On the Bacterial Pyrogenic Substances.

日本醫科大學教授 八 田 貞 義

Hatta Sadayoshi

次いで分割成分の理化學的性狀について檢ら

[illegible]

2. *S. typhi* (S58) よりの發熱性物質

沈降原の稀釋度	500	1,000	5,000	10,000	50,000	100,000	250,000	500,000	1,000,000
免疫血清の種類									
<i>S. paratyphi</i> A	+	+	+	+	—	—	—	—	—
<i>S. paratyphi</i> B	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>S. typhi</i>	+	+	+	+	+	—	—	—	—
<i>S. senftenberg</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>S. typhi murium</i>	+	+	+	+	+	—	—	—	—
<i>S. thompson</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>S. narashino</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>S. anatum</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—
赤痢菌(志賀)	—	—	—	—	—	—	—	—	—
〃 (K B Ⅲ)	—	—	—	—	—	—	—	—	—
〃 (箕田)	—	—	—	—	—	—	—	—	—
〃 (西貢)	—	—	—	—	—	—	—	—	—
健常血清	—	—	—	—	—	—	—	—	—

第 23 表 ウサギ免疫と凝集反應

日 數	10	20	30	40	50	60
發熱性物質	發熱度	發熱度 凝集 反 應	發熱度	發熱度 凝集 反 應	發熱度	發熱度 凝集 反 應
<i>S. paratyphi</i> A (S. 1)	$\frac{8}{2}$	$\frac{6}{4}$ (—)	$\frac{5}{5}$	$\frac{2}{8}$ (—)	$\frac{3}{7}$	$\frac{2}{8}$ (—)
<i>S. paratyphi</i> B(Jara)	$\frac{8}{2}$	$\frac{7}{3}$ (—)	$\frac{7}{3}$	$\frac{2}{8}$ (—)	$\frac{2}{8}$	$\frac{1}{9}$ (—)
<i>S. typhi</i> (S58)	$\frac{7}{3}$	$\frac{9}{1}$ (—)	$\frac{6}{4}$	$\frac{7}{3}$ (—)	$\frac{6}{4}$	$\frac{6}{4}$ (—)

第 24 表 個々コロニー別に實施した Schwartzman 反應成績

(その 1)

菌株名		F. C. R.				
菌株 番号	培地	合成培地		カゼイン 水解培地	ブイヨン 培地	合成培地 天培地
	生理 反應	P.	S.	S.	S.	S.
	試験					
	1	+0.7	0	0	IV2.0	0
	2	+0.2	0	Ⅲ	IV1.7	IV0.8
	3	+1.2	0	0	IV1.8	IV0.9
	4	+0.1	0	0	IV2.2	IV1.1
	5	+0.7	0	0	IV1.7	Ⅱ
	6	+0.4	0	Ⅲ	IV2.0	Ⅱ
	7	+0.7	0	Ⅱ	Ⅲ1.1	IV1.2
	8	+0.4	0	Ⅱ	Ⅲ0.6	I
	9	+1.0	0	Ⅱ	Ⅲ0.6	Ⅱ
	10	+0.3	0	Ⅱ	0	0
對照	培地	+0.2	0	0	0	0
	F. C. S. (C.N.)		IV2.3	IV1.4	IV6.7	IV4.6

(その 2)

菌株名		F. C. S.				
菌株 コロ ニー 番號	培地	合成培地		カゼイン 水解培地	ブイヨ ン培地	合成寒 天培地
	生理 反應	P.	S.	S.	S.	S.
	1	+1.2	0	Ⅱ	Ⅳ1.1	Ⅳ4.0
	2	+0.6	0	Ⅱ	Ⅳ1.4	Ⅳ1.2
	3	+1.1	0	0	Ⅳ0.9	Ⅳ3.0
	4	+0.6	0	0	Ⅳ1.4	Ⅳ3.2
	5	+1.2	0	Ⅲ	Ⅳ2.3	Ⅳ1.7
	6	+1.5	0	Ⅲ	Ⅳ2.1	Ⅳ1.7
	7	+1.8	0	Ⅱ	Ⅳ2.2	Ⅳ2.0
	8	+死	0	0	Ⅳ2.0	Ⅳ2.2
	9	+2.1	0	Ⅱ	Ⅲ	Ⅳ3.2
	10	+1.4	0	Ⅱ	Ⅳ1.6	Ⅳ2.8
對 照	培 地	+0.2	0	0	0	0
	F. C. S. (C.N.)			Ⅳ5.2	Ⅳ5.9	Ⅳ3.0

註 Pは pyrogen 試験, Sは Schwartzman 反應成績を示す

べ、CP. CN. に属するものは Polysaccharide 性物質、PT に属するものは蛋白性物質と考えられた。次いでこれらの分割物質の Schwartzman 性、Pyrogen 性、毒性並に生体内抗原性等を比較対照して Sh 活性因子と Pyrogen 因子との相関について考察を加えた。

まず CP. CN. PT. を比較してみると同じ Polysaccharide でも CN が最も Sh 活性が強く、F.C.S の CN は 0.8r で確實に發現した。F.C.R. の CN は 3r 前後で反應陽性であつた。これに反し CP では 50r (F.C.S.) と 100r (F.C.R.) であつたから、Sh 活性は菌毒素作用の強いものを精製したものにおいて強いようである。一方菌體蛋白 PT は 200r (F.C.S) 或は 50r (F.C.R.) で反應陽性となりその

第 25 表 (その 1) Schwartzman 反應

檢體	區分	Coli communis (F)				Coli communior (F)			
		靜注後の時間				靜注後の時間			
		1	3	5	24	1	3	5	24
CP	200	I	II	IV	II	I	I	II	II
	100	0	II	IV	IV	0	0	I	I
	500	0	I	III	III	0	0	0	0
	25	0	0	0	0	0	0	0	0
	12.5	0	0	0	0	0	0	0	0
	6.25	0	0	0	0	0	0	0	0
CN	200	II	IV	IV	IV	II	IV	IV	IV
	100	II	IV	IV	IV	II	IV	IV	IV
	50	II	III	IV	IV	II	IV	IV	IV
	12.5	II	III	IV	IV	II	IV	IV	IV
	6.25	I	III	IV	IV	II	IV	IV	IV
	3.12	I	III	IV	IV	II	III	IV	IV
	1.55	0	II	IV	IV	0	0	0	0
	0.78	0	II	IV	IV	0	0	0	0
	0.39	0	0	0	0	0	0	0	0
PT	200	0	I	III	III	I	IV	IV	IV
	100	0	0	0	0	I	II	IV	IV
	50	0	0	0	0	I	II	III	III
	25	0	0	0	0	0	0	0	0
	12.5	0	0	0	0	0	0	0	0
	6.25	0	0	0	0	0	0	0	0
	3.12	0	0	0	0	0	0	0	0
	1.56	0	0	0	0	0	0	0	0

註：惹起因子として F.C.N を 500~700r/kg 靜注

第 25 表 (その 2) Schwartzman 反應

發熱性物質	區分	Coli communis				Coli communior			
		靜注後の時間				靜注後の時間			
		1	3	5	24	1	3	5	24
CP	80	0	II	III	III	0	III	III	III
	40	0	II	II	II	0	II	III	III
	20	0	I	II	I	0	I	III	III
	10	0	0	I	I	0	I	I	I
	5	0	0	0	0	0	I	I	I
	2.5	0	0	0	0	0	0	0	0
CN	80	0	0	I	I	0	I	II	II
	40	0	0	I	I	0	I	II	II
	20	0	0	0	0	0	I	II	I
	10	0	0	0	0	0	0	I	I
	5	0	0	0	0	0	0	I	0
	2.5	0	0	0	0	0	0	0	0
PT	80	0	III	III	III	0	I	I	I
	40	0	I	I	I	0	0	0	0
	20	0	0	0	0	0	0	0	0
	10	0	0	0	0	0	0	0	0
	5	0	0	0	0	0	0	0	0
	2.5	0	0	0	0	0	0	0	0

作用は CN に比べると幾分弱い明らかに準備能力を示した。(第 25 表その 1 及びその 2 参照)。

この際注目されたことは Polysaccharide を準備しておき Polysaccharide で惹起させたときは著變はないが、Protein を準備し Polysaccharide で惹起させたときはウサギは急性死をとげ、肝には點狀出血斑が認められたことである(第 26 表参照)。この原因については目下検討中であるが、武田²⁷⁾は Sh 濾液および赤痢菌の体内菌素を妊娠ウサギに注射して肝および腎皮質に壊死の起ることを報じているので関連のある所見として興味深い。

發熱性についてはすでに述べた如く、PC 及び PN 分割では 5~10r/kg、PT 分割では 100r/kg の注射量を要した。このように同一物質が全く異つた二つの生體反應を示した。すなわち一つは發熱作用、一つは Sh 反應となつて現われた(第 27 表参照)。したがつて發熱性物質が Sh 活性を有することは容易に推論し得

第 26 表 惹起因子 (C.N) の準備因子に及ぼす量的影響ならびに毒性

惹起量(γ)	P T の 準 備 量								對 照
準備量(mg)	200	100	50	25	12.5	6.25	3.1	1.15	
1.5	靜注 2 時間後死亡								
1.5	靜注 2 時間後死亡								
1.2	Ⅳ(2.6)	Ⅳ(2.5)	Ⅳ(1.0)	Ⅳ(0.8)	Ⅲ	Ⅲ	Ⅰ	0	Ⅳ(8.0)翌朝死亡
1.0	Ⅳ(2.5)	Ⅳ(2.1)	Ⅳ(1.2)	Ⅳ(0.6)	Ⅲ	Ⅰ	0	0	Ⅳ(5.4)
1.0	Ⅳ(1.3)	Ⅳ(0.8)	Ⅱ	Ⅰ	Ⅰ	Ⅰ	Ⅰ		Ⅳ(3.6)
0.5	Ⅰ	Ⅰ	Ⅰ	Ⅰ	Ⅰ	Ⅰ	0	0	Ⅱ

準備量(γ) 惹起量(mg)	C N の 準 備 量									
	200	100	50	25	12.5	6.25	3.1	1.55	0.75	0.37
2	Ⅳ(5.6)	Ⅳ(5.2)	Ⅳ(2.3)	Ⅳ(2.5)	Ⅳ(1.1)	Ⅳ(1.2)	Ⅳ(1.0)	Ⅳ點在性	Ⅲ	0
1.5	Ⅳ(3.6)	Ⅳ(3.5)	Ⅳ(2.9)	Ⅳ(1.9)	Ⅳ(1.6)	Ⅳ(1.2)	Ⅳ(0.8)	Ⅳ	0	0
1.5	Ⅳ(3.7)	Ⅳ(3.8)	Ⅳ(3.1)	Ⅳ(3.3)	Ⅳ(3.9)	Ⅳ(1.7)	Ⅳ(2.7)	Ⅳ(1.5)	0	0
1.5	Ⅳ(3.4)	Ⅳ(3.5)	Ⅳ(2.1)	Ⅳ(3.0)	Ⅳ(1.2)	Ⅳ(1.5)	Ⅲ	Ⅳ(1.6)	Ⅳ(2.2)	0
1.2	Ⅳ(2.8)	Ⅳ(2.0)	Ⅳ(1.4)	Ⅳ(1.3)	Ⅳ(1.6)	Ⅳ(1.1)	Ⅱ	0	0	0
1.0	Ⅳ(1.7)	Ⅳ(0.8)	Ⅱ	I	0	0	0	0	0	0

註： 1. 對照には C.N 200γ を用いた
2. () 中はⅣの状態における面積を示す

られるところであるが、これが全く同一物質が示す作用であるか、或は類似物質のため精製操作中に完全に分離されずに混在しているためかはこれだけの成績からははつきりしない。それ

第 27 表 發熱性・Sh 性および毒性について

區 分	檢 體	CS			CR		
		CP	CN	PT	CP	CN	PT
發 熱 性	10γ	5	>100		10	5	>100
Shwartzman 性	10	40	40		5	10	80
毒 性	>2,000	100	1,000	2,000	500	1,000	
區 分	檢 體	FCS			FCR		
		CP	CN	PT	CP	CN	PT
發 熱 性	10	5	100	100	10	100	
Shwartzman 性	50	1	200	100	3	50	
毒 性	2,500	50	>3,000	2,500	300	3,000	

でこの反應を惹起させる作用因子の化學的本態を解明するため精製物質に種々の分解操作を加え、その前後の生理反應を系統的に究明することとした。

武田⁵⁷⁻⁵⁹⁾らは菌體內成分に Sh 活性のある

こと、これを分解すると毒性は多糖體と結合して分割され更にこれを酸分解すると無毒の多糖體と無異形の X 物質とに分れ、後者に毒性および Sh 活性があり、菌體から分離した核蛋白には毒性はあるが Sh 活性は認められないという。

このように酸分解法により Sh 因子の離脱に成功しているので、その方法によることとし、アルカリ分解については Goebel らが Flexner 屬赤痢菌毒素について試みたアルカリ性冷アルコール分解による方法を基とした。

まず酸およびアルカリ分解による成績から述べる⁶⁰⁾(方法は表 28 に譲る)。發熱性物質の分解物質の定性反應の成績をみると、酸分解により得た N の分解物質(Ⅱ)は弱酸および蒸留水に難溶、弱アルカリに可溶の灰白色の粉末で糖反應、蛋白反應は陰性である。しかしタンニン酸を加えると沈降する。(Ⅲ)分解物質は水に易溶の灰白色(CP)或は帶緑褐色の粉末で蛋白反應陰性、糖反應は原物質同様陽性を示した。アルカリ分解により得られた分解物質〔I〕は

水に易溶の灰白色 (P) 或は 帶灰褐色 (N) の粉末で原物質同様蛋白反應陰性、糖反應陽性である。分解物質〔III'〕は N よりのものがいづれの反應も陰性であつた外は分解物質〔I'〕

とかなり類似の性状及び定性反應を示した (第 29 表参照)。

次に各分解物質の生理作用を特に發熱性と Sh 性について比較試験を行つた。

第 28 表

(その 1) 酸 分 解

検體 100 mg

0.2 N 酢酸 20 cc

100° 10 時間還流下に分解

沈澱

上清

pH 8.0 弱アルカリに溶解

透析

内液

減壓濃縮

Ether にて損益

沈澱

上清

蒸留水
2 回洗滌

1% HCl pH
3.8 (2 回)

Aceton
洗滌乾燥

沈澱

Ether

液層

〔I〕

蒸留水で pH
中性になるま
で洗滌

Ether

Alcohol 又は
Aceton (2 回)

溜去乾燥

Aceton 洗滌

Aceton 洗滌

乾燥

乾燥

〔II〕

〔III〕

収量 : %

	I	II	III
P	5.8	/	47.0
N	13.4	2.0	15.0

第 29 表 劃分々分解物質の定性反應

定性反應	處置別 檢體	酸分解			アルカリ分解					
		CP			CN			CN		
		I			I'			I'		
		III	II	III	I	III	I'	III	I'	III
Molisch		+	-	+	+	+	+	-	++	++
Fehling		-	-	-	-	-	-	-	-	-
Biuret		-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ninhydrin		-	-	-	-	-	-	-	-	-
Millon		-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hoykins Cole		-	-	-	-	-	-	-	-	-
Neubauer- Rhode		-	-	-	-	-	-	-	-	-
Tannic acid		-	-	-	-	-	-	-	-	-

なお本實驗で溶媒として用いた蒸留水は日本藥局方 VI の發熱性物質試験に合格した純品を用いた。この成績を第 30 表に示す。P は酸およびアルカリ分解によりその Sh 性は消失し、

(その 2) アルカリ分解

検體 100 mg

蒸留水 10 cc

0° 10% NaOH 1.2 cc 滴加

5 分以内に冷 Alcohol 2倍量注加

0° 30 分放置
(以上の操作を 3 回行う)

操作前 5 r でみられたものが 200 r でもみられない。一方發熱性もかなりその作用強度は減弱し 100 r 以上の注射を要した。

N は酸、アルカリ分解により溶解する部分即ち〔III〕及び分解物質〔III'〕はいずれも Sh 性も發熱性もなくなり 200 r でも陰性成績を示したが、分解操作により沈澱する部分即ち〔II〕及び分解物質〔I'〕は Sh 性も發熱性もみられる。發熱性は酸分解によりみるべき低下を示さないが、Sh 性は著しく減弱し 10 r で認められず 200 r で 1.6 と量測された。これに反しアルカリ分解では Sh 性も發熱性も殆んど障害されていない。

次に石炭酸処理を行つたものは、Sh 性は CP では處置前が 50 r で 0.4、25 r で 0 のもの

第 30 表 酸分解およびアルカリ分解

処置別	検査	生理反應 注射量(γ)	Sh 反應			Pyrogen 性			
			200	10	5	200	20	10	5
酸分解	CP	對照		3.7	2.6			1.0	1.1
		Ⅲ	—	—	—	1.3	0.4	0.3	0.1
	CN	對照		3.4	2.9			1.1	1.0
		Ⅱ	1.6	—	—			1.5	0.8
アルカリ分解	CP	對照		3.7	2.6			1.2	1.0
		Ⅰ'	—	—	—	1.5		0.3	0.6
	CN	對照		3.4	2.6			1.1	1.0
		Ⅰ'	1.6	0.2	—			1.0	1.3

註 表中數値は Sh 反應では反應發現部位の表面積を、Pyrogen 性では注射後の體温上昇の度合を示す。以下の表もこれに準ず

が、處置後には 50γ で 0.53, 25γ で 0.4, 12.5γ で 0 となり、むしろ石炭酸處置により CP では單位の上昇がみられた。

加熱による分解試験を行つたが、これによると CP は 100° 以上の加熱處理により Sh 性因子の作用は減弱乃至消失し、發熱性は 120° 以上で障害された。CN は 120° 以上の場合に Sh 性に、140° 以上に於て發熱性に、その作用の

第 31 表 加熱分解

検査	方法	注射量(γ)	Sh 反應			Pyrogen 性		
			200	10	5	100	10	5
CP	分解温度	對照		3.7	2.6		1.2	1.0
		60° 30'		3.5	1.3		1.1	1.1
		80° 20'		3.1	1.1		1.2	1.0
		100° 15'		3.3	0.7		1.0	1.0
		100° 30'		2.7	—		1.2	1.1
		120° 10'		—	—		0.5	0.3
		140° 15'	—	—	—	0.2	0.6	0.4
CN	分解温度	對照		3.4	2.9		1.1	1.0
		60° 30'		3.3	3.1		1.4	1.2
		80° 20'		3.4	3.0		1.8	1.0
		100° 15'		2.6	1.3		1.3	1.1
		100° 30'		2.3	1.0		1.1	0.8
		120° 10'		0.7	—		1.1	0.7
		140° 15'		—	—	1.5	0.6	0.3

減弱がみられた。かく CP と CN はともに同系の複合多糖體にもかゝらず、同一作用温度で比較すると熱處理により障害される度合を異にし、CN は CP に比べ耐熱度が幾分強いということが出来る(第 31 表参照)。

次に紫外線による分解を行つた。發熱性物質は紫外線を照射すると美しい青白色の螢光を發する。この螢光は物質が刺戟光體(エネルギー)を吸収して分子内に變動を起し、これに用いられたエネルギーと吸収エネルギーとの差だけを輻射して自ら發光する理であるから、發熱物質の紫外線による分解程度を窺つた。用いた紫外線の照射波長は 2537Å のものと、3600 Å のものである。この結果 CP および CN 物質はいずれも紫外線によつて障害されず分解されなかつた。上の如く酸、アルカリ分解、加熱分解、紫外線等の分解處置によつて、或程度そのものの作用に影響を與えることは出来るけれども、發熱性物質から Sh 活性因子だけを完全に離脱させることは甚だ困難で、兩者における障害度はかなり違ふが、Sh 性の消失は發熱性の減弱乃至消失となつて現われてくる。したがつて、これより本物質には全く異つた二つの生理反應を起す作用があるという興味ある所見が知られたわけである。

以上生體の發熱並に發熱機轉を微生物より產生された細菌性發熱物質を基として一連の解析を加えたが、これより脉管内注射時に偶發する發熱發症の主因子に或る種の polysaccharide の存在を想定することは、かなり信頼性をおくことが出来ると考える。このように發熱性物質なるものが、藥液中に混在して副作用發現の原因となることは今日異論のないところであるが、生物或は化學的試験により Pyrogen free と見做される注射藥にして、往々病者に注射した際にも發熱をみる場合が經驗されておる。これは一體何か。ここに Pyrogen 以外の作用因子の介在が豫想されてくる。そこでこの原因を生體側に求めてみる必要がある。

そこで、これの研究對象を細菌感染の結果として來る Exsudate にもとめたのであるが、こ

の種の問題に関連あるものとしては、1946 年 Menkin による報告をあげることが出来る。

同氏は犬の人工的急性炎症性滲出液中に白血球減少因子及び發熱因子の存在することを認め、特に後者を Pyrexin と呼んでいる。

まず結核性助胸腔滲出液の成分々布を Tiselius の電気泳動法により調べ、一方以後實驗對象として用いた正常人血清、正常馬血清および乾燥人血漿との比較を試みた。この測定方法としては、滲出液および正常血清の蛋白濃度を $1/10$ M. phosphat buffer で 1.5~3.0 % に稀釋し、これをセロハン膜に包み $1/20$ M. phosphat buffer 外液に一晝夜以上透析し、Fibrin の折出している場合はこれを遠心分離して透明な蛋白質溶液とし、これを Tiselius の電気泳動装置によりその成分々布をみた。この成績は第 32 表に示す如く滲出液は血清成分と非常に類似している。表中像の左側に上行型、右側に下行型

第 32 表 電気泳動法による滲出液および正常血清ならびに蛋白質の成分々布 (その 1)

第 32 表 (その 2)

成分	檢體		滲出液		滲出液(膿胸)		正常血清(人)		正常血清(馬)		乾燥血漿
	成分々布		全蛋白量 (%)	濃度 (g/dl)	全蛋白量 (%)	濃度 (g/dl)	全蛋白量 (%)	濃度 (g/dl)	全蛋白量 (%)	濃度 (g/dl)	全蛋白量 (%)
總蛋白質				6.2		4.0		6.03~6.72		8.1	
Albumin			43	2.67	34.9	1.4	55	3.32~4.04	33	2.67	58.3
Globulin α			7	0.43	8.9	0.36	14	0.79~0.84	20	1.62	7.7
" β			11	0.68	10.0	0.4	13	0.78~0.81	21	1.70	8.8
" ϕ					8.2	0.33					6.7
" γ			39	2.42	38.1	1.52	11	0.66~0.74	26	2.11	18.7
Fibrinogen							7	0.34~0.43			
Total globulin			57	3.53	65.2	2.66	45	2.71~2.72	67	5.43	

を示した。各檢體の蛋白成分々布は類似し、たゞ人血清の場合 β と γ -globulin の間に ϕ 分布がみられた。これらの蛋白分布の定量値をまとめたのが上の表で、滲出液即ち Exsudate の蛋白濃度は 4~6.2 g/dl で、正常人血清の 6~6.7、正常馬血清の 8.1 と幾分似ているが、これらの各分層の成分々布比では差異がみられる。實驗例の少いうらみもあるが、滲出液は他の正常血清に比較して γ -globulin と Albumin との比が小さい。即ち Albumin が 43~34.9 %, γ -globulin が 39~38.1 %, Totalglobulin が 57~65.2 % であり、正常人

血清の Albumin 55 %, γ -globulin 11 %, Totalglobulin 45 % に比較すると Albumin の量はやゝ減じ γ -globulin 量は多い。したがって蛋白得数は滲出液では 0.5~0.7 で 1 以下ということとなる。

(65~68)

次いでこれらの各檢體を硫酸安門割分法により精製(第 33 表参照)を試みた。即ち $(\text{NH}_4)\text{SO}_4$ 20 % 飽和で沈澱する部分を遠心にて集め、蒸留水に溶解して 2 日間透析する部分と溶解部とに分け、これを別々に滲透乾燥した。この析出部分を Globulin 層 I、溶解部を Globulin 層 I' とした。なお Globulin 層 I は鹽

類が共存した場合にのみ容易に溶解する。更に 25% 飽和で沈澱した部分を Globulin II とし、 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 30% 飽和で沈澱した部分を Globulin III とした。この各分屑は透析後滲透乾燥により淡黄白色の粉末が得られた。この Globulin 屑を除去せしめ得た上清に $0.4 \text{ N H}_2\text{SO}_4$

を pH 4.8 になる迄加え約 48 時間放置して Albumin を析出せしめた。この Albumin 析出後の残渣を透析後 Sevag 法で除蛋白を行い、上清を Alcohol 劃分沈澱により、蒸留水易溶の最終部分に發熱性因子となる、いわゆる “Pyrexin” なる物質が得られた。

第 33 表 滲出液および正常血清の劃分法

まず各分屑の炎症能即ち皮膚障害作用について調べた (第 34 表)。

Globulin 屑 I は 5% NaCl 溶液に、その他の分屑は生理食鹽水で稀釋し、その 0.1 cc 宛を健常ウサギの皮内に注射した。試験濃度は大體 1~4% であるが、これを各分屑ごとにその得量と比較すると、Globulin I では 1: 2420 Albumin は 1: 760、そのほかは 1: 124~280 である。この滲出液の Globulin I は少量で著明な腫脹および發赤を起した。その他の分屑では多少の發赤を認めることはあつても腫

脹は全く認められない。正常血清も Globulin I 以外では全く皮膚障害作用を認めない。

そこで Globulin 屑 I の皮膚障害作用を起す最低所要量についてみると、滲出液では 1% で (++) となるが、含有量の稀釋にともなつて轉症となり、最低所要量は 0.25% である。正常血清では 1% で (+) 程度で、0.5% では陰性である。表中 (++) は炎症面積が 9 cm 以上、(++) は 4~8.9 cm、(+) は 2~2.9 cm として現わした。

次に發熱因子の究明をウサギを用いて各分屑

第 34 表 炎症能と蛋白分解能 その 1

区 分 分 屑		炎症性滲出液						正 常 血 清					
		炎 症 能				蛋白分解能		炎 症 能				蛋白分解能	
		判定	供試濃度	分屑総量	注射量総量	判定	供試濃度	判定	供試濃度	分屑総量	注射量総量	判定	供試濃度
グロブリン屑	I	卅	1	2.42	1:2420	+	0.5	—	1	0.63~ 0.74	1: 710	—	0.5
	I'	—	1~3			—	0.5	—	1~3			—	0.5
	II	—	4~7	0.68	1:1.24	—	0.5	—	4~7	0.78~ 0.81	1: 148	—	0.5
	III	—	1~2	0.43	1: 280	—	0.5	—	1~2	0.79~ 0.84	1: 540	—	0.5
アルブミン屑		—	3~4	2.67	1: 760	(—)	0.8	—	3~4	3.32~ 4.04	1:1051	—	0.5
Pyrexin		—	1			—							
ベンクレアチン		+	0.2			+	0.2						

(その 2)

分 屑 注射量(%)	グロブリン屑 I	
	滲 出 液	正 常 血 清
1	卅	+
0.5	卅	—
0.25	+	—
0.125	—	—

註 (1) 炎症能：

炎症面積が 9cm 以上卅, 4~8.9cm 卅,
2~3.9cm+, 炎症を認めないものを—と
した

(2) 蛋白分解能：

蛋白分解が認められたもの+, 認められな
いものを—として現わした

について調べた。10 数例について行つた試験によると散発的に各分屑に於て發熱のみられることはあつても、特定分屑に共通な發熱因子が存在することは認めなかつた。しかし滲出液を Sevag 法で除蛋白し、アルコールで割分沈澱によつて精製した部分に發熱性がみられた。正常血清に於ては、Sevag 法に於て殆んど確實に蛋白は Gell 狀となつて除去され、いわゆる

Pyrexin と呼ぶ分屑は得られなかつた。

發熱因子の試験方法は、大體第 6 改正藥局方に準じて行つたが、平均發熱度が 1 度以上の場合を發熱陽性とした。したがつてこの Pyrexin の發熱量は Pro. kg 0.5mg で陽性、0.25mg では疑陽性であるから、これを外因的の發熱因子すなわち Pyrogen に比較すると、はるかに多量を必要としておる (第 35 表参照)。

第 35 表 Pyrexin の發熱量

注 射 量 mg kg	發 熱 量							平均發熱量
1	+1.6	+1.8	+1.3	+1.2	+1.25	+1.5		+1.36
0.5	±0.95	+1.5	+1.2	±0.9	+1.6	+1.15	+1.05	+1.14
0.25	±0.8	±0.6	+1.15	±0.6				±0.78
0.125	—0.4	—0.5	—0.4					—0.43

このようにして滲出液中の炎症並に發熱因子の存在を知つたが、これの物理化學的性状についてみると、炎症因子たる Globulin 屑 I は水、稀酸に不溶、鹽類、稀アルカリに溶解し、

(NH₄)₂SO₄ 1/2 飽和で鹽析される。表に示す如くすべての蛋白反應は陽性であり、又 Molisch 反應も陽性である。熱により不活性化され、60°30 分の加熱で全く菌障碍作用は失われる。

したがって炎症因子は蛋白質である。

次に發熱因子の Pyrexin の方は水、稀酸、稀アルカリ易溶の白色無晶形粉末で、熱により凝固しない。蛋白の呈色反應は Biuret, Ninhydrin 以外は陰性であるが、Trichlor acetic acid, Tannic acid により沈澱するから Pyrexin は比較的簡単な糖を含んだ Polypeptide 様の物質であると見られる (第 36 表参照)。

第 36 表 炎症因子および發熱因子の定性試験

定性反應		炎症因子	Pyrexin
呈色反應	Biuret	+	+
	Xanthoprotein	+	—
	Adamkiewitz	+	—
	Millon	+	—
	Ninhydrin	+	+
沈澱反應	100° 30 分加熱	+	—
	Trichlor acetic acid	+	+
	Tannic acid	+	+
Molisch		+	+
Fehling		—	—

註：測定濃度は 1 % とした

74~77)

Dastre, Nalf は外傷或は火傷時に屢々線維素の減少がみられるが、それは血漿グロブリン中に線維素溶解作用を有する物質の存在によるかといっている。そこで炎症の機作を知るべく、まず滲出液或は正常血清の各分屑における蛋白分解能を試験した。

試験方法は血漿より析出した Fibrin を精製し中性 Carmin で染め検體作用後の色素溶出によつて判定する Fibrin-Carmin 法によつた。各分屑は酵素の損壊を防ぐために氷室内で透析後乾燥することなく試験に供し、ついでその蛋白量を檢べた。

その結果滲出液の Globulin 屑 I, 即ち炎症因子は著明な蛋白分解能を有し、0.5% で作用 1 時間において蛋白の分解を認め、時間の進展に伴つてその作用は増大した。たゞ例外として實驗を數回繰返した際、Albumin 屑 (供試濃度 0.8 %) が蛋白分解能を示す場合と示さない場合とがあつた。

ところが正常血清の Globulin 屑 I による炎症作用は 1 % 以上のときに見られ、0.5% 以下では見られないことは前にのべたが、この蛋白分解能も 1 % 以上の濃度のときに見られ、0.5% 以下ではみられない。

對照として用いたパンクレアチンが、著明な蛋白分解能を示したのは勿論であるが、この酵素及び Globulin 屑 I も 100° 15 分の加熱により完全にその分解能は消失し、熱操作により容易に不活性化された。

この方面の文献についてみると、すでに 1893 年 Dastre は健康血漿中に蛋白溶解即ち線維素を溶解する作用のあることを見出し、これを Fibrinolysis と名付けておる。Nolf は (1905, 1921) は In vitro でかゝる現象の觀察に成功し Tagnon⁷⁵⁾, Koplan, MacLeod 等とこれに續く幾多の先人の報告がみられるが、特に Mac Farlane, Pilling⁷⁶⁾ らはこの Fibrinolysis を Plasmin と名付け、これの生體含有量と臨狀上の突然死、外傷、火傷、出血時にみられる線維素の量的減少を追究し、興味ある解析を試みているけれども、滲出液についての報告はあまり知られていない。そこで特に滲出液と蛋白即ち線維素溶解酵素との關係について檢べることにした。先ほどの實驗では炎症因子共存蛋白分解酵素を Fibrin を Carmin で染色する Fibrin-Carmin 法によつて證明したが、今回は Mac Farlane が試みた定量法に基いて實驗を行つた。

基質としては Fibrin を用いた。實驗に用いた試薬は第 37 表に示す如くで、Fibrinogen は 5 % Citrat $\frac{1}{10}$ 容加血漿に等量に飽和食鹽水を加え、生じた沈澱を元の量に 0.85% NaCl を加えて檢液とした。Thrombin 溶液には血漿に CO₂ を飽和させて作る方法 (A の方法) があるが、これは Protease の吸着があるため形成した Fibrin Clot が自然に溶解するので實驗には B の方法を用いた。

次には Plasmin であるが、この線維素溶解酵素は Globulin 屑にみられるので、特にこの Globulin 分屑を精製する方法をとつた。

これは血漿を 20 倍に蒸留水で稀釋し、これを 1% CH_3COOH で pH 5.2 とし、この際生じた沈澱を集め、 $\frac{1}{4}$ 量に phosphat buffer を加えて溶解し、これに等量の Chloroform を

加え 1 分間強く振盪し、25' の恒温器に 18 時間放置すると澄明な溶液が得られる。この上清に $\frac{3}{4}$ 量の $\frac{1}{20}$ phosphat buffer を加えると Plasmin 溶液が出来る。

第 37 表 基 質 の 精 製 法

1. Fibrinogen	2. Thrombin (A)	3. Thrombin (B)	4. Plasmin
5% Citrat $\frac{1}{10}$ 容加血漿 等量飽和食鹽水 沈澱 上清 0.85% NaCl 溶液 (元の量に加える)	5% Citrat $\frac{1}{10}$ 容加血漿 CO_2 を通じ飽和にする 沈澱 上清 0.85% NaCl 溶液 (元の量に加える) NaHCO_3 にて pH 7.6 にする 2% CaCl_2 を $\frac{1}{10}$ 容加える 37° 恒温槽内で攪拌 Fibrin 除去 Thrombin 溶液	乾燥血漿 (7 g) 0.1% Citrat (100 cc) 2 倍量 Aceton 沈澱 上清 Aceton Ether 等量 混合液で 2 回洗滌 真空乾燥 粉末 pH 7.4 NaHCO_3 液 100 cc にて 2 時間溶出 2% CaCl_2 $\frac{1}{10}$ 容を 加え、1 晝夜放置 不 溶 物	血漿 20 倍に稀釋 1% CH_3COOH にて pH 5.2 沈澱 上清 $\frac{1}{4}$ 量 $\frac{1}{20}$ M. phosphat buffer (pH 7.1) に加えて溶解 等量 Chloroform を 加えて 1 分間強く振盪 25° フラン器に 18 時間放置 上清 Chloroform gell. $\frac{3}{4}$ 量の $\frac{1}{20}$ phosphat buffer (pH 7.1) を加える Plasmin

試験方法は検體 (生のまゝのもの或は Plasmin も共に) をクロロホルムで活性化したものを pH 7.1 の $\frac{1}{20}$ M. phosphat buffer で倍數稀釋し、豫め Fibrinogen 0.2 cc 宛を分注してある Wassermann tube にその 0.2 cc 宛を加えて行く。そして更に Thrombin 溶液を 0.1 cc 宛加えてよく振盪し、2~3 分放置すると、Fibrin の凝塊を生ずる。これに Toluol を重層し 37 のフラン器に 24 時間放置すると、Fibrin 溶解酵素の存在する時は、Fibrin Clot は澄明に溶解し、然らざるときは Fibrin Clot のまゝ存在する。

この成績は第 38 表に示したが、この線維素溶解は正常血清については、幾多の報告がみられるが、滲出液についての報告はほとんど知られていない。pH は血漿、滲出液共に大體 7~7.8 の間の弱アルカリ性で總蛋白量、これは蛋白計で計つたが、4~7% の間である。これらはいずれも生のまゝでは線維素溶解はみられないが、これを Chloroform で活性化すると、血

漿および慢性滲出液では $\frac{1}{2.5} \sim \frac{1}{10}$ 程度まで、急性滲出液は $\frac{1}{10} \sim \frac{1}{40}$ 倍稀釋でみられた。そこで更に Globulin 屑を分離しこのものの Chloroform で活性化しないものについて試みたが、そのまゝでは生の場合同様全く溶解作用はみられないが、Chloroform 活性によりみられた。この際一部の検體では精製操作により幾分作用の減弱がみられた。これについては検討中である。

なお Albumin 屑は生および Chloroform 活性によるも溶解能はみられない。ところが逆に Albumin はこの溶解を阻止をする抑制力を有することを知つた。

試験法は Globulin 除去後の溶液を用い、酵素としては Chloroform により活性化した血漿又は滲出液を用い、この酵素原液に同量の倍數稀釋 Albumin を加え溶解能が抑制される最高濃度を検べた。

その結果は非常に興味深く、線維素溶解が急性滲出液に最も強くみられたが、逆にその抑制

第 38 表 線維素溶解力ならびに抑制力

症 例	氏 名	年 令	性 別	症 状				分 解 力				抑 制 力				
				體 温	咳 嗽	咯 痰	盗 汗	赤 沈	pH	總蛋白量(%)	活性血漿又滲出液		Glob-ulin	Plas-min 活性	Albu-min	活性 Albu-min
正 常	齋○國○	31	♂						7.8	7.0	-	1/6	-	1/3	-	Chloro-form Albu-min
〃	神○徳○	26	♂						7.8	7.0	-	1/2.5	-	1/1.25	-	〃
〃	小○茂○	22	♀						7.8	6.8	-	1/3	-	-	-	〃
〃	福○一○	30	♂						7.8		-	1/2.5	-	-	-	〃
〃	川○公○	23	♀						7.7		-	1/2.5	-	-	-	〃
〃	佐○民○	27	♂						7.8	6.2	-	1/3	-	1/3	-	〃
〃	大○富○	25	♀						7.4	6.5	-	-	-	1/2.5	-	〃
〃	福○陸○	33	♂						7.6	6.2	-	-	-	1/2.5	-	〃
肺結核兼結核性體弱(急性)	矢○一○	31	♂	38.5~39.0	-	発熱中	-	70.3	7.2	4.0	-	1/10	-	1/10	-	〃
肺 結 核 症(急性)	石○一○	35	♂	38.3~39.1	-	+	-	65.2	7.2	4.2	-	1/20	-	1/3	-	〃
増殖性肺結核症(急性)	和○武○	35	♂	36.2~36.4	-	-	-	22.5	7.6	5.5	-	1/20	-	1/10	-	〃
右増殖性肺結核症(急性)	神○金○	32	♂	36.7~32.4	+	+	-	68.8	7.0	5.4	-	1/20	-	1/3	-	〃
増殖性肺結核症	和○武○	35	♂	36.2~36.4	-	-	-	22.5	7.6	5.6	-	-	-	1/1.25	-	〃
肺 結 核 症	佐○達○	33	♂	37.3	+	+	-	42.5	7.4	6.0	-	1/1.5	-	1/3	-	〃
滲 出 性 助 膜 炎	大○泰○	24	♂	36.8~37.6	++	++	-	36.4	7.6	5.0	-	1/5	-	1/2.5	-	〃
肺 結 核 症	渡○かえ	31	♀	37.0~37.5	++	+	-	20.0	7.8	6.0	-	1/10	-	1/2.5	-	〃
肺 結 核 症	稻○道○	24	♀	37.0	+	+	-	19.0	7.0	6.0	-	1/3	-	1/2.5	-	〃
滲 出 性 助 膜 炎	岡○健○	34	♂	36.2~37.2	-	-	-	70.5	7.8	4.8	-	1/3	-	1/2.5	-	〃
〃	夏○洋○	21	♀	37.5	-	+	+	23.0	7.3	5.0	-	1/2.5	-	1/2.5	-	〃
肺 結 核 症	夏○玲○	26	♀	36.8~37.5	-	-	-	22.0	7.8	5.0	-	1/3	-	1/2.5	-	〃
〃	佐○達○	33	♂	36.4~37.6	+	+	-	42.5	7.4	6.8	-	1/3	-	1/2.5	-	〃
肺 結 核 症	夏○玲○	26	♀	36.8~37.5	-	-	-	22.5	7.6	5.0	-	1/2.5	-	1/2.5	-	〃
混 濁 性 肺 結 核 症	平○睦○	21	♀	35.7~36.0	-	-	-	60.5	7.8	5.0	-	1/3	-	1/3	-	〃
増殖性肺結核症	和○武○	35	♂	37.0~37.4	-	-	-	22.5	7.4	5.0	-	1/2.5	-	1/2.5	-	〃
結 核 性 肺 浸 潤	谷○雄○	25	♂	36.2~36.8	+	+	-	34.5	7.2	4.0	-	1/2.5	-	1/2.5	-	〃
滲 出 性 助 膜 炎	大○五○	24	♂	36.8~37.7	++	++	+	35.0	7.2	4.6	-	1/3	-	1/3	-	〃

註：表中(一)陰性成績を，(+)は陽性成績を示す(不)は實驗不能を示す。し線所見は表構成の都合上省略した

第 39 表 耐酸耐アルカリ試験

(その 1) 線維素溶解酵素

番號 稀釋倍數 PH		1	2	3	4	5	6	7	8
		1/2.5	1/5	1/10	1/20	1/40	1/80	1/160	1/320
檢 體 活性血漿 (佐○良○)	2	—	—	—	—	—	—	—	—
	4	—	—	—	—	—	—	—	—
	5	+	+	—	—	—	—	—	—
	7	+	+	—	—	—	—	—	—
	8	+	+	—	—	—	—	—	—
	9	—	—	—	—	—	—	—	—
活性急性滲出液 (矢○良○)	2	+	+	+	—	—	—	—	—
	4	+	+	+	±	—	—	—	—
	5	+	+	+	+	—	—	—	—
	7	+	+	+	+	+	—	—	—
	8	+	+	+	+	+	±	—	—
	9	+	+	+	+	±	—	—	—
活性慢性滲出液 (佐○差○)	2	—	—	—	—	—	—	—	—
	4	—	+	—	—	—	—	—	—
	5	+	+	±	—	—	—	—	—
	7	—	+	+	—	—	—	—	—
	8	+	—	+	—	—	—	—	—
	9	+	±	—	—	—	—	—	—

(+) Fbrin-clot の完全に溶解したもの
(±) Fbrin-clot の僅かに残存せるもの
(—) Fbrin-clot の全く溶解せざるもの

第 39 表 (その 2) 抑制因子

Albumin		1/10	1/20	1/40	1/80	1/160
検體およびpH						
正 常 血 清 線 維 素 溶 解 素 (判定 24 時間)	2	+	+	—	+	+
	4	—	+	+	+	+
	5	—	—	—	±	+
	7	—	—	—	—	+
	8	—	—	—	—	+
	9	—	—	—	—	+
バ ン ク レ ア チ ン (判定 1 時間)	2	+	+	+	+	+
	4	+	+	+	+	+
	5	—	+	+	+	+
	7	—	—	+	+	+
	8	—	—	+	+	+
	9	—	—	+	+	+

以上になると沈澱を生ずる。しかしこれ等の薬物は酵素の作用に對し全く影響を與えることがない(第 41 表参照)。

又この線維素溶解酵素が Fibrin Clot をど

第 40 表 耐 熱 試 験

作 と 用 時 間 度	検 體	稀釋倍數					
		1/2.5	1/5	1/10	1/20	1/40	1/80
40° 10分	血 漿(佐藤)	++	++	—	—	—	—
	急性滲出液(矢島)	++	++	++	++	—	—
	膿性滲出液(神林)	++	++	++	++	—	—
	慢性滲出液(岡田)	++	++	—	—	—	—
56° 10分	血 漿(佐藤)	—	—	—	—	—	—
	急性滲出液(矢島)	—	—	—	—	—	—
	膿性滲出液(神林)	—	—	—	—	—	—
	慢性滲出液(岡田)	—	—	—	—	—	—
60° 10分	血 漿(佐藤)	—	—	—	—	—	—
	急性滲出液(矢島)	—	—	—	—	—	—
	膿性滲出液(神林)	—	—	—	—	—	—
	慢性滲出液(岡田)	—	—	—	—	—	—
對 照	血 漿(佐藤)	++	++	—	—	—	—
	急性滲出液(矢島)	++	++	++	++	—	—
	膿性滲出液(神林)	++	++	++	++	—	—
	慢性滲出液(岡田)	++	++	—	—	—	—

の程度まで分解するかについて実験を行つた。その結果蛋白質をアミノ酸までは分解しないようである(第 42 表参照)。

上のような各種の実験からこの線維素溶解酵素はストレプトキナーゼ⁷⁹⁾(人血の Euglobulin 分割中にあつて線維素溶解素に働くカタラーゼ様物質)と同一のものとされるが、病症の急、慢性の別によつてその作用力に量的段階差のみられることは興味あることである。

以上八田らは、注射液中の發熱源に關する研究から出發して、閉鎖性空洞たとえば助膜腔や關節などの滲出液が生體の偶發的發熱現象に如何なる關連性をもつかを知るべく、滲出液の化學的分割成分と發熱性ならびに起炎性について實驗を逐行し、その結果を上のように整理してみたのであるが、この點についてはなお觀察し實驗の累積を必要とする部面が多い。

む す び

發熱という生體反應も、發熱源という面からみれば、決して均一のものではない。そのため吾々は生體內における發熱因子の介在についても論述し、更に國の内外における發熱性物質(い

第 41 表 分解物 (透析外液) の定性反應

檢 體	試 驗	螢 光 反 應		呈 色 反 應				
		無 處 置	硫酸處理	Biuret	Ninhy- drin	Xenthop- rostein	Millon	Molish
活 性 血 漿 (福田)		卅青綠	—	—	—	—	—	—
活 性 急 性 滲 出 液 (石川)		卅青綠	—	—	—	—	—	—
活 性 膿 性 滲 出 液 (神林)		卅青綠	—	—	—	—	—	—
活 性 慢 性 滲 出 液 (和田)		卅青綠	—	—	—	—	—	—
對 照	Thrombin	—	+ 黃綠	—	—	—	—	—
	Fibrinogen	—	+ 黃綠	—	—	—	—	—
	Thrombin	—	—	—	—	—	—	—
	+ Fibrinogen	—	—	—	—	—	—	—

第 42 表 防腐劑による影響

檢 體	供 試 藥	フェニール水銀アセタ ート		ホルマリン 1%	石 炭 酸 0.5%	對 照
		0.1 %	0.05%			
活 性 血 漿 (福 田)		卅	卅	卅	卅	卅
活 性 急 性 滲 出 液 (和 田)		卅	卅	卅	卅	卅
活 性 慢 性 滲 出 液 (矢 島)		卅	卅	卅	卅	卅

わゆる外因的發熱因子すなわち Pyrogen) に関する研究の現況を紹介した。そしてそれが本研究分野の進展に役立つように解説してみたのである。本研究は文部省ならびに厚生省の科學研究費補助によつてなされた。

引 用 文 献

- 1) Seibert. F.B. : Am.J. phys., 67.90. (1923)
- 2) Seibert F.B. : Am. J. phys., 71.621. (1924)
- 3) Rademaker.L.A. : Ann. Surg., 92.195, (1930)
- 4) Rademaker. L.A.: Surg, Gyn. and Obst., 56.956 (1933)
- 5) Rademaker.L.A. Salisbury. M.D : J. A. M. A., 135(17). 1140. (1947)
- 6) Co Tui, Mc Closkey, Schrift. M.H. and Yates. A.L ; J.A.M.A., 109.205. (1937)
- 7) Co Tui and Schrift. M.H; Proc. Soc. Exper. Biol. Med., 49.320 (1924)
- 8) Co Tui, Wright. A. M ; Ann. Surg., 116. 412. (1942)
- 9) Robinson.S. and Flusser. A ; J.Biol. Chem. 153.529. (1944)
- 10) Nesseset. N.M. Mc Lallen.J, Anthony, P.Z. and Ginger. L.B.; J.Am. Pharm. Assoc., 39.456. (1950)
- 11) 山田 : 注射薬及内服薬の販用醫藥品中の微生物及びその有害物質の誰査研究, 文部省科學試験研究要望課題報告書 (1951)
- 12) 八田, 青山, 丹治 : 綜合醫學, 6 (16), 4, (1947)
- 13) 八田, 青山, 丹治 : 綜合醫學, 6 (17), 7, (1949)
- 14) 八田, 青山, 丹治 : 日本醫事新報, 1326, 9, (1949)
- 15) 八田, 青山, 丹治, 牧野 : 綜合醫學, 7 (13), 18, (1950)
- 16) 八田, 青山, 丹治, 菊地 : 最新醫學, 5 (11), 4, (1948)
- 17) 小林, 浦口 : 綜合醫學, 5 (11), 4, (1948)
- 18) 小林, 浦口 : 綜合醫學, 6 (2), 6, (1949)
- 19) 浦口 : 生體の科學, 1 (2), 23, (1948)
- 20) 浦口 : 綜合醫學, 6 (17), 4, (1949)
- 21) 浦口 : 綜合醫學, 6 (18), 11, (1949)
- 22) 八田, 青山, 丹治, 田中 : 公衆衛生學雜誌, 5(1), 26, (1948)
- 23) 八田, 青山, 丹治, 春日 : 公衆衛生學雜誌, 5(7), 20, (1949)
- 24) 八田, 青山, 丹治, 春日 : 公衆衛生學雜誌, 5(7), 27, (1949)
- 25) 石館, 坂口 : 藥學雜誌, 60, 643, (1940)
- 26) 青山 : 衛生試験所報告, 68, 127, (1950)
- 27) Cork, J.M : Phys. Rev., 62.80. (1942)
- 28) 牧島 : 化學と工業, 1 (7), 172, (1948)
- 29) Randall. J.T. and Wilkins. H.F. ; Proc Roy. Soc (London). A., 148.347. 365.390. 408. (1945)
- 30) 細谷, 川島 : 實驗醫學雜誌, 20, 913, (1941)
- 31) 武田, 啓 : 血清學免疫學雜誌, 5 (1), 75 (1944)
- 32) 武田, 渡邊, 啓 : 日新醫學, 35, 6, (1948)

- 33) 黒屋, 小泉 : 東北醫學雜誌., 26, 1, (1938)
- 34) 黒屋, 小泉 : 東北醫學雜誌., 29, 231, (1939)
- 35) 小林 : 實驗醫學雜誌., 20, 2, (1936)
- 36) 柴田 : 分光化學., (1943)
- 37) 袋島 : 注射薬及内服薬の販用醫藥品中の微生物及びその有害物質の調査研究. 文部省科學試驗研究要望課題報告書., (1951)
- 38) 山田 : 注射薬及内服薬の販用醫藥品中の微生物及びその有害物質の調査研究. 文部省科學試驗研究要望課題報告書., (1951)
- 39) 八田, 青山, 小澤, 宮澤 : 衛生試験所報告., 第 71 號掲載豫定
- 40) 八田, 山田 : 日本醫科大學雜誌掲載豫定
- 41) 小松, 園田, 細谷 : ペニシリン II (B), 110. (1949)
- 42) 大澤 : 日本醫科大學雜誌., 17(8), 27, (1949)
- 43) Shwartzman, G.: J. Inf. Dis., 45. 283. (1929)
- 44) Shwartzman G. Moliel. S. and Sobotka. H; J. Exp. Med., 65. 323. (1937)
- 45) Apitz. K.; J. Imm., 29. 343. (1935)
- 46) Hutner. S.H and Zahl. P.A; Proc. Soc. Exp. Biol & Med., 52(4). 364. (1943)
- 47) 田中, 寺田 : 實驗醫學雜誌., 22. 1607(1938)
- 48) 岡本 : 實驗醫學雜誌., 22, 1634, (1938)
- 49) 菅原 : 實驗醫學雜誌., 23, 1640. (1939)
- 50) 武田 : 日本細菌學雜誌., 4(1), 5. (1949)
- 51) Gerber. I. E. and Gross, M. ; J. Imm. 48(2) 103., (1944)
- 52) 市川 : 日新醫學., 36(8). 331. (1949)
- 53) 福田, 林, 岩月, 緒方 : 血清學免疫學雜誌., 2(4). 597. (1941)
- 54) 福田 : 血清學免疫學雜誌., 2(4). 597. (1941)
- 55) 本多 : 日本醫科大學雜誌., 19(1). 120, (1952)
- 56) 武田, 土屋 : 東京醫事新誌., 68(8)5. (1951)
- 57) 武田, 山下 : 日本細菌學雜誌., 4 (1), 45 (1949)
- 58) 河西 : 日本細菌學雜誌., 5(6), 385, (1959)
- 59) 河西 : 日本細菌學雜誌., 5(9), 437, (1950)
- 60) 本多 : 日本醫科大學雜誌., 19(1), 120. (1952)
- 61) 吉川 : 生體の科學., 1. 19. (1949)
- 62) 吉川 : 化學の領域., 3 (3). 14. (1949)
- 63) 平井, 島尾 : 生化學., 21 (2). 54. (1949)
- 64) 平井, 島尾 : 生化學., 21 (3). 109. (1949)
- 65) Menkin: Am. J. Phys., 134. 517. (1941)
- 66) Menkin: Am. J. Pathology., 13. 1. (1927)
- 67) Menkin: Am. J. Phys., 138. 396. (1943)
- 68) Smith: Proc. Soc. Exper. Biol & Med., 59. 116. (1945)
- 69) Mc Clean: J. Path & Bac., 33. 1045. (1930)
- 70) Mc Clean : J. Path & Bac., 42. 477. (1936)
- 71) Chain & Duthie : J. Exp. Path., 21. 324. (1940)
- 72) 榎原 : 東京醫事新誌., 67 (2). 17. (1950)
- 73) 榎原 : 綜合醫學., 7 (14). 7. (1950)
- 74) Datre : (Mac Farlane : Lancet., 1. 10 (1937) より引用)
- 75) Tagnon, Levenson & Davidson : Am. J. Med. Sci., 211. 88. (1946)
- 76) Mac Farlane & Pilling : Lancet., 2. 562. (1937)
- 77) 八田, 荻生 : 日本醫事新報., 1404. 15. (1951)
- 78) 荻生 : 日本醫科大學雜誌., 18 (10), 79, (1951)
- 79) Joseph. M.M. Perrin. H.L. and Edward. S.S : J.A.M.A. 148. 1485, (1952)