

わが国の旧ツベルクリンと国際標準のそれとの力価の比較

柳 沢 謙・前 田 道 明・浅 見 望

国立予防衛生研究所結核部

受 付 昭 和 34 年 2 月 25 日

現在わが国で広く用いられている診断用ツベルクリン希釈液は、1952年3月わが国の生物学的製剤専門委員会によって改正された標準ツベルクリン液（以下ツ液と略）の力価に従って検定されているものである¹⁾。われわれは1952年DenmarkのState Serum Instituteより分与された旧ツ液とわが国の標準旧ツ液との力価の比較を動物および人体を用いて行った結果²⁾と、1957年同様DenmarkのState Serum Instituteより分与された旧ツ液とわが国の標準旧ツ液との力価を比較した結果とがはなはだしく異なつたので、ここにその比較成績を報告し、大方の御批判を仰ぐ次第である。

研究材料および方法

1) 比較された旧ツ液：1952年DenmarkのState Serum Institute (Copenhagen) から分与をうけた国際標準旧ツ液の原液 (Batch. June '50, 1950年10月19日製造)；1957年WHOより分与をうけた旧ツ液 (DenmarkのState Serum Institute製、ただし製造年月日は記載されていない)；わが国の標準旧ツ液は1952年使用のLot 3 (1947年7月製造) と Lot 5 (1953年10月製造) とである。

2) 動物による力価の試験法：体重400~500gの健康モルモットに人型結核菌青山B株の死菌6mgの流動パラフィン浮游液を両腹部筋肉内に注射し、約8週間後にわが国の2,000倍希釈標準旧ツ液によつて検査し、24時間判定時に10~20mmの硬結を示す感作程度のもものを6匹ずつ使用した。これらのモルモットの背部の1側にはわが国の2,000倍希釈標準旧ツ液を、それと対称的の他側には比較すべき旧ツ液を、それぞれ正確に目盛された0.5ml容量の注射器をもつて0.1mlずつ皮内注射を行った。注射後24および48時間目の硬結の大きさを反応比較の指標とした。

3) 人体による力価の試験法：調査対象は毎年1回左右両側の前膊屈側に同時に旧ツ液を注射されている小・中学生である。したがつて、BCG接種者を大多数とするものであるが、左右差はきわめて少ないと考えられる対象である。また試験時には、年齢、性などの条件を考慮してほぼ対象を2分し、比較すべき両ツ液の注射側を交互に入れかえるようにした。

注射は0.5ml容量の注射器の目盛に従つて正確に皮内へ0.1mlずつ行い、注射後48時間目に、発赤の大

きさ、硬結および2重発赤の有無および大きさを計測し、それらを指標として反応を比較した。

研究成績

〔研究I〕1952年分与のDenmarkの旧ツ液とわが国の旧ツ液 Lot 3 との比較

1) 動物による試験成績：Denmarkの旧ツ1,660, 2,000, 2,500倍希釈液とわが国の旧ツ2,000倍希釈液とを5匹ずつの感作モルモットを用いて比較した成績は、表1のごとくである。すなわち各動物につきわが

表1 動物による力価試験成績

希 釈 度	Ratio		硬結の大きさの平均値 (mm)			
	24時間	48時間	24時間判定		48時間判定	
	判 定	判 定	日 本	国 際	日 本	国 際
2,500 倍	0.62	0.64	15.1	9.4	12.6	8.1
2,000 倍	0.91	0.96	14.9	13.6	12.9	12.4
1,660 倍	0.94	0.84	15.1	14.3	12.7	10.6

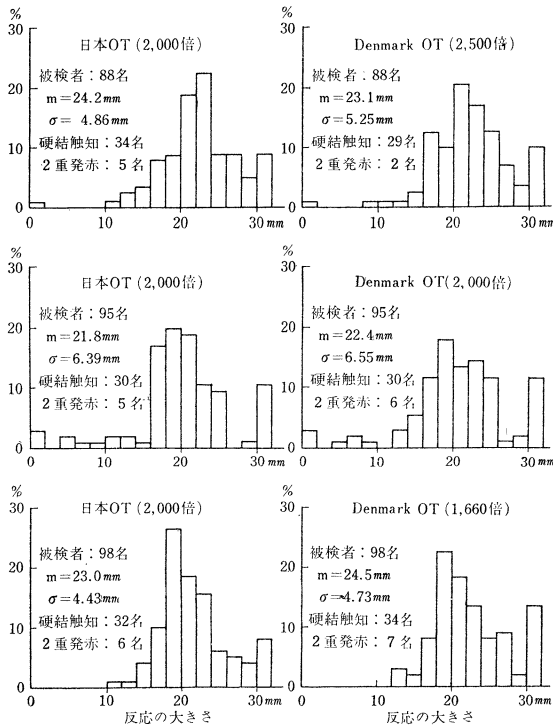
国の標準2,000倍希釈液による硬結の大きさをもつて、Denmarkの旧ツ液の各希釈液による硬結の大きさを除いたRatioの平均値を、24および48時間判定において求めてみると、いずれの濃度においても1.00より小さく、Denmarkの旧ツ液はわが国のものよりもやや低力価であるようにみえた。

2) 人体による試験成績：Denmarkの旧ツ液の各希釈液とわが国の標準2,000倍希釈液とを比較すると、図1のごとくである。すなわち、発赤の大きさによる陽性率およびその大きさの平均値、硬結触知率および2重発赤の形成率のいずれでみても、わが国の旧ツ液はDenmarkのそれとほぼ等力価であつた。

〔研究II〕1957年分与のWHOの旧ツ液とわが国の旧ツ液 Lot 5 との比較

1) 動物による試験成績：わが国の標準2,000倍希釈液と、WHOの旧ツ液の1,000, 2,000, 4,000倍希釈の各液とを、6匹の感作モルモットについて試験した成績は表2のごとくである。各動物につきわが国の標準2,000倍希釈旧ツ液による硬結の大きさをもつて、WHOの旧ツ液の各希釈液による硬結の大きさを除いたRatioの平均値をみると、2,000倍希釈液において

図1 日本の2,000倍希釈旧ツ液とDenmarkの各希釈旧ツ液とによる反応の比較



注: mは平均値, σは標準偏差

表2 動物による力価試験成績

希釈度	Ratio		硬結の大きさの平均値(mm)			
	24時間	48時間	24時間判定		48時間判定	
	判定	判定	日本	国際	日本	国際
4,000倍	0.88	0.85	15.0	15.3	11.6	13.0
2,000倍	0.97	1.00	17.3	16.8	15.3	15.3
1,000倍	1.08	1.13	19.3	18.6	17.1	17.3

24時間値が0.97, 48時間値が1.00を示し, ほぼ等力価であつた。

2) 人体における試験成績

a) 小・中学生 206名について, WHOの2,000倍希釈液とわが国の標準2,000倍希釈液との比較を試みると, 図2に示すごとくである。まず発赤の大きさの平均値を比較すると, その度数分布からみても明らかごとく, WHOのものが平均値において4.3mm大きかつた。次に硬結触知率は, 日本の59名(28.6%)に対しWHOでは132名(64.1%)であつて, WHOのものははるかに高率であり, また計測しえた硬結の大きさの度数分布を比較してもその平均値において4.2mmだけWHOの方が大きかつた。また2重発赤の形

成率でもWHOの方が高率であつた。したがつて発赤, 硬結のいずれで比較してみても, WHOの2,000倍希釈旧ツ液の方がわが国の標準2,000倍希釈旧ツ液よりもはるかに高力価であつた。

b) 上述の成績から, わが国の2,000倍希釈液はWHOの旧ツ液の5,000~10,000倍希釈の濃度間に相当するものと考えられたので, WHOの旧ツ液の5,000, 7,070および10,000倍希釈液とわが国の2,000倍希釈液との比較を試みた。その結果, わが国の標準2,000倍希釈旧ツ液はWHOの旧ツ液の5,000倍希釈と7,070倍希釈との間の濃度に相当するものと思われた。

そこでWHOの6,000倍希釈液とわが国の標準2,000倍希釈液との比較を行つた結果は, 図3のごとくである。すなわち, 発赤の大きさの平均値, 硬結触知率および計測しえた硬結の大きさ, あるいは2重発赤の形成率のいずれでも, 両ツ液はほぼ等力価のものと考えられた。

c) さらにWHOの2,000倍希釈液とわが国の700倍希釈液とについて比較を行つた結果は, 図4のごとくである。すなわち, 発赤の大きさの平均値でみるとWHOの方がやや大きいが, 発赤の大きさの比の平均値(Ratio)は0.984であつてほぼ等力価であることが認められた。ただし硬結触知率および2重発赤の形成率はWHOの方がやや高率に思われた。

以上の成績から, WHOの2,000倍希釈旧ツ液とわが国の2,000倍希釈旧ツ液とを比較すると, 動物による試験ではほぼ等力価であるが, 人体による試験ではWHOの方が高力価であり, WHOの6,000倍希釈液とわが国の2,000倍希釈液, あるいはWHOの2,000倍希釈液とわが国の約700倍希釈液とがほぼ等力価であると考えられた。

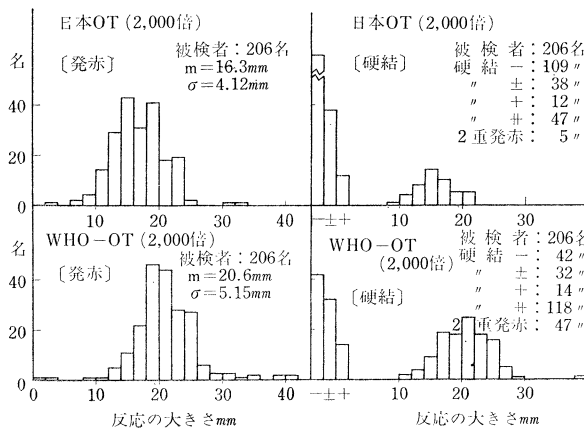
【研究III】1952年分与のDenmarkの旧ツ液と1957年分与のWHOの旧ツ液との比較

いずれも記載に従つて2,000倍希釈液を作り, 小・中学生150名において両者による反応を比較すると図5のごとくである。すなわち, 発赤の大きさの平均値では1957年分与のものの方が3.4mmだけ大きく, また硬結触知率は1957年分与のものでの65名(43.3%)に対して, 1952年分与のものでは39名(26.0%)であつて, 明らかに1957年分与のものの方が強反応を示し, さらに2重発赤の形成率も高かつた。

【研究IV】わが国の旧ツ液Lot3とLot5との比較

両原液より作つた標準2,000倍希釈液について小・中学生186名における反応を比較すると, 図6のごとくである。すなわち, 発赤の大きさの平均値, 硬結触知率および2重発赤の形成率のいずれでも両者間に大差はなく, わが国の旧ツ液の力価には変動のないことを再確認することができた。

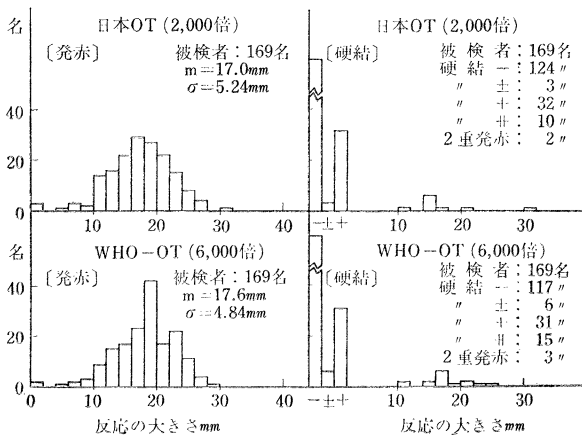
図 2 日本の 2,000 倍希釈旧ツ液と WHO の 2,000 倍希釈旧ツ液との比較



考 案

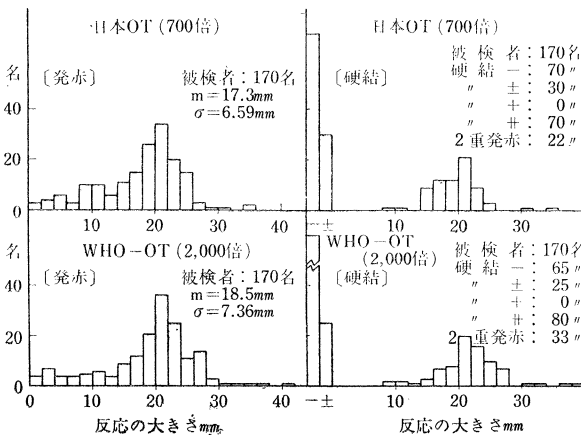
人体におけるツ液の力価試験法は各国各様であつて、一定していない。WHO では Holm および Lind^{3) 4)}らの方法を採用し、標準と比較すべきツ液の4種の希釈液を作り、これを両腕皮内に注射して、Sign test によつて等力価を示すツ液の濃度を求める方法を用い、計測値になんらの数学的処理を行つていない。また Jensen⁵⁾もこれとほぼ同様の方法を用いているが、Seibert^{6) 8)}は両ツ液による反応の大きさの平均値の比較によつて決めているし、また Plunkett & Siegal⁹⁾は両ツ液による陽性率の比較によつている。これらの諸法に対し、わが国では 1949 年ツ液の力価検定法が制定され、さらにわれわれの人体によるツ液力価の確認試験法の検討成績に従つて、両ツ液による個々のツ液反応の発赤の大きさの比の平均値による Ratio 法に、両ツ液による個々の反応の強さを比較する Sign test 法を加味し、1958 年以來この両方法による検定基準を用いている。そこでわれわれは両旧ツ液の比較をするにあたり、これら諸外国の方法をも加味して検討を加えた。

図 3 日本の 2,000 倍希釈旧ツ液と WHO の 6,000 倍希釈旧ツ液との比較



まず 1952 年分与をうけた Denmark の旧ツ液とわが国の旧ツ液 Lot 3 とを比較すると、動物試験では Denmark のものがやや低力価であつたが、人体における試験では両者はほぼ等力価であつた。しかるに、1957 年 WHO から再分与をうけた国際標準 2,000 倍希釈旧ツ液とわが国の標準 2,000 倍希釈旧ツ液 Lot 5 とを比較すると、動物試験ではほぼ等力価であつたにもかかわらず、人体における試験では明らかに WHO のものが高力価であつた。そこでさらに 2 度にわたつてわが国の 2,000 倍希釈旧ツ液と等力価である WHO の旧ツ液の希釈濃度を、Sign test および Ratio による方法、発赤の大きさの平均値、硬結触知率および 2 重発赤の形成率などで比較検討した結果、約 6,000 倍希釈が該当するものと考えられた。またさらにわが国の 700 倍希釈旧ツ液と WHO の 2,000 倍希釈旧ツ液とがほぼ等力価であることも明らかにされた。したがつて、1957 年再分与された WHO の旧ツ液は 1952 年分与された当時の力価とは異なり、わが国の旧ツ液の約 3 倍の力価を有することが判明した。

図 4 日本の 700 倍希釈旧ツ液と WHO の 2,000 倍希釈旧ツ液との比較



そこでこれらの成績を確認するために、保存

図5 WHOの1957年分与の2,000倍希釈旧ツ液と1952年分与のそれとの比較

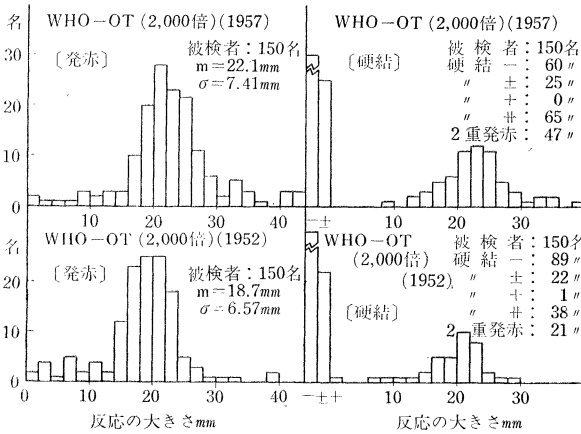
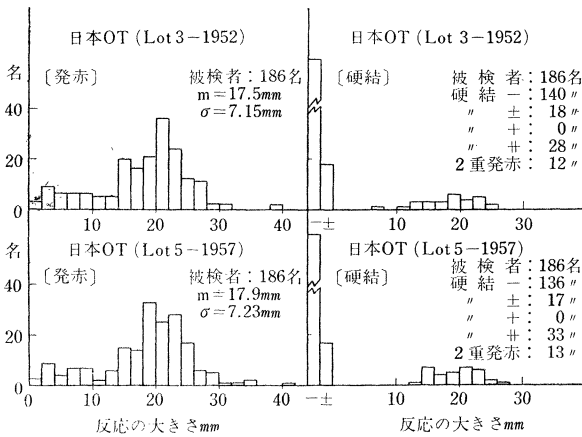


図6 日本のLot3原液の2,000倍希釈旧ツ液とLot5原液のそれとの比較



されていた1952年分与のWHOの旧ツ液と1957年分与のものとの比較を試みた結果、明らかに1957年分与のものが高力価であることが判明した。またわが国の旧ツ液もその原液のLotが変わっているため、1952年当時の原液Lot3と1957年当時の原液Lot5とを2,000倍希釈において比較してみると、この両者はほぼ等力価であった。

さて、わが国の旧ツ液は力価の変動が認められないのに、WHOの旧ツ液の力価がかくのごとく高くなつた原因は何によるのであろうか。今回の研究成果をみると、1957年分与のWHOの旧ツ液は動物による試験成績ではわが国の旧ツ液とほぼ等力価であるにもかかわらず、人体における成績では1957年分与のWHOの旧ツ液の方が明らかに高力価であった。著者の1人柳沢は1958年8月CopenhagenのState Serum Instituteを訪ね、国際標準旧ツ液の製造責任者Magnusson

に会い、上述の力価の差異についてその原因を質した。彼の言によれば、1952年分与の旧ツ液は1957年分与の旧ツ液と全く同一Lotのものであるが、力価試験法をもつばら動物によつたため、1952年にはそれが真の国際標準旧ツ液(Hampstead製、1926~1935年まで各国に分与していたが、その後残り少なくなつたため、1936年以来Copenhagen製のものをこれにかえた)の1.7倍力価であると考えたものが、最近の人体による力価試験法によれば0.9倍力価に相当することが明らかになつたということであつた。これらのことから考えれば、力価検定法としては動物試験のみでは不十分であり、人体における試験の重要性が考えさせられる。WHOではLindの方法に従つて行つていることから考えて、動物試験による成績に主眼点をおき、人体による試験はあまり重要視していない傾向がうかがわれる。ここにかかる誤謬を生じた原因があつたのであろう。

以上のごとく考察してみると、われわれはWHOにおけるツ液の力価検定法の不十分さを切実に感ずるとともに、国際標準ツ液なる言葉の不明確さに疑義をもつていたつた。したがつてわれわれは、ツ液の国際標準化の指標となる力価検定法が万国共通性のある確実な方法に決定されんことを望んでやまない。

結 論

われわれは1952年および1957年に分与された国際標準旧ツ液とわが国の旧ツ液との比較試験を行い、次の成績を得た。

- 1) 1952年に分与されたDenmarkの2,000倍希釈旧ツ液は、動物による試験ではわが国の2,000倍希釈旧ツ液よりもやや低力価であつたが、人体による試験ではほぼ等力価であつた。
- 2) 1957年に分与されたWHOの2,000倍希釈旧ツ液は、動物による試験ではわが国の2,000倍希釈旧ツ液とほぼ等力価であつたが、人体における成績ではWHOの方がはるかに高力価であり、わが国の旧ツ液の約3倍の力価を有するものと考えられた。
- 3) わが国の旧ツ液は1952年当時のものと1957年当時のものとに差異は認められないが、WHOの旧ツ液では1957年分与のものが1952年分与のものよりも明らかに高力価のように思われた。

かかる力価の差異の原因について責任者Magnusson(State Serum Institute-Copenhagen)に質したところ、それは国際標準旧ツ液それ自身の変化ではなく、そ

の力価検定法の不備にもとづくものであることが明らかになった。したがって、その力価検定法として動物試験のみでなく人体による試験の重要性を再確認するとともに、その方法として万国共通性のある確実な力価検定法が確立され、国際標準旧ツ液の不動化を願つてやまない。

文 献

- 1) 厚生省：生物学的製剤基準，昭29.
- 2) 柳沢謙 他：結核，29：437，昭29.
- 3) Holm, J. & Lind, P. : U.S. Pub. Hlth. Rep., 62 : 188, 1947.
- 4) Lind, P. : Acta Tbc. scand., 21 : 145, 1947.
- 5) Jensen, K.A., Bindslev, G., Möller, S., Hansen, A. & Lind, P. : Tubercle, 19 : 386, 1938.
- 6) Seibert, F.B. & DuFour, E.H. : Am. Rev. Tbc., 41 : 471, 1940.
- 7) Seibert, F.B. & DuFour, E.H. : Am. Rev. Tbc., 58 : 363, 1948.
- 8) Seibert, F.B. & DuFour, E.H. : Am. Rev. Tbc., 69 : 585, 1954.
- 9) Plunkett, R.E. & Siegal, W. : Am. Rev. Tbc., 35 : 296, 1937.
- 10) 柳沢謙 他：結核の臨牀，3：303，昭30.
- 11) 前田道明 他：結核の臨牀，3：368，435，昭30.