

## PPD 溶液の力価低下に関する研究

— $^3\text{H}$ -PPD を用いての実験—

豊原 希一

結核予防会結核研究所

折居 昌志

日本ピーシージー研究所

受付 昭和46年11月1日

## A STUDY ON THE DECREASE OF POTENCY OF PPD SOLUTION\*

—Experiments Using  $^3\text{H}$ -PPD—

Mareichi TOYOHARA and Masashi ORII

(Received for publication November 1, 1971)

To elucidate the mechanism of rather rapid reduction in the potency of PPD solution, a study was made using  $^3\text{H}$ -labelled PPD ( $^3\text{H}$ -PPD) prepared by the culture method.

## 1. Methods

Aoyama B strain was inoculated on 2,000 ml of Sauton liquid media including 5 mCi of  $^3\text{H}$ -L-aspartic acid. Bacillary culture was killed by wet-heating and filtrated after six weeks. Filtrate was purified by ultrafiltration and dialysis and was lyophilized, and  $^3\text{H}$ -PPD powder was obtained. The specific radioactivity of  $^3\text{H}$ -PPD was about 7.3  $\mu\text{Ci/g}$ .

Tuberculin reaction was read at 24th hours after the intracutaneous injection of 1mcg of non-labelled PPD and  $^3\text{H}$ -PPD both conducted at the abdominal skin of the same guinea pig.

The radioactivity of specimen of  $^3\text{H}$ -PPD solution under the various kinds of experimental conditions was measured by the liquid scintillation counter (Aloka). For the relative comparison of radioactivity, the counting rate (cpm) with a lapse of time was expressed as a ratio with the rate at zero time and the latter was defined as 100.

Microautoradiography by the dipping method using the nuclear emulsion of Sakura NR-M2 was carried out, and after exposure by  $^3\text{H}$  for thirty days numbers of developed black silver grain were counted by the light microscope.

## 2. Results

As shown in table 1, the biological potency of PPD was not changed by  $^3\text{H}$ -labelling.

Changes in radioactivity after dissolving  $^3\text{H}$ -PPD of various concentrations is shown in table 2. The counting rate (cpm) and the relative value of radioactivity decreased gradually but not so markedly under these concentrations.

Change in radioactivity were not significant among three concentrations, and radioactivity decreased to about 80% after 192 hours.

Changes in radioactivity preserved under various temperature after dissolving  $^3\text{H}$ -PPD were observed.

\* From the Research Institute of Tuberculosis, Japan Anti-Tuberculosis Association, Kiyose-shi, Tokyo 180-04 Japan.

The following three conditions were arranged ;

A : 250 mcg/ml of  $^3\text{H}$ -PPD solution : kept quiet at 37°C

B : 62.5 mcg/ml of  $^3\text{H}$ -PPD solution : kept quiet at 37°C

C : 62.5 mcg/ml of  $^3\text{H}$ -PPD solution : kept quiet at 5°C

The result is shown in table 3. The radioactivity decreased slightly up to sixth hour under the condition A, and thereafter, no change up to twenty-fourth hour, and decreased again at forty-eighth hour. The radioactivity under the condition B decreased from sixth hour to twenty-fourth hour, and that under C dropped rather rapidly up to sixth hour, and thereafter no decrease.

Effects of shaking were observed using  $^3\text{H}$ -PPD solution of 50 mcg/ml. As shown in table 4, the radioactivity decreased markedly within one hour regardless of shaking.

Effects of Tween-80 solution and temperature on radioactivity of  $^3\text{H}$ -PPD solution were investigated. As shown in table 5, the radioactivity of  $^3\text{H}$ -PPD solution did not decrease by adding Tween-80 solution.

Adsorption of  $^3\text{H}$ -PPD solution to glass fragments was observed by mixing  $^3\text{H}$ -PPD solution with glass fragments. As shown in table 6, by adding glass fragments to  $^3\text{H}$ -PPD solution, the radioactivity of PPD solution was reduced to about a half within six hours. But when 0.05% Tween-80 solution was added to  $^3\text{H}$ -PPD solution, decrease of radioactivity was not observed.

Adsorption of  $^3\text{H}$ -PPD solution to glass plate was observed by microautoradiography (ARG). The clean slide glass were soaked in  $^3\text{H}$ -PPD solution for five minutes, thirty minutes, one hour, three hours or twenty-four hours, and then ARG was carried out by dipping method using the nuclear emulsion of Sakura NR-M 2 under the following three conditions.

1 : no washing

2 : washed by running water for 20 minutes.

3 : washed by 0.005% Tween-80 solution.

As shown in table 7, the density of the developed black silver grains in nuclear emulsion was the highest in case of no washing. The developed grains decreased obviously by washing in running water, and nearly no grains were found after washing with Tween-80 solution in spite of being soaked in  $^3\text{H}$ -PPD solution for twenty-four hours.

### 3. Conclusion

1) In case of the high concentration (500 mcg/ml) of  $^3\text{H}$ -PPD solution, the radioactivity did not decrease so markedly.

2) In case of the low concentration (50 mcg/ml), the radioactivity decreased rapidly. The effect of shaking on decrease of radioactivity was not significant.

3) It was proved from the results of in vitro experiments and of ARG that the decrease of radioactivity was evidently inhibited by Tween-80 solution.

It is assumed that the decrease of potency of PPD solution may be due to adsorption of PPD to the glass vial.

## 1. 緒 言

ツベルクリン (以下ツと略) 反応が結核菌感染あるいは結核症の診断に欠くことのできない検査であることは周知の事実であるが、ハプテンとしてのツについては古くから、いわゆる旧ツ (OT) が用いられてきた。しかし

ツの活性物質が蛋白質であることが分かつて以来、非特異反応を除くために各国は OT に代つて精製ツ (PPD) を用いるようになった。わが国でも 1969 (昭和 41 年) 10 月以降、ツ反応に用いるツとして PPD を使用することになった。PPD の製法および使用方法は各国で多少異なるが、わが国では厚生省精製ツ製法基準に従い PPD

をつくり規定量ずつヴァial中に封入し、使用時、規定の溶解液（磷酸緩衝液）で溶解しツ反応を行なうことになっている。ところが PPD は溶液にすると急速に力価が低下することが報告されている<sup>3)</sup>。さらに力価低下の原因として容器への吸着を考え<sup>4)</sup>、その対策に表面活性剤 Tween-80 の使用をすすめる報告<sup>5)~7)</sup>もあり、現に WHO は Tween-80 含有 PPD 溶液を発展途上の国に供給している。しかし、わが国では Tween-80 の含有を認めておらず、力価低下の現象はツ反応の判定に時として困惑をもたらすことがある。

本論文では溶液中の PPD 濃度が諸条件下で減少する状況を <sup>3</sup>H 標識 PPD を用い観察し、興味ある知見を得たので報告する。

## 2. 実験方法

### 1) <sup>3</sup>H-PPD の製造

Sauton 培地 2,000 ml に L-Aspartic acid-T (G) 5 mCi すなわち 2.5  $\mu$ Ci/ml の割合に加え、青山B菌を表面培養し、7週後に 100°C 30 分殺菌した後、培養液を濾紙で濾過し、菌体を除き濾液をさらにシャンペランL3で濾過する。さらに濾液を限外濾過法により 1/30 に濃縮し、濾液に飽和硫酸アンモニウム水溶液を加え塩析した後、透析膜により透析し、透析内液を Pyrex ガラスアンブルに分注し凍結乾燥する。この操作により総量約 100 mg の <sup>3</sup>H-PPD を得た。その比放射能は 7.3  $\mu$ Ci/g であった。

### 2) <sup>3</sup>H-PPD の生物学的活性

非標識 PPD および <sup>3</sup>H-PPD 1 mcg を緩衝液 0.1 ml に含有するように溶解希釈し、結核菌感作同一モルモットの腹壁両側皮内に注射し、24 時間後のツ反応を測定比較する。

### 3) 放射能測定

各種実験条件下における <sup>3</sup>H-PPD 溶液の 0.1 あるいは 0.2 ml を Dioxane 系液体シンチレーターに添加し、Aloka 液体シンチレーションカウンタにより <sup>3</sup>H-エネルギーの window width で計数率を測定する。さらに経時的変動をみる場合、0 時点を 100 とした相対放射能濃度を算出し比較した。

### 4) オートラジオグラフィ (ARG)

Table 1. Biological Activity of <sup>3</sup>H-PPD for Sensitized Guinea Pigs by Tubercle Bacilli

No. of Guinea pigs	PPD 1 mcg	<sup>3</sup> H-PPD 1 mcg
1	16×17	17×17
	16×17	17×17
2	15×16	19×21
	15×16	19×21
3	16×16	16×17
	16×16	16×17
4	20×20	20×20
	20×20	20×20
5	15×16	17×17
	15×16	17×17
6	17×16	17×17
	17×16	17×17
7	16×18	14×14
	16×18	14×14
8	17×17	17×17
	17×17	17×17
9	12×20	14×18
	12×20	14×18
10	15×17	17×20
	15×17	17×20
11	12×23	16×18
	12×23	16×18
12	13×18	15×18
	13×18	15×18
13	15×18	17×20
	15×18	17×20
14	17×22	17×18
	17×22	17×27
15	15×18	15×18
	15×18	15×18
16	15×27	12×12
	15×27	23×21
Average	17.0	17.2
	17.0	17.8

Numerator indicates the size of induration and denominator of erythema after 24 hours by the intracutaneous injection.

原子核乳剤 Sakura NR-M2 を用い、dipping 法によりマイクロ ARG を行ない 30 日間露出した後、現像定着し光学顕微鏡下に黒化銀粒子数を数える。

Table 2. Changes in Radioactivity after Dissolving <sup>3</sup>H-PPD

(%)

Conc. of PPD	0h	3h	24h	48h	72h	192h
2.5 mg/ml	1,730 (100)	1,700 (98)	1,666 (96.4)	1,450 (83.8)	1,465 (84.8)	1,400 (81)
1.0 mg/ml	900 (100)	880 (97.8)	814 (90.4)	765 (85.0)	728 (80.8)	698 (77.6)
0.5 mg/ml	410 (100)	410 (100)	410 (100)	388 (94.7)	357 (87.0)	330 (80.5)

Figures in the table indicate cpm.

Dissolved PPD solution was kept quietly under the room temperature (15°C) and 0.1 ml of the specimen was taken out for measurement from the vial at the above time.

Table 3. Changes in Radioactivity of  $^3\text{H}$ -PPD Solution Preserved under Various Conditions ( ) %

Conditions	0h	1h	3h	6h	24h	48h
A	160 (100)	160 (100)	160 (100)	150 (93.8)	150 (93.8)	120 (75)
B	32 (100)	32 (100)	30 (93.8)	30 (93.8)	20 (62.5)	20 (62.5)
C	36 (100)	36 (100)	30 (83.2)	26 (72.2)	26 (72.2)	26 (72.2)

A : 0.25 mg/ml PPD, kept quietly at 37°C.

B : 0.0625 mcg/ml PPD, kept quietly at 37°C.

C : 0.0625 mcg/ml PPD, kept quietly at 5°C

Each 0.2 ml specimen was measured.

Table 4. Effects of Shaking on Radioactivity of  $^3\text{H}$ -PPD after Dissolving ( ) %

Conditions	0h	1h	3h	6h	24h
A	71 (100)	44 (61.9)	39 (54.9)	35 (44.3)	30 (42.2)
B	70 (100)	45 (64.2)	35 (50)	34 (48.6)	30 (42.9)
C	71 (100)	52 (73.2)	48 (67.6)	45 (63.3)	40 (56.3)
D	67 (100)	50 (74.5)	45 (67.1)	45 (67.1)	40 (59.7)

Concentration of PPD was 0.05 mg/ml and was kept under the room temperature. Each 0.2 ml specimen was measured.

A : Kept quietly in pyrex test tube.

B : Kept in pyrex test tube, shaken for 3 minutes before taking specimens.

C : Kept quietly in conventional test tube.

D : Kept in conventional test tube, shaken for 3 minutes before taking specimens.

### 3. 実験成績

#### 1) $^3\text{H}$ -PPD の生物活性

$^3\text{H}$ -PPD を 10 mcg/ml に希釈し、その 0.1 ml すなわち 1 mcg を結核感染モルモットの皮内に注射し、非標識 PPD 1 mcg によるツ反応と比較する。

結果を表 1 に示す。表にみるように  $^3\text{H}$ -PPD と非標識 PPD によるツ反応は変わらず、R.I. 標識により力価の低下を来たすことはなかつた。

#### 2) $^3\text{H}$ -PPD 溶液濃度と溶解後の経過時間による放射能値の変動

$^3\text{H}$ -PPD 2.5 mg 含有の普通ガラスアンプル 1 本につき 1 ml, 2.5 ml, または 5 ml の溶解用緩衝液を添加する。静置のまま溶解し、そのまま室温 (15°C) に静置し、同一アンプルより振盪することなく 0.1 ml ずつ 0, 3, 24, 48, 72, 192 時間後に採取し放射能を測定した。それぞれの濃度は 2.5 mg/ml, 1 mg/ml, 0.5 mg/ml となり、0.1 ml 中の PPD 量はそれぞれ 250 mcg, 100 mcg, 50 mcg となる。

結果を表 2 に示す。

計数率 (cpm) および相対放射能濃度は経時的に漸減するが著明ではない。3つの濃度間にも著しい差はなく、192 時間後にいずれも相対放射能濃度は 80% 前後となる。

#### 3) $^3\text{H}$ -PPD 溶液の保存温度と経過時間による放射能値の変動

1.25 mg  $^3\text{H}$ -PPD 含有普通ガラスアンプルを次の条件で希釈し、37°C および 5°C に静置し、0, 1, 3, 6, 24, 48

時間後に 0.2 ml ずつとり放射能を測定する。なお普通ガラスとは現在市販中の PPD を入れているアンプルに使用されているガラスである。

A : 5 ml の緩衝液をアンプルに加え 37°C に静置する。したがって濃度は 250 mcg/ml となり測定に供した PPD 量は 50 mcg となる。

B : Pyrex 中試験管に 3 ml の緩衝液をとり、これに 1 ml の A 液を加え 37°C に静置する。

C : B と同じ条件で希釈液をつくり 5°C に静置する。B と C の濃度は 62.5 mcg/ml となり、測定に供した PPD 量は 12.5 mcg となる。

結果を表 3 に示す。

A の相対放射能濃度は 6 時間目に、わずかに低下し 48 時間目にさらに低下するが、24 時間までの低下は著明ではない。

B すなわち希釈 37°C 保存条件では 6 時間から 24 時間の間で低下する。C すなわち希釈 5°C 保存条件では 6 時間までにかなり急速に低下し、それ以後は不変である。

#### 4) 振盪の影響

1.25 mg  $^3\text{H}$ -PPD 含有普通ガラスアンプルに 5 ml の緩衝液を加え 0.25 mg/ml の溶液をつくる。Pyrex および普通ガラス中試験管に 4 ml ずつの緩衝液を入れておき、これに上記の  $^3\text{H}$ -PPD 溶液 1 ml を加える。溶液濃度は 50 mcg/ml となる。この溶液の一方は静置し他方は手で水平に強く 3 分間振盪する。0, 1, 3, 6, 24 時間後に、その都度、前記の操作を行ない、同じ中試験管より 0.2 ml (10 mcg) ずつ採取し放射能を測定する。

Table 5. Effects of Tween-80 and Preservation Temperature on Radioactivity of <sup>3</sup>H-PPD after Dissolving ( ) %

Conditions	0h	1h	3h	6h	24h	48h
A-37°C	362 (100)	357 (98.6)	353 (97.6)	347 (95.8)	350 (96.9)	350 (96.9)
A-5°C	352 (100)	351 (99.6)	351 (99.6)	342 (97.2)	350 (99.5)	350 (99.5)
B-37°C	53 (100)	53 (100)	50 (94.3)	48 (90.6)	51 (96.2)	52 (98.1)
B-5°C	58 (100)	58 (100)	58 (100)	58 (100)	60 (103.3)	62 (106.8)

A: <sup>3</sup>H-PPD was dissolved in the concentration of 1 mg/ml by 0.05% Tween-80 solution. Conventional glass vial was used.

B: 4 ml of 0.05% Tween-80 was added to 1 ml of solution A, and the concentration was 0.2 mg/ml. Pyrex test tube was used.

Table 6. Adsorption of <sup>3</sup>H-PPD to Glass Fragment ( ) %

Conditions	0h	1h	3h	6h	24h
A	66 (100)	58 (87.8)	57 (86.4)	56 (86.1)	50 (75.8)
B	65 (100)	60 (92.2)	57 (87.8)	31 (47.7)	31 (47.7)
C	51 (100)	51 (100)	45 (88.1)	28 (54.9)	27 (53.0)
D	85 (100)	78 (91.8)	77 (90.6)	75 (88.2)	75 (88.2)

<sup>3</sup>H-PPD of 0.25 mg/ml was prepared, kept quietly under 5°C and shaken before measurement.

A: 2 ml PPD+2 ml distilled water (D.W.)

B: Fragment of PPD vial 1g+2 ml PPD+2 ml D.W.

C: Fragment of conventional test tube 1g+2 ml PPD+2 ml D.W.

D: 2 ml PPD+1.6 ml D.W. +0.4 ml 0.05% Tween-80.

Table 7. Autoradiographical Observation on Adsorption of <sup>3</sup>H-PPD to Glass Plate

Contact time	5 min.	30 min.	1h	3h	24h
No washing	++	+++	+++	+++	+++
Washed with water	+	+	+	+	++
Washed with Tween-80	±	±	±	±	±

Numbers of black particle in 1 visual field (400×)

+ : 10<    ++ : 10~50    +++ : 50~100    ++++ : 100<

Nuclear emulsion : Sakura NR-M2

ARG : Dipping method. 30 days exposure.

Concentration of <sup>3</sup>H-PPD : 0.1 mg/ml.

温度条件は室温 (15°C) とした。

結果を表4に示す。

いずれの条件でも、1時間で相対放射能濃度はかなり低下する。普通ガラス試験管を用いたときより、Pyrex試験管を用いたときのほうがより強く低下する。その後、24時間までどの条件下でも徐々に低下する。

静置と振盪との差はほとんどなかった。

5) Tween-80 添加と温度との関係

表面活性剤 Tween-80 を添加することにより相対放射能濃度の低下が防げるか否か検討した。

2.5 mg <sup>3</sup>H-PPD 含有普通ガラスアンプルに 0.05% Tween-80 液 2.5 ml を加え 1 mg/ml の <sup>3</sup>H-PPD 溶液をつくる。これをA液とよぶ。次に Pyrex 中試験管に 4 ml の 0.05% Tween-80 液を入れておき、これにA液 1 ml を加え 200 mcg/ml の <sup>3</sup>H-PPD 溶液をつくる。これをB液とよぶ。いずれも静置とする。

A, B液いずれも 37°C あるいは 5°C におき、0, 1, 3, 6, 24, 48 時間後に 0.1 ml ずつ採取し放射能を測定す

る。A液は 100 mcg, B液は 20 mcg の <sup>3</sup>H-PPD を測定したことになる。

結果を表5に示す。

表にみるようにいずれの条件でも放射能の低下をみない。すなわち Tween-80 は相対放射能濃度の低下を明らかに阻止した。

6) <sup>3</sup>H-PPD 溶液のガラス粉末への吸着

ガラス粉末と <sup>3</sup>H-PPD 溶液を混合した場合、溶液の放射能濃度が低下するか否か検討した。2.5 mg <sup>3</sup>H-PPD 含有アンプルに 10 ml の緩衝液を加え 0.25 mg/ml の <sup>3</sup>H-PPD 溶液をつくり、次の4つの実験条件をおく。

① 2 ml PPD 溶液+2 ml 蒸留水 (D.W.)

② PPD 用 vial ガラス粉末 1g+2 ml PPD 溶液+2 ml D.W.

③ 普通ガラス中試験管ガラス粉末 1g+2 ml PPD 溶液+2 ml D.W.

④ 2 ml PPD 溶液+1.6 ml D.W.+0.4 ml 0.05% Tween-80 溶液

ガラス粉末は vial あるいは中試験管をできるだけ細かく砕き、新鮮な粉末を用いた。

各条件下の懸濁液を 5°C に静置し、測定時 5 分間強く振盪し PPD 溶液とガラス粉末をよく混合した後の上清 0.2 ml を測定する。

結果を表 6 に示す。

ガラス粉末を加えていない①の条件では、1 時間以降、相対放射能濃度は漸次低下する。②では 6 時間目に急激に低下し放射能濃度は最初の半分までなる。③でも②とはほぼ同じ経過を示し、6 時間ではほぼはじめの半分となり、24 時間は 6 時間と同じ濃度を保っている。④の Tween-80 溶液を添加した実験では放射能濃度の低下は非常に少ない。

7) <sup>3</sup>H-PPD 溶液のガラス板への吸着の ARG による観察

0.1 mg/ml の <sup>3</sup>H-PPD 溶液をつくり、これに清浄なスライドガラスを 5 分、30 分、1 時間、3 時間、24 時間浸漬した後、次の 3 群に分ける。

- ① 洗わず放置
- ② 20 分流水で洗う
- ③ 0.005% Tween-80 溶液で洗う

結果を表 7 に示す。

ARG の判定は、400 倍光学顕微鏡で 1 視野中の黒化銀粒子数を次の基準に従って分類した。

- ± : はつきり黒化銀粒子が存在するとはいえない  
 + : 10 >  
 卍 : 10~50  
 卍 : 50~100  
 卍 : 100 <

表にみるように、①の条件では当然のことながら黒化銀粒子密度が高い。②の条件では①に比べ、かなり粒子数は少なくなるが、24 時間浸漬すると、水洗しても容易にとれなくなる。ところが③の条件では 24 時間浸漬しても黒化銀粒子はほとんどみられなかった。

#### 4. 考 察

PPD を溶液としたとき、力価が急速に低下することは緒言で述べた通りである。その原因は PPD のガラス壁への吸着という作業仮説をたて、R.I. 標識 PPD を製造し実験を行なった。PPD の標識法としては Wilzbach 装置による <sup>3</sup>H-ガス標識、<sup>131</sup>I によるヨード化、培養法等がある。われわれはこのいずれの方法も試みた。その結果、<sup>3</sup>H-ガス標識は比放射能は高いが生物活性が失活する。<sup>131</sup>I による標識は抗原抗体複合物をつくる免疫アレルギー現象等の解明にはよい方法であるが、<sup>131</sup>I が PPD より離脱しやすく本実験には適当でない。<sup>3</sup>H-アミノ酸を培地に添加し培養法により PPD をつくつた場合は比放射能は低い、蛋白質のものに生合成標識される

わけであるから離脱も少なく生物活性も低下しない。このような理由で本実験には <sup>3</sup>H-aspartic acid を用い、培養法により <sup>3</sup>H-PPD をつくり実験に供した。

まず溶解後の経過時間と放射能濃度との関係を見ると、3-2) の実験に示すように 24 時間程度では放射能濃度すなわち PPD 溶液濃度の低下は著しくない。これは実験に供した PPD 溶液濃度が 500 mcg/ml 以上という高濃度であつたためと思われる。吸着は希薄な濃度ほど、その影響が著明であるという一般概念からすれば、この所見からただちに吸着を否定することはできない。また実用的見地からすれば、PPD 溶液は高濃度で保存すれば力価の低下はさけることを示していよう。

次に保存温度と力価の低下も関係あるように思われ、通常、溶液にした場合は 5°C に保存するのがよいといわれている。3-3) の実験では、この点について検討を加えた。62.5 mcg/ml という比較的低濃度まで希釈した溶液は、6 時間までは、むしろ 5°C 保存のほうが 37°C 保存より早く放射能濃度が低下することが分かった。この成績はやや意外であつたが、コロイド状になつた PPD 粒子は高温のほうがむしろよく分かる運動を行ない、ガラス壁への吸着が阻止されるのではないかと思われる。

次に PPD 溶液は、使用時振盪すると PPD がアンプル全体のガラス壁に付着し、PPD 濃度が低下したが活性も低下するという考え方もあるが、3-4) の実験にみるように振盪の影響はみられなかった。PPD 溶液濃度は 50 mcg/ml と比較的低濃度で実用濃度に近いことを考えると、手で強く振る程度では力価の低下と密接な関係はないように思われる。

Tween-80 を PPD 溶液に加えると力価の低下が防げるという報告<sup>5)~7)</sup>があるので、3-5) の実験では、この点につき検討を加えた。S. Landi らは Tween-80 濃度 0.0005%、および 0.00005% を比較し、Tween-80 が高濃度のときに放射能の減少が少ないといっている。本実験では Tween-80 の終末濃度が 0.05% および 0.01% になるようにしたところ、いずれの濃度でも放射能の低下はきわめて少なく保存温度による差もとくになかった。この事実は PPD のガラス壁への吸着を Tween-80 が阻止することを示すと考えてよからう。

次にアンプル用ガラスを粉碎し、これを PPD 溶液に投入したところ、3-6) の実験にみるように著明な放射能濃度の低下をみた。ガラスを粉末とすることにより表面積が増加し多量の PPD を吸着したためと考えられる。

さらにガラス板に滴下乾燥させた PPD と洗浄との関係を ARG でみた 3-7) の実験は、水で洗つたのでは容易に PPD が板から離脱しないが、Tween-80 で洗うとよく落ちることを示している。これはガラス壁に PPD が吸着しやすく、また PPD を溶液にした後に Tween-80 を加えても力価は低下しないであろうことを示してい

る。

以上いくつかの実験結果からみると、PPD を水溶液にしたとき、急速に力価が低下するのは PPD 分子の容器壁への物理的吸着によると考えてよかろう。水溶液にした後、短期間のうちに PPD の変性が起こるとは考えられないし、また変性のみで吸着がなければ放射能の低下は起こらないであろう。化学的吸着でないことは Tween-80 によつて放射能の低下すなわち吸着現象がさげられることから推測される。

### 5. む す び

$^3\text{H}$ -PPD を用い PPD 溶液の力価低下の原因を攻究し次の結果を得た。

- 1)  $^3\text{H}$ -PPD 溶液濃度が高濃度 (500 mcg/ml) の場合、溶液の相対放射能濃度の低下は著明でない。
- 2) 濃度が低濃度 (50 mcg/ml) の場合、相対放射能濃度は急速に低下する。振盪と静置による差は明らかでない。
- 3) 試験管内実験および ARG の成績から Tween-80 によつて相対放射能濃度の低下は明らかに阻止される。

これらの成績から、PPD 溶液の力価減弱の原因は管壁への PPD 吸着によると考えることができる。

島尾副所長のご校閲を謝す。

なお本論文の要旨は第 45 回結核病学会総会において折居が報告した。

### 文 献

- 1) Waaler, H., Guld, J., Magnus, K., and Magnusson, M.: Bull. Wld Hlth Org., 19: 783, 1958.
- 2) 浅見望・片岡哲朗: 結核, 44: 423, 昭44 (第 44 回結核病学会総会講演).
- 3) 高井鏝二・森亨・石川信克: 結核, 44: 425, 昭44 (第 44 回結核病学会総会講演).
- 4) Marks, J.: Tubercle, 45: 62, 1964.
- 5) Magnusson, M., Guld, J., Magnus, K., and Waaler, H.: Bull. Wld Hlth Org., 19: 799, 1958.
- 6) Landi, S., Held, H. R., Hauschild, A. H. W., and Hilsheimer, R.: Bull. Wld Hlth Org., 35: 593, 1966.
- 7) Landi, S., Held, H. R., and Tseng, M. C.: Bull. Wld Hlth Org., 43: 91, 1970.