痘毒ノ人工培養並ニ無菌痘苗ノ人體ニ 於ケル接種及其ノ効果

醫學博士 助 川 喜 四 郎

Kishiro Sukegawa

(昭和16年7月4日受付)

【内 容 抄 録】

痘毒ノ人工培養法ヲ述べ且ツ純培養痘苗ノ人體ニ於ケル接種及其ノ効果ニ就テ實驗的ニ研究シ其ノ純培養痘苗ハ從來ノ犢牛體ニ接種シテ製シタル牛痘苗ニ代リテ人體接種ニ使用シ何等支障ナキノミナラズ其ノ効果モ牛痘苗ニ比シ毫モ劣ル所ナキヲ述べタリ。

目 次

緒 言	ノ効果
A 痘毒ト寒天培養	E 培養痘苗ノ種痘効果
B 痘毒ノ孵化鶏卵内培養	總 括
C 培養痘苗ノ製造方法	文 献
D 培養痘苗ヲ以テスル痘苗製造ト技術及其	

緒 言

余ノ痘毒培養ニ着手シタルハ1916年(大正5年)ニシテ最初固體並ニ液體培養地ニ痘毒ヲ發育セシメント試ミシハ回顧スレバ今ヨリ25年以前ニ在リ降而1925年(大正14年9月)ニ至リ偶々孵卵場ニ於テ孵化過程中ノ鶏卵ヲ求メテ之ニ痘毒ヲ接種シ其ノ培養ニ成功シ爾來繼續培養シ1937年(昭和12年)マデ鶏卵内培養153代ニ及ベリ、此ノ間關東大震災ニ逢ヒ培養ハ建物ト共ニ灰滅ニ歸シ幾多辛慘ヲ經タルモ今ヤ此ノ培養痘苗ノ實施期ニ達シ得タルモノト信ズ。

鶏卵内培養ト共ニ試験管培養ヲモ實驗セリ即チふいよんニ生理的溶液就中たいろーど液ヲ加ヘテ更ニあどれなりん及ビ孵化胎鶏兒ノ磨碎液ヲ加ヘタルモノ、又ハふいよんニぐるこーぜ、硅酸なとりーむヲ加ヘ更ニあどれなりん及ビ鶏胎兒液ヲ加ヘ PHヲ7.0トシタルモノニ痘毒ヲ培養シタルニ痘毒ハ一定ノ發育ヲ遂グルヲ見タリ(日本微生物學病理學雜誌第26卷第6號、同28卷第5號、同第28卷第9號)並ニ(細菌學雜誌第530號同535號參照)。

今ヤ歐米各國ニ於テモ痘毒ノ培養毒性ニ關スル研究ト共ニ痘毒ノ固形液狀培地並ニ孵化卵

内ヨリ其ノ應用ニ關スル研究痘毒ノ皮膚親和性及腦親和性種痘後ニ發スル腦炎無菌培養痘苗等ニ至ル諸問題ガ近年ノ研究課題トナリ米國ニ於テ1928年 *H.B. Maitland S.M.C. Maitland* ハ試験管内培養ヲ試ミ *River* ハ1930年以來痘毒液狀並ニ孵化卵内培養ヲ試ミ翌年之ヲ小兒ニ接種シテ好成績ヲアゲ1935年ニハ鶏卵培養130代ニ達シタリト報告セリ、1931年 *Goodpasture, Buddingh* モ亦孵化卵培養ヲ試験シ其ノ後 *Buddingh* ハ培養痘毒ヲ人體ニ接シテ其ノ免疫力ノ牛痘苗ニ劣ル所ナキヲ證明シ此ノ培養痘ハ簡易ニ短時間ニ製造シ得ルコト且ツ廣汎ニ廉價ニ提供シ得ルコト(1937年)ヲ賞用シ又獨逸ハんぶるぐニ於テ *Lehmann* ハ近年多數ノ初種痘及再種痘者ニ培養痘苗ヲ接種シテ其ノ効力ヲ確認シ且ツ無菌痘苗ノ從來ノ牛痘苗ニ優ル點ヲ擧ゲタリ。じえんなーガ初メ乳牛ノ乳房ニ天然痘患者ニ見ル痘疱ト等シキ特徴アル膿疱疹ヲ認メ之ヲ8才ノ兒童ニ接種シ天然痘ヲ豫防シ得ルヲ確メタルヲ濫觴トシ人類ニ幸福ヲ齎シタル功績ハ醫學史上確固不易ノ免疫法ノ發見ナリ此ノじえんなー氏ノ創意ニヨル種痘法ハ天然痘罹患快復後天然痘ニ對シ免疫トナルト同様ニ人工的ニ起サシムルモノニシテ其ノ傳染方式ハ天然痘ノ場合ト趣キ異ニシ變性天然痘毒デアル。然レバ痘毒ハ獨リ牛犢ニ限定セラレタルモノニアラズ廣義ニ於ケル感染動物家兎、水牛、駱駝反芻動物等 (*Animal*) ナレド普通ハ牛犢ヲ使用セリ思フニじえんなー以來痘苗ノ製法ハ牛又ハ犢體ニ接種シテ生ズル痘疱組織ヲカキトリ、之ヲぐりせりん水ニテ一定限度ニ稀釋スルノ方法ニ從ヒ今日ニ至ルマデ140有餘年ノ間其ノ儘使用セラル、之ヨリ以前東洋ニ於テモ天然痘ノ流行ヲ見ルヤ其ノ厄ヲノガレン爲メ不知ノ間ニ自衛手段トシテ痘瘡患者ノ痂皮或ハ輕症ニ經過セル患者ノ被服ヲ借り亦痘瘡患者ニテ痘瘡團子ヲ作り之ヲ隣人ニ配布シ豫防對策ヲ講ジタル跡アリ其ノ危險ヲ思フベシ幸ヒ系統的ニ動物體ヲ通ジ變性天然痘毒ヲ接種スレバ人工的ニ免疫ヲ附與シ天然痘ヲ豫防シ得ルコトニ成功シ現在ニ至ル然レド科學文化發達ト共ニ躍進科學ニ專念スル學徒ハ尙ホ満足ス可キモノニアラズ既ニ原理ヲじえんなーヨリ闡明セラレタル以上有効ニシテ簡易ニ痘苗ヲ製造シ得ル方法ヲ求メントスルハ蓋シ時代ノ趨勢ト見ル可シ要之從來ノ種痘法ト一定ノ期日ニ一般種痘ト行フ規定ヲ設クル國家ガ多シ。然レドモ近年各國ノ交通盛ナルニ從ヒ天然痘ハ隨時各地ニ突發シテ急速ニ且ツ多量ニ種痘ヲ實行セザル可カラザル場合ニ遭遇スルコト尠カラズ。斯カル時ハ俄ニ多數ノ犢牛ヲ得ルコト土地ニ由リテ頗ル困難ナル事情ニアリ且一時ニ數萬乃至數10萬ノ痘苗ヲ製造スル事ハ容易ノコトニアラズ今ヤ痘毒培養ノ成功ハ歐米各國ニ於テモ研究セラレ等シク之ヲ犢牛ノ如キモノヲ使用セズ實驗室内ニテ簡易ニ製造シ是ヲ既ニ人體ニ實際化シ或ハ實施セントスルニアリ。犢牛ノ飼養ハ元來勞役又ハ食用ヲ目的トスルモノニシテ痘苗製造ハ研究室裡ニ委スベシト云フベキナリ余ノ培養元ハ文部省傳染病研究所製造牛痘苗乃至ハ北里研究所牛痘苗ヨリ得タルモノナレバ何等規定痘苗ニ背反セザルモノト考ヘ

純培養牛痘苗ト命名スル事ニシタ以下痘毒ト技術ノ一端ヲ記載シ參考ニ供セントス。

A 痘毒ト寒天培養

余ハ1925年(大正14年9月)3%普通寒天ニぐりこーぜ0.5%—3%ヲ加ヘ之ニ10%トノ割合ニたいろーど液ヲ加ヘ次デ0.01%ノ硅酸ナトリウムヲ加ヘ性ヲ嚴密ニ檢シPH中性7.0ナル時ニあどれなりん少量ヲ加ヘ斯シテ調製セル寒天培養地ニ孵化卵7日—8日ノ鶏胎兒組織ヲ細碎シ寒天面ニ使用シ痘毒培養ニ供セリ。

註 たいろーど液ハ加熱滅菌スル時ハ効力ヲ消失スル憂アレバ濾過器ニテ濾過シ其ノ無菌的ナルヲ證シ使用スベキモノトス。寒天培養地ハ攝氏45度程度ニテ10%ノ割合ニたいろーど液ヲ注ガシ良ク混和シ之ヲ試験管ニ分注シ斯クシテ寒天培養面ニ鶏胎兒ヲ良ク細碎セルモノヲ使用シ、痘毒培養溫度ハ攝氏26乃至30度程度トス。

培養期間ハ72時間ニシテ發育可能ナリ5日以上ニ至ル時ハ減毒ス。斯ル操作ヲナス時ハ年餘ニ亙リ累代繼續培養シ得ル事ハ既往ニ於テ學會ニ標本ヲ供覽説示セル所アリタリ、此ノ寒天培養ハ痘毒培養ニ當リ支持體ト見做ス可キモノニシテ發育物質ハ鶏胎兒物質(Active Element, Aktive Substanz, Active Gewebe)ナリ孵化過程中ノ健全ナル胚種ヲ使用スルニアレバ自ラ命數ニ限度アリ。

然レバ之ヲ培養所定期間内ニ活性ナルヲ必要トシ、賦活力ヲ有スル生理的溶液就中たいろーど液等ヲ配用シ其ノ目的ヲ達シ得ル。めちうむニシテ適當ナルニ於テ痘毒ヲ發育可能ナラシムル事ハ余年次ニ亙リ實驗證明ヒシ所ナリ。最近歐米各國ニ於ケル痘毒人工培養研究ノ勃興ト共ニ其ノ文献ヲ見ルニ痘原體ノ寒天培養ト培養痘毒ノ人體接種試驗ト題シテハ一わーと大學ノKuratschkin, Fimothyハ先ニちんつあーガリけつちあ培養ニ用ヒシ培地(寒天たいろーど液、牛血清)ガ痘原體ノ培養ニモ適スル事ヲ發表シタ。即チ孵化卵ニ接種シタ卵膜及ビ胎兒ヲ取り出シテ之ヲ細碎シ或ハ同様ニ細カニシタ二十日鼠胎兒ヲ之ニ混ジ其ノ60-80mgヲちんつあー寒天面ニ塗り硝子管ノ口ヲごむ栓ニテ封ジ5日間培養シタ、斯クシテ16代ノ培養ヲ重ネテ發痘價250分ノ1ヨリ100萬分ノ1ニ増シタ上記ノ二十日鼠ノ胎兒ハ鶏胎兒ニ比シテ成績不良デアツタ、培養5日以上ニ亙シバ痘毒ハ減弱スルモ5日培養ヲ氷室ニ貯フル時ハ3週間ニテモ毒力減退セズ。

Proc. Soc. exper. Biolog a. Med. 41, 1939—Zbl. f. Bakt. Rf. Bd. 135, 1940

更ニりわーすハ上記培養ヲ繼續シタルニ痘毒ノ性狀ノ變化ヲ認メズ、培養痘毒ヲ人體皮内ニ注射シタルニ不快ノ反應ヲモ起サザリシト云ヘリ、又培養痘毒ヲ人體ニ接種後6ヶ月乃至1ヶ年後ニ強力ナル犢牛痘苗ヲ接種シタルモナホ感染セザリシト云ヘリ。

(Fexper, Med, 63, 1936)

是レ等ノ研究ニ據レバ鶏胎兒物質ヲ塗布セル寒天培地ニモ痘毒ハ一定發育ヲ遂グル事ヲ證明シ且此ノ培養ハ痘苗トシテ使用シ得ル可能性アル成績ヲ示シタモノト謂ヒ得ル。

ふれすらう大學ノれんつ (Lenz) ハ細胞ナキ培養地ニ痘毒培養ヲ研究セリ、即チ同氏ニ依レバ組織培養ヲセるふあん紙ニテ濾過シ細胞ヲ除キ是ヲ無細胞培養ニ移植シ5代マデ植繼ギ得タリト云ヘリ、然シるばー (Silber) 法ニヨル酵母及ビ球菌ヲ以テスル痘毒培養ハ成功セズ、然シコレんつノ研究ハ尙ホ研究ノ餘地アリト特ニ余ハ考フ處ニシテ余モ研究過程中屢々苦キ經驗ヲ有スルモノナレバ無條件ニ承服シ得ズ。要スルニ Active Element, Active Substanz ノ存在スル培養地ニ發育スルト云フ事實ハ何人モ是認スル所ナリ、然シ斯カル物質ナキ培養地ニ發育スル事ハ現在ノ所未ダ考ヘ得ズ。痘毒移植スルニアタリ余ハ專ラ千倍稀釋度ニ前記培養ニ痘毒ヲ移植ス或ハ孵化卵ニ痘毒ヲ移植シ其ノ痘毒發育胚種ヲ500分ノ1乃至10000分ノ1トシ移植培養セリ、斯クスルコトニ依リテ累代年餘ニ亘リ繼續培養可能ナル事ヲ實驗セルハ既報ノ如シ、其ノ發痘價モ100萬倍乃至1000萬倍ノ成績ヲ示ス、茲ニ注意ス可キハ痘毒ヲ冷暗所ニ貯藏スル時ハ比較的長時日ニ亘リ毒力減弱セザルモ其ノ貯藏ニ缺ク事アラバ假令ういるスハ發育スルモういるれんつ減弱シ發痘價ニ動搖ヲ來タシ其ノ發育ヲ否定スル事實ニ遭遇スル事有リ得ルモノナレバ其ノ毒力ヲ恢復スル爲ニ家兎辜丸ニ接種シ4、5代位通過スルト牛痘性辜丸炎ヲ發スル事(既報)或ハ組織培養法ニヨリ第1代移植ニテハ何等特有ノぐ小體ヲ認メザルモ更ニ植換ヲ繼續シ第4、5代ニ至レバぐ小體ノ全貌ヲ認ムルヲ得ベシ。又寒天培養毒ヲ孵化卵ニ接種スルコトニ依ツテ毒力ヲ恢復シ得ル。僅々2、3回ノ移植ニ於テ肉眼的ニ發育セザルヲ以テ實驗ヲ云爲スルガ如キ批判ハ余ガ屢々遭遇セル處ニシテ頗ル遺憾ノ點ナルヲ特記シ注意ヲ促シ置ク所ナリ。亦ういるスヲ移植スル時ニ成可クういるれんつノ強キモノヲ選ブヲ適當トスル。之レ一般細菌ニ見ル如ク菌株ニヨリ其ノ特有性ヲ消失セザルマデモ毒力減弱スルモノアルハ明ナリ。

要之寒天培養地ニ痘毒ハ發育可能ナリ、而シテ發育セシムルニハ余ノ[指示セル Active Element, Active Substanz, Active Gewebe]ヲ使用スル事ニ依リテ發育ス。

B 痘毒ノ孵化鶏卵内培養

液狀培地ニ就テハ(細菌學雜誌第530號參照)詳細記載セルヲ以テ省略ス、次ニ舉ルモノハ孵化鶏卵内培養ノ其ノ後ノ研究追試ヲ述ブルニアリ、鶏卵ヲ培地ニ加ヘテ病原ノ發育ヲ良好ナラシムルハ既ニ知ラルル所ナレドモ余ノ場合ハ其ノ趣ヲ異ニシ痘毒ヲ受精卵内ニ培養シテ其ノ發育ノ有無ヲ考究シタルニアリ、其ノ受精卵内ニ痘毒ヲ移植スルニ當リ先ヅ解化ニ要ス

ル溫度ハ攝氏37度乃至39度トス、若シ平面孵卵器ヲ使用スル場合ハ容器ニ水ヲ盛り乾燥ト濕度トノ調和ヲ計リ、又人為的ニ輕ク雞卵ヲ延轉シ胚種ノ運動ヲ促ス必要アリ、最モ便利ナルハ立體孵卵器ニテ自然的ニ180度ニ延轉スル裝置ヲ有スレバ孵化ニ適ス胚種ハ第3日頃ニ生ジ第5日—7日ニ至レバ電燈照射ヲ以テ檢スル時ハ胚種ハ暗黒色ノ影像ヲ呈シ恰モ刺戟ヲ避クルガ如ク一定限度内ニ移動ヲ見ル、14日以後ニ至レバ雞胎兒ハ羽毛ヲ生ジ20日乃至22日ニ至リ卵殼ヲ破リテ生ル茲ニ注意ヲ要ス可キハ材料トシテ種卵ノ選擇ニアリ只簡單ニ雞卵ナレバ使用スルニ足ルト考ヘ白痢菌遺傳型ヲ等閑ニ附シ無菌操作ニ力ヲ盡セドモ徒勞ニ終ル事アルハ余ガ大正14年(1925年)以來ノ經驗ナルノミナラス卵殼ノ無菌操作ノ目的ニテ昇昇水或ハ石炭酸乃至ハくれぞー、りぞー等使用シ之ヲ%ニ或ハ時間的ニ多岐ニ亘リ操作ヲ施ス時ハ雞卵自體氣泡ヲ有スルモノナレバ孵化過程中ノ胚種ニ影響ヲ及ボシ發育停止ヲ來シ其ノ目的ニ副ハザル場合アレバ其ノ取扱等ニ熟練ヲ要スルト共ニ注意ス可キ事柄ナリト信ス雞卵培養方法ハ受精卵ヲ攝氏37—39度ノ孵卵器ニ入レ5日—8日目ノモノヲ適當トス、余ハ好ミテ第8日目ノモノヲ使用セリ、胚種ノ發育ヲ檢シ其ノ旺盛ナルモノヲ選ビ卵殼ノ鈍端部ヨリ注射針ニテ白膜ヲ通ジ卵膜ヲ目標トシ痘毒ヲ注射ス注射針ノ刺口ハばらふいんニテ封ジ再ビ孵卵器ニ納メ4日乃至7日ニテ之ヲ無菌的ニ處理ス其ノ順次左ノ如シ。

1. 無菌痘苗ヲたいろーど液滅菌生理的食鹽水ニテ1000倍乃至10000倍ニ稀釋シ其ノ0.1ccヲ注射スルト。
2. 初代雞卵內培養痘苗ヲ前ト同ジク1000倍乃至10000倍ニ稀釋シ其ノ0.1ccヲ次ノ卵ニ注射逐次ニ繼續培養ヲ行フ事。
3. 孵化雞卵內痘毒ヲ移植スルニ當リ毒力ト卵生孵化胎兒トノ關係ヲ考慮ス可シ若シ其ノ痘毒ノ量多キニ過グル時ハ卵殼膜ハ溶解シ胎兒ハ發育ヲ停止スルニ至ル可シ。
4. 牛痘苗ヲ培養原トナスモノナレバ發育モサルコトナガラういるれんつ強キういるすヲ採擇スルヲ可トス。
5. 家兎試驗ニテハ上述セル培養ノ脈絡羊膜乃至胎兒ヲ取り之ヲ磨碎シ食鹽水或ハたいろーど液ニテ稀釋シ其ノ0.2cc宛ヲ皮内ニ注射セリ其ノ左右兩側2列宛都合20箇注射シタ。

第 1 表 助 川 痘 苗

稀釋度 種 類	10 倍	100 倍	1,000 倍	10,000 倍	100,000 倍
左 側	3.4×3.2	3.0×3.1	3.0×2.9	2.7×2.8	2.5×2.5
	3.1×3.0	3.0×3.1	2.8×2.8	2.8×2.8	2.1×2.0
右 側	3.0×3.1	2.8×3.0	2.9×2.9	2.7×2.7	2.5×2.2
	2.0×2.9	3.0×2.9	2.7×2.9	2.5×2.1	2.0×1.9

種類稀 釋 度	10倍	100倍	1,000倍	10,000倍	100,000倍
左 側	3.5×2.9 3.3×3.1	3.0×3.0 3.0×2.8	3.0×2.7 2.8×2.7	2.6×2.5 1.8×2.0	2.4×2.0 2.0×2.0
右 側	3.2×3.1 3.0×3.0	3.0×3.1 2.9×3.0	2.9×3.0 2.8×2.8	2.5×2.6 2.6×2.6	2.4×2.1 2.2×2.2

第 2 表 北里研究所製痘苗

種類稀 釋 度	10倍	100倍	1,000倍	10,000倍	100,000倍
左 側	3.0×2.8 2.8×2.7	2.7×2.8 2.5×2.6	2.2×2.8 2.3×2.4	2.3×2.2 1.8×2.1	1.5×1.2 1.0×1.2
右 側	3.3×3.1 2.8×2.7	2.8×2.9 2.5×2.7	2.8×2.7 2.8×2.5	2.6×2.5 2.4×2.3	2.4×2.3 2.1×2.0
左 側	2.8×3.0 2.9×2.8	2.7×2.7 2.7×2.6	2.2×2.3 2.7×2.5	2.0×2.0 2.4×2.3	1.5×1.8 2.0×2.0
右 側	3.0×2.9 3.1×3.0	2.8×2.8 2.9×2.8	2.6×2.7 2.6×2.6	2.3×2.2 2.4×2.2	2.0×2.1 2.0×1.9

第 3 表 傳染病研究所痘苗

種類稀 釋 度	10倍	100倍	1,000倍	10,000倍	100,000倍
左 側	3.2×3.0 3.0×3.1	3.0×2.9 2.8×2.7	2.7×2.7 2.7×2.7	2.7×2.6 2.5×2.4	2.3×2.0 2.0×1.8
右 側	3.2×3.0 3.0×2.9	3.0×2.8 2.9×2.7	2.7×2.5 2.6×2.4	2.7×2.5 2.0×2.3	2.3×2.0 2.0×2.0
左 側	2.9×2.8 2.8×2.8	2.7×2.8 2.7×2.6	2.6×2.5 2.4×2.3	2.4×2.3 2.1×2.0	2.1×1.8 1.8×1.9
右 側	3.0×3.1 2.9×3.0	2.9×2.9 2.8×2.0	2.0×2.2 2.4×2.5	1.8×2.0 2.2×2.2	2.0×1.8 1.8×1.9

上記ノ如クニシテ痘毒ノ孵化卵内培養ヲ重ネ毎世代之ヲ取リテ家兎ニ接種シ其ノ發痘ノ状態ヲ觀察シタル成績ハ表ニ示ス（對照ハ傳染病研究所並ニ北里研究所ノ牛痘苗第2, 第3表ニ示スガ如シ然シ其ノ製造日時ハ多少相違アルモ近似ノ製造ニ依ルモノニ就テ比較シタルモノナレバ諒トセラレタシ）今茲ニ繁雜ヲ避クルタメ其ノ中ノ例ヲ記載スルニ止ム重ネテ注意ス可キハ培養ニ供スル鶏卵ナリ即チ鶏卵ハ容易ニ白痢菌ニ侵サレ各國ニ蔓延シ同菌遺傳型ハ卵内ニ存在シテ孵卵胎兒ニ移行スル故同菌ノ遺傳ヲ受ケタル鶏卵ニ痘毒ヲ接種スル時ハ白痢菌

ニ妨ゲラレテ痘毒ハ發育セズ此點培養痘苗製造ニ最モ注意ス可シ然シ最近本邦ニ於テ其ノ慘害ヲ認メ法令ニヨリ其ノ遺傳型種ヲ取締ルト云フ事ヲ聞ク余ハ斯カル要約ノ下ニ鶏卵内培養繼續シタ。

(イ) 卵殼羊膜痘價ヲ實驗セルニ毎時家兎皮内0.2ccヲ注射シ檢討シタルニ一千萬倍或ハ以上ノ稀釋ニ於テ發痘スルヲ知ル。

(ロ) 鶏胎兒ニテモ發痘價ハ略ボ同一ナレドモ痘疱ノ大サニ於テ差別ヲ示ス即チ鶏胎兒ニ於テ稍々小型ナリ。

(ハ) 漿液ヲトリテ試シタルニ其ノ發育ヲ認ムルト共ニ相當ノ發痘ヲ示ス卵黃ニハ多少認ムルモ敢テ痘毒ノ發育ハ詮議ノ程度ニ至ラズ。

以上ノ如ク卵殼、羊膜、鶏胎兒ノ順位ナル如シ然シテ尙ホ注意ス可キハ痘毒接種胚種ハ5日乃至6日ニ至レバ特ニ卵殼羊膜上ニ特有ノでるれー形成ヲ見ル然レドモ痘毒接種スルト否トニ係ラズ12日乃至14日ニ至レバ胎兒ハ鶏體ヲナス準備トシテ卵黃卵白等腹部ト尾部トノ彎曲部位ニ恰モ體內ニ包埋セラル如ク萎小退嬰ノ狀ヲ呈シ是等物質ハ卵殼羊膜ニ包容セラル其ノ兩者接觸部位ニ恰モでるれー形成セルト思ハシムル無構造物質ノ卵殼羊膜ニ附着スルヲ見ル、余ハ年來ノ經驗ニ徴シ痘毒ハ72時間ニシテ既ニ發育完成スルヲ知ル從テでるれーノ形成ト痘毒ノ發痘價ト敢テ併行ス可キモノニアラズト特ニ注意ヲ促ス。

C 培養痘苗ノ製造方法

以上述タル實驗動物ニテ孵化鶏卵内ニ於ケル痘毒發育ハ明白ナル事實ニシテ其ノ發痘ハ確實ナルヲ認ム可シ *Budding* ハ(1937年)鶏卵内培養ニ由リテ無菌痘苗ヲ容易ニ得ラル、モノトシ培養72時間ニシテ痘毒ノ外胚細胞ニ於ケル發育ガ完成サルコトヲ證明シ又痘毒ハ培養ヲ繼續シテ然シテ從來ノ牛痘苗ト余ノ純培養牛痘苗ノ比較ニ於テ培養ヲ以テ製セル痘苗ノ發痘力ヲ試驗スルニ當リ官立傳染病研究所々製痘苗及ビ北里研究所製痘苗ヲ對照トシテ其ノ發痘力並ニ痘疱ノ大サヲ測リ余ノ純培養牛痘苗ノ優劣ヲ比較セリ、其ノ結果ヲ見ルニ上表ニ示ス如ク其ノ發痘力並ニ痘疱ノ大サニ於テ培養痘毒ハ從來ノ痘毒ニ比シ毫モ遜色ナキヲ認メタリ。

敢テ動物ヲ通過セシムル必要ナク、人體ニ接種スルニ反應少シ其ノ理由ハ此ノ痘苗ハ主トシテ外皮細胞ニ發育スル爲ナリ人體接種ニ由リテ生ズル免疫力モ牛痘苗ニ劣ル所ナシ、培養痘苗痘毒ニ非働性牛血清ヲ加ヘテ痘苗ヲ造リシモぐりせりん5%ノ方が良好ナリ。要スルニ鶏卵痘苗ハ種々ナル點ニ於テ牛痘苗ニ優ル(1)廉價ナルコト。(2)短時日ニ製シ得ルコト。(3)一定時寢セテ置ク必要ナキコト。(4)無菌ナルコト。(5)神經嗜好性ナキコト等ナリ、

斯カル理由ヨリシテ培養痘苗ニ反對スル理由ヲ失フベシト論ジ更ニ氏ハ12日間孵化セル鶏卵ニ天然痘患者ノ膿汁ヲ接種シ卵膜ニ肉眼的變化ヲ見ばつしえん小體ヲ證明シ又卵膜内ニぐあるにえり小體ヲ染色シ得タリト云フ。然シテ天然痘患者ノ水泡内容カラハ上記ノ培養ニハ成功シナカツタ、亦卵膜培養法ヲ臨床診斷ニ應用スレバ72時間ニシテ證明シ得ルカラ此ノ點家兎角膜ニ優ル。彼ハ患者ノ1例ノ經驗カラ痘毒材料ヲ卵膜培養ニ於テ成功シ角膜接種ニテ陰性ナリシヲ擧ゲテ卵膜培養ヲ臨床診斷ニ應用スベキヲ提唱シ又假痘トノ鑑別診斷ニモ利用サル可キヲ信ズ。

ふつつくハ試験管内培養ノ痘毒ヲ新鮮ノママ或ハ乾燥シテ試験シタルモ共ニ其ノ毒力ヨク保存サレ毒力試験ニハ家兎ノ皮内接種及ビ腦内注射ヲ行フ。ばういあ大學ノもりな Molina ハ脈絡羊膜痘毒培養及ビ鶏胎兒ノ變化ニ就テ熱心ニ研究ヲ遂ゲタ氏ハ500ケノ卵膜培養ヲ行ヒ仔細ニ觀察シタル結果ニ由ルニ卵ノ孵化ハ10日乃至14日ヲ最モ適當スルコト痘毒ヲ卵膜ニ接種スレバ3日後ニハ胎兒ノ各臟器ニ痘毒ガ擴リ終ニ死亡スルト云ヘリ、卵膜培養痘毒ヲ種々ノ動物ニ接種シテ其ノ有効ナルコト及ビ其ノ痘毒ヲ保存シ得ルコトヲ證明セリ。

彼ハ卵膜培養痘毒ヲ取り家兎腹腔、脈管内、腦膜下、皮下及ビ皮内接種ヲ行ヒ總テ動物ノ腦ニ強力ノ神經痘毒ヲ證明シ、此ノ痘毒ヲ家兎皮膚ニ接種スル時ハ立派ニ發痘スルト報告セリ。以上述タル如ク實驗動物ニテ孵化鶏卵内ニ於ケル痘毒發育ハ明白ナル事實ニシテ其ノ發痘力ハ確實ナルヲ認ム可シ、余ハ上述セル實驗ニヨリテ得タル結果ニ由リ培養製造ノ順序ヲアグルハ左ノ如シ。

(1) 余ハ鶏卵孵化第7日乃至第8日目ノモノヲ選ビテ痘毒培養ニ供セリ。

(2) 之ヲ孵卵器内ニ納メテ培養スルコト72時間ニテ既ニ發育スルヲ以テ第5日目—6日ニテ鶏卵ヲ無菌的ニ破リ卵鶏胎兒内容ヲ取り出スコト。

(3) 培養5日乃至6日ニ至ル時ハ肉眼的ニ卵膜ニ粟粒大ノころに—或ハ痘疱ト云フ可キ物ヲ生ジ中ニハでるれ—ヲ形成スルコトヲ明ラカニ見ルヲ得、之ヲ檢スルニハ10%ふおるまりん水ニ浸漬スル時ハ痘疱ノ發育狀態ヲ一層明瞭ニ識別シ得ベシ、然レドモ卵膜ニヨリでるれ—ノ發生或ハ粟粒大ノころに—形ノモノ生ジ易キモノト然ラザルモノトアリサレド何等毒力ニ關係セザルコト。

(4) 痘毒成熟發育セル卵膜乃至胎兒ヲ取り重量ヲ秤リ之ヲ滅菌磨碎器ニテ乳劑ニ造レコト。

(5) 該乳劑ヲ0.25%ノ石炭酸加ぐりせりん液蒸溜水4分ぐりせりん6分ノ混液ニテ5倍ニ薄メ痘苗ヲ調製スルコト(元來無菌痘苗培養ナレバ石炭酸ヲ從來ノ半量トセリ)亦ぐりせりんノ代用トシテ非動物牛血清ヲ使用スルモ支障ナシ斯クシテ調製シタル痘苗ヲ氷室内ニ貯藏シ

用ニ臨ミ使用ニ供スルヲ得ベシ。

D 培養痘苗ヲ以テスル痘苗製造ト技術及其ノ効果

孵化過程中ノ鳥類例ヘバ受精鶏卵ニ濾過性病原體ヲ培地トシテ其ノ病毒ヲ増殖セシメ其ノ病毒増殖組織タル脈絡尿膜ハ血管ニ富ミ恰モ人體ニ於ケル母體ト胎兒トノ間ニ於ケル胎盤ニ比ス可キ旺盛ナル血液循環ヲ營ミツツアリ卵殻トノ結合ガ著シク大ナル爲上記増殖作用完了後其ノ組織ニ亂切ヲ加フルコトナクシテ之ヲ卵殻ヨリ剝離スルハ頗ル至難ニテ病毒發育組織ヲ損失スルハ已ムヲ得ズ余ガ痘毒ヲ孵化卵ニ移植増殖セシメテ之ヲトルニ當リ技術的ニ容易ノ業ニアラズ、且ツ卵膜ノ如キ血管ニ富ムモノナレバ血液並ニ卵培養内容物即チ卵白、卵黃等ノ汚染ヲ排除シ痘毒發育(組織)ヲ清掃シ然カモ毒力組織ヲ紛失若シクハ減毒セシムルコトナクシテ所期ノ目的ヲ達セシメントスルニアリ、卵膜ノ如キ菲薄且ツ病毒組織ナレバ洗滌頻度ニ亘リ操作ヲナス時ハ組織ハ透明トナルモ痘毒ヲ徒費シ其ノ效果ヲ失スル事ハ余ノ屢々實驗セシ所ナリ、然レバ余ハ次表ニ示ス如ク生理的食鹽水さばにん蒸溜水等ニテ培養組織ノ水洗ニ應ジ痘毒ノ消失量ヲ檢スルコト留意ス。此ノ試験ニ供シタル鶏卵培養ハ50個ヲ使用シ、先ヅ孵化卵ヲ第8日目ニ痘毒ヲ移植シ5日目即チ12日ニテ卵膜ヲ採取シ、表ニ示ス如ク發痘價ヲ檢シ之ヲ對照標準トシ、痘毒増殖セル組織ヲ各5g宛トシ前記溶液ヲ各々ベとりー氏しやれー10cc宛盛リ順次ニ各10位ニ至ルマデ5分間ヅツ浸漬シ之ヲ輕クびんせつとニテ振盪シ一定要約ノ下ニ觀察シタ。

第 8 表 卵 膜

稀釋度 種 類	10,000倍	100,000倍	1,000,000倍	10,000,000倍	100,000,000倍
左 側	2.3×2.4	2.2×2.0	2.0×1.8	1.9×1.9	1.2×1.2
	2.4×2.4	2.2×2.0	2.0×2.0	1.8×2.0	1.5×1.2
右 側	2.4×2.4	2.1×2.3	2.1×2.0	1.8×2.0	1.5×1.4
	2.3×2.3	2.2×2.1	1.8×2.0	1.8×2.0	1.5×1.3

第 9 表 さばにん洗滌液

稀釋度 回 數	原 液	10倍	100倍	1000倍	10,000倍
1	3.0×3.0	3.0×3.0	2.9×2.8	2.5×2.5	2.4×2.3
2	3.0×2.3	2.8×2.8	2.7×2.5	2.4×2.4	2.0×2.3
3	2.9×2.8	2.7×2.7	2.4×2.3	2.0×2.2	1.8×2.0
4	2.9×2.9	2.6×2.7	2.3×2.0	1.8×1.6	1.5×1.6
5	2.7×2.8	2.6×2.6	2.2×2.0	1.7×1.6	1.4×1.4
6	2.7×2.7	2.7×2.5	2.0×2.1	1.8×1.5	1.5×1.2

第 10 表 蒸溜水洗滌液

稀釋度 回 數	原 液	10倍	100倍	1,000倍	10,000倍
1	2.8×3.0	2.8×2.8	2.7×2.6	2.4×2.5	2.4×2.3
2	3.0×2.9	2.8×2.8	2.6×2.6	2.3×2.2	2.0×2.1
3	2.8×2.7	2.5×2.6	2.5×2.5	2.0×2.0	1.8×1.8
4	2.7×2.7	2.6×2.7	2.6×2.3	2.0×1.9	1.7×1.8
5	2.5×2.4	2.4×2.4	2.1×2.1	1.8×1.6	1.5×1.6
6	2.4×2.4	2.1×2.3	1.8×1.6	1.3×1.4	1.4×1.1

第 11 表 食鹽水洗滌液

稀釋度 回 數	原 液	10倍	100倍	1,000倍	10,000倍
1	2.2×2.1	2.0×2.0	1.6×1.6	1.5×1.5	1.2×1.0
2	2.0×2.0	1.8×1.8	1.4×1.3	1.0×1.0	1.0×0.8
3	1.7×1.6	1.6×1.6	1.4×1.0	0.8×0.6	0.8×0.5
4	1.6×1.5	1.4×1.3	1.0×1.1	0.6×0.5	0.5×0.5
5	1.5×1.4	1.2×1.2	1.0×0.9	0.6×0.5	—
6	1.0×1.0	1.0×0.8	0.8×0.9	0.5×0.5	—

其ノ結果ヲ見ルニ脈絡尿管第8表ニ示ス如ク直後ニ於テ其ノ發痘價1億ニ達シ痘胞ノ大サ形
 狀等ヲ測定シタルニ表ニ示ス如シ、第9表ニ示ス如ク2%ヲ原液トシ10ccヲ盛レルシヤレニ第6
 位マデ法ノ如ク發痘價並ニ形狀ヲ測定シ、第10表蒸溜水第11表生理的食鹽水何レモ痘胞ノ大
 サ形狀ヲ測定シ以上ノ如ク實驗セシニニ示ス如ク蒸溜水、食鹽水等ノ順位ニ水洗スル毎ニ痘毒
 ノ消失スルヲ知ルヲ得タリ、然レバ余ハ7回ヨリ10回ニ至ルマデノ家兎實驗ヲ省略シ、更ニ
 第10回最後ニ使用セル組織ニ就テ家兎皮内ニ接種シ第8表何等人工ヲ加ヘザルモノト比較檢
 討シタ。

第 12 表 卵 膜

稀釋度 種 別	10倍	100倍	1,000倍	10,000倍	100,000倍
左 側	2.2×2.3	1.8×1.8	1.5×1.5	1.0×1.2	0.8×0.8
	2.2×2.2	1.7×1.9	1.5×1.6	1.2×1.2	1.0×1.1
右 側	2.3×2.3	1.8×1.5	1.5×1.5	1.2×1.3	1.0×1.1
	2.3×2.4	1.9×2.0	1.5×1.5	1.3×1.2	1.2×0.9

代表的ニ示ス如ク蒸溜水ニ、10回洗滌セシ組織ヲ乳劑トシ試驗セシニ表ニ示ス如ク第8表ニテ
 1億ノ發痘價及ビ第12表ニ於ケル10萬倍發痘價ト痘胞測定ヨリ比較シ其ノ水洗ニヨル痘毒ノ消
 失量ノ如何ニ多大ナルヲ知ルト共ニ其ノ効果ヲ毀損スルノ大ナルヲ知ル。

さばにん蒸溜水ヲ使用セシハ脈絡尿膜ノ如キ血管ニ富ミ其ノ操作ヲナスニ當リ血液ヲ處理スルニ於テモ便利ナル可キヲ考ヘさばにん蒸溜水等ヲ以テ處理シタル組織ハ生理的食鹽水ノ夫レニ比シ清淨セラルルハ事實ナリ、余今回ノ實驗ニテさばにん蒸溜水等アリテハ第10回ニ至ルマデハもくろびン析出ヲ認ムルモ反之食鹽水ニテハ第5回位ニテハもくろびン析出肉眼的ニ僅微ニテ寧ロ組織ニ點々凝血アルヲ見ル蓋シさばにん蒸溜水ハ血球溶解作用アレバ血液ニヨル汚染ハ除去セラルルハ當然ナル可シ、以上ノ實驗成績ニヨリ水洗頻度ニ及ブ時ハ假令組織ハ清淨トナルモ痘毒ハ濾過器ニテ濾過シタル如ク稀薄トナリ其ノ効力ニ至リテハ今更多言ヲ要スル迄モナシ、然レバ洗滌スル事ハ避ク可キコトヲ警告ス依テ余ハ上述ノ方法ハ卵殼ヲ破リ脈絡尿膜ヲしやれーニテ處理シタルモノナレバ今回ハ專ラ痘毒組織ヲ卵殼ヨリ採取スル約30分以前ニ注射針ニテさばにん液又ハ蒸溜水ヲ約1g孵化卵内ニ注射シ其ノ血液循環作用ニヨリ充血病毒組織ヲ貧血招來セシム可キ工程ヲ加ヘ換言スレバ生活組織ヲ利用シ卵殼ヨリ離斷スル以前ニ自然ニ委シ如何ナル結果ヲ齎スカヲ試驗スルニアリ、然シテさばにん及蒸溜水ハ血球溶解作用アルト共ニ亦組織ニモ影響ヲ及ボシ從ツテういるスニ關係スルヤヲ考慮スル要アレバ之ニ孵化卵50箇ヲ使用シ脈絡尿膜ニ就テ實驗觀察シタ。

第 13 表 第 1 週

稀釋度		1.00倍	10.000倍	100.000倍	1000.000倍	10000.000倍
種 別	1	2.5×2.6	2.3×2.3	2.1×2.0	2.0×2.0	1.8×1.8
	2	2.3×2.4	2.2×2.2	1.8×2.0	1.8×1.8	1.6×1.7
右 側	3	2.5×2.4	2.1×2.2	2.0×2.0	1.7×1.8	1.7×1.7
	4	2.5×2.4	2.4×2.2	2.1×2.1	2.0×2.1	1.8×1.9

第 14 表 第 3 週

稀釋度		1.000倍	10.000倍	100.000倍	1000.000倍	10000.000倍
種 別	1	2.0×2.0	1.5×1.6	1.2×1.2	1.0×0.8	0.6×0.3
	2	2.0×1.8	1.4×1.2	1.0×0.8	0.6×0.6	0.5×0.6
右 側	3	1.9×1.8	1.1×1.2	0.8×0.8	0.6×0.6	0.6×0.6
	4	2.0×1.8	1.5×1.5	1.0×1.1	0.8×0.7	0.7×0.7

第 15 表 第 5 週

稀釋度		1.000倍	10.000倍	100.000倍	1000.000倍	10000.000倍
種 別	1	2.0×2.0	1.2×1.2	1.2×1.0	1.0×0.9	0.6×0.6
	2	2.0×1.8	1.3×1.1	1.0×1.0	0.8×0.6	0.5×0.5
左 側	3	1.8×1.8	1.2×1.2	0.8×0.9	0.5×0.7	0.5×0.5
	4	1.8×2.0	1.3×1.2	1.0×1.0	0.9×0.9	0.6×0.5
右 側	3	1.8×1.8	1.2×1.2	0.8×0.9	0.5×0.7	0.5×0.5
	4	1.8×2.0	1.3×1.2	1.0×1.0	0.9×0.9	0.6×0.5

第 16 表 第 8 週

稀釋度						
種 別	1	1.8×2.0	1.2×1.5	1.2×1.0	0.6×0.6	0.5×0.5
	2	1.7×1.8	1.2×1.2	1.0×1.0	0.5×0.5	—
左 側	3	1.5×1.6	1.1×1.0	0.8×1.0	0.6×0.5	0.6×0.5
	4	1.8×1.8	1.0×1.3	0.8×0.8	0.7×0.6	0.5×0.5
右 側	3	1.5×1.6	1.1×1.0	0.8×1.0	0.6×0.5	0.6×0.5
	4	1.8×1.8	1.0×1.3	0.8×0.8	0.7×0.6	0.5×0.5

備考 家兎兩側ヲ脫毛剃毛シⅠハ卵膜ヲ採取シ0.25%石炭酸加ぐりせりんニテ磨碎シⅡハさばにん水ヲ卵内注射後磨碎シ之レ0.25%石炭酸加ぐりせりん水Ⅲ蒸溜水Ⅳ食鹽水何レモⅤニ準ジタルモノデアル。

上記ノ如クシテ各液ヲ使用スルニ當リ攝氏37度ニ保温シ注射セリ實驗方法ヲ要約スレバ次ノ如シ。

(1) 約30分ノ後卵殻ヲ破リ一定容器しやれーニ受ケ迅速ニ脈絡尿膜ト胎兒ノ連繋スル根幹血管ヲ鋏又ハめすニテ切斷ス。

(2) 上記さばにん蒸溜水又ハ蒸溜水ヲ卵殻ヲ通ジ操作ヲ施セバ内容組織ハ卵殻ヨリ容易ニ剝離セラレ而シテ充血組織ノ血液ハ凝血スルコトナク僅カナル組織切斷ニヨリ容易ニ流出除去セラル。

(3) 卵内ニテ充血痘毒組織ヲ離斷スル以前ノ操作ナレバ組織ヲ毀損スルコトナク、増殖痘毒ヲ消失スルコトナシ、反之痘毒充血組織ヲ一定容器しやれーニ取り出シ血液除去ノ目的ニテ亂切水洗スル時ハ組織ノ損失ト共ニ痘毒ヲ消失スルハ上記表ホニヨリテ明ナリ。

(4) 卵内痘毒培養充血組織ニ食鹽水注入操作ハ効果のナラズ然レバ人或ハさばにん乃至ハ蒸溜水ハ血球毒ナレバ之等ノ液ヲ使用スルハういれんつニ關係ナキヤヲ考慮ス可キモ上記實驗ヨリ對照ニ比較シ痘痘並ニ發痘價ニ至ルマデ何等差別ナク敢テ毒力減退ヲ示サザルハ明カナリ、又スカ 操作ヲ以テ痘苗トシテノ應用如何ニトスレバ余ハ直ニ痘苗稀釋(蒸溜水4分ぐりせりん6分)ヲ以テ應ヘン殊ニ卵内容組織ニ應用スルニアレバ單純ナル血球ニ作用シ容易ニ目的ヲ達シ得ルモノナリ。

(5) 以上ノ實驗ニヨリ痘毒培養充血組織並ニ清掃ノ目的ニテ頻度ニ亘リ洗滌スル時ハ組織並ニ痘毒ノ消失多ク從テ痘苗トシテ價值ヲ減退スト云フニ躊躇セザル可シ。

Budding ハ培養痘毒ヲ以テスル痘苗製造ノ技術及ビ其ノ効力ニ就テノ方面モ研究シタ、牛痘苗ハ攝氏5度ニ於テ最モヨク保存セラルぐりせりん加痘苗ノ貯藏ニハ5度以上ニ上ラザル様ニ注意シ然ラザレバ其ノ毒力ハ著シク速カニ減ズルト云フ、牛痘毒ニ家兎及ビ牛血清ヲ加フレバヨク保存サルルガ血清ヲ加フレバ直ニ毛細管ニ吸引シ置ク必要アリ時間ガ經過スルト沈澱ガ生ジ毛細管ニ吸ヒ難クナル、若シ脈絡尿膜培養ニ牛血清ヲ加フル時ハ無菌的ナルハ云フマデモナシ、痘苗ニぐりせりんヲ加フルハ不利デアルぐりせりんハ殺菌性アルノミナラズ又ういるすヲ殺ス此ノ點ニ於テ血清ヲ良好トス血清加痘苗ハ溫度ニ堪エル爲ニ熱帶地方デモ便利ニシテ、其ノ他試驗ニ供シタルモノハ3%あらびやごむ食鹽水ニテ3%胃粘膜等分ノ卵黃トぐりせりん液最モ良好ナルハ無菌培養痘苗1分ト牛血清4分トヲ混ジタモノナリト報告セリ。

余モ亦純培養痘苗ニ牛血清ヲ使用スルコトハ *Budding* ニ左祖スルモノニシテ、時局柄トハ云ヒ資材ノ整備東亞共榮圈內ノ確立ノ上ヨリシテ又培養原ヲ牛痘毒ヨリ得タルモノナレバ純培養牛痘苗ナルハ確固不易ナレドモ種々ノ意味ニ於テ牛血清ヲ使用スルノ利益ナルヲ思ヒ之ヲ實驗シ以テ應用シ得ルト信ズ。

E 培養痘苗ノ種痘効果

余ノ培養ハ元來牛痘毒ヲ取りテ鶏卵內培養ヲ行ヒ之ヲ繼續シタルモノナレバ培養ニヨリテ痘毒トシテノ性状ニ變化ヲ來サザルヤヲ慮リ培養痘苗ト牛痘苗ノ相互關係ヲ比較考査セリ、即チ家兎5頭(體重2500g内外)ヲ1列1班トナシ左右兩側ヲ脫毛剃毛シ1側10箇所20箇所ニ培養痘苗ヲ接種シテ完全ニ發痘シタルモノヲ準備シ又北里研究所製ノ牛痘苗ヲ同一條件ノ下ニ他ノ5頭ニ接種シ完全ニ發痘シタルモノヲ準備シ置キ兩者共ニ接種後ヨリ起算シ1ヶ月ノ經過後培養痘苗ヲ、接種シタルモノニハ牛痘苗ヲ牛痘苗ヲ接種シタルモノニハ培養痘苗ヲ植ヘ交叉的實驗ヲ行ヒ次表ニ示ス如キ結果ヲ得タリ。

第 4 表 培養痘苗接種成績

稀 釋 度	體 重	皮内接種	日 時	成績及症狀
10倍	2600	++	昭和14年12月13日	融合性痘泡形成
100倍	2650	++	〃	〃
1,000倍	2700	++	〃	〃
10,000倍	2500	++	〃	散發性痘泡形成
100,000倍	2550	++	〃	〃

第 5 表 牛痘苗接種成績

稀 釋 度	體 重	皮内接種	日 時	成績及症状
10倍	2530	++	昭和14年12月18日	融合性痘疱形成
100倍	2300	++	〃	〃
1,000倍	2600	++	〃	〃
10,000倍	2500	++	〃	〃
100,000倍	2650	++	〃	散發性痘疱形成

第 6 表 培養痘苗接種 1 ケ月ニシテ牛痘苗ヲ接種シタル成績

移 釋 度	體 重	皮内接種	日 時	成 績
10倍	2600	0.2cc	昭和15年 1 月18日	陰 性
100倍	2650	〃	〃	〃
1,000倍	2700	〃	〃	〃
10,000倍	2500	〃	〃	〃
100,000倍	2550	〃	〃	〃

第 7 表 牛痘苗接種後 1 ケ月ニシテ培養痘苗ヲ接種シタル成績

移 釋 度	體 重	皮内接種	日 時	成 績
10倍	2530	0.2cc	昭和15年 1 月18日	陰 性
100倍	2300	〃	〃	〃
1,000倍	2600	〃	〃	〃
10,000倍	2500	〃	〃	〃
100,000倍	2650	〃	〃	〃

即チ培養痘苗ヲ以テ前處置ヲ施シタルモノニ牛痘苗ヲ又牛痘苗ヲ以テ前處置ヲ行ヒタルモノニ培養痘苗ヲ接種シタルニ其ノ成績ハ何レモ陰性ナリ依之牛痘苗ト培養痘苗トノ免疫發生ハ共通ナルヲ證明シ得タリ。即チ年餘ニ亘リ繼續培養シタル痘毒ハ初メノ牛痘毒ノ性質ヲ變化スルコトナキヲ知リ從ツテ鶏卵培養ヲ痘苗ニ應用スルコトハ何等差支ナシトノ結論ニ達シタリ。

余ガ培養痘苗ヲ人體ニ接種シタルハ1930年(昭和6年)デ爾來1940年(昭和15年)ニ至ルマデノ種痘人員3700餘ニ上リ其ノ成績ヲ見ルニ初種痘者ハ何レモ善感シ發痘力強キモ其ノ經過ハ牛痘苗ニ比シテ稍々輕ク淋巴腺等ノ副作用ヲ呈スルモノハ少ナシ畢竟培養痘苗ハ純粹ノ牛痘苗ニ依リテ成ルニシテ細菌ヲ含有セザルヲ以テ雜菌ニヨル炎症ヲ避ケ得タルニ由ルモノト信ズ。1940年ニ於テ余ハ培養痘苗ト牛痘苗トヲ比較評價セメガタメ慎重ナル注意ノ下ニ次ノ如キ種痘法ヲ施行シタ。即チ幼兒ノ上膊ニ牛痘苗2個培養痘苗2個計4個ヲ接種シテ其ノ發痘力ヲ比較檢討セリ此ノ如クスレバ最モ正確ナル結果ヲ判斷シ得ルモノト信ジタレバナリ、初種痘幼兒ノ數ハ37名デ生後1年未滿ノモノ6名2年未滿ノモノ20人3年未滿ノモノ1名何レニ於テモ接

種4ヶ共善感シ完全ナル發痘ヲ示セリ、再種痘者ノ場合即チ第1期種痘ヲ終リテノ1067名中善感215名(18.5%)又牛痘苗ヲ接種シタルモノ625名中善感123名(19%)ニテ兩者ニ於テ略ボ同一ノ成績ヲ示セリ。次ノ實驗ハ培養痘苗ノ効力ヲ一層明確ニ證明セルモノナリ即チ生後1ヶ年前後ノ幼兒ニ培養痘苗ヲ接種シ其ノ後156日(3ヶ月餘)ヲ經テ第2回種痘ニハ牛痘苗ヲ植ヘシニ悉ク不善感ニ終レリ、余ハ此ノ培養痘苗ハ長ク貯藏ニ耐ユルヤ否ヤノ効力ヲ試驗セントメ氷室ニ11ヶ月置キ之ヲ初種痘者3名ニ種痘シタルニ2名ハ4顆共善感シ他ノ1名ハ4顆中3顆ハ善ク發痘セリ。

次ニ獨逸國ニ於テモレーマン(Lehmann)ハ孵化培養痘苗ヲ以テ種痘ヲ行ヒ精密ナル觀察ヲ下シテ其ノ結果ヲ報告セルガ最モ注目ニ價スルモノアリ彼レガ1937年—38年ニ亘リ兒童ニ行ツタ種痘ハ10423人(内譯初種痘者5065人再種痘5358人)ニ達シ之ヲ脈絡尿膜ノ數39個ヲ用ヒタリ其ノ目的ハ培養痘苗ハ何時マデ放置スルモ差支ナキカ稀釋度ハ如何其ノ効力ハ如何等ヲ考ヘ種痘後ノ調査ハ獨逸内務省(1937年)ノ規定ニ從ヒ(1)初種痘ニ於ケル膿胞ノ發生經過ノモノ(2)急經過ヲトル膿胞(3)水泡發生(4)早期又ハ結節發生ノ4型ニ分ケテ精密ニ検査セリ、然ルニ其ノ結果トシテ(1)培養痘苗ハ5倍又ハ10倍ニ稀釋シテ製造スルコト(2)此ノ痘苗ハ低溫度ニ、10ヶ月乃至11ヶ月モ貯藏セルモ培養發育ハ毫モ妨ゲラレズ(3)種痘成績ニ由レバ初種痘ニハ100%善感シ又再種痘ノ場合ニモ相當感染セリ、但シ感染力ハ培養ニ使用スル卵膜ニヨリ一定セズ(4)痘苗保存3ヶ月經過後ニテモ初種痘ニハ100%亦5ヶ月後ニテモ100%善感セリレーマンハ痘苗ニ理解ヲ有スルモノナラバ純培養痘苗ヲ供給スルコトハ何等困難ニアラズ培養痘苗ハ無菌ナルヲ以テ從來ノ牛痘苗ニ勝ルコトヲ主張スル人ニハ「余ハ其ノ無菌ノ培養痘苗ヲ短時日ニ製造シ且ツ供給シ得ルト」説カント云ヘリ尙ホ彼ハ「培養痘苗ヲ一般ニ施行セントスルニハ先ヅ初種痘者ニ就テ其ノ有効ナルヲ見ル可シト云ヒタリ」以上ノ如ク彼我ノ見解並ニ成績ニ就テ其ノ一致セルハ「學ニ國境ナク學者ニ祖國アリトスルモ眞理ハ一ナルヲ知ル」ハ余ノ如キ斯學ニ專念永年ニ亘リ研究シタ學徒トシテ欣快ノ情ニ堪エズ。

總 括

1. 病原體牛痘毒ハ特異ノ培養地ニ分離セラル。
2. 固形液體培地活性物質ニ(Active Elementer Active Substanzen)ノ存在ニヨリテ發育増殖シ又孵化鶏卵内ニ脈絡尿膜胎兒ニ發育スルモノナリ、之等培地ヨリ余ガ往年指示セル4分ノ1乃至5分ノ1mgノぐらゐ陰性ニシテぎむぎニ染色シえおじんニ親和性ヲ有スル微小體ヲ檢出シ得、特ニ鶏卵内培地ニテハぐあるに在る小體ヲ脈絡尿膜ト余ノ指示スル小體ヲ認ムルコトヲ得タリ、斯クシテ不可視不可能視サレタル痘毒ウイするハ人工的ニ培養可能ナリト

助川論文附圖

人體接種4個善惑（亂切法）初種痘生後8ヶ月兒

人體接種4個善惑（亂切法）初種痘生後1ヶ月兒

云フ結論ニ達セリ回顧スレバ1925年ニ端緒ヲ得タルニ始マリ爾來幾多ノ經緯ヲ經テ今日ニ及ビタルモノニシテ余獨自ノ見解ニアラズシテ痘毒培養可能ナリト云フ事ハ歐米各國ニ於テ實驗モシ承認シツツアルコトハ今更論議ノ必要ナシ。

3. 鶏卵培養ニ由リテ製セル純培養牛痘苗ト稱ス可キモノハ繼續培養スルコト30餘世代ニ及ブモ毫モ本來ノ牛痘毒ノ性狀ヲ失フコトナク且ツ其ノ毒力ヲ保持スルハ家兎ニ於ケル皮内接種ニ由リテ證明シ得タリ。

4. 純培養痘苗ハ規定ニ從ヒ之レヲ冰室ニ貯フル時ハ2ヶ月ニ及ビ僅カニ減弱スルモ尙ヨク發痘力ヲ有シ一千萬倍稀釋ニ於テモ明カニ發痘ヲ呈スルハ家兎接種試驗ニヨリ證明シ得タリ。

5. 純培養牛痘苗ハ初種痘兒ニ接種セシニ從來ノ牛痘苗ニ比較シ發痘力ニ差異ヲ認メス若シ純培養痘苗ノ効果ヲ論ズルナレバ先ヅ初種痘兒ニ就テ檢討ス可キナリ。

6. 純培養牛痘苗ヲ接種シタルモノニツキ免疫力ヲ試驗シタルガ第1回種痘後8ヶ月餘ヲ經過シタル後及ビ4ヶ年ヲ經過シタル後ニ於テ牛痘苗ヲ接種シタルニ何レモ不善感ナリ即チ之ニ由リテ見ルモ免疫力ハ數年間保存セラルルハ疑ヲ容レズ。

7. 純培養牛痘苗ヲ冰室ニ貯ヘ11ヶ月ノ後之ヲ初種痘者ニ接種シタルニ確實ニ發痘シタルヲ認ム。

以上ノ實驗ニ由リテ余ノ純培養牛痘苗ハ從來ノ犢牛ニ接種シテ製シタル牛痘苗ニ代リテ人體種痘ニ使用シ何等支障ヲ來スコトナキノミナラズ其ノ効力モ從來ノ牛痘苗ニ比シ毫モ劣ル所ナキヲ證明シ得タリ、余ハ今ニシテ3方法ニヨリ痘毒培養ニ成功シ得タコトハ毎ニ科學ヲ口ニスルモノトシテ多少ノ責任ヲ果シ得タリト信ズ。

文 献

- 1) Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. 41. 1939—Zbl. f. B. Rf. Bd. 135, 1940.
- 2) J. exper. Med. 69. 1936.
- 3) Zbl. Bakt. 140. 1937.
- 4) Amer. J. Publ. Health. 1937.
- 5) Amer. J. Hyg. 1938.
- 6) C. r. Soc. Biol. 1638.
- 7) Zbl. Bact. IOrg. 1937.
- 8) Bull. Inst. sieroter. milan. 1937.
- 9) Amer. J. Hyg. 1938.
- 10) Z. f. Hyg. 1938.
- 11) Reichsgesundh. bl. 1938.
- 12) I. ob. Hyg. 1938.