

「ツベルクリン」ニ關スル研究 (第一報)

第一編 「ツベルクリン」ノ物理化學的性狀竝ニ 「ツベルクリン」劃分法ニ就テ

九州帝國大學醫學部細菌學教室(主任 戸田教授)

大學院學生 村 田 正 夫

(10月20日受領)

(本研究ハ帝國學士院ノ援助ニ依ルトコロ大テアル。記シテ謝意ヲ表ス。研究指導者 戸田 忠雄)

目 次

序 論	係
第一編 「ツベルクリン」ノ物理化學的性狀竝ニ 「ツベルクリン」劃分法ニ就テ	第三節 Eluation ニ於ケル水素「イオン」濃 度ニ就テ
緒 言	第四節 各劃分ノ窒素含有量ニ就テ
第一章 「ツベルクリン」ノ分離ニ就テ	第五節 本章ノ小括
第二章 「ツベルクリン」ノ透析性ニ關スル實驗	第五章 結核海狸ニ對スル各劃分ノ皮内及皮致 死反應
第一節 2, 3 透析膜ニヨル透析性ノ比較	第一節 皮内反應
第二節 透析日數ニヨル膜内容物ノ變化ニ就 テ	第二節 致死反應
第三節 本章ノ小括	第三節 本章ノ小括
第三章 「ツベルクリン」ノ劃分法ニ關スル實驗	第六章 「フォルマリン」及ピ「トリブシン」ノ各 劃分ニ及ボス影響
第一節 水酸化アルミニウムヲ以テスル 劃分法	第一節 「フォルマリン」ノ舊「ツベルクリン」 及 3 劃分ニ及ボス影響
第二節 「カオリン」ヲ以テスル劃分法	第二節 「トリブシン」ノ舊「ツベルクリン」及 3 劃分ニ及ボス影響
第三節 本章ノ小括	第三節 本章ノ小括
第四章 Np-物質、To-物質、Na-物質ノ化學的 性狀	第七章 總括及ビ考按
第一節 各劃分ノ呈色反應	第八章 結 論
第二節 Eluat ノ呈色反應ト洗滌回数トノ關	

序 論

結核ノ Spezifisches Therapeuticum トシテ結核菌培養濾液ガ、R. Koch⁽¹⁾ニヨリ發表セラレタノハ、1890年ノ事デアル。即チ其ノ年 X. Internationale Medizinische Kongress ニ於テ彼ノ海狸ヲ以テスル實驗結核ニ於テ、豫防的ニモ、亦治療的ニモ、極メテ有效ナル或物質ヲ

得タト報告シタノデアル。次デ數ヶ月後、同人^{(2) (3)}及 A. Libbertz, E. Pfuhs ニヨリ該治療劑、即チ「ツベルクリン」ガ、實驗結核ニ引續キ、人體ニ於テモ同様卓效アルヲ公ニセラル、ヤ、時恰モ免疫療法ノ時流ニ乘ツテ、Tuberkulintherapie ハ醫界ヲ風靡シタ。

然シナガラ一方、副作用ノ少カラザルヲ、多數臨牀醫家ヨリ指摘セラル、ヤ、R. Koch⁽⁴⁾ 並ニ Goetsch 等ハソノ用量及 Indikation ノ誤レルヲ示スト同時ニ、「ツベルクリン」中ヨリ非特異性物質乃至ハ副作用ヲ呈スル物質ヲ除カント、アラユル努力ヲ拂ツテ來タノデアツタガ、遂ニ所期ノ目的ヲ達スルニ至ラズ、現今「ツベルクリン」ハ治療劑トシテハ、唯僅カニ醫界ノ一部ニソノ命脈ヲ保ツニ過ギナイ状態デアル。

但シ一方ニ於テハ Koch が「ツベルクリン」發見當時既ニ示唆シタ所デアツタガ、1891 年全歐洲ノ獸醫ノ家畜ニ於テ之ヲ、結核診斷ニ用ヒルニ至リ、1906 年 Pirquet⁽⁵⁾ が Vienna デ、1907 年 Manthoux⁽⁶⁾ が Paris デ、同年 Vienna デ Eschreich⁽⁷⁾ 及 Hamburger⁽⁸⁾ が人類ニ於ケル結核ノ皮内反應ヲ發表スルヤ、コ、ニ「ツベルクリン」ノ新ナル用途ガ開カレ、現今臨牀醫家ニトリ「ツベルクリン」ハ診斷上、缺クベカラザルモノトナツタノデアル。

カクテ「ツベルクリン」ヲ Heilmittel トシテ用ヒントスル希望ガ達成セラレズトモ、生物學的乃至ハ診斷的ノ用途ガ猶注目スベキ現状カラシテ「ツベルクリン」其物ニ對スル研究モ等閑ニ附サレタワケデハナク、絶エズ行ハレテ來ツ、アツタノデアルガ、未ダ大成スルニ至ラズ今一般ニ用ヒラル、モノハ 4% 「グリセリン・ブイオン」ニ結核菌ヲ培養シテ得タル Koch 氏ノ舊「ツベルクリン」デアツテ、舊態依然タル有様デアル。

「ツベルクリン」改良ノ第一歩トシテ著目セラレタノハ先ヅ

1. 培養基ノ改良デアル。舊「ツベルクリン」中ノ蛋白物質、或ハソレノ類似物質ニヨル非特異的作用ヲ免カレントシテ、無蛋白「ツベルクリン」ガ生レタ。即チ 1884 年 Proskauer⁽⁹⁾ 及 Beck⁽¹⁰⁾ ヲヨリ無蛋白培地ニモ結核菌ガ繁殖シ得ルヲ發表セラル、ヤ、Uschinsky⁽¹¹⁾, Fraenkel⁽¹¹⁾, Lockmann⁽¹²⁾, Long⁽¹³⁾, Sullivan⁽¹⁴⁾, Sauton⁽¹⁵⁾, Kirchner⁽¹⁶⁾, Dorset⁽¹⁷⁾, 等多數ノ合成培地ガ公

ニセラレ、而シテ是等ヨリ得タル「ツベルクリン」ヲ albumosefreies Tuberkulin (T. A. F.) ト稱ヘタノデアル。然シ是等モ現在唯、生物化學的檢索用トシテノミ用ヒラレテ居ルニ過ギナイ。次デ企テラレタノハ

2. 「ツベルクリン」ノ毒性ヲ減ジテ、診斷、治療ニ用ヒントスルモノデアツタ。Löwenstein⁽¹⁸⁾ ガ破傷風毒素ニ「フォルマリン」ヲ作用セシメテ減毒ニ成功シテ以來、遂ニ 1923 年佛蘭西ニ於テ Ramon⁽¹⁹⁾ ハ「デフテリー・アナトキシシ」ヲ實用化スルニ至ツタノデアルガ、「ツベルクリン」ニ於テモ同様な企テガ同國ニ行ハレ、Siliverea⁽²⁰⁾, Finzi, ニヨリ Esotuberkulin が創製セラレタ。彼等ハ、人型、牛型、鳥型及 B.C.G 菌ノ培養濾液ニ 0.5% ノ割ニ「フォルマリン」ヲ加ヘ、人及ヒ動物ノ結核診斷ニ用ヒ、他ノ「ツベルクリン」ニ比シ遙カニ勝ルト云フ。本邦ニ於テ、加藤⁽²¹⁾ ハ「ソートン・ツベルクリン」ニ 0.4% ノ割ニ「フォルモール」ヲ加ヘタルモノヲ「フォルモ・ツベルクリン」ト稱シ、實驗結核ニ於テコノモノハ、皮内反應ヲ呈セズ、又其大量、即チ 4—5cc ヲ結核動物ニ注射スルモ障礙ナキヲ認メ、之ヲ結核ノ感染防禦及治療實驗ニ用ヒタルニ、感染局所ニ於テモ亦各臟器ニ於テモ、對照ニ比シ可成良好ナル結果ヲ得、動物ニ於テスクノ如ク良好ナル成績ヲ得ルトセバ、人結核ニ於テハ、須ラク治療的ニハ「フォルモ・ツベルクリン」ヲ使用スベシト述べ、又箭頭⁽²²⁾ ハ、水酸化「アルミニウム」ヲ以テ精製シ得タル彼ノ精製「ツベルクリン」ニ於テ Formotuberkulin ヲ製シ、之ヲ以テ「ツベルクリン」陽性者ヲシテ、陽性「ツベルクリン・アネルギー」ノ状態タラシメタ例ヲ報告シタ。最後ニ企テラレタノハ

3. 化學的精製法デアル。

20 世紀ニ至リ飛躍の進歩ヲ遂ゲ來ツタ化學ハ細菌學ニ於テ、Avery u. Heidelberger⁽²³⁾⁽²⁴⁾ ノ Pneumokokken ニ於ケル、蛋白質ノ Artspezifität, 含水炭素成分ノ Typusspezifität ナル實ヲ結ビ、次デ各種細菌毒ノ研究ハ、Heidelber-

ger ノ衣鉢ヲ繼グ亞米利加ニ於テ、Pasteur 一派ノ佛蘭西ニ於テ、本邦ニ於テハ細谷氏等ニ依リテ、今ヤ絢爛タル華ト咲キツ、アルノデア。曾ツテ Koch⁽²⁵⁾ハ「ツベルクリン」發見當時、ソノ有效因子ハ蛋白質、或ハ類似物質ナラントシ、單寧酸ヲ以テ是ヲ取出サント試ミタ。同様ナ方法ヲ、Zinsser⁽²⁶⁾、Müller、モ行ヒ、又 Millis⁽²⁷⁾ハ水銀ヲ用ヒテ精製ヲ試ミタ。而シテ後 Long⁽²⁸⁾及 Seibert ハ是等ヲ用ヒタル場合、「ツベルクリン」中ノ有效因子ト、上記ノ物質トガ固ク結合スルタメ、コノ方法ハ不適當ナリトシタ。然シナガラ、1928年 Long 及 Seibert⁽²⁹⁾ハ Long ノ培地ヲ以テセル無蛋白「ツベルクリン」ヨリ醋酸及硫酸「アンモン」ヲ用ヒ、Hopkins⁽³⁰⁾ method for crystallizing of ovoalbumin ニヨリ、針狀結晶物ヲ得ル事ニ成功シタ。コノ場合、optimum pH ハ 4.9 デアツタ。コノ結晶物ハ含水炭素ヲ含マズ、「メチーレン・ブラウ」ニテ青色ニ著色シ、水溶性デアリ、熱ニヨリ凝固シ、「アルブミン」ニ似タ化學的性質ヲ有スル。斯クテ本物質ガ蛋白性物質デアリ、而モ結核動物ニ對シ、「ツベルクリン」皮内反應ヲ呈スル事ヲ示シタノデアツタガ、ソノ精製操作中 Denaturation ヲ來シ易ク實用的ナラザルヲ知ツタ。之ヨリ先、Seibert ハ種々ナル酸ヲ以テ「ツベルクリン」ヲ處置スルニ際シ、三鹽化醋酸ヲ以テスル場合、殊ニ pH 4.0 ニスル事ニヨリ最モ多ク蛋白體ヲ採ル事ガ出來、而モコノ方法ハ、「ツベルクリン」ノ效力ヲ、化學的ニ評價シ得ルト云ツタ事ガアルガ、彼女ハコノ三鹽化醋酸ト alundum cup⁽³¹⁾ 及 Nitrocellulose ニヨル限外濾過裝置ヲ用ヒテ、作用能力ノ一定セル Tuberculoprotein ノ粉末ヲ造ル事ガ出來タ。後 Dorset⁽³²⁾ ト共ニ Dorset ノ培地及 Stamm ヲ用ユルニ至リ、完全ニ又多量ニ、之ヲ採ル事ガ出來、之ヲ P. P. D. ト稱シ、實驗ニモ實地ニモ使用シテ居ル。J. Reichel⁽³³⁾ and L. T. Clark, J. Aronson⁽³⁴⁾, E. Long⁽³⁵⁾ and J. Aronson, 黃楊⁽³⁶⁾ ハ之ヲ人體ニモ使用シ良好ナル結

果ヲ得テキル。

1930年 Küster u. Maschman⁽³⁷⁾⁽³⁸⁾ ハ「ソートン・ツベルクリン」ト Kaolin ヲ用ヒ、Polypeptid ニ屬スル「ツベルクリン」有效物質ヲ取り出シ、コレガ結核動物ニ致死作用ヲ惹起スルヲ見、之ヲ Todstoff ト名付ケタ。ソシテ此物質ヲ除イタ「ツベルクリン」ヲ Hauttuberculin ト稱シテ居ル。

1925年 Laidlow, Dueley⁽³⁹⁾ ハ結核菌中ノ炭素ガ血清學的作用ヲ有スル事ヲ認メ、引續キ Müller⁽⁴⁰⁾, Renfrew⁽⁴¹⁾, P. Masucci⁽⁴²⁾, K. Mc. Alpine a. J. Glenn, F. Hooper⁽⁴³⁾, A. Renfrew, T. Johnson, Enders⁽⁴⁴⁾ ハ夫々無蛋白「ツベルクリン」ヨリ Polysaccharid ヲ得、ソノ血清學的作用ヲ觀察シ、又化學的檢索ヲモ併セ行ツタ。彼等ハ何レモ結核海狸、結核死菌免疫海狸、或ハ免疫血清ニテ受動的ニ感作サレタ海狸ニ於テ、コノ Polysaccharid ガ anaphylactic shock ヲ來シ、Hautreaktion ハ呈サナイト云ツテキル。然シ Küster 等ノ Hauttuberculin (Polysaccharid 性)、糟谷⁽⁴⁵⁾⁽⁴⁶⁾ ノ α ハ「アレルゲン」的性質ヲ帶ブルモノナルヲ述ベテ居ル。其他、「ツベルクリン」中ノ化學的成分トシテ Ebersson⁽⁴⁷⁾, Frederick, Model⁽⁴⁸⁾, Pinner, 等ノ Tuberculo-phosphatid, 菅原氏⁽⁴⁹⁾⁽⁵⁰⁾ 「アレルゲン」、糟谷⁽⁵¹⁾⁽⁵²⁾ ノ Aldol (β -Hydroxyl-butylaldehyd), Lindne⁽⁵³⁾, 井下ノ Adenosin 様物質等ガアリ、各々ソノ生物學的性狀モ述ベラレタ。他方「ツベルクリン」ヲ生物學的反應ノ方面ヨリ觀ルナレバ 1933年 G. Valtis⁽⁵⁴⁾, G. Paiseau et F. v. Deinse ノ Reaction dissociée トテ小兒、乳幼兒ニ於ケル、舊「ツベルクリン」ト filtrat d'ultravirus トノ反應ノ差異、糟谷⁽⁵⁵⁾ ノ R 及 S 「ツベルクリン」、 α 及 β ノ結核病機ニヨル異ナレル皮膚反應、又石田⁽⁵⁶⁾ ノ小兒ニ於ケル舊「ツベルクリン」ト分割「ツベルクリン」ノ反應出現ノ遲速等アリ、是等ハ「ツベルクリン」構成成分ノ複雑多岐ナルヲ示スニ他ナラナイノデアツテ、「ツベルクリン」ナルモノガ一元性ニアラ

ズシテ、多元性ナルヲ思ハシムルニ充分デアラウ。

1907年 Pirquet⁵⁶⁾ガ Allergie ノ大系ヲ樹立シテ以來、現醫界ニ於ケル「アレルギー」性疾患ノ研究業績ハ大ニ一見ルベキモノガアルノデアアルガ、殊ニ1個ノ「アレルギー」性疾患ニ於テ「アレルギー」ハ單一ノモノニアラズ、多元性ノモノナリトハ確定的事實デアリ、卑近ナル例トシテ、例之 Asthma bronchiale ニ於テモ、Urt-

icaria ニ於テモ、多種多様ナル「アレルギー」ガアリ、獨リ「ツベルクリン・アレルギー」ニ於テノミソノ一元性ヲ固執スル事ハ出來ナイト思フ。既ニ糟谷、石田⁵⁷⁾、西垣⁵⁸⁾等多元性ナルヲ唱ヘテキルノデアアル。

茲ニ、余ハ戸田教授ノ指導ヲ得テ成シ得タル諸實驗ニヨリ、少シク識リ得タル處アルヲ以テ、是ヲ報告シ、大方諸賢ノ批判ヲ仰ガントスル次第デアアル。

第一編 「ツベルクリン」ノ物理化學的性狀竝ニ「ツベルクリン」劃分法ニ就テ

緒 言

本編ニ於テハ、「ツベルクリン」ニ關シ、其ノ基礎的概念ヲ得ント企圖シタルモノデアアル。「ツベルクリン」ノ透析性ニ關シ、化學的性狀ニ依リ、又其ノ Molekül ノ大小ニヨリ、「ツベル

クリン」中ニ、果シテ相異ナレル生物學的性狀ヲ有スル、構成因子が存在スルヤ、或ハ又、謂フガ如キ劃分法ニヨリ、相異セル性狀ヲ有スル劃分ガ收得セラル、ヤ否ヤヲ究明セントシタ。

第一章 「ツベルクリン」ノ分離ニ就テ

今日廣ク用ヒラレル「ツベルクリン」ハ、Kochノ最初作ツタ舊「ツベルクリン」デアツテ、4% Glyzerinbouillon デ結核菌ヲ6乃至8週間培養シ、ソレヲ1時間 100°ニ滅菌シコレヲ水浴上デ10分ノ1量ニ濃縮シタ後ニ濾過シテ得ラレルノデアアル。「ツベルクリン」ノ化學的檢索ニ當ツテハ、是非共化學的組成ノ明カナ培地ヲ必要トスルハ言フ迄モナイ。合成培地トシテハ序論ニ述ベタル如ク、多數アルガ、Long & Seibert ハ實驗ノ當初ハ Long 氏ノ培地ヲ用ヒタガ、後專ラ Dorset ノ培地ヲ使用シテ居ル様デアアルシ、又 Löwenstein ハ Pick 氏ノ培地ヲ、Küster 等ハ Sauton 氏培地ヲ用ヒテ實驗シテキル。

余ノ場合、後述ノ如ク、「ツベルクリン」ノ劃分ニ際シ、大體 Küster ノ方法ニ則シテ行ツタノト、又化學的成分ノ抽出ニ當ツテハ、無蛋白培地ヲ適當ト認メタノデ、Sauton 氏培地ノミヲ使用シタ。

培養ニ用ヒタ結核菌ハ、當教室保存ノ人型結核菌 Frankfuhr 株デアアル。

「ツベルクリン」分離ノ時期ニ關シテハ、何レノ文獻ヲ見ルモ、約8週間培養ノモノト記載シテアルガ、菌ヲ移植スル場合ノ菌苔ノ大サ、又孵卵器室ノ溫度ノ變動等ニヨリ、菌ノ發育ハ必ずシモ一定シナイ場合ガ往々アル。

余ノ實驗ニ於テハ、2立内容ノ「コルベン」ヲ使用シ、之ニ Sauton 氏培地1立ヲ入レ、液表面ニ五錢白銅貨大ノ菌苔ヲ移植シタル後、約2乃至2ヶ月半ノ後、液表面ノ全部ガ厚キ菌苔ヲ以テ蔽ハレ、而モ之ガ自然ニ沈下スル時期ヲ以テ菌ノ發育、極點ニ達シタルモノトシテ之ヲ用ヒタ。コノモノヲ1時間コッホ氏釜ニテ殺菌シ、濾紙ニテ菌苔ヲ濾シ去リ、引續キ「ライヘル」型濾過管ニテ keimfrei トシタルモノヲ「ソートン・ツベルクリン」トシ、之ヲ實驗ニ供シタモノデアアル。

第二章 「ツベルクリン」ノ透析性ニ關スル實驗

「ツベルクリン」ニ關スル實驗ヲ爲スニ當ツテハ、先ヅ透析性ノ有無ニ就テ了解スル事ハ、緊要ナ事デアルト思フ。

既ニ Koch ハ「ツベルクリン」發見當時之ニ透過性ノアル事ハ述ベテキルノデアアルガ、Zieler⁽⁵⁹⁾ Löwenstein⁽⁶⁰⁾, Danielopolu⁽⁶¹⁾, Guyon⁽⁶²⁾, Albert-Weil, 青山等モ同様ノ意見ナル事ヲ記載シテ居ル。然シ Marie⁽⁶³⁾, Tiffeneau, Selter u. Tancre⁽⁶⁴⁾ ハ nondialyzable ナリト云ヒ、Seibert⁽⁶⁵⁾ モ亦「ツベルクリン」ヲ 5 日間ニ互リ fish bladder ヲ用ヒ透析ヲ行ツテ見タガ、是ニ透析性ナシト云フ。Ruppel⁽⁶⁶⁾ ハ「ツベルクリン」ハ熱シタ後ナレバ透過スル、元來「ツベルク

リン」ハ種々ナル Molekülgrösse ノ結合ヨリ成ルモノデアアルカラ、一部ノ物質ハ透過スルデアラウシ、又他方透過シナイ物質モアルデアラウト云ヒ、「ツベルクリン」有效因子ノ單一ノモノナラザルヲ示唆シテ居ル。

茲ニ、興味アルハ、Dorset⁽⁶⁷⁾, Henley a. Moskey 等ニヨル報告デアツテ、彼等ニ依レバ、「ツベルクリン」ノ透析性ノ部分ハ結核海狸ニ致死作用ヲ有スル、然シ皮内反應ハ呈シナイ。非透析性ノ部分ハ致死作用モ、皮内反應モ呈スルト云フノデアアル。F. Lindner モ此ノ事實ヲ裏書キシテ居ル。

第一節 2、3 透析膜ニヨル透析性ノ比較

現在迄ノ諸實驗ヲ見ルト各人夫々異ツタ材料ヲ用ヒテ居ル。即チ、Danie'lopolu, Kallos u. Hoffman 等ハ「コロヂウム」膜ヲ、Seibert, Long 等ハ fish bladder ヲ使用シタ。

余ハ茲ニ於テ、一般ニ用ヒラレル透析膜、即チ牛膀胱、魚囊、「コロヂウム」膜ヲ使用シ、「ツベルクリン」ノ透析性ヲ比較シテ見タ。

第一項 實驗方法

- 1) 膀胱膜 市販ノ牛膀胱ニテ作りシ氷嚢ヲ用フ。其内容約 400 ccm。
 - 2) 魚囊 市販ノ fish skin ヲ使用ス。其内容約 100 ccm。
 - 3) 「コロヂオン」膜 4%ノ「コロヂオン」及ビ、徑 5 cm ノ試験管トヲ以テ自製セルモノ、其内容約 300 ccm。
 - 4) 「ツベルクリン」ハ第一章ニ述ベタルモノ。
 - 5) 海狸 體重 320 g 前後ノ海狸ニ、人型結核菌(F) 0.1 mg 皮下接種後 2 週間ニシテ、何レモ「ツ」皮内反應陽性ナルモノヲ使用ス。
- 牛膀胱膜、魚囊、「コロヂオン」膜中ニ、「ソートン・ツベルクリン」各々 50 ccm 宛ヲ入レ、「トルオール」ヲ重疊シ、之ヲ 500 ccm ノ蒸餾水ニ

入レ、「トルオール」ヲ重疊シタル Becher 中ニ各々別ニ個々透析ヲ行フ。Becher 中ノ蒸餾水ハ毎日新シク取り換ヘ、Aussenwasser ハ別ニ之ヲ貯ヘル。4 日後、内容物ヲ取り出シ濾紙ニテ「トルオール」ヲ濾別シ、50 ccm 迄各々水浴上ニテ濃縮シ、「ライヘル」型濾過管ヲ通シタルモノヲ以テ蛋白呈色反應及ビ結核海狸ニ於ケル皮内反應用ニ供ス。猶「ツ」皮内反應ニ於テ内容物ハ濾過シタルモノヲ其儘稀釋セズ、其 0.1 ccm ヲ皮内ニ注射ス。Aussenwasser ニ於テハ、4 日間ニ互リ貯ヘタルモノヲ 50 ccm 迄、水浴上ニテ濃縮シ、Blaseninhalt 同様、「ライヘル」型濾過管ヲ通シタルモノヲ實驗ニ供ス。

第二項 實驗成績(第 1 表參照)

牛膀胱膜ヲ用ヒタル場合 Blaseninhalt, Aussenwasser 共ニ蛋白呈色反應何レモ陽性ヲ示シタ。即チ「ーシドリン」、「ビュウレット」、「ミロン」、「ホブキンズ・コレ」、「キサントプロテン」、「モーリッシュ」ノ諸反應何レモ陽性デアアル。且又結核海狸ニ對スル皮内反應モ兩者共陽性成績ヲ示シタ。然シナガラ Aussenwasser ニ於テハ呈色反應、皮内反應ハ Blaseninhalt ニ比シ何

第 1 表 (2、3 膜ニヨル透析性ノ比較)

Blasenhalt

透過後容量 cc	膜ノ種類	蛋白質呈色反應							
		ニド反應 ンリン ヒン	ビレ反應 ユツ ウト	ミ氏 反 ン應	ホンレ 應 プス氏 キコ反	キトテ 應 サブン ンロ反	硫反 化應 鉛	モー ッ氏 反 ン應	
92	牛膀胱膜	卅	卅	卅	卅	卅	卅	—	卅
90	魚囊	卅	卅	卅	卅	卅	卅	—	卅
79	「コロヂウム」膜	卅	卅	卅	卅	卅	卅	—	卅

「ツベルクリン」皮内反應

番 號	45(320)		48(310)		46(310)		8(330) 對照	
	24時間	48時間	24時間	48時間	24時間	48時間	24時間	48時間
10×「ツ」 NaCl	0.7×0.7	1.0×1.0	0.5×0.4	0.6×0.6	0.6×0.7	1.2×1.2	—	—
10×「ツ」 NaCl	0.8×0.7	1.0×1.0	0.5×0.5	0.6×0.7	0.5×0.5	0.8×0.8	—	—
10×「ツ」 NaCl	0.8×0.8	1.3×1.5	0.7×0.7	1.0×1.0	0.7×0.7	1.2×1.2	—	—

Aussenwasser .

透過後容量 cc	膜ノ種類	蛋白質呈色反應							
		ニド反應 ンリン ヒン	ビレ反應 ユツ ウト	ミ氏 反 ン應	ホンレ 應 プス氏 キコ反	キトテ 應 サブン ンロ反	硫反 化應 鉛	モー ッ氏 反 ン應	
160	牛膀胱膜	+	卅	+	+	+	+	—	+
160	魚囊	+	+	—	+	+	+	—	+
170	「コロヂウム」膜	±	+	—	±	±	±	—	+

「ツベルクリン」皮内反應

番 號	50(340)		51(315)		53(300)		10(315) 對照	
	24時間	48時間	24時間	48時間	24時間	48時間	24時間	48時間
10×「ツ」 NaCl	0.4×0.5	0.7×0.7	0.3×0.4	0.4×0.5	0.5×0.5	0.7×0.8	—	—
10×「ツ」 NaCl	0.4×0.4	0.5×0.4	0.5×0.5	0.6×0.7	0.6×0.5	0.8×0.8	—	—
10×「ツ」 NaCl	0.2×0.2	0.2×0.2	0.4×0.4	0.4×0.3	0.3×0.2	0.3×0.3	—	—

レモ微弱ナルヲ認メタ。

魚囊膜ヲ用ヒタル場合 牛膀胱膜ニ於ケルモノト殆ンド同様ナル成績ヲ得タ。即チ蛋白質呈色反應、皮内反應ハ Aussenwasser, Innenwasser 共ニ陽性成績ヲ示シタガ、前者ニ於ケルモノノ方ガ後者ニ比シ弱イ。

「コロヂオン」膜ヲ用ヒタル場合 透析内容物ハ

蛋白質呈色反應、皮内反應共ニ陽性成績ヲ示シタ。然シナガラ Aussenwasser ニ於テハ呈色反應中「モーリッシュ」反應ハ陽性ヲ示シタガ、他ノ諸反應ハ可成微弱デアツテ、陰性ニ近キモノデアアル。又皮内反應モ Blasenhalt ノソレニ比シ著シク輕微デアツテ第 50 號、第 53 號海狸ニ於テハ陰性ト見ルベキデアラウ。

第二節 透析日數ニヨル、透析内容物ノ蛋白呈色反應、皮内反應、致死反應ノ變化

透析膜ノ種類ニヨリ「ツベルクリン」ノ透析ニ、幾分差異ノアル事ハ、前記ノ實驗ニヨリ知り得タガ、本實驗ニ於テハ、透析日數ニヨリ、如何ナル差異アリヤチ、Blaseninhaltニ就テ知ラント欲シタ。殊ニ結核海狸ニ對スル、皮内反應、致死反應ニ於テ、果シテ Dorset, Henley 等ノ云フガ如キ事實アリヤ、又 Küster⁽⁶⁸⁾ガ Hauttuberkulin ト稱スルモノヲ得タルガ如ク、Blaseninhaltニ於テ totwirkende Stoffeガ減少スルモノデアラウカ。

第一項 實驗方法

透析膜ハ牛膀胱ヲ用ヒ、之ニ「ソートン・ツベルクリン」500 ccmヲ入レ、「トルオール」ヲ重疊シ、流水中ニ於テ透析ヲナス。毎日 10 日間ニ亙リ内容物ノ一部ヲ取り、之ヲ「ライヘル」型濾過管ニテ濾過シ、蛋白呈色反應ヲ檢スルト共ニ、一部ハ、即チ透析前、透析後 2 日、4 日、6 日、10 日ノ膜内容物ヲ以テ、皮内反應並ニ致死反應ヲ檢シタ。致死反應ニ於テハ「ツベルクリン」ノ各相當量ヲ結核海狸ノ前膊靜脈内ニ注射シ、生、死ヲ觀タモノデアル。

結核海狸ハ、體重 300 g 内外ノ健康海狸ニ、當教室保存ノ Petraghani 氏培地ニ培養セル、人型結核菌「フランクフルト」株各 0.3 mg 宛ヲ下腹部皮下ニ接種後、約 3 週間ヲ經テ、「ツベルクリン」皮内反應陽性ナルモノヲ用ヒタ。

第二項 實驗成績

1. 蛋白呈色反應(第 2 表參照)
 透析 3 日迄ハ各反應著シキ變化ヲ見ナイガ、4 日後ニ於テハ、Molisch's Reakt.ヲ除キ他ノ諸反應ハ何レモ少シク弱マレルヲ見ル。斯クテ、日ヲ經ルニ從ヒ、漸次各反應共微弱トナツテ來ルガ、10 日後ニ於テハ、Molisch's Reakt.ノミハ、依然強陽性ニ止リ、Xanthoprotein-Reakt., Hopkins-Cole's Reakt.ハ全ク陰性、Biuret-Reakt.ハ(+), Ninhidrin-Reakt 及ビ

第 2 表

反 應	ニ ン 反 應	ビ ュ ウ レ ッ	ミ ロ ン 氏 反 應	キ サ ン ト 反 應	ホ プ キ ン ス 反 應	コ ン 氏 反 應	硫 化 鉛 反 應	モ ー リ 氏 反 應
原 液	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
透析 1 日後	卅	卅	卅	卅	卅	卅	—	卅
透析 2 日後	卅	卅	卅	卅	卅	卅	—	卅
透析 3 日後	卅	卅	卅	卅	卅	卅	—	卅
透析 4 日後	卅	卅	卅	卅	卅	卅	—	卅
透析 5 日後	卅	卅	卅	卅	卅	卅	—	卅
透析 6 日後	卅	卅	卅	卅	卅	卅	—	卅
透析 7 日後	卅	卅	卅	卅	卅	卅	—	卅
透析 8 日後	卅	卅	卅	卅	卅	卅	—	卅
透析 9 日後	卅	卅	卅	卅	卅	卅	—	卅
透析 10 日後	卅	卅	卅	卅	卅	卅	—	卅

Millon's Reakt.ハ(±)トナル。

2. 皮内反應(第 3 表參照)

透析前ノモノ、透析 2 日、4 日、6 日ノモノニ就キ皮内反應ヲ見ルニ、發赤、浸潤共著シキ減少ハ無イ。原液ヲ用ヒテモ、其 10 倍液ヲ用ヒテモ大シタ差異ハ無イ様デアル。唯透析前ノモノニ於テハ、他ノ場合ニ比シ、幾分強ク反應ヲ見ル如クデアル。勿論非結核健康海狸ニテハ何レモ無反應デアリ、又結核海狸ニ於テモ、對照トシテ用ヒタ 0.5%「カルボール」加生理的食鹽水ハ陰性デアツタ。

3. 致死反應(第 4 表參照)

透析前「ツベルクリン」0.8 ccmヲ以テスルニ、第 16 號、12 號ニテハ注射直後ヨリ全身ニ震顫及痙攣反復襲來シ、脱糞、呼吸困難アリ、約 50 分後死亡シタ。第 17 號ニテハ、前記ノ症狀アリタルモ約 30 分後恢復シ生存ス。對照ハ異狀ナシ。猶同液ノ 1 ccm 注射ニテハ全例共(13、11、15 號)「アナフィラキシー」様症狀ノ下ニ約 30 分乃至 50 分ノ後ニ斃死シタ。對照ハ異狀ナシ。

透析 4 日後ノ Blaseninhalt 1 ccmニテハ 3 頭

第 4 表

透析前	注射量	0.8cc				1 cc			
	海猿番號	16	12	17	3(對)	11	13	15	4(對)
	體重及性	305 ↑	315 ↑	305 ↑	310 ↑	310 ↑	300 ↑	320 ↑	305 ↑
	轉歸	死	死	生	生	死	死	死	生
透析四日	注射量	1 cc				1.3cc			
	海猿番號	14	24	25	5(對)	22	23	29	7(對)
	體重及性	310 ↑	320 ↑	330 ↑	320 ↑	315 ↑	330 ↑	315 ↑	320 ↑
	轉歸	死	生	死	生	死	死	死	生
透析十日	注射量	1.5cc				2.3cc			
	海猿番號	32	34	30	2(對)	28	27	26	6(對)
	體重及性	325 ↑	310 ↑	315 ↑	305 ↑	330 ↑	320 ↑	320 ↑	325 ↑
	轉歸	生	生	生	生	死	生	生	生

中 2 頭ハ、全身痙攣後、之ガ一時間代性トナリ、暫時平靜トナレルモ、約 1 時間後死亡ス。又同液 1.3 ccm 注射ニテハ全例共「ショック」様症狀ヲ呈シテ 30 分乃至 1 時間後一死亡シタ。對照ハ何レモ異狀ヲ認メズ。透析 10 日後ノ透析内容物ヲ注射シタル場合 1.5 ccm ニテハ第 34 號ニ輕度ノ痙攣ヲ來シ、

第 30 號ニ於テハ呼吸促迫ヲ來シタガ、直チニ平靜ニ復シ、後何等異狀ナク生存シタ。猶同液 2.3 ccm 注射ニテハ第 28 號ノミ呼吸困難、脱糞、蠕動亢進アリ、約 2 時間後斃死シタ。他ハ何等異狀ナク生存シタ。對照ハ當初ヨリ異狀ヲ認メナカツタ。

第三節 本章ノ小括

以上第一節、第二節ノ所見ヲ見ルニ、「ツベルクリン」ノ透析性ニ關シテ、使用スル膜ノ如何ニヨリ、多少ノ差異ハ認メラレルガ、「ツベルクリン」有效因子中ノ或ルモノハ透析スルモノト認ムベキデアラウ。又透析日數ニヨリ變化ヲ見ルニ、Molisch's Reakt ヲ呈スルモノガ透析シ難キヲ解シ得ル。即チ polysaccharid 性ヲ帶ビルモノノ Molekül ガ他ノ反應ヲ呈スル物質ニ比シ、大ナル事モ了解出來タ。一方、結核海猿ニ於ケル反應ヨリ案ズレバ、致死反應ヲ呈スル物質ハ、皮内反應ヲ惹起スル物質ヨリモ多分ニ透過スル事ヲ認メ得ラレル。コノ事實ハ Küster, Dorset, Henley ノ記載ヲ裏

書キスルモノデアラウ。Küster ハ 1931 年次ノ如ク報告シテキル。「ソートン・ツベルクリン」ヲ透析ニ付スルト、3 日後ニハ、致死反應ヲ呈スル物質ハ 20%、Aussenwasser ニ移行スル。而シテ 11 日後ニ於テハ、Blaseninhalt 中ニ、コノモノハ 10% シカ殘ラナイ、ソレニモ拘ラズ皮内反應ヲ呈スル物質ハ猶 75% 殘ツテ居ル、ト云フノデアル。余ノ實驗ヨリシテモ、結核海猿ニ對シ、Todreaktion ヲ惹起スルモノト、Hautreaktion ヲ呈スルモノトハ、Tuberkulin 中ニ於テ、別個ノモノ、少クトモ透析性並ニ生物學的反應ヲ目安トシテハ、相異ツタモノデアラウト推論出來ル。

第三章 「ツベルクリン」ノ劃分法ニ就テ

「ツベルクリン」中ヨリ、其ノ有效因子ヲ得ントスル方法ハ多數アツテ、枚舉ニ違ナキ程デアル

ガ、現在迄行ハレテ來タ方法ヲ既括大別スルナレバ、次ノ如クデアラウ。

1. 酸類ヲ以テ處置抽出セントシタルモノ (R. Koch, H. Zinsser, Müller, Seibert 等)。
2. 無機或ハ有機鹽類ヲ用ヒタルモノ (Seibert 等)。
3. 重金屬類ヲ使用シタルモノ (Millis 等)。
4. Alkohol, Aether, Aceton, ヲ用ヒテ抽出セントシタルモノ (H. Müller, J. Enders, P. Masucci, F. Ebersson⁶⁹, 糟谷等)。
5. 吸著劑ヲ以テ、Adsorption→Eluation, ニヨリ分離セントシタルモノ (Küster, 箭頭、

糟谷等)。
 6. 特殊ナル濾膜ヲ作り、之ニヨリ分離セントシタルモノ (Kallos^{70, 71}, Hoffmann, F. Seibert 等)。
 以上ノ如キ種々ナル方法ヲ擧ゲル事が出來ル。余ノ場合、「ツベルクリン」中ノ相異ナル生物學的或ハ、化學的反應ヲ有スル 2 乃至 3 種ノ特殊物質ヲ得ントシタノデ、上記各方法ヲ取捨シ、後述ノ如キ方法ニ依ツタモノデアル。

第一節 水酸化「アルミニウム」ヲ以テスル劃分法

R. Willstätter⁷² ニヨリ水酸化「アルミニウム」ニヨル酵素ノ精製法ガ成功シテ以來、S. Schmidt⁷³ ハ「チフテリー」毒素ノ、細谷⁷⁴、寺尾、高田等ハ赤痢菌毒素ノ、安東⁷⁵、倉内ハ連球菌毒素ノ精製ヲ何レモ發表シタ。箭頭⁷⁶ハ本法ヲ以テ「チフス」毒素ノ精製ガ可能ナルヲ述ベルト共ニ、舊⁷⁷「ツベルクリン」ヨリ同様ナル方法ヲ以テ無蛋白反應性「ツベルクリン」ナルモノヲ作り、實驗結核及人體ニ使用シ得ラル、事ヲ提唱シタ。余ハ大體箭頭ノ方法ニ從ツタガ、余ノ場合、「ソートン・ツベルクリン」ヲ用ヒテ實驗ヲ行ヒ以下述ブルガ如キ成績ヲ得タ。

第一項 水酸化「アルミニウム」ノ

精製法ニ就テ

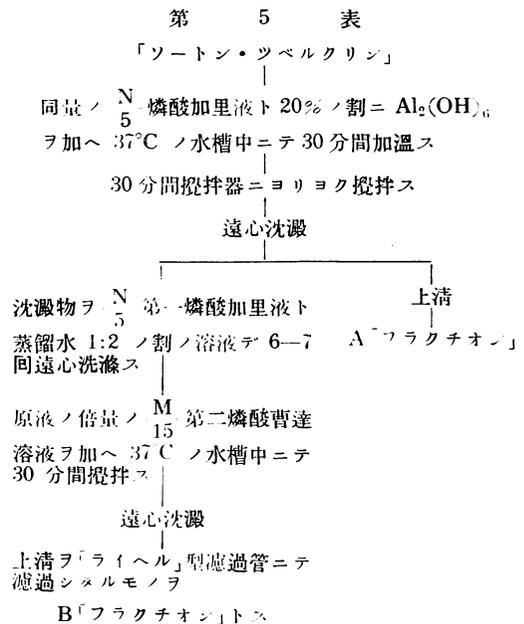
一般ニハ市販ノ水酸化「アルミニウム」ヲ使用シテ居ル様デアルガ、P. Uhlenhuth⁷⁸, E. Remy ハ澱粉中ノ抗元性物質ヲ得ントシテ Al(OH)₃ ヲ用ヒタガ、コノ際 Al(OH)₃ ヲ、硫化「アルミニウム」ト「アンモニウム」トヨリ自製シテ居ル。余モ亦、菊地⁷⁹ノ方法ニヨリ、鹽化「アルミニウム」ヨリ自製シ、之ヲ使用シタ。製法ハ次ノ如クデアル。

内容約 500 ccm ノ「コルベル」ニ鹽化「アルミニウム」200 g ヲ入レ、之ヲ浸シテ餘リアル水酸化「アンモニウム」(「アンモニア」水)ヲ加へ、約 2 日間(1 日 8 時間乃至 10 時間)煮沸スル。若シ第 2 日目ニ於テ「コルベン」内容ノ生成物が

同様ナル膠様外見ヲ呈セズ、而モ上層液ノ缺乏ヲ來セル時ハ、更ニ「アンモニア」水ヲ追加ス。カクシテ生ジタル水酸化「アルミニウム」ヲ「アンモニア」反應ノ消失スル迄、蒸餾水ヲ以テ傾斜洗滌シ、後之ヲ、適當量ノ蒸餾水中ニ浮遊セシメ「コルベン」中ニ貯フ。

第二項 實驗方法(第 5 表參照)

「ソートン・ツベルクリン」ヲ 10 分ノ 1 量ニ、水浴上ニテ濃縮シ、同量ノ第一磷酸加里^{1/5}ノ定規液及ヒ原液ノ 20% ニ當ル水酸化「アルミニウム」



ム」ヲ加フ。之ヲ 37°C ノ水槽中ニテ 30 分間加温シタル後、攪拌器ヲ以テヨク攪拌シ、之ヲ遠心器ヲ以テ分離ス。上清ヲ A「フラクチオン」トス。沈澱物ヲ第一磷酸加里 1/5 定規液ト蒸餾水ヲ 1:2 ノ割ニ混シタル液ヲ以テ 6—7 回洗滌ス。之ヲ原液ノ倍量ノ第二磷酸普達 M/15 液ヲ加ヘ、30 分間 37°C ノ水槽中ニテヨク攪拌シ、後遠心分離シテ、上清ヲ B「フラクチオン」トス。B「フラクチオン」ハ箭頭氏ノ精製「ツベルクリン」ニ相當スルモノデアル。コノ A, B, 兩「フラクチオン」ヲ以テ蛋白呈色反應及ビ結核海猿ニ於ケル皮内反應ヲ檢シタ。

結核海猿ハ人(F)結核菌 0.3 mg 宛ヲ皮下ニ接種シタル後約 3 週ヲ經タ、10×舊「ツベルクリン」=ヨル皮内反應強陽性ナル、350 gr 内外ノ海猿ヲ使用シタ。

各「フラクチオン」ハ何レモ「ライヘル」型濾過管ヲ通シタルモノノ、0.1 ccm ヲ皮内ニ注射シ、24 時間及ビ 48 時間後ニ於ケル反應ノ有無竝ビニ其程度ヲ見タ。對照トシテハ 10 倍舊「ツベルクリン」液及ビ 0.5% 「カルボール」加生理的食鹽水ヲ使用シタ。

第三項 實驗成績

1. 蛋白呈色反應 (第 6 表參照)

A「フラクチオン」ハ Biuret, Ninhidrin, Millon, Xanthoprotein, Hopkins-Cole, Molisch, ノ諸反應何レモ陽性ヲ示ス。又加水分解ニヨリ、Benedict ノ試藥ヲ還元スル。

B「フラクチオン」ハ、何レノ反應モ陰性デアル

第 6 表

反 應	ニンヒドドリ	ビエウレツ	ミロン氏反	キサントン反	ホレキンス	コレ鉛反應	モイリツシ	ユベネヂク	氏試驗
Bチ原液	-	-	-	-	-	-	-	-	-
フオン 1/10 濃縮	+	-	+	-	-	-	-	-	-
フラク 1/100 濃縮	+	+	+	-	-	-	-	-	-
Aフラクチオン	+	+	+	+	+	-	+	+	+
ソートン・ツベルクリン	++	++	++	+	+	±	++	±	±

が、之ヲ原液ノ 1/10 量ニ濃縮シタルモノヲ以テ檢スルニ、Ninhidrin, Millon ノ 2 反應ハ(±)程度ヲ示シ、猶 1/100 量ニ濃縮シタルモノヲ以テ檢スルトキハ、Ninhidrin, Biuret, ノ 2 反應ハ弱陽性、Millon's Reakt. ハ(±)ヲ示スニ至ツタ。

會ツテ菊地ハ「カタラーゼ」吸著ニ際シ、Eluati-on ニ、第二磷酸普達ヲ使用スルトキハ、其至適 pH ハ 8.0 ナリト稱シテ居ル。余ノ前記 Eluati-on ノ場合 pH ヲ檢スルニ 7.2 デアツタ。於茲、pH 8.0 及ビ 8.5 ニ於ケル Eluati-on ヲ試ミタ。而シテ成績ハ次ノ如クデアル。

即チ、pH 8.0 ニ於テハ Ninhidrin, Biuret, Millon ノ 3 反應ハ(±)ヲ示シ、pH 8.5 ニ於テハ Ninhidrin, Biuret, ノ 2 反應ハ弱陽性ヲ示シ、Xanthoprotein, Millon, ノ反應ハ(±)ヲ示スニ至ツタ。勿論、コノ Eluat ハ濃縮セザルモノヲ使用シタ。而シテ又、Al₂(OH)₃ニ吸著サセタルモノヲ、約 9 回ニ互リ洗滌シタガ、pH 8.5 ニ於テハ前記同様ノ成績ヲ得タ (第 7 表

第 7 表

反 應	ニンヒドドリ	ビエウレツ	ミロン氏反	キサントン反	ホレキンス	コレ鉛反應	モイリツシ	ユベネヂク	氏試驗
pH 8.0	±	±	±	-	-	-	-	-	-
pH 8.5	+	+	±	±	-	-	-	-	-

第 8 表

反 應	ニンヒドドリ	ビエウレツ	ミロン氏反	キサントン反	ホレキンス	コレ鉛反應	モイリツシ	ユベネヂク	氏試驗
洗滌回数									
1 回	+	+	+	±	±	-	+		
2 „	+	+	+	±	-	-	±		
3 „	+	+	±	±	-	-	-		
4 „	+	+	±	±	-	-	-		
5 „	+	+	±	±	-	-	-		
6 „	+	+	±	±	-	-	-		
7 „	+	+	±	±	-	-	-		
8 „	+	+	±	±	-	-	-		
9 „	+	+	±	±	-	-	-		

第 9 表

海 猴 番 號	體 重 (瓦)	性 別	劃分 時間 摘要	10×「ツ」		A「フラクチオン」		B ₁ 「フラクチオン」		B ₂ 「フラクチオン」		0.5%「カルホー ル」加生理的食 鹽水	
				24	48	24	48	24	48	24	48	24	48
21	340 (350)	♂	發赤 浸潤	0.5×0.5	0.7×0.7	0.5×0.5	0.6×0.6	0.4×0.3	0.5×0.5	0.6×0.6	0.7×0.7	—	—
				0.5×0.5	0.6×0.6	0.4×0.4	0.6×0.6	0.2×0.2	0.3×0.3	0.4×0.4	0.5×0.5	—	—
22	360 (365)	♂	”	0.6×0.5	0.8×0.8	0.5×0.6	0.8×0.8	0.4×0.4	0.6×0.6	0.6×0.5	0.8×0.8	—	—
				0.5×0.5	0.7×0.6	0.5×0.5	0.7×0.7	0.3×0.3	0.3×0.4	0.4×0.4	0.4×0.4	—	—
23	360 (370)	♂	”	0.8×0.8	1.0×1.0	0.8×0.8	1.0×1.0	0.5×0.5	0.6×0.7	0.7×0.7	1.0×1.0	—	—
				0.6×0.6	0.6×0.8	0.7×0.6	0.7×0.7	0.4×0.4	0.4×0.5	0.6×0.6	0.7×0.7	—	—
24	330 (335)	♂	”	0.7×0.7	1.0×1.0	0.7×0.6	0.9×0.9	0.6×0.6	0.6×0.6	0.5×0.6	0.8×0.9	—	—
				0.7×0.7	0.9×0.9	0.6×0.6	0.8×0.9	0.4×0.5	0.5×0.5	0.5×0.5	0.5×0.5	—	—
25	345 (340)	♂	”	0.5×0.5	0.9×0.9	0.6×0.6	0.9×0.9	0.4×0.4	0.5×0.5	0.5×0.5	0.8×0.8	—	—
				0.4×0.3	0.7×0.7	0.5×0.6	0.8×0.8	0.3×0.3	0.3×0.3	0.4×0.4	0.6×0.6	—	—
2 (對)	345	♂	”	—	—	0.2×0.2	—	0.2×0.3	—	0.2×0.2	—	—	
4 (對)	360	♂	”	—	—	—	—	—	—	—	0.3×0.3	—	
						0.2×0.2				0.3×0.3	0.3×0.3	—	

及第 8 表参照)。

依之觀之、水酸化「アルミニウム」法一ヨリ吸著精製セラル、「ツベルクリン」中ノ一有效成分ハ、蛋白様性質ヲ有スルモノナルヲ知ルト共ニ、抽出ニ際シテノ至適水素「イオン」濃度ハ 8.5 ナル事ヲモ闡明シ得タリト信ズル。

2. 結核海猴ニ對スル皮内反應(第 9 表参照)

A「フラクチオン」、B₁「フラクチオン」(箭頭氏法ニヨリ抽出シタルモノ) B₂「フラクチオン」(pH 8.5 ニテ抽出シタルモノ)及 10×舊「ツベルクリン」ヲ以テ夫々皮内反應ヲ比較シテ見タルニ次ノ如キ結果ヲ得タ。

10×舊「ツベルクリン」、A「フラクチオン」及 B₂「フラクチオン」ノ 3 者ハ發赤、浸潤ノ程度ニ於テ大イナル差異ハ認メナイガ、B₁「フラクチオン」ハ前記 3 者ヨリ幾分劣ルガ如ク感ゼラレル。即チ 10×舊「ツベルクリン」ト比較スレバ A「フラクチオン」、B₂「フラクチオン」ガ皮内反應ノ效力ノ點ニ於テハ、B₁「フラクチオン」ヨリ優ルモノト信ゼラレル。

第四項 「ツベルクリン」劃分法ニ對スル

Al₂(OH)₆ 吸著法ノ適否ニ就テ

箭頭氏ノ稱ヘタル無蛋白反應性「ツベルクリン」

ハ、以上ノ實驗ニヨリ、結局蛋白反應性ニアラザルカトノ結論ニ達シタノデアアル。勿論コノ場合、「ツベルクリン」中ノ夾雜物ハ除外サレテ居ルデアラウカラ、精製「ツベルクリン」ニハ違ヒナイ。然シ次ノ理由ニヨリ、本法ガ「ツベルクリン」劃分法トシテハ不適當デハナイカトノ考ヘテ抱クニ至ツタノデアアル。

Eluation ニ際シ pH 8.5 ニスルニハ相當多量ノ第二磷酸曹達ヲ必要トシタ。此ノ多量ノ磷酸曹達ハ結局 B₂「フラクチオン」中ニ含マレルワケデアアル。而シテ是ヲ除カントスルナレバ鹽析ニ附スルヨリ他ハナイ。余ハ實驗ニヨリ B₂「フラクチオン」ヲ 4 日間鹽析ニ附スルト、蛋白呈色反應ハ陰性トナリ、且又皮内反應ヲ惹起スル能力モ低下スル事ヲ知ツタ。由來、第二磷酸曹達ヲ鹽析ニヨリ除カントスルナレバ、相當時日ヲ要スルト云フ事ハ、化學ニ於ケル常識デアアル。余ハ B₂「フラクチオン」ヲ粉末トシテ得ント欲シタノデアツタガ、鹽析シナケレバ蒸發乾固セシムル事ハ出來ナイシ又、Aceton ヲ用ヒテ沈澱セシメントスレバ、磷酸鹽ノ結晶ヲ生ズルト云フ状態デアリ、又、溶液ノ儘貯藏セントスレバ、氷室内ニ於テ、磷酸鹽ノ結晶ヲ見ル有様

デアツタ。

Eluation ニ際シ、第二磷酸曹達ヲ用フル事ハ、種々ナ點ニ於テ、不適當デアルトハ Maschmann モ其ノ著「Reinigung des Tuberkulin」ニ

於テ述ベテ居ルノデアアルガ、余モ亦同様ナ意見ニ達シタノデ引續キ Kaolin ニヨル吸著法ヲ試ミルニ至ツタノデアアル。

第二節 「カオリン」ヲ以テスル劃分法

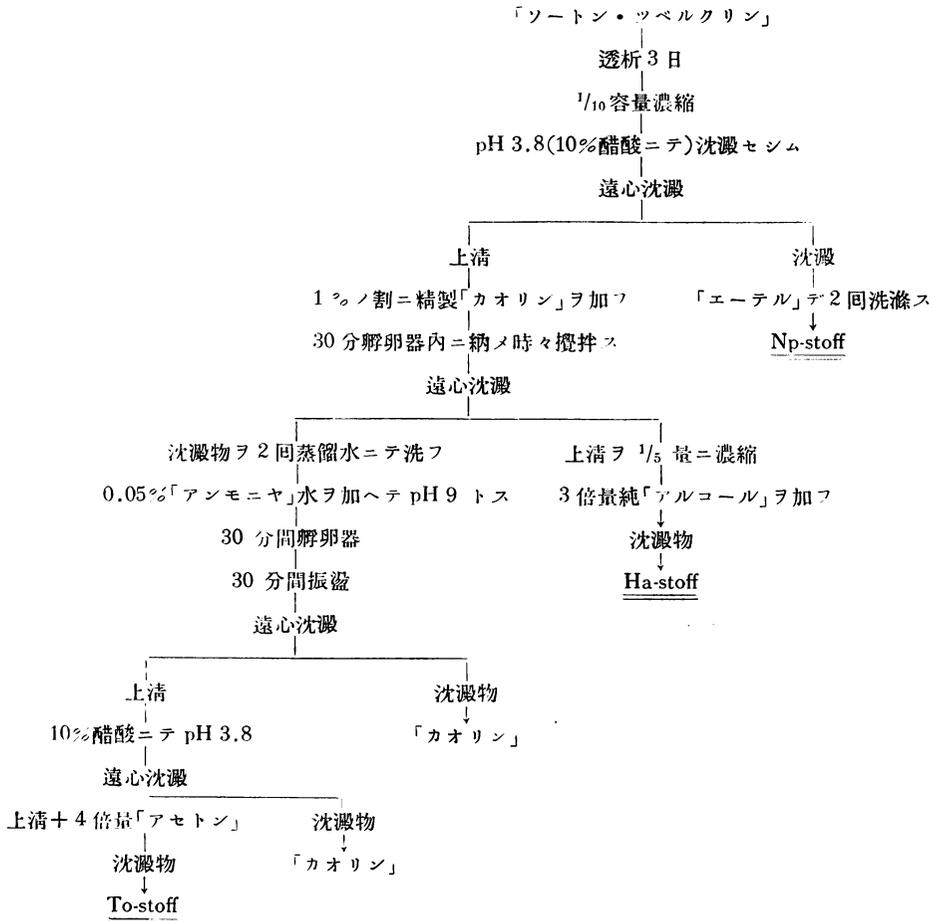
Küster 及 Maschmann ハ本法ヲ以テ「ツベルクリン」中ヨリ、結核海狸ニ對シ致死作用ヲ惹起セシムル物質ヲ得タリト云ヒ、之ヲ Todstoff ト名付ケタ。糟谷ハ α 及 β ナルモノヲ分離シテ、ソノ生物學的性狀ヲ報告シテ居ル。「ツベルクリン」以外一ハ、矢追⁽⁸⁰⁾氏ハ痘病毒ノ

精製ニ、鈴木⁽⁵¹⁾ハ「バクテリオフェージ」ノ精製ニ、何レモ「カオリン」ヲ用ヒ、良結果ヲ得テ居ル。

第一項 「カオリン」ノ精製法

本精製法ハ、高須⁽⁸²⁾ノ方法ニ從ツタ。市販「メルク」製「カオリン」ヲ蒸發皿ニ採リ、4

第 10 表



倍稀釋化學用鹽酸 (38%) に浸シ、猶剩ル程に鹽酸ヲ加へヨク混和シ、半日間沸騰セザル程度に加熱シ、一夜室温に放置ス。翌日上清ヲ捨テ、新ニ又過剩ノ 4 倍稀釋鹽酸ヲ注加シテ、攪拌シツ、加熱スル事半日、一夜室温放置後上清ヲ捨テ、蒸餾水ニテ沈渣ノ「カオリン」ヲ 2% 硝酸銀液ニテ Chlor ノ反應ヲ見ザルニ至ル迄 10 數回洗滌シ、後、之ヲ加熱乾燥後乳鉢ニテ細挫シ、局方篩第 5 號ヲ通シタルモノヲ Exicator 内ニ貯藏シ、用ニ臨ミ使用ニ供ス。

第二項 劃分法 (第 10 表參照)

一定量ノ「ソートン・ツベルクリン」ヲ採リ「コロヂオン」膜囊ヲ以テ、流水中ニ透析スル事 3 日、後之ヲ原量ノ $\frac{1}{10}$ 量迄水浴上ニテ電機扇ヲ以テ送風シツ、濃縮スル。次デ 10% 醋酸ヲ以テ pH 3.8 に達セシメルト沈澱ヲ生ズル。遠心沈澱シテ、沈澱物ハ減壓乾燥セシメ、「エーテル」ヲ以テ 2 回洗滌後再ビ乾燥セシム。之ヲ Np-stoff トス。

上清ハ、之ニ精製「カオリン」ヲ 1% ノ割ニ加へ、30 分間解卵器中ニ置キ、10 分毎ニヨク攪拌シ、

第三節 本章小括

本章ニ於テハ、水酸化「アルミニウム」及ビ「カオリン」ニヨル「ツベルクリン」劃分法ニ就キ記述シタ。而シテ Al(OH)₃ ヲ用フル場合、Eluat ヲ完全ニ誘出セントセバ第二磷酸曹達ヲ以テ pH 8.5 に迄ナス必要ガアリ、而シテ漸ク得タル Eluat ハ其後ノ操作ニ必ズシモ適當ナラザルヲ

遠心沈澱後上清ハ $\frac{1}{10}$ 量迄濃縮シ、3 倍量ノ「アルコール」ニヨリ沈澱セシメ、遠心沈澱物ヲ減壓乾燥セシメタルモノヲ Ha-stoff トスル。沈渣「カオリン」-Adsorbat ハ 2 回蒸餾水ニテ洗滌シ、0.05% 「アンモニア」水ヲ略々原液ト同量 (pH 9.0) 加へ、ヨク攪拌シテ 30 分間解卵器中ニ置ク、後之ヲ振盪器ニテ振盪スル事 30 分後、遠心分離シ上清ニ微量ノ 10% 醋酸ヲ加フレバ剩餘ノ「カオリン」ハ沈澱ス。之ヲ再度遠心分離シ、上清ヲ $\frac{1}{10}$ 量迄濃縮シテ 4 倍量ノ「アセトン」ヲ加フレバ白濁ス。遠心沈澱物ヲ乾燥セシモノヲ To-stoff トスル。

以上ノ方法ニヨル、「ソートン・ツベルクリン」1 立ヨリノ收得量ハ、Np-stoff 約 0.3 gr Ha-stoff 約 0.23 gr To-stoff 約 13 mg デアル。斯クテ余ハ、精製「カオリン」ヲ用ヒ、「ソートン・ツベルクリン」中ヨリ 3 種ノ物質即チ、Np-stoff, Ha-stoff, To-stoff ヲ得、而モ猶コレラノ個々ニ就キ興味アル知見ヲ得ル事ガ出來タ。以下章ヲ更メテ詳述スルデアラウ。

知ルニ至ツタ。於茲、「カオリン」ヲ使用シ、「アンモニア」水ニヨル誘出ヲ試ミタルニ、3 種ノ物質ヲ粉末狀ニ得ル事ガ出來、猶ソレラノ個々ニ就キ後章ニ述ブルガ如キ興味アル性狀ヲ知ルニ至ツタ。

第四章 Np-, To-, Ha-物質ノ化學的性狀ニ就テ

第一節 Np-, To-, Ha-物質ノ呈色反應 (第 11 表參照)

各劃分ノ 0.1% 水溶液ヲ以テ 蛋白呈色反應ヲ見タルニ第 11 表ニ示スガ如キ成績ヲ得タ。

Np-物質ハ硫化鉛反應ノミ陰性ヲ示シ、他ハ何レモ陽性デアル。

To-物質ハ Molisch 反應陰性デアリ、ベネヂクト氏液ヲ還元シナイ。而シテ他ノ蛋白反應ハ陽

性成績ヲ示ス。

Ha-物質ハ Molisch 反應及 Benedict 試驗何レモ陽性ニ現レタガ、他ノ諸反應ハ陰性ヲ示シタ。即チ、Ha-物質ハ含水炭素成分、To-物質ハ「ポリペプチド」性成分、Na-物質ハ所謂「ヌクレオプロテイド」成分ト考ヘラレル。即チ、本物

第 11 表

反 應 割 分	ニ ン 反 應	ビ ト 反 應	ミ ロ ン 氏 反	キ サ ン ト 反 應	ホ レ キ ン 反 應	硫 化 鉛 反 應	モ ー リ ン 反 應	ユ 氏 反 應	ベ ネ ヂ ク ト	反 應 割 分	ニ ン 反 應	ビ ト 反 應	ミ ロ ン 氏 反	キ サ ン ト 反 應	ホ レ キ ン 反 應	硫 化 鉛 反 應	モ ー リ ン 反 應	ユ 氏 反 應	ベ ネ ヂ ク ト
	ヒ ド リ	ウ レ ッ	氏 反	ト 反 應	氏 反 應	反 應	シ	ク ト	ト 反 應		ヒ ド リ	ウ レ ッ	氏 反	ト 反 應	氏 反 應	反 應	シ	ク ト	ク ト
S. T.	++	++	++	++	++	±	++	±	±	To-stoff	++	++	+	+	±	-	-	-	-
Np-stoff	++	++	+	+	+	-	++	±	±	Ha-stoff	-	-	-	-	-	-	++	++	++

質ニ就テ、KNO₃、Na₂CO₃、ト共ニ熔融シ、Ammonium molybdate ヲ以テ燐ノ檢出ヲ行ヘルニ、

著明ノ燐ヲ證スル事ガ出來タ。

第二節 Eluat ノ呈色反應ト「カオリン」吸著ノ際ニ於ケル洗滌回数トノ關係

「カオリン」吸著時ニ、吸著ニ非ズシテ附著シタルモノヲ除ク爲ニハ、適當回数ノ洗滌ヲ必要トスル。幾回洗滌ヲ以テ適當ナリヤヲ知ラントシテ、洗滌回数ニヨル洗液ノ呈色反應及 Eluat 呈色反應ノ推移ヲ究明シタ。

第一項 洗滌液ノ呈色反應(第 12 表参照)

5 回ニ互リ洗滌ヲ行ヒ、其各々ニ就テ呈色反應ヲ見ルニ第 1 回洗滌液ニ於テノミ、Millon 及 Molisch 反應(±)ナルヲ證シタ。而シテ 2 回以後ノ洗滌液ニ於テハ何レモ陰性ナルヲ認メタ。

第二項 洗滌回数ト Eluat ノ呈色反應

(第 13 表参照)

7 回ニ互リ洗滌ヲ行ヒ、各回ノ Eluat ニ就キ呈色反應ヲ見ルニ、Eluat ハ洗滌回数ニヨリ影響ヲ蒙ラザルガ如クデアル。

即チ、之ニ依リテ「カオリン」吸著ニ際シテ Adsorbat ノ洗滌ハ 2 回ニテ充分ナリト云フ事ガ出來ヤウ。

第 12 表

反 應 割 分	ニ ン 反 應	ビ ト 反 應	ミ ロ ン 氏 反	キ サ ン ト 反 應	ホ レ キ ン 反 應	硫 化 鉛 反 應	モ ー リ ン 反 應	ユ 氏 反 應
	ヒ ド リ	ウ レ ッ	氏 反	ト 反 應	氏 反 應	反 應	シ	ク ト
1 回	-	-	±	-	-	-	±	-
2 ..	-	-	-	-	-	-	-	-
3 ..	-	-	-	-	-	-	-	-
4 ..	-	-	-	-	-	-	-	-
5 ..	-	-	-	-	-	-	-	-

第 13 表

反 應 割 分	ニ ン 反 應	ビ ト 反 應	ミ ロ ン 氏 反	キ サ ン ト 反 應	ホ レ キ ン 反 應	硫 化 鉛 反 應	モ ー リ ン 反 應	ユ 氏 反 應
	ヒ ド リ	ウ レ ッ	氏 反	ト 反 應	氏 反 應	反 應	シ	ク ト
1 回	++	++	++	+	+	-	±	-
2 ..	++	++	+	±	±	-	±	±
3 ..	++	++	+	±	±	-	±	±
4 ..	++	++	+	±	±	-	±	±
5 ..	++	++	+	±	±	-	±	±
6 ..	++	++	+	±	±	-	±	±
7 ..	++	++	+	±	±	-	±	±

第三節 Eluation 時ニ於ケル水素「イオン」濃度ニ就テ(第 14 表参照)

Al₂(OH)₆ ニヨル吸著法ノ場合ニモ Eluat 誘出時ノ pH ハ問題トナツタ。然シ Al₂(OH)₆ 法ニ於テ第二磷酸曹達ヲ用ヒ pH 8.5 ヲ必要トスルモノナルハ既ニ第三章、第一節、第三項ニ於テ述べタル處デアル。然ラバ「カオリン」法ニヨル場合、「アンモニヤ」水ヲ用ヒ optimum pH ハ幾何ナリヤヲ Eluat ノ蛋白反應ニヨリ實驗ヲ行ヒ次ノ如キ結果ヲ得タ。p H7.5、8.0

第 14 表

反 應 割 分	ニ ン 反 應	ビ ト 反 應	ミ ロ ン 氏 反	キ サ ン ト 反 應	ホ レ キ ン 反 應	硫 化 鉛 反 應	モ ー リ ン 反 應	ユ 氏 反 應
	ヒ ド リ	ウ レ ッ	氏 反	ト 反 應	氏 反 應	反 應	シ	ク ト
pH 7.5	-	±	-	-	-	-	-	-
8.0	±	±	-	-	-	-	-	-
8.5	+	+	+	±	-	-	-	±
9.0	++	++	+	±	±	-	-	±
9.5	++	+	+	±	±	-	-	±

ニ於テハ蛋白反應性物質ハ殆ンド誘出セラレナイガ 8.5 乃至 9.5 ノ間ニ於テハ良結果ヲ得、而モ pH 9.0 ニ於テ殊ニ著明ナル蛋白反應ヲ呈ス

ル物質ノ誘出ヲ見タ。即チ Eluation 時ノ至適水素「イオン」濃度ハ 9.0 ナリト云フ事が出来ヤウ。

第四節 各劃分ノ N-gehalt ニ就テ

各劃分ノ窒素含有量ヲ檢索シタ。之ハ劃分ノ抗原性或ハ過敏元性ニ就テ實驗ヲ行ヒ、而モソコニ、夫々各劃分ニ特異的ナ性狀ガ現レタ場合、必然的ニ含窒素量ハ問題トナルカラデア。窒素測定ハ I. K. Parnas u. R. Wagner^{(83), (84), (85)}

ノ「マイクロ・キールダール」裝置ヲ使用シタ。而シテ各劃分ノ N-gehalt ハ下記ノ如クデア。ル。

Np-stoff 11.3%

To-stoff 8.3%

Ha-stoff 0.45%

第五節 本章ノ小括

本章ニ於テ、Np-stoff ハ Nukleoproteid, To-stoff ハ Polypeptid Ha-stoff ハ Polysaccharid ニ屬スルモノナルヲ明カニスルト共ニ、To-stoff ヲ「カオリン」吸著法ニヨリ得ントスルナレバ、Eluation 一際シ pH 8.5 乃至 9.0 ニスルガ最モ適當ナルヲ闡明ニシタ。而シテ各劃分ノ含窒素量ヲ測定スルニ及ンデハ、Ha-stoff ガ

含水炭素成分トシテハ可成純粹ニ近キ事ヲ知ツタノデア。ル。E. Remy ハ市販ノ Stickstofffrei ト稱スル「グリコーゲン」ニ於テモ猶、0.1% 前後ノ N-stoff ヲ含ムト云ツテ居ル。是ヨリ觀ズレバ、余ノ Ha-stoff ノ 0.45% ナル含窒素量ハ可成純化サレタモノト云ヘヤウ。

第五章 結核海狸ニ於ケル各劃分ニヨル皮内反應及ヒ致死反應

供試獸ハ 350 g 内外ノ健康海狸ニ、Petragrani 氏培地培養ノ人型結核菌「フランクフルト」株ヲ各々 0.3 mg 宛皮下接種シ、約 3 週ヲ經タル

モノニシテ、而モ 10×舊「ツベルクリン」ニテ強キ皮内反應ヲ呈スルモノヲ使用シタ。

第一節 皮内反應(第 15 表參照)

各劃分ノ、皮内反應所要量ハ經驗的ニ次ノ如ク決定シタ。即チ Np-stoff ハ 2 mg, To-stoff ハ 1 mg, Ha-stoff ハ 5 mg, ヲ夫々生理的食鹽水ノ 1 ccm ニ溶解シ、其 0.1 ccm ヲ結核海狸ノ側腹部皮内ニ注射シ、反應ヲ檢シタ。但 Np-stoff 及 To-stoff ハ生理的食鹽水ニ溶解スル場合、10% 炭酸「ソーダ」液ノ 1 滴ヲ加ヘ「アルカリ」性ニスレバ容易ニ溶解スル。皮内反應ノ成績ハ第 15 表ニ示ス如クデア。ル。

即チ何レモ皮内反應陽性ニ出現スルノデア。ルガ、Np-stoff ニ於テハ、發赤、浸潤略々同度カ或ハ後者ガ小サイ。To-stoff ニ於テハ、一般ニ發赤ノ程度ガ強ク、浸潤ヨリ大キイ。Ha-stoff ニ於テハ逆ニ、浸潤ノ程度ガ發赤ニ比シテ大ナルモノ、如クデア。ル。言ヲ換ユレバ、各劃分共「アレルギー」的性質ハ具備スルモ、其反應狀態ニ於テ相異ヲ示ス事ヲ知ツタノデア。ル。

第 15 表

海 體 性 獺 重 番 號	割分 時間 摘要	10×「ツ」		Np-stoff		To-stoff		Ha-stoff		0.5%「カルボール」加生理的食鹽水	
		24	48	24	48	24	48	24	48	24	48
71 (440) ↑	發赤 浸潤	0.6×0.7 1.0×1.0	0.4×0.5 0.7×0.7	0.4×0.5 0.6×0.6	0.6×0.6 0.8×0.8	0.6×0.6 0.8×0.8	0.7×0.7 0.7×0.7	0.7×0.7 0.7×0.7	0.7×0.7 0.7×0.7	—	—
67 (400) ↑	”	0.7×0.7 1.2×1.1	0.5×0.5 0.8×0.8	0.4×0.4 0.6×0.6	0.4×0.4 0.6×0.6	0.4×0.4 0.5×0.5	0.5×0.5 0.8×0.8	0.3×0.3 0.3×0.3	0.3×0.3 0.3×0.3	0.3×0.2	—
57 (365) ↑	”	0.5×0.5 0.7×0.7	0.6×0.6 0.8×0.8	0.5×0.5 0.5×0.5	—	—	0.3×0.3 0.6×0.6	0.4×0.4 0.4×0.4	0.4×0.4 0.4×0.4	—	—
42 (410) ↑	”	1.0×1.0 1.5×1.5	0.9×0.9 1.2×1.2	0.7×0.7 1.0×1.0	0.7×0.7 1.0×1.0	0.7×0.7 1.0×1.0	1.1×1.1 1.0×1.0	1.0×1.0 0.5×0.5	0.5×0.5 0.7×0.7	—	—
58 (330) ↑	”	0.9×0.8 1.3×1.3	0.7×0.7 0.9×0.9	0.6×0.6 0.9×0.9	0.6×0.6 0.9×0.9	0.6×0.6 0.9×0.9	1.0×1.0	—	0.5×0.5	0.4×0.4	0.3×0.3
32 (對) ↑	”	—	—	0.3×0.3	—	—	—	—	—	—	—
33 (對) ↑	”	0.2×0.2 0.3×0.3	—	—	—	0.3×0.3	0.2×0.2	0.3×0.3	0.3×0.3	—	—

第二節 致死反應及致死量(第 16 表參照)

由來「ツベルクリン」ハ、既ニ R. Koch ガ述ベタルガ如ク、ソノ 0.5cc 内外ヲ 結核海獺ノ皮下ニ注入スレバ 24 時間内ニ過敏死ニ陥ルモノデアリ、是ヲ以テ「ツベルクリン」ノ效力ノ評價法トスル事モ出來ルノデアルガ、余ノ各割分ニ於テ過敏死ヲ來ス量ニ差異ナキヤヲ檢索シタ。

供試獸ハ前節同様ナ條件ノ海獺ヲ使用シ、其成績ハ(第 16 表)ニ示シタ。各割分ハ生理的食鹽水ニ適量ヲ溶解シタルモノヲ、海獺ノ前膊靜脈内ニ注射シタルモノデアル。

第 16 表

Np-stoff				
注射量	番 號	體 重	性	轉 歸
8 mg	43	310(320)	♂	1 時間後死
	45	315(320)	♂	生
	46	310(330)	♂	2 時間後死
	150(對)	330	♂	生
10mg	17	320(325)	♂	50 分 後死
	48	320(310)	♂	40 分 後死
	49	310(320)	♂	20 分 後死
149(對)	340	♂	生	

To-stoff				
注射量	番 號	體 重	性	轉 歸
0.2 mg	82	310(330)	♂	2 時間後死
	83	315(310)	♂	生
	84	310(325)	♂	1 時間後死
	23(對)	330	♂	生
0.25mg	86	300(315)	♂	30 分 後死
	87	310(320)	♂	40 分 後死
	88	330(350)	♂	1 時間後死
	24(對)	335	♂	生

Ha-stoff				
注射量	番 號	體 重	性	轉 歸
10mg	95	320 330	♂	生
	96	305 325	♂	生
	98	330 330	♂	3 時間後死
	26 對)	340	♂	生
15mg	94	315 330	♂	1 時間後死
	93	300 310	♂	1 時間後死
	90	310(300)	♂	50 分 後死
27(對)	330	♂	生	

Np-stoff ハ 8 mg ナ以テ 3 頭中 2 頭、10 mg ナ以テ 3 頭共全部ヲ約 1 時間以内ニ過敏死ニ陥ラ

シメル事が出來ル。

To-stoff ハ 0.2 mg ヲ以テ 3 頭中 2 頭、0.25 mg ヲ以テ 3 頭共 30 分乃至 1 時間後ニ、呼吸促迫、痙攣ヲ來シテ斃死シタ。

Ha-stoff ノ注射ニヨツテハ、10 mg 注射ニヨリ 3 頭中 1 頭、15 mg ヲ以テ 3 頭全部ガ定型的

「アナフ、ラキシ」症狀ノ下ニ斃死シタ。

以上ノ實驗ニヨリ各割分ノ、結核海狸ニ對スル致死量ハ大體次ノ如クデアラウ。

Np-stoff	pro kilo	30 mg
To-stoff	..	0.75 mg
Ha-stoff	..	45 mg

第三節 本章ノ小括

結核海狸ニ對スル各割分ノ作用ヲ見ルニ、皮内反應ニ於テモ、夫々相異ナルモノアルヲ知ツタ。皮内反應ニ於テ To-stoff ハ發赤ヲ主トシ、Ha-stoff ハ浸潤ヲ主トスルノデアアルガ、何レモ「ア

レルゲン」タルニハ相異ナイ。然シ致死反應ニ於テ Ha-stoff ハ To-stoff 一比シ安全性ノ大ナルヲ了解シ得タリト信ズル。

第六章 「フォルマリン」及「トリプシン」ノ各割分ニ及ボス影響ニ就テ

1928 年 S. Fichera⁽⁹⁶⁾ ハ次ノ如キ事實ヲ經驗シタ。舊「ツベルクリン」ニ「ペプシン」、「トリプシン」ノ如キ酵素ヲ作用セシムル時、「ツベルクリン」ノ皮内反應能力ハ減弱スルヲ見ルニ拘ラズ、沈降元トシテノ能力ハ何等影響ヲ受ケナイト云フノデアアル。コノ事實ハ「ツベルクリン」中ニ消化酵素ノ作用ヲ受ケルモノト、受ケナイモノトノ、二ツノ要素ガアルニ非ズヤト想像セシムルト共ニ「ツベルクリン」ノ多元性ヲ示スベキ、有力ナル證左デモアラウ。而モ猶、箭頭或ハ加藤

ハ、各々得タル「ツベルクリン」ニ於テ、「フォルマリン」ヲ用ヒ、皮内反應能力ヲ失ヒタル、或ハ、滅毒サレタル「ツベルクリン」ヲ獲ルヲ得、更ニ又は等ニ抗元性ノ猶存スルヲ示シテ居ルノデアアル。以上ノ如キ事實アリトスルナレバ、「フォルマリン」、或ハ消化酵素ノ作用スル「ツベルクリン」要素ハ如何ナル化學的性狀ヲ有スル割分ナリヤ。余ハ余ノ得タル、3 割分ニ就キ、之ヲ闡明セントシタ。

第一節 「フォルマリン」ノ舊「ツベルクリン」及 3 割分ニ及ボス影響

第一項 皮内反應ニ及ボス影響

實驗方法

直徑約 1 cm、長サ 13 cm ノ試験管一、舊「ツベルクリン」10 倍稀釋液 4 ccm、Np-stoff 8 mg、To-stoff 4 mg、Ha-stoff 20 mg ヲ夫々 4 ccm ノ生理的食鹽水ニ溶解シタルモノヲ入レ、之ニ「フォルマリン」ヲ各試験管共 0.5% ノ割ニ加フ。又別ニ「フォルマリン」ヲ加ヘザル、上記同様ノモノヲ 1 組作り、共ニ 60 日間孵卵器中ニ置キ之ヲ以テ結核海狸ニ就キ皮内反應ヲ檢シタ。「フォルマリン」ヲ加ヘザリシモノハ對照トシテ使用スルモノデアツテ、此他ニ 10 倍舊「ツベルクリ

ン」及 0.5% ノ割ニ「カルボール」ヲ加ヘタル生理的食鹽水ヲモ對照トシテ用ヒタ。

結核海狸ハ、人型結核菌(F)ヲ $1/10$ mg 皮下接種後約 3 週ニシテ、「ツベルクリン」皮内反應陽性ナルモノデアツテ、體重ハ約 350 gr 前後ノモノヲ使用シ、皮内反應ハ側腹部ヲ剪毛シ、上記各試験管液 0.1 ccm ヲ皮内ニ注射シ、24 時間及 48 時間ニ發赤及浸潤ノ大サヲ測定シタ。

實驗成績

舊「ツベルクリン」ハ「フォルマリン」ノ影響ヲ受ケズ。對照ニ比シ、略々同程度ノ皮内反應ヲ呈ス(第 17 表參照)。

第 17 表

海 猴 番 號	體 重	性 別	A. T.				對 照			
			0.5% F 加 A. T.		10×A. T.		10×A. T.		生理的食鹽水	
			24 (cm)	48	24	48	24	48	24	48
60	330	♂	1.2×1.2	1.5×1.5	1.0×1.0	1.5×1.5	0.9×0.9	1.3×1.3	—	—
59	340	♂	0.8×0.8	1.2×1.2	1.0×1.0	1.2×1.2	1.0×0.8	1.2×1.2	—	—
61	360	♂	1.0×1.0	1.2×1.2	1.0×1.1	1.2×1.2	1.0×1.0	1.3×1.3	—	—

第 18 表

海 猴 番 號	體 重	性 別	Np-stoff				對 照			
			0.5% F 加 Np-stoff		Np-stoff		10×A. T.		生理的食鹽水	
			24	48	24	48	24	48	24	48
62	340	♂	0.8×0.8	0.9×0.9	1.0×1.0	1.2×1.2	1.0×1.0	1.5×1.5	—	—
63	350	♂	0.7×0.7	0.9×0.9	1.2×1.2	1.3×1.4	1.0×1.0	1.4×1.4	—	—
64	350	♂	0.5×0.5	0.8×0.8	0.8×0.8	1.0×1.0	0.7×0.7	1.0×1.0	—	—

第 19 表

海 猴 番 號	體 重	性 別	To-stoff				對 照			
			F 加 To-stoff		To-stoff		10×A. T.		生理的食鹽水	
			24	48	24	48	24	48	24	48
65	360	♂	0.3×0.3	—	0.7×0.7	1.0×1.0	1.0×1.0	1.2×1.2	—	—
66	350	♂	0.5×0.5	0.3×0.3	0.6×0.6	1.0×1.0	0.7×0.8	1.0×1.0	—	—
67	350	♂	0.4×0.4	0.3×0.3	1.0×1.0	1.3×1.3	1.2×1.2	1.5×1.5	—	—

第 20 表

海 猴 番 號	體 重	性 別	Ha-stoff				對 照			
			0.5% F 加 Ha-stoff		Ha-stoff		10×A. T.		生理的食鹽水	
			24 (cm)	48	24	48	24	48	24	48
68	330	♂	0.8×0.8	0.8×0.8	0.9×0.9	1.0×1.0	1.0×1.0	1.2×1.2	—	—
69	350	♂	0.9×0.9	1.2×1.2	0.8×0.8	1.2×1.2	0.7×0.7	1.0×1.0	—	—
70	340	♂	0.9×0.9	1.3×1.3	1.0×1.0	1.3×1.3	1.0×1.0	1.5×1.5	—	—

Np-stoff ハ極輕度ノ影響ヲ受クルモノ、如ク、第 62 號、第 63 號海猴ニ於テハ、皮内反應少シク減弱シアルヲ見ル(第 18 表參照)。

To-stoff ハ著明ナル影響ヲ受ケ、各例共「フォルマリン」ノ作用ヲ受ケタル To-stoff ハ、對照ニ比シ、皮内反應微弱ニシテ、陽性ニ現レタルモノナシ(第 19 表參照)。

Ha-stoff ハ「フォルマリン」ニヨリ 毫モ作用サレズ、對照ト共ニ同程度ノ皮内反應ヲ惹起ス。

(第 20 表參照)。

第二項 致死反應ニ及ボス影響

實驗方法

舊「ツベルクリン」原液 4 ccm, Np-stoff ハ 40 mg, To-stoff ハ 4 mg, Ha-stoff ハ 60 mg ヲ各 4 ccm ノ生理的食鹽水ニ溶解シ、第一項同様ニ處置ス。之ヲ結核海核ノ腹腔内ニ注入シ、生死ノ狀態ヲ觀察シタ。供試獸ハ、第一項ノモノヲ使用シタリ。

第 21 表

劃分	舊「ツベルクリン」								「フォルマリン」加舊「ツベルクリン」							
	0.2cc				0.5cc				0.2cc				0.5cc			
番 號	59	60	61	12	62	63	64	13	65	66	67	14	68	69	70	11
體 重	330	330	350	340	320	340	335	350	340	320	330	330	360	340	345	350
性	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂
轉 歸	死	死	死	生 (對照)	死	死	死	生 (對照)	死	死	死	生 (對照)	死	死	死	生 (對照)

劃分	Np-stoff								F 加 Np-stoff							
	8mg				12mg				8mg				12mg			
番 號	29	30	31	67	32	33	34	18	35	36	37	19	38	39	40	20
體 重	345	330	330	400	330	325	330	350	340	360	340	350	340	330	345	360
性	♂	♀	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♀
轉 歸	死	死	死	生 (對照)	死	死	死	生 (對照)	死	生	生	生 (對照)	死	生	生	生 (對照)

第 22 表

劃分	To-stoff								F 加 To-stoff							
	0.3mg				0.5mg				0.3mg				0.5mg			
番 號	53	54	55	9	56	57	58	10	23	24	25	15	26	27	28	16
體 重	330	335	340	330	340	400	330	360	335	340	340	360	340	330	330	350
性	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♀	♂	♂	♂	♂
轉 歸	死	死	死	生 (對照)	死	死	死	生 (對照)	生	生	生	生 (對照)	生	生	生	生 (對照)

劃分	Ha-stoff								F 加 Ha-stoff							
	15mg				20mg				15mg				20mg			
番 號	41	42	43	5	44	45	46	6	47	48	49	7	50	51	52	8
體 重	340	345	360	360	330	350	350	340	345	340	340	350	330	320	325	350
性	♂	♂	♂	♀	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♂	♀	♂	♂	♂
轉 歸	生	死	死	生 (對照)	死	死	死	生 (對照)	生	生	死	生 (對照)	死	死	死	生 (對照)

實驗成績

舊「ツベルクリン」ハ大ナル影響ヲ受ケズ。

Ha-stoff モ「フォルマリン」ニヨリテハ著シキ作

用ヲ受ケザルモノノ様テアルガ、To-stoff 及

Np-stoff ニハ或程度ノ減毒ヲ證スル事ガ出來

タ。

第二節 「トリプシン」ノ舊「ツベルクリン」及 3 劃分ニ及ボス影響

第一項 實驗方法

「トリプシン」液ノ製法

「カールバウム」製「トリプシン」ノ 1%液 10ccニ 10% Na₂CO₃ 液 1 cc 及ビ蒸餾水 9 ccヲ加ヘテ混和シ、之ヲ「トリプシン」液トシテ用フ。舊

「ツベルクリン」ハ、上記「トリプシン」液ヲ以テ 10 倍ニ稀釋シタルモノ 4 cc、Np-stoff ハ 8 mg、To-stoff ハ 4 mg、Ha-stoff ハ 20 mgヲ夫々 4 cc ノ「トリプシン」溶液ニ溶解シ、之ヲ徑 1 cm、長サ 13 cm ノ試験管ニ入レテ、37°C

ノ孵卵器中ニ、8 時間オサム。猶時々ヨク振盪スル。8 時間後、之ヲ取り出シ、各液ノ 0.1ccm ヲ以テ、結核海猿ニ就キ皮内反應ヲ檢ス。結核海猿ハ、體重 350 gr 前後ノモノニテ、人型結核菌(F)ヲ $1/10$ mg 皮下接種後 3 週ヲ經タルモノニテ、「ツベルクリン」皮内反應陽性ヲ示スモノヲ使用シタ。猶對照トシテ、10 倍舊「ツベルクリン」液及「トリブシン」液ヲ使用シタ。

第二項 實驗成績

舊「ツベルクリン」ハ、皮内反應ニ關シテ、「トリブシン」ニヨリ、大ナル影響ヲ受ケナイ。Np-stoff 及ビ Ha-stoff モ「トリブシン」ニヨリテハ、皮内反應ノ減弱ヲ來サナイ様デアル。然ルニ、To-stoff ハ「トリブシン」消化 8 時間ニシテ、著明ナル皮内反應ノ減弱ヲ來シタ。對照ハ全然陰性成績ヲ示シタ。

第 23 表

海猿番號	體 重	性 別	A. T.				對 照	
			Tryp 加 A. T.		10×A. T.		生理的食鹽水	
			24	48	24	48	24	48
87	340	♂	1.0×1.0	1.2×1.2	1.0×1.0	1.3×1.2	—	—
88	330	♂	0.8×0.8	1.0×1.0	0.6×0.6	0.9×0.9	—	—
89	340	♂	0.8×0.8	1.2×1.2	0.8×0.8	1.3×1.3	—	—

第 24 表

海猿番號	體 重	性 別	Np-stoff				對 照			
			Tryp 加 Np-stoff		Np-stoff		10×A. T.		生理的食鹽水	
			24	48	24	48	24	48	24	48
90	330	♂	0.7×0.7	0.9×0.9	0.7×0.7	1.2×1.2	1.0×1.0	1.3×1.3	—	—
91	330	♂	0.9×0.9	1.2×1.2	1.0×1.0	1.5×1.5	1.0×1.0	1.2×1.2	—	—
92	340	♂	0.7×0.7	1.0×1.0	0.9×0.9	1.2×1.2	1.2×1.2	1.5×1.5	—	—

海猿番號	體 重	性 別	To-stoff				對 照			
			Tryp 加 To-stoff		To-stoff		10×A. T.		生理的食鹽水	
			24	48	24	48	24	48	24	48
96	350	♂	0.6×0.6	0.5×0.5	0.7×0.7	0.9×0.9	0.8×0.8	1.0×1.0	—	—
97	330	♂	0.3×0.3	0.3×0.3	0.5×0.5	0.6×0.6	0.6×0.6	0.9×0.9	—	—
98	330	♂	0.4×0.4	0.3×0.3	0.8×0.8	1.0×1.0	0.8×0.8	1.0×1.0	—	—

海猿番號	體 重	性 別	Ha-stoff				對 照			
			Tryp 加 Ha-stoff		Ha-stoff		10×A. T.		生理的食鹽水	
			24 (cm)	48	24	48	24	48	24	48
93	360	♂	0.7×0.7	0.8×0.8	0.6×0.6	0.8×0.8	0.7×0.7	1.0×1.0	—	—
94	330	♂	0.6×0.6	0.9×0.9	0.7×0.7	1.0×1.0	0.7×0.7	0.9×0.9	—	—
95	330	♂	0.8×0.8	0.9×0.9	0.8×0.8	0.9×0.9	1.0×1.0	1.2×1.2	—	—

第三節 本章ノ總括

舊「ツベルクリン」ハ「フルマリン」ニヨリテモ、亦「トリブシン」ニヨリテモ、皮内反應ハ影響サ

レナイシ、滅毒モサレナイ。

Np-stoff、及ビ Ha-stoff ニ關シテモ同様ナ事が云ヘル。然シ To-stoff ハ「フォルマリン」ニヨ

リテモ、「トリブシン」ニヨリテモ、皮内反應ハ減弱乃至消失シ又、致死反應ヲ起スベキ能力モ損ハレル。

第七章 總括竝ニ考按

先ヅ「ツベルクリン」ノ透析性ニ就テ述ベタ。結核海溼ニ對シ、致死作用ヲ呈スルモノハ、透析膜ヲ通過シ、致死作用ヲ惹起セズシテ、而モ皮内反應ヲ呈スル物質ハ透析セザル事ヲ、闡明シ得タト信ズル。而シテ此事實ハ、次ニ述ブル Todstoff 及 Hautstoff ナル「ツベルクリン」劃分ト、相關聯スルモノニシテ、「カオリン」處置ニヨリ得タル上記兩劃分ノ性状ヨリ見ルナレバ、透析性ヲ有スルモノハ前者デアリ、有セザルモノハ後者デアルト推斷スルニ憚ラザルモノデアル。而モ猶、別ニ得タル處ノ Np-stoff ナルモノハ、所謂 Nukleoproteid ニ相當スルモノデアル。

曾ツテ糟谷ハ、氏ノ得タル α 及 β ノ、皮内反應ヲ標準トセル限外濾過試験ニ於テ、「ポリサッカライド」性ナル α ハ、4%ノ Nitrocellose 醋酸系ノ濾過膜ニテ既ニ通過セザルニ、「ポリペプチード」性ナル β ハ、14%膜ニテ漸ク通過ヲ阻止セラルト述ベテ居ルガ、之ヨリシテモ余ノ、透析膜ヲ通ス物質ガ Todstoff デアリ、セザルモノハ Hautstoff ナリトノ見解ニ一致スルモノデアル。Küster⁽⁸⁷⁾⁽⁸⁸⁾ ハ、氏等ノ創意ニカ、ル Hauttuberkulin ヲ推賞スルニ當リ、之ガ彼ノ透析物ノ如ク、致死反應ヲ呈セザルニ、而モ猶、結核動物ニ於テモ、亦人體ニ於テモ、一定ノ皮膚反應ヲ呈スルヲ以テシタノデアルガ、余ノ得タル Hautstoff モ亦コノ見解ヨリスルナレバ、重大ナル意義ヲ有スルモノト云ヘヤウ。而シテ又、糟谷ガ α 、 β ニ關シテ述ベタルガ如ク、Todstoff 及 Hautstoff ニ於テモ、結核病期ニヨリ、其皮内反應ニ差異アリヤ否ヤニ關シテハ、今後ノ研究ニ俟ツトスルモ、若シ夫レ、斯クノ如キ事實アリトセバ、結核ノ診療上或ハ豫後判定上、注目スベキモノナラント信ズ。

余ハ3劃分ヲ得ルニ當ツテ、水酸化「アルミニウム」ヲ用フルヨリ、「カオリン」處置ニヨリヲ以テ、適當ナリトシタ。而シテ水酸化「アルミニウム」法ノ不適ナルハ、Eluation ニ際シ、第二磷酸曹達ヲ用フルニアリト思ハレタ。

斯クテ得タル「ツベルクリン」劃分ノ化學的性状ヲ見ルニ、Todstoff ハ「ポリペプチード」性、Hautstoff ハ「ポリサッカライド」性、Np-stoff ハ Nukleoproteid ナリト斷ジタノデアルガ、一方「フォルマリン」及「トリブシン」消化ノ、是等ニ及ボス影響ヨリ觀ルモ、斯ク信ジテ差支ヘアルマイ。

於茲、余ハ「ツベルクリン・アレルギー」ニ於テ、蛋白性ナラザル 1「アレルゲン」ノ存在ヲ實證シ得タノデアル。而モ此ノ「アレルゲン」ハ、皮内反應ニ於ケル、發赤或ハ浸潤ノ状態ニ、「ポリペプチード」性ナル Todstoff トハ明カナル相異ヲ示シタノデアル。

Stull、及ビ Harley⁽⁸⁹⁾ ハ「チモテー」花粉ニ於テ、Klopstock⁽⁹⁰⁾ ハ結核菌體ニ於テ、各々分離シ得タル Kohlenhydrat ニ就キ、是等ノモノハ何等生物學的ニ反應ヲ惹起スベキモノナシト斷ジ、若シ世ニ所謂コレニ相似タル含水炭素成分ニ於テ、生物學的反應能力アルモノアリトセバ、是等ニハ、該反應能力ヲ有スル「ポリペプチード」成分ノ一部ガ結合シテ居ルモノナラントシタノデアル。ガ而シ、「トリブシン」消化ヲ受ケザル、即蛋白性ナラザル Hautstoff ニ於テモ、猶斯克斷ジ得ベキヤ。「フォルマリン」或ハ「トリブシン」處置ヲ受ケシ後ニ於テモ、猶且ツ皮内反應ヲ消失セザル Hautstoff ニ於テハ、彼等ノ得タル含水炭素成分トハ、又、別個ノ組成ヲ有スルモノナラント信ズルモノデアル。況シヤ、皮内反應ニ於ケル、Todstoff トノ相異ガ認

メラレ、又含窒素量ニ於ケル Hautstoff ノ純粹度ヲ識ルニ及ンデハ、明カニ本物質ハ獨立セル、1「アレルゲン」ナリト信ズルモノデアアル。斯クテ余ハ、「ソートン・ツベルクリン」中ヨリ夫々異ナル化學的組成ヲ有スル、3種ノ劃分ヲ

得ル事ガ出來タ。而シテ是等ノ生物學的諸性狀ヲ追求スル事ニヨリ、「ツベルクリン」有效因子ノ多元性ニ關シテ、有力ナル根據ヲ與フルモノナラント信ズルモノデアアル。

第八章 結 論

以上述ベタル諸實驗ヨリシテ、次ノ如キ結論ヲ導ク事ガ出來ヤウ。

- (1)「ツベルクリン」中一ハ、透析性ヲ有スル物質ト、有セザル物質ガアル。
- (2)透析性ヲ有スル物質ハ、結核海狸ニ對シ致死作用モ有スルシ、又皮内反應ヲ呈スルガ、有セザル物質ハ皮内反應ノミヲ呈シ、致死反應ハ惹起シナイモノト思ハレル。
- (3)透析性物質ハ「ボリペプチード」性デアリ、非透析性物質ハ「ボリサッカリード」性デアアル。
- (4)「ツベルクリン」ヲ「カオリン」ニテ處置スル事ニヨリ、3種ノ「フラクチオン」ヲ得ル事ガ出來タ。
- (5)「ツベルクリン」劃分法ハ「カオリン」吸著法ニ依ルガ、 $Al_2(OH)_6$ 吸著法ニヨルヨリモ適當デアアル。之ハ、 $Al_2(OH)_6$ ヲ使用スルトキハ、Eluation ニ際シ第二磷酸曹達ヲ使用スルシ、コノ Eluat カラ Na_2HPO_4 ヲ透析ニヨリ除カントスレバ、得ラレタ「ツベルクリン」劃分ヲモ失フ悞レガアルカラデアアル。
- (6)得ラレタ3種ノ劃分ハ Np-stoff, To-stoff, Ha-stoff ト稱シタ。而シテ Np-stoff ハ Nuk-

leoproteid ニ、To-stoff ハ Polypeptid ニ、Ha-stoff ハ Polysaccharid ニ屬スルモノデアアル。

- (7)各劃分ノ含窒素量ハ、Np-stoff ハ 11.3%、To-stoff ハ 8.8%、Ha-stoff ハ 0.45%デアアル。
 - (8)3劃分共ニ、結核海狸ニ對シテハ皮内反應ヲ呈スルガ、To-stoff ハ發赤ヲ主トシ、Ha-stoff ハ浸潤ヲ主トシ、Np-stoff ハ兩者略ク同程度デアアル。
 - (9)結核海狸ニ對スル致死反應ハ To-stoff ガ最モ強ク反應スル。
 - (10)「フォルマリン」、「トリプシン」ニヨリ、To-stoff ハ最モ強ク影響ヲ受ケルガ、Ha-stoff, Np-stoff ハ殆ンド作用サレナイ。
 - (11)透析性物質ハ To-stoff, 非透析性物質ハ Ha-stoff, Np-stoff ハ菌體蛋白デアアル。
 - (12)「ツベルクリン・アレルギー」ニ於テ「アレルゲン」ノ多元性ヲ主張出來ルト思フ。
- (附記) 非常時下益々御多忙ナルニ不拘御懇篤ナル御指導御高配ヲ賜リシ恩師戸田教授竝ニ終始御鞭撻ヲ賜リタル皮膚科教室皆見教授ニ深謝スル次第デアアル。

Literatur.

1) R. Koch, Gesammelte Werke von Robert Koch, Bd. 1, S. 650, 1912. 2) R. Koch, Deutsch. med. Wschr., Nr. 46 a), S. 1029, 1890. 3) R. Koch, Deutsch. med. Wschr., Nr. 3, S. 101, 1891. 4) Goetsch, R. Koch, Deutsch. med. Wschr., Nr. 25, S. 405, 1901. 5) C. v. Pirquet, Münch. med. Wschr., S. 1014, S. 1497, 1907. 6) Mantoux, Compt. rend. Acad. d. Scien., T. 147, p. 355, 1908. 7) Escherich, Jahrb. d. Kinderheilkunde, Bd. 33, S. 367, 1892. 8)

Hamburger, Wien. kl. Wschr., Nr. 12, S. 381, Nr. 29, S. 1043, 1908. 9) Proskauer, Beck, Zschr. f. Hygien., Bd. 18, S. 128, 1884. 10) Utschinsky, Zentralbl. f. Bakter., I. Abt., Bd. 14, S. 316, 1893. 11) Fränkel, R. Kraus u. P. Uhlenhuth, Handbuch d. mikrobiol. Techn., Bd. I, S. 587. 12) G. Lockmann, Zbl. f. Bakter., Bd. 83, S. 420, 1919. 13) E. Long, Amer. Rev. Tbc., Vol. 13, p. 393, 1926. 14) Sullivan, Zbl. f. Bakter., 2. Abt., Bd. 16, S. 737, 1906. 15)

- B. Sauton, *Compt. rend. Acad. d. Scien.*, T. 155, p. 860, 1912. 16) Kirchner, *Zbl. f. Bakter.*, Bd. 124, S. 403, 1932. 17) Dorset, *J. Amer. Veter. Med. Assoc.*, Vol. 84, 1934. 18) Löwenstein, *Abderhalden's Handbuch d. biol. Arbeitsmethode*, 13. Abt., Teil 2, S. 1069, S. 1095. 19) Ramon, *Compt. rend. Soc. d. Biol.*, T. 86, p. 661, 1922. 20) Finzi, *Zbl. f. ges. Tbk-forsch.*, Bd. 41, S. 179, 1935. 21) 加藤, 結核. 9卷, 768頁, 昭和6年. 22) 箭頭, 滿醫誌 18卷, 4號, 519表, 昭和8年. 23) Avery, Heidelberg, *J. exp. Med.*, Vol. 38, p. 81, 1928. 24) Avery, Heidelberg, *J. exp. Med.*, Vol. 38, p. 73, 1928. 25) R. Koch, *Deutsch. med. Wschr.*, Nr. 43, S. 1189, 1891. 26) Zinsser, H., Mueller, J. H., *J. exp. Med.*, Vol. 41, p. 159, 1925. 27) Millis, *J. Lab. & Clin. Med.*, Vol. 8, p. 134, 1923. 28) E. Long, F. Seibert, *Amer. Rev. Tbc.*, Vol. 13, p. 399, 1926. 29) F. Seibert, *Amer. Rev. Tbc.*, Vol. 17, p. 492, 1928. 30) F. G. Hopkins & S. Pinks, *J. of Physiol.*, Vol. 25, p. 306, 1900. 31) F. Seibert, *J. biol. Chem.*, Vol. 78, p. 345, 1928. 32) F. Seibert, *Amer. Rev. Tbc.*, Vol. 30, p. 713, 1934. 33) J. Reichel, L. T. Clark, *Amer. Rev. Tbc.*, Vol. 30, p. 721, 1934. 34) J. Aronson, *Amer. Rev. Tbc.*, Vol. 30, p. 727, 1934. 35) E. Long, J. Aronson, F. Seibert, *Amer. Rev. Tbc.*, Vol. 30, p. 733, 1934. 36) 黃楊, 結核. 16卷, 5號, 711表, 昭和13年. 37) E. Maschmann, E. Küster, *Hoppe Seylers Zschr.*, 193, S. 215, 1930. 38) E. Maschmann, E. Küster, *Deutsch. med. Wschr.*, Nr. 4, S. 143, 1931. 39) Laidlaw & Dudley, *Brit. J. exp. Path.*, Vol. 6, p. 194, 1925. 40) H. Mueller, *J. exp. Med.*, Vol. 43, p. 9, 1926. 41) A. Renfrew, *J. biol. Chem.*, Vol. 89, p. 619, 1930. 42) P. Massuci, K. Mc. Alpine, J. Glenn, *Amer. Rev. Tbc.*, Vol. 24, p. 737, 1931. 43) F. Hooper, A. Renfrew, T. Johnson, *Amer. Rev. Tbc.*, Vol. 29, p. 66, 1934. 44) J. Enders, *J. exp. Med.*, Vol. 50, p. 777, 1929. 45) 糟谷, 東京醫事新誌. 60年, 2973號, 25頁, 昭和11年. 46) 糟谷, 臨牀ノ日本. 6卷, 51號, 19頁, 昭和13年. 47) Ebersson, Frederick, *Proc. Soc. exp. Biol. & Med.*, Vol. 22, p. 346, 1925. 48) L. M. Model, E. F. Sidelnikowa, *Zschr. f. Tbk.*, Bd. 53, S. 229, 1929. 49) 菅原, 結核. 7卷, 8號, 595頁, 昭和4年. 50) 青山, 結核. 13卷, 5號, 355頁, 昭和10年. 51) 糟谷, 東京醫事誌. 2967號, 13頁, 昭和11年. 52) 糟谷, 東京醫事誌. 2971號, 41頁, 昭和11年. 53) Lindne, *Zit. aus Nishigaki, Osaka Iji Ss.*, Bd. 7, Nr. 4, S. 47, Showa 7nen. 54) 井下, *Nr. 58 = 依ル.* 55) 糟谷, 東京醫事誌. 2946號, 9頁, 昭和10年. 56) C. v. Pirquet, *Münch. med. Wschr.*, S. 1947, S. 2008, S. 2556, 1907. 57) 石田, 結核. 13卷, 358頁, 昭和10年. 58) 西垣, 大阪醫事誌. 7卷, 3號, 19頁, 7卷, 4號, 47頁, 昭和7年. 59) K. Zieler, *Münch. med. Wschr.*, Bd. 55, S. 1685, 1908. 60) E. Löwenstein, *Zbl. f. Bakter.*, Bd. 68, S. 591, 1913. 61) D. Danielopolu, *Compt. rend. Soc. d. Biol.*, T. 66, p. 334, 1909. 62) Guyon, J. Albert-Weil, *Compt. rend. d. Biol.*, T. 104, p. 1327, 1930. 63) A. Marie, M. Tiffenau, *Compt. rend. Soc. d. Biol.*, T. 66, p. 206, 1909. 64) Selter u. Tancre, *Beitr. z. Kl. d. Tbk.*, Bd. 53, S. 82, 1922. 65) F. Seibert, E. Long, *Amer. Rev. Tbc.*, Vol. 13, p. 404, 1926. 66) W. G. Ruppel, *Deutsch. med. Wschr.*, Nr. 50, S. 2462, 1913. 67) Dorset, Henley, Maskey, *J. Amer. Veter. Med. Assoc.*, Vol. 72, p. 363, 1927. 68) E. Küster, E. Maschmann, *Deutsch. med. Wschr.*, Nr. 35, S. 1497, 1931. 69) F. Ebersson, *Amer. Rev. Tbc.*, Vol. 13, p. 454, 1926. 70) P. Kallos, G. Hoffmann, *Biochem. Zschr.*, 266, S. 128, 1933. 71) P. Kallos, G. Hoffmann, *Biochem. Zschr.*, 266, S. 132, 1933. 72) R. Willstätter, *Untersuchungen über Enzyme*, Berlin, 1928. 73) S. Schmidt, *Zschr. f. Immun-forsch.*, Bd. 71, S. 101, 1931. 74) 細谷, 寺尾, 高田, 日本傳染病學會誌. 5卷, 984頁, 昭和6年. 75) 安東, 細菌學雜誌. 409號, 199頁, 昭和5年. 76) 箭頭, 日本微生物病理學雜誌. 26卷, 1015頁, 昭和7年. 77) 箭頭, 滿醫誌. 18卷, 4號, 519頁, 昭和8年. 78) Uhlenhuth, P., Remy, E., *Zschr. f. Immun-forsch.*, Bd. 92, S. 171, 1938. 79) 菊地, 福岡醫科大學雜誌. 23卷, 2號, 112頁, 昭和5年. 80) 矢追, 實驗醫學雜誌. 17卷, 7號, 881頁, 昭和8年. 81) 鈴木, 日本傳染病學會雜誌. 8卷, 6號, 559頁, 昭和9年. 82) 高須, 實驗醫學雜誌. 20卷, 676頁, 昭和11年. 83) Fritz Pregl, *Die quantitative organ. Mikroanalyse* 4. Aufl., S. 106. 84) *Handbuch d. Pflanzenanalyse* von E. Klein, S. 167, 1931. 85) 實驗化學講座, 5., 基礎化學編 V, 25頁, 1934. 86) S. Fischera, *Zschr. f. Immun-forsch.*, Bd. 57, S. 258, 1928. 87) E. Küster, W. Pockels, *Beitr. z. Kl. d. Tbk.*, Bd. 82, S. 237, 1933. 88) E. Küster, W. Pockels, *Zschr. f. Tbk.*, Bd. 72, S. 101, 1935. 89) Harley, D., *Brit. J. exp. Path.*, Vol. 18, p. 69, 1937. 90) Klopstock, F., *Zschr. f. Immun-forsch.*, Bd. 90, S. 507, 1937.