

結核菌各種成劑ニ於ケル_Lイムペヂン¹ノ研究

第7報 東京私立北里傳染病研究所製・感作結核_Lワクチン¹VI(志賀)ノ催喰菌作用_Lイムペヂン¹現象

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.

VII. Mitteilung: Erforschung über die sensibilisierte Tuberkelbazillen-Vakzine (Shiga) bezüglich des Impedins.

Von

Dr. Sh. Tatsui

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

Die 10fach verdünnte Shiga'sche sensibilisierte Tuberkelbazillen-Vakzine wurde in einem bei 100°C siedenden Wasserbade 5, 10, 15, 20.....120 Minuten lang gehalten. Die auf die oben erwähnte Weise hergestellten Testmaterialien wurden, mit einer konstanten Menge einer Standardaufschwemmung von Staphylococcus pyogenes albus kombiniert, in die Ohrve e normaler Kaninchen eingespritzt, um dann nach 30, 60, 120, 240 und 480 Minuten je eine Probe des Blutes zu entnehmen und die darin konstatierbare Phagozytose nebst Hyperleukozytose zahlenmässig zu verfolgen.

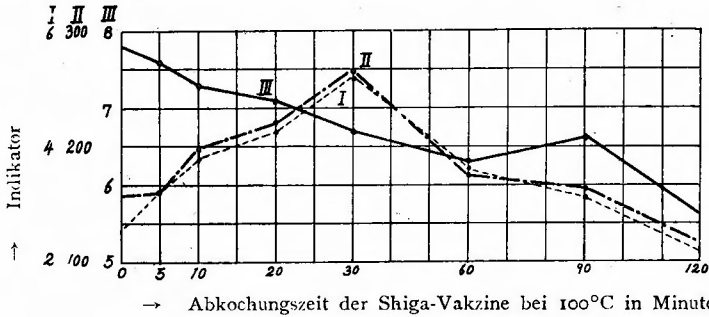
Die Ergebnisse der Prüfungen sind als Mittelwerte von je 3 eine Gruppe bildenden Tiere in folgender Tabelle angegeben und noch in der Abbildung kurvenmässig veranschaulicht.

Tabelle 1.

Das Verhalten der Phagozytose und Hyperleukozytose zu der Abkochungszeit der Shiga'schen sensibilisierten Tuberkelbazillen-Vakzine.

Abkochungszeit der Shiga-Vakzine bei 100°C in Minuten	Grad der Hyperleukozytose %	Phagozytat	Koeffizient der Phagozytose
0	7,8	157	2,6
5	7,6	161	3,2
10	7,3	199	3,8
20	7,1	222	4,3
30	6,7	267	5,3
60	6,3	178	3,6
90	6,6	164	3,2
120	5,6	118	2,2
ohne Testmaterialien	7,5	142	2,8

Die kurvenmässige Wiedergabe des Verhaltens der die Phagozytose sowie Hyperleukozytose fördernden Wirkung der Shiga'schen Tuberkelbazillen-Vakzine zur Abkochungszeit.



I. u. II: Phagozytatswerte u. Koeffizienten der Phagozytose (Argument für die Antigenavidität).

III: Grad der Hyperleukozytose (Argument für die Toxizität der Testmaterialien)

Zusammenfassung.

1. Es stellte sich heraus, dass die Shiga'sche Tuberkelbazillen-Vakzine trotz der Sensibilisierung doch impedinhaltig ist und dass die optimale Abkochungszeit bei 100°C zur völligen Inaktivierung des Impedins eine halbe Stunde ist.

2. Die dank der totalen Vernichtung des Impedins regenerierte Antigenavidität der 30 Minuten lang abgekochten Vakzine verhielt sich zu der originalen (ungekochten) wie 5,3 : 2,6 = 204 : 100 als Koeffizienten der Phagozytose und 267 : 157 = 170 : 100 als Phagozytatswerte.

3. Bei der Mitwirkung der originalen (ungekochten) Shiga-Vakzine ist aber der Koeffizient der Phagozytose subnorm herabgesetzt worden.

4. Wie aus der Kurve III der Abbildung 1 ersichtlich, wurde die Toxizität der originalen Shiga-Vakzine infolge der sukzessiven Verlängerung der Abkochungszeit immer mehr herabgesetzt, bis sie bei der halbstündigen Abkochung eine zwar stark verminderte, aber fast konstante Toxizität zu erreichen, so dass weitere Abkochung bis auf 90 Minuten die schon einmal herabgesetzte Toxizität ferner nicht wesentlich beeinflusste. Trotzdem zeigte sich die 120 Minuten lang abgekochte Vakzine gegenüber der 90 Min. abgekochten als beträchtlich ungiftiger geworden.

5. Alles in allem muss auch die sensibilisierte Tuberkelbazillen-Vakzine (Shiga) regelrecht eine halbe Stunde lang bei 100°C abgekocht und vom Impedin völlig befreit werden, wenn wir uns verpflichtet fühlen, von einer möglichst grossen Antigenavidität bei einer möglichst geringen Toxizität Gebrauch zu machen.

(Autoreferat)

1 緒 言

本報告 = 於テハ北研感作結核ワクチン「VI」(志賀)ノ含有スル「イムペデン」ノミヲ完全ニ破却スル爲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) 生抗原 東京私立北里傳染病研究所製造, 志賀感作結核ワクチン「(No. 119, 7. 6. 2)」ノ

3) 喰菌現象検査用標準菌液 白色葡萄狀球菌ノ24時間中性寒天培養ヨリ菌體ヲ0.85%食鹽水=浮游セシメ、攝氏60度=テ30分間加熱殺菌シタル後、0.85%食鹽水=テ3回洗滌シ、更=新鮮ナル0.85%食鹽水=浮游セシメタルモノニシテ其1.0坵中菌量ハ鳥潟教授沈澱計=テ5度日即チ約0.0035坵ナリキ。

可檢抗原ノ0.3兎ヲ體重300g内外ノ健常雄海豚ノ腹腔内ニ注射シ、ソレヨリ30分ヲ經テ噬菌作用檢査用白色葡萄狀球菌液1.0兎宛ヲ頸靜脈内ニ輸送シ、爾後30分目、1時間目、2時間目、4時間目及ビ8時間目ノ5回ニ互リテ後肢靜脈ヨリ採血シ、1面ニハ流血中白血球ノ過多程度(毒力)、他面ニハ噬菌作用ノ推移(抗原能働力)ヲ記上セリ。結果ハ1群3頭宛ノ平均値ヲ以テ記上セラレタリ。

所見ハ第1表ヨリ第6表迄並ニ第1圖ヨリ第4圖迄ニ示サレタリ。

可檢抗原ノ代リ = 0.85% 食鹽水ヲ使用セル際ノ喰菌作用 (3 頭平均)

		血積絶 液内白對 單白血 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 移	單 行	核 型	淋 細 胞	巴 球	肥 胖	其 他	
							%	喰	菌	%	喰	菌	%	喰	菌	%	喰	菌		
正 常 時		6700	1.00	0	0	0	38.8	0	0	2.6	0	0	5.2	0	0	53.3	0	0		
菌 液 過 時 射 後 間	3 0 分	8800	1.31	8.	27.	35.	46.6	7.7	25.7	2.7	0.3	1.3	5.2	0	0	45.5	0	0		
	1 時 間	8500	1.27	7.3	29.7	37.	57.	6.	26.	3.8	1.3	3.7	3.2	0	0	36.	0	0		
	2 時 間	10600	1.58	5.3	22.	27.3	60.5	5.3	22.	3.	0	0	4.5	0	0	32.	0	0		
	4 時 間	11200	1.67	5.	16.6	21.6	57.8	5.	16.6	2.8	0	0	5.	0	0	34.3	0	0		
	8 時 間	11000	1.64	4.7	16.3	21.	62.	4.7	16.3	3.	0	0	5.8	0	0	29.2	0	0		
總 和		50100	7.5	30.	112.	142	喰 菌 率=2.8													

		血積 液内 單白 對位 血容	總 血減 球率	白 血 球 200 ケ 中														
				・ 喰	菌	子	中性多型核			嗜エオデン			大 移	單 行	核 型	淋巴細胞其他		
							%	喰	菌	%	喰	菌				%	喰	菌
正 常 時		7100	1.00	0	0	0	49.	0	0	3.2	0	0	4.3	0	0	43.5	0	0
菌經 液過 注時 射後 間	3 0 分	9500	1.32	9.6	49.	58.6	58.	8.	43.	2.5	1.3	4.6	5.5	0.3	1.4	34.	0	0
	1 時 間	10200	1.44	9.	37.3	46.3	54.7	7.7	32.	3.3	1.3	5.3	5.2	0	0	36.8	0	0
	2 時 間	10300	1.45	9.	28.	37.	63.8	7.7	23.3	2.5	1.3	4.7	4.3	0	0	29.3	0	0
	4 時 間	11900	1.68	7.3	24.3	31.6	61.2	7.	22.7	2.8	0.3	1.6	4.5	0	0	31.5	0	0
	8 時 間	10000	1.41	5.6	19.	24.6	61.5	5.6	19.	2.5	0	0	4.5	0	0	31.5	0	0
總 和		51900	7.3	41.	158.	199.	喰 菌 率=3.8											

第 5 表 SK 20' = ヨル喰菌作用 (3頭平均)

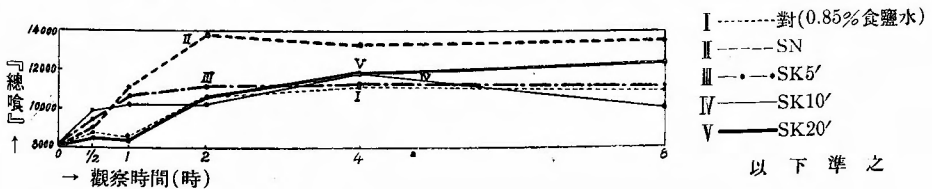
		血積絶 液内 單白對 位血 容球數	白増 血減 球率	白 血 球 200 ケ 中																
				喰	菌	子	中性多型核			嗜エオチン			大移			單行	核型	淋巴球肥		腫 其他
							%	喰	菌	%	喰	菌	%	喰	菌			%	喰	
正 常 時		7300	1.00	0	0	0	42	0	0	1.5	0	0	4.5	0	0	52	0	0		
菌 經 過 注 射 後 間	3 0 分	8700	1.19	11.3	57.6	69.	58.2	9.	47.6	2.8	2.3	10.	3.6	0	0	35.3	0	0		
	1 時 間	8300	1.13	9.3	44.7	54.	56.	8.3	40.6	2.8	1.	4.	4.8	0	0	36.3	0	0		
	2 時 間	10600	1.45	7.7	31.	38.7	64.2	6.7	28.	2.6	1.	3.	4.5	0	0	28.6	0	0		
	4 時 間	11900	1.63	7.0	28.3	35.3	69.5	7.	28.3	2.3	0	0	4.	0	0	24.	0	0		
	8 時 間	12300	1.68	5.3	20.	25.3	68.3	4.7	17.3	2.2	0.6	2.7	5.5	0	0	24.	0	0		
總 和		51800	7.1	40.	182.	222	喰 菌 率=4.3													

第 6 表

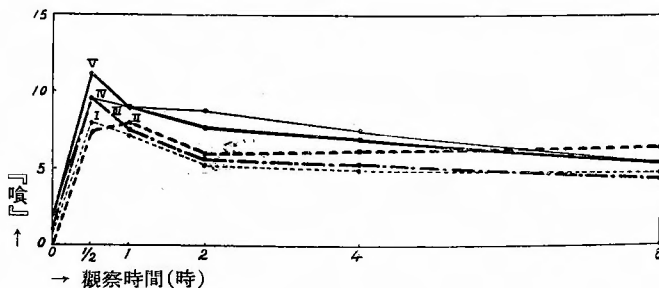
諸種ノ可檢抗原ニ加ヘタル煮沸時間5—20分ノ催喰菌作用ニ及ボス影響(實驗第1)

抗 原 液 煮沸時間(分)	總 喰 總 和	%	喰	菌	子	喰 菌 率
0	60800	7.8	34	123	157	2.6
5	53200	7.6	32	129	161	3.2
10	51900	7.3	41	158	199	3.8
20	51800	7.1	40	182	222	4.3
0.85% NaCl	50100	7.5	30	112	142	2.8

第 1 圖 諸種ノ可檢抗原 SN, SK 5', SK 10', SK 20' = ヨル「總喰」ノ増減



第 2 圖 諸種ノ可檢抗原 = ヨル「喰」ノ推移



		血積 液内 單白 對位 容球 數	白 增 血 減 球 率	白 血 球 200 ケ 中																
				喰	菌	子	中性多型核			嗜エオチン			大移		單行		核 型	淋巴球肥脾 細胞其他		
							%	喰	菌	%	喰	菌	%	喰	菌	%		喰	菌	%
正 常 時		6200	1.00	0	0	0	51.5	0	0	1.3	0	0	4.3	0	0	42.8	0	0		
菌經 液過 注時 射時 後間	3 0 分	6600	1.06	9.3	32.7	42.	55.2	7.7	28.3	2.3	1.3	3.7	5.5	0.3	0.7	37.0	0	0		
	1 時 間	7700	1.24	7.3	24.3	31.6	59.5	6.7	21.7	2.	0.3	1.3	6.	0.3	1.3	32.5	0	0		
	2 時 間	11600	1.87	7.3	22.	29.3	66.9	6.7	19.7	2.2	0.6	2.3	4.6	0	0	26.3	0	0		
	4 時 間	9900	1.59	7.3	24.3	31.6	64.6	7.	23.7	2.7	0.3	0.6	4.8	0	0	27.8	0	0		
	8 時 間	10300	1.66	5.7	17.6	23.3	67.5	5.7	17.6	1.8	0	0	5.7	0	0	25.	0	0		
總 和		46100	7.4	37.	121.	158.	喰 菌 率=3.4													

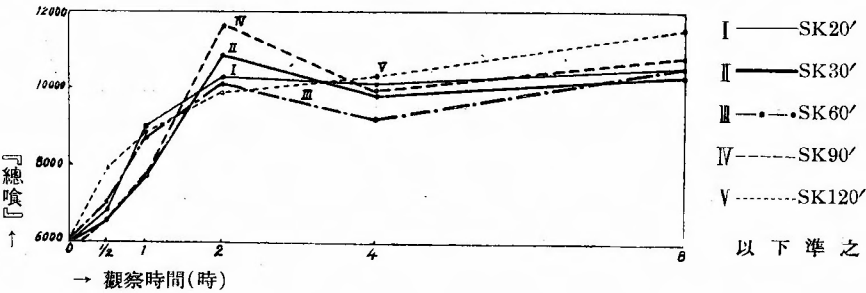
第 11 表 SK 120' = ヨル喰菌作用 (3 頭平均)

		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			嗜エオデシ			大移		單行	核型	淋巴球肥胖 細胞其他		
							%	喰	菌	%	喰	菌	%	喰			%	喰	菌
正 常 時		7800	1.00	0	0	0	55.5	0	0	2.2	0	0	4.3	0	0	37.	0	0	
菌經 液過 注射 時間	3 0 分	7900	1.01	7.3	22.	29.3	55.5	6.3	18.7	2.5	1.	3.3	5.3	0	0	36.7	0	0	
	1 時 間	8800	1.13	5.3	18.	23.3	54.3	4.7	16.3	2.3	0.3	0.7	4.7	0.3	1.	38.7	0	0	
	2 時 間	9900	1.27	4.7	12.6	17.3	62.	4.7	12.6	1.8	0	0	5.8	0	0	30.3	0	0	
	4 時 間	10300	1.32	5.7	17.	22.7	68.7	5.	15.3	2.8	0.7	1.7	6.2	0	0	22.3	0	0	
	8 時 間	11500	1.47	5.	16.	21.	63.2	4.3	14.7	2.5	0.7	1.3	8.2	0	0	26.1	0	0	
總 和		48400	6.2	28.	86.	114.	喰 菌 率=2.3												

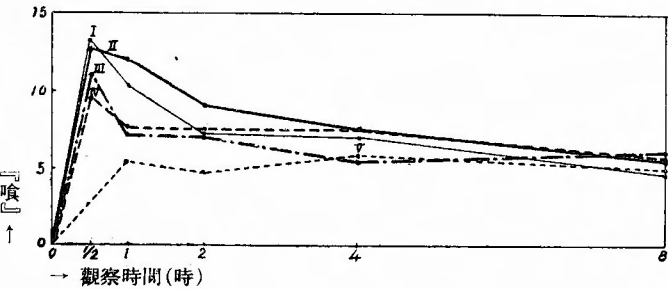
第 12 表 生抗原 = 加ヘタル煮沸時間 20—120 分ノ催喰菌作用 = 及ボス影響(實驗第 2)

抗 原 液 煮沸時間(分)	總 喰 總 和	%	喰	菌	子	喰 菌 率
20	46700	7.9	43	170	214	4.6
30	45200	7.4	48	209	257	5.7
60	45500	7.0	37	135	172	3.8
90	46100	7.4	37	121	158	3.4
120	48400	6.2	28	86	114	2.3

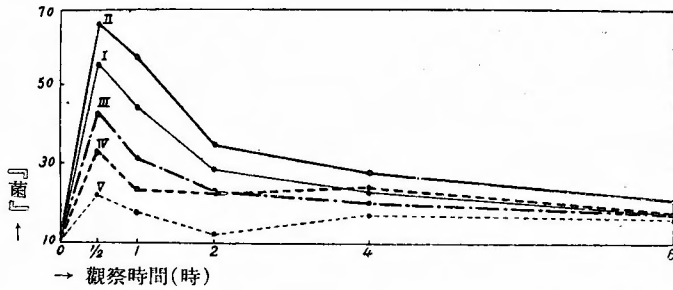
第 5 圖 諸種ノ可檢抗原 = ヨル〔總喰〕ノ増減



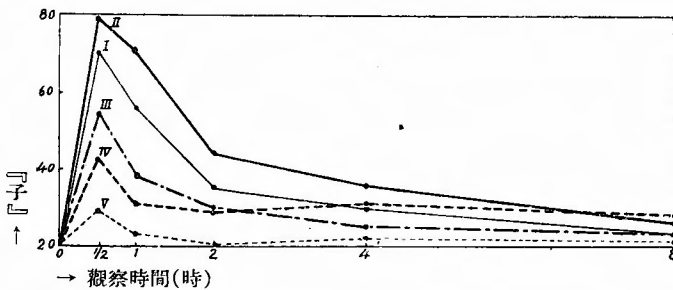
第 6 圖 諸種ノ可檢抗原 = ヨル〔喰〕ノ推移



第 7 圖 諸種ノ可檢抗原ニヨル菌ノ推移



第 8 圖 諸種ノ可檢抗原ニヨル子ノ推移



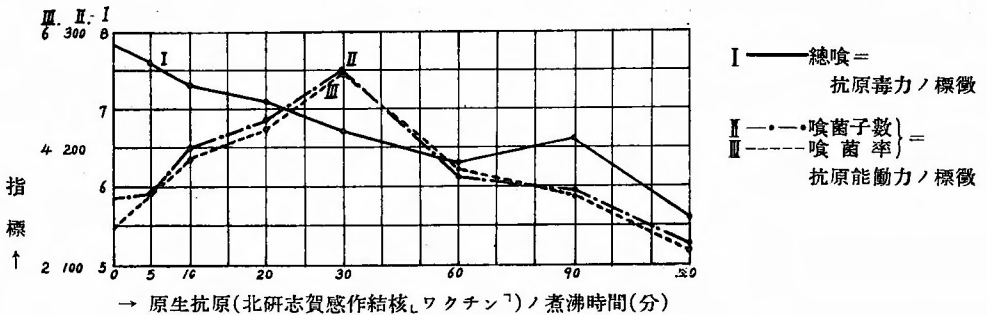
6 所見總括及ヒ考察

實驗第1及ビ第2ノ成績ハ双方ニ共通ナル20分煮抗原ヲ以テノ成績ヲ基準トシテ統一的ニ換算シ第13表ニ一括セラレタリ。又第13表ノ所見ハ第9圖ニ於テ曲線ヲ以テ示サレタリ。

第 13 表 生抗原ニ加ヘタル煮沸時間5—120分ノ催喰菌作用ニ及ボス影響
(實驗第1及ビ第2, 第6表及ビ第12表ノ統一的總括)

抗 原 液 煮沸時間(分)	總 喰 總 和	%	喰	菌	子	喰 菌 率
0	60800	7.8	34	123	157	2.6
5	53200	7.6	32	129	161	3.2
10	51900	7.3	41	158	199	3.8
20	51800	7.1	40	182	222	4.3
30	50136	6.7	45	223	267	5.3
60	50468	6.3	34	145	178	3.6
90	51134	6.6	34	129	164	3.2
120	53685	5.6	26	92	118	2.2
0.85% NaCl	50100	7.5	30	112	142	2.8

第 9 圖 生抗原を加へタル煮沸時ト抗原能働力及ヒ毒力ノ關係(第13表參照)



I = 毒力ノ指標 = 血中白血球數増加ノ場合(%)

II 及ヒ III 抗原能働力ノ指標 = 喰菌子數又ハ喰菌率

此ノ所見ニ據リテ下ノ事項ヲ認メ得ベシ。

1) 催喰菌作用ノ大小ハ喰菌子ニテモ喰菌率ニテモ相一致シテ、抗原ノ煮沸時間ガ5分、10分ト延長セラルルニ從テ、次第ニ増強シ來リ、30分煮沸ニ至リテ最大值ニ達シタリ。

2) 是即チ煮沸時間ノ延長ト共ニ抗原能働力ハ30分煮沸ニ至ルマデ漸次増強スルコトヲ示スモノニシテ、曲線ノ走行ノ極メテ漸進的ナル事實ハ、此間検査成績ノ上ニ何等ノ誤謬ナク全ク信頼スベキ所見タルコトヲ證スルモノナリ。

3) 以上ノ事實ハ即チ原生抗原中ニ含有セラレ居ル_Lイムペヂン¹ガ煮沸熱ニヨリテ漸次ニ破却セラレ、30分煮沸ニ至リテ完全ニ消失シ、然カモ本來ノ抗原性物質ノ作用ハ何等ノ障礙ヲモ蒙ラザルガ爲ニ原生抗原ノ有スル本來ノ能働力ノ全部ガ發揮セラレタルコトヲ示スモノナリ。

換言スレバ_Lイムペヂン¹ニヨリテ麻痺セラレ居タル抗原作用ガ_Lイムペヂン¹ノ漸次的破却ト共ニ麻痺ヨリ更生シ來リタルコトヲ示スモノナリ。

4) 原生抗原ヲ以テノ喰菌率ハ2.6ナリシニ、30分煮抗原添加ニヨル喰菌率ハ5.3ナリ。此ノ比ハ原對煮49對100ナリ。即チ原生抗原中ニ含有セラレ居ル_Lイムペヂン¹ノ阻止作用ハ喰菌率ヲ51%ダケ阻止シタリシモノナリ。

此際注目スベキコトハ原生抗原ノ添加ニヨル喰菌率ハ2.6ニシテ可檢原生抗原ヲ添加スルコトノ代リニ0.85%食鹽水ヲ混和シタル場合ノ喰菌率ハ2.8ナルヲ以テ原生抗原ノ_Lイムペヂン¹ハ喰菌作用ヲ正常以下ニマデ阻止セルコト明白ナルノ事實ナリ。以テ_Lイムペヂン¹阻害作用ノ大ナルヲ認ムベシ。

5) 喰菌子ニヨリテ前記ノ關係ヲ考察スルニ原生抗原ニテハ157、30分煮抗原ニテハ267ナルガ故ニ、原生對30分煮ノ比ハ58.8對100ナリ。即チ_Lイムペヂン¹作用ハ喰菌子ノ發現ヲ41.2%ダケ阻止シタルモノナリ。

6) 煮沸時間ガ30分以上120分迄漸次延長セラレタルニ一致シテ催喰菌作用モ亦タ漸減セリ。

是即チ過度ノ加熱ニヨリテ本來ノ抗原性物質ガ破壊變性シ最早ヤ抗原作用ヲ營マザルニ至リシコトヲ示スモノナリ。然ルニ90分煮沸抗原ニテノ喰菌率ハ3.2ナルニ原生抗原ヲ以テノ喰菌率ハ2.6ニ過ギザル事實ヲ以テ之ヲ察スルニ生抗原中ニ含有セラレタル L イムペヂン I ノ阻止作用ハ、生抗原ヲ90分間煮沸スルコトニヨリテ惹起セラレタル抗原物質ノ變性ニ原因スル能働力ノ減弱程度ヨリモ更ニ大ナルモノタルコトヲ知ル。以テ L イムペヂン I ノ阻止作用ノ強大ナルコトヲ認識スベキナリ。

7) 原生抗原ニ加ヘラレタル煮沸時間ノ長短ト抗原ノ毒力トノ關係ハ種々ナル程度ニ煮沸セラレタル抗原ニヨリテ惹起セラレタル血中白血球數ノ動搖ノ上ニ示サレタリ(第13表及ビ第9圖曲線Ⅱ)。即チ煮沸20分ニ至リテ毒力ハ認ムベキ程度ニ於テ減弱シ、30分煮沸ニ及ビテハ非常ニ減弱シ(白血球過多ノ程度ニテハ原生抗原ヲ以テノ7.8ニ對シ30分煮抗原ニテハ6.7ニ減少)、ソレヨリ90分煮ニ至ル迄毒力ニハ大差ナク、120分煮ニ至リテハ顯著(白血球過多ノ程5.6即チ健常ニ比スレバ1.12)ニ減弱シタリ(第9圖曲線Ⅰ参照)。

8) 之ヲ要スルニ原生抗原ヲ30分間煮沸スル時ハ抗原能働力ハ増強シテ最大值ニ達シ、毒力モ亦タ顯著ニ減弱スルモノナルコトヲ知ル。

7 結 論

1) 感作結核 L ワクチン I (志賀)中ニモ亦タ L イムペヂン I ハ含有セラレ居ルモノナリ。此際最小ノ毒力ヲ以テ最大ノ抗原能働力ヲ發揮セシムル爲ニ必要ニシテ充分ナル攝氏100度煮沸時間ハ30分間ナルコトガ立證セラレタリ。

2) 30分間100度ノ加熱ニヨリテ L イムペヂン I ガ完全ニ破却セラレ、從テ其ノ麻痺ヨリ更生シ來リタル抗原能働力ハ喰菌率ニテハ2.6對5.3ニ100對204、喰菌子ニテハ157對267ニ100對170ナリ。

3) 原生抗原ノ添加ニテハ此ノ添加無キ場合ノ對照ニ比シ喰菌率ハ2.8對2.6ノ比ニテ減弱セリ。即チ原生抗原含有 L イムペヂン I ハ喰菌作用ヲ正常以下ニマデ阻止シタリ。

4) 原生抗原ノ毒力ハ煮沸時間ノ延長ト共ニ次第ニ減弱シ來リ、20分煮沸ニテハ減弱顯著、30分煮沸ニテハ更ニ一層顯著、ソレヨリ90分迄ノ煮沸ニテハ毒力ノ減弱ハ著シカラズ、120分煮沸ニ及ビテ再ビ顯著トナリタリ(第9圖曲線Ⅲ参照)。

5) 要スルニ毒力最小ニシテ而シテ最大ノ抗原能働力ヲ發揮セシムベキコトガ抗原液ヲ製造スル者及ビ之ヲ使用スル者ノ義務ナラバ志賀感作結核菌 L ワクチン I ニ向ツテハ攝氏100度30分間ノ煮沸熱ヲ加ヘテ以テ L イムペヂン I ヲ完全ニ破却スベキモノタルコトヲ肯定セザルベカラザルナリ。