

精製ツベルクリンについて

第3報 H画分と旧ツベルクリンおよびPPDとの比較研究

新 藤 三 郎

東北大学抗酸菌病研究所 (指導 海老名敏明教授)
管野巖助教授

受付 昭和35年5月16日

第2報¹⁾で報告したように、H画分（以下H-fと略：第1報²⁾で報告したようにOTより抽出した一種の精製ツベルクリンである）はその稀釀度と陽性率の関係をグラフに画いた場合、OTよりはるかに急上昇曲線を画くこと、および力値においても急激に力値が強くなることを知つた。

そこでさらにH-fのツベルクリン・アレルギーをOT、およびPPDと比較検討することにした。今まで精製ツベルクリンとOTとの皮内反応の差異をみた文献は両抗原に対して陰性陽性とくい違つて現われた群に対しての検討が多く³⁾、両抗原ともに陽性に現われた群に対する皮内反応の現れ方に注目した文献はまだみられない。そこで私はOT×OT、OT×H-f、OT×PPD、H-f×PPD群と被検者を4群に分け、それぞれともに陽性に現われたものに対して、それらの発赤の大きさを検討した。

実験方法と実験結果

◇実験に用いたOTは当研究所製ツベルクリン原液Lot 63である。

◇OT、PPD*, H-fの稀釀は生理的食塩水で行ない、蒸気滅菌30分後氷室に保存し、稀釀を行なつた日のうちに皮内注射を終了した。

◇実験の対象となつた被検者、皮内注射の実施方法、測定方法、皮内反応の陽性陰性的判定方法等はすべて第2報と同様である。

◇皮内注射の部位は第2報では被検者の前脛屈側を用いたが、当被検者は3ヵ月ごとに右または左にツ反を行なつてゐる。そこで注射はできるだけ前回の注射部位と思われる所より5~10cm離して注射した。しかしこの実験では極度に局所アレルギーの影響を考えて左右両側の上脛内側中央部に注射した。

◇この実験に用いた被検者は13~56才まで計241名、このうちBCGを行なつたものが45名だが、ここ3年以内に行なつたものではなく、種痘も5年以内に行なつたものは1名もなかつた（表1）。また上脛にツ反を受けたことのある被検者もなかつた。したがつて上脛

の局所アレルギーの変動を考慮する必要はないと思う。

*PPDはParke, Davis & Co. Detroit Mich, U.S.A.製(Lot nos 029950-H April 1 1961)である。被検者241名を4群に分け、1群では左右上脛にツ反を行ない、ツ反皮内反応の相関関係を、2群ではOTとH-fとの相関関係を、3群ではOTとPPDの相関関係を、4群ではPPDとH-fの相関関係をみた。

実験A: OT×OTの相関関係

被検者42名の上脛内側の左右両側に1:2,000 OT 0.1ccを皮内注射し、その発赤および硬結を48時間後測定、その発赤の大きさを撒布図にまとめたのが図1で
 $\text{Ratio} \left(\frac{L_t}{R_t} \right) = 0.98$, 相関係数 $r = 0.92$ である。

実験B: OT×H-fの相関関係

被検者79名の左右両側上脛内側の一側に、OT 1:2,000 0.1cc、他側にH-f 10γを皮内注射し、その発赤および硬結を48時間後測定したところ、79名中OT陽性、H-f陰性が2名、OT陰性、H-f陽性1名であつたので、この3名を除き76例についてRatioおよび相関係数rを求めた（図2）。

$$\text{Ratio} \left(\frac{H-f}{OT} \right) = 0.98 \quad r = 0.69$$

実験C: OT×PPDの相関関係

被検者80名に対し、PPD 0.1γを左右両側上脛内側の一側に、OT 1:2,000 0.1ccを他側に皮内注射し、その発赤および硬結を48時間後測定。このうちOT陽性、PPD陰性であつた1名を除き79名についてRatioおよび相関係数rを求めた（図3）。

$$\text{Ratio} \left(\frac{PPD}{OT} \right) = 1.06 \quad r = 0.44$$

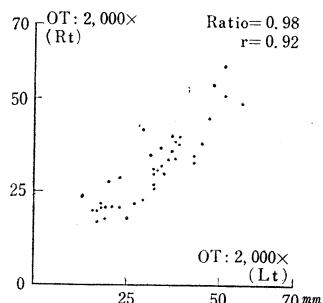
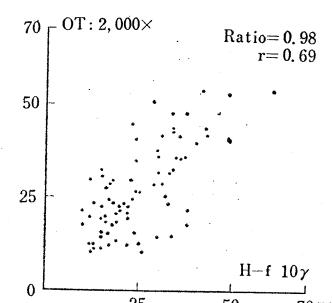
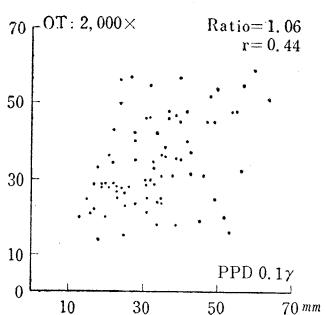
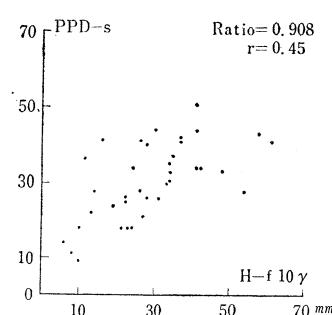
実験D: PPD×H-fの相関関係

被検者40名に対し、一方の上脛内側にPPD 0.1γを、他方の上脛内側にH-f 10γを皮内注射し、その発赤および硬結を48時間後測定、このうちPPD陽性、H-f陰性の4名を除き、36名についてRatioおよび相関係数rを求めた（図4）。

$$\text{Ratio} \left(\frac{H-f}{PPD} \right) = 0.908 \quad r = 0.45$$

表1 被検者の年令層およびBCG接種状況

各実験に用いた接種	被検者数 計 241例	10~20才	20~49才	50才以上	BCG 接種者	備考	
						BCG 最終接種年	度
ツベルクリン 実験 A OT×OT	♂21 ♀21 42	4	38	0	3	昭和 26	1名
						昭和 27	2名
実験 B OT×PF	♂50 ♀29 79	7	69	3	16	昭和 22以前 12名	
						昭和 24	1名
						昭和 25	1名
						昭和 26	2名
実験 C OT×PPD	♂56 ♀24 80	7	71	2	17	昭和 22以前 7名	
						昭和 23	1名
						昭和 26	2名
						昭和 27	4名
						昭和 25	2名
						昭和 28	1名
実験 D PPD×PF	♂29 ♀11 40	2	36	2	9	昭和 22以前 2名	
						昭和 23	1名
						昭和 24	3名
						昭和 25	2名
						昭和 26	1名

図1 OT 2,000× : OT 2,000×
撒布図
(発赤による判定の場合)図2 OT 2,000× : H-f 10γ
撒布図
(発赤による判定の場合)図3 OT 2,000× : PPD 0.1γ
撒布図
(発赤による判定の場合)図4 PPD 0.1γ : H-f 10γ
撒布図
(発赤による判定の場合)

すなわち OT, PPD, H-f の発赤の態度をみると、力値はほぼ等力値であるのに、相関係数は OT × H-f が 0.69, OT × PPD が 0.44, PPD × H-f が 0.45 で、これらの間の相関が意外にも非常に小さいことを知つた。

なおこれらのこととは硬結についても同じ結果が得られた(図5~8)。ただし硬結の場合、硬結長短径の平均値 5 mm 以上を陽性、5 mm に満たないのを陰性とした。

考案ならびに小括

矢作⁴⁾、岡・新津ら⁵⁾の述べるごとく、また実験 A でみると、ツ反は等力値であれば左右の関係は非常に高い相関を示し、相関係数 (= r) も 0.9 以上を示すものであるが、実験 B OT × H-f は Ratio = 0.98 と等力値を示しているにかかわらず r = 0.69、実験 C OT × PPD は Ratio = 1.06, r = 0.44、実験 D PPD × H-f は Ratio = 0.908, r = 0.45 であつた。すなわち結核感染者には同じく陽性に出るといつても、PPD, OT, H-f の間には反応の大きさがはなはだまちまちであると

図 5 OT 2,000× : OT 2,000×
撒布図
(硬結による判定の場合)

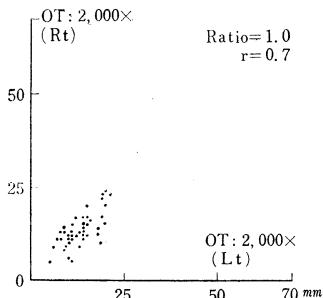


図 7 OT 2,000× : PPD
0.1γ 撒布図
(硬結による判定の場合)

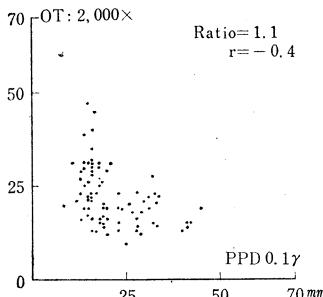


図 6 OT 2,000× : PF 10γ
撒布図
(硬結による判定の場合)

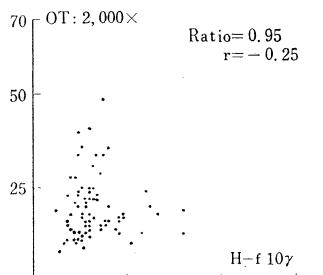
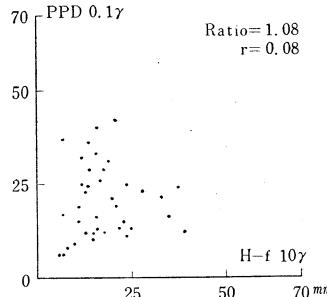


図 8 PPD 0.1γ : PF 10γ
撒布図
(硬結による判定の場合)



いうことが明らかにされた。すなわち今まで2つのツベルクリンを比較する場合、それら発赤（または硬結）の平均値が等しきつたり、Ratio が1.0前後であればそれで満足であつたのだが、同じく陽性であり、Ratio ≈ 1.0であつても発赤（または硬結）の大きさがこのようにはばらばらであるということは、まだ発赤（または硬結）の大きさが何を意味するか不明であるが、2つのツベルクリンを論ずる場合、Ratio だけでなく相関係数も考慮に入れなくてはならないと思われる。

総括

ツ反の活性因子は蛋白体であるとし、Seibert⁶、Lind⁷、Bouquet et Sandor⁸、貞原⁹、武田¹⁰らにより purified protein derivative が精製されたが、Medlar¹¹による動物実験で purified protein derivative の1つである PPD が OT より診断学的に劣ることが指摘された。一方磷脂質成分の活性¹²、芳香揮発性成分の活性¹³等が論議されるにつれ、ツ反活性因子は精製蛋白体のみによるものではないことが明らかにされた。また多糖体の活性については Küster¹⁴、糟谷¹⁵が認め、Seibert¹⁶、戸田¹⁷らは多糖体に活性が認められても、それくらいの活性はそこに含まれている蛋白体で十分発赤を起こしうるとして多糖体の活性を

否定した。

私は OT 原液より窒素量 0.998%，多糖体量 72.08% を含むツベルクリン多糖体画分、H-画分 (H-f) を抽出したことを第1報で報告、第2報でその H-f が稀釀度と陽性率の間に OT よりはるかに急上昇曲線を画くこと（表2、図9）を報告した。また今回の実験で OT、PPD、H-f の皮内反応を行ない、ともに陽性になつたものについての大きさを検討し、H-f × OT、PPD × OT、H-f × PPD の Ratio は 0.98, 1.06, 0.908 とほぼ等力値を示したのにかかわらず、相関係数は 0.69, 0.44, 0.45 でとくに OT × PPD、H-f × PPD の間にはほとんど相関がないといつてもいいくらいであることを知つた。

これらのことは OT、PPD、H-f のおののおに含まれている蛋白体の特異性のみよりなるものであるのか、あるいはおののおに含まれている蛋白体以外の成分も関与しているのであるかどうかは不明である。しかし従来の考え方によればツベルクリン・アレルギーの発現は窒素含有量が非

図 9 各群の陽性率（発赤による判定）

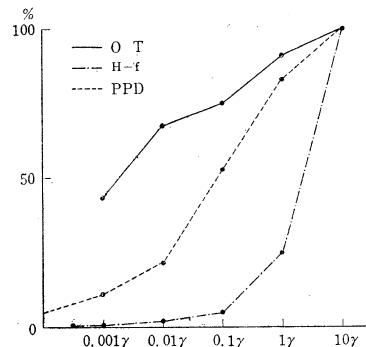


表 2 各群の陽性率（発赤による判定）

稀釀度	被検者数	陽性率			
		OT		H-f	
		陽性者数	%	陽性者数	%
0.001γ	46	20	43.4	0	0
0.01γ	69	47	68.0	2	2.8
0.1γ	47	35	74.4	5	10.6
1γ	44	40	90.9	25	56.8
10γ	31	31	100.0	31	100.0

第2報表1、図1を再掲載す。

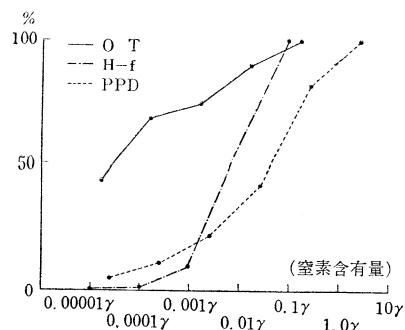
常に重要視されている。そこで第2報でみた稀釀度と陽性率の違いが塗素含有量の違いによるのではないかとの疑問も生じるので、Lot 63 OT, PPD, H-f の同一塗素量の場合、どのような曲線を画くかを考えてみた。

まず Lot 63 OT の N 量は micro-Kjeldahl 法で 2.16 %, 多糖体量は 1 N-H₂SO₄ で 10 時間煮沸し、加水分解後、Hagedorn-Jensen 法で 1.0 % であった。そこでこれら Lot 63 OT, PPD, H-f の塗素量および多糖体量を示すと表 3 のようになる。これより Lot 63 OT, PPD, H-f の塗素含有量は 2.16 %, 14.8 %, 0.998 % であり、多糖体量は 1.0 %, 5.9 %, 72.09 % であるので、これら 10 γ に含まれる塗素量は 0.2 γ, 1.48 γ, 0.099 γ であり、一方これら 10 γ に含まれる多糖体量は 0.1 γ, 0.59 γ, 7.2 γ である。これを表 2, 3 に照らしあわせると Lot 63 OT は塗素量 0.2 γ のときツ反陽性率が 100 %, PPD は塗素量 1.48 γ のときツ反陽性率が 100 %, H-f は塗素量 0.099 γ のときツ反陽性率が 100 % であることを示している。以下同様に計算して図 9 を書き改めると図 10 のようになる。これより稀釀度と陽性率の違いが塗素含有量の違いによるものでないことが分かつた。しかばこの稀釀度と陽性率との間の分布曲線の違いはおののに含まれている蛋白体そのものの違いによるものであるとも十分考えられるが、おののに含まれている多糖体量も大いに関与しているのではないかとも考えられる。もちろんこのことで多糖体そのものに活性を認めるものではないが、多糖体は蛋白体と混在することに

表 3 Lot 63 OT, PPD, H-f の塗素、多糖体量 (%)

	N (%)	多糖体量 (%)
Lot 63 OT	2.16	1.0
PPD	14.8	5.9
H-f	0.998	72.09

図 10 各群の陽性率
(各群の塗素含有量と陽性率の関係)



よつて大いにツベルクリン・アレルギーの現れ方を左右するものと思われる。

総括

- 1) OT 400 cc にアセトン、アルコール、クロロホルム、エーテル、20%三塩化醋酸を加えてツベルクリン画分 (H 画分) 1.6 g を精製、このものは N 量 0.998 %, 多糖体量 72.09 % で多糖体画分である。
- 2) H 画分はその 30 γ/0.1 cc ~ 10 γ/0.1 cc の間に旧々 2,000 倍 0.1 cc に相当する力値があると思われる。
- 3) 稀釀度とツ反陽性率との関係で、OT は直線的であるが、H-f は急上昇曲線を示した。かかる性質は抗原の優秀性を論ずる場合、具備されなければならない一性質と思われる。
- 4) OT × OT, OT × PPD, OT × H-f, PPD × H-f の Ratio がそれぞれ 0.98, 1.06, 0.98, 0.908 で r が 0.92, 0.44, 0.69, 0.45 であった。すなわち 2 つのツベルクリン・アレルギーを比較する場合、発赤 (または硬結) の平均値や Ratio の検討だけでは十分といえず、相関係数もあわせ考えなくてはならないと思われる。

文獻

- 1) 新藤三郎：結核，35：503，昭35。
- 2) 新藤三郎・村井勢：結核，35：352，昭35。
- 3) a) Long, E.R., & Seibert, F.B. : Amer. Rev. Tuberc., 35 : 281, 1937.
- b) John, L.L. : Amer. Rev. Tuberc., 53 : 1220, 1937.
- c) Israel, H.H., & Panne, H.M. : Amer. Rev. Tuberc., 41 : 188, 1940.
- d) Kölitz, E. : Arch. Kinder. h.K., 143 : 163, 1951.
- e) Plunkett, R.E., & Siegel, W. : Amer. Rev. Tuberc., 35 : 296, 1937.
- 4) 矢作光美：日結，4：666，昭18。
- 5) 岡捨巳・新津泰孝：抗研誌，1：27，昭21。
- 6) Seibert, F.B. : Amer. Rev. Tuberc., 44 : 9, 1941.
- 7) Lind, P. : Tubercle, 19 : 385, 1938.
- 8) Bouquet, A. : Ann. Inst. Pasteur, 57 : 622, 1936.
- 9) 貝原守一：福岡医学雑誌，36：598，昭18。
- 10) 武田徳晴：結核，26：485，昭26。
- 11) Medlar, E.M. : Amer. Rev. Tuberc., 43 : 534, 1941.
- 12) Eberson : Amer. Rev. Tuberc., 19 : 327, 1929,

- 13) 菅原真行: 結核, 7: 635, 昭4.
- 14) Küster, E.: Beitr. Klin. Tbc., 82: 237, 1933.
- 15) 糟谷伊佐久: 東京医事新誌, 2946: 2313, 昭10.
- 16) Seibert, F.B.: Chemical Review, 34: 107, 1944.
- 17) 戸田忠雄: 結核菌と B C G, 63, 南山堂, 昭18.