

琵琶湖南岸（守山地区）で行ったユスリカ
アレルギーテストについて

守山市民病院

松原恒雄

東京大学物療内科

伊藤幸治 宮本昭正

帝京大学寄生虫学

渋谷敏朗 亀井喜世子

富山医科薬科大学

佐々 学

琵琶湖産ユスリカの主要種はアカムシユスリカとオオユスリカである。琵琶湖の南岸，守山市にて無作為的に選択した各年齢層の気管支喘息患者にユスリカ抽出液による皮膚反応，RAST をおこない，その結果を他の地方における報告と比較し琵琶湖の影響を検討した。

セスジユスリカ成虫抽出液によるスクラッチテストでは129名中35名（27％）に陽性で，陽性患者はすべて室内塵にも陽性であった。アカムシユスリカによる RAST では64名中16名（25％），セスジユスリカでは12名（19％）が陽性であった。セスジユスリカによる皮膚テストは20～39歳の層でもっとも陽性率が高かった。

アカムシユスリカに対する RAST の陽性率は東京都，富山市，岡山市での成績に比し有意の差はなく，琵琶湖の影響が特に大きいという結論は得られなかった。

Key words: Lake Biwa — midge allergy — RAST — skin test

緒 言

ユスリカは蚊に似た形態を持っているが吸血性はない。幼虫は泥中に棲息し，羽化後数日以内に交尾，産卵して一生を終える。佐々によると日本では約470種が知られている¹⁾。いずれも幼虫が血色素を持ち，汚水の程度により棲息種類が異なるので湖沼，河川などの汚染の指標ともなっている。アカムシユスリカ以外はほとんどユスリカ亜科 (*Chironomus*) に所属する。汚染した流水域のユスリカはセスジユスリカで代表される。ある程度汚染した止水域としての琵琶湖に発生するユスリカの主な種類はオオユスリカとアカムシユスリカで，オオユスリカが3～4月と9～10月初め，アカムシユスリカが11～12月初めに羽化する²⁾。ユスリカは蚊柱を作ったり，灯火に押し寄せたりして不快昆

虫となるほかに近年スーダン³⁾のほか日本でも気管支喘息のアレルゲンとなっていることが報告されており，東京都⁴⁾，富山市⁵⁾⁶⁾，岡山県⁷⁾と鳥取県⁷⁾で調査されている。今回，我が国で最も大きい湖である琵琶湖の南岸，守山地区でユスリカのプリックテストおよびradioallergosorbent test (RAST) をおこない，琵琶湖の存在がユスリカアレルギーテスト陽性率にどのような影響をもっているかについて調査し，その結果につき，既に報告されている他の地方での陽性率と比較したので報告する。

対象患者と方法，材料

1) 対象

琵琶湖（面積675km²）の南岸に接する守山市の市民病院に通院中で臨床上，気管支喘息と診断された患者129名を調査対象とした。そのうちわけは男66名，女63名で，年齢は5歳より73歳にわたるが，20歳以上が全

Received: June 19, 1989

Accepted: August 23, 1989

Abbreviations: HD house dust; RAST
radioallergosorbent test

体の約79%を占める。

上記129名につきセスジユスリカ成虫20倍抽出液を用いてプリックテストを行った。またその中の64名については同時にアカムシユスリカとセスジユスリカに対する血清 IgE 抗体を RAST で測定した。

2) アカムシユスリカ成虫およびセスジユスリカ成虫抽出抗原

アカムシユスリカ (*Tokunagayusurika akamusi*, Tokunaga, 1938) およびセスジユスリカ (*Chironomus yoshimatsui*, Martin et Sublette, 1972) の各成虫抽出抗原の作製は伊藤らの方法⁸⁾に従った。

3) スクラッチテスト用抽出液

a) ユスリカ成虫20倍抽出液

スクラッチ用の20倍抽出液は以下のようにして作製した。上記抽出液凍結乾燥末に50%グリセリン添加 Coca 液 (食塩0.5g, 炭酸ナトリウム0.25g, グリセリン100ml, 蒸留水を加えて200ml とする) を元の凍結乾燥虫体1g に20ml になるような割合で加えた。これをミリポアーフィルター (0.45 μ m, アメリカ, ミリポアー社製) に通して滅菌した。20倍抽出液の蛋白量は、アカムシユスリカ成虫で8.8mg/ml, セスジユスリカ成虫で5.0mg/ml であった。20倍抽出液は5名の正常者で非特異的の反応を惹起しない最高濃度の液である。

b) 室内塵抽出液

スクラッチテスト用の室内塵 (HD) 10倍抽出液は鳥

居薬品より入手した。

4) スクラッチテスト

「セスジユスリカ」および室内塵の抽出液を用いてスクラッチテストをおこない、20分後に判定した。判定は松村らの基準⁹⁾に従った。

5) radioallergosorbent test (RAST)

RAST は Ito の報告⁴⁾に従い Ceska の paper disc 法¹⁰⁾を用いた。アカムシユスリカまたはセスジユスリカの paper disc に患者血清0.05ml, 125-I 標識抗ヒト IgE (Pharmacia AB 社製) 0.05ml を順次加えて24時間反応させた。各反応の後に RAST incubation buffer で3回洗浄した。paper disc に最終的に残存している放射能を自動ガンマカウンターにて測定した。RAST 価の Pharmacia RAST Unit (PRU) 表示は Pharmacia Chemicals 社より入手した標準血清および標準 paper disc を用いておこなった。さらに、得られた PRU 値の0.35未満を RAST スコアー 0, 0.35~0.7未満をスコアー 1, 0.7~3.4未満をスコアー 2, 3.5~17.5をスコアー 3, 17.5以上をスコアー 4 とした。

成 績

1) スクラッチテスト

Table 1 Results of skin test for *Chironomus yoshimatsui* on 129 asthmatic patients of different ages

Group	1	2	3	4	5	Total	%
Age	≤9years	10-19	20-39	40-59	60≤		
HD(+) midge(+)	1	5	17	11	1	35	27
HD(+) midge(-)	5	14	28	9	5	61	47
HD(-) midge(-)	0	2	6	12	13	33	26
Total	6	21	51	32	19	129	100
Midge- positive %	16	23	33	34	5	27	
HD- positive %	100	90	88	63	32	74	

Differences among positive rates

Midge ; group 3 vs 5 & 4 vs 5: $p < 0.05$

among other groups : not significant

HD ; group 1 vs 5, 2 vs 5 & 3 vs 5: $p < 0.01$

group 2 vs 4, 3 vs 4 & 4 vs 5: $p < 0.05$

among other groups : not significant

セスジユスリカを用いたスクラッチテストの結果を9歳以下, 10~19歳, 20~39歳, 45~59歳, 60歳以上の年齢別に分けて Table 1 に示す. 全例129名中陽性者は35名(27%)であった. 陽性者全員が HD にも陽性であった. 20歳より59歳までの患者群では他の群より陽性率が高く, また, 59歳までは年齢が進む程高くなる傾向がみられたが有意差はなかった. 60歳を過ぎると20~59歳に比し有意に低くなっていた. スクラッチテストを行った129名の患者の中から無作為に選ん

だ64名の血清で RAST を行ったが, この64名について行ったスクラッチテストの結果は Table 2 のごとくである. Table 1 と同様の傾向がみられた. HD では, 9歳以下での層ですでに高率に陽性で, 年齢と共に低下し, 60歳以上の層では全ての年齢層より有意に低かった.

2) RAST

セスジユスリカまたはアカムシユスリカの一方または両方に対する RAST で陽性者数(スコアが2 また

Table 2 Results of skin test on patients subjected to both skin test and RAST

Group	1	2	3	4	5	Total	%
Age	≤9years	10-19	20-39	40-59	60≤		
HD(+) midge(+)	0	2	9	6	0	17	27
HD(+) midge(-)	2	8	13	1	4	28	44
HD(-) midge(-)	0	1	1	8	9	19	30
Total	2	11	23	15	13	64	100
Midge-positive %	0	18	39	4	0	27	

Differences of positive rate of skin test for midge among five groups

group 3 vs 5: $p < 0.05$

group 4 vs 5: $p < 0.01$

among other groups: not significant

Table 3 RAST scores in asthmatic patients of different age

Group		1	2	3	4	5	Total	%
Age		≤9years	10-19*	20-39	40-59	60≤		
RAST score	3	0	1 1 1 1	1 1 1 1	0	0	2 2 2 2	3
	2	0	2 3 1 3	7 7 6 7	3 3 2 3	2 2 1 2	14 15 10 15	23
	1	0 2 1 2	3 6 4 6	6 8 8 8	4 8 6 8	2 5 4 5	15 29 23 29	45
	0	0	1	7	4	6	18	28
Total		2	11	23	15	13	64	100
Positive % (score ≥2)		0	27 36 18 36	35 35 30 35	20 20 13 20	15 15 8 15	25 27 19 27	

*: 1 case was not tested due to the lack of serum.

The small letters of left side in the box, upper: *Tokunagayusurika akamusi*

lower: *Chironomus yoshimatsui*

The large letters in the box: numbers of cases that showed the RAST scores to either of the two midges.

Differences of positive rate among five groups: not significant.

はそれ以上)を年齢別に示した (Table 3). RAST 陽性率は10~39歳までに高い傾向がみられたが例数の少ないためか他の年齢群との間に有意差は認められなかった. また各年齢別 RAST 陽性率間に有意差はなかった. 総計では64名中アカムシユスリカ RAST 陽性者は16名, セスジユスリカ RAST 陽性者は12名, 両者に陽性は11名で, 最高スコアの3を示した2名は両者に3であった. RAST スコア3の2名はHDの減感作療法をおこなっており, その後発作はみられない.

3. RAST とスクラッチテストとの比較

セスジユスリカによる RAST とスクラッチテストとを比較した結果を Table 4 に示す. 両者ともに陽性の症例数と, 両者ともに陰性の症例数の和を全症例数で除した割合 $[(8+46)/64]$ の%を一致率とすると84.4%であった.

4. アカムシユスリカとセスジユスリカとに対する

IgE 抗体価の相関関係

Fig. 1 に両種ユスリカ成虫抗原に対する IgE 抗体価 (左図 PRU 表示, 右図スコア表示) 間の相関関係を示す. 良好な相関関係が認められた (それぞれ $r=0.951$, $r=0.627$, $p<0.01$). RAST 陽性例では, アカムシユスリカ IgE 抗体価の方が高い値を示した.

Table 4 Relation between the results of RAST and skin test for *Chironomus yoshimatsui*

	Skin test			
		+	−	Total
RAST score ≥ 2	+	8	5	13
	−	5	46	51
Total		13	51	64

$$\text{Coincidence} = \frac{8+46}{64} = 84.4\%$$

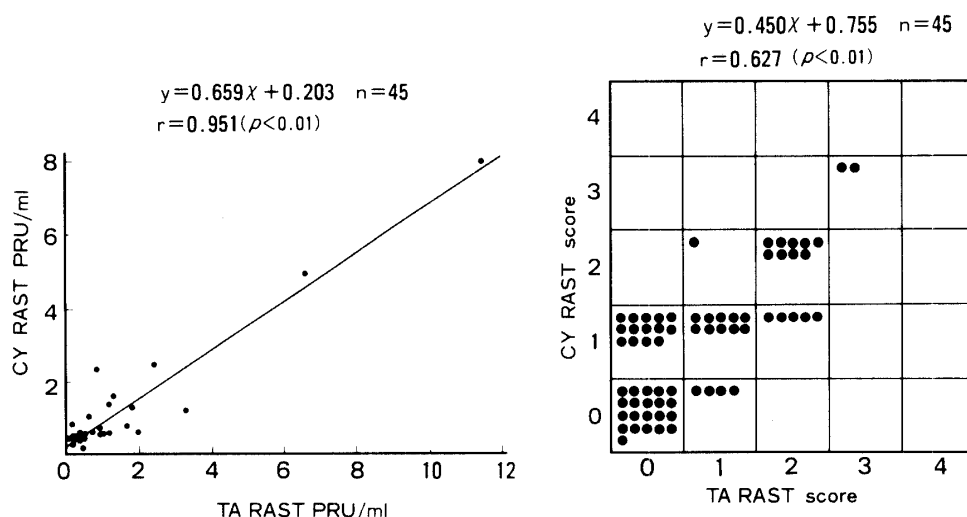


Fig. 1. Correlation between the RAST results with CY (*Chironomus yoshimatsui*) and TA (*Tokunagayusurika akamusi*).

Table 5 Positive rate of RAST to *Tokunagayusurika akamusi* in asthmatic patients for different districts of Japan

Author	District	Subjects	No. exam	No. positive	% Positive
Ito ⁴⁾	Tokyo	Adults	105	30	29
Murakami ⁵⁾	Toyama	Children	51	10	20
Juji ¹²⁾	Tokyo	Children	107	24	22
Kitani ⁷⁾	Okayama & Tottori	Adults	50	10	20
Matsubara	Moriyama	Adults	64	16	25

Differences of positive rate among five reports: not significant.

5. 各地におけるアカムシユスリカ成虫 RAST 陽性率

Table 5にわが国の4施設より報告されたアカムシユスリカ成虫 RAST 陽性率と我々の成績を示す。対象はいずれも喘息患者である。守山市では東京都について高い傾向を示したが、いずれの成績間でも有意差はなかった。

考 案

Table 2,3で見られるように、60歳以上の者を除き、年齢と共にユスリカスクラッチテスト陽性者の比率は増加する傾向がみられた。他の報告者の同様の傾向がみられるのは、ユスリカによる発作が戸外で起こるためであるかもしれない。HDでも60歳以上の患者に陽性者が少なかった。従って、年齢による皮膚反応の低下の他に、60歳以上では内因性喘息の占める割合が大きいと考えられる。青年-壮年者の RAST 高陽性率は戸外の仕事量の多さも関係していることも考えられる。

今回皮膚テストの際、アカムシユスリカ抽出液の入手が不能でセスジユスリカのみでおこない、RASTは両種ユスリカでおこなった。皮膚テストでは27%、アカムシユスリカ RASTで25%、セスジユスリカ RASTで19%の陽性率であった。伊藤ら¹¹⁾の報告では両種ユスリカアレルゲンは40~50%の交差反応性があるので皮膚テストの結果もセスジユスリカの反応のみならず、アカムシユスリカの反応も反映していると思われる。ただし RAST 陽性率の比較や両種 RAST 値の相関式から守山地区ではアカムシユスリカの方に反応性が高いといえよう。他の地方からも報告のあるアカムシユスリカ RAST の陽性率を比較したが、守山地区では他の地方との有意差はなかった。

Kagen¹²⁾はオオユスリカの発生する区域とそうでない市街地区とでアトピー患者におけるオオユスリカ抗原における皮膚テスト陽性率を比べたところ、前者で有意に高かった。佐伯らも同様の結果を報告している¹³⁾。一方、十字によると小児では年齢が高くなると陽性率が高くなる¹⁴⁾。我々の成績では19~39歳で最も高く、それ以後は低くなっている。したがって、発生区域からの距離のみならず、年齢分希も同様でないと正確には比較しがたい、しかしアカムシ RAST 陽性率が湖沼の少ない東京都でも高いことは興味深い。金子

ら¹⁶⁾はスギ花粉症の発生率は自動車の排気ガスが多い地域が少ない地域より高いと報告している。村中¹⁶⁾らはディーゼル排気微粒子がIgE抗体産生アジュバント作用があることを報告している。同じようなことがユスリカアレルゲンでも言えるかもしれないが詳細は今後の検討をまたねばならない。

大津市琵琶湖公害課の報告書によれば、最近オオユスリカの発生も、アカムシユスリカの発生も減少してきているという¹⁷⁾。アカムシユスリカ RAST スコア-3の2名にHDの減感作療法をおこなったところ、通年性喘息も消失し、アカムシユスリカ発生時にも喘息がみられなかったことは、減感作による効果のほかに、ユスリカ発生の減少とも関係があるのかもしれない。しかし最終的結論としてはさらに症例数をふやして検討する必要がある。

結 語

琵琶湖はわが国最大の湖で、そこより発生する主なユスリカはアカムシユスリカとオオユスリカである。琵琶湖南岸の守山市において、セスジユスリカ成虫によるスクラッチテストを129名の無作為選択喘息患者に行ったところ35名(27%)に陽性であった。そのうちで無作為に選んだ64名にユスリカ成虫抽出抗原によるRASTをおこなったところ、RAST スコア-2以上の例はアカムシユスリカで16名(25%)、セスジユスリカで12名(19%)をみた。アカムシユスリカ RAST 陽性率を東京都、富山市、岡山市等の成績と比較したが、有意差はなく、琵琶湖の影響が特に大きいという結論は得られなかった。

本研究は日産科学財団の援助を受けた。

文 献

- 1) 佐々 学：特別講座、いま話題のアレルゲン：ダニやユスリカとの出会い。感染・炎症・免疫 99, 39-48, 1989.
- 2) Sasa, M. and Kawai, K.: Studies on chironomid midges of Lake Biwa (*Diptera, Chironomidae*). *Lake Biwa Study Monographs*, Number 3, Lake Biwa Research Institute, Otsu, pp.6

- 9, 1987.
- 3) Kay, A.B., Gad, E.L., Rab, M.O., Stewart, J. and Erwa, H.H.: Widespread IgE-mediated hypersensitivity in Northern Sudan to the chironomid *Cladotanytarsus lewisi* (green nimitti). *Clin. Exp. Immunol.* **34**, 106-110, 1978.
 - 4) Ito, K., Miyamoto, T., Shibuya, T., Kamei, K., Mano, K., Taniai, T. and Sasa, M.: Skin test and radioallergosorbent test with extracts of larval and adult midges of *Tokunagayusurika akamusi*, Tokunaga (*Diptera: Chironomidae*) in asthmatic patients of the Metropolitan area of Tokyo. *Ann. Allergy* **57**, 199-204, 1986.
 - 5) 村上巧啓, 五十嵐隆夫, 佐伯陽子, 足立雄一, 松野正知, 岡田敏夫, 河合幸一郎, 熊谷 朗, 佐々 学: ユスリカ喘息に関する研究. *アレルギー* **35**, 393-401, 1986.
 - 6) Igarashi, T., Murakami, G., Adachi, Y., Matsuno, M., Saeki, Y., Okada, T., Kawai, K., Kumagai, A. and Sasa, M.: Common occurrence in Toyama of bronchial asthma induced by chironomid midges. *Jpn. J. Exp. Med.* **57**, 1-9, 1987.
 - 7) 貴谷 光, 荒木洋行, 周藤眞康, 谷崎勝朗, 多田慎也, 高橋 清, 木村郁郎, 松岡裕之, 石井 明: 気管支喘息におけるユスリカ抗原の免疫-アレルギー学的検討. *アレルギー* **38**, 1-8, 1989.
 - 8) 伊藤幸治, 山下直美, 中田重俊, 宮本昭正, 渋谷敏朗, 亀井喜世子, 佐々 学: 喘息患者におけるユスリカと他のアレルギーとの比較. *アレルギー* **36**, 30-37, 1987.
 - 9) スクラッチ研究班(班長: 松村達雄): スクラッチ(掻皮)反応-術式の検討および陽性判定基準について. *アレルギー* **21**, 50-63, 1972.
 - 10) Ceska, M., Erikson, R. and Varga, J.M.: Radioallergosorbent assay of allergens. *J. Allergy Clin. Immunol.* **49**, 1-9, 1972.
 - 11) 伊藤幸治, 山下直美, 宮本昭正: 気管支喘息におけるユスリカアレルギー検査. 第8回六甲カンファレンス吸入性抗原の病因について(宮本昭正, 他編). *メディカルトリビューン*, 東京, pp.130-142, 1988.
 - 12) Kagen, S.L., Yungisinger, J.W. and Johnson, R.: Lake fly allergy: Incidence of chironomid sensitivity in an atopic population (abst). *J. Allergy Clin. Immunol.* **73**(Suppl), 187, 1984.
 - 13) 佐伯陽子, 五十嵐隆夫, 村上巧啓, 足立雄一, 松野正知, 岡田敏夫, 鏡森定信, 熊谷 朗, 佐々 学: ユスリカ喘息の臨床的検討-ユスリカ RAST 陽性者, 陰性者の居住地分布, 発作の季節変動について. *アレルギー* **36**, 1054-1060, 1987.
 - 14) 十字文子, 伊藤幸治, 山下直美, 宮本昭正, 渋谷敏朗, 亀井喜世子, 佐々 学: 東京と近郊の小児アレルギー疾患におけるアカムシユスリカ(*Tokunagayusurika akamusi*)の RAST. *アレルギー* **37**, 1130-1137, 1988.
 - 15) 金子順男, 島田和哉, 堀内博人, 遠藤朝彦, 児玉実, 篠田伸正, 今井 透, 滝口清徳: 鼻アレルギーの増加とその要因・鼻アレルギーと大気汚染, 耳鼻咽喉科展望 **23**, 270-281, 1980.
 - 16) Muranaka, M., Suzuki, S., Koizumi, K., Takafuji, S., Miyamoto, T., Ikemori, K. and Tokiwa, H.: Adjuvant activity of diesel exhaust particulates for the production of IgE antibody in mice. *J. Allergy Clin. Immunol.* **77**, 616-623, 1986.
 - 17) 岡本奥夫: ユスリカ. 大津市公害研究室報 昭和56年 第2報, pp.1-5, 1981.

ALLERGEN TESTS WITH MIDGE ALLERGENS IN MORIYAMA CITY, LOCATED
ON THE SOUTH COAST OF LAKE BIWA

Tsuneo Matsubara

Moriyama Citizen's Hospital

Koji Ito and Terumasa Miyamoto

Department of Medicine and Physical Therapy, Faculty of Medicine, University of Tokyo

Toshiro Shibuya and Kiseko Kamei

Department of Parasitology, School of Medicine, Teikyo University

Manabu Sasa

Toyama Medical and Pharmaceutical University

The main species of midge which emerge from the Lake Biwa, the biggest lake in Japan, are *Tokunagayusurika akamusi* (TA) and *Chironomus pulmonis*. In order to determine how the existence of Lake Biwa affects the positivity to allergen tests with midge allergens, randomly selected asthmatic patients were examined by skin test and RAST.

Out of 129 patients, 35 (27%) were positive to scratch tests with an extract of *Chironomus yoshimatsui* (CY). Out of 64 patients, 16 (25%) were positive to TA RAST and 12 (19%) were positive to CY RAST. The positive rate of skin tests was highest in the patients aged between 20 and 39. The positive rate of TA RAST was not significantly higher than the rates reported in other districts of Japan.
