

原 著

こんにやく喘息の起因抗原に関する研究

群馬大学医学部第1内科学教室（主任：七条小次郎教授）

金子由之助

（受付：8月23日，1966）

緒 言

アレルギー性疾患が特異的な抗原と抗体の結合を前提とする以上，そこに用いられる抗原は出来るだけ純粹のものであることが種々のアレルギー現象を理解していく上に必須の条件となつてゐる。然し乍ら一般に本症の原因抗原は化学組成や構成々分の複雑なものが多く，研究上の大きな隘路となつてゐる。そこでこれら複雑な組成を有するものより均一な抗原物質を取出そうとする試みが古くよりなされて来ている^{1)~13)}。

当教教室では，こんにやく製粉時に飛散するこんにやく舞粉（以下舞粉と略記）を吸入して起こるこんにやく喘息¹⁴⁾に於て永醋酸や硫酸を用い抗原物質の抽出を試み，これが舞粉の蛋白分劃にあることを明らかにし報告して来た¹⁵⁾¹⁶⁾。

今回は硫酸塩析法を用いて本分劃に含まれるこんにやく喘息の起因抗原物質の精製を企て，舞粉の粗抽出液より硫酸飽和度の異なる若干の分劃を取出し，これら分劃の抗原性を本喘息患者で，皮膚反応（皮内反応と Prausnitz-Küstner 反応），粘膜反応（眼反応及び吸入誘発試験），血清反応（BDB 処理赤血球凝集反応と Ouchterlony 法による沈降反応）等により，更にこんにやく喘息モルモット¹⁷⁾で吸入誘発試験試験，腸管反応により検討し，これら分劃の起因抗原としての意義を考察，興味ある知見を得たので報告する。

実験対象及び方法

I. 実験対象

A. 被検者：問診及び吸入誘発試験等によりこんにやく喘息と診断した者，¹⁴⁾¹⁸⁾¹⁹⁾〔この中には本症の起因抗原である舞粉で減感作治療を受けた者（以下治療者と記載）としからざる者（以下未治療者と記載）を含む〕，こんにやく粉生産地区住民（以下現地人と記載）等々若

干名を無選擇的にえらんだ。これら被検者は20才から78才までの男性及び女性であつた。

B. 被検動物：体重 300 gr. の雄モルモット若干匹を用い，これを先に当教室の田中が報告した方法¹⁷⁾で舞粉の吸入感作を行ない，一定の潜伏期後舞粉の吸入による喘息誘発試験で誘発出来たモルモット（以下こんにやく喘息モルモット記載）と舞粉による感作を行なわなかつたモルモット（以下対照モルモットと記載）との2群を用いた。

II. 実験方法

A. 抗原：抗原は次の如く作製した。舞粉 5 g/dl の割

表1 硫酸分劃作製法

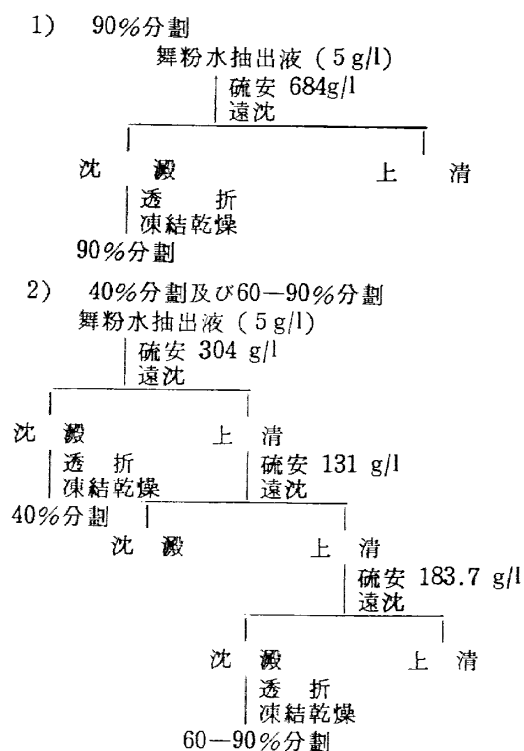


表2 各分割の化学的性状

反 応	分 割	40%分割		60—90%分割	
		40%分割		60—90%分割	
Protein N	mg/ml	0.14		0.13	
糖	mg/ml	0.12		0.37	
Xanthoprotein test		(—)		(—)	
Millon's test		(—)		(—)	
Biuret test		(—)		(—)	
Molisch's test		(—)		(—)	
Benedict test		(—)		(—)	

合で水に溶かし24時間 $+5^{\circ}\text{C}$ — $+10^{\circ}\text{C}$ の永室中に放置、東洋濾紙No. 2で濾過、濾液(以下舞粉水抽出液と記載)に固体硫安(市販特級)を加え表1に示す如く飽和度を異にする3つの硫安分割を作製した。この際添加する硫安量はOsborne法²⁰に従った。即ち先づ舞粉水抽出液1l 当り304gr.の硫安を加え一夜放置後10分間1400gで遠心分離し、生じた沈澱物をセロハンチューブ(Visking Tubing Co. U.S.A)で硫安の消失するまで約48時間(硫安消失は塩化バリウムで確認)流水透析し、その透析内液を10分間1400gで遠心分離し得られた上清を凍結乾燥しこれを40%分割も同様表1の如くにして作製した。この様にして作った40%分割と60—90%分割の化学的性状は表2の如くである。

B. アレルギー反応

次の諸種アレルギー反応を用いた。

1. 臨床実験の場合

1) 皮内反応：生食水で所要濃度に溶解した無菌的な抗原液0.02mlを皮内に注射し15分後結果を判定した。注射部位は前腕屈側又は背部をえらんだ。本反応はGottliebの判定基準²¹を参考にして抗原液による発赤及び膨疹の大きさと対照液(生食水)によるそれらの大きさととの差が発赤10mm以上、且膨疹5mm以上を示した場合陽性と定めた。

2) Prausnitz-Küstner 反応(下P-K反応と略記)：舞疹による皮内反応陰性の非現地人の背部皮内に被検血清0.1mlを注入し48時間後上記皮内反応で用いた抗原0.02mlを血清注入部に注射し、Gottliebの判定基準²¹を参考にして15分後結果を判定、抗原液による発赤及び膨疹の大きさと対照液によるそれらの大きさととの差が発赤5mm以上且膨疹3mm以上を示す場合陽性と定めた。

3) 眼反応：被検者に予め生食水を点眼し、何等の刺激作用を示さないことを確かめた後、点眼用スポイトを用い生食水で所要濃度に溶解した無菌的な抗原液1滴を一

側の眼結膜に对照液(生食水)を他側の眼結膜に同時に滴下し30分後結果を判定した。本反応は反応滴下で結膜半月皺襞が充血を示した場合陽性と定めた。²²⁾²³⁾尚反応陽性時みられる充血は3日目以内に完全に消失することを知ったのでテスト抗原液の多いときには本反応を7日目毎に施行した。

4) 吸入誘発試験：予め強制呼吸曲線及び吸気曲線を描記し安定した曲線を示すスパイログラフより1秒量を測定、これをその日の実験に於けるその被検者の1秒量基準値とした。その後当教室の中山のChemical mediatorの吸入法及び閾値の決定法²⁴にならい生食水で所要濃度に溶解した抗原液を被検者にネブライザーで吸入せしめ噴霧抗原量が一定量となるたび1秒量を測定した。本試験は抗原液の一定量を噴霧した後1秒量が基準値より20%以上低下した場合及びかかる際同時に胸部の聴診で乾性ラ音乃至喘鳴を聴取し得た場合陽性と定めた。

(5) BDB処理による感作赤血球凝集反応²⁵⁾²⁶⁾²⁷⁾(以下BDB凝集反応と略記)

a. 試薬

BDB原液第1液：230mgのBenzidineを100mlの蒸留水に溶解しこれに12N HCl 0.75mlを加えた。第2液：175mgのNaNO₂を5mlの蒸留水にとかした。次いで第1液及び第2液を永塊中で低温に保ち両者を徐々に混和しBDB原液を作製した。

pH 7.3磷酸緩衝液：0.15M Na₂HPO₄溶液215mlに0.15M KH₂PO₄溶液49mlを加え作製した。

赤血球浮游液：人O型血球を用いpH 7.3磷酸緩衝液で50%の浮游液を作製した。

抗原液：前記の硫安飽和沈澱分割をpH 7.3磷酸緩衝液で所要濃度に溶解使用した。

牛血清アルブミン加pH 7.3磷酸緩衝液(以下牛血清アルブミン液と略記)：牛血清アルブミンをpH 7.3磷酸緩衝液で0.025%に溶解した。

b. 被検血清：前記実験対象で記載した被検者の肘静脈より採取した。

c. 抗原感作方法及び反応術式：抗原液3mlと50%赤血球浮游液0.1mlを混じた後、BDB稀釈液(BDB原液をpH 7.3磷酸緩衝液で所要濃度に稀釈したもの)

0.5mlを加え室温に15分放置後低温に保ちながら3分間350gで遠沈、得られた沈澱を0.025%牛血清アルブミン液で2回洗滌後、牛血清アルブミン液で2%抗原感作赤血球浮游液を作った。次いで56°C30分間の温浴で非働化した被検血清を小試験管系列に0.025%牛血清アルブ

ミン液で実験目的に応じ適宜階段稀釈し、これらに抗原感作赤血球浮游液を各々0.05 ml あて滴下混和し室温放置、反応の終了をまつて結果を判定した。本反応は Gordon²⁶⁾, Arbesman²⁷⁾ 等の判定基準にならない反応試験管底に血球凝集を肉眼的に認めた場合陽性と定めた。

6) Ouchterlony 法による寒天ゲル層内沈降反応²⁸⁾
29) 49)

寒天ゲル層の作製法：精製寒天粉末 (Difco) を2%の割合に蒸留水を加え加数溶解し、これに防腐剤としてマーゾンを0.1~0.2%の割合に加え調整した。次いでこの寒天溶液8 ml を直径10cmのシャーレに入れ、底に厚さ1mmの寒天層を作りこの上に直径1cmのガラス管を中央に1カ所このまわりに等間隔に6カ所位置をめて定乗せ更に寒天溶液を注ぎ低温で固まらせてガラス管を除き深さ4mmで底面が平坦な円柱形の凹みを作った。

反応術式：中央の凹みに実験目的に応じ適宜生食水で稀釈した被検血清を0.2 ml 入れ周囲6カ所の凹みに所要濃度に溶解した抗原液を0.2 ml 入れ反応液の乾燥を防ぎながらシャーレを37°Cに保ち反応を観察した。

2. 動物実験の場合

1) 吸入誘発試験：3側面をガラス張りにした木箱 (30cm×30cm×25cm) に入れた被検モルモットにネブライザーで所要濃度に溶解した90%分劃, 60~90%分劃の各

溶液を噴霧吸入せしめた。この際一定量の噴霧をうけた被検モルモットの呼吸曲線を当教室の笛木の方法³⁰⁾で記録判定した。

2) 腸管反応：Schultz-Dall 法で行った。即ち被検モルモットを撲殺後直ちにその回腸末端より口側7~9cmの部で摘出した長さ1.5cmの腸管を Magnus の装置の酸素飽和したタイロッド液80ml を含む液槽中に懸垂した。この際抗原液等の添加による腸管収縮は6倍に拡大して煤煙紙上に描記した。本反応は一定濃度のアセチルコリン及びタイロッド液で溶解した所要濃度の抗原液で共に腸管の収縮を認める場合陽性とした。

実験成績

I 臨床実験

A. 皮内反応：被検者28名につき舞粉の各硫酸分劃を抗原として皮内反応を行なった。この際抗原は10⁵ 倍に稀釈し同一被検者に同時に各々の抗原液を注入した。抗原が90%分劃の場合こんにやく喘息11名中未治療者7名は全例陽性、治療者4名は全例陰性、現地人8名中2名は陽性、6名陰性、非現地人9名全例陰性であった。40%分劃では被検者28名中1名(現地人)のみ陽性であった。60~90%分劃ではこんにやく喘息患者中未治療者7名は全て陽性、治療者4名は全例陰性、現地人8名中3名陽性、5名は陰性、非現地人9名は全例陰性を示し

表3 皮内反応

被 検 例			40%分劃	60—90%分劃	90%分劃	対照 (生食水)
こんにやく喘息	小井土	20才 女	6×5 (6×6)	25×18 (14×14)	36×32 (20×11)	6×5 (6×6)
	須藤	23才 男	9×9 (7×7)	35×34 (16×16)	26×19 (16×12)	8×7 (6×5)
	石島	23才 男	8×6 (6×6)	20×18 (12×12)	23×20 (10×10)	4×4 (4×4)
	品川	40才 女	6×4 (6×4)	20×16 (14×14)	42×27 (14×13)	5×5 (6×6)
	堀口	67才 女	8×8 (10×10)	30×27 (16×16)	22×16 (11×10)	0 (4×3)
	佐藤	30才 女	10×10 (6×5)	24×24 (18×18)	47×22 (18×14)	8×7 (0)
こんにやく喘息(治療)	市川	25才 男	10×10 (4×3)	28×14 (14×14)	17×16 (17×15)	0 (4×4)
	深沢	61才 女	10×11 (7×7)	9×9 (5×5)	14×13 (7×6)	2×2 (4×3)
	小坂橋	52才 女	10×10 (8×7)	6×5 (5×5)	11×11 (7×6)	0 (6×6)
	茂木	47才 女	9×8 (6×5)	8×7 (7×7)	14×14 (8×7)	0 (5×4)
現地人	黒沢	34才 男	4×4 (4×4)	9×7 (4×4)	7×7 (0)	4×4 (4×4)
	掛川	43才 男	17×17 (15×15)	14×14 (10×10)	14×14 (8×7)	4×4 (2×2)
	猪野	38才 女	10×6 (6×5)	14×14 (7×7)	14×13 (7×6)	2×2 (2×2)
	平柳	60才 男	8×7 (6×6)	6×6 (4×4)	13×11 (10×10)	2×2 (6×6)
	茂木	42才 女	4×3 (7×6)	11×10 (6×6)	11×10 (6×6)	8×7 (7×6)
	園田	73才 女	6×5 (6×5)	7×7 (7×7)	11×8 (8×6)	7×6 (7×6)
	安藤	69才 男	8×6 (8×6)	4×4 (4×4)	6×6 (6×6)	6×6 (4×4)
	岩井	25才 男	6×6 (6×6)	7×6 (6×6)	7×6 (7×6)	6×6 (6×6)
	並木	63才 女	7×5 (7×5)	5×4 (5×4)	6×6 (6×6)	5×5 (5×5)

非 現 地 人	村 沢	18才	♂	4×3 (5×5)	4×4 (2×2)	4×4 (4×4)	0 (6×6)
	須 藤	23才	♀	4×4 (4×4)	6×6 (0)	6×6 (6×6)	0 (6×6)
	川 田	29才	♀	5×4 (5×4)	5×5 (5×5)	5×5 (5×4)	7×5 (6×5)
	吉 田	25才	♂	8×6 (6×6)	6×4 (0)	8×6 (6×6)	3×3 (3×3)
	関 口	67才	♂	0	0	0	3×2 (0)
	堀 口	42才	♀	0	3×2 (0)	0 (3×3)	3×3 (3×3)
	土 橋	43才	♂	3×3 (3×3)	0	0	3×3 (3×3)
	篠 崎	53才	♂	0	4×4 (3×3)	0	0
	馬 場	29才	♀	4×4 (3×2)	4×3 (0)	2×2 (2×2)	0

表4 P-K 反 応

	被 検 例	40%分劃	60—90%分劃	90%分劃	対 照 (生食水)
こ ん に や く 喘 息 (未治療)	小 井 土 20才 ♀	7×6 (6×6)	34×30 (15×15)	48×38 (18×17)	8×8 (7×7)
	須 藤 23才 ♂	5×5 (4×3)	24×20 (15×13)	24×18 (14×12)	7×7 (7×6)
	石 島 23才 ♂	8×6 (6×6)	18×18 (12×12)	18×16 (11×11)	5×5 (5×5)
	品 川 40才 ♀	7×6 (6×6)	21×20 (11×10)	21×18 (11×10)	7×6 (5×5)
	堀 口 67才 ♀	7×6 (6×6)	14×14 (10×10)	17×16 (9×9)	4×4 (4×4)
こ ん に や く 喘 息 (治療)	深 沢 61才 ♀	9×8 (7×7)	10×9 (7×7)	11×10 (7×6)	3×3 (3×3)
	茂 木 47才 ♀	7×7 (6×6)	11×11 (8×7)	10×10 (6×6)	7×6 (7×4)
	小 板 橋 52才 ♀	7×6 (6×6)	10×10 (7×7)	11×10 (8×7)	7×7 (6×6)
現 地 人	平 柳 60才 ♂	6×6 (4×4)	10×10 (7×7)	10×10 (9×8)	3×3 (3×3)
	茂 木 42才 ♀	11×11 (8×7)	6×6 (6×6)	10×10 (7×7)	5×5 (5×5)
	安 藤 69才 ♂	7×7 (0)	7×7 (7×7)	10×6 (4×4)	4×4 (4×4)
非 現 地 人	村 沢 18才 ♂	7×4 (6×6)	7×6 (5×5)	7×5 (5×5)	4×4 (0)
	吉 田 25才 ♂	7×6 (5×5)	4×4 (0)	6×4 (4×4)	6×5 (5×5)

表5 眼 反 応

対 象	例数	40% 分劃	60—90% 分劃	90% 分劃	対 照 (生食水)
こ ん に や く 喘 息 (未治療)	5 2	— —	— —	— —	— —
こ ん に や く 喘 息 (治療)	3	—	—	—	—
現 地 人	6	—	—	—	—
非 現 地 人	14	—	—	—	—

た。(表3)

これらの成績より本反応を陽性ならしむる物質は60～90%分劃及び90%分劃中に存在する様に思われた。

B. P-K 反応：前記皮内反応を行なった被検者中13名の血清につき皮内反応で使した各分劃の10⁵倍液を抗原としP-K反応を試みた。

この際同一被検血清につき同一の recipient で同時に各抗原で反応を実施した成績は表4に示す様に、90%分劃を抗原とした場合こんにやく喘息患者血清8例中未治

療例5名は全て陽性、治療例3名は陰性、現地人3名はいずれも陰性で、非現地人3名は共に陰性であった。次に40%分劃の場合被検血清13例は全て陰性、60～90%分劃ではこんにやく喘息患者8例中未治療の5名は陽性を示しその他の被検例は全て陰性であった。以上の成績より本反応を陽性とする物質は60～90%、90%の分劃中に存在すると思われた。

C. 眼反応：被検者30名につき40%、60～90%、90%の3つの分劃を抗原として眼反応を行った。この際抗原は100倍液を用いた。結果は表5に示す様にこんにやく喘息患者7名中未治療例5名で全例に40%分劃溶液の滴下で反応が認められなかったが60～90%分劃では反応が認められなかった。又これら被検例では90%分劃を用いた場合40%分劃の場合と同様反応は陽性を示した。こんにやく喘息治療例3名及び現地人6名並びに非現地人14名では本反応はいずれ分劃を用いた場合も全例陰性を示した。

この成績より本反応を陽性ならしむる抗原物質は40%

表6 吸入誘発試験

被 検	対 象	40%分劃	60%90%分劃	90%分劃
こんにくやく喘息 (未治療)	山 田 32才 ♀	300γ (+)	10,000γ (-)	500γ (+)
	石 島 23才 ♂	500γ (+)	5,000γ (+)	1,000γ (+)
	須 藤 23才 ♂	500γ (+)	10,000γ (-)	1,000γ (+)
	佐 藤 22才 ♂	500γ (+)	10,000γ (-)	1,000γ (+)
こんにくやく喘息 (治療)	小 板 橋 52才 ♀	10,000γ (+)	10,000γ (-)	10,000γ (+)
	深 沢 61才 ♀	5,000γ (+)	10,000γ (-)	5,000γ (+)
	茂 木 47才 ♀	10,000γ (+)	10,000γ (-)	10,000γ (+)
非現地人喘息	小 野 30才 ♀	10,000γ (-)	10,000γ (-)	10,000γ (-)
	寺 田 26才 ♂	10,000γ (-)	10,000γ (-)	10,000γ (-)

分劃及び90%分劃に存在すると思われた。

D. 吸入誘発試験：本実験では40%分劃，60～90%分劃，90%分劃を抗原に用い次の実験を行なった。

1. 予め喘息誘発に要する噴霧抗原量や時間等を知る目的で90%分劃を抗原とし，この 10^2 倍， 10^3 倍， 10^4 倍の各溶液を用いこんにくやく喘息患者7名及び非現地人喘息2名につき本試験を試みた。この際低濃度の抗原液より漸次高濃度のものを吸入さて噴霧量 $10^2\gamma$ ， 300γ ， 500γ ， $10^3\gamma$ ， $5 \times 10^3\gamma$ ， $10^4\gamma$ 毎に1秒肺活量を測定し，同時に被検者の胸部の聴診を行ない，喘息が誘発されたか否かを確かめた。この結果表6に示す様にこんにくやく喘息未治療例では全例 $10^3\gamma$ までの抗原噴霧量で喘息が誘発され又かゝる喘息発作は噴霧後5分以内で出現した。しかし非現地人では全て $10^4\gamma$ までの噴霧で発作は起らずその後5時間までの観察で発作はみられなかった。

2. 表6に示す様な被検者9名を2群に分け先ずこんにくやく喘息未治療例4名に40%分劃を吸入させた所全例500γまでの噴霧量で喘息発作を生じた。その後7日目にかゝる被検例に60～90%分劃を吸入させた所1例に5000γの噴霧で発作を生じたが他の3名は $10^4\gamma$ までの噴霧でも発作は認められなかった。次にその他の5例に先づ60～90%分劃を吸入させたが全例 $10^4\gamma$ までの噴霧量で発作はみられず，その後7日目に40%分劃を吸入させたがこんにくやく喘息治療例3名では $10^4\gamma$ までに発作を生じたが，他の2名は発作が生じなかった。

これらの成績より吸入誘発で発作を誘発す抗原物質は40%分劃及び90%分劃中にある様に思われた。

F. BDB凝集反応：

1. こんにくやく喘息患者5名，現地人5名及び非現地人11名の血清を10倍階段稀釈し，90%分劃を 10^2 ， 10^3 ，

表7 BDB法による赤血球凝集反応

1. こんにくやく喘息 小坂橋 52才 ♀

血清稀釈 抗原濃度	10^0	10^1	10^2	10^3	10^4	10^5	10^6
10^2	+	+	+	+	+	+	-
10^3	+	+	+	+	+	+	-
10^4	+	+	+	±	-	-	-
10^5	+	+	+	±	+	-	-
10^6	+	+	-	-	-	-	-

2. こんにくやく喘息 深沢 61才 ♀

血清稀釈 抗原濃度	10^0	10^1	10^2	10^3	10^4	10^5	10^6
10^1	+	+	+	+	-	-	-
10^3	+	+	+	+	-	-	-
10^4	+	+	+	-	-	-	-
10^5	+	+	+	+	-	-	-
10^6	-	-	-	-	-	-	-

3. こんにくやく喘息 神戸 40才 ♂

血清稀釈 抗原濃度	10^0	10^1	10^2	10^3	10^4	10^5	10^6
10^2	+	+	+	+	-	-	-
10^3	+	+	+	+	-	-	-
10^4	+	+	-	-	-	-	-
10^5	+	+	+	-	-	-	-
10^6	-	-	-	-	-	-	-

4. こんにやく喘息 長谷川 51才 ♂

血清稀釈 抗原濃度	10 ⁰	10 ¹	10 ²	10 ³	10 ⁴	10 ⁵	10 ⁶
10 ²	+	+	+	+	+	+	—
10 ³	+	+	+	+	+	+	—
10 ⁴	+	+	+	+	+	+	+
10 ⁵	+	+	+	+	+	+	—
10 ⁶	—	—	—	—	—	—	—

5. こんにやく喘息 阿部 52才 ♀

血清稀釈 抗原濃度	10 ⁰	10 ¹	10 ²	10 ³	10 ⁴	10 ⁵	10 ⁶
10 ¹	+	+	+	+	+	—	—
10 ⁴	+	+	+	+	+	—	—
10 ⁴	+	+	+	—	—	—	—
10 ⁵	+	+	+	—	—	—	—
10 ⁶	—	—	—	—	—	—	—

6. 非現地人 田所 18才 ♀

血清稀釈 抗原濃度	10 ⁰	10 ¹	10 ²	10 ³	10 ⁴	10 ⁵	10 ⁶
10 ²	—	—	—	—	—	—	—
10 ³	—	—	—	—	—	—	—
10 ⁴	—	—	—	—	—	—	—
10 ⁵	—	—	—	—	—	—	—
10 ⁶	—	—	—	—	—	—	—

7. 非現地人 岡田 42才 ♂

血清稀釈 抗原濃度	10 ⁰	10 ¹	10 ²	10 ³	10 ⁴	10 ⁵	10 ⁶
10 ²	—	—	—	—	—	—	—
10 ³	—	—	—	—	—	—	—
10 ⁴	—	—	—	—	—	—	—
10 ⁵	—	—	—	—	—	—	—
10 ⁶	—	—	—	—	—	—	—

8. 非現地人 有坂 30才 ♂

血清稀釈 抗原濃度	10 ⁰	10 ¹	10 ²	10 ³	10 ⁴	10 ⁵	10 ⁶
10 ²	—	—	—	—	—	—	—
10 ³	—	—	—	—	—	—	—
10 ⁴	—	—	—	—	—	—	—
10 ⁵	—	—	—	—	—	—	—
10 ⁶	—	—	—	—	—	—	—

10⁴, 10⁵, 10⁶倍に各々溶解し, B D B原液を15倍に稀釈して本反応を行つた. 結果は表7に示す様にこんにやく喘息5名では反応はいずれも陽性を示し, 非現地人3名は全て陰性であつた. 又現地人5名中4名で陽性の反応がみられた.

この際対照とした次の4本の小試験管ではいずれも凝集現象は認められなかつた.

B D B未処理赤血球液0.05 ml + 牛血清アルブミン液 1 ml

B D B処理赤血球液0.05 ml + 牛血清アルブミン液 1 ml

B D B処理赤血球液0.05 ml + 被検血清(10倍) 1 ml
舞粉感作赤血球液 0.05 ml + 牛血清アルブミン液 1 ml

次に本反応陽性のこんにやく喘息患者血清3例と反応陰性の非現地人血清1例とにつき吸収試験を試みた. この際 300倍, 10³倍, 10⁴倍, 10⁵倍の90%分劃液を吸収抗原として用い, 被検血清に各吸収抗原液を等量加え混和し37°C 2時間温浴後, 氷室に12時間放置, その後10分間1400 g で遠心分離し得られた上清を2倍階段稀釈し10³倍の90%分劃を抗原としてB D B凝集反応を行つた. 結果は表8に示す様に 300倍抗原液で吸収した場合B D B

表8 吸収試験

1. こんにやく喘息 小板橋 52才 ♀		2 ⁰	2 ¹	2 ²	2 ³	2 ⁴	2 ⁵	2 ⁶	2 ⁷
血清稀釈 吸収抗原									
	300 ⁰	+	+	+	+	+	+	+	+
	10 ³	—	—	—	—	—	—	—	—
	10 ⁴	+	+	+	+	+	+	+	+
	10 ⁵	+	+	+	+	+	+	+	+

2. こんにやく喘息 岩井 40才 ♂		2 ⁰	2 ¹	2 ²	2 ³	2 ⁴	2 ⁵	2 ⁶	2 ⁷
血清稀釈 吸収抗原									
	300 ⁰	+	+	+	+	+	+	+	±
	10 ³	—	—	—	—	—	—	—	—
	10 ⁴	—	—	—	—	—	—	—	—
	10 ⁵	+	+	+	+	+	—	—	—

3. こんにやく 喘息 篠原 19才♀

血清稀釈	2 ⁰	2 ¹	2 ²	2 ³	2 ⁴	2 ⁵	2 ⁶	2 ⁷
吸収抗原	++	++	++	+	+	+	+	+
300		—	—	—	—	—	—	—
10 ³		—	—	—	—	—	—	—
10 ⁴		—	—	—	—	—	—	—
10 ⁵		++	++	+	+	+	—	—

4. 非現地人 有坂 30才 ♂

血清稀釈	2 ⁰	2 ¹	2 ²	2 ³	2 ⁴	2 ⁵	2 ⁶	2 ⁷
吸収抗原	—	—	—	—	—	—	—	—
300		—	—	—	—	—	—	—
10 ³		—	—	—	—	—	—	—
10 ⁴		—	—	—	—	—	—	—
10 ⁵		—	—	—	—	—	—	—

表9 使用抗原濃度とBDB濃度

抗原濃度	BDB濃度	15	30	60
	凝集価			
10 ²		10 ⁵	10 ⁴	10 ²
10 ³		10 ⁵	10 ⁴	10 ³
10 ⁴		10 ²	10 ²	10 ¹

反応は被検者全例で陰性を示したが 10⁴ 倍抗原液の吸収ではこんにやく喘息患者 3 例中 1 例は陽性を示し、10⁵ 倍抗原液の吸収では本患は全例陽性を示した。尚非現地人 1 名の血清はかゝる吸収操作前後で本反応は共に陰性を示した。

以上の成績より舞粉の硫酸分劃を抗原とする BDB 凝集反応で、こんにやく舞粉に対する流血抗体の検索は可能と考えられた。尚本反応で使用する抗原濃度と BDB 濃度については表 9 に示す様に 90% 分劃の 10², 10³, 10⁴ 倍稀釈液等をそれぞれ抗原とし被検血清を 10 倍階段稀釈し BDB 原液の 15, 30, 60 倍稀釈液を用い反応を試みた結果では抗原液は 10², 10³ 倍液が、BDB 液は 15 倍液が本反応に適する様に思われた。

2. 舞粉の各種硫酸分劃を用いた場合の BDB 凝集反応について：こんにやく喘息患者 9 名及び非現地人 4 名の血清を 3 倍階段稀釈し、同一被検血清につき同時に 10³

倍の 40% 分劃, 60~90% 分劃, 及び 90% 分劃液を抗原とし本反応を試みた結果はこんにやく喘息患者ではいず

表10 各分劃によるBDB反応

被検例	凝集価	40%分劃	60-90%分劃	90%分劃
こんにやく喘息	深沢 61 ♀	3 ⁶	3 ⁵	3 ⁵
	茂木 47 ♀	3 ⁶	3 ⁵	3 ⁵
	小坂橋 52 ♀	3 ⁶	3 ⁷	3 ⁷
	小井上 20 ♀	3 ⁵	3 ⁵	3 ³
	須藤 23 ♂	3 ⁴	3 ³	3 ³
	石島 23 ♂	3 ⁴	3 ³	3 ³
	品川 40 ♀	3 ⁷	3 ⁷	3 ⁷
	佐藤 30 ♀	3 ⁴	3 ²	3 ³
	山田 30 ♀	3 ⁶	3 ⁷	3 ⁵
非現地人	岡部 56 ♂	0	0	0
	儘田 40 ♂	0	0	0
	高橋 62 ♀	0	0	0
	片野 48 ♂	0	0	0

れの分劃でも陽性を示しその凝集価は抗原の種類で大差を認めなかった。非現地人では全例用いた分劃全てにつき反応は認められなかった。(表10)

F. Ouchterlony 法による寒天ゲル層内沈降反応：

1. こんにやく喘息患者を含む現地人 20 名及び非現地人 10 名の血清を 10 倍階段稀釈し 90% 分劃の 10, 50, 100, 500, 10³, 10⁴ 倍等の溶液を抗原として本反応を行った。結果はこんにやく喘息患者 5 名及び現地人 15 名中 5 名に陽性、非現地人 10 名は全例陰性を示した。

この成績より本反応でこんにやく舞粉に対する血中抗体の検出は可能と思われた。又本反応では原血清を使用し、抗原は 10² 倍液を用いることが適当と考えられた。

2. 次にこんにやく喘息患者 10 名、現地人 2 名、非現地人 7 名等につき同一被検血清を用い同時に 40% 分劃, 60~90% 分劃, 90% 分劃の 10² 倍液を抗原とし被検血清を用い本反応を行った結果は現地人 2 名及び非現地人 7 名では全く反応は認められなかった、こんにやく喘息の 4 名では全例全ての分劃で陽性を示した。尚かゝる陽性例で出現した各分劃による沈降帯は互に 1 本に連なることが認められた。この成績より 40% 分劃, 60~90% 分劃, 90% 分劃のいずれにも本反応を示す抗原物質が含まれていると考えられた。

II 動物実験

A. 吸入誘発試験

こんにやく喘息モルモット 6 匹 (A 群) と対照モルモ

ット6匹(B群)とについて次の実験を行った。

1. 先づA, B両群に稀釈した90%分劃を1分間 0.7 ml の割合で噴霧吸入せしめた所, A群のこんにやく喘息モルモット全例, 噴霧5分間で喘息発作を生じたが, B群の対照モルモット全例は30分間の噴霧で発作を認めなかった。

2. 次いでA群及びB群のモルモットを2分し1群に先づ40%分劃を噴霧吸入せしめた所こんにやく喘息モルモットは全例噴霧5分で喘息発作を生じたが対照モルモットは全て30分間の噴霧で発作を起さなかった。その後7日目に同じ被検群に60~90%分劃を吸入せしめた所30分間の噴霧で全例発作を認めなかった。

表11 こんにやく喘息モルモットの誘発試験

被 検 動 物	例数	抗 原		
		40%分劃	60~90% 分劃	90%分劃
こんにやく喘息 モルモット	6	+	—	+
対 照	6	—	—	—

一方2分した残り被検群に先づ60~90%分劃を吸入せしめ, 後に40%分劃を噴霧吸入せしめたが結果は全く同じで40%分劃を吸入せしめた時のみこんにやく喘息モルモットで発作が認められた。(表11)

これらの成績よりこんにやく喘息モルモットでは喘息惹起には60~90%分劃より40%分劃の方が密接な関連をもつ様に思われた。

B. 腸管反応

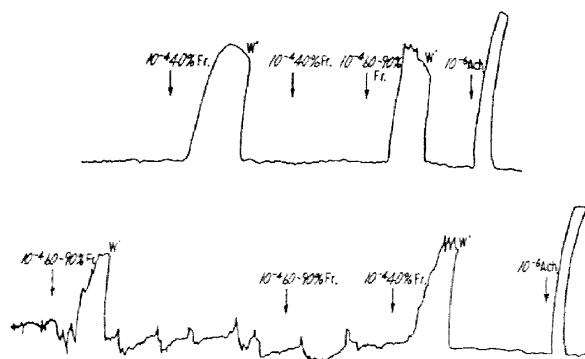
こんにやく喘息モルモット及び対照モルモットにつき次の実験を行った。

1. こんにやく喘息モルモットの腸管を懸垂した液槽中に0.1%の90%分劃1mlを加えんと腸管反応は明かに収縮した。その後この腸管に更に同じ分劃をくり返し作用させるとついには腸管の収縮は認められなくなった。

次に同じこんにやく喘息モルモットの他の腸管片で0.1%の40%分劃及び60~90%分劃を抗原に用い本反応を行った所, 腸管は明かに収縮し90%分劃の場合と同様脱感作現象が認められた。対照モルモットの腸管ではいずれの分劃でも収縮を示さなかった。以上の成績より40%分劃, 60~90%分劃のいずれにも腸管反応を示す抗原物質が存在することを知った。

2. こんにやく喘息モルモットの腸管を懸垂した液槽

図1 Schultz-Dale 反応



中に先づ40%分劃の0.1%溶液1mlをくり返し注入しもはや収縮しなくなった腸管に60~90%分劃の0.1%液1mlを加えた所, 再び腸管は収縮した。

尚この実験で用いた同じモルモットの他の腸管片につき前と同様の操作で初めに60~90%分劃で収縮を確め脱感作した後40%分劃を注入した所腸管は再び収縮した。(図1)

この成績よりこんにやく喘息モルモットの腸管反応では40%分劃と60~90%分劃とは異なる反応態度を示すことを知った。

考 按

アレルギー性疾患の診断や研究上用いられる抗原物質は精製が不十分であるとそこに含まれる免疫学的活性因子の質や量が不明であり, 一方精製を進めすぎると時に抗原となる部分が失われる事もあるのでアレルギー精製は常にそのアレルギー性疾患を惹起する生物学的活性を中心に行なうことが重要であると考えられている³¹⁾。

喘息の吸入性アレルギーの場合既にアレルギー構成の複雑な室内塵, 種々の物質を含め花粉等では, 抗原の分離精製に諸種の化学的操作が応用されており^{32) 33) 34)}この中硫酸で, 沈澱する一定の分劃をとる方法は特別の設備を必要とせず, 手技も比較的容易で分離物質の変性を起し難い利点をもち繁用されている。^{35) 36) 37)}

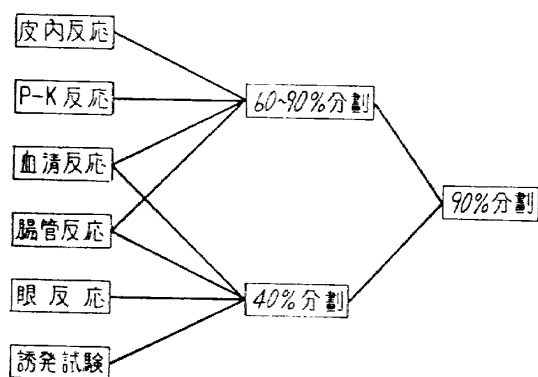
然し精製を試みた抗原の生物学的活性の判定には皮膚反応のみを指標とする傾向があるが^{38) 39) 40)}、本反応は吸入誘発試験と一致度が高い³⁵⁾反面, 皮膚は喘息のシヨツク臓器の呼吸器と必ずしも同一の反応態度を示さず, ために皮内反応陽性物質即アレルギーとは言えないとされている点^{36) 37)}本反応のみで抗原性の有無を判断する事は不十分と思われる。この点吸入誘発試験は抗原をシヨツク臓器の呼吸器粘膜に直接作用させ反応をみるため活性指標中最も確実とされている⁴¹⁾。一方かゝる反応結

果には用いた抗原の精製度、濃度、量、被検個体の抗原暴露量、抗体の産生量、反応の場となる臓器の感受性、被検者の年齢その他肉体的、精神的条件等が密接に関連すると言われている³⁸⁾。そのため実地上反応の判定基準が重要な問題となり、皮膚反応、吸入誘発試験については既に諸家により種々の判定法が提案されている。²¹⁾²²⁾³⁹⁾⁴⁰⁾この点当教室で報告した吸入性アレルギー性喘息であるこんにやく喘息では、その起因抗原となる舞粉の蛋白成分は従来氷醋酸や硫酸で分離され、その抗原性の判定には皮膚反応や粘膜反応が用いられている¹⁵⁾¹⁶⁾。又硫酸分劃はこんにやく喘息モルモットの吸入誘発試験及び腸管反応を陽性とし¹⁷⁾、こんにやく喘息患者血清を用いたタンニン酸処理赤血球凝集反応を陽性とする事が明らかにされている⁴¹⁾。

そこで今回私は本喘息の起因抗原精製に際し上述の文献学的考察及び当教室の成績を参考に舞粉の粗抽出液より硫酸を用いいくつかの分劃を取出しその抗原活性をこんにやく喘息患者では皮膚反応（皮内及び P-K 反応）、粘膜反応（眼反応と入誘発試験）、及び血清反応（BDB 凝集反応と沈降反応）により、こんにやく喘息モルモットでは吸入誘発試験と腸管反応により検討した。

この結果こんにやく喘息患者に於て90%分劃は皮膚反応及び粘膜反応のいずれにも活性を示したが、この分劃に含まれると考えられる60~90%分劃は皮膚反応を陽性

図2 各分劃と陽性を示す反応との関係



とするが粘腸反応では活性が極めて低く、40%分劃は逆に粘膜反応を陽性とするが皮膚反応活性を示されないことを知った。然し血清反応に於ては、いずれの分劃も同様の反応を示した。又こんにやく喘息モルモットの吸入誘発試験に於ても90%分劃及び40%分劃が活性を示し60~90%分劃では反応が認められなかった。（図2）これら分劃中90%分劃が人とモルモットで諸種の免疫学的活

性を示す点は当教室の田中等の報告した成績¹⁷⁾¹⁶⁾⁴¹⁾に一致し本分劃中にこんにやく喘息のアレルゲンが含まれていることは確かであるが、これを更に細かく分劃した40%分劃と60~90%分劃で一方が粘膜反応に於て、他方が皮膚反応に活性を示した点については、これが各分劃の化学的性状に由来するのか、或はこれら分劃に対応する抗体の性質によるのか、或は又反応術式によるものなのか充分の検討が必要と思われた。

今回私が実験で用いた40%と60~90%分劃は皮膚反応に於ては近接した部位に同量を同時に注入し、しかもその蛋白窒素量もほぼ同じと考えられ（表2）、吸入誘発試験に於ては、人とモルモットで被検例を2群に分け40%分劃と60~90%分劃を交互に吸入させた事より、少くとも実験条件や手技の相違で上述の両分劃の反応態度に相違が生じたとは考え難い。

次に従来アトピー性喘息では臨床症状惹起に関連する抗体として皮膚反応特に P-K 反応で検出されるレアギンが重視され³⁷⁾⁴²⁾⁴³⁾従つて本抗体と反応する抗原はこの種喘息の原因抗原として注目されており、かゝる抗原を用いた皮膚反応と粘膜反応が平行しない場合、これら反応の場に於る組織の reagin 量や reagin と結合する組織細胞の分布の相違等がその要因としてあげられて来た³⁸⁾。

舞粉の自然吸入で発生するこんにやく喘息では既に当教室の研究で起因抗原となる舞粉の90%分劃を用い、P-K 反応により reagin が検出されている¹⁹⁾⁴⁴⁾。従つて今回私の実験に於て90%分劃とに含まれる60~90%分劃と40%分劃で各々皮膚反応と吸入誘発試験が平行しない事には、反応の場となつた臓器の感受性やレアギン量や両分劃の抗原力価の相違が関連することは想像に難くない。しかし両分劃を用いた皮膚反応で60~90%分劃が、吸入誘発で40%分劃が陽性となつた点より、反応臓器、抗体量の相違がより重大な要因と考えられる。然しながら皮膚反応で活性の強い分劃が吸入誘発で活性を示さず逆に吸入誘発で活性の強い分劃が皮膚反応で活性を示さない点より、単に両分劃に共通する抗原力価の強弱でこの反応態度の差異を説明することは困難である。この点両分劃に対応する抗体の性質が問題となるが、こんにやく喘息の場合 reagin 型抗体の他モルモットを用いた PCA 反応で Anaphylaxie 型抗体が検出されて居り、しかもこれら抗体は熱に対する態度が異なることが確認されている。⁴⁵⁾

この事より従来のアトピー性喘息と異りその臨床症状

惹起に単に reagin 型抗体と反応する抗原のみが関与しているとは考えられない。

今回の実験で 60~90% 分割は P-K 反応を示す点で reagin 型抗体と反応することは明らかであるが、人及びモルモットの吸入誘発試験で抗原活性のみられた 40% 分割は P-K 反応を示さない点で reagin そのものと反応しているとは言い難い。しかも腸管反応で両分畫が異なる抗原性を示したことは皮膚反応、粘膜反応に於ける両分畫の反応態度の相違を示唆するものとして興味深い。

一方抗原性の相違に化学性状の差が密接に関係することとは一般に良く知られており、既にアトピー性喘息の抗原で Moore 等²⁾は花粉の粗抽出液を硫酸で分割し夫々化学的性状の異なる二三の抗原物質の精製に成功している。

Stull³⁾ は硫酸飽和度 50 と 100% の分割が皮内反応や P-K 反応で必ずしも同一の態度を示さなかつたと報告している。又 Goldfarb¹¹⁾ は同様硫酸で飽和度 0~60%, 60~90% の分割を取出しこれらが化学的性状を異にし、しかも皮内及び P-K 反応は 0~60% 分割のみに認められたことを報告している。尚 Malley⁴⁾ は硫酸で 0~20%, 49~55% の 2 つの分割を分離し、BDB 凝集反応と皮膚反応活性とが夫々異なることを明らかにしたが両分畫の化学的性状についての詳細は述べていない。

今回の実験で作製した 40% 分割と 60~90% 分割は諸種呈色反応を試みた結果いずれも蛋白質と多種類を含み、Anthrone による糖定量及び Folin-Ciocalteu のフェノール試薬による蛋白質の定量では 40% 分割に多糖類がより多く含まれていることを知り得た。(表 2)

これより両分畫の化学組成は必ずしも同一ではないと考えられ、この点上述の如く諸種アレルギー反応に於る両分畫の反応態度の相違と関係あるものと考えられる。

以上の諸成績を考え合わせると 40% 分割と 60~90% 分割はその抗原性が必ずしも同一とは考え難く思われた。この様にこんにやく喘息で皮膚反応を来す抗原と吸入誘発で症状を惹起する抗原が示されたが、このことは従来喘息の吸入性アレルギーがどれをとつてみても複雑なもので⁹⁾、時に皮膚反応抗原と症状惹起抗原が異なることが指摘されていること³⁷⁾と思ひ合わせ興味深い知見と思われた。

この反面アレルギーの精製をすすめすぎると時に抗原となる部分が失われることが指摘されて居り¹¹⁾、従つてアレルギー精製は常に該疾患を惹起する生物学的活性を中心に行なわれることが望まれ、喘息アレルギーの場合、

吸入誘発試験を指標とすることが必須の条件とされているが²²⁾、今回の実験でもこのことを再確認し得た。

以上、本実験で作製した分割中 60~90% 分割よりは 40% 分割が、吸入誘発試験を指標とした限り、より意義を有することを知り得、更にこの 40% 分割が吸入誘発の他、BDB 凝集反応、沈降反応を来すことが明らかになったがこれは本喘息の免疫学的性格を知る上に重要な事実と考えられ、しかも本分割が reagin と必ずしも反応しない点で、従来アトピー性喘息に於ては reagin と反応する抗原が重視されて来たことより、この種喘息の原因抗原究明上興味ある知見と思われる。

結 語

私は本邦に於て代表的な吸入性アレルギー性喘息とされているこんにやく喘息の起因抗原精製を企て、舞粉の水抽出液より硫酸塩析法により飽和度の異なる若干の沈澱分割を作製し、本喘息患者で諸種アレルギー反応を用いこれら分割の起因抗原としての意義を追求し次の結果を得た。

1. 作製した 90%, 60~90%, 40% 分割中、吸入誘発試験を指標とした場合、90% 分割と 40% 分割が本喘息の原因抗原となることを確め得た。

2. 皮膚反応及び吸入誘発反応を共に来す 90% 分割を細分し皮膚反応を来す 60~90% 分割と吸入誘発を来す 40% 分割を分離し、皮膚反応を来す抗原が必ずしも吸入誘発抗原となり得ぬことを確め得た。又抗原精製上生物学的活性指標として吸入誘発試験が重視されるべきことを再確認した。

3. こんにやく喘息の起因抗原となる 90% 分割及び 40% 分割で、本症患者血清中に BDB 凝集反応、Ouchterlony 法による沈降反応で流血抗体を検出し得た。

(本論文の要旨は第 12 回日本アレルギー学会総会で報告した。)

稿を終るに臨み御指導御校閲を賜つた恩師七条教授に心から感謝を捧げます。又終始御教示、御指導いただいた小林助教授、大沢講師に深く感謝致します。更に御鞭撻、御協力して下さいました笛木講師、近藤講師、種々御支援下さいました教室員各位に厚く御礼申し上げます。

文 献

- 1) Rappaport, B.Z., and Johnson, C.A.: Fractionation of pollen proteins and their skin reactions on sensitive individuals, Proc. Soc. Exper. Biol. & Med., 26 : 771, 1928.

- 2) Moore, M.B., Cromwell, H.W., and Moore, E.E.: Studies on pollen and pollen extracts. *V.J. Allergy*, 2:85, 1930.
- 3) Cooke, R.A., and Stull, A.: The preparation and standarization of pollen extract for the treatment of hay fever, *J. Allergy*, 4 (2):87, 1933.
- 4) Stull, A., Sherman, W.B., and Hampton, S. F.: Antigenic fractions in ragweed pollen, *I.J. Allergy*, 12 (2):117, 1941.
- 5) Stull, A., Sherman, W.B., and Wing, W.M.: Antigenic fractions in ragweed pollen, II. *J. Allergy*, 13:537, 1941.
- 6) Cohn, M.B., and Friedman, H.J.: Preliminary report on the fraction of ragweed pollen and immunologic studies with these fractions, *J. Allergy*, 14:368, 1942.
- 7) Schon, A.H., Richter, B., et al.: Studies on raweed pollen. I, *J. Allergy*, 27:236, 1942.
- 8) Richter, M., Schon, A.H., and Rose, B.: Studies on ragweed pollen. II *J. Immunol.*, 79:1, 1957.
- 9) Vannier, W.E., Campbell, D.H.: The isolation and characerization of a purified house dust allergen fraction. *J. Allergy*, 30 (3):198, 1959.
- 10) Prince, H.E.: Studies with dust extracts, *Ann. Allergy*, 19 (12):1389, 1961.
- 11) Goldfarb, A.R., and Callagham, O.H.: Fractionation of the antigens from dwarf ragweed pollen, *J. Immunol.*, 86:83, 1961.
- 12) King, T.P., and Norman, P.S.: Isolation studies of allergens from ragweed pollen, *Biochemistry*, 1:709, 1962.
- 13) 高橋昭三他: 気管支喘息アレルゲンの研究, 室内塵について, *アレルギー*, 10(2):162, 1961.
- 14) 七条小次郎他: こんにやく喘息に関する研究 (第1報), *北関東医学*, 1(1, 2):1, 1951.
- 15) 松本文吾: こんにやく喘息の研究, 第1編, *北関東医学*, 9(1):1, 1959.
- 16) 中沢精二: 気管支喘息に関する研究 第2編, *北関東医学*, 10(4):17, 1960.
- 17) 田中今朝昭: 実験的こんにやく喘息に関する研究, *アレルギー*, 7(6):542, 1959.
- 18) 七条小次郎他: こんにやく喘息の2例, *日本医事新報*, 1834:13, 1959.
- 19) 七条小次郎他: こんにやく喘息の臨床的研究補遺, *アレルギー*, 9(10):836, 1960.
- 20) 伝染病研究学友会編: 細菌学実習提要 (215), 丸善, 東京.
- 21) Gottlieb, P.M., et al.: The reproducibility of intradermal skin tests: A controlled study, *Ann. Allergy*, 18 (9):949, 1960.
- 22) 宮本昭正: 喘息患者に於る皮膚反応, 眼反応, 並びに誘発試験の臨床的価値とその相関性, *アレルギー*, 9 (12):968, 1960.
- 23) Tuft, L., et al.: Eye tests with inhalant allergens, *J. Allergy*, 30 (6):492, 1959.
- 24) 中山登: 気管支喘息の気道過敏性に関する研究第1報, *アレルギー*, 14 (11):603, 1965.
- 25) Pressman, D., et al.: The agglutination of intact Azo-Erythrocytes by antisera homologous to the attached groups, *J. Immunol.*, 44:101, 1942.
- 26) Gordon, J., et al.: Detection of "Non-Precipitating antibody in sera of individuals allergic to ragweed pollen by an in vitro method, *J. Exper. Med.*, 108:37, 1958.
- 27) Arbesman, C.E., et. al.: Immunologic studies of ragweed-sensitive patients. *I.J. Allergy*, 11 (4):317, 1960.
- 28) 進藤宙二: 血清反応とその実際, (38) 医学書院, 東京, 1956.
- 29) Wodehouse, R.P.: Standerdization and antigenic analysis of pollen extracts by gel diffusion, *Inter. Arch. Allergy*. 5 (5):337, 1957.
- 30) 笛木隆三: 実験的気管支喘息に関する生理学的研究, *アレルギー*, 12 (7, 8):237, 1963.
- 31) Perman, F., et al.: Allergic extracts a comparison of their quality and reliability, *J. Allergy*, 30 (1):24, 1959.
- 32) Strauss, M.B.: The preparation of allergic extracts for testing and treatment, *Fundamentals of Modern Allergy* (625) McGraw-Hil book Co. New York., 1960.
- 33) Frankel, S., et. al.: Fractionation of pollen extracts, II. *J. Allergy*, 26:33, 1955.
- 34) McKaba, D.G., and Norman, P.S.: Separation of ragweed pollen allergens by electrophoresis in starch. *J. Allergy*, 33 (1):18, 1962.
- 35) Kim, C.J.: The bronchial provocation test. *J. Allergy*, 36 (4):353, 1965.
- 36) 大島良雄他: 気管支喘息の最近の話題と問題点, *日本臨床*, 21 (4):41, 1963.
- 37) 川上保雄: アレルギー性疾患の診断, 特にレアギンの証明とその臨床的意義, *最新医学*, 18 (3):516, 1963.
- 38) 村中正治他: 気管支喘息におけるアレルゲンに対する抗体検索試験の臨床的意義の検討, *アレルギー*, 14 (6):1, 1965.
- 39) 石崎達: 即時皮内反応—陽性基準を中心として, *アレルギー*, 12 (1, 2):14, 1963.
- 40) 牧野莊平: 気管支喘息における吸入試験の研究 (1), *アレルギー*, 13(1, 2):24, 1964.

- 41) 大沢雄二郎：こんにやく喘息の血清学的研究第1報, アレルギー, 11(3, 4) : 116, 1962.
- 42) Coca, A.F., and Grove, E.F.: Studies in Hypersensitiveness. XIII. J. Immunol., 10 : 455, 1925.
- 43) Connell, J.T., and Sherman, W.B.: Skin-sensitizing antibody, I.J. Allergy, 34 : 409, 1963.
- 44) 七条小次郎他：こんにやく喘息における抗体の研究第1報, アレルギー, 12(11, 12) : 365, 1963.
- 45) 湯浅美弥子他：第15回日本アレルギー学会総会.
- 46) Malley, A., et al.: The separation of sub-
stances in timothy pollen extract producing allergic skin reactions from those producing hemagglutination reactions, J. Allergy, 31 : 413, 1960.
- 47) Malley, A., et al.: Isolation of allergens from timothy pollen, J. Allergy, 33 : 84, 1962.
- 48) Richter, M., and Schon, A.H.: Studies on the allergens of ragweed pollen, J. Allergy, 31 (2) : 1112, 1960.
- 49) Campbell, D.H., et al.: Methods in immunology (143) W.A. Benjamin, Inc. New York, 1964.

Abstracts of Originals

Antigenic Fractions in "Maiko" a Dust from *Amorphophalus Konjac*

Yoshinosuke Kaneko

(Director: Prof. Dr. K. Shichijo)

First Department of Internal Medicine School of Medicine, Gunma University, Maebashi

In the past ten years, several investigators have attempted to isolate and purify the active allergens in "Maiko", a dust from *Amorphophalus Konjac* (which is also offending allergens of typical allergic asthma in human beings in Japan) by various chemical techniques and electrophoresis in starch. For the purpose of the present study, three water soluble fractions has been separated by fractional precipitation from "Maiko" extract. Precipitation was carried out at 0-40% saturation, 60-90% saturation and 0-90% saturation with ammonium sulfate.

The antigenic specificity of these fractions has been shown by direct skin tests and passive transfer studies, bis-diazotized-benzidine method, gel diffusion method with the sera of Maiko sensitive patients, and by Schultz-Dale tests with ileum from sensitized guinea pigs.

The results obtained were as follows:

The 60-90% fraction was skin reactive, but the 0-40% fraction was nonreactive. However, in bronchial provocation test, the 0-40% fraction was more reactive than the 0-60% fraction.

Hemagglutination and gel diffusion data showed that both hemagglutinating and precipitating antigens are present in each fraction.

Studies by the Schultz-Dale test showed that the 0-40% fraction and the 0-60% fraction has different antigenic specificity.

The 90% fraction was reactive in all tests.

A Clinical and Experimental Study of Serotonin in Allergic Reactions

Takanosuke Sasaki

Third Department of Internal Medicine (Director: Prof. S. Mitsui),

Iwate Medical University School of Medicine, Morioka

For the purpose of clarifying the pathophysiology of allergic reactions the role of serotonin was investigated in anaphylactic shock in experimentally induced rabbits as well as dogs, and in patients with bronchial asthma. Furthermore, the mast cells in the skin as well as the lung tissue of rabbits under the shock were observed. Results thus obtained were as follows.

1) The average serotonin levels of normal rabbits without sensitization were 0.70 ± 0.16 $\mu\text{g/ml}$ in the plasma, 3.04 ± 0.24 $\mu\text{g/ml}$ in the whole blood and 3.49 ± 0.58 $\mu\text{g/g}$ in the lung tissue.

2) After sensitization of the rabbits with egg white, they were 0.75 ± 0.13 $\mu\text{g/ml}$ in the plasma, 3.80 ± 0.37 $\mu\text{g/ml}$ in the whole blood and 3.75 ± 0.66 $\mu\text{g/g}$ in the lung tissue. Comparing these serotonin levels with those of normal rabbits, serotonin levels of only the whole blood were noted to be significantly, increased after the sensitization.

3) Determining the serotonin levels in plasma, whole blood, as well as lung tissue after administration of the antigen to the sensitized rabbits in an attempt to induce an anaphylactic shock, they were noted to be as follows. The plasma serotonin level increased three times as much as the level before the provocation from thirteen to thirty seconds after injection of the antigen and almost returned to normal level after