

血球凝集反応とツベルクリン・アレルギーの関係について

国立予防衛生研究所結核部（部長 柳沢 謙）

土 屋 皖 司

（昭和 27 年 8 月 13 日受付）

緒 言

1948 年 Middlebrook and Dubos¹⁾ により結核菌体抽出物により感作された綿羊血球による血球凝集反応が報告されて以来、多くの研究者により、その追試変法が報告されている。1950 年に至り、Scott and Smith²⁾ 及びそれとは別個に Middlebrook³⁾ は補体を加えることにより本反応を溶血反応に導いた。最近に至り、Mallie Molbo and Thaddens⁴⁾ により、血球凝集素と溶血素とは別な抗体であろうと報告されている。この反応は Middlebrook^{1,5)} Gerney Rieux et Tacquet⁶⁾ 或いは Hilson and Elek⁷⁾ 等により菌体或いは Tuberculin 中の Polysaccharide 分割により起るものであることが証明されているが、その後 Boyden⁸⁾ により、タンニン酸で処理された血球は Protein 分割を附着し、このものによつても結核血清に対し、Middlebrook の方法より、より高い稀積度において凝集の起ることが報告されている。

本反応についての報告の大部分はツベルクリン反応（以後ツ反応と略）、或いは病変との関係についてであり、本反応を結核症、特に活動性結核の有力な補助診断法として使用せんとすることに Middlebrook を始めとし、ほとんどすべての人々の研究が向い、¹⁻¹⁸⁾、多くの人々によりその可能性について報告されつつあるが中には否定的な意見をもつものもある。

しかしながらツベルクリン・アレルギー（以後ツ・アと略）の強さ、或いは感染防禦力と本反応との関係についての報告には未だ接していないのである。

一方、加熱、結核死菌流動パラフィンワクセン（以後流パラワクセンと略）についての研究は、古くから行なわれており、多くの人々によりツ・アに対する抗元性、或いは感染防禦力を確認されている。特に岡・山田等¹⁹⁾ は加熱流パラワクセンの予防ワクセンとしての可能性を報告し、金井等²⁰⁾ によつても同様な結果が得られている。

われわれは流パラワクセン接種動物におけるツ・アの強さと血球凝集価及びそれらと感染防禦力との関係を見ようとして、2、3の実験を行つたのでここに報告する。

実験材料及び実験方法

血球凝集反応及び溶血反応は、ほぼ Middlebrook の方法によつて行なつた。

1) ツベルクリン：青山-B株8週間培養のソートン・ツでPH 5.6、青山-B株加熱死菌流パラワクセン感作天竺鼠による力価試験により標準「ツ」とほぼ同力価のものである。これを30倍稀釈としPH 7.0に修正して使用した。

2) 洗滌血球：綿羊血液を Alsever's Solution²¹⁾ 中に採血し氷室に3日以上保存した後、生理食塩水（以後生食水と略）にて3回洗い、最後は2000 r.p.m. 20分間遠心沈澱し、その沈渣を洗滌血球とした。

3) 感作血球液：30倍ツ 6 c.c. に対し洗滌血球 0.1 c.c. を加え、37°C の恒温槽で2時間、時々振盪しながら感作し、生食水で3回洗つた後、20 c.c. の生食水を加え約 0.5% 感作血球浮游液とした。

4) 正常血球液：生食水 20 c.c. に洗滌血球 0.1 c.c. を加え 0.5% 正常血球浮游液とした。

5) 吸収補体：採血後 24 時間以内の健康天竺鼠血清を7頭以上混合し、使用した。補体は2倍稀釈となし氷室中にて2倍補体 15 c.c. に対し、洗滌血球 1 c.c. を加え、20分放置した後、遠心沈澱を行い、上清を吸収補体とした。

6) 可検血清：血清分離後直ちに 56°C、30分間加熱して非動性とし、血清 1 c.c. に生食水 1 c.c. を加え、これに洗滌血球 0.2 c.c. を加え良く混じり室温に20分放置した後、遠心沈澱し、さらに洗滌血球 0.2 c.c. を前の沈渣をなるべく浮遊させることなく混合し、室温に20分放置した後再び遠心沈澱を行い、この上清を2倍血清として使用した。

7) 血球凝集反応術式：血清は倍数稀釈し各試験管 0.5 c.c. の稀釈血清を含む如くし、0.5% 感作血球浮游液 0.5 c.c. を加え、37°C 2時間放置した後、室温に1晩放置し、翌朝判定した。この際、2倍稀釈血清 0.5 c.c. に 0.5% 正常血球浮游液を加えたものと及び生食水 0.5 c.c. に 0.5% 感作血球浮游液 0.5 c.c. を加えたものと、既知陽性血清一系例、陰性血清一系例を対照としてもうけた。

判定方法は、管底の沈澱状態を参考として軽く振盪し、血球の凝塊の状態により判定し陽性の最高稀釈倍数を以つて凝集価とした。

8) 溶血反応術式：凝集反応を判定した後、吸収補体を各試験管に 0.05 c.c. 加え、血球の沈澱がまったく認

められなくなる迄強く振盪し 37°C 1時間放置した後、直ちに判定した。判定方法は完全溶血を0、全く溶血しないものを4とし、その間を溶血の程度に応じ、1、2、3、の記号で表わし、完全溶血の最高稀釈度を以つて溶血価とした。

9) ツベルクリン反応: Smith and Scott⁹⁾によりツ反応により、血球凝集価に動揺が認められることが報告されているのでツ反応の影響をさける為採血の翌日天竺鼠の肢側を脱毛し、100倍及び2000倍稀釈液を各々0.1 c.c. 一カ所注射し 24及び48時間に両者とも硬結の縦径と横径とを計測しその算術平均を以つてその強さとした。

10) 免疫方法: 人型結核菌をソートン培養3週後、菌体と液体とに分ち、菌体を100°C 1時間殺菌し、洗バラで100mg/c.c. の乳剤となし天竺鼠の両股部筋肉内に各各3mg接種した。

11) 生菌感染方法: H₃₇RV株グリセリンブイヨン馬鈴薯培養2週のもの500 c.c. 丸底コルベンを用いて

生食水にて5mg/c.c. の乳剤となし、1000 r.p.m. 5分間遠心沈澱し、上清をホールピペットで取り、化学天秤で秤量上清中の菌量を知り、これより1 c.c. 中¹/₁₀mgの菌を含む如き菌液を作り、これを天竺鼠の前膊静脈内に0.1 c.c. 接種した。

実験成績

H₂株免疫天竺鼠7頭における血球凝集価とツベルクリン・アレルギーの強さの推移を第1表及び1例を第1図に示した。No. 3及びNo. 7の2頭を除いては種々なる理由により8週~12週で観察を打切つたが、全て血球凝集価は2週、4週と急に上昇し6週以後は殆んど一定の凝集価を示して経過している。

ツ・アも2週より表われ6週以後は、ほぼ一定の強さを示している。しかしながらツ・アの発現は2週ではまだ弱く血球凝集価より若干遅れるようではあるが大體血球凝集価と平行して経過している。

H₃₇RV株免疫天竺鼠45頭において、免疫後6週目に血球凝集反応とツ・アの強さとの相関を見、ツ注射3

第1表 H₂株死菌流パラワクチン免疫天竺鼠のツベルクリン・アレルギーと血球凝集価の推移

I 血球凝集価

	0	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20
3	1: 8	1: 128	1: 1024	1: 512	1: 512	1: 256	1: 512	1: 512	1: 512	1: 512	1: 512
4	1: 2	1: 32	1: 256	1: 128	1: 64	1: 512					
5	1: 2	1: 128	1: 256	1: 256	1: 256	1: 512					
6	1: 4	1: 512	1: 1024	1: 512	1: 2048	1: 4096	1: 1024				
7	1: 4	1: 1024	1: 256	1: 512	1: 512	1: 512	1: 512	1: 256	1: 512	1: 512	1: 512
8	1: 8	1: 64	1: 256	1: 512	1: 256	1: 512					
9	1: 2	1: 32	1: 2048	1: 2048	1: 1024	1: 1024	1: 1024				

II ツベルクリン・アレルギー (X100, 24時間)

	0	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20
3	0	9	14	24	20	23	23	20	15	17	19
4	0	11	14	23	19	21					
5	0	12	23	23	20	23					
6	0	10	16	23	21	22					
7	0	8	15	21	19	20	20	19	15	16	18
8	0	10	20	19	18						
9	0	17	21	21	20	23					

III ツベルクリン・アレルギー (X 2000, 24時間)

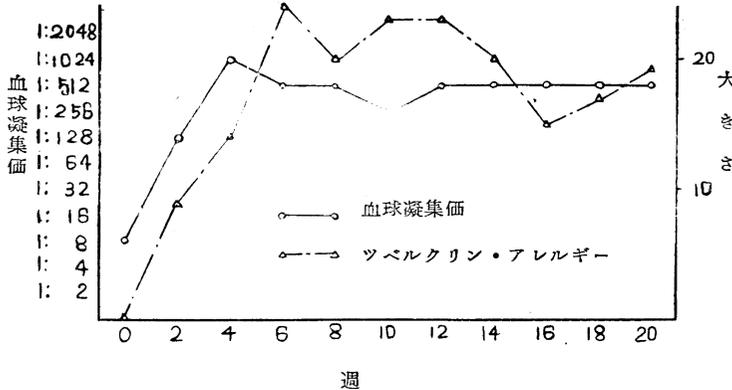
	0	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20
3	0	6	8	12	11	17	15	15	15	15	16
4	0	6	8	14	11	17					
5	0	7	17	14	12	15					
6	0	6	7	11	9	15					
7	0	5	7	10	8	13	10	10	10	12	14
8	0	6	7	10	8						
9	0	10	10	11	9	17					

日後に H₃₇RV 株生菌¹/₁₀₀mg を静脈内に接種し、さらに6週後、再び血球凝集価及び溶血価とツ・アの強さとの相関を見るときに剖検し、肺・肝・脾の定量培養を行つた。

各時期における血球凝集価、溶血価及びツ・アの強さは第2表に示す如くで、各々についての相関表は第3表より第8表に示したが、いずれも表一面に分散しておりその相関係数は第9、10表に示す如くで、全く相関々係を認めることはできなかつた。

解剖所見は第11表に示したが、免疫群と生菌対照群では、病変の強さに著明な差異を見出すことはできなかつた。死菌対照群でも或程度の病変を各淋巴腺及び肺に認めたが肝・脾には全く見られなかつた。しか

第 1 図 H₂ 株死菌流パラワクチン免疫天竺鼠 (No. 3) の
ツベルクリン・アレルギーと血球凝集価の推移



第 2 表 ツベルクリン・アレルギーと血球凝集価の一覧表

実験群別	動物番号	免疫後 6 週		感染後 6 週 (免疫後 12 週)				
		血球凝集価	ツベルクリン・アレルギー (24h)		血球凝集価	溶血価	ツベルクリン・アレルギー (24h)	
			X100	X2000			X100	X2000
免	53	1:256	11	10	1:640	1:1280	17	11
	54	1:512	19	8	1:160	1:160	21	13
	55	1:32	18	11	1:640	1:1280	23	13
	56	1:64	18	12				
	60	1:512	18	10	1:320	1:320	19	9
	61	1:1042	13	9				
	62	1:64	17	13	1:40	1:40	21	14
	63	1:512	24	12	1:320	1:1280	24	13
	64	1:64	19	12	1:320	1:1280	23	15
	65	1:1024	27	11	1:160	1:320	26	18
疫	66	1:256	23	13	1:80	1:320	26	18
	67	1:128	19	10	1:320	1:640	24	13
	68	1:1024	25	12	1:640	1:2560	25	20
	69	1:1024	23	14	1:320	1:640	23	13
	70	1:512	18	14	1:640	1:1280	24	13
	71	1:128	20	13	1:640	1:1280	23	22
	72	1:256	16	8	1:640	1:1280	26	18
	73	1:1024	19	12	1:160	1:320	20	15
	74	1:256	15	8	1:80	1:2560	22	15
	75	1:256	23	10	1:80	1:5120	25	18
群	76	1:128	16	8	1:160	1:80	24	15
	78	1:16	15	9	1:80	1:320	22	10
	80	1:128	15	11	1:320	1:640	20	13
	81	1:256	23	15	1:640	1:1280	25	17
	82	1:128	21	10	1:160	1:1280	28	17
	82(4)	1:256	17	9	1:80	1:160	20	19
	83	1:32	21	11	1:160	1:2560	22	16
	84	1:512	21	13				
	86	1:512	24	16	1:160	1:320	30	21
	87	1:256	17	8	1:160	1:1280	18	14
90	1:128	21	12	1:160	1:160	25	19	

しながら培養所見では 3 者間に著明なる差異を見出した。すなわち、免疫群では脾臓には常に多数の集落を認めたが肺・肝には非常に少なく、特に肺には全く集落の発生を認めないものもあつたが、生菌対照群では例外なく培地上一面に集落の発生を認めた。しかし死菌対照群では当然のことながら菌は全く認められなかつた。なお、第 11, 12 表の中からは少しでも溶血連鎖球菌の感染の疑いのあるものは除外した。

一方、ツ・アの強さ及び血球凝集価は病変の程度とは何等関係ない如くである。

総括及び考察

流パラワクチンによりツ・ア及び感染防禦力を生体に付与し得ることは多くの人々により報告されているが、それによる血中抗体産生に関しては、まだその報告を見ないのである。私どもは血球凝集反応を用いて流パラワクチン接種動物において血中抗体を証明し得たと信ずる。しかしそれが感染防禦と如何なる関係を有するかは不明であり今後この点に関して研究を続けるつもりである。

ツ・アと血球凝集価の消長が、ほぼ平行して経過することは、両者ともワクチンに対する生体反応の一つの表われであろうが、両反応の強さに全く相関関係の見られないことは、反応の条件が相当異なる点もあるであろうが一般に認められているようにツベルクリンの活性物質が Protein 分割中に有り、血球凝集反応が Polysaccharide 分割により起るものとすれば、各々に反応する抗体それぞれ自身が全く異なる為ではなからうか、従つて或いは Boyden の方法による血球凝集反応を行えば、ツ・アと血球凝集価との間に、より密接な相関関係を見出し得るかも知れない。

流パラワクチンで免疫した動物におけるツ・アの推移及び解剖所見について岡等は動物接種によりツ・アが発現し軽度の病変が存在することを認め、金井等も流パラワクチンを

	91	1:256	21	11	1:40	1:320	22	16
	92	1:512	24	12	1:320	1:640	22	19
	93	1:512	23	11	1:80	1:320	26	23
	94	1:1024	12	7	1:160	1:320	16	15
	95	1:1024	15	6	1:320	1:320	21	15
	96	1:256	12	8	1:20	1:20	21	15
	97	1:64	14	8	1:40	1:640	21	
	98	1:128	22	8				
	99	1:256	27	12	1:320	1:320	29	22
死菌対照群	100	1:1024	28	13	1:80	1:160	15	12
	101	1:128	20	10				
	102	1:512	19	10				
	103	1:64	23	12	1:10	1:20	23	15
	104	1:512	20	8	1:40	1:80	20	11
生菌対照群	106				1:10	1:20	12	8
	107				1:20	1:20	13	10
	108				1:10	1:10	10	11
	109				1:10	1:10	16	12
	110				1:10	1:10	17	12

皮下又は筋肉内に大量接種した場合には接種箇所のみならず肺にも著明なる変化があるが肝・脾には変化なく強いツ・アの発現を見、かつ感染防禦力を認めている。私どももほぼ同様な結果を得たが、感染防禦力については $1/100mg$ の静脈内接種という大量の菌で感染せしめた為か、明らかに認めることはできなかった。

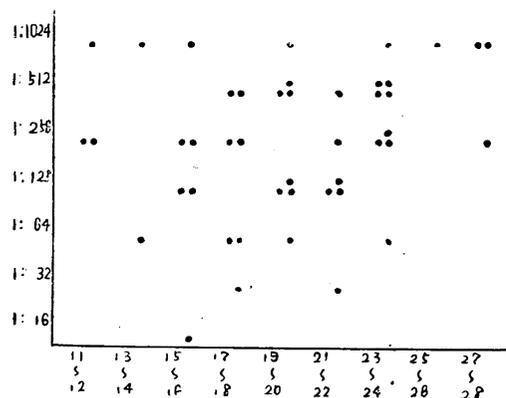
結 言

1) 人型加熱結核死菌流パラワクチン免疫天竺鼠ではツ・アは血球凝集素より若干遅れて発現するが、両者はほぼ平行して経過する。

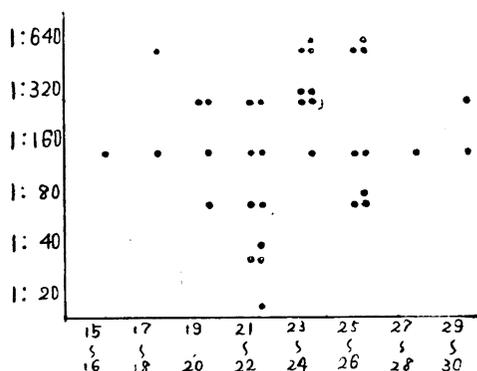
2) 人型加熱結核死菌流パラワクチン免疫天竺鼠及び免疫後生菌を感染した天竺鼠では血球凝集価或いは溶血価とツ・アの強さとは何等相関々係を見出すことはできない。

3) 人型加熱結核死菌流パラワク

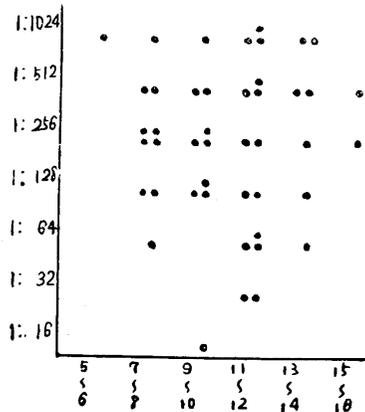
第3表 免疫後6週目のツベルクリン・アレルギー(X100)と血球凝集価との相関表



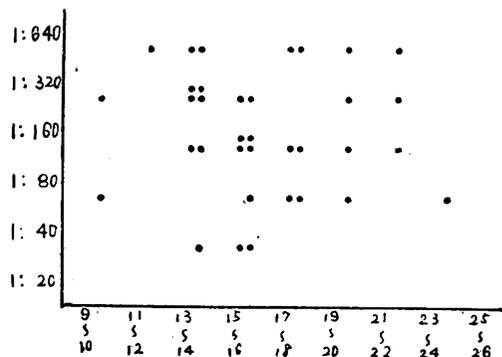
第5表 感染後6週目のツベルクリン・アレルギー(X100)と血球凝集価との相関表



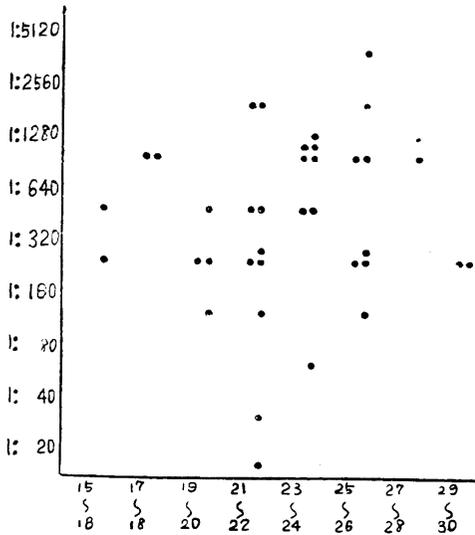
第4表 免疫後6週目のツベルクリン・アレルギー(X2000)と血球凝集価との相関表



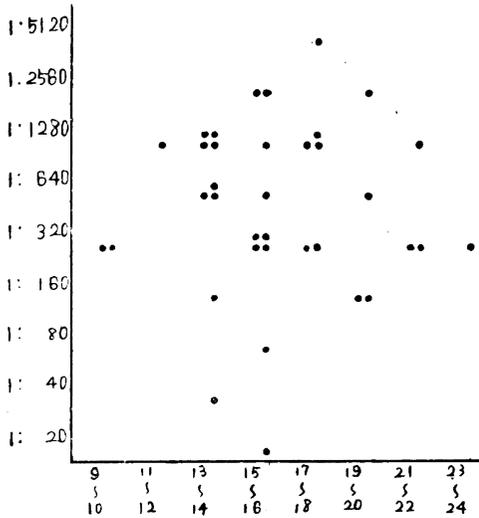
第6表 感染後6週目のツベルクリン・アレルギー(X2000)と血球凝集価との相関表



第7表 感染後6週目のツベルクリン・アレルギー(X 100)と溶血価との相関表



第8表 感染後6週目のツベルクリン・アレルギー(X2000)と溶血価との相関表



第9表 ツベルクリン・アレルギーと血球凝集価との相関係数

群 別	例 数	「ツ」の濃 度	
		X 100	X2000
免 疫 後 週	45	0.012	0.006
感 染 後 週	36	0.014	-0.031

チン免疫天竺鼠は或程度の感染防禦力を有するものと思われる。

第10表 ツベルクリン・アレルギーと溶血価との相関係数

群 別	例 数	「ツ」の濃 度	
		X 100	X2000
感 染 後 週	36	0.042	0.003

4) この実験ではツ・アの強さ、及び血球凝集価或いは溶血価と病変の程度とは関係ないものように思われる。しかし、この点については更に詳細の研究を行うつてから結論を下すべきであろう。

稿を終るに臨み種々御指導下された柳沢部長に深甚なる謝意を表するとともに、終始御援助下された浅見技官及び御協力下された、荻野、末、両君に対し感謝する次第である。

文 献

- 1) Gerdner Middlebrook and Rove J. Dubos: J. Exp. Med. 88: 521, 1948.
- 2) Nancy B. Scott and David J. Smith: J. Lab. Clin. Med. 35: 303, 1950.
- 3) Gerdner Middlebrook: J. Clin. Invest. 29: 1480, 1950.
- 4) Mallie Molbo and Thaddeus J. Katt. Am. Rev. Tuberc. 65: 194, 1952.
- 5) Gardner Middlebrook: Am. Rev. Tuberc: 62: 233, 1950.
- 6) C.H. Gerney Ricux et A. Taquet: Ann. L'inst. Past. Lille 3: 1, 1950.
- 7) Hilson and S.D.E. Elek: J. Clin. Path. 41: 158, 1951.
- 8) Stephen V. Boyden: J. Exp. Med. 93: 107, 1951.
- 9) David T. Smith and Nancy B. Scott: Am. Rev. Tuberc. 62: , 1950.
- 10) S. Fisher et E.V. Keogh: Nature 165: 248, 1950.
- 11) Stephen Fisher: Aust. J. Exp. Biol. Med. Sai, 28: 613, 1950.
- 12) Sidney Rathbard, A. S. Dooneiet and K. E. Hite: Pro. Soc. Exp. Biol. Med. 72: 74, 1950.
- 13) Stephen V. Boyden: Nature, 165: 765, 1950.
- 14) William Thalhimier and Charlotte Rowe: Am. Rev. Tuberc. 63: 667, 1951.
- 15) William M. M. Kirby, James M. Burell and Betly D'Leary: Am. Rev. Tuberc. 64: 71, 1951.
- 16) 矢追秀武・前井盈・前田博司: 総合医学 8: 109, 165, 412, 569, 昭 26.

- 17) 羽田正一・荒井保男・月岡道雄：総合医学 8：620, 昭 26。
 18) 吉田文雄：東京医事新誌 23：68, 昭 26。
 19) 阿捨己・山田俊一郎他：抗酸菌病研究雑誌, 1:1,

- 昭 21, 2: 1, 昭 22, 3: 2, 昭 23, 4: 2, 昭 24, 5: 1, 昭 24, 6: 1, 昭 25。
 20) 金井興美他：結核 26: 289, 319, 371, 昭 26。
 21) 北岡正見・総合医学 8: 476, 昭 26。

第12表 定量培養 (4週目)所見

第 11 表 解 剖 所 見

実験群別	動物番号	淋 巴 節											内 臟					平均脾重量	動物番号	肺	肝	脾		
		膝 髌		鼠 蹊		腋 窩		後腹膜		門 脈	後 胸 骨	氣 管	肺		腎		肝						脾	
		左	右	左	右	左	右	左	右				左	右	左	右								
免 疫 群	54	+	⊕	+	+	+	+	+	+	+	+	⊕	-	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	1.3	54	+	+	⊕
	55	⊕	⊕	+	+	+	+	+	+	⊕	-	⊕	-	⊕	⊕	-	-	+	⊕	1.7	55	+	+	⊕
	60	⊕	⊕	+	+	+	+	+	+	+	-	⊕	+	+	-	-	+	⊕	⊕	1.1	60	⊕	⊕	⊕
	63	⊕	⊕	+	+	+	+	+	+	+	+	⊕	+	⊕	⊕	-	-	⊕	⊕	0.9	63	+	+	⊕
	64	⊕	⊕	+	+	+	+	+	+	⊕	+	⊕	+	⊕	⊕	-	-	⊕	⊕	1.7	64	-	+	⊕
	65	+	+	+	+	+	+	+	+	⊕	+	⊕	-	+	-	-	⊕	⊕	⊕	1.8	65	+	+	⊕
	66	⊕	⊕	+	+	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	-	⊕	⊕	⊕	⊕	-	-	⊕	+	1.0	66	+	+	⊕
	68	⊕	+	+	+	+	+	+	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	-	-	⊕	⊕	7.0	68	+	+	⊕
	69	⊕	⊕	+	+	+	+	+	+	⊕	+	⊕	⊕	⊕	⊕	-	-	-	⊕	1.3	69	⊕	⊕	⊕
	70	⊕	⊕	+	+	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	+	⊕	⊕	⊕	⊕	-	-	⊕	⊕	1.9	70	⊕	⊕	⊕
	71	⊕	⊕	+	+	+	+	⊕	⊕	+	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	-	-	⊕	⊕	1.0	71	⊕	+	⊕
	73	⊕	+	+	+	+	+	+	+	⊕	+	⊕	⊕	⊕	⊕	-	-	⊕	⊕	1.2	73	+	+	+
	75	⊕	+	⊕	⊕	+	+	+	+	⊕	-	+	+	+	-	-	-	⊕	⊕	1.3	75	-	+	⊕
	78	⊕	⊕	+	+	+	+	+	+	⊕	+	⊕	⊕	⊕	⊕	-	-	⊕	⊕	1.2	78	⊕	⊕	⊕
	81	+	+	+	+	+	+	+	+	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	-	-	⊕	⊕	3.1	81	-	+	⊕
	82	⊕	⊕	+	+	+	+	+	+	⊕	-	⊕	⊕	⊕	⊕	-	-	⊕	⊕	1.8	82	+	+	+
	83	⊕	⊕	+	+	+	+	+	+	⊕	+	⊕	⊕	⊕	⊕	-	-	⊕	⊕	1.2	83	-	+	⊕
	86	⊕	⊕	+	+	+	+	+	+	⊕	+	⊕	⊕	⊕	⊕	-	-	⊕	⊕	2.5	86	+	+	⊕
	90	⊕	⊕	+	+	+	+	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	+	-	-	⊕	⊕	4.3	90	⊕	+
91	⊕	⊕	+	+	+	+	⊕	⊕	⊕	-	⊕	⊕	⊕	⊕	-	-	⊕	⊕	2.3	91	-	+	⊕	
92	⊕	⊕	+	+	+	+	+	+	⊕	+	⊕	⊕	⊕	⊕	-	-	⊕	⊕	7.0	92	-	⊕	⊕	
93	+	⊕	+	+	+	+	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	+	+	⊕	⊕	9.7	93	-	+	⊕	
94	+	⊕	+	+	+	+	+	+	+	+	⊕	⊕	⊕	⊕	-	-	⊕	⊕	1.2	94	-	⊕	⊕	
95	⊕	⊕	+	+	+	+	+	⊕	⊕	+	⊕	⊕	⊕	⊕	-	-	⊕	⊕	2.5	95	⊕	⊕	⊕	
96	⊕	⊕	+	+	+	+	⊕	⊕	⊕	-	⊕	+	+	-	-	⊕	⊕	⊕	2.7	96	+	⊕	⊕	
97	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	+	+	+	⊕	+	⊕	⊕	⊕	⊕	-	-	⊕	⊕	2.1	97	+	+	⊕	
99	+	⊕	⊕	⊕	+	+	⊕	⊕	⊕	+	⊕	⊕	⊕	⊕	-	-	⊕	⊕	3.0	99	⊕	+	⊕	
死菌对照群	84	⊕	+	+	+	+	+	+	⊕	-	+	+	+	-	-	-	-	-	0.6	84	-	-	-	
	103	⊕	⊕	+	+	+	+	+	⊕	-	⊕	+	+	-	-	-	-	-	1.1	103	-	-	-	
	104	+	+	+	+	+	+	+	+	-	⊕	⊕	⊕	-	-	-	-	-	0.7	104	-	-	-	
生菌对照群	106	+	+	+	+	+	+	+	⊕	-	⊕	+	+	-	-	⊕	⊕	2.8	106	∞	∞	∞		
	107	+	+	+	+	+	+	+	+	-	⊕	+	+	-	-	⊕	⊕	2.7	107	∞	∞	∞		
	108	+	+	+	+	+	+	+	+	-	⊕	+	+	-	-	⊕	⊕	9.5	108	∞	∞	∞		
	109	+	+	+	+	+	+	+	+	-	⊕	+	+	-	-	⊕	⊕	2.3	109	∞	∞	∞		
	110	+	+	+	+	+	+	+	⊕	-	⊕	⊕	⊕	-	-	⊕	⊕	2.5	110	∞	∞	∞		

註：集落数 0 = -, 1~50 = +, 50~100 = ⊕, 100~200 = ⊕, 200~300 = ⊕, 300~400 = ⊕, 400~∞ = ∞