

局所皮膚ニ於ケル赤痢抗體ノ產生

第3報 局所皮膚ニオプソニン¹產生ヲ指標トセル

「イムペヂン」¹ノ立證並ビニ赤痢本型菌生濾液ノ

含有スル「イムペヂン」¹ノ完全破却ニ必要

ナル好適煮沸時間ノ研究

京都帝國大學醫學部外科學教室(鳥潟教授指導)

副手 醫學士 宮 司 克 巳

Erforschung über die Erzeugung der homologen und heterologen Antidysenterieantikörper in und aus der äusseren Haut.

III. Mitteilung: Feststellung der optimalen Abkochungszeit der nativen Kulturbouillon von Dysenteriebazillen zur totalen Vernichtung des Impedins.

Von

Dr. K. Miyaji.

[Aus dem Laboratorium der Kais. Chir. Universitätsklinik Kyoto

(Prof. Dr. R. Torikata)]

Wir haben eine 7 Tage alte Bouillonkultur der *Shiga*-Dysenteriebazillen durch *Silberschmidt*-sche Kerze getrieben. Das so erhaltene klare Filtrat haben wir 5-120 Minuten lang bei 100°C abgekocht, und von der verschieden lange Zeit abgekochten Filtraten nach dem in der I. Mitteilung erwähnten Rezept je eine Salbe hergestellt.

Die depilierte Rückenhaut eines grossen normalen Kaninchens wurde in 10 viereckigen Flächen markiert und jedes Viereck der Haut mittels einer der Koktigensalben behandelt.

Nach Verlauf von 24 Stunden wurden die Presssäfte der Hautlokale auf den Gehalt des Opsonins, welches gegen *Staphylococcus pyogenes aureus* gerichtet ist, geprüft. Die Ergebnisse der Versuche gehen aus folgender Tabelle und Abbildung hervor,

Tabelle 1.

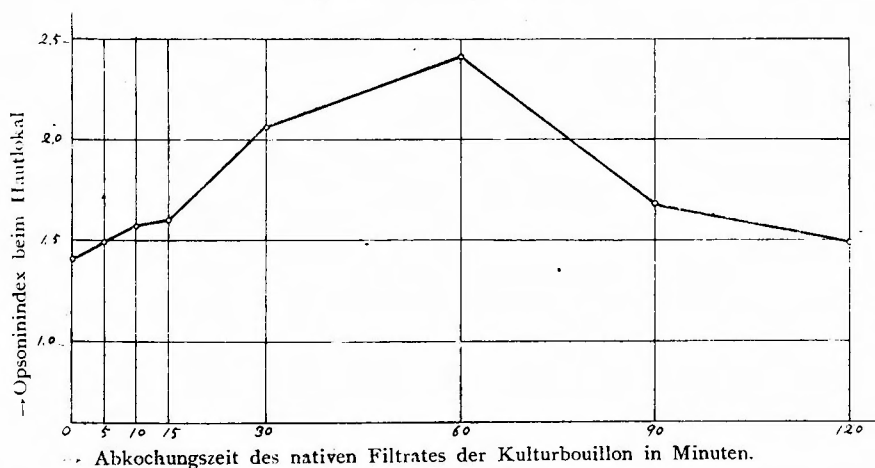
Das Verhalten der Abkochungszeit der Kulturbouillon zu der lokalen Auslösung des heterologen Opsonins.

Die auf dem Hautlokale applizierte Salbe enthielt	Phagozytat	Koeffizient der Phagozytose ¹⁾
NF	31,3	1,41
FK 5'	34,6	1,49
FK 10'	35,6	1,57
FK 15'	37,7	1,60
FK 30'	47,0	2,06
FK 60'	54,7	2,41
FK 90'	38,7	1,68
FK 120'	33,6	1,49
einfache Bouillon	28,0	1,28
ohne Salbenapplikation	23,3	1,00

1) Dabei wurde das Phagozytat, das in Gegenwart des Presssaftes der normalen nicht vorbehandelten Haut erhalten worden war, als 1,0 gesetzt.

Fig. 1.

Das Verhalten der Abkochungszeit der Kulturbouillon zum Grade des damit ausgelösten heterologen Opsonins.



Zusammenfassung.

1) Die optimale Abkochungszeit des nativen Kulturfiltrates (Bouillon) betreffend *Shiga*-Dysenteriebazillen für die grösste Antigenavidität stellte sich als 60 Minuten heraus.

2) Dabei verhielt sich der dadurch herbeigeführte Opsoninindex zu dem des durch das Nativantigen erzielten wie $2,41 : 1,41 = 100 : 58,5$. Daraus geht hervor, dass die die Erzeugung des Opsonins paralyisierende Wirkung des Impedins 41,5 Proz. betrug.

3) Infolge der sukzessiven Verlängerung der Abkochungszeit über 60 Minuten hinaus

wurde die Antigenavidität, die sich hier in der Auslösung des heterologen Opsonins im lokalisierten Haut dokumentiert, auch allmählich herabgesetzt. Die selbst 120 Minuten lang bei 100°C abgekochte Kulurbouillon entfaltete jedoch eine grössere Antigenavidität als das unerhitzte Nativantigen, bei dem ja die paralyisierende Wirkung des Impedins in vollem Masse vor sich geht. Daraus ist ersichtlich, wie gross die Impedinwirkung ist.

4) Auch die neutrale Bouillon, Nährboden für die Dysenteriebazillen, wirkte als ein heterologes Antigen und erzeugte das gegen Staphylokokken gerichtete Opsonin mit einem Index von 1,28. (Autoreferat)

緒言——研究ノ目的

第2報デハ、煮沸時間ヲ異ニシタ各種ノ赤痢本型菌_Lコクチゲン_L軟膏ヲ皮膚ニ貼用シタ場合30分煮沸_Lコクチゲン_L軟膏ヨリモ60分煮沸_Lコクチゲン_L軟膏ヲ用ヒタ方ガ局部_Lオプソニン_L産生程度ガ遙ニ大デ、90分及ビ120分煮沸_Lコクチゲン_L軟膏デハ却テソノ程度ガ小ナルコト、即チ60分煮沸_Lコクチゲン_L軟膏貼用ノ場合ガ最大ノ免疫效果ヲ示スコトヲ確メ得タ。此ノ際ハ菌液全體ヲ煮沸スルコトデアルカラ基液中ニ於ケル_Lイムペデン_Lノ完全破却ノミナラズ菌體カラ煮沸浸出サレル赤痢抗原物質モ亦タ實驗結果ニ與カルモノデアル。

本實驗デハ、更ニ進ンデ赤痢本型菌ノ生濾液ヲ出發材料トナシテソノ生濾液ヲ種々ナル時間タケ煮沸シテ得タ煮濾液ヲ以テ第2報ト爾他同一ノ實驗ヲ試ミタ。即チ之ニヨレバ赤痢抗原ヲ損傷スルコトナクシテ、_Lイムペデン_Lノミヲ完全ニ破却シ得ル煮沸時間ヲ決定シ得ルノデアル。之レガ本研究ノ目的デアル。

實驗材料

1) 軟 膏

軟膏調製ノ割合ハ第1報ト同様デアル。

a) 赤痢本型菌生濾液軟膏 NFS

赤痢本型菌ノ7日間普通中性肉汁培養〔3000回轉、30分遠心ニテ烏瀉教授沈澱計3度目(約0.0021託)ヲ示シタ〕ヲジユアン遠心器ニ裝ヒ強力遠心シタ後、ソノ上澄液ヲ更ニジルペルシユミツト氏陶土濾過器(→H)デ濾過シテ清澄ナ濾液ヲ得ル。此ノ一部ヲ取り0.5%ノ割合ニ石炭酸ヲ加ヘ生濾液トシ、之デ軟膏ヲ作ル。

b) 赤痢本型菌煮濾液軟膏 FKS

上記生濾液ノ他ノ部分ヲ7等分シ、各々ヲ攝氏100度デ沸騰シツ、アル重湯煎中デ5分、10分、15分、30分、60分、90分、120分間煮沸シテ7種ノ煮濾液ヲ得、0.5%ノ割合ニ石炭酸ヲ加ヘ、之レデ軟膏ヲ作ル。即チ

イ) 5分煮濾液軟膏 FK5'S

ロ) 10分煮濾液軟膏 FK10'S

- ハ) 15分煮濾液軟膏 FK15'S
- ニ) 30分煮濾液軟膏 FK30'S
- ホ) 60分煮濾液軟膏 FK60'S
- ヘ) 90分煮濾液軟膏 FK90'S
- ト) 120分煮濾液軟膏 FK120'S

c) 0.5%石炭酸加中性肉汁軟膏 BS

上記肉汁培養基ト同一材料ノ中性肉汁ヨリ 濾液ヲ得、0.5% ノ割合ニ石炭酸ヲ加ヘ之ヲ軟膏トシタモノ。

2) 皮膚_Lエムルジオン¹上澄液

第1報ト同様ノ方法デ作ル。次ノ10種類デアル。

- I NFS 貼用部皮膚_Lエムルジオン¹上澄液
- II FK 5'S 貼用部皮膚_Lエムルジオン¹上澄液
- III FK 10'S 貼用部皮膚_Lエムルジオン¹上澄液
- IV KF 15'S 貼用部皮膚_Lエムルジオン¹上澄液
- V KF 30'S 貼用部皮膚_Lエムルジオン¹上澄液
- VI FK 60'S 貼用部皮膚_Lエムルジオン¹上澄液
- VII FK 90'S 貼用部皮膚_Lエムルジオン¹上澄液
- VIII FK120'S 貼用部皮膚_Lエムルジオン¹上澄液
- IX BS 貼用部皮膚_Lエムルジオン¹上澄液
- X 無處置健常部皮膚_Lエムルジオン¹上澄液

3) 白血球

第1報所載ノ方法デ採取スル。

4) 黄色葡萄狀球菌液 (_Lオブソ¹ン¹検査用)

第1報ト同様ノ方法デ作ツタ。ソノ1.0_g中ノ菌量ハ、3000回轉、30分遠心ニテ 鳥瀉教授沈澱計1.0度目(約0.0007_g)デアツタ。

5) 實驗動物

皮膚ニ損傷無キ2_g内外ノ白色健常家兎

實 驗 方 法

家兎背部ヲ10ヶ所(脊柱ヲ界トシテ左右兩側デ前後ニ各5ヶ所)可及的短ク剪毛シ、ソノ中ノ9ヶ所ノ皮膚ノ4.5_{cm}平方ニハ前記赤痢本型菌生、煮兩濾液軟膏及ビ對照肉汁軟膏ノ2.0_g宛ヲ貼用シ、殘ル1ヶ所ノ皮膚ニハ何等處置ヲ加ヘズニ對照健常部トスル。

軟膏貼用後24時間ヲ經テ、軟膏ヲ_Lペンチン¹デ清拭シタ後、各種軟膏貼用部皮膚及ビ對照健常部皮膚ヨリ第1報ト同様ノ方法デ_Lエムルジオン¹上澄液ヲ作り、ソノ中ニ含マレタ_Lオブソ

ニシテ量ヲ測定シタ。オプソニン検査法ハ大略ライト氏法ニ從ツタ(第1報參照)。

實驗成績

實驗結果ハ第1表ヨリ第4表マデ及ビ第1圖ニ示サレタ通りデアル。

第1表 赤痢本型菌生、煮(5'—120')

濾液軟膏24時間貼用局所皮膚ニ

於ケル抗黃色葡萄狀球菌 $\angle$ オ

ブソニン $\angle$ ノ產生

家兎第69號 體重2050瓦

可 檢 物	喰 菌 子			オプソニン係數 $\angle$
無處置健常部皮膚	11	12	23	1.00
BS 貼用部皮膚	12	15	27	1.25
NFS 貼用部皮膚	14	17	31	1.42
FK 5'S貼用部皮膚	16	17	33	1.42
FK 10'S貼用部皮膚	18	18	36	1.50
FK 15'S貼用部皮膚	18	20	38	1.67
FK 30'S貼用部皮膚	21	23	44	1.92
FK 60'S貼用部皮膚	24	27	51	2.25
FK 90'S貼用部皮膚	18	20	38	1.67
FK 120'S貼用部皮膚	15	18	33	1.50

1) 無處置健常部皮膚ノ Opsonin 作用ヲ
100トシタル際ノ値ナリ(以下準之)

第3表 赤痢本型菌生、煮(5'—120')

濾液軟膏24時間貼用局所皮膚ニ

於ケル抗黃色葡萄狀球菌 $\angle$ オ

ブソニン $\angle$ ノ產生

家兎第74號 體重2000瓦

可 檢 物	喰 菌 子			オプソニン係數 $\angle$
無處置健常部皮膚	13	13	26	1.00
BS 貼用部皮膚	15	18	33	1.38
NFS 貼用部皮膚	16	20	36	1.54
FK 5'S貼用部皮膚	18	21	39	1.62
FK 10'S貼用部皮膚	17	22	39	1.69
FK 15'S貼用部皮膚	20	21	41	1.62
FK 30'S貼用部皮膚	25	30	55	2.31
FK 60'S貼用部皮膚	27	33	60	2.54
FK 90'S貼用部皮膚	20	24	44	1.85
FK 120'S貼用部皮膚	17	21	38	1.62

第2表 赤痢本型菌生、煮(5'—120')

濾液軟膏24時間貼用局所皮膚ニ

於ケル抗黃色葡萄狀球菌 $\angle$ オ

ブソニン $\angle$ ノ產生

家兎第70號 體重2000瓦

可 檢 物	喰 菌 子			オプソニン係數 $\angle$
無處置健常部皮膚	9	12	21	1.00
BS 貼用部皮膚	10	14	24	1.17
NFS 貼用部皮膚	12	15	27	1.25
FK 5'S貼用部皮膚	15	17	32	1.42
FK 10'S貼用部皮膚	14	18	32	1.50
FK 15'S貼用部皮膚	16	18	34	1.50
FK 30'S貼用部皮膚	19	23	42	1.92
FK 60'S貼用部皮膚	24	29	53	2.42
FK 90'S貼用部皮膚	16	18	34	1.50
FK 120'S貼用部皮膚	14	16	30	1.33

第4表 赤痢本型菌生、煮(5'—120')

濾液軟膏24時間貼用局所皮膚ニ

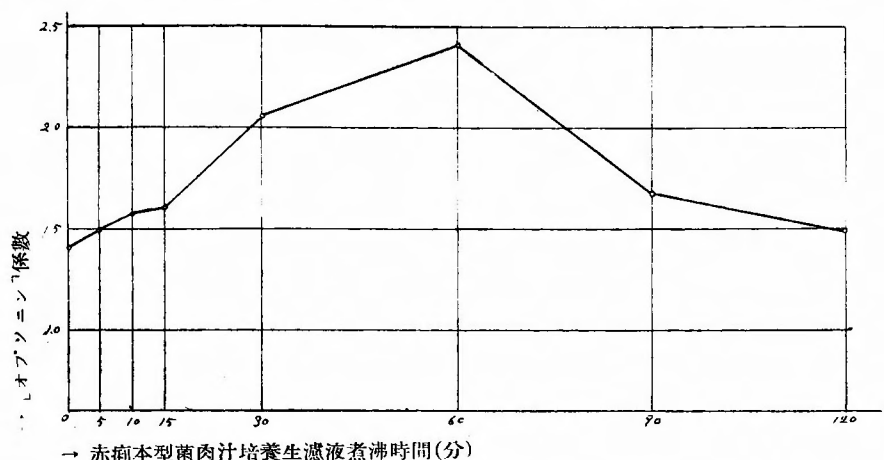
於ケル抗黃色葡萄狀球菌 $\angle$ オ

ブソニン $\angle$ ノ產生

(2頭平均値第1圖參照)

可 檢 物	喰 菌 子			オプソニン係數 $\angle$
無處置健常部皮膚	11.0	12.3	23.3	1.00
BS 貼用部皮膚	12.3	15.7	28.0	1.28
NFS 貼用部皮膚	14.0	17.3	31.3	1.41
FK 5'S貼用部皮膚	16.3	18.3	34.6	1.49
FK 10'S貼用部皮膚	16.3	19.3	35.6	1.57
FK 15'S貼用部皮膚	18.0	19.7	37.7	1.60
FK 30'S貼用部皮膚	21.7	25.3	47.0	2.06
FK 60'S貼用部皮膚	25.0	29.7	54.7	2.41
FK 90'S貼用部皮膚	18.0	20.7	38.7	1.68
FK 120'S貼用部皮膚	15.3	18.3	33.6	1.49

第1圖 赤痢本型菌生濾液煮沸時間ト局所皮膚「オブソニン」產生量トノ關係(第4表參照)



所見概括及ヒ考察

以上ノ實驗成績ニ依レバ「オブソニン」係數デモ或ハ噬菌子數デモ何レモ相一致シテ次ノ事項ガ認メラレル。

1) 赤痢本型菌ノ生・煮兩濾液軟膏ヲ24時間貼用スルコトニヨツテ、當該皮膚ニハ夫々抗黃色葡萄狀球菌「オブソニン」ノ產生ガ認メラレタ。是レ即チ、一般ニ無菌體性細菌性免疫元ヲ皮膚ニ貼用スルト、皮膚局所ニ非特殊性(即チ一般的ノ)抗細菌抗体(「オブソニン」)ガ產生サレルコトヲ示スモノデアル。

2) 赤痢本型菌生濾液軟膏貼用部皮膚ノ「オブソニン」產生ハ、5分—120分煮濾液軟膏貼用部皮膚ノ「オブソニン」產生ヨリモソノ程度ガ小デアツタ。即チ生濾液軟膏ヲ以テノ免疫效果ハ、本實驗デ用ヒタ赤痢本型菌煮濾液軟膏ノ何レヨリモ小(最小)デアツテ、對照タル中性肉汁軟膏貼用ノ場合ヨリモ僅ニ大デアルニ過ギナカツタ。

3) 然ルニ同一生濾液ヲ5分—120分間煮沸シテ得タ各種ノ煮濾液ヲ軟膏トシテ皮膚ニ貼用スルト、凡テ生濾液軟膏貼用ノ場合ヨリモ局所「オブソニン」ノ產生ガ高マリ、5分、10分、15分、ト次第ニ煮沸時間ヲ延長スルニ從ツテ局所「オブソニン」產生量ハ漸次増大シ、60分煮濾液軟膏貼用ノ際デハ遂ニ最大ノ免疫效果ヲ示スニ至ツタ。

而シテ煮沸時間ガ60分ヲ過ギテ90分以上ニモ達スルト、「オブソニン」產生量ハ再ビ減少スルノ傾向ガ認メラレタ。併シ120分煮濾液軟膏貼用ノ場合デモ、猶ホ生濾液軟膏貼用ノ場合ヨリモ局所「オブソニン」產生ガ1.41對1.49ノ比ニ於テ多少トモ優秀デアツタ。

即チ煮濾液軟膏ヲ以テノ免疫效果ハ例外無シニ生濾液軟膏ノソレヲ遙ニ凌駕シ、此ノ際60分煮濾液軟膏ノ免疫效果ガ最大デ2.41ノ「オブソニン」係數ヲ示シタ。

4) 以上ノ事實ハ生濾液中ニハ正シク「イムペデン」ガ含有サレテキルコトノ實證デアル。即

チ生濾液ハ「イムペデン」ノ免疫阻止勢力ノタメニ本來ノ免疫元性能働力ノ全能力ヲ發揮シ得ナ
カツタカラ從ツテ免疫效果ガ最小デアツタノデアル。

然ルニ生濾液ヲ煮沸スルト、「イムペデン」ガ漸次破却サレルガ本來ノ抗原物質ハ破却サレヌカ
ラ免疫元性能働力ハ次第ニ大トナリ、煮沸時間が60分ニ達スルト最早「イムペデン」ハ完全ニ破
却サレ、而モ免疫元性物質ハ少シモ損ゼラレズニ依然トシテ保持サレテキルカラ、茲ニ何等ノ
阻止作用ナクシテ最大ノ免疫元性能働力ヲ發揮スルニ至ツタノデアル。ソレデアルカラ60分位
ノ煮沸デハ本來ノ抗原物質ハ依然トシテ保存サレルガ、「イムペデン」ハ全部破却サレルモノト
認メネバナラス。即チ「イムペデン」ハ抗原性物質ヨリモ耐煮沸性小デアルコトガ判明スル。

此ノ際生濾液ト60分煮濾液トノ免疫元性能働力ヲ「オプソニン」係數ノ大小デ比較スレバ、
 $1.41:2.41=100:171=58.5:100$ ノ比デ示サレル。即チ生濾液ヲ60分煮沸スルコトニヨツテ「イ
ムペデン」ガ完全ニ破却サレタ結果、生濾液ノ免疫元性能働力ハソノ71%増大サレタノデアル。
換言スレバ生濾液ノ免疫元性能働力ハ、本來ノ全能力カラ云ヘバ、100%ヲ發揮スベキデアツ
タガ、「イムペデン」ノ阻止作用ノ爲ニ58.5ヨリ發現シナカツタ。即チ41.5%ハ「イムペデン」ノ
阻害作用ノ程度ヲ數字上ニ表明シタモノデアル。

5) 煮沸時間が60分以上ニ延長サレテ90分、120分ニモ達スルト「オプソニン」作用ハ再び低
下スルニ至ツタ。コレハ本來ノ免疫元モ決シテ絶對的ニ耐煮沸性ヲ有スルモノデナイコトノ證
デアル。併シナガラ120分煮濾液デモナホ生濾液ヨリモ免疫元性能働力（「オプソニン」產生作
用）ガ優ツテキタコトハ、如何ニ「イムペデン」ノ免疫阻止作用ガ大デアルカ、又タ如何ニ免疫
元性物質ノ耐煮沸性ガ強大デアルカヲ明示スルモノデアル。

6) 以上ノ事實ハ從來種々ナル免疫現象デ立證サレタコロト全ク一致スルモノデアル。

即チ免疫元ヲ組織内ヘ注射スルノデモ無ク、單ニ皮膚ニ貼用シテ免疫元ガ皮膚カラ吸收サレ
ルガ儘ニ放任スル場合デモ、「イムペデン」含有免疫元ヲ以テノ免疫效果ハ常ニ最小デアルコト
ノ「イムペデン」現象ガ顯著ニ立證サレタノデアル。

7) 赤痢本型菌濾液軟膏ノ代リニ中性肉汁軟膏ヲ貼用スルコトニヨツテモ僅少デハアルガ局
所「オプソニン」ノ產生ガ認メラレタ。但シソノ程度ハ生濾液軟膏貼用ノ場合ヨリモ更ニ小デア
ツタ。此ノ事實ハ一切ノ免疫元（此ノ場合デハ中性肉汁）ハ特殊性及ビ非特殊性ノ免疫ヲ同時ニ
同一個所ニ發揮スルモノデアルト曰フ學說ノ一面ヲ立證スルモノデ、即チ中性肉汁軟膏ニヨリ
テ任意ノ細菌ニ對スル「オプソニン」ノ產生（非特殊性免疫）ヲ來シタモノデアル。

8) 第2報デハ菌液カラ「コクチゲン」ヲ調製スル場合ニ於テノ好適煮沸時間が60分デアルコ
トガ證明サレタガ、本實驗デハ生濾液ヲ出發材料トナシテソレカラ「イムペデン」ノミヲ破却ス
ル好適煮沸時間ヲ決定シタノデアルガ、ソレモ亦タ60分デアルコトガ示サレタ。此ノ事實ニ據
ルト赤痢抗原トシテハ培養基中ニ水溶性トナツテキルモノガ主體デ菌體カラ煮沸浸出サレルモ
ノハ殆ンドソレニ參與セヌコトガ考ヘラレル。

結 論

- 1) 赤痢本型菌生・煮兩濾液軟膏ヲ24時間貼用スルコトニヨツテ、皮膚局所ニ夫々抗黃色葡萄狀球菌 γ オブソニン γ ノ產生ガ認めラレタ。
- 2) 生濾液軟膏貼用部皮膚ノ γ オブソニン γ 產生ハ煮濾液軟膏貼用部皮膚ノ γ オブソニン γ 產生ヨリモ其ノ程度ガ小デアツタ。是レ即チ生濾液ガ γ イムペヂン γ ヲ含有スルコトノ證左デアル。
- 3) 60分煮濾液軟膏ノ貼用ニヨツテ局所 γ オブソニン γ 產生ガ最大(γ オブソニン γ 係數=2.41)トナツタ。即チ赤痢本型菌生濾液ノ γ イムペヂン γ ヲ完全ニ破却スルニ必要ナ好適煮沸時間ハ60分デアル。
- 4) 煮沸時間ガ好適煮沸時間(60分)ヲ超過シ長キニ失スルト、免疫元性能働カハ却テ減弱スルモノデアル。併シ120分煮濾液軟膏ヲ貼用シテモナホ生濾液軟膏ノ貼用ノ場合ヨリモ免疫效果ガ1.41:1.49ノ比ニ於テ多少大デアツタコトハ、如何ニ γ イムペヂン γ ノ免疫阻止勢力ガ大デアルカヲ示スモノデアル。換言スレバ γ イムペヂン γ ノ阻止作用ハ、抗原ヲ120分間100°Cニ加熱スルコトニ依ツテ抗原物質ニ變性ヲ來シタコトト殆ンド同一ノ結果ヲ示スモノデアル。
- 5) 中性肉汁ノ如キ非細菌性免疫元ヲ貼用スルコトニヨツテモ亦タ非特殊性抗細菌抗體(γ オブソニン γ)ノ產生ガ認めラレル。而シテ其ノ分量ハ細菌性生免疫元貼用ノ場合ヨリモ1.41:1.28ノ比ニ於テ小デアツタ。