

日本外科寶函 第11卷 第5號

ARCHIV FÜR JAPANISCHE CHIRURGIE

XI. BAND, V. HEFT

原 著

實扶的里_Lアナトキシ_Nノ含有スル_Lイムペ
デン_Nヲ破却スルニ必要ナル好適煮沸時間

京都帝國大學醫學部外科學教室(鳥湯教授指導)

大學院學生 醫學士 石 原 象 一

Feststellung der optimalen Abkochungszeit des Diphtherie-
anatoxins zur totalen Inaktivierung des darin enthaltenen
Impedins und somit zur Regenerierung der dadurch
paralysierten Antigenavidität des
originalen Anatoxins

Von

Dr. Z. Ishihara

[Aus der I. Kais. Chir. Universitätsklinik **Kyoto** (Prof. Dr. **R. Torikata**.)]

Versuchsordnung

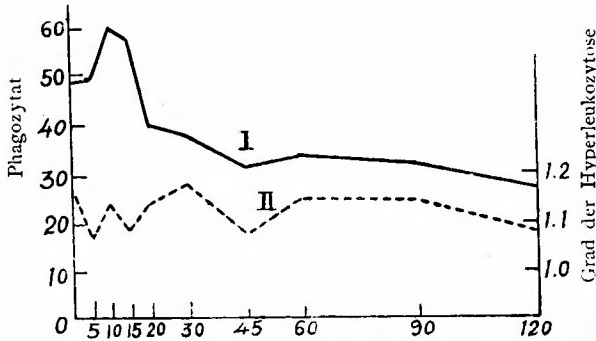
Das in der I. Mitteilung erwähnte Diphtherieanatoxin wurde in einem bei 100°C siedenden Wasserbade 5, 10, 20, 30, ... 120 Minuten lang abgekocht. Die verschieden lange Zeit der Siedehitze ausgesetzten Präparate werden mit der Abkürzung AtxK5' ... AtxK120' bezeichnet.

Da wir uns in der I. Mitteilung davon unterrichtet waren, dass die optimale Testdosis des ungekochten Anatoxins für die maximale Antigenavidität 1,0 ccm betrug, so haben wir die die normale Phagozytose von Staphylokokken fördernde Wirkung von AtxK5' ... AtxK120' bei dieser Dosis (1,0 ccm) miteinander verglichen.

Versuchsergebnisse

Die Ergebnisse der Versuche gehen aus den Kurven in Fig. 1 deutlich hervor:

Fig. 1.



Das Verhalten der Toxizität (Grad der Hyperleukozytose) und der Antigenavidität (Phagozytat) des Diphtherieanatoxins zu der Abkochungszeit bei 100°C
 I=Schwankung des Phagozytats, d. h. die der Antigenavidität.
 II=Schwankung der Leukozytenzahl im Blute=Zeichen der Toxizität.

Zusammenfassung

1) Durch die Abkochung des Anatoxins war ihre Toxizität, die sich bei der Testdosis von 1,0 ccm in der Schwankung der Leukozytenzahl im Blute dokumentiert, nicht merklich abgeschwächt worden (vgl. die I. Mitteilung).

2) *Trotzdem wurde die Antigenavidität des Anatoxins, die durch seine die normale Phagozytose der Staphylokokken fördernde Wirkung repräsentiert ist, mit der Abkochungszeit von 10—15 Minuten maximal.*

3) Die Toxizität und die Impedinwirkung eines antigenen Materials sind zwei von einander unabhängige Dinge, wie dies schon bei anderen Mikroben durch andere Autoren vielfach bewiesen worden ist.

4) *Bei Diphtherietoxin stellte sich die zur Vernichtung des Impedins nötige optimale Abkochungszeit als 10—15 Minuten heraus.*

5) Durch 10—15 Minuten dauernde Abkochung des Diphtherietoxins wird die paralyisierende Wirkung von Impedin total beseitigt, so dass die Antigenavidität in vollem Masse regeneriert wird.

6) *Auch bei Diphtherietoxin gilt die Impedintheorie und somit muss das Diphtherieanatoxin als Kokiogen verbessert werden, wenn das Toxin bei minimaler Toxizität maximale Antigenavidität aufweisen soll. Dies ist die Forderung der Impedintheorie auch für das Diphtherieanatoxin.*

(Autoreferat)

緒 言

余等ハ曩ニ實扶の里_Lアナトキシ_Nト其10分煮沸液トヲ海猿流血中正常喰菌作用促進能働力ヲ指標トシテ比較シタルニ、10分煮沸液ハ原液ヨリモ一面毒力小ニシテ他面抗原性能働力ハ大ナルコト、換言スレバ原_Lアナトキシ_Nハ_Lイムベ_Nデン_Nヲ含有スルモノナルコトヲ立證シタリ。

本論文ニ於テハ此ノ_Lイムベ_Nデン_Nノミガ完全ニ破却セラレ其ノ結果トシテ最大ノ抗原性能働力ヲ發輝スルニハ原_Lアナトキシ_Nヲ幾何時間煮沸スベキカヲ決定スル所アラントス。

檢 査 材 料

原_Lアナトキシ_N液及ビ種々ナル時間ノ煮沸液。第一報ニ記シタルト同一材料ヨリ出發シ、_Lアナトキシ_N原生液及ビ此ノ原_Lアナトキシ_Nヲ攝氏100度ニテ沸騰シツ、アル重湯煎ニテ5分、10分、15分、20分、30分、45分、60分、90分及ビ120分間煮沸シ種々ナル程度ニ煮沸セラレタル_Lアナトキシ_N即チ Atx K 5'………Atx K 120'ヲ得タリ。

喰菌作用檢査用標準菌液。黄色葡萄狀球菌ノ24時間寒天斜面培養ヨリ菌體ヲ0.85%食鹽水ノ適宜量ニ浮游セシメ攝氏60度ニテ30分間加熱殺菌シ、0.85%食鹽水ニテ3回洗滌シタル後0.5%ノ割合ニ石炭酸ヲ添加ス。該菌液ハ鳥瀉教授ノ沈澱計ニテ3度目即チ約0.0021_gノ菌體ヲ含有ス。

檢 査 方 法

凡テ勝呂譽氏ノ檢査方法ニ從ヘリ(東京醫學會雜誌, 第38卷, 第4號, 534頁)。但シ余等ノ用ヒシ抗原ノ用量ハ第一報ニ於テ證明シタルガ如ク原_Lアナトキシ_Nニ於テ最大抗原能働力ヲ發現シタル量即チ1.0_gニシテ注射セシ檢査用標準液量モ亦タ第一報ニ述ベタルト同一濃度ニテ一定不變量即チ1.0_gナリ。

檢 査 成 績

成績ハ第1—11表及ビ第1—2圖ニ示サレタリ。

第1表 Atx N 1.0_g 注射後ノ喰菌作用 (3頭平均)

檢 査	單位容積内 白血球 絶對數	白血球 増減率	白血球 200 箇中					
			淋 巴 球 及 其 他	貪 喰 性 白 血 球				
				%	%	喰	菌	子
注射前	5700	1.00	69.8	30.2	0	0	0	
菌 液 注 射 後 經 過	30	8266	1.45	63.5	36.5	11.0	47.3	58.3
	60	5916	1.03	39.6	60.4	11.0	61.0	72.0
	120	6400	1.12	27.5	72.5	10.7	45.0	55.7
	240	6250	1.09	39.5	60.5	7.3	33.7	41.0
	480	6466	1.13	50.4	49.6	3.3	12.0	15.3
平 均	6659	1.16	44.1	55.9	8.7	39.8	48.5	

第 2 表 Atx K 5' 1.0 兪 注射後ノ喰菌作用 (3頭平均)

檢 査	單位容積内 白血球 絶對數	白血球 増減率	白血球 200 箇中					
			淋巴球及 其他	貪喰性白血球				
			%	%	喰	菌	子	
注射前	5733	1.00	63.2	36.8	0	0	0	
菌時間 液注射 後經過 (分)	30	6666	1.16	59.8	40.2	14.7	63.0	77.7
	60	5650	0.98	48.2	51.8	11.3	52.3	63.7
	120	5882	1.02	36.8	60.2	12.0	42.3	54.3
	240	5866	1.02	36.0	64.0	5.0	34.3	39.3
	480	6866	1.15	52.5	47.5	2.3	6.3	8.7
平均	6186	1.07	47.2	52.8	9.1	39.7	48.8	

第 3 表 Atx K 10' 1.0 兪 注射後ノ喰菌作用 (3頭平均)

檢 査	單位容積内 白血球 絶對數	白血球 増減率	白血球 200 箇中					
			淋巴球及 其他	貪喰性白血球				
			%	%	喰	菌	子	
注射前	5600	1.00	57.8	42.2	0	0	0	
菌時間 液注射 後經過 (分)	30	6866	1.22	53.2	46.8	17.7	96.7	114.3
	60	5750	1.02	46.4	53.6	13.0	76.0	89.0
	120	6150	1.09	26.6	73.4	10.3	45.0	55.3
	240	6616	1.18	29.4	70.6	4.3	17.3	21.7
	480	6616	1.18	27.6	72.4	3.0	7.3	10.3
平均	6399	1.14	36.6	63.4	9.7	48.4	58.1	

第 4 表 Atx K 15' 1.0 兪 注射後ノ喰菌作用 (3頭平均)

檢 査	單位容積内 白血球 絶對數	白血球 増減率	白血球 200 箇中					
			淋巴球及 其他	貪喰性白血球				
			%	%	喰	菌	子	
注射前	5700	1.00	62.2	37.8	0	0	0	
菌時間 液注射 後經過 (分)	30	7316	1.28	65.8	34.2	16.0	82.7	98.7
	60	5616	0.98	36.6	63.4	13.3	67.0	80.3
	120	5950	1.04	31.0	69.0	12.3	44.3	56.7
	240	5850	1.01	36.5	63.5	8.3	26.3	34.7
	480	6500	1.14	49.0	51.0	4.0	14.0	18.0
平均	6246	1.09	43.8	56.2	10.8	46.9	57.7	

第 5 表 At x K 20' 1.0 兎 注射後ノ喰菌作用 (3頭平均)

檢 査	單位容積内 白血球 絕對數	白血球 増減率	白血球 200 箇中					
			淋巴球及ビ 其他	貪喰性白血球				
			%	%	喰	菌	子	
注射前	7783	1.00	57.6	42.4	0	0	0	
菌時間 注射後經過 (分)	30	8016	1.03	52.0	48.0	10.0	50.7	60.7
	60	10716	1.37	32.8	67.2	7.0	31.7	38.7
	120	10233	1.31	27.6	72.4	3.3	40.3	48.7
	240	8033	1.03	31.0	69.0	5.7	25.3	31.0
	480	7800	1.00	34.4	65.6	3.0	9.7	12.7
平均	8959	1.14	35.5	64.5	6.8	31.5	38.3	

第 6 表 At x K 30' 1.0 兎 注射後ノ喰菌作用 (3頭平均)

檢 査	單位容積内 白血球 絕對數	白血球 増減率	白血球 200 箇中					
			淋巴球及ビ 其他	貪喰性白血球				
			%	%	喰	菌	子	
注射前	8700	1.00	73.5	26.5	0	0	0	
菌時間 注射後經過 (分)	30	12250	1.40	57.4	4.26	6.3	32.0	38.3
	60	9856	1.13	40.8	59.2	7.0	37.3	44.3
	120	12016	1.38	44.0	56.0	9.3	45.0	54.3
	240	7100	0.81	30.2	69.8	7.7	34.0	41.7
	480	8883	1.21	35.6	64.4	1.3	3.0	4.3
平均	10019	1.18	41.6	58.4	6.3	39.2	36.5	

第 7 表 At x K 45' 1.0 兎 注射後ノ喰菌作用 (3頭平均)

檢 査	單位容積内 白血球 絕對數	白血球 増減率	白血球 200 箇中					
			淋巴球及ビ 其他	貪喰性白血球				
			%	%	喰	菌	子	
注射前	4350	1.00	61.8	38.2	0	0	0	
菌時間 注射後經過 (分)	30	5650	1.29	46.5	53.5	8.3	43.0	51.3
	60	5019	1.15	34.4	65.6	9.0	41.7	50.7
	120	4900	1.12	40.2	59.8	4.3	13.0	17.3
	240	3783	0.86	43.6	56.4	5.0	21.7	26.7
	480	4150	0.95	36.6	63.4	1.3	6.0	7.3
平均	4699	1.08	40.2	59.8	5.6	25.0	30.6	

第 8 表 At x K 60' 1.0 兎 注射後ノ喰菌作用 (3頭平均)

檢 査	單位容積內 白血球 絕對數	白血球 增減率	白血球 200 箇中					
			淋巴球及 其他	貪喰性白血球				
				%	%	喰	菌	子
注射前	6516	1.00	47.2	52.8	0	0	0	
菌時間 液間(分) 注射後經過	30	6316	0.95	54.8	45.2	7.3	33.7	41.0
	60	4983	0.76	59.4	40.6	7.0	21.0	28.0
	120	7550	1.16	31.4	68.6	8.7	31.7	40.3
	240	8766	1.34	35.5	64.5	6.3	27.7	34.0
	480	10250	1.57	36.4	63.6	4.3	15.8	19.3
平均	7575	1.15	43.5	56.5	6.7	25.9	32.6	

第 9 表 At x K 90' 1.0 兎 注射後ノ喰菌作用 (3頭平均)

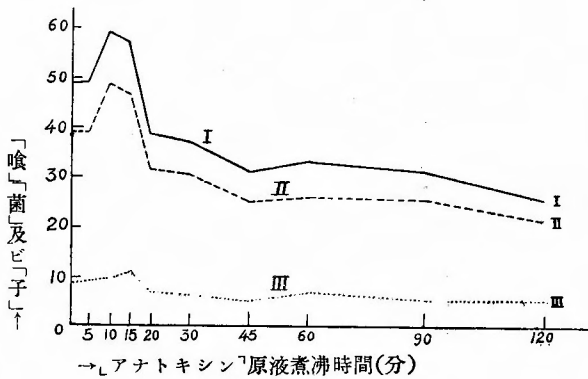
檢 査	單位容積內 白血球 絕對數	白血球 增減率	白血球 200 箇中					
			淋巴球及 其他	貪喰性白血球				
				%	%	喰	菌	子
注射前	5466	1.00	61.8	38.2	0	0	0	
菌時間 液間(分) 注射後經過	30	7200	1.31	55.8	44.2	5.0	26.0	31.0
	60	4400	0.80	39.8	60.2	11.3	49.3	60.6
	120	5900	1.07	31.4	68.6	7.3	29.0	36.3
	240	8416	1.53	27.5	72.5	2.7	12.7	15.3
	480	5660	1.03	44.4	55.6	2.3	6.3	8.7
平均	6315	1.14	39.8	60.2	5.7	24.7	30.4	

第 10 表 At x K 120' 1.0 兎 注射後ノ喰菌作用 (3頭平均)

檢 査	單位容積內 白血球 絕對數	白血球 增減率	白血球 200 箇中					
			淋巴球及 其他	貪喰性白血球				
				%	%	喰	菌	子
注射前	8950	1.00	76.0	24.0	0	0	0	
菌時間 液間(分) 注射後經過	30	9633	1.07	65.0	35.0	2.0	5.7	7.7
	60	12883	1.43	30.2	69.8	10.0	59.0	69.0
	120	10283	1.14	25.8	74.2	6.3	22.3	28.7
	240	8116	0.90	41.8	58.2	4.0	13.0	17.0
	480	7533	0.84	27.5	72.5	1.7	3.7	5.3
平均	9689	1.08	38.0	62.0	4.8	20.7	25.5	

第11表 原¹アナトキシシ¹煮沸時間ト喰菌作用トノ關係

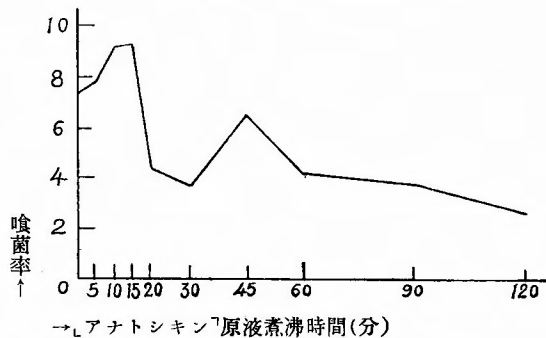
ア ¹ ナトキシシ ¹ 煮沸時間(分)	白血球數	白血球增加率	喰	菌	子	%	喰菌率	原表
0	6659	1.16	8.7	39.8	48.5	100	7.28	1
5	6186	1.07	9.1	39.7	48.8	100	7.88	2
10	6399	1.14	9.7	48.4	58.1	119	9.07	3
15	6246	1.09	10.8	46.9	57.7	118	9.23	4
20	8959	1.14	6.8	31.5	38.3	79	4.27	5
30	10019	1.18	6.3	30.2	36.5	75	3.64	6
45	4699	1.08	5.6	25.0	30.6	63	6.51	7
60	7575	1.15	6.7	25.9	32.6	67	4.29	8
90	6315	1.14	5.7	24.7	30.4	62	3.78	9
120	9689	1.08	4.8	20.7	25.5	52	2.63	10



第1圖 實扶的里¹ア¹ナトキシシ¹原液煮沸時間ト喰¹菌¹及ビ¹子¹トノ關係

I = 子¹ II = 喰¹
III = 菌¹

第2圖 實扶的里¹ア¹ナトキシシ¹原液ノ煮沸時間ト喰菌率トノ關係



所見考察

所見ハ第11表又ハ第1圖乃至第2圖ニヨツテ明白ナリ。即チ原¹ア¹ナトキシシ¹ニ攝氏100度ノ煮沸熱ヲ加フル時間ガ5分間ニテハ喰菌作用促進能働力ノ上ニ大ナル變化ナキモ10分間煮沸後ニ及ビテ急ニ上昇シタリ。是即チ此ノ煮沸時間ニテ¹イムペヂシ¹ハ急ニ破却セラル、ノ證ナリ。

煮沸時間が15分間ノ時ハ10分間ノ時ヨリモ現ニ喰燼作用ヲ營ミ居ル細胞ノ數ハ稍々小トナリタレドモ喰燼セラレタル菌體ノ數ハ10分煮沸ノ場合ヨリモ上昇セリ。故ニ結局全體トシテハ10分間煮沸ノ場合ト大差ナキ程ニ絶大ナル抗原能働力ヲ示シタリ。

然ルニ20分間煮沸後ニハ其ノ抗原能働力急劇ニ下降シ原_Lアナトキシン⁷ノソレヨリモ却ツテ低下セル値ヲ示シタリ。是レ20分煮沸ニテハ_Lイムベヂン⁷ノミナラズ本來ノ抗原性能働力モ亦タ相當度ニ破却セラル、コトヲ證スルモノナリ。

煮沸時間が20分以上45分ニ及ブ迄ハ抗原性能働力ノ減弱程度ハ明瞭ニシテ漸減セリ。然ルニ煮沸時間45分以上トナレバ 120分ニ及ビテモ抗原能働力ノ減弱シ行ク有様ハ非常ニ明白ニアラス。漸次僅微ノ減弱トナリ行クコトガ示サレタリ(第1—2圖参照)。

以上ノ所見ニヨリテ實扶_Lの里_Lアナトキシン⁷ニテハ其ノ_Lイムベヂン⁷ヲ破却シ而カモ其ノ本來ノ抗原能働力ヲ毀損スルコトナクシテ從ツテ最大ノ抗原性效果ヲ顯現セシメント欲スルニハ10分乃至15分ヲ以テ好適煮沸時間トナスコトヲ知ルベキナリ。

結 論

1) 實扶_Lの里_Lアナトキシン⁷モ亦タ他ノ_Lアナトキシン⁷類ノ如ク_Lイムベヂン⁷ヲ含有スルモノナリ。

2) 此ノ_Lイムベヂン⁷ヲ破却スル爲ノ必要ニシテ十分ナル(攝氏100度)煮沸時間ハ10分乃至15分ナリ。

3) 出發原實扶_Lの里_L毒素トコレヨリ得タル_Lアナトキシン⁷トハ同一程度ノ_Lイムベヂン⁷ヲ含有スルモノナリヤ否ヤノ疑問ハ別ニ研究ヲ待ツテ鮮明セラルベシ。

4) 實扶_Lの里_Lアナトキシン⁷モ亦タ_Lイムベヂン⁷學說ノ支配ノ下ニ屬スルモノナリ。從テ實用上ニモ亦タ_Lアナトキシン⁷ヨリモ煮_Lアナトキシン⁷ノ方ガ一面毒力小ニシテ他面免疫效果大ナルモノナリ。

主 要 文 献

- 1) Löwenstein, E., Ueber Immunisierung mit atoxische Toxinen. Dtsch. med. Wschr., 1921, Bd. 47, S. 833.
- 2) Derselbe, Toxin und Toxide. Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden. Berlin 1928, I. Aufl. Abt. XIII, Teil 2, Heft 7, S. 1031.
- 3) 目黒庸三郎, 「ヂフテリー」豫防接種ニ就テ。附「ヂフテリー」「フオルモワクテン」ノ免疫元的作用ニ就テ。日新醫學。昭和4年, 第19卷, 940頁。
- 4) 勝呂馨, 細菌純培養無菌體濾液煮沸時間ノ長短ガ當該細菌喰燼作用ニ及ボス影響。東京醫學會雜誌, 第38卷第4號, 534頁。
- 5) Torikata, R., Koktopiäzipitinogene und Koktoimmunogene. Bern. 1917.
- 6) Derselbe, Die Impedinerscheinung, Jena. 1930.