

赤血球の Streptolysin S 感受性に及ぼす タンニン酸の影響について

金沢大学結核研究所薬理製剤部（主任：伊藤 亮教授）

松 田 雅 夫

（受付：昭和33年10月1日）

緒 言

1939年岡本教授^{1), 2), 3)}によつて”溶連菌の溶血毒素 Streptolysin S (St-S) 産生が酵母核酸 Ribonucleic acid (RNA) によつて著しく促進される“という現象、所謂核酸効果が発見され、これを楔機として従来全く停頓状態にあつた St-S 問題は一大急進展を来し、St-S の分離、及びその本態の解明等を初めとして幾多の新知見が開発されるに至つて来ている。のみならず、この発見は又核酸の生化学的研究分野に新しい方向を打出したものであつて、国内並びに国外の研究者達によつて、この線に沿つた

一層精緻な研究が進められているという現状である。

処で St-S の溶血作用に関しては、既に伊藤^{4), 5)}、大西⁶⁾、宮地⁷⁾、Bernheimer^{8), 9)}等の興味ある研究があるのであるが、その機序に就いては尚不明の点が多い。

私らは最近、赤血球をタンニン酸 Tannic acid, (TA) で処理すると St-S に対し高度の抗溶血性を顕現するに至るといふ興味ある現象を見出したので、ここにその成績を報告する。

実 験 方 法

1. 精製 Streptolysin S 標品。岡本教授等によつて分離された I-N-Fraction¹⁰⁾ (家兎赤血球に対する溶血限界濃度 1:20mill) を供用す。而して本精製 St-S 10mg を生理的食塩水 10ml (即ち0.1%) に溶解したものを原液として氷室に保存す。

2. 赤血球。実験は主としてモルモットの赤血球を以つて行われたのであるが、その外に本研究では人、兎、犬、羊、山羊、牛、マウス等の諸種動物の血球をも使用した。採血は血管から或は心臓穿刺によつて行い、Heparin を 5unit/ml に加えた。

赤血球は生理的食塩水で4回洗滌した後、使用目的によつて次の2種の濃度の浮游液を調製した：

a) タンニン酸処置用としては、原血液量の2倍容量の生理的食塩水に浮游したものを使用 (50%赤血球浮游液)。

b) 溶血試験用としては、原血液量の100倍容量の生理的食塩水に浮游したものを使用 (1%赤血球浮

游液)。

3. 磷酸緩衝液加生理的食塩水。食塩水は特に指定しない限りすべて0.1M 磷酸緩衝液を3/10容量に加えてpH (pHメーターで測定) を一定としたものを使用した。

4. タンニン酸 Tannic acid. 局方タンニン酸 10mg を生理的食塩水 10ml (0.1%) に溶解したものを原液とし、原液は毎日新調する。

5. 溶血試験。溶血試験は岡本・伊藤⁴⁾の方法に従つて、St-S 液の2又は2.5倍通下稀釈液 1ml に対し、1%赤血球浮游液 1ml 宛を加え、振盪混和して孵卵器 (37°C) に納め、30分、1及び2時間後に一旦溶血の有無強弱を判読し、後更に氷室に22時間静置してから成績を記入する。

6. タンニン酸処置赤血球浮游液の調製。所要数の遠心沈降管に各種濃度のタンニン酸 4ml を容れ、之に50%赤血球浮游液 0.4ml を混和し一定条件下 (実

験の項参照)に静置する。次いでタンニン酸を遠心除去し、赤血球を3回食塩水で洗滌した後、20mlの食

塩水に浮游せしめる(即ち1%赤血球浮游液)。

成 績

1. タンニン酸処置赤血球に対する St-S 溶血作用。

第1表は上記の術式によつてタンニン酸 1:5,000—1:500,000液をもつて氷水中、15分間処置したモルモット赤血球に対する St-S の溶血作用を、無処置の対照赤血球に対する溶血作用と比較した成績である。即ち、対照列の無処置赤血球に対しては St-S は 1:20mill 液迄溶血作用を發揮したのに対し、タンニン酸 1:5,000 液をもつて氷水中で15分間処置した赤血球では、St-S の溶血限界濃度は僅かに 1:200,000 であつて、St-S の溶血力は血球の TA 処置によつて実に $\frac{1}{100}$ に低下を來した。更に TA 1:20,000 液処置赤血球では、St-S の溶血限界濃度は 1:500,000 であつて、その溶血力は対照血球のそれに比し尚 $\frac{1}{60}$ を示すに過ぎない。TA 1:100,000液処置赤血球では St-S の溶血力は対照血球の約 $\frac{1}{2}$ であつた。而して TA 1:500,000 液処置赤血球では対照赤血球との間に、24時間値に於ける溶血力には殆んど差異が認められなかつたのであるが、30分及び1時間目に於ける溶血値を比較すると確かに TA 処置血球に於て劣つてゐることがわかるのであつて、即ちこの場合でも尚 TA 処置が St-S 溶血に対し血球の抵抗性のある程度増大せしめて溶血進行の遲延を來したものであることが明らかである。

又第2表はタンニン酸 1:2,000—200,000 液で 37°C、30分間処置したモルモット赤血球に対する St-S の溶血試験の成績である。この表で特に注目すべきは、血球に対する TA 作用が 1:10,000 液に於て極大を示しているという事実である。即ち、TA 濃度 1:10,000—200,000 液実験列では、第1表に於けると同様に TA の濃度に比例した赤血球の St-S に対する抵抗性の増大が見られる。例えば、TA 1:10,000、

1:50,000、1:200,000 液処置血球に対する St-S の溶血限界濃度は夫々 1:500,000、1:5 mill、1:20 mill であつて対照血球に対する溶血力に比べて各々 $\frac{1}{20}$ 、 $\frac{1}{4}$ 、 $\frac{1}{1}$ という比率を示した。しかしこの表では、TA 濃度を更に高めても血球の St-S 抵抗性は増大せず、却つて減少の傾向を示し、TA 1:5,000 及び 1:2,000 液処置血球では St-S の溶血限界濃度は夫々 1:1 mill、及び 1:2 mill という成績であつた。

2. 赤血球の TA 処置条件の吟味。

赤血球の TA 処置時に於ける諸種条件の変動が TA 効果の発現に如何に影響するかについて検討を加えた。

(a) 温度。

血球の TA 処置を種々の温度で行つて St-S 溶血に対する影響を比較して第3表に示す成績を得た。即ち、TA (1:5,000液) 処置を氷水中(5°C)で行つた場合に赤血球の St-S 非溶血化が最も強く起り、この際対照血球では St-S の溶血限界濃度 1:20 mill に対し、TA 処置血球では 1:500,000 であつて両血球に対する St-S の溶血力の比は略々 1: $\frac{1}{40}$ である。然るに、TA 処置を室温(28°C)及び 37°C で行つた実験では、赤血球の St-S に対する抵抗性獲得の程度は低温実験に比して何れの場合も遙かに劣り、これ等実験に於ける St-S の溶血限界濃度は室温処置血球で、1:2 mill 37°C 処置血球で 1:5 mill であり、対照血球に対する溶血力比では夫々 1: $\frac{1}{4}$ 及び 1: $\frac{1}{10}$ であつた。

(b) 時間。

第4表は TA (1:5,000) 処置(氷水中)時間の長短が赤血球の St-S 抵抗獲得の程度に如何なる影響を及ぼすかに就いて検索した実験成績を示したものである。この表で明らかな様に、10分間 TA 処置を行つた血球が最も強い St-S

抵抗性を発揮し、St-S 溶血限界濃度は対照血球の 1:20mill に対し、10分間 TA 処置血球では 1:200,000 であつて、前者の約 $\frac{1}{100}$ の値に低下している。処置時間を延長して30分乃至6時間にすると血球の St-S 抵抗性は稍々減弱を来し、溶血限界濃度は30分処置血球では 1:500,000、6時間処置血球では 1:1mill. であつた。処置時間を更に延長し24時間にすると TA 効果は再び増大して血球は10分間処置血球と略々同等の St-S 抵抗を示した。この成績から、極めて短時間の TA 処置によつて赤血球の St-S 非溶血化が起ることがわかる。

(c) pH.

種々の pH の磷酸緩衝液加食塩水で TA 溶液を作り、その中で赤血球を処置して TA 効果に対する pH の影響を検べた。尚この実験では赤血球の洗滌、溶血試験等には TA 処置に使用したと同一 pH の食塩水を夫々使用した。第5表に示す如く pH 7.0-7.6 の範囲内では、TA 処置血球の St-S に対する抵抗力獲得の程度には全く差異がなかつた。尚 pH 7.0 以下の酸性メヂウムに於ける実験では、TA 処置後の赤血球の洗滌に際して溶血を起したため爾後の実験は不可能であつた。この成績から、TA 処置実験には pH 7.3-7.4 の食塩水を使用することとした。

(d) TA 処置後の血球洗滌.

第6表は赤血球の TA 処置後に於ける食塩水洗滌回数の多小が、血球の St-S 抵抗獲得に如何なる影響を及ぼすかについて検索した成績である。ここで St-S の溶血限界濃度が対照血球では 1:10mill であるのに対し、3回洗滌を行つた赤血球では 1:200,000、又、10回洗滌を行つた赤血球では 1:500,000 であつて、処置後に於ける血球の洗滌回数が増えつつも、TA 効果の発現には殆んど影響がなかつた。

3. Saponin 溶血に対する赤血球のタンニン酸処置効果の検索.

Streptolysin S 溶血が Saponin の溶血作用と種々異つた性質を示すことは先人の研究によつ

て既に明らかなことである^{4,5,6}。そこで TA 処置が Saponin 溶血に対する赤血球の感受性に如何なる影響を与えるかの問題は、両溶血毒の溶血機序の比較という点から見て甚だ興味あることといえよう。第7表は TA 1:5,000-50,000 液で型の如く氷水中10分間処置したモルモット赤血球に対する Saponin の溶血試験の成績であるが、この表から明らかな如く、各 TA 処置赤血球と対照の無処置赤血球との間には、Saponin に対する感受性に於て殆んど差異が認められなかつた、即ちここに Streptolysin S と Saponin とが TA 処置血球に対する態度に於て、大いに趣を異にするものがあるということが実証されたわけである。

4. 諸種動物の赤血球に就いて Streptolysin S 溶血に対する TA 効果の比較.

さきに京田¹⁴は諸種動物の赤血球について St-S の溶血作用を比較検討して、St-S の溶血力には、諸種哺乳動物の赤血球では動物の種類による差異がないという成績を得た。そこで私は、人、羊、山羊、牛、犬、兎、モルモット、マウスの赤血球について、TA 処置による St-S 感受性の影響関係について比較検討した。第8表は各種血球について TA (1:5,000-50,000) 処置血球と、対照血球に対する St-S の溶血比較試験の成績を一括表示したものである。この表を一目して気の付くことは、St-S 溶血に対する TA 処置効果が動物の種類によつて著しく異なるという事実である。即ち TA 処置は牛及び羊血球に於て最大効果を発揮し、就中牛血球では TA 1:5,000-10,000 液処置によつて血球は St-S の最低稀釈 1:100,000 液に対しても完全に非溶血性を示したのである。然るに兎血球では TA 1:5,000-50,000 液処置血球に於ける St-S 溶血価は何れも対照血球に於けると略々同等であつて、この場合は TA 処置によつてその St-S に対する感受性には殆んど影響がないという牛血球と全く対立的態度が観察されたのである。その他の動物はこの両者の中間の態度を示し、それ等を TA 効果の強

弱度に従つて牛型→兎型え排列すると、羊、山羊、モルモット、マウス、人、犬の順となる。

考 察

叙上の実験成績は、動物の赤血球をタンニン酸で処置すると、その Streptolysin S に対する感受性が低下し、血球は溶血毒に対して非或いは難溶血性となる。而もこのタンニン酸処置効果が動物の種類によつて著しく異なるのみではなく、同一血球でも種々の処置条件によつて著明な影響を受けることを実証したものである。

Streptolysin S 溶血に阻止的影響を示す物質としては血清、Trypan blue 系色素を初めとして種々のものが知られているのであるが^{9), 10), 11)}、それ等は何れも Streptolysin S 自体に作用して、之を直接不活性化せしめるか、又は Streptolysin S と赤血球との間に介在して何等かの機作によつて Streptolysin S 溶血を障害するものであつて、本研究に於けるタンニン酸効果の如く、赤血球自体に作用して、之を Streptolysin S 非溶血性とせしめる如き物質に就いては全く知られておらない。この意味に於てタンニン酸効果の実証は Streptolysin S 溶血機序解明の問題に対して新しい方向を顕示したものとといえる。

タンニン酸は蛋白質を変性凝固せしめる性質があり、そのため古くより収斂剤として知られている。タンニン酸が赤血球に対して著明な凝集作用を呈することも夙に研究者の注目する処であつて、就中 Reiner and Fischer¹²⁾ 及び Freund^{13), 14)} 等によつて、その機序に関して精細な検討が加えられた。その結果、タンニン酸の血球凝集作用は、タンニン酸が赤血球の細胞表面を侵襲して、その理化学的或いは静電氣的性状を変化せしめることに因るものであることが明らかとなつた。更に最近、Boyden¹⁵⁾ によつてタンニン酸で処置した赤血球に抗元蛋白質を吸着せしめ、之に抗体を加えると特異的血球凝集反応の起ることが見出され、ここにタンニ

尚各動物の雌雄間には赤血球の TA 効果に関しては差異がなかつた。

ン酸処置血球を仲介とした抗元抗体反応が創案されるに至つた。これらの事実は何れもタンニン酸処置を行つた赤血球が正常血球と異つた性状を具頭することを示すものである。この様な事実に鑑みる時、著者の実証した、“赤血球をタンニン酸で処置すると Streptolysin S に対する被侵襲の低下を来す”という現象（タンニン酸効果）も亦恐らくタンニン酸処置によつてもたらされた血球表面の微細構造の変化に基づくものであることは想像に難くない。然らばこの際タンニン酸処置によつて生じた血球表面の微細構造変化の実態如何？ この問題は当然 Streptolysin S の血球侵襲機序に密接に連結した極めて重要な意味をもつものであるが、現在全く不明という外はない。唯ここで之に関連して次の諸事項を特記したい：

- (1) タンニン酸処置時に於ける温度の影響が既知のタンニン酸による赤血球凝集現象では、温度の上昇に伴つて凝集は顕著となるのであるが、Streptolysin S に対するタンニン酸効果は之と逆に、タンニン酸処置を低温で行つた場合にその効果は最も著明であり、温度を高めると効果は却つて減退する。
- (2) タンニン酸の濃度と効果との関係では、タンニン酸 1:10,000 液に於てその効果が極大を示し、タンニン酸の高濃度 (1:5,000 以上) ではその効果は、むしろ減弱する。
- (3) 極めて短時間のタンニン酸処置によつて、強い効果が期待できる。

これ等の事實は Streptolysin S に対するタンニン酸効果の発現には、極めて温和な条件で赤血球のタンニン酸処置を行うことが必要であつて、過激な処置は却つて効果の減殺を招くものであることを示すものである。従つて、これ等の事実から Streptolysin S 溶血に対するタンニン酸効果が、赤血球表面の極く表在性の侵

蝕によつて生じた構造変化に基づくものであらうことが想像される。更にタンニン酸効果が条件によつては溶血作用の遅延として現われることから、タンニン酸処置によつて生じた血球表面の構造変化が、細胞膜の透過性に影響を来し、延いては Streptolysin S の血球内侵入を妨げるのではなからうかとの推想も成り立つのである。

次に本研究に於ける重要成果として注目されるのは、Streptolysin S に対するタンニン酸効果が動物の種類によつて甚だしく異なるということである。即ち、兎に於ける如くタンニン酸処置によつて血球の Streptolysin S 感受性に殆んど影響を受けないものから、牛、羊血球の如くタンニン酸処置によつて Streptolysin S に対し完全に非溶血性となるもの、及びその中間に位する山羊、モルモット、マウス、人等の如く、哺乳動物赤血球はタンニン酸処置による Streptolysin S 感受性の影響度に於て種属によつて種々の段階のあることがわかる。この事實は、元來 Streptolysin S に対する感受性に於て平等である諸種動物血球が、タンニン酸で処置

すると俄然 Streptolysin S 感受性に於て特異な動物学的差異の現われることを示すものである。換言すれば、動物血球にはタンニン酸処置によつて露現せしめられる特有な生物学的因子 Biological Factor の存在することを、Streptolysin S の溶血作用を介して実証したものと出来る。

Ponder 等^{16), 17)}の研究によれば Saponin, Digitonin, Sodium taurocholate 等の溶血では、赤血球の抵抗度が動物の種類によつて多少相違する処があるとせられているが、その原因について諸説があつて明らかではない。然るに Streptolysin S 溶血では、元來動物の種類によつて赤血球の抵抗性に差異がないにも拘らず¹¹⁾、タンニン酸処置を施すと赤血球の感受性が動物の種類によつて顯著に異つてくること、而も Saponin 溶血に対しては血球のタンニン酸処置効果が認められないこと、に徴しても Streptolysin S が上記の溶血剤等と、その溶血機序に於て大いに趣きを異にする処のあることを示すものといえよう。

結 語

1. 赤血球を低温下短時間タンニン酸で処置すると、その Streptolysin S に対する感受性の低下を来し、血球は Streptolysin S に対し非溶血性となる。

2. Streptolysin S に対するタンニン酸処置運動効果に対する諸種条件（温度、時間、pH、濃度等）の影響について検討した。

3. 諸種動物赤血球について、Streptolysin S に対するタンニン酸効果を比較検討して、

タンニン酸効果は、

- (a) 牛、羊、山羊血球では最も顯著であり、
- (b) 兎血球では全く認められない、
- (c) その他の動物（モルモット、マウス、人、犬）では多少なりとも認められた。

4. Streptolysin S 溶血に対するタンニン酸効果の機序並びに生物学的意義について考察を加えた。

文 献

- 1) Okamoto, H. : Japan. J. Med. Science, IV. Pharmacology, 12, 167, 1940. 2)
- 岡本肇 : 細菌学の新領域, 106, 1953. 3)
- Bernheimer, A. W. and Rodbart, M. : J.

- Exp. Med., 88, 149, 1948. 4) 伊藤亮 :
- 日本薬物学雑誌, 28, 41, 1940. 5) 伊藤
- 亮 : 日本薬物学雑誌, 30, 124, 1940. 6)
- 大西淳 : 金大結研年報, 10(下), 37, 1952.

- 7) 宮地知男 : 金大結研年報, 11(下), 237, 1953.
- 8) Bernheimer, A. W. : J. Exp. Med., 90, 373, 1949. 9) Rosendal, K. and Bernheimer, A. W. : J. Immunol., 68, 53, 1952.
- 10) Okamoto, H., Kyoda, S. and Ito, R. : Japan. J. Med. Science, IV. Pharmacology, 14, 99, 1941. 11) 京田進 : 日本薬物学雑誌, 31, 171, 1942. 12) Reiner, L. and Fischer, O. : Z. Z. Immunitätsforsch., 61, 317, 1929. 13) Freund, J. : Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 26, 876, 1929.
- 14) Freund, J. : J. Immunol., 21, 127, 1931.
- 15) Boyden, S. V. : J. Exp. Med., 93, 107, 1951. 16) Ponder, E., Saslow, G., and Yeager, J. F. : Biochem. J., 24, 805, 1930.
- 17) Ponder, E. : Physiol. Rev., 16, 19, 1936.

Table 1. Effect of Tannic Acid Treatment of Erythrocytes on the Susceptibility to Streptolysin S

Guinea pig's red cells were treated with tannic acid in ice water for 15 minutes.

Erythrocytes		Hemolytic titration										
		Time hr.	Dilutions of streptolysin S									
			1: 100,000	1: 200,000	1: 500,000	1: 1 mill	1: 2 mill	1: 5 mill	1: 10 mill	1: 20 mill	1: 50 mill	
Treated with tannic acid of	1: 5,000	0.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		24	+	±	-	-	-	-	-	-	-	-
	1: 20,000	0.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		2	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		24	≡	±	±	-	-	-	-	-	-	-
	1: 100,000	0.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		1	≡	+	-	-	-	-	-	-	-	-
		2	≡	≡	±	+	±	-	-	-	-	-
		24	≡	≡	≡	≡	±	+	±	-	-	-
	1: 500,000	0.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		1	≡	≡	±	-	-	-	-	-	-	-
		2	≡	≡	≡	≡	±	+	-	-	-	-
		24	≡	≡	≡	≡	≡	±	+	±	-	-
Control	0.5	±	+	-	-	-	-	-	-	-	-	
	1	≡	≡	≡	±	+	-	-	-	-	-	
	2	≡	≡	≡	≡	±	+	±	-	-	-	
	24	≡	≡	≡	≡	≡	±	+	±	-	-	

≡, complete hemolysis; -, no hemolysis; ±, +, ±, ≡, partial hemolysis.

Table 2. Effect of Tannic Acid Treatment of Erythrocytes on Streptolysin S Hemolysis

Guinea pig's red cells were treated with tannic acid at 37°C. for 30 minutes.

Erythrocytes		Dilutions of streptolysin S								
		1: 100,000	1: 200,000	1: 500,000	1: 1 mill	1: 2 mill	1: 5 mill	1: 10 mill	1: 20 mill	1: 50 mill
Treated with tannic acid of	1: 2,000	##	##	##	++	+	-	-	-	-
	1: 5,000	##	##	##	++	-	-	-	-	-
	1: 10,000	##	##	+	-	-	-	-	-	-
	1: 20,000	##	##	++	-	-	-	-	-	-
	1: 50,000	##	##	##	##	++	+	-	-	-
	1: 100,000	##	##	##	##	++	+	++	-	-
	1: 200,000	##	##	##	##	##	++	+	++	-
Control		##	##	##	##	##	++	+	++	-

Table 3. Tannic Acid Treatment of Erythrocytes at Different Temperatures

Red cells		Dilutions of streptolysin S								
		1: 100,000	1: 200,000	1: 500,000	1: 1 mill	1: 2 mill	1: 5 mill	1: 10 mill	1: 20 mill	1: 50 mill
Treated with tannic acid at	5°C.	##	##	+	-	-	-	-	-	-
	28°C.	##	##	##	##	++	+	-	-	-
	37°C.	##	##	##	##	++	++	-	-	-
Control		##	##	##	##	##	++	+	++	-

Table 4. Tannic Acid Treatment of Erythrocytes for Varying Lengths of Time

Erythrocytes		Dilutions of streptolysin S								
		1: 100,000	1: 200,000	1: 500,000	1: 1 mill	1: 2 mill	1: 5 mill	1: 10 mill	1: 20 mill	1: 50 mill
Treated with tannic acid at 5°C for	10 min.	##	++	-	-	-	-	-	-	-
	30 min.	##	++	+	-	-	-	-	-	-
	60 min.	##	##	++	-	-	-	-	-	-
	3 hr.	##	##	+	-	-	-	-	-	-
	6 hr.	##	##	##	+	-	-	-	-	-
	24 hr.	##	+	-	-	-	-	-	-	-
Control		##	##	##	##	##	++	+	++	-

Table 5. Effect of pH on the Preparation of Erythrocytes Treated with Tannic Acid

pH of medium	Red cells	Dilutions of streptolysin S								
		1: 100,000	1: 200,000	1: 500,000	1: 1 mill	1: 2 mill	1: 5 mill	1: 10 mill	1: 20 mill	1: 50 mill
7.6	Control	###	###	###	###	###	##	+	±	-
	TA-treated	###	##	+	-	-	-	-	-	-
7.4	Control	###	###	###	###	###	##	++	+	±
	TA-treated	###	++	-	-	-	-	-	-	-
7.1	Control	###	###	###	###	##	++	+	±	-
	TA-treated	###	###	+	-	-	-	-	-	-
7.0	Control	###	###	###	###	###	##	++	+	-
	TA-treated	###	##	±	-	-	-	-	-	-

Table 6. Effect of Washing on the Preparation of Erythrocytes Treated with Tannic Acid

Erythrocytes		Dilutions of streptolysin S								
		1: 100,000	1: 200,000	1: 500,000	1: 1 mill	1: 2 mill	1: 5 mill	1: 10 mill	1: 20 mill	1: 50 mill
Washing after TA-treatment	3 times	###	+	-	-	-	-	-	-	-
	5 times	###	++	-	-	-	-	-	-	-
	7 times	###	###	+	-	-	-	-	-	-
	10 times	###	###	±	-	-	-	-	-	-
Control		###	###	###	###	##	++	+	-	-

	Treated with TA of	Guinea pig								
		1: 5,000	卍	卍	一	一	一	一	一	一
	1:10,000	卍	卍	一	一	一	一	一	一	
	1:20,000	卍	卍	+	一	一	一	一	一	
	1:50,000	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	
	Control	卍	卍	卍	卍	卍	卍	+	卍	一
	Treated with TA of	Mouse								
		1: 5,000	卍	卍	卍	卍	一	一	一	一
	1:10,000	卍	卍	卍	卍	一	一	一	一	
	1:20,000	卍	卍	卍	卍	+	一	一	一	
	1:50,000	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	
	Control	卍	卍	卍	卍	卍	卍	+	卍	一
	Treated with TA of	Man								
		1: 5,000	卍	卍	卍	卍	+	一	一	一
	1:10,000	卍	卍	卍	卍	一	一	一	一	
	1:20,000	卍	卍	卍	卍	+	一	一	一	
	1:50,000	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	
	Control	卍	卍	卍	卍	卍	卍	+	卍	一
	Treated with TA of	Dog								
		1: 5,000	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍
	1:10,000	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	
	1:20,000	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	
	1:50,000	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	
	Control	卍	卍	卍	卍	卍	卍	+	卍	一
	Treated with TA of	Rabbit								
		1: 5,000	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍
	1:10,000	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	
	1:20,000	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	
	1:50,000	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	
	Control	卍	卍	卍	卍	卍	卍	+	卍	一