

溶血性連鎖狀球菌ニ關スル「ワクチン」・「アナ ワクチン」及ビ「コクチゲン」ニ於ケル毒力 及ビ抗原性能働力ノ比較研究

京都帝國大學醫學部外科學研究室(鳥潟教授指導)

醫學士 篠 田 正 芳

Erforschung der Vakzine bzw. der Anavakzine betreffend haemolytische Streptokokken

Von

Dr. M. Shinoda

[Aus dem Laboratorium der Kais. Chir. Universitätsklinik Kyoto

(Prof. Dr. R. Torikata)]

Wir haben die Toxizität und Antigenavidität der Vakzine sowie der Anavakzine von haemolytischen Streptokokken erforscht und kamen zu folgenden Schlussätzen.

1. Durch die Anavakzinemethode wurde die durch D.I.m. bei Mäusen festgestellte Toxizität der primären Vakzine im Verhältnisse von 100:55,5 vermindert.

2. Dagegen verhielt sich die Toxizität der originalen Vakzine zu der durch Kochmethode hergestellten wie 100:89. *Daher wirkt die Anavakzinemethode in einem grösseren Masse entgiftend als die Kochmethode.*

3. Durch Verwendung der Kochmethode war die Toxizität der Anavakzine im Verhältnisse von 100:40 (gegenüber der primären Vakzine in dem von 100:22,2) reduziert worden. Die maximale Entgiftung der Impfstoffe scheint somit am zweckmässigsten dadurch herbeigeführt zu werden, *dass die originale Vakzine zunächst der Anavakzinemethode und dann nachher der Kochmethode unterzogen wird.*

4. Die eigentliche Antigenavidität, die ja hauptsächlich nicht in den Bakterienleibern, sondern in den im Vakzinemedium enthaltenen gelösten Mikrobensubstanzen innewohnt, war bei der Anavakzine etwas vermindert; und zwar laut unserer Versuchsergebnisse über die die normale Phagozytose fördernde Wirkung im Verhältnisse von 100:95,5.

5. Dagen wird die Antigenavidität durch die Kochmethode merklich erhöht. Dies kam im folgenden Verhältnisse zustande: 1) 100 bei der originalen Vakzine und 200 bei der abgekochten. 2) 100 bei der Anavakzine und 258 bei der abgekochten Anavakzine. 3) 100 bei der

originalen Vakzine und 246 bei der abgekochten Anavakzine. Somit lässt sich die maximale Antigenavidität dadurch erzielen, dass die originale Vakzine nicht ohne weiteres abgekocht, sondern zunächst in die Anavakzine umgeändert und dann nachträglich der Siedehitze ausgesetzt wird.

6. Die optimale Abkochungszeit der Anavakzine haemolytischer Streptokokken für die Gewinnung (resp. Regenerierung) maximaler Antigenavidität stellte sich als eine halbe Stunde heraus.

7. Durch die Anavakzinemethode quellen die Erreger bis zu einem gewissen Grade auf (vgl. die Tafelfiguren). Volumetrisch gemessen ergaben die Erreger eine Volumenzunahme von 59%. Dieser Tatsache liegt die Annahme nahe, dass das Vakzinemedium der Anavakzine die gelösten Mikrobensubstanzen in einem weit grösseren Masse enthält als das der originalen Vakzine und dass daher die Antigenavidität infolge der dabei zugenommenen Impedienenergie stärker als die der Vakzine paralyisiert wird. Zahlenmässig ausgedrückt verhielt sich die Antigenavidität der Anavakzine zu der der originalen Vakzine wie 95,5:100.

8. Die Impedinwirkung setzte die phagozytäre Wirkung in 50% bei der originalen Vakzine und 61,3% bei der Anavakzine herab.

9. Die Anavakzine darf nicht ohne weiteres verwendet, sondern muss laut der Impedinlehre regelrecht abgekocht werden, wenn wir uns möglichst grosser Antigenavidität bei möglichst kleiner Giftigkeit bedienen wollen. (Autoreferat)

一 緒 言

溶血性連鎖状球菌ニ就テ Löwenstein ノ方法ニヨリテ, Toxoid (Ramon ノ所謂 Anatoxin 乃至 Anavakzine) ヲ調製シ, 抗原能動力ノ大小, 「イムペジン」ノ有無及ビ毒力ノ減弱程度ヲ研究セント欲ス。是レ本報告ノ目的ナリ。

二 實 驗 材 料

1. 溶連菌「ワクチン」

溶連菌ノ0.7%葡萄糖及ビ0.5%「グリセリン」加寒天斜面24時間培養ニテ得タル菌苔ヲ0.85%食鹽水ニテ毛筆ヲ以テ洗ヒ落シ, 夾雜物ヲ除ク爲ニ滅菌脫脂綿ニテ濾過ス。斯クシテ得タル菌浮游液ヲ攝氏60度ノ重湯煎中ニテ30分間加熱殺菌シ, 0.5%ノ割合ニ石炭酸ヲ加ヘタリ。

本「ワクチン」含有菌量ハ烏瀉教授沈澱計ニテ3度目, 即チ1坵中約0.0021坵(=2 mg)ナリキ。氷室内ニ保存ス。

2. 溶連菌「アナワクチン」

前記溶連菌浮游液(石炭酸ヲ加ヘザルモノ)ニ日本藥局法「フオルマリン」(35%容量)ヲ0.5%ノ割合ニ混入シ(此際「フオルマリン」加菌液1坵中ノ菌量ハ「ワクチン」同様約0.0021坵ナリキ), 密栓シ, 攝氏37度ノ孵卵器内ニ4週間靜置セルモノナリ。

3. 溶連菌「ワクチン」生基液

前記「ワクチン」ヲ強力遠心シ、菌體ヲ沈降セシメ、透明ナル上澄液ノミヲ取りシモノナリ。

4. 同「ワクチン」煮基液

溶連菌「ワクチン」生基液ヲ攝氏100度ニテ沸騰シツ、アル重湯煎中ニテ、5、10、15、20、30、45、60及ビ120分間煮沸セルモノナリ。煮沸ニヨリ沈澱濁等ヲ發生セズ。

5. 溶連菌「アナワクチン」生基液

前記「アナワクチン」ヲ強力遠心シテ得タル透明ナル上澄液ナリ。

6. 同「アナワクチン」煮基液

「ワクチン」煮基液ヲ作製セルト同様ナル方法ニヨリテ溶連菌「アナワクチン」生基液ヲ煮沸シ、8種ノ煮基液ヲ得タリ。

7. 黃色葡萄狀球菌液

黃色葡萄狀球菌普通寒天面24時間培養ヨリ菌苔ヲ0.85%食鹽水ニテ洗ヒ落シ、滅菌脫脂綿ニテ濾過シ、夾雜物ヲ除去シ、攝氏60度ノ重湯煎中ニテ30分間加熱殺菌シ、ジユワン遠心器ニテ強力30分間宛4回菌體ヲ遠心シ、且ツ洗滌シ、最後ニ0.5%ノ割ニ石炭酸ヲ混入セル0.85%食鹽水中ニ浮游セシム。本菌液1坵中ノ菌量ハ鳥鴻教授沈澱計ニテ1度目、即チ約0.0007坵ナリキ。

8. 白血球液

體重300瓦内外ノ健康雄海狸ノ腹腔中ヘ微溫中性肉汁10坵ヲ注射シ、約4時間後ニ腹腔内ヘ毛細硝子管ヲ挿入シ、漏出スル蛋白石樣濁濁ヲ有スル腹水ヲ其ノ儘白血球液トシテ使用セリ。濁濁度ハ毎常0.3%「レチチン」溶液ニ相當セリ。

三 實 驗 方 法

溶連菌「ワクチン」生基液及ビ同煮基液並ニ溶連菌「アナワクチン」生基液及ビ同煮基液ノ4材料ヲ以テ抗原性能働力及ビ「イムペヂン」量並ニ毒力ノ影響ヲ觀察セリ。

I. 抗原性能働力並ニ「イムペヂン」量ノ影響

本検査ニハ硝子管内喰菌現象ヲ指標トシテ行ヘリ。硝子管内喰菌現象ノ検査術式ハ大體ニ於テ Wright ノ「オプソニン」検査方法ニ準據スレドモ、幾分異ニセリ。即チ適當量ノ抗原液ト菌液トヲ混合シ、毛細硝子管ニテ前記海狸腹腔内ヨリ漏出スル腹水(白血球液)ヲ直接ニ適量ダケ吸引シ、次デ空氣層ヲ隔テ、先ニ用意セル抗原液及ビ菌液ノ混合液ヲ白血球液ト同量ダケ吸引シ、時計硝子皿上ニ吹キ出シテ再三混和セシメ、別個ノ毛細硝子管ニ再ビ吸ヒ取りテ、攝氏37度ノ孵卵器内ニ15分間放置シ、然ル後、載物硝子板上ニ點下シ、塗抹標本ヲ作製セリ。乾燥後、メチールアルコールニテ固定シ、ギムザ氏液ニテ染色シ檢鏡セリ。

檢鏡ニ際シテハ、鮮明ニ染色シ、萎縮セズ、孤立セル中性多型核白血球200個ヲ計上シ、ソノ内ニ菌體ヲ包喰セル細胞數ト、全ク細胞内ニ喰盡セラレタル細菌數ト、此等細胞數ト菌體數トノ和(喰菌子)ヲ白血球100個ノ割合ニ換算シテ比較セリ。

1個ノ細胞内ニ5個以上ノ菌體ヲ包喰セルモノハ除外セリ。斯クシテ各抗原ノ最大喰菌能力

(最大抗原性能働力)ヲ求メタリ。

黃色葡萄球菌液ハ豫備實驗ノ結果、原菌液ヲ4倍＝稀釋セルモノガ細胞ト好適比例ナル事ヲ知リシ爲メ、原液0.5坵＝各抗原液ヲ添加シ、殘餘ハ0.85%食鹽水ニテ補ヒ、每常全量ヲ2坵トナセリ。斯クスル事＝由リテ菌液ハ常＝使用時4倍＝稀釋サル、譯ナリ。「イムペヂン」量ハ前記各抗原ノ最大抗原性能働力ノ差異ヨリ算出セラレタリ。

II. 毒力ノ影響

最小致死量ノ測定＝ハ體重13瓦内外ノ健康「マウス」ノ腹腔中＝各可檢材料ヲ注射シ、24時間内＝於ケル各「マウス」ノ轉歸ヲ觀察セリ。

白血球數ノ動搖ヨリ觀タル毒力ノ検査＝ハ海狸ノ腹腔内＝各可檢材料ヲ注射シ、30分、1時間、2時間、4時間及ビ8時間後＝示ス白血球數ノ動搖ヲ3頭平均＝ヨリテ確定セリ。

四 實驗第一 抗原性能働力並ニ「イムペヂン」量

實驗甲 溶連菌「ワクチン」及ビ同「アナワクチン」

「生」・「煮」基液ノ催喰菌性抗原性能働力

溶連菌「ワクチン」及ビ同「アナワクチン」ノ生乃至30分煮基液ノ0.3, 0.4, 0.5, 0.6及ビ0.7坵ヲ以テ其ノ催喰菌現象ヲ檢シタル＝第1表、第2表並＝第1圖、第2圖＝示セルガ如キ結果ヲ得タリ。

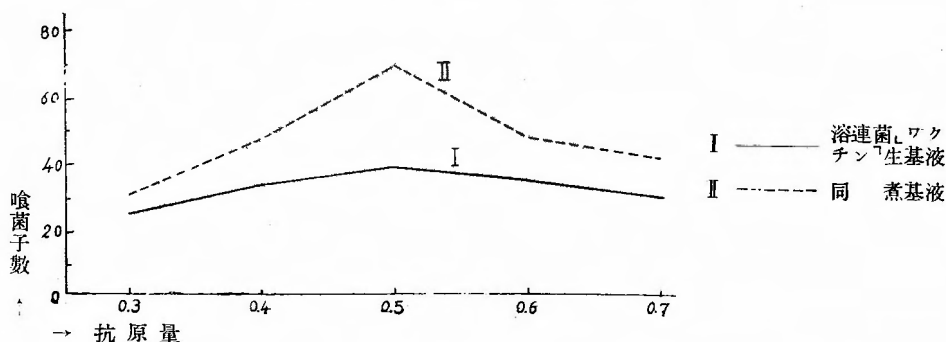
第1表 溶連菌「ワクチン」生・煮兩基液＝ヨル硝子管内催喰菌作用ノ最大値ノ比較

抗 原	溶 連 菌 「 ワ ク チ ン 」									
	生 基 液					30' 煮 基 液				
抗 原 量 (坵)	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7
喰	9.0	12.5	13.5	12.0	10.5	11.5	16.5	22.0	16.5	13.5
菌	16.5	21.5	25.5	22.5	18.5	19.5	30.5	47.0	31.0	27.5
子	25.5	34.0	39.0	34.5	29.0	31.0	47.0	69.0	47.5	41.0

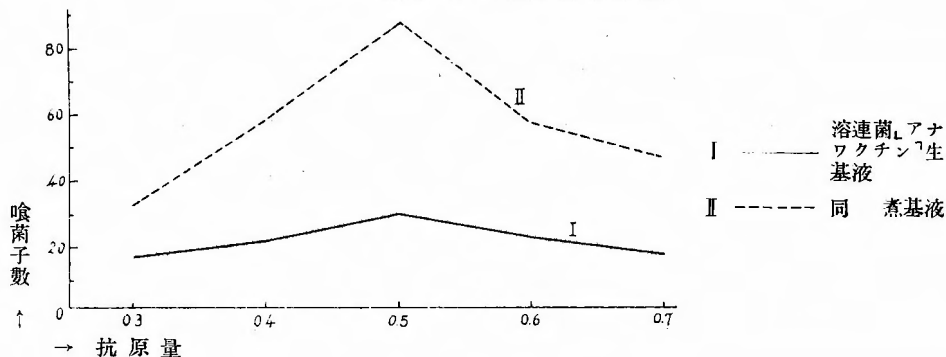
第2表 溶連菌「アナワクチン」生・煮兩基液＝ヨル硝子管内催喰菌作用ノ最大値ノ比較

抗 原	溶 連 菌 「 ア ナ ワ ク チ ン 」									
	生 基 液					30' 煮 基 液				
抗 原 量 (坵)	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7
喰	6.0	8.5	11.0	8.5	7.0	11.0	19.5	29.0	21.5	17.0
菌	10.5	13.5	19.0	14.0	10.5	21.0	39.0	59.0	37.0	32.0
子	16.5	22.0	30.0	22.5	17.5	32.0	58.5	88.0	58.5	49.0

第1圖 溶連菌 γ ワクチン γ 生・煮兩基液ニヨル催喰菌作用
抗原量ト喰菌子数トノ關係(第1表參照)



第2圖 溶連菌 γ アナワクチン γ 生・煮兩基液ニヨル催喰菌作用
抗原量ト喰菌子数トノ關係(第2表參照)



所見概括

可檢抗原何レニ於テモ、抗原量ヲ0.3 兊ヨリ順次増加スルニ、0.5 兊ニ至リ催喰菌作用最大トナリ、0.5 兊以上ニ増量スル時ハ何レノ場合ニモ喰菌子数、即チ喰菌作用ハ減少ノ傾向ヲ取レリ。即チ0.5 兊ニ於ケル喰菌子数ハ γ ワクチン γ 生基液ニテ39、同煮基液ニテ69、 γ アナワクチン γ 生基液ニテ30及ビ同煮基液ニ於テハ88ヲ算セリ。

以上ノ事實ハ余等ガ動物體內血中自然喰菌作用、又ハ局所皮膚内ノ特殊 γ オプソニン γ 產生ヲ指標トセル生・煮兩抗原ノ比較成績ト全ク一致スルモノナリ。

實驗乙 溶連菌 γ ワクチン γ 及ビ同 γ アナワクチン γ 生基液ノ

煮沸時間ト催喰菌性抗原能働カトノ關係

實驗甲ニ於テ溶連菌 γ ワクチン γ 及ビ同 γ アナワクチン γ 生・煮兩基液間ニ著明ナル催喰菌能力ノ差違ヲ生ゼシハ生基液ガ γ イムペヂン γ ヲ含有スル證ナリ。

本實驗ニ於テハ硝子管内喰菌作用ヲ指標ト爲スコトニヨリテ γ イムペヂン γ ヲ破却スルニ必要ニシテ十分ナル煮沸時間ヲ決定セント欲ス。

實驗結果ハ第3表及ビ第4表並ニ第3圖ニ示サレタリ。

第3表 溶連菌¹ワクチン¹生基液ノ煮沸時間ト催喰菌作用トノ關係

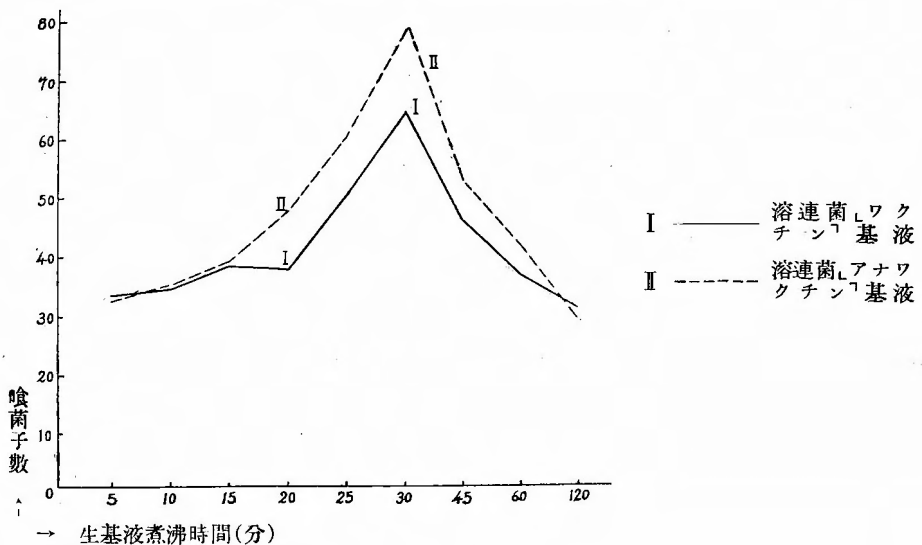
抗原量 0.5 兎 ¹⁾	溶連菌 ¹ ワクチン ¹ 煮基液										生基液	0.5% 石炭酸加 0.85% 食鹽水
	煮沸時間	5'	10'	15'	20'	25'	30'	45'	60'	120'		
喰 菌 子		12.0	12.0	13.5	13.5	18.5	22.5	17.5	14.5	12.0	12.5	9.0
		21.5	22.5	25.0	24.5	32.0	42.5	29.0	23.0	19.0	20.0	13.0
		33.5	34.5	38.5	38.0	50.5	65.0	46.5	37.5	32.0	32.5	22.0

1) 抗原量0.5兎ハ最大喰菌作用ヲ惹起セリ(第1及ビ第2表参照)

第4表 溶連菌¹アナワクチン¹生基液ノ煮沸時間ト催喰菌作用トノ關係

抗原量 0.5 兎	溶連菌 ¹ アナワクチン ¹ 煮基液										生基液	0.5% ¹ フォル マリン ¹ 加 0.85% 食鹽水
	煮沸時間	5'	10'	15'	20'	25'	30'	45'	60'	120'		
喰 菌 子		12.0	13.5	15.5	17.0	21.5	28.5	20.0	15.5	11.0	11.5	9.5
		20.5	21.5	24.0	31.0	39.5	51.5	33.5	27.0	19.0	19.5	14.0
		32.5	35.0	39.5	48.0	61.0	80.0	53.5	42.5	30.0	31.0	23.5

第3圖 溶連菌¹ワクチン¹及ビ¹アナワクチン¹生基液ノ煮沸
時間ト喰菌子數トノ關係(第3表及ビ第4表参照)



所見概括

溶連菌¹ワクチン¹基液ニ於テハ煮沸時間ノ延長ニ連レ催喰菌作用ハ漸次優勢トナリ、30分間煮基液ニ至リテ最大ニ達セリ(喰菌子數65)。更ニ煮沸時間ヲ増大セルニ催喰菌作用ハ反ツテ逐次減少セリ。然レドモ生基液(喰菌子數32.5)ニ於テハ5分間煮基液(喰菌子數33.5)ニ比シテ劣勢ニシテ、120分間煮基液(喰菌子數32)ト殆ド相等シク、對照タル0.5% 石炭酸食鹽水(喰菌子

數22)ヨリモ僅カニ大ナリシニ過ギザリキ。

他方、溶連菌「アナワクチン」ニ於テモ、30分間煮基液ハ最大喰菌作用(喰菌子數80)ヲ惹起シ煮沸時間ノ30分ヨリモ短カキカ或ハ長キニ互ル煮基液ニ於テハ僅喰菌作用ハ却テ小ナリキ。

最大ノ抗原性能働カヲ得ル爲ニ必要ナル溶連菌「アナワクチン」基液ノ好適煮沸時間ハ30分間ナルコトガ立證セラレタリ。

此際「アナワクチン」煮基液ハ「ワクチン」煮基液ヨリモ嶄然優秀ナル能力ヲ發現シタリ。換言スレバ普通ノ「ワクチン」基液ヨリモ「アナワクチン」基液ニ包含セラル、抗原性物質ノ方ガ顯著ニ大ナルコトガ立證セラレタリ。

五 實驗第二 可檢抗原ノ毒力

實驗甲 對「マウス」最小致死量ヨリ觀タル毒力

溶連菌「ワクチン」及ビ同「アナワクチン」生基液並ニ30分間煮基液ヲソレゾレ「マウス」ノ腹腔中ニ注射シ、24時間後ニ於ケル轉歸ヲ以テ最小致死量ヲ決定セリ。實驗結果ハ第5表乃至第8表ニ示セルガ如シ。

第5表 溶連菌「ワクチン」生基液ノ
對「マウス」最小致死量

「マウス」			注射量(兎)	轉歸
番號	體重(瓦)	性		
I	10	♂	0.2	病
II	11	♂	0.2	生
III	11	♂	0.3	病
IV	12	♂	0.3	病
V	12	♂	0.4	病
VI	12	♂	0.4	死
VII	12	♂	0.5	死
VIII	12	♂	0.5	死

第6表 溶連菌「ワクチン」煮基液ノ
對「マウス」最小致死量

「マウス」			注射量(兎)	轉歸
番號	體重(瓦)	性		
I	11	♂	0.8	生
II	12	♂	0.8	生
III	11	♂	0.9	病
IV	12	♂	0.9	病
V	12	♂	1.0	死
VI	12	♂	1.0	死
VII	12	♂	1.1	死
VIII	12	♂	1.1	死

第7表 溶連菌「アナワクチン」生基液ノ
對「マウス」最小致死量

「マウス」			注射量(兎)	轉歸
番號	體重(瓦)	性		
I	10	♂	1.4	病
II	11	♂	1.4	生
III	11	♂	1.5	病
IV	12	♂	1.5	病
V	10	♂	1.6	病
VI	11	♂	1.6	死
VII	11	♂	1.7	死
VIII	11	♂	1.7	死

第8表 溶連菌「アナワクチン」煮基液ノ
對「マウス」最小致死量

「マウス」			注射量(兎)	轉歸
番號	體重(瓦)	性		
I	10	♂	1.6	生
II	11	♂	1.6	生
III	10	♂	1.7	病
IV	10	♂	1.7	病
V	11	♂	1.8	死
VI	11	♂	1.8	死
VII	10	♂	1.9	死
VIII	11	♂	1.9	死

所 見 概 括

可檢材料ノ最小致死量ハ溶連菌「ワクチン」生基液＝於テハ0.4㏍、同煮基液＝テハ1.0㏍、溶連菌「アナワクチン」生基液＝テハ1.6㏍而シテ同煮基液＝テハ1.8㏍ナリキ。即チ「アナワクチン」煮基液：同生基液：「ワクチン」煮基液：同生基液ノ毒力ノ比ハ 2：5：8：9 ノ如シ。

實驗乙 血中白血球數ノ動搖ヨリ觀タル毒力

溶連菌「ワクチン」及ビ同「アナワクチン」生・煮基液各 1.0㏍宛ヲ海狸ノ腹腔内ニ注射シ、注射後各經過時間ニ於ケル血中白血球數ノ動搖ヲ觀察シ、以テ各可檢材料ノ毒力ノ順位ヲ定メタリ。

他方、對「マウス」最小致死量ヨリ知り得タル各抗原ノ毒力ノ比ニ從テ、溶連菌「ワクチン」生基液0.2㏍、同煮基液0.4㏍及ビ溶連菌「アナワクチン」生基液0.8㏍、同煮基液0.9㏍ヲ海狸腹腔中ニ注射シ白血球數ノ動搖ヲ各經過時間毎ニ算上シ、各抗原ノ毒力ノ關係ヲ明示セリ。實驗結果ハ第9表、第10表並ニ第4圖及ビ第5圖ニ示セルガ如シ。

第9表 溶連菌「ワクチン」及ビ溶連菌「アナワクチン」生・煮基液各1.0㏍宛
注射後ニ於ケル血中白血球數ノ動搖(3頭平均)

抗原 採血時間	白血球	溶連菌「ワクチン」				溶連菌「アナワクチン」			
		生基液		煮基液		生基液		煮基液	
		1.0㏍		1.0㏍		1.0㏍		1.0㏍	
		單位容積内 絶對數	増減率	單位容積内 絶對數	増減率	單位容積内 絶對數	増減率	單位容積内 絶對數	増減率
注射前		3716	1.00	3800	1.00	4183	1.00	4800	1.00
注射後	30'	2983	0.80	3083	0.81	4916	1.17	4916	1.02
	60'	1633	0.43	2683	0.70	7300	1.74	6983	1.45
	120'	1150	0.30	5933	1.56	4883	1.16	5766	1.20
	240'	1800	0.48	7216	1.89	5283	1.26	4383	0.91
	480'	7816	2.10	5700	1.50	4233	1.01	5133	1.06
平均			0.82 ¹⁾		1.29		1.27		1.13 ²⁾

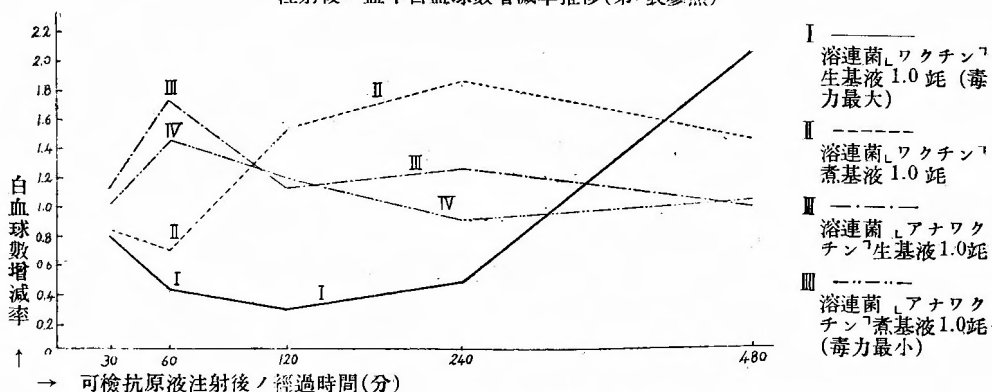
1) 白血球過少顯著(毒力大ナルノ徴)、2) 白血球過多ノ程度最小(毒力最小ナルノ徴)

第10表 對「マウス」最小致死量ニ準據シテ同一毒力タラシムベク溶連菌「ワクチン」生基液0.2㏍同煮基液0.5㏍及ビ溶連菌「アナワクチン」生基液0.8㏍同煮基液0.9㏍ヲ注射セル後ニ於ケル血中白血球數ノ動搖(3頭平均)

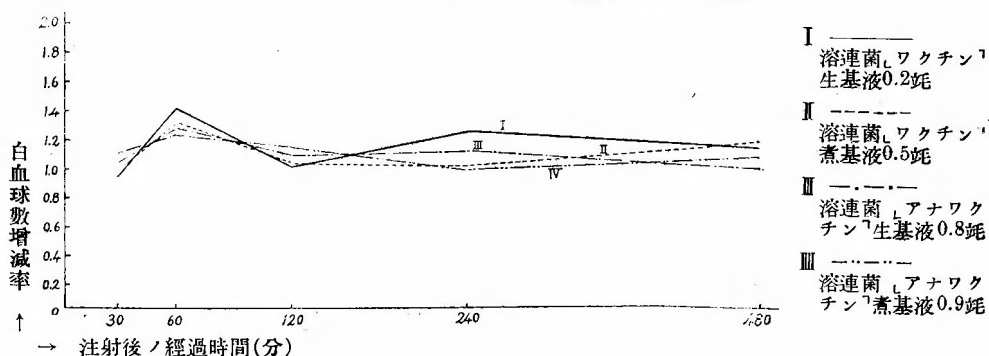
抗原 採血時間	白血球	溶連菌「ワクチン」				溶連菌「アナワクチン」			
		生基液		煮基液		生基液		煮基液	
		0.2㏍ ¹⁾		0.5㏍ ¹⁾		0.8㏍ ¹⁾		0.9㏍ ¹⁾	
		單位容積内 絶對數	増減率	單位容積内 絶對數	増減率	單位容積内 絶對數	増減率	單位容積内 絶對數	増減率
注射前		3983	1.00	4100	1.00	4850	1.00	4583	1.00
注射後	30'	3783	0.94	4000	0.97	5133	1.05	5083	1.10
	60'	5583	1.40	5383	1.31	6300	1.29	5816	1.26
	120'	4033	1.01	4183	1.02	5333	1.09	5316	1.15
	240'	5100	1.28	4383	1.06	5583	1.15	4883	1.06
	480'	4700	1.18	4933	1.20	4916	1.01	5050	1.10
平均			1.16 ²⁾		1.11 ²⁾		1.12 ²⁾		1.13 ²⁾

1) 對「マウス」最小致死量(第5—8表)ニ準據セル同一毒力量
2) 白血球數ノ動搖率殆ンド同一(同一毒力ノ徴)

第4圖 溶連菌¹ワクチン¹及ビ溶連菌¹アナワクチン¹各生・煮基液
注射後ノ血中白血球數増減率推移(第9表参照)



第5圖 溶連菌¹ワクチン¹及ビ溶連菌¹アナワクチン¹各生・煮基液同一
毒力量注射後ノ血中白血球數増減率推移(第10表参照)



所見概括

第9表及ビ第4圖ニヨレバ溶連菌¹ワクチン¹生基液ニ於テハ注射後漸次白血球過少(Leucopenie)ヲ起シ、4時間目ニ至ルモ其ノ増減率ハ依然 0.48 ニシテ、以後白血球數初メテ増加ノ傾向ヲ示シ、8時間目ニ白血球増加率 2.10 トナリタリ。同煮基液ニテハ1時間目迄ハ白血球過少ヲ起シ、以後漸次増加ヲ來シ、4時間目ニ最高 1.89 トナリタリ。

溶連菌¹アナワクチン¹生基液ノ場合ニハ、注射後白血球過少ヲ惹起スル事ナク、1時間目ニ白血球過多最高率 1.74 ニ達シ、逐次ソノ數ヲ減少セリ。同煮基液ハ注射後1時間目ニ白血球最大増加率 1.45 ニ達シタルモ、時間ノ經過ニ連レ漸次正常數ニ接近シ來レリ。

上記ノ所見ニヨレバ各可檢材料ノ毒力ノ順位ハ最小致死量ヲ指標トナシタル場合ト全ク一致セリ。

第10表及ビ第5圖ニ就テ觀察スルニ、最小致死量ニ應ジテ同一毒力トナル様ニ各可檢材料ノ注射量ヲ加減シタル場合ハ血中白血球數ノ動搖ハ殆ト相等シク、且ツ増減率ノ平均ニ於テモ特

筆スベキ差違ヲ生ゼズ。即チ毒力同一ナル時ハ白血球數ノ推移モ亦タ同一ナルモノタルコトガ立證セラレタリ。

六 「ワクチン」乃至「アナワクチン」中ニ含有セラレタル溶連菌ノ所見

同一出發材料ヨリ得タル「ワクチン」及ビ「アナワクチン」ヲ遠心シテ、菌體ヲ「メチレン」青ニテ染色シ鏡檢シタルニ、圖版第1圖及ビ第2圖ノ所見ヲ得タリ。即チ「アナワクチン」中ノ菌體ハ一般ニ稍々膨大セルヲ認ム。

沈澱計ノ檢査ニヨレバ「ワクチン」1 兎中ノ菌渣容積ハ0.0022兎ナルニ對シ、「アナワクチン」ニテハ0.0035兎、即チ100對159ノ比ニ於テ菌容積ノ増大(菌體ノ膨大)ヲ認ム。

七 所見總括並ニ考察

前記各種檢査ノ結果ハ第11表ニ總括セラレタリ。

第11表 溶連菌「ワクチン」ト「アナワクチン」トノ毒力、効力ノ比較(實驗結果總括)

檢査事項	「ワクチン」		「アナワクチン」	
	生 基 液	30' 煮 基 液	生 基 液	30' 煮 基 液
對「マウス」最小致死	9	8	5	2
	100	89	55.5	22.2
量ニヨル毒力ノ比	—	100	100	40
	—	—	—	25
最大喰菌子ヨリ觀タ	32.5(50)	65.0(100)	31.0(38.7)	80.0(100)
	100	200	95.5	246
ル抗原能動力ノ比	—	—	100	258
	—	100	—	123
喰菌子百分比ノ減少ニ示サレタル「イムペヂン」量	50%		61.3%	
同一毒力ヨリ觀タル	100	500	382	1107
	—	—	100	645
抗原性能動力ノ比	—	100	—	492

以上ノ成績ニヨレバ「アナワクチン」法ニヨリテ、第1) 毒力ハ 9對5=100對55.5ノ比ニ減弱シ、第2) 抗原性能動力ハ32.5對31.0即チ100對95.5ノ比ニ減弱スルコトヲ知ル。

即チ溶連菌ニ關シテハ「アナワクチン」ヲ調製スル方法ニヨリテ毒力が殆ンド半減セラル、コトハ甚ダ佳ナルモ、同時ニ抗原性能動力モ亦タ輕度ナガラ減弱スルモノナリ。

此ノ事實ハ既ニ赤痢菌ニ關シテモ林文氏ニヨリテ立證セラレタリ(文獻參照)。

然レドモ「アナワクチン」ガ普通ノ「ワクチン」ヨリモ實用上有效ナル譯ハ、抗原性能動力ノ減弱セル割合ヨリモ、毒力ノ減弱程度ノ方ガ非常ニ大(前文參照)ナルヲ以テ、「ワクチン」ト同一程度ノ毒力ナリトスレバ「ワクチン」以上ノ抗原性能動力ヲ發揮スルヲ以テナリ。

何故ニ「アナワクチン」ノ抗原性能動力ハ出發材料タル原「ワクチン」ニ比シ多少劣ルニ至リシヤノ疑問ハ容易ニ諒解セラル。即チ「フオルマリン」操作ニヨル時ハ菌體ハ膨大シ、從テ菌物

質(毒素)モ亦タ菌體ヲ去リテ基液中ヘ移行スルモノナリ。然レドモ菌體ヲ去リテ基液中ヘ移行シタル菌物質ハ「イムペデン」ヲ含有スルガ故ニ、此ノ阻止作用ニヨリテ抗原性能働カハ出發材料タリシ原「ワクチン」ニ於ケルヨリモ却テ幾分減殺セラル、ニ至リシモノナリ。

此間ノ消息ヲ明示スルモノハ「イムペデン」完全破却ノ結果ナリ。即チ 100°C 30分ノ煮沸ニヨリテ「イムペデン」ノミガ完全ニ破却セラレ、從テ最大ノ抗原性能働カガ發揮セラル、ニ至リタル場合ノ能働カヲ喰菌子價ニヨリテ示ス時ハ下ノ如シ。

原「ワクチン」30分煮基液ヲ以テノ最大喰菌子=65.0(100)

「アナワクチン」30分煮基液ヲ以テノ最大喰菌子=80.0(123)

即チ原「ワクチン」基液ヨリモ「アナワクチン」基液ノ抗原性能働カノ方ガ元來大ナルモノニシテ、其ノ比ハ「原」對「アナ」=65對80=100對123ノ如シ。

然レドモ「イムペデン」ヲ含有スル狀態ニ於ケル抗原性能働カハ下ノ如シ。

原「ワクチン」生基液ヲ以テノ喰菌子=32.5(100)

「アナワクチン」生基液ヲ以テノ喰菌子=31.0(95.3)

以上事實ノ對比ニヨリテ次ノ事項ヲ認識シ得可シ。

1. 「アナワクチン」ニテハ抗原性物質ハ菌體ヲ去リテ基液中ヘ移行スルヲ以テ、基液ノ抗原性能働カハ「ワクチン」ニ於ケルヨリモ大トナルノ理ナレドモ、抗原性物質ニ負荷セラレタル「イムペデン」ノ阻止勢力ニヨリテ實際上ニハ抗原性能働カハ却テ「ワクチン」ヨリモ小トナルコトモアルモノナリ。本研究ニテハ100對95.3ノ比ニテ小トナリタリ。

2. 然レドモ「イムペデン」ヲ破却スル時ハ抗原性能働カガ全幅的ニ發揮セラル、ニ至ルヲ以テ、「アナワクチン」基液ニ於ケル抗原性能働カノ增強ガ始メテ立證セラル、ニ至ルモノナリ。本研究ニテハ100對123ノ比ニテ大トナリタリ。

3. 以上ノ次第ナルヲ以テ「ワクチン」ヨリ「アナワクチン」ヲ製出シテモ、其ノ「イムペデン」ヲ破却セザル限り、抗原トシテノ眞ノ價值ハ發揮セラレズシテ却テ原「ワクチン」ヨリモ小ナルコトモアルモノナリ。

4. 唯ダ、「ワクチン」ヨリモ「アナワクチン」ガ實地上有效ナルハ「アナワクチン」ニテハ毒力減弱ノ程度ガ100對55.5ノ比ニ小トナリタルニ對シ、抗原能働カノ減弱ハ僅カニ100對95.5ノ比ニ過ギザルガ故ニ、「ワクチン」・「アナワクチン」同一毒力ノ立場ヨリスレバ「アナワクチン」ノ抗原性能働カハ「ワクチン」ニ比シ100對171ノ比ニ於テ大ナルノ理トナルガ故ナリ。

5. 然ルニ「イムペデン」ヲ破却シタル狀態ニテハ、「アナワクチン」ノ毒力ハ「ワクチン」ニ比シ $8:2=100:25(1/4)$ ニ減弱セラレ、他方抗原能働カハ $65:80=100:123$ ノ比ニ增強セラレタリ。故ニ同一毒力ノ立場ヨリスレバ「アナワクチン」ノ抗原能働カハ「ワクチン」ニ比シ100對492ノ比ニテ大ナルノ理トナルベシ。

6. 以上ノ考察ニヨリテ「ワクチン」ヨリモ「アナワクチン」ノ方ガ實用上有效ナレドモ、然レ

ドモ原「ワクチン」ヨリモ煮「ワクチン」ノ方が更ニ有效ナリ。マタ原「アナワクチン」ヨリモ煮「アナワクチン」ノ方が更ニ一層有效ナリ。即チ現在ニ於ケル學術ノ程度ニテハ煮「アナワクチン」ガ毒力最小ニシテ效力最大ナルモノタルコトヲ認識スベシ。

備考。本研究ニ於テハ「ワクチン」乃至「アナワクチン」全體トシテノ毒力及び抗原能動力ヲ論ゼズシテ、菌體ヲ除外シタル「ワクチン」乃至「アナワクチン」ノ基液ヲ研究シ、其ノ成績ニヨリテ以テ「ワクチン」及び「アナワクチン」全體ヲ論ジタリ。是レ「ワクチン」乃至「アナワクチン」ノ効力ナルモノハ其ノ含量體トハ殆ンド何等ノ關係無キモノナルコトガ先人ノ研究ニヨリテ既ニ十分ニ立證セラレ居ルヲ以テナリ(伊藤肇、藤網長一等多クノ論文参照)。

結 論

1. 「アナワクチン」法ニヨレバ、原「ワクチン」ニ比シ毒力ハ一定度ニ減弱ス。溶連菌ニ就テノ検査ニテ、對「マウス」最小致死量ニ據レバ此ノ毒力ノ減弱ハ 100 : 55.5 ノ比ナリキ。

2. 然ルニ原「ワクチン」ヲ單ニ30分間 100° Cニ加熱スルコトニヨル毒力減弱程度ハ 100 : 89 ノ比ナリキ。故ニ「アナワクチン」法ノ方が煮沸法ヨリモ毒力減弱程度大ナリ。

3. 他方、「アナワクチン」ニ向ツテ煮沸法ヲ適用セルニ毒力ハ 100 : 40 ノ比ニ(原「ワクチン」ニ比スレバ 100 : 22.2 ノ比ニ)減弱セリ。故ニ毒力減弱ノ目的ニ向ツテハ「アナワクチン」法ニヨリテ一定度ニ毒力が減弱セラレタルモノニ對シ、更ニ煮沸法ヲ利用スル時ハ最も效果的ニシテ最大ノ毒力減弱ヲ來スモノナリ。

4. 抗原性能動力ハ「アナワクチン」法ニヨレバ却テ多少減少ス。余等ノ研究ニテハ 100 : 95.5 ノ比ニ於テ此ノ減少ヲ認メタリ。

5. 之ニ反シ煮沸法(「イムペヂン」破却方法)ニヨル時ハ、抗原能動力ハ顯著ニ增強セラル。余等ノ研究結果ニテハ此ノ增強ハ原「ワクチン」生・煮ノ間ニテハ 100 : 200 ノ比ニ於テ、「アナワクチン」生・煮ノ間ニテハ 100 : 258 ノ比ニ於テ、マタ出發材料タル原「ワクチン」對煮「アナワクチン」ノ比較ニテハ 100 : 246 ノ比ニ於テ增強セラレタリ。

即チ最大ノ抗原能動力ヲ得ンガ爲ニハ、「原ワクチン」ニ向ツテ直チニ「イムペヂン」破却法(例ヘバ煮沸法)ヲ加フルコトナクシテ、先ヅ之ヲ「アナワクチン」ト爲シ、次デ之ニ煮沸法ヲ應用スルコトガ效果的ニシテ、此ノ方法ニヨリテ最大ノ抗原能動力ノ發揮ヲ期待シ得ベシ。

6. 「イムペヂン」ヲ完全ニ破却シ以テ最大ノ抗原能動力ヲ發揮セシムル爲ニ必要ナル煮沸時間ハ溶連菌ニ就テハ30分間ナルコトガ立證セラレタリ。

7. 「アナワクチン」法ニヨレバ菌體ハ膨大シ、菌物質(即チ毒素)ハ基液中ヘ移行シ、從テ基液中ニハ抗原能動力ノミナラズ「イムペヂン」量モ亦増加ス。モシモ「イムペヂン」量一定度ニ大ナル時ハソノ阻止作用ニヨリテ「アナワクチン」基液ノ實際上ノ抗原能動力ハ原「ワクチン」ヨリモ却テ減弱ス。本研究結果ニテハ此ノ減弱程度ハ 100 : 95.5 ノ比ナリキ。

8. 原「ワクチン」中ノ「イムペヂン」含量ハ喰菌子減弱度ヲ指標トスレバ50%ナリシニ對シ、

「アナワクチン」中ノ「イムペヂン」含量ハ61.3%ナルコトガ立證セラレタリ。

9. 故ニ「アナワクチン」ハ其儘實用ニ供スベキモノニ非ズ、必ズ之ヲ一定時間煮沸シテ以テ「イムペヂン」ヲ完全ニ破却シタル上ニテ使用スベキモノナリ。此ノ操作（「イムペヂン」完全破却操作）ニヨリテ、一面ニハ毒力ハ更ニ一層輕減セラレ、他面ニハ抗原能働力ハ最大值ニ達スルモノナリ（第11表參照）。

10. 前記8ノ項ニ述ベタルガ如ク原「ワクチン」ニテハ「イムペヂン」含量50%、
「アナワクチン」ニテハ「イムペヂン」含量ソレヨリモ大ニシテ61.3%ナリ。故ニ「アナワクチン」製造方法ニヨリテハ「イムペヂン」ソレ自身ハ減弱スルコト無キノミナラズ、却テ「イムペヂン」含有菌物質ガ菌體ヲ去リテ基液中ヘ移行スルコトニヨリテ、「イムペヂン」ノ含量ハ大トナルモノナリ。
「アナワクチン」ガ原「ワクチン」ニ比シ實用上無毒トナリタルハ決シテ「イムペヂン」ノ破却セラレタルニ原因スルモノニ非ザルコトヲ知ルベシ。『毒力即チ「イムペヂン」力ニ非ザルコト』ハ此ノ事實ニヨリテモ亦知ルベキナリ。

文 獻

- 1) 藤網晨一、免疫元トシテノ菌體ノ價值。第1報 虎菌普通加熱「ワクチン」基液更新ニ於ケル「菌體」上澄「凝集素產生能力」ノ比較。日本外科實函、第5卷、第1號（昭和3年1月）。 2) 同人、虎菌普通加熱「ワクチン」ヨリ得タル生・煮兩上澄液ノ毒力、効力ノ比較。附・生・煮兩免疫元ノ生物學的根本的相違。日本外科實函、第5卷、第2號（昭和3年3月）。 3) 林 文、赤痢本型菌「アナワクチン」ノ含有スル「イムペヂン」ノ立證。日本外科實函、第8卷、第6號（昭和6年11月）。 4) 同人、赤痢本型菌「アナワクチン」ノ含有スル「イムペヂン」ヲ破却スルニ必要ナル好適煮沸時間ニ就テ。日本外科實函、第8卷、第6號（昭和6年11月）。 5) 同人、傳研製赤痢「ワクチン」中ノ菌體ハ「イムペヂン」ヲ含有スルヤ。日本外科實函、第9卷、第2號（昭和7年3月）。 6) 伊藤 肇、「ワクチン」、「ワクチン」上澄液及ビ「ワクチン」含菌體ノ免疫學的研究。日本外科實函、第3卷、第1號（大正15年）。 7) 猪木隆三、煮沸免疫元トシテハ上澄液ト濾過液ト何レガ優秀ナリヤ。附・腸管扶菌菌煮沸免疫元最小粒子ノ大サ。日本外科實函、第6卷、第4號（昭和4年7月）。 8) 澤田文治、「ワクチン」含菌體「コクチゲン」浮游液ノ免疫元能働力ニ就テ。滿洲醫學雜誌、第7卷、第2、3號（昭和2年9月）。 9) 同人、「ワクチン」上澄ヲ「コクチゲン」ト置換ヘタル改良「ワクチン」ノ免疫元性能働力ニ就テ。滿洲醫學雜誌、第7卷、第5號（昭和2年11月）。 10) 勝呂 馨、細菌純培養無菌體濾液ノ異種細菌喰噬作用ニ及ボス影響ニ就テ。東京醫學會雜誌、第38卷、第4號（大正13年4月）。 11) 同人、喰菌作用ヲ指標トヘル煮沸免疫元ノ實驗の基礎。第6報。東京醫學會雜誌、第39卷、第10號（昭和14年10月）。 12) Torikata, R., Koktopräzipitinogene und Koktoimmunogene. Bern, 1917. 13) 同人、體內ニ侵入セル細菌毒素ノ運命ニ就テ。中外醫事新報、第922號（大正7年8月）。 14) 同人、Die Impedinerscheinung. Jena, 1930. 15) 山本宗三郎、肺炎菌生煮兩免疫元（抗原）ノ生物學的差別。第4報、生煮兩抗原液ノ毒力ノ比較。東京醫學會雜誌、第41卷、第3號（昭和2年3月）。

圖 版 說 明

第1圖 作製後2ヶ月目ノ溶連菌「ワクチン」中ノ菌體。殆ンド變化ヲ認メズ。

第2圖 作製後2ヶ月目ノ溶連菌「アナワクチン」中ノ菌體。著明ナル膨大ヲ認ム。但シ染色力ニハ大差ナシ。容量の検査法ニテハ「アナワクチン」中ノ菌容積ハ「ワクチン」ニ比シ 159:100 ノ比ニ膨大セリ。