

ハブ及びサキシマハブ毒の中和実験

ハブ支所 野崎真敏 山川雅延 外間善次

本県に生息する毒蛇のうち、人畜に直接被害を及ぼすのはハブ及びサキシマハブの2種である。

現在、サキシマハブ咬傷の治療に対してもハブ抗毒素を使用しているが、その治療効果については未だ充分検討されていない。

貞弘等(1)は、ハブ抗毒素はサキシマハブ毒の出血作用は比較的よく中和するが致死作用は中和し得ないことを報告しているし、外間(2)も同種毒による免疫効果の方がよりすぐれていることを報告している。また、我々(3)もサキシマハブ毒の分離精製を行なう中でハブ毒とは種々の点で異なることに気付いた。

これらのことからハブ抗毒素によってサキシマハブ咬傷患者の治療を行なうことにはかなりの疑問が残る。

本報では、これらの問題を明かにするためにハブ及びサキシマハブ毒とそれぞれの抗毒素との交

叉中和実験を試みた。

実験材料と方法

抗毒素：ハブ抗毒素にはハブ粗毒で免疫したLot 14を用い、サキシマハブ抗毒素にはサキシマハブ粗毒で免疫したNo 20と追加免疫の途中からS3の部分精製毒にかえたNo 19の2種を用いた。

試験用毒素：サキシマハブ毒ではセファデックスG-150を用いてS1・S2・S3の3つの活性成分に分離し(4)、抗致死価の測定にはS1・S2・S3の3種、抗出血価の測定にはS2のみ、抗腫脹価の測定にはS2・S3の2種を用いた。

ハブ毒では、生物学的製剤基準に用いられているものと同じ方法で分離し(5)(6)、抗致死価の測定にはHR-1 1成分1種、抗出血価及び抗腫脹価の測定にはHR-1、HR-2の2種を用いた。

それぞれの1試験毒素量は表-1にまとめた。

One test dose of each test toxins 表-1

		for anti-lethal	for anti-hemorrhage	for anti-edema
Sakishima-Have venom	S1	3 LD 50		
	S2	5 "	100 MHD	40 MED
	S3	3 "		4 "
Have venom	HR-I	5 "	100 "	40 "
	HR-II		13.5 "	4 "

MHD : Minimum Hemorrhagic Dose

MED : Minimum Edema Dose

No 19, No 20 : Sakishima-Habu antivenine

Lot . 14 : Habu antivenine

抗体価の測定：被検血清をM/30 PBS (PH = 7.0) を用いて 1.25 倍間隔の 5 段階に稀釈し、注射量 0.2 ml 中に 1 TD の試験用毒素を含むように混合、室温に 1 時間放置した後、抗致死価はマ

ウスの尾静脈 注射法(7)、抗出血価はウサギの背皮内注射法(8)により測定した。抗腫脹価は注射量 20 μl 中に 1 TD の試験用毒素が含まれるように混合し、マウスの足蹠重量法(9)により測定した。

実 験 成 績

Gross neutralization test of each venom fraction with Habu and Sakishima-habu antivenin. (units per ml) 表 - 2

	antilethal units				antihemorrhagic units			anti-edema units			
	S ₁	S ₂	S ₃	HR-I	S ₂	HR-I	HR-II	S ₂	S ₃	HR-I	HR-II
No 19	11	21	11	<	400	55	240	125	80	<	<
No 20	33	42	<	10	500	155	175	143	<	100	<
Lot 14	13	14	<	63	215	400	350	89	<	317	300

< : was less than the detectable level.

No 19, No 20 : Sakishima-Habu antivenine.

Lot. 14 : Habu antivenine.

ハブ及びサキシマハブの分画毒とそれぞれの抗毒素との中和実験の結果は表-2に示した。それぞれの数字は各抗毒素液 1.0 ml が中和し得る試験毒素量 (TD) で、1 TD を中和する抗毒素量を 1 単位とした。

サキシマハブ粗毒で免疫した抗毒素 No 20 はサキシマハブ毒の 2 つの致死活性画分 S₁、S₂ に対しては 33 単位、42 単位とかなり高い抗体価を示したが、最も大きな致死活性画分である S₃ に対しては測定レベルにも達しなかった。また、ハブ毒の致死活性画分 HR-I に対しても 10 単位と低い抗体価に留まった。抗出血価においても同種毒である S₂ に対しては 500 単位とかなり高いのに比べ、ハブ毒の HR-I では 155 単位、HR

-I では 175 単位と低く、抗腫脹価でも同種毒の方が高い抗体価を示した。

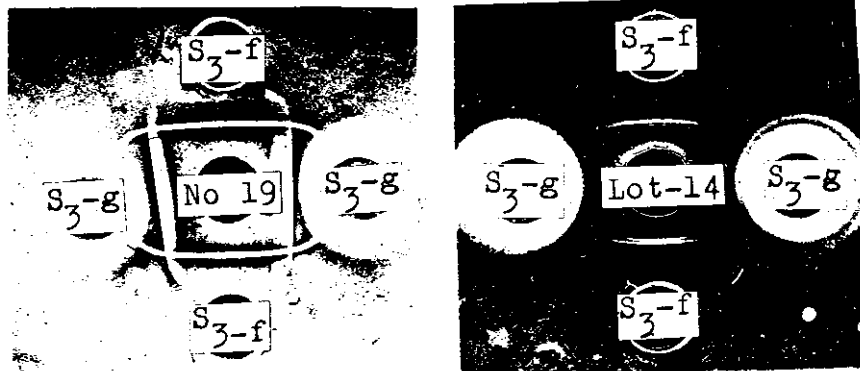
追加免疫の途中から S₃ の部分精製毒にかえた No 19 では抗致死価 S₁・S₂ が 11 単位、21 単位と No 20 に比べて低くなったが、抗 S₃ 価は 11 単位と多少上昇する傾向を示した。また、抗出血価、抗腫脹価共に No 20 同様同種毒に対する方ははるかに高い抗体価を示した。

ハブ抗毒素 Lot 14 は、ハブ毒の致死活性画分 HR-I に対しては 63 単位と高い抗体価を示しているにもかかわらず、サキシマハブ毒の S₁、S₂ に対しては 13 単位、14 単位と低く、特にサキシマハブ毒の主要な致死活性画分である S₃ に対しては測定レベルにも達しなかった。抗出血価

においても同様でHR-I、HR-IIに対しては400単位、350単位とかなり高い抗体価を示した

が、S₂に対しては215単位だった。抗腫脹価でも同種毒に対する方がはるかに高かった。

Immunodiffusion of S_{3-f} S_{3-g} fraction 図-1
with Habu and Sakishima-Habu antivenine



Lot 14 : Habu antivenine

No. 19 : Sakishima-Habu antivenine

S_{3-f} : 180 μg, S_{3-g} : 200 μg

S₃ 画分に対する抗体価の産生を沈降反応によって確かめるために、S₃ 画分をアンバーライトCG-50のカラムクロマトグラフィーにより得られた致死作用の強いS_{3-g}及び出血作用を有するS_{3-f}とそれぞれの抗毒素との寒天ゲル内沈降反応を行ない結果を図-1に示した。

No. 19では、S_{3-f}、S_{3-g}のどちらに対しても鮮かな沈降線が観察できるが、Lot 14では、S_{3-f}には淡くできて、S_{3-g}では認められなかった。

ハブ抗毒素Lot 14には、サキシマハブ毒の中の特に致死作用の強いS_{3-g}に対する抗体が産生されていないようである。

総括と考察

ハブ抗毒素Lot 14はHR-1、HR-2に対しては400単位、350単位と高い抗体価を示したが、サキシマハブ毒の主要な出血活性画分であるS₂に対しては215単位と低く、主要な致死活性

画分であるS₃に至ってはほとんど抗体価が認められなかった。

サキシマハブ毒のS₂はハブ毒のHR-1に相当するものと考えられるが、完全なる共通の抗原にはなり得ないようである。また、S₃の致死作用はサキシマハブ毒個有のもので、ハブ毒中には共通の抗原になり得るものは存在しないと思われる。

これは、ハブ抗毒素はサキシマハブ毒の出血作用は比較的良好に中和するが、致死作用は中和し得ないというこれまでの報告と一致する

一方、サキシマハブ抗毒素No. 19、No. 20もS₂に対しては400単位、500単位と高い抗体価を示したが、HR-1に対しては55単位、155単位と極めて低かった。

これらの結果から判断するかぎり、ハブ、サキシマハブいずれの抗毒素においても同種毒に対する中和能力の方が異種毒に対するよりもはるかに

優れており、ハブ咬傷の患者にはハブ抗毒素を、サキシマハブ咬傷の患者にはサキシマハブ抗毒素を用いた方がより効果があると思われる。

また、サキシマハブ抗毒素でも粗毒だけの免疫では主要な致死活性画分である S₃ に対する抗体が得られにくく、免疫の途中から S₃ の部分精製毒にかえることにより抗体を多少上昇させることができた。

咬傷の際に損傷の主因となる成分が明らかにされてないので、治療用のサキシマハブ抗毒素にするにはいずれの有毒成分に対しても十分な中和能力をもつ必要がある。したがって、免疫に精製毒を用いる等免疫の方法をもっと工夫する必要がある。我々は S₃ の部分精製毒を用いて山羊を免疫し、抗 S₃ 価が比較的良好に上昇することを認めた(10)

結 論

1. ハブ抗毒素 (Lot 14) はハブ毒の出血活性

画分 HR-1、HR-2 をよく中和する。

2. ハブ抗毒素 (Lot 14) はサキシマハブ毒の主要な出血活性画分 S₂ をある程度中和するが、主要な致死活性画分 S₃ は中和しない。
3. サキシマハブ抗毒素 (No 19、No 20) は同種毒の S₂ はよく中和するが、S₃ に対する中和能力は極めて小さい。
4. サキシマハブ粗毒だけの免疫では、S₃ に対する抗体は得られにくく、精製毒を用いる等免疫の方法を工夫する必要がある。

本研究に要した費用は " 沖縄はぶ抗毒素開発研究補助金 " より援助された。

本稿の要旨は第 16 回日本熱帯医学会総会で演述された。

参 考 文 献

- (1) 貞弘省二, 他 : 蛇毒の免疫学的研究, 日本細菌学雑誌. 20. (1) 21~25, 1965
- (2) 外間善次 : サキシマハブ (*T. elegans*) 毒トキソイドに関する基礎的研究. *The Snake* 4, 23~33, 1972
- (3) Nozaki, M. et al : Purification and characterization of Sakishima-habu (*T. elegans*) venom. *Japan J. med. Sci. Biol.* 27, (2) 83-86, 1974.
- (4) 野崎真敏, 他 : サキシマハブ毒の精製と試験用毒素の試作
沖縄ハブ抗毒素開発研究報告書 2~4, 1973
- (5) Omori-Satho, T. et al.: A Simple and rapid method for separating two hemorrhagic principles in the venom of *T. flavoviridis*. *Toxicon*, 5, 17-24, 1967.
- (6) Takahashi, T. et al.: Purification and some properties of two hemorrhagic principles (HR-2_a and HR-2_b) in the venom of *T. flavoviridis* complete separation of the principles from proteolytic activity. *Biochim. Biophys. Acta*, 207, 65-75, 1970.
- (7) L. J. Reed and H. Muench: A simple method of estimating 50 per cent end-points. *Amer. J. Hyg.* 27, 493-497, 1938.
- (8) Kondo, H. et al.: Studies on the quantitative method for determination of hemorrhagic activity of Habu snake venom. *Japan J. Med. Sci. Biol.* 13, 43-51, 1960.
- (9) Yamakawa, M. et al.: Studies on the quantitative method for determination of edema forming activity of Habu and Sakishima-Habu venoms. *The Snake*, 5, 168-173, 1973.
- (10) 山川雅延, 他 : サキシマハブ抗毒素の試作
沖縄ハブ抗毒素開発研究報告書 5~11, 1973