

經皮全身免疫ノ實驗的研究

第4報：軟膏ニ於ケル免疫元含量ノ決定ニ就テ

京都帝國大學醫學部外科學研究室(鳥瀉教授指導)

大學院學生 醫學士 小 津 茂

Experimentelle Erforschung über die Gewinnung allgemeiner aktiver Immunität mittels der kutanen Applikation der Immunogene als Salben

IV. Mitteilung: Ueber den optimalen Gehalt der Salben an Kocktigen zur maximalen Erzeugung des spezifischen Opsonins im Blutserum

Von

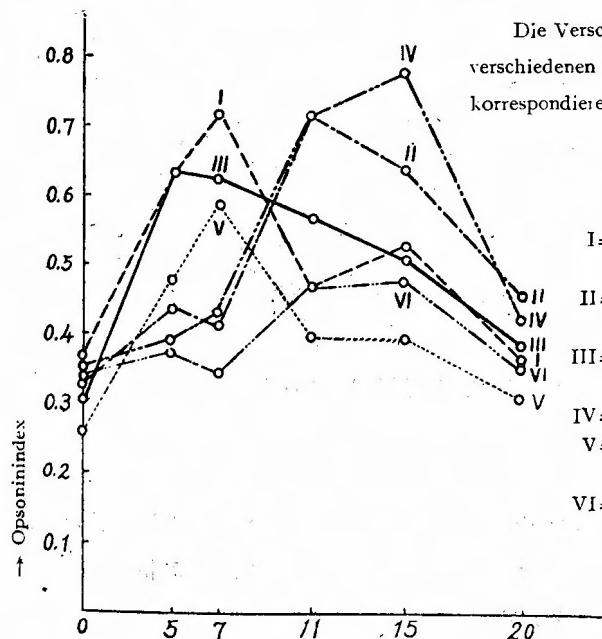
Dr. S. Ozu

(Aus dem Laboratorium der Kais. Chir. Universitätsklinik Kyoto
(Prof. Dr. R. Torikata))

Wir haben den Gehalt des Kocktogens in Salben 3 fach geändert und die dadurch herbeigeführte Erzeugung des spezifischen Opsonins im zirkulierenden Blute normaler Kaninchen verfolgt, um sie mit derjenigen bei der intravenösen Einverleibung korrespondierender Kocktigenmengen nebeneinander zu stellen. Die Ergebnisse der Versuche sind in folgender Abbildung kurvenmässig wiedergegeben.

Fig. 1

Die Verschiebung des Opsoningehaltes im Blutserum bei verschiedenen Kocktigenmengen in den Salben sowie bei der korrespondierenden i. v. Einspritzung.



- I=Das zu 1/2 einengte 2mg-Kocktigen(1,25ccm) i. v. eingespritzt
- II=Do. als Salbe auf ein Hautlokal (4,5cm²) 24 St. lang appliziert
- III=Das originale 2mg-Kocktigen (1,25ccm) i. v. eingespritzt
- IV=Do. als Salbe, wie bei II, appliziert
- V=Das 2 fach verdünnte 2mg-Kocktigen i. v. eingespritzt
- VI=Do. als Salbe, wie bei II bzw. IV, appliziert

→ Die Zahl der nach der immunisatorischen Vorbehandlung abgelaufenen Tage

Zusammenfassung

1. Die grösste Opsoninmenge ist dadurch erzielt worden, dass die Salbe mit dem zmg-Koktigen (in der Menge von 1,25 ccm) 24 Stunden lang auf einem beliebigen Lokal der depilierten Haut (Kaninchen) appliziert wird.

2. Die i. v. Injektion des entsprechenden Koktigen ergab zwar eine zeitlich raschere Zunahme des Opsonins im Blute, aber eine weit kleinere maximale Opsoninmenge als bei der kutanen Salbenimmunisierung.

3. Bei einer grösseren oder kleineren Koktigenmenge als die oben erwähnte war die Erzeugung des maximalen Opsonins eine deutlich kleinere.

4. Auch bei der kutanen Immunisierung ist eine bestimmte optimale Antigenmenge für die Gewinnung der maximalen Immunität bestimmt. (Autoreferat)

緒言—實驗ノ目的

第1報ヨリ第3報マデニ行ツタ實驗ハ何レモ烏瀉教授ノ沈澱計3度目ノ菌浮游液(即チ, 1坵中ノ含菌量0.0021坵)ヨリ作ラレタ黄色葡萄狀球菌_Lコクチゲン⁷ヲ使用シタ結果デアルガ, 本實驗ニ於テハコノ3度目_Lコクチゲン⁷ヲ基礎トシテ, 之レヲ2倍量ニ稀釋シタ場合, 及ビ1/2倍量ニ濃縮シタ場合ニハ, 靜脈内注射トカ軟膏皮膚貼用トカニヨル全身免疫ガ如何ナル關係ニ消長スルカラ實驗結果ニ匡サントスルモノデアル。

本問題ガ解決サレルト, 軟膏ヲ皮膚ニ貼用シテ最大ノ全身免疫ヲ獲得スルニハ, 幾何量ノ免疫元ヲ含有シテキル軟膏ヲ貼用シタラヨイカガ決定サレル譯デアル。又タ靜脈内注射デモ最大免疫發生ニ好適ナル免疫元量ガ判明スル譯デアル。

實驗材料

1) 實驗動物

體重2疋内外ノ白色雄家兔デ個々別々ニ飼養シタ。

2) 免疫元

a) 3度目黄色葡萄狀球菌_Lコクチゲン⁷

第1報所載ノ方法ニ依ツテ, 3度目ノ_Lコクチゲン⁷約200坵ヲ作ツタ。

b) 稀釋_Lコクチゲン⁷

3度目_Lコクチゲン⁷ (a)ヲ25坵採リ, 之レニ0.5%石炭酸加0.85%食鹽水25坵ヲ加ヘテ2倍量ニ稀釋シタモノ。

c) 濃縮_Lコクチゲン⁷

3度目_Lコクチゲン⁷ (a)ヲ_Lコクチゲン⁷製造用ノ_Lコルベン⁷ニ100坵容レテ密栓シ, 側口ヲ陰壓裝置ニ連結シテ吸引シツツ, 約35°Cニ保タレタ箱ノ中ニ放置スルト, 約8時間デ50坵, 即チ1/2量トナリ, 1/2倍ニ濃縮サレタ_Lコクチゲン⁷ヲ得。

d) _Lコクチゲン⁷軟膏

以上ノ「コクチゲン」(a), (b)及ビ(c)ノ3種ヲ以ツテ第1報記載ノ方法ニヨツテ調製シタ。該軟膏ハ何レモ2瓦中ニ「コクチゲン」1.25耗ヲ含有シテキル譯デアル(濃縮「コクチゲン」デハNaClノ含量モ2倍ニナツテキルガ,本研究デハ此ノ事實ハ免疫獲得上ニ影響ナキモノト見做シテ置ク)。

3) 可 檢 血 清

家兎ノ耳翼靜脈ヨリ毎實驗採血シ,遠心シテ血清ヲ分離シタ。

4) 白 血 球 液

體重約400瓦ノ「モルモツト」ノ腹腔内ヘ中性肉汁10耗ヲ注入シ,4—5時間後腹腔穿刺ヲナシ,流出スル腹水ヲ洗滌スルコトナク,其儘直チニ使用シタ。

5) 喰菌作用検査用菌液

第1報所載ノ方法ニヨリ3度目ノ菌液ヲ作り,コレヲ更ニ6倍ニ稀釋シタモノヲ用ヒタ。

實 驗 方 法

實驗家兎ヲ3群ニ分チ,各群6頭宛トナシ,各群ニ於テ同一ノ操作ヲ行ツタ。即チ,3度目「コクチゲン」,2倍稀釋「コクチゲン」,1/2倍濃縮「コクチゲン」及ビ各々ヨリ調製シタ3種類ノ「コクチゲン」軟膏ヲソレゾレ6頭ノ家兎ニ向ツテ,靜脈内注射,或ハ皮膚貼用ヲ爲シテ免疫處置ヲ施行シタ。ソシテ爾後20日間ニ亙ツテ血中「オプソニン」ノ推移ヲ大略ライト氏法ニヨツテ検査シタ(第1報参照)。

實 驗 成 績

實驗結果ハ第1表カラ第6表マデニ掲ゲラレタ通りデアル(3頭平均)。

第 1 表 免疫處置前血清ノ催喰菌作用

「コクチゲン」濃度	可 檢 血 清	喰	菌	子	「オプソニン」 係數
3度目「コクチゲン」 1/2倍濃縮	靜脈内注射	7.2	9.5	16.7	0.36
	軟膏貼用	6.5	9.5	16.0	0.34
3度目「コクチゲン」	靜脈内注射	6.2	7.8	14.0	0.30
	軟膏貼用	7.2	9.3	16.5	0.35
3度目「コクチゲン」 2倍稀釋	靜脈内注射	5.8	6.7	12.5	0.26
	軟膏貼用	6.8	8.5	15.3	0.33
0.85% 食 鹽 水		20.3	26.5	46.8	1.00

第 2 表 免疫處置後第5日目血清ノ催喰菌作用

「コクチゲン」濃度	可檢血清	喰	菌	子	「オプソニン」 係數
3度目「コクチゲン」 1/2 倍濃縮	靜脈内注射	9.8	12.0	21.8	0.63
	軟膏貼用	6.2	8.7	14.9	0.43
3度目「コクチゲン」	靜脈内注射	10.0	11.8	21.8	0.63
	軟膏貼用	6.3	7.3	13.6	0.39
3度目「コクチゲン」 2倍稀釋	靜脈内注射	7.8	9.0	16.8	0.48
	軟膏貼用	6.0	7.2	13.2	0.38
0.85% 食鹽水		14.7	20.0	34.7	1.00

第 3 表 免疫處置後第7日目血清ノ催喰菌作用

「コクチゲン」濃度	可檢血清	喰	菌	子	「オプソニン」 係數
3度目「コクチゲン」 1/2 倍濃縮	靜脈内注射	13.2	17.0	30.2	0.71
	軟膏貼用	7.5	10.2	17.7	0.41
3度目「コクチゲン」	靜脈内注射	12.0	14.3	26.3	0.62
	軟膏貼用	7.8	10.2	18.0	0.42
3度目「コクチゲン」 2倍稀釋	靜脈内注射	11.0	14.0	25.0	0.59
	軟膏貼用	6.7	7.8	14.5	0.34
0.85% 食鹽水		18.5	24.2	42.7	1.00

第 4 表 免疫處置後第11日目血清ノ催喰菌作用

「コクチゲン」濃度	可檢血清	喰	菌	子	「オプソニン」 係數
3度目「コクチゲン」 1/2 倍濃縮	靜脈内注射	8.0	9.7	17.7	0.46
	軟膏貼用	12.7	14.8	27.5	0.71
3度目「コクチゲン」	靜脈内注射	9.7	12.2	21.9	0.57
	軟膏貼用	12.2	15.3	27.5	0.71
3度目「コクチゲン」 2倍稀釋	靜脈内注射	6.7	8.2	14.9	0.39
	軟膏貼用	8.5	9.3	17.8	0.46
0.85% 食鹽水		16.8	21.7	38.5	1.00

(3) 第 5 表 免疫處置後第15日目血清ノ催喰菌作用

Lコクチゲン ¹ 濃度	可檢血清	喰	菌	子	Lオブソニン ¹ 係數
3度目Lコクチゲン ¹ 1/2 倍濃縮	靜脈内注射	7.7	10.0	17.7	0.52
	軟膏貼用	9.7	11.7	21.4	0.63
3度目Lコクチゲン ¹	靜脈内注射	8.0	9.3	17.3	0.51
	軟膏貼用	11.5	14.8	26.3	0.78
3度目Lコクチゲン ¹ 2倍稀釋	靜脈内注射	6.3	6.8	13.1	0.39
	軟膏貼用	7.8	8.3	16.6	0.48
0.85% 食鹽水		15.0	18.8	33.8	1.00

第 6 表 免疫處置後第20日目血清ノ催喰菌作用

Lコクチゲン ¹ 濃度	可檢血清	喰	菌	子	Lオブソニン ¹ 係數
3度目Lコクチゲン ¹ 1/2 倍濃縮	靜脈内注射	6.0	7.2	13.2	0.37
	軟膏貼用	7.2	9.5	16.7	0.46
3度目Lコクチゲン ¹	靜脈内注射	6.0	7.5	13.5	0.38
	軟膏貼用	6.8	8.3	15.1	0.42
3度目Lコクチゲン ¹ 2倍稀釋	靜脈内注射	5.2	6.0	11.2	0.31
	軟膏貼用	5.3	7.2	12.5	0.35
0.85% 食鹽水		15.7	20.3	36.0	1.00

所見概括及ビ考察

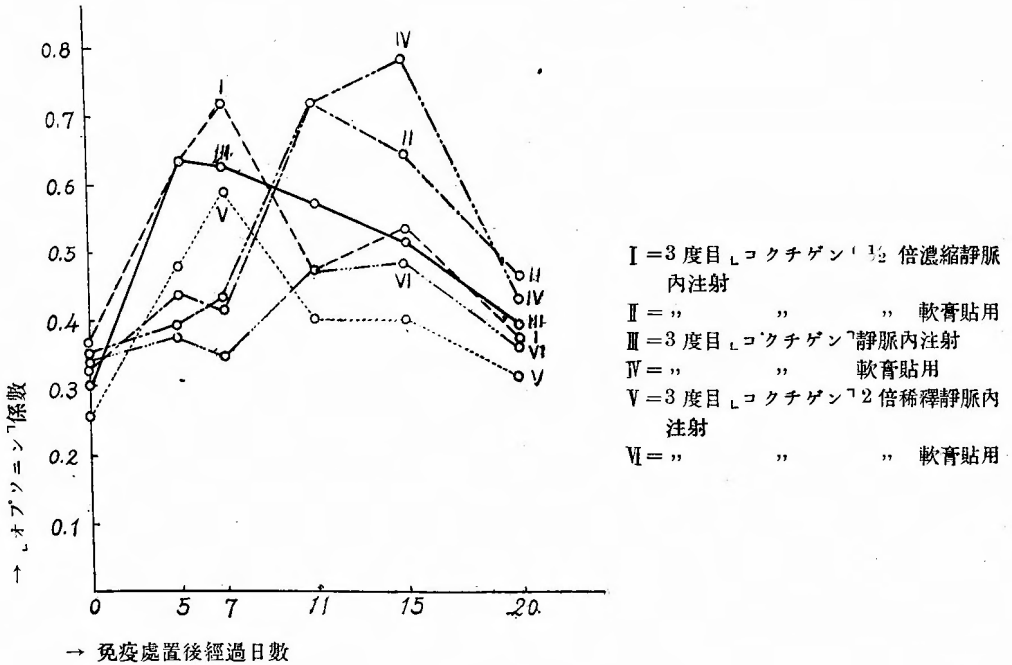
以上個々ノ實驗結果ハ第7表及ビ第1圖ニ一括サレテキル。

第 7 表 各免疫處置及ビ免疫元量ニ依ル血中產生Lオブソニン¹ノ消長(3頭平均)

Lコクチゲン ¹ 濃度	可檢血清	前	5日	7日	11日	15日	20日
3度目Lコクチゲン ¹ 1/2倍濃縮	靜脈内注射	0.36	0.63	0.71(197)	0.46	0.52	0.37
	軟膏貼用	0.34	0.43	0.41	0.71(208)	0.63	0.46
3度目Lコクチゲン ¹	靜脈内注射	0.30	0.63(210)	0.62	0.57	0.51	0.38
	軟膏貼用	0.35	0.39	0.42	0.71	0.78(223)	0.42
3度目Lコクチゲン ¹ 2倍稀釋	靜脈内注射	0.26	0.48	0.59(227)	0.39	0.39	0.31
	軟膏貼用	0.33	0.38	0.34	0.46	0.48(145)	0.35

()内ハ最大產生Lオブソニン¹ノ前血清ニ對シテハル%

第1圖 各免疫處置ニヨル血中「オプソニン」ノ推移(第7表參照)



I = 3 度目「コクチゲン」1/10 倍濃縮靜脈内注射
 II = " " " 軟膏貼用
 III = 3 度目「コクチゲン」靜脈内注射
 IV = " " " 軟膏貼用
 V = 3 度目「コクチゲン」2 倍稀釋靜脈内注射
 VI = " " " 軟膏貼用

此ノ所見デ次ノ事項ガ認識サレル。

I 免疫元ノ注射ト其ノ軟膏ノ外用トニ於ケル健常家兎ノ全身反應ノ優劣

健常家兎 = 免疫元ヲ、或ハ靜脈内ヘ注射シ、或ハ軟膏トナシテ24時間 4.5 糶平方ノ表皮面ヘ貼用スルト、日ヲ經テ血清中ニ特殊「オプソニン」ガ出現スル。此ノ事實ハ從來一般ノ解釋ニ從ヘバ家兎ガ特殊性全身免疫ヲ獲得シタコトヲ意味スルモノデアルトサレテ居ルガ、併シソレガ果シテ眞デアルカ否カラ知ラス。ソレデ茲デハ此ノ所見ヲ以テ單ニ「健常動物ノ免疫元ニ對スル全身反應」トシテ理解スル。ソレデ下ノ如キ考察ガ下サレル。

1) 免疫元ニ對スル全身反應ハ免疫元ヲ靜脈内ヘ注射サレタ方ガ、ソレヲ軟膏ト爲シテ貼用サレタ方ヨリモ早期ニ發現スル。即チ靜脈内注射デハ第5日目或ハヨリ屢々第7日目ニ於テ最大ノ反應(最大「オプソニン」)ガ出現スル。之ニ反シ軟膏貼用デハ最大ノ反應ガ第11日目或ハヨリ屢々第15日目ニ於テ出現スル。即チ前者ヨリモ6-8日間遲延スルノデアアル。

2) 以上ノ事實ハ何ヲ意味スルカ、思フニ軟膏貼用デハ24時間ニ於テ局部所皮内ヘ吸收サレタ免疫元ガ11-15日ノ日數ヲ費シテ始メテ元形質内デ大部分消化サレテ、ソレデ最大ノ「オプソニン」ガ其ノ局所カラ血中ヘ集合スルニ至ツタモノデアラウ。之ニ反シ免疫元ノ靜脈内注射デハ健常状態ニテ細胞中ニ既存スル「オプソニン」ガ一時ニ動員サレテ血中ヘ現ハレ來ツタモノガ多キニ居ルデアラウ。

3) 此ノ如ク免疫的處理ニ對スル全身反應ハ軟膏動物ノ方ガ遲鈍ノ様デアルガ、併シ發現シ來ツタ最大反應ソレ自身ヲ比較スルト軟膏動物デハ靜脈内注射動物ヨリモ (0.625 兊以外ノ) 凡テノ用量 (1.25 及ビ 2.5 兊) ニ於テ相一致シテ何レモ大デアツタ。

4) 此ノ事實ハ何ヲ意味スルカ。軟膏中ノ免疫元ノ含量ガ 1/2 = 減ジタ場合ニハ皮膚ヘノ吸收ハ不十分デアルガ、1.25 或ハ 2.5 兊ノ含量デハ、ソレダケガ靜脈内ヘ直接注射サレタ場合ヨリモ却テ強大ナル全身反應ヲ來スモノデアツテ、ツマリ軟膏免疫方法ガ靜脈内注射方法ヨリモ却テ優秀ナルコトヲ示スモノデアル。

此際軟膏中カラ皮膚ガ攝取シタ免疫元ガ其儘直接ニ全身血行中ヘ移行シテ以テ此ノ如キ全身反應ヲ惹起シタモノデハナイト言フ事ハ、24時間貼用直後ニ局所皮膚ヲ切除サレタ動物デハ此ノ如キ全身反應ガ起ラヌコトノ橋本氏ノ證明デ首肯サレル所デアル。

5) 以上ノ如ク免疫的處理後ニ血中ニ現ハレ來ツタ反應(本研究ニテハ特殊「オプソニン」ノ出現)ノ大小ハ其儘直ニ獲得サレタル全身免疫ノ大小ヲ意味スルモノデアルカ否カハ別ノ實驗デ吟味サレネバナラス。

II 最大ノ全身反應ト免疫元量トノ關係

1) 第7表ノ所見ニヨレバ免疫元ノ靜脈内注射デモ、或ハ軟膏トシテ表皮ヘノ貼附デモ、免疫元ヲ増量シサヘスレバ多々益々全身反應ガ強大トナルモノデアルト考ヘルノハ誤リデ、必ずシモ然リトハ限ラナイ。

2) 靜脈内注射デハ免疫元用量ガ 0.625 兊、1.25 兊、2.5 兊ト増量サレタノニ連行シテ、全身性ノ最大反應程度モ亦タ 0.59, 0.63, 0.71 ト漸次大トナツタ。而シテ免疫元量ヲモツト増加スルナラバ、全身反應モ亦タモツト強大トナルガ如キ趨勢ヲ示シテキル。

3) 之ニ反シテ軟膏貼用デハ免疫元ノ含量ヲ上記ノ如クニ遞加スルコトニヨリテ、全身反應ハ 0.48 カラ 0.78 = 上リ、次ニ 0.71 = 低下シタ。コレハ免疫元含量ガ 1.25 ノ時ニ全身反應ガ最大 (0.78) デ、ソレ以上ニ免疫元ヲ増加 (2.5 兊ニ) スルト全身反應ハ却テ小トナルコトヲ示シタモノデアル。

4) 以上ノ結果ニヨルト全身反應ノ惹起ニ對シテ、軟膏貼附方法ノ作用域ガ靜脈内注射方法ヨリモ隘小デアルガ如クデアル。此點ハ今後ノ研究ヲ要スルコトデアル。

III 免疫操作後20日目ニ於ケル血中特殊「オプソニン」量ニ就テ

1) 靜脈内注射法デハ全身反應(血中「オプソニン」出現)ハ早期ニ起ツテ、且ツ早期ニ消失シ、處置後20日目ニハ注射前ノ正常値ニ近ク復歸シタ。

然ルニ軟膏貼用デハ全身反應ガ5—8日間後レテ最大ニ達シタ代リニ、處置後20日ニテモマダ相當ニ明白ナル特殊「オプソニン」ノ増強ヲ示シテキル。

2) 以上ノ事實ハ何ヲ意味スルカ。是ハ多分免疫元ノ血中輸送デハ其ノ一部ハ免疫元トシテノ役ヲ爲サズシテ早期ニ體外ヘ排出サレルケレドモ、軟膏トシテ表皮ニ貼用サレタ場合ニハ

免疫元ヲ吸收スル量モ小デアラウガ、ソレガ長ク皮膚細胞元形質内ニ滞留シテ漸次ニ消化サレルノデ比較的長イ時日ノ間血中ニ特殊_Lオプソニン¹ヲ送り出スカラデアラウ。

3) 以上ノ事實ヲ考察シテモ亦タ、眞ニ自働免疫ヲ獲得セシムルニハ免疫元ノ靜脈内注射ヨリモ、免疫元軟膏ノ貼用ノ方ガ優ツテ居ルト考ヘラレルノデアル。但シ前ニモ述べタ様ニ、『軟膏貼用ニヨル全身反應域ハ靜脈内注射ヨリモ小デアルガ如クデアル』カラ、軟膏貼用ニヨリテ達成シ得ル最大全身免疫程度ハ靜脈内注射法ニヨリテ達成シ得ル最大免疫程度ヨリモ或ハ小デアルカモ知レス。

結 論

1) 3度目_Lコクチゲン¹ノ1/2倍濃縮ノモノハ、靜脈内ニ注射シテモ、之レヲ軟膏ト爲シテ24時間皮膚ノ一局所ニ貼附シテ置イテモ、免疫効果ハ何レモ略ボ同一デアル。

2) 3度目_Lコクチゲン¹ハ軟膏トシテ皮膚ニ貼用シタ方ガ、靜脈内注射ヲシタモノヨリモ高度ノ全身免疫ヲ獲得スルコトガ出來ル。

3) 3度目_Lコクチゲン¹ノ2倍稀釋ノモノハ、靜脈内注射ニヨル方ガ、之レヲ軟膏トシテ皮膚ニ貼用スルヨリモ高度ノ全身免疫ガ獲得セラレル。

4) 何レノ場合モ靜脈内注射デハ、血中_Lオプソニン¹ノ増加ハ迅速デアルガ、軟膏貼用ノ場合ハ徐々デアツタ。併シ發生シタ最大免疫程度(_Lオプソニン¹量)ハ軟膏免疫ノ方ガ靜脈内免疫ヨリモ稍々大デアツタ。(第7表、第1圖)。

(5) 最大經皮全身免疫ヲ獲得スルタメニハ、3度目_Lコクチゲン¹軟膏ヲ使用スベキデアツテ、該軟膏ノ含有免疫元量ヲ倍加シテモ半減シテモ、免疫効果ハ減少スル。