

皮内「オブソニン」最大產生ヲ指標トナセル 各種結核菌製劑ノ比較

第1報 結核免疫元軟膏貼用時間ノ研究

京都帝國大學醫學部外科學研究室(鳥瀉教授指導)

大學院學生 醫學士 嘉ノ海武夫

緒言

八田博士ハ黃色葡萄狀球菌「コクチゲン」軟膏ヲ健常家兎ノ皮膚ニ24時間貼用スルコトニ依リ、當該皮膚局所ニ特殊性及ビ非特殊性兩様ノ「オブソニン」ガ最大値ニ於テ產生サレルコト、及ビ「オブソニン」產生ノ顯著ナル皮膚局所程、同名生活菌感染ニ對スル抵抗力大ナルコトヲ立證セリ。從テ「オブソニン」產出ノ大小ハ同時ニ組織活動(自働)免疫ノ大小ヲモ指示スルモノナルコトヲ唱道セリ(日本外科寶函、昭和8年、第10卷、第1、2號)。コノ事實ハ一般免疫學上ノ反應ト自働免疫ノ程度トハ一致連行スルコトノ證左ニシテ、免疫學

上ノ通則トシテ認ムベキモノナリ。故ニ皮膚局所ニ產生セラレタル特殊性乃至ハ非特殊性ノ「オブソニン」ノ大小ヲ檢スルコトニ依テ、逆ニコノ際使用セラレタル免疫元ノ特殊性効力ノ優劣ヲ比較シ得ルモノナリ。コノ點ニ關シテハ既ニ武野博士ノ發表(結核、第11卷、第11號、昭和8年11月24日アルモ、余等ハ今茲新タニ抗黃色葡萄狀球菌「オブソニン」ノ皮膚ニ於ケル「最大產生程度」ヲ指標トナシ、更ニ多數ノ結核免疫元ニ就テ効力ヲ判定スル所アラントス。

實驗材料

實驗動物

體重2斤以上ノ可及的大ナル白色健常家兎、個々別々ニ飼養ス。

結核菌「コクチゲン」軟膏

大阪鳥瀉免疫研究所、昭和8年4月4日製造(有効期間1ケ年)ノ結核菌「コクチゲン」ヲ用ヒ、次ノ處方ニ從ヒ軟膏ヲ調製ス。

結核菌「コクチゲン」	50.0
白色「ワゼリン」	5.0
無水「ラノリン」	25.0

白血球

體重300瓦内外ノ健常壯「モルモット」ノ腹腔内

へ無菌的中性肉汁約10.0耗ヲ注射シ、4—5時間後ニ腹腔液ヲ採取シ滲出液中ノ白血球ヲ洗滌スルコトナク其儘使用セリ。

黃色葡萄狀球菌液

黃色葡萄狀球菌ヲ24時間寒天斜面培養ヨリ0.5%石炭酸加0.85%食鹽水ニ浮游セシメ、攝氏60度ニテ30分間加熱滅菌シタル後脱脂綿ノ薄層ヲ2回通過セシメ、強力遠心シテ上澄液ヲ分離シ、残渣菌ニ更ニ同一食鹽水ヲ加へ、斯クシテ洗滌スルコト3回ニシテ菌體ヲ再び任意量ノ前記食鹽水ニ浮游セシメタルモノナリ。其1耗中ノ菌量ハ鳥瀉教授沈澱計ニテ0.5度目

(0.00035 銖)トナル様ニ食鹽水ノ量ヲ加減セリ。

皮膚浸出液

同一家兔ノ皮膚(0.5 瓦)ニ對シ0.5%石炭酸加0.85%食鹽水ヲ2.0 銖及ビ滅菌海砂(0.8 瓦)ヲ加ヘテ乳鉢中ニテ研磨シ、之ヲ強力遠心シ、殆ド無色透明ニシテ稍々螢石光ヲ有スル上澄液ヲ得。検査ニハ次ノ7種類ヲ準備ス。

- (1) 健常無處置皮膚浸出液
- (ロ) 6時間結核菌「コクチゲン」軟膏貼用皮膚浸出液
- (ハ) 12時間 " " "
- (ニ) 24時間 " " "
- (ホ) 36時間 " " "
- (ハ) 48時間 " " "
- (ト) 60時間 " " "

實驗方法

體重2 疋以上ノ皮膚ニ癬痕、搔削又ハ皮膚疾患等無キ白色健常家兔3頭ヲ準備シ、各頭ニ同一操作ヲ施ス。

即チ家兔ノ背部、脊柱ノ兩側ニ各々3箇所、合計I、II、III、IV、V及ビVIノ6箇所ヲ選ビ、是等ヲ軟膏貼用個所トス。

先ヅIナル軟膏貼用個所ヲ剃刀ヲ用フルコトナク、缺ヲ以テ約6 浬平方ヲ剪毛シ、其中央部ニ於テ3.5 浬平方ノ正方形ヲ畫キ、其正方形内ニ1.0 瓦ノ結核菌「コクチゲン」軟膏ヲ、指頭ヲ以テ約2分間塗擦貼用ス。

軟膏塗擦後ハ軟膏ガ皮膚面ニ密著セル儘ニテ其上ヲ「セロフン」紙ヲ以テ被ヒ更ニ絆創膏ヲ以テ「セロフン」紙ノ剝離ヲ豫防セリ。

以後12時間毎ニII、III、IV及ビVニ向ツテ同様ノ操作ヲ施シ、最後ニ6時間ヲ經テVIヲ同様ニ處置ス。尙ホ別ニ腰部正中線上ニ1個所ヲ剪毛シ置キ、之ヲ對照健常皮膚トナセリ。

家兔ハ爪或ハ齒牙ヲ用ヒテ絆創膏ヲ剝離スルモノナレバ、家兔ノ首ニハ「セルロイド」板裝置ヲ施シ又胴ニハリントヲ以テ製シタル被服ヲ着用セシメテ之ヲ豫防セリ。

最後ノ軟膏貼用後6時間ヲ經テ一齊ニ上記7個所ノ皮膚ヲ石油「ベンゼン」ヲ以テ清拭シ、各個所ヨリ皮膚ヲ切り取ル事ニ依リ次ノ7種ノ皮膚切片ヲ得。

- 1. 健常無處置皮膚
- 2. 6時間結核菌「コクチゲン」軟膏貼用皮膚
- 3. 12 " " "
- 4. 24 " " "
- 5. 36 " " "
- 6. 48 " " "
- 7. 60 " " "

次ニ是等7箇ノ皮膚切片ヲ個々別々ニ0.85%食鹽水ニテ充分ニ血液ヲ洗ヒ去リ、皮膚0.5 瓦ニ對シ、0.5%石炭酸加0.85%食鹽水2.0cc及ビ滅菌海砂0.8 瓦ヲ加ヘ乳鉢中ニ於テ約15分間強力研磨シテ、皮膚「エムルジョン」ヲ製シ、之ヲ3000 廻轉、30分間遠心シテ上澄液ヲ得。斯クシテ得タル7種類ノ上澄液中ニ含有セラレタル「オブソニン」ヲ噬菌率及ビ「オブソニン」係數ヲ以テ比較表示シ、結局ハ最大「オブソニン」產生ニ向ツテ必要ナル軟膏貼用時間ヲ求ム。

「オブソニン」検査法

「オブソニン」検査ニハ充分ナル熟練ヲ要スルコトハ既ニ先人ノ教フル所ナリ。余等モ亦タ豫備實驗ニ於テ充分ニ技術ヲ磨キタル後、本實驗ニ着手セリ。

「オブソニン」検査方法ハ大略ライト氏ノ試験管内法ニ從ヘリ。即チ先ヅ一定ノ小硝子器中ニ、前記皮膚「エムルジョン」上澄液ト黃色葡萄狀球菌液トヲ豫メ同量宛ヨク混和シ置キ、次ニ白血

球採取用トシテ準備セル「モルモット」ヲ背位ニ固定シ、下腹部正中線ニ於テ腹壁ニ小孔ヲ穿チ、コノ小孔ニ硝子棒ノ栓ヲ施ス。而テコノ栓ヲ弛メルコトニ依テ流出シ來ル腹水(白血球)ヲ手早く一定ノ硝子毛細管ヲ以テ採取ス。

次ニ前記上澄液ト菌液トノ混和液ヲ、腹水ト等量ニ、空氣ノ間隙ヲ置キテ吸入シ、之ヲ小時計皿上ニ吹出シ、反復良ク混和シタル後更ニ他ノ硝子毛細管中ニ吸入シ、37度ノ孵卵器中ニ15分間放置シタル後、塗抹標本ヲ作り、乾燥後「メチールアルコール」ニテ約7分間固定シ、2%ノギムザ氏液ニテ30分間染色シ、然ル後鏡檢セリ。

以上ノ操作中、白血球ヲ加ヘテヨリ塗抹標本ヲ作ルマデノ間ハ極メテ迅速且ツ正確ニ行ハザルベカラズ。

鏡檢ニ際シテハ中性多核白血球ノ輪廓正シク良

ク染色セルモノハ、400箇以上ヲ計上シ、100箇ニ對スル平均値ヲ求ムルヲ原則トセリ。然レドモ正確ヲ期スル上ニ必要ト認メタル場合ハ200箇或ハ300箇ヲ計上セリ。

菌體ヲ正シク白血球内ニ包喰セルモノ、菌體ガ白血球ノ縁邊ニ位ストモ、包喰シ居ルノ狀ガ明白ニ證明シ得ラル、モノ及ビ菌體ノ過半ヲ包喰セルモノ等ヲ喰細胞トシテ計上セリ。1箇ノ白血球内ニ6箇以上ノ菌ヲ包喰セルモノ及ビ鏡檢上白血球ノ核ト菌體トノ焦點距離甚シク異レルモノハ除外セリ。

白血球100箇中ニ於ケル喰細胞數ヲ「喰」、被喰菌數ヲ「菌」及ビ喰菌子數ヲ「子」ヲ以テ表ハシ、凡テノ白血球100ニ對スル菌數ヲ「喰菌率」ヲ以テ表ハセリ。

又對照健康常皮膚ニ於ケル「喰菌子」ヲ基準トセル「喰菌子」ノ比ヲ「オブソニン」係數トナセリ。

實驗成績

第1表 結核菌「コクチゲン」軟膏貼用時間ノ研究
家兎 第2號 ♂ 體重2200瓦(昭和8年8月1日)

可檢浸出液	喰	菌	子	喰菌率	オブソニン係數
健常無處置皮膚	17	19	360	0.19	1.00
6時間貼用皮膚	16	22	380	0.22	1.05
12時間貼用皮膚	30	42	720	0.42	2.00
24時間貼用皮膚	40	64	1040	0.64	2.89
36時間貼用皮膚	26	39	650	0.39	1.83
48時間貼用皮膚	22	30	520	0.30	1.44
60時間貼用皮膚	20	28	480	0.28	1.33

第2表 結核菌「コクチゲン」軟膏貼用時間ノ研究
家兎 第3號 ♂ 體重2900瓦(昭和8年8月5日)

可檢浸出液	喰	菌	子	喰菌率	オブソニン係數
健常無處置皮膚	19	33	420	0.23	1.00
6時間貼用皮膚	28	37	650	0.37	1.55
12時間貼用皮膚	31	44	750	0.44	1.79
24時間貼用皮膚	46	79	1250	0.79	2.98
36時間貼用皮膚	35	49	840	0.49	2.00
48時間貼用皮膚	26	31	570	0.31	1.36
60時間貼用皮膚	19	25	440	0.25	1.05

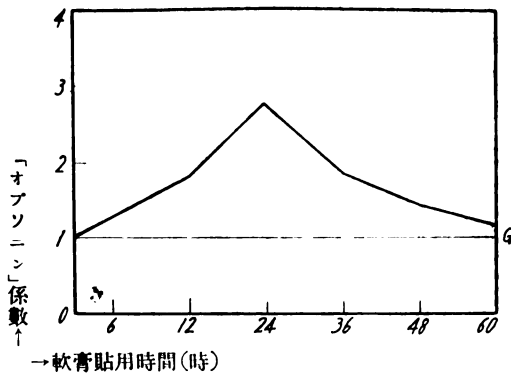
第3表 結核菌「コクチゲン」軟膏貼用時間ノ研究
家兎 第4號 ♀ 體重3100瓦(昭和8年8月10日)

可檢浸出液	喰	菌	子	喰菌率	オブソニン係數
健常無處置皮膚	14	18	32	0.18	1.00
6時間貼用皮膚	19	24	43	0.14	1.34
12時間貼用皮膚	23	30	53	0.30	1.66
24時間貼用皮膚	28	44	72	0.44	2.25
36時間貼用皮膚	24	32	56	0.32	1.75
48時間貼用皮膚	22	29	51	0.29	1.59
60時間貼用皮膚	15	19	34	0.19	1.06

第4表 結核菌「コクチゲン」軟膏貼用時間ノ研究
3 頭 平 均

可檢浸出液	免疫元軟膏貼用時間	喰菌子	喰菌率	オブソニン係數
健常無處置皮膚	0時間	36.70	0.20	1.00
6時間貼用皮膚	6時間	48.70	0.28	1.31
12時間貼用皮膚	12時間	66.70	0.39	1.82
24時間貼用皮膚	24時間	100.00	0.62	2.77
36時間貼用皮膚	36時間	68.30	0.40	1.86
48時間貼用皮膚	48時間	53.30	0.30	1.46
60時間貼用皮膚	60時間	41.70	0.24	1.15

結核菌「コクチゲン」軟膏貼用時間ノ研究
第 1 圖 (第 4 表參照)



G ハ健全皮膚ニシテ「オブソニン」係數=1.0

實驗結果ハ第 1 表ヨリ第 4 表マデ及ビ第 1 圖ニ示サレタリ。

所見及ビ考察

同一家兎ノ皮膚ニ結核菌「コクチゲン」軟膏ヲ種々ナル時間貼用シ、以テ當該局所皮内ニ於ケル抗黄色葡萄狀球菌(非特殊性)「オブソニン」ノ產生ヲ檢シタルニ、「オブソニン」係數ニテモ、又喰菌率ニテモ、何レモ相一致シテ下記ノ事項ヲ認識シ得ベシ。

「オブソニン」產生ハ「コクチゲン」軟膏貼用後、既ニ 6 時間ニシテ顯著ニ證明シ得、此際「オブソニン」係數ハ「1.31」ナリキ。

12 時間後ニハ係數ハ更ニ急速ニ上昇シテ「1.82」ヲ示シ 24 時間後ニハ「2.77」トナリテ最高ヲ示シ、36 時間後ニハ「1.86」ニ低下シ、48 時間後ニハ「1.46」、60 時間後ニハ「1.14」トナリテ漸次下降セリ。

即チ皮内「オブソニン」最大產生ニ必要ナル軟膏ノ貼用時間ハ 24 時間ガ最適ニシテ、コレヨリ長時間ニテモ、又タ短時間ニテモ、共ニ「オブソニン」ノ量ハ小トナルモノナリ。

一般ニアラユル細菌性及ビ非細菌性免疫元ハ後天性ニ特殊性及ビ非特殊性兩様ノ免疫ヲ發現スルモノナリ。故ニ非特殊性免疫ノ發生ガ強力ナ

ル場合ニハ、必ズヤ特殊性免疫モ亦タ之ト同様ニ強大トナルモノナリ。

故ニ本實驗ニ於テモ亦タ非特殊性免疫、即チ抗黄色葡萄狀球菌「オブソニン」ノ產生ノ強大ナル場合ニハ必ズ特殊性免疫即チ抗結核菌「オブソニン」ノ產生モ亦タ強大ナルベキモノナリ。

即チ本實驗ニ於テ 24 時間後ニ非特殊性タル抗黄色葡萄狀球菌「オブソニン」ノ產生ガ最大ヲ示セル事實ハ、八田氏ノ黄色葡萄狀球菌「コクチゲン」軟膏、畚野氏ノ腸壁杖斯菌及ビ黄色葡萄狀球菌「コクチゲン」軟膏、武野氏ノ結核菌製劑軟膏ヲ以テセル實驗ニ於テ、何レモ 24 時間後ニ特殊性「オブソニン」產生ガ最大ヲ示セル點ト全ク相一致スル所ナリ。

皮膚ノ表面ニ貼用セラレタル免疫元ハ皮膚細胞ノ自働的作用ニ依リ、表皮層ヲ通ジテ真皮層中ニ吸收セラレ、真皮層ヲ構成スル細胞ノツナル淋巴系細胞中ニ於テ、既ニ 6 時間ニシテ著明ニ「オブソニン」ヲ產生シ、24 時間ニシテ最大價ニ達スルモノナリ。而シテ 24 時間ヲ經過スルニ隨ヒ、コノ極度ニ產生サレタル「オブソニン」ハ次第ニ血行中ニ移行シ初メ、一方皮膚細胞自身ニ於テモ、ソノ吸收力及ビ消化力ニ減衰ヲ來シ、之ガ爲一局部皮内ニ於ケル「オブソニン」量ハ漸次減少シ行クモノナリ。然レドモ畚野氏ニ依レバ軟膏除去後 14 日ニ至ルモ尙ホ局部皮内ニ多少ノ「オブソニン」ノ昂上ヲ證明シ得ルモノナリト。又八田氏ニ依レバ局部皮内ニ產生サレタル「オブソニン」ハ 5 日後ニ至リテ初メテ血行中ニ證明セラレ、7 日後ニ至レバ顯著、10 日後ニ至レバ局部皮内ニ於ケルヨリモ血行中ニヨリ多量ヲ證明シ得ト。

以上ノ事實ヨリ考フルモ軟膏貼用後 24 時間ノ局部皮膚ハ最大限度ノ「オブソニン」ヲ含有シ、而モ未ダ血行中ニ移行シ居ラザルコト明白ナリ。

尙ホ本實驗ハ同一家兎ノ皮膚ニ於テ行ハレタルモノナレバ試獸ノ個性相違ヨリ來ル誤差ハ全然除外セラレタリ。是即チ本研究結果ハ個々ノ動

物ニ於ケル實驗結果ヨリモ、ヨリ以上ニ尊重セラルベキ所以ナリ。各種免疫元ノ效力ヲ斯ノ如

キ方針ノ下ニ比較研究シタル報告ハ烏潟教授ノ教室以外ニ於テハ蓋シ絶無ナリ。

結 論

結核菌「コクチゲン」軟膏ヲ貼用スル時間ヲ 6 時間、12 時間、24 時間、36 時間、48 時間及ビ 60 時間ニ變更シ、皮内「オブソニン」最大產生ニ必要ナル好適時間ヲ求メタルニ下ノ結果ヲ得タリ。

1. 24 時間貼用皮膚ニ於テ最大ノ「オブソニン」產生ヲ認メタリ。而シテソノ程度ハ健康無處置皮膚ノ約 2.8 倍ナリキ。
2. 軟膏貼用後 6 時間ニシテ既ニ健康皮膚ニ比シ 1.31 ノ「オブソニン」係數ノ上昇ガ立證セラレ、24 時間ニ至ルマデハ比較的急速ニ上昇シ、24 時間ニ至リテ最高ニ達シ、24 時間以後ハ 60 時間ニ至ルマデハ比較的緩徐ニ下降スルヲ認メ

タリ(第 1 圖參照)。

3. 時間的ニ見タル「オブソニン」產生ノ程度ハ、24 時間が最高ニシテ、其「オブソニン」係數ハ、「2.77」、次ハ 36 時間ノ「1.86」、12 時間ノ「1.82」、48 時間ノ「1.46」、6 時間ノ「1.31」及ビ 60 時間ノ「1.15」ノ順位ナリキ。
4. 非特殊性「オブソニン」(本研究ニテハ抗黃色葡萄狀球菌「オブソニン」)ノ產生増強ハ、特殊性「オブソニン」(本研究ニテハ抗結核菌「オブソニン」)ノ產生増強ヲモ意味スルモノナリ。蓋シ一切ノ免疫元ナルモノハ、同時同所ニ於テ非特殊性及ビ特殊性ノ免疫ヲ惹起セシムルモノニシテ、兩者ハ一致連行スルモノナリ。