pH 11 処理ジフテリア Formoltoxoid の抗毒素結合價 並びに抗毒原性に就いて

三 浦 恒 祐

東京大学伝染病研究所第一研究部 (部長 細谷省吾教授)

〔受付: 6月3日 1955年〕

I. 緒 言

1922年 Ramon^{1) 2) 3)} はジフテリア毒素 (以下ジ毒素と略記す) と抗毒素との相互作用に基づく沈澱反応の起る事を見出して、これを Flocculation と命名し、この反応を利用して抗毒素価、或は Toxin 又は Toxoid の抗毒原価を測定し得ると記載した。その後この事は幾多の学者に依り復試承認され、1924年 Glenny 及び Okell⁴⁾ はこの Flocculation 法に依り測定した Toxin 及び Toxoid の価を Lf, 初発反応を起すまでに要した時間を Kf と記載した。2つの Toxoid 製剤がある場合に、仮令両者の Lf 価が同一であつても、Kf の著しく長い Toxoid の抗毒原性は Kf の短いものに劣ると云われている。1933年 S. Schmidt⁵⁾ はジ毒素に対するホルマリンの作用と pH 及び温度との関係に就き報告している。それに依ると、pH もホルマリン濃度、温度と等しく高い程 Toxoid 化が速かに促進される。亦ホルマリンを一定の割合に添加し、pH を 5.5~9.5 として血温に放置し、8日目に毒性並びに Lf 価を測定したが pH 8.5 迄は pH の高い程無毒化が速かに行われるが、pH 9.5 では抗原の破壊を来し、毒素抗毒素反応を阻害する物質がつくられると記載しているが免疫実験を行っていない。1937年 Eaton⁶⁾ は精製ジ毒素に pH 6.3 においてホルマリンを 0.25% に添加する事に依り無毒化される、併し pH 8.6 において同濃度にホルマリンを添加すると、35°C 2日間の保温で抗毒素血清との間に Flocculation 現象を起し得なくなると。Moloney 及び Weld⁷⁾ もジ粗毒素をホルマリンで処理する場合、pH 7.0~10.0 においては、アルカリ度が高い程無毒化が速かであるが、pH 10 においては Flocculation 発現能力をも失うと云っている。然るに昭和16年細谷教授、脇、林⁸⁾ 等はブドウ球菌毒素をホルマリンに依つて無毒化する場合、pH の値が高ければ高い程無毒化が速かに行われ、pH 9.0~9.5 においてはホルマリンを 0.05% 添加する事に依り、

37°C 3時間にして Toxoid 化するのみならず、人体に対しても優秀な抗毒原性を有し、しかも認むべきアレルギー性の副作用は全く起きなかつたと報告している。翌17年同門柳沢⁹⁾ は透析ジ毒素にホルマリンを 0.1% を加え、pH 9.0~9.5 とし 37°C に 24~48時間放置すると完全に無毒化し得られ、斯くして得られた Toxoid は成人に対して、認むべき副作用なく抗毒原性も強大であつたと、その後同門松岡¹⁰⁾ は志賀赤痢菌毒素を透析した後ホルマリンを 0.5% に加え、pH 9.0 とし 37°C 72時間放置する時は完全に無毒化し、しかも動物に対し強大な抗毒原性を有すると云う。これらの実験成績は提案指導者たる 細谷教授によつて第11回日本医学会総会演説として総括発表された (日本医学及び健康保険昭和17年 3280 (915) 5)。昭和18年同門大谷¹¹⁾ はジ毒素に緩衝液を加え、pH 11 に保ち 0.4% の割にホルマリンを加え 37°C 2日間放置する事に依り完全無毒化が認められたと、更に大谷は之を3日間流水透析した後その内液 5.0 ml 宛を多数のモルモットに注射して毒性のないこと、抗毒原性は粗毒素に劣らない事を確かめた後、その無菌的 Chamberland 濾液を 15歳以上の10数名に対し、第1回 0.3 ml, 第2回 0.5 ml を注射しても何等副作用を起さないと報告している。1952年同じく同門藤原¹²⁾ はジ毒素にホルマリンを 0.4% の割に加え、pH 8.5 に修正した後 Sørensen 緩衝液 (pH 11) を等量に加えた後 37°C に放置すると、粗毒素の場合 9~15日間で Toxoid 化し、17~30日目には直接法においても、亦混合法においても Flocculation 現象は発現しなくなる。斯くして得

(この論文の大意は昭和30年1月27日の伝研、予研學術集談会において発表した)。

MIURA, Tunesuke: Studies on the antitoxigenicity of the diphtheria toxoid treated with formalin at pH 11 and its combining value between antitoxin. —Jap. J. of Bact. 10 (12), 991-996, 1955,

られた Toxoid の 3.0 ml をモルモットに注射すると、17日目に明らかに該免疫モルモットのシック反応は陰性になり、19日目に 300 mld に相当する毒素を皮下に注射し 10 日間観察したが何等異常なく耐過したと。その後 1953 年細谷教授並びに横山¹³⁾ はロダゲンカリにて処理したジ毒素は、毒性を全く消失し、抗毒素との間に直接法と間接法とにおいて Flocculation 現象を起し得なくなるが、之をもつてモルモットを免疫すれば強い抗毒性免疫が成立することを報告している。

今回著者は細谷教授指導のもとに pH 11 において、ジ毒素をホルマリン処理して得られた Toxoid の Lf、抗毒素との結合価、並びにモルモットに対する該 Toxoid の抗原性に就いて精細に実験を行い新知見を得たのであるに報告する次第である。

II. 実験材料及び方法

1) ジ毒素液

揚¹⁴⁾の培地(同門永井の改良による)にジ菌 Park-Williams No. 8 の後裔なる Toronto 株を接種、34°C 7 日間静置培養した後 Toluol を加えて殺菌後、濾紙濾過して得られた無菌的濾液(pH 8.2, Lf 85, Kf 45 分 M.R.D. 1/1,000 万 ml)をジ毒素として使用した。

2) 緩衝液

Sørensen の緩衝液(pH 11)を使用した。

($\frac{N}{10}$ Glykokoll 5.1 容と $\frac{N}{10}$ NaOH 4.9 を混和)

3) ジフテリア抗毒素血清

200 u/ml のものを用い、Flocculation test には生理食塩水で 100 u/ml に稀釈したものを用いた。

4) 動物

免疫動物としては、シック反応陽性の体重 250~300 gms の健常モルモットを、結合価測定も同様健常モルモットを用いた。

実験 I. ホルマリン添加後の Toxoid 化及び

Lf 価の消長に就いて

ジ粗毒素 2 l を 1 l 宛 2 分し、1 半にホルマリンを 0.4% の割に加え、pH 8.4 に修正した後、Sørensen の緩衝液(pH 11) 1 l を添加し、NaOH で pH 11 に修正し、マージニンを 0.01% の割に加えた。対照である他の 1 半には同様ホルマリン処理後、生理食塩水 1 l を加え、NaOH で pH 8.4 とし同じくマージニンを加えた後、両者を 37°C に放置し逐次日を追って、Lf, Kf, 及びモルモットの皮内注射に依る無毒化を観察した。Lf 価測定に際しては直接法の場合は pH を修正せず、混合法では pH を 7.0 に修正し特に精密に行つた。尚 pH 測定は総て Wulff の pH 水素イオン濃度測定用箔比色型

に依つた。pH 11 においてホルマリン添加した場合は直後において既に Flocculation 現象は直接法において、24 時間観察するも認めることが出来なかつた。その後 37°C において Lf の低下は日を追って著しく、37°C 15 日目には混合法により 5~0 Lf/ml となり、又原液 0.1 ml をモルモットの背部皮内に注射しても発赤を起さないまでに無毒化が認められた。これに対し pH 8.4 においてホルマリン処理せるジ毒素の Lf 価は、直後において 45 Lf/ml を示したが、37°C 17 日間放置後には 35 Lf/ml(混合法)を示し、モルモット皮内反応は陰性となり、無毒化されたことが認められた。即ちジ毒素を pH 11 においてホルマリン処理した場合は、その Lf 価は急速に低下し、37°C 15 日にして 5~0 Lf/ml(混合法)となり、しかもその原液 0.1 ml をモルモットの皮内に注射しても発赤を見ない程度に無毒化された事が認められた。斯くして得られた pH 11 或は pH 8.4 における両 Toxoid 各 1 l を 2 日間流水透析を行つたところ、pH 11 においてホルマリン処理したものは全量 1.280 l となり、5~0 Lf/ml(混合法)、結合価 3.5 u/ml を示したが、pH 8.4 Toxoid の場合は全量 1.200 l、25 Lf/ml 結合価 25 u/ml を示した。そこで pH 11 Toxoid を対照の pH 8.4 Toxoid と同一 Lf 価にする目的をもつて、その中 1 l を細谷法¹⁵⁾により部分的精製濃縮を行つて精製液 95 ml を得た(pH 7.4 Lf 15(混合法) 結合価 20 u/ml)。この精製液 0.25 ml をモルモット 3 匹(300 gms 内外)の皮下注射したところ、3~4 日目に 3 匹中 3 匹共ジ毒素に依る定型的中毒死を起した。そこでその材料の種々なる量を白色健常モルモットの背部皮内に注射したところ、0.02 ml を注射した部位迄発赤が認められ、又之等の毒性はジ抗毒素の存在においては全く消失する。従つてこの残存している微量ジ毒素を Toxoid 化する為ホルマリンを 0.3% 添加し、37°C 5 日間放置するとその 0.1 ml をモルモットの皮内に注射しても発赤を示さず、又その 0.3 ml を 300 gms 内外のモルモットの皮下に注射しても何等異常なく耐過し残余毒素の無毒化が認められた。尚該 Toxoid の Lf 価、結合価は 5~0 Lf/ml、5 u/ml であつた。

実験 II. pH 11 Toxoid 或は pH 8.4 Toxoid

の種々なる量をもつてモルモットを免疫した

際の血中抗毒素の上昇状況

実験 I に依つて得られた pH 11 或は pH 8.4 の両 Toxoid のモルモットに対する抗原性を検する目的をもつて、シック反応陽性の 300 gms 内外の健常モルモット 27 匹を 2 群に分ち次の様な実験を行つた。即ち

第1表 ホルマリン添加後の Toxoid 化及び Lf の消長

ジ粗毒素 Lf 85 Kf 4分 pH 8.2 MRD 1/1000万 ml

材 料	pH 11			pH 8.4		
	ジ粗毒素 1 l +0.4% ホルマリン pH 11 Sørensen 緩衝液 1 l pH 11 修正 (10% NaOH) マーゾニン 0.01%加 37°C 放置			" " Salin 1 l pH 8.4 修正(") " "		
	Lf/ml	Kf	M. R. D	Lf/ml	Kf	M. R. D
直 後	—	24時間観察	1/100万 ml	45	25分	1/100万 ml
2 日	(25)	(25分)	1/1,000 "	(40)	(7分)	1/1万 "
7 日	(15)	(20")	1/100 "	(35)	(")	1/1,000 "
13 日	(10)	(25")	1/10 "	(")	(")	1/100 "
15 日	(5~0)	(")	—	(")	(8")	±
17 日	(")	(")	—	(")	(")	—

() は混合法測定

第2表 pH 11 或は pH 8.4 Toxoid の種々なる量をもつてモルモットを
免疫せる際の血中抗毒素の産生状況

トキソイ ド種類	Lf/ml	結合価/ml	総 N ₂ mg/ml	注 射 量	(17日目) シ ッ ク 反 応	(27日目) 血中抗毒素/ml	(35日目)* 攻 撃 100 mld						
pH 11	5	5	0.731	0.1 ml (3 匹)	+	+	+	—	—				
				0.25 " "	—	—	—	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{100}$	生	"	"
				0.5 " "	—	—	—	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{50}$	$\frac{1}{100}$	"	"	"
				1.0 " "	—	—	—	$\frac{1}{50}$	$\frac{1}{50}$	$\frac{1}{50}$	"	"	"
				3.0 " "	—	—	—	$\frac{1}{50}$	$\frac{1}{50}$	$\frac{1}{50}$	"	"	"
pH 8.4	25	25	0.447	0.25 " "	+	+	+	—	—				
				0.5 " "	—	—	—	$\frac{1}{25}$	$\frac{1}{50}$	$\frac{1}{25}$	"	"	"
				1.0 " "	—	—	—	$\frac{1}{10}$	$\frac{1}{25}$	$\frac{1}{25}$	"	"	"
				3.0 " "	—	—	—	$\frac{1}{25}$	$\frac{1}{25}$	$\frac{1}{10}$	"	"	"

* 試験毒素 0.01 ml モルモット皮下 +4 (4は日数を示す)

No. 31~45 迄の1群のモルモットには、pH 11 Toxoid の 0.1, 0.25, 0.5, 1.0, 3.0 ml の各量を各3匹宛大腿皮下に注射し、17日目にシック反応を調べたところ、0.25 ml 以上を注射したモルモットは何れもシック反応陰性となり、27日目における血中抗毒素価 (Römer 法)¹⁶⁾ は $1/100 \sim 1/50$ u/ml を示し、35日目に 100 mld 相当量の毒

素を大腿皮下に注射したが、局所的にも全身的にも何等異常なく耐過した。次に No. 46~57 迄の12匹には対照として pH 8.4 Toxoid の 0.25, 0.5, 1.0, 3.0 ml の各量を3匹宛注射し、同じく17日目にシック反応を行つたところ、0.25 ml 注射したモルモットは3匹中3匹共シック反応陽性を示し、0.5 ml 以上注射したモル

モットは総て陰性となり、27日目における血中抗毒素価は $1/50 \sim 1/10$ u/ml であつた。

即ち両 Toxoid の種々の量をもつてモルモットを免疫した場合の最少有効量中に含まれる Lf 価は、pH 11 Toxoid において遙かに少く、1.25 Lf 相当量 1 回の免疫をもつて 35 日目には 100 mld 相当量の毒素に耐過する様な抗毒原性を有する事が認められた。然し pH 8.4 Toxoid では 6.25 Lf 相当量 1 回の免疫ではシック反応を陰転化させることが出来ないで、之を陰転せしめるには 12.5 Lf 相当量の Toxoid 注射が必要とされることが明らかとなつた。

実験 III. 硫酸アンモン $2/3$ 飽和分割に依る

両 Toxoid の抗毒原性の比較

Eaton¹⁷⁾ (1935 年) 及び iPappenheimer¹⁸⁾ (1937 年) はジ毒素を硫酸アンモン (以下硫酸と略記す) で分割した場合、有効成分の大部分は硫酸の濃度の高い分割に移行し、 $1/3$ 飽和沈澱部は無効であるとして顧みなかつた。その後 1951 年黒川等¹⁹⁾ 20) は、ジ・トキシイドを硫酸で 30% 飽和沈澱部と、60% 飽和沈澱部とに分ち、之等の分割の Lf, Kf を測定し、動物に対する抗毒原性を記載した。

亦細谷教授並びに横山¹³⁾ 及び同門松本²¹⁾ は、ジ毒素の硫酸 $1/3$ 飽和沈澱部は $2/3$ 飽和沈澱部に比べ、Lf は比較的大であるが Kf は甚だしく延長し、モルモットに対する抗毒原性はあるにはあるが後者よりも著しく劣ると云い、亦毒素の含有するモノー反応物質の大部分は $1/3$ 飽和沈澱部を移行すると述べている。著者は前述の如くして得られた pH 11 或は pH 8.4 両 Toxoid の硫酸分割を行い、 $2/3$ 飽和分割の抗毒原性に就いて調べた。

即ち pH 11 Toxoid (細谷法部分的精製濃縮) 25 ml に硫酸飽和液 (アンモニア水をもつて pH 7.0 とす。以下同様) 半量を加えて硫酸 $1/3$ 飽和となし、37°C 1 時間放置後遠心沈澱を行い、その上清を濾紙濾過した濾液には、硫酸飽和液を等量加え、 $2/3$ 飽和となし 37°C 1 時間放置した。 $1/3$ 飽和沈澱部は硫酸 $1/3$ 飽和液をもつて 1 回洗滌後濾紙で水分を吸収した後、pH 7.6 の蒸溜水 5 ml にとかして 2 日間流水透析を行い、その内液が Nesslen 反応陰性となつたことを確かめた後、再び硫酸 $1/3$ 飽和となしその沈澱部を前回と同じく操作して得られた 12 ml を硫酸 $1/3$ 飽和分割とした。 $2/3$ 飽和沈澱部も同様に処理して硫酸 $2/3$ 飽和分割 16 ml を得た。

対照の pH 8.4 Toxoid は 100 ml を同方法をもつて、硫酸 $1/3$ 飽和分割、 $2/3$ 飽和分割に分ち、夫々 15 ml, 15.5 ml を得た。斯くして得られた両硫酸 $2/3$ 飽和分割

第 3 表 pH 11 或いは pH 8.4 Toxoid の硫酸 $2/3$ 飽和分割における抗毒原性の比較

トキシ イド	モルモッ ト番号	注 射 量	(17日目) シック反応	(30日目)XX 攻撃 100mld
pH 11 $2/3$ 分割	No. 94	0.25ml	±	生
	" 95	"	* + ₅	/
	" 96	"	—	"
	" 97	0.5 "	—	"
	" 98	"	—	"
	" 99	"	* + ₇	/
	" 100	"	—	"
	" 101	1.0 "	—	"
	" 102	"	* + ₇	/
	" 103	"	—	"
	" 104	"	—	"
pH 8.4 $2/3$ 分割	" 105	0.5 "	±	"
	" 106	"	—	"
	" 107	"	—	"
	" 108	1.0 "	—	"
	" 109	"	—	"
	" 110	"	* + ₄	/
	" 111	"	* "	/
	" 112	1.5 "	* + ₁₀	/
	" 113	"	—	"
	" 114	"	—	"

* は斃死を示し、数字は日数を示す
剖検にて中毒死に非ず

XX は試験毒素 0.01 ml モルモットと皮下 +₄

の抗毒原性の比較は第 3 表に示す通りであつて、両硫酸 $2/3$ 飽和分割を夫々生理食塩水をもつて原量にもどし、pH 11 Toxoid 硫酸 $2/3$ 飽和分割においては、0.25, 0.5, 1.0 ml の各量を、pH 8.4 Toxoid 硫酸 $2/3$ 飽和分割においては、0.5, 1.0, 1.5 ml の各量を、夫々 3~4 匹のシック反応陽性の健常モルモット (300 gms 内外) の大腿皮下に注射し、17 日目にシック反応を調べたところ、pH 11 Toxoid の場合は、0.25 ml 注射したモルモット 1 匹は±を示したが他は全部陰転し、pH 8.4 Toxoid に於ては、0.5 ml 注射したモルモットが±を示し、他は総て陰性となつた。

これらは免疫注射後、30日目に 100 mld 相当量の毒素を之等のモルモットの皮下に注射したが、何等異常を呈せず耐過した。即ち pH 11 或は pH 8.4 の両 Toxoid においても、各々硫酸 $2/3$ 飽和分割に抗毒原性が保有されていることが明らかとなつた。

実験 IV. pH 11 或は pH 8.4 Toxoid の モノー反応性について

1924 年 Zoeller²²⁾ は予防に用いる Toxoid を 100

第4表 pH 11 或いは pH 8.4 Toxoid のモロニー反応性 (モロニー反応強陽性成人)

	pH 11 トキソイド								pH 8.4 トキソイド							
	24時間	発赤	硬結	疼痛	48時間	発赤	硬結	疼痛	24時間	発赤	硬結	疼痛	48時間	発赤	硬結	疼痛
原	12×11	+	-	-	9×8	+	-	-	54×32 (18×18)	+++	+	++	45×30 (16×15)	+++	+	+
硫安 1/3 分割	9×7	+	-	-	6×6	+	-	-	52×37 (14×13)	+++	+	++	42×27 (10×10)	+++	+	+
2/3 "	3×3	-	-	-	痕跡	-	-	-	16×12	+	-	-	11×10	+	-	-

数字は総て mm 単位にして () は二重発赤の大きさを示す。

倍に稀釈し、その 0.2 ml を人の皮内に注射した場合、翌日における注射局所の反応陽性の場合には、その Toxoid 免疫を行うに当り注意を要すると、又彼はこの反応を“anatoxi-reaction”として紹介した。その後 Moloney 及び Fraser²³⁾ は Toxoid を 20 倍に稀釈し、その 0.1 ml を同様皮内に注射し、その反応に依り Toxoid 注射に敏感に反応するか否かを予知し得るとした。1932 年に至り O'Brien²⁴⁾ 等に依り、この反応はモロニー反応と命名され以後広く用いられるに至った。

昭和 17 年中村²⁵⁾ は細谷研究室においてジ毒素及びジ菌体からモロニー反応物質を分離し、亦細谷教授並びに横山¹⁹⁾、同門松本²¹⁾等はジ毒素の各硫安分割に就きモロニー反応を行い、その結果から大部分のモロニー反応物質は硫安 1/3 飽和分割に移行すると述べている。著者は pH 11 或は pH 8.4 の両 Toxoid 原液及び硫安 1/3 飽和分割、2/3 飽和分割におけるモロニー反応の比較をモロニー反応強陽性の成人に対し行つた。即ち原 Toxoid 及び硫安 1/3 飽和分割、2/3 飽和分割を夫々生理食塩水をもつて原量の 20 倍に稀釈し、沸騰水中において 20 分間加熱し、その 0.1 ml を皮内注射したところ、第 4 表に示したように pH 8.4 Toxoid に比し pH 11 Toxoid は原 Toxoid、硫安 1/3 飽和分割、2/3 飽和分割共に反応は著しく弱く、殊に硫安 2/3 飽和分割においては、48 時間目には殆んど痕跡を残すのみであつた。しかしてその間何等認むべき副作用は全くなかつた。

III. 考 案

Eaton はジ毒素をホルマリン処理する場合、pH を高くすると速かに毒性は失われるが、Flocculation 発現性も失われるからトキソイドは破壊されると、しかるに細谷教授は pH 11 におけるブドウ球菌トキソイドの抗毒原性が高いにも拘らず、アレルギー性が殆んど消失している新事実を発見して以来、ジ毒素をアルカリ性にお

いてホルマリンを作用させた場合の抗毒原性とアレルギー性に就て興味を覚え、次の様に実験を行つた。即ち大谷の実験を継承した同門藤原は、ジ毒素を pH 11 となしホルマリン処理すると、直接法においては勿論混合法においても Lf 発現能力を失うが、in vivo の抗毒原性は少しも失われなかつた。その後細谷教授並びに横山は、ジ毒素をロダンカリをもつて処理すると、藤原の場合と同様 Lf は発現を見ないが、抗毒原性は原 Toxoid に比し遜色ないと記載している。

著者は先ず pH 11 においてホルマリン処理した場合、Lf 価は前者の云う如く失われるかどうかを調べた。その結果に依れば 37°C 17 日間放置し、Lf は 5~0 Lf/ml にあり 0 であるとは断定出来ないで、更に之を細谷法により 1/10 量迄濃縮すると、再び被中和性の毒性は僅かではあるが現われた。そこで再びホルマリン処理したところ、Lf 5 結合価 5 u/ml の Toxoid を得たので、pH 8.4 Toxoid (Lf 25 結合価 25 u/ml) を対照として、上記 pH 11 Toxoid の in vivo の抗毒原性を調べた。その結果に依れば、免疫動物のシク反応を陰転せしめ、しかも 100 mld の毒素の攻撃に耐えせしめる抗毒性免疫を動物に賦与するに要した最少量の Toxoid 中に含まれる Lf 価は、pH 8.4 Toxoid に比べ遙かに少量にて足り、僅かに 1.25 Lf で充分抗毒原性が発揮された。然るに対照の pH 8.4 Toxoid 6.25 Lf 相当量の皮下注射では、モルモットは何れもシク反応陰転せず、前者の 10 倍 12.5 Lf において初めて陰転し、而して 100 mld の毒素の攻撃に耐えたのである。従つて pH 8.4 Toxoid の最少有効量は、pH 11 Toxoid の実に 10 倍に相当する Lf 価のものが必要とされた訳である。従つて Lf 発現性のみを免疫原性の指標とすることは危険で、Lf 発現性を有しないか、或は失つた状態でも免疫抗原としては有効に作用するのではないかと考えられる。又斯くの如

く pH 11 においてホルマリン処理すると、モロニー反応は著しく弱化され、更に硫酸低濃度分割を除去する事に依り、モロニー反応強陽性の成人にも不快な副作用なく、有効に使用し得るのではないかと思考される。

IV. 結 論

i) ジ粗毒素を pH 11 においてホルマリン処理して得られた Toxoid 1.25 ml (1.25 Lf 相当量) 1 回の免疫で明らかに免疫モルモットはシックを反応陰性となり、その血中には抗毒素の産生が認められた。然るに pH 8.4 Toxoid の場合は、0.25 ml (6.25 Lf 相当量) 1 回の注射では、該免疫モルモットはシック反応陰性に転化せしめる事は出来なかつた。

ii) pH 11 或は pH 8.4 の両 Toxoid を硫酸分割した時、何れの Toxoid においても抗毒原性物質は $\frac{2}{3}$ 飽和分割に移行し、モロニー反応物質は $\frac{1}{3}$ 飽和分割において強く、 $\frac{2}{3}$ 飽和分割には微弱であつた。

擧筆に際し、終始御懇篤なる御指導並びに御鞭撻を賜つた恩師細谷省吾教授、並びに種々御助言を戴いた宮崎正之助博士に衷心より感謝の意を捧げると共に、御便宜を戴いた予研の黒川、村田両博士に感謝致します。

文 献

- 1) Ramon, G.: Compt. rend. Soc. biol. 86, 611 (1922).
- 2) ibid, 86, 711 (1922).
- 3) ibid, 86, 813 (1922).
- 4) Glenny, A. T. and Okell, C. C.: J. path. Bact. 27, 187 (1924).
- 5) S. Schmidt.: Zeitschr. für Immunität forsch. 78, 27 (1933).
- 6) Eaton: J. Immunol, 33, 419 (1937).
- 7) Moloney, P. T. & Weld, C. B.: Stud. from Connangat. Lab. 1922-25, 2, 257, 263. [(6) より引用]

- 8) 細谷, 脇, 林: 実験医学雑誌. 第 26 卷 1 号 88 (昭和 17 年).
- 9) 柳沢: 実験医学雑誌. 第 26 卷, 8 号, 672 (昭和 17 年).
- 10) 松岡: 実験医学雑誌. 第 26 卷, 12 号, 965 (昭和 17 年).
- 11) 大谷: 第 17 回聯合微生物学会 (昭和 18 年).
- 12) 藤原: 日本細菌学雑誌. 7 (5), 511 (1952).
- 13) 細谷, 横山: 細菌学の 新領域 (医学書院). 149 (1953).
- Hosoya, S. and Yokoyama, M.: Yokohama med. Bull., 4, 69 (1953).
- 14) Chun Chien Young.: Chin. med. J. Suppl. I, 143 and Suppl. 2, 211 (1938).
- 15) 細谷, 出口, 利部: 実験医学雑誌. 28, 420 (1944). 日本医学雑誌. 3405, 99 (1946).
- 16) Römer, P.H.: Zeitschr. Immunität forsch. Orig., 3, 208 (1909).
- 17) Mourose, D. Eaton and S. Bayn-Johnes: J. Bact., 29, 56 (1935).
- 18) A. M. Pappenheimer, J, Biol. chem.: 120, 543 (1937).
- 19) 黒川, 村田, 大寺, 山田, 久保田: 日本細菌学雑誌. 6 (1), 57 (1951).
- 20) M. Kurokawa, R. Murata, T. Nakano T. Yamada and K. Kubota: The Japanese Med. J. 4, 233 (1951).
- 21) 松本: 日大医学雑誌. 第 11 卷 第 10 号 71 (1952).
- 22) Zoeller, chr.: Bull. et mém. Soc. med. Lop. Paris. 48, 644 (1924).
- 23) Moloney, P. T. and Fraser, C. T.: Am. J. Pub. Health, 17, 1027 (1927).
- 24) O'Brien, R. A. and Parisch, H. T.: Lancet. 2, 176 (1932).
- 25) 中村: 実験医学雑誌. 26 (12), 1004 (昭和 17 年). ibid, 実験医学雑誌. 27 (1), 61 (昭和 17 年).