

Bakteriotropin ノ 分 離 ニ 就 テ

岡山醫科大學衛生學教室 (主任緒方教授)

井 上 達

目	次
第1章 緒 論	第2節 分離試験
第2章 實驗方法	第3節 吸收試験
第1節 分離法	第4節 感作試験
第2節 喰菌現象検査法	第5節 耐熱性試験
第3章 實驗成績	第4章 總括並ニ結論
第1節 計算法ニ就テ	文 獻

第 1 章 緒 論

免疫學ノ發達ハ免疫體各箇ノ性状ヲ追求シテ止マズ、ソノ赴ク所、ヤガテ斯學ノ研究者ヲシテ免疫體分離ヲ企ツルニ至ラシメタリ。

然リ而シテ、免疫體分離ハ Widal et Sicird 氏等ノ硫酸安門ヲ以テ血清「グロブリン」ト共ニ細菌凝集素ヲ沈降セシメタルニ始マリ、次デ Winterberg 及ビ Pick³²⁾ 氏等モ同様方法ニテ凝集素ヲ沈降セシメタリ。之ニ反シ Hühne u. Trommsdorff 氏等ハ、細菌凝集素ヲ細菌ト結合セシメ「アルカリ」ヲ作用シテ凝集素ヲ分離セリ、是レ免疫體ヲソノ抗原ト結合セシメテ分離セルモノノ嚆矢ニシテ、爾後ソノ分離方法モ次第ニ改良ヲ見ルニ至リ、分離 medium トシテ蔗糖液 (小酒井¹⁸⁾、古畑⁶⁾、緒方²³⁾ 蒸餾水 (三輪¹⁷⁾、Hunton⁸⁾ etc ヲ使用セラルルニ至レリ。更ニ最近ニ於テハ生理的食鹽水中ニ於テ優秀ナル成績ヲ見ル迄ニ到レリ (須之内²⁶⁾)。

而シテ又分離免疫體ニ於テモ、血球凝集素 (Randsteiner u. Jagic²⁵⁾、古畑⁶⁾ 溶血素 (小酒井¹³⁾ 細菌凝集素並ニ溶菌素、補體結合性抗體 (Israel-Weinstein¹¹⁾) 細菌凝集素 (緒方²³⁾、Hunton⁸⁾ 細菌凝集素、細菌沈降素並ニ溶菌素 (白玖⁹⁾、上田³¹⁾ 細菌沈降素、細菌凝集素並ニ防禦素 (Chickering⁷⁾) 血清蛋白沈降素 (須之内²⁷⁾) Forschmann 氏抗體 (景山¹⁶⁾) 溶血素、血球凝集素 (Liebermann, Fenyvessy¹⁶⁾) 等ノ業績相次デ現ハルニ到レリ。

然レ共、未ダ分離ニ就テ Bakteriotropin ヲ證明セルモノ有ルヲ聞カズ。

余ハ大腸菌ニテ免疫セル家兎血清ヲ大腸菌並ニソノ浸出液ニテ處置シテ得タル分離液ニ就キ喰菌現象ヲ檢シタルニ、所期ニ近キ成績ヲ得タルヲ以テ之ヲ報告セントス。

Bakteriotropin ニ關スル文獻

Bakteriotropin ハ 1895 年 Denys u. Lecliff²²⁾ ニヨリ發見セラレ、續イテ Mennes, Neufeld u. Rimpaw²²⁾, Neufeld u. Hühne, Neumann²¹⁾, Böhm¹⁾, Burgers u. Meisner⁴⁾ etc ニヨリ確證ヲ與ヘラレタル耐熱性ニ

シテソノ構造單體ナル喰菌作用ヲ營ム物質ニシテ、就中 Neufeld 氏ハ 1904 年 Rimpaw 氏ト共ニ連鎖狀球菌免疫血清中ニ喰菌作用ヲ惹起スル物質ノ存在スルヲ見、且該作用物質ハ 59°C 30 分加熱ニ耐ユルコトヲ明カニシ、又同様物質ヲ肺炎菌免疫血清中ニモ檢出シ、之ヲ Bakteriotropin ト命名シ以テ易熱性ノ Wright 氏ノ Opsonin ト區別セリ。

Bakteriotropin ハ耐熱性ニシテ、Neufeld²²⁾、Hühne 兩氏ハ Cholera, Typhus 免疫血清ニ就テ檢シ 62°—63°C ニ抗スルヲ見、又 Neufeld²²⁾、Bickel 兩氏ハ 10 倍ニ稀釋セル血清ヲ 3 週間 60°C ニ加熱スルモ猶 Bakteriotropin ノ殘存セルヲ認メタリ。之ニ反シ Böhme²³⁾ 氏ハ結核 Tropin ヲ 60°C ニ加温セルニ著シク減少セルヲ實驗シ、Wright 氏モ亦同様ノ成績ヲ得タリ。

椎葉²⁹⁾ 氏ハ 56°C 30 分加熱ニ耐ユルモノノ外ニ、55°C 30 分加熱ニヨリ破壊スル Tropin Natur ノモノ存在スルト云ヒ、小林¹⁴⁾ 氏ハ Typhus 免疫 Tropin ハ 75°C 30 分、結核免疫 Tropin ハ 65°C 10 分加熱ニヨリ破壊スルモ、尙ホソノ他ニ 55°C 10 分加熱ニヨリ破壊スル易熱性 Tropin アルコトヲ主張セリ。

而シテ此處ニ余ノ報告セントスル實驗ハ、65°C 30 分ニ抵抗シ得ル Neufeld 氏ノ命名セル Bakteriotropin ニ關スルモノニシテ、椎葉、小林氏等ノ云フ易熱性 Tropin ヲ含マザルハ勿論ナリ。

第 2 章 實驗方法

第 1 節 分離法

第 1 項 免疫血清

18 時間寒天斜面培養ノ大腸菌ヲ 10.0 cc ニ 3 öse ノ割合ニ生理的食鹽水ニ浮游セシメ、60°C ニ 6 時間加熱セルモノヲ 1.0—5.0 cc 宛 3 日ノ間隔ヲ置キ十數回反覆耳靜脈内ニ注入免疫シテ得タル家兎血清ナリ。

第 2 項 抗原

a. 細菌浸出液

18 時間 Colle ノ Agarplatte ニ培養セル大腸菌ヲ 20.0 cc ノ無菌蒸餾水ニ浮游セシメ、1 時間 60°C ニ加熱後 48 時間 37°C ニ放置シ、後濾過シ得タルモノナリ。ソノ蛋白質ハ大約血清ノ 1/1000 ナリ。

b. 細菌

18 時間 Agarplatte ニ培養セル大腸菌ヲ掻キ集メ食鹽水ニテ數回遠心洗滌セル菌沈渣ヲ 60°C 1 時間加熱シテ使用セリ。菌種ハ大腸菌(新)ナリ。

第 3 項 分離法

前記免疫血清 1 部ニ細菌浸出液 1—2 部、或ハ血清 3.0—5.0 cc ニ 3 斜面量ノ菌沈渣ヲ加ヘ、37°C ニ 2 時間作用セシメタル後遠心沈降シ、得タル沈渣ハ更ニ 3 回食鹽水ニテ洗滌遠心沈澱シ、最後ニ得タル沈渣ニ最初ニ使用セル血清量ダケノ蒸餾水ヲ加ヘ、56°C ニ 30 分加温シテ直チニ遠心沈降ス、カクシテ得タル上清ハ即チ分離液ニシテ、使用ニ當リテハ 0.85% ニナル様ニ食鹽ヲ加ヘタリ。

第 2 節 喰菌現象検査法

喰菌現象検査ハ專ラ Wright 氏ノ Opsonin 検査法ニ準據セリ。

第 1 項 使用硝子器

「パラピンシャーレ」、毛細「ピベット」

硝子器ノ「アルカリ」性が喰菌現象ニ影響スルコトハ、大谷²⁴⁾氏ノ所説ニモ明カナル所ナレバ、毛細「ピベット」ハ「クローム」硫酸中ニ一夜浸シ後流水ニテ充分洗滌シタル硝子管ニテ製作セリ。

第 2 項 白血球浮游液

白血球ハ 5% Aalenonat Bouillon 10.0—20.0 cc ヲ「モルモット」腹腔内ニ注入後、6—8 時間ニテ Trokal ニヨリ採取シ、生理的食鹽水ニテ 3 回遠心沈降洗滌セルモノヲ、0.3% Riccin 溶液ト略ボ同様ノ濃度トナシ使用セリ。

第 3 項 菌浮游液

4—6 時間 Agar 培養ノ大腸菌(新)ヲ 10.0 cc 生理的食鹽水ニ 2 normal öse ノ割合ニ浮游セシメタルモノナリ。本菌ハ 13 g ノ「マウス」ヲ靜脈内注射ニヨリテ 12 時間以内ニ斃スニハソノ 1/10 normal öse ヲ要セリ。

第 4 項 検査法

被 檢 液 1 teil

白血球液 1 teil

菌 液 1 teil

ヲ毛細「ピベット」ニ採リ、「パラピンシャーレ」内ニテ充分混和シタル後、毛細管ニ採リ先端ヲ浴封シ、Opsonin Kammer 中ニテ 37°C 10 分加温シ、後再ビ「シャーレ」内ニテ混和シタル上標本ヲ作りタリ。

標本ハ 1 毛細管ニ付キ 3 枚トシ、固定ハ Methylalkohol、染色ハ Giemsa 氏液ヲ使用セリ。

第 5 項 計算法

計算ハ各標本ニ付キ 100 箇以上即チ 1 毛細「ピベット」ニ付キ 300 箇以上ノ中性多核白血球、大單核白血球、移行型細胞ヲ檢シ、喰菌細胞ノ百分率(喰菌度)及ビ被喰菌數ヲ檢シ、食鹽水ニ於ケル被食菌數ト對比シ、即チ $\frac{\text{檢液ノ被喰菌率}}{\text{食鹽水ノ被喰菌率}} = \text{喰菌係數}$ ヲ求メタリ。

勿論此際多數ノ細菌ヲ一時ニ喰シ spontane phagocytose ヲ起セルト認ムベキモノ並ニ疑ハシキモノハ之ヲ除外セリ。

第 3 章 實 驗 成 績

第 1 節 計算法ニ就テ

現今喰菌現象ノ強弱ヲ示スニ次ノ如キ諸法アリ。

1. Wright 氏法 (英國法)

本法ハ白血球内ニ攝取サレ居ル菌數ニ重キヲ置クモノニシテ、被喰菌總數ヲ白血球總數ニテ除シタル商ヲ喰菌率ト云ヒ。患者喰菌率ヲ健康者喰菌率ニテ除シタル商ヲ「オプソニン」係數ト云フ。

2. Bächer²⁵⁾ 氏法

白血球總數ニ對シ喰菌セル白血球ノ百分率ヲ求メ喰菌度トス。

3. Neufeld 氏法

喰菌度ヲ數字ニテ表ハスヲ避ケ單ニ強弱ヲ以テ之ヲ表ハサントス。

4. 大谷²⁴⁾ 氏法

大谷氏法ハ Bächer 法ヲ基本トシ Neufeld 氏法ヲ加味シ、次ノ如キ標準ヲ建テタリ。

喰菌度 10% 以下	陰 性	喰菌度 31.0—40.0%	中等度陽性
◆ 11.0—20%	疑 問	◆ 41.0% 以上	強 陽 性
◆ 21.0—30.0%	弱 陽 性		

ソノ他勝呂³⁰⁾ 氏ハ喰菌細胞數ニ被喰菌數ヲ加ヘタル總和ヲ喰菌子ト命名シ、以テ喰菌程度ノ指標トセリ。尙ホ Neisser³⁰⁾ 氏法アレドモ餘リ使用セラレズ。

而シテ上記中主トシテ行ハルルモノハ、1. Wright 氏法、2. Bächer 氏法、3. Neufeld 氏法ナルモ、Bächer 氏法ヲ採用スルモノハ Wright 氏法ニ就キ次ノ如キ非難ヲ下セリ。

1. 細菌ガ血清ノ爲集團ヲナス場合ニハ英國法ニ於テハソノ喰菌率ニ大ナル影響ヲ與フルニ反シ、Bächer 氏法ニ於テハソノ影響ヲ被ムルコトナシ。

2. 菌液ノ濃度高キトキハ英國法ハ影響ヲ被ムルコト大ナルニ反シ、Bächer 氏法ハ此影響ナシ。

3. 喰菌現象ト同時ニ溶菌現象ヲ起ス場合ニハ、英國法ハソノ影響ヲ被ムルコト甚ダ多シ。

4. 個々ノ白血球ハ同等ノ喰菌能力ヲ有スルモノニ非ズシテ、各自異ナレル喰菌能力ヲ有ス、而シテ或ル強サノ喰菌促進物質ノ下ニハ、或ル若干ノ白血球ガ喰菌現象ヲ營ミ、更ニ強キ喰菌促進物質ノ下ニハ、喰菌現象ヲ營ム白血球數増加スルモノナリ。英國法ハコノ白血球ノ個性ヲ没却シ居ルニ反シ、Bächer 氏法ハコノ個性ヲ表ハスニ適當ナリ。

故ニ Bächer 氏法ハ Wright 氏法ニ比シ卓越セリ。(Bächer³⁾, Böhm¹⁾)

又 Neufeld 氏法ハ Meyer¹⁹⁾ 氏ノ費スル所ニシテ、Wright 及ビ Bächer 氏法ノ缺點ヲ覆フモノニシテ、即チ標本上ニ於テ菌體ガ白血球ノ上又ハ下、或ハ縁ニアルトキ之ヲ白血球體內ニアルモノトノ區別ニ困難ヲ感ズ、又標本中邊縁部ニハ、菌體ヲ喰菌セル白血球多數ナルニ反シ、中央部ハ菌體ヲ喰セザル白血球多シ、斯クノ如ク平等ナル標本ヲ得ルコト極メテ困難ナル故ニ、喰菌程度ヲ表ハスニ之ヲ精密ニ表ハサントスレバ益々困難ヲ感ジ反ツテ正確ヲ失フニ至ルベシ、因リテ數字ヲ以テ表ハスヨリモ陽性或ハ陰性又ハ強陽性、弱陽性ノ如ク表ハスニ如カズト。

又勝呂³⁰⁾ 氏ハ動物ガ一定ノ細菌ニ對シ免疫ヲ獲得スル爲メニハ「廣義ノ喰細胞ガ一定時間内ニ一定量ノ細菌又ハソノ產生スル毒素ヲ消化スル」ヲ要ス、故ニ免疫ニ必要ナルハ、1) 細胞ノミニ非ズ、2) 細菌又ハソノ產生毒素ノミニモ非ズシテ、實ニ 3) 兩者ノ共同作用ノ總和ナリ、從ツテ前記 1) 及ビ 2) ノ何レニモ平等ナル或ハ同格ナル價值ヲ附シテ以テ喰菌現象ヲ觀察スルノ要アルモノナリ、即チ此見地ヨリ喰菌子ナルモノヲ創案セリト。然レドモ余ノ場合ノ如ク免疫ニ干與セザル他動物ノ白血球ヲ使用スル場合ニハ、オノヅカラソノ主意ヲ異ニスルモノナリ。

余ハ本實驗ヲ行フニ先キ立チ、免疫經過ヲ Wright 氏法並ニ Bächer 氏法ヲ併用シ檢シタルニ、次ノ如キ結果ヲ得タリ、即チソノ何レノ方法ヲ採用スルモ、正確ニ周密ナル注意ノ下ニ行フトキハ、殆ドソノ實際的效果ニ於テハ差異ナキガ如キモノノ算定法ニ於テハ、Bächer 氏法ノ

簡單ナルニ如カザルガ如シ。

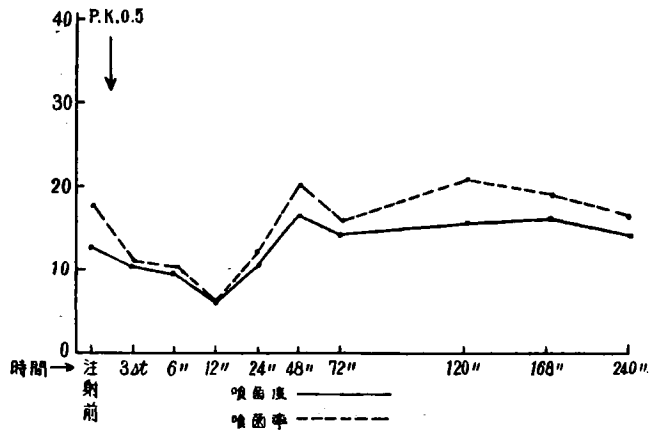
實驗 1. 家兎 1. 體重 2220 g 大腸菌液 Pro Kylo 0.5cc 注射

第 1 圖



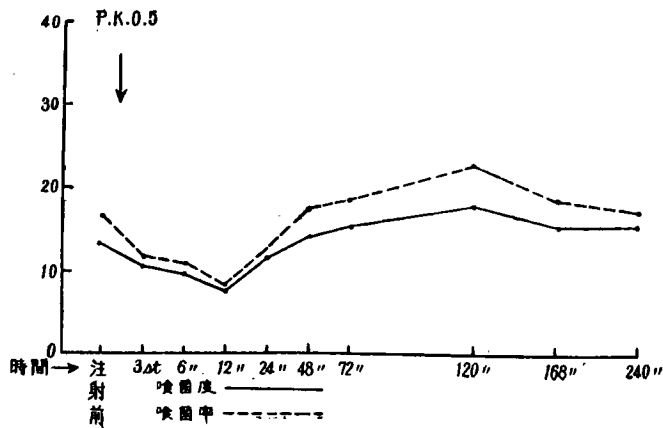
實驗 2. 家兎 2. 體重 2450 g 大腸菌液 Pro Kylo 0.5cc 注射

第 2 圖



實驗 3. 家兎 3. 體重 2500 g 大腸菌液 Pro Kylo 0.5cc 注射

第 3 圖



即チ圖表ニ就テ見ルニ各例共喰菌度並ニ喰菌率ハ互ニ平行シツノ間大ナル差違ヲ認メ難シ、而シテ相共ニ注射後 3 時間ヨリ漸次下降シ、12 時間後ニ最低ニ達シ、爾後再ビ次第ニ上昇シ 120 時間即チ第 5 日目ニ最高ニ達シ、次デソノ後ハ再ビ漸次下降スルガ如シ。之ヲ他ノ免疫體(凝集素)產生ニ就テ見ルニ第 1 表ノ如シ。

第 1 表

家 兎 1.

家 兎 2.

稀釋度 經 過	家 兎 1.							家 兎 2.						
	10	20	40	80	160	320	640	10	20	40	80	160	320	640
注 射 前	+	±	±	-	-	-	-	±	-	-	-	-	-	-
3 時間目	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6 〆	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12 〆	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
24 〆	±	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
48 〆	+	±	±	-	-	-	-	±	-	-	-	-	-	-
72 〆	++	+	+	±	-	-	-	++	+	+	±	-	-	-
120 〆	++	++	++	+	+	±	-	+++	++	++	+	±	-	-
168 〆	++	++	+	+	+	±	-	+++	++	+	+	±	-	-
240 〆	+	+	±	±	-	-	-	+++	++	+	+	±	-	-

即チ凝集素ニ於テモ又注射後著シク減少シ、24 時間乃至 48 時間頃ヨリ漸次出現シ始メ、120 時間即チ 5 日目ニ最高ニ達シツノ後ハ又次第ニ減少シ行クモノノ如シ。

第 2 節 分 離 試 験

前章記載ノ方法ニ從ヒテ分離試験ヲ行フニ次ノ如シ。

實驗 1.

免疫血清(凝集素價 204800) 5.0 cc
 菌 量 3 斜面
 作用時間 37°C 2 時間
 分離法 (蒸餾水中) 56°C 30 分
 分離液 含有蛋白量 血清ノ 1/100

第 2 表

種 類	稀 釋 度	總白血球數	喰細胞數	喰 菌 度	被喰菌數	喰 菌 率	喰菌係數	凝 集 價
免(非動性) 疫血清	10	390	82	21.02	148	37.94	4.76	20,480
	100	384	80	20.83	104	27.08	3.39	
	1000	328	26	7.92	38	11.58	1.45	
上(非動性) 清	10	364	58	15.93	80	21.97	2.75	10,240
	100	332	32	9.63	48	14.45	1.81	
	1000	328	28	8.53	36	10.97	1.37	
洗 滌 液		326	26	7.97	32	9.81	1.22	20
分 離 液	1	372	64	17.20	86	23.11	2.89	6,400
	10	340	40	11.76	46	13.52	1.69	
食 鹽 水		326	22	6.74	26	7.97	1.00	

實驗 2.

免疫血清(凝集素價 204800) 4.0 cc

菌 量 3 斜面

作用時間 37°C 2 時間

分離法 (蒸餾水中) 56°C 30 分

分離液 蛋白量 血清 / 1/50

第 3 表

種 類	稀 釋 度	總白血球數	喰細胞數	喰 菌 度	被喰菌數	喰 菌 率	喰菌係數	凝 集 價
免(非動性) 疫血清	10	386	86	22.27	142	36.78	3.58	20,480
	100	332	70	21.08	94	28.31	2.76	
上(非動性) 清	10	382	72	18.84	112	29.31	2.85	10,240
	100	372	66	17.74	90	24.19	2.36	
洗 滌 液		336	36	10.71	54	16.07	1.56	20
分 離 液	1	357	68	19.20	114	32.20	3.14	6,400
	10	364	62	17.03	94	25.54	2.49	
食 鹽 水		390	26	6.66	40	10.25	1.00	
正常血清 (非動性)	10	390	32	8.20	40	10.25	1.00	

實驗 3.

免疫血清 (沈降素價 400.0 凝集素價 32000) 7.0 cc

菌浸出液 7.0 cc

作用時間 37°C 2 時間

分離法 (蒸餾水中) 56°C 30 分

分離液 蛋白量 血清ノ 1/50

第 4 表

種 類	稀 釋 度	總白血球數	喰細胞數	喰 菌 度	被喰菌數	喰 菌 率	喰菌系數	凝集價	沈降價
免疫血清 (非動性)	10	406	92	22.66	104	25.61	2.80	3200	40
	100	348	40	11.49	44	12.61	1.38		
上(非動性) 清	10	342	54	15.78	68	19.88	2.17	800	16
	100	372	40	10.75	42	11.29	1.23		
洗滌液		330	22	6.66	32	9.69	1.06	40	0
分離液	1	362	62	17.11	78	21.54	2.35	320	40
	10	354	44	12.42	50	14.12	1.54		
食鹽水		328	28	8.53	30	9.14	1.00		
非動性 正常家兔血清	10	342	30	8.77	34	9.14	1.00		

實驗 4.

免疫血清 (沈降素價 400.0) 5.0 cc

菌浸出液 10.0 cc

作用時間 37°C 2 時間

分離法 (蒸餾水中) 56°C 30 分

分離液 蛋白量 血清ノ 1/100

第 5 表

種 類	稀 釋 度	總白血球數	喰細胞數	喰 菌 度	被喰菌數	喰 菌 率	喰菌系數	沈降素價
免疫血清 (非動性)	10	340	66	19.41	78	22.94	2.58	40
	50	307	54	17.58	64	20.84	2.34	
	100	323	51	15.78	59	18.26	2.05	
	400	310	42	13.54	54	17.41	1.96	

種 類	稀 釋 度	總白血球數	喰細胞數	喰 菌 度	被喰菌數	喰 菌 率	喰菌係數	沈降素價
上(非 動 清(性))	10	322	55	17.08	61	18.94	2.13	12
	50	306	38	12.41	50	16.30	1.83	
	100	320	40	12.50	46	14.37	1.62	
	400	318	34	10.69	42	13.20	1.48	
分 離 液	1	312	60	19.23	72	23.07	2.28	60
	5	312	56	17.94	62	19.87	2.15	
	10	314	44	14.01	46	14.64	1.50	
	40	306	34	11.11	38	12.41	1.26	
食 鹽 水		338	28	8.28	30	8.87	1.00	

上清ハ3倍ニ稀釋サレ居ルヲ以テ上清0.3ニ食鹽水0.7ヲ加ヘタルモノヲ上清10倍稀釋トス。

實驗 5.

免疫血清(沈降素價400.0) 3.0cc

菌浸出液 6.0cc

作用時間 37°C 2時間

分離法 (蒸餾水中) 56°C 30分

分離液 蛋白量 血清ノ1/50

第 6 表

種 類	稀 釋 度	總白血球數	喰細胞數	喰 菌 度	被喰菌數	喰 菌 率	喰菌係數	沈降素價
免(非 疫(動 血(性 清))	10	308	52	16.88	66	21.42	2.18	40
	100	346	54	15.60	72	20.80	2.12	
	400	312	44	14.10	48	15.38	1.56	
分 離 液	1	314	50	15.89	66	21.14	2.15	40
	5	312	46	14.74	62	19.87	2.02	
	10	302	36	11.92	44	14.56	1.48	
	40	300	30	10.00	38	12.66	1.29	
食 鹽 水		306	28	9.15	30	9.80	1.00	

以上ノ各實驗ニ就テ見ルモ明カナル如ク、抗原(細菌體或ハソノ浸出液)ヲ結合セシメタル後ノ上清ニ於テハ、何レモ原血清ニ比シ沈降素價又ハ凝集素價ト共ニ、ソノ喰菌度及ビ喰菌係數著シク減少セルヲ見ル。

而シテ抗原、抗體ノ結合物ヲ洗滌セル最後ノ洗滌液ニ於テハ、沈降素價或ハ凝集素價ト等シ

ク喰菌度、喰菌係數共ニ甚ダ低ク對照ナル食鹽水ト等シキカ、僅ニ高キニ過ギズ。

然ルニ分離液ニ於テハ、凝集素價ニ於テ原血清ノ (1/32—1/100) ナ又沈降素價ニ於テ (1/6—1/10) ナ示セル如ク、喰菌度竝ニ喰菌係數ニ於テモ原血清ノ 10 倍稀釋ノモノニ近キ迄ノ成績ヲ示セリ。コレ明カニ Bakteriotropin ガ抗原ナル菌體又ハ菌蛋白ニ結合シ、且分離シ來レルモノナリ。

第 3 節 吸 收 試 験

原血清 3.0 cc ニ付キ 3 斜面ノ洗滌大腸菌ヲ、又分離液ハ同様 3.0 cc ニ付キ 20 ose ノ洗滌大腸菌ヲ加ヘ 37°C ニ 1 時間作用セシメタル後遠心沈降シ、上清ニ付キ喰菌度竝ニ喰菌係數ヲ検査セシニ次表ノ如シ。

實驗 1. 免疫血清 凝集價 20480
 分離液 ◇ 6400
 (含有蛋白量 血清ノ 1/50)

第 7 表

吸收回数	免 疫 血 清 (非 動 性)				分 離 液				
	稀 釋 度	喰 菌 度	喰菌係數	凝 集 價	稀 釋 度	喰 菌 度	喰菌係數	凝 集 價	
吸 收 前	10	22.27	3.58	20480	1	19.20	3.14	6400	
	100	21.08	2.76		10	17.03	2.49		
吸 收 後	第 1 回 吸 收	10	18.84	2.85	10240	1	9.71	1.11	3200
	100	17.74	2.36						
第 2 回 吸 收	10	11.24	1.78	5120	1	8.07	0.9	400	
食 鹽 水		6.66	1.00						

實驗 2. 免疫血清 凝集價 20480
 分離液 ◇ 6400
 (含有蛋白量 血清ノ 1/50)

第 8 表

吸收回数	免 疫 血 清 (非 動 性)				分 離 液			
	稀 釋 度	喰 菌 度	喰菌係數	凝 集 價	稀 釋 度	喰 菌 度	喰菌係數	凝 集 價
吸 收 前	10	21.02	4.76	20480	1	17.20	2.89	6400
	100	21.87	3.39		10	11.76	1.69	
	1000	7.92	1.45					

吸収回数		免 疫 血 清 (非 動 性)				分 離 液			
		稀 釋 度	喰 菌 度	喰菌系数	凝 集 價	稀 釋 度	喰 菌 度	喰菌系数	凝 集 價
吸 收	第 1 回	10	15.93	2.75	10240	1	9.52	1.79	3200
	1000	8.53	1.37						
後	第 2 回	10	13.79	2.37	2560	1	8.98	1.50	200
	1000	7.31	1.14						
食 鹽 水			6.74	1.00					

即チ血清並ニ分離液共ニ吸収ニヨリ著シク減少セルヲ示セリ。

次ニ主抗原菌ニ非ラザル大腸菌(谷)及ビ「チフス」菌ニ就キ同様方法ニテ實驗ヲ試ミ、主抗原菌ノソレト比較セルニ次表ノ如クニシテ、血清並ニ分離液共ニ等シク主抗原菌ニ比シ著シク劣レルヲ見ル、コレ明カニ分離 Tropin ノ原血清 Tropin ト同様ニ特異性ナル事ヲ示スモノナリ。

實驗 3. 免疫血清 凝集價 204800
分離液 6400

(含有蛋白質 血清ノ 1/50)

第 9 表

		10 倍 免 疫 血 清		分 離 液	
		喰 菌 度	喰 菌 系 數	喰 菌 度	喰 菌 系 數
吸 收 前	/	22.56	3.81	18.03	3.10
吸 收 後	大腸菌(新)主抗原菌	8.92	2.09	8.98	1.45
	大 腸 菌 (谷)	19.47	3.55	14.77	2.30
	「チフス」菌	19.14	3.54	15.00	2.80
食 鹽 水		7.40	1.00		

第 4 節 感 作 試 験

生理的食鹽水 10.0 cc = 2 0se ノ割合ニ作リタル菌液 0.5 cc ニ、分離液又ハ 10 倍免疫血清 0.5 cc 加ヘ、37°C = 30 分作用セシメタル後遠心沈降シ、更ニ食鹽水 1.0 cc 加ヘ再ビ遠心沈降ス、カクスル事 3 回ニシテ最後ニ食鹽水 1.0 cc ヲ加ヘタルモノ 1 部ト白血球液 1 部食鹽水 1 部ヲ毛細「ピペット」ニ探リ、喰菌所象ヲ檢ス、對照トシテハ前記分離液又ハ免疫血清ノ代リニ食鹽水

又ハ非動性正常家兎血清(10倍)ヲ加ヘタルモノヲ同様處置ヲ行ヒ檢セリ。

又白血球感作ハ、白血球液 0.5cc = 分離液又ハ 10 倍免疫血清 0.5cc ヲ加ヘ 37°C 30 分作用セシメタル後、前記同様 3 回遠心沈降洗滌シ、最後ニ食鹽水 1.0cc 加ヘタルモノ 1 部ト菌液 1 部食鹽水 1 部ヲ毛細「ピペット」ニ採リ同様喰菌現象ヲ檢セリ。對照トシテハ同ジク白血球液ニ食鹽水又ハ非動性正常家兎血清(10倍)ヲ加ヘタルモノヲ同様處置シテ檢セリ。

ソノ成績第 10, 11 表ノ如クニシテ、細菌ニ分離液又ハ免疫血清ヲ作用セシメタルトキハ、對照ニ比シ著シク喰菌度並ニ喰菌係數増加スルモ、白血球ニ作用セシメタルトキハ何レモ對照ト差異アルヲ認メズ。

實驗 1.

第 10 表

		喰 菌 度	喰 菌 係 數
分離液加菌液	37	9.09	2.39
食鹽水加	度	5.06	1.00
免疫血清加	30	12.29	2.33
正常家兎血清加	分	5.62	1.00
分離液加白血球液	感	5.88	0.96
食鹽水加	作	6.09	1.00
免疫血清加	3	6.87	1.01
正常家兎血清加	回	6.79	1.00
	洗		
	滌		

實驗 2.

第 11 表

		喰 菌 度	喰 菌 係 數
分離液加菌液	37 3	9.58	3.39
食鹽水加	度 同	3.70	1.00
分離液加白血球液	30 洗	11.76	1.02
食鹽水加	分 滌	12.06	1.00
	感 後		
	作		
	後		

第 5 節 耐熱性試驗

分離並ニ非分離免疫體ノ耐熱性ヲ比較スルニ、ソノ Medium ノ蛋白量ヲ一定ニスル事ノ必要ナルハ白玖氏ノ所說ニモ明カナル所ナルモ、余ハ暫ク從來ノ方法ニ從ツテ之ヲ行ハントス。

即チ 10 倍免疫血清並ニ分離液ヲ各々 0.5cc 宛同一口徑ノ小試驗管ニ採リ、重湯煎中ニテ同時ニ同一條件ノ下ニ種々ナル溫度ニ加熱シ、ソノ耐熱性ヲ檢セリ。

而シテ、Tropin ノ耐熱性ニ關スル文獻ハ前章文獻ノ條ニ詳述セル如クニシテ、大體ニ於テ 65°—70°C 加熱ニ耐ユルモ、75°—80°C 加熱ニ耐ヘザルガ如シ。余ノ實驗ニ於テモ次表ノ如ク 75°—80°C 10 分加熱ニ於テ殆ド全ク消失スルカ、遺殘スルモ極メテ少量ニ過ギザルガ如シ。

又分離免疫體ト原血清免疫體ニソノ耐熱性上差異ヲ認メ難キハ三輪¹⁷⁾、岩井¹²⁾、須之内²⁸⁾ 氏等ノ實驗ニ示ス所ニシテ、余ノ實驗ニ於テモ、凝集素「バクテリオトロピン」共ニ原血清ト分離液間ニ何等ノ差異ヲ認メ得ザリキ。

實驗 1. 免疫血清 凝集價 51200
 分離液 ♪ 640
 (蛋白質 血清ノ 1/50)

第 1 2 表

加熱時間	10 倍 免 疫 血 清			分 離 液		
	喰 菌 度	喰 菌 系 數	凝 集 價	喰 菌 度	喰 菌 系 數	凝 集 價
56°C 30'	22.66	2.80	51200	17.11	2.35	640
60°C 10'	20.21	2.90	/	16.66	2.24	/
65°C ♪	16.58	2.98	51200	15.42	2.09	640
70°C ♪	14.83	2.10	25600	13.06	1.86	320
75°C ♪	13.71	1.93	6400	10.17	1.17	160
80°C ♪	8.23	1.09	800	8.48	1.06	40
食鹽水	8.53	1.00				

實驗 2. 免疫血清 凝集價 25600
 分離液 ♪ 640
 (蛋白質 血清ノ 1/50)

第 1 3 表

加熱時間	10 倍 免 疫 血 清			分 離 液		
	喰 菌 度	喰 菌 系 數	凝 集 價	喰 菌 度	喰 菌 系 數	凝 集 價
56°C 30'	21.01	2.56	25600	18.77	2.53	640
60°C 10'	20.31	2.50	/	18.47	2.55	/
65°C ♪	17.03	2.04	25600	14.36	1.69	640
70°C ♪	13.79	1.82	25600	13.37	1.65	640
75°C ♪	11.33	1.30	320	11.66	1.43	80
80°C ♪	10.65	1.29	1600	8.82	1.22	40
食鹽水	7.96	1.00				

第 4 章 總括並ニ結論

以上ノ實驗成績ヲ綜合スルニ次ノ如シ。

- 1) 喰菌現象ノ強弱ノ程度ヲ表ハスニ諸種ノ方法アルモ、現今專ラ行ハルル Bächer 氏法並ニ Wright 氏法ニ就キ、免疫經過ニ從ヒテ検査セルニ、余ノ成績ニ於テハソノ何レノ方法ヲ採ルモ差異アルヲ認メラザルモ、ソノ計算法ニ於テ Bächer 氏法ノ甚ダ簡單ナルノ便アリ。
- 2) Bakteriotropin ハソノ菌體ナルト又菌浸出蛋白ナルトヲ問ハズ、ソノ何レトモヨク結合シ且分離シ得ルコト全ク凝集素及ビ沈降素ト同様ナリ。
- 3) 分離 Bakteriotropin ニ就テ主抗原菌、大腸菌(谷)並ニ「チフス」菌ニテ吸收試験ヲ行ヘルニ、ソノ喰菌度及ビ喰菌係數ノ減少ノ關係ハ全ク原血清ノソレト同様ニ特異性ナル事ヲ示セリ。
- 4) 分離 Bakteriotropin ニ就キ感作試験ヲ行フニ、細菌ニ作用セシムルトキハ原血清ト等シク對照ニ比シ著シクソノ喰菌度及ビ喰菌係數ノ増加ヲ示スモ、白血球ニ作用セシムルトキハ原血清ニ於ケルト同様、對照ト全ク變化ナキヲ認ム。
- 5) 分離 Bakteriotropin ノ耐熱性ヲ檢シタルニ、從來非分離 Bakteriotropin ニ就テ云ハレタル如ク、75°—80°C 10' 加熱ニヨリテ殆ド全ク消失スル事同時ニ行ヘル非分離 Bakteriotropin ト同様ニシテ、分離並ニ非分離「トロピン」ノ關係ハ凝集素ニ就テ三輪、岩井、須之内氏等ノ報告セル所ト一致スルモノナリ。

結 論

- 1) Bakteriotropin ハ細菌體又ハソノ浸出蛋白トヨク結合シ且分離シ得ルコト、全ク凝集素並ニ沈降素ニ於ケルト同様ナリ。
- 2) 分離 Bakteriotropin ハソノ特異性並ニ耐熱性ニ就テハ非分離 Bakteriotropin ト大差ナキヲ認ム。

擧筆スルニ當リ終始御懇篤ナル御指導ト本稿御校閱ノ勞ヲ賜リタル恩師緒方教授ニ衷心感謝ノ意ヲ表ス。

(5. 7. 11. 受稿)

文 獻

- 1) *Böhme*, Münch. m. Wochenschr. 1908, S. 1475. 2) *Böhme*, Münch. m. Wochenschr. 1909, S. 1117. 3) *Bäcker*, Zeitschr. f. Hyg. u. Infekt. Bd. 56, S. 33, 1907. 4) *Burgers u. Meisner*, Zeitschr. f. Immunitätforsch. Bd. 11, S. 528, 1911. 5) *Chickering*, Journal of Exper. Med. Vol. 22, 1915, S. 248. 6) *Furuhata*, Japan Med. Word, 1921, S. 1. 7) *Huhn u. Trommsdorf*, Münch. m. Wochenschr. 1900, S. 415. 8) *Hunton*, Journal of Immunology, Vol. 6, 1921, S. 123. 9) *Haku*, Dainikai Eiseigaku Biseibutugaku Kiseibyogaku Rengo Gakkai, 1928. 10) *Haku*, Daisankai Biseibutugakkai, 1929. 11) *Israel-Weinstein*, Journal of Immunology, Vol. 3, 1918, S. 17. 12) *Iwai*, Kokkaigakkai-zasshi 1922, S. 421. 13) *Kosakai*, Journal of immunology, Vol. 3, 1918, S. 109. 14) *Kobayashi*, Saikingakuzasshi, 1924, S. 859. 15) *Kageyama*, Okayamaigakkaizasshi, 1926, S. 684. 16) *Liebermann u. Fenyvessy*, Centralbl. f. Bakt. Bd. 47, 1908. 17) *Miwa*, Nipponeiseigakusaikingakuzasshi, Bd. 17, 1922, S. 179. 18) *Matui*, Nippontetudokyokaizasshi, 1917, Tokyoigishinshi, 1918. 19) *Meyer*, Berl. Kl. Wochenschr. 1908, S. 951. 20) *Neisser*, Münch. m. Wochenschr. 1908, S. 198. 21) *Neumann*, Centralbl. f. Bakt. Bd. 44, 1907, S. 46. 22) *Neufeld u. Rimpaw*, Deutsch. m. Wochenschr. 1904, S. 1458. 23) *Ogata*, Zeitschr. f. Immunitätforsch. Bd. 39, 1924, S. 270. 24) *Otani*, Saikingakuzasshi, 1920, S. 1. 25) *Randsteiner u. Jagic*, Münch. m. Wochenschr. 1903, S. 764. 26) *Sunouchi*, Okayamaigakkai, Sokai, 1929. 27) *Sunouchi*, Arbeit aus der Med. Univ. Okayama, Bd. 1, Heft, 1. 28) *Sunouchi*, Okayamaigakkaizasshi, 1927, S. 1031. 29) *Suiba*, Saikingakuzasshi, 1920, S. 183. 30) *Suguro*, Tokyoigakkaizasshi, Bd. 38, 1924, S. 534. 31) *Ueda*, Menekikenkyogyoho, Bd. 3, 1923. 32) *Winterberg*, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 32, 1899, S. 375. 33) *Yamaguchi*, Saikingakuzasshi, 1928, S. 793.

Kurze Inhaltsangabe.

Über die Isolierung der Bakteriotropine.

Von

Tōru Inoue.

Aus dem hygienischen Institut der Universität Okayama, Japan

(Vorstand: Prof. Dr. M. Ogata).

Eingegangen am 11. Juli 1930.

Da die Literatur über die Isolierung der Tropine sehr unbedeutend ist, so habe ich selbst aus Anticollimmunserum von Kaninchen die Antikörper nach Digerierung mit Antigenen in salzfreiem Medium durch Temperaturwirkung (56°C.) wieder frei gemacht und die die Phagocytose fördernde Wirkung der isolierten Antikörper genau untersucht.

1) Bakteriotropine binden sich mit dem Bakterienleibe oder seinem Extrakte und trennen sich bei Temperaturwirkung in salzfreiem Medium von dieser Antigen-Antikörperbindung wieder ab. Der Phagocytoseindex zeigt, wie folgt.

Immunserum (1 : 10) 4.76, Abguss nach Bindung (1 : 10) 2.75,

Waschwasser (1 : 10) 1.22, Isolierte Tropine (1 : 10) 2.89.

2) Bei dieser Behandlung binden sich Agglutinine und Präzipitine mit Antigenen und isolieren sich von diesen wieder. Ich konnte jedoch in Bezug auf die Spezifität der isolierte Tropine für Antigen keine grossen Unterschiede und in Bezug auf die Resistenz gegen Temperatur mit Originalserum keinen merkbaren Unterschied finden.

(Autoreferat.)

