# X 線照射による大平肺吸虫メタセルカリア のラット寄生への影響について

池田照明谷 荘吉 (昭和59年2月9日 受領)

Key words: Paragonimus ohirai, X-irradiated metacercariae, indirect immunofluorescent antibody, IHA antibody, PCA antibody

寄生虫症では、宿主が感染により完全でないにしても ある程度の再感染抵抗性を獲得するという報告は多くあ り、吸虫類では住血吸虫および肝蛭で報告 がみられ、 Smithers and Terry (1969) が住血 吸虫について、 Dawes and Hughes (1964) および Boray (1969) が 肝蛭について、それぞれに総説している. これらの吸虫 症では、放射線照射により成虫にまで発育できないセル カリアあるいはメタセルカリアを接種することにより、 宿主にある程度の抵抗性を附与している (Villela *et al.*, 1961; Smithers, 1962; Hsü *et al.*, 1962; Thorpe and Broome, 1962; Radke and Sadun, 1963; Sadun *et al.*, 1974). このことは、宿主再感染防御機構が、宿主体内 に侵入し、その体内を移行した後、ある種の臓器に停滞 する幼虫によつて誘導されることを示唆している.

一方, 肺吸虫症では, 再感染抵抗性が存在するという 確かな報告はなく, 今回報告する大平肺吸虫とラットの 系でも再感染抵抗性はみられない. 肺吸虫感染が再感染 防御機構を誘導しない原因を研究するためにも, また, 感染抵抗性を人工的に宿主に附与する方法の追求のうえ にも,幼虫により特異的に誘導される宿主免疫応答を知 ることは重要である.今回は, X線照射による大平肺吸 虫メタセルカリアのラット寄生への影響について検討 し,あわせて幼若期のみで虫体が死滅する場合における ラットの抗体産生について, 正常メタセルカリア感染の 場合と比較して検討した.

## 材料および方法

実験動物と寄生虫:

ウィスター系の雌ラット(体重180~200g) を実験動

金沢医科大学医動物学教室

物として使用した.大平肺吸虫メタセルカリアは,兵庫 県の円山川に生息していたクロベンケイガニの肝臓から 分離・採取し,滅菌生理食塩水で数回洗浄後,実験に用 いた.

メタセルカリア投与:

正常(非照射)あるいはX線照射メタセルカリアをラ ット腹腔内に投与した.先端にマルチプル採血針(21G) をつけたテフロンチューブ付注射器で一定数のメタセル カリアを滅菌生理食塩水とともに吸いあげ,それらを エーテル麻酔を施したラットの腹腔内に注入した.経口 投与の場合には、ビニール管付注射器でメタセルカリア をラット胃腔内に確実に注入した.メタセルカリアの投 与量は、X線による虫体の影響をみた実験では10個で あつた.

X線照射:

メタセルカリアへのX線照射に当つては、洗浄メタセ ルカリアを滅菌生理食塩水のはいつたシャーレに移し、 medical linear accelerator (三菱ML-15 II B) により 200 roentgens/min の条件下で各種線量を照射した. 虫体回収:

メタセルカリア投与ラットからの虫体回収は、大倉 (1963)が報告したエバンスブルーを用いた方法に準じ た.すなわち0.3%エバンスブルー液 3mlを股静脈より 注入し、15分後に放血・剖検して虫体を検索した. 開 腹・開胸後、肉眼的に各組織と各臓器の表面にいる虫体 およびエバンスブルーによる青色斑点を検索し、青色斑 点については、その部位を圧平して実体顕徴鏡で虫体の 有無をしらべた.その後、腹腔から肝臓と残りの臓器全 部を一緒に取り出し、胸腔から肺臓および心臓を取り出 し、それらの臓器と腹腔および胸壁を生理食塩水で充分 に洗浄して遊離虫体を回収した. 肝臓については、シ ャーレ内の生理食塩水中でハサミで細切し、37°C,1時 間の培養を2回くり返すことにより肝臓内の生存虫体を 回収した. 肺臓については病変部のみ虫体の検索を試み た.

虫体計測:

回収した虫体を10%ホルマリン液で固定,直後にビュ ルケルチュルク氏2重計算盤上で被いガラスをかけて圧 平し,マイクロメターを用いて虫体の体長および体幅を 計測した.

抗体測定:

血清は、メタセルカリア投与ラットから投与後各週に 眼採血を行ない、遠心分離することにより得た. その血 清の各々について passive cutaneous anaphylaxis (PCA) 反応の抗体価を、また、各週毎のプール血清に ついて間接免疫螢光 (IIF) 法および間接赤血球凝集 (IHA) 反応の抗体価を測定した.

 PCA 反応および IHA 反応:以前報告したごと く行ない(Ikeda and Fujita, 1980),抗原として成虫 の0.02M ベロナール緩衝液 (pH 7.4)による抽出抗原 を用いた. PCA 反応は, 被検血清の 0.05ml をラット 背部に皮内注射し, 48時間後に抗原 (乾燥重量 2mg/ ml) 含有 1 %エバンスブルー液を静注, その 30分後に 屠殺して皮膚内面から青色斑を測定することによつた. 直径 5mm 以上を陽性反応と判定した. IHA 反応は, Csizmas (1960) の方法によりホルマリン固定した緬羊 血球に Boyden and Sorkin (1955) の変法により抗原 を感作し, マイクロタイター法で実施した.

2) IIF 法:メタセルカリアをタイロード培養液 (pH 8.0) で培養することにより脱嚢させ、それらを冷95% エタノールで固定した.固定脱嚢幼虫を水洗後、96穴V 底マイクロプレート内で 被検血清 と 37°C, 2時間反応 させ、0.15M リン酸緩衝食塩水 (PBS) で 5 回吸引洗 浄した. その後、20倍希釈 した fluorescein isotyocyanate 標識抗ラット IgG 抗体液 (Capell 社) と37°C, 2時間反応させ、PBS で充分に吸引洗浄した後、螢光 顕微鏡で観察した.

#### 結 果

X線照射によるラット寄生への影響



Weeks after inoculation

Fig. 1 Percentages of worms recovered from various sites in rats inoculated intraperitoneally with 20 each normal or X-irradiated metacercariae of *Paragonimus ohirai*. Each result represents the mean percentage from 3 rats. Worm recovery from the abdominal cavity except the suface of the liver ( $\bigotimes$ ), the surface and parenchyma of the liver ( $\bigotimes$ ), and the pleural cavity and the lung ( $\Box$ ).



Fig. 2 Liver of rats at 2 weeks after inoculation with 2,000-rad X-irradiated metacercariae. A: a degenerated worm surrounded by fibroblasts is seen beneath the hepatic capsule. B: a degenerated worm is seen in the area of necrotic cells and eosinophils, surrounded by fibroblasts in the subcapsular tissue.

各種線量(500rad~5,000rad)のX線を照射したメタ セルカリアをラット腹腔内に投与し、投与後の生存虫体 の回収率および回収部位を各週3匹のラットを剖検する ことにより検討した. 結果は Fig. 1 に示した. 500rad のX線を照射したメタセルカリア群では、投与後6週目 でも虫体回収率(73.3%)および回収部位に関し正常メ タセルカリア投与の対照群(回収率85.0%)との間に明 らかな差が認められなかつた. 1,000rad 照射群では, 投与後3週目に虫体回収率に顕著な低下がみられ, 6週 目では33%と低かつた.また,投与後6週目において, 肺臓から回収された虫体には子宮内に虫卵が認められる ものの、いぜんラット腹腔内や肝臓から回収される虫体 があり、虫体の移行過程のおくれも認められた. 2,000 rad 照射群では,投与後1週目の虫体回収率が72%であ り、対照群と同程度であつたが、2週目以降は生存虫体 は回収されなかつた. さらに、2,000rad のX線照射メ タセルカリアを投与したラット5匹について,投与後2 週目で剖検する追加実験を行なつたが、生存虫体は回収 されなかつた. 2週目ラットの肝表面には10数個の点状 あるいは円形状の黄色斑が認められ、その部位における 病理組織像は, Fig. 2 に示したごとく, 肝被膜直下に 線維芽細胞に包まれた変性虫体 (Fig. 2A), あるいは 肝被膜直下の肝実質に壊死巣の中心に変性虫体 (Fig. 2 B) が観察され, それらの周囲には好酸球を主とする細 胞浸潤がみられた. 5,000rad 照射群では, 投与後1週 目にすでに虫体回収率が50%と若干の低下がみられ、以 降, 生存虫体の回収はなかつた.

X線照射メタセルカリアの発育の程度を検討するため,投与後1週目と2週目の回収虫体の体幅および体長

を計測した(Table 1). 2,000rad 群の1週目虫体は対 照群の1週目虫体に比べ体幅および体長とも著明に小さ かったが, 脱嚢幼虫と比べると両方とも有意(P< 0.001)に大きかった. 投与後2週目における虫体の比 較では,500rad 群の虫体は対照群の虫体と比べ体幅お よび体長とも大きな差はないものの有意(P<0.025, P<0.002)に小さかった. 1,000rad 群の虫体は,対照 群の虫体と比べ体幅および体長とも著明に小さく,むし ろ対照群の1週目虫体と大きさが類似していた.

2,000rad のX線照射を受けたメタセルカリアが,正 常感染経路である経口感染の場合にも感染性をもつか否 かを検討した.ラット5匹について投与後1週目の虫体 回収率(平均値±S.D.)を比較すると,対照群が45± 15.8%であり,照射群が39±9.1%であり,両者の間に 有意な差はなかつた.しかし,投与後2週目では,照射 群のラット5匹からは生存虫体は回収されなかつた.

抗体の経時的変化

2,000rad のX線照射を受けたメタセルカリアは,幼 虫期であるラット投与後2週目までに死滅する.それゆ え,これらのメタセルカリアを投与したラットについ て,投与後5週目までの抗体の経時的変化を正常メタセ ルカリアを投与した対照ラットの場合と比較してしらべ た.なお,両群に用いたラット数は各々6匹である.

正常メタセルカリアを投与したラットの血清で脱嚢幼 虫に対して IIF 法を行なうと, 虫体表面および炎細胞 に顕著な螢光染色が観察される (Fig. 4) (池田・谷投 稿中). したがつて, これらの部位に対する IIF 抗体の 経時的変化を検討した. 結果は Fig. 3 に示すごとく, 虫体表面に対する IIF 抗体は, 対照群では, 投与後2

Radiation dose	Weeks after inoculation	No. of worms examined	Mean size $\pm$ S.D. (mm)	
			Breadth	Length
	Excysted juvenile	20	$0.22 \pm 0.02^{A}$	$0.40 \pm 0.04^{a}$
0 rad	1	32	$0.59 \pm 0.06^{B}$	$0.95 \pm 0.12^{b}$
2,000 rad	1	28	$0.37 \pm 0.03^{\circ}$	$0.48 \pm 0.05^{\circ}$
0 rad	2	29	$1.3 \pm 0.15^{D}$	$2.4 \pm 0.36^{d}$
500 rad	2	28	$1.2 \pm 0.15^{E}$	$2.1 \pm 0.29^{ m e}$
1,000 rad	2	23	$0.63 \pm 0.15^{\rm F}$	$0.90 \pm 0.35^{f}$

 Table 1
 Size of worms recovered from rats inoculated with normal or

 X-irradiated Paragonimus ohirai metacercariae

Rats were inoculated intraperitoneally with 20 metacercariae.

Results of the mean size were obtained from worms recovered from two rats per group.

Statistical analysis by Student's t-test

B>C>A; b>c>a; E>F; e>f: P<0.001





Fig. 3 Kinetics of the responses of IIF antibody against the surface and the flame cell of the excysted juvenile in rats inoculated intraperitoneally with 10 normal( $\bigcirc$ ) or 2,000rad X-irradiated metacercariae( $\bullet$ ). IIF titers were determined on pooled sera from six rats of each group. IIF test was performed by using whole worms fixed in cold 95% ethanol and fluorescein-conjugated rabbit anti-rat IgG.

D > E : P < 0.025, d > e : P < 0.002

週目に1:324の高い抗体価で出現し,以降も同じ抗体 価を持続した.照射群では,出現時期が対照群と一致す るものの,抗体価は著しく低く以降も低値であった.他 方,炎細胞に対する IIF 抗体は,照射群および対照群 とも投与後2週目に抗体価1:324で出現し, 3週目は 同じ抗体価を持続し,以降低下した.

48時間 PCA 抗体の経時的変化を Fig. 5A に示した. 対照群のラットでは,以前報告したごとく,メタセルカ リア投与後2週目には陽転し,3週目に最高抗体価1: 101を示し,以降減少した.照射群では投与後2週目に 最高抗体価1:80.6で出現し,以降減少した.最高抗体 価を示す週が異なる以外,両群の PCA 抗体の経時的変 化は類似していた.

両群の IHA 抗体の経時的変化を Fig. 5B に示した. 対照群では、この抗体は投与後3週目より抗体価1: 108で出現し、以後増加した. 照射群では、抗体の出現 時期が1週遅れ、以降、抗体価は上昇するものの対照群 に比べて極めて低かつた.

#### 考 察

放射線照射による寄生蠕虫の発育への影響についての 研究は、Tyzzer and Honeij (1917) が旋毛虫について 報告して以来、各種の寄生蠕虫でなされている. 吸虫類 では、住血吸虫 (Lichtenberg and Sadun, 1963; Hsü *et al.*, 1963; Erickson, 1965; Ghandour and Webbe, 1975; Bickle *et al.*, 1979) および肝蛭 (Wikerhauser; 1961; Hughes, 1962; Dawes, 1963; Dawes 1964) で 報告がみられるが他の種類ではあまり報告をみない.

今回の実験でX線照射による大平肺吸虫のラット寄生

380



Fig. 4 Excysted juveniles were labeled after treatment with the pooled sera (1:36) from the rats at 3 weeks after inoculation with normal metacercariae (A) or 2,000-rad X-irradiated metacercariae(B).A : the surface of the juvenile is strongly labeled. B : the labeling on the flame cells becomes evident because of weak reaction on the surface of the juvenile.

への影響について検討し、虫体の宿主内発育に顕著な影 響を与えるX線量が1,000rad からであり、 成虫ま での 発育を阻害するのが2,000rad 以上で あることを明らか にした. すなわち, 1,000rad のX線照射は, 虫体の発 育および宿主内移行の遅延、感染後期における虫体生存 率の低下を導くが、虫体が成熟することは阻害できなか った. 2,000rad のX線照射は、メタセルカリアが経口 的に感染する能力,および投与後1週目における虫体生 存率に影響を与えないものの、虫体の発育をいちじるし く抑制し、投与後2週目には肝組織内虫体の死滅がみら れた. このX線量での追加実験でも、ラット投与後2週 目に生存虫体は回収されず、2,000rad のX線照射を受 けたメタセルカリアは、 ラット投与後2週以上は生存で きないものと考えられる. 5,000rad のX線照射は, 投 与後1週目の虫体生存率にも影響を与え,その率を低下 させた.

放射線感受性について、上述に引用した住血吸虫およ び肝蛭の場合と比較してみると、それらでは、X線もし くは γ線の2,500rad (あるいは roentgen) 以上の照射 によつても感染後期に低率ではあるが生存虫体が回収さ れており、今回の大平肺吸虫の結果との間で明らかな相 違がみられる.同一条件下での比較でないので結論する ことはできないが、大平肺吸虫が住血吸虫および肝蛭よ り若干高い放射線感受性を有する可能性は強いと思われ る. この放射線感受性の差が感染幼虫の発育期および感 染経路,あるいは虫体の宿主内移行経路の違いによるの か、それとも他の生物学的要因によるのか興味ある問題 である.

2,000rad のX線照射メタセルカリアを投与したラッ トと正常メタセルカリアを投与した対照ラットについて IIF, PCA および IHA 抗体の経時的変化を比較して みると、抗体の種類により両群のラットの間に特徴ある 違いが認められた.

脱嚢幼虫に対する IIF 抗体では、抗炎細胞 IIF 抗体 がX線照射群と対照群で同程度に産生されるのに反し、 抗体表 IIF 抗体は、対照群に比べX線照射群に著明に 低い産生しか認められず、照射虫体が死滅してまもない 投与後2週目にすでにいちじるしい抗体価の違いがみら れた.この結果は、抗体表 IIF 抗体の産生を高めるに は虫体の正常発育が必要であり、抗炎細胞 IIF 抗体の 高い産生には虫体の正常発育を必要としないことを示唆 している.このことから、脱嚢幼虫の体表抗原は、虫体 の発育が進んでも存在し続け虫体増大に伴ない量的に増 加し、そのことが IIF 抗体の産生を高めるものと考え られる.肝蛭においても、脱嚢幼虫の体表抗原が発育過 程で長期にわたつて虫体表面に存在し続けることが報告





されている (Hanna, 1980).

成虫抗原を用いて検出した PCA 抗体では, X線照 射群の抗体価の経時的変化は対照群と類似していた. 2,000rad のX線照射虫体は,成長がいちじるしく抑制 されており,しかも感染初期に死滅することから,きわ めて感染初期の幼虫までしか発育できないものと考えら れる.成虫のアレルゲンは分泌物・排泄物に高い濃度に 存在するので(池田・藤田,1980),したがつて,これら 感染初期の幼虫でも成虫と同じアレルゲンを体外に放出 し,PCA 抗体の高い産生を誘導する能力をもつことが 推測される.

成虫抗原を感作した赤血球を用いて測定した IHA 抗 体では、X線照射群に抗体の出現時期の遅れおよび抗体 価の著明な低さが認められた.虫体は正常発育の過程に おいて成虫抗原を遂次形成し且つその量を増加さすこと により、感染経過に伴なつて宿主の抗成虫 IHA 抗体の 産生を高める(池田・多田,1977)が、X線照射虫体は 発育が阻害されたため抗原の質的変換および量的増加が 行えず抗成虫 IHA 抗体の産生を高めることが出来ない ものと考えられる.

#### 要 約

X線照射による大平肺吸虫のラット寄生への影響について検討し,併せて幼虫期のみで死滅するX線照射メタ セルカリアを投与したラットについて,その抗体産生を 正常メタセルカリア感染の場合と比較検討した.

虫体のラット寄生に顕著な影響を与えるメタセルカリ アへのX線量は1,000rad からであり,虫体を幼虫期に 死滅させる線量は2,000rad 以上であつた.1,000rad の X線照射では,虫体のラット体内移行のおくれ,および 感染後期における虫体生存率の低下がみられた.2,000 rad では,投与後1週目の虫体生存率に影響が認められ ないものの,虫体発育のいちじるしい抑制がみられ,投 与後2週目にはすでに生存虫体は回収されず,肝組織内 に死滅虫体が確認された.5,000rad では,投与後1週 目でも虫体回収率の低下が認められた.

X線照射(2,000rad)メタセルカリアを投与したラットでは,成虫抗原に対する PCA 抗体および脱嚢幼虫の炎細胞に対する IIF 抗体は,正常感染の場合と同じ程度に産生された.一方,成虫抗原に対する IHA 抗体および脱嚢幼虫の体表に対する IIF 抗体は,正常感染と比較して極めて低い産生しか認められなかつた.

稿を終えるにあたり,X線照射に協力して頂いた本学 放射線部の宮村順二氏,実験ならびに論文執筆に協力し て頂いた松能好子技官・高柳尚代嬢に感謝する.

### 文 献

- Armour, J. and Dargie, J. D. (1974): Immunity to *Fasciola hepatica* in the rat. Successful transfer of immunity by lymphoid cells and by serum. Exp. Parasitol., 35, 381-388.
- Bickle, Q. D., Dobinson, T. and James, E. R. (1979): The effects of gamma-irradiation on migration and survival of *Schistosoma mansoni* schistosomula in mice. Parasitology, 79, 223-230.
- Boray, J. C. (1969) : Experimental fascioliasis in Australia. In Advances in Parasitology,

Vol. 7, ed. by Ben Dawes, Academic Press, London and New York, 96-207.

- 4) Boyden, S. V., and Sorkin, E. (1955): A study of antigens active in the tannic acid hemagglutination test present in filtrates of culture of *Myobacterium tuberculosis*. J. Immunol., 75, 15-21.
- Corba, J., Armour, J., Roberts, R. J. and Urquhart, G. M. (1971): Transfer of immunity to *Fasciola hepatica* infection by lymphoid cells. Res. Vet. Sci., 12, 292-295.
- Csizmas, L. (1960): Preparation of formalinized erythrocytes. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 103, 157–160.
- Dawes, B. (1963) : Death of Fasciola hepatica L. weakened by X-irradiation. Nature, 200, 602–603.
- Dawes, B. (1964): A preliminary study of the prespect of inducing immunity in fascioliasis by means of infections with X-irradiated metacercarial cysts and subsequent challenge with normal cysts of *Fasciola hepatica* L. Parasitology, 54, 369-389.
- 9) Dawes, B. and Hughes, D. L. (1964): Fascioliasis: the invasive stages of *Fasciola hepatica* in mammalian hosts. In advances in Parasitology, Vol. 2, ed. by Ben Dawes, Academic Press, London and New York, 97-168.
- Erickson, D. G. (1965): The fate of gammairradiated Schistosoma mansoni cercariae in mice. Am. J. Trop. Med. Hyg., 14, 574-578.
- Ghandour, A. M. and Webbe, G. (1975): The effect of gamma radiation on cercariae of *Schistosoma mansoni*. J. Helminth., 49, 161-165.
- 12) Hanna, R. E. B. (1980) : Fasciola hepatica : an immunofluorescent study of antigenic changes in the tegument during development in the rat and the sheep. Exp. Parasitol., 50, 155–170.
- 13) Hsü, H. F., Hsü, S. Y. Li and Osborne, J. W. (1962): Immunization against *Schistosoma japonicum* in rhesus monkeys produced by irradiated cercariae. Nature, 194, 98-99.
- 14) Hsü, H. F., Davis, J. R., Hsü, S. Y. Li and Osborne, J. W. (1963) : Histopathology in albino mice and rhesus monkeys infected with irradiated cercariae of *Schistosoma japonicum*. Z. Trop. Parasitol., 14, 240-261.
- Hughes, D. L. (1962): Reduction of the pathogenicity of *Fasciola hepatica* in mice by X-irradiation. Nature, 193, 1093-1094.
- 16) 池田照明·多田 功 (1977): 大平肺吸虫感染

ラットにおける抗体産生. 金沢医大誌, 2, 166-171.

- 17) Ikeda, T. and Fujita, K. (1980): IgE in Paragonimus ohirai-infected rats: relationship between titer, migration route, and parasite age. J. Parasitol., 66, 197-204.
- 18)池田照明・藤田紘一郎(1980):大平肺吸虫の ES 抗原と抽出抗原の免疫学的及び生化学的研 究.寄生虫誌,29(増),59.
- 19) Lichtenberg, F. von and Sadun, E. H. (1963): Parasite migration and host reaction in mice exposed to irradiated cercariae of *Schistosoma mansoni*. Exp. Parasitol., 13, 256-265.
- 20) 大倉俊彦(1963):大平肺吸虫(Paragonimus ohirai Miyazaki, 1939)の終宿主体内におけ る発育に関する研究.第1篇, ラット体内にお ける移行経路について.寄生虫誌, 12, 57-67.
- 21) Radke, M. G. and Sadun, E. H. (1963): Resistance produced in mice by exposure to irradiated *Schistosoma mansoni* cercariae. Exp. Parasitol., 13, 134-142.
- 22) Sadun, E. H., Bruce, J. I. and Macomber, P. B. (1964): Parasitologic, pathologic and serologic reactions to *Schistosoma mansoni* in monkeys exposed to irradiated cercariae. Am. J. Trop. Med. Hyg., 13, 548-557.
- 23) Smithers, S. R. (1962): Immunizing effect of irradiated cercariae of Schistosoma mansoni in rhesus monkeys. Nature, 194, 1146-1147.
- 24) Smithers, S. R. and Terry, R. J. (1969): The immunology of Schistosomiasis. In Advances in Parasitology, Vol. 7, ed. by Ben Dawes, Academic Press, London and New York, 41-93.
- 25) Thorpe, E. and Broome, A. W. J. (1962): Immunity to *Fasciola hepatica* infection in albino rats vaccinated with irradiated metacercariae. Vet. Rec., 74, 755-756.
- 26) Tyzzer, E. E. and Honeij, J. A. (1917): The effects of radiation on the development of *Trichinella spiralis* with respect to its application to the treatment of other parasitic diseases. J. Parasitol., 3, 43-56.
- 27) Villela, J. B., Gomberg, H. J. and Gould, S. E. (1961) : Immunization to Schistosoma mansoni in mice inoculated with radiated cercariae. Science, 134, 1073-1075.
- 28) Wikerhauser, T. (1961): Immunobiologic diagnosis of fascioliasis. II. The in vitro action of immune serum on the young parasitic stage of *F. hepatica*-a new precipitin test for fascioliasis. Vet. Arhiv., 31, 71-80.

[Jpn. J. Parasitol., Vol. 33, No. 5, 377-384, October, 1984]



# THE EFFECT OF X-IRRADIATION OF METACERCARIAE ON INFECTION OF RATS WITH *PARAGONIMUS OHIRAI*

TERUAKI IKEDA AND SHOKICHI TANI

(Department of Medical Zoology, Kanazawa Medical University, Uchinada, Ishikawa-ken, 920-02, Japan)

This study was undertaken to determine the effect of X-irradiation on the development of *Paragonimus ohirai* metacercariae in rats, and to determine humoral immune response of rats inoculated with X-irradiated metacercariae which would die during the immature stage.

Metacercariae were X-irradiated at varied dose, and then inoculated intraperitoneally into Wistar female rats. The metacercariae were effected by X-irradiation at levels greater than 1,000 rads (Fig. 1 and Table 1). X-irradiation at 1,000 rads stunted the growth of worms, markedly reduced worm recovery from 3 weeks after inoculation, but did not inhibit some of the worms to reach maturity. X-irradiation at 2,000 rads caused the worms to die in the liver between 1 and 2 weeks after inoculation. However, the dose did not reduce worm recovery at week 1 nor prevent metacercariae from having infectivity via oral route. X-irradiation at 5,000 rads reduced worm recovery at week 1.

In rats inoculated with 2,000-rad X-irradiated metacercariae, various antibody responses were determined by indirect immunofluorescent (IIF) test using excysted juveniles and indirect hemagglutinatiom (IHA) test and passive cutaneous anaphylaxis (PCA) test using adult extracted antigen, as compared with control rats inoculated with normal metacercariae. The production of IIF antibody against the surface of the juvenile (Fig. 3) and IHA antibody (Fig. 5B) in irradiation group was considerably lower than in the control group, whereas the production of IIF antibody against the flame cell (Fig. 3) and 48-hour PCA (IgE) antibody (Fig. 5A) in the irradiation group was essentially similar to the control group. These results suggested the ability of juvenile at the early stage of infection to induce and increase some of antibodies produced in *P. ohirai* infection.