

# アニサキス幼虫体抽出液ならびに同虫体の排泄物・分泌物抗原による皮内反応

## II. 兩種抗原による反応の解析

小林 昭 夫 熊 田 三 由 石 崎 達

国立予防衛生研究所寄生虫部

勝 呂 毅

函 南 病 院

小 糸 賢 太 郎

愛媛県宇和島保健所

(1968 年 7 月 24 日 受領)

先きに著者らは、アニサキス幼虫体抽出液(SOM 抗原)と同虫体の排泄物、分泌物(ES 抗原)による皮内反応陽性率を比較し、ES 抗原を用いた場合の方がより高い陽性率をしめすことを報告した(小林ら, 1968)。

本報では、兩種抗原の異質性と特異性に関して検討した結果について報告する。

異質性に関しては、兩種抗原による反応閾値の比較により、また特異性については、一般腸管内寄生虫保有による反応への影響、既知アニサキス症患者における反応を比較することによって検討した。

### 材料および方法

#### 1. 被検対象

先報と同様、静岡県田方郡函南町および愛媛県北宇和郡松野町の一般住民 769 名とアニサキス症患者 5 名。

#### 2. 抗原

SOM 抗原と ES 抗原の 2 種。先報と同一のものをそれぞれ使用した。

#### 3. 反応閾値の測定

兩種抗原につき、あらかじめ基準液(タンパク 30  $\mu$ g/ml)より生食水による 2 倍希釈系列を作製しておく。基準液によって注射 15~20 分後に陽性反応をしめした者につき、さらに各希釈系列の 0.02 ml づつを同一人の皮内に注射し、陽性反応を惹起させるに要する各抗原の最大希釈倍をもとめ、これを反応閾値とした。

#### 4. 腸管内寄生虫卵検査

糞便内の寄生虫卵の検査は、AMS III 法およびセロファン厚層塗抹法各 1 回の併用とした。

### 成 績

#### 1. 兩種抗原による反応閾値の比較

被検者 769 名につき、SOM, ES 両抗原の基準液を接種した場合の成績をみると、第 1 表にしめす如く、共に

第 1 表 アニサキス兩種抗原による反応比較

SOM +	ES +	SOM +	ES -	SOM -	ES +	SOM -	ES -	計
26		10		55		678		769

SOM:SOM 抗原, ES:ES 抗原

陰性のもの 678 名、共に陽性のもの 26 名で、機械的に兩種抗原による反応一致率をもとめてみると 91.5% となる。しかし、いま SOM, ES いずれかの抗原で陽性をしめした者 91 名の内訳をみると、SOM 陽性で ES 陰性の者が 10 名、逆に SOM 陰性で ES 陽性の者は 55 名となっており、両抗原につき、くい違いをみた者の数の方が共に陽性をみた者の数よりも多くなっている。

こうした点から考えると、兩種抗原による反応の現われ方は、むしろかなり異なるものとの印象をうける。

そこでこの兩種抗原の反応面からみた場合の異質性をみるため、まずそれぞれの抗原による反応閾値をもとめ、その分布をしらべてみた。その結果は第 2 表にしめすように、SOM 抗原を用いた場合では、陽性者 27 名につき、

本研究は文部省総合科学研究費の補助により行なわれた。

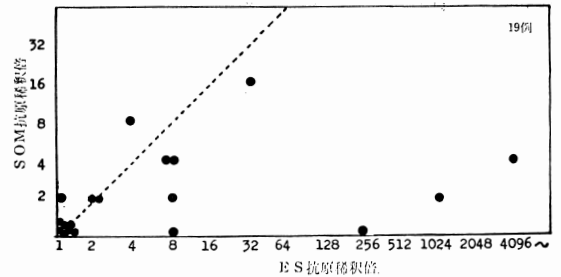
第2表 反応陽性者の閾値別分布

反応閾値 (抗原稀釈倍)	SOM 抗原		ES 抗原	
	反応者	(%)	反応者	(%)
1	13	(48.1)	26	(44.1)
2	8	(29.6)	8	(13.6)
4	4	(14.8)	4	(6.8)
8	1	(3.7)	6	(10.2)
16	1	(3.7)	3	(5.1)
32	0		3	(5.1)
64	0		1	(1.7)
128	0		1	(1.7)
256	0		2	(3.4)
512	0		2	(3.4)
1024	0		2	(3.4)
2048	0		0	
≥4096	0		1	(1.7)
計	27		59	

基準液濃度でのみ反応陽性の者 48.1%, 抗原の2倍希釈まで陽性(閾値2倍)の者 29.6%, 以下4倍, 8倍の閾値をしめす者の比率はさらに減少し, 最高閾値16倍をしめした者は1名(3.7%)であった。

一方, ES抗原の場合は, 陽性者59名中, その基準液濃度でのみ陽性の者 44.1%, 閾値2倍の者 13.6%, 同4倍 6.8%, 8倍 10.2%と, 最高4096倍以上 1.7%まで広範囲にわたった。

次に両種抗原に対する反応閾値を同時にしらべた19



第1図 同一者における両種抗原に対する反応閾値分布

例について, 両者間の相関性を検討してみた。第1図はその結果をしめしたものであるが, 本図では横軸にES抗原に対する閾値と, 縦軸にはSOM抗原に対するそれをしめしてある。もしも両種抗原が質的にもまた量的にも全く同一のものであるならば, 各プロット点は当然45度の按分線上に乗るはずであり, また質的には等しいが量的に異なるものであるならば, プロットは上記の按分線を平行移動させたある線上に乗るはずである。

しかし結果は図にみるごとく, そのいずれにも該当せず, 両抗原による各閾値間には全く相関がみとめられなかった。このことは, 両種抗原が質的にかなり異なるものであることを示唆する。

## 2. 両種抗原のアニサキス症患者における反応

既知アニサキス症患者5例につき, SOM, ES両抗原

第3表 アニサキス症患者の皮内反応

病 例	皮 内 反 応		現 症 歴 と 虫 体 証 明
	SOM 抗原	ES 抗原(閾値)	
A (55才, 男)	陰 性	陽 性 (1:4)	6年前胃腫瘍の疑で胃切除, 病巣よりアニサキス幼虫の横断面証明(千大, 吉村)
B (48才, 男)	陰 性	陰 性	2年前胃腫瘍の疑で胃切除, 病巣よりアニサキス幼虫の断面証明(千大, 吉村)
C (43才, 男)	陰 性	陽 性(原)	4年前胃痛と嘔吐頻発。2年前カツオの刺身を摂取直後虫体吐出。アニサキスI型幼虫と同定(予研, 小山)
D (39才, 男)	陰 性	陽 性	10年前イカの塩辛摂取後上腹部痛おこり数日持続。3週間前カレイの刺身摂取後上腹部痛を訴へ胃切除。切除病巣よりアニサキス幼虫検出(新大, 鈴木・白木)
E (26才, 男)	陰 性	陽 性(原)	2.5ヶ月前ハマチ, アジ, ホウボウの生食後上腹部痛, 1ヶ月前再び上腹部痛。胃ポリープの診断で胃切除, 病巣部よりアニサキス幼虫(I型)を検出(石山病院, 吉武; 公衛院, 影井)

症例Cは厳密には患者とはいえないかもしれないが, ここではこれに準ずるものとして扱った。

を同時に接種し反応の出現性を検した結果は第3表にしめす如くである。

本表から、上記それぞれの基準濃度において、SOM抗原使用では全例において陰性、ES抗原では4例に陽性、1例(症例B)に陰性がしめされた。なおES抗原による陽性例のうち3例について閾値を測定したところ、症例Aは4倍、症例C、Eはともに1倍であった。

### 3. 腸管内寄生虫卵の有無と皮内反応

被検者260名中、その糞便検査でなんらかの寄生虫卵が検出された者は35名(男子15名、女子20名)虫卵陰性者は225名(男子90名、女子135名)であった。

いま虫卵陽性者群と同陰性者群における皮内反応成績をみるに、第4表にしめした如く、SOM抗原使用時に

第4表 寄生虫卵保有の有無と皮内反応

虫卵	被検者	SOM 抗原		ES 抗原	
		陽性者 (%)		陽性者 (%)	
+	35	7 (20.0)		9 (25.7)	
-	225	26 (11.6)		63 (28.0)	
計	260	33 (12.7)		72 (27.7)	

は、虫卵陽性者における皮内反応陽性率は20.0% (7/35)であったのに対して、虫卵陰性者群では11.6% (26/225)と前者は後者の約2倍の高率をしめている。たゞしその差は推計学的には有意とならなかった( $\chi^2$ 値=1.95)。

一方ES抗原使用の場合は、虫卵陽性者群では、皮内反応陽性率25.7% (9/35)であったのに対して、虫卵陰性者群では28.0% (63/225)と両者間には差はみとめられなかった。

虫卵保有者35名の虫卵別の内訳は、蛔虫卵(5名)、鞭虫卵(18名)鉤虫卵(3名)、横川吸虫卵(6名)の各単独保有者が32名、2種以上の虫卵保有者が3名であった。尚虫卵陽性者群、同陰性者群とも、その男女別、年齢別の人員構成はほぼ等しかった。

以上の結果は、ES抗原の方がSOM抗原よりも特異性が大きいことを示唆する。

## 論 議

一般に寄生虫皮内反应用粗抗原による反応陽性率は、抗原の濃度を増せばそれだけ陽性率も増大する傾向のあることは既に知られた事実である。しかし抗原の濃度を極端に高めると、特異反応以外に他の寄生虫感染にもと

ずく類属反応も出現しやすくなり、また被検者におけるアナフィラキシーショックの発現の危険性も出てくる。

したがって粗抗原を用いるかぎり、理論的には人体側に安全な濃度で、かつ類属反応のいちじるしい発現をみない範囲のうちの最大濃度を採用するのがよいということになる。そのような適切な抗原濃度ということに関しては検討の余地が十分にあるが、今回はとりあえず他の寄生虫種の皮内反应用抗原の平均的なタンパク濃度にあわせて基準濃度を設定し、これを使用したわけである。

このような抗原を用いた成績からすれば、前報で述べた如くES抗原の方がSOM抗原よりも反応の感度が高いということになる。

しかし、抗原の適格性を評価する尺度としては、感度のほかに特異性の問題があることはいままでもない。アニサキスの虫体抽出液抗原を用いての諸種血清反応では、アニサキス以外の線虫類(豚蛔虫、犬蛔虫、犬糸状虫)の感染との間に交叉反応がみられることが報告されている(吉村, 1966; 谷口, 1966; 山本, 1966; 鈴木, 1968; 横川ら, 1968)。

ところで最近、寄生虫感染症の血清診断に用いる抗原として、ES抗原の有用性を強調する一派があらわれていることについては先にも触れたが、Jacobs *et al.*

(1965)によれば、広東住血線虫感染ラットからえた血清についての赤血球凝集反応において、抗原として成虫体の抽出液抗原を用いるよりも雌成虫の産卵時にえられる飼養液抗原を用いた場合の方がはるかに高い特異性がえられるという。

本報では、主としてES、SOM両種アニサキス抗原の皮内反応に対する特異性を比較検討してみた。

特異性の検討としては、ここでは1)幼虫体あるいはその断面が切除病巣より証明されたアニサキス症患者についての反応、2)アニサキス以外の一般寄生虫感染の有無による皮内反応への影響という2つの観点からおこなってみた。

第1の点に関しては、患者5例につき、ES抗原では4例に陽性、SOM抗原では5例とも陰性に終わったことから、ES抗原の方がより勝れるものと判断された。SOM抗原では、すべて陰性であったということはやや奇異でもあり、抗原濃度を増せばあるいは陽性に転ずる可能性も一応考えられるが、しかし少なくともこれと同一の抗原を使用することによって、一般成人男子では、その約20%は陽性をしめたわけであるから、原因をたんに抗原濃度の問題だけに帰せしめるのは必ずしも当をえず、

むしろタンパク以外の物質たとえば多糖体をもふくめた抗原物質の相異とこれらに対する被検者の感作の程度をしめすものであるのかもしれない。

第2の点については、他寄生虫感染によって皮内反応の攪乱がみられないことが特異性につながるという立場から判定すれば、ES抗原の方がそれだけ特異性が高いということがいえそうである。この特異性に関しては多糖体の関与が想定され、将来の検討にまつところ大きい。ただし今回の例数では、SOM抗原での両陽性率の差が有意となっていないので断定は避けたい。これらの点については、将来さらに例数を増して検討したい。

### 要 約

アニサキス幼虫体抽出液 (SOM 抗原) と幼虫の脱皮時に放出される排泄物、分泌物 (ES 抗原) の即時型皮内反应用抗原としての性状の比較を異質性と特異性の面から検討し、下記の結果をえた。

1. 両種抗原による反応閾値分布は、ES 抗原に対するその方がはるかに広く、かつ両種抗原による反応閾値間には相関がみとめられない。したがって両抗原は異質なものであると考えられる。
2. 両種抗原による既知アニサキス症患者5例についての皮内反応の結果では、ES 抗原では4例に陽性、1例に陰性であったのに対して、SOM 抗原では全例とも陰性であった。
3. アニサキス以外の一般寄生虫感染の有無とアニサキス抗原による皮内反応との関係では、SOM 抗原使用時には、保卵者群 20.0%、非保卵者群 11.6% と保卵者群に陽性率が高くしめされたのに対して、ES 抗原使用では、それぞれ 25.7%、28.0% とほぼ同一の陽性率であった。

以上から、ES 抗原と SOM 抗原とは互いに異質なも

のであり、特異性は ES 抗原の方にやや高いものと推定された。

稿を終るにあたり、アニサキス症患者についての皮内反応実施のため、多大の御便宜を与えられた千葉大吉村裕之博士、新潟大鈴木俊夫博士、石山病院吉武寿男博士、公衆衛生院影井昇博士に深く感謝の意を表す。また種々技術的援助を頂いた国立予防衛生研究所寄生虫部鈴木了司博士、安羅岡一男博士、小山 力技官、伊藤洋一技官、小島邦子技官に深謝する。本研究は第37回日本寄生虫学会虫総会および第18回日本アレルギー学会総会 (昭和43年) において発表した。

### 文 献

- 1) Jacobs, L., Lunde, M. N. and Weinstein, P. P. (1965): Hemagglutination test results with antigens derived from cultures of *Angiostrongylus cantonensis* and with whole worm extracts. *J. Parasit.*, 51, Suppl. 2, 38.
- 2) 小林昭夫・熊田三由・石崎 達・勝呂毅・小糸賢太郎 (1968): アニサキス幼虫体抽出液ならびに同虫体の排泄物・分泌物抗原による皮内反応 I. 一般人における皮内反応成績. *寄生虫誌* 17, 407-413.
- 3) 鈴木俊夫 (1968): アニサキス症の免疫学的診断法に関する研究. 第37回日本寄生虫学会総会所演.
- 4) 谷口正明 (1966): *Anisakis* の研究 (1) 抗原性. *寄生虫誌*, 15, 502-506.
- 5) 山本隆一 (1966): 寒天ゲルを用いた蛔虫の抗原性の研究. 長大風土病紀要, 8, 203-209.
- 6) 横川宗雄・吉村裕之・辻守康・荒木国興 (1968): *Anisakis* の免疫電気泳動像について. 第37回日本寄生虫学会総会所演.
- 7) 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. *Minophagen Medical Review*, 11, 105-114.

<b>Abstract</b>
-----------------

SKIN TESTS WITH SOMATIC AND ES (EXCRETIONS AND SECRETIONS) ANTIGENS  
FROM *ANISAKIS* LARVAE. II THE DIFFERENCE OF ANTIGENICITY  
BETWEEN THE TWO ANTIGENS

AKIO KOBAYASHI, MITSUYOSHI KUMADA, TATSUSHI ISHIZAKI  
(*Department of Parasitology, National Institute of Health, Tokyo, Japan*)

TAKESHI SUGURO  
(*Kannami Hospital, Shizuoka, Japan*)

KENTARO KOITO  
(*Uwajima Health Center, Ehime, Japan*)

In the preceding paper, the authors demonstrated an evidence that a higher skin sensitivity was shown by the ES antigen than by the somatic antigen (Kobayashi *et al.*, 1968). In this paper, results of a study on the difference of antigenicity between the two antigens are described.

1. A distribution of the threshold values of individuals for the positive skin reaction was studied on each of the antigens. The values to the ES antigen were mostly larger than those to the somatic antigen, and no correlation was observed between them.

2. The positive skin reactions were produced by the ES antigen in 4 of 5 proven cases of anisakiasis, but negative reactions by the somatic antigen.

3. By the application of the somatic antigen, the positive reactions were observed in 20.0% (7/35) among persons harboring some helminth eggs, while in a lower rate such as 11.6% (26/225) among those without eggs. The ES antigen produced almost the same positive rate, 25.7% and 28.0%, irrespective of other helminthic infections.

These results may suggest a heterogeneity of the two antigens with regard to the antigenicity and a higher specificity of the ES antigen than the other.