

# ツベルクリン活性ペプチド (TAP) およびその 各種誘導体のツベルクリン力価の比較

高 部 勝 衛

公立学校共済組合近畿中央病院

伊 藤 文 雄・山 村 雄 一

大阪大学医学部山村内科

岡 田 吉 美・中 島 松 一

大阪大学医学部癌研究施設

受付 昭和 40 年 9 月 18 日

## COMPARATIVE STUDIES ON TUBERCULIN ACTIVITIES OF TUBERCULIN ACTIVE PEPTIDE (TAP) AND ITS DERIVATIVES FOR HUMAN BODIES\*

Katsue TAKABE, Fumio ITO, Yuichi YAMAMURA,  
Yoshimi OKADA and Shoichi NAKAJIMA

(Received for publication September 18, 1965)

In this report the activity of tuberculin active peptide (TAP) and its derivatives and their stability against papain digestion were tested. The object of this experiment was to obtain a more potent or more stable derivative against proteinase than TAP.

TAP coupled with diazotized sulfanylic acid or diazotized *o*-aminophenol and acetylated TAP were less active than TAP, but the activity of methylated or ethylated TAP was almost the same as TAP.

After papain digestion for 1 hour, the activity of acetylated TAP and TAP coupled with bis-diazotized benzidine did not reduce, but it reduced slightly in the case of TAP coupled with *o*-aminophenol and markedly in the case of TAP and TAP coupled with sulfanylic acid.

### 緒 言

さきに著者らは同一局所に反復施行せるさいの旧ツベルクリン (OT) とツベルクリン活性ペプチド (TAP) の比較について報告したが<sup>3)</sup>, 今回は TAP ならびにその各種誘導体の皮内反応活性の比較, および papain 消化の影響についての比較検討に関する成績を報告する。

### 実験材料および方法

OT は標準 OT の 2,000 倍溶液 0.1 ml を使用した。TAP およびその各種誘導体は阪大医学部癌研究施設において, 著者らが精製<sup>1)</sup> ならびに合成せるものを使用し

た。

TAP coupled with bis-diazotized benzidine (BDB-TAP) は次のごとくにして合成した。すなわちベンチジン 36.8 mg (0.2 mM) を N/10 塩酸 12 ml に溶解し, これに M/5 亜硝酸ソーダ 1.5 ml を水冷下で攪拌しながら滴下し, 10 分後この溶液 10 ml を TAP 500 mg の水溶液 15 ml に水冷しつつ加え, 5 分間さらに攪拌を続けた。この溶液を 5% 炭酸ソーダで pH 7.4 とし, 一夜氷室に放置後, N/100 塩酸に対して透析し, 透析内液を凍結乾燥して BDB-TAP を得た。透析操作により未変化の TAP は外液に出て除かれる。

TAP coupled with diazotized sulfanylic acid (S-

\* From Kinki Central Hospital of the Mutual Benefit Association of Public Schools, Noma, Itami-shi, Hyogo-ken, Japan.

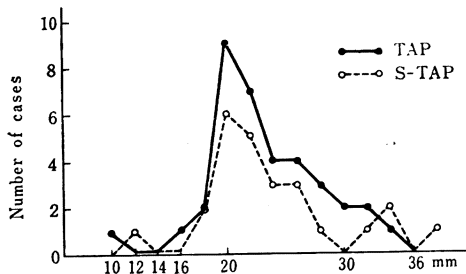
TAP) および TAP coupled with diazotized *o*-aminophenol(OA-TAP) はいずれも前述の BDB-TAP と同様な方法で合成したが、これらのさいには 0.2 mM ベンチジンのかわりに、それぞれ 0.4 mM のズルファニール酸、およびオルトアミノフェノールを使用した。

アセチル化 TAP の合成法は次のとおりである。TAP 100 mg を 10 ml の蒸留水に溶解し、飽和醋酸ソーダ 1 ml, さらに無水醋酸ソーダ 1 ml を 0°C で加えて 1 時間攪拌し、この反応液に蒸留水 80 ml を加えた後、飽和ピクリン酸溶液 100 ml を加えてピクリン酸塩として沈澱せしめ、以後常法のごとくに脱ピクリン酸を行ないアセチル TAP を得た<sup>2)</sup>。

メチル化 TAP およびエチル化 TAP の合成法は次のごとくである。TAP 100 mg に N/10 醋酸メチルまたは醋酸エチル 100 mg を加え、4°C で 24 時間攪拌し、その後蒸留水 100 ml, 飽和ピクリン酸 100 ml を加えてピクリン酸塩を加え、以後常法のごとくに脱ピクリン酸操作を行なつた。

これら誘導体の対照として用いた TAP は、同一ロット

Table 1. Comparison of TAP and S-TAP



	Number of cases	Average in diameter of redness(mm)
TAP	33	27
S-TAP	33	24

Table 2. Comparison of TAP and Its Derivatives

	Number of cases	Average in diameter of redness (mm)
Acetylated TAP	13	14
TAP		17
OA-TAP	10	16
TAP		25
Methylated TAP	10	14
TAP		14
Ethylated TAP	10	24
TAP		23

Table 3. Comparison of Papain Digests of TAP and Its Derivatives

		Number of cases	Papain digestion (hours)		
			1	2	3
TAP	Papain digest control	10	13	6	5
			24	20	22
BDB-TAP	Papain digest control	10	26	11	10
			23	22	25
S-TAP	Papain digest control	10	12	8	5
			22	14	30
OA-TAP	Papain digest control	10	20	14	15
			29	38	24
Acetylated TAP	Papain digest control	10	23	5	3
			26	24	13

Control was treated without papain. Numbers show average in diameter of redness.

トのもので無処理のものを用いた。

TAP およびその誘導体の papain 処理は次のごとくに行なつた。すなわち 1 mg/ml の割合に蒸留水に溶解したものに、その 1/100 の割合に papain を加え、さらに EDTA-チスチンを添加、磷酸緩衝液で pH 7 に調整、papain を活性化した後、それぞれ 1 時間、2 時間、3 時間 37°C にて反応せしめ、生理的食塩水で 2.5 mcg/ml に希釈し、その 0.1 ml を皮内接種した。対照として、papain を加えなかつたほかは全く同一の処理を行なつた TAP またはその誘導体を用いた。

被験対象は精神病院に入院中の患者で、長期にわたつてツベルクリン反応を実施していないものを選び、しかもツベルクリン反応に影響を与えると思われる薬剤投与中のものは除外した。

実施局所は前膊の上 1/3 の掌面とし、左右の前膊に交互に薬剤をかえて接種し、左右による誤差をなくすることにつとめた。

判定は接種 48 時間後における発赤を測定し、その長径と短径の平均値をもつて表わした。

実験成績

I. ツベルクリン活性の比較

1) TAP と S-TAP との比較

33 例について比較した成績を表 1 に示した。発赤の平均値は TAP 2.5 mcg/ml, 0.1 ml に対し、S-TAP 2.5 mcg/ml, 0.1 ml のほうがやや弱いことが認められた。

2) TAP とアセチル化 TAP, OA-TAP, メチル化 TAP およびエチル化 TAP との比較

各誘導体とも接種量は 2.5 mcg/ml, 0.1 ml であるが、表 2 のごとく TAP の発赤径と比較して、メチル化 TAP, エチル化 TAP がそれぞれ相応する力価を示したのに対し、その他の誘導体はいずれも TAP より低い力価を示した。

II. Papain 消化の影響

BDB-TAP, S-TAP, アセチル化 TAP のそれぞれに papain を1時間, 2時間, 3時間 ずつ作用せしめ, おのおの papain 消化物のツベルクリン活性を比較したが, 1時間消化の場合には BDB-TAP, アセチル化 TAP はほとんど活性の低下を認めないのに対し, OA-TAP は軽度の活性の低下を示し, TAP および S-TAP は著明な活性低下を示した。

2時間以上 papain を作用せしめた場合には, いずれも著明な活性の低下が認められた。

#### 総括ならびに考案

以上 TAP およびこれから合成した各種誘導体のツベルクリン活性を比較検討し, さらに papain 処理に対するこれら TAP およびその誘導体の抵抗力について検討を加えたが, 既報のごとく<sup>3)</sup>, TAP 2.5 mcg/ml, 0.1ml を 2,000 倍 OT 0.1 ml と比較した場合, メチル化 TAP およびエチル化 TAP はほぼ TAP と同程度のツベルクリン力価を示したが, S-TAP, アセチル化 TAP, OA-TAP はそれぞれ TAP より力価の低下していることを認めた。

TAP<sup>1)</sup> は PPD とほぼ等力価であることが報告されているが, ときとして TAP のほうが弱い力価を示すことがある。このように TAP の力価の低いことがあるのは, すでに岡田<sup>2)</sup> らが TAP は pepsin によつてツベルクリン活性の急激な低下を認めているように, TAP が

低分子のため, 接種された皮内の局所で酵素による分解を受けやすいためではないかとも考えられる。そこで著者らは各種の TAP 誘導体を合成し, papain による分解に対する抵抗の増強を検してみた。その結果 BDB-TAP, アセチル化 TAP のみが, TAP に比し papain 消化に抵抗することを認めた。

かかる TAP 誘導体の実用化については, なお今後の検討を必要とすると考えられる。

#### 結 論

TAP および各種誘導体のツベルクリン力価について検討し, さらにこれらの papain 消化に対する抵抗性について検討を加えた。

欄筆に臨み懇切なご援助を賜つた多田秀夫博士, 高橋重幸博士に深甚なる感謝を捧げる。

#### 文 献

- 1) S. Morisawa, A. Tanaka, K. Shojima, Y. Yamamura: *Biochim. Biophys. Acta*, 38: 252, 1960.
- 2) Y. Okada, S. Morisawa, K. Syojima, M. Kitagawa, S. Nakajima, Y. Yamamura: *J. Biochem.*, 54: 484, 1963.
- 3) 高部勝衛・伊藤文雄・山村雄一: *結核*, 39: 559, 1964.