

実験的ウサギ孤虫症における凝集反応と 間接蛍光抗体法を用いた抗体産生の研究

大西 義博 高倉 吉正
吉村 裕之 坪田 宣之

(昭和60年6月11日 受領)

Key words: sparganosis, rabbit, latex agglutination test, indirect fluorescent antibody technique, excretory/secretory antigen

結 言

人体マンソン孤虫症はマンソン裂頭条虫 *Spirometra erinacei* の幼虫 (plerocercoid) が寄生して発症する幼虫移行症の1つであり、これまでに主として皮膚科および眼科領域から240例以上が報告されている(藤原ら, 1978)。本症の確定診断は手術により摘出された虫体の形態学的所見あるいは虫体を含む組織の病理組織学的検索によらねばならない。しかし、虫体摘出前や摘出後の残存虫体の有無についての診断は極めて困難であり、このために種々の免疫診断法が検討されている(石井, 1973; 向井ら, 1977; 藤原ら, 1978; 横田ら, 1980; 福原ら, 1981; 小田ら, 1982; 朝日ら, 1983; Kim *et al.*, 1984)。しかしながら、実験的な研究はほとんど見あたらない。

今回、著者らは実験的に plerocercoid をウサギの腹腔内に投与し、これらの plerocercoid が体内移行をするか否かを検討するとともに、これら感染ウサギにおける抗体産生状況について間接赤血球凝集反応(以下 IHA と略す)、ラテックス凝集反応(以下 LA と略す)、間接蛍光抗体法(以下 IFA と略す)および寒天ゲル内沈降反応(Ouchterlony 法)を用いて検討した。可溶性抗原として成虫抽出粗抗原(以下 AEX と略す)、plerocercoid 抽出粗抗原(以下 PEX と略す)、plerocercoid の排泄物・分泌物抗原(以下 PES と略す)の3種類の抗原性について比較するとともに、JB-4樹脂包埋により作製した plerocercoid の薄切切片を用

いて感染ウサギ血清中の抗体と反応する抗原の局在部位について IFA により検討したので報告する。

材料と方法

1. plerocercoid の採集

感染および抗原に用いたマンソン裂頭条虫の plerocercoid は、金沢市郊外の田園において捕獲したヤマカガシ *Rhabdophis tigrinus tigrinus* およびシマヘビ *Elaphe quadrivirgata* から採集したものである。

2. ウサギへの感染と血清分離

集めた plerocercoid は生理食塩水で3回、滅菌生理食塩水(オートクレイブ後、ペニシリン100u/ml とストレプトマイシン100 μ g/ml を加えたもの)で3回、それぞれよく洗滌したあと、ウサギ(日本白色種)6羽の腹腔内にそれぞれ5隻ずつ外科的に移植した。その後、抗体産生の検討のために剖検時まで経時的に耳静脈より採血して血清を得、用いるまで -20°C で保存し実験に供した。

3. 病理組織学的検索

病理検索: 腹腔内に plerocercoid を投与した6羽のウサギについて、感染後30から142週目にペントバルビタール注射による過麻酔で殺処分し、剥皮後腹腔・皮下および筋肉組織間隙などから虫体の回収を試みた。

組織学的検索: 虫体を含む病巣を摘出し、型のごとく10%ホルマリン生理食塩水で固定後、パラフィン包埋・薄切して HE 染色と Kossa の鍍銀染色を施した。比較のためヘビより採集した plerocercoid の薄切標本も作製した。

本研究の一部は昭和56, 57年度科学研究費(一般研究 C)第56570159号の補助によりなされた。
金沢大学医学部寄生虫学教室

Table 1 Worm recovery from the infected rabbits with plerocercoids of *Spirometra erinacei*

Rabbit no.	Weeks after infection*	The number of worms recovered from				
		Intermuscular tissues	Subcutaneous tissues	Brain	Mesentery	Total
1	30	0	1	1 (1)†	1 (1)	3 (2)
2	30	1	2	0	1 (1)	4 (1)
3	30	0	0	0	0	0
4	30	0	0	0	2 (2)	2 (2)
5	65	0	3 (2)	0	1 (1)	4 (3)
6	142	0	1	0	0	1
Total		1	7 (2)	1 (1)	5 (5)	14(8)

* Five plerocercoids were intraperitoneally transplanted to each rabbit.

† The number of dead worms was shown in parentheses.

4. 免疫反応

1) IHA

用いた抗原は辻 (1974), 近藤ら (1977) の方法に準じて作製した AEX と PEX である。感作ヒツジ赤血球はヒツジ赤血球を 1% グルタルアルデヒド液で固定し (川口, 1976), さらに 0.0025% タンニン酸により抗原 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ を感作して得た (Ikeda *et al.*, 1978). 被検血清はあらかじめ非感作ヒツジ赤血球で 37°C 1 時間吸収して用いた。反応は 0.25% 感作ヒツジ赤血球浮遊液を用いるマイクロタイター法で, 4°C 1 夜反応させを行った。

2) LA

感作ラテックス粒子液は坪田・小沢 (1977), 近藤ら (1980, 1981) に準じて, 前述の PEX 5mg/ml でラテックス粒子 (武田薬品工業) を感作して作製した。反応はマイクロタイター法で, 室温 1 夜反応させを行った。

3) IFA

抗原: 瀬野尾ら (1977), 赤尾ら (1983), 近藤ら (1984) の方法に準じて, plerocercoid を 95% 冷エタノールで固定後 JB-4 樹脂 (Polysciences 社製) 包埋し, 2 μm の薄切片を作製し抗原として用いた。この標本は使用直前に薄切片, 真空下でよく乾燥させて使用した。

反応手技: まず一次血清として感染ウサギ血清の 2 倍段階稀釈液 50 μl を反応させた。次に二次血清として FITC 標識抗ウサギ IgG (γ 鎖) あるいは抗ウサギ IgM (μ 鎖) のヤギ血清 IgG 分画 (Cappel 社製) の 20 倍稀釈液 50 μl を反応させた。反応は 37°C 30 分間行い, 判定は BV 励起式落射蛍光顕微鏡 (オリンパス社製) を用いて虫体の体内網状構造部あるいは石灰小体のどちらかの特異蛍光の観察により行った。

以上の 3 種類の免疫反応の抗体価は陽性を示す血清の最大稀釈倍数値の逆数で求め, 2 回の平均値によった。

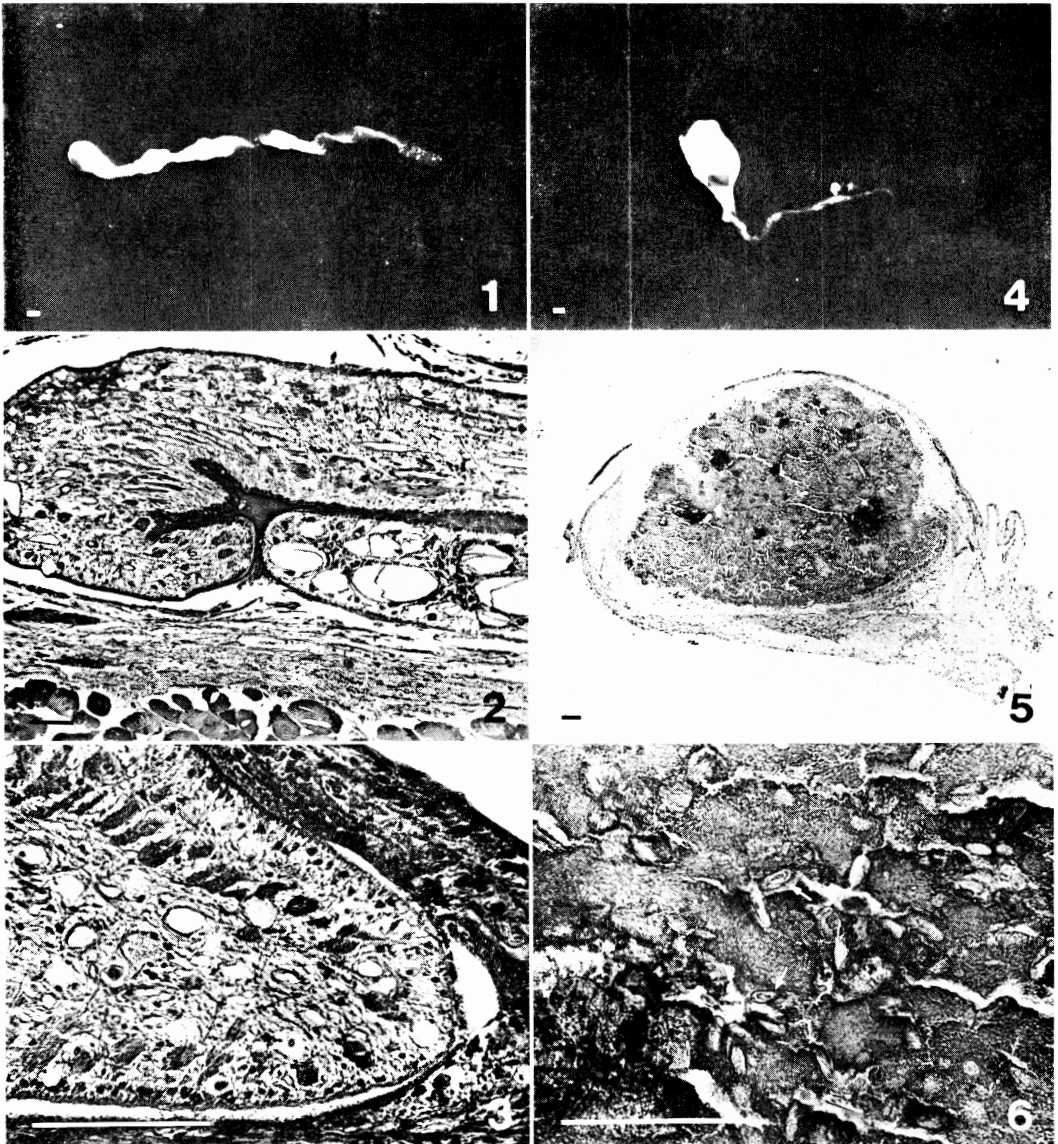
4) Ouchterlony 法

AEX, PEX と PES の抗原性の比較のために近藤ら (1977) の方法に準じて Ouchterlony 法を行った。用いた PES は前述の滅菌生理食塩水でよく洗滌した plerocercoid を Eagle's MEM 液 (日水社製) で 37°C 4 週間 (週 2 回, 液を交換した) 培養し, 上清を濃縮して調製し, 改良型 Lowry 法 (Hartree, 1972) で蛋白濃度を測定し使用した。

結 果

1. 感染後の plerocercoid の体内移行とその病理組織学的所見

plerocercoid を 5 隻ずつ外科的に腹腔内投与した 6 羽のウサギについて, 30 から 142 週後の各時期に剖検し, plerocercoid の検出を試みた結果は Table 1 のごとくであり, plerocercoid は感染ウサギの体内各部位から回収された。すなわち, 感染ウサギ 6 羽のうち 5 羽から 1 ~ 4 隻計 14 隻の虫体が回収されたが, その中の 6 隻が生存虫体で, 8 隻が死虫体であった。生存虫体は感染ウサギの皮下 (5 隻) および大腿部筋肉組織間隙 (1 隻) から回収され, 肉眼的に感染前のものと同様であり, 乳白色のひも状を呈し, 生理食塩水中では活発に運動した (Fig. 1)。しかし, 組織学的所見では, 感染後 30 週の生存虫体は線維性の肉芽組織で取り囲まれ, 虫体内網状構造部の減少・角皮層の変性・体内部の嚢胞化 (腺様構造物の増加) や石灰小体の減少を認めた (Figs. 2, 3)。感染後 65 週と 142 週の生存虫体では石灰小体が不



(Scale, 100 μ m)

Fig. 1 Live worm recovered from subcutaneous tissues of rabbit No. 6 at 142 weeks of infection.

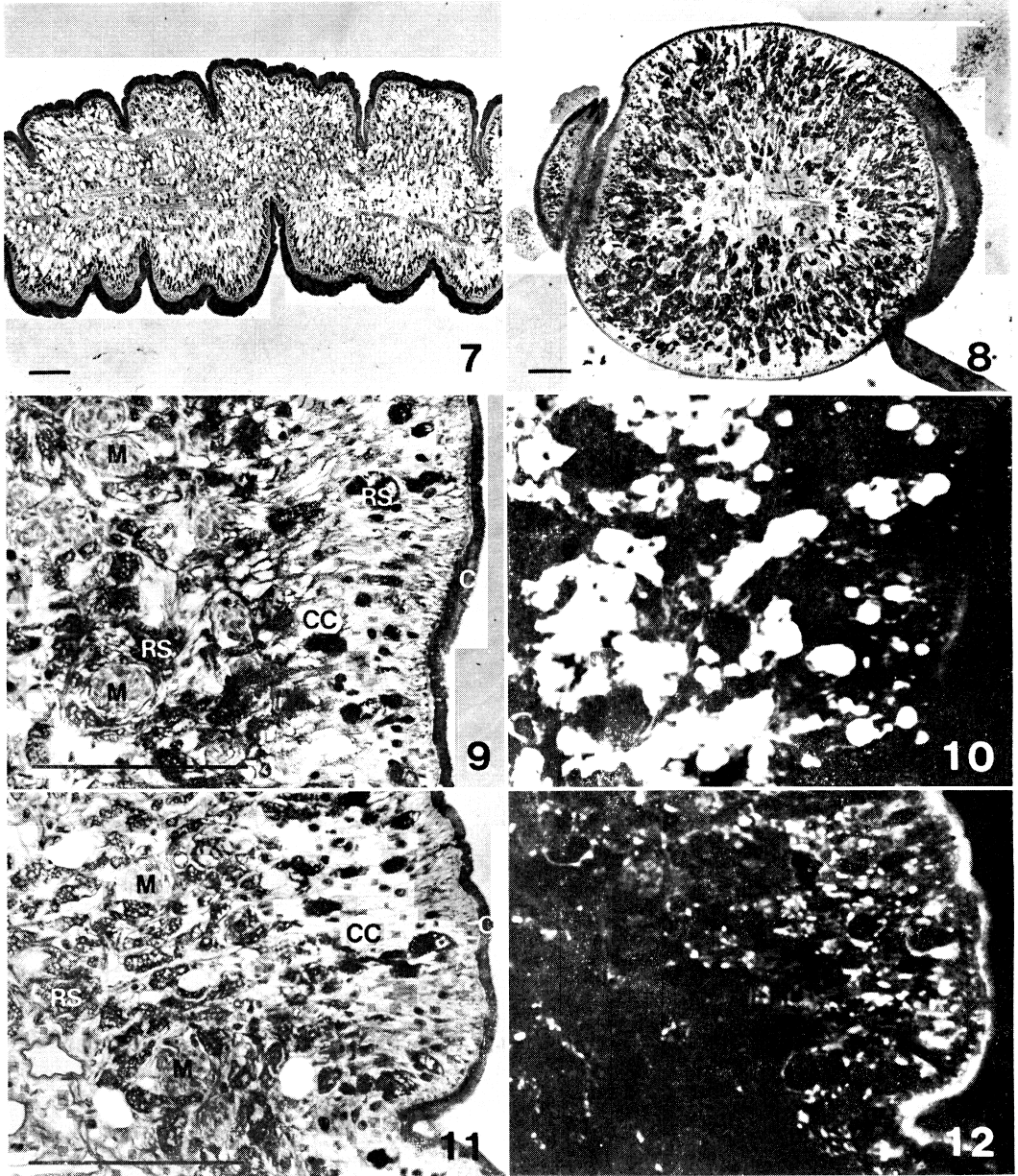
Fig. 2 Microscopical findings of a live worm found in subcutaneous tissues of rabbit No. 1 at 30 weeks of infection. Note many cysts with various sizes in parenchyma of the worm. (HE stain)

Fig. 3 Microscopical findings of a live worm found in intermuscular tissues of rabbit No. 2 at 30 weeks. Atrophy marked degeneration of cuticle and parenchyma, and decrease of calcareous corpuscles in the worm were seen. (HE stain)

Fig. 4 Dead worm recovered from the mesentery of rabbit No. 5 at 65 weeks.

Fig. 5 Microscopical findings of a dead worm recovered from the mesentery of rabbit No. 1 at 30 weeks. Note marked disintegration and calcification of the worm encapsulated with fibrous granulation tissues. (HE stain)

Fig. 6 Magnification of Fig. 5. Some deformed calcareous corpuscles (\uparrow) in parenchyma of the worm were well preserved. (HE stain)



Figs. 7 and 8 Microscopical findings of plerocercoid recovered from snakes. Note much more calcareous corpuscles in scolex (Fig. 7) than those in proglottid (Fig. 8). (Giemsa stain)
 Figs. 9 and 11 Transverse section of intact plerocercoid. (Giemsa stain)
 RS, Reticular structure in parenchyma; C, Cuticle; M, Muscle tissues; CC, Calcareous corpuscles.
 Fig. 10 IgG-binding sites of plerocercoid were fluorescent in RS, and not in C and M of Fig. 9.
 Fig. 12 IgM-binding sites of plerocercoid were scatteringly fluorescent in parenchyma of Fig. 11.

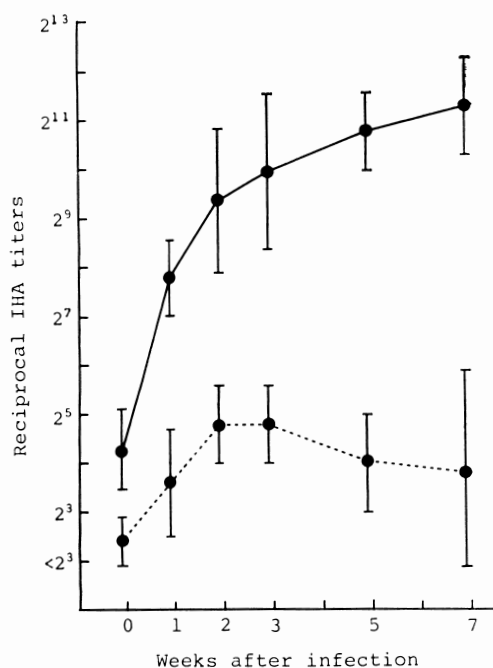


Fig. 13 Antibody titers using indirect hemagglutination test (IHA) in the infected rabbits. ●—●, IHA with plerocercoid extract antigens; ●·····●, IHA with adult extract antigens.

染であったり、体内部の嚢胞化など変性過程が目立った。また、感染後65週目の虫体周囲には好酸球の著しい浸潤も認めた。一方、死虫体の大部分は腹腔から回収され、肉眼所見では黄白色の豆状を呈し (Fig. 4)、組織学的には好酸球形肉芽組織に取り囲まれた石灰化像を呈し、本来の石灰小体の残存像も観察された (Figs. 5, 6)。

2. 感染ウサギの抗体産生状況

感染ウサギの抗体価の経時的変動は Figs. 13-15 のごとくであった。

PEX を用いた IHA 抗体価は感染前 $2^{4.2 \pm 0.8}$ であったが、感染後1週目で早くも $2^{7.8 \pm 0.8}$ と上昇し、7週後には $2^{11.3 \pm 1.0}$ に達した。しかし、AEX を用いた IHA 抗体価は PEX のそれより低値を示した (Fig. 13)。

PEX を用いた LA 抗体価の経時的変動をみると IHA の場合とよく似ていたが、感染前の抗体価は $2^{0.4 \pm 0.5}$ と低く、1週後より抗体価の上昇が認められた。その後、LA 抗体価はほぼ10週で $2^{6.8 \pm 1.0}$ と最高値に達し、30週後までほぼ同値を維持した (Fig. 14)。

次に、LA に反応する抗体の種類を検討するために、

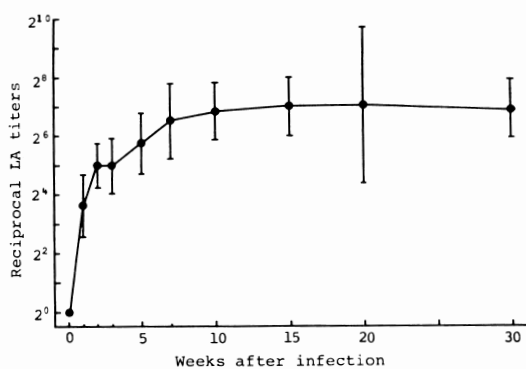


Fig. 14 Antibody titers using latex agglutination test (LA) with plerocercoid extract antigens in the infected rabbits.

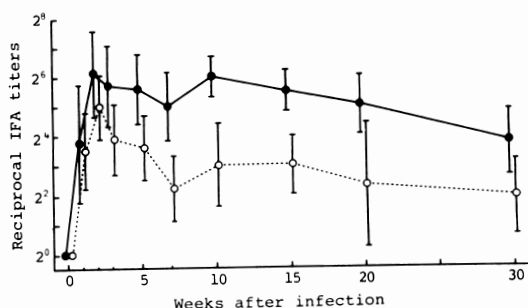


Fig. 15 Antibody titers using indirect fluorescent antibody test (IFA) with plerocercoid sections in the infected rabbits. ●—●, IgG titers; ○·····○, IgM titers.

JB-4樹脂包埋薄切切片を用いた IFA を試みた。この場合、plerocercoid の頭部 (Fig. 7) は体節 (Fig. 8) に比べ石灰小体が極めて多く存在し、また抗原性も感染初期の血清と反応させた場合体節のそれに比べ弱かったので、IFA には頭部を除く体節の薄切切片を用いた。

IFA による IgG と IgM 抗体価の経時的変動をみると、Fig. 15 に示したごとくそれぞれの抗体価は感染後1週目から急増し、2週後それぞれ $2^{6.1 \pm 1.5}$ と $2^{5.0 \pm 1.1}$ と最高値に達した。その後、IFA 抗体価は10週まで高値を維持し、30週までに $2^{3.7 \pm 1.1}$ と漸減した。一方、IgM 抗体価は2週以後激減し、7週後に $2^{2.2 \pm 1.1}$ となり、以後30週まで低値を維持した。

IFA による IgG の反応部位をみると感染初期には、ギムザ液に青く強染する虫体の体肉内網状構造部、ついで石灰小体周辺部であり、筋肉部・角皮の反応性は微弱であった (Figs. 9, 10)。また、感染の経過とともに網状構造部の反応性は低下する傾向を認めた。一方、IgM のそれは感染の全期間中、虫体の体肉部に点状に在っていた

Table 2 Summary of the number of precipitin bands between three antigens and sera of the infected rabbits by Ouchterlony's technique

Antigens	Amount of protein ($\mu\text{g/ml}$)	Mean number of precipitin bands (min.-max.)	
		5 weeks	30 weeks
P E S	960	2.8 (2-4)	2.1 (0-3)
	48	2.1 (1-4)	1.8 (0-3)
P E X	920	1.1 (0-2)	1.4 (0-2)
	460	1.4 (0-3)	1.4 (0-2)
A E X	890	0	0
	445	0	0.1 (0-1)

Abbreviation : PES, Excretory / secretory antigens of plerocercoids ;
PEX, Extract antigens of plerocercoids ; AEX, Extract anti-
gens of adult worms.

(Figs. 11, 12) .

3. Ouchterlony 法による PES の抗原性について PES の抗原性について、AEX と PEX と比較検討した結果は Table 2 のごとくであった。感染ウサギの5週目と30週目の血清（2倍濃縮）と反応させると、PES が最も強く反応し、AEX の反応性は極めて悪かった。蛋白量約1mg/ml の抗原量を用いた場合、PES と感染血清との間の沈降線数は感染後5週目では2～4本（平均2.8本）、30週目では0～3本（平均2.1本）であった。PEX に対してみられた沈降線数は PES より少なく、PES のそれと共通であった。

考 察

本研究において、マンソン裂頭条虫 plerocercoid をウサギの腹腔内に投与して惹起された実験的孤虫症における抗体産生状況が検討され、IHA, LA と IFA のいずれの方法でも感染後1週目で抗体価の上昇が認められた。ただ、IHA においては感染前のウサギ血清で若干の交叉反応の出現を認めた。このことは、Paul-Bunnell 反応を行なうにあたって孤虫症患者血清でヒツジ赤血球凝集能の一過性の上昇を認めたとする大河内ら（1960）の報告や IHA の陰性域を100倍以下とした向井ら（1977）の報告と一致し、この交叉反応がヒツジ赤血球の使用で惹起されたものと考えられた。これに対して、ヒツジ赤血球の代わりにラテックス粒子を用いた LA では、このような交叉反応が見られず、特異性は高くなった。さらに、LA は長期間高い抗体価を検出するので術前診断に有効であると思われた。Varela-Díaz *et al.*（1976）も LA が包虫症の診断法として高い特異性と簡便性を有するとし、スクリーニング法としての重要性を

強調した。

次に、Plerocercoid の JB-4樹脂包埋薄切切片を用いた IFA による IgG の反応局在部位は感染初期にはギムザ液に青く強染する虫体の体肉網状構造部であり、角皮や筋肉部の反応性は微弱であった。この成績は虫体の周辺部や筋肉部がよく反応したとする石井（1973）の報告とは一致しなかった。一方、慢性期には虫体の網状構造部の反応性は低下するものの、石灰小体周辺部の反応性が残存する傾向にあった。このことは抗原の局在部位が石灰小体であったとする人体症例（福原ら、1981；鈴木ら、1981）の所見とほぼ一致した。このような抗原性の相違点は抗原の作製法あるいはヒトと動物との免疫反応、特に抗原認識の差異などによることが考えられる。

感染ウサギの慢性期において、LA 抗体価は高値を維持するのに対して IFA 抗体価や PES に対する沈降線数が感染の経過とともに減少した。この現象には plerocercoid に含まれる抗原の種類や量の変化が関与することも考えられた。すなわち、感染初期においては plerocercoid の網状構造部に蓄えられていた物質が PES として放出され抗原となり、慢性期においては plerocercoid の一部が変性したり死滅するために PES の合成や分泌が微弱となり、石灰小体周辺部の抗原性が明瞭になってくものと考えられた。Hanna（1980）はヒツジ肝蛭症において JB-4樹脂包埋薄切切片を用いた IFA により虫体反応部位を検討し、慢性期における抗体価の低下が虫体の成熟とともに起こる抗原性の低下（T₁ body の減少）にあるとした。

PES の抗原性の検討では、PES の抗原性は AEX や PEX に比べて最も強いことがわかった。しかし、感染後5週目で見られた沈降線は30週目で減少し、PES（約

1mg/ml)でも沈降線の検出されない場合もあった。藤原ら(1978)は孤虫症の診断において Ouchterlony 法で PEX 8.5~12.8mg 蛋白/ml を抗原として用いていることから、使用抗原量についてはなお検討を必要とする。

寄生虫感染症においては広く種々な免疫診断法が検討されているが、これらの有用性は包虫症をはじめとして寄生虫の種類によって多様である(Kagan, 1979)。最近、酵素抗体法が注目され、マンソン孤虫症においても検討されているが、無鉤条虫症との交差反応が若干認められている(Kim, et al., 1984)。今後、この点についての検討も望まれる。

結 論

マンソン裂頭条虫の plerocercoid を実験的にウサギ 6羽の腹腔内に投与して、IHA, LA, IFA と Ouchterlony 法を用いて抗体産生状況を検討した。

PEX を用いた IHA が最も感度が高かったけれども、若干の交叉反応を認めた。LA では IHA でみられた交叉反応が極めて低く、抗体価が感染後1週目から上昇し、10週後で $2^{6.8 \pm 1.0}$ と最高値に達し、30週後まで高値を持続した。IFA では IgG と IgM の抗体価は同様に上昇し、2週目でそれぞれ $2^{5.1 \pm 1.5}$ と $2^{5.0 \pm 1.1}$ と最高値に達した。その後、IgG 抗体価は IgM のそれより比較的急激に減少した。IgG の反応する抗原の局在部位は虫体の網状構造部であり、IgM のそれは体肉部に点在して観察された。また、Ouchterlony 法を用いて PES の抗原性を AEX や PEX と比較すると、PES の沈降線が最も多く認められた。

なお、本論文の要旨は昭和56年第50回日本寄生虫学会大会(鹿児島市)および同57年第38回日本寄生虫学会西日本支部大会(大阪府)において発表した。

文 献

- 1) 赤尾信明・近藤力王至・岡本 敬・吉村裕之(1983): 犬蛔虫第2期幼虫 ES 抗原の抗原分析及感染経過中にみられる宿主の抗原認識の変化。寄生虫誌, 32, 541-548.
- 2) 朝日博子・影井 昇・保阪幸男・小早川隆敏・荒木国興(1983): 近年診断依頼のあった寄生虫疾患とその問題点—特に肺吸虫症・マンソン孤虫症の免疫血清学的診断に関して—。日医事新報, (3106), 43-48.
- 3) 藤原千冬・山口恵三・大友弘士・荒木国興(1983): マンソン孤虫症—うち一例は心嚢炎併発—。日医事新報, (2847), 27-32.

- 4) 福原 右・大井綱郎・木村幸三郎・青木哲哉・外野正巳・田中克幸・瓜田和久(1981): マンソン幼裂頭条虫症 (*Plerocercoidosis erinacei*)。皮膚科の臨床, 23, 1041-1047.
- 5) 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.
- 6) Hartree, E. F. (1972): Determination of protein: A modification of the Lowry method that gives a linear photometric response. Anal. Biochem., 48, 422-427.
- 7) Ikeda, T., Tada, I. and Aoki, Y. (1978): The indirect hemagglutination test for onchocerciasis performed with blood collected on filter paper. J. Parasitol., 64, 786-789.
- 8) 石井 明(1973): マンソン孤虫症の間接蛍光抗体法による診断。寄生虫誌, 22, 75-78.
- 9) Kagan, I. G. (1979): Diagnostic, epidemiologic, and experimental parasitology: Immunologic aspects. Am. J. Trop. Med. Hyg., 28, 429-439.
- 10) 川口 進(1976): 蛋白抗原の Passive hemagglutination 法。免疫実験装作法 A, 258-261頁, 日本免疫学会編, 金沢。
- 11) Kim, H., Kim, S. -I. and Cho, S. -Y. (1984): Serological diagnosis of human sparganosis by means of micro-ELISA. Korean J. Parasitol., 22, 222-228.
- 12) 近藤力王至・吉村裕之・西田和美・大西義博・上村 清(1977): 広節裂頭条虫症の免疫血清学的研究(1)感染者の血清グロブリン, 特に IgE 値および沈降反応について。寄生虫誌, 26, 265-270.
- 13) 近藤力王至・吉村裕之・大西義博・赤尾信明・坪田宣之・鈴木俊夫・石郷岡清基(1980): 広節裂頭条虫症の免疫血清学的研究(2)ラテックス凝集反応と酵素抗体法による検討。寄生虫誌, 29, 55-60.
- 14) 近藤力王至・小泉 勤・坪田宣之・大西義博・吉村裕之(1981): 実験的移行性幼線虫症の研究(3)犬蛔虫幼虫感染家兔の抗体価の推移。寄生虫誌, 30, 549-556.
- 15) 近藤力王至・赤尾信明・小西喜彦・吉村裕之(1984): 実験的幼線虫移行症の研究(4)蛍光抗体法および酵素抗体法による犬蛔虫感染家兔における血清グロブリン。寄生虫誌, 33, 99-104.
- 16) 向井秀樹・山手哲明・斉藤隆三・伊藤洋一(1977): マンソン裂頭条虫症。臨床皮膚科, 31, 551-555.
- 17) 小田 力・藤田紘一郎・月舘説子・馬場正明・荒木国興・森 章夫・Moncada, L. (1982): 14年間にわたり中腹部から前頸部に移動したマン

- ソン孤虫症の1例. 熱帯医学, 24, 115-119.
- 18) 大河内一雄・山田栄八郎・大屋匡人 (1960): 蛇を生食することによっておこされた Manson 裂頭条虫症について—特に感染早期の諸徴候について—. 日本臨床, 18, 2024-2030.
- 19) 瀬野尾章・渡辺 斉・土井優子 (1977): JB-4・Methylmethacrylate・Divinylbenzene (JMD) 包埋による生検組織標本作製法. 臨床検査, 21, 1532-1537.
- 20) 鈴木俊夫・赤尾信明・山下隆夫 (1981): 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. 寄生虫誌, 30, 517-526.
- 21) 坪田宣之・小沢 光 (1977): トキソプラズマラテックス凝集反応に関する研究 (第1報) マイクロタイター用試薬の調製条件と安定性. 寄生虫誌, 26, 276-285.
- 22) 辻 守康 (1974): 寄生蠕虫類の免疫電気泳動法について. 寄生虫誌, 23, 335-345.
- 23) Varela-Diaz, V. M., Coltorti, E. A., Ricardes, M. I., Prezioso, U., Schantz, P. M. and Garcia, R. (1976): Evaluation of immunodiagnostic techniques for the detection of human hydatid cyst carriers in field studies. Am. J. Trop. Med. Hyg., 25, 617-622.
- 24) 横田卓也・佐々木一之・小坂輝彦・藤田紘一郎・池田照明 (1980): 眼窩内に寄生した Manson 孤虫症の1例. 日本眼科紀要, 31, 1633-1636.

Abstract

ANTIBODY PRODUCTION IN EXPERIMENTAL SPARGANOSIS OF
RABBITS: AGGLUTINATION AND INDIRECT
FLUORESCENT ANTIBODY TECHNIQUES

YOSHIHIRO OHNISHI, YOSHIMASA TAKAKURA, HIROYUKI YOSHIMURA
AND NORIYUKI TSUBOTA

*(Department of Parasitology, School of Medicine,
Kanazawa University, Kanazawa 920, Japan)*

Antibody responses to experimentally transplanted spargana in rabbits were examined by indirect hemagglutination (IHA), latex agglutination (LA), indirect fluorescent antibody (IFA), and Ouchterlony's techniques. Adult extract (AEX), plerocercoid extract (PEX), plerocercoid excretory/secretory products (PES) were used as antigens. The sections of the plerocercoids were also used for IFA. Antibody titers were found increased one week after infection by IHA with PEX, LA with PEX and IFA on plerocercoid sections. And then IHA and LA titers gradually reached high levels. Although IHA was most sensitive, it has some cross-reactions to sheep red cells. IgG and IgM titers in IFA reached a peak, $2^{6.1 \pm 1.5}$ and $2^{5.0 \pm 1.1}$ at 2 weeks, respectively, and thereafter IgG titers decreased more slowly than IgM titers. IgG-binding sites of the plerocercoid were most clearly fluorescent in the reticular structure of the parenchyma. In contrast, IgM-binding sites were found to be scattered in the parenchyma. LA titers increased to reach a peak as $2^{6.8 \pm 1.0}$ 10 weeks after infection and their high titers were kept until 30 weeks. In the comparison of antigenicity of AEX, PEX and PES in Ouchterlony's technique, PES was recognized to be the most sensitive antigen among them in the experimental sparganosis of rabbits.