

結核菌各種成劑ニ於ケル_Lイムペヂン¹ノ研究

第6報 大日本帝國政府傳染病研究所製_Lツベルクリン¹ノ 含有スル_Lイムペヂン¹ノ完全破却ニ必 要ナル煮沸時間ノ研究

西宮市勝呂病院研究室(鳥潟教授指導)

辰 井 正 平

Ueber das Impedin in den antigenen Präparaten aus Tuberkelbazillen.

VI. Mitteilung: Erforschung über die optimale Abkochungszeit des Denken-Tuberkulins zur totalen Vernichtung des Impedins und somit zur völligen Regenerierung der Antigenavidität.

Von

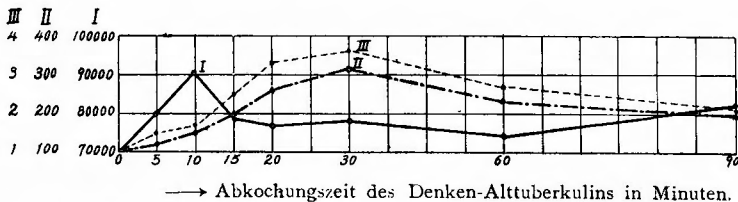
Dr. Sh. Tatsui

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

Um die optimale Abkochungszeit des Denken-Altuberkulins zur völligen Regenerierung der Antigenavidität zu eruieren, haben wir die gleichsinnigen Prüfungen wie in der II. Mitteilung angestellt und die in folgender Abbildung zusammengestellten Ergebnisse erhalten.

Fig. 1.

Das Verhalten der Abkochungszeit des Denken-Altuberkulins zu seiner Wirkung
(Toxizität und Antigenavidität).



- Abkochungszeit des Denken-Altuberkulins in Minuten.
- I: Die Verschiebung der Leukozytenzahl im zirkulierenden Blute, verursacht durch das Präparat mit verschieden langer Abkochungszeit. Dies ist ein Argument für die Toxizität des Präparates.
- II: Do. des Phagozytatswertes.
- III: Do. des Phagozytosenkoeffizienten.

Zusammenfassung.

1. Bei der sukzessiven Verlängerung der Abkochungszeit des originalen Denken-Tuberkulins

bei 100°C hat es sich herausgestellt, dass seine Toxizität allmählich immer verkleinert wird, bis sie von der 20 Minuten dauernden Abkochung ab einen konstanten Wert erreicht hat (vgl. Kurve I der Abbildung). Der Anschein, als ob die Toxizität bis zu der Abkochung von 10 Minuten zu einem Maximum immer erhöht worden wäre, ist darauf zurückzuführen, dass die Verminderung der originalen Giftigkeit, die anfangs nur Leukopenie verursachte, bei der 10 minutigen Abkochung nicht mehr Leukopenie, sondern erst eine maximale Hyperleukozytose herbeiführte (Es ist ja bekannt, dass allzugrosse Toxizität nur Leukopenie verursacht.)

2. Was die antigene Avidität anbetrifft, so wurde sie mit der Verlängerung der Abkochungszeit immer gesteigert, bis sie mit der 30 minutigen Abkochung ein Maximum erreicht hat.

3. Dies lehrt uns, dass einerseits das Impedin durch halbstündige Abkochung völlig vernichtet wird, andererseits die antigenen Substanzen dabei nicht zum mindesten geschädigt werden; d. h. mit anderen Worten, dass die im TBN enthaltene Antigenavidität von der Paralyisierung des Impedins total regeneriert worden ist.

4. Dabei ist darauf hinzuweisen, dass diejenige Verminderung der Antigenavidität, welche ja auf die durch 90 Minuten andauernde Siedehitze bewirkte Degenerierung der antigenen Substanzen zurückzuführen ist, doch eine beträchtlich kleinere ist als die, welche von der Paralyisierung des in TBN enthaltenen Impedins resultiert. (Autoreferat)

1 緒 言

傳研製舊「ツベルクリン」ハ「レイムベヂン」ヲ含有スルモノナルコトガ立證セラレタリ (第5報)。本報告ニアリテハ此ノ「レイムベヂン」ヲ完全ニ破却スルタメニ必要ニシテ充分ナル煮沸時間ヲ研究スル所アラントス。

2 實驗材料

1) 大日本帝國政府傳染病研究所製「ツベルクリン」昭和6年8月15日 (No. 33)

備 考

該「ツベルクリン」ノ製造方法ニ就テ日本醫事新報社ヲ介シテ問合ハセタルニ左記ノ回答ヲ得タルヲ以テ茲ニ附記ス。

人型結核菌ヲ「グリセリンブイヨン」培養壺ニシテ、2ヶ月培養シ、攝氏100度ニ30分滅菌シ後、菌體ト培養液トヲ濾別シ、其ノ培養液ヲ攝氏80度ノ溫度ニ於テ蒸發シ10分1ニ濃縮シ之ニ0.5%ノ割合ニ純石炭酸ヲ加ヘ、日本藥局方ノ規定ニ從ヒ效力ヲ檢定シ合格セルモノノミヲ舊「ツベルクリン」ト名付テ發賣ス。 (東大附屬傳染病研究所)

上記ノ成劑ヲ7等分シテ、5分、10分、15分、20分、30分、60分及ビ90分間攝氏100度ニテ沸騰シツツアル重湯煎ノ中央ニ停在セシメテ煮沸シ7種ノ煮抗原液ヲ製ス。

2) 標準菌浮游液 (喰菌作用檢査用) 白色葡萄狀球菌ノ24時間中性寒天培養菌苔ヲ0.85%食鹽水ニ浮游セシメ、攝氏60度ニテ30分間加熱殺菌シタル後、0.85%食鹽水ニテ3回洗滌シ更ニ同食鹽水ニ浮游セシメタルモノニシテ其ノ1.0瓩中ノ菌量ハ0.0035瓩ナリキ。

3 實驗方法

體重300瓦内外ノ健康海狸3頭宛ヲ1群トナシ之レヲ數群使用シ、實驗第1ニ於テハ5分、10分、15分、20分 間煮沸セラレタル「ツペルクリン」各々0.3坵宛及ビ實驗第2ニ於テハ 20分、30分、60分並ニ90分間煮沸「ツペルクリン」0.3坵ヲ實驗第1ト同様ニ海狸腹腔内ニ注射シ、30分ヲ經テ標準菌液1.0坵宛ヲ頸靜脈内ニ注射シ、爾後30分、1時間、2時間、4時間 並ニ8時間目ノ5回ニ互リテ採血シ、一面ニハ流血中白血球增多程度ヲ、他面ニハ噬菌作用ノ推移ヲ觀察シタリ。

4 實驗第1 5分乃至20分間煮沸「ツベルクリン」ノ喰菌作用ニ及ボス影響

5分, 10分, 15分, 20分間煮沸シタル¹ツベルクリン⁷0.3珣宛ヲ海豚ノ腹腔内ニ注射シタルモノニ就テ, 血中喰細胞ノ正常の喰菌作用ノ推移ヲ檢シタリ。

所見ハ第1表ヨリ第5表迄並ニ第1圖ヨリ第4圖迄ニ示サレタリ。

第 1 表 抗原液(傳研舊「ツベルクリン」5'者10倍稀釋液)0.3cc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 200 ケ 中														
				喰	菌	子	中性多型核			嗜エオゲン			大單核移行型			淋巴球肥肝 細胞 其他		
							%	喰	菌	%	喰	菌	%	喰	菌	%	喰	菌
正 常 時		13900	1.00	0	0	0	53.3	0	0	2.3	0	0	4.9	0	0	39.5	0	0
菌液注射後 經過時間	30 分	12900	0.92	7.3	24.0	31.3	58.0	6.7	22.3	3.5	0.6	1.7	4.5	0	0	34.0	0	0
	1 時間	15800	1.13	7.6	22.3	29.9	60.5	7.3	21.7	2.5	0.3	0.6	4.7	0	0	32.3	0	0
	2 時間	17600	1.26	6.0	15.0	21.0	58.7	6.0	15.0	2.2	0	0	4.5	0	0	34.6	0	0
	4 時間	15300	1.10	4.7	14.3	19.0	61.3	4.7	14.3	2.0	0	0	3.5	0	0	33.2	0	0
	8 時間	18500	1.33	5.3	14.0	19.3	67.0	4.7	12.3	2.0	0.6	1.7	4.5	0	0	26.5	0	0
總 和		80100	5.72	30.9	89.6	120.5	喰 菌 率=1.5											

第 2 表 抗原液(傳研舊「ツベルクリン」 10^{-7} 煮10倍稀釋液)0.3cc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 200 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 細胞其他		
							%	喰	菌	%	喰	菌	%	喰	菌	%	喰	菌
正 常 時		14100	1.00	0	0	0	49.5	0	0	2.0	0	0	3.7	0	0	44.8	0	0
菌經 液過 注射 時間	30 分	13700	0.97	9.3	35.0	44.3	58.0	9.0	34.3	3.0	0.3	0.7	3.7	0	0	35.3	0	0
	1 時 間	16100	1.14	8.3	30.3	38.6	65.3	7.3	27.3	2.5	0.7	2.0	4.0	0.3	1.0	28.2	0	0
	2 時 間	22500	1.60	7.6	22.7	30.3	65.5	7.3	21.7	1.8	0.3	1.0	3.0	0	0	29.7	0	0
	4 時 間	18900	1.34	6.6	17.0	23.6	69.5	5.7	14.7	2.5	0.6	1.3	4.0	0.3	1.0	24.0	0	0
	8 時 間	19800	1.40	4.6	16.7	21.3	66.8	4.6	16.7	2.4	0	0	5.3	0	0	25.5	0	0
總 和		91000	6.45	36.4	121.7	158.1	喰 菌 率=1.7											

第 3 表 抗原液(傳研舊^レツベルクリン^ヲ15^分煮10倍稀釋液)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 200 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		14600	1.00	0	0	0	58.2	0	0	0.6	0	0	4.5	0	0	36.7	0	0			
菌經液過 注射時間	30 分	13100	0.89	12.3	46.7	59.0	62.8	9.7	38.7	3.0	1.6	5.0	5.2	1.0	3.0	20.0	0	0			
	1 時間	14800	1.01	9.7	34.3	44.0	62.0	9.0	31.3	3.3	0.7	3.0	4.3	0	0	30.3	0	0			
	2 時間	18100	1.24	9.3	29.3	38.6	63.6	8.0	25.6	3.2	1.3	3.7	4.8	0	0	28.1	0	0			
	4 時間	16500	1.13	7.7	26.0	33.7	64.2	7.7	26.0	2.7	0	0	5.0	0	0	28.1	0	0			
	8 時間	17200	1.18	6.9	20.0	26.9	63.0	6.3	18.3	3.7	0.3	1.0	6.3	0.3	0.7	27.0	0	0			
總 和		79700	5.45	45.9	156.3	202.2	喰 菌 率=2.4														

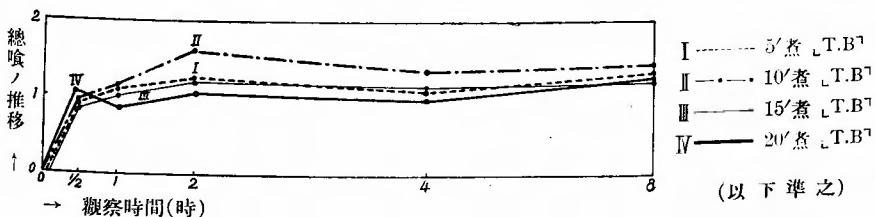
第 4 表 抗原液(傳研舊^レツベルクリン^ヲ20^分煮10倍稀釋液)0.3^{cc}注射後ノ喰菌作用(3頭平均)

		血積絶 液内 單白對 位血 容球數	白増 血減 球率	白 血 球 200 ケ 中															淋 巴 球 細 胞	肥 胖 細 胞	其 他
				喰	菌	子	中性多型核			嗜エオチン			大單核移行型								
							%	喰	菌	%	喰	菌	%	喰	菌						
正 常 時		15000	1.00	0	0	0	59.4	0	0	2.2	0	0	3.7	0	0	34.7	0	0			
菌經液過 注射時間	30 分	15600	1.04	13.0	60.3	73.3	59.3	11.3	56.3	2.9	0.6	2.0	5.5	1.0	2.0	32.3	0	0			
	1 時間	13100	0.87	12.0	51.3	93.3	62.2	10.0	45.3	3.0	1.3	4.3	4.8	0.7	1.7	30.0	0	0			
	2 時間	19400	1.09	10.0	38.6	48.6	67.6	9.7	37.3	2.2	0.3	1.3	5.0	0	0	25.2	0	0			
	4 時間	14400	0.96	10.0	34.0	44.0	61.8	8.7	30.0	3.0	1.3	4.0	4.2	0	0	31.0	0	0			
	8 時間	18200	1.22	8.0	24.3	32.3	62.3	7.0	20.7	1.7	0.7	2.0	3.7	0.3	1.6	32.3	0	0			
總 和		77700	5.18	53.	208.5	261.5	喰 菌 率=3.4														

第 5 表 實驗第 1 = 於ケル總括の所見

抗 原 液 煮沸時間(分)	總 喰 總 和	% 喰 總 和	喰	菌	子	喰 菌 率
5	80100	5.72	30.9	89.6	120.5	1.5
10	91000	6.45	36.4	121.7	158.1	1.7
15	79700	5.45	45.9	156.3	202.2	2.5
20	77700	5.18	53.0	208.5	261.5	3.4

第 1 圖 5分, 10分, 15分, 20分煮舊^レツベルクリン^ヲ0.3^{cc}注射後^ニ總喰^ノ増減率^ヲ推移



第 7 表 抗原液(傳研舊_Lツベルクリン^{130'}煮10倍稀釋液)0.3cc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 200 ケ 中														
				喰	菌	子	中性多型核			嗜エオチン			大單核移行型			淋巴球肥脾 細胞其他		
							%	喰	菌	%	喰	菌	%	喰	菌	%	喰	菌
正 常 時		12700	1.00	0	0	0	44.8	0	0	3.7	0	0	4.5	0	0	47.	0	0
菌 經 過 時 間 後	30 分	13900	1.09	15.3	67.7	83.	59.5	13.3	61.7	4.	2.	6.	5.	0	0	31.5	0	0
	1 時 間	13200	1.04	11.3	52.3	63.6	56.5	9.3	45.7	3.8	2.	6.6	5.2	0	0	34.5	0	0
	2 時 間	14300	1.13	9.7	42.3	52.	60.3	8.	37.	4.	1.7	5.3	6.3	0	0	29.3	0	0
	4 時 間	17100	1.35	8.7	33.3	42.	59.7	7.4	29.3	4.1	1.3	4.	6.2	0	0	30.	0	0
	8 時 間	16300	1.28	7.3	27.3	34.6	63.2	6.7	25.	3.6	0	0	5.	0.6	2.3	28.2	0	0
總 和		74800	5.89	52.3	222.9	275.2	喰 菌 率=3.7											

第 8 表 抗原液(傳研舊、ツベルクリン⁷⁶⁰者10倍稀釋液)0.3cc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 200 ケ 中														
				喰	菌	子	中性多型核			嗜エオチン			大單核移行型			淋細胞肥脾 細 胞 其 他		
							%	喰	菌	%	喰	菌	%	喰	菌	%	喰	菌
正 常 時		13100	1.00	0	0	0	54	0	0	2.7	0	0	4.3	0	0	39	0	0
菌液注射後 経過時間	30 分	11600	0.89	10.	36.3	46.3	53.7	8.7	32.6	2.8	1.3	3.7	4.7	0	0	38.8	0	0
	1時間	14200	1.08	9.7	36.3	46.	58.7	8.	30.	4.7	1.7	6.3	5.5	0	0	31.1	0	0
	2時間	14100	1.08	7.7	29.	36.7	59.8	7.4	27.7	3.7	0.3	1.3	4.2	0	0	32.3	0	0
	4時間	16400	1.25	8.3	25.7	34.	62.8	6.6	21.3	4.2	1.	2.7	6.8	0.7	1.7	26.2	0	0
	8時間	15500	1.18	7.7	23.3	31.	65.5	7.	21.7	3.5	0.7	1.6	6.	0	0	25.	0	0
總 和		71800	5.48	43.4	150.6	194	喰 菌 率=2.7											

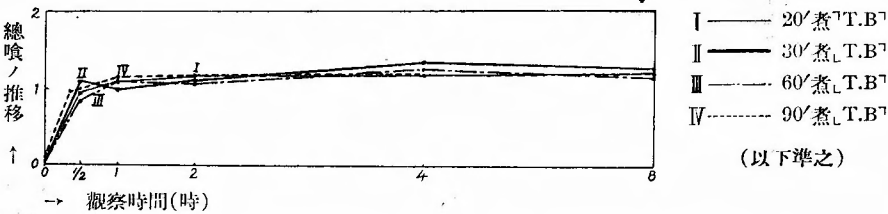
第 9 表 抗原液(傳研舊、ツベルクリン 790'者10倍稀釋液)0.3cc注射後ノ喰菌作用3頭平均

[illegible]

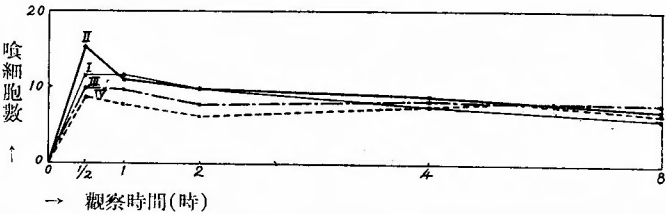
第 10 表 實驗後 2 = 於ケル總括的所見

抗 原 液 煮沸時間(分)	總 喰 總 利	% 總 利	喰	菌	子	喰 菌 率
20	74600	5.61	47.1	172.5	219.6	2.9
30	74800	5.89	52.3	222.9	275.2	3.7
60	71800	5.48	43.4	150.9	194.0	2.7
90	78000	5.69	39.0	121.9	160.9	2.1

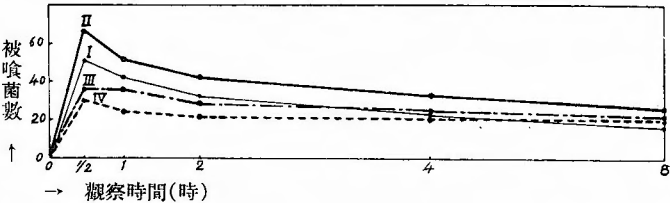
第 5 圖 20分, 30分, 60分, 90分煮舊_Lツベルクリン^{70.3}託注射後_L總喰⁷増減率ノ推移



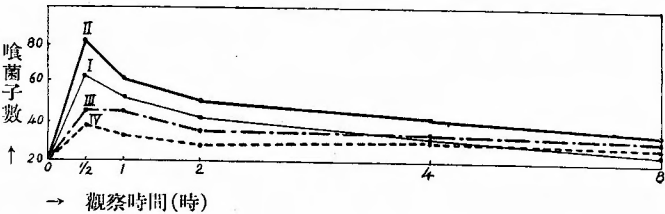
第 6 圖 20分, 30分, 60分, 90分煮舊_Lツベルクリン^{70.3}託注射後喰細胞數_L喰⁷ノ關係



第 7 圖 20分, 30分, 60分, 90分煮舊_Lツベルクリン^{70.3}託注射後被喰菌數_L菌⁷ノ關係



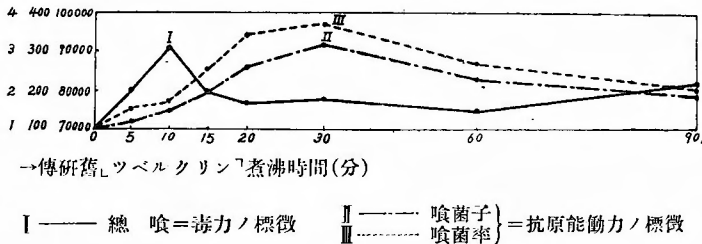
第 8 圖 20分, 30分, 60分, 90分煮舊_Lツベルクリン^{70.3}託注射後喰菌子數_L子⁷ノ關係



6 實驗結果ノ總括

實驗第1及ビ第2ノ成績ハ第11表及ビ第9圖ニ一括セラレタリ。

第9圖 傳研舊¹⁾ツベルクリン¹⁾ニ加ヘラレタル煮沸(100°C)ノ時間トツレニヨリテ
變化セル抗原ノ毒力ト能動力トノ推移 (第11表參照)



第11表 傳研舊¹⁾ツベルクリン¹⁾ニ加ヘラレタル煮沸(100°C)ノ時間トツレニ依リテ變化セ
ル抗原能動力ト抗原毒力トノ推移(實驗第1及ビ第2ノ總括の所見)

抗 原 液 煮沸時間(分)	總 喰 和	% ¹⁾	喰 ²⁾	菌 ²⁾	子 ²⁾	喰菌率 ²⁾
5	80100	5.72	30.9	89.6	120.5	1.5
10	91000	6.45	36.4	121.7	158.1	1.7
15	79700	5.45	45.9	156.3	202.2	2.5
20	77700	5.18	53.0	208.5	261.5	3.4
30	77900	5.44	58.6	269.4	327.7	3.7
60	74300	5.07	48.8	182.0	231.0	2.7
90	81200	5.25	43.9	147.3	191.6	2.1

1) 健常白血球數ヲ1.0トナシタル場合ノ5回検査ノ總和ニシテ抗原毒力ノ大小ト一致ス。

2) 催喰菌作用ノ大小ハ抗原能動力ノ大小ト一致ス。

以上ノ實驗成績ニヨリテ次ノ事項ヲ認メ得ベシ。

1) 毒力ノ標徴タル白血球増加程度(白血球絶對數¹⁾總喰¹⁾)ハ煮沸時間ノ延長ト共ニ大トナリ、10分煮沸ニ至リテ最大トナリタリ(第9圖曲線 I)。然ルニ此ノ煮沸時間ガ10分ヨリ更ニ延長セラルルニ及ビテ、白血球増加程度(即チ毒力ノ標徴)ハ漸次小トナリ、20分煮沸ニ至リテ殆ンド最小トナリタリ(第9圖)。煮沸時間ガ20分以上ニ延長セラルルモ總喰ノ増加程度ニハ殆ンド認めベキノ大差無シ、即チ毒力ニハ大ナル減弱ヲ證セズ。60分煮沸ニテハ20分煮沸ノ場合ヨリモ血中白血球増加程度更ニ僅カニ小トナリタリ。次デ90分煮沸ニ及ビテ白血球增多程度ハ明白ニ向上シ以テ毒力ノ増加スルコトヲ示セリ。(然レドモ此ノ事實ニハ速カニ信ヲ措クベカラズ、更ニ今後ノ研究ニ待ツベシ。

要スルニ舊¹⁾ツベルクリン¹⁾ノ毒力ハ比較的大ナルモノニシテ其儘ノ状態ニテハ即チ白血球過少ヲ惹起スルモ、5分、10分、ト煮沸熱ヲ加フルコト大トナレバ毒力ハ稍々輕減セラレ、白血球過多ヲ惹起スル程度ニマデ減弱セラレ、10分煮沸ニ及ビテ此ノ白血球過多惹起作用最大トナリ、

ソレヨリ煮沸時間が更ニ延長スルトキハ毒力ハ次第ニ減弱シテ、白血球過多ヲ惹起スルノ作用モ衰退シ、20分煮沸ニ至リテ此ノ作用(即チ毒作用)ハ非常ニ小トナリテ殆ンド「コンスタント」(不變)ノ行様ニ近ヅキ、60分煮沸ニ至ル迄ハ依然トシテ減弱程度ハ不變的ナルコトヲ示スモノナリ。(60分煮ニ至リテ稍々僅カニ更ニ減弱セラレタリ)即チ20分煮沸ニ至リテ毒力非常ニ減弱シ不變性ヲ帶ブルニ至ルモノノ如シ。

然ルニ催蝕菌作用ノ上ニ顯現セラレタル舊「ツベルクリン」ノ抗原能働カハ煮沸時間が、5分、10分、……ト延長セラルルニ從テ漸次ニ向上シ(第9圖曲線 II 及ビ III 参照)、20分煮ニ至リテ明白ニ增強セラレ、30分煮ニ至リテ最大値ニ達シ、ソレヨリ煮沸時間が60分ニ迄延長セラレタルニ抗原能働カハ漸減シ來タリ。90分煮沸ニ及ブマデ漸減セルモ、ソレニテサヘモ之ヲ原「ツベルクリン」ノ抗原能働カニ比スレバ猶ホ明白ニ大ナルヲ認ム(第9圖 II 曲線及ビ III 参照)。

即チ第9圖曲線 II 乃至 III ノ推移ハ煮沸時間ノ延長ト共ニ最初ノ30分間ニテハ「イムペヂン」ガ漸次ニ破却セラレタル結果トシテ抗原能働カノ漸次ニ向上スルノ事實ヲ示シ、30分煮沸ニ至リテ「イムペヂン」ガ完全ニ破却セラレテ、シカモ本來ノ抗原性物質ハ何等ノ障礙ヲモ蒙ラズ、本來ノ抗原能働カガ全部「イムペヂン」ノ阻止作用ヲ脱却シテ復活更生シ來リシモノタルコトヲ示セリ。

煮沸時間が30分以上ニ延長セラル、時ハ「イムペヂン」ハ既ニ破却シ盡サレタル後ナルヲ以テ、熱ノ作用ハ抗原性物質ソレ自身ヲ障礙シ從ツテ煮沸時間ノ延長ト共ニ抗原能働カハ漸減スルモノナルコトヲ示セルモノナリ。

實ニ第9圖ノ曲線 I ハ毒力ノ推移ヲ、其ノ II 及ビ III ハ抗原能働カノ推移ヲ最モ忠實ニ顯現セルモノナリ。

7 結 論

1) 傳研舊「ツベルクリン」ノ含有スル「イムペヂン」ヲ完全ニ破却スル爲ニ必要ニシテ充分ナル煮沸時間ハ30分間ナリ。

2) 30分ノ煮沸ニヨリテ舊「ツベルクリン」ノ抗原能働カハ最大トナリタリ。是即チ「イムペヂン」ノ完全破却抗・原物質ノ完全維持ト相俟ツテ舊「ツベルクリン」ノ含有スル抗原物質ノ能働カガ「イムペヂン」ノ阻止作用ヨリ完全ニ脱却シ復活シ來リタルコトヲ示スモノナリ。

3) 舊「ツベルクリン」ノ毒力ハ20分煮沸ニヨリテ顯著ニ減弱シ60分煮沸ニ至ル迄殆ンド「コンスタント」ニ保持セラル。

4) 即チ30分ノ煮沸ニヨリテ舊「ツベルクリン」ノ毒力ハ最小トナリ、抗原トシテノ效力ハ最大程度ニ發揮セラル、ニ至ルモノナリ。

5) 毒力ヲ標徴スル曲線ト抗原能働カヲ示ス曲線ト毫モ一致連行スルノ事實無キハ毒力ノ減弱ハ決シテ抗原能働カノ増大ヲ意味セザルコトヲ明ボスルモノニシテ、「イムペヂン」作用ト毒作用トハ相互ニ無關係ナルコトヲ立證スルモノナリ。