

日本外科寶函 第11卷 第4號
ARCHIV FÜR JAPANISCHE CHIRURGIE
XI. BAND, IV. HEFT.

原 著

實扶的里¹ アナトキシ¹ノ含有スル
イムペヂ¹ン¹ノ立證

京都帝國大學醫學部外科學教室(鳥潟教授指導)

大學院學生 醫學士 石 原 象 一

Nachweis des Impedins im Diphtherieanatoxin

Von

Dr. Z. Ishihara

(Aus der I. Kais. Chir. Universitätsklinik Kyoto (Prof. Dr. R. Torikata))

1. Das primäre Diphtherietoxin zur Herstellung des Anatoxins

Wir haben den Stamm *Park Williams* Bacillus Nr. 8, den wir dem Direktor des *Meguro*-Instituts für die experimentelle Therapie, Herrn Prof. Dr. Y. *Meguro*, verdanken, in *Martin*-Bouillon mit pH = 7,49 8 Tage lang bei 36°C gezüchtet.

Die Kulturbouillon haben wir durch eine *Berkefeld*-Kerze L_3 filtriert. Die auf diese Weise erhaltene Toxin-Bouillon, d. h. das primäre Toxin, zeigte pH = 8,04 und enthielt eine Toxizität, die 5 des *Behring*-schen Standardtoxins entspricht, also $L_0 = 1/500$.

2. Herstellungsweise des Anatoxins

Das Primärtoxin haben wir in 0,4 proz. Formollösung versetzt, indem 0,4 ccm der 35 volumprozentigen Formalinlösung mit 99,6 ccm des Primärtoxins vermengt wurden. Dieses Gemisch wurde 4 Wochen lang in einem Thermostat von 39°C gelagert.

3. Toxizität des Anatoxins

Die Dosis letalis minima des auf die oben erwähnte Weise hergestellten Anatoxins für

normale Meerschweinchen mit einem Körpergewicht von 240–260 gr. liess sich nicht feststellen, da selbst 5,0 ccm des Anatoxins sogut wie die Kontrollbouillon mit 0,4 proz. Formalinlösung auf die Versuchstiere weder mortal noch morbid wirkten.

4. Testmaterialien

1) Das Anatoxin ($At_x N$)

Das auf die oben erwähnte Weise hergestellte und geprüfte Anatoxin.

2) Das abgekochte Anatoxin ($At_x K10'$)

Das originale Anatoxin ($At_x N$) haben wir in einem bei 100°C siedenden Wasserbade 10 Minuten lang der Siedehitze ausgesetzt. Dabei entstand weder eine Trübung, noch ein Niederschlag, das abgekochte Toxin blieb wasserklar.

3) Kontrollbouillon mit 0,4 proz. Formalinzusatz (BF)

Die als Nährboden diente *Martin-Bouillon* haben wir zur Kontrolle herangezogen, nachdem sie in 0,4 proz. Formalinlösung versetzt und 4 Wochen lang bei 39°C aufbewahrt worden war.

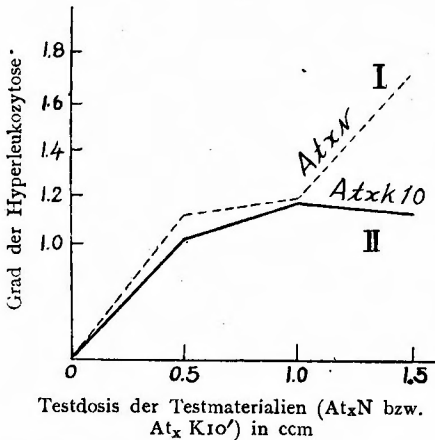
5. Versuchsanordnung

Wir haben die Wirkung der Testmaterialien, die die normale Phagozytose im zirkulierenden Blute zu fördern, nach der Angabe von *R. Kanowoka* geprüft (vgl. *R. Torikata*, Die Impe-
dinerscheinung, *Jena* 1930, S. 768–779).

6. Versuchsergebnisse

Die Ergebnisse der Versuche gehen aus Figuren I und II deutlich hervor.

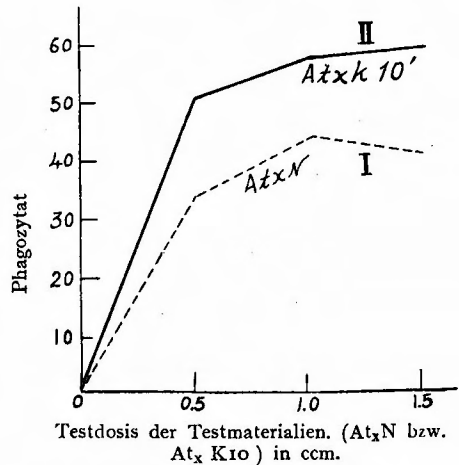
Fig. I.



Die Schwankung der Leukozytenzahl bei Einverleibung von einer einheitlichen Standardaufschwemmung der Staphylokokken und variierenden Mengen des nativen Anatoxins ($At_x N$) bzw. des abgekochten Diphtherieanatoxins ($At_x K10'$)

I = $At_x N$.
II = $At_x K10'$.

Fig. II.



Die im Phagozytat dokumentierte, normale Phagozytose der Staphylokokken im zirkulierenden Blute fördernde Wirkung des ungekochten bzw. des abgekochten Diphtherieanatoxins.

I = $At_x N$.
II = $At_x K10'$.

Zusammenfassung

- 1) Wurde die Testdosis von 0,5 ccm an sukzessiv auf 1,5ccm erhöht, sodann ergab das ungekochte Anatoxin At_xN beträchtlich grosse Hyperleukozytose von 1,7, während das abgekochte Anatoxin At_xK10' in dieser Dosis (1,5 ccm) kleinere Hyperleukozytose von 1,17 verursachte.
- 2) Die Antigenavidität des Anatoxins, die sich in der Förderung der im normalen Blutkreislauf vor sich gehenden Phagozytose der Staphylokokken dokumentiert ist, war beim abgekochten Anatoxin deutlich gesteigert worden.
- 3) *Durch Abkochen des Anatoxins bei 100°C während 10 Minuten wurde somit einerseits die Toxizität verkleinert, andererseits die Antigenavidität merklich erhöht worden.*
- 4) Dies ist nichts anderes als die Impedinerscheinung betreffend das Diphtherieanatoxin.
- 5) Die Frage für die optimale Abkochungszeit des Anatoxins zur totalen Regenerierung der im Anatoxin zwar enthaltenen jedoch infolge des Impedins paralyisierten Antigenavidität muss durch besondere Versuche beantwortet werden. (Autoreferat).

緒 言

Löwenstein ハ破傷風毒素, 實扶の里毒素ニ就テ_Lフォルマリン¹添加法ニヨリテ毒力ノミヲ消失セシメ免疫力ヲ依然保存セルモノヲ作り得タリト稱ス。是即チ Ehrlich ノ所謂類毒素 (Toxoid) ナリ。

佛ノ獸醫 Ramon ハ Löwenstein ノ方法ニ從ツテ類毒素ヲ製出シナガラ知ラザルガ如ク装ヒテ別ニ之ヲ Anatoxin ト命名セリ。

爾來_Lフォルマリン¹添加法ニヨリテ Anatoxin ノミナラズ Anavakzin ガ實用上ニ利用セラル、ノ傾向アリ。故ニ余等ハ此等_Lフォルマリン¹法ニヨリテ所謂毒力ノミヲ喪失シタル優秀ナル免疫元ハ眞ニ果シテ優秀ニシテ最早_Lイムベジン¹ヲ含有セザルモノナルヤ否ヤヲ吟味シ以テ_Lイムベジン¹ 學說ヲ匡スノ必要ヲ認ム。

此點ニ關シテハ既ニ 鹿岡廉平氏 (1930) ハ_Lアナトキシン¹モ亦タ_Lイムベジン¹ヲ含有スルコトヲ證セリ。林文博士 (1932) モ亦タ既ニ 志賀赤痢菌ニ就テ_Lアナトキシン¹乃至_Lアナワクチン¹中ニハ依然トシテ原毒素ト同一程度ノ_Lイムベジン¹ヲ含有スルモノナルコト及ビ、從ツテ_Lアナトキシン¹乃至_Lアナワクチン¹モ亦タ 烏潟教授ノ_Lイムベジン¹學說ノ支配下ニ屬スルモノニシテ、即チ原_Lアナトキシン¹ヨリモソレヲ一定時間煮沸シテ_Lイムベジン¹ヲ破却シタル _Lコクチゲン¹ノ方ガ免疫上顯著ニ優秀ナルモノナルコトヲ立證セリ。

余等ハ今茲實扶の里_Lアナトキシン¹ニ就テ詳細ニ_Lイムベジン¹ノ有無ヲ再検査シ且ツ_Lアナトキシン¹ トソレヨリ得タル_Lコクチゲン¹ (_Lアナトキシンコクチゲン¹) トノ優劣ヲ吟味セント欲ス。

實驗材料

1) 實扶的里_Lアナトキシン⁷生液 (AtxN)

大阪實驗治療研究所所長醫學博士目黒庸三郎氏ヨリ分與セラレシ „Park Williams Bacillus Nr. 8” ナル實扶的里菌ヲ菌株トシテ用ヒ、其8日間改良 Martin 氏肉汁純培養液ヲ (培養液ノ pH=7.49, 培養溫度攝氏36度) _L 陶土濾過器ニテ濾過シ淡黃色透明ナル毒素ヲ得タリ (pH=8.04)。本毒素ハ Behring 氏標準毒素ノ5倍ニ相當スル毒力ヲ有セリ (_L 1/500)。該濾液ニ日本藥局法 _L フオルマリン⁷ (35%容量) ヲ0.4%ノ比ニ加ヘ攝氏39度ノ孵卵器内ニ4週間靜置シ_L アナトキシン⁷トシテ試験ニ供セリ。

2) 實扶的里_Lアナトキシン⁷煮沸液 (AtxK₁₀)

前記實扶的里 _L アナトキシン⁷ノ生液ノ一部約15蚝ヲ試験管ニ密閉シ攝氏 100度ニテ沸騰シツ、アル水量約2000蚝ヲ有スル重湯煎中ニテ10分間煮沸セシモノニシテ、得タル煮沸液ハ原生液ト同様ニ全ク淡黃色透明ニシテ沈澱濁濁等ヲ認メズ。

3) 對照 _L フオルマリン⁷加肉汁 (BF)

前記_L アナトキシン⁷製造ニ使用シタル肉汁ノ一部ニ日本藥局法 _L フオルマリン⁷ ヲ0.4%ノ比ニ加ヘ_L アナトキシン⁷ト同様攝氏39度ノ孵卵器内ニ4週間靜置セルモノナリ。
上記_L アナトキシン⁷ヲ作製スルニ當リ、大阪實驗治療研究所所長醫學博士目黒庸三郎氏ハ菌株ヲ惠與セラレ且ツ培養基ノ製法、培養方法等詳細ニ互リ懇切ナル指導ヲ與ヘラレタリ。茲ニ謹ンデ感謝ノ誠意ヲ表ス。

實扶的里_Lアナトキシン⁷ハ果シテ無毒ナリヤ?

最小致死量ヨリ觀タル可檢材料ノ毒力。

試驗動物ハ240—260瓦ノ健常牡海猴ヲ用ヒ、二群ニ分チ一群ノ海猴ノ腹部皮下ニ _L アナトキシン⁷ 生液ヲ、他群ニハ對照_L フオルマリン⁷加肉汁ヲ各々其用量ヲ變ヘ夫々注射シ、注射後4日間ニ於ケル成績ヲ比較觀察セリ。

實驗結果ハ第1及ビ2表ニ示サレタリ。

第 1 表 _Lヂフテリー・アナトキシン⁷ (AtxN) ノ毒力試験成績

モルモット		注射量 (cc)	轉 歸					備 考
番 號	體重(瓦)		24時間	48時間	72時間	96時間	120時間	
1	250	0.5	262	239	227	245	227	○死亡例ナシ ○注射部位ニ赤發、硬結、壞疽ナシ
2	246		252	233	255	266	273	
3	260	1.0	274	274	258	250	212	
4	260		246	225	215	206	216	
5	240	2.0	217	227	237	240	244	
6	250		220	226	230	232	231	

7	242	5.0	253	237	222	216	204
8	246		234	229	242	219	212

第2表 加温0.4%_Lフォルマリン⁷加肉汁(BF)ノ對照試験

モルモット		注射量	轉 歸					備 考
番 號	體重(瓦)		24時間	48時間	72時間	96時間	120時間	
9	244	0.5	223	195	183	187	190	
10	254		220	197	197	209	211	
11	260	1.0	229	218	216	211	205	
12	254		220	229	239	228	234	
13	244	2.0	224	235	252	238	226	
14	244		219	197	214	204	223	
15	247	5.0	240	234	226	211	204	
16	248		234	247	230	221	223	

所 見 概 括

- 1) 可檢材料ハ余等ノ注射量内ニ於テハソノ最小致死量ヲ測定シ得ズ且ツ Herlich-Marx 反應ヲ證明シ得ズ。即チ原毒素ノ最小致死量ノ2500倍ニ相當スル分量ニテモ實扶の里毒素ニ敏感ナル海狸ヲ斃スニ足ラズ。
- 2) _Lアナトキシン⁷ヲ注射セラレタル海狸ハ一般ニ體重ノ減少ヲ來セルモ、對照_Lフォルマリン⁷加肉汁ニテモ亦タ體重ハ減少シ兩群ノ間ニ大差ナシ。
- 3) 故ニ可檢材料ハ對照_Lフォルマリン⁷肉汁ヨリモ毒性大ナラズ。

白血球數ノ動搖ヨリ觀タル可檢材料ノ毒力

試験動物トシテ體重300瓦内外ノ健康牡海狸ヲ用ヒ、一群3頭宛ヨリ成ル二群ニ分ツ。先ヅ試験動物ノ後肢皮下靜脈ヨリ採血シ單位容積内白血球數ヲ計算シ同時ニ塗抹標本ヲ作製シ、次イデ第一群ニハ_Lアナトキシン⁷生液ヲ、第二群ニハ對照_Lフォルマリン⁷加肉汁ヲ各々實驗第1ニハ0.5坵、實驗第2ニハ1.0坵、實驗第3ニハ1.5坵宛ヲ頸靜脈ニ注射ス。其後ハ30分、1時間、2時間、4時間、8時間ノ5回ニ互リ後肢皮下靜脈ヨリ採血シ、血液單位容積内白血球數ヲ計算スルト同時ニ、一方塗抹標本ヲ作製シ注射前ノモノト共ニ中性多核細胞ノ百分率ヲ記上ス。

實驗結果ハ第3、4、及ビ5表ニ示サレタリ。而シテ第1圖ニテ血中白血球増加率曲線ヲ示シ、第2圖ニテ注射量ト白血球増加率ノ總和平均値ヲ示セリ。

第3表 _Lアナトキシン⁷(AtxN)及ビ_Lフォルマリン⁷加肉汁(BF)各0.5坵注射後ノ血中白血球數ノ動搖(3頭平均)

抗 原		AtxN			BF		
白血球 檢血時間	單位容積內 白血球 絕對數	增 減 率	中性多型核 %	單位容積內 白血球 絕對數	增 減 率	中性多型核 %	
注 射 前	5850	1.00	49.5	5416	1.00	32.0	

注 射 後	30'	8033	1.35	54.5	7966	1.47	40.4
	60'	7433	1.26	52.5	5850	1.08	56.0
	120'	10333	1.73	65.2	8366	1.54	70.0
	240'	9000	1.62	70.8	9733	1.80	70.2
	480'	7500	1.28	57.5	6466	1.20	53.8
平 均		8459	1.44	60.1	7666	1.41	58.1

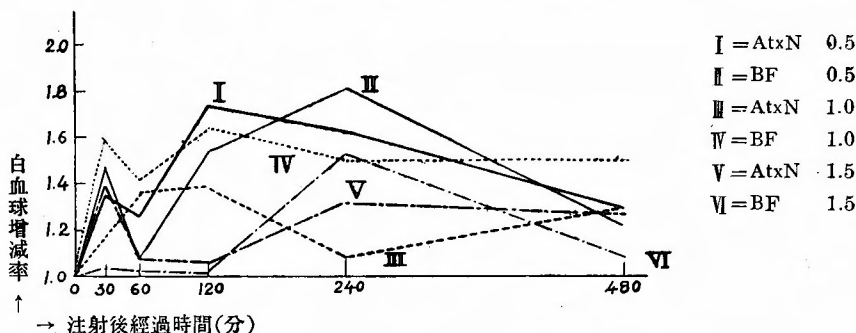
第 4 表 Lアナトキシン⁷(AtxN)及ビ0.4%Lフォルマリン⁷加肉汁(BF)
各1.0cc注射後ノ血中白血球數ノ動搖(3頭平均)

抗 原		Atx N			BF		
檢血時間	白血球	單位容積内 絶 對 數	増 減 率	中性多型核 %	單位容積内 絶 對 數	増 減 率	中性多型核 %
注 射 前		7283	1.00	44.0	9550	1.00	44.5
注 射 後	30'	8616	1.18	49.8	15133	1.58	50.4
	60'	9916	1.36	52.4	13600	1.42	55.5
	120'	10116	1.38	70.5	15533	1.63	66.5
	240'	7933	1.09	71.6	14183	1.48	69.6
	480'	9333	1.28	71.6	14183	1.48	59.5
平 均		9182	1.26	63.2	14526	1.52	60.3

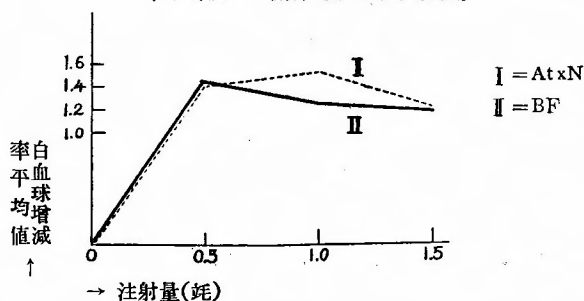
第 5 表 Lアナトキシン⁷(AtxN)及ビ0.4%Lフォルマリン⁷加肉汁(BF)
各1.5cc注射後ノ血中白血球數ノ動搖(3頭平均)

抗 原		AtxN			BF		
檢血時間	白血球	單位容積内 絶 對 數	増 減 率	中性多型核 %	單位容積内 絶 對 數	増 減 率	中性多型核 %
注 射 前		5933	1.00	44.4	6283	1.00	42.8
注 射 後	30'	8216	1.38	50.8	6533	1.04	46.0
	60'	6400	1.08	55.2	6450	1.03	47.8
	120'	6383	1.07	60.0	10786	1.72	66.5
	240'	7866	1.32	70.2	9466	1.51	70.8
	480'	7350	1.24	70.0	6816	1.08	71.0
平 均		7243	1.22	61.2	8010	1.28	60.5

第1圖 實扶の里「アナトキシン」及ビ對照「フォルマリン」肉汁注射後ノ血中白血球増減率ノ推移。(第3, 4, 5表參照)



第2圖 「アナトキシン」並ビ「對照」肉汁注射量ノ變化ト白血球増減率平均値トノ關係(第3, 4, 5表參照)



所見概括

- 1) 「アナトキシン」生液ヲ注射セシニ輕度ノ白血球過多ヲ招來セリ。
- 2) 白血球過多ハ0.5㏄及ビ1.5㏄注射ノ場合ニテハ「アナトキシン」ト對照肉汁トノ間ニ殆ンド差異ナク、1.0㏄注射ノ場合ニ於テハ對照肉汁ノソレガ「アナトキシン」ニ比シテ僅カニ高度ナリ、(第1圖參照)。サレ

ド此差異タルヤ甚ダ輕微ナルモノニシテ白血球過多ノ程度ヲ白血球増加率ノ總和平均値ヨリ觀レバ兩者略々同一ナリト見做シ得(第2圖參照)。

- 3) 「アナトキシン」ニヨリテ中性多核細胞ハ増加ヲ來シ、増加スル程度ハ對照肉汁ヨリモ大ナリ。

上記實驗結果ハ次ノ事項ヲ明示スルモノナリ。即チ

- 1) 「アナトキシン」ヲ注射セシニ白血球過少ヲ起サズシテ白血球過多ヲ招來セシハ可檢抗原液ノ毒性ガ左程大ナラザルヲ示ス。
- 2) 可檢液ニヨリテ起ル白血球過多ガ對照肉汁ノソレト略々相等シキハ兩者間ノ毒力ガ略々相等シキヲ意味ス。換言スレバ可檢實扶の里「アナトキシン」ノ毒力ハ、余等ノ檢査セル範圍内ニテハ、對照「フォルマリン」加肉汁ノ毒力ヨリモ大ナルモノニ非ズ。
- 3) 「アナトキシン」ヲ以テセル方ガ對照肉汁ヨリモ中性多型核細胞ノ遊出%大ナリシコトハ矢張り「アナトキシン」ノ毒力(急性炎症ヲ發生スル作用)ガ肉汁ヨリモ多少大ナルノ證左ナリ。

實扶の里「アナトキシン」生・煮兩液ノ動物體內正常喰菌作用促進能働カノ比較

實驗材料

4) 實驗動物 體重300瓦内外ノ健常海狸。

ロ) Lアナトキシン⁷生●煮液 前記ノ AtxN 及ビ AtxK10'。

ハ) 喰菌作用検査用標準菌液 菌株ハ黃色葡萄狀球菌ヲ用ヒ此24時間 寒天斜面培養菌苔ヲ採リ之ヲ0.85%食鹽水ノ適宜量ニ浮游セシメ、攝氏60度ニテ30分間加熱殺菌シ遠心沈澱、0.85%食鹽水ニテ洗滌スルコト3回、後0.5%ノ割合ニ石炭酸ヲ加フ。該菌液1.0坵中ノ含菌量ハ鳥瀉教授沈澱計ニテ1分間2500廻轉、30分間遠心シタル結果3度目即チ0.0021坵ナルヲ確ム。

實 驗 方 法

凡テ勝呂譽博士ノ検査方法ニ從フ(文獻4參照)。

可檢材料0.5坵ニヨル抗原能動力及ビ毒力ノ比較

實驗成績ハ第6, 7表及ビ第3圖ニ示スガ如シ。

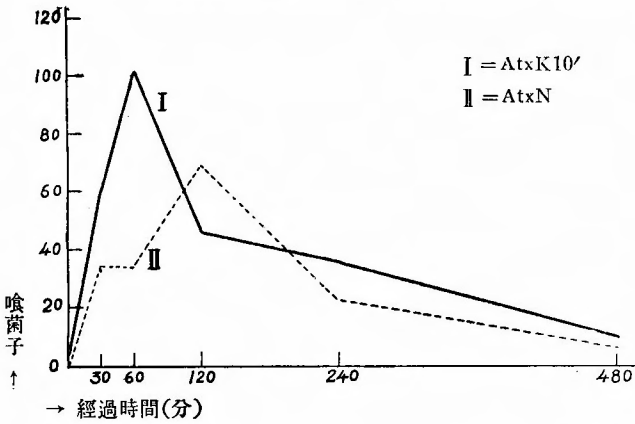
第 6 表 AtxN 0.5坵注射後ノ喰菌作用(3頭平均)

檢 査		單位容積 内白血球 絶對數	白 血 球 増減率	白 血 球 200 箇 中				
				淋 巴 球 及ビ其他 %	食 喰 性 白 血 球			
					%	喰	菌	子
注 射 前		6500	1.00	49.8	50.2	0	0	0
菌過 液時 注間 射後 (分) 經	30	7200	1.10	54.0	46.0	9.0	27.3	36.3
	60	6933	1.06	34.5	65.5	6.0	27.0	33.0
	120	9633	1.48	27.5	72.5	12.3	56.0	68.3
	240	6083	0.93	33.8	66.2	5.0	17.7	22.7
	480	6316	0.97	40.5	59.5	2.3	5.3	7.6
平 均		7233	1.11	38.0	62.0	6.9	26.7	33.6

第 7 表 AtxK10' 0.5 坵注射後ノ喰菌作用(3頭平均)

檢 査		單位容積 内白血球 絶對數	白 血 球 増減率	白 血 球 200 箇 中				
				淋 巴 球 及ビ其他 %	食 喰 性 白 血 球			
					%	喰	菌	子
注 射 前		5450	1.00	60.8	39.2	0	0	0
菌過 液時 注間 射後 (分) 經	30	5733	1.05	52.2	47.8	10.3	48.7	59.0
	60	5733	1.05	33.2	66.8	14.7	86.3	101.0
	120	5450	1.00	28.5	71.5	10.0	35.7	45.7
	240	5083	0.93	25.5	74.5	7.7	28.3	36.0
	480	6016	1.10	26.0	74.0	3.0	8.0	11.0
平 均		5603	1.02	33.0	67.0	9.1	41.4	50.5

第3圖 「アナトキシン」生液並ニ其10%煮液0.5㏄ニヨツテ促進サレタル喰菌子數「子」ノ關係 (第6,7表參照)。



所見概括

1) 「喰」ノ關係 生液ニテハ30分目ヨリ増加シ2時間目ニ最高ニ達シ其後ハ漸次減少ス。煮液ニテハ30分目ヨリ増加シ1時間目ニ於テ既ニ頂點ニ達シ次イデ漸次減退ス。而シテ「喰」ノ總和ノ平均値ハ生液ノ6.0ニ比シテ煮液ハ9.1ノ優勢ヲ示セリ。

2) 「菌」ノ關係 生液ニテハ注射後2時間目ニ煮液ニアリテハ1時間目ニ最高トナレリ。而シテ菌ノ總和ノ平均値ハ生液26.7ニ對シ煮液ハ41.4ニシテコレニ於テモ亦タ煮液ハ生液ヲ凌駕セリ。

3) 喰菌子「子」ノ關係 「喰」ト「菌」ノ總和タル「子」ハ勿論前記同様ノ關係ヲ示シ、生液ハ2時間目ニ最高(68.3)ニ達セルニ對シ煮液ハ1時間目ニ於テ最大(101.0)トナレリ。「菌」ノ總和ノ平均値ニテモ生液33.6、煮液50.5トナレリ。

4) 血液單位容積内白血球絕對數ノ關係 生、煮何レノ場合ニモ輕度ノ白血球過多ヲ惹起シ生液ニテハ7233(1.11)、煮液ニテハ5603(1.02)ニシテ兩者間ニ著シキ徑庭ナキモ生液ニヨル白血球過多ハ煮液ノソレニ比シ稍々大ナリ。即チ生液ハ煮液ヨリモ毒力稍々大ナリ。

5) 喰菌率 生液ニテハ4.64、煮液ニテハ8.14ヲ示シ煮ハ生ノ約2倍大ナリ。

可檢材料1.0㏄ニヨル抗原能働力及ビ毒力ノ比較

實驗成績ハ第8, 9表及ビ第4圖ニ示サガ如シ。

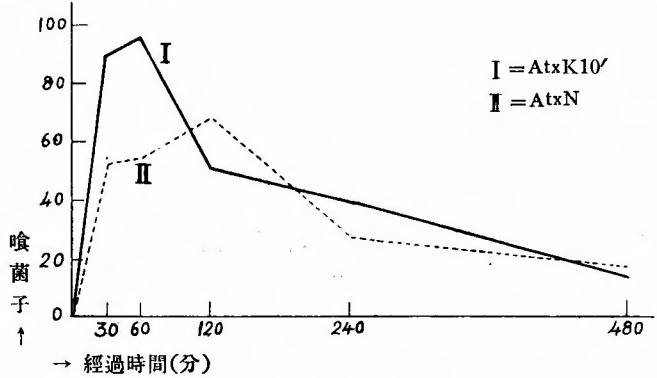
第8表 AtxN 1.0㏄注射後ノ喰菌作用(3頭平均)

檢 査		單位容積 内白血球 絕對數	白血球 増減率	白血球 200 箇 中				
				淋 巴 球 及 其 他	食 喰 性 白 血 球			
					%	喰	菌	子
注 射 前		5016	1.00	41.2	58.6	0	0	0
菌過 液時 注射 後經 (分)	30	6450	1.28	57.8	42.2	10.7	41.3	52.0
	60	5566	1.11	45.3	54.7	8.3	47.3	55.6
	120	5750	1.14	29.8	70.2	11.3	56.7	68.0
	240	5566	1.11	33.5	66.5	6.0	20.7	26.7
	480	5766	1.14	35.5	64.5	3.3	13.7	17.0
平 均		6019	1.19	40.4	59.6	7.9	35.9	43.8

第 9 表 AtxK10' 0.1 兎 注射後ノ喰菌作用(3頭平均)

檢 査		單位容積 内白血球 絶對數	白血球 増減率	白血球 200 箇中				
				淋 巴 球 及ビ其他 %	食 喰 性 白血球			
					%	喰	菌	子
注 射 前		5933	1.00	45.5	54.5	0	0	0
菌過 液時 注射 間 射後 經 (分)	30	8266	1.41	38.0	62.0	16.7	72.3	89.0
	60	5566	0.93	37.8	62.2	17.0	78.7	95.7
	120	7400	1.26	27.2	72.8	11.0	40.3	51.3
	240	6150	1.03	24.2	75.8	8.3	31.0	39.3
	480	6950	1.17	37.8	62.2	3.0	10.0	13.0
平 均		6886	1.16	33.0	67.0	11.2	46.4	57.6

第 4 圖 アナトキシン¹生液並ビニ其10'煮液1.0兎ニヨツテ促進サレタル喰菌子數²ノ關係(第8, 9表參照)。



所 見 概 括

1) 「喰」ノ關係 前實驗ト同ジク生液ニテハ2時間目一, 煮液ニテハ1時間目ニ最高トナリ後チ漸減セリ。喰ノ總和ノ平均値ハ生液ニテハ7.9, 煮液ニテハ11.2ニシテ兩者何レモ前實驗ノ喰ノ平均値ヲ凌駕セリ。即チ上行位相ヲ示セリ。

2) 「菌」ノ關係 前實驗ト同様ニ生液ニテハ2時間目ニ最高, 煮液ニテハ1時間目ニ頂點ニ達セリ。菌ノ總和平均値ハ生液ハ35.9, 煮液ハ46.4ヲ示シ, 二者何レモ前實驗ニ比シ上行位相トナレリ。

3) 「子」ノ關係 子ハ其頂點ニ於テモ, 總和ノ平均値ニ於テモ煮液ハ生液ニ比シテ絶對ニ優勢ニシテ, 之ヲ前實驗ニ比較スル時ハ上行位相ヲ示セリ。

4) 血液單位容積内白血球絶對數ノ關係 生, 煮何レモ輕度ノ白血球過多ヲ來シ, 白血球絶對數ノ動搖ハ一起一伏ニシテ兩者間ニ大ナル差異ヲ認メ難シ。白血球絶對數ノ總和平均値ハ生液ハ6019(1.19), 煮液ハ6886(1.16)ニシテ著明ナル差ナシ。

5) 喰菌率 生液ハ7.27, 煮液ハ8.36ニシテ生・煮相近似スル成績ヲ示セリ。而シテ兩者何レモ前實驗ノ値ヲ凌駕セリ。

可檢材料1.5兎ニヨル抗原能働力及ビ毒力ノ比較

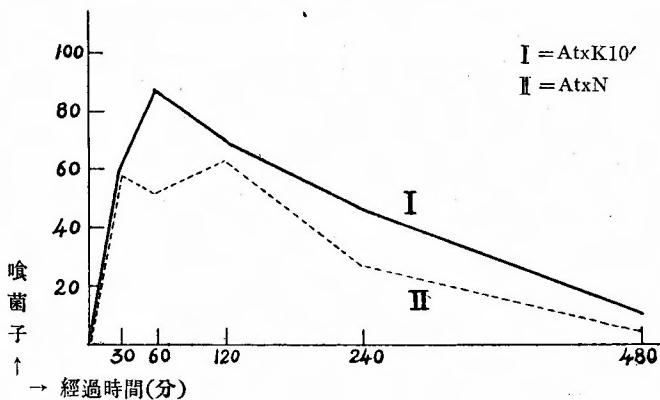
實驗成績ハ第10, 11表及ビ第5圖ニ示サレタリ。

第 10 表 AtxN 1.5 兎 注射後ノ喰菌作用(3頭平均)

檢 查		單位容積 內白血球 絕 對 數	白 血 球 增 減 率	白 血 球 200 箇 中				
				淋 巴 球 及 其 他	食 喰 性 白 血 球			
					%	%	喰	菌
注 射 前		4783	1.00	46.8	53.2	0	0	0
菌過 液時 注射 後經 (分)	30	9100	1.90	51.2	48.8	10.7	47.0	57.7
	60	11783	2.46	30.3	69.7	10.0	42.0	52.0
	120	8150	1.70	27.0	73.0	11.0	52.0	63.0
	240	5416	1.13	34.5	65.5	5.3	21.3	26.6
	480	7333	1.53	33.0	67.0	1.3	4.0	5.3
平 均		8316	1.73	35.2	64.8	7.7	33.2	40.9

第 11 表 AtxK10¹ 1.5 兎 注射後ノ喰菌作用(3頭平均)

檢 査		單位容積 內白血球 絕 對 數	白 血 球 增 減 率	白 血 球 200 箇 中				
				淋 巴 球 及 其 他	食 喰 性 白 血 球			
					%	%	喰	菌
注 射 前		4666	1.00	48.5	51.5	0	0	0
菌過 液時 注射 後經 (分)	30	6783	1.45	63.8	36.2	11.3	48.7	60.0
	60	5283	1.13	46.5	53.5	14.0	72.3	86.3
	120	6366	1.36	36.2	63.8	13.7	55.7	69.4
	240	4383	0.93	35.0	65.0	10.3	37.3	47.6
	480	4600	0.98	40.4	59.6	6.0	25.7	31.7
平 均		5465	1.17	44.4	55.6	11.2	47.9	59.0

第 5 圖 Lアナトキシン¹生液並ビニ其10¹煮液 1.5 兎ニヨツテ促進サレタル喰菌子數_L子¹ノ關係(第10, 11表參照)。

所 見 概 括

1) 「喰」ノ關係 前2實驗ト相等シク生液ハ2時間目一、煮液ハ1時間目ニ最高點ニ上昇シ後チ漸次減少セリ。「喰」ノ總和平均値ヲ觀ルニ生液ニテハ7.7トナリ、前實驗(1.0兎)ニ比シテ減少セルニ反シ、煮液ニテハ11.2トナリテ前實驗ト全ク同一ナリキ。即チ生液

1.5 兎ニ於テハ生「アナトキシン」ニテハ既ニ下行位相トナレリ (第7圖參照)。

2) 「菌」ノ關係 前2實驗ト同様ニ生液ニテハ2時間目ニ、煮液ニテハ1時間目ニ最大トナレリ。「菌」ノ總和ノ平均値ハ生液ニテハ33.2、煮液ニテハ47.9トナリ、煮液ハ生液ニ比シテ優秀ナル成績ヲ示シタリ、此實驗結果ヲ用量ガ1.0 兎ノ場合ノ實驗成績ニ比較スルニ生液ニテハ下行位相トナレルニ反シ煮液ニテハ尙上行位相ヲ保持セリ。

3) 「子」ノ關係 「子」ノ總和平均値ノ生液 40.9、煮液ニテハ 59.0ナルヨリスレバ、「子」ニ於テモ亦タ煮液ハ生液ヲ凌駕スルモノナリ、次ニ此成績ヲ可檢材料ノ用量1.0 兎ノ場合ト比較スルニ生液ニテハ「子」數ハ減少シテ下行位相トナリシニ反シ煮液ニテハ尙増加スル上行位相ヲ示セリ (第7圖參照)。

4) 白血球絕對數ノ關係 兩者共ニ白血球過多ヲ惹起ス。白血球絕對數ノ總和ハ生液 8316 (1.73)、煮液ハ5465 (1.17)トナレリ。即チ1.5 兎注射ニ於テ初メテ白血球増加率ニ著明ナル差異ヲ來シ、生液ハ煮液ニ比シテ大トナリ毒力ノ大ナルコトガ顯現セラレタリ。

之ヲ前2實驗ト比較スルニ、生液ニアリテハ0.5、1.0、1.5 兎ト注射量ノ増大スルニツレテ白血球増加率ハ増大シ最大平均1.73トナリシニ反シ、煮液ニテハ1.0 兎ニテ最高 (平均1.16)トナリ、1.5 兎ノ場合ハ再ビ下降ニ向ヘリ。

5) 喰菌率 生液ハ4.91、煮液ハ10.8ヲ示セリ。前實驗 (可檢材料用量1.0 兎) ニテ略々近似セシ喰菌率ハ此處ニ於テ生液ハ再ビ下降シ煮液ハ益々増加シ行ケリ (第8圖參照)。

所見總括及ビ考察

全實驗ノ成績ヲ綜合シテ第12表並ビニ第6、7及ビ8圖ヲ得タリ。之ヲ通覽スル時ハ次ノ諸項ヲ認識シ得ベシ。

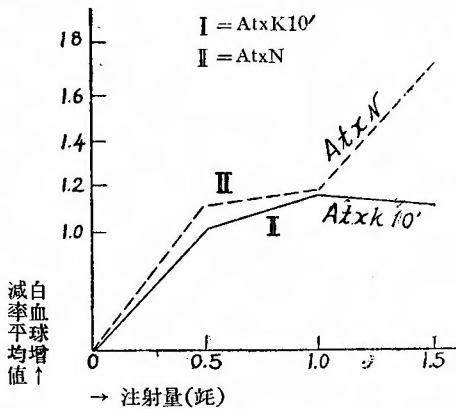
第 12 表 實驗成績ノ總括

用 量 (兎)	白血球總數		増 減 率		喰 菌 子		喰 菌 率	
	AtxN.	AtxK10'	AtxN	AtxK10'	AtxN	AtxK10'	AtxN	AtxK10'
0.5	7233	6203	1.11	1.39	33.6	50.5	4.64	8.14
1.0	6019	6886	1.19	1.16	43.8	57.6	7.27	8.36
1.5	8316	5465	1.73	1.17	40.9	59.0	4.91	10.8

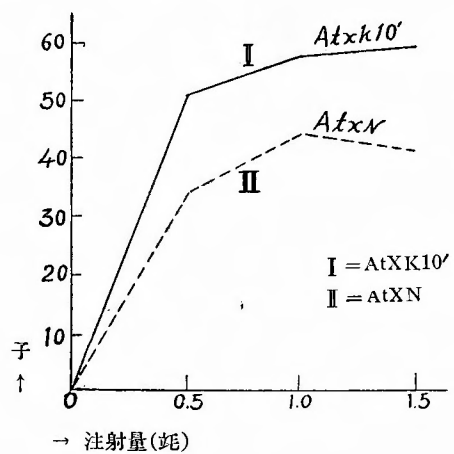
1) 血液單位容積内ノ白血球絕對數ハ生、煮共ニ過多ヲ惹起シ用量 0.5 及ビ 1.0 兎ノ場合ニテハ絕對數ニ於テモ増加率ニ於テモ生、煮略々同大ナルモ、用量ガ1.0 兎ヨリ1.5 兎ニ増加スル場合ニハ白血球絕對數ハ生8316：煮5465、増加率ハ生1.73：煮1.17トナレリ (第12表參照)。是レ兩者抗原液ノ呈スル毒性ハ用量0.5、1.0 兎ノ如キ小量ニテハ兩者間ニ差異ヲ認メ難キモ、用量ガ増加シテ1.5 兎ニ至レバ生、煮兩者間ニ毒力ノ差異ガ明白トナリ來ルヲ意味スルモノナリ。換言スレバ注射量小量ナル時ハ生、煮兩液間ニ毒力ノ差ヲ認メ難キモ、注射量増大シ來ルニツレテ漸次兩者間ノ毒力ノ差顯著トナリ、「アナトキシン」生液ハ其ノ10分煮沸液ヨリモ毒力大ナル事實

が判明セリ。コハ可検材料ヨリモ遙カニ毒力強大ナル菌液ヲ同時ニ注射シタリシガ故ニ其ノ毒力ニ蔽ハレタル結果ニシテ一定不變量ノ菌液ニ對シ可檢抗原タル生、煮¹アナトキシン⁷ノ用量ヲ増加スルコトニヨリテ茲ニ始メテ其ノ毒力が白血球過多ノ上ニ顯現セラレタルモノナリ。

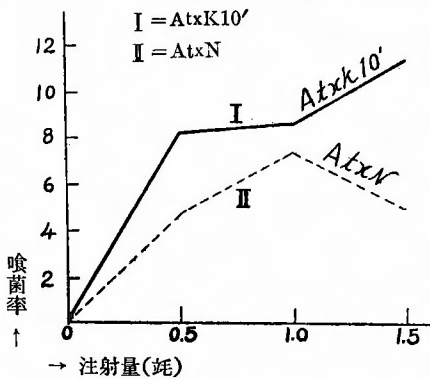
第 6 圖 ¹アナトキシン⁷生、煮兩濾液注射量ノ變化ト白血球増減率平均値トノ關係 (第12表参照)



第 7 圖 ¹アナトキシン⁷生、煮兩濾液注射量ノ變化ト喰菌子数¹子¹トノ關係 (第12表参照)



第 8 圖 ¹アナトキシン⁷生、煮兩液注射量ノ變化ト喰菌率トノ關係 (第12表参照)



2) 第12表ニ示サレタルガ如ク毒力が略々同一ナル際(用量1.0¹cc)ニ於テ原¹アナトキシン⁷ (AtxN) ヲ以テノ 喰菌子乃至喰菌率ハ43.8乃至7.27ニシテ、¹アナトキシン⁷ 煮液 (AtxK10') ヲ以テノソレハ57.6乃至8.36ヲ示シ明白ニ大ナリ。

3) 原¹アナトキシン⁷ (AtxN) ニテハ其ノ用量ヲ増加シタルニ(喰菌作用促進性)抗原能働力ハ用量1.0¹ccニテ最大トナリ用量1.5¹ccニテハ下行位相ヲ示シ却テ減弱セリ。

然ルニ煮¹アナトキシン⁷ (AtxK10') ニテハ用量増加(0.5→1.5¹cc)ト共ニ喰菌作用促進能働力ハ益々上昇スルノ傾向ヲ示シ、最大限度ニ到達スルニハ1.5以上更ニ用量ヲ増加スルコトノ必要ヲ思ハシム。

此ノ所見ニヨリテ原¹アナトキシン⁷ヨリモ煮¹アナトキシン⁷ノ方ガ抗原能働力絶対的ニ大ナルモノタルコトヲ知ルナリ。是レ何等異論ヲ插ムノ餘地無キ明白ナル立證ナリ。

結 論

1) 實扶的里¹アナトキシン⁷ノ毒力ヲ對海狸最小致死量並ニ海狸流血中白血球數ノ動搖ヨリ

檢スルニ L アナトキシン r ノ毒力ハ4% L フォルマリン r 加肉汁ノ毒力ヨリ大ナラザルモ、 L アナトキシン r 10分煮沸液ニ比較スル時ハ尙原液ハ多小ノ毒力ヲ有ス。換言スレバ L アナトキシン r ハ出發原毒素ヨリモ毒力非常ニ減弱セルモノナレドモ然レドモ尙一定度ノ毒力アリ。而シテ煮沸法ニヨレバ此ノ遺殘毒力ハ更ニ一層輕減セラル、モノナリ。

2) 原 L アナトキシン r ヨリモソレヲ更ニ100°Cニテ10分間煮沸シタル方ガ(血中正常喰菌作用促進ノ上ニ顯現セラレタル)抗原性能働力絶對的ニ大ナルモノナリ。

3) 實扶的里 L アナトキシン r 10分煮沸液ハ原 L アナトキシン r ヨリモ一面毒力小ニシテ他面抗原性能働力大ナルモノタルコトノ證明ハ即チ原 L アナトキシン r ハ L イムベヂン r ヲ含有スルモノナルコトノ證明ニ他ナラズ。是レ鹿岡氏ノ研究結果ト一致スル所ナリ。

4) 實扶的里 L アナトキシン r 中ニ含有セラレタル L イムベヂン r ヲ完全ニ破却スル爲ニ必要ニシテ充分ナル煮沸時間ハ更ニ研究ヲ待ツテ決定セラルベシ。