

Aspergillosis の血清学的研究

第 1 編

粗抗原による血清反応

香川県衛生研究所 (所長: 浜田豊博博士)

瀬尾昌克

〔昭和 35 年 11 月 9 日受稿〕

結 言

Aspergillus は、普通 1 種類、或いはそれ以上の種類によつて、一次的には気管支、肺、内・外耳道、時には皮膚、爪、副鼻腔、骨、脊髄に病変を起すが、もともと、Aspergillus の多くは、植物に病原性をもつものであり、動物では鳥類、殊に、鳩、鸚鵡、ペンギン鳥にしばしばみられる⁷⁾。しかし、ある種の Aspergillus (Asp. fumigatus, Asp. terreus etc.) は、家畜及び鳥類飼育者、或いは農夫に発見され、そのために、Aspergillosis は、Exogenous Mycosis としてあつかわれている事が多い⁸⁾。又、抗生物質療法の経過中、特に重篤な消耗性疾患、就中肺結核、肺膿瘍などの慢性呼吸器疾患、或いは白血病、再生不良性貧血の末期にも、Aspergillosis の併発が、かなりの頻度に見られており¹⁾²⁾³⁾⁴⁾⁵⁾⁶⁾、更に Aspergillosis と Candidiasis の合併症の報告もみられている⁷⁾。

これらの事実から、東郷 (1950) は、Aspergillus は、常在性に広く分布しており、それが、しばしば外界に通じる器官の粘膜に附着し、喀痰中にもみられる事によつて、何等かの機会に、Aspergillus が病巣に定着し、時には深部に侵入して、汎発性 Aspergillosis をひきおこすものと考えている。

およそ Aspergillus の自然界における分布状況は、Thorn (1926) によれば、全世界の殆んどあらゆる地域にわたつて、350 種類をこえる種属があるとなされ、それらの中、最も多く Aspergillosis を惹起するものは Aspergillus fumigatus であり、これは穀類、もみ殻にひろく発見される。これに加えて肺結核、肺膿瘍の慢性疾患の患者の喀痰中に、Aspergillus の分生子が多く発見されるとすれば、喀痰の顕微鏡的検査及び、培養検査によつて、

Aspergillus を証明しても、それによる診断的意義は全く少ないとされねばならない。特に、Conant ら (1945) は、臨床的には、Pulmonary aspergillosis の場合、急性のものでは、激症の気管炎像に酷似しており、慢性のものにあつては肺結核に似ており、病理組織学的には結核結節様の組織構造を示し、死体解剖前の診断は甚だ困難であるとしている。しかし、実際問題として、Deep mycosis の場合、常時、深部の病巣から組織をとつて、病理組織学的検査を実施するとは殆んど不可能に近く、残された診断法として免疫血清学的な検査法に頼る他はない。

現在、Mycosis の血清反応は、Candida においては、秋葉ら (1954) による皮内反応、凝集反応、補体結合反応がおこなわれており、皮内反応には、普通加熱死菌が使われるが健康者においても陽性率が高いとされ、凝集反応では血清中の凝集価が 2,400 倍の高い値を示した事も報告されているが、Hiatt (1946) は、重症の Candidiasis の患者で、皮内、凝集反応共に陰性の成績を示す場合があるとしている。我が国でも、秋葉・岩田 (1954) は、Candida の多糖体分画によつてえられた精製抗原で、皮内、沈降、凝集の各反応をおこない、それぞれ特異的な結果を得ており、山下及びその協同研究者出井 (1956) は血清学的に Candida の分類をおこない、特に土屋 (1957) による Candida 属の因子血清による分類は高く評価されている。その他、Iams (1950) は、ツベルクリン反応陰性の Histoplasmosis の患者に、Histoplasmin を使用して皮内反応を実施し、陽性の成績を示したが、その後、館野 (1955) は、Histoplasmosis の患者でも、必ずしも陽性にでない事を指摘している。

殊に、感染の初期又は、急速に悪化した様な場合、或いは末期においては、Anergy の状態がしばしば

みられている。Blastomycosis については、Area-Leão 及び Goto (1950) が、Paracoccidioidin の 0.1 ml を、皮内に接種して 24~48 時後に判定し、陽性者では腫脹、発赤、或いは接種局所の痛痒感、或るものでは発熱、不快感をともなう激しい反応をみている。こうした激しい反応を示すことから、この皮内反応は、ごく限られた場合にしか使用できないとしている。

Aspergillosis における血清反応については、現在迄、全くその報告をみないが、これも他の真菌と同じく常在性に広く分布しているものとすれば、多かれ少なかれ、自然に感作をうけており、この菌に対する抗体の産生がなされていないとはいきれない。

著者は、今回1956年5月及び1957年5月の2回にわたつて、香川県丸亀市の某鶏飼料工場で集団的に発生した肺結核様の症状を示す従業員について、細菌学的検査及び血清学的検査をすすめ、興味ある結果を得たので、ここに報告し御高批を仰ぐ次第である。

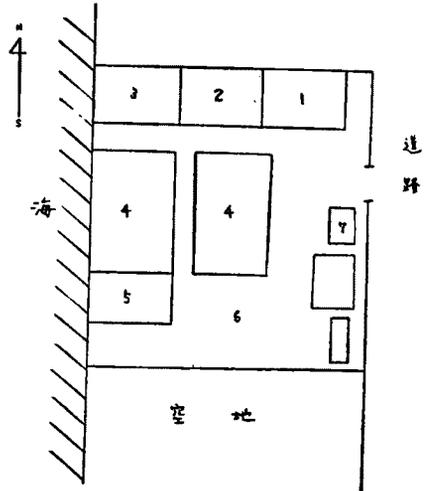
発 生 概 況

昭和31年及び32年の5月から6月にかけて、香川県丸亀市の某鶏飼料工場の従業員間に肺結核様の症状を呈する疾患がみられ、肺結核として診断され療養を続けるうち、約1~2ヶ月で軽快する点及び、工場に入所後約1ヶ月で発病するもの多きことから、当地の開業医宮野医師の手によつて、これらの疾患が、当該工場て原料として使用されるカビに起

因するものではないかとの疑いもたれ、協力を依頼された。

工場は海岸に面しており(図1)、製造工程は(2)

図 1



及び(3)に示す場所において麴カビと称されているものと、(1)の部屋で蒸気でむされた甘薯の粗製粉末及びみかんの皮の粉末を混合し、この混合物を(4)の室(37°C 前後の湿潤な部屋)に運び、従業員がついて、米は機械的に攪拌、乾燥される。さらに(6)場所で南京袋につめられるのであるが、胞子の飛散は(5)及び(6)の場所において最もははだしく(表1)、従業員は交代で、防毒マスクをつけて作業に従事している。しかしながら、防毒マスク

表 1

検査場所	1	2	3	4	5	$\bar{x} + U\sqrt{Fo/N} \geq m \geq \bar{x} - U\sqrt{Fo/N}$
1	59	33	48	71	38	49.8 ± 18.85
2	141	175	113	154	91	134.8 ± 41.17
3	(134)	217	216	222	245	225.0 ± 21.60
4	30	7	11	9	14	14.2 ± 11.41
5	419	316	344	217	389	337.0 ± 96.60
6	317	219	301	401	328	313.2 ± 80.72
7	(34)	19	24	21	17	20.5 ± 3.84

は全頁にはわたらず、わたらないものはガーゼマスク、或いは全く予防措置がとられないまま作業しており、相当な労働に伴うので防毒マスクをはずす場合もしばしばみられる。

臨 床 所 見

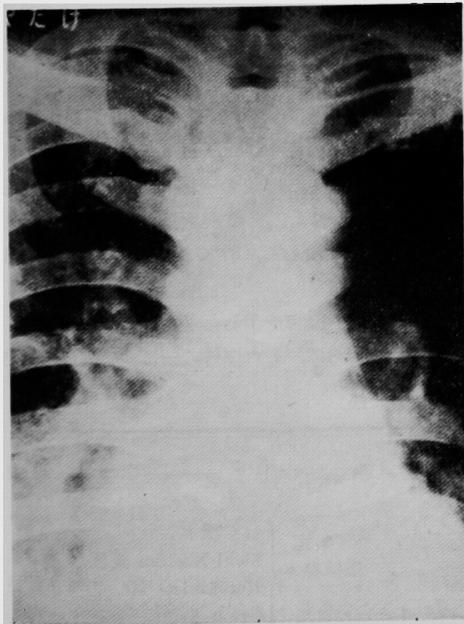
現在就労している従業員について調査したものは、疲労感、食欲不振、不眠を主としており、入所1ヶ月後から自覚すると訴えるものが多く、喀痰の

増加は、全例に認められる。発熱及び貧血等は殆んどみられないが、わずかに下痢を訴えるもののみられる(表2)。レントゲン所見(図2)では、右鎖骨下に Ringförmig な Schatten がみられ、その

表 2

	疲労感	食慾不振	喀痰	不眠	瀉瘻	下痢	発熱	浮腫	発疹	尿			尿沈渣			
										蛋白	糖	ウロリン	真菌	赤血球	白血球	円柱
1	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)
2	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)
3	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)
4	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)
5	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)
6	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)
7	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)
8	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)
9	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)
10	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)
11	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)
12	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)
13	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)
14	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)
15	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)

図 2



他の部分は、一般に粟粒結核を疑わせる所見を呈している。血液学的所見(表3, 4)では、赤血球数 300×10^4 以下のものが1例、 301×10^4 以上 400×10^4 迄が6例、 401×10^4 以上 450×10^4 迄のものが4例

表3 工場従業員血液

		赤血球数	白血球数	血色素量	血色素指数
1	高 ○	460 万	5600	16.0 g%	1.16
2	○ 田	466	6600	14.0	1.01
3	田 ○	415	5200	12.0	0.97
4	○ 北	350	5800	11.5	1.09
5	隼 ○	280	3700	11.0	1.31
6	○ 野	325	2900	13.0	1.35
7	桜 ○	395	4800	12.0	1.02
8	○ 山	412	4900	13.5	1.09
9	宮 ○	385	5200	14.2	1.28
10	○ 岡	419	7200	12.5	1.01
11	島 ○	512	4800	17.2	1.12
12	○ 井	390	5100	15.0	1.29
13	長 ○	428	6100	14.0	1.11
14	○ 市	510	4540	16.7	1.11
15	松 ○	372	4810	12.3	1.11
平均		407.3 万	5150		1.14

で、正常人のそれ(表5)に比して、赤血球数の減少がある様にかがえる。白血球数では、3,000 以下の値を示すものが1例、3,001以上4,000迄のものが1例、4,001以上5,000迄が5例にみられ、これも白血球数の減少があるが如くに思われる。血色素指

表 4

	B	E	L	Mo	N				
					1	2	3	4	5
1 高○	0.0	4.8	50.8	2.4	2.4	8.9	24.1	5.6	0.8
2 〇田	0.0	0.0	54.4	0.8	6.4	20.8	14.4	0.0	0.0
3 田〇	0.0	23.5	39.0	6.5	4.0	13.0	11.0	3.0	0.0
4 〇北	1.6	4.0	31.2	0.0	7.2	11.2	24.0	4.0	0.8
5 亀〇	0.0	2.5	37.0	2.5	6.5	20.5	21.5	1.5	1.0
6 〇野	0.0	0.0	47.4	2.5	5.9	34.7	7.6	0.0	0.0
7 桜〇	0.0	1.0	45.0	2.5	3.5	26.0	19.0	3.0	0.0
8 〇山	0.0	1.0	35.0	7.5	4.0	14.0	28.5	10.0	0.0
9 宮〇	0.0	3.7	41.5	1.4	8.9	23.7	18.6	2.2	0.0
10 〇岡	0.0	4.0	42.5	5.0	7.0	16.5	19.0	6.0	0.0
11 島〇	0.0	3.2	60.0	4.0	5.6	12.0	13.6	0.8	0.8
12 〇井	0.0	1.7	54.0	2.5	3.8	15.5	18.3	0.0	0.0
13 長〇	0.0	2.5	66.6	2.5	4.1	10.8	13.3	0.0	0.0
14 〇市	0.0	24.9	41.1	3.8	7.9	10.8	10.1	0.8	0.8
15 松〇	0.0	0.0	62.5	2.5	6.7	20.8	6.7	0.8	0.0
	47.2								

数及び、白血球百分率において、リンパ球は、それぞれ正常人よりも高みられるが、 $\alpha = 0.01$ で、血色素指数には有意の差はみとめられない。

菌 学 的 検 査

検査材料及び検査方法 (表 6)

患者材料： 水道水で含漱させた後に喀出させた従業員の喀痰を、滅菌生食水で 10 回、攪拌遠沈 (3000 r. p. m. 5 min.) して洗滌した後、これを実験に供した。

供試培地： 家兎の心臓穿刺によつて得た血液を脱纖維したものを 10% の割合に加えた、Sabouraud 葡萄糖寒天及び血液を加えない寒天と、Sabouraud

表 6 喀 痰 検 査 方 法

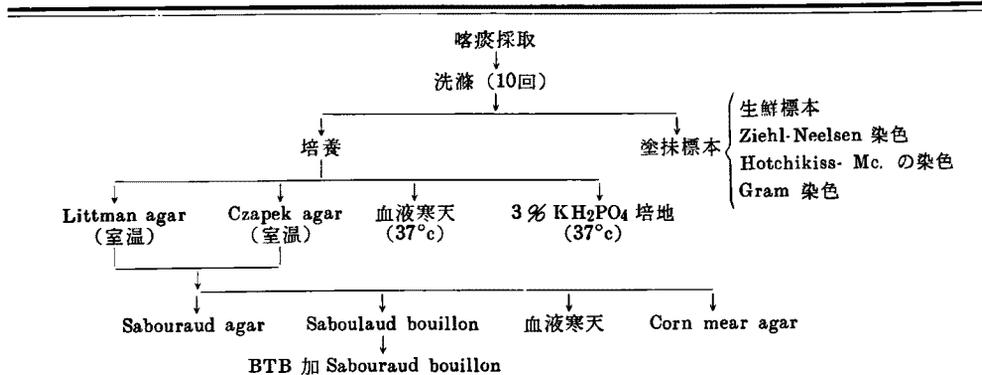


表 5 正 常 人 血 液

	赤血球数	白血球数	血色素量	血色素指数	リンパ球
1 山〇	459 万	4900	15.6 g%	1.15	51.0
2 〇脇	468	6050	15.8	1.15	28.0
3 +〇	427	5725	15.0	1.20	23.0
4 〇狭	454	6300	14.5	1.07	30.5
5 加〇	436	5753	14.5	1.12	40.5
6 〇部	497	7585	15.7	1.07	29.5
7 菱〇	529	6450	16.8	1.08	33.5
8 〇田	418	6450	15.5	1.26	49.5
9 峰	493	5600	15.0	1.01	39.0
10 木〇	407	4570	12.0	1.00	30.0
11 〇井	413	6100	12.3	1.00	34.5
12 池〇	480	5700	16.3	1.13	29.5
13 〇西	446	6550	15.8	1.20	37.5
14 筒〇	459	6950	13.0	0.97	28.0
15 〇谷	453	6950	13.9	1.03	36.0
平均	456	6109	14.8	1.10	34.7

bouillon, Corn meal agar, Littman's agar, Czapek agar 及び Czapek の液体培地並びに 3% KH₂PO₄ 培地を、それぞれ用にのぞんで使用に供した。

供試動物： 20 gr. 前後の、市販ハツカネズミ及び、2000 gr. 前後の白色家兎をそれぞれ実験に供した。

分離培養： 洗滌した喀痰を、そのまま Littmans' agar, Czapek agar, Sabouraud agar に接種して 10 日間室温で培養し、他の一部は 8% NaOH 水を喀痰と等量に加え、その混液の 0.1 ml を 3% KH₂PO₄ 培地に流して、37°C 40 日間観察をおこなった。

観察方法： 發育を示した子囊菌類については、これを形態学的に、それ以外の菌については、形態

学的及び生物学的性状、即ち、Sabouraud ぶどう糖寒天、Sabouraud ぶどう糖 bouillon、Corn mear agar、Sabouraud 血液寒天に、それぞれ培養して、培地上の性状を観察すると共に、種々の糖（ぶどう糖、果糖、蔗糖、乳糖）をそれぞれ加えた BTB 加 Sabouraud bouillon で、糖の分解醗酵作用を検した。

顕微鏡的検査： 洗滌喀痰の一部をとつて、そのまま染色を施さない生鮮標本及び、Ziehl-Neelsen 染色、Hotchkiss-McManus の染色、Gram 染色を行つて、油浸レンズの下に、分生子の有無、孢子及び仮性菌糸、結核菌、その他の細菌について観察した。

検査成績

顕微鏡的所見： 喀痰の生鮮標本では、すべての例に、多数の分生子が観察される他、スピロヘータ

等は認められず、Hotchkiss-McManus の染色及び Gram 染色で 2 例に真性菌糸、4 例に酵母様の真菌が観察される他、Ziehl-Neelsen 染色では結核菌は全く認められない。

培養所見： Littman agar、Sabouraud agar では 2～3 日で、毛様のかびの発育がみられ、5～6 日に至つて、白色乃至灰色のかびの集落（これは 7～8 日で黄色乃至黄緑色）及び、うす緑色乃至青緑色のかびが認められる。さらに、Littman's agar では、うす紫色、Sabouraud agar では、白色のクリーム状、中心部がやや突起した集落が 2 日目からみられる。これらの菌のうち、黄緑色のかびは、Littman's agr では、その全例に発現し、うす緑乃至青紫色のかびは 4 例、毛様のかびは 8 例、うす紫色のクリーム状集落は 10 例にこれを認めている（表 7）。

表 7

	顕微鏡的所見							培養所見 (Littman agar)			
	分生子	真性菌糸	酵母様真菌	放線菌	結核菌	肺炎球菌	スピロヘータ	Mucor	Penicillium	Candida	Aspsrgillus
1	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)
2	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)
3	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)
4	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)
5	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)
6	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)
7	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)
8	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)
9	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)
10	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)
11	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)
12	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)
13	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)
14	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)

1. 毛様のかび： これは形態学的には、Mucorales に属する子囊菌類と同定される。即ち、肉眼的には、2～3 日で白色乃至灰白色の長い繊維を有する気中菌糸がみられ、これは次第に灰色に変わる。顕微鏡的には、菌糸に隔壁は全く認められず、菌糸から直立する分生子柄の先端は膨化して、孢子囊胞子を形成している。

2. うす緑乃至青緑色のかび： これらは共に、Czapek agar における性状はピロード状で、初期においては白色であるが、次第に緑乃至青緑色に変化する。顕微鏡的には、菌糸は透明、明色に着色し、

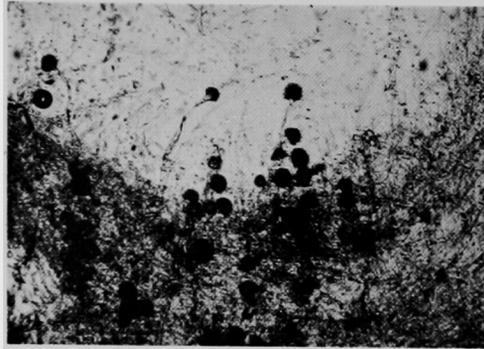
隔壁をもっており、埋没菌糸と気中菌糸からなり、さらに、分生子柄は菌糸から直立して分岐し、隔壁がみられる。分生子柄の先端は箒状にわかれて、いわゆる Penicillus を呈し、Sterigmata は輪生である。さらに Rami を有し、Conidia は Sterigmata の先端から 1 例の連鎖を作つており、Conidia の表面は滑らかで、やや、うす青い色をしているが如へにみえる。これは Penicillium 属に属する子囊菌類と同定される。

3. 黄緑色のかび： Littman's agar 上の色は発育初期には白色の羽毛状であるが、2～3 日で黄色、

さらに4~5日後には黄緑色を呈してみられる。その後、さらに放置しておく時には緑黄褐色となる。顕微鏡的には、菌糸は無色で、殆んど透明であり、隔壁がみられ、一部の菌糸は培地中に入りこんでみられる。

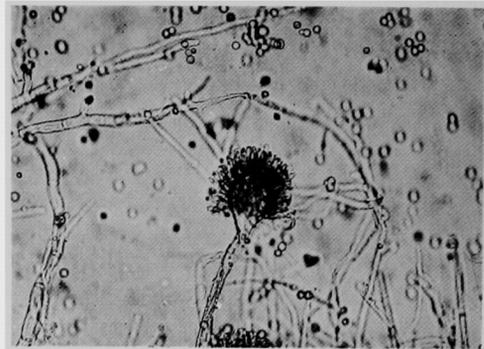
分生子柄は菌糸中の foot cell から垂直に起立し、

図 3



隔壁はみられない。Vesicle は球形、Sterigmata は二重、Conidia はうす黄色で、かつ疣状の突起がみられるものもあり、被子器及び子嚢はみられない。以上の点から、このかびは、*Aspergillus flavus-oryzae* 群にぞくするものと考えられる (図3, 4)。

図 4



4. クリーム状の集落：(表8) これは、Czapek agar では、わずかに発育がみられる程度であるが、Sabouraud agar では、甘酸つばい芳香を有し、クリーム状の集落の表面は滑沢で湿潤、中心部は凸状に隆起し、その周辺は培養初期においては、極めて平滑であるが、培養後期(5日後)では周辺はやや粗雑にみられる。Sabouraud 血液寒天では灰白色を呈し、その中心部はわずかに隆起し、周辺は極めて平滑である。Sabouraud ぶどう糖 bouillon では被膜は形成されず沈澱を生ずる。Corn mear agar の室温培養では、わずかに Chlamyospore の形成がみられる。形態は、酵母形の球形或いは卵円形で、時に長形を有するものがある。又、Pseudo hyphæ

を有し、その細胞節の末端或いは側壁から芽胞子の形成がみられ、これは、次第に Pseudo hyphæ を囲む集団を形成する。

生物学的性状では、それぞれ Glucose, Maltose, Sucrose を分解し、Glucose, Maltose は Gas の発生がみられるが、Lactose は分解しない。牛乳及びゲラチンは凝固しない。又、色素は産生されない。このものは、 $4 \times 10^4/ml$ に Spore を含む生食水を、0.1 ml、ハツカネズミの皮下に接種しても、殆んど発病はみられないが、わずかに接種局所の皮下に、膿瘍の形成を認める程度である。以上の点から、これは *Candida albicans* と同定される。

5. 結核菌： 3% KH_2PO_4 培地で、37°C 40日

表 8

生物学性状 菌株番号	芳香	被膜の 形成	厚膜胞子 の形成	仮性菌糸	糖 分 解				牛乳凝固	ゲラチン 凝 固	色素産生
					Glucose	Maltose	Sucrose	Lactose			
2	(+)	(-)	(+)(-)	(+)	A G	A G	A	(-)	(-)	(-)	(-)
5	(+)	(-)	(+)(-)	(+)	A G	A G	A	(-)	(-)	(-)	(-)
6	(+)	(-)	(+)(-)	(+)	A G	A G	A	(-)	(-)	(-)	(-)
7	(+)	(-)	(+)(-)	(+)	A G	A G	A	(-)	(-)	(-)	(-)
8	(+)	(-)	(-)	(+)	A G	A G	A	(-)	(-)	(-)	(-)
9	(+)	(-)	(-)	(+)	A G	A G	A	(-)	(-)	(-)	(-)
10	(+)	(-)	(+)(-)	(+)	A G	A G	A	(-)	(-)	(-)	(-)
12	(+)	(-)	(+)(-)	(+)	A G	A G	A	(-)	(-)	(-)	(-)
13	(+)	(-)	(+)(-)	(+)	A G	A G	A	(-)	(-)	(-)	(-)
14	(+)	(-)	(+)(-)	(+)	A G	A G	A	(-)	(-)	(-)	(-)

間の培養により、集落の発生は全く認めえなかつた。

血清学的実験

実験材料

供試菌株：鶏飼料工場従業員の喀痰から分離された *Penicillium* 及び、*Mucor*, *Candida albicans* 並びに、従業員高島某よりえられた *Aspergillus flavus-oryzae* (以後、高島株と略記する) と、県立醸造試験場より分与をうけた *Aspergillus oryzae* (以後、*Asp. oryzae* と略記する)、東京大学医学部細菌学教室より分与をうけた *Asp. fumigatus* (久保山株) 及び、*Asp. sp.* をそれぞれ実験に供した。

供試動物：×1000 ツベルクリン及び×10000 ツベルクリンの皮内接種によつて、ツベルクリン反応陰性である事が認められた 1500~2000 gr. 前後の健康家兎を使用した。

供試血清：鶏飼料工場の従業員よりえられた血清及び、前記の各菌株をそれぞれ *Czapek* 液体培地で1ヶ月間、室温培養によつてえられた培養濾液を、そのまま家兎の耳静脈に注射 (5 ml) し、それより20日後に、心臓穿刺によつて採血してえられた血清を、それぞれ 56°C 30分間加温して非動性となし、×10000の割合にマーサイオレイトを加えて、4°C の氷室に保存したものを、用いのぞみ、再度加温によつて非動性となして実験に供した。

供試血球：健康人O型血球及び鶏、犬、猫、家兎、綿羊、羊、馬、天竺鼠の血球を、それぞれ滅菌生食水によつて3回洗滌し、各10%の割合に生食水血球浮游液として4°Cに保存、用いのぞんで適宜稀釈して実験に供した。

実験方法

抗原の製法：*Mucor*, *Penicillium*, *Asp. oryzae*, *Asp. fumigatus*, *Asp. sp.* 及び高島株を、それぞれ *Czapek* 液体培地に接種し、室温で1ヶ月間培養した後、それぞれの菌苔をとり、37°Cで乾燥させた後、乳鉢で磨砕し、その40 gr. 宛を秤量したものに300 ml の生食水を加え、激しく振盪し、これを2分した後、1つは4°Cに7日間放置 (ときどき振盪) し、他方は、100°C 60分間加熱をおこなった。これらの浸出液を濾過してえられ濾液及び培養濾液を、それぞれ沈降反応、感作赤血球凝集反応用の抗原として用いた。さらに、*Asp. oryzae* 及び

Asp. fumigatus, 高島株をそれぞれ 37°C 10日間 *Sabouraud agar* に培養したものの表面に、生食水を流して分生子を浮遊させ、これを注射筒で採取し、手振りによつて激しく振盪した後、3000 rpm 10分間遠心沈澱してえられた分生子を、約 $330 \times 10^4/ml$ になるように生食水に浮遊させ、これを凝集反應用抗原として用いた。*C. albicans* については、これを *Sabouraud agar* で 37°C 5日間培養してえられた集落を集め、生食水に $1200 \times 10^4/ml$ になる如く浮遊させたものを、ドライアイス・アセトン法によつて、3回凍結融解をくり返し、4°C 7日間放置した後 3000 rpm 15分間遠心沈澱してえられた上清を、沈降反応、感作赤血球凝集反應用抗原として使用に供した。

感作赤血球の作り方：上記の方法によつてえられた粗抗原液に、それぞれ人O型赤血球を10%の割合に加えて37°C 2時間 (その間、30分毎に振盪) 放置して血球を感作させ、これを 3000 r. p. m. 5分間遠沈した後、さらに、生食水で5回、遠沈洗滌後0.5%の割合に生食水に浮遊させたものを感作赤血球抗原として直ちに使用した。

沈降反応：直径3 mm、長さ80 mm の沈降反應用試験管に、1列を6本として、それぞれ高さが15 mm になるように可検血清を注入し、さらに *Mucor*, *Penicillium*, *C. albicans*, 高島株, *Asp. oryzae*, *Asp. fumigatus*, *Asp. sp.* からえられた抗原液をそれぞれ4倍から32倍まで倍数的に稀釈して、そのおのおのを等量に血清の上に重層した。抗原対照としては、*Czapek* 液体培地をそのまま、各被検血清に、それと等量に重層し、室温で2時間及び16時間の後、血清と抗原液の境界面にあらわれる白濁輪の有無によつて成績を判定した。

凝集反応：血清をそれぞれ終末稀釈が4倍になる如く、倍数的に32倍迄稀釈し、それらを各0.5 ml 宛ワツセルマン反應用試験管にとり、等量の抗原液を注加、混和した後、37°C の恒温器内で2時間放置さらにそれを翌朝まで室温に放置した後、凝集の有無によつて成績を判定した。

異種血球凝集反応：各血清の稀釈は、生食水によつて10倍とし、これの0.5 ml 宛を試験管にとり、前記各動物からえられた血球を、それぞれ0.5%の生食水浮游液となる如く稀釈をおこない、稀釈血清と等量に加えて混和した後、室温に2時間放置して凝集の有無によつて成績を判定した。

感作赤血球凝集反応：従業員血清及び工場内に

放置して感作させた家兎（20日間及び17日間放置）及び、高島株の培養濾液を静脈内に注射してえられた家兎の血清と、対照として、健康人と正常家兎よりそれぞれえられた血清を、終末稀釈が4倍から、倍数的に512倍になる如く稀釈し、0.5 ml 宛、ワツセルマン試験管にとり、これに前記の方法で感作した血球を0.5%になるように生食水浮游液として、血清稀釈液と等量に注加混和した後、室温に2時間放置して凝集の有無から成績を判定した。

実 験 成 績

I. 沈降反応

1. 菌苔加熱抽出抗原による実験（表9）

(1) *Mucor* を抗原とした実験

従業員血清及び工場内に放置して感染させた家兎血清並びに高島株の菌濾液を静脈内に注射された家兎血清、対照の健康人血清及び正常家兎血清共に全く反応はみられない。

表 9

血 清	抗 原	菌 体 加 熱 抽 出 抗 原 (沈 降 反 応)						
		<i>Mucor</i>	<i>Penicillium</i>	<i>C.alb.</i>	高島株	<i>Asp.oryzae</i>	<i>Asp.fumigatus</i>	<i>Asp.sp</i>
人 血 清 (労 務 者)	1	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	2	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	3	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	4	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	5	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	6	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	7	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	8	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	9	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	10	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	11	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	12	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
工場内に放置して感染 させた家兎の血清	1	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	2	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
高島株の培養濾液を静 脈内に接種した家兎の 血清	1	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	2	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
健 康 人 血 清	1	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	2	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
健 康 家 兎 血 清	1	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	2	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)

(2) *Penicillium* を抗原とした実験

Mucor と同じく、従業員血清、工場内に放置して感染させた家兎血清、高島株の菌濾液を静脈内に注射された家兎の血清及び健康人血清、正常家兎血清共にそれぞれ全て陰性の成績を示している。

(3) *C. albicans* を抗原とした実験

Mucor と同じく、従業員血清及び工場内に放置して感染させた家兎血清、並びに高島株の菌濾液を静脈内に注射された家兎の血清、対照の健康人血清及び正常家兎血清共に陰性の成績を示している。

(4) 高島株を抗原とした実験

Mucor と同じく従業員血清及び工場内に放置して感染させた家兎血清及び高島株の菌濾液を静脈内に注射された家兎血清と対照の健康人血清及び正常家兎血清共に全く陰性の成績を示している。

(5) *Aspergillus* を抗原とした実験

Asp. oryzae, *Asp. fumigatus*, *Asp. sp.* の各抗原による沈降反応は共に、それぞれ従業員血清及び工場内に放置して感染させた家兎血清並びに高島株の菌濾液を静脈内に注射された家兎血清、対照の

健康人血清及び正常家兎血清共に陰性の成績を示している。

2. 菌苔低温抽出抗原による実験 (表10)

(1) *Mucor* を抗原とした実験

従業員血清において抗原稀釈4倍まで (+) が2

例, 4倍 (±) が1例, 工場内に放置して感染させた家兎血清では4倍にそれぞれ (±), 又, 高島株の濾液を静脈内に注射された家兎の血清では4倍 (±) の成績を示している。

表 10

血清	抗原	菌苔低温抽出抗原 (沈降反応)						
		<i>Mucor</i>	<i>Penicillium</i>	<i>C.alb.</i>	高島株	<i>Asp.oryzae</i>	<i>Asp.fumigatus</i>	<i>Asp.sp.</i>
人 血 清 (労 務 者)	1	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	2	×4(±)	(-)	(-)	×4(+)	(-)	(-)	×4(+)
	3	×4(+)	(-)	×4(+)	×4(+)	×4(+)	×4(+)	×4(+)
	4	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	5	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	6	(-)	(-)	(-)	×8(+)	×4(+)	×4(+)	×8(±)
	7	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	8	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	9	×4(+)	(-)	×4(+)	×4(+)	×4(±)	(-)	×4(+)
	10	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	11	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	12	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
工場内に放置して感染させた家兎の血清	1	×4(±)	×4(+)	(-)	×8(±)	×4(+)	×4(+)	(-)
	2	×4(±)	(-)	(-)	×8(±)	×4(±)	×4(±)	(-)
高島株の培養濾液を静脈内に接種し家兎の血清	1	×4(±)	×4(+)	(-)	×8(±)	×4(+)	×4(+)	(-)
	2	×4(±)	×4(+)	(-)	×8(±)	×4(±)	×4(+)	(-)
健康人血清	1	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	2	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
健康家兎血清	1	(-)	(-)	(-)	×4(±)	(-)	(-)	×4(±)
	2	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)

(2) *Penicillium* を抗原とした実験

従業員血清では全く陽性例はみられず, 健康人血清, 正常家兎の血清においても同じく反応はみられない。しかし工場内に放置された家兎の血清中1例, 及び高島株の菌濾液注射による免疫家兎血清において, それぞれ4倍 (+) の成績がみられる。

(3) *C. albicans* を抗原とした実験

従業員の2例において4倍に (+) がみられる他, 工場内に放置された家兎の血清及び高島株の培養濾液を静脈内に注射された家兎の免疫血清及び対照の健康人血清, 正常家兎の血清共に反応はみられない。

(4) 高島株を抗原とした実験

従業員の4倍稀釈血清まで (+) が3例, 8倍が1例 (±) にみられる他, 工場内に放置された家兎血清及び高島株の培養濾液を注射された家兎の免疫

血清は, 共にそれぞれ4倍で (+), 8倍で (±) を示し, 健康人血清はいずれも反応を示さないが, 正常家兎血清の1例に4倍に (±) がみられる。

(5) *Asp. oryzae* を抗原とした実験

従業員血清の2例に4倍 (+), 1例に4倍 (±), 工場内に放置された家兎血清及び菌濾液の静脈内注射による家兎の免疫血清では, それぞれ4倍に (±) であるが健康人血清, 正常家兎血清ではそれぞれ反応はみとめられない。

(6) *Asp. fumigatus* を抗原とした実験

従業員血清において2例の4倍 (+), 工場内に放置された家兎血清では1例に4倍 (+), 以の1例は4倍 (±), さらに菌濾液を注射された家兎の血清では, 4倍にそれぞれ (+) がみられるが健康人血清, 正常家兎血清では共に反応がみられない。

(7) *Asp. sp.* を抗原とした実験

従業員血清では3例に4倍(+), 1例に8倍(±), 正常家兎血清の1例において4倍に(±)が見られる他, 反応は示さない。

3. 菌培養濾液抗原による実験 (表11)

(1) *Mucor* を抗原とした実験

従業員血清においては4倍(+)が4例, 工場内に放置された家兎血清及び濾液を注射された家兎の

血清では, 4~8倍に(+)がみられる他健康人血清, 正常家兎血清では共に反応は認められない。

(2) *Penicillium* を抗原とした実験

従業員血清では4~8倍に(+)が4例, 工場内に放置された家兎の血清では4倍にそれぞれ(+), 濾液を静脈内に注射された家兎の血清及び健康人血清, 正常家兎血清ではそれぞれ(-)の成績を示している。

表 11

抗 原	菌 培 養 濾 液 抗 原 (沈 降 反 応)									
	<i>Mucor</i>	<i>Penicillium</i>	<i>C.alb.</i>	高島株	<i>Asp.oryzae</i>	<i>Asp.fumigatus</i>	<i>Asp.sp.</i>	生食水	Czapek 液体培地	
血 清 (勞 務 者)	1	(-)	(-)	(-)	×4(+)	×4(+)	×4(+)	×4(+)	(-)	(-)
	2	×4(+)	×4(+)	×4(+)	×8(+)	×8(+)	×4(+)	×4(+)	(-)	(-)
	3	×4(+)	×4(+)	(-)	×8(+)	×8(+)	×4(+)	×4(+)	(-)	(-)
	4	(-)	(-)	(-)	×4(+)	×4(+)	×4(+)	×4(+)	(-)	(-)
	5	(-)	(-)	(-)	×4(+)	×4(+)	×4(+)	×4(+)	(-)	(-)
	6	×4(+)	×8(+)	×4(+)	×16(+)	×16(+)	×8(+)	×8(+)	(-)	(-)
	7	(-)	(-)	(-)	×4(+)	×4(+)	×4(+)	×4(+)	(-)	(-)
	8	(-)	(-)	(-)	×4(+)	×4(+)	×4(+)	×4(+)	(-)	(-)
	9	×4(+)	×4(+)	×4(+)	×8(+)	×8(+)	×8(+)	×8(+)	(-)	(-)
	10	(-)	(-)	(-)	×4(+)	×4(+)	×4(+)	×4(+)	(-)	(-)
	11	(-)	(-)	(-)	×4(+)	×4(+)	×4(+)	×4(+)	(-)	(-)
	12	(-)	(-)	(-)	×4(+)	×4(+)	×4(+)	×4(+)	(-)	(-)
工場内に 放置して 感染させ た家兎の 血清	1	×8(+)	×4(+)	(-)	×8(+)	×8(+)	×8(+)	×4(+)	(-)	(-)
	2	×4(+)	×4(+)	(-)	×4(+)	×4(+)	×4(+)	×4(+)	(-)	(-)
高島株の 培養濾液 を静脈内 に接種し た家兎の 血清	1	×4(+)	(-)	(-)	×8(+)	×8(+)	×8(+)	×4(+)	(-)	(-)
	2	×4(+)	(-)	(-)	×8(+)	×16(+)	×8(+)	×8(+)	(-)	(-)
健 康 人 血 清	1	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	2	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
健康家兎 血 清	1	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	2	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)

(3) *C. albicans* を抗原とした実験

従業員血清において, 4倍に(+)を示すものが3例, 工場内に放置された家兎及び濾液を静脈内に注射された家兎の血清並びに健康人血清, 正常家兎血清ではそれぞれ反応はみられない。

(4) 高島株を抗原とした実験

従業員血清では4~16倍迄(+), 工場内に放置された家兎及び濾液を注射された家兎においては,

4~8倍に(+)を示すが, 健康人血清では全く反応はみられない。正常家兎血清では1例に4倍(±)がみられる。

(5) *Asp. Oryzae* を抗原とした実験

従業員血清においては4~16倍, 工場内に放置された家兎の血清では4~8倍, 菌濾液を注射されたものでは8~16倍にそれぞれ(+)程度の反応を示しているが, 健康人血清, 正常家兎血清では反応は

みられない。

(6) *Asp. fumigatus* を抗原とした実験

従業員血清においては4~8倍迄(+)にみられ、工場内に放置された家兎、及び濾液を静脈内に注射された家兎の血清では、4~8倍に、それぞれ(+)がみられる他はいずれの血清にも反応はみられない。

(7) *Asp. sp.* を抗原とした実験

従業員血清においては4~8倍迄(+), 工場内に放置された家兎の血清では、それぞれ4倍に(+), 濾液を注射された家兎の血清では4~8倍迄(+に)みとめられ、健康人及び健康家兎の血清においては4倍に(±)ていどの白濁輪がみられる他、反応はみられない。

II. 凝集反応(表12)

1. 高島株を抗原とした実験

従業員血清及び工場内に放置された家兎の血清、高島株の菌濾液を注射された家兎の免疫血清、及び健康人血清、正常の家兎血清共に凝集は全くみられない。

表 12

血清	抗原	(凝集反応) 分生子或いは菌体浮游液		
		高島株	<i>Penicillium</i>	<i>C.alb.</i>
人 血 清 (従 業 員)	1	(-)	(-)	(-)
	2	(-)	(-)	×4(+)
	3	(-)	(-)	(-)
	4	(-)	(-)	(-)
	5	(-)	(-)	(-)
	6	(-)	(-)	×8(+)
	7	(-)	(-)	×4(+)
	8	(-)	(-)	(-)
	9	(-)	(-)	×4(+)
	10	(-)	(-)	(-)
	11	(-)	(-)	(-)
	12	(-)	(-)	(-)
工場内に放置して 感染させた家兎の 血清	1	(-)	(-)	(-)
	2	(-)	(-)	(-)
高島株の培養濾液 を静脈内に注射し た家兎の血清	1	(-)	(-)	(-)
	2	(-)	(-)	(-)
健康人血清	1	(-)	(-)	(-)
	2	(-)	(-)	(-)
健康家兎血清	1	(-)	(-)	(-)
	2	(-)	(-)	(-)

2. *Penicillium* を抗原とした実験

従業員血清及び工場内に放置された家兎の血清、高島株の菌濾液を注射された家兎の免疫血清、及び健康人血清、正常家兎血清共に凝集は全くみられない。

3. *C. albicans* を抗原とした実験

従業員血清の4例に、4~8倍迄(+)に反応がみられる他、工場内に放置された家兎の血清、菌濾液を静脈内に注射された家兎及び健康人の血清、正常家兎血清共に反応は認められない。

III. 異種血球凝集反応(表13)

1. 牛血球を使用した実験

従業員血清、工場内に放置された家兎及び濾液を静脈内に注射された家兎の血清並びに健康人、正常家兎の血清共に全く凝集はみられない。

2. 馬の血球を使用した実験

いずれの血清においても反応は認められない。

3. 天竺鼠の血球を使用した実験

いずれの血清においても反応は認められない。

4. 正常家兎血球を使用した実験

従業員血清においては全く反応はみられないが工場内に放置された家兎血清の1例において(±)にみられ、高島株の濾液を注射した家兎の1例において(±)がみられる他健康人血清の1例及び正常家兎血清の1例においてそれぞれ(+)に反応がみられる。

5. 緬羊血球を使用した実験

従業員血清の1例に(+)の反応がみられる他は凝集は認められない。

6. 鶏血球を使用した実験

従業員血清の1例に(+), 健康人血清の1例に(+)の反応がみられる他凝集はみられない。

7. 人O型血球を使用した実験

従業員血清の1例に(+), その他の1例に(±), 健康人血清の1例に(+)にみられる他は凝集はみられない。

8. 猫血球を使用した実験

いずれの血清においても凝集は認められない。

9. 犬血球を使用した実験

いずれの血清においても凝集は認められない。

IV. 感作赤血球凝集反応

1. 菌苔加熱抽出液で感作した血球による実験

(1) *Mucor* を抗原とした実験(表14)

従業員血清では、その4例に、8~16倍迄(+)程度の凝集がみられ、工場内に放置された家兎の血

び健康人血清、正常家兎の血清共に反応は認められない。

(4) 高島株を抗原とした実験 (表17)

従業員血清においては、全例64倍以上に凝集が認められ、このうち2例は256倍以上、6例は128倍迄、4例は64倍迄、それぞれ凝集が認められる。又、工

場内に放置された家兎の血清では共に64倍迄、高島株の培養濾液を静脈内に注射した家兎の血清では2例共に128倍迄凝集を示すが、健康人血清では1例に4倍を示すのみで、他の1例及び正常家兎の血清では共に凝集は認められない。

表 17

感 作 抗 原 血清の種類	血清の稀釈	高 島 株							生食水
		4	8	16	32	64	128	256	
人 血 清 (労 務 者)	1	(卅)	(卅)	(卅)	(卅)	(卅)	(+)	(+)	(—)
	2	(卅)	(卅)	(卅)	(卅)	(+)	(—)	(—)	
	3	(卅)	(卅)	(卅)	(卅)	(+)	(—)	(—)	
	4	(卅)	(卅)	(卅)	(卅)	(+)	(+)	(—)	
	5	(卅)	(卅)	(卅)	(卅)	(+)	(+)	(—)	
	6	(卅)	(卅)	(卅)	(卅)	(卅)	(+)	(+)	
	7	(卅)	(卅)	(卅)	(卅)	(卅)	(+)	(—)	
	8	(卅)	(卅)	(卅)	(+)	(+)	(—)	(—)	
	9	(卅)	(卅)	(卅)	(卅)	(+)	(+)	(—)	
	10	(卅)	(卅)	(卅)	(卅)	(+)	(+)	(—)	
	11	(卅)	(卅)	(卅)	(+)	(+)	(—)	(—)	
	12	(卅)	(卅)	(卅)	(+)	(+)	(+)	(—)	
工場内に放置して感染させた家兎の血清	1	(卅)	(卅)	(卅)	(卅)	(+)	(—)	(—)	(—)
	2	(卅)	(卅)	(卅)	(卅)	(+)	(—)	(—)	
高島株の培養濾液を静脈内に接種した家兎の血清	1	(卅)	(卅)	(卅)	(卅)	(卅)	(+)	(—)	(—)
	2	(卅)	(卅)	(卅)	(卅)	(卅)	(+)	(—)	
健 康 人 血 清	1	(+)	(—)	(—)	(—)	(—)	(—)	(—)	(—)
	2	(—)	(—)	(—)	(—)	(—)	(—)	(—)	
健 康 家 兎 血 清	1	(—)	(—)	(—)	(—)	(—)	(—)	(—)	(—)
	2	(—)	(—)	(—)	(—)	(—)	(—)	(—)	

(5) *Asp. oryzae* を抗原とした実験 (表18)

従業員血清中、2例に4倍の稀釈にのみ(+)程度の凝集を示す程度であるが、その他の血清ではそれぞれ64倍以上に凝集が認められ、64倍迄が3例、128倍迄凝集が認められるものは7例、さらに工場内に放置された家兎の血清では32倍及び128倍迄、それぞれ凝集がみられる。高島株の培養濾液を静脈内に注射された家兎の血清では、2例共に64倍迄凝集がみられるが、健康人血清、正常家兎血清は、共に反応は全くみられない。

(6) *Asp. fumigatus* を抗原とした実験 (表19)

従業員血清中、2例が8倍に(±)程度の凝集を示すすべて32倍以上に凝集がみられ、32倍で凝集を示すものが2例、64倍迄が7例、128倍に凝集を示

すものは1例認められ、工場内に放置された家兎血清では2例共に64倍、又培養濾液を注射した家兎の血清では全く反応を示さないが、正常家兎では1例に8倍迄凝集を示しているのがみられる。

2. 培養濾液で感作した血球による実験

(1) 高島株の濾液を感作抗原とした実験 (表20)

従業員血清では、4倍に凝集を示すものが2例、64倍迄が1例、128倍迄は4例で、256倍以上に凝集が認められるものは1例であり、工場内に放置された家兎の血清では128倍迄、及び94倍迄、高島株の濾液を静脈内に注射された家兎よりえられた血清では、同じく64倍及び128倍迄凝集がみられるが、健康人血清では、1例に4倍に凝集がみられる他、全く反応はみられていない。

(2) *Asp. oryzae* の培養濾液を感作抗原とした実験 (表21)

従業員血清では64倍迄が2例, 128倍迄が4例, 256倍迄凝集がみられるものは4例で, 工場内放置された家兎の血清では, 1例に64倍, 他の1例は32倍迄, 濾液を注射された家兎の免疫血清では, それぞれ128倍迄凝集が認められる。健康人血清及び健康家兎の血清では全く反応がみられない。

(3) *Asp. fumigatus* の培養濾液を感作抗原とした実験 (表22)

従業員血清では4倍に凝集がみとめられるものが2例, 32倍迄(+)が1例, 64倍が8例, 128倍迄凝集が認められるものが1例であり, 工場内に放置された家兎の血清では, 32倍及び64倍, 高島株の培養濾液を注射された家兎の免疫血清では16倍及び64倍に凝集がみられる。対照の健康人血清ではそれぞれ凝集はみられないが正常家兎血清の1例において16倍に凝集がみられている。

表 22

感 作 抗 原	A. fumigatus							抗 原 対 照		
	血清稀釈							培 地	生 食 水	
血清の種類	4	8	16	32	64	128	256	生食水	4	4
人 血 清 (勞 務 者)	1	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)		(-)	(-)
	2	(#)	(#)	(#)	(#)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)
	3	(#)	(#)	(#)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	4	(#)	(#)	(#)	(#)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)
	5	(#)	(#)	(#)	(#)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)
	6	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	7	(#)	(#)	(#)	(#)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)
	8	(#)	(#)	(#)	(#)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)
	9	(#)	(#)	(#)	(#)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)
	10	(#)	(#)	(#)	(#)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)
	11	(#)	(#)	(#)	(#)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)
	12	(#)	(#)	(#)	(#)	(#)	(+)	(-)	(-)	(-)
工場内に放置して感染させた家兎の血清	1	(#)	(#)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	2	(#)	(#)	(#)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)
高島株の培養濾液を靜脈内に接種した家兎の血清	1	(#)	(#)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	2	(#)	(#)	(#)	(#)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)
健康人血清	1	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	2	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
健康家兎血清	1	(#)	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	2	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)

考 察

香川県丸亀市の某鶏飼料工場における肺結核様疾患の発生が, 肺真菌症ではないかとの疑いがもたれ, この原因の究明につとめた結果, これ迄の臨床所見及び菌学的, 血清学的研究から, これらの疾患はとりもなおさず *Asp. flavus-oryzae* によるものである事が判明した。

真菌症, 特に, 深在性真菌症の診断の判定が極め

て困難である事はすでに各国の諸学者によつて指摘されているが, 就中検査法の選定は特に問題となる点が多いようである。その理由の第1としてあげられるものは, 真菌の殆んどが, 生体の内外をとわず, 広く自然界に, 常在性に分布しており, そのために菌学的に真菌を認めても, 必ずしもそれだけでは判定できない。従つて, 血清学的組織学的検査の必要性がうまれてくるわけであるが, 深部の病巣から, 常時組織をとつて検する事は多くの場合, 可成困難

をとめない、実地医家にとっては不可能に近い方法といわねばならない。そこから免疫・血清学的診断法の確立がさげられるわけであるが、真菌症の内科的分野における検査方法に関する研究は、その報告が極めてとぼしく、わずかに *Candidiaris* の沈降、凝集反応及び皮内反応と、*Histoplasmosis* における皮内反応、*Cryptococcosis* の莢膜反応等があげられるにすぎない。私は、今回の肺結核様疾患の発生における調査によつて、真菌症の診断決定にはあらゆる検査の総合結果にまつ以外に方法のない事をすると共に、血清学的検査の重要性、とくに著者のおこなつた感作赤血球凝集反応が臨床所見と共に実地に応用できる方法として優れており、これらの結果から、今回の肺結核様疾患の集団発生はとりもなおさず *Asp. flavus-oryzae* による疾患と考えられるに至つた。

第1に、今回の真菌症の発生が *Asp. oryzae* を原料とする工場従業員の間にあつたとゆうことと、これらの従業員の主訴の中、全例に喀痰の喀出量の増加があり、これらは入所後1ヶ月程してあらわれ、さらにその他、疲労感、食欲不振等を訴えるものが多く、工場からはなれて休養することによりそれらの訴えはなくなる事から、例え真菌症であつても、極めて弱毒の、むしろ常識的な量では生体内に侵入したとしても、自覚症すら訴えないであろうと思われる真菌によるものでなければならぬ。従業員の尿検査で、蛋白、糖、ウロビリゲン及び、沈渣中に真菌、菌柱等、異状と考えられる所見がみとめられない点からも、全身性の疾患ではない事がうなずける。しかしながら、真菌症と直接の関係はないにしても、工場従業員以外で、正常人と考えられる人の血液所見との比較においては貧血があるように思われる。即ち、赤血球数、白血球数の減少がそれぞれみとめられ、リンパ球の相対的増多もみられている ($\alpha=0.01\%$)。

第2に、喀出された新鮮な喀痰を、滅菌生食水で洗滌したのについての塗抹標本では、結核菌は全くみとめられず、スピロヘータもみられない。*Candida* を考えさせる酵母様真菌も、全例にはみとめられないが、棘状の突起がみられる分生子は、全例において無数にみとめられる。これら洗滌喀痰材料の *Littman's agar* での培養では、*Aspergillus* として同定されるものは全例に発育をみとめており、その他、全例ではないが *Mucor*, *Penicillium* と、形態学的、生物学的性状から *Candida albicans* と

同定されるものを、それぞれ検出している。

第3に、*Asp. oryzae* 及び、従業員高島芽の喀痰から分離された株(高島株)を抗原としてなされた血清学的検査のうち、低温抽出処理による菌体或いは培養濾液を抗原としておこなわれた沈降反応では、工場従業員の血清に弱い白濁輪をみとめたものもあるが、加熱処理による抗原では反応性が全く失われる様である。しかしながら、従業員より分離された *Candida albicans*, *Mucor*, *Penicillium* の菌苔を低温で抽出した抗原と、これらの血清間になされた沈降反応では、それぞれ、みとめうべき反応は示さない。生食水による *Asp. oryzae* の分生子均等浮游液を抗原とした凝集反応では、何れの血清にも全く反応はみとめられず、異種血球、即ち犬、猫、人O型、鶏、綿羊、家兎、天竺鼠、馬、牛の血球をそれぞれ用いておこなつた異種血球凝集反応においても、みとめうべき反応はえられていない。

しかし、菌苔よりの抽出液及び、培養濾液によつて感作された人O型血球は、免疫血清との間に極めて著明に特異的凝集を示すことをしつた。即ち、従業員より分離された *Mucor*, *Penicillium*, *Candida albicans* の菌苔或いは孢子、又は、培養濾液を抗原として感作した血球では、みとめうべき反応を示さないのに反し、*Aspergillus oryzae* 及び、*Aspergillus flavus-oryzae* と同定された高島株は、これらの血清との間に、最高256倍の稀釈濃度にいたる迄凝集を示すのみならず、*Asp. fumigatus* を抗原としたものでは、凝集はそれぞれみとめられるが、前二者の抗原に比較して、明らかに凝集価に有意の差がみとめられる ($\alpha=0.01$)。即ち、*Asp. oryzae* 及び高島株を感作原とした感作赤血球凝集反応では、凝集価の信頼限界はそれぞれ ($\alpha=0.01$) で、 $\bar{X} + u\sqrt{\frac{F_0}{N}} \geq m \geq \bar{X} - u\sqrt{\frac{F_0}{N}}$ から、 $122.3 \geq m \geq 80.3$ 、及び $168.5 \geq m \geq 110.5$ であるが、*Asp. fumigatus* による実験では、 $94.3 \geq m \geq 33.7$ とみられ、有意性の検定において、*Asp. oryzae*, 高島株の間には、 $\sigma_1 = \sigma_2$ から $F_s = (\bar{X} - \bar{Y})^2 / (W^2/N + W^2/M)$ によつて、 $F_s = 5.35$, $n_1 = 1$, $n_2 = M + N - 2 = 22$ として、 $\alpha = 0.01$ の $F_0 = 7.82$ と求められ、 $F_s < F_0$ であるから有意の差があるとはいえない。しかし、*Asp. oryzae* と *Asp. fumigatus* では、 $\sigma_1 = \sigma_2$ であることから、前回と同じ方法で $F_s = 18.8$ と求められ、 $n_1 = 1$, $n_2 = M + N - 2 = 21$ として ($\alpha = 0.01$) $F_0 = 8.02$, $F_s > F_0$ であるから、有意の差があると

してよい。即ち、感作赤血球凝集反応は、従業員血清においては属特異性を示すのみならず、群特異性をも示すことができ、実験的に、工場内に放置された家兎からえた血清においても、*Asp. oryzae*, 高島株を抗原とした感作赤血球凝集反応では、それぞれ健康家兎血清との間にみとめべき凝集価の差を示している。

以上の実験成績、即ち、従業員の喀痰から全例に形態学的に *Asp. flavus-oryzae* と考えられる真菌を検出すると共に、感作赤血球凝集反応の結果から、従来困難とされていた *Aspergillosis* の診断を容易になしうる端緒をつかみえたことをしり、かつ、今回の鶏飼料工場に発生した疾患は、とりもなおさず *Asp. flavus-oryzae* による肺 *Aspergillosis* と擬してよいと考えられる。

結 語

1. 昭和31年、32年の5月から6日にかけて、香川県丸亀市の某鶏飼料工場における肺症状を主徴とする疾患の集団発生について検査をすすめた結果、これら従業員の喀痰から全例に *Aspergillus* が検

出され、これは形態学的には *Aspergillus flavus-oryzae* 群にぞくするものと同定された。

2. 上記従業員の血液像では、赤血球、白血球数の減少と、リンパ球の相対的増多がみられるが、血色素量には変化はみとめられなかつた。

3. 従業員高島某より分離同定された高島株 (*Asp. flavus-oryzae*) 及び、*Asp. oryzae* を抗原として、従業員の血清及び高島株によつて免疫された家兎、工場内に放置された家兎からそれぞれえられた血清との間になされた感作赤血球凝集反応では、属及び群特異性を示すことをしつた。

4. 以上の総合的な実験から、香川県丸亀市の某鶏飼料工場に集団的に発生した肺症状を主徴とする疾患は、*Asp. flavus-oryzae* によるものと考えられる。

稿を終るに当り、終始御懇篤なる御指導を頂いた、恩師浜田豊博博士、村上栄教授、並びに御協力頂いた宮野医師に深く感謝の意を表します。(なお、本論文は、第1回日本医真菌学会に於いて発表がなされたものである)。

参 考 文 献

- 1) Abott, J. D. : Brit. Med. J. 1, 523, 1952.
- 2) Cawley, E. P. : Arch. Int. Med. 80, 423, 1947.
- 3) Grekin, R. H. : Arch. Path. 4, 387, 1950.
- 4) Smith, D. T. : Ann. Int. Med. 37, 1135, 1952.
- 5) Zimmerman, L. E. : Arch. Path. 50, 591, 1950.
- 6) Rankin, N. E. : Brit. Med. J. 1, 918, 1953.
- 7) Thorn, C. and Church, M. B. : The Aspergilli, Baltimore, Williams, and Wilkens Co., 1926.
- 8) D. T. Smith : Bulletin of the New York Academy of Medicine 29, 778, 1953.
- 9) 東郷靖 : 最新医学. 6, 582, 1951.
- 10) Conant, N. E., Martin, D. S., Smith, D. T., Baker, R. D. and Colloway, J. L. : Manual of Medical Mycology, W. B. Saunders Co., Philadelphia, 1945.
- 11) 秋葉朝一郎他 : 臨床病理. 2, 191, 1954.
- 12) Hiatt, J. S. Jr. and Martin, D. S. : J. A. M. A. 130, 932, 1946.
- 13) 土屋毅 : 第1回日本医真菌学会総会講演, 1957.
- 14) Iams, A. M., : Ann. Newyork Acad. of Sci. 50, 1950.
- 15) 館野功 : 総合医学. Vol. 12, No. 2, 99~106, 1955.
- 16) Area-Lêao, A. E. and Goto, M. : Lutz' Disease. V Con. Intern. Microbiol. Rio. 1950.
- 17) 許南龍 : "通信による" 1957.
- 18) 山下憲治 : 耳鼻臨床. 31, 752~757, 1937.
- 19) 浜野博 : 耳糸状菌症に就いての実験的研究. 台湾医学新誌, 43巻, 1939.

Serological Studies on Aspergillosis**Part I****Serological reactical reactions by impure antigen**

By

Masakatsu SEO**Kagawa Prefectural Institute of Health**
(Director: Dr. Toyohiro HAMADA)

As most of the fungi pathogenic for man are always demonstrable in the natural world, it can not make a diagnosis of mycosis to find a fungus in the secretion or in the excrete of the patient by mycological examinations. Also histological examination is so unpractical because of uneasiness especially in the case of deep mycosis. Thus there are remained only immunological and serological reactions in the diagnosis, still there is not so widely accepted method specific for candidiasis, histoplasmosis or cryptococcosis.

The author observed a lung affection which occurred among the employees of a chick food factory in Kagawa prefecture in high prevalence between 1957 and Jun. 1958, and examined all employees in mycological and serological method.

The author also studied hemoagglutination reaction using the erythrocytes sensitized by *Asp. oryzae*, *Asp. fumigatus* and a fungous strain isolated from a patient (Takahata Strain) with the serum of employees or of rabbit kept in the factory or inoculated with *Asp. oryzae*. Observing the high specificity among the reaction mentioned here, the author supposed this lung affection as lung aspergillosis caused by *Asp. flavus-oryzae* group.
