

〔集 会〕

室内塵及び各種抗原の抽出法 並に力価の比較

アレルギー研究会(座長: 東大教授 大島良雄)

この研究はアレルギー研究会各研究機関の研究者によつて行われた。機関名及び研究者は次の通りである。

北海道大学真下内科 真下 啓明, 堀内 淑彦
 岩手大学 光井内科 光井庄太郎, 佐々木高之輔
 東北大学 中村内科 中村 隆, 小野 康夫
 群馬大学 七条内科 七条小次郎, 小林 節雄, 笛木 隆三
 群馬大学 小児科 松村 龍雄, 黒梅 恭芳, 館野 幸司
 東京大学 物療内科 大島 良雄, 石崎 達, 梶野 宗幹
 東京大学 皮膚科 川村 太郎, 木下 正子
 昭和大学 川上内科 川上 保雄, 高橋 昭三
 横浜市立大学 皮膚科 野口 義国, 平井 義雄, 吉田 貞夫
 相模原アレルギーセンター 杉田 和春,
 名古屋大学日比野内科 日比野 進, 伊藤 和彦, 岩倉 盈
 名古屋大学日比野小児科 久徳 重盛, 鳥居 新平
 京都大学 中央検査室 富田 仁
 大阪大学 山村内科 山村 雄一, 熊谷 朗, 八倉 隆保
 大阪市立大学 小児科 高井 俊夫, 安藤 格
 大阪市立大学 塩田内科 塩田 憲三, 浜田 朝夫, 三谷 健治
 神戸大学 辻内科 辻 昇三, 酒井 瑛
 広島大学 和田内科 和田 直, 西本 幸男, 中島 武嗣
 九州大学 皮膚科 樋口謙太郎, 旭 正一, 松村 武正
 九州大学 小児科 永山 徳郎, 田中 一, 松田健一郎
 熊本大学河盛内科 河盛 勇造 安武 敏明

緒 言

市販の皮内反応用室内塵抗原(ハウスダスト)及び各種抗原液は従来 Unger¹⁾ の dextrose phenol 溶液抽出法により作成され, 0.5% phenol を含む生理的食塩水で稀釈されたものが使用されてきた。濃度は乾燥原料から計算して, $1,000 \times W/V$ 溶液が使われ, ハウスダストについては各ロットに石崎²⁾ の閾直法による力価検定が行われてきた。また市販スクラッチ抗原液は50%グリセリン食塩溶液が用いられている。

今回, 新たに抗原液が試製され, これと上記の市販抗原液との力価比較が行なわれたのでここに報告する。新抗原液は50%グリセリン食塩溶液(グリセリン50%, NaCl 5%)で抽出され, 緩衝食塩溶液(KH_2PO_4 , 0.04%, Na_2HPO_4 , 0.07%, NaCl 0.5%, フェノール 0.5%)にて 100 PNU/ml 及び 500 PNU/ml に稀釈されたものである。100 PNU は $1 \mu\text{g}$ protein nitrogen を示す。ただしハウスダストはその特殊性のため, 新抗原液にても緩衝食塩溶液で抽出し PNU でなく $1,000 \times$ の表示を用いた。

研科対象と研究方法

1. 対象 各研究機関で治療中の気管支喘息, 蕁麻疹, その他のアレルギー疾患患者であるが, 研究の目的がアレルギーの力価検討にあるため, 全機関の成績を一括して集計検討を行つた。被検対象はハウスダスト 347 人, 10種の抗原液は 100人以上, その他の抗原液の大部分は数十名である。

2. 材料 ハウスダストを始めとする吸入抗原24種, 食品抗原39種につき市販の従来品(1000 $\times$), 新抗原液 100 PNU/ml, 500 PNU/ml 及びスクラッチ抗原液(1:10, 花粉類は1:20)の4種を比較した。

3. 研究方法 検定はすべて同一人に同時に行つて始めて力価比較が可能である。そこで従来品を対照とし新

表1 判定基準即時皮内反応陽性判定基準

	反 応
陰 性 (一)	膨疹 0～5 mm, 発赤 0～9 mm
疑陽性 (±)	膨疹 6～8 mm, 或は発赤10～19 mm
陽 性 (十)	膨疹 9～15 mm, 或は発赤20～40 mm
強陽性 (++)	膨疹15 mm以上或は発赤40 mm以上偽足形成, 痒感あり

註：膨疹，発赤のどちらか一方で満足すれば陽性と判定する。

疑陽性，強陽性は経験的な分類である。

抗原液及びスクラッチ抗原液を同一人につき試験した。皮内反応に関しては，注射液量を0.02 ml，判定時間を15分，判定基準は石崎³⁾の方法により膨疹直径9 mm或は発赤20 mmの限界をいずれか越したものを陽性とした。但し膨疹9 mm附近でも全く発赤のないものは陰性とした。表1判定基準参照。

ハウスダスト抗原では抗原液の倍々で積系列を同一患者に注射して陽性反応閾値²⁾をしらべ，従来品と新抗原液の比較を行った。

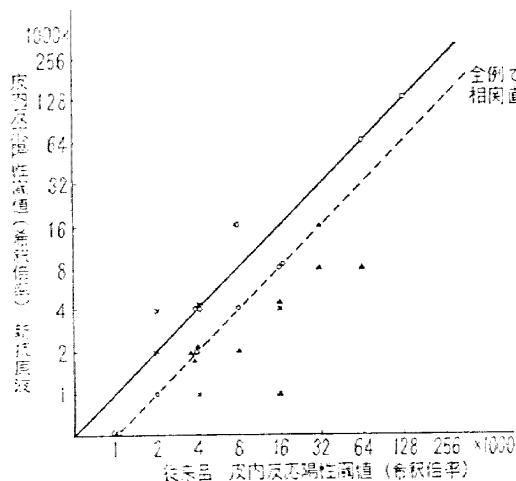
研究成績と考按

1. 閾値法によるハウスダスト力価検定

理論：従来品と新抗原液の力価が等価ならば，同一者では同一の閾値を示すはずである。そこで横軸に従来品，縦軸に新抗原液による閾値（この場合稀釈率の対数をとる）をとった相関図を書いてみると各患者の閾値は，両抗原液が等価ならば原点を通る45°線上にならばはずである。ところが稀釈率は連続ではなく，患者の反応

図1 閾値法によるハウスダストの従来品と新抗原液の力価比較。

(東大物内 (○), 北大真内 (×), 相模アレ(▲))



準備状態，反応実施法や判定の誤差などにより実測値は必ずしも等しくない45°線を中心としてバラツキを示す。

いま従来品の半分の力価のエキスの閾値をしらべたとすると，その抗原液の閾値はすべて従来品の該当閾値の半分にではすなわ，バラツキの中心線は矢張り45°線を作り，原点を通る45°線（等価の場合の線）と平行な線のまわりにならび，この際この線は原点を通らず横軸の $\frac{1}{2}$ （対数では $\log 0.5$ ）の点を切ることになる（図1参照）。

このようにして作図後，坐標軸の移動の程度から従来品と新抗原液の力価の差がわかるはずである。計算は次の通りである。

x = 従来品の閾値（稀釈倍率）の対数， y = 新抗原液の閾値の対数， $x - y = a$ とすると

$$x \text{ と } y \text{ が等価なれば } \Sigma (x - y) = \Sigma a \approx 0$$

$x \neq y$ なので $\frac{\Sigma a}{n}$ は閾値の45°線が横軸を切る位置を

あらわす。 $\frac{\Sigma a}{n} = \log A$ の A を求めれば従来品と新抗原液の力価の比が求められる。

作図による従来品と新抗原液の力価は図1および第2表のように従来品/新抗原液の力価比は東大物療内科1.32，北大真下内科1.52，相模原アレルギーセンター3.68であつた。全例合計では従来品/新抗原液力価比は

表2 閾値法によるハウスダストの従来品と新抗原液の力価比較

	倍々系列				5倍系列	10倍系列	
	東大物内	北大真内	相模アレ	合計	昭和大川内	阪市大塩内	岩大光内
例 数	12	5	9	26	20	3	5
従来品/新抗原液力価比	1.32	1.52	3.68	2.0	1.18	2.0	1.6

2.0であつた。すなわち新抗原液は従来品の $\frac{1}{2}$ の力価ということになる。

昭和大川上内科では5倍稀釈，大阪市大塩田内科，岩手大光井内科は10倍稀釈で力価を検討した。それらを表にすると表2のようになる。

2. 閾値比較によらない力価検定

理論：表1により皮膚反応のうち陰性のものを更に疑陽性（±）と陰性に分類して反応を3階級にわけた。同一対照群におけるA抗原とB抗原の反応の相関表を作ると表3のようになる。

AとBが全く相関がなければa～iまでの9欄は全く

表3 相関表模型

$\gamma = +1.0$			$\gamma = 0$		
A	O	O	a	d	e
O	B	O	g	b	f
O	O	C	h	i	c

$\gamma = +0.x$ 新抗原液			$\gamma = 0.y$ 新抗原液		
A'	O	O	A''	d	e
g	B'	O	O	B''	f
h	i	C'	O	O	C''

従来品 > 新抗原液 従来品 > 新抗原液

でたらしめの値をとる ($\gamma = 0$). AとBが全く同一の力価であれば a,b,c に測定値が入るが d,e,f,g,h,i 欄は理論的には零である ($\gamma = 1.0$). その中間程度の相関のあるとき, 皮膚反応には閾値現象があるので, 閾値付近ではある抗原液では反応陽性となるが他の抗原液では陰性と判定されることがあり, そのため従来品 > 新抗原液或は従来品 < 新抗原液の力価の場合前者では d,e,f に数値がでる可能性は少く後者では g,h,i が空欄となる傾向が大きいであろう.

1) 全数に対する a+b+c の合計%は両抗原反応の一致率である. 2) d+e+f と g+h+i の大小を比較することで両者のどちらかが力価が高いか (定性的) がわかる. 3) e+h は一方が陽性で他方が陰性だから

表4 ハウスダストの従来品と新抗原液の力価比較表 (全国集計)

	新抗原液			
	—	±	+	
—	129 (37.2)	6 (1.7)	8 (2.3)	143 (41.2)
±	28 (8.1)	28 (8.1)	14 (4.0)	70 (20.2)
+	24 (6.9)	19 (5.5)	91 (26.2)	134 (38.6)
	181 (52.2)	53 (15.3)	113 (32.5)	347 (100.0)

() は各パーセントを示す.

不一致度を表わす.

成績

(1) ハウスダスト. 皮内反応 347例の集計による相関表は表4の通りである. この表から上記一致率, 不一致率

表5 各種抗原液力価検定結果 (1) 吸入抗原

		従来品: 新抗原液 100 PNu/ml		従来品: 新抗原液 500 PNu/ml		* 従来品 力価	従来品: スクラツ チ	
		例数	一致 度	例数	一致 度		例数	一致 度
花 粉 抗 原	ブタクサ	315	±	191	+	大	76	+
	スギ	122	—	46	±	中	28	+
	アカマツ	176	+	155	±	中	43	+
	クロマツ	123	+	68	+	中	44	±
	カモガヤ	74	+	35	+	中		
	ヒメガマ	52	±	43	±	中		
	ハウレンソウ	60	+	41	±	100 PNu	15	+
	カナムグラ	44	+	17	+	中		
	ススキ	2	+					
維 線 類 そ の 他 の 吸 入 抗 原	ムギワラ	29	±	21	+	100 PNu		
	イネワラ	29	±	22	+	100 "		
	ソバガラ	82	+	36	±	中	29	±
	モミガラ	22	+	20	+	中		
	茶ガラ	8	—	8	±	?		
	タタミ	80	+	47	+	中		
	パンヤ	21	+	9	±	500 PNu		
	アサ布	23	+	21	+	中		
	イヌ毛	64	+	43	±	100 PNu	10	+
	ネコ毛	75	+	43	+	中	25	+
	羊毛	66	+	34	+	中	25	+
	ニワトリ羽毛	14	+	14	+	中		
	ウサギ毛	4	+	4	±	100 PNu		
	キヌ	41	+	13	±	100 "	10	±
	ワタ	72	±	38	+	中		

* 大: 従来品の力価が新抗原液 500PNu/ml より大

中: 従来品の力価が新抗原液の 100 PNu/ml と 500 PNu/ml の中間

100 PNu: 従来品の力価が新抗原液の 100 PNu/ml と等しい

500 PNu: 従来品の力価が新抗原液の 500 PNu/ml と等しい.

表6 各種抗原液力価検定結果 (2)動物性食品抗原

	従来品： 新抗原液 100 PNu/ml		従来品： 新抗原液 500 PNu/ml		従来品力価 *	従来品： スクラツ チ	
	例数	一致 度	例数	一致 度		例数	一致 度
卵	99	+	40	+	中	50	+
卵黄	122	+	90	+	中	10	+
卵白	100	+	97	+	中	10	+
牛乳	108	+	63	±	100 PNu	37	+
脱脂粉乳	10	+				10	+
牛肉	54	+	30	+	中	24	+
豚肉	92	+	29	+	中	38	+
トリ肉	20	+	10	+	中	10	+
エビ	57	+	31	±	中	19	+
カニ	103	+	18	±	中	24	+
イカ	5	+	5	+	中		
サバ	42	+	32	+	中	10	+
サンマ	28	+	14	±	100 PNu	14	+
マグロ	44	+	25	+	中		
タラ	19	+	5	+	中		
カツオ	15	+	5	+	中	10	+
イワシ	9	+	9	+	中		
アジ	29	+	29	+	中		
サケ	5	+	5	+	中		
カレイ	5	±	5	+	?		
カキ	14	+				14	+

* 中：従来品の力価が新抗原液の 100 PNu/ml と 500 PNu/ml の中間

100 PNu：従来品の力価が新抗原液の 100 PNu/ml と等しい

致率，従来品，新抗原液優劣を求めると次の通りである。

$$\text{一致率} = a + b + c = 37.2 + 8.1 + 26.2 = 71.4$$

$$\text{不一致率} = h + e = 6.9 + 2.3 = 9.2$$

$$\text{従上品} < \text{新抗原液} \quad d + e + f = 1.7 + 2.3 + 4.0 = 8.0$$

$$\text{従来品} > \text{新抗原液} \quad g + h + i = 8.1 + 6.9 + 5.5 = 20.5$$

すなわちハウスダストは両抗原でかなり高い一致率を示し，どちらかといえば従来品の方が力価が高い (20.5 : 8.0)。

これは閾値法のように正確にはいれないが，定性的にみれば同じ結果であり，一致率をみると利用価値が推定される。

同じ検討をハウスダストの皮内従来品と，スクラツチエキス間で行つてみると74例の成績で一致率48.6%，不

表7 各種抗原液力価検定結果 (3)植物性食品抗原

	従来品： 新抗原液 100 PNu/ml		従来品： 新抗原液 500 PNu/ml		従来品力価 *	従来品： スクラツ チ	
	例数	一致 度	例数	一致 度		例数	一致 度
トマト	37	+				37	—
タケノコ	40	+	12	±	100 PNu	28	±
シイタケ	14	+				14	+
ニンジン	9	+					
キャベツ	14	+				14	+
コウジ	15	+				16	+
シヨウ油	9	+				9	±
アズキ	10	+				10	+
ハウレンソウ	50	+	16	+	中	13	—
ミソ	10	+				10	+
コンニャク	25	+	21	+	中		
ラツカセイ	10	+				10	+
コメ	19	+	7	+	100 PNu	10	+
ソラマメ	10	+				10	+
大ムギ	19	+	9	+	中	10	+
トウモロコシ	9	+	9	+	中		
チョコレート	37	+				10	+
ココア	10	+				10	+
ソバ粉	155	+	133	+	中	24	+
コムギ粉	23	+	13	+	中		

* 中：従来品の力価が新抗原液の 100 PNu/ml と 500 PNu/ml の中間

100 PNu：従来品の力価が新抗原液の 100 PNu/ml と等しい

一致率23.0%，皮内>スクラツチ21.6%，皮内<スクラツチ29.7%であつた。すなわちスクラツチ抗原による反応と従来品（皮内）の成績の一致度はあまり良くなく，力価比較では両者に差が認められない。この様な場合何故そうなのかという疑問の解決は別な方法でしるべなければならない。

(2) その他の抗原。吸入抗原23種，食品抗原39種での従来品と 100 PNu/ml，従来品と 500 PNu/ml 従来品とスクラツチ抗原の比較である。

紙面の都合で各抗原別に上記ハウスダストにつき行つた力価検討表ないし図と同様のものをのせることはできないので，結果だけを表5，表6，表7に示した。

表中の一致度の表現は80%以上（+），60～79%（+），40～59%（±），40%以下（—）とした。但し%計算は小数以下4捨5入した。

花粉抗原(第5表)では一般的にいつて 100 PNu/ml, 500 PNu/ml 及びスクラッチ抗原ともに従来品の成績とかなり一致している。力価判定からみると従来品は 100 PNu/ml と 500 PNu/ml の中間にあるものが大部分であつた。スクラッチ反応も従来品の反応とかなり一致するので皮内反応の代りに使用する価値がある。一般に花粉アレルギーにおいて症状との関連をみると、かなり高い過敏性のあることが知られているので、この点を考えると、過敏者は、100 PNu/ml 抗原陽性者に含まれる可能性が大きい。そこで実施に当つては 100 PNu/ml で行つても充分目的を達すると思われる。

線維類その他の吸入抗原：表5では5種の抗原において従来品は 100 PNu/ml の新抗原液にはほぼ一致し、8種の抗原は中間にあり、1種の抗原は 500 PNu/ml に近似した。スクラッチを行つた5種の抗原のうち4種の抗原は従来品とかなり一致した成績で、動物性食品抗原第6表でも、一般的にいつて新抗原液並びにスクラッチ抗原液の反応は従来品とよく一致している。16種の抗原は力価が中間にあり、2種の抗原の力価は 100 PNu/ml に近似している。スクラッチ抗原は従来品と実によく一致している。植物性食品抗原(表7)のうち、8種の抗原は 100 PNu/ml 及び 500 PNu/ml の新抗原液並びにスクラッチ抗原液について検討し、他の12種の抗原は 100 PNu/ml 及びスクラッチ抗原液だけについて行つた。前者の8種の抗原でみると、反応はよく一致しており、6種の抗原の力価が中間値で2種の抗原が 100 PNu/ml に近似していた。一般的にいつて 100 PNu/ml の反応はかなりよく従来品と一致している。スクラッチ抗原も2種の抗原を除けば従来品(皮内)とよく一致している。

結 論

皮内反応抗原につき従来品(1,000×)と新抗原液(100 PNu/ml, 500 PNu/ml)及びスクラッチ抗原の力価比較を行つて、次のことがわかつた。

ハウスダストの新抗原液(1,000×)は閾値法により従来のほぼ半分の力価がある。しかし実施面から考えるとほぼ70%の一致率を示した。スクラッチ抗原の成績も従来品の皮内反応によく一致した。

その他の抗原でも従来品は、大部分で、新抗原液とかなりよく一致した反応成績を示し、大部分の従来品の力価は新抗原液の 100 PNu/ml と 500 PNu/ml の中間にあり、少数がどちらかに近似であつた。スクラッチ抗原も大部分においてよく従来品と一致した成績を示した。

以上の成績から従来品を新抗原液 100 PNu/ml に変更しても、臨床検査上特に著しい混乱乃至支障をきたすことはないを考える。

本研究は昭和41年10月18日東京において開催された、アレルギー研究会主催の新旧アレルギーエキスポ力価検討会で発表されたものの全国集計である(文責記者 東大物療内科 石崎 達)。

文 献

- 1) Unger, L.: Bronchial Asthma, Ed. 1., Charles C. Thomas, Springfield, Illinois, 1946.
- 2) 石崎 達, 信太隆夫, 梶野宗幹, 牧野莊平, 伊藤幸治: 気管支喘息患者における室内塵抗原液の皮内反応陽性限界濃度(閾値)の研究, アレルギー, 13, 4, 1~83, 187, 1964.
- 3) 石崎達: 即時皮内反応一陽性判定基準63を中心として, アレルギー, 12, 1.2, 14~30, 1963.