

原 著

健康者有志における非定型抗酸菌ツベルクリン
—PPD-B, PPD-Y, PPD-F

重 藤 えり子

国立療養所広島病院内科

田 坂 博 信

広島大学医学部細菌学教室

受付 平成4年8月3日

TUBERCULIN SENSITIVITY TO PURIFIED PROTEIN DERIVATIVES (PPD)
FROM *M. INTRACELLULARE* (PPD-B), *M. KANSASII* (PPD-Y),
M. FORTUITUM (PPD-Y) AND *M. TUBERCULOSIS* (PPDs)
AMONG HEALTHY VOLUNTEERS

Eriko SHIGETO* and Hiromichi TASAKA

(Received for publication August 3, 1992)

To reveal the epidemiology of mycobacteria other than *Mycobacterium tuberculosis* in Japan, we tested 379 healthy volunteers from Self Defence Force Army stationed in Hiroshima Prefecture with 0.05mcg of PPDs, 0.1mcg of PPD-B, PPD-Y and PPD-F. Majority of the volunteers had been immunized with BCG by thirteen years old. Rate of positive reaction (diameter of redness ≥ 10 mm) in each PPD in each age group were ; PPDs [18-19yr (n=39) ; 30.8%, 20-29yr (n=178) ; 63.5%, 30-39yr (n=78) ; 91.0%, 40-53yr (n=84) ; 92.9%], PPD-B [12.8%, 24.7%, 38.5%, 48.8%], PPD-Y [5.1%, 14.6%, 26.9%, 26.2%], PPD-F [0%, 10.1%, 12.8%, 10.7%]. Frequency distribution curve of PPDs in age groups above 20 years old had a peak at about 14mm of diameter, while low-responder were dominant in age 18 to 19. In PPD-B, there were two peaks, one in less than 5mm and the other between 10 to 15mm which was considered as the group sensitized by *M. avium* complex and became larger in older age group. In PPD-Y and in PPD-F, the frequency distribution showed an exponential curve with a little shift to right in older group in PPD-Y. As there was a considerable degree of cross-sensitivity, we provisionally regarded the maximum reaction of four PPD (larger than 5mm) or the reaction which is 75 per cent or more of each person's maximum reaction as specific. On this assumption, we calculated following sensitization rate : PPD-B [15.8%, 21.9%, 20.5%, 32.1%], PPD-Y [2.6%, 10.1%, 3.6%, 10.7%], PPD-F [0%, 6.2%, 1.3%, 3.6%]. These rates of sensitization of each PPD are not incompatible with that estimated from frequency distribution curves.

*From the National Hiroshima Hospital, 513 Jike Saijo-cho, Higashihiroshima city, 724 Japan.

In conclusion the sensitization rate by *M. avium* complex in the population we tested is estimated as about 16 to 32 per cent, with higher rate in older age group. The sensitization rate by *M. kansasii* is lower, and that by *M. fortuitum* is very low, several per cent at the most. Prevalence rate for disease by *M. kansasii* varies with the area in Japan, so the sensitization rate by *M. kansasii* may differ in other areas.

Key words : PPDs, PPD-B, PPD-Y, PPD-F, Tuberculin sensitivity, Healthy subject

キーワード : PPDs, PPD-B, PPD-Y, PPD-F, ツベルクリン反応, 健康者

はじめに

結核菌以外の抗酸菌によって引き起こされる非定型抗酸菌症は化学療法剤に抵抗性のものが多く、症例が増加の傾向にあり臨床的に重要性が増しつつある¹⁾。また、今後さらにヒト型菌の感染や BCG による PPDs の過敏性が減少した場合、PPDs による人型菌感染の診断に際して、非定型抗酸菌による交差過敏性の影響も問題になってくるであろう。非定型抗酸菌の疫学については、昭和 30 年代に岡田ら^{2)~4)} が AM- π を用いて行った大規模な調査があるが、その後抗原の供給がされなかったため、日本における最近の非定型抗酸菌の疫学的な調査は患者発生状態についてのみ行われていた。

今回使用した非定型抗酸菌 ツベルクリン, PPD-B, PPD-Y, PPD-F, PPD-C はモルモットにおいてその生物学的特性が明らかにされ⁵⁾, PPD-B については臨床的にも重藤が *Mycobacterium avium* complex 排菌者での特異性を示した⁶⁾。そこで、この非定型抗酸菌 PPD が一般健康者での疫学調査にも応用できるものと考え、陸上自衛隊海田市駐屯地(広島県広島市)の協力を得て 3 種の非定型抗酸菌 PPD と従来の結核菌を起源とする PPDs に対する反応を調査した。

方 法

検査対象は陸上自衛隊海田市駐屯地の自衛隊員のボラ

ンティアで健康な者である。調査用紙を各人に配布し、年齢、出生地、居住歴(工業地帯、川や海の近くに住んだことがあるかどうか)等を記入してもらった。なお、自衛隊では入隊時などにツベルクリン検査は行っていない。

非定型抗酸菌の精製ツベルクリンは *M. intracellulare* ATCC13950 株, *M. kansasii* ATCC12478 株, *M. fortuitum* ATCC6841 株よりそれぞれ既報⁷⁾の方法で作製した PPD-B, PPD-Y, PPD-F である。バイアルに 2 mcg ずつ分注し凍結乾燥したものを検査直前に溶解液 2ml で溶解し, 0.1mcg/0.1ml をディスポーザブルのツベルクリン用注射器に吸引し, 各人の右前腕屈側に PPDs と PPD-Y を, 左前腕屈側に PPD-B と PPD-F をそれぞれ 5 cm 以上の間隔をあけて皮内注射した。PPDs は日本 BCG 社の一般診断用のもの 1 mcg を同様に溶解し, 0.05mcg/0.1ml を使用した。判定は 48 時間後に行い, 発赤の長径と短径, 硬結の長径と短径, また水泡, 壊死の有無を記載した。今回の集計には発赤の長径と短径の平均値を用いた。

結 果

検査対象者は 379 名。自衛隊に普通に勤務している 18 歳から 53 歳の男性 378 名, 女性 1 名で, 大半が広島県内または隣接県の出身であった。

1) 各 PPD の度数分布 (Fig. 1)

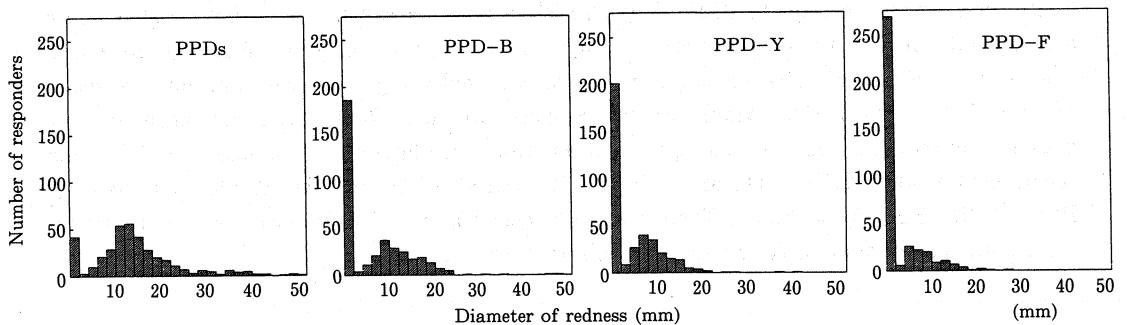


Fig. 1 Frequency Distribution of Simultaneous Responses to PPDs, PPD-B, PPD-Y, PPD-F

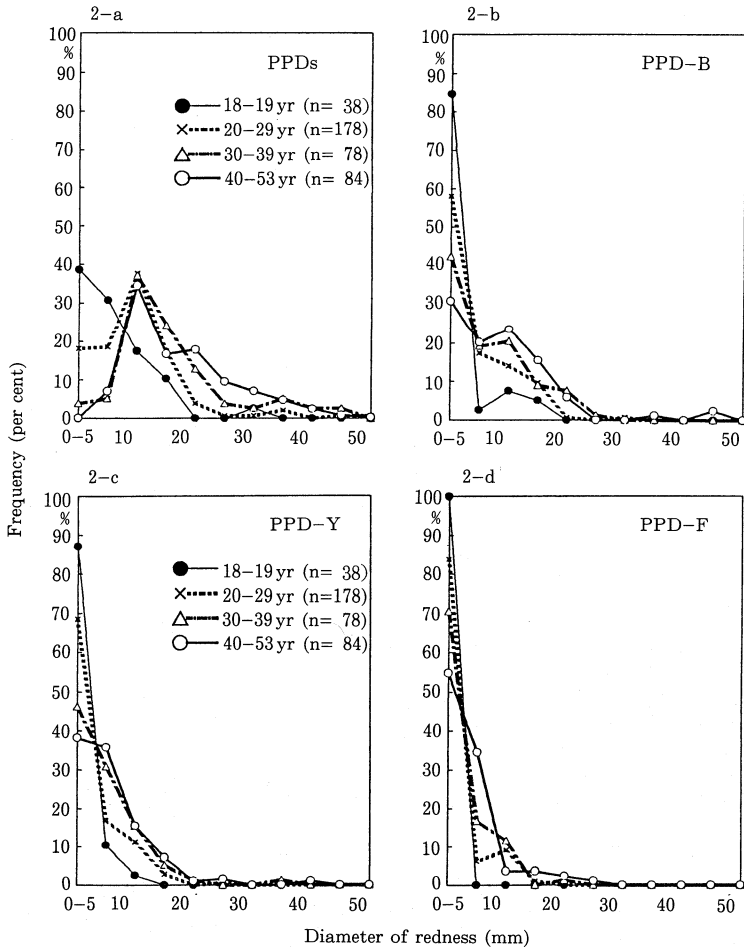


Fig. 2 Frequency Distribution of the Responses to PPDs, PPD-B, PPD-Y and PPD-F in Each Age Group

Table 1 Percentage of Responders to Each PPD (Diameter of Redness is 10mm or More)

Age (yr)	(n)	PPDs	PPD-B	PPD-Y	PPD-F
18-19	(38)	30.8	12.8	5.1	5.1
20-29	(178)	63.5	24.7	14.6	10.1
30-39	(78)	91.0	38.5	26.9	12.8
40-53	(84)	92.9	48.8	26.2	10.7

PPDsは少数の低反応者を除けば正規分布に近い分布を示し、PPD-BとPPD-Yは低反応が多い2峰性の分布を示した。PPD-Fは指数関数型であった。

2) 年齢別陽性率 (Table 1) と度数分布 (Fig. 2)

陽性率は年代によって異なり特に PPDs では10代で30%、30代以上で90%以上と大きな差があった。年齢別にみた度数分布では、PPDs (Fig. 2-a) が10

代で分布は左寄りであり弱反応が多いのに対し30代以上は正規分布型に近くなっていた。非定型抗酸菌 PPD (AM-PPD) は10代は指数関数型であるが年齢が高いと形がくずれ、PPD-Bでは10-15mmの間にもピークがあり2峰性分布を示した。

3) PPDs と非定型抗酸菌 PPD の相関 (Fig. 3, Table 2, Fig. 4)

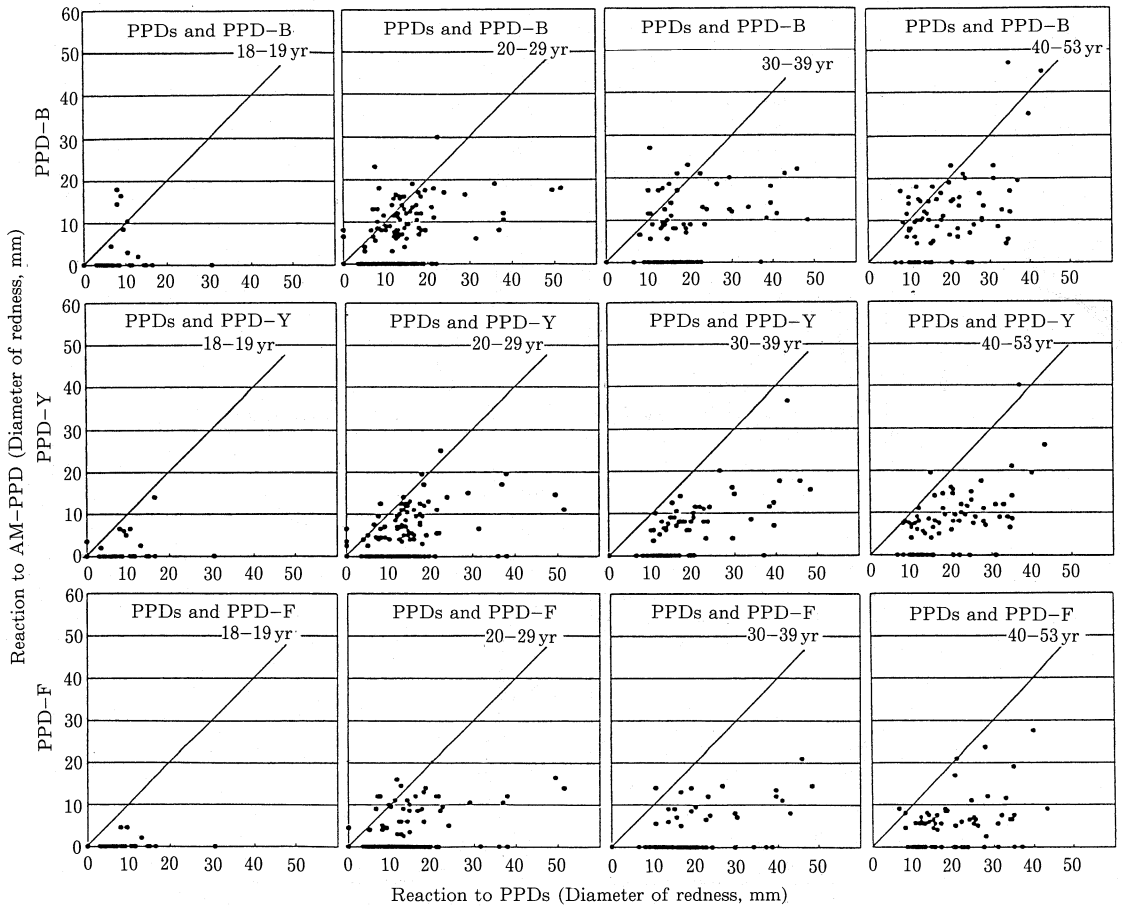


Fig. 3 Correlation between the Responses to PPDs and AM-PPD in Each Age Group

Table 2 Number of Testees whose Response to AM-PPD is Larger than the Response to PPDs

Age yr. (n)	PPDs \leq PPD-B		PPDs \leq PPD-Y		PPDs \leq PPD-F	
	n	%	n	%	n	%
18-19 (39)	4	10.3	0	0.0	0	0.0
20-29 (178)	21	11.8	8	4.5	7	3.9
30-39 (78)	11	14.1	0	0.0	1	1.3
40-53 (84)	12	14.3	2	2.4	2	2.4
Total (379)	48	12.7	10	2.6	10	2.6

PPDs と 3 つの AM-PPD についての散布図 (Fig. 3) でみるように、どの年代でも PPDs が AM-PPD より大であるものが多いが両者に同程度の反応を示す例もかなりあった。PPDs が 20mm 以上ではほとんどが AM-PPD に対しても何らかの反応を示した。AM-PPD が PPDs よりも同等以上の反応を示す例の比率を Table 2 に示す。

Fig. 4 では PPDs の反応強度別に分布を見た。

PPDs が 10mm 未満では PPD-B, PPD-Y, PPD-F の分布は多少差があるものいずれも指数関数型であった。PPDs が 20mm 以上の集団ではその分布は大きく異なり PPD-B, PPD-Y では 10-15mm にピークが見られた。PPD-F ではこの傾向は弱い。一方、PPD-B の反応の強さ別の PPDs の反応分布では (Fig. 4-a) PPD-B が 20mm 未満でも 1 峰性で正規分布型に似ていた。PPDs の反応が 10mm 未満、20

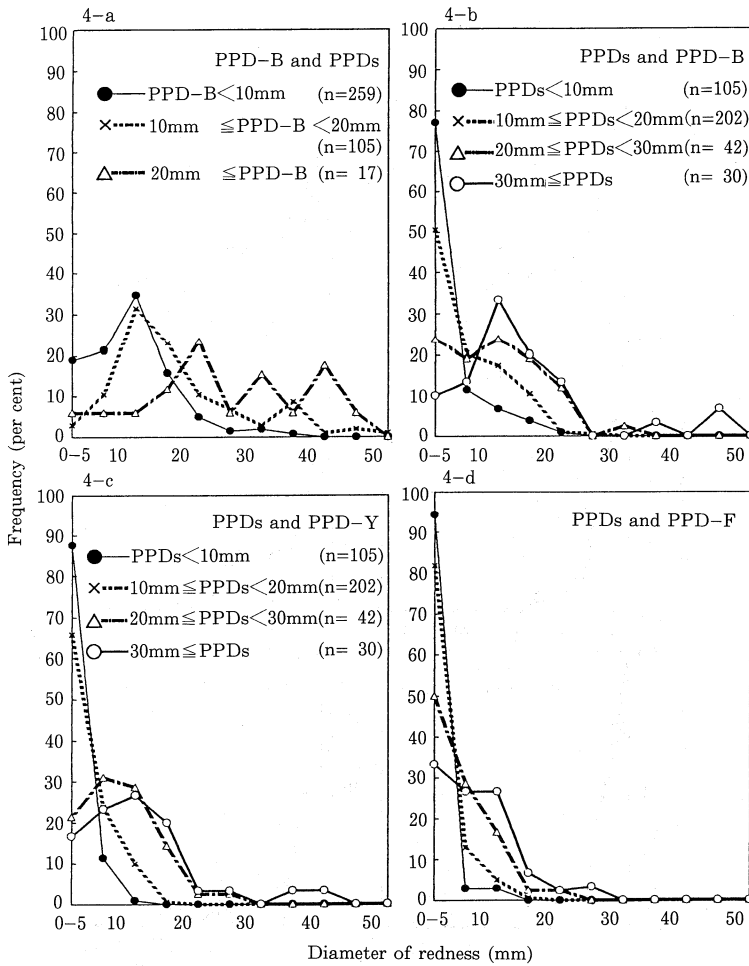


Fig. 4 Relationship between the Responses to PPDs and AM-PPD

mm未満の場合に、さらに年齢別分布を見たのが Fig. 5である。PPD-BではPPDsが10mm未満でもかなりの反応を示す例が年齢とともに多くなっていた。

4) 居住歴と PPD 反応 (Table 3, Fig. 6)

今回の調査では出身地や居住歴による差は明らかでなかった。

考 案

今回の調査は非定型抗酸菌の感作状況を PPD に対する反応から知る目的で行われた。しかしヒト型菌 PPDs と非定型抗酸菌 PPD の間には共通抗原が存在し、いくらかの交叉反応は避けられないため、判定の際にはこれを十分に考慮しなければならない。各種の非定型抗酸菌 π については、大谷⁸⁾ が統計的手法を用いて交叉反応を考慮した判定の方法を考えている。また、PPD については Palmer らが同様に判定規準を示しているが、いずれも今回用いた PPD と同一のものではない

ので、それらの判定基準をそのままあてはめるのは妥当でないと考えられる。そこで以下の議論は、非定型抗酸菌 PPD が 10mm 以上を一応陽性とし、交叉反応を加味した感染の判定については仮のものとして 2 つの方法を比較検討した。今回使用した PPD に関する判定基準は、非定型抗酸菌非感作集団での検査結果から新たに設定しなければならないであろう。

さて、AM-PPD でも反応径 10mm 以上を陽性とする、その陽性率はどの年齢層においても PPD-B > PPD-Y > PPD-F である。しかし、実際の感染率、感作率については重複感染に非特異反応、交叉反応、また各菌の免疫誘導性の違いなどがからみ、これを知ることが困難である。

交叉反応は各 PPD 相互に考えられるが、現在の日本の状況では PPDs の反応が強く他の PPD 反応に影響を与える場合が大半であろう。そこで、Fig. 4 で示されたように PPDs の反応強度別に AM-PPD の

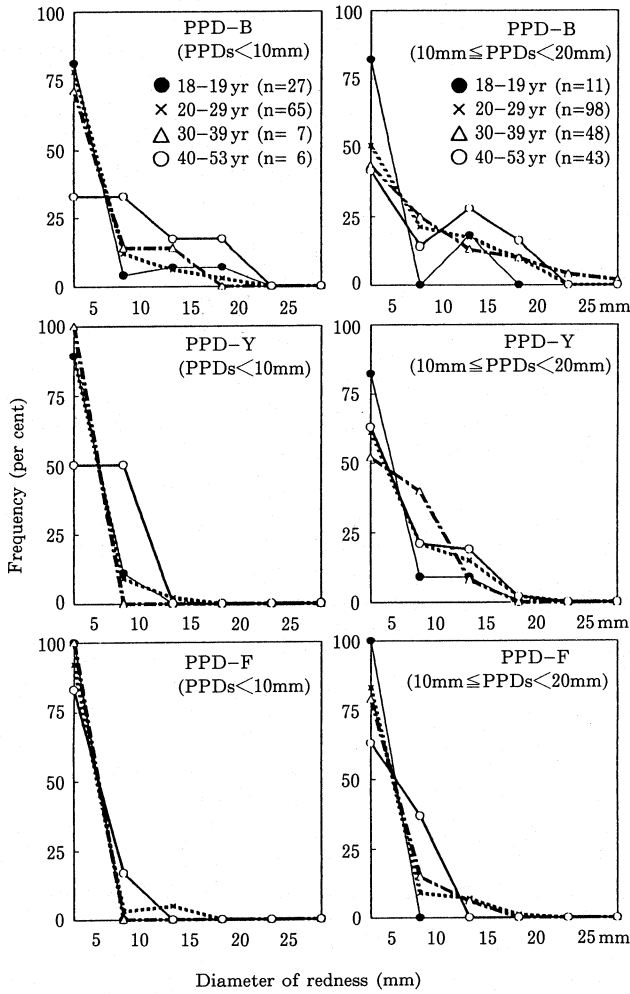


Fig. 5 Frequency Distribution of the Responses to AM-PPD in the Testees with PPDs Less than 10mm or $10\text{mm} \leq \text{PPDs} < 20\text{mm}$ in Each Age Group

Table 3 Birth Place and Mean Diameter of Reaction (Redness, mm) to PPDs, PPD-B, PPD-Y, PPD-F

Birth place	n	PPDs	PPD-B	PPD-Y	PPD-F
The Chugoku District	263	14.5	6.3	4.5	2.8
The Shikoku District	67	13.0	5.6	3.2	2.1
The Kyushu District	19	13.1	7.3	6.7	1.8
The Kinki District	17	10.3	5.4	3.7	1.5
Northeastern Areas	13	17.7	9.3	8.2	2.8

反応をみると、いずれの AM-PPD も PPDs の反応が強いほど右へのシフトがおこっており、交叉反応や非特異反応がかなり強いことがわかる。PPDs が 10mm 未満の場合の AM-PPD を比較した場合、3 者の差は感染率の差と考えられる。この差は Fig. 5 の年齢別分

布でよく示される。PPD-B では PPD-Y, PPD-F と明らかに分布が異なり 2 峰性、またはそれに近い形になっており、年齢が高くなるとともに右のピークが大きくなっている。このことから、*M. avium* complex は健康者のなかにも感作者があり、その感作率は年齢が高

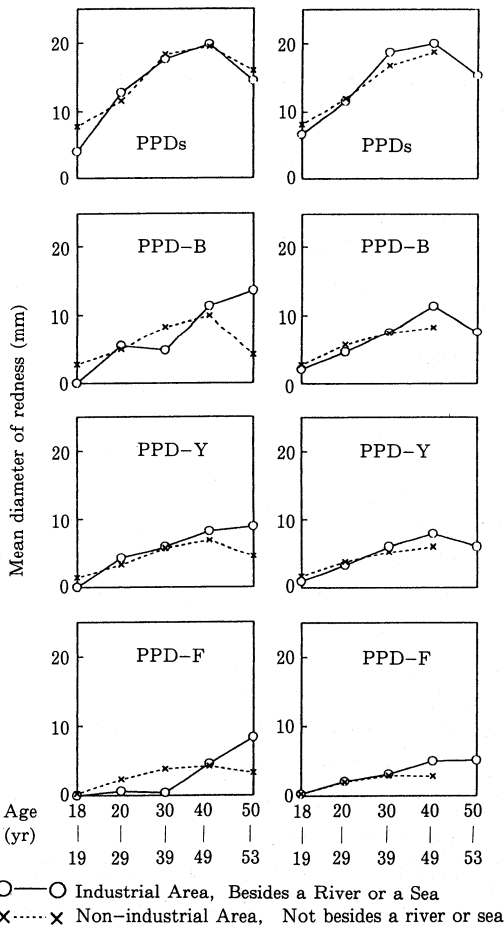


Fig. 6 History of Residence and the Mean Reaction (Diameter of Redness, mm) to PPDs, PPD-B, PPD-Y and PPD-F in Each Age Group

いほど上昇していると考え事ができる。PPD-Y と PPD-F では PPDs が 10mm 未満の場合の分布は指数関数型であることから、*M. kansasii* と *M. fortuitum* に感作された者はわずかでありその差もはっきりしないと思われる。

一方、ひとつの AM-PPD において、PPDs が 10mm 以上 20mm 未満の場合と 10mm 未満の場合の差は主として交叉反応であると考えられる。これは、PPD-B, PPD-Y, PPD-F のいずれにおいても認められるが、PPD-F においては他の 2 者におけるよりも差が少ないように思われる。PPDs と PPD-F の間の交叉反応が PPDs と PPD-B, PPD-Y の間におけるよりも少ないことは、非定型抗酸菌症研究協議会の共同研究として今回と同じ PPD を使用して行った非定型抗酸菌患者における研究結果⁹⁾でも認められたことである。したがって、PPD-Y と PPD-F を比較すると

Table 4 Significant * Response to AM-PPD

Age (yr)	n	Number of significant reaction to PPD-B		PPD-Y		PPD-F	
		n	%	n	%	n	%
18-19	38	6	15.8	1	2.6	0	0
20-29	178	39	21.9	18	10.1	11	6.2
30-39	78	16	20.5	3	3.8	1	1.3
40-53	84	27	32.1	9	10.7	3	3.6
Total	379	88	23.2	31	8.2	15	4.0

* "significant" means ; the diameter of redness is 5mm ≤ and ① the response to one PPD is the largest of all the response, or ② the response is more than 75 per cent of the largest response stated in ①.

10mm 以上の陽性者の率は PPD-Y > PPD-F であるが、この差は PPDs との交叉反応の差によるもの大きいと考えられ、度数分布から推定しても PPD-Y と PPD-F についてはいずれも感作率は低いという結論にとどまる。

次に個々の例での重複感染の検討を試みた。この場合交叉反応と重複感染の判別が困難であるが、最大の反応を示す PPD の 75% 以上の反応（ただし反応径が 4mm 以下は除く）は交叉反応ではないと仮定して集計した。この仮定は非定型抗酸菌症患者での経験⁹⁾で、ほとんどがヒト型菌との重複感染と考えられる MAC 患者において、PPD-B が PPDs の 75% より小さい例は少なく（約 11%）、MAC の重複感染は少ないと思われる結核患者において PPD-B が PPDs の 75% 以上を示す例が少ない（約 14%）ことを参考にして設定した。

各 PPD 毎に単独に反応、また重複感染が考えられる例数を集計すると Table 4 のようになった。PPD-Y, PPD-F では反応率は低く、年齢によって一定の傾向は認められないが、PPD-B では 16-32% まで年齢が高いほど反応者が多い。また、試みに大谷が算出した $P_{16}\pi$ と $Gampu\pi$ についての判定基準⁹⁾を適用してみると、陽性と疑い例をあわせた反応者の率は、PPD-B の場合 18-19 歳で 15.8%、20-29 歳で 20.2%、30-39 歳で 20.5%、40-53 歳で 34.5%、全例の 22.9%、PPD-Y の場合 18-19 歳で 2.6%、20-29 歳で 11.2%、30-39 歳で 6.4%、40-53 歳で 15.5%、全例で 10.3% とほぼ一致した数字が得られた。この率は Fig. 5 の度数分布の形から推定されるものよりやや高めの感があるが、「疑い」を含むので最大でこの程度の感作率と考えれば大きな矛盾は生じないと思われる。

M. fortuitum の感作率は *M. kansasii* と同程度かさらに低いようであるが、*M. fortuitum* の感染形態より考えて、感染をうけても PPD 過敏性までは獲得し

ないことも考えられる。血清中抗体価の測定なども加え検討するべきであろう。

非定型抗酸菌は環境から感染するとされており、居住地域、居住環境は非定型抗酸菌の疫学を考える上で大きな要因であろう。たとえば、広島県周辺では近畿地方、関東地方などと比較して *M. kansasii* 症は依然少数しかみられず¹⁰⁾ 地域によりその感作率は異なる可能性が高い。Table 3 でみるように出身が中部以北では PPD-Y の平均値はやや高いようであるが、症例数が少なくまた現在は広島に居住しているわけであるからその意義は不明であり、地域差の問題は今後に残された課題である。また、比較的若年者を対象としているためか、それまでの生活歴による差は明らかでなかった。各地域で、より高齢者を含む調査ができれば明らかになるであろう。

以上、非定型抗酸菌の疫学を知る目的で分析を試みたが、PPD の反応を検討する時交叉反応は軽視できないものであった。現在 40-50 歳代以上では人型菌の既感染者が相当数存在し、若年者においても BCG が接種されているので、PPDs に対する過敏性が最も強いのは当然であるが、今回見られたように 10 歳代での PPDs 過敏性は低下が著しく今後さらに低下が予想される。

一方、非定型抗酸菌についてはその感染率、感作率が低下するとは考えられず、いずれ PPD-B の陽性率が PPDs のそれを上回る状態となる可能性がある。その場合、PPD 過敏性から非定型抗酸菌の疫学を知ることは現在よりも容易になるであろう。しかし反面、米国において既に報告されているように¹¹⁾、ヒト型菌の感染を知るための PPDs の反応が非定型抗酸菌感染によって影響を受け、その解釈が困難になる事態が考えられる。また、中村ら¹²⁾ が指摘しているように、非定型抗酸菌感染が BCG 免疫に影響を及ぼすことも考えられる。非定型抗酸菌の疫学を今後も研究してゆくとともに、交叉反応がより少ない他の検査方法の応用も望まれる。

ま と め

非定型抗酸菌のうち、*M. avium* complex, *M. kansasii*, *M. fortuitum* についてそれぞれの PPD を用いて、18 歳から 53 歳の広島在住の健康な自衛隊員有志を対象に検査、分析した結果は次のようであった。

1) 感作率は *M. avium* complex が最も高く、疑い例を含めると 16-30% と推定された。また、年齢が高い程感作率が高い。

2) *M. kansasii*, *M. fortuitum* に感作されているのは 10% 以下であると考えられる。

3) ヒト型結核菌または BCG と非定型抗酸菌の間には交叉過敏性が存在し、各 PPD の反応に影響を与える。その程度、および交叉反応を考慮した感染の判定に

はさらに研究が必要である。

なお、本稿の要旨は第 67 回結核病学会総会において発表した。

謝 辞

本研究に際し、被験者になって下さった陸上自衛隊海田市駐屯地の皆様、検査の便宜を図り協力して下さいました。また、PPD-B, PPD-Y, PPD-F の分注、凍結乾燥に便宜を図って下さった塩野義製薬(株)製造部抗瀬工場 梅田庄司・稲津邦平・鷺見 裕の諸氏ならびに PPDs を提供して下さいました日本 BCG 研究所 工藤祐是先生に深謝致します。

文 献

- 1) 東村道雄, 喜多舒彦, 下出久雄, 他: 日本における非定型抗酸菌感染症の研究(国療非定型抗酸菌症共同研究班 1986 年度報告), 非定型抗酸菌症は年々増加しつつある, 結核. 1988; 63: 493-499.
- 2) 岡田 博: 日本における非定型抗酸菌感染の疫学的研究, 日本医事新報. 1962; 2007: 22-29.
- 3) 岡田 博, 他: 本邦における非定型抗酸菌感染の疫学, 日本医事新報. 1964; 2074: 13-24.
- 4) 青木国雄, 古田新和: 非定型抗酸菌症の疫学, 胸部疾患. 1963; 7: 536-545.
- 5) 芳賀伸治, 木ノ本雅道, 高橋 宏, 他: PPD-B, PPD-Y, および PPD-S ツベルクリンの感作モルモットに対する皮膚反応特異性, 結核. 1985; 60: 213.
- 6) 重藤えり子: 非定型抗酸菌ツベルクリンの臨床応用—*Mycobacterium intracellulare* より作製した PPD-B と *M. tuberculosis* 青山 B 株よりの PPDs の皮内反応比較による鑑別診断—, 結核. 1990; 65: 701-709.
- 7) 田坂博信: PPD-B による皮内反応, 投稿中.
- 8) 大谷元彦: 精製ツベルクリン π による非定型抗酸菌感染の診断に関する研究, 結核. 1967; 42: 231-243.
- 9) 重藤えり子, 田坂博信, 山本正彦, 他: 抗酸菌症患者における非定型抗酸菌ツベルクリン反応—PPDs, PPD-B, PPD-Y, PPD-F, PPD-C の検討(非定型抗酸菌症研究協議会共同研究), 投稿中.
- 10) 喜多舒彦, 東村道雄, 久世彰彦, 他: 日本における非定型抗酸菌感染症の研究(国療非定型抗酸菌症共同研究班 1987 年度および 1988 年度報告) *Mycobacterium kansasii* による肺感染症が北海道にもみられ, 全国的なものとなった, 結核. 1991; 66: 651-659.

- 11) Richards NM, Nelson KE, Batt MD :
Tuberculin Test Conversion during Repeated
Skin Testing, Associated with Sensitivity to
Nontuberculous Mycobacteria. Am Rev
Respir Dis. 1979 ; 120 : 59-65.
- 12) 中村玲子, 後藤義孝, 木ノ本雅道 : 非定型抗酸菌の
前感染が BCG 免疫に及ぼす影響 I 遅延型アレ
ルギー, 結核. 1990 ; 65 : 581-584.