

O-Aminophenol-Azo-Tuberculin と Old-Tuberculin との比較研究

第 2 報 人体の皮内反応による青山 B-OT と青山 B-Azo T との比較

国立予防衛生研究所結核部

柳 沢 謙・浅 見 望・細 井 正 春

(昭和 26 年 9 月 18 日 受付)

I 緒 言

先きにわれわれ¹⁾は人型結核菌“青山 B”株の Old Tuberculin (OT) より製造した O-Aminophenol-Azo-Tuberculin (青山 B-Azo-T) を用い、動物の皮内反応による比較を行つた結果、OT 0.05mg に対し青山 B-Azo T 0.1g ではやや弱い反応を呈したと報告した。今回は同一試料を用い、BCG 接種者及び非接種者の学童に対する皮内反応を実施したのでその大要を茲に報告する。

II 実験方法

1. 対象集団：新潟県名香山村の小・中学校生徒約 1,300 名を用いた。この集団は約 6 年以上結核の集団検診を実施していないので、小学生は大体において BCG の接種を受けていない。なお本実験開始当初における、この集団のツベルクリン反応は第 1 表の如くであつて、小学生は約 25%、中学生は約 64% の陽性率を示している。この陽性者は殆ど自然感染者と見做してもよいと思ふ。

第 1 表 対象集団のツベルクリン反応成績表

(昭 24. 7)

学 校 名	検 査 員	陽性者		硬 結 二重発赤 触 知 者 形 成 者			
		実数	%	実数	%	実数	%
北 小 学 校	492	126	25.6	74	57.9	43	34.1
南 小 学 校	329	89	27.0	54	60.9	29	32.6
好 高 中 学 校	492	323	63.6	126	39.0	85	26.5

註：硬結触知率及び二重発赤形成率は陽性者に対する % を求めた。

2. 試料：OT としては原液 No.1 (Sauton 培養) を石炭酸加生理的食塩水をもつて 2,000 倍に稀釈したもので、青山 B-Azo T は生理的食塩水(石炭酸を除く)をもつて 1cc に 0.001mg 含む液を作つた。なおこの外金沢大学結核研究所において人型菌“H₂”株より製造した H₂-Azo T も用いた。

3. 皮内反応の術式：左右前膊の一側には OT, 他側対称部には Azo T をそれぞれ 0.1cc ずつ皮内注射し、24 及 48 時間後における諸反応を判定した。

4. BCG ワクチンの接種：昭和 24 年 10 月ツベルクリン反応陰性者約 800 名に対し、乾燥 BCG ワクチン (Lot No.5) 0.1cc (0.04mg) を左右上膊部の 2 カ所

に分けて皮内注射した。

5. 経過の観察：BCG 接種後次の 3 回 OT 及び Azo T を用いてツベルクリン・アレルギーの推移を検査した。なお BCG 非接種者に対しても同時に「ツ」反応を実施した。

第 1 回	1950 年 1 月	接種後約	2.5 月
〃 2 〃	〃	〃	6 月
〃 3 〃	〃	〃	11 月

III 実験成績

1. 青山 B-Azo T 0.1γ と OT 0.05mg との比較

BCG 接種者及び非接種者に対し、青山 B-Azo T 0.1γ と OT 0.05mg とを皮内注射し、48 時間後における反応の比較は第 2 表のごとくである。すなわち BCG 非接種者においては実験時期により多少の差異はあるけれども、平均の陽性率は OT 69%、青山 B-Azo T 67% でほぼ等しく、また陽性者に対する硬結触知率及び二重発赤形成率もほぼ等しい。ただ Ratio のみは 0.83~0.95 の開きがある。これらのことから非接種者では OT 0.05mg に対し青山 B-Azo T 0.1γ では多少弱く反応している。次に BCG 接種者について両ツベルクリンの力価を比較して見るのに、接種後 2.5 月目では検査人員 244 名の陽性率は OT 71.3% に対し青山 B-Azo T 68.8% で殆ど等しく、この外硬結触知率及び Ratio 等から見てもほぼ等しい力価と思われた。さらに接種 6 月後でも陽性率は OT 80.3% に対し、青山 B-Azo T 75.3% で大差なく、硬結触知率も両者とも 27% 内外で殆ど等しい。ただ Ratio のみは 0.83 という低い値を示した。しかしこれと同時に行つた非接種者の Ratio も 0.83 である点からすれば、この低い力価はツベルクリンの側に何等かの原因があるものと思う。最後に接種後 11 月目でも陽性率は OT 68.1%、青山 B-Azo T 65.8% で殆ど等しい。しかし硬結触知率は OT 15.3% に対し青山 B-Azo T 8.4% でかなり少く、また Ratio も 0.86 で低い値を示している。このように BCG 接種後の経過の進むに従つて、OT に対するツベルクリンアレルギーは多少変動している。これに対し青山 B-Azo T も大体 OT と平行した変動を示し、特に OT と青山 B-Azo T との間に著しい相違は認められなかつた。

2. H₂-Azo T 0.1γ と OT 0.05mg との比較

第2表 BCG接種者及び非接種者に青山 B-Azo T 0.0001mg と OT 0.05mg とを皮内注射し 48 時間後における反応の比較

群別	実験時期	検査人員	Ratio	陰性数 検査人員	陽性数		硬結数		二重 陰性数	水 腫数
					実数	%	実数	%		
非接種者	第1回 (1月)	127	0.95	OT	75	59.0	53	70.7	16	0
				AT	75	59.0	51	68.0	16	0
	第2回 (4月)	82	0.83	OT	64	78.4	40	62.5	8	7
				AT	61	74.4	35	57.4	7	2
第3回 (9月)	27	0.87	OT	24	88.9	12	50.0	4	0	
			AT	23	85.2	10	43.5	5	0	
合計	236	0.91	163	69.0	105	64.4	28	7	2	
BCG 接種者	第1回 (接種後 2.5ヶ月)	244	0.97	OT	174	71.3	65	37.3	3	0
				AT	168	68.8	67	39.9	4	0
	第2回 (6ヶ月)	219	0.83	OT	176	80.3	47	26.7	5	4
				AT	165	75.3	46	27.9	1	1
	第3回 (11ヶ月)	163	0.86	OT	111	68.1	17	15.3	0	0
				AT	107	65.8	9	8.4	0	0

註： 1. OT...Old Tuberculin AT...Azo Tuberculin
 2. 硬結触知率は陽性者に対する%である
 3. Ratio = $\frac{AT}{OT}$

金沢大学結核研究所より分与された H₂-Azo T と OT を比較した成績は第3表である。すなわち Ratio によつて比較して見るのに、非接種者では青山 B-Azo T 0.83, H₂-Azo T 1.02 で後者が強い。しかし BCG 接種者では青山 B-Azo T 0.83, H₂-Azo T 0.77 で後者が弱い。これと同様な傾向は陽性率及び硬結触知率等においても見られる。このように少数例ではあるけれども、青山 B-Azo T は BCG 接種者と非接種者との間に大差は認められないのに反し、H₂-Azo T では BCG 非接種者には強く、BCG 接種者には弱く反応する傾向が見られた。

第3表 BCG 接種者及び非接種者に青山 B 及び H₂ の Azo T 各々 0.0001mg と OT 0.05mg とを皮内注射し 48 時間後における反応の比較(1950 年 4 月)

群別	Azo T 濃度	検査人員	Ratio	陰性数 検査人員	陽性数		硬結数		二重 陰性数	水 腫数
					実数	%	実数	%		
非接種者	青山 B	82	0.83	OT	64	78.0	40	62.5	8	7
				AT	61	74.4	35	57.4	7	2
	H ₂	62	1.02	OT	39	62.9	23	59.0	5	5
				AT	39	62.9	23	59.0	8	5
BCG 接種者 (接種後6ヶ月)	青山 B	219	0.83	OT	176	80.3	47	26.7	5	4
				AT	165	75.3	46	27.9	1	1
	H ₂	46	0.77	OT	36	78.3	15	41.7	1	0
				AT	32	69.6	12	37.5	0	0

3. OT 0.05mg に対し青山 B-Azo T 0.02γ~1.0γ を使用した場合の比較

BCG 接種後 6 カ月目に OT 0.05mg に対し、青山

B-Azo T 0.02, 0.05, 0.1 及び 0.5γ の 4 種類を注射し 48 時間後における判定成績は第4表の如くである。各注射量による人員の数が一定でなくまた学年も違ったものを用いたため成績は不揃ではあるけれども、大体の傾向は見る事ができると思う。すなわち非接種者では青山 B-Azo T の注射量の多少と Ratio, 硬結触知率及び二重陰赤形成率等はほぼ比例しているが、陽性率のみは青山 B-Azo T の量に関係なく常に OT と同率を示した。しかるに BCG 接種者ではこれらの諸反応が青山 B-Azo T の量の多少と大体において比例していた。

また BCG 接種後 11 カ月目には OT 0.05mg に対し、Azo T 0.1γ とその 10 倍量の 1.0γ とを用いた成績は第4表 : BCG 接種者及び非接種者に青山 B-Azo T 0.000, 0.02mg から 0.000, 5mg までと OT 0.05mg とを皮内注射し 48 時間後における反応の比較(1950 年 4 月)

群別	注射量 mg	検査人員	Ratio	陰性数 検査人員	陽性数		硬結数		二重 陰性数	水 腫数
					実数	%	実数	%		
非接種者	0.0005	39	1.05	OT	33	84.6	27	81.8	23	6
				AT	33	84.6	27	81.8	25	7
	0.0001	82	0.83	OT	64	78.0	40	62.5	8	7
				AT	61	74.4	35	57.4	6	2
	0.00005	49	0.55	OT	38	77.5	31	78.9	26	5
				AT	33	67.5	22	66.7	10	0
0.00002	33	0.57	OT	22	66.7	17	77.3	3	1	
			AT	21	63.6	8	38.1	1	0	
BCG 接種者	0.0005	83	0.97	OT	68	81.9	45	67.7	14	0
				AT	69	83.1	48	68.1	12	0
	0.0001	219	0.83	OT	176	80.3	47	26.7	5	4
				AT	165	75.3	46	28.9	1	1
	0.00005	74	0.59	OT	68	91.9	31	45.6	11	1
				AT	55	74.3	13	23.6	1	0
0.00002	33	0.54	OT	20	60.6	9	46.0	1	0	
			AT	15	43.9	2	13.3	0	0	

第5表 BCG 接種者及び非接種者に青山 B-Azo T 0.000, 1mg 及び 0.001mg と OT 0.05mg とを皮内注射し 48 時間後における反応の比較 (1950 年 9 月)

群別	注射量 mg	検査人員	Ratio	陰性数 検査人員	陽性数		硬結数		二重 陰性数	水 腫数
					実数	%	実数	%		
非接種者	0.001	75	1.02	OT	59	78.8	23	37.3	0	1
				AT	62	84.0	30	48.4	1	3
	0.0001	27	0.87	OT	24	88.9	12	50.0	4	0
				AT	23	82.2	10	43.5	5	0
BCG 接種者	0.001	45	1.34	OT	32	71.1	5	14.0	0	0
				AT	41	91.1	23	56.1	0	0
	0.0001	163	0.86	OT	111	68.1	17	15.3	0	0
				AT	107	65.9	9	8.4	0	0

第5表の如くである。この場合においても、非接種者では陽性率以外の諸反応は明かに差異を認められるが、陽性率のみは注射量による差は僅かであつた。しかしBCG接種者では陽性率及びその他の諸反応とも両注射液の間に著しい相違が認められた。

IV 総括及び考按

1. 今日まで主な研究者によつて発表された精製ツベルクリンの収量と力価との関係を一括すれば第6表の如くである。しかしこの表では、1) 使用菌株、2) 培地、3) 培養日数、4) 精製前の原液の力価、5) 力価の検定方

第6表 各研究者の主な精製ツベルクリンの収量と力価との関係

研究者	発表年次	使用菌株	培地	培養日数	培養法	製法の概要	収得量			力価 (OT 0.05 mg/1cc) (%)	注射人数 (原液 1cc に對し)	注射可能率 (%)	精製物の 名称
							培地全量 より (g)	1L 中 (mg)	%濃縮 原液 1cc より (%)				
Seibert ²⁾	1941	DT	Long	733	8-10w	Ultrafiltration CO ₂ , COOH 沈澱	107	146	1460	0.1	14,600	73	P.P.D.
貝原	1943	77:77H	Sauton 釜法	9	8-10w	CO ₂ , COOH 沈澱	3.32	369	3690	0.05	73,800	369	7L
岡本	1950	H ₂	Sauton	1.5	10w	O-Aminophenol Diazo 化	0.391	260	2600	0.05	52,000	260	OA-Azo T
武田	1951	青山 B	Sauton	1.5	8w	Methanol CO ₂ , COOH 沈澱	0.565	377	3770	0.1~ 0.15	25,130~ 37,700	125~ 188	F II
浅見	1951	青山 B	Sauton	1.25	9w	O-Aminophenol Diazo 化	0.136	108	1080	0.1	10,800	54	青山 B-Azo T
"	"	BCG	"	1.5	"	"	0.196	131	1310	0.1	13,100	65.5	BCG-Azo T
"	"	牛 10	"	1.25	"	"	0.238	190	1900	/	/	/	牛 10-Azo T

註 * 精製物の注射人数 = $\frac{\text{収量(原液 1cc よりの精製物の収量)}}{\text{力価(OT 0.05mg と同力価の精製物の注射量)}}$

* 精製物の注射可能率 = $100 \times \frac{\text{精製物の注射人数}(x \text{人})}{\text{原液 1cc の注射人数}(20,000 \text{人})}$

法及び6) 力価検定に使用した標準液等が各研究者によつて違つているため、一律に比較するには無理があるけれども、先ずこれらの点を同一と考えて検討してみよう。すなわち原液 1cc を2,000倍に稀釈し、その 0.1cc を人体の皮内に注射するとすれば、原液 1cc をもつて20,000人に注射することができる。この原液 1cc から得た精製物をもつて幾人に注射することができるかを次の式によつて計算して見る。すなわち

A. 精製物の注射人数

$$= \frac{\text{収量(原液 1cc よりの精製物の収量)}}{\text{力価(OT 0.05mg と同力価の精製物の注射量)}}$$

B. 精製物の注射可能率 = 100

$$\times \frac{\text{精製物の注射人数}(A \text{人})}{\text{原液 1cc の注射人数}(20,000 \text{人})}$$

Seibert²⁾ の P.P.D. は培地 1 立から 146mg の収量があり、原液(1/10 濃縮) 1cc からは 1.46mg となる。これが力価は OT 0.01mg に対し 0.02% で等しいという。これを我国の基準に換算すれば OT 0.05mg ($\frac{1}{2,000}$ 0.1cc) と P.P.D. 0.1% とが等力価となる。しかして P.P.D. の注射人数は 14,600 人、従つて注射可能率は 73% であつて、比較的損失の少ない精製法である。このようにして他の精製物についても検討してみると、貝原³⁾ の π の収量は P.P.D. よりも多く、さらに力価も 0.02% または 0.05% であるという。今仮りに力価を 0.05% とした場合の注射人数は 73,000 人、従つ

て注射可能率は 369% という高率であつて、OT よりも遙かに多人数に注射することができることになる。また岡本⁴⁾ の OA-Azo T の収量もかなり多く、その力価も 0.05% であるため、注射人数は 52,000 人、従つて注射可能率は 260% となり、π の如く精製することにより OT よりも注射人数が多くなつている。さらに武田⁵⁾ の F II の収量も多く、力価も 0.1~0.15% であるので、その注射人数は 25,130~37,700 名であり、注射可能率は 125~188% となり π 及び OA-Azo T と等しく OT よりも多くの人員に使用可能なわけである。

我々が岡本の方法を追試して作つた青山 B-Azo T では手技の未熟のため収量も少なく、また力価も 0.1% であつたので、注射人数は 10,800 人、従つて注射可能率も 54% という低率であつた。また次に報告する BCG-Azo T において収量が青山 B-Azo T よりやや多いので、その注射可能率は 65.5% であつた。もし π, OA-Azo T 及び F II の如く精製することによつて OT よりも多人数に注射することができるということが事実であるならば、ツベルクリンの活性因子の研究上重大なる新事実であらねばならぬ。しかしこれらの新事実を検討する先きに前にも述べたように、精製前の原液の力価、精製物の力価検定方法並びに標準液等について、各研究者の再検討を行つて貰う必要がある。さらに今後精製ツベルクリンについて発表する際には必ずこの注射可能率を計算する必要があると思う。

2. 由利⁶⁾は OT 0.05mg と H₂-Azo T 0.05γ とをもつて人体の皮内反応を実施した結果、自然感染者では OT と Azo T とは同程度に反応するけれども、BCG 接種者では、OT で陽性を呈しても Azo T では陰性の者がかなり多数あつたことから「Azo T と OT とをもつて並行試験を行うにおいては自然感染と BCG 陽転との鑑別並びに BCG 接種者における自然感染の時期探知もまた可能である」と報告している。しかし我々が BCG 接種者と非接種者を含む学童に対し、OT 0.05mg と青山 B-Azo T 0.1γ とを注射した成績では、OT と Azo T とは殆ど同程度の反応を示した。ただ BCG 接種後の経過が進むに従つて、Azo T は OT よりも幾分弱く反応するにすぎなかつた。もし Azo T が由利のいう如く自然感染者のみに型特異性を示し、BCG 陽転者では全然反応しないというのであれば、Azo T の注射量を増量しても同様な結果となるわけである。我々が OT 0.05mg に対し、Azo T を 0.1γ とその 10 倍量の 1.0γ とを BCG 接種者に注射した場合、注射量に比例して皮内反応は強く表われてきた。さらに H₂-Azo T は後に述べる如く、非接種者には強く、BCG 接種者には弱く反応する傾向が認められた。従つて非接種者では OT と等力価の量を BCG 接種者に用うれば、OT よりも弱く反応するわけである。また BCG 接種後 6 カ月以上を経過したツベルクリン・アレルギーの弱者では力価の多少の相違は、反応上著しい差異を表わしてくるので、Azo T でなくとも OT の稀釈のうすい液を用うれば同様な結果が表われるものと考えられる。このことに関しては今後さらに追究しようと思ふ。

3. 金沢大学結研より分与された H₂-Azo T と青山 B-Azo T の 0.1γ ずつを注射した場合を比較してみると、青山 B-Azo T は BCG 接種者でも、非接種者でも殆ど同程度の反応を呈しているのに、H₂-Azo T は BCG 接種者には弱く、非接種者には強く反応する傾向が見られた。これは例数が少ないので確定的ではないが、H₂-Azo T は人型菌の型特異性を示したのにも拘らず、青山

B-Azo T は人型菌と BCG 菌との中間の性状を示しており、元来の人型菌の型特異性は幾分減少して来たように思われる。このことは甚だ重要なことであるから今後更に検討を要する問題である。

V 結 言

我々は人型菌青山 B 株の OT より、青山 B-Azo T を分離した。この青山 B-Azo T と H₂-Azo T (金沢大学結研より分与されたもの) とに対し、青山 B-OT を標準として、BCG 接種者及び非接種者に皮内注射し、48 時間後における諸反応を比較した結果次のことを結言する。

1. 非接種者では青山 B-OT 0.05mg に対し青山 B-Azo T 0.1γ を用いた場合においては幾分弱く反応した。
 2. BCG 接種者では接種後の時期によつて多少の相違はあるが、青山 B-OT 0.05mg に対し青山 B-Azo T 0.1γ を用いた場合は常にやや弱く反応した。
 3. 青山 B-Azo T と H₂-Azo T とを比較してみると、青山 B-Azo T は BCG 接種者と非接種者における反応上の相違は少ないが、H₂-Azo T は BCG 接種者には弱く、非接種者には強く反応する傾向が見られた。
- 終りに臨み、人体実験に御協力下さつた、室橋豊穂及び川村達両氏並びに名香山北小学校植木校長の御好意を深謝する。なおこの研究費の一端は総合研究、結核研究委員会の援助によつたもので茲に謝意を表する。

文 献

1. 柳沢謙・浅見望・細井正春・土屋院司：結核，27, 4, 204, 昭 27.
2. Seibert, F.B. and Gleen, J.T.: Am. Rev. Tuberc., 44, 9(1941)
3. 具原守一：福岡医学，36, 597(昭 18)
4. Okamoto, H.: Japan. Med. J., 3, 31(1950)
5. 武田徳晴：未発表(日本細菌学誌 6 巻 5 号に掲載予定)
6. 由利健三：金沢医科大学結核研究所年報第 8 年上巻，85 (昭 24)