

米国のツベルクリン(国際標準ツベルクリンと等力価)

と我国の標準ツベルクリンとの力価の比較試験

国立予防衛生研究所

柳 沢 謙 ・ 浅 見 望

(昭和 26 年 3 月 23 日受付)

I 緒 言

今度 G.H.Q. の好意によつて米国の N.I.H. において国際標準ツベルクリンと等力価に合せられた“OT”及び Standard P.P.D. 並びに他製造所の力価未知の“OT”及び P.P.D. 等4種のツベルクリンの分与を受けた。これ等4種をわが国の標準ツベルクリンを標準として力価の比較試験を行つた。その試験方法は現今わが国において実施中の「診断用ツベルクリン稀釈液基準(暫定)」に規定されている力価の検定法に従つ

た。以下その大要を報告する。

II 実験材料

この実験に使用した各種ツベルクリンを第1表に表示する。これら各ツベルクリンの稀釈はすべて硼酸-硼砂緩衝液を用いた。わが国のツベルクリンは2,000倍に稀釈したものを標準液とした。米国よりの“OT”は各々必要な稀釈濃度に、P.P.D. は0.1cc中に必要実量(γ)が含まれるように稀釈した。

第1表 米国及び日本の各種ツベルクリンの経歴

ツベルクリン種類	実験番号	製造所	レツテル記載の製品名	濃 度	製 造 号	有効期間及び製造年月日	力 価
日 本	OT 標準液	N. I. H.	Old Tuberculin	Original solution	No.14	Prepared 10-22-46	
米 国	OT	U. S. Pubic Health Service N. I. H.	Old Tuberculin	Original solution	No.4	Good unutil 1-1-51 if stored below 5°C	Equal to International Standard in potency
		Wyeth Inc., Marietta. PA.	Tuberculin “OT” (Koch's old Tuberculin)	Original solution	No. 130 H54,206 # 1	Exp. Date: 7-12-54	
国	P.P.P.	U. S. P. H. S. Natl. Inst. of Health	Std. P. P. D. of Tuberculin	0.1% in Buffer sol. 0.5% phenol		Prepared: 4-22-49	
		Biologies preparation Laboratory Rockville. Maryland	Tuberculin-P.P. D. (Holm)	Stock Solution Cone. 1mg Per cc	Bottle H 50-# 3	Prepared: 9-21-49	

III 動物による力価試験

1. 実験方法

1) 使用動物：人型結核菌“青山B”株をグリセリンブイヨンに移植し、3週間培養後の死菌体を流動パラ

フインを用いて 1cc の中に 10 mg の菌が含まれるよう浮游液を作る。この液 0.6 cc (6 mg) を体重 350 g 以上の白色健康モルモットの左右の大腿部筋肉内に注射する。注射してから 6 週間後において標準液 0.1cc を皮内注射して 24 時間後において硬結が 10—20 mm を呈するもののみを実験に使用した。

2) 注射方法及び注射量：試験品の各濃度毎に上記の感作モルモット約 10 匹ずつを選び、この動物の背部の毛を刈り、正中線を中心に一側には標準液を、他側対称部には試験品をそれぞれ 0.1 cc ずつ 2 か所に皮内注射した。

3) 判定方法及び判定時間：注射後 24 時間及び 48 時間における硬結の横径及び縦径を計測記載する。

4) 計算：硬結の横、縦径の算術平均を mm で表し、標準液による硬結の大きさの 10 匹の総計をもつて、試験品の硬結の大きさの総計を除いたものすなわち Ratio によつて比較した。すなわち

$$\text{Ratio} = \frac{\text{試験品による硬結の大きさの総計}}{\text{標準液による硬結の大きさの総計}}$$

2. 実験成績

標準液と各試験品の各濃度とを感作モルモットの皮内に注射し、24 時間及び 48 時間後における硬結による Ratio の結果は第 2 表に示す如くである。試験品 No. 1 すなわち米国 N. I. H. において国際標準ツベルクリンと等力価に合せられた“OT”の 1,660 倍とわが国の標

第 2 表 動物による力価の比較試験

「ツ」の種類	試験番号	稀釈倍率	0.1cc 中の菌量	使用動物数	Ratio		備考	
					24時間	48時間		
OT.	1		2,500	0.04	9	0.96	0.92	
			2,000	0.05	10	0.96	0.92	
			1,660	0.06	8	1.00	0.96	
			1,430	0.07	9	1.05	1.05	
			1,000	0.1	5	1.10	1.10	
	2		5,000	0.02	9	0.96	1.01	
			3,330	0.03	10	0.96	0.96	
			2,500	0.04	9	1.02	1.01	
			2,000	0.05	10	1.08	1.11	
P.P.D.	3		0.05	γ	5	0.78	0.69	
			0.1		10	0.87	0.90	
			0.15		10	0.99	0.97	
			0.2		10	0.96	0.98	
	4		0.03	γ	10	0.86	0.83	
			0.05		10	0.99	0.97	
			0.07		10	0.97	0.96	
			0.09		9	1.00	1.03	
			0.1		9	1.05	1.05	

準ツベルクリン 2,000 倍とが同力価となる。また No. 2 では 2,500 倍が標準液 2,000 倍に等しい。さらに P. P. D. の No. 3 は 15 γ, No. 4 は 0.05—0.09 γ 辺が標準液 2,000 倍 0.1 cc (0.05 mg) と等しい。なお P. P. D. と“OT”との皮内反応上の差異は認められなかつた。

IV 人体の皮内反応による力価試験

1. 実験方法

1) 対象集団：使用集団には自然感染者、BCG 既接種者及び未接種、未感染者等の含まれている小、中学校の生徒である。これら集団は毎年春秋 2 回、両側の前腕に、同時にツベルクリン液を皮内注射したものである。

2) 注射方法及び注射量：各試験品の各濃度毎に約 100 名ずつを選び、その前腕屈側の上三分の一の側には標準液を、他側対称部には試験品を、それぞれ 0.1 cc ずつ皮内注射した。この際被検者を約半数ずつの 2 群に分ち、一群の右側には標準液を、左側には試験品を、また他群の右側には試験品を、左側には標準液をそれぞれ注射した。

3) 判定時間及び判定方法：注射してから 48 時間後における発赤、硬結、二重発赤及び水泡等の有無並びにその程度を記載した。その方法はまず発赤があればその横径及び縦径をスライディングカリパースをもつて計測した。この際発赤が二重になつているものではその外径と内径との横縦径を別々に計測して記載した。ついで硬結の有無を触診によつて調べ、その横縦径とを計測した。もし硬結が浮腫状の際には+又は±の記号として記載した。さらに水泡、出血及び壊死等の強反応がある場合にも、これを記載した。

4) 記載方法：上記の各反応を分母と分子とに別つて記入する、すなわち、発赤及び二重発赤は分母に、硬結及び水泡等は分子に記載した。例えば二重発赤の外径が 35×36、内径が 15×16、硬結が 15×16 等のものはつぎの如くである。

$$\frac{\text{硬結, 水泡}}{\text{発赤(二重発赤外径)}} = \frac{15 \times 16}{15 \times 16(35 \times 36)}$$

1) 計算：発赤の大きさ(横径と縦径との算術平均値)の総計の Ratio を動物の場合と同一方法によつて求める。ただし人体に於ける場合は、発赤が両側とも 10 mm 以上(もし二重発赤や水泡等の強反応が一侧にでもあるものは除外する)ある例数のみについて Ratio を計算した。なお従来から行われてきた陽性率、硬結触知数等も参酌して比較した。

6) 判定基準：陰陽性の判定基準はつぎの如くである。

発赤の大きさ	硬結の有無	二重発赤水泡の有無	判定
0~4 mm	-	-	-

5~9 mm	-	-	±
10 mm以上	-	-	+
"	+	-	卅
"	+	+	卅

2. 実験成績

我国の標準ツベルクリンを標準液として、米国より分与された各種ツベルクリンの人体皮内反応による成績は第3表に示す如くである。すなわち“OT” No.1のRatioを見るに1,820~2,220倍稀釈のところ0.94~1.00である。さらにこの稀釈倍数の陽性率、硬結数、二重発赤及び水泡等の諸反応を参酌すれば、2,000倍稀釈液が標準液2,000倍稀釈液と等しい。すなわち米国N. I. H.において国際標準ツベルクリンと等力価に合せられた“OT”と我国の標準ツベルクリンとが等力価で

ある。また“OT” No.2のRatioを見るに3,330倍稀釈では1.06で標準液より稍々強い。しかし陽性率は試験品の方が弱く、硬結数は等しいから大体3,330倍稀釈液が標準液2,000倍稀釈液と等しいことになり、従つてこの“OT”は我国標準ツベルクリンよりも幾分強いことになる。さらにN. I. H.の標準P. P. D. (No.3)の0.15%のRatioは1.00、0.2%では1.02である。これが他の反応を比較参酌するに0.1%と標準液2,000倍稀釈液0.1ccすなわち0.05mgとが等しい。またP. P. D. No.4のRatioは0.05%が1.02であり他の反応も大体等しいので、この濃度が標準液と等しい。なお“OT”とP. P. D.と反応上の差異は特に認められなかつた。

第3表 人体による力価の比較試験

「ツ」の種類	試験番号	稀釈倍数	0.1cc中の含量	検査人員	Ratio 48時間	陽性率		硬結数		二重発赤数		水泡数	
						標※	試※	標	試	標	試	標	試
OT	1	2,500	0.04	82	0.93	91.4	93.9	14	15	2	2	1	1
		2,220	0.045	110	0.94	98.2	98.2	26	25	6	7	4	2
		2,000	0.05	89	1.00	86.5	88.7	26	32	3	4	2	1
		1,820	0.055	114	0.97	100.	100.	19	20	10	11	4	7
		1,660	0.06	79	1.13	84.9	95.0	16	24	4	8	3	5
	2	3,330	0.03	109	1.06	91.3	79.8	52	52	0	0	0	0
		2,500	0.04	111	1.08	97.3	99.1	47	57	0	0	0	0
		2,000	0.05	113	1.27	98.2	98.2	30	57	0	0	0	0
	P.P.D.	3	0.1	γ	77	0.93	80.5	83.1	12	18	1	0	0
0.15			γ	99	1.00	100.	100.	29	32	8	10	0	2
0.2			γ	99	1.02	100.	100.	36	38	10	13	0	0
4		0.05	γ	113	1.02	99.1	99.1	25	39	5	8	1	0
		0.07	γ	69	1.11	71.0	76.8	27	29	3	3	0	0
		0.1	γ	66	1.14	51.5	59.1	22	25	2	2	0	1

注：(1) 注射月日：昭和25年6月6日と6月18日

(2) 場所：東京都忠生村及び新潟県直江津町の各小・中学校

(3) ※ 標……標準液、試……試験品

V 総括

1. 動物における24時間と人体における48時間の各Ratioを一括すれば第4表の如くである。この表によつて明らかな如く、我国の標準ツベルクリン液は米国N. I. H.において国際標準ツベルクリンと等力価に合せられた“OT”と等力価である。さらに他の“OT”は我国のものより幾分強い。またN. I. H.において1949年4月に0.1%に稀釈したStandard P. P. D. 0.15%と我国標準ツベルクリン2,000倍稀釈液0.1cc(0.05mg)と等しく、HolmのP. P. D.は0.05%が等しかつた。かくの如く、米国の各種ツベルクリンもその

製造所によつて必ずしも等力価ではない。Standard P. P. D.が他の製造所のものよりも弱いことは稀釈後の経過が長いめか、また初めからこの力価であつたのかあるいは私達の力価試験方法と米国において行われる方法との差によるものであるかは不明であるが、一般にP. P. D.として売出されているものに比して力価は弱かつた。

2. 従来国際聯盟方法⁽¹⁾によつて規定された力価の検定法は感作モルモットを用いる方法であつた。しかし数年前から我国において我々⁽²⁾は人体の皮膚反応による力価の検定法を提唱し、現在わが国の検定基準(暫定)

第4表 人体と動物とによる力価の比較一覧表

「ツ」の 種類	試 験 番 号	製造所及び 製品名	稀釈倍 数	注射量	Ratio		備考
					動物 (24時間)	人体 (48時間)	
OT.	1	U.S.P.H.S. N. I. H.	2,500	0.04	0.96	0.93	等力 価
			2,220	0.045	—	0.94	
			2,000	0.05	0.96	1.00	
			1,820	0.055	—	0.97	
			1,660	0.06	1.00	1.13	
			1,430	0.07	1.05	—	
	2	Wyeth Inc. Marietta	5,000	0.02	0.96	—	等力 価
			3,330	0.03	0.96	1.06	
			2,500	0.04	1.02	1.08	
			2,000	0.05	1.08	1.27	
P.P.D.	3	U.S.P.H.S. N. I. H. Std. P.P.D.	0.05	0.78	—	等力 価	
			0.1	0.87	0.93		
			0.15	0.99	1.00		
			0.2	0.96	1.02		
	4	B. P. L. Rockville Helm P.P.D.	0.03	0.86	—	等力 価	
			0.05	0.99	1.02		
			0.07	0.97	1.11		
			0.09	1.00	—		
			0.1	1.05	1.14		

にもこれがとり入れられている。この方法は実験方法の
所において記した如く、主として発赤の大きさによるもの
である。一方動物においては硬結によって判定し他方人
体においては発赤によって判定するため同一力価のツペ
ルクリンにおいても幾分か差を生じてくることは勿論で

ある。けれども人体の方が動物よりもツベルクリンアレ
ルギーは鋭敏であることからすれば、人体による力価検
定が正しいことになるわけである。しかしこの問題に関
しては別の論文において詳論しようと思う。

3. 人体における判定時間及び判定基準等は先きに野辺
地、柳沢等⁽³⁾の実験成績によつて決められたものであ
る。ただしこの場合においては自然感染者による成績であ
つたが今日の如くBCG接種者が多くなつた場合におい
てはこの問題に関しても将来さらに研究を要する。

VI 結 言

現在我国において実施中の「ツベルクリン稀釈基準
(暫定)」の力価試験法によつて、米国の N. I. H. にお
て国際標準ツベルクリンと等力価に合せられた“OT”
と我国の標準ツベルクリンとは、等力価であることが証
明された。

終りに臨み米国の“OT”及び P. P. D. の分与を
取計らつて下さつた、P. H. W. Dr. Pozeman 及び Dr.
Night 両氏の御好意を感謝する。また動物実験を担当
して下さつた土屋院司君並びに人体実験に御協力して下
さつた高野袿裳男、吉田孝之助、伊藤恒夫夫君達に深謝
する。なおこの研究の一端は総合研究、結核研究委員会
の援助によるものであつてここに謝意を表する。

文 献

- (1) Calmette A. et De Potter: Ann. Pinst. Pasteur, 40, 353 (1926)
- (2) 柳沢謙: 公衆衛生学 2巻 475 (1948)
- (3) 野辺地慶三, 柳沢謙等: 厚生科学 1巻 1号 16 (1940)
- (4) 野辺地慶三, 柳沢謙等: 厚生科学 2巻 1号 41 (1941)