

結核菌各種成劑ニ於ケル_Lイムペヂン¹ノ研究

第2報 東京私立北里傳染病研究所製

舊_Lツベルクリン¹ノ_Lイムペヂン¹ノ完全破却

ニ要スル好適煮沸時間ノ決定

〔西宮市勝呂病院研究室(鳥潟教授指導)〕

醫學士 辰 井 正 平

Ueber das Impedin in den antigenen Präparaten aus Tuberkelbazillen.

II. Mitteilung: Ueber die optimale Abkochungszeit des Alttuberkulins vom Kitasato-Institut für die totale Vernichtung des Impedins.

Von

Dr. Sh. Tatsui

〔Aus dem Laboratorium des Suguro-Hospitals in Nishinomiya
(Leiter: Prof. Dr. R. Torikata)〕

In der I. Mitteilung wurde nachgewiesen, dass auch das *Kitasato*-Alttuberkulin das Impedin enthält. Im folgenden soll noch erörtert werden, wie lange das originale Präparat abgekocht werden muss, um das darin enthaltene Impedin völlig zu vernichten und somit die Antigenavidität dieses Präparats in vollem Masse zu regenerieren.

Zu diesem Zwecke wurde das 10fach verdünnte originale Alttuberkulin in einem grossen bei 100°C siedenden Wasserbade 5-90 Minuten lang abgekocht und die so hergestellten Antigene auf ihre die normale Phagozytose von *Staphylococcus pyogenes albus* im zirkulierenden Blute normaler Meerschweinchen fördernde Wirkung hin geprüft. Die Ergebnisse der Versuche sind in folgender Tabelle zusammengestellt.

Tabelle 1.

Die die Hyperleukozytose sowie die normale Phagozytose (von *Staphylococcus pyogenes albus*) in vivo fördernde Wirkung des 10fach verdünnten *Kitasato*-Alttuberkulins zu seiner Abkochungszeit.

Abkochungszeit des Tuberkulins bei 100°C	Die Wirkung der Adkochung betreffend		
	Hyperleukozytose ¹⁾	Förderung der Phagozytose; u. z. in Phagozytat	Koeffizient
5 Min.	6.76	178	2.7
10 "	6.90	212	3.3
15 "	6.88	261	4.1
20 "	6.61	322	5.1
30 "	6.53	428	6.8
60 "	6.46	296	4.5
90 "	6.42	222	3.5

1) Dabei wurde die Zahl der weissen Zellen im Blute vor der Injektion der abgekochten Präparate als 1.0 gesetzt.

Zusammenfassung.

1) Durch die sukzessive Verlängerung der Abkochungszeit des 10fach verdünnten *Kitasato-Tuberkulins* bei 100°C wurde der Grad der Hyperleukozytose, die ja durch gekochte Präparate in vivo herbeigeführt wird, von 20 Minuten ab immer kleiner.

Dies lehrt uns, dass die Toxizität des Präparats durch 20minütige Abkochung ziemlich deutlich vermindert wird.

2) Der Koeffizient der Phagozytose, die ja durch verschieden lange Zeit abgekochtes Präparat herbeigeführt wird, vergrößerte sich immer; u. z. bis die Abkochung eine halbe Stunde dauerte.

3) Durch weitere Verlängerung der Abkochungszeit über 30 Minuten hinaus bis 90 Minuten wurde dann der Koeffizient der Phagozytose immer kleiner, jedoch nicht in dem Mass wie beim 5 Min. lang abgekochten Präparat.

4) Daraus ist ersichtlich, dass das Optimum der Abkochungszeit eine halbe Stunde ist, bei der ja das Impedin allein vernichtet wird, ohne dass die eigentliche Antigenavidität merklich geschädigt worden wäre, sodass also die im originalen Präparate innewohnende Antigenavidität von der durch das Impedin bewirkte Paralysisierung völlig regeneriert wird.

5) Die Paralysisierung der Antigenavidität des Tuberkulins in der Gegenwart des Impedins ist eine weit grössere als die durch 90 Min. andauernde Erhitzung bei 100°C bewirkte wahre Denaturierung der antigenen Substanzen. (Autoreferat)

1 緒 言

余等ハ曩ニ催喰菌作用ニ於テ北研製舊_Lツベルクリン¹ハ_Lイムペヂン¹ヲ含有スルコトヲ立證セリ(日本外科實函第13巻第2號)。

本報告ニ於テハ北研製舊_Lツベルクリン¹ノ含有スル_Lイムペヂン¹ヲ完全ニ破却スルニ必要ニシテ且ツ充分ナル煮沸時間ヲ確實スル所アラントス。

2 實 驗 材 料

(1) 東京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6年4月30日製造, No.81)之レヲ7等分シテ5分, 10分, 15分, 20分, 30分, 60分及ビ90分間_L攝氏100度ニテ沸騰シツ、アル重湯煎¹ノ中央ニ停在センメタル儘ニテ7種ノ煮抗原液ヲ製ス。

(2) 標準菌浮游液 白色葡萄狀球菌ノ24時間中性寒天培養菌苔ヲ0.85%食鹽水ニ浮游センメ、攝氏60度ニ30分間加熱殺菌シタル後、0.85%食鹽水ニテ3回洗滌シ、更ニ0.85%食鹽水ニ浮游センメタルモノニシテソノ1.0%耗中ノ菌量ハ0.0035ナリキ。

3 實 驗 方 法

體重300瓦内外ノ健常海狸3頭宛ヲ1群トナセルモノ數群ヲ使用シ、實驗第1ニ於テハ5分, 10分, 15分及ビ20分間煮沸セラレタル_Lツベルクリン¹各々0.3耗宛、及ビ實驗第2ニ於テハ20分, 30分, 60分並ニ90分間煮沸_Lツベルクリン¹0.3耗ヲ實驗第1ト同様ニ海狸腹腔内ニ注射シ、30分

4 實驗第1 5分乃至20分間煮抗原液ニ就テ

第 1 表

		血積 液内 單白 對位 容球 數	白增 血減 球率	白 血 球 二 百 ケ 中														
				喰	菌	子	中性多型核			嗜「エオチン」			大單核移行型			淋巴球肥肝 細胞其他		
							%	喰	菌	%	喰	菌	%	喰	菌	%	喰	菌
正 常 時	9700	1.00	0	0	0	37.2	0	0	1.0	0	0	1.2	0	0	60.6	0	0	
菌經 液過 注時 射間 後	30分	11200	1.15	10.7	39.3	50.0	59.2	9.3	35.7	2.0	1.3	3.7	2.0	0	0	36.8	0	0
	1時間	11700	1.20	8.7	28.7	37.4	62.2	8.7	28.7	2.3	0	0	2.2	0	0	33.3	0	0
	2時間	14600	1.50	7.3	26.0	33.3	69.0	7.0	25.3	2.0	0	0	4.3	0.3	0.6	24.7	0	0
	4時間	14500	1.50	7.0	24.7	31.7	63.8	7.0	24.7	1.2	0	0	2.3	0	0	32.7	0	0
	8時間	13700	1.41	6.0	19.3	25.3	68.2	6.0	19.3	2.8	0	0	3.0	0	0	26.0	0	0
總 和		65700	6.76	39.7	138.0	177.7	喰 菌 率 = 2.7											

第 2 表

		血積絶 液内 單位 白血 容球數	白増 血減 球率	白 血 球 二 百 ケ 中														
				喰	菌	子	中性多型核			嗜 _レ エオデ _ン			大單核移行型			淋巴球肥腫 細胞其他		
							%	喰	菌	%	喰	菌	%	喰	菌	%	喰	菌
正 常 時	9400	1.00	0	0	0	53.0	0	0	1.8	0	0	3.0	0	0	42.2	0	0	
菌經 液過 注時 射間 後	30分	9800	1.04	11.3	48.7	60.0	57.5	10.0	44.7	2.0	1.3	4.0	4.5	0	0	36.0	0	0
	1時間	12200	1.30	8.7	42.3	51.0	59.2	8.7	42.3	3.2	0	0	4.5	0	0	33.2	0	0
	2時間	14400	1.53	8.7	32.3	41.0	73.2	8.7	32.3	1.2	0	0	2.7	0	0	23.0	0	0
	4時間	13800	1.46	7.0	24.7	31.7	67.3	6.3	22.3	1.8	0.6	2.3	2.2	0	0	28.7	0	0
	8時間	14800	1.57	6.7	22.0	28.7	67.7	6.7	22.0	2.0	0	0	4.0	0	0	26.3	0	0
總 和		65000	6.90	42.4	170.0	212.0	喰 菌 率 = 3.3											

第 3 表

抗原液(北研舊 L ツベルクリン I 15分煮沸液) 0.3 cc 注射後ノ喰菌作用(3頭平均)

	血積絶 液内 單白對 位血 容球數	白増 血減 球率	白 血 球 二 百 ケ 中															
			喰	菌	子	中性多型核			嗜「エオチン」			大單核移行型			淋巴球肥胖 細胞 其他			
						%	喰	菌	%	喰	菌	%	喰	菌	%	喰	菌	
正 常 時	9300	1.00	0	0	0	40	5	0	0	1.8	0	0	2.6	0	0	55.0	0	0
菌經 液過 注射時 後時間	30分	9200	0.98	12.3	63.3	75.6	53.2	11.0	59.7	2.3	1.0	2.6	4.3	0.3	1.0	40.2	0	0
	1時間	12600	1.35	12.0	50.3	62.3	61.3	11.0	46.3	2.3	1.0	4.0	2.7	0	0	33.7	0	0
	2時間	14800	1.59	9.3	36.0	45.3	61.7	9.0	35.3	1.8	0.3	0.7	3.2	0	0	33.3	0	0
	4時間	15300	1.65	9.3	33.7	43.0	69.2	8.3	31.7	2.5	1.0	2.0	5.2	0	0	23.2	0	0
	8時間	12200	1.31	9.0	26.0	35.0	63.3	9.0	26.0	3.0	0	0	3.7	0	0	30.0	0	0
總 和	64100	6.88	51.9	209.3	261.0	喰 菌 率 = 4.1												

第 4 表

抗原液(北研舊 L ツベルクリン I 20分煮沸液) 0.3 cc 注射後ノ喰菌作用(3頭平均)

	血積絶 液内 單白對 位血 容球數	白増 血減 球率	白 血 球 二 百 ケ 中															
			喰	菌	子	中性多型核			嗜 _レ エオチン _ヲ			大單核移行型			淋巴球肥胖 細胞 其他			
						%	喰	菌	%	喰	菌	%	喰	菌	%	喰	菌	
正 常 時	9500	1.00	0	0	0	44.8	0	0	2.8	0	0	2.8	0	0	49.5	0	0	
菌經 液過 注射時 後時間	30分	10300	1.08	15.7	78.0	93.7	61.3	14.0	73.0	2.5	1.7	5.0	3.5	0	0	32.7	0	0
	1時間	11600	1.23	13.6	55.0	63.7	64.0	12.6	52.0	2.5	0.7	2.0	3.2	0.3	1.0	30.3	0	0
	2時間	14800	1.56	10.3	50.7	61.0	66.5	9.3	46.7	3.8	1.0	4.0	2.5	0	0	27.2	0	0
	4時間	13600	1.43	10.0	46.7	56.7	64.5	9.7	45.0	3.0	0.3	1.7	4.2	0	0	28.3	0	0
	8時間	12500	1.31	8.7	33.0	41.7	64.2	8.7	33.0	3.5	0	0	2.5	0	0	29.8	0	0
總 和	62800	6.61	58.3	263.4	322.0	喰 菌 率 = 5.1												

第 5 表

實驗第 1 = 於ケル總括的所見

抗 原 液	注 射 量	總 喰	血中白血球	喰	菌	子	喰 菌 率
煮 沸 時 間		總 和	數 増 減 率				
煮 5'	0.3	65700	6.76	40	138	178	2.7
煮 10'	0.3	65000	6.90	42	170	212	3.3
煮 15'	0.3	64100	6.88	52	209	261	4.1
煮 20'	0.3	62800	6.61	58	263	322	5.1

5 實驗第 2 20分乃至90分間煮抗原液ニ就テ

20分, 30分, 60分及90分間煮沸シタル L ツベルクリン I 各々 0.3 cc ヲ各群3頭宛ヨリ成ル海嚢腹腔ニ注射シテ實驗第 1 ト同様ノ檢索ヲ行ヒタルニ第 6 表ヨリ第 10 表迄ニ示サレタル所見ヲ得タリ。

第 6 表

抗原液(北研舊_Lツベルクリン⁷20分煮沸液)0.3cc注射後ノ喰菌作用(3頭平均)

	血球 液内 單位 容球 數	白增 血減 球率	白 血 球 二 百 ケ 中															
			喰	菌	子	中性多型核			嗜「エオドン」			大單核移行型			淋巴球肥胖 細胞其他			
						%	喰	菌	%	喰	菌	%	喰	菌	%	喰	菌	
正 常 時	9600	1.00	0	0	0	58.6	0	0	2.5	0	0	4.3	0	0	34.5	0	0	
菌經 液過 注射 時間	30分	9800	1.02	17.6	73.0	90.6	60.0	16.3	69.0	3.3	1.0	3.0	4.2	0.3	1.0	32.5	0	0
	1時間	15200	1.58	13.3	57.7	71.0	58.8	13.0	56.7	2.5	0.3	1.0	4.3	0	0	34.3	0	0
	2時間	13400	1.40	12.6	46.6	59.2	56.0	11.0	41.3	3.6	1.6	5.3	3.0	0	0	37.3	0	0
	4時間	13900	1.45	10.0	31.0	41.0	63.3	9.0	28.0	2.8	1.0	3.0	2.7	0	0	31.0	0	0
	8時間	10500	1.09	7.0	22.0	29.0	65.0	7.0	22.0	2.2	0	0	2.8	0	0	30.2	0	0
總 和		62800	6.54	60.5	230.3	291.0	喰 菌 率 = 4.6											

第 7 表

抗原液(北研舊_Lツベルクリン⁷³⁰分煮沸液) 0.3cc注射後ノ喰菌作用(3頭平均)

	血積絶 液内 單白對 白血容 球數	白増 血減 球率	白 血 球 二 百 ケ 中														
			喰	菌	子	中性多型核			嗜「エオデン」			大單核移行型			淋巴球肥胖 細胞其他		
						%	喰	菌	%	喰	菌	%	喰	菌	%	喰	菌
正 常 時	9800	1.00	0	0	0	60.3	0	0	1.0	0	0	1.8	0	0	36.7	0	0
菌經 液過 注時 射後 時間	30分	11100	1.13	22.0	129.0	157.0	58.0	20.0	22.0	2.8	2.0	7.6	3.5	0	35.7	0	0
	1時間	14700	1.50	13.6	72.6	86.0	60.8	13.3	71.6	2.7	0.3	1.0	3.2	0	33.3	0	0
	2時間	13900	1.42	11.0	54.3	65.0	68.3	10.6	53.0	2.3	0.3	1.3	3.3	0	26.0	0	0
	4時間	12500	1.27	9.0	39.0	48.0	66.5	9.0	39.0	3.2	0	0	3.2	0	27.1	0	0
	8時間	11200	1.14	7.3	28.7	36.0	66.3	7.0	28.3	1.5	0.3	0.6	3.2	0	29.0	0	0
總 和	63400	6.46	62.9	324.0	387.0	喰 菌 率 = 6.1											

第 8 表

抗原液(北研薺₁ツベルクリン⁷⁶⁰分煮沸液)0.3cc注射後ノ喰菌作用(3頭平均)

		血積 液内 單白 對血 容球 數	白增 血減 球率	白 血 球 二 百 ケ 中														
				喰	菌	子	中性多型核			嗜「エオゲン」			大單核移行型			淋巴球		肥 胖 其 他
							%	喰	菌	%	喰	菌	%	喰	菌	%	喰	
正 常 時		10200	1.00	0	0	0	55.2	0	0	1.0	0	0	1.8	0	0	42.0	0	0
菌 經 過 時 間 注 射 後	30分	13200	1.30	14.0	69.3	83.3	61.0	14.0	69.3	2.2	0.6	1.6	2.7	0	0	31.2	0	0
	1時間	12400	1.22	12.0	51.0	63.0	64.8	11.3	49.3	1.5	0	0	3.6	0	0	30.0	0	0
	2時間	15100	1.48	8.7	44.6	53.3	66.2	8.7	44.6	1.6	0	0	3.3	0	0	28.8	0	0
	4時間	11500	1.12	7.3	27.0	34.3	70.0	7.3	27.0	1.5	0	0	3.5	0	0	25.0	0	0
	8時間	13000	1.27	7.3	27.3	34.6	66.2	73.0	27.3	2.3	0	0	3.8	0	0	27.6	0	0
總 和		65200	6.39	49.3	219.0	268.0	喰 菌 率 = 4.1											

第 9 表

 抗原液(北研菌 L ツベルクリン T 90分煮沸液) 0.3 cc 注射後ノ喰菌作用(3頭平均)

		血積絶 液内 單白對 位血 容球數	白増 血減 球率	白 血 球 二 百 ケ 中															
				喰	菌	子	中性多型核			嗜エオデン ⁷			大單核移行型			淋巴球肥 細胞其 他			
							%	喰	菌	%	喰	菌	%	喰	菌	%	喰	菌	
正 常 時		9900	1.00	0	0	0	49.6	0	0	1.5	0	0	4.7	0	0	44.2	0	0	
菌經 液過 注射 時間	30分	12200	1.25	10.0	39.6	49.6	60.6	9.0	36.3	1.0	0.6	0.2	4.8	0.3	1.3	33.5	0	0	
	1時間	13100	1.34	10.7	39.3	50.0	58.2	10.0	37.3	1.8	0.7	2.0	6.7	0	0	33.3	0	0	
	2時間	14900	1.51	8.3	31.0	39.3	67.2	8.0	29.6	1.5	0.3	1.3	3.5	0	0	27.8	0	0	
	4時間	9500	0.97	7.0	23.6	30.6	67.7	7.0	23.6	0.3	0	0	3.3	0	0	23.7	0	0	
	8時間	12600	1.2	7.0	24.3	31.3	66.5	7.0	24.3	1.5	0	0	2.5	0	0	29.5	0	0	
總 和		62300	6.35	43.0	158.0	201.0	喰・菌 率 = 3.2												

第 10 表 實驗第2ニ於ケル總括的所見

抗 原 液 煮 沸 時 間	注 射 量	總 喰 總 和	血中白血球 數 増 減 率	喰	菌	子	喰 菌 率
20'煮 L T.B. T	0.3	62800	6.54	61	230	291	4.6
30'煮 L T.B. T	0.3	63400	6.46	63	324	387	6.1
60'煮 L T.B. T	0.3	65200	6.39	49	219	268	4.1
90'煮 L T.B. T	0.3	62300	6.35	43	158	201	3.2

 L ツベルクリン T = L T.B. T

6 所 見 總 括

實驗結果ハ總括シテ第11表及ビ第1圖ニ示サレタリ。

第 11 表

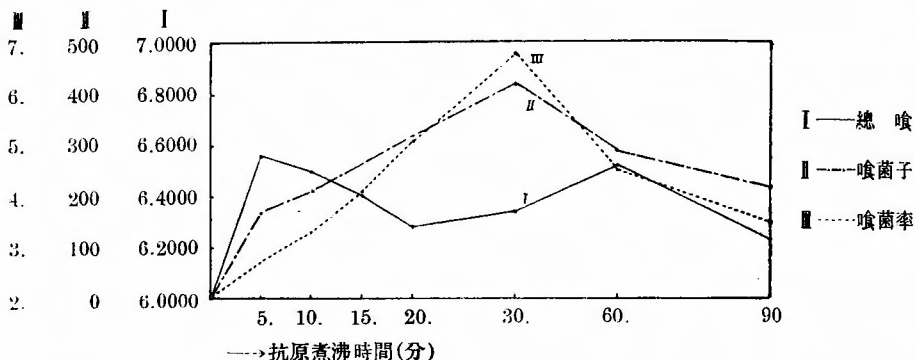
 北研 L ツベルクリン T ニ加ヘタル煮沸ノ時間ト催喰菌作用トノ關係(實驗第1及ビ第2ノ總括)

抗 原 液 煮 沸 時 間	總 喰 總 和	血中白血球數 増 減 率	喰	菌	子	喰 菌 率
5'煮 L T.B. T	65700	6.76	40	138	178	2.7
10'煮 L T.B. T	65000	6.90	42	170	212	3.3
15'煮 L T.B. T	64100	6.88	52	209	261	4.1
20'煮 L T.B. T	62800	6.61	58	263	322	5.1
30'煮 L T.B. T	63400	6.53	60	370	428	6.8
60'煮 L T.B. T	65200	6.46	47	250	296	4.5
90'煮 L T.B. T	62300	6.42	41	180	222	3.5

 L T.B. T = L ツベルクリン T

第 1 圖

北研「ツベルクリン」ニ加ヘタル煮沸ノ時間ト喰菌作用トノ關係(第11表參照)



以上ノ成績ニ依テ次ノ事項ヲ認メ得ベシ。

1) 毒力ノ標徴タル白血球增多程度、即チ白血球絶對數「總喰」ハ5分煮抗原注射群最大ニシテ、10分煮抗原群之レニ亞ギ15分、20分煮抗原群ニ於テハ僅カニ減弱シ、30分、60分煮抗原群ニ於テ再ビ増加シ、90分煮抗原注射群ニアリテハ20分煮抗原群ニ於ケルト略ボ同一ノ價ヲ示シタリ。然レ共大體ニ於テ白血球絶對數ノ差ハ各種煮抗原ノ間ニ於テ頗ル僅少ナリキ。

一般ニ各種免疫元(抗原)ノ毒力ノ大小ハ一定限度マデハ免疫元注射ニヨリテ惹起セラル、流血中白血球増加程度ト一致連行スルモノニシテ從ツテ白血球數過多ヲ惹起セシムルモノ程毒力大ナリト判定セラル、即チ舊「ツベルクリン」ヲ5分乃至20間煮沸シタルモノ、次デ煮沸時間ヲ延長シ20分乃至90間ニ至ラシメタルモ相互ノ間ニ白血球數ノ增多ノ差頗ル僅少ナリシハ、毒力ニ相互間著大ナル懸隔ナキモノト考ヘラル(第11表第9圖)。

2) 喰菌作用ノ標徴タル喰菌子數「子」ハ之レニ反シテ5分煮抗原注射ノ場合最モ劣弱ニシテ煮沸時間ヲ10分、15分、20分、30分ト延長スルニ從ツテ喰菌作用ハ著明ニ旺盛トナリ、30分抗原ノ場合最大限度ニ達シタリ。

煮沸時間ヲ30分以上更ニ延長スルトキハ喰菌作用ハ却ツテ低下シ來リ、60分、90分ト煮沸時間ノ延長スルニ連行シテ催喰菌性抗原能働カモ亦タ漸次低下セリ。然レドモ90分煮沸後ニ於テモ其ノ催喰菌作用ハ5分煮抗原ヨリモ猶ホ顯著ニ大ナリ(第1圖曲線參照)。

3) 喰菌率ニ於テモ「子」ノ場合ト略ボ同一ノ關係ヲ示シ煮沸時間ヲ5分ヨリ漸次延長スルニ從ヒテ「率」モ亦增強シ、20分抗原ノ場合「5.1」、30分抗原場合更ニ増大シテ「6.8」ナル最大值ニ達シ、更ニ煮沸時間ヲ延長スル時ハ「率」ハ漸次減少セリ。

之ヲ要スル「ツベルクリン」ノ催喰菌作用ハ、其ノ煮沸時間ヲ5分、15分ト延長スルニ從テ漸次増大シ來リ、30分煮沸ニ至リテ最大トナリ、爾後60分及ビ90分ト煮沸時間ガ延長スルニ從テ漸次減弱セリ。

4) 這般ノ事實ハ舊「ツベルクリン」中ニ含有セラル、 γ -イムペヂン「ハ30間ノ煮沸ニヨリテ完

全ニ破却セラル、ニ反シ、免疫獲得機轉乃至喰菌作用ヲ促進スルニ必要ナル抗原性能働カハ此際耐熱性強大ナルコトヲ示スモノナリ。マタ此ノ抗原性物質ハ30分以上ノ煮沸ニヨリテ漸次ニ破却セラレ行クコトヲ證スルモノナリ。

然レドモ90分煮沸ニヨリテ抗原物質ガ多少破却セラレタル場合ト雖モ_Lイムペヂン¹ニヨル抗原能働カノ阻止ニ比スレバ其ノ減弱程度猶ホ且ツ輕微ナルモノニシテ以テ如何ニ_Lイムペヂン¹阻害作用ノ大ナルモノナルカラ察セシムルモノナリ。

7 結 論

1. 北研舊_Lツベルクリン¹ヲ攝氏100度ニ5分、10分、20分、30分、60分並ニ90分間煮沸シ催喰菌作用ヲ檢シタルニ30分煮_Lツベルクリン¹ガ最大ノ抗原性能働カヲ示シタリ。
2. 北研舊_Lツベルクリン¹ヲ5分乃至15分間煮沸シタルモノハ20分乃至30分煮_Lツベルクリン¹ヨリモ毒力大ニシテ催喰菌作用弱ク、又60分乃至90分間煮沸シタルモノハ毒力モ弱ク催喰菌作用モ劣弱ナリ。然レドモ_Lイムペヂン¹ヲ含有スル5分煮沸抗原ヨリハ催喰菌作用顯著ニ大ナリ。
3. 故ニ北研_Lツベルクリン¹ノ_Lイムペヂン¹ヲ完全ニ破却スルニ必要ニシテ十分ナル煮沸時間ハ30分間ナリ。