

## 寄生虫性好酸球症に関する研究

### (1) 好酸球遊出因子

小林 瑞穂    山田 稻好    松浦 聰照    細井 達夫  
 西田 侑三    鷺見 方孝    岩 永 大    加藤 信博  
                  堀場 通明    篠田 寛

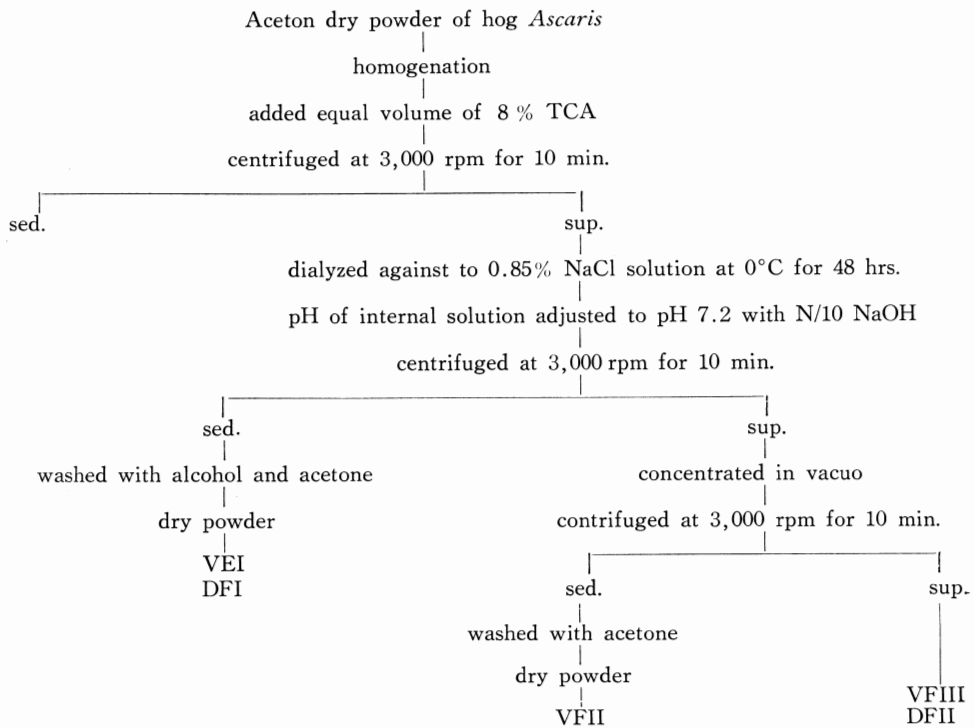
岐阜大学医学部寄生虫学教室 (主任 森下哲夫教授)

(1968年12月23日 受領)

寄生虫性好酸球肉芽腫の形成については、一般にアレルギーが関与するといわれている。このことは寄生虫感染病巣に、好酸球の著明な浸潤と増殖性肉芽腫の形成がみられることで、この病理組織像がアレルギー性病変におけるそれと一致するからである。すなわちアレルギー性反応における好酸球浸潤は、抗原抗体反応の結果肥満

細胞の脱顆粒が惹起され、遊離してきたヒスタミンに対する走化性とみられている(安平, 1964)。しかし、勝沼(1960)はモルモットの血中からエオジノポエチンを証明し、これがペプチド性の好酸球走化因子であるとした。また Menkin (1940 ab, 1955) は白血球の走化因子はペプチド性のロイコタキシンであるとしたが、その後の研

Table 1 Fractionation procedure of eosinophile leukocytosis promoting factor by the original and modified Vaughn's methods



modified Vaughn's method...no added equal volume of 8% TCA...DFI, DFII  
 original Vaughn's method...VFI, VFII, VFIII,

究でロイコタキシン作用を有する物質群と理解されている(安平, 1964)。また, Vaughn(1952) はブタ回虫からペプチド性および高分子ポリサッカライドの2分画の好酸球遊出因子をとりだし, 無感染動物でこれがヒスタミンリベレーターとして作用した結果, 好酸球の増多が認められたのではないかと推論している。小泉(1954)は回虫毒の研究から, 回虫体成分中にはその生物学的分析からヒスタミンあるいはヒスタミン様物質を含むとのべている。

このようなことから寄生性好酸球増多はアレルギー性反応のみによるものではないと考え, ブタ回虫を材料に好酸球遊出因子を追求した。

実験方法

ト場でブタ腸管内より採取した新鮮なブタ回虫 (*Ascaris lumbricoides suum*) を生理的食塩水で可及的に洗滌後, ウォーリンブレンダーを用いて磨砕し, これに4

°C に冷却したアセトン を3倍容添加し, 出来た沈澱を冷凍遠心して捕集し, アセトンおよびエーテルで各2回洗つて, アセトン乾燥末を作製し原材料とした。

好酸球遊出因子 (eosinophile leukocytosis promoting factor, E. P. F. と略す) の分画は Vaughn(1952)の原法および著者らの改変した変法 (Table 1) にしたがった。また分画のトリプシン処理による部分精製は Rocha e Silva *et al.* (1949) のプラジキニン分画法 (Table 2) にしたがった。

カラムクロマトグラフィーはセファデックス G-25 を 3×30 cm に充填し, 純水を溶媒として, 1時間 40 ml の溶出速度で, 10 ml ずつの分取とした。

各分画の定性は, 糖成分に関してはアンスロン法, ペプタイド, アミノ酸に関しては 280 m $\mu$  吸光度法, ビウレット法, およびニンヒドリン法を用いた。

使用した動物はハートレー系のモルモット, 体重 200 ~300 g の雄を使用した。なおこれらの動物は隔離され

Table 2 Fractionation procedure of eosinophilic leukocytosis promoting factor by Rocha e Silva's method

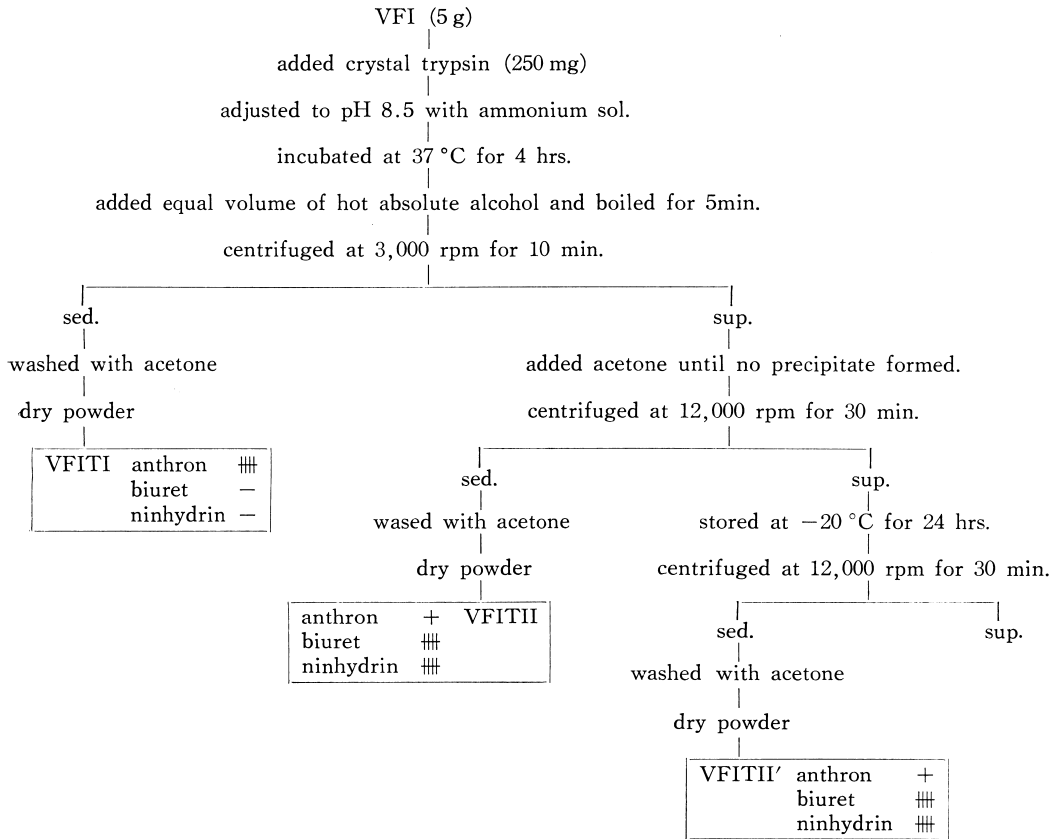


Table 3 Nature of fractions

fraction	solubility		anthron	ninhydrin	biuret	electrophoresis
	50% alcoh.	95% acet.				
VFI	—	—	##	++	++	(—)
VFII	+	—	+	###	###	gl.
VFIII	+	+	+	##	++	/
DFI	—	—	##	##	###	gl.
DFII	+	+	+	###	++	/

た飼育室で、人工飼料のみによつて累代飼育されたものである。

白血球の算定はモルモットの耳静脈より採血し、メランチュールにとり、型のごとく処理して、ビュルケル・チュルク計算板で 1 mm<sup>3</sup> 当りの白血球数を算定した。

好酸球の算定は前者と同様に採血し、普通塗沫染色標本を作製し、全白血球数に対する好酸球百分率(%)を求め、併せて全白血球数(1 mm<sup>3</sup> 当り)から好酸球数を算出した。なお染色はメイギムザ染色である。

モルモットへの各 EPF の注射は、モルモットをエーテル麻酔し心穿刺法で行なつた。

#### 実験結果

1) Vaughn の原法にしたがつて得られた各分画の好酸球遊出能について。

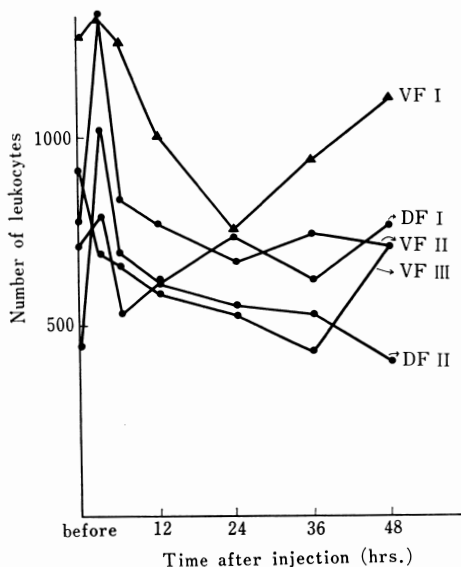


Fig 1 Number of leukocytes after injection of various fractions (30 mg/kg) by original and modified Vaughn's methods in guinea pigs.

Vaughn の原法および変法にしたがつて、分割した5分画の性状は Table 3 に示すごとく、いずれも極めて粗分画であり、VFI は比較的強いアンスロン反応を示したのに対して、VFII, VFIII はアンスロン反応よりピウレット反応およびニンヒドリン反応を強く示した。

この各5分画をモルモットに 30 mg/kg の割合で注射し、経時的に白血球、好酸球の変動をみたのが、Fig 1 ~ Fig 3 である。好酸球は一般に白血球の変動におくれて増量し、注射後 12 時間~36 時間の間に最高値に達した。白血球はいずれも12時間以内に最高値に達した。

前述の5分画の中でもつとも好酸球遊出能のあつた VFI をモルモットに 30 mg/kg, 15 mg/kg, 3 mg/kg の割合に注射して、以後の経時的变化をみたのが Fig 4 ~ Fig 6 である。

一般的傾向として、好酸球数については 30 mg/kg 注

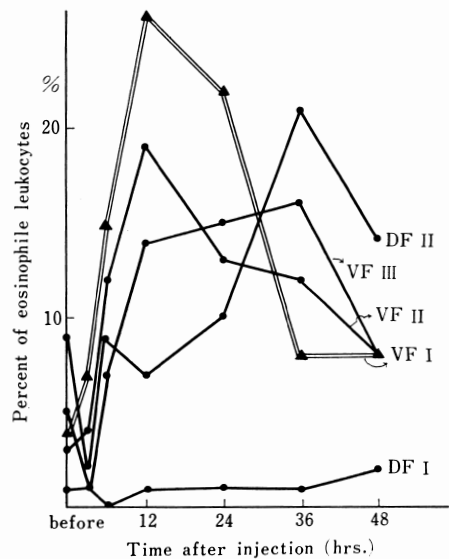


Fig 2 Percent of eosinophile leukocytes after injection of various fractions (30mg/kg) original and modified Vaughn's methods in guinea pigs.

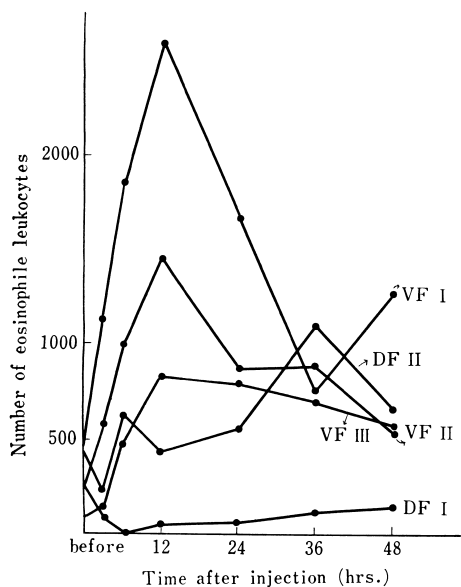


Fig 3 Number of eosinophile leukocytes after injection of various fractions(30mg/kg) by original and modified Vaughn's methods in guinea pigs.

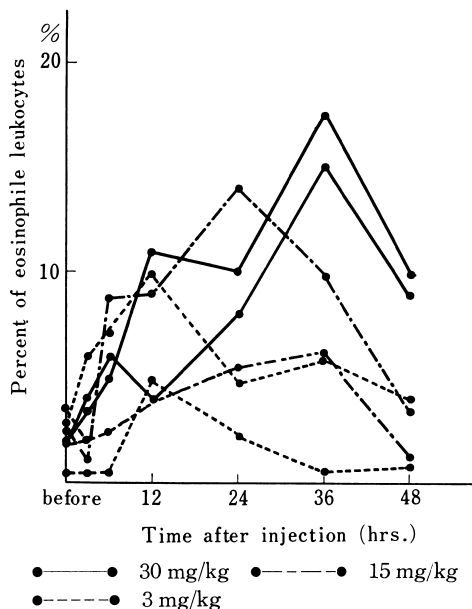


Fig 5 Percent of eosinophile leukocytes after injection of various concentrations of VFI in guinea pigs.

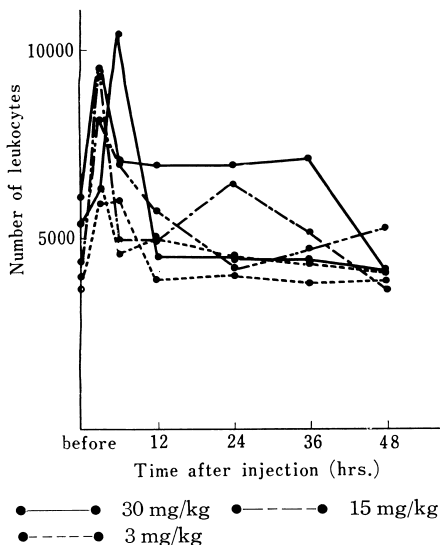


Fig 4 Number of leukocytes after injection of various concentrations of VFI in guinea pigs.

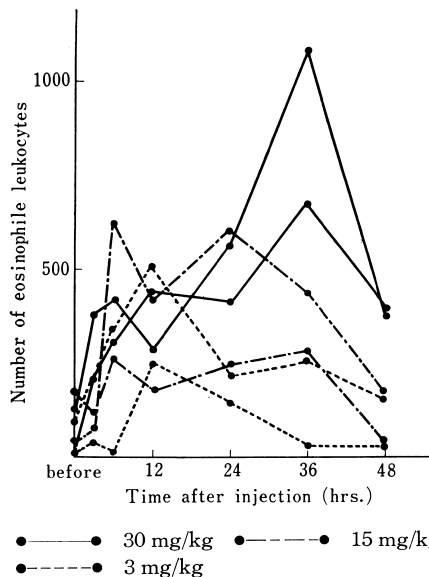


Fig 6 Number of eosinophile leukocytes after injection of various concentrations of VFI in guinea pigs.

射群では36時間後に最高値に達したのに対して、15mg/kg 注射群では24時間後に、また 3 mg/kg 注射群では12時間後にそれぞれ最高値に達した。また投与量の多い

ものほど好酸球遊出が多かった。

2) VFI 分画をトリプシン処理して得られた各分画の好酸球遊出能について。

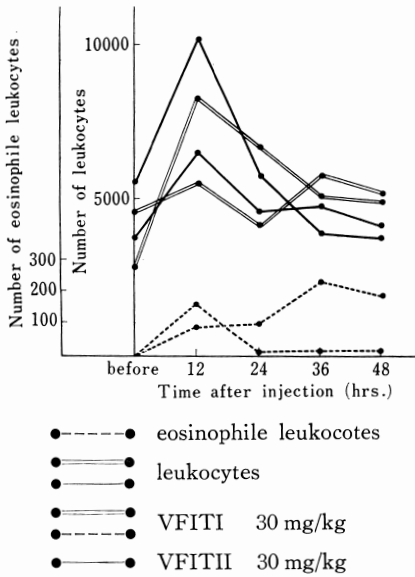


Fig 7 Number of leukocytes and eosinophile leukocytes after injection of VFITI and VFITII in guinea pigs.

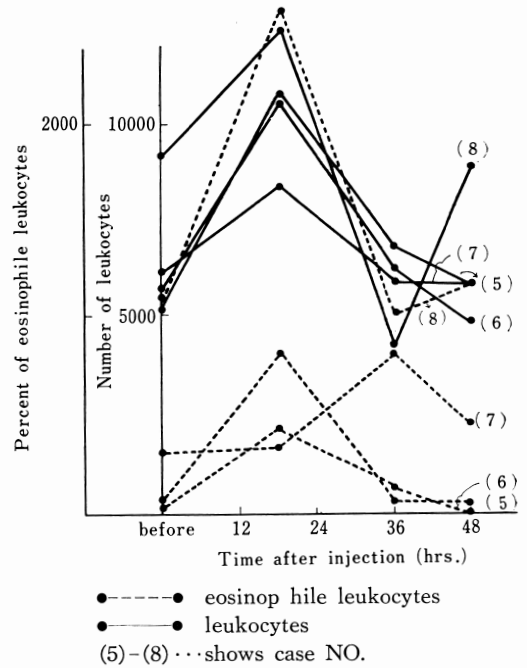


Fig 9 Number of leukocytes and eosinophile leukocytes after injection of VFITII' (30 mg/kg) in guinea pigs.

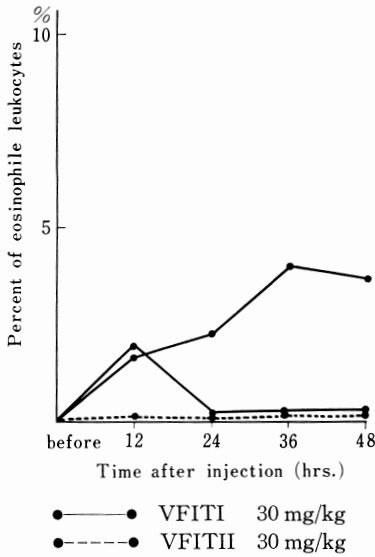


Fig 8 Percent of eosinophile leukocytes after injection of VFITI and VFITII in guinea pigs.

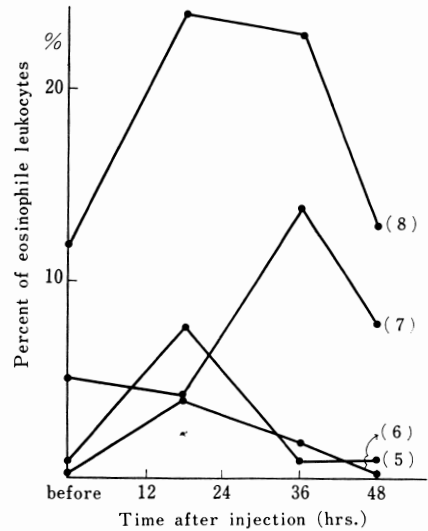


Fig 10 Percent of eosinophile leukocytes after injection of VFITII(30 mg/kg) in guinea pigs.

トリプシン処理後得られた3分割の化学的性状は Table 2 に示すように、VFITI ではアンスロン反応のみ陽性で、この分割は主として多糖体分割 (Vaughn, 1952) であり、VFIT II および VFITII' の2分画は主としてポリペプチド性のもので、ビウレット、ニンヒドリン反

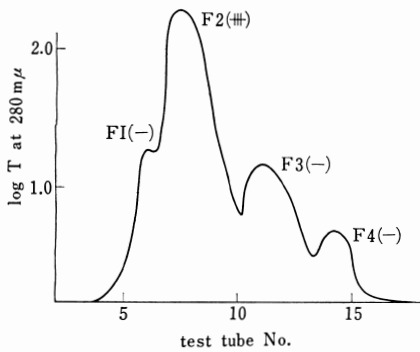


Fig 11 Fractionation of VFITH' by column chromatography. (Sephadex G-25, fine, 3×30)

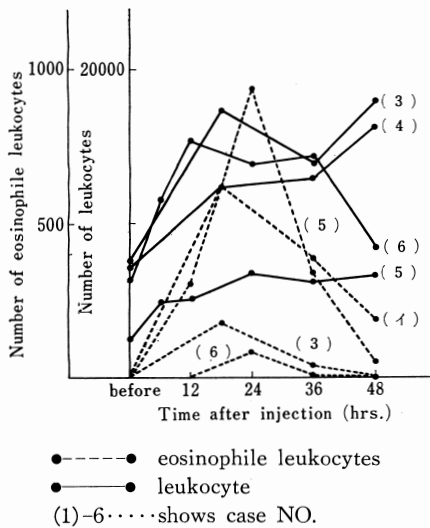


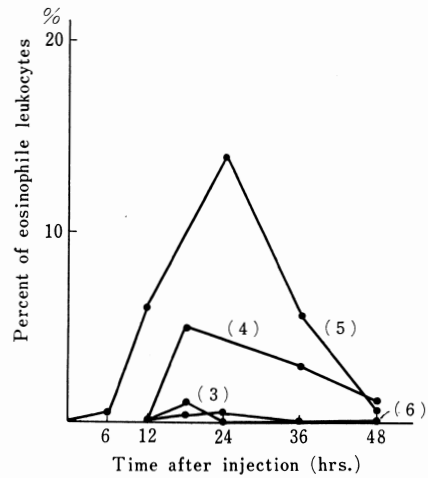
Fig 12 Number of leukocyte and eosinophile leukocytes after injection of VFITH' (F 2) (30 mg/kg) in guinea pigs.

応は強陽性であり、アンスロン反応は VFITH は(+)程度 VFITH' では(±)であつた。

このそれぞれの分画をモルモットに注射し、好酸球遊出能をみたのが、Fig. 7~Fig. 10である。この結果は VFITI では全く好酸球の遊出を認めなかつたのに対して、VFITH および VFITH' ではそれぞれ好酸球の遊出を認め、なかでも VFITH' が著明であつた。

3) VFITH' をカラムクロマトグラフィにより得た各分劃の好酸球遊出能について。

各分取液の 280 mμ 吸光度を測定した結果は Fig 11のごとく、比較的明瞭な4つの分劃が得られる。そこでこれらの各 1 ml をモルモットに注射し、その好酸球の



(1)-(6) ... shows case NO.

Fig 13 Percent of eosinophile leukocytes after injection of VFITH' (F 2) (30 mg/kg) in guinea pigs.

遊出をしらべたが、F1, FIII, FIV の各分劃では全くその遊出能を認めず、FII にのみ比較的弱いのが、遊出能を認めた(Fig. 12~Fig 13).

考 案

寄生虫性疾患における好酸球の増多は一般にはアレルギー性変化であると考えられている。Rocha e Silva & Grana (1946) は著者らと殆んど同じような回虫体成分を分画し、イヌに1回投与でアナフィラキシー様ショックの起ることを見出し、その原因が回虫体に含まれる物質により、イヌの肝内からからのヒスタミンの遊離が促進され、血中に大量に放出されることによると説明している。また小泉(1964)も回虫毒はヒスタミンあるいはヒスタミン様物質によると考えている。すなわち回虫体にはヒスタミン様物質あるいはヒスタミンを遊離させる物質が含まれているらしい。

一方好酸球の生理作用はヒスタミンの解毒にあるが、ヒスタミンが必ずしも好酸球の走化性を促進しないことも周知の事実である(千田・奥田, 1964)。

以上のような事実からみて、著者らの得た回虫からの E.P.F. は Vaughn(1952) のいうポリサッカライド分画(VFITI)には本作用を認められないし、少なくともカラムクロマトの結果、および分画の過程からみても、ヒスタミン様の低分子物質とは考えられない。そしてピウレット反応が陽性を示すことから、トリペプチド以上のポリ

ペプチドが想定される。

このペプチド性 E.P.F. が直接に好酸球遊出に関与するか、またはアレルギーなどの免疫反応を介して2次的関与するかが問題となる。現在のところ著者らは寄生虫無感染動物について実験していないので免疫すなわちアレルギーの関与については断言出来ない。

しかし Fig. 4~Fig. 6 に示すように、E.P.F. の量により、好酸球の出現率の異なること、また総白血球の増多にややおくれ、好酸球の増多がみられる点から考えても、松村(1964)がのべているような、すべて寄生性好酸球増多はアレルギー現象のみによつて説明されないようである。

### 結 語

ブタ回虫アセトン乾燥末から Vaughn (1952) および Rocha e Silva *et al.* (1949) の法にしたがい、好酸球遊出因子 E.P.F. を追求し、つぎのような結果を得た。

1) E.P.F. はポリペプチドであり、Vaughn (1952) のいうポリサッカライドはその作用を示さない。

2) E.P.F. の注射によりモルモットはその注射量にしたがつて、注射後6時間から36時間の間に好酸球数が最高に達する。この変化は総白血球の増多にややおくれ、出現する。

### 文 献

- 1) 小泉丹(1954) : 回虫毒の研究. 336頁, 岩波書店, 東京.
- 2) 勝沼英宇・杉本民雄・野田実・川下典央・星和男・佐藤蕃・米山弥一郎・遠藤輝男・本島元義・川久保

亮・芝本源治(1960) : 神経性体液性血球調節について. 臨床血液, 1, 813-823.

- 3) Menkin, V. (1940 a) : Mechanism of leukocytosis with inflammation. The nature of the leukocytosis-promoting factor in exudates. Arch. Path., 30, 363-373.
- 4) Menkin, V. (1940 b) : Studies on inflammation XVIII. On the mechanism of leukocytosis with inflammation. Am. J. Path., 16, 13-33.
- 5) Menkin, V. (1955) : Factors concerned in the mobilization of leukocytes in inflammation. Ann. New York Acad. Soc., 59, 956-985.
- 6) 松村竜雄(1965) : 小児の寄生虫疾患. 日本小児科全書, XVII 編, 100頁, 金原出版, 東京.
- 7) Rocha e Silva, V., Beraldo, W. T. and Rosenfeld (1949) : Bradikinin, a hypotensive and smooth muscle stimulating factor released from plasma globulin by snake venoms and by trypsin. Amer. J. Physiol., 156, 261-273.
- 8) Rocha e Silva, V. and Grana, R. (1946) : Anaphylaxis-like reactions produced by *Ascaris* extracts. 1. The changes in the histamine content and the coagulability of the blood in guinea pigs and in dogs. 2. The mechanism of the shock induced in dogs. Arch. Surg., 52, 523-537 ; 713-728.
- 9) 千田信行・奥田茂(1964) : 好酸球・単球反応. 日本血液学会編, 日本血液学全書, 3, 426-448, 岩波書店, 東京.
- 10) Vaughn J., (1952) : The stimulation of the eosinophile leukocytes. J. Path. & Bact., 64, 91-102.
- 11) 安平公夫(1964) : 炎症と血液・好中球とメンキン因子. 日本血液学会編, 日本血液学全書, 3, 385-394, 岩波書店, 東京.

**Abstract**STUDIES ON THE PARASITIC EOSINOPHILIA (1)  
EOSINOPHILE LEUKOCYTOSIS PROMORTING FACTORMIZUHO KOBAYASHI, INAYOSHI YAMADA, AKITERU MATSUURA, TATSUO HOSOI,  
YUZŌ NISHIDA, MASATAKA SUMI, HIROSHI IWANAGA, NOBUHIRO KATŌ,  
MICHIAKI HORIBA AND HIROSHI SHINODA*(Department of Parasitology, School of Medicine, Gifu University, Japan)*

According to Vaughns (1952) and Rocha e Silva's (1949) methods, eosinophile leukocytosis promoting factor prepared from acetone dry powder of *Ascaris lumbricoides* suum.

Eosinophile leukocytosis promoting activity was found in polypeptide fraction and not in polysaccharide fraction.

This eosinophile leukocytosis promoting polypeptide fraction was injected intracardially to male guinea pig. Number of eosinophile leukocytes in  $1\text{mm}^3$  of periferal blood increased from 6 to 36 hours after injection, but number of total leukocytes increased from 3 to 6 hours after injection.