

岡山醫學會雜誌

第67卷6号 (第716号)

昭和30年6月30日発行

616.981.714

「馬宿病」に関する研究

第一編

弱毒化恙虫病毒の免疫原性に関する研究

岡山大学医学部細菌学教室 (主任: 村上 栄教授)

専攻生 三 木 周 平

(昭和30年5月5日受稿)

論文目次

緒言

I 実験材料と方法

1. 牛胆汁による実験材料と方法
2. 胆汁酸による実験材料と方法

II 実験成績

1. 牛胆汁による実験
 - A. 鼠系IV株病毒による実験成績
 - 1) 牛胆汁を 10^{-2} 稀釈鼠系IV株病毒に作用させた実験
 - 2) 牛胆汁を 10^{-3} 稀釈鼠系IV株病毒に作用させた実験
 - B. 七島株病毒による実験成績
 - 1) 牛胆汁を 10^{-2} 稀釈七島株病毒に作用させた実験
 - 2) 牛胆汁を 10^{-3} 稀釈七島株病毒に作用させた実験
 - C. 大関株病毒による実験成績

- 1) 牛胆汁を 10^{-2} 稀釈大関株病毒に作用させた実験

- D. 罹患ハツカネズミ脳の保有病毒量の均一性の吟味

- E. 交叉感染試験

- 1) 減毒鼠系IV株病毒免疫群による実験

- 2) 減毒七島株病毒免疫群による実験

- 3) 減毒大関株病毒免疫群による実験

2. 胆汁酸による実験

- 1) Natrium desoxycholicum による実験

- 2) Natrium cholicum による実験

総括並に考按

結 論

文 献

緒言

戦後、日本における Rickettsia (以下 R と

略記する) 症の研究には、目ざましいものがある。所謂、古典的恙虫病の外に、異所性恙虫病の概念で抱括され、冬型で、かつ軽症性

である、富士山麓、伊豆七島等におけるもの他、同僚丸岡（昭30）と軒原（昭30）が明らかにした、香川県に存在する「馬宿病」も、異所性恙虫病に編入せられるべきものではあるが、これは夏型であり、加之、重症型であるとの新しい事実について立証した。引つづき、日本の各地区における恙虫病の淫浸の度合が漸次明らかにされてくるものと期待されるが、各地で分離される恙虫病Rが、相互に如何なる関係にあるか、殊に、古典的恙虫病Rとの関係を明らかにすることができれば、本症の疫学の解明に、新しい分野が開拓されることになるにも拘らず、恙虫病Rの同定についての免疫実験は、一般Virusのそれと異り、ひろく是認される程の一定の方法が確定されていない。各地でなされた恙虫病Rの分離も、単に恙虫病毒群に属するか否かの判定にとどまり、既知の恙虫病R株との微細な抗原構造の相違性乃至相似性については、未だそれを究めるべき基本的な実験方法が解決されていないともいえる。川村（昭28）は、Virusの同定と抗原分析に好んで使用される、交叉免疫試験と、交叉中和試験を以てしては、現在のR学では、恙虫病R間の異同を論ずるのは、当を得ないとみており、その理由として、

1. 感染ハツカネズミの免疫成立中に、常に脾に免疫に用いたRが証明され、攻撃に耐えたものも、程度の差こそあれ、かつ適当の時期に開腹すれば、軽度の腹膜炎症状が毎常認められ、腹膜塗抹標本上Rが陽性であると。
2. 又、中和試験の場合、常に必ずしもえられる成績は一定でなく、かつ生存ハツカネズミの脾に殆どRが証明でき、単に供試動物の生死で中和の成立は論ずることはできない、と考えているが、北岡（昭28）は、反之、交叉免疫試験は、恙虫病Rの抗原分析には余り適しないが、交叉中和試験は、恙虫病R株抗原分析に役立つものとみ、Smadel（1946）の見解に略一致している。然るに同僚小野は、交叉感染試験にせよ、交叉中和試験にせよ、ハツカネズミの生体内におけるRの増殖、発

症と、発症死との間には、その回帰直線の方
向係数は同じであるが、位置係数をのみ異にする所謂平行関係が成立するのを見、抗原抗体の中和関係を、また、生体内での免疫の程度を、供試動物の生死を以て判断しても、誤りのないことを立証し、発症と、死亡の概念上の混乱から、事実に対する観点の混同を避けて判断すべきであるとしている。

一般にVirusが供試動物の体内に接種された場合の運命は、複雑であり、病毒の生死は勿論、病原性と免疫性の解析と、多岐の感染経路によつて、個体全体としての免疫の成立の他に、好んで免疫が成立つ組織部位の分析が必要である。Rの感染による免疫性は、供試動物の血中の中和抗体によつて代表される。抗体の作用をうけるRが感染を惹起しないものであり、あたかも、病毒抗毒素の関係にも比すべきであるが、攻撃のための再接種に際し、病毒と中和抗体の接触の程度如何によつて、供試動物の免疫性に種々の段階が生ずる。ハツカネズミに恙虫病Rを接種すれば、その体内に永く病毒が保有され、殊にその程度は脾に著しいことは、多くの研究者の認めるところであり、また、感染の持続中に、再感染に対し免疫性を発することも、汎く認められる事実であるが、恙虫病Rの実験に好んで供されるハツカネズミは、その病毒に対する感受性において、個体差が、かなり著しいと考えられている。恙虫病々毒に関しての、現段階における、交叉免疫試験に際し、免疫完了後に、所要の匹数のハツカネズミを、所要日数の間生存させることに、困難を感じる場合が多いが、そのために供試病毒の免疫の成立のための最小量が使用されるように、努力されて来たに過ぎない。

感染により、それが潜在性に経過し、しかも、充分免疫性を賦与させるための工夫がなされるとすれば、弱毒病毒の使用が考えられる。この方法による免疫が成功するためには、弱毒病毒株の撰択が緊要であり、人工的弱毒変異病毒株の工夫とともに、物理的或は、化学的方法によつて、病毒の感染性を減弱せし

め、是等の病毒を使用する潜伏性免疫の方法が考えられる。感染のために充分の病毒を供し、しかも感染経過を延引して、組織免疫を高めるための努力が成功すれば、恙虫病Rの免疫試験を、確実な方法にまで引あげることができることになるであろう。今Rの弱毒化に関する先人の業績を拾えば、Laigret, Nicolle (1935), John P. Fox (1947), 川村 (昭19), 福住 (昭29) 等は稀釈、乾燥、紫外線照射、薬物添加等により弱毒化を企図し、原生病毒による免疫との相違、或は弱毒病毒接種により成立した免疫の程度を検し、更には抗原構造の差異判定のための交叉免疫試験等にまで研究が進められたが、その何れもが、所期の目的を達していない。

Blanc (1935) の胆汁減毒ワクチンもまた、この意図のもとに作られたものである。即ちBlancがR. mooseri (以下R. m. と略記) 生病毒に牛胆汁を添加することにより、これを弱毒化し、海狸におけると同様、人においても、感染症状を発現することなく、免疫を獲得せしめうることを証明し、川村、長野等 (昭19) も鼠型発疹熱病毒、R. m. の胆汁加ワクチンを作り、動物実験及び人体実験を行い、胆汁を添加しない生菌ワクチンより、副作用が遙に少いことを報告している。

胆汁乃至胆汁酸の微生物に対する作用、特に、胆汁のR. m. に対する作用は、病毒を部分的に破壊し、それを永久的に変異させるものでなく、胆汁が病毒の周囲を包圍して、血行中に吸収されるのを抑制しようとする生化学的現象であるとBlancは述べている。

著者は、牛胆汁と胆汁酸を恙虫病Rに、如何なる条件を以て作用せしめれば、供試ハツカネズミを致死せしめることなく、高度の免疫性を賦与せしめうるかについて研究を行い、免疫原性をよく保有する弱毒病毒化に成功し、こゝに、恙虫病Rに関する免疫反応に資すべき、重要な知見を得たので、報告する次第である。

I 実験材料と方法

1. 牛胆汁による実験材料と方法

牛胆汁 健全なる牛から得た胆嚢より、無菌的に胆汁を採取し、少量宛試験管に分注し、100°C、15分宛3回、間歇滅菌したものを冷蔵し、用際のぞみ、生食水で稀釈して使用した。

供試動物 牛胆汁処理病毒の接種実験には、体重が13~15gのハツカネズミを供した。

病毒 牛胆汁に処理される病毒株として、同僚丸岡が香川県において鼠から、分離同定した、恙虫病Rである鼠系IV株と、既知の大関株並に七島株を供した。

実験方法 減毒のための病毒には、ハツカネズミの臓器腹腔系伝達によつて累代された、鼠系IV株、大関株と七島株病毒による罹患ハツカネズミの脳を供し、これの混合乳剤を1500R. P. M. の速度で5分間処理した上清を使用し又、攻撃のためには、罹患ハツカネズミの肝と脾の混合乳剤を供した。なお、供試病毒の調製毎に、ハツカネズミについて、感染試験を行い、感染病毒材料の最小感染量が検べられた。牛胆汁は、1%、3%、5%に稀釈し、各濃度の牛胆汁に同量の、 10^{-2} 、 10^{-3} 稀釈の病毒材料を混じ、10分、20分、30分間、4°Cに置いた後、それぞれの牛胆汁作用時間毎の、各胆汁濃度別に、夫々0.2cc宛150匹宛のハツカネズミの皮下に注射した。なお、免疫のための病毒材料については、毎常二分して、牛胆汁処理病毒と未処理病毒の同一稀釈、その同一量を、ハツカネズミに接種し、免疫のための病毒注射による発症致死の状態を、65日間に互つて比較観察した。

牛胆汁処理病毒、並に未処理病毒を接種された供試ハツカネズミは、病毒注射の概ね65日目に、大関株、七島株並に鼠系IV株の罹患ハツカネズミの肝脾混合の 10^{-2} 稀釈乳剤を以て、腹腔内に0.3m. l. 宛接種攻撃し、発症致死の有無が20日間に互つて観察された。

2. 胆汁酸による実験材料と方法

胆汁酸 石津製のコール酸ナトリウム

(Natrium cholicum) を $10^{-4.5}$, 10^{-5} , $10^{-5.5}$ に稀釈し, ス, デスオキシコール酸ナトリウム (Natrium desoxycholicum) を 10^{-4} , $10^{-4.5}$, 10^{-5} に稀釈し, 病毒材料と同量に混じて, 所要時間作用せしめた.

病毒 恙虫病Rである鼠系IV株, 大関株並に七島株病毒を供し, 減毒病毒材料としては, 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} 稀釈の罹患ハツカネズミの脳乳剤の上清を供した.

実験方法 牛胆汁における実験と同じく, 病毒材料は2分し, 一方に胆汁酸塩を30分間作用せしめた. 未処理病毒と処理病毒は同一濃度のものを, 同数のハツカネズミの皮下に0.2ml 接種して, 60日間に互り, 致死の有無が比較観察され, 生存した供試動物には, 10^{-2} に稀釈された大関株, 七島株並に鼠系IV株の病毒材料を, 0.3ml 宛, 腹腔内に接種し,

発症の有無が観察され, 記録された. この実験のためには, 病毒の稀釈別毎に, 50匹宛のハツカネズミが供された.

II 実験成績

1. 牛胆汁による実験

A. 鼠系IV株病毒による実験

1) 牛胆汁を 10^{-2} 稀釈鼠系IV株病毒に作用させた実験

1%牛胆汁を10分間鼠系IV株病毒に作用させた実験

牛胆汁を1%の割に, 生食水で稀釈し, これと同量の, 鼠系IV株病毒感染ハツカネズミの 10^{-2} 稀釈脳乳剤を混じ(以下処理病毒という), 4°C において10分間作用させ, これを150匹のハツカネズミの皮下に0.2ml 宛接種し, その成績を表1に示した.

表 1. 1%牛胆汁を10分間鼠系IV株病毒に作用させた実験

病毒の濃度 (10^{-N})	胆汁の濃度 (%)	作用時間 (分)	致 死	(観察期間 65日)
鼠 系 IV 株	1	10	●●●●●●●●●●	●●●●●●●●●●
10^{-2} 稀 釈			●●●●●●●●●●	●●●●●●●●●●
LD ₅₀ = $10^{-6.15}$			●●●◎◎◎◎◎◎◎	◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎
			◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎	◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎
			◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎	◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎
			◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎	◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎
			◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎	◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎
	○◎◎◎◎◎◎◎◎◎	○◎◎◎◎◎◎◎◎◎		
	○◎◎◎◎◎◎◎◎◎	○◎◎◎◎◎◎◎◎◎		

●注射後5日以内に致死したもの, を示す
◎観察期間中に発症致死したもの, を示す
○生き残り攻撃実験に供したものを, を示す

即ち, 胆汁処理病毒の注射後, 5日以内に斃死したものは, $43/150$ に達し, 観察期間を経過し, なお生存するものは, $20/150$ であつた.

処理病毒注射の6日以後に致死したものについては, その都度, 数匹のもの肝と脾を混じ, その 10^{-1} 稀釈乳剤0.4mlを健康ハツカネズミの腹腔内に接種し, 供試ハツカネズミの腹腔内に恙虫病Rが復元出現するかをしらべ, その成績を表2に示した.

実験1では, 第2代目より, 定型的な発症と, 腹膜塗抹標本よりRを認めることができ,

実験2では, 腹腔伝達系の第4代目に, 実験の3と4とでは, 初代から既にRを確認することができた.

即ち, 10^{-2} 稀釈の病毒材料に1%胆汁を同量に加え, 10分間作用せしめた場合, 果して, 未処理病毒の場合の感染発症死と如何なる相違があるかについては, 表3の如く,

1%胆汁処理病毒群では, 65日の観察期間中に $130/150$ が致死し, 同一病毒の未処理のものを 4°C に30分保存し皮下に注射した場合には, 同じ期間中に $37/50$ が致死しており, この両者には何等有意の差が認められず, 1%の

表 5. 5%牛胆汁を10分間鼠系IV株病毒に作用させた実験

病毒の濃度 (10 ^{-N})	胆汁の濃度 (%)	作用時間 (分)	致 死 (観察期間 65日)
鼠 系 IV 株	5	10	●●●●●●●●●●◎◎ ◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎
10 ⁻² 稀 釈			◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎ ◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎
LD ₅₀ = 10 ^{-6.15}			◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎ ◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎
			◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎ ◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎
			◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎ ◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎
			◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎ ◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎
			◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎ ◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎

表 6. 1%牛胆汁を20分間鼠系IV株病毒に作用させた実験

病毒の濃度 (10 ^{-N})	胆汁の濃度 (%)	作用時間 (分)	致 死 (観察期間 65日)
鼠 系 IV 株	1	20	●●●●●●◎◎◎◎◎◎ ◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎
10 ⁻² 稀 釈			◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎ ◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎
LD ₅₀ = 10 ^{-6.15}			◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎ ◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎
			◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎ ◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎
			◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎ ◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎
			◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎ ◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎
			◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎ ◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎

即ち、観察期間中に致死したものは、68/150 であり、供試動物の約55%が生存したことになる。

この実験において、致死したハツカネズミの数匹宛を混じ、その肝脾の混合乳剤を、健康ハツカネズミの腹腔内に接種し、腹腔系伝達によつて、恙虫病Rの復元分離を行つたが、表7の如く、

何れの実験においても、初代乃至3代目に、供試ハツカネズミの腹腔塗抹標本より、Rを証明することができた。

3%牛胆汁を20分間鼠系IV株病毒に作用させた実験

3%牛胆汁を、10⁻²稀釈の鼠系IV株病毒に、4°Oにおいて20分間作用せしめた場合の成績は、表8に示された。

処理病毒を接種後、65日間に致死したものは、66/150と記録され、そのうち3匹は、病毒接種の後5日以内に死亡している。従つて、生存するものは84/150であり、総数の56%に相当する。

表 7. 復元試験

実験別	世 代			
	I	II	III	IV
1	◎ ¹⁵ R(+)	◎ ¹⁰ R(+)		
	◎ ¹⁹ R(+)	◎ ¹² R(+)		
	○ ²⁵ R(-)	◎ ¹³ R(+)		
2	○ ²⁰ R(-)	◎ ¹⁵ R(-)	◎ ¹⁴ R(+)	
	○	◎ ¹⁷ R(-)	◎ ¹⁴ R(±)	
	○	◎ ¹⁷ R(-)	○	
3	○ ²⁰ R(-)	◎ ¹⁷ R(+)		
	○ ²⁰ R(-)	◎ ¹⁷ R(+)		
	○ ²⁰ R(-)	◎ ¹⁹ R(+)		
4	◎ ¹³ R(+)	◎ ⁹ R(+)		
	◎ ¹⁴ R(+)	◎ ¹¹ R(+)		
	○	◎ ¹¹ R(+)		

表 8. 3%牛胆汁を20分間鼠系IV株ウイルスに作用させた実験

ウイルスの濃度 (10 ^{-N})	胆汁の濃度 (%)	作用時間 (分)	致 死	(観察期間 65日)
鼠系IV株	3	20	●●●○○○○○○○○	○○○○○○○○○○○○
10 ⁻² 稀 釈			○○○○○○○○○○○○	○○○○○○○○○○○○
LD ₅₀ = 10 ^{-6.15}			○○○○○○○○○○○○	○○○○○○○○○○○○
			○○○○○○○○○○○○	○○○○○○○○○○○○
			○○○○○○○○○○○○	○○○○○○○○○○○○
			○○○○○○○○○○○○	○○○○○○○○○○○○
			○○○○○○○○○○○○	○○○○○○○○○○○○
			○○○○○○○○○○○○	○○○○○○○○○○○○

表 9. 復元試験

実験別	世 代			
	I	II	III	IV
1	⊙ ¹³ R(+)			
	⊙ ¹⁵ R(+)			
	⊙ ¹⁵ R(+)			
2	○ ²⁰ R(-)	⊙ ¹¹ R(+)	⊙ ⁸ R(+)	
	○ ²⁰ R(-)	⊙ ¹¹ R(+)	⊙ ¹¹ R(+)	
	○ ²⁰ R(-)	○	⊙ ¹⁵ R(+)	
3	○ ¹⁰ R(-)	⊙ ¹⁰ R(+)	⊙ ¹¹ R(+)	
	○ ¹⁰ R(-)	○	○ ¹⁴ R(+)	
	○ ¹⁰ R(-)	○	○ ¹⁵ R(+)	

なお、致死した供試動物よりするRの復元試験は、健康ハツカネズミの腹腔内伝達によつて検べられたが、表9の如く、何れの肝脾混合の材料からも、Rを証明することができた。

5%牛胆汁を20分間鼠系IV株ウイルスに作用させた実験

5%牛胆汁と、10⁻²稀釈鼠系IV株ウイルスを等量に混じ、20分間に互り、4°Cで牛胆汁を作用せしめたウイルスの皮下注射による発症致死の成績は表10に示された。

150匹の供試ハツカネズミは、処理ウイルス注射後65日間観察され、この間に致死したものは21/150であつた。即ち、生存しつゞけたものは、86%に達した。

なお、致死した供試動物からするRの復元試験が、腹腔系伝達によつて確かめられ、そ

表 10. 5%牛胆汁を20分間鼠系IV株ウイルスに作用させた実験

ウイルスの濃度 (10 ^{-N})	胆汁の濃度 (%)	作用時間 (分)	致 死	(観察期間 65日)
鼠系IV株	5	20	●●●●●○○○○○○	○○○○○○○○○○○○
10 ⁻² 稀 釈			○○○○○○○○○○○○	○○○○○○○○○○○○
LD ₅₀ = 10 ^{-6.15}			○○○○○○○○○○○○	○○○○○○○○○○○○
			○○○○○○○○○○○○	○○○○○○○○○○○○
			○○○○○○○○○○○○	○○○○○○○○○○○○
			○○○○○○○○○○○○	○○○○○○○○○○○○
			○○○○○○○○○○○○	○○○○○○○○○○○○
			○○○○○○○○○○○○	○○○○○○○○○○○○

の何れのウイルス材料からも、表11の如く、Rが検出された。

1%牛胆汁を30分間鼠系IV株ウイルスに作用させた実験

1%牛胆汁と、10⁻²稀釈鼠系IV株ウイルスを等量に混合し、30分間牛胆汁を作用させたウイルスの発症致死成績は、表12に示された。150匹の供試ハツカネズミの皮下に、0.2ml宛処理

表 11. 復元試験

実験別	世 代			
	I	II	III	IV
1	○ ¹⁰ _{R(-)} ○ ¹⁰ _{R(-)} ○ ¹⁰ _{R(-)}	◎ ⁹ _{R(+)} ◎ ¹⁴ _{R(+)}		
2	◎ ¹¹ _R ○ ○	◎ ¹⁰ _{R(+)} ◎ ¹³ _{R(+)} ◎ ¹⁷ _{R(-)}		
3	◎ ¹⁰ _{R(-)} ◎ ¹⁰ _{R(-)} ◎ ¹⁰ _{R(-)}	◎ ¹¹ _{R(+)} ◎ ¹¹ _{R(+)} ◎ ¹⁴ _{R(+)}		

ウイルスを注射し、65日間観察し、致死した動物を記録すると共に、表13の如く、Rの分離がなされた。

即ち、150匹の供試ハツカネズミのうち、注射後65日の間に、致死したものは¹³/₁₅₀であり、うち9匹は、ウイルス注射後の5日以内に致死したものである。

また、皮下に処理ウイルスを注射し、致死したものについてのRの分離実験は、健康ハツカネズミの腹腔内伝達により、累代することにより行われたが、各実験群共に、供試動物の腹腔よりRを検出することができた。

3%牛胆汁を30分間鼠系IV株ウイルスに作用させた実験

3%牛胆汁を、 10^{-2} 稀釈の鼠系IV株に、30分間作用させた時の、処理ウイルスの発症致死成

表 12. 1%牛胆汁を30分間鼠系IV株ウイルスに作用させた実験

ウイルスの濃度 (10^{-N})	胆汁の濃度 (%)	作用時間 (分)	致 死 (観察日数 65日)
鼠系IV株 10^{-2} 稀 釈 $LD_{50} = 10^{-6.15}$	1	30	●●●●●●●●●◎ ◎◎◎○○○○○○○○ ○○○○○○○○○○○○ ○○○○○○○○○○○ ○○○○○○○○○○○○ ○○○○○○○○○○○ ○○○○○○○○○○○○ ○○○○○○○○○○○ ○○○○○○○○○○○○ ○○○○○○○○○○○ ○○○○○○○○○○○○ ○○○○○○○○○○○ ○○○○○○○○○○○○ ○○○○○○○○○○○ ○○○○○○○○○○○○ ○○○○○○○○○○○

表 13. 復元試験

実験別	世 代			
	I	II	III	IV
1	◎ ¹⁰ _{R(-)} ○ ¹⁰ _{R(-)}	◎ ¹³ _{R(±)} ◎ ¹⁵ _{R(-)} ◎ ¹⁵ _{R(±)}	◎ ¹¹ _{R(+)} ◎ ¹² _{R(+)} ◎ ¹⁵ _{R(+)}	
2	◎ ¹⁵ _{R(-)} ◎ ¹⁵ _{R(-)}	◎ ¹⁵ _{B(+)} ○ ²⁰ _{R(±)}		

5日以内に死亡した。致死した供試動物について、抽出的に肝脾を混合し、健康ハツカネズミの腹腔内に接種し、腹腔系伝達により、Rの復元確認に努めたが、実験に供した何れの接種材料についても、表15の如くRを検出することが出来た。

5%牛胆汁を30分間鼠系IV株ウイルスに作用させた実験

5%牛胆汁を30分に互り、鼠系IV株の 10^{-2} 稀釈ウイルスに作用させた時の、該ウイルスの発症致死成績については、表16に示す如く、供試動物150匹のうち致死したものは²³/₁₅₀であった。

績を表14に示した。

150匹の供試動物において、致死したものは¹⁹/₁₅₀であり、そのうち11匹はウイルス注射後、

表 14. 3%牛胆汁を30分間鼠系IV株病毒に作用させた実験

病毒の濃度 (10 ^{-N})	胆汁の濃度 (%)	作用時間 (分)	致 死	(観察期間 65日)
鼠系IV株	3	30	●●●●●●●●●●	●◎◎◎◎◎◎◎◎◎
10 ⁻² 稀釈			○○○○○○○○○○	○○○○○○○○○○
LD ₅₀ = 10 ^{-6.15}			○○○○○○○○○○	○○○○○○○○○○
			○○○○○○○○○○	○○○○○○○○○○
			○○○○○○○○○○	○○○○○○○○○○
			○○○○○○○○○○	○○○○○○○○○○
			○○○○○○○○○○	○○○○○○○○○○

表 15. 復元試験

実験別	世 代			
	I	II	III	IV
1	20 ◎ _{R(-)}	11 ◎ _{R(+)}		
	20 ◎ _{R(-)}	15 ◎ _{R(+)}		
	○ _{R(-)}	15 ◎ _{R(+)}		
2	10 ○ _{R(-)}	8 ◎ _{R(+)}	11 ◎ _{R(+)}	
	10 ○ _{R(-)}	13 ◎ _{R(-)}	13 ◎ _{R(+)}	
	10 ○ _{R(-)}	○	18 ◎ _{R(+)}	

発症致死率の吟味

10⁻²稀釈鼠系IV株に、胆汁の各濃度を、10, 20, 30分間作用させ、これをハツカネズミの皮下に注射した場合の致死率を比較するために、表17の如くに整理した。

即ち、胆汁について、夫々、10, 20, 30分作用させた病毒の実験群を A₁ A₂.....A₉ と示し、組わけし、括弧内に期待値を記入した。各実験群の標本致死率の背後にある標本致死率 P₁P₂.....P₉ が悉く等しいことを仮説として吟味すれば

$$\chi^2_3 = 560 \quad \text{となる。}$$

表 16. 5%牛胆汁を30分間鼠系IV株病毒に作用させた実験

病毒の濃度 (10 ^{-N})	胆汁の濃度 (%)	作用時間 (分)	致 死	(観察期間 65日)
鼠系IV株	5	30	●●●●●●◎◎◎◎	◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎
10 ⁻² 稀釈			◎◎◎○○○○○○○○	○○○○○○○○○○
LD ₅₀ = 10 ^{-6.15}			○○○○○○○○○○	○○○○○○○○○○
			○○○○○○○○○○	○○○○○○○○○○
			○○○○○○○○○○	○○○○○○○○○○
			○○○○○○○○○○	○○○○○○○○○○
			○○○○○○○○○○	○○○○○○○○○○

表 17. 推計学的吟味

	A ₁	A ₂	A ₃	A ₄	A ₅	A ₆	A ₇	A ₈	A ₉	
死	130 (65.45)	138 (〃)	117 (〃)	68 (〃)	66 (〃)	21 (〃)	13 (〃)	19 (〃)	23 (〃)	595
生	20 (84.55)	12 (〃)	33 (〃)	82 (〃)	84 (〃)	129 (〃)	137 (〃)	131 (〃)	127 (〃)	755
	150	150	150	150	150	150	150	150	150	1350

自由度を n=8 と決め、それに対する Pr {χ² > 20.090} = 0.01 であることから、

等百分率の仮説は否定できる。

2) 牛胆汁を10⁻³稀釈鼠系IV株病毒に作

用させた実験

1%牛胆汁を10分間鼠系IV株ウイルスに作用させた実験

10⁻³ に希釈された鼠系IV株ウイルスに、1%牛胆汁を同量に加え、10分間、4°Cにおいて作用させた。処理されたウイルスは、150匹のハツカネズミの皮下に0.2ml宛注射され、65日間

に互つて、観察がつけられた。

この実験には、前項の実験に供した、10^{-6.15}と示されるウイルスが供されている。表18に示される如く、供試動物のうち、¹³³/₁₅₀が致死し、うち12匹が、処理ウイルス注射後の5日以内に致死したものである。

表 18. 1%牛胆汁を10分間鼠系IV株ウイルスに作用させた実験

ウイルスの濃度 (10 ^{-N})	胆汁の濃度 (%)	作用時間 (分)	致 死 (観察期間 65日)
鼠 系 IV 株	1	10	●●●●●●●●●● ●●○○○○○○○○○○
10 ⁻³ 稀 釈			○○○○○○○○○○○○
LD ₅₀ = 10 ^{-6.15}			○○○○○○○○○○○○
			○○○○○○○○○○○○
			○○○○○○○○○○○○
			○○○○○○○○○○○○
			○○○○○○○○○○○○
			○○○○○○○○○○○○

3%牛胆汁を10分間鼠系IV株ウイルスに作用させた実験

3%牛胆汁を鼠系IV株に10分間作用させた

時の、処理ウイルスの発症致死能については、表19に示された。

表 19. 3%牛胆汁を10分間鼠系IV株ウイルスに作用させた実験

ウイルスの濃度 (10 ^{-N})	胆汁の濃度 (%)	作用時間 (分)	致 死 (観察期間 65日)
鼠 系 IV 株	3	10	●●●●●●●●○○ ○○○○○○○○○○○
10 ⁻³ 稀 釈			○○○○○○○○○○○○
DL ₅₀ = 10 ^{-6.15}			○○○○○○○○○○○○
			○○○○○○○○○○○○
			○○○○○○○○○○○○
			○○○○○○○○○○○○
			○○○○○○○○○○○○
			○○○○○○○○○○○○

即ち、供試動物のうち、観察期間中に⁸⁴/₁₅₀が致死し、うち8匹は、ウイルス注射後5日以内に致死したものである。

5%牛胆汁を10分間鼠系IV株ウイルスに作用させた実験

5%牛胆汁を、10分間鼠系IV株に作用させた成績は表20の如く、供試動物150匹につき、観察期間のうち致死したものは⁷¹/₁₅₀であり、うち12匹は、ウイルス注射後5日以内に致死したものである。

1%牛胆汁を20分間鼠系IV株ウイルスに作用さ

せた実験

1%牛胆汁を20分間、10⁻³希釈鼠系IV株ウイルスに作用させた成績は表21の如く、供試動物150匹のうち、致死したものは、⁵³/₁₅₀であり、うち7匹は、ウイルス注射後5日以内に致死している。

3%牛胆汁を20分間鼠系IV株ウイルスに作用させた実験

3%牛胆汁を20分間、10⁻³希釈の鼠系IV株ウイルスに作用させた成績は、表22に示された。即ち、供試動物150匹について、観察期間中

表 20. 5%牛胆汁を10分間鼠系IV株ウイルスに作用させた実験

ウイルスの濃度 (10 ^{-N})	胆汁の濃度 (%)	作用時間 (分)	致 死	(観察期間 65日)
鼠系IV株	5	10	●●●●●●●●●●	●●●●●●●●●●
10 ⁻³ 稀 釈			○●○●○●○●○●	○●○●○●○●○●
LD ₅₀ = 10 ^{-6.15}			○●○●○●○●○●	○●○●○●○●○●
			○●○●○●○●○●	○●○●○●○●○●
			○●○●○●○●○●	○●○●○●○●○●
			○●○●○●○●○●	○●○●○●○●○●
			○●○●○●○●○●	○●○●○●○●○●

表 21. 1%牛胆汁を20分間鼠系IV株ウイルスに作用させた実験

ウイルスの濃度 (10 ^{-N})	胆汁の濃度 (%)	作用時間 (分)	致 死	(観察期間 65日)
鼠系IV株	1	20	●●●●●●●●○●	○●○●○●○●○●
10 ⁻³ 稀 釈			○●○●○●○●○●	○●○●○●○●○●
LD ₅₀ = 10 ^{-6.15}			○●○●○●○●○●	○●○●○●○●○●
			○●○●○●○●○●	○●○●○●○●○●
			○●○●○●○●○●	○●○●○●○●○●
			○●○●○●○●○●	○●○●○●○●○●
			○●○●○●○●○●	○●○●○●○●○●

表 22. 3%牛胆汁を20分間鼠系IV株ウイルスに作用させた実験

ウイルスの濃度 (10 ^{-N})	胆汁の濃度 (%)	作用時間 (分)	致 死	(観察期間 65日)
鼠系IV株	3	20	●●●●●●●●●●	●●●●○●○●○●
10 ⁻³ 稀 釈			○●○●○●○●○●	○●○●○●○●○●
LD ₅₀ = 10 ^{-6.15}			○●○●○●○●○●	○●○●○●○●○●
			○●○●○●○●○●	○●○●○●○●○●
			○●○●○●○●○●	○●○●○●○●○●
			○●○●○●○●○●	○●○●○●○●○●
			○●○●○●○●○●	○●○●○●○●○●

に致死したものは、82/150 であり、うち13匹は、ウイルス注射後の5日以内に致死している。

5%牛胆汁を20分間鼠系IV株ウイルスに作用させた実験

5%牛胆汁を20分間に互り、10⁻³ 稀釈の鼠系IV株ウイルスに作用させた時の、処理ウイルスの発症致死能については、表23の如く、観察期間の65日の間に、致死したものは9匹にすぎず、うち4匹は、ウイルス注射後5日以内に致死したものである。

未処理鼠系IV株ウイルス接種による対照実験

LD₅₀ = 10^{-6.15} と示された、10⁻³稀釈の未処理鼠系IV株ウイルスを、4°Cに20分間放置し、50匹の健康ハツカネズミの皮下に、0.2ml 宛接種し、65日間に互つて観察し、その発症致死の状況を表24に示した。即ち、供試動物50匹のうち、観察期間のうちに、大部の42匹が致死し、生存したものは、僅か8匹にすぎない。

発症致死率の推計学的吟味

10⁻³ 稀釈鼠系IV株ウイルスに、1, 3, 5%濃度の胆汁を10分乃至20分間作用させた各供試ハ

表 23. 5%牛胆汁を20分間鼠系IV株病毒に作用させた実験

病毒の濃度 (10 ^{-N})	胆汁の濃度 (%)	作用時間 (分)	致 死 (観察期間 65日)
鼠 系 IV 株 10 ⁻³ 稀 釈 LD ₅₀ = 10 ^{-6.15}	5	20	●●●●◎◎◎◎◎◎ ○○○○○○○○○○○ ○○○○○○○○○○○ ○○○○○○○○○○○ ○○○○○○○○○○○ ○○○○○○○○○○○ ○○○○○○○○○○○ ○○○○○○○○○○○ ○○○○○○○○○○○

表 24. 未処理10⁻³稀釈鼠系IV株病毒接種による対照実験

病毒の濃度 (10 ^{-N})	胆汁の濃度 (%)	作用時間 (分)	致死 (観察期間65日)
鼠 系 IV 株 10 ⁻³ 稀 釈 LD ₅₀ = 10 ^{-6.15}	/	20	●●◎◎◎◎◎◎◎◎ ◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎ ◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎ ◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎ ◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎ ◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎

ツカネズミ群における致死率を比較するために、それぞれの実験群を A₁ A₂………A₆と表示し、未処理病毒による実験群をA₇として、表25の如く整理し、括弧内に期待値を記入した。各実験群母集団の致死率は等しいことを仮説とし、各項の期待値と実験値の差の自乗を、期待値で除したものを加え χ^2_3 を求めた。

$$\chi^2_3 = 201$$

$$n = 6 \text{ , として,}$$

表 25. 推 計 学 的 吟 味

	A ₁	A ₂	A ₃	A ₄	A ₅	A ₆	A ₇	
死	133 (72.6)	84 (")	71 (")	53 (")	62 (")	9 (")	42 (23.9)	454
生	17 (77.4)	66 (")	79 (")	97 (")	88 (")	141 (")	8 (26.1)	496
	150	150	150	150	150	150	50	950

$$\Pr \{ \chi^2 > 12.592 \} = 0.05$$

と求められ、母集団致死率が等しいとする仮説は否定できる。

要するに、牛胆汁を作用せしめることにより、鼠系IV株の病原性を減弱させることが可能であり、10⁻²稀釈病毒については、5%の牛胆汁を20分作用させるか、或は、1~5%のものを30分作用させた場合に、病原性の減弱が著しい。10⁻³稀釈の鼠系IV株の実験では、牛胆汁を10分乃至20分間作用せしめたが、5%牛胆汁を20分間、供試病毒に作用させた場合に、病原性の減弱が著しいことが認められた。

B. 七島株病毒による実験

異所性恙虫病である七島熱の病毒、大沢株を供し、牛胆汁の各濃度がこの病毒に及ぼす影響を、時間的に観察した。この実験における観察期間は65日とした。

供試七島株の最小感染量試験

牛胆汁による減毒実験に供する七島株については、罹患ハツカネズミの多数の脳を混合し、予め、病毒の最小感染量を検べるとともに、牛胆汁の作用実験をも同時に行つた。

供試七島株病毒の LD₅₀ は、表26により、10^{-6.7} と示された。

1) 牛胆汁を 10⁻² 稀釈七島株病毒に作用させた実験

表 26. 七島株脳材料の最小感染量試験

ウイルス希釈	発 症 致 死	LD ₅₀
10 ⁻³	● ● ● ● ●	10 ^{-6.7}
10 ⁻⁴	● ● ● ● ●	
10 ⁻⁵	● ● ● ● ●	
10 ⁻⁶	● ● ● ● ○	
10 ⁻⁷	● ● ○ ○ ○	
10 ⁻⁸	○ ○ ○ ○ ○	

1%牛胆汁を10分間七島株に作用させた実験

1%牛胆汁を10分間に互り、七島株ウイルスに作用させたときの、処理ウイルスのハツカネズミに対する発症致死能については、表27にその成績を示した。

即ち、観察期間のうちに致死した供試動物は 65/150 であり、うちウイルス注射の後、5日以

表 27. 1%牛胆汁を10分間七島株ウイルスに作用させた実験

ウイルスの濃度 (10 ^{-N})	胆汁の濃度 (%)	作用間時 (分)	致 死 (観察期間 65日)
七 島 株	1	10	●●●●●●●●●●◎ ◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎
10 ⁻² 稀 釈			◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎ ◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎
LD ₅₀ = 10 ^{-6.7}			◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎ ◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎
			◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎ ◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎
			◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎ ◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎
			◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎ ◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎
			◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎ ◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎
			◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎ ◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎

表 28. 3%牛胆汁を10分間七島株ウイルスに作用させた実験

ウイルスの濃度 (10 ^{-N})	胆汁の濃度 (%)	作用時間 (分)	致 死 (観察日数 65日)
七 島 株	3	10	●●●●●◎◎◎◎◎ ◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎
10 ⁻² 稀 釈			◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎ ◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎
LD ₅₀ = 10 ^{-6.7}			◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎ ◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎
			◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎ ◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎
			◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎ ◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎
			◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎ ◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎
			◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎ ◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎
			◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎ ◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎

内に致死したものは、9匹であつた。

3%牛胆汁を10分間七島株に作用させた実験

3%牛胆汁を10分間、七島株ウイルスに作用させた時の、処理ウイルスのハツカネズミに対する発症致死能については、表28に示された。

即ち、処理ウイルスを皮下に注射された150匹の供試動物のうち、56匹が観察期間のうちに致死し、うち5匹は、ウイルス注射後5日以内に致死している。

5%牛胆汁を10分間七島株に作用させた実験

5%牛胆汁を10分間にわたり、七島株ウイルスに作用させた時の、処理ウイルスの発症致死能を、150匹のハツカネズミを供してしらべ、その結果を表29に示した。即ち、皮下に処理ウイルスを注射された、150匹の供試ハツカネズミにおいて、ウイルス注射後5日目までに14匹が、観察期間中に、31匹が発症致死している。

1%牛胆汁を20分間七島株に作用させた実験

1%牛胆汁を、10⁻² 稀釈の七島株ウイルス材料に加え、20分間作用させたときの、処理ウイルスの発症致死能が、ハツカネズミ150匹の皮下

表 29. 5%牛胆汁を10分間七島株病毒に作用させた実験

病毒の濃度 (10 ^{-N})	胆汁の濃度 (%)	作用時間 (分)	致 死	(観察期間 65日)
七 島 株	5	10	●●●●●●●●●●	●●●●◎◎◎◎◎◎
10 ⁻² 稀 釈			◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎	◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎
LD ₅₀ = 11 ^{-6.7}			◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎	◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎
			◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎	◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎
			◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎	◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎
			◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎	◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎
			◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎	◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎

表 30. 1%牛胆汁を20分間七島株病毒に作用させた実験

病毒の濃度 (10 ^{-N})	胆汁の濃度 (%)	作用時間 (分)	致 死	(観察期間 65日)
七 島 株	1	10	●●●●●●●●●●	●◎◎◎◎◎◎◎◎◎
10 ⁻² 稀 釈			◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎	◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎
LD ₅₀ = 10 ^{-6.7}			◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎	◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎
			◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎	◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎
			◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎	◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎
			◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎	◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎
			◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎	◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎

に注射することによつてしらべられ、表30にその結果が示された。即ち、供試ハツカネズミのうち、処理病毒注射の5日目までに致死したものは11匹、観察期間中に発症致死したものは26匹であつた。

3%牛胆汁を20分間七島株に作用させた実験

3%牛胆汁を、七島株 10⁻² 稀釈の病毒材料に加え、20分間作用させた処理病毒の発症致死能を、150匹のハツカネズミを供し、皮下に注射することによつてしらべられた。即ち、表31の如く、処理病毒注射の後、5日までに致死したものは5匹、観察期間中に致死したものは29匹であつた。

表 31. 3%牛胆汁を20分間七島株病毒に作用させた実験

病毒の濃度 (10 ^{-N})	胆汁の濃度 (%)	作用時間 (分)	致 死	(観察期間 65日)
七 島 株	3	20	●●●●●◎◎◎◎◎	◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎
10 ⁻² 稀 釈			◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎	◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎
LD ₅₀ = 10 ^{-6.7}			◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎	◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎
			◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎	◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎
			◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎	◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎
			◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎	◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎
			◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎	◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎

5%牛胆汁を30分間七島株に作用させた実験

5%牛胆汁を、七島株の 10⁻² 稀釈病毒に加え、20分間作用させたときの、処理病毒の発症致死能が、150匹のハツカネズミの皮下に

注射することによつてしらべられ、その成績を表32に示した。即ち、処理病毒注射後5日目までに致死したものは8匹、観察期間中に発症死したものは、10匹であつた。

5%牛胆汁を30分間七島株に作用させた実験

5%牛胆汁を、 10^{-2} 稀釈の七島株病毒材料に混じ、30分間作用させた処理病毒を、150匹のハツカネズミの皮下に注射し、発症致死

の状況が観察され、その成績が表35に示された。即ち、供試動物のうち、処理病毒の注射後5日までに7匹が致死し、観察期間中には8匹が致死したにすぎない。

表 35. 5%牛胆汁を30分間七島株病毒に作用させた実験

病毒の濃度 (10^{-N})	胆汁の濃度 (%)	作用時間 (分)	致 死	(観察期間 65日)
七 島 株	5	30	●●●●●●●●●●	◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎
10^{-2} 稀 釈			○○○○○○○○○○	○○○○○○○○○○
$LD_{50} = 10^{-6.7}$			○○○○○○○○○○	○○○○○○○○○○
			○○○○○○○○○○	○○○○○○○○○○
			○○○○○○○○○○	○○○○○○○○○○
			○○○○○○○○○○	○○○○○○○○○○
			○○○○○○○○○○	○○○○○○○○○○
			○○○○○○○○○○	○○○○○○○○○○

要するに、七島株病毒を供し、各種の濃度の胆汁が、その病原性に及ぼす影響を、時間的に観察したが、七島株病毒もよく、牛胆汁によつて減毒されるものであり、 10^{-2} 稀釈病毒についての実験では、1%乃至5%のものを30分間作用させたものが、最もよく減毒され、5%のもの、20分間作用させた場合も、よく減毒作用を現わしている。

2) 牛胆汁を 10^{-3} 稀釈七島株病毒に作用させた実験

1%牛胆汁を10分間七島株に作用させた実験

七島株の 10^{-3} 稀釈病毒材料に、1%牛胆汁を等量に混和、10分間作用させた時の、処理病毒の発症致死能が、150匹のハツカネズミの皮下注射によつて検べられ、その成績を表36に示した。供試動物の $14/150$ が、処理病毒注射後5日までに致死し、観察期間中に発症致死したものは $113/150$ であつた。

表 36. 1%牛胆汁を10分間七島株病毒に作用させた実験

病毒の濃度 (10^{-N})	胆汁の濃度 (%)	作用時間 (分)	致 死	(観察期間 65日)
七 島 株	1	10	●●●●●●●●●●	●●●●◎◎◎◎◎◎
10^{-3} 稀 釈			◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎	◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎
$LD_{50} = 10^{-6.7}$			◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎	◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎
			◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎	◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎
			◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎	◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎
			◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎	◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎
			◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎	◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎
			◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎	◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎

3%牛胆汁を10分間七島株に作用させた実験

3%牛胆汁を、 10^{-3} 稀釈の七島株病毒材料に10分間作用させたときの、処理病毒は、表37の如く、150匹のハツカネズミの皮下に注射したときに、注射後5日以内に致死した7

匹を除き、 $116/150$ が発症の結果、致死している。

5%牛胆汁を10分間七島株に作用させた実験

5%牛胆汁を、10分間に互り、 10^{-3} 稀釈の七島株病毒材料に作用させたときの、処理病

表 37. 3%牛胆汁を10分間七島株ウイルスに作用させた実験

ウイルスの濃度 (10 ^{-N})	胆汁の濃度 (%)	作用時間 (分)	致 死	(観察期間 65日)
七 島 株	3	10	●●●●●●●●○○○	○○○○○○○○○○○○
10 ⁻³ 稀 釈			○○○○○○○○○○○○	○○○○○○○○○○○○
LD ₅₀ = 10 ^{-6.7}			○○○○○○○○○○○○	○○○○○○○○○○○○
			○○○○○○○○○○○○	○○○○○○○○○○○○
			○○○○○○○○○○○○	○○○○○○○○○○○○
			○○○○○○○○○○○○	○○○○○○○○○○○○
			○○○○○○○○○○○○	○○○○○○○○○○○○

毒のハツカネズミに対する発症致死能が、皮下注射によつてしらべられたが、表38の如く、観察期間中に発症致死したものは⁹⁸/150であった。
 病毒注射の5日目までに⁶/150が致死したが、

表 38. 5%牛胆汁を10分間七島株ウイルスに作用させた実験

ウイルスの濃度 (10 ^{-N})	胆汁の濃度 (%)	作用時間 (分)	致 死	(観察期間 65日)
七 島 株	5	10	●●●●●●●●○○○	○○○○○○○○○○○○
10 ⁻³ 稀 釈			○○○○○○○○○○○○	○○○○○○○○○○○○
LD ₅₀ = 10 ^{-6.7}			○○○○○○○○○○○○	○○○○○○○○○○○○
			○○○○○○○○○○○○	○○○○○○○○○○○○
			○○○○○○○○○○○○	○○○○○○○○○○○○
			○○○○○○○○○○○○	○○○○○○○○○○○○
			○○○○○○○○○○○○	○○○○○○○○○○○○

1%牛胆汁を20分間七島株に用いた実験
 1%牛胆汁を、10⁻³稀釈の七島株ウイルス材料に等量に混和して、20分作用させたときの、発症致死能が、150匹のハツカネズミについて、皮下注射することによつて検べられたが、
 病毒注射後の5日以内に致死した7匹を除き、観察期間中に発症致死したものは、49匹であった。

表 39. 1%牛胆汁を20分間七島株ウイルスに作用させた実験

ウイルスの濃度 (10 ^{-N})	胆汁の濃度 (%)	作用時間 (分)	致 死	(観察期間 65日)
七 島 株	1	20	●●●●●●●●○○○	○○○○○○○○○○○○
10 ⁻³ 稀 釈			○○○○○○○○○○○○	○○○○○○○○○○○○
LD ₅₀ = 10 ^{-6.7}			○○○○○○○○○○○○	○○○○○○○○○○○○
			○○○○○○○○○○○○	○○○○○○○○○○○○
			○○○○○○○○○○○○	○○○○○○○○○○○○
			○○○○○○○○○○○○	○○○○○○○○○○○○
			○○○○○○○○○○○○	○○○○○○○○○○○○

3%牛胆汁を20分間七島株に作用させた実験
 3%牛胆汁を、10⁻³稀釈の七島株ウイルス材料に20分間作用させたときの、処理ウイルスの発症致死能が、150匹のハツカネズミによつて検べられたが、
 病毒の皮下注射後の5日目までに致死した14匹を除き、観察期間中に発症致死したものは、9匹に過ぎない。

表 40. 3%牛胆汁を20分間七島株病毒に作用させた実験

病毒の濃度 (10 ^{-N})	胆汁の濃度 (%)	作用時間 (分)	致 死 (観察期間 65日)
七 島 株 13 ⁻³ 稀 釈 LD ₅₀ = 10 ^{-6.7}	3	20	●●●●●●●●●● ●●●●◎◎◎◎◎◎◎◎ ◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎ ◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎ ◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎ ◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎ ◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎ ◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎ ◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎ ◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎ ◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎ ◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎ ◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎ ◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎ ◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎ ◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎

5%牛胆汁を20分間七島株に作用させた実験

5%牛胆汁を、10⁻³稀釈の七島株病毒材料に30分間作用させたときの、処理病毒の発症

致死能が、ハツカネズミを供し、皮下注射によつてしらべられたが、病毒注射後5日までに致死した11匹を除き、観察期間中に発症致死したものは、150匹中13匹であつた。

表 41. 5%牛胆汁を20分間七島株病毒に作用させた実験

病毒の濃度 (10 ^{-N})	胆汁の濃度 (%)	作用時間 (分)	致 死 (観察期間 65日)
七 島 株 10 ⁻³ 稀 釈 LD ₅₀ = 10 ^{-6.7}	5	20	●●●●●●●●●● ●◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎ ◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎ ◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎ ◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎ ◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎ ◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎ ◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎ ◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎ ◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎ ◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎ ◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎ ◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎ ◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎ ◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎ ◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎

未処理七島株病毒による対照実験

LD₅₀=10^{-6.7}と示された、10⁻³稀釈の未処理七島株病毒を、4°Cに30分間放置し、50匹の健康ハツカネズミの皮下に、0.2ml宛接種し、65日間観察し、その発症致死の状況を表42に示した。即ち供試動物50匹のうち、観察期間中に、33匹が致死し、生存したものは14匹であつた。

表 42. 未処理10⁻³稀釈七島株病毒接種による対照実験

病毒の濃度 (10 ^{-N})	胆汁の濃度 (%)	作用時間 (分)	致死 (観察期間 65日)
七 島 株 10 ⁻³ 稀 釈 LD ₅₀ =10 ^{-6.7}	/	30	●●●◎◎◎◎◎◎◎◎ ◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎ ◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎ ◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎ ◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎

要するに、10⁻²乃至10⁻³稀釈の七島株病毒においても、牛胆汁はよく減毒的に作用し、その至適条件は、10⁻²稀釈病毒に対し、5%のものを20分、又は1~5%の牛胆汁を30分間作用させるか、10⁻³稀釈病毒に対しては、3~5%胆汁を20分間作用させた場合に、よく減毒され、かゝる処理病毒を注射されたハツカネズミは、観察期間の65日の間、かなり多数が、よく生存しつゞける。

C. 大関株病毒による実験

大関株病毒により、感染発症したハツカネズミの、脳を摘出し、10²脳乳剤を調製すると共に、1, 3, 5%牛胆汁を等量に加え、30分間、4°Cにおいて作用させた処理病毒を0.2ml宛、150匹のハツカネズミの皮下に注射し、弱毒免疫を企図した。

1%牛胆汁を30分間大関株病毒に作用させた実験

表 46. 5%牛胆汁を30分間大関株ウイルスに作用させた実験

ウイルスの濃度 (10 ^{-N})	胆汁の濃度 (%)	作用時間 (分)	致 死 (観察期間 65日)
大 関 株 10 ⁻² 稀 釈 LD ₅₀ = 10 ^{-7.1}	5	30	●●●●●●●●●● ●●◎◎◎◎◎◎◎◎ ◎○○○○○○○○○○ ○○○○○○○○○○○ ○○○○○○○○○○○○ ○○○○○○○○○○○ ○○○○○○○○○○○○ ○○○○○○○○○○○ ○○○○○○○○○○○○ ○○○○○○○○○○○ ○○○○○○○○○○○○ ○○○○○○○○○○○ ○○○○○○○○○○○○ ○○○○○○○○○○○ ○○○○○○○○○○○○ ○○○○○○○○○○○

表 47. 未処理10⁻²稀釈大関株ウイルス接種による対照実験

ウイルスの濃度 (10 ^{-N})	胆汁濃度 (%)	作用時間 (分)	致 死 (観察期間65日)
大 関 株 10 ⁻² 稀 釈 LD ₅₀ = 10 ^{-7.1}	/	30	●●●●●●◎◎◎◎ ◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎ ◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎ ◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎ ◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎

~5%濃度のものを、30分作用させれば、よく、致死抑制がみられるものであることが首肯されるが、1, 3, 5%の濃度の何れを至適濃度として撰ぶべきかについては、各濃度群の供試動物における致死率が、相互に有意な差を示さず、只、未処理ウイルス接種の場合における致死率より、遙かに低く、その差も有意 ($\alpha=0.05$) である点より、胆汁の致死抑制効果が存在するものであることはいうる。

D. 罹患ハツカネズミ脳の保有ウイルス量の均一性についての吟味

既述した実験から、牛胆汁が、ハツカネズミを供した場合には、恙虫病々毒の病原性を弱化する、減毒作用のあることが確かめられたが、ウイルス材料として脳を供するとき、作用させるべき胆汁の至適濃度については、凡そ、1~5%の胆汁濃度のものを30分作用させるか、5%のものを20分作用させた場合が、致死抑制の作用が著しく認められたが、本実験では当初より、ハツカネズミの脳が保有するウイルス量には、個体差がかなり著しいという推定から、胆汁の各濃度の致死抑制効果の判定

には、必ず、10数匹の罹患ハツカネズミの脳を混合したものについて、LD₅₀ を測定し、抑制効果の比較実験に供している。

然しながら、任意の個体の脳をウイルス材料として供し、減毒する場合に、罹患ハツカネズミ個体の脳が保有するウイルス量の多少により、作用させるべき至適胆汁濃度が相違するであろうことが予想される。従つて、罹患ハツカネズミ脳のウイルス保有量の個体差を吟味するために、10匹の罹患ハツカネズミにつき、各個体の脳毎に、最小感染量をしらべ、その成績を表48~表57に示した。

この実験には、ハツカネズミの肝脾混合材料による腹腔系伝達の、鼠系IV株ウイルスを供した。即ち、10匹の罹患ハツカネズミは、その

表 48. M-1脳の最小感染量試験

ウイルス稀釈	成 績	LD ₅₀
10 ⁻³	● ● ● ● ●	10 ^{-7.1}
10 ⁻⁴	● ● ● ● ●	
10 ⁻⁵	● ● ● ● ○	
10 ⁻⁶	● ● ○ ○ ○	
10 ⁻⁷	● ● ○ ○ ○	
10 ⁻⁸	○ ○ ○ ○ ○	

表 49. M-2脳の最小感染量試験

ウイルス稀釈	成 績	LD ₅₀
10 ⁻³	● ● ● ● ●	10 ^{-4.5}
10 ⁻⁴	● ● ● ○ ○	
10 ⁻⁵	● ● ○ ○ ○	
10 ⁻⁶	○ ○ ○ ○ ○	
10 ⁻⁷	○ ○ ○ ○ ○	
10 ⁻⁸	○ ○ ○ ○ ○	

表 50. M-3脳の最小感染量試験

病毒稀釈	成	績	LD ₅₀
10 ⁻³	● ● ● ● ●		10 ^{-5.1}
10 ⁻⁴	● ● ● ● ○		
10 ⁻⁵	● ● ● ○ ○		
10 ⁻⁶	● ● ● ○ ○		
10 ⁻⁷	○ ○ ○ ○ ○		
10 ⁻⁸	○ ○ ○ ○ ○		

表 55. M-8脳の最小感染量試験

病毒稀釈	成	績	LD ₅₀
10 ⁻³	● ● ● ● ●		10 ^{-5.1}
10 ⁻⁴	● ● ● ● ●		
10 ⁻⁵	● ○ ○ ○ ○		
10 ⁻⁶	● ● ○ ○ ○		
10 ⁻⁷	○ ○ ○ ○ ○		
10 ⁻⁸	○ ○ ○ ○ ○		

表 51. M-4脳の最小感染量試験

病毒稀釈	成	績	LD ₅₀
10 ⁻³	● ● ● ● ●		10 ^{-6.1}
10 ⁻⁴	● ● ● ● ●		
10 ⁻⁵	● ● ● ● ○		
10 ⁻⁶	● ● ● ● ○		
10 ⁻⁷	◎ ● ● ○ ○		
10 ⁻⁸	○ ○ ○ ○ ○		

表 56. M-9脳の最小感染量試験

病毒稀釈	成	績	LD ₅₀
10 ⁻³	● ● ● ● ●		10 ^{-4.3}
10 ⁻⁴	● ● ○ ○ ○		
10 ⁻⁵	● ● ○ ○ ○		
10 ⁻⁶	◎ ○ ○ ○ ○		
10 ⁻⁷	◎ ○ ○ ○ ○		
10 ⁻⁸	○ ○ ○ ○ ○		

表 52. M-5脳の最小感染量試験

病毒稀釈	成	績	LD ₅₀
10 ⁻³	● ● ● ● ●		10 ^{-6.1}
10 ⁻⁴	● ● ● ● ●		
10 ⁻⁵	● ● ● ● ○		
10 ⁻⁶	● ● ● ● ○		
10 ⁻⁷	● ● ○ ○ ○		
10 ⁻⁸	◎ ○ ○ ○ ○		

表 57. M-10脳の最小感染量試験

病毒稀釈	成	績	LD ₅₀
10 ⁻³	● ● ● ● ●		10 ^{-6.5}
10 ⁻⁴	● ● ● ● ●		
10 ⁻⁵	● ● ● ● ●		
10 ⁻⁶	● ● ○ ○ ○		
10 ⁻⁷	● ● ● ○ ○		
10 ⁻⁸	○ ○ ○ ○ ○		

表 53. M-6脳の最小感染量試験

病毒稀釈	成	績	LD ₅₀
10 ⁻³	● ● ● ● ●		10 ^{-4.7}
10 ⁻⁴	● ● ○ ○ ○		
10 ⁻⁵	● ● ● ○ ○		
10 ⁻⁶	● ○ ○ ○ ○		
10 ⁻⁷	○ ○ ○ ○ ○		
10 ⁻⁸	○ ○ ○ ○ ○		

表 54. M-7脳の最小感染量試験

病毒稀釈	成	績	LD ₅₀
10 ⁻³	● ● ● ● ●		10 ^{-6.1}
10 ⁻⁴	● ● ● ● ●		
10 ⁻⁵	● ● ● ● ●		
10 ⁻⁶	● ● ○ ○ ○		
10 ⁻⁷	● ○ ○ ○ ○		
10 ⁻⁸	◎ ◎ ○ ○ ○		

何れもが著明に発症したので、致死直前に殺し、腹腔内にRが無数に出現していることを確かめ、これの脳を供し最小感染量試験を行ったが、それらの、脳が保有する病毒量には、かなりの幅があり、LD₅₀が4.3~7.1の間に認められた。この成績は、牛胆汁処理をするときの病毒材料は、可及的に多くの罹患ハツカネズミの臓器を混合し、病毒材料の、最小感染量の動揺を防ぐことが必要であることを教えるものである。

E. 交叉感染試験

牛胆汁で処理された病毒の注射後65日を経過した、生存ハツカネズミについて、交叉的に、鼠系IV株、七島株並に大関株で接種攻撃した。

牛胆汁による、処理病毒が、なお活性であ

127匹の免疫ハツカネズミについて、鼠系IV株、大関株、七島株病毒を以て攻撃し、その成績が表66に示された。

即ち、鼠系IV株病毒による攻撃では、42匹の供試ハツカネズミのうち、22匹が発症致死

し、大関株病毒での攻撃では、同数の免疫動物のうち、26匹が発症致死し、七島株病毒による攻撃では、43匹の供試免疫動物のうち37匹が発症致死を示した。

表 66. 5%牛胆汁を30分間作用させた減毒鼠系IV株病毒免疫群についての攻撃実験

減毒免疫病毒	攻撃病毒	攻 撃 実 験																		χ^2_s
(10-2)	鼠系IV株	9 9 9 9 10 10 10 10 10 11	11 11 12 12 12 12 12 13 13 13	9.1																
	大関株	9 9 9 10 10 10 10 10 11 11	11 11 11 11 11 11 12 12 12 12																	
	七島株	8 10 10 10 10 11 11 11 11 11	11 12 12 12 12 12 13 13 13 13																	

表67. の1 攻撃実験の吟味 (1)

表 67. の2 攻撃実験の吟味 (2)

免疫病毒	胆汁濃度	作用時間	攻撃病毒	攻 撃		χ^2_s
				供試動物数	致死数	
鼠系IV株	1%	10分	鼠IV			226.0
			大関			
			七島			
	20分	鼠IV	27	3(2)		
		大関	27	4(1)		
		七島	28	28(0)		
	30分	鼠IV	45	13(3)		
		大関	46	21(0)		
		七島	46	41(0)		
3%	10分	鼠IV				
		大関				
		七島				
20分	鼠IV	28	5(2)			
	大関	28	2(3)			
	七島	28	25(2)			
30分	鼠IV	43	23(2)			
	大関	44	34(1)			
	七島	44	38(1)			
(10-2)	5%	10分	鼠IV			
			大関			
			七島			
	20分	鼠IV	43	9(0)		
		大関	43	11(2)		
		七島	43	33(1)		
30分	鼠IV	42	22(3)			
	大関	42	26(4)			
	七島	43	37(1)			

免疫病毒	胆汁濃度	作用時間	攻撃病毒	攻 撃		χ^2_s
				供試動物数	致死数	
鼠系IV株	1%	10分	鼠IV			164.6
			大関			
			七島			
	20分	鼠IV	32	5(2)		
		大関	32	3(2)		
		七島	33	27(1)		
	30分	鼠IV				
		大関				
		七島				
3%	10分	鼠IV	29	2(0)		
		大関	29	5(0)		
		七島	30	27(1)		
30分	鼠IV					
	大関					
	七島					
(10-3)	5%	10分	鼠IV	47	4(3)	
			大関	47	10(0)	
			七島	47	42(1)	
	20分	鼠IV				
		大関				
		七島				
30分	鼠IV					
	大関					
	七島					

された。

第 74. Natrium desoxycholicum の LD₅₀

デスオキシコ ール酸ソーダ の濃度	致 死	LD ₅₀
10 ⁻³	●●●●●●●●●● ●●●●●●●●●●	10 ^{-4.1}
10 ⁻⁴	●●●●●●●●●● ●○○○○○○○○○○	
10 ⁻⁵	●●●○○○○○○○○ ○○○○○○○○○○	
10 ⁻⁶	●●●●○○○○○○○○ ○○○○○○○○○○	
10 ⁻⁷	○○○○○○○○○○○○ ○○○○○○○○○○○○	

即ち、N. d. を10⁻²と10⁻³に希釈したもの、0.1ml を、13g 前後のハツカネズミの皮下に注射したときには、注射の直後に、興奮を示

し、激しい飛躍、横臥、痙攣を発生し、全例が、注射後凡そ3分を経過することなく致死した。

10⁻⁴希釈の場合には、供試動物20匹のうち、11匹が、10⁻⁵希釈では、20匹のうち3匹が、同様の症状を呈し、注射間もなく致死し、N. d. のハツカネズミに対するLD₅₀は10^{-4.1}と示され、かなり激しい毒作用を示すものと考えられる。恙虫病々毒の減毒試験には、10⁻⁴、10^{-4.5}並に10⁻⁵希釈のものを使用した。

10⁻⁴ 希釈の Natrium desoxycholicum による実験

LD₅₀が10^{-6.4}と示された、鼠系IV株病毒に、10⁻⁴希釈のN. d. を等量に作用させ、4°Cに30分間放置したものを、病毒の各希釈毎に、60匹のハツカネズミを供し、その皮下に0.2ml 宛注射し、60日間観察し、その結果を表75に示した。

表 75. 10⁻⁴ 希釈の Natrium desoxycholicum による実験

鼠系IV株病毒 濃度 LD ₅₀ =10 ^{-6.4}	生 毒	免 疫	(観察日数 60日)
10 ⁻²	◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎ ◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎ ◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎	◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎ ◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎ ◎●●●●●●●●●●	
10 ⁻³	◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎ ◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎ ◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎	◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎ ◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎ ◎◎◎◎◎◎◎●●●	
10 ⁻⁴	◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎ ◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎ ◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎	◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎ ◎◎◎◎◎◎◎◎◎◎ ◎◎◎◎◎◎◎◎◎●	

◎注射後5日以内に致死したもの
○観察期間を経過しなお生存するもの

●観察期間中に致死したもの

即ち、10⁻²、10⁻³、10⁻⁴希釈の病毒共に、N. d. を添加した処理病毒の注射後5日以内に、致死するものが大部を占め、60日の観察期間を経過して、なお生存するものは、1匹も認められない。

この N. d. による実験に供された、鼠系IV株病毒材料を、10⁻²、10⁻³並に10⁻⁴希釈のものを未処理の儘、皮下に接種した、感染試験の結果は、表76の如く、

10²希釈の病毒材料では、50匹の供試動物

のうち、全例が致死し、10³希釈では、50匹のうち32匹が致死し、10⁴希釈では、50匹のうち18匹が致死した。

即ち、同一の病毒の、同じ希釈のものについては、N. d. を添加した場合に致死するものが、遙かに多く、有意なる致死率の差(α=0.05)を示し、10⁴希釈の、N. d. の毒性が、なお激しく影響したとすべき成績であった。

10^{-4.5} 希釈の Natrium desoxycholicum に

表 76. 鼠系IV株未処理病毒材料の皮下注射の実験

病 毒 濃 度 (10^{-N})	発	症
10 ⁻²	◎ ◎	◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎
10 ⁻³	◎ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○	◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○
10 ⁻⁴	◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ○	◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○

よる実験

10^{-1.5}に稀釈した N. d. を、4°C に30分間作用させた、鼠系IV株病毒材料を、10⁻²、10⁻³、10⁻⁴に稀釈し、病毒の各稀釈群について、夫々50匹宛のハツカネズミを供し、その皮下に0.2ml 宛注射した。注射後5日以内に致死したものは、10⁻²稀釈病毒群では、50匹中21匹、

10⁻³稀釈病毒群では、50匹中38匹、10⁻⁴稀釈病毒群では、供試動物50匹中、43匹が致死を示した。処理病毒注射後60日を経過し、なお生存したものは、10⁻²稀釈病毒群にはなく、10⁻³稀釈病毒群では5匹、10⁻⁴稀釈病毒群では、僅かに2匹にすぎない。

表 77. 10^{-4.5} 稀釈のNatrium desoxycholicumによる実験

鼠系IV株病毒 濃度 LD ₅₀ =10 ^{-6.4}	生 毒	免 疫	(観察日数 60日)
10 ⁻²	◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ●	◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ● ● ● ● ● ● ● ● ● ●	
10 ⁻³	◎ ● ● ● ● ● ○ ○ ○ ○ ○	◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ● ●	
10 ⁻⁴	◎ ● ● ● ● ● ○ ○	◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎	

要するに、N. d. の10^{-4.5}稀釈のものを以て、処理された鼠系IV株病毒は、供試ハツカネズミに対し、なお強い毒性を有し、致死するものが多い。

10^{-4.5}稀釈のN. d. を作用させた10⁻³稀釈の処理病毒による免疫群について、免疫注射の60日後に生存する5匹を殺し、その肝脾混合の、10⁻¹稀釈乳剤を、0.4ml 宛健康ハツカネズミの腹腔内に接種し、恙虫病々毒の腹腔内への出現をしらべたが、表78の如く、2代目のハツカネズミより、定型的なRを検出すること

ができた。

10⁻⁵稀釈の Natrium desoxycholicum による実験

10⁻⁵に稀釈した N. d. を、鼠系IV株病毒材料に作用させたときの、処理病毒をハツカネズミの皮下に注射し、60日間観察した結果を、表79に示した。

10⁻²稀釈の病毒材料に作用させた場合には、処理病毒の注射後、5日以内に致死したものは、11匹であり、10⁻³稀釈の処理病毒免疫群では、50匹の供試動物のうち19匹が、注射後

表 78. 復元試験

接種材料	注法と量	検 出				
		I	II	III	IV	V
デスオキシコール酸ソーダ処理鼠系IV株病毒	肝脾混合の10 ⁻¹ 稀釈乳剤0.4 ml宛	9	10	9	10	
		⊙	⊙	⊙	⊙	
		R(+)	R(+)	R(+)	R(+)	
		11	10	9	10	
		⊙	⊙	⊙	⊙	
R(+)	R(+)	R(+)	R(+)			
11	10	10	13			
⊙	⊙	⊙	⊙			
R(+)	R(+)	R(+)	R(+)			
12	12					
⊙	⊙					
R(+)	R(+)					
12	14					
⊙	⊙					
R(+)	R(+)					

5日以内に致死し、10⁻⁴稀釈の処理病毒を注射し、5日以内に致死したものは、50匹のうち、13匹であった。

60日の観察期間を経過し、なお生存した供試動物は、10⁻²稀釈病毒の群にはなく、10⁻³稀釈病毒では、50匹の供試動物のうち8匹、10⁻⁴稀釈病毒群では、50匹のうち、18匹であった。

生存供試動物の感染試験

10⁻⁵稀釈のN. d. を作用させた処理病毒の免疫により、観察期間を経過し、なお生存する18匹について、これを2分し、それぞれ七島株病毒と、鼠系IV株病毒を以て、腹腔内に接種攻撃を行つた成績は、表80に示された。

即ち、免疫株と同系株である、LD₅₀ = 10^{-7.1} と示された、鼠系IV株病毒による攻撃では、攻撃後20日間のうちに発症致死したも

表 79. 10⁻⁵稀釈の Natrium desoxycholicum による実験

鼠系IV株病毒濃度 LD ₅₀ =10 ^{-6.4}	生	毒	免	疫	(観察日数 90日)
10 ⁻²	⊙ ⊙ ⊙ ⊙ ⊙ ⊙ ⊙ ⊙ ⊙ ⊙	● ● ● ● ● ● ● ● ● ●	● ● ● ● ● ● ● ● ● ●	● ● ● ● ● ● ● ● ● ●	
10 ⁻³	⊙ ⊙ ⊙ ⊙ ⊙ ⊙ ⊙ ⊙ ⊙ ⊙	● ● ● ● ● ● ● ● ● ●	● ● ● ● ● ● ● ● ● ●	● ● ● ● ● ● ● ● ● ●	● ● ● ● ● ● ● ● ● ●
10 ⁻⁴	⊙ ⊙ ⊙ ⊙ ⊙ ⊙ ⊙ ⊙ ⊙ ⊙	● ● ● ● ● ● ● ● ● ●	● ● ● ● ● ● ● ● ● ●	● ● ● ● ● ● ● ● ● ●	● ● ● ● ● ● ● ● ● ●

表 80. 攻撃実験

減毒免疫病毒	攻撃病毒	攻 撃 実 験				
鼠系IV株病毒 LD ₅₀ =10 ^{-7.1}	鼠系IV株	8				
	七島株	● ○ ○ ○ ○	○ ○ ○ ○ ○			
鼠系IV株病毒 LD ₅₀ =10 ^{-6.1}	鼠系IV株	11 11 13 14 14				
	七島株	● ● ● ● ●	● ● ● ● ●	○ ○		

のは、9匹の供試動物のうち1匹であるが、LD₅₀=10^{-6.1}の七島株病毒による攻撃では、9匹のうち、7匹が定型的に発症致死し、腹腔液の塗抹標本より、Rを検出確認すること

ができた。この成績よりN. d. は、少なくとも恙虫病々毒の免疫原性を消失せしめるものではないことは納得されるが、供試動物個体に及ぼす影響が著しく、交叉感染試験の攻撃のために、多数の免疫ハツカネズミを確保することは困難であり、実用には適しないと、しなければならない。

2) Natrium cholicumによる実験

著者は、更に、Natrium cholicum (以下N. c. と略記する) が恙虫病々毒に及ぼす影響を観察した。

ハツカネズミにおけるN. c. の忍容量

この実験に供されるN. c. が、ハツカネズ

ミにどの程度に毒性を示すものであるか、また、本剤をウイルスの減毒のために供するものであれば、その濃度は如何なる程度にすべきか

がしらべられ、その結果が、表81に示され、そのLD₅₀は10^{-5.18}と求められた。

表 81. Natrium cholicum の LD₅₀

コール酸ソーダの濃度	致	死	LD ₅₀
10 ⁻²	● ●	● ● ● ● ● ● ● ● ● ● ● ● ● ● ● ● ● ● ● ●	10 ^{-5.18}
10 ⁻³	● ●	● ● ● ● ● ● ● ● ● ● ● ● ● ● ● ● ● ● ● ●	
10 ⁻⁴	● ● ● ● ● ● ● ● ● ● ● ○	● ● ● ● ● ● ● ● ● ● ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○	
10 ⁻⁵	● ● ● ● ● ● ● ● ○	○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○	
10 ⁻⁶	○ ○	○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○	

仍て、ウイルスの減毒実験には、10^{-4.5}~10^{-5.5}の N.c. を供することにした。

10^{-4.5}稀釈の Natrium cholicum による実験
10^{-4.5}に稀釈された、N.c. を、鼠系IV株の、10⁻², 10⁻³, 10⁻⁴稀釈ウイルス材料に、4°Cにおいて、20分に互り作用させたときの、処理ウイルスを、50匹のハツカネズミの皮下に注射した。

10^{-4.5}稀釈の N.c. による処理ウイルスを注射し、その後、5日以内に致死したものは、10⁻²稀釈のウイルス群が23匹、10⁻³稀釈のウイルス群が27匹、10⁻⁴稀釈のウイルス群では33匹に及び、ウイルス注射後60日を経過して、なお生存するものは、10⁻², 10⁻³, 10⁻⁴稀釈ウイルスの各群について、2, 5, 2匹となっている。

表 82. 10^{-4.5} 稀釈 Natrium cholicum による実験

病 毒 濃 度	生 毒	免 疫 (観察日数 60日)
10 ⁻²	◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ● ● ● ● ● ● ● ● ● ● ● ● ● ● ● ● ○ ○	◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ● ● ● ● ● ● ● ● ● ●
10 ⁻³	◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ● ● ● ● ● ● ● ● ● ○ ○ ○ ○ ○	◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ● ● ● ● ● ● ● ● ● ●
10 ⁻⁴	◎ ● ● ● ● ● ● ● ● ○ ○	◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ● ● ● ● ● ● ●

10^{-5.0}稀釈の Natrium cholicum による実験
10^{-5.0} 稀釈の N.c. を作用させた、処理ウイルスを注射された、ハツカネズミは、表83の如

く示された。即ち、10^{-4.5}稀釈の N.c. を以て、ウイルスを処理した場合と大差なく、処理ウイルス注射により、発症致死が抑制されるとすべき、

表 83. 10^{-5.0} 稀釈 Natrium cholium による実験

病 毒 濃 度	生 毒	免 疫	疫 (観察日数 60日)
10 ⁻²	◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ● ● ● ● ● ● ● ● ● ● ● ● ● ●	◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ● ● ● ● ● ● ● ● ● ●	◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ● ● ● ● ● ● ● ● ● ●
10 ⁻³	◎ ● ● ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○	◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ● ● ● ● ● ●	◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ● ● ● ● ● ●
10 ⁻⁴	◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ● ● ● ● ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○	◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ● ● ● ● ● ● ● ● ● ○	◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ● ● ● ● ● ● ● ● ● ○

成績は得られていない。

10^{-5.5}稀釈の Natrium cholium による実験

10^{-5.5}稀釈の N.c. を鼠系IV株の病毒材料に作用させた、処理病毒による免疫の結果は、表84に示された。

即ち、鼠系IV株病毒の、ハツカネズミに対する病原性を減弱させるために、10^{-5.5} 稀釈

の N.c. が作用せられたが、この処理病毒の免疫操作により、未処理病毒による場合に比し、生存するものが増加する傾きがなく、本胆汁酸の毒性もかなり強く、供試動物を障害する点も考慮すれば、病毒の減毒のために、N.c. を供すべき価値は、特に見出し難い。

表 84. 10^{-5.5} 稀釈 Natrium cholium による実験

病 毒 濃 度	生 毒	免 疫	疫 (観察日数 60日)
10 ⁻²	◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ● ● ● ● ● ● ● ● ● ● ● ● ● ● ● ○	◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ● ● ● ● ● ● ● ● ● ●	◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ● ● ● ● ● ● ● ● ● ●
10 ⁻³	◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ● ● ● ● ● ● ● ● ● ● ● ● ●	◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ● ● ● ● ● ● ● ● ● ●	◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ● ● ● ● ● ● ● ● ● ●
10 ⁻⁴	◎ ● ● ● ● ● ● ● ○ ○ ○	◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ● ● ● ● ● ● ● ● ●	◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ◎ ● ● ● ● ● ● ● ● ●

総括並に考按

胆汁と、その成分である胆汁酸の化学と生理については、清水及びその門下の、輝かしい業績がある。胆汁の微生物に対する作用についても、チフス菌には増菌性に、肺炎菌には溶菌性に作用し、Calmette と Guérin (1928) は強毒牛型結核菌を、5%牛胆汁加グリセリン馬鈴薯培地に累代移植することにより、弱毒株の確保に成功し、人型結核菌の場合においても、弱毒の事実が、今村及びその門下(昭18)によつて明らかにされている。中川

(昭10) は、胆汁酸塩添加培地に、人型結核菌を培養して、非抗酸性結核菌を得、毒性は弱い、抗原性を保有するものであるとし、中川菌と呼んだ。

胆汁成分と、各種細菌との関係について、清野、木村とその門下によつて多くの業績があげられ、胆汁並に、胆汁酸が微生物に複雑な影響をもたらし、時には活性に、種類によつては、抑制的に作用するものであることについては、既に多くの研究者によつて、その事実が提示されているが、その間の関係は複

雑であり、試験管内の実験においても、生体内のものにおいては殊更に、複雑であり、その本態は捕捉し難い。

Rickettsia の減毒を企図したものに Blanc があり、*R. mooseri* により感染発症した白鼠の脳乳剤に、牛胆汁を作用せしめ、弱毒生毒ワクチンが有効であることを提唱したが、患鼠の保有する病毒量に、個体差があると考えられ、実際面の使用に際し、重篤なる症状を呈して発症するものがあるために、危険視され、今では、最早人体に使用するものはない。しかし乍ら、Blanc の牛胆汁が不定ではあるが、病毒を弱毒化するという事実については、疑う者はない。

胆汁並に胆汁酸塩に共通する、特有の性状は、表面活性を保有することであり、生体細胞、微生物に作用すれば、まず細胞膜上に吸着され、表面濃度の増大をきたす、ものと考えられている。

さて、恙虫病々毒である *Rickettsia tsutsugamushi* (*orientalis*) の免疫性について考察をしてみるのに、恙虫病々毒の免疫学的同定が、従来他の一般 Virus の場合に行われる交叉感染試験乃至中和試験を以てしては、恙虫病々毒間の相違が、抗原構造の上から論じられないとする、一部の学者の見解があるが、これは供試動物数が少なすぎることにも起因する。しかし、北岡 (昭28) は、交叉感染試験は、抗原構造の解明に、優れた方法であると記載している。

同僚である、丸岡 (昭29)、軒原 (昭30) は、生毒免疫後、なお生存する供試ハツカネズミが、十分に多数であれば、換言すれば、生毒免疫を予め多数のハツカネズミについて実施しておけば、耐過生存するものも多く、従つて、病毒株の交叉攻撃により、推計学的に比較しうる結果がえられるものであり、又、かゝる着意のもとに、同一実験を繰返して実施された成績は、その判定に当り、実験毎の有意なる差が、不特定に発現するものではないことを証明し、両氏が分離した鼠系乃至人系病毒株の既知病毒との同定実験には、極め

て多数の動物を供し、又同じ実験を繰返し、研究の正鵠を期している。

今もし、ハツカネズミを生毒免疫する場合には、抗原性に影響なく、その毒性 (Virulenz) のみを減弱させることができれば、生毒免疫によつて、致死するものも少く、従つて攻撃に供する免疫ハツカネズミのより多くのものを供試することができ、得られる発症致死率の比較も正しく、かつ詳細になされることになる。

著者は、牛胆汁並に胆汁酸塩を供し、それが、如何なる条件において、恙虫病々毒に作用させれば、減毒され、かゝる処理病毒が、弱毒生毒免疫のために供しうるかについて、多数のハツカネズミを供して研究を行った。

即ち、牛胆汁については、その濃度を 1, 3, 5% とし、胆汁酸塩については、 10^{-4} 乃至 $10^{-5.5}$ 稀釈とし、恙虫病々毒として鼠系 IV 株、大関株及び七島株を供し、その罹患ハツカネズミの 10^{-2} , 10^{-3} 稀釈脳乳剤に等量に混じ、10, 20, 30 分間に互り、 4°C に放置して作用せしめたものを、0.2ml 宛ハツカネズミの皮下に注射し、免疫した。

更に、60~65 日後に、交叉的に各株病毒で攻撃し、その発症致死率を、免疫株と攻撃株病毒との関係において比較検討を行った。

えられた研究の成績を要約して、これを次に述べる。

1. 1% 牛胆汁を 10 分間、 10^{-2} 稀釈の鼠系 IV 株病毒に作用させ、65 日間観察した結果、生存する供試動物は、150 匹中 20 匹にすぎない。又、致死を示した供試動物は、よく病毒を保有し、健康ハツカネズミを供し、肝脾一腹腔系の累代により、初世代乃至遅くとも、3 世代目に、供試動物の腹腔内に R を検出することができた。

即ち、胆汁は、R に対し減毒的に作用していないといえる。

3% 牛胆汁を 10 分間、鼠系 IV 株病毒に作用させた、処理病毒による免疫では、供試ハツカネズミ 150 匹のうち、12 匹が生存したにすぎない。

5%牛胆汁を10分間、鼠系IV株ウイルスに作用させた、処理ウイルスによる免疫では、150匹のうち、33匹が生存したにすぎない。

即ち、1～5%牛胆汁を10分間、鼠系IV株ウイルスに作用させた場合は、減毒されたとすべき事実は認められない。

2. 1%牛胆汁を20分間、 10^{-2} 稀釈の鼠系IV株ウイルスに作用させた、処理ウイルスによる免疫では、供試動物150匹中、82匹が、免疫後65日を経過して、なお生存した。

3%牛胆汁による場合には、150匹中、生存したものは、84匹であった。

5%牛胆汁による実験では、150匹の供試動物のうち、129匹が生存を示し、牛胆汁の減毒効果がよくみられた。

3. 1%牛胆汁を30分間に互り、 10^{-2} 稀釈の鼠系IV株ウイルスに作用させた、免疫実験では、注射の65日後に、なお、150匹のうち137匹が生存し、攻撃実験に供することができた。3%牛胆汁を30分間作用させた、鼠系IV株処理ウイルスの免疫では、150匹のうち、131匹が生存し、5%牛胆汁を作用させた実験では、127匹が生存した。

即ち、牛胆汁を 10^{-2} 稀釈の鼠系IV株ウイルスに作用させる場合には、1～5%のものを30分作用させた時に最も、致死率が低くみられる。

4. 1～5%の牛胆汁を、 10^{-3} 稀釈の鼠系IV株ウイルスに10分及び20分作用させたが、1%のものを10分間作用させた場合の他は、減毒作用が認められ、5%のものを20分間作用させた場合に、致死率が最も低かった。

5. 牛胆汁を七島株ウイルスに作用させたときの、減毒作用は、 10^{-2} 乃至 10^{-3} 稀釈のウイルス材料について、1～5%の牛胆汁を、20～30分作用させた場合に、免疫注射による、発症致死率は低く、供試動物の63～92%は生存する。

6. 大関株ウイルスに、牛胆汁を作用させたときの、減毒作用は、 10^{-2} 稀釈のウイルス材料につき、1～5%の牛胆汁を30分作用させてしらべられたが、何れの場合も、免疫注射

による発症致死の抑制がみられ、供試動物の約82～86%が、注射後65日を経過しても、なお生存する。

7. 牛胆汁により、減毒処理された、鼠系IV株ウイルスの生毒免疫ハツカネズミについて交叉的に、大関株と七島株並に鼠系IV株ウイルスで攻撃したが、免疫注射後、65日を経過して生存する供試動物では、大関株ウイルス並に、鼠系IV株ウイルスを以て攻撃した場合に、発症致死するものが少く、七島株ウイルスの攻撃によつては、供試動物の大部分が発症致死し、各攻撃ウイルス群のハツカネズミの致死率は、七島株ウイルスに最も高く、大関株並に鼠系IV株ウイルスで攻撃したときの致死率と、有意の差が認められるが、大関株ウイルスと、鼠系IV株ウイルスについての攻撃群の供試動物では、相互に、有意なる致死率の差を示さない。

8. 牛胆汁により減毒処理された七島株ウイルスの生毒免疫ハツカネズミについて、交叉的に、大関株、鼠系IV株並に七島株ウイルスで攻撃したが、免疫注射後65日を経過して生存する供試動物では、七島株ウイルスを以て攻撃した場合に、発症致死するものが少く、大関株並に鼠系IV株ウイルスの攻撃によつて、供試動物の大部分が発症致死し、各攻撃群のハツカネズミの致死率は、大関株並に鼠系IV株ウイルスの攻撃に高く、七島株ウイルスのそれには低くみられた。大関株並に鼠系IV株ウイルスによる致死率と、七島株ウイルスの致死率は、推計学的に有意の差が認められ、大関株と、鼠系IV株ウイルスについては、その両者の攻撃により発生する致死率に、有意な差が認められない。

9. 牛胆汁により減毒処理された、大関株ウイルスの生毒免疫ハツカネズミについて、交叉的に、大関株、鼠系IV株並に七島株ウイルスで攻撃した場合、免疫注射後、65日を経過して生存する供試動物では、大関株と鼠系IV株ウイルスで攻撃した場合に、発症致死するものが少く、七島株ウイルスによる発症致死率と、それぞれ、有意の差を示し、鼠系IV系

株病毒と、大関株病毒とによる、致命率には、両者は有意の差を示さない。この事實は、1, 3, 5%の牛胆汁を供し、30分間病毒に作用させた、各実験について、同様の傾向がみられ、1~5%の濃度では、その濃度差による病毒への影響は、さして認められない。

10. 胆汁酸塩類である、Natrium desoxycholicumの 10^{-4} , $10^{-4.5}$, 10^{-5} 稀釈のものを、又 Natrium cholicum の $10^{-4.5}$, 10^{-5} , $10^{-5.5}$ 稀釈のものを、恙虫病々毒に作用させたときには、免疫のために接種した後、早期に致死するものが多く、攻撃実験に供すべき多くの免疫ハツカネズミの確保が困難である。即ち、この2種の胆汁酸塩は、ハツカネズミに対する毒性が強いと考えられる。しかし、少数ながら、免疫後60日を経過して、なお生存するハツカネズミにつき、鼠系IV株、大関株及び七島株の諸病毒を以て攻撃したが、当該病毒の攻撃にはよく耐え、異系株の攻撃には致死率が高く、従つて、胆汁酸塩は、ハツカネズミ個体に対する毒性はかなり高いが、免疫原性には、さして劣性の影響を及ぼすものではないことを知った。

要するに、恙虫病々毒である、大関株、鼠系IV株及び七島株を供し、牛胆汁による減毒実験を行つたが、1~5%牛胆汁を、20~30分間、 4°C において、病毒に作用せしめれば、該病毒は、よく減毒され、免疫注射後致死するものが少く、かつ、かゝる処理病毒は、発症致死阻止能が高いと評価できるものであり、かゝる弱毒免疫は、交叉感染試験に、より多くの免疫ハツカネズミを供しうることになり、各病毒間の性質の相違が、著明な致死率の相違によつて保証され、恙虫病々毒の抗原構造の究明に、新しいかつ重要な知見を提供しうることになる。

胆汁酸塩については、供試動物に対するその毒性が強く、ために、病毒の弱毒化に供することは適當ではない。

結 語

牛胆汁と胆汁酸塩を、恙虫病々毒に作用させた、処理病毒による弱毒生毒免疫に関する研究は、恙虫病毒の免疫学的研究の新しい分野に属する。著者のこの研究は、病毒を弱毒化することにより、免疫動物の確保に成功したものであり、交叉感染試験が病毒株の比較に、極めて重要であり、かつ有意義であることを立証したものである。

即ち

1) 1, 3, 5%の濃度の牛胆汁及び 10^{-4} 乃至 $10^{-5.5}$ 稀釈の胆汁酸塩 (Natrium desoxycholicum 及び Natrium cholicum) を、恙虫病々毒である、鼠系IV株、大関株並に七島株病毒罹患ハツカネズミの、 10^{-2} , 10^{-3} 稀釈脳乳剤に等量に混じ、10, 20, 30分間に互り、 4°C において作用させ、その0.2ml宛を、ハツカネズミの皮下に注射し、弱毒効果をしらべ、更に、60~65日後に交叉的に各病毒を以て攻撃し、その発症致死率により各病毒株の抗原的關係を検討した。

2) 1~5%牛胆汁を、 10^{-2} 稀釈の鼠系IV株病毒に作用させた場合には、作用時間20~30分に於ては、明らかに減毒効果を認め、 10^{-3} 稀釈の鼠系IV株の場合にも、1%, 10分の処理病毒の他は、減毒の事實が認められた。

3) 10^{-2} , 10^{-3} 稀釈の七島株病毒の場合も、1~5%牛胆汁を、20~30分間作用させた処理病毒の免疫による発症致死率は低く、明らかに減毒効果が認められた。

4) 大関株病毒では、 10^{-2} 稀釈材料に、1~5%牛胆汁を、30分作用させたが、減毒効果は著明であつた。

5) 牛胆汁により減毒処理された、鼠系IV株病毒による免疫動物に、交叉的に大関株、七島株並に鼠系IV株を以て攻撃した場合には、七島株病毒の攻撃による致死率は、他の2病毒株による場合に比し、著しく高い。

6) 減毒大関株病毒による免疫の場合も同様、七島株病毒の攻撃による致死率が、他の2病毒株に比し明らかに高い。

7) 減毒七島株ウイルスによる免疫では、大関株及び鼠系IV株ウイルスの攻撃による致死率は、七島株のそれよりも明らかに高率であり、従って、鼠系IV株は、大関株に近縁であり、反之、七島株の抗原構造と、かなりの相違のあることが、弱毒免疫により、多くの免疫動物を供しえたことから、立証された。

8) 胆汁酸塩である N. d. と N. c. は、供試動物に対する毒性が強く、弱毒効果の判定は困難であるが、免疫原性に対しては、著明な影響を与えないとみられる。

9) 要するに、牛胆汁は恙虫病々毒を弱毒化し、尚おその免疫原性をよく保有せしめるものであり、従来行われた免疫実験に比し、ウイルスの性質の比較検討が、高い信頼性をもつてなしうるものである。

稿を終るに臨み、恩師村上教授の懇篤なる御指導と御校閲に衷心より感謝すると共に、終始、懇切なる御教示を賜った香川県衛生研究所長浜田豊博博士に深甚の謝意を表す

(本研究の要旨は第八回日本細菌学会中国四国地方支部総会において発表した)

文 献

- 1) Blanc, G. : Revue d'Hygiene. 58, 252, 1936.
- 2) Blanc, G. & Gaud, M. : Bull. Acad. Méd. Paris, 113, 407, 1935.
- 3) Blake, F. G. : J. Hyg., 41, 243, 1945.
- 4) Condradi, H. : Münch. m. W., 34, 1654, 1906.
- 5) Calmette, A. : Wien. Klin. Wschr., 41, 725, 1928.
- 6) Evelyn M. W. : Cold Spring Harber Symposia on Quantative Biology, 12, 256, 1949.
- 7) Fox, J. P. : J. Imm., 59, 109, 1948.
- 8) 福住他 : 総合研究班研究報告, 30, 昭29.
- 9) 福住 : 医学通信, 6, 昭25.
- 10) Guérin, A. : Wien. Klin. Wschr., 41, 731, 1928.
- 11) 細谷他 : 実験医学雑誌, 16, 1502, 昭7.
- 12) 今村他 : 大阪医学雑誌, 41, 1848, 昭17.
- 13) 今村 : 最近医学, 2, 541, 昭22.
- 14) Kayser, H. : Münch., m. W. 53, 823, 1906.
- 15) 川村明義他 : 七島熱の研究 (第二編), 34, 昭28.
- 16) 川村麟也他 : 日本医学, 3389, 3, 昭19.
- 17) 川村麟也他 : 日本医学, 3414, 3, 昭22.
- 18) 北岡 : 七島熱の研究 (第二編), 26, 昭28.
- 19) 北村 : 岡山医学会雑誌, 65, 743, 昭28.
- 20) 上村 : 北越医学雑誌 : 59, 1269, 昭19.
- 21) 桑田 : 日本細菌学雑誌, 4, 1, 昭24.
- 22) Laigret, J. & Durand, R. : Bull. Acad. méd. Paris, 122, 84, 1939.
- 23) Laigret, J. & Durand, R. : Bull. Soc. Path. exot., 32, 735, 1939.
- 24) 六反田他 : 総合研究班研究報告, 261, 昭27.
- 25) 丸岡 : 岡山医学会雑誌, 66, 2413, 昭29.
- 26) Nicoll, C. & Laigret, J. : Arch. Inst. Pasteur. Tunis, 25, 40, 1936.
- 27) Nicoll, C. & Laigret, J. : G. R. Acad. Soi., 201, 372, 1935.
- 28) 西成田 : 日本医学, 3382, 昭19.
- 29) 中川 : 結核, 13, 321, 昭10.
- 30) 軒原 : 岡山医学会雑誌, 67, 昭30.
- 31) Neufeld, T. : Z. f. Hyg., 34, 454, 1900.
- 32) Philip, C. B. : Am. J. Hyg. 46, 60, 1947.
- 33) Smadel, J. E. : J. Exp. Med., 83, 133, 1946.
- 34) Sparrow, H. : G. R. Sci. Biolog. Paris, 91, 1941, 1926.
- 35) 清水 : 日本学術協会報告, 帝国学士院受賞者講演録, 昭13.
- 36) 山崎 : 胆汁酸の臨床, 昭28.

Studies on so called "Umayado Disease"

I. Especially about the Virulence of Rickettsia strains influenced by Bile or Bile acid.

Shuhei MIKI

This experiment suggest that Bile and Bile acid has an antidotal effect for every strain of Rickettsia tsutsugamushi (orientalis), and that immunological heterogeneity among strains of Rickettsia orientalis can be differentiated by the serological cross test with the immune state of mice surviving infection as a result of treatment with Bile and Bile acid.

Observation was made in many mice which were injected with the "Umayado", Ozeki and Shichito strain of Rickettsia tsutsugamushi (orientalis).

Material of inoculation as follows ; 1, 3, 5% Solution of Bile, and 10^{-4} — $10^{-5.5}$ Natrium salt of Bile acid mixed with 10^{-2} , 10^{-3} brain emulsion of infected mice by these strains, in same quantity, for 10, 20, 30 minutes at 4 C.

1. 0.2ml of this material (Umayado), in each density and time, was inoculated subcutaneously for primary immunization of mice and these mice were challenged intraperitoneally after 65 days inoculated by 0.3ml, 10^{-2} Emulsion of three strains as a cross immunization test.

Antigenic relationship among three strains were investigated from mortalities of mice after primary infection for 65 days and after challenge for 20 days.

2. One paralld series of observation was made in mice. Employing in subcutaneous infecting dose of 10^{-2} — 10^{-3} dilution of these strain mixed with 1 — 5 % Bile for 20 — 30 minutes, greater part of 150 mice survived and in every case antidotal effect of Bile was demonstrated distinctly. The same result was noticed in Ozeki and Shichito strain.

3. Cross immunization test was observed in mice survived after primary inoculation of Umayado and Ozeki strain treated with Bile same qualified.

Greater part of immunized mice remained resistant to reinfection, by the challenge of the strain of Umayado and Ozeki, but in case of Shichito strain, mortality of survived mice after primary infection was higher than other homologous strains.

The greater part of mice by primary inoculation with Shichito strain treated with Bile succumbed to reinfection with Umayado and Ozeki strain.

These result of cross immunization test suggest that Umayado strain is similar to Ozeki strain in its antigenic structure.

4. It was difficult to examin about the antidotal effect of Natrium cholate and Natrium desoxycholate for Rickettsia orientalis, because these bile acids were toxic for maus, but immunogenicity of R. orientalis treated with Bile acid seemed to be maintained.

In short, it is recognized that Bile has not influence on the immunogenicity but a antidotal effect for R. orientalis. This fact suggest that Comparision of heterogeneity among strains of tsutsugamushi disease are investigated with surer confidence than the immunological test hitherto in common use.