

室内塵に関する研究

室内塵と *Staphylococcus aureus* 菌体成分の交叉反応性に関する研究

昭和大学医学部第1内科教室(指導:川上保雄教授)

吉田 敏久

(受付:10月9日,1969)

緒言

気管支喘息は、古くより代表的なアレルギー性疾患とされ、気管支喘息の診断治療に際しアレルギーの検索が最も重視されている。

気管支喘息のアレルゲンとしては、特に室内塵がCooke¹⁾以来多くの研究者により、最も重要なアレルゲンと考えられてきた。

わが国においても川上²⁾、松村³⁾等の報告以来、最も重要な吸入性アレルゲンと考えられるようになった。

しかるに、室内塵の組成は複雑であり、家具、寝具、衣類等の微少細片、人および動物の毛、皮屑の他、種々の細菌や真菌頭が含まれており、また、最近では相当数のダニ類が含まれている報告もある⁴⁾⁵⁾。

一方、気管支喘息と感染との間にも密接な関係があり感冒様症状自体がアレルギー症状の一部である場合もあるので注意を要するが、感冒や気管支炎等を誘因として発作をおこすことが多いこともしばしば経験される。

細菌感染が気管支喘息発症とどのように結びつくかは種々の議論のあるところであるが、一部は細菌が外因性アレルゲンとして作用している場合があることは確実と思われる。

しかるに、これ等感染と喘息発作発現の関連性の強い患者に、室内塵のみの減感作療法を行つた場合でも十分な治療効果が得られる場合もあり、室内塵と細菌類の間には何らかの共通抗原性のあることが推測される。

今回は、私はいわゆる上気道常在菌と考えられる細菌の内より諸家の成績でも比較的皮膚反応陽性率の高い *Staphylococcus aureus* を選び、Cell homogeneizer にて菌体を破壊、壁成分を遠沈除去した菌体成分を使用、そのアレルギー性を、皮膚反応により室内塵と比較検討し、同時に、抗原性に関しても、両者をウサギに感作

し、それぞれの抗血清を作製、両者の交叉反応性を検討した。

室内塵により減感作療法施行中の患者においては、室内塵に対する血球凝集反応の凝集価の上昇や Blocking-antibody の上昇することは当然考えられるところであるが、同じ患者血清中に、*Staphyl. aureus* 菌体成分に対する値も、同時に上昇するかいなかは、室内塵と細菌類の交叉反応性を論じる上で興味ある問題であるが、今回、室内塵により減感作療法施行中の患者並びに未治療の患者血清を用いて、室内塵および *Staphyl. aureus* 菌体成分を抗原として感作血球凝集反応および Blocking-antibody 検出試験を施行、結果を比較検討したので合せて報告する。

方法

I. 抗原液の作製

i) 室内塵

皮膚反応には鳥居薬品より市販されたい抽出液、すなわち、100倍の稀釈液にて Total Nitrozen, 0.4981 ug/ml (0.1564 ug/ml protein nitrozen) を含む室内塵を使用。

ウサギ感作抗原液としては、鳥居薬品より提供された室内塵乾燥純末 10 mg/ml の割合にて生理的食塩水に溶解した液を使用。

ii) *Staphylococcus aureus* 菌体成分

Staphylococcus Aureus 209 P 株を 4,000 ml の Brain heart infusion broth にて振盪培養し得た菌体 (Wet volume 約 20gr.) を生理的食塩水にて、6回洗滌、蒸溜水 80 ml に浮遊、Cell homogeneizer にて、2分間隔3回磨滅し、菌体を破壊、冷凍遠沈器を用いて14,000

rpm にて 60 分遠沈し⁶⁾, 壁成分を除去し, その上清を *Staphylococcus aureus* 菌体成分 (以下 *St.* 菌体成分と略す) とした。

皮膚反応には, microfilter にて無菌処理し, 10,000 倍マーズン加生理的食塩水にて 10,000 倍に移積し使用した。

10,000 倍 *St.* 菌体成分の protein nitrogen は, Folin-Lowry 法⁷⁾ にて定量の結果, $0.8\mu\text{g/ml}$ であった。また, 同液の糖量は, Anthrone 法⁸⁾ による測定では, $0.01\mu\text{g/ml}$ 以下であった。

ウサギ感作抗原液としては, 上記方法にて得た *St.* 菌体成分の原液 (8mg/ml protein nitrozen) を使用した。

II. 皮膚反応

昭和大学第一内科に来院する患者および入院患者 (気管支喘息または慢性気管支炎の患者) 60 名および健常者 22 名を対象として, 前記 1,000 倍室内塵および, 10,000 倍 *St.* 菌体成分 0.02ml を皮内注射し, 15 分後発赤膨疹を測定, 発赤 20mm 以上, または膨疹 10mm 以上のいずれかを満足するものを即時型皮膚反応陽性と判定した。

遅発型皮膚反応は, 皮内注射後 24 時間, 48 時間のいずれかにおいて, 発赤または膨疹が 10mm 以上の者を陽性とした。

III. ウサギの免疫 (抗血清の作製)

ウサギは日本単毛種, 体重 $2.5\sim 3.0\text{kg}$ のものを使用した。

抗原液として, 室内塵は, 鳥居薬品製室内塵乾燥純末 10mg/ml の割合にて生理的食塩水に溶解したもの 1ml と complete Freund's adjuvant 1ml とを混合し, 均一な emulsion としたものを 1 回量とし, ウサギの臀筋および背筋内数カ所に注射, 1 週間隔にて 3 回注射, adjuvant を使用しない室内塵のみを 3 回, 計 6 回注射, 最終感作終了後 2 週間にて, 頸動脈より全採血し, 抗室内塵ウサギ血清を得た。

St. 菌体成分は, 抗原作製の項にて記載した 8mg/ml protein nitrozen を含有する原液を使用, 室内塵と同様の感作方法にて, 抗 *St.* 菌体成分ウサギ血清を作製した。

IV. 免疫学的検索法

i) 赤血球凝集反応

Stavitsky 変法⁹⁾ による Boyden 型赤血球凝集反応は, 前記ウサギ免疫に使用した室内塵および生理的食塩水にて透折後の *St.* 菌体成分にて, タンニン酸処理ヒツジ血球を感作し, おのこの抗血清に対し次の組合せにて施行した。

感作ヒツジ血球

室内塵 — 抗室内塵ウサギ血清
St. 菌体成分 — 抗 *St.* 菌体成分ウサギ血清

ii) 阻止テスト

抗室内塵ウサギ血清に, *St.* 菌体成分を当量加え, 2 時間 37°C に incubate し, 後 4°C に一夜放置, 14,000 回転にて 30 分遠沈, 上清にて稀釈系列を作製し, 室内塵感作ヒツジ血球の凝集反応を試みた。

抗 *St.* 菌体成分ウサギ血清についても, 室内塵にて同様の吸収操作を試み, *St.* 菌体成分感作ヒツジ血球の凝集反応を試みた。

iii) 寒天ゲル内沈降反応

Ouchterlony 法に準じたが, オブジェクトグラス法を用い, 抗室内塵ウサギ血清, 抗 *St.* 菌体成分ウサギ血清に対し, 室内塵および *St.* 菌体成分を抗原とし, 沈降線の出現の有無を観察し, 両者の交叉反応性を検討した。

V. 気管支喘息患者における赤血球凝集抗体の検出法

気管支喘息にて室内塵による減感作療法実施中の患者 10 名および未治療の患者 9 名について, 室内塵および *St.* 菌体成分を抗原とし, 血球凝集反応を施行, 室内塵はその成分に蛋白成分と同時に多糖類も多く含む故, Boyden 型のタンニン酸処理赤血球凝集反応と, Middlebrooke 型赤血球凝集反応¹⁰⁾ を実施, *St.* 菌体成分はタンニン酸処理赤血球凝集反応を施行した。

感作血球にはヒト O 型血球を使用した。

室内塵による減感作中の個々の症例に対し, 血球凝集反応の凝集価, 室内塵による治療期間, 重篤度について比較検討した。

VI. 気管支喘息患者における室内塵並に *St.* 菌体成分に対する blocking-antibody の検出法 (直接法)

気管支喘息にて室内塵による減感作療法実施中の患者より blocking-antibody を検出するために, 3 カ月~1 カ年室内塵にて治療中の患者 4 名より採血し, おのこの血清を 56°C , 4 時間非動化し, 3 倍稀釈による稀釈系列を作製, おのこの 0.5ml と 1,000 倍室内塵 0.5ml を混合, 一夜冷所にて保存, *St.* 菌体成分について

も、10,000倍 *St.* 菌体成分を室内塵同様 0.5 ml づつ混合し、おのおのの 0.02ml を室内塵および *St.* 菌体成分の皮膚反応陽性の患者の皮内に注射、15分後、コントロールの 2,000倍室内塵および20,000倍 *St.* 菌体成分の皮内反応と比較、反応が陰性化する最大血清稀釈倍値をもって blocking-antibody titer とした。

実験成績

1. 皮膚反応の成績

気管支喘息および慢性気管支炎の患者60名における、室内塵および *St.* 菌体成分による即時型皮膚反応は、表1に示すように室内塵の陽性率は71.7%、*St.* 菌体成分の陽性率は56.6%であり、21.7%が両者とも陰性であった。

表1 気管支喘息及び慢性気管支炎における室内塵エキスを及び *Staphyl. aureus* 菌体成分による即時型皮膚反応

H.D.	+	-	計
<i>Staphyl. Aureus</i> 菌体成分			
+	30 (50.0%)	4 (6.6%)	34 (56.6%)
-	13 (21.7%)	13 (21.7%)	26 (43.4%)
計	43 (71.7%)	17 (28.3%)	60

60名の患者の内より遅発型皮膚反応を調べた者は25名であるが、表2に示すように室内塵の陽性率は4%であり、*St.* 菌体成分の陽性率は8%であった。

表2 気管支喘息及び慢性気管支炎における室内塵エキスを及び *Staphyl. aureus* 菌体成分による遅発型皮膚反応

H.D.	+	-	計
<i>Staphyl. Aureus</i> 菌体成分			
+	1 (4%)	1 (4%)	2 (8%)
-	0	23 (92%)	23 (92%)
計	1 (4%)	24 (96%)	25

気管支喘息患者52名における室内塵および *St.* 菌体成分による即時型皮膚反応は、表3に示すように室内塵の陽性率は78.8%であり、*St.* 菌体成分は63.5%であつ

表3 気管支喘息における室内塵エキスを及び *Staphyl. aureus* 菌体成分による即時型皮膚反応

H.D.	+	-	計
<i>Staphyl. Aureus</i> 菌体成分			
+	29 (55.8%)	4 (7.7%)	33 (63.5%)
-	12 (23.0%)	7 (13.5%)	19 (36.5%)
計	41 (78.8%)	11 (21.2%)	52

た。

慢性気管支炎患者8名における両者の即時型皮膚反応は、表4に示すように室内塵の陽性率は25.0%、*St.* 菌体成分は12.5%の陽性率を示した。

表4 慢性気管支炎における室内塵エキスを及び *Staphyl. aureus* 菌体成分による即時型皮膚反応

H.D.	+	-	計
<i>Staphyl. Aureus</i> 菌体成分			
+	1 (12.5%)	0 (0%)	1 (12.5%)
-	1 (12.5%)	6 (75.0%)	7 (87.5%)
計	2 (25.0%)	6 (75.0%)	8

次に気管支喘息患者52名をアトピー型気管支喘息と混合型 および 感染型 に分類し、室内塵および *St.* 菌体成分の即時型皮膚反応を調べると、表5に示すようにアトピー型気管支喘息患者27名では、室内塵の陽性率は88.9%、*St.* 菌体成分は63.0%であった。

表5 アトピー型気管支喘息における室内塵及び *Staphy. aureus* 菌体成分による即時型皮膚反応

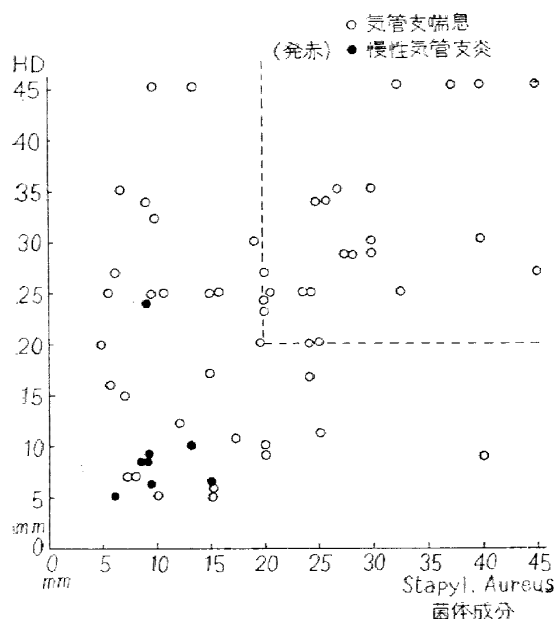
H.D.	+	-	計
<i>taphyl. Aureus</i> 菌体成分			
+	15 (55.6%)	2 (7.4%)	17 (63.0%)
-	9 (33.3%)	1 (3.7%)	10 (37.0%)
計	24 (88.9%)	3 (11.1%)	27

混合型および感染型気管支喘息患者25名では、表6に示すように室内塵の陽性率は68.0%、*St.* 菌体成分は64.0%であった。

気管支喘息および慢性気管支炎患者60名における室内塵および *St.* 菌体成分により即時型皮膚反応を、発赤の直径よりその相関性を図示すると、図1に示すようにあ

表6 混合型及び感染型気管支喘息における室内塵及び *Staphy. aureus* 菌体成分による即時型皮フ反応

<i>Staphyl. Aureus</i> 菌体成分	H.D.	+	-	計
+		14 (56.0%)	2 (8.0%)	16 (64.0%)
-		3 (2.0%)	6 (24.0%)	9 (36.0%)
計		17 (68.0%)	8 (32.0%)	25

図1. 気管支喘息及び慢性気管支炎における室内塵エキスと *Staphyl. aureus* 菌体成分による即時型皮フ反応。

る程度の相関性がうかがえる。

非喘息者22名における *St.* 菌体成分による即時型皮膚反応の陽性者は3名で、13.6%の陽性率を示した。

非喘息者22名における *St.* 菌体成分による遅発型皮膚反応の陽性者は2名で、9.1%であった。

II. ウサギ感作実験成績

先述した方法により、室内塵と *St.* 菌体成分をウサギに感作し抗血清を作製、赤血球凝集反応を試みた成績は表7に示すごとくである。

すなわち、抗室内塵ウサギ血清に対し室内塵をヒツジ血球感作抗原とし凝集反応を試みると32倍の凝集価を示し、同じ抗血清に *St.* 菌体成分を血球感作抗原とすると64倍の凝集価を示した。

抗 *St.* 菌体成分ウサギ血清に対し *St.* 菌体成分を血球

表7 室内塵と *Staphyl. aureus* 菌体成分間の赤血球凝集反応

血球感作抗原	H.D.	<i>Staphyl. Aureus</i> 菌体成分
抗HD血清	1:32	1:64
抗 <i>Staphyl. Aureus</i> 血清	1:32	1:2048

感作抗原とし凝集反応を試みると2,048倍の凝集価を示し、同じ抗血清に室内塵を試みると32倍の凝集価を示した。

次に、室内塵と *St.* 菌体成分間の阻止テストの結果は表8に示すごとくである。

表8 室内塵と *Staphyl. aureus* 菌体成分間の阻止テスト

抗血清	添加抗原	血球感作抗原	凝集価
抗HD血清		H.D.	1:32
抗HD血清	<i>Staphyl. Aureus</i> 菌体成分	H.D.	0
抗 <i>Staphyl. Aureus</i> 血清		<i>Staphyl. Aureus</i> 菌体成分	1:2048
抗 <i>Staphyl. Aureus</i> 血清	H.D.	<i>Staphyl. Aureus</i> 菌体成分	1:256

抗室内塵ウサギ血清に対し室内塵を抗原とした場合32倍の凝集価を示したものが、予め抗血清に *St.* 菌体成分を添加した後、室内塵を血球感作抗原として凝集反応を試みると凝集価は0となった。

抗 *St.* 菌体成分血清に対しては *St.* 菌体成分を抗原とした場合は2,048倍の凝集価を示したものが、室内塵添加により256倍にまで阻止された。

以上の血球凝集反応の結果より、室内塵と *St.* 菌体成分の間に一部交叉反応性があることが明らかである。

異なった抗原におけるおのおのの交叉反応性を見る上で、最も重要な免疫学的検索方法は寒天ゲル内沈降反応であるが、抗室内塵ウサギ血清に対し、室内塵および *St.* 菌体成分を抗原とし、沈降反応を試みたものが図2である。

抗室内塵血清に対し、室内塵は数本の沈降線が出現し、*St.* 菌体成分は一本の沈降線が出現、室内塵の沈降線の一部と結合しており、両者の一部に交叉反応性が見られたが、抗 *St.* 菌体成分血清に対しては、*St.* 菌体成分に対する沈降線が出現したにとどまり、室内塵に対する沈降線は見られなかった。

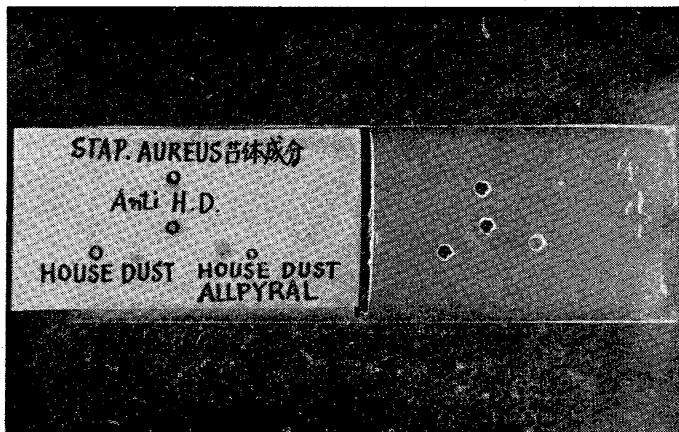


図 2.

Ⅲ. 喘息患者にかかる血球凝集反応

気管支喘息患者の内、室内塵にて未治療の患者 9 名、減感作療法中の患者 10 名について、室内塵は middle brooke 型血球凝集反応を、*St.* 菌体成分はタンニン酸処理血球凝集反応を試みた成績は、図 3 に示すごとく、室内塵にて未治療患者 9 名は全員が室内塵に対して、*St.* 菌体成分に対しても凝集価は 0 であった。

室内塵にて減感作療法を受けている患者は、室内塵を抗原とした凝集反応を行つた場合は 16 倍から 512 倍の凝集価を示し、*St.* 菌体成分を抗原とした場合は 2 名が凝集価 0 の他は 8 名が 64 倍から 1,024 倍の凝集価を示し、室内塵にて減感作療法を施行した場合、*St.* 菌体成分に対する血球凝集抗体の上昇することも判明した。

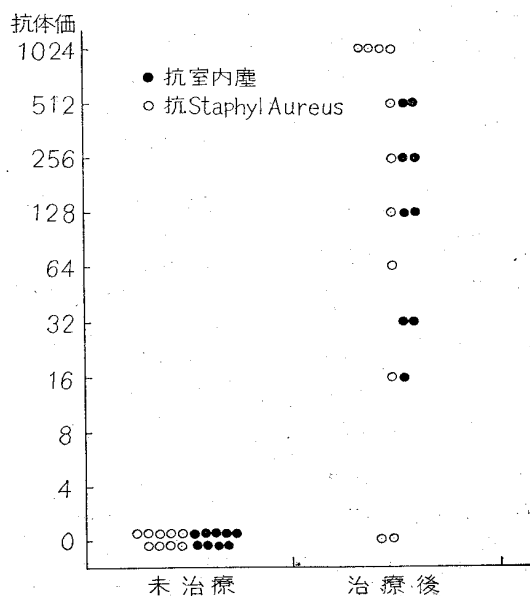


図 3. 喘息患者の室内塵及び *Staphyl. aureus* に対する血中抗体価。

表 9 喘息患者の HD 及び *Staphyl. aureus* 菌体成分に於ける血中抗体価

症例	Boyden 型		Middle-brooke 型	治療期間	重篤度
	<i>Staphyl. Aureus</i>	H D.	H.D.		
No. 1	1024	160	512	3 カ月	I
2	128	40	32	21 カ月	I
3	512	160	512	42 カ月	I
4	1024	80	256	72 カ月	Ⅲ
5	0	80	32	30 カ月	V
6	0	160	128	54 カ月	V
7	256	160	16	66 カ月	Ⅱ
8	1024	320	256	26 カ月	I
9	1024	—	128	21 カ月	I
10	64	—	—	4 カ月	I

室内塵にて減感作中の患者 10 名の個々の症例にける凝集価、治療期間、重篤度を表 9 に示した。

症例 No. 1 は治療期間が 3 カ月と比較的短期間であるが、*St.* 菌体成分に対する凝集価は 1,024 倍、室内塵では Boyden 型血球凝集反応で 160 倍、middle brooke 型で 512 倍といずれも高い凝集価を示している。

症例 No. 5, 6 はいずれも 30 カ月以上の長期間室内塵の減感作療法を施行しているが、*St.* 菌体成分に対する凝集価は 0 倍、室内塵では Boyden 型で 80 倍、160 倍であり、middle brooke 型で 32 倍、128 倍と比較的低い値を示しているが、この症例は両者とも重篤度は V であり、かなり長期間に steroid を使用している症例であった。

症例 No. 10 は最初未治療の患者として *St.* 菌体成分の血球凝集反応を実施した症例であったが、64 倍の凝集価を示し、その後の調査で昭和大学病院以外の病院にて以前に 4 カ月間、室内塵の治療を受けた既往歴のある症例であった。

その他の症例は、いずれも室内塵と同様 *St.* 菌体成分に対しても凝集価の上昇を認めた。

なお、重篤度に関する分類は大島式に則るもので表 10 に示すごとく、I から V にしたがって重篤度が高いことを示している。

Ⅳ. 喘息患者における blocking-antibody titer

室内塵による減感作療法実施中の患者 4 例について、直接法による blocking-antibody の検出を試みた結果は表 11 に示すごとく、症例 1 ～ 4 において、室内塵に対す

表10 重篤度分類表

I : A-1
II : A-2, B-1
III : A-3, B-2, C-1
IV : B-3, C-2
V : C-3
但し 発作の強さ : A, B, C
発作の頻度 : 1, 2, 3
(大島式分類方法による)

表11 HD減感作患者におけるHD並に *St.* 菌体成分に対するBlocking-Antibody Titer

症 例	対HD値	対 <i>St.</i> 菌体成分値
1	27	27
2	9	9
3	81	81
4	81	81

る blocking-antibody titer が27倍, 9倍, 81倍, 81倍と上昇していると同時に, 平行して上昇していたことを示している。

考 案

気管支喘息は、古くより代表的なアレルギー性疾患とされ、気管支喘息の診断治療に際しアレルギーの検索が最も重視されている。

欧米のアレルギー学者は、喘息患者の大部分にアレルギーを証明できると考えているものが多い。

室内塵に関しては、1922年 Cooke¹⁾ が喘息アレルギーとしてその重要性を始めて指摘して以来、Vallery-Radot¹¹⁾ ら多くの研究者がその重要性を指摘している。

従来わが国ではアレルギー喘息はきわめて少く確実にアレルギーを証明し得るものは数%から26%にすぎぬとされていたが¹²⁾⁻¹⁵⁾、川土は¹⁵⁾、その最大の原因はわが国においては花粉病がほとんどなかつたため、食餌性アレルギーに重点がおかれ、吸入性アレルギーに対する考慮が非常に薄かつたことを指摘し、吸入性アレルギー、特に室内塵の検索を重視し、皮膚反応の陽性率は70~80%であり、かつ室内塵による減感作療法がかなり有効であるなどのことから、室内塵が重要なアレルギーであることを報告している^{2), 17)-19)}。

しかるに、室内塵の組成は複雑であり、家具、寝具、

衣類等の微少細片、ヒトおよび動物の毛、皮膚の他、種々の細菌や真菌類、ダニ類等を含めたものと考えられるが、それ等のうち何がその重要成分であるかということに関して最近多くの報告がなされている。

Swaeby は²⁰⁾、室内塵中にはきわめて多数の真菌類が含まれていることを報告しており、Unger 他は、低地帯の室内塵は高地のそれと比較して強いアレルギー性をもっており、湿気も室内塵のアレルギー性を増加せしめ、これ等は恐らくは真菌類の作用によるものであると報告している。

川上門下の谷江は²²⁾、室内塵と真菌類による皮膚反応より、ある程度の相関関係があると報告しており、高橋も²³⁾、室内塵1g中には、真菌類が 10^{6-7} 位の Order で含まれており、したがって、室内塵および真菌類の両者に陽性を示すものは、共通抗原によるといった意味もあるとしている。

Kantor は²⁴⁾、室内塵と真菌類の *Alternaria*, *Hormodendrum*, *Stemphium* をウサギに感作し、各々の抗血清を作製し、血球凝集反応や、ゲル内沈降反応を施行し、室内塵が *Hormodendrum* と僅かに交叉性を示したことを報告している。

1964年 Voorhost 等は^{4), 25)}、10余年にわたる検査の結果、室内塵にはすべて大なり小なりダニ類が含まれており、特に最も多く含まれている *Dermatophagoides pteronyssinus* に着目、皮膚反応の上でかなり強い相関性のあることを報告している。

大島は^{5), 26)}、わが国の室内塵にもその供給源により差はあるが、いずれも室内塵中のダニの優占種は *Dermatophagoides* 属のダニであると報告し、宮本は²⁷⁾、室内塵を1年間保存していると抗原性が増すということに注目し、何物か生物学的なものの関与があるのではないかということより、大島が純飼育に成功した、コナヒョウダニ (*D. farine*) の抽出液を用いた皮膚反応を行ない、その閾値と、室内塵の閾値との間にきわめて高い相関性のあることを報告している。

Maunsell 他は²⁹⁾、mattress dust 中に *D. pteronyssinus* が最も多く、室内塵と皮膚反応の上で高い相関性があることを報告している。

Pepys 他は²⁸⁾、*D. culinae* がイヌの食餌中で比較的飼育が簡単で多く取れることより、抽出液を作製、prick test に室内塵と相関性があること、吸入テストでも、prick test 陽性の喘息患者6名中5名に *D. Culinae* 抽出液の吸入にて喘息発作を誘発せしめたことを報告して

いる。

以上のごとく、室内塵と真菌類、室内塵とダニ類の相関性について多くの研究者の報告があるが、一方、Dutton が³⁰⁾、真空掃除器で集めた患者の室内塵より培養した細菌でワクチンを作製し、このワクチンによる皮膚反応は陽性であり、これにより減感作療法を施行して発作を終息せしめた3例を報告していることは、室内塵と細菌類との間にも、何等かの相関性があることを暗示している。

また一方では、気道系細菌感染が喘息とかなり密接な関係にあることは川上^{16) 31) 32)}、高橋^{33) 34)}らによりしばしば論じられているところであるが、上気道から分離され得る細菌は α -, β -, γ -, hemolytic *Streptococcus*, *Staphylococcus aureus*, *Neisseria*, *Hemophilus* 等あり、これ等の細菌はけっして稀有な細菌でなく、生活環境にしばしば雑菌的に証明されるもので、これ等細菌の死骸、分解産物が室内塵中に1成分として含有されるであろうことは当然想像され、これ等の点からも室内塵と細菌類の相関関係を検索することはきわめて重要なことと考えられる。

私が、上気道常在菌と考えられる細菌の内より諸家の成績でも比較的皮膚反応陽性率の高い *Staphyl. aureus* を選び、Cell homogeneizer にて菌体を破壊、壁成分を遠沈除去した菌体成分を使用、種々の検索を行つた結果は成績の項にて述べたごとくであるが、以下私の成績をもとに、*St.* 菌体成分のアレルゲンとしての意義、室内塵と *St.* 菌体成分との相関性について考察を加えたいと思う。

気管支喘息患者52名中、*St.* 菌体成分の即時型反応陽性率は63.5% (表3) であったが、諸家の *Staphyl. aureus* 加熱死菌 ワクチンによる 即時型反応 の成績 (川上³²⁾, 31.5%, 豊泉³⁵⁾, 9.6%, 三谷³⁶⁾, 29.6%, 小山³⁷⁾, 11.4%) に比較してかなり高いパーセントであつた。

Kraft et al は³⁸⁾、*Staphylococcus*, *M. catarrhalis*, *Pneumococcus*, *Streptococcus*, *E. Coli*, *H. influenzae*, *Friedlander's bacillus* の7種細菌を機械的に破壊したものを抗原として200例のアレルギー患者および100例の非アレルギー対象に皮膚反応を行い、7種細菌の内、*Staphylococcus* 31.0%, *M. catarrhalis* 24.0%, *Pneumococcus* 17.5%と3種の細菌の陽性率が高く、非アレルギー対象ではおのおの8%, 6%, 5%であつたと報告している。

Hampton は³⁹⁾、*Neisseria catarrhalis* の菌体成分を硫酸等で8種の分画に分け、喘息患者および非喘息患者に皮膚反応を行ない、喘息患者では14例中12例に即時型反

応、13例に遅発型反応の陽性をみ、非喘息者では21例中3例に即時型反応、15例に遅発型反応の陽性を認め、菌体を破壊した場合には即時型に意義があると述べている。

光井門下の小山は³⁷⁾、喘息患者の喀痰より細菌を培養分離し、加熱死菌ワクチン、菌体破壊液、菌体破壊細胞壁溶解液を作製し、各菌液についての皮膚反応では、加熱死菌ワクチンが遅発型反応であつたのにくらべ、菌体破壊液、菌体破壊細胞壁溶解液は即時型反応を示し、また、喘息患者22例に吸入試験を実施すると、陽性者はワクチンではなく、菌体破壊液は8例、菌体破壊細胞壁溶解液は5例に認められ、菌体破壊液の吸入試験陽性者8例中7例に、P-K反応陽性を認めたことを報告している。

これ等の報告からしても、菌体成分が加熱死菌ワクチンより、アレルゲンとして強い意義を有することと考えられるが、この現象は抗原作製の過程において、菌体成分は熱処理がされておらず、ために、生物学的活性をより強く保持しているものと考えられる。

慢性気管支炎患者8例における *St.* 菌体成分の陽性率は12.5% (表4) であり、同時に行なつた健常者22例についても陽性率は13.6%にすぎなかつた。

気管支喘息患者を Swineford の分類⁴⁰⁾を参考とした、感染因子の関与しない純粋なアトピー型喘息と混合型および感染型喘息の二者に分類し即時型反応を比較してみると (表5, 6), アトピー型の患者では室内塵の陽性率は88.9%と高く、*St.* 菌体成分は63.5%であつたが、混合型および感染型の患者では、室内塵が68%と低くなっているのに比べ、*St.* 菌体成分は64%とわずかではあるが、むしろ高い値を示している。

川上は³²⁾、室内塵および上気道細菌数種の加熱死菌ワクチンによる皮膚反応を行つた結果、即時型皮膚反応は、室内塵の陽性率が若年者に高く、老年者に低いのに対し、細菌類は両者に著明な年齢差はなく、しかも対照非喘息者に比して遙かに高率であり、P-K反応よりレアギンの存在を確認していること、遅発型皮膚反応は喘息者と非喘息者の陽性率の著明な差がなかつたこと等により、細菌類は感染を介してではなしに、単に外因性アレルゲンとして作用し、しかもその比重は、他のアレルゲンに比して、老人喘息において大であるとしている。

前述の私の成績においても、*St.* 菌体成分は、外因性アレルゲンとして働き、しかも室内塵等の他の外因性アレルゲンに比較して、何等かの形で感染が関与する型の

喘息においてその比重が大であると考えられる。

Swineford は⁴¹⁾、皮膚反応の発現様式に関して、polysaccharide を含むものは即時型反応を示し、protein は遅発型反応を示すと述べているが、今回私の使用した *St.* 菌体成分は、polysaccharide を多く含む壁成分を除去したため、protein が大部分をしめ、polysaccharide は僅く微量を含むにすぎなかつた。しかるに即時型陽性率は高く、遅発型は表2に示したごとく8%にすぎなかつたことは、抗原が protein 単独でも即時型反応を示す場合もあることの1つの証拠になるのではないかと考えられる。

polysaccharide成分を多く含有している *Staphyl. aureus* の壁成分がアレルゲンとして意義をもつことは充分予想されるが、今回、壁成分のみより、トリクロール酢酸による抗原抽出を試みたが、充分な濃度の抗原抽出ができず、*St.* 菌体成分と比較検討は、今後の検索を必要とする問題である。

次に、皮膚反応の面より、室内塵と *St.* 菌体成分との相関性を検討してみると、表1に示したごとく、気管支喘息および慢性気管支炎の患者60例については、室内塵による皮膚反応の陽性者は43例(71.7%)でこの内 *St.* 菌体成分も、陽性の者は30例あり、*St.* 菌体成分の陽性者は34例(56.7%)で、この内室内塵も陽性の者は30例であつた。

両者の相関性を発赤の面より図1に示したが、これ等の成績は、宮本が室内塵とダニについて報告したものと比較するとやや劣るが、ある程度の相関性がうかがえる。

室内塵と *St.* 菌体成分との相関関係が、両者の交叉反応性にもとづくものであるか否かをうんぬんする場合に、アレルゲン性と抗原性との間にはその意味合いに差があることは勿論考慮に入れねばならないが、今回は両者の抗原性についてのみ検査した。

両者をウサギに感作し、それぞれの抗血清を作製、赤血球凝集反応および阻止テスト、ゲル内沈降反応を行った結果は、表7、8、図2に示したごとくであるが、赤血球凝集反応においては、抗室内塵ウサギ血清に対し、室内塵のみならず *St.* 菌体成分を抗原とした場合にも、凝集価の上昇が認められたこと、抗 *St.* 菌体成分ウサギ血清に対し、*St.* 菌体成分および室内塵に対する凝集価も上昇が認められたこと、阻止テストでは、おのおのがその反応の一部を阻止していること、ゲル内沈降反応においては、抗室内塵血清に対し、室内塵は数本の沈降線が出現し、*St.* 菌体成分も一本の沈降線が出現し室内塵のそれと一部結合していた等の事実は、室内塵と *St.* 菌体成分の間に、一部明らかな交叉反応性があることを意味していると考えられる。

これ等のことより、室内塵と *St.* 菌体成分との皮膚反応の上で見られる相関性は、両者のアレルゲン交叉反応性にもとづく可能性もあると考える。

交叉反応性あるいは共通抗原性といった言葉が持つ意味は、諸家の間でも解釈に差があり、問題の多い点である。

いわゆる細菌学でいう交叉反応性は、同種細菌間の異つた系同志にみられる狭義の意味の交叉反応性であるが、浜島は⁴²⁾、Kaplan⁴³⁾の立証したウサギ心筋線維内の抗原が、同種のウサギで得られた *Tripp. Type 5A* 群溶連菌の菌壁に対する抗体と反応するという例もあるごとく、交叉反応を起し得るものは互いにたとえ化学的、生物学的性質が異なつていても、ただ抗原性が相互に共通し得るものでありさえすれば、このような交叉反応性は十分に成立し得るものであるとし、広義の意味を持たせている。

室内塵と他のアレルゲンとの交叉反応性を論じる場合は、また異つた意味があると考えられる。すなわち、2つの見方が成り立つと考えられる。

1つは、室内塵が種々雑多な混合物でありその中に、細菌類、真菌類、ダニ類等が含まれる故に、それぞれと交叉反応性を有するとする考え方であり、このような意味から、*St.* 菌体成分が室内塵と一部交叉反応性が存在することは充分考えられるところである。

また一方では、室内塵が種々雑多な混合物であつても、その抗原性は、必ずしも個々の構成成分に帰せない特異な面も持っていると考えられ、その組成の蛋白分画あるいは、多糖類分画の一部が、他のアレルゲンの構成成分と共通な抗原性を有するとする考え方であり、このような意味からも、例えば、室内塵の蛋白分画と *St.* 菌体成分の蛋白が共通な抗原性を有するために、一部に交叉反応性が成り立つといった解釈もできるのであるが、私は、前者の意味による可能性が強いと考える。

いずれの解釈をするにしろ、室内塵と *St.* 菌体成分との間に一部交叉反応性が認められるならば、実際にわれわれが室内塵にて減感作療法施行中の患者血清中に、室内塵に対すると同時に、*St.* 菌体成分に対する抗体価の上昇というようなこともあつて然るべきと考えられる。

私は、室内塵にて未治療の患者と減感作療法施行中の患者について、室内塵と *St.* 菌体成分を抗原として、血球凝集反応を施行、結果は図3、表9に示したごとく、未治療群では全てが凝集価0を示したのに対し、減感作群では室内塵を抗原とした場合は16倍から512倍、*St.* 菌体成分を抗原とした場合は、ステロイドを多く使用している患者2名が凝集価0の他は、64倍から1,024倍の凝集価を示した。

また、室内塵による減感作療法施行中の患者4例につ

いて室内塵並に *St.* 菌体成分に対する blocking-antibody の検出を試みた結果は、表11に示したごとくであるが、全例に室内塵に対すると同じに *St.* 菌体成分に対しても9倍から81倍の Blocking-antibody titer の上昇が認められたことは、先の血球凝集価の上昇と考え合せ、両者の交叉反応性を論じる上からも、室内塵が喘息患者に効果を現わす機序を考える上からも意義あることと考えられる。

Peterson et al. は⁴⁴⁾、室内塵の作用機序に関して、endotoxic な活性があると報告しているが、このような見地からも、室内塵と細菌類とのある意味での関連性を推測されるところであり、種々の細菌と室内塵との相関性、あるいは、細菌類と真菌類、細菌類とダニ類等室内塵を構成する個々の物質間の共通性といった事柄等、今後はより広い、より深い検索が望まれるところである。

結 語

気管支喘息のアレルゲンとしての室内塵の重要性、*St.* 菌体成分のアレルゲンとしての意義、室内塵と *St.* 菌体成分との相関性および交叉反応性について、私の実験成績をもとにして述べた。

1) 気管支喘息患者52例における室内塵の即時型皮膚反応の陽性率は78.8%、*St.* 菌体成分の陽性率は63.5%であつた。かつ両者の皮膚反応にはある程度の相関性が認められた。

2) *St.* 菌体成分は室内塵と同様対照非喘息者で即時型皮膚反応陽性率が低く、また遅発型反応は、喘息者、非喘息者ともに低かつた。

3) 室内塵と *St.* 菌体成分をそれぞれウサギに感作し作製した抗血清について検討の結果、血球凝集反応、同阻止反応、並に寒天ゲル内沈降反応において両者の抗原には免疫学的交叉反応性のあることが認められた。

4) 室内塵により減感作中の患者には室内塵に対すると同様 *St.* 菌体成分に対しても、感作血球凝集価の上昇並に blocking-antibody titer の上昇が認められた。

稿を終えるに臨み終始懇篤なる御指導御校閲を賜った恩師川上保雄教授、御助言を頂いた高橋昭三助教授、薬学部微生物学教室小松信彦教授に深謝いたします。

御協力を頂いた教室員各位に感謝いたします。

文 献

- 1) Cooke, R.A.: J. Immunol. 7, 147, 1922.
- 2) 川上保雄: 日本臨床 17, 395, 1959.
- 3) 松村竜雄: 小児科臨床 13, 8, 1960.
- 4) Voorhorst et al.: Allergic and Asthma, 10, 299, 1964.
- 5) 大島司郎: 衛生動物 15, 233, 1964.
- 6) Handbook of Experimental Immunology, 365, 1967.
- 7) 実験化学講座: p. 23, 1965.
- 8) 化学の領域増刊[生化領域における光電比色法] p. 34, 1965.
- 9) Stavitsky, A.B.: J. Immunol. 72, 360, 1954.
- 10) Middlebrook: J. Exp. Med. 880, 521.
- 11) Vallery-Rador [Unger, L. & Johnson, J.H.: Ann. Allergy., 15, 429, 1957より引用].
- 12) 滝野増市, 滝野義忠: Allergy and Asthma 丸善書店, 1956.
- 13) 滝野増市: アレルギー 3, 13, 1959.
- 14) 三沢敬義: アレルギー 3, 1, 1959.
- 15) 中山嘉弘ほか: 治療 42, 103, 1960.
- 16) 川上保雄: 胸部疾患 6, 9, 1011, 1962.
- 17) 川上保雄: 診断と治療 48, 2011, 1960.
- 18) 川上保雄: 臨床の日本 4, 632, 1963.
- 19) 川上保雄: アレルギー性疾患の治療・治療年鑑, 診断と治療社 p. 398, 1958.
- 20) Swaebly, M.A. & Christen, C.M.: J. Allergy. 23, 370, 1952.
- 21) Unger, L. & Johnson, J.H.: Ann. Allergy, 15, 429, 1957.
- 22) 谷江澄子: 昭和医学会雑誌 21, 44, 356, 1961.
- 23) 高橋昭三ほか: アレルギー 11, 328, 昭37.
- 24) Kantor, S.Z. & Wasserman, L.: Israel. J. Med., Vol. 2, No. 5, 1966.
- 25) Voorhost, R. Identity with the house-dust allergen, 39, 325, 1967.
- 26) 大島司郎: 衛生動物 18, 213, 1967.
- 27) 宮本昭正ほか: アレルギー 17(2), 8590, 1968.
- 28) K. Maunsell et al.: Lancet 1, 1267, 1968.
- 29) J. Pepys et al.: Lancet 1, 1270, 1968.
- 30) Dutton, L.O.: Ann. Allergy 14 18, 1956.
- 31) 川上保雄: 日本胸部臨床 22: 296, 1963.
- 32) 川上保雄: 診断と治療 39, 2, 260, 1964.
- 33) 高橋昭三ほか: 内科 15, 828, 1965.
- 34) 高橋昭三ほか: 日本臨床 25, 9, 2079, 1967.
- 35) 豊泉 忠: アレルギー 17, 5, 325, 1968.
- 36) 三谷建治: アレルギー 14, 352, 6, 1965.
- 37) 小山陽三: アレルギー 16, 2, 113, 1967.
- 38) Kraft et al.: Ann. Allergy 7, 162, 1949.
- 39) Hampton, S.F., ほか: J. Allergy 34, 63, 1963.
- 40) Swineford, O. Jr.: J. Allergy 25, 151, 1954.
- 41) Swineford ほか: J. Allergy 20, 420, 1949.
- 42) 浜島義博: アレルギー 16, 1, 60, 1967.
- 43) Kaplan, M.H.: J. Immunol. 90, 595, 1963.
- 44) Peterson et al.: J. Allergy 35, 2, 134, 1964.

strated no significant difference.

5) The average lung serotonin levels were 0.32 ± 0.02 $\mu\text{g./g.}$ in normal guinea pig and 0.39 ± 0.04 $\mu\text{g./g.}$ in guinea pig sensitized with serum of the sensitized rabbits. Five minutes after the provocation of anaphylaxis, the average lung serotonin level was 0.58 ± 0.17 $\mu\text{g./g.}$ This results indicated a significant increase comparing with that of normal guinea pig and a considerable increase comparing with that of sensitized subjects.

From the results mentioned, above serotonin is thought to be released from platelets by antigen-antibody reaction and to be one of the chemical mediators playing a part in the occurrence of anaphylactic shock.

Studies on House Dust

—Cross-reactivity between House Dust and the Cell Components of *Staphylococcus aureus* in Bronchial Asthma—

Toshihisa Yoshida

First Department of Internal Medicine, Shyowa University School of Medicine, Tokyo

(Director: Prof. Yasuo Kawakami)

The house dust is one of the important allergens for the cause of bronchial asthma. It consists of various substances, such as detritus of furniture, bedding and clothes, danders of human and animals, as well as bacterias, mycobacterias and mites.

Besides, there is intimate relationship between infection and asthma which attack is frequently caused by common cold or bronchitis etc. Although etiological significance of bacterial infection for the asthmatic attack is still discussing, it seems to be sure that sometimes bacterias affect on the human bodies as one of the exogenous allergens.

In some cases, sufficient therapeutic effect of the hyposensitization with only house dust was observed on the patients whose asthmatic attack was connected closely with episodes of bacterial infection. Consequently, it was suggested that these patients have some common antigenicity against both house dust and bacteria.

In this paper the cross-reactivity between house dust and the cell components of bacterial body obtained from homogenized *Staphylococcus aureus* was studied. In view of several investigations, this bacteria was chosen because it was characterized by relative high incidence of positive skin reaction among common bacterias in upper air way.

1) In 52 patients with bronchial asthma, the positive rate of immediate skin reaction for house dust was 78.8%, and the positive rate of same reaction for bacterial cell components of *Staphylococcus aureus* was 63.5%.

Some relationship between both skin reactions was recognized.

2) In non asthmatic control subjects, the positive rate of immediate skin reaction with cell components of *Staphylococcus aureus* as well as with house dust was low. In addition, the positive rate of delayed skin reaction with both antigens was also low in the patients with asthma and without asthma.

3) In the rabbit anti-sera against house dust, hemagglutinin titer was elevated not only for house dust, but also for the cell components of *Staphylococcus aureus*.

Similarly, rabbit anti-sera against cell components of *Staphylococcus aureus* in which high value of hemagglutinin titer was shown, presented also some elevation of antibody titer to house dust.

Also in inhibition tests, there was shown cross reactivity between both antigens.

4) In gel diffusion test, house dust showed several precipitation lines against anti-house dust sera,

72-(72)

and cell components of *Staphylococcus aureus* showed one precipitation line which was overlapped with a line presented by house dust.

5) In the patients who were under hyposensitization treatment with house dust, increased titers of hemagglutinin and blocking antibody against both house dust and components of *Staphylococcus aureus* were recognized.

From these results, it was concluded that there is immunological cross reactivity between both antigens of house dust and cell components of *Staphylococcus aureus*.

In addition, these results might contribute the evaluation of etiological role of infection for the onset of asthma and the application of vaccine therapy for this disease.

Double-Blind Cross-Over Evaluation of the Effectiveness of Disodium Cromoglicate on
Bronchial Asthma in Children, with Special Reference to the Application of a
Score Method for the Symptoms and Treatments

Noboru Kobayashi, Hiroya Takashima, Mutsuaki Kono,
Hidehiko Haruna, Hiroshi Hayakawa,
Ayako Juji and Ikuko Kikuchi

Pediatric Allergy Clinic, Department of Pediatrics, University of Tokyo, Tokyo

Inhalation of disodium cromoglicate (DC) was tried on children with bronchial asthma in the Pediatric Allergy Clinic, University Hospital, University of Tokyo. There were 30 patients, 21 boys and 9 girls, aged from 6 to 15 years old (mean age 9.6 years old). The effectiveness was evaluated by a double-blind cross-over method, using doctor's assessment, parents' assessment, counting and scoring the symptoms (wheeze and stridor and/or cough) and treatments recorded in asthma diary by parents. Statistical analysis was made by the Wilcoxon's signed rank test. The results were as follows.

1. The doctor's assessment of effectiveness is statistically significant, while the parent's assessment is not considered to be significant.

2. Number of the episodes of wheeze-stridor and wheeze-stridor-cough is significantly decreased during the treatment with DC than with placebo. Number of the episodes of cough is not significantly decreased.

3. Number of p.r.n. medication (bronchodilator-antihistaminics complex) for asthmatic attack is significantly decreased during the treatment with DC than with placebo.

4. By the score method of the Department of Pediatrics University of Tokyo (Table 2) for asthma, the total count of symptoms and treatments and the asthma index, which indicates severity of asthma, are significantly decreased during the treatment with DC than with placebo.

Inhalation of disodium cromoglicate is considered to be effective for bronchial asthma in children.

A Single-blind Trial of Disodium Cromoglicate (Intal) in the Treatment of Allergic
Bronchial Asthma

Dentaro Kurokawa

Dept. of 1st Internal Medicine, Kansai Medical School, Moriguchi

A single-blind trial, in a "trapdoor" type design, of disodium cromoglicate (Intal) was carried out