

Acta Medica Okayama

Volume 4, Issue 1

1934

Article 2

FEBRUAR 1934

Die Prazipitinbildung durch die Lymphgefäße,
mit besonderer Berücksichtigung der
Reaktionsform beim Anfangstadium.

Kazuo Itoh*

*Okayama University,

Copyright ©1999 OKAYAMA UNIVERSITY MEDICAL SCHOOL. All rights reserved.

Die Prazipitinbildung durch die Lymphgefäße, mit besonderer Berücksichtigung der Reaktionsform beim Anfangstadium.*

Kazuo Itoh

Abstract

Bei subkutanen, intravenösen und ins Lymphgefäß injizierten Immunisierungsweisen bei normalen oder blockierten Kaninchen sind keine Besonderheiten in bezug auf Auftreten oder höchsten Titer des Prazipitins vorhanden. Aber wenn man die Prazipitinreaktion im Anfangsstadium beobachtet, so kann man bei der Immunisierung ins Lymphgefäß bei normalen Kaninchen eine besondere Erscheinung, d. h. das Auftreten der Prazipitinreaktion im Bindungszonenteile bemerken. Endoh berichtete schon, daß das durch die Injektion mit der minimalen Antigenmenge gebildete Prazipitin im Bindungszonenteile zuerst und sagte, daß man das diese Erscheinung zeigende Prazipitin gewinnt, wenn die minimale Antigenmenge ganz allmählich resorbiert wird, da ja auch Sunouchi⁴) durch die Injektion mit gekochten Antigenen, Haku⁵) durch die Injektion des Peptons (Teruuchi) gleiche Erscheinung nachgewiesen hatten. In obigen Fällen ist die Antigenmenge von Anfang an oder durch physikalische oder chemische Einwirkung zu geringfügig, um der gewöhnlichen Antikörperbildung zu dienen. In meinem Falle ist es etwas besonders, weil die injizierte Antigenmenge der gewöhnlichen gleichkommt und ich auf Antigen keinen Eingriff ausübe. Diese Erscheinung tritt bei blockierten Kaninchen nicht auf. Also muß man dabei die Funktion der Lymphdrüsen in Betracht ziehen. Ich glaube, daß das Antigen die Lymphdrüse erreicht und dann die Lymphdrüse auf das Antigen in derselben Art wie bei der Injektion des minimalen Antigens von Endoh einwirkt und diese besondere Erscheinung sich zeigt, wenn das Antigen bei normalen Kaninchen ins Lymphgefäß injiziert wird.

*Copyright (C) OKAYAMA UNIVERSITY MEDICAL SCHOOL

Aus dem Hygienischen Institut der Med. Fakultät Okayama
(Vorstand: Prof. Dr. M. Ogata).

**Die Präzipitinbildung durch die Lymphgefäße, mit
besonderer Berücksichtigung der Reaktionsform
beim Anfangsstadium.**

Von

Kazuo Itoh.

Eingegangen am 3. Juni 1932.

1. Einleitung.

Über die Lokalisation der Antikörperbildung wurden schon mehrere Arbeiten veröffentlicht. Einige Autoren sagen, daß das blutbildende Organ die wichtigste Stätte ist, und einige sagen, daß die Antikörper intravaskulär gebildet werden und andere behaupten, daß die Leukozyten die Antikörper bilden, während einige glauben, daß die Histiozyten die einzige Stätte für die Antikörperbildung sind. Seitdem neuerdings von *Aschoff* und seinen Schülern die Retikuloendothelzellen als funktionell einheitliches System beschrieben wurden, wurde es klar, daß dieses Zellsystem für die Antikörperbildung auch von großer Bedeutung ist.

Seitdem *Pfeiffer* u. *Marx*¹⁾ im Jahre 1898 berichteten, daß die blutbildenden Organe, nämlich Milz, Knochenmark und Lymphdrüsen, die Bildungsstätte der Antikörper sind, erregte diese Theorie allgemeine Aufmerksamkeit.

Viele Autoren prüften die Funktion dieser Organe bei der Antikörperbildung entweder durch die quantitative Bestimmung von Antikörpern, die im Extrakt dieser Organe von intravenös oder subkutan immunisierten Tieren enthalten sind, oder durch die quantitative Messung von Antikörpern, die im Serum von nach der Splenektomie intravenös oder subkutan immunisierten Tieren enthalten sind. Seitdem die Funktion des Retikuloendothelsystems klar gemacht wird, pflegten viele Forscher die quantitative Messung der Antikörper im Serum von Tieren zu beobachten, die nach dem Zustandekommen der Veränderung der Funktion ihres Retikuloendothelsystems durch die Blockierung oder durch die Splenektomie oder durch die Kombination von Blockierung und Splenektomie immunisiert wurden.

Es gibt viele Arbeiten über die Immunisation bei der Milz, aber viel weniger von der Lymphdrüse als von der Milz. Es wird wahrscheinlich darauf beruhen, daß derartige Tierexperimente bei der Milz leichter ausführbar sind als bei der Lymph-

drüse. Was die immunisatorische Erforschung der Lymphdrüse anbelangt, so wird die Antikörperbildung nur mit dem Extrakt von Lymphdrüsen der intravenös oder subkutan immunisierten Tiere geprüft, wie bei der Untersuchung der Milz. *Satoh*²⁾ beobachtete im Jahre 1927 die Antikörperbildung, wobei er Antigene ins Lymphgefäß einspritzte. Er untersuchte das Bakterienagglutinin, Hämolyisin, Bakteriolyisin und Präzipitin und kann zu folgendem Schlusse: Es ist möglich, daß diese Antikörper durch die Injektion der Antigene ins Lymphgefäß gebildet werden können. In der Präzipitinbildung gibt es keine klare Differenz zwischen intravenösen und ins Lymphgefäß eingeführten Injektionsweisen, usw.

Es ist im allgemeinen bekannt, daß die Lymphdrüsen oft anschwellen oder vereitern, wenn Bakterien in die Lymphgefäße gegeben werden und die regionären Lymphdrüsen erreichen und daß die Mesenterialdrüsen wegen der infektiösen Darmaffektion oft entzündlich anschwellen oder durch traumatische Infektion der Hände oder Füße die Axillar- oder Inguinaldrüsen verändern. Es wird im allgemeinen vermutet, daß die Lymphdrüsen in ihrer Funktion verändert werden, wenn sie infektiös geworden sind. Wenn ferner Bakterien aus der Lokalisation der Infektion in die Lymphgefäße hineindringen und die regionären Lymphdrüsen erreichen, so erhalten die nächsten Drüsen diese Bakterien, als ob sie eine Barriere bildeten. Dann werden die entsprechenden Drüsen oft infektiös und zeigen einige pathologische Veränderungen.

Man könnte auch vermuten, daß die Lymphdrüse in der Immunisation irgend eine Rolle spiele. Das veranlaßte mich zu dieser Untersuchung. Bei der Erforschung des Einflusses auf die Antikörperbildung bei irgendeinem Eingriffe oder bei Injektionen von Medikamenten usw., oder beim quantitativen Vergleiche der Antikörper, die durch intravenöse, subkutane oder intraperitoneale Immunisierung usw. gebildet wurden, ist es nicht gesagt, daß die Beurteilung der Resultate immer fehlerfrei sein muß. Es ist völlig an der Tagesordnung, daß die Antikörperbildungsfähigkeit der Tiere einzeln verschieden ist, wenn sie auch unter gleichen Bedingungen immunisiert werden. Wenn man genau sein will, so dürfte es nicht geeignet sein, daß man den Grad der Antikörperbildung bei individuellen Verschiedenheiten miteinander vergleicht. Zum Beispiel kann man in den Arbeiten über die Beziehungen zwischen der Antikörperbildung und dem Retikuloendothelsystem oft die umgekehrten Resultate sehen, wenn auch bemerkt wird, daß dieses System in bezug auf die Antikörperbildung irgendeine Rolle spielt. *Satoh* verglich wie gewöhnlich bei intravenös oder ins Lymphgefäß immunisierten Kaninchen den Grad der Antikörperbildung miteinander.

In unserem Institute wurde die Antikörperverdünnungsmethode bei der Präzipitinreaktion vorgeschlagen. Die Bindungszone ist je nach den Präzipitinen verschieden und eigentümlich und zeigt die Individualität der Präzipitine. Mittels dieser Methode wurden schon viele wertvolle Arbeiten von unserem Institute veröffentlicht.

Ich glaube, daß schon frühere Untersucher bei der Ausführung der gewöhnlichen Präzipitinmethode (*Uhlenhuths*che Methode) auf die unten in meinem Experimente erwähnte Tatsache stießen d.h. nämlich die Erscheinung, daß beim Anfangsstadium der Präzipitinbildung die Reaktion zuerst in einem bestimmten Verdünnungsgrad

des Antigens auftritt und sie dann mit der Zeit zum höheren und niedrigeren Verdünnungsgrad fortschreitet. *Endoh*³⁾ aus unserem Institute berichtete schon, daß das durch die Injektion mit der minimalen Antigenmenge gebildete Präzipitin im Bindungszonenteil zuerst reagierte und sagte, daß man ein diese Erscheinung zeigendes Präzipitin gewinnt, wenn die minimale Menge Antigen ganz allmählich resorbiert wird.

Wenn man zum Vergleiche der Antikörperbildung nicht nur den Bildungsgrad, sondern auch die Beschaffenheit des Antikörpers (Präzipitins) mittels der Bindungszone untersucht, so dürften die Versuchsergebnisse sicherer werden. Trotz unserer Bemühungen können wir leider in Antikörpern außer dem Präzipitin und dem komplexbindenden Antikörper noch nicht die Bindungszone feststellen. Deswegen prüfte ich in diesem Versuche hauptsächlich die Präzipitinbildung.

Es ist zu vermuten, daß die Lymphdrüse bei der Immunisation irgendeine Rolle spielt, und bei Kaninchen prüfte ich die Präzipitinbildung durch die Injektion des Antigens ins Lymphgefäß nach der *Ogataschen* Methode, wobei ich sie mit dem durch intravenöse oder subkutane Injektion gebildeten Präzipitin verglich. Da ich eine interessante Erscheinung beobachten konnte, über die noch keinerlei Literatur existiert, so will ich diese hiermit behandeln.

2. Untersuchungsmaterialien und Methoden.

Versuchstiere: ca. 2,000 g schwere gesunde Kaninchen.

Antigen: Frisches Rinderserum (0.5 cc oder 0.05 cc).

Immunisierungsweise:

1. Subkutane Injektion.
2. Intravenöse Injektion (in Ohrvenen).
3. Die Injektion ins Lymphgefäß. Nur in der Arbeit von *Sato* erfolgt die Untersuchung der Antikörperbildung durch Immunisierung direkt ins Lymphgefäß. Nach der Laparotomie wird ein kleiner Teil des Darmkanales herausgezogen und das Lymphgefäß auf dem Mesenterium nahe der vasa mesenterica superior ist so gewählt, daß man darin mit einer kleinen Nadel das Antigen langsam einspritzt. Die Operation wird morgens ausgeführt, und die letzte Nahrung vor der Operation wird am Nachmittage des vorigen Tages gegeben. Am Operations- und nächsten Tage werden die operierten Kaninchen nicht genährt, um Magen und Darm ruhig zu halten.

Häufigkeit der Injektion: einmal.

Blockierung mit Tuschelösung: Auf 37°C erwärmte Tuschelösung wurde intravenös pro Kilogramm 10 cc 3 mal (täglich einmal) eingespritzt. 2 Stunden nach der letzten (dritten) Injektion wurde das Antigen gegeben.

Präzipitationsmethode:

- a. *Uhlenhuthsche Methode*.

besonderer Berücksichtigung der Reaktionsform beim Anfangsstadium. 21

b. *Ogatasche* Antikörperverdünnungsmethode.

In der Zimmertemperatur beobachtete ich die Wirkung 2 Stunden lang. Die positive Reaktion in 15 Minuten, 30 Minuten, 1 Stunde und 2 Stunden wird mit Zeichen ###, ##, + und + bezeichnet. Das Zeichen — bedeutet die negative Reaktion in 2 Stunden.

Kurzgefaßte Darstellung über die Ausführung der Untersuchung: Erst prüfte ich das Normalpräzipitin des Kaninchenserums für das Rinderserum. Ich wählte ein Kaninchen, dessen Normalpräzipitin weniger als 1:10 nach der *Uhlenhuths*chen Methode zeigte so, daß das Normalpräzipitin die Untersuchung des gebildeten Präzipitins nicht stört. Ich teilte die Kaninchen in 2 Gruppen, d. h. in die normalen und die blockierten, ein. In beiden Gruppen wurde das Antigen subkutan, intravenös und ins Lymphgefäß gegeben und ich untersuchte hauptsächlich das Anfangsstadium der Präzipitinbildung und den Verlauf des Präzipitins mittels der oben erwähnten Untersuchungsmethoden.

3. Experimente.

Bei normalen und blockierten Kaninchen führte ich die Immunisierung mittels der oben erwähnten Methoden aus und erlangte das in Tabelle 1 aufgeführte Resultat.

Tabelle 1.

Nr.	Geschlecht	Körpergewicht (g)	Immunisierungsmethode	Antigenmenge zur Immunisierung (cc)	Anfangsstadium d. Pr.-bild.				höchster Pr.-titer	
					Tage n. der Immunisier.	U'sche M.	O'sche M.		U'sche M.	O'sche M.
							B.z.	V.t.		
Bei normalen Kaninchen										
5	♂	2,100	subkutan	0.5	6	1: 100	1: 50	1: 8	1: 10,000	1: 32
13	♂	2,050	"	0.5	7	1: 100	1: 50	1: 4	1: 5,000	1: 16
4	♂	2,500	intraven.	0.5	5	1: 250	1: 100	1: 8	1: 25,000	1: 128
14	♂	2,100	"	0.5	7	1: 250	1: 250	1: 16	1: 25,000	1: 32
7	♂	2,100	"	0.05	7	1: 250	1: 250	1: 8	1: 500	1: 16
1	♂	2,250	ins Lymphgefäß	0.5	5	1: 1,000	1: 250	1: 8	1: 5,000	1: 128
15	♂	2,100	"	0.5	7	1: 250	1: 100	1: 8	1: 5,000	1: 16
6	♂	1,950	"	0.05	6	1: 250	1: 100	1: 2	1: 500	1: 4
Bei blockierten Kaninchen										
12	♂	2,300	intraven.	0.5	7	1: 100	1: 100	1: 4	1: 1,000	1: 8
10	♂	1,800	ins Lymphgefäß	0.5	7	1: 250	1: 100	1: 8	1: 2,500	1: 32
11	♂	1,900	"	0.05	8	1: 100	1: 50	1: 4	1: 500	1: 8

In dieser Tabelle kann man keinerlei Besonderheiten bemerken. Bei normalen Kaninchen ist die subkutane Immunisierung am schlechtesten in bezug auf Präzipitinbildung und zwischen intravenöser und ins Lymphgefäß injizierter Immunisierung gibt es fast keinen Unterschied. Es scheint, daß bei blockierten Kaninchen die Präzipitinbildung schlechter ist als bei normalen. Diese sind schon früher untersucht worden.

Wenn man aber hier die Form der Präzipitinreaktion beim Anfangsstadium betrachtet, so ist sie nicht bei allen Fällen gleich. Man kann nämlich feststellen, daß sie bei der ins Lymphgefäß injizierten Immunisierung bei normalen Kaninchen im Vergleich zu anderen Fällen eine besonders interessante Erscheinung zeigt, wie sie unten geschildert wird.

1. Bei normalen Kaninchen.

a) Subkutane Immunisierung (Tabelle 2).

Tabelle 2.

Nr.	Geschlecht	K.G. (g)	Antigenmenge zur Immunisierung (cc)	Antigenverd.					
				Antik.-verd.	1 : 10	1 : 25	1 : 50	1 : 100	1 : 250
5	♂	2,100	0.5	1 : 1	###	###	###	++	—
				1 : 2	###	###	###	++	—
				1 : 4	++	++	++	+	—
				1 : 8	—	+	+	—	—
				1 : 16	—	—	—	—	—
13	♀	2,050	0.5	1 : 1	###	###	###	++	—
				1 : 2	##	##	++	+	—
				1 : 4	—	++	+	—	—
				1 : 8	—	—	—	—	—

Die Reaktion im Anfang der Präzipitinbildung schreitet von Zeit zu Zeit vom niedrigeren zum höheren Verdünnungsgrad des Antigens fort (die allgemeine Reaktionsform).

b) Intravenöse Immunisierung (Tabelle 3).

In diesen Tabellen sieht man auch die allgemeine Reaktionsform.

c) Die Immunisierung ins Lymphgefäß (Tabelle 4).

Siehe die Reaktionsform beim Anfang der Präzipitinbildung. Zuerst tritt die Reaktion im Gebiete der bestimmten Antigenverdünung (Bindungszonenteil) auf und von Zeit zu Zeit schreitet zu

besonderer Berücksichtigung der Reaktionsform beim Anfangsstadium. 23

höheren und niedrigeren Seite fort. Diese Erscheinung ist es, daß ich in dieser Mitteilung als die Hauptsache berichten will.

2. Bei blockierten Kaninchen (Tabelle 5).

Tabelle 3.

Nr.	Geschlecht	K.G. (g)	Antigenmenge zur Immunisierung (cc)	Antigenverd.		Antik.-verd.												
				1: 10	1: 25	1: 10	1: 25	1: 50	1: 100	1: 250	1: 500	1: 1,000						
4	♂	2,500	0.5	1: 1 1: 2 1: 4 1: 8 1: 16														
14	♂	2,100	0.5	1: 1 1: 2 1: 4 1: 8 1: 16 1: 32														
7	♂	2,100	0.05	1: 1 1: 2 1: 4 1: 8 1: 16														

Tabelle 4.

Nr.	Geschlecht	K.G. (g)	Antigenmenge zur Immunisierung (cc)	Antigenverd.		Antik.-verd.												
				1: 10	1: 25	1: 10	1: 25	1: 50	1: 100	1: 250	1: 500	1: 1,000	1: 2,500					
1	♀	2,250	0.5	1: 1 1: 2 1: 4 1: 8 1: 16														
15	♂	2,100	0.5	1: 1 1: 2 1: 4 1: 8 1: 16														
6	♂	1,950	0.05	1: 1 1: 2 1: 4 1: 8														

Tabelle 5.

Nr.	Geschlecht	K.G. (g)	Antigenmenge zur Immunisierung (cc)	Antigenverd.		1: 10	1: 25	1: 50	1: 100	1: 250	1: 500
				Antik.-verd.							
12	♂	2,300	0.5	1: 1	##	##	##	##	—		
				1: 2	##	##	##	++	—		
				1: 4	—	+	+	+	—		
				1: 8	—	—	—	—	—		
10	♂	1,800	0.5	1: 1	###	###	###	##	++	—	
				1: 2	###	###	###	##	++	—	
				1: 4	##	##	##	##	+	—	
				1: 8	—	—	++	++	—	—	
				1: 16	—	—	—	—	—	—	
11	♂	1,900	0.05	1: 1	##	##	++	++	—		
				1: 2	++	++	+	+	—		
				1: 4	—	+	+	—	—		
				1: 8	—	—	—	—	—		

Bei blockierten Kaninchen zeigt sich sowohl bei intravenöser als auch bei ins Lymphgefäß injizierter Immunisierung die allgemeine Reaktionsform.

4. Zusammenfassung.

Bei subkutanen, intravenösen und ins Lymphgefäß injizierten Immunisierungsweisen bei normalen oder blockierten Kaninchen sind keine Besonderheiten in bezug auf Auftreten oder höchsten Titer des Präzipitins vorhanden. Aber wenn man die Präzipitinreaktion im Anfangsstadium beobachtet, so kann man bei der Immunisierung ins Lymphgefäß bei normalen Kaninchen eine besondere Erscheinung, d. h. das Auftreten der Präzipitinreaktion im Bindungszonenteile bemerken. *Endoh* berichtete schon, daß das durch die Injektion mit der minimalen Antigenmenge gebildete Präzipitin im Bindungszonenteile zuerst und sagte, daß man das diese Erscheinung zeigende Präzipitin gewinnt, wenn die minimale Antigenmenge ganz allmählich resorbiert wird, da ja auch *Sunouchi*⁴⁾ durch die Injektion mit gekochten Antigenen, *Haku*⁵⁾ durch die Injektion des Peptons (*Teruuchi*) gleiche Erscheinung nachgewiesen hatten. In obigen Fällen ist

besonderer Berücksichtigung der Reaktionsform beim Anfangsstadium. 25

die Antigenmenge von Anfang an oder durch physikalische oder chemische Einwirkung zu geringfügig, um der gewöhnlichen Antikörperbildung zu dienen. In meinem Falle ist es etwas besonders, weil die injizierte Antigenmenge der gewöhnlichen gleichkommt und ich auf Antigen keinen Eingriff ausübe. Diese Erscheinung tritt bei blockierten Kaninchen nicht auf. Also muß man dabei die Funktion der Lymphdrüsen in Betracht ziehen. Ich glaube, daß das Antigen die Lymphdrüse erreicht und dann die Lymphdrüse auf das Antigen in derselben Art wie bei der Injektion des minimalen Antigens von *Endoh* einwirkt und diese besondere Erscheinung sich zeigt, wenn das Antigen bei normalen Kaninchen ins Lymphgefäß injiziert wird.

5. Schlußwort.

Die Lymphdrüse wirkt auf die Präzipitinbildung besonders ein, und diese Tatsache wird erst durch die Bindungszone der Antikörperverdünnungsmethode bei der Präzipitinreaktion klar gemacht.

Zum Schluß erfülle ich die angenehme Pflicht, meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. *M. Ogata*, für seine freundliche Anregung und Leitung bei Ausführung dieser Arbeit meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.

Literaturverzeichnis.

¹ *Pfeiffer* u. *Marx*, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 27, S. 272, 1898. — ² *Satoh*, Tokyo Igakkai Zasshi Bd. 41, S. 1614, 1927 (englisch). — ³ *Endoh*, Okayama Igakkai Zasshi Jg. 43, S. 227, 1931. — ⁴ *Sunouchi*, ebenda Jg. 40, S. 2031, 1928. — ⁵ *Haiku*, ebenda Jg. 42, S. 1584, 1930.