

糸状虫症の皮内反応に関する研究

第1報 犬糸状虫ペプチド抗原 (FPT) による皮内反応とその特異性

長崎大学風土病研究所臨床部 (主任: 片峰大助教授)

吉
よし

村
むら

税
おさむ

Studies on Intradermal Test for Filariasis. 1. Specificity of a peptide antigen (FPT) prepared from *Dirofilaria immitis* for human filariasis. Osamu YOSHIMURA Clinical Department, Research Institute of Endemics, Nagasaki University. (Director: Prof. Dr. D. KATAMINE)

1. 緒 言

糸状虫のような大きな寄生虫の人体寄生によっても一種の生物学的反応として免疫現象が成立し得ることは古くから唱えられている。

糸状虫症の最も確実な診断は、末梢血中に仔虫を検出するか、特有な臨床症状を確認することにあるが、必ずしも容易ではない。

一方多数の研究者によって糸状虫症についての免疫血清学的研究が行なわれ、この方面から糸状虫症に於ける症状の発生の機序を説明し、或いは患者に抗体を証明して臨床診断に役立てようとする試みが数多く行なわれている。

糸状虫症の免疫反応としては、犬糸状虫 (*Dirofilaria immitis*)、馬糸状虫 (*Setaria equina*)、牛糸状虫 (*Setaria digitata*)、鼠糸状虫 (*Litomosoides carinii*) 及び一部 *Wuchereria bancrofti* の仔虫や、感染幼虫 (岡元、片峰)、患者尿 (田辺) などを抗原とした皮内反応、沈降反応、補体結合反応に関する業績が多数報告されている。皮内反応では犬糸状虫を抗原に用いた実験が最も多く、Taliaferro, Hoffman (1930) をはじめとして、Fairley (1932)、文 (1940)、一の瀬 (1942)、妹尾ら (1943)、Bozicevich (1944)、Wright (1944)、Zarrow (1946)、らの報告がある。又片峰、吉田 (1952) はバンクロフト糸状虫仔虫を抗原として用い、田辺 (1959) は患者尿を抗原として皮内反応を行なっている。これらの粗抗原を用いた成績をみるといづれもある程度の特異性は認められながらも、他の寄生虫との間に類属反応があったり、或いは反応が微弱であったりして現在は実用に供され

ていない。最近、清水 (1959)、沢田 (1962) らは犬糸状虫虫体を各分画にわけ、その抗原性と特異性を追究している。

皮内反応は他の血清反応と異り、実施がきわめて容易で、集団に用い Screening test としての利用価値も高いので、信頼性の高い抗原の開発は強く望まれている。

著者は、山村・森沢 (1959) の結核菌活性ペプチド抗原の精製法に準じ、犬糸状虫々体よりペプチド分画を抽出、精製して皮内反応抗原として応用した。

2. 抗 原

a) 精製法

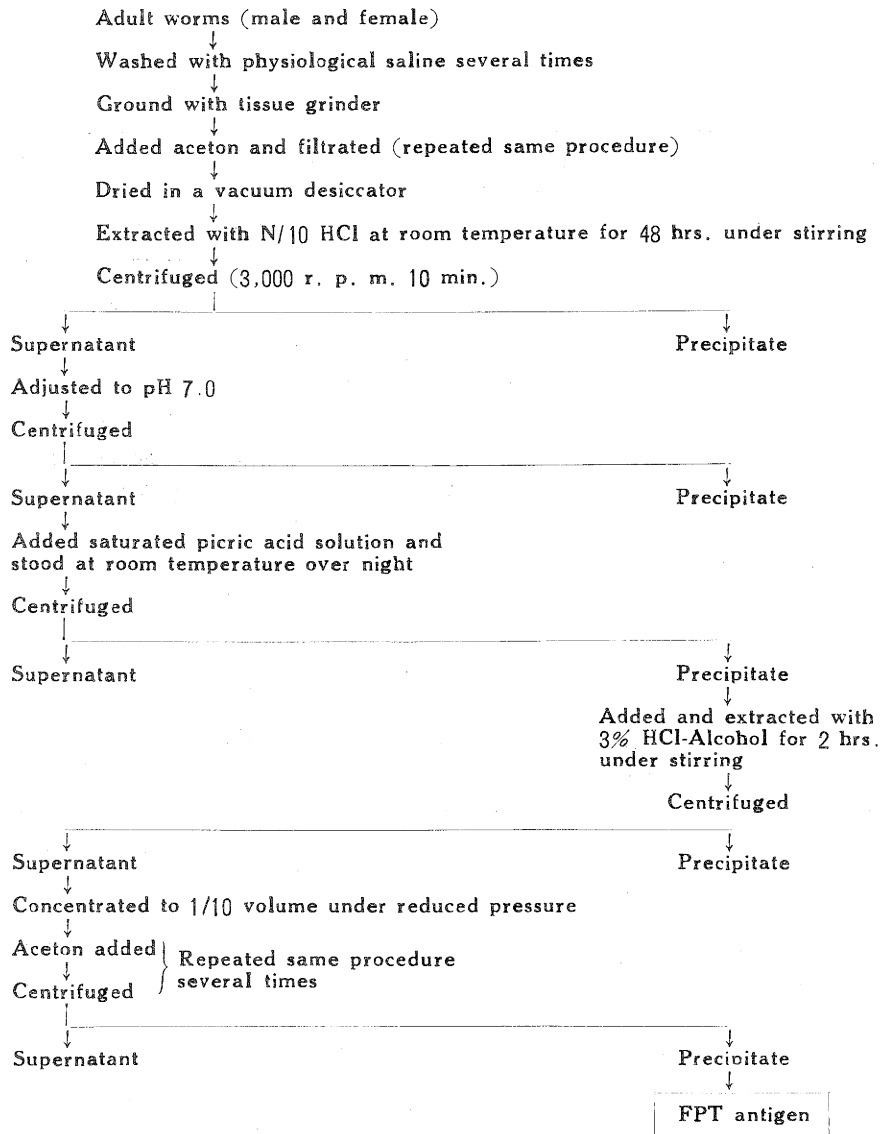
犬糸状虫自然感染犬より成虫 (♂・♀) をとり出し生理的食塩水で数回、最後に蒸留水で洗滌して濾紙で水分を除去し乳鉢で磨砕する。これにアセトンを加えて十分に脱脂してアセトンを通し、虫体磨砕物は濾紙のまま減圧状態のデシケーターに保存、乾燥させる。抗原の作製に当り、乾燥粉末重量の約 70 倍量の N/10 HCl をこれに加え、magnetic stirrer で 48 時間攪拌、抽出する。これを遠心沈澱 (3,000 回転, 10 分間) して上清をとり、pH 7.0 に正確に調整する。これを遠沈して上清をとり飽和ピクリン酸溶液を等量加え、一晚室温に静置する。これを遠沈して沈澱物を集め、これに 3% 塩酸アルコールを出発量の約 25 倍量加えて magnetic stirrer で約 2 時間程度抽出し、遠沈して上清をとる。次いでこの上清が 1/10 量になるまで減圧蒸溜を行ない、これにアセトンを注ぐと白色沈澱物を得る。遠沈して沈澱物を集め、デシケーター

中で乾燥させ、秤量してアンプルに封入し氷室に保存する。抗原の収量は、乾燥粉末の $\frac{1}{100}$ で、生鮮虫体

100 個体より約10mgの抗原が採取出来る。(Table1)

Table 1

Isolation and Purification of Antigen



b) 抗原の理化学的性状

本抗原は灰白色、水・アルコールに可溶、エーテル・アセトンには不溶性である。本抗原の 0.1% 溶液を調整し、次の検査を行なった。先づ蛋白反応では

Biuret反応, Ninhydrin 反応, Xantoprotein反応, 坂口反応は陽性であるが、糖反応は陰性である。光電光度計によって紫外部での吸収を見ると、概ね280m μ 附近に最大の吸収がみられる。(Fig. 1)

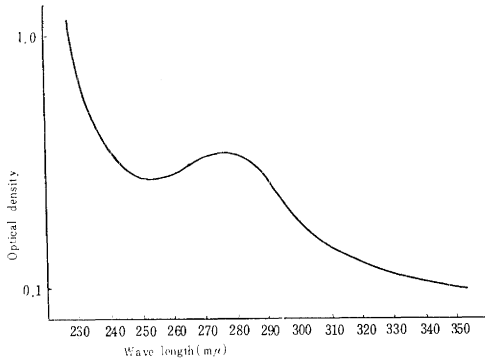


Fig. 1 Ultraviolet absorption curve of FPT antigen.

3. 予備実験

a) 実験方法

抗原の生物学的活性と皮内反応に用いる抗原濃度、判定の時間を決定するために予備実験を行なった。

ツベルクリン反応用注射器を用いて抗原液を被検者の前膊屈側に直径 3 mm の膨疹ができるように皮内に注射する。反応陽性例では注射後 1～2 分頃から次第に発赤を伴って膨疹は拡大し、中には偽足様の突起を出して拡大するものもみられる。稀ではあるが膨疹を中心として中枢側にのびる線状淋巴管発赤を来す強い反応を示すものも存在する。判定時の発赤、膨疹の径を測定し注射直後のそれとの差をもって反応の強さを表わすことにした。

b) 抗原濃度と反応の強さ

非流行地の一般健康者 19 名と仔虫陽性者 8 名を選び生理的食塩水 0.01 ml 中に夫々、抗原 2.0r, 1.0r, 0.5r, 0.1r をふくむ 4 種の抗原液を作り皮内注射後 15 分の膨疹の腫脹差を判定した。

その成績は Fig. 2 に示したように、1.0r 以上の濃

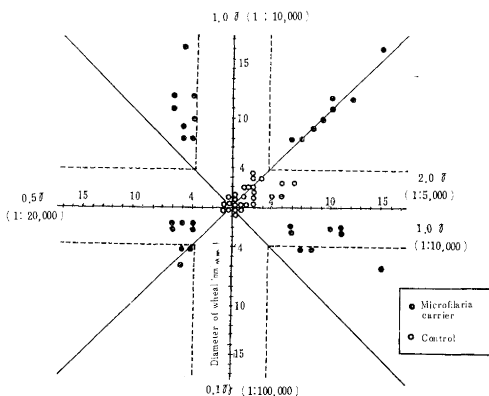
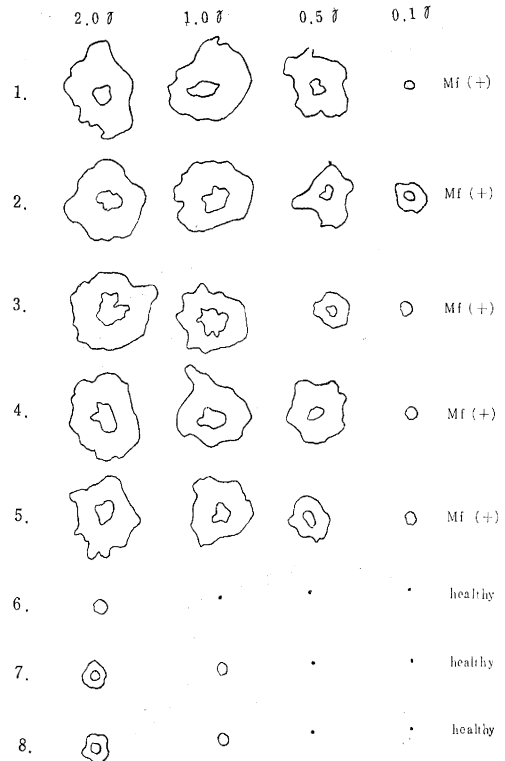


Fig. 2 Comparison of intensity of the reaction by four different dilution of the antigen in same someples.

度を用いた場合は仔虫陽性者の 8 名では何れも 6 mm 以上の強い反応を示し、対照健康者に見られるほとんど無反応に近い弱い反応とは明らかに区別される。しかも、仔虫陽性者に於ける反応の強さでは、1.0r と 2.0r との間にはほとんど差異が認められない。抗原の濃度が 0.5r, 0.1r と低くなると仔虫陽性者の反応も次第に弱くなり、腫脹差が 3 乃至 4 mm 以下のものが増加して対照と比べて特異的反応としての識別が次第に困難となって来る。(Fig. 2 Fig. 3)



Remarks : The inner circle represents wheal, the outside one erythema and black spots disappearance of wheal respectively.

Fig. 3 Responses of skin against the different dilution of FPT antigen.

c) 反応の時間的経過

予備実験を行なって強い反応を呈した仔虫保有者 6 名について 1.0r 濃度の抗原を用い注射後 5 分、10 分、15 分、20 分、25 分、30 分、40 分、50 分、60 分、120 分に反応の大きさを計測し、その逐時の変化を観察した。

膨疹、発赤共に時間の経過につれて拡大するが、膨疹の大きさ（腫脹差）が最大値を示す時間は、2 例

は10分後、3例は15分後、1例は20分後であった。更に経過をみると、2例が25分後、3例が30分後、1例が60分後には肉眼的に膨疹の境界が不鮮明となり、120分後では、注射局所に僅かに発赤を残すのみで全例共、膨疹は殆ど消失した。

発赤径の大きさの逐時的経過をみると、2例は5分乃至10分後、4例は15分乃至20分後に最高値がみられた。これによると多少の時間的なずれはあるが反応の大きさは注射15分乃至20分後に最大に達し、それ以後は次第に膨疹の境界が不鮮明となり、2時間内外で消失する。従って爾後の実験には抗原濃度は、0.01ml 中 1.0r を用い、15分で判定を行なった。(Fig. 4)

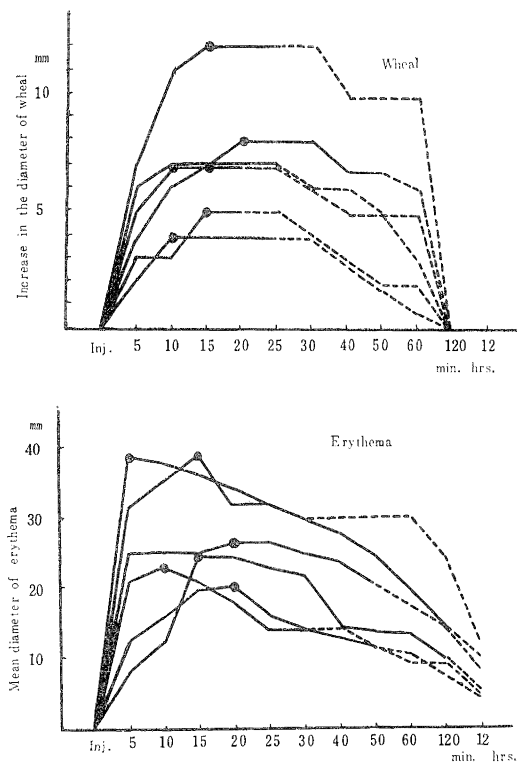


Fig. 4 Progress of the reaction in the course of time.

4. 反応の特異性

a) 反応の強さの度数分布曲線

群馬県渋川市一般住民 146名、長崎市中央部の中学生及び一般住民123名、合計269名の非流行地の健康者群と感染の明らかな仔虫陽性者 541名の二つの集団について反応を行ない、夫々15分後の腫脹差の大きさによる度数分布曲線を描いてみたのが Fig. 5 である。非感染群では合計 7 名に4mm 乃至 5mm の弱い陽性

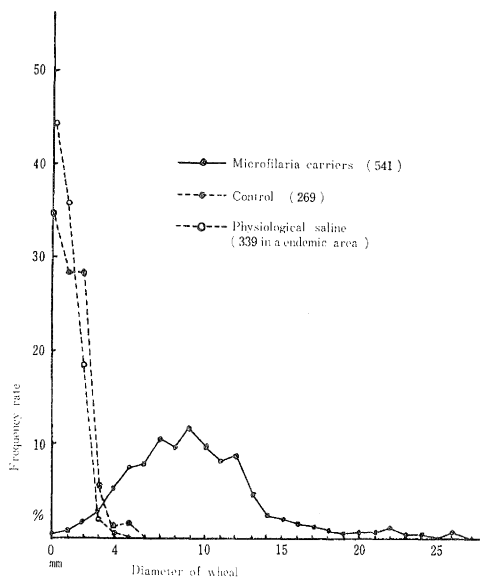


Fig. 5 Distribution curves of increase of wheal diameter by FPT antigen.

反応がみられたが、概ね無反応を頂点として 5mm 附近まで低く尾を引く単峰性の指数型曲線を示す。この曲線は長崎県の糸状虫症の流行地、南松浦郡新魚目町で 339名について行なった生理的食塩水をもってする反応の膨疹の示す曲線と略一致する。これに反し、仔虫陽性者群の示す曲線はこれより反応の大きな側、略 9mm 附近に中央値を有するきれいな正規型分布曲線となる。両群の間には明らかに反応の現われ方に差異

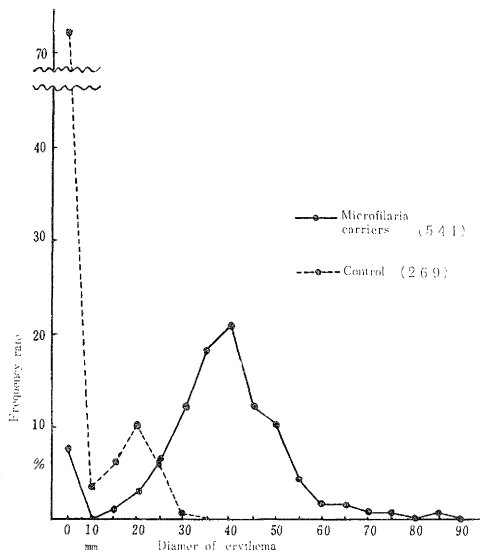


Fig. 6 Distribution curves of the diameter of erythema by FPT antigen.

があり、前者の指数型曲線は非特異反応を、後者の正規型曲線は特異反応を示すものと考える。腫脹差の大きさが3~5mmの間では特異反応と非特異反応が混在していることが窺われるが、概ね腫脹差が大きくなる程、特異反応の占める割合が増大する。6mmを越える強い反応は殆んど特異反応と見做される。一応、2mm以下を陰性、3~5mmを疑陽性、6mm以上を陽性として判定すると、非感染群の8.5%は疑陽性として残るが、感染者では82.4%が陽性、14.8%が疑陽性となる。又図を見ると非感染群の曲線と仔虫陽性者の曲線は3mmと4mmの間で交叉しているので試みに陰性の限界を4mm未満においてみると、仔虫陽性者の94.8%、非感染群で2.6%が陽性となり、一部非特異的の反応が含まれるが感染者の大部分を把握することが出来る。(Fig. 5)

これと同様に、発赤の大きさを度数分布曲線を描くと、全く同様のきれいな二つの曲線が得られ、20mmを限界点として判定すると仔虫陽性者の89.3%、非感染者の6.7%が陽性反応の中に含まれる。(Fig. 6)

b) 膨疹と発赤の関係

反応を行なった仔虫陽性者を含む600名について膨疹と発赤の現われ方の相互関係を検討した。先づ膨疹の大きさから随伴する発赤の頻度をみると、腫脹差0mmでは10%、1mmでは26%、2mmでは44%、3mmでは87%、4mmでは93%と、膨疹が大きくなるにつれて発赤を伴う率が高くなり、7mmを越えたものでは全例に発赤が見られる。

次に表の横軸に腫脹差を、縦軸に発赤径をとってプロットし、両者の大きさの関係をみたのが Fig. 7 である。概ね膨疹の大なるものほど、その周りの発赤も大きく、両者の間には99%の信頼限界で正相関の関係が成立する。判定の規準を発赤20mm、腫脹差4mmにおくと、仔虫陽性群では両者共陽性とみられるものは94.0%、又非感染群で両者共に陰性のものは91.7%となる。しかしながら発赤は濃淡の差があり、皮膚の色調などにより判定に困難を感じることがある。

(Fig. 7)

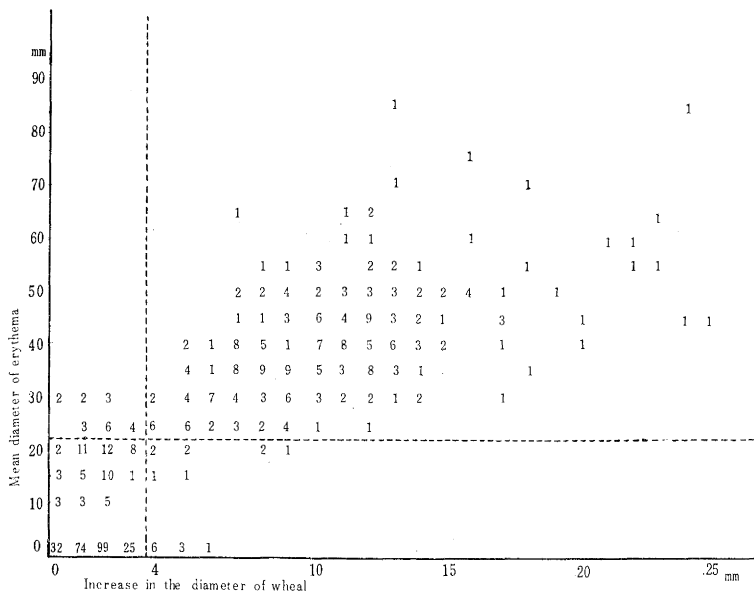


Fig. 7 Correlation between the increase of diameter of wheal and erythema by FPT antigen.

c) 類属反応

非流行地で、蛔虫、鉤虫卵保有者、肺吸虫症、顎口虫症などの寄生虫性疾患28例、皮膚疾患2例、気管支喘息、寒冷蕁麻疹、ペニシリンアレルギー等のアレルギー性疾患5例、計35例に本反応を実施し、15分後の膨疹の腫脹差4mm以上を陽性として判定した。

寄生虫性疾患では全例反応は陰性であった。皮膚疾患、アレルギー性疾患では、気管支喘息の患者に4mmの弱い陽性反応を呈した者が1例認められたのみで、他はすべて腫脹差3mm以下で反応陰性と判定される。一応、本反応には糸状虫以外の寄生虫との間の類属反応は認められないと思われる。(Table 2)

Table 2
Influence of other helminths inhabited and allergic diseases upon
the intradermal reaction by FPT antigen in the non-endemic areas.

Groups	Increase of wheal diameter (Measurement in mm)										Total
	0	1	2	3	4	5	6	—	—		
Ascariasis		1	2	1						4	
Ancylostomiasis	1	6	7	1						15	
As. + An.			2	1						3	
Paragonimiasis	2									2	
Gnathostomiasis	1		2	1						4	
										28	
Contact dermatitis			1	1						2	
Asthma bronchiale			1		1					2	
Congelation urticaria			2							2	
Penicillin allergy	1									1	
										7	
										35	

d) 流行地に於ける反応陽性率

(1) 浸淫度と反応陽性率

日本及び沖縄の糸状虫流行地で、14の集団全員に夜間検血による仔虫の検索、臨床症状の確認と同時に本抗原による皮内反応を実施した。(Table 3)

全体としてみると被検者総数 2,796名の内仔虫保有者は 337名 (12.1%)、これに症状のみ有する者を加えた患者は 459名 (16.4%) であった。皮内反応で陽性を示したものは、全体で 1780名、63.9%ではるかに高い。仔虫陽性者では、319名 (94.8%)、患者全体では 417名 (90.8%) が反応陽性であるが、一方、仔虫、症状共に認められない2337名からも1363名(58%)に陽性反応が認められ、流行地では、仔虫も症状もない反応陽性者が多数存在することが知られる。

反応の出方と仔虫検出率の関係を地区別に見ると、日本内地の8つの集団では、1876名の内、115名 (6.1%) に仔虫が、172名 (9.2%) に患者が検出され、皮内反応は 911名 (48.3%) が陽性反応を示した。こまかく見ると、長崎県立五島の崎山 (556名) では、仔虫検出率 13.8%、反応陽性率 68.3%、天草の御所浦嵐口 (179名) では7.8%に仔虫を見出し、68.2%が陽性反応を呈した。長崎の黒崎 (62名) では夫々、6.5

%, 54.8%, 黒崎中学 (127名) 5.5%, 43.3%, 永田 (410名) 2.9%, 37.1%, 坂瀬川 (280名) 0.4%, 23.2%, 又天草の御所浦樟の木 (142名) では仔虫保有者は認められなかったが、臨床症状を有する者が、9.2%見出され、49.3%が反応陽性であった。御所浦本郷 (120名) では仔虫、症状共に検出されなかったが、27.5%の反応陽性者が認められた。

沖縄では6つの集団920名を調べたが、222名 (24.1%) に仔虫を、269名 (29.2%) に患者を見出し、869名、94.5%の高率に反応陽性者を得た。

集団別に見ると、城辺中学 (108名) 仔虫保有者33.3%, 反応陽性者 100%, 宮古水産高校 (100名) 夫々 28.0%, 100%, 福東部落 (168名) 23.2%, 92.9%, 福西部落 (291名) 22.4%, 93.8%, 島尻部落 (187名) 21.9%, 89.3%, 宮古高校 (66名) 19.7%, 98.9%の成績を得た。

これによると、皮内反応陽性率は仔虫陽性率と比べるとはるかに高率であるが、両者は略併行の関係が認められる。一般に沖縄宮古のように20%を越す浸淫地ではきわめて高い反応陽性率がみられる。又陽性反応の強さを4~6mm (+), 7~9mm(++)、10mm 以上 (++) の3段階にわけて観察すると、浸淫度の高いと

Table 3

Correlation between positive rate of the intradermal test and incidence of microfilaria carriers and patients in endemic areas.

	District tested	Number of tested	Mf carriers	Patients	FPT positive	Mean diameter of wheal
Japan	Kurotaki (Middle school)	127	7(5.5)	7(5.5)	55(43.3)	5.1
	Goshonoura Araguchi (Middle school)	179	14(7.8)	14(7.8)	122(68.2)	5.0
	Goshonoura Hongo (Middle school)	120	0	0	33(27.5)	3.1
	Sakasegawa (Middle school)	280	1(0.4)	1(0.4)	65(23.2)	2.1
	Sakiyama (All ages)	556	77(13.8)	113(20.3)	380(68.3)	6.5
	Kurotaki (All ages)	62	4(6.5)	10(16.1)	34(54.8)	5.7
	Nagata (All ages)	410	12(2.9)	27(6.6)	152(37.1)	3.1
	Kabanoki (All ages)	142	0	18(9.2)	70(49.3)	3.7
	Total	1876	115(6.1)	172(9.2)	911(48.3)	4.3
Okinawa	Gusukube (Middle school)	108	36(33.3)	36(33.3)	108(100.0)	9.0
	Miyako 1. (High school)	100	28(28.0)	28(28.0)	100(100.0)	12.3
	Miyako 2. (High school)	66	13(19.7)	13(19.7)	65(98.9)	10.9
	Fukuhigashi (All ages)	168	39(23.2)	56(33.3)	156(92.9)	6.8
	Fukunishi (All ages)	291	65(22.4)	85(29.2)	273(93.8)	9.4
	Shimajiri (All ages)	187	41(21.9)	51(27.3)	167(89.3)	6.9
	Total	920	222(24.1)	269(29.2)	869(94.5)	9.3
	Total	2796	337(12.1)	459(16.4)	1780(63.9)	6.8

ころ程、反応の強いものが増加している。

(2) 反応の大きさと仔虫及び症状検出率

崎山、黒崎の二つの集団 745名を材料として、腫脹差の大きさから仔虫保有者或いは患者が発見される頻度をみると、3mm 以下の陰性群 286名の中にも仔虫陽性者 2.7%。患者 4.5%が発見されるがその率は低

い。4~6mm (+) の 161名では夫々、9.3%、13.0%、7~9mm (++) では 19.7%、29.9%と増加し、10mm 以上の強陽性群 151名では、23.8%、34.4%に仔虫又は症状が発見され、腫脹差の大きいもの程検出率が高いことを物語っている。(Table 4)

Table 4
Frequency of the patients including microfilaria carriers detected in the group showing different intensity of the intradermal reaction.

	Differences of diameter of wheal (Measurement in mm)				Total
	0 — 3	4 — 6	7 — 9	10 —	
Number of examined	286	161	147	151	745
Microfilaria carriers	8(2.7)	15(9.3)	29(19.7)	36(23.8)	88(11.8)
Patients including microfilaria carriers	13(4.5)	21(13.0)	44(29.9)	52(34.4)	130(17.4)

(3) 反応陽性者の仔虫の陽転

糸状虫症流行地では、仔虫、症状共に見出されない群からも可成りの高率に反応陽性者が認められる。そこで仔虫陽性率22.5%を示す沖縄宮古の城辺地区の集団で、集虫法を行ない、仔虫、臨床症状共に陰性であることを確認した皮内反応陽性者 166名を、10ヵ月後

に再び検血を行ない、仔虫陽転の有無を調べた。全体としてみると、6%に当る10名に新しく仔虫が検出された。仔虫が陽転したものゝ反応の大きさをみると、10名中 9 名 (90%) は 10mm 以上の強陽性者で占められ、年齢はすべて30才以下の若い年齢層であった。(Table 5)

Table 5
Newly changed to positive for microfilaria in the persons sensitive to FPT antigen in the reexamination 10 months later.

	Number of tested	Number of changed to positive for microfilaria	Per cent
Gusukube Middle school (Age 13—15)	47	2	4.3
Miyako High school (Age 16—18)	31	2	6.5
Gusukube-cho (All ages)	78	6	7.7
Diameter of wheal 9 mm>	66	1*	1.5
10 mm<	100	9	9.0
Total	166	10	6.0

* 9 mm of wheal diameter

(4) 補体結合反応との関係

更に本反応の特異性を検討するために糸状虫症患者および流行地住民合計 256名に皮内反応と同時に補体結合反応を行い、両反応の出かたを比較した。

補体結合反応は、犬糸状虫成虫生理的食塩水抽出液 (1000×) を抗原とし、緒方法に準じて行なった。先づ、5 倍稀釈血清について判定し、陽性血清では定量

反応を行なって抗体価を求めた。

仔虫又は症状があり感染が明らかな患者群 161名では、皮内反応は148名91.9%に、補体結合反応は126名78.3%に陽性で、陽性率に於いては前者がややまさっている。そのうちで両反応が一致して陽性のものは119名 (73.9%)、皮内反応又は補体結合反応のどちらか一つが、陽性のものが夫々、29名 (18.0%)、7 名

(4.3%)にみられる。一方両反応共に陰性のものが6名(3.7%)に発見される。(Table 6)

流行地で得た仔虫、症状のない皮内反応のみ陽性のもの95名でも、77.9%に当る74名に補体結合反応が陽性で、同様に抗体産生が証明された。(Table 7)

全体としてみると243名の皮内反応陽性者の79.4%に補体結合反応による特異抗体が証明され高い一致率がみられる。

これを腫脹差の大きさから補体結合反応の陽性率、抗体価との関係を見ると、仔虫や症状がありながら皮内反応の出ない(0~3mm)13名では陽性率が53.8%で補体結合反応でも陰性のものが多い。又陽性に出る

Table 6

Correlation between intradermal test(FPT) and complement fixation test (CFT) in filarial patients.

FPT	CFT		
	+	-	
+	119 (73.9)	29	148 (91.9)
-	7	6	13
	126 (78.3)	35	161

Table 7

Complement fixation test in the persons showing positive for intradermal test in endemic areas.

	Number of positive for intradermal test	Number of positive for CF test	Per cent
Patients	148	119	80.4
Without manifestation	95	74	77.9
Total	243	193	79.4

Table 8

Comparison of intensity of the intradermal reaction and complement fixation test.

	Number of cases	Antibody title					CF test(+)%
		(-)	5 ×	10 ×	20 ×	40 × -	
10 mm -	132	13(9.8)	17(12.9)	37(28.0)	34(25.8)	31(23.5)	119(90.2)
7-9	67	18(26.9)	11(16.4)	11(16.4)	14(20.9)	13(19.4)	49(73.1)
4-6	44	19(43.2)	6(13.6)	9(20.5)	5(11.4)	5(11.4)	25(56.8)
0-3	13	6(46.2)	3(23.0)	2(15.4)	1(7.7)	1(7.7)	7(53.8)
Total	256	56	37	59	54	50	200(78.1)

ものでもその抗体価は低く、血清稀釈倍数で5倍(23.0%)10倍(15.4%)が大半を占め、20倍以上のものは僅か15.4%を示すに過ぎない。

4~6mm 群(44名)では56.8%、7~9mm群(67名)73.1%と補体結合反応陽性率は皮内反応の強さと共に漸次上昇し、10mm以上の強陽性群(132名)では実に90.2%の高率に一致する。

抗体価もこれと併行し、強陽性群では31例23.5%が40倍以上、34例25.8%が20倍を示し、価の高いものが増加している。

以上の様に皮内反応の出かたは仔虫、症状の有無にかかわらず補体結合反応の成績とよく一致し皮内反応の強いもの程一般に抗体価も高い。患者であっても皮内反応陰性のものは抗体産生が少い。(Table 8)

5. 総括と考察

糸状虫の皮内反応抗原としては従来、虫体抽出液、蛋白分画、多糖体分画などが多く用いられるが、最近石井（1961）は肺吸虫のペプタイドを分離し、特異性を認めたと報告している。著者は、犬糸状虫（*Dirofilaria immitis*）成虫から、山村、森沢および石井にならってペプタイド分画を抽出、精製して多数の糸状虫症患者、流行地住民に皮内反応を行い、その特異性について検討を行なった。

先づ抗原の至適濃度を知るために予備実験を行なった結果、特異反応を識別するに都合が良い濃度として 1.0 γ /0.01ml の抗原液を用いて反応を行い、15分後の示す膨疹の腫脹差と発赤径を以て反応の強さを表わした。

非流行地の一般健康者を対照として仔虫陽性者に皮内反応を行なった成績から反応の強さの度数分布をみると、非感染者群では腫脹差、発赤径共に無反応を頂点とする指数型の分布曲線を示す。これは別に行なった生食水による非特異反応の曲線と全く一致する。これに反し仔虫陽性群でははるかに反応の大きな側に頂点をもつ正規曲線を形作る。これは前者の反応とは全く異質のもので特異反応を表わすものとみて差支えない。この両曲線は腫脹差で 3mm と 4mm の間、発赤径で 20mm 未満の所で深い谷を作って交叉しているのがみられる。この点を境として陽性、陰性を判定すれば感染者が陽性域に、非感染者が陰性反応に含まれる率が最大になることを示している。交叉の谷が深ければ深い程、その区別がはっきりした特異反応として見わけることが出来るわけである。寄生虫に用いた同じ即時型皮内反応でもその判定のしかたは研究者によって種々ある。例えば沢田（1962）は鉤虫の反応で腫脹径 9mm 以上、横川（1955）は肺吸虫 V.B.S. 抗原で腫脹差 5mm 以上を陽性とし、石崎（1963）は抗原の種類を問わず、膨疹 9mm 発赤 20mm を限界として差支えないとしている。著者の場合上記の度数分布曲線から一応陰性の限界を腫脹差 4mm 未満、発赤 20mm 未満においてみると、仔虫陽性群の示す反応陽性率は 94.8%、発赤で 89.3% となり、逆に非感染者が陽性を示す率は 2.6%、6.7% できわめて低く、感染者の大部分を把握出来る。尚、腫脹差と発赤径の間には密接な相関関係が認められるが、発赤は濃淡があり、農漁村では皮膚の色が黒いためにしばしばその判定に困難を感じることがあるので、腫脹差によって判定するのが合理的と思われる。しかし乍ら、腫脹差

4 mm を中心として 3mm と 5mm の間の反応には非特異反応と特異反応とが混在し、厳密な意味ではいわゆる疑陽性に属するものであるから、今後抗原濃度を変えて更に検討を行う必要が残されている。

次に過去において用いられた粗抗原の場合にはどうか類属反応が問題とされて来た。本抗原では症例は少ないが、一応他の寄生虫の感染やアレルギー性疾患との間の反応はきわめて弱く、糸状虫の感染者のみに強い特異的反応を示すことが窺われる。唯、本抗原の材料となった犬糸状虫は我が国でも分布が広く、たまたま人体への寄生例の報告もあり、その侵入の可能性も否定は出来ないので、それとの鑑別が重要な問題として追究されねばならない。

従来の皮内反応の研究をみると、感染者と非感染者とを比較してその特異性を論じているもの多くが、流行地での一般住民を材料としてその信頼性、特異性を検討したものは比較的少い。この意味で著者は日本内地や沖縄の流行地で住民全員に仔虫と症状を同時に調べ皮内反応との関係を追究した。その結果をみると、集団の示す反応陽性率や反応の強さは仔虫陽性率と齟齬具有率からみた浸淫度と共に増大し密接な併行関係を示し、反応の強いものの中に患者の発見率も高い。これは本反応の特異性を示しているが、反面仔虫も症状もない一見健康者の中にも反応が陽性に出るものが多数発見される。しかし非流行地の集団ではほとんどに陽性反応が見られないことを考え合わせると意味があるように思われる。沖縄宮古の流行地でこれらの反応患者を 10 か月に亘り追究するとその 6%、強陽性者の 10% に新しく仔虫の陽転して来るのが確認された。このような仔虫も症状もない反応陽性者は今まで見逃されて来た一群であるがこの中にはやがて仔虫が陽転し新しい感染源となるものが含まれていることが想像され疫学的にも重要な意義をもつものと云わねばならない。

更に皮内反応の特異性を裏付けするために同時に行なった補体結合反応の成績と比較するときわめて高率に一致がみられ、その陽性反応は仔虫症状の有無にかかわらず明らかに抗原抗体反応に基く特異的のアレルギー反応とみて差支えない。勿論陽性反応がすべて厳重の意味での寄生の完成を示すものとは云えないが少なくとも糸状虫感染幼虫の侵入を認知する手段としては大きな価値があるものと考ええる。最近、多田、川島（1962）も又著者と同じペプタイド抗原を用いて糸状虫症患者に皮内反応を行い、その特異性を報告している。

このようにみて来ると、この度犬糸状虫成虫より得たFPT抗原は人糸状虫症に対しても特異性が高く、流行地に於ける陽性反応は糸状虫感染を示す公算が大である。今後本皮内反応は糸状虫症の Screening test として又、疫学的調査の指標として作用価値があるものと考えらる。

6. 摘 要

犬糸状虫成虫より抽出、精製したペプタイド抗原 (FPT 抗原) を用いて皮内反応を行いその糸状虫感染に対する特異性を検討した。

1) 本反応は糸状虫感染者に特異的に強い反応を示し、1.0 γ /0.01ml の皮内注射で15分後の膨疹の腫脹差4mm以上を陽性と判定すると、仔虫陽性者では94.8%の高い陽性率が得られた。

2) 糸状虫以外の寄生虫症或いはアレルギー性疾患との間の類属反応はほとんど認められない。

3) 流行地では皮内反応陽性率は仔虫検出率よりは

るかに高いが、略その集団の浸淫度と併行関係を示し濃厚浸淫地では反応が強いものが増加する。又反応の強いもの程、仔虫及び症状の発見率が高い。

4) 流行地でみられる仔虫も症状もない皮内反応陽性者を10カ月に亘り検血をくりかえすと仔虫の陽転するものがあらわれる。しかもその率は10mm以上の強陽性者に高率である。

5) 補体結合反応は仔虫や症状の有無にかかわらず実施者の78.1%において皮内反応の成績と一致し、皮内反応の強いもの程抗体価も高い。

FPT 抗原による陽性反応は糸状虫の侵入を示す公算が大であり、本症の診断、疫学調査の指標として意義が認められる。

稿を終るに臨み、御指導御校閲を賜った恩師片峰大助教授に心より感謝の意を捧げる。抗原の作製に当り御教示を仰いだ九大宮崎一郎教授に深甚な謝意を表し又御協力を頂いた村上文也助教授はじめ教室の諸兄に厚く御礼を申し上げる。

文 献

- 1) Augustine, D. L. & Lherisson, C. : Studies on the specificity of intradermal tests in the diagnosis of filariasis. Amer. Jour. Hyg. 43 : 38-40, 1944.
- 2) Beys, H.K. Mill, R. Thooris, G. & Joho, T. : Preliminary report on the use of the antigen of *Dirofilaria immitis* as an epidemiological tool and as a therapeutic agent in *Wuchereria bancrofti* infections in French Oceania. Amer. Jour. Hyg. 64 : 23-29, 1956.
- 3) Bozicevich, J. & Hutter, A. M. : Intradermal and serological tests with *Dirofilaria immitis* antigen in cases of human filariasis. Amer. Jour. Trop. Med. 24 : 203-208, 1944.
- 4) 文 仁 柱 : 朝鮮に於ける地方病性象皮病の究研。第三篇 病因に関する研究。朝鮮医誌。30 : 1136 1940.
- 5) Dickson, J.G., Huntington, R. W. Jr. & Eichold, S. : Filariasis in defence force, Samoan group. Preliminary report. U.S.N. Med. Bull. 41 : 1240-1251, 1943.
- 6) Fairley, N.H. : Serological and intradermal test in filariasis A preliminary report. Trans. Roy. Trop. Med. & Hyg. 24 : 635-648, 1932.
- 7) Huntington, R. W. Jr. : Skin reaction to *Dirofilaria immitis* extract. U.S.N. Med. Bull. 44 : 707-714, 1945.
- 8) 池田圭助 : フィラリア症の診断特に補体結合反応。日紙誌。24 : 486, 1935.
- 9) 池田圭助 : フィラリア性疾患補体結合反応に関する研究。長崎医誌。14 : 1035-1059, 1936.
- 10) 石井洋一, 森浜誠司 : 肺吸虫症の皮内反応ニペプチドの皮内反応特異性。福岡医学雑誌。52 : 594-602, 1961.
- 11) 石崎達, 久津見晴彦, 熊田三由, 小宮義孝, 荒木英斉, 野崎繁男, 宮下義正 : フィラリア症消長の疫学的研究。(1) 静岡県吉原市川尻町の実態。寄生虫誌 9 : 682-700, 1960.
- 12) 石崎 達, 久津見晴彦, 熊田三由, 波多野精美, 小糸賢太郎, 辻谷重兵衛 : フィラリア症消長の疫学的研究。(2) 愛媛県西宇和郡三崎町の実態。寄生虫誌。12 : 82-87, 1963.
- 13) 石崎 達, 久津見晴彦, 熊田三由, 荒木英斉, 宮木昭正, 広瀬俊一 : 鉤虫皮内反応の諸性質。寄生虫誌。12 : 77-81, 1963.
- 14) 石崎 達 : 即時皮内反応。陽性判定規準を中心として。アレルギー。12 : 14-30, 1963.
- 15) 石崎 達 : 寄生虫アレルギー。最新医学。18 :

300-304, 1963.

16) 一の瀬健吾: パンクロフト糸状虫に関する研究. 第二編「フィラリア」皮膚反応. 長崎医誌, 21: 903-922, 1943.

17) 片峰大助, 吉田卯太郎: フィラリアの抗原性の研究. (1) 皮膚反応. 長崎医誌, 27: 1952.

18) King, B. G.: Early filariasis diagnosis and clinical findings a report of 268 cases in American troops. Amer. Jour. Trop. Med. 24: 285-298, 1944.

19) 河野 恵, 沢田利貞, 佐藤重房, 米山邦彦: 鉤虫症の皮内反応. (3) 抗原注射による反応の消長と時間の関係. 寄生虫誌, 11: 371-379, 1962.

20) Lloyd, R. G. & Chandra, S. N.: Complement fixation in filariasis. Indian Jour. Med. Res. 20: 1197-1208, 1933.

21) 仲地紀晃: フィラリア虫の造抗原性について. 長崎医誌, 8: 101-109, 1930.

22) 岡部浩洋, 山口富雄, 山下 博: パンクロフト糸状虫の免疫学的研究. 第一報. 馬糸状虫抗原による皮内反応と補体結合反応. 鹿児島医紀, 6: 188-192, 1954.

23) 岡部浩洋, 松瀬幹也, 山崎達雄: パンクロフト糸状虫症の免疫学的研究. 第四報. 犬糸状虫と馬糸状虫の糖分画による皮内反応. 久留米医誌, 20: 567-569, 1957.

24) Rodhein, J. & Dubois, A.: A contribution to the study of intradermal reactions in human filariasis. Trans. Roy. Soc. Med. & Hyg. 25: 377-382, 1932.

25) 沢田利貞, 阿野 恵, 佐藤重房, 武井一利: 鉤虫症の皮内反応について (Ⅳ) HW-1 抗原の鉤虫卵陽性者並びに鉤虫卵陰性者に対する反応. 北関東医学, 12: 310-315, 1962.

26) Sawada, T., Kono, M., Sato, S., Yamamoto, T. & Takei, K.: Immunological studies on filariasis (I) Intradermal and precipitin tests with *Dirofilaria immitis* antigen in canine and human filariasis. Gunma Jour. Med. Sci. 11: 7-16, 1962.

27) Sawada, T., Kono, M., Sato, S., Yamamoto, T. & Takei, K.: Immunological studies on filariasis (II) Intradermal test with purified antigen in canine and human filariasis. Gunma

Jour. Med. Sci. 11: 16-24, 1962.

28) 妹尾 崧, 坪井正人, 呉 利 錫: Filaria 症に於ける *Dirofilaria immitis* 抽出液を以てする皮膚反応. 日外誌, 44: 147, 1943.

29) 清水紀夫, 阿久沢実: *Dirofilaria immitis* 抗原の研究. 1. Column chromatography による分画抗原の皮内反応について. 医学と生物学, 31: 207-209, 1962.

30) 高山与四郎: フィラリア症に関する二, 三の検査成績について. 体性, 29: 36-40, 1942.

31) 田辺紀夫: パンクロフト糸状虫漁の免疫血清学的研究補遺, その一 *Dirofilaria immitis* の抗原性について. 長崎医誌, 32: 1421-1429, 1957.

32) 田辺紀夫: パンクロフト糸状虫症の免疫血清学的研究補遺, その二 *Dirofilaria immitis* 抗原による糸状虫症患者の抗原抗体反応. 長崎医誌, 33: 169-179, 1958.

33) 田辺紀夫: パンクロフト糸状虫症の免疫血清学的研究補遺, その三 パンクロフト糸状虫抗原抗体反応. 特にフィラリア患者尿の抗原性について. 長崎風土病紀 1: 38-50, 1959.

34) Taliaferro, W. H. & Hoffmon, W. A.: Skin reaction to *Dirofilaria immitis* in persons infected with *Wuchereria bancrofti*. Jour. Prev. Med. 4: 261-280, 1930.

35) 多田 功, 川島健治郎: 糸状虫症の皮内反応に関する研究. I. 糸状虫抗原 (FPT 抗原) の精製と皮内反応. 医学と生物学, 63: 151-155, 1962.

36) 多田 功, 川島健治郎: 糸状虫症の皮内反応に関する研究. II. FPT 抗原による皮内反応の疫学的特性. 医学と生物学, 64: 1-4, 1962.

37) 多田 功, 川島健治郎, 宮原道明, 波多野精美, 小糸賢太郎, 中村 勝: 糸状虫症の皮内反応に関する研究. III. FPT 抗原による皮内反応の実用的規準とその特性. 医学と生物学, 66: 82-86, 1963.

38) Warren, V. G., Warren, J., & Hutter, G. W.: Studies on filariasis. I. Serological relationship between antigen extracts of *Wuchereria bancrofti* and *Dirofilaria immitis*. Amer. Jour. Hyg. 43: 164-170, 1946.

39) Wright, W. H. & Murdock, J. R.: Intradermal reactions following the use of *Dirofilaria immitis* antigen in persons infected with *Onchocerca volvulus*. Amer. Jour. Trop. Med. 24

: 119—202, 1944.

40) Yamamura, Y., Morizawa, S., Tanaka, A. & Shojima, K. : Studies on tuberculin active peptide. I. Purification, crystallization and properties of tuberculin active peptide. Proc. Jap. Acta. 35 : 295—298. 1959.

41) 山本 孝 : Filaria 症の免疫学的研究。第2報 皮内反応について。日衛会誌. 14 : 117—124, 1959.

42) 横川宗雄, 栗野 林 : 肺吸虫症の補体結合反応——皮内反応と補体結合反応との関係——日本医事新報. 1703 : 27—31, 1956.

43) 横川宗雄, 大島智夫, 勝呂 毅 : 肺吸虫症の皮内反応に関する研究。(I) 寄生虫誌 4 : 276—281, 1955.

44) 横川宗雄, 大島智夫, 勝呂 毅 : 肺吸虫症の皮内反応に関する研究。(II) 寄生虫誌 4 : 282—289, 1955.

45) 横川宗雄, 吉村裕之, 大島智夫, 木畑美知江 : 肺吸虫症の皮内反応に関する研究。(III) 人体に於ける Prausnitz-Küstner反応の実験。寄生虫誌. 6 : 449

—457, 1957.

46) 横川宗雄, 大島智夫 : 肺吸虫症の皮内反応に関する研究。(IV) 抗原の透析及び超遠心処理, 寄生虫誌, 7 : 131—134, 1958.

47) 横川宗雄, 大島智夫 : 肺吸虫症の皮内反応に関する研究。(V) 石炭酸分画法による各分画特に多糖体分画の抗原性について, 寄生虫誌, 7 : 333—337, 1958.

48) 横川宗雄, 大島智夫 : 肺吸虫症の皮内反応に関する研究(VI) 硫酸および低温メタノール分画法による蛋白分画の抗原性について, 寄生虫誌. 8 : 44—49, 1959.

49) 横川宗雄 : 肺吸虫症の皮内反応, 補体結合反応及び凝集反応 (Rapid Flocculation Test) について, 臨床病理 4 : 224—230, 1956.

50) Zarrow, M. & Rifkin, H. : Observation on the specificity and clinical use of *Dirofilaria immitis* antigen in the diagnosis of human filariasis (*Wuchereria bancrofti*). Amer. Jour. Med. Sci. 211 : 97—102, 1946.

Summary

A peptide antigen (FPT) was prepared from the adult of *Dirofilaria immitis* by Yamamura-Morizawa's method which has been applied to the preparation of tuberculin peptide as shown in Table 1. Antigen solution diluted with physiological saline solution to 1 : 10,000 was injected intradermally, just sufficient to arise a wheal of about 3.0mm diameter. Intensity of the reaction was reflected by the increase of diameter of the wheal within 15 minutes after injection.

Intradermal test was conducted on 541 microfilaria carriers and on 269 control individuals who were considered free from filarial infection.

Distribution curve of diameter of wheal in the microfilaria carriers showed a normal curve with the peak in the larger side, about 9.0mm. In the control group, nevertheless, it ranged from 0 to 5.0mm showing the peak in the smallest side which resembled the reaction to saline solution tested on the population of a endemic area. There was found a close correlation between the increase of wheal and surrounding erythema.

The normal curve presented by microfilaria carriers was corresponded to the group sensitized by specific antigenic substances. These two different curves crossed each other at the point of about 4.0mm. Therefore, if the reaction exceeded 4.0mm increase of diameter of wheal was regarded as positive, 94.8% of the microfilaria carriers fell in positive reaction. Reactivity of skin to the antigen was never influenced by other helminth infection and allergic diseases.

Positive rate of the intradermal test assumed usually an upward curve according to the increase of microfilaria incidence in the population. In the endemic areas, positive reaction was often seen among those who have neither microfilaria nor clinical symptoms. These

positive reactions lacking filarial manifestation were also probably specific for filarial infection, because the intradermal reaction and CF test using *Dirofilaria immitis* antigen coincide with each other in 77.9% of those cases both tested.

From these results, it may be concluded that the intradermal reaction by FPT antigen is specific for filarial infection and has a practical value for epidemiological survey in endemic areas.

(Author)

Received for publication September 10, 1963.