血管梗塞によつて起された肺病変部を切り出して使用した.

2. 人体症例

今回の実験に用いた人体症例の病巣中にみられた蠕虫虫体または虫卵の多くは, それらの形態から種の同定が可能であつたが, 一部は本染色によつてはじめて種が決定された.

a. 日本住血吸虫症 (Table 1-a): 症例1は便秘, 鼓腸を主訴として秋田大学第1内科に入院した患者で, 直

Table 1 Human tissue specimens used in the present study

a. *Schistosoma japonicum* (eggs in tissue)

Case No.	Age	Sex	Tissue	Obtained by	Appearance of egg
1	62	M	Sigmoid	Biopsy	Calcified
2	60	M	Liver	Biopsy	Partially calcified
3	58	M	Descendent colon	Autopsy	Partially calcified

b. *Sparganum mansoni* (plerocercoid in subcutaneous tissue)*

Case No.	Age	Sex	Location of worm	Appearance of worm
1	42	F	Groin	Fresh
2	39	F	Abdominal wall	Fresh
3	39	F	Breast	Fresh
4	54	F	Hip	Markedly degenerated
5	73	F	Thigh	Fresh
6	70	F	Breast	Fresh
7	40	F	Breast	Degenerated
8	57	F	Abdominal wall	Fresh
9	64	F	Breast	Fresh

* The worms were surgically removed together with surrounding granulomas.

c. Nematodes

Case No.	Age	Sex	Parasite	Tissue	Obtained by	Appearance of worm
1	5	F	<i>Angiostrongylus cantonensis</i> preadult	Brain	Autopsy	Fresh
2		M	<i>Trichinella spiralis</i> larvae	Diaphragm	Autopsy	Fresh
3	64	M	<i>Dirofilaria immitis</i> preadult	Lung	Autopsy	Degenerated
4	37	F	<i>Anisakis</i> larva	Stomach	Operation	Relatively fresh
5	36	M		Small intestine	Operation	Fresh
6	47	F		Mesentery	Operation	Markedly degenerated
7	22	M		Large omentum	Operation	Degenerated
8	3	M		Subcutan (Groin)	Operation	Degenerated
9	42	F		Subcutan (Abdominal wall)	Operation	Degenerated

腸鏡で直腸上部からS状結腸に多数のポリープが認められ、生検によって陳旧性の虫卵結節であることが知られた例である。症例2は肝機能障害のため秋田大学第1内科に入院し、生検肝組織中に虫卵が発見された例である。症例3は脳内出血のため山形県立新庄病院内科で死亡した患者で、剖検によって肝、大腸、肺に多数の虫卵が認められた例である。

b. マンソン孤虫症 (Table 1-b) : 症例1~5は東北

大学第1病理より同定を依頼された例で、いずれも宮城県公立佐沼病院外科にて摘出された皮下腫瘍である。症例6、7は秋田県山本組合病院外科で、症例8は岩手県立中央病院外科で、症例9は秋田県平鹿総合病院外科でそれぞれ摘出された例である。

c. 各種線虫症 (Table 1-c) : 症例1は広東住血線虫による好酸球性髄膜脳炎で死亡した台湾の少女の脳 (Yii *et al.*, 1968), 症例2は旋毛虫症で死亡したタイ

北部の患者からの横隔膜である。症例3は富山県立中央病院において食道静脈瘤破裂によって死亡した患者の左肺上葉に認められた拇指頭大の腫瘤で、イヌ糸状虫未熟成虫によって形成された肉芽腫であった。アニサキス症は北日本に多い疾患であつて標本も多いが、症例4～9に示したものは、アニサキス症が強く疑われながらも形態上からだけでは確定することができなかつたような例のみである。すなわち、症例4は秋田県山本組合病院外科にて胃門蓋部の腫瘤摘出を受けたもので、組織切片中では縦断虫体が認められた。症例5は秋田大学第1外科において回腸切除されたもので、病巣の切片中には虫体の食道部とレンネット細胞のみしかみられなかつた。症例6は山形県北村山山公立病院外科にてイレウスの原因となつている腸間膜の索状物を除去した際、結節状の腫瘤中に寄生虫様の異物が認められた。症例7の大網腫瘍中の変性虫体、症例8の鼠径部皮下腫瘍中の変化崩壊虫体、症例9の腹壁の手術痕部に形成した皮下腫瘍中の変性崩壊虫体については既報の如くである (Yoshimura *et al.* 1979, 吉村ら, 1980)。

3. 蠕虫抗原の作製

蠕虫によって成虫、幼虫の違いはあるが、原則的には同一の操作によって抗原を作製した。凍結乾燥または新鮮虫体を適量のリソ酸緩衝食塩水、pH 7.4 (PBS) を加えて充分磨砕し、7,000rpm, 30分遠心して上清を得た。なお、それら蠕虫抗原は PBS によって蛋白質濃度 2 mg/ml に調整して使用した。

a. 日本住血吸虫成虫およびマンソン住血吸虫成虫抗原：フィリピン株日本住血吸虫セルカリア50隻を皮下接種したマウス、およびケニア株マンソン住血吸虫セルカリア100隻を皮下接種したマウスより12週後に門脈浣流によって集めて凍結乾燥して保存しておいた成虫(雌雄)を用いて作製した。

b. 肝吸虫成虫、肺吸虫成虫および肝蛭成虫抗原：八郎瀆産ヒガイより採集した肝吸虫メタセルカリア100個を経口投与したラット、および秋田県西木村で捕獲したサワガニより採集したウエステルマン肺吸虫メタセルカリア20個を経口投与したイヌよりそれぞれ90日後に虫体を得た。肝蛭は秋田市の屠畜場にて牛より採集した。抗原はいずれも新鮮虫体を用いて作製した。

c. マンソン裂頭条虫プレロセルコイドおよび広節裂頭条虫成虫抗原：マムシより採集したマンソン裂頭条虫プレロセルコイド、および駆虫によってヒトから得られた広節裂頭条虫成虫のいずれも新鮮虫体を用いて作製した。

d. 多包条虫原頭節抗原：北海道大学獣医学部家畜寄生虫学教室より供与を受けた凍結乾燥原頭節を用いて作製した。

e. 広東住血線虫成虫抗原：沖縄株広東住血線虫3期幼虫50隻を経口投与して60日経過したラットの右心室および肺動脈より採集した新鮮成虫(雌雄)より作製した。

f. 旋毛虫幼虫抗原：岩崎株旋毛虫幼虫200隻を経口投与して60日経過したマウスの骨格筋をペプシン消化して採集した新鮮幼虫を用いた。

g. イヌ糸状虫成虫抗原：成犬の右心室より採集した新鮮成虫より作製した。

h. アニサキスI型幼虫抗原：タラ内臓より採集した新鮮幼虫より作製した。

i. イヌ蛔虫成虫およびブタ蛔虫成虫抗原：凍結保存してある幼犬小腸より採集したイヌ蛔虫成虫、およびブタ小腸より採集したブタ蛔虫成虫の新鮮虫体を用いて作製した。

4. 抗蠕虫血清の作製と交差反応抗体の除去

A. 抗血清の作製

各種蠕虫に対する抗血清はウサギまたはラットへの感染幼虫の投与、または蠕虫抗原のウサギへの注射による免疫によって作製した。なお、免疫は上記抗原1mlに完全アジュバント1mlを混和して背部皮下に少量ずつ注射した。感作は10日間隔で4回行ない、最後の注射後1週間して全採血して血清を分離した。

a. 抗日本住血吸虫血清：フィリピン株日本住血吸虫セルカリア600隻を皮下接種で感染させ12週経過したウサギより得た。

b. 抗マンソン裂頭条虫プレロセルコイド血清：上記抗原を感作して作製した。

c. 抗広東住血線虫血清：沖縄株広東住血線虫3期幼虫50隻を経口投与して80日経過したラットより得た。

d. 抗旋毛虫幼虫血清：岩崎株旋毛虫幼虫500隻を経口投与して68日経過したカトからの血清である。

e. 抗イヌ糸状虫成虫、抗アニサキスI型幼虫、抗イヌ蛔虫成虫および抗ブタ蛔虫血清：上記各抗原を感作して得た。

B. 交差反応抗体成分の除去

上記の如くして作製した抗血清には、感染または免疫に用いた蠕虫(または抗原)に対する抗体のほかにも異種蠕虫抗原と交差反応を示す抗体も産生されるため使用前その除去が必要になつてくる。

異種抗原に対する抗体は免疫拡散法によって調べ、最

Table 2 Cross-reactions between helminth antigens and their antisera
by immunodiffusion technique

a. Antiserum to *S. japonicum*

Antiserum	Antigens					
	<i>S. japon.</i>	<i>S. manson.</i>	<i>F. hepat.</i>	<i>C. sinen.</i>	<i>P. wester.</i>	<i>T. spiral.</i>
<i>S. japon.</i>	++	+	-	-	-	-

b. Antiserum to *D. erinacei*

Antiserum	Antigens					
	<i>D. erina.</i>	<i>D. latum</i>	<i>E. multi.</i>	<i>C. sinen.</i>	<i>P. wester.</i>	<i>T. spiral.</i>
<i>D. erina.</i>	+++	+	-	-	-	-
absorbed with <i>D. latum</i>	+	-	-	-	-	-

S. japon. : *Schistosoma japonicum*

S. manson. : *Schistosoma mansoni*

F. hepat. : *Fasciola hepatica*

C. sinen. : *Clonorchis sinensis*

P. wester. : *Paragonimus westermani*

T. spiral. : *Trichinella spiralis*

D. erina. : *Diphyllobothrium erinacei*

D. latum : *Diphyllobothrium latum*

E. multi. : *Echinococcus multilocularis*

c. Antisera to various nematodes

Antisera	Antigens					
	<i>A. canton.</i>	<i>T. spiralis</i>	<i>D. immit.</i>	<i>Anisakis(I)</i>	<i>T. canis</i>	<i>A. suum</i>
<i>A. canton.</i>	+++	+	++	+	+	+
absorbed with <i>D. immit.</i>	++	+	-	-	-	-
<i>T. spiralis</i>	-	+++	-	-	+	-
absorbed with <i>T. canis</i>	-	+	-	-	-	-
<i>D. immit.</i>	+	-	++	-	-	-
absorbed with <i>A. canton.</i>	-	-	+	-	-	-
<i>Anisakis (I)</i>	-	-	-	+++	+	+
absorbed with <i>A. suum</i>	-	-	-	++	-	-
<i>T. canis</i>	+	+	+	-	+++	+
absorbed with <i>A. canton.</i>	-	-	-	-	++	-
<i>A. suum</i>	+	+	+	+	++	+++
absorbed with <i>T. canis</i>	-	-	-	-	-	+

A. canton. : *Angiostrongylus cantonensis*

T. spiralis : *Trichinella spiralis*

D. immit. : *Dirofilaria immitis*

Anisakis (I) : *Anisakis* larva type I

T. canis : *Toxocara canis*

A. suum : *Ascaris suum*

も強い交差反応を示した異種抗原を抗血清0.2mlに50~80 μ g(抗血清ごとに異なる)混和し、4C 1晩反応させた後、5,000rpm, 10分間遠心して沈渣を除去した。

5. 抗カト IgG 血清(ヤギ)および抗ラット IgG 血清(ウサギ)の作製

いずれも数年前著者らの研究室で作製し、小分けにして-80C に保存しておいたものである。

6. 抗ペルオキシダーゼ血清(ウサギおよびラット)の作製

前報(Suzuki and Ono, 1981)に記した如く、Masson *et al.* (1969)に従い作製した。ただし、ラットではカトでの抗原量の3分1量に減らして免疫した。

7. 染色操作

パラフィン切片作製、脱パラフィン操作ならびに染色操作は前報(Suzuki and Ono, 1981)に記した如くである。ただし、一次抗血清、すなわち蠕虫に対する抗血清の抗体価は上に記した異種蠕虫抗原による吸収後に著しく低下するものもあるため、それぞれの抗血清は動物組織中の虫体または虫卵、あるいは虫体だけの切片標本を用いて予備試験を行ない至適希釈倍数を決めた。

成 績

至適染色条件設定のための予備試験

各種蠕虫切片を特異的に染色する至適条件を決めるため、異種蠕虫抗原と交差反応を示す抗体を可及的に除去した抗血清を作り、動物組織中の虫体または虫卵、あるいは虫体だけの切片を用いて至適希釈倍数を決めた。

各抗血清と抗原との間の反応を寒天ゲルを用いた免疫拡散法によって調べたのが Table 2 a, b, c であるが、感染、免疫いずれの方法で作製した抗血清にも異種抗原と反応する抗体が含まれている。こうした各種の異種抗原と反応する抗体も、最も強く反応する異種抗原で吸収することによってその他の反応の弱い抗原との交差反応も免疫拡散法によって調べた限りでは消失することが知られた。(Table 2 a, b, c)。

しかし、吸収後の抗血清でも希釈せずに使用した場合しばしば非特異的な反応がみられ、検討の結果、本実験で使用した抗血清については、抗日本住血吸虫血清(非吸収)1:50, 抗マンソン裂頭条虫プレロセルコイド血清1:40, 抗広東住血線虫血清1:20, 抗旋毛虫幼虫血清1:20, 抗イヌ糸状虫成虫血清1:10, 抗アニサキス I 型幼虫血清1:40 で充分満足すべき結果が得られた。

それに対して、二次抗血清(抗ウサギ IgG または抗ラット IgG 血清)および三次抗血清(ウサギ抗ペルオキ

シダーゼまたはラット抗ペルオキシダーゼ血清)の希釈は1:100~200の間で結果に大きな差がないと考えられた。

人体組織中の虫体、虫卵の染色

予備試験によって決めた条件に従い人体病理組織切片中の虫体または虫卵の染色を行ない、組織のパラフィン・ブロックとして保存された標本中では、蠕虫は予期した以上に抗原性が保たれていることが知られた。しかも、人体内で摘出時既に死滅していたか、さらに変性崩壊が進んでいたと思われる虫体でも充分抗原性が保たれており、それどころかむしろ増強していると思われる例すらあった。

各症例の本法(PAP 染色と略す)による染色パターンを常用のヘマトキシリン・エオジン染色(HE 染色と略す)と対比しながら記してみる。

日本住血吸虫症: 症例1でのS状結膜ポリープは、HE 染色でみると虫卵を取り囲んでの著しい結合織の増殖であり、炎症細胞の浸潤は認められない。虫卵も変性が進み、ミラジウムは石灰化のためヘマトキシリンに濃染している。このように変性崩壊の進んでいる虫卵でも抗原性は比較的良く保たれていて PAP 染色では不規則な染色性を示している。症例2の肝臓組織中の虫卵結節もやや陳旧性で虫卵も石灰化したいものが多いが(Fig. 1), 抗原性は良好に保たれている(Fig. 2)。症例3の下行結腸にみられた虫卵結節も前2者とはほぼ類似している。

マンソン孤虫症: 摘出時まで人体内で生存していたとみられる症例1, 2, 3, 5, 6, 8, 9の新鮮虫体は特有な構造より HE 染色によっても容易に同定できる。Figs. 3, 4には症例2の虫体について染色性を比較したものである。石灰小体が強い抗原性を示しているのが特徴的である。症例4, 7では虫体は組織中に死滅、崩壊しており HE 染色のみではマンソン孤虫と断定することは困難と考えられた。PAP 染色では崩壊虫体のほか、虫体周囲の組織さらに浸潤細胞にまで反応がみられた。

各種線虫症: 症例1の大脳皮質中にみられた広東住血線虫未熟成虫は HE 染色では筋細胞、消化管、未熟な生殖器などがよく区別できるが(Fig. 5), PAP 染色ではそれらが均一に染色され個々の区別は明瞭ではない。角皮の抗原性はきわめて弱い(Fig. 6)。症例2の横紋筋中の旋毛虫幼虫は HE 染色で stichosome は好酸性で多少顆粒状にみえるが(Fig. 7), PAP 染色では単色調の顆粒状で個々の細胞の区画は明瞭ではない(Fig.

8). 症例3の左肺上葉の結節中にみられたやや変性したイヌ糸状虫未熟成虫は、HE染色では発達した polmyarian 型の筋層や消化管が良く区別できるが (Fig. 9), PAP染色では均一に染められ構造は明瞭ではない (Fig. 10). 症例5の回腸末端部の組織切片中には幼線虫の食道部のみが残存している。これは恐らく、手術中に虫体の大部分は機械的に取り除かれたものと思われる。食道細胞の排列ならびにレンネット細胞の形から HE染色でもアニサキス亜科線虫の幼虫と同定できるが (Fig. 11), PAP染色では抗アニサキス I型幼虫血清に反応して染色されていることから確認された (Fig. 12). 症例6~9ではいずれも変性崩壊の進んだ虫体のみられたが、抗原性は充分保たれており、ことに新鮮虫体では抗原性の低い角皮で増強しているのが認められた。

考 察

病理組織切片中の寄生蠕虫断端像から虫種同定を行なう際 Chitwood and Lichtenfels (1972), Chitwood and Chitwood (1977) による記載が良い指針となるが、それらの記載は同定上の指標となる器官がみられる高さでの横断像について示されたものであるため全ての場合に適用されるものではない。すなわち、実際に同定を依頼される組織標本中の虫体はそれらの論文中で示されている定型像のような理想的な高さならびに方向で切られているとは限らないからであり、本報の Figs. 11, 12で示したような虫体の一部しか残っていない標本なども少なくない。まして変性崩壊の進んだ虫体では同定は一層困難である。

しかも、稀ならず異物が寄生虫か否かも区別できない例にも遭遇する。例えば、虫垂内の腐敗して崩壊した植物性異物を寄生虫と見誤まつた病理関係者より同定依頼されたことなどは寄生虫関係者なら誰しも経験しているものと思われる。

侵襲虫種が形態上から同定不可能な際、しばしば患者から採取した血清について各種寄生虫抗原を用いて免疫反応が試みられることがある。しかし、こうした間接的手段も個体の感受性または寄生虫の種類によつて抗体が必ず検出できるとも限らないし、検出されたとしても蠕虫間の強い交差反応や、あるいは複合感染などのために抗体が組織中の寄生虫と関連があるのか否か確認できないことが多い。

それゆえ、組織切片中の虫体に既知の寄生虫に対する標識抗体を作用させ、反応の有無から虫種同定を行なおうという発想が湧いてくるのは当然である。著者らも数

年前、そうした目的で蛍光抗体直接法を用いて検討を行なったことがある (白木ら, 1973a: 白木ら, 1973b: 浅石, 1974)。しかしながら、標識抗体による抗原検出が新鮮標本の凍結切片にしか利用できないという理由から、実用化のためには多くの困難があると考えた。今回用いた非標識抗体酵素法は標識抗体法に比べて感度が著しく高く、ホルマリン固定・パラフィン切片の抗原でも容易に検出できることが知られたため、久しく懸案であった実用化への希望もでてきた。

通常、病理検査に際して標本の固定には10%ホルマリン液が使用されている。それ故、標本のホルマリン液中での浸漬期間と抗原性の保持程度との関係が本法の適用範囲を知る上に重要となってくる。しかし、今回使用した人体症例からの標本では年余にわたつてホルマリン固定されたというものはなく、全てパラフィンブロックの状態では保存されたものであり、上述の効果を比較することはできなかった。そのため、著者らの研究室に保存中のホルマリン浸漬虫体、虫卵標本 (保存期間2~7年) を用いて本法により抗原性を調べたところ、保存期間の長いものでは若干反応性は低下しているがなお充分抗原性が保たれていることが知られた。ただし、保存標本作製時60Cに加熱したホルマリンを用いて伸展したものでは全く反応はみられなかった。

本染色法の実用上の価値を考慮するにあつて問題となるのは、陳旧病巣中にみられる崩壊過程にある虫体、虫卵に対する反応はどうかという点である。これも上述の成績で示した如く、崩壊のかなり進んだ虫卵、虫体とも充分抗原性が保たれており、新鮮な虫体では抗原性の低い角皮でも崩壊中の虫体ではやや増強しているようにもみられた。

前報のトキソプラズマを用いた実験では (Suzuki and Ono, 1981), 対照として用いた原虫で抗トキソプラズマ血清と交差反応を示した種は認められず、非特異抗体の吸収といった特別の操作を必要としなかつたが、今回用いた蠕虫では相互にかなり強い交差反応が認められたため、抗蠕虫血清は使用前に交差反応抗体の吸収と至適希釈というやや煩雑な操作を要した。通常、免疫拡散によつて調べて最も強い交差反応を示す異種抗原で吸収すれば他の弱い交差反応を示す抗原との反応も消失することが知られた。ただしかし、免疫拡散という感度の低い方法で調べて交差がないと思われた蠕虫間にも本法では反応することもある。しかも属、科を越えた蠕虫間にも出現することがあり、例えば日本住血吸虫卵が抗旋毛虫血清によく反応したことなどである。

ただし、蠕虫間には交差反応が強く現われるということを利用して、組織内異物が寄生虫か否かの第一段階の判定を行なうことができる。著者らは抗線虫、抗条虫、抗吸虫の3種の非吸収血清に反応しないことから寄生虫を否定し得たいいくつかの標本を持っているが、今後例数を殖やして続報に供覧したいと考えている。

む す び

非標識抗体酵素法を組織内蠕虫断端ないしは虫卵の同定に用いる試みについて述べた。

本法は常用の方法で作製したホルマリン固定・パラフィン包埋組織切片中の蠕虫虫体または虫卵にもよく反応するきわめて鋭敏な方法であるため、各種蠕虫と抗蠕虫血清との間にはかなり強い交差反応が認められた。そのため各種蠕虫に対する抗血清は、使用前に予備試験を行ない可及的に異種蠕虫に対する交差反応抗体の除去をしておく必要がある。

謝 辞

拙筆にあたり、貴重な標本を御提供下さった弘前大学山口富雄教授、金沢大学吉村裕之教授、北海道大学大林正士教授、山形大学今井大教授、東北大学高橋徹助教授に深謝します。

なお、本文の要旨は第50回日本寄生虫学会大会（鹿児島市）にて発表した。

文 献

- 1) 浅石和昭 (1974) : アニサキス幼虫体構成成分の分画と組織診断における蛍光抗体法の応用. 札幌医誌, 43, 104-120.
- 2) Chitwood, B. G. and Chitwood, M. B. (1977) : Introduction to nematology. University Park Press, Baltimore.
- 3) Chitwood, M. B. and Lichtenfels, J. R. (1972) : Identification of parasitic metazoa in tissue section. Exp. Parasit., 32, 407-516.
- 4) Mason, T. E., Phifer, T. F., Spicer, S. S., Shallow, R. A. and Dreskin, R. B. (1969) : An immunoglobulin-enzyme bridge method for localizing tissue antigens. J. Histochem. Cytochem., 17, 563-569.
- 5) 白木 公・鈴木俊夫・大鶴正満・佐藤良也・監物 実・浅石和昭 (1973a) : アニサキス症の組織診断における蛍光抗体法の応用. 1. 抗一粗抗原 IgG および抗一精製抗原 IgG の反応性. 寄生虫誌, 22, 131-140.
- 6) 白木 公・鈴木俊夫・大鶴正満, 佐藤良也・監物 実・浅石和昭 (1973b) : アニサキス症の組織診断における蛍光抗体法の応用. 2. *Anisakis* 幼虫抗原成分の解析, 特に角皮抗原の分離について. 寄生虫誌, 22, 141-145.
- 7) Sternberger, L. A., Hardy, P. H. Jr., Cuculis, L. L. and Meyer, H. G. (1970) : The unlabeled antibody enzyme method of immunocytochemistry. Preparation and properties of soluble antigen-antibody complex (horseradish peroxidase-anti-horseradish peroxidase) and its use in identification of spirochetes. J. Histochem. Cytochem., 18, 315-333.
- 8) Suzuki, T. and Ono, I. (1981) : A trial of identification of tissue parasites by using unlabeled antibody enzyme method. 1. *Toxoplasma gondii*. Jap. J. Parasit., 30, 509-516.
- 9) Yii, C. Y., Chen, C. Y., Hsieh, H. C., Shih, C. C., Fresh, J. W. and Chen, T. (1968) : Report of a fetal case of eosinophilic meningoencephalitis caused by *Angiostrongylus cantonensis*. J. Formosan Med. Assoc., 67, 494-485.
- 10) Yoshimura, H., Akao, N., Kondo, K. and Onishi, Y. (1979) : Clinicopathological studies on larval anisakiasis, with special reference to the report of extra-gastrointestinal anisakiasis. Jap. J. Parasit., 28, 347-354.
- 11) 吉村裕之・赤尾信明・近藤力王至・大西義博・鮎岡 裕, 山根邦夫 (1980) : アニサキス幼虫の消化管外寄生 (異所寄生) の2症例とその免疫診断について. 臨床病理, 28, 708-712.

Abstract

A TRIAL OF IDENTIFICATION OF TISSUE PARASITES BY USING
UNLABELED ANTIBODY ENZYME METHOD
2. HELMINTHS

TOSHIO SUZUKI

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

NOBUAKI AKAO

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

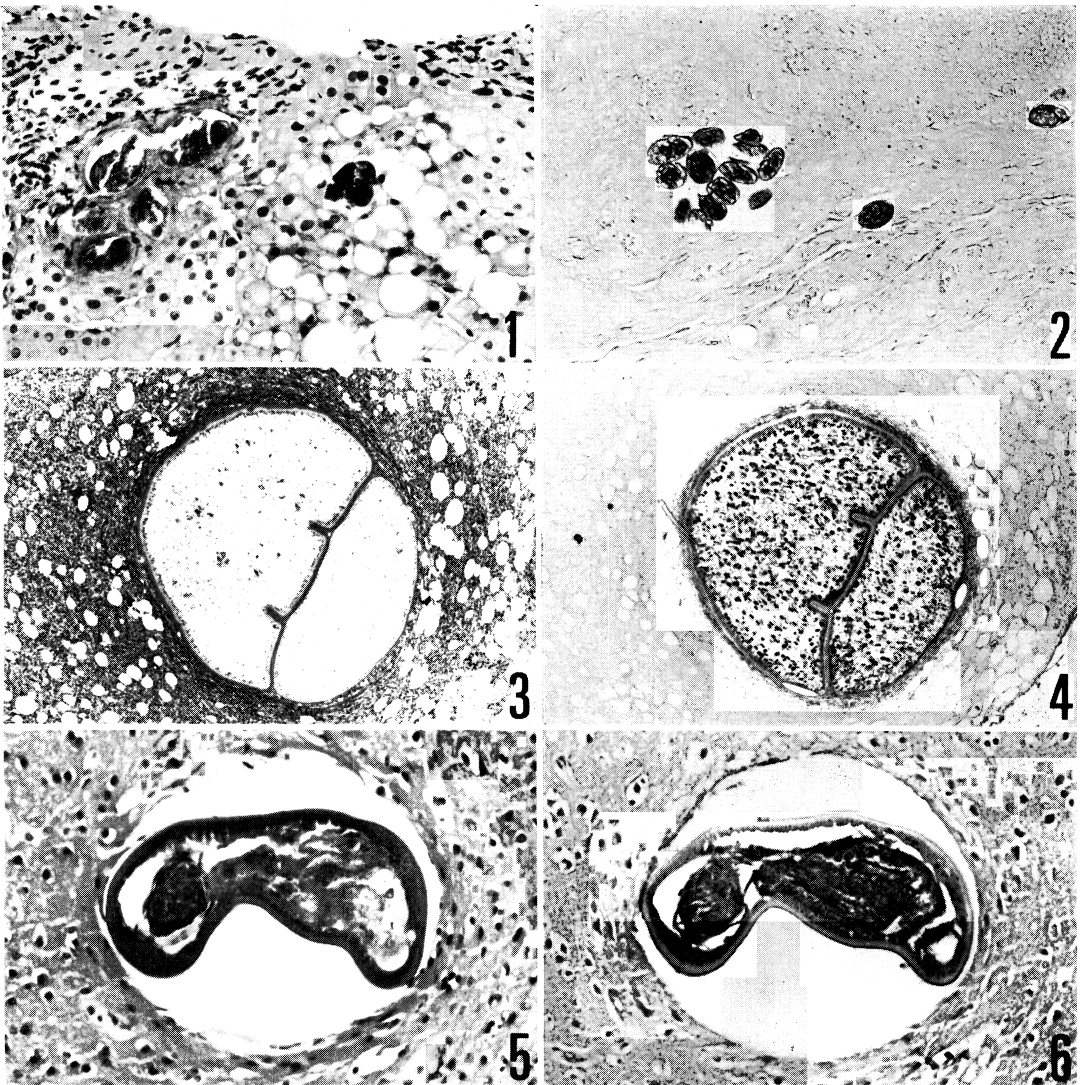
AND

TAKAO YAMASHITA

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

In an attempt to apply the unlabeled antibody enzyme method for identification of helminths appeared in the pathological tissue sections, studies were performed by using 18 human tissue specimens in which various helminths were observed as the granuloma-producing agents.

The helminths in formalin-fixed and paraffin-embedded tissue sections were stained well in binding of their corresponding antibodies by this method. Because of its high degree of sensitivity, much cross-reactions were simultaneously observed between various helminths and their antisera each other. The successful performance of identification, in other words the specific staining of each helminth, could be attained by the use of species-specific antibody which was absorbed with heterologous helminthic antigens prior to the use.



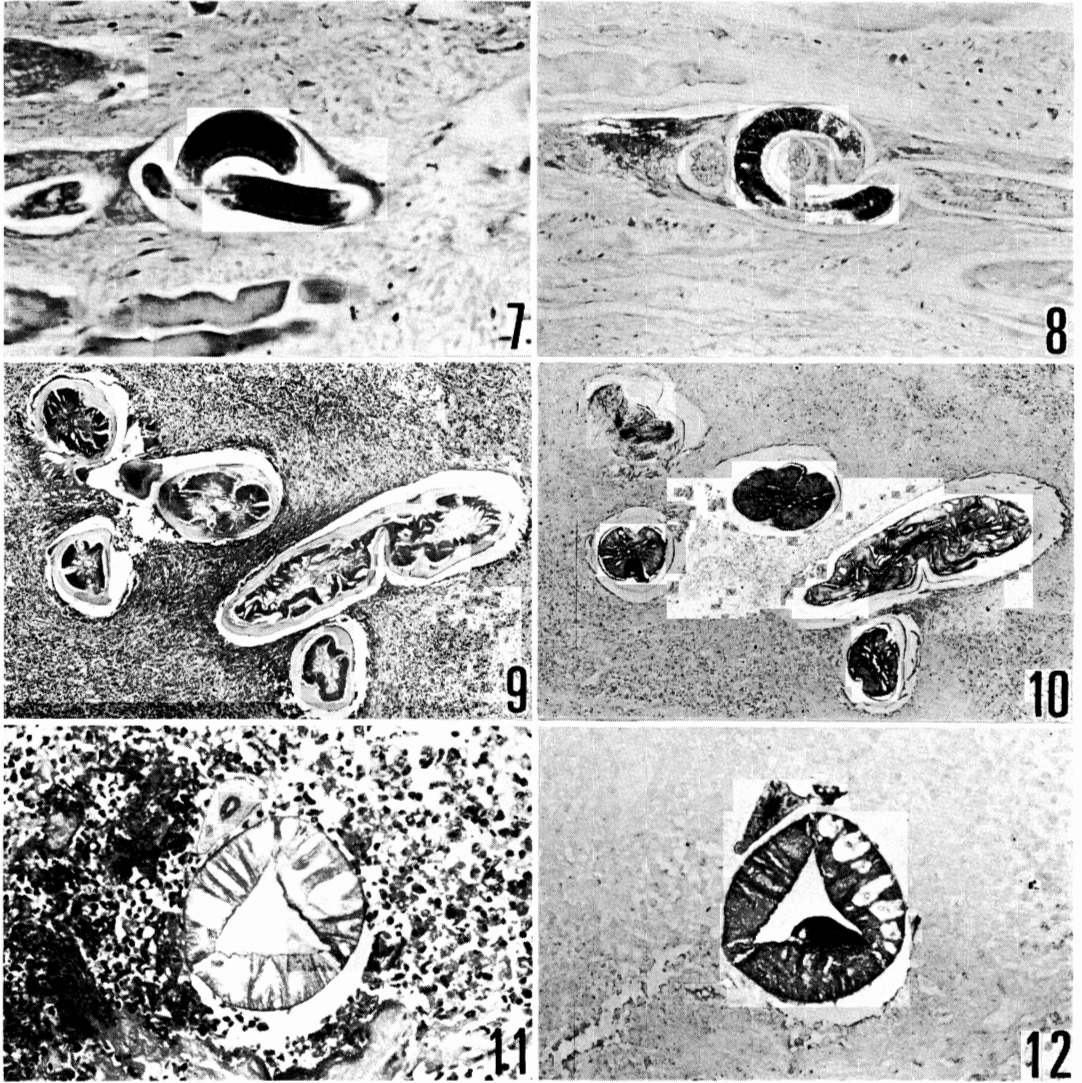
Explanation of Figures

The tissue sections stained with hematoxylin and eosin are set in the right line and the same sections stained with the present method are set in the left.

Figs. 1, 2 Partially calcified eggs of *Schistosoma japonicum* in liver (*S. j.* Case 1).

Figs. 3, 4 *Sparganum mansoni* in subcutaneous tissue (*S. m.* Case 2).

Figs. 5, 6 *Angiostrongylus cantonensis* preadult in cerebral cortex (*Nemat.* Case 1).



Explanation of Figures

Figs. 7, 8 *Trichinella spiralis* larva in diaphragm (Nemat. Case 2).

Figs. 9, 10 *Dirofilaria immitis* preadult in lung (Nemat. Case 3).

Figs. 11, 12 *Anisakis* larva in submucosal tissue of ileum (Nemat. Case 5).