

腸窒扶斯菌煮沸免疫元粒子ノ大サニ就キテ

京都帝國大學醫學部生理學教室(正路教授指導)及
外科學研究室(烏湯教授指導)

講師 醫學士 猪木 隆 三

【内容抄録】 寒天斜面四十八時間培養腸窒扶斯菌芽ヲ搔キ集メ〇・八五%食鹽水中ニ浮游セシメ(菌量一〇・〇〇三一五坵)攝氏百度ニ沸騰シツ、アル重湯煎中ニテ三十分間煮沸シ、コレヲ無菌のニ陶土壁ニテ濾過シテ煮沸免疫元ヲ得タリ。而シテ此際腸窒扶斯菌四十八時間肉汁培養(菌量一〇・〇坵中約〇〇二八坵)ヲ攝氏百度ニテ三十分間加熱殺菌シ、陶土壁ニテ濾過シタル肉汁培養煮沸免疫元、及ビ寒天四十八時間培養腸窒扶斯菌芽ヲ搔キ集メ、之レヲ純蒸溜水ニ浮游セシメ(基液一〇坵中菌量約〇・〇〇三・五坵)攝氏百度ニテ三十分間加熱シ、等シク陶土壁ニテ無菌のニ濾過シテ得タル煮沸免疫元ヲ對照液トシテ使用シ此等ノ抗原ヲ出發材料トシ、室溫二十度乃至二十一度ニテ五分、十分、二十分、四十分、一時間、一時間半、二時間及ビ三時間乾燥セル八種ノ「コロジウム」囊ヲ以テ抗原微粒子カ此等ノ膜ヲ透析スルヤ否ヤヲ檢シタリ。

即チ二十四時間ヲ透析度指標トセル結果「アリン赤」「ビクリン酸」「メチレン青」「エオジン」「フクシン」「葡萄糖、澱粉及ビ「ペプトン」ノ粒子ハ二時間乾燥「コロジウム」囊迄ノイトラル赤」及ビ「ニール青」ノ粒子ハ一時間半乾燥セルモノマデ透析シ而シテ血清蛋白、「ヘモグロビン」及ビ「コンゴ赤」ノ粒子ハ百六十八時間ヲ經過スルモ如何ナル種類ノ「コロジウム」膜ヲモ全然透過シ得ザリキ。

カ、ル「コロジウム」囊ヲ以テ上記純培養腸窒扶斯菌煮沸免疫元ヲ透析シ、二十四時間、七十二時間乃至百六十八時間後ニ透析移行シタル透析内、外液ヲ〇・五坵、一〇坵、二〇坵及ビ三〇坵ノ如ク階段的ニ變化シ、之レヲ可檢材料トシテ一回限リ二坵内外ノ各群二頭ノ健康家兔靜脈内ニ注射シ以テ注射前血清及ビ注射後五日目、十日目、十五日及ビ二十日目ノ五回ニ亘リテ採集シタル血清ノ腸窒扶斯菌ニ對スル凝集價ヲ檢シタルニ、腸窒扶斯菌煮沸免疫元透析外液ニ就キテハ何レモ相一致シテ凝集素生産能力ヲ全然認メ得ザリキ。コレニ反シ透析内液ハ凝集素生産能力ヲ有シ、五日目ニシテ最高ニ達シタリ。

即チ腸窒扶斯菌煮沸免疫ハ抗原性粒子ガ其ノ基液中ニ分散セル一種ノ膠質ニシテ、コレ等ハ凡テ陶土壁ヲ透過シ得ルモ「コロジウム」膜ヲ透析シ得ザル者ニシテ數字ヲ以テ其ノ大サノ範圍ヲ指示スレバ〇・三「ミクロン」ト〇・〇〇五「ミクロン」トノ間ニアリテ血清蛋白粒子ノ大サニ近似ストノ立證ニ到達シタリ。

緒言—實驗ノ目的

曩ニ余等ハ肉汁純培養腸窒扶斯菌煮沸上澄液ヲ同一條件ノ下ニ數種ノ陶土濾過管ヲ以テ濾過スルコトニヨリテ數種ノ濾液ヲ得、次デ此等ヲ夫々家兔ニ注射シ、凝集反應ヲ指標トシテ檢査シタル結果上澄煮沸免疫元ヲ濾過シテ得タル煮沸免疫元濾液ハ或場合ニハ原液ヨリモ却テ大ナル、又或場合ニハ濾過前上澄液(原液)ヨリモ稍々小ナル凝集素ノ產生ヲ惹起シ

而シテ此際濾過器ヲ通過セル液ノ量ガ五〇珉以上ナル時ハ陶土壁ノ吸着作用ハ殆ンド顧慮スルニ足ラズシテ、抗原能働力ノ減弱ハ主トシテ煮沸免疫元微粒分散子中ノ比較的大ナルモノガ陶土壁中ニ保留セラル、事ニ原因シ、從テ上澄煮沸免疫元ト同濾液トノ差異ハ單ニ分量的ニシテ性質上ノ差別ヲ來シタル次第ニ非ズ。故ニ陶土壁濾液ノ方ガ菌體ハ無論ノコト蛋白分散微粒子ト謂フト雖其中ノ粗大ナルモノヲ含有セザルヲ以テ煮沸免疫元トシテハ理學的ニハ遠心上澄液ヨリモ「ホモゲーン」性ニ富ミ且ツ菌體殘渣ヲ含有セザルノ點ニ於テ優良ノ品質 (Quality) ヲ保有スルモノナリト報告セリ。(煮沸免疫元トシテハ上澄液ト濾過液ト何レガ優秀ナリヤ附屬室扶斯菌煮沸免疫元微粒分散子ノ大サニ就テ。參照)

即チ陶土濾過管ヲ透過シ得ル腸室扶斯菌煮沸免疫元ハ所謂菌抗原性物質ガ基液中ニ分散セル一種ノ膠質ナリト理解スベシ。茲ニ於テ『煮沸免疫元』有シ得ル最小免疫元粒子ハ如何ナル大サノ範圍ニアリヤ』ノ問題起ル。故ニ余等ハ種々ナル透析度ヲ有スル「コロジューム」囊ヲ使用シ、煮沸免疫元ノ抗原性最小粒子ハ果シテ如何ナル程度ニ「コロジューム」囊ヲ透析シ得ルモノナリヤヲ實驗結果ニ問ヒ、以テ抗原粒子ノ大サノ問題ノ解決ニ進マント欲ス。本論文ニ報告スルモノ即チ是ナリ。

第一章 實驗材料

(一) 腸室扶斯菌煮沸免疫元。

寒天斜面四十八時間培養腸室扶斯菌ヲ搔キ集メ、生理的食鹽水ニ浮游セシメ、基液一・〇珉中ニ約〇・〇〇三二五珉ノ菌體ヲ含有セシメ、更ニ〇・五%ノ割合ニ石炭酸ヲ加へ、約三十分間手ヲ以テ振盪シタル後、攝氏百度ニ沸騰シツ、アル重湯煎中ニテ三十分間煮沸シ、自然ニ冷却スルヲ待チテ六千廻轉三十分間遠心シ、殆ンド透明ノ上澄液ヲ得。之レヲ無菌的ニ「L」濾過器ニテ濾過セルモノナリ。

(二) 菌液。

腸室扶斯菌四十八時間寒天培養ヨリ生理的食鹽水菌浮游液ヲ作り、攝氏六十度ニテ一時間加熱殺菌シ、生理的食鹽水ニ

テ一回洗滌シ然ル後再ビ生理的食鹽水菌浮游液ヲ作り、脱脂綿紗ヲ以テ透過シ〇・五%ノ割ニ石炭酸ヲ加ヘタリ。菌液一・〇㊦中ノ含菌量ハ約〇・〇〇一七五㊦ナリ。

(三)透析装置。

余等ノ使用シタル透析装置ハ硝子筒及ビ透析膜ノ二部分ヨリ成ル。

イ。硝子筒。外径一九・五耗、長サ八〇耗ナル一端閉塞セル無色ノ硝子製圓筒ニシテ透析ノ外液ヲ容ル、ニ用フ。

ロ。透析膜。此製法ハ種々アレドモ余等ハ Sørensen 及ビ Hornp) ノ流下法ニ依リタリ。即チ「コロジューム」綿ヲヨク水洗シ、充分真空中ニテ乾燥シ、コレヲ「エーテル」、「アルコホル」ノ混和液ニ溶解ス。室温攝氏二〇度前後ニ於テハ「無水エーテル」一〇〇㊦及ビ「無水アルコホル」六〇㊦混和液ニ約一・六%ノ割合ニ「コロジューム」綿ヲ溶解セルモノヲ用フ。

此ノ如クニシテ得タル「コロジューム」溶液ヲ以テ、次ノ操作ニヨリテ透析膜ヲ作りタリ。

外径一一耗、長サ一六耗ニテ先端ニ直徑約一耗ノ小孔ヲ有スル硝子管ヲ「クローム硫酸液」ニテ洗ヒタル後清淨乾燥セシメタルモノヲ水平ニ長軸ニ沿ヒテ、一分間約六十回轉ノ速度ニテ廻轉セシメツ、先端部五〇耗ノ間ダケ平等ニ「コロジューム」液ヲ流下シ、廻轉乾燥セシム。必要時間ダケ乾燥セシメタル後約二時間蒸餾水中ニ浸タシ、硝子管ノ一端ヲ吹きツ、抜キトレバ膜ハ容易ニ剝離セラル。コレヲ滅菌蒸餾水中ニ入レ「トルオール」ヲ浮カシテ外氣ト絶縁シテ保存ス。決シテ空氣中ニ露出セルコトナシ。

以上ノ如キ硝子筒及ビ「コロジューム」囊ヲ使用シタルニ囊内ノ五・〇㊦ノ試験液ノ水平面ト小筒内ニ入レシ五・〇㊦ノ水面ノ高サトハ一致セリ。

「コロジューム」囊ノ透析度ハ乾燥時間ノ長短ニ正比例シ、時間ノ短カキモノ程其ノ質粗鬆ニシテ、透析度ハ強ク、大ナル分子又ハ粒子ヲ通過セシム。故ニ室温攝氏二十度乃至二十一度ニテ乾燥セシ左記ノ八種ノ「コロジューム」囊ヲ作りテ、

以テ實驗ニ供セリ。

但シ動物實驗ニ際シテハ以上八種ノ「コロジューム」囊ノ内五分間乾燥及ビ一時間乾燥「コロジューム」囊ヲ使用シ、全實驗ヲ通ジテ室温ニテ検査スル事トセリ。

「コロジューム」囊種別(乾燥溫度攝氏二〇乃至二二度)

一號、五分間乾燥「コロジューム」囊。

二號、十分間乾燥「コロジューム」囊。

三號、二十分間乾燥「コロジューム」囊。

四號、四十分間乾燥「コロジューム」囊。

五號、一時間乾燥「コロジューム」囊。

六號、一時間半乾燥「コロジューム」囊。

七號、二時間乾燥「コロジューム」囊。

八號、三時間乾燥「コロジューム」囊。

第二章 實驗方法

總テノ實驗ハ無菌的ニ行フ事ヲ必要トス。「コロジューム」囊ヲ一%石炭酸水ニテ殺菌シ、次ニ滅菌生理的食鹽水ニテ數回洗滌シ、之レヲ〇・八五%食鹽水(加〇・五%石炭酸)ニ入レ置ク。

先ヅ一列ノ硝子筒内ニ五耗ノ〇・八五%食鹽水(加〇・五%石炭酸)ヲ入レ、前以テ同一ノ石炭酸食鹽水ニ浸シ置キシ「コロジューム」囊ヲ取出シ、滅菌濾過紙及ビ二連球ヲ以テ充分水分ヲ除キ、次ニ「ビベット」ニテ腸窒扶斯菌煮沸免疫元五〇耗ヲ囊内ニ注ギ込ム。此際一滴タリトモ囊外ニ附着セザル様注意ヲ要ス。

直チニ護謄栓ヲ固クシメ、其上ヲ蠟滴ニテ更ニ嚴重ニ密閉シテ、全ク内、外域ヲ遮斷セリ。

「コロジューム」囊ヲ硝子筒内ニ挿入シ、二十四時間、七十二時間、或ハ百六十八時間ヲ標準トシテ果シテ煮沸免疫元ヲ構成スル主成分ガ如何ナル程度ニ透析移行スルヤヲ精査セリ。

對照トシテ種々ナル色素 ソノ他分子量ノ大體決定セルモノヲ透析シ、腸窒扶斯菌煮沸免疫元ノ透析程度ト比較セリ。其物質左ノ如シ。

透析能検査用溶液。

- [一]〇・一%「アニリン」赤 (Aniline red E Merk. Darmstadt.)
 - [二]〇・一%「ピクリン」酸 (Acid picric. E merk.)
 - [三]〇・一%「メチレン」青 (Methylenblau. Dr. G. Grübler & Co Leipzig.)
 - [四]〇・一%「エオジン」 (Eosin. Dr. G. Grübler & Co. Leipzig.)
 - [五]〇・一%「フクシン」 (Fuchsin. Dr. G. Grübler & Co. Leipzig.)
 - [六]一〇%葡萄糖 (Traubenzucker. Merk.)
 - [七]〇・一五%澱粉 (Starke. Kahlbaum.)
 - [八]一%「ペプトン」 (Pepton. Dr. G. Grübler & Co. Leipzig.)
 - [九]〇・一%「ノイトラン」赤 (Neutralrot. Dr. G. Grübler & Co. Leipzig.)
 - [十]「ニール」青 (Nilblau. Dr. G. Grübler & Co. Leipzig.)
 - [十一]血清蛋白 (Serum albumin. Kahlbaum.)
 - [十二]「ノモグロビン」。山羊血球ヲ生理的食鹽水ヲ以テ、三回洗滌シ、之レヲ蒸餾水ニ溶カセルモノ。
 - [十三]〇・一%「コンゴ」赤 (Congorot. Dr. G. Grübler & Co. Leipzig.)
- 又凝集價測定實驗ニ於ケル試獸ニハ二肝内外ノ體重ヲ有スル健康家兔ヲ選ビ、注射用量ヲ〇・五蚝、一・〇蚝、二・〇蚝及ビ三・〇蚝等ニ變化シテ各群ニ二頭ノ家兔靜脈内ニ可檢材料ヲ注射シ、以テ注射前、注射後五日目、十日目、十五日目及ビ二十日目ノ五回ニ亘リ當該家兔血清ノ腸室扶斯菌ニ對スル凝集價ヲ測定セリ。

第三章 血清ノ腸室扶斯菌ニ對スル凝集反應検査方法

一列ノ試験管ニ可檢血清ヲ遞次倍數法ニ從ヒ〇・八五%食鹽水ヲ以テ稀釋シ、正確ニ一・〇蚝トナシ、次デコレニ實驗材

料ノ條下ニ記載セル腸管扶斯菌液ヲ各々一〇蚝宛加ヘ攝氏三十七度ノ孵卵器中ニテ二時間放置セシメタル後約十八時間室温ニ靜置シ、以テ反應程度ヲ記述シタリ。而シテ同時ニ注射セル家兔血清ハ必ず同時同列ニ反應ヲ檢シタリ。沈澱ノ生ゼザルモノ、或ハ管底ニ小圓形ノ菌渣ヲ認メタル時ハ陰性(一)ニシテ、基液ノ甚ダシク溷濁セルモ管底ニ絮樣沈澱ヲ生ズルモノヲ(十)、基液ノ透明ニシテ管底ニ厚キ沈澱ヲ呈シタル時ハ(卅)、兩者ノ中間ニアルモノヲ(卅)ト記載シタリ。每常對照トシテ、生理的食鹽水一〇蚝ニ菌液一〇蚝ヲ加ヘタルモノヲ使用シタリ。

第四章 「コロジューム」囊ノ透析能ノ檢査

第一章ニ述ベタル如ク、五分間、十分間、二十分間、四十分間、一時間、一時間半、二時間及ビ三時間乾燥ノ八種ノ「コロジューム」囊ニ就テ上記ノ透析能檢査用溶液ノ各々ヲ囊内液トシテ、二十四時間放置後ニ於ケル内、外兩液ノ透析度ヲ觀察セリ。

但シ血清蛋白、「ヘモグロビン」及ビ「コンゴ」赤ハ更ニ七十二時間及ビ百六十八時間ヲ標準トセリ。

第一表 「コロジューム」囊乾燥時間ト透析作用トノ關係

「コロジューム」囊別種	一號 五分	二號 十分	三號 二十分	四號 四十分	五號 一時間	六號 一時間半	七號 二時間	八號 三時間
「コロジューム」乾燥時間	五分	十分	二十分	四十分	一時間	一時間半	二時間	三時間
0.1% アニリン赤	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
0.1% ビクラン酸	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
0.1% メチレン青	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
0.1% コハチン	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅

其透析ノ結果ヲ檢スルニハ有色物質ニ就テハ

イ。アドネット氏比色計ニテ二度内外ノ差、即チ殆ンド均等ノ濃度ニ達シタルモノハ(卅)、十度以内ノ差異アルモノヲ(卅)、全然反應ナキモノヲ(一)ト記載セリ。

又葡萄糖ノ證明ニハトロンメル氏反應ヲ、「ベプトン」水ニハ「ニンヒドリン」反應ヲ指標トセリ。澱粉水ノ證明ニハ沃度沃度苛里液ヲ用ヒ、血清蛋白ニハ煮沸試驗 (Koch Probe) 及ビ「ツ

レル氏反應 (Heller's Probe) ヲ目標トセリ。
其實驗成績左ノ如シ。(第一表参照)

(普通)		0.1% フクシン		1% 葡萄糖		0.25% 澱粉		1% ノイトラル赤		0.1% ノイトラル赤		0.1% ニール青		0.1% 血液蛋白*		0.1% ヘモグロビン*		0.1% ロンゴ赤*	
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

* 透痔時間ヲ七十二時間或ハ百六十八時間トスルモ陰性(一)ナリ

(一)。〇・一%「アニリン赤」、〇・一%「ピクリン酸」、〇・一%「メチレン青」、〇・一%「エオデン」、〇・一%「フクシン」、一〇%葡萄糖及ビ〇・二五%澱粉、一%「ペプトン水」ハ二十四時間放置後ニハ凡テ一時間乾燥「コロジウム」囊迄(卅)ヲ示シ二時間乾燥「コロジウム」囊之レニアギ(卅)ヲ示シ三時間乾燥「コロジウム」囊ニ至リテ全ク(一)ヲ示シタリ。

(二)。〇・一%「ノイトラル赤」及ビ〇・一%「ニール青」ハ一時間乾燥「コロジウム」囊迄(卅)、一時間半乾燥「コロジウム」囊ニテ(卅)一時間乾燥「コロジウム」囊ニテ(一)ヲ示セリ

(三)。〇・一%血清蛋白、〇・一%「ヘモグロビン」及ビ〇・一%「コンゴ赤」ハ二十四時間、七十二時間或ハ百六十八時間ヲ標準トスルモ、何レノ「コロジウム」囊ヲモ透析スルコト能ハザリキ。

(四)。以上ノ所見ハ此等「コロジウム」囊ノ透過孔ノ大サハ凡テ蛋白體及ビソレニ類似スル粒子ノ大サヨリ小ナル事ヲ示シ、蛋白分解産物「ペプトン」或ハ之レニ近似スル色素、澱粉ノソレヨリモ大ナル事ヲ立證スルモノナリ。

第五章 實驗 第一

(二)、七十二時間放置後ニ於ケル透析外液二・〇耗及ビ三・〇耗、百六十八時間放置後ニ於ケル透析外液三・〇耗注射ノ場合ハ三者共全然抗體ノ產生ヲ認メ得ザリキ。(第五、六、七表)

(三)、即チ抗原腸窒扶斯菌煮沸免疫元ノ透析作用ハ、二十四時間ヨリ、七十二時間、更ニ進ミテ百六十八時間。家兔注射量ヲ一・〇耗ヨリ三・〇耗ニ増加スルモ、尙且ツ注射前或ハソレ以下ノ凝集價ヲ示セルニ過ギザリキ。

第七章 實驗 第三

(一)、一時間乾燥「コロジウム」囊二十四時間放置後ニ於ケル腸窒扶斯菌煮沸免疫元透析外液二・〇耗ヲ家兔第七群ノ耳靜脈内ニ一回限リ注入セリ。其所見ハ第八表ニ示サレタリ。

(二)、腸窒扶斯菌四十八時間肉汁培養(菌量基液一・〇耗中約〇・〇〇二八耗)ヲ攝氏百度ニテ三十分間加熱殺菌シ、冷却後「コロジウム」囊ヲ以テ二十四時間放置シ、以テ得タル透析内液〇・五耗ヲ家兔第八群ニ、透析外液二・〇耗ヲ家兔第九群ノ耳靜脈内ニ一回限リ、注射セリ。其所見ハ第九表及ビ第十表ニ掲ゲラレタリ。

(三)、腸窒扶斯菌四十八時間寒天培養ヲ搔キ集メ、之レヲ純蒸餾水ニ浮游セシメ、(基液一・〇耗中ノ含菌量約〇・〇〇三五耗)攝氏百度ニテ三十分間加熱殺菌シ、冷却ヲ待チテ「濾過管」ニテ無菌的ニ濾過シ、煮沸免疫元ヲ得タリ。即チ該液ヲ内液トシ、純蒸餾水ヲ外液トシテ、五分間乾燥「コロジウム」囊ヲ使用シ、二十四時間放置後ニ於ケル透析内液〇・五耗ヲ家兔第十群ニ、同透析外液二・〇耗ヲ家兔第十一群ノ耳靜脈内ニ一回限リ注入セリ。

所見ハ第十一表及ビ第十二表ニ示サレタリ。

所見概括

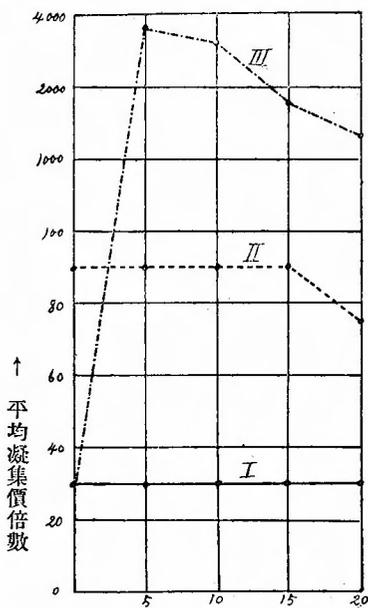
(一)、透析内液ヲ注射セル場合ハ凡テ試獸體重減少セルモ、透析外液ノ場合ハ家兔(第十三號)ヲ外キテハ凡テ増加セリ。

五分間乾燥「コロジューム」囊透液						免疫元種別
透液内液			透液外液			
平均	一・〇	一・〇	平均	二・〇	二・〇	注射量 (一〇〇)
三〇	二〇	四〇	九〇	八〇	一〇〇	注射前
三六〇〇	四〇〇〇	三二〇〇	九〇	八〇	一〇〇	五日
三二〇〇	三二〇〇	三二〇〇	九〇	八〇	一〇〇	十日
一八〇〇	二〇〇〇	一六〇〇	九〇	八〇	一〇〇	十五日
一三〇〇	一六〇〇	一〇〇〇	七五	五〇	一〇〇	二十日

第十三表

(二十四時間放置)透液外液一・〇 耗及比二・〇 耗、透液内液一・〇 耗注射ニ於ケル凝集價ノ推移

ナル態度ヲトルヤヲ研究スル事ニヨリテ、以テ煮沸免疫元ノ粒子ノ大サヲ決定セント欲スルモノナリ。
 即チ種々ナル條件ヲ基礎トセル「コロジューム」囊透液内、外液ヲ免疫元(抗原)トシテ階段的ニ變化セル種々ナル用量ヲ家兎ニ注射シタル結果、其血清中ニ生産スル凝集素ノ強弱、即チ凝集價ノ大小ヲ指標トシテ、逆ニ此等各種免疫元材料ノ保有スル免疫元性能働力ノ有無及ビ大小ヲ判定スルニアリ。故ニ余等ハ前記ノ實驗結果ヲ總括シ、各表ヲ列擧シテ廣ク觀察ヲ試ミ、比較上遺憾ナカラン事ヲ期セリ。
 甲、平均凝集價ヲ表示スル血清稀釋倍數ノ推移。
 各種免疫元材料ノ注射ニ依リテ、血清ノ表示シタル凝集價ヲ各群平均シ、第十三、十四及ビ第十五表ヲ得タリ。而シテ此等ヲ曲線ヲ以テ示セバ第一、二及ビ第三圖ノ如シ。



第一圖

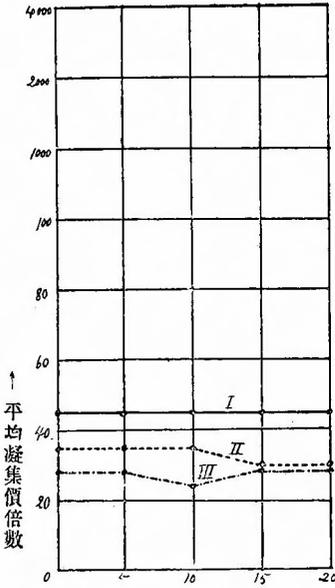
(二十四時間放置)透液外液一・〇 耗及比二・〇 耗透液内液一・〇 耗注射ニ於ケル平均凝集價ヲ表示セル血清稀釋倍數ノ推移 (第十三表参照)

→ 注射後ノ經過日數
 I ————— (五分間乾燥「コロジューム」囊二十
 四時間放置後透液外液) 一・〇 耗
 II 同 透液内液 二・〇 耗
 III - · - · - 同 透液内液 一・〇 耗

第十四表 (七十二時間放置)透析外液ニ・〇・〇 珉及ビ三・〇・〇 珉、(百六十八時間放置)透析外液三・〇・〇 珉注射ニ於ケル凝集價ノ推移

五分間乾燥コロジウムヲ以テノ透析液		七十二時間			免疫元種別	透析液種別	注射量(珉)	注射前	注射後ノ經過日數
百六十八時間	平均	平均	平均	平均	二・〇	五・〇	五・〇	五日	
平均	三・〇	三・〇	三・〇	二・〇	五・〇	五・〇	五・〇	十日	
平均	三・〇	三・〇	三・〇	二・〇	五・〇	五・〇	五・〇	十五日	
平均	三・〇	三・〇	三・〇	二・〇	五・〇	五・〇	五・〇	二十日	

第二圖 (七十二時間放置)透析外液ニ・〇・〇 珉及ビ三・〇・〇 珉(百六十八時間放置)透析外液三・〇・〇 珉ニ於ケル平均凝集價ヲ表示セル血清稀釋倍數ノ推移 (第十四表参照)



→ 注射後ノ經過日數
 I ————— 五分間乾燥コロジウムヲ以テノ透析液(七十二時間放置)ニ・〇・〇 珉
 II (百六十八時間放置)三・〇・〇 珉
 III - · - · - (百六十八時間放置)三・〇・〇 珉

第十五表 (二十四時間放置)透析外液ニ・〇・〇 珉及ビ透析内液〇・五 珉注射ニ於ケル凝集價ノ推移

五分間乾燥コロジウムヲ以テノ透析液				一時間乾燥コロジウムヲ以テノ透析液		免疫元種別	透析液種別	注射量(珉)	注射前	注射後ノ經過日數
蒸留水ヲ基トセル煮沸免疫元透析液		肉汁培養ニヨル煮沸免疫元透析液		生理的食鹽水加炭酸水ヲ基トセル煮沸免疫元透析液		二・〇	二・〇	二・〇	五日	
二十四時間		二十四時間		二十四時間		二・〇	二・〇	二・〇	十日	
内液	外液	内液	外液	外液	平均	二・〇	二・〇	二・〇	十五日	
平均	二・〇	平均	二・〇	平均	二・〇	二・〇	二・〇	二・〇	二十日	
平均	二・〇	平均	二・〇	平均	二・〇	二・〇	二・〇	二・〇	二十日	

第十七表

(七十二時間放置)透析外液二・〇坵及ビ三・〇坵透析外液三・〇坵注射後ニ於ケル平均凝集價增加率ノ推移 (第十四表及ビ第三圖參照)

免疫元種別	透析時間	注射量 (坵)			注射後ノ經過日數			
		透析	注射前	注射後	五日	十日	十五日	二十日
五分間乾燥「コロジウム」透析外液	七十二時間	二・〇	一・〇〇	一・〇〇	一・〇〇	一・〇〇	一・〇〇	一・〇〇
	七十二時間	三・〇	一・〇〇	一・〇〇	一・〇〇	〇・八六	〇・八六	〇・八六
八十分間透析外液	七十二時間	三・〇	一・〇〇	一・〇〇	一・〇〇	〇・八六	一・〇〇	一・〇〇
	百六十八時間	三・〇	一・〇〇	一・〇〇	一・〇〇	〇・八六	一・〇〇	一・〇〇

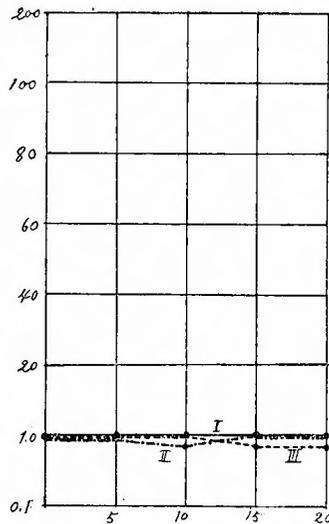
第十八表

(二十四時間放置)透析外液二・〇坵及ビ透析内液〇・五坵注射後ニ於ケル平均凝集價增加率ノ推移 (第十五表及ビ第三圖參照)

免疫元種別	透析時間	注射量 (坵)		注射後ノ經過日數			
		透析	注射前	五日	十日	十五日	二十日
乾燥「コロジウム」透析外液	二十四時間	二・〇	一・〇〇	一・〇〇	一・〇〇	一・〇〇	一・〇〇
	二十四時間	二・〇	一・〇〇	一・〇〇	一・〇〇	一・〇〇	一・〇〇
肉汁培養液透析液	二十四時間	二・〇	一・〇〇	一・〇〇	一・〇〇	一・〇〇	一・〇〇
	二十四時間	二・〇	一・〇〇	一・〇〇	一・〇〇	一・〇〇	一・〇〇
蒸留水ヲ煮沸免疫元透析液	二十四時間	二・〇	一・〇〇	一・〇〇	一・〇〇	一・〇〇	一・〇〇
	二十四時間	二・〇	一・〇〇	一・〇〇	一・〇〇	一・〇〇	一・〇〇

第五圖

(七十二時間放置)透析外液二・〇坵及ビ三・〇坵(百六十八時間放置)透析外液三・〇坵注射後ニ於ケル平均凝集價增加率ノ推移 (第十四表及ビ第十七表參照)



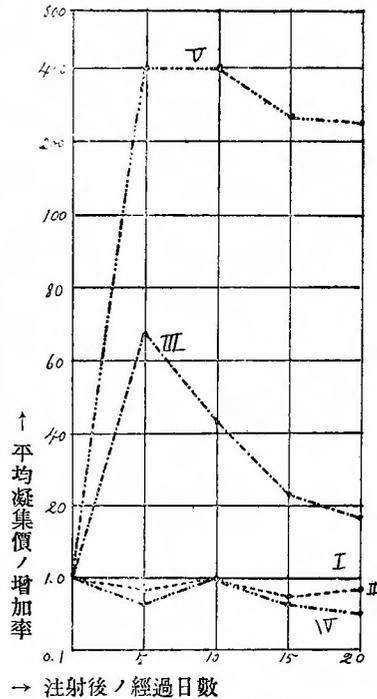
↑ 平均凝集價ノ増加率

→ 注射後ノ經過日數
 I ————— 五分間乾燥「コロジウム」透析外液(七十二時間放置)
 II 同 同
 III - - - - - 同 (百六十八時間放置)

(一)、二十四時間放置七十二時間放置及ビ百六十八時間放置後ニ於ケル腸窒扶斯菌煮沸免疫元透析外液ニ就テハ何レモ凝集素生産能力ヲ全然認め得ザリキ。
 (二)、二十四時間放置後ニ於ケル透析内液ハ、何レモ凝集素生産能力ヲ有シ、第五日目ニシテ最高ニ達シタリ。
 (三)、基液ヲ生理的食鹽水或ハ純蒸留水、又原液ヲ肉汁培養液免疫元トスルモ、透析物質ノ免疫賦與能力ハ何レモ基液生理的食鹽水加〇・五%石炭酸水ノ場合ト何等差異ヲ認め得ザリキ。

第六圖

(二十四時間放置)透析外液二・〇五及透析内液一・五
注射後ニ於ケル平均凝集價増加率ノ推移
(第十五表及第十七表参照)



↑ 平均凝集價ノ増加率
→ 注射後ノ經過日數

I ——— 一時間乾燥コロジウム¹囊透析外液 (二十四時間放置) 二・〇五
II 肉汁培養液煮沸免疫元透析外液 (二十四時間放置) 二・〇五
III - · - · 同 透析内液 (二十四時間放置) 〇・五
IV - · - · 蒸溜水ヲ基液トセル煮沸免疫元透析外液 (二十四時間放置) 二・〇五
V - · - · 同 透析内液 (二十時間放置) 〇・五

分間乾燥コロジウム使用

第九章 所見考察

抗原性物質トハ一方試験管内動物體內ニ於テ同名ノ抗體ト結合スルノ特性ヲ有シ、他方動物體內ニ於テ免疫元トシテ作用シ得ル物質ニシテ、此ノ二ツノ特性ヲ兼備シタル物質ニ限ルモノナリ即チ眞個ノ「抗原」ナルモノハ單ニ補體結合反應ノミナラズ與ヘラレタル條件ヲ待チテ、凝集反應、沈澱反應及ビ増容反應等ノ諸反應ヲモ同時ニ惹起シ得ベキモノナリ。又動物體中ニ於テハ、其儘ニテ直チニ「免疫元」タルノ作用ヲ

發揮スベキモノナリ。此等ノ諸性能ヲ兼備シタル物質ヲ眞ニ「抗原」ト稱シ、其他ノモノハ例ヘバ單ニ補體結合反應ノミヲ營ミ得ルノ故ノミヲ以テ「抗原」ノ稱ヲ下スベカラザルモノナリ。ヂエルモルセハ氏 (Dr. Jennelowa) ハ「ヂフテリー菌」或ハ「コレラ」菌ノ肉汁培養ヲ攝氏百二十度ニテ殺菌シ、之レヲ蒸餾シテモ、免疫元ハ其中ヘ發散スルモノナリ。然レドモ數ヶ月經過セル陳舊ナル免疫元材料ニ於テハ其ノ蒸餾液中ニハ最早抗原性能働カヲ欠クモノト述ベタリ。然レドモ一般ニ細菌性免疫元ハ未ダ其ノ造構明瞭ナラザルモ、兎ニ角ニ蛋白質體 (Ehrlich, Boret, Buchner)、類脂體乃至ハ類脂蛋白質體 (Lundsteiner, Daer, Sachs, Levaditi, Muttermilch) ノ如ク、且又多數學者間ニ一致セル定説ナリ。類脂體單獨ニテハ眞ノ抗原トナリ得ラレズ (河合六郎氏論文參照)、類脂體ハ之レト共存スル免疫元ニ向ツテ廣義喰細胞ノ喰燼作用ヲ充分ニ發揮セ

シムルコトニヨリテ、體中ニ輸送セラレタル免疫元性物質ガ眞個免疫元トシテ利用セラル、分量ヲ大ナラシムルノ點ニ於テ本來ノ効力ヲ有スルモノニシテ、是即チ類脂體ノ免疫學上ニ於ケル眞ノ意義ヲナスモノナリ。

今次余等ハ『イムペヂン』學說ニ立脚セル腸窒扶斯菌煮沸免疫元ノ本態ヲ研究スルニ當リ。其『煮沸免疫元微粒子ノ大サ』ニ就キ『コロジューム』囊ヲ以テ透析シ、該物質透析内、外兩液ヲ凝集反應ヲ指標トシテ比較検査ヲ遂ゲタリ即チ本反應ハ可檢抗原性能働力ヲ判定スル有力ナル一標徴トシテ、應用セラル、モノナリ、蓋シ、一定ノ抗原ヲ動物ニ注射シ當該動物ノ血清ヲ以テ、凝集反應ヲ檢シテ、コノ反應ガ大ナレバ、大ナル程使用抗原性能働力ハ大ナリト判定セラル、モノナリ。即チ何レモ相一致シテ腸窒扶斯菌煮沸免疫元透析外液ニハ凝集素生産能力ヲ全然立證スル事ヲ得ザリキ。

從テ眞ノ抗原ナルモノハ如何ナル種類ノ「コロジューム」囊ヲモ透析シ得ザルモノニシテ、菌體内含有凝固性蛋白分解産物ノ如キ、例ヘバ「ペプトン」階級以下ノ大サニアリテハ蓋シ免疫元性能働力、換言スレバ抗原性無キモノト謂ハザルベカラズ。

又カ、ル分子量ノ小ナル、而カモ擴散速度ノ大ナルモノヲ動物ニ注入スレバ速カニ動物膜ヲ通ジ、其體內毒素排泄モ亦迅速ナルベク、カクテハ局所免疫、或ハ全身性自働免疫ノ成立困難ナルモノト考ヘザルベカラズ。即チ余等ハ上述ノ實驗ニヨリテ腸窒扶斯菌煮沸免疫元ノ主體ナル抗原性最小粒子ハ如何ナル種類ノ「コロジューム」囊ヲモ絶對ニ透過シ得ザル事ヲ明白ニ立證セリト信ズ。

故ニ腸窒扶斯菌煮沸免疫元最小粒子ナルモノハ既ニ「コロジューム」囊ヲ透析シ得ル「アニリン赤」、「ピクリン酸」、「メチレン青」、「エオヂン」、「フクシン」、「ノイトラル赤」、「ニール青」、葡萄糖、澱粉、及ビ「ペプトン」ノ溶液ノ粒子ノ大サヨリモ大ナルモノト判定セザルベカラズ。一般ニ膠質ノ擴散速度ハ其分散相ノ粒子ノ大サニ逆比例スルモノニシテ譬ヘ一色素中ニ大小顆粒アリトスルモ擴散速度ハ其分子最小ナルモノヲ測定スル事トナリ、又色素液ニ電解質ヲ混ズトモコノ電解質ノミハ色素顆粒ヨリモ遙カニ擴散シ、其影響ヲ色素顆粒ニ及ボスコト極メテ少ナキモノナリ。

故ニ腸窒扶斯菌煮沸免疫元ノ最小抗原粒子ハ「コロジューム」囊ヲ透析シ得ザルモ凡テ陶土濾過管ヲ透過シ得ルモノト理解セザルベカラズ。

即チライヘル陶土濾過管間隙孔ノ大サハ約〇・一六乃至〇・二「ミクロン」ニシテ澱粉水ノ分子ノ大サハ約〇・〇〇五「ミクロン」ナリ。而シテ「ペプトン」ハ其分子量三〇〇乃至五〇〇ト算セラレ晶質ニ近キ半膠質ナリ。從ツテ其ノ粒子ノ大サモ澱粉ニ近似スルモノナリ。

故ニ腸窒扶斯菌煮沸免疫元ノ最小粒子ノ大サハ澱粉或ハ「ペプトン」ノ粒子ヨリ大ニシテ之ヲ式ニテ指示セバ次ノ如シ即チ、

〇・二「ミクロン」▽腸窒扶斯菌煮沸免疫元最小粒子ノ大サ▽〇・〇〇五「ミクロン」

ト判定スルモノナリ。

カクノ如ク腸窒扶斯菌煮沸免疫元粒子ヲ其大サノ見地ヨリ考察スレバ正ニ「コロジューム」囊ヲ透析シ得ザル血清蛋白粒子ニ匹敵シ、從テ抗原蛋白體說ニ益々接近スルモノナリト思考シ得ルモ直チニ此ノ結果ノミヲ以テ腸窒扶斯菌煮沸免疫元ナルモノハ一般蛋白體ナリト斷言スルヲ許サザルハ勿論ナリ。故ニ余等ハ更ニ煮沸免疫元ノ分析的檢索ヲ遂ゲ以テ煮沸免疫元個有ノ本態性狀ヲ追究スル所無カルベカラザルナリ。

結 論

(一)、腸窒扶斯菌煮沸免疫元粒子ノ大サハ「アニリン赤」、「ピクリン酸」、「メチレン青」、「エオデン」、「フクシン」、「ニール青」、「ノイトラル赤」、葡萄糖、澱粉及ビ「ペプトン」ノ粒子ヨリモ大ナリ。

(二)、腸窒扶斯菌煮沸免疫元最小粒子ハ陶土濾過管ヲ透過シ得タルモ「コロジューム」囊ヲ全然透析セザリキ。

(三)、即チ腸窒扶斯菌煮沸免疫元液含有抗原粒子ハ一種ノ膠質ニシテ數字ヲ以テ其ノ大サヲ指示スレバ下ノ如シ。

〇・二「ミクロン」▽腸窒扶斯菌煮沸免疫元最小粒子ノ大サ▽〇・〇〇五「ミクロン」

(四)、抗原トハ一方試験管内又ハ動物体内ニ於テ同名ノ抗体ト結合スルノ特性ヲ有シ、他方動物体内ニ於テ特殊免疫元トシテ作用シ得ル物質ニシテ、コロニツノ特性ヲ兼備シタル物質ニ限ル。即チ腸室扶斯菌煮沸免疫元透析外液ナルモノハ眞個ノ抗原ト稱スベカラズ。

文 献

1) 河合, 腸室扶斯菌類脂體ノ免疫學上ノ意義ニ就テノ研究 (第一報, 第二報, 第三報) 日本外科實験, 第三卷, 第三號. 2) 河合, 腸室扶斯菌類脂體ノ免疫學上ノ意義ニ就キテノ研究 (第四報, 東京醫學會雜誌, 第四十卷, 第六號. 5) 猪口, 俣野製赤痢菌「ワククチン」上澄」及ビ「ワククチン」含菌體」ノ免疫學的研究. 日本外科實験 第三卷, 第一號. 日本外科實験 第五卷, 第一號.

3) 伊藤, 「ワククチン」上澄」ノ免疫學的研究. 日本外科實験 第三卷, 第一號. 醫學會雜誌, 第四十一卷, 第七號.

4) 藤網, 免疫元トシテノ菌體ノ價値 (第一報及ビ第二報) 細菌性抗原中ノ如何ナル構成因子ニ關スルカ東京醫學會雜誌, 第四十一卷, 第八號.

5) 杉山, 超生體染色ト色素濃度及ビ擴散能トノ關係ニ就キテ. 東京醫學會雜誌, 第二十三卷, 第九號. 大正十三年.

6) 富田, 細菌類脂體ノ免疫學的意義 (第一報及ビ第二報) 日本外科實験, 第六卷, 第二號.

7) 石本, 黃色葡萄球菌培養液ノ血行内喰菌ニ對スル當該, 菌含有類脂體ノ影響. 東京醫學會雜誌, 第四十卷, 第七號.

8) 山本, 「イオンゼン」作用ハ細菌性抗原中ノ如何ナル構成因子ニ關スルカ東京醫學會雜誌, 第四十一卷, 第九號. 大正十三年.

9) 杉山, 超生體染色ト色素濃度及ビ擴散能トノ關係ニ就キテ. 東京醫學會雜誌, 第二十三卷, 第九號. 大正十三年.

10) 小林, 色素ノ物理化學的性状 (其二) 色素擴散度ニ就キテ. 東京醫學會雜誌, 第二十三卷, 第九號.

11) 杉山, 超生體染色ト色素濃度及ビ擴散能トノ關係ニ就キテ. 生體色素攝取ト色素ノ擴散能トノ關係ニ就キテ. 日本微生物學會雜誌, 第十八卷, 大正十三年.

12) 廣多, 透析ニヨル血液ノ水素「イオン」濃度測定法. 13) 近藤, 蛋白質物理化學. 14) 富田, 細菌類脂體ノ免疫學的意義 (第一報及ビ第二報) 日本外科實験, 第六卷, 第二號.

15) Freundlich, Kaptillarchemie (1909). 16) Weimarn, Dispersionschemie (1911). 17) Wo, Ostward: Grundriss der Kolloidchemie III Aufl, I. Hälfte (1912).

18) Arrhenius, Immunchemie (1907). 19) Doerf, Zeitschrift f. Immunitätsforschung Band 47, (1926). 20) Sachs, Deutsche Med. Wochenschrift No. 15 u. 25. 21) Buchner, Centralblatt f. Chirurg. (1890). 22) Levaditi und Mutterlich, Comp. rend. Soc. Biol. T. 54 u. 55 (1908). Zitr. nach, über die Antigene Wirkung von Bakterienlipiden Zeitschrift f. Immunitätsforschung Band 53 (1927).

23) Landsteiner, Biochem. Zeitschrift Bd. 119 (1922). 24) Z. Jernolje va, Zeitschrift f. Immunitätsforschung Band 53, (1927).

25) Beechold, Die Kolloide in Biologie und Medizin (1912).

Ueber die Grösse der kleinsten Teilchens von Typhusbazillen-koktoimmungen.

Von

Dr. R. INOKI.

Aus dem physiologischen Laboratorium der Kais. Universität Kyoto (Prof. Dr. R. Shoji.) und der Kais. chirurg. Universitätsklinik Kyoto (Prof. Dr. R. TORIKATA.)

Wir hatten bereits nachgewiesen, dass die immunogenen Substanzen eines Typhusbazillenkokoimmunogens kolloidale Dispersoide darstellen und somit Thonkerze passieren. Dabei konstatierten wir, dass die Adosorption des Filters eine sehr geringe ist und darum praktisch unberücksichtigt sein darf, wenn die Gesamtmenge des filtrierten Koktoimmunogens bei einem neuen Filter über 50,0ccm beträgt. Wir hatten auch darauf hingewiesen, dass dem durch Kerzenfiltration hergestellten Koktoimmunogen gegenüber dem durch Zentrifugation gewonnenen eine grössere Homogenität und darher eine bessere Qualität zukommt.

Im folgenden möchten wir des weiteren die Versuchsergebnisse über die Grösse des kleinsten Teilchens von Typhusbazillenkokoimmunogen berichten. Zu diesem Zwecke haben wir Kollodiummembranen nach der Methode von Sörensen und Hörup hergestellt.

Die Membranen waren bei 20°—21°C jeweils 5, 10, 20, 40, 60, 90, 120 und 180 Minuten lang getrocknet.

Durch die 8 Arten Membranen wurde sowohl ein Standardtyphusbazillenkokoimmunogen, das bereits durch ein Thonfilter L₃ getrieben worden war, als auch versiedentartige Farbstofflösungen, bei denen ja die Grösse der Teilchen bekannt ist, während 24 bzw. 72 oder 168 Std. dialysiert. Zum Nachweis des dialysierten Koktoimmunogens haben wir die dardurch herbeigeführte Agglutininbildung bei normalen Kanichen, von denen 2 je eine Versuchsgruppe

bilden, herangezogen.

Die Ergebnisse der Versuche sind in folgenden Tabellen zusammengestellt.

Tabelle I.

Die Dialysierbarkeit der Kollodiummembranen.

Testmaterial *	Die Kollodiummembranen wurden getrocknet während							
	5Min.	10Min.	20Min.	40Min.	1Std.	1½Std.	2Std.	3Std.
0,1% Anilinrot	##	##	##	##	##	##	++	—
0,1% Acid picric	##	##	##	##	##	##	++	—
0,1% Methylenblau	##	##	##	##	##	##	++	—
0,1% Eosin	##	##	##	##	##	##	++	—
0,1% Fuchsin	##	##	##	##	##	##	++	—
10% Traubenzucker	##	##	##	##	##	##	++	—
0,25% Stärke	##	##	##	##	##	##	++	—
1% Pepton	##	##	##	##	##	##	++	—
0,1% Neutralrot	##	##	##	##	##	++	—	—
0,1% Nilblau	##	##	##	##	##	++	—	—
0,1% Serum albumin**	—	—	—	—	—	—	—	—
0,1% Haemoglobin**	—	—	—	—	—	—	—	—
0,1% Congorot**	—	—	—	—	—	—	—	—

* Die Lösung wurde 24 Std. lang dialysiert.

** Dabei war die Zeit der Dialyse bis auf 72 Std. bzw. 168 Std. verlängert worden.

Tabelle II.

Ergebnisse der Dialyse des Koktoimmunogens durch die 5 Min. getrocknete kolloidiummembran.

Typhusbazillen-Koktoimmunogen dialysiert *	Menge ccm	Agglutinintiter des Serums				
		vor der Injektion	Nach der Injektion, u. z. am			
			5.Tag	10.Tag	15.Tag	20.Tag
Innen-Flüssigkeit	1,0	30	3600	3200	1800	1300
Aussen-Flüssigkeit i. e. Dialysat.	1,0	30	30	30	30	30
	2,0	90	90	90	90	75

* Die Dialyse dauerte 24 Std. lang.

Tabelle III.

Ergebnisse der Versuche über die Erzeugung des Agglutinins mittels Dialysats des Typhusbazillenkoktoimmunogens *

Die Dauer der Dialyse	Menge ccm	Agglutinintiter des Serums				
		vor der Injektion	Nach der Injektion, u. z. am			
			5.Tag	10.Tag	15.Tag	20.Tag
72 Std.	2,0	45	45	45	45	45
	3,0	35	35	35	30	30
168 Std.	3,0	28	28	24	28	28

* Die für die Dialyse herangezogene Collodiummembran war 5 Min. lang bei 20°-21°C getrocknet worden.

Ergebnisse.

- 1) Das Typhusbazillenkokoimmunogen, dessen Wirkung sich in der Auslösung des Agglutinins im zirkulierenden Blute der Kaninchen dokumentiert, konnte in keiner Weise durch eine Kollodiummembrane dialysiert werden.
- 2) Daher müssen die Teilchen des Typhusbazillenkokoimmunogens kleiner als diejenigen der wässerigen Lösungen von Anilinrot, Pikrinsäure, Methylenblau, Eosin, Fuchsin, Neutralrot, Nilblau, Traubenzucker, Amylum (Kartoffel), und Pepton sein, die ja durch eine mittels des 5 Minuten langen Trocknens hergestellte Kollodiummembrane passieren.
- 3) Da die wirksame Porengrösse eines Reichel-Filters ca. $0,16\mu - 0,2\mu$ und die Grösse der Amylumteilchen ca. $0,005\mu$ beträgt, so muss die Grösse des kleinsten Teilchens des Typhusbazillenkokoimmunogens dazwischen liegen (Autoreferat).