

## 肺吸虫症の皮内反応に関する研究 (1)

横 川 宗 雄

大 島 智 夫

国立公衆衛生院

勝 呂 毅

函 南 医 院

(昭和30年5月16日受領)

## はしがき

肺吸虫症の皮内反応の抗原としては、主として成虫の抽出液が用いられているが、布上(1930)は成虫の代謝物質を、石垣等(1954)は患者の喀痰の抽出液を用いて、何れも陽性に出現することを報告している。

然しこれらの実験はすべて肺吸虫症患者の群と非流行地の健康者の群とについて行つたもので、肺吸虫症流行地で多数の人について集団的に行い、その信頼性について検討したものは見当らない。著者等は、成虫の生理食塩水抽出液及び成虫を24時間37°Cにて飼育した生理食塩水—この生理食塩水内には、成虫の分泌物及び排泄物(新陳代謝産物)が含まれている—を抗原として皮内反応を静岡県の肺吸虫症患者及び新潟県直江津市の小学生1,600名について実施して、其結果について検討してみた。なお本反応のPassive transferについて Prausnitz-Küstner 反応を人体で実験したので併せて報告する。

## 実験材料及び方法

## 抗原の製法

従来の肺吸虫症皮内反応の抗原としては、主として成虫の食塩水乳劑濾液が用いられて来たが、著者等は次の如く先ず材料を凍結乾燥後秤量し、乾燥重量に対する一定稀釈液を作製した。

## I. 成虫食塩水抽出液の製法

①犬或いは猫に肺吸虫メタセルカリアを与えて4カ月以上経つてから之を解剖し、肺臓より無菌的に成虫をとり出す。

②この成虫を滅菌食塩水で数回洗滌後、最後に滅菌蒸

溜水で洗滌する。

③真空度  $10^{-3}$ Hgmm 以下で凍結乾燥後、封入保存しておく。

④乾燥虫体を秤量後乳鉢で磨碎し、(Tissue grinder を使用した方が可)、之に99倍量の滅菌生理食塩水を加え、5°Cで3日間抽出する。

⑤次いで1万回転30分間遠心沈澱して上清をとる。

⑥上清を56°C30分宛2回非動化し、之に1万倍の割合にマーゼニンを加え原液(100倍液)として保存する。(凍結乾燥保存すればなおよい。)

⑦皮内反応の抗原としては、この原液を更に1万倍のマーゼニン加生理食塩水で100倍に稀釈し(1万倍液)、無菌試験を行つた後に用いる。

## II. 代謝物質抗原

①無菌的に感染動物(犬或いは猫)の肺臓より虫体を摘出する。

②滅菌生理食塩水で数回洗滌する。

③滅菌ブロックシャーレに1匹宛、2ccの滅菌生理食塩水と共に37°Cに24時間保つ。

④24時間後に虫体をとり出した後、ブロックシャーレ内の液を集め1万回転30分間遠心沈澱する。

⑤上清をとり56°C30分間2回非動化する。

⑥之に1万倍の割合にマーゼニンを加え原液として冷蔵する。(凍結乾燥保存すればなおよい。)

⑦之を1万倍マーゼニン加生理食塩水で、100倍に稀釈したものを抗原として用いる。

## 対象

静岡県函南郡の流行地に於いて、著者等の1人勝呂の診療室で既に胸部肺吸虫症患者と確定したもの、及び最近肺吸虫症の流行が認められた新潟県直江津市内の小学生に皮内反応を実施した。

Intradermal test for Paragonimiasis (I). Muneo Yokogawa,\* Tomoo Oshima\* and Takeshi Suguro\*\*

\* Institute of Public Health, Tokyo, Japan.

\*\* Kannami Hospital, Shizuoka, Japan.

反応術式

左前膊を露出し、広くその部をアルコール綿で清拭した後、ツベルクリン注射器で皮内に注射部位の膨疹の径が略々 4 mm になる程度に抗原を注射する。この場合の抗原の注射量は、凡そ 0.015~0.020 cc である。注射直後の膨疹の径を縦横 mm 単位で計測し、15 分後に再び注射部の膨疹の径の縦横を計測する。この場合発赤があれば、発赤の径も計測しておく。なお対照としては食塩水或いはその他の液を同側の前膊の抗原注射部位から約 4~5 cm 離れた部位に抗原と同量だけ同じ要領で注射し、やはり直後及び 15 分後の径を測定する。即ち次の如く記録しておけば便利である。

抗原		対照	
直後	15分後	直後	15分後
4×4 (4)	$\frac{8 \times 10}{25 \times 30}$ (9)	4×4 (4)	—

15 分後の判定の際には上段には膨疹(腫脹)の径を下段には発赤の大きさを記す。( ) 内の数字は縦横の平均で小数点以下の数字は四捨五入する。

対照の膨疹が 15 分後に消失した場合は、抗原注射部の膨疹の 15 分後の径(平均値)から直後の径(平均値)を減じたものをとる。この差を以下には腫脹差と呼ぶ事にする。若し対照にも腫脹差がある場合は、抗原の腫脹差から対照の腫脹差を更に減じたものを腫脹差として取扱う。

判定規準;

腫脹差が 5 mm 以上の場合を反応陽性、腫脹差 4 mm を疑陽性、3 mm 以下を陰性とする。

実験成績

A. 成虫抽出抗原と代謝物質抗原の比較

1) 反応の出現状況

確実に喀痰中より虫卵を検出して、肺吸虫症と確認されている患者の前膊に成虫の生理食塩水抽出液と、成虫の代謝物質及び対照として生理食塩水を皮内に注射して 1 分置きにそれぞれの注射部位の径を測定し、それぞれの腫脹差をとってグラフに示したのが Fig. 1 である。

即ち Fig. 1 の示すように生理食塩水抽出液及び代謝

Fig. 1

Comparison of the Increase in the Diameters of the Wheals with the Antigen prepared from Adults and the Antigen prepared from the Excretions and the Secretions of the Adults of *P. westermanii* in the patient whose stool showed Eggs of *P. westermanii*.

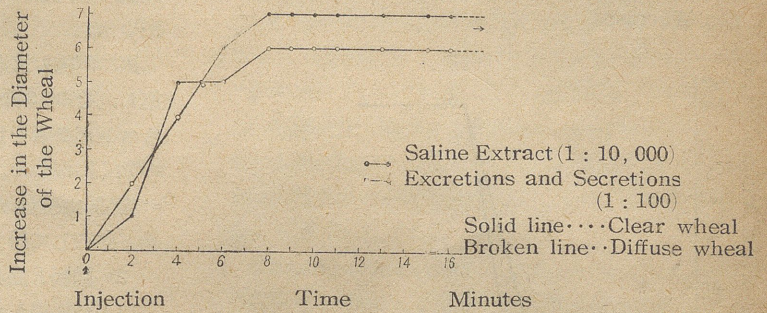
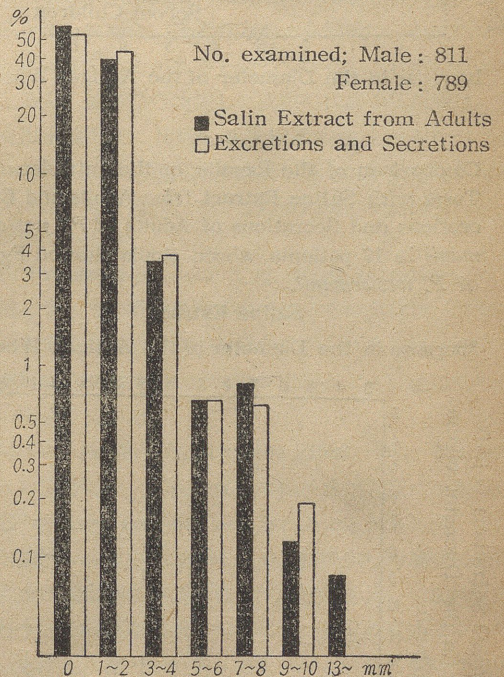


Fig. 2

Histogram of the Increase in the Diameter of the Wheal with the Antigen prepared from Adults and the Antigen prepared from the Excretions and Secretions of Adults of *P. west.* in 1,600 School children in the endemic Area.



Disappeared within 15 min. Increase in the Diameter of the Antigen Wheal in 15 minutes after Injection.

Fig. 3

Correlation of the Increase in the Diameter of the Wheal with the Antigens prepared from Adults and from Excretions and Secretions of Adults in 15 minutes after injection to the Rate of Appearance of Erythema around the Antigen Wheals.

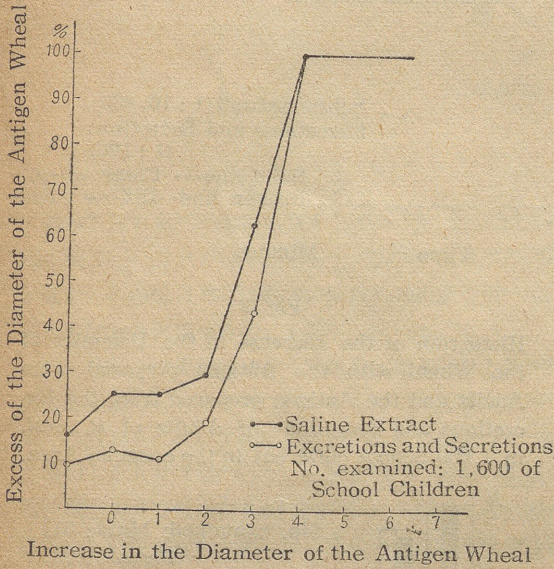
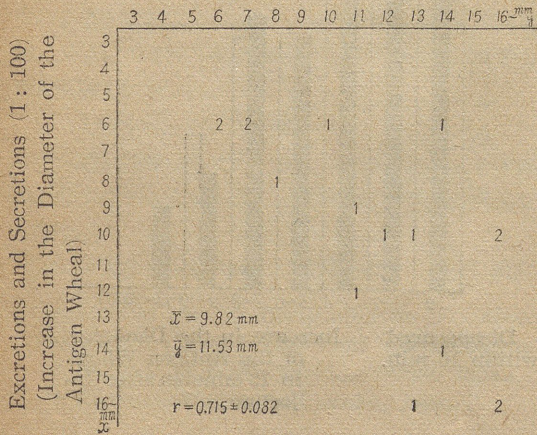


Fig. 4

Comparison of the Results of the Intradermal Tests with Saline Extract from Adults and Excretions and Secretions of Adults of *P. westermanii* in 17 patients whose stools showed Eggs of *P. westermanii*.

Saline Extract

Increase in the Diameter of the Antigen Wheal



物質共に注射直後から、注射部の膨疹は急速に腫脹し始め注射後8分には腫脹差はそれぞれ7mm及び6mmとなり、それ以後は腫脹の増加は見られなかった。注射後16~17分後からは両者共次第に腫脹の限界は不鮮明となり、3時間後には腫脹は消失してしまつた。勿論24時間後にも両種抗原の注射部位には何の変化も認められなかつた。

次に両種の抗原を用いて本反応を小学生1,600名に実施し、その15分後の腫脹差を2mmずつの度数分布をヒストグラムとして、対数目盛にとつてみるとFig. 2の如くになつた。

集団に実施した場合も両種抗原による反応の出現率は殆ど平行して居り、有意の差は認められなかつた。

2) 腫脹と発赤の関係

以上腫脹差から見ると両種抗原は全く同一の反応形式をとることが明かとなつたが、次に腫脹とそれに伴う発赤の関係を見たのがFig. 3である。

即ち成虫抽出抗原及び代謝物質抗原共に腫脹差4mm以上、即ち反応凝陽性及び陽性の場合には100%に腫脹の周囲に発赤を伴つていたが、3mm以下では、発赤の出現率は次第に減少している。特に代謝物質抗原では腫脹差3mm以下の場合成虫抽出抗原に比べて、発赤の出現率が減少していることが認められた。

3) 両種抗原による皮内反応陽性者からの虫卵検出成績

成虫食塩水抽出液と代謝物質を抗原として、静岡県田方郡函南村で、17名の肺吸虫症患者に皮内反応を実施した所、全員何れも陽性反応を呈した。特に両種抗原とも15分後の腫脹差は最小が6mmで大きいのは16mmを示したが、成虫の抽出液による腫脹差の平均は11.53mm、代謝物質によるそれは9.82mmであつた。その成績はFig. 4の如くである。

即ち食塩水抽出液の方が代謝物質に比べて、腫脹差が稍々大きくあらわれる様であるが、両者の腫脹差の相関をみると、相関係数 $r = 0.715 \pm 0.082$ となり、両者間の相関はかなり密であることを示している。

次に前述した如く最近肺吸虫症の流行地として新しく発見された新潟県の直江津市内の小学校生徒1,600名に両種抗原を注射して、15分後の腫脹差が4mm以上の者と、3mm以下の者とに分けてみると次の如くとなつた。此の場合対照として食塩水を皮内に注射し、之が矢張り腫脹差を示した場合は、抗原の腫脹差から之を減じて尙お4mm以上の者のみをとつた。

抗原	反 応		
	陰 性 (腫脹差 3 mm 以下)	癡陽性 (腫脹差 4 mm)	陽 性 (腫脹差 5 mm 以上)
成虫食塩 水抽出液	1,572名	5名	23名
代謝物質	1,570名	8名	22名

即ち 15 分後の腫脹差 4mm 以上を呈した者は、成虫食塩水抽出液では 28 名、代謝物質では 30 名であつた。そこで兩種抗原によるこれら反応の陽性者の相関を示したのが Table 1 であるが、これによると兩種抗原共に陽性反応を呈した者は 19 名、癡陽性反応を呈した者は 3 名、計 22 名で、兩種抗原による反応結果が一致しなかつた者が 11 名あつた。

Table 1

Comparison of the combined Results of Intradermal tests with the Antigens prepared from Adults and from Excretions and Secretions and the results of the Stool Examinations by AMS III Methods.

Excretions and Secretions	Saline Extract			
	+	±	-	Total
+	19(10)	2	1	22(10)
±	1(1)	3(1)	4	8(2)
-	3(2)			3(2)
Total	23(13)	5(1)	5	

( ) No. of Egg positive cases by two Stool Examinations.

即ち 1,600 名について兩種抗原を用いて皮内反応を実施した結果、癡陽性及び陽性を示した者が 33 名あり、その 2/3 の 22 名が兩種抗原により一致した反応成績を示し、11 名が一致しなかつた。兩種抗原の中何れの抗原に信頼性があるかを見るために、33 名全員の糞便検査を行つて肺吸虫卵の検出成績をみた。Table 1 の ( ) 内の数字が糞便内からの虫卵陽性者である。胸部肺吸虫症の場合、最も確実な診断法は喀痰或いは糞便から虫卵を検出することであり、肺吸虫症に特有な喀痰の場合は虫卵の検出率は糞便からの虫卵検出率に比べて高いが、糞便よりの虫卵検出率でも 65% 近くあることは、小宮、横川 (1953) 等が報告している。勿論肺吸虫症の中には胸部肺吸虫症以外に各種の臓器及び筋肉或いは皮下組織等に寄生を見る場合がかなりあるが、この場合は虫卵の検出は不可能である。従つて反応陽性者で虫卵が見出されな

い場合には、この様な例も含まれていることを注意しておく必要がある。

糞便検査の結果は、成虫食塩水抽出抗原で反応陽性を呈した者 23 名中からは 13 名 (56.5%) に虫卵が見出され、代謝物質抗原による反応陽性者 22 名からは 10 名 (45.4%) に虫卵を証明している。

ところが成虫の食塩水抽出液で陽性を呈したにもかかわらず、代謝抗原では陰性だつた 3 名の中 2 名から虫卵が証明されているのに反して、抽出抗原では反応陰性で、代謝抗原で陽性又は癡陽性だつた者 5 名からは、1 名も虫卵が証明されなかつたことを考えると、成虫食塩水抽出抗原の方が代謝物質抗原に比べて信頼性が高いと云える様である。

Oliver-Gonzalez (1946) によると、マンスン住血吸虫の成虫を 24 時間、人血清中に飼育するときは、成虫々体成分の中多糖類の減少を認め、又成虫が血清中に多糖類を排出することも認めている。然かもこれら多糖類は虫体より精製した多糖類と全く免疫学的に同一の性質を有すると云つている。然かも皮内反応の抗原としては、この多糖類は不適當であるとも云つている。沢田 (1954) 等も日本住血吸虫症の皮内反応で多糖類と蛋白質の兩種抗原を用いた場合、後者の方がより鋭敏で、多糖類は偽反応を呈することがあると云つている。これ等の点から考えると、著者等の使用した成虫の代謝物質抗原は、成虫食塩水抽出液に比較して多糖類が主成分となつており、そのために兩種抗原の成績が完全に一致しなかつたのではないと思われる。この点に関しては尙お、更に実験中である。

B. Prausnitz-Küstner 反応 (Passive transfer)

殆どすべての寄生虫性疾患では、その虫体抽出液を抗原として皮内反応を行つた場合にみられるのは、即時性皮膚反応 immediate reaction であることは既に知られている通りである。

McCoy (1933) 及び Schapiro (1938) 等は Trichinosis の場合には、即時性反応の他に感染初期には遅発性反応 delayed reaction がみられることがあるが、これは信頼性が少ないと云つている。肺吸虫症の場合にもその成虫の抽出液或いは成虫の代謝物質を用いて皮内反応を行うと即時性反応のみがみられ、遅発性反応はみられない事は既に報告した通りである。これらの即時性皮内反応に関して、近時、Dubos (1952) Raffel (1953) 等は反応局所の組織の障碍の有無により即時性反応を更に Arthus 型反応と Evanescent 型反応とに分けている。

即ち Evanescent 型反応は Arthus 型反応と比べて、反応の出現時期即ち 膨疹の 腫脹及び発赤がより早く 15 分間以内であり、2 乃至 3 時間以内に消失し、後に組織の障 碍を残さないと云う相違点があり、本反応の Passive transfer 及び除感作が容易であると云うことは両者の共通点であるとしている。細川 (1952) は動物実験の結果、反応局所の組織学的所見から、肺吸虫症の皮内反応は Arthus 型の範疇に属すると云っているが、現在ではこれら寄生虫性疾患における皮膚反応は、Evanescent 型反応に属すべきものと考えられる。この点に関しては尙お実験中であるが、こゝには兩種反応に共通した性質である Passive transfer について、即ち Prausnitz-Küstner 反応を行つて、それに成功したので報告する。

即ち健康人 5 名の左上膊の 2ヶ所の皮内に肺吸虫症患者血清及び健康人血清をそれぞれ 0.1 cc 宛注射して、24 時間後に血清注射局所に肺吸虫成虫の食塩水抽出液の 1 万倍稀釈液を 0.02 cc 宛皮内に注射して観察した。即ち抗原注射直後の膨疹の径及び 15 分後の膨疹の径及び発赤を示したのが、Table 2 で、患者血清をあらかじめ注射した部の方は、抗原注射部は著しく腫脹を来しているが、健康人血清注射部はすべて陰性を示し、本反応の Passive transfer の可能な事を証明し得た。

#### 考察及び結論

成虫食塩水抽出液と代謝物質とは、反応の出現状況は殆ど同一であり、17 名の患者では、兩種抗原とも一致して陽性反応を呈したが、腫脹差の程度は成虫抽出液の方が多少大きい結果を示した。所がこれと殆ど同時期に同じ抗原を用いて、新潟県直江津市内の小学生 1,600 名に実施した場合、兩種抗原の成績はかなり喰い違つた成績を示し、成虫食塩水抽出液の方が信頼性の高いことを虫卵検査によつて証明する事が出来たのは興味ある事実である。これまでは寄生虫性疾患の皮内反応の抗原の検討を行う場合、患者群及び健康者群について別々に実施して、その成績を比較したものが多くがこれだけでは不十分だと云うことが明かになつた。著者等の場合は兩種抗原を全く流行のみられない健康者のみに行つた場合は、すべて陰性で偽反応を呈する者はみられなかつた。流行地の多数の人に実施してその信頼性に就いて検討して始めて、その価値が明かになると思われる。Trichinosis の皮内反応は、極めて特異的に出現するにもかゝらず、Schapiro 等は、本反応の実用的価値は本反応が陰性を呈したときの方が大きいと云つてゐることは興味

Table 2  
Prausnitz-Küstner Reaction with Serum of Patients of paragonimiasis.  
0.1 cc. of Serum injected intradermally  
0.02 cc. of saline extracted Antigen of Adult Worms injected intradermally  
24 hours after Injection of Serum.  
Diameter of the Antigen Wheal by mm.

No.	Sex	Age.	Patient's Serum		Normal Serum	
			Saline Extract	Saline Extract	Saline Extract	Saline Extract
			Immediate	15 min.	Immediate	15 min.
1.	M.	39	4×4	$\frac{14 \times 11}{30 \times 38}$	4×4	—
2.	F.	34	4×4	$\frac{15 \times 11}{26 \times 25}$	3×3	—
3.	M.	36	3×3	$\frac{9 \times 10}{35 \times 42}$	4×4	—
4.	F.	24	3×5	$\frac{15 \times 12}{33 \times 32}$	4×3	—
5.	M.	30	4×4	$\frac{10 \times 10}{25 \times 30}$	4×3	—

Diameter of the Wheal  
Diameter of the Erythema

ある点である。

著者等の使用した成虫食塩水抽出抗原と代謝物質抗原とは共通の抗原性物質を有していることは疑いないと思われるが、兩種抗原による皮内反応の成績の差異は恐らく前述した如く、代謝物質抗原にはより多く多糖類が含まれていることによるものであろうが、今後尙お検討を要する問題である。尙お著者等は Prausnitz-Küstner 反応により本症患者血清中に抗体の存在を証明し、本皮内反応が抗原抗体反応である一つの確証を得ることが出来た。

#### 文 献

- 1) 細川修二, 三浦義徳, 宮里 孝: 肺吸虫症の皮内反応及びその組織学的研究, 日本病理学会誌, Vol. 42, pp. 181~1953. —2) 石垣征矢男, 森下香代子, 勝呂 毅: 肺ガストマの皮内反応, 日本内科学会雑誌 Vol. 42, No. 10, pp. 48, 1954. —3) 小宮義孝, 横川宗雄: 肺吸虫症患者の喀痰及び糞便からの虫卵検出頻度について, 公衆衛生, Vol. 14, No. 6, p.p. 86~89, 1953. —4) McCoy, O. R., Miller, J. J. and Friedlander, R. P.: The use of an intradermal Test in the diagnosis of trichiniasis. Jour. Immunology, Vol. 24, No. 1, p. 1~23, 1933. —5) 万納寺則定: 大平肺吸虫の免疫学的研究, 医学研究 Vol. 22, No. 9, pp. 1197~2224, 1952. —6) 布上

正則：肺吸虫症の皮膚反応，熊本医学会雑誌，Vol. 6, No. 3, pp. 513, 1930. —7) Oliver-Gonzalez, Jose: Immunological Relationships among polysaccharides from various infectious Organism. Jour. Infect. Dis. Vol. 79, No. 3, pp. 221~225, 1946. —8) Raffle Sidney: Immunity, Hyper-sensitivity, Serology. New York. Appaleton-Century-Crofts Inc. 1953. —9) Ritchie, L. S. G. W. Hunter, C. Pan and M. Yokogawa: Skin-test for paragonimiasis with Antigen from adult worms of paragonimus Westermani, Jour. of parasitology. Vol. 37 (Suppl), pp. 28, 1951. —10) Schapiro, M. M., Crosly, B. L. and Sickler, M. M.: Correlation of clinical diagnosis and post-mortem findings in Trichinosis Jour. Lab. and Cli. Med. Vol. 23, pp. 681~687, 1938. —11) T. Sawada, Suzuki, I Oka T. and M. Sano: Studies on the Diagnosis of Schistosomiasis japonica, Gumma Jour. of Medical science Vol. 4, No. 1, pp. 39~47, 1954. —12) 富永覚仁: 肺ヂストマ病の皮膚反応，大阪高医雑誌，Vol. 9, No. 3, pp. 237, 1942. —13) Wright, W. H.: The diagnosis of Schistosomiasis japonica by means of intradermal and serological test Amer. J. Hyg. Vol. 45. pp 150~163, 1947. —14) 横川宗雄，大島智夫，須川 豊，平野多聞，中川晃子: 新潟県下の肺吸虫症肺吸虫症の皮内反応のスクリーニングテストについて，日本医事新報，No. 1634, 19-23, 1955.

Summary

For the intradermal test, 0.015-0.02 ml. of antigen, an amount sufficient to raise 4 mm. diameter of wheal, was injected intradermally; a similar quantity of control solution, saline containing the same preservative as in the antigen, was also injected. Reactions in which the diameter of the antigen wheal exceeded that of the control wheal by 4 mm. and by more than 5 mm. within 15 minutes after injection were considered "doubtful" and "positive" respectively.

Comparisons of the results of the intradermal tests conducted with antigens prepared from the

Table 1. Comparison of Results of Intradermal Test with Antigen prepared from Adults and from Excretions and Secretions of Adults of *P. westermanii* in 1,600 school children.

	Adult Worm Antigen (1:10,000)			
	Positive	Doubtful	Negative	Total
Excretions and Secretions Antigen	19 (10)	2	1	22 (10)
	1 (1)	3 (1)	4	8 (2)
	3 (2)	0	1,567	1,570
	23 (13)	5 (1)	1,572	1,600

( )...Number of children whose stool showed ova by the A.M.S. III method.

adult worms and excretions and secretions of the adults of *Paragonimus westermanii* were carried out on patients and 1,600 school children in the endemic area of paragonimiasis. Positive reactions were shown on all of 17 patients who had paragonimus eggs with both types of antigen. Some difference was seen in the results of the intradermal tests with adult worm antigen and with excretions and secretions antigen on 1,600 school children as shown in Table 1. The results of stool examinations by the A.M.S. III centrifugation technique in 33 individuals who showed positive or doubtful reactions were shown in parenthesis in the Table 1. This result would seem to indicate that the adult worm antigen was slightly superior to the excretions and secretions antigen for the skin test in detecting cases of paragonimiasis.

The antibodies in the patients serum of paragonimiasis were demonstrated on 5 normal individuals by *Prausnitz-Küstner* reaction.