

5. Ota, S., and Sato, S. (1957) : Studies on several new techniques for detecting the eggs of human parasite. J. Kitakanto Igaku, 7, 68-71.

6. Ota, S. (1958) : Studies on skin test with new reagent to the human schistosome eggs in 1957. Jpn. J. Parasitology, 17, 101-105.

adult antigen of *Schistosoma japonicum*. J. of Yamanashi Prefectural Hygiene Laboratory, 2, 71-72.

山梨県下日本住血吸虫症一流行地における学童の同症感染状況調査

飯島利彦 伊藤洋一

(山梨県立衛生研究所)

石崎 達

(国立予防衛生研究所寄生虫部)

山梨県における日本住血吸虫症の浸潤状況を知るために、山梨県双葉町小・中学校児童生徒を対象に Melcher 抗原による皮内反応及び MIF による繰返し 5 回の糞便検査を実施した。検査は 1962 年、1964 年の 2 回行なった。また、1963 年に同町内のミヤイリガイ棲息状況を全域にわたり調査し、ミヤイリガイの分布と生徒の感染率の関係につき比較した。その結果は次の如くである。

1. 1962 年における皮内反応陽性率は小学校 13%、中学校 39%、虫卵陽性率はそれぞれ 8% 及び 15% であった。また 1964 年は皮内反応陽性率小学校 9%，中学校 28%，虫卵陽性率はそれぞれ 3% 及び 9% であった。

2. 1964 年に皮内反応陽性であった者 79 名中 15 名及び虫卵陽性であった者 19 名中 7 名は 1962 年の検査で陰性であつた。

3. 小学校 1 年の学童では皮内反応陽性者が 1 名であったことより 7 才以前の者では同症の感染を受ける機会のほとんどないことが推定される。

4. ミヤイリガイの棲息は北部傾斜地に多く、南部平坦地は一部を除いて棲息が認められなかった。また、東部丘陵地にはその棲息密度が非常に低かった。

5. 蛲の分布と小・中学生における感染率の関係に強い相関が認められた。すなわち、ミヤイリガイが広く分布し、棲息密度の高い北部傾斜地では感染率が高く、また 2 年間に感染率の減少が認められなかった。

2) 日本住血吸虫病の尿沈降反応の検討

飯島利彦

山梨県下の有病地においては、最近日本住血吸虫病の衰退に伴ない寄生虫体数の減少および単性寄生などのため、糞便検査による虫卵の検出は困難の度を増しつつある。又一方、治療効果の判定にもこれと同じ理由により、更には駆虫薬投与とともに一時的な産卵の停止等も考えられ、したがって的確な同病の診断のためには虫卵検出以外何らかの補助的手段の併用を必要とする場合が多くなった。岡部ら (1958) は、日本住血吸虫が血管内に寄生した場合、その代謝物質は、尿中に移行するとの相定にもとづき、

薬袋 勝

尿中に出現する物質を抗原として、抗日本住血吸虫体家兎血清との沈降反応をこころみたところ良好な成績を得たことから同沈降反応は、日本住血吸虫症の診断に役立つであろうと述べている。さらに田中 (1960) も尿沈降反応をこころみ良好な成績を得たと報告している。しかし加藤 (1960) は、この追試を行い、供試検体尿の濃縮度を原尿の 1/2 にした場合は、全例 (5 例) すべて陰性を示し、この濃縮度を 1/10 に迄高めて始めて陽性反応を示したと述べている。

これらの報告にもとづき、筆者らは尿沈降反応におけ

る検体尿の濃縮度と沈降反応の関係について検討を試みた。

実験材料および実験方法

1. 採尿および保存

日本住血吸虫卵陽性者を対象に、その早朝尿を採取し、防腐のため 1.0% NaN₃ を尿に対し 10:1 の割合で混入し、冷蔵庫に保存した。

2. 抗日本住血吸虫体家兎血清

日本住血吸虫虫体を家兎より無菌的に取り出し、生理的食塩水で洗滌後濾紙で水分を取り、デシケーター中で乾燥した。その乾燥虫体に対し 100倍量の Coca 液を加え、ホモジナイザーで摩擦 4°C で 24時間抽出をおこなった。抽出液を遠心沈澱 (3,000 rpm/15分) しその上澄を家兎の免疫に使用した。すなわち免疫は、日本住血虫体抽出液を第 1 回目には、2 mL、第 2 回目からは、5 mL づつ隔日 7 回静注し、免疫終了後 1 週間に全採血をおこなった。得られた血清の力価は、3,200 倍であった。

3. 尿の濃縮

1) 減圧濃縮

検体尿の濃縮は、次の 2 法を用いた。

a) $\frac{1}{3}$ 濃縮

岡部 (1958) の方法に従った。すなわち、40°C の水浴上で尿 30 mL を $\frac{1}{3}$ に減圧濃縮した後セロファンチューブを用い24時間水道流水中にて透析を行い、冷蔵庫に保存した。なお、使用に際しその都度検体の濃縮度が原尿の $\frac{2}{3}$, $\frac{4}{3}$, $\frac{8}{3}$, となるよう生理的食塩水を用いて段階稀釀をおこなった。

b) $\frac{1}{10}$ 濃縮

前記の方法にもとづき 40°C の水浴で尿 30 mL を尿中水分がなくなるまで一旦減圧濃縮し、これに蒸溜水 3 mL を加え、原尿の $\frac{1}{10}$ の濃縮度になるようにした。これを24時間透析を行い、冷蔵庫に保存した。使用に際し、その都度検体濃縮度が原尿の $\frac{1}{5}$, $\frac{2}{5}$ となるよう生理的食塩水を用いて段階稀釀をおこなった。

2) 凍結乾燥法

検体尿をセロファンチューブを用い水道流水中で24時間透析をおこなった後、10,000 rpm/30 分で遠心沈澱し、その上澄 2 mL をアンプルにとり凍結乾燥を行った。使用に際して濃縮度が原尿の $\frac{1}{20}$, $\frac{1}{10}$, $\frac{1}{5}$ になるよう生理的食塩水で稀釀した。

4. 尿沈降反応術式および判定基準

反応は、毛細試験管重層法でおこなった。すなわち先づ抗血清を毛細ピペットを用い毛細試験管に少量ずつ入れ、次に抗原して削記方法で濃縮した検体尿を静かに重層した。判定は、重層後、1 時間、2 時間後におこなった。筆者らは、2 時間後の判定で重層面上に白輪の出現の有無を観察し、その出現の度合に応じ ++, +, +, +, +, + および - とした。

実験成績

第 1 表は、各種方法により濃縮をおこなった沈降反応検査成績である。

$\frac{1}{3}$ 減圧濃縮を用いての沈降反応成績は、19例について $\frac{1}{3} \sim \frac{8}{3}$ までの段階稀釀をおこなった反応成績で、 $\frac{1}{3}$ 濃縮度の場合、疑陽生を示したのが僅かに 3 例あったのみで他はすべて陰生であった。

$\frac{1}{10}$ 減圧濃縮法で濃縮をおこなった尿を用いての沈降

表 1

泡降反応成績

濃縮方法 (実施数)	濃縮度	陽 性	沈降反応		陰 性
			検 阳 性	陽 性	
減圧濃縮 (19例)	$\frac{1}{3}$	—	—	3	16
	$\frac{2}{3}$	—	—	—	19
	$\frac{4}{3}$	—	—	—	19
	$\frac{8}{3}$	—	—	—	19
減圧濃縮 (8例)	$\frac{1}{10}$	4	2	2	2
	$\frac{2}{10}$	—	1	1	7
	$\frac{4}{10}$	—	—	—	7
凍結乾燥 (13例)	$\frac{1}{20}$	11	—	—	2
	$\frac{1}{10}$	8	—	—	5
	$\frac{1}{5}$	2	—	—	11

注 1. 全員虫卵陰性尿

2. 対照として虫卵陰性 2 例を行ないすべて陰性

表2 同一検体における尿沈降反応成績

番号	性別	年令	皮内反応	月住虫卵	減圧濃縮								凍結乾燥						
					1/3 濃縮				対照	1/10 濃縮				対照	1/20		1/10		1/5
					1/3	2/3	4/3	8/3		1/10	2/10	4/10	対照		1/20	1/10	1/5	対照	
12	M	16	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
13	M	16	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	
14	M	35(?)	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	
15	M	16	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	
16	M	16	+	+	士	-	-	-	-	士	-	-	-	-	+	+	-	-	
17	F	16	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	
18	F	16	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
19	F	17	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	

反応は、8例中 $1/10$ 濃縮で4例が陽性、2例が疑陽性、2例が陰性であった。また $1/5$ 濃縮度で、 $1/10$ 濃縮度陽性4例中1例が疑陽性、残り3例は陰性であった。

凍結乾燥による濃縮尿を用いての沈降反応は13例につき試験をおこなった。 $1/20$ 濃縮度で11例が陽性を示し、疑陽性、陰性が各1例であった。この $1/20$ 濃縮度陽性11例中、 $1/10$ 濃縮度で8例が、さらに $1/5$ 濃縮度で3例が陽性を示した。

実験結果

考 察

岡部ら(1958)は、尿沈降反応の実施にあたり、尿の $1/3$ 濃縮を行いこの濃縮尿を段階稀釀により原尿の $2/3$ までの濃度について沈降反応をこころみ濃縮度 $1/3$ 迄陽性反応を示したと述べている。筆者らが実施した成績では、 $1/3$ 濃縮度で19例中3例が疑陽性を示したのみであった。又加藤(1960)の成績も筆者らのそれとよく一致している。特に留意すべきは、殊に原尿の場合には、沈降反応はきわめて陰微であり、濃縮度を高めてはじめてある程度の陽性率を示した事実であってこのことは、尿中に出現するであろう抗原量は、きわめて微量であろうことを示唆している。岡部(1958)は、一旦 $1/3$ に濃縮し、再び稀釀し、この濃度が原尿の $1/3$ までに沈降反応が認められたと述べているが、この点に問題なしとしない。又、本実験においては、検体尿の濃縮度と沈降反応に、難著な相関関係がみとめられた。すなわち $1/10$ 濃縮尿8例中、 $1/10$ 濃縮度で4例が陽性、さらにそのうち $1/5$ 濃縮度で1例が疑陽性であった。このように検体尿の濃縮度を高めることにより沈降反応に或る程度の信頼性の高まることが考えられる。しかし減圧濃縮法では、加熱される事、また濃縮時に発泡が起り、濃縮度が増すにしたがい発泡が増加する事が観察され、この事は、尿中に

出現する抗原物質に対して、好ましい現象ではないため、なんらかの方法で濃縮を行う事が必要とされる。

凍結乾燥法による濃縮は、これらの現象を起すことなく濃縮を実施できる。凍結乾燥法をもちいて実施したところ、13例中 $1/20$ 濃縮で11例が陽性、このうち $1/10$ 濃縮までが8例、 $1/5$ 濃縮までが3例が陽性を示した。これらの成績は、減圧濃縮処理尿より高い値を示している。しかし本法においても、濃縮度を上げることにより不溶性の物質があらわれ、このため判定を困難にする事がある。これは、イオン強度の調整、透析、遠心沈殿等によりある程度のぞかれ、この問題の解決は、将来の検討にまちたい。

3方法による濃縮度の変化と沈降反応との関係を見るに、第2表に示すごとく何れの場合にも、濃縮度を上げることにより沈降反応の陽性数は増加する。このうち凍結乾燥法による濃度をおこなった場合には、特に良好な成績がみとめられた。この場合、1例は減圧濃縮法で陽性を示したにもかかわらず、陰性を示した。これについては、前述のごとくイオン強度等により反応が出現しなかったものと思われる。

文 献

- 1) Koyo. Okabk, and Takhumi Tanakd T. (1958): A new urine precipitin reaction for schistosomiasis. The J. of kurume Med. 5, 2, 45-52
- 2) 田中隆文(1960): 日本住血吸虫症の免疫学的研究, 久留米医学, 23. 8. 3220~3244.
- 3) 加藤真平(1960): 日本住血吸虫免疫に関する研究 (I) 岐阜医紀
- 4) 木村一郎: 蛋白、核酸、酵素, 9, 2,