

### 3 E型ボツリヌス中毒の血清療法に関する実験的研究（第3報）

#### 特に毒素の消化管からの吸収について

北海道立衛生研究所

小野悌二, 唐島田 隆  
 亀山邦男, 山口勲  
 神沢謙三, 飯田広夫

#### 緒 言

著者らはすでに第1報<sup>(1)</sup>および第2報<sup>(2)</sup>において、マウスおよびモルモットを用いたE型ボツリヌス中毒の血清療法に関する基礎的実験の成績を報告した。

この際に得られた所見のひとつとして、次の事実を挙げることができる。すなわち、毒素を皮下に注射して、直ちに抗毒素を反対側の皮下に注射した場合には、マウスにおいても、モルモットにおいても、50%中和における毒素および抗毒素の量の比は、ほぼ1:1の関係を示す。これに反して毒素を経口投与し、直ちに抗毒素を皮下に注射するという方法を用いた場合には、50%中和における毒素と抗毒素の量的関係は1:1を示さず、例えばマウスの場合には、毒素の投与量を7.5倍増すと、これを中和するのに必要な抗毒素の量は1.300倍も増さなければならないことが知られた。

このような現象を説明するためには、経口投与された毒素が、どの程度消化管から吸収されるかを明らかにする必要がある。この点を明確にし、さらに抗毒素血清の効果についての実験を進めるために、今回はウサギおよびサルを用いて、E型毒素の消化管からの吸収を調べてみた。

#### 実験材料および方法

1. 毒素：ボツリヌスE型菌岩内株の培養菌体から、坂口ら<sup>(1)</sup>の方法に準じて作成した。そのうち、磷酸緩衝液で抽出したのち、硫酸半飽和により濃縮、CM Sephadexによる吸着、溶出およびRNase処理を行なったのち、Sephadex G-200でゲル汎過を行ない、高分子分画を集めたものをLot 6、単に抽出後、硫酸半飽和により濃縮しただけの毒素をLot 7(粗毒素)とした。

2. 抗毒素：国立予防衛生研究所において製造されたE型抗毒素馬血清 Lot 4 (840 IU/ml) を用いた。

3. 実験動物：ウサギは自家繁殖のNew Zealand White種を用いた。体重は3,000g±500g。サルは日本モンキーセンターから購入したカニクイザルで、体重は2,000g~3,800gであった。

#### 4. 毒素の投与方法：

マウス…3~5時間絶食させたのち、ポリエチレンの細

管を用いて毒素液を胃内に注入し、直ちに固型飼料を与えた。

ウサギ…一夜絶食させた後、胃内容液のpHを測定し、胃内容液のpHが2.0以下の場合に、ポリエチレンの小児用胃カテーテルを用いて胃内に毒素液を注入し、直ちにクローバーまたは人参を与えた。

サル…ウサギとはほぼ同時に行なったが、サルでは胃内容液のpHが4.0~5.0のときに毒素を投与した。毒素注入後、リンゴまたは西瓜を与えた。

ウサギおよびサルにおける胃内容液のpHと毒素の吸収との関係については、別に報告する。<sup>(13)</sup>

経口投与した毒素は、トリプシンによる活性化を行わない、未活性化毒素を用いた。また、投与した毒素液の量は、マウスは、0.2ml、ウサギおよびサルでは5.0mlになるように、毒素液を稀釀した。

5. 血中毒素量の測定方法：末梢血中の毒素量の測定には、ヘパリンを用いて血液の凝固を防ぎ、分離した血漿を0.2%ゲラチン加磷酸緩衝液(pH 6.0)で稀釀し、これをそれぞれ2頭宛のマウスの腹腔内に注射して、1ml当りの毒素量を測定した。この際、半数のマウスを毙す毒素量を、とくにマウス単位とした。

#### 実験成績

##### 1. 使用毒素の毒性

実験に用いたE型ボツリヌス毒素 Lot 6 および Lot 7 の、マウスに対する経口投与、および腹腔内注射による毒性は、第1表のごとくである。

Table 1: Toxicity of type E toxin for mice

Lot No.	Nmg /ml	Trypsin treatment	IP*toxicity LD <sub>50</sub> /ml	PO**toxicity LD <sub>50</sub> /ml	IP/PO
6	1.23	Before	2.8×10 <sup>5</sup>	4.6×10 <sup>2</sup>	610
		After	4.7×10 <sup>7</sup>	4.3×10 <sup>2</sup>	110,000
7	1.19	Before	1.4×10 <sup>5</sup>	3.4×10 <sup>3</sup>	41
		After	2.8×10 <sup>7</sup>	3.2×10 <sup>3</sup>	8,800

\* IP : Intraperitoneal, \*\* PO : Per os

毒素 Lot 6 をマウスの腹腔内に注射したときの毒性は、未活性毒素、活性毒素ともに Lot 7 の毒素よりも強かつたが、毒素を経口的に投与したときの毒性は、逆に Lot 7 は Lot 6 よりも約 7 倍強かった。

ウサギに毒素 Lot 6 および Lot 7 を経口的に投与した場合の毒性は、それぞれ  $2.04 \text{ LD}_{50}/\text{ml}$  および  $22.2 \text{ LD}_{50}/\text{ml}$  であった（第 2、3 および 5 表）。

## 2. ウサギの消化管からの毒素の吸収

ウサギを 5 群に分け、それぞれ  $7.2$ ,  $3.6$ ,  $1.8$ ,  $0.9$  および  $0.45 \text{ per os LD}_{50}$  の毒素 (Lot 7) を胃内に注入した。投与後、時間を追って耳静脈から採血し、分離した血漿の

Table 2 : Oral toxicity of type E toxin for rabbits

Toxin(Lot 6)	Rabbits		Death time	Amount of toxin in the blood after death mouse unit/ml	
ml	LD <sub>50</sub>	No.	Weight kg		
9.6	19.6	1	3.2	4 : 50	4.096
4.8	9.8	2	3.0	5 : 00	1.446
2.4	4.9	3	3.2	6 : 40	80
1.2	2.4	4	2.8	5 : 10	22
		10*	3.2	6 : 30	8
0.6	1.2	5*	3.1	7 : 30	32
		7*	3.2	10 : 50	16
		11*	2.9	12 : 00	16
		9*	2.8	Survived	0
0.3	0.6	6*	2.8	Survived	0
		8*	3.0	Survived	0

\* These rabbits were used for the estimation of rabbit *per os LD<sub>50</sub>* of the toxin preparation by Up-and-Down Method (Brownlee et al, 1953).  
 $1 \text{ LD}_{50} = 0.49 \text{ ml}$

1 ml 当りの毒素量をマウスを用いて測定した（第 3 表）。

第 I 群は、 $7.2 \text{ rabbit per os LD}_{50}$  ( $44,800 \text{ マウス単位}$ ) の E 型毒素を経口投与した群で、4 頭のウサギの平均死亡時間は 6.8 時間、毒素は投与後 1 時間すでに血中に出現し、4 時間で最高を示した。血中の毒素量は 4 時間に  $2,000 \sim 500 \text{ マウス単位}/\text{ml}$  を示し、死亡直後のそれは  $2,000 \sim 300 \text{ マウス単位}/\text{ml}$  を示した（第 1 図）。

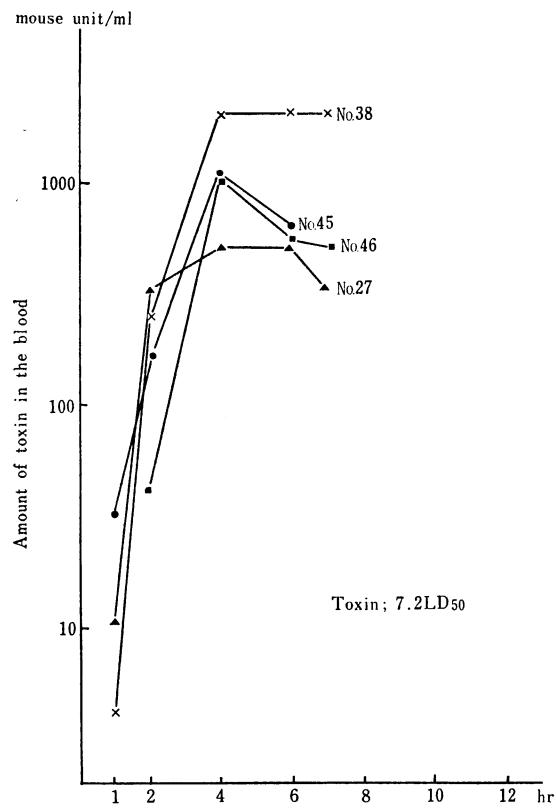


Figure 1 : The amount of toxin appeared in the blood after oral administration (Group I)

Table 3 : The amount of toxin in the blood of rabbits after oral administration (Toxin Lot 7)

Group	Toxin given		Rabbits		Death time	Toxin in the blood collected after (mouse unit/ml)												
	ml	LD <sub>50</sub>	No.	Weight kg		30'	1 hr	2	4	6	8	10	12	14	24	28	48	76
I	0.32	7.2	27	3.0	7 : 00	1	10	333	512	512	333*							
			38	3.0	7 : 00	1	4	256	2048	2048	2048*							
			45	3.7	6 : 00	1	32	166	1024	667*								
			46	3.2	7 : 15	0	1	42	1024	512	512*							
II	0.16	3.6	1	3.0	10 : 15	0	1	42	166	128	128	64	128*					
			9	3.1	10 : 30	0	0	16	42	42	42	32	32*					
			29	3.3	14 : 00	0	0	10	21	42	42	16	10	10*				
			39	3.2	7 : 00	0	5	42	128	128	128	128*						
III	0.08	1.8	6	3.3	12 : 15	0	0	5	10	8	4	8	8	5*				
			11	3.2	12 : 00	1	1	10	42	42	21	16	16	16*				
			13	2.9	12 : 00	0	1	21	64	64	32	21	16	16*				
			43	3.4	11 : 30	0	0	8	64	64	32	16	16*					

Group	Toxin given		Rabbits		Death time	Toxin in the blood collected after (mouse unit/ml)												
	ml	LD <sub>50</sub>	No.	Weight kg		30'	1 hr	2	4	6	8	10	12	14	24	28	48	76
IV	0.04	0.9	51	3.1	Survived	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
			52	2.5	10 : 10	2	64	64	42	42	32*							
			53	2.5	Survived	1	1	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	
			54	2.4	Survived	0	0	1	0	0	0	0	0	1	1	0	0	
			55	2.6	12 : 00	1	21	8	64	8	21	21*						
V	0.02	0.45	220	2.8	Survived	0										0	0	
			221	3.0	Survived	0										0	0	

\* The amount of toxin in the blood collected immediately after death

\*\* 1 rabbit per os LD<sub>50</sub> = ca 6200 mouse units

第II群は、3.6 per os LD<sub>50</sub> (22,400 マウス単位) の毒素を投与した群で、4頭のウサギの平均死亡時間は10.4時間、毒素の出現はやや遅れ、血中の毒素量も128~42マウス単位/mlとやや低い値を示した。死亡直後の血中毒素量は、128~10マウス単位/mlであった(第2図)。

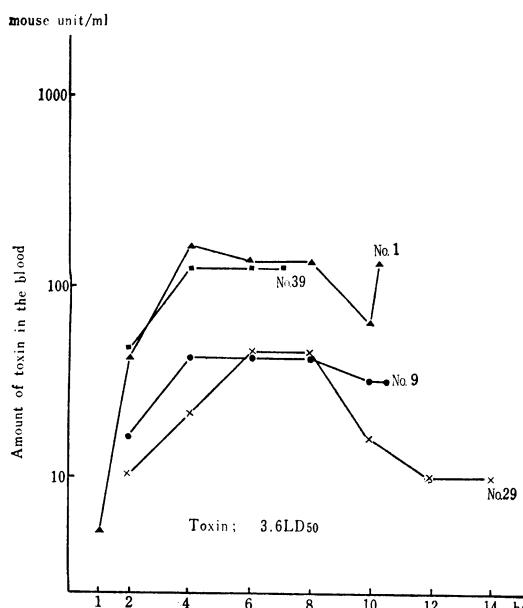


Figure 2 : The amount of toxin appeared in the blood after oral administration (Group II)

第III群は、1.8 per os LD<sub>50</sub> (11,200 マウス単位) の毒素を投与した群で、4頭のウサギの平均死亡時間は11.9時間、毒素は約2時間後に血中に出現し、4時間目の毒素量は64~10マウス単位/mlとさらに低く、死亡直後のそれは16~5マウス単位/mlを示した(第3図)。

第IV群は、0.9 per os LD<sub>50</sub> (5,600 マウス単位) の毒素を投与した群で、5頭中2頭が10~12時間で死亡したが、残る3頭は生残った。死亡した2頭のウサギの血中毒素量は、64~8マウス単位/mlを示した。生残った3頭について、その血漿をそのまま注射したマウスがわずかに発症を示したに止まった点から、1致死量以下の毒素が1~4時間の間に出現したものと推定され、うち2頭におい

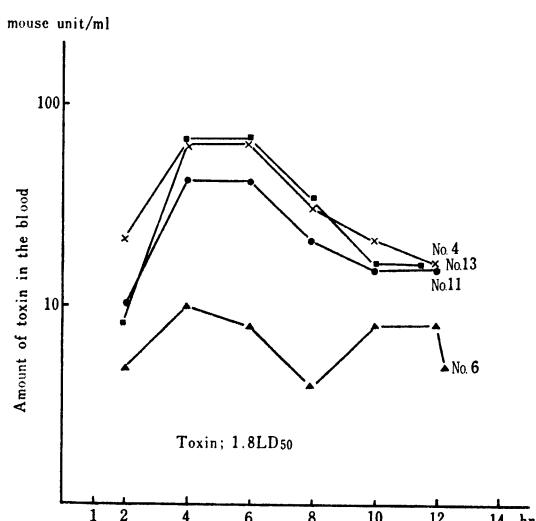


Figure 3 : The amount of toxin appeared in the blood after oral administration (Group III)

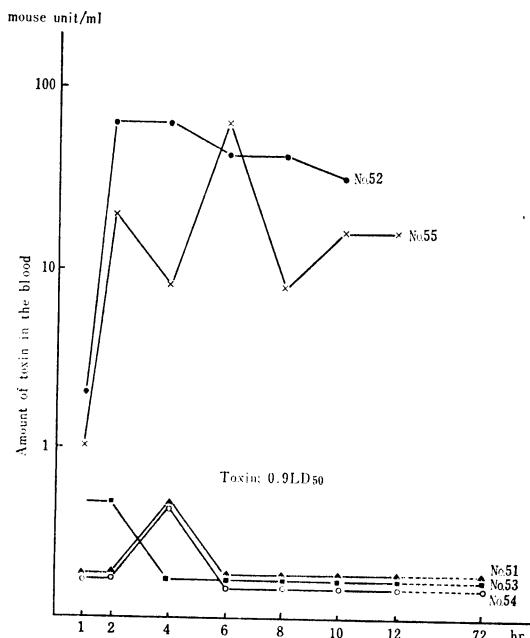


Figure 4 : The amount of toxin appeared in the blood after oral administration (Group IV)

ては、24時間目に再び同程度の微量の毒素の出現が認められた(第4図)。

第V群は、0.45 per os LD<sub>50</sub>(2,800マウス単位)の毒素を投与した群であるが、2頭とも全く発症を示さず、また血中の毒素も証明されなかった。

以上のうちの、第I～Ⅲ群のウサギについて、投与した毒素量(x)と、死亡直後の平均血中毒素量(y)の関係を求めるとき、 $y = 2.936x + 0.233$  の一次式が得られる(第5図)。このことは、ウサギに毒素を経口投与した場合、血中に吸収される毒素量は、投与量の増加に伴って指数函数的に増加することを示している。

この傾向は、毒素Lot 6をウサギに経口投与した場合にも認められ、投与毒素量と、血中毒素量との間には、 $y = 2.941x - 0.001$  の一次式が得られた(第5図)。

消化管から吸収されたE型毒素の大部分は、一旦胸管(Ductus thoracicus)のリンパ液中に現われ、次いで血中に移行する。これは、May and Whaler<sup>(4)</sup>がA型毒素を用いて試みた実験の結果とよく一致する。

流血中の毒素は、トリプシンによって活性化されるが、pH 6.0でトリプシン処理を行なうと、むしろ毒性の低下が見られた。このことは、与えた毒素の前駆体が恐らくは消化管内において活性化され、ついで吸収されることを示している。

流血中のE型毒素分子は、超遠心法による沈降恒数が7S、Sephadex G 200によるゲル渗透法では、ほぼ globulin 分画と albumin 分画の間に毒性の見られる点から分子量は少なくとも100,000以上と推定された。

Table 4 : The amount of toxin in the blood of monkeys after oral administration (Toxin Lot7)

No.	Weight kg	Sex	Toxin given		Death time	Toxin in the blood collected after (mouse unit/ml)								
			ml	LD <sub>50</sub>		1 hr	2	4	6	8	12	24	36	48
1	3.8	F	0.48	13.6	7:50	0	32	5780		5780*				
2	3.2	M	0.24	6.48	10:30	0	3	1546	1546		1546*			
3 11	2.1 2.7	F F	0.12 3.24		15:00	0	16	42	42			83*		
					20:00	0	22	48	128	128		128*		
4	3.5	M			44:30		0	6	22			16		16*
12	2.1	M	0.06	1.62	33:00		0	11	16			16*		
10	3.8	F			Survived		0	0	0	0		0		0
5	2.9	F			27:00		0	0	8			45*		
13	2.5	F	0.03	0.81	46:45		2	0	2	6		2		2*
9	3.2	M			Survived		0	0	0	0		0		0
6	3.0	M			42:20		2	0	4	4		2		2*
8	3.0	F	0.015	0.41	Survived		0	0	0	0		0		0
7	2.1	F	0.0075	0.20	Survived		0	0	0	0		0		0
14	2.7	F			Survived		0	0	0	0		0		0

\* The amount of toxin in the blood collected immediately after death

\*\* 1 monkey per os LD<sub>50</sub> = ca 5100 mouse units

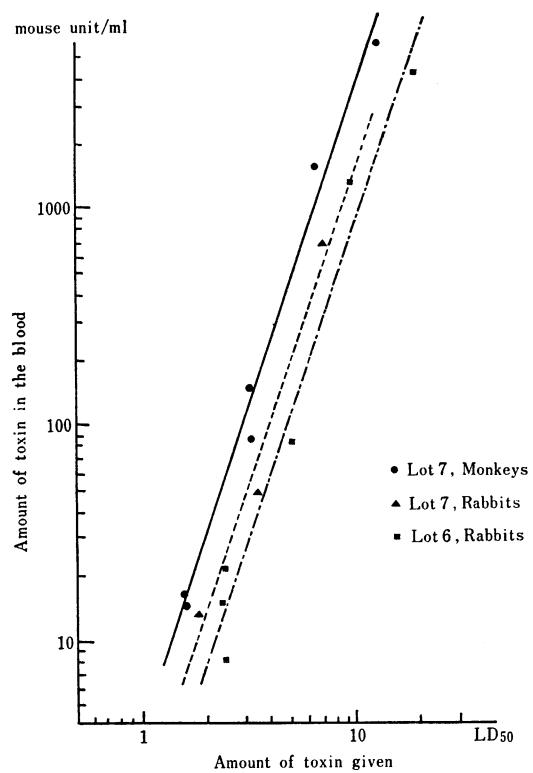


Figure 5 : Relationship between the amount of toxin given orally and the amount of toxin appeared in the blood

### 3. サルの消化管からの毒素の吸収

実験に使用し得るサルの頭数に制限のある点から、この

Table 5 : Susceptibility of rabbits and monkeys to type E toxin given orally

Toxin	Animal species	Toxicity		Mouse unit per animal		Mouse unit per body weight (kg)		Rabbit or Monkey	Mouse
		LD <sub>50</sub> ml	ml	Unactivated	Activated*	Unactivated	Activated	per animal	per kg
Lot 6	Mouse	455	0.0022	$6.15 \times 10^2$	$1.23 \times 10^5$	$3.08 \times 10^4$	$6.15 \times 10^6$	1	1
	Rabbits	2.04	0.49	$1.37 \times 10^5$	$2.74 \times 10^7$	$4.77 \times 10^4$	$9.15 \times 10^6$	223	1.48
Lot 7	Mouse	3.400	0.00029	$4.10 \times 10^1$	$8.20 \times 10^3$	$2.05 \times 10^3$	$4.10 \times 10^5$	1	1
	Rabbits	22.22	0.045	$6.30 \times 10^3$	$1.26 \times 10^6$	$2.10 \times 10^3$	$4.20 \times 10^5$	154	1.02
	Monkeys	27.03	0.037	$5.18 \times 10^3$	$1.04 \times 10^6$	$1.73 \times 10^3$	$3.45 \times 10^5$	126	0.84
Lot 7	Mouse	7.47	0.134						
Lot 6	Rabbits	13.23	0.092						

\* Activated = Unactivated × 200

Table 6 : Absorption rate of toxin from the intestinal canal

Animal Species	Toxin	Amount of toxin given orally				Amount of toxin in the blood		Rate of absorption (%)	
		LD <sub>50</sub>	ml	Mouse unit		per ml	in whole blood***	Unactivated	Activated
				Unactivated	Activated**				
Rabbits	Lot 6	20	9.8	$27.0 \times 10^5$	$55.0 \times 10^7$	6.680	$1.5 \times 10^6$	56.2	0.28
		10	4.9	$14.0 \times 10^5$	$27.0 \times 10^7$	871	$2.0 \times 10^5$	14.7	0.07
		5	2.45	$6.9 \times 10^5$	$14.0 \times 10^7$	114	$2.6 \times 10^4$	3.8	0.019
		2.5	1.25	$3.4 \times 10^5$	$6.9 \times 10^7$	15	$3.5 \times 10^3$	1.0	0.005
	Lot 7	20	0.9	$12.6 \times 10^4$	$25.2 \times 10^6$	11,300	$2.6 \times 10^6$	2,072	10.36
		10	0.45	$6.3 \times 10^4$	$12.6 \times 10^6$	1,480	$3.4 \times 10^5$	543	2.71
		7.2*	0.32	$4.5 \times 10^4$	$9.3 \times 10^6$	890	$2.1 \times 10^5$	459	2.22
		5	0.225	$3.2 \times 10^4$	$6.3 \times 10^6$	193	$4.5 \times 10^4$	142	0.71
Monkeys	Lot 7	3.6*	0.16	$2.2 \times 10^4$	$4.3 \times 10^6$	75	$1.7 \times 10^4$	77	0.37
		2.5	0.1125	$1.6 \times 10^4$	$3.2 \times 10^6$	25	$5.8 \times 10^3$	37	0.18
		1.8*	0.08	$1.1 \times 10^4$	$2.3 \times 10^6$	13	$3.0 \times 10^3$	27	0.13
		0.9*	0.04	$0.6 \times 10^4$	$1.2 \times 10^6$	0			

\* Values determined experimentally \*\* Unactivated × 200 \*\*\* per ml × 231

場合には専ら Brownlee ら<sup>(5)</sup>の Up-and-Down Method によってその per os LD<sub>50</sub>を推定した。

種々の量のE型毒素 (Lot 7) を経口投与した場合の、サルの感受性および血中毒素量は第4表に示す通りである。

この場合にも、経口投与した毒素量 (x) と血中の毒素量 (y)との間には、ウサギの場合ときわめて類似した関係が成立し、 $y = 2.957x + 0.585$  の一次式が得られた (第5図)。すなわち、サルにおいても、経口投与する毒素量の増加に伴って、急激に多量の毒素が血中に出現することを知った。

以上の実験結果から、E型毒素の経口投与に対するウサギおよびサルの感受性を比較すると、第5表のようになる。

この表から明らかなように、E型毒素の経口投与に対す

る、マウス、ウサギおよびサルの、体重当りの感受性にはそれほど大きな相違は認められなかった。また、マウスにおいても、ウサギにおいても、粗毒素 (Lot 7) は精製毒素 (Lot 6) よりもより高い経口毒性を示した。

#### 4. 経口投与毒素の消化管からの吸収率

毒素 Lot 6 は、かなりの程度精製された毒素であって、トリプシンで活性化した後、マウスの腹腔内に注射した場合は  $3.9 \times 10^7$  LD<sub>50</sub>/N mg の毒性を示した。また、毒素 Lot 7 は粗毒素で、 $2.4 \times 10^7$  LD<sub>50</sub>/N mg の毒性を示した (第1表)。

すでに述べたように、毒素 Lot 6 をウサギに経口投与した場合に、投与毒素量 (x) と、末梢血中に出現する毒素量 (y)との間には、 $y = 2.941x - 0.001$  の一次式が得られ

毒素 Lot 7 をウサギに経口投与した場合には、 $y = 2.936x + 0.233$  の一次式が得られた。また、毒素 Lot 7 をサルに経口投与した場合には、 $y = 2.957x + 0.585$  の一次式が得られた。これら的一次式から、ウサギおよびサルに、それぞれ 2.5, 5, 10 および 20 LD<sub>50</sub> の毒素を経口投与した場合、末梢血中に出現する毒素量を推定すると、第 6 表に示される数値が得られた。

ウサギに毒素 Lot 7 のそれぞれ 20 および 10 LD<sub>50</sub> を経口投与した場合、投与した毒素の実量は 0.9 および 0.45 ml であり、マウスの腹腔内注射による毒性で表現すれば、 $12.6 \times 10^4$  および  $6.3 \times 10^4$  マウス単位となる。このとき、末梢血中に出現する毒素量は、それぞれ 11,300 マウス単位/ml および 1,480 マウス単位/ml と推定される。いま、動物の体重を 3 kg とし、全血液量を体重の 1/13 とすれば、全血液量中に含有される毒素量は、それぞれ  $2.6 \times 10^6$  マウス単位 および  $3.4 \times 10^5$  マウス単位と推定される。この毒素量は、投与した毒素量の 20~5 倍に相当し、末梢血中に出現した総毒素量は、投与した毒素量を上回るという矛盾した結果となる。このような事実と、すでに述べたように、末梢血中に出現する毒素はもはやトリプシンによって活性化されないという事実から、経口的に投与された E 型毒素は、消化管内において一旦活性化された後に吸収されるものと考えられた。同様の傾向は毒素 Lot 7 を

サルに投与した場合においても認められた。

ウサギおよびサルにおいて、経口的に投与された毒素が消化管から吸収される比率は、もし投与した毒素が消化管内において 200 倍の活性化をうけるものと推定するならば第 6 表および第 6 図に示す通りとなる。

投与毒素量に対する血中毒素量の割合は、投与された動物の per os の LD<sub>50</sub> 量で比較した場合は、毒素の Lot による差は顕著でなかったが、マウスの腹腔内注射による毒性（マウス単位）で比較した場合には、Lot 7 は Lot 6 に比較して 26~37 倍も多く吸収された。このことは毒素を精製するとともに、腹腔内注射による毒素は増しても、経口投与による毒性はむしろ低下することによるものと考えられる。

## 考 索

以上の実験によって、ウサギにおいても、またサルにおいても、経口的に投与する E 型毒素の量が増せば、血中に出現する毒素量は指数函数的に増加することが知られた。このことは、すでに報告した<sup>(1)(2)</sup> マウスおよびモルモットの中和試験の成績を説明する上に役立つであろう。すなわち、毒素を経口投与して直ちに抗毒素を皮下に注射した場合、与える毒素量の増加に伴って、中和に要する抗毒素量は指数函数的に増加するという中和試験の結果は、血中に出現する毒素量の急激な増加という事実によって一応説明される。この際、毒素および抗毒素の吸収の時間的な要素も当然考慮に入れる必要はあるが、少なくとも血中の毒素、抗毒素の量的関係の重要性は、今回の実験によって明らかにされたといってよいであろう。

もともとボツリヌス毒素の消化管からの吸収を扱った報告は少なく、それらの大部分は A 型毒素を用いて行なわれたものである。消化管から吸収される A 型毒素の量はきわめて微量で、例えば May and Whaler<sup>(4)</sup> の実験では、投与毒素量の約 1/1,000 にすぎない。Lamanna<sup>(5)</sup> は 10 万分の 1 のオーダーであろうと述べている。

これに反して今回の実験においては、かなりの量の E 型毒素の吸収されることを知った。例えば、それぞれ 20 LD<sub>50</sub> および 10 LD<sub>50</sub> の粗毒素 Lot 7 をウサギに与えた場合には、投与量をそれぞれ 20 倍および 5 倍上回る毒素量が血中に出現しており、このことは、投与した毒素が活性化を受けた後に吸収されるものであることを物語っている。ウサギの消化管内で毒素がどの程度の活性化を受けるかは明らかではないが、かりに毒性が 200 倍増強されたとすると、与えた毒素液の少なくとも 1/10 乃至 1/40 量が、消化管から血中に移行したことになる。サルの場合にはさらに高い値が得られており、これらは従来の A 型毒素を用いた成績に比較すると著しく高い値といえよう。

A 型と E 型の毒素の吸収に見られるこのような顕著な差異は、どのような理由によるものであろうか。ボツリヌス A 型菌は強い蛋白分解性を示し、その毒素は培養のきわめ

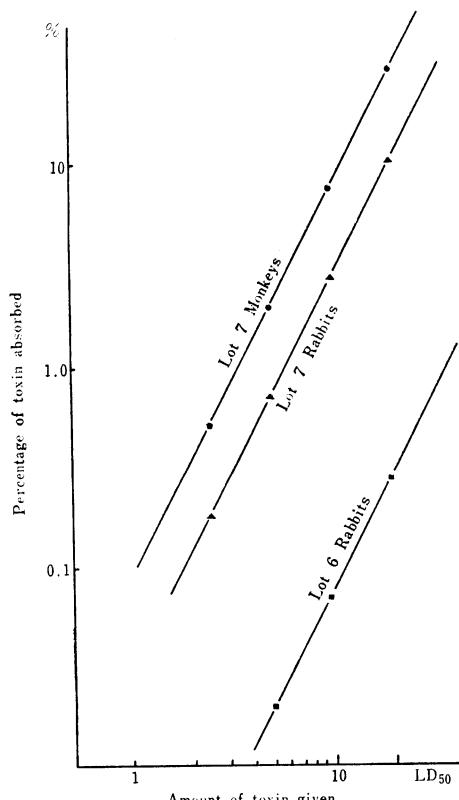


Figure 6 : Percentage of the amount of toxin appeared in the blood to the amount of toxin given orally

て早期に、そのほとんどが活性化された状態で培養液中に見出される<sup>(7)</sup>。これに反して、E型菌はきわめて蛋白分解性に乏しく、毒素の大部分は培養の後期に到るまで所謂前駆体として、菌体内もしくは菌体表面に存在している<sup>(8)</sup>。A型とE型におけるこのような毒素産生のプロセスの差異は、産生された毒素の消化酵素に対する安定性に差異をもたらし、したがってまた消化管内におけるその安定性にも影響するであろう。これを実証するためには、種々の型の毒素についての、また同一の型であっても、種々の培養条件あるいは精製方法で得られた毒素についての、酵素による不活化のプロセスをさらに詳しく検討する必要があろう。

今回の実験においても、E型毒素の精製を進めるにしたがって、マウスの ip LD<sub>50</sub> : per os LD<sub>50</sub> の比は大きくなることが認められている。またトリプシンによって活性化された毒素は、未活性化毒素に比べて、著明にこの比が大きい。これが、毒素分子自身の不安定化によるものなのか、あるいは毒素材料中に混在する吸収促進性の因子<sup>(9)</sup>の除去によるものかは不明であるが、いずれにしても、報告者によって著しく異なるボツリヌス毒素の経口投与による致死量の値は、この点からの再検討を要すると思われ、これについては別に報告する予定である。

流血中のE型毒素の分子サイズが100,000以上を示すことは、その消化管からの吸収の機構を考える上にきわめて興味深い。この毒素蛋白が、そのままの形で吸収されるものか、あるいはより小さな分子の active peptide<sup>(10)</sup> の形で吸収され、再び大きな分子サイズの毒素となるものか、現在のところ毒素の吸収の機構は全く不明である。最近の腸管吸収に関する報告を見ると、例えばイヌを用いた標識蛋白の吸収実験<sup>(10)</sup>から、胸管リンパ液は単に脂肪のみならず、蛋白の吸収運搬にも関与することが知られており、また家兔の摘出腸管を用いた実験<sup>(11)</sup>では、蛋白分解酵素のあるものが、活性高分子のままで、おそらくは pinocytosis によって、腸管から吸収されることが示されている。ボツリヌスE型毒素が、活性をもつ蛋白分子として、そのかなりの量がそのまま腸管から吸収されとするならば、この毒素はまさしく「経口毒素」の名に値するものであり、この点で特異な性状をもつ蛋白といえるであろう。

ボツリヌス毒素の消化管からの吸収を考える上に当然問題となるのは、食餌との関連性である。動物の飼料が毒素の吸収と関係をもつことは、この問題を実験的に扱った前記の研究者たち<sup>(4)(12)</sup>によても指摘されているが、われわれもまたE型毒素を用いてその事実を確認している。ヒトのE型中毒に際して、明らかに原因食品を摂取しているにも拘らず発病しない者がしばしば見出される、そのひとつの理由は、食品中の毒素の分布の不均等なことにもよるであろうが、同時に摂取した食品の種類および量、また摂取者の消化器の生理条件なども、発病の有無とある程度の関係をもつと考えられる。これら毒素吸収の条件について

は、別に報告する予定である<sup>(13)</sup>。

## 結 論

ボツリヌスE型毒素を用い、ウサギおよびサルの消化管からの毒素の吸収を調べた。その結果、次のような知見を得た。

1. ウサギにおいても、サルにおいても、経口的に投与する毒素量が増すに伴って、血中に吸収される毒素量は急激に增加了。
2. 消化管から吸収されるE型毒素の量は、従来のA型毒素の場合にくらべて著しく多く、一旦消化管内で活性化された後に吸収されるものと考えられた。
3. 毒素を精製すると、腹腔内注射による毒性は上昇するが、経口投与による毒性はむしろ低下した。

(本研究には、National Communicable Disease Center の科学的研究費 CC 00173 の交付を受けた)

## 文 獻

- 1) 小野悌二、唐島田隆、飯田広夫：E型ボツリヌス中毒の血清療法に関する実験的研究 I, 北海道立衛生研究所報, **15**, 24-32, 1965.
- 2) 小野悌二、唐島田隆、龜山邦男、飯田広夫：E型ボツリヌス中毒の血清療法に関する実験的研究 II, 北海道立衛生研究所報, **18**, 1-7, 1968.
- 3) Sakaguchi, G. & Sakaguchi, S.: A simple method for purification of type E botulinic toxin from the precursor extract of the bacterial cells, Jap. J. Med. Sci. & Biol., **14**, 243-248, 1961.
- 4) May, A. J. & Whaler, B. C.: The absorption of *Clostridium botulinum* type A toxin from the alimentary canal, Brit. J. Exp. Path., **39**, 307-316, 1958.
- 5) Brownlee, K. A., Hodges, J. L. & Rosenblatt, M.: The up-and-down method with small samples, J. Amer. Statist. Ass., **48**, 262-277, 1953.
- 6) Lamanna, C.: 細菌毒素による経口中毒について(阪口訳), 日本細菌学雑誌, **20**, 219-221, 1965.
- 7) 飯田広夫：*Clostridium botulinum* の毒素産生に関する実験的研究(第1報), 日本細菌学雑誌, **19**, 458-461, 1964.
- 8) Coleman, I. W.: Studies on the oral toxicity of *Clostridium botulinum* toxin, type A, Canad. J. Biochem. Physiol., **32**, 27-34, 1954.
- 9) Gerwing, J., Ko, A., Alstyne, D. van & Tremaine, J. H.: Studies on the active region of botulinus toxins. I. Involvement and characterisation of a peptide in the region of the single cysteine residue in botulinus toxins types A, B and E, Biochem. Biophys. Acta, **117**, 487-489, 1966.

- 10) 三辺謙：腸管吸収機転に関するリンパ路の意義、第17回日本医学会総会会誌、709-710、1967
- 11) 村地孝：蛋白分解酵素の腸管吸収、第17回日本医学総会会誌、341-342、1967
- 12) Lamanna, C. & Meyers, C. E.: Influence of ingested foods on the oral toxicity in mice of crystalline botulinic type A toxin. J. Bact., **79**, 406-410, 1960.
- 13) 唐島田隆、小野悌二、龜山邦男、山口勲、神沢謙三、飯田広夫：E型ボツリヌス毒素の経口投与条件、北海道立衛生研究所報、**19**, 1-5, 1969.

3 Experimental studies on antitoxic therapy in type E botulism (Part III) The absorption of type E toxin from the alimentary tract

Teiji Ono, Takashi Karashimada, Kunio Kameyama, Isao Yamaguchi, Kenzo Kanzawa and Hiroo Iida  
(Hokkaido Institute of Public Health)

The absorption of *Clostridium botulinum* type E toxin from the alimentary tract of rabbits and monkeys was investigated, and the following results were obtained.

(1) Both in rabbits and monkeys, the amount of toxin absorbed from the alimentary tract increased conspicuously as the amount of toxin given *per os* increased.

(2) The amount of type E toxin absorbed from the intestinal tract was found to be considerably greater as compared with the amount of type A toxin which had been reported in previous papers. It was deduced that non-activated type E toxin should have been activated *in vivo* before the absorption.

(3) By purifying type E toxin, the toxicity by intraperitoneal route was increased. The toxicity by oral route, however, was decreased by the purification of type E toxin.