

## 폐흡충 항원 및 Phytohemagglutinin에 의한 마우스 비장 림프구의 아세포화(Blastogenesis)반응

한양대학교 의과대학 기생충학교실

민 득 영 · 신 명 현 · 최 령

**요약** : 폐흡충(*Paragonimus westermani*) 피낭유충을 마우스에 감염시킨 후 *in vitro*상에서 비장 림프구에 폐흡충 항원, phytohemagglutinin(PHA) 및 혈청 첨가시 림프구 아세포화 반응을 관찰하였다. PHA로 자극시킨 감염 마우스의 비장 림프구는 비감염군에 비해 감염 1 주 후에 평균 53.6%의 유의한 증식 억제를 관찰하였고, 폐흡충 성충항원으로 자극시킨 경우 감염 마우스의 비장 림프구의 증식은 감염 1 주 후부터 6 주까지 비감염군에 비해 증가되었으며 특히 감염 1 주와 4 주 후에는 각각 평균 200.9% 및 280.2%의 유의한 수준으로 증가되었다. 또한 피낭유충 항원으로 감염 마우스의 비장 림프구를 자극시에도 비감염군의 림프구의 증식에 비해 전반적으로 증가되었으며 특히 감염 4 주째에는 평균 180.5%의 유의한 수준으로 증가하였다. 폐흡충에 감염된 마우스의 감염 4 주째 혈청을 PHA로 자극시킨 비감염 마우스 비장 림프구에 첨가하였을 때 유의한 수준의 증식의 억제 반응을 관찰하였다. 이러한 결과들로 보아 폐흡충 감염 마우스에서 림프구가 세포 매개성 면역에 관여하며 감염 혈청이 PHA에 대한 T 림프구의 증식을 억제함을 알 수 있었다.

**Key words**: *Paragonimus westermani*, mouse splenic lymphocyte, blastogenesis, mitogen

### 서 론

기생충 감염시 감염숙주 체내에서는 세포 매개성 면역와 체액성 면역가 함께 일어나 기생충을 살멸시킨다(Roitt *et al.*, 1989). 유충들은 감염숙주 체내에서 여러 단계의 발육을 거쳐 주 기생장소에 도달하게 되며 이때 기생충의 발육단계에 따라 항원성이 변하므로 종체에서 분비하는 항원은 림프구, 대식세포 그리고 과립구들의 활성화를 가져와 조직의 염증반응을 조절하는 것으로 알려져 있다(Lightowers and Rickard, 1988).

関 등(1980)과 Yong *et al.*(1987)은 간흡충과 폐흡충을 동물에 감염시켰을때 혈청 내 IgE 및 IgG 항체가 증가됨을 관찰하여 체액성 면역반응이 관여함을 보고하였다. Colley(1971) 그리고 安 및 Colley(1984)는 만손주혈흡충에 감염된 실험동물에서 *in vitro*상에서 기생충 항원으로 자극시 림프구 아세포화(blastogenesis) 반응과 지연형 과민반응이 유발됨을 관찰하였다. Oldham and Williams(1985)는 간질 감염시 interleukin-2(IL-2)의 증가를 관찰하여 세포 매개성 면역반응이 관여함을 보고한 바 있다. 민 등(1990)은 *in vitro*상에서 폐흡충 피낭유충에 대한 대식세포의 세포독성으로 항체 의존성 세포 매개성 면역반응이 기생충을 살멸시키는 데 관여함을 보고한 바 있다. 그러나 아직

까지는 폐흡충 감염시 세포 매개성 면역반응에 대한 기전이 충분히 밝혀지지 않은 상태이다.

이 실험에서는 폐흡충 피낭유충을 마우스에 감염시킨 후 *in vitro* 상에서 폐흡충 특이 항원, PHA 및 감염 혈청에 대한 비장 림프구 아세포화 반응을 관찰하여 세포 매개성 면역반응을 관찰하고자 하였다.

### 재료 및 방법

#### 1. 폐흡충 피낭유충의 수집

폐흡충 피낭유충은 만연지역으로 알려진 전라남도 완도군 보길도에서 폐흡충의 제 2 중간숙주인 참가재(*Cambaroides similis*)를 수집하고 유발에서 마쇄한 후 인공소화액(pepsin 0.2 g, 농염산 0.7 ml, 증류수 99.3 ml)에 처리하여 피낭유충(metacercaria)을 얻었다.

#### 2. 실험동물 및 감염방법

실험동물로는 본 교실에서 사육하고 있는 8~12 주된 자성 BALB/c 마우스를 사용하였으며 폐흡충 피낭유충을 각 마리당 40 개씩 경구 감염시켰다. 같은 주령의 BALB/c 마우스를 대조군으로 삼았다.

#### 3. 유사분열물질(mitogen)

1) 폐흡충 피낭유충 항원 : 피낭유충을 phosphate buffered saline(PBS, pH 7.4)으로 3 회 세척한 후 소량의 PBS와 함께 약절구에 넣어 -70°C에서 동결시킨 후 동결상태에서 마쇄하고, 용해시킨 후 재동결하는

동결-용해방법을 사용하였다. 하루에 4~5 회씩 2 일 간 마쇄한 후 ultrasonicator(Lab line, Illinois)로 5~10 초간 처리하고 4°C에서 30 분간 10,000 rpm으로 원심침전시킨 후 상청액(supernatant)을 4°C에서 증류수 내에서 24 시간 투석하고 이를 완전히 냉동건조시켰다. Dulbeccos's Modification of Eagle's Medium (DMEM) (Flow Lab., Scotland), 10% 우태아혈청 (fetal calf serum: FCS) 배지에 적정농도로 희석하여 -70°C에서 보관하면서 항원으로 사용하였다.

2) 폐흡충 성충 항원 : 폐흡충 피낭유충을 고양이에게 경구감염시킨 후 감염 3 개월 후에 회생시켜 폐장으로부터 성충을 얻고 피낭유충 항원과 같은 방법으로 제조하였다.

3) T 림프구의 유사분열물질 : Phytohemagglutinin (PHA) (CSL, Australia)을 DMEM(10% FCS 함유) 배지에 2 mg/ml로 녹여 적정 농도로 분주한 후 -70°C에서 보관하면서 사용하였다.

#### 4. 마우스 비장 림프구의 아세포화

1) 비장 림프구 분리 및 세포배양 : 마우스를 희생시킨 뒤 비장을 적출하여 DMEM배지가 5 ml 담긴 세포배양접시(Costar, Cambridge)에 옮겨 잘게 부순 후 1 ml 주사기로 15 회 정도 pumping하여 세포부유액을 만들었다. 세포부유액을 원심시킨 후 침사(pellet)에 0.17 M Tris-NH<sub>4</sub>Cl(pH 7.2)을 첨가하여 실온에서 2 분 정도 방치하여 적혈구를 용혈시킨 후 10% FCS을 함유한 DMEM 배지로 2 회 세척한 후 세포부유액을 만들었다. 세포수는 trypan blue 염색을 하여 계산하였고 이때의 세포 생존능(viability)은 95% 이상이였다. 세포 배양을 위한 기본 배양액으로 DMEM 배지에 10% FCS(HyClone, Utah), 100 U/ml penicillin, 100 µg/ml streptomycin, 110 mg/l sodium pyruvate, 0.02 mM 2-mercaptoethanol을 포함한 배지를 사용하였다. 세포 배양은 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 항습항온기에서 배양하였다.

2) 비장 림프구의 반응 : 폐흡충 피낭유충을 감염시킨 BALB/c 마우스의 비장 림프구의 증식정도를 알아보기 위해 감염 후 1, 2, 4 및 6 주에 감염군과 비감염군을 각각 3 마리씩 희생시켜 비장 림프구를 분리한 후 세포수를 4×10<sup>6</sup>/ml 되게 조정하여 U-bottom 96 well polystyrene plate(Nunc., Denmark)에 100 µl씩 분주한 뒤 PHA, 폐흡충 피낭유충 및 성충항원을 well당 각각 10 µg/ml, 200 µg/ml, 150 µg/ml씩 첨가하였다. 이 plate를 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 항습항온기에서 42 시간 배양 후 [methyl-<sup>3</sup>H] thymidine(specific activity: 2 Ci/mM, Amersham, England)을 well당 1 µCi씩 넣고 6 시간 배양한 후 세포수확기(Skatron, Norway)로 glass filter fiber에 세포를 수확하고 이 여과지를 건조시킨 후 scintillation cocktail(Scinti-A XF, Packard, Illinois) 2 ml을 넣은 scintillation vial에서 각각 용해시켜 β-liquid scintillation counter(Packard, Illinois)

를 사용하여 방사능을 측정하였다. 모든 실험은 3 개의 well에서 시행한 뒤 그 평균치로 산출하였고 자극지수(stimulation index)를 다음과 같은 공식으로 산출하였다.

자극지수 =

$$\frac{\text{실험물질로 처리된 비장 림프구의 방사능(cpm)}}{\text{처리 안 된 비장 림프구의 방사능(cpm)}}$$

Enhancement rate(%) =

$$\frac{\text{감염 비장 림프구의 자극지수}}{\text{비감염 비장 림프구의 자극지수}} \times 100$$

Suppression rate(%) =

$$1 - \frac{\text{감염 비장 림프구의 자극지수}}{\text{비감염 비장 림프구의 자극지수}} \times 100$$

3) 폐흡충 항혈청이 마우스 비장 림프구의 증식에 미치는 영향 : 폐흡충 감염 마우스로부터 분리한 1, 2, 4 주 후의 혈청을 각각 PHA로 자극시킨 것과 자극하지 않은 비감염 마우스의 비장 림프구에 첨가하였다. 비감염 마우스를 3 마리씩 희생시켜 비장 림프구를 분리한 후 세포수를 4×10<sup>6</sup>/ml 되게 조정하여 U-bottom 96 well polystyrene plate에 100 µl씩 분주한 뒤 감염 마우스와 비감염 마우스의 혈청을 1 : 5로 DMEM배지에 희석시킨 후 각 well에 100 µl씩 첨가하였다. 각 plate는 위와 같은 방법으로 배양하고 방사능을 측정하였다. 모든 실험은 3 개의 well에서 시행한 뒤 그 평균치로 산출하였다.

자극지수는 다음과 같은 공식으로 산출하였다.

자극지수 =

$$\frac{\text{혈청 첨가시 비장 림프구의 방사능(cpm)}}{\text{혈청을 첨가하지 않은 비장 림프구의 방사능(cpm)}}$$

Enhancement rate(%) =

$$\frac{\text{감염 혈청 첨가시 비장 림프구의 자극지수}}{\text{비감염 혈청 첨가시 비장 림프구의 자극지수}} \times 100$$

Suppression rate(%) = 1 -

$$\frac{\text{감염 혈청 첨가시 비장 림프구의 자극지수}}{\text{비감염 혈청 첨가시 비장 림프구의 자극지수}} \times 100$$

#### 5. 항 혈청의 분리

혈액채취는 감염시기별(1, 2, 4, 6 주)로 감염군과 비감염군의 마우스의 후안과 정맥총에서 혈액을 채취, 혈청을 분리한 후 Voller *et al.* (1976)의 방법을 약간 수정한 ELISA 법으로 IgG 항체가를 측정하였다. 즉 폐흡충 성충의 체세포 항원 5 µg/ml을 96 well polystyrene microplate의 각 혼에 100 µl씩 넣어 4°C에서 하룻밤 방치 후 혈청은 1 : 800, peroxidase conjugated anti-mouse IgG(Cappel Lab., U.S.A.)는 1 : 1,000으로 희석하여 ELISA방법을 시행하였던 바 감염 4 주 후에 가장 높은 항체가를 보여 감염 4 주 제의 혈청을 항 혈청으로 실험에 사용하였다.

## 실험 성적

### 1. 비장 림프구의 증식반응

PHA로 자극시킨 감염 1 주 후의 마우스 비장 림프구의 자극지수는 1.09로 비감염군의 자극지수 2.35에 비해 유의하게 낮았으며 ( $p < 0.05$ ) 평균 53.6% 수준의 비장 림프구 증식의 억제를 관찰하였다 (Table 1 & Fig. 1). 감염 2 주와 4 주 제에도 비장 림프구의 증식이 억제되었으나 감염 6 주 제에는 비감염군에 비해 상승되었다.

폐흡충 성충 항원으로 자극시킨 감염 마우스의 비장 림프구의 증식은 비감염군에 비해 전반적으로 전 실험 기간동안 증가되었으며 특히 감염 1 주와 4 주 제의 자극지수는 각각 4.44 및 5.52를 보여 비감염군의

2.21 및 1.97에 비해 유의하게 높았으며 ( $p < 0.05$ ), 증가율도 각각 평균 200.9%와 280.2%로 증가되었다 (Table 1, Fig. 1).

폐흡충 피낭유충 항원으로 자극 시에도 비감염군에 비해 감염 마우스의 림프구 증식은 전반적으로 전 실험 기간동안 증가되었으며, 특히 감염 4 주 제의 자극지수는 2.96으로 비감염군의 1.64에 비해 유의하게 높았고 ( $p \leq 0.05$ ) 증가율도 비감염군에 비해 평균 180.5%의 유의한 수준으로 증가하였으나 ( $p \leq 0.05$ ) 감염 6 주 제에는 증가율이 감소되었다 (Table 1 & Fig. 1).

폐흡충에 감염된 마우스의 감염 후 1 주 및 2 주 혈청을 각각 PHA로 자극한 것과 자극하지 않은 비감염 마우스의 림프구에 첨가시 증식의 억제 정도는 비감염 마우스 혈청 첨가시의 억제 정도와 유의한 차이를 보이지 않았으나 감염 후 4 주의 혈청 첨가시 각각 43.4% 및

Table 1. Stimulation index of mouse splenic lymphocytes after treatment with mitogens

Week after infection	**PHA		MA		AWA	
			Mean(SD)			
	***Inf.	Noninf.	Inf.	Noninf.	Inf.	Noninf.
1	*1.09(0.060)	2.35(0.024)	*2.75(0.477)	1.44(0.071)	4.44(0.670)	2.21(0.015)
2	1.14(0.085)	1.57(0.510)	2.75(0.991)	1.76(0.160)	3.95(0.917)	1.99(0.233)
4	0.89(0.005)	1.13(0.328)	*2.96(0.139)	1.64(0.230)	*5.52(0.315)	1.97(0.419)
6	4.12(0.319)	1.92(0.442)	1.55(0.234)	1.35(0.147)	3.32(0.005)	1.65(0.502)

\* Student's test ( $p < 0.05$ )

\*\* PHA=phytohemagglutinin, MA=metacercaria antigen, AWA=adult worm antigen

\*\*\* Inf.: Infected mouse splenocytes

Noninf.: Noninfected mouse splenocytes

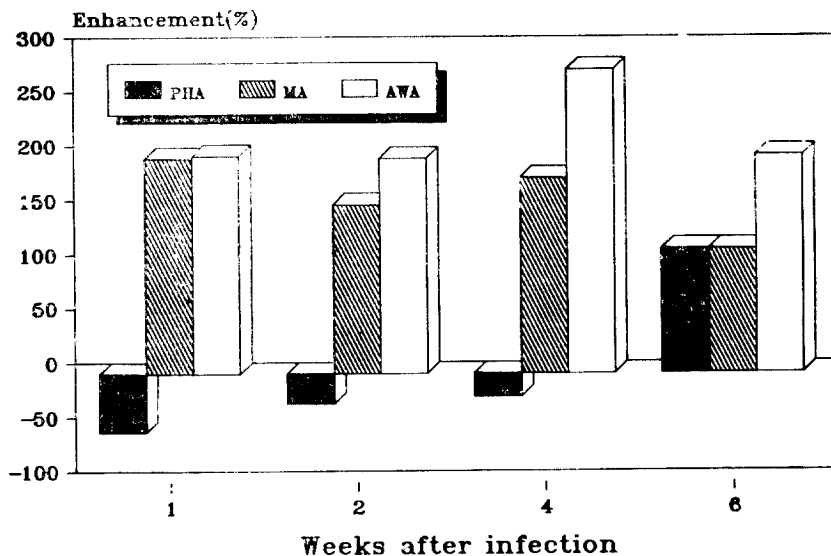


Fig. 1. Enhancement rate of mouse splenocytes after treatment with mitogens (PHA: phytohemagglutinin, MA: metacercarial antigen, AWA: adult worm antigen).

**Table 2.** Suppression rate of noninfected mouse splenic lymphocytes after addition of infected mouse sera

PHA stimulation	Serum collected on(Week)		
	1	2	4
Yes	<sup>a</sup> (-6.2)	8.8	*43.4
No	3.3	9.8	*26.7

\* Student's t test( $p < 0.05$ )

<sup>a</sup>(-) indicates enhancement of the response.

26.7%로 유의한 억제를 관찰하였다( $p < 0.05$ , Table 2).

## 고 찰

이 실험에서 폐흡충을 감염시킨 마우스의 비장 림프구를 T 림프구 mitogen인 PHA로 자극시켰을 때 비감염군에 비해 감염 1 주 후에는 53.6%의 증식의 억제를 관찰하였으나 감염 6 주 후에는 감염초기에 비해 림프구의 증식이 증가하였다. 이러한 기생충 감염초기의 T 림프구 증식의 억제는 간질, 만손주혈흡충, *Taenia taeniaeformis* 및 *Trypanosoma brucei* 등의 여러 기생충 감염에서 보고되어 있으며 (Jayawardena and Waksman, 1977; Letonja *et al.*, 1987; Pelley *et al.*, 1976; Zimmerman *et al.*, 1983), 이러한 T 림프구의 증식 억제에는 억제 T 림프구와 그밖에 대식세포가 관여하는 것으로 알려져 있다 (Baird and Kaplan, 1977; Jayawardena and Waksman, 1977; Pelley *et al.*, 1976). Wongratana-cheewin *et al.* (1987)은 햄스터에 태국간흡충 (*Opisthorchis viverrini*)을 감염시킨 후에 약물치료를 시행하여 T 림프구증식의 억제가 회복됨을 관찰하여 숙주 체내에서 기생충 살멸시 면역억제가 다시 회복된다고 하였다. 본 실험에서도 감염 6 주 후에 감염초기에 비해 T 림프구의 증식을 관찰하여 감염초기의 면역억제가 회복되는 것을 알 수 있었으나 이러한 결과가 비호적 숙주인 마우스 체내에서 폐흡충 피낭유충이 완전히 성숙되지 못하며 (Kanazawa *et al.*, 1987) 숙주 체내에서 감염 기생충의 회수율이 저하되는 현상 (李, 1966)과 관련이 있는지는 이 실험에서는 알 수 없어 이에 대한 연구가 필요하다고 생각된다.

Carvalho *et al.* (1985)은 질병의 정도가 서로 다른 여러 기 (stage)의 리슈마니아 환자에서 질병의 정도에 따라 리슈마니아 항원에 대한 림프구증식 정도가 다를 것을 보고하여 숙주 체내에서 기생충의 발육단계에 따라 림프구의 반응이 달라질 수 있음을 시사한 바 있다. 이 실험에서 특히 mitogen인 성충 항원으로 자극시킨 감염 마우스의 비장 림프구의 증식은 비감염군에 비해 감염 1 주 후부터 증가되기 시작하여 감염 4 주 후에 가장 높은 증식정도를 관찰하였고 감염 6 주 후에는

감염 초기의 수준으로 감소하였다. 또한 피낭유충 항원으로 자극시에도 성충 항원으로 자극시킨 결과와 유사하였으나 성충 항원으로 자극시킨 림프구 증식정도에 비해 전체적으로 떨어짐을 관찰하였다. 이 등 (1989)은 폐흡충 총체 부위 증 장 상피의 표면 및 장 내용물이 가장 강한 항원성을 지니고 있다고 보고하였는데 이 실험에서 피낭유충 항원에 대한 감염 마우스의 림프구 증식정도가 성충 항원에 비해 전체적으로 떨어진 것은 피낭유충 항원의 성분이 성충의 것과 서로 다르기 때문일 것이다. 한편 Yamashita and Boros (1990)는 마우스에 만손주혈흡충을 감염시키면 총란항원에 대한 비장 림프구의 증식반응은  $L_3T_4^+$  (CD 4) subset 세포와 여기에서 분비하는 IL-2가 관여함을 보고하였다. 그러나 폐흡충 감염시 어떤 기전으로 림프구 증식에 관여하는지는 아직도 정확히 밝혀진 바 없어 이에 대한 연구가 필요하다고 생각된다.

기생충에 감염된 숙주의 혈청에는 면역을 저하시키는 알 수 없는 여러 요소들이 존재한다 (Cottrell *et al.*, 1980a; Dessaint *et al.*, 1977; Letonja *et al.*, 1987). 기생충 감염 혈청에는 기생충 항원 (parasite antigen)과 항체로 구성되어 있는 면역복합체 (immune complex)가 림프구의 표면막 (surface membrane)의 Fc 수용체 (receptor)에 작용하여 T 림프구 유사분열물질에 대한 반응이 억제된다 (Bout *et al.*, 1977; Stout and Herzenberg, 1975). 이러한 혈청 내에 존재하는 면역억제 요소 (immunosuppressive factor)는 고분자 분획으로서 열-안정성 (heat-stable) 및 투석되지 않는 (non-dialysable) 특성을 지니고 있다 (Cottrell *et al.*, 1980a & b). 이 실험에서는 *in vitro*상에서 정상 마우스의 비장 림프구를 PHA로 자극시킬 때 폐흡충 감염 마우스의 혈청을 첨가하여 림프구 증식에 어떤 영향을 미치는지 알아보았다. 이 실험에서 ELISA로 측정하여 항체가 가장 높았던 감염 4 주 후의 혈청을 PHA로 자극한 정상 마우스 비장 림프구에 첨가하였을 때 증식이 43.4%로 억제됨을 관찰하였다. Dessaint *et al.* (1977)도 PHA로 자극시킨 정상 림프구에 만손주혈흡충 감염백서의 4 주 후의 혈청을 첨가하면 림프구의 증식이 억제된다고 하였다. 즉 감염 혈청에는 비특이적 또는 특이 면역복합체가 존재하여 이것이 정상 림프구의 아세포화 반응을 억제시킨다고 한다 (Kamal and Higashi, 1982). 이러한 결과들로 보아 마우스에 폐흡충 감염시 림프구가 세포면역에 관여하며 감염 혈청이 PHA에 대한 T 림프구의 증식을 억제함을 알 수 있었다.

## 참 고 문 헌

- 安明姬·Colley, D.G. (1984) 만손주혈흡충 총란항원 연속주입에 의한 면역학적 반응. 기생충학잡지, 22: 203-208.

- Baird, L.G. and Kaplan, A.M.(1977) Macrophage regulation of mitogen-induced blastogenesis. I. Demonstration of inhibitory cells in the spleens and peritoneal exudates of mice. *Cell. Immunol.*, **28**:22-35.
- Bout, D., Dessant, J.P., Dupas, H., Yarzabal, L., Capron, A.(1977) Characterization of allergen in *Schistosoma mansoni*, *Fasciola hepatica* and *Echinococcus granulosus*. *Ann. Immunol.*, **128**(c):687-698.
- Carvalho, E.M., Johnson, W.D., Barreto, E., Marsden, P.D., Costa, J.L.M., Reed, S. and Rocha, H. (1985) Cell mediated immunity in American cutaneous and mucosal leishmaniasis. *J. Immunol.*, **135**:4144-4148.
- Colley, D.G.(1971) *Schistosoma* egg antigen-induced lymphocyte blastogenesis in experimental murine *Schistosoma mansoni* infection. *J. Immunol.*, **107**: 1477-1480.
- Cottrell, B.J., Humber, D. and Sturrock, R.F.(1980a) An immune suppressive factor in serum of patients with schistosomiasis. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, **74**:415-416.
- Cottrell, B.J., Sturrock, R.F. and Vanhoegaerden, M.(1980b) An immunosuppressive factor in the serum of baboons(*Papio anubis*) infected with *Schistosoma mansoni*. *Immunology*, **39**:589-598.
- Dessaint, J.P., Camus, D., Fisher, E. and Capron, A.(1977) Inhibition of lymphocyte proliferation by factor(s) produced by *Schistosoma mansoni*. *Europ. J. Immunol.*, **7**:624-629.
- Jayawardena, A.N. and Waksman, B.H.(1977) Suppressor cells in experimental trypanosomiasis. *Nature*, **265**:539-541.
- Kamal, K.A. and Higashi, G.I.(1982) Suppression of mitogen induced lymphocyte transformation by plasma from patients with hepatosplenic *Schistosoma mansoni*: role of immune complexes. *Parasite Immunol.*, **4**:283-298.
- Kanazawa, T., Hata, H., Kojima, S. and Yokogawa, M.(1987) *Paragonimus westermani*: A comparative study on the migration route of the diploid and triploid types in the final hosts. *Parasitol. Res.*, **73**:140-145.
- 李燕嬌(1966) *Paragonimus westermani*의 肺臟에 이르는 移行經路 및 態度에 관한 研究. 中央醫學, **11**: 331-344.
- 이순령·성숙환·채종일(1989) 폐흡충 충체 부위별 항원성에 대한 면역 조직화학적 연구. 기생충학잡지, **27**:109-117.
- Ketonja, T., Hammerberg, C. and Schurig, G.(1987) Evaluation of spleen lymphocyte responsiveness to a T-cell mitogen during early infection with larval *Taenia taeniaeformis*. *Parasitol. Res.*, **73**: 265-270.
- Lightowlers, M.W. and Rickard, M.D.(1988) Excretory-secretory products of helminth parasite: effects on host immune responses. *Parasitology*, **96**:S123-S166.
- 閔得映·蘇鎮璋·Capron, A.(1980) 간흡충 감염액서의 혈청내 IgE 변동 및 Allergen의 분리에 관한 연구. 연세의대논문집, **13**:94-106.
- 민득영·안명희·김경민·임미혜·박순용(1990) 폐흡충(*Paragonimus westermani*) 피낭유충에 대한 대식세포의 세포독성에 있어서 항체 및 보체가 미치는 영향. 기생충학잡지, **28**:91-100.
- Oldham, G. and Williams, L.(1985) Cell mediated immunity to liver fluke antigens during experimental *Fasciola hepatica* infection of cattle. *Parasite Immunol.*, **7**:503-516.
- Pelley, R.D., Ruffier, J.J. and Warren, K.S.(1976) Suppressive effect of a chronic helminth infection, schistosomiasis mansoni, on the *in vitro* responses of spleen and lymph node cells to the T cell mitogens phytohemagglutinin and concanavalin A. *Inf. Immun.*, **13**:1176-1183.
- Roitt, I., Brostoff, J. and Male, D.(1989) Immunology, 2nd edition, Gower medical Publishing, London·New York.
- Ryan, J.L., Arbeit, R.D., Dickler, H.B. and Henkart, P.A.(1975) Inhibition of lymphocyte mitogenesis by immobilized antigen-antibody complexes. *J. Exp. Med.*, **142**:814-826.
- Stout, D.R. and Herzenberg, L.A.(1975) The Fc receptor on thymus derived lymphocytes. II. Mitogen responsiveness of T lymphocytes bearing the Fc receptor. *J. Exp. Med.*, **142**:1041-1051.
- Voller, A., Bartler, A. and Bidwel, D.E.(1976) Enzyme immunoassay for parasitic disease. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.*, **70**:98-106.
- Wongratanacheewin, S., Rattanasiriwilai, W., Priwan, R. and Sirisinha, S.(1987) Immunodepression in hamsters experimentally infected with *Opisthorchis viverrini*. *J. Helminthol.*, **61**:151-156.
- Yamashita, T. and Boros, D.L.(1990) Changing patterns of lymphocyte proliferation, IL-2 production and utilization, and IL-2 receptor expression in mice infected with *Schistosoma mansoni*. *J. Immunol.*, **145**:724-731.
- Yong, T.S., Kim, T.S., Lee, J.S., Lee, O.Y. and

- Kim, D.C.(1987) Detection of circulating antigens in rats experimentally infected with *Paragonimus westermani* by ELISA. *Korean J. Parasit.*, 25: 41-148.
- Zimmerman, G.L., Kerkvliet, N.I., Brauner, J.A. and Cerro, J.E.(1983) Modulation of host immune responses by *Fasciola hepatica*: Responses of peripheral lymphocytes to mitogens during liver fluke infections of sheep. *J. Parasit.*, 69:473-477.

**=Abstract=**

**Blastogenesis of splenic lymphocytes to specific antigens and PHA in *Paragonimus westermani* infected mice**

Duk-Young Min, Myeong-Heon Shin and Ryung Choi

*Department of Parasitology, College of Medicine,  
Hanyang University, Seoul 133-791, Korea*

*Paragonimus westermani* is a common fluke in Korea. The present study aimed to observe the cell mediated immune response in experimental paragonimiasis of mice. The mouse(BALB/c) was orally inoculated with 40 metacercariae of *P. westermani* from *Cambaroides similis*. During the infection(1, 2, 4, 6 weeks) of mouse, blastogenic response of splenic lymphocytes to *P. westermani* adult antigen, metacercaria antigen, and PHA were observed. Sera from infected and noninfected mice added to normal mouse splenic lymphocytes with or without PHA. The blastogenic response of splenic lymphocytes to PHA was reduced after 1 week of infection. However after 6 weeks of infection, the response was restored to the control level. The blastogenic response of splenic lymphocytes to *P. westermani* adult or metacercaria antigen increased significantly on 1 week after infection, and maintained up to 6 weeks after infection. The response of non-infected mice was suppressed by addition of the infected mouse serum. The present results suggested that cellular immunity was involved in *P. westermani* infected mice and that *P. westermani* anti-serum inhibited proliferation of T lymphocytes.

[*Korean J. Parasit.*, 30(1):43-48, March 1992]