

免疫元トシテノ菌體ノ價值

第二報 虎菌普通加熱「ワクチン」煮沸後ニ於ケル

「菌體」・「上澄」ノ凝集素產生能動力ノ比較

京都帝國大學醫學部外科學研究室(鳥潟教授指導)

大學院學生 醫學士 藤 綱 晨 一

〔内容抄録〕 普通加熱虎菌「ワクチン」ヲ攝氏百度三十分間熱湯中ニテ煮沸シ、冷却スルヲ待チ強烈ニ遠心シ、煮上澄液ト煮菌體渣液トニ分チ、煮菌體渣液ヲ以テ使用前ニ當リ〇・五%石炭酸加生の食鹽水ニヨリ原「ワクチント」同一濃度ノ煮含菌體液ヲ作レリ。

斯クシテ得タル煮上澄液及ビ煮含菌體液各〇・一及ビ〇・五坵宛各二群ノ健康家兎耳靜脈内ニ注射シ以テ注射前及ビ注射後七日目、十四日目、二十一日

目ノ四回ニ採取セル家兎血清ニ就キ虎列拉菌ニ對スル凝集素生產能力ヲ檢シタル結果、煮上澄液ハ一四〇乃至三〇〇倍ノ凝集價ヲ示シタルニ拘ラズ煮含菌體液ハ殆ド凝集素生產能力ヲ呈セザリキ。
依之虎菌「ワクチン」ヲ煮沸スレバ免疫元トナル溶解性菌物質ハ實用上殆ンド浸出し盡サレ、煮細菌體ハ免疫元トシテノ効力ナキニ至ル事實ヲ確證シ得タリ。

緒論——研究ノ目的

既ニ普通加熱「ワクチン」ノ免疫元性能動力ノ研究(伊藤肇博士、猪口氏及ビ余等)ニ次デ余等ノ虎列拉菌「ワクチン」基液更新ニヨル上澄液及ビ含菌體ノ効力ニ就キテノ研究ニヨリ細菌性免疫ニ於ケル有効物質ハ菌體其ノモノニ非ズシテ溶解性菌物質ナルコトハ異論ヲ插ムルノ餘地ナキニ至リタリト信ズ。マタ余等ハ其ノ免疫元ナルモノハ基液ヲ二回、三回ト更新スル都度菌體ヲ去リテ基液中ヘ滲出移行スルモノナルコトヲモ立證セリ。

茲ニ於テ余等ハ普通加熱「ワクチン」ヲ煮沸スル時ハ如何ナル程度ニ其ノ免疫元ガ菌體ヲ去リテ基液中ヘ移行スルカラ實驗結果ニ問ハント欲ス。以下章ヲ追ヒ記述スル所即チ是レナリ。

第一章 實驗材料

寒天斜面二十四時間培養虎列拉菌ヲ生理的食鹽水ニ浮遊セシメ、〇・五%ノ割合ニ石炭酸ヲ加ヘ、約三十分間手ヲ以テ振盪シタル後、攝氏六十度ノ水浴中ニテ一時間加溫殺菌シ、之ヲ脫脂綿紗ヲ以テ透過シ、基液一・〇%ト〇・〇〇二%トノ菌量ヲ有スル虎列拉菌「ワクチン」ヲ作り、此ノ「ワクチン」ヲ二分シ、一分ヲ生理的食鹽水ヲ以テ二倍ニ稀釋シ血清凝集反應檢査標準菌液トナシ保存シ、他ヲ攝氏百度ノ熱湯中ニテ三十分間煮沸シ、自然ニ冷却スルヲ待チテ七千廻轉三十分間遠心シ、上澄液ノ一部ヲ採リ、之ヲ再ビ七千廻轉三十分間遠心シタル上澄液ノ一部ヲ注意深ク採取シ煮上澄液トシテ實驗ニ供シ、先ニ遠心沈澱シ得タル液渣液ヲ使用直前ニ當リ〇・五%石炭酸加生理的食鹽水ヲ以テ原「ワクチン」ト同一濃度ニ稀釋シ煮含菌體液トシテ實驗ニ供シタルモ此ノ中ニハ尙ホ僅少ノ煮上澄液ヲ含ムコトハ念頭ニ置カザルベカラズ。

菌株ハ小川(鳥瀉免疫研究所保存)及ビ濱岩(京都帝國大學醫學部微生物學教室保存)兩株ヲ混合シタリ。

第二章 實驗方法

試獸ニハ二疔前後ノ體重ヲ有スル健康家兔ヲ選ビタリ。

煮上澄液及ビ煮含菌體液ヲ各々〇・一及ビ〇・五%宛各二群ノ家兔耳靜脈内ニ注射シ、以テ注射前及ビ注射後七日目、十四日目、二十一日目ノ四回ニ採取セル家兔血清ニツキ同一條件ノ下ニ虎列拉菌ニ對スル凝集價ヲ測定シタリ。血清ノ虎列拉菌ニ對スル凝集價測定法ハ第一報ニ記述セリ。

第三章 實驗成績

普通加熱虎菌「ワクチン」ヲ攝氏百度三十分間煮沸シテ分離シタル煮上澄液及ビ煮含菌體液ヲ各々〇・一%及ビ〇・五%宛注射シ、而シテ注射前後ニ於ケル家兔血清凝集價測定ノ成績ハ第一表ヨリ第四表ニ掲ゲ、此ノ實驗成績ヲ通覽ニ便ナラ

シムル爲メ第一圖ヨリ第四圖ニ示サレタリ。

第一 表

攝氏百度三十分間煮沸シタル虎菌「ワクチン」ヨリ得タル上澄液及ビ含菌體液注射後ノ家兔體重(珎)

液 體 菌 含 煮				液 澄 上 煮				種 別	免 疫 元	
○・五 珎		○・一 珎		○・五 珎		○・一 珎		注 射 量		
五 十	四 十 九	四 十 八	四 十 七	四 十 六	四 十 五	四 十 四	四 十 三	號 番 免 家		
白 ↑	白 ↑	白 ↑	白 ↑	白 ↑	白 ↑	白 ↑	白 ↑	色 性		
二・〇〇〇	二・一〇〇	一・八五〇	二・四〇〇	一・八〇〇	一・八〇〇	二・四〇〇	一・七五〇	注 射 前	檢 査 時	
一・九五〇	二・一〇〇	一・八〇〇	二・五五〇	一・九五〇	二・〇〇〇	二・四五〇	一・五五〇	七 日		注 射 後
二・〇〇〇	二・〇〇〇	一・八〇〇	二・五〇〇	二・二〇〇	二・一五〇	二・四〇〇	一・六〇〇	十 四 日		
二・〇〇〇	二・〇五〇	二・〇〇〇	二・五〇〇	二・一〇〇	二・二五〇	二・四五〇	一・八五〇	二 十 一 日		
—	(五〇)	一五〇	一〇〇	三〇〇	四五〇	五〇	一〇〇	增(減)		

備考。煮上澄液動物ハ〇・一ニテモ〇・五ニテモ凡テ體重ノ増加ヲ示シタリ然ルニ〇・五ノ煮含菌體動物中體重ニ變化ナキモノ一頭體重減少セシモノ一頭ヲ見出セリ。

所 見

(一) 試獸ノ體重ニハ一見著明ナル變化ヲ來サ
 ヲリキ。然レドモ精細ニ之ヲ觀察スル時ハ煮上澄
 液動物ニテハ〇・一珎及ビ〇・五珎注射ノモノモ凡
 テ明白ナル體重ノ増加ヲ示セリ。然ルニ煮含菌體
 注射動物ニテハ〇・一珎ノモノハ體重ノ増加ヲ示
 シタルモ〇・五珎ノモノハ一ハ體重ニ増減ナク他
 ハ體重五〇・〇瓦ダケ却ツテ減少セリ。故ニ煮上澄
 ヲリモ煮含菌體ノ方が多少體重ノ減少ヲ來サシメ
 タルモノト認メラルベシ(第一報第一表參照)。

(二) 煮上澄液ヲ注射セル家兔血清ハ平均一四
 〇乃至三〇〇倍ノ凝集價ヲ示セリ、之ニ反シ煮含
 菌體液ヲ注射セル家兔血清ハ僅ニ二〇乃至三〇倍
 ノ凝集價ヲ示シタルノミナリ。

(三) 煮上澄液ニテハ注射量ニ連行シ凝集素生
 産ヲ増シタルモ、煮含菌體液ヲ以テシテハ却ツテ
 逆行ノ傾キアリキ。

(四) 煮含菌體液注射ニ於テハ二例ニ於テ全然

第 二 表

虎菌[ワクチン]ヲ100°C三十分間煮沸シテ得タル上澄液及ビ含菌體液注射後ニ於ケル家兎血清凝集反應

免 疫 元 種 別	免 疫 元 注 射 量	家 兎 番 號	注 射 後 ノ 經 過 日 數	稀 釋 度										血 清 絶 對 量
				二	四	八	二〇	四〇	八〇	二〇〇	四〇〇	八〇〇	一六〇〇	
煮 上 澄 液	〇・一 瓩	四十三	前 七 日	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	〇・〇〇〇二五
			後 十 四 日	++	++	++	++	++	++	—	—	—	—	〇・〇〇〇二五
			二 十 一 日	—	—	++	+	+	—	—	—	—	—	〇・〇〇〇二五
		四十四	前 七 日	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	〇・〇〇〇二五
			後 十 四 日	++	++	++	++	++	++	—	—	—	—	〇・〇〇〇二五
			二 十 一 日	—	—	++	+	+	—	—	—	—	—	〇・〇〇〇二五
	〇・五 瓩	四十五	前 七 日	++	+	+	+	—	—	—	—	—	—	〇・〇〇〇二五
			後 十 四 日	++	++	++	++	++	++	—	—	—	—	〇・〇〇〇二五
			二 十 一 日	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	〇・〇〇〇二五
		四十六	前 七 日	++	++	+	+	—	—	—	—	—	—	〇・〇〇〇二五
			後 十 四 日	++	++	++	++	++	++	—	—	—	—	〇・〇〇〇二五
			二 十 一 日	++	++	++	++	++	++	—	—	—	—	〇・〇〇〇二五
煮 含 菌 體 液	〇・一 瓩	四十七	前 七 日	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	〇・〇〇〇二五
			後 十 四 日	++	++	++	++	++	++	—	—	—	—	〇・〇〇〇二五
			二 十 一 日	++	++	++	++	++	++	—	—	—	—	〇・〇〇〇二五
		四十八	前 七 日	++	++	+	+	—	—	—	—	—	—	〇・〇〇〇二五
			後 十 四 日	++	++	++	++	++	++	—	—	—	—	〇・〇〇〇二五
			二 十 一 日	++	++	++	++	++	++	—	—	—	—	〇・〇〇〇二五
	〇・五 瓩	四十九	前 七 日	++	+	+	+	—	—	—	—	—	—	〇・〇〇〇二五
			後 十 四 日	++	++	++	++	++	++	—	—	—	—	〇・〇〇〇二五
			二 十 一 日	++	++	++	++	++	++	—	—	—	—	〇・〇〇〇二五
		五十	前 七 日	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	〇・〇〇〇二五
			後 十 四 日	++	++	++	++	++	++	—	—	—	—	〇・〇〇〇二五
			二 十 一 日	++	++	++	++	++	++	—	—	—	—	〇・〇〇〇二五

凝集素生産ヲ見ザリキ。

(五) 平均凝集價増加

率ヲ求メ觀察スルモ一致シタル所見ヲ示シタリ。

第四章 實驗結果考

察及ビ討究

上記ノ實驗結果所見ハ鳥潟敎授ノ發表セラレタル所ト全然一致シタル考察ニ歸着スルモノナリ。即チ菌體液(「ワクチン」)ヲ煮沸スレバ免疫元トシテ有用ナル溶解性菌物質ハ殆ンド浸出セラレ、其ノ結果基液ハ著明ナル免疫元性能働カヲ有スルニ拘ラズ煮沸細菌體ハ免疫元トシテ實用上殆ンド効ナキニ至ルモノナリ。而

第三表

虎菌「ワクチン」ヲ攝氏百度三十分間煮沸セル後分離セル上澄液及ビ含菌體液注射後ニ於ケル家兎血清平均凝集價

種別	免疫元	注射量	家兎番號	檢査時	
				注射前	注射後
煮上澄液	〇・一 牒	四十三	平均	七	十四
	〇・一 牒	四十四		八	八
液 澄 上 煮	〇・五 牒	四十五	平均	二	二
	〇・五 牒	四十六		二	二
液 體 菌 含 煮	〇・一 牒	四十七	平均	二	二
	〇・一 牒	四十八		二	二
〇・五 牒	平均	四十九	平均	二	二
	〇・五 牒	五十		二	二
煮含菌體液	〇・一 牒	一	平均	一	一
	〇・一 牒	一		一	一

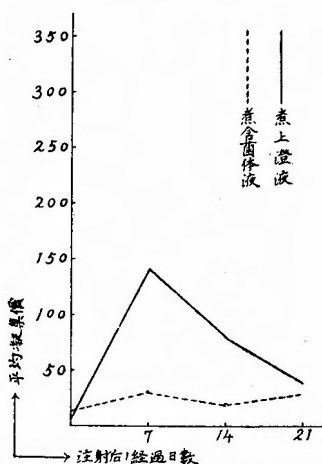
第四表

虎菌「ワクチン」ヲ攝氏百度三十分間煮沸シ分離セル上澄液及ビ含菌體液注射後ニ於ケル家兎血清平均凝集價增加率

種別	免疫元	注射量	檢査時	
			注射前	注射後
煮上澄液	〇・一 牒	一	七	十四
	〇・一 牒	一	八	八
液 澄 上 煮	〇・五 牒	一	二	二
	〇・五 牒	一	二	二
液 體 菌 含 煮	〇・一 牒	一	二	二
	〇・一 牒	一	二	二
〇・五 牒	平均	一	二	二
	〇・五 牒	一	二	二
煮含菌體液	〇・一 牒	一	一	一
	〇・一 牒	一	一	一

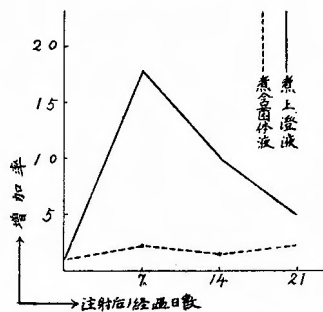
第一圖

煮上澄液及ビ煮含菌體液〇・一 牒注射後ニ於ケル家兎血清平均凝集價ノ推移



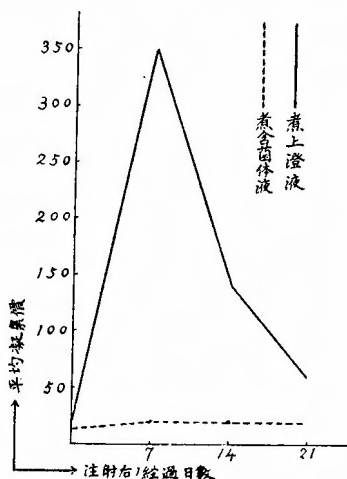
第三圖

煮上澄液及ビ煮含菌體液〇・一 牒注射後ニ於ケル家兎血清平均凝集價增加率ノ推移



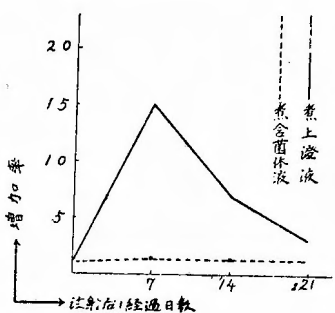
第二圖

煮上澄液及ビ煮含菌體液〇・五 牒注射後ニ於ケル家兎血清平均凝集價ノ推移



第四圖

煮上澄液及ビ煮含菌體液〇・五 牒注射後ニ於ケル家兎血清平均凝集價增加率ノ推移



シテ凝集素生産能力ヲ以テ判定スル時ハ煮沸體液ハ猶ホ僅少ノ凝集素生産ヲ示シタルモ、コハ煮沸含菌液中ニハ微量ト雖モ尙ホ煮沸上澄液ヲ含有スルモノナル故ニ是ハ菌體內ニ猶ホ未ダ免疫元物質ヲ殘留スル唯一ノ證據トハ爲シ得ザルモノナラン。

論者或ハ言ハン、以上ノ如キ事實ハ溶解性免疫元物質ガ菌體ヨリ浸出セラレタルニハ非ズシテ煮沸ニヨリ菌體ガ破壊セラレ免疫元物質ガ基液中ヘ止ムヲ得ズ移行セルニハ非ザルカト。余等ハ原「ワクチン」及ビ煮沸含菌體液ノ塗抹標本ヲ作リ石炭酸「フクシン」ヲ以テ染色シ鏡見シタルモ菌ノ形狀、大キサ及ビ染色程度ニ著明ナル差異ヲ見出シ得ザリキ。

茲ニ於テ余等ハ「ワクチン」ニ於ケル免疫元性能働力ノ主體ハ細菌體夫レ自身ニ在ルニ非ズシテ、細菌體ヨリ基液中ニ滲出セル溶解性菌物質ニアルモノナリ。而シテ此ノ溶解性菌物質ハ菌體ヲ煮沸スルコトニヨリテ殆ンド全ク浸出シ盡サルモノナルコトヲ益々確信スルニ至リタリ。論者或ハ曰ハン。以上ノ如キ事實ハ免疫元ガ煮沸ニヨリテ菌體ヨリ浸出セラレタルニ非ズシテ、元來基液中ニ存在セル免疫元ガ耐煮沸性アリ、菌體中ニ包含シタル免疫元ハ耐煮沸性無クシテ加熱ニヨリテ破壊セラレタルニ原因スルモノナラント。然レドモ煮沸法ニ據ラザルモ猶且ツ免疫元ガ菌體ヲ去リテ基液中ヘ移行シ其ノ結果菌體ハ終ニ免疫元性能働力ヲ示サバルニ至ルコトハ余等ノ第一報ニテ明白トナレリ。且ツ等シク免疫元ニテアリナガラ菌體中ニ包含セラレ居ル際ニハ易熱性ニシテ、菌體外ノ基液中ヘ溶解セル際ニハ耐熱性ヲ獲得スト言フガ如キ説明ハ非常ニ不自然ナル説明タルヲ知ル。故ニ余等ハ細菌性免疫元ナルモノハ高度ノ耐煮沸性ヲ有シ、煮沸ニヨリテ細菌體中ヨリ基液ヘ浸出セラレ、而シテ煮沸浸出後ノ殘渣菌體ハ殆ンド免疫元性効果ヲ示サバルニ至ルモノナリト主張スルヲ以テ正當ナリト爲スモノナリ。

第五章 結 論

(一) 虎菌「ワクチン」ヲ攝氏百度三十分間煮沸シタルニ細菌體ハ煮沸以前ノ如キ形態及ビ染色ヲ示シタルニ拘ラズ細菌體ハ凝集素ノ產生ヲ示サバルニ至リタリ。

(二) 虎菌「ワクチン」ヲ攝氏百度三十分間煮沸シタル後ノ上澄液ハ顯著ナル凝集素產生能働力ヲ呈シタリ。

(三) 煮沸菌體ノ注射ヲ受ケタル動物ノ方ガ體重ノ減少ヲ示シタリ、之ニ反シ煮沸上澄液ノ注射ヲ受ケタル動物ハ全部凡テ顯著ノ體重増加ヲ示シタリ。

(四) 一般的免疫學の原則トシテ下ノ各項ヲ認識スベシ。

第一。普通加熱「ワクチン」ニ在リテサヘモ其ノ免疫元ナルモノハ溶解性ニ基液中ニ含有セラレタリ。而シテ基液ヲ更新スル都度時日ノ經過ト共ニ菌體中ニ含有セラレタル免疫元モ亦菌體ヲ去リテ基液中ヘ溶解移行スルモノナリ。此ノ如クニシテ菌體ハ終ニハ實用上殆ンド免疫元タルノ價值ヲ失フニ至ルモノナリ。

第二。以上ノ事實ハ普通加熱「ワクチン」ヲ一定時間煮沸(浸出)スルコトニヨリテ最モ確實ニ最モ短時間ニ實現セラレ、煮沸後ノ上澄液ハ顯著ナル免疫元性能働力ヲ示スニモ拘ラズ煮沸菌體ハ實用上殆ンド全ク免疫の價值無キ殘渣物トナルモノナリ。

第三。以上ノ如キ煮沸後ノ殘渣菌體ハ基液ヲ更新セラレタル後ノ生態菌體ト同様ニシテ、動物ニ對シ上澄液ヨリモ有害ニ作用スル(體重減少)傾向アレドモ、免疫の效果ハ煮沸上澄液、生上液ノ何レニモ及バザルコト遙カニ遠キモノナリ。

第四。免疫元ハ水溶解性ニシテ顯著ニ耐煮沸性ヲ示シ菌體中ヨリ煮沸法ニヨリテ浸出セラレ得ルモノナリ。

第五。煮沸法又ハ基液更新法ニヨリテ免疫元ヲ浸出セラレタル菌體ハ生態ニテモアレ、煮沸後ニテモアレ、一樣ニ實用上免疫ノ効無クシテ却ツテ有害ニ作用ス。

Zur Frage des Wertes der Mikrobenleiber als Immunogene.

II. Mitteilung: Ueber den Unterschied zwischen der Agglutininbildung des Mikrobensediments und Mediums bei einer gekochten Cholera vibrionenvakzine.

Von

Dr. SH. FUJITSUNA.

[Aus dem Laboratorium der Kaiserl. chirurg. Universitätsklinik, Kyoto (Prof. Dr. R. Torikata).]

Die in unserer I. Mitteilung erwähnte Cholera vibrionenvakzine wurde in einem bei 100°C siedenden Wasserbade während 30 Minuten gehalten und dann scharf zentrifugiert, um dieselbe in das **Sediment** und das **Medium** zu zerlegen. Das **Sediment** wurde mit der gleichen Menge physiologischer Kochsalzlösung wie die Vakzine, in welcher sie enthalten war, suspendiert. Kaninchen wurden entweder mit dem **Sediment** allein oder mit dem **Medium** allein vorbehandelt, um zu sehen, wie sich die Agglutininbildung dabei verhielte. Die Versuchsergebnisse sind in folgender Tabelle zusammengestellt.

Kaninchen erhielten	Menge ccm.	vor der Inj.	Agglutinititer des Serums entnommen am:		
			7. Tag.	14. Tag.	21. Tag.
Kochextrakt; d. h. Medium .	0.1 0.5	8 20	140 300	80 140	40 60
Ausgekochte Mikroben; d. h. Sediment .	0.1 0.5	14 14	30 20	20 20	30 20

Zusammenfassung.

- 1) Bei einer gekochten Choleravibrionenvakzine (100°C 30') war die Agglutinin auflösende Fähigkeit eher beim **Medium** als beim **Mikrobensediment** konstatierbar.
- 2) Durch die Abkochung scheint das **agglutinogene Antigen** von den Mikrobenleibern aus in das lösende Medium überzugehen.
- 3) **Mikrobenleiber** enthalten zwar **immunogene Substanzen**, aber sie bestehen nicht ganz aus lauter **Immunogenen**.
- 4) Die Einverleibung der Mikrobenleiber als Immunogene ist zu verwerfen, weil dieselben nicht alle aus Immunogenen bestehen, sondern auch unnötige sogar schädliche Bestandteile enthalten, während eine ansehnliche Agglutininbildung mittels des Bakterienkoktes, des Mediums, erzielt werden kann.
- 5) Mikrobiotische Immunogene stellen wasserlösliche koktostabile Substanzen dar (Autoreferat).