

3) 日本住血吸虫抗原皮内反応及びその陽性 限界閾値（稀釈法）の意義

石 崎 達

国立予防衛生研究所寄生虫部

飯 島 利 彦 伊 藤 洋 一 *

山梨県立衛生研究所地方病科

まえがき

既に私達は日本住血吸虫流行地の住民に同吸虫抗原による皮内反応を実施し、陽性判定規準を決定し報告した(石崎ら, 1964)。その際同一人に同抗原の倍々稀釈系列を注射すると或稀釈度以上で突然皮内反応が陰転する現象を観察し、陽性反応を呈する最高稀釈度を陽性限界閾値と名付けた。この閾値は糞便内虫卵陽性者では一般に高く、虫卵陰性者では低い(低稀釈度)。この閾値現象は犬糸状虫抗原、室内塵その他アレルギー性疾患の原因抗原でも同じように観察され報告されている(石崎, 1963; 石崎ら, 1964; 石崎, 1966)

私達はその後に皮内反応の本質に関する研究を進め、皮内反応の特性を明らかにすると共に、この陽性限界閾値が皮膚感作抗体(レアギン)保有量を不完全ながら表現することを知ったのでここに報告する。

研究対象と方法

1. 対象; 山梨県双葉町(日本住血吸虫流行地)の中学校生徒 40名(男28, 女12), 成人住民検診により発見した虫卵陽性者 8名(男2, 女6)を精査し、更にこれら虫卵陽性者(皮内反応陽性)の血清を同抗原皮内反応陰性の山梨県立衛生研究所職員のうち特志家 5名(男3, 女2)の皮内に注射して受動感作部位を作り Prausnitz-Küstner 反応を行った。

2. 抗原及び使用薬品

(1) 日本住血吸虫成虫体抗原

使用抗原は Melcher 法(Melcher, 1943)により作成した Acidic soluble protein fraction 抗原で基準液の蛋白N量は 30 $\mu\text{g}/\text{ml}$ である。皮内反応陽性閾値測定のためには生理的食塩水でこの基準液の倍々稀釈系列、或いは準倍々稀釈系列(2, 5, 10, 20, 50, 100, 200, 500, 1,000, 2,000倍液)を作成した。

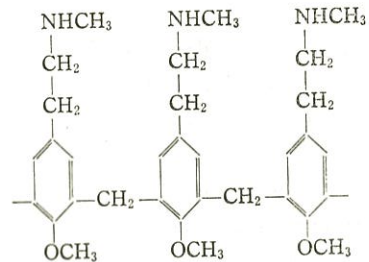
(2) 塩酸 histamine 液

生理的食塩水で w/v 比として 1 万倍を基準として倍々稀釈、或いは準倍々稀釈系列を作成して使用した。

(3) Compound 48/80

この薬品は Faltzly *et al.* (1949) が開発して Feiaberg *et al.* (1955) によって確かめられた強力な histamine 遊離物質で、第 1 図のような構造を有している。これは P-methoxyphenylethyl-methylamine と formaldehyde の縮合物である。この化合物は 2 個、3 個或いは 4 個と連鎖を作り、これらが混合して存在している。

この薬品を皮内に注射すると組織細胞に結合している histamine 様化合物から histamine の大部分を遊離させる作用があり、矢村(1961)によればこれは組織内の遊離細胞であるマスト細胞の崩壊、或いはその中の顆粒の崩壊によって遊離される histamine が大部分であるという。この薬品も生理的食塩水により w/v 比として 1 万倍を基準に倍々稀釈系列を作り使用した。



第 1 図 Compound 48/80

3. 研究方法

1) 皮内反応術式: 上記抗原液、薬液及び生理的食塩水対照液をツベルクリン注射器及び皮内針を用い被検者の前腕屈側皮内に注射した。注射量は 0.02 ml で、15 分後の膨疹と発赤の直径(互に直交する縦横径の平均値)を測定した。石崎(1963)の判定基準により膨疹 9 mm 或いは発赤 20 mm の限界をどちらかで越えた場合に皮内反応陽性と判定した。

皮内反応陽性限界閾値の測定には前述の倍々稀釈抗原或いは薬液系列を作り、同一被検者の皮内に同時に注射してしらべた。この際お互いの注射間隔は 4 cm とした。

2) Prausnitz-Küstner 反応(受動性皮膚感作試験、以下 PK 反応):

* 現在国立予防衛生研究所寄生虫部所属

日本住血吸虫保卵者の血清を生理食塩水を用いた倍々稀釈系列を作り、その 0.1 ml を P K 反応被検者(日本住血吸虫皮内反応陰性、健康者)の前腕屈側皮内に注射し、該部にマジックペンで印をつけた。8 時間後に該部位に抗原液(基準抗原の 5 倍稀釈液) 0.02 ml を注射して 15 分後に皮内反応の大きさを測定した。膨疹、発赤の陽性判定基準は一般皮内反応における石崎(1963)の判定法をそのまま採用した。P K 反応は従来 24 時間以上たってから行うように習慣づけられているが、Richter *et al.* (1964) の研究によれば受動感作は 4 時間で完成することがわかっているため、私達は 8 時間後に抗原注射を行った。

この場合保卵者(患者)血清の稀釈は内に含まれる皮膚感作抗体(レアギン)の稀釈系列を意味する。従って一定の抗原液で P K 皮内反応を試みて陽性限界閾値をみることは患者における皮内反応陽性限界閾値(抗原稀釈系列)と全く別な意味をもったものである。

なお、被検者は 5 名である。

3) 糞便内日本住血吸虫卵検査法:

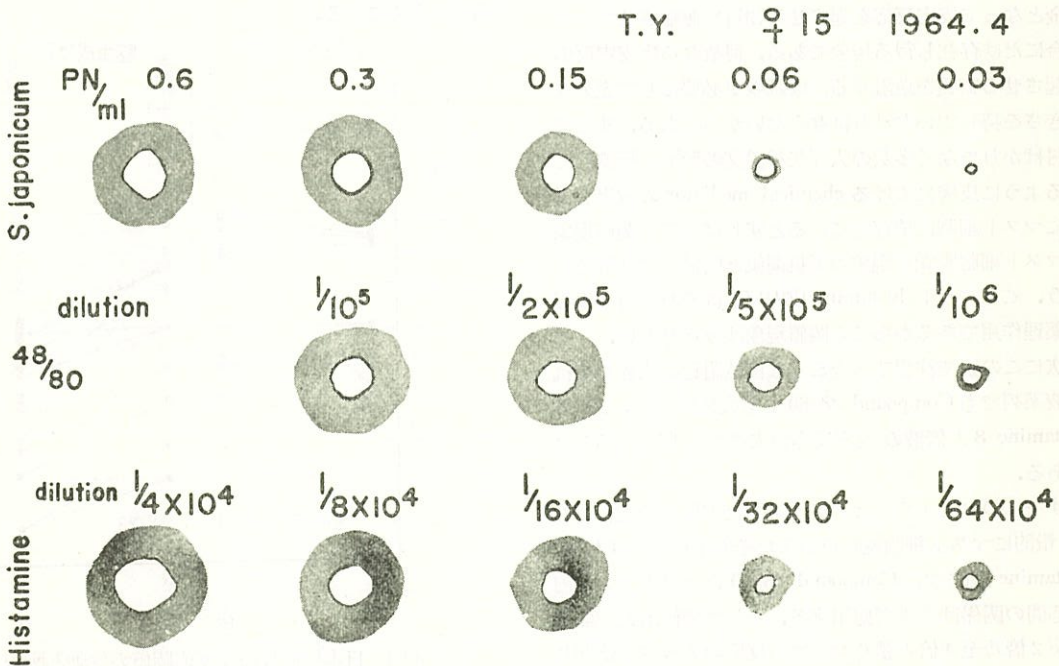
飯島ら(1962)によれば MIFC 集卵法で同一対象者に対し 1 カ月以内に前後 5 回行なえば虫卵排出者の殆ど全例が検出されるので、この方法で対象者の糞便内日本住血吸虫卵検査を行った。

研究成績と考按

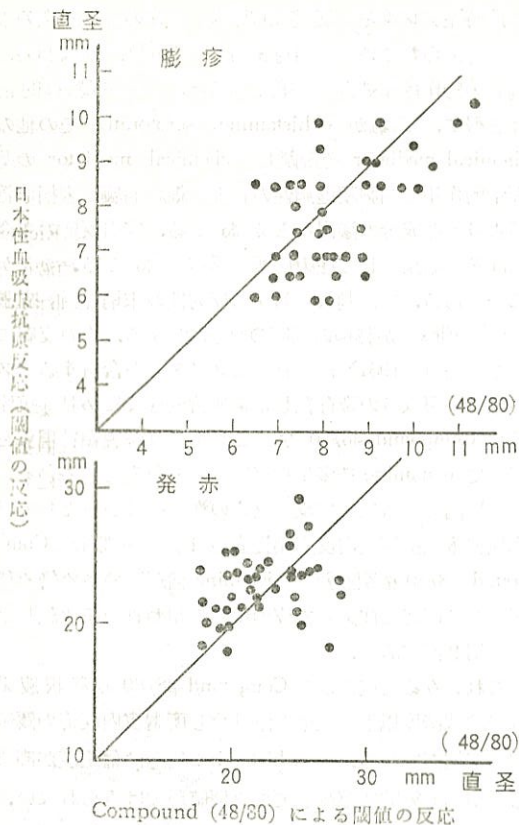
1. 皮内反応(膨疹・発赤)の大きさを規定する要因

即時型アレルギー反応の場合、現在のところ次のように考えられている(山村・石坂, 1963)。すなわち、抗原・感作抗体結合が組織で起ると、これが酵素的活性を得て、組織から histamine, serotonin, その他の chemical mediator を遊離し、chemical mediator の薬理的作作用で細胞膜透過性の亢進、細胞崩壊、末梢血管系よりの液成分の滲出などが起こる。皮内反応の場合にはその結果として注射局所に浮腫がおこる。これが膨疹である。また刺戟に対する反射性の末梢血管拡張(axonreflex)が膨疹の周囲の発赤である。人の皮膚に於ては矢村(1961)によればヒスタミンを含有するマスト細胞が可成りの数存在し末梢血管壁近くにあり、抗原及び Compound 48/80 などによりこれが脱顆粒現象を起して histamine を多量放出することをみとめている。この理論を背景にして皮内反応の性質を知ろうとして日本住血吸虫抗原皮内反応陽性者の 1 人に抗原液、Compound 48/80 稀釈液及び histamine 稀釈液の各々倍々稀釈系列を同時に注射して皮内反応の現われ方を比較したのが第 2 図である。

これを見ると抗原及び Compound 48/80 の稀釈液系列では或濃度以下で反応が陰性化し所謂皮内反応の閾値現象が観察される。一方 histamine 反応は稀釈度が高まるにつれ連続的に縮小しており閾値現象はみられない。閾値現象があるということは、抗原抗体反応及び Compound 48/80 が直接皮内反応に参加しないで、それらが



第 2 図 閾値法による日本住血吸虫抗原 Compound 48/80 及び histamin 皮内反応の比較



第3図 閾値濃度における抗原及び Compound 48/80 反応の相関図

引金となって皮内反応を起させる物質を遊離させている場合にだけ存在し得る現象である。何故ならば皮内反応を起させる物質を遊離するには刺戟が必要にして充分な大きさを持っていなければならないからである。すでに矢村ばかりでなく多数の人(矢村論文参照)が指摘しているように皮膚における chemical mediator の放出が量的にマスト細胞に依存しているとすれば、この閾値現象はマスト細胞脱顆粒現象の抵抗閾値と関係して理解できよう。これに反し histamine 皮内反応はそれ自身の直接の薬理作用であるからこの閾値現象はみられない。

次にこの図で注目すべきことは閾値附近の大きさは抗原液系列でも Compound 48/80 でも大体同じで、これは histamine 8 万倍液の皮内反応の大きさに似ていることである。

すでにのべたようにヒスタミンが皮内反応の主役であり、量的にマスト細胞脱顆粒がまたその主役だとすれば、histamine 遊離物質 Compound 48/80 とヒスタミン皮内反応間の関係は当然考慮出来る。そして閾値附近では濃度が2倍乃至4倍と濃くなくても反応の大きさが略同じということは局在性のマスト細胞或は他の histamine 含

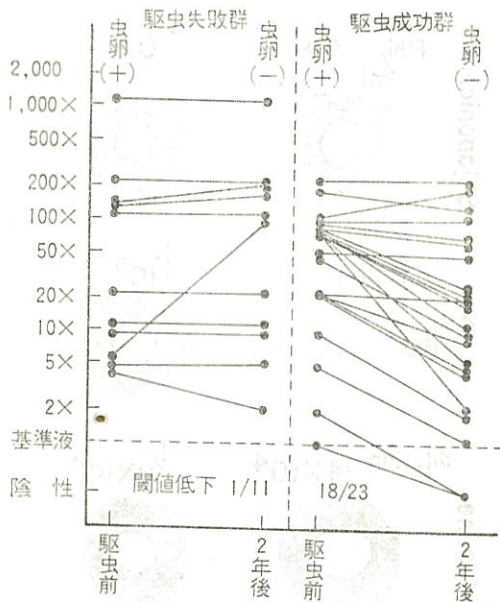
有細胞からすべての遊離可能 histamine が遊離されたことを意味する。抗原液の皮内反応が Compound 48/80 の閾値現象と全く同じ型であり、また閾値附近の反応の大きさが同じであることは上述の従来からの即時皮内反応 histamine 遊離説を裏付けるものであろう。

この現象を略40例で追求し確認したのが第3図である。日本住血吸虫抗原及び Compound 48/80 による皮内反応閾値稀釈度における皮内反応の大きさの相関をみると、膨疹で $r=+0.682$ (有意性危険率0.1%以下)、発赤で $r=+0.298$ (有意性危険率5%以下) の高い相関関係を示している。更に両者の相関は図上45°線を中心分布しているので理論的には抗原反応も48/80反応も同一の大きさと判断することが出来る。

以上の結果を総合すると皮内反応は抗原抗体反応そのものではなく、それによって遊離されたヒスタミンの反応を主とするものであるとする従来からの学説は支持されるべきものと考えられる。

2. 皮内反応陽性閾値の意義

皮内反応陽性閾値は何を表現するかという問題を解明する目的で P K 反応を行った。すでに Sherman *et al.* (1964) は10倍稀釈系列についての研究ではあるがブタクサ花粉症において endpoint (陽性閾値) と P K titer (血清稀釈陽性閾値) の正の相関を論じており、梶野(1966) は室内塵抗原皮内反応陽性の喘息患者血清の倍々稀釈系列を1人の P K 反応被検者の皮内に注射して、患者の皮内反応閾値と P K 皮内反応閾値との間に直線相関をみとめている。



第4図 日本住血吸虫皮内反応閾値の変動と駆虫成功か否かとの関係

そこで私達はまず日本住血吸虫卵陽性者(皮内反応陽性, 糞便内虫卵陽性)をアンチモン剤(Sodium antimony tartrate 0.3%溶液(Stibnal)静脈内注射1クール(10mlより始め隔日2~4mlずつ増量し1回量20mlに達する, 合計20本)で治療し, 治療前と2年後の皮内反応の閾値の変化を調べてみた。この場合2年後も虫卵陽性者すなわち駆虫失敗群と, 虫卵陰転者すなわち駆虫成功群に分けて比較してみると第4図のような成績であった。駆虫失敗群では閾値が稀釈度でみて低下した者は1/11であり, 駆虫成功群では18/23であった。ことに後者のうちの2例は基準抗原液(PN 30 µg/ml)でも皮内反応が陰転していた。

この結果からみると皮内反応陽性閾値は寄生の有無に密接に関係を持って増減することがわかり, 皮内反応を

おこす皮膚感作抗体量と関係がありそうである。

そこで第1表のように皮内反応陽性, 虫卵陽性の成人罹患者のうち閾値の異なる8人を選びその血清でPK反応を行った。5人のPK被検者(健康で皮内反応陰性)の前腕内側皮内に患者血清を生理食塩水で稀釈した倍々稀釈系列を各0.1mlずつ注射した。PK抗体価比較のため3種の異なる血清系列を同一被検者に注射した。Richter *et al.* (1964)の研究に基づき8時間後に基準抗原液の5倍稀釈液(PN 6 µg/ml) 0.02mlを患者血清系列注射部位に注射してPK反応陽性限界閾値を調べた。

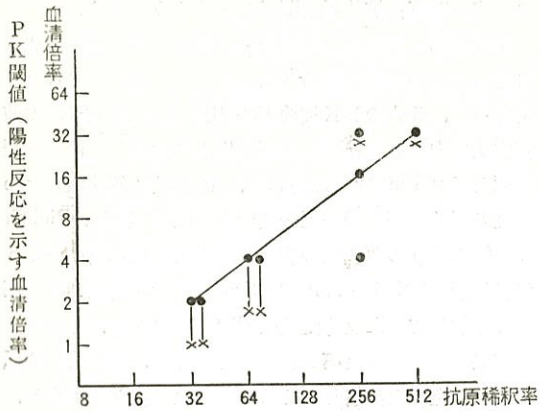
結果を表にすると第2表の如くである。同一人に3種の罹患者血清を注射してあるので閾値の比較が出来る。PK反応は抗原一定, 抗体稀釈であるから結果は直接抗体価を表現するものと考えてよい。5人の被検者に8種

第1表 日本住血吸虫罹患者の皮内反応及びPK反応成績

基準液倍率	A	B	C	D	E	F	G	H	
	T.H. ♀ 61	Y.T. ♀ 59	O.T. ♀ 52	T.M. ♀ 50	O.N. ♂ 37	T.Y. ♂ 39	I.E. ♀ 40	N.Y. ♀ 41	
皮内反応閾値	8×	+	+	+	+	+	+	+	
	16×	+	+	+	+	+	+	+	
	32×	+	+	+	+	+	+	+	
	64×	+	+	+	+	+	+	+	
	128×	-	+	-	-	+	+	+	
	256×	-	+	-	-	+	+	+	
	512×	-	-	-	-	+	-	-	
histamine感受性	4×10 ⁴	10/23	16/25	13/30	17/35	11/40	11/28	10/29	11/26
	16×10 ⁴	9/15	12/25	8/23	11/23	9/28	11/24	10/25	10/21
	64×10 ⁴	7/10	4/8	4/7	7/14	8/15	8/11	9/23	8/12

第2表 日本住血吸虫症患者における皮内反応閾値とPK反応によるレアギン値との比較

PK被検者	患者血清	血清稀釈倍数						レアギン値	力価比較
		1	2	4	8	16	32		
M. M. ♂ 35	A	+	+	-	-	-	-	2	B>A>D
	B	+	+	+	-	-	-	4	
	D	+	-	-	-	-	-	1	
I. Y. ♂ 30	C	+	+	+	-	-	-	4	E>F>C
	E	+	+	+	+	+	+	32	
	F	+	+	+	+	+	-	16	
K. S. ♀ 40	G	+	+	-	-	-	-	2	H>A>G
	H	+	+	+	+	+	+	32+	
	A	+	+	+	-	-	-	4	
H. M. ♂ 36	D	+	+	-	-	-	-	2	E>D>G
	E	+	+	+	+	+	+	32+	
	G	+	-	-	-	-	-	1	
M. K. ♀ 34	C	+	+	-	-	-	-	2	H>C>D
	D	+	-	-	-	-	-	1	
	H	+	+	+	+	+	+	32+	
総合判定力価		E>F>B>C>A>D>G							
皮内反応閾値 (基準液からの倍率)		E>H=B=F>C=A>D=G							
		2 ¹⁰ >2 ⁹ >2 ⁷ >2 ⁶							



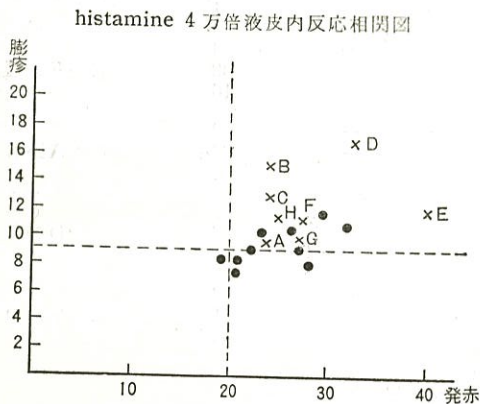
Carrier の反内反応閾値 (基準液よりの倍率)

第5図 PK閾値と皮内反応閾値との相関図

の血清を組合せて注射したので相互関係が閾値すなわち抗体価の大小を整理することができる。その成績は第2表下段に示した。これをみると大体において日本住血吸虫罹患者の皮内反応閾値の大小はそのまま皮膚感作抗体価(レアゲン)の大小をあらわしている。

そこでこの関係を梶野(1966)の方法に準じて作図したのが第5図である。横軸に罹患者皮内反応陽性閾値、縦軸に同人血清のPK反応閾値(皮膚感作抗体値)をとった。同一人血清でもPK被検者が異ると違ったPK反応閾値を呈するので、かかる例では図上(●—×)の如く線をつなぎ同一人血清の成績であることを表現した。8人の罹患者のうち6人の血清ではPK反応被検者を選べば梶野の成績と同じように直線関係がみられる。また全体的にみても両者の相関関係は大きい。

梶野の発見した関係がPK反応被検者を異にしても日本住血吸虫抗原でも大体成立することは、寄生虫抗原による皮内反応閾値が一般的にみて矢張り寄生虫抗原に対



第6図 日本住血吸虫 carrier と PK被検者(健康人)の histamine 4万倍液皮内反応比較

する皮膚感作抗体の量を表現すると考えてよいようである。しかし皮膚感作抗体値の絶対量を表現するとはいえない。それは両者ともに皮膚の histamine 感受性の差などに影響される条件下に成立しているからである。

次に同一稀釈度の histamine 液 (4×10^4 倍) に対する感受性(膨疹, 発赤の大きさ)を正常人と日本住血吸虫罹患者と比較してみると第6図のようになった。正常者が比較的狭い範囲に分布しているのに罹患者では半数以上が正常者に比して過敏性を示している。この事実の原因追求は別に報告する。

結 論

同一対象に同時に抗原液, Compound 48/80 及び histamine 液倍々稀釈系列を注射して皮内反応の起り方を比較する方法で検討したところ、日本住血吸虫抗原皮内反応は即時型アレルギー反応で従来考えられているように抗原抗体結合物の作用で組織から遊離された histamine の反応であることを裏付ける結果をえた。

皮内反応陽性閾値はPK反応による感作抗体価と直線的相関を示すので、そのまま保有感作抗体価を相対的に表現すると考えられる。

皮内反応陽性閾値(稀釈倍率で表現)は駆虫成功例では低下(鈍感)し、駆虫してもなお虫卵陽性例では不変であった。

稿を終るに当り、終始御援助をいただいた国立予防衛生研究所寄生虫部久津見晴彦博士、山梨県立衛生研究所員各位及び山梨県立血液センターの各位に厚く謝意を表します。

文 献

- 1) Faltzly, R., Buck, J. S., de Beer, F. J. and Webb, J. F. (1949): A family of long-acting depressors. J. Am. Chem. Soc., 71, 1301.
- 2) Feinberg, S. M. and Sternberger (1955): Action of histamine liberator compound 48/80 in the guinea pig. J. Allergy, 26, 170-179.
- 3) 飯島利彦・伊藤洋一・中山 茂・石崎 達(1962): 日本住血吸虫病の診断法の研究(1). 繰返し行った MIFC 集卵法による日本住血吸虫卵陽性率の統計的解析. 寄生虫誌, 11, 483-487.
- 4) 石崎 達・飯島利彦・伊藤洋一(1964): 日本住血吸虫病の診断法の研究(2) 日本住血吸虫抗原皮内反応の判定基準と診断的価値. 寄生虫誌, 13, 387-396.
- 5) 石崎 達(1963): 即時皮内反応一陽性判定基準を中心として一. アレルギー, 12, 14-30.
- 6) 石崎 達・信太隆夫・梶野宗幹・牧野莊平・伊藤幸

- 治(1964) : 気管支喘息患者における室内塵抗原液の皮内反応陽性限界濃度(閾値)の研究. アレルギー, 13, 183-187.
- 7) 石崎 達(1966) : 即時皮内反応の特性. アレルギー, 15, 453-462.
- 8) 梶野宗幹(1966) : 気管支喘息患者における室内塵抗原皮内反応陽性限界濃度(閾値)の研究および Prausnitz-Küstner 反応の検討. アレルギー, 15, 148-157.
- 9) Melcher, L. P. (1943) : An antigenic analysis of *Trichiinella spiralis*, J. Inf. Dis., 73, 31-39.
- 10) Richter, M., Delorme, P. and Rose, B. (1964) : The reagin-allergen reaction in the skin without concomitant wheal and flare. J. Allergy, 35, 356-360.
- 11) Sherman, W. B. and Connell, J. T. (1964) : Skin-sensitizing antibody II. Relationship of hay fever symptoms to the skin-sensitizing antibody titer in patients treated with ragweed emulsion injections, aqueous ragweed injections or no injection treatment. J. Allergy, 35, 18-26.
- 12) 山村雄一・石坂公成(1963) : アナフィラキシー性反応の機序. 免疫化学, 694-703, 朝倉書店.
- 13) 矢村卓三(1961) : 蕁麻疹の発現機序について, アレルギー, 10, 51-59.

Summary

A fundamental study of the skin test with the antigen prepared from the adults of *Schistosoma japonicum* by Melcher's method was carried out on the pupils of a junior high school and adults living in an endemic area of this worm. A series of two

fold dilutions of the antigen was carried out on all subjects for determining the threshold value of positive skin reaction before and after the anthelmintic treatment with antimony tartrate, and also the same series of Compound 48/80 and histamine chloride were carried out on the particular subjects for analysing the nature of skin test. Prausnitz-Küstner reaction was carried out on five normal subjects for determining the antibody titration.

The threshold value of positive skin reaction was compared between the antigen, and Compound 48/80 solutions in series in two fold dilutions, and the sizes of positive reaction of the antigen and Compound 48/80 at the threshold dilutions were compared also with the sizes of histamine solutions in two fold dilutions. The result showed that the formation of wheal and erythema is considered to be highly related with the histamine release due to the antigen-antibody reaction as already believed in the field of immunology.

In comparison between the titer of skin sensitive antibody (reagin) from Prausnitz-Küstner reaction and the threshold value of the antigen reaction in the carrier of *Schistosoma japonicum*, the threshold value of the antigen reaction was considered also to present the reagin-titer.

The threshold value of the antigen reaction (presented in the grade of dilution) became lower after treatment in succeeded cases, mean while it remained stationary after treatment in the cases of still positive for ova in their feces.

(本論文は寄生虫学雑誌17巻1号に掲載)