

養蚕に関係した気管支喘息の抗原物質に 関する研究(第2報) — 日常遭遇するガ類との交叉抗原性を含め —

群馬大学医学部第一内科教室(主任:七条小次郎教授)

小林節雄 中沢次夫 吉田俊二

(受付: 5月28日, 1971)

はじめに

わが国において広く行なわれている養蚕に関連した職業性吸入性アレルギー喘息のあることはわれわれの教室で発見し報告しているところである。すなわち1つは養蚕時「マユ」を集める作業の時に主として発作をみるもので「まぶし喘息¹⁾」として報告したものであり、他は蚕種を採る時、ガを交尾させ交尾中にこれを引離し雌だけ種紙の上におくという作業をする時に喘息発作をきたすもので「家蚕リン毛喘息²⁾」として報告している。これらはいずれも「キヌ喘息」として従来報告されているものとは異なり絹糸の抽出物を用いては吸入誘発されず、前者はカイコが「マユ」を作る直前に排泄するもので体液の老廃物で尿状のいわゆる熟蚕尿とよばれる排泄物が原因抗原であり、後者はカイコのカから出るリン毛が原因抗原であることを臨床上確かめている。しかしこれらのうち前者のまぶし喘息患者は後者のリン毛抗原で吸入誘発される場合もあるし、またサナギの抽出物によっても誘発可能であつた。このことはこれら抗原物質の間に共通の抗原性の存在を考えせしめた。そこで熟蚕尿、リン毛、サナギ、セリシンを用いてウサギに抗血清を作成し、二重拡散法を使つてそのおのおのの抗原性の異同を検討した。そして沈降反応でみるかぎりでは熟蚕尿、リン毛、サナギの間に共通抗原が存在し、また熟蚕尿およびサナギにはおのおの固有の抗原物質があり、またリン毛には熟蚕尿にはないがサナギ中には存在する抗原物質のあることが確かめられた。ところがセリシンにはこれらとの共通抗原性はまったくみられずこれらと別個のものと考えられた³⁾。そこでさらにこれらの生物学的活性を検討する目的で患者を用いた皮膚反応等の面での検討を行なつた。特に絹糸から得られたセリシンが臨床上比較的抗原性が弱い点から考え、従来報告されてい

る「キヌ喘息」を含めこれら諸物質のヒトに対する抗原性の異同をみることはきわめて興味ある問題である。特に絹糸を得るためには「マユ」を熱湯で処理して取り出す作業が行なわれていることから考え、これら諸物質の熱に対する態度を知る目的でいくつかの実験を試み興味ある成績を得たのでここに報告する。なお臨床上養蚕を行なっていない人にも前述の抗原物質に陽性の皮膚反応を示す例が少なくないことから考え、これら抗原物質が通常のガ類との間にその抗原性において共通のものがあるか否かの検討を試みたので、これらをあわせて報告する。

方法ならびに対象

1. 使用抗原およびその作成法

a) 熟蚕尿抗原, リン毛抗原, サナギ抗原, セリシン抗原については第1報に述べたとおりである。

b) ガ類抗原

群馬県山間部の某町に夏期7~8月に誘蛾灯を設けこれに集まるガを採取した。この中にはスズメガ (*Sphinxidae*) などを含むもので小さなガ類も含まれていたが今回はこれらを一括して扱つた。ガの少量を溜水とともに低温下で blender を用いて約10分間細砕し、これにエーテルを加えてじょうぶんに脱脂し、脱脂したガ成分の約5倍量の生食水を加え4℃で48時間かくはんしながら抽出する。抽出後高速遠沈し(10,000rpm, 10分), その上清をさらに生食水に対し4℃, 24時間透析したものをを用いた。この抗原液中の蛋白量は Lowry 法で測定したところでは0.68mg/mlであつた。

c) 熱処理抗原

熟蚕尿, リン毛, サナギの各上記抗原液の原液5mlづつを56℃, 30分: 56℃, 60分: 80℃, 5分: 100℃,

1分：熱処理を恒温槽中で振盪させながら行なつた。二重拡散法には熱処理原液をそのまま用い、皮内反应用には熱処理後10,000rpm.10分間遠沈し、その上清をLowry法により蛋白量1 $\mu\text{g/ml}$ になるように調整した。なおセリシン抗原は第1報にのべたごとくその作成上煮沸15分間以上をうけておりこの場合の熱処理抗原に相当するのでそのまま用いた。

ウサギ抗血清

第I報にのべた抗血清を用いた。

対象ならびに方法

a) 皮内反応

当科喘息外来患者で「まぶし喘息」と診断された症例のうち無作為的に抽出した9名について上記各種抗原の非熱処理群、熱処理群をそれぞれ0.02ml 皮内注射し15分後に紅斑、膨疹を判定した。

b) Prausnitz-Küstner (PK) 反応中和試験

型のごとく正常健康人の皮内に患者血清0.1ml を4カ所に注射し各種抗原液で惹起反応を試み12~24時間後にこれをくりかえし同一抗原で反応が陰性になつたことを確かめたのち別の抗原を注射し反応を観察した。

c) ウサギ抗血清を用いた二重拡散法 (Ouchterlony 法) による検討

上記各種抗原が熱処理によりその沈降反応に対する抗原性がどのように変化するかについて検討した。また前述のウサギ抗血清に対するガ類抗原についても型のごとく Ouchterlony 法を用いて72時間静置後判定した。

成 績

1. 各種抗原の熱処理による抗原性の変動についての Ouchterlony 法による検討

a) 抗熱蚕尿ウサギ血清を中心に周囲に熱蚕尿熱処理抗原をおいた場合の沈降線：写真1のごとく抗尿ウサギ血清と非熱処理尿抗原との間には4本の沈降線が得られるが56°C, 30分および56°C, 60分処理した抗原との間には2本、80°C, 5分および100°C, 1分との間には沈降線は認められない。すなわち熱蚕尿中の沈降反応を生ずる抗原物質は比較的熱に対して不安定であることを示す。

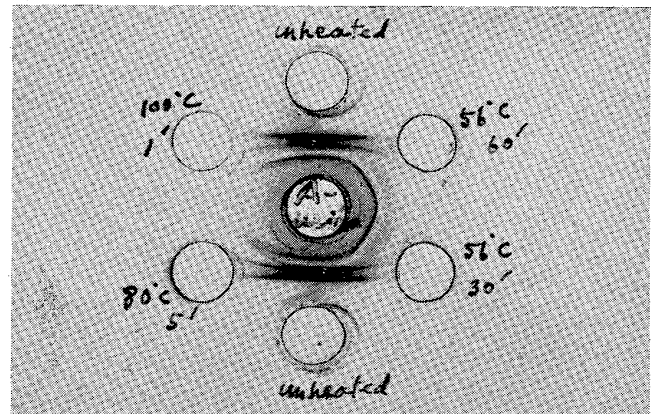


写真1. 抗熱蚕尿ウサギ血清と熱蚕尿熱処理抗原との沈降反応。

A-urine (中央)：抗熱蚕尿ウサギ血清。

Unheated：非熱処理熱蚕尿抗原。

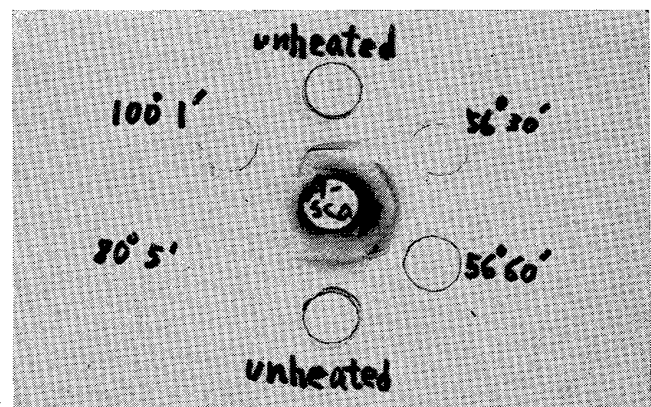


写真2. 抗リン毛ウサギ血清とリン毛熱処理抗原との沈降反応。

A-scale (中央)：抗リン毛ウサギ血清。

Unheated：非熱処理リン毛抗原。

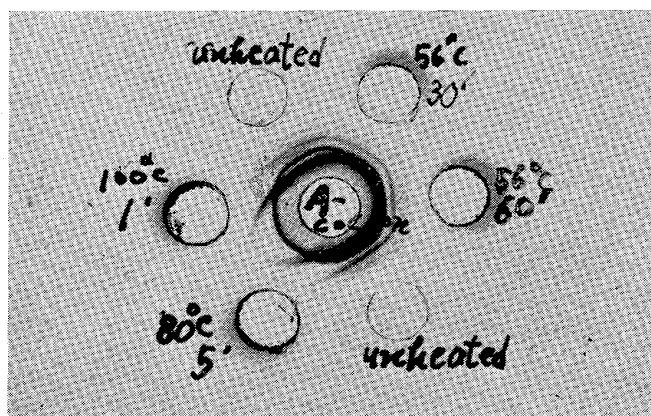


写真3. 抗サナギウサギ血清とサナギ熱処理抗原との沈降反応。

A-cocoon (中央)：抗サナギウサギ血清。

Unheated：非熱処理サナギ抗原。

b) 抗リン毛ウサギ血清とリン毛抗原の場合

写真2のごとく非熱処理リン毛抗原との間には2本の沈降線が認められ56°C, 30分および56°C, 60分熱処理との間には1本, 80°C, 5分および100°C, 1分との間には沈降線は認められない。リン毛抗原も尿抗原と同様比較的易熱性成分が主であることがわかる。

c) 抗サナギウサギ血清とサナギ抗原の場合

「写真3」のごとく非熱処理サナギ抗原との間には4~5本の沈降線が認められ, 56°C, 30分および56°C, 60分熱処理との間にもほとんど同様に4~5本の沈降線が認められる。また80°C, 5分および100°C, 1分との間にも1本明らかに沈降線が残っている。つまりサナギ抗原の場合は易熱性成分の他に耐熱性成分が存在することがわかる。

2. 皮内反応の成績からみた熱処理の抗原性の検討

「まぶし喘息」患者について熱蚕尿, リン毛, サナギ抗

原の非熱処理ならびに熱処理の各種抗原を用い皮内反応を行なった成績を図1, 2, 3に示す。図1は熱蚕尿を用いた皮内反応の結果であるが紅斑・膨疹とも熱処理による影響はほとんどみられない。すなわち前述の沈降反応で示される易熱性の抗原成分は皮内反応にはほとんど関与していないと考えられる。図2はリン毛抗原を用いた場合の皮内反応の結果であるが熱処理により紅斑・膨疹ともむしろ増強する傾向さえみられ, すくなくともこれらの処理により皮膚反応の抗原性の減弱はみられなかった。図3はサナギ抗原の場合であるが, やはり熱処理による抗原性の変化はあきらかでなく, 総じてこれら3種の抗原物質のうち易熱性で沈降反応を陽性ならしめる物質は皮内反応には関与しないようであつた。

3. PK中和試験による抗原性の比較検討

沈降反応でみた場合の熱蚕尿, リン毛, サナギ, セリシンなどの抗原性の異同に関してはすでに第1報でのべた

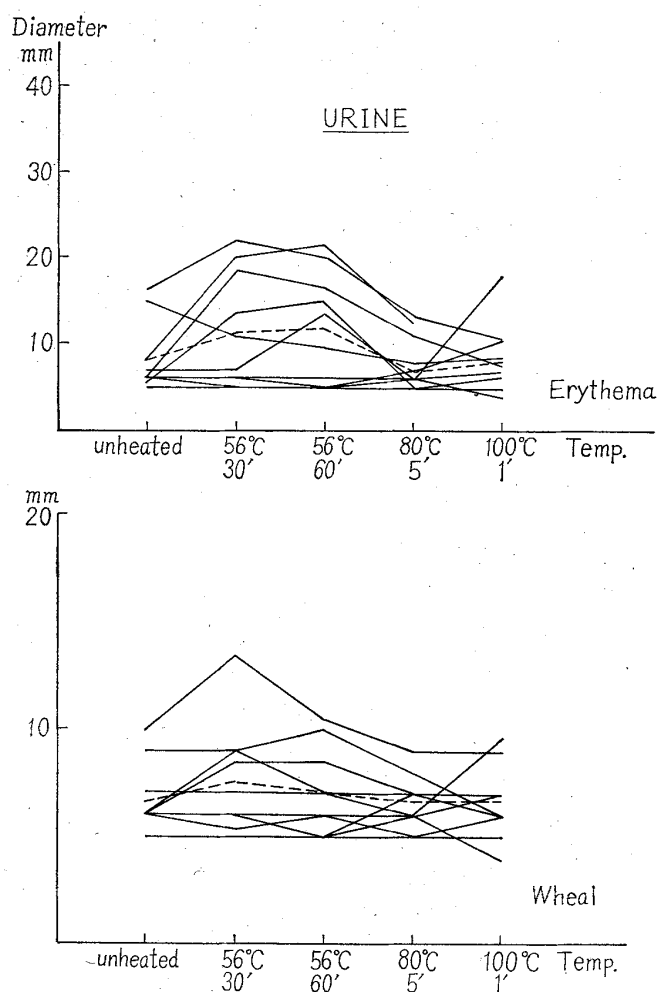


図1. 熱蚕尿熱処理抗原による皮内反応 (蛋白量1 $\mu\text{g/ml}$).

.....平均値 上は紅斑, 下は膨疹を示す。

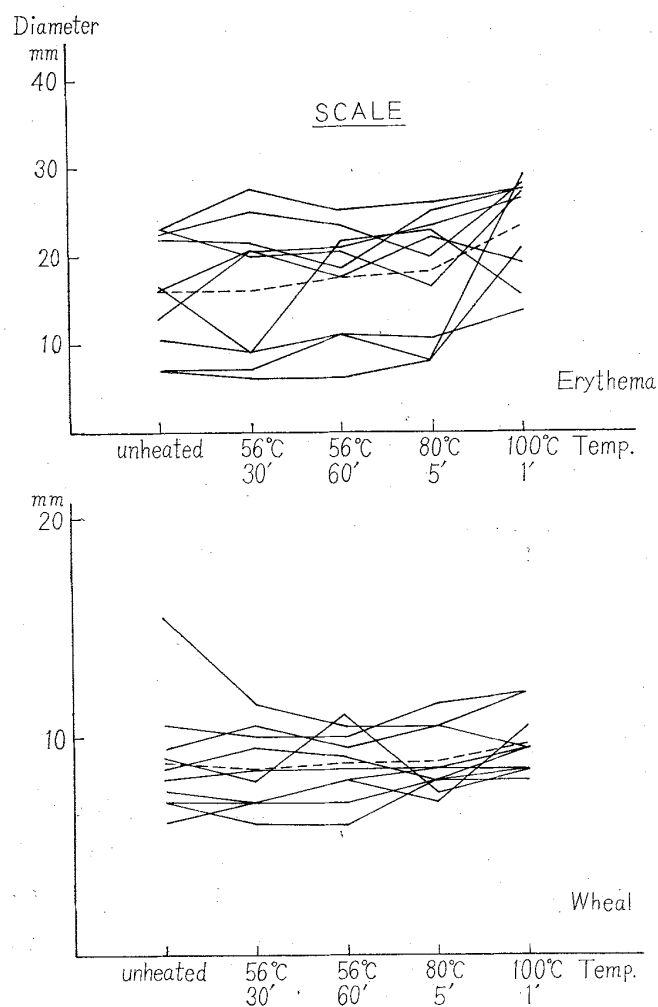


図2. リン毛熱処理抗原による皮内反応 (蛋白量1 $\mu\text{g/ml}$).

.....平均値。

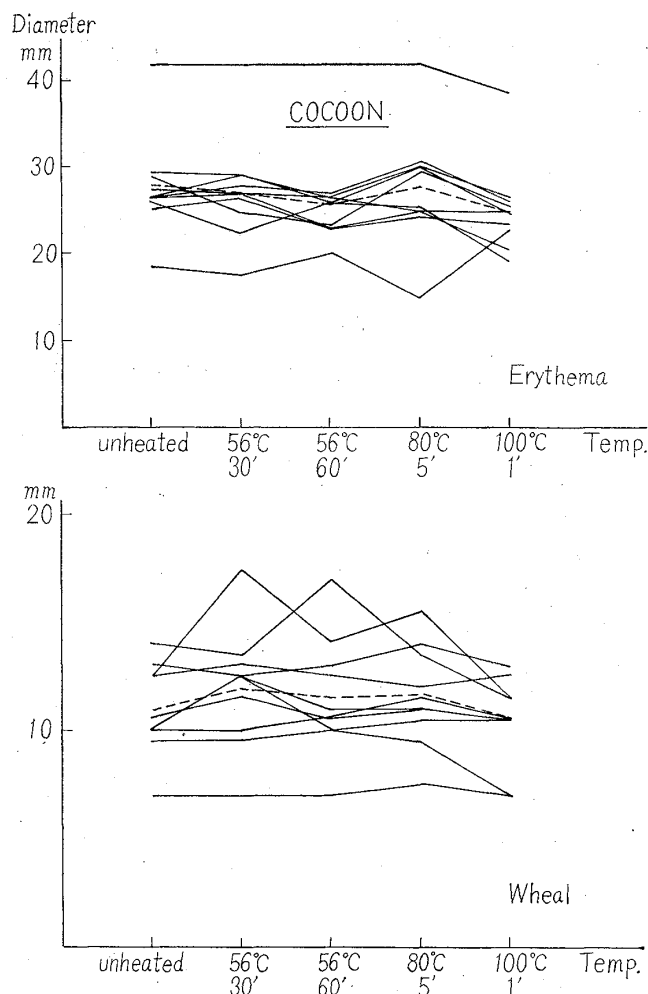


図3. サナギ熱処理抗原による皮内反応（蛋白量 1 μ g/ml）.
..... 平均値.

ところであるが本報告のごとく沈降反応の抗原性と皮内反応に対する抗原性とは明らかに異なっている。したがって沈降反応で認めた抗原性の差異が皮膚反応でもなお示されるか否かをPK反応中和試験で検討したわけである。その結果は表1に示すごとく熟蚕尿抗原で中和後リン毛抗原で惹起反応を試みるとなお明らかに陽性を示し、さらにリン毛抗原にも中和されたことをたしかめたのちサナギ抗原を用いると陽性を示すことを知り得た。ところがリン毛抗原で最初に中和しそのあと熟蚕尿抗原で惹起反応を試みたところでは陽性を示さなかつた。またサナギ抗原で最初に中和しそのあとリン毛および熟蚕尿抗原で惹起しても陰性の成績を得た。

4. 一般ガ類抗原とウサギ抗血清との共通抗原性に関する検討

前述のガ類抗原を中心に、周囲に抗熟蚕尿、抗リン毛、抗サナギ、抗セリシンの各ウサギ血清において Ouch-

表1 PK 中和試験
Neutralization Tests in PK Reaction

Challenge	1st	2nd	3rd	4th	5th
Exp. 1 Ag. PK	Urine ++	Urine —	Scale +	Scale —	Cocoon +
Exp. 2 Ag. PK	Scale ++	Scale —	Urine —		
Exp. 3 Ag. PK	Cocoon +++	Cocoon —	Urine —	Scale —	

Urine : 熟蚕尿抗原.

Scale : リン毛抗原.

Cocoon : サナギ抗原.

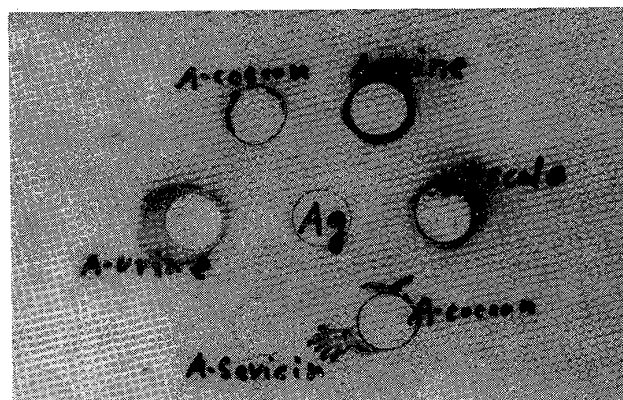


写真4. ガ類抗原（中央）と各種ウサギ抗血清との沈降反応.

Ag: ガ類抗原.

A-urine: 抗尿ウサギ血清.

A-scale: 抗リン毛ウサギ血清.

A-cocoon: 抗サナギウサギ血清.

A-sericin: 抗セリシンウサギ血清.

terlony 法でみると写真4のごとく抗サナギウサギ血清に最も強く沈降線を認めるが、その他抗リン毛、抗熟蚕尿にも沈降線を生じており、ガ類抗原と各種抗血清との間に共通抗原性の存在することを示唆している。

考案

第I報において述べたごとく臨床上ならびにウサギ抗血清を用いた沈降反応系の成績から、熟蚕尿、リン毛、サナギはいずれも共通抗原性の存在が推定され、また反面、熟蚕尿、サナギにはそれぞれ固有の抗原物質の存在

が考えられ、リン毛には熟蚕尿にはない抗原物質の存在が考えられたのである。しかしこれらの異同は患者血清中の抗体との反応性の面ではなお検討しなければならない点が少なくなかつた。一方、従来から問題とされている「キヌ喘息」の抗原物質はセリシンとする説が多いが⁴⁾⁵⁾、反面、Shure⁶⁾らのごとく昆虫としてのカイコの成分の混入ではないかとする説もある。この面で絹糸の生産過程で「マユ」が熱処理を受けるという事実は第1報にのべた諸種抗原物質の中でセリシンのみが熱処理を受けた抗原物質であり他の諸種抗原は熱処理を受けていない。そこでその他の抗原物質の熱処理による抗原性の変化をみたのであるが沈降反応でみるかぎりでは熟蚕尿、リン毛、サナギいずれも比較的易熱性の抗原物質が多いように思われた。ところが皮膚反応でみると皮膚反応活性を示す抗原物質はこれら沈降反応性の物質とは異なり耐熱性であり、その意味では絹糸中にこれら耐熱性のカイコの体成分の抗原物質が残留し、ヒトにキヌ喘息を起こす可能性は否定しきれなかつた。この場合耐熱性成分で皮膚反応を陽性ならしめる成分がセリシンとその抗原性で、共通面を持つているか否かはなお今後の検討を必要とするが、第1報にのべた臨床的誘発試験の成績などからはこのことは考え難いようである。またこの場合皮膚反応を陽性ならしめる抗原物質が熱でまったく変化を受けないものかまたは抗原物質が熱で変性されて皮膚反応活性が増強されて沈降反応活性は消失したものかいずれかの可能性が考えられるがこの点も今後の検討が必要と考えている。しかしすくなくとも熟蚕尿、リン毛、サナギのPK反応でみるかぎりでは、これらは reagin との反応性の面でも、リン毛は熟蚕尿にはなく、サナギはリン毛、熟蚕尿にもない抗原物質をもっているようであり、被検例が少ないので断定はできないが、おそらくわれわれの発見している「まぶし喘息」がリン毛抗原やサナギ抗原で誘発される例があるが家蚕リン毛喘息の症例の大部分は熟蚕尿では誘発されず、リン毛で誘発可能ということと同一の抗原抗体反応を裏づけている事実と思われる。

しかし第1報に述べたごとく、まぶし喘息症例ではリン毛抗原で吸入誘発されない例も確かに存在し、かかる症例の血清を用いたPK反応中和試験をしていないので、今回の結果のみでまぶし喘息の起因抗原物質の断定をすることはできない。

一方、われわれが熟蚕尿、リン毛などで広く当科喘息外来で皮膚反応をみると、明らかに養蚕に従事していな

くてもこれら抗原物質に陽性反応を呈する症例がある。これは前述のキヌ喘息の一種とも考えられるが詳細に問診しても絹糸との関係が明らかでない人がいるがこのような人の場合、日常飛来するガのリン毛、もしくはその体成分による感作の可能性が考えられこれらと養蚕関係の抗原物質との交叉抗原性は興味ある課題でありこの点について検討したわけであるが前述のごとく少なくともウサギ抗血清を用いた沈降反応に関するかぎりではわれわれの作成した熟蚕尿、リン毛、サナギなどとガの体成分とは交叉抗原性を示すことが認められた。したがって、おそらくは日常のガの体成分と養蚕関係の諸種抗原物質とは交叉抗原性を示し、ヒトに喘息症状を惹起する一因をなしているのではないかと推定された。もともとこれら吸入性の昆虫アレルギーは米国では Perlman⁷⁾⁸⁾, Arbesman^{9)~13)}, Shulman¹⁴⁾, Phanichyakarn¹⁵⁾らにより広く研究されているがわが国においてはほとんど調べられていない。わが国でも高温多湿の気候風土と開放的な生活様式から考え、これら空中に浮遊し吸入アレルギーとして働きうる昆虫アレルギーの問題は吸入性アレルギー性呼吸器疾患の研究において今後じゅうぶんに検討しなければならない課題の1つであると考えている。

むすび

養蚕に關係した吸入性アレルギー性喘息の起因抗原物質である熟蚕尿、リン毛、サナギ、セリシンの抗原性について検討を加え、またこれらと一般ガ類(スズメガ等)との交叉抗原性を検討し、次の結論を得た。

1) 熟蚕尿、リン毛の抗原物質は熱処理により大部分の沈降反応活性は失活するが、サナギの一部および、セリシンは沈降反応で耐熱性の抗原性を示していた。しかるに皮膚反応活性は上記4種の、いずれも熱処理で失活しなかつた。すなわち、ウサギ抗血清を用いた沈降反応で示される抗原物質と患者の皮膚反応で示される抗原物質とは明らかに異なつたものであつた。

2) PK反応の中和試験の成績からリン毛には熟蚕尿にない、またサナギにはリン毛および熟蚕尿にもない皮膚反応活性物質が存在することが確かめられた。

3) われわれの作成した家蚕の熟蚕尿、リン毛、サナギに対する抗血清は夏期、日常飛来するスズメガ等と交叉反応性を有することを、沈降反応で確かめ得た。しかるに抗セリシン血清とは反応を示さなかつた。

文 献

- 1) 中沢 精二：北関東医学 10, 497, 1960.
- 2) 大沢 雄二郎：第17回日本アレルギー学会シンポジウム「職業性喘息」, 1967.
- 3) 小林節雄：臨床免疫 2, 447-455, 1970.
- 4) Sheldon, J.M., R.G. and Mathews, K.P.: A manual of clinical allergy, second edition, W.B. Sanders Co, Philadelphia, 454, 1967.
- 5) 松村達雄, 館野幸司, 藤井 均, 由上修三, 木村利定, 戸所正雄, 仁平敬子：小児気管支喘息のアレルゲン診断と特異療法に関する研究. II 絹による吸入性喘息. アレルギー 18, 912-924, 1969.
- 6) Shure, N. and Harris, M.C.: Sensitivity chest diseases, F.A., Davis. Co., Philadelphia, 92, 1964.
- 7) Perlman, F.: Onsets as inhalant allergens. J. Allergy 29, 302-328, 1958.
- 8) Perlman, F.: Insect allergens: Their inter-relationship and differences. J. Allergy 32, 93-101, 1961.
- 9) Rapp, D., Shulman, S. and Arbesman, C.E.: Immunologic studies of the caddis fly. I. Preparation & characterization of extracts. J. Allergy 33, 97-111, 1962.
- 10) Shulman, S., Rapp, D., Bronson, P. and Arbesman, C.E.: Immunologic studies of caddis fly. II. Isolation of the allergenic fractions of caddis fly extracts. J. Allergy 33, 438-447, 1962.
- 11) Shulman, S., Bronson, P. and Arbesman, C.E.: Immunologic studies of caddis fly. III. Physical and chemical characterization of the major antigen. J. Allergy 34, 1-7, 1963.
- 12) Langlois, C., Shulman, S. and Arbesman, C.E.: Immunologic studies of caddis fly. IV. Hemagglutination and gel preparation studies of extracts. J. Allergy 34, 235-241, 1963.
- 13) Langlois, C., Shulman, S. and Arbesman, C.E.: Immunologic studies of caddis fly. V. Cross-reaction with other insects. J. Allergy 34, 385-394, 1963.
- 14) Shulman, S.: Insect allergy: Biochemical and immunological analysis of the allergens. Prog. Allergy 12, 246-317, 1968.
- 15) Phanichyakarn, P., Dockhorn, R.J. and Keikpatrick, C.H.: Asthma due to inhalation of moth flies (Psychoda) J. Allergy 44, 51-58, 1969.

98-(752)

positive reactions were obtained. In provocative inhalation tests using the extract dyspnea and decrease of FEV 1.0 was observed in these two cases.

Studies on Antigenic Substances of Bronchial Asthma in Sericulture

(2nd Report)

Setsuo Kobayashi, Tsugio Nakazawa and Shunji Yoshida

First Department of Internal Medicine, School of Medicine, Gunma University

In previous report, ripe larva urine, scale from moth, cocoon chrysalis and sericin were contributed as the allergens of occupational asthma in sericulture.

The antigenic interrelation among these allergens were investigated in this report. Another attempt was made to compare the antigenicity between above-mentioned antigens and the extracts from ordinary moth. After heating, the antigenicities for precipitations to the rabbit antisera were lost in the ripe larva urine, and in the scale from moth.

Antigenic substances of sericin and of a part of cocoon chrysalis were revealed relative heatstability in the precipitation reactions.

However, the antigenicity proved by skin tests were equally heatstable in above-mentioned four antigens.

Neutralization test of Prausnitz-Küstner showed that the scale has an antigen besides the ripe larva urine, and the cocoon chrysalis also has an antigen besides the scale and the ripe larva urine.

Extract from ordinary moths including Sphingidae observed in summer season of Gunma prefecture was tested to the anti-ripe larva urine, the anti-scale, the anti-cocoon chrysalis and the anti-sericin rabbit antisera in precipitation reactions. The ripe larva urine, the scale and the cocoon chrysalis were shown cross-antigenicity to these moths, whereas the sericin was not.

A Study on "Alunus Japonica" Pollen Asthma

Tamiko Mizutani and Yoko Fujisaki

Department of Pediatrics, Niigata University

(Director: Professor Osamu Kobayashi)

Minoru Baba

Pediatric Clinic, Doai Memorial Hospital

(Director: Doctor Motoyuki Mitsukawa)

Akira Yoshizumi

Sanjo Prefectural Hospital

Abundant distribution of "Alunus japonica" was suspected as a cause of pollen asthma in Niigata district and two typical cases were reported.

1. Pollen of "Alunus japonica" were observed between middle of March and middle of May and the highest number of pollen was observed between the end of April and beginning of May.

2. Positive rate of skin test using 1:1,000 solution were 25.7% (27 cases out of 105) in Niigata district and 11.1% (4 cases out of 36) in Tokyo district respectively.

3. Dilution tests were carried out in 15 cases, and the threshold of the positive reactions were