

鉤虫皮内反応の諸性質

石崎 達 久津見 晴彦 熊田 三由

国立予防衛生研究所寄生虫部

荒木 英斉 宮本 昭正 広瀬 俊一

東京大学医学部物療内科教室

高橋 坦

静岡県衛生部予防課

(昭和 37 年 11 月 26 日受領)

まえがき

鉤虫抗原による皮内反応の文献は古くは大塚(1928), Stumberg *et al.* (1931), Bachman *et al.* (1932), Vattuone (1933) などがあるが, 本格的に研究が行なわれたのは戦後で, 野田(1951)はツビニ鉤虫虫体より松原氏反応抗原抽出法で抗原抽出液を作り, 0.2 ml を前膊内側皮内に注射し 20~30 分後に即時反応を検し駆虫によつても反応は減弱しないとしている。石原ら(1952), 原田ら(1952)は仔虫乳剤および成虫乳剤で皮内反応を行ない, 虫卵陽性率と皮内反応陽性率との一致はそれぞれ 92.2% および 88.8% であるといっている。沢田ら(1954, 1961)は犬鉤虫から粗抗原として蛋白分画, 多糖類分画を抽出し, 皮内反応と血清学的試験を行ない, 抗原性は蛋白分画にあることを発表した。続いてこの抗原が鉤虫寄生者に 88.1% の適中率を示すこと, 熱に対比較的抵抗性が少ないこと, マゾニンにより若干破壊されることを報告した。同時に注射量は 0.05 ml, 濃度は抗原乾燥末 2 γ /ml がよいと述べている。

以上のように従来の研究は抗原側に主力をおさ, 皮内反応の価値判定は鉤虫寄生の有無の診断を目的としたものが多く, 人体側における皮内反応の実態を追求した論文は未だ見当らない。そこで私達はアメリカ鉤虫粗抽出抗原を用いて皮内反応を行ない, 人体側の要因を種々の観点から解析したので報告する。

対象および方法

対象: 鉤虫感染率を異にする地区 (アメリカ鉤虫絶対優先地区), 千葉県船橋市藤原町農民 118 名 (男 54, 女 64, 感染率 24%), 静岡県吉原市川尻町全住民 452 名 (男 222, 女 230, 感染率 7.5%), 静岡県富士市田子の浦町住民 151 名 (男 72, 女 79, 感染率 1.3%) を対象とした。

年齢構成は自然構成と殆んど同一である。なお感染率

は糞便を飽和食塩水浮游法 (2 本) により検査して調べた。

抗原製法: アメリカ鉤虫を冷凍乾燥, エーテル脱脂 (Soxhlet 装置で 8 時間), 50 倍量 D.P. 液 (葡萄糖 45 g, 重曹 2 g, 石炭酸 5 g, 蒸溜水 1,000 ml) で冷抽出 24 時間後, Chamberland 濾過器で濾過し, 更にセロファン膜で 48 時間透析し, 生理的食塩水で 10^{-4} 液 (乾燥重量) に稀釈使用した。

注射方法: 被検者前腕屈側皮内に 0.05 ml をツベルクリン注射器で正確に注射し, 15 分後の膨疹・紅量の縦横径を測り, それぞれの平均値を測定値とした, 対照には生理的食塩水およびヒスタミン 10^{-6} 液を同量注射した。

成績および考察

1. 皮内反応分布曲線の比較

船橋, 川尻, 田子の浦 3 地区別に膨疹, 紅量の直径の頻度分布曲線は石崎ら(1961)が既に発表したように 3 地区とも等しく膨疹 9 mm, 紅量はほぼ 20 mm を境界点とする 2 峰性を示した。3 地区の曲線を同一図上に重ねたのが Fig. 1 である。

直径の小さい方の峰は種々の理由から非特異性群 (石崎ら, 1961) でいわゆる陰性反応群であり, 直径の大きい方の峰は特異性群でいわゆる陽性反応群と考えられる。

3 地区での分布曲線を比較してみると第 2 峰 (陽性群) の高さは膨疹, 紅量ともに船橋地区が最大で, 川尻地区がこれに次ぎ, 田子の浦地区は最も小さい。これは感染率によく比例している。ことに田子の浦地区の鉤虫卵陽性者はその全部が他地区からの移入 (嫁入り) であるので恐らく現在鉤虫症の流行はないと考えられる。この事実と一致して特異性群 (陽性群) は膨疹では若干存在するが紅量では消失している。

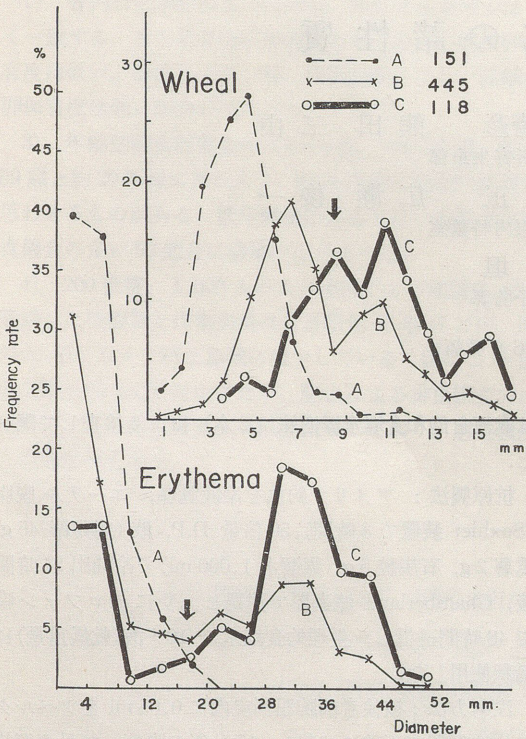


Fig. 1 Comparison of distribution curves of skin reaction by hookworm antigen (10^{-3} , 0.05 ml) in three different districts: A-Tagonoura (1.3% of hookworm infection), B-Bawajiri (7.5%), C-Funabashi (24%)

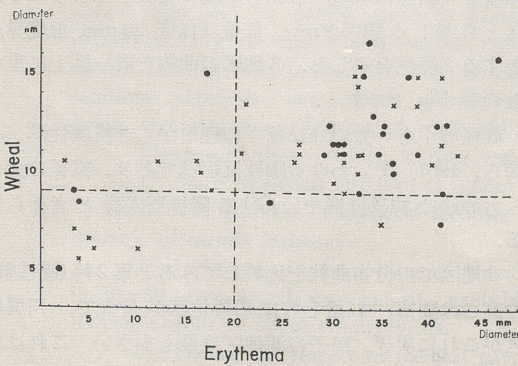


Fig. 2 Correlation between wheal and erythema by hookworm antigen (10^{-4} , 0.05 ml) in same individual: Hookworm egg (-) ··· ··· ×, Hookworm egg (+) ··· ··· ●

以上の事実から考えると特異性群の構成は大部分が真に特異反応を示すものの集まりであつて、非特異的に陽性反応を示す者(アレルギー患者によくみる)の比率はきわめて低いのではないかと考えられる。

2. 鉤虫皮内反応の特異性の検討

1) 膨疹と紅量の相関性

膨疹と紅量とはかなり高い相関を示し、船橋地区の例で相関係数を調べると、 $r=+0.78$ (0.1%以下の危険率で有意)である。しかし Fig. 2 にみるようにながらばりかみとめられる。虫卵陽性者の79%は膨疹、紅量ともに陽性限界内にあるが、残り14%はどちらか一方だけで陽性であつた。

また虫卵陽性者のうち10%以内が膨疹、紅量ともに陰性群に属した。

2) 反応陽性者の検討

寄生虫皮内反応がアレルギー反応であるかぎりその反応性には個人差があり一定の稀釈倍率の抗原で調べた場合保虫者で陰性にできるものも考えられる(石崎ら, 1962)。

一方虫卵陰性にして皮内反応陽性者は第1には、これが大部分であろうが、かつて鉤虫の侵入を受けて感作をうけているものが考えられ、第2には他の寄生虫感染による類属反応による陽性者、第3にはアレルギー患者にみる非特異的過敏者である。

3) 類属反応の有無

上記の第3の問題は前項でもふれたように集団的解析には重要性は少ないように思われる。そこで第2の問題である類属反応を検討してみたい。

第1項の規準で陽性判定を決めた場合(膨疹 9 mm 以上、紅量 20 mm 以上)、対象群の皮内反応陽性率が蛔虫、鞭虫の寄生の影響を受けるか否かを調べてみた。

同じ線虫類の感染であるから、もし類属反応がみとめ

Table 1 Influence of other helminth inhabited upon the reactivity of skin by hookworm antigen (10^{-4} , 0.05 ml) (Negative groups for hookworm)

Parasites inhabited	Wheal		Positive rate	Erythema		Positive rate
	+	-		+	-	
No parasite	39	143	21.4%	58	124	31.8%
Ascaris	11	37	22.9	16	32	33.2
Whipworm	5	21	19.2	7	19	27.0
Ascaris + Whipworm	14	49	22.2	20	43	31.7

Table 2 Influence of other helminth inhabited upon the reactivity of skin by hookworm antigen (10^{-4} , 0.05 ml) (Positive groups for hookworm)

Parasite inhabited	No. of examined	Wheal	Erythema
		mean diameter and standard deviation	mean diameter and standard deviation
Hookworm	21	11.2±1.6mm	27.6±10.3mm
Hookworm + Ascaris	6	10.8±2.8	30.7±12.4
Hookworm + Ascaris + Whipworm	3	10.3±3.0	34.5± 3.9

られれば皮内反応陽性率が高くなるわけである。その結果は Table 1 のように鉤虫寄生のない群で集計してみると蛔虫、鞭虫の寄生によつて鉤虫皮内反応陽性率は全く変化を受けていない。

一方鉤虫感染者 30 名の反応を調べて膨疹・紅量の平均値をとると、Table 2 のように蛔虫、鞭虫寄生による反応の増強は全くみられない(いずれも有意差検定で否定)。以上の事実から類属反応による鉤虫皮内反応陽性者は少ないであろうという推定が可能であつて、皮内反応陽性者の大部分は第 1 に想定したかつて鉤虫の侵入により感作された人達であるという仮説が成立すると考えられる。

4) 鉤虫寄生者家族の皮内反応

鉤虫の侵入による感作が皮内反応陽性を示す要因の大部分だとすると、鉤虫寄生者の 1 人もいない家族に比べて寄生者家族はたとえ現在鉤虫に感染していなくても鉤虫に感作される機会が多かつたにちがいない。そこで Table 3 に保有者、その家族、および非寄生者家族の皮内反応陽性率を示した。

この結果をみると鉤虫保有者家族は若干高い陽性率を示し、検定により 5% 以下の危険率で有意差があつた。このことから皮内反応の陽性とは主として鉤虫だけの感作に由来すると考えてよいようである。

Table 4 Comparison of negative skin reaction by hookworm antigen with control skin reaction by saline

	Differences of diameter of							
	Wheal			Erythema				
	0~1.0mm	1.1~2.0mm	2.1mm~	0~1.0mm	1.1~3.0mm	3.1~5.0mm	5.1mm~	
No. of cases	65	53	38	54	30	29	32	
Per cent of positive	41.7	34.0	24.3	37.3	20.7	20.0	22.0	
	75.7			58.0				

Table 3 Positive rates of skin reaction by hookworm antigen in the family members of hookworm carrier

Groups	Wheal			Erythema		
	+	-	Positive rate	+	-	Positive rate
Hookworm carriers	28	5	85.0%	28	5	85.0%
Family members of hookworm carrier	18	42	30.0	23	37	38.2
Family members of negative for hookworm	69	250	21.6	101	218	31.6

3. 非特異反応(陰性反応)と特異反応(陽性反応)の質的差異

非特異反応として対照の意味で使われる生理的食塩水反応の分布は 1 峰性で、Fig. 1 の鉤虫皮内反応分布に重ねてみると膨疹、紅量とも直径の小さい第 1 峰にほぼ一致する(石崎ら, 1961)。

そこで実際に同一人に行なつた生理的食塩水の反応と鉤虫の陰性反応とが一致するか否かをみたのが Table 4 である。これをみると測定誤差を考慮に入れて膨疹 75.7%, 紅量 58.0% が大体対照反応である生理的食塩水による反応と一致したことになる。

この事実から鉤虫抗原による皮内反応陰性とは、恐らく抗原抗体反応が起らないのであろうから、かかる場合溶媒である生理的食塩水に数 γ /cc 程度の蛋白量(Nで換算)が加わつただけの反応ということになり、当然それは生理的食塩水だけの反応と等しくなると考えてよいようである。

次に即時性特異反応は抗原抗体反応の結果遊離されるヒスタミン様物質によつて起る(木村ら, 1958)と考えられているので、一種の対照反応として鉤虫反応実施者で同時にヒスタミン 10^{-6} 液の反応を調べた。その結果は陽性反応群にのみ相関関係がみとめられた(石崎ら, 1961)。これらの関係をまとめて示したのが Table 5 である。

Table 5 Correlation coefficient of skin reaction between hookworm antigen (10^{-4} , 0.05 ml) and solution of histamine 10^{-6} and saline

		Wheal		Erythema	
		+	-	+	-
Saline	No. of cases	75	146	80	139
		+0.116	+0.273	+0.193	+0.062
Histamine	No. of cases	93	74	52	70
		+0.928	+0.189	+0.345	-0.004

Positive in wheal is more than 9 mm in diameter
Positive in erythema is more than 20 mm in diameter

これをみると非特異反応群(陰性群)の膨疹が生理的食塩水のそれと有意の正相関を示し、特異反応群(陽性群)の膨疹および紅暈はヒスタミン反応のそれと正相関を示している。

このように相関を示す対照反応が質的に違うということは興味あることで、このことから分布曲線にあらわれた第1峰、第2峰が質的に異なるものであることを示すと考える。

4. 性別、年齢別皮内反応陽性率

川尻地区 440 名の皮内反応を性別、年齢別に分類してみると Fig. 3 のようになった。

この場合陽性率は女がやや高いようにみえる。これは川尻地区では男が工場に働きにでるものが多く女が農耕する例がかなりあるので、その事情が影響していると思われる。

年齢別では 20 歳台に陽性率が急上昇し、のち大体一定になり、この分布は同一群での鉤虫卵陽性率と正比例した。勿論皮内反応陽性率は虫卵陽性率の数倍に及ぶが疫

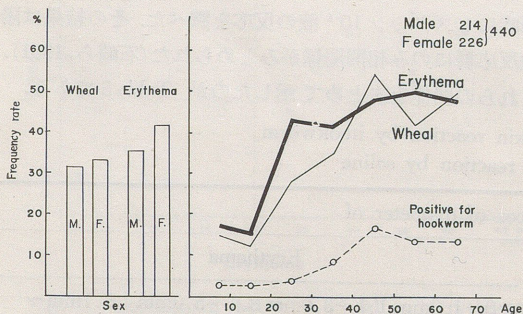


Fig. 3 Positive rates of skin reaction for the different sex and age groups and incidence rates of hookworm infection

学的に感染の実態を知るといふ点では皮内反応年齢分布はかなり役立つようである。

要 約

鉤虫粗抗原(アメリカ鉤虫) 10^{-4} 液を皮内に注射して起る即時反応を人体の側から解析して、その特異性反応としての特徴をしらべた。対象はアメリカ鉤虫感染率の著しく異なる3地区(24%, 7.5%, 1.3%)の住民合計 721 名である。成績を要約すると次の通りである。

1) 膨疹・紅暈の直径の頻度分布曲線は膨疹 9 mm, 紅暈 20 mm を境とする2峰性で、直径の大きい方の群は特異性群(反応陽性群)と考えられる。この峰は感染率の順に増大し、感染率の著しく低い群では殆んど消失している。

2) 虫卵陽性者の 80 % は膨疹・紅暈ともに陽性群に属し、10 % がどちらか陽性、残り 10 % が陰性群(直径の小さい峰)に属した。この陰性群は鉤虫による感作がないのではなく感受性が低いと考えられる。

3) 虫卵陰性者で皮内反応陽性者は大部分かつて鉤虫の侵入をうけた(感染成立の有無は不明)ものと考えられる。それは蛔虫、鞭虫の寄生により陽性率および反応直径に全く影響をうけず、鉤虫保有者家族に陽性率が高いからである。

4) 上記皮内反応分布曲線で直径の小さい峰は同一例の群に注射した生理的食塩水の反応と集団的にも、個人的にもよく一致し、非特異反応(陰性)の特徴をよくあらわしている。また直径の大きい峰は陽性群と考えるが、この反応は同一例に実施したヒスタミン 10^{-6} 液の反応と相関があり、生理的食塩水反応とは無関係であつた。これは特異反応として、陰性群とは質的に異なる反応であることを示している。

5) 川尻地区で皮内反応の年齢別陽性曲線を作ると陽性率は年齢とともに上昇し、その年齢別虫卵陽性率と比例した。このことは疫学的に感染の実態を知る一つの指標になるようである。

稿を終るにのぞみ御校閲を賜わつた寄生虫部長小宮義孝博士に感謝の意を表します。

文 献

- 1) Bachman, G. W. & Rodriguez-Molina, R. (1932): Skin reactions to *Necator americanus* in persons infected with the common intestinal parasites. Puerto Rico Jour. Publ. Health & Trop. Med., 7, 287-319.
- 2) 原田義道・森納(1952): 培養法並に皮内反応に

- よる鉤虫症の診断. 臨床医学, 37(3), 1-5.
- 3) 石原国・原田義道・森納・久代文也(1952): 鉤虫症診断の再検討. 最新医学, 7, 789-793.
 - 4) 石崎達・荒木英斉・久津見晴彦(1961): 皮内反応の基礎的研究 (1) 即時反応陽性判定基準及び反応の特質に就て. アレルギー, 10(5), 307-317.
 - 5) 野田昇(1951): 鉤虫症の皮内反応. 大阪市立医科大学雑誌, 2, 202-213.
 - 6) 大塚登美子(1928): 十二指腸虫病患者に於ける皮膚反応. 倉敷中央病院年報, 2.
 - 7) Sawada, T., Suzuki, I., Oka, T. & Sano, M. (1954): Diagnosis of ancylostomiasis by means of intradermal and serological tests. Gumma Journal of Medical Science, 4(1), 30-38.
 - 8) 沢田利貞・河野恵・佐藤重房・追川実男(1961): 鉤虫の皮内反応 (2) S-70 抗原による野外実験成績について. 寄生虫学雑誌, 10(2), 171-177.
 - 9) Stumberg, J. E. & Rodriguez-Molina, R. (1931): Hypersensitiveness to hookworm proteins in Puerto Rico. Puerto Rico. Jour. Public Health & Trop. Med., 7, 37-49.
 - 10) Vattuone, A. B. (1933): A new intradermal reaction in ancylostomiasis. Med. J. Australia, 655, 645-647.

ANALYSIS OF THE INTRADERMAL TEST WITH HOOKWORM ANTIGEN

TATSUSHI ISHIZAKI, HARUHIKO KUTSUMI, MITSUYOSHI KUMADA,
(Department of Parasitology, National Institute of Health, Tokyo)

HIDENARI ARAKI, TERUMASA MIYAMOTO, SHUN-ICHI HIROSE
(Department of Physical Therapy and Medicine, School of Medicine,
University of Tokyo, Tokyo)

&

HIROSHI TAKAHASHI

(Department of Hygiene, Shizuoka Prefectural Government)

This study was designed to evaluate the specificity of the skin reaction by intradermal injection of crude antigen of *Necator americanus*. This antigen was extracted with Unger's D. P. solution and diluted with saline to 1:10,000. As the control saline and a 1:1,000,000 histamine hydrochloride solution diluted with saline were used. Intradermal injection of 0.05 ml of these solutions were made into the skin of the flexor surface of forearm.

These intradermal tests were carried out on 721 individuals in 3 rural districts of Chiba and Shizuoka Prefecture (*Necator* was dominant) in which prevalence rates of hookworm infection were 24%, 7.5% and 1.3% respectively.

1. The distribution of the diameter of wheal and erythema showed two peaks with the minimal points situated in the 9 mm and 20 mm, respectively. The second peak in larger side, was corresponded to the group considered to be sensitized by specific antigen.

Then, those greater than 9 mm and 20 mm in diameter of wheal and erythema were regarded as positive respectively. The heights of the second peak were varied in three populations and were closely paralleled with their prevalence rates of hookworm infection.

2. Approximately 80 per cent of hookworm carriers were positive both for wheal and for erythema in this skin test. Ten per cent of them revealed positive skin test in either wheal or erythema and another 10 per cent gave the complete negative result.

3. Positive reaction of skin test were sometimes shown in those negative for hookworm ova in the fecal examination. These positive reactions were considered to be due to the past hookworm infection in their history, because of no relationship with harbouring *Ascaris* and/or *Trichuris* in these patients and of observing especially more in the families of hookworm carriers.

4. The first peak of the distribution curves in the smaller diameter side, concerning both of wheal and of erythema resembled that of saline tested in the same population and same person. Through these results, the first peak was considered to be characteristic of non-specific reaction. In the range of positive reaction, correlation was observed both these measurements of diameter with hookworm antigen and with histamine solution.

5. Conclusion may be possible that the intradermal test by a relatively crude fat-free hookworm antigen can be use for specific diagnosis and also epidemiological survey.