

肺吸虫症の免疫学的研究

—肺吸虫症に於ける寒天ゲル内沈降反応—

片峰大助・今井淳一・岩本 功

長崎大学熱帯医学研究所寄生虫学部（主任：片峰大助教授）

(Received for Publication February 15, 1968)

Immunological Study on Paragonimiasis

Agar gel precipitine reactions in paragonimiasis.

Daisuke KATAMINE, Junichi IMAI and Isao IWAMOTO*Department of Parasitology, Institute for Tropical Medicine, Nagasaki University*

(Director : Prof. Dr. D. KATAMINE)

Abstract

In recent years, the method of gel diffusion in agar has been widely applied for the demonstration of specific antigens and antibodies. The purpose of this study is to analyse the immun systems in paragonimus infection and to discern the diagnostic value of agar gel diffusion tests.

Using crude extracts of the whole adult worm, metacercaria and ES preparations (excretions and secretions) of *Paragonimus westermanii*, agar gel double diffusion and immuno-electrophoresis were carried out against sera obtained from 27 experimentally infected animals as well as 415 individuals positive for skin test including typical paragonimiasis patients.

The reactions to crude extracts of adult worm were positive in 38.5 per cent of 52 sera from human cases showing intense skin reaction over 10 mm of increase of wheal diameter, and there was no positive reaction among ten skin test-negative cases. There seems to be a good correlation between the intensity of the skin reaction and the Ouchterlony tests.

Of 65 sera from both of infected animals and patients discharging eggs of the parasite in their stool, 55 revealed strong reactions producing the multiple distinct precipitine bands against the crude and ES antigens. On the other hand, some strong reactions were demonstrated in 19 among 325 sera from individuals who lacked any manifestation such

as egg discharge or abnormal X-ray findings except positive skin reaction.

These test-positive human cases, whether eggs were proved or not, were treated with Bithionol. The Ochterlony tests were carried out during and monthly after treatment. In most of them, such precipitine bands decreased gradually in the number and disappeared within 5 months after treatment. It is, therefore, considered that agar gel precipitine reaction is a significant proof of presence of the living worms in the body and valuable in evaluation of chemotherapeutic effect on the worms.

Compared with the crude somatic antigen from adult worm, precipitine bands appeared in larger number more frequently in agar gel diffusion slides by ES antigen. The results indicate the advantage of ES antigen in sensitivity. This is probably due to antigenic substances other than worm extracts.

Antigen extracted from metacercaria produced 1 to 4 precipitine lines against all sera from cats taken at 6th month after infection, but it produced less or no reactions against the sera from human paragonimiasis. A marked variations in the pattern were demonstrated between antigens prepared from adult worm and from metacercaria in agar gel diffusion with the animal sera, occasionally partial fusions or crossing of the lines.

From the results, it may be considered that these variations are due to the antigenic differences between adult worm and metacercaria, and also they are influenced by the stage of infection.

緒

言

広く感染症の場合にその診断をはじめとして症状の発生機序、予後、治療効果の判定などの面で免疫学的手段方法がきわめて重視されて来ていることは周知の通りである。

寄生性疾患の場合も勿論その例外ではあり得ないが、寄生虫の構造や发育史からくる虫体抗原の複雑性の為か寄生虫感染免疫の詳しい実態の究明や、その応用については猶これからの問題として残されている。

肺吸虫症においても万納寺(1952)、石垣ら(1954)、横川ら(1955—59)、Sadun(1958)、石井(1961)等の皮内反応に関するもの、安藤(1919, 21)、横川ら(1956)、高野(1960)等の補体結合反応の研究、また沈降反応に関しては万納寺(1952)、石垣(1954)、伊東(1956)、国枝(1957)などの報告がある。いずれも肺吸虫の感染寄生によって抗体の産生がおこり、感染

者に陽性反応として認められることを報告している。殊に横川らのV. B. S抗原による皮内反応はScreeningの手段として、また補体結合反応は肺吸虫現症の診断に意義あるものと唱導しているが、肺吸虫感染から宿主内での发育にとまなう抗体産生の推移や詳しい抗原抗体系の分析、更にその特異性の検討及び生物学的意義などに関しては未だ知見が少ない。

著者はOudin(1946)、Ouchterlony(1953)、Grabar(1955)などによって確立されたゲル内沈降反応および免疫電気泳動を応用して肺吸虫寄生による免疫現象の解析を企図した。

本報に於ては主として肺吸虫虫体抽出粗抗原と飼育液を用いて感染血清との間に反応を行ない、その出かたと皮内反応、虫卵、胸部レ線像など疾患の段階との関係及び治療による反応の推移を観察した。

実験材料と方法

I 抗原

a) 虫体抽出液

猫および犬にウェステルマン肺吸虫のメタセルカリ

アを与え感染後6ヶ月以上経過した後に肺臓より虫体を摘出した。この虫体を水で十分洗滌した後、虫体容量の約3倍の生理的食塩水を加えてPotterのガラ

スホモジナイザーで磨砕する。これを $0 \sim 2^{\circ}\text{C}$ の Coolnics mixer で24時間攪拌油出後 10,000 r. p. m., 30min. 冷凍遠心し、その上清液を 0.005M, NaCl 溶液に対して $0 \sim 2^{\circ}\text{C}$ にて48時間透析する。再び同様に遠心して上清液を凍結乾燥し保存した。使用に際して $4 \sim 5\%$ 濃度に溶解したものを虫体抗原として用いた。

b) 飼育液

十分に洗滌した虫体を生理的食塩水 1ml 当り15個体の割合で加えたものを 37°C に12時間 incubate した。この飼育液を 10,000r. p. m., 30min. で遠心上清液を飼育液抗原とした。この抗原は実験に際して至適濃度に濃縮又は稀釈して用いた。

c) メタセルカリア抽出液

モクズガニ (*Eriocheir japonicus*) より取り出したメタセルカリアを目盛り付き試験管に集め、メタセルカリア容量の約3倍量の生理的食塩水を加えて磨砕し、遠心してその上清液を抗原として使用した。

II 抗血清

肺吸虫症流行地に於て集団検診を行ない、皮内反応、虫卵検索、血清学的反応、胸部レ線撮影等で肺吸虫感染を疑わせるもの 415例と虫卵、皮内反応ともに陰性でレ線所見上からのみ感染が疑われるもの10例について得られた血清を用いた。猶患者のうち19名については Bithionol による治療1ヶ月毎に6ヶ月間採血を行なった。その他実験的感染動物の抗血清は感染後6ヶ月目頃虫体を摘出する直前に全採血を行ない、分離した血清を用いた。

実 験

I 皮内反応と虫体抗原によるゲル内沈降反応

虫体抽出液を抗原として肺吸虫症患者を含む V. B. S. 皮内反応陽性者415名及び V. B. S. 陰性でレ線所見のうえからのみ一応肺吸虫感染を疑われた者10名の血清について寒天ゲル内沈降反応を行なった。その結果、皮内反応陽性では64例 (15.4%) に陽性反応を認めたが、皮内反応陰性者10名は全例に沈降帯の出現がみられなかった。(Table 1)

1) 皮内反応の強さと沈降帯出現の関係

皮内反応の強さを腫脹差が (A) $4 \sim 5\text{ mm}$, (B) $6 \sim 9\text{ mm}$, (C) 10 mm 以上の3群にわけて各群に出現する沈降帯の出かたをみると、その頻度は A 群で症例 208例のうち16例 (7.7%), B 群で155例中28例

III 寒天ゲル内二重拡散法及び免疫電気泳動法

a) 二重拡散法 (Double diffusion method)

本法の術式は Ouchterlony の方法に準じたが多少改良した半微量法を適用した。

寒天ゲルは Difco の Bactoagar 及び Agarose を併用し、0.1%の NaN_3 を加えた M/15, pH7.2 の磷酸緩衝液を使用した。ゲル平板は 1.5% の寒天溶液を加熱溶解し、厚さ3mmのものを作成の後径5mmの抗原及び抗血清を入れる穴を切り取り相互の距離を 4mm とした。また抗原及び抗血清の量は約 0.08ml で、これらのゲル内反応は適当な湿度に保たれたガラス容器内に寒天平板を静置し 37°C の定温のもとに $48 \sim 72$ 時間反応を進行させた。

b) 免疫電気泳動法 (Immunoelectrophoresis method)

Grabar らの原法及び Scheidegger の微量法に準じ、 $10 \times 8\text{ cm}$ のガラス平板を用いた。ゲル用緩衝液として pH7.2, イオン強度 (μ): 0.075 のリン酸緩衝液を用い、Continuous buffer system を適用した。泳動法は径5mmの穴に約 0.08ml の抗原を注入し定電流 40mA で4時間30分通電した後抗原の穴より 4mm の距離に泳動軸と平行に幅 2mm の側溝を設けて、これに抗血清を入れ 37°C のもとに $48 \sim 72$ 時間反応を行なわせた。沈降帯像の観察並びに永久保存には写真撮影を行なうと同時に寒天ゲルを乾燥して透明なフィルムとした後 Amino Black 10B 又は BPB 染色液で染色して保存した。

成 績

(18.1%), 更に C 群の強陽性群では 52例中20例 (38.5%) の高率に出現がみられ、概ねゲル反応の陽性率は皮内反応の強さに比例することが観察される。(Table 2)

猶、沈降帯の数についてみると3本以上出現したものが A 群では16例中1例もなかったが B 群、C 群では各々28例中12例 (42.9%), 20例中9例 (45.0%) に認められ、皮内反応の強いものに反応帯の数も多い。一方形成される沈降帯の強さは皮内反応の強さや抗原抗体反応系の数とは必ずしも併行していない。

2) 虫卵の有無との関係

虫卵検出の有無とゲル内反応との関係をみると虫卵陽性者38例のうち32例 (84.2%) に沈降帯の出現を認め、

Table 1. The positive rate of egg examination and agar-gel double diffusion test in 415 subjects showing positive skin test

No. of examined	415
Egg positive cases	38 (9.2%)
Positive * D. D. test	64(15.4%)

* D. D. test : Agar-gel double diffusion test

Table 2. Correlation between the intensity of skin reaction and agar-gel double diffusion test

Intensity of skin reaction	No. of examined	No. of positive(%)
4 — 5	208	16(7.7)
6 — 9	155	28(18.1)
10 — (mm)	52	20(38.5)
Total	415	64(15.4)

ゲル反応陰性を示した 6 例はいずれも皮内反応 4mm の弱陽性で虫卵数も約 1gr の糞便中に 1~2 個で極めて少ない。

一方 虫卵陰性で皮内反応陽性の症例では 377 例中に 32 例 (8.5%) で虫卵陽性者に極めて高率に且つ特異的に出現することが観察される。然しながら虫卵が陰性でもゲル反応が出る症例が率は低くても数多くみられることは重要である。

3) 胸部レ線所見との関係

虫卵とは関係なく胸部レ線所見のうえから比較するとレ線有所見者 66 例のうち 25 例 (37.9%) に沈降帯の出現がみられたが、レ線所見のないもの 349 例では 39 例 (11.2%) でその率は低い。陰影の種類についてみると輪状影所有者に 75% (4 例中 3 例) で最も高く、次で肋膜病変の 50% (8 例中 4 例)、浸潤影 43.3% (30 例中 13 例)、結節影 33.3% (9 例中 3 例) の順となっている。古い病巣を示すと思われる石灰沈着、索状影では夫々 16.7% (12 例中 2 例)、0% (3 例中 0) でいずれも低率であった。これらの陽性反応を示したもののうち輪状影では全例に虫卵が検出されているが、肋膜病変ではその大部分に虫卵が発見されないにもかかわらずゲル内反応陽性率は高い。尚浸潤影の場合にもその半数に虫卵が検出されたに過ぎない。(Table 3)

試みに肺吸虫症を虫卵(+)レ線所見(+), 虫卵(+)レ線所見(-), 虫卵(-)レ線所見(+), 虫卵(-)レ線所見(-)で皮内反応のみ陽性の 4 つの病期にわけて沈降帯の出現率をみると、前二者の症状のものは各々 85.7% (14 例中 12 例), 83.4% (24 例中 20 例) と高率で、一般に虫卵陽性のものはレ線所見の有無に関係なくゲル内沈降反応は高率に陽性反応を呈することが窺われる。一方、虫卵(-)レ線所見(+)のものでは 25.0% (52 例中 13 例), 又虫卵(-)レ線所見(-)で皮内反応のみ陽性のものは 5.8% (325 例中 19 例) で、

Table 3 and 4. Agar-gel double diffusion test of sera in different clinical stage of the infection**Table 3.**

Types of abnormal findings	No. of examined	Positive D. D. test(%)
Infiltrative type	30	13(43.3)
Cystic type	4	3(75.0)
Nodular type	9	3(33.3)
Fibrous type	3	0
Calcification	12	2(16.7)
Pleuritis type	8	4(50.0)
Total	66	25(37.9)
Normal cases	349	39(11.2)

Table 4.

Manifestation	No. of examined	Positive D. D. test(%)
Positive skin test : Egg(-)X-Ray(-)	325	19(5.8)
Egg(+)X-Ray(-)	24	20(83.4)
Egg(+)X-Ray(+)	14	12(85.7)
Egg(-)X-Ray(+)	52	13(25.0)
Total	415	64(15.4)
Negative skin test : Egg(+)	0	0
Egg(-)X-Ray(+)	10	0

いずれも低率ながら明らかな沈降帯の出現を認めた。然しながら皮内反応，虫卵共に陰性の場合には肺吸虫症を疑う胸部レ線所見が得られたものでも10例中1例も沈降帯の出現は認められなかった。(Table 4)

肺吸虫感染血清を用いた寒天ゲル内沈降反応では糸状虫，回虫，肝脛および顎口虫等の他の寄生虫抗原とは類属反応を示さず，肺吸虫抗原に対してのみ特異的に反応することが認められた。

II Bithionolによる治療経過とゲル内反応の推移

11~14才の肺吸虫症患者17名と虫卵陰性でゲル内反応陽性者2名に Bithionol 30mg/kg を一回量として隔日15回投与し治療を行なった。虫卵の消失後6ヶ月迄1ヶ月毎に抗体の推移をゲル内沈降反応のうえから追究した。その結果，治療後の経過と共に沈降帯が消失して行くのが観察された。即ち投薬終了後2ヶ月目に沈降帯の消失したものが17例中1例(5.9%)，3~5ヶ月の間に消失したものが17例中11例(64.7%)であった。然し6ヶ月目も尚沈降帯の残存を認めたものが5例(29.4%)であった。猶，虫卵陰性でゲル内反応陽性者2名についても同様に沈降帯の消失がみられ，1例は2ヶ月目に他の1例は4ヶ月目に消失した。この2例の皮内反応の強さは腫脹差が前者で8mm，後者が12mmで胸部レ線所見はいずれも正常であった。(Table 5) 更にこの経過を免疫電気泳動で検討すると泳動帯の数が次第に減少し遂には消失するが，その順序や残存する沈降帯像の傾向は各血清によって必ずしも一定ではない。

即ちゲル内沈降帯は治療により虫卵が陰性化すれば多くは5ヶ月以内に消失するものが多い。また治療した虫卵陽性者17例のうち4例に治療後2~3ヶ月目に治療前にはみられなかった新しい泳動帯の出現がみられたことは注目される。新しく出現した泳動帯はいずれも，細く鮮明で抗血清側に近く現われ，それから2~3ヶ月後には消失する傾向が窺われる。この治療後の経過中にあらわれる沈降帯の性状やその意義などの詳細は今後更に検討を進めて行きたい。(Fig. 1)

III 感染血清に対する各種抗原の反応

皮内反応陽性の人血清75例のほかに肺吸虫を実験的に感染せしめた虫卵陽性の猫血清7例，及び犬血清20例を加えた102の感染血清に虫体，飼育液及びメタセルカリア抽出液の3種の異った抗原と組合せてゲル内沈降反応を行なった。

a) 虫体抗原

ゲル内二重拡散法により虫体抗原と感染血清との間

に反応を行なうと概ね少なくとも1~4本の鮮明な沈降帯の出現がみられる。その数や強さは各血清によって必ずしも同一ではない。これを免疫電気泳動で観察すると現われる反応帯の数は更に増加し肺吸虫の感染寄生によって多数の抗原抗体反応系の成立が窺われる。又，磷酸緩衝液，pH7.2の寒天ゲル内で形成される泳動帯像の Pattern は概ね全域に及ぶが，なかでも抗原の穴から陰極側，即ち Globulin 域にその数が最も多い。(Fig. 2)

虫体抗原を用いたゲル内反応の陽性率をみると猫血清7例では全例に，犬血清では20例中16例(80.0%)，更に虫卵陽性の人血清では38例中32例(84.2%)の陽性反応を呈した。猶，出現する沈降線の数及び強さを比較すると一般に猫血清が最も多い反応系の成立を示したが，沈降線の強さに於ては人血清の場合と著明な差異は認められない。一方犬血清を用いた成績では前二者に比べいづれも劣る結果を示した。即ち実験的に多量に感染させた動物でも猫と犬では抗原抗体反応系の成立にかなりの相違が認められる。

b) 飼育液抗原

飼育液抗原により出現する沈降帯の強さは同一対象血清に対する虫体抗原のそれと著明な差異はみられないが反応陽性率についてみると，両抗原のいずれか或いは共に陽性反応を示した人血清75例のうち虫体抗原では64例(85.3%)であつたのに比べ飼育液抗原では67例(89.3%)でやゝ高い。又この陽性を示した各症例の沈降線の数についてみると，2本以上出現したものが前者で64.5%(64例中40例)，後者では74.6%(67例中50例)といずれも一般に飼育液抗原により著明な反応がみられる。(Table 6) 猶この両抗原に対する反応は大部分に於て一致するがいづれか一方のみに反応帯の出現を認めたものは虫体抗原で2例，飼育液抗原に5例である。この飼育液抗原に対してのみ陽性反応を示した5例はいずれも虫卵が検出されていない。又，虫卵がでていてもゲル内反応で両抗原共に沈降帯の出現がみられなかったものが6例あつたが，いずれも虫卵数は1~2個で極めて少なく然もそのうちの4例は胸部レ線所見にも異常がなかつた。一方猫及び犬血清では虫体抗原と飼育液抗原に対する反応陽性率の差はみられなかつた。(Fig. 3)

c) メタセルカリア抗原

ウエステルマン肺吸虫のメタセルカリア抽出液によって出現する沈降帯は同一の感染猫血清に対して虫体抗原および飼育液抗原との間に出現する沈降線とは明

Fig. 1 and Table 5. Change of precipitine bands following treatment with Bithionol

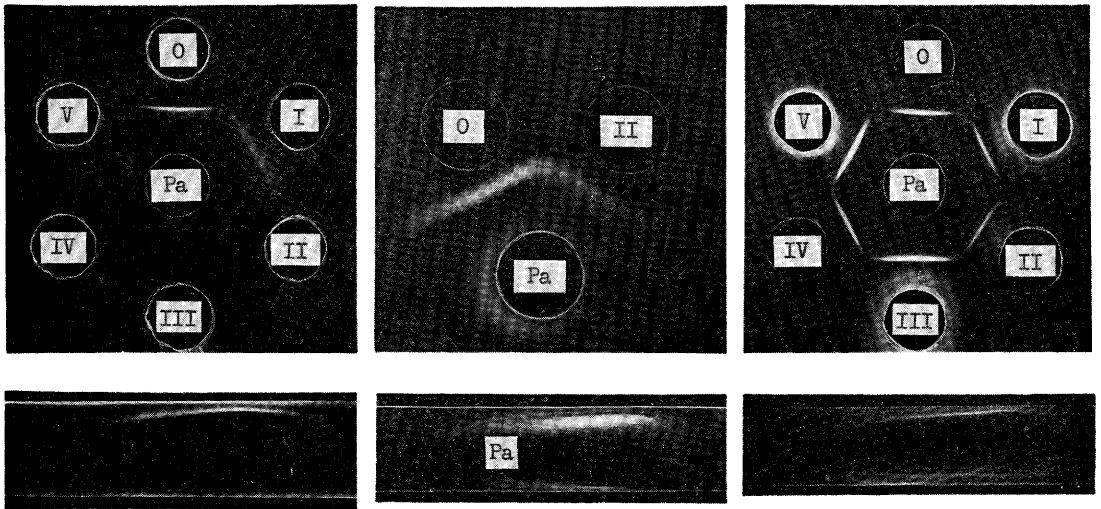


Fig. 1 Agar-gel D. D. test;
 (Pa) : The saline extract of *P. westermanii* adult worm
 (O) : Patients sera before treatment
 (I)-(V) : Serum taken on 1-5 months after treatment
 Immuno-electrophoresis;
 Three examples
 (the upper groove) : Patients sera before treatment
 (the lower groove) : Serum taken on the second month

Table 5.

Months after treatment	1	2	3	4	5	6	No. of examined
No. of disappearance	0	1(1)	8	2(1)	1	*5	17(2)
Per cent	0	5.9	47.0	11.7	5.9	29.4	

() : Egg negative cases before treatment
 * : No. of cases with remaining precipitine bands at 6 months after treatment

らかな交叉および Spurを形成した。即ち中間宿主で发育した幼虫と生体内で成長した成虫あるいはその分泌排泄物との間には明らかに抗原構成の相違が窺われる。尚メタセルカリア抗原を用いた反応帯の出現率は実験的に感染させた猫血清7例では高く全例に強い陽性反応を呈したが、犬血清20例では全例陰性で、患者

を含む皮内反応陽性の人血清では75例中3例(4.0%)に反応を認めたにすぎない。この様にメタセルカリア抗原は他の2種の抗原と比べて陽性反応を示す率が低い。尚この陽性反応はきわめて明瞭な沈降帯として認められるが一般にその数は少ない。(Fig. 4)

Table 6. Comparison of numbers of precipitine bands of worm extract and E.S. antigen in Ouchterlony test

Worm extract	No. of bands	E. S. antigen				Total cases	Per cent
		0	1	2	3 <		
0	6	5	0	0	11	14.7	
1	2	8	13	1	24	32.0	
2	0	2	12	5	19	25.3	
3 <	0	2	7	12	21	28.0	
Total cases	8	17	32	18	75		
Per cent	10.6	22.7	42.7	24.0			

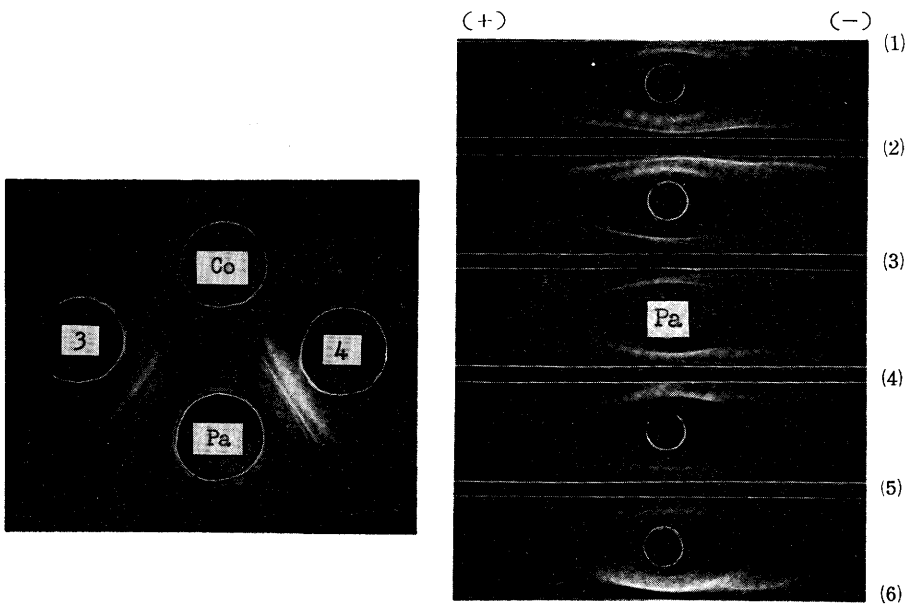


Fig. 2 Agar-gel double diffusion reaction and immunoelectrophoresis in the sera of paragonimiasis patients

(Pa) : Saline extract of adult worms of *P. westermanii*

(1)-(5) : Serum of human paragonimiasis

(6) : Serum of the cat infected with *P. westermanii*

(Co) : Normal serum

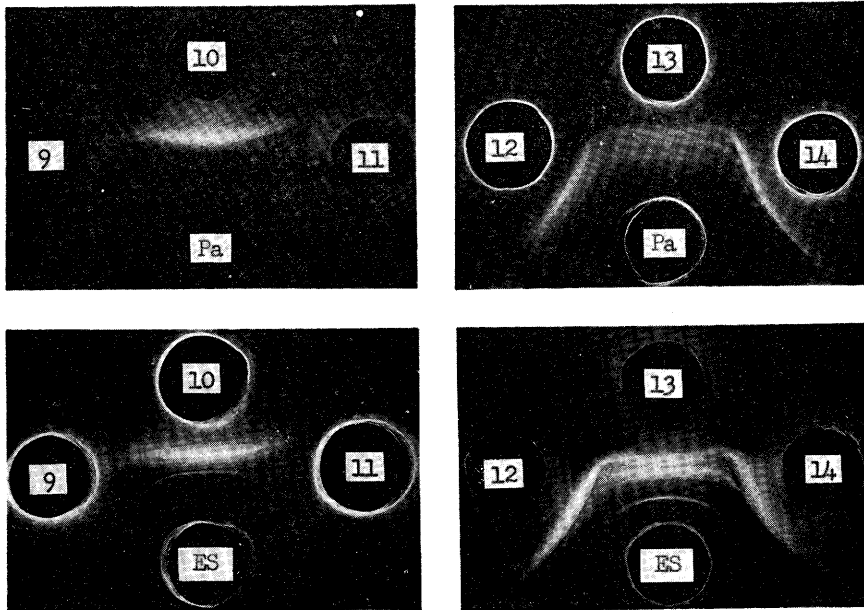


Fig. 3 Precipitine reaction in Ouchterlony test with worm extract and E.S. antigen

Antigen

(Pa) : Adult worm extract of *P. westermanii*

(ES) : E.S. antigen (excretions and secretions)

Anti-serum

(9)-(14) : Human paragonimiasis

(9)-(11) : Egg negative case

(12)-(14) : Egg positive case

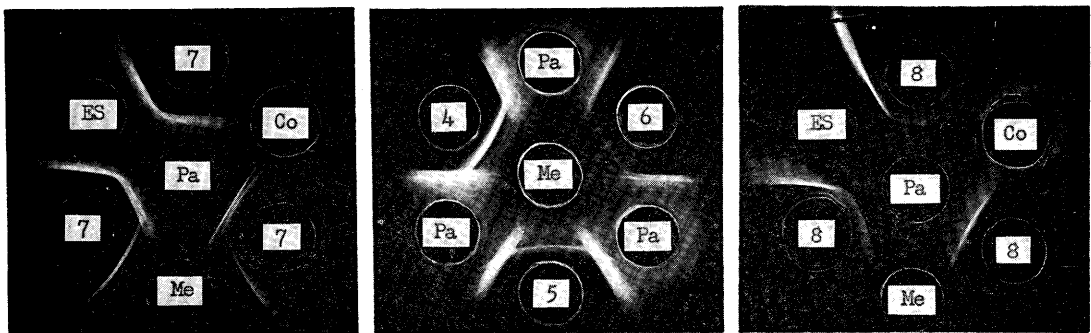


Fig. 4 Precipitine reaction in Ouchterlony test with metacercaria antigen of *P. westermanii*

Antigen

(Pa) : Saline extract of adult worms

(ES) : E.S. antigen (excretions and secretions)

(Me) : Saline extract of metacercaria

Anti-serum

(4)-(7) : Infected cat

(8) : Human paragonimiasis

(C) : Normal serum

総 括 と 考 察

著者は肺吸虫症及び V. B. S. 抗原による皮内反応陽性者を主たる対象としてゲル内沈降反応を行ない幾つかの知見を得た。

1) ウエステルマン肺吸虫抽出液を用いたゲル内沈降反応と V. B. S 皮内反応との関係をみると皮内反応陰性ではX線上肺吸虫症類似の陰影がみとめられたものでも総て陰性に終わっているが、皮内反応陽性者では415名中64名(15.4%)に沈降帯の出現が認められた。また皮内反応陽性者のゲル内沈降反応のかたは概ね皮内反応の強さと比例し、腫脹差10mm以上の強陽性群では38.5%の高率を示し、しかも一般に反応の強さも強く沈降線の数も多い。

皮内反応陽性者のうち虫卵陰性者では377例中32例(8.5%)のゲル内反応陽性率にとどまっているが、虫卵が認められたものでは38例中32例(84.2%)に陽性反応が認められその一致率がきわめて高い。先に横川(1956)は虫卵陽性者の補体結合反応で71名中60名(84.5%)、高野(1960)は196名中159名(81.2%)の陽性率をあげているが、この度びのゲル内沈降反応でも略々同様の成績が得られた。又レ線所見の有無の面からゲル内反応の陽性率をみると有所見群(25.0%)が無所見群(11.1%)に比べてその率が高い。然しながら虫卵も肺吸虫症を思わせるレ線所見もなく、唯皮内反応のみが陽性の325例のうち19例(5.8%)に明らかな沈降帯の出現がみられた。

2) 虫卵陽性者17名を対象として Bithionol による治療(30mg/kg, 15回投与)を行なうと虫卵消失後3~5ヶ月目にその大部分(12例)に沈降帯の消失がみられ反応が陰性化する事実が観察された。殊に虫卵、レ線所見のないゲル内反応陽性者2名でも Bithionol の投与によって同様の経過で反応が陰性化することが確認された。同様のことを高野(1960)も補体結合反応を指標として追究しているが治療によって抗体価が順次低下し治療後5ヶ月迄に35%が陰性化したことを報告している。皮内反応は虫体の生死と関係なく長く陽性反応を持続し過去における感染も併せ表現する様に思われるが、ゲル内沈降反応は治療により虫体が死滅すればすみやかに陰性化し、明らかに本陽性反応は生きた虫体の存在を示す公算が大きい。

殊に虫卵もレ線所見にも異常のないものの中にも陽性反応を示すものが数に於ては少なからず存在し、しかも治療により陰性化する点はきわめて重要と思われ

る。恐らく感染後新しいもの、発育の過程にあるもの、或いは異所寄生の場合などには虫卵が証明されなくてもゲル内反応が陽転化する可能性が想像される。従って本反応は治療を必要とする肺吸虫症現症の有無の診定に、又治療効果の判定に大きな役割を果し得るものと考える。

免疫電気泳動法にて治療経過との関係を詳しくみていくと4例に治療前にはなかった新しい沈降帯の出現が治療後2ヶ月目に認められた。このことは虫体の死滅吸収によって新しく抗原抗体系が形成されたものか或いは虫体の生存中は生体内で抗原抗体複合体として平衡状態にあったものが平衡が崩れた現象として現われたものか想像の域を出ないが興味ある問題である。今後こうした沈降帯の現象について詳しく追究したい考えである。

3) 次に抗原として飼育液を用いた反応をみると患者及び感染動物の血清との間の沈降線の出現率は他の抗原に比して最も高く、然も飼育液のみに陽性を示したものが5例認められた。又沈降線の数に於ても同様の結果が得られた。このことから考えると肺吸虫寄生に際しての抗体産生には虫体の分泌、排泄物がより大きい役割を果していることが想像できる。飼育液および虫体抗原の場合には動物、患者の別なく強い反応を示すが、メタセルカリア抗原に対しては患者血清で沈降帯の出現をみたものは極めて少なく、明瞭ではあるが強さは弱く数も一般に少ない。これに反して感染後5~6ヶ月目の猫血清では全血清にきわめて強い沈降帯が出現し、しかも同一寒天平板上で飼育液、虫体抗原に対して出現する沈降線とは明瞭に交叉し、明らかにメタセルカリア抗原は他の2種抗原とは異なった抗原抗体系の存在を示している。横川ら(1955)も患者に行なっ皮内反応の成績から虫体、飼育液抗原に比してメタセルカリア抗原は活性の劣ることを報告している。著者の実験に用いた猫、犬と患者とはメタセルカリア感染の濃度に於て格段の差があることは事実であるがメタセルカリア抗原による反応がメタセルカリア投与から間もない動物血清に高率に、しかも強く反応し、虫嚢腫を形成した恐らく実験動物に比べて感染後日時の古い患者血清では反応し難いことが想像される。又、沈降帯の性状からみてもメタセルカリアは虫体抗原や飼育液とは抗原活性を示す構成物質に差異があり、虫体発育の段階により抗原抗体系に所謂 Stage speci-

ficity の存在する可能性が窺われる。従って *Meta-cercaria* に特有な反応系が肺吸虫感染の早期診断上

感染に対する抵抗性の成立にどのような意味をもつか更に検討する必要がある。

摘

著者は肺吸虫寄生による免疫現象を解析するため、寒天ゲル内二重拡散法及び免疫電気泳動法を手段として観察を行い次の結果を得た。

1) 肺吸虫感染者血清を用いてのゲル内沈降反応は特異的に陽性反応を呈し、その反応の出方は皮内反応の強さに概ね比例する。

2) 虫卵陽性者は胸部レ線所見の有無に関係なく高率に陽性反応を呈し、一方皮内反応のみ陽性のものにも低率ながら特異的沈降線の出現を認めた。

3) ゲル内反応陽性者のレ線陰影の種類をみると輪状影が最も高率で、次で肋膜病変、浸潤影、結節影の順であった。古い病巣を示すと思われる石灰沈着、索状影は極めて低率であった。

4) 肺吸虫症患者を Bithionol により治療を行な

要

うと、ゲル内沈降反応に於て投薬終了後、概ね3~5ヶ月目に沈降帯の消失が観察された。猶、虫卵陰性でゲル内反応陽性を示した2例に於ても同様の現象がみられた。

5) 4例の患者血清に於て治療後沈降帯が消失する迄の間に治療前には認められなかった新しい沈降帯の出現が免疫電気泳動により観察された。

6) 感染血清に対する虫体抽出抗原、飼育液及びメカセルカリア抽出液のゲル内沈降反応では飼育液抗原が最も優れた反応源性を示した。尚メカセルカリア抗原には他の2種抗原とは異なる極めて特異的な抗原抗体反応系の存在を確認した。

本論文の要旨は昭和42年3月29日、第36回日本寄生虫学会総会において発表した。

文

- 1) Allison, A. C. & Humphrey, J. H. : A Theoretical and Experimental Analysis of Double Diffusion Precipitin Reactions in Gels, and its Application to Characterization of Antigens. *Immunol.* 3, 95-106, 1960.
- 2) 安東洪次 : 感染と免疫, 丸善出版, 1956.
- 3) Canning, G. A. : Precipitin Reaction with Various Tissues of *Ascaris lumbricoides* and Related Helminths. *Amer. Jour. Hyg.* 9 : 207-266, 1929.
- 4) Grabar, P. & Burtin, P. : Immunoelectrophoretic Analysis. Elsevier Publishing Company. New York. 1964.
- 5) 半田忠一 : 蛔虫免疫に関する研究. 3. 体腔液沈降子免疫について, 岐阜医大紀. 6 (4) : 673-678, 1958.
- 6) 伊東仁考 : 肺吸虫症の沈降反応. 寄生虫誌, 5(2) : 69, 1956.
- 7) Kagan, I. G. : Serum Agar Double Diffusion Studies with *Ascaris* Antigens. *Jour. Infect. Dis.* 101 : 11-19 1957.
- 8) Kagan, I. G. : A Review of Immunologic Methods for the Diagnosis of Filariasis. *Jour.*

献

- Parasitol. 49 : 773-798, 1963.
- 9) Kagan, I. G. & Norman, L. : Antigenic Analysis of *Echinococcus* Antigens by Agar Diffusion Techniques. *Amer. Jour. Trop. Med. & Hyg.* 10 : 727-734, 1961.
- 10) 片峰大助, 村上文也, 吉村税, 今井淳一, 山本隆一, 石井洋一 : 長崎県上県郡刈馬町及び熊本県天草郡栖本村住民における肺吸虫感染の実態, 一特に肺吸虫症浸淫地住民の胸部レ線所見について. 長崎大学風土病紀要, 6(2) : 100-108, 1964.
- 11) 木村一郎 : 血清学実験法, 一沈降反応. 蛋白質, 核酸, 酵素. 9 (2) : 51-56, 1964.
- 12) 木村一郎 : 血清学実験法—ゲル内沈降反応—. 蛋白質, 核酸, 酵素. 9(3) : 36-41, 9(4) : 40-46, 1964.
- 13) 木村一郎 : 血清学実験法, 一免疫電気泳動法—. 蛋白質, 核酸, 酵素, 9(5) : 34-40, 1964.
- 14) 国枝篤郎 : 肺吸虫症に関する研究 II, 岐阜医紀要. 4(7) : 753-763, 1957.
- 15) 共立出版社編 : 免疫の生化学. 蛋白質, 核酸, 酵素 (臨時増刊), 11(15) : 1966.
- 16) 万納寺則定 : 大平肺吸虫の免疫学的研究. 医学研究. 22(9) : 1197-1224. 1952.
- 17) 本村主生 : 肺吸虫症に関する研究, 第 I 編, 長崎

- 県に於ける肺吸虫症の分布。長崎大学風土病紀要, 3 (4): 299—310, 1961.
- 18) 本村主生: 肺吸虫症に関する研究, 第II編, 皮内反応陽性者の胸部レ線所見, 長崎大学風土病紀要, 4 (2): 125—134, 1962.
- 19) Munoz, J. & Becker, E. L. : Antigen-Antibody Reaction in Agar. (1) Complexity of Antigen-Antibody System as Demonstrated by a Serum-agar Technique. Jour. Immunol. 65 : 47-58, 1950.
- 20) 及川淳: 免疫化学実験法, 生物学実験講座, 中山書店, 1955.
- 21) Oliver-Gonzalez, J. & Levine, D. M. : Stage Specific Antibodies in Experimental Trichinosis. Amer. Jour. Trop. Med. & Hyg. 11(2) : 241-244, 1962.
- 22) Ouchterlony, O. : Diffusion in Gel Methods for Immunological Analysis. Progr. in Allergy, Basel, 5 : 1-78, 1959.
- 23) Maddison, S. E. : Characterization of Entamoeba Histolytica Antigen-Antibody Reaction by Gel Diffusion. Exper. Parasitol. 16 : 224-235, 1965.
- 24) 高野三郎: 肺吸虫症の免疫学的診断法に関する研究, 寄生虫誌, 9(3): 246—265, 1960
- 25) Thorson R. E. : The Use of Metabolic and Somatic Antigens in the Diagnosis of Helminthic Infections. Amer. Jour. Hyg. (Monographic series) 22, 60-65, 1963.
- 26) 山村雄一, 石坂公成: 免疫化学, 朝倉書店, 1963
- 27) 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(1). 寄生虫誌, 4(3): 276—281, 1955
- 28) 米山克彦: 肺吸虫に関する研究, (I) 肺吸虫症の沈降反応について. 日本衛生誌, 14(5): 104—107, 1959.