

# 原 著

## モルモットにおけるツベルクリン反応

### 第2報 感作モルモットにおける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)

三 浦 馨・浅 見 望

(受付 昭和30年9月12日)

### I 緒 言

Römer が結核モルモットにOT 1:5液を用いてツベルクリン・アレルギーを調べて以来、モルモットにおけるツベルクリン反応にはOTの1:5液が用いられている。しかし、Freund & Gottschall<sup>2)</sup>等が流動パラフィン感作による強いアレルギーの動物を得るようになってから、このような濃いOTを用いることは避けられている。けれども、一般にツベルクリン・アレルギーの研究にはOT 1:10または1:100液が用いられている。これらのOTによるツベルクリン反応の特異性の限界に関する調査はほとんど見当らない。われわれは前報<sup>3)</sup>において未感作動物における非特異性反応の最大限界について述べたが、今回は種々な方法によつて感作した動物について、感染後2~8週までにおける反応の最小限界を追求したので、その大要を報告する。

### II 実験方法

1. 使用モルモット: この実験には次の2群の動物を使用した。すなわち、第I群はBCGの検定動物であつて、BCG 0.5mg 接種後のもの96匹である。この平均体重は400gであつた。第II群はツベルクリン・アレルギーの推移を長期にわたり観察したものであつて、感染方法は第1表の如くである。すなわち、種々な菌株の0.001~6.0mgを接種したもの100匹である。この平均体重は450gであつた。
2. 注射試料: ソートン培地に培養したOTを0.5%石炭酸加硼酸硼砂緩衝液をもつて1:100, 1:1,000, 1:10,000等に稀釈したものを用いた。
3. 注射方法: 第I群はOT 1:100液のみを用いた。第II群はOT 1:1,000および1:10,000液を用いた。注射は隔週毎に行い、その都度注射部位を左右交互に実施した。
4. 判定方法: 注射後24および48時間における硬結の大きさを測定した。

第1表 使用モルモットの来経

群別	感 作 方 法			使用 頭数	平均 体重	注射濃度
	使用菌株	菌の 生死	接種菌量			
I	BCG	生	0.5mg	96	405g	1:100
	18B. SM.D	生	1.0	10	498	
II	BCG	〃	1.0	15	481	1:1,000 1:10,000
	H <sub>2</sub>	〃	0.0001	20	454	
		〃	0.01	20	431	
		〃	1.0	20	483	
	青 山 B	死(流 パラ)	6.0	15	400	

### III 実験方法

#### 1:OT 1:100液による反応

第I群にOT 1:100液を用いた場合の反応の結果は第2表および第1図の如くである。注射後24時間における硬結の大きさの範囲は、2週では4~23mmであるが、4および6週では10~25mmとなつた。故に、この平均値も2週では13.9mmであるが、4週では比較的大きく17.9mmとなり、6週では19.0mmとなつた。また、これらの度数分布曲線はいずれも単峰の正規分布を描き、週を経るにしたがつて峰は反応の大きい方に寄つていた。さらに、48時間における反応の範囲は2週では0~17mm、4週では4~21mm、6週でも6~21mmであつて、反応はかなり残つている。故に、その平均値も2週8.8mm、4週14.0mm、6週14.8mmであつた。また、度数分布曲線は先きの24時間におけるものとほぼ類似の正規分布であつた。これら各週における反応の最小限界、すなわち、累積度数において約6%以上を示す硬結の大きさは、24時間では、2週7mm以上、4および6週14mm以上であつた。48時間では2週0mm、4および6週10mm以上であつた。

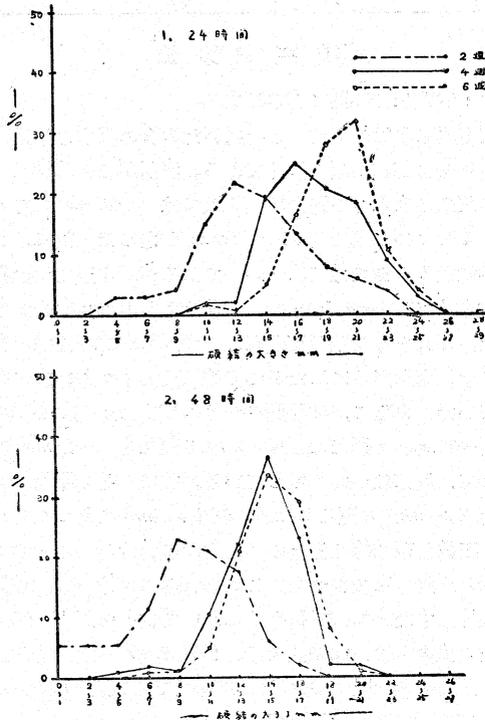
#### 2. OT 1:1,000液による反応

第II群にOT 1:1,000液を使用した場合の反応結果は第3および4表ならびに第2図の如くである。24時間

第 2 表 BCG感染動物における OT1: 100 液による硬結の大きさの度数分布表

時間 週 区分 硬結の 大きさ mm	24									48								
	2			4			6			2			4			6		
	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										6	6.3	6.3					
2 ~ 3										6	6.3	12.6						
4 ~ 5	3	3.1	3.1							6	6.3	18.9	1	1.0	1.0			
6 ~ 7	3	3.1	6.2							11	11.4	30.3	2	2.1	3.1	1	1.0	1.0
8 ~ 9	4	4.2	10.4							22	22.9	53.2	1	1.0	4.1	1	1.0	2.0
10 ~ 11	15	15.6	26.0	2	2.1	2.1	2	2.1	2.1	20	20.8	74.0	10	10.4	14.5	5	5.2	7.2
12 ~ 13	21	21.9	47.9	2	2.1	4.2	1	1.0	3.1	17	17.6	91.6	21	21.9	36.4	20	20.8	28.0
14 ~ 15	19	19.8	67.7	18	18.8	23.0	5	5.2	8.3	6	6.3	97.9	35	36.5	72.9	32	33.4	61.4
16 ~ 17	13	13.5	81.2	24	25.0	48.0	16	16.7	25.0	2	2.1	100.0	22	22.9	95.8	28	29.2	90.6
18 ~ 19	8	8.3	89.5	20	20.8	68.8	27	28.1	53.1				2	2.1	97.9	8	8.4	99.0
20 ~ 21	6	6.3	95.8	18	18.8	87.6	31	32.3	85.4				2	2.1	100.0	1	1.0	100.0
22 ~ 23	4	4.2	100.0	9	9.3	96.9	10	10.4	95.8									
24 ~ 25				3	3.1	100.0	4	4.2	100.0									
計	96	100		96	100		96	100		96	100		96	100		96	100	
M(mm)	13.9			17.9			19.0			8.8			14.0			14.8		
δ	4.00			3.04			3.74			3.86			2.60			2.34		

第 1 図 BCG感染動物における OT1:100 液による硬結の大きさの度数分布曲線



における反応の範囲は、2週では 2~15mm、4週では 4~23mm、6週では 8~27mm、8週では 8~25mm であつた。この平均値も 2週では小さく 7.4mm である

が、4週にいたり急に大きくなり、15.6mm となつた。次いで、徐々に反応は増大するため、6週では 17.6mm、8週では 16.8mm となつた。これら各週の度数分布曲線は図示の如く、いずれも単峰の正規分布をなしていた。また、その頂点は 2週のみ 6~7mm で最も小さい方に寄つているが、4~8週のものには 14~17mm の間にあつて、これら各週の曲線はほとんど類似図を描いている。48時間における反応は、2週では約半数が反応は消失してある。また、他の半数も 4~7mm であつた。4週以後は 0~21mm の反応があり、各週による差は少なかつた。故に、この平均値も 2週 3.2mm で最も小さいが、4週 11.8mm、6週 12.7mm、8週 13.5mm であつた。また、これらの度数分布曲線を見るに 2週では双峰を描いているが、4週以後のものは単峰であつた。しかし、4および6週では 14~15mm のところに頂点があるも、8週では 12~13mm のところに頂点のある低く広い曲線を描いている。これらの反応の最小限界、すなわち、累積度数において約 6% 以上の値を示す硬結の大きさは、24時間においては、2週 4mm、4週 10mm、6週 12mm、8週 10mm であり、また、48 時においては 2週 0mm、4および6週 6mm、8週 8mm であつた。

3. OT 1: 10,000 液による反応

この成績は第 5 表および第 3 図の如くである。表および図で見る如く先きの OT 1: 1,000 液に比すれば、この試料による反応は一般に分布が広く、かつ、反応も小さくなつている。すなわち、各週の平均値は 24 時間では、

第3表 各菌株感染動物の OT1:1,000 液注射後  
24時間における硬結の大きさの度数分布表

週 区分 硬結大 きmm	2			4			6			8		
	実数	度数%	累積%									
0 ~ 1												
2 ~ 3	8	8.8	8.8									
4 ~ 5	13	14.3	23.1	1	1.1	1.1						
6 ~ 7	35	38.4	61.5	1	1.1	2.2						
8 ~ 9	14	15.4	76.9	1	1.1	3.3	1	1.2	1.2	1	1.2	1.2
10 ~ 11	9	9.9	86.8	6	6.9	10.2	3	3.5	4.7	8	9.5	10.7
12 ~ 13	10	11.0	97.8	12	13.9	24.1	5	5.9	10.6	6	7.2	17.9
14 ~ 15	2	2.2	100.0	24	27.6	51.7	14	16.5	27.1	21	25.0	42.9
16 ~ 17				25	28.8	80.5	22	25.9	53.0	15	17.8	60.7
18 ~ 19				7	8.0	88.5	15	17.6	70.6	9	10.7	71.4
20 ~ 21				7	8.0	96.5	13	15.4	86.0	12	14.3	85.7
22 ~ 23				3	3.5	100.0	8	9.4	95.4	7	8.3	94.0
24 ~ 25							1	1.2	96.6	5	6.0	100.0
26 ~ 27							3	3.4	100.0			
計	91	100		87	100		85	100		84	100	
M(mm)		7.4			15.6			17.6			16.8	
δ		2.92			3.20			3.64			3.66	

峰が高く、6週では両峰の高さがほぼ等しかった。48時間のものでは4週のものには双峰、6および8週のものには3峰を描き、各週の谷は2~3mmと8~9mmとのところにあつた。しかし、各週とも第1峰が最も高く0~1mmに頂点がある。ついで、第2峰および第3峰の順であるが、6週のみはこの両峰がほぼ同じ高さであつた。また、反応の最小限界、すなわち、累積度数において約6%以上の値を示す硬結の大きさは、24時間においては4週5mm,6および8週6mmであつた。さらに、48時間においては各週とも0mmであつた。このようにOT1:10,000液による反応は先きのOT1:1,000液による反応よりも一般に小さかつた。

第4表 各菌株感染動物の OT1:1,000 液注射後48時間における硬結の大きさの度数分布表

週 区分 硬結大 きmm	2			4			6			8		
	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	39	43.0	43.0	2	2.3	2.3						
2 ~ 3	10	11.0	54.0				1	1.2	1.2			
4 ~ 5	22	24.0	78.0	2	2.3	4.6	2	2.4	3.6	1	1.2	1.2
6 ~ 7	14	15.4	93.4	6	6.9	11.5	3	3.5	7.1	3	3.6	4.8
8 ~ 9	4	4.4	97.8	12	13.8	25.3	4	4.7	11.8	9	10.7	15.5
10 ~ 11	1	1.1	98.9	12	13.8	39.1	18	21.1	32.9	13	15.5	31.0
12 ~ 13	1	1.1	100	19	21.9	61.0	21	24.7	57.6	16	19.0	50.0
14 ~ 15				24	27.5	88.5	23	27.0	84.6	15	17.9	67.9
16 ~ 17				9	10.4	98.9	9	10.6	95.2	12	14.2	82.1
18 ~ 19				1	1.1	100.0	2	2.4	97.6	10	11.9	94.0
20 ~ 21							2	2.4	100.0	5	6.0	100.0
計	91	100		87	100		85	100		84	100	
M(mm)		3.2			11.8			12.7			13.5	
δ		2.82			3.58			3.26			3.78	

IV 考案

結核感染モルモットにおけるツベルクリン反応の判定基準として、清水(4)は OT1:10液を皮内注射後24時間における反応を次の如く5つに区分している。すなわち、(-)は無反応、(±)は4mm以下、(+)は5~15mm、(++)は16~24mm、(+++)は25mm以上であ

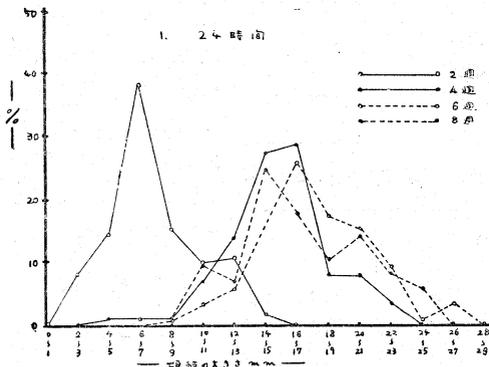
4週9.1mm,6週11.2mm,8週10.4mmであり、48時間では、4週4.5mm,6週6.6mm,8週5.7mmであつた。この度数分布曲線は24時間のものでは各週とも10~11mmのところの谷のある双峰曲線を描いている。しかして、4および8週のものでは反応の小さい方の第1

る。われわれが第1報に報告した、未感作動物における各試料による反応の度数分布曲線と感作動物におけるものうち、反応の最高時期、すなわち、感染後6週における度数分布曲線とを同一グラフ上に表わすと第4図の如くである。図示の如く、OT1:100液では感作動物と

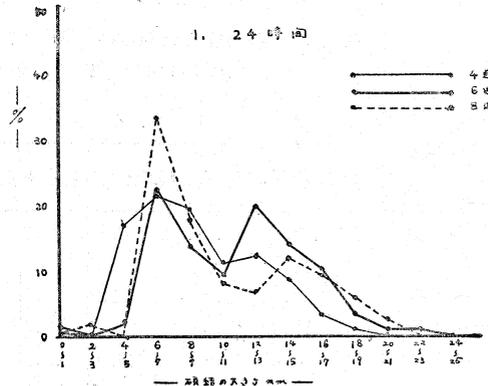
第5表 各菌株感染動物における OT1:10,000 液による硬結の大きさの度数分布表

時間 週 区分 硬結の 大きさ mm	24									48								
	4			6			8			4			6			8		
	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	2	2.3	2.3	1	1.2	1.2	1	1.2	1.2	27	31.0	31.0	26	30.5	30.5	27	32.1	32.1
2 ~ 3	1	1.1	3.4				2	2.4	3.6	9	10.4	41.4				1	1.2	33.3
4 ~ 5	15	17.2	20.6	2	2.3	3.5				22	25.3	66.7	6	7.2	37.7	12	14.3	47.6
6 ~ 7	19	21.8	42.4	19	22.4	25.9	28	33.3	36.9	11	12.6	79.3	16	18.8	56.5	17	20.2	67.8
8 ~ 9	17	19.6	62.0	12	14.1	40.0	15	17.9	54.8	8	9.2	88.5	8	9.4	65.9	6	7.2	75.0
10 ~ 11	10	11.5	73.5	8	9.4	49.4	7	8.3	63.1	7	8.1	96.6	16	18.8	84.7	10	11.9	86.9
12 ~ 13	11	12.7	86.2	17	20.0	69.4	6	7.2	70.3	2	2.3	98.9	8	9.4	94.1	7	8.3	95.2
14 ~ 15	8	9.2	95.4	12	14.1	83.5	10	11.9	82.2	1	1.1	100.0	3	3.5	97.6	4	4.8	100.0
16 ~ 17	3	3.5	98.9	9	10.6	94.1	8	9.5	91.7				2	2.4	100.0			
18 ~ 19	1	1.1	100.0	3	3.5	97.6	5	5.9	97.6									
20 ~ 21				1	1.2	98.8	2	2.4	100.0									
22 ~ 23				1	1.2	100.0												
計	87	100		85	100		84	100		87	100		85	100		84	100	
M(mm)		9.1		11.2			10.4			4.5			6.6			5.7		
δ		3.78		4.96			4.42			3.58			4.86			3.84		

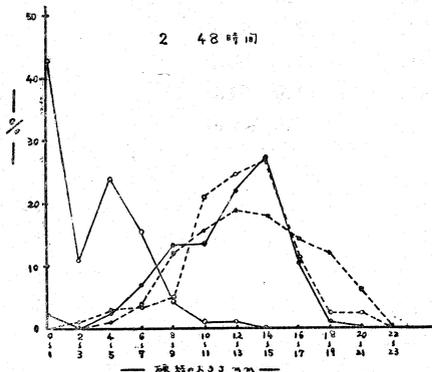
第2図 各菌株感染動物における OT1:10,000 液による硬結の大きさの度数分布曲線



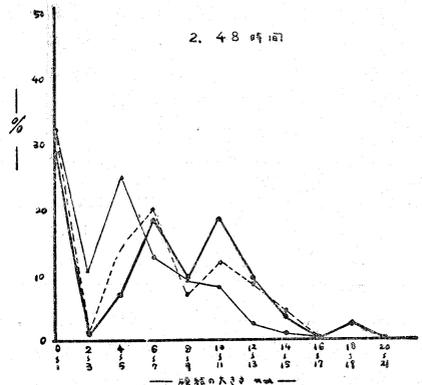
第3図 各菌株感染動物における OT1:10,000 液による硬結の大きさの度数分布曲線



2 48時間



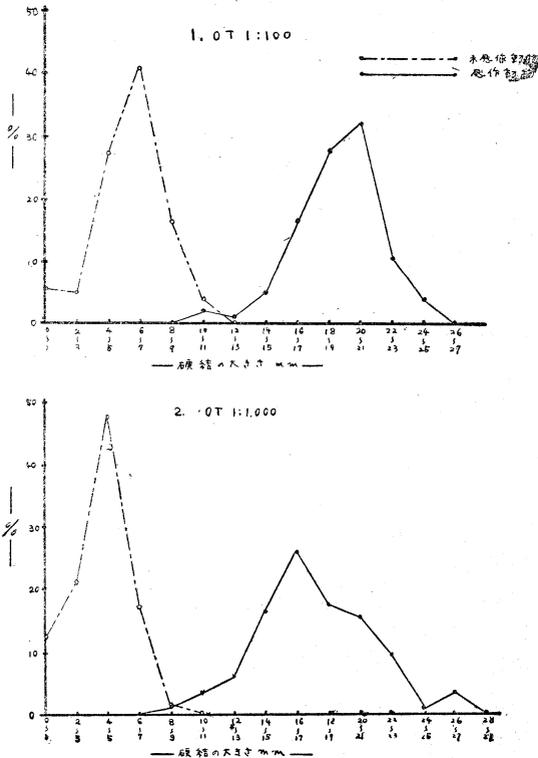
2. 48時間



未感染動物とによる分布曲線は明かに区別され、双峰を形成している。しかして、この両峰の谷は 12~15mm

のところであり、1峰は巾狭く、その頂点は高いが、2峰は巾や、広く、その頂点は1峰に比し低かつた。ま

第4図 未感作動物及び感作動物(6週)に各試料注射後24時間に行なつた硬結の大きさの累積分布曲線の比較



た、OT1:1,000液によるものも双峰をなし、その形はほとんど OT1:100液によるものと類似し、ただ、両峰とも全般に反応の小さい方に寄つているに過ぎない。故に、その谷も8~9mmである。このように結核感染モルモットのツベルクリン・アレルギーの最強時期においては、未感作動物における非特異性反応と明かに区別することの出来る特異性反応が認められた。なお、未感作動物における反応の最大限界(累積度数において約95%以内の値を示す硬結の大きさ)と感作動物における反応の最小限界(累積度数において約6%以上の値を示す硬結の大きさ)とを一括表示すれば第6表の如くである。

この限界は第1報にも述べた如く、われわれが現在実験に使用しているモルモットについてののみ、得るものであつて、動物の種類が純化され、また、使用ツベルクリンが精製されたり、さらに、判定者の個人差が著しい場合等はこの数値が移動するであろうことは当然である。

次に感作後の時期によるツベルクリン反応の強さについては、佐藤<sup>5)</sup>、清水<sup>4)</sup>および菅原<sup>6)</sup>等の報告がある。しかし、彼等はいずれも OT1:10液を用いている。特に佐藤は人型結核菌 0.001mg 感作群では感作後徐々に反応は上昇し、70日(10週)では最高に達し、その後はやゝ下降するといつている。しかし、清水は感作後6週で最高に達し、以降徐々に減少の傾向を示すと述べている。われわれの成績では感染後4週に至り、アレルギー

第6表 未感作および感作動物における反応の限界

試料	時間		24		48	
	群別	限界	未感作	感作	未感作	感作
			最大限界	最小限界	最大限界	最小限界
OT 1:100			mm 8	mm 14	mm 6	mm 10
1:1,000			5	12	3	6
1:10,000			5	6	3	0

は急激に上昇し、6週において反応は最高に達したのは清水の成績と一致している。また、使用ツベルクリンの濃度については、多くの先人は OT1:10液を用いているが、この液は未感作動物においてさへ非特異性反応が強く表われるので、まして感作群に使用すれば特異性反応も強く表われ、皮膚を傷つけ以後の実験に支障を来すので、このような濃厚液は用うべきでない。故に、感作後2~3週までは OT1:100液を用い、4週以降では OT1:1,000液を使用する方がよいと思う。

V 結 言

種々な方法によつて感作したモルモットについて、感作後週を追つてツベルクリン・アレルギーを調べたことを要約する。

1. ツベルクリン・アレルギーは感染後4週から急激に上昇し、6週では最高を示した。故に、感作動物のツベルクリン・アレルギーを調べるには6週頃が最適である。
2. OT1:100 および 1:1,000液によつては、反応の度数分布曲線は単峰であるが OT1:10,000液では双峰が見られた。
3. 感作後ツベルクリン・アレルギーの最高時期(6週)においては OT による特異性反応と非特異性反応とは明かに区別される。
4. モルモットにおける結核の研究には、OT 1:100液または 1:1,000液を用うべきである。

終りに臨み、御指導と御校閲を賜つた柳沢部長に感謝する。また、BCG感作群の使用に便宜を与えられたBCG室の各位の御好意を謝す。

文 献

- 1) Römer, u. Joseph: Beitr. y. Klin. & Tuberk., 1 4,1 (1909).
- 2) Freund, J. & Gottschall, R. Y.: Arch. path., 34, 73 (1942).
- 3) 山崎久治・浅見 望: 結核.
- 4) 清水忠夫: 結核, 25, 198 (1950).
- 5) 佐藤 稔: 結核, 20, 13(1942).
- 6) 菅原庸雄: 抗酸研誌, 7, 97(1951).