

鉤虫免疫に関する研究

(2) 血清蛋白像について

沢田 利貞 河野 恵

群馬大学医学部衛生学教室

(昭和36年2月13日受領)

緒言

Wright (1943) 等は *Trichinella spiralis* の幼虫を家兎に感染して抗血清の蛋白像の変化をチゼリウス電気泳動法により追求し γ -globulin の増加を認め且、この分画中に幼虫と沈降物を形成する抗体を認めた。Leland (1955) は *Nippostrongylus muris* の幼虫をラッテに漸次増量感染して血清の変化を観察し β -globulin 及び総蛋白量の増加を認めたが γ -globulin の顕著な変化は認めなかつた。永井 (1956) はツピニ鉤虫幼虫を家兎に感染した場合、血清中の γ -globulin は増加の傾向を示したと述べている。石原ら (1956) は鉤虫症患者血清について、石崎ら (1956, 1958) は鉤虫 Carrier 血清について夫々 γ -globulin の増加の傾向を認めた。同様の事実を石塚 (1959) も報告し、大角 (1959) は鉤虫罹患犬についてもこの事実を認めた。この際幼虫を漸次増量しながら重複感染を行うと γ -globulin の増加は益々著明に認められたと報告している。

著者は犬鉤虫幼虫を経口感染した家兎、幼虫体乳剤を皮下注射して免疫した家兎並びに成虫体乳剤を皮下注射して免疫した家兎の血清蛋白像の変化を観察した。

実験材料ならびに方法

血清は第1報に述べた如く、犬鉤虫幼虫経口感染、幼虫体免疫及び成虫体免疫を行つて得た各家兎血清を非動化しないで用いた。

血清蛋白分屑像は濾紙電気泳動法によつて分画を行い、プロムフェノールブルーで染色し光度計で比色定量して観察した。即ち東洋理化学工業製水平式濾紙電気泳動装置 K-1型を使用し、緩衝液はペロナール緩衝液 (pH 8.6, 0.05 μ)、濾紙は東洋濾紙 No. 51 (2cm \times 40) を用いて血清約0.01ml を 0.35mA/cm, 6時間泳動した後濾紙を 110 $^{\circ}$ C, 10分間加熱、乾燥、固定した。蛋白質は1%プロムフェノールブルー(昇汞飽和エタノール溶液)中で約20分間染色した後、0.2%醋酸液で洗滌し、室温

で自然乾燥後、アンモニアガス中を通し、次に熔融パラフィン中を通して透明化し東洋理化学工業製濾紙電気泳動光電比色計で定量した。

実験成績

経口感染、幼虫体或は成虫体免疫による家兎の血清蛋白分屑値の変動は幼虫の経口感染(幼虫数第1回 10,000 隻, 第2回 20,000 隻, 第3回 30,000 隻, 第4回 40,000 隻, 第5回 50,000 隻), 幼虫体乳剤, 成虫体乳剤の皮下注射(虫体乾燥量第1回 1mg, 第2回 2mg, 第3回 3mg, 第4回 4mg, 第5回 5mg)によつて家兎を免疫した後、各回免疫後1週目に耳静脈より一部採血(約5ml)して得た血清について行つた。

経口感染家兎血清においては感染前蛋白分屑の平均値(6匹)は albumin 55.8%, α, β -globulin 30.6%, γ -globulin 13.6%であつたが感染による之等蛋白分屑値の変動を観察すると albumin は第1回感染により 47.7%(6匹の平均値)と減少し以後感染回数の増加と共にわずかに減少の傾向が認められ、第3回感染後の血清では 41.7%(5匹の平均値)となつた。第5回感染後は1匹についてであるが 35.7%と減少していた。 α, β -globulin は第1回感染後一時的に増加して 36.3%(6匹の平均値)となつたが以後ほとんど増減なく第3回感染後が最高で 35.4%(5匹の平均値)、第4回感染後が最低で 33.1%(4匹の平均値)であつた。 γ -globulin は感染の度毎に増加し第1回感染後 16.1%, 第2回感染後 19.4%(何れも6匹の平均値)、第3回感染後 23.0%(5匹の平均値)、第4回感染後 24.2%(4匹の平均値)であつて、第5回感染後は1匹のみについてであつたが 30.6%となり、明らかに増加傾向を認めた(第1表, 第1図)。

幼虫体乳剤皮下注射免疫した家兎血清においては、免疫前蛋白分屑の平均値(7匹)は albumin 50.9%, α, β -globulin 32.2%, γ -globulin 16.9%であつたが、免疫による之等蛋白分屑値の変動を観察すると albumin は免

第 1 表 幼虫経口感染家兎の血清蛋白分層値 (%)

	免疫回数	動物数	最低値	最高値	平均値 ($\alpha=0.05$)
Albumin	0	6	49.4	66.4	55.8±6.92
	1	6	33.6	54.0	47.7±8.62
	2	6	39.5	50.9	46.9±5.35
	3	5	37.0	48.9	41.7±6.20
	4	4	33.5	51.6	42.7±13.60
	5	1			35.7
α, β -Globulin	0	6	25.0	36.6	30.6±4.43
	1	6	25.4	50.4	36.3±9.19
	2	6	30.3	40.4	33.8±4.63
	3	5	29.8	41.4	35.4±4.96
	4	4	19.5	46.9	33.1±18.24
	5	1			33.7
γ -Globulin	0	6	8.6	16.7	13.6±3.44
	1	6	10.6	21.3	16.1±3.73
	2	6	16.6	22.3	19.4±0.95
	3	5	19.0	26.9	23.0±3.22
	4	4	19.6	28.9	24.2±6.80
	5	1			30.6

第 2 表 幼虫体乳剤皮下注射免疫家兎の血清蛋白分層値 (%)

	免疫回数	動物数	最低値	最高値	平均値 ($\alpha=0.05$)
Albumin	0	7	43.3	56.1	50.9±4.33
	1	7	40.2	53.5	49.0±3.81
	2	7	36.3	50.2	45.6±4.24
	3	7	33.6	55.8	44.9±7.05
	4	7	34.2	50.2	43.5±4.56
	5	5	35.0	54.0	44.7±7.71
α, β -Globulin	0	7	27.2	35.6	32.2±3.20
	1	7	25.4	48.2	35.0±7.05
	2	7	32.1	48.6	36.4±5.48
	3	7	26.1	47.5	36.9±6.82
	4	7	25.5	46.6	35.7±5.83
	5	7	33.5	45.3	37.0±5.87
γ -Globulin	0	7	13.4	21.6	16.9±2.61
	1	7	11.6	23.3	16.0±4.23
	2	7	15.1	21.6	18.0±1.94
	3	7	11.8	21.0	18.2±2.81
	4	7	15.7	28.2	20.8±2.78
	5	5	12.5	20.9	18.3±4.29

疫の度毎にやや減少の経過が認められたが、免疫による最高値は第 1 回免疫後の 49.0% (7 匹の平均値)、最低値は第 4 回免疫後の 43.5% (7 匹の平均値) であつてわずかに減少の傾向を認めた。α、β-globulin は第 1 回免疫後 35.0% (7 匹の平均値) と僅かに免疫前よりも増加したが以後ほとんど変動なく最高値は第 5 回免疫後の 37.0% (5 匹の平均値) であつた。γ-globulin は免疫による著明な変化は認められず、最高値は第 4 回免疫後の 20.8% (7 匹の平均値)、最低値は第 1 回免疫後の 16.0% (7

第 3 表 成虫体乳剤皮下注射免疫家兎の血清蛋白分層値 (%)

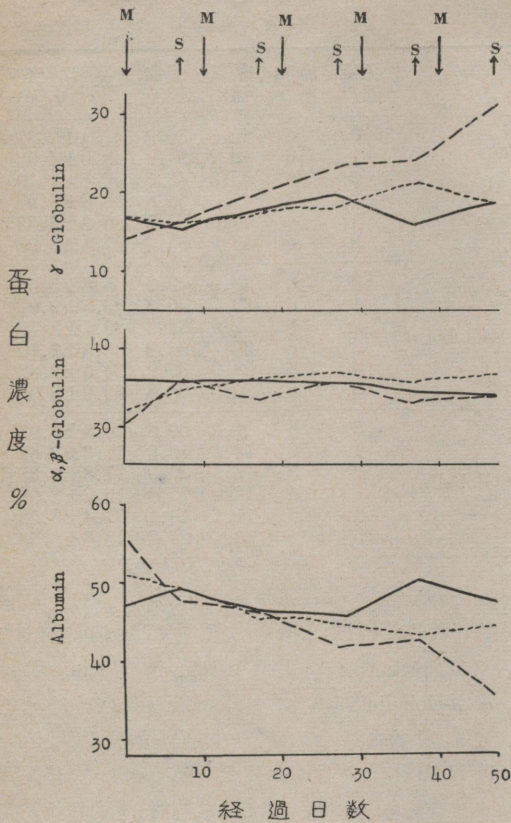
	免疫回数	動物数	最低値	最高値	平均値 ($\alpha=0.05$)
Albumin	0	6	42.6	50.9	47.4±2.57
	1	6	40.7	54.4	49.0±4.92
	2	6	45.2	48.0	46.5±2.10
	3	6	41.0	48.8	45.5±2.97
	4	6	44.0	58.5	50.3±5.55
	5	6	42.9	56.4	47.8±5.25
α, β -Globulin	0	6	30.9	40.3	35.8±3.68
	1	6	33.7	40.3	35.7±2.97
	2	6	32.0	38.8	35.7±2.77
	3	6	32.7	36.9	35.4±2.10
	4	6	28.9	36.9	34.3±2.82
	5	6	30.5	38.8	33.9±3.55
γ -Globulin	0	6	11.0	20.0	16.8±2.93
	1	6	13.2	19.0	15.3±2.62
	2	6	15.3	20.0	17.8±2.35
	3	6	16.0	22.0	19.2±2.98
	4	6	11.2	19.1	15.4±3.42
	5	6	13.1	24.2	18.3±3.63

匹の平均値) であつた (第 2 表, 第 1 図)。

成虫体乳剤皮下注射免疫した家兎免疫血清においては、免疫前蛋白分層の平均値 (6 匹) は albumin 47.4%, α、β-globulin 35.8%, γ-globulin 16.8% であつたが、免疫による之等蛋白分層値の変動を観察すると albumin は免疫による著明な変化は認められず、最高値は第 4 回免疫後の 50.3% (6 匹の平均値)、最低は第 3 回免疫後の 45.5% (6 匹の平均値) であつた。α、β-globulin は免疫による影響は認められず免疫後の最高値は第 1 回免疫後の 35.7% (6 匹の平均値)、最低値は第 5 回免疫後の 33.9% (6 匹の平均値) であつた。又 γ-globulin についても著明な変動は認められず最高値は第 3 回免疫後の 19.2% (6 匹の平均値)、最低値は第 1 回免疫後の 15.3% (6 匹の平均値) であつた (第 3 表, 第 1 図)。

考 察

犬鉤虫幼虫を経口感染を行つた家兎、同幼虫体乳剤を皮下注射免疫した家兎及び同成虫体乳剤を皮下注射免疫した家兎の血清をとり濾紙電気泳動法により血清蛋白分層像の変動を観察したところ、経口感染家兎血清においては僅かに albumin の減少傾向を認め、α、β-globulin は第 1 回感染により一時的に増加したが、その後はほとんど変動なく、γ-globulin は第 1 回感染後、感染の度毎に増加傾向を認めた。幼虫体家兎免疫血清においては albumin は僅かに減少の傾向を認め、α、β-globulin は第 1 回免疫後僅かに増加し、その後はほとんど変動なく、γ-globulin は免疫により著明な変動はなかつた。成虫体



第1図 免疫家兎血清蛋白分層の変動 (平均)
 M: 免疫, S: 採血, --- 経口感染家兎
 幼虫体免疫家兎
 — 成虫体免疫家兎

家兎免疫血清においては albumin は第4回免疫後一時的に増加を示したが、免疫による著明な変動は認められず、 α, β -globulin 及び γ -globulin も免疫による著明な変動は認められなかった。

免疫による家兎血清蛋白分層の変動は幼虫を経口感染した場合に albumin の減少及び γ -globulin の増加傾向が明らかに認められ、幼虫体、成虫体等の乳剤を皮下注射した場合には、著明な血清蛋白分層の変動を認められなかったことは幼虫の代謝産物が著明に感染家兎の抗体産生を促し、 γ -globulin の増加となつて血清中に現れたものと考えられる。永井(1956)がツビ=鉤虫感染家兎血清について γ -globulin の増加を認め、石原(1956)、石崎ら(1956, 1958)が鉤虫保有者について、又大角(1959)が犬について同じく γ -globulin の増加傾向を認めているのと同様な結果であつた。著者の実験及び諸氏の報告から幼虫、成虫を問わず、鉤虫が人或は実験動物体内に侵入した場合に抗体産生を促し、血清中に γ -globulin の増加となつて現れることが十分に考えられる。この際、非固有宿主の場合の如く、幼虫感染によつて産生される血清抗体 (γ -globulin) と固有宿主の場合の如く幼虫感染後腸管内で成虫となり寄生している状態において産生される血清抗体 (γ -globulin) との異同は明らかではないが、之等は今後検討すべき問題と考える。

結 論

犬鉤虫幼虫経口感染、幼虫体乳剤の皮下注射、成虫体乳剤の皮下注射等により免疫した家兎血清の蛋白分層像を濾紙電気泳動法により観察して次の結論を得た。

(1) 幼虫を経口感染した家兎免疫血清は感染の度毎に albumin は減少し γ -globulin は増加する傾向を認められた。

(2) 幼虫体及び成虫体の乳剤により免疫した家兎血清については、albumin, γ -globulin の著明な減少或は増加の傾向を認めなかった。

(3) α, β -globulin は何れの家兎免疫血清においても著明な変化を認めなかった。

(文献は第3報に一括して記載)

STUDIES ON HOOKWORM IMMUNITY

II. THE CHANGES IN SERUM PROTEIN COMPONENTS

TOSHISADA SAWADA & MEGUMI KONO

(Department of Hygiene, School of Medicine, Gumma University, Japan)

The changes in serum protein components of rabbits immunized with *Ancylostoma caninum* were investigated by paperelectrophoresis.

Rabbits were immunized with following antigens: 1) living larvae 2) homogenate of larvae 3) homogenate of adult worms.

Experimental results were as follows:

- 1) Increase of γ -globulin and decrease of albumin were observed in the Group immunized with living larvae during the course of immunization.
- 2) Remarkable changes of albumin and γ -globulin were not observed in the groups immunized with homogenate of larvae, and of adult worms.
- 3) The changes of α , β -globulin were not observed in all groups immunized with various antigens.

寄 贈 文 献 目 録 (20)

734. 松田鎮雄(1961): 広島県における小・中・高校生の蟯虫検査. 広島医学, 15(6), 656~661.
735. 松田鎮雄(1961): 肛囲検査法の研究, (15) TM式セロファン法, 広島医学, 14(5), 573~575.
736. 佐渡正四郎(1961): 寄生虫殺卵剤に関する研究. 日本公衆衛生雑誌, 8(1), 101~109.
737. 小野豊・磯田政恵・川村齊(1955): 肝蛭卵の検出に應用せる各種集卵法の比較研究, 畜産の友, 2(7), 2~5.
738. 小野豊・木村重・久葉昇・今村純造・西村元喜(1957) 兵庫県下における, めん・山羊の寄生虫病実態調査, 兵庫農大研究報告, 3(1), 37~40,
739. 小野豊・磯田政恵(1954): 家畜肝蛭症の最近の診断と治療および予防法(1)(2), 畜産の研究, 8(3,4) 217~220; 323~326.
740. 小野豊(1958): わが国における家畜肝蛭症の発生と被害状況ならびにその撲滅対策. 畜産の研究, 12(3). 389~393.
741. Ono, Y.(1958): Liver-Fluke Infestation of Ruminants. Bull. L'Office International des Epizooties 49, 555~559.
742. 小野豊(1955): わが国の家畜衛生と肝蛭症. (1)(2), 畜産の研究, 14(5,6), 631~635, 765~768.
743. Ono, Y. & Kimura, S.(1960): Studies on the diagnosis of fascioliasis in cattle, especially on changes of intradermal reaction after treatment of *Fasciola hepatica* with hexachlor-ethane bentonite. Sci. Rep. Hyogo Univ. Agric. 4 (2), 72~74.
744. 小野豊(1961): 牛肝蛭症の皮内反応による診断とその実施要領, (1)(2), 畜産の研究, 15(3,4), 395~398, 539~542.
745. 小野豊(1961): 肝蛭症の診断と治療, 獣医界, 61 43~47.
746. 久葉昇(1961): 哺乳動物の日本住血吸虫卵結節に関する病理組織学的研究, 兵庫農科大学紀要, 3(3), 1~48.