

原 著

結核菌燐脂質感作カオリン凝集反応の臨床的評価

藤 野 忠 彦

慶応義塾大学医学部内科

受付 昭和 51 年 2 月 17 日

CLINICAL STUDIES ON THE PHOSPHATIDE KAOLIN
AGGLUTINATION TEST

Tadahiko FUJINO*

(Received for publication February 17, 1976)

Many investigators have sought to establish a serological method for the diagnosis of tuberculosis. A serological test should make it possible to recognize active disease and to differentiate the disease due to *M. tuberculosis* from other non-tuberculous pulmonary diseases. All previously devised tests including the Middlebrook-Dubos hemagglutination test, Boyden test, the complement fixation test and the agar gel test, had some weak points.

Takahashi has shown in 1962 that antibody levels to phosphatide of tubercle bacilli correlate well with the severity of tuberculosis, and the sero-diagnosis is useful. Also he has shown that Kaolin particules could be used as appropriate surfaces for antigen-antibody reactions.

The test kit, which consisted of the antigen—a methanol solution of tuberculous phosphatide, the Kaolin suspension, and the tris aminomethanemalate buffer containing EDTA, was kindly offered from the Daiichi Kagaku Yakuhin Co., and was used throughout the study.

A total of 558 serum specimens were tested. Group A comprized patients with possitive tubercle bacilli: Group B consisted of patients who were treated with antituberculous drugs, but bacteriological confirmation was not made, and Group C are non-tuberculous patients.

We found that 56.0 per cent of Group A were serologically positive whereas 44 per cent of this group remained negative, and 27.9 per cent of Group B were positive, and 12 per cent of the Group C were positive.

In order to eliminate spontaneous agglutination which results in false positive readings, the test was set up in two series of tubes with non-sensitized and sensitized kaolin. By this method, the presence of non-specific agglutination in the specimen could be proved.

We could not find the close relationship between the clinical status of tuberculosis and the antibody titer of Takahashi Kaolin agglutination test. The combination of several kinds of serological tests might be needed to get higher positive rate for definitive diagnosis of tuberculosis.

* From the Department of Internal Medicine, School of Medicine, Keio University, Shinano-machi, Shinjuku-ku, Tokyo 160 Japan.

結 言

結核症の血清学的反応には、多くの研究がある。しかしながら必ずしも臨床的所見と一致がみられなかつた

り、結核菌以外の疾患の際にも陽性を示すために、臨床的応用にはなお幾多の問題がある。Middlebrook-Dubos 反応¹⁾も同様の評価をうけている。

1962年高橋²⁾は、結核菌体磷脂質抗原に注目し、感作

表 1-a 精度管理用ウサギ抗血清

凝集価 検査日	8×	16×	32×	64×	128×	256×	512×	1024×	2048×
S 46. 5. 15	卅	卅	卅	卅	卅	卅	++	-	/
6. 19	卅	卅	卅	卅	卅	++	+	-	/
7. 13	卅	卅	卅	卅	卅	卅	++	+	-
8. 14	卅	卅	卅	卅	卅	卅	++	+	-
10. 29	/	卅	卅	卅	卅	卅	++	-	-
11. 12	/	卅	卅	卅	卅	卅	+	+	-
12. 11	++	卅	卅	卅	卅	++	+	-	/
S 47. 3. 4	/	卅	卅	卅	卅	卅	++	-	-
4. 25	/	卅	卅	卅	卅	卅	+	-	-
5. 27	/	卅	卅	卅	卅	卅	++	+	-
6. 27	/	卅	卅	卅	卅	卅	++	-	-
7. 11	/	卅	卅	卅	卅	++	+	+	-
8. 29	/	卅	卅	卅	卅	卅	卅	++	-
12. 16	/	卅	卅	卅	卅	++	+	-	-
S 48. 3. 16	/	卅	卅	卅	卅	++	-	-	-
4. 20	卅	卅	卅	卅	卅	++	+	-	-
6. 29	/	卅	卅	卅	卅	卅	++	+	-
7. 18	卅	卅	卅	卅	卅	卅	++	-	-
9. 18	卅	卅	卅	卅	卅	卅	+	+	-
10. 17	卅	卅	卅	卅	卅	卅	+	-	-

表 1-b 患者凍結保存血清 (陽性コントロール)

(S 46. 9. 8 採血, 患者 柴○寿)

凝集価 検査日	8×	16×	32×	64×	128×	256×	512×	1024×
S 46. 12. 3	卅	卅	++	++	-	-	-	-
S 47. 2. 1	卅	卅	卅	++	-	-	-	-
2. 5	卅	卅	卅	++	-	-	-	-
3. 4	卅	卅	卅	++	-	-	-	-
10. 3	卅	卅	++	+	-	-	-	-

表 1-c 患者凍結保存血清 (疑陽性コントロール)

(S 46. 11. 22 採血, 患者 浅○吉○)

凝集価 検査日	8×	16×	32×	64×	128×	256×	512×	1024×
S 46. 12. 3	卅	卅	-	-	-	-	-	-
12. 11	++	+	-	-	-	-	-	-
12. 18	卅	+	-	-	-	-	-	-
S 47. 2. 1	卅	++	-	-	-	-	-	-
2. 5	卅	++	-	-	-	-	-	-
3. 4	卅	++	-	-	-	-	-	-
10. 3	++	++	+	-	-	-	-	-

表2 「カ」反応の陽性率

結核患者	確診群	症例数	
		陽性	51
	疑陽性	23	(25.3%)
	陰性	17	(18.7%)
	計	91	
非結核患者	臨床的診断群		
		陽性	24 (27.9%)
		疑陽性	15 (17.4%)
		陰性	47 (54.7%)
		計	86
	陽性	18 (12.8%)	
	疑陽性	22 (15.6%)	
	陰性	101 (71.6%)	
	計	141	

カオリンの凝集反応を用いた、いわゆる「高橋反応」を發表した。磷脂質抗原は、従来用いられた結核菌体多糖体あるいは蛋白質抗原よりも、病勢によく並行すると考えられる。しかしながら高橋反応も磷脂質抗原の製法、力価の安定性、カオリン粒子の不均一性などの諸問題から、臨床に広く応用されるには至っていないのが現状といえる。高橋反応については、すでに多くの報告があるが、その臨床診断的評価については、一定の見解に至っていないと思われるので再検討を行なった。

研究方法および検体

結核菌磷脂質感作カオリン凝集反応（以下「カ」反応）は、高橋らによる磷脂質メタノール抗原を用いた第一化学薬品製「カオリン凝集試験セット」⁹⁾を用いた。

検体は慶応義塾大学病院ならびに関連病院より提供を受けた結核患者及び非結核患者血清計558検体である。

成績

i) 「カ」反応実施の際に問題となる技術的誤差を避けるために、家兎にて作成した抗結核血清と、陽性および疑陽性を示す患者血清とを常にコントロールにおいた。表1a, b および c のごとくいずれも一管の差で安定した成績の得られることを確認した。「カ」反応判定の際に、反応液中に小さな凝塊が一樣に見えるもの(+)はしばしば判定者により異なる場合があるので、われわれは硬い凝塊が見えるが反応液が透明になつていないもの(++)以上をとり、32倍以上の凝集価を示すものを陽性とし、8~16倍の凝集価を示すものを疑陽性とし、8倍で凝集反応を示さないものを陰性とした。

ii) 「カ」反応の陽性率(表2)

結核患者を喀痰中結核菌検索の結果陽性で確診の得ら

表3 非結核患者で陽性を示した症例

検体	年齢・性	疾患名	凝集価
No. 41	41♀	胆石	32×
45	50♀	肺癌	32×
46	29♀	関節リウマチ	32×
107	19♀	SLE+PSS	128×
118	64♀	Sjogren Syn.	32×
119	38♂	Grdirtz Tumor	64×
146	59♂	癌性胸膜炎	64×
159	57♀	肺癌	64×
161	69♀	リンパ節腫脹	256×
162	67♀	肺癌	64×
168	78♂	ウイルス性肺炎	32×
290	54♂	慢性骨髄性白血病	64×
343	50♂	ウイルス性肺炎	64×
360	19♂	サルコイドーシス	128×
362	53♀	肺癌	128×
376	32♀	サルコイドーシス	64×
432	22♀	慢性気管支炎	32×
483	64♂	肺癌	32×

れた群(確診群)、確診は得られなかつたが、臨床的に結核症と診断され治療の対象とした群(臨床的診断群)に分けた。確診群の陽性率は56.0%で、平均凝集価は74.5倍、臨床的診断群のそれは、27.9%、49.2倍である。すなわち確診群に臨床的診断群より「カ」反応陽性率は高い。

排菌時期と陽性率の関係は「カ」反応測定前3カ月以内に排菌があつたものの陽性率は84症例中47症例55.9%で、測定前3カ月以後1年以内に排菌のあつたものは7症例あり、陽性を示すものは4症例で、陽性率に関してはほぼ同率である。すなわち排菌時期と「カ」反応陽性率には関係は認められない。

陽性率に及ぼす年齢因子による影響をみると、20~39歳では52%、40~59歳では52.5%、60~80歳では80%陽性を示し、60歳以上の高齢者には陽性率は高かつた。

次に非結核患者で陽性を示すものは12.8%、疑陽性15.6%、陰性71.6%である(表3)。非結核患者で陽性または疑陽性を示した40症例中に結核症の既往を有するものは7症例ある。しかし治療したものと考えられ、全く治療をうけてない症例である。また陽性を示したものの疾患名は表3のごとくである。肺癌および転移性肺腫瘍は14症例であるが、陽性を示したものは5症例である。サルコイドーシスでは2例を除き19症例は陰性である。

非結核患者で「カ」反応陽性を示した症例で、リウマチ反応、肝機能膠質反応、ワッセルマン反応が判明するものには、いずれも異常高値を示すものはない。一方ウイルス性肺炎の2症例はいずれも寒冷凝集反応128倍陽

表4 「カ」反応の類属反応

a) 非結核患者		8×	16×	32×	64×	128×	256×	512×	1024×
45	抗原(+)	++	+++	++	+	-	-	-	-
	(-)	++	+	+++	-	-	-	-	-
107	抗原(+)	-	-	±	+	+	++	-	+
	(-)	-	-	+	±	+	+	+	+
146	抗原(+)	+	+++	++	-	+	-	-	-
	(-)	+++	+++	+++	-	-	-	-	-
159	抗原(+)	+++	+++	+++	+++	+	-	-	-
	(-)	-	-	-	-	-	-	-	-
161	抗原(+)	+++	+++	+++	+++	++	++	-	-
	(-)	-	-	-	-	-	-	-	-
162	抗原(+)	-	+++	+++	+++	-	-	-	-
	(-)	-	-	-	-	-	-	-	-
168	抗原(+)	+++	+++	+++	-	-	++	-	-
	(-)	-	-	-	-	-	-	-	-
360	抗原(+)	++	++	++	+	++	-	-	-
	(-)	-	-	-	-	-	-	-	-
362	抗原(+)	++	++	++	+++	++	-	-	-
	(-)	-	-	-	-	-	-	-	-
376	抗原(+)	++	++	++	++	+++	-	-	-
	(-)	-	-	-	-	-	-	-	-
b) 結核患者		8×	16×	32×	64×	128×	256×	512×	1024×
7	抗原(+)	+++	+++	+++	++	++	+	-	-
	(-)	-	-	-	-	-	-	-	-
194	抗原(+)	+++	+++	++	+	-	-	-	-
	(-)	-	-	-	-	-	-	-	-
204	抗原(+)	+++	+++	-	-	-	-	-	-
	(-)	-	-	-	-	-	-	-	-
212	抗原(+)	+++	+++	+++	-	-	-	-	-
	(-)	-	-	-	-	-	-	-	-
379	抗原(+)	+++	+++	+++	++	++	++	-	-
	(-)	-	-	-	-	-	-	-	-
385	抗原(+)	+++	+++	+++	++	+	-	-	-
	(-)	-	-	-	-	-	-	-	-

性である。

iii) 類属反応

「カ」反応の類属反応を鑑別するために、次の検索を行なった。「カ」反応施行時に、抗原を加えないカオリン浮遊液と被検血清について同一条件下で凝集反応を行

なつた。表4のごとく今までいゆるダラダラ反応と呼ばれていた No. 107 例以外にも、抗原を加えないのに抗原感作カオリンの凝集と全く同様の反応を示すものが、非結核患者で陽性を示した症例10例中2例ある。対象とした結核患者ではいずれも抗原を加えたときのみ凝集

図1(a) 胸部X線像と「カ」反応

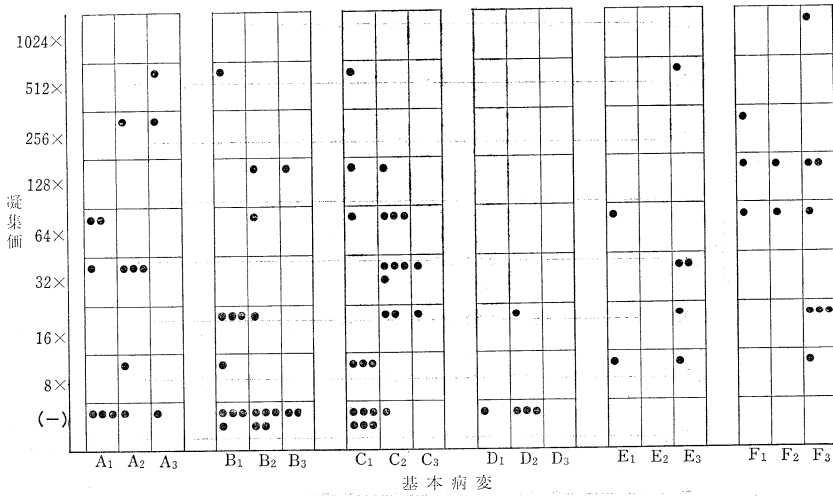
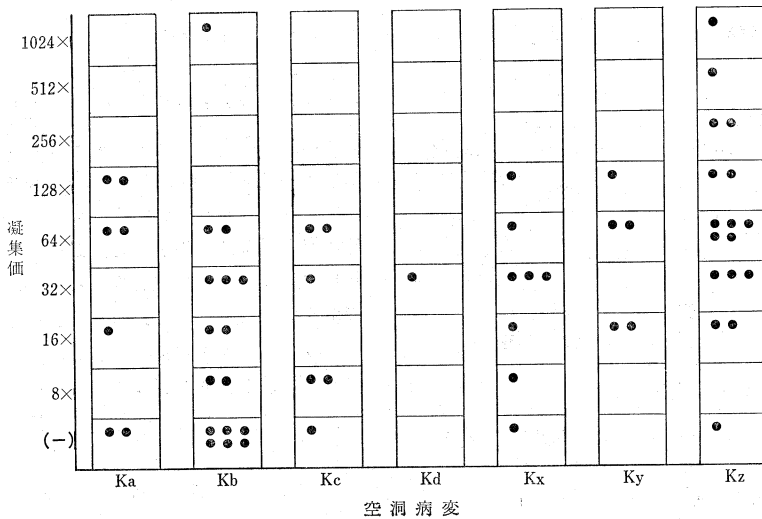


図1(b)



を示す。非結核患者で明らかに「カ」反応のみ陽性を示した症例には、その後の経過にても結核症の発症なく、陽性を示した意義に関しては不明である。

iv) X線像と「カ」反応

学研分類に従ったX線像と「カ」反応の関係は図1のごとくである。基本病変に関しては(図1(a))播種型(E)、重症混合型(F)に高い凝集価を示すものが多い。滲出型(A)、浸潤乾酪型(B)や線維乾酪型(C)では、38.3%は陰性である。硬化型は5例中4例は陰性である。また空洞に関しては(図1(b))非硬化壁空洞よりも硬化壁空洞の方により高い凝集価を示す傾向がある。

一方学研分類にて基本病変について硬化型(D)を除き、それぞれの病巣の拡りと「カ」反応との関係を見ると表5のごとくである。病巣の拡りに並行し「カ」反応の陽性率は高く、したがって病巣の拡りと「カ」反応に

は関係がある。

v) γ -グロブリン、免疫グロブリンと「カ」反応(図2) 結核患者について γ -グロブリンあるいはIgA, IgG, IgMさらに β_2C と凝集価の関係をみたが、いずれとも全く相関は認められない。

vi) ツベルクリン反応と「カ」反応

結核患者でツベルクリン反応の判明したものは22症例ある。陽性20症例、疑陽性1症例、陰性1症例である。ツベルクリン反応陰性を示したのは30歳男性、腎移植後結核合併例で免疫抑制剤投与を受けているものである。「カ」反応は1,024倍を示した。この際の凝集反応は低倍数で陰性を示し、高倍数希釈にてはじめて凝集を示し、このような凝集パターンはこの他にも粟粒結核症例に認められた。いわゆるProzone現象と考えられる。

vii) 経過を追った症例

図2 カオリン凝集反応とγ-グロブリン

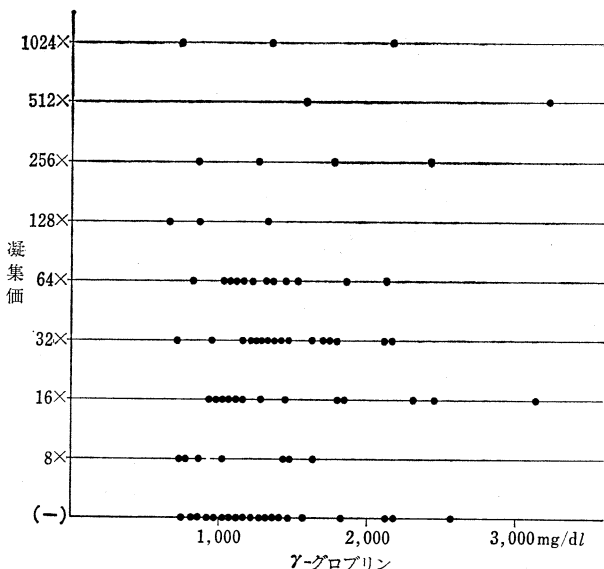


表5 病巣の拡りと「カ」反応

病巣の拡り		1. 小	2. 中	3. 大
陽	性	14例(38%)	16例(59%)	8例(53%)
疑陽	性	9 (24)	4 (15)	4 (27)
陰	性	14 (38)	7 (26)	3 (20)
		37例	27例	15例

表6

化学療法による軽快例の「カ」反応の推移

「カ」反応の推移		症例数
陽	性→疑陽性あるいは陰性	12例
陽	性→陽性	0
疑陽性あるいは陰性	→陽性	1
疑陽性あるいは陰性	→疑陽性あるいは陰性	6
計		19例

化学療法にもかかわらず悪化例の「カ」反応の推移

「カ」反応の推移		症例数
陽	性→疑陽性あるいは陰性	1例
陽	性→陽性	2
疑陽性あるいは陰性	→陽性	2
疑陽性あるいは陰性	→疑陽性あるいは陰性	1
計		6例

経過を追って「カ」反応凝集価の推移を追った症例は60症例ある。このうち結核患者で化学療法を行ないその臨床的効果が判明した25症例については表6のごとくである。化学療法により軽快した19例中、「カ」反応も陽性より疑陽性あるいは陰性化したのは12例、63%であ

り、陰性より陽性を示したのは1例にすぎない。一方化学療法にもかかわらず悪化した症例は、高齢者、糖尿病などの合併症を有する6例で、非定型抗酸菌症の1例が含まれている。この中には疑陽性あるいは陰性から陽性を示すもの2例あるが、陽性から陰性や陰性から陰性を示すものそれぞれ1例ずつがある。このように「カ」反応は胸部X線像、喀痰検査、血沈などととも臨床的効果判定の指標として役立つと考えられるが、「カ」反応成績と臨床的効果が合致しない症例もある。

24歳女性で不明の発熱を主訴とし、肺門部リンパ節腫脹を示し診断困難であった症例がある。臨床検査成績に特記すべきものなく、縦隔リンパ節生検よりサルコイドーシスと考えられ、ステロイド投与を受けた。しかし「カ」反応だけは疑陽性を示し、経過を追うに従い陽性となり、喀痰中より結核菌が証明された。したがって「カ」反応が陽性または疑陽性を示す際には、鑑別診断に結核症も十分考慮し、慎重でなければならない。

考 案

結核患者の血清中には、1) 結核菌体多糖体およびツベルクリン多糖体、2) 結核菌体蛋白質およびツベルクリン蛋白質、そして3) 結核菌体磷脂質に対する3種の抗体が存在することが知られている⁸⁾⁹⁾。1948年にMiddlebrookとDubos¹⁾は旧ツベルクリンを抗原として用い、ツベルクリンに含まれる多糖体に対する抗体をみたミドルブルック、デュボス反応を発表した。1951年にBoyden⁴⁾はタンニン酸処置赤血球にツベルクリン感作させ、ツベルクリン蛋白質に対する抗体を測定するBoyden法を発表した。これらの血清反応は1) いずれもツベルクリン反応陰性健常人血清の10~20%に非特

表7 諸家の報告による「カ」反応陽性率³⁾⁵⁻⁷⁾

報告者	結 核	非結核または健康人
高橋	75.3%	3.0%
広田	58%	3.2%
(疑陽性を含めれば91%)		
久世	72.2%	6.5%
中島ら	48.0%	8.7~12.5%
小西池	66.2%	
永山	86.6%	
高山	78.3%	11.8%
Froman, S. et al.	52%	2%

異的凝集反応を示すことがある。2) 活動性と非活動性結核患者の抗体価に明らかな差がない。3) 慢性非結核性患者、肺気腫や肺癌などの患者では10~15%に偽陽性がみられる。4) 健康なツベルクリン陽性者にもしばしば高い凝集価の認められることがあり、結核患者に陰性であることなどがわかった。したがってこれらの血清反応には、幾多の欠点があるために結核症の直接的診断法として役立つものとはいえない。しかしながら次のような点から血清反応の意義と必要性があると考えられる。

1) 結核症の発症例の補助的診断手段として、2) 治療中患者に適当な間隔で連続的に抗体を測定することにより、患者の病勢を把握するための補助的手段として、3) 結核症が悪化するのを、X線学的、細菌学および臨床検査所見より早く知り、抗結核剤の適切な投与に役立つためなどである。

1962年に高橋³⁾は結核菌体磷脂質抗体は、単なる感染により抗体が産生されることは極めて少なく、生体内において結核菌の破壊融解が強く起きるような条件下すなわち発症により抗体が多量に産生され、従来測定されてきた抗体よりも磷脂質抗体は臨床所見とより一致すると述べている。諸家による結核症の「カ」反応の陽性率は表7のごとく、50~70%であり、非結核または健康人では3~10%に陽性が認められる⁵⁾⁵⁻⁷⁾。われわれは「カ」反応凝集陽性を硬い凝塊が見えるが反応液が透明になっていない(++)以上の凝集を示すものを陽性とする厳格な判定基準とした。これによれば結核患者確診群の陽性率は56.0%、臨床的診断群では27.9%、非結核患者では12.8%であった。さらに「カ」反応は胸部X線上の病巣の拡りと関係が認められることがわかった。また「カ」反応を一定の標準抗体価血清を置いたうえで、経時的凝集価の推移をみれば、化学療法を行ない軽快した症例では63%に、「カ」反応と臨床的所見に並行した関係が認められる。

一方非結核患者では陽性を示すものは、われわれの成績では12.8%であった。このように偽陽性を示す症例の

うち非特異的凝集素の有無を永山⁶⁾は次のような方法により鑑別している。すなわち被検血清に抗原感作していないカオリン浮遊液を倍量加え、37°C 1時間吸収操作を行なう。この後に上清について「カ」反応を行ない、非処理血清の凝集反応と比較を行なつた。われわれは吸収操作を行なうかわりに抗原感作を行なっていないカオリン浮遊液に対する非特異的凝集素の有無を直接検べた。表4 No. 107に示すごとく(+)のみにより凝集価上昇のみられるいわゆる「ダラダラ反応」の際には、非特異的凝集素が存在しているものと考えてよい。また抗原非加カオリン浮遊液に対しても抗原加カオリン浮遊液と同様な凝集反応を示す際には、結核症による抗原抗体反応を否定することはできないが、カオリン浮遊液に対しても凝集を示すことは、非特異的凝集素の存在が考えられる。このようにして非結核患者にみられる非特異的凝集反応は鑑別しうることがわかった。

結核症の診断と治療の実際において、直接的診断法である喀痰検査には、喀痰の喀出の問題および抗酸菌検査には培養に長期を要するという問題点がある。また胸部X線像は影絵の性格にすぎず、病巣の拡りについては有用であるが、質的診断のためにはさらに鑑別診断を要する。血沈も結核症自体によるばかりでなく、幾多の他の要因を考慮せねばならない。

「カ」反応は結核患者の約半数に陽性を示し、他の半数には陰性であり、また非結核患者でも約10%に陽性を示す。

このことは「カ」反応は結核症に特異的血清反応とはいえない。しかし結核患者には陽性率の高いこと、非特異的凝集素による偽陽性例は先に示した方法により鑑別しうることから、これらのことを十分に考慮すれば、結核症の血清反応として「カ」反応は、臨床検査法にとり入れられるべきものと考えられる。さらに化学療法の効果判定にも約60%に並行した関係がみられ、また「カ」反応を経時的に追ううちに結核症と判明した教訓的症例などから、結核症の有用な診断法と考えられる。

Froman⁷⁾は「カ」反応、ゲル拡散法、ミドルブルック・デュボス反応の3種の血清反応を組み合わせた。菌陽性者のそれぞれの陽性率は52%、67%、42%であるが、いずれか1つでも陽性を示すものを陽性となれば陽性率は85%であり、ツベルクリン陰性者では6%が陽性を示した。このような方法は煩雑さを免れず、多くの要因の混入がさげられないが、現状では血清反応の臨床的応用にのこされた1つの方法である。

結 論

i) 「カ」反応の陽性率は結核確診群56.0%、臨床的診断群27.9%、非結核患者では12.8%である。

ii) 「カ」反応は結核患者の胸部X線上の病巣の拡り

とは関係がある。経過を追った症例のうち化学療法により軽快した群では63%に「カ」反応成績と臨床的所見に並行関係が認められた。

iii) 「カ」反応は結核症の特異的反応とはいいがたい。しかし結核患者に高率に陽性を示す。一方非結核患者中の非特異的凝集素による偽陽性は、被検血清の吸収操作またはカオリン浮遊液による凝集反応により鑑別することができる。

iv) 結核症の臨床においては、「カ」反応は十分な考慮をはらえば、補助的診断法として有用であると考えられる。

稿を終えるにあたり、ご指導、ご校閲を賜わつた五味二郎教授に深甚なる謝意を表すとともに終始ご指導、ご助言を頂いた青柳昭雄博士、教室員各位に深謝致します。またご協力頂いた川崎市立井田病院、南波明光博士、国立大蔵病院、篠崎有三博士、そのほか検体提供を頂いた

諸施設に対し深甚の謝意を表します。「カオリン凝集試験セット」を提供頂いた第一製薬株式会社に対し感謝します。

文 献

- 1) Middlebrook, G. et al.: J. Exp. Med., 88 : 521, 1948.
- 2) Takahashi, Y.: Amer. Rev. Resp. Dis., 85 : 708, 1962.
- 3) カオリン凝集試験セット文献集, 第1集: 第一製薬株式会社。
- 4) Boyden, S. V.: Adv. Tuberc. Research, 7 : 17, 1956.
- 5) 久世彰彦 他: 胸部疾患, 7 : 208, 1963.
- 6) 高橋 他: 医療, 28 : 667, 1974.
- 7) Froman, S. et al.: Amer. Rev. Resp. Dis., 97 : 201, 1968.
- 8) Crowle, A. J.: Bacteriological Review, 22 : 183, 1958.
- 9) Takahashi, Y. et al.: J. Exper. Med., 114 : 569, 1961.