

## ブタ回虫で感染また感作して生じた ウサギのレアギン様抗体

服 部 浩 士

岐阜大学医学部寄生虫学教室 (森下哲夫教授)

(昭和45年7月10日 受領)

Taliaferro (1930) がブタ回虫体腔液による皮膚反応を実施シアトピー様の状態がヒトの腸管寄生蠕虫症で成立することを報告して以来、我が国でも岡部 (1931) の追試があり非常に皮膚反応の陽性率の高いことが記載されている。この際この皮膚反応は Arthus 反応と異なる性質のもので横川ら (1957) は肺吸虫症のヒトでこの反応をじんま疹様反応と呼んでいる。

Ogilvie (1964) は *Nippostrongylus brasiliensis* をラットに感染させた実験でラットで homologous PCA (passive cutaneous anaphylaxis) を行ない、感作期間を72時間とする方法でレアギン様の抗体を見出した。これが寄生蠕虫症でのおそらく最初の感染動物でのレアギン様抗体に関する報告である。Edwards *et al.* (1967) はサルにマンソン住血吸虫を感染させてレアギンの成立することを証明した。このレアギンの大きさは19S と7Sの間にあり、ブタクサ、アレルギーのヒトの IgE と一致するし、マンソン住血吸虫罹患のヒトの血清中にもレアギンのあることを証明した。

我が国でのブタ回虫を用いた PCA の報告は高橋 (1961) のもののみのようである。

同氏はモルモットにブタ回虫仔虫包蔵卵を経口的に与えて、同種のモルモットで PCA を行ない感染1カ月後に10倍程度に陽性であつたと報告している。しかし感作期間を4～6時間後としている。この報告は前記 Ogilvie の報告の前に出されたものでレアギン様抗体の概念のない時期のものである。著者はブタ回虫卵でウサギを感染させたり、回虫体成分で感作してレアギン様抗体と沈降抗体の成立の模様を観察したのでここに報告する。

### 実験材料および方法

1) 抗原の作製の方法 ブタ回虫体は岐阜市の屠場から生きたまま生食水に入れて持ち帰り、十分に滅菌生食水をとりにかえる方法で数回洗滌した。その後出来る限

り無菌的に細切し磨砕機で細挫してからアセトン処理を数回行なつた。そしてアセトン乾燥末として保存した。別に細挫した回虫体成分をなるべく無菌的に生食水で抽出して、ミリポアーでこして 0.154 mg PN/ml になるように抗原を調製した。

2) 感染方法 ブタ回虫卵を培養して仔虫包蔵卵となつたものを、ウサギに毎週 5,000個ずつ経口投与して連続11週におよんだ。実験に用いたウサギは 2.5～3.0 kg の健康なもので、業者から購入したものであるが、研究室では寄生蠕虫感染の機会のないように注意して飼育した。実験の初めにすべてのウサギは採血して回虫体に対しレアギン様抗体や沈降抗体のないことを確かめ対照として用いた。

3) 感作方法 回虫体のアセトン乾燥末を生食水 1 ml 中にそれぞれ 5 mg, 15mg および30mg 含むような3群を作り、この1 ml を Freund's complete adjuvant 1 ml と共に1回だけウサギの足蹠に注入し、7日後から適当な間隔で採血し血清を冷所に保存した。別に回虫体の生食水抽出液 0.154mg PN/ml を1 ml 1回だけウサギに静注し、7日後から適当な間隔で採血した。

4) PCA の方法 ウサギは 2.5～3.0kg の健康なものをを用いた。1%エバンスブルー色素液はエバンスブルー (第一化学) 1 g を滅菌生食水 100ml に溶解したものをを用いた。

ウサギの背部を電気バリカンで皮膚を傷つけないように剃毛し、被検抗血清とその稀釈したものを皮内に 0.1 ml ずつ注射した。72時間後1%エバンスブルー液と回虫抗原(0.154mg PN/ml) それぞれ 1.5ml ずつを混じて、耳静脈に注入して30分後の青色斑を測定した。

### 実験成績

1) 感染によるレアギン様抗体の成立  
ブタ回虫仔虫包蔵卵を連続的に経口投与した4羽のウ

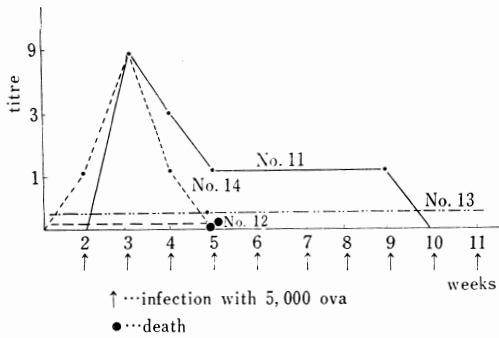


Fig. 1 Reagin antibody titres of rabbits infected once a week for 11 weeks.

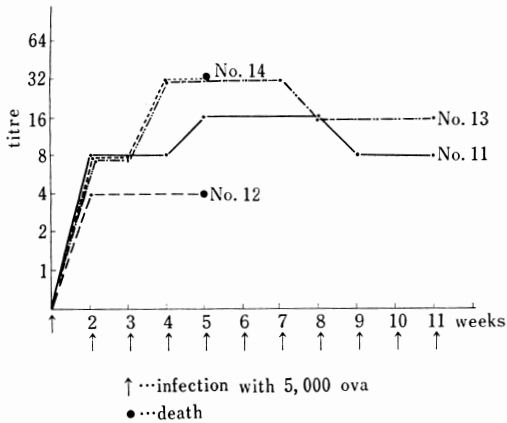


Fig. 2 Precipitin titres of rabbits immunized by infection once a week for 11 weeks. Test antigen is 1 : 100 and titre shows dilution rate of anti-serum.

サギのレアギン様抗体価と沈降抗体価の推移は第1および2図のようである。まずレアギン様抗体価についてはNo. 11とNo. 14の2羽にのみ認められ他の2羽は11週つづけて陰性であった。No. 11は第3週目に9倍稀釈まで陽性となり第4週目には3倍、第5～9週に亘って原液でのみ陽性で第10週目以後は陰転した。No. 14では第2週目に陽性となり原液でのみ陽性であった。第3週目には9倍稀釈まで陽性となり、第4週では原液でのみ陽性となり第5週に入るまえに死亡した。No. 12は陰性をつづけて第5週で死んだ。No. 13は第11週まで陰性をつづけた。このように毎週1回5,000個ずつの感染でのレアギン様抗体成立について、anamnetic responseは認められなかったのは興味がある。一方沈降抗体はNo. 11およびNo. 14ともレアギン様抗体価の低下しはじめ第4週目に急上昇した。No. 12およびNo. 13は沈降

抗体価が高くないで終始した。このことからレアギン様抗体価と沈降抗体価は比例して上昇せずむしろある時点で反比例するような印象を受けた。教室の小林ら(1970)の実験ではウサギに1回だけブタ回虫仔虫包蔵卵を経口投与してもレアギン様抗体の成立を見ないことが報告され、これに反してイヌ回虫仔虫包蔵卵の場合にははつきりとレアギン様抗体成立が観察される。このことはウサギ体内に侵入した仔虫の行動に関係があるのであろう。

2) 感作によるレアギン様抗体の成立

ブタ回虫体成分の生食水抽出液(0.154mg PN/ml)を1ml 1回だけウサギに静注した場合のレアギン様抗体と沈降抗体の成立の様様をしらべたのが第3および4図

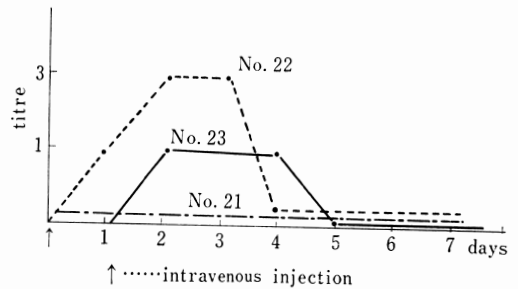


Fig. 3 Reagin antibody titres of rabbits sensitized with 1ml ascarid saline extract (0.154mg PN/ml)

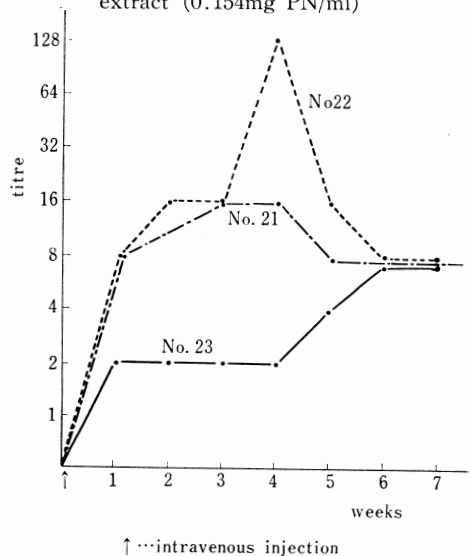


Fig. 4 Precipitin titres of rabbits immunized with 1ml ascarid saline extract (0.154 ml PN/ml). Test antigen is 1 : 100 and titre shows dilution rate of anti-serum.

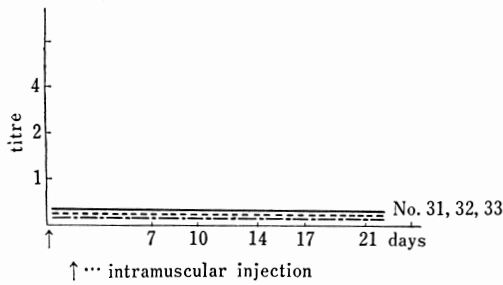


Fig. 5 Reaginic antibody titre of rabbits sensitized with ascarid acetone dry powder 5mg.

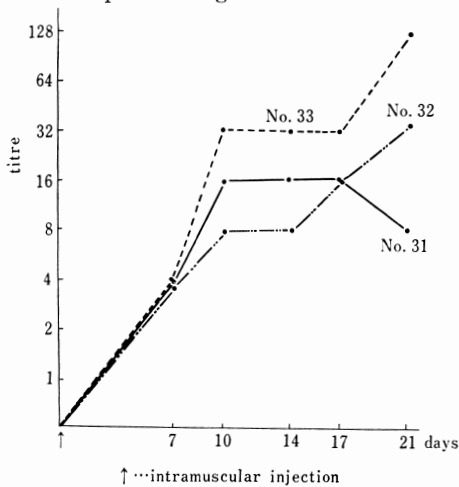


Fig. 6 Precipitin titres of rabbits immunized with ascarid acetone dry powder 5mg. Test antigen is 1:100 and titre shows dilution rate of anti-serum.

である。No. 22のウサギではレアギン様抗体価が1日後に原液でのみ陽性となり、2日後には3倍稀釈まで陽性でこの状態は3日後まで続き、4日後にはレアギン様抗体を証明出来なくなり7日後までしらべたが陰性であった。No. 23のウサギでは2日後から4日後まで原液でのみレアギン様抗体が認められその前後には全く陰性であった。No. 21のウサギは検査期間中レアギン様抗体の成立はなかった。その際の沈降抗体の様相であるがNo. 22のウサギは1日後8倍稀釈まで、3日後までは16倍稀釈まで陽性であつて、レアギン様抗体の証明出来なくなった4日後に最高128倍稀釈まで沈降反応陽性であつた。No. 23のウサギでは3日後から4日後まで16倍稀釈まで沈降反応陽性でこれが沈降価の峯であつた。レアギン様抗体成立をみなかつたNo. 21のウサギでは沈降抗体価の成立も悪く6日後に至つて最高8倍稀釈まで陽性

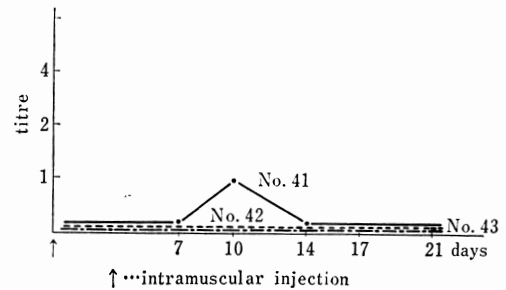


Fig. 7 Reaginic antibody titre of rabbits sensitized with ascarid acetone dry powder 15mg.

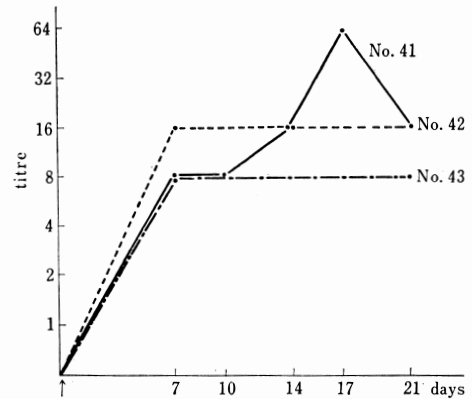


Fig. 8 Precipitin titres of rabbits immunized with ascarid acetone dry powder 15mg. Test antigen is 1:100 and titre shows dilution rate of anti-serum.

に止まつた。この場合もレアギン様抗体価の上昇は沈降価の上昇とズレのあることが観察された。

次にブタ回虫アセトン乾燥末をウサギの足蹠に注入した場合のレアギン様抗体と沈降抗体の成立の様相をしらべた成績を述べる。5mgを1回だけ注入したときには実験した3羽のウサギとも21日後までの観察でレアギン様抗体が認められなかつたことを第5図が示している。

一方沈降抗体はNo. 33のウサギでは10日後に32倍稀釈まで21日後には128倍まで陽性となつた。No. 31のウサギでは16倍稀釈まで陽性であつたのに止まり、No. 32のウサギでも沈降抗体価の著しい上昇はなく21日後に至つてやつと32倍稀釈まで陽性であつた。これを第6図が示している。しかし15mgを1回だけ注入すると3羽のウサギ中No. 41の1羽だけに10日後にのみ原液でのレアギン様抗体が証明出来た。沈降抗体の方はNo. 41では10日後までは8倍稀釈まで陽性に止まつていたのが、

14日後から上昇し始め17日後には64倍稀釈陽性となり21日後には16倍まで下降した。レアギン様抗体の証明されやがて証明されなくなる頃から沈降価の上昇のあることは興味がある。No. 42 および43のウサギはレアギン様抗体が証明されず、しかも沈降抗体の力価も低いままに止まっていることを第7および8図が示している。

3) レアギン様抗体をしらべるPCAの際の異種抗原の作用

ブタ回虫体成分によつて感作した抗血清を用いて72時間の感作期間の後に行なうPCAで、ブタ回虫体成分をエバンスブルーと共に静注した青色斑の大きさを100としたとき、イヌ回虫体およびアニサキス虫体抗原をchallengeしたときの青色斑の大きさは0および30であつた。イヌ回虫による抗血清ではイヌ回虫を100とするとブタ回虫およびアニサキス抗原によつて出来る青色斑の

Table 1. Cross reaction between 3 reaginic antibodies and 3 challenge antigens (0.154 PN/ml)

reaginic antibody	challenge antigen		
	<i>Ascaris</i>	<i>Toxocara</i>	<i>Anisakis</i>
anti- <i>Ascaris</i>	100*	0	30
anti- <i>Toxocara</i>	100	100*	100
anti- <i>Anisakis</i>	300	5	100*

\* numbers show proportional value of blue spot size in homologous PCA (coresponding antigen-antibody's value is always 100)

大きさはそれぞれ100であつた。アニサキス抗血清によるPCAではアニサキス抗原によるものを100とすると、ブタ回虫抗原によるものは300でイヌ回虫抗原によるものは5であつた。このことを表にすると第1表のようである。この場合challengeする抗原はブタおよびイヌ回虫、アニサキス成分共0.154mg PN/mlのものを1.5ml用いた。

#### 考 按

Isizaka *et al.* (1967) がヒトの枯草熱患者のレアギンとしてIgEを提唱してから、Ogilvie (1964) が寄生蠕虫罹患のラットでPCAの方法でレアギン様抗体を証明した。これが寄生蠕虫症でのレアギン様抗体の存在の最初の報告である。しかし初期にはOgilvieは寄生蠕虫体抗原で感作したラットにはレアギン様抗体は出現しないと述べている。しかし諸実験動物でのレアギン様抗体の諸性状がBloch (1967) によつてはつきりと論述されてい

る。ヒト、サルでのレアギンと諸動物でのレアギン様抗体については比較的近年の研究であるので一般に理解されない部分が多いし、次々に新しい事実も解明されてきて混乱して受けとられている部分も少なくない。Strejan & Campbell (1967) はブタ回虫成分を用いてモルモットを感作し、その抗血清の $7S\gamma_1$ と $\gamma_2$ を分画してアルツス型の反応以外のものをPCAで求めているが、その感作期間は4時間まででこれはレアギン様抗体を志向していない。homologous PCA (同一種属動物間でのPCA)の場合にレアギン様抗体の検出が可能であるが、Mota *et al.* (1969) はマンソン住血吸虫および旋毛虫をかけたマウスで感作期間を2時間のものとして72時間のものに區別し、72時間のもののみがレアギン様抗体の検出に役立つとしている。その後Strejan & Campbell (1968) はhomocytotropic抗体(レアギン様抗体)をブタ回虫体で感作したラットで求めるのに感作期間を24時間としている。Zvaifler *et al.* (1966) が結晶ウシ、アルブミンなどでウサギを感作した実験ではhomologous (即ちウサギのレアギン様抗体を用いてウサギにPCAを行なう)の感作期間を72時間後としたレアギン様抗体価を100とすると、6時間後のものは16で7日後のものは58であつたという。再びラットでのブタ回虫体感作のhomocytotropic抗体をしらべた前記Strejan & Campbellの実験の成績では、1mgを皮下に注入して2週後のレアギン様抗体価は1:80であつた。しかしラットでの実験では血清の絶体量が少ないので途中のレアギン様抗体価をしらべることが出来ず、実験の終りに殺して採血し、しかもラット群の血清を集めて一諸にしてレアギン様抗体価を求めている。

このレアギン様抗体は寄生体による感染又は感作以外に純化された蛋白質でもマウスに作られる。Revoltella & Ovary (1969) はAl(OH)又はFreund's complete adjuvantと共にDNP-haemocyaninでマウスを感作し2時間の感作期間の場合に $\gamma_1$ を証明し、72時間の感作期間の場合にレアギン様抗体をマウス→マウスで証明した。マウスは免疫の初期にレアギン様抗体を非常に低い力価で産生する。

そしてそれはAl(OH)と共に感作した時のみ産生されるという。

わが国で高橋 (1961) がブタ回虫仔虫包蔵卵をモルモットに経口的に与えて、1カ月後の抗血清について、同種のモルモットにPCAを行なつていながら、感作時間を4~6時間後と記載しているので、レアギン様抗体の究

明には適当でない。著者を含めて小林ら(1970)はブタ回虫仔虫包蔵卵を1回だけ 6,000個ウサギに経口投与して13日後まで観察したが、3羽のウサギとも PCA によるレアギン様抗体の検出には成功していない。イヌ回虫仔虫包蔵卵をウサギに1回だけ 5,000個経口投与した場合には、3羽中2羽のウサギに3日後からレアギン様抗体の産生が認められている。イヌ回虫とブタ回虫の仔虫のウサギ体内での行動がこのように反応としての差異を示したのであろう。前記小林らの報告でブタ回虫アセトン乾燥末で感作したウサギにみられるレアギン様抗体の吟味がなされているが、電気泳動法による泳動値が  $\gamma$  G よりやや陽極側にあり、沈降係数は7Sよりやや大である。56°C 4時間加熱によって著明に不活化し、2-メルカプトエタノール感受性が大きであった。このことから著者の扱っているレアギン様抗体も恐らくこれに類するものと考えられ、ブタ回虫感染によってウサギにレアギン様抗体の産生されることは興味がある。感染の方法でレアギン様抗体を産生させる場合11週間感染させつづけると、却つて後にはレアギン様抗体の消失をみるようになる。レアギン様抗体と IgG 抗体とは両立し難いような印象をうける。このことはレアギン様抗体が同種の動物の組織に長く固着出来る性質を示すことともに特徴である。森下ら(1969)が寄生蠕虫症の皮内反応の特異性への疑問に対する論文を発表しているが、PCA でなくヒトの active cutaneous anaphylaxis (ACA) が感染後久しく陽性に証明されるとの従来の諸報告、従つて寄生蠕虫症の皮内反応は特異な抗原抗体反応として、診断的価値ありとする諸報告に対して、理論的に疑問点として残り、これからレアギン様抗体の研究とともに解明されていくことと考えられる。何れにしてもヒトの寄生蠕虫症の診断はレアギンによるのであつて、決して Arthus 反応をみているのではなく、IgE 抗体の問題であつて、IgG 抗体の問題ではないことを強調したい。

## 結 語

1) ブタ回虫仔虫包蔵卵 5,000個づつを1週1回ウサギに連続経口投与して11週におよぶと、4羽中2羽にレアギン様抗体の産生がみられた。

第3週にレアギン様抗体価が最も高く、4~5週後には消失に向う。anamnestic response は11週までは見られなかつた。一方沈降抗体価はレアギン様抗体価の低下し始める時期から急上昇する。

2) 感作によるレアギン様抗体の成立についてはブタ

回虫体成分の生食水抽出液 (0.154mgPN/ml) を1ml 1回だけウサギに静注すると3羽中2羽に証明された。2~4日後に低い titre でみられその後消失した。沈降抗体は4日後に最高値を示し、レアギン様抗体の証明されなかつた1羽では沈降抗体の成立も悪かつた。次にブタ回虫アセトン乾燥末 5mg を1回だけウサギの足蹠に注入すると3羽ともレアギン様抗体は証明されなかつた。しかし15mg 1回だけ注入の時は3羽中1羽に10日後に低い力価のレアギン様抗体が証明された。

3) レアギン様抗体をしらべる homologous PCA の際のブタおよびイヌ回虫体とアニサキス虫体成分の作用をみるため、challenge antigen として各 0.154mgPN/ml のものを 1.5ml 用いて交叉実験を行なつた。その結果互にある程度の共通抗原性のあることを示した。

## 文 献

- 1) Bloch, K. J. (1967): The anaphylactic antibodies of mammals including man. *Progr. Allergy*, 10, 84-150.
- 2) Edwards, A. J., Jones, V. E., Smithers, S. R. and Terry, R. J. (1967): The occurrence and properties of reagins in rhesus monkeys infected with *Schistosoma mansoni*. *Ann. trop. Med. Parasit.* 61(3), 280-293.
- 3) Ishizaka, K., Ishizaka, T. and Terry, W. D. (1967): Antigenic structure of  $\gamma$ E-globulin and reaginic antibody. *J. Immunology*, 99, 849-858.
- 4) 小林瑞穂・長瀬啓三・竹内敦敏・服部浩士・加納至朗(1970): イヌおよびブタ回虫の PCA. *寄生虫誌*, 19(2), 119-127.
- 5) 岡部直己(1931): 回虫体腔液の皮膚反応に関する研究. *慶応医学*, 11, 1845-1874.
- 6) 森下哲夫・小林瑞穂・長瀬啓三・細井達夫・川合幸夫・奥野嘉也(1968): 寄生蠕虫症の皮内反応の特異性への疑問. *臨床免疫*, 1(4), 489-496.
- 7) Mota, I., Wong, D. and Sadun, E. H. (1969): Separation of mouse homocytotropic antibody by biological screening. *Immunology*, 17, 295-301.
- 8) Revoltella, R. and Ovary, Z. (1969): Reaginic antibody production in different mouse strains. *Immunology*, 17, 45-53.
- 9) Strejan, G. and Campbell, D. H. (1967): Hypersensitivity to *Ascaris* antigen III. Homocytotropic antibodies. *J. Immunology*, 98, 803-810.
- 10) Strejan, G. and Campbell, D. H. (1968): Hypersensitivity to *Ascaris* antigens IV. Production of homocytotropic antibodies in the rat.

- J Immunology, 101, 628-637.
- 11) Taliaferro, W. H. (1930): The immunology of parasitic infections. John-Bale, Son & Danielson, London.
- 12) 高橋良(1961): 回虫アレルギーに於ける抗原および抗体に関する研究 (II) PCA 反応による血中回虫抗体の証明. アレルギー, 10(7), 408-411.
- 13) 横川宗雄・吉村裕三・大島智夫・木畑美知江(1957): 肺吸虫症の皮内反応の研究(III). 寄生虫誌, 6, 57-65.

## Abstract

### REAGINIC ANTIBODY OF RABBITS INDUCED BY INFECTION OR SENSITIZATION WITH *ASCARIS SUUM*

HIROSHI HATTORI

*Department of Parasitology, Medical School of Gifu University*

Reaginic antibody of rabbits was examined by homologous PCA after 72 hours sensitization period. Rabbits were each infected with 5,000 infective eggs once a week for 11 weeks.

Reaginic antibody was detectable in 2 of 4 rabbits and this activity attained to the maximum on the 3rd week and diminished in the 4th-5th week. Thereafter, anamnestic response of reaginic antibody did not appear till 11th week of superinfection. While precipitin titre of infected rabbits sera was the highest in the 4th-8th week. In the case of intravenous injection of ascarid saline extract 1 ml (0.154 PN/ml), reaginic antibody was detectable in 2 of 3 rabbits in lower titre after 2-4 days and then soon diminished. But precipitin titre of sensitized rabbits sera was the highest after 4 days. When 15 mg of ascarid acetone dry powder with Freund's complete adjuvant were injected only once in foot pad, one of 3 rabbits was induced reaginic antibody in lower titre after 10 days.