

간흡충 감염 토끼에서 프라지판텔 치료 전후의 특이항체의 간흡충 분비배설항원에 대한 면역반응양상

김석일

조선대학교 의과대학 기생충학교실

국문초록: 간흡충 특이 IgG 항체와 간흡충 분비배설항원간의 면역반응이 간흡충 감염과 치료에 의해 어떻게 변화되고 치료 후 소실되는 것이 있는지 관찰하였다. 간흡충 피낭유충 150, 450개씩 토끼에 감염시키고 감염대조군은 22개월, 프라지판텔 치료군은 감염 4개월에 투약하였으나 완치되지 않아 이후 4½개월에 재투약하여 완치시킨 후 13개월까지 관찰하였다. 간흡충 분비배설항원은 SDS-PAGE에서 114, 102, 94, 80, 66, 63, 61, 59, 54, 52, 50, 47, 45, 42, 40, 38, 34, 33, 30, 27, 25, 23, 20, 19, 18, 17, 16, 12.5, 12, 11.5 kDa 단백질 구성이었다. 이중 항원 단백질은 감염혈청과 치료후 혈청으로 immunoblot할 경우 66, 63(A군), 54-38(B군), 34, 33(C군), 30-23(D군), 20-14(E군), 12, 12.5, 11.5(K군) kDa 단백질이었다. 특히 33, 27, 13, 12.5 kDa 항원은 감염기간 동안 가장 강한 면역반응을 나타낸 항원이었고 피낭유충 감염강도에 의한 차이는 없었다. 또한 투약을 했으나 완치되지 않은 4개월여 동안 면역반응의 변화는 없었다. 치료후 면역반응은 33, 27 kDa 항원의 경우 완치후 13개월까지 지속되었고 치료전과 정도 차이가 없었다. 그러나 13, 12.5 kDa 항원의 면역반응은 완치후 1개월부터 약화되기 시작하여 6개월이면 소멸되는 양상이 뚜렷하였다. 12.5 kDa 항원은 SDS-PAGE상 단백질 함량이 많고 간흡충 감염의 강한 항원이면서 치료 후에는 특이항체와의 면역반응이 치료전에 비해 현저히 감소되므로 간흡충 현증 감염만을 혈청학적으로 진단해 줄 수 있는 항원으로 판단하고 간흡충 'K2-항원'이라 명명하였다.

서 론

간흡충증은 감염률이 가장 높은 기생충 질환으로 전국적으로 만연되어 있다. 1992년 제5차 한국장내 기생충감염현황 조사에서 총란 양성율 2.2%로 약 100만명 이상이 간흡충에 감염되어 있다(보사부·건협, 1992). 1986년 제4차 조사에서의 2.7%, 1981년 제3차 조사에서의 2.6%와 비교하여 간흡충 감염율이 감소했다고 인정할 수 없는 결과이다. 더구나, 1982년 이후 간흡충特效약인 프라지판텔이 전국적으로 보급된 점을 고려하면 간흡충의 관리가 매우 어렵다는 것을 알 수 있다.

간흡충 감염은 환자의 대변에서 특징적 총란을

발견하면 확진이 된다. 또한 피내반응검사가 1950년대에 개발된 후 현재까지 이용되고 있는데, 현증 환자 진단에 민감하지만 과거감염자로서 현재는 간흡충에 감염되어 있지 않은 사람도 양성반응으로 나타나는 큰 결함을 갖고 있다. 그럼에도 불구하고 임상에서 간흡충 진단의 검사항목으로 선택되고 있다 (Chung et al., 1955; Sandun et al., 1959; Walton과 주, 1959; 김동찬 외, 1969; 정호연 외, 1989). 간흡충 피내반응이 폐흡충 감염환자에서 양성으로 나타나는 사실이 Hunter et al.(1958)에 의해 44.7%나 되는 것으로 나타나 정제된 간흡충 항원을 사용하여 피내반응검사의 민감도와 특이도를 높여려는 연구가 시도된 바 있지만(최동익, 1959; Sawada et al., 1964; 안영겸 외, 1975), 폐흡충 감염률이 급격히 저하된 최근 상황에서는 폐흡충과의 교차반응 문제 해결보다는 간흡충 현증감염만을 진단해 줄 수 있는 면역혈청학적 진단방법이 필요하다고 생각된다.

간흡충 감염시 혈청 IgG 항체가 감염 2주부터 지

• 접수 1994년 1월 3일, 수정재접수 1994년 2월 28일

• 이 논문은 1991년도 교육부 지원 한국학술진흥재단의 지방대학육성과제 학술연구 조성비에 의하여 연구되었음.

속적으로 증가됨이 실험 증명되었다(민득영 외, 1980). 치료후 특이 IgE의 변동에 대한 연구는 없다. 현재로서는 간흡충에 대한 특이 IgG를 검출하는 ELISA를 이용하여 혈청학적 진단을 시도하지만(이중근 외, 1981; 양정성 외, 1983), 대변검사만큼 특이하지는 못하다. 그러나 피내반응검사나 ELISA 검사로 간흡충종의 보조적 진단을 실시하는 일이 증가되고 있다. 따라서 간흡충은 그 유병율이 낮아지지 않은 현재 상황에서 현증감염 환자를 간흡충 과거 감염자, 요꼬가와흡충, 기타 장내 기생 흡충류 감염자와 감별할 수 있는 개선된 혈청학적 진단법의 개발이 요구되는 상황이다.

본 연구는 간흡충증 현증환자를 면역혈청학적으로 진단할 수 있는 검사법을 개발하기 위한 기초적 연구로서 간흡충 감염시 조항원 구성 항원중 어느 항원이 감염 혈청의 특이 항체와 어떤 양상으로 면역반응을 일으키는지, 이 특이 면역반응이 약물 치료 후에 어떻게 변화하는지를 관찰하여 치료후에 특이 면역반응이 소멸되는 간흡충 항원을 찾는 데 목적이 있다.

재료 및 방법

1. 간흡충의 피낭유충 분리

간흡충 고도 유행지인 김해의 낙동강 유입천에 서식하는 간흡충 피낭유충에 자연 감염된 참붕어(*Pseudorasbora parva*)를 채집하였다. 참붕어의 근육 속에 들어있는 피낭유충(metacercaria)을 인공 소화방법으로 해부현미경하에서 분리하였다.

2. 실험 감염

간흡충 피낭유충을 토끼 8마리에 실험 감염시켰다. 피낭유충 150개씩 3마리, 450개씩 5마리에 감염시키고 450개 감염 1마리는 총체 회수용으로, 150개 감염 1마리(토끼번호 Rb150-13)와 450개 감염 1마리(Rb450-5)는 감염대조군으로, 150개 감염 2마리(Rb150-11, 12)와 450개 감염 3마리(Rb450-15, 16, 17)는 치료군으로 사용하였다.

3. 간흡충 분비배설항원 제작

감염 8개월의 간흡충 성충 총체를 회수하여 생리 식염수에 3회 수세한 후 활발히 움직이는 총체 100마리를 20 ml 생리식염수에 옮겨 넣고 36°C 항온기에서 18시간 배양하였다. 간흡충 성충 배양액을 수거하여 3,000 g, 30분간 원심하여 총란 등을 가라앉히고 상청액을 회수하여 간흡충 분비배설항원으로 사용하였다. 단백질 함량은 0.25 mg/ml이었다.

4. 약물 치료

간흡충에 감염된 토끼를 감염 4개월에 프라지판

텔(디스토시드, 신풍제약) 40 mg/kg을 1회용법으로 경구투여하여 1차 치료하였다. 치료후 대변검사에서 총란이 계속 양성이어서 1차 치료 후 4½개월에 다시 프라지판텔 50 mg/kg을 1일 2회 2일간 경구투여하여 완치되었음을 확인하였다.

5. 간흡충 감염혈청 및 치료후 혈청 수집

프라지판텔 치료군은 감염전(0), 감염후 1, 2, 2½, 3, 4개월, 1차 치료후 1, 4개월, 2차 치료후 ½, 1, 3, 4, 5, 6, 12, 13개월에 혈액을 채취하고 혈청을 분리하여 -40°C에 보관하였다. 감염대조군은 감염전(0), 감염후 1, 2, 2½, 3, 8, 9, 10, 12, 13, 22개월에 각각 채혈하고 혈청을 분리하였다.

6. SDS-PAGE 전기영동

SDS-PAGE는 Laemmli(1970)의 방법으로 실시하였다. 전기영동장치는 Protean II Slab Cell, 16 × 16 cm(Bio-Rad, USA)을 사용하였다. 4.0% stacking gel과 10-15% linear gradient의 separating gel(14 cm × 13 cm × 1.5 mm)이었다. SDS/sample buffer에 100°C 4분 처리하여 환원시킨 간흡충 분비배설항원 750 µl(단백질 함량 0.18 mg)를 8 mA로 실온에서 21시간 전기영동시켰다. 구성단백질은 silver staining kit(Bio-Rad, USA)를 사용하여 염색하였다. SDS-PAGE 표준단백질인 marker proteins(Sigma, USA)를 사용하여 분자량을 측정하였다.

7. SDS-PAGE/Immunoblot

간흡충에 감염시 형성된 특이 IgG 항체가 감염 및 치료후에 간흡충 분비배설조항원의 어느 항원과 어떤 면역반응을 나타내는지 western-blot(Tsang et al., 1983) 방법으로 관찰하였다. Trans-Blot Cell(Bio-Rad, USA)을 이용하여 transfer buffer(25 mM Tris, 192 mM glycine, 20%(v/v) methanol) 내에서 4°C에서 100V로 2시간 전기영동하여 단백질을 SDS-PAGE gel로부터 nitrocellulose(NC)(Sigma, USA)로 이적하였다. NC는 3% bovine serum albumin/Tris buffered saline(BSA/TBS)으로 실온에서 1시간 blocking하였다. 토끼 혈청은 1:100으로 0.5% BSA/TBS에 희석하여 실온에서 18시간 반응시켰다. Peroxidase-conjugated anti-rabbit IgG, blotting grade(Bio-Rad, USA)를 1:2,000으로 희석하여 실온에서 2시간 반응시켰다. 발색반응은 0.05% 3,3'-diaminobenzidine(Bio-Rad, USA)을 기질로 사용하여 실온에서 8분 동안 실시하였다.

결 과

1. 간흡충 분비배설항원의 구성 단백질

Fig. 1에서 보는 바와 같이, 간흡충 분비배설항원 (CsE)의 SDS-PAGE에 의한 구성 단백질은 약 30개가 관찰되었다. 각각의 분자량은 114, 102, 94, 80, 66, 63, 61, 59, 54, 52, 50, 47, 45, 42, 40, 38, 34, 33, 30, 27, 25, 23, 20, 19, 18, 17, 16, 12.5, 12, 11.5 kDa으로 측정되었다. 이중 63, 59, 27, 16, 12.5, 12, 11.5 kDa 단백질이 주 단백질이었다. SDS-PAGE한 gel에서 NC로 단백질 이적하여 0.1% amido black 10B로 염색한 결과 구성 단백질은 약 7개로 관찰되었고 38, 33, 27, 16, 12.5, 12, 11.5 kDa 단백질이었다.

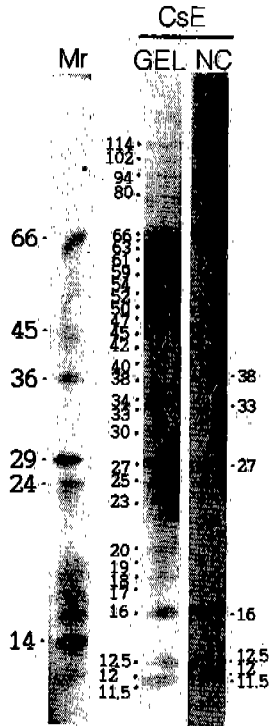


Fig. 1. Electrophoretic pattern of component proteins of excretory-secretory antigen of *Clonorchis sinensis* (CsE). SDS-PAGE was conducted in 10-15% linear gradient gel (GEL). Each band was detected by silver staining. Proteins of CsE were electrophoretically transferred from gel to nitrocellulose (NC), and stained by 0.1% amido black 10B. Mr means standard marker proteins, numerals represent molecular masses in kDa.

2. 간흡충 분비배설항원의 항원 단백질

Fig. 2에서 보는 바와 같이, 간흡충 감염과 치료 후에 형성된 특이 IgG 항체와 면역반응을 나타내는 항원 단백질은 약 26개로 관찰되었다. 각각의 분자

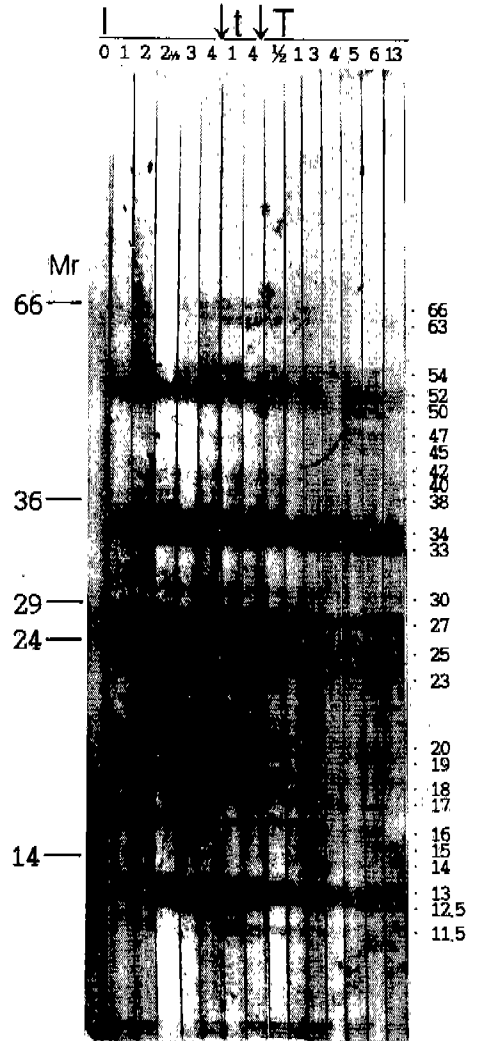


Fig. 2. SDS-PAGE/immunoblot patterns in immune reactions of anti-*Clonorchis* rabbit IgG antibodies to excretory-secretory antigens of *C. sinensis* during infection and posttreatment. I means experimental infection of 450 metacercariae, t & T were the indication of the first & the second medication of praziquantel. As the first medication failed, the second treatment was needed. Beneath these markings, numerals represent months after infection, the first, and the second treatment. Mr indicates standard markers.

량은 66, 63, 54, 52, 50, 47, 45, 42, 40, 38, 34, 33, 30, 27, 25, 23, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12.5, 11.5 kDa이었다. 이 중 immunoblot의 면역 염색이 강하게 나타난 주 항원은 34, 33, 27, 13, 12.5 kDa 단백질이었다.

3. 간흡충 감염기간의 항원-항체 면역반응

프라지판텔 치료군에서 1차 치료 전까지 감염 4개월 동안 형성된 특이 IgG 항체는 주로 66, 63, 52, 50, 34, 33, 27, 25, 13, 12.5 kDa 항원에 면역반응을 나타냈고, 450, 150개 피낭유충 감염수에 따른 면역반응양상의 차이는 없었으며, 또한 불충분한 용량의 프라지판텔 치료 후 4개월여 동안에도 면역반응양상의 변화는 없었다(Fig. 3(1), (2)). 이들 면역반응은 6개월 이상 간흡충 감염을 유지하여 감염 22개월까지 관찰한 감염대조군에서는 33, 27, 12.5 kDa 항원에 대한 강한 면역반응으로 압축되었다(Fig. 3(3)).

4. 간흡충 치료후의 항원-항체 면역반응

Fig. 3(1), (2)에서 보는 바와 같이, 프라지판텔 치료군에서 관찰되는 면역반응은 항원 단백질의 분자량에 따라 A, B, C, D, E, K 군으로 구분하였다. A군 66, 63 kDa 항원에 대한 면역반응은 치료 전후를 통해 미약하게 나타났고 2차 투약 완료 후 소실되었다. B군 항원의 면역반응은 프라지판텔 투약 후 관찰되며 이후 약화되는 양상으로 치료군 토끼 5마리 중 2마리(Rb450-16, Rb150-12)에서 관찰되었다. C군의 34, 33 kDa 항원에 대한 면역반응은 2차 치료후 관찰한 13개월까지 지속적으로 관찰되었다. D군의 27 kDa 항원도 치료후 13개월까지 지속되는 면역반응을 나타냈다. 25 kDa 항원은 conjugate에 의해 비특이적 반응을 나타냈다. E군의 7개 항원의 면역반응은 감염 및 치료후 관찰기간 동안 지속적이지만 미약하게 관찰되었고, 이 중 15, 14 kDa 항원은 conjugate에 의한 비특이적 반응이었다. K군 13, 12.5 kDa 항원의 면역반응은 프라지판텔 2차 치료 후 1개월부터 급격히 또는 점차 약화되어 완치후 6개월이면 치료전 감염기간의 면역반응과 비교할 때 소멸되고 있었다. 특히, 12.5 kDa 항원은 감염대조군에서 관찰기간 22개월 동안 지속적인 강한 면역반응을 나타낸 반면, 치료군에서는 투약 완치후 특이 면역반응이 소실되는

양상이 뚜렷하였다.

고 찰

간흡충 총체 분비물의 SDS-PAGE 양상은 이미 보고되었다(최원영 외, 1981). 본 실험의 분비배설항원과 제작과정이 일치해서인지 서로 SDS-PAGE 양상이 거의 비슷하다고 판단된다. 그러나 구성 단백질 각각의 분자량이 일치하지 않는데, 특히 전체 분비물 단백질의 약 반을 차지한다고 한 가장 분자량이 작은 17.5, 16.3, 15.1 kDa 단백질은 본 실험의 분비배설항원 16, 12.5, 11.5 kDa 단백질과 같다고 생각한다.

간흡충 성충의 생리식염수 추출액은 분자량 11-80 kDa 사이에 약 35개 성분 단백질이 구성되어 있다고 알려졌다(이옥란 외, 1988). 본 실험의 분비배설항원의 구성 단백질 조성과 비교하면 매우 일치하는 결과이고 구성 단백질 분자량도 서로 같거나 비슷하게 측정되었다. 따라서 간흡충 성충 총체를 구성하는 단백질이 분비배설항원에도 존재하는 이유는 살아있는 총체를 인공배양하는 과정에서 이들 단백질 성분이 총체로부터 유리되어 나온 때문일 것이다.

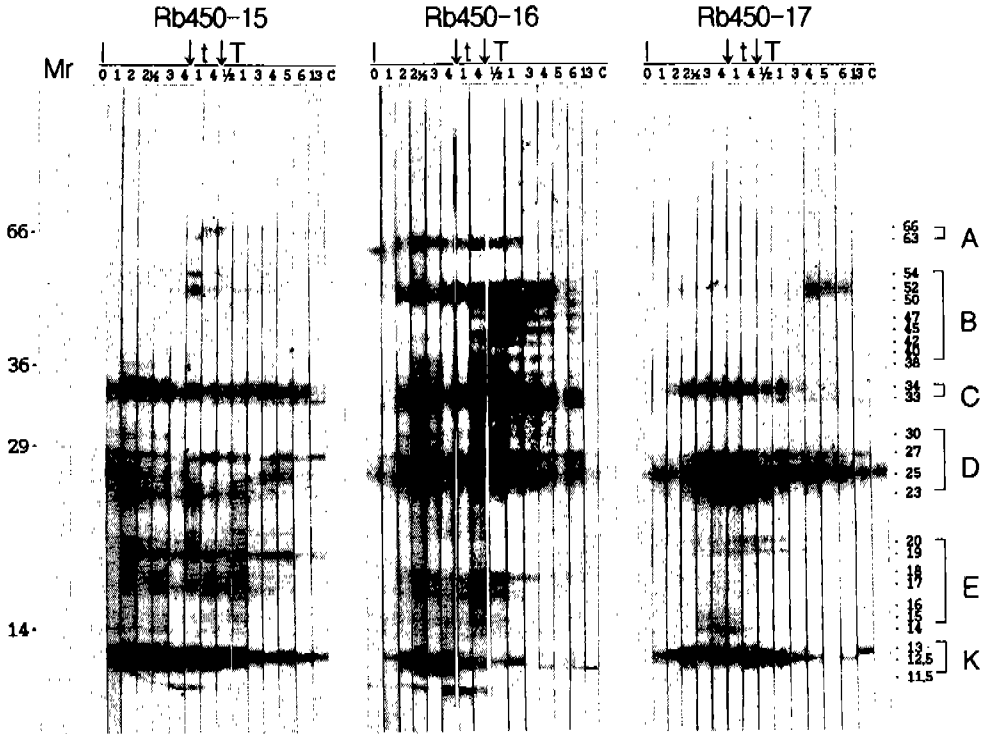
간흡충 총란항원의 구성단백질은 33-35개로 알려졌다(이옥란 외, 1988), 본 실험의 분비배설항원의 구성 단백질과 분자량이 근접 또는 일치하고 있다. 예를 들면, 총란항원의 주 단백질인 38.5 kDa 단백질이 본실험에서도 같은 분자량 38 kDa으로 관찰되는데, 특히 NC로 이적했을 때는 주 단백질로 관찰된다. 분비배설항원을 제조하는 과정에서 총란이 총체로부터 산란되므로 총란 단백질이 분비배설항원에 포함될 것으로 생각된다.

간흡충 조항원에 대한 4가지 단세포균항체를 제작하여 동일 항원에 대해 SDS-PAGE/immunoblot을 실시한 결과, 34 kDa과 10 kDa 단백질이 단세포균항체와 반응하는 특이 항원으로 밝혀졌다(Yong et al., 1991). 분자량만으로 판단할 때, 이 두 항원은 각각 본실험의 분비배설항원의 주항원인 34, 33 kDa 항원과 12.5 kDa 항원인 것으로 생각된다. 두가지 특이항원에 대한 단세포균 항체를 간접형광 항체법에 사용하여 항원 생성 위치가 34 kDa 항원은 실질조직과 장관, 10 kDa 항원은 총체 표면과 실질조직으로 나타난 결과와 연계하면, 분비배설항

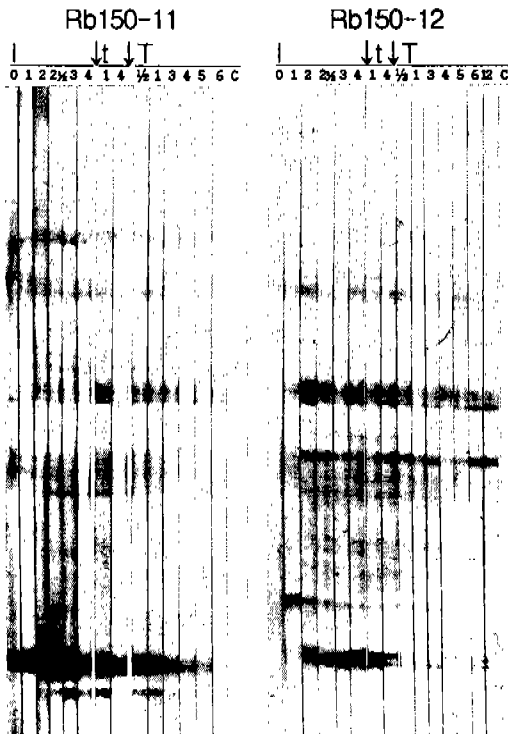


Fig. 3. Immune reactions between excretory-secretory antigens and specific IgG antibodies of *C. sinensis* before and after praziquantel treatment in experimentally infected rabbits. (1) 450 metacercariae-infected and treated, (2) 150 metacercariae-infected and treated, and (3) 450 or 150 metacercariae-infected and untreated rabbits were compared in their immune reactions according to SDS-PAGE/immunoblot. In the treated rabbits, 26 antigens were detected and grouped into A, B, C, D, E, and K. In untreated group, the most predominant antigens were 33, 27, and 12.5-kDa antigens. After the praziquantel treatment, 12.5-kDa antigen was faintly detected on the 6th month after the second treatment, while 33 and 37-kDa antigens were observed until 13 months after the second treatment.

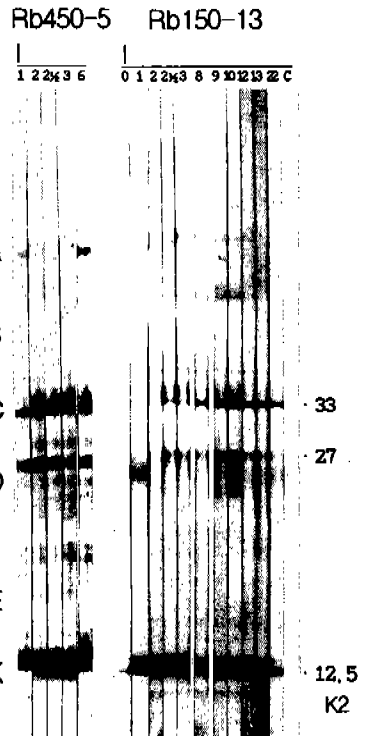
(1) 450 metacercariae-infected & Treated



(2) 150 metacercariae-infected & Treated



(3) Untreated



원중 34, 33 kDa 단백질은 장관에서 배설된 것이고, 12.5 kDa은 총체 피코로부터 분비된 것으로 추정할 수 있겠지만 총체 기원에 대해서는 추후 더 연구되어야 할 것이다.

민득영 외(1980)는 편취에 간흡충을 감염시키고, 감염후 IgE의 증가가 감염 2주부터 상승하여 4주에 최고치에 이르고 이후 관찰기간인 6주까지는 약간 내림세를 보이는 것을 관찰하였다. 아울러 간흡충 성충 수용성 항원의 14.4 kDa 또는 그 이하의 단백질이 즉시형 과민반응, 즉 피내반응검사의 allergen으로 관여한다고 하였다. 본 실험에서는 분비배설항원에 대한 특이 IgG 항체의 치료후 경과를 관찰한 것이지만, 항원자극에 대한 숙주 체내의 특이 항체 생성은 IgE나 IgG가 다같이 생성되므로 이 allergen은 분비배설항원의 13, 12.5 kDa 단백질 항원일 가능성이 높고 이 두 항원이 간흡충 피내반응검사의 면역반응을 유발하는 allergen 중의 하나로 추정되나 추후 확인하여야 할 것이다.

이순형 외(1987)는 토끼를 실험동물로 프라지판텔 치료 전후의 간흡충에 의한 간병변의 변화양상을 관찰한 바, 감염 4주 이후에 치료하면 담관주위 섬유화 등의 병변이 치료후에도 오래도록 잔존하는 것을 관찰하였다. 간흡충 치료후 피내반응검사 양성반응이 몇년씩 지속되는 현상이 간내 잔존 병변과 관련있을 지도 모른다. 즉, 치료후 오래도록 피내반응과 관련된 항체 생산을 자극하는 원인일 수 있다고 생각된다. 그러나 간흡충 감염을 프라지판텔로 치료하면 투약후 9주와 28주 사이에 특이 IgG 항체가 유의하게 감소하는 점으로 보면 (Hong, 1988), 왜 간흡충을 치료한 사람중에 치유수년 뒤에 피내반응검사서 양성으로 나타나는지 알 수 없다. 본 실험에서 간흡충 감염을 완치시키고 13개월까지 특이 IgG 항체의 분비배설항원에 대한 면역반응을 관찰한 결과, C군 34, 33 kDa과 D군 27 kDa 항원에 대한 면역반응이 간흡충 완치후에도 지속되고 있는 것으로 나타났다. 더 장기간의 추적을 해야 확실한 결론을 내릴 수 있겠지만, 피내반응검사용 항원이 조항원이므로 이 33 kDa 또는 27 kDa 항원 단백질이 피내반응검사 항원에 포함되어 있어 간흡충 치료후에도 장기간 피내반응검사에 위양성으로 나타날 수 있을 것으로 추정된다. 33, 27, 12.5 kDa 항원은 그 면역반응이 감염대조군에서 약 2년까지 강하게 지속되는 것으로 보아 간흡충 감염 환자가 피내반응검사나 ELISA 등의 면역혈청학적 검사에서 양성반응으로 나타나게 하는 면역학적 원인 항원으로 생각된다. 간흡충 총체의 부위별 항원성에 대한 면역조직화학적 연구결과에서도 (Kim et al., 1991), 간흡충 감염시 숙주의 항체 생성은 총체의 소화·분비기관에서 가장 강력하게 유발되었다. 따라서, 분비배설항원의 면역 항원성이 높은 것은 아마도 이들 항원 단백질의 강한

항원성에 기인할 것으로 생각된다.

피낭유충 450개 감염군과 150개 감염군의 감염 및 치료후 면역반응양상은 아무런 차이가 없는 것으로 나타났는데, 실험감염 토끼에서 특이 IgG 항체가 총체 회수율과 상관이 없었던 이옥란 외 (1988)의 결과와 일치하고 있다. 즉, 간흡충의 체액성 면역반응은 감염강도와 반드시 비례하는 것이 아님이 명확하다. 또한, 약용량이 적어 완치되지 않았을 때는 면역반응이 지속적으로 나타나지만 완치되면 반응 정도가 미약해 지는 점은 면역혈청학적 검사가 투약후 치유판정에 응용될 수 있음을 보여주는 결과이다.

간흡충 감염기간에 형성되었던 체액성 면역반응이 치료후 더이상 항원 자극이 없는 상황에서 비교적 단시일 내에 소실된다면 이론적으로 간흡충 과거 감염자와 현증감염자를 면역혈청학적 진단법으로 감별해 줄 수 있을 것이다. 본 실험에서 간흡충 분비배설항원의 K군 항원인 13, 12.5, 11.5 kDa 항원은 프라지판텔 치료후 6개월이면 감염기간에 비해 그 면역반응 정도가 현저히 감소되므로 위의 목적에 합당한 항원으로 생각한다. 13 kDa 항원은 SDS-PAGE 상에서 뚜렷하게 관찰되지 않아 추후 정량적으로 정제하기에 어려움이 있고, 11.5 kDa 항원은 감염대조군에서와 같은 양상이기 때문에 치유후에 소멸하는 면역반응이라 생각할 수 없으므로 이 두 항원은 부적합하다고 판단하였다. 반면, 12.5 kDa 항원은 SDS-PAGE 상에서 주단백질로 관찰되어 정량하기에 유리하고, 감염기간 동안 강한 체액성 면역반응을 일으키며, 치유후에는 면역반응이 약화 또는 소실되는 양상이 뚜렷하므로 현증감염을 과거감염과 구별해 줄 수 있는 적합한 항원이라 결론짓고 간흡충 'K2-항원(K2-Ag)'이라 명명하였다. K2-항원에 대한 정제 및 항원 특성 관찰, 총체의 어느 부위에서 기원하는지, 정제된 K2-항원을 사용하여 간흡충 감염 현증환자를 혈청학적으로 감별진단해 줄 수 있는지, 피내반응검사용 항원으로 제작하여 피내반응검사를 실시하여 간흡충 위양성 반응을 줄일 수 있을지에 대한 추후 연구가 계속되어야 할 것이다. 간흡충 감염 환자를 치료하고 추적하여 K2-항원의 인체 면역반응양상을 관찰하여야 할 것이다. K2-항원의 면역반응에 대한 치유후 1년 이상의 장기적 관찰을 통하여 K2-항원의 역할을 확인할 필요가 있으며, 아울러 간흡충 총체 조항원에 대해서도 치료 전후의 면역반응양상을 검토하여 분비배설항원과 어떤 차이가 있는지 비교해야 할 것이다. 또한 Hong(1993)이 간흡충 tropomyosin의 DNA cloning에 성공하였으므로, 앞으로 K2-항원에 대한 분자생물학적 연구도 필히 시행되어야 할 것으로 생각된다.

참고문헌

- 김동찬, 이은영, 성우영 (1969) 폐 및 간디스토마 진단용 항원의 검정법 개량연구 1. 페디스토마 진단용 항원의 역가 및 동정을 위한 면역반응시험. 국립보건원보 **6**: 291-308.
- 민득영, 소진탁, Capron A. (1980) 간흡충 감염 배서의 혈청내 IgE의 변동 및 Allergen의 분리에 관한 연구. 연세의대논문집 **13**(2): 94-106.
- 보건사회부, 한국건강관리협회 (1992) 제5차 한국장내기생충감염현황.
- 안영겸, 소진탁 (1975) 간흡충 VBS 항원 및 KST 항원의 민감성과 특이성에 관한 비교조사. 최신의학 **18**(9): 1195-1201.
- 양정성, 이준상, 임한중 (1983) 간흡충증 진단에 있어서 ELISA법의 응용에 관한 연구. 고려의대논문집 **20**(1): 201-209.
- 이중근, 민득영, 임경일, 이근태, 소진탁 (1981) 간흡충 감염 진단을 위한 ELISA법의 효용성에 관한 연구. 연세의대논문집 **14**(1): 133-147.
- 이옥란, 정평림, 남해선 (1988) 간흡충 감염 가토의 면역진단에 대한 연구 2. 성충 조항원의 정제 및 발육단계별 항원 분석. 기생충학잡지 **26**(2): 73-86.
- 정호연, 이석훈, 김병호, 이정열, 장영운, 장린 (1989) 간흡충증의 진단에 있어서 초음파 검사의 유효성. 대한내과학회잡지 **37**(4): 507-510.
- Walton BC, 주일 (1959) 전국의 간 및 페디스토마 분포. 종합의학 **4**(9): 103-109.
- 최동익 (1959) 간디스토마증의 피부반응의 혈청학적 반응에 대한 연구. 대구의학잡지 **2**(1): 98-111.
- 최원영, 진영관, 이옥란, 김운규 (1981) 간디스토마의 발육단계별 단백질성의 분석. 기생충학잡지 **19**(1): 8-17.
- Chung HS, Weng HC, Ho LY (1955) The value of complement fixation test in the diagnosis of paragonimiasis. *Chinese Med J* **73**: 47-54.
- Hong SJ (1993) *Clonorchis sinensis* tropomyosin: Cloning and sequence of partial cDNA amplified by PCR. *Korean J Parasit* **31**(3): 285-292.
- Hong ST (1988) Changes of anti-*Clonorchis sinensis* IgG antibody in serum after praziquantel treatment in human clonorchiasis. *Korean J Parasit* **16**(1): 1-8.
- Hunter GW, Ritchie LS, Pan C, Lin S, Sugiura S, Nagano K, Yokogawa M (1958) Immunological studies. II. Intradermal tests and their application in the field for the detection of schistosomiasis japonica, paragonimiasis and clonorchiasis. *Military Med*, **122**: 85-96.
- Kim J, Chai JY, Kho WG, Cho KH, Lee SH (1991) Immunohistochemical study on the antigenicity of each organ structure of *Clonorchis sinensis*. *Korean J Parasit* **29**(1): 21-29.
- Laemmlli UK (1970) Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* **227**: 681-685.
- Lee SH, Hong ST, Kim CS, Sohn WM, Chai JY, Lee YS (1987) Histopathological changes of the liver after praziquantel treatment in *Clonorchis sinensis* infected rabbits. *Korean J Parasit* **25**(2): 110-122.
- Sadun EH, Buck AA, Lee BK, Moon CH, Burke JC (1959) Epidemiologic studies for paragonimiasis and clonorchiasis by the use of intradermal tests. *Am J Hyg* **69**: 68-77.
- Sawada T, Nagata Y, Takei K, Sato S (1964) Studies on the substance responsible for the skin tests on clonorchiasis. *Japan J Exp Med*, **34**(6): 315-322.
- Tsang VCW, Peralta JM, Simons AR (1983) Enzyme-linked immunoelectrotransfer blot techniques (EITB) for studying the specificities of antigens and antibodies separated by gel electrophoresis. *Methods Enzymol* **92**(Part E): 377-391.
- Yong TS, Im KI, Chung PR (1991) Analysis of *Clonorchis sinensis* antigens and diagnosis of clonorchiasis using monoclonal antibodies. *Korean J Parasit* **29**(3): 293-309.

=Abstract=

Immune reactions between excretory-secretory antigens and specific antibodies of *Clonorchis sinensis* before and after praziquantel treatment in experimentally infected rabbits

Suk-Il Kim

Department of Parasitology, Chosun University Medical College, Kwangju 501-759, Korea

This study was designed to evaluate the humoral immune reactions in clonorchiasis before and after praziquantel treatment. Rabbits were infected with 150 or 450 metacercariae, treated on 4 and 8½ months after infection, and observed for 13 months of posttreatment. Infection controls were maintained for 22 months. Antigen was the metabolic product of worms incubated in physiologic saline. The immune reactions of anti-*Clonorchis* IgG were observed using SDS-PAGE/immunoblot. During the infection and posttreatment, the antigenic proteins of 66, 63, 54, 52, 50, 47, 42, 40, 38, 34, 33, 30, 27, 25, 23, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12.5 and 11.5 kDa were detected. Of them, 33, 27, 13, and 12.5-kDa antigens were highly antigenic and observed predominantly in infection controls. After the treatment, 13 and 12.5-kDa antigens faded in 6 months after the second treatment, but 33 and 27-kDa antigens were detected until 13 months of posttreatment. The results clearly demonstrate that 13 and 12.5-kDa antigens represent attenuated host immune reactions by praziquantel treatment. As the 12.5-kDa antigen had a large amount of protein in SDS-PAGE, it was designated as 'K2-Ag' of *C. sinensis*.

Key words: *Clonorchis sinensis*, excretory-secretory antigen, praziquantel treatment, SDS-PAGE/immunoblot.

[Korean J. Parasit., 32(1): 35-42, March 1994]