

ウエルシ・フレンケル氏瓦斯壞疽菌ヲ以テ

ノ試験管内喰菌作用「イムペヂン」現象

第2報 最大喰菌作用ヲ促進セシムルニ必要
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(烏潟教授指導)

賀 來 隆 美

Ueber die optimale Abkochungszeit der Kultur der
Welch-Fränkelschen Bazillen zur totalen Inaktivie-
rung des Impedins und somit zur vollständigen
Regenerierung der antigenen Substanzen.

Von

Dr. T. Kaku.

[Aus dem Laboratorium der Kais. Chir. Universitätsklinik Kyo'ō

(Prof. Dr. R. Torikata).]

Die native Kultur von *Welch-Fränkelschen* Bazillen wurde in einem bei 100°C. siedenden Wasserbade verschieden lang, also 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 90, Minuten lang erhitzt. Die auf diese Weise erhaltenen Testmaterialien, FN, FK_{5'}, FK_{10'}, FK_{20'}, FK_{30'}, FK_{40'}, FK_{50'}, FK_{60'}, FK_{90'}, wurden unter sonst denselben Bedingungen auf ihre die Phagozytose in vitro fördernde Wirkung geprüft. Als Testdosis zogen wir die in der I. Mitteilung festgestellte optimale Menge, 0,2 ccm heran.

Die Ergebnisse der Versuche sind in folgender
Tabelle zusammengestellt:

Tabelle

Das Verhalten der Abkochungszeit des nativen Filtrates der Bouillonkultur von *Welch-*

Fränkelschen Bazillen zu der dadurch verursachten Phagozytose
der Staphylokokken in vitro.

Abkochungszeit	0'	5'	10'	20'	30'	40'	50'	60'	90'
Zahl der fressenden Zellen	7.5	9.5	12	16	13.5	12.5	10.5	9	9
Zahl der gefressenen Kokken	12	19	22.5	26	33.5	25	19	17	14
Phagozytat	19.5	28.5	34.5	42	47	37.5	29.5	26	23

Als Antigenmenge zogen wir 0,2 cem heran, bei der ceteris paribus die maximale Phagozytose ausgelöst wird. (vgl. I. Mitteilung)

Zusammenfassung.

1) Die optimale Abkochungszeit der Kulturen von *Welch-Fränkelschen* Bazillen zur totalen Paralisierung des Impedins und somit zur maximalen Regenerierung der Antigenwirkung, die sich hier in der Förderung der Phagozytose von Staphylokokken in vitro dokumentiert, erwies sich als eine halbe Stunde.

2) Das maximale Phagozytat war 47 beim FK 30' und 19,5 beim FN. Dies sagt uns, dass sich die antigene Wirkung von Koktoantigen (FK 30') zu der von Nativantigen (FN) wie 47:19,5=100:41,5 verhält.

3) Daraus ergibt sich, dass das im Nativantigen (FN) enthaltene Impedin die eigentliche Antigenwirkung in einem ausnehmlichen Masse, also ca. zu 58 Proz. herabsetzte.
(Autoreferat)

内 容 目 次

- 1, 緒 言
- 2, 實驗材料
- 3, 實驗方法
- 4, 實驗結果

- 所見概括
- 5, 所見總括及ビ討究
- 6, 結 論

1. 緒 言

ウエルシ・フレンケル氏瓦斯壤痘菌ヲ 0.5% 葡萄糖加肉汁(筋肉片加) 1週間嫌氣性培養シ 強力遠心シテ上澄液ヲ得其ノ酸性ヲ中和シテ陶土壁ヲ通過セシメタル生濾液ト之レヲ30分間煮沸セシ煮濾液トガ對黃色葡萄狀球菌ノ試驗管内喰燼作用ニ及ボス影響ニ關シテハ既ニ第1報ニ詳述セシ如ク反應ノ上行位相ト下行位相トノ全經過ヲ追及シ得タル如何ナル使用量ニアリテモ煮濾液ハ生濾液ヨリモ喰菌作用促進能働力ノ絶對的ニ大ナルコトガ立證ヒラレタリ。是即チ喰菌作用「イムペヂン」現象ナリ。

本研究ニ於テハ同一材料ニツキ最大ノ抗原性能働力ヲ得ル爲ニ必要ナル好適煮沸時間ヲ決定スル所アラントス。

2. 實 驗 材 料

1. 黃色葡萄狀球菌原液

黃色葡萄狀球菌24時間寒天斜面培養ヲ0.5%石炭酸加0.85%食鹽水ニ浮游セシメタルモノヲ攝氏60度ノ重湯煎中ニテ30分間加溫殺菌シタル後強力遠心シテ菌體ヲ得之レヲ更ニ3回滅菌食鹽水ヲ以テ洗滌シ再ビ前記食鹽水ニ浮游セシメタルモノナリ其ノ菌量ハ1坵中約0.0021坵ナリキ。

2. 生濾液(略符FN)

先ヅ0.5%葡萄糖加肉汁(健康家兎筋肉片ヲ肉汁10坵ニ1瓦ノ割ニ加フ)ヲ2分シ其ノ1半ヲ對照用トナシ他ハウエルシ・フレンケル氏瓦斯壞疽菌ヲ1週間嫌氣性ニ培養シ(菌量ハ培養液1坵中約0.0007坵ナリキ)強力遠心シテ上澄液ヲ得此ノ上澄液ハ特有ノ惡臭ヲ放チ且ツ強キ酸性ヲ呈スルヲ以テ定規炭酸曹達液ヲ以テ中和シ(上澄液360坵ヲ中和スルニ定規炭酸曹達液11坵ヲ要セリ)コレヲL₃陶土濾過器ニテ濾過シ黃褐色透明ノ特有ノ惡臭アル生濾液ヲ得タリ但シ保存ノ便宜上0.5%ノ割ニ石炭酸ヲ加ヘタリ。

3. 煮濾液(略符FK)

前記生濾液ノ一部ヲ「アンブルレ」ニ封入シコレヲA,B,C,D,E,F,G,Hニ8等分シ攝氏100度ニ沸騰シツ、アル重湯煎中ニテ加熱スルコトAハ5分,Bハ10分,Cハ20分,Dハ30分,Eハ40分,Fハ50分,Gハ60分,Hハ90分間ニシテ取出シ夫々煮沸時間ヲ異ニセシ煮濾液ヲ製セリ但シ何レノ場合ニテモ煮沸後何等濁濁モ沈澱モ生ゼズ液ハ依然トシテ黃褐色透明ナリ。

4. 0.5%葡萄糖加肉汁(對照用)

上述生濾液ヲ得ル際ニ2分シテ取り置キシ0.5%葡萄糖加肉汁(健康家兎筋肉片加)ニシテコレハ僅ニ酸性ヲ呈スルヲ以テ定規炭酸曹達液ヲ以テ中和シ(100坵ヲ中和スルニ定規炭酸曹達液1坵ヲ要セリ)生・煮兩濾液ト同一條件ニアラシムルタメニ0.5%ノ割ニ石炭酸ヲ加ヘタルモノナリ。

3. 實 驗 方 法

豫備試験ヲ行ヒテ余等ノ黃色葡萄狀球菌原液ハ5倍ニ稀釋シタルモノヲ使用スレバライト氏法ニヨル試験管内喰菌作用檢査用ノ菌量トシテ最モ適當ナルコト判明シタルガ故ニコレヲ5倍ニ稀釋スルニ當リテハ原菌液0.5坵ヲトリ生濾液及ビ5分10分20分30分40分60分90分煮沸ノ各濾液0.2坵ニ個々ニ加ヘ更ニ對照用ノ0.5%石炭酸加0.5%葡萄糖加肉汁ヲ夫々1.8坵宛追加シテ全量2.5坵トセリ、又對照ニハ原菌液0.5坵ヲトリコレニ對照用ノ0.5%石炭酸加0.5%葡萄糖加肉汁2.0坵ヲ加ヘ同様ニ全量2.5坵トセリ。

各濾液ノ量ヲ0.2坵トナシタル理由ハ第1報ニ示サレタルガ如ク最大ノ喰菌作用ヲ促進スル好適用量ナルヲ以テナリ。

尙本實驗ニハ充分ノ練習ト熟練トヲ要スルコトハ前述ノ如シ。

喰菌作用検査法

喰菌作用検査材料

1. 白血球

體重300瓦内外ノ海狸腹腔内ニ中性肉汁10耗ヲ注入シ4乃至5時間後硝子毛細管ニテ穿刺シテ取出シタル腹腔液ヲ其ノ儘使用セリ。

2. 黃色葡萄狀球菌液

前記ノ如ク抗原液並ニ對照用肉汁ヲ以テ該原菌液ヲ5倍ニ稀釋シタルモノナリ。

喰菌作用検査ハ大略ライト氏ノ方法ニ從ヘリ即チ一定ノ硝子毛細管内ニ前記白血球抗原液ヲ以テ稀釋シタル黃色葡萄狀球菌液、對照ニハ抗原濾液ト同一出發材料タル前記ノ對照肉汁ヲ以テ稀釋シタル黃色葡萄狀球菌液ノ順ニ各同量宛空氣ノ間隔ヲ置キテ吸入シ次イデコレヲ小硝子皿上ニ吹き出し良ク混和シタル後更ニ他ノ硝子毛細管ニ入レ37度ノ孵卵器内ニ15分間靜置シ次イデ小硝子皿上ニ吹き出し良ク混和シテ塗抹標本ヲ作り乾燥固定後ギムザ氏液ニテ染色検査セリ。

檢鏡ニ當リテハ任意ノ視野ニ於テ中性多核白血球ノ輪廓正シク良ク染色セルモノノミ100乃至200個ヲ選ビ菌體ハ正シク白血球體內ニ包喰セラレタルモノノミヲ計算セリ但シ1個ノ白血球中5個以上ノ菌ヲ包喰セルモノハ誤算ノ虞アルヲ以テ除外シ、又白血球ト菌トノ比例ノ甚シク異レル視野ニ於ケルモノモ除外セリ。

4 實驗結果

生濾液及ビ5分10分20分30分40分50分60分90分間煮沸濾液各0.2耗ヲ加ヘ更ニ對照用肉汁1.8耗ヲ個々ニ追加シ以テ菌原液0.5耗ノ5倍稀釋狀態ニアラシメタル黃色葡萄狀球菌液ヲ用ヒテ同一海狸腹水ヨリ得タル白血球ヲ以テシテ1實驗ヲ始終セシ結果ハ第1表及ビ第1圖ヨリ第3圖迄ニ示サレタリ、 $\left[\begin{smallmatrix} \text{喰} \\ \text{菌} \\ \text{子} \end{smallmatrix} \right]$ ノ數ハ總テ白血球100個ヲ計算シタルモノナリ(4回實驗ノ平均)

第 1 表

生濾液煮沸時間ト喰菌作用促進能力トノ關係

煮沸時間	0'	5'	10'	20'	30'	40'	50'	60'	90'
抗原量 (耗)	0.2								
喰	7.5	9.5	12	16	13.5	12.5	10.5	9	9
菌	12	19	22.5	26	33.5	25	19	17	14
子	19.5	28.5	34.5	42	47	37.5	29.5	26	23

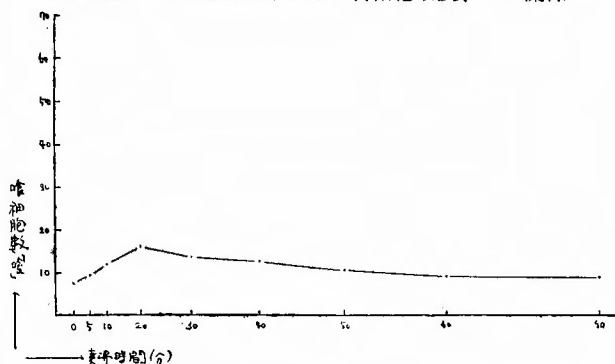
所 見 概 括

1) 現ニ細菌ヲ包喰シツ、アル喰細胞數 $\left[\begin{smallmatrix} \text{喰} \\ \text{菌} \\ \text{子} \end{smallmatrix} \right]$ ハ

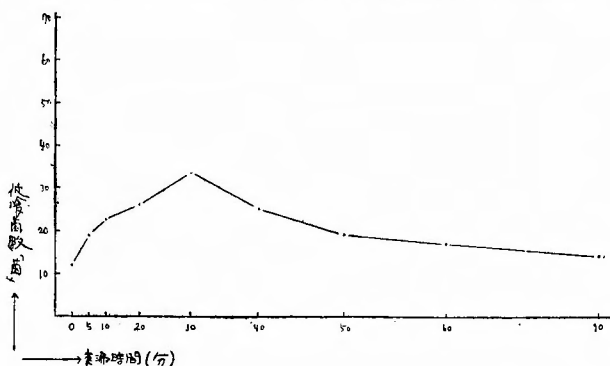
生濾液ニテハ7.5, 5分煮濾液ニテハ9.5, 10分煮濾液ニテハ12, 20分煮濾液ニテハ16, 30分煮濾液ニテハ13.5, 40分煮濾液ニテハ12.5, 50

分煮濾液ニテハ10.5, 60分煮濾液ニテハ9, 90分煮濾液ニテハ9ニシテ20分煮濾液使用ノ場合が最大數ヲ示シタリ即チ煮濾液ノ總テが生濾液ノ効果ヲ凌駕セリ而シテ5分煮沸以上煮沸時間ノ延長ト共ニ階段的ニ喰細胞數ハ増加シ20分煮濾液ニテ最モ上昇シ最大數ヲ示シ夫

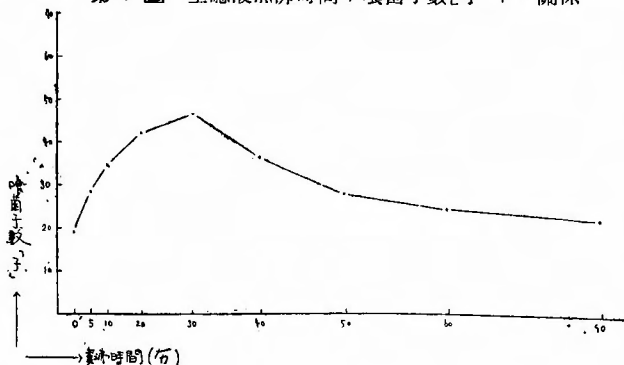
第1圖 生濾液煮沸時間ト喰細胞數 L^{T} ノ關係



第2圖 生濾液煮沸時間ト被喰菌數 L^{T} ノ關係



第3圖 生濾液煮沸時間ト喰菌子數 L^{T} ノ關係



レ以上煮沸時間ヲ延長セシニ再ビ漸次ニト降セルモ90分煮濾液ニ至ル迄總テ煮濾液ノ場合ハ明白ニ生濾液ノ場合ヨリモ大ナリキ。

2) 現ニ喰細胞ニ攝取セラレタル菌體ノ數即チ被喰菌數 L^{T} ハ

生濾液ニテハ12, 5分煮濾液ニテハ19, 10分煮濾液ニテハ22.5, 20分煮濾液ニテハ26, 30分煮濾液ニテハ33.5, 40分煮濾液ニテハ25, 50分煮濾液ニテハ19, 60分煮濾液ニテハ17, 90分煮濾液ニテハ14ニシテ30分煮濾液ガ最大數ヲ示セリ即チ煮濾液ノ總テガ生濾液ノ効果ヲ凌駕セリ而シテ5分煮沸以上煮沸時間ノ延長ト共ニ略階段的ニ増大シ30分煮濾液ニテハ著明ニ上昇シテ最大數ヲ示シ40分煮沸以上ハ煮沸時間ノ延長ニ從テ漸次減少スルノ傾向ヲ示シタルガ90分煮濾液ヲ以テスルモ尙生濾液ノ場合ヲ凌駕セリ。

3) L^{T} 喰 T 菌 T ノ和即チ

L^{T} ハ

生濾液ニテハ19.5, 5分煮濾液ニテハ28.5, 10分煮濾液ニテハ34.5, 20分煮濾液ニテハ42, 30分煮濾液ニテハ47, 40分煮濾液ニテハ37.5, 50分煮濾液ニテハ29.5, 60分煮濾液ニテハ26, 90分煮濾液ニテハ23ニシテ略 L^{T} 喰 T 及ビ L^{T} 菌 T 同様ノ經過ヲ示シタリ即チ L^{T} モ生濾液ニテ最小ニシテ煮沸時間ノ延長ニツレテ漸次大トナリ20分煮濾液ニテ急激ナル上昇ヲ示シ

特ニ30分煮沸液ノ場合ニ最大數ヲ示セリ(子⁷47)尙煮沸時間ヲ更ニ延長スル時ハ子⁷ノ値ハ反ツテ階段狀ニ減少シ行ク傾向ヲ示セリ而モ煮沸液使用ノ場合ハ例外ナシニ生濾液ノ場合ヨリモ大ニシテ特ニ30分煮沸ノ場合ニ於テ最モ著明ナリキ。

5. 所見總括及ビ討究

1) 生濾液ニ煮沸熱ヲ加フル時ハ其ノ抗原性能働カハ増加ス此際煮沸時間が30分ニ達スル迄ハ抗原性能働カハ漸次高マリテ最高トナルモ30分以上煮沸時間ヲ延長スル時ハ抗原性能働カハ再び漸次ニ減弱シ來ルモノナリ。

2) 即チ5分10分20分ト煮沸時間ヲ延長スルコトニ依リテ抗原性能働カヲ發揮スル物質ソレ自身ニハ變化ナキモ單一「イムペデン」ノミガ次第ニ破却セラレ30分煮沸液ニ於テハ「イムペデン」ハ最早ヤ完全ニ非働性トナリテ喰菌作用阻止能力ガ完全ニ消失スルニ反シ本來ノ抗原能力ハ何等ノ障礙ヲ受ケズ然ルニ煮沸時間が30分以上ニ延長セラルル時ハ抗原能力ヲ有スル抗原性物質ソレ自身が漸次ニ破却セラレ行クガ故ニ從テ30分煮沸液ガ最大ノ抗原能働カヲ示スニ至リタルモノナリ。

3) 然レドモ90分煮沸液ニ於テモ生濾液ニ比シ1(煮):0.84(生)ノ比ヲ以テ遙ニ大ナル喰菌作用ヲ呈セシハ如何ニ「イムペデン」ノ喰菌阻止作用ノ大ナルカ、又抗原性物質ノ耐煮沸性ノ強大ナルカヲ察スベキナリ。

4) 以上ノ實驗結果ニヨリテウエルシ・フレンケル氏瓦斯壞疽菌ノ溶解性菌物質ハ對黃色葡萄狀球菌喰菌作用ヲ顯著ニ促進スルモノナリ即チ喰菌作用「イムペデン」現象ニハ菌種族固有性ナキコトヲ明白ニ立證シ得タリ。

5) 「イムペデン」ノミガ破却セラレ抗原物質ハ全ク保存セラレタル狀態ニ於テ即チ30分煮沸濾液ト生濾液トノ間ノ抗原能働カヲ喰菌子ノ大小ニヨリテ比較スルニ47對19.5=100對41.5トナル即チ「イムペデン」ノ阻止作用ハ約58%ナリシコトヲ知ル。

6. 結 論

1) ウエルシ・フレンケル氏瓦斯壞疽菌ヲ0.5%葡萄糖加肉汁(筋肉片加)ニ培養シテ得タル生濾液ヲ煮沸スルコトヨリ喰菌作用促進能働カハ大トナリ煮沸時間ヲ遞加スルニ從テ喰菌作用促進能力モ亦漸次大トナリ30分煮沸濾液ニ至リテ最大トナリソレ以上煮沸時間ヲ延長シタルニ喰菌作用促進能働カハ徐々ニ減弱セリ。

2) ウエルシ・フレンケル氏瓦斯壞疽菌ノ培養ヨリ得タル生態ノ溶解性菌物質モ亦「イムペデン」ヲ含有スルモノニシテ此ノ「イムペデン」ノミヲ破却シ以テ最大ノ抗原能働カヲ發揮セシムル爲ニ必要ナル好適煮沸時間ハ30分ナリ。

3) 生濾液ヲ90分間煮沸セシ場合ニ於テモソレニヨリテ促進セラレタル喰菌作用ハ生濾液ノ場合ヨリモ遙ニ大ナリキニ即チ抗原性物質ノ耐煮沸性強大ナルコトヲ物語ルモノナリ。

4) 最大ノ抗原能働カヲ發揮シタル場合ニ比較スレバ「イムペデン」ノ阻止作用ハ約58%ナリキ。