

精製ツベルクリンに関する研究

第4報 PPDsの未感作モルモットにおける非特異反応について

細井正春・浅見望

国立予防衛生研究所結核部(部長 柳沢 謙)

受付 昭和31年8月20日

I 緒言

精製ツベルクリンによる特異的反應を論ずる前に、これが未感染動物および人体に対して表わす非特異的反應を検討しておくことは、特に旧ツベルクリンと比較をする場合、忘れてはならないことの1つである。旧ツベルクリンは健康モルモットに注射した場合、比較的濃厚な10倍または100倍においては相当著明に非特異的反應を現わす。このことは山崎¹⁾らの実験によつても明らかである。すなわち、健康モルモットにOT 10倍、100倍、1,000倍および対照液をそれぞれ皮内注射し、その度数分布を検討しているが、各試料における反應の最大限界、すなわち、累積度数において95%を示す硬結の大きさをみると、24時間後においては、10倍で12mm、100倍で8mmを示し、48時間においてもそれぞれ8mmおよび6mmと相当大きい非特異反應を現わしている。Seibert²⁾はOTの限外濾過を行い、その濾液(a)および濃縮液に三塩化醋酸を加えて分離したPPD(b)と、その上清(c)の3種を各濃度に稀釈したものを健康モルモットに注射したところ、PPDは普通使用量の約400倍の0.2mgを用いて無反應であるに反して他の2つ(aおよびc)はいずれの動物にも非特異反應を呈したとのべている。また、これらを人体に用いたところ、不確実反應は10,000倍では28%を呈するものが、限外濾過の濾液では45%の高率に認められた。これに反しPPDではただ1例に認められたにすぎなかつた。

われわれは³⁾青山Bのソートン培養濾液から、PPDsをえたが、このものが、旧ツベルクリン稀釈液に比べてどの程度に非特異的反應を呈するかを調べる目的をもつて、健康モルモットを用い、種々の濃度のPPDsを皮内注射し、その反應の大きさをOTの100倍と比較したので報告する。

II 実験方法

1. 使用動物

本実験に使用した動物は結核菌の否定試験に用いているものであつて、予研におい

て購入直後の体重350~450gの比較的軽いものと6週間飼育後の450~550gの重いものとをほぼ同数用いた。これを3群に分け第1群は191匹、第2群は187匹、第3群は125匹、合計503匹を使用した。

2. 試料

a) OT: 旧ツベルクリン原液を磷酸塩緩衝液(対照液と同一)にて100倍に稀釈した。

b) PPDs: PPDs粉末を磷酸塩緩衝液を用い、0.1cc中0.01, 0.1, 1.0mgの割合に溶解したものを3種をつくつた。

c) 対照液: ツベルクリンを加えない磷酸塩緩衝液でその組成は次の如くである。

m/15	KH ₂ PO ₄	160cc
m/15	Na ₂ HPO ₄	640cc
4.8%	NaCl	100cc
5%	Phenol	100cc
		1,000cc pH 7.4

3. 注射および判定方法

使用モルモットは体が小さいので1匹に多数の注射をすることは困難なので、これを3群に分けた。OT 100倍および対照液は各群に注射し、PPDs量は第1群0.01mg、第2群0.1mg、第3群1.0mgをそれぞれ皮内に注射した。判定は24および48時間後の硬結を測定した。

III 実験成績

1. PPDs 0.01mgによる反応

各試料の反應の度数分布は表1および図1, a)に示す

図1 PPDsの各濃度における度数分布

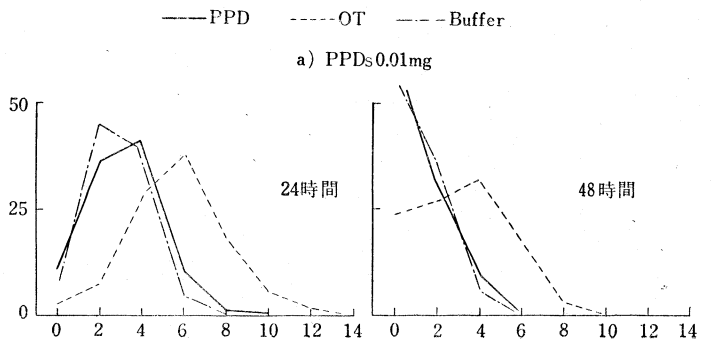


表 1 PPDs 0.01mgによる非特異反応 (191匹)

反応の大きさ mm	24 時 間						48 時 間					
	PPDs		OT		対照液		PPDs		OT		対照液	
	実数	%	実数	%	実数	%	実数	%	実数	%	実数	%
0 ~ 1	21	11.0	3	1.6	16	8.4	114	59.6	43	22.6	113	59.1
2 ~ 3	69	36.2	13	6.8	88	46.1	59	30.9	50	26.2	66	34.6
4 ~ 5	77	40.4	54	28.3	77	40.4	17	8.9	61	32.0	12	6.3
6 ~ 7	25	12.0	73	38.2	9	4.7	1	0.5	30	15.7		
8 ~ 9	1	0.5	34	17.8	1	0.5			6	3.1		
10 ~ 11			12	6.3					1	0.5		
12 ~ 13			3	1.6								
M	3.6		6.2		3.3		3.5		3.5		0.9	
δ	0.54		2.22		1.72		1.48		2.28		0.42	

如く、24時間後における度数分布曲線の峰はOT 100倍では6~7mm, PPDsでは4~5mm, 対照液では2~3mmとなっており、48時間後にはPPDsと対照液とは0が最も多いがOTは4~5mmに峰があつた。また、反応の最大限界を24時間についてみるに、OTでは13mm, PPDsと対照液は7mmであり、48時間ではOTで9mm, PPDsと対照液は5mmであつた。このようにPPDsと対照液とは24時間においても48時間においてもOTよりは小さく、またほとんど同一な反応を呈した。

2. PPDs 0.1mgによる反応

表2および図1, b)に示す如く、OTおよび対照液による反応は第1群と等しいが、PPDs 0.1mgが示す度数分布は反応の大きい方へかたより、10mm以上の反応を呈するものが現われたため、OTと同程度の分布曲線を描いている。これが48時間においてはPPDsがOTよりも反応の小さい

方へかたよつている、すなわち、48時間後にはPPDsの方がOTに比し早期に反応の消失をきたしている。このようにOT 100倍とPPDs 0.1mgとはほぼ等しい反応を呈した。

3. PPDs 1.0mgによる反応

表3および図1, c)に示す如く、OTおよび対照液が前群同様の経過をたどるに対して、PPDs 1.0mgの示す分布はやや前の2者と異なり、2峰を形成し、24時間後における第1峰は6~7mmを、第2峰は14mm以上

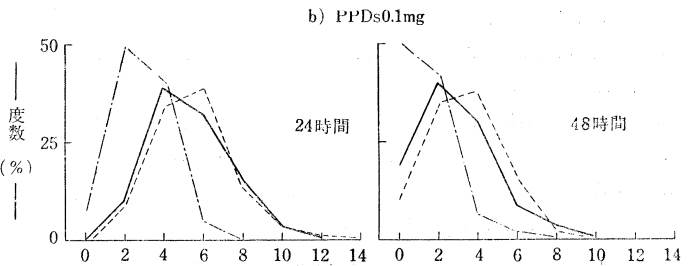


表 2 PPDs 0.1mgによる非特異反応 (187匹)

反応の大きさ mm	24 時 間						48 時 間					
	PPDs		OT		対照液		PPDs		OT		対照液	
	実数	%	実数	%	実数	%	実数	%	実数	%	実数	%
0 ~ 1	2	1.1	1	0.5	9	4.8	35	18.7	19	10.2	93	49.8
2 ~ 3	14	7.5	15	8.0	94	50.3	73	39.0	65	34.8	80	42.8
4 ~ 5	73	39.0	63	33.7	74	39.6	57	30.5	70	37.5	12	6.4
6 ~ 7	61	32.6	73	39.0	9	4.8	17	9.1	29	15.5	2	1.1
8 ~ 9	29	15.5	28	15.0	1	0.5	5	2.7	3	1.6		
10 ~ 11	6	3.2	5	2.7					1	0.5		
12 ~ 13	2	1.1	2	1.1								
M	5.9		6.0		3.3		3.3		3.8		1.7	
δ	2.08		1.65		1.05		1.33		1.20		1.52	

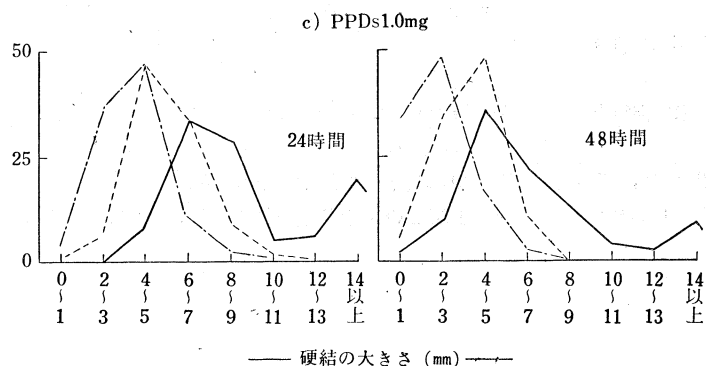


表3 PPDs 1.0mg による非特異反応 (125匹)

反応の大きさ mm	24 時 間						48 時 間					
	PPDs		OT		対照液		PPDs		OT		対照液	
	実数	%	実数	%	実数	%	実数	%	実数	%	実数	%
0 ~ 1	1	0.8			4	3.2	3	2.4	8	6.4	42	33.6
2 ~ 3			9	7.2	46	36.8	12	9.6	43	34.4	61	48.8
4 ~ 5	10	8.0	59	47.2	59	47.2	44	35.2	61	48.8	21	16.8
6 ~ 7	43	34.4	43	34.4	15	12.0	28	22.2	13	10.4	1	0.8
8 ~ 9	36	28.8	12	9.6	1	0.8	17	13.6				
10 ~ 11	6	4.8	2	1.6			5	4.0				
12 ~ 13	7	5.6					3	2.4				
14 以上	24	19.2					12	9.6				
M	8.9		5.6		3.9		6.6		3.8		2.2	
δ	3.32		1.50		1.50		3.46		2.16		1.12	

したところ、PPDs 0.01mgでは対照液とほぼ等しく、0.1mgではOTの100倍とほぼ等しく、さらに1.0mgではOTのそれよりも強い反応を呈したが、いま、これら各濃度のPPDs 0.1ccがOTの何倍希釈液に相当するかを、PPDsの収量より換算して比較してみると、PPDsは前報にのべた如く、1lの培養濾液より約200mgの収量であつたが、同様1lの培養濾液よりえられるOTの原液は100ccである。このことからPPDsとOTの関係を表わせば表4の如くなる。すなわち、本実験に

表4 PPDsの各濃度に相当するOTの量
—収量より換算—

PPDs mg	200	1.0	0.1	0.01	0.002
OT 原液cc	100	0.5	0.05	0.005	0.001
OT 希釈液 0.1cc		1/50濃縮原液	2倍	20倍	100倍

使用したPPDsの1.0mg、0.1mgおよび0.01mgはそれぞれOT原液の0.5cc、0.05ccおよび0.005ccに相当する。これを0.1cc中に希釈した場合、それぞれ1/50濃縮原液、2倍、20倍に相当する。またOTの100倍希釈液0.1ccはPPDs 0.002mgに相当しているが、非特異反

のところにあり、48時間後にも2峰がみられた。また、この場合の反応は硬結のみでなく、硬結に浮腫の加わつたものであつた。このようにPPDs 1mgではOT 100倍よりもさらに強い反応が認められた。

IV 総括および考案

PPDsの0.01mg、0.1mg、1.0mgが健康モルモットに対して表わす非特異的反應を、OT 100倍および対照液と比較

応の上からはこの50倍量の0.1mgを用いてはじめて同程度の反応を呈した。このことは培養濾液中の非特異反応を現わす因子がほとんど除かれていると考えてよい。それ故にまた、0.01mgのPPDsは対照液とほとんど等しい程度にしか非特異反応を現わさなかつた。1mgのPPDsが非常に強い反応をしたということは、原液の0.5cc注射に等しく、PPDs以外の他の蛋白の1mg注射によつても相当強い反応を呈するものと思われる。これらのことから、PPDs 0.01mg以下をモルモットに用いる場合、非特異反応を考慮に入れる要はない。またOTにおけるツベルクリン反応陽性の限界10mmの数字は、非特異反応の少ないPPDsにおいては、10mm以下にかたよつてくるものと思う。

V 結 言

結核未感染動物に対するPPDsの非特異反応をしらべるため、PPDs 0.01mg、0.1mgおよび1.0mgの各溶液と、OT 100倍および対照液をそれぞれ0.1ccあて健康モルモットの皮内に注射し、24および48時間後における反応を調べた結果、

1. PPDs 0.01mgはほとんど対照液に等しい反応を

呈した。

2. PPDs 0.1mg はOT 100倍とほとんど等しい非特異反応を呈した。
3. PPDs 1.0mg はOT 100倍よりかなり強い非特異反応をあらわした。
4. OT 100倍に相当するPPDs の非特異反応は、収量から換算すれば約50倍量であつた。換言すればPP

Ds はOTよりも非特異性反応が1/50に減じていた。

文 献

- 1) Seibert, F. B. & Du Four, E. H. : Am. Rev. Tbc., 41, 57, 1940.
- 2) 山崎久治・浅見望：結核, Vol. 31: 30, 1956.
- 3) 細井正春・浅見望：結核, Vol. 32: 175, 1957.