

原 著

室内塵の抗原に関する研究

北海道大学内科学第二講座 (主任: 真下啓明教授)

柿 沼 光 明

(受付: 1 日16日, 1964)

我が国の気管支喘息等のアレルギー疾患の重要なアレルギーとして, 室内塵が挙げられており, 室内塵エキ스는喘息の診断および治療 (減感作療法) に使用されているが, 室内塵そのものについてはまだ不明の点が多い. 著者はこの報告で室内塵アレルギー多様性について, いくつかの角度から行つた臨床的研究の結果を述べるとともに, 室内塵のヒトとウサギに対する抗原性の違い, 室内塵抗原が多糖類, 蛋白質あるいは peptide といった一定の化学的性質を持っているか否かについて検討した結果を報告する.

研究対象と方法

表1 室内塵エキス及び真菌エキス
(鳥居薬品研究所提供)

House Dust	PN μg/ml	TN μg/ml	真菌エキス	PN μg/ml	TN μg/ml
lot 4	0.03	0.10	Candida		
" 29	0.05	0.32	Alternaria		
" 64	0.085	0.19	Cladosporium		
" 84	0.14	0.76	Penicillium		
" 85	0.08	0.57	Gliocladium		
" 320			Phoma sp.		
" 271	0.1	0.28	Trichoderma viridae		
" 260	0.1		Fusarium sp.		
			Paecilomyces sp.		
			Mucor hiemalis		
			Pullularia pullulans		
			Botrytis cinerae		
			Chaetomium globosum		
			Helminthosporium		
			Aspergillus		

1. アレゲンルエキス

室内塵 (以下HDと略す) エキスの一部および真菌エキスは鳥居薬品研究所より提供された. これらはDP液 (Dextrose: 45 g, phenol: 5 g, NaHCO₃: 2 g, 水: 1000ml) で抽出されたもので, その種類は第1表に示した. HDエキスの中で lot 4, 84, 85, 110は全国から集めて pool したHDエキスであり, lot 273は北海道苫小牧市の喘息患者の家庭から集めたもの, lot 260は九州の喘息患児の家庭から集めたものである.

札幌市のHDエキス抽出は上記とは異なり抽出液の検討を加えた. すなわち昭和37年9月から11月の間に札幌市の郊外の一般家庭から集めたHDを石油エーテルで脱脂した後, 5 gずつ10 lot に分けて第1図に示す方法で抽出した. 即ち 0.5 N NaOH 抽出4 lot, 0.5 N HCl 抽出3 lot, pH 7.2, 0.15M 磷酸緩衝液抽出3 lot である. 同一抽出液による抽出を3ないし4 lot ずつ行つたのは, 室内塵は均一な物質でなく同一抽出液を用いても異なる物質が抽出される可能性があるが, 3ないし, 4 lot ずつ比較すれば抽出法の差異を明らかにし得ると

図1 室内塵エキス抽出法

オ一群 (酸抽出) 0.5 N HCl
オ二群 (中性抽出) pH 7.2, 0.15M 磷酸緩衝液
オ三群 (アルカリ抽出) 0.5 N NaOH

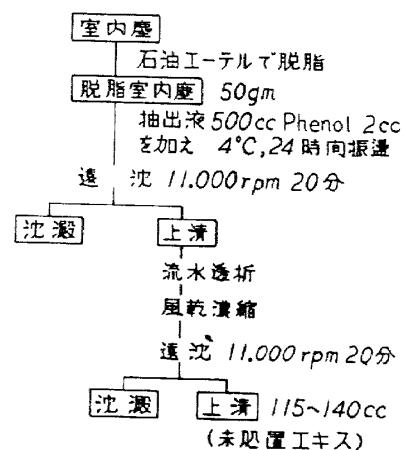
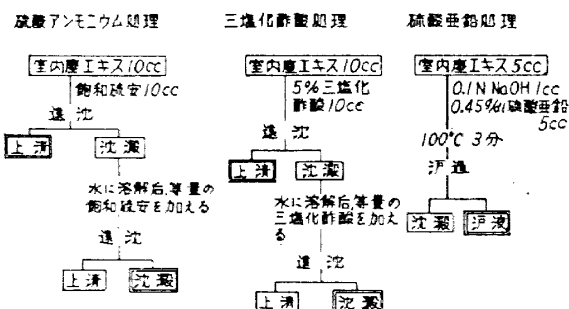


図2 いわゆる除蛋白分画法



考えたためである。抽出されたHDエキスの透析前の色調はB (0.5N NaOH抽出)は暗褐色、N (pH 7.2, 0.15M 磷酸緩衝液抽出)は淡褐色ないし淡黄色、A (0.5N HCl抽出)は殆んど無色であつたが、水透析によつてBは黒褐の、Aは白色の沈澱を生じたのでそれらを遠心除去した。

2. 室内塵エキスの分画法

第2図で示す方法で50%硫酸、5%三塩化酢酸および硫酸亜鉛による分画を行つた。これらの方法は一般に除蛋白の目的に使用されるが、これらの方法によつてHDエキス分画々分の一部が完全に除蛋白されたか否かは確認し得なかつた。おのおの分画々分は皮内反応に際して生食水で透析した。

3. 窒素量の測定

Johnson¹⁵⁾の記載した Nessler 法により測定した。

4. Folin-Ciocalteu 反応¹⁶⁾

Peptide 様物質の簡易測定の目的で Folin-Ciocalteu 反応の変法を用いた。

5. 多糖類量の測定

Arabinose 量に換算した Orcin 反応¹⁷⁾あるいは Galactose 量に換算した Indol 反応¹⁸⁾により測定した。

6. Starch Block Electrophoresis¹⁹⁾

Kunkel の記載した方法により、3.5×1.0×40.0cm の cell を用い、pH 8.6, M=0.05, veronal 緩衝液で 320V, 4mA, 16時間泳動した。その40画分について 400 mμ の吸光度測定、Indol 反応、Folin-Ciocalteu 反応を行つた。

7. BDB赤血球凝集反応

Gordon²⁴⁾らの方法によつた。

8. ゲル内拡散法

Oakley 法²⁰⁾および Ouchterlony 法²¹⁾によつた。

9. 定量沈降反応

ウサギ抗血清 1.0 ml に抗原0.01から 3.0 ml の漸増量を加え、さらに pH 7.2 磷酸緩衝液加生食で全量を 4.0 ml とし、48時間 0~4℃に放置した。生じた沈降物を

緩衝液加生食で3回洗滌した後、0.1N NaOH を 2.0 ml づつ加えて溶解し、一部を窒素量、一部を多糖類量測定に用いた。反応は重複して行ない平均値をとつた。上清試験は Oakley 法によつて行つた。

10. ウサギの免疫

HDエキスB、NおよびAでうさぎを免疫した。抗原と complete Freund's Adjuvant (Arlacel A : I. 5ml, 流動パラフィン : 8.5ml, 結核死菌20mg) を等量混合して、総量 5 ml を約10カ所の皮内に注射し、1ないし2ヶ月後に採血した。

11. ヒトの皮内反応

喘息患者は北大第二内科および苫小牧市立病院を受診したものを対象とした。正常群は上記二病院に勤務する健康者および北大第二内科入院患者中でアレルギー疾患と原因および治療上無関係なものを対象とした。

皮内反応の術式は、前腕屈側あるいは背部皮内に被験アレルギーエキスを注射した後15ないし30分に出現する膨疹紅暈型反応の有無によつて判定した。陽性限界は発赤平均直径20mm以上、膨疹が充実し平均直径10mm以上とした。注射量は0.02ないし0.05 ml を用いたが反応に差は認めなかつた。反応曲線濃度 (dose response curve)を見る場合の注射量はいずれか1つに統一した。

研究結果

[A] 室内塵アレルギーの多様性に関する臨床的観察

1. 皮内反応成績

HDエキス lot 84あるいは85の1,000倍稀釈液(以下稀釈倍数とは抽出に供される物質のgに対する抽出mlの比を表わしている。したがつて溶質の重量比を意味していない)に対する皮内反応陽性率は表2に示すよう

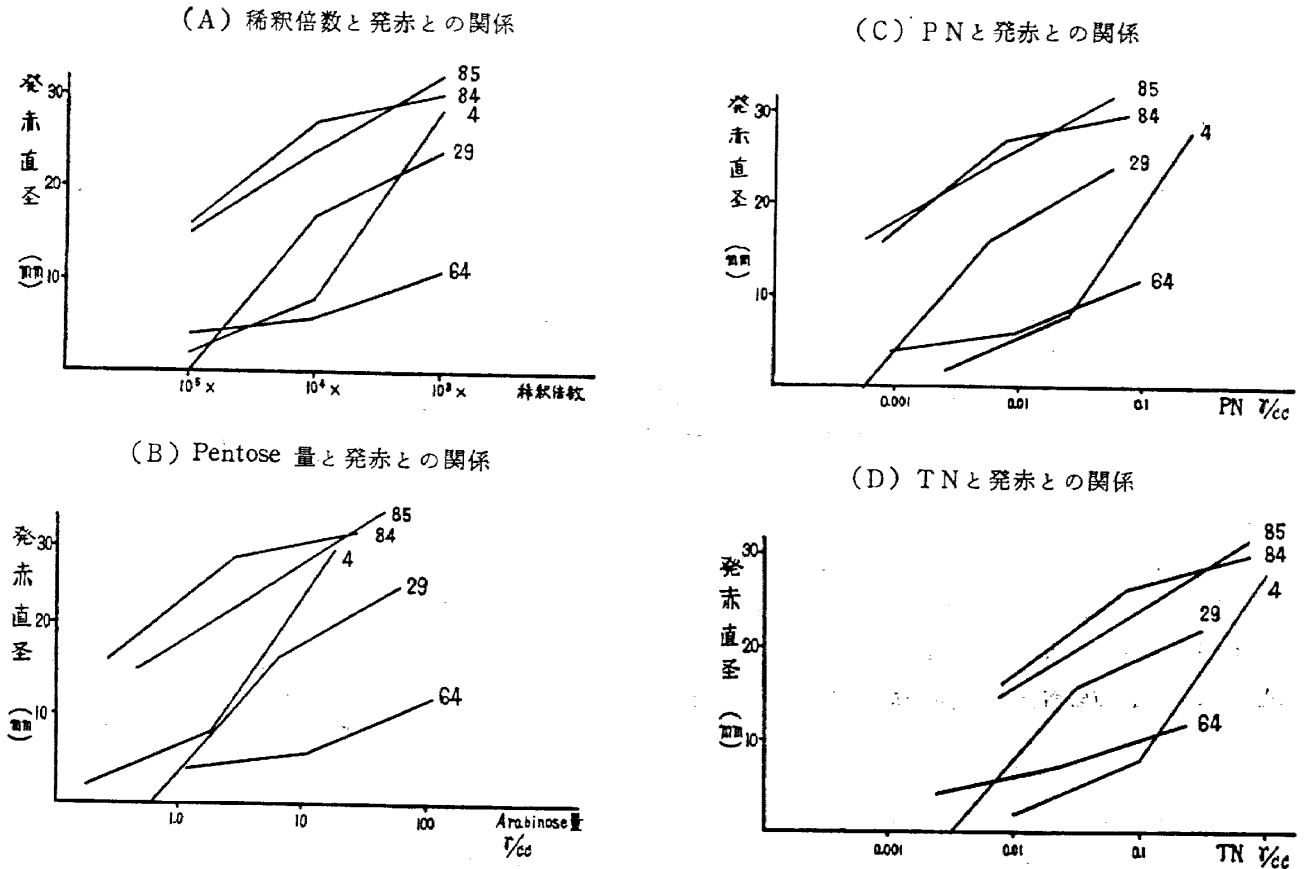
表2 HDエキスによる皮内反応(喘息およびアレルギー性鼻炎患者)

	陽 性	陰 性	計
6才~30才	26 (83.8%)	5 (16.2%)	31
31才以上	18 (37.8%)	28 (62.2%)	46
計	44 (56.1%)	33 (43.9%)	77

対照群

	陽 性	陰 性	計
15才~30才	9 (20.4%)	35 (79.6%)	44
31才以上	4 (13.8%)	25 (86.2%)	29
計	13 (16.4%)	60 (83.6%)	73

図 3 室内塵エキスの lot 差



に喘息群77例中56.1%, 正常群73例中16.4%で喘息群の陽性率が高かった。また年齢との関係をみると喘息群, 正常群ともに若年者の陽性率が老年者の陽性率よりも高く, 若年者喘息群は83.8%の高率であつた。以上の成績はHDエキスと喘息の間に在る関係を端的に表現していると考えられる。すなわちHDが喘息患者にアレルギー反応を惹起し発作を誘発するという考え方を傍証している。

2. いわゆる室内塵エキスの lot 差

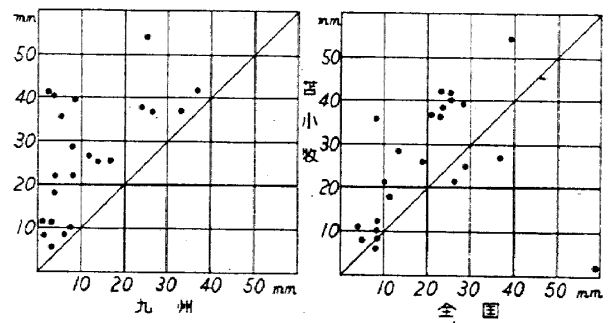
HDの構成成分は「とき」, 「ところ」によつて異なることが予想されるために, HDエキスの力価は一般にヒトの皮膚反応によつて検定されてきた。著者は lot 差を明らかにする目的でHDエキス lot 4, 29, 64, 84, 85 の 1,000倍, 10,000倍 100,000倍稀釈液を10名の喘息患者の背部皮内に注射して平均の発赤直径と稀釈倍数との関係をみた。その結果は, 第3図Aに示したように84, 85, 4, 29, 64, の順で反応が強く, 殊に lot 64 は弱いことが明らかになった。そこでこの lot 間の力価のばらつきが, 稀釈倍数の代りに多糖類量, 窒素量, 蛋白窒素量 (タングステン酸によつて沈澱する部分の窒素量) を用い

ることによつて修正されるかどうかを見たが, これらの測定値はHDエキスの力価と無関係であり (図3 B, C, D), 力価を表現する尺度とはなり得ないと思われた。

3. 室内塵エキスの地域差

以上にみられた lot 差が地域と関係があるか否かを解明するために北海道苫小牧市の喘息患者22名を対象として, 苫小牧市在住の喘息患者7名の家庭から集めたHD

第4図 北海道苫小牧市の室内塵と九州, 全国の lot との相関 (検査対照: 苫小牧市在住患者)



エキスを、九州のHDエキスの3 lot について皮内反応を行い比較検討した。その結果若小牧市のHDエキスを明らかに強い反応を惹起したのに反し、九州のHDエキスを弱く、全国 pool からしたHDエキスの力価は若小牧と九州の間であつた(図4)。

4. Starch Block Electrophoresis による分画々分の抗原性の検討

HDエキスを lot 84の澱粉を支持体とする電気泳動像は第5図に示すようにやゝ原点より陰極側にある鋭いFolin Ciocalteu 反応の峯(400 mμの吸光度はFolin Ciocalteu 反応と一致した)と、それとやゝ陰極側にずれた幅広い多糖類の峯およびいくつかの小さな山からなっていた。この40画分を6画分にプールし、A B C D E Fと名づけた。これら6画分を皮内反応を行つたところ、Cは全5例に陽性反応を呈したが、他の画分は患者によつてあるいは陽性、あるいは陰性であつた(表3)。

5. 室内塵エキスを真菌との関係

HDエキスの抗原物質に真菌が関与しているか否かを

図 5

HD84 Starch Block Electrophoresis

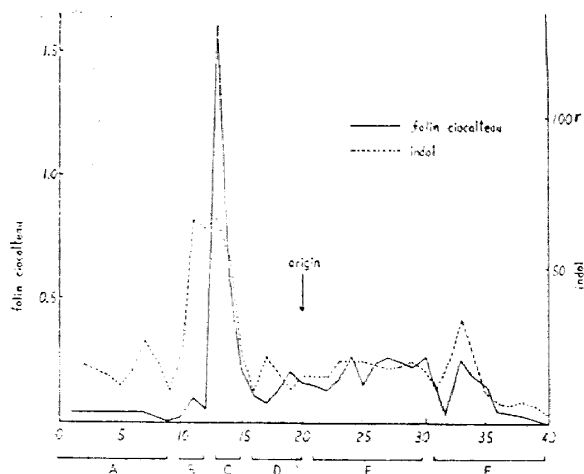


表3 Starch Block Electrophoresis 画分の皮内反応

画分	A	B	C	D	E	F
症例						
1	—	+	+	+	+	+
2	+	+	+	+	+	+
3	—	+	+	+	+	+
4	—	—	+	—	—	+
5	+	+	+	—	—	—

表4 真菌エキスを皮内反応

真菌エキス	例数	陽性
Candida	15	6
Alternaria	16	2
Cladosporium	17	1
Penicillium	16	2
Gliocladium	15	2
Phoma sp.	15	1
Trichoderma viridae	15	1
Fusarium sp.	15	1
Paecilomyces sp.		
Mucor hiemalis		
Pullularia pullulans		
Botrytis cinerae	11	
Chaetomium globosum		
Helminthosporium		
Aspergillus	14	1

表5 皮内反応に於ける真菌エキスを室内塵エキスをとの相関性

		室内塵エキス		計
		陽性	陰性	
真菌エキス	陽性	5	3	8
	陰性	5	8	13
計		10	11	21

検討するために、HDエキスを真菌エキスの皮内反応を同一患者に行つた。個々の真菌エキスでは Candida, Alternaria, Penicillium 等に陽性例を見たが、Candida 以外は低率であつた(表4)。HDエキスを真菌エキスの関係はHDエキスを陽性、陰性、いずれかの真菌エキスを陽性、陰性の四項目について四分表を作り検討した。その結果HDエキスを真菌エキスを共通して陽性あるいは陰性の例は21例中13例に過ぎず相関がなかつた(表5)。

また北大第二内科に入院治療を受けた一症例(藤○藤○郎, 61才, 8)の皮内反応成績はHDエキスの何れにも陰性、真菌エキスの大部分に強陽性であつた。真菌混合エキスを減感作療法を試みたところ極少量のエキスによつても発作を誘発したために遂に中止した。この症例はその後喘息重症状態となり発作死の転起をとつたが、このような症例の存在もHDエキスを真菌エキスを対するアレルギーは独立に存在することを唆示していよう。

表6 室内塵エキスの測定値 N 窒素量 Ps 多糖量類

劃分	Mg/ml	アルカリ抽出				中性抽出			酸抽出		
		1	2	3	4	1	2	3	1	2	3
未処置	N	1.8	4.8	4.1	3.2	0.37	0.48	0.24	0.12	0.10	0.13
	Ps	6.3	37.5	23.0	17.3	21.3	8.1	6.8	13.3	10.6	14.3
	N/Ps	0.28	0.13	0.13	0.18	0.017	0.058	0.035	0.009	0.009	0.009
硫酸濾液	N	0.12	0.33	0.85	0.74	N	N	N	N	N	W
	Ps	12.0	16.5	14.5	20.5	10.0	10.5	8.0	8.5	4.9	10.0
	N/Ps	0.01	0.018	0.055	0.036						
硫酸上清	N	1.5	1.7	2.8	1.8						
	Ps	19.1	13.3	30.0	15.5						
	N/Ps	0.08	0.12	0.09	0.11						
硫酸沈澱	N	7.3	19.7	16.1	24.5						
	Ps	3.5	17.0	9.5	15.5						
	N/Ps	2.23	1.16	1.69	1.68						
TCA上清	N	1.7	4.2	2.6	2.3						
	Ps	24.0	50.0	41.0	46.5						
	N/Ps	0.071	0.085	0.063	0.049						
TCA沈澱	N	2.0	4.2	4.0	7.5						
	Ps	3.1	11.5	8.6	8.9						
	N/Ps	0.63	0.36	0.47	0.86						

6. 小括

以上に述べたHDエキスの臨床的観察から、HDの抗原性は採取場所によつて異なり、泳動性を異にする。多数の抗原の集合体であり、また患者によつて抗原となるものが異なることが明らかにされた。

〔B〕札幌市の室内塵エキスに関する基礎的研究

複雑な組成を持つHDエキスの抗原に化学的に共通した性格があるか否かについて、札幌市のHDエキスを対象として抽出法、除蛋白法による分画、ウサギの沈降素法などを用いて検討した。

1. 抽出法による差

第1図の方法で抽出されたHDエキスの色調は透析後もBは褐色、Nは淡黄色ないし淡褐色、Aは殆んど無色いずれも透明であつた。400m μ の吸収は多糖類が多量のためか測定出来なかつたが、その色調は窒素量と大略一致していた。すなわち第6表に示したように窒素量はBは1.8~4.8 μ g/ml, Nは0.24~0.48, Aは0.10~0.18であり、多糖類量はBは6.3~37.5 μ g/ml, Nは6.8~21.3, Aは10.3~13.3と3群の間に大差がなかつた。窒素量と多糖類量の比(以下N/PSと略)はBは0.13~0.28, Nは0.017~0.058, Aは0.009であつた。

2. 分画々分の性状

第2図に示した3つの分画法をBについて行つた。画分のN/PSは硫酸上清は0.082~0.12, 硫酸沈澱は1.16~2.23, 三塩化酢酸上清は0.049~0.085, 三塩化酢酸沈澱は0.32~0.89であつた。またB, N, Aの硫酸亜鉛濾液のN/PSは窒素量がBでは僅かに検出されたが他のNおよびAでは検出されず、いずれもかなり低い値と考えられた。

3. ヒトの皮内反応成績

B, NおよびAの未分画HDエキス, およびBの画分に対するヒトの皮内反応成績は以下述べる如くであつた。

未分画エキスでは第7表の症例に見るように、BとN

表7 粗抽出液による皮内反

応 T. T. 39才(膨疹/発赤mm)

アルカリ抽出	lot 2	8×8/15×25
"	3	7×7/25×25
"	4	7×7/25×25
中性抽出	lot 1	8×10/35×25
"	2	7×7/25×25
"	3	7×7/25×30
酸抽出	lot 1	4×4/10×10
"	2	4×4/10×10
"	3	4×4/10×10

表8 いわゆる除蛋白分画法による画分の皮内反応 (B₁)

画 分	症 例									計
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
末 処 置		+	+	+	+	+	+	+	+	8/8
硫酸亜鉛濾液	+	—	+	+	—	—	—	—	—	3/9
硫酸上清	+	—	+	+	+	+	+	+	+	8/9
硫酸沈澱	—	+	+	+	+	+	+	+	+	8/9
三塩化酢酸上清	+	—	+	+	+	+	+	+	+	8/9
三塩化酢酸沈澱	+	—	+	+	+	+	+	+	+	8/9

表9 いわゆる除蛋白分画法による画分の皮内反応 (HD. lot 84)

画 分	症 例									計
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
末 処 置	+	+	+	+	+	+	+	+	+	9/9
硫酸亜鉛濾液	+	+	+	—	+	—	—	+	—	5/9
三塩化酢酸上清	+	+	+	+	+	+	+	+	—	8/9

は同じ強さであつた。Aは反応陰性であつた。他の症例においても同様の成績が得られた。これらの成績からBとNとは共通抗原を持つ可能性があり、少なくともBに多量に含まれる褐色物質は抗原と無関係と予想された。

次にB lot 1のいわゆる除蛋白分画法による画分について行つた皮内反応成績を見ると、症例によつて多少の違いがあるが、硫酸上清、硫酸沈澱、三塩化酢酸上清、三塩化酢酸沈澱の四分画は未分画エキスを同じ程度の皮内反応を示したのに反し、硫酸亜鉛濾液に陽性反応を示したものは9例中3例であつた(表8)。

これらの分画法による画分の一部を鳥居薬品提供のHDエキス lot 84について得て、末処置、三塩化酢酸上清、硫酸亜鉛濾液の皮内反応を試みたところ、B lot 1の場合と同様に三塩化酢酸上清では未分画エキスと大略等しい反応を示したが、硫酸亜鉛濾液は一部の症例にのみ陽性を示した(表9)。

以上の皮内反応成績から、HDエキスを分画するとN/PSの大きい画分も小さい画分も皮内反応を惹起するが、硫酸亜鉛のように僅かに窒素が検出される画分では抗原の大部分が消失する事が知られた。

4. ウサギ抗血清とのゲル内拡散法

ウサギのHDに対する抗体はBおよびNで免疫した場合に得られ、Aに対する抗体は得られなかつた。抗N抗体の力価は抗B抗体に比べて低かつた(BDB赤血球凝

集反応で抗B抗体 2,000倍、抗N抗体 300倍、沈降反応でも両者に差があつた)ので以下の実験には抗Bウサギ血清を用いた。

ウサギ抗血清とB、NおよびAのOuchterlony法によるゲル内拡散法の結果を図6、図7に示した。総括すれば下記のようなのである：

a), Aと抗Bとは反応しない。

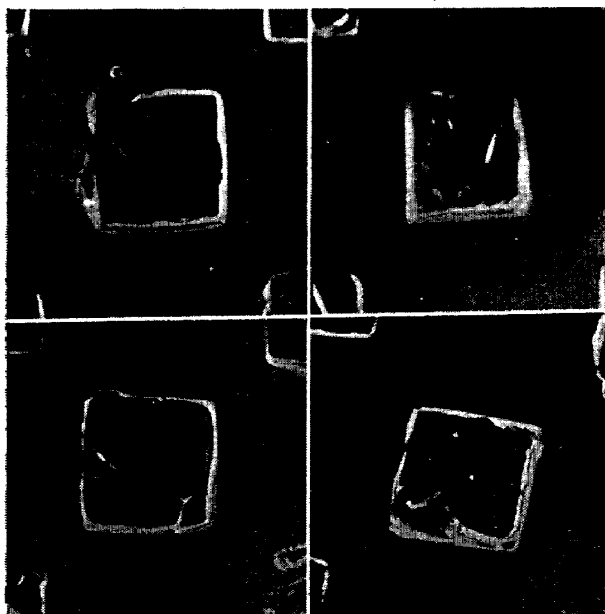
b), 抗Bに対し、BとNは1ないし3の沈降線を形成し、そのうち2本はB 4 lot N 3 lotの全lotに共通してfusionしており、共通抗原の存在が考えられる。fusionしない沈降線が存在する場合もあるが、これはlot差に基ずくか、あるいは量的関係でfusionしない共通抗原であるのかは明らかにし得なかつた。

Bの分画々分のdouble gel diffusion testでは、三塩化酢酸上清、硫酸上清に共通する一本の沈降線を認めたが、他の画分には沈降線を認めなかつた。すなわちウサギの沈降抗体と反応する抗原はヒトの皮内反応抗原と異なつてかなり窒素量の少ない画分に抗原が認められ多糖類の関与が予想された。またBに含まれる褐色物質には抗原がないと考えられた。

6. 定量沈降反応

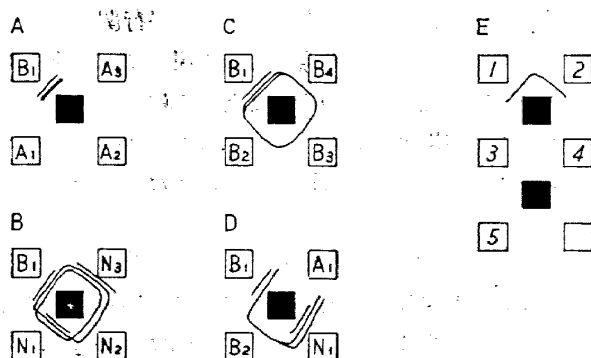
ウサギ抗血清とB lot 1との定量沈降反応の結果を図8、表10に示した。抗体が単一でなく、加えた抗原の量も不明なために解析できないが、沈降物の窒素量と

図 6



(Schema A, B, C, D の写真)

図 7. ウサギ抗血清との Gel Diffusion Test

■ : 抗 B₁ ウサギ血清

1 : 三塩化酢酸上清

2 : 硫酸上清

3 : 三塩化酢酸沈殿

4 : 硫酸沈殿

5 : 硫酸亜鉛濾液

多糖類量を測定して N/PS をみると抗体過剰域において、加えた抗原量の増加するに従って N/PS が低下してゆくのを認めた。このことからウサギ沈降抗体と反応する HD 抗原には多糖類が関与していると考えられた。

6. 室内塵抗原はヒトとウサギで異なるか否かについて

ウサギに沈降抗体を産生した HD 抗原がヒトの皮内反応抗原になりうるか否かは、動物実験を人体に応用して考える際の基本的問題である。著者はウサギ抗血清で吸

図 8 定量沈降反応 (2)

ウサギ抗血清 1.0ml

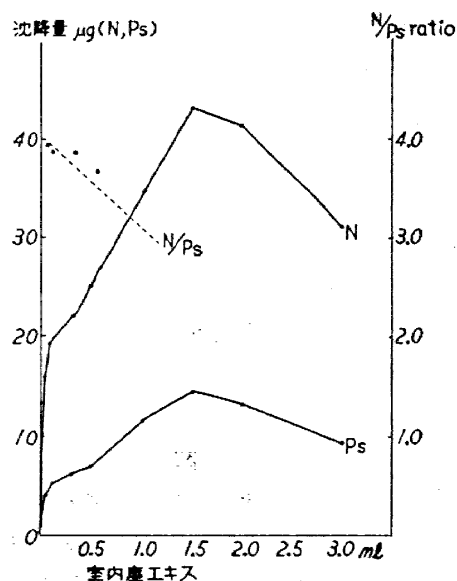


表10 定量沈降反応 (1)

室内塵 エキス ml	多糖類量 μg	窒素量 μg	窒素量/ 多糖類量	上清試験	
				抗体	抗原
0.05	3.5	6.0		+	-
0.07	3.6	14.0	3.9	+	-
0.1	5.0	19.0	3.8	+	-
0.3	5.9	22.5	3.8	+	-
0.5	6.6	24.5	3.7	+	-
1.0	11.6	35.0	2.8	-	-
1.5	14.4	43.5	2.8	-	+
2.0	9.6	41.5	4.3	-	+
3.0	9.8	31.5	2.8	-	+

収した HD エキスをヒトの皮内反応を行ない、また HD エキスとウサギ抗血清の沈降物から遊離した抗原でヒトの皮内反応を行なった。これらによってヒトとウサギにおける HD 抗原性の差異を明らかにしようとした。

HD エキスのウサギ抗血清による吸収は、定量沈降反応で上清部分に抗原の証明されない点すなわち B lot 1 : 3.0ml, 抗血清 : 6.0 ml を 0° ~ 4° に 24 時間放置し、11,000 rpm, 20 分遠沈して上清と沈降物に分け、上清部に 9.0 ml の 5% 三塩化酢酸を加えて 11,000 rpm, 20 分遠沈して上清を得て生食水で透析した。

他方ウサギ抗血清と B lot 1 との沈降物を pH 7.2, 0.15M 磷酸緩衝液加生食で 3 回洗滌し、0.2 N Na OH,

3.0ml に溶解し、37℃に1時間振盪した。11,000 rpm, 20分遠沈して不溶物を除去した後等量の5%三塩化酢酸を加えて11,000 rpm 20分遠沈し、上清と沈澱に分けて透析した。上清部と沈澱部はゲル内拡散法においてそれぞれ抗原および抗体としての性質を保っていたので、上清部分を「ウサギ抗原」と仮称した。

前記のウサギ抗血清で吸収したHDエキ스는被験患者のいずれにも強い皮内反応を惹起したが、「ウサギにおける抗原」は6例中3例にのみ皮内反応陽性を示し、この結果からヒトの皮内反応抗原のなかでウサギの抗原になり得るものは一部分に過ぎないことが明らかにされた。

考 案

我が国においてHDエキ스와喘息の関係を報告したのは1934年の仁保¹⁾が初めであるが、1959年に至つて川上²⁾がその重要性を指摘して以来、一般に認められるようになり、HDエキ스는診断および治療に応用されてきた。しかしHDエキ스가喘息患者のアレルゲンとなつてゐる比率は恐らくは皮内反応陽性率よりも少ないであろうと考えられる。というのはHDエキスの診断、治療への応用に際して、まだまだ解決されなければならない問題が多いからである。

(I) 皮内反応と室内塵アレルギーの多様性について

皮内反応がアレルゲン診断に有力な手段であることは一般に認められている。勿論、真のアレルゲン検査は皮内反応の他に受身移入試験 (Prausnitz-Küstner 試験)、眼反応、誘発試験等^{3,4)}の成績を加味しなければならないと考えられている。

皮内反応そのものについては種々の問題点があり年齢による皮膚の反応性の違い、注射局所の反応性の違い、濃度反応曲線の形等は常に注意されるところである。年齢と皮膚の反応性について Efron²²⁾ らは年齢が上昇すれば皮膚の反応が減少すると述べているが、著者の成績も若年者の反応が高年者よりも大であつた。この現象は年齢と共にアレルゲンの数が増加するという考え方とは逆の現象である。しかし最近川上³⁾は老人の喘息患者でHDエキ스에皮内反応陰性でも、その患者血清中に受身移入出来るレアギンを証明できる場合があるという。このような例が存在するならば、それは皮膚の反応性が関与しており、年齢によつて皮内反応成績が異なるのも一部にはこのような因子が関与していると考えられる。

反応部位と濃度反応曲線については石崎⁶⁾の詳細な研

究がある。彼は濃度反応曲線は悉年律によると述べているが著者が力価の比較に際して用いた濃度反応曲線からみると、必ずしも悉無律とは言い切れず、場合によつては抗原濃度の対数と反応直径のS字状曲線と考えられることがあるのを認めた。

HDエキ스でもつとも効果のあるものは自家HDエキスであるが^{7,8)}、自家エキスを常備することは特殊なクリニックにのみ許されることであり、普遍性と安全性を持たせるためには、poolしたHDエキスの製品化が要求される。その点から著者はHDエキスのlot差、地域差について臨床的研究を行ない、皮内反応を指標として患者の居住している地域のHDの重要性を指摘した。

しかしHDエキスを Starch Block Electrophoresis で分画した成績^{12,13)}、またはクロマトグラフィー法で分画した成績¹⁴⁾をみると、HDエキスの抗原は無数であり、かつ患者によつて抗原が異なる事実が確認できる。また個々のアレルゲンエキスとの関係については著者のみた真菌との関係を Schaffer²³⁾ が New Jersey において調べ、空中真菌数とHDの真菌数に平行関係があると述べ、高橋⁹⁾も著者と同様の方法を用いて、真菌とHDとの交叉反応性を見ている。また「ふけ」については Voorhorst²⁴⁾、Stanwarth²⁵⁾、Berrens¹⁴⁾の報告があるが、「ふけ」もHDの主要抗原とは言えないようである。

HDエキスの中には非抗原物質が多く含まれているが、このような夾雑物の皮膚反応に及ぼす影響は余り知られていない。HDエキスに対する生体反応は他のアレルゲンに対する反応はやゝ趣を異にしている。皮内反応、減感作療法中の発作誘発の頻度が著るしく少ないのは、花粉、真菌と違つており、ペニシリンショックの減感作¹⁰⁾の困難さと比べて余りにも容易に行ない得る。減感作療法後の皮内反応も著者¹¹⁾等の経験したビタミンB₁ショックの症例と異なり著減しない。これらの現象は夾雑物の除去がある程度可能になつて初めて論ずることが出来よう。

(II) 室内塵エキス抗原の化学的性質について

HDエキス抗原を精製しようとする試みは、それが単一抗原を求めるにせよ、共通性質を発見して多様な抗原全体を精製するにせよ、いくつかの報告にみることがでる。その一番古い歴史を持つ流れは Acetone で沈澱する一定の画分をとる方法で Boatner²⁶⁾、Sutherland²⁷⁾、Rimington²⁸⁾らが応用し、他方 Campbell および Vannier²⁹⁾,³⁰⁾,³¹⁾は硫酸、methanol による分画の後に、ア

ルカリ性の酢酸鉛で沈澱する画分を得た。Rimmingtonらの得たものも、Vannierらの得たものも終末画分には少量の窒素と多量の多糖類を含んでいるが、その後Berrens¹⁴⁾らは以上の方法を混合して精製したが、その終末画分からPeptideを除くことができなかったという。他方Lietze³³⁾、Brun³²⁾はアルコールを主に使つて分画しているが、BrunがMethanol分画で得たものは蛋白反応が陰性であつたという。しかしBrunの成績から直ちにHD抗原は多糖類と断言するのは無理であろうと思われる。

著者は基本的な抽出液について検討し、0.5 N NaOH抽出と中性抽出では抽出される抗原に差を認めなかつたので、中性抽出が良いと考えた。なお0.5 N HCl抽出で抗原が抽出されなかつたのは強酸を用いたために抗原が変化した可能性も考えられるので、今後の検討を要すると思う。また、いわゆる除蛋白法を応用した分画法では、三塩化酢酸、硫酸ともに上清、沈澱の双方に抗原性を認め、硫酸亜鉛濾液には抗原の一部分しか存在しなかつた。以上の結果から、アルカリ抽出HDエキスの多くの窒素化合物は抗原と無関係であるが、窒素量の極めて少ない硫酸亜鉛濾液で抗原の一部しか存在しなくなる点から考えるとpeptideの関与は否定出来なかつたか。

一方ウサギ沈降抗体と反応する抗原についての研究では明らかに多量の多糖類の関与を思わせ、除蛋白画分のN/PSの低い三塩化酢酸上清、硫酸上清に抗原を認めるとともに、定量沈降反応の沈降物に抗原由来の多糖類を証明した。しかしウサギにおける抗原も、硫酸亜鉛濾液のように窒素量の著しく低い画分では沈降反応陰性であるが、BDB赤血球凝集反応が陽性であることから考えると、抗原は多糖類のみとは思われない。

ウサギにおけるHD抗原の性格は以上のようにかなり多糖類の関与を物語っている。そこでヒトにおいて皮内反応を惹起するものが、ウサギの沈降抗原といかなる関係にあるかをみたところ、ウサギとヒトに共通して抗原となり得るものはヒトの皮内反応惹起物質の一部に過ぎないことが明らかにされた。これらの成績からヒトの皮内反応抗原は多糖類、peptideのいずれとも決めることは出来ず、恐らくは両者が関与しているものと想像された。

結 語

室内塵エキスの抗原の多様な性格は室内塵構成々分、患者の反応性の2因子によつていたために多くの患者に共通する単一抗原を予想することは難かしい。

2. ヒトに対する室内塵抗原は、多糖類、peptideの両者とも関係しているように思われ、ウサギの沈降抗体と反応する抗原が主として多糖類が関与しているのとは異なる。しかしヒトとウサギの間に僅かながら共通抗原が見出し得る。

終りに臨んで、御指導御校閲を賜つた真下啓明教授に深甚の謝意を呈します。また御指導戴いた故鳥居敏雄教授、北大堀内淑彦助教授に深く感謝いたします。

文 献

- 1) 仁保泰：日内誌，22，543，1934.
- 2) 川上保雄：日本臨床，17，965，1959
- 3) 宮本昭吾：アレルギー，9，968，1960.
- 4) 可部順一郎他：アレルギー，10，600，1961
- 5) 川上保雄：堀彦内淑への個人通信
- 6) 石崎達：アレルギー，12，14，1963
- 7) 村野順三他：アレルギー，12，269，1963
- 8) 中山善弘他：アレルギー12，271，1963
- 9) 高橋昭三他：アレルギー10，223，1961.
- 10) 鳥居敏雄：日本医師会設立記念第7回医学大会講演集，p. 100，1954
- 11) 川崎武他：日内誌，51，246，1962.
- 12) 広瀬俊一他：アレルギー11，316，1962
- 13) 高橋昭三他：アレルギー12，219，1963.
- 14) Berrens, L. et al.: Int. Arch. Allergy, 19, 341, 1961
- 15) Johnson, M.J.: J. Biol. Chem., 137, 575, 1941.
- 16) Kabat, E.A. and Mayer, M.M.: Experimental Immunochemistry, p 557, 1961
- 17) Kabat, E.A. and Mayer, M.M.: Experimental Immunochemistry, p 527
- 18) Kabat, E.A. and Mayer, M.M.: Experimental Immunochemistry, p 527
- 19) Kunkel, H.G.: Methods of Biochemical Analysis, 1, 141, 1954
- 20) Kabat, E.A. and Mayer, M.M.: Experimental Immunochemistry, p 83, 1961
- 21) Ouchterlony, O.: Progress in Allergy, 5, 1, 1958
- 22) Efron, B.G. et al.: J. Allergy, 9, 443, 1938—1939
- 23) Schaffer, N. et al.: J. Allergy, 24, 348, 1953
- 24) Voorhorst, R.: Occupational Allergy, p 260, Stenfort, Kroese, leiden, 1953.
- 25) Stanwarth, D.R.: Biochem. J., 65, 582, 1957
- 26) Boatner, C.H.: J. Invest. Dermat., 5, 7, 1942
- 27) Sutherland, C.: Brit. Med. J., 2, 280, 1942.
- 28) Rimington, C. et al.: Bri. J. Exper. Path.,

- 28, 309, 1947.
- 29) Vannier, W.E. et al.: J. Allergy, 25, 73, 1954.
- 30) Vannier, W.E. et al.: J. Allergy, 30, 198, 1959
- 31) Vannier, W.E. et al.: J. Allergy, 32, 36, 1961
- 32) Brun, R.: Acta Allergol., 13, 174, 1959.
- 33) Lietze, A. et al.: Int. Arch. Allergy, 20, 344, 1962.
- 34) Gordon, J. et al.: J. Exper. Med., 108, 37, 1958.
-

Abstracts of Originals

Studies on the Antigenicity of House Dust Extract

Mitsuaki Kakinuma

2nd Depart. Internal Medicine, Hokkaido University School of Medicine

Although the antigenicity of house dust on human asthmatic patients has been emphasized especially in Japan, there have been scarce knowledge concerning its chemical nature and its origin. In this paper, the multiplicity of house dust allergy was discussed on the basis of lot variety caused by regions and different reactivities of patients.

So called "deproteinizing procedure" such as 5 per cent trichloroacetic acid precipitation, 50 per cent saturated ammonium sulfate precipitation and zinc sulfate method were used for fractionation of house dust extract. The zinc sulfate diminished much of the antigenic activity in its filtrates, on the other hand, the former two methods divided the original antigens into two fractions of equal activities (in supernatants and in precipitates).

In animal experiment, agar gel diffusion test and quantitative precipitation test revealed that the anti-house dust antibodies in rabbit sera were precipitated chiefly by the polysaccharide constituents of house dust extract.

The house dust extract absorbed with rabbit anti-house dust antibodies elicited strong intradermal responses on patients. From the immune precipitate, the precipitating antigens of house dust extract were removed by the use of alkaline solution and trichloroacetic acid, then tested on patients, and found to elicit positive intradermal reactions in 3 out of 6 asthmatic patients.

With these studies, it would be suggested that the chemical nature of house dust extract responsible for the elicitor of wheal and erythema reaction in human being might be a mixture of polysaccharides and peptides.

Studies Upon Threshold Dilution of House Dust Antigen to Positive Intradermal Reaction on Asthmatic Patients

**Tatsushi Ishizaki, Takao Shida, Munenori Kajino,
Sohei Makino & Koji Ito**

Department of Physical Therapy & Medicine, University
of Tokyo, School of Medicine

Antigenic solution of house dust from two different commercial lots (No. 110 & No. 320 of Torii Co.) were tested on 63 asthmatic patients in our clinic antigenic potency was compared between them by using a series of double fold dilution of antigen to same individuals.

1) No. 110 and No. 320 were considered to be same in quality regarding antigenicity, because skin reaction of two lots in same individuals were highly correlated in each other.

2) Regarding threshold dilution of antigen, patients reacted more sensitive to No. 320 than No. 110, and there was almost linear correlation of threshold between two lots. subsequently, equivalent dilution between them regarding antigenicity is easily obtained from the correlation chart, and resulted value is 1/1.82 (No. 110/No. 320).

3) Threshold dilution of house dust antigen was positively related to the sensitivity to acetylcholine inhalation test (decrease of one second vital capacity).

4) Patients with nasal symptom in asthma attack were more sensitive on skin test of threshold