

局所皮膚ニ於ケル赤痢抗體ノ產生

第2報 抗黃色葡萄狀球菌_L オプソニン¹ノ局所皮内
產生ヲ指標トスル赤痢_L イムペヂン¹完全破
却ニ向ツテノ好適煮沸時間ノ研究

京都帝國大學醫學部外科學教室(鳥湯教授指導)

副手 醫學士 宮 司 克 巳

Erforschung über die Erzeugung der homologen und heterologen Antidysenterieantikörper in und aus der äusseren Haut.

II. Mitteilung: Feststellung der optimalen Abkochungszeit der Dysen-
teriebazillenaufschwemmung zur Herstellung des Kocktigens;
u. z. in der Erzeugung der grössten opsonischen
Wirkung im damit vorbehandelten
Hautlokale.

Von

Dr. K. Miyaji.

[Aus dem Laboratorium der Kais. Chir. Universitätsklinik Kyoto

(Prof. Dr. R. Torikata)]

Wir haben eine Aufschwemmung von *Shiga*-Dysenteriebazillen in 4 gleiche Teile geteilt und sie in einem bei 100°C siedenden Wasserbade 30, 60, 90 bzw. 120 Minuten lang gehalten, um davon durch die Kerzenfiltration Kocktigene mit verschiedenen Abkochungsdauern herzustellen.

Bei ein und demselben normalen Kaninchen wurden zirkumskripte Hautlokale von einer gleichen Grösse durch die Kocktigensalben genau so vorbehandelt, wie in der I. Mitteilung erwähnt.

Nach der 24stündigen Applikation der Kocktigensalben wurden die Presssäfte aus den Hautlokalen hergestellt, um sie auf ihre die Phagozytose von Staphylokokken in vitro fördernde Wirkung hin zu prüfen.

Die Ergebnisse der Versuche gehen aus folgender Tabelle hervor.

Tabelle 1.

Die Auslösung des gegen *Staphylococcus pyogenes aureus* gerichteten Opsonins in den durch die Dysenteriekoktignsalben vorbehandelten Hautlokalen bei ein und demselben normalen Kaninchen (Mittelwerte von 3 Tieren)

Presssaft stammte vom	Phagozytat	Opsoninindex
normalen Hautlokal	20,7	1,00
durch die Salbe ohne Koktign vorbehandelten Hautlokal	19,3	0,94
durch die Salbe mit DF30' vorbehandelten Hautlokal	31,0	1,52
durch die Salbe mit DF60' vorbehandelten Hautlokal	34,6	1,66
durch die Salbe mit DF90' vorbehandelten Hautlokal	25,3	1,27
durch die Salbe mit DF120' vorbehandelten Hautlokal	22,7	1,09

Zusammenfassung.

1) Bei der Erzeugung des heterologen Opsonins in der lokalisierten äusseren Haut stellte es sich heraus, dass die optimale Abkochungszeit der Dysenterieaufschwemmung zur Herstellung des Koktigns mit der grössten Antigenavidität 60 Minuten ist.

2) Dies stimmt mit den Versuchsergebnissen früherer Autoren überein, bei denen nicht die Auslösung des Opsonins, sondern übrige immunisatorische Erscheinungen, wie die direkte Förderung der Phagozytose (*Hayashi*), die Komplementbindungsreaktion (*Fujimoto*), als Indikator herangezogen worden waren.

(Autoreferat)

緒 言——研究ノ目的

生態ノ細菌浮游液乃至ハ濾液ヨリモ、 γ イムペチン γ ヲ破却シタモノ、例ヘバ煮濾液ヲ用ヒタ方ガ免疫效果ガ大デアルコト、即チ γ イムペチン γ 現象ハ、全身免疫ノ場合ノミデナク、免疫元軟膏ヲ貼用シテ皮膚局部ニ自働免疫ガ成立スル場合デモ明白ニ立證サレテキル(畚野、勝呂進、篠田諸氏論文参照)。

第1報デハ30分間煮沸デ得タ赤痢本型菌 γ コクチゲン γ ヲ以テ調製シタ軟膏ヲ24時間貼用スルコトニヨツテ當該皮膚ニ於テノミ抗黃色葡萄狀球菌 γ オプソーン γ ノ產生ヲ立證シ得タ。本實驗デハ煮沸時間ヲ異ニシタ種々ナル赤痢本型菌 γ コクチゲン γ 軟膏トシテ皮膚ニ貼用シタ場合、幾何時間煮沸ノモノガ最大ノ免疫效果ヲ示スカ、即チ赤痢本型菌 γ コクチゲン γ ノ煮沸時間ト局部所產生 γ オプソーン γ 量トノ關係ヲ實驗結果ニ匡サント企テタ。之レガ本研究ノ目的デアル。即チ本研究ニヨリテ赤痢本型菌 γ コクチゲン γ ヲ得ル爲ノ好適煮沸時間ヲ決定セントスルノデアル。

實 驗 材 料

1) 煮沸時間ヲ異ニスル赤痢本型菌_Lコクチゲン⁷ヲ含有スル各種ノ軟膏

赤痢本型菌ノ24時間寒天斜面培養ヨリ、3000回轉30分遠心ニテ鳥瀉教授沈澱計3度目(約0.0021坵)ノ含菌量ヲ示ス0.85%食鹽水菌浮游液ヲ作り、コノ菌浮游液ヲ4等分シテ、攝氏100度デ沸騰シツ、アル重湯煎中デ30分、60分、90分、120分間煮沸シ、第1報所載ノ如クニシテ_Lコクチゲン⁷ヲ作ル(0.5%ノ割合ニ石炭酸ヲ加ヘル)。此等4種ノ_Lコクチゲン⁷ヲ第1報ト同様ナ割合デ軟膏トシタ。即チ、

- イ) 30分煮沸_Lコクチゲン⁷軟膏 DF30'S
- ロ) 60分煮沸_Lコクチゲン⁷軟膏 DF60'S
- ハ) 90分煮沸_Lコクチゲン⁷軟膏 DF90'S
- ニ) 120分煮沸_Lコクチゲン⁷軟膏 DF120'S

2) 0.5%石炭酸加0.85%食鹽水軟膏(單軟膏) ES 第1報ニ於ケルト同様ノモノデアル。

3) 皮膚_Lエムルジオン⁷上澄液 第1報ト同様ナ方法デ調製スル。

- I DF30'S 貼用部皮膚_Lエムルジオン⁷上澄液
- II DF60'S 貼用部皮膚_Lエムルジオン⁷上澄液
- III DF90'S 貼用部皮膚_Lエムルジオン⁷上澄液
- IV DF120'S 貼用部皮膚_Lエムルジオン⁷上澄液
- V ES 貼用部皮膚_Lエムルジオン⁷上澄液
- VI 無處置健常部皮膚_Lエムルジオン⁷上澄液

4) 白血球 第1報記載ノ方法デ採取スル。

5) 黃色葡萄狀球菌液(_Lオプソニン⁷検査用) 第1報ト同一方法デ作ツタモノ。ソノ1.0坵中ノ含菌量ハ、3000回轉、30分遠心シテ鳥瀉教授沈澱計1.0度目デアツタ。

6) 實驗動物 皮膚ニ損傷無キ體重2疋内外ノ白色健常家兔。

實 驗 方 法

家兔背部ヲ6ヶ所(脊柱ヲ界トシテ左右兩側ニ各3ヶ所)可及的ニ短ク剪毛シ、ソノ中5ヶ所ノ皮膚ノ4.5繩平方ニハ前記4種類ノ赤痢本型菌_Lコクチゲン⁷軟膏ト單軟膏トノ2.0瓦宛ヲ5分間塗擦貼用シ、殘ル1ヶ所ノ皮膚ニハ何等處置ヲ加ヘズニ對照健常部トスル。

軟膏貼用後24時間ヲ經テ、軟膏ヲ_Lベンチン⁷デ清拭シタ後、軟膏貼用部皮膚及ビ對照健常部皮膚ヨリ第1報ト同様ナ方法デ皮膚_Lエムルジオン⁷上澄液ヲ製シ、ソノ中ニ含有サレテキル_Lオプソニン⁷量ヲ第1報ニ記載シタ方法デ測定シタ。

實 驗 成 績

實驗結果ハ第1表ヨリ第4表マデ及ビ第1圖ニ示サレタ通りデアル。

第1表 種々ナル煮沸時間ニヨリテ得タル赤痢
本型菌_Lコクチゲン_Tヲ含ム軟膏ヲ24時間貼
用セラレタル局所皮膚ニ於ケル抗黃色
葡萄狀球菌_Lオプソニン_Tノ產生
(家兎第54號 體重 1950瓦 ま)

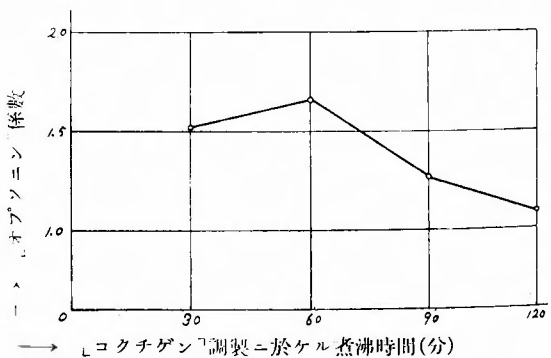
可 検 物	喰	菌	子	オプソニ ン係數 ¹⁾
無處置健常部皮膚	8	10	18	1.00
單軟膏貼用部皮膚	8	9	17	0.90
DF 30'S 貼用部皮膚	12	15	27	1.50
DF 60'S 貼用部皮膚	14	17	31	1.70
DF 90'S 貼用部皮膚	10	13	23	1.30
DF 120'S 貼用部皮膚	9	11	20	1.10

1) 健常部皮膚ノ Opsonin 作用ヲ1.00トシタル際ノ値ナリ(以下準之)

第3表 種々ナル煮沸時間ニヨリテ得タル赤痢
本型菌_Lコクチゲン_Tヲ含ム軟膏ヲ24時間貼
用セラレタル局所皮膚ニ於ケル抗黃色
葡萄狀球菌_Lオプソニン_Tノ產生
(家兎第59號 體重 2050瓦 る)

可 検 物	喰	菌	子	オプソニ ン係數
無處置健常部皮膚	11	12	23	1.00
單軟膏貼用部皮膚	11	12	23	1.00
DF 30'S 貼用部皮膚	16	18	34	1.50
DF 60'S 貼用部皮膚	18	20	38	1.67
DF 90'S 貼用部皮膚	13	15	28	1.25
DF 120'S 貼用部皮膚	12	13	25	1.08

第1圖 種々ナル煮沸時間ニヨリテ得タル
赤痢本型菌_Lコクチゲン_T軟膏ヲ以テセ
ル局所皮内抗黃色葡萄狀球菌_Lオ
プソニン_Tノ產生量(第4表参照)



所見概括及ヒ考察

以上ノ實驗結果ニヨレバ赤痢本型菌_Lコクチゲン_T調製ニ向ツテ菌液ヲ煮沸スルコトノ好適時間ハ60分デアルコトガ明白トナツタ。

第2表 種々ナル煮沸時間ニヨリテ得タル赤痢
本型菌_Lコクチゲン_Tヲ含ム軟膏ヲ24時間貼
用セラレタル局所皮膚ニ於ケル抗黃色
葡萄狀球菌_Lオプソニン_Tノ產生
(家兎第57號 體重 2000瓦 る)

可 検 物	喰	菌	子	オプソニ ン係數
無處置健常部皮膚	10	11	21	1.00
單軟膏貼用部皮膚	8	10	18	0.91
DF 30'S 貼用部皮膚	15	17	32	1.55
DF 60'S 貼用部皮膚	17	18	35	1.64
DF 90'S 貼用部皮膚	11	14	25	1.27
DF 120'S 貼用部皮膚	11	12	23	1.09

第4表 種々ナル煮沸時間ニヨリテ得タル赤痢
本型菌_Lコクチゲン_Tヲ含ム軟膏ヲ24時間貼
用セラレタル局所皮膚ニ於ケル抗黃色
葡萄狀球菌_Lオプソニン_Tノ產生
(3頭平均値第1圖参照)

可 検 物	喰	菌	子	オプソニ ン係數
無處置健常部皮膚	9.7	11.0	20.7	1.00
單軟膏貼用部皮膚	9.0	10.3	19.3	0.94
DF 30'S 貼用部皮膚	14.3	16.7	33.1	1.52
DF 60'S 貼用部皮膚	16.3	18.3	34.6	1.66
DF 90'S 貼用部皮膚	11.3	14.0	25.3	1.27
DF 120'S 貼用部皮膚	10.7	12.0	22.7	1.09

30分ノ煮沸デモ60分煮沸ニ依ル_Lコクチゲン¹ト大差無キ程ノ免疫效果ガ示サレタケレドモ60分煮沸ノモノヨリモ僅カニ小デアル。

90分煮沸ニナルト免疫效果ハ_Lオプソニン¹係數ノ増加程度カラスレバ30分煮沸_Lコクチゲン¹ノ免疫程度ノ約1/2デアル。

120分煮沸ニヨリテ得タル_Lコクチゲン¹ノ抗原能力ハ非常ニ僅微デ_Lオプソニン¹係數ノ増強度ハ0.09ニ過ギナイ。

一般ニ菌液ヲ煮沸スルト其ノ基液中ノ_Lイムペデン¹ガ破却サレルノミナラズ抗原物質ガ菌體カラ基液中ヘ煮沸浸出サレルノデ二重ノ意味ニ於テ基液中ノ抗原性能働力ガ強大トナルモノデアルガ、90分煮沸デ抗原能働力ガ約1/2ニ低下シタノハ此ノ程度ノ加熱デ赤痢抗原ハ大部分破却サレルコトヲ物語ルモノデアル。即チ赤痢_Lコクチゲン¹ヲ得ル爲ノ好適煮沸時間ハ60分ナルコトガ證明サレタ。此ノ事實ハ_Lオプソニン¹ノ皮内產生以外ノ他ノ血清免疫學的反應ヲ指標トシタ研究結果ト全ク一致スルモノデアル(藤本昭雄, 猪口清是, 林文)。

結 論

1) 30分, 60分, 90分及ビ120分煮沸ノ各種赤痢本型菌_Lコクチゲン¹ヲ含ム軟膏 (DFS) ヲ24時間貼用スルコトニヨツテ, 當該皮膚ニ於テノミ抗黃色葡萄狀球菌_Lオプソニン¹ノ產生ガ認めラレタ。此ノ際_Lオプソニン¹係數デ免疫效果ヲ表セバ下記ノ順位トナル。

DF 120'S デハ1.09 < DF 90'S デハ1.27 < DF 30'S デハ1.52 < DF 60'S デハ1.66

2) 煮沸時間ガ60分ノ場合ノ_Lコクチゲン¹ガ最大ノ免疫元性能働力ヲ發揮シタ。即チ煮沸時間ガ60分ヨリモ短クテモ或ハ長クテモ免疫元性能働力ハ小デアツタ。即チ一面ニハ_Lイムペデン¹ヲ破却シ, 他面ニハ抗原物質ヲ破却スルコトナクシテ, 之ヲ菌體カラ基液中ヘ煮沸浸出スル目的ニ向ツテ好適ナル煮沸時間ハ赤痢本型菌液ノ場合デハ60分デアル。

3) 以上ノ實驗結果ハ局所皮内非特殊性_Lオプソニン¹ノ產生ヲ指標トナシタル際ノモノデアルガ, 其ノ他ノ免疫反應ヲ指標トナシタル先人ノ研究結果ト全ク一致スルモノデアル(藤本, 猪口, 林文等)。

4) 非特殊性免疫發生ハ特殊免疫發生ト全ク同格ノモノデアルコトハ以上ノ事實カラデモ首肯スルコトガ出來ル。