

# 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

東京大学医学部内科物理療法学教室 (指導: 大島良雄教授)

石崎 達 信太 隆夫 梶野 宗幹

牧野 莊平 伊藤 幸治

## はしがき

近來我国でもアレルギー抽出液試作及び市販品が出廻るようになって、気管支喘息、蕁麻疹などのアレルギー疾患患者にアレルギー液による即時型皮内反応を行うことが一般化されてきた。そこで私達(石崎等<sup>1)2)</sup>は、まず、一般使用抗原及び一般使用稀釈度の範囲で、多数例の統計的処理法を用いて、皮内反応陽性限界を決定し、報告した。私達の行った範囲では、膨疹直径9mm, 紅暈直径20mm, (いずれも面積を表わすに便利な2直径をはかり、その平均をとる)を陽性限界として、両者或はいずれか一方が、この限界をこえれば、その反応は陽性と判定した。この限界は比較的固定されたもので、私達の調べた範囲では抗原液の種類、注射液量、注射部位、被検者の(15才以上の)年齢、性別と無関係であった。

そこで、更に、この限界が、アレルギーの稀釈度を極端に変化させることによつて、どう変わるかを調べてみると、上記論文<sup>2)</sup>に報告したように、陽性限界は変化せず、又、同一抗原による皮内反応の強さは稀釈度と平行関係を示さず、或る濃度附近を限界として、それより濃い稀釈度では陽性、薄い稀釈度では陰性を示し、その限界濃度は倍々稀釈系列でも割合明瞭に認められることが解つた。

この限界濃度を私達は皮内反応閾値と名付ける<sup>3)</sup>。

今回私達は、64名の気管支喘息患者に鳥居薬品の試作にかゝる室内塵(House Dust)抗原ロット No. 110及びNo. 320の倍々稀釈系列の抗原液を使用して、皮内反応閾値を測定し、これと気管支喘息病型及び肺活量1秒率減少を目標とした室内塵による誘発試験及びAcetylcholine吸入試験陽性閾値、患者の年齢等との関係を追求めたので報告する。すでに皮内反応閾値の研究の一部は第4回アレルギー研究会議事録に発表済である(石崎等1963)。

## 研究対象と研究方法

1 研究対象: 昭和37年8月より、同38年3月にいたる間に東京大学附属病院療内科で通院治療を受けた64名の気管支喘息患者を対象に研究を行った。性別、年齢構成、症型(鼻型・気管支型<sup>4)</sup>)は第1表に示した。11才~50才までが大部分で性別では男性が若干多かつた。鼻型(発作時鼻汁分泌型)と気管支型(発作時鼻汁分泌を伴わない型)の割合は略々同数であつた。

表1 療内科外来喘息患者年齢性別分布

| 性別 |      | 年令 |    | 5～10 | 11～20 | 21～30 | 31～40 | 41～50 | 51～60 | 61～ | 合計 |
|----|------|----|----|------|-------|-------|-------|-------|-------|-----|----|
|    |      |    |    |      |       |       |       |       |       |     |    |
| 男  | 鼻型   | 1  | 2  | 4    | 5     | 5     | 1     | 1     | 19    |     |    |
|    | 気管支型 | 0  | 4  | 1    | 5     | 3     | 2     | 1     | 16    |     |    |
|    | 計    | 1  | 6  | 5    | 10    | 8     | 3     | 2     | 35    |     |    |
| 女  | 鼻型   | 0  | 3  | 5    | 1     | 1     | 2     | 0     | 12    |     |    |
|    | 気管支型 | 0  | 2  | 6    | 3     | 4     | 1     | 1     | 17    |     |    |
|    | 計    | 0  | 5  | 11   | 4     | 5     | 3     | 1     | 29    |     |    |
| 合計 | 鼻型   | 1  | 5  | 9    | 6     | 6     | 3     | 1     | 31    |     |    |
|    | 気管支型 | 0  | 6  | 7    | 8     | 7     | 3     | 2     | 33    |     |    |
|    | 計    | 1  | 11 | 16   | 14    | 13    | 6     | 3     | 64    |     |    |

## 2 研究方法:

1) 抗原は鳥居薬品提供のハウスダスト抗原No. 110(1000倍液のTN量0.9 $\mu$ g/ml, PN量0.017 $\mu$ g/ml)及びNo. 320(同TN量0.94 $\mu$ g/ml, PN量0.01 $\mu$ g/ml)で、10倍液より順次20, 50, 100, 200, 500, 1000, 2000, 5000, 10000倍の稀釈系列を作つて使用した。

実施方法は前腕屈側皮内に0.02 ml 腕注射し、15分後に膨疹・紅暈の平均直径(面積を充分表わし得る様にとつた直交する2直径の平均値)を測定値とした。判定基準は膨疹9mm以上、紅暈20mm以上のいずれかの条件を満足するものを陽性と判定した。

## 2) 室内塵20倍液による誘発試験

噴出粒子の均一化を工夫したNebulizer(建部製)に室内塵No. 110の20倍液0.5 mlを入れモーターで噴出させ、3分間に全量を患者の口から吸入させた。

肺活量計で術前2回、術後5, 12, 20分の3回にわたり強制肺活量を測定し、1秒量が術前の15%以上減少を示したときに誘発反応陽性と判定した。

### 3) Acetylcholine 液による誘発試験

注射用塩化 Acetylcholine を生理的食塩水で稀釈し、15, 29, 59, 118, 235, 470, 940, 1880  $\mu\text{g}/0.5\text{ml}$  の系列を作成し、15  $\mu\text{g}$  より上述の方法で吸入させ、直後の強制呼気を行わせ肺活量を計り、1秒量が術前にくらべ10%以上の減少を示すまで、増量する。この場合次の濃度との間隔は5~10分である。1秒量10%以上減少した場合の Acetylcholine 濃度をその人の Acetylcholine 閾値とした。

## 研究成績

### 1. 喘息患者の年齢・性別・発作型別分布

64例を年齢、性別、発作型別に分類すると第1表のようになった。

私達の対象は男女略同数、鼻型、気管支型略同数である。年齢分布よりみると、男30才台、女20才台に最頻値があった。型別では鼻型20才台、気管支型は30才台を中心の広い分布となっている。

### 2. 皮内反応分布曲線

64名に付きロット別(1000倍抗原液)に膨疹・紅量の反応の大きさの頻度分布を作ると、両者共殆んど相似の2峰性分布を作り、谷間は膨疹9mm、紅量ではやや不正確でNo. 110は16mm, No. 320は12mmを示したが、これは例数100例以下であるので有意義の差ではない。この曲線からみると、陽性率は膨疹でNo. 110は25%, No. 320は37.5%, 紅量ではNo. 110は37.5%, No. 320は56%で、若干No. 320の方が陽性率が高いが、検定でその差は有意でない。なお両反応合せての陽性率はNo. 110 37.5%, No. 320 56%であった。

### 3. ロット別皮内反応の比較

同一人に実施した1000倍液0.02 ml の反応をNo. 110とNo. 320で比較したのが図2である。

これをみると膨疹は実測点が45°線を中心に良く集り、No. 110とNo. 320で略等しい反応を示す。紅量では同じ傾向はみられるが、その関係はやゝ乱れている。しかし相関係数を調べると、膨疹 $\gamma = +0.68$ , 紅量 $\gamma = +0.796$ , で高い相関があり、一応No. 110とNo. 320は同質と考えてよいであろう。

しかし上述の各実測点の散らばりの原因には、皮内反応が悉無率的に反応し、又反応の大きさが個人のヒスタミン感受性と比例するが、閾値とは比例しない等(石崎

図1 気管支喘息患者HD皮内反応分布

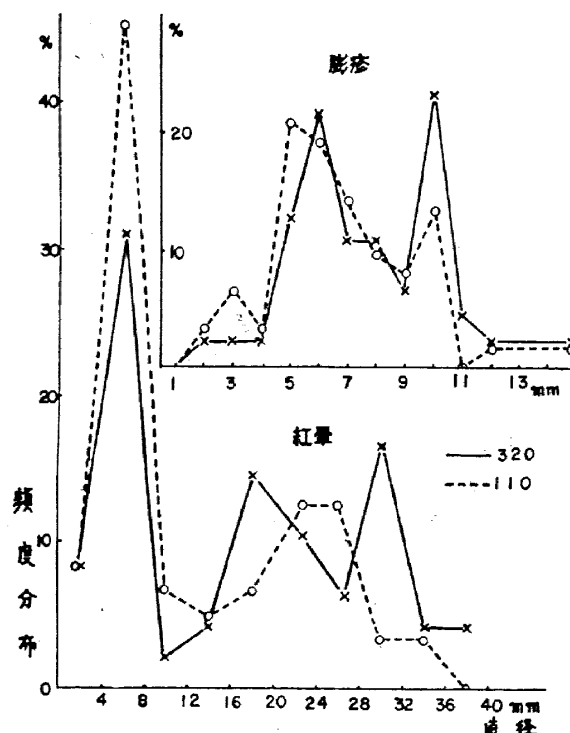
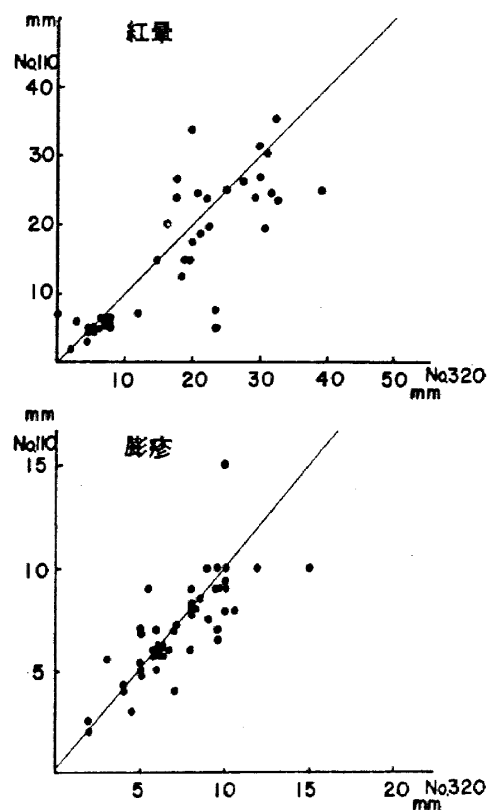


図2 室内塵ロット別相関図



1961, 1963), のことが考えられるので, 上の方法でロットを比較したのでは力価の量的な比較は困難である。

#### 4. 皮内反も閾値分布

既報(石崎等1963)の理論により, 気管支喘息患者の各個人別に, 室内塵(HD)の反応閾値を調査したが, これをロット別の頻度分布にしてみると図3のようになった。但しこの場合対象は共通ではなく, ロット別に違っている。両者共最頻値は稀釈率1000倍以上であり, 対象が違うにかかわらず相似的分布型であるが, どちらかと言うとNo. 320がより高い稀釈度でも反応する様に思われる。

図3 HD. ロット別皮内反応閾値分布(気管支喘息患者)

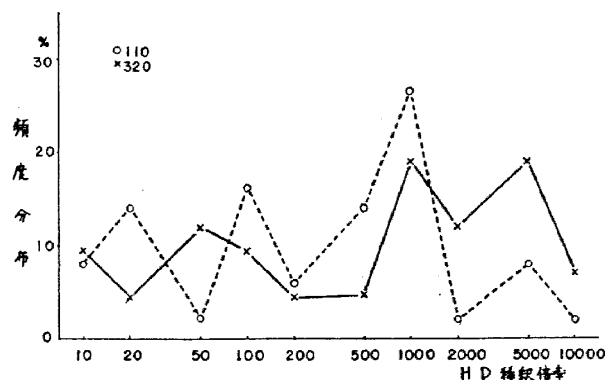
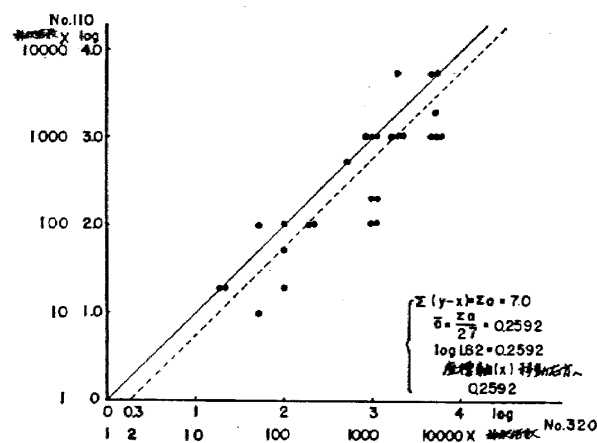


図4 HD. 反応閾値のロット別相関図



以上の成績からNo. 320の方がNo. 110よりも力価が高い様に思われたので, 同一対象に同時に実施した両ロットの閾値について相関表を作ってみると, 図4の如くである。これは少数例について既に発表した成績と同様の結果(同上論文)であるが, 今回, 多数例で作ってみても, 実測点には良く直線関係が認められ, 大体同一傾

向がみられた。即ち両ロットの相関係数 $\gamma = 0.921$ で高い相関があるから, 各患者の皮膚反応からみて両ロットは質的に相似していると考えてよいであろう。

そこで両者が相似とすれば上記ロットに対する見掛けの閾値の差は, 実は主として両ロットの力価の差から出ていると考えられる。患者の反応準備状態が均等で等力価ならば実測点は相関図で原点を通る45度線上に分布する筈であるから, 力価の違いは45度線の位置の移動とも考えられる。試みにこの考えで適当な45度線を引いてみる必要がある。

すなわち

同一人のNo. 110の閾値対数 $x$ , No. 320の閾値対数を $y$ とすれば求める45度線は下記の条件を満足するものでなければならない。

$$\Sigma(y-x) = \Sigma d = 7.0 \quad n=27$$

$$\bar{a} = \frac{\Sigma d}{n} = 0.2592 \quad 0.2592 = \log 1.82$$

そこで一般に $y$ の方が $x$ より大きいので $y$ 軸の右側0.2592の点から45度線を引いてみると図4の点線のようになり, 実測点はこの直線の両側に分布している。即ちこの点線を新しい規準線とすればNo. 110とNo. 320は等価の場合の如き分布をする筈である。

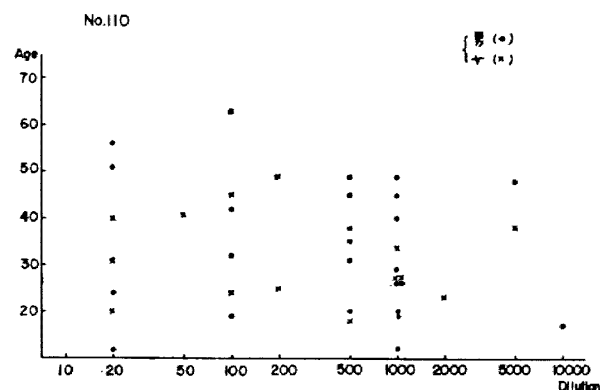
とすれば No. 110と No. 320との力価の差は45度線の位置の移動で表わされることになり $0.2592 = \log 1.82$ 即ち No. 320が No. 110に対し約2倍の力価があることになる。

#### 5. 皮内反応閾値と年齢・性別の関係

皮内反応閾値は既に述べたようになりに安定したものであるが, これが年齢・性別の影響をうけるかどうかを考えてみたい。

そこでこれに関する相関図を作ってみると図5のよう

図5 No. 110HD皮内反応閾値と年齢性別との関係



になった。

これをみると実測点は広範囲に散在し、年齢・性別との相関をみとめることが出来なかつた。

即ち皮内反応閾値は個人的なもので、年齢、性別の影響をうけない様である。

## 6. Acetylcholine 感受性と皮内反応閾値との関係

既報<sup>5)</sup> (大島等1961) の様に気管支喘息患者の Acetylcholine 吸入試験の閾値は正常人に比して低く、又喘息患者各個人に於いても差があるので、これを指標にして、皮内反応閾値の検討を進める事にした。

### (1) 発作型と皮内反応閾値

鼻型・気管支型を分類して、皮内反応閾値と Acetylcholine 感受性との相関図を作成すると図6の様になった。

この図から Acetylcholine 閾値と皮内反応閾値の相関係数を求めると  $r = +0.472$  の正相関を示し、検定して5%の危険率で有意性が認められる。

そこで鼻型・気管支型に分けてみると両者がかなり明

図6 気管支喘息患者の室内塵皮内反応閾値と Acetylcholine による肺活量1秒率減少閾値との関係 (鼻型、気管支型比較)

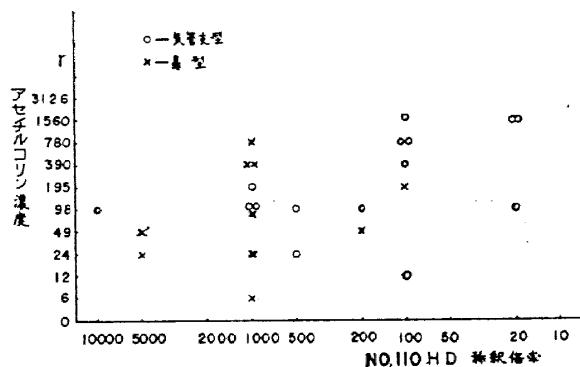
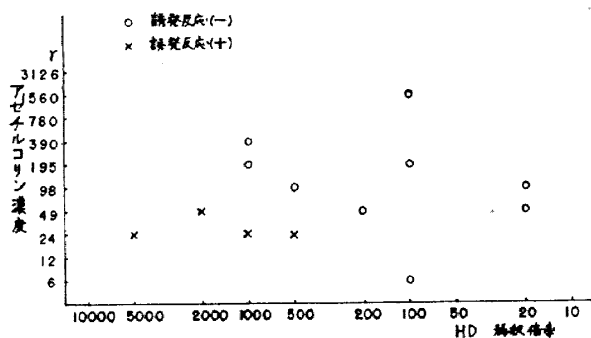


図7 喘息患者の室内塵皮内反応閾値と Acetylcholine 肺活量1秒率減少閾値の関係 (HD誘発反応成績との関係)



瞭に分かれている。即ち鼻型の方は皮内反応閾値からみても感受性が高く、気管支型は低い。

### (2) 室内塵 (HD) 吸入誘発反応と皮内反応閾値の関係

発作型とは無関係に13例に室内塵 (H.D. No. 110) 20倍液 0.5 ml を吸入させて誘発試験を試みたが、その成績を上記 Acetylcholine 閾値とHD皮内反応閾値との相関図上に記入してみると、図7の様になった。

これをみると誘発反応陽性の4名は高い稀釈度の反応閾値を持ち、Acetylcholine 感受性もまた敏感である。

## 考 按

従来皮内反応といえは或濃度の抗原液 (通例原料の乾燥量の1000分の1稀釈液) に対する皮膚の反応、即ち膨疹・紅暈の直径を測定して判定の指標にした。しかし膨疹・紅暈の直径の大小をもつて直ちに過敏性の大小に結びつけて考えるのは問題がある。

常識的に考えて、皮内反応の大きさに関連する要因は沢山ある。たとえば、個人の保有する抗体量、抗原抗体反応は Histamin 等の活性物質を遊離すると考えられるがその遊離さるべき agents の保有量、これらの物質に対する皮膚の過敏性などが関係すると考えられ、一元的には取扱い得ない。

一方私達は既報 (石崎1963) で同一人に倍々稀釈系列の室内塵エキスを注射すると皮膚は陽性ならば大体同じ大きさで反応し、或稀釈限界以下の濃度では急に陰性化することを確かめたが、このとき限界濃度を閾値という名で表現し皮膚過敏性の別な指標となることに気付いた。Tuberkulin に対する皮内反応閾値の変化とその意義については先に Ickert<sup>6)</sup> その他の業績があり、抗体量と皮内反応閾値については、進藤<sup>7)</sup>らの業績があることは周知の事実である。

既に発表したように反応直径測定では相関図を作つても点の散在性が大きく取扱いに不便であるが、閾値を指標とするとバラツキが少くなり、既にのべたように取扱いが便利となつた。

更に閾値法においては同一図表上から簡単に力価の比較が出来る利点がみられたので、この論文では従来あまり検討されていない皮膚反応閾値を利用して室内塵エキスの力値判定法試案を呈示してみたのである。

## 総括と結論

東京大学医学部付属病院物療内科外来を訪れた気管支喘息患者64名に鳥居薬品提供の室内塵 (House Dust) 抗原の内、作製原料を異にするロット No. 110と No.

320を用いて皮内反応閾値を測定し相互比較により力価検定を行った。閾値測定には倍々稀釈系列を使用した。

次にこの閾値と気管支喘息病型及び肺活量1秒率減少を目標にした吸入誘発試験, Acetylcholine 吸入試験等との関係を追求した。研究成績は下記の如くである。

1) 1000倍抗原液のロット別皮内反応の大きさの頻度分布図は略相似で、膨疹直径9mm・紅暈直径20mmの基準をいずれか一方で越える陽性率はNo. 110が37.5%, No. 320が56%であつた。又両ロットの1000倍液反応を同一人につき実施して、両ロット反応の相関図を作ると実測点はちらばるが高い相関を示し、両ロット同質と考える。

2) 同一人に実施した両ロットの皮内反応陽性閾値(陽性反応最小濃度)を比較すると、稀釈度の対数(x,y)であらわした相関図上で実測点は原点を通る45度線に平行な線を中心に分布し、この線は $\Sigma(x-y) = \Sigma a, f=n, \log A = \frac{\Sigma a}{n}$ を満足するA点でx軸を切る線として求められる。この方法で $A=1.82$ を示しNo. 320はNo. 110の略2倍の力値を有することがわかつた。

3) No. 110の皮内反応閾値は年齢・性別とは無関係であるが、肺のAcetylcholine感受性(肺活量1秒率減少)とは正相関を示した。

4) 病型に分けて比較すると、鼻型は皮内反応閾値・Acetylcholine感受性共に過敏性を示し、気管支型はこの逆で両者は判然と2分された。

5) 誘発反応陽性例はいずれもAcetylcholine感受性高く、皮内反応閾値も低濃度(過敏)であつた。

稿を終るに臨み御指導を給つた恩師大島良雄教授に深謝し、肺活量測定に協力された竹島節子氏及び齊藤弘子氏に感謝いたします。

## 文 献

- 1) 石崎達, 荒木英齊, 久津見晴彦: 皮内反応の基礎的研究(1)即時反応陽性判定基準及び反応の特質について, アレルギー, 10, (5) 307—317, 1961.
- 2) 石崎達: 即時反応—陽性判定基準を中心にして, アレルギー—12 (12), 14—30, 1963.
- 3) 石崎達, 信太隆夫: 皮内反応による House Dust エキスの力価検定法, アレルギー, 12( 5.6), 183—185, 1963.
- 4) 石崎達, 横張竜一, 荒木英齊, 宮本昭正, 広瀬俊一, 可部順三郎, 大塚正紀, 牧野莊平: 気管支喘息の分類, 鼻型, 気管支型の差異について, アレルギー, 11 ( 9, 10), 284—289, 1962.
- 5) 大島良雄, 宮本昭正外: 気管支喘の最近の話題と問題点, 日本臨床, 21, 647—654, 1963
- 6) Ickert, F.: Allergie und Tuberkulose, 28—77, Georg Thieme, 1940.
- 7) T. Sindo, Y. Kaneko, K. Wakakura: Studies on the cutaneous tuberculin test with special reference to the zone phenomenon, Jap. J. Exp. Med., 23, 4, 269—291, 1953

## 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

dilution and also on acetylcholine inhalation test than those without nasal symptom. Furthermore, those positive for provocation test by house dust antigen were also more sensitive on both of above mentioned tests than those negative.

---

## **Studies on the Mechanism of the Secondary Syndrome Following the Bone Marrow Transplantation**

**Takeo Kuroyanagi & Masanobu Saito**

The Third Department of Internal Medicine, Faculty  
of Medicine, University of Tokyo  
(Director: Prof. Kiku Nakao)

Rabbits bone marrow cells and spleen cells were transplanted into rats receiving 800 $\gamma$  total body irradiation. These rats developed the secondary syndrome 2-3 weeks after the transplantation. The secondary syndrome was severer in rats receiving the transplantation of bone marrow cells and spleen cells of rabbits sensitized previously with egg-albumin than in those receiving the transplantation of normal rabbits bone marrow cells and spleen cells.

Hemolysins and hemagglutinins against rabbit erythrocytes could not be demonstrated in rats with the secondary syndrome. Rats receiving the transplantation of bone marrow cells and skin of sensitized rabbits did not reject the grafted rabbit skin during the secondary syndrome following the transplantation. These results suggest that the mechanism of the secondary syndrome may not be explained by the Host vs Graft concept.

The tritiated thymidine labeled bone marrow cells of rabbits were transplanted into irradiated rats. And then smears of the bone marrow were made from the above rats at various intervals following the transplantation and studied for the radioautography. The presence of only few labeled cells of donors in the bone marrow of host was demonstrated two weeks after the transplantation. This result is against the concept that the transplanted donor bone marrow cells take over the host bone marrow.

When normal rabbits bone marrow cells were transplanted into irradiated rats, the anti-globulin test using duck anti-rabbit globulin serum in these rats was negative, indicating the absence of the production of anti-rat red cell incomplete antibodies by donors cells. However, when bone marrow cells of sensitized rabbits were transplanted, these donors cells produced anti-rat red cell incomplete antibodies, demonstrating the positive anti-globulin test.

From these results it may be concluded as follows. The secondary syndrome is caused by the Graft vs Host reaction. The production of antibodies against host tissues by the transplanted donor cells is inhibited because of the presence of a large amount of antigens. However the transplanted bone marrow cells of sensitized rabbits can produce anti-host antibodies in host in spite of the presence of a large amount of antigens. Thus the secondary syndrome is severer in rats receiving the transplantation of bone marrows of sensitized rabbits than in rats receiving the transplantation of normal rabbits bone marrows.

The administration of Glycyrrhizin to rats receiving the transplantation of bone marrows of sensitized rabbits reduced markedly the degree of the secondary syndrome in these rats.

---