

ブタ回虫からえられた起炎症性分画

附 寄生蠕虫症の皮内反応の特異性への疑問

森下 哲夫 小林 瑞穂 長瀬 啓三
 西田 侑三 岩 永 大 鷲見 方孝
 加藤 信博 奥野 嘉也 川合 幸夫
 篠田 寛 細井 達夫 堀場 通明

岐阜大学医学部寄生虫学教室

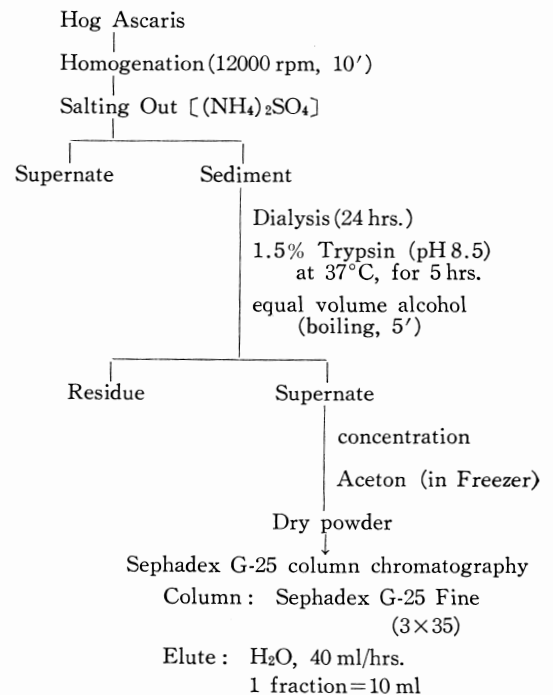
(1968年11月30日 受領)

Rocha e Silva *et al.* (1949) がウシの血漿蛋白に蛇毒あるいはトリプシンを作用させると血圧低下作用および腸管収縮作用をもつ活性ペプチド bradykinin が生成されることを報告した。最近諸研究者によつて毒腺をもつ動物にかまれたとき痛みをともなう強い生理作用がみられるが、その本体の解明の結果、毒液中に serotonin, histamine, acetylcholine のようなアミン類や活性ペプチドのあることが証明された。哺乳動物以外からえられるこの降圧活性ペプチドについてはカエル、ハチ、アリなどのものが知られている。著者らはブタ回虫体から前記 Silva *et al.* (1949) の方法に準じて起炎症性分画を抽出した。更にこの分画とは直接の関係の有無が今後の検討にまつ問題であるが、寄生蠕虫症の皮内反応の特異性についての疑問点をのべる。

材料及び方法

新鮮なブタ回虫 (15~25cm) およびヤマトゴキブリ成虫を材料とした。虫体100gを生食水で洗浄後、磨碎機で12,000rpm 10分処理した。これに等量の飽和硫酸液を加え塩析処理をした。遠沈した沈渣に脱塩の目的でビスキングチューブで24時間流水透析した。透析物をアンモニアで pH 8.5 に調整した。これに1%トリプシン(メルク製)を添加、37°C 5時間反応させた。等量アルコールを加え5分煮沸した。遠沈した上清部をロータリーエバポレーターで濃縮する。これを氷室中でアセトンを加え生成した沈渣をデシケーター中で乾燥し粉末とした。更に Sephadex G-25 カラムクロマトグラフィーで精製した。分画した第2分画は起炎症性強くこれを *Ascaris* permeability factor (APF) と名付けた。(Fig.1) 健康な 2.5~3.0kg の雄のウサギの腹部を剪毛し、70

Table 1 Fractionation of APF on Hog *Ascaris*



%アルコールでふく。局部に0.1ml 検査液を皮内注射した。

この際エバンスブルーを生食水で10mg/mlの濃度にしたものを予じめ耳静脈から注射しておく。その結果発現する青色斑の面積を求め、これに色調係数をかけたものを数値とした。青色斑の色調が最強のものを3、やや強いものを2、中等度のものを1、かすかなものを0.5、

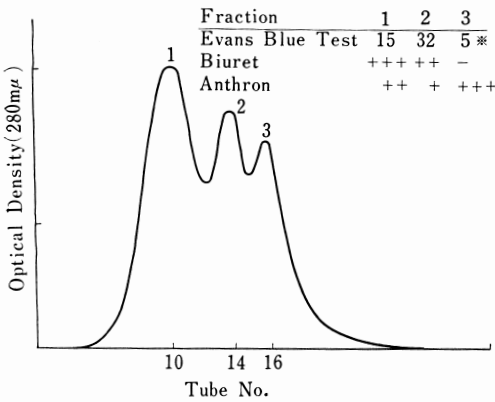


Fig. 1 Fractionation on Sephadex G-25 column chromatography.

*Colour index (blue response area (mm²) × coefficient of colour)

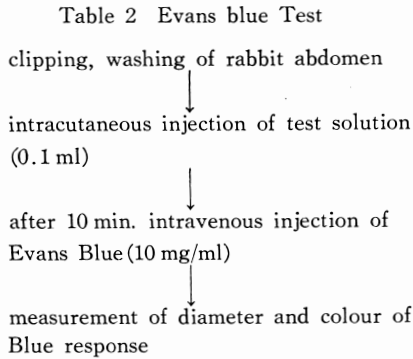
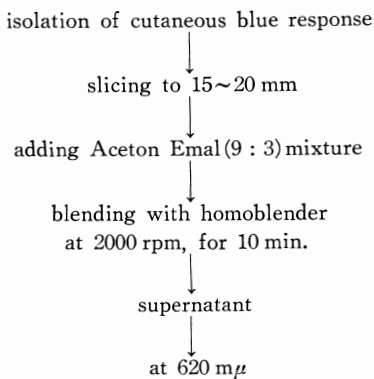


Table 3 Quantative analysis of intracutaneous filtrating Evans Blue



不明のものを0とした。別に原田ら(1966)の方法に従って、この血管透過性因子の定量を試みた。Fig. 2に示す様に抽出された色素量との間に直線関係を認めた。

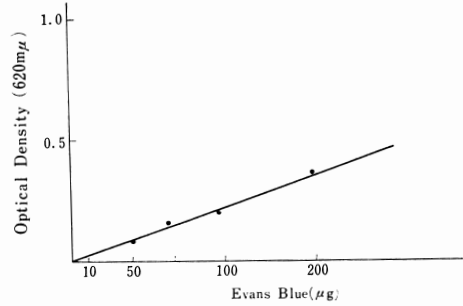


Fig. 2 Extract of Evans Blue in normal rabbit skin.

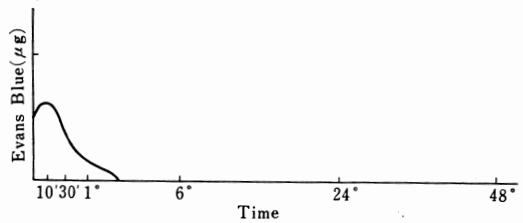


Fig. 3 Time course of permeability increasing after intracutaneous injection of APF.

APF: Ascaris permeability fraction.

成績

ブタ回虫にくらべてヤマトゴキブリからの起炎症性分画は活性が弱く、その詳細については後に西田が報告する予定である。ブタ回虫で Sephadex 処理した第2分画について、経時的に変化をみると次の様である。

Fig. 3に示す様に一羽のウサギの腹部に48時間前、24時間前→6時間前→10分前と異なる時間に0.1ml宛 APF を皮内注射しておいて、耳静脈からエバンスブルーを注入してみると、明白な青色斑のみられるのは10分～3時間前までである。6時間以前のものには青色斑はみられない。しかし局所の発赤、膨疹という点では6時間→24時間→48時間前のもも存在する。青色斑のみについていえば10分前のもが peak であつた。3時間前のもは消失点であつた。

ブタ回虫の APF に対する塩酸ジフェンヒドラミン(武田)およびホモクロミン(エーザイより分与する)の影響をしらべたのが Fig. 4, Fig. 5である。投与濃度 30 mg/kg とし15分前に静注しておいた。その結果は活性分画皮内注射後10分を peak とする反応は抑制されたが3時間後の反応は抑制されなかつた。

回虫体からの起炎症性分画の濃度による影響をしらべ

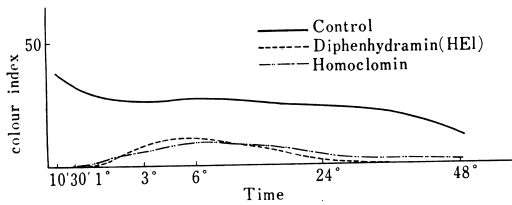


Fig. 4 Effect of Antihistaminic agent on APF
APF: Ascaris permeability fraction

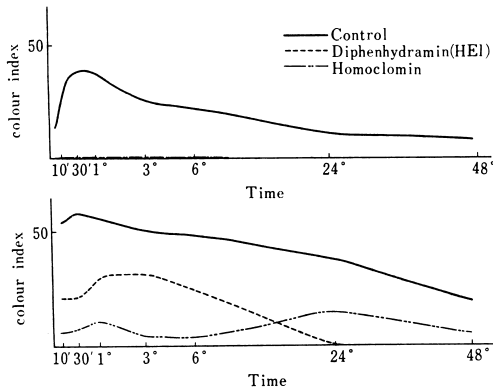


Fig. 5 Effect of Antihistaminic agent on Histamine.

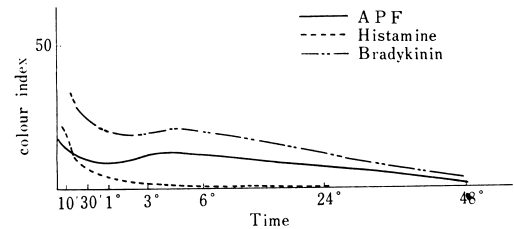
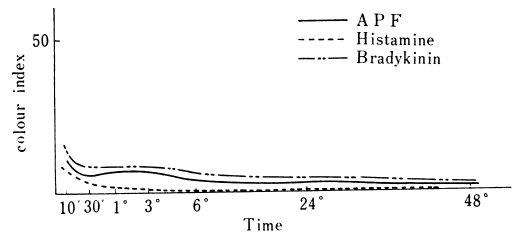
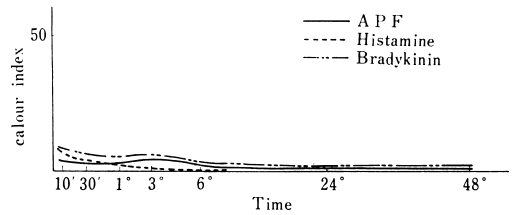


Fig. 6 Relation between inflammation and various concentrations of APF, Histamine and Bradykinin.

た。

Fig. 6 の様に検液 0.1ml 中に 0.01 μ g, 1 μ g, 10 μ g の各濃度での APF (*Ascaris* permeability factor), ヒスタミン, bradykinin の活性を比較した。0.01 μ g ではヒスタミンは10分を peak とした反応を示し, 3時間以後は反応はないのに, APF と bradykinin では10分を peak とする反応の次に 3~6 時間後に発赤と膨疹をみる事が出来る。1 μ g では 0.01 μ g と大差はない。10 μ g では反応が全般にひどくなりヒスタミンではすみやかに消失するが, 後 2 者では 24 時間以後でも膨疹がみとめられる。同濃度当りでは bradykinin の活性がめだち, APF はこれに次いでいる。

ドロレス顎口虫およびヤマトゴキブリ抗原による皮内反応:

抗原の製法は顎口虫の場合はガラスホモゲナイザーで磨砕し, 凍結乾燥したものを Coca 液で 1 万倍稀釈に抽出した。ゴキブリはガラスホモゲナイザーで磨砕し, アセトン乾燥粉末とし, Coca 液で 1 万倍稀釈に抽出した。

顎口虫抗原 (N量 2.2 μ g/ml) の皮内反応は本学医学部 1 年生で寄生虫感染のないと考えられる 20 名に行ない 5 名陽性であった。カッコ内は Coca 液を対照とした場合の数値で, 反応陰性のものには対照液の反応も陰性で

あつた。術式, 判定は石崎 (1967) によつた。

$$\frac{20 \times 15}{30 \times 40} \left(\frac{11 \times 9}{0} \right), \frac{10 \times 10}{35 \times 45} \left(\frac{10 \times 12}{0} \right),$$

$$\frac{13 \times 13}{35 \times 35} \left(\frac{11 \times 9}{0} \right), \frac{15 \times 12}{40 \times 40} \left(\frac{10 \times 10}{0} \right),$$

$$\frac{11 \times 14}{28 \times 32} \left(\frac{6 \times 9}{0} \right)$$

ゴキブリ抗原の場合は当教室員(男) 8 名に実施した。4 名陽性であつた。勿論寄生虫感染はない。

$$\frac{13 \times 13}{30 \times 50}, \frac{15 \times 12}{30 \times 35}, \frac{10 \times 12}{25 \times 25}, \frac{10 \times 10}{0}$$

該抗原と一見関係のないと考えられるヒトに対する皮内反応がある程度陽性であることと共に対照 Coca 液に対する皮内反応も平行して現われることは気がかりである。これらのことについては各方面からの検討が必要であると思う。

考 察

寄生虫病の特異皮内反応に対する疑義:

Kagan (1968) は住血吸虫症の免疫反応についての綜

説で、彼の意見として IDT (皮内反応) は価値ある診断的方法であるとした。対称膨疹が $0.4 \sim 0.6 \text{ cm}^2$ の平均値から相当な変化値を示せば多くの偽反応が出てくる。皮内反応抗原を適正にすれば 93~100% の信頼度のある結果が得られるという。Kagan *et al.* (1961) は同氏らの抗原について吟味し $20 \sim 40 \mu\text{g N/ml}$ を含むものを 0.05 ml 皮内に注入して、15分後の反応で 1.0 cm^2 以上の膨疹の出た場合陽性であり、抗原の N 量こそ重要で抗原の抽出の方法は、saline extract, Chaffee extract, Melcher extract, Bicarbonate extract, Schistosomin extract の何れでも変りないという。5歳以下の子供は感受性少なく、女は男より反応し難く、腕より背中の方が反応がよく出るという。しかし Kagan *et al.* (1961) は論文の最後に健康人に出る陽性の反応について将来検討を要するといっている。

寄生蠕虫症の皮膚反応については Taliaferro (1930) の著書によっても抗原注入後 15~30分 に起こるいわゆる immediate reaction に特異性ありとして、その後日本の諸研究は著者を含めて疑いをもたなかった。横川ら (1957) は寄生蠕虫症の皮内反応は蕁麻疹様皮内反応で Arthus 反応と異なるものと定義した。石崎 (1967) は寄生虫保有者の 90% 以上が該当寄生虫抗原液に対して皮内反応陽性となることは多数の学者のみとめている所であると前置きして、膨疹直径が 4 mm 以上増大した場合を陽性とする横川の考え方に発赤 20mm を陽性限界に加えた。そして実際の場合限界附近の対照例の出現は数% であるので問題は少ないとしている。石崎ら (1961) は鉤虫症患者に鉤虫抗原の皮内反応を行ない 2 峰性の反応域のあることを示し、このことから特異性の存在を証明した。但し抗原には phenol を入れてあるのに、対照生食水に phenol の入っていないことは著者らは気がかりである。沢田ら (1961) は鉤虫症患者の皮内反応で 88.1% 陽性、非寄生者は 34.7% 陽性であったといっている。更に抗原液にマーズニンを添加すると対照マーズニン生食水のみでも反応の著明であったことを気にしている。生食水のみで皮内反応をして 7.8% 陽性であったともいう。

著者らは寄生蠕虫症の診断的価値という点に疑問を抱き始めている。すなわち診断的価値があるとすると、特異抗原抗体反応である必要がある。ここで寄生蠕虫症の皮内反応は 15分後の膨疹を判定することであり、これは蕁麻疹様皮内反応すなわち Coca (1922) の atopy の概念で説明すべきである。atopy とは「奇妙な状態」とい

う意味で「遺伝的素因に関連したヒトに特有な過敏状態で、循環抗体をもち、枯草熱、気管支喘息などのように即時型臨床症状を呈する症候群」であるとされる。そこで「ヒトで自然に発生するアレルギー疾患」の一群を臨床的に呼ぶ atopy の概念を、はつきりした感染症である寄生蠕虫症にあてはめていいかどうか、著者らの最も気にかかることである。すなわち atopy という奇妙な状態を説明する言葉でなく別の言葉で、若し寄生蠕虫症の皮内反応が 90% 特異性があるなら説明されなければならないと思う。寄生虫でも原虫のトキソプラズマ症は delayed type の皮膚反応である。

林 (1967) によればウサギに結晶卵白を注入して感作した後起こる抗原に対する皮内反応である Arthus 現象は 3~24 時間に出現して抗原抗体反応の結果、補体に作用し蛋白分解酵素の作用をひき起こし chemical mediator が出来て膨疹、発赤を生じ、これは完全に抗原、抗体の特異な関係が証明されている。林は惹起抗原を入れて 15分後に出来る反応は非特異性であるとしている。

秋山 (1967) は atopy の場合ヒトのもっている抗体は試験管内で抗原と結合して眼にみえる沈降物を造る性質を欠いているという。このことは寄生蠕虫症の抗体に atopy のものと沈降反応のもの 2 種あることを肯定しなければならない。しかし前記横川ら (1957) は肺吸虫患者で P-K テストを証明しているし、熱に弱い抗体であることも証明したので、横川の見た反応は atopy-like であることは間違いない。

それにしても一番疑問に感ずることは感染症の皮内反応が、遺伝的素因によつて稀れに起こるヒトの atopy に近いという点である。

著者らは細菌、原虫と同様ヒトの蠕虫症感染は一様にあらゆるヒトに感染可能で、特異の体質のヒトのみに罹患するものではないと考える。ヒトの蠕虫症の皮内反応の特異性を atopy で診断することには今後多くの疑問点の出てくることを著者らは提示したい。Kagan (1961) も心配して述べている様に非感染者に対して抗原が皮内反応陽性となることは、福島ら (1967) も奄美で非感染者 6,461 名中 3.1% に肺吸虫抗原皮内反応陽性の報告をしている。

著者らが回虫、ゴキブリ体から抽出した起炎性分画と同様のものが、寄生蠕虫体の saline extract やペプチド抗原中に含まれることは考えられる。あるいは回虫中のものがキニンの前駆体物質であるかもしれないが、寄生蠕虫体に含まれる chemical mediator によつて直接ひ

き起こされ、ただその濃度が高ければすべてのヒトに陽性であるが、低濃度の場合ヒトの遺伝的素因その他の差によつて皮内反応陽性であつたり、陰性であつたりする反応の可能性は将来の検討にまちたい。最近の当教室の実験でウサギの皮内注射でプタ回虫の生食水のみ抽出液の反応の域値を証明出来た。その値はN量で1 μ gであり、発赤、膨疹とも10分後を peak とするものである。

結 語

1. プタ回虫体から起炎症性分画を抽出した。10分を peak とし3時間後に消失する膨疹と6時間→24時間つづく膨疹があり、ゴキブリのものは回虫のものより活性弱く、前者は0.1ml 中に0.01 μ g でも反応を示した。

2. ドロレス顎口虫およびヤマトゴキブリの Coca 液1万倍抽出液で健康者に皮内反応を行ない夫々25%、50%の陽性率をえた。

3. 寄生蠕虫症の皮内反応は当該抗原皮内注射後15分の膨疹の増大で判定される。この反応は atopy の概念による抗原抗体反応である。遺伝的素因による奇異な現象である枯草熱、気管支喘息の説明のためにある atopy の考え方を感染症である寄生蠕虫症にあてはめてよいかどうかを将来検討していきたい。

文 献

1. 秋山武久(1967)：アトピーをめぐる最近の問題点。医薬の門, 76, 2-9.
2. 福島英雄・浜田正則(1967)：肺吸虫症に関する研究, I. 鹿大医誌, 19, 439-446.
3. 原田稔・竹内三津男・片桐謙(1966)：Passive Cutaneous Anaphylaxis の定量化並にモルモットのアナフィラキシーに及ぼす抗ヒスタミン剤の影響。アレルギー-15, 1-7.

4. 林秀男(1965)：炎症の生化学。代謝, 2, 708-715.
5. 井上東(1941)：日本住血吸虫体抽出液による皮内反応(仮称シスト反応)に就て。日本寄生虫学会記事, 13, 48-49.
6. 石崎達・久津見晴彦・熊田三由・小宮義孝・荒木英齊・高山久郎・岡田周子・野崎繁男(1961)：鉤虫 Carrier の臨床的研究。VII. 鉤虫症のアレルギー的解析。寄生虫誌, 10, 211-220.
7. 石崎達(1967)：寄生虫アレルギー。モダンメディア, 13, 429-441.
8. Kagan, I. G. *et al.* (1961)：Studies on the standardization of the intradermal test for the diagnosis of bilharziasis. Amer. J. Trop. Med. 10, 200-207.
9. Kagan, I. G. (1968)：Serologic diagnosis of schistosomiasis. Bulletin of New York Academy of Med., second series, 44, 262-277.
10. 中島暉躬(1968)：哺乳動物以外からえられる降圧活性ペプチド。代謝, 5, 253-258.
11. Rocha e Silva, M., Beraldo, W. T. and Rosenfeld, G. (1949)：Bradykinin, a hypotensive and smooth muscle stimulating factor released from plasma globulin by snake venomes and by trypsin. Amer. J. Physiol., 156 261.
12. 沢田利貞・河野恵・佐藤重房・追川実男(1961)：鉤虫の皮内反応, 11 S-70, 抗原による野外実験成績について。寄生虫誌, 10, 171-177.
13. Taliaferro, W. H. (1930)：The immunity of parasitic infections. John Bale, Sons & Danielsson, London.
14. 矢野三郎(1968)：キニンの構造と作用, 代謝, 5, 259-265.
15. 横川宗雄・吉村裕之・大島智夫・木畑美知江(1957)：肺吸虫症の皮内反応に関する研究(III) 人体における Prausnitz-Küstner 反応の実験。寄生虫誌, 6, 449-457.

AbstractINFLAMMATORY FRACTION FROM HOG *ASCARIS*. A QUESTION ABOUT
SPECIFICITY OF INTRADERMAL TEST FOR PARASITIC DISEASES

TETUO MORISITA, MIZUHO KOBAYASHI, KEIZO NAGASE, YUZO NISHIDA,
HIROSHI IWANAGA, MASATAKA SUMI, NOBUHIRO KATO, YOSHIYA
OKUNO, YUKIO KAWAI, HIROSHI SHINODA, TATSUO HOSOI
AND MICHIAKI HORIBA.

(*Department of Parasitology, School of Medicine, Gifu University, Gifu, Japan*)

1. According to Rocha e Silva's procedure, inflammatory fraction was extracted from *Ascaris lumbricoides suum*. This vasoactive fraction makes two types of wheals, immediate and delayed. After intradermal injection, immediate type is recognized from five minutes to three hours and delayed type from 6 to 24 hours. Kinin from ascarid, *Ascaris* permeability fraction (APF), has stronger activity than from cockroach. APF is active even when injected 0.01 μg .

2. *Gnathostoma* and cockroach antigens(10,000 dilution with Coca solution) show 25 and 50% positive reactions against non-infected persons. Intradermal test of helminthic infections is read after 15 minutes by enlargement of wheal. This allergic phenomenon is explained by atopy theory. Atopy is a strange antigen-antibody reaction of human individual which has specific hereditary constitution. The authors have a question whether helminthic infections could explain diagonostically by atopy or not.