

結核症におけるツベルクリン感作赤血球凝集反応

東京大学医学部冲中内科教室

吉田清一・原沢道美

(昭和28年9月1日受付)

I 緒言

結核症における血清反応については、既に凝集反応・沈降反応・補体結合反応等が多数試みられているが、その成績は報告者により必ずしも一致せず、又その術式はかなり煩雑で、未だ臨床的に広く応用せられるには至っていない。1948年 Middlebrook & Dubos¹⁾は綿羊赤血球を結核菌の多糖類分割にて処置すると、その血球と結核菌患動物又は結核患者血清との間に特異的な血球凝集反応が起ることを報告した。本法はその操作も比較的容易であり、又活動性結核の判定に際して何等かの指標を与えるのではないかという暗示を含んでいた為、今日迄に多数の追試を受けている。

著者等は本反応について文献的考察を加え、更に肺結核患者及び実験的家兎結核症について本反応を追試し、あわせて二、三の実験を行つたのでその成績をここに報告する。

II 文献的考察

Middlebrook & Dubos 自身はこの反応の診断的価値については言及しなかつたが、補体結合反応の如き他の血清学的診断法より特異性が大であるという点から、多くの追試がなされると共に種々の改良が加えられた。すなわち第I表に示す通り、抗原には結核菌菌体多糖類分割の代りに旧ツベルクリンを用いたり、又使用血球には綿羊血球の代りにO型人血球を使用することにより異種凝集素吸収の不便が除かれた。

第 I 表

報告者	抗原材料	使用血球
Middlebrook & Dubos	結核菌菌体多糖体	綿羊
Fisher & Keogh	結核菌菌体多糖体	綿羊
Rothbard	旧ツベルクリン	綿羊
Smith & Scott	旧ツベルクリン	綿羊
Sohier	旧ツベルクリン	綿羊
Gerner-Rieux	(結核菌菌体多糖体 旧ツベルクリン)	綿羊
Kirby	旧ツベルクリン (PPD)	綿羊
Boyden	旧ツベルクリン	綿羊
Thalheimer	旧ツベルクリン	人O型
矢 追	旧ツベルクリン	鶏
熊 谷	旧ツベルクリン	人O型
小 路	旧ツベルクリン	人O型

次に現在迄の報告の中から主な成績を表示すると第II

表の如くで、陽性率は高いところでは Rothbard, 矢追, 熊谷, Brodhage の 80~90% から低いところでは, Runyon, Hall の如く 50~60% でかなりの幅が見られるが、抗原、方法及び判定尺度等が多少とも異なるため、個々の結果を比較判断するのは実際には困難である。すなわち Brodhage は 1:20 以上を陽性と見做し、それに対し Scott & Smith は 1:2 を陽性としている。従つて各報告者の意見もまちまちで Rothbard はこの反応の診断的価値のみならず結核症における活動性の有無をも示し得るといつており、Gerner-Rieux も Rothbard の観察を確認してこの反応の特異的なことを認めているのに対し、Smith & Scott は臨床的活動性を決定する反応ではないと結論し、Kirby¹⁷⁾ も Smith & Scott に似た結果を出してその不完全さを一部旧ツベルクリンの不純粗雑という点に帰している。又他方健康者及び他の疾患患者の場合における陽性率についても、Runyon は 20% という数字をあげているのに反し、Rothbard によれば 0% であつて、たとえ陽性に出ても 4 倍稀釈以下に止まると述べている。

III ツベルクリン感作赤血球凝集反応の術式

著者は熊谷氏に倣いO型人血球を用い、抗原には東京大学伝染病研究所製旧ツベルクリンを使用した。

まず 3.8% 枸橼酸ソーダ液で凝固を防いだO型人血球を磷酸緩衝液加生理的食塩水で2回洗滌し、その血球 0.5cc を旧ツベルクリン原液の 15 倍稀釈液 5cc に加え 2 時間 37°C の恒温槽中で感作する。この間血球の沈澱を防ぐため15分毎に軽く振盪。次にこの感作赤血球を緩衝液加生理的食塩水で3回洗滌する。この時遠心沈澱は 1000 回転 6 分間行う。回転数が多いと溶血をおこす恐れがある。その 0.1cc を 40cc の緩衝液加生理的食塩水に浮遊させて 0.25% の感作赤血球浮遊液を作る。なお対照として同様 0.25% の非感作赤血球浮遊液を用意する。

人血清の場合は採血後血清分離し 56°C 30 分加熱して非働化し氷室に保存する。

4 倍稀釈の可検血清を出発稀釈液とし用意した 10 本のワッセルマン試験管を使いヴィダール反応を行うと同じように倍数稀釈する。稀釈抗体液は 0.3cc でその各々の試験管に 0.25% 感作赤血球浮遊液 0.1cc 加え、良く振盪して 2 時間 37°C 恒温槽に保つ。その間 20~30 分毎に良く振盪する。恒温槽より取りだして夏季なら氷室に、その他の季節なら室温に放置し翌朝判定し陽性の最

第 II 表

報 告 者	結核患者 (すべての形 を含めて)		治療せる結核 患者		非結核患者及 び健康者	
	数	陽性率(%) 1:8以上	数	陽性率(%) 1:8以上	数	陽性率(%) 1:8以上
1. Rothbard et al ²⁾	168	92%	33	0	110	0
2. Smith & Scott ³⁾	104	83%	—	—	—	—
3. Gernez-Rieux et al ⁴⁾	370	77%	—	—	233	7%
4. Sohier ⁵⁾	27	74%	74	16%	47	15%
5. Runyon et al ⁶⁾	89	44%	53	13%	98	20%
6. Mc Dearman ⁷⁾	124	59%	—	—	—	—
7. Hall ⁸⁾	151	56%	61	21%	67	11%
8. Molloy ⁹⁾	100	69%	—	—	88	30%
9. Adcock et al ¹⁰⁾	66	54.5%	55	30.9%	201	13.4%
10. 矢 迫 ¹¹⁾	155	陽性率(%) 1:10以上	—	—	157	9%
		93%	陽性率(%) 1:7以上	—		
11. 熊 谷 ¹²⁾	182	94.5%	60	18.3%	—	—
		陽性率(%) 1:2以上	陽性率(%) 1:2以上	陽性率(%) 1:2以上		
12. Smith & Scott ¹³⁾	50	76%	40	75%	15	0
13. Sohier et al ¹⁴⁾	31	75%	—	—	185	8
		陽性率(%) 1:16以上	陽性率(%) 1:16以上	陽性率(%) 1:16以上		
14. Averzu & Schiesaro ¹⁵⁾	90	77%	—	—	—	—
		陽性率(%) 1:20以上	陽性率(%) 1:20以上	陽性率(%) 1:20以上		
15. Brodhage ¹⁶⁾	104	93%	—	—	—	—

対照としては非結核性疾患患者及び健康者で、ツベルクリン反応陽性ではあるが「レ」線上異常所見なく、且つ結核に関する既往歴を持たないもの50例を選んだ。なお上述の対照群の範囲に入るもの中「ワッセルマン」反応(卅)のものを別にとり上げその30例についても本反応を行った。

2 実験成績

以上の各群について本反応を行った成績は第 III 表の如くである。1:8 以上を陽性と判定するとその陽性率は軽症肺結核症では 51.2%、中等症肺結核症では 93.6%、重症肺結核症では 100% で全体についてみれば 83.3% の陽性率である。これに反し健康者及び非結核患者50例の対照群では14%の陽性率を示し、又ワッセルマン反応(卅)の対照群では13.3%の陽性率をみた。

すなわち肺結核患者と対照群である健康者及び非結核患者の陽性率の間には、推計学的に明らかに有意の差が認められた。又肺結核症の 3 群の間では、その陽性率は疾患が進行するにつれ、すなわち重症陽性率は高くなり、中等症及び重症肺結核症において

高稀釈倍数をもつて凝集価とした。対照として可検血清 0.1cc に0.25%非感作赤血球浮游液 0.1cc 加えたもの、緩衝液加生理的食塩水に感作赤血球浮游液を加えたもの及び常にある程度高値を示す結核感染家兔血清に感作赤血球浮游液を加えたものとを置いた。

IV 肺結核症におけるツベルクリン感作赤血球凝集反応

1 実験材料

被検者は当内科入院患者及び外来患者より選んだ肺結核症患者 150 名でこれを胸部レ線所見及び臨床的所見より軽症・中等症及び重症肺結核症の 3 型に分類した。

すなわち

〔軽症肺結核症〕 著明な自覚症状なく、「レ」線像で 1 側肺に小病巣を認め空洞及び洞門結合はなく、数カ月の経過観察で軽快乃至治癒する傾向を認めたもので、喀痰中菌は常に陰性である。

〔中等症肺結核症〕 多少とも自覚症状を訴え「レ」線像で 1 側の肺にやや広汎な浸潤巣を認め、空洞又は洞門結合を認める。喀痰中菌は塗抹又は培養陽性である。

〔重症肺結核症〕 著明な自覚症状を訴え「レ」線像で両側肺に広汎な浸潤巣及び空洞を認め、喀痰中菌は常に陽性である。

は94.5%の高い陽性率を示すことを認めた。

次に軽症・中等症・重症の 3 群における凝集価について検討してみたが、凝集価はこれら 3 群の間に有意の差は認められなかつた。すなわち重症になつても必ずしも凝集価は高くないようである。

更に「ワッセルマン」反応(卅)の対照群における本反応陽性率と、健康者及び非結核患者の陽性率とを比較検討したが両群の間には有意の差は認められなかつた。

第 III 表 陽性率

症 例	凝集価								陽性率	
	0	4	8	16	32	64	128	256	数	%
対 照	30	13	7	0	0	0	0	0	7/50	14
Wa.R.(卅)	20	6	4	0	0	0	0	0	4/30	13.3
肺結核症	5	20	17	32	31	17	7	1	125/150	83.3
軽 症	5	15	7	7	4	2	1	0	41/61	51.2
中 等 症	0	5	10	22	22	13	6	1	74/79	93.6
重 症	0	0	0	3	5	2	0	0	10/10	100

V 実験的家兎結核症におけるツベルクリン感作赤血球凝集反応

1 実験材料

実験に供する前にツベルクリン皮内反応を検査し陰性であることを確かめた体重 2000g 内外の健康な家兎を使用した。

2 実験方法

上記家兎にそれぞれ岡・片倉培地に3週間培養した人型結核菌 フランクフルト株 30mg を皮下に接種した群と、同株 3mg を静脈注射した群とについて本反応の経過を 10 日おきに約 2 カ月間観察した。本凝集反応の実施方法は上述したのと同じ方法であるが、異種凝集素を除くため次の如き操作を加えた。可検血清と等量の緩衝液加生理的食塩水を加え 56°C 30 分で非働化した後、1/10 量 of 非感作洗滌赤血球を加え少なくとも 20 分間は室温放置、遠心沈澱 3000 回転 5 分。次に新しい非感作洗滌赤血球を先程と同量加え室温に 20 分放置した後遠心沈澱する。時によつてはなお異種凝集素の除き得ないことがあり、その場合には更にもう一度非感作洗滌赤血球を加え放置した後血清から分離する。吸収された血清は氷室では抗体の変化なくかなり保存し得る。同時に R6mer 氏法によるツベルクリン反応及び Slide cell culture について検索した。

3 実験成績

フランクフルト株皮下接種群における本反応凝集価とツベルクリンアレルギーの強さの推移を第IV表に、又同株結核菌静脈内接種群におけるその成績を第V表に示し

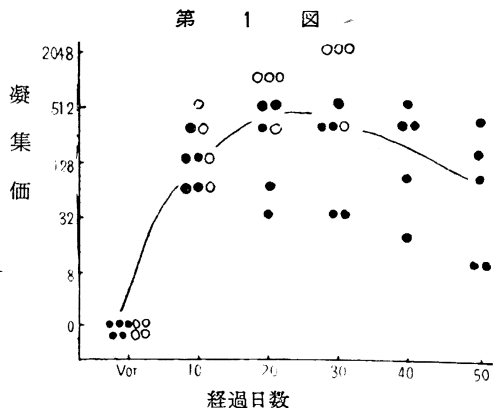
第IV表 実験的結核家兎における凝集価とツベルクリンアレルギーの強さの推移

症例	接種後日数	接種前		10日目		20日目		30日目	
		凝集価	ツ反応	凝集価	ツ反応	凝集価	ツ反応	凝集価	ツ反応
家兎(皮下接種群)	No. 1	0	(-)	1:512	1:1024	0 21×21		1:1024	
	No. 2	0	(-)	1:128	1:256	16×15 24×21		1:256	
	No. 3	0	(-)	1:256	1:1024	13×13 16×14		1:2048	
	No. 4	0	(-)	1:64	1:1024	16×16 22×24		1:2048	
	No. 5 (対照)	0	(-)	0	0	(-)		0	

第 V 表

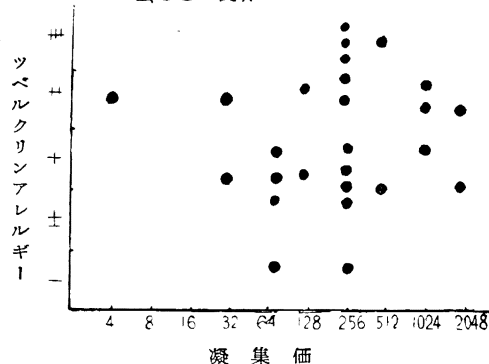
症例	接種後日数	接種前		10日目		20日目		30日目		40日目		50日目	
		凝集価	ツ反応	凝集価	ツ反応	凝集価	ツ反応	凝集価	ツ反応	凝集価	ツ反応	凝集価	ツ反応
家兎(静脈注射群)	No. 1	0	(-)	1:64	(-)	1:32	12×12 13×13	1:32	11×11 11×11	1:16		1:4	
	No. 2	0	(-)	1:64		1:256	14×14	1:512	12×12	1:512		1:4	
	No. 3	0	(-)	1:256		1:64		1:32	14×14	1:64		1:64	
	No. 4	0	(-)	1:128	16×16 18×18	1:512	16×16 18×18	1:256	14×14 15×15	1:256	13×12 14×14	1:256	13×13 15×15
	No. 5	0	(-)	1:128	0 14×14	1:512	22×22	1:256	21×21	1:256	18×18	1:128	
	No. 6 (対照)	0	(-)	0	(-)	0	(-)	0	(-)	0	(-)	0	(-)

た。両群とも接種後10日目には既に凝集価の上昇を認め20~30日後に最高に達し、以下約2カ月間の実験終了時迄陽性を持続するが幾分下降する傾向がある。これを図示すると第1図の如くである。ツベルクリン反応は静脈内接種群は10日目、皮下接種群は20日目にそれぞれ陽転し、以後実験終了時迄約2カ月間略々陽性を持続した。



次にこれらの実験的結核家兎における本反応凝集価とツベルクリンアレルギーの強さとの推移の相関を検討した。その成績は第2図に示す如くで両者の間には全く相関関係は認められなかつた。

第2図 凝集価とツベルクリンアレルギーの強さとの関係



VI 総括及び考按

著者等は 150 例の肺結核患者にツベルクリン感作赤血球凝集反応を行い 83.3% の陽性率を得た。本反応についての種々の追試成績は第 I 表に示した如くで、熊谷氏の 94.5% を最高に、矢追、Brodhage, Rothbard 等は 90% 以上の成績を上げているが、一方 Runyon, McDearman, Hall の如く 60% 以下の成績もありその成績は必ずしも一定していない。これは使用せる抗原・方法・判定規準等が多少とも異なるためと思われる。著者等の成績は肺結核患者全体としての陽性率は熊谷氏の 94.5% に劣るが、この中 51.2% の陽性率を示した軽症肺結核症を除いた中等症以上においては 94.5% とかなり高率の陽性率を示している。

次にこれ等の肺結核症を疾患の軽重より、種症・中等症・重症肺結核症の 3 型に分類すると、本反応の陽性率は重症になる程高くなり、重症では 100% の陽性率を示すことを認めた。

しかし凝集価そのものは 3 群の間に有意の差が認められず、凝集価の高いことは必ずしも常に重症を意味しないようである。

対照群としての健康者及び非結核性諸種疾患々者 50 例についての本反応の陽性率は 14% で、肺結核症におけるそれと明らかに有意の差を認めた。なお対照群中陽性率を示した 7 例は総て 1:8 の低い凝集価を示している。

本反応と梅毒血清反応との交叉性に関しては、矢追、Rothbard, 小路¹⁸等はこれを否定し、又 Smith & Scott は梅毒反応陽性者 22 例中本反応陽性者は 4 例であった事を報告している。著者等は「レ」線学的に肺結核を除外し得る梅毒反応強陽性者 30 例について本反応を行い、陽性者 4 例（陽性率 13.3%）の成績を得た。しかし陽性に出たこの 4 例はいずれも 1:8 の凝集価を示し、本反応と梅毒反応との交叉性は認められないようである。

以上の成績より、本凝集反応は略々特異的にしかもかなり高率に結核症において陽性を示すことを認めた。しかし本反応凝集価が病巣の活動性とに如何なる関係があるかについてはなお検索を進める必要があると思われる。

次に著者等は本凝集反応凝集価とツベルクリンアレルギーの強さとの関係について、実験的家兎結核症について検査したが、両者の価には何等相関関係は認められなかった。同様な知見は既に Wideman¹⁹, Gerner-Rieux, 矢追, 熊谷, 土屋²⁰, 吉田²¹等が肺結核症例において、又 Smith & Scott, Gerner-Rieux, Halley²²等が B.C.G. 接種例においてそれぞれ報告しているところである。これは既に知られている如く、ツベルクリン皮膚因子は主に蛋白分割にあるに反し、本反応は主としてツベルク

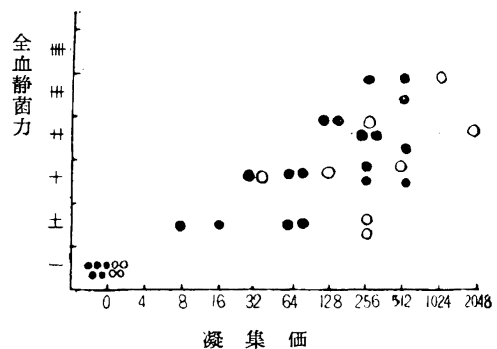
リンの多糖類分割によつて起ることから、両反応はその抗原を異にし、それと共にそれに対応する抗体もそれぞれ異なるためと思われる²³。更に矢追²⁴は赤血球感作後のツベルクリンを用いてツベルクリン反応を行つても無操作の同じツベルクリンによる反応とその強さに差のないことを報告しているが、この知見もそれを裏書きしている。

しかし著者等の実験において、これ等両反応は菌接種後略々同じ時期にいずれも陽性反応を示し、以後実験終了時迄陽性を持続した。このことから本凝集反応が結核症に略々特異的の反応である事がうかがわれるが、しかしいずれの反応が先に陽性に現れるかについては目下検討中である。

次に著者等は結核症において本反応の抗体が感染防禦と如何なる関係を有するかを明らかにするため、実験的家兎結核症について本反応凝集価と Slide cell culture 法による全血静菌作用を、経過を追つて観察し、両者を比較検討した。全血静菌作用の記載は本間²⁵の方法によつた。その成績は第 3 図にみる如くで両者の間に密接な関係が認められた。

Wright が Slide cell culture 法なる全血内培養法を發表し、しかも本法により結核患者ではその血液中に結核菌の増殖を阻止する作用が生じることを認めて以来、今村²⁶, 佐藤²⁷, 伊藤²⁸, 西川²⁹, 本間³⁰等により全血静菌作用が結核症における免疫現象乃至は生体防禦反応を観察するのに適切なことが種々報告せられている。

第 3 図 凝集価と全血静菌力との関係



著者等は本凝集反応凝集価が結核の免疫乃至は生体防禦反応を或程度示すといわれている全血静菌作用と密接な関係を有することを上述の如く認めた。勿論この事実だけをもつて本凝集素が結核抗体そのものであるとすることは出来ないにしても、結核の抗体乃至は生体防禦反応と深い関係を有することが考えられる。

この点に関しては未だその報告をみないが、目下更にその点に就き実験を進めつつある。

VII 結 語

著者等は熊谷氏に倣い人 O 型血球を用いてツベルク

✓感作赤血球凝集反応を実施し、次の成績を得た。

1) 陽性率については肺結核患者 150 例中陽性 125 例 83.3%, その内訳は軽症肺結核症 61 例中陽性 41 例, 51.2%, 中等症肺結核症では 79 例中陽性 74 例, 93.6%, 重症肺結核症では 10 例中陽性 10 例, 100%である。対照群においては正常人及び非結核性疾患々々者50例中陽性 7 例14%であつた。

2) ワッセルマン反応との交叉性は認められなかつた。すなわちワッセルマン反応強陽性 30 例中本反応陽性は 4 例で13.3%の陽性率で上記対照群と有意の差がなかつた。

3) 軽症・中等症・重症等疾患の軽重と凝集価との間に相関々係はみられなかつたが、重症になるに従つて陽性率は高くなる。

4) 実験的家兎結核症においては、人型結核菌フラックフルト株 30mg 皮下接種群及び 3mg 静脈内接種群において共に本凝集価は大体 20~30 日で最高に達し、以後実験終了時迄約 2 カ月間陽性を持続するが 50 日目頃より幾分下降する傾向がある。

5) 本凝集価とツベルクリンアレルギーの強さとの間には相関々係はみられなかつた。

6) 全血静菌作用と本凝集価の間には相関々係が認められ、本反応凝集素が結核症における生体防禦反応と密接な関係を有することを結論した。

擧筆するに当り御指導、御校閲を賜つた沖中教授に心からの感謝を捧げるとともに、直接御指導戴いた長沢博士に深謝し、又種々御教示下さつた本間博士及び研究室諸兄に感謝する。

(なお当論文要旨は昭和 27 年 4 月、日本結核病学会総会において発表した)

文 献

- 1) G. Middlebrook & Dubos R.T. : J.Exp. Med., 88, 521, 1948.
- 2) S. Rothbard et al. : Proc. Soc. Exper. Biol. & med., 74, 72, 1950.
- 3) D. T. Smith & N. B. Scott : Am. Rev. Tbc., 62, 121, 1950.
- 4) Germez-Rieux C. H. et al. : Bull. Acad. Nat. Méd., 133, 556, 1949.
- 5) Sohler : Ann. Inst. Pasteur, 78, 283, 1950.
- 6) 7) 8) 15) 16) L. Popp. Klin. Wschr. 30, 773, 1952 より
- 9) M. Mollov & Th. J. Kott : Am. Rev. Tbc., 65, 194, 1952.
- 10) J. Adcock et al. : J. laborat & Clin. med., 38, 736, 1951.
- 11) 矢迫 : 総合臨床, 1 : 705, 昭27.
- 12) 熊谷 : 日新医学, 38 : 481, 昭26.
- 13) D. T. Smith & N.B. Scott : J. lab. & Clin. med., 35, 303, 1950.
- 14) Sohler et al. : Ann. Inst. Pasteur, 79, 347, 1950.
- 17) W. Kirby : Am. Rev. Tbc., 63. 667, 1951.
- 18) 小路 : アレルギー, 1 : 126, 昭28.
- 19) S. Weidman : Klin. Wschr. 30. 651. 1952.
- 20) 土屋 : 結核, 28 : 80, 昭28.
- 21) 吉田他 : 東京医事新誌, 23 : 68, 昭26.
- 22) R. Haley et al. : Am. Rev. Tbc., 66, 58, 1952.
- 23) 武田他 : 総合医学, 10 : 16, 昭28.
- 24) 矢迫 : 総合医学, 68 : 109, 昭26.
- 25) 本間 : 結核, 26 : 617, 昭26.
- 26) 今村他 : 結核, 11 : 209, 昭8.
- 27) 佐藤 : 実験医学雑誌, 10 : 871, 1926.
- 28) 伊藤 : 結核, 8 : 291, 昭5.
- 29) 西川 : 結核, 14 : 671, 昭11.
- 30) 本間 : 結核, 27 : 1, 昭27.
- 31) 進藤 : “血清学の新しい見方と考へ方” 医学書院, 昭27.