

フィラリア症の皮内反応に関する研究

特に皮内反応抗原 FST (FSCD1) の集団検診への応用

佐藤 重房 武井 一利 松山 栄

群馬大学医学部寄生虫学教室 (主任 沢田利貞教授)

(1968年11月16日 受領)

フィラリア症の診断用として Sawada *et al.* (1962a, 1962b, 1965) によつて開発された皮内反应用抗原 FST (FSCD1) は犬糸状虫成虫体より, 1N 酢酸による等電点沈澱法, Sephadex G-100 による gel 濾過法及び cellulose ion exchanger による column chromatography 等の方法を併用して分画精製した抗原であり, 極めて微量 (注射蛋白量 0.05 μ g/0.02ml) でフィラリア感染者に高度の感受性をもつて反応することが明らかとなつた. 今回, 著者らはフィラリア症流行地長崎県五島福江市長手町の住民及び福江市立崎山中学校の生徒について, 又, フィラリア症非流行地山梨県韮崎市大草町の住民及び群馬大学医学部の学生, 職員について抗原 FST を用いた皮内反応によるフィラリア症の集団検診を行なつたのでその成績を報告する.

実験材料及び方法

対象: 長崎県五島福江市長手町住民 479 名, 福江市立崎山中学校生徒 367 名, 山梨県韮崎市大草町住民 221 名及び群馬大学医学部学生, 職員 70 名を被検者とした.

皮内反応手技: 皮内反応実施直前に抗原 FST の乾燥粉末 10 μ g に 4 ml の生理的食塩水を加えてよく振盪溶解したのち, その 0.02ml (抗原蛋白量: 0.05 μ g) を被検者の前膊皮内に注射した. 尚, 韮崎市大草町住民については, 抗原 FST と抗原 SST [(SSCD3) Williams *et al.* (1965), 沢田 (1968): 日本住血吸虫症の皮内反应用抗原 (注射蛋白量/注射液量: 0.1 μ g/0.02ml)] の 2 種の抗原液を被検者の同一前膊皮内に注射した. 注射後 15 分に腫脹及び発赤の有無並びにこれらの直角に交わる長径と短径を計測し, それぞれの平均値を測定値とした.

皮内反応の判定規準は注射 15 分後の腫脹径の測定値が 7 mm 以上あるものを反応陽性とした.

マイクロフィラリア (Mf) の検査: 夜間に被検者の耳朶

より 30mm の採血を行い, これをスライド上に 3 条の線として塗抹し, 染色したのち Mf の有無について検査した. 五島福江市長手町住民の Mf 検査は 1961 年 8 月 ~ 1965 年 9 月の 5 年間に亘り, 毎年 1 回ずつ長崎大学熱帯病研究所で実施した.

実験成績

1. フィラリア症流行地に於ける皮内反応の成績

長手町住民 479 名にそれぞれ抗原 FST 0.02ml を皮内注射した. 注射直後の腫脹径は 5 mm ~ 6 mm であつた. 注射後 15 分に腫脹の消失した者は 79 名であり, その他の 400 名は 3 mm ~ 30 mm の腫脹径を認めた. その分布を見ると平均腫脹径 ($\bar{X} \pm S\bar{x}$) は 10.02mm \pm 0.185mm, 標準偏差 (S) は 3.71mm であつた. 次に, これ等の被検者中, 夜間検血によつて Mf を認めた 67 名 (5 年間に亘る検査による Mf 陽性者累積数であり, その間に Mf の治療を行つていない: 陽性率は 14.0%) の皮内反応について観察すると, 腫脹が消失した者は 3 名であり, その他の 64 名は 5 mm ~ 30 mm の腫脹径を認め, その分布を見ると, 平均腫脹径は 12.29mm \pm 0.555mm であり, 標準偏差は 4.44mm であつた (Table 1, Figure 1).

長手町全住民の皮内反応陽性率は 67.8% (反応陽性者: 325 名) であり, これらの中で Mf を認めた者についての皮内反応陽性率は 86.6% (反応陽性者: 58 名) であつた.

皮内反応の成績並びに Mf 検査の成績より, 年齢別の皮内反応陽性率と Mf 陽性率とを比較検討したところ, 両者の間の順位相関係数は +0.933 であり極めて有意義な正の順位相関を認めた ($P < 0.001$).

年齢別の皮内反応陽性率は 1 ~ 5 歳が 18.5%, 6 ~ 9 歳が 33.3%, 10 ~ 14 歳が 49.3%, 15 ~ 24 歳が 79.5% と年齢の増加に従つて皮内反応陽性率も上昇を認めたが, 15 歳以上の年齢層 (15 ~ 24 歳, 25 ~ 29 歳, 30 ~ 39 歳, 40 ~

Table 1 Wheals produced by the injection of antigen FST in to individuals in endemic area of filariasis

Samples	No. tested	Diameter of wheals* (mm)																	Mean		Standard variation	
		0-3.9	4-4.9	5-5.9	6-6.9	7-7.9	8-8.9	9-9.9	10-10.9	11-11.9	12-12.9	13-13.9	14-14.9	15-15.9	16-16.9	17-17.9	18-18.9	19-19.9	20-up	$\bar{X} \pm \bar{S}_x$	S \pm Ss	
Whole general inhabitant	479	2	5	8	60	76	61	27	29	32	19	18	16	11	9	5	1	12	10.02 \pm 0.185	3.71 \pm 0.131		
Microfilaria carrier	67	3	0	1	5	6	7	6	4	7	2	3	3	5	2	4	3	0	12.29 \pm 0.555	4.44 \pm 0.392		
Pupil(Sakiyama J. H. S.)	367	65	1	3	21	47	36	21	24	25	18	16	13	9	9	4	1	2	9.78 \pm 0.202	3.15 \pm 0.143		

* 15 minutes after injection

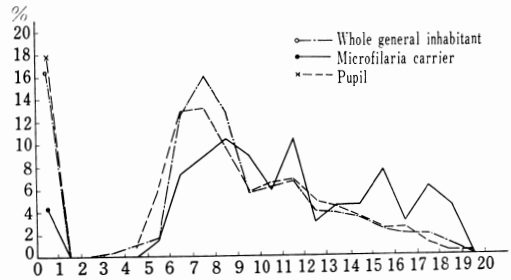


Fig. 1 Frequency distributions of wheal size produced by the injection of antigen FST into individuals in endemic area of filariasis. (Size of wheal in mm)

49歳, 50~59歳及び60歳以上)に於いては, 皮内反応陽性率は75.0%~88.1%であり, 各年齢層の間に有意の差を認めなかつた. (P>0.1) (Table 2, Figure 2).

崎山中学校生徒 367 名中注射後15分に腫脹の消失した者は65名であり, その他の302名は3mm~25.5mmの腫脹径を認め, その分布を見ると, 平均腫脹径は9.78mm \pm 0.202mm, 標準偏差は3.51mmであり, 長手町全住民に認めた腫脹径の分布と近似していた (Table 1, Figure 1). 尚, 男生徒と女生徒との間に腫脹径の分布の差異を認めなかつた.

崎山中学校全生徒の皮内反応陽性率は62.7% (反応陽性者: 230名) であり, 長手町全住民の皮内反応陽性率と殆んど同一の値を認めた. 又, 男生徒の皮内反応陽性率は60.7% (被検者191名中反応陽性者は116名) であり, 女生徒の皮内反応陽性率は64.8% (被検者176名中反応陽性者は114名) で両者の間の反応陽性率は5%以下の危険率で有意の差を認めなかつた.

2. フィラリア症非流行地に於ける皮内反応の成績

大草町地区は日本住血吸虫症の流行地である. 従つてフィラリア症について皮内反応の成績を検討する前に, 日本住血吸虫症に対する抗原 FST の交叉反応の有無について検討を行う必要があるので, 被検者221名についてそれぞれの同一の前膊皮内に抗原 SST 及び抗原 FST の2種の抗原を注射した. 抗原 SST の注射による反応陽性者は64名 (反応陽性率29.0%) であり, 抗原 FST の注射による反応陽性者は22名 (反応陽性率: 10.0%) であつた. さらに, 抗原 SST 注射による反応陽性者64名中同時に注射した抗原 FST の反応が陽性であつた者は13名 (反応陽性率: 20.3%) であつた. 尚, これらの13名について, 生理的食塩水0.02ml を皮内注射して15分後にその腫脹を観察したところ, その腫脹径はすべて

Table 2 Positive rates of skin test and microfilaraemia rates by age of the inhabitants of Nagate village in Nagasaki Prefecture

Age	No. examined	Skin-test		Blood examination (Mf)	
		No. positive	% positive	No. positive	% positive
1-5	27	5	18.5	0	0.0
6-9	51	17	33.3	1	2.0
10-14	75	37	49.3	3	4.0
15-24	83	66	79.5	11	13.3
25-29	20	15	75.0	1	5.0
30-39	59	52	88.1	14	23.7
40-49	63	50	79.4	10	15.9
50-59	30	25	83.3	7	23.3
60-up	71	58	81.7	20	28.2
Total	479	325	67.8	67	14.0

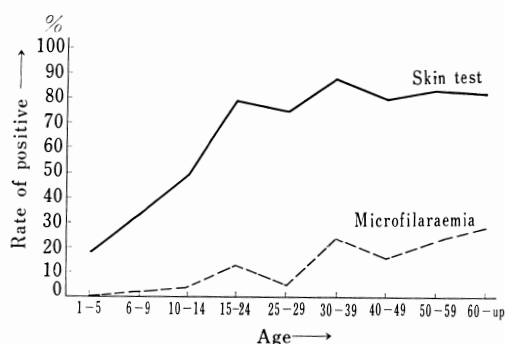


Fig. 2 Positive rates of skin test and microfilaraemia rates by age of the inhabitants of Nagate village in Nagasaki Prefecture.

6 mm以下であり生理的食塩水注射による皮内反応陽性は1名も認めなかつた。抗原 SST 注射による反応陰性者157名中同時に注射した抗原 FST の反応が陽性であった者は9名(反応陽性率: 5.7%)であつた。これらの両反応陽性率 20.3%, 及び 5.7%の差は14.6%であり, この差は χ^2 -test によつて極めて有意義であることを認

めた ($\chi^2=10.78$, $P<0.01$)。即ち被検者について日本住血吸虫の感染の有無は抗原 FST を用いた皮内反応の成績に影響を与えることを認めたので, 抗原 FST は日本住血吸虫症に対して軽度の交叉反応を起すことがわかつた (Table 3)。

上記の理由により, フィラリア症の集団検診を目的とした抗原 FST 注射による皮内反応の成績については, 大草町住民 221 名中抗原 SST 注射による皮内反応が陰性であつた者 157 名について検討を行つた。注射後15分に腫脹の消失した者は41名であり, その他の116名は4 mm~11mmの腫脹径を認め, その分布を見ると, 平均腫脹径は $6.28\text{mm} \pm 0.079\text{mm}$, 標準偏差は 0.99mm であつた (Table 4, Figure 3)。

群馬大学医学部学生, 職員70名中注射後15分に腫脹の消失した者は7名であり, その他の63名は4mm~9mmの腫脹径を認めその分布を見ると, 平均腫脹径は $5.99\text{mm} \pm 0.131\text{mm}$, 標準偏差は 1.05mm であり, 皮内反応陽性率は10.0% (反応陽性者: 7名)であつた (Table 4, Figure 3)。

Table 3 Correlation between the positive rates by skin tests with antigen SST and antigen FST in individuals in an endemic area of schistosomiasis

Antigen SST		Antigen FST		
		No. positive	No. negative	No. total
	No. positive	13	51	64
	No. negative	9	148	157
	No. total	22	199	221

Table 4 Wheals produced by the injection of antigen FST into individuals in non-endemic area of filariasis

Samples	No. tested	Diameter of wheals (mm)											Mean $\bar{X} \pm \bar{x}$	Standard variation S \pm Ss
		0	3- 3.9	4- 4.9	5- 5.9	6- 6.9	7- 7.9	8- 8.9	9- 9.9	10- 10.9	11- 11.9	12- up		
General inhabitant (in Yamanashi Prefecture)	157	41	0	2	51	54	1	1	4	2	1	0	6.28 \pm 0.079	0.99 \pm 0.056
Student and personnel (Gunma Univ.)	70	7	0	4	31	21	5	1	1	0	0	0	5.99 \pm 0.131	1.05 \pm 0.093

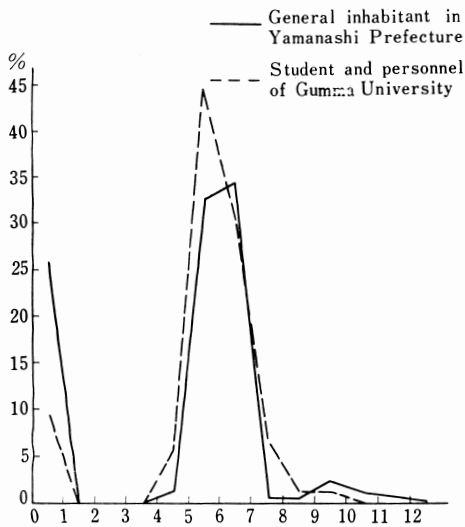


Fig. 3 Frequency distributions of wheal size produced by the injection of antigen FST into individuals in non-endemic areas of filariasis. (Size of wheal in mm)

フィラリア症非流行地の2つの健康者集団(大草町住民及び群馬大学医学部学生, 職員: 227名)の抗原 FST 注射による皮内反応陽性率は7.0% (反応陽性者: 16名)であった。

以上の集団検診の成績より, フィラリア症流行地の Mf 陽性者より得た皮内反応の成績とフィラリア症非流行地の健康人より得た皮内反応の成績とを比較検討した。抗原 FST 注射によつて Mf 陽性者に現われた腫脹径の度数分布及び健康人に現われた腫脹径の度数分布を同一の方眼紙上に作図すると両者の分布曲線は腫脹径略 7 mm 附近で交叉することを認めた。

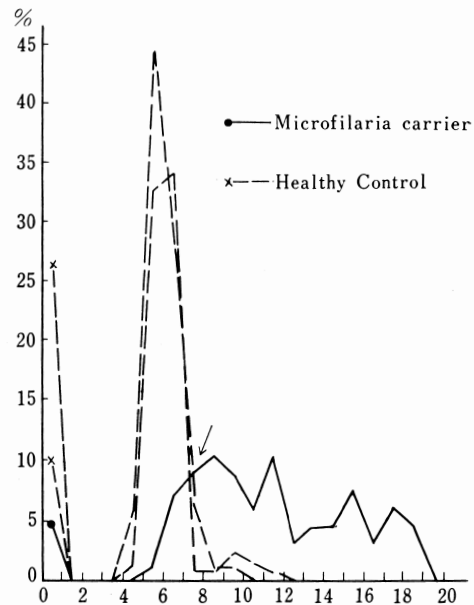


Fig. 4 Relative frequency distributions of wheal size produced by the injection of antigen FST into microfilaria carriers and healthy individuals. (Size of wheal in mm)

総括および考按

フィラリア症の流行地長手町住民の Mf 陽性率は14.0%であり, 皮内反応陽性率は67.8%であった。又, これらの住民の中 Mf 陽性者の皮内反応陽性率は86.6%であった。

年齢別に皮内反応陽性率と Mf 陽性率とを比較検討すると, 両陽性率の間に正の順位相関を認め, 皮内反応陽性率が極めて良く Mf 陽性率に比例した。吉村(1963), 多田ら(1964)はペプタイド抗原(FPT: 注射蛋白量/注射液量=1.0 μ g/0.01ml 又は0.05ml)を用い, 又, 石

崎ら (1964) は D. P. 液 (Unger, 1933) による抽出抗原 (注射総N量/注射液量=0.265 μ g/0.02ml) を用いてそれぞれ皮内反応を行い、いずれも皮内反応陽性率と Mf 陽性率との間に相関性が存在することを報告した。

年齢別の皮内反応陽性率について観察すると、14歳以下の若年層では年齢の増加と共に皮内反応陽性率も高くなるが、15歳以上の年齢層では年齢に関係なく皮内反応陽性率は75.0%~88.1%であり、各年齢層間に反応陽性率の差を認めなかった。山本ら (1966) はフィラリア感染者の抗原 FST に対する感受性は年齢的に見て10歳を越せば成人と同程度になることを報告した。このことより、長手町住民のフィラリア症による感作について観察すると、10歳~14歳までに約半数の人々が感作され、15歳~24歳で大部分の人が感作されていたと考えられた。

崎山中学校生徒についての皮内反応の成績は長手町住民の皮内反応の成績と近似していた。皮内反応陽性率は62.7%であった。性別による皮内反応陽性率について観察したが、男生徒と女生徒との間に有意の差はなかった。石崎ら (1964) は D.P. 液抽出抗原を用いた皮内反応を行って、性別による反応の差異がなかったことを報告した。

フィラリア症の非流行地大草町住民の抗原 FST 注射による皮内反応陽性率は10.0%であった。しかし、大草町地区は日本住血吸虫症の流行地であるので、抗原FSTの日本住血吸虫症に対する交叉反応について検討する必要がある。日本住血吸虫症の皮内反应用抗原 SST 及び抗原 FST を同一被検者にそれぞれ注射して、その反応について比較観察したところ、抗原 FST は日本住血吸虫症に対して軽度の交叉反応を起すことがわかった。

犬糸状虫抗原と糸状虫以外の寄生虫疾患と間の交叉反応に関する研究報告は多い[Kagan(1963), 山本(1959), 吉村(1963), 多田ら(1964)]。住血吸虫症との交叉反応については、Stefanopoulos & Poget (1938) は交叉反応を認めなかったことを報告し、Zeligs (1947) は、マンスン住血吸虫症患者5名中3名に皮内反応が陽性であったことを認め、交叉反応が存在すると報告した。多田ら(1964) は日本住血吸虫症患者7名について FPT 抗原による皮内反応を行ったところ、1名に反応が陽性であったことを報告し、Sawada *et al.* (1965) は日本住血吸虫症患者6名について抗原 FST による皮内反応を行ったが、すべて反応は陰性であり、交叉反応を認めな

かったことを報告した。

今回、著者らは抗原 FST が日本住血吸虫症に対して軽度の交叉反応を起すことを認めたので、大草町住民のフィラリア症の集団検診を目的とした皮内反応の成績については、抗原 SST 注射による皮内反応が陰性であった者のみについて検討を行った。その皮内反応陽性率は5.7%であった。

又、フィラリア症非流行地に所在する群馬大学医学部の学生、職員について抗原 FST 注射による皮内反応を行ったところ、その皮内反応陽性率は10.0%であった。よって、フィラリア症非流行地の2つの健康者集団より得た皮内反応陽性率は7.0%であった。

抗原 FST 注射によって、Mf 陽性者群及びフィラリア症非流行地の健康者集団に認めたそれぞれの腫脹径の度数分布を同一紙上に作図すると、その各々の度数分布曲線は腫脹径7mm 附近で交叉した。この交点は皮内反応の陽性と陰性を判別する基準として合理的な点であり、この交点に最も近い実測値は腫脹径7mm であった。従って、本抗原の陽性限界を腫脹径7mm としたことは適切であった。山本ら(1966) は奄美大島の一部に於いて、抗原 FST を用いた皮内反応を行って得た成績より、本抗原の陽性限界は7mm 前後におくのが妥当であることを報告したが、著者らの成績と一致した。

結 語

フィラリア症の流行地及び非流行地に於いて、抗原 FST を用いた皮内反応によってフィラリア症に対する集団検診を行った。

1. フィラリア症の流行地長崎県五島福江市長手町住民 (Mf 陽性率: 14.0%) の皮内反応陽性率は67.8%であった。また、これらの住民の中 Mf 陽性者の皮内反応陽性率は86.6%であった。年齢別の皮内反応陽性率と Mf 陽性率との間に正の順位相関を認めた。皮内反応陽性率は14歳以下の若年層では年齢の増加と共に高くなるが、15歳以上の年齢層では年齢に関係なく75.0%~88.1%であった。

福江市立崎山中学校生徒の皮内反応陽性率は62.7%であり、長手町住民の皮内反応の成績と近似していた。男生徒と女生徒との間に皮内反応陽性率に差を認めなかった。

2. フィラリア症の非流行地山梨県韮崎市大草町 (日本住血吸虫症の流行地) 住民の皮内反応陽性率は10.0%であった。しかし抗原 FST は日本住血吸虫症に対し

て軽度の交叉反応を起すことを認めた。日本住血吸虫症の皮内反応用抗原 SST による皮内反応が陰性であった住民について、抗原 FST による皮内反応陽性率は5.7%であった。群馬大学医学部学生、職員の皮内反応陽性率は10.0%であった。従つてフィラリア症非流行地2つの健康者集団より得た皮内反応陽性率は7.0%であった。

3. 抗原 FST による皮内反応の陽性限界は腫脹径7 mm が合理的であつた。

稿を終るに臨み、御指導と御校閲を頂いた沢田利貞教授に深く感謝致します。又、種々御助力を頂いた長崎大学大森南三郎教授、片峰大助教授及び熱帯病研究所員諸氏に深く感謝致します。

文 献

1. 石崎達・久津見晴彦・熊田三由・村中正治・宮本昭正・牧野莊平・永井隆吉(1964)：犬糸状虫抗原による皮内反応の基礎的研究(1)陽性判定規準の設定と抗原濃度および注射液量に対する人体側の反応。寄生虫誌, 13, 43-50.
2. Kagan, I. G. (1963) : A review of immunologic methods for the diagnosis of filariasis. J. Parasit., 49, 773-798.
3. Sawada, T., Kono, M., Sato, S., Yamamoto, T. and Takei, K. (1962 a) : Immunological studies on filariasis. (I) Intradermal and precipitin tests with *Dirofilaria immitis* antigen in canine and human filariasis. Gunma J. Med. Sci., 11, 7-16.
4. Sawada, T., Kono, M., Sato, S., Yamamoto, T. and Takei, K. (1962 b) : Immunological studies on filariasis. (II) Intradermal test with purified antigen in canine and human filariasis. Gunma J. Med. Sci., 11, 16-24.
5. Sawada, T., Takei, K., Katamine, D. and Yoshimura, T. (1965) : Immunological studies on filariasis. (III) Isolation and purification of antigen for intra dermal skin test. Japan. J. Exptl. Med., 35, 125-132.
6. 沢田利貞 (1968) : 寄生虫抗原について。化学と生物, 6, 293-295.
7. Stefanopouls and Poget(1938) : 1) より引用
8. 多田功・川島健次郎 (1964) : 犬糸状虫精要抗原によるフィラリア症の皮内反応に関する研究。寄生虫誌, 13, 435-447.
9. Williams, J. E., Moose, J. W., Sawada, T., Takei, K. and Sato, S. (1965) : Studies on the immunodiagnosis of schistosomiasis. J. Inf. Dis., 115, 382-386.
10. 山本久・林滋生 (1966) : パンクロフト糸状虫浸淫地におけるフィラリア症用皮内反応の調査、奄美大島の一部落における住民の FSCDI 抗原に対する反応について。寄生虫誌, 15, 312-313.
11. 山本孝 (1959) : Filaria 症の免疫学的研究, 第2報皮内反応について。日本衛生誌, 14, 117-124.
12. 吉村税 (1963) : 糸状虫症の皮内反応に関する研究, 第一報犬糸状虫ペプタイド抗原(FPT)による皮内反応とその特異性。長崎大学風土病紀要, 5, 115-128.
13. Zeligs, M. (1947) : Intradermal tests with *Dirofilaria immitis* extract in human filariasis. U. S. Navy Med. Bull., 47, 824-826.

Abstract

THE PRACTICAL USE OF SKIN TEST WITH ANTIGEN FST (FSCD1)
FOR EPIDERMIOLOGICAL SURVEY OF FILARIASIS

SHIGEFUSA SATO, KAZUTOSHI TAKEI AND SAKAE MATSUYAMA

(Department of Parasitology, School of Medicine, Gunma University, Maebashi, Japan)

The mass skin test survey with antigen FST fractionated from adult *Dirofilaria immitis* was carried out in endemic and non-endemic areas of filariasis.

1. In an endemic area, Nagate village, Nagasaki Prefecture, 67.8% of 479 general inhabitants gave a positive skin reaction and 86.6% of 67 microfilaria carriers (microfilaraemia rate; 14.0%) gave a positive reaction.

The skin positive rate increased rapidly in the younger age classes to reach the maximum value at around 15-24 years of age. The positive rates were 75.0%-88.1% regardless of age in the older age classes after 15-24 years. This suggests that most of inhabitant at Nagate village get sensitized by the age of 15-24 years.

The skin positive rate was 62.7% of 367 pupils of Sakiyama Junior High School. No difference between sexes of pupils was found in the positive rate of skin test.

2. In non-endemic area, the skin positive rate was 10.0% of 221 general inhabitants of Okusa village, endemic area of schistosomiasis japonica in Yamanashi Prefecture. A cross-reaction with schistosomiasis was found in some of them. The false positive rate with antigen FST was 5.7% of 157 healthy inhabitants giving a negative reaction with antigen SST fractionated from adult *Schistosoma japonicum*.

The false positive rate also was 10.0% of 70 healthy individuals of School of Medicine, Gunma University.

3. For purposes of comparison, two frequency distribution curves of wheal size in microfilaria carriers and healthy individuals were figured on the same chart. At the point of intersection obtained from these frequency curves the wheal size was seen to be around 7 mm in diameters.

Therefore it was reasonable that we defined the positive reaction in the skin test with antigen FST at that showing a wheal of 7 mm or more in diameter.