

## *Anisakis* の研究 (1) 抗原性

谷 口 正 明

岐阜大学医学部寄生虫学教室 (森下哲夫教授)

(1966 年 9 月 21 日 受領)

海獣の胃に寄生する蛔虫である *Anisakis* の幼虫が、人体の胃や腸に侵入して色々な症状を呈することが注目される様になった。

森下ら (1965) は岐阜市内で胃ポリープとして摘出された *Anisakis* 症患者に 24 日後に、アジからとり出した同幼虫抗原を用いて皮膚反応を行ない、陽性の成績の得られることを報告した。著者は最近岐阜県下で同様に胃ポリープ摘出物中に線虫体を見出した患者について、皮膚反応を試みると共に、岐阜大学医学部学生に皮膚反応を行ない陽性の成績を得た。しかし森下 (1961) は蛔虫の仲間にはニワトリ、イヌ、ブタ蛔虫間に共通抗原性の存在することを指摘している。このことは、*Anisakis* 症患者の免疫反応を行なう際に、充分考慮に入れなければならぬ問題となる訳である。著者はとりあえずアジからの *Anisakis* 幼虫とイヌ及びブタ蛔虫間の抗原性について検討を試みたのでここに報告する。

### *Anisakis* 症患者の皮膚反応その他

今回の *Anisakis* 人体例は次の様である。患者は岐阜県可児郡可児町在住の 23 才の男である。職業は陶磁器販売業で全国各地への出張が多い。従つて食物については外食の機会が多い。昨年 10 月頃から食後の膨満感、喫煙時の悪心などの不快感が続いていた。心窩部に特別な疼痛はなかった。以来食欲が減退し淡泊なものを好む様になった。便通は良好でタバコは一日平均 20 本吸うが、アルコール類は嗜まない。

1966 年 2 月 6 日可児町の某病院で、ガストロテスト等をうけた結果、胃潰瘍と診断され、胃の  $\frac{1}{2}$  を切除した。手術後胃のポリープについて岐阜大学医学部第 2 病理学教室で検鏡の結果、幼線虫体が認められた。この病理組織学的所見については同教室尾島教授によつて報告されることと思う。患者は生来魚類の生食は好まないが、全国各地へ旅行がちのため、その機会が多いとい

う。患者の検便では寄生虫卵は陰性であつた。

皮膚反応に用いた *Anisakis* 抗原は森下ら (1965) が報告しているのと同様な方法で作製されたものである。1966 年 2 月 27 日即ち摘出後 21 日の患者に、1 万倍稀釈の *Anisakis* 抗原を左前膊内側の皮内に 5 mm の膨疹を作る様に 0.05 ml 注入し、15 分後の状態を観察した。発赤部 35×50 mm、膨疹部 17×25 mm の結果を得た。その局所の軽い搔痒感を除いては特に異常は認められなかった。

別に岐阜大学医学部学生 58 名について同様に皮膚反応を施行した。その結果 20 名に陽性の反応が見られた。陽性者の 15 分後の膨疹部の大きさは 8×8 mm から 17×29 mm で、発赤部の大きさは 25×25 mm から 50×57 mm であつた。15 分後に発赤なく膨疹部の直径 5 mm 以下のものは陰性とした。なお医学部学生全員検便の結果寄生虫卵は陰性であつた。しかも反応陽性の学生は全員海産魚を生食したことがあつた。一方食物の調査で海産魚の生食を好まない 25 名は何れも皮膚反応陰性であつた。海産魚の生食の中にサバ、アジ等の酢漬けやサバ寿司を好むものも含まれた。

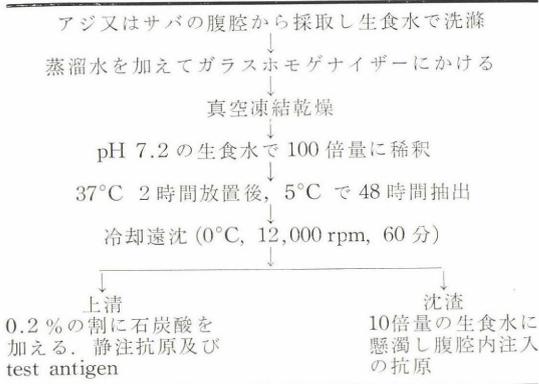
### *Anisakis* 幼虫とイヌおよびブタ蛔虫の抗原性の比較

1) 抗原の製法 *Anisakis* 抗原については市販のアジ及びサバの腹腔内に寄生する生きた幼線虫を用いた。その種類については形態学的に同一のものを用いたことは勿論である。被囊したものはとり出し、生食水でよく洗滌した。その後虫体に蒸留水を適当に加えて、ガラスホモゲナイザーでよく homogenize した後、これを真空凍結乾燥した。この様にして得た試料を pH 7.2 の生食水で 100 倍量に稀釈し、37°C 2 時間放置した後、5°C 下で 48 時間抽出を行ない、0°C で 12,000 rpm 60 分間遠沈すると透明な上清が得られる。この上清に phenol

本研究は文部省総合科学研究費に負う所大である。

を0.2%の割に添加したものを100倍稀釈抗原液とした(第1表).

第1表 *Anisakis* 抗原の製法



イヌ蛔虫については成虫を仔犬からとり出し充分洗滌後、前記と同様の方法によって抗原を作製した。

ブタ蛔虫の抗原としては体腔液を濾紙でこしたものをそのまま抗原とした。

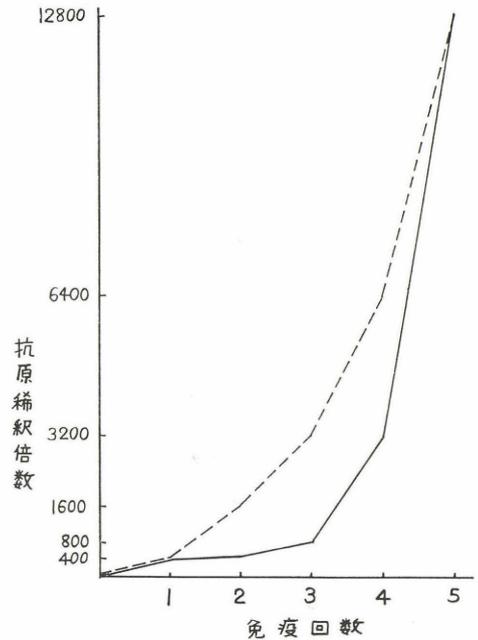
2) *Anisakis* 抗原の抗体産生能その他

*Anisakis* 抗原100倍稀釈液を家兎静脈内に注射した。一方本100倍稀釈液は test antigen として用いた。

別に *Anisakis* 抗原100倍稀釈液を作製する際出来た沈渣を10倍量の生食水に懸濁して家兎の腹腔内に注入して免疫する方法も併用した。1回の注射量は静注、腹腔内共2ml宛で、その間隔は72時間とした。免疫回数は5回で、採血は常に注射前に行ない2ml宛とした。夫々の沈降反応を重層法により行なつた結果は第1図の様である。1~4回目迄は腹腔内注射による免疫方法の方が、抗体産生が高かつたが、5回終了時には静脈内注射と腹腔内注射との抗体産生能の差はなくなる様である。

3) *Anisakis* 幼虫抗原、イヌ蛔虫抗原及びブタ蛔虫抗原に対する *Anisakis* 抗血清の反応の場

用いた *Anisakis* 抗血清は静脈注射によつて免疫して得たものである。*Anisakis* 抗原に対する反応の場は第2表に示したが、何れも1時間後の値を記したものである。抗原稀釈は12,800倍迄、抗血清稀釈は64倍迄陽性であつた。抗原、抗体共濃度の高い程反応が強かつたことは勿論である。なお抗血清を稀釈する場合は生食水中に1.5%の割合にアラビアゴムを混和したものを用いた。抗原は生食水によつて稀釈した。



第1図 *Anisakis* 抗原の抗体産生能

—— 静脈内注射 ..... 腹腔内注射

第2表 *Anisakis* 抗原に対する *Anisakis* 抗血清の反応の場

抗血清稀釈	抗原稀釈 100×n									
	1	2	4	8	16	32	64	128	256	512
1	卅	卅	卅	卅	+	+	+	+	-	-
2	卅	卅	卅	卅	+	+	+	+	-	-
4	卅	卅	+	+	+	+	+	±	-	-
8	卅	+	+	+	+	+	+	±	-	-
16	+	+	+	+	+	+	+	±	-	-
32	+	+	+	+	+	±	±	-	-	-
64	+	+	±	-	-	-	-	-	-	-
128	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
256	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

第3表 イヌ蛔虫抗原に対する *Anisakis* 抗血清の反応の場

抗血清稀釈	抗原稀釈 100×n						
	1	2	4	8	16	32	64
1	+	+	±	-	-	-	-
2	+	+	±	-	-	-	-
4	+	+	±	-	-	-	-
8	+	+	±	-	-	-	-
16	±	±	-	-	-	-	-
32	-	-	-	-	-	-	-
64	-	-	-	-	-	-	-
128	-	-	-	-	-	-	-
256	-	-	-	-	-	-	-

第4表 ブタ蛔虫体腔液に対する *Anisakis* 抗血清の反応の場

抗血清稀釈	抗 原 稀 釈												
	1	2	4	8	16	32	64	128	256	512	1024	2048	5096
1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	+	±
2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	+	+	±
4	+++	+++	+++	++	++	++	+	+	-	-	-	-	-
8	+++	+++	+++	++	+	+	+	-	-	-	-	-	-
16	+	+	+	±	±	±	-	-	-	-	-	-	-
32	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
64	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
128	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
256	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

次にイヌ蛔虫抗原に対する *Anisakis* 抗血清の反応の場は第3表に示すごとくである。即ちイヌ蛔虫抗原は200倍稀釈迄陽性であり、*Anisakis* 抗血清は8倍稀釈迄陽性であった。

最後に蛔虫体腔液を抗原とした *Anisakis* 抗血清に対する反応の場は第4表の様である。即ち体腔液は204800倍稀釈迄陽性であり、抗血清は16倍稀釈迄陽性に反応した。何れにしても3種抗原間に共通抗原の存在が確認出来た。

4) *Anisakis* 抗原のイヌ及びブタ抗原抗血清に対する反応

イヌ蛔虫抗原及びブタ蛔虫体腔液で家兔を免疫して得た抗血清に対する *Anisakis* 抗原の反応をしらべた。

イヌ蛔虫抗血清のイヌ蛔虫抗原に対し3200倍稀釈迄陽性の反応を示したが、*Anisakis* 抗原は400倍稀釈しか陽性でなかつた。ブタ蛔虫体腔液抗血清は体腔液に対しては10360倍迄陽性の反応を示したものが、*Anisakis* 抗原に対しては800倍稀釈迄陽性であった。免疫した抗原に対しては抗血清は強く反応するが、他種抗原には遙かに弱く反応することがわかる。

免疫電気泳動法による *Anisakis* とブタ蛔虫体腔液との抗原性の比較

抗原としては前記 *Anisakis* 抗原の100倍稀釈及びその濃縮液とブタ蛔虫体腔液を用いた。抗血清は *Anisakis* のものに関しては12,800倍稀釈陽性の力価を有するものを用いた。

緩衝液としては veronal 塩酸 buffer (pH 8.6,  $\mu$  0.1) を用い、Difco 製の寒天液に1万倍稀釈の割にマーゼンを加えた。寒天板がよく固つた後で指定の場所へ各抗原を添加し、泳動を行なつた。泳動条件は220V, 30mA (定電流)で室温(18~20°C)下で80分行なつた。泳動後

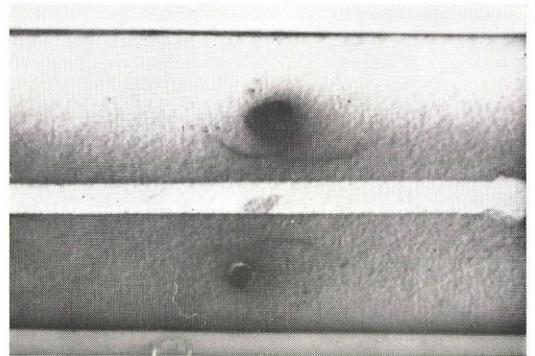
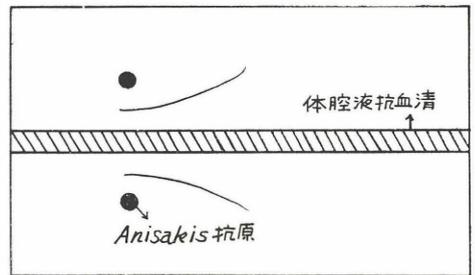


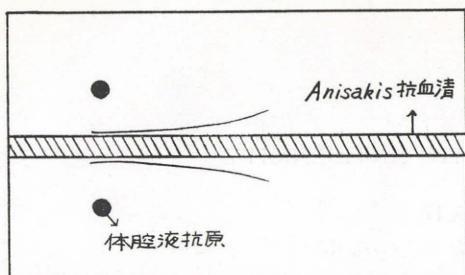
写真1 *Anisakis* 抗血清に対する *Anisakis* 抗原の電気泳動



第2図 豚蛔虫体腔液抗血清に対する *Anisakis* 抗原の電気泳動

抗血清を所定の場所へ添加し、支持棚へ移し乾燥しない様にケースの底に約10mlの蒸留水を入れて、このケースを密閉し、約24時間放置する。沈降線が出現した後、0.9%の食塩水中に約24時間浸し、余分のものを取り除いた。

更に amidoschwarz 10 B 染色液中に約5分浸して染色した。その後3%の酢酸に約24時間浸し固定脱色した。最後にオブジェクトガラスの上を濾紙でおおい、孵



第3図 *Anisakis* 抗血清に対する豚蛔虫体腔液の電気泳動

卵器中で更に24時間乾燥して標本とした。その結果は写真1及び図2, 3の様である。

体腔液とその抗血清との間の沈降線は6本であった。*Anisakis* 抗原とその抗血清との間の沈降線は2本である。体腔液と *Anisakis* 抗血清及び *Anisakis* 抗原と体腔液抗血清との間の沈降線は1本であった。

#### 結 語

森下ら(1965)は胃ポリープから幼線虫の見出された患者に対して、アジからの *Anisakis* 幼線虫で作った抗原で手術後24日に皮内反応を行ない陽性の結果を得たという。日本において胃壁の eosinophilom 中の幼線虫は *Anisakis* のことが多いとされている。著者は岐阜県下で23才の男の胃のポリープ摘出物の中に線虫を見出

した例について、術後21日で *Anisakis* 抗原による皮内反応を行ない発赤  $35 \times 50$  mm, 膨疹  $17 \times 25$  mm の陽性成績を得た。患者の大便検査で寄生虫卵は陰性であった。次に当大学医学部学生58名に同様皮内反応を行ない20名が陽性であった。すべての医学生は大便検査で寄生虫卵を認めず、反応陽性の者は何れも海産魚の生食の機会があった者である。

*Anisakis* 幼虫とイヌ及びブタ蛔虫を抗原として、沈降反応による交叉免疫実験を行なった所、共通抗原の存在が認められた。勿論反応の強さには差異があり、同種間の抗原、抗体反応が一番強かった。電気泳動法によるとブタ蛔虫体腔液とその抗血清との間の沈降線は6本で、体腔液と *Anisakis* 抗血清及び *Anisakis* 抗原と体腔液との間の沈降線は1本であった。*Anisakis* 抗原とその抗血清との間の沈降線は2本であった。

#### 文 献

- 1) 森下哲夫(1961): 蛔虫の免疫, 日本に於ける寄生虫学の研究 I, 279-306, 目黒寄生虫館。
- 2) 森下哲夫・小林瑞穂・坂田六郎・五藤基・山田稲好・榊原弘・三島誠也・古橋貞二郎・平岡義雄・山田正仁(1965): *Anisakis* 症の皮膚反応, 寄生虫誌, 14(3), 230-232。
- 3) 吉村裕之(1966): 人消化管の好酸球性肉芽腫を起因するアニサキス様幼虫移行症について, *Mi-nophagen Medical Review*, 11(4), 105-114。

## Abstract

### STUDIES ON *ANISAKIS* I. ON ITS ANTIGENICITY

MASAAKI TANIGUCHI

(Department of Parasitology, School of Medicine, Gifu University, Gifu)

A positive skin reaction was reported on a patient harboring a larval nematode in his stomach polyp by Morisita et al. (1965) using the antigen prepared from *Anisakis*-type larvae obtained from horse mackerels. Since the presence of immunologically related substance in fowl, canine, and pig ascarids was demonstrated by Morisita (1961), the same consideration should be given to the skin test on anisakiasis. The present paper deals with the skin test using *Anisakis* antigen and with a comparison of its antigenicity with those of canine and pig ascarids. The results obtained are summarized as follows:

1) The skin test with *Anisakis* antigen resulted in the development of erythema (35×50 mm) and edema (17×25 mm) on a 23-year-old male receiving excision of stomach polyp 21 days before the skin test, in which a larval nematode was found. The test was carried out on 58 medical students who were negative for parasite eggs by fecal examination. It showed that 20 of all tested were positive and had the fullest opportunity of eating uncooked marine fishes.

2) To know whether or not three kinds of antigens prepared from *Anisakis*-type larvae, *Toxocara canis* and *Ascaris lumbricoides suum* share the substance responsible for the serological cross reactions, precipitation test was conducted on immune rabbit sera. The experiments showed the presence of cross-reacting substance in these three kinds of nematodes especially in their body fluids. Among various combinations of antigen and antiserum the highest titer was obtained between antigen and homologous antiserum.

According to the results obtained by immuno-electrophoresis 6 bands were detected between body fluid of pig ascarids and homologous antiserum, only a band between the fluid and anti-*Anisakis* serum and between *Anisakis* antigen and anti-body fluid serum, and 2 bands between *Anisakis* antigen and homologous antiserum.