

91.

614.4

新舊「ブイヨン」培養濾液ノ腸管運動及ビ
細菌發育阻止作用ニ及ボス影響

岡山醫科大學津田外科教室（主任津田教授）

遠 藤 正 人
川 崎 祐 宣

〔昭和 8 年 11 月 18 日受稿〕

*Aus der chirurgischen Abteilung der Okayama Med. Fakultät
(Vorstand: Prof. Dr. Seiji Tsuda).*

Über die Einflüsse der neuen und alten Bouillonkulturfiltraten
auf die Bewegung der Darmröhre und die hemmende
Wirkung auf das Wachstum von Bakterien.

Von

Dr. Masato Endo und Sukenobu Kawasaki.

Eingegangen am 18. November 1933.

Dass die Wirkung des Antivirus mit dem von den Bakterien gespalteten Bouillon-eiweiss in innigem Zusammenhang steht, ist schon durch die Studien der Kollegen unserer Klinik über Antivirus und durch das letzte Experiment des Endo, eines unserer Kollegen mitgeteilt.

Wenn die wirksame Substanz des Antivirus wirklich ein solches Stoffwechselprodukt ist, so ist es ganz natürlich, dass die Wirkung des Antivirus auch verschieden sein muss, da die Filtratbestandteile je nach dem verflossenen Tage nach der Züchtung der Bakterien auf dem Nährboden verschieden sein soll.

Unter diesem Gesichtspunkt haben wir beobachtet, wie Antivirus entsteht, und welche Periode des Bouillonkulturfiltrates therapeutisch am wirksamsten ist. Ferner haben wir die Bewegung der Darmröhre, die hemmende Wirkung auf das Wachstum der Bakterien, die Vergleichung der Giftwirkung, die Veränderung von P_H etc. untersucht, indem wir *Staphylococcus* *flavus* als die betreffenden Bakterien gebraucht haben.

Die Resultate sind ungefähr folgende;

- 1) Die wirksamen Bestandteile, welche in das Filtrat übergehen, können von den Bakterien gespaltes Bouilloneiweiss und autolytische Substanz der Bakterien sein.
- 2) Das etw. 8 Tage nach der Züchtung entnommene Kulturfiltrat ist therapeutisch aufs wirksamste.
- 3) Die Veränderung von P_H geht mit der Wirkung des Filtrates beinähe parallel, aber steht nicht in ganz derselben Beziehung.
- 4) Die hemmende Wirkung des nur einmal gezüchteten Antivirus auf das Wachstum der Bakterien ist nicht so auffallend wie die Wirkung auf die Bewegung der Darmröhre. Infolge dessen muss die Züchtung wiederholt gemacht werden um jene hemmende Wirkung verstärken zu können. (Autoreferat.)

目 次

第1章 緒 言	第2節 菌發育阻止作用及ビ P_H の變化
第2章 實驗方法及ビ材料	第3節 毒力試驗
第3章 實驗成績	第4章 考 案
第1節 剥出家兔腸管ニ及ボス影響	第5章 結 論

第1章 緒 言

Besredka の Antivirus トハ一定細菌ノ肉汁培養基ノ濾液ナリ、而シテ Besredka の假定セル Antivirus の有效要素ハ細菌體内ヨリ抽出サルル可溶性物質ニシテ、此物ハ該當菌ニ對シテ動物體内ニ於テモ亦試驗管内ニ於テモ同様ニ發育抑制作用ヲ有シ、且溫熱ニ對スル抵抗力ト特異性トヲ具有スルモノナリト。

最近吾教室ニ於ケル西山、清水兩氏ノ業績ヲ見ルニ Antivirus ハ、晉ニ細菌發育阻止作用ヲ有スルノミナラズ、切除腸管運動ニ對シテ常ニ促進的作用ヲ有スルモノナル事明カトナレリ。尙西山氏ノ研究竝ニ余等ノ1人遠藤ノ「大腸菌分離物質ノ研究」ニ於テ Antivirus の有效成分ハ細菌ニ依リテ分解セラレタル「ブイヨン」蛋白、換言セバ「ブイヨン」蛋白ノ

細菌ニ依ル新陳代謝產物ナラント想像セリ。

Antivirus ガ果シテ斯ノ如キ新陳代謝物質ナリトセバ、培養基ニ細菌ヲ培養セル後ノ經過日數、換言セバスル濾過液ノ被濾過時ノ時目的關係ニ依リテ濾液成分ノ組成ニ差異アルベキハ當然容易ニ思考セラル所ナリ。逆ニ此經過ヲ詳細ニ觀察スル事ニ依リ Antivirus の成因ニ關スル考察ヲモ爲シ得ベシ。

Besredka ハ葡萄狀球菌 Antivirus を製出スルニ 8 乃至 10 日間培養ノモノヲ以テ適當トセリ。最近北浦ハ Antivirus 腹腔内應用ニ關スル實驗的研究ニ於テ喰菌現象ヲ指標トシテ 7 乃至 10 日間ノ培養ヲ經タル葡萄狀球菌 Antivirus ハ毒性少ク且最々效果的ナルヲ報告セリ。

余等ハ剔出腸管ニ及ボス作用並ニ細菌發育阻止作用及ビ毒力試験等ヲ指標トシテ, 同一葡萄状球菌培養「ブイヨン」濾液ヲ種々ナル日

數ニ於テ採取シ, 其ノ變化ヲ検討シ大體次ノ如キ成績ニ到達セリ.

第2章 實驗方法及ビ實驗材料

A. 所要濾液. 黃色葡萄状球菌ヲ以テ製出セ

リ. 即チ $\text{pH} = 7.0$ ナル「ブイヨン」培養基中ニ該菌ヲ培養シ, 其ノ「コルベン」中ヨリ, 1, 3, 5, 8, 12, 15, 20, 30日ヲ經タルモノヲ夫々一定量取出シ, 實驗ノ用ニ供セリ. 尚ホ之等濾液作用ノ耐熱性並ニ加熱ノ及ボス影響ヲ檢スル爲メ濾過其ノ儘ノモノ即チ生濾液ト, 濾液ヲ 100°C 1時間煮沸セル煮沸濾液トニ就キ總ベテノ實驗ヲ同様ニ執行セリ.

B. 剔出家兔腸管運動. 横段家兔ヨリ小腸ノ一部ヲ切除シ約 3 cm の長サニ切り, 37°C の Ringer 氏液ニテ充分其ノ内腔ヲ洗滌セル後, 重湯煎上ノ 100 cc 入硝子器中ニ Ringer 氏液ヲ充タシ, 之ヲ 38°C 保溫シ同時ニ充分ナル空氣ノ供給ヲナシ得ル様ニ裝置シ, 其ノ内ニテ腸管ヲ郷原氏「ヘーベル」ニ接續ス. 此郷原氏「ヘーベル」ヲ經テ「キモグラフィオン」ノ煤紙上ニ其ノ腸管運動ヲ描記セシム. 斯ノ如クニシテ其ノ腸管運動整調ナルニ及シテ上記濾液ヲ各 5 cc 注加シ腸管運動ニ及ボス影響

ヲ觀察セリ.

C. 細菌發育阻止作用(試驗管內實驗). 先ツ濾液ヲ 7 cc 宛 2 管ニ取り第 2 管以下ヲ生理的食鹽水ヲ以テ逐次倍數法ニヨリ 32 倍迄稀釋シ, 各管ニ葡萄状球菌浮游液(葡萄状球菌體 1 白金耳ニ對シ生理的食鹽水 10 cc 宛ノ割合ニ加ヘヨク混和セルモノ)ヲ正確ナル「ツベルクリン」注射器ニ取り正確ニ 0.05 cc 宛ヲ滴下シ混和シタル後 37°C 24 時間放置後, 各管ヲ良ク振盪セル上其ノ 1 白金耳ヲ中性平板寒天ニ接種シ, 更ニ 37°C 24 時間放置後其ノ聚落數ヲ計算セリ.

D. 毒力試驗. 實驗動物トシテハ 10 乃至 14 g の二十日鼠ヲ用ヒ, 體重「プロキロ」40 cc の Antivirus(即チ 10 g = 對シ, 0.4 cc) ヲ 1 單位トシ, 1 單位, 2 單位, 3 單位ヲ腹腔内ニ注射シ以テ其ノ毒性ノ強弱ヲ觀察セリ. 觀察時間 3 日間トス.

E. pH 測定. 「ミハエル」氏比色計ニ依リテ之ヲ測定セリ.

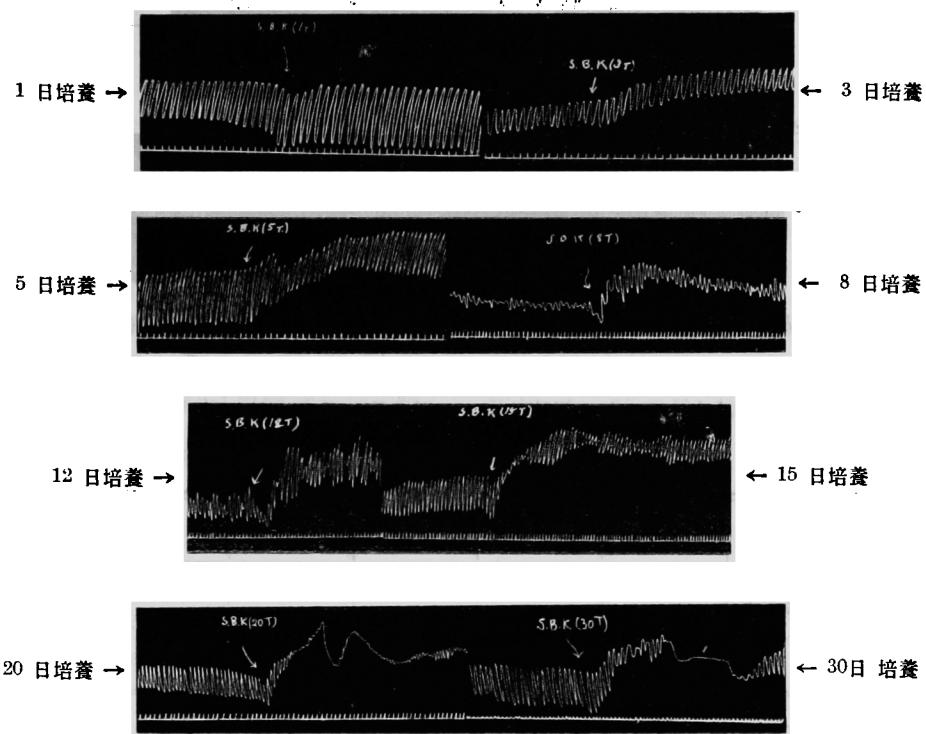
第3章 實驗成績

第1節 剔出家兔腸管ニ及ボス影響

黄色葡萄状球菌「ブイヨン」培養濾液ノ 1, 3, 5, 8, 12, 15, 20, 30 日目ヲ各 5 cc 注加セルニ第 1 圖ニ示ス如ク, 1 日培養濾液ニテハ何等腸管運動ヲ緊張亢進セシメズ, 却ツテ下降ヲ來ス傾向サヘ認ム. 然レドモ 3 日目ニ至レバ微カニ腸管運動ヲ亢進セシメ緊張稍々

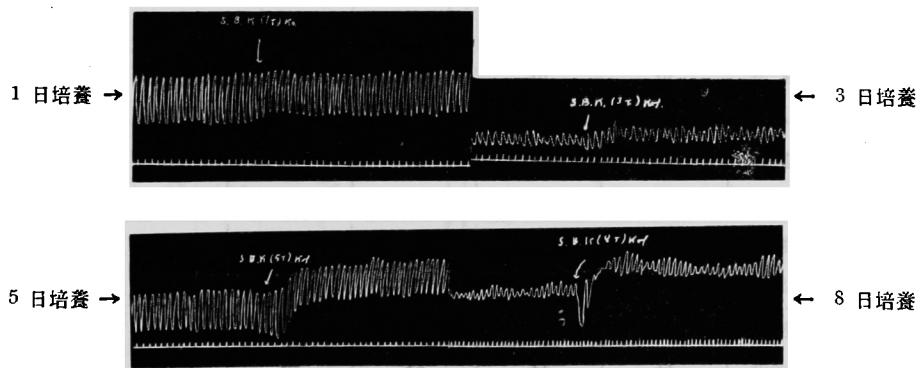
上昇シ來ル. 5 日ニ至レバ明瞭ニ緊張ノ高マルヲ見, 8 日ニ及ベバ著明ノ緊張上昇ヲ來シ, 其ノ作用ハ大體ニ於テ完成セラレ, 20 日頃マデ大差ナク, 30 日ニ至レバ稍々其ノ效力ヲ減弱スルモノノ如シ.

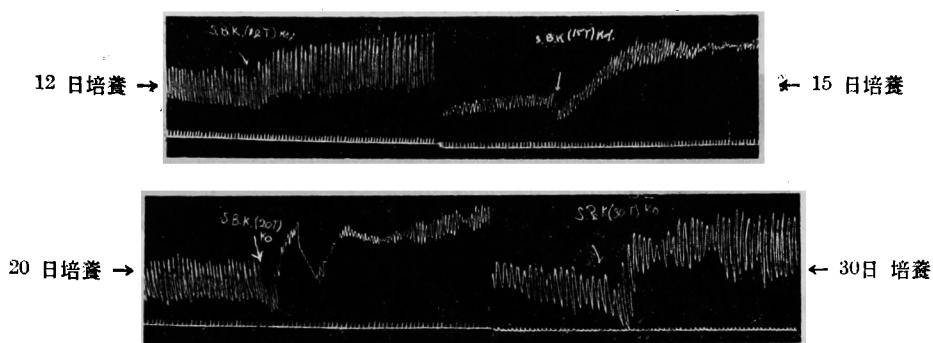
第1圖 新舊黃色葡萄狀球菌培養「ブイヨン」濾液ノ
家兎切除腸管ニ及ボス影響



尙ホ上記實驗ト全ク同一方法ニ依リ煮沸濾
液ニ依ル腸管運動ノ影響ヲ検セルニ生濾液ト
ノ間ニ殆ド差異ヲ認メザリキ。

第2圖 煮沸新舊黃色葡萄狀球菌培養「ブイヨン」濾液ノ
家兎切除腸管ニ及ボス影響





第2節 菌發育阻止作用及ビ濾液 pH
ノ変化ニ就テ
菌発育阻止作用ハ次表ニ示ス如ク明瞭ナル
影響ヲ認メズ。8日目貢沸濾液ニ於テ稍々阻
止作用ヲ認メタルモ全體トシテ大ナル阻止作
用ヲ呈セズ。

第1表 新舊「ブイヨン」培養濾液ノ菌發育ニ及ボス影響（黃色葡萄狀球菌）

培養日數	濾液稀釋度 (倍數)	1	2	4	8	16	32
		7.0	3.5	1.75	0.875	0.437	0.218
		0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
ブイヨン	/	#	#	#	#	#	#
1日培養	生濾液	16	#	#	+	#	#
	貢沸濾液	#	#	#	#	#	#
3日培養	生濾液	#	#	#	#	#	#
	貢沸濾液	#	#	#	#	#	#
5日培養	生濾液	#	#	#	#	#	#
	貢沸濾液	#	#	#	#	#	#
8日培養	生濾液	#	#	#	#	#	#
	貢沸濾液	16	+	#	#	#	#
12日培養	生濾液	#	#	#	#	#	#
	貢沸濾液	#	#	#	#	#	#
20日培養	生濾液	#	#	#	#	#	#
	貢沸濾液	#	#	#	#	#	#
30日培養	生濾液	#	#	#	#	#	#
	貢沸濾液	#	#	#	#	#	#

次ニ各濾液ノ P_H ノ變化ヲ測定セルニ全ク
經過日數ト正比例シテ P_H ハ上昇ヲ來ス. 而シ
テ煮沸セルモノハ生濾液ニ比シ常ニ0.1乃至
0.2ダケ高シ.

第2表 新舊「ブイヨン」培養濾液ノ P_H ノ變化
(培養基「ブイヨン」 $P_H = 7.0$)

種類	培養日數	1日目	3日目	5日目	8日目	12日目	15日目	20日目
生濾液		7.3	7.4	7.5	7.9	8.2	8.4	比色計測定不能
煮沸濾液		7.4	7.5	7.6	8.0	8.4	8.5	〃

第3節 毒力試験

各生及ビ煮沸濾液ヲ1単位「プロキロ」40cc
トシテ二十日鼠ノ腹腔内ニ注射セルニ、第3
表ニ示ス如ク、第1日目濾液ニ於テハ生濾液
3単位注射セルモノ4匹ノ内1匹翌朝死亡セ
ルノミ、他ハ總ベテ生存セリ。3日目ハ死亡
ナク、5日目ニ煮沸濾液3単位、1匹死亡、
8日目死亡皆無、12日目ニ於テハ煮沸濾液3

単位1例、注射直後及ビ2単位1例注射翌日
死亡セリ。15日目ニ於テハ煮沸濾液2単位
1例注射直後死亡、20日目ニ於テハ煮沸濾液
2、3単位注射各1匹ヅツ翌朝死亡セリ。一般
ニ死亡セザルモノニテモ注射量ニ比例シテ衰
弱、立毛著シ。翌朝以後ニ於テハ死亡セザル
ヲ見ル。

第3表 新舊「ブイヨン」培養濾液ノ毒力試験

検査方法	培養経過日数	濾液種類	動物番号	體重(g)	注射量(cc)	「プロキロ」量(%)	検査成績(3日間観察)	検査方法	培養経過日数	濾液種類	動物番号	體重(g)	注射量(cc)	「プロキロ」量(%)	検査成績(3日間観察)
腹腔内試験	1日	生濾液	1	12	0.48	40cc	生	1日	煮沸濾液		13	14	0.56	40cc	生
			2	〃	〃	〃	〃				14	13	0.52	〃	〃
			3	〃	〃	〃	〃				15	〃	〃	〃	〃
			4	〃	〃	〃	〃				16	〃	〃	〃	〃
	3日	濾液	5	13	1.04	80cc	生	3日	煮沸濾液		17	14	1.12	80cc	生
			6	〃	〃	〃	〃				18	〃	〃	〃	〃
			7	14	1.12	〃	〃				19	13	1.04	〃	〃
			8	〃	〃	〃	〃				20	14	1.12	〃	〃
	12日	濾液	9	15	1.56	120cc	生	12日	煮沸濾液		21	14	1.68	120cc	生
			10	〃	〃	〃	〃				22	〃	〃	〃	〃
			11	12	1.44	〃	〃				23	15	1.80	〃	〃
			12	14	1.68	〃	死(注射翌朝)				24	〃	〃	〃	〃

検査方法	培養経過日数	濾液種類	動物番号	體重(g)	注射量(cc)	「プロキロ」量(%)	検査成績 (3日間観察)	「プロキロ」量(%)	検査成績 (3日間観察)
腹腔内試験	第3日	生濾液	25	11	0.44	40cc	生		
			26	12	0.48		死		
			27	夕	夕		死		
			28	夕	夕		死		
		沸濾液	29	11	0.88	80cc	生		
			30	13	1.04		死		
			31	夕	夕		死		
			32	夕	夕		死		
	第8日	生濾液	33	14	1.68	120cc	生		
			34	夕	夕		死		
			35	夕	夕		死		
			36	13	1.56		死		
		沸濾液	37	13	0.52	40cc	生		
			38	夕	夕		死		
			39	12	0.48		死		
			40	夕	夕		死		
	第5日	生濾液	41	13	1.04	80cc	生		
			42	夕	夕		死		
			43	12	0.96		死		
			44	夕	夕		死		
		沸濾液	45	12	1.44	120cc	生		
			46	夕	夕		死		
			47	夕	夕		死		
			48	夕	夕		死		

検査方法	培養経過日数	濾液種類	動物番号	體重(g)	注射量(cc)	「プロキロ」量(%)	検査成績 (3日間観察)			検査方法	培養経過日数	濾液種類	動物番号	體重(g)	注射量(cc)	「プロキロ」量(%)	検査成績 (3日間観察)		
腹腔内試験	12	生濾液	97	12	0.48	40cc	生			腹腔内試験	15	生濾液	133	12	0.48	40cc	生		
			98	10	0.4		死						134	10	0.4		死		
			99	11	0.44		死						135	12	0.48		死		
			100	13	0.52		死						136	10	0.4		死		
			101	12	0.96	80cc	生						137	10	0.8	80cc	生		
			102	死	死		死						138	11	0.88		死(注射直後)		
			103	死	死		死						139	死	死		死(注射直後)		
			104	10	0.8		死						140	12	0.96		生		
			105	12	1.42	120cc	生						141	10	1.2	120cc	生		
			106	死	死		死						142	12	1.32		死		
			107	死	死		死						143	10	1.2		死		
			108	死	死		死						144	死	死		死		
腹腔内試験	20	煮沸濾液	109	10	0.4	40cc	生			腹腔内試験	20	煮沸濾液	145	10	0.4	40cc	生		
			110	13	0.52		死						146	死	死		死		
			111	死	死		死						147	11	0.44		死		
			112	12	0.48		死						148	10	0.4		死		
			113	12	0.96	80cc	生						149	11	0.88	80cc	生		
			114	死	死		死						150	10	0.8		死		
			115	死	死		死(翌朝死)						151	死	0.88		死		
			116	死	死		生						152	10	0.8		死		
			117	12	1.42	120cc	生						153	10	1.2	120cc	生		
			118	10	1.2		死						154	12	1.32		死		
			119	12	1.42		死						155	死	死		死		
			120	死	死		死(注射直後)						156	死	死		死		
腹腔内試験	15	生濾液	121	10	0.4	40cc	生			腹腔内試験	15	生濾液	157	12	0.48	40cc	生		
			122	死	死		死						158	10	0.4		死		
			123	11	0.44		死						159	12	0.48		死		
			124	10	0.4		死						160	10	0.4		死		
			125	11	0.88	80cc	生						161	10	0.8	80cc	生		
			126	10	0.8		死						162	11	0.88		死		
			127	死	死		死						163	死	死		死		
			128	死	死		死						164	12	0.96		死(翌朝)		
			129	10	1.2	120cc	生						165	12	1.44	120cc	生		
			130	12	1.32		死						166	11	1.32		死		
			131	死	死		死						167	10	1.2		死		
			132	死	死		死						168	12	1.44		死(翌朝)		

第4章 考案

先づ新舊「ブイヨン」濾液ノ剔出家兎腸管運動ニ及ボス影響ニ就テ観察スルニ、初メハ全ク變化ヲ及ボザル濾液ガ培養日數ヲ經ルニ從ヒテ腸管運動ノ亢進、緊張ヲ來シ、8日前後ニ於テ其ノ作用略ボ一定シ來ル、此事實ハ經過日數ト共ニ新陳代產物質ガ蓄積シ來リ多量トナルモノナラントノ想像ヲシテ益々強固ナラシム。然レドモ亦一面菌破壊物質ノ蓄積ナラズヤトノ疑念無キニ非ズ。嚮ニ發表セル遠藤ノ實驗ニ依レバ物理的菌破壊ニ依リテ得タル菌成分中ニハ腸管運動ノ亢進ヲ來ス物質ヲ證明シ得ザリキ。尙ホ Rettger 等ノ細菌ノ化學的檢索ヲ見ルニ、細菌ノ Autolyse ハ 2—10 日間ニ實現シ、細菌ハ自己ノ有スル蛋白消化酵素ニヨリ細胞質ヲ消化分解シテ主トシテ Leuciu, Tyrosin, Pepton, Proteore, Bause 等ノ自家融解產物ヲ作ルト云ヒ、亦培養細菌ハ自家酵素ニヨリテモ分解セラルルト云フ。而モ其ノ毒力試驗ニ於テ毒力ノ著シク微弱ナルハ菌毒素ガ其ノ儘移行セズ比較的無毒ナル物質ニ變化シテ存在スルヲ示スモノニシテ、若シ菌毒素ガ其ノ儘ノ形ニ於テ移行セバ毒力尙ホ強ク、且經過日數ヲ經ルニ從ヒ毒力增强セザルベカラズ、尙ホ煮沸ヲナスモ濾液ノ毒力ヲ減弱セズ却テ毒力ノ強マルヲ認ム。此事實ヨリ之ヲ見ルモ菌毒素自身ノ移行僅少ナルヲ知ルベシ。

新舊濾液ノ經過ヲ觀察スルコトニヨリ、腸管運動ニ作用スル有效物質ノ效力ハ長時日同

一效力ヲ保ツモノニ非ズシテ比較的短時日ニテ其ノ效力ヲ減弱スルモノノ如ク、從ツテ培養濾液ハ速ニ(7日前後)完成セラレ其ノ後ノ效力ニ大差ヲ來サザルモノナリ。

菌發育阻止物質ノ產生ハ1回培養ニテハ著シカラズ、數回反覆培養ヲ行フ必要アリ、此事實ハ又濾液中ノ腸管運動ヲ亢進セシムル物質ト菌發育阻止物質トハ相異ナル二物質ナルカ、或ハ同一物質ノ作用ナルモ、腸管ハ特ニ此物質ニ對シ敏感ナルモノナルガ如シ。

pH ノ變化ハ大體ニ於テ腸管ニ及ボス作用ト平行シテ上昇ヲ來スヲ以テ、新陳代謝ト關係ヲ有スルモノナランモ、有效成分ト全ク同一關係ナリト斷ズルヲ得ズ。煮沸濾液ノ pH ハ常ニ生濾液ヨリモ 0.1 乃至 0.2 高度ナルモ其ノ作用ニハ殆ド差異ヲ認メザルニヨリテモ明カル所ナリ。

新舊「ブイヨン」培養濾液ノ如何ナル時期が最モ效果アルヤヲ見ルニ、腸管運動ニ及ボス影響ハ 8 日頃ヨリ 30 日ニ至ルマデ殆ド大差ナキヲ以テ、毒力試驗ガ之ガ解決ノ重要ナル條件トナル所ナリ。然レドモ毒力モ亦生濾液ニ於テハ始メ少シク強キモ 3 日目頃ヨリ變動ナク、煮沸セルモノニ於テハ 8 日目頃ヨリヤヤ生濾液ニ比シ毒力強キモ、其ノ變化大ナル事ナキヲ以テ、同一效力ナリトセバ早期ニ得ル程便利ナルヲ以テ 1 回培養ニ於テハ 8 日前後ノ濾液ヲ以テ最モ效果アル時期トスベシ。

第5章

以上ノ如キ諸實驗ヲ綜合シテ次ノ如キ結論

結論

ニ到達セリ。

- 1) 黄色葡萄狀球菌培養新舊「ブイヨン」濾液ノ腸管運動ニ及ボス影響竝ニPHノ變化、毒力試驗等經過ヲ觀察スル事ニヨリ、余等ハ
Antivirus ノ作用ハ主トシテ菌自家融解產物及ビ菌酵素ニヨリテ分解セラレタル「ブイヨン」蛋白ニ意義ヲ有スルモノナリトノ信念ヲシテ益々強固ナラシメタリ。
- 2) 細菌發育阻止作用ハ腸管ニ及ボス影響ノ如ク銳敏ナラズ、第1回培養ノミニテハ其ノ作用著明ナラズ、夫レヲ著明ナラシメント
- セバ尚ホ數回反覆培養ヲ要スルモノナリ。
3) 「ブイヨン」培養濾液ノ最モ好適時ハ1回培養濾液ニ於テハ8日前後ナリ。
- 擗筆スルニ當リ、終始御懇意ナル御指導ヲ賜り、且御校閲ノ勞ヲ辱ウシタル恩師津田教授ニ深謝ス。
(本論文ノ要旨ハ第43回岡山醫學會總會席上ニ於テ發表セリ)

主 要 文 獻

- 1) Besredka, Die lokale Immunisierung, Leipzig, 1926. 2) 西山、岡醫雜、第42年、3號、8號、第43年、1號、3號。 3) 清水、岡醫雜、第42年、10號。 4) 遠藤、岡醫雜、第43年、8號。 5) 北浦、滿洲醫學雜誌、第14卷、第5號。