

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

原 著

ウェルシ・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 ウェルシ・フレンケル氏瓦斯壞疽菌「アナト
キシ」ノ含有スル「イムペジン」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 0,3proz. 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 0,3proz. 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 KF_{30'}.
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 KF_{30'}.

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

1,0	bei NF,
0,666	bei KF _{30'} ,
0,4	bei NAT ₃ und
0,266	bei NAT ₆

Versuchsanordnung.

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
KF _{30'}	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 gleichgestellten 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

「*イムペジン*」學説ニヨレバ『細菌性生免疫元ハ總テ「*インペジン*」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「*イムペジン*」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「*イムペジン*」ヲ含有スルモノナリヤ否ヤ。尙「*アナトキシン*」學説ニ從ヘバ「*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代ヲ通シテ毒性ヲ増強セシメタル後 (實驗ノ結果家兎通過ヨリモ鳩通過ガ毒性増強ノ效果顯著ナリ) 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 I_3 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 $\perp$ アナトキシン $\perp$ ヲ作ル目的ニテ添加シタル $\perp$ フォルマリン $\perp$ 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 $\perp$ アンブルレ $\perp$ 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 $\perp$ アナトキシン $\perp$ (略符 NAT₃)

前記原生毒ノ1部=0.3%ノ比ニ日本藥局法 $\perp$ フォルマリン $\perp$ 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 $\perp$ アナトキシン $\perp$ (略符 KAT₃)

前記3週間 $\perp$ アナトキシン $\perp$ ノ1部ヲ $\perp$ アンブルレ $\perp$ 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 $\perp$ アナトキシン $\perp$ (略符 NAT₆)

前記3週間 $\perp$ アナトキシン $\perp$ 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 $\perp$ アナトキシン $\perp$ (略符 KAT₆)

前記6週間 $\perp$ アナトキシン $\perp$ ノ1部ヲ $\perp$ アンブルレ $\perp$ 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 $\perp$ アナトキシン $\perp$ ハ何レモ生 $\perp$ アナトキシン $\perp$ ト同一ノ外觀ヲ呈シ煮沸ノ結果トシテ濁瀾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部ヲ取リ置キシモノナリ (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 BF₃)

前記對照肉汁ニ _Lアナトキシン₇ 同様ニ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
	2	10	
3.0	3	10	死
	4	10	
2.5	5	10	死
	6	10	
2.0	7	10	死
	8	10	
1.5	9	10	生
	10	10	
1.0	11	10	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
	2	10	
3.5	3	10	死
	4	10	
3.0	5	10	死
	6	10	
2.5	7	10	生
	8	10	
2.0	9	10	生
	10	10	
1.5	11	10	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% フオルマリン⁷ 加原生毒ノ
對_Lマウス⁷最小致死量

注 射 量 (_L 兎)	マ ウ ス		轉 歸
	番 號	體重(瓦)	
2.5	1	10	死
	2	10	
2.0	3	10	死
	4	10	
1.5	5	10	死
	6	10	
1.0	7	10	生
	8	10	
0.8	9	10	生
	10	10	
0.6	11	10	生
	12	10	
0.4	13	10	生
	14	10	

第4表 3週間_Lアナトキシ⁷ (NAT₃)
ノ對_Lマウス⁷最小致死量

注 射 量 (_L 兎)	マ ウ ス		轉 歸
	番 號	體重(瓦)	
6.5	1	10	死
	2	10	
6.0	3	10	死
	4	10	
5.5	5	10	死
	6	10	
5.0 *	7	10	死
	8	10	
4.5	9	10	生
	10	10	
4.0	11	10	生
	12	10	
3.5	13	10	生
	14	10	

3週間_L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表參照

實驗 E 6週間_Lアナトキシ⁷ノ對_L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_L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_Lアナトキシ⁷ (NAT₆)
ノ對_Lマウス⁷最小致死量

注 射 量 (_L 兎)	マ ウ ス		轉 歸
	番 號	體重(瓦)	
9.0	1	10	死
	2	10	
8.0	3	10	死
	4	10	
7.5	5	10	死
	6	10	
	7	10	
7.0	8	10	生
	9	10	
	10	10	
6.0	11	10	生
	12	10	
5.0	13	10	生
	14	10	

6週間_L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_Lマウス⁷
最小致死量

注 射 量 (_L 兎)	マ ウ ス		轉 歸
	番 號	體重(瓦)	
9.0	1	10	死
	2	10	
8.5	3	10	死
	4	10	
8.0	5	10	生
	6	10	
7.5	7	10	生
	8	10	
7.0	9	10	生
	10	10	
6.5	11	10	生
	12	10	
6.0	13	10	生
	14	10	

實驗 G 0.3%_L フオルマリン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 フオルマリン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 フオルマリン⁷ 加對照肉汁ノ對_L マウス⁷ 最小致死量

注 射 量 (_L 兎)	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 フオルマリン⁷ 加肉汁(BF₃)ノ對_L マウス⁷ 最小致死量

注 射 量 (_L 兎)	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 フオルマリン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 フオルマリン⁷ 加肉汁(BF₆)ノ對_L マウス⁷ 最小致死量

注 射 量 (_L 兎)	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2.0_L 兎, 原毒煮液ハ3.0_L 兎, 0.3%_L フオルマリン⁷ 加原生毒ハ1.0_L 兎, 3週間_L アナトキシン⁷ ハ5.0_L 兎, 6週間_L アナトキシン⁷ ハ7.5_L 兎, 對照肉汁ハ8.5_L 兎, 0.3%_L フオルマリン⁷ 加對照肉汁ハ5.0_L 兎, 3週間_L フオルマリン⁷ 加肉汁ハ7.5_L 兎, 6週間_L フオルマリン⁷ 加肉汁ハ8.0_L 兎ヲ示セリ。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 フオルマリン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 フオルマリン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 兊中鳥瀉教授沈澱計ニテ 2 度目、即チ大略 0.0014 兊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檢査ニ最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瓦内外ノ健康海獺腹腔内ニ中性肉汁10兊ヲ注射シ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兊、0.2兊、0.4兊、0.6兊、0.8兊ト漸次抗原用量ヲ増大シ且ツ同時ニ原菌液ノ 5 倍稀釋狀態ニアル黄色葡萄狀球菌液ヲ用ヒテ同一海獺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
抗原別	NF	KF	NF	KF	NF	KF	NF	KF	NF	KF	食鹽水
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₇ト_L菌₇トノ和即チ喰菌子_L子₇ノ大小ニヨリテ判定シ得ベシ、抗原量0.1
 蚝ヨリ0.8蚝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₇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₇ハ233.7、_L煮₇ハ290.7
 ナリキ。

實驗乙 3週間_Lアナトキシン₇ (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アナトキシン₇ノ_L生₇及ビ_L煮₇兩液各0.1蚝、0.2蚝、0.4蚝、0.6蚝、0.8蚝ト漸次抗原用
 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狸腹腔液ヨ
 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アナトキシン₇生 (NAT₃)及ビ煮液(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蚝ヨリ0.8蚝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₇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アナトキシン₇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アナトキシン₇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₇ハ196.8、
_L煮₇ハ279.4ニシテ_Lフォルマリン₇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₇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査スル
 ヲ要スルモノナリ。

實驗丙 6週間_Lアナトキシン₇ (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アナトキシン₇ノ_L生₇及ビ_L煮₇兩液各0.1蚝、0.2蚝、0.4蚝、0.6蚝、0.8蚝ト漸次抗原用
 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狸腹腔液ヨ
 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 r 生 (NAT_6) 及 p 煮液 (KAT_6) 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_6	KAT_6	NAT_6	KAT_6	NAT_6	KAT_6	NAT_6	KAT_6	NAT_6	KAT_6	食鹽水
喰 菌 子 %	21.3	29	28.7	37	22.7	30.3	22.7	28.3	23	26.7	15
	29.7	41.7	37.7	54.3	33.3	44	34.7	44	31.7	41	22.7
	51	70.7	66.4	91.3	56	74.3	57.4	72.3	54.7	67.7	37.7
	135.3	187.5	176.1	242.2	148.5	197.1	152.3	191.8	145.1	179.6	100

所 見 概 括

抗原量0.1 ccm ヨリ0.8 ccm 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 r ハ遙ニ大ナリキ。即チ6週間 L アナトキシン r 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 L 生 r ハ176.1 L 煮 r ハ242.2ニシテ L フオルマリン r 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 r 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 L フオルマリン r 添加ニヨル L アナトキシン r 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 L フオルマリン r 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 p 考按

實驗甲、乙、丙ハ何レモ各實驗ニ於ケル生及 p 煮液ノ喰菌作用促進能力ノ大小從テソレニ據リテ亦タ L イムベヂン r 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 L イムベヂン r ノ大小ヲ統一ノ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 p 6週間 L アナトキシン r 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-)
抗原量(ccm)						
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 イムベジン ⁷ 作用	19.6	—	29.6	—	27.3	—
毒力ヲ考慮セザル際ニ 於ケル最大抗原能働 力ノ比	100	124	84.2	119.6	75.4	103.6
同一毒力ノ下ニ於ケル 最大抗原能働力	100	186.0	220.5	296.0	283.0	389.4

() 内ノ數字ハ對_Lマウス⁷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(最大抗原能働力)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. 抗原能働力ハ_Lアナトキシン⁷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イムベジン⁷ヲ含有スルノ證左ナリ。

2. 最大抗原能働力ヲ生・煮兩抗原ニ就テ比較スル時ハ_Lイムベジン⁷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 アナトキシン ⁷ ニテハ	29.6%
6週間 _L アナトキシン ⁷ ニテハ	27.3%

即チ單純ノ抗原ニ_Lフォルマリ_Nヲ添加シテ_Lアナトキシ_Nヲ作り毒力ハ甚ダシク輕減セラレテモ其際_Lイムベジ_N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イムベジ_N勢力(19.6%)ハ3週間_Lアナトキシ_N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_N中ニ含有セラレタル_Lイムベジ_N勢力(29.6%)ハ6週間_Lアナトキシ_N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_N法ニヨリテ_Lイムベジ_N勢力ハ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_Nトナリシガ爲ニ_Lイムベジ_N量ハ却テ増大セルモノニハアラザルモ_Lイムベジ_N勢力ハ抗原能働力ト連行スルモノニシテ抗原能働力大ナレバ大ナル程_Lイムベジ_N勢力モ亦タ從テ強大ニ顯現セラル、モノタルコトハ_Lイムベジ_N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_N中ノ_Lイムベジ_N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_Nノ抗原能働力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_Nヨリモ6週間_Lアナトキシ_Nノ抗原能働力ハ稍々小ナルコトヲ教フルモノナリ。

3. 最大抗原能働力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_N⁷(100) > 生3週間_Lアナトキシ_N⁷(84.2) > 生6週間_Lアナトキシ_N⁷(75.4)

煮_Lトキシン⁷(124) > 煮3週間_Lアナトキシン⁷(119.6) > 煮6週間_Lアナトキシン⁷(103.6)

即チ_Lアナトキシン⁷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トキシン⁷ト生・煮3週間_Lアナトキシン⁷及ビ生・煮6週間_Lアナトキシン⁷トヲ比較スルニ下ノ如シ。

毒 力	煮 _L トキシン ⁷ ハ原 _L トキシン ⁷ ノ	0.666
	3週間 _L アナトキシン ⁷ ハ原 _L トキシン ⁷ ノ	0.4
	6週間 _L アナトキシン ⁷ ハ原 _L トキシン ⁷ ノ	0.266
抗原能働力	煮 _L トキシン ⁷ ハ原 _L トキシン ⁷ ノ	1.240倍
	3週間生 _L アナトキシン ⁷ ハ原 _L トキシン ⁷ ノ	0.842倍
	煮3週間 _L アナトキシン ⁷ ハ原 _L トキシン ⁷ ノ	1.196倍
	6週間生 _L アナトキシン ⁷ ハ原 _L トキシン ⁷ ノ	0.754倍
	煮6週間 _L アナトキシン ⁷ ハ原 _L トキシン ⁷ 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 トキシン ⁷	1.860
	生3週間 _L アナトキシン ⁷	2.205
	煮3週間 _L アナトキシン ⁷	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 アナトキシン ⁷	2.83
	煮6週間 _L アナトキシン ⁷	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トキシン⁷ヲ直チニ好適時間ダケ煮沸シテ「イムベジン」ノミヲ破却シタルモノヨリモ、3週間生_Lアナトキシン⁷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アナトキシン⁷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アナトキシン⁷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アナトキシン⁷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アナトキシン⁷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週間ノ場合ノ方が同一毒力⁷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アナトキシン⁷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「アナトキシン」法ニヨリテ毒力ハ非常ニ輕減セラル、モノナレドモ「イムベジン」含量ハ依然トシテ保存セラレ、又「イムベジン」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「アナトキシン」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「トキシン」ノ抗原能働カハ18.6ナルニ對シ、3週間「アナトキシン」煮液ノソレハ29.6、6週間「アナトキシン」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「毒力」ソレ自身ハ決シテ「イムベジン」ト同名異物 (identisch) ニ非ザルコトヲ知ルベキナリ。然レドモ「イムベジン」存在ノ下ニアリテハ抗原ハ喰燼セラレ難キガ故ニ從テ「イムベジン」含有抗原ハ無「イムベジン」抗原ヨリモ毒力大ナルモノナリ(「イムベジン」學說參照)。

結 論

ウエルシ・フレンケル氏瓦斯壊疽菌ニ就テ下ノ事實ヲ證シ得タリ。

1. 「アナトキシン」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「トキシン」ヨリモ3週間「アナトキシン」、ソレヨリモ亦タ6週間「アナトキシン」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「トキシン」ノ抗原能働カヲ1.0トスレバ煮「トキシン」及ビ各「アナトキシン」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「トキシン」・	1.24
3週間「アナトキシン」生	0.842
同 上 煮	1.196
6週間「アナトキシン」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「トキシン」ノ1.0ニ比較スレバ次ノ如シ。

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

4. 瓦斯壊疽菌ニ就テハ煮沸法ニヨル毒力ノ減弱程度ハ「アナトキシン」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。