

日本外科寶函 第11卷 第1號
ARCHIV FÜR JAPANISCHE CHIRURGIE
XI. BAND, I. HEFT.

原 著

ウエルシ・フレンケル氏瓦斯壞疽菌

〔アナトキシン〕ノ免疫學的研究

第1報 ウエルシ・フレンケル氏瓦斯壞疽菌〔アナト
キシン〕ノ含有スル〔イムペヂン〕ノ立證

京都帝國大學醫學部外科學教室(鳥瀉教授指導)

賀 來 隆 美

Erforschung des Anatoxins von *Welch-Fränkelschen*
Gasbrandbazillen in Lichte der Impedintheorie.

I. Mitteilung: Nachweis des Impedins in Anatoxinpräparaten.

Von

Dr. T. Kaku.

[Aus dem Laboratorium der Kais. Chir. Universitätsklinik Kyoto

(Prof. Dr. R. Torikata).]

Testmaterialien.

- 1) **NF**. Eine 7tägige Bouillonkultur von *Welch-Fränkelschen* Gasbrandbazillen (Stamm *Rockefeller*, dessen Toxizität mittels Taubenpassage erhöht worden war) wurde durch eine Filterkerze getrieben und das Filtrat (NF) in 0,3 proz. Karbolsäure versetzt.
- 2) **KF30'**. Das native Filtrat (NF) wurde in einem bei 100°C siedenden Wasserbade 30 Minuten lang abgekocht, wobei weder eine Trübung noch ein Niederschlag entstand.
- 3) **NAT₃**. Das native Filtrat (NF) ohne Karbolisierung wurde in 0,3 proz. Formollösung, die ja Formalin in 35 Volumprozent enthält, versetzt und 3 Wochen lang bei 37°C gelagert.

4) **KAT₃**. Das 3 Wochen alte Anatoxin (NAT₃), abgekocht wie bei KF30'.

5) **NAT₆**. Wie bei NAT₃ hergestellt, nur dass das Primärtoxin nach Formalinisierung 6 Wochen lang gelagert.

6) **KAT₆**. Das 6 Wochen alte Anatoxin (NAT₆), abgekocht wie bei KF30'.

Die durch D. l.m. für normale Mäuse ausgedrückte Toxizität der Testmaterialien war

1,0	bei NF,
0,666	bei KF30',
0,4	bei NAT ₃ und
0,266	bei NAT ₆

Versuchsordnung.

Wir prüften nach *Wright* die die normale Phagozytose in vitro fördernde Wirkung der Testmaterialien. Dabei variierten wir die Menge von Testmaterialien stufenweise von 0,1 an bis auf 0,8, um ihre Phagozytose fördernde Eigenschaft in ihrem maximalen Wert miteinander zu vergleichen. Die Antigenavidität der Testmaterialien liessen wir durch das Gesamtergebnis der Phagozytose (Phagozytat) zahlenmässig zum Ausdruck bringen. Das Phagozytat ist nach *H. Suguro* die Summe der Zahl der tatsächlich fressenden Leukozyten und der gefressenen Kokken (Staphylokokken). Für die genauere Beschreibung der Technik sei auf die Arbeit von *Y. Aoyaghi* (Die Impedinerscheinung, Jena 1930, S. 388-389) verwiesen.

Ergebnisse der Versuche.

Die Versuchsergebnisse sind in folgender Tabelle zusammengestellt:

Die Antigenavidität und Toxizität des nativen bzw. des abgekochten Toxins sowie Anatoxins.

Art des Antigens	Toxizität nach D.l.m. für Mäuse	Testdosis bei der Phagozytose in vitro (ccm).					Die maximale Impedin-Wirkung	Die maximale antigen-avidität ohne Berücksichtigung der Toxizität	Die maximal antigenavidität bei gleicher Toxizität
		0,1	0,2	0,4	0,6	0,8			
NF	1,0	214,6	233,7 (80,4)	195,6	159,6	155,4	19,6%	100	100
KF30'	0,666	288,3	290,7 (100)	249,7	199,8	208,4	—	124	186
NAT ₃	0,4	157,4	196,8 (70,4)	141,9	146,5	136,6	29,6%	84,2	220,5
KAT ₃	0,4 -	210,0	279,4 (100)	192,1	188,4	171,3	—	119,6	296,0 + 1)
NAT ₆	0,266	135,3	176,1 (72,7)	148,5	152,3	145,1	27,3%	75,4	283,0
KAT ₆	0,266-	187,5	242,2 (100)	197,1	191,8	179,6	—	103,6	389,4 + 1)

1) Dabei haben wir die Toxizität von KAT₃ und KAT₆ nicht festgestellt und als kleiner als die von NAT₃ (0,4) bzw. NAT₆ (0,266) angenommen.

Zusammenfassung.

Betreffend *Welch-Fränkelschen* Gasbrandbazillen stellte sich folgendes heraus.

1) Durch die Anatoxinmethode wird die Toxizität des Primärtoxins (NF) in einem grösseren Masse verkleinert als durch die Kochmethode. Durch die erstere wurde die Toxizität auf 0,4 bei NAT₃ bzw. 0,266 bei NAT₆ reduziert, wogegen durch die letztere nur auf 0,666.

2) Durch die Anatoxinmethode wird nicht nur die Toxizität, sondern auch gleichzeitig die Antigenavidität des Primärtoxins vermindert, während dieselbe durch die Kochmethode vergrössert wird.

Durch Kochmethode wurde nämlich die Antigenavidität auf 186 gesteigert, während dieselbe bei der Anatoxinmethode auf 84,2 (bei NAT₃) bzw. 75,4 (bei NAT₆) vermindert worden ist. War das Präparat in Formolwasser (0,3 Proz) länger gelagert, so war die Abnahme der Antigenavidität hochgradiger, wie oben bei NAT₃ und NAT₆ zahlenmässig angegeben.

3) Sowohl das Primärtoxin (NF) als auch die Anatoxine (NAT₃ und NAT₆) enthielten das Impedin quantitativ und qualitativ in einem gleichen Masse. (Vgl. die Tabelle)

4) Bei allen Testmaterialien erwies sich die optimale Abkochungszeit für die totale Regenerierung der Antigenavidität, d. h. für die Vernichtung des Impedins als eine halbe Stunde.

5) Die Toxizität des Primärtoxins bzw. der nativen Anatoxine ist somit nicht identisch mit der Impedinwirkung, sondern sie sind 2 von einander völlig unabhängige Sachen.

6) Bei der Berücksichtigung der Toxizität, d. h. bei gleichgestellter Toxizität liess sich die Antigenavidität der Testmaterialien folgendermassen ordnen; KAT₆ (389,4) > KAT₃ (296,0) > NAT₆ (283,0) > NAT₃ (220,5) > KF30' (186) > NF(100).

7) Zur Gewinnung der idealen antigenen Materialien, die einerseits möglichst kleinere Giftigkeit und andererseits möglichst grössere Antigenavidität, oder ceteris paribus die grösste Antigenavidität zeigen sollen, müssen die beiden Methoden so kombiniert werden, dass die **Giftigkeit mittels der Formolmethode vermindert und die Impedinwirkung (Regenerierung der Antigenavidität) mittels der Kochmethode vernichtet wird.**

(Autoreferat)

緒 言

「イムベジン」學說ニヨレバ『細菌性生免疫元ハ總テ「インベジン」ヲ含有ス。而シテ此ノモノハ一切ノ免疫學的作用ヲ阻止ス。然ルニ此ノ如キ生免疫元ヲ攝氏 100度ニテ一定時間煮沸スル時ハ「イムベジン」ノミガ破却セラレ本來ノ免疫元性物質ハ依然トシテ保存セラレ其ノ結果トシテ最大ノ免疫元性ヲ發揮ス』ト。

然ルニ Löwenstein ノ研究以來 Roman ニヨリ漸ク世人ノ注意ヲ喚起スルニ至リシ所謂「アナトキシン」ハ「イムベジン」ヲ含有スルモノナリヤ否ヤ。尙「アナトキシン」學說ニ從ヘバ「アナトキシン」ハ原「トキシシン」ヨリ毒性ノミヲ減弱セシメ抗原性能働カハ原「トキシシン」ト同一程度ニ保有スルモノナルカノ如ク説クト雖モ免疫力ノ保存如何ニ關シテハ何等實驗的證明

ナシ。以下順ヲ追ヒテ之等ノ疑義ヲ實驗的ニ解明セント欲ス。

實驗材料

1. ウエルシ・フレンケル氏瓦斯壞疽菌原生毒 (略符 NF)

ウエルシ・フレンケル氏瓦斯壞疽菌 (ロツクフエーラー研究所株) (以下ウ氏菌ト略稱ス) ニ就キ其毒力ヲ試驗セシニ余等ノ研究目的ニ向テハ餘リニ毒性微弱ナルヲ以テ先ヅ毒性ヲ強大ナラシムルタメニ家兎10代次デ鳩6代ヲ通シテ毒性ヲ增強セシメタル後 (實驗ノ結果家兎通過ヨリモ鳩通過ガ毒性增強ノ效果顯著ナリ) 2%葡萄糖加肉汁 (健康家兎筋肉片ヲ肉汁10蚝ニ1瓦ノ割ニ加フ) ニ1週間嫌氣性ニ培養シタル後之レヲ滅菌脫脂綿ニテ濾過シテ筋肉片ヲ除去シ (菌量ハ培養液1蚝中凡 0.0028蚝ナリキ) 更ニ之レヲ Centrifugeur Jouan 一テ遠心沈澱シテ得タル上澄液ヲ L₃ 陶土壁ニテ濾過シテ得タル黃褐色透明ニシテ特有ノ惡臭ヲ放ツ濾液ナリ (實驗ニ際シテハ「アナトキシン」ヲ作目目的ニテ添加シタル「フォルマリン」水ノ量ト同一ノ比即チ0.3%ノ割ニ0.85%滅菌食鹽水ヲ加ヘタリ)。

2. ウ氏菌原毒煮液 (略符 KF 30')

前記原生毒ノ1部=0.3%ノ比=0.85%滅菌食鹽水ヲ加ヘタルモノヲ「アンブルレ」ニ封入シ攝氏100度ニ沸騰シツ、アル重湯煎中一テ正確ニ30分間煮沸シタルモノナリ。此際液ハ依然トシテ透明ナリ。

3. 3週間「アナトキシン」 (略符 NAT₃)

前記原生毒ノ1部=0.3%ノ比ニ日本藥局法「フォルマリン」水 (35容量%) ヲ加ヘ攝氏37度ノ孵卵器内ニ3週間靜置シタルモノナリ。

4. 煮3週間「アナトキシン」 (略符 KAT₃)

前記3週間「アナトキシン」ノ1部ヲ「アンブルレ」ニ封入シ攝氏100度ニ沸騰シツ、アル重湯煎中一入レ正確ニ30分間煮沸シタルモノナリ。

5. 6週間「アナトキシン」 (略符 NAT₆)

前記3週間「アナトキシン」ノ1部ヲ更ニ3週間引續キ攝氏37度ノ孵卵器内ニ靜置シタルモノ即チ前後都合6週間靜置シタルモノナリ。

6. 煮6週間「アナトキシン」 (略符 KAT₆)

前記6週間「アナトキシン」ノ1部ヲ「アンブルレ」ニ封入シ攝氏100度ニ沸騰シツ、アル重湯煎中ニ正確ニ30分間煮沸シタルモノナリ。

煮「アナトキシン」ハ何レモ生「アナトキシン」ト同一ノ外觀ヲ呈シ煮沸ノ結果トシテ濁濁沈澱等ヲ發生セザリキ。

7. 對照肉汁 (略符 BC)

前記原生毒ヲ得ルニ際シテウ氏菌ヲ培養スルニ用ヒタル2%葡萄糖加肉汁 (筋加) ノ1部ヲ取り置キシモノナリ (實驗ニ際シテハ原生毒同様=0.3%ノ比=0.85%滅菌食鹽水ヲ加ヘタリ)。

8. 3週間_Lフォルマリン₇加肉汁(略符BF₅)

前記對照肉汁ニ_Lアナトキシン₇同様=0.3%ノ比ニ同一容器ノ_Lフォルマリン₇水ヲ加ヘ攝氏37度ノ孵卵器内ニ3週間靜置シタルモノナリ。

9. 6週間_Lフォルマリン₇加肉汁(略符BF₆)

前記3週間_Lフォルマリン₇加肉汁ノ1部ヲ更ニ引續キ3週間即チ都合6週間孵卵器内ニ靜置シタルモノナリ。

實驗第1 最小致死量ヨリ觀タル可檢材料ノ毒力

試驗動物トシテ同一群ノ_Lマウス₇ヨリ體重ノ一定セルモノヲ撰出シ其腹腔内ニ實驗Aニ於テハ原生毒, 實驗Bニ於テハ原毒煮液, 實驗Cニ於テハ0.3%_Lフォルマリン₇加原生毒, 實驗Dニ於テハ3週間_Lアナトキシン₇, 實驗Eニ於テハ6週間_Lアナトキシン₇, 實驗Fニ於テハ對照肉汁, 實驗Gニ於テハ0.3%_Lフォルマリン₇加對照肉汁, 實驗Hニ於テハ3週間_Lフォルマリン₇加肉汁, 實驗Iニ於テハ6週間_Lフォルマリン₇加肉汁ヲ種々ノ用量ニ注射シ注射後24時間内ニ於ケル轉歸ヲ觀察シテ最小致死量ヲ求メタリ。

實驗 A 原生毒ノ對_Lマウス₇最小致死量

實驗結果ハ第1表ノ如シ。

實驗 B 原毒煮液ノ對_Lマウス₇最小致死量

實驗結果ハ第2表ノ如シ。

第1表 原生毒(NF)ノ對_Lマウス₇最小致死量

注射量 (鉉)	マウス		轉歸
	番號	體重(瓦)	
3.5	1	10	死死
	2	10	
3.0	3	10	死死
	4	10	
2.5	5	10	死死
	6	10	
2.0	7	10	死死
	8	10	
1.5	9	10	生生
	10	10	
1.0	11	10	生生
	12	10	

第2表 原毒煮液(KF 30')ノ對_Lマウス₇最小致死量

注射量 (鉉)	マウス		轉歸
	番號	體重(瓦)	
4.0	1	10	死死
	2	10	
3.5	3	10	死死
	4	10	
3.0	5	10	死死
	6	10	
2.5	7	10	生死
	8	10	
2.0	9	10	生生
	10	10	
1.5	11	10	生生
	12	10	

煮沸法ニヨル毒力ノ減弱程度ハ3:2=1:0.666

實驗 C 0.3%_Lフォルマリン₇加原生毒ノ對_Lマウス₇最小致死量

實驗結果ハ第3表ノ如シ。

實驗 D 3週間_Lアナトキシン₇ノ對_Lマウス₇最小致死量

實驗結果ハ第4表ノ如シ。

第3表 0.3% フォルマリン⁷加原生毒ノ
對⁷マウス⁷最小致死量

注射量 (ㄱ)	マウス		轉 歸
	番 號	體重(瓦)	
2.5	1	10	死 死
	2	10	
2.0	3	10	死 死
	4	10	
1.5	5	10	死 死
	6	10	
1.0	7	10	生 生
	8	10	
0.8	9	10	生 生
	10	10	
0.6	11	10	生 生
	12	10	
0.4	13	10	生 生
	14	10	

第4表 3週間⁷アナトキシ⁷(NAT₃)
ノ對⁷マウス⁷最小致死量

注射量 (ㄱ)	マウス		轉 歸
	番 號	體重(瓦)	
6.5	1	10	死 死
	2	10	
6.0	3	10	死 死
	4	10	
5.5	5	10	死 死
	6	10	
5.0 *	7	10	死 死
	8	10	
4.5	9	10	生 生
	10	10	
4.0	11	10	生 生
	12	10	
3.5	13	10	生 生
	14	10	

3週間⁷アナトキシ⁷ノ毒力減弱程度ハ5:2=1:0.4
* 第7表及ビ第9表参照

實驗 E 6週間⁷アナトキシ⁷ノ對⁷マウス⁷最小致死量

實驗結果ハ第5表ノ如シ。

實驗 F 對照肉汁ノ對⁷マウス⁷最小致死量

實驗結果ハ第6表ノ如シ。

第5表 6週間⁷アナトキシ⁷(NAT₆)
ノ對⁷マウス⁷最小致死量

注射量 (ㄱ)	マウス		轉 歸
	番 號	體重(瓦)	
9.0	1	10	死 死
	2	10	
8.0	3	10	死 死
	4	10	
7.5	5	10	死 死 死
	6	10	
	7	10	
7.0	8	10	生 死 死
	9	10	
	10	10	
6.0	11	10	生 生
	12	10	
5.0	13	10	生 生
	14	10	

6週間⁷アナトキシ⁷ノ毒力減弱程度ハ
7.5:2=1:0.266

第6表 對照肉汁(BC)ノ對⁷マウス⁷
最小致死量

注射量 (ㄱ)	マウス		轉 歸
	番 號	體重(瓦)	
9.0	1	10	死 死
	2	10	
8.5	3	10	死 死
	4	10	
8.0	5	10	生 死
	6	10	
7.5	7	10	生 生
	8	10	
7.0	9	10	生 生
	10	10	
6.5	11	10	生 生
	12	10	
6.0	13	10	生 生
	14	10	

實驗 G 0.3%_Lフォルマリン⁷加對照肉汁ノ對_Lマウス⁷最小致死量

實驗結果ハ第7表ノ如シ。

實驗 H 3週間_Lフォルマリン⁷加肉汁ノ對_Lマウス⁷最小致死量

實驗結果ハ第8表ノ如シ。

第7表 0.3%_Lフォルマリン⁷加對照肉汁ノ對_Lマウス⁷最小致死量

注射量 (ㄲ)	マウス		轉歸
	番號	體重(瓦)	
6.5	1	10	死死
	2	10	
6.0	3	10	死死
	4	10	
5.5	5	10	死死
	6	10	
5.0	7	10	死死
	8	10	
4.5	9	10	生生
	10	10	
4.0	11	10	生生
	12	10	

第8表 3週間_Lフォルマリン⁷加肉汁(BF₃)ノ對_Lマウス⁷最小致死量

注射量 (ㄲ)	マウス		轉歸
	番號	體重(瓦)	
8.5	1	10	死死
	2	10	
8.0	3	10	死死
	4	10	
7.5	5	10	死死
	6	10	
7.0	7	10	生死
	8	10	
6.5	9	10	生生
	10	10	
6.0	11	10	生生
	12	10	

實驗 I 6週間_Lフォルマリン⁷加肉汁ノ對_Lマウス⁷最小致死量

實驗結果ハ第9表ノ如シ。

第9表 6週間_Lフォルマリン⁷加肉汁(BF₆)ノ對_Lマウス⁷最小致死量

注射量 (ㄲ)	マウス		轉歸
	番號	體重(瓦)	
9.0	1	10	死死
	2	10	
8.5	3	10	死死
	4	10	
8.0	5	10	死死
	6	10	
7.5	7	10	生生
	8	10	
7.0	9	10	生生
	10	10	
6.5	11	10	生生
	12	10	

所見概括

上記ノ第1表ヨリ第9表迄ノ結果ヲ通覽スルニ對_Lマウス⁷最小致死量ハ原生毒ハ2.0ㄲ、原毒煮液ハ3.0ㄲ、0.3%_Lフォルマリン⁷加原生毒ハ1.0ㄲ、3週間_Lアナトキシン⁷ハ5.0ㄲ、6週間_Lアナトキシン⁷ハ7.5ㄲ、對照肉汁ハ8.5ㄲ、0.3%_Lフォルマリン⁷加對照肉汁ハ5.0ㄲ、3週間_Lフォルマリン⁷加肉汁ハ7.5ㄲ、6週間_Lフォルマリン⁷加肉汁ハ8.0ㄲヲ示セリ。即チ原生毒ニ比シ原毒煮液ハ1:0.666ノ比ニ減毒セラレ、3週間_Lアナトキシン⁷ハ原生毒ニ比シ1:0.4ノ比ニ減毒セラレ、6週間_Lアナトキシン⁷ハ原生毒ニ比シ1:0.266ノ比ニ減毒セラレタリ。即チ煮沸法ニ依ルヨリモ_Lフォルマリン⁷法ニ依ル方ガ毒力ノ減弱程度大ナルヲ認ム。

ラレタリ。即チ煮沸法ニ依ルヨリモ_Lフォルマリン⁷法ニ依ル方ガ毒力ノ減弱程度大ナルヲ認ム。

實驗第2 各可檢材料ノ試験管内喰菌作用ニ及ボス影響

實驗方法

1. 黄色葡萄狀球菌原菌液

黄色葡萄狀球菌24時間寒天斜面培養菌苔ヲ0.5%石炭酸加0.85%食鹽水ノ適宜量ニ浮游セシメ次デ Centrifugeur Jouan 一テ遠心沈澱シテ上澄液ヲ棄テ斯ノ如ク菌體ヲ洗滌スルコト3回ニシテ前記ノ食鹽水菌浮游液ヲ作り該菌液ノ菌量ヲ1.0 坵中鳥瀉教授沈澱計ニテ2度目、即チ大略0.0014 坵ナラシメ之レヲ攝氏60度ノ重湯煎中ニテ30分間加熱殺菌シタルモノナリ。

此ノ原菌液ヲ實驗ノ都度適宜ニ稀釋使用セリ、余等ハ豫備實驗ニヨリテ5倍ニ稀釋シタル場合最モ本喰菌作用検査ニ好適セルヲ知ル且ツ稀釋ニ際シテハ常ニ夫々抗原液ヲ含マシメ抗原加稀釋菌液トシテ使用セリ。

2. 白血球液

體重300瓦内外ノ健康海狸腹腔内ニ中性肉汁10坵ヲ注射シ4時間後毛細硝子管ニテ穿刺シテ得タル腹腔液ヲソノ儘使用セリ。

操作ハ大體ライト氏法ニ從ヘリ、即チ一定ノ硝子毛細管内ニ「白血球液」可檢抗原加稀釋菌液ノ順ニ各一定用量ヲ空氣ノ間隔ヲ置キ吸入シタル後之レヲ硝子皿上ニ吹出シ良ク混和シタル上再ビ他ノ毛細硝子管内ニ吸ヒ取り攝氏37度ノ孵卵器内ニ15分間靜置シタル後、塗抹標本ヲ作り乾燥固定後ギームザ氏液ニテ染色檢鏡セリ。

檢鏡ニ際シテハ輪廓正シキ中性多核白血球100個ヲ檢シ菌體ノ正シク白血球内ニ包喰セラレタルモノ、ミヲ計算セリ、1白血球内ニ5個以上ノ菌ヲ包喰セルモノ及ビ白血球ト菌トノ比例ノ甚シク異レル視野ニ於ケルモノハ除外セリ尙實驗結果トシテハ3回檢査ノ平均ヲ記上セリ。

實驗甲 原毒生煮兩液ノ試験管内喰菌作用ニ及ボス影響

原毒「生」及ビ「煮」兩液各0.1坵、0.2坵、0.4坵、0.6坵、0.8坵ト漸次抗原用量ヲ増大シ且ツ同時ニ原菌液ノ5倍稀釋状態ニアル黄色葡萄狀球菌液ヲ用ヒテ同一海狸腹腔液ヨリ得タル白血球ヲ以テシタル實驗結果ハ第7表ニ示スガ如シ。「喰」菌「子」ノ數ハ總テ白血球100個ヲ計算セルモノナリ（以下同ジ）。

第10表 原毒生(NF)及ビ煮液(KF)ノ對黄色葡萄狀球菌試験管内喰菌作用ニ及ボス影響

抗原量 ccm	0.1		0.2		0.4		0.6		0.8		對 照
	NF	KF	NF	KF	NF	KF	NF	KF	NF	KF	
喰	37.7	47	40.7	49	35.3	40.3	28.3	34.3	28.3	34.3	19
菌	79.7	110.7	87	110	71.7	96.3	59	75	56.7	79.7	35.7
子	117.4	157.7	127.7	159	107	136.6	87.3	109.3	85	114	54.7
%	214.6	288.3	233.7	290.7	195.6	249.7	159.6	199.8	155.4	208.4	100

所 見 概 括

喰菌作用ノ大小ハ_L喰¹ト_L菌¹トノ和即チ喰菌子_L子¹ノ大小ニヨリテ判定シ得ベシ, 抗原量0.1 兪ヨリ 0.8 兪ニ至ル總テノ場合ニ於テ煮液ヲ使用シタル際ガ生液ノ際ヨリモ_L子¹ハ遙ニ大ナリキ。即チ原毒生・煮兩液ノ對黃色葡萄狀球菌喰菌作用ニ及ボス能力ノ大小ハ總テノ抗原量ニ於テ原毒ヲ加ヘタルモノガ小ニシテ30分煮液ヲ加ヘタルモノガ常ニ大ナリキ。

生・煮兩液共ニ用量0.2ノ場合ニ最大ノ抗原能力ヲ示シ%價ニテハ_L生¹ハ 233.7, _L煮¹ハ 290.7 ナリキ。

實驗乙 3週間_Lアナトキシニン¹ (NAT₃)ノ生・煮兩液ノ
試験管内喰菌作用ニ及ボス影響

3週間_Lアナトキシニン¹ノ_L生¹及_L煮¹兩液各 0.1 兪, 0.2 兪, 0.4 兪, 0.6 兪, 0.8 兪ト漸次抗原用量ヲ増大シ且ツ同時ニ原菌液 5 倍稀釋狀態ニアル黃色葡萄狀球菌液ヲ用ヒテ同一海猿腹腔液ヨリ得タル白血球ヲ以テシタル實驗結果ハ第11表ニ示スガ如シ。

第11表 3週間_Lアナトキシニン¹生 (NAT₃)及_L煮液(KAT₃)ノ對黃色葡萄狀球菌試験管内喰菌作用ニ及ボス影響

抗原量 ccm	0.1		0.2		0.4		0.6		0.8		對 照
抗原別	NAT ₃	KAT ₃	NAT ₃	KAT ₃	NAT ₃	KAT ₃	NAT ₃	KAT ₃	NAT ₃	KAT ₃	食鹽水
喰	24.7	34	32	43	22.3	29	23	28.7	22	25.3	15.2
菌	43.3	56.7	53	77.7	39	54	40.3	52.7	37	48.7	28
子	68	90.7	85	120.7	61.3	83	63.3	81.4	59	74	43.2
%	157.4	210	196.8	279.4	141.9	192.1	146.5	188.4	136.6	171.3	100

所 見 概 括

抗原量0.1 兪ヨリ 0.8 兪ニ至ル總テノ場合ニ於テ煮液ヲ使用シタル際ガ生液ノ際ヨリモ_L子¹即チ喰菌作用促進抗原能働力ハ遙ニ大ナリキ。即チ總テノ抗原用量ニ於テ_Lアナトキシニン¹生液ヲ加ヘタルモノガ小ニシテ煮液ヲ加ヘタルモノガ常ニ大ナリキ。

生・煮兩_Lアナトキシニン¹共ニ用量0.2ノ場合ニ最大ノ抗原能力ヲ示シ%價ニテハ_L生¹ハ 196.8, _L煮¹ハ 279.4 ニシテ_Lフォルマリン¹添加法ニテハ毒力ノミナラズ生煮共ニ抗原能働力モ亦タ減弱スルモノナルコトガ立證セラレタリ。然レドモ實用上ニハ_Lフォルマリン¹法ニヨリテ得タル毒力ノ減弱程度ガ其ノ際ニ於ケル抗原能働力ノ減弱ヲ償ヒ得テ餘リアルヤ否ヤヲ比較考查スルヲ要スルモノナリ。

實驗丙 6週間_Lアナトキシニン¹ (NAT₆)ノ生煮兩液ノ試験管内喰菌作用ニ及ボス影響

6週間_Lアナトキシニン¹ノ_L生¹及_L煮¹兩液各 0.1 兪, 0.2 兪, 0.4 兪, 0.6 兪, 0.8 兪ト漸次抗原用量ヲ増大シ且ツ同時ニ原菌液 5 倍稀釋狀態ニアル黃色葡萄狀球菌液ヲ用ヒテ同一海猿腹腔液ヨリ得タル白血球ヲ以テシタル實驗結果ハ第12表ニ示スガ如シ。

第12表 6週間Lアナトキシン⁷生(NAT₆)及ビ煮液(KAT₆)ノ對黃色葡萄狀球菌試験管内喰菌作用ニ及ボス影響

抗原量 ccm	0.1		0.2		0.4		0.6		0.8		對 照 食鹽水
	NAT ₆	KAT ₆	NAT ₆	KAT ₆	NAT ₆	KAT ₆	NAT ₆	KAT ₆	NAT ₆	KAT ₆	
喰 菌 子 %	21.3 29.7 51 135.3	29 41.7 70.7 187.5	28.7 37.7 66.4 176.1	37 54.3 91.3 242.2	22.7 33.3 56 148.5	30.3 44 74.3 197.1	22.7 34.7 57.4 152.3	28.3 44 72.3 191.8	28 31.7 54.7 145.1	26.7 41 67.7 179.6	15 22.7 37.7 100

所 見 概 括

抗原量0.1坵ヨリ0.8坵ニ至ル總テノ場合ニ於テ煮液ヲ使用シタル際ガ生液ノ際ヨリモ_レ子⁷ハ遙ニ大ナリキ。即チ6週間Lアナトキシン⁷ノ生・煮兩液ノ對黃色葡萄狀球菌喰菌作用促進抗原能働力ハ總テノ抗原量ニ於テ生液ヲ加ヘタルモノガ小ニシテ30分煮液ヲ加ヘタルモノガ常ニ大ナリキ。

生・煮共ニ最大ノ抗原能働力ヲ與ヘタルモノハ0.2ノ用量ナリ此際ニ於ケル%價ハ_レ生⁷ハ176.1_レ煮⁷ハ242.2ニシテ_レフオルマリン⁷添加無キ原毒素ノ生・煮ノ場合ヨリハ勿論、3週間Lアナトキシン⁷生・煮ノ場合ヨリモ更ニ一層小ナリ即チ3者中最小ナリ。以テ_レフオルマリン⁷添加ニヨル_レアナトキシン⁷方法ハ毒力ノ減弱ノミナラズ抗原能働力ノ減弱ヲモ來スモノニシテ_レフオルマリン⁷添加後時日ノ經過スルニ從テ漸次抗原能力ノ減弱スルモノナルコトノ立證明白ナルヲ認ムベシ。然レドモ實用上ノ問題ハ此際ニ於ケル毒力ノ減弱ガ抗原能働力ノ減弱ヲ償ヒ得テ餘リアルヤ否ヤニ存スルモノナリ。故ニ此點ハ更ニ研究ヲ必要トスルモノナリ。

實驗結果總括及ビ考按

實驗甲、乙、丙ハ何レモ各實驗ニ於ケル生及ビ煮液ノ喰菌作用促進能力ノ大小從テソレニ據リテ亦タ_レイムベヂン⁷ノ有無ヲモ判定シ得ベキモ同時同列ニ實驗セシモノニアラザルヲ以テ實驗結果ノ實數ヲ以テ3者相互間ノ喰菌作用能力ノ大小ヲ比較ス可ラズ、此際食鹽水ヲ對照ト爲シタル場合ノ%數ヲ觀察スルコトニヨリテ初メテ喰菌作用能力ノ大小並ニ免疫阻止勢力タル_レイムベヂン⁷ノ大小ヲ統一ニ比較シ得ベシ實驗結果ハ第13表ニ一括セラレタリ。

第13表 原毒3週間及ビ6週間Lアナトキシン⁷生・煮兩液ノ抗原性能働力喰菌子數ノ比較

抗 原 別	NF (1.0)	KF (0.666)	NAT ₃ (0.4)	KAT ₃ (0.4-)	NAT ₆ (0.266)	KAT ₆ (0.266-)
0.1	214.6	238.3	157.4	210.0	135.4	187.5
0.2	233.7 [80.4]	290.7 [100]	196.8 [70.4]	279.4 [100]	176.1 [72.7]	242.2 [100]
0.4	195.6	249.7	141.9	192.1	148.5	197.1
0.6	159.6	199.8	146.5	188.4	152.3	191.8
0.8	155.4	208.4	136.6	171.3	145.1	179.6

最大 _L イムベヂン ¹ 作用毒力ヲ考慮セザル際ニ於ケル最大抗原能働カノ比	19.6	—	29.6	—	27.3	—
同一毒力ノ下ニ於ケル最大抗原能働カ	100	124	84.2	119.6	75.4	103.6
	100	186.0	220.5	296.0	283.0	389.4

() 内ノ數字ハ對_Lマウス¹最小致死量ヲ基準トセル毒力ヲ示ス。

[] 内ノ數字ハ最大喰菌子數(最大抗原能働カ)ノ%數ヲ示ス。

此ノ事實ニヨリテ下記ノ各項ヲ認識スベキナリ。

1. 抗原能働カハ_Lアナトキシニン¹タルト否トヲ問ハズ凡テ生態ノ場合ヨリハ30分煮沸後ニ於テ増強ス。即チ一切ノ細菌性生態抗原ハ_Lイムベヂン¹ヲ含有スルノ證ナリ。

2. 最大抗原能働カヲ生・煮兩抗原ニ就テ比較スル時ハ_Lイムベヂン¹ノ阻止勢力ヲ知り得ベシ、而シテ此ノ値ハ下ノ如シ。

單純抗原ニテハ	19.6%
3週間 _L アナトキシニン ¹ ニテハ	29.6%
6週間 _L アナトキシニン ¹ ニテハ	27.3%

即チ單純ノ抗原ニ_Lフォルマリン¹ヲ添加シテ_Lアナトキシニン¹ヲ作り毒力ハ甚ダシク輕減セラレテモ實際_Lイムベヂン¹ハ決シテ破却セラレザルモノタルコトヲ知ル。

此際單純抗原中ノ_Lイムベヂン¹勢力(19.6%)ハ3週間_Lアナトキシニン¹中ノソレ(29.6%)ヨリモ顯著ニ小ナリ、亦タ3週間_Lアナトキシニン¹中ニ含有セラレタル_Lイムベヂン¹勢力(29.6%)ハ6週間_Lアナトキシニン¹中ノソレ(27.3%)ヨリモ稍々僅ニ大トナリテ表現セラレタルハ如何ナル理由ナリヤ。_Lアナトキシニン¹法ニヨリテ_Lイムベヂン¹勢力ガ却テ増強セルガ如キノ觀アルハ何故ナリヤ。

余等ノ考察ニテハ_Lアナトキシニン¹トナリシガ爲ニ_Lイムベヂン¹量ガ却テ増大セルモノニハアラザルモ_Lイムベヂン¹勢力ハ抗原能働カト連行スルモノニシテ抗原能働カ大ナレバ大ナル程_Lイムベヂン¹勢力モ亦タ從テ強大ニ顯現セラル、モノタルコトハ_Lイムベヂン¹學說ノ指示スル所ナリ。

故ニ上述ノ事實ハ一面ニ於テハ_Lアナトキシニン¹中ノ_Lイムベヂン¹ハ出發材料タル原毒素ト同一程度或ハ菌體ノ融解ニヨリテ同等以上ニ保存セラレタルニモ拘ラズ他面ニ於テハ_Lアナトキシニン¹ノ抗原能働カハ原毒素ヨリモ弱小トナリタルノ證ナリ、而シテ毒力ノ關係ヲ不問ト爲ス時ハ3週間_Lアナトキシニン¹ヨリモ6週間_Lアナトキシニン¹ノ抗原能働カハ稍々小ナルコトヲ教フルモノナリ。

3. 最大抗原能働カヲ抗原ニヨリテ促進セラレタル喰菌作用ノ示ス所ノ喰菌子數ノ%ニヨリテ統一的ニ表示セルニ下記ノ順序トナリタリ。

生_Lトキシニン¹(100) > 生3週間_Lアナトキシニン¹(84.2) > 生6週間_Lアナトキシニン¹(75.4)

煮_Lトキシ_Lン¹(124) > 煮3週間_Lアナトキシ_Lン¹(119.6) > 煮6週間_Lアナトキシ_Lン¹(103.6)

即チ_Lアナトキシ_Lン¹法ニヨレバ毒力が減弱スル代リニ抗原性能働力モ亦タ減弱シ攝氏37度ニ靜置スル時日が3週間ノ場合ヨリモ6週間ノ場合ノ方が更ニ一層(84.2對75.4)抗原能働力が減弱スルモノナルコトヲ知ルベシ。

4. 今ヤ毒力ト抗原能働力トノ相互關係ヲ顧慮スルコトニ於テ生・煮_Lトキシ_Lン¹ト生・煮3週間_Lアナトキシ_Lン¹及ビ生・煮6週間_Lアナトキシ_Lン¹トヲ比較スルニ下ノ如シ。

毒 力	}	煮 _L トキシ _L ン ¹ ハ原 _L トキシ _L ン ¹ ノ	0.666
		3週間 _L アナトキシ _L ン ¹ ハ原 _L トキシ _L ン ¹ ノ	0.4
		6週間 _L アナトキシ _L ン ¹ ハ原 _L トキシ _L ン ¹ ノ	0.266
抗原能働力	}	煮 _L トキシ _L ン ¹ ハ原 _L トキシ _L ン ¹ ノ	1.240倍
		3週間生 _L アナトキシ _L ン ¹ ハ原 _L トキシ _L ン ¹ ノ	0.842倍
		煮3週間 _L アナトキシ _L ン ¹ ハ原 _L トキシ _L ン ¹ ノ	1.196倍
		6週間生 _L アナトキシ _L ン ¹ ハ原 _L トキシ _L ン ¹ ノ	0.754倍
		煮6週間 _L アナトキシ _L ン ¹ ハ原 _L トキシ _L ン ¹ ノ	1.036倍

此故ニ同一毒力ノ立場ヨリ考察スレバ双方ノ抗原能働力ハ下ノ如シ。

同一毒力ニ於ケル抗原能働力	}	煮 _L トキシ _L ン ¹	1.860
		生3週間 _L アナトキシ _L ン ¹	2.205
		煮3週間 _L アナトキシ _L ン ¹	2.96以上 (毒力ヲ0.4ト見做シタルモ煮沸ノ結果更ニ小トナリ居ルモノナリ)
		生6週間 _L アナトキシ _L ン ¹	2.83
		煮6週間 _L アナトキシ _L ン ¹	3.894以上 (毒力ヲ0.266ト見做シタルモ煮沸ノ結果更ニ小トナリ居ルモノナリ)

上記ノ考察ニヨレバ原_Lトキシ_Lン¹ヲ直チニ好適時間ダケ煮沸シテ_Lイムベ_Lヂ_Lン¹ノミヲ破却シタルモノヨリモ、3週間生_Lアナトキシ_Lン¹ノ方が同一毒力ノ下ニアリテハ免疫元性能働力大ナリ、又タンレヨリモ6週間生_Lアナトキシ_Lン¹ノ方が同一毒力ナル條件ノ下ニ於テハ免疫元性能働力更ニ大ナルノ結果トナリタリ。蓋シ_Lアナトキシ_Lン¹法ニヨレバ毒力モ抗原性能働力モ相共ニ減弱スルモノナレドモ、毒力ノ減弱程度ニ比較スレバ抗原性能働力ノ減弱程度ノ方が僅微ナルノ致ス所ナラン。即チ減毒方法トシテハ煮沸方法ヨリモ_Lアナトキシ_Lン¹方法ノ方が優レタルヲ認ム。但シ此ノ事ハウエルシ・フレンケル氏瓦斯壞疽菌ノミニ關スルコトナリヤ、或ハ如何ナル細菌性毒素ニモ共通ノ事項ニシテ以テ一般ノ原則ト爲スニ足ルベキモノナルヤ否ヤ今後ノ研究ニ待ツベキモノナリ。

_Lアナトキシ_Lン¹法ニヨレバ攝氏37度ニ靜置スル時日が3週間ノ場合ヨリモ6週間ノ場合ノ方が_L同一毒力¹ナル條件ノ下ニ在リテハ抗原性能働力大ナリ。即チ此際ニテモ抗原能働力ノ減弱程度ヨリモ毒力ノ減弱程度ノ方が大ナルノ致ス所ナリ。故ニ_Lアナトキシ_Lン¹方法トシテハ可及的長期間孵卵器中ニ靜置シタル材料ノ方が實用ノ目的ニヨリ多ク合致スル譯ナリ。

此ノ如ク Δ アナトキシン Δ 法ニヨリテ毒力ハ非常ニ輕減セラル、モノナレドモ Δ イムベヂン Δ 含量ハ依然トシテ保存セラレ、又 Δ イムベヂン Δ ノ性質上ニモ何等ノ變性ヲ來サバルハ注目ニ値スル次第ナリ。此故ニ毒力ト抗原性能働カトノ關係ニ於テハ可及的長期間保存ニヨリテ得タル Δ アナトキシン Δ ヲ煮沸シテ以テ煮沸抗原ト爲ス時ハ實用上最モ優秀ナル抗原ヲ得可キモノナリ。同一毒力ノ下ニ於テハ煮 Δ トキシン Δ ノ抗原能働カハ 18.6ナルニ對シ、3週間 Δ アナトキシン Δ 煮液ノソレハ 29.6、6週間 Δ アナトキシン Δ 煮液ノソレハ 38.9ナリシガ如キハ明白ニ此間ノ消息ヲ物語リ居ルモノナリ。

又タ以上ノ事實ニヨリテ Δ 毒力 Δ ソレ自身ハ決シテ Δ イムベヂン Δ ト同名異物 (identisch) ニ非ザルコトヲ知ルベキナリ。然レドモ Δ イムベヂン Δ 存在ノ下ニアリテハ抗原ハ喰燼セラレ難キガ故ニ從テ Δ イムベヂン Δ 含有抗原ハ無 Δ イムベヂン Δ 抗原ヨリモ毒力大ナルモノナリ (Δ イムベヂン Δ 學說參照)。

結 論

ウェルシ・フレンケル氏瓦斯壞疽菌ニ就テ下ノ事實ヲ證シ得タリ。

1. Δ アナトキシン Δ 法ニヨレバ毒力モ抗原能働カモ相共ニ減弱ス。然レドモ抗原能働カノ減弱程度ハ毒力ノ減弱程度ヨリモ小ナリ。故ニ結局同一毒力ナル條件ノ下ニ於テハ煮 Δ トキシン Δ ヨリモ3週間 Δ アナトキシン Δ 、ソレヨリモ亦タ6週間 Δ アナトキシン Δ ノ方が大ナル抗原能働カヲ示スベキコト、ナル。

2. 毒力ノ關係ヲ考ヘズシテ單ニ原 Δ トキシン Δ ノ抗原能働カヲ 1.0トスレバ煮 Δ トキシン Δ 及ビ各 Δ アナトキシン Δ ノ抗原能働カハ促進セラレタル喰菌作用ヲ表示スル喰菌子ノ値ニヨリテ下ノ如キ比トナル。

煮 Δ トキシン Δ ・	1.24
3週間 Δ アナトキシン Δ 生	0.842
同 上 煮	1.196
6週間 Δ アナトキシン Δ 生	0.754
同 上 煮	1.036

3. 同一毒力ナル條件ノ下ニ於テ此等抗原液ノ抗原能働カヲ原 Δ トキシン Δ ノ 1.0ニ比較スレバ次ノ如シ。

煮 Δ トキシン Δ	1.86
3週間 Δ アナトキシン Δ 生	2.205
同 上 煮	2.96以上
6週間 Δ アナトキシン Δ 生	2.83
同 上 煮	3.894以上

4. 瓦斯壞疽菌ニ就テハ煮沸法ニヨル毒力ノ減弱程度ハ Δ アナトキシン Δ 法ニヨル毒力ノ減

弱程度ヨリモ小ナリ。但シコハ一般的原則トナリ得ルヤ否ヤ不明ニシテ今後ノ研究ニ待ツベシ。

5. 「アナトキシン」法ニヨレバ攝氏37度保存期間ガ3週間ヨリモ6週間ノモノガ毒力ト抗原力トノ比較上優良ナル免疫元ヲ得。

6. 「アナトキシン」法ニヨルモ「イムペヂン」ノ阻止勢力ハ分量上ニモ性質上ニモ何等ノ影響ヲ蒙ラザルモノナリ。

7. 從テ「アナトキシン」モ亦タ「イムペヂン」學說ノ支配下ニ屬スルモノニシテ生「アナトキシン」ヨリモ煮「アナトキシン」ノ方ガ一面毒力小ニシテ他面抗原能働力大ナルモノナリ。

8. 毒力ト抗原性能働力トノ關係ヲ考慮スル時ハ最も優秀ナル抗原液ヲ得ント欲セバ可及的長期間靜置スルコトヨリテ得タル「アナトキシン」ヲ一定時間煮沸スルコトヨリテ其ノ「イムペヂン」ヲ破却シタルモノヲ採用スベキナリ。