

結核菌各種成劑ニ於ケル「イムペヂン」ノ研究

第9報 フランクフルト・アム・マイン獨逸國立實驗治療研究所製無蛋白「ツベルクリン」ノ含有スル「イムペヂン」ノ完全破却ニ必要ナル煮沸時間ニ就テ

西宮市勝呂病院研究室(烏潟教授指導)

辰 井 正 平

Ueber das Impedin in den antigenen Präparaten aus Tuberkelbazillen.

IX. Mitteilung: Erforschung über die optimale Abkochungszeit des eiweissfreien Tuberkulins für die totale Regenerierung der Antigenavidität.

Von

Dr. Sh. Tatsui.

[Aus dem Laboratorium des Suguro-Hospitals in Nishinomiya

(Leiter: Prof. Dr. R. Torikata)]

Das in der VIII. Mitteilung erwähnte eiweissfreie Tuberkulin, geliefert vom Seruminstitut zu Frankfurt a. M., wurde in einem grossen bei 100°C siedenden Wasserbade 5—90 Minuten lang gehalten, um die auf diese Weise hergestellten antigenen Präparate mit verschiedener langer Abkochungszeit unter sonst gleichen Bedingungen zu prüfen: u. z. wie in der VIII. Mitteilung angegeben, in ihrer die normale Phagozytose von Staphylococcus pyogenes albus im zirkulierenden Blute normaler Meerschweinchen fördernden Wirkung, sowie in ihrer Hyperleukozytose verursachenden Eigenschaft.

Die Ergebnisse der Versuche gehen als Mittelwerte von je 3 eine Gruppe bildenden Tiere aus folgender Tabelle und Abbildung hervor:

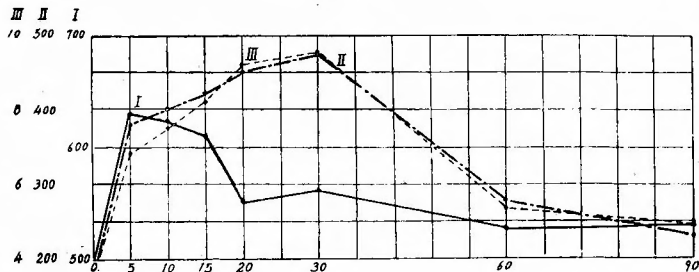
Tabelle 1.

Die die normale Phagozytose fördernde Wirkung und die Zahl der weissen Zellen im zirkulierenden Blute beeinflussende Eigenschaft vom eiweissfreien Tuberkulin mit verschieden langer Abkochungszeit.

Das eiweissfreie Tuberkulin wurde bei 100°C erhitzt; und zwar:	Grad der Hyperleukozytose(%)	Phagozytat	Koeffizient der Phagozytose
5 Min. lang	6,36	383	6,8
10 " "	6,25	400	7,5
15 " "	6,11	427	8,2
20 " "	5,50	452	9,2
30 " "	5,65	475	9,5
60 " "	5,28	266	5,4
90 " "	5,31	230	4,9

Die Ergebnisse der Versuche sind noch in folgender Abbildung kurvenmässig veranschaulicht.

Fig. 1.



→ Die Abkochungszeit des originalen eiweissfreien Tuberkulins bei 100°C in Minuten.

I=Zahl der prozentualen weissen Zellen im Blute=Argument für die Toxizität.

II=Phagozytat

III=Koeffizient der Phagozytose } Argument für die Antigenavidität.

Zusammenfassung.

1) Die optimale Abkochungszeit des originalen eiweissfreien Tuberkulins von SerumInstitut zu Frankfurt a. M. für die maximale Entfaltung der Antigenavidität, also für ihre völlige Regenerierung von der paralyisierenden Wirkung des darin enthaltenen Impedins, stellte sich als eine halbe Stunde heraus.

2) Dadurch wurde die Antigenavidität im Verhältnisse von 100:124 erhöht; u. z. ausgedrückt im dadurch herbeigeführten Phagozytatwerte.

3) Was die Toxizität anbetrifft, so wurde sie durch 20minütige Abkochung merklich herabgesetzt, um dann trotz weiterer Erhitzung bis zu 90 Minuten fast konstant zu bleiben, wie dies aus der Kurve I der Abbildung 1 ersichtlich ist.

4) Somit wurde der Nachweis geführt, dass sich das deutsche eiweissfreie Tuberkulin, das vom SerumInstitut zu Frankfurt a. M. geliefert worden ist, auch der Impedinlehre fügen und bei 100°C eine halbe Stunde lang erhitzt werden muss, wenn wir davon ein Antigen mit grösster Antigenavidität und kleinster Toxizität erwarten wollen. (Autoreferat)

1 緒 言

本報告ニ於テハ第8報ニ述ベタル獨逸製無蛋白「ツベルクリン」ノ含有スル「イムペヂン」ヲ完全ニ破却スルニ必要ニシテ充分ナル煮沸時間ヲ確定スル所アラントス。是レ實用上ニモ亦タ必要ナル研究事項ノ一ツナリ。

2 實 驗 材 料

1) 抗原液 フランクフルト・アム・マイン獨逸國立實驗治療研究所製無蛋白「ツベルクリン」 (1932. 11. 2) 第7號(本研究第8報ニ述ベタルモノト全く同一製劑ナリ)。

上記無蛋白「ツベルクリン」ヲ0.85%食鹽水ヲ以テ10倍ニ稀釋シタルモノ(DTN)ヲ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

第 3 表 DTK 15'ニヨル催喰菌作用及ビ血中白血球過多(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			嗜エオジン ^γ			淋巴球肥肝 細胞其 他		
							%	喰	菌	%	喰	菌	%	喰	菌
正 常 時		8500	1.00	0	0	0	42.5	0	0	0	0	0	57.5	0	0
菌經 液過 注時 射後 間	3 0 分	7200	0.85	24	47	71	51.5	24	47	1.0	0	0	47.5	0	0
	1 時 間	8300	0.97	27	76	103	71.0	27	76	0.5	0	0	28.5	0	0
	2 時 間	11500	1.35	34	72	106	80.5	33	67	1.5	1	5	18.0	0	0
	4 時 間	13600	1.60	26	49	75	72.0	26	49	0	0	0	28.0	0	0
	8 時 間	11400	1.34	21	51	72	70.0	21	51	0	0	0	30.0	0	0
總 和		52000	6.11	132	295	427	喰 菌 率=8.2								

第 4 表 DTK 20'ニヨル催喰菌作用及ビ血中白血球過多(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 肥 肝 細 胞 其 他		
				喰	菌	子	中 性 多 型 核			嗜 _L エオジン ^γ						
							%	喰	菌	%	喰	菌	%	喰	菌	
正 常 時		8900	1.00	0	0	0	45.5	0	0	0	0	0	54.5	0	0	
菌經 液過 注時 射後 間	3 0 分	6600	0.74	21	52	73	62.5	21	52	0	0	0	37.5	0	0	
	1 時 間	8100	0.91	21	91	112	75.5	19	83	2.5	2	8.0	22.0	0	0	
	2 時 間	11000	1.23	38	78	116	85.5	38	78	0.5	0	0	14.0	0	0	
	4 時 間	12100	1.36	36	52	88	70.0	35	50	1.0	1	2.0	29.0	0	0	
	8 時 間	11200	1.26	23	40	63	75.5	23	40	0	0	0	24.5	0	0	
總 和		49000	5.50	139	313	452	喰 菌 率=9.2									

第 5 表 DTK 5'—DTK 20'ヲ以テノ實驗結果

DTN 煮 沸 時 間(分)	總喰總和	%	喰	菌	子	喰 菌 率
5	56000	6.36	120	263	383	6.8
10	53200	6.25	130	270	400	7.5
15	52000	6.11	132	295	427	8.2
20	49000	5.50	139	313	452	9.2

5 實驗第2 DTK 20'—DTK 90'ノ催喰菌作用及ビ血中白血球數ニ及ホス影響

可檢抗原 DTK 20', DTK 30', DTK 60' 及ビ DTK 90' ヲ以テ實驗第1ト同様ノ檢査ヲ行ヒタルニ第6表乃至第10表ノ所見ヲ得タリ。

第 6 表

DTK 20'ニヨル催食菌作用及ヒ血中白血球過多(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											
				喉 菌 子			中 性 多 型 核			嗜Lエオゾン			淋 巴 球 肥 胖		其 他
							%	喰	菌	%	喰	菌	%	喰	
正 常 時		8600	1.00	0	0	0	42.5	0	0	0	0	0	57.5	0	0
菌經 液過 注時 射間 後間	3 0 分	7500	0.87	30	68	98	58.0	30	68	0	0	0	42.0	0	0
	1 時 間	8600	1.00	35	75	110	61.5	35	75	0.5	0	0	38.0	0	0
	2 時 間	11600	1.35	35	82	117	88.5	35	82	0	0	0	11.5	0	0
	4 時 間	11900	1.38	22	51	73	72.5	22	51	0	0	0	27.5	0	0
	8 時 間	10900	1.27	23	49	72	79.0	23	47	0.5	0	0	20.5	0	0
總 和		50500	5.87	145	325	470	喰 菌 子=9.3								

第 7 表

DTK 30'ニヨル催食菌作用及ビ血中白血球過多(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 肥 胖		
				喰	菌	子	中 性 多 型 核			嗜 _レ エオジン ¹			細 胞 其 他			
							%	喰	菌	%	喰	菌	%	喰	菌	
正 常 時		8500	1.00	0	0	0	31.5	0	0	0.5	0	0	68.0	0	0	
菌經 液過 注時 射間 後間	3 0 分	7200	0.85	27	69	96	52.5	27	69	0.5	0	0	47.0	0	0	
	1 時 間	8000	0.94	41	97	138	63.5	40	95	0.5	1	2	36.0	0	0	
	2 時 間	11300	1.33	37	79	116	72.0	37	11.6	0	0	0	28.0	0	0	
	4 時 間	13300	1.56	25	62	87	83.0	25	62	0	0	0	13.0	0	0	
	8 時 間	11500	1.35	18	39	57	82.0	18	39.0	0	0	0	18.0	0	0	
總 和		51300	6.03	148	346	494	喰 菌 率=9.6									

第 8 表

DTK 60%ニヨル催食菌作用及ビ血中白血球過多(3頭平均)

	血積絶 液内 單白對 位血 容球數	自 増 血 減 球 率	白 血 球 200 ケ 中											淋 巴 球 肥 胖 他			
			喰	菌	子	中性多型核			嗜エオゾン			細	胞	其	他		
						%	喰	菌	%	喰	菌						
正 常 時	8800	1.00	0	0	0	45.0	0	0	0	0	0	35.0	0	0			
3 0 分	7200	0.82	21	50	71	58.5	21	50	0	0	0	41.5	0	0			
菌經																	
液過	1時間	8100	0.92	32	59	91	65.5	32	59	0	0	0	34.5	0	0		
注	2時間	12100	1.37	21	33	54	73.0	21	33	0.5	0	0	26.5	0	0		
射	4時間	10800	1.23	10	25	35	80.0	10	25	0.5	0	0	19.5	0	0		
後	8時間	11500	1.30	8	18	26	89.0	8	18	0.5	0	0	10.5	0	0		
總 和	49700	5.64	92	185	277	喰 菌 率=5.5											

第 9 表 DTK 90'ニヨル催喰菌作用及ビ血中白血球過多(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 _L エオジン ¹			淋 巴 球 肥 胖 細 胞 其 他		
							%	喰	菌	%	喰	菌	%	喰	菌
正 常 時		8700	1.00	0	0	0	39.5	0	0	0.5	0	0	60.0	0	0
菌經 液過 注時 射後 間	3 0 分	7300	0.84	23	63	86	72.5	21	55	3.0	2	8	24.5	0	0
	1 時 間	8200	0.94	19	42	61	78.5	19	42	0.5	0	0	21.0	0	0
	2 時 間	11600	1.33	19	28	47	85.0	19	28	0.5	0	0	14.5	0	0
	4 時 間	10900	1.25	10	19	29	65.0	10	19	0	0	0	35.0	0	0
	8 時 間	11400	1.31	9	13	22	60.5	9	13	0	0	0	39.5	0	0
總 和		49400	5.67	80	165	245	喰 菌 率=4.9								

第 10 表 DTK 20'—DTK 90'ヲ以テノ實驗結果

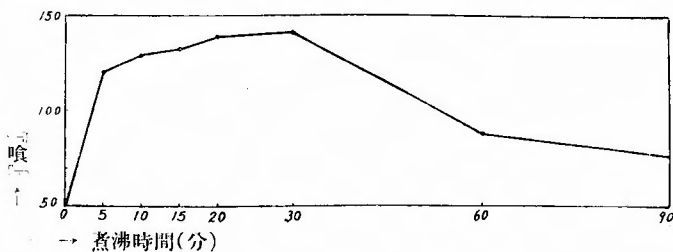
DTN 煮沸時間(分)	總喰總和	%	喰	菌	子	喰 菌 率
20	50500	5.87	145	325	470	9.3
30	51300	6.03	148	346	494	9.6
60	49700	5.64	92	185	277	5.5
90	49400	5.67	80	165	245	4.9

6 所 見 總 括

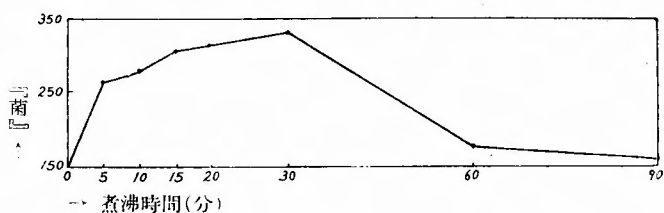
實驗第1及ビ第2ノ所見ハ双方ニ共通ナル DTK 20'ノ所見ヲ基準トシテ統一_的ニ換算シタル結果第11表ニ一括セラレタリ。且ツ之ヲ圖示シテ第1圖—第5圖ヲ得タリ。

第 11 表 DTK 5'—DTK 90'ヲ以テノ催喰菌作用及ビ白血球過多ノ程度(全實驗結果ノ總和)

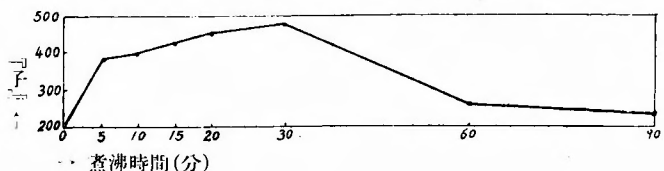
DTN 煮沸時間(分)	總喰總和	%	喰	菌	子	喰 菌 率
5	56000	6.36	120	263	383	6.8
10	53200	6.25	130	270	400	7.5
15	52000	6.11	132	295	427	8.2
20	49000	5.50	139	313	452	9.2
30	49776	5.65	142	333	475	9.5
60	48125	5.28	88	178	266	5.4
90	47933	5.31	77	159	236	4.9

 第 1 圖 DTNニ加ヘラレタル煮沸時間ト喰_Tトノ關係


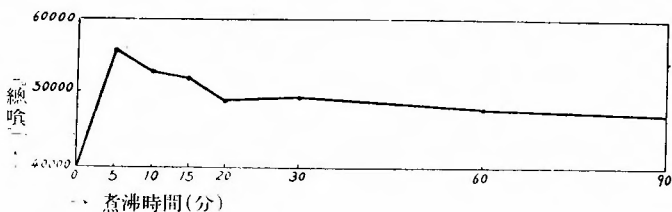
第 2 圖 DTNニ加ヘラレタル煮沸時間ト菌トノ關係



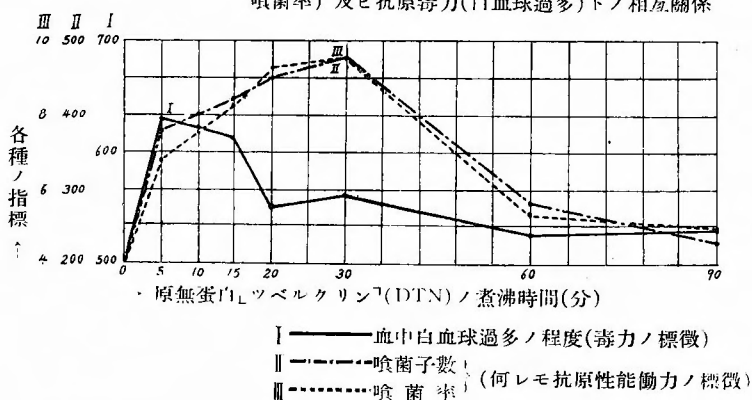
第 3 圖 DTNニ加ヘラレタル煮沸時間ト子トノ關係



第 4 圖 DTNニ加ヘラレタル煮沸時間ト血中白血球數ノ動搖トノ關係



第 5 圖 DTNニ加ヘラレタル煮沸時間ト催喰菌作用(喰菌子又ハ喰菌率)及ビ抗原毒力(白血球過多)トノ相互關係



以上ノ所見ニヨリテ下ノ各項ヲ認識シ得ベシ。

1) 無蛋白ツベルクリン(DTN)ノ毒力ノ標徴タル血中白血球過多ノ程度ハ第4圖(或ハ第5圖曲線I)ニ現ハレタルガ如ク20分煮沸ニ至リテ顯著ニ減弱シ、20分以上90分ノ煮沸ニテハ大差ヲ示サズ殆ンド「コンスタント」ノ状態ニアリ。換言スレバ原ツベルクリンハ一定ノ毒力ヲ有スルモノナレドモ之ヲ攝氏100度ニテ20分間煮沸スル時ハ其ノ毒力ガ非常ニ輕減、殆ンド不

變性トナルモノナルコトヲ認ム。

2) 抗原能働力ノ標徴タル喰菌子數乃至喰菌率ノ推移ハ相一致シテ (第3圖及ビ第5圖曲線 II 及ビ III 参照) 煮沸時間ノ進行ト共ニ漸次ニ增強シ, 30分煮沸ニ至リテ最大值ニ達シ, 60分煮沸ニテハ比較的急速ニ抗原能働力ノ減弱ヲ認ム。

3) 以上ノ考察ニヨリテ L イムペヂン I ヲ完全ニ破却スル目的ニ向ツテ必要ニシテ充分ナル煮沸時間ハ余等ノ受取りタル獨逸製無蛋白 L ツベルクリン I ニ向ツテハ30分ナルコトヲ知ル。

4) 此際 L イムペヂン I ノ完全破却ニヨリテ抗原能働力が最大トナルノミニ止ラズ, 其ノ毒力モ亦タ顯著ニ減弱スルモノナリ。

5) 5分煮沸抗原ニテ L 喰菌子價ハ383ニシテ30分煮沸抗原(L イムペヂン I 完全破却)ニテハ475ナルガ故ニ L イムペヂン I 完全破却ノ結果トシテ抗原能働力ハ100對124ノ比ニ於テ增強セラレタルヲ知ル。

6) L イムペヂン I ナル阻害現象ガ毒力大ナルコトノツノ現ハレナリセバ毒力が殆ンド極度ニ弱小トナルタル20分煮沸抗原(DTK 20')ノ際ニコソ最大ノ催喰菌作用ガ發揮セラルベキノ理ナリ。事實ハ然ラズ, 30分煮沸抗原(DTK 30')ニ至リテ始メテ最大ノ抗原能働力ノ發揮(最大催喰菌作用)セラレタリ。マタ30分以上60分マデノ煮沸(DTK 30'—DTK 60')ニテハ催喰菌性抗原能働力が急速ニ墜落セリ (第5圖曲線 II 及ビ III)。然ルニ毒力ハ殆ンド不變ノ有様ニアリ (第5圖曲線 I)。

此故ニ毒力ト L イムペヂン I トハ同格ノモノニ非ズ, L イムペヂン I 現象ナルモノハ決シテ毒力ノ示現ヲ意味スルモノニ非ザルコトヲ知ルベシ。所謂 L アツグレスシン I ト L 毒力 I トノ鑑別ハ今日ト雖モ明白ニ非ザル時ニ當リ上來ノ考察ニヨリテ L イムペヂン I ト L 毒力 I トノ無關係ナルコトヲ知リ L イムペヂン I ガ一個獨立ノ生物學的阻止作用ナルコトヲ認識スベキナリ。

7 結 論

1) 獨逸製無蛋白 L ツベルクリン I ノ含有スル L イムペヂン I ノミヲ完全ニ破却スル爲ニ必要ニシテ且ツ充分ナル加熱程度ハ攝氏100度30分間ナリ。

2) 以上ノ加熱ニヨリテ100度5分間ノ加熱ヲ加ヘラレタル無蛋白 L ツベルクリン I ノ喰菌子ノ値ヲ以テ示サレタル抗原能働力ヲ100ト爲ス時ハ30分煮沸後ニハ其ノ能働力ハ100對124ノ比ニ於テ增強セラレタリ。

3) 攝氏100度20分ノ加熱ニヨレバ原無蛋白 L ツベルクリン I ノ毒力ハ顯著ニ減弱セラレ, 殆ンド不變性トナリ, 20分以上ノ加熱ニテハ毒力ノ減弱程度ハ甚ダ微小ナリ。

4) 故ニ100度30分ノ加熱ハ無蛋白 L ツベルクリン I ニ向ツテ一面ニ於テハ毒力ノ顯著ナル減弱, 他面ニ於テハ抗原能働力ノ顯著ナル增強ヲ來スモノナリ。

5) 30分以上ノ煮沸ニテハ抗原能働力ハ却テ比較的急速ニ減弱スルモノナリ。是レ L イムペ

ヂン」ハ既ニ破却セラレ盡シタル上ニ更ニ本來ノ抗原物質ノ過度ノ加熱ニヨル變性ノ結果ヲ意味スルモノナリ。

6) 「イムペヂン」ナル阻止勢力ハ毒力ノ表現ヲ意味スルモノニ非ズシテ、「毒力」ト「イムペヂン」トハ相互ニ關係無キ獨立ノ二ツノ生物學的作用ナリ。(但シ「イムペヂン」存在ノ下ニ於テハ抗原物質ノ喰燼作用ガ阻止セラルルヲ以テ、此ノ意味ニ於テ「イムペヂン」含有抗原ハ「イムペヂン」破却抗原ヨリモ毒力大ナルモノナリ。)