

結核免疫元AOニ於ケルLイムペヂン¹⁾ノ吟味

第1報 試験管内喰菌作用ヲ指標トセル場合

京都帝國大學醫學部外科學教室(烏瀉教授指導)

大學院學生 醫學士 武 野 周 一

Nachweis des Impedins bei der Tuberkelbazillen- Vakzine AO.

I. Mitteilung: Vergleich von AO mit dem 20 Min. lang abgekochten in der maximalen Antigenavidität für die Phagozytose in vitro.

Von

Dr. S. Takeno

[Aus dem Laboratorium der Kais. Chir. Universitätsklinik **Kyoto**

(Prof. Dr. R. Torikata.)]

Testmaterialien

1) AO.

Die vom *Arima*-Institut bezogene Tuberkelbazillenvakzine AO Nr.3 mit dem Datum vom 3. Juni 1932 wurde von mehreren Ampullen in einem sterilen Reagensgläschen gesammelt und in 2 gleiche Teile geteilt. Ein erster Teil wurde als das originale AO ohne weiteres zur Prüfung herangezogen.

2) AOK20'

Der 2. Teil von AO wurde in einem bei 100°C siedenden Wasserbade 20 Min. lang abgekocht und als AOK20' zur Prüfung herangezogen. AOK20' zeigte weder eine Trübung noch einen Niederschlag.

Versuchsordnung

Wir haben nach *Wright* die die normale gegen Staphylokokken gerichtete Phagozytose in vitro fördernde Wirkung von AO mit der von AOK20' unter sonst gleichen Bedingungen vergleichen.

Ergebnisse der Versuche

Die Ergebnisse der Prüfungen gehen aus Tabelle I. deutlich hervor.

Tabelle I
Die durch AO bzw. AOK20' beeinflusste maximale Phagozytose
von Staphylokokken in vitro

| Testdosis des Antigens in ccm | Phagozytat bei | | NaCl-Lösung ohne Testmaterialien |
|----------------------------------|---------------------|---------------------|-------------------------------------|
| | AO | AOK20' | |
| 0,1 | 40,2 (119,6) | 47,1 (140,1) | 33,6 (100) |
| 0,2 | 45,7 (136,0) | 64,0 (190,4) | |
| 0,4 | 53,6 (159,5) | 71,0 (211,3) | |
| 0,8 | 37,2 (110,7) | 51,3 (152,6) | |

Die in Klammern angegebenen Zahlen bedeuten Prozentwerte.

Zusammenfassung

- 1) AOK20' fördert die in vitro vor sich gehende normale Phagozytose von Staphylokokken in einem weit grösseren Masse als AO.
- 2) Das maximale Phagozytat betrug 53,6 bei AO und 71 bei AOK20'. Dies verhält sich zu einander wie 100 : 132.
- 3) AO enthält also das Impedin in einem ansehnliche Masse. AO muss somit laut der Impedinlehre verbessert werden. (Autoreferat)

1 緒 言

昭和5年林茂ハ AO ハ死結核菌體ノ浮游液ナリトノ有馬博士ノ言ニ從ヒ AO 基液中ニモ亦 L イム ペヂン¹ガ含有セラレ居ラザルヤ否ヤヲ検査セシ。AO 中ニハ殆ンド結核菌體ヲ立證スルコト能ハズ、從テ結核菌浮游液トシテ AO 基液ヲ得ルコト能ハズ、AO 其儘ノモノヲ検査セルニ原 AO ト30分煮沸 AO トノ喰菌作用促進能力ノ差ハ100對125ニシテ煮沸液ノ方が優秀ナルコトヲ認メタリ。即チ AO 中ニモ微量ナガラ L イム ペヂン¹ノ含有セラレ居ルモノナルコトヲ證明セリ(日本微生物學病理學雜誌第24卷第7號 昭和5年 6月1日發行 第1448頁)。

然ルニ其後昭和7年ニ至リ有馬博士ハ AO 中ニハ結核菌體ヲ含有セズシテ水溶性菌物質ノミヲ含有スルモノナルコトヲ告白スルニ至レリ(結核第10卷第4號第176—177頁)。

故ニ余等ハ今茲ニ更ニ AO 中ニ於ケル L イム ペヂン¹ノ有無ヲ檢シ以テ林茂ノ検査成績ト對比スル所アラントス。

2 實 驗 材 料

1. 結核菌²ワクチン³ AO 及ビ20分煮沸 AO

昭和7年6月3日有馬研究所ニ於テ製造セラレタル AO 第3號15個(1個1耗入)ノ内容ヲ1個

ノ同一容器ニ採リ、之ヲ2分シテ1ハ其ノ儘保存シ原 AO トナシ、他ハ再ビ1ツノ容器ニ收メ密封シテ攝氏100度ニテ沸騰シツ、アル重湯煎中ニテ20分間煮沸シ之ヲ20分煮 AO トナセリ。此際兩者共ニ無色透明ニシテ濁濁沈澱等ヲ來サバリキ。

2. 對照食鹽水

0.5%石炭酸加0.85%食鹽水ヲ使用セリ。

3. 黃色葡萄狀球菌原液

黃色葡萄狀球菌48時間寒天斜面培養ヲ0.5%石炭酸加0.85%食鹽水ニ浮游セシメタルモノヲ攝氏60度ノ重湯煎中ニテ30分間加熱殺菌ヲ行ヒ、遠心シテ菌體ト上澄液トニ分チ、此ノ菌體ヲ更ニ食鹽水ニテ3回遠心洗滌シ、再ビ食鹽水ヲ加ヘタリ。ソノ菌量ハ鳥瀉教授沈澱計ニテ1.0坵中ニ約0.0021坵(3度目)ナリ。(但シ1分間約3000回轉遠心)

3 検査方法

原 AO 及ビ20分煮 AO ヲ可檢抗原トナシ、検査第1ニ於テハ各抗原量0.1坵及ビ0.2坵宛ヲ、検査第2ニ於テハ0.4坵及ビ0.8坵宛ヲ添加シテ此等ノ抗原種ガ試験管内喰菌作用ニ及ボス影響ヲ檢シタリ。尙別ニ對照トシテ每常0.5%石炭酸加0.85%食鹽水ヲ以テノ喰菌作用ヲモ檢シテ比較セリ。

試験管内喰菌作用ニ際シテハ、標準菌液タル黃色葡萄狀球菌液ノ濃度ハ特ニ注意ス可キ點ニシテ、余等ハ豫備試験ニ於テ前記黃色葡萄狀球菌原液ハ之ヲ5倍ニ稀釋セル場合ガ、試験管内喰菌作用検査材料トシテ好適濃度ナルコトヲ知りタル故、該黃色葡萄狀球菌原液ヲ0.5坵トリ、之ニ前記ノ如キ各抗原量ヲ添加シテ殘餘ハ0.5%石炭酸加0.85%食鹽水ニテ補充シ每常全量ヲ2.5坵ニ一定トナシタリ。即チ斯クスル時ハ被検査菌ノ基液量ガ一定シ、又ソレニ含有サル、石炭酸量モ一定トナレバナリ。

試験管内喰菌作用検査方法

検査材料

(1) 黃色葡萄狀球菌々液

前記ノ如キ方法ニヨリ原菌液ヲ抗原液及ビ 0.5%石炭酸加0.85%食鹽水ヲ以テ每常5倍ニ稀釋セルモノナリ。

(2) 中性肉汁

成書記載ノ方法ニヨリ調製セリ。

(3) 白血球液

體重300瓦内外ノ健康雄海狗腹腔中ニ前記中性肉汁ヲ約10坵注射シ、4時間後硝子毛細管ニテ穿刺シテ得タル腹腔液ヲ直チーンノ儘使用セリ。

先ヅ前記ノ如ク約 4時間以前ニ中性肉汁ヲ腹腔内ニ注入セル海狸ヲ固定臺ニ背位ニ固定シ、腹腔ヲ硝子毛細管ニテ穿刺シオキ、ソノ都度硝子毛細管ヲ少シク抜クコトニヨリ腹腔液即チ白血球液ノ少量宛ヲ採取シ得。但シ腹腔ヲ穿刺スルニ當リテハ、先ヅ小刀ニテ下腹部正中線ノ皮膚ヲ切開シ決シテ出血ヲ來サヌ様腹膜マデ達シ、而シテ先端鈍性ナル硝子毛細管ニテ腹膜ヲ穿ツモノトス。此ノ白血球液ト黄色葡萄狀球菌々液トヲ混合シテ、一定時間孵卵器内ニ靜置スル時ハ旺盛ニ喰菌作用行ハル。是即チ試験管内喰菌作用ナリ。

而シテ本検査ニ於テハ、黄色葡萄狀球菌々液ト共ニ毎常可檢相當量ノ原、煮抗原液存在スル故、其處ニ喰菌作用促進能力ノ上ニ強弱ノ差生ジタリ。本検査ノ實施ニ當リテハ、一定ノ硝子毛細管内ニ白血球液及ビ可檢抗原加菌液ヲ各々同量空氣層ヲ隔テ、吸入シ、之ヲ硝子皿上ニ吹き出シヨク混和シタル後、更ニ他ノ毛細硝子管ニ吸ヒ込ミ、攝氏37度ノ孵卵器内ニ靜置スル事20分間ニテ取り出シ、塗抹標本作製、メチール酒精ニテ固定後ギームザ氏液ニテ染色檢鏡セリ。塗抹標本作製迄ハ極メテ迅速且ツ正確ナル可キヲ要ス。

檢鏡ニ際シテ喰菌作用ノ主役ヲ演ズル多核白血球ノミヲ檢シ、而モ多核白血球ノ中輪廓正シクヨク著色シ且ツ孤立セルモノ、ミ 100個ヲ檢シ、菌體ノ完全ニ白血球内ニ包喰セラレタルモノヲ計算セリ。但シ1白血球内ニ7個以上ノ菌ヲ包喰シ居ルモノ及ビ白血球ト菌トノ比例ノ甚シク異ナレル視野ニ於ケルモノハ除外セリ。本検査ハ 3回之ヲ實施ノ上検査結果ノ平均ヲ記上セリ。

4 検査第1 可檢抗原用量0.1坵及ビ0.2坵ノ場合

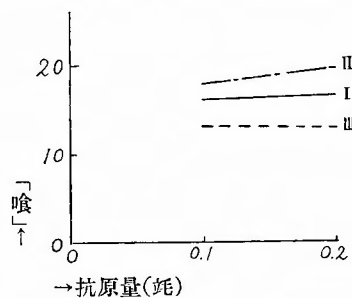
原 AO 及ビ20分煮 AO 各々0.1坵, 0.2坵宛添加シ、對照トシテ 0.5%石炭酸加0.85%食鹽水ヲ使用セリ。

検査結果ハ第1表及ビ第1圖乃至第3圖ニ示サレタリ。

第1表 各抗原量 0.1坵及ビ0.2坵添加ノ場合ニ於ケル試験管内喰菌作用

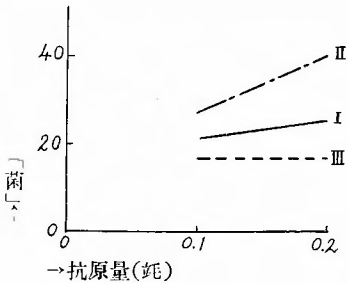
| 抗原量 (坵) | 0.1 | | 0.2 | | 對 照 |
|------------|---------------|---------------|---------------|---------------|-------------|
| | 原 AO | 20'煮AO | 原 AO | 20'煮AO | |
| 喰 % | 16.0 123.0 | 17.6 135.3 | 16.6 127.6 | 19.3 148.4 | 13.0 100 |
| 菌 % | 21.6 118.0 | 26.3 143.7 | 26.0 142.0 | 40.0 218.5 | 18.3 100 |
| 子 % | 37.6 120.1 | 43.9 140.2 | 42.6 136.1 | 59.3 189.4 | 31.3 100 |

第1圖 各抗原量 0.1坵 及ビ 0.2坵添加セル際ノ喰細胞數_L喰¹

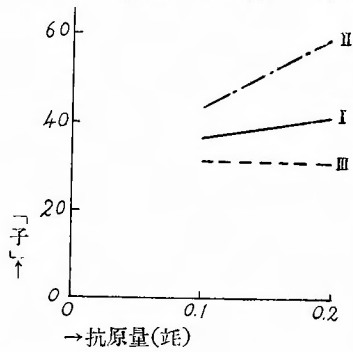


I ———— 原AO
II - - - - 20'煮AO
III ······ 對照食鹽水

第 2 圖 各抗原量 0.1 兪及ビ 0.2 兪
添加セル際ノ被喰菌數_菌ヲ



第 3 圖 各抗原量 0.1 兪及ビ 0.2 兪
添加セル際ノ喰菌子數_子ヲ



所見 概 括

1. 現ニ細菌體ヲ包喰シ居ル喰細胞數_喰ニ就テ。

(イ) 抗原量 0.1 兪ヲ以テノ場合

原 AO ニ於テハ 16.0, 20分煮 AO ニ於テハ 17.6, 對照食鹽水ニ於テハ 13.0 ニシテ, 20分煮 AO ニ於テ最大値ヲ示シ, 食鹽水對原 AO 對 20分煮 AO ノ比ハ 100 對 123.0 對 135.3 ヲ示シタリ。

(ロ) 抗原量 0.2 兪ヲ以テノ場合

原, 煮 AO ノ差違ハ抗原量 0.1 兪ナリシ場合ヨリモ著明ナリ。即チ 16.6 對 19.3 ヲ示シ, 對照食鹽水對原 AO 對 20分煮 AO ノ比ハ 100 對 127.6 對 148.4 ヲ呈シタリ。

2. 現ニ喰細胞ニヨリ包喰セラレ居ル菌體ノ數即チ被喰菌數_菌ニ就テ。

(イ) 抗原量 0.1 兪ヲ以テノ場合

原 AO ニテハ 21.6, 20分煮 AO ニテハ 26.3 ヲ示シ, 對照食鹽水ハ 18.3 ナリキ。即チ 20分煮 AO ガ最高位ヲ占メ原 AO ハ次位ニ在リタリ。對照食鹽水對原 AO 對 20分煮 AO ノ比ハ 100 對 118.0 對 143.7 ヲ呈シタリ。

(ロ) 抗原量 0.2 兪ヲ以テノ場合

抗原量 0.1 兪ナリシ場合ヨリモ原, 煮 AO 共ニ増大シ, 兩抗原間ノ差違ハ愈々顯著ニシテ煮抗原ハ遙カニ原抗原ヲ凌駕セリ。即チ原 AO ニテハ 26.0, 20分煮 AO ニテハ 40.0 ヲ示シ, 對照食鹽水ハ 18.3 ナル故食鹽水對原 AO 對 20分煮 AO ノ比ハ 100 對 142.0 對 218.5 ナリキ。

3. 喰細胞數ト被喰菌數トノ和即チ喰菌子數_子ニ就テ。

(イ) 抗原量 0.1 兪ヲ以テノ場合

20分煮 AO ニ於テ最高位ヲ示シ 43.9, 次デ原 AO ハ 37.6, 對照食鹽水ハ最下位ニシテ 31.3 ヲ示シタリ。對照食鹽水對原 AO 對 20分煮 AO ノ比 100 對 120.1 對 140.2 ヲ得タリ。

(ロ) 抗原量 0.2 兪ヲ以テノ場合

原 AO ニテ 42.6, 20分煮 AO ニテ 59.3ニシテ煮 AO ハ明白ニ原 AO ヲ凌駕セリ。對照食鹽水對原 AO 對20分煮 AO ノ比ハ100對136.1對189.4ヲ呈シタリ。

要スルニ抗原量ヲ0.1ㄲヨリ0.2ㄲニ増量セルニ伴ヒ原, 煮抗原共ニ「喰」「菌」「子」ハ夫々増大シタレドモ, 原 AO ニ於テソノ傾向僅微ナリシニ反シ20分煮 AO ニ於テハ顯著ナル増大ヲ見タリ。

5 検査第2 可檢抗原用量0.4ㄲ及ビ0.8ㄲノ場合

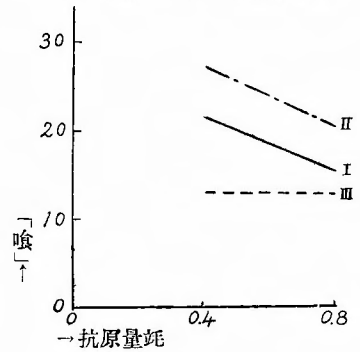
原 AO 及ビ20分煮 AO 各々0.4ㄲ, 0.8ㄲ宛添加シ, 對照トシテ0.5%石炭酸加0.85%食鹽水ヲ使用セリ。

検査結果ハ第2表及ビ第4圖乃至第6圖ニ示サレタリ。

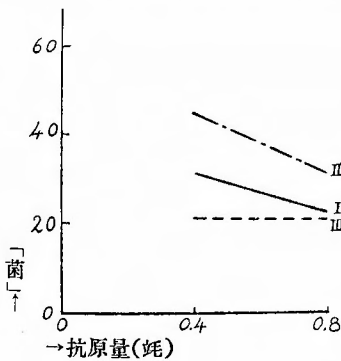
第2表 各抗原量 0.4ㄲ及ビ0.8ㄲ添加ノ場合ニ於ケル試験管内喰菌作用

| 抗原種 | 0.4 | | 0.8 | | 對照食鹽水 |
|-----|---------------|---------------|---------------|---------------|-------------|
| | 原 AO | 20'煮AO | 原 AO | 20'煮AO | |
| 喰% | 21.6 162.4 | 27.0 203.0 | 15.6 117.2 | 20.3 152.6 | 13.3 100 |
| 菌% | 32.0 157.6 | 44.0 216.7 | 21.6 106.4 | 31.0 152.7 | 20.3 100 |
| 子% | 53.6 159.5 | 71.0 211.3 | 37.2 110.7 | 51.3 152.6 | 33.6 100 |

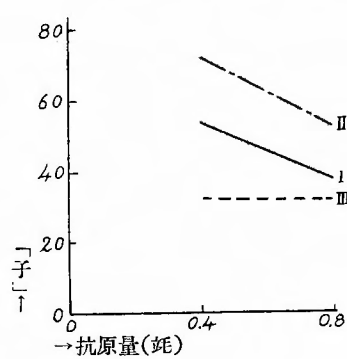
第4圖 各抗原量 0.4ㄲ 及ビ 0.8ㄲ 添加セル際ノ喰細胞數「喰」



第5圖 各抗原量 0.4ㄲ 及ビ 0.8ㄲ 添加セル際ノ被喰菌數「菌」



第6圖 各抗原量 0.4ㄲ 及ビ 0.8ㄲ 添加セル際ノ喰菌子數「子」



所見概括

1. 現ニ細菌體ヲ包喰シ居ル喰細胞數「喰」ニ就テ。
(1) 抗原量0.4ㄲヲ以テノ場合

原 AO ニテハ21.6, 20分煮 AO ニテハ27.0, 對照食鹽水ニテハ13.3ヲ算シタリ。即チ20分煮 AO ガ首位ヲ占メ食鹽水ヲ以テノ對照ハ最低位ニアリタリ。對照食鹽水對原 AO 對20分煮 AO ノ比ハ100對162.4對203.0ヲ呈シタリ。

(ロ) 抗原量0.8蚝ヲ以テノ場合

抗原量0.4蚝ナリシ場合ヨリモ兩抗原共ニ低下シ原 AO ニテハ15.6, 20分煮 AO ニテハ20.3ヲ示シタリ。對照食鹽水ハ13.3ナリシ故對照食鹽水對原 AO 對20分煮 AO ノ比ハ100對117.2對152.6ヲ得タリ。

2. 現ニ喰細胞ニヨリ包喰セラレ居ル菌體ノ數即チ被喰菌數 $L_{菌}$ ニ就テ。

(イ) 抗原量0.4蚝ヲ以テノ場合

原 AO ニ於テハ 32.0ナリシニ對シ20分煮 AO ハ遙カニ之ヲ凌駕シテ44.0ヲ示シタリ。而シテ對照食鹽水ハ20.3ヲ示シタル故對照食鹽水對原 AO 對20分煮 AO ノ比ハ100對157.6對216.7ナリキ。

(ロ) 抗原量0.8蚝ヲ以テノ場合

抗原量ヲ0.8蚝ニ増量シタルニ兩抗原共ニ低下ヲ來シタルガ、20分煮 AO ハ依然原 AO ノ上位ニ在リテ夫々31.0, 21.6ヲ示シタリ。對照食鹽水對原 AO 對20分煮 AO ノ比ハ100對106.4對152.7ヲ呈セリ。

3. 喰細胞數ト被喰菌數トノ和即チ喰菌子數 $L_{子}$ ニ就テ。

(イ) 抗原量0.4蚝ヲ以テノ場合

原 AO ニテハ53.6, 20分煮 AO ニテハ 71.0ヲ示シ、兩抗原間ノ懸隔依然顯著ナルヲ見タリ。而シテ對照食鹽水ハ33.6ヲ示セル故對照食鹽水對原 AO 對20分煮 AO ノ比ハ100對159.5對211.3ヲ呈シタリ。

(ロ) 抗原量0.8蚝ヲ以テノ場合

兩抗原間ノ差違大ニシテ20分煮 AO ハ51.3ヲ示シ、原 AO ノ37.2ニ對シ遙カニ上位ヲ占メタリ。對照食鹽水對原 AO 對20分煮 AO ノ比ハ100對110.7對152.6ヲ得タリ。

6 所見總括及ビ考察

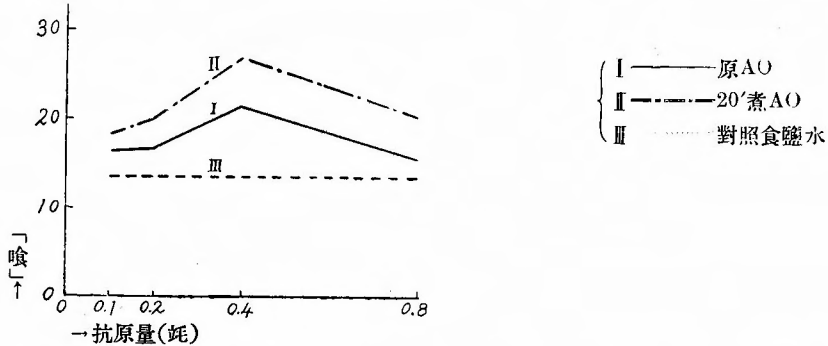
對照食鹽水ノ示シタル喰菌作用ヲ規準トシテ以上ノ所見ヲ統一的ニ換算シテ第3表ヲ得、之ヲ圖示シテ第7圖乃至第9圖ヲ得タリ。

第 3 表 各抗原量ノ變化ト試験管内喰菌作用總括

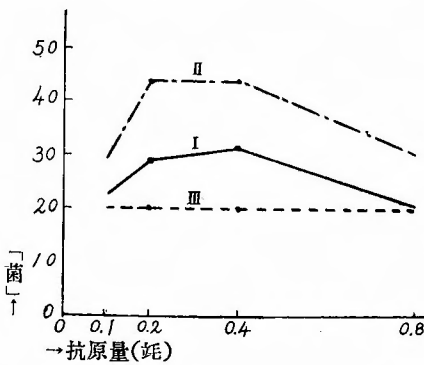
| 抗原種 抗原量(蚝) | 原 AO | | | | 20' 煮 AO | | | | 對 照 食 鹽 水 |
|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|--------------|
| | 0.1 | 0.2 | 0.4 | 0.8 | 0.1 | 0.2 | 0.4 | 0.8 | |
| 喰 % | 16.3 122.5 | 16.9 127.0 | 21.6 162.4 | 15.6 117.2 | 18.0 135.3 | 19.7 148.1 | 27.0 203.0 | 20.3 152.6 | 13.3 100 |

| | | | | | | | | | |
|----|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|-------------|
| 菌% | 23.9 117.7 | 28.8 141.8 | 32.0 157.6 | 21.6 106.4 | 29.1 143.3 | 44.3 218.2 | 44.0 216.7 | 31.0 152.7 | 20.3 100 |
| 子% | 40.2 119.6 | 45.7 136.0 | 53.6 159.5 | 37.2 110.7 | 47.1 140.1 | 64.0 190.4 | 71.0 211.3 | 51.3 152.6 | 33.6 100 |

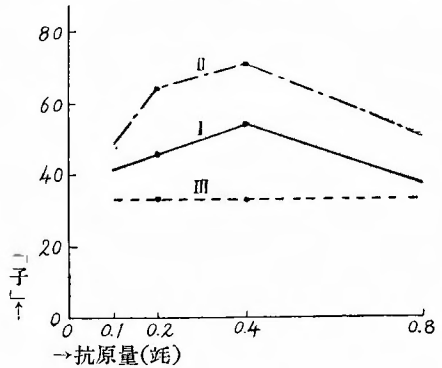
第7圖 抗原量ノ變化ト喰細胞數_L喰⁷トノ關係



第8圖 抗原量ノ變化ト被喰菌數_L菌⁷トノ關係



第9圖 抗原量ノ變化ト喰菌子數_L子⁷トノ關係



此ノ事實一ヨリ次ノ諸項ヲ認識セリ。

1. 試験管内喰菌作用ニ於テハ抗原量ノ如何ニ拘ラス常ニ20分煮 AO ハ原 AO ニ比シ喰菌作用促進能力強大ナリキ。
2. 抗原量0.4耗ニ至ルマデノ間ハ兩者一致連行シテ喰菌作用モ亦遞増シ、0.4耗ニ於テ共ニ各々最大喰菌作用ヲ呈シ、更ニ抗原量ヲ0.8耗ニ増加シタルニ喰菌作用ハ低下セリ。
3. 而シテ最大喰菌作用ヲ呈シタル場合ノ原、煮 AO ノ示シタル喰菌子數ノ比ハ、53.6對71.0即100對132ニ於テ20分煮 AO ハ原 AO ヲ凌駕セリ。
4. 抗原量0.8耗ナリシ場合原 AO ノ示シタル喰菌作用ハ急激ニ低下シ對照食鹽水ト大差ナキニ到リタリ。サレド20分煮 AO ニアリテハ下行位相ヲ呈シタルレドモ AO 原ヲ遙カニ凌駕シタリ。

以上ノ事實ハ實ニ「イムペヂン」學說ニヨリテノミ説明セラレ得ルモノナリ。即チ AO ハ

「イムペヂン」ヲ行スルガ故ニ喰菌作用促進能働力ハ防ゲラレ、之ニ反シ AO ヲ攝氏100度ニテ20分間煮沸スル時ハ「イムペヂン」ノミガ破却サレテ始メテ AO ノ抗原性全能働力ヲ發揮シ得タルモノナリ。

林茂ハ原 AO ト30分煮沸 AO トヲ比較セルニソレニヨリテ惹起セラレタル喰菌子數ノ比ハ100對125ナリキ。然ルニ余等ガ原 AO ト20分煮沸 AO トヲ其ノ達成シ得ル最大喰菌作用ニヨリテ比較セルニ喰菌子數ノ比ハ 100對132ノ比ニ於テ20分煮沸 AO ノ方が大ナリキ。

7 結 論

1. 有馬研究所ニテ製造セラレタル結核菌「ワクチン」AO ノ原液及び20分煮沸液ヲ對黃色葡萄狀球菌試験管内喰菌作用ヲ指標トシテ検査セルニ、最大抗原性能働力ハ20分煮沸液ノ方が100對132ノ比ニ於テ顯著ニ強大ナリキ。

2. 此ノ喰菌作用促進抗原能働力ノ差違ハ AO 原液中ニ含有セラレタル「イムペヂン」ノ阻止作用ヲ意味スルモノナリ。

3. 此ノ事實ハ AO ノ抗原性能働力ヲ能フ限り強大ナラシムルニハ、先ヅ AO ノ含有スル「イムペヂン」ヲ除カザル可カラザル事ヲ教フルモノナリ。

4. AO ノ製造諸操作ハ決シテ「イムペヂン」ノ破却ヲ意味セズ。死菌浮游液ノ基液ヨリモ菌融解ヲ主トセル新 AO ノ方が「イムペヂン」含量ノ大ナルヲ認ム。

5. 喰菌作用促進能働力ノ劣弱ハ即チ免疫獲得ノ劣弱ト同義ニシテ AO ノ免疫學上ノ價値ハ確カニ「コクチゲン」ノ下位ニ在ルモノタルコトヲ知ル。