

原 著

肺結核患者における免疫皮膚反応に関する研究  
 第1報 4反応—PPD 反応, DNCB 反応, PHA 反応,  
 Candida 反応—の比較検討

石 橋 純 子

奈良県立医科大学第2内科(主任:三上理一郎教授)

受付 昭和 57 年 7 月 26 日

A STUDY ON IMMUNOLOGICAL SKIN REACTIONS IN PATIENTS  
 WITH ACTIVE PULMONARY TUBERCULOSIS

1. A Comparative Study on the Relationship among 4 Reactions  
 (PPD, DNCB, PHA and Candida Skin Reactions).

Junko ISHIBASHI\*

(Received for publication July 26, 1982)

Immunological skin tests such as PPD, DNCB, PHA, Candida were carried out on 50 cases with freshly developed active pulmonary tuberculosis. Age and sex-matched 50 healthy volunteers without history of tuberculosis were served as the control.

Following findings were revealed:

1) In the control group, 92% showed positive response to DNCB, 98% to PHA and 90% to Candida, and no significant difference was found among these rates. On the other hand, the tuberculosis group showed positive reactions in 82% to PPD, 26% to DNCB, 80% to PHA and 26% to Candida, and the positive responses to DNCB (26%) and Candida (26%) in the patients group were significantly lower than those to PPD (82%) and PHA (80%).

2) There were significant difference in the negative responses to DNCB ( $P < 0.01$ ), Candida ( $P < 0.01$ ) and PHA ( $P < 0.05$ ) between the tuberculosis and the control groups, while the negative response to PPD did not show significant difference between the two groups.

3) In the control group, there was no significant difference in positive response to PPD, PHA and Candida by age group, while that to DNCB was reduced in subjects older than 60. In tuberculosis group, no significant difference was seen in positive response to PHA, DNCB and Candida by age group, while positivity of PPD reaction was reduced in patients older than 40.

The above results indicate that the DNCB reaction in patients older than 40. The above results indicate that the DNCB reaction in patients with freshly developed active pulmonary tuberculosis was significantly reduced than that in the healthy control and it is suggested that the DNCB skin test would be the most sensitive procedure to detect the impairment of cellular immunity.

\* From the 2nd Department of Internal Medicine, Nara Medical University, 840, Shijo, Kashihara-shi, Nara 634 Japan.

1. 緒 言

近年、膠原病・悪性リンパ腫・白血病・腎移植などに對するステロイド剤・免疫抑制剤の治療により、続発性免疫不全が起り、とくに細胞性免疫能の低下状態に、肺結核が合併する報告が多くなつている<sup>1)</sup>。肺結核患者における細胞性免疫を検索する目的で、種々の免疫皮膚反応を指標として研究を行なつた。第1報では、PPD反応を始め、最近用いられているPHA反応・DNCB反応・Candida反応の4種の細胞性免疫皮膚反応を施行し、4反応を比較検討した。

2. 研究対象と方法

対象(表1)は、肺結核患者50例と健常対照50例である。患者群は、当科結核病棟に入院した肺結核患者のうち、喀痰中に結核菌を証明できた患者50例である。経過の長い耐性菌持続排菌患者は、今回の対象から除外した。健常対照群としては、患者群と、性・年齢マッチドペアとし、病院関係者・老人ホームなどからボランティアを求め、胸部X線検査などで、病的所見を認めない

50例を選んだ。

免疫皮膚反応は表2のごとく、PPD反応、DNCB反応(2-4-dinitrochlorobenzeneによる感作・惹起反応)、PHA反応(Phytohemagglutininによる皮膚反応)、Candida反応の4反応を同時に行なつた。患者群では、初回はいずれも治療前に行なつた。

DNCB反応は、北郷らの方法<sup>2)</sup>に準じた。第1化学薬品 K. K. の1% DNCB アセトン溶液 0.025 ml をパッチテスト用絆創膏に滴下して、乾燥させ、左上腕内側に24時間貼布して感作し、14日後に0.1% DNCB アセトン溶液 0.05 ml を同様に右腕内側に48時間貼布直後に判定した。第2回目以後の反復時には、判定用0.1% DNCB アセトン溶液 0.05 ml を、48時間貼布し判定した。判定基準は、表3のごとく、北郷・溝口らの基準に従い、6段階に判定し、+以下の、+, ±, -を反応低下と評価した。

PPD反応は、日本 BCG 製造 K. K. の精製ツベルクリン一般診断用液 0.05 μg/0.1 ml を使用し、右前腕屈側に皮内注射し、48時間後にツベルクリン反応判定基準に従つて判定した。± と - を反応低下と評価した。

表1 対 象

有空洞性肺結核患者 50例：平均年齢 48.8歳  
 正常コントロール 50例：平均年齢 49.1歳

性	年齢							
	~19	20~	30~	40~	50~	60~	70~	
男	2	4	3	7	5	6	4	31
女	1	3	1	4	4	4	2	19
計	3	7	4	11	9	10	6	50

表2 方法：免疫皮膚反応

抗 原	量	備 考
PPD	0.05 μg/0.1 ml	日本 BCG 製造 第一化学薬品
DNCB 感作 惹起	1% アセトン溶液 0.025 ml 0.1% アセトン溶液 0.05 ml	
purified PHA	5 μg/0.1 ml	Wellcome 社 鳥居薬品
Candida 菌体蛋白	1,000 倍液 0.1 ml	

表3 DNCB 反応の判定基準  
(北郷、溝口らの方法による)

48時間後の反応	判定
反応なし	-
部分的に紅斑	±
紅 斑	+
紅斑と硬結	++
水疱形成を伴うもの	+++
大きな水疱、壊死	++++

表4 各反応の判定基準一覧

	PPD反応	DNCB反応	PHA反応	Candida反応
-	発赤4mm以下	(別表判定による)	発赤径10mm以下	発赤径4mm以下
±	5~9mm		11~20mm	5~9mm
+	10mm以上		21~30mm	10~19mm
++	10mm以上硬結あり		31~40mm	20~29mm
+++	10mm以上硬結、 二重発赤、水疱など		41mm~	30mm~

■ 反応低下

表5 4反応の陽性率と低下率

	反応陽性率		反応低下率	
	患者群	対照群	患者群	対照群
PPD 反応	82%	92%	18%	8%
DNCB 反応	26%	92%	74%	8%
PHA 反応	80%	98%	20%	2%
Candida 反応	26%	70%	74%	30%

\* P<0.05    \*\* P<0.01

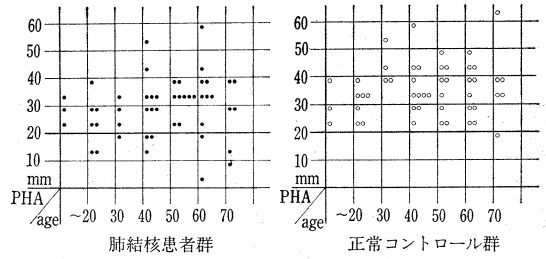


図3 PHA 反応と年齢変化

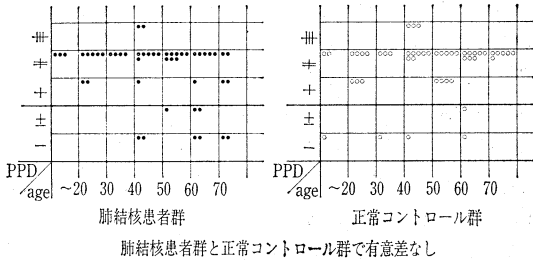


図1 PPD 反応と年齢変化

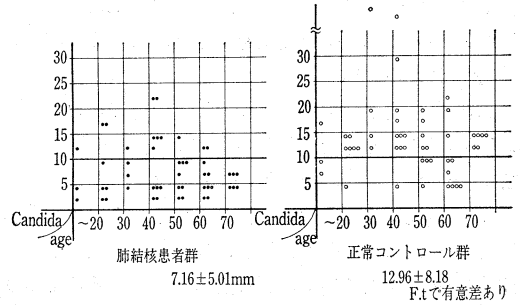


図4 Candida 皮内反応と年齢変化

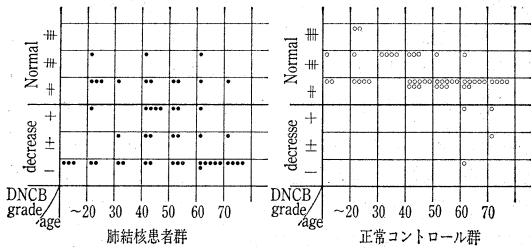


図2 DNCB 反応と年齢変化

PHA 反応は、Wellcome 社製の purified PHA 5 $\mu$ g/0.1 ml を使用し、左前腕屈側に皮内注射し、24時間後の発赤径の平均を判定した。10 mm 以下を -、11~20 mm を  $\pm$ 、21~30 mm を +、31~40 mm を  $\#$ 、40 mm 以上を  $\#\#$  と判定し、 $\pm$  以下を反応低下とした。

Candida 反応は、トリイ薬品 K.K. の Candida 菌体エキス 1,000 倍液を 0.1 ml 左前腕屈側に皮内注射し、24時間、48時間後の紅斑径を測定し、48時間後の紅斑径を判定に用いた。4 mm 以下の紅斑径を -、5~9 mm を  $\pm$ 、10 mm 以上を + と判定し、 $\pm$  以下を反応低下とした。

表4は、4種の免疫皮膚反応の判定基準をまとめたものである。

### 3. 成績

#### 1) 4反応の陽性率の比較(表5)

各反応の陽性率をみると、健常対照群では、PPD 反

応 92%、DNCB 反応 92%、PHA 反応 98%、Candida 反応 70% で、各反応間に差はみられない。患者群では、DNCB 反応 26%、Candida 反応 26%、PPD 反応 82%、PHA 反応 80% と、DNCB 反応、Candida 反応が他の2反応に比し有意 ( $p<0.01$ ) に低い。逆に反応低下率を患者群と対照群間で比較すると、DNCB 反応と Candida 反応はともに  $p<0.01$  で有意差がみられ、PHA 反応は  $p<0.05$  で有意差を認める。PPD 反応については患者群、対照群に有意差はなかつた。

#### 2) 各反応の年齢別比較

a) PPD 反応(図1): 対照群では、陰性を20歳以下と、30、40、60歳代に各1例、計4例、疑陽性を60歳代に1例認めるが、患者群では、40歳以上に陰性6例、疑陽性3例の計9例の低下を認めた。

b) DNCB 反応(図2): 対照群では低下例はいずれも60歳以上で、わずか4例にみられるにすぎない。患者群では低下例が各年代にわたって多く認められた。

c) PHA 反応(図3): 対照群では、70歳代に1例低下を認めるにすぎないが、患者群では20歳代に2例、30歳代に1例、40歳代に3例、60、70歳代に各2例、計10例の低下例がみられた。

d) Candida 反応(図4): 対照群では20歳以下に2例、20、40歳代に各1例、50歳代に4例、60歳代7例と計15例の低下を認める。患者群では、各年代に低下例を認め、計37例の低下を認めた。

#### 4. 考 察

細胞性免疫能を検査するための皮膚反応として、一次遅延型皮膚反応と二次遅延型皮膚反応がある<sup>3)</sup>。一次遅延型皮膚反応として DNCB 貼布試験と KLH 反応が知られている。この両反応は、抗原として一般の人が日常接触することのないと考えられるものを用いて初回感作し、発生するアレルギー性皮膚反応を観察しているものである。二次遅延型皮膚反応は、ヒトがあらかじめ自然に細菌や真菌に感染していて、これらの菌のもつ抗原を用いて行なう遅延型皮膚反応で、PPD 反応、Candida 反応、Mumps 反応など行なわれている。この他 PHA 反応は一般的に細胞性免疫能をみるための皮膚反応として行なわれている<sup>4)</sup>。

細胞性免疫能の検索には、*in vitro* の検査として細胞障害試験、リンパ球幼若化反応、Macrophage 遊走阻止試験、その他がある。*in vitro* の検査は採血を要するので患者の負担も多く、検査方法が繁雑という難点もあるが、皮膚反応は *in vitro* の検査に比し患者の負担も軽く、技術的繁雑さも少なく簡単に行なうことができる。そのうえ *in vitro* の検査は、免疫反応の各機能を個別に面的にみているが、皮膚反応は表現される反応を多面的かつ総合的な結果としてみているという特徴がある<sup>5)</sup>。

一次遅延型皮膚反応は、抗原認識から細胞性免疫反応惹起までの免疫の全過程を表すもので、その過程は3段階に分けられる。すなわち第1に抗原認識の過程、第2に感作成立と免疫記憶細胞の出現、第3の最終段階ではマクロファージ・感作リンパ球・多核白血球が協同して局所反応を起こすものである。最近、これらの免疫皮膚反応は、癌患者および免疫不全例などで広く行なわれている<sup>6)~10)</sup>。

DNCB 反応は、1953年 Wedroff & Dolgoff<sup>11)</sup> がヒトに用いて以来、方法・用量はまちまちに行なわれてきた<sup>12)</sup>。癌患者においては、各種皮膚反応のうち DNCB 反応はその病態・予後をよく反映すると評価されている。Eilber & Morton (1970)<sup>13)</sup> によると、健康人および良性疾患では、DNCB 反応は95%以上陽性であるのに対し、癌患者では110例中70例(63.6%)が陽性で、術前陰性者40例中39例(97%)が手術不能例あるいは6カ月以内に再発を起こしている。反対に DNCB 反応陽性癌患者では、その90%が6カ月間再発転移がみられていない。Holmes ら (1976)<sup>14)</sup> は、肺癌患者について DNCB 反応と PPD 反応を行ない両者の関係をみている。それによると DNCB 反応陽性では切除可能肺癌は17例中16例(94.1%)にみられ、切除不能例では16例中2例(12.5%)しか陽性を示さないのに対し、PPD 反応では切除可能例は17例中15例(88.2%)陽性、切除不能は16例中12例(75%)の陽性率で、DNCB 反応の方が

PPD 反応よりも肺癌の進展の指標としてすぐれているとしている。わが国では宮本ら (1978)<sup>7)</sup> が肺癌患者に PPD 反応と DNCB 反応を行ない、PPD 反応の陽性率は肺癌患者66例中50例(75.8%)、対照群103例中83例(80.6%)と有意差はないが、DNCB 反応の陽性率は肺癌患者73例中24例(32.9%)、対照群37例中32例(86.5%)であつて、肺癌患者に DNCB 反応の有意の低下を示している。酒井 (1980年)<sup>8)</sup> も、肺癌患者について同様の成績を認め、DNCB 反応の陽性率は肺癌の進展とともに低下すると報告している。

このように肺癌患者においては recall antigen である PPD 反応の抑制は少ないが、DNCB 反応が抑制されている。前述の Holmes ら<sup>14)</sup> は、このような患者は、以前感作をうけた抗原に対する免疫記憶は保たれているが、新しい抗原は認識できない状態にあるとして、免疫反応の afferent limb の障害と説明している。これに対し、丹羽<sup>15)</sup> は、DNCB 反応低下は PPD 反応低下と同じく、efferent limb の障害で起こると反論している。

肺結核患者では、免疫皮膚反応として以前は PPD 反応のみが行なわれ、PPD 反応が低下する例が報告され検討されていた<sup>16)17)18)</sup>。DNCB 反応が肺結核患者に行なわれたのは1973年である。Malaviya ら (1973)<sup>9)10)</sup> は、活動性肺結核患者45例と対照55例に DNCB 反応と PPD 反応を行なつた。その成績によると、結核治療前患者群では PPD 反応は全例陽性に対し、DNCB 反応は60%に低下を認めた。他方、結核治療後の群についても陽性率は対照群に比し低いことを指摘している。我が国では、志摩 (1973年)<sup>19)</sup> が肺結核患者に DNCB 反応を行ない、X線病型との関係について検討している。今回の著者の成績では、50例の活動性肺結核患者について、PPD 反応は82%陽性に対し DNCB 反応は74%に低下を認めている。Malaviya らによる成績とほぼ同じである。

肺結核患者の PHA 反応については、1979年藤井ら<sup>20)</sup> の成績がある。それによると肺結核患者群では PHA 反応が低下しており、病巣の進展と平行していると報告している。著者らの成績でも肺結核患者群に PHA 反応の有意の低下を認めているが、DNCB 反応 Candida 反応に比べその低下率は顕著ではなく、その低下率も20%と高くなく、PPD 反応の低下率18%とほぼ同じであつて、免疫皮膚反応としては、PHA 反応は DNCB 反応に比較してそれほど鋭敏とは考え難い成績であつた。

Candida 反応の報告は少ない。肺癌について行なつた酒井の報告<sup>8)</sup> では、陽性率が低くその意義は少ないとされている。著者の肺結核患者についての成績では、紅斑径で、患者群に有意の低下を認め、低下率をみても、患者群74%、対照群30%である。しかし DNCB 反応に比し対照群での低下率が高く、鋭敏とは考え難い成績であ

つた。

以上の4反応の成績をそれぞれ対照群と検定すると、DNCB 反応の低下率が最も高く、活動性肺結核患者の細胞性免疫皮膚反応として DNCB 反応が最も鋭敏であるという成績を得た。

次に年代別の各反応の検討では、健常対照群において PPD 反応・PHA 反応・Candida 反応に年齢差はみられないが、DNCB 反応では60歳以上に低下例がみられた。一般に老化により遅延型皮膚反応が低下することが言われているが、この DNCB 反応の年齢に関する成績はそれを裏づけていると考えられる。患者群では、PHA 反応・DNCB 反応・Candida 反応に年齢差はみられないが、PPD 反応は低下例は40歳以上にみられたが、これも細胞性免疫能低下の強さを反映していると思われる。

著者が用いた感作用の DNCB の量は、諸家の報告している量よりも少ないが、正常人の90%以上が感作されることが分かっており、皮膚刺激症状が少ないため、肺結核患者における細胞性免疫能検索のための皮膚反応として、ルーチンに行ないうる適切な検査法である。

活動性肺結核患者における DNCB 反応の低下率が74%と高い事実の臨床的意義については次報で検討する。

## 5. 結 語

新しく発病した排菌陰性肺結核患者50例について、それと性・年齢をマッチさせた健常人50例を対照群として、細胞性免疫皮膚反応である PPD 反応・DNCB 反応・PHA 反応・Candida 反応の4反応を行ない、この4反応の有用性について比較検討を行なった。

1) 各反応の陽性率をみると、対照群ではそれぞれ92・92・98・90%で有意差はみられなかった。患者群では各反応はそれぞれ82・26・86・26%の陽性率で、DNCB 反応・Candida 反応の陽性率が PPD 反応・PHA 反応に比して低かった。

2) 逆に反応低下率を患者群と対照群の間で比較すると、DNCB 反応、Candida 反応、PHA 反応の順に両者間に有意差がみられたが、PPD 反応では有意差はなかった。

3) 年齢別にみると、健常人では Candida 反応・PPD 反応では年齢差はなく、DNCB 反応では60歳以上で低下がみられた。患者群では、PHA 反応・DNCB 反応・Candida 反応に年齢差はみられず、PPD 反応は低下例が40歳以上にみられた。

以上の成績から、4反応のうち DNCB 反応の低下率が最も高く、したがって肺結核症における細胞性免疫能の検索に、DNCB 反応は PHA 反応・Candida 反応よりも鋭敏な検査法であると考えられる。

## 文 献

- 1) 青柳昭雄：いわゆる免疫不全と結核，臨床と細菌，9：61，1982。
- 2) 北郷 修：サルコイドーシスと免疫，臨床免疫，5：159，1973。
- 3) 細川真澄男他：免疫学モニター—最近の話題—皮膚反応テスト，臨床外科，33：1397，1978。
- 4) PHA 皮膚反応検討会記録．癌と化学療法，5：193，1978。
- 5) 小林 博他：癌免疫皮膚反応，日医報 No. 2805：8，1978。
- 6) 宮本 宏他：進行肺癌患者の遅延型過敏反応—特に拡りと予後について，診療と新薬，15：16，1978。
- 7) 宮本 宏他：肺癌患者の遅延型皮膚過敏反応—特に PPD 反応と DNCB 反応の差異について—，癌と化学療法，5：99，1978。
- 8) 酒井秀造：肺癌患者における細胞性免疫能の検討—臨床病期，治療，予後との関係について，肺癌，20：251，1980。
- 9) Malaviya, A.N. et al.: Factors of delayed hypersensitivity in pulmonary tuberculosis, *Am Rev Resp Dis*, 112: 44, 1975.
- 10) Malaviya, A.N. et al.: Dinitrochlorbenzencontact sensitization in pulmonary tuberculosis, *Clin Exp Immunol*, 22: 399, 1975.
- 11) Wedroff, N.S. and Dologoff, A.P.: Ueber die spezifische Sensibilitaete der Haut einfachen chemischen Stoffen gegenube, *Arch Derm Syph (Berl)*, 171: 647, 1935.
- 12) Catalona, W.J. et al.: Quantitative dinitrochlorobenzene contact sensitization in normal population, *Clin Exp Immunol*, 12: 325, 1972.
- 13) Eilber, F.R. and Morton, D.L.: Impaired immunologic reactivity and recurrence following cancer surgery, *Cancer*, 25: 362, 1970.
- 14) Holmes, E.C. and Golud, S.H.: Immunologic detects in lung cancer patient, *J Thorac Cardiovas Surg*, 71: 161, 1976.
- 15) 丹羽鞆負：DNCB 感作試験についての再検討(会)，日内会誌，67：1173，1978。
- 16) McMurray, D.N. and Echeverri, A.: Cell-mediated immunity in anergic patients with pulmonary tuberculosis, *Am Rev Resp Dis*, 118: 827, 1978.
- 17) Waxman, J. and Lockshin, M.: In vitro and in vivo cellular immunity in anergic millitary tuberculosis, *Am Rev Resp Dis*, 107: 661, 1973.
- 18) Schacker, E.N.: Tuberculin negative tuberculosis, *Am Rev Resp Dis*, 106: 587, 1972.
- 19) 志摩 清：結核病巣における Macrophages の機能と Kinetiks, 結核，48：521，1973。
- 20) 藤井冒史他：肺結核患者の遅延型皮膚反応，結核，54：241，1979。