

經皮全身免疫ノ實驗的研究

第6報：腸チフス菌コクチゲン^{2.5}坵及^{3.75}坵
坵ヲ含有スル軟膏ノ貼用ト其ノ1.25坵
ノ靜脈内注射トノ免疫效果ノ比較

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 小 津 茂

Experimentelle Erforschung über die Gewinnung allgemeiner aktiver Immunität mittels der kutanen Applikation der Immunogene als Salben

VI. Mitteilung: Vergleich der intravenösen Einspritzung des Koki-
gens in der Menge von 1,25 ccm mit der Applikation der
Koktigensalben in der Menge von 2,5 ccm resp.
3,75 ccm als Kokiigen

Von

Dr. S. Ozu

[Aus dem Laboratorium der Kais. Chir. Universitätsklinik Kyoto

(Prof. Dr. R. Torikata)]

In der V. Mitteilung wurde festgestellt, dass der grösste Agglutinintiter des Blutserums bei der Vorbehandlung mit der Applikation der Koktigensalbe ein entschieden kleinerer ist als der bei der i. v. Einspritzung derselben Menge Kokiogens.

Im folgenden soll nun geprüft werden, ob die Vergrösserung der Menge der Salbe und somit die der vorbehandelnden Hautoberfläche die Auslösung des spezifischen Agglutinins im Blute zu erhöhen imstande ist.

Die Ergebnisse der Versuche gehen aus folgender Tabelle hervor:

Tabelle I

Die Verschiebung des Titers des gegen Typhusbazillen gerichteten Agglutinins (Mittelwerte von je 3 Kaninchen).

Kaninchen wurden vor- behandelt durch	Titer des Antityphusbazillen-Agglutinins im Blute; u. z.								Zu- resp. Abnahme des Körper- gewichts am 30. Tage
	vor der Vor- behand- lung	nach der Vorbehandlung am							
		5. Tage	7. Tage	11. Tage	15. Tage	20. Tage	25. Tage	30. Tage	
i. v. Injektion von 1,25 ccm Typhusbazillen- Koktigen	80	866	1533	1133	800	700	700	600	-166
4 g Koktigensalbe ¹⁾	66	366	566	866	866	766	733	533	+ 16
6 g Koktigensalbe ¹⁾	80	333	666	933	866	800	666	466	-166

1) 2 g Salbe enthalten 1,25 ccm Koktigen wie bei der i. v. Injektion.

Zusammenfassung

1. Der grösste Agglutinintiter liess sich bei der i. v. Injektion des Koktigen (in der Menge von 1,25 ccm) am 7. Tage feststellen, während sich dies bei der Applikation der Koktigensalbe einige Tage verspätete und erst am 11. Tage erfolgte.

2. Der grösste Agglutinintiter betrug 1533 bei der i. v. Injektion des Koktigen von 1,25 ccm und 866 bzw. 933 bei der Applikation der Koktigensalbe in der Menge von 4g (mit 2,5 ccm Koktigen) bzw. 6g (mit 3,75 ccm Koktigen).

3. Der Agglutinintiter am 30. Tage nach der Vorbehandlung erwies sich als 600 bzw. 533 oder 466 je nach der i. v. Einverleibung von 1,25 ccm Koktigen bzw. der Applikation der doppelt oder dreifach so grösseren Menge desselben Immunogens als Salbe.

4. Was die durchschnittliche Zu- resp. Abnahme des Körpergewichts der Versuchstiere am 30. Tage nach der Vorbehandlung anbetrifft, so ergaben die Injektionstiere und die 6g-Salbentiere eine Abnahme von 166 g und die 4g-Salbentiere eine Zunahme von 16 g. Dies sagt uns, dass die verschiedene Art und Weise der Vorbehandlung auf die Tiere keine merklichen Unterschiede in der Nebenwirkung (Vergiftung) ausübte.

5. Daher scheinen die Erfolge der kutanen Salben-Immunsierung trotz Vergrösserung der Salbenmenge (somit auch die der zu schmierenden Hautoberfläche) denen der i. v. Injektion des Immunogens bei weitem nachzustehen.

6. Die Frage, ob die sich der Vorbehandlung angeschlossene Antikörperauslösung im Blute gerade die allgemeine, aktiv erworbene spezifische Immunität ausdrücke, wird in der VII. Mitteilung experimentell beantwortet werden. (Autoreferat)

緒言—實驗目的

第5報 = 於テ腸_Lチフス_L菌_Lコクチゲン_L軟膏₂瓦_L(コクチゲン_L含量 = 1.25 瓦)ヲ皮膚_Lノ一局部
= 24時間貼用スルコトニヨツテモ亦タ血中凝集素_Lハ第11日目ニ至ルト最大值ニマデ增強スルコ

トガ證明サレタ。

然シ乍ラ靜脈内へ同一_Lコクチゲン⁷ノ同一量即チ 1.25 兊ヲ注射シタモノト比較スレバ凝集素ノ產生ガ遙カニ輕微(1933對767)デ且ツ遲延(7日目對11日目)スル。即チ第1報ヨリ第4報マデニ黃色葡萄狀球菌_Lコクチゲン⁷ヲ使用シテ兩者ノ免疫獲得程度ヲ特殊_Lオプソニン⁷ヲ指標トシテ比較研究シタ結果トハ趣ヲ異ニシタ所見トナツタノデアアル。

ソコデ本實驗ニ於テハ靜脈内へ 1.25 兊ノ_Lコクチゲン⁷ヲ注射シタ場合ト同様ノ免疫效果ヲ得ル爲ニハ、腸_Lチフス⁷菌_Lコクチゲン⁷軟膏貼用ノ量(從テ亦タ貼用皮膚面積)ヲ増加スレバ出來ルカ否カラ檢セントスルノデアアル。

實驗材料

1) 實驗動物

約2疔ノ白色家兔デ前血清ノ標準腸_Lチフス⁷診斷液ニ對スル凝集價100倍以下ノモノノミヲ選擇シテ使用シタ。

2) 免疫元

a) 腸_Lチフス⁷菌_Lコクチゲン⁷

市販ノ鳥瀉免疫研究所製造ノモノヲ用ヒタ。(昭和8年4月4日製造)

b) 腸_Lチフス⁷菌_Lコクチゲン⁷軟膏

第5報ニ記載シタ通りニ調製シタ。ソレ故、此ノ軟膏2瓦ハ_Lコクチゲン⁷ヲ 1.25 兊含有シテキル譯デアアル。

3) 可檢血清

家兔ノ耳翼靜脈ヨリ2疔ヲ採血シ、遠心シテ血清ヲ分離シタ。

4) 凝集反應檢査用標準腸空扶斯診斷液

第5報ノ實驗ニ使用シタモノヲソノ儘用ヒタ。

實驗方法

前血清ノ凝集價100倍以下ノ家兔ヲ A, B, C 3 群ニ分チ、1 群 3 頭宛トシ、各群各頭ニ次ノ如キ操作ヲ施シタ。A 群ニ於テハ各家兔ノ耳翼靜脈内へ腸_Lチフス⁷菌_Lコクチゲン⁷ノ 1.25 兊(軟膏2瓦中ニ含有サレテキル_Lコクチゲン⁷量)ヲ注射シタ。B 群ニ於テハ各家兔ノ左右兩背ヲ夫々剃毛シテ4.5 釐平方ノ正方形ヲ記録シ、コノ範圍内ニ各々2瓦宛(合計4瓦)ノ腸_Lチフス⁷菌_Lコクチゲン⁷軟膏ヲ塗擦シタ。C 群ニ於テハ各家兔ノ背部ノ左、右及ビソノ中間ノ3個處ニ同様ニ各範圍ニ2瓦宛(合計6瓦)ノ軟膏ヲ塗擦シタ。

軟膏ヲ塗擦シタ部分ハ前實驗ノ如ク_Lゴム⁷板デ覆ヒ、絆創膏デ固定シ、更ニ繃帶ヲ施シタ。ソシテ24時間後ニ_Lペンチン⁷デ軟膏ヲ清拭シタ。

以上ノ如キ3種類ノ免疫處置ヲ施行シタ後、1ヶ月間ニ亙ツテ血中ニ產生セラレタ凝集素ノ増減ヲ第5報所載ノ凝集反應檢査方法ニヨツテ追及シタ。

實 驗 成 績

實驗成績ハ第1—9表ニ示サレタ通りデアル。

第1表 腸チフス菌_Lコクチゲン¹1.25mg靜脈内注射ニヨル血中凝集素ノ產生(家兎第12號)

血清稀釋度	20	40	80	100	200	400	500	800	1000	1600	2000	3200	4000	6400	8000	16000	體 重
前	++	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1850
後 5日	卅	卅	卅	卅	卅	++	++	+	+	-	-	-	-	-	-	-	1850
7日	卅	卅	卅	卅	卅	卅	++	++	+	+	-	-	-	-	-	-	1850
11日	卅	卅	卅	卅	卅	++	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	1900
15日	卅	卅	卅	卅	++	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	2000
20日	卅	卅	卅	卅	++	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	1950
25日	卅	卅	卅	卅	++	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	2000
30日	卅	卅	卅	卅	++	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	2050

第2表 腸チフス菌_Lコクチゲン¹1.25mg靜脈内注射ニヨル血中凝集素ノ產生(家兎第16號)

血清稀釋度	20	40	80	100	200	400	500	800	1000	1600	2000	3200	4000	6400	8000	16000	體 重
前	++	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2150
後 5日	卅	卅	卅	++	++	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	1800
7日	卅	卅	卅	++	++	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	1700
11日	卅	卅	卅	卅	++	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	1850
15日	卅	卅	卅	++	++	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	1800
20日	卅	卅	++	++	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1850
25日	卅	卅	++	++	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1750
30日	卅	卅	卅	++	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1750

第3表 腸チフス菌_Lコクチゲン¹1.25mg靜脈内注射ニヨル血中凝集素ノ產生(家兎第18號)

血清稀釋度	20	40	80	100	200	400	500	800	1000	1600	2000	3200	4000	6400	8000	16000	體 重
前	++	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2150
後 5日	卅	卅	卅	卅	卅	++	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	2100
7日	卅	卅	卅	卅	卅	卅	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	2000
11日	卅	卅	卅	卅	卅	++	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	1750
15日	卅	卅	卅	卅	++	++	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	1750
20日	卅	卅	卅	卅	++	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	1750
25日	卅	卅	卅	卅	++	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	1800
30日	卅	卅	++	++	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	1850

第7表 腸Lチフス¹菌Lコクテゲン¹軟膏6瓦貼用ニヨル血中凝集素ノ產生(家兎第11號)

血清稀釋度	20	40	80	100	200	400	500	800	1000	1600	2000	3200	4000	6400	8000	16000	體 重
前	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1900
後	++	++	++	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1700
5日	+++	+++	+++	++	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1700
7日	+++	+++	+++	++	++	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	1750
11日	+++	+++	+++	++	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	1750
15日	+++	+++	+++	++	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	1700
20日	+++	+++	+++	++	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1700
25日	+++	+++	+++	++	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1850
30日	+++	+++	+++	++	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1850

第8表 腸Lチフス¹菌Lコクテゲン¹軟膏6瓦貼用ニヨル血中凝集素ノ產生(家兎第14號)

血清稀釋度	20	40	80	100	200	400	500	800	1000	1600	2000	3200	4000	6400	8000	16000	體 重
前	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2150
後	++	++	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2250
5日	+++	+++	+++	++	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	2250
7日	+++	+++	+++	++	++	++	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	2050
11日	+++	+++	+++	++	++	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	2100
15日	+++	+++	+++	++	++	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	1800
20日	+++	+++	+++	++	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	1800
25日	+++	+++	+++	++	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1850
30日	+++	+++	+++	++	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1850

第9表 腸Lチフス¹菌Lコクテゲン¹軟膏6瓦貼用ニヨル血中凝集素ノ產生(家兎第19號)

血清稀釋度	20	40	80	100	200	400	500	800	1000	1600	2000	3200	4000	6400	8000	16000	體 重
前	++	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2150
後	+++	+++	+++	++	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2200
5日	+++	+++	+++	++	++	++	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	2200
7日	+++	+++	+++	++	++	++	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	2050
11日	+++	+++	+++	++	++	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	1950
15日	+++	+++	+++	++	++	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	1850
20日	+++	+++	+++	++	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	1950
25日	+++	+++	+++	++	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2000
30日	+++	+++	+++	++	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2000

所見概括及ビ考察

以上ノ結果ヨリ各種免疫操作後ノ血中凝集素ノ產生狀態ヲ概括スルト第10表及ビ第1圖ノ如

クデアル。

第10表 各免疫處置ニヨル血中抗腸チフス菌凝集素ノ產生(3頭平均)

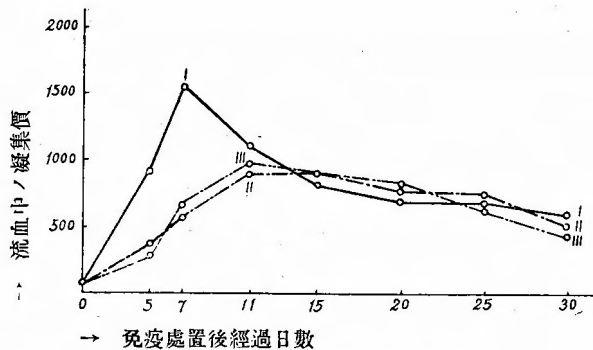
免疫處置	免疫處置直前	免疫處置後經過日數ト血中ノ凝集價							30日目ニ於ケル體重平均増減
		5日	7日	11日	15日	20日	25日	30日	
靜脈内注射	80	866	1533	1133	800	700	700	600	- 166
軟膏4瓦貼用	66	366	566	866	866	766	733	533	+ 16
軟膏6瓦貼用	80	333	666	933	866	800	666	466	- 166

靜脈内注射 = L コクチゲン r 1.25 g

軟膏4瓦 = L コクチゲン r 含量2.5 g

軟膏6瓦 = L コクチゲン r 含量3.75 g

第1圖 各免疫處置ニヨル血中產生凝集素ノ推移(第10表参照)



I = 腸チフス菌 L コクチゲン r 1.25 g 靜脈内注射
 II = 腸チフス菌 L コクチゲン r 軟膏4瓦 (L コクチゲン r = 2.5 g) 貼用
 III = " " " 6瓦 (L コクチゲン r = 3.75 g) 貼用

上記ノ事實カランテ次ノ事項ヲ認識スルコトガ出來ヤウ。

1) 腸チフス菌 L コクチゲン r 1.25 g ヲ靜脈内ニ注射スレバ、血中凝集素ハ急速ニ増加シテ、注射後第7日目ニ最高凝集價 1533倍トナリ、ソレカラ次第ニ減少スルガ、第30日目ニ至ルモ尚ホ600倍ノ強度ヲ持續シテキル。

2) 腸チフス菌 L コクチゲン r 軟膏4瓦 (L コクチゲン r 含量 = 2.5 g)ヲ皮膚ノ一局所 (4.5 cm^2 個所)ニ24時間貼用シタ場合ニハ、血中凝集素ノ増加ハ徐々デアツテ第11日目ニ最高凝集價866倍トナル。減少モ亦極メテ徐々デアツテ第30日目ノ凝集價ハ533倍デアツタ。

3) 腸チフス菌 L コクチゲン r 軟膏6瓦 (L コクチゲン r 含量 = 3.75 g)ヲ貼用シタ場合ニハ、血中凝集素ノ増減ノ状態ハ4瓦ノ場合ト殆ンド同様デアツテ、第11日目ニ最高凝集價933倍トナリ第30日目ノ凝集價ハ466倍デアツタ。

4) 各々ノ最高凝集價ヲ比較スルト、靜脈内注射ガ最高デ、次ハ軟膏6瓦、最低ハ軟膏4瓦デアツタ。コレヲ比例デ示スト、1.8(靜脈内注射) : 1.1(軟膏6瓦) : 1.0(軟膏4瓦)デアアル。

5) 第15日以後ハ何レモ殆ンド同程度ノ凝集價ヲ示シツツ下降シタ。即チ15日ヲ經過スルト血液ハ何レモ略々同量ノ凝集素ヲ含有シテキタ。

6) 「コクチゲン」ノ靜脈内注射デモ, 「コクチゲン」軟膏ノ皮膚貼用デモ, 第30日目ニ於ケル體重ノ變化ハ略ボ同一デアツタ。即チ試獸ニ對スル毒力ハ何レノ免疫處置デモ略ボ同程度ト認メテヨカラウ。

以上ノ如ク第5報ニ於ケル貼用軟膏量2瓦ヲ本實驗ニ於テハ4瓦, 又ハ6瓦ニ増加スルト共ニ免疫元攝取皮膚面ヲモ擴大セシメ, ソレニ由ツテ生ズル血中凝集素ノ増加ヲ觀察シタ結果, 第5報デハ軟膏2瓦貼用ト場合ト靜脈内1.25坵注射トデ最高凝集價ノ比ハ0.4:1.0, 本實驗ニ於テハ軟膏4瓦貼用ト靜脈内1.25坵注射トデ最高凝集價ノ比ハ0.5:1.0, 軟膏6瓦貼用ト靜脈内1.25坵注射トデ最高凝集價ノ比ハ0.6:1.0ト言ツタ様ニ, 貼用軟膏量ニ伴ツテ塗擦皮膚面ヲ増加セシメルト, 之レト連行シテ凝集價モ多少増大シテ行クコトヲ認メタノデアル。

然シ乍ラ此ノ増加タルヤ實ニ僅少デアツテ, コノ結果ノミヨリ推考スルト靜脈内注射ト同程度ノ凝集價ニハ軟膏皮膚貼用ニヨツテハ到底達シ得ナイト言ハナクテハナラス。

然シナガラコノ結果カラシテ直チニ「軟膏貼用免疫ノ効果が劣弱デアル」ト判斷スルコトガ躊躇サレルモノデアル。何トナレバ「コクチゲン」ヲ皮膚ノ一局所ニ外用トナス時ハ局所皮膚ノ喰細胞ハ自働的ニ免疫元ヲ攝取シテ, 二次的ニ全身免疫ヲ獲得スルコトハ動カスペカラザル事實デアツテ, 既ニ黃色葡萄狀球菌「コクチゲン」軟膏ノ皮膚貼用ニヨル特殊「オプソニン」ノ血中產生デ明白ニ立證サレテキルカラデアル。ソコデ次ノ様ナ考察ガ許容サレル。

1. 局所免疫カラ二次的ニ全身免疫ヲ發現スル場合ニハ「オプソニン」ノ血中產生ハ高度デアルケレドモ, 其他ノ抗體, 例ヘバ凝集素ノ如キモノハ高度ニ發生セヌモノデモアラウカ。

經口免疫デハ消化管粘膜ニ於テ免疫獲得ガ充分デアルケレドモ, 流血中ニ於テ凝集素ノ立證サレル程度ハ甚ダ微小ナルモノデアル。

2. 經口免疫處置デハ血中ノ抗體(例ヘバ凝集素)ノ產生ガ甚ダ微弱デアルニモ拘ラス腸管ノ免疫ガ高度デアルト同様ニ, 免疫元軟膏貼用ニヨル全身免疫(即チ經皮免疫)ニアリテモ亦タ免疫處置直後ニ於テ血中ニ現ハレル凝集素ガ微小デモ, 併シ外界カラ同名菌體ガ血中ニ侵入シタ様ナ際ニハ, 靜脈注射デ免疫サレテ居ツタ動物ト同等以上ニソレニ反應シテ血中凝集素ノ產生モ顯著ニ大ナルモノデハ無カラウカ。

3. 免疫元軟膏貼用ニ際シテ, モシモ局所皮膚ノ細胞ガ軟膏中ノ細菌性免疫元ヨリモ, 更ラニ一層好ンデ喰燼スル様ナ物質ガ軟膏中ニ混入サレテ居ツタナレバ, 細菌性免疫元ノ方が局所ニ喰燼サレルヨリモ, ヨリ多ク全身性ニ移行シ, 從ツテ血中凝集素ノ產生モ亦タ大ナルモノデハアルマイカ。

以上ノ考察ガ果シテ事實ト一致スルカ否カハ今後ノ研究ニ闡明サレルデアラウ。

結 論

腸_Lチフス⁷菌_Lコクチゲン⁷軟膏ヲ家兔表皮 4.5 瓊平方 = 2 瓦宛ノ割合デ、4 瓦及ビ 6 瓦ヲ貼用シタ場合ト、2 瓦ノ軟膏中 = 含有サレテキル_Lコクチゲン⁷量 1.25 瓊ヲ靜脈内ヘ注射シタ場合トノ血中凝集素ノ產生ヲ比較シタノ = 下ノ成績ヲ得タ。

1) 靜脈内注射デハ第 7 日目 =、軟膏貼用デハ第 11 日目 = 最高凝集價ヲ示シタ。即チ軟膏デハ最大凝集價ノ現ハレルノ = 約 4 日後レタ。

2) 各々ノ最高凝集價ハ靜脈内注射デハ 1533、軟膏 4 瓦貼用デハ 836、同 6 瓦貼用デハ 933 トナツタ。即チ軟膏デハ最大凝集價ハ約 1/2 程モ小デアツタ。

3) 免疫處置後 30 日目 = 於ケル凝集價ハ靜脈内注射デ 600、4 瓦軟膏デ 533、6 瓦軟膏デ 466 デアツタ。

4) 以上ノ事實ハ『腸_Lチフス⁷ノ豫防 = 關シテハ免疫元軟膏ノ (24 時間) 皮膚貼用ハ、到底免疫元ノ靜脈内注射ノ效果 = 及ビ得ヌ』カノ如ク = モ見エルガ、以上ノ如キ互 = 相異ルニ様ノ前處置ヲ受ケタル動物ガ、2, 3 個月或ハソレ以上ノ時日ヲ經過シタ後 =、少量ノ同名菌ガ組織中 (或ハ血中) = へ侵入シタ際 =、如何ナル免疫的全身反應ヲ示スカヲ見極メタ上デナイト、眞ノ免疫獲得程度 = 就テノ判斷ハ未ダ下サレヌモノデアル。

5) 以上ノ事實 = 據リテ考フル =、免疫元軟膏ヲ皮膚 = 24 時間貼用シテ以テ全身免疫ヲ發生セシメントスル = 當リ、何程ノ軟膏ヲ何程ノ皮膚面 = 貼用スレバヨイカノ點 = 就テハ、更 = 研究ヲ必要トスルモノデアツテ、或ル一定度迄ハ軟膏量ト貼用皮膚面積量トノ増加 = ヨリテ、免疫獲得程度モ亦タ增強スルモノノ如クデアル。

6) 免疫處置後 30 日目 = 於ケル平均體重ハ靜脈内注射及ビ 6 瓦軟膏デハ 166 瓦減少、4 瓦軟膏デハ 16 瓦増加デアツタ。即チ免疫操作ノ相異ル = 從テ一定ノ毒作用ノ差別ノ有無ヲ認メルコトガ出來ナカツタ。