

# 精製 B. C. G. ツベルクリン」による 皮膚発赤反応に就いて

金沢大学医学部日置内科教室 (主任 日置教授)

倉金 丘一・高崎 秀雄

(昭和 29 年 2 月 1 日受付)

## 緒 言

わが国における結核予防施策の一環として、昭和26年3月法律第96号を以て結核予防法の公布を見ると共に B. C. G. 接種が法制化され、義務づけられたのであるが、これに伴って旧ツベルクリン」の接種のみを以てしては、自然感染と B. C. G. 陽転との鑑別、自然感染時期の判定が漸く困難となつてきた。

然るに Lind 等は、人型菌、牛型菌及び B. C. G. 菌から得た精製ツベルクリン」の力価はそれぞれ自然陽転者と B. C. G. 接種者とは相違することを報告しており、由利も又、氏等の得たる O-Aminophenol-Azo-Tuberculin (O. A. T.) と O. T. を併用することにより、自然感染と B. C. G. 陽転の鑑別及び自然感染時期を察知することの可能なるを説き、更に B. C. G. 株の培養濃液から同様の方法で作成せる O. A. T. " B. C. G. " についての知見を補足した。

著者の一人高崎は、さきに倉金の創製せる精製ツベルクリン」, K. P. T. についてその力価を検定し、K. P. T. と O. T. を併用することによつて自然感染と B. C. G. 陽転との鑑別可能なることに對し賛意を表したが、本報告は同じく著者の一人倉金の行いたるところに従つて得たる精製 B. C. G. ツベルクリン」と K. P. T. の比較によつて、両者の鑑別如何に行われるかを調査したものである。

## 実験方法

a) 精製 B. C. G. ツベルクリン」(以下「B. C. G. P. T.」と略称する)の作製

B. C. G. 株を Sauton 培地(但し「アスパラギン」の代りに「グルタミン酸ソーダ」を使用)上に7乃至10週間培養した培養液につき、倉金の創案した限外濾過装置を使用し、迅速に「ツベルクリン精製を行つた。なお、製造の手法に関する詳細は倉金著『精製ツベルクリン」に就いて』を参照されたく、実験に供した「B. C. G. P. T. の作製年月日、限外濾過時間及び収量は次の如くである。

製造番号	作製年月日	培養液全量 (l)	限外濾過時間 (時間)	収量 (mg/l)
301	昭和28年9月17日	5	26	45
302	昭和28年11月26日	4	22	35

従つて「B. C. G. P. T. 収量は、人型結核菌ツベルクリン収量よりも遙かに小なるもの如くである。

## b) 検 定 材 料

1) 「B. C. G. P. T. 稀釈液の調製

前記「B. C. G. P. T. を少量の滅菌  $1/10n$  苛性曹達溶液に溶解せしめた後滅菌 0.5% 石炭酸加生理的食塩水にて稀釈し、その 0.1 cc 中にそれぞれ「B. C. G. P. T. 0.2  $\gamma$ , 0.1  $\gamma$ , 0.05  $\gamma$  を含有する 3 種類の稀釈液を得、10日以内に実験に供した。

2) 標準ツベルクリン」

標準ツベルクリン」としては、国立予防衛生研究所より分譲せられた旧ツベルクリン」2000 倍稀釈液(以下「O. T.」と略記する。昭和28年4月25日の製造にかかる No. 26)を使用した。

## c) 検 定 方 法

本実験に先立つこと約4カ月乃至約6カ月以前に、結核予防法第4条及び第13条の規定に基き健康診断及び B. C. G. 接種を受けた石川県下各小・中学校児童、生徒 2343名について、前記2種の「ツベルクリン」による皮膚反応を実施したが、その方法は一側(主として左側。但し B. C. G. 接種者にあつてはさきに B. C. G. を接種した側)の前膊屈肘中央から上・下に約 5cm の間隔を置き O. T., 「B. C. G. P. T. をそれぞれ 0.1cc 宛皮内接種(この際人員の半数宛接種部位を交換施行した)し、結核予防法施行規則第2条に準拠して判定を行つた。

Ratio は、O. T. により 10mm 以上の発赤を示せるものについて(しかも一側にも強反応のあるものを除く)、「B. C. G. P. T. による発赤径の総計を O. T. によるその総計で除してこれを求めた。

## 実験成績

I 「B. C. G. P. T. と O. T. との力価比較

a) 「B. C. G. P. T. 0.2  $\gamma$  接種の場合

「B. C. G. P. T. を 0.2 $\gamma$  接種した場合の成績は第1表に示す如くであり、「B. C. G. P. T. 2 lots の O. T. に対する Ratio は、B. C. G. 非接種者にあつては平均 1.21, B. C. G. 接種者にあつては平均 1.28で、「B. C. G. P. T. の方が O. T. よりもより強力であつたが、lot による Ratio の相違は殆んど見られなかつた。なお、陽性率の外に、硬結触知率・二重発赤発生

第 1 表 "B. C. G." P. T. 0.2 Y 接種成績

製造番号	被檢学校名	B. C. G. 接種年月日	実験年月日	被檢人員	Ratio	T. の種類	陰		疑陽性		陽		性		硬		結		二重発赤		水 泡	
							人員	%	人員	%	人員	%	人員	%	人員	%	人員	%	人員	%	人員	%
301	中 学 校		昭和 28 年 11 月 2 日	202	1.21	O.T. "B.C.G." P.T.	19	9.4	10	5.0	173	85.6	109	54.0	25	12.4	1	0.5				
302	小・中 小学校 小学校		昭和 28 年 12 月 1・2 日	247	1.20	O.T. "B.C.G." P.T.	37	15.0	13	5.3	197	79.7	90	36.4	9	3.6	0	0				
計				449	1.21	O.T. "B.C.G." P.T.	56	12.5	23	5.1	370	82.4	199	44.3	34	7.6	1	0.2				
301	小・中 学 校	昭和 28 年 7 月 10 日	昭和 28 年 11 月 10 日	138	1.27	O.T. "B.C.G." P.T.	28	20.3	13	9.4	97	70.3	73	52.9	4	2.9	0	0				
302	小・中 学 校 小学校 小学校	昭和 28 年 6 月 11・12 日	昭和 28 年 12 月 1・2 日	141	1.29	O.T. "B.C.G." P.T.	68	48.2	16	11.3	57	40.5	14	9.9	0	0	0	0				
計				279	1.28	O.T. "B.C.G." P.T.	96	34.4	29	10.4	154	55.2	87	31.2	4	1.4	0	0				

第 2 表 "B. C. G." P. T. 0.1 Y 接種成績

製造番号	被檢学校名	B. C. G. 接種年月日	実験年月日	被檢人員	Ratio	T. の種類	陰		疑陽性		陽		性		硬		結		二重発赤		水 泡	
							人員	%	人員	%	人員	%	人員	%	人員	%	人員	%	人員	%	人員	%
301	小 学 校		昭和 28 年 11 月 2 日	225	1.04	O.T. "B.C.G." P.T.	29	12.9	8	3.6	188	83.5	124	55.1	14	6.2	0	0				
302	小・中 学 校 小学校 小学校		昭和 28 年 12 月 1・2 日	239	1.04	O.T. "B.C.G." P.T.	26	11.6	6	2.7	193	85.7	87	38.7	2	0.9	0	0				
計				464	1.04	O.T. "B.C.G." P.T.	44	9.5	21	4.5	399	86.0	233	50.2	23	5.0	1	0.2				
301	小・中 学 校	昭和 28 年 4 月 16 日	昭和 28 年 11 月 2 日	171	1.02	O.T. "B.C.G." P.T.	24	14.0	8	4.7	139	81.3	101	59.1	3	17.5	0	0				
302	小・中 学 校 小学校 小学校	昭和 28 年 6 月 11・12 日	昭和 28 年 12 月 1・2 日	159	1.07	O.T. "B.C.G." P.T.	71	44.7	19	11.9	69	43.4	21	13.2	1	0.6	0	0				
計				330	1.05	O.T. "B.C.G." P.T.	95	28.8	27	8.2	208	63.0	122	37.0	4	1.2	0	0				

第 3 表 "B. C. G." P. T. 0.05 γ 接種成績

製造番号	被検査校名	B. C. G. 接種年月日	実験年月日	被検査人員	Ratio	T. の種類	陰性		疑陽性		陽性		硬性		結核		二重発赤		水泡	
							人員	%	人員	%	人員	%	人員	%	人員	%	人員	%	人員	%
301	小学校		昭和28年11月11日	240	0.94	O.T. "B.C.G." P.T.	23	9.6	1	0.4	216	90.0	88	36.7	20	8.3	4	1.7		
302	小・中学校 小学校 小学校		昭和28年12月1・2日	246	0.88	O.T. "B.C.G." P.T.	16	6.5	20	8.1	210	85.4	110	44.7	9	3.7	1	0.4		
計				486	0.91	O.T. "B.C.G." P.T.	39	8.0	21	4.3	426	87.7	198	40.7	29	6.0	5	1.0		
301	小学校	昭和28年7月16日	昭和28年11月11日	153	0.94	O.T. "B.C.G." P.T.	54	35.3	3	2.0	96	62.7	20	13.1	0	0	0	0		
302	小・中学校 小学校 小学校	昭和28年6月11・12日	昭和28年12月1・2日	182	0.90	O.T. "B.C.G." P.T.	99	54.4	18	9.9	65	35.7	19	10.4	0	0	0	0		
計				335	0.92	O.T. "B.C.G." P.T.	153	45.7	21	6.3	161	48.0	39	11.6	0	0	0	0		

第 4 表 B. C. G. 未接種乳幼児に対する "B.C.G." P.T. 接種成績

製造番号 No. 302

接種量 0.2 γ 10.1cc

実験年月日 昭和28年12月21日

被検査者 [ ] 乳幼児

番号	氏名	生年月日	性別	接種成績	
				O.T.	"B.C.G." P.T.
1	[ ]	昭.27. 3. 6.	女	0×0	3×3
2	[ ]	昭.26. 1. 5.	男	0×0	0×0
3	[ ]	昭.26.11.24.	女	0×0	0×0
4	[ ]	昭.26. 9.26.	女	0×0	0×0
5	[ ]	昭.27. 6. 1.	男	0×0	4×4
6	[ ]	昭.26. 1.29.	男	0×0	0×0
7	[ ]	昭.26. 1.10.	男	4×4	5×3
8	[ ]	昭.27. 2.20.	男	0×0	0×0
9	[ ]	昭.27. 1.18.	女	0×0	0×0
10	[ ]	昭.26. 1.21.	女	0×0	4×3
11	[ ]	昭.26. 5.22.	女	3×2	4×4
12	[ ]	昭.27. 2. 2.	女	0×0	0×0
13	[ ]	昭.27. 5.14.	女	0×0	0×0
14	[ ]	昭.27. 2.21.	男	0×0	0×0
15	[ ]	昭.26.11.11.	女	0×0	0×0
16	[ ]	昭.26.12. 9.	女	0×0	0×0
17	[ ]	昭.26. 6.22.	男	17×15	22×19
18	[ ]	昭.26.12.20.	男	0×0	8×5
19	[ ]	昭.27. 7.16.	男	0×0	0×0
20	[ ]	昭.26.12.23.	男	0×0	0×0
21	[ ]	昭.26. 8.19.	女	5×6	8×4
22	[ ]	昭.27.12.26.	男	0×0	0×0
23	[ ]	昭.27. 7.29.	男	3×2	0×0
24	[ ]	昭.27.10.23.	男	0×0	0×0
25	[ ]	昭.26. 9.11.	男	0×0	0×0
26	[ ]	昭.26.11. 3.	男	0×0	0×0
27	[ ]	昭.26. 2.24.	男	0×0	3×3
28	[ ]	昭.26.11. 1.	男	0×0	0×0
29	[ ]	昭.27. 2.23.	女	0×0	0×0
30	[ ]	昭.27.11.26.	男	0×0	0×0

(註) 1) 接種部位：O. T. は右前膊，"B. C. G."

P. T. は左前膊屈側の中央より稍々上方

2) 被検査者：結核性疾患の家族歴及び既往歴を有せず，B. C. G. 未接種の満2年未満の乳幼児

率・水泡発生率を検するに、これ又いずれも "B.C.G." P.T.の方がO.T.よりも稍々高く出現する傾向があつた。すなわちこの成績によれば、"B.C.G." P.T.のB.C.G.菌に対する型特異性は殆んどないようである。

b) "B.C.G." P.T. 0.1 Y 接種の場合

"B.C.G." P.T. を 0.1 Y 接種した場合の成績は第2表に示す如くである。すなわち、"B. C. G." P. T. の O.T. に対する Ratio は、B.C.G. 非接種者では 2 lots とも 1.04, B.C.G. 接種者では平均 1.05 で、lot による差異は殆んどなかつた。又、陽性率においては B.C.G. 非接種者、B.C.G. 接種者ともに "B.C.G." P.T., O.T. とも殆んど同率か、或いは "B. C. G." P.T. に僅かに高率であつた。しかし、硬結触知率・二重発赤発生率・水泡発生率は、B.C.G. 非接種者、B. C. G. 接種者共に O.T. の方に稍々高く出現した。

以上の成績より、"B. C. G." P.T. 0.1 Y の力価は O. T. と殆んど等価で、この場合も B.C.G. 菌に対する "B.C.G." P. T. の型特異性はこれを認め得ない。

c) "B.C.G." P.T. 0.05 Y 接種の場合

次に "B.C.G." P.T. を 0.05 Y 接種した場合の成績を第3表に掲げる。すなわち、"B.C.G." P.T. の O.T. に対する Ratio は、B.C.G. 非接種者にあつては平均 0.91, B.C.G. 接種者にあつては平均 0.92 と殆んど差異を認めず、且つ lot を異にしてもその Ratio は平均を 0.03 上下するに留つた。而して B. C. G. 非接種者、B.C.G. 接種者ともに陽性率は "B.C.G." P.T., O.T. 共殆んど同率に、又、硬結触知率・二重発赤発生率・水泡発生率は O.T. の方に高率であつた。

すなわち "B.C.G." P.T. も、その 0.05 Y を接種するときは、O.T. よりも僅かではあるがさすがに低い価を示すようになる。

II "B.C.G." P.T. の「アレルゲン」

としての特異性

今 "B.C.G." P.T. 0.2 Y を、生後満2年未満の乳幼児30名（家族歴及び既往歴中に結核に関するものを見出すことなく、B.C.G. 接種も未だ行われていない）に接種したところ、第4表に示すが如く、O. T. で陰性の者28名に対し "B.C.G." P.T. では1名のみ疑陽性で、他の27名は悉く陰性であつた。又 O.T. で疑陽性の1名は "B.C.G." P.T. でも疑陽性、O.T. で陽性の1名は、"B.C.G." P.T. でも陽性であつた。

斯くて "B.C.G." P.T. には B.C.G. 菌に対する型特異性が認められないが、「アレルゲン」としての特異性はこれを充分に認めることができる。

III K.P.T. と "B.C.G." P.T. との力価比較

次に "B.C.G." P.T. の O.T. に対する Ratio 及び陽性率を K.P.T. のそれと比較すると第5表に示すが如くなる。すなわち、K.P.T. 0.2 Y では B.C.G. 非接種

者に対して Ratio が O. T. よりも稍々高価、0.1 Y では等価若しくは僅かに低価を示すが、B. C. G. 接種者に対しては、0.2 Y で既にかなり低価を示し、0.1 Y では遙かに低価であつた。然るに "B. C. G." P. T. の力価は、Ratio において B.C.G. 非接種者、B.C.G. 接種者の別なく、0.2 Y では O. T. よりもかなり高価、0.1 Y では略々等価、0.05 Y では僅かに低価であり、陽性率では接種量を異にしても、常に B. C. G. 接種者の方に稍々高く出現する傾向にあつた。

第 5 表

O.T. 2000 倍に対する K.P.T. と "B.C.G." P. T. の力価

「ツ」の 種 類	接 種 量 (Y)	B.C.G. 非接種者		B.C.G. 接 種 者	
		Ratio	陽性指数	Ratio	陽性指数
K.P.T.	0.2	1.06	101.5	0.87	93.6
	0.1	0.91	98.0	0.39	30.2
"B.C.G." P. T.	0.2	1.21	111.7	1.28	146.7
	0.1	1.04	103.3	1.05	126.5
	0.05	0.91	93.4	0.92	108.8

(註) 陽性指数とは、O.T. による陽性率を 100 とした場合の陽性率をいう

IV "B.C.G." P.T. の副作用

判定に際し "B.C.G." P.T. による副作用を同時に調査したが、発赤径の特に大きかつた少数の人において、一側の前膊に2箇所接種した為が、従前の1箇所接種に比し局所の発熱・疼痛・搔痒を若干強く訴えた者もないではなかつたが、頭痛・発熱・倦怠等の全身症状を起した例は皆無であつた。

考 按

さて、"B.C.G." P. T. の力価に関する成績は概略以上の通りであつたが、今、諸学者の人型菌・牛型菌及び B.C.G. 菌から作成した精製ツベルクリンに関する文献を参照するに、Jensen & Lind は、人型菌及び牛型菌から得た「ツベルクリン」を、人型菌及び牛型菌を感染せしめた海狸に試験して、両者の間に相違がなかつたと報告し、Lind & Tolderlund は、人型菌及び牛型菌の感染者に対しては、人型菌及び牛型菌から得た「ツベルクリン」は、B.C.G. 菌から得た「ツベルクリン」よりも4倍強いことを認めた。更に Lind, Holm は、人型菌又は牛型菌から得た「ツベルクリン」と B.C.G. 菌から得た「ツベルクリン」の力価の関係は、実験対象が自然陽転者か B. C. G. 接種者なるかによつて相違すると述べており、Seibert, Dufour は、牛型菌から得た P. P. D. は標準精製ツベルクリン P. P. D.-S. よりも力価が高かつたと報告している。

その後本邦にあつて由利は、O. A. T. "B. C. G."

を自然感染者に接種した場合、その 5.0 Y が O. T. と等価であり、更に B. C. G. 陽転者に接種しても O. A. T. "B. C. G." の 5.0 Y が O. T. と等価で、O. A. T. "B. C. G." の量をこれ以下とすれば、自然感染者でも B. C. G. 陽転者でも O. T. よりも甚だしく弱く反応すると報告した。柳沢等はこれを追試して、B. C. G.-Azo-T. 0.1 Y を接種した場合、B. C. G. 非接種者では O. T. よりも弱く反応し、B. C. G. 接種者では反対に強く反応し、更に B. C. G.-Azo-T. の接種量を増加するときは、B. C. G. 非接種者では著明な差異が見られないが、B. C. G. 接種者では注射量の増加とともに諸反応にも著大な差異が認められたと報告している。

而うして最近紺田は、動物実験では O. A. T. "B. C. G." の特異性を認めたが、人体に対してはその特異性を認め得なかつたと報じ、中川等は、B. C. G. 接種後 6 カ月を経た者に対する O. T. の陽転率は 50 乃至 60 % であるが、O. A. T. "B. C. G." の陽転率は 90 % であつたと報じている。

然るに著者の "B. C. G." P. T. にあつては、その力価を O. T. に対する Ratio で示すとき、B. C. G. 非接種者には 0.2 Y で 1.21, 0.1 Y で 1.04, 0.05 Y で 0.91 であり、B. C. G. 接種者には 0.2 Y で 1.28, 0.1 Y で 1.05, 0.05 Y で 0.92 であり、B. C. G. 接種の有無とその力価との間には特に何等の関係が認められなかつた。しかも "B. C. G." P. T. は B. C. G. 非接種者、B. C. G. 接種者のいずれに対しても 0.1 Y で O. T. と略々等価を示した。

この事実を上述の諸学者の報告と照合するとき、少なくとも "B. C. G." P. T. そのものには B. C. G. 菌に対する型特異性が殆んどなくて、O. A. T. "B. C. G." では若干特異性が出現するものようである。

しかし、B. C. G. 非接種者に対しては、"B. C. G." P. T. と K. P. T. との間に余り反応の差違がなくとも、何分 K. P. T. では、その 0.1 Y 接種が B. C. G. 接種者に対して漸く 30% 陽性という低率であり、"B. C. G." P. T. 0.1 Y では 126.5% 陽性(但しいずれも O. T. の陽性率を 100% とする)であるので、むしろ高率(約 75%)に B. C. G. 陽転者を自然感染者から鑑別することとなる。

さきに高崎は、K. P. T. と O. T. とを使用することにより、B. C. G. 接種者の約 70% において両者の鑑別が可能なることを報じたが、これだけの成績からいえば、K. P. T. と "B. C. G." P. T. の兩種を同時に接種しても略々同率に鑑別上の指針が与えられるというものである。

#### 結 論

B. C. G. 株の培養液を、著者の一人倉金の創案した限外濾過装置を使用し、迅速に処理して得た精製 B. C. G. ツベルクリン ("B. C. G." P. T.) 2 lots の力価を、1399 人の B. C. G. 非接種者及び 944 人の B. C. G. 接種者について、標準旧 ツベルクリン 2000 倍稀釈液 (O. T.) の力価と比較し、これを検討して次の結論を得た。

1) "B. C. G." P. T. の皮膚発赤反応には、B. C. G.

非接種者と B. C. G. 接種者の間における差異を殆んど認めず、その力価は、発赤では、0.2 Y で O. T. よりもかなり高価、0.1 Y で O. T. と略々等価、0.05 Y で O. T. よりも僅かに低価を示した。すなわち、"B. C. G." P. T. の O. T. に対する Ratio は、B. C. G. 非接種者に対しては、0.2 Y で 1.21, 0.1 Y で 1.04, 0.05 Y で 0.91 であり、B. C. G. 接種者に対しては、0.2 Y で 1.28, 0.1 Y で 1.05, 0.05 Y で 0.92 であつた。

硬結触知率・二重発赤発生率・水泡発生率も、B. C. G. 非接種者、B. C. G. 接種者による差異を殆んど認めず、三者共に、"B. C. G." P. T. 0.2 Y 接種では O. T. 接種におけるよりも高率に、0.1 Y 乃至 0.05 Y 接種では O. T. 接種におけるよりも稍々低率に出現した。

2) "B. C. G." P. T. は B. C. G. 菌に対する型特異性はなかつたが、「アレルゲン」としての特異性は充分にこれを認め得た。

3) B. C. G. 接種者に対し、"B. C. G." P. T. と K. P. T. の兩種を 0.1 Y 宛接種するときは、"B. C. G." P. T. 陽転者の約 75% において、自然感染者か B. C. G. 陽転者かを鑑別することが可能である。

綱筆するに当り、終始御懇篤なる御指導と御校閲を賜つた恩師日置教授に深甚の謝意を捧げると共に、標準 ツベルクリン を分譲下さつた国立予防衛生研究所柳沢主任並びに種々御便宜をお図り下さつた杉野石川県衛生部長に謝意を表す。

#### 文 献

- 1) Lind & Holm: Specificity of purified tuberculin produced by the BCG strain, Acta tbc. Scand., 17, 237, 1943. (7. より引用)
- 2) 由利: O-Aminophenol Azo-Tuberculin と Old Tuberculin の人体に於ける皮膚反応に関する比較実験, 金大結核研究所年報, 8, 85, 1949.
- 3) 高崎: B. C. G. 被接種者に対する精製 ツベルクリン K. P. T. の力価に就いて, 結核, 印刷中
- 4) 倉金: 精製「ツベルクリン」に就て, 十全医学会雑誌, 55, 1170, 1953.
- 5) Jensen & Lind: Specificity of purified tuberculins, Acta tbc. Scand., 17, 37, 1943. (7. より引用)
- 6) Lind & Tolderlund: Specificity of purified bovine tuberculin and purified B. C. G. tuberculin, Acta tbc. Scand., 17, 252, 1943. (7. より引用)
- 7) Seibert & Dufour: A study of certain problems in the use of standard tuberculin, Amer. Rev. Tbc., 58, 363, 1948.
- 8) 柳沢外<sub>2</sub>: O-Aminophenol-Azo-Tuberculin と Old-Tuberculin との比較研究 (第 3 報), 結核, 27, 286, 1952.
- 9) 紺田: B. C. G. ツベルクリンに関する研究, 北陸医学会第 5 回総会記録. (昭和 26 年 11 月)
- 10) 中川外<sub>2</sub>: B. C. G. 接種量と「ツ」アレルギーについて, 北陸医学会第 6 回総会記録. (昭和 27 年 11 月)