

〔原 著〕

ホヤ喘息に関する研究

第7報. ホヤの抗原物質の臨床的検索.

広島県立広島病院内科

城 智 彦

広島県佐伯郡廿日市町

勝 谷 隆

広島県立井口病院

大 塚 正

(受付: 6月15日, 1967)

1. はじめに

私どもは、広島地域の養殖かきのむき身作業や真珠養殖作業に従事する人々の間にみられる喘息が、かきやアコヤガイの殻に付着して成育するホヤの成分に感作されておきる吸入性のアレルギー性喘息であることを見出し、「ホヤ喘息」と命名して研究を続けてきたが¹⁾²⁾³⁾⁴⁾⁵⁾、今回はホヤ成分のうち、いかなる物質が本症の発生に関与するかを検索するため、種々の方法により抽出作製されたホヤ抗原液を用いて、2, 3の臨床的検索を行なったので報告する。

2. 使用抗原液

使用した抗原液は、エボヤ、シロボヤ、ユウレイボヤおよびそれらの混合したものからそれぞれ作製され、岩手医大光井内科および鳥居薬品から提供を受けた D-P 法によるもの、光井内科のエタノール沈澱分画法 (E 法) によるもの、大阪大学山村内科の山村法⁷⁾によるもの、ならびに鳥居薬品の Holister-Stier 法 (H-S 法) によるものなどである。

E 法によるホヤ抗原液は、D-P 法によつてえられた粗抗原に対して、 -15°C で 1.2 倍容の無水エタノールを加え、10,000 rpm, -15°C で 30 分間遠心沈澱し、生じた沈澱物 (54.5% エタノール分画) よりエタノールを透折によつて除き、可及的少量に濃縮したものの生理食塩液であり、蛋白性物質と糖質を含有している。

山村法抗原液は、抽出に際して 0.1N HCl を用い、ピクリン酸沈澱、アセトン沈澱、透折という一連の操作

から作製されたものの生理食塩液であり、分子量 2~3 万の内液画分と分子量 1 万以下の外液画分とに分けられており、いずれも蛋白性物質と糖質を含有している。

H-S 法による抗原液は、その製法の詳細が不明であるが、精製抗原であり、溶媒として 50% グリセリンを使用している。

3. 皮内反応

上記の諸抗原液を用いて、ホヤ喘息患者、一般の気管支喘息患者および健常者に皮内反応を実施して、抗原の相異による反応の差を比較検討した。反応は前腕屈側に各抗原液 0.02ml を皮内注射し、15 分後の紅斑径が 20mm 以上のものを陽性とした。この際、D-P 法および H-S 法抗原では 1,000 倍液、E 法抗原では 100 倍液 (蛋白窒素約 1.6 γ /ml 含有)、山村法抗原では両画分とも原末 0.05 mg/ml を含む稀釈液 (蛋白窒素約 8 γ /ml 含有) を使用した。

その結果は表 1 に示したごとく、健常者および気管支喘息者では陽性率が低いのに反して、ホヤ喘息患者においては山村法内液画分のエボヤ抗原液を除いてすべて約 70% 以上の特異的に高い陽性率を示し、しかも抗原の製法の相異による陽性率の差は顕著ではなかつた。もつとも、山村法抗原液では他の方法によるものよりも陽性率が心持ち低い傾向があり、それは特に健常者において目立つた (表 1)。

次にホヤ喘息患者に行なつた山村法抗原液の内液画分と外液画分による皮内反応の強さを比較してみると、各

表1 皮膚反応

抗 原 の 種 類			健 常 者		ホ ヤ 喘 息		気 管 支 喘 息	
			陰 性	陽 性 (%)	陰 性	陽 性 (%)	陰 性	陽 性 (%)
D P 法	光井内科	ホ ヤ 混 合	418	75 (8.5)	59	426 (87.8)	235	25 (9.7)
		エ ボ ヤ	70	9 (11.4)	60	242 (80.4)	30	7 (11.4)
		シ ロ ボ ヤ	71	7 (9.0)	58	237 (79.5)	38	11 (22.4)
		ユウレイボヤ	67	12 (15.2)	48	252 (84.0)	29	12 (29.3)
	鳥 居	エ ボ ヤ	59	6 (9.2)	23	106 (82.3)	14	6 (30.0)
		シ ロ ボ ヤ	62	4 (6.4)	21	109 (83.3)	17	5 (21.7)
		ユウレイボヤ	66	9 (13.6)	19	110 (85.3)	14	6 (30.0)
エタノー ル法 (光井内科)		エ ボ ヤ	22	5 (18.5)	7	51 (87.9)	1	1
		シ ロ ボ ヤ	26	1 (3.8)	11	46 (80.7)	14	1 (6.7)
T A P (山村)法	内液画分	エ ボ ヤ	30	0 (0)	47	43 (47.8)	35	5 (12.5)
		シ ロ ボ ヤ	31	0 (0)	26	63 (70.8)	35	4 (10.3)
		ユウレイボヤ	29	0 (0)	27	59 (68.6)	31	7 (18.4)
	外液画分	エ ボ ヤ	23	2 (8.0)	23	60 (72.3)	18	2 (10.4)
		シ ロ ボ ヤ	26	0 (0)	21	66 (76.3)	14	3 (17.7)
		ユウレイボヤ	20	2 (9.1)	20	58 (74.4)	17	2 (10.5)
H-S法 (鳥居)		ホ ヤ 混 合	11	0 (0)	13	62 (82.3)	14	8 (36.4)

表2 内・外液画分の皮膚反応の比較

紅 斑	～9mm	10～19mm	20～29mm	30～39mm	40～mm
エボヤ	内液	21(23.3)	26(28.9)	37(41.1)	6(6.7)
シロボヤ	内液	15(16.8)	11(12.4)	43(48.3)	20(22.5)
ユウボヤ	内液	9(10.5)	18(20.9)	40(46.5)	17(19.8)
レヤ	内液	8(10.3)	12(15.3)	35(44.9)	22(28.2)
エボヤ	外液	6(7.2)	17(20.5)	36(43.4)	23(27.7)
シロボヤ	外液	9(10.3)	12(13.7)	37(42.5)	27(31.0)
ユウボヤ	外液	8(10.3)	12(15.3)	35(44.9)	22(28.2)
レヤ	外液	8(10.3)	12(15.3)	35(44.9)	22(28.2)

ホヤとも内液画分よりも外液画分において、紅斑径30mm以上の強い反応を示すものが多いようであつた(表2)。

4. 眼反応

D-P法およびE法による抗原液では10倍液、山村法によるものは0.5mg/ml液を用い、それぞれ1～2滴点眼して15分後に結膜の充血、浮腫などを観察した。

健常者では陽性反応を示すものは皆無に近かつた。ホヤ喘息患者では、D-P法抗原液によるものが高い陽性率を示したのに反して、E法および山村法抗原液によるものは17%以下の低い陽性率を示したに過ぎなかつた(表3)。

表3 眼 反 応

抗 原 の 種 類			健常者		ホヤ喘息	
			陰性	陽性	陰性	陽性(%)
D—P法 (鳥居)	エ ボ ヤ	12	0	7	21 (75.0)	
	シ ロ ボ ヤ	12	0	24	53 (68.8)	
	ユウレイボヤ	11	1	31	39 (55.7)	
エタノール 沈 澱 法 (光井内科)	エ ボ ヤ	6	0	30	5 (14.4)	
	シ ロ ボ ヤ	6	0	31	5 (13.9)	
T A P法 (山村)	内 液 画 分	エ ボ ヤ	6	0	5	0
		シ ロ ボ ヤ	5	0	15	3 (16.7)
		ユウレイボヤ	6	0	10	0
	外 液 画 分	エ ボ ヤ	6	0	5	0
		シ ロ ボ ヤ	5	0	17	3 (15.0)
		ユウレイボヤ	6	0	4	0

5. P-K 反応

表4に示したごとく、いずれの製法による抗原液によつても同程度の反応陽性者が認められた(表4)。

6. 考 按

アレルギー性喘息の原因抗原を化学的に追求しようとする試みは、室内塵を原因とする喘息が多いため、主として室内塵抗原液について従来行なわれてきたようである。しかし、室内塵抗原は多様な室内塵構成成分を含有しているものから作製されたものであり、抗原因子の追

表4 P-K 反応

抗 原 液 の 種 類		陰 性	陽 性	
D—P 法 (光井内科) (鳥 居)	ホ ヤ 混 合	2	16	
	エ ボ ヤ	6	9	
	シ ロ ボ ヤ	8	16	
	ユウレイボヤ	5	10	
エタノール沈澱 法 (光井内科)	エ ボ ヤ	2	4	
	シ ロ ボ ヤ	1	5	
T A P 法 (山村)	内 液 画 分	エ ボ ヤ	12	3
		シ ロ ボ ヤ	4	2
		ユウレイボヤ	9	4
	外 液 画 分	エ ボ ヤ	2	4
		シ ロ ボ ヤ	1	5
		ユウレイボヤ	1	5
H—S 法(鳥居)	ホ ヤ 混 合	0	6	

求のためには必ずしも適当なものとは思われない。これに反してコンニャク喘息、マブシ喘息あるいは私どものホヤ喘息は原因抗原が単一であると考えられ、職業病として対象の多いこととも相まつて、抗原抗体因子の化学的追求にも適していると思われる。

このような理由から、ホヤ抗原液を精製し、これと従来用いられてきた D-P 法抗原液との相異を臨床的に比較検討した。

皮内反応の成績についてみると、ホヤ喘息患者ではいずれの抗原液でもほぼ同程度の高い陽性率を示したが、健常者では山村法抗原液において陽性反応を示すものが明らかに少なかった。このことは山村法による抗原の精製度が高く、従つて非特異的の反応を示すことが少ないことを示唆するものと考えられるが、しかし、他方結膜反応において、E法と山村法による抗原液の陽性率が D-P 法に比して極めて低かつたことからみると、精製の過程において結膜反応を陽性にする因子の減少もしくは喪失も考えられる、もつとも結膜反応に使用した抗原液の濃度の関係もあると思われるので今後検討していきたい。

山村法による内液画分と透折性の外液画分は、後者が低分子のものであるにもかかわらず、両者ともほとんど同じ臨床成績を示したことから低分子の蛋白もしくはペプチドも強い抗原性を有しているものと考えられる。なお、各抗原液に含有されている糖質の関与については今後の検討をまちたい。

7. 結 語

D-P 法によるホヤの粗抗原液と山村法、エタノール沈澱分画法、Holister-Stier 法などによつて精製されたホヤ抗原液の臨床的な比較検討を行なつた。

1. 皮内反応においては、各抗原液ともホヤ喘息患者において特異的に高い陽性率を示した。

2. 結膜反応においては、D-P 法抗原液では高い陽性率を示したが、山村法およびエタノール沈澱分画法による抗原液の陽性率は極めて低かつた。

3. P-K 反応では、各抗原液とも同程度の反応陽性者を認めた。

以上の結果より、ホヤ成分のうち蛋白性物質は抗原因子として重要なものであり、ホヤよりえた透折性の低分子のものも強い抗原性を有していると考えられる。

稿を終るにあたり、抗原液を提供していただいた岩手医科大学光井内科、大阪大学山村内科ならびに鳥居薬品に厚く御礼申し上げます。

なお本論文の要旨は第16回日本アレルギー学会総会において発表した。

文 献

- 1) 城 智彦, 勝谷 隆, 猪子嘉生, 大塚 正, 鹿内喜佐男, 高橋睦子, 豊島照雄, 森川修治: 広島県下のかきのむき身業者にみられる喘息様疾患(かきの打ち子喘息)に関する研究 第1報, アレルギー, 13, 88~99, 1964.
- 2) 城 智彦, 勝谷 隆, 大塚 正, 猪子嘉生: 広島県下のかきのむき身業者にみられる喘息様疾患(かきの打ち子喘息)に関する研究 第2報, 広島医学, 17, 857~868, 1964.
- 3) 大塚 正, 城 智彦, 勝谷 隆: かきの打ち子喘息に関する研究(第3報)減感作療法の効果について, アレルギー, 14, 553~558, 1965.
- 4) 菊地博通, 城 智彦, 石橋洪一, 大塚 正, 勝谷 隆: かきの打ち子喘息に関する研究(第4報)季節前減感作療法の効果について, アレルギー, 14, 559~564, 1965.
- 5) 光井庄太郎他: かきの打ち子喘息に関する研究 第5報, かきの打ち子にみられるアレルギー性結膜炎および減感作療法による眼反応の推移, 第15回日本アレルギー学会総会発表.
- 6) 森川修次: かきの打ち子喘息に関する臨床的研究, アレルギー, 16, 349~361, 1967.
- 7) 八倉隆保: 皮内反応抗原の精製と、その臨床的応用, 特にブタクサ花粉皮内反応抗原と、肺吸虫症診断用皮内反応抗原について, 大阪大学医学雑誌, 16, 191~201, 1964.

Abstracts of Originals

Studies on the Sea-squirt Asthma (VII)

Clinical examination used of the antigen extracts of the sea-squirt

Toshihiko Jyo

Hiroshima Prefectural Hiroshima Hospital

Tadashi Otsuka

Hiroshima Prefectural Inokuchi Hospital

Takashi Katsutani

Hatsukaichi-machi, Hiroshima

It was already ascertained through our former reports that the sea-squirt asthma is a typical inhalative one caused by the components of the squirt.

And now it is to be reported that the following results concerning the refined antigen extracts of the squirt were obtained through clinical comparisons and examinations. The antigen extracts used here are, firstly the crude antigen extracts got through the D-P method, and secondly the refined antigen extracts got through the Yamamura-method, through precipitation and fractionation by using ethanol, or through the Hollister-Stier-method.

1) In the case of the intradermal test about the patients of the sea-squirt asthma, extraordinarily high percentage of positivity was observed concerning each kind of the above mentioned extracts.

2) In the case of the conjunctival test, the antigen extracts got through the D-P method showed high percentage of positivity; whereas, those got through the Yamamura-method or the ethanol method showed very low percentage of positivity.

3) In the case of the P-K test, the percentage of positivity was almost the same in each kind of the antigen extracts.

Thus it may be concluded that the protein component of squirts is an important factor as an antigen, and that the low molecular weight of dialysable protein substances has also an effective power as an antigen.

Studies on the Serum Complement in Pulmonary Tuberculosis

Report 1. Serum complement level and serum protein pattern tuberculin positive and negative healthy adults.

Masanobu Emura

1st Department of Internal Medicine, Osaka city University Medical School

(Chief: Professor Dr. Kenzo Shiota)

The Serum complement level and serum protein level and its fraction were compared in tuberculin positive 9 (the diameter of the redness over 10 mm by $\times 2000$ OT), weakly positive (the diameter of the redness under 9 mm by $\times 2000$ OT and over 10 mm by $\times 100$ OT) and negative (the diameter of the redness under 9mm by $\times 100$ OT) healthy adults: positive 37, weakly positive 30 and negative 30.

The old tuberculin of the same lot number was used throughout the study. The serum complement protein level was by refractometer and the protein fraction were by paper electrophoresis.

The following results were obtained.