

Anisakis 感染 家兔의 時期別 抗體檢出에 대한 각종 抗原의 適用性

*中華人民共和國 吉林省 沿邊醫學院 寄生蟲教研室
高麗大學校 醫科大學 寄生蟲學教室 및 熱帶風土研究所

全福實* · 鄭明淑 · 朱晙煥 · 林漢鐘

Application of Various Antigens on the Detection of Antibody in Rabbits Infected with Anisakid Larvae

Fu-Shi Quan, Myung-Sook Chung, Kyoung-Hwan Joo, and Han-Jong Rim

*Department of Parasitology, Yan Bian Medical College, Province Jilin, People's Republic of China
Department of Parasitology and Institute for Tropical Endemic Diseases, College of Medicine,
Korea University, Seoul, 136-705, Korea

= ABSTRACT =

Antibody changes in experimental anisakiasis were observed by ELISA and SDS-PAGE/EITB using various antigens : whole worm extract antigen(WWE), somatic antigen(SOM), excretory-secretory antigen(ES), and hemoglobin antigen(HB) of *Anisakis* type 1.

The results obtained were as follows.

1) Serum levels of IgG antibody by ELISA increased from 1st week of infection and reached their maximum titer at 5th week after infection, and decreased gradually thereafter.

2) The best result expressed as positive/negative ratio could be obtained when ES antigen was used.

3) Silver stained SDS-PAGE of each antigen showed at least 20 protein bands : In WWE, 286, 278, 262, 38, 18 Kd bands ; In SOM, 38 Kd band ; In ES, 286, 65, 13 Kd bands ; In Hb, 61, 55, 38, 28, 26, 22, 20, 16, 15 Kd bands identified as were major bands.

4) By EITB using WWE, serum antibody recognized major protein bands with molecular weight of 86 Kd and 16 Kd. Using ES, 69, 59, 16 Kd bands were observed and using Hb, 28 Kd band was observed as specific band.

In conclusion, excretory-secretory antigen(ES) of *Anisakis* larvae was most usable for ELISA.

緒 論

Anisakis 幼蟲은 鳥類 및 海産포유동물의 위에 寄生하는 蛔蟲의 일종으로서 蟲卵이 糞便과 함께 海水中에 배출되며 바닷물에 幼蟲을 방출함으로써 海産 갑각류를 감염시킨다. 海산어류가 유충을 섭취하면 유충은 제갈, 간 또는 근육등에 이행하여 피포되는데 사람이나 가축이 *Anisakis* 유충을 함유하고 있는 漁貝類를 生食하거나 불완전하게 섭취하였을때 그 속에 있던 幼蟲은 인체에 감염되어 위장관의 好酸性肉芽腫형성과 급성 복통, 오심, 구토등을 일으킨다.

Van Thiel들(1960)이 Holland에서 *Anisakis*속(屬)의 유충에 의한 인체감염예를 보고한 이래 세계적으로 많은 인체 기생 보고가 있다. 우리나라에서는 金들(1971)이 첫례를 보고한 후 Cho, et al (1980), 李들(1981), 정들(1984), 백들(1984), Seo, et al(1984), 한들(1988) 및 任들(1988)등에 이르기까지 50여 이상이 보고되었으나 실제 감염례는 이보다 훨씬 많을 것으로 생각된다. 그러나 특이한 임상적인 증상은 적고 보통 급성 복부증상이나不正한 위장증상을 나타낼 뿐이다. 급성 胃 아니사키스증은 胃内視鏡檢査나 放射線學的 檢査로 비교적 쉽게 진단할 수 있으나 응급을 요하는 장아니사키스증의 경우에 있어서는 수술전 진단이 불가능하며 다른 병으로 오인되어 수술하는 경우도 적지 않다. 慢性 아니사키스증의 경우에 있어서는 충체가 체내에서 퇴화되기 때문에 진단은 더욱 어렵다. 따라서 각종 면역학적 진단법의 개발이 시도되었으나 문제점이 많다. 皮内反應과 補體結合反應은 민감도에 문제점이 있고 (Oshima, et al 1972), 間接螢光抗體反應 (Suzuki, et al 1974) 및 Latex 凝集反應(Yoshimura, et al 1980) 등은 비교적 우수한 면역진단법으로 간주되나 Ascarioidea에 속하는 다른 기생충과의 교차반응이 공통된 문제점으로 지적되고 있다. 최근에는 ELISA(enzyme-linked immunosorbent assay)가 가장 예민한 면역학적 진단법으로 인정되어 實驗血清内에서의 抗體價 및 抗原의 量을 측정하는 것을 가능하게 하였으며 疫學的 調查를 위한 診斷法으로 세계보건기구에 의해 적극 권장되고 있다.

本 研究에서는 *Anisakis* 幼蟲의 粗抗原, 幼蟲體 抽出抗原, 分비배설抗原 및 정제항원을 분리하여 感染強度에 따른 家兎血清에 대한 ELISA 抗體價의 변동을 感染經過에 따라 변하는 양상을 비교함과 동시에 SDS-PAGE와 EITB를 이용하여 각항원의 항원대를 비교하고 가장 특이하게 항원성을 보이는 분획과 抗原抗體반응의 양상을 검토하였다.

材料 및 方法

1. 實驗材料

1) 抗 原

본 실험의 항원으로 사용된 *Anisakis* 幼蟲은 고등어 및 갈치의 복강에서 수집한 신선한 총체 중 *Anisakis* type I 을 사용하였다.

2) 實驗血清

Anisakis 유충 感染 血清을 얻기 위해 *Anisakis* 유충을 10마리씩(A群), 40마리씩(B群), 80마리씩(C群) 각각 3마리의 家兎에게 감염시키고, 4일, 1주, 2주, 3주, 5주, 7주, 9주 및 10주 후에 채혈하여 혈청을 분리하여 실험혈청으로 사용하였다. 대조 혈청은 감염시키기 전 가토의 혈청을 이용하였다.

2. 方 法

1) 抗原의 製造

(1) *Anisakis* 유충 粗抗原(whole worm extract antigen, WWE)

총체들을 인산완충용액(PBS, pH 7.2)으로 잘 세척한 다음 동결건조 시켰다. 건조된 총체를 SBTI (soy-been trypsin inhibitor) 4mg이 함유된 인산완충용액 40ml에 녹여 glass homogenizer로 마쇄하였다. 마쇄된 현탁액을 10,000rpm에서 60분간 원심분리하여 상청액을 얻어서 이 상청액을 抗原으로 사용하였으며, 단백질 함량은 6.8mg/ml 이었다.

(2) 幼蟲體 抽出抗原(somatic extract antigen, SOM)

총체들을 인산완충용액으로 세척한 다음 동결건조 시켰다. 건조된 총체에 ethanol-ether 20ml을 가하며 마쇄한 다음 4℃에서 20시간 방치한 후 3,000 rpm에서 5분간 원심분리하여 탈지시켰다. 탈지된 총체에 Unger 씨액(포도당 45g, NaHCO₃ 2.0g, 설당

5g 증류수 1,000ml) 50ml을 가하고 4°C에서 15,000 G로 30분간 원심분리하여 상청액을 얻었다. 상청액을 visking tube에 넣어 48시간 동안 투석시킨 후 幼蟲抽出抗原으로 사용하였으며, 단백질 함량은 1.2mg/ml이었다.

(3) *Anisakis* 幼蟲 분비배설 항원(excretory-secretory components, ES)

충체 800마리를 생리식염수로 5회 세척하고, penicillin (100 unit/ml)과 streptomycin (100µg/ml)을 함유한 100ml 생리식염수에 넣어 37°C에서 3일간 배양하였다. 생리식염수를 매일 교환하면서 배양하였다. 수집된 배양액을 4°C에서 15,000 G로 30분간 원심분리하여 상청액을 얻었고 상청액을 抗原으로 사용하였으며, 단백질 함량은 40µg/ml이었다.

(4) 精製抗原(hemoglobin antigen, HB)

신선한 충체를 잘게 절단한 후 tissue grinder로 마쇄하여 충체 체액을 얻었다. 이 체액에 Ammonium sulfate를 가하여 50% 포화용액이 되게 하였다. ammonium sulfate가 완전히 용해된 후 원심분리하여 상층액을 채취하였다. 상층액에 ammonium sulfate를 추가하여 73% 포화용액으로 만들었다. 이것을 원심분리하여 상청액을 정제항원으로 사용하였고 이때 단백질 함량은 3.1mg/ml이었다.

2) ELISA

朱들(1987)의 방법을 이용하였다. 혈청 희석배율은 1:400, 항원의 단백질 함량은 2.5µg/ml가 되게 하였다. Conjugate는 DAKO社의 peroxidase-conjugated anti-rabbit IgG를 1:2,000으로 희석하여 사용하였으며, Dynatech Lab.의 micro-ELISA reader로 490nm에서 吸收光量을 측정하였다.

3) SDS-PAGE

SDS-PAGE(sodium dodecylsulfate polyacrylamide gel electrophoresis)는 Tsang(1983) 및 許들(1988)의 방법에 준하여 실시하였다. Gel은 Pharmacia Fine Chemicals의 160×220×0.8mm vertical system을 사용하였다.

항원 재료는 pH8.0의 urea를 넣어 Tris 완충용액으로 희석하여 SDS의 최종 농도를 2.5%가 되게 한 다음 여기에 각 항원 재료를 0.2µg/ml되게 하여 사용하였고 sample application 직전에 65°C항은 수

조에서 30분간 denature시켰다. Tracking dye로는 bromophenol blue를 재료 200 µl 당 10µl가 되게 하였다. 재료는 3.0~20.0%의 linear gradient gel(40% T, 1% C)과 3% stacking gel을 이용하여 stacking gel에서는 10mA, resolving gel에서는 20mA로 하여 tracking dye가 모두 resolving gel의 맨 밑에 올때까지 약 2.5~3시간 전기영동하였다. Sample application의 양은 10 µl/lane이 되게 하였으며 염색은 Merrill, et al(1981)의 silver 염색법으로 하였다. 전 과정에서 molecular weight SDS-PAGE marker와 Bethesda Research Lab.의 prestained marker를 사용하였다.

4) EITB

SDS-PAGE로 분리된 단백 분획을 Tsang, et al (1983)의 방법에 따라 nitrocellulose paper(NC paper)에 blot시켰다. 이를 요약하면 다음과 같다.

SDS-PAGE로 분해된 단백 분획의 EITB(enzyme-linked immunoelectrotransfer blot)는 Bio-Rad Lab.의 transbolt cell을 이용하여 250 Vdc constant(current=0.5-2.0 A)로 1시간 동안 실시하였다. NC paper는 0.5cm 간격으로 잘라서 Bio-Rad Lab.의 slotted incubation tray에 넣고 PBS-3% Tween 20액으로 1:100희석한 家兎의 실험 혈청을 넣어 rotary shaker에서 overnight 시켰다. 항원대와 부착한 항체는 ELISA 법으로 확인하였으며 이 과정 중 conjugate는 peroxidase conjugated anti-rabbit IgG(DAKO)를 1:2,000으로 희석하여 사용하였고 부착된 peroxidase는 H₂O₂를 넣은 침전성 chromogenic substrate인 3-3'-diaminobenzidine (Sigma)으로 발색시켰다.

實驗成績

1. ELISA

1) 粗抗原(WWE)에 대한 感染强度에 따른 ELISA 성적

감염된 가토 혈청에 대한 absorbance value를 측정하여 各群의 평균값을 산출하였다. 各群의 대조 혈청과 감염 후 4일, 1주~10주의 absorbance값의 평균값을 Table 1에 표시하였다.

A, B, C群의 각각 3마리 家兎의 혈청과 感染시

Table 1. Absorbance values of ELISA using whole worm extract antigen(WWE)

Group*	0	4d	7d	2w	3w	5w	7w	9w	10w
A	0.260	0.530	0.727	1.023	0.998	1.037			
B	0.347	0.548	0.727	1.639	1.775	1.931	1.542	1.147	1.056
C	0.314	0.629	0.843	1.659	2.018	1.702	1.184	1.159	0.640

*A : infected with 10 *Anisakis* larvae.

B : infected with 40 *Anisakis* larvae

C : infected with 80 *Anisakis* larvae.

Table 2. Absorbance values of ELISA using somatic extract antigen(SOM)

Group	0	4d	7d	2w	3w	5w	7w	9w	10w
A	0.261	0.380	0.519	0.595	0.660	1.037			
B	0.221	0.389	0.519	1.341	1.341	1.488	1.443	1.174	0.798
C	0.294	0.315	0.569	1.250	1.596	1.489	0.988	1.129	0.665

Table 3. Absorbance values of ELISA using excretory-secretory antigen(ES)

Group	0	4d	7d	2w	3w	5w	7w	9w	10w
A	0.367	0.584	0.757	0.834	1.302	1.709			
B	0.237	0.487	1.023	2.107	2.408	2.165	2.232	0.995	0.947
C	0.293	0.631	1.118	2.311	2.165	2.311	1.505	1.065	0.569

키기 전의 혈청(대조혈청)에 대하여 평균값을 비교한 바 感染期間이 오래될 수록 증가됨을 볼 수 있었고 5주 후에 감소되기 시작하였다. 대조혈청 평균치가 각군에서 각각 0.260, 0.347, 0.314이었으나 感染 2주부터 absorbance 값이 1.000이상되며, 3주 5주에서 최대값을 나타내었으며 그 이후부터는 감소하기 시작하였다.

2) 幼蟲體抽出抗原(SOM)에 대한 感染強度에 따른 ELISA 성적

감염전 후 各群의 평균 absorbance 값을 Table 2에 나타내었다. 대조혈청의 평균값은 각군에서 각각 0.261, 0.221, 0.294이었으며, A群에서는 감염 후 5주에 absorbance 값이 1.000이상인 되었고, B, C群은 2주부터 1.000이상으로 나타났으며 5주에서 최대값을 나타내었고 그 이후부터는 감소하기 시작하였다.

3) 분비배설항원(ES)에 대한 感染強度에 따른 ELISA 성적

감염 전후 各群의 absorbance 값을 Table 3에

나타내었다. 대조혈청의 평균값은 各群에서 각각 0.367, 0.237, 0.293이었다. A群에서는 감염 3주부터 absorbance값이 1.000이상으로 나타났다. B群에서는 9주이후부터, C群에서는 7주이후부터 absorbance값이 감소하기 시작하였다. 이상의 성적으로 보아 분비배설항원은 초기 감염진단에 사용함이 유용한 것으로 생각된다.

4) 정제항원(Hb)에 대한 感染強度에 따른 ELISA 성적

Table 4에 나타낸 바와 같이 대조혈청에서는 absorbance값이 각각 0.518, 0.522, 0.469 이었으며, A群에서는 감염 경과에 따른 변화가 거의 없었다. B, C群에서는 2주부터 absorbance값이 1.000이상인 되었으며, 계속 증가하다가 B群은 9주 부터 감소하기 시작하였으며, C群은 7주 부터 감소하기 시작하였다.

이상의 성적(Table 1-4)에서 보는 바와 같이 ELISA에 있어서 우수한 결과를 보인다는 것은 대조혈청의 absorbance값은 낮아야 하며, 상대적으로

Table 4. Absorbance values of ELISA using hemoglobin antigen(HB)

Group	0	4d	7d	2w	3w	5w	7w	9w	10w
A	0.518	0.818	0.815	0.960	0.843	0.989			
B	0.522	0.742	0.809	1.494	1.698	1.597	1.541	0.927	0.622
C	0.469	0.617	0.716	1.394	1.786	1.538	0.965	0.880	0.635

Table 5. Positive/negative ratio of ELISA absorbance values of each antigen preparations against infected sera of *Anisakis* and normal control

Antigen	Infected sera			Mean	Normal Control	+/- ratio
	A	B	C			
WWE	1.037	1.931	2.018	1.662	0.304	5.5
SOM	1.037	1.448	1.596	1.360	0.292	4.7
ES	1.709	2.408	2.311	2.143	0.299	7.2
HB	1.989	1.698	1.786	1.491	0.369	4.0

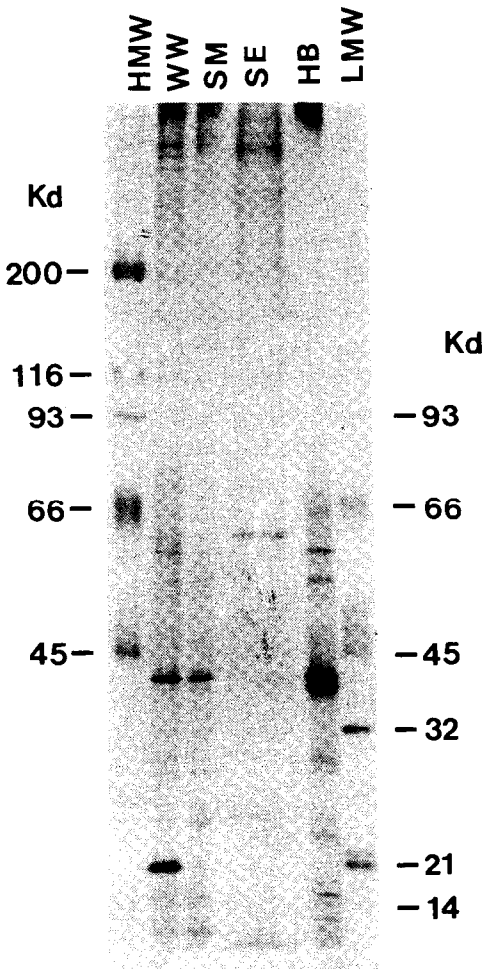


Fig. 1. SDS-PAGE finding of various *Anisakis* larval worm antigen.
3-20% linear gradient gel with silver stain.

양성혈청의 absorbance값은 높아야 한다. 이러한 관점에서 양성치/음성치의 비율을 각항원에서 검토한 결과 분비배설항원(ES)이 7.2로 가장 높았다 (Table 5).

2. SDS-PAGE

SDS-PAGE와 silver stain 후 얻은 WWE, SOM, ES 및 HB의 단백 분획은 Fig. 1에 나타낸 바와 같다. 이들 각 항원은 최소한 20개 이상의 band를 나타내는 복잡한 구성을 갖고 있었다. WWE antigen에서의 단백 분획을 보면 200kd이상에서 3개, 51~71 kd 사이에 7개, 14~38kd 사이에 11개의 band가 나타났으며 그중 강하게 염색된 것은 286, 278, 262, 38 및 18kd의 분자량을 갖는 단백 분획이었다. SOM antigen 항원대는 200kd 이상에서 2개, 55, 66kd, 13~38kd 사이에 13개의 band가 나타났으며 그중 진하게 염색된 것은 38kd의 분획이었다. SE antigen은 모두 10개의 항원대로서 진하게 염색된 것은 286, 65 및 13kd의 분획이었다. HB antigen의 항원대는 200kd 이상에서 2개, 51~70kd 사이에 4개, 13~46kd 사이에서 14개의 band가 나타났으며 그중 진하게 염색된 것은 61, 55, 38, 36, 28, 26, 22, 20, 16 및 15kd의 단백분획이었다.

3. EITB

각 항원의 EITB成績은 Table 6에서 보는 바와 같으며 각 부위별 항원대를 본 논문에서는 편의상 A-R까지 나누었다.

Fig. 2에 나타난 바와 같이 B, C群에서의 반응이 강하게 나타났다. 각 항원의 EITB 성적을 比較하였을 때 WWE항원에서는 A群은 86kd, B群은 16 kd에서 강하게 반응이 나타났으며, SOM 항원에서는 특이하게 반응하였고, Hb항원에서는 B, C群에서 28kd 와의 반응이 특이하게 나타났다.

考 察

*Anisakis*감염증은 van Thiel들(1960, 1962)의 최초

Table 6. ELISA results of sera antibody against major antigen bands detected in various prepared *Anisakis* larvae antigen(WWE, SOM, SE, HB, SDS-PAGE & EITB)

Antigen	Bands Sera	A		B		C		D		E		F		G		H		I		J		K		L		M		N		O		P		Q		R							
		in kd	286	278	262	174	86	69	66	61	55	48	47	42	38	37	17	16	15	14																							
WWE																																											
	Ga		+	+	+					+																																	
	Gb		+	+	+		+		+		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+			
	Gc		+	+	+							+	+	+	+	+	+																										
	Gd									+																																	
SOM																																											
	Ga		+							+																																	
	Gb		+																																								
	Gc																																										
	Gd																																										
SE																																											
	Ga																																										
	Gb																																										
	Gc																																										
	Gd																																										
HB																																											
	Ga																																										
	Gb																																										
	Gc																																										
	Gd																																										

Ga : 5 weeks after infection with 10 *Anisakis* larvae, Gb : 5 wks after infection with 40 *Anisakis* larvae
 Gc : 5 wks after infection with 80 *Anisakis* larvae Gd : before infection
 +° : 120 kd, +°° : 78 KD

인체 감염보고 이래 우리나라에서도 金들(1971)등 60에 이상의 인체감염례가 알려져 있다. 우리나라에서의 *Anisakis* 幼蟲감염은 대부분 *Anisakis* spp.에 의한 것으로 생각되고 있으며 Terranova type A에 의한 감염이 2예 알려져 있다(Seo, et al 1984 : Lee, et al 1985). *Anisakis*의 유충 감염은 육안적으로 胃, 腸粘膜의 靑양, 出血性病변을 초래하고 점막하 육아종을 형성하며 해산어류 생식후에 급성복증, 또는 위궤양과 유사한 위증상을 보이는 것을 특징으로 한다(Kuipers, et al 1960 : Yokogawa, et al 1967). 진단이 궁극적으로 총체의 발견에 있다고 볼 때 胃内視鏡으로 살아있는 총체를 발견하고 제거해 내는 것 이외에 특별히 형태적으로 진단을 하기에는 어려움이 따르며 더구나 만성 *Anisakis*증의 경우에 있어서는 형태학적 진단은 거의 불가능하다. 따라서 혈청학적 방법으로 보조진단하고자 하는 시도가 많이 있었다. 즉 保體結合反應(Daniels, 1962), 螢

光抗體法(Ruitenberg, 1970), 피내반응(Kobayashi, et al 1968), 間接螢光抗體反應(Suzuki, et al 1974), Passive cutaneous anaphylaxis(Nagase, 1973), Radioallergosorbent test(Desowitz, et al 1985), Latex agglutination test(Yoshimura, et al 1978), Sarles' phenomenon(Morishita & Nishimura, 1968) 및 ELISA(Takahashi, et al 1986)등의 시도가 꾸준히 진행되었으며 단일항체법을 이용하여 特異抗原을 찾자 하는 研究도 있었다(Takahashi, et al 1986). 그러나 이러한 노력에도 불구하고 *Anisakis*증의 血清學的진단은 몇가지 점에서 제약과 받고 있다. 첫째는 다른 寄生蟲疾患과의 교차반응이 문제시되고 있으며(Yoshmura, et al 1980 : Oshima, 1972 : Smith & Wooten, 1978) 둘째로 최초 감염후 일정 기간 경과 후에야 혈청학적으로 양성을 나타내고 일단 감염이 종료되면 1개월로 부터 1년 사이에 음성으로 변하며, 재감염의 경우에도 24시간 정도가

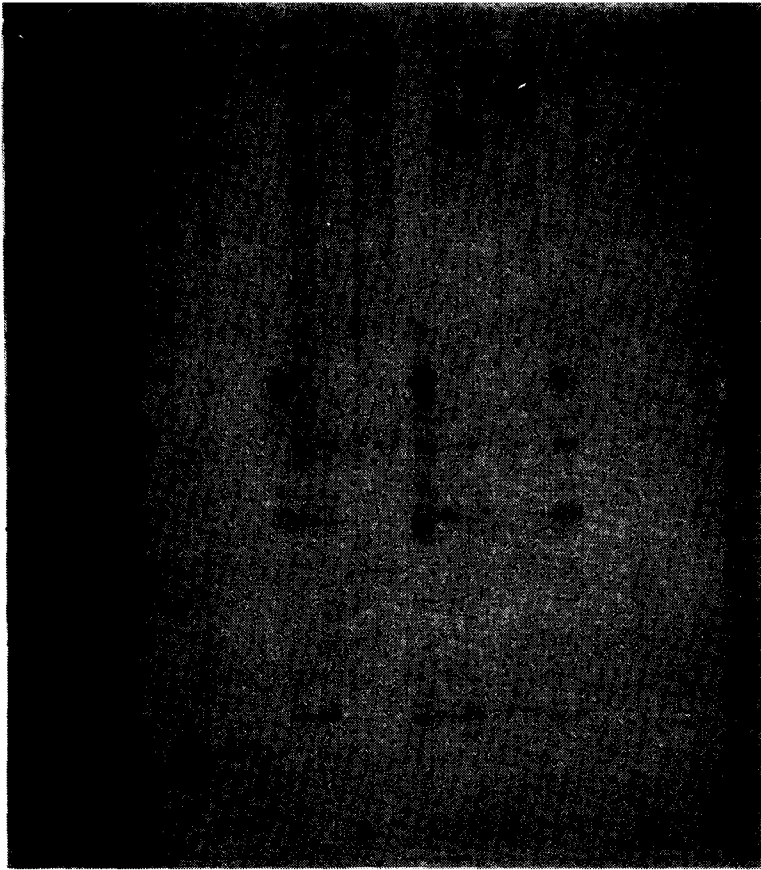


Fig. 2. Immunoblot finding to various antigen preparations in infected rabbit sera with *Anisakis* larvae.

경과한 후에야 양성반응이 나타날 수 있는 점등이 있어(Tsuzi, 1989; Hong & Lee, 1987) 실제적으로 혈청학적 진단법으로 실용화하기에는 다소간의 무리가 있다는 점, 그리고 셋째, 사용하는 대부분의 항원이 *Anisakis* type I으로 실제로 *Anisakis* type I이 아닌 다른 type의 *Anisakis*감염일 때의 반응이 확실하지 않은 점등의 문제점이 있다.

한편 *Anisakis* 幼蟲抗原의 特性을 알고자 수많은 연구가 이루어졌다. Suzuki(1968)는 토끼에 *Anisakis* 유충과 *A. suum*을 각각 감염시켜 얻은 항혈청으로 *Anisakis* 幼蟲抗原의 면역전기영동을 실시한 결과 다른 반응대가 형성되는 것을 확인한 바 있으며 *Anisakis* 유충의 hemoglobin이 차이점을 나타내는 기본물질이라고 하여 분비-배설항원의 우수성을 주장하였다. 본 연구에서도 ELISA법을 실시한 결과 유충체 분비배설항원이 가장 유용한 것으로 나타난 것과 잘 일치함을 알수 있었다.

EITB법의 특징은 SDS-PAGE의 강한 단백분해능과 ELISA의 민감한 반응을 결합시킨 것으로서 각각의 항원대에 대하여 感染血清이 어떻게 반응하는가 하는 양상을 갖고 特異抗原帶를 선택할 수 있는 것이다. 따라서 본 연구의 목적이 여러가지 항원 중에서 *Anisakis*증의 진단에 가장 유용한 항원을 찾는 데 있었으며 ELISA법에서 유용성을 보인 분비배설항원에서 65, 13kd의 항원대가 특이한 반응을 보였다. 앞으로 이 항원대의 교차반응성등을 추시하여 *Anisakis*증 진단에 이용하려고 한다.

結 論

Anisakis 유충의 粗抗原, 幼蟲體抽出抗原, 분비배설항원 및 정제항원을 이용하여 감염정도가 다른 *Anisakis* 感染家兎의 혈청에 대하여 ELISA 방법으로 감염기간에 따른 항체의 변화를 관찰해 보았으며,

각 항원을 이용하여 SDS-PAGE 및 EITB를 실시하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1) 感染強度에 따른 absorbance 값 비교에 있어서 absorbance 값이 1.000이상인 되는 시기는 WWE 항원에 있어서 A(*Anisakis* 유충 10마리 감염 군), B(40마리 감염 군), C(80마리 감염 군)群 모두가 2주부터 였으며, SOM 항원에서는 A群은 5주에, B, C群은 2주부터 였다. ES 항원에 대해서는 A群은 3주부터, B, C群은 감염 1주부터 였고, HB항원에 대해서는 A群은 1.000미만이었으며 B, C群은 2주부터 였다.

2) 양성치/음성치의 비교 결과 ES 항원이 제일 높았으므로 가장 우수하다고 선택되었으며 나머지 항원간의 값은 차이가 거의 없었다.

3) SDS-PAGE하고 silver stain한 결과 WWE 항원에서는 21개의 항원대가 나타났으며 그중 진하게 착색된 것은 286, 278, 262, 38, 18kd들이었다. SOM 항원에서는 17개의 항원대가 나타났으며 38kd가 강하게 착색되었다. ES 항원에서는 10개의 항원대로서 강하게 착색된 것은 286, 65, 13kd들이었다. HB 항원에서는 20개의 항원대가 나타났으며 강하게 착색된 것은 61, 55, 38, 28, 26, 22, 20, 26, 25 kd들이었다.

4) *Anisakis* 感染家兔 혈청과 반응하는 항원대는 WWE 항원에서 A群은 86kd에서, B, C群은 16kd의 항원대였으며, SOM 항원에서는 특이하게 반응하는 항원대가 없었다. ES 항원에서는 B, C群은 28kd 항원대와 특이하게 반응하였다.

이상의 결과로 보아 *Anisakis* 분비배설항원(ES)을 ELISA법에 유용한 항원으로 간주할 수 있었다.

References

- 1) Cho SY, Chi JG, Kim IS, Min YY, Chun WJ, Son JH and Kim KH : A case of human anisakiasis in Korea. 서울의대학술지 21(2) : 203, 1980
- 2) 정원조 · 오기영 · 전승필 · 강순병 · 정영기 : 급성 위 *Anisakis*증의 임상적고찰. 대한내과학회잡지 26 : 1394, 1983
- 3) Daniels JJHM : De eosinofile flegmone uan het maagdarmkanaal veroorzaakt door de hairing wotm Ned Tijdschr. Geneesk, 106 : 131, 1962
[cited from Barlows, A. et al, eds, Laboratory diagnosis of infectious diseases : Principles and practice, Springer-Verlag NY, USA, 1988, Chapter 79, Anisakiasis by Bier JW].
- 4) Desowitz RS, Raybourne RB, Ishikura H and Klicks MM : Radioallergosorbent test(RAST) for the serodiagnosis of human anisakiasis. Trans Roy Soc Trop Med Hyg 79 : 609, 1985
- 5) 한동선 · 한영빈 · 박동일 · 김세헌 · 김성숙 : 아니사키스증에 대한 임상고찰. 대한의학협회지 31(6) : 645, 1988
- 6) Hong ST and Lee SH : Histopathological and serological observations on experimental anisakiasis of rabbits. Korean J. Parasit 25(2) : 168, 1987
- 7) 許南鎭 · 朱炘煥 · 林漢鍾 : 유구낭미충증의 血清學的 診斷에 있어서 酵素免疫 電氣泳凍bolot법의 효용성에 관한 연구. 高醫大論集 25(1) : 375, 1988
- 8) 朱炘煥 · 姜星鎬 · 李駿商 · 林漢鍾 : 有鉤囊尾虫症 診斷에 있어서 特異抗原帶의 증명에 관한 研究. 高醫大論集 24(3) : 139, 1987
- 9) 金鍾煥 · 鄭奉哲 · 趙商奭 · 金承煥 : *Anisakis* sp. 人體感染 1例 報告. 기생충학잡지 9(1) : 39, 1971
- 10) Kobayashi A, Koyama T, Kumada T, Kumada M, Suguro T, and Koito K : Skin test with somatic antigen and E-S antigens from *Anisakis* larva. Jpn J Parasitol 17 : 407, 1968
- 11) Kuipers FC, van Thiel PH and Roskam RTh : Eosinophil phlegmon of the small intestine due to a worm not normally parasitic in man. Ned T Geneesk 104(9) : 422, 1960(in Deutsch with English abstract)
- 12) Lee A, Kim SJ and Choi KY : A case of human infection with the larva of *Terranova* type A. Korean J Pathol 19(4) : 463, 1985
- 13) 이기호 · 구정태 · 송종환 · 현명수 · 지창준 : 급성 위 *Anisakis*증 : 내시경학적 방사선학적 진단 및 그 치료. 대한내과학회잡지 24 : 1220, 1981
- 14) 任敬一 · 辛皓俊 · 龍泰淳 : 胃 *anisakiasis* 20例의 臨床的 觀察. 대한기생충학회 제31회 학술대회 초록 : 43, 1989
- 15) Merril CR, Goldman D, Sedman SA and Ebert MH : Ultrasensitive stain for protein in polyacrylamide gel shows regional variations in cerebrospinal fluid proteins. Science 221 : 1437-1438, 1981
- 16) Nagase K : Studies on anisakiasis. Acta Sch Med Univ. Gifu 21 : 85, 1973
- 17) Oshima T : *Anisakis* and anisakiasis in Japan and adjacent area. Prog of Med Parasit in Japan 4 : 305,

1972

- 18) 백애란 · 홍성란 · 백인기 · 고일향 · 이 진 · 백인옥 · 백낙원 · 채종일 : 회장에 생긴 *Anisakiasis* 1예 보고, 대한병리학회지 18 : 453, 1984
- 19) Ruitenbergh EJ : *Anisakiasis : Pathogenesis, serodiagnosis and prevention. Thesis University of Utrecht Netherlands 1970*
- 20) Seo BS, Chai JY, Hong ST, Seo JW and Noh SH : A human case infected by the larvae of *Terranova* type A in Korea. 기생충학잡지 22(2) : 248, 1984
- 21) Smith JW and Wooten R : *Anisakis and anisakiasis. Advances in Parasitology* 6 : 93, 1978
- 22) Suzuki T : *Immunodiagnostic studies on anisakiasis, Jpn J. Parasitol* 17 : 213, 1968
- 23) Suzuki T, Sato Y, Yamashita T, Sekikawa H and Otsuru M : *Anisakiasis : Preparation of a stable antigen for indirect fluorescent antibody test. Exp Parasit* 35 : 418, 1974
- 24) Takahashi S, Sato N, Sato T, Takami T : *Monoclonal antibody, Intradermal reaction and Sarles' phenomenon. In Ishikura, H(ed) Gastric anisakiasis in Japan. Springer-Verlag Tokyo, 1989*
- 25) van Thiel PH, Kuipers FC and Roskam RTh : A nematode parasitic to herring, causing acute abdominal syndromes in man. *Trop Geogr Med*, 2 : 97, 1960
- 26) van Thiel PH : *Anisakiasis. Parasitology* 52 : 16, 1962
- 27) Tsang VCW, Peralta JM and Simons AR : *Enzyme-linked immuno-electrotransfer blot techniques (EITB) for studying the specificities of antigens and antibodies separated by electrophoresis. Methods in Enzymol* 92 : 377-391, 1983
- 28) Tsuzi M : *Serological and immunological studies. In Ishikura H(ed) Gastric anisakiasis in Japan. Springer-Verlag Tokyo 1989*
- 29) Yokogawa M and Yoshimura H : *Clinicopathologic studies on larval anisakiasis in Japan. Am J Trop Med Hyg* 16(6) : 723, 1967
- 30) Yoshimura, et al : *Summary of the cases of Anisakis infections during past three years, with special reference to clinico-pathology and immunodiagnoses. Nippon Iji Sinpo* 2837 : 29, 1978
[cited from Akao & Yoshimura H : *Latex agglutination test for immunodiagnosis of gastric anisakiasis. in Ishikura H(eds) Gastric anisakiasis in Japan. Springer-Verlag Tokyo 1989*]
- 31) Yoshimura H, Akao N, Kondo K, Ohnishi Y, Funaoka Y and Yamane K : *Two cases of extraintestinal anisakiasis and evaluation of immunodiagnosis. Clinic Pathol* 28 : 708, 1980