

日本顎口虫抗原の皮内反応活性について

多 田 功 川 島 健 治 郎 西 村 謙 一

九州大学医学部寄生虫学教室 (主任: 宮崎一郎教授)

宮 原 道 明

九州大学医学部附属病院中央臨床検査室 (主任: 永井諄爾部長)

(1966年2月7日受領)

序 論

入体顎口虫症は皮膚腫脹を主徴とする疾患であり、有棘顎口虫 *Gnathostoma spinigerum* Owem, 1836 の寄生によつて起る。本症においては虫卵が糞便中に排出されることはなく、その腫脹は他の寄生虫、例えば肺吸虫マンソン裂頭条虫等の寄生による腫脹や、クインケ浮腫などと混同されやすく、臨床診断は必ずしも容易でない。このため本症を免疫学的に、殊に皮内反応により診断しようという試みがこれまでにいくつかなされて来た。著者らは従来、糸状虫(フィラリア)および肺吸虫から抗原を抽出しその皮内反応活性を検討して来たが、日本顎口虫 *Gnathostoma nipponicum* Yamaguti, 1941 成虫からも同様の方法で抗原成分を抽出、精製したのでその皮内反応特異性を検討した。ここにその成績を報告する。

材料および方法

日本顎口虫成虫はイタチに自然感染していたものを、鳥取大学加茂甫教授の御好意により分与して頂いたものを抽出材料として使用した。抽出方法はさきに著者ら (Tada & Kawashima, 1964) が糸状虫精製抗原を得たのと同様である (Fig. 1)。虫体アセトン粉本を 25 倍量 0.1 N 塩酸で 48 時間、室温で攪拌抽出した。遠心 (3,000 rpm. 10 分) 後、上清を 5 N 苛性ソーダで pH 7.0 に調整し沈渣を遠心して取り除いた。上清には等量の飽和ピクリン酸を少量ずつ攪拌しながら加え、一夜放冷後遠心して沈渣を集めた。これに 3% 塩酸-99.6% エタノールを加えてマグネチック・スターラーにより 3 時間抽出した。再び遠心して不溶部分を除き、上清を 35°C、減

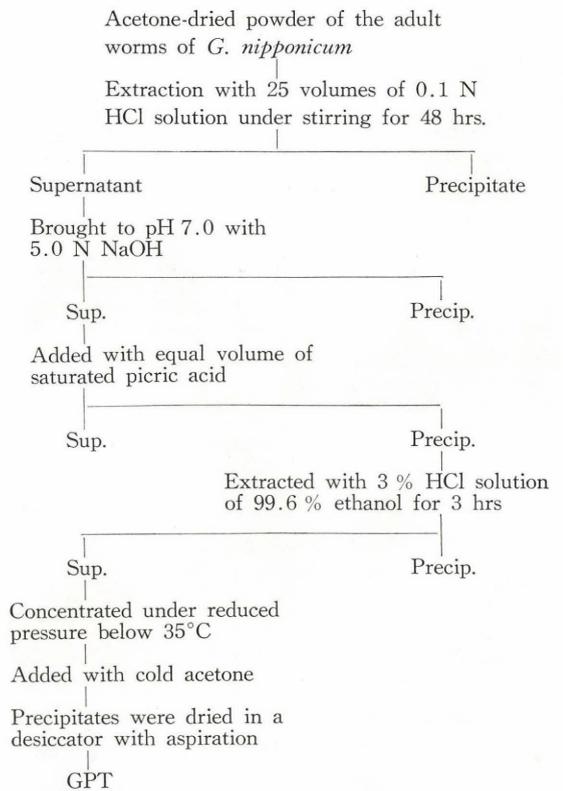


Fig. 1 Diagram of extraction and isolation method of *Gnathostoma nipponicum* antigen

圧下に濃縮したのち充分量の冷アセトンを加え完全に沈澱せしめた。沈渣は遠心して集め、アセトンにてさらに 3 回洗滌し、得られた白色沈澱はアスピレーターで減圧しながらデシケーター内で乾燥せしめた。最終産物の収量は虫体乾燥重量の 2% である。このようにして得られ

た白色粉末の紫外吸収パターンはほぼ同様の方法で抽出した肺吸虫抗原(PPT)および糸状虫抗原(FPT)のそれとほとんど同様で、いずれも 275 μm に吸収のピークが見られた。なお 280 μm と 260 μm における O.D. 比は 1.25 である。本成分の赤外吸収スペクトルによれば、3.0, 3.4, 6.0, 6.5, 6.9 μm に蛋白質特有の吸収がみられた。キェルダール法で N 量を測定した結果、11.3~12.0% であった。これらの所見、および抽出条件から本成分は比較的低分子の蛋白質であることが推定された。この最終産物を GPT と称し、その皮内反応抗原としての活性を検討した。

GPT 抗原は 使用時に 0.5% 石炭酸加生理的食塩水 0.05 ml 中に 1 μg 含有されるように調整した。皮内注射量はこの 0.05 ml と定め、被検者前腕屈側に注射し、直後と 15 分後の丘疹径を測定した。抗原の至適量については検討を行なっていないが、一応、PPT, FPT に準じて同濃度同量とした。判定基準については著者らが FPT 抗原で示したように 9.0 mm 以上を陽性としても、また 15 分後と直後の径差が 3.0 mm 以上を陽性としても、大差は無いので今回は 15 分後、9.0 mm という基準に依った。

被検者である顎口虫症患者は同症の疑いで教室を訪れた者のうち、各所見、現症などから同症と考えられた 58 名である。これらの患者中、半数の 29 名しか淡水魚特に雷魚の生食歴は見られず、生食を否定したもの 18 名、不明のもの 11 名であった。患者の主な腫脹部位は顔面(24 例)と上肢(14 例)で、軀幹(8 例)、下肢(7 例)頭部(5 例)は比較的少なかった。血液像を検した 16 名のうち 5 名は 10% 以上の好酸球増多症がみとめられ、16 名の平均好酸球値は 7.9% であった。次に本抗原の交叉反応性あるいは非特異反応性を検討する目的で、蛔虫、鉤虫など数種腸管寄生虫卵保有者合計 122 名(後述の迎春中学校生徒を含む)、福岡県八女郡迎春中学校生徒中、腸管寄生蠕虫卵を検便(スコッチ・テープ法を含む)で認めえなかつた 145 名、および健康対照者として福岡市内在住の一般人および学生(検便実施せず)62 名とをえらび、皮内反応対象とした。なお迎春中学校生徒 230 名については直接 2 点塗抹法、飽和食塩水浮游法、ウスイ式蠕虫検査法(スコッチ・テープ法)で検便し、鉤虫卵保有者 12 名(5.2%)、蛔虫卵保有者 18 名(7.8%)、鞭虫卵保有者 2 名(0.9%)、蟯虫卵保有者 48 名(但し 225 名中、21.4%)を見出した。この中学校は農村地帯にあり各種の寄生蠕虫による感染が高いところであるが、数度の駆

虫で学童ではかなりの改善を見ている。したがって過去の感染による影響がかなり皮内反応におよんだと考えられる。

皮内反応成績

58 名の顎口虫症例においてみられた皮内反応成績を Table 1 に示す。陽性反応を呈した者は 48 名(82.7%)

Table 1 Relations between the positive reaction in skin test and the period from the appearance of the initial symptome

Period	No. patients tested	No. positives in skin test (%)
Within 1 month	7	3(42.9%)
1-6 months	10	8(80.0%)
6 months—1 year	17	16(94.1%)
1-2 years	7	6(85.7%)
2-5 years	9	8(88.9%)
More than 5 years	8	7(87.5%)
Total	58	48(82.7%)

であった。腫脹の初発時から検査実施までの期間によって 1 カ月以内、1~6 カ月、6 カ月~1 年、1~2 年、2~5 年、5 年以上の 6 群に患者を分類した。それぞれの群における反応陽性率(反応陽性者数/被検者数 \times 100)を算出すると、それぞれ 3/7(42.9%)、8/10(80.0%)、16/17(94.1%)、6/7(85.7%)、8/9(88.9%)、7/8(87.5%) であった。これをさらに、発症後 6 カ月以内と、それ以後に分類して見ると、前者では 17 名中 11 名(64.8%)、後者では 41 名中 37 名(90.2%) の反応陽性者がみとめられ、両群の反応陽性率には明らかな差があつた。一方、健康対照群では 62 名中 4 名(6.4%)、迎春中学校生徒のうち、虫卵非保有者では 145 名中 15 名(10.3%) の反応陽性者が認められた。後者の陽性率が前者のそれに比しやや高いのは過去の感染の影響によるものかもしれない。

次に腸管蠕虫卵保有者について反応陽性率を見ると、鉤虫卵保有者では 25 名中 9 名(36.0%)、蛔虫卵保有者では 32 名中 7 名(21.9%)、鞭虫卵保有者では 17 名中 2 名(11.8%)、蟯虫卵保有者では 43 名中 7 名(16.3%) が陽性であり、肺吸虫卵保有者 2 名、異形吸虫卵保有者 1 名、マンソン裂頭条虫皮下寄生患者 2 名においては陰性であった。

考 察

顎口虫症の免疫学的診断、殊に皮内反応に関する従来

の研究は少ない、羽鳥(1944)によれば、タイ国において Prommas & Daengsvang らが同症の皮内反応の研究をし、特異性を認めたというがその内容は明らかでない、山口(1951 a)は有棘顎口虫第三期幼虫を100万倍 Coca 液で抽出した抗原を用い、42名の顎口虫症患者に皮内反応を行ない、40名(95.2%)に陽性反応を認めた。この抗原は蛔虫、鉤虫、日本住血吸虫卵保有者に対して反応陰性であり高い特異性を持つと報告した。また山口(1951 b)はネコから有棘顎口虫(?)成虫を、イタチから日本顎口虫成虫を得て抗原を作製し、患者8名につき皮内反応陽性を認めた。江頭(1951)は有棘顎口虫成虫の石炭酸加工生理的食塩水による5万倍抽出液で皮内反応を実施し、患者65名の全員に陽性反応を認めている。さらに蛔虫、鉤虫卵保有者、結核、湿疹など合計87名においては、2名に陽性反応が認められたにすぎない。判定基準は丘疹の長径が10mm以上を陽性としてをり、その設定には多少の疑問があるが、交叉反応、非特異反応は低いと思われる。その後、江頭(1953)は日本顎口虫成虫およびドロレス顎口虫成虫抗原についても検討し、前者の5万倍希釈液は有棘・ドロレス顎口虫由来の抗原に比し、著しく活性が劣ると述べている。

この他、顎口虫症の免疫に関しては顎口虫幼虫寄生淡水魚肉からの抽出物が淡水魚常食者および顎口虫症患者に対して何らかの皮膚反応を示すという早瀬(1942)、北村(1957)らの興味ある報告があるが、これらはアレルギー論的な問題としてここでは省略する。

ふり返つて著者らの成績を検討すると、まず第1に本抗原の顎口虫症に対する特異性が問題となる。江頭(1951 1953)、山口(1951)らの場合、患者において95~100%の陽性反応を得たのに対し、著者らの場合、82.7%であった。しかしすでに述べたように、腫脹初発から皮内反応までの期間が長い場合は反応陽性率も高い。江頭(1953)の場合、日本顎口虫抗原は著しく低い活性しか示さなかつたことから考えても、著者らの抽出法は特異反応成分の抽出においてすぐれていると考えられる。また皮膚反応性抗体の出現は、顎口虫症では比較的ゆるやかである可能性もある。使用抗原量についても、また抽出虫体の種についても、検討することが望まれる。さらに本症の初期には顎口虫以外の寄生性腫瘍、あるいはクインケ浮腫などと鑑別が困難な場合もあるから、皮内反応活性を検定すべき患者自身の選定にも問題があるかもしれない。

第2の問題点は鉤虫ならびに蛔虫卵保有者に対して相

当高率の陽性反応が認められた点である。山口(1951 a, b)、江頭(1951, 1953)らの抗原では他種寄生蠕虫保有者においてそれぞれの判定基準でほとんど陽性反応を認めていない。著者らが蛔虫・鉤虫保有者で得た陽性率はかなり高く、健康対照群や虫卵非保有児童などにおけるものより明らかに高い。著者ら(Tada & Kawashima, 1964)は先にフィラリア抗原(FPT)によりほとんど交叉反応を見出し得ないことを報告した。リンパおよび血管系に寄生するフィラリアと、主として消化管内に寄生する鉤虫、蛔虫などとの間には免疫学的な相異点がつよく、本来の終宿主では消化管に寄生する顎口虫と鉤虫・蛔虫の間にはかなりの免疫学的共通性がみられるのかもしれない。

Kagan & Zaiman(1964)は犬糸状虫、旋毛虫、マンソン住血吸虫、広東住血線虫から抗原成分を抽出し、347名の入院結核患者について皮内反応を試みた。その結果プエルトリコ人でない者では0~3.5%の陽性者がみられたにすぎないが、プエルトリコ人では広東住血線虫抗原に対し18.2%、犬糸状虫抗原に対し11.4%、旋毛虫抗原に対し10.2%、マンソン住血吸虫抗原に対し27.2%が陽性反応を示した。これら、プエルトリコ人88名中9名にマンソン住血吸虫、15名に鞭虫、10名に鉤虫、6名に糞線虫の卵あるいは幼虫が認められた(重複があるので寄生率は88名中23名(26%))。すなわち抗原として使用した虫体と寄生虫体が異なる場合も、かなり高い交叉反応性があること、ならびに被検者における過去の感染が皮内反応に影響を及ぼしていることが推定された。

このように皮内反応に関しては、抗原側からは抽出材料(虫体)の種間の問題や抽出条件による交叉反応、非特異反応成分の混入などが、一方生体側では皮膚の感受性の個人的、人種的な差、過去における寄生虫感染の影響、皮膚の非特異反応性(アレルギー状態を含む)などが反応に及ぼす影響因子として考えられる。このため皮内反応のみで決定的な診断を下すことは困難な場合が多い。この意味においても、GPT 抗原の場合反応発現の限界を考慮に入れつつ使用すれば、顎口虫症の診断上、有力な補助診断法となり得よう。

結 語

著者らは Tada & Kawashima(1964)の糸状虫精製抗原の場合と同じ方法で抽出した日本顎口虫成虫抗原(GPT)について皮内反応活性を検討したが、顎口虫症にお

いて特異的な反応を示すことが明らかとなった。しかし同時に他種腸管寄生虫感染との間にもある程度の交叉反応性がみとめられた。この点については山口(1951a,b)、江頭(1951, 1953)らの成績と比較して実用上不便であり、使用した顎口虫の種類、あるいは抽出条件について未だ検討の余地がある。しかし症状初発から検査までの期間、他種寄生虫感染の有無などを考慮に入ればGPTによる皮内反応は有力な補助診断法であることが認められた。

本研究に対し終始ご指導頂いた宮崎一郎教授、日本顎口虫虫体を供与して頂いた加茂甫教授(鳥取大学)、ならびに皮内反応実施に際し援助して頂いた上野きみ子・花田千鶴子氏に感謝する。

本論文の要旨は第34回日本寄生虫学会総会で発表した。

引用文献

- 1) 江頭正義(1951)：顎口虫症における皮内反応。臨床と研究, 28(3), 220-223.
- 2) 江頭正義(1953)：有棘顎口虫に関する研究。その2. 人体顎口虫症における診断法の研究。医学研究, 23(1), 114-122.
- 3) 羽鳥重郎(1944)：泰国に於けるトウアチッドに関する研究(2)。泰国に於ける *Gnathostomiasis* 及び *Gnathostoma spinigerum* Owen, 1836の研究に就て。熱帯医学研究, 2(1-2), 103-138.
- 4) 早瀬正二(1942)：遊走性限局性浮腫に関する研究。海軍軍医学会誌, 31(7), 576-585.
- 5) Kagan, I.G. and Zaiman, H. (1964) : Evaluation of helminth skin-test antigens in a hospital in New York City. Amer. J. Trop. Med. & Hyg., 13(1), 82-88.
- 6) 北村精一・納富信茂(1957)：顎口虫とアレルギー。昭和21年度文部省研究報告集録(医薬), 435.
- 7) Tada, I. & Kawashima, K. (1964) : Studies on the skin reaction in human filariasis with a purified antigen from *Dirofilaria immitis*, Jap. J. Parasitol., 13(5), 427-434.
- 8) 多田功・川島健治郎・西村謙一・宮原道明(1965)：精製抗原による顎口虫症の診断。寄生虫学雑誌, 14(4), 84.
- 9) 山口富雄(1951a)：顎口虫症の免疫学的研究。第1報。皮内反応(その1. 幼虫抗原による反応)。久留米医誌, 14(7-8), 317-322.
- 10) 山口富雄(1951b)：顎口虫症の免疫学的研究。第1報。皮内反応(その2. 成虫抗原による反応)。久留米医誌, 14(7-8), 323-324.

Abstract

INTRADERMAL REACTIONS WITH *GNATHOSTOMA*
NIPPONICUM ANTIGEN

ISAO TADA, KENJIRÔ KAWASHIMA, KENICHI NISHIMURA
(*Department of Parasitology, Faculty of Medicine, Kyushu University*)

&

MICHIAKI MIYAHARA
(*Central Clinical Laboratory, Kyushu University Hospital*)

The authors extracted an antigen for skin test from adult worms of *Gnathostoma nipponicum* YAMAGUTI, 1941 according to the extraction procedure used in the purification of *Dirofilaria* antigen by the authors (TADA & KAWASHIMA, 1964). The antigen, called GPT, showed ultraviolet absorbancy in 275 m μ and infrared absorbancy in 3.0, 3.4, 6.0 and 6.9 μ . The yield of the final product, the antigen, was 2% and its nitrogen content obtained by Kjeldahl technique was 11.3–12.0%. The skin test was carried out with the same method as that used in filariasis by the authors, injecting with 1 μ g of GPT solubilized in 0.05 ml phenolized saline. A wheal diameter of 9.0 mm or more was considered as the criterion of a positive reaction. Four (6.4%) out of 62 normal controls were positive. On the contrary, 48 (82.7%) cases out of 58 gnathostomiasis were proved to be positive. The positive rate was 64.8% (11/17) among patients who were examined during the period of within 6 months after the swellings appeared, but was 90.2% (37/41) among those examined during the period of more than 6 months after the swellings appeared. To clarify the cross reaction, the egg carriers of several helminths were examined with this antigen. Nine cases out of 25 hookworm carriers, 7 cases out of 32 *Ascaris* carriers, 2 out of 17 *Trichocephalus* carriers and 7 out of 43 *Enterobius* carriers showed positive reactions. On the other hand, no positives were demonstrated in 2 patients of paragonimiasis and in 2 patients with subcutaneous infections of *Diphyllbothrium mansonii* and 1 case with *Heterophyes*.