

ウエルシ・フレンケル氏瓦斯壊疽菌

「アナトキシン」ノ免疫學的研究

第2報 ウエルシ・フレンケル氏瓦斯壊疽菌「アナトキシン」ノ含有スル「イムペジン」破却ニ必要ナル好適煮沸時間ニ就テ

京都帝國大學醫學部外科學教室(鳥瀉教授指導)

賀 來 隆 美

Erforschung des Anatoxins von *Welch-Fränkelschen* Gasbrahdbazillen in Lichte der Impedintheorie.

II. Mitteilung: Ueber die optimale Abkochungszeit der Anatoxine zur totalen Vernichtung des Impedins und somit zur völligen Regenerierung der darin enthaltenen Antigenavidität.

Von

Dr. T. Kaku.

[Aus dem Laboratorium der Kais. Chir. Universitätsklinik Kyoto

(Prof. Dr. R. Torikata).]

Dass die Anatoxine trotz der beträchtlichen Reduzierung der Giftigkeit noch immer das Impedin qualitativ und quantitativ in vollem Masse wie beim Primärtoxin enthalten und somit die Antigenavidität paralyisiert ist, steht fest. Im folgenden soll die optimale Abkochungszeit der Anatoxine zur totalen Regenerierung der Antigenavidität festgestellt werden.

Testmaterialien.

Wie in der I. Mitteilung angegeben.

Versuchsanordnung.

Die Anatoxine sowie das Primärtoxin werden in einem grossen bei 100°C siedenden Wasserbade stufenweise verschieden lange Zeit (von 5 Minuten an bis 90 Minuten) abgekocht. Dabei entstand weder eine Trübung noch ein Niederschlag. Als Testdosis zogen wir laut der I.

Mitteilung 0.2 ccm heran, weil sich bei dieser Dosis immer die maximale Antigenavidität herbeiführen liess.

Versuchsergebnisse.

Die Ergebnisse der Versuche sind in folgender Tabelle zusammengestellt:

Art des Antigens	Toxizität nach D.l.m. für Mäuse	Die Abkochungszeit der Testmaterialien (Antigene) bei 100°C in Minuten									maximale Impedin-wirkung	maximale Antigen-avidität nach Vernichtung des Impedins	maximale Antigen-avidität bei Vernichtung des Impedins sowie bei gleicher Toxizität
		0	5	10	20	30	40	50	60	90			
Primärtoxin NF	1	221.8 (66.9)	262.7 (79.2)	311.4 (93.9)	286.0 (86.3)	331.4 (100)	286.0 (86.3)	283.9 (85.5)	234.3 (70.7)	236.5 (71.2)	33.1%	100 ¹⁾	100 ²⁾
3 Wochen gelagertes Anatoxin NAT ₃	0.4	142.9 (57.7)	166.1 (67.0)	202.5 (81.7)	211.8 (85.5)	247.6 (100)	189.4 (76.4)	203.4 (82.1)	158.0 (63.8)	156.0 (63.0)	42.3%	75 ¹⁾	187.5 ²⁾
6 Wochen gelagertes Anatoxin NAT ₆	0.266	128.2 (63.7)	134.1 (66.6)	150.9 (75.0)	190.3 (94.5)	201.2 (100)	170.6 (84.7)	144.1 (71.6)	135.3 (67.2)	147.9 (73.5)	36.3%	61 ¹⁾	229.3 ²⁾

- 1) Prozentwerte der durch 30 Minuten lang abgekochte Testmaterialien erhaltenen Phagozytate,
- 2) Diese Werte müssen in Wirklichkeit noch grösser sein, weil wir dabei die Toxizität der nativen Testmaterialien (i.o. 0.4 und 0.266) zu Grunde legten.

Die in Klammern eingeschlossenen Zahlen stellen Prozentwerte der wirklich gewonnenen Phagozytate dar, um eine einheitliche Erwägung der Befunde zu ermöglichen.

Zusammenfassung.

1) Das Impedin wird trotz der Anatoxinmethode zum mindesten beeinträchtigt. Daraus geht die Unabhängigkeit der Toxizität vom Impedin deutlich hervor. Das Impedin ist ja eine die Antigenavidität paralysierende mikrobiologische Energie.

2) Die optimale Abkochungszeit sowohl des Primärtoxins als auch der Anatoxine zur totalen Vernichtung des darin enthaltenen Impedins und somit zur völligen Regenerierung der Antigenavidität stellte sich bei allen Testmaterialien übereinstimmend als eine halbe Stunde heraus.

3) Die maximale Antigenavidität der Testmaterialien verhielt sich zu einander wie 100 (Primärtoxin) : 75 (3 Wochen gelagertes Anatoxin) : 61 (6 Wochen gelagertes Anatoxin).

4) Wenn wir dabei die relativ stark herabgesetzte Toxizität der Anatoxine berücksichtigen und die oben erwähnte Antigenavidität auf die gleiche Toxizität einstellen, so gestaltet sich dieselbe folgendermassen:

100 (Primärtoxin) : 187.5 (3 Wochen gelagertes Anatoxin) : 229.3 (6 Wochen gelagertes Anatoxin).

5) Wir kommen also zum Schlusse, dass 1. die Toxizität der antigenen Materialien viel ausgiebiger durch Anatoxinmethode als durch Kochmethode vernichtet wird und dass 2. die Antigenavidität bei allen nativen antigenen Materialien nicht durch Formolmethode, sondern erst durch die Kochmethode regeneriert wird. Zur Herstellung der idealen Antigenen Materialien müssen die beiden Methoden, die Anatoxinmethode und die Koktoimmunogenmethode kombiniert werden. (Autoreferat)

緒 言

余等ハ嚮ニウエルシ・フレンケル氏瓦斯壞疽菌「アナトキシン」ハ原生毒ニ比シ毒力減弱ノ高度ナル割ニハ免疫元性能働力ハ比較ノ高度ニ保有サル、然シ毒力ノ減弱ニ連行シテ免疫力モ亦一定度ノ減弱ヲ示スコトヲ立證シ、且ツ「アナトキシン」ハ原生毒ト略々同一程度ニ「イムベヂン」ヲ含有スルコトヲ確メタリ。故ニ更ニ「イムベヂン」破却ニ必要ナル煮沸時間ヲ檢シ3週間「アナトキシン」及ビ6週間「アナトキシン」ノ含有スル「イムベヂン」ノ破却ニ必要ナル好適煮沸時間ヲ知ラント欲ス。

實 驗 材 料

1. ウエルシ・フレンケル氏瓦斯壞疽菌原生毒 (略符 NF)

ウエルシ・フレンケル氏瓦斯壞疽菌 (ロツクフエーラー研究所株) (以下ウ氏菌ト略稱ス)ニ就キ先ヅ其ノ毒力ヲ增強セシメタル後2%葡萄糖加肉汁(筋加)ニ1週間嫌氣性ニ培養シタル後(菌量ハ1.0坵中凡0.0028坵)遠心沈澱シテ得タル上澄液ヲL₈陶土壁ニテ濾過シテ得タル黃褐色透明ノ濾液ナリ(實驗ニ際シテハ「アナトキシン」ヲ作ル目的ニテ添加シタル「フオルマリン」ノ量ト同一ノ比即チ0.3%ノ割ニ0.85%滅菌食鹽水ヲ加ヘタリ)。

2. 3週間「アナトキシン」(略符 NAT₃)

前記原生毒ノ1部ニ0.3%ノ比ニ日本藥局法「フオルマリン」水(35容量%)ヲ加ヘ攝氏37度ノ孵卵器内ニ3週間靜置シタルモノナリ。

3. 6週間「アナトキシン」(略符 NAT₆)

前記3週間「アナトキシン」ノ1部ヲ更ニ3週間引續キ攝氏37度ノ孵卵器内ニ靜置シタルモノ即チ都合6週間靜置シタルモノナリ。

實驗第1 各種抗原ノ對黃色葡萄狀球菌試験管内喰菌作用ニ及ボス影響

ウエルシ・フレンケル氏瓦斯壞疽菌原生毒、同3週間及ビ6週間「アナトキシン」ヲ各、アンブレ「ニ封入シ攝氏100度ニ沸騰シツ、アル重湯煎中ニテ5分、10分、20分、30分、40分、50分、60分、90分間煮沸シ各8種ノ抗原ヲ得タリ。煮沸後ト雖各抗原ハ依然トシテ透明ナリキ。實驗甲ニテハ原生毒ヲ以テ、實驗乙ニテハ3週間「アナトキシン」ヲ以テ、實驗丙ニテハ6週間「アナトキシン」ヲ以テ何レモ0.2坵(最大喰菌作用促進量)ヲ使用シテ黃色葡萄狀球菌試験管内喰菌作用ニ對スル影響ヲ觀察セリ。

檢 査 方 法

余等ノ第1報ニ詳述セシガ如シ。

實驗甲 原生毒ノ煮沸時間ガ其ノ喰菌作用促進能力ノ上ニ及ボス影響

實驗結果ハ第1表ニ示サレタリ。

第1表 原生毒各煮沸時間ノ試験管内喰菌作用ニ及ボス影響

煮沸時間 喰菌作用	0'	5'	10'	20'	30'	40'	50'	60'	90'	對 照
喰	38	45.7	49.3	49.7	55.7	46.7	46.3	42.3	41.7	20.2
菌	66.7	78.3	97.7	85.3	100.7	88.3	87.7	68.3	69.7	27.0
子	104.7	124.0	147.0	135.0	156.4	135.0	134.0	110.6	111.4	47.2
%	221.8	262.7	311.4	286.0	331.4	286.0	283.9	234.3	236.0	100

所 見 概 括

原生毒ヨリモ總テノ煮液ニ於テ喰菌作用促進能力大ナリ特ニ30分煮液ニ於テ最大喰菌作用ヲ呈セリ。

實驗乙 3週間「アナトキシン」ノ煮沸時間ガ其ノ喰菌作用促進能力ノ上ニ及ボス影響

實驗結果ハ第2表ニ示サレタリ。

第2表 3週間「アナトキシン」各煮沸時間ノ試験管内喰菌作用ニ及ボス影響

煮沸時間 喰菌作用	0'	5'	10'	20'	30'	40'	50'	60'	90'	對 照
喰	19.7	21.6	25.3	29.3	31.7	24.3	25.3	21.7	21.7	15.3
菌	31.3	37.7	47.0	46.3	56.7	43.3	47.3	34.7	34.0	20.4
子	51.0	59.3	72.3	75.6	88.4	67.6	72.6	56.4	55.7	35.7
%	142.9	166.1	202.5	211.8	247.6	189.4	203.4	158.0	156.0	100

所 見 概 括

3週間「アナトキシン」ニテモ生液ヨリモ總テノ煮液ニ於テ喰菌作用促進能力大ナリ特ニ30分煮液ニ於テ最大喰菌作用ヲ呈セリ。

實驗丙 6週間「アナトキシン」ノ煮沸時間ガ其ノ喰菌作用促進能力ノ上ニ及ボス影響

實驗結果ハ第3表ニ示サレタリ。

第3表 6週間「アナトキシン」各煮沸時間ノ試験管内喰菌作用ニ及ボス影響

煮沸時間 喰菌作用	0'	5'	10'	20'	30'	40'	50'	60'	90'	對 照
喰	18.3	19.3	21.0	27.0	27.7	23.3	20.0	19.3	21.0	13.7
菌	25.3	26.3	30.3	37.7	40.7	34.7	29.0	26.7	29.3	20.3
子	43.6	45.6	51.3	64.7	68.4	58.0	49.0	46.0	50.3	34.0
%	128.2	134.1	150.9	190.3	201.2	170.6	144.1	135.3	147.9	100

所見概括

6週間_Lアナトキシン¹ニテモ生液ヨリモ總テノ場合ニ於テ喰菌作用促進能力大ナリ就中30分煮液ニ於テ最大喰菌作用ヲ呈セリ。

總括及ビ考察

實驗甲乙丙ノ成績ニ於テ喰菌子價ノ大小ハ喰菌作用促進能力ノ大小ヲ指示ス、即チ此際原毒3週間及ビ6週間_Lアナトキシン¹3者共ニ30分煮沸ニヨリ最大喰菌作用ヲ促進セリ。

次ニ原毒、3週間及ビ6週間_Lアナトキシン¹ノ3者ハ同時同列ニ實驗シタルニアラザルヲ以テ喰菌子ノ實數ヲ以テ喰菌作用ノ大小ヲ比較ス可ラズ食鹽水ヲ對照トシテノ喰菌子價ヲ基準トシテ各喰菌子ノ%數ヲ觀察スルコトニヨリテ3者間ノ喰菌作用促進能力及ビ含有スル_Lイムベジン¹量ヲ統一的ニ討檢シ得ベシ、之等ノ關係ハ第4表ニ明カナリ。

第4表 原毒、3週間及ビ6週間_Lアナトキシン¹ノ喰菌作用促進能力ト煮沸時間トノ關係(喰菌子ヲ指標トス)

抗原種別	對 _L マウス ¹ 最小致死量 ₁ 毒力	抗原煮沸(100°C)時間(分)									最大 _L イムベジン ¹ 力	_L イムベジン ¹ ノ完全破却ニヨリテ發現セル最大抗原能動力 ¹⁾	毒力同一ノ立場ヨリ觀タル最大抗原能動力
		0	5	10	20	30	40	50	60	90			
原 毒	1	221.8 (66.9)	262.7 (79.2)	311.4 (93.9)	286.0 (86.3)	331.4 (100)	286.0 (86.3)	283.9 (85.6)	234.3 (70.7)	236.0 (71.2)	33.1%	100 ¹⁾	100 ²⁾
3週間 _L アナトキシン ¹	0.4	142.9 (57.7)	166.1 (67.0)	202.5 (81.7)	211.8 (85.5)	247.6 (100)	189.4 (76.4)	203.4 (82.1)	158.0 (63.8)	156.0 (63.0)	42.3%	75 ¹⁾	187.5 ²⁾
6週間 _L アナトキシン ¹	0.266	128.2 (63.7)	134.1 (66.6)	150.9 (75.0)	190.3 (94.5)	201.2 (100)	170.6 (84.7)	144.1 (71.6)	135.3 (67.2)	147.9 (73.5)	36.3%	61 ¹⁾	229.3 ²⁾

1) 30分煮ニヨリテ得タル喰菌子ノ100分比

2) 原_Lトキシン¹、3週間及ビ6週間_Lアナトキシン¹ノ毒力ノ割合1、0.4及ビ0.266ヲ基準トシ算出シタル喰菌子ノ100分比、然レドモ30分煮抗原ニテハ毒力ハ更ニ小ナルガ故ニ實際ノ抗原能動力ハ此等ノ數ヨリモ大ナル筈ナリ。

() 中ノ數字ハ100分比ヲ示ス。

以上ノ所見ニヨリテ下ノ認識ニ達スベシ。

1. 3週間_Lアナトキシン¹モ、6週間_Lアナトキシン¹モ、生態單純_Lトキシン¹ト同様ニ_Lイムベジン¹ヲ含有ス而シテ其ノ_Lイムベジン¹勢力ハ何レモ生態單純_Lトキシン¹ニ於ケルヨリモ大ナリ。

2. 即チ_Lアナトキシン¹ヲ調製スル操作ニヨリテ生態單純_Lトキシン¹中ニ含有セラレタル_Lイムベジン¹ハ少シモ減弱セザルモノナリ。

3. 以上ノ事實ニヨリテ生態單純_Lトキシン¹ノ毒力ソレ自身ハ其中ニ含有セラレタル_Lイムベジン¹ト同一事項ニ非ザルコトヲ知ル。

4. _Lイムベジン¹ノ完全破却ニ必要ニシテ充分ナル煮沸時間ハ_Lアナトキシン¹タルト否ト

ニ拘ラズ30分間ナリ、此ノ事實ハ「アナトキシン」法ニ依リテモ「イムペヂン」ノ性質上一モ亦タ何等ノ變化ヲモ來サバ爾コトヲ示ス1ツノ證左ナリ。

5. 「イムペヂン」ノ完全破却ニヨリテ發現シ來リタル最大抗原能働力ヲ比較スルニ單純毒素ノ場合ヲ100トスレバ3週間「アナトキシン」ニテハ75, 6週間「アナトキシン」ニテハ61トナル、以テ「アナトキシン」法ニヨレバ毒力ト同時ニ本來ノ抗原性能働力モ亦タ減弱スルモノナルコトヲ知ルベシ。且ツ「フォルマリン」保存期間ガ3週間ヨリモ6週間ノ方ガ抗原能働力ノ減弱程度大ナルコトヲ知ル。

此ノ如ク「アナトキシン」法ニヨレバ毒力モ抗原能働力モ減弱シ、「イムペヂン」ハ依然トシテ保存セラレ居ルモノナルコトヲ知ルベシ。然レドモ抗原能働力減弱ノ程度ヨリモヨリ以上一毒力ガ減弱シ居ルモノナル事ハ實用上ノ意義ヲ有スルコトハ勿論ニシテ、此ノ方面ニ向ツテ煮「トキシン」ト煮「アナトキシン」トハ更ニ詳細ナル比較ヲ必要トスルモノナリ。然レドモ生「トキシン」ヨリモ煮「トキシン」ノ方ガ毒力小ニシテ免疫力大ナルコト及ビ生「アナトキシン」ヨリモ煮「アナトキシン」ノ方ガ毒力小ニシテ免疫力大ナルコトハ確乎タル事實ナリ。

結 論

ウエルシ・フレンケル氏瓦斯壞疽菌ニ就テ次ノ事項ガ明白トナリタリ。

1. 「フォルマリン」法ニヨリテ「アナトキシン」ヲ製出スルモ原「トキシン」中ニ含有セラレ居ル「イムペヂン」阻止勢力ハ少シモ破却セラレズシテ依然トシテ保存セラル。
2. 毒力ト「イムペヂン」勢力トハ異名同物 (identisch) ニアラズ「アナトキシン」ニテハ所謂無毒ノ状態トナリテモ其中ニ「イムペヂン」ハ依然トシテ保存セラル。
3. 原「トキシン」ニテモ、3週間「アナトキシン」ニテモ或ハ6週間「アナトキシン」ニテモ其ノ「イムペヂン」ヲ破却スルニ必要ニシテ充分ナル煮沸時間ハ30分ナリ。
4. 「フォルマリン」法ニヨリテモ「イムペヂン」ハ分量上毫モ減弱セズ性質上ニモ亦タ何等變化セザルモノナリ。
5. 「フォルマリン」法ニ依レバ毒力ノ減弱ト共ニ本來ノ抗原能働力モ亦タ減弱ス。而シテ保存期間ノ長キ程毒力及ビ抗原能働力ノ減弱程度モ亦タ行進ス。
6. 然レドモ毒力ノ減弱程度ヨリモ抗原能働力ノ減弱程度ノ方ガ小ナリ、故ニ同一毒力ノ立場ヨリ觀レバ煮「トキシン」ヨリモ「アナトキシン」乃至煮「アナトキシン」ノ方ガ免疫上効果ナル場合アリ得可シ。
7. 然レドモ生「アナトキシン」ヨリモ煮「アナトキシン」ノ方ガ一面毒力小ニシテ他面抗原能働力大ナルモノナルコトハ動かカスベカラズ。即チ「アナトキシン」モ亦タ「イムペヂン」學說ノ支配下ニ在ルモノナリ。