

所謂 Antivirus ノ研究 (大腸菌)

第 3 報 陳舊細菌肉汁培養濾液 (Antivirus) ハ Impedin ヲ含有スルヤ

京都帝國大學醫學部外科學教室(烏潟教授指導)

大學院學生 醫學士 岡 宗 夫

Erforschung über die sogenannten Antivira.

III. Mitteilung: Nachweis des Impedins im Antivirus der Colibakterien.

Von

Dr. M. Oka.

[Aus dem Laboratorium der Kais. Chir. Universitätsklinik Kyoto
(Prof. Dr. R. Torikata).]

Herstellung der Antivira.

Gewöhnliche neutrale Bouillon mit pH von 7,3 wurde mit einem Stamm K resp. O aus einer 24 stündigen Agaroberfläche geimpft und 8—10 Tage lang bei 37°C stehen gelassen. Die Kulturen wurden dann mit *Chamberland* schen Kerzen (L₃) filtriert. Die so erhaltenen Filtrate wurden wieder genau so behandelt wie die anfängliche Bouillon.

Auf diese Weise haben wir verschiedene Antivira hergestellt, bei denen die 8—10 tägige Züchtung und Kerzenfiltration 1 mal, 2 mal, 3 mal resp. 4 mal wiederholt worden waren. Ein Teil der Antivira zogen wir noch eine halbe Stunde lang bei 100°C im Wasserbade erhitzt zur Prüfung heran.

Aufschwemmung von Staphylokokken zur Prüfung der normalen Phagozytose in vitro.

Staphylococcus pyogenes aureus aus einer 24stündigen Agarkultur wurde in 0,85proz. NaCl-Lösung suspendiert, 3 mal mittels NaCl-Lösung gewaschen und durch halbstündige Erhitzung bei 60°C abgetötet. 1,0 ccm der Aufschwemmung enthielt, präzipitometrisch gemessen, ca. 2,5 Teilstriche, also ca. 0,00175 ccm Erreger. Die Suspension ist noch zu 0,5 Proz. karbolisiert.

Versuchsanordnung

Wir prüften die Einflüsse der originalen sowie abgekochten Antivira auf die normale Phagozytose von Staphylokokken in vitro ; und zwar nach der bekannten *Wrightschen* Methode.

Versuchsergebnisse.

Die Ergebnisse der Versuche sind in Tabelle I zusammengestellt.

Tabelle I.

Die durch native bzw. abgekochte Antivira beeinflusste Phagozytose (Phagozytat) der Staphylokokken in vitro.

Testdosis der Antivira ccm	Antivirus 1.		Antivirus 2.		Antivirus 3.		Antivirus 4.	
	nativ	abgekocht	nativ	abgekocht	nativ	abgekocht	nativ	abgekocht
0,10	36,5	59,5	36,5	51,5	48,0	62,5	29,0	47,0
0,25	48,5	60,5	41,0	60,0	51,5	60,5	40,0	49,0
0,50	48,0	73,0	41,5	73,5	45,0	70,0	33,0	62,5
0,75	37,5	62,0	38,0	51,5	37,5	53,5	36,5	54,5
1,00	36,0	48,5	32,0	37,0	34,0	46,0	33,0	41,5
1,50	24,5	42,0	24,0	31,5	26,0	47,0	30,0	42,5
Durchschnitt	38,5	57,6	35,5	50,8	40,3	56,6	33,6	49,5
%	100	149,6	100	140,3	100	140,4	100	147,3

1, 2, 3, u. 4. geben Mal der Wiederholung von 8-10
tägiger Züchtung und Kerzenfiltration an.

Zusammenfassung.

- 1) Die sogenannten Antivira enthalten im nativen Zustande Impedine.
- 2) Der Gehalt des Impedins in Antivira vermindert sich nicht trotz der mehrmaligen Wiederholung der erneuerten 8-10 täglichen Züchtung der Erreger.
- 3) Die verkäuflichen Antivira sind nichts anders als Kocktigene, wenn sie eine halbe Stunde lang bei 100°C abgekocht worden sind. (Autoreferat)

緒 言

Besredka ニヨリ提唱サレタ所謂 “Antivirus“ ハ本來細菌ノ陳舊性生濾液デアルガ、實際ノ使用ニ當テハ攝氏100度ニ30分間ノ加熱ヲナシタルモノデ即チ Kocktigen デアル。

第2報ニ於テ我々ハ所謂 “Antivirus“ ガ病原性細菌ノ肉汁培養生濾液デアル限リハ必ズヤ Impedin ヲ含有シテ居ルベキコト、而シテコレヲ30分間攝氏100度ニ加熱シタルモノ

ハ Kaktigen = 他ナラスコトヲ道破シテ置イタ、我々ハ今試験管内通常喰菌作用ヲ指標トシテ此所謂 Antivirus 中ニ於ケル Impedin ノ有無ヲ匡サントス。

實 驗 材 料

1) **可檢液** 陳舊細菌肉汁培養濾液 (所謂 Antivirus) ヲ得ンガ爲ニ pH 7.3 ナル普通中性肉汁培養基ニ大腸菌 (K. 及ビ Oノ2種) ヲ中性寒天斜面24時間培養ヨリ接種シ、攝氏37度ノ孵卵器ニ8—10日間蓄ヘテ後、Chamberland 陶土濾過器 L₃ ニテ濾過シ、濾液ニ前記同様ノ操作ヲ繰リ返ス。

濾過1回ノモノヨリ4回ノモノマデ4種ヲ作り、更ニ夫々ノ半分ヲ沸騰シツツアル重湯煎中ニテ、30分間100°Cニ加熱シ、コノモノヲ煮濾液トセリ。

2) **喰菌作用検査用菌液** 黃色葡萄狀球菌24時間培養ノ寒天斜面培養菌苔ヲ0.85%食鹽水ノ適宜ノ量ニ浮游セシメ、次デ菌體ヲ遠心沈澱シテ、同食鹽水ニテ3回洗滌シタル後、任意量ノ0.85%食鹽水ヲ加ヘテ菌浮游液ヲ作り、攝氏60度ニ30分間加熱殺菌ノ上、コレニ0.5%ノ割合ニ石炭酸ヲ加ヘ、コレヲ標準菌液トス。コノ菌液ヲ島崎教授沈澱計ニトリ、1分間約2500回轉ニテ30分間遠心セルニ2.5度目、即、菌液1.0坵中菌量約0.00175坵ナリキ。

實驗ノ都度コノ菌液ヲ適度ニ稀釋セリ、我々ハ豫備實驗ノ結果5倍ニ稀釋シタルモノヲ最好適ト認メタリ、而シテ稀釋液トシテハ對照肉汁ヲ用ヒ、稀釋ニ際シテハ常ニ抗原液ヲ含マシメ抗原加菌液トシテ使用セリ。

3) **白血球液** 中性肉汁10坵ヲ體重約350瓦内外ノ健常海獺ノ腹腔内ニ注射シ、4時間後、硝子毛細管ニテ腹腔ヲ穿刺シ得タル液(白濁セル腹水)ヲソノ儘使用セリ。

4) **對照**トシテハ可檢液ト同一 pH ヲ有スル肉汁ヲ使用セリ。

實 驗 方 法

試験管内喰菌作用實驗操作ハ大體ライト氏ノ Opsonin 検査法ノ夫ニ從ヒタリ、即一定ノ硝子毛細管内ニ白血球液、可檢抗原加菌液ノ順ニ夫々一定量ヲ少量ノ空氣層ヲ置キテ吸ヒ取り、コレヲ小型時計皿ノ上ニ靜カニ吹キ出シ、ヨク混和シテ後、再ビ、他ノ硝子毛細管中ニ吸ヒトリ、攝氏37度ノ孵卵器内ニ15分間靜置シタル後、毛細管内容ヲ載物硝子上一塗抹シ、メチール酒精ニテ固定後、ギムザ氏液ニテ染色、鏡檢セリ、鏡檢ニ際シテハ輪廓正シク、孤在セル喰細胞100個ヲ檢シ、菌體ノ正シク白血球内ニ包喰セラレタルモノノミヲ計算セリ。1白血球内ニ7個以上ノ菌ヲ包喰セルモノ、及ビ白血球ト菌トノ比例甚シク異レル視野ニ於ケルモノハ除外シタリ。

各種濾液ニ就テ抗原量ヲ 0.1坵、0.25坵、0.5坵、0.75坵、1.0坵、1.5坵、ニ分チ、生煮兩可檢液ヲ用ヒタル場合ノ喰菌作用ヲ比較検査スルト同時ニ可檢用量ノ變化ト喰菌作用大小トノ間ニ於ケル因果關係ヲ究メンコトヲ期シタリ。

尙抗原用量0.1ㄲ. 0.25ㄲ, 0.5ㄲ………トハ夫々(抗原量0.1ㄲ+肉汁1.9ㄲ)(抗原量0.25ㄲ+肉汁1.75ㄲ)(抗原量0.5ㄲ+肉汁1.5ㄲ)……ノ事デアル。

實驗成績

第1表, 第2表, 第1, 2, 3, 4圖=示ス如キ成績ヲ得タリ。

第 1 表 各種生濾液及ビ 30分煮沸濾液ノ影響ヲ受ケタル喰菌作用

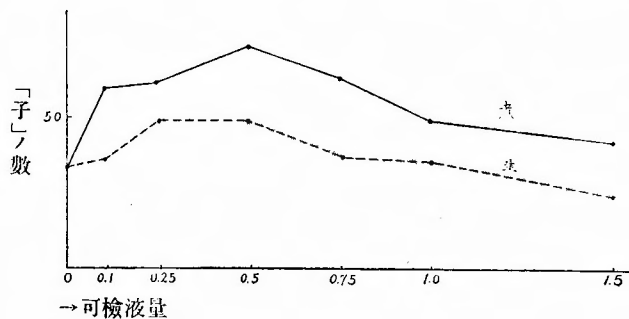
抗原量	0.1cc			0.25cc			0.5cc			0.75cc			1.0cc			1.5cc			B		
抗原種	喰	菌	子	喰	菌	子	喰	菌	子	喰	菌	子	喰	菌	子	喰	菌	子	喰	菌	子
1 回煮	26.0	33.5	59.5	25.0	35.0	60.0	28.0	45.0	73.0	27.0	35.0	62.0	19.0	29.5	48.5	18.0	24.0	42.0	14.0	19.0	33.0
1 回生	14.5	22.0	36.5	21.0	27.5	48.5	20.5	27.5	48.0	16.0	21.5	37.5	16.0	20.0	36.0	11.5	13.0	24.5			
2 回煮	24.0	27.5	51.5	24.0	36.0	60.0	30.0	43.5	73.5	20.5	31.0	51.5	17.0	20.0	37.0	14.0	17.5	31.5	16.0	17.5	33.5
2 回生	16.0	20.5	36.5	17.0	24.0	41.0	17.5	24.0	41.5	16.5	21.5	38.0	13.0	19.0	32.0	11.0	13.0	24.0			
3 回煮	23.5	39.0	62.5	24.0	36.5	60.5	28.0	42.0	70.0	23.0	30.5	53.5	18.0	28.0	46.0	19.0	28.0	47.0	14.0	22.0	36.0
3 回生	21.0	27.0	48.0	21.0	30.5	51.5	18.0	27.0	45.0	16.0	21.5	37.5	15.0	19.0	34.0	11.0	15.0	26.0			
4 回煮	21.0	26.0	47.0	21.0	28.0	49.0	26.0	36.5	62.5	22.5	32.0	54.5	18.0	23.5	41.5	18.5	24.0	42.5	15.0	20.5	35.5
4 回生	14.0	15.0	29.0	17.0	23.0	40.0	14.5	18.5	33.0	15.5	21.0	36.5	16.0	17.0	33.0	13.0	17.0	30.0			

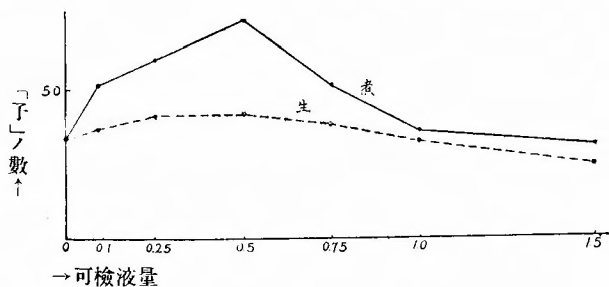
第 2 表 各種生濾液及ビ煮沸濾液ノ影響ヲ受ケタル喰菌作用(喰菌子)

抗原種 抗原量	1 回 濾 液		2 回 濾 液		3 回 濾 液		4 回 濾 液	
	生	煮	生	煮	生	煮	生	煮
0.10	36.5	59.5	36.5	51.5	48.0	62.5	29.0	47.0
0.25	48.5	60.5	41.0	60.0	51.5	60.5	40.0	49.0
0.50	48.0	73.0	41.5	73.5	45.0	70.0	33.0	62.5
0.75	37.5	62.0	38.0	51.5	37.5	53.5	36.5	54.5
1.00	36.0	48.5	32.0	37.0	34.0	46.0	33.0	41.5
1.50	24.5	42.0	24.0	31.5	26.0	47.0	30.0	42.5
平均	38.5	57.6	35.5	50.8	40.3	56.6	33.6	49.5
%	100	149.6	100	140.3	100	140.4	100	147.3

第 1 圖

生煮 1 回濾液ト喰菌子
トノ關係

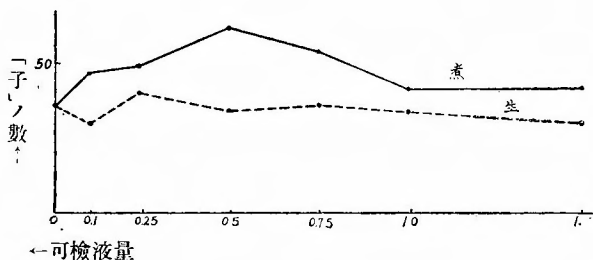
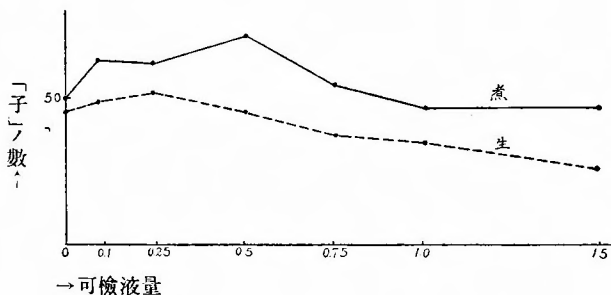




第 2 圖

生煮 2 回濾液ト喰菌子
トノ關係

第 3 圖
生煮 3 回濾液ト喰菌子
トノ關係



第 4 圖

生煮 4 回濾液ト喰菌子
トノ關係

所見總括並ビニ考察

「煮」ニアリテハ各種濾液トモニ、抗原量 0.5 耗ニ於テ喰菌子ハ最高價ヲ示シ、「生」ニアツテハ 2 回濾液ノ他ハ 0.25 耗ニテ喰菌子ハ最高價ヲ示シ、只 2 回濾液ノミ、0.5 耗ニテ最高ナリキ、煮沸液ニテハ 0.1 耗ヨリ 0.5 耗マデ喰菌子ハ抗原量ト一致連行シテ増加シ、0.5 耗以上ハ反對ニ抗原量ト共ニ減少セリ。

生液ニテハ 2 回濾液ガ煮沸液ト同様ノ經過ヲトリシ他ハ何レモ 0.1 耗ヨリ 0.25 耗マデハ抗原量ト共ニ増加シタルモ、0.25 耗以上ハ却テ減少セリ、喰菌子ノ最大値ニ於テ「生」ハ「煮」ニ劣ルノミナラズ。何レノ用量ニ於テモ常ニ「生」ハ「煮」ニ及バズ、マタ如何ニ抗原用量ヲ増加スルモ、「生」ハ「煮」ニ及バザリキ。

喰菌子ノ平均(%)ニ就テ見レバ下ノ如シ。

第 1 回濾液 生：煮＝100：149.6

第 2 回濾液 生：煮＝100：140.3

第3回濾液 生: 煮=100: 140.4

第4回濾液 生: 煮=100: 147.3

以上ノ實驗成績ハ生煮兩液ニ於テ全ク同一條件ノ下ニ行ハレタ實驗ノ結果デアル。然ルニ兩者ノ間ニ上ニ示ス如キ差異ガ現レタ原因ハ全ク兩者ノ唯一ノ差デアル「生」¹「煮」¹ノ別ノミニ依存スルモノデナクレバナラヌ。

本喰菌作用實驗ハソノ成績ガ明示スル如ク、所謂上行相位、及ビ下行相位ニ互リテ、即、反應ノ全過程ニ互リテ行ハレタモノデアル。然モ煮濾液ハ生濾液ニ比シ明ラカニ喰菌子數が大デアル。即、煮液ハ生液ニ比シ強力ナル喰菌作用促進能力(抗原性能働力)ヲ發揮スルモノデアル。コノ事實ハ實驗ノ下行相位ノミナラズ上行相位ニ於テモ證明サル、ガ故ニ「毒力」ノ多少ヲ以テ説明シ得ナイコトハ明ラカデアツテ、烏潟教授ノ Impedin 説ニヨツテノミ、初メテ説明サルベキモノデアル。

即、生濾液ニハ Impedin ヲ含有シ居ルガ故ニ喰菌作用ガ抑制サレル、然ルニ煮濾液ニアツテハ Impedin ガ加熱ニヨツテ破却サレタルガ故ニ、喰菌作用モ亦抑制ヲ蒙ラズ元來アルダケノ全部ノ抗原性能働力ヲ發揮シ從テ喰菌子ノ増加ヲ招來シタノデアル。

如何ナル種類ノ抗原ニテモ Impedin ヲ含有スルモノハ必ズ煮沸免疫元ニ改良サレネバナラヌ。

陳舊細菌肉汁培養濾液 所謂 Antivirus モ、若シ「生」ナルマ、デアレバ、ソノ培養ト濾過トノ回数ヲ問ハズ何レモ殆ンド同一量ノ Impedin ヲ含有シオルコトガ立證サレタ。故ニ抗原トシテ用フルタメニハ、必ズ加熱シテ Impedin ヲ破却シナクレバナラヌ。

既ニ100度30分ノ加熱ヲナセル所謂 Antivirus ハ Koptigen 其モノデアツテ Koptigen 以外ノ何モノデモナイ。即 Koptigen ヲ剽窃シタモノデアル。

結 論

1) 陳舊大腸菌肉汁培養濾液、即、所謂大腸菌 Antivirus ハソノ培養ト濾過トノ回数ニ關係セズ何レモ同一程度ノ Impedin ヲ含有ス。換言スレバ Antivirus 製造ノ工程ヲ繰リ返シテモ Impedin ハソレガ爲ニ減弱モセズ消失モセザルモノナリ。

2) 陳舊大腸菌肉汁培養濾液、即、所謂大腸菌 Antivirus ヲ抗原トシテ用フルニハ必ズ加熱シテ Impedin ヲ破却スベシ。

3) 既ニ加熱シ Impedin ヲ破却シタルモノハ Koptigen ソノモノデアリ、Koptigen 以外ノ何物デモナイ、即チ市場ニ現ハレテキル所謂 Antivirus ハ全ク Koptigen ヲ剽窃シタルモノナリ。