V. Aus dem Königlichen Institut für experimentelle Therapie in Frankfurt a. M.

(Director: Geh. Med.-Rath Prof. Dr. Ehrlich.)

Ueber die Vielheit der im normalen Serum vorkommenden Antikörper.

Von Dr. Max Neisser, Mitglied des Instituts.

Seit den grundlegenden Arbeiten der Flügge'schen, dann der Buchner'schen Schule über die bactericiden Kräfte des normalen Blutes ist eine grosse Reihe von Wirkungen des normalen Serums bekannt geworden, die wir heute als Antikörper im weitesten Sinne auffassen müssen.

Die einzige Theorie, welche die Entstehung aller dieser Körper von einem physiologischen Gesichtspunkt aus ohne Zuhilfenahme teleologischer „Schutzstoffe“ zu erklären vermochte, ist bisher die Ehrlich'sche Seitenkettenlehre. Nach ihr produzieren bekanntlich die Zellen des Organismus Stoffe, „Seitenketten“, welche physiologisch, solange sie noch mit der Zelle zusammenhängen, vermuthlich von bestimmten Nährstoffen in Beschlag genommen werden, aber immer wieder von der Zelle regeneriert und, wenn überschüssig, an das Blut abgegeben werden. So ist das Blutserum erfüllt von einer ausserordentlich grossen Zahl solcher verschiedener abgestossener Seitenketten. Hat eine dieser Seitenketten eine zufällige Affinität, z. B. zu einem Toxin, so lässt sich durch vorsichtige Einverleibung dieses Toxins der physiologische Vorgang der Regeneration und Abstossung der entsprechenden Seitenketten ausserordentlich steigern; damit ist die Immunität nur als quantitative Steigerung eines normalen Vorganges aufgefasst.

Aus dieser Anschauung folgt für die im normalen Serum vorkommenden Antikörper eine wichtige Consequenz, indem nämlich die Verschiedenheit der künstlich erzeugbaren Antikörper ihr Analogon und ihre Erklärung in der Verschiedenheit der etwa normaler Weise vorhandenen Antikörper findet.

Gegen diese Anschauung von der Pluralität der normalen Antikörper, welcher Ehrlich (8, 9, 11) schon mehrfach Ausdruck gegeben hat, treten immer wieder unitarische Auffassungen auf. So nehmen Bordet und Buchner (5) bei den aus zwei Theilstücken zusammengesetzten Hämolytinen und Bacteriolysinen zwar verschiedene „Zwischenkörper“, aber ein für alle Blut- und Bacterienarten gemeinsam wirksames, sie auflösendes Ferment, das Alexin, an. Noch weiter geht Krauss (12). Er fand, dass Kaninchenblutkörperchen durch normales Pferdeserum gegen mehrere Blutgifte geschützt werden, und kommt zu dem Schluss: „dass ein beliebiges hämolytisches Gift, welches Kaninchenblut auflöst, durch normales Pferdeserum in seiner Wirkung paralytisch werden kann“.

Bei der theoretischen Wichtigkeit dieses Gegenstandes schien es lohnend zu sein, der Frage der Unität oder der Pluralität der normalen Antikörper auf Grund der in der Litteratur niedergelegten und einiger ergänzenden eigenen Versuche nachzugehen.

Bezüglich der Hämolytine ist ja seit langem bekannt, dass manche Serumarten die Blutkörperchen mancher anderen Thiere auflösen vermögen. Aber erst in neuerer Zeit hat man erkannt, wie leicht auf immunisatorischem Wege künstliche Hämolytine zu erzeugen sind. Die spezifische Verschiedenheit der künstlichen Hämolytine wies zuerst Bordet (2) nach, aber erst Ehrlich und Morgenroth (10) klärten diese Vorgänge mittels ihres Verfahrens der electiven Absorption auf. Dieses Verfahren basiert auf der Ehrlich'schen Vorstellung von der chemischen Bindung von Blutkörperchen und Hämolytin und besteht darin, dass ein Serum, welches mehrere Hämolytine enthält, mit den Blutkörperchen der einen Art unter Bedingungen, welche eine Lösung dieser Blutkörperchen ausschliessen, versetzt wird. Durch die Bindung des entsprechenden Hämolytins an die Blutkörperchen verschwindet dann dieses Hämolytin aus der Flüssigkeit, die abcentrifugirte Flüssigkeit enthält nur noch die anderen Hämolytine, und zwar in unveränderter Menge. Dieser Nachweis der spezifischen Verschiedenheit der künstlich erzeugten Hämolytine wurde von Ehrlich und Morgenroth (11) auch für mehrere in einem normalen Serum vorkommende Hämolytine erbracht. Sie zeigten, dass ein normales Ziegenserum, welches sowohl die Blutkörperchen des Kaninchens wie die des Meerschweinchens auflöst, durch Zusatz der einen Blutart von dem entsprechenden Hämolytin befreit werden kann, während das andere unberührt fortbesteht. Nun ist aber, wie ja bekannt, das Hämolytin ein aus zwei Theilstücken zusammengesetzter Körper, welche Ehrlich Zwischenkörper und Complement genannt hat. Der Zwischenkörper verankert sich einerseits mit dem Blutkörperchen, andererseits mit dem die Auflösung verursachenden Complement. Durch den beschriebenen Bindungsversuch war nun die Verschiedenheit der Zwischenkörper erwiesen, nicht aber auch die der Complemente; es war vielmehr denkbar, dass ein gemeinsames Complement (Buchner-Bordet's Alexin) auf beide Zwischenkörper passte und somit die Lösung beider Blutarten bedingte. Aber die Autoren konnten auch die Verschiedenheit der zugehörigen Complemente feststellen. Die Trennung der Complemente gelang dadurch, dass sie ein Serum, welches beide Complemente enthielt, durch ein Pukallfilter filtrirten; das Filtrat enthielt nunmehr das eine Complement noch vollständig, das andere aber nur noch spurweise. Es war somit die hämolytische „Kraft“ dieses normalen Ziegensersums gegenüber Kaninchen- und Meerschweinchenblut auf mindestens vier nebeneinander und unabhängig von einander bestehende Stoffe zurückgeführt.

Dass manches normale Blut für verschiedene Bacterienarten bactericid ist, fand schon Nuttal (17) für Kaninchenblut gegenüber dem Milzbrandbacillus, dem Bacillus subtilis und dem Bacterium megatherium, und Nissen (16) für Kaninchenblut gegenüber Cholera, Typhus, Coccus aquatilis. Buchner (4) fand das blutkörperchenfreie Serum des Kaninchens wirksam gegen Milzbrand-, Schweinerotlauf-, Typhusbacillus, gegen Cholera etc. Auch hier bestehen einerseits Unterschiede in der Wirkung auf verschiedene Bacterienarten (Nuttal fand Kaninchenblut wirksam gegen den Milzbrandbacillus, nicht aber gegen den Staphylococcus aureus), sind andererseits Unterschiede in der Wirksamkeit verschiedener Serumarten gegen dasselbe Bacterium nachweisbar, denn Buchner fand z. B. Rinder- und Pferdeserum gegenüber dem Typhusbacillus gänzlich unwirksam. Wieder erhebt sich die Frage, ob die im normalen Kaninchenblut beobachteten bactericiden Wirkungen einem Stoffe oder aber verschiedenen Stoffen zuzuschreiben sind.

Bezügliche Versuche machte schon Nissen (16), wenn auch noch in unvollkommener Form. Er injicirte einem Kaninchen grosse Mengen des Coccus aquatilis intravenös und fand dann, dass das der Ader sofort entnommene Blut seine bactericide Kraft für diesen Coccus verloren hatte, während es für Cholera und Typhus unverändert bactericid geblieben war.

Ausführlichere Versuche hat dann Bail (1) mittels der Absorptionmethode angestellt; er findet bei nicht überreichlichem Zusatz von todtten Staphylococcen zu Kaninchenblut die abcentrifugirte Flüssigkeit zwar noch bactericid für Typhus, nicht aber für Staphylococcen. Derselbe Versuch gelang auch vice versa.

und gelang ebenfalls mit Staphylococcen und Cholera, sowie mit Typhus und Cholera.

Dass übrigens die bactericiden Stoffe des normalen Kaninchenserums unabhängig von den hämolysischen Stoffen sind, konnte ich ebenfalls mit der Absorptionsmethode erweisen. Es liess sich einem Kaninchenserum durch Zusatz todter Milzbrandbacillen und Centrifugiren seine bactericide Kraft gegenüber dem Baccillus entziehen, ohne dass die hämolysische Kraft dieses Serums gegenüber Ziegen- und Hammelblutkörperchen Einbusse erlitten hätte.

Alle diese Versuche zeigen also, dass die bactericiden Kräfte des normalen Kaninchenserums gegenüber verschiedenen Bacterienarten sich gleichfalls experimentell in eine Reihe von nebeneinander und unabhängig von einander bestehenden Stoffe zerlegen lassen.

Für eine weitere Klasse der Antikörper, die Agglutinine, hat die Erfahrung der neueren Zeit ebenfalls gezeigt, dass sie im normalen Serum präformirt existiren können. Und wieder erhob sich die Frage nach der Einheitlichkeit oder der Pluralität der dabei agirenden Stoffe.

Die ersten bezüglichen Versuche stellte Bordet (3) an mit normalem Pferdeserum, welches Cholera und Typhus agglutinierte; er bediente sich des Ehrlich und Morgenroth'schen Absorptionsverfahrens und zeigte, dass das Pferdeserum nach Abcentrifugiren der agglutinierten Bacterienspezies sein Agglutinin nur für diese Spezies, nicht aber für die andere verloren hatte. Auch dieser Versuch gelang vice versa. Dasselbe versuchte später Malkoff (14) mit rothen Blutkörperchen. Normales Ziegenserum agglutinierte Blutkörperchen von Kaninchen, von der Taube und vom Menschen, ohne sie zu lösen; andere Blutarten wurden theils garnicht, theils nur wenig agglutiniert. Auch unter den verschiedenen Ziegen fand er grosse individuelle Schwankungen. Setzte er aber zu dem erwähnten Ziegenserum z. B. Taubenblut, so waren in dem abcentrifugirten Serum die Agglutinine für die beiden anderen Blutarten enthalten, während das Agglutinin für Taubenblut verschwunden war. Und diese Versuche gelangen mit den drei Blutarten in allen Combinationen, auch wenn er z. B. durch Hinzugabe von zwei Blutarten die beiden entsprechenden Agglutinine entfernte. Es hat sich demnach auch für die Agglutinine dasselbe ergeben wie für die Bacteriolyse und Hämolysine, die agglutinirende „Kraft“ des normalen Serums ist in verschiedene nebeneinander bestehende Stoffe zerlegt worden.

Weiterhin wären jene Antikörper zu erwähnen, welche nicht direkt auf Bacterien, Blutkörperchen etc. wirken, welche vielmehr nur dadurch erkannt werden können, dass sie die Wirkung von Fermenten oder Toxinen zu neutralisiren vermögen (Antifermente, Antitoxine). Und eben weil diese Stoffe nur auf diesem Umwege erkannt werden können, sind wir über ihr Vorkommen im normalen Serum noch wenig unterrichtet. Landsteiner (13), der auch die ältere Litteratur citirt, fand antitryptische Stoffe im normalen Kaninchen-, Meerschweinchen und Rinderserum. Morgenroth (15) fand im normalen Ziegenserum und Pferdeserum Antikörper gegenüber dem Lab und gegenüber der Cynarase. Hier wies nun Morgenroth durch spezifische Immunisirung zunächst nach, dass Lab und Cynarase zwei verschiedene Fermente seien, wies ferner nach, dass das im normalen Serum vorkommende Antilab von der normalen Anticynarase verschieden sein müsse. Denn zwei von ihm untersuchte Pferdesera zeigten verschiedene Mengen des einen Antikörpers im Verhältniss zum andern.

Auch normal vorkommende Antitoxine sind bekannt geworden. So fand Meade Bolton, später Cobbett (6) bei normalen Pferden in einem grossen Prozentsatz Diphtherieantitoxin im Serum, dessen Mengen individuell sehr verschieden waren. A. Wassermann (18) fand bei manchem normalen Menschen nicht unbedeutliche Mengen Diphtherieantitoxin. Ehrlich (7) fand im normalen Pferdeserum einen Antikörper gegenüber dem Tetanolyisin, und Krauss (12) fand das normale Pferdeserum gegen eine Reihe von Hämolysinen wirksam. Ich selbst habe, wie ich in Bälde in einer Arbeit über das Staphylotoxin in Gemeinschaft mit Herrn Wechsberg veröffentlichen werde, im normalen Menschenserum einen constanten Antikörper gegenüber dem Staphylotoxin gefunden.

Krauss kommt nun angesichts der Thatsache, dass das Pferdeserum die Kaninchenblutkörperchen gegen Tetano- und Staphylolysin und andere Hämolysine schützt, zu der Annahme, dass es sich hierbei in dem Pferdeserum um einen Stoff

handelt, und kommt in Consequenz dieser Anschauung zu der weiteren Annahme, dass diese Hämolysine garnicht qualitativ sondern nur quantitativ von einander verschieden seien. Krauss hätte sich durch einige exacte quantitative Versuche leicht davon überzeugen können, dass seine Auffassung von der Nicht-Spezifität der Hämolysine völlig irrig ist. Denn ein beim Kaninchen künstlich erzeugtes Antistaphylolysin schützt nur gegen Staphylolysin, nicht aber gegen Tetanolyisin, wie noch ausführlicher in der erwähnten Staphylotoxin-Arbeit beschrieben werden wird. Andererseits schützt ein Tetanusantitoxin (vom Pferd) ausserordentlich stark gegen Tetanolyisin, aber nicht stärker gegen Staphylolysin, als normales Pferdeserum. Und schliesslich schützt normales Pferdeserum in der Regel gegen Tetanolyisin und gegen Staphylolysin, nicht aber gegen das Hämolysin des normalen Ziegenserums, welches ja auch auf Kaninchenblutkörperchen wirkt. Diese hämolysischen Gifte sind also qualitativ von einander verschieden.

Aus dem Vorstehenden ergibt sich somit schon, dass der im normalen Pferdeserum vorkommende Antikörper die Kaninchenblutkörperchen gar nicht gegen alle Blutgifte schützt, da er ja die lösende Wirkung des Ziegenserums nicht aufzuheben vermag.

Und dass auch die Antiwirkung gegenüber einigen Blutgiften nicht einem Körper zuzuschreiben ist, zeigt der folgende Versuch für Tetano- und Staphylolysin. Ich habe die Sera von vier normalen Pferden in ihrer Antiwirkung gegenüber dem Tetano- und Staphylolysin quantitativ untersucht. Es wurde dazu zunächst die complet lösende Dosis eines Staphylolysin und eines Tetanolyisins (pro 1 Tropfen Kaninchenblut) fixirt, und dann diejenige Menge Pferdeserum bestimmt, welche genügte, um die complet lösende Dosis dieser Gifte vollständig zu annulliren.

Das abgekürzte Protokoll eines solchen Versuches möge hier Platz finden:

Die complet lösende Dosis des benutzten Staphylolysin (14tägige filtrirte Bouillonkultur von Staphylococcus pyogenes aureus) betrug pro 1 Tropfen Kaninchenblut: 0,05 ccm, die des Tetanolyisins: 0,25 ccm.

	Zahl der ccm, welche die complet lösende Dosis des Staphylolysin vollständig annullirten:	Zahl der ccm, welche die complet lösende Dosis des Tetanolyisins vollständig annullirten:
Pferdeserum 1 . .	0,025	0,25
" 2 . .	0,075	0,05
" 3 . .	0,025	mehr als 1
" 4 . .	0,25	0,25

Es enthielten also

1 ccm von	Antistaphylolysin-Dosen	Antitetanolyisin-Dosen
Pferdeserum 1 . .	40	4
" 2 . .	13,3	20
" 3 . .	40	weniger als 1
" 4 . .	4	4

Es entsprachen also 1 Antitetanolyisin-Dose:

	in Serum 1	in Serum 2	in Serum 3	in Serum 4
Antistaphylolysin-Dose: 10	0,67	mehr als 40	1	

Dieses Resultat ist aber nur mit der Annahme zweier verschiedener Antikörper erklärbar.

Und noch ein weiterer Versuch ist beweisend: Wenn man den Antitoxinwerth eines Pferdeserums gegenüber einem Staphylolysin kennt und diesem Pferdeserum soviel Staphylolysin zusetzt, dass der Antistaphylolysingehalt dieses Pferdeserums abgesättigt ist, so hat das Pferdeserum an seinem Antitoxin gegenüber dem Tetanolyisin nichts eingebüsst.

Als Resultat der vorstehenden Zusammenstellung ergibt sich somit, dass überall da, wo man die bactericiden, hämolysischen, agglutinirenden, antifermentativen und antitoxischen „Kräfte“ der normalen Sera genauer analysirt hat, diese häufig gegen eine Reihe von Elementen gleichzeitig agirenden Stoffe in einzelne, von einander unabhängig und neben einander existirenden Einzelstoffe zergliedert werden konnten. Es ist hiermit nicht gesagt, dass die Entstehung dieser Stoffe ursächlich auf jene Elemente, denen gegenüber sie zur Action gebracht werden können, zurückzuführen ist. Es ist im Gegentheil für viele dieser Stoffe (z. B. Diphtherieantitoxin beim normalen Pferde) sicher, dass normale „Seitenketten“ des Serums, welche physiologisch irgend einem uns bisher unbekannten Zweck dienen, eine zufällige Affinität zu einer Gruppe irgend eines Bacteriums oder zu einem Ferment oder einem Toxin besitzen.

Das Vorhandensein eines Antikörpers im normalen Serum beweist eben nur, dass das Thier in irgend einem Zellcomplex Gruppen (Receptoren) besitzt, welche zu dem betreffenden Bacterium oder dem Toxin eine zufällige Verwandtschaft haben, und dass bereits normaler Weise eine mässige Ueberproduction dieser Receptoren und Abgabe an das Blut erfolgt.

In diesen physiologischen Prozess der Abstossung der so ausserordentlich zahlreichen verschiedenen Receptoren vermögen wir einzugreifen, indem wir durch eine Immunisirung eine plötzliche enorme Ueberproduction eines bestimmten Receptors hervorrufen, indem wir also für unsere Untersuchungszwecke diesen Receptor gleichsam in Reincultur im Thiere züchten. Wo aber die Möglichkeit vorliegt, einen Receptor zur übermässigen Abstossung zu bringen (Immunisirung), da ist auch die Möglichkeit gegeben, dass auch normaler Weise dieser Receptor im Serum abgestossen kreist. Und wenn wir sehen, mit wie ausserordentlich vielen Stoffen eine künstliche Immunisirung möglich ist, so kann es nicht Wunder nehmen, wenn wir auch im normalen Serum einer Fülle solcher verschiedener Stoffe begegnen. Wenn man schliesslich berücksichtigt, wie verschieden sich die einzelnen Thierspecies und Thierindividuen gegenüber der künstlichen Immunisirung verhalten, so wird man auch das mit den starken Verschiedenheiten der Thierarten und Thierindividuen bezüglich ihrer normalen Antikörper in Einklang finden. Diese individuellen Schwankungen sind nicht grösser, als z. B. die der Behaarung oder des Pigmentes.

Die weitere experimentelle Untersuchung wird sicherlich noch viele Antikörper im normalen Serum enthüllen, und eine weitere klinisch-experimentelle Untersuchung wird vielleicht einmal die physiologische Bedeutung dieser Stoffe, z. B. im Menschen Serum, klarlegen und damit neue Wege für Diagnose und Therapie schaffen.

Litteratur:

1. Bail, Archiv für Hygiene 1899, Bd. XXV, S. 284. — 2. Bordet, Annales Pasteur Bd. XII, No. 10. — 3. Bordet, Annales Pasteur 1899, Bd. XIII, pag. 225. — 4. Buchner, Centralblatt für Bacteriologie Bd. V, S. 817; Bd. VI, S. 1. — 5. Buchner, Münchener medicinische Wochenschrift 1900, No. 9, No. 35. — 6. Cobbett, Centralblatt für Bacteriologie 1899, Bd. 26, S. 548. — 7. Ehrlich, Berliner klinische Wochenschrift 1898, No. 12 (Gesellschaft der Charité-Aerzte vom 3. Februar). — 8. Ehrlich, On Immunity etc. (Croonian Lecture), Proceedings of the Royal Society Vol. LXVI, pag. 424. — 9. Ehrlich, Semaine médicale, 6. December 1899. — 10. Ehrlich und Morgenroth, Berliner klinische Wochenschrift 1900, No. 1. — 11. Ehrlich und Morgenroth, Ueber Hämolysine IV, Berliner klinische Wochenschrift 1900, No. 31. — 12. Krauss, Ueber Hämolysine, Wiener klinische Wochenschrift 1900, No. 3. — 13. Landsteiner, Centralblatt für Bacteriologie 1899, Bd. XXV, S. 546; Bd. XXVII, S. 357. — 14. Malkoff, Deutsche medicinische Wochenschrift 1900, S. 229. — 15. Morgenroth, Centralblatt für Bacteriologie Bd. XXVI, S. 349; Bd. XXVII, S. 721. — 16. Nissen, Zeitschrift für Hygiene Bd. 6, S. 487. — 17. Nuttal, Zeitschrift für Hygiene 1888, Bd. IV, S. 353. — 18. Wassermann, Zeitschrift für Hygiene Bd. XIX, S. 408.