

モルモットにおけるツベルクリン反応

第1報 未感作モルモットの非特異性反応について

国立予防衛生研究所結核部（部長 柳 沢 謙）

山 崎 久 治・浅 見 望

（受付 昭和30年9月12日）

I 緒 言

現今ツベルクリン・アレルギーの研究にはモルモットがほとんど毎常使用されている。しかし、モルモットにおけるツベルクリン反応の特異性および非特異性の限界については、いまだ明らかな規定がない。人体においては、野辺地および柳沢等¹⁾²⁾による詳細な調査の結果、現行のツベルクリン反応の判定基準が定められた。モルモットにおいては現在のところ、各人が随意の基準にしたがって判定を行つている次第である。

ここにおいてわれわれはまず第一に健康な、未感作動物におけるツベルクリン反応の非特異性限界について調査を行つたので、その大要を報告する。

II 実験方法

1 使用モルモット： 本調査に使用した動物は第1表に示した如く、3群からなつている。第Ⅰ群は購入直後の比較的幼若なモルモット110匹で、その平均体重は約300gであつた。第Ⅱ群は購入後約1カ月間当所において飼育したものの145匹で、その平均体重は約450gであつた。第Ⅲ群は血清反応の補体用動物であつて、当所に約1カ年間飼育したものの10匹で、その平均体重は約1,000gであつた。毛色は第ⅠおよびⅡ群は白色、第Ⅲ群は茶褐色であつた。種類はすべて雑種である。産地は第ⅠおよびⅡ群は静岡県産、第Ⅲ群は当所産のものである。

第1表 使用モルモットの来歴

群別	体 重		使用 頭数	産地	飼育 期間 (予研 にて)	備 考
	最小～最大	平均				
Ⅰ	240～390g	314g	110	静岡	3日	このうち64匹はⅠ群を1カ月飼育したもの
Ⅱ	390～550	449	145	〃	30	
Ⅲ	950～1,200	1,070	10	予研	360	

2 注射試料： A) OT液：人型結核菌青山B株の

ソートン培養の旧ツベルクリン(OT)を、次の対照液(緩衝液)をもつて、1:10, 1:100, 1:1,000等に稀釈した。B) 対照液：基準に示されている0.5%石炭酸加副酸硼砂緩衝液を用いた。この対照液の調製ならびに注射器等はすべてクローム硫酸に浸し、よく水洗したものを用いた。

3 注射方法： 注射の前日毛を刈り、動物の両背側の2カ所ずつに前記各試料の0.1ccずつを皮内注射した。また部位差を除くため、各群の約半数ずつ注射部位をかえた。

4 判定方法： 注射後24および48時間における発赤および硬結の大きさを計測した。

III 実験成績

1 対照液による反応

各群の対照液による反応は第2表および第1図1の如くである。注射後24時間における硬結の大きさは、第ⅠおよびⅡ群では0～6mm、第Ⅲ群では3～6mmであつた。この平均値は第Ⅰ群1.9mmで最も小さく、第Ⅱ群は2.3mmでやや大きく、第Ⅲ群は3.9mmで最も大きかつた。また、これらの度数分布曲線も第Ⅱ群は第Ⅰ群に比し、反応の大きい方に寄つている。さらに、48時間に至れば各群とも反応はほとんど消失し、たゞ少数のものが5～6mmの硬結を残しているに過ぎない。次ぎに、反応の最大限界、すなわち、累積度数において約95%を示す反応の大きさは、24時間においては第Ⅰ群4mmまで、第ⅡおよびⅢ群は5mmまでであつた。また、48時間においては第Ⅰ群は0mm、第ⅡおよびⅢ群は4mmまでであつた。

2 OT1:1,000液による反応

OT1:1,000液による反応は第3表および第1図2の如くである。注射後24時間における反応の範囲は第Ⅰ群0～6mm、第Ⅱ群0～9mm、第Ⅲ群3～6mmであり、その平均値も第Ⅰ群は最も小さく2.7mm、第Ⅱ群

第2表 対照液による硬結の大きさの度数分布表

時間 群 区分 mm	24									48								
	I			II			III			I			II			III		
	実数	度数%	累積%	実数	度数%	累積%	実数	度数%	累積%	実数	度数%	累積%	実数	度数%	累積%	実数	度数%	累積%
0	49	44.5	44.5	35	24.1	24.1				107	97.3	97.3	105	72.4	72.4	6	60.0	60.0
1																		
2	7	6.4	50.9	2	1.4	25.5				1	0.9	98.2	6	4.2	76.6			
3	24	30.9	81.8	37	25.5	51.0	4	40.0	40.0	2	1.8	100.0	24	16.5	93.1	1	10.0	70.0
4	15	13.6	95.4	48	33.1	84.1	4	40.0	80.0				4	2.7	95.8	3	30.0	100.0
5	1	0.9	96.3	14	9.6	93.7	1	10.0	90.0				5	3.5	99.3			
6	4	3.7	100.0	9	6.3	100.0	1	10.0	100.0				1	0.7	100.0			
計	110	100		145	100		10	100		110	100		145	100		10	100	
M (mm)	1.9			2.3			3.9			0.1			0.8			1.3		
δ	1.9			1.6			0.3			0.2			1.5			1.8		

はこれに次ぎ3.4mm, 第Ⅲ群は最も大きく4.2mmであつた。また, 48時間においては反応はほとんど消失し, その平均値も第Ⅰ群0.3mm, 第Ⅱ群1.3mm, 第Ⅲ群2.2mmであつた。これらの度数分布曲線も図示の如く, 先きの対照液によるものとは等しい曲線を描いている。さらに反応の最大限界すなわち, 累積度数で約95

%を示す硬結の大きさは, 24時間においては第Ⅰ群は3mmまで, 第ⅡおよびⅢ群では5mmまでであり, 48時間においては第Ⅰ群2mmまで, 第ⅡおよびⅢ群3mmまでであつた。このように, OT 1: 1,000液による反応は先きの対照液による反応と類似しており, その非特異性反応の限界も比較的小さかつた。

第3表 OT 1: 1,000 液による硬結の大きさの度数分布表

時間 群 区分 mm	24									48								
	I			II			III			I			II			III		
	実数	度数%	累積%	実数	度数%	累積%	実数	度数%	累積%	実数	度数%	累積%	実数	度数%	累積%	実数	度数%	累積%
0	20	18.2	18.2	18	12.4	12.4				78	71.0	71.0	88	60.7	60.7	4	40.0	40.0
1																		
2	11	10.0	28.2	1	0.7	13.1				8	7.2	78.2	9	6.2	66.9			
3	49	44.5	72.7	30	20.7	33.8	2	20.0	20.0	20	18.2	96.4	28	19.3	86.2	2	20.0	60.0
4	28	25.5	98.2	49	33.8	67.6	5	50.0	70.0	4	3.6	100.0	16	11.0	97.2	4	40.0	100.0
5	1	0.9	99.1	20	13.8	81.4	2	20.0	90.0				2	1.4	98.6			
6	1	0.9	100.0	21	14.5	95.9	1	10.0	100.0				2	1.4	100.0			
7				4	2.7	98.6												
8				1	0.7	99.3												
9				1	0.7	100.0												
計	110	100		145	100		10	100		110	100		145	100		10	100	
M (mm)	2.7			3.4			4.2			0.3			1.3			2.2		
δ	1.6			2.0			0.3			1.1			1.7			1.9		

3 OT 1: 100 液による反応

OT 1: 100 液による反応は第4表および第1図3の如くである。24時間における反応の大きさの範囲は, 第Ⅰ群0~8mm, 第Ⅱ群0~10mm, 第Ⅲ群5~9mmであつた。その平均値も第Ⅰ群4.2mm, 第Ⅱ群5.8mm, 第Ⅲ群6.4mmであつた。また, 48時間における反応は, 第Ⅰ群ではほとんど消失しているが, 第ⅡおよびⅢ

群ではいまだ反応が持続しているので, その平均値も第Ⅰ群1.0mm, 第Ⅱ群3.1mm, 第Ⅲ群3.9mmであつた。これらの度数分布曲線も, 第Ⅲ群は第Ⅰ群に比し一般に反応の大きい方に寄っている。また, 反応の最大限界, すなわち, 累積度数において約95%を示す硬結の大きさは, 24時間では第Ⅰ群5mmまで, 第ⅡおよびⅢ群8mmまでであり, 48時間では第Ⅰ群2mm, 第Ⅱ群

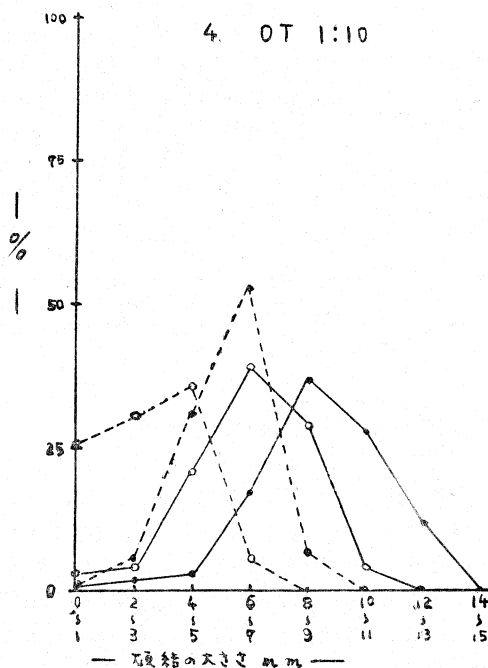
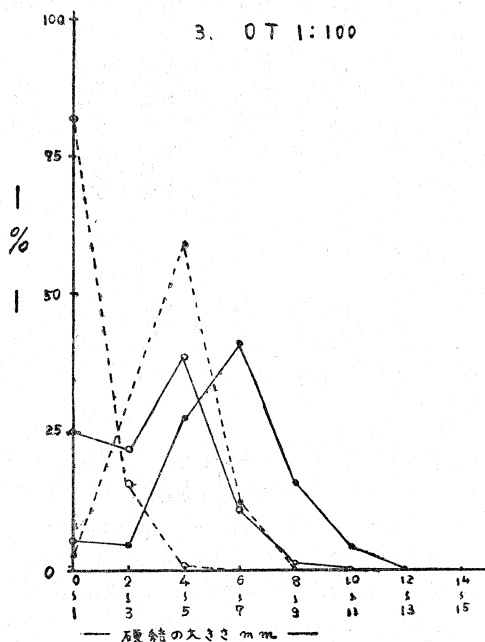
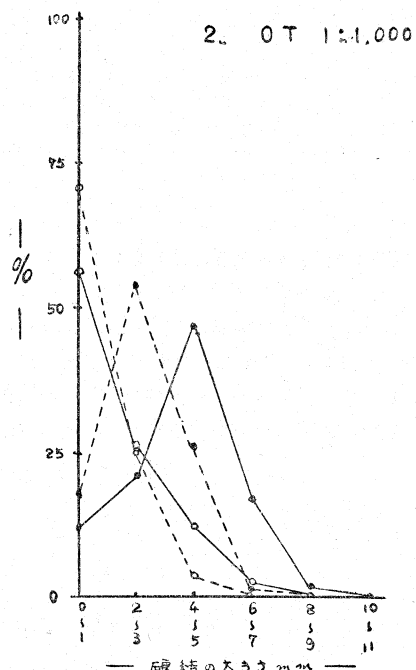
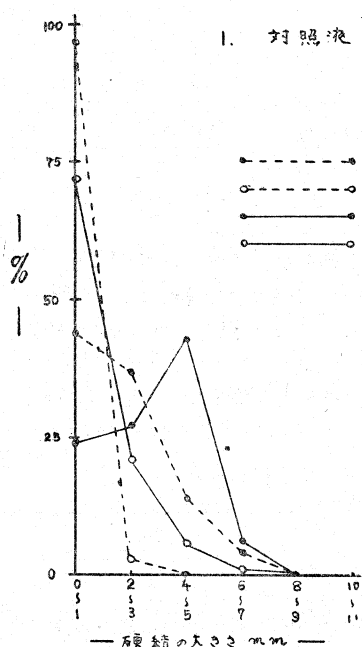
6 mm, 第Ⅲ群 5 mm であつた。このように OT 1:100 液による非特異性反応は先きの OT 1:1,000 液よりもやや大きく表われていた。

4 OT 1:10 液による反応

OT I:10 液による反応は第 5 表および第 1 図 4 の如くである。24 時間における硬結の大きさの範囲は第 I 群 0~9 mm, 第 II 群 0~12 mm, 第 III 群 5~13 mm であ

つた。その平均値は第 I 群 5.7 mm, 第 II 群はやや大きく 8.2 mm, 第 III 群は最も大きく 9.5 mm であつた。48 時間に至るも各群とも反応は持続し、特に第 II および III 群では 10 mm 以上の硬結を呈するもの数例あつた。故に、その平均値も一般に大きく、第 I 群 2.8 mm, 第 II 群 6.5 mm, 第 III 群 8.3 mm であつた。また、これらの度数分布曲線も一般に反応の大きい方に寄つていた。特

第 1 図 各試料による群別の硬結の大きさの度数分布曲線



第4表 OT 1:100 液による硬結の大きさの度数分布表

時間 群 区 分 mm	24									48								
	I			II			III			I			II			III		
	実数	度数%	累積%	実数	度数%	累積%	実数	度数%	累積%	実数	度数%	累積%	実数	度数%	累積%	実数	度数%	累積%
0	1	0.9	0.9	8	5.5	5.5				91	82.7	82.7	37	25.6	25.6	2	20.0	20.0
1																		
2	5	4.5	5.4							7	6.4	89.1	2	1.4	27.0			
3	24	21.8	27.2	7	4.8	10.3				11	10.0	99.1	30	20.7	47.7	1	10.0	30.0
4	45	41.0	68.2	19	13.2	23.5				1	0.9	100.0	34	23.4	71.1	2	20.0	50.0
5	20	18.2	86.4	21	14.5	38.0	2	20.0	20.0				24	16.5	87.6	2	20.0	70.0
6	11	10.0	96.4	42	28.9	66.9	4	40.0	60.0				11	7.6	95.2	3	30.0	100.0
7	3	2.7	99.1	18	12.4	79.3	3	30.0	90.0				5	3.4	98.6			
8	1	0.9	100.0	19	13.2	92.5							2	1.4	100.0			
9				5	3.4	95.9	1	10.0	100.0									
10				6	4.1	100.0												
計	110	100		145	100		10	100		110	100		145	100		10	100	
M(mm)	4.2			5.8			6.4			1.0			3.1			3.9		
δ	1.2			3.2			1.1			1.5			2.3			2.4		

第5表 OT 1:10 液による硬結の大きさの度数分布表

時間 群 区 分 mm	24									48								
	I			II			III			I			II			III		
	実数	度数%	累積%	実数	度数%	累積%	実数	度数%	累積%	実数	度数%	累積%	実数	度数%	累積%	実数	度数%	累積%
0	1	0.9	0.9	1	0.7	0.7				29	26.5	26.5	4	2.7	2.7			
1																		
2	2	1.8	2.7							3	2.7	29.2						
3	4	3.6	6.3	3	2.1	2.8				32	29.1	58.3	6	4.1	6.8			
4	16	14.6	20.9							30	27.2	85.5	8	5.5	12.3			
5	18	16.4	37.3	4	2.7	5.5	1	10.0	10.0	10	9.0	94.5	23	15.9	28.2			
6	35	31.8	69.1	14	9.7	15.2				6	5.5	100.0	28	19.4	47.6			
7	24	21.8	90.9	11	7.6	22.8							28	19.4	67.0	2	20.0	20.0
8	7	6.4	97.3	22	15.1	37.9	3	30.0	40.0				22	15.1	82.1	4	40.0	60.0
9	3	2.7	100.0	32	22.1	60.0	1	10.0	50.0				20	13.8	95.9	3	30.0	90.0
10				19	13.2	73.2	2	20.0	70.0				6	4.1	100.0	1	10.0	100.0
11				22	15.1	88.3	1	10.0	80.0									
12				8	5.5	93.8												
13				9	6.2	100.0	2	20.0	100.0									
計	110	100		145	100		10	100		110	100		145	100		10	100	
M(mm)	5.7			8.2			9.5			2.8			6.5			8.3		
δ	1.6			3.9			2.3			1.6			3.0			0.3		

に、第Ⅰ群と第ⅡおよびⅢ群とも差も著しかった。なお、反応の最大限界、すなわち、累積度数において約95%を示す硬結の大きさは、24時間では第Ⅰ群 7mm まで、第ⅡおよびⅢ群 12mm までであり、48時間では第Ⅰ群 5mm まで、第Ⅱ群 8mm まで、第Ⅲ群 9mm ま

でであった。このように OT 1:10 液による反応は先きの3試料による反応に比し最も強かった。すなわち、非特異性反応の限界も最も大きかった。なお、各試料による反応の相違を第Ⅱ群についてみれば、第2図における度数分布曲線の如くである。すなわち、24時間において

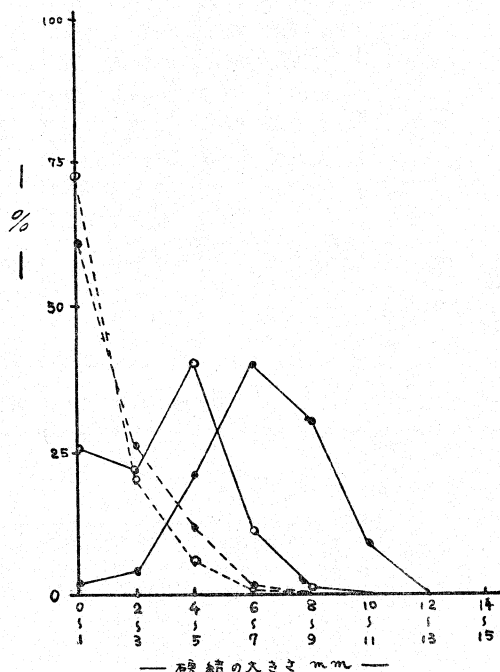
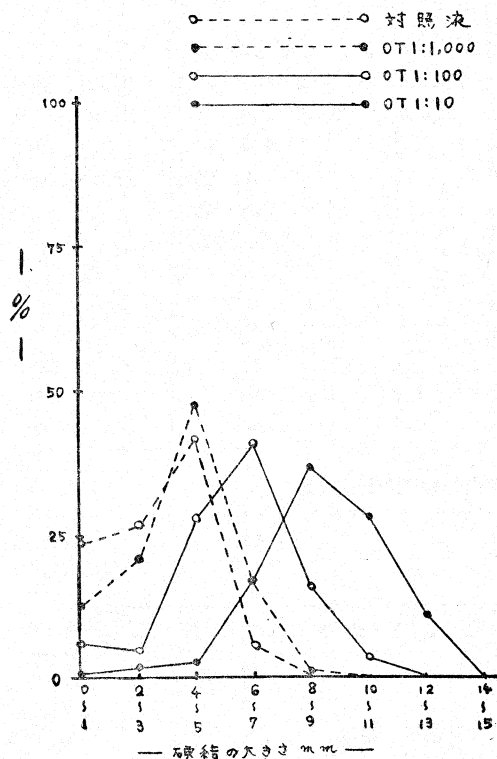
は対照液とOT 1:1,000液とによる反応はほとんど等しく、かつ、大きさも最も小さく、その峰は4~5 mmであつた。OT 1:100液による反応がこれに次ぎ、その

峰は6~7 mmであつた。OT 1:10液によるものは最も大きく、その峰も8~9 mmであつた。48時間における反応も24時間におけるものと等しい傾向がみられた。

第2図 第Ⅱ群における各試料による硬結の大きさの度数分布曲線

1. 24 時間

2. 48 時間



IV 考 案

人体におけるツベルクリン反応の特異性および非特異性反応に関して、野辺地・柳沢¹⁾等によれば、結核の感染者および未感染者を含む集団における、OTによる発赤の度数分布曲線を分析したところ、双峰曲線が描かれた。しかして、その第1峰を非特異性、第2峰を特異性による反応であると述べている。われわれもモルモットにおける、OTによる特異性および非特異性反応をみるため、まず、未感染動物における非特異性反応を調べた。すなわち、健康動物265匹に対照液およびOT 1:1,000, 1:100, 1:10等の稀釈液を皮内注射した際の反応の最大限界、すなわち、累積度数において約95%を示す硬結の大きさを一括すれば第6表の如くである。

この数値は動物の種類や判定者によつて多少の差異のあることは当然である。

また、この調査に使用したOTはソートン培地に培養したものであるが、もし、グリセリン培地のものを用うれば、この限界は多少大きい方に寄るものと思われる。

第6表 各試料による反応の最大限界
(累積度数において約95%を示す硬結の大きさ)

試料	時間	24		48	
		I	II	I	II
対 照 液		4 mm	5 mm	0 mm	4 mm
OT 1: 1,000		3	5	2	3
1: 100		5	8	2	6
1: 10		7	12	5	8

さらにまた、非特異性物質の少ないPPDを用うれば、反応は一般に少くなるのは当然であろう。

次に、年齢によるツベルクリン反応の差異について、一般に乳幼児は青少年に比し、反応性が鈍いといわれている。室橋³⁾⁴⁾はこのことをモルモットにBCGを接種して調べたところ、幼若群は成熟群に比しツベルクリン反応の陽転時期は遅く、かつ、反応の大きさも小さいといっている。われわれが購入直後の体重300 g前後の幼若群と、やや成育し体重450 g前後となつた成熟群とによるOTによる反応を比較したところ、対照液およ

びOT 1:1,000 液では両群間の差異は少ないが、OT 1:100 および 1:10 液等では幼若群に比し成熟群は反応が大きかった。故に、実験開始前の幼若動物について、OT 1:10 液による反応が全然陰性であっても、実験後数カ月を経て体重がやゝ増大した場合、OT による非特異性反応も大きく表れ、特異性のものとまぎらわしいことがあるから、注意を要する。かかる場合にはさらに、数週後に再検査を行うことが必要であろう。

以上のことを考慮した場合、現在我国において使用しているモルモットの皮内反応には OT 1:100 液を使用する方が無難であろう。

V 結 言

結核の未感染モルモットに対し、対照液および OT 1:1,000, 1:100, 1:10 等の各稀釈液 0.1 cc を皮内注射

し、24および48時間後における反応を調べ、次のことを結言する。

1 OT の濃度と硬結による非特異性反応の大きさは比例した。

2 動物の幼若なものは成熟したものに比し、非特異性反応も弱かった。

稿を終るに臨み、種々御指導して下さいました柳沢部長に感謝する。また、動物実験の便宜を与えられた獣疫部依田技官の御好意を謝す。

文 献

- 1) 野辺地慶三・柳沢謙他：厚生科学，1，16 (1940)。
- 2) 野辺地慶三・柳沢謙他：厚生科学，2，41 (1941)。
- 3) 室橋豊穂：児科雑誌，47，21 (1941)。
- 4) 室橋豊穂：児科雑誌，52，1 (1947)。