

モルモットによるツベルクリンの力価試験に関する研究

第3報 感作後の時期によるツベルクリン力価の分離能

三 浦 馨・浅 見 望

国立予防衛生研究所結核部 (部長 柳沢 謙)

受付 昭和32年5月16日

I 緒 言

第2報¹⁾において、感作後の時期の異なる動物について、力価試験の分離能を調べ、濃度をOT 500倍から16,000倍までの稀釈液を用いた場合、感作してから2ヵ月後のものと、12ヵ月後のものとは、前者は後者に比し、反応差と濃度差とがよく比例し、また、その分離能もよいことがわかつたので、今回は前実験の成績をさらに詳細に検討するため、感作後の種々な時期の動物について、稀釈濃度を前回よりも狭い範囲のものを用い、分離能の最もよい感作後の時期を見出すため、稀釈濃度差に対する反応差の関係を調べたので、その大要を報告する。

II 実験方法

1. 使用動物: 体重 400g の健康モルモット30匹に人型結核菌青山B株の死菌流動パラフィン浮遊液6mgを後脚筋肉内に接種したのち、これを6匹ずつの5群に別ち、4, 6, 8, 12および24週後に1群ずつ実験に供した。
2. ツベルクリンの稀釈濃度: 人型結核菌青山B株のソートン培地培養のツベルクリン原液を0.5%石炭酸加硼砂硼酸緩衝液をもって2,000倍稀釈液を中心に対数濃度により次の6稀釈液を作つた。1) 1,200倍, 2) 1,550倍, 3) 2,000倍, 4) 2,580倍, 5) 3,330倍, 6) 4,320倍等。
3. 注射および判定方法: 1実験に感作動物6匹を用い、1匹に6試料を左右腹側部に0.1ccずつ部位差を相殺するためラテン交絡法によつて皮内注射した。注射後24時間および48時間における硬結の大きさを無作意的に計測した。
4. 計算法: 計測値の平均値を用い、前報²⁾の如く推計学的検定法を行った。

III 実験成績

1. 感作後の時期による反応の比較
死菌流動パラフィン6mgを感作したのち、4, 6, 8, 12および24週における各濃度のツベルクリンによる反応の大きさの平均値は表1の如くである。すなわち、24時間の反応についてみるに、4週では4,320倍の平均値は

表1 感作後の各週における反応の大きさの平均値の比較

時間 経過週 濃度	24					48				
	4	6	8	12	24	4	6	8	12	24
4,320	11.7	12.5	14.4	14.5	12.0	9.5	9.7	11.8	11.5	11.2
3,330	11.5	13.7	15.0	14.7	12.8	8.9	11.0	11.8	12.0	11.7
2,580	13.2	14.4	16.6	15.3	13.5	9.5	11.5	14.3	13.0	12.8
2,000	14.2	16.3	17.0	16.0	13.7	9.9	12.3	13.5	13.2	12.8
1,550	14.5	16.5	18.2	16.6	14.4	11.8	14.7	15.7	13.7	13.7
1,200	18.8	17.4	19.4	17.2	15.7	16.3	15.3	17.0	14.7	15.2
平均値	14.0	15.1	16.8	15.7	13.7	11.0	12.4	14.0	13.0	12.9

11.7mmであり、1,200倍の平均値は18.8mmとなつているが、各濃度間の反応の差は等しくなく、特に1,550倍と1,200倍との反応の差は4mm以上である。これはこの時期におけるツベルクリン・アレルギーの発現に変動が多いためではないかと思われる。次いで、6週における平均値はやや上昇し15.1mm、8週ではさらに上昇し16.8mm、12週ではやや小さく15.7mm、24週では最も小さく13.7mmであつた。このように週を経るにしたがつて反応は漸次上昇して、8週で最も大きいのが、次いで漸次その大きさを減じている。48時間についても、24時間におけるとほぼ同一の傾向がみられた。さらに24時間の反応は48時間のものに比すれば、一般に明瞭であり、かつ、反応の大きさも大きかつた。

2. 要因分析

この実験において分析できる要因は試料の濃度差(S)、

表2 各週における要因分析表

要因	時間 経過週	24					48				
		4	6	8	12	24	4	6	8	12	24
S		**	**	**		*	**	**	*		**
B		**	**	**	*	**	**	**			**
L											*
H											

注 S……濃度差 (4,320, 3,330, 2,580, 2,000, 1,550, 1,200)
B……動物個体差 L……部位差(上中下) H……左右差
*……5%危険率 **……1%危険率

動物個体差(B), 部位差(L), および左右差(H)等である。これらを推計学的に処理した結果は表2の如くである。すなわち, 試料の濃度差が1%危険率で有意なのは24時間では4, 6および8週, 48時間では4, 6および24週であり, 5%危険率で有意なのは24週の24時間, 8週の48時間であり, その他は有意差は認められなかった。

動物個体差は24時間では各週とも認められ, 48時間でも8, および12週以外は1%の危険率で有意である。その他部位差, 左右差は24週の48時間以外は認められなかった。

3. 推計学的検討

表3についてみるに, 方向係数 $|b|$ は24時間では4週

表3 感作後の各週における反応の検定表

区 内	24					48				
	4	6	8	12	24	4	6	8	12	24
\bar{y}	14.0	15.1	16.8	15.7	13.7	11.0	12.4	14.0	13.0	12.9
$ b $	10.80	8.40	8.35	4.78	5.57	10.50	9.57	8.84	5.09	6.12
λ	8.54	1.72	1.76	1.48	0.11	14.4	2.72	3.84	0.72	1.63
u^2	5.45	2.55	2.92	2.68	2.05	5.56	2.69	3.10	2.36	2.34
$x=3.08$	18.6	17.5	19.1	17.0	15.3	13.9	15.1	16.7	14.4	15.0
$x=3.63$	10.7	12.8	14.6	14.4	12.2	8.2	9.8	11.8	11.6	11.2
$F_0 > F$	*	**	**	*	**	*	**	**	**	**
$D \pm (mm)$	9.27	6.89	7.89	7.25	5.54	9.63	7.273	8.38	6.38	6.33
$\log \frac{ D }{b}$	0.089	0.100	0.107	0.180	0.134	0.092	0.090	0.104	0.168	0.132
判別可能	$\times 2,450$	2,520	2,560	3,000	2,726	2,470	2,460	2,540	2,880	2,710
2,000 倍	$\times 1,630$	1,575	1,560	1,320	1,470	1,633	1,625	1,574	1,390	1,475

10.8, 6週8.40, 8週8.35, 12週4.78, 24週5.57となり4週が最も大きい, この週における反応は直線をなしていないのでこの週を除外すると, 次の6週および8週が最も大きい値を示し, 12週が最も小さかった。48時間でも, 4週を除けば6週が大きく, 8週がこれに次ぎ, 24週, 12週の順となつている。なお, これを図示すれば

図1の如く, 24時間では6週および8週はたち, 48時間でも同様に6週および8週が立っている。不偏分散 u^2 は24時間では4週が最も大きく, 24週が最も小さかった。また, 48時間では4週および8週が大きく, 12週および24週が小さかった。分離能 $(\frac{\log |D|}{b})$ も24時間では6週および8週が小さく, 12週および24週が大きかった。また, 48時間においても同様な傾向がみられた。これらの成績からみると, 4週では方向係数は大きい, 不偏

図1 感作後の各週における反応の大きさ 24時間判定

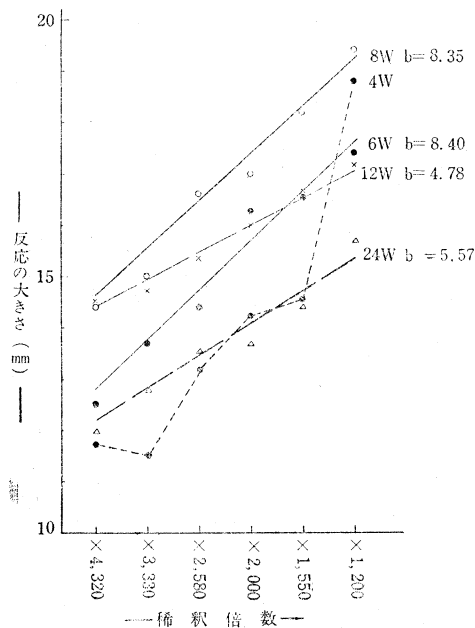
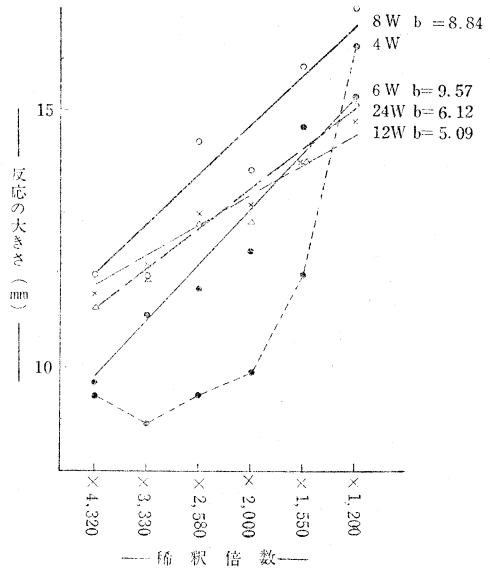


図2 感作後の各週における反応の大きさ 48時間判定



分散が最も大きいため、濃度差と反応差とが相関せず、直線上にのらなかつた。しかし、6週および8週では感作後のアレルギーの発現も良好で、方向係数および分離能の値も共に良い成績を示し、12週では方向係数も小さく、かつ、要因分析上濃度差が認められないので、分離能も悪かつた。24週でも方向係数は小さく、分離能も悪かつた。

IV 考 案

われわれは、青山B株死菌流動パラフィンの感作モルモットを用い、感作後の時期によるツベルクリン力価の最適時期を調べたところ、感作後4週では動物の個体差が大きいため反応差と濃度差とが比例せず良好でなかつた。しかし、6および8週では方向係数も大きく、分離能も良かつた。故に、感作後約2ヵ月あたりのモルモットを使用し、OT 2,000倍液を標準とした場合その分離能は1,500倍稀釈液と2,500倍稀釈液とを確実に鑑別しうる程度であつた。これは前田ら³⁾⁴⁾がさきに条件をそろえた人体を用いて行つた際、Ratio法およびSign test法によれば2,000倍稀釈液を標準として1,600倍稀釈液と2,400倍稀釈液とを鑑別しうる程度であつたのとほぼ等しい。なお、人体においては最近ツベルクリンの頻回注射による影響で、条件を同一にすることは容易でない。その点動物では条件を揃えることは容易であるので、今後さらに、個体のアレルギーの同一のものを選ぶ方法を検討すると共に、使用数を今回は6匹しか用いていないが、その数を増せば個体差も相殺されるので、その点に

関してもあらたに検討を加え、より良き動物による力価試験法を見出さんために、目下研究中である。

V 結 論

モルモットによるツベルクリンの力価試験を行う場合の基礎実験として、感作後の種々の時期におけるツベルクリン濃度の分離能について検討し、次の如き結果が得られた。

- 1) 4週では特に動物の個体差が甚だしく大きいため、濃度差に対する反応の大きさの差が平衡せず分離能は悪かつた。
- 2) 6週および8週では24および48時間とも、ツベルクリン力価の分離能が良かつた。
- 3) 12週および24週では分離能は余り良くなかつた。
- 4) 全時期を通じて反応も大きく、明瞭であるため、判定誤差は少なかつた。

稿を終るに当り御指導御校閲を賜りました柳沢部長に深謝します。

文 献

- 1) 浅見 望・三浦 馨・細井正春：結核，32：73，1956.
- 2) 伊東恒夫・浅見 望：結核，31：74，1956.
- 3) 前田道明：結核の臨床，3（5）：47，1955.
- 4) 前田道明：結核の臨床，3（6）：48，1955.