

肺吸虫症の皮内反応に関する研究 (II)

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7月8日受領)

はしがり

著者等は先きに肺吸虫成虫の食塩水抽出液と同成虫の代謝産物を抗原として皮内反応を実施した成績を報告したが、今回は更に、成虫のエーテル溶性物質を除去した虫体残渣のヴェロナール緩衝液の抽出液 (V.B.S抽出液) 肺吸虫メタセルカリア、肺吸虫セルカリアよりの食塩水抽出液及び本種 (ウエステマン肺吸虫) とは別種とされているケリコット肺吸虫よりの食塩水抽出液を用いて皮内反応を多数の患者及び流行地の学童に実施し、その成績を比較すると共に、糞便及び喀痰検査をも行つて、反応陽性者からの虫卵検出頻度について考察を加えた。尙おこれまで抗原の安定性については明かにされていないので、食塩水抽出液の保存期間及び加熱の影響も検討した。

実験材料及び方法

(a) 成虫食塩水抽出液

成虫の1万倍稀釈食塩水抽出液を用いた。その製法は前報に報告したので省略する。

(b) 成虫の Veronal-Buffered Saline 抽出液

製法は主としてChaffee 等(1954)の方法によつた。

1) 凍結乾燥虫体を秤量後これを、Tissue grinder で10ccのエーテル・エーテルと共に10分間磨砕する。Tissue grinder 壁についたものは更に5ccのエーテルを加えて更に2分間磨砕して加える。

2) 之を1万回転30分間遠心沈澱し、上清を捨て沈澱よりエーテルを真空ポンプにて減圧除去した後、10cc

のベロナール緩衝液 (V.B.S) を加え、Tissue grinder で10分間磨砕し、grinder 壁についたものは V.B.S 液 5cc を加えて洗い落とし、2分間更に磨砕して加える。

3) 之に乾燥虫体の重量の99倍量の V. B. S 液を補い5°C で48時間抽出する。(乾燥の際の真空度は10⁻³ Hgmm 以下)

4) 之を1万回転30分間遠心沈澱し、上清液をとり、之に1万倍の割にマーゾニンを加え原液(100倍液)として、氷室に保存する。(之を凍結乾燥すればなおよい。)

5) 抗原としては原液(100倍液)を1万倍マーゾニン加生理的食塩水で100倍に稀釈し、1万倍液として用いる。(エーテル処理の場合は出来る限り-10°Cの温度のもとで行う。)

Veronal Buffered Saline (V.B.S) の製作法

A. バルビタール 0.46 gr.

食 塩 4.2 "

加温した滅菌蒸溜水を加え、100ccとする。

B. 溶性バルミタール 0.30 gr.

重 曹 0.25 "

滅菌蒸溜水を加え100ccとする。

AにBを加え(略々等量) pH 7.4になる様にする。

以上を Stock solution として使用時には之に4倍量の滅菌蒸溜水を加えて稀釈する。

(c) セルカリアの食塩水抽出液

1) 肺吸虫セルカリアが感染しているカワニナの肝臓を細砕して、セルカリア及び成熟シディアをピペットで集め数回滅菌蒸溜水で洗滌した後、これをアンプルに入れ凍結乾燥する。

2) 乾燥虫体を秤量した後、之に99倍量の生理食塩

Intradermal test for paragonimiasis. (II) Muneo Yokogawa,* Tomoo Oshima* and Takeshi Suguro**:

* Institute of Public Health, Tokyo Japan.

**Kannami Hospital, Kannami, Shizuoka Japan

水を加えてよく磨砕した後、5°C で3日間抽出する。

3) 以下成虫食塩水抽出液と同じ方法を取り、1万倍稀釈液を抗原として使用する。

(c) *Exorchis* sp. のセルカリア抽出液

肺吸虫セルカリアの抽出液を用いる場合、この中にカワニナの肝臓成分も含まれていることがあり、その為に非特異反応を呈することも考えられるので対照として、カワニナに寄生する別種のセルカリア *Exorchis* sp. を前と同様にして集めて、抽出液も同じ方法で作製し矢張り1万倍稀釈液を用いた。

(d) 肺吸虫メタセルカリアの抽出液

肺吸虫第2中間宿主のモクズガニを解剖して、その体内に寄生するメタセルカリアを分離採取し、数回滅菌蒸溜水で洗滌した後凍結乾燥する。凍結乾燥虫体よりの食塩水抽出液の製法は前と同じである。

(e) ケリコット肺吸虫成虫食塩水抽出液

著者等の1人横川が、感染後約6月の成虫1匹を乾燥虫体として北米より持ち帰ったので、これについて矢張り前と同じ方法により成虫食塩水抽出液を作製した。

実験方法

前述の各種抗原5種を同時に多数の人に行うのは困難なので、各種の組合せのもとに2種或いは3種の抗原を同時に使用した。すべてその濃度は乾燥重量の1万倍稀釈液を用いた。被験者は本症流行地である静岡県患者35名及び新潟県直江津市内小学生約5,000名に及んだ。

抗原の量は0.015~0.02 ccとし、これを左前膊内側の皮内に注射し、直後の膨疹の縦横径を測定しmmを以つて表す。15分後に再び膨疹の縦横径及び発赤の大きさを測定する。対照としては食塩水(マーズニン加)を抗原と同量だけ注射し、同じく直後及び15分後の径を測定する。抗原注射部位の15分後の膨疹の縦横径の平均から注射直後の径(平均)を減じたものを腫脹差とする。若し対照の食塩水の注射部の膨疹も増大した時は、15分後の径から直後の径を減じたものを、抗原の腫脹差から更に減じこれを腫脹差として扱う。判定規準は次の如くする。

- 腫脹差 3mm 以下の場合 反応陰性
- 4mm の場合は 凝陽性
- 5mm 以上の場合 陽性

発赤は腫脹差4mm以上のときは必ず伴うので、発赤は判定の規準にはとり入れない。

実験成績

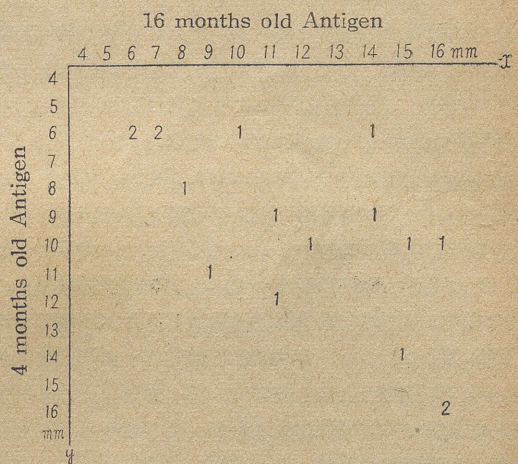
(1) 抗原の安定性について

(a) 新旧抗原の比較

これまでの経験から、抗原は極めて安定性のものであることは想像されていたが、多数の人数について各地で本反応を実施する場合、同じ抗原を用いるにしても時間的に相当するるので、先ず抗原の安定性について検討してみた。即ち作製後4カ月間冷蔵庫(4°C)に保存したものと、1年4カ月間同じく冷蔵庫に保存したものとを両者を、静岡県の肺吸虫症患者17名に実施した。対照として食塩水(1万倍マーズニン加)を皮内に注射し、兩種抗原による15分後の腫脹差について比較した。その結果はTable 1の如く、何れも陽性を呈し、その強さに

Table 1

Comparison of Results of the Intradermal Tests with Adult Antigens preserved for 4 months and 16 months in Refrigerator (4°C) in 17 patients of paragonimiasis. Increase in the Diameter of the Antigen Wheal in 15 Minutes after Injection is shown by mm.



$r = 0.645 \dots \dots 95\% \text{ confidential Interval}$
 $0.83 \sim 0.24 \quad \bar{x} = 11.35 \pm 3.6$
 $\bar{y} = 9.83 \pm 3.39$

も殆ど差は見られなかつた。新鮮抗原による腫脹差の平均は9.83±3.39mmで、陳旧抗原による腫脹差は11.35±3.6mmで有意の差は認められない。尚お兩種抗原の腫脹差の相関係数はr=0.645、その95%信頼限界は0.83~0.24であつた。

(b) 成虫食塩水抽出抗原の加熱による影響

成虫食塩水抽出抗原を少量宛小瓶に入れて之を沸騰水中に浸し、30分、1時間、5時間、10時間後に取り出したものについて、前と同じ方法で皮内反応を実施した。

Table 2

Comparison of Results of the Intradermal Tests with Adult Antigens heated at 100° C for 30 minutes, 1 hour, 5 hours and 10 hours in Patients of paragonimiasis. Increase in the Diameter of the Antigen Wheal in 15 minutes after Injection is shown by mm.

No. patients	Normal Antigen,	Antigen, heated for			
		30 m.	1 h.	5 h.	10 h.
1	7 mm	6 mm			
2	15 mm	9 mm			
3	12 mm	14 mm			
4	11 mm	12 mm			
5	8 mm		5 mm	3 mm	
6	17 mm		5 mm	6 mm	
7	8 mm		6 mm	2 mm	2 mm
8	8 mm			3 mm	2 mm
9	11 mm				2 mm

被験者は肺吸虫症患者であるが、1人に多数の抗原を実施するのは困難なので、加熱しない抗原を対照として数例ずつに分けて各加熱抗原により皮内反応を実施し、その腫脹差を比較したのが Table 2 である。

30分加熱のものでは、対照の非加熱抗原と比較して反応の現われ方及び腫脹差の大きさも殆ど変りは見られない。1時間加熱のものでもすべて陽性には出現しているが、その強さは比較的弱まっている。5時間加熱のものでは4例の中1例を除き反応は陰性となり、10時間では3例共陰性になった。即ち30分加熱では影響は見られないが、1時間以上のものでは、稍々影響を受け5時間以上の加熱では抗原性を失うものゝようである。

(2) 各種抗原の比較

成虫 V.B.S 抽出液と成虫食塩水抽出液との比較

石井 (1953) は日本住血吸虫症の皮内反応で抗原はエーテル溶性と水溶質とに分けた場合、水溶質に特異的反應強く、エーテル層中の水溶質成分は非特異的反應を呈することがあると云っている。又 Chaffee 等 (1952) は同じく住血吸虫の抗原として、エーテル溶質成分を除いた Veronal Buffered Saline の抽出液は、皮内反応及び補体結合反応の抗原として優秀で特に抗捕体性が少いと云っている。そこで著者等は Chaffee の法に従って肺吸虫成虫の V.B.S 抽出液を作製し之と成虫の食塩水抽出液との成績を比較した。即ち直江津市内の小中学生計 2,145 名に 兩種抗原を同時に同側の上膊に約 4cm の

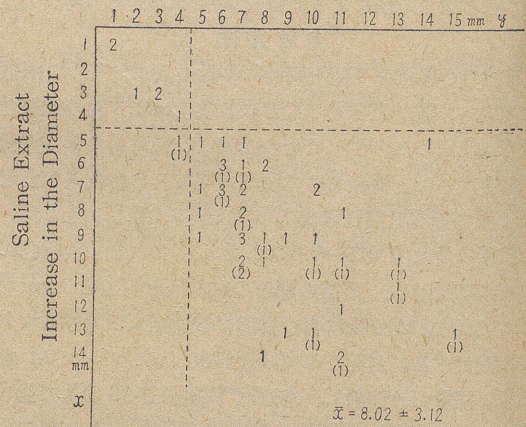
間隔において皮内注射し、15分後の腫脹差をとつた。その結果は 兩種抗原共、対照の食塩水と同じく 15分後に膨疹の増大を示さなかつたものは 2,096 名で腫脹差が 1 mm 以上の増大を示したものは Table 3 (a) の如く 49 名あつた。この 49 名中兩種抗原とも腫脹差が 5 mm 以上即ち反応陽性のもは 43 名、残りの 6 名中食塩水抽出液で陽性で、V.B.S 抗原で凝陽性を示したものは僅かに 1 名のみで、あとの 5 名は共に腫脹差は 1 mm 乃至 3 mm で反応は陰性を示した。然かも Table 3 (b) の如く虫卵検めてよく一致している。腫脹差の平均は食塩水抽出抗原成績は 兩種抗原共極では 8.02 ± 3.12 mm, V.B.S 抗原では 7.50 ± 3.0 mm で有意の差はなく、兩者の相関係数は $r=0.807$ でその相関も極めて緊密であることを示

Table 3 (a)

Comparison of Results of the Intradermal Tests with Adult Antigens of Saline Extract and Veronal Buffered Saline Extract in 2,145 of School Children in the endemic Area of Paragonimiasis.

V.B.S. Extract

Increase in the Diameter



$\bar{x} = 8.02 \pm 3.12$
 $\bar{y} = 7.50 \pm 3.00$
 $r = 0.807 \pm 0.05$

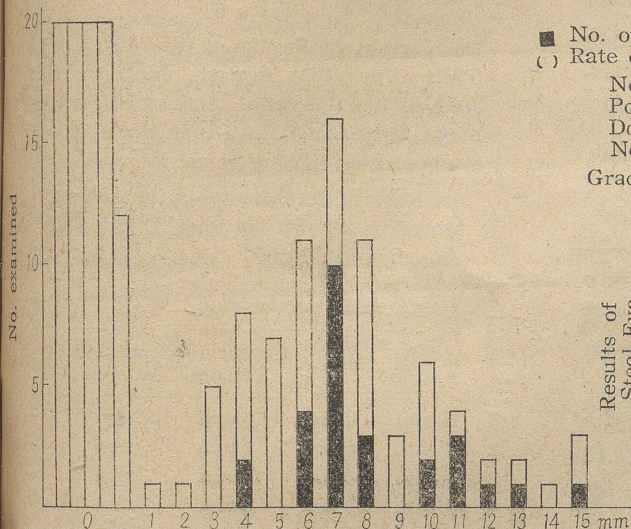
Table 3 (b)

Comparison of the combined Results of Intradermal Tests with the both Antigens and the results of the Stool Examinations by AMS III Concentration Technique.

Saline Extract	V.B.S. Antigen			() · Number of Positive Stools.
	+	±	-	
+	43 (14)	1 (1)	0	+ : Positive Skin Test
±	0	0	0	± : Doubtful Skin Test
-	0	0	25 (0)	

Table 4

Comparison of the Results of the Intradermal Test with V.B.S. Antigen and the Results of the Stool Examinations by A.M.S. III Method in 3,888 of School Children in the Endemic Area of Paragonimiasis.



■ No. of positive stools
() Rate of positive stools

No. examined : 3,888 名
Positive Skin Test : 66 名 (40.9%)
Doubtful Skin Test : 8 名 (25.0%)
Negative Skin Test : 3,216 名

Grade of Increase in the Diameter of Antigen Wheal in 15 min. after Injection.

Results of Stool Examination	Grade of Increase in the Diameter of Antigen Wheal in 15 min. after Injection				
	0	1-3mm	± 4mm	+ 5-9mm	+ 10-15mm
+	0	0	2	17 (35.4%)*	8 (44.4%)*
-	92	7	6	30	10
total	92	7	8	47	18

* $\chi^2=0.377$
p = 0.537

* nonsignificance

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

Table 5

Comparison of Results of the Intradermal Tests with V.B.S. Extract from Adults and Saline Extract from Metacercariae of *Paragonimus westermani*.

Metacercarial Antigen (1:10,000)
Increase in the Diameter

V.B.S. Antigen Increases in the Diameter	Metacercarial Antigen								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9 mm
1									
2									
3	1	1		2					
4	2	2			(1)		1		
5	1			1	2				
6		1							
7			(1)						
8			(1)	(3)	2	(1)			
9			(1)	2				(1)	
10					1	1	1		
11									
12									
13									
14				1					
15					1	1			

$\bar{x} = 7.32 \pm 3.10$
 $\bar{y} = 4.37 \pm 1.60$
 $r = 0.568 \pm 0.107$

している。之等 49 名の他に、全く反応を呈しなかつた者をも 25 名抽出して AMS III 集卵法で虫卵陽性者を調べた。Table 3 (b) () の数字は虫卵陽性者の数である。兩種抗原で陽性の者 43 名からは 1 回の検便で 14 名 (32.5%) の虫卵陽性者が出ている。之は僅か 1 回の検便であるので、既にのべた如く肺吸虫(症患者)からの AMS III 法による虫卵検出率は 62%前後であることを考えると、かなりいゝ成績と云える。かくの如く食塩水抽出液と V.B.S 抽出液とは極めてよく一致した反応を示すが、V.B.S 抽出液は食塩水抽出液に比較して、注射時の疼痛が殆ど無いので著者等は其の後の集団検査には、成虫食塩水抽出液の代りに V.B.S 抽出液抗原を用いることにした。即ち V.B.S 抽出液及び対照として食塩水を用いて、直江津市内の小中学生 3,388 名に皮内反応を実施し、AMS III 法による虫卵陽性者との関係を検討してみたが、その結果は Table 4 の如くである。

即ち反応陽性者は 3,888 名中 66 名でこれら陽性者の 1 回の糞便検査では、27 名 (40.9%) に虫卵を証明した。反応凝陽性者 8 名からは 2 名 (25%) に虫卵を証明したが、腫脹差 1 mm 乃至 3 mm を示したものの 5 名及び、この他に腫脹差を示さなかつた者から抽出した 92 名からは 1 名も虫卵は見出されなかつた。これら反応陰性

者の中には蛔虫寄生者 13 名、鞭虫寄生者 28 名、東洋毛様線虫寄生者 2 名、鉤虫寄生者 3 名あつた。即ち本反応は蛔虫、鞭虫寄生者等に対しては類属反応を示さないことが明かである。尙お Table 4 の如く反応陽性者の中、腫脹差 5 mm から 9 mm迄のものと 10 mm 以上のものに分けて、その中から虫卵陽性者の検出率を比較してみたが、両者の間に検出率の有意の差は見出されなかつた。

(b) メタセルカリアよりの食塩水抽出液と成虫 V.B.S 抽出液との比較

ウェステルマン肺吸虫の第 2 中間宿主であるモクヅガニより分離したメタセルカリアの 1 万倍食塩水抽出液を作製し、1 万倍の成虫の V.B.S 抽出液との成績を腫脹差によつて比較したのが第 5 表である。対象は直江津市内小学生 1,494 名であつた。

兩種抗原による腫脹差の平均は成虫 V.B.S 抗原は 7.32 ± 3.10 mm, メタセルカリアの抗原は 4.37 ± 1.80 mm で、かなり差がみられるが、相関係数は $r=0.568 \pm 0.107$ となり、或る程度の相関があることは認められる。然し兩種抗原による反応成績と虫卵検出率の関係をみると Table 5 () の数字がそれであるが、甚だしく差異のあることが認められた。之は恐らく反応の強さによるだけでなく、抽出抗原の成分にも差があると思われる。即ちこの場合メタセルカリアは、厚い被嚢を形成しており、この被膜の成分が含まれているためではないかと思われる。被膜をとつた脱嚢幼虫のみを用いれば、或いは成虫抗原とかなり一致した成績が得られるのではないかと考えられる。

(c) セルカリアの食塩水抽出液と成虫食塩水抽出液との比較

肺吸虫第 1 中間宿主であるカワニナ *Semisulcospira libertina* の感染肝臓をとり出して、これより成熟セルカリア及び成熟シディアを集めて、その 1 万倍食塩水抽出液を作り、対照として食塩水の他にカワニナの肝臓に寄生している *Exorchis sp.* のセルカリアよりの 1 万倍食塩水抽出液を用いた。尙おメタセルカリア抗原、成虫食塩水抗原をも同時に試みた。即ち静岡県肺吸虫症患者 5 名の左側上膊部に約 3 cm 間隔に皮内に注射してその腫脹差をとつた。例数が少く患者のみに行つて、集団に行つた成績がないので明かなことは云えないが、成虫抽出抗原に比較すると、セルカリア抗原による腫脹差は稍々小さく、丁度メタセルカリアによる腫脹差と殆ど変りがない。尙お *Exorchis sp.* よりの抗原とは明かに差

があるので、本種セルカリア抽出液にも或る程度特異反応を起す成分が含まれていると考えられる。その成績は Table 6 の如くである。

Table 6

Comparison of Results of the Intradermal Tests with Adult Antigen, Metacercarial Antigen and Cercarial Antigen of *Paragonimus westermanii*, in 5 Individuals whose stools showed Eggs of *P. westermanii*.

Increase in the Diameter of the Antigen wheal is Shown by mm. Dilution of Antigen: 1: 10,000

No. patient	<i>Paragonimus westermanii</i> .			<i>Exorchis Sp.</i>	Control
	Adult Antigen	Metacercarial Antigen	Cercarial Antigen	Cercarial Antigen	Saline
1	11 mm	5 mm	4 mm	4 mm	—
2	8 mm	6 mm	6 mm	3 mm	—
3	8 mm	4 mm	5 mm	2 mm	—
4	8 mm	7 mm	8 mm	1 mm	—
5	17 mm	7 mm	6 mm	2 mm	—

(d) ケリコト肺吸虫成虫抗原とウェステルマン肺吸虫成虫抗原との比較

我が国の人体肺吸虫症はウェステルマン肺吸虫 (*Paragonimus westermanii*) のみで、今迄述べて来た抗原及び、被検者もすべて本種によるものであつたが、このウェステルマン肺吸虫と極めて類似しているが、別種とされている北米産のケリコト肺吸虫成虫よりの食塩水抽出液と、ウェステルマン肺吸虫成虫の V.B.S 抽出液とを比較してみた。濃度は共に 1 万倍である。その成績は Table 7 の如くである。

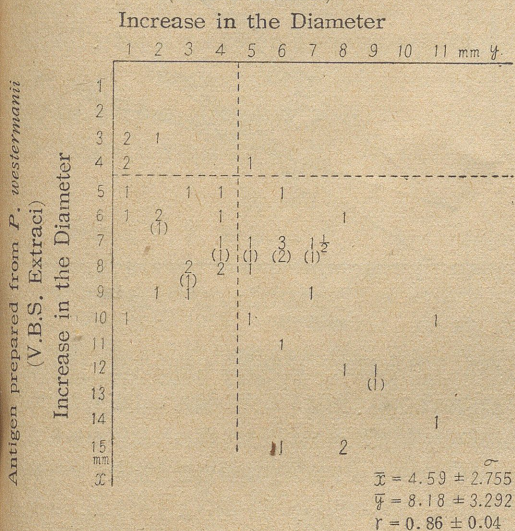
即ち直江津市内中学生 731 名について行つた成績であるが、ウェステルマン肺吸虫成虫の V.B.S 抗原では、33 名が陽性反応を呈したにもかかわらず、ケリコト肺吸虫抗原ではその中の 5 名が癡陽性、陰性反応が 10 名あつた。

即ち兩種抗原によつて反応が陽性或いは癡陽性を呈した者 36 名中その半数 18 名が一致した反応を示したに過ぎない。尙お () は虫卵陽性者であるが、ウェステルマン肺吸虫成虫抗原では陽性反応であつたが、ケリコト肺吸虫成虫抗原で陰性を呈したもの 10 名から 2 名は虫卵を検出した。兩種抗原で共に陰性の者からは、虫卵は検出されていない。尙お兩種抗原による腫脹差はウェステルマン肺吸虫では、 8.18 ± 3.292 mm, ケリコト

Table 7

Comparison of Results of the Intradermal Tests with the Antigen prepared from Adult of *P. westermanii* and *P. kellicotti* in 731 of School Children in the endemic Area of paragonimiasis westermanii. (Dilution of Antigen; 1: 10,000)

Antigen prepared from *P. kellicotti*
(Saline Extract)



Skin Test with *P. kellicotti*
Antigen

Skin Test with <i>P. westermanii</i> Antigen	Skin Test with <i>P. kellicotti</i> Antigen		
	+	±	-
+	18 (5)	5 (1)	10 (2)
±	1	0	0
-	0	0	0

(): No. of Individuals whose stools showed Eggs of *P. wester.* by Stool Examination.

肺吸虫では 4.59 ± 2.755 mm で著しい差があるが、その相関係数は $r = 8.55 \pm 0.043$ となりかなり密な相関の

あることが分る。従つて兩種抗原の差は主として腫脹差の大小による差のみなので、ケリコット肺吸虫成虫の乾燥状態不全による濃度低下のためと思われる。

考 察

以上著者等は、ウェステルマン肺吸虫の成虫の食塩水及び、V.B.S 抗原を始め、そのメタセルカリア、セルカリアよりの食塩水抽出抗原、及びウェステルマン肺吸虫と別種のケリコット肺吸虫成虫抽出抗原を用いて、肺吸虫症患者及び肺吸虫症流行地学童に皮内反応を実施し、注射 15 分後の腫脹差について、成虫 V.B.S 抗原との相関々係を検討すると同時に反応陽性者と虫卵陽性者との関係をも検討した。成虫の V.B.S 抗原はエーテル溶質性のものを除いた、水溶質性のもので、Chaffee (1954) 等によると、V.B.S 抽出液は抗補体作用が少いため日本住血吸虫症の皮内反応及び補体結合反応として共通に使用出来る利点があると云つてゐるので著者等も此の製法を用いて、肺吸虫症皮内反応を実施した結果、成虫の食塩水抽出液抗原と全く差異は認められなかつた。食塩水抽出液は日本住血吸虫症の補体結合反応の抗原としては、抗補体作用の強いことは、Wright (1947) その他の人達も既に認めてゐるところであるが、著者等も肺吸虫症の補体結合反応の抗原として食塩水抽出抗原は不適當であることを認めたので、V.B.S 抽出液を用いて現在実施中である。石井 (1953) 等も日本住血吸虫症の皮内反応抗原は成虫或いは虫卵のエーテル溶質成分を除いた水溶質成分に多く含まれてゐると云つてゐる。尙お V.B.S 抗原の方が食塩水抽出液に比較して、効果には差がないが被験者にとつては、殆ど疼痛が無いと云う利点があるので、著者等は食塩水抽出液より、V.B.S 抽出液の方が実用的価値は大きいと考える。

日本住血吸虫症、トリキナ症、顎口虫症その他の寄生虫性疾患等の皮内反応の抗原としては、それぞれの成虫或いは幼虫の何れの抽出液でも抗原として著しい差異の

Table 8

Means and Confidential Intervals of the Increase in Diameters of the Wheals with various Antigens in 15 minutes after Injection.

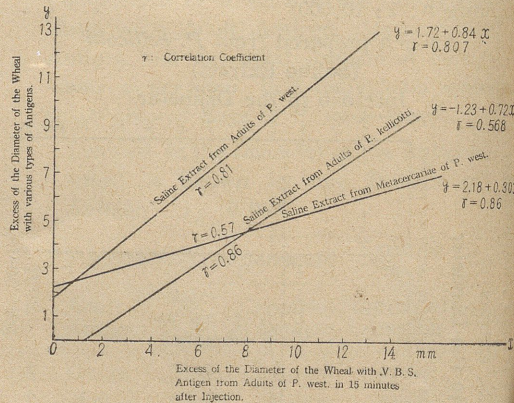
x	y	n	\bar{x} (mm.) ^σ	\bar{y} (mm.) ^σ	r	95% Confidential Intervals
V.B.S. Extract—Saline Extract		50	7.50 3.00	8.02 3.12	0.807	0.871~0.680
V.B.S. Extract—Saline Extract of <i>P. kellicotti</i>		39	8.18 3.29	4.59 2.75	0.855	0.921~0.740
V.B.S. Extract—Saline Extract of Metacercaria of <i>P. westermanii</i>		43	7.32 3.10	4.37 1.80	0.568	0.740~0.310
Saline Extract—Excretions and Secretions of Adults of <i>P. westermanii</i>		17	9.82 3.41	10.99 2.86	0.715	0.850~0.360

ないことは認められていた所であるが、著者等は初めて肺吸虫症の幼虫期のセルカリア及びメタセルカリアよりの抽出液を抗原として用いた。今回はこれら抗原の濃度が稀薄すぎたためか、反応の強さはかなり著しく異っていたが、V.B.S 抗原との相関々係はかなり密であることが明かとなった。更に適当な濃度を用いれば恐らく成虫よりの抗原と略ぼ一致した成績が得られると思われる。それにしても肺吸虫の場合は、その感染はメタセルカリアによるもので、体内に侵入したメタセルカリアが成虫に迄發育し、産卵を開始しその卵は体外に出て、水中に入つてミラシジウムとなり、このミラシジウムが、第1中間宿主であるカワニナに侵入して、セルカリア迄に發育し、このセルカリアが第2中間宿主であるモクヅガニ或いはサワガニ、ザリガニに摂食されて、その体内でメタセルカリアに發育する。従つてセルカリアはその發育史において、全く宿主である人間とは関係のないものであるが、このセルカリアの抽出液によつても、他の成虫よりの抗原と略ぼ同じような反応を呈すると云うことは興味深い。メタセルカリアの抽出液抗原も成虫よりの抗原と或る程度の相関が見られるが、その信頼性は余り高くない。これはセルカリアの場合と同じく濃度が不適だつた為とメタセルカリアの被囊のままを抗原として使用したためかも知れない。肺吸虫メタセルカリアは著しく被囊の厚いことが特徴であり、之は恐らくキチン質の様なものと思われるが、この様な物質による影響のためもあると思われる。脱囊幼虫のみを用いれば、或いは更にその特異性を増すと思われる。尙おウェステルマン肺吸虫とは別種のケリコット肺吸虫成虫の抽出液は、ウェステルマン肺吸虫成虫の抽出液と、かなり密な相関を示しているが、反応の強さがずつと弱いようであつた。之は著者等の使用したケリコット肺吸虫成虫抗原の濃度を高くすれば尙およく一致した成績を得られるのではないかと思われる。

万納寺(1953)はウェスルルマン肺吸虫症患者にこれと別種の大平肺吸虫成虫よりの抽出抗原を用いて、矢張り特異反応を呈することを述べている。尙お次の Table 8 及び Table 9 は以上のべた各種抗原による腫脹差の平均値と、最も信頼出来ると思われる V.B.S 抗原による反応との相関々係を示してみた。勿論これだけで各種抗原の特異性或は信頼性等を比較することは出来ないが、各種抗原の反応の出現状況に関し、現在の所最も信頼出来ると思われる V.B.S 抗原に対する傾向の凡そを知ることが出来ると思われる。

Table 9

Regression Lines of the Increase in the Diameter of the Wheal with various Antigens to the Increase in the Diameter of the Wheal with V. B. S. Antigen prepared from Adults of *P. west.*



即ち V.B.S 抗原と成虫食塩水抽出抗原とはかなり密な相関を示すが、同じ1万倍の濃度では成虫食塩水抽出抗原の方が腫脹差がやや大きく現われる傾向がある。これに反しケリコット肺吸虫成虫食塩水抗原では相関は密であるが、反応の現われ方が弱いようである。メタセルカリアよりの食塩水抽出抗原は相関は見られるが、前者抗原に比べると劣つている様である。尙お成虫食塩水抽出抗原について、その安定性についても報告したが、1万倍稀釈のままでも 4°C に保てば1年半以上経過しても何等効力には変化がなく、熱に対しても安定なことは実用価値が極めて高いと思われる。

むすび

肺吸虫症皮内反応の抗原として、成虫食塩水抽出液、及び V.B.S 抽出液、メタセルカリア、セルカリアよりの食塩水抽出液及びケリコット肺吸虫成虫食塩水抽出液を用いて、肺吸虫症患者及び主として新潟県肺吸虫症流行地である直江津市内の小中学生に実施し、15分後の腫脹差の比較及び糞便検査により、その信頼性について検討した。その結果これまで最もよく用いられていた成虫の食塩水抽出液と成虫のエーテル溶質成分をのぞいたものからのペロナール食塩水緩衝液の抽出液とは殆ど差が認められなかつた。セルカリア抽出液、メタセルカリア抽出液もかなり特異反応と思われるものが出現するが、成虫の兩種抽出液に比べて信頼性が少い様である。之は使用した抗原の濃度の不適にもよると思われる。ウェステルマン肺吸虫とは別種のケリコット肺吸虫成虫の

抽出液も、ウェステルマン肺吸虫成虫抗原とよく相関を示しているが、反成の大きさは弱く、これも濃度が薄すぎるものと思われる。尙お成虫の食塩水抽出液の安定性についても調べたが、抗原作製後 1 年以上経過したものでも、冷所に保存したものでは抗原性に变化は認められなかつた。又 30 分間 100°C 加熱の影響は全く認められなかつたが、加熱時間が 1 時間以上に及ぶとかなりの影響が認められる様である。

終りに臨み本研究に御協力頂いた新潟県衛生部長須川豊博士始め、平野多聞直江津保健所長、及び中川晃子氏直江津市衛生課長、直江津保健所職員、及び直江津市内各小中学校長始め各職員の方々に厚く御礼申し上げます。

文 献

- 1) Chaffee, E. F. Bauman, P. M. and Shapiro, J. J.: Diagnosis of Schistosomiasis by complement-fixation Amer. J. Trop. Med. and Hyg. 3 (3), 905~913, 1954. —2) Elvin, A. Kabat, Mayer, M. M. and Heidelberger, M.: Experimental Immunochimistry Charles C. Thomas, Springfield, Illinois, 1950. —3) 石井 淳: 日本任血吸虫症の皮内反応に関する研究, I. II. 岡山医学会雑誌, 65 (7), 967~977, 1953. —4) 石垣征矢男, 森下香代子, 勝呂 毅: 肺デストマの皮内反応, 日本科学雑誌, 42 (10), 48, 1954. —5) 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, 14 (6), 86, 1953. —6) 万納寺則定: 大平肺吸虫の免疫学的研究, 医学研究, 22 (9), 1197, 1952. —7) McCoy, O. R. Miller, J. J. and Friedlamder, R. P.: The use of an intradermal Test in the diagnosis of trichinosis Jour. Immunology. 24 (1), 1~23, 1933. —8) Raffel Sid: Immunity, Hypersensitivity, Serology. New York, Apeleton-Century Corofits. Inc. 1953. —9) Wright, W. H., Eozicevich, J. Brady, F. J. and Bauman, P. M.: The diagnosis of Schistosomiasis japonica V. the diagnosis of schistosomiasis japonica by mean of intradermal and serological test Amer. Jour. Hyg. 1947. —10) 横川宗雄, 大島智夫, 須川 豊, 平野多聞, 中川晃子: 肺吸虫症の皮内反応, スクリーニングテストの実用的価値について, 日本医事新報, No. 1634, 1923, 1955. —11) 横川宗雄, 大島智夫, 勝呂毅: 肺吸虫症の皮内反応に関する研究 (I), 日本寄生虫学雑誌, Vol. 4, No. 3, 270-275, 1955.

Summary

Intradermal tests were conducted on patients

whose sputa or stools showed eggs of *Paragonimus westermanii* and on about 6,000 school children in the endemic area of paragonimiasis, Naoetsu city, Niigata prefecture, Japan. The results of the intradermal tests with various types of antigens were compared with the results of the sputum and stool examinations of whom gave positive reactions.

The antigens used in this experiment were as follows.

- 1) Saline extract prepared from adult worms of *Paragonimus Westermani*.
- 2) Veronal Buffered Saline extract prepared from adult worms.
- 3) Saline extract prepared from cercariae.
- 4) Saline extract prepared from metacercariae.
- 5) Saline extract prepared from adult worm of *Paragonimus kellicotti*.

All these antigens were diluted 1:10,000. The use of saline and V.B.S. antigens from adult worms of *P. westermanii* gave a higher percentage of positive reactions than did the cercarial, metacercarial and *P. kellicotti* antigens. The optimal dilution of these three antigens could not be determined because of insufficient material.

In 3,888 school children in the endemic area the intradermal test with the V.B.S. antigen gave positive reaction in 66 or 1.7 per cent. The eggs were found in 25 or 37.8 per cent in 66 individuals who showed positive reaction with V.B.S. antigen by one stool examination. (The AMS III concentration technique) No eggs was found in 100 individuals of whom gave negative reaction.

The V.B.S. and saline extract from adult worms of *P. west.* gave all positive reaction in 17 patients or 100 per cent.

The saline extract from adult worms preserved for one and half years at 4°C. gave positive reactions in all of 17 patients as the fresh antigen.

The saline extract from adult worms heated at 100°C. for one hour gave also positive reaction in all of 17 patients as the fresh antigen.

The intradermal test with V.B.S. or Saline extracts from adult worms of *P. westermanii* would be reliably employed in screening test for paragonimiasis in the endemic area of paragonimiasis.