

マンソン裂頭条虫の抗原性に関する研究

中林 正子

日本獣医畜産大学医動物学教室 (指導 清水重矢教授)

(昭和36年1月20日受領)

特別掲載

緒言

1882年 Manson がアモイに滞在中、一支那人の屍体を剖検して12条の虫体をみだし、これを Cobbold に送つたのに氏はこれを誤判してリグラ属の種類となし、リグラ・マンソイと命名した。ところがその前年1881年にわが国では、当時京都府立病院の院長であつた Scheube は28才の馬丁の尿道から排出した長さ18.5cmの乳白色帯状の虫体を得て、これを Leuckart に送つた。同氏は詳らかにこれを検査してポトリオケファルス属の幼虫であろうとして、ポトリオケファルス・リギネロイデスと命名したのが1884年であつた。このように、本虫が初めて発見されてこのかた、本邦において本幼虫の人体寄生例の報告は今日まで百数十例に達している。

山田 (1916) は人体から取り出した本幼虫をイヌに試食させて、初めて成虫を得て本条虫の Plerocercoid と成虫との関係をあきらかにし、さらに奥村 (1919) は本条虫の第一中間宿主を決定して、ここに本条虫の發育史が分明した。

本虫の第二中間宿主は、ヒトを含めて多くの哺乳動物、鳥類、は虫類および両生類で、終末宿主はイヌ、ネコである。楊 (1934) は本条虫の第二中間宿主体内における幼虫、すなわち *Sparganum mansoni* をイヌに試食させたのに、イヌの個体によつてその腸管内における成虫の發育に、きわめて不良なものがみられる事実に着目し、この原因をたしかめるために一頭のイヌに第一回に本幼虫10条を感染させた後、40日目に再び5条を試食させて31日を経過してから剖検した。また他の例では第一回に *S. mansoni* 10条を、その後38日目に6条を試食させ、その後16日目に剖検した。これらの例においては感染させた Plerocercoid はいずれも完全に發育して成虫となり、腸管はほとんど全部成虫で充満しているのを見た。すなわち、重感染した虫体の發育は既存の成虫体によつて阻害せられてはいなかつた。要するに、同氏の実験例中虫体の發育が非常に不良であつたイヌは、かつ

て一度本条虫に感染したことがあつた否かは不明であるが、再感染実験の成績によつて、第2回目に感染させた *S. mansoni* がことごとく完全に成長したことから考えると、本条虫寄生による免疫はたとえ存在し得ても著明ではないとみるべきで、従つて免疫によつてこの虫体の發育不良なものがあつた原因を充分に説明することはできないといつている。

古く Brumpt (1927) は *Taenia solium* の重複感染に際し、初回感染の条虫の存在によつて再感染の条虫の發育が阻害されるといい、Joyeux はネズミ矮小条虫について同様のことを観察している。西尾 (1939) は矮小条虫体の乳剤を免疫元としてネズミの皮下に注射した後、同虫卵子を試食させたのに対照に比して感染率低く、發育状態もまた不良であり、また、本虫の再感染試験の結果においても初感染の成績にくらべて、感染率の低下と虫体の發育がわるいことをみとめている。布上 (1930) はネコに寄生する *Taenia taeniaeformis* およびネズミの肝臓に寄生する本虫の幼虫 *Cysticercus fasciolaris* の乳剤を免疫元として、ネコの皮下に注射し、または経口的に投与した後囊虫を感染させて、その感染率を対照ネコのそれと比較したのに、免疫ネコにおいては低い感染率を示したことを報告している。

近時寄生虫学領域における免疫学的研究分野が開拓せられ、線虫類および包虫症に関しては新局面の展開と著しい進歩がみられるようになった。条虫類、吸虫類についても従来とは趣きを異にして攻究されなければならない多くの問題があると思われる。

最近岡部ら (1957) はマンソン裂頭条虫および *Sparganum mansoni* から得た抗原を *Sparganiasis* の患者に応用して皮内反応と沈降反応を試み、その診断的価値あることを報告している。

わたしはマンソン裂頭条虫ならびに *Sparganum mansoni* から抽出した物質をもちいて、その抗原性を Arthus 現象を指標として、かつ、その免疫学的関連性に

ついて検索をおこない知見を得たのでここに報告する。

実験 I. 成虫およびマンソン孤虫の粗抗原による

Arthus 現象について

マンソン裂頭条虫成虫（以下 D. m と略記）とその Plerocercoid であるマンソン孤虫（以下 S. m と略記）は体制において大きな差異がみられ従つて発育の時期の差によつて、虫体の抗原性物質の構成上に複雑な因子が存在するものと考えられるので、両者のあらかず免疫学的な態度に差異がみられるのではあるまいかと想像される。

そこで、わたしは、D. m および S. m の虫体物質を生理食塩水（1 : 1,000）で抽出した粗抗原をつくり、両者間における免疫学的な関連について、感作ウサギに対する Arthus 現象によつてこれを追求した。

実験材料と方法

a) *Sparganum mansoni* の採取

埼玉県下において捕獲した、あおだいしょう *Elaphe climacophora* (Boie) に寄生している虫体を採取した。これらの S. m は生理食塩水でよく洗滌し、これをガラス、ホオモジナイザーで磨砕し減圧下で乾燥をおこない保存した。

b) 成虫の採取

採取直後の活潑な S. m をミルクに混和してイヌに20~30隻を投与し感染後、4週間してから解体して D. m を採り、これを S. m とまったく同じ方法で処理をおこなつた。

c) 粗抗原の作り方

D. m および S. m の乾燥虫体物質に生理食塩水（1 : 100）を添加しガラス、ホオモジナイザーを用いて磨砕抽出し、24時間、冷室に放置してから遠心操作（3,500 rpm 15分間）をおこない、その上清を生理食塩水で100倍しこれを Chamberland L₂ で濾過して粗抗原とした。

d) 感作方法

感作抗原は粗抗原と同じ方法で生理食塩水抽出液（1 : 100）を用いた。すなわち、ウサギに pro kilo 1 ml を隔日に5回静注して感作をおこない、最後の注射が終つてから3~4週間経過した動物を実験に供した。

e) 皮内反応の術式と観察

感作動物の背部をエパクリームで脱毛した局所に、粗抗原 0.1 ml を皮内に確実に注射した。反応の観察と記載は緒方の法とセロファン転写による方法を併用し、次ぎの判定規準にしたがつて時間的に観察した。

すなわち、(I) 水腫から発赤を示すもの (II) 充血

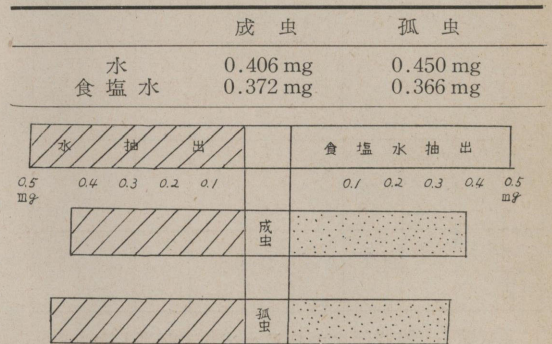
を伴っているもの (III) 壊死を伴うもの、さらに反応の程度を腫脹面積によつて比較するためセロファンにこれを転写し長径と短径との実測値を平均で表示した。

実験成績

1) D. m および S. m 抽出抗原の窒素量について

D. m および S. m の抗原窒素の量的関係と反応出現との関係、また両抗原間における窒素量についてなど、抗原の性状についての基礎的な資料を得る目的で、両者の虫体物質を水および生理食塩水で抽出し、これに抽出された窒素量をマイクロ、キエルダール法によつて測定をおこなつた。

すなわち、両者を同じ条件で水および生理食塩水で磨砕抽出（1 : 100）、これを3,500 rpm 15分間遠心操作をほどこし、その上清を材料として窒素の定量をおこない比較した。その結果は第1図にみられるように、D. m においては、生理食塩水に、また S. m は水抽出に窒素量の多い傾向を示したが、これは、きわめて僅少な差で測定誤差の範囲にあるものと思われる。したがつて、両虫体物質とも抽出液が生理食塩水と水とにおいては、その差を考慮する必要のないことを知つた。



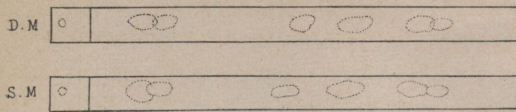
1 : 100 抽出液 1 ml 中の N 量を示す

第1図 成虫および孤虫抽出液の窒素量測定値 (mikro kjeldhal)

2) D. m および S. m 抗原のペーパー、クロマト法による Ninhydrin の呈色について

さきの (A) の実験に用いた両虫体物質の抽水抽出液を 40°C、減圧下に濃縮しこれを材料として次ぎの法で一次元ペーパー・クロマト法をおこない Ninhydrin の呈色について比較した。

展開は、ブチルアルコール、アセトン、水の 4 : 1 : 2 を用いた。ろ紙は東洋ろ紙 No.51 で展開した後、Ninhydrin によつて出現した部位をしらべ第2図のように



第2図 ペーパークロマト法による成虫, および孤虫抽出液の Ninhydrin 呈色.

Butyl alcohol ... 4
Acetic acid ... 1
Water ... 2

Ninhydrin 呈色

D.m 0.93 0.90 0.38 0.27 0.15 0.10

S.m 0.92 0.88 0.39 0.27 0.14 0.10

両抗原とも6カ所にその発現がみられ, しかもきわめて近似した測定値を示した.

3) D.m および S.m 粗抗原による反応

実験に供した動物は感作に耐えた4頭のウサギを用いた. さきに記載した方法によつて両抗原を皮内に注射して, その反応の出現状況をみると第3図のような結果が得られる.

時期	0	30	60	3	5	10	24	48	70
No.1	D.M	○	○	○	○	○	○	○	○
	S.M	○	○	○	○	○	○	○	○
No.2	D.M	○	○	○	○	○	○	○	○
	S.M	○	○	○	○	○	○	○	○
No.3	D.M	○	○	○	○	○	○	○	○
	S.M	○	○	○	○	○	○	○	○
No.4	D.M	○	○	○	○	○	○	○	○
	S.M	○	○	○	○	○	○	○	○

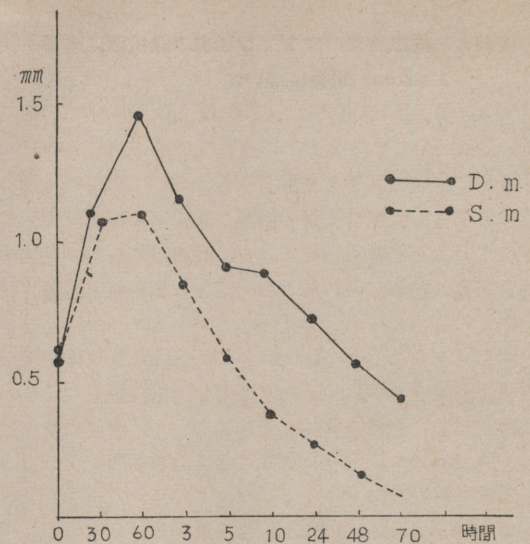
(縮1/3. 腫脹部をセロファン紙で転写したもの)

第3図 D.m および S.m 粗抗原による感作ウサギに対する反応

D. m 抗原では注射後, 約60分経過して腫脹は最も大きく, その後次第に縮少してゆく傾向がみられた.

緒方の判定法によれば, 腫脹面積とは逆に時間の経過にともなつて局所の反応が強くなることがみとめられる. すなわち, 24時間後においては全例に前掲(Ⅲ)の判定結果が得られた.

次に, D. m 抗原によつて感作をおこなつたウサギに対し, S. m 抗原を使用してその反応について比較観察したのに, 全般的に D. m 抗原のそれに比べて弱く, 両者の腫脹面積の平均値をみると第4図に示すような結果



第4図 D.m および S.m 粗抗原による反応比較

がみられ, さらに緒方の判定規準によつても腫脹面積と同様に D.m より反応は微弱で, わずかに No. 1において規準(Ⅲ)の反応がみられ, 他は48時間以後は消退した.

小括

Diphyllobothrium mansonii および *Sparganum mansonii* の虫体物質を材料とし, その生理食塩水抽出による粗抗原をもちいて, D.m 感作ウサギに対する Art h us 現象について検討をおこなつた.

両抗原の性状すなわち, 所定の抽出液についての含窒素量, ペーパー・クロマト法による Ninhydrin 呈色などについては著明な差はみとめられなかつた. 皮内反応による所見をみると D.m 抗原注入による反応は, 腫脹および局所の判定規準の上からも S.m 抗原注射のそれに比較して強くあらわれることがみとめられた.

両種抗原におけるこのような差は, 本条虫の成虫と幼虫とにおいて, 虫体構成物質の質的差異によるか, それとも量的差異によるか, にわかに断定することはできない.

実験Ⅱ Evans blue と D.m および S.m 抗原による反応の比較

Leuis (1916) によつて Trypan blue が始めて皮内反応に用いられて以来, Ramsdell (1928) の Trypan red を用いた所見についての報告があり, また横川ら(1954) は日本住血吸虫の皮内反応に Trypan blue を使用し, ウサギ, モルモットなどの皮膚の比較的菲薄な実験動物

第1表 D.m および S.m 粗抗原の反応平均値と緒方の法による判定成績

抗原	ウサギ	時間								
		0	30	60	3	5	10	24	48	70
S.m 抗原	1	0.55	1.20 I	1.525 I	1.05 I	0.90 I	0.85 II	0.75 III	0.60 III	0.475 III
	2	0.55	0.90 I	1.15 I	1.10 II	0.95 II	0.95 III	0.70 III	0.45 III	0.375 III
	3	0.60	1.45 I	1.70 II	1.05 II	1.00 II	1.00 II	0.80 III	0.75 III	0.60 III
	7	0.65	0.92 I	1.40 I	1.25 II	0.65 II	0.625 II	0.50 III	0.35 II	0 0
	平均	0.59	1.12	1.46	1.11	0.88	0.86	0.69	0.54	0.36
D.m 抗原	1	0.65	1.20 I	1.15 I	0.8 I	0.60 I	0.425 III	0.525 III	0.50 III	0.275 III
	2	0.55	1.15 I	1.15 I	1.00 II	1.00 II	0.50 II	0 0	0 0	0 0
	3	0.70	1.15 I	1.25 II	1.05 II	0.8 I	0.60 II	0.45 0	0 0	0 0
	4	0.625	0.70 I	0.75 I	0.50 I	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
	平均	0.63	1.05	1.08	0.84	0.60	0.38	0.24	0.12	0.07

註：上の数字は腫脹の平均値(mm)を示し、下の記号は I = 発赤 II = 充血 III = 壊死を示す。

における反応の判定には抗原注射部位の腫脹のみによるよりも、これに本色素を併用した方が、その結果を容易かつ確実に判定することができるといっている。

さきに、清水ら(1960)は皮内反応の判定に Evans blue を応用し、横川ら(1959)は肺吸虫の宿主体内移行路の追求にこの色素を用い良好な結果を得た。わたしは、両抗原による皮内反応の程度を正確に判定し、両者間の反応の度合いを比較するために Evans blue の注入法を実施した。

実験材料と方法

1) 色素の注入とその観察

実験に供した Evans blue は東京化成の製品を用い、実験 I の項に述べた法によつて、感作をほどこしたウサギの皮内に、D.m および S.m 抗原(1:1,000)を注射し、同時に 0.5% Evans blue を pro kilo 1 ml を静注した。

反応の観察は、青色に出現した腫脹の長径と短径とについて計測し、その平均値を求めてこれを比較した。

2) 感作動物と惹起抗原について

D.m および S.m 抗原によつて感作をおこなつたウサギに前項に述べた方法によつて、両種抗原を注射して反応を惹起させた。使用した抗原は 1:100, 1:1,000 および 1:10,000 の濃度別に調製したものである。

実験成績

1) D.m 抗原による感作ウサギの反応所見

D.m 抗原によつて感作したウサギに、D.m および S.m の稀釈別に調製した両抗原を惹起抗原として実験をおこなつた。

反応局所における色素の侵入状況は、注入してから 3 分後にみとめられ、時間の経過につれて、次第に著明に出現するが、約 1 時間を経過すると反応局所と周囲との限界は色素の拡散のため徐々に不明になつてしまつて、観察は色素注入後 1 時間までとした。

また、反応の程度を抗原の稀釈別にみると抗原濃度の高いものが、いずれも強い反応を現わしている。

これらの実験成績については、第 5 図に示すとおりであつて、また両種抗原の現わす反応の強弱の比較におい

D. m			抗原 稀釈	時間	S. m		
抗原 稀 釈					抗原 稀 釈		
1:10,000	1:1,000	1:100	0	1:100	1:1,000	1:10,000	
			0				
			30分				
			60分				

第5図の1 D.m 感作ウサギの反応

縮1/2, 腫脹部をセロファン紙に転写したもの。

D. m			抗原 稀釈	S. m		
抗原稀釈				抗原稀釈		
1:10,000	1:1,000	1:100	時間	1:100	1:1,000	1:10,000
			0			
			30分			
			60分			

第5図の2 D.m 感作ウサギの反応

でも実績Iの場合と同様に、D.m 抗原による反応の程度は、S.m 抗原におけるそれよりも一般に著明であった。

2) S.m 抗原による感作ウサギの反応

S.m 抗原による感作ウサギに対する両抗原の注射時の反応の強さは、D.m 抗原が S.m 抗原に比べて強い反応を示すことは、これまでにおこなってきた実験の成績によつてあきらかであるが、S.m 抗原で感作をおこなった動物に対する両抗原の反応惹起の態度を知るために、色素注入法を併用した実験をおこない、次のような結果が得られた。

D. m			抗原 稀釈	S. m		
抗原稀釈				抗原稀釈		
1:10,000	1:1,000	1:100	時間	1:100	1:1,000	1:10,000
			0			
			30分			
			60分			

第6図の1 S.m 感作ウサギの反応

すなわち、惹起抗原として注入した両種抗原の場合、第6図に示したように、やはり、S.m 抗原による局所の反応は、D.m 抗原注入による反応よりも一般に、腫脹の度合い、反応の強さがおとつていることがみとめられた。

小括

D.m による感作ウサギに対する皮内反応は、D.m 抗原が S.m 抗原に比べて強い反応を示すことは、すでに実績Iの成績によつて知ることができ、そこで、感作

D. m			抗原 稀釈	S. m		
抗原稀釈				抗原稀釈		
1:10,000	1:1,000	1:100	時間	1:100	1:1,000	1:10,000
			0			
			30分			
			60分			

第6図の2 S.m 感作ウサギの反応

抗原を S.m に求めた場合の惹起抗原としての両種抗原の態度によつて比較検討するためにこの実験をおこなつたのであるが、本条虫の成虫から得られた抗原で動物を感作した場合でも、また、幼虫である *Sparganum mansoni* の抽出物質で動物の感作をおこなつた場合でも、惹起に使用した両種抗原によつて発現される皮内反応の強さの度合いは、つねに、D.m 抗原の方が S.m 抗原にまさつていることをあきらかにすることができた。

実験III D.m および S.m 抗原の硫酸分画物による反応について

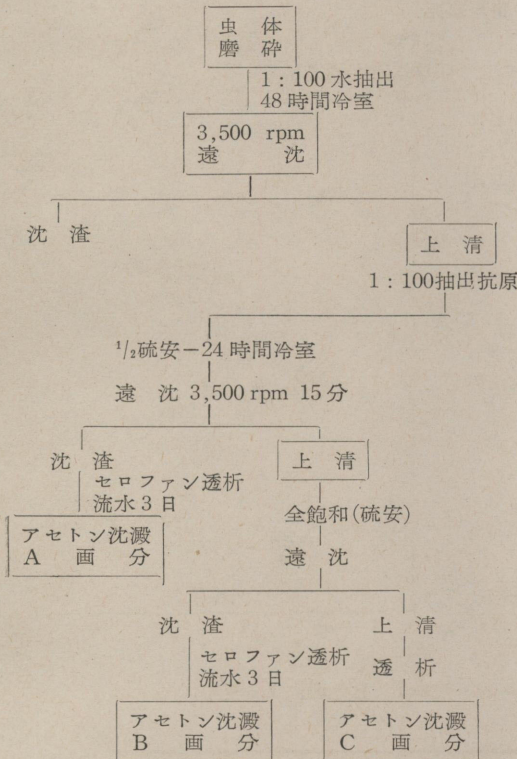
寄生蟻虫から得られた虫体物質を分画し、その抗原性の存在について検討された実験報告は回虫に多くみられているが、いまだその分画物の抗原性に関しての精細な究明がなされていないように思われる。その他の寄生虫についても抗原性に関与する分画に関しては、あるいは蛋白に抗原性を求め、あるいは脂質に、または多糖体に抗原性の存在を主張し、研究者によつてその見解を異にしている。たとえば、回虫抗原の分画について、池田(1950)は皮内反応、Schwarzmann 現象、Arthus 現象、Schultz-Dale の反応および沈降反応において、その含水炭素分画にきわめて強い抗原性をみとめ、森下(1953)は回虫の虫体物質の醋酸処理による分画物についての皮内反応および Schultz-Dale の反応をおこない Polysaccharide fraction に強い抗原性があるといつているし、中島(1954)は回虫抗原を精製し、これを理化学的に精査し、単純蛋白に抗原性の強いことを報告している。

実験材料と方法

1) 抗原の分画について

D.m および S.m 両種抗原(1:100)を $\frac{1}{2}$ 硫酸飽和

として24時間、冷室に放置3,500 rpm 15分遠心操作をおこないその沈澱を回収し、ネスレルの反応が陰性になるまで流水に透析する。これをアセトンで洗い減圧下に乾燥しこの分画をA分画とし、また $\frac{1}{2}$ 硫安飽和の上清を全硫安飽和として24時間、冷室に放置、さらに遠心操作をおこない、その沈澱を分画Aと同様に透析して得た物質をB分画とした。さらに、B分画の上清を流水で透析し、75%にアセトンを添加して得られる沈澱物を回収し、これをC分画とした。これらの分画法を図示すると第7図のようである。



第7図 成虫およびマンソン孤虫抗原の硫安分画法

2) 実験ウサギの感作方法

惹起注射の術式などについては実験Iの場合と同様である。

実験成績

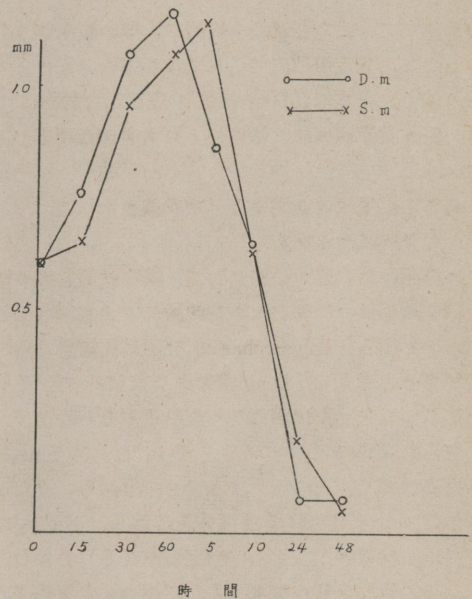
1) A分画による反応

この分画について化学的な性状は不明であるが、 $\frac{1}{2}$ 硫安飽和による沈澱であるため、おそらく、Pseudoglobulin または Euglobulin に近い蛋白と思われる。しかし抗原蛋白の精製とその性状が正確でないので、A分画と

呼ぶことが適当と考えられる。

A分画の D.m 抗原感作ウサギに対する皮内反応は、D.m および S.m 抗原とも、大体同じ程度の反応を示し、著しい差はみとめられず、ただ反応の時間的な経過が D.m 抗原においてやや早い傾向がみとめられた。すなわち、D.m 抗原は、注射後60分頃に反応が強く現われ、S.m 抗原はこれに比べその発現がおくれ、しかもその反応が長いあいだ持続した。

次に反応の程度について判定規準によつて観察したのに全体としては D.m 抗原感作によるものが反応が強い第8図に示すような実験成績を得た。



第8図の1 A分画による反応

No. 3のウサギでは D.m および S.m 抗原ともその反応の現われ方が弱かった。これは動物における感作の不十分な点に原因があるのではないと思われる。

対照とした生理食塩水注射群は6例中、5例までは60分以内に反応は消退したが、1例のみは5時間までその腫脹がみとめられた。

2) B分画による反応

全飽和硫安による沈澱物であるB分画は、Albuminに近い分画と思われるが、A分画とおなじ理由でB分画として実験をおこなつた。この分画による反応出現状況を、A分画のそれに比較すると、D.m ならび S.m 抗原ともその程度は弱く、かつ消退する時間も24時間以内の

ウサギ 抗 原 時 間	1		2		3		4		5		6	
	D.m	S.m	D.m	S.m	D.m	S.m	D.m	S.m	D.m	S.m	D.m	S.m
0												
15	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
30	I	I	I	I	I	I	II	I	II	I	II	I
60分	I	I	II	I	I	I	I	I	II	I	II	I
5	II	I	II	I		I	I	I	II	II	I	II
10	II	II	II	I			II	I	II	I	I	I
24	II		II	II			II	II				
48時	II		II	II								

第8図の2 A分画による反応判定成績

註：I = 発赤. II = 充血. III = 壊死.

ものもあつて、その経過は全般的に、早い傾向がみられた。しかし、判定規準にてらしてみるとA分画によるものより強く、とくに、D.m 抗原で感作した動物においては、S.m 抗原感作によるものよりも著明な反応がみられた。

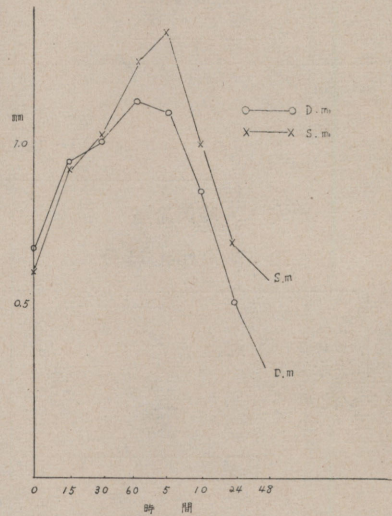
これらの結果は第9図のような成績を示した。

3) C分画による反応

この分画は硫酸塩析法によつて、蛋白沈澱を取り除いた上清を透析後、75%アセトン沈澱によつて回収した抗原で、いわゆる、Polysaccharide 分画に位置づけられるものであると考える。D.m 感作ウサギに対するC分画の反応については第10図のような結果が得られた。

これらの成績についてみるとD.m および S.m 抗原とも反応が弱く、その消失するまでの経過も、また速かであつた。いずれも軽微な腫脹を現わし、No.1 においてD.m 抗原感作のものが判定規準(II)を示したのみで、その他は全部が規準(I)に相当する反応がみられ、またその経過も早く、D.m 抗原感作の6例中、4例が、1時間以内に消失し、S.m 抗原感作では全例が

やはり60分以内で消失している。

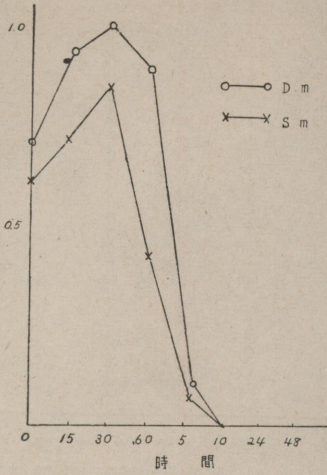


第9図の1 B分画による反応

ウサギ 抗 原 時 間	1		2		3		4		6		6	
	D.m	S.m	D.m	S.m	D.m	S.m	D.m	S.m	D.m	S.m	D.m	S.m
0												
15	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
30	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
60分	I	I	I	I	I	I	II	I	II	I	I	I
5	II	I	II	I	I	I	II	II	II	I	II	II
10	II	II	II	II	I	II	II	II	II	I	II	II
24	II	II				II	II	II	II	II		II
48時	II	II				II	III	II	III	II		II

第9図の2 B分画の反応判定成績

註：I = 発赤. II = 充血. III = 壊死.



第10図の1 C分画による反応

によつて検索をおこない、3種分画注射後の腫脹面積について比較検討したのに、D.m 抗原で感作したものはA分画を注入したものが最も強く、次いでB分画、そしてC分画では最も弱い反応を呈した。

S.m 抗原感動物においても、やはりAおよびB分画に著明な反応がみられたが、しかしその程度はD.m感作のそれに比べ弱かつた。

D.m および S.m 抗原別に感作したウサギにみられた各種分画抗原による反応出現状況は、第11図、第12図および第2表に示したとおりである。

実験 IV D.m および S.m 抗原の Zone electrophoresis による分画物の反応

Paper electrophoresis と Zone electrophoresis による抗原物質の分画、精製は免疫化学の領域に広く応用されているが、いわゆる寄生虫抗原のそれについては、岡林 (1959) は Panye らの法より回虫抗原の分画をおこ

ウサギ 抗 原 時 間	1		2		3		4		5		6	
	D.m	S.m	D.m	S.m	D.m	S.m	D.m	S.m	D.m	S.m	D.m	S.m
0												
15	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
30	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
60	I	I	I		I	I	I	I	I	I	I	I
5									I	I		
10		II										
24												
48												

第10図の2 C分画の判定成績

I = 発赤. II = 充血. III = 壊死.

4) 生理食塩水による反応

対照に用いた生理食塩水注射例では6例中、5例までは60分以内に消退し、1例は5時間まで腫脹がみとめられた。

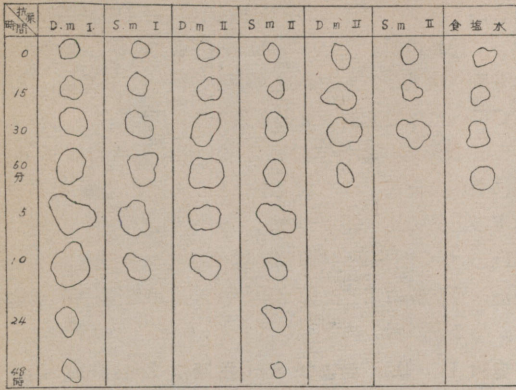
小括

わたしのおこなつた分画法でAおよびB分画は硫安塩析による Pseudoglobulin あるいは, Euglobulin 近似のA分画と Albumin 近似のB分画とさらにC分画は Polysaccharide に位置づけられるものと思われるが、これらの各分画物の化学的性状についての検索がなされていないためA, BおよびC分画とし、これらのものの抗原性について実験をおこないA B兩種抗原に抗原性の存在を推定し得る結果が得られる。

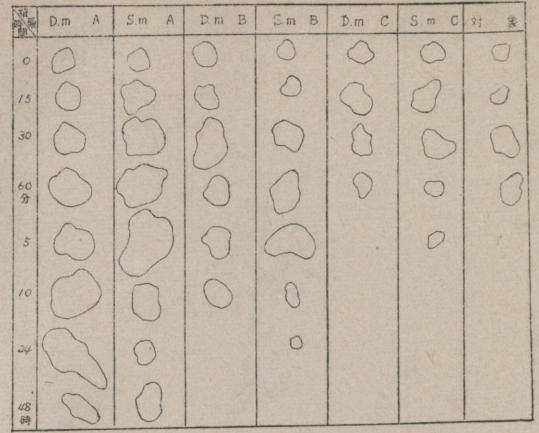
硫安分画法による抗原分画物の抗原性を Arthus 現象

時間	D m A	S m A	D m B	S m B	D m C	S m C	対 照
0	○	○	○	○	○	○	○
15	○	○	○	○	○	○	○
30	○	○	○	○	○	○	○
60分	○	○	○	○	○	○	○
5	○	○	○	○	○	○	○
10	○	○	○	○	○	○	○
24	○	○	○	○	○	○	○
48時	○	○	○	○	○	○	○

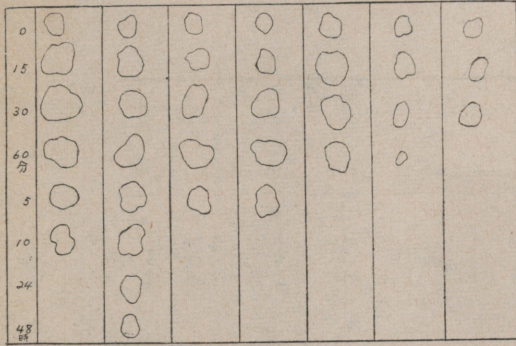
第11図の1 D.m 抗原感作ウサギ(No.11)に対する分画抗原の反応出現状況腫脹部をセロファン紙に転写したもの



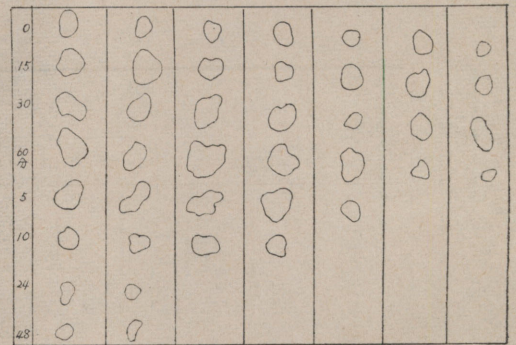
第11図の2 D.m 抗原感作ウサギ(No. 12)に対する分画抗原の反応出現状況



第12図の1 S.m 抗原感作ウサギ(No. 21)に対する分画抗原の反応出現状況



第11図の3 D.m 抗原感作ウサギ(No. 13)に対する分画抗原の反応出現状況

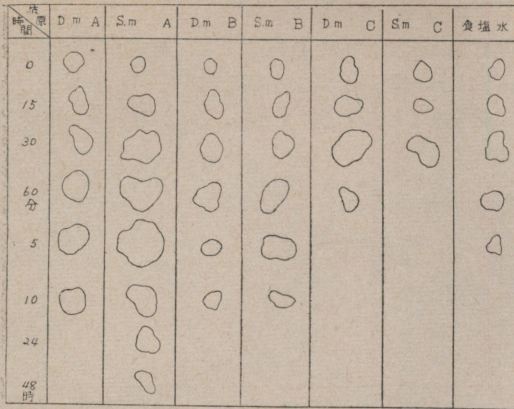


第12図の2 S.m 抗原感作ウサギ(No. 22)に対する分画抗原の反応出現状況

第2表 緒方の法による各分画の反応判定成績

感 作	ウサギ	分 画	A 分 画						B 分 画						C 分 画					
			1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
D.m 感作	15		I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
	30		I	I	I	II	II	II	I	II	II	II	II	II	I	I	I	I	I	I
	60		I	II	I	II	II	II	II	II	II	II	II	II	I	I	I	I	I	I
	5		I	II	II	II	II	II	II	II	II	II	II	II	II	×	×	II		
	24		II	II		II			III	II		III	III	III						
	48		II	II		III			III	II		III	III	III						
S.m 感作	15		I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
	30		I	I	I	I	I	I	I	II	I	II	I	I	I	I	I	I	I	I
	60		I	I	I	I	I	II	II	I	I	II	II	II	I	×	I	I	I	I
	5		II	I	I	II	II	II	II	II	II	II	II	II				II		
	24			II					II		II	II	II	II						
	48			II					II		II	II	II	II						

註：I = 発赤、II = 充血、III = 壊死。



第12図の3 S.m. 抗原感作ウサギ(No. 23)に対する分画抗原の反応出現状況

ない、TM反応に関与する回虫抗原を追求している。また後者の法については、抗原の電気泳動法による分画を目的とした場合きわめて有用なものであるが、寄生虫抗原のそれについてはまだその例は少ない。

たとえば、高木(1958)は回虫体液液を分画し、それを皮内反応抗原として Ascaridosis の患者の皮内反応をおこなっているし、米山(1959)は肺吸虫抗原を本法によって精製し、これを用いて皮内反応および沈降反応をおこない特異性反応の強い分画の検索をおこなっている。

わたしは、Kunkel の法によって澱粉を支持体とした Zone electrophoresis により、D.m および S.m 両抗原の分画をこころみ、さらにこれを用いて感作動物に対する皮内反応を実施して抗原性の比較をおこなったので、その成績を報告する。

実験材料および方法

さきの実験に用いた粗抗原を1:50に作り、これを材料として Kunkel の法によって Zone electrophoresis を応用し両抗原の精製をおこなった。すなわち局方澱粉を数回水洗し、Veronal buffer(pH 8.6 $\mu=0.05$)で均等に Holder に充填し、この中央部に澱粉に混和した3mlの粗抗原を入れ、Holder の蓋を固定、両端を緩衝液中にガーゼで連結し泳動をおこなった。

泳動条件は Holder の断面積 1 cm² について 2 mA 18時間、冷室内でおこなった。

泳動後の処理は澱粉を1 cm ずつ Block に切り試験管に入れ、水3 ml を加えよく振とう混和し冷室内にて24時間溶出させ、さらに遠心操作をほどこし上清を回収した。

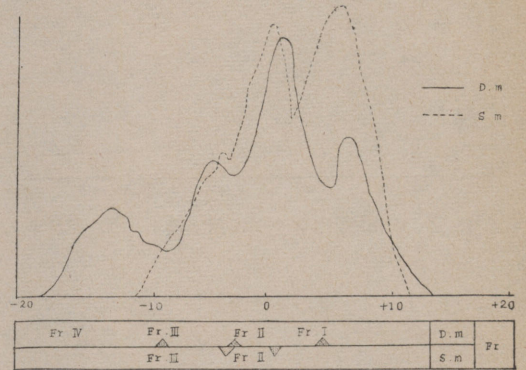
この上清を日立分光光度計を用いて280 m μ の紫外吸収によって、Optical density をとり蛋白濃度として泳動像を作りこれを分画した。

なお、感作動物、感作方法、皮内反応の手法や観察のしかたなどは、実験 I の法によっておこなった。

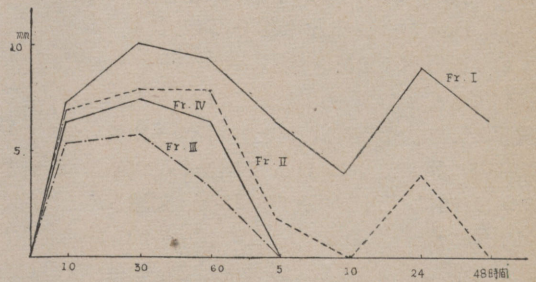
実験成績

1) D.m 分画抗原による反応

泳動像について第13図に示すように原点を中心として



第13図 D.m および S.m 抗原の Zone electrophoresis
Holder 1.5×3×40 cm
Veronal buffer pH 8.6
9 mA, 250 V, 17 hrs.



第14図 D.m 感作ウサギに対する各 Fr. の反応出現状況

四つの峰を出現した。すなわち、陽極側が二つに大きく分かれ、陰極側においては小さな二つの峰としてみとめられた。そこで、陽極側から Fr. I・II・III・IV の4分画とし、これらをもちいて皮内反応を実施した。

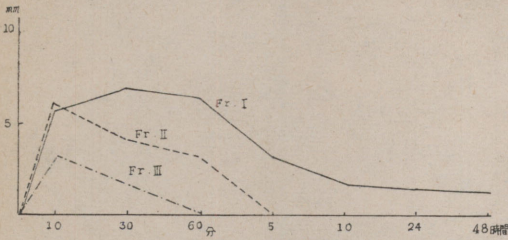
この成績については第14図にみられるごとく、全例とも Fr. I が強い反応を示した。また、陽極側の分画は陰極側のそれに比較して反応が一般に弱い傾向がみられた。この事実は泳動像にみられる Optical density から

みて抗原窒素の量的関係と関連があるものと思われる。

すなわち、実験Ⅲにおける成績にみられたように、本実験についてもまた窒素量の多い Fr. I および Fr. II が強い反応を示している。

2) S.m 分画抗原による反応

S.m 抗原は陽極に峰が二つ分かれたのみで第15図に示すような泳動像を呈した。D.m 抗原に準じて陽極側



第15図 S.m 感作ウサギに対する各 Fr. の反応出現状況

から、Fr. I・II・IIIの3分画として、これらの抗原をもちいて皮内反応をおこない、次のような成績が得られた。

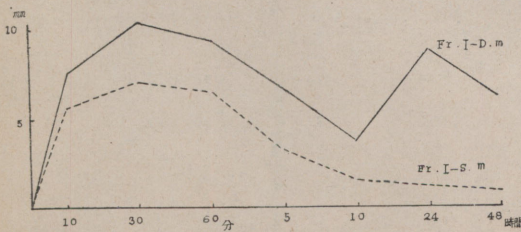
各分画とも反応の程度は弱いが、そのうち Fr. I では D.m 分画の場合と同じように比較的強い傾向がみられた。

とくに、陰極側に位置をする Fr. III においてはその活性はみとめられず、注射後、30分以内に消退した。

3) D.m および S.m 抗原分画物の比較

a) Fr. I による反応所見

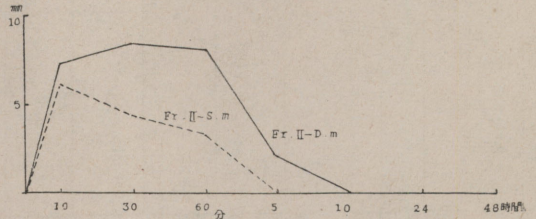
両抗原ともこの分画において、他のいずれの Fr より著明な反応の出現がみられたが、両者を比較してみると第16図に示すように、D.m 分画の Fr. が強く、S.m のそれは注射してから30分で腫脹が最大に達し、それ以後は次第に縮少し、D.m のそれについては10時間までは S.m と同じ傾向を示し、24時間してから再び反応が強まり、局所に著明な反応の出現をみとめたものがあつた。



第16図 Fr. I の比較

b) Fr. II による反応の所見

第17図に示すように D.m において反応が強く、また S.m に比べて経過も長びく傾向がみとめられた。しかし、両分画ともに反応の度合いは弱く、注射後10時間で消退した。

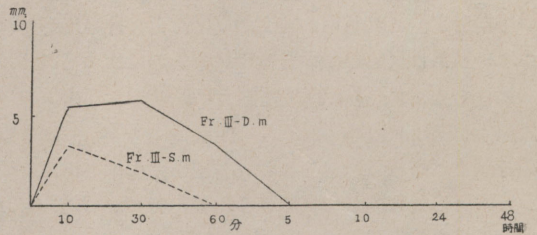


第17図 Fr. II の比較

c) Fr. III による反応所見

両者とも陰極側に位置をしめている分画で、いずれも反応の程度は微弱で、第18図のような結果を示した。

抗原窒素の量的関係についてみると、この Fr. III は両抗原ともに Fr. I および II に比べて少なく、とくに S.m 分画による皮内反応の成立を出現させることは難かしいと思われる結果が得られた。



第18図 Fr. III の比較

d) Fr. IV による反応所見

D.m 抗原においてのみ反応の出現をみとめ、S.m 抗原では陰性におつた。この反応については D.m の Fr. III と類似の所見がみとめられた。

小括

D.m および S.m 抗原を分画し、Arthus 現象に関する抗原性の検索をおこなうため、Zone electrophoresis によつて精製をこころみた。

D.m 抗原については陽極側と陰極側とに、それぞれ二つの峰が現われ、とくに陽極側のそれは峰が高く、かつ皮内反応の所見もまた顕著であつたのに反し、陰極側の峰は低く反応出現もまた弱い傾向がみられた。D.m 感作ウサギは第19図のような反応を出現した。

S.m 抗原の場合には原点から陽極側に二つの峰が現われ D.m の場合と同じように、もつとも高い峰の分画が反応もまだ著明で第20図にみられるような反応を示した。陰極側のそれは峰が低くかつ反応もほとんど発呈しなかつた。

D. m							抗原	S. m		
48時	24時	10時	5時	60分	30分	10分		時間	10分	30分
							Fr I			
							II			
							III			
							IV			

第19図の1 D.m 感作ウサギ(No. 33)に対する Zone electrophoresis による分画の反応

D. m							抗原	S. m				
48時	24時	10時	5時	60分	30分	10分		時間	10分	30分	60分	5時
							Fr I					
							II					
							III					
							IV					

第19図の2 D.m 感作ウサギ(No. 34)に対する Zone electrophoresis による分画の反応

D. m							抗原	S. m						
48時	24時	10時	5時	60分	30分	10分		時間	10分	30分	60分	5時	10時	24時
							Fr I							
							II							
							III							
							IV							

第20図 S.m 感作ウサギ(No. 7)に対する Zone electrophoresis による分画の反応

Zone electrophoresis を行つて得たこれらの結果は、前記の実験成績についてみられたと同じように、抗原室素量の多寡と不可分な関係があるものと考えられる。すなわち吸収の大きい分画の抗原よる反応は強いという事実がみとめられ、しかも、このことは D.m および S.m 抗原にも共通していることを知ることができた、と同時に、マンソン裂頭条虫体物質の蛋白分画に抗原性に関与する物質の存在を推定する根拠が得られたと思う。

総括および考察

わたしは、マンソン裂頭条虫の成虫およびその幼虫であるマンソン孤虫に材料を求めて、本条虫の免疫の問題、とくに、両虫体物質の抗原性について、感作ウサギに対する Arthus 現象を指標として実験をおこなつた。

まず、粗抗原による反応から出発し、抗原分画物の製法による差異、抗原の稀釈別などによる D.m, S.m 両抗原の注射によつてあらわす皮膚反応の発現状況について比較検討をこころみた。

両者間における抗原の性状すなわち、含窒素量、Ninhydrin 反応などにおいて著差はみられず、また、感作ウサギに対する反応の出現状態についても、類似の経過がみとめられたが、反応の度合いは D.m 抗原注射においては、S.m 抗原のそれに比べ、わずかに強かつた。

さらに、惹起抗原注射に Evans blue 注入法を併用した結果についてみると、兩種抗原によつて発現された反応の強さは、やはり D.m 抗原が S.m 抗原にまさつてゐることを知つた。

岡部ら(1957)は、*Sparganum mansoni* から得た虫体物質を Coca の抗原抽出液で作つた抗原を使用して、Sparganosis 患者の皮内反応をこころみ全例に陽性反応をみとめている。そして、その皮内反応抗原としては、S.m 抗原が D.m 抗原よりも好適であるといつている。

わたしがこころみた実験において、S.m 抗原による感作動物に対して、兩種抗原注射の場合にみられた皮内反応の強さは、つねに D.m 抗原によるものがまさつていた。このように岡部らの成績と異なる所見がみられたことは、本条虫の成虫と幼虫体を構成する物質の本質的な差異によつてもたらされたものでなく、惹起抗原の量的関係、すなわち、皮内反応に関与するアレルギー抗体の量的差異にもとづくものと思われる。

いわゆる寄生虫抗原において、その抗原性に関与する物質は、研究者によつて見解を異にし、あるいは蛋白質に、あるいは脂質に、多糖体分画にその存在が考えられ

ている。

わたしは、D.m および S.m から得た両虫体物質の硫酸による塩析と Zone electrophoresis によつての抗原の分画をおこない、これらのものの免疫学的な性状について検討をこころみた。

分画抗原の化学的性状が究明されていない現状において、蛋白、多糖体あるいは脂質分画という呼びかたを避けておのおの分画物をそれぞれA、BおよびC分画として実験をおこなつた。

感作ウサギに対する皮内反応の態度をみたのにA、B分画においてD.m 抗原およびS.m 抗原ともに一般に強い反応を現わしたが、C分画ではまったく反応が成立しない、あるいは、ごく微弱な反応を呈したのみであつた。

これらの分画による反応の結果を、蛋白質の多く含まれるAおよびB分画、蛋白質の少ないC分画についてみると、前二者に著明な反応が出現することから、本条虫の Arthus 現象に關与する抗原性物質は蛋白質の多い分画に存在するものと考えられる。

この点を、さらに詳しく検討するためにおこなつた Zone electrophoresis による分画抗原についての成績では、あきらかにこの事実を証明していることがうかがわれた。

すなわち、さきの硫酸分画の抗原による成績と同じように、吸収の大きい分画に反応が強くあらわれるという結果が得られた。

なお、D.m および S.m の両抗原ともこのような成績を示したことは、マンソン裂頭条虫の虫体物質において窒素量の多い分画、すなわち、蛋白分画が抗原性の強度に關与するものと推定される。

Campbell (1936) は *Taenia taeniaeformis* の抗原性について、蛋白分画に強い活性をみとめ、多糖体は Active immunity について活性のないことを報告しているが、きわめて興味ある事実といつてよいと思う。

結 論

マンソン裂頭条虫の免疫、とくに、感作ウサギに対する成虫および、その Plerocercoid であるマンソン孤虫に抗原を求め、感作ウサギに対する Arthus 現象をおこない、次のような結果を得た。

1) マンソン裂頭条虫の虫体物質から得た抗原によつて Arthus 現象の成立をみとめた。

2) 成虫およびマンソン孤虫の虫体物質から得た抗原による反応の度合いについては、成虫抗原において強い

傾向がみられ、さらに、Evans blue 注入法の併用によつて、確実にこの事実をたしかめることができた。

3) 両抗原の硫酸分画および Zone Electrophoresis による分画抗原の成績から、いわゆる蛋白分画に本条虫の Arthus 現象に關与する抗原性物質の存在が推定される。

おわりに、終始ご指導と、ご校閲をたまわつた恩師清水重矢教授に、こころより感謝いたします。

文 献

- 1) Campbell, D. H. (1936): Active immunization of albino rats with protein fraction from *T. taeniaeformis* and its larval fasciolaris. Amer. J. Hyg., 23 (1), 104-113.
- 2) Culbertson, J. (1941): Immunity against animal parasites. New York.
- 3) 伊藤実ら (1958): アレルギー, 金原出版, 東京.
- 4) Kunkel, H. G. et al. (1952): Zone electrophoresis in a starch supporting medium. Proc. Soc. Exp. Biol. Biol. Med., 80 (1), 42-44.
- 5) 森下哲夫 (1957): 寄生虫病の診断, 金原出版, 東京.
- 6) 布上正則 (1930): 条虫免疫の実験的研究 (第1報告), 東京医事新誌, (2686), 1-4.
- 7) 布上正則 (1931): 条虫免疫の実験的研究 (第2報), 東京医事新誌, (2711), 1-4.
- 8) 西尾憲三 (1939): 矮小条虫 *Hymenolepis nana* (V. Siebold) に關する研究, 第3編, 矮小条虫の免疫に關する実験的研究, 実験医学雑誌, 23 (4), 693-717.
- 9) 中島三夫 (1954 a): 蛔虫毒に關する研究 (1), 寄生虫学雑誌, 3 (2), 141-148.
中島三夫 (1954 b): 蛔虫毒に關する研究 (2), 寄生虫学雑誌, 3 (2), 149-152.
- 10) 岡部浩洋ら (1957): マンソン孤虫症の免疫学的研究, 久留米医学会誌, 20 (7), 907-913.
- 11) 岡田周子 (1959): 蛔虫駆虫効果判定に關する基礎的研究, (2) T. M. 反応の濾紙電気泳動法による抗原及び抗体の検討, 寄生虫学誌, 8 (2), 78-82.
- 12) 清水重矢・阿久沢実 (1958): 蛔虫卵物質の抗原性に關する研究, 2. 単細胞期および仔虫期蛔虫卵による Arthus 現象について, 寄生虫学雑誌, 7 (3), 62.
- 13) 佐竹一夫 (1955): クロマトグラフィー, 共立出版, 東京.
- 14) 高木香二 (1958): 蛔虫体成分の研究, 衛生学雑誌, 13 (3), 311-322.
- 15) 谷田末高 (1958): 蛔虫虫体の蛋白及び多糖体分画に關する研究, 熊本医学会誌, 32 (3), 72-97.
- 16) 横川宗雄ら (1954): 日本住血吸虫に關する研究,

Trypan-blue による日本住血吸虫症の皮内反応に就て, 公衆衛生, 14(1), 33-36.

- 17) 横川宗雄ら(1958): Evans-blue technique による肺吸虫幼虫の宿主体内移行経路の追究 (第2報), 第18回日本寄生虫学会 東日本支部 大会記

事, 12-13.

- 18) 楊述祖(1934): *Diphyllobothrium mansoni* (Cobbold, 1882) Joyeux, 1928, の終宿主に於ける發育並に本条虫に因る貧血に関する研究, 上海自然科学研究所彙報, 3, 51-113.

STUDIES ON THE ANTIGENICITY OF *DIPHYLLOBOTHRIUM MANSONI*

MASAKO NAKABAYASHI

(Department of Medical Zoology, Nippon Veterinary College, Tokyo)

Immunity against *Diphyllobothrium mansoni* was studied with sensitized rabbits and antigens derived from the adult form and its plerocercoid, the solitary worm of Manson. The Phenomenon of Arthus was used as follows.

1. The phenomenon of Arthus was recognized when antigens derived from the adult form and its plerocercoid were employed.

2. The degree of reaction was compared between the antigen prepared from the body of the adult worm and that from the body of the solitary worm of Manson. As a result, a tendency was observed that a stronger reaction was shown by the antigen from the adult worm. This tendency was further confirmed by applying simultaneously the Evans blue injection method.

3. Experiments were performed with the ammonium sulfate fractions of both antigens and fractions obtained from these antigens by zone electrophoresis. As a result, it was presumed that the so-called protein fraction contained an antigenic substance which was related to the occurrence of the phenomenon of Arthus in the case of infection with this tapeworm.