

〔原 著〕

ホヤ喘息に関する研究

第9報. Dextrose-Phenol 法および Tuberculin

Active Peptide 法により作製した

ホヤ抗原液の使用成績

広島県立広島病院第3内科

城 智彦 折田 良造 浜口 美博

広島県佐伯郡廿日市町

勝 谷 隆

広島市已斐町

大 塚 正

(受付: 6月5日, 1969)

緒 言

抗原液の製法には種々の方法があつて、わが国においては Dextrose-Phenol 法と Hollister-Stier 法によりつくられた抗原液が市販されている。これら製法の異なる抗原液においては、同一の材料より抽出されたエキスであつても、含まれる抗原成分には多少の相異があるのではないかと想像される。そこで、今回は Dextrose-Phenol 法 (DP法と略) ならびに Tuberculin Active Peptide 法 (TAP法と略) により作製した2種類のホヤ抗原液を使用し、抗原液の製法のちがいが皮内反応、結膜反応、Prausnitz-Küstner 反応 (PK反応と略) および減感作療法などにおいて、どのような差を示すかを追及したので報告する。

DP法抗原液 (岩手医科大学アレルギー研究室ならびに鳥居薬品株式会社製) はホヤにDP液 (ブドウ糖45g, 重曹2g, 石炭酸5g, 蒸溜水を加えて1lとしたもの) を加えて抽出し、これを透析、濃縮したもので、広範囲のホヤの抗原成分を含むと思われるのに対し、TAP法抗原液¹⁾ (大阪大学医学部山村内科製) は抽出に際して0.1N HClを使用し、ピクリン酸沈澱、アセトン沈澱、透析という一連の操作により作製されたもので、polypeptide を主成分とする比較的精製された抗原液である。

本研究にあつては、症例はすべてホヤ喘息患者を対象としたが、いうまでもなく、ホヤ喘息は養殖カキやアコヤガイなどに付着するホヤ類の体液成分に感作されて

発生するアレルギー性喘息であつて、本症の患者はホヤより抽出した抗原液に対して過敏反応を呈する²⁾³⁾。

成 績

1. 皮内反応

DP法抗原液は1000倍液を、TAP法抗原液では原末0.05mg/mlを含むものを使用し、いずれも0.02mlを前腕屈側皮内に注射し、生じた紅斑と膨疹を15分後に計測して、紅斑は縦横径の算術平均が20mm以上、膨疹は10mm以上となるものを陽性として判定した。

健常者およびホヤ喘息患者における皮内反応の成績を表1に示した。DP法およびTAP法抗原液は、ともにホヤ喘息患者においてのみ特異的に高い陽性反応を示すことが認められ、皮内反応においては、両抗原液の間に

表1 皮内反応の成績

抗原液の種類			健常者		ホヤ喘息	
			陰性	陽性(%)	陰性	陽性(%)
D P 法		エ ボ ヤ	154	15(8.8)	102	414 (80.2)
		シ ロ ボ ヤ	158	11(6.5)	90	421 (82.4)
		ユウレイボヤ	158	21(11.7)	79	434 (84.6)
T A P 法	内液画分	エ ボ ヤ	55	0(0)	95	82 (46.3)
		シ ロ ボ ヤ	56	0(0)	62	115 (64.7)
		ユウレイボヤ	54	0(0)	75	97 (56.3)
	外液画分	エ ボ ヤ	48	2(4.0)	79	92 (53.8)
		シ ロ ボ ヤ	51	0(0)	62	114 (64.2)
		ユウレイボヤ	45	2(4.3)	72	95 (56.9)

本質的な相違はないものと考えられた。TAP法抗原液は透析により内液画分と外液画分にわけられるが、両者の間には皮内反応の成績からは差をみなかつた。

養殖中のカキやアコヤガイなどに付着するホヤには、エボヤ *Styela clava*, シロボヤ *Styela plicata*, ユウレイボヤ *Ciona intestinalis*, マホヤ *Halocynthia roretzi*, イタボヤ *Botrylloides violaceum* およびネエキボヤ *Leptoclinum mitsukurii* など多くの種類のものがあるが⁴⁾⁵⁾、これらのうち、もっとも普通にみられ、採集も容易なのは、エボヤ、シロボヤおよびユウレイボヤの3種である。私どもは、これら3種のホヤより抗原液を作製し、使用してきたが、皮内反応においては、これら3種の間に陽性率の上では大差をみなかつた。

DP法抗原液、TAP法抗原液ともに、水浴中にて100℃、20分間加熱したのち、再び皮内反応を行なつて加熱前の成績と比較したが、ホヤ抗原液の皮内反応活性は加熱によつて影響をうけなかつた。

2. 結膜反応

DP法抗原液では10倍液を、TAP法抗原液では原末0.5mg/mlのものを使用して結膜反応を実施した。ホヤ抗原液の一滴を点眼し、10～15分後に眼結膜および球結膜の充血、痒痒、流涙、眼瞼の腫脹、浮腫などの有無を検査して、陽性、陰性の判定をした。

表2 結膜反応の成績

抗原液の種類		健常者		ホヤ喘息	
		陰性	陽性(%)	陰性	陽性(%)
DP法	エボヤ	12	0(0)	7	21(75.0)
	シロボヤ	25	0(0)	48	78(61.1)
	ユウレイボヤ	25	0(0)	56	60(65.0)
TAP法	内液画分				
	エボヤ	6	0(0)	15	0(0)
	シロボヤ	5	0(0)	15	3(16.7)
	ユウレイボヤ	6	0(0)	11	0(0)
	外液画分				
	エボヤ	6	0(0)	5	0(0)
	シロボヤ	5	0(0)	17	3(15.0)
	ユウレイボヤ	6	0(0)	5	0(0)

表2に健常者およびホヤ喘息患者における結膜反応の成績を示した。DP法抗原液では、皮内反応の場合と同様に、ホヤ喘息患者においてのみ特異的に高い反応陽性率が認められたが、TAP法抗原液においては、健常者はもちろん、ホヤ喘息患者においても陽性反応を示すものはほとんどみられなかつた。一部の症例では原末5mg/mlのTAP法抗原液による結膜反応も実施したが、結果は同様であつた。なお、エボヤ、シロボヤ、ユウレイボヤの3種のホヤ抗原液の間には、ホヤの種類の違いによる差は明らかでなかつた。

表3 PK反応の成績

抗原液の種類		ホヤ喘息	
		陰性	陽性
DP法	エボヤ	6	9
	シロボヤ	8	16
	ユウレイボヤ	5	10
TAP法	内液画分		
	エボヤ	12	3
	シロボヤ	4	2
	ユウレイボヤ	9	10
	外液画分		
	エボヤ	2	4
	シロボヤ	1	5
	ユウレイボヤ	1	5

3. PK反応

ホヤ喘息患者において、DP法抗原液では1000倍液を、TAP法抗原液では原末0.05mg/mlのものを使用し、型のごとくPK反応を実施した。すなわち、ホヤ喘息患者の血清0.1mlを、ホヤ抗原液に対して皮内反応陰性を示す健常者の前腕屈側に皮内注射しておき、48時間後に、同一部位に上記濃度のホヤ抗原液0.02mlを皮内注射し、生じた紅斑と膨疹を15分後に計測し、皮内反応判定のところでのべたと同じ基準により判定した。

ホヤ喘息患者血清によるPK反応の成績は表3に示したごとくであつた。すなわち、ホヤ喘息患者では、DP法抗原液使用例、TAP法抗原液使用例ともに、皮膚感作抗体の存在を証明できるものが多くみられた。

ホヤの種類の違いによる差は明らかでなく、TAP法抗原液では内液画分と外液画分の間にも差がみられなかつた。

4. 減感作療法の効果

減感作療法の実施方法は、いわゆる川上方式⁶⁾に準じて行なつた。すなわち、原則として1000倍抗原液を用いて治療を開始し、100倍液までは1週間に1～2回、10倍液は1～2週に1回、漸増しつつ抗原液を注射し、効果を認めてからは次第に注射間隔をのばし、数週間に1度の維持療法を実施した。しかしながら、遠方よりの患者で、頻回の来院の困難な症例においては、減感作療法開始当初より2週間に1度の注射を行なつた症例もあり、今回の成績にはこれらの症例も含めた。

ホヤ喘息に対するDP法抗原液による減感作療法の成績を表4に示した。エボヤ抗原液では65例中著効18例、有効29例、無効18例で、有効率は72.3%、シロボヤ抗原液では222例中著効76例、有効96例、無効50例で、有効率は77.5%、ユウレイボヤ抗原液では116例中著効40例、有効54例、無効22例で、有効率は81.0%であつて、これら3種のホヤ抗原液の間には、有効率の上で大差を

表4 DP法抗原液による減感作療法の期間と効果

期間			1ヵ月～	2～	3～	4～	5～	6～	8～	10～	1年～	2～	3～	4～	計	有効率
エボヤ	著効	効	0	2	3	1	1	1	0	1	3	3	3	0	18	72.3
	有効	効	2	6	7	2	1	0	0	1	4	5	1	0	29	
	無効	効	5	7	1	1	0	0	0	1	2	1	0	0	18	
シロボヤ	著効	効	1	8	8	4	2	2	4	2	15	12	12	6	76	77.5
	有効	効	4	12	10	6	8	3	1	1	10	17	20	4	96	
	無効	効	4	11	6	1	3	2	0	2	6	5	9	1	50	
ユウレイ	著効	効	0	4	7	6	3	2	2	0	10	3	3	0	40	81.0
	有効	効	5	3	11	4	8	2	2	1	12	4	2	0	54	
	無効	効	4	6	2	1	0	2	0	0	4	1	2	0	22	

表5 TPA法内液画分抗原液による減感作療法の期間と効果

期間			1ヵ月～	2～	3～	4～	5～	6～	8～	10～	12～	計	有効率
エボヤ	著効	効	0	0	3	1	0	0	0	0	0	4	80.0
	有効	効	1	1	2	0	0	2	1	1	0	8	
	無効	効	0	0	0	0	1	0	2	0	0	3	
シロボヤ	著効	効	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	81.8
	有効	効	0	1	2	0	1	3	1	0	0	8	
	無効	効	0	0	1	0	1	0	0	0	0	2	
ユウレイ	著効	効	0	0	3	0	0	2	1	0	0	6	76.0
	有効	効	0	2	3	5	1	2	0	0	0	13	
	無効	効	0	1	2	0	1	1	0	1	0	6	

表6 TAP法外液画分抗原液による減感作療法の期間と効果

期間			1ヵ月～	2～	3～	4～	5～	6～	8～	10～	12～	計	有効率
エボヤ	著効	効	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	有効	効	0	1	2	1	0	1	0	0	0	5	
	無効	効	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
シロボヤ	著効	効	0	0	0	0	0	1	2	0	0	3	72.7
	有効	効	1	0	0	1	0	3	0	0	0	5	
	無効	効	0	1	0	0	0	2	0	0	0	3	
ユウレイ	著効	効	0	0	0	0	0	0	2	0	0	2	73.3
	有効	効	1	0	3	2	0	2	0	0	1	9	
	無効	効	0	0	3	0	1	0	0	0	0	4	

みなかつた。なお、DP法抗原液全体の有効率は、403例中313例に有効で、77.7%であつた。

表5にTAP法内液画分抗原液による減感作療法の成績を示した。エボヤ抗原液では15例中著効4例、有効8例、無効3例で、有効率は80.0%、シロボヤ抗原液では11例中著効1例、有効8例、無効2例で、有効率は81.8%、ユウレイボヤ抗原液では25例中著効6例、有効13例、無効6例で、有効率は76.0%で、3種のホヤ抗原液

の間には、有効率の上で大差を認めなかつた。内液画分抗原液全体としては、51例中40例に有効で、有効率は78.4%であつた。

TAP法外液画分抗原液による減感作療法の効果を表6に示した。エボヤ抗原液では5例中有効5例、シロボヤ抗原液では11例中著効3例、有効5例、無効3例で、有効率は72.7%、ユウレイボヤ抗原液では15例中著効2例、有効9例、無効4例で、有効率は73.3%であつた。

シロボヤ抗原液とユウレイボヤ抗原液の間には、有効率の上で大差なく、外液画分抗原液全体では、31例中24例に有効で、有効率は77.4%であつた。

減感作療法の開始時より、2週間に1回の注射を実施した症例においては、型のごとく1週間に1～2回注射した症例に比して、有効率ははるかに低率であつたが、⁷⁾このことについては別の機会に報告する。

考 案

異なつた製法による抗原液では、同一の物質より抽出した抗原液であつても、多少とも異なつた内容のエキスをえられると思われるので、本研究においてはD P法抗原液およびT A P法抗原液を使用し、製法のちがいが皮内反応、結膜反応、P K反応および減感作療法などに、どのような影響をおよぼすかを追及して、ホヤの抗原成分を臨床的に検索し、減感作療法の機序の一端を追及しようとした。

皮内反応とP K反応においては、D P法抗原液、T A P法抗原液ともに同じような成績を示したが、皮内反応がP K反応により証明される reagin の活性を反映しているものとすれば、当然の結果といえる。ホヤ抗原液の皮内反応活性が100°C、20分間の加熱、0.1N HCl 処理などによつても失なわれなかつたことから、ホヤの抗原成分はかなり安定した物質であることがうかがわれ、また、T A P法によりえられた蛋白性抗原は、透析による外液画分にも活性を含むところから、分子量も極端に大きなものではないことが考えられる。ホヤの抗原成分については、現在なお追及中であるので、いずれ近い将来あらためて発表の予定である。

ホヤ喘息の患者において、同じ人に、同じ製法によるエボヤ、シロボヤおよびユウレイボヤの3種のホヤ抗原液を用いて皮内反応を実施すると、1種または2種のホヤ抗原液のみに陽性反応を示すものは少なく、大半のものはこれら3種の抗原液のすべてに対して陽性を呈する⁸⁾。このことから、これら3種のホヤは相当広範な共通抗原をもつものと考えられるが、豊島はモルモットによるSchultz Dale反応、吸人感作ついで誘発試験などにより、ホヤ類は種類特異の抗原成分のほか、共通抗原をもつことを証明して報告している⁹⁾。

皮内反応において同じような活性を示したD P法抗原液とT A P法抗原液が、結膜反応においては異なつた成績を示した。すなわち、T A P法抗原液においては結膜反応陽性を示したものは僅少例であつて、それらにおい

てもせいぜい疑陽性ないし弱陽性程度の反応を認める程度であつた。皮内反応と結膜反応における成績の分離は、七条らもこんにやく喘息で認めているが¹⁰⁾、皮内反応を陽性にする抗原成分と結膜反応を陽性にする抗原物質の間には若干のちがひがあり、T A P法抗原液では抗原液製造の過程において、結膜反応を陽性にする抗原成分が失われる可能性も考えられる。

減感作療法においては、D P法抗原液、T A P法抗原液ともに良好の効果を示したが、両者の間には差をみながつた。ことに、含まれる蛋白性物質の分子量の比較的大きいT A P法内液画分抗原液と、分子量の小さい外液画分抗原液の間にも、有効率の上で差をみながつたことは興味のもたれる点であつて、このことから、現在使用されている抗原液は、さらに精製される可能性を残しているといえる。

結 論

ホヤ喘息患者において、製法の異なる2種類のホヤ抗原液(D P法抗原液およびT A P法抗原液)を使用し、次の成績をえた。

1. 皮内反応にあいては、D P法抗原液、T A P法抗原液ともに、ホヤ喘息患者においてのみ特異的に高い陽性反応がみられた。
2. D P法抗原液、T A P法抗原液ともに、100°C、20分間の加熱では皮内反応の活性は失なわれなかつた。
3. 結膜反応においては、D P法抗原液では皮内反応の場合と同様の成績がえられたが、T A P法抗原液ではホヤ喘息の患者においてもほとんどの症例が陰性を示した。
4. ホヤ喘息患者血清によるP K反応においては、D P法抗原液、T A P法抗原液ともに同程度の陽性者がみられた。
5. ホヤ喘息患者に対する減感作療法において、D P法抗原液、T A P法抗原液ともに良好の効果を示し、両者の差はみられなかつた。
6. D P法抗原液、T A P法抗原液ともに、それぞれエボヤ、シロボヤおよびユウレイボヤの3種類のホヤより抗原液を作製したが、ホヤの種類と皮内反応、結膜反応、P K反応の成績または減感作療法の効果の間には、特別の関係を認めなかつた。

稿を終るにあたり、御指導を頂いた恩師岩手医科大学光井庄太郎教授、御校閲を頂いた広島県立広島病院菊地博通院長に深謝いたします。また、抗原液を作つて頂い

た岩手医科大学アレルギー研究室，大阪大学医学部山村内科八倉隆保博士，鳥居薬品株式会社に謝意を表します。

（本論文の要旨は第64回日本内科学会総会において発表した）

文 献

- 1) 八倉隆保：皮内反応抗原の精製と，その臨床的応用，特にブタクサ花粉皮内反応抗原と，肺吸虫症診断用皮内反応抗原について，大阪大学医学雑誌 16, 191, 1964.
- 2) 城智彦：ホヤ喘息，広島県立病院年報，11, 1968.
- 3) 城智彦，勝谷隆，猪子嘉生，大塚正，鹿内喜佐男，高橋睦子，豊島照雄，森川修次：広島県下のかきのむき身業者にみられる喘息様疾患（かきの打ち子喘息）に関する研究，第1報，アレルギー 13, 88, 1964.

- 4) 瀬戸内海の生物相，52，向島臨海実験所，大学印刷株式会社，広島，1963.
- 5) 富山一郎，阿部宗明，時岡隆：原色動物大図鑑Ⅱ，350，北隆館，東京，1958.
- 6) 川上保雄：気管支喘息の治療，特にいわゆる脱感作療法について，臨床の日本 4, 632, 1958.
- 7) 城智彦，勝谷隆，大塚正：職業性喘息の減感作療法（アレルギー投稿中）.
- 8) 城智彦，勝谷隆，大塚正：ホヤ喘息に関する研究，第7報，ホヤ抗原物質の臨床的検索，アレルギー 16, 509, 1967.
- 9) 豊島照雄：カキの打ち子喘息に関する実験的研究，アレルギー 15, 788, 1966.
- 10) 七条小次郎：気管支喘息，日本内科学会雑誌 57, 731, 1968.

ABSTRACTS OF ORIGINALS

Studies on the Sea-squirt Asthma IX. Results obtained from using the Sea-squirt Antigen extracts prepared by Dextrose-Phenol Method and Tuberculin Active Peptide Method

Toshihiko Jyo, Ryoza Orita and Yoshihiro Hamaguchi
Internal Medicine, Hiroshima Prefectural Hiroshima Hospital

Takashi Katsutani

Hatsukaichi-machi, Saeki-gun, Hiroshima-ken

Takashi Otsuka

Koi-machi, Hiroshima-shi, Hiroshima-ken

Two different sea-squirt antigen extracts, one was prepared by Dextrose-Phenol method and others by Tuberculin Active Peptide method, were used in the patients with sea-squirt asthma. Following results were obtained.

- 1) In the cases of intradermal test, extraordinarily high positive rate were observed concerning each kind of the above mentioned extracts only in the patients with sea-squirt asthma.
- 2) The antigenicity of the both kind of antigen extracts were not lost by heating 100°C, 20 minutes.
- 3) In the cases of the conjunctival test, the Dextrose-Phenol method antigen extract showed very high positive rate; whereas, the Tuberculin Active Peptide method antigen extract showed extremely low.
- 4) In the cases of Prausnitz-Küstner test, the percentage of positive rate were almost the same in each kind of the antigen extract.
- 5) Hyposensitization therapy for the patients with sea-squirt asthma using the Dextrose-Phenol method and Tuberculin Active Peptide method antigen extracts were samely effective.
- 6) Sea-squirt antigen extract were prepared from several species of the sea-squirt, but the difference of the species of the sea-squirt were not related with the effect of hyposensitization therapy and the results of the intradermal test, conjunctival test or Prausnitz-Küstner test.

Immunological and Immunohematological Studies on the Congenital Immunological Deficiency Diseases

Takeo Fujimoto

Department of Pediatrics, Faculty of Medicine, Kyushu University, Fukuoka
(Director: Prof. Tokuro Nagayama)

An effort to clear the pathogenesis of the various types of immunological deficiency diseases was carried out, calling upon clinical characteristics, morphological description, genetic considerations and study of measurable functions of the immunologic apparatus. Comparison of these diseases with the animal rendered immunologically incompetent by thymectomy was also made.

The cases under studies were four patients with congenital agammaglobulinemia (Bruton type), three with dysgammaglobulinemia Type I, nine with ataxia telangiectasia and one with Wiskott-Aldrich syndrome.