

日本住血吸虫症の免疫に関する研究

(7) 蛍光抗体法の診断的意義

佐藤 重房

群馬大学医学部衛生学教室 (主任: 沢田利貞教授)

(1965年2月6日受領)

緒言

さきに著者(1965)は日本住血吸虫(日虫)症の血清学的診断を目的とした蛍光抗体法間接法(FA test)について、基礎的な反応の諸条件を実験的日虫感染家兔血清を対象として検討した。抗原として、miracidium (Mir.) は cercaria (Cer.) に比較して非特異性が強いことを認めた。抗原の固定に99%~90% ethanolを用いて良い結果を得た。Cer. を抗原とし、固定に95% ethanolを用いて行ったFA testは、実験的日虫感染家兔の全例に陽性反応を認め、正常家兔には陽性反応を全く認めなかったことを報告した。今回、著者はFA testを日虫症の血清学診断法として応用するために、その診断的意義について検討した。

Sadun *et al.* (1961, 1962) は *schistosomiasis mansoni* や *trichinosis* の患者についてFA testを行い、FA testは感受性が高く、また、他の疾病との類属反応も極めて少いので、testとして優れていることを報告した。著者は日虫症患者より得た血清についてFA testを行い、また、同時に日虫症以外の寄生虫症や寄生虫症以外の疾病に対する類属反応の有無について観察するため、日虫症有病地以外に居住するこれら疾病患者および健康人より得た血清についてFA testを行った。

実験材料および方法

1. 抗原: 実験室内で人工感染飼育した宮入貝より遊出した運動活潑なCer.を用いた。
2. 被験血清: 日虫症患者(MIFC集卵法によつて日虫卵を認めた者)、日虫症以外の寄生虫症(肝吸虫症、肺吸虫症、鉤虫症および蛔虫症)患者(MIFC集卵法および喀痰検査法によつてそれぞれの虫卵を認めた者)、寄生虫症以外の疾病(梅毒、腸炎、神経痛、肺結核、脚気

および胃痛)患者および健康人より得た血清をそれぞれ56°Cで30分間非働化して使用した。なお、血清の稀釈は0.85% salineで行った。

3. FA: 抗人血清 globulin 免疫家兔血清 globulin に fluorescein isothiocyanate を label した染色液 (precipitin titer 1:128: 東京大学伝染病研究所川村明義助教授より分与) をマウスの肝 acetone 粉末で2回吸収して使用した。

4. FA test の手技: さきに(1965)報告したと同一方法 (slide 塗抹法) で行った。なお、Cer. の固定は95% ethanolを用い、室温(20°C前後)で5分間行つた。

5. FA test の判定基準: 抗原に蛍光を全く認めないものを陰性、弱い蛍光(±蛍光)を認めるものを疑陽性、強い蛍光(1+~3+蛍光)を認めるものを陽性と判定して記録した。

実験成績

特異反応に関与する被験血清およびFA液の適正な濃度を知るために予備実験を行った。すなわち、Cer. を日虫症患者血清 (hemagglutinin titer 1:320: Sato *et al.* 1963) および正常人血清の1:3, 1:10, 1:30 および1:100稀釈液で incubate したのち、その各々についてFA 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32および1:64稀釈液で染色して蛍光の有無を観察した。

患者血清の場合は、1:3稀釈血清で incubate した Cer. にFA 1:32稀釈まで蛍光(3+, 2+, 1+)を認め、1:10稀釈血清はFA 1:16稀釈まで蛍光(3+, 2+, 1+)を認め、1:30稀釈血清はFA 1:2および1:4稀釈に蛍光(1+)を認めたが、1:100稀釈血清では蛍光を認めなかった。正常人血清の場合は、1:3稀釈血清で incubate した Cer. にはFA 1:2および1:4稀釈に蛍光(2+, 1+)を認め、1:10稀釈血清はFA 1:

Table 1 Quantitative results obtained in the fluorescent antibody tests with serum specimens from individuals with and without schistosomiasis

FA dilutions	Patient serum diluted 1:				Normal serum diluted 1:			
	3	10	30	100	3	10	30	100
	1:2	3+	3+	1+	—	2+	1+	—
4	3+	2+	1+	—	1+	—	—	—
8	3+	2+	±	—	±	—	—	—
16	2+	1+	—	—	—	—	—	—
32	1+	±	—	—	—	—	—	—
64	±	—	—	—	—	—	—	—

2 稀釈に蛍光(1+)を認めたが、1:30 および 1:100 稀釈血清では蛍光を認めなかった (Table 1)。これらの実験成績によって、被験血清の 1:3 稀釈に反応の非特異性を強く認め、1:30 稀釈に反応の著しい減弱を認めたので、test には被験血清を 1:10 に稀釈して使用することが適当であると考えられた。次に、1:10 稀釈血清で incubate したのち FA 1:4、1:8 および 1:16 稀釈液で染色した各々の Cer. に特異的な蛍光(2+, 1+)を認めたので、test にはこれらの中最も稀釈度の高い 1:16 稀釈より 2 倍高い濃度である FA 1:8 稀釈液を用いて以後の実験を行った。

前記の実験条件にしたがって、日中症患者 50 名、日虫症以外の寄生虫症 (肝吸虫症 11 名、肺吸虫症 10 名、鉤虫症 13 名および蛔虫症 9 名) 患者 43 名、寄生虫症以外の疾病 (梅毒 5 名、腸炎 4 名、神経痛 3 名、肺結核 2 名、脚気 1 名および胃癌 1 名) 患者 16 名および健康人 36 名より得た血清について FA test を行つた。

Cer. を抗原とし、これを 95% ethanol で固定したのち、被験血清 1:10 稀釈液で incubate し、FA 1:8 稀釈液で染色して Cer. の蛍光の有無を観察した。日虫症患者 50 名中反応陽性者は 48 名 (陽性率 96%) で反応陰性者はわずかに 2 名 (陰性率 4%) であった。日虫症以外の寄生虫症患者 43 名には反応陽性者を全く認めなかったが、肺吸虫症患者 1 名に疑陽性反応を認めた。寄生虫症以外の疾病患者 16 名はすべて反応陰性であり、また、健康人 36 名の FA test もすべて反応陰性であった (Table 2)。

総括および考察

日虫症の血清学的診断法として、FA test の応用について実験を行い、その診断的意義について検討した。

抗原 (Cer.) は 95% ethanol で固定し、被験血清を

Table 2 Results obtained in the fluorescent antibody* test for schistosomiasis japonica in human sera**

Diagnostic status	Number of tested	FA test		
		Positive	Doubtful	Negative
Schistosomiasis	50	48	0	2
Other helminth infections				
Clonorchiasis	11	0	0	11
Paragonimiasis	10	0	1	9
Ancylostomiasis	13	0	0	13
Ascariasis	9	0	0	9
Total	43	0	1	42
Non-parasitic conditions				
Syphilis	5	0	0	5
Intestinitis	4	0	0	4
Neuralgia	3	0	0	3
Tuberculosis	2	0	0	2
Beriberi	1	0	0	1
Carcinoma	1	0	0	1
Total	16	0	0	16
Healthy controls	36	0	0	36

* FA solution was diluted with 0.85%

saline in 1:8.

** Sera were diluted with 0.85%

saline in 1:10.

1:10 稀釈し、染色には FA 1:8 稀釈液を用いて FA test を行つた。日虫症患者は、96% (48/50) に陽性反応を認めた。日虫症以外の寄生虫症患者では反応陽性者を全く認めなかったが、肺吸虫症患者の 1 名に疑陽性反応を認めた。寄生虫症以外の疾病患者および健康人はすべて反応陰性であった。

Sadun *et al.* (1961) は schistosomiasis 患者 152 名 (schistosomiasis mansoni 89 名、schistosomiasis haematobium 41 名、schistosomiasis japonica 12 名、schistosomiasis mansoni and haematobium 10 名) の dried blood smear より得た被験液を対象に FA test を行つたところ、反応陽性率は 92% であった。同時に行つた他の疾病 (syphilis, pneumonia, malignancy, histoplasmosis, coccidioidomycosis, blastomycosis, cryptococcosis) 患者 18 名の反応陰性率は 83% であり、健康人 35 名の反応陰性率は 94% であったことを報告した。また、Sadun *et al.* (1962) は trichinosis について FA test を行い、trichinosis 患者 142 名の反応陽性率は 97% であった。trichinosis 以外の寄生虫症患者 45 名の反応陰性率は 93% であり、寄生虫症以外の疾病患者 31 名の反応陰性率は 90% であり、健康人 27 名の反応はすべて陰性であつ

たと報告し、いずれも FA test の感受性と特異性が非常に高いことを報告した。

本実験によつて、日虫症に対する FA test の感受性や特異性が高いことが判つたので、FA test を日虫症の患者の検出に応用出来ることが明らかとなつた。

語 結

日虫症における FA test の診断的意義について検討を行つた。

1. 日虫症患者についての FA test は 96% (48/50) 陽性反応を認めた。
2. 日虫症以外の寄生虫症患者および寄生虫症以外の疾病患者についての FA test はいずれも陽性反応を認めなかつた。
3. 健康人についての FA test はすべて陰性であつた。

したがつて、FA test が日虫症の血中抗体証明法として、高い感受性と特異性をもつ優れた test であることを認めた。

稿を終るに臨み、御指導、御校閲を賜つた沢田利貞教授並に今村晋助教授に衷心より感謝致します。又、蛍光抗体を分与された東京大学伝染病研究所川村明義助教授に謝意を表します。

IMMUNOLOGICAL STUDIES ON SCHISTOSOMIASIS JAPONICA VII. DIAGNOSTIC ASPECT OF THE INDIRECT FLUORESCENT ANTIBODY TEST FOR SCHISTOSOMIASIS

SHIGEFUSA SATO

(Department of Hygiene, School of Medicine, Guma University, Maebashi)

The fluorescent antibody test for the serological diagnosis of schistosomiasis was investigated in sera from individuals with and without schistosomiasis.

1. The sera obtained from 50 individuals with schistosomiasis gave positive results in 48 of them (96%).
2. To determine the specificity of the FA test, control sera obtained from 43 individuals with other parasitic infections and 16 individuals with non-parasitic diseases were used.

No cross-reactions were observed with sera from individuals with other parasitic infections except for one doubtful reaction among the sera examined from 10 individuals with paragonimiasis, and also with sera from individuals with non-parasitic diseases.

3. No positive reactions were observed among the 36 healthy controls.
4. It was observed that the FA test showed a high degree of sensitivity and specificity for the detection of antibody in schistosomiasis.

本研究内容は第23回日本寄生虫学会東日本支部大会において報告した。

文 献

- 1) Anderson, R. I., Sadun, E. H. & Williams, J. S. (1961): Preserved cercariae in the fluorescent antibody (FA) test for schistosomiasis. *Exptl. Parasitol.*, 11(2, 3), 226-230.
- 2) 大田秀浄・佐藤重房(1957): 寄生虫卵の各種集卵法についての研究. 特に日本住血吸虫卵の M. I.F.C. による集卵法について. *北関東医誌*, 7(1), 68-71.
- 3) Sadun, E. H., Anderson, R. I. & Williams, J. S. (1961): Fluorescent antibody test for laboratory diagnosis of schistosomiasis in humans by using dried blood smears on filter paper. *Exptl. Parasitol.*, 11(2, 3), 117-120.
- 4) Sadun, E. H., Anderson, R. I. & Williams, J. S. (1962): Fluorescent antibody test for the serological diagnosis of trichinosis. *Exptl. Parasitol.*, 12(6), 423-433.
- 5) 佐藤重房(1965): 日本住血吸虫症の免疫に関する研究 (6). 蛍光抗体法について. *寄生虫誌*, 14(2), 182-188.
- 6) Sato, S., Nagata, Y., Yoneyama, K. & Sawada, T. (1963): Hemagglutination test in schistosomiasis japonica. *Gunma J. Med. Sci.*, 12(4), 269-277.