ハブ毒の研究

1. ハブ生毒及び乾燥保存毒の種々の生物学的活性の比較

三橋 進・前野 弘夫・川上 正也・橋本 一

群馬大学医学部微生物学教室（主任 三橋 進教授）

沢井 芳男・宮崎正之助・牧野 正顕・小林 秀

伝染病研究所試験製造部（主任 沢井芳男助教授）

小此木 丘・山口 和夫

群馬大学医学部病理学教室（主任 川合貞郎教授）

〔受付：2月18日・1959年〕

細菌毒素、酵素、ホルモン等とともに、生物学的活性のある蛋白として古くから注目されておるものに蛇毒がある。蛇毒は特に、人に直接的な被害を及ぼす点でも早くから注目され、毒素学的にも、応用面からも多くの研究がなされてきた。毒蛇による人の被害は、一般に毒蛇の棲息地が未開地であることが多いため、正確な数値を知り得ないが、毒蛇咬傷による死亡例だけで、年間10万と推定されておる。地球上（陸棲）において、確実に毒蛇とみとめられているものは、約390種程ある。本邦において、特に重要なものは、蝮蛇科の *Agkistrodon* 属（マムシ類）、及び *Trimeresurus* 属（ハブ類）に属するものである。ハブ棲息地は本邦では、奄美大島、及びその周辺の島々、沖縄等に限られておる。その被害は奄美大島だけで、年間、約300とされておる³⁾。本邦内地におけるマムシ咬傷と異つて、ハブ咬傷による被害は、ハブがマムシに比して大きいことにもよるが、咬傷部位の著しい腫脹、出血、筋肉の変性壊死をひきおこし、住々にして、損傷部位からの切断等の不幸な結果を招くこともあり、島民のハブへの恐怖は、予想以上に強いことが報ぜられている。

ハブ蛇毒の研究、及びその血清療法は、古く明治87年（1908）北島博士⁴⁾ によつて着手された。又、細谷省吾博士⁵⁻¹⁸⁾、及びその一門は、早くから蛇毒に興味をもち、その毒素学的研究、及び免疫血清による毒蛇咬傷患者の治療に多くの業績をあげた。本研究は、吾々の一人三橋が、細谷博士より蛇毒の研究を奨められ、長年の貴重な収集材料を分与されたことに始まる。免疫学的にも、抗マムシ毒血清は、比較的単位の上昇は容易で、治療上に

もよく奏功するが、ハブ毒に対する抗体価の上昇は著しく悪く、ハブ血清の治療上の効果は、マムシ程に期待されない。

実験材料並びに方法

蛇毒は奄美大島ハブより採取した毒液を使用した。乾燥毒は毒液を真空乾燥器内で塩化カルシウム又は硫酸上デシケーター中で乾燥させたもので、室温において、デシケーター中に保存したものを使用した。ハブより採取したての生毒は粘稠で強い黄色を呈し、紫外線で螢光を放つ。弱酸性を呈し長く冷所に保存すると絮状の沈澱を生ずる。長く保存した場合、空気に触れる上層部は黄色、底部は淡黄色を呈する。振盪して空気に接触せしめると再び全体が強い黄色に変る。保存と共に粘稠度は減ずる。乾燥毒は黄色の破砕結晶状で、長く保存したもの

MITSUHASHI Susumu, MAENO Hiroo, KAWAKAMI Masaya and HASHIMOTO Hajime: (Department of Microbiology, School of Medicine, Gunma University, Maebashi, Japan Director: Prof. S. Mitsuhashi) SAWAI Yoshio, MIYAZAKI Shonosuke, MAKINO Masaaki and KOBAYASHI Masaru: (Laboratory of Biological Products, Institute for Infectious Diseases, University of Tokyo Chief: Dr. Y. Sawai) OKONOGI Takashi and YAMAGUCHI Kazuo: (Department of Pathology, School of Medicine, Gunma University Director: Prof. S. Kawai) Studies on *Habu* Snake Venom 1. Comparison of several biological activities of fresh and dried *Habu* snake venom. —Jap. J. of Bact., 14 (9), 771-777, 1959.

は橙黄色に変ずる。実験動物には ddN 系マウス、生後 4 週、体重 17 g 前後のもの、家兎は雑系、体重、3 kg 前後のものを使用した。抗蛇毒血清は（マムシ、ハブ）は伝研試験製造部製のものを使用した。

従来ハブ毒の毒性を測定するためには、マウスに対する致死作用、マウス、モルモット、家兎の皮下の出血、壊死、及び試験管内における溶血が測定された。蛇毒の溶血作用は、Flexner 及び野口¹⁹⁾、Calmette²⁰⁾、Kyes²¹⁾、Luedecke²²⁾等の研究を経て、Delezenne²³⁻²⁵⁾、Fournieu²⁶⁾によつて蛇毒の溶血が lysolecithin によつておこることが明らかにされた。岩田²⁷⁾は本邦産蛇毒を卵黄に作用せしめて lysolecithin を分離した。また、細谷、谷、田中²⁸⁾も蛇毒の溶血作用を詳細に研究し、lecithin が分解されて生ずる lysolecithin に強力な溶血作用のあることを明らかにし、この際同時に生ずる不飽和脂肪酸もまた蛇毒の溶血作用に意義のあることを見出した。この不飽和脂肪酸については小松¹⁸⁾の報告がある。溶血反応には直接溶血と卵黄（卵黄レシチン）を使用した溶血とを行つた。直接溶血反応には、毒素の 0.85% 食塩溶液（pH 6.7）の種々の稀釈液の 0.5ml に 2% 綿羊血球生理食塩水浮遊液 0.5ml を混和し、37℃ の恒温水槽にて、2 時間加温後、及び更に 0～5℃ の氷室に一夜放置後判定した。卵黄レシチンを使用した溶血反応は、Slotta and Szyska²⁹⁾の法に従つて行つた。綿羊血球をとり、よく洗滌して等張食塩ペロナル緩衝液（5.5' チェチルパルピツール酸 3.75 g, 5.5' チェチルパビツール酸ソーダ 3.75 g, 食塩 85.0 g を 2000ml の水に溶解、用いて 5 倍に稀める。pH 7.4）にうかべ、血球 1,000,000 個/ml にした。血球量は溶血液の比色によつて測定した。蛇毒試料を卵黄 20 µg/ml（乾燥重量）を含む食塩ペロナル緩衝液で段階稀釈しその各稀釈液 1 ml と血球浮遊液 1 ml を混合し、37℃ に 30 分おき、遠心により溶血しない血球を除いた上清を比色して溶血の強さを測つた。溶血価は完全溶血をおこすに要する毒素の最大稀釈倍数と 50% 溶血を起こすに要する毒素濃度をもつて表わした。

局所の出血壊死反応

剪毛した家兎の背面皮内に、蛇毒の生理食塩水溶液の各稀釈系列の 0.1ml を注射し、24 時間後に判定した。田中²⁷⁾によると台湾産蝮蛇科のものは、注射 1 時間後に出血を示すという。吾々も注射局所の速やかな出血が、ハブ毒の作用の一つの特徴であることを知つた。注射数時間後は中心部の強い出血と周辺の淡い発赤とが混在して判定は比較的困難なため、注射 24 時間後の中心部に壊死を伴う著明な出血を目標として計測した。

致死作用

ハブ毒の生理食塩水溶液を、マウス尾静脈、又はマウス腹腔内に注射した。

プロテイナーゼ作用：

ハブ咬傷患者の所見及び実験動物の観察から、咬傷部乃至は注射局所の腫脹、出血、筋肉の変性壊死（横紋の消失、核の消失、膨化、融解、断裂）がハブ毒の生物学的作用の中大きい因子をなすものと考えられる。

後に報告されるように、ハブ毒中にプロテイナーゼの存在が確認され²⁹⁻³³⁾、このプロテイナーゼによる病理組織学的所見も³³⁻³⁵⁾、粗毒素による筋肉の変性壊死と極めてよく一致する。従つて、従来ハブ毒の生物学的活性の測定に、致死作用、溶血作用、局所の出血壊死作用が用いられたが、*in vitro* でのプロテイナーゼ活性を測定することも極めて重要であると考ええる。0.05M 第二磷酸ソーダ溶液に、2% になるようにカゼインを溶解したものを基質とした（pH 7.0）の酵素活性の測定には M/4 磷酸パツファ（pH 7.5）0.5 ml、蛇毒（酵素液）0.5 ml 及び 2% カゼイン溶液 1.0ml、反応液を 35℃ で 10 分作用させた後、0.4M トリクロール醋酸 2.0ml を加えて反応を停止し、その濾液 1.0ml につき Folin³⁵⁾の方法に従つて遊離したチロシンを定量した。この反応条件にてチロシン 1 µM を遊離する酵素活性を 1 単位とした。蛋白の定量はマイクロキエルダール法による窒素の定量か Folin³⁶⁾の反応を用いた。

実験結果

ハブ毒の採取は蛇にシャーレをかましめ、頸部を圧迫する如くして毒液をしぼり取るもので、ハブ咬傷の際、注入される毒量とかなり条件を異にするが、1957 年、1958 年、4 回に亘つて採取した吾々の結算では、1 匹当たり約 1.0ml の毒液の採取が可能であつた。奄美大島より伝研に空輸して飼育したものは餌つきが悪くその 1 匹当

第 1 表 ハブ蛇よりの毒液採取量とその乾燥重量

採 取 月 日	蛇の数	採取量 ml	1 匹当り の採取量 ml	乾燥重量 mg/ml
1957 年 *	10	11.6	1.19	305
1958 年 ** 6 月 25 日	19	11.0	0.57	293
〃 8 月 11 日	4	1.9	0.47	302
〃 9 月 4 日	4	3.0	0.75	272

* 奄美大島保健所に採取

** 奄美大島より東大伝染病研究所に運び飼育したもの

りの採取量はやや減少した。毒液の乾燥重量は1 ml 当り約 300mg, その結果は表 I に示した。実際のハブ咬傷の際どの程度の毒素液が注入されるかわからないが、以上の結果が治療上の推定資料を提供するものと思われる。ハブの飼育は従来困難とされ、7 月伝研に空輸されたもの20匹中10月迄に6 匹死亡した。餌つき (feeding) が悪いものと考えられておる。以後の実験に使用した材料は表 2 に示した。

第2表 使用材料

採取月日	蛇の産地	材 料 の 状 態
1942年	奄美大島	乾燥, 橙黄色, 破碎結晶状
1952年	"	乾燥, 黄色, 破碎結晶状
1957年*	"	生毒
1958年** 6月25日	"	生毒
"	"	上記生毒を氷室 (0-4°C) に 50 日保存
1958年 8月11日	"	生毒
"	"	上記材料を凍結乾燥
1958年 9月10日	"	生毒
"	"	上記材料を凍結乾燥

* 奄美大島保健所にて採取

**1958年中のものは全部伝研にて採取

第3表 ハブ毒の致死作用

材 料	注 射 ル ー ト	マウス 1 匹当り 注 射 し た 量 (mg)	24時間後 の死亡数
1942年採 取保存さ れたもの	尾 静 脈	1.0	5/5
		0.8	5/5
		0.4	4/5
		0.2	3/5
		0.1	1/5
		0.05	0/5
	腹 腔 内	1.0	5/5
		0.8	5/5
		0.4	5/5
		0.2	5/5
		0.1	5/5
		0.05	0/5

各材料は 0.2ml 生理食塩水
溶液として注射された。
分母は実験に用いたマウス数。
分子は死亡マウス。

マウスに対する致死作用

1942年採取のハブ毒を生理食塩水に溶解し, その 0.2 ml を尾静脈或は腹腔内に注射しその生死を観察した。マウスは群大中央実験動物舎で飼育した ddN 系マウス生後 4 週, 体重 17 g 前後のものを使用した。表 3 から分る如く, 腹腔内注射の方が尾静脈内注射に比し, マウスはハブ毒に敏感で, 実験のばらつきも少い。従つて以後の実験はすべてマウス腹腔内注射を選んだ。一群 5 匹とし 24 時間内の死亡をもつて生死の判定とした。各材料による MLD を表 4 に示した。

第4表 種々のハブ毒材料のマウスに
対する致死作用

ハ ブ 毒 の 種 類	MLD (μ g)
1942年採取乾燥毒	100
1952年採取乾燥毒	125
1958年 6 月25日採取生毒	57
1958年 6 月25日採取氷室 (0-4°C) 50 日保存	75
1958年 8 月11日採取生毒	75
1958年 8 月11日採取生毒凍結乾燥	75
1958年 9 月10日採取生毒	75
1958年 9 月10日採取生毒凍結乾燥	100

以上の実験から分るように生毒のマウスに対する MLD は 60-75 μ g である。生毒の氷室保存及び凍結乾燥もハブ毒のマウス致死作用に対しあまり障害的でない。乾燥毒は比較的安定であることは注目すべき事実で 1942 年採取 10 年間保存のもののマウス MLD が 100 μ g である点はハブ毒の致死因子が極めて安定であることを示している。

溶血反応

従来多くの研究者は, ハブ毒の溶血価を重要視した。吾々も卵黄レシチンを添加しない直接溶血反応, 及び卵黄レシチンを加えたものとを比較した。表 5 に示すように, 緬羊血球に対し, 卵黄レシチンを加えない直接溶血価は極めて低い。実験動物 (マウス, モルモット, 家兎) にハブ毒を種々の量注射して, 速やかに死亡したものの, 24 時間後に死亡した例も, 肺, 腎, その他の臓器に大量の出血を認めるが, 血球の破壊 (溶血) がいないことが特徴で, これについては後に報告する。各種の動物血球に対する直接溶血作用は表 6 に示した。動物の種類により多少の強弱はみられるが, いずれも直接溶血作用は低い。種々の蛇毒による直接溶血をみた研究によると, 血球に含まれるレシチン含有量と直接溶血価が比例する

第5表 ハブ毒の緬羊血球に対する
直接溶血作用

材 料	ハブ毒量 (mg/ml)			対 照
	5	2.5	1.25	
1942年採取保 存のものの	*+ **++	± +	— —	— —

++…(完全溶血)以下+, +, ±で溶血の度合を現
わした。

* ……37°2時間後の判定

**……37°に2時間加温更に氷室に24時間放置後判
定。

対照はハブ毒を加えないもの。

第6表 各種動物血球に対するハブ毒
の直接溶血作用

材 料	血 球 の 種 類	ハブ毒量 (mg/ml)			
		5	2.5	1.25	0.6
1942年採取 保存のもの	緬 羊	+	+	—	—
	牛	+	+	—	—
	豚	+	—	—	—
	馬	+	+	—	—
	人	+	+	—	—
	家 兎	+	+	—	—

37° 2時間後の判定, 方法は本文記載どおり。

第7表 卵黄レシチンを用いたハブ毒の
緬羊血球に対する溶血作用

ハブ毒の種類	毒素の濃度 (μg/ml)						50 % 溶血価 μg/ml
	6.3	3.1	1.6	0.8	0.4	0.2	
1942年採取乾燥毒	+++	+++	++	+	—	—	1.3
1952年採取乾燥毒	+++	++	+	—	—	—	2.4
1958年* 6月採取 乾燥毒	+++	+++	+++	++	+	—	1.0
1958年* 6月11日 採取生毒	+++	+++	+++	++	+	—	0.5
1958年8月11日採 取生毒の凍結乾燥	+++	+++	+++	++	+	—	1.1
1958年6月採取生 毒を氷室(0°-4°C) に50日保存	+++	+++	++	+	—	—	1.5

*奄美大島保健所にて採取乾燥のもの

**伝染病研究所にて採取のもの

とされておる。

緬羊血球の溶血に対し卵黄レシチンを添加したものは表7に示した。即ち極めて微量のハブ毒で溶血される。30分後の完全溶血を示標として判定すると1942年採取の乾燥毒と1958年採取の生毒との間に大差を認められず1~3 μg/ml ですべての材料は完全に緬羊血球を溶かす。Slotta²⁸⁾等の方法で光電比色計により50%溶血価を求めると、やはり生毒は最も強いが、新鮮生毒の凍結乾燥直後のものと、従来の方法でデシケーター中塩化カルシウム上で乾燥せしめた乾燥毒の1942年、1958年の材料とを比較しても大差はみられない。即ち乾燥毒の50%の溶血価は1~2 μg/ml 前後で、保存によつて極めて安定である。新鮮な生毒のそれは0.5 μg/ml である。

出血壊死反応

ハブ咬傷患者の症状、並びに実験動物の所見は咬傷部位の速やかな腫脹、出血、筋肉の変性壊死が特徴である²⁹⁾。又ハブ毒の溶液を綿球にひたし、開腹してひき出した腹膜上におくと2~3分で小点状の出血を認め²³⁻²⁵⁾数分後に融合し、小豆大の出血斑となる。この毛細血管の病理所見については追つて発表する。このように出血筋肉の変性。壊死は極めて速やかで、特徴的であるが、これを皮内反応を用いて測定することは、定量的に読みとりにくい難点があるため、利用する人が少なかった。吾々は後に報告する通り²⁹⁻³⁵⁾、ハブ毒の毒作用の一つはハブ毒中に含まれるプロテイナーゼによる筋肉の変性、壊死と出血と考える。然し出血をひきおこす原因にはプロテイナーゼ以外の因子²⁷⁾の存在も予想されておる。

他の細菌毒素の場合と同様に、剪毛した家兎の背面部内に、各濃度の稀釈毒素の0.1ml ずつを注射し、24時間後に判定した。前にも述べた様に注射数時間後の出血の判定は境界が不明瞭で測定が比較的困難であるが、24時間後になると、淡く大きい発赤は消褪し中心に比較的限界の著明な出血を残す。時には中心部は黒色乃至は紫色を呈し、壊死におちいつておる場合も観察される。注射部位によつて発赤の形状に多少の変化があるが、家兎の両背側に注射した場合そこにある血管の走行等によつて多少の形がくずれることがあるが、円形乃至は楕円形を呈する。長径×短径をもつて発赤の面積(mm²)とした。発赤の面積と注射毒素量との関係を第1図に示した。横軸にハブ毒素量(対数)を、縦軸に発赤の面積をとると、測定値は一つの曲線上にのる。採取直後の生毒が最も強く、乾燥乃至は保存によつて発赤を起す作用は低下することが分る。ハブ毒中には出血の主役を演ずると思われるプロテイナーゼの外にヒアルロナーゼの存

第1図 ハブ毒の家兎皮内の出血壊死作用

生毒は採取直後のものを用いた (1958年9月10日)

* 乾燥毒はデシケーター中にて硫酸上室温にて乾燥

在が確認され³⁹⁾, またプロテイナーゼ以外の所謂“致死効果”^{37) 39)}の存在も予想されておる。

皮膚の出血, 壊死に関係すると思われる種々の因子の乾燥に対する安定性は未だ実験されておらない。図から分るように最小出血を起すに要するハブ毒素量を測定 of 目標にすることは限界点を決めるべく誤差が多い。吾々はむしろ, 曲線の形状から発赤の面積 100mm² を起すに必要なハブ毒素量を図上から求めることを提唱したい。この方法で 100mm² の発赤を起すに必要なハブの生毒は50μg, 乾燥毒 (新鮮生毒の凍結乾燥材料, 1958年乾燥毒) は略 300μg, 1942年, 1952年, 採取デシケーター中, 塩化カルシウム上室温で乾燥させたものは, 略 600 μg と算出された。

プロテイナーゼ活性:

第8表 ハブ毒のプロテイナーゼ活性

ハブ毒の種類	プロテイナーゼ活性 u/mg
1942年* 採取乾燥毒	0.68
1952年採取乾燥毒	0.74
1958年採取乾燥毒	0.92
1958年**6月25日採取生毒氷室 (0-4°C) 50日保存	1.13
1958年8月11日採取生毒	0.98
同上の凍結乾燥毒	0.92
1958年9月10日採取生毒	0.81
同上の凍結乾燥毒	0.77

* デシケーター中塩化カルシウム上室温にて乾燥のもの

**伝染病研究所にて採取のもの

前に用いたハブ毒の諸材料のプロテイナーゼ活性は表8に示した。実験方法に記載の単位を用いると, 新鮮生毒のそれも1942年採取乾燥後室温に保存されたものも大差なく, 0.7-1.0 u/mg の値を示し, ハブプロテイナーゼが極めて安定であることは注目すべきである。

小括並びに結論

吾が国南西諸島に棲息するハブによる被害は予想以上に大きく, 奄美大島丈で蛇対策をして保健所で買いあげるハブ蛇が年々1万を越える数となる。又ハブ蛇は野兎家兎を好み, 人家又は人家近く棲息する習性 (half-domestic) のため, 人への被害も多い。又古くから, ハブ毒に対する治療として免疫血清があげられておるが, ハブ毒免疫血清を製造する技術的の困難さとハブ毒の作用が極めて早いため咬傷後の病変の進行速やかで動物実験例においても毒素注射30分以後の血清療法には莫大の量の血清を要し, しかも進行してしまった病変は阻止し得ない。従来ハブ咬傷による一年間の死亡者が10-15%から, ハブ血清使用後3%前後に減少した事実⁴⁾は, ハブ治療の一つの躍進と申さねばならない。1957年共同研究者沢井等⁴⁰⁾の現地調査の結果, 咬傷部位の症状が予想以上に大きく, 激痛, 腫脹, 出血, 筋肉の広汎な変性壊死を主症状としハブ血清の咬傷局所への効果は予想程に期待し得ないことが判明した。

ハブ咬傷の症状は咬傷部位, 咬傷に際して入れられる蛇毒量, ハブ毒の毒性に左右される。従つてハブ咬傷の臨床症状は複雑で, これを大別すると一般症状と局所症状に分けられる。前者は悪心, 嘔吐, 心臓衰弱, 発熱が主症状である。咬傷局所は急性の出血, 壊死, 広汎な腫脹, 疼痛である。従来ハブ毒については北島博士, 細谷教授その一門等幾多の業績があげられる。最近逢坂³⁹⁾により, 種々の酵素作用と毒性とが検討され, 少くとも二つの溶血因子の存在が確認され, れらが毒性 (toxicity) 因子より分離された。又 phosphodiesterase, 5'-nucleotidase 作用も毒性 (toxicity) 因子と関係のないことを明らかにした。

吾々は臨床症状並びに動物実験の結果から出血, 筋肉の変性, 壊死に注目し, ハブ毒からプロテイナーゼを分離し, その酵素的, 病理組織学的研究に着手した。ハブ粗毒素より精製分離されたハブプロテイナーゼが粗毒素の起す病理学的変化に極めて似た作用を示し, 筋肉の変性壊死作用の主役はハブプロテイナーゼ³⁰⁻³³⁾によることを確認した。又出血作用の一因もプロテイナーゼによる。更に又プロテイナーゼとは別にマウスに対し, 致死

作用示す因子²⁷⁾の存在を予想しておく。従つて今後ハブ毒の研究には、先づハブ毒の毒物学的諸作用を充分に検討し、これら生物学的諸活性と使用材料（生毒、乾燥毒、凍結乾燥毒）との関係を明らかにし、ハブ咬傷の際ハブ毒の示す作用の主体は何によるか、治療に際してはハブ毒の毒作用の何を目的とすべきか、又血清、その他の治療剤の効果判定にはハブ毒作用の何を中和することを目標とすべきかはハブ毒研究開始に当つて重要な問題と言わねばならない。

幸吾々は故細谷省吾教授より分与された古い種々のハブ乾燥毒を保存しておく。これに加うるに最近入手したハブ乾燥毒、生毒、及びこれの凍結乾燥毒を使用できる。本報においてはこれらの毒素標品の溶血作用、マウス致死作用、皮内の出血壊死、及びプロテイナーゼ活性を測定した。これらの病理組織学的研究、プロテイナーゼの酵素学的研究は別報に譲る。

結 論

1) ハブ毒一匹から採取される毒量は約1 ml その乾燥重量は1 ml 当り 300mg 前後である。

2) マウスに対する最少致死量は生毒で 60—75 μ g, 1942年乾燥室温に保存されたもの 100 μ g, 1952年採取乾燥毒は 125 μ g であつた。マウスに対する致死作用は乾燥に對し、比較的安定で長期の保存に耐える。

3) 各種の動物に対する直接溶血作用は低く、完全溶血には数 mg を要する。卵黄レシチンを添加すると溶血作用を著るしく増強され1 μ g/ml で略完全な溶血作用を示し溶血価は保存に對し安定である。

4) 皮内の出血、壊死はハブ毒の毒作用の重要な示標である。これが測定に對する一つの方法を述べた。しかして家兎皮内 100mm² の出血、壊死を起すに要する毒素量は生毒で50 μ g, 乾燥毒のそれは 300 μ g, 1942年採取乾燥毒は 600 μ g。

5) ハブプロテイナーゼは採取直後の生毒及び乾燥保存毒との間に大差なく、0.6—1.0 u/mg で、1942年採取乾燥毒も極めて強いプロテイナーゼ作用をもつことは注目すべきである。

本研究は文部省試験研究費、自治庁の研究費によつた。ここに記して謝意を表する。なおこれらの研究遂行に御援助を頂いた鹿児島県衛生部、奄美大島保健所の方々に厚く感謝する。

文 献

- 1) Swarrop, S. and Grab, B.: Bull. World Health Org. **10**, 35, 1954.
- 2) Kraus, R. und Werner, Fr.: Giftschlangen, Jena, 1931.
- 3) 佐々 学・田中 寛・迫 一男・森 大三: 日新医学, **43**, 486, 1956.
- 4) 北島多一: 細菌学雑誌, 154号, 541—556, 明治41年9月(1908).
- 5) 細谷省吾・谷 茂・田中哲之助: 実験医学雑誌, **18**, 1—20, 1934.
- 6) 田中哲之助: 実験医学雑誌, **25**, 159—177, 1941.
- 7) 田中哲之助・大原良之: 台湾医学, **40**, 1, 1941.
- 8) 桑島謙夫: 日新治療, 第284号, 1941.
- 9) 田中哲之助・桑島謙夫: 実験医学雑誌, **26** (1), 1—2, 1942.
- 10) 田中哲之助: 実験医学雑誌, **26**(2), 1—2, 1942.
- 11) 田中哲之助・三宅忠雄・大原良之・実験医学雑誌, **26**(5), 1—2, 1942.
- 12) 桑島謙夫: 医学の進歩(第1輯), 1942.
- 13) 田中哲之助・三宅忠雄: 実験医学雑誌, **27**, 81, 1944.
- 14) 田中哲之助・久保田久・三宅忠雄: 日本医学, No. 3388, 835—838, 1944.
- 15) 小松信彦: 生化学, **22**, 96—102, 1950.
- 16) 宮崎正之助・関原久郎: 昭和医学会雑誌, **7**, 266, 1950.
- 17) 三宅忠雄: 日本細菌学会雑誌, **7**, 507—510, 1952.
- 18) Y. Kuwashima: Jap. J. Exp. Med., **23**, 21, 1953, *ibid.*, **23**, 127, 1953, *ibid.*, **23**, 225, 1953. *ibid.*, **23**, 299, 1953. *ibid.*, **23**, 457, 1953. *ibid.*, **23**, 465, 1953.
- 19) Flexner, S. and Noguchi, H.: J. Exp. Med., **6**, 277, 1902.
- 20) Calmette, A.: Les venin, Paris, 1907.
- 21) Kyes, P.: Berl. Klin. W., **39**, 886, 1902.
- 22) Lüdecke: Die Chemie der Cerebroside und Phosphatide von H. Thierfelder, u. E. Klenk, Julius Springer, Berlin, 1930.
- 23) Delezenne, C. et Ledeff: C. R. Acad. Sc., **152**, 790, 1911.
- 24) Delezenne, C. et Ledeff: C. R. Acad. Sc., **153**, 81, 1911.
- 25) Delezenne, C. et Ledeff: C. R. Acad. Sc., **155**, 1101, 1912.
- 26) Delezenne, C. et Fourneau, E.: Bull. de la Soc. chim. de France, **15**, 421, 1941.
- 27) 岩田元兄: 理, 研, 彙報, 第9輯, 10号, 1930.
- 28) Slotta, K. H. and Szyska, G.: Ber. **71B**, 258, 1933.
- 29) 三橋 進・前野弘夫・林 義次: 日本細菌学会関東支部総会, 1957年11月.
- 30) 三橋 進・前野弘夫・小此木丘・山口和夫: 伝

研学術集談会, 1958年3月.

- 31) 前野弘夫・三 橋進: 酵素化学シンポジウム第10回(札幌)1958年7月.
- 32) 三橋 進・前野弘夫・他: 伝研学術集談会, 1958年, 11月.
- 33) 三橋 進・前野弘夫・林 義次: 小此木丘・山口和夫: 綜合医学, **15**, 19, 1958.
- 34) 小此木丘・山口和夫・星 昭二・大原三男・三橋進: 日本病理学会誌, **47**, 471, 1958.
- 35) 小此木丘・山口和夫: 伝研学術集談会, 1958年, 11月.

山口和夫: 北関東医学, **8**, 145, 1958.

- 36) Folin, O. and Ciocalteu, V.: J. Biol. Chem., **73**, 627, 1927.
- 37) 前野弘夫・小此木丘・三橋 進: 未発表.
- 38) 前野弘夫・森村正東・三橋 進: 未発表.
- 39) Ohsaka, A.: J. Biochem. (Japan), **45**, 259, 1958.
- 40) 沢井芳男: 東京医事新誌, **74**, 65, 1957.
沢井芳男: 日本公衆衛生雑誌, **5**巻, 11号, 525-529, 1958.