

## Middlebrook-Dubos 反応の血沈変法

芥川光男

国立福岡療養所 (所長 佐々虎雄博士)

受付 昭和 31 年 9 月 4 日

## 1. 緒言

Middlebrook-Dubos 反応は結核に対しある程度特異的であり、結核症の経過や治療効果の判定などに対して参考になるであろうと思われる点も多いが、操作が比較的繁雑であり、一定度の熟練を要するためにまだ一般に広く用いられるまでには至っていない。また通常倍数稀釈によつて行われるために、凝集素価が幾何級数的にすなわち飛躍的にしか求められず、実験者の肉体的条件、例えば疲労などの如何が判定に影響する危険が大きい。なお稀釈段階を倍数よりも細分することは、誤差範囲内で操作が倍加するのみで意義が少ないとされている。しかしながら血清学的価値のほぼ確立された反応であるから、もし簡略でしかも誤差の生じ難い変法が考案されれば普及裨益するところが大きいと思われる。

これに反して赤血球沈降反応 (以下血沈と略) は結核症の病勢診断に毎常行われる臨床検査であるが、血沈速度を左右するものは赤血球凝塊の大きさと血液の粘稠度との相関関係であるとするならば、なんら結核に特異的な要素を含んでいないと考えられる。

ところで血球が凝集すると、凝集が強ければ強いほど、すなわち血球凝塊が大きくなればなるほど、血球塊は凝集していない個々の血球よりも速く沈降するのは事実である。

$$\gamma = C \sqrt{\eta} v \quad (\text{Stokes's Law})$$

$\gamma$ : 凝塊の半径

$\eta$ : 比較粘稠度

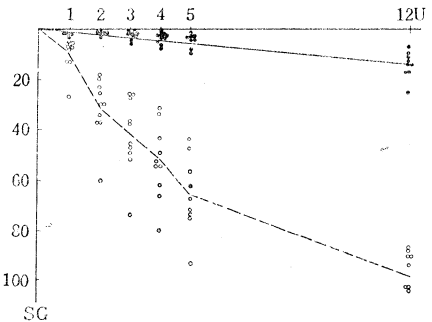
$v$ : 沈降速度

$C$ : 恒数

クエン酸ソーダを加えて凝固を防いだ健康者の O 型血液を遠心沈降して得た血漿を 2 分し、1 半には A 型または B 型の血球を入れ、他の 1 半には O 型血球を入れて良く混和した後、直ちにウェスターグレン氏法で血沈を行った成績が表 1 である。血球の量は血液を遠心沈降して得た血球沈渣の容量で計り、血球対血漿の容量比は常に 3:4 とした。

横軸は時間、縦軸はウェスターグレン氏ピペットの読みで、実線は凝集していないピペット群すなわち O 型血球を入れた群、破線は凝集した群すなわち A 型または B 型血球を入れた群の血沈値の平均の経過を示す。散在する点は実測値である。破線の傾斜すなわち凝集した血球

表 1 血球凝集による血沈の促進



塊の沈降する速度は、5 時間目までは急峻で以後は緩徐になる。

以上により凝集の強弱すなわち凝集素価を血沈速度で表わすことが考えられるわけである。かかる方法を用うれば、通常血沈と同様に 1 本のピペットの目盛を読むだけであるから、方法が至極簡便であり、判定に熟練を要せず、しかも価が連続的に精密に得られる。

## 2. 文献概要

1948年 Middlebrook & Dubos<sup>1)</sup>が人型結核菌より抽出した物質を吸着させた羊赤血球が、結核患者血清により特異的に凝集されるという現象を発表してより、この反応の本態や応用方面の研究とともに、術式の改善に対しても多大の努力が払われてきた。

まず 1950年 Scott & Smith<sup>2)</sup>が菌抽出液の代りに旧ツベルクリンを用うることを始め、同年矢追、武井<sup>3)</sup>も結核菌培養濾液で羊よりも得易い鶏の赤血球を感作して臨床報告を行い、熊谷、長沢<sup>4)</sup>は O 型人血球を用うることにより種族特異的の反応を除くことに成功した。

また 1950年 Middlebrook<sup>5)</sup>は溶血反応を発表したが、凝集素価と溶血素価との間には平行関係がないと報告した。山下<sup>6)</sup>、北本<sup>7)</sup>、齊藤<sup>8)</sup>も同意見であり、反応の鋭敏度においては溶血反応の方が凝集反応より優れており、非特異的の反応が少ないと述べている。

さらに 1951年 Thalheimer & Rowe<sup>9)</sup>は載物ガラス板上で凝集反応を迅速に判定する方法を考案し原法よりむしろ鋭敏であると述べたが、Forshebach<sup>10)</sup>は非特異的凝集が多いといっている。同年矢追<sup>11)</sup>も同様な凝集盤 (ホールグラス) による変法を発表した。

なお 1951年 Boyden<sup>12)</sup>は赤血球をタンニン酸で前処置

してから PPD を吸着させて凝集反応を行い、原法よりも一般に高凝集素価をえると報告し、また翌々年 Hein<sup>13)</sup> は赤血球をトリプシンで前処置すれば凝集素価が高くなると発表し、中江<sup>14)</sup> はタンニン酸よりもトリプシンが優れていると述べている。

また昭和25年及川<sup>15)</sup> は血球をツベルクリンで感作して血沈を行い、血球凝集と血沈促進が起ることを観察し、結核症における血沈促進の1因は、赤血球に吸着された抗原と血漿中の抗体との間の Middlebrook-Dubos 反応であろうと推論し、翌年勝沼、中里<sup>16)</sup> は同様な実験によつて、非感作の対照血沈との60分値の差が結核症に特異的で鑑別診断に有用であると発表した。

実験材料については、北本<sup>7)</sup>、高山<sup>17)</sup> が感作用抗原として青山B株を推賞している。佐々木<sup>18)</sup> は血清の非汚化の有無は影響がなく、クエン酸加血液も使用しうが、血清中の抗体は数日間保存すればほとんど破壊され、感作血球も保存条件によつて凝集素価が変化するので観察した。

実験方法については、江崎<sup>19)</sup> が40倍稀釈旧ツベルクリンを血球量の50倍以上加えて37°Cに2時間置いて感作し、これを用いて凝集反応は37°Cに2時間、ついで室温に24時間放置した後判定するのが良いと述べている。

3. 実験材料

- 1) 3.8%クエン酸ソーダ水溶液。
- 2) 旧ツベルクリンは人型結核菌青山B株のグルタミン酸ソーダ、ソートン培地8週培養の加熱濾液より作った。
- 3) 人O型血球泥はO型健康者(著者)の肘静脈より採血し、遠心沈澱して血漿を分離除去後、生理的食塩水で1,500回転5分3回遠心洗滌した赤血球沈澱である。用に臨みこれからメスピベットで必要量を採取した。
- 4) 人O型感作血球は上記の人O型血球泥を60倍稀釈旧ツベルクリンの60倍容量と混合して、37°Cの恒温器中できどき振りながら2時間、ついで氷室に1夜放置して感作したものである。

4. 実験方法

3.8%クエン酸ソーダ液と被検血液とを1:4の割合に混合し(臨床的には3.8%クエン酸ソーダ1ccを吸引した注射器で被検者の肘静脈より5ccの目盛まで採血し、良く混合すれば良い)、その中の2cc足らずで通常の血沈を行う。残り(3cc余り)を遠心沈澱して得る上清を0.9ccあて2本の試験管に分注する。

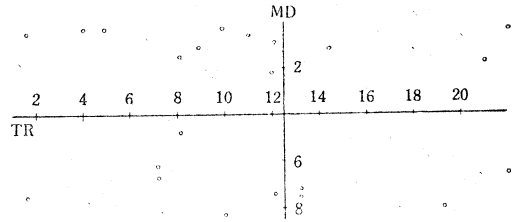
この1本には人O型血球泥0.6ccを混合してウェスターグレン氏法で血沈を行う。この血沈は血球の質や量による影響を除去して、血漿のみの性質を示すことになる。これを補正血沈<sup>20)</sup>と呼ぶことにする。これに関して

は昭和25年に鈴木<sup>21)</sup> が血球の置換は血沈に影響が少なく、結核症における血沈促進の重要な因子は血漿の変化であると述べている。

残りの1本の試験管には人O型感作血球泥を遠心洗滌して0.6cc混合し、37°Cの恒温器中できどき振りながら25分反応させた後、ウェスターグレン氏法で5時間目にスピベットの目盛を観測する。これを Middlebrook & Dubos 氏結核感作血球凝集反応の血沈変法と呼び、以下の表ではMDで表わすことにする。

5. 実験成績

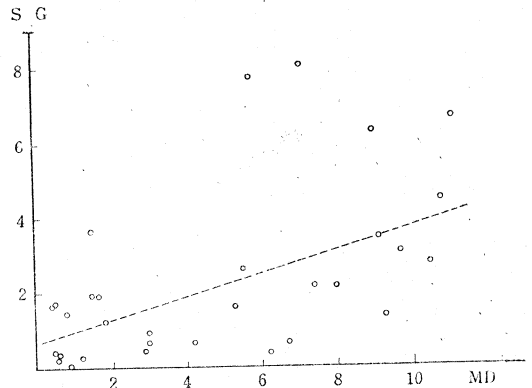
表2 ツ反応との関係



1) ツベルクリン反応との関連

当療養所に入院中の肺結核患者について、2,000倍旧ツベルクリンに対する皮内反応の発赤の大きさ(長径と短径との平均、単位はmm)を横軸に、本変法の値を縦軸にとつてみると表2のようになるが、両者の間に特別な関連は見だし難い。散在する点は実測値である。

表3 血沈中等値との関係



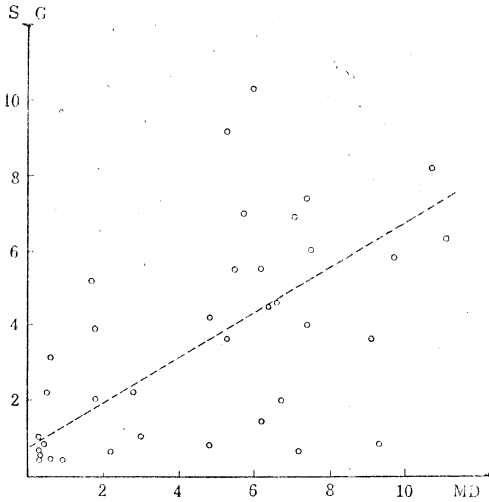
2) 血沈中等値との関連

同じ肺結核患者の集団について、血沈中等値を縦軸に本変法の値を横軸にとつてみると表3のようになり、仮に引いた点線のような関係が推測されそうな気もするが明らかな関係はないようである。

3) 補正血沈との関連

補正血沈の5時間値と本変法の値との比較では、前者(血沈中等値)とよりも幾分関係が深そうであるが、密接な平行関係があるというには余りに実測値の撒布が広

表 4 補正血沈（5時間値）との関係



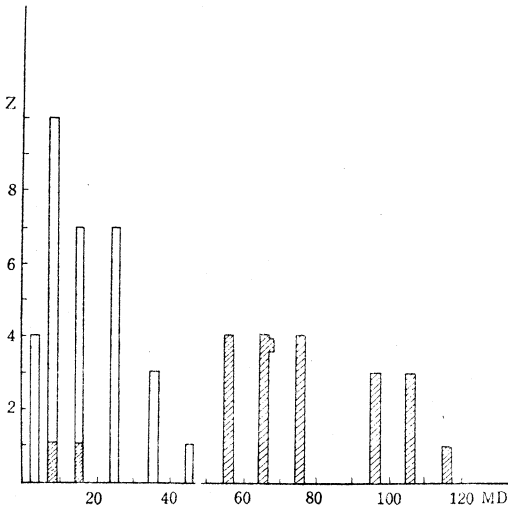
い。表4における点線は仮に引いてみたもので平均値ではない。

表 5

	SG > MD	SG = MD	SG < MD
肋膜炎	1	0	4
恒常排菌者	5	4	9
その他の患者	9	8	19
看護婦	11	4	13
学院生徒	10	5	1

補正血沈の5時間値をSGとし、本変法の値をMDとして両者を比較してみると、結核患者では一般にMDが大きく、健康者（当療養所附属看護学院生徒）ではSGの方が大きい傾向がある。

表 6



4) 陽性率

表6は縦軸に被検者数をとって本変法の値の人数的分布を示す。黒は喀痰の塗抹検査で恒常的に菌陽性の患者で、白は看護婦である。患者の大多数はMD50以上に分布し、看護婦の大部分は29以下に含まれる。よつて著者は29以下を本変法陰性、30~49を弱陽性、50以上を強陽性とした。

表 7

	一	+	++	陽性率	
恒常排菌者	2	0	18	90	65
その他の患者	25	8	20	53	
看護婦	28	5	0	15	13
学院生徒	17	2	0	11	
健康者	55	0	0	0	0
他の疾患患者	3	0	0	0	

このように規定した場合、強陽性者および弱陽性者が種々の集団の中に如何なる比率で存在するかをまとめたものが表7である。この表で恒常排菌者とは毎月1回の喀痰検査でおおむね毎回菌が塗抹陽性の者であり、その他の患者の中には、ときに塗抹陽性であるがおおむね陰性に止まる者から培養陰性で歩行療法中の者までを含む。健康者とは当所附属看護学院の入学試験の受験生で胸部に異常所見のない者であり、学院生徒は短時間ではあるが結核病棟実習中である。他の疾患患者の内訳は、肋骨骨折兼血胸、脊椎骨折および頭蓋骨折兼蜘蛛膜下出血各1例である。表にみられるように結核患者の63%が陽性で、結核を除外しうる人は全例陰性である。結核療養所に居住かつ勤務する者の中には13%において弱陽性者を見る。なおツベルクリン反応陰性者は少数であつたが、すべて本変法も陰性であつた。

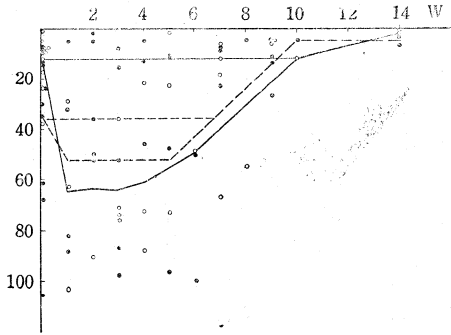
表 8

	一	+	++	陽性率
肋膜炎	2	2	6	80
空洞	10	1	17	64
結核腫	9	2	3	36

結核患者を主病変によつて分類したのが表8である。滲出性傾向の顕著な肋膜炎群（結核性膿胸6例を含む）と、そうでない結核腫を主病変とする群との間には相当大きい陽性率の開きがあり、空洞を主病変とする群は両者の中間に在る。

肺葉切除術または肺区域切除術を受けた患者20例について、本変法の値と血沈中等値との術後変化を週を追つて観察してみたのが表9である。横軸は手術後の経過日数を週で示し、縦軸はウエスターグレン氏ビレットの読

表9 手術との関係



みである。実線は血沈中等値の、破線は本変法の値の経過を示し、散在する白点は血沈の、黒点は本変法の実測値である。表にみられるように本変法の値は血沈ほど手術直後に増大することがなく、術後7週で術前値に戻り8週で陰性に転化する。

6. 考 案

Middlebrook & Dubosの結核感作血球凝集反応の臨床における評価は追試者によつて幾らか異なつている。Schwarz<sup>22)</sup>, Choremis<sup>23)</sup>, 矢追<sup>24)</sup>は活動性結核に特異的であるというが、Kirby et al.<sup>25)</sup>, Hinson<sup>26)</sup>, Howard<sup>27)</sup>, Forsehbach<sup>10)</sup>らは診断の補助には役立つまいと述べている。

本変法は Middlebrook & Dubosの原法と血沈との折衷法とも考えられるもので、したがつて血沈の非特異性を内蔵しているわけであり、これが本変法の欠点の1つであるが、Stokesの式から考えられるように沈澱速度を左右する最も大きな因子は赤血球凝塊の大きさであり、これに較べればその他の因子の影響は極めて小さく、また表3, 4からみても本変法の値は血沈とは相当異なつた性質のものと考えられる。また表6, 7, 8で明らかのように本変法の値および陽性率は相対的なものであり、したがつて多数例の被検者を病型や病状などにより分類した場合には、それらの集団と本変法の陽性率との間にある程度の相関関係を見だして、集団を一般の傾向として比較するのに役立つが、個々の患者に対する診断上の価値は定め難い。Aroid<sup>28)</sup>も同様な見解である。

つぎに原法の陽性率は Kirby et al.<sup>25)</sup>によれば活動性肺結核で57%、非結核で10%であり、Hinson<sup>26)</sup>は結核63%、非結核5%と述べ、Howard et al.<sup>27)</sup>は活動性結核66%、非結核25%と報告しており、表7に示した本変法の陽性率とはほぼ一致している。

さらに詳しく成績を検討してみれば、まず原法とツベルクリン反応との関連については Choremis<sup>23)</sup>, 木村<sup>29)</sup>は平行関係があると述べたが、矢追<sup>24)</sup>, 中島<sup>30)</sup>, 佐々木<sup>18)</sup>, 小野原<sup>31)</sup>ら多くの学者は相関関係を認めず、本変法の成績も表2に示すようにほぼ同様である。

つぎに血沈との関連は、矢追<sup>24)</sup>, Hein<sup>13)</sup>, 佐々木<sup>32)</sup>, 加勢<sup>33)</sup>らは関係ありと報告しているが、Hinson<sup>26)</sup>, 青木<sup>34)</sup>, 小野原<sup>31)</sup>は特別な関係を認めていない。本変法は血沈の一変法とも考えられる方法であるので、したがつて得られた成績は血沈と無関係ではありえないが、その割には関係が薄いように思われる。非感作血球を用うるほかは本変法と全く同様に操作し血球量を一定にした補正血沈が、通常の血沈より一層本変法に近似した値を示すのも当然であるが、この補正血沈値と本変法の値との間に表5のような差異があることは興味深い。これはあえて勝沼, 中里<sup>16)</sup>が注目して結核症の鑑別診断に利用しようとしたことである。

また排菌状態と原法の価との関連は、Hein<sup>13)</sup>, 佐々木<sup>32)</sup>, 加勢<sup>33)</sup>, 小野原<sup>31)</sup>らのように排菌陽性者の方が陰性者よりも凝集素価が高く、陽性率も高いと述べている学者が多いが、本変法においても表7のように同様な傾向がみられる。

なお Aroid<sup>28)</sup>, 小野原<sup>31)</sup>, 加勢<sup>33)</sup>らは主滲出型の病巣を有する患者が主増殖型の者よりも凝集素価や陽性率が高いと報告したが、本変法においても表8に掲げたように、滲出性傾向の顕著な肋膜炎群がそうでない結核腫を主病巣とする群より相当高い陽性率を示している。

さらに肺切除術によつて主病巣が除去されると凝集素価が低下することを原法について矢追<sup>35)</sup>, 古賀<sup>36)</sup>, 小野原<sup>31)</sup>が認めているが、本変法においても表9のように手術後に反応の陰転がみられる。

以上のように成績がほぼ同様であるならば臨床には操作がなるべく簡単な方が便利である。Thalhimer & Rowe<sup>9)</sup>, 矢追<sup>11)</sup>のガラス板法は10分以内に判定するので甚だ迅速であるが、倍数稀釈を用うるために陽性と陰性との間隔がほとんどないことが欠点である。例えば原法では血清稀釈8倍をもつて疑陽性とし、より強ければ陽性としているが、Aroid<sup>28)</sup>は32倍以上を陽性とする方が良く考え、Howard et al.<sup>27)</sup>, Choremis<sup>23)</sup>は8倍以上、Rabe & Labo<sup>37)</sup>, 佐々木<sup>32)</sup>は64倍以上を陽性とし、そのほか青木<sup>34)</sup>のように160倍以上を陽性とする者や、矢追<sup>35)</sup>のように5倍以上を陽性とする者もあり、また感作血球液の濃度についても矢追<sup>11)</sup>は10~15%を用い、中島<sup>30)</sup>は5%を、Bown & Jennings<sup>38)</sup>は1%を用いており、判定に手技の巧拙や主観が影響する危険が大きく成績の比較が難かしい。

これに対して本変法は方法が普遍的で値が連続的に細かく得られ、判定に際しての誤差が少ないのが1つの長所である。(ウェスターグレン氏法の手技的誤差は10%以内といわれている)。

なお本法施行上注意すべき点は、人O型血球を旧ツベルクリンで感作する場合、同様な条件で操作しても毎常同一程度に感作されるとは限らず、ときによつて殊に血

球採取源たる人が異なる場合には巧く感作されない場合があることと、血球が採取後時日が経っていると操作中に溶血して沈澱し難くなることである。また感作後時間が経つと抗原が血球から再解離することは当然であり、この点は佐々木<sup>18)</sup>も凝集素価の変化として認めている。

以上のように本変法の欠点は、感作血球泥、換言すれば旧ツベルクリンが比較的大量必要なことと、原法ほど厳密な抗原抗体反応でないことであるが、本変法が血沈と同時に施行しえ、また操作が血沈と同様に簡便で、値が比較的正確にえられる点は短所を補うに充分であると思考する。

## 7. 結 語

血球が凝集するとその血球凝塊は凝集していない個々の血球よりも速く沈澱するという事実を Middlebrook & Dubos 反応に応用して、凝集素価を血沈速度で表わす変法を考案した。

3.8%クエン酸ソーダ液を 1/4量混合して凝固を防いだ被検血液を遠心沈澱して得る上清 0.9cc に、旧ツベルクリンで感作した人O型血球泥を 0.6cc 混合して、ウェスターグレン氏法で5時間目に沈降速度を測定する。

本変法の値はツベルクリン皮内反応の強さと平行関係がなく、血沈とも関係が薄く、30~49を弱陽性、50以上を強陽性とすれば恒常排菌者や滲出性病巣を有する患者に陽性率が高く、肺切除術を受けた患者では術後に反応の陰転がみられる。これらの成績は原法についての諸学者の報告とほぼ一致している。

本変法の欠点は、感作血球泥、換言すれば旧ツベルクリンが比較的大量必要なことと、原法ほど厳密な抗原抗体反応でないことであるが、本変法は血沈と同時に施行しえ、また操作が血沈と同様に簡略で、しかも値が比較的正確にえられるという長所を備えており、短所を補って充分有用な新検査法であると考えられる。

(摺筆に当り終始御指導御鞭撻を賜つた佐々虎雄所長に深く感謝いたします)

## 文 献

- 1) Middlebrook, G., & Dubos, R.J.: J. Exp. Med., 88: 521, 1948.
- 2) Scott, N.B., & Smith, D.T.: Amer. Rev. Tbc., 62: 121, 1950.
- 3) Yaoi, H., & Takei, M.: Yokohama Med. Bull., 1 (2): 83, 昭25.
- 4) 熊谷・長沢: 結核, 26: 524, 昭26.
- 5) Middlebrook, G.: J. Clin. Invest., 29: 1480, 1950.
- 6) 山下: 金沢大結研年報, 12 (上): 165, 昭29.
- 7) 北本: 東京医事新誌, 71 (3): 137, 昭29.
- 8) 斎藤: 結核, 31 (2): 95, 昭31.
- 9) Thalheimer, W., & Rowe, C.: Amer. Rev. Tbc., 63 (6): 667, 1951.
- 10) Forsehbach, G.: Beitr. Klin. Tbk., 110 (5): 492, 1954.
- 11) 矢追: 総合医学, 8: 109, 165, 569, 昭26.  
Yaoi, H.: Yokohama Med. Bull., 3 (2): 90, 昭27.
- 12) Boyden, S.V.: J. Exp. Med., 93: 107, 1951.
- 13) Hein, H.: Beitr. Klin. Tbk., 109 (2): 122, 1953.
- 14) 中江: 日結, 14 (7): 626, 昭30.
- 15) 及川: 東北医誌, 51 (5): 433, 昭25.
- 16) 勝沼・中里: 日本結核病学会東海地方会発表, 昭26.
- 17) 高山: 結核診療, 8 (2): 88, 昭30.
- 18) 佐々木: 北海道医誌, 30 (1): 15, 昭30.
- 19) 江崎: 九州大結研紀要, 2 (2): 270, 昭30.
- 20) 芥川: 結核, 31 (10): 予定, 昭31.
- 21) 鈴木: 慶応医学, 32 (8): 375, 昭25.
- 22) Schwartz, B. et al.: Amer. Rev. Tbc., 66(5): 594, 1952.
- 23) Choremis, C.B.: Amer. Rev. Tbc., 70 (1): 139, 1954.
- 24) 矢追: 総合臨床, 1 (7): 33, 昭27.
- 25) Kirby, W.M.M. et al.: Amer. Rev. Tbc., 64 (1): 71, 1951.
- 26) Hinson, K.F.W.: Brit. J. Tbc., 46 (1): 50, 1952.
- 27) Howard, M. et al.: Dis. of Chest., 24 (2): 226, 1953.
- 28) Arold, C.: Beitr. Klin. Tbk., 112 (5): 402, 1954.
- 29) 木村: 総合臨床, 5 (1): 53, 昭31.
- 30) 中島: 金沢大結研年報, 10 (下): 312, 昭27.
- 31) 小野原: 九州大結研紀要, 2 (1): 23, 昭30.
- 32) 佐々木: 北海道医誌, 28 (2): 111, 昭28.
- 33) 加勢: 北海道医誌, 30 (1): 70, 昭30.
- 34) 青木: 医療, 6 (12): 779, 昭27.
- 35) Yaoi, H.: Yokohama Med. Bull., 3 (1): 27, 昭27.
- 36) 古賀: 医療, 7 (2): 75, 昭28.
- 37) Rabe, E.F., & Labo, J.: J. Clin. Med., 41(1): 98, 1953.
- 38) Bowen, D.A., & Jennings, R.C.: Brit. J. Tbc., 47 (1): 41, 1953.