

広東住血線虫症の免疫診断に関する研究

6. 精製抗原を用いての皮内反応

鈴木 俊 夫

秋田大学医学部寄生虫学教室

大 鶴 正 満 関 川 弘 雄

白 木 公 佐 藤 良 也

新潟大学医学部医動物学教室

陳 秀 男 李 松 玉

台湾省マラリア研究所

(昭和49年9月25日 受領)

広東住血線虫 (*Angiostrongylus cantonensis*) 成虫の全抽出液を抗原として用いた皮内反応を本線虫感染症の補助診断に役立てようとした Kagan *et al.* (1963, 1964) の試みは、他の蠕虫感染症との交叉反応とみなされる非特異反応が高率にみられ、満足すべき成果は得られていない。

さきに著者ら (1974) は、CNBr 活性化 Sepharose を immunoabsorbent として用いた affinity chromatography によつて、成虫全抽出液から本線虫に感染したラットの血中抗体と特異的に反応する抗原成分を分離精製することができたと報告したが、本線虫感染症の免疫診断への応用については十分検討していない。

1974年7月10日より8月9日までの1カ月間にわたつて、文部省科学研究費の援助を得て実施した『台湾における広東住血線虫症の疫学的調査研究』にさいし、上記抗原を用いた皮内反応の実用上の価値についても若干の検討を行なうことができたので報告する。

検査対象ならびに検査方法

1. 検査対象

台湾南部の屏東市および南東部の台東鎮内の主な医療施設を訪問し、好酸球性髄膜炎 (または広東住血線虫症) のため入院中の7例 (そのうちの3例は訪問当日の入

本研究は文部省科学研究費の援助による海外学術調査「台湾における広東住血線虫症の疫学的調査研究」の一環として行なつたものである。記して謝す。

院) と、過去にこれらの施設で上記診断によつて治療を受けた既往のある14例、計21例について検査を行なつた。

対照として、新潟県内に在住する108名の一般住民についても実施した。

2. 検査方法

a) 抗原

前報記載の方法 (佐藤ら, 1974) によつて、広東住血線虫成虫の全抽出液より精製した。作製した抗原液は脱イオン水に一昼夜透析して脱塩したあと、Millipore filter (pore size 0.45 μ) で濾過し、アンプルに1本あたり4 μ g (蛋白窒素量) となるよう注入し、凍結乾燥して4°Cで保存した。使用にさいして滅菌生理食塩水1 mlを加えて溶解した。

b) 皮内反応

被検者の前腕屈側皮内に抗原液0.02 ml注射し、15分後の膨疹および発赤の最大、最小径を計測した。

対照として、等量の生理食塩水を注射して比較した。

成 績

1. 有症者における成績

医療施設を訪問したさい、たまたま入院中であつた患者は症例1~7である (Table 1)。本症は通常不定の初発症状で始まることが多いため医師を訪れるまでの期間には症例によつて差があり、発症よりの経過期間で示すことは難かしかつた。そのため、初診日よりの経過期間によつて示した。また、臨床症状の程度でも症例によつ

Table 1 Intradermal test results in eosinophilic meningoencephalitis cases

No.	Name	Age, Sex	Time elapsed after the first med. exam.*	Size of wheal (Erythema) mm	Re-examination 32 days later
1	T. K.	8, ♂	0	6×6	12×12(30×35)
2	S. T.	8, ♀	0	6×7	
3	L. P.	15, ♀	0	12×12(25×25)	
4	S. C.	10, ♂**	3d	7×9(15×20)	
5	T. C.	3, ♀	5d	6×6	
6	I. C.	9, ♀	10d	4×4	8×12(25×30)
7	S. C.	11, ♀	10d	8×8(20×25)	10×12(30×30)
8	C. C.	3, ♂	1m	9×14(30×35)	
9	C. T.	15, ♂	1m	11×13(30×30)	
10	C. T.	8, ♂	1m	9×12(35×40)	
11	L. C.	4, ♀	2m	8×11(25×25)	
12	L. C.	13, ♀**	2m	8×9(25×25)	
13	L. S.	5, ♂**	3m	9×12(30×30)	
14	C. W.	3, ♂**	8m	7×7(20×20)	
15	L. M.	15, ♀	9m	10×13(25×25)	
16	C. J.	12, ♂	1y	10×11(30×35)	
17	C. F.	6, ♀	1y	14×16(40×40)	
18	L. S.	7, ♂	2y	10×12(25×30)	
19	C. L.	6, ♀	2y	8×10(25×25)	
20	T. A.	41, ♀**	6y	8×8(15×15)	
21	L. T.	36, ♂**	7y	12×16(30×35)	

* The first medical examination

** The parasites were detected in cerebrospinal fluids

てかなりの差がみられたが、検討のための要因には加えなかつた。

発症からの経過期間が短かく、しかも何らかの臨床症状を示していたこれらの症例での皮内反応は概して微弱で、膨疹の最大、最小径の平均値でも9mmを越える値を示したのは症例3のみであつた。発赤も軽微で、あつても境界不明瞭のものが多かつた。これらの症例中最も重篤な症状を示していた症例6でも、対照の生理食塩水注射とほとんど差が認められなかつた。

症例1, 6, 7では初回の検査から32日後に再検することができたが、いずれの例でも反応は著しく増強しており、膨疹径の平均で10mm以上を示していた。

2. 既往者における成績

初診日より1カ月以上経過していた14例(症例8~21)では、症例9が失明、症例10が軽度の麻痺性跛行の後遺症が認められたほかは、髄膜炎症状を残すものはなかつた。

これらの症例での皮内反応は、膨疹の最大、最小径の平均値で9mmを越すものが11例(71.4%)あり、前の有症者群より明らかに高率であつた。発赤についても既往者群では有症者群より大きく、しかも明瞭なものが多かつた。

3. 対照群

対照者108名についての皮内反応では、Fig. 1に示すごとく、膨疹の最大、最小径の平均値で9mm以上を示したのが5名(4.6%)のみで、7mm以下のものが95名(87.9%)と大部分を占めていた。

考 察

台湾において、6月から10月にかけて多発する好酸球性髄膜炎ないしは髄膜脳炎の多くは広東住血線虫の感染に起因するものと考えられている。Yii(1971)は1968年と1969年の2年間に台湾南部で発生した103例の好酸球性髄膜脳炎症例(それらの約10%の症例の脊髄液中に

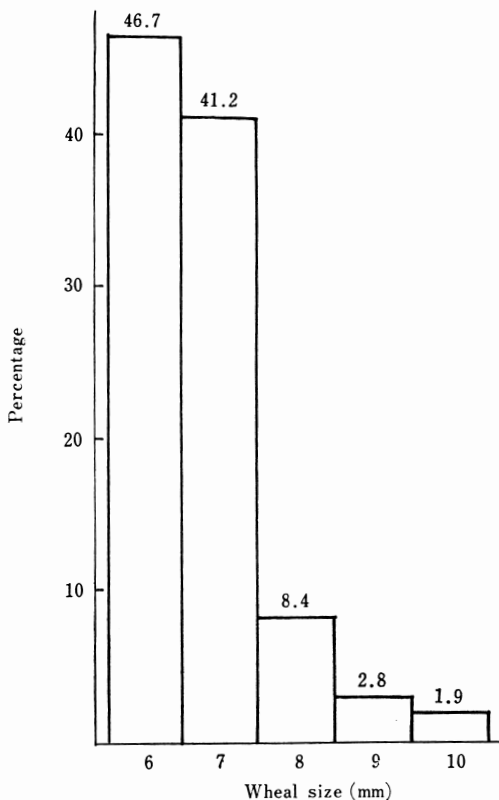


Fig. 1 Frequency distribution of reaction sizes of intradermal test among 108 persons of Niigata Prefecture

広東住血線虫の未熟虫体を検出している)を集めており、著者らも今回の短い期間内に、しかも限られた医療施設しか訪問していないのに、本症のため入院中の7名の患者に遭遇できたということからしても、台湾では本症がいかに高い頻度で発生しているかをうかがい知ることができる。

本症の多発地域である台湾南部ないしは南東部においては、本症にかなり特徴的な臨床所見、すなわち激しい頭痛、中等度の発熱、比較的軽度の髄膜刺激症状、脊髄液中の好酸球増多などから診断はさほど困難ではないといわれるが(鄭, 1974), 症例は上記の地域以外からも発見されており(Huang *et al.*, 1964, Chang *et al.*, 1968, 蔣, 1972), また、はじめから脳症状をあらわしてくる重篤な例や、さらにはまた、短期間内に死の転帰をたどる例などもある(野村, 林, 1945, Yii *et al.*, 1968)ことなどから他の中枢神経系疾患との鑑別の困難な場合も少なくないようである(Suzuki *et al.*, 1973)。

そのため、前言にも述べたように、手技が簡単な皮内

反応を本症診断の補助手段として用いようという試みが2~3の研究者によってなされているが、今までのところ成功していない。興味ある報告として、Alicata and Brown (1962) が Tahiti で広東住血線虫成虫の全抽出液を用いて好酸球性髄膜炎の患者に皮内反応を行なったところ陽性であったことから、少なくとも反応が陰性であるということは広東住血線虫症を否定する根拠となしうと考察していることである。しかし、この報告の検索の対象とした症例は既往者であったのか、または罹患中であつた人を指しているのかについては明らかにされてはいない。

一般に、蠕虫感染症では著明な reagin の産生がみられるということは良く知られている。しかし、感染してからどれほどの期間でそれが検出可能となるかという点については、蠕虫の種類、検出法の違いなどによって一定ではないと思われるが、Sadun (1972) の総説によると2~5週としている報告が多いようである。広東住血線虫感染症についてそれを考察したという報告は未だない。それ故、著者らは自験の少数例からであるが、感染より皮内反応抗体の検出可能となるまでの期間について推定してみた。

Table 2 Descriptions on the incubation period of angiostrongyliasis

Reporter	Range (Days)
Alicata & Brown (1962)	12-28
Rosen <i>et al.</i> (1967)	10-24
Williams (1967)	1-21
Malarde <i>et al.</i> (1967)	3-20
Punyagupta <i>et al.</i> (1970)	6-15

まず、感染より発症までの期間、すなわち潜伏期についてであるが、従来までの記載をまとめると Table 2 のごとく、最短1日から最長28日と報告によってかなりの幅がある。Yii (1971) も台湾で発生した症例では数日より1カ月の間にあつたと記載している。こうした症例ごとの症状発現までの期間の差は、おそらく感染した幼虫数、または幼虫が脳実質を侵したか否かなどの要因によって出てくるものと思われる。いずれにせよ、これまでの報告では感染後10日前後で発症してくる例が最も多いようである。

著者らが調査した症例の中で、感染と発症との期間が確認できたのは症例15と21の2例のみである。症例15ではアフリカマイマイ (*Achatina fulica*) を生で食べて7

日目に発症し、完全に失明した患者である (Liang *et al.*, 1973). 症例21は3名の友人と一緒にアフリカマイマイをサシミにして喰べたところ、5日目に4名同時に発症し、そのうちの2名が30日目と37日目にそれぞれ死亡したというものである (Cross, 1967). これらの重症例ではいずれも7日、5日目と比較的早期に発症していることは興味深い。

つぎに、発症後皮内反応抗体の検出可能となるまでの期間についての推定であるが、発症してなら医師を訪れるまでの期間は症例によつて差があるため、初診日より経過日数によつて検討した。それによると、初診日より10日目までの症例では反応はないかあつても微弱なのに、1カ月以上経過していた症例では強い反応を示すものが多かつたこと、さらに最初の検査では9 mm以下の膨疹径しか示さなかつた発症間もない3例でも、さらに32日後の再検査では10 mm以上に増強していたという事実から、皮内反応抗体は症状発現後かなり遅れて検出可能となつたと思われた。

以上に述べた諸点をふまえて、広東住血線虫症における皮内反応の価値について考察してみた。症状は感染してから少なくとも数日間(多くは10日前後)してから現われ、さらに皮内反応抗体が検出可能となるまでには症状発現後数日(おそらく15日以上)を要するわけであるから、皮内反応によつて発病を予知することは不可能であるばかりか、急激な経過をとる本症にあつては症状が顕著に現われている時でもなお診断の助けとはならないことを示している。ただ、既往者の多くにより強い反応が現われたことから、疫学調査などである地域住民の本線虫による浸淫状況を知るための指標としては利用できると思われた。

蠕虫感染症の皮内反応については、これまでも多くの研究者によつて検討され、判定法についても種々提案されているが、未だに規格化されてはいない。

今回著者らが調査し得た症例は21例のみであつたから、それらの成績から陽性/陰性の境界値を決めることはもちろん不可能であつた。それ故、石崎(1973)が採用している判定基準にあてはめて考察してみた。膨疹径の平均値9 mm以上を陽性とするとき既往者の21.4%が陰性と判定されるが、発赤径の平均値20 mm以上を陽性とするとき92.9%が陽性となる。しかし、発赤は膨疹に比べて一般に境界不鮮明なことが多く、しかも台湾で発生する本症患者の多くが皮膚色調の濃い南部原住民であるなどの理由から、発赤の正確な測定は困難で信頼性は少

ないと判断された。膨疹径8 mm以上にとると92.9%が陽性となるが、対照者でも13.1%が陽性と判定され、やはり非特異反応が多くて都合が悪い。今後さらに症例を加えて検討してみる必要があると思われた。そのさい考慮すべき要因の一つは被検者の年齢についてである。一般に寄生虫疾患での皮内反応では若年者と成人とで反応性に差があり、若年者でかなり低いことが知られている (Kagan and Pellegrino, 1961, 石崎, 1973). しかも、台湾で発生した好酸球性髄膜脳炎症例の大部分が14歳以下の若年者であるということから (Yi, 1971), 若年者と成人とでは判定基準を別に設けなければならないと思われる。

結 語

広東住血線虫成虫より抽出、精製した抗原による皮内反応の実用上の価値を知る目的で、台湾で発生した好酸球性髄膜脳炎(広東住血線虫症と確定診断された例を含む)21例と新潟県内在住の健康人108名について皮内反応を行なつた。

初診日からの経過が10日までの7例では、6例が反応は微弱で膨疹径の平均値でも9 mm以下であつたが、1カ月以上経過していた14例での反応は前者よりかなり強く、11例(71.4%)が膨疹径9 mm以上であつた。それに対して、108名の対照者では、単に5名(4.6%)のみが膨疹径9 mm以上を示した。

以上の成績から、本症における皮内反応抗体は発症後少なくとも10日以上1カ月以内に検出可能となつたと思われた。それ故、皮内反応は本症ことに急性期にあつては診断の補助手段としては利用し難く、単に疫学調査などの手段にしか用いられないと思われた。

謝 辞

稿をとじるにあたり、御協力、御助言いただいた台湾省マラリア研究所曾柏村所長、台東鎮陳春益医師、台東キリスト教病院何伯特利医師、屏東市鄭宗武医師および李朝欽医師に感謝の意を表します。

文 献

- 1) Alicata, J. E. and Brown, R. W. (1962) : Preliminary observations on the use of an intradermal test for the diagnosis of eosinophilic meningoencephalitis in man caused by *Angiostrongylus cantonensis*. *Canad. J. Zool.*, 40, 119-124.
- 2) Alicata, J. E. and Jindrak, K. (1970) : Ang-

- iostrongylosis in the Pacific and Southeast Asia. Charles C. Thomas, Illinois.
- 3) Chang, P. K., Cross, J. H. and Chen, S. S. (1968) : Aquatic snails as intermediate hosts for *Angiostrongylus cantonesis* on Taiwan. *J. Parasit.*, 54, 182-183.
 - 4) Cross, J. H. (1967) : Review of angiostrongyliasis in Taiwan. In seminar on helminthiasis and eosinophilic meningitis. South Pacific Commission (Mimeographed).
 - 5) Huang, W. H., Cheng, K. H. and Chang, I. H. (1964) : The rat lung-worm, *Angiostrongylus cantonesis* (Nematoda: Metastrongylidae) found in human eye in Taiwan. The 57 th Ann. Meet. Formosan Med. Assoc., Nov., 1964.
 - 6) 石崎 達(1973) : 寄生虫皮内反応の本質とその応用, *寄生虫誌*, 22, 13-33.
 - 7) Kagan, I. G., Alicata, J. E. and Brown, R. W. (1963) : cited from Alicata and Jindrak's text (2).
 - 8) Kagan, I. G. and Pellegrino, J. (1961) : A critical review of immunological methods for the diagnosis of bilharziasis. *Bull. W. H. O.*, 25, 611-674.
 - 9) Kagan, I. G. and Zaiman, H. (1964) : Evaluation of helminth skin-test antigens in a hospital in New York City. *Am. J. Trop. Med. & Hyg.*, 13, 82-88.
 - 10) Liang, D. C., Hsu, J. Y. and Chen, S. N. (1973) : A case of eosinophilic meningoen- cephalitis with bilateral blindness caused by *Angiostrongylus cantonensis*. *Acta Paed. sin-*
ica, 14, 157-164.
 - 11) 野村精策, 林 炳煥(1945) : 臨床上始めて人体に発見せられたる *Hemostrongylus ratti* Yokogawa の1例. *台湾の医界*, 3, 589-592.
 - 12) Sadun, E. H. (1972) : Homocytotropic antibody response to parasitic infections. *Immunity to animal parasites* (edited by Soulsby, E. J. L.), Academic Press, New York & London, 97-129.
 - 13) 佐藤良也, 鈴木俊夫, 山下隆夫, 関川弘雄, 大鶴正満, 陳 秀男, 李 松玉, 劉 国輝(1974) : 広東住血線虫症の免疫診断に関する研究. 4. Immunoabsorbent を用いた抗原の精製. *寄生虫誌*, 23, 42-52.
 - 14) 蔣 枝生(1972) : 在台湾省中部発生の嗜伊紅性脳膜炎之1例. *小児科医学会誌(台湾)*, 13, 26-32.
 - 15) Suzuki, T., Liu, K. H., Chen, S. N., Lee, S. Y., Lin, S. Y. and Tseng, P. T. (1973) : Epidemiological observations on angiostrongyliasis in Taiwan. 1. Results of indirect hemagglutination test for angiostrongyliasis among suspected Japanese encephalitis cases. *Jap. J. Parasit.*, 23, 187-192.
 - 16) 鄭 宗武(1974) : 私信.
 - 17) Yii, C. Y., Chen, C. Y., Fresh, J. W., Chen, T. and Cross, J. H. (1968) : Human angiostrongyliasis involving the lungs. *Chinese J. Microbiol.*: 1, 145-150.
 - 18) Yii, C. Y. (1971) : The problem of *Angiostrongylus* infection in children in the Pacific and Far East. The 13th International Congress of Pediatrics, Aug.-Sept., 1971.

Abstract

STUDIES ON IMMUNODIAGNOSIS OF ANGIOSTRONGYLIASIS
6. EVALUATION OF A INTRADERMAL TEST WITH A PURIFIED ANTIGEN

TOSHIO SUZUKI

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

MASAMITSU OTSURU, HIROHO SEKIKAWA, TADASHI SHIRAKI

YOSHIYA SATO

*(Department of Medical Zoology, Niigata University
School of Medicine, Niigata, Japan)*

SHIU-NAN CHEN AND SUN-YU LEE

(Taiwan Provincial Research Institute, Taipei, Republic of China)

In order to evaluate the usefulness of a intradermal test with a purified antigen prepared from *A. cantonensis* adults, the test was carried out on 21 cases of eosinophilic meningoen- cephalitis (including 6 confirmed cases of angiostrongyliasis) which occurred in Taiwan and on 108 inhabitants of Niigata Prefecture as control.

Out of 7 cases in which the time elapsed after the first medical examination was within 10 days, 6 showed a weak reaction below 9 mm in the mean wheal size to the test, whereas 11 (71.4%) out of 14 cases in which the elapsed time was more than one month was 9 mm or more. On the other hand, out of 108 healthy persons of Niigata Prefecture, only 5 (4.6%) showed a reaction over 9 mm.

The above results may indicate that the antibody responsible for the intradermal test could be detected within a period between 10 and 30 days after the onset of the disease, consequently that the usefulness of the test for angiostrongyliasis should be limited in an epidemiological tool.