

蛔虫アレルギーにおける抗原および抗体に関する研究

第11報 PCA 反応による血中蛔虫抗体の証明

群馬大学小児科学教室（主任：松村竜雄教授）

高 橋 良

（普掲受付：7月28日，1961）

さきに教室の黒梅¹⁾²⁾³⁾は蛔虫アレルギーに於ける血中抗体の微細な変動を追求するために、Boyden によつて始められたタンニン酸処理赤血球凝集反応を応用して体腔液感作タンニン酸処理赤血球凝集反応を考案し、本法を用いて実験的蛔虫症のみならず、ヒトの蛔虫症について血中抗体の変動を精細に観察して、蛔虫症が主としてアレルギー反応によることを抗体の面から実証した。さて、Zoltan Ovary⁴⁾はモルモットの皮膚を使用したPCA(passive cutaneous anaphylaxis)反応を考案した。Ovaryは卵白アルブミン、肺炎双球菌Ⅰ型、Ⅱ型、Ⅲ型の多糖体を抗原としてPCA反応を行い陽性の成績を得ている。

今回著者は実験的蛔虫症および無処置自然動物に本法を応用して血中蛔虫抗体の証明を行い、あわせてタンニン酸処理赤血球凝集反応、沈降反応との比較、検討も行ったので、その成績について報告する。

材 料

- 1) 蛔虫体腔液：教室の由上⁵⁾が行つた方法により採取した。
- 2) 蛔虫仔虫包蔵卵：教室の由上⁵⁾の方法に従い、ブタ蛔虫受精卵を、27°Cのフラン器の中で4週間培養して作製した。
- 3) 蛔虫無感染モルモット：教室の松村、由上、細谷⁶⁾の考案になる方法で、母の代から、無感染室内で殺卵せる飼料のみを与えて、飼育されたモルモットである。
- 4) 体腔液感作モルモット：体腔液 1 ml を上記の無感染モルモットの皮下に、1回注射して、感作した。
- 5) 蛔虫感染モルモット：上記の4週間培養した蛔虫仔虫包蔵卵につき、卵中の仔虫の運動を確認した後、無感染モルモットにその約5,000個を経口投与して、感染せしめた。
- 6) 0.5% Evans Blue：循環血液量測定用のものである。

方 法

1) 準備

無感染モルモットの腹部の毛を前日にそつておく。他方、被験血清は生理食塩水で10倍、100倍、1,000倍に稀釈しておく。

2) 実施

血清の原液および生理食塩水稀釈液の 0.1 ml を腹部皮内に注射し、4～6時間後に、前肢を切開して静脈を露出させ、10%体腔液 0.5 ml と 0.5% Evans Blue の等量混合液を静注する。

3) 判定規準

被験血清注射局所の青染の大きさが 5 mm 以上の場合に陽性と判定した。

成 績

1) 無感染モルモットのPCA反応

無感染モルモットの血清につきPCA反応を行つたがすべて陰性であつた。

2) 体腔液によるPCA抗体の吸収試験

PCA反応によつて、検出される抗体が、蛔虫に特異的な抗体であることを証明するため、次の如き吸収試験を行つた。使用した抗体腔液ウサギ血清の抗体価は、沈降素価 10,000 倍、沈降素量16倍、血球凝集素価 40,000 倍、PCA抗体価1,000 倍であつた。この抗体腔液ウサギ血清に体腔液原液を等量加えて混合し37°C 2時間放置し、その後氷室に1昼夜保存した。その結果は抗体は完全に吸収されて反応は陰性となつた。

3) 体腔液感作時におけるPCA抗体価、血球凝集素価および沈降素量の消長

無感染モルモットに体腔液を注射して感作せしめると、感作1週後に、PCA抗体はまだ証明されず、沈降素も証明されなかつたが、血球凝集素は80倍以上に出現した。2週に入り、PCA抗体は初めて1倍と証明された。血球凝集素価は1,280 倍と急激に上昇し、沈降素量も4倍程度に証明された。3週ではPCA抗体価は10倍

表1 体腔液感作モルモットの血中抗体価

		P C A 抗体価	血球凝 集素価	沈降素量
前	1	0	0	0
	2	0	0	0
1 週	1	0	160×	0
	2	0	80×	0
2 週	1	1×	1280×	4×
	2	0	640×	1×
3 週	1	10×	2560×	4×
	2	1×	1280×	1×
4 週	1	1×	1280×	4×
	2	0	640×	1×
5 週	1	0	1280×	2×
	2	0	640×	1×

で最高値を示した。血球凝集素価は2,560 倍の高値を呈し、沈降素量はやはり4 倍であつた。4 週後ではP C A 抗体価は減少または消失したが、血球凝集素価および沈降素量は依然として高値を示した。このように、体腔液でモルモットを感作した場合には、P C A 抗体と血球凝集素および沈降素の間にはある程度の相関々係はあつたが、厳密な意味での量的平行関係は認められなかつた。即ち、感作第1 週においてP C A 抗体および沈降素がまだ証明されぬのに、血球凝集素は80 倍以上出現しており、また感作5 週後では、P C A 抗体は完全に消失したが、血球凝集素価は依然として高価を示し、沈降素も明らかに認められた。P C A 抗体は血球凝集素および沈降素と、その発現、抗体価の変動および消失に関して異なる態度を示していた(表1)。

4) 蛔虫感染時におけるP C A 抗体価の消長

無感染モルモットに蛔虫仔虫包蔵卵約5,000 個を1 回に経口投与して感染せしめたところ、P C A 抗体は1 カ月後に10 倍程度に出現した。血球凝集素価は160 倍以上に出現し、沈降素量は2 倍程度に証明された。1 カ月半後P C A 抗体価は10 倍程度を示していたが、血球凝集素価および沈降素量はすでに減少する傾向を示した。2 カ月後ではP C A 抗体価は100 倍と最高値を示したが、他方血球凝集素価は80 倍程度に減少し、沈降素も減少または消失した。3 カ月後ではP C A 抗体価は10 倍程度と減少した。血球凝集素価はさらに減少し、沈降素は遂に完全に消失した。このように、蛔虫卵をモルモットに感染させた場合にはP C A 抗体価と血球凝集素価および沈降素量との間にはかなりのずれが認められ平行関係は認められなかつた。即ち、感作1 カ月後においてP C A 抗体

は10 倍程度証明され、2 カ月で最高となり、3 カ月で漸く減少した。しかるに血球凝集素価は感作1 カ月後に640 倍程度の最高値を示し、以後は減少を続けた。沈降素量もやはり感作1 カ月で最高値を示し、以後は減少するのみで、3 カ月後にはすでに完全に消失した。P C A 抗体は血球凝集素とは抗体価の変動についてかなり異なる態度を示した。一方沈降素とは抗体価の変動および消失に対して異なる態度を示した(表2)。

表2 蛔虫感作モルモットの血中抗体価

		P C A 抗体価	血球凝 集素価	沈降素量
前	1	0	0	0
	2	0	10×	0
	3	0	0	0
1 月	1	10×	640×	2×
	2	1×	160×	0
	3	1×	320×	1×
1 月半	1	10×	160×	1×
	2	1×	160×	0
	3	10×	80×	1×
2 月	1	100×	80×	1×
	2	10×	80×	0
	3	100×	40×	0
3 月	1	10×	40×	0
	2	1×	80×	0
	3	10×	20×	0

5) 無処置自然モルモットのP C A 抗体

農家で普通に飼育されたまゝの何等特別の前処置を施されないモルモットについて、P C A 反応を行つた。使用したモルモットは農家において、出生後3 乃至5 カ月間飼育されたモルモットである。P C A 反応は53 例につき施行し、うち24 例、45%において陽性であつた。陽性例を抗体価によつて区分すると、1 倍4 例、10 倍4 例、100 倍2 例、10 倍以上9 例、100 倍以上5 例であつた(表3)。無処置自然モルモットにおける本反応が蛔虫に特異的であることを証明するために、抗体腔液ウサギ血清の場合と同様にして吸収試験を行つた結果、完全に吸収された。即ち、この場合にも、本反応が蛔虫に特異的であることが判明した。また、53 例中29 例については、本反応と平行して血球凝集素価も測定した。その結果、反応は29 例中12 例、42%に陽性であり、血球凝集素は10 例、34%において陽性であつた。P C A 抗体と血球凝集素が同時に証明されたものは5 例、17%にすぎなかつた。

表3 無処置自然モルモットにおけるPCA反応

0	1×	10×	100×	100×以上	合計
29例	4	4	2	9	5

表4 無処置自然モルモットにおけるPCA抗体価と血球凝集素価

PCA抗体価	0	1×	10×	100×	100×以上	合計
血球凝集素価						
0	12	2	2	1	2	19
10×	2				1	3
20×	2			1	2	5
40×	1		1			2
合計	17	2	3	2	5	29

(表4).このように、蛔虫自然感染に際して両抗体はそれぞれ異なる抗体として出現してくるようであった。この成績は前述の蛔虫感染モルモットの場合と一致していた。

6) 蛔虫寄生者のPCA反応

糞便内蛔虫卵陽性で、血球凝集素価80乃至320倍の12例についてPCA反応を施行したが、すべて陰性であった。

7) PCA抗体および血球凝集素の温度による影響

前述のごとく、PCA抗体と、血球凝集素とはその消長を異にしておることを知ったので、今回は両抗体の温度による影響を検討した。用いた温度は、56°C、4時間、67°C、30分間の2種であり、加熱は温浴によった。なお使用した血清は蛔虫感染モルモットの血清で、PCA抗体価100倍、血球凝集素価80倍のものである。

i) 56°C、4時間加熱の場合、PCA抗体および血球凝集素価はともに全く影響されなかった。

ii) 67°C、30分間加熱の場合、PCA抗体は全く消失した。他方血球凝集素価には変化がなかった。この成績からPCA抗体は67°C30分間の加熱によつて破壊される抗体であり、血球凝集素とは温度に対する態度において異なることが判明した。

総括並びに考按

PCA反応は1948年 Zoltan Ovary によつて完成されたものである。鋭敏な抗体証明法であつて、かなり広く応用されている。Ovary はまず、卵白アルブミン、肺炎双球菌Ⅰ型、Ⅱ型、Ⅳ型菌の多糖体、ウシ血清等を抗原としてPCA反応を行なっている。更に臨床例ではチフス、マルタ熱、結核、血清病等に本反応を行い、陽性の成績を得ている。ワツセルマン反応強陽性者でも本

反応が陽性となるという。しかし、Ovary はヒトの血清が必ずしもモルモットの皮膚を感作してPCA反応をおこすとはかぎらないと述べ、例えばCocaのいうanopic reaginはモルモットの皮膚を感作しないようであるといっている。

寄生虫学の領域、特に蛔虫症について本反応を行つた報告はまだ見られないようである。著者は、教室で特殊の工夫をして飼育している無感染モルモットを使用することにより、蛔虫体腔液感動物、蛔虫感染動物および無処置自然動物について本反応を行い、蛔虫に対するPCA抗体を証明し、その性状、蛔虫症における役割について述べた。

1) 実験動物について、蛔虫PCA反応を行うに当つては蛔虫無感染モルモットを使用した。蛔虫PCA反応においては抗原として体腔液を用い、これを静注するため、実験に使用するモルモットはかなり大量の体腔液の静注によつても死亡しない無感染モルモットであることが是非とも必要であつた。それ故、著者の教室において特殊な工夫によつて飼育した無感染モルモットを使用した。もし、蛔虫に対して種々の程度に感作されている自然動物を使用した場合には、局所皮膚アナフィラキシーをおこす前に全身アナフィラキシーを惹起して、PCA反応は惹起されないか、あるいは得られる成績が一定しないであろうことは容易に想像されるところである。

2) 特異性について、PCA反応は無感染モルモットの血清ではすべて陰性であつた。つぎに、PCA反応陽性血清について体腔液による吸収試験を行つた場合に、PCA抗体は蛔虫体腔液の原液の等量添加によつて完全に吸収された。これらの事実から本反応は蛔虫に特異的であることが立証されたと思われる。

3) 抗体の性状について、今回の実験においてPCA抗体は、沈降素および血球凝集素と比較して、その消長において明らかに異なる態度を示すことを知った。続いて行なつた温度の影響による実験では67°C30分間の加熱によつて破壊される抗体であり、この点においても血球凝集素とは異つた抗体であることが判明した。

4) 無処置自然動物におけるPCA反応

無処置自然モルモット53例中24例、45%に血中蛔虫PCA抗体を証明した。しかもかなり高値を示すものが多数認められた。この成績は黒梅²⁾が血球凝集素価の測定を行つたときの成績と同様の傾向を示していた。この成績は飼育中に蛔虫によつて感作されていることの新しい証明となるものである。この場合においてPCA抗体と

血球凝集素が同時に証明された場合は少なく、PCA抗体と血球凝集素とは異なる抗体として出現してくるようであった。

結 語

PCA (Passive Cutaneous Anaphylaxis) 反応を蛔虫感染に応用して血中蛔虫PCA抗体の検索を行い、次の如き結果を得た。

- 1) 蛔虫無感染モルモットを蛔虫体腔液で感作すると、PCA抗体は3週で最高(10倍)に達し、5週で消失した。
- 2) 無感染モルモットに蛔虫卵約5,000コを1回に経口投与して感染せしめると、PCA抗体価は感染後2カ月で最高(100倍)となり以後減少する傾向を示した。
- 3) PCA抗体価の消長は血球凝集素および沈降素の消長とは必ずしも平行せず、PCA抗体は血球凝集素および沈降素とは異なる抗体と思われる。
- 4) 本反応の特異性は、抗体腔液ウサギ血清の吸収試験によつて証明された。
- 5) 本反応によつて証明された抗体の温度による影響について実験を行った結果、67°C30分の加熱によつて破

壊されることを知った。

- 6) 無処置自然モルモット53例中24例、45%において本反応が陽性を示し、これらが多かれ少なかれ蛔虫感染を受けていることを、再び証明し得た。

稿を終るに臨み、御懇篤なる御指導と御校閲を賜った恩師松村教授に深く感謝します。また御援助、御助言を戴いた本教室黒梅博士に感謝します。

(本論文の要旨の一部は昭和32年9月第17回日本寄生虫学会東日本支部大会および昭和36年4月第30回日本寄生虫学会総会に報告した)。

文 献

- 1) 黒梅恭芳：アレルギー，8(1)，17，1959.
- 2) 黒梅恭芳：アレルギー，8(4)，358，1959.
- 3) 黒梅恭芳：アレルギー，8(5)，445，1959.
- 4) Zoltan Ovary: Immediate Reactions in the Skin of Experimental Animals Provoked by Antibody-Antigen Interaction. Progress in Allergy, Vol. V 1956.
- 5) 由上修三：アレルギー，8(1)，1，1959.
- 6) 松村龍雄，由上修三，細谷省三：アレルギー，5(3)，183，1956.

Demonstration of Circulating Ascaris Antibody by PCA Reaction in Guinea pigs

Ryo Takahashi

Department of Pediatrics (Chief Prof. Tatsuo Matsumura),
School of Medicine Gunma University

With the purpose to trace the change of circulating antibody titer in ascaris allergy, Kuroume of this department previously applied the tanned cell agglutination technique which was, initiated by Boyden, and reported that an observable change in circulating antibody titer had been recognized not only in experimental but also in human ascariasis.

Zoltan Ovary devised PCA (passive cutaneous anaphylaxis) using guinea pig skin, and found it positive for egg albumin and polysaccharide of *Diplococcus pneumoniae*. This is a test of interest for antibodies, but nevertheless have not be applied in the field of parasitology. The author applied this test for ascariasis, and demonstrated circulating ascaris PCA antibody in ascaris-infected and ascaris body fluid-sensitized guinea pigs and also in animals bred in farmer's house without any precautions. And the author investigated relation among results of this test, tanned cell hemagglutination and precipitation.

As the ascaris body fluid is used as the antigen intravenously in this animal experiment, for intravenous injection, it is of utmost necessity that guinea pigs must be non-infected, and to survive intravenous injection of a considerably large dose of the ascaris body fluid. On this account, the author used animals which were bred by special breeding method devised by this department in which animals are kept free from ascaris infection. Sera to be tested, either original or saline dilution, were intracutaneously injected in the abdomen in a dose of 0.1 ml., and after 4-6 hours, a mixture of each 0.5 ml of 10% body fluid and 0.5% Evans blue was intravenously injected. Other 15 minutes later, the site of the serum injection was examined, and when the diameter of blue staining was over 5 mm, the reaction was evaluated as positive. Results of the experiment in which the antibody absorbed completely by adding the same volume of the ascaris body fluid or the serum from non-infected guinea pig was used, was always negative. It is therefore, assumed that this reaction might be specific to ascaris.

When non-infected guinea pigs were sensitized by single injection of 1 ml/body fluid, level of PCA antibody titer was proved to become to the highest after 3 weeks. In the experiment in which 5,000 ascaris ova were orally given at one time to non-infected guinea pigs, the level of the antibody became highest after 2 months.

PCA antibody titer did not always change in parallel with titers of the hemagglutinin and precipitin, and therefore the former is considered to be different from the latter. Experiment for thermostability revealed that PCA antibody was destroyed by heating at 67°C for 30 minutes. And out of 53 guinea pigs, which were bred without any precautions, 24 (45%) were positive in this reaction. From the results, it was thought that naturally bred guinea pigs in Japan might be infected with ascaris in variable grade.
