

わが国のツベルクリンと欧米のツベル

クリンとの力価の比較試験

国立予防衛生研究所結核部（部長 柳沢 謙）

柳沢 謙・室橋 豊穂・浅見 望

細井 正春・土屋 皖司

（昭和 29 年 7 月 6 日受付）

I 緒 言

さきにわれわれ¹⁾はわが国の旧ツベルクリン（予研標準液）の力価が米国ミシガン州の Department of Health の旧ツベルクリン（国際標準液と等力価とされている）とほぼ等力価であることを発表した。その後昭和 26 年著者の一人 柳沢は米国視察の際ニューヨーク州 Albany の State Department of Health より標準の旧ツベルクリンの分与を受けたので、これをわが国のものと比較したところ、わが国の標準液がやや弱かつたので、昭和 26 年秋の専門委員会にはかり標準ツベルクリンの力価を Albany のものに一致せしめることになり、昭和 27 年 3 月 1 日以降予研においては新しい標準液によつて検定することとなつた。したがつてこの新規準に合格したツベルクリンが市販に出たのは同年 5 月以降であらう。このようにして力価の補正が行われたが、一方において BCG ワクチンの製法が改良され細菌単位数の高いものが使用されるようになったため BCG による陽性率の上昇が顕著になり、ツベルクリンの力価が高過ぎるのではあるまいかとの声も聞かれるようになった。

ところが昭和 27 年著者の一人室橋はデンマークの

State Serum Institute の Tuberculin Department より国際標準の旧ツベルクリン及び PPD の分与を受け、更にスウェーデン、ノールウェー、英国等の旧ツベルクリンも入手することができたのでこれら各国のもの並びにさきに柳沢が米国の Albany より分与されたもの等について、わが国のツベルクリンを標準液として現行の力価試験方法にしたがつて力価の比較実験を行つた。以下その成績の概要を報告する。

II 実験材料

本実験に使用した各国のツベルクリン及び PPD の経歴は第 1 表のようである。スウェーデンのツベルクリンは 100 倍稀釈のものを入手したが、その他の旧ツベルクリンはすべて原液の状態で送附を受けた。またスウェーデンの OT は人、牛型半々混合したものである。デンマークの PPD はいずれも磷酸緩衝液で稀釈したものを入手した。

ツベルクリンの稀釈にはすべて磷酸硼砂緩衝液を用い、予研のツベルクリンを 1:2,000 に稀釈したものを標準液とした。他国のものは 1:2,500, 1:2,000, 1:1,660 の 3 稀釈系列を使つた。但しデンマーク及びノールウェー

Table 1 History of tuberculin.

| Tuberculin | Country | Place of manufacture | Concentration | Lot No. | Date of manuf. or expiration date | Potency |
|------------|---------|--|------------------------------------|---------------|-----------------------------------|---------------|
| OT | Japan | National Institute of Health, Tokyo. | original solution | No. 3 | prepared July 1st 1949 | |
| | Denmark | State Serum Institute Tbc. Department, Copenhagen. | original solution | bath June '50 | Prepared Oct. 19th 1950 | strength 1.7× |
| | Sweeden | State Bacteriological Laboratory, Stockholm. | 1:100 0.1 cc = 1 mg | 11/52 | expiration Apr.-June 1952 | |
| | Norway | Veterinary Institute, Oslo. | original solution | | expiration Mar. 10th 1952 | strength 1.7× |
| | England | Allen & Hanburys LTD, London. | original solution | No. 624 | expiration June 1952 | |
| | America | State Department of Health, Albany, New York. | original solution | No. 52 | expiration Sepe. 14th 1952 | |
| PPD | Denmark | State Serum Institute Tbc. Department, Copenhagen. | 1,3,5,10 TU per 0.1cc | | prepared June 1st 1952 | |
| | " | " " | stock solution 50,000 TU per cc | batch No. 22 | prepared May 17th 1952 | |

の旧ツベルクリンには、その力価が国際標準液の1.7倍と記してあるので、予め原液1分に稀釈液0.7分を加えた後他のツベルクリンと同様に必要な稀釈系列を作った。なお本実験はいずれも有効期間内において実施した。

Ⅲ 実験方法

1 動物による力価試験法

(1) 感作動物：400~500gの健康なモルモットに人型結核菌青山B株の死菌を流動パラフィンに浮遊させたもの6mgを両腹部筋肉内に注射し、約8週間経てから1:2,000のOT 0.1ccを皮内注射し24時間後に10~20mmの硬結を呈する感作度のもののおの5匹ずつを使用した。

(2) 注射方法：背腹部の毛を刈り、一側には1:2,000の標準液、他側には前記濃度の各稀釈液をおのの0.1cc宛2カ所に皮内注射した。

(3) 判定時間：注射後24及び48時間の2回、硬結の大きさを測定した。

2 人体における力価試験法

(1) 対象集団：これらの集団の大多数はBCG接種者であり、これにごく少数の自然感染者を含む学童であつて、これら集団の標準液による陽性率は90%以上を示している。

なおこれらの集団は本試験より約6カ月前にツベルクリンを左右前膊屈側に皮内注射を行つている。

(2) 注射方法：各国の1稀釈液毎に約100名を使用し、その約半数には前膊屈側の右側に標準液、左側に試験品を、残りの半数には逆に右側に試験品、左側に標準液をおのの0.1ccずつ皮内注射した。

(3) 判定方法：注射後48時間における発赤の大きさ、硬結の有無、及び水泡の有無等を測定した。

(4) Ratioの計算法：標準液及び試験液による反応の発赤が10mm以上ある者で、二重発赤及び水泡等の強反応が一侧にでもある者を除いた全例について、各個人の標準液による発赤の大きさをもつて、試料液による発赤の大きさを除いた比を総計し、これが平均値を求めてRatioとした。

Ⅳ 実験成績

1 動物による力価試験

感作モルモット5匹ずつを用いて行つた、硬結によるRatioは第2表に示すごとくである。すなわちデンマークのOT 1:2,000の24時間目のRatioは0.91、48時間では0.97であつた。したがつてこの濃度ではわが国の標準液よりやや弱く表われている。次で1:1,660について見るに前者より反応はやや大きくなつているが、24時間におけるRatioは0.94でまだ弱い。次に他国のものの24時間目のRatioについて見ればスウェーデンの1:1,660が1.03、英国の1:2,000が0.98、米国の

1:2,000が1.03、ノルウエーの1:2,500が0.97であつて、これら各国のものは前記濃度において予研のOT1:2,000とはほぼ等しい値を示している。要するに動物による力価試験の結果予研の標準液と等しいのは英国及び米国のOTであり、デンマーク及びスウェーデンのものはやや弱く、ノルウエーのものはやや強い成績となつた。更にPPDについてみるのに、予研OT1:2,000 0.1ccすなわち0.05mgに対し、PPD 10TU (0.2γ)を用いた場合の24時間のRatioは0.88で明らかに弱く、25TU (0.5γ)では1.02となりほぼ等しい値を得た。また50TU (1.0γ)では反応も強くなりRatioは1.27となつた。

Table 2 Potency test in sensitized guinea pigs.

| Tuberculin | Country | Dilution | Ratio | |
|------------|---------|-------------|--------|--------|
| | | | 24hrs. | 48hrs. |
| OT | Denmark | 1:2,500 | 0.62 | 0.64 |
| | | 1:2,000 | 0.91 | 0.97 |
| | | 1:1,660 | 0.94 | 0.84 |
| | Sweeden | 1:2,500 | 0.77 | 0.71 |
| | | 1:2,000 | 0.95 | 0.86 |
| | | 1:1,660 | 1.03 | 1.07 |
| | Norway | 1:2,500 | 0.97 | 0.78 |
| | | 1:2,000 | 1.09 | 0.94 |
| | | 1:1,660 | 1.21 | 1.15 |
| | England | 1:2,500 | 0.71 | 0.72 |
| | | 1:2,000 | 0.98 | 0.95 |
| | | 1:1,660 | 1.17 | 1.15 |
| America | 1:2,000 | 1.03 | 1.05 | |
| PPD | Denmark | 10 TU(0.2γ) | 0.88 | 0.87 |
| | | 25 TU(0.5γ) | 1.02 | 1.12 |
| | | 50 TU(1.0γ) | 1.27 | 1.26 |

Note: Mean of the ratios of individual redness.

2 人体による力価試験

これらの成績のうち、陽性率、硬結触知数及び二重発赤発生数等を第3表に示し、又Ratio及び発赤の平均値等を第4表に示した。表示の如くわれわれの使用した対象はほとんどが陽性反応を呈するものであるから、濃度差の顕著なPPDの1TUと3TU以外は陽性率の差が顕著でない。故にその他の反応並びに発赤の度数分布曲線及び相関表(表示せず)等を考慮に入れて力価の比較検討を行つた。すなわちデンマークのOT 1:2,500におけるRatioは1.00となつて、ほぼ等しいが発赤平均値の差も1.1mmとやや大きく、硬結触知数、二重発赤発生数等は標準液よりやや弱い。しかるに1:2,000のRatioは1.05、発赤の平均値差も0.6mmで僅少となり、他の諸反応もほぼ等しいので、この濃度が標準液とほぼ等しい値であると思われる。更に1:1,660ではRatioははじめ発赤平均値、分布曲線等の相違もやや大きくなつている。但し、硬結及び二重発赤等には大差を認められない。このような成績からデンマークの国際

Table 3 Tuberculin reactions of human beings.

| Tuber- culin | Country | Dilution | No. Examd. | Sample tested | Percentage of positive | | Indu- ration | Double redness | |
|-----------------|----------|-----------|---------------|------------------|---------------------------|--------------|-----------------|-------------------|----------|
| OT | Denmark | 1 : 2,500 | 88 | S T | 87 87 | 99.0 99.0 | 34 29 | 5 2 | |
| | | 1 : 2,000 | 95 | S T | 89 89 | 94.7 94.7 | 30 30 | 5 6 | |
| | | 1 : 1,660 | 98 | S T | 98 98 | 100 100 | 32 34 | 6 7 | |
| | Sweedeen | 1 : 2,500 | 102 | S T | 95 86 | 93.2 84.3 | 29 20 | 3 3 | |
| | | 1 : 2,000 | 100 | S T | 95 88 | 95.0 88.0 | 17 16 | 1 1 | |
| | | 1 : 1,660 | 85 | S T | 83 82 | 97.7 96.5 | 28 23 | 4 3 | |
| | Norway | 1 : 2,500 | 86 | S T | 83 82 | 96.5 95.3 | 60 54 | 2 2 | |
| | | 1 : 2,000 | 87 | S T | 86 86 | 98.9 98.9 | 49 49 | 3 3 | |
| | | 1 : 1,660 | 87 | S T | 85 85 | 97.7 97.7 | 38 55 | 5 6 | |
| | England | 1 : 2,500 | 91 | S T | 84 85 | 92.3 93.4 | 23 20 | 1 3 | |
| | | 1 : 2,000 | 114 | S T | 111 111 | 97.4 97.4 | 9 7 | 1 0 | |
| | | 1 : 1,660 | 99 | S T | 95 95 | 95.9 95.9 | 26 24 | 2 6 | |
| | America | 1 : 2,500 | 82 | S T | 81 82 | 98.8 100 | 13 10 | 1 2 | |
| | | 1 : 2,000 | 78 | S T | 78 78 | 100 100 | 10 12 | 1 3 | |
| | | 1 : 1,660 | 84 | S T | 81 79 | 96.4 94.2 | 29 23 | 9 9 | |
| | PPD | Denmark | 1 TU | 103 | S T | 91 60 | 88.3 58.2 | 33 26 | 13 5 |
| | | | 3 TU | 83 | S T | 82 72 | 98.8 86.8 | 35 32 | 10 11 |
| | | | 5 TU | 93 | S T | 89 86 | 95.7 92.5 | 38 55 | 17 18 |
| 10 TU | | | 89 | S T | 86 88 | 96.6 98.7 | 42 65 | 15 33 | |
| 5 TU | | | 97 | S T | 94 95 | 96.8 97.9 | 43 46 | 2 0 | |
| 10 TU | | | 90 | S T | 87 87 | 90.6 90.6 | 16 28 | 0 0 | |

Note; S-1:2,000 diluted Japanese OT.

T- Test tuberculin.

標準旧ツベルクリンと予研の標準液とはほぼ等力価であると考えられる。このようにして検討してゆくると予研の標準液 1 : 2,000 に対しスウェーデンの OT は 1 : 1,660 でもかなり弱く、ノルウェーの OT は 1 : 2,000 と 1 : 2,500 との間が等力価を示し、英国のものは 1 : 2,000 がほぼ等力価を示し、米国のものは 1 : 2,500 でもやや強かった。すなわちスウェーデン以外の 4 カ国から送られた OT と予研の OT とはほぼ等力価であった。次に PPD について見るに、1 及び 3TU では明らかに陽

性率、硬結触知数、分布曲線、Ratio 及び発赤平均値等は低い。5TU では諸反応がほぼ予研の 1 : 2,000 と等しく、10 TU では明らかに強くなっている。この外 PPD の 0.1% Stock Solution より当所において稀釈したものについても 5TU のものが予研の 1 : 2,000 とほぼ等力価であった。

ただいずれの試験においても発赤の大きさや程度がほぼ等しいような場合においても硬結のみは常に PPD が OT よりも強く表われていた。

V 考 按

ツベルクリンの力価試験のため動物及び人体の皮内反応を応用してきたのはここ数十年以前からである。そのうち主なものを拾つてみるに、感作動物に標準液と未知液の数種稀釈液を皮内注射し、それら両反応の Sign Test によつて判定しているのは Bunney & Gottschall²⁾, Clark & Follin³⁾, Holm & Lind^{4,5)}, Seibert^{6,7)}, 等である。また両反応の総計の比 (Ratio) によつて判定しているのは Michigan Department of Health⁸⁾ で行われているものである。これに対しいわゆる力価を数学的に取り扱っているのは柳沢⁹⁾, 梅沢¹⁰⁾, Chen

& Sarber¹¹⁾, 吉永¹²⁻¹⁴⁾ 等であつて注目に値する方法であろう。

また人体における試験法では、Plunkett & Siegal¹⁵⁾ 等は標準液と未知液とによる陽性率の比較をなし、Seibert は両反応の平均値の比較をなし、Michigan の方法は両反応の Ratio によつておる。これに対して Jensen¹⁶⁾, Holm⁴⁾ 及び Lind⁵⁾ 等の方法は標準液及び未知液ともに 4 種稀釈液を作り、これを両腕に皮内注射し、Signtest による比較をなしている。

Table 4 Tuberculin potency test in human.

| Tuberculin | Country | Dilution | Ratio | Mean diameter of redness (mm) | |
|------------|---------|----------|-------|-------------------------------|--------|
| | | | | Std. | Tested |
| OT | Denmark | 1:2,500 | 1.00 | 24.2 | 23.1 |
| | | 1:2,000 | 1.05 | 21.8 | 22.4 |
| | | 1:1,660 | 1.05 | 23.0 | 24.5 |
| | Sweden | 1:2,500 | 0.91 | 20.4 | 16.7 |
| | | 1:2,000 | 0.94 | 21.1 | 18.6 |
| | | 1:1,660 | 0.96 | 20.3 | 19.2 |
| | Norway | 1:2,500 | 0.99 | 23.4 | 22.3 |
| | | 1:2,000 | 1.07 | 21.3 | 23.8 |
| | | 1:1,660 | 1.09 | 22.1 | 23.8 |
| | England | 1:2,500 | 0.99 | 20.9 | 21.0 |
| | | 1:2,000 | 1.01 | 23.2 | 23.6 |
| | | 1:1,660 | 1.07 | 21.8 | 23.6 |
| | America | 1:2,500 | 1.06 | 20.5 | 21.9 |
| | | 1:2,000 | 1.06 | 20.0 | 21.4 |
| | | 1:1,660 | 1.12 | 19.0 | 21.6 |
| PPD | Denmark | 1 TU | 0.89 | 19.4 | 11.1 |
| | | 3 TU | 0.92 | 21.8 | 18.6 |
| | | 5 TU | 1.00 | 23.6 | 23.7 |
| | | 10 TU | 1.09 | 22.6 | 29.5 |
| | | 5 TU | 1.00 | 24.4 | 24.2 |
| | | 10 TU | 1.06 | 24.8 | 26.2 |

かくの如くツベルクリンの力価試験法は、各国の研究者によつてまちまちである。これはツベルクリン反応そのもの実施方法並びに判定法が異なるためであろうと思われる。しかし現在 W・H・O. においては、Holm 及び Lind 等の方法を採用しているが、世界各国が W・H・O. の方法を実施しているとは限らないようである。またこの方法とても必ずしも正確を期し得ないことは Holm も云つているところである。わが国では戦争のため数年間の空白があり、その後進駐して来た米国の示唆によつて、昭和 24 年以来現行の力価検定法¹⁷⁾が実施されている。この方法は主として米国ミシガン州の Department of Health において実施されている方法と、従来からわが国において実施されている方法を参照して作られたものであつて、決して完全なものとは云えない。しかし当時われわれ¹⁸⁻²⁰⁾はこの方法を決定するため種々な感作動物と種々な集団の人体とに対し、種々な稀釈濃度のツベルクリンを注射して検討したところアレルギーの一定した動物及び人体においては Ratio と稀釈濃度とがよく一致することを認めた。しかるに最近ツベルクリンの頻回注射や、BCG の接種回数が多いこと等の影響で、検定実施の当初に比しツベルクリン反応そのものの様相もかなり違つてきたのでツベルクリンの力価試験法についても再検討を加える必要に迫られてきた故に、この目的のため反応そのものについて、推計学的な検討を加えているから近い将来によりよき力価試験法が見出されるであろう。それまでは現行の検定法を守らなければならずには混乱を招くおそれがあると思う。

以上の如くわが国の標準液と欧米各国のものとを比較

した結果では、スウェーデンのものを除いてデンマーク、ノルウェー、英国及び米国等の OT とわが国の OT とはほぼ一致した力価であることがわかつた。ただこれら外国の OT の製造用菌株、培地、製法等は著者の一人室橋²¹⁾の見聞したところによれば各国各様であつて、なら統一されていない。また W・H・O. の国際標準精製ツベルクリンには PT (Purified Tuberculin) が用いられておる。これは Jensen Lind 等によつて 1938 年以来製造されているものであつて、その製造法は米国の Seibert 等の PPD とは多少異なる。このようにツベルクリンそのものも各国が統一されていない現況であり、その上ツベルクリン反応の検査方法に至つては更に各国各様であることはすでに著者²²⁾の一人が報告したところである。今後出来得れば使用ツベルクリン、力価試験法並びにツベルクリン反応判定規準等の標準化の一日も早からん事を望んで止まない。

VI 結 言

現行のツベルクリンの基準によつてわが国において現在使用中の標準ツベルクリンの力価をデンマーク、ノルウェー、英国及び米国等のツベルクリンの力価と動物及び人体を用いて比較したところ、ほぼ等力価であつた。ただスウェーデンのものはやや弱いように思われた。またデンマークの PT 5TU (0.1γ/0.1 cc) とわが国の OT 1:2,000 (0.05 mg/0.1 cc) とほぼ等力価であつた。

人体試験に御協力された研究室各位に深謝する。この研究費の一端は文部省科学研究費の補助を受けたのでここに謝意を表する。

文 献

- 1) 柳沢謙・浅見望：結核，27，25 (1952)。
- 2) Bunney, W.E. & Gottschall, R.Y.: Proc. Soc. Exp. Biol. & Med., 39, 71 (1938)。
- 3) Clark, L.T. & Follin, S.T.: Am. Rev. Tbc., 46, 77 (1942)。
- 4) Holm, J. & Lind, P.: U. S. Pub. Health Rep., 62, 188 (1947)。
- 5) Lind, P.: Acta. Tbc. Scand., 21, 145 (1947)。
- 6) Seibert, F.B. & Du Four, E. H.: Am. Rev. Tbc., 41, 471 (1940)。
- 7) Seibert, F.B. & Du Four, E. H.: Am. Rev. Tbc., 58, 363 (1948)。
- 8) Michigan, Department of Health (U.S.): Tuberculin, (1948)。
- 9) 柳沢謙：結核とツベルクリン反応，日本医書出版株式会社，昭 22 (1947)。
- 10) Umezawa, H. & Shiozawa, F.: Japa. Med. J., 1, 62 (1948)。
- 11) Chen, G. & Sarber, R.W.: Am. Rev. Tbc., 59, 692 (1949)。
- 12) Yoshinaga, K.: Japa. J. Med. Sci. & Biol., 6, 425 (1953)。

- 13) Yoshinaga, K.: Japa. J. Med. Sci. & Biol., 6, 533 (1953).
- 14) Yoshinaga, K.: Japa. J. Med. Sci. & Biol., 6, 613 (1953).
- 15) Plunkett, R.E. & Siegal, W.: Am. Rev. Tbc., 35, 296 (1937).
- 16) Jensen, K. A., Bindslev, G., Möllor, S., Hansen, A. & Lind, P.: Tubercle, 19, 386(1938).
- 17) 厚生省: 生物学的製剤基準, (1954).
- 18) 柳沢謙・浅見望・土屋皖司: 結核, 27, 21(1952).
- 19) 柳沢謙・浅見望: 結核, 27, 62 (1952).
- 20) 柳沢謙・浅見望: 結核, 27, 113 (1952).
- 21) 室橋豊穂: 医学通信, 8 (369), 5 (1953).
- 22) 室橋豊穂: 結核の臨床, 2, 14 (1954).

