

結核菌各種成劑ニ於ケル「イムペヂン」ノ研究

第3報 東京私立北里傳染病研究所製舊「ツベル
クリン」含有「イムペヂン」ニ依ル
抗大腸菌特殊免疫凝集素產生ノ阻害

西宮市勝呂病院研究室(鳥鴻教授指導)

辰 井 正 平

Ueber das Impedin in den antigenen Präparaten aus Tuberkelbazillen.

III. Mitteilung: Nachweis des im Kitasato-Alt tuberkulin enthaltenen Impedins bei der immunisatorischen Auslösung des Anticoliagglutinins.

Von

Dr. Sh. Tatsui.

(Aus dem Laboratorium des Suguro-Hospitals in Nishinomiya

(Leiter: Prof. Dr. R. Torikata))

Wir haben nachgewiesen, dass 1. das *Kitasato*-Alt tuberkulin das Impedin, das sich in der Verhinderung der normalen Phagozytose von Staphylokokken dokumentiert, enthält (I. Mitteilung), dass 2. die zur völligen Vernichtung des Impedins erforderliche Abkochungszeit des originalen Alt tuberkulins eine halbe Stunde ist (II. Mitteilung).

Nun soll geprüft werden, ob die Impedinwirkung auch bei der immunisatorischen Auslösung des gegen *Bact. coli commune* gerichteten Agglutinins im zirkulierenden Blute nachweisbar ist.

Zu diesem Zwecke haben wir eine bestimmte Vakzine von *Bacterium coli commune* in der Menge von 0,5 ccm mit 0,5 ccm oder 1,0 ccm des originalen Alt tuberkulins bzw. des bei 100°C 30 Min. lang abgekochten oder 0,85 proz. NaCl-Lösung vermischt in die Ohrvene normaler erwachsener Kaninchen mit einem Körpergewicht von ca. 2 kg eingespritzt und dann die Verschiebung des im zirkulierenden Blute nachweisbaren Titors des Anticoliagglutinins verfolgt.

Die Ergebnisse der Versuche gehen als Mittelwerte von je 3 eine Gruppe bildenden Tiere aus folgenden Tabellen hervor:

Tabelle 1.

Die Verschiebung des Agglutinititers im Blute sowie die des Körpergewichts der Versuchstiere mit 0,5 ccm Vakzine der Colibakterien, vermischt mit 0,5 ccm des Tuberkulins.

Die Vakzine war vermischt mit	vor der Immunisierung	Titer des Anticoliagglutinins nach der Immunisierung; u. z. am					Mittelwert	Zunahme des Körpergewichts am 25. Tage
		5. Tage	9. Tage	14. Tage	20. Tage	25. Tage		
dem originalen Tuberkulin	70	333	700	433	239	133	373 ²⁾	16 ¹⁾ g
dem abgekochten Tuberkulin	47	567	1000	700	467	333	613 ²⁾	54 ¹⁾ g
0,85 proz. NaCl-Lösung	80	469	767	400	200	167	400 ²⁾	54 ¹⁾ g

- 1) Dies lehrt uns, dass die Toxizität des originalen Alttuberkulins gegenüber dem abgekochten eine entschieden grössere war.
- 2) Aus dieser Nebeneinanderstellung geht hervor, dass die Auslösung des Agglutinins durch eine Vakzine in Gegenwart des originalen (impedinhaltigen) Tuberkulins *subnorm gehemmt*, während dies in der des abgekochten (impedinfreien) *über die Norm gesteigert* wird.

Tabelle 2.

Die Verschiebung des Agglutinititers im Blute sowie die des Körpergewichts der Versuchstiere mit 0,5 ccm Vakzine, vermischt mit 1,0 ccm des Tuberkulins.

Die Vakzine war Vermischt mit	vor der Immunisierung	Titer des Anticoliagglutinins nach der Immunisierung; u. z. am					Mittelwert	Zunahme des Körpergewichts am 25. Tage
		5. Tage	9. Tage	14. Tage	20. Tage	25. Tage		
dem originalen Tuberkulin	69	667	1000	567	267	167	533	20 ¹⁾ g
dem abgekochten Tuberkulin	60	2000	2000	1267	467	367	1220	72 g
0,85 proz. NaCl-Lösung	70	600	866	567	333	133	499	50 g

- 1) Daraus ist ersichtlich, dass die Tiere, die das originale Alttuberkulin erhalten hatten, die minimalste Zunahme des Körpergewichts aufwiesen; d. h. an der grössten Toxizität gelitten haben.

Zusammenfassung.

1) Bei der Tiergruppe mit 0,5 ccm des originalen (impedinhaltigen) Tuberkulins konnte die hemmende Wirkung des Impedins insofern zum Ausdruck gebracht werden, als die Auslösung des Agglutinins im Blute *subnorm* gehemmt wird.

2) Sowohl bei der Testdosis von 0,5 ccm als auch bei der von 1,0 ccm ergaben die Tiere mit dem unerhitzten (also impedinhaltigen) Alttuberkulin einen beträchtlich geringeren Agglutinititer als die mit dem korrespondierenden abgekochten (also impedinlosen). Der grösste Titer betrug nämlich 1000 bzw. 2000 bei Tieren mit dem impedinlosen und 700 bzw. 1000 bei denen mit dem impedinhaltigen Alttuberkulin; u. zwar je nach der Testdosis von 0,5 bzw. 1,0 ccm.

3) Auf der anderen Seite ergaben die Tiere mit dem impedinhaltigen Tuberkulin am Ende des 25. Tages nach der i. v. Injektion der Antigene eine Zunahme an Körpergewicht

von 16 bzw. 20g, während dies bei den Tieren mit dem impedinlosen Tuberkulin 54 bzw. 72 g betrug; u. z. je nach der Testdosis von 0,5 bzw. 1,0 ccm. Daraus geht unzweideutig hervor, dass das originale impedinhaltige Tuberkulin viel mehr giftiger wirkt als das abgekochte impedinlose.

4) Somit ist der Nachweis erbracht worden, dass das originale Tuberkulin durch h lbständige Abkochung (d. h. durch Vernichtung des Impedins) so umgeändert wird, dass das Präparat eineseits an der Toxizität merklich vermindert, andererseits an der Antigenavidität beträchtlich gesteigert wird. (Autoreferat)

1 緒 言

余等ハ曩ニ海溟流血中ニ行ハル、自然喰菌作用ヲ指標トナシテ、舊_Lツベルクリン¹(北研)中_Lイムベヂン¹ノ含有セラル、コトヲ證明シ(第1報)、コ_Lイムベヂン¹ハ當該北研_Lツベルクリン¹ヲ攝氏100度ニ沸騰シツ、アル重湯煎中ニテ、30分間煮沸スルコトニヨリテ完全ニ破却セラル、コトヲ認メタリ(第2報)。

今ヤ更ニ一步進メテ北研_Lツベルクリン¹ハ單ニ任意ノ細菌ノ正常的喰菌作用ノミヲ阻止スルモノナルカ、或ハ血中ニ於ケル特殊抗體ノ產生、例ヘバ抗大腸菌特殊凝集素ノ產生ニ當リテモ阻止的ニ作用ヲ有スルヤ否ヤヲ吟味セントス。

2 實 驗 材 料

1 原(生)_Lツベルクリン¹並ニ、30分煮_Lツベルクリン¹。東京市私立北里傳染病研究所製舊_Lツベルクリン¹10倍稀釋液、昭和7年4月30日製造(No. 81)。

A. 原(生)抗原液。舊_Lツベルクリン¹10倍稀釋液其儘ノモノ。

B. 煮抗原液。舊_Lツベルクリン¹10倍稀釋液ヲ攝氏100度ニテ沸騰シツ、アル重湯煎中ニテ30分間煮沸シタルモノ。

2 大腸菌_Lワクチン¹。大阪血清藥院製昭和7年10月4日第38號。

3 凝集反應檢査用大腸菌浮游液。大阪細菌研究所ヨリ贈與セラレタル大腸菌ヲ一晝夜寒天斜面上ニ培養シ、翌日菌苔ノミヲ搔キ取り滅菌セル0.85%ノ食鹽水中ニ浮游センメ、充分振盪シ攝氏60度ニテ30分間加熱シ、0.3%ノ割合ニ石炭酸ヲ加ヘタル後、氷室ニ貯ヘ用ニ臨ミ取り出セリ。而シテ實驗ノ都度充分ニ振盪シテ用ニ供シタリ。本浮游液1.0坵中ノ菌量ハ鳥瀉教授沈澱計ニテ0.0035坵ナリキ。

4 對照用生理的食鹽水。0.85%食鹽水ニ0.3%ノ割合ニ石炭酸ヲ添加シタルモノヲ使用シタリ。

5 實驗動物 體重2坵内外ノ白色雄家兔ニテ其ノ正常血清ノ前記大腸菌浮游液ニ對スル凝集價ノ80倍以下ノモノヲ使用セリ。

3 實 驗 方 法

各群3頭宛ヨリナル3群ノ家兔ニ對シ2段ノ實驗ガ遂行セラレタリ。即チ

第8表 (家兎 No. 11) 生理的食鹽水0.5兎加大腸菌Lワクチン¹1.0兎注射前後=於ケル血中凝集素

血清稀釋度(倍数)		20	40	50	80	100	200	400	500	800	1000	2000	4000	5000	對照0.85% 食鹽水	體重 (五)
血清絕對使用量 (兎)		.05	.025	.02	.0125	.01	.005	.0025	.002	.00125	.001	.0005	.00025	.0002	0	
菌浮游液 (兎)		1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	
凝集反應後	注射前	++	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2000
	注	5日目	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	-	-	-	-	-	-	2000
		9日目	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	-	-	-	-	2100
	反	14日目	+++	+++	+++	+++	++	+	+	-	-	-	-	-	-	2020
		20日目	+++	+++	+++	++	+	+	-	-	-	-	-	-	-	2050
		25日目	++	++	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	2050

第9表 (家兎 No. 13) 生理的食鹽水0.5兎加大腸菌Lワクチン¹1.0兎注射前後=於ケル血中凝集素

血清稀釋度(倍数)		20	40	50	80	100	200	400	500	800	1000	2000	4000	5000	對照0.85% 食鹽水	體重 (五)
血清絕對使用量 (兎)		.05	.025	.02	.0125	.01	.005	.0025	.002	.00125	.001	.0005	.00025	.0002	0	
菌浮游液 (兎)		1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	
凝集反應後	注射前	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1780
	注	5日目	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	+	-	-	-	-	-	1800
		9日目	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	+	-	-	-	-	-	1800
	反	14日目	+++	+++	+++	+++	++	+	+	-	-	-	-	-	-	1780
		20日目	+++	+++	++	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	1820
		25日目	++	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	1850

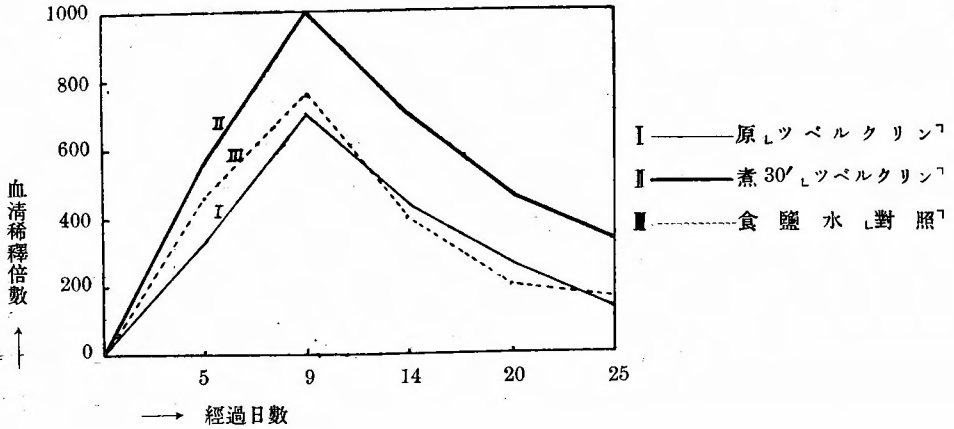
所見概括

以上ノ所見ヲ概括シテ第10表及ビ第1圖ヲ得。是ニヨリテ次ノ諸項ヲ認識シ得タリ。

第10表 各可檢抗原0.5兎=影響セラレタル免疫獲得程度(3頭平均)

抗原種類	血清稀釋倍数 (凝集價)							體重増減 (平均)
	注射前	5日目	9日目	14日目	20日目	25日目	平均	
原Lツベルクリン ¹	70	333	700	433	269	133	373	+16
30'煮Lツベルクリン ¹	47	567	1000	700	467	333	613	+54
食鹽水	80	469	767	400	200	167	400	+54

第 1 圖 各可檢抗原0.5㏄宛ヲ注射セシ場合ニ於ケル凝集價ノ推移



1 各抗原液注射後5日目ニ於ケル免疫凝集素ノ產生價ハ原(生)ツベルクリン¹ハ333倍ヲ示シタルニ對シ、30分煮ツベルクリン¹ニテハ遙ニ前者ヲ凌駕シテ567倍ニ達シ、對照食鹽水ハ469倍ニシテ原ツベルクリン¹ヨリモ凝集價却テ大ナリキ。

2 注射後9日目ニハ各抗原群何レモ夫々最大凝集價ヲ示シ、原ツベルクリン¹700倍、30分煮ツベルクリン¹1000倍、對照食鹽水767倍ナリ。即チ30分煮ツベルクリン¹ガ最大値ヲ與ヘタリ。

3 注射後14日目ニ於ケル凝集價ハ共ニ低下シタレドモ、30分煮ツベルクリン¹700倍ニ對シ原ツベルクリン¹433倍ヲ示シタリ。

4 注射後20日目ニアリテモ凝集價ハ、30分煮ツベルクリン¹最大値ヲ示シ467倍、原ツベルクリン¹269倍ニシテ、ツベルクリン¹ノ混和無カリシ對照ニテハ200倍ナリキ。

5 注射後25日目ニハ30分煮ツベルクリン¹混和ニテハ333倍ノ最大値ヲ保チ、ツベルクリン¹ノ混和無キ菌液ノミニテハ167倍、原ツベルクリン¹混和ニテハ僅ニ133倍ニシテ最下位ニアリタリ。

6 注射後5回ニ互ル平均凝集價ノ平均ニテハ、原ツベルクリン¹群373倍、30分煮ツベルクリン¹群613倍、無ツベルクリン¹菌液群400倍ヲ示シタリ。

要之ニ注射後9日目ニ各群動物ノ示タル最大凝集價ニ於テモ、亦タ之レガ5回検査ノ總平均凝集價ニ於テモ、30分煮ツベルクリン¹常ニ第1位ヲ占メ、對照食鹽水第2位トナリ、原ツベルクリン¹最低位ニアリタリ。即チ原ツベルクリン¹混和ノ下ニテハ、凝集素ノ產生ハツベルクリン¹混和無キ正常ノ場合ヨリモ却テ減弱シ、煮ツベルクリン¹混和ノ下ニテハ正常ヨリモ顯著ニ增強セリ。

5 實驗第 2 可檢抗原用量1.0㏄ノ場合

實驗結果ハ第11表—第19表ニ示サレタリ。

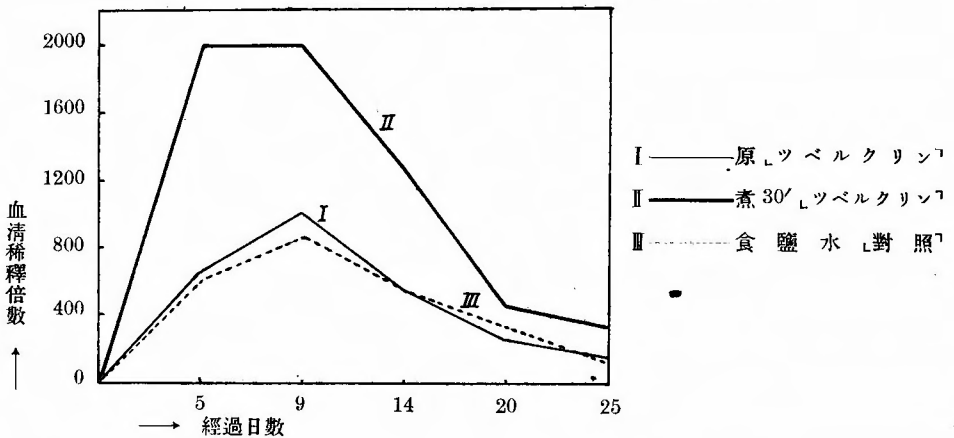
所見 概 括

以上ノ所見ヲ概括シテ第20表及ビ第2圖ヲ得タリ。依テ次ノ事項ヲ認識シ得ベシ。

第20表 各可檢抗原1.0兎ニ影響セラレタル免疫獲得程度(3頭平均)

抗 原 種 類	血 清 稀 釋 倍 數 (凝 集 價)							體 重 增 減 (平均)
	注射前	5 日 目	9 日 目	14 日 目	20 日 目	25 日 目	平 均	
原 _L ツベルクリン ¹	69	667	1000	567	267	167	533	+20
30' 煮 _L ツベルクリン ¹	60	2000	2000	1267	467	367	1220	+72
食 鹽 水	70	600	866	567	333	133	499	+50

第 2 圖 各可檢抗原1.0兎ヲ注射セル場合ニ於ケル凝集價ノ推移



- 1 凝集價ハ注射後5日目ニ於テハ著明ニ現出シ、原_Lツベルクリン¹667倍、30分煮_Lツベルクリン¹ニテハ實ニ2000倍ノ最高價ヲ示シ、對照食鹽水600倍ニシテ最低ナリキ。
- 2 注射後9日目ノ凝集價ハ各動物群何レモ最大ニシテ、30分煮_Lツベルクリン¹ 2000倍ヲ示シ、原_Lツベルクリン¹1000倍ニシテ次位タリ、對照食鹽水(菌液ノミ)ノ場合ニハ866倍ナリキ。
- 3 注射後14日目ニ於テハ各々凝集價ハ降下シタルモ、30分煮_Lツベルクリン¹ノ凝集價ハ依然最高ニシテ1267倍、原_Lツベルクリン¹及ビ對照食鹽水ハ同一價ニシテ、567倍ヲ示シタリ。
- 4 注射後20日目ニハ凝集素產生價各々更ニ低下シ、30分煮_Lツベルクリン¹467倍、對照食鹽水333倍、原_Lツベルクリン¹267倍ヲ示シタリ。
- 5 注射後25日目ノ凝集價ハ更ニ低下シタルモ、30分煮_Lツベルクリン¹ニ於テ最高ニシテ367倍、原_Lツベルクリン¹167倍ニシテ次位ニアリ、食鹽水133倍ニシテ劣弱ナリキ。
- 6 以上ノ實驗ニヨリテ注射後全経過ヲ觀察スルニ、原_Lツベルクリン¹ト對照食鹽水トノ總平均凝集價ハ前者ハ533倍、後者ハ499倍ニシテ兩者ノ間ニ大ナル逕庭ヲ認メザリシモ、30分煮_Lツベルクリン¹ノ平均凝集價ハ1220倍ニシテ絶對的著大ノ凝集效果ヲ示シタリ。而シテ最大凝集價ヲ擧ゲタル注射後9日目ノ所見ト殆ンド同一ノ關係ニアリタリ。

6 所見總括及ビ考察

全實驗ヲ總括シテ第21表乃至第22表ヲ得。是ニ依リテ次ノ諸項ヲ認識スルヲ得タリ。

第21表 各可檢抗原量ト最大凝集價トノ關係

抗原種類	注射後9日目ニ於ケル最大凝集價		比 率 %	
	0.5	1.0	0.5	1.0
原 L ツベルクリン r	700	1000	91	115
30'煮 L ツベルクリン r	1000	2000	130	231
食 鹽 水	767	866	100	100

第22表 各可檢抗原量ト注射後25日マデ5回檢査ノ總平均凝集價トノ關係

抗原種類	抗原量(mg)	注射後5-25日目ニ於ケル平均凝集價		比 率 %		體重増減(平均)	
		0.5	1.0	0.5	1.0	0.5	1.0
		原 L ツベルクリン r	373	533	93	118	+16
30'煮 L ツベルクリン r	613	1220	153	233	+54	+72	
食 鹽 水	400	499	100	100	+54	+50	

1 30分煮 L ツベルクリン r 加大腸菌 L ワクチン r ヲ以テ免疫セル動物群ノ凝集價ハ、原 L ツベルクリン r 及ビ食鹽水注射群ノ場合ヨリモ、非常ニ優勢ニシテ全經過ヲ通ジテ最モ早期ヨリ著明ニ且ツ高度ノ免疫ヲ獲得シ、而モ其ノ持續期間長カリキ。

2 抗原使用量0.5 mg ニテハ、原 L ツベルクリン r ノ抗原性能働カハ、對照タル生理的食鹽水ヲ以テセル場合ヨリモ劣弱ニシテ、免疫効果ハ正常以下ニマデ阻止セラレタリ。

3 抗原用量ヲ1.0 mg ニ倍加シタル際ニ於ケル、原 L ツベルクリン r 及ビ30分煮 L ツベルクリン r ノ凝集價ヲ觀ルニ、何レモ顯著ニ増大シテ最大ノ凝集價ヲ示シタリ。

4 抗原用量1.0 mg ニ於ケル最大凝集價(注射後9日目)ノ比率ハ、對照食鹽水：原 L ツベルクリン r ：30分煮 L ツベルクリン r ニ100對115對231ナリ。又總平均凝集價ニ於テハ、110對118對233ヲ示シタリ。

斯ノ如ク抗大腸菌特殊免疫凝集素產生ニ際シ、30分煮 L ツベルクリン r ハ絶對的ニ原 L ツベルクリン r ヲ凌駕シ、而モ抗原用量小ナル場合ニハ原 L ツベルクリン r ハ、生理的食鹽水ヲ以テセル對照タル正常凝集價ノソレ以下ニマデ免疫發生ガ阻止セラル、事ヲ認メタリ。

以上ノ立證ニヨリテ、原 L ツベルクリン r 中ニ含有セラレタル L イムペヂン r ノ免疫阻止作用ノ如何ニ顯著ナルモノナルカヲ知ルベキナリ。

之レニ反シテ L イムペヂン r ガ最モ完全ニ破却セラレタル30分煮 L ツベルクリン r ニアリテハ、舊 L ツベルクリン r 固有ノ免疫原性能働カヲ發揮シ得ルモノタルコトヲ認メ得ベシ。即チ L イムペヂン r ハ單ニ噬菌作用ヲ阻害スルニ止マラズ、凝集素產生機轉ニモ同様阻止作用ヲ有スルコトガ確證サレタリ。

試獸ノ注射後 5 日目乃至 25 日目ノ5回ニ互リテ検査シタル 體重増減ノ平均ハ抗原量 0.5 兎ノ場合、原・煮兩抗原群ハ夫々 (+) 16gm : 54gm トナリ、抗原量 1.0 兎ノ場合ニハ夫々 (+) 20gm : 72gm トナリタリ。是即チ原_Lツベルクリン¹ハ煮_Lツベルクリン¹ヨリモ毒力大ナルコトノ立證ナリ。

以上ノ所見ニヨリ原_Lツベルクリン¹ハ、30分煮_Lツベルクリン¹ヨリ一面毒性大ニシテ、他面抗原性能働力小ナルモノナルコトヲ知り得タリ。又以上ノ結果ニヨリテ舊_Lツベルクリン¹ノ保有スル抗原生物質ガ、喰菌作用ヲ促進シタル能力ノ大小ハ、直チニ免疫獲得ノ大小ヲモ知ルニ足ルモノニシテ、兩者ノ所見ハ相互ニ的確ニ一致スルコトヲ確證シ得タリ。

7 結 論

1) 本實驗ニ於テハ一面ニハ舊_Lツベルクリン¹原液ノマ、ノモノ、他面ニハ之レヲ30分煮_Lツベルクリン¹トナシ、實驗ヲ2段ニ分チテソノ用量ヲ變化シ、之ニ大腸菌_Lワクチン¹ノ定量ヲ加ヘテ家兎耳靜脈ニ注射シ、之ニヨリテ惹起セラル、抗大腸菌凝集素產生現象ニ對スル原・煮_Lツベルクリン¹ノ及ボス影響ヲ考査シタルニ、30分煮_Lツベルクリン¹ハ每常最大ノ凝集素價ヲ示シタリ。

2) 實驗第 1 ニテハ、原_Lツベルクリン¹ 0.5 兎ノ注射ノ場合ハ、對照食鹽水動物群ノ凝集素產生價ヨリモ劣弱ナリキ。而シテ用量ヲ倍加シテ 1.0 兎トナセルニ、30分煮_Lツベルクリン¹ノ凝集素ハ早期ニ且ツ遙ニ増大シ、而モ長期ニ互リテ血中ニ存在シタリ。

3) 此ノ事實ハ原_Lツベルクリン¹ハ免疫阻止勢力_Lイムペヂン¹ヲ含有スルニ反シ、30分煮_Lツベルクリン¹ハ全然之ヲ含マザルニ歸因スル事ヲ立證シ得タルモノナリ。

4) 此際用量 0.5 ニテモ、1.0 ニテモ、原_Lツベルクリン¹動物ハ 30分煮_Lツベルクリン¹動物ヨリモ、體重増加量平均 50 瓦ダケ小ナリキ。是即チ原_Lツベルクリン¹ノ毒力ハ、30分煮沸ニヨリテ減弱スルコトヲ證スルモノナリ。

5) 即チ原_Lツベルクリン¹ハ一面ニハ毒力大ニシテ、他面ニハ免疫元性能働力小ナルニ反シ、30分煮_Lツベルクリン¹ハ、一方ニハ毒力小ニシテ、他方ニハ免疫元性能働力大ナルコトガ確證セラレタリ。

6) 以上實驗結果ハ余等ノ既ニ報告セル、舊_Lツベルクリン¹(北研)ノ流血中ニ於ケル喰菌作用_Lイムペヂン¹現象ト全ク相一致スルモノナリ。即チ喰菌作用促進能力ノ大小ト免疫獲得能力ノ大小トハ嚴密ニ一致スルモノナリ。(モシ相互ノ間ニ一致ヲ缺クガ如ク見ユル場合アリトセンカ、ソハ全ク實驗ノ過誤ニ歸スベキモノナリ)。