

日本住血吸虫症の皮内反應に関する研究

(第一篇)

岡山大学医学部病理学教室 (指導: 田部 浩教授)

石 井 淳

[昭和 28 年 6 月 15 日受稿]

I. 緒 言

住血吸虫症に於ける皮膚反應は、紡錘形住血吸虫の診断に、1927年 Fairley & Williams¹⁾が該虫アルカリアの感染中間宿主 (*Planorbis exustus*) の肝臓を抗原として試みられたのが最初で、Manson-Bahr²⁾もこれを追試して、本症の診断上有効であることを認めた。

Hoffmann & Cook 及び Taliaferro (1931) はマンソン住血吸虫に就て本反應を試み、Khalil & Hassen (1932) は巻貝の肝臓の代りに初めて成熟した虫体 (*Schistosoma bovis*) より抗原を製り、エジプト住血吸虫の患者に就て皮内反應を試みた。

日本住血吸虫 (以下日虫と略称) の皮内反應に関しては、渡会³⁾が初づ動物試験に於て該虫体の生理的食塩水乳剤を抗原として皮内接種し、感染動物 (白鼠) の反應が正常動物のそれに比較して、肉眼的にも組織学的にも高度であることを立証して以来、多数の報告に接した。即、翌1936年には民国人 Kan Huai-Chien⁴⁾は多数の住民について本反應を試み、次いで富永⁵⁾は本虫体食塩水抽出液を以て、又井上⁷⁾等は溶媒として炭酸ソーダ 0.5, 食塩 0.4, 水100を用いた抽出液を以て、皮内反應を試み、共に日虫の感染乃至寄生に対してアレルギー性特異反應を呈することを認めた。

更に井上等⁶⁾は翌1942年には結核菌体成分の抽出に用いた Anderson 氏法の変法、橋本氏法を応用して各種抽出液を製り、結局エーテル及クロ、ホルム溶性物質を除去した虫体

残渣の水溶液に特異反應を認め、且つ前回の方法では、11.7~17.8%に認められた非特異性反應 (井上氏の所謂類屬反應) も僅に 0.6%に過ぎなかつたと報告した。

最近の発表では抗原材料として、Bozicerich⁹⁾、田中一横川等¹⁰⁾及森田等¹¹⁾は虫体を、秋貞等¹²⁾は日虫感染家兎の肝臓を使用した成績がある。森田等に依ると、その反應の陽性率は、日虫々卵排泄者では94%、非感染者で4%である。

日虫セルカリアを使用した研究には、好本¹³⁾、田中¹⁴⁾¹⁵⁾、今井¹⁶⁾¹⁷⁾が本セルカリアを含有する巻貝と共に抽出した酒精エキスを抗原として補体結合反應を試み、小沢¹⁸⁾は巻貝より分離した日虫セルカリアの食塩水乳剤を以て抗原とし、動物に免疫操作をなしたことがある。なお皮膚アレルギーの観点より注目しなければならないものに、住血吸虫セルカリアの感染による皮膚炎 (かぶれ) の研究がある。即、日虫セルカリアの固有宿主動物に対する感染試験を初めて精細に行つたのは渡会³⁾で、氏によれば1~2隻の日虫セルカリアでは普通皮膚炎の発生はないと云い、一方教室の小田¹⁹⁾は人体感染試験に於て、1隻の感染でも肉眼的にも組織学的にも皮膚炎の発生する場合があります、しかも再感染者に多いことを立証し、且つ片山地方住民の皮疹の病理組織学的検索で、椋鳥住血吸虫セルカリア²⁰⁾による皮膚炎が著明で且つ多数を占めるが、しかし又日虫セルカリアによつて起る皮膚炎もあり得ることを報告した。

仍つて、私は日虫セルカリア及これまで抗原材料として使用されなかつた日虫虫卵に対

する特異反応の有無につき解明を企て、本研究に着手したのである。

日虫症の臨床症状並に病理解剖的变化に鑑みれば、これ等の一部は日虫々体自己に因る処があるとしても(風間²¹⁾、陳²²⁾、佐川²³⁾、主として虫卵乃至虫卵内ミラチヂウムの毒素に因り招来されることは、弘中²⁴⁾、藤浪²⁵⁾、清野-村上²⁶⁾、川村-風間²⁷⁾²⁸⁾、小沢²⁹⁾等多数の学者の認めるところである。従つて、日虫症の皮内反応の証明には、寧ろ成熟虫卵を抗原材料とする方が、より合理的であり、一層高度な特異反応を期待出来ると考へ、私は井上等⁹⁾の方法に準じて、日虫虫卵を含む結節壊死物質、日虫アルカリア及成虫虫体より各種の抽出液を製り、本症発生地及無発生地の中小学校生徒、延1212名に対して皮内反応を試み、日虫症の病変の特徴をなす虫卵壊死物質が、本症に対し高度なる特異抗原を有することを証明し得たのでこゝに報告する次第である。

I. 研究方法

a) 日虫々卵結節凝固壊死物質を材料とする抗原(10種)の製法(附図第1-a 参照)

日虫セルカリアの性(田部教授³⁰⁾)及本症の免疫(福谷³¹⁾、田中³²⁾、小沢¹⁸⁾)等を考慮して、初感染時体重0.4~0.6kgの幼若家兎に、初回は巻貝1箇、次回は2箇、爾後3~6箇分のセルカリアを少数重複感染、即、1回30~50隻あて約1週間隔で10回経膈感染させ、初感染後6~7ヶ月を経過した本症家兎腸壁に形成された多数の拇指頭大腫瘤状の虫卵結節巣を抗原抽出材料とした。

この病巣は、日虫々卵結節の凝固壊死物質よりなり、その中央部は可成広範囲にわたる乾酪巣を形成し、その内に極めて多数の日虫成熟虫卵を含む。

抽出操作には、本物質の1.0g(乾燥すると0.25gに相当)を採り、虫卵外壊死物質及虫卵内容各種成分の分離を目的として、先づ生理的食塩水を加え、虫卵の破壊及孵化を防ぐために、16°C以下³³⁾で強い振盪を避け、時

々軽く硝子棒で攪拌し、2時間抽出した後、1分間3000廻転30分遠沈して、その虫卵を含まない上澄液(a-I)と虫卵を含む沈渣とに分け、上澄液に更にその $\frac{1}{2}$ 量にエーテルを加え分液漏斗に入れ振盪後、エーテル溶質(a-II)とエーテル不溶質(a-III)とに分ける。他方虫卵を含む沈渣は、乾燥器にて乾燥後、乳鉢で充分に磨碎し、エーテルを加えて30分間宛1日3回振盪後、遠沈しエーテル溶質と同不溶沈渣とに分け、エーテル層に更に水を加え分液漏斗を用いて、エーテル溶質(a-IV)と水溶質(a-V)とに細分する。エーテル不溶の虫卵含有沈渣は、更に二分して、一は水を加え、他にはクロ、フォルムを加えた。水を加えた沈渣は振盪遠沈し、その上澄液の水溶質(a-VI)をとり、更にこれにエーテルを加えて、エーテル溶質(a-VII)と水溶質(a-VIII)に分離した。クロ、フォルムを加えた沈渣は振盪して、クロ、フォルム層(a-IX)とその残渣に分け、後者を更に加水振盪遠沈して、之より第二次水溶質(a-X)をとつた。

b) 日虫セルカリアを材料とする抗原(4種)の製法(限図第1-b 参照)

巻貝を流水で充分に清洗した後、二昼夜室温に放置し、乾燥滅菌した載物硝子間で軽く圧潰して、セルカリア含有の貝数箇を滅菌時計皿に移し、少量の滅菌水を加え(室温の低い時は孵卵器を使用)、次第に游出するセルカリアをピペットで予め滅菌水を容れた試験管に移入する。暫時の後ピペットを用いて管底の水を捨て、当初の約三分の一量とし、再度滅菌水を加えて全量とする。このやうにして数回セルカリアを洗滌した後、試験管中で浮上し活潑に運動するものを毛細管ピペットで吸引し、乾燥滅菌した覆蓋硝子の一角に滴下して、拡大鏡下に算定しつつ、その100隻を予め他のピペットに吸引した滅菌水を以て、管底の曲率の比較的小さい硬質スピツグラス中に洗い落す。これを低温死滅させ、管壁に附着したセルカリアは拡大鏡下に注意深く管底に落し、直に遠沈してその上澄液を捨て、

乾燥器を用いて乾燥後、管中のセルカリアを先端を円くした硝子棒で十分に磨砕する。

このものにエーテルを加え、30分間宛3回振盪後1分間3000廻転30分遠沈して、エーテル層と残渣とに分け、前者に水を加えて、分液漏斗を用いて、エーテル溶質(b-I)と水溶質(b-II)とに分け、後者にはクロ、フォルムを加えて、クロ、フォルム溶質(b-III)と残渣とに分離し、この残渣に更に水を加えて振盪遠沈して、その上澄液水溶質(b-IV)を採る。

c) 日虫虫体を材料とする抗元(11種)の製法(附図第1-c参照)

人工感染家兎2頭の門脈中より採取した新鮮な成熟日虫々体200匹(雌、雄各100匹)を滅菌食塩水で数回洗滌し、最後に37°Cに温めた滅菌食塩水40ccを容れたペトリー皿に移し、4時間恒温の下に置き蠢動しているのを確かめた後、氷室に入れ、死亡するのをまつて、その食塩水を遠沈して上澄液、即虫体(♂+♀)の浸出液(c-0)を採る。死亡虫体は滅菌時計皿に容れて乾燥後、雌雄別に乳鉢で充分に破砕粉状とし、これにエーテルを加え、30分間宛1日3回振盪後1分間3000廻転30分間遠沈して、エーテル層と残渣とに分け、エーテル層に水を加え、分液漏斗を用いて、エーテル溶質(c-I)と水溶質(c-II)とに分離する。残渣には更にクロ、フォルムを加えて振盪抽出し、クロ、フォルム溶質と残渣とに二分し、その各々に更に水を加えて、クロ、フォルム溶質(c-III)及水溶質(c-IV)並にc-V)を採る。かくしてc-0及雌雄各成虫材料よりc-I乃至c-V合計11種の抗元を製る。

以上の各種抗元は、0.5%石炭酸及生理的食塩水を加え、水溶液又は浮游液とし、虫卵結節壊死物質より製った抗元10種は原材料の200倍液、セルカリア及虫体より製った抗元15種はその0.1cc中に夫々セルカリア1隻分又は成虫半匹分の成分を含有する如く調製した。

d) 実験方法

前述の各種抗元25種を使用し、人体に皮内注射を行つた。

被検者は日虫症発生地(広島県深安郡御幸村)654名、対照として本症無発生地(同芦品郡宜山村西部)558名の中小学校生徒、延1212名である。反応の性及年令の差異(井上等⁹⁾、森田等¹¹⁾)を考慮して、同一抗元に対しては可及的両地生徒中同一学年のものを男女相半する如く選び、且つ高低学年を適当に組合せ、昭和26年5月に実施した。

皮内注射は各抗元0.1ccを $\frac{1}{16}$ 針ツベクリン用注射器を以て前腕内側に施し、30分後にその反応の発赤(硬結)を測定した。計測はその縦横径をmmを以て表し、集計に当つては発赤(発赤を伴わないものは硬結)の平均値を求め、0~6mm未満、6~11mm未満、以下同様に5mm毎に区分した。

因みに注射直後の丘疹の大きさは直径7~8mmである。

Ⅲ. 実験成績(附表第一~第3参照)

A. 日虫々卵結節凝固壊死物質より製つた各種抗元による皮内反応成績。

本項の皮内反応成績は附表第1に示す如くであるが、本症発生地、無発生地生徒について、発赤(硬結)の縦横径平均値11mm及16mm以上の強い反応を示したものの占める%を各種抗元別に表示すると、第一表の如くで、本症発生地生徒に強い反応を現わす抗元は、a-VIIIが最も強く、a-VI, a-X, a-I, a-III(以上水溶性)、a-IV, a-II, a-VII(以上エーテル溶性)の順に弱い。

又、本症無発生地生徒に強い反応を現わす抗元は、a-VI, a-VIIIに比較的多く、a-VII, a-Iに少い。a-II, a-III, a-IV, a-Xでは強い反応を呈したものは認められない。

エーテル層中の水溶質(a-V)及クロ、フォルム溶質(a-IX)では、軽度の、時に強い反応も認められるが、本症発生地と無発生地生徒間で反応の差異は認められない。

従つて、以上の成績より、これ等10種の抗元の内、本症発生地生徒に反応が強く、無発

第 1 表

抗 元 別	11mm以上の反応を示したものの占める%		16mm以上の反応を示したものの占める%		
	本症発生地	無発生地	本症発生地	無発生地	
虫卵内容を含む壊死物質	食塩水上澄 (a-I)	52.6	5.5	38.8	5.5
	全上エーテル溶質 (a-II)	6.6	0	6.6	0
	全上エーテル不溶質 (a-III)	40.0	0	25.0	0
虫卵内容を含む壊死物質	エーテル層のエーテル溶質 (a-IV)	11.2	0	8.4	0
	全上の水溶質 (a-V)	39.5	36.4	3.5	1.9
	エーテル層を除去した残渣の水溶質 (a-VI)	63.6	48.4	50.2	3.2
	全上エーテル溶質 (a-VI)	2.6	8.3	2.6	8.3
	全上エーテル不溶質 (a-VII)	73.9	45.5	51.4	9.1
	エーテル層を除去した残渣のクロロフォルム溶質 (a-VIII)	50.0	47.6	0	0
	エーテル・クロロフォルム層を除去した残渣の水溶質 (a-IX)	57.6	0	44.8	0

生地生徒に弱い、即、本症に対して強い特異性反応を呈する抗元は、a-X, a-VI, a-VII, a-I, a-IIIの5種で、前三者は虫卵内容を含み、後二者は含まない抗元であるが、いずれも水溶質である点で一致している。

a-III, a-VIIは夫々a-I, a-VI中のエーテル溶質を除去したもので、もとの抗元では、無発生地生徒に稀に現われた強い反応も、a-IIIでは反応の発赤(硬結)11mm以上、a-VIIでは21mm以上のものについては見出されず、他方本症発生地生徒では夫々20例中8例(40%)、31例中12例(38.6%)を占め、反応の差異は一層著明である。

更に、エーテル、クロ、フォルム操作後の残渣の水溶質であるa-Xに至つては、その差異は益々顕著で、11mm以上のものは本症発生地生徒31例中18例(57.7%)で無発生地の40例はいずれも11mm未満を示した。即、a-Xの抗元は10種の内では特異性が最も強い。

B. 日虫セルカリアより製つた各種抗元による皮内反応成績。

本項の皮内反応成績は附表第2に示す如くであるが、これをA項に於けると同様に表示すると、第2表の如くで、b-IVが反応の程度最も強く、b-I, b-III, b-IIの順に弱

第 2 表

抗 元 別	11mm以上の反応を示したものの占める%		16mm以上の反応を示したものの占める%	
	本症発生地	無発生地	本症発生地	無発生地
エーテル層のエーテル溶質 (b-I)	22.3	13.4	16.7	13.4
全上の水溶質 (b-II)	14.3	41.7	0	0
クロロフォルム溶質 (b-III)	23.0	8.3	0	8.3
エーテル・クロロフォルム層を除去した残渣の水溶質 (b-IV)	44.9	13.3	22.4	0

い。但しb-IVを除いてはいずれも両地生徒間に反応の差異はないか或は却つて本症無発生地生徒に強い反応を認める。

即、本項4種抗元の内、エーテル・クロ、フォルム層を除去した残渣の水溶質であるb-IVのみが、日虫症に対して特異性で；発

赤(硬結)の大き16mm以上を示したものは、本症発生地生徒の49例中11例(22.4%)、無発生地の30例中0、11mm以上は夫々22例(44.9%)、4例(14.3%)である。

c. 日虫虫体より製つた各種抗元による皮内反応成績。

本項の皮内反応成績は附表第3に示す如くであるが、これをA項に於けると同様に表示すると、第3表の如くで、本症発生地生徒に強い反応を現わす抗元は、c-Vが最も強く、

c-Xがこれにつぎ、以下c-0, c-I, c-VII, c-I, c-VI, c-IV, c-VIII, c-IX, c-IIIの順に弱い。

又、本症無発生地生徒に強い反応を現わす

第 3 表

抗 元 別	11mm以上の反応を示したものの占める%		16mm以上の反応を示したものの占める%		
	本症発生地	無発生地	本症発生地	無発生地	
♂+♀ 生きた虫体の食塩水上澄(c-0)	30.0	40.0	20.0	10.0	
♂ 虫体 (粉末)	エーテル層のエーテル溶質(c-I)	10.0	0	10.0	0
	全上の水溶質(c-II)	30.7	11.1	3.9	0
	クロロフォルム層のクロロフォルム溶質(c-III)	0	0	0	0
	全上の水溶質(c-IV)	15.0	21.4	0	0
	エーテル、クロロフォルム層を除去した残渣の水溶質(c-V)	72.7	7.4	48.5	3.7
♀ 虫体 (粉末)	エーテル層のエーテル溶質(c-VI)	13.4	0	6.7	0
	全上の水溶質(c-VI)	28.6	21.5	7.2	3.6
	クロロフォルム層のクロロフォルム溶質(c-VIII)	5.9	0	5.9	0
	全上の水溶質(c-IX)	3.9	20.0	3.9	0
	エーテル・クロロフォルム層を除去した残渣の水溶質(b-X)	61.7	12.7	41.1	2.1

抗元は、c-0が最も強く、c-VIII, c-IV, c-IXは可成強く、c-X, c-I, c-Vは弱い、c-I, c-III, c-VI, c-VIIIでは11mm以上の強い反応を呈したものは認められない。

即、本項抗元11種の内、c-0及雌雄夫々c-I, VI; c-I, VII; c-III, VIII; c-IV, IXの9種の抗元では、両地生徒間に著明な反応の差異は認められず、且つその反応の強さも生きた雌雄虫体の食塩水浸出液上澄(c-0)を除いては一般に弱い。

結局、雌雄虫体ともに、破碎した虫体のエーテル・クロロフォルム層を除去した残渣の水溶質、即、c-V, c-Xに強い特異性反応を認め、発赤(硬結)の大きさ11mm以上の反応を呈したものは、雄虫体のそれでは、発生地の33例中24例(72.7%)、無発生地の27例中2例(7.4%)で、又雌虫体のそれは、夫々34例中21例(61.8%)、47例中6例(12.7%)で、雌雄を比較すると、雄虫体を材料とした方が、本症発生地生徒に反応が一層著明で且つ亦、その反応の差異も顕著である。

IV. 總 括

私は日虫症の皮内反應用抗元材料として、新に日虫セルカリア及び日虫虫卵結節壊死物質を用いた。この両者並に併せて日虫々体(雌雄別)より、エーテル、クロロフォルム溶性並に水溶性の各種抗元を製り、日虫症発生地654名、対照として無発生地558名の中小学校生徒に皮内反応を試みた。

抗元はいづれも0.5%石炭酸及び生理的食塩水を加え、水溶液又は浮游液とし、虫卵結節壊死物質より製つた抗元は、原材料の200倍液、日虫セルカリア、同虫体より製つた抗元は、0.1cc中夫々1隻分、半匹分の成分を含有する如く調製し、その0.1ccを $\frac{1}{6}$ 針ツベルクリン用注射器を以て、被検者の前腕内側皮内に注射した。本反応の検査は30分後に行い、その発赤(硬結)の大きさを測定して、両地生徒の成績を比較した。

その結果、虫卵結節壊死物質では、虫卵内容を含まない食塩水上澄(a-I)、同上澄のエーテル不溶質(a-III)及び成熟虫卵成分を含有する水溶質(a-X), (a-VI)(a-VIII)

が、又日虫セルカリア及び同虫体では、エーテル、クロ、フォルム層を除去した残渣の水溶質 (b-IV), (c-V) (c-X) が、本症発生地生徒について極めて強度の反応を発現し、他方無発生地生徒に対しては、殆ど見るべき反応を呈しないか、呈しても低率に認めただけ過ぎない。即、これ等の物質は日虫症に於て、明かに皮内反応を起す特異抗元性を有する。

さて、これ等の抗元は、虫体について井上等⁹⁾が認めたと同様に、いづれも水溶性であり、虫卵結節では虫卵内容を含むしない壊死物質中にも反応を発現する物質が存在することを知らると共に、エーテル、クロ、フォルム溶質では、共通して殆ど反応が認められないか、或は稀に強い反応が見られるとしても、非特異性乃至所謂類属反応と見做していゝ性質のものであることが解つた。

そもそも、皮内反応の臨床的応用にあつて、その反応の優秀性は、陽性、陰性の判定基準の決定が容易なこと、感染者の陽性率高く、非特異性反応の可及的少いことである。従つて、今、虫卵結節壊死物質、セルカリア及び虫体(雄)の主な抗元部非特異性反応を起す物質を含むエーテル、クロ、フォルム層を充分に除去した後の水溶質 (a-x, b-IV, c-V) の溶液を以て、日虫症発生地と無発生地生徒の皮内反応成績を比較検討すると、発赤(硬結)の平均直径11mm以上の強い反応を現わしたのものについて、日虫症発生地対無発生地百分率の比は、夫々 58,1 : 0 ; 44,9 : 13,3 ; 72,7 : 7,4 で、又感染率の高いと考へられる高学年(中学生)のみのそれは、又夫々 71,4 : 0 ; 46,7 : 16,7 ; 84,2 : 11,1 となる。即、虫体(雄)の水溶液を用い

たものに、日虫症発生地生徒に強い反応を呈したものが高率に認められるが、この中には無発生地生徒に現われた百分率に相当する非特異性反応が含まれると考へられ、結局これ等三者の抗元では、日虫々卵結節壊死物質の水溶液による反応が、特異性最も高度で、日虫々体のそれ以上に日虫症に対する特異性反応が期待される。

V 結 論

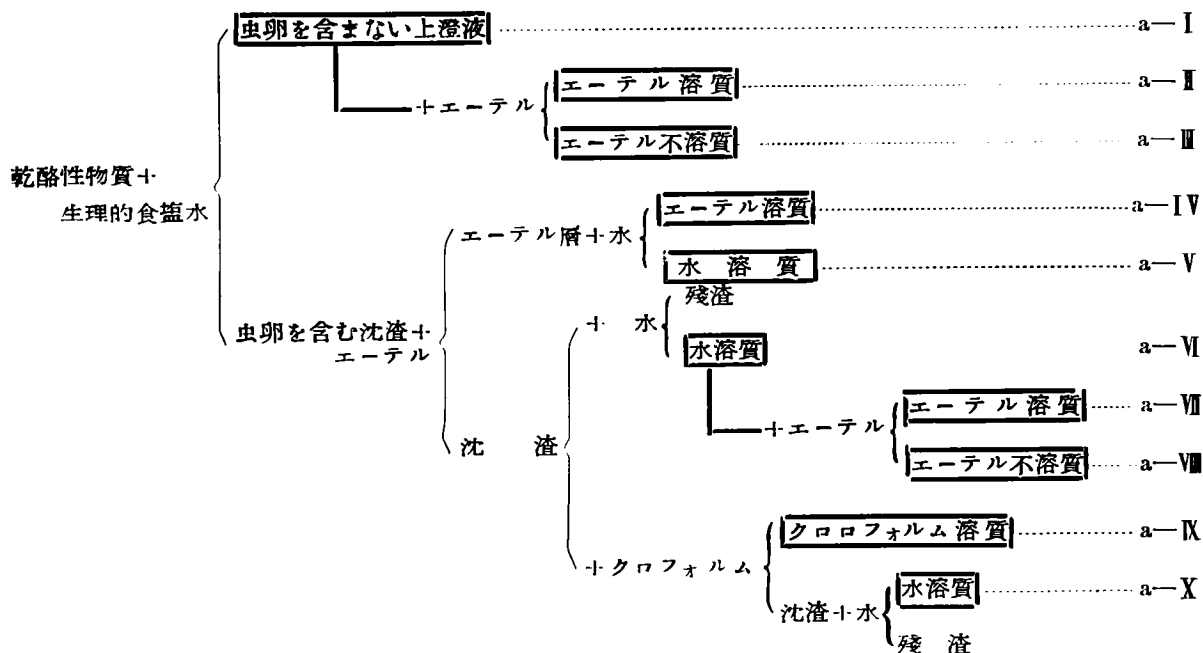
1. 日本住血吸虫(日虫)虫卵結節壊死物質、日虫セルカリア、日虫々体の三者のエーテル、クロロフォルム層除去後残渣の各水溶質は、日虫症発生地生徒に対し特異性皮内反応を起す。
2. 上記三者の内、虫卵結節壊死物質の水溶質は、最も高度に特異性皮内反応を起す。
3. 日虫々体の水溶質は虫卵結節壊死物質の水溶液より、特異性のやゝ低い皮内反応を起す。
4. 日虫セルカリアの水溶質を以てする皮内反応は、特異性が最も弱い。
5. 日虫々卵結節壊死物質中、虫卵を有しない部分に於ても、その水溶質は、日虫症に対する特異反応を示す。

附記

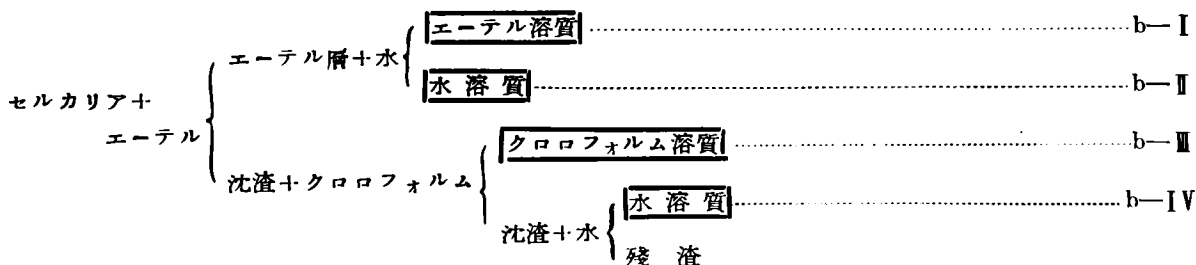
日虫セルカリアを抗元とする皮内反応については、その後 Pesigan³⁶⁾がその食塩水抽出液の600倍稀釈0.2ccの皮内注射により、日虫感染者(虫卵陽性者)、未感染者の反応を比較し、非常に好成績を収めたことを報告している。

(本論文要旨は、昭和26年10月28日、日本寄生虫学会第6回近畿部会で発表した)

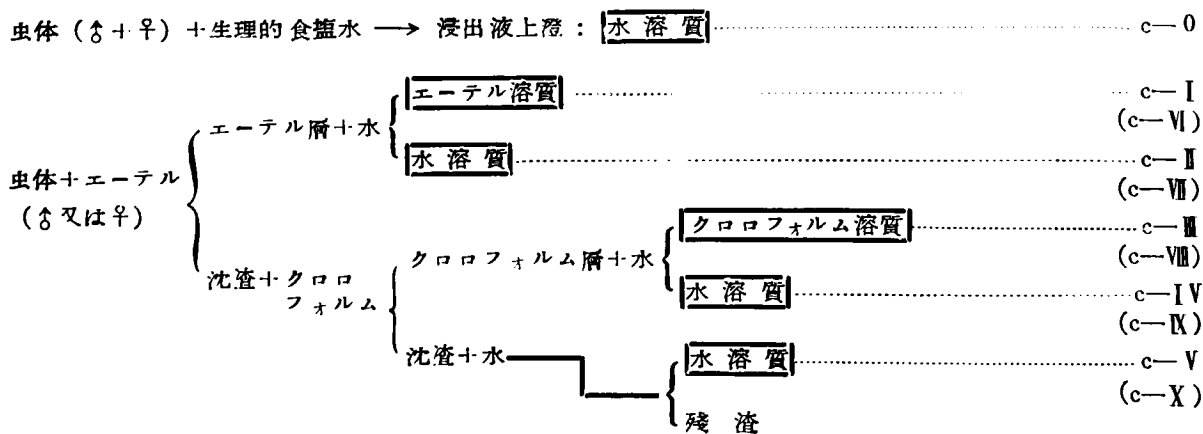
附図第1 (其の1) a. 日本住血虫々卵結節壊死物質を材料とする各種抗元の製法



附図第1 (其の2) b. 日虫セルカリアを材料とする各種抗元の製法

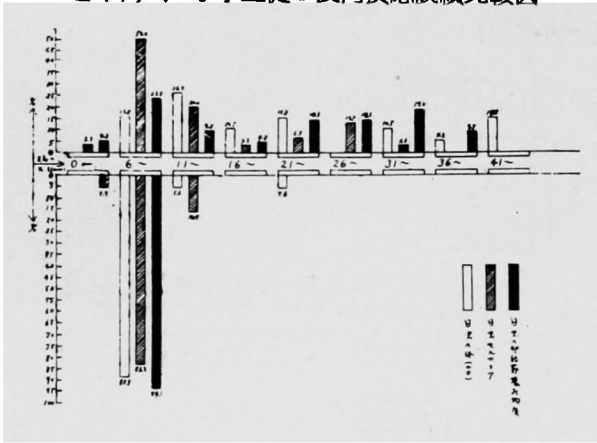


c. 日虫々余を材料とする各種抗元の製法



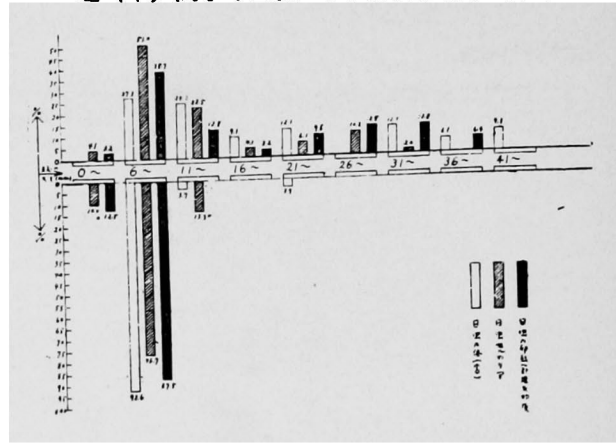
附 図 第 2

主な抗原による日虫症発生地(上), 無発生地(下) 中・小学生徒の皮内反応成績比較図



附 図 第 3

主な抗原による日虫症発生地(上), 無発生地(下) 高学年生徒の皮内反応成績比較図



附 圖 (写真) 説 明

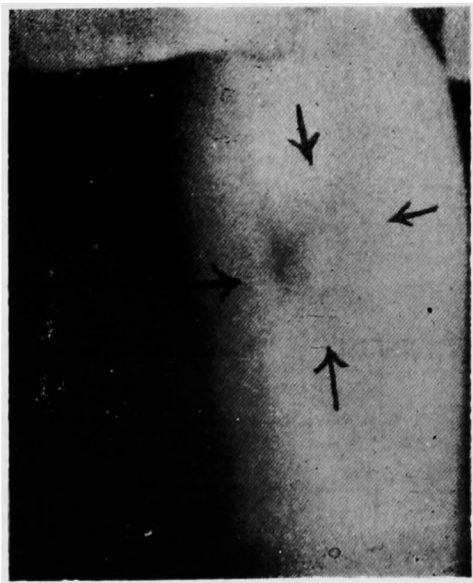
Fig. 1. 日本住血吸虫症発生地生徒 戸○千○ 14才 男

日虫々卵結節壊死物質の水溶質 (a-X), 200倍液皮内注射後30分に於ける反応 : 38×61 (22×21)

Fig. 2. 日本住血吸虫症発生地生徒 渡○武○ 14才 男

日虫セルカリアの水溶質 (b-IV), 1隻分を含有する溶液 0.1cc 皮内注射後30分に於ける反応 : 25×29 (11×12)

第 1 図



第 2 図



正 誤 表

(1) 第一編第2図は第二編第1図の誤り