日本諸地域患者および野鼠から分離した恙虫病 リケッチア株の抗原分析に関する研究

Studies of Antigen Analysis of Tsutsugamushi Disease Rickettsia Strains Isolated from Patients and Rodents in Different Areas of Japan

東京大学医学部衛生学教室 (指導 羽里彦左衛門教授)

野 原 孝 七

Kôshichi Nohara

Department of Hygiene, Faculty of Medicine, University of Tokyo

(Director: Prof. H. Hazato)

緒 言

日本における恙虫病は最近の研究により古くから知られている本州北西部の秋田, 山形, 新潟の 3 県に発生する夏型のもと伊豆七島において晩秋から冬季にかけて発生するいわゆる七島熱と呼ばれている冬型との 2 つがあることが明らかにされた。前者は重症型でその致死率は 30% 以上に達することが珍しくなく, *Trombicula akamushi* によつて媒介され, 後者は軽症型でその致死率はほとんど 0% であり, その媒介はおそらく *Trombicula scutellaris* によつてなされている。両者の発生季節を異にするのは以上の媒介恙虫の発生季節の相違によることも明らかにされている (東京都, 1952)¹⁾。

なおこのほか日本各地で病名不明の熱性疾患で二十日熱²⁾ または 2 週間熱, あるいは地名の下に熱を加えて呼ばれている, 例えば三浦熱, 野比熱³⁾, 福良熱, 土佐熱^{4, 5)}, 馬宿熱⁶⁾, 日向熱⁷⁾ などがあるが, これらの疾患の多くには恙虫病が含まれていることがだんだん明らかにされつつある。

日本において以上の患者およびその発生地域において捕獲した野鼠から分離したリケッチア株はきわめて多数にのぼっている。

これらの患者およびその発生地域において捕獲した野鼠からの分離リケッチアの抗原分析についてはいまだ満足すべき域に達せずいくたの異論が存在する現状である。

中村 (1958)⁸⁾ は交叉直接攻撃法によつて, 新潟県患者大関株, 三浦半島の野比熱患者長島株および八丈島七

島熱患者長戸路株との 3 者の間に, 交叉免疫関係が認められないことを, すなわち抗原的に差異のあることを証明した。

宋戸 (1957)⁹⁾ は, 第 5 回ウイルス学会において新潟県患者の加藤株を皮下接種したマウスは, いずれの恙虫病リケッチア株に対しても高度の防禦性を現わしたことから, 日本において分離された恙虫病リケッチアは抗原的に同一であり, 先に川村¹⁰⁾ が北海道丸山公園において捕獲した野鼠から分離したリケッチア, *R. tamiyai* もこの範疇に属することから *R. tamiyai* の命名に対して異議を唱えた。

著者はかくのごとき異論の存する拠点を追究せんと欲し, 以下述べる実験方法にしたがつて検討をおこない, 興味ある所見を得たのでこれをここに報告する。

実験材料および方法

1. 使用動物

市販雑系白色マウスを購入し研究室内で 1 週間前後飼育し, 健常であることを確かめたのち体重 15 g 前後の雄性マウスを選んで実験に使用した。

2. 供試リケッチア株

大関株: 昭和 24 年新潟県恙虫病患者より分離された *R. orientalis* 株で, 予防衛生研究所より分与された。

鶴木株: 同じく, 昭和 28 年新潟県恙虫病患者より分離された *R. orientalis* 株で, 予防衛生研究所より分与された。

長戸路株: 昭和 30 年 3 月, 八丈島七島熱患者血液より

分離されたリケッチア株で、予防衛生研究所より分与された。

船橋株：昭和32年2月，八丈島七島熱患者より東大衛生学教室において分離保存されたリケッチア株。

下田 No. 70株，下田 No. 71株，下田 No. 72株：ともに，昭和31年3月，静岡県下田市付近で捕獲した野鼠アカネズミより分離されたリケッチア株で，東京医科歯科大学微生物学教室より分与された。

新潟 No. 64株：昭和31年10月31日，新潟県長岡市付近の恙虫病浸淫地で捕獲した野鼠アカネズミより分離されたリケッチア株で，予防衛生研究所より分与された。

大島 No. 1株：昭和30年1月，七島熱リケッチア病浸淫地の東京都下大島で捕獲した野鼠アカネズミ5匹より分離されたリケッチア株で，予防衛生研究所より分与された。

3. 直接攻撃試験

生病毒接種によるマウス免疫

感染マウス脾乳剤を腹腔内に接種したのち7日 10日経過した感染マウスを屠殺し，リケッチアの感染による特有の病変である粘稠性を有する腹腔内滲出液の貯溜を確認し，その脾を剔出し無菌的に秤量したのち滅菌乳鉢に移し，滅菌乳棒を用いて磨碎し，これにSPG液を加えて1%乳剤とする。ついで，これを2,000 rpm 5分間遠心してその上清をとり感染免疫材料に使用した。実験目的によつてはさらに低濃度のものを使用した。

これら感染脾乳剤は，1群の健常マウスに対し 0.1ml ずつ右大腿部皮下に接種した。

4. リケッチア感染マウスの治療

生病毒感染免疫の目的で生病毒の皮下接種を施したマウス群は，その処置自体によつて発症し死亡することがあるのでその予防の意味において抗生剤投与によつて治療した。治療にはアクロマイシンを使用した。

水溶性アクロマイシン（静脈内注射用あるいは筋肉内注射用）を滅菌生理的食塩水で完全に溶解し，これを皮下接種をおこなった免疫マウスの腹腔内に，1日1回数日間連続注射した。

1回投与量として，マウス1頭当り 0.6mg を使用した場合は治療効果が不十分であつたので，その後 0.9～2.4～3.0～4.5mg と増量した。

治療は，生病毒接種1日～7日後から開始した。投与継続期日は3日～5日間とした。その後治療マウス群の一般状態が不良となつた場合には抗生剤による治療を再開した。

5. 免疫マウスに対する攻撃接種

生リケッチア皮下接種後14～35日を経過するものをお生残し，かつ外観上病的症状を呈しないマウスを選択し，これらに対してリケッチアの再接種攻撃試験をおこなつた。

攻撃試験には同株ならびに異株リケッチア感染マウスの脾乳剤あるいは脾および肝乳剤を用いて交叉的に 0.2 ml あるいは 0.5ml ずつを腹腔内に注射した。感染脾および肝乳剤はSPG液で10倍階段的に稀釈した各濃度を用いて攻撃した。これと同時に平行して正常マウスの1群にも同様の接種をおこない攻撃材料のLD₅₀値を知る対照とした。

6. 攻撃マウスの観察

攻撃処置を施したマウスは，その後3週間観察し，その間に発症斃死したマウスは，攻撃当日より斃死までの日数を記録した。

攻撃接種時あるいは観察中の事故による死亡に留意し，それが明白なる場合は，その旨を記載した。攻撃3週間後まで生残つたマウスは，すべてこれを剖検し，リンパ腺の腫脹，脾腫，粘稠性ある腹水の貯溜などの病変を検し，病変のあるもの，あるいはその疑あるものは，その腹膜上皮細胞塗抹標本作製し，メチルアルコール固定，5% Giemsa 染色を施したのち鏡検し，腹膜上皮細胞内リケッチアの存在の有無を追究し，感染の有無を決定した。

7. 中和試験

免疫血清の調製

大関株および長戸路株感染マウス脾のSPG液10%乳剤をつくり，これを家兎各2頭ずつに対して，反復静脈内注射をおこなつた。注射量は毎回1ml で，注射回数は，第1回注射を免疫第1日として，その後第4日，7日，10日，14日，17日および20日におこない，結局20日間に7回免疫をおこなつた。最後の注射より7日を経ってから全採血をおこない，血清を分離し，56°C30分間加熱により非働化をおこない，これを滅菌アンプルに封入し冷蔵庫内に保存した。

対照血清は，非免疫正常家兎の一部採血によつた。

中和試験術式

感染マウス脾のSPG液による10%乳剤を作製し，2,000 rpm 5分間遠心してその上清をとり，これを同じくSPG液にて10倍階段稀釈により乳剤の10倍稀釈系列をつくる。

各稀釈液 0.5ml に免疫血清 0.5ml を加えて混和し，

室温に1時間放置したのちその0.2mlずつを正常マウス腹腔内に注射した。対照として、免疫血清の代りに、SPG液あるいは正常家兎血清を使用して、同様の操作をおこなったマウス群を置き、そのID₅₀値と実験マウス群のID₅₀値の差により中和能力の力価を判定した。

実験マウス群は、3週間にわたり生死を観察し、その期間に斃死したマウスは、斃死日数を添えてその旨記載した。3週間の観察期間終了後には、すべての生残マウスを屠殺剖検し、かつ腹膜上皮細胞内のリケッチアの存否を鏡検してID₅₀値を求めた。

実験成績

1) 下田市付近において野兎より分離されたリケッチ A株間の交叉直接攻撃試験成績

下田 No. 70株、下田 No. 71株および下田 No. 72株リケッチア生病毒の皮下接種による免疫マウス群については、接種後7日目から11日目まで、連続5日間、マウス1頭当り2.0mg/mlアクロマイシン溶液0.3ml(0.6mg)ずつ腹腔内注射をおこなった。その治療によつて、免疫接種21日後には、下田 No. 70株免疫マウス群では51頭中44頭、下田 No. 71株では52頭中33頭、下田 No. 72株では51頭中40頭が、それぞれ生残った。

免疫接種21日後に、上記3株感染マウス脾肝10%浮遊液を0.5mlずつ、それぞれの免疫マウス群に交叉的に攻撃した。

その成績は第1表に示されている。

攻撃時に供試した各下田株感染マウス脾および肝に含まれるリケッチアのマウスに対するLD₅₀対数値は、第2表に示すごとく、下田 No. 70株は4.25、下田 No. 71株は3.69、下田 No. 72株は4.38であつた。

第1表に示すごとく、下田 No. 70株免疫群のマウス斃死率は、非攻撃対照群 $\frac{2}{7}$ 、同株 No. 70株攻撃群 $\frac{1}{11}$ 、異株下田 No. 71株攻撃群 $\frac{2}{10}$ 、異株下田 No. 72株攻撃群 $\frac{1}{9}$ であつた。

下田 No. 71株免疫群のマウス斃死率は、非攻撃対照群 $\frac{2}{7}$ 、同株下田 No. 71株攻撃群 $\frac{2}{9}$ 、異株下田 No. 70株攻撃群 $\frac{2}{9}$ 、異株下田 No. 72株攻撃群 $\frac{1}{8}$ であつた。

下田 No. 72株免疫群のマウス斃死率は、非攻撃対照群 $\frac{1}{10}$ 、同株下田 No. 72株攻撃群 $\frac{2}{10}$ 、異株下田 No. 70株攻撃群 $\frac{2}{10}$ 、異株下田 No. 71株攻撃群 $\frac{1}{9}$ であつた。

しかるに、非免疫対照群のマウス斃死率は下田 No. 70株攻撃群 $\frac{10}{10}$ 、下田 No. 71株攻撃群 $\frac{10}{10}$ 、下田 No. 72株攻撃群 $\frac{9}{10}$ であつた。

以上のごとく、免疫マウスは、攻撃株が同株であるか異株であるかに無関係に、被検マウス8~11頭のうち、斃死数は0~1~2頭であつた。このように同株免疫のみならず、相互間の交叉免疫が高度に発現し、その間に差が認められないことは、同一地区において同時期に捕獲された野兎から得られたそれぞれのリケッチア株の間には、抗原的差異がなく、すべて抗原的に同一のリケッチアであることを意味するものと考えられる。

第 1 表

免疫株 攻撃株	下田 No. 70 株	下田 No. 71 株	下田 No. 72 株	免 疫 せ ず
下田 No. 70 株	○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ● 21	○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○	○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○	● ● ● ● ● 21 18 18 16 16 ● ● ● ● ● 16 16 16 16 9
下田 No. 71 株	○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○	○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○	○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ● 9	● ● ● ● ● 16 16 16 16 16 ● ● ● ● ● 14 14 14 14 9
下田 No. 72 株	○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ● 22	○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ● 16	○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ● ● 16 12	○ ● ● ● ● 16 14 14 14 ● ● ● ● ● 14 14 14 12 12
攻 撃 せ ず	○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○	○ ○ ○ ○ ○ ● ● 12 9	○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ● 19	

第 2 表

株名 感染マウス脾稀釈	下田 No.70株	下田 No.71株	下田 No.72株
10^{-2}	●●●●●●●● 19 19 15 15 15	○●●●●●●● 17 17 11 9	●●●●●●●● 17 17 17 15 3
10^{-3}	○●●●●●●● 19 17 17 17 17	●●●●●●●● 17 17 14 11 5	●●●●●●●● 19 17 17 17 15
10^{-4}	○●●●●●●● 21 21 20	○●●●●●●● 17 15	○●●●●●●● 20 20 17 7
10^{-5}	○●●●●●●● 19 19	○●●●●●●●	○●●●●●●●
LD ₅₀ 対数値	4.25	3.69	4.38

2) 新潟県恙虫病患者 リケッチア株と 新潟県恙虫病浸淫地野鼠よりのリケッチア株との間の直接攻撃試験成績

新潟県患者株としては鶴木株，新潟県野鼠株としては新潟 No. 64株を使用した。

生ウイルスの免疫後抗生剤によるマウス治療は，ともに接種後 6 日目より開始した。6 日目および 7 日目の 2 日間，マウス 1 頭当り 3.0mg/ml アクロマイシン溶液 0.2 ml (0.6 mg) ずつ腹腔内注射し，8 日目より 10 日目まで連続 3 日間は，4.5mg/ml アクロマイシン溶液 0.2 mg (0.9mg) ずつを腹腔内に注射した。接種してから 21 日後には，生残マウス数は，鶴木株では接種 50 頭中 31 頭，新潟 No. 64 株では接種 51 頭中 40 頭であった。

攻撃は接種 21 日後に実施したが，この際，感染マウス脾の 10^{-1} 稀釈より 10^{-5} 稀釈までの浮遊液をつくり，それぞれ 0.5ml ずつ腹腔内に注射した。得られた成績は第 3 表および第 4 表に示す。

第 3 表の成績により，鶴木株攻撃の場合には，対照マウスにおける LD₅₀ 対数値は 4.50 であったが，同株鶴木株免疫マウス群では， 10^{-1} 稀釈乳剤接種マウス 3 頭中 2 頭が事故のため斃死したので，同株の程度を正確に知ることができなかった。これに反して異株新潟 No.64 株免疫マウス群においては， 10^{-1} 稀釈乳剤攻撃接種群においてもマウス斃死を認めず，完全な交叉免疫を認めた。

第 4 表の新潟 No. 64 株攻撃による成績では，同株感染マウス脾内リケッチアの力価は充分高いものであったにも拘らず (対照マウスの LD₅₀ 対数値 5.33 またはそれ以上) ，免疫マウスは両株とも高度の防禦性を発現し，しかも，その間に程度の差を認めることができなかった。

以上の結果により，新潟患者株と新潟野鼠株との間

第 3 表

鶴木株感染マウス脾稀釈乳剤	鶴木株免疫	新潟 No.64 株免疫	対照非免疫
10^{-1}	○ ⊗ ⊗ 7 4	○ ○ ○ ○	● ● ● ● 10 8 8 7
10^{-2}	○ ○ ○	○ ○ ○ ⊗ 7	● ● ● ● 12 10 8 8
10^{-3}	○ ○ ○	○ ○ ○ ○	● ● ● ● 21 12 12 12
10^{-4}	○ ⊗ ⊗ 12 10	○ ○ ○ ● 16	○ ○ ● ● 14 7
10^{-5}	○ ● 19	○ ○ ● ⊗ 21 12	○ ○ ● ● 17 12

⊗は事故死

第 4 表

新潟 No.64 株マウス脾稀釈乳剤	鶴木株免疫	新潟 No.64 株免疫	対照非免疫
10^{-1}	○ ○ ○ ● 21	○ ○ ○ ● 14	● ● ● ● 17 12 8 8
10^{-2}	○ ○ ● 7	○ ○ ● ● 14 7	● ● ● ● 12 12 8 8
10^{-3}	○ ○ ○	○ ○ ○ ○	● ● ● ● 15 12 10 10
10^{-4}	○ ○ ○	○ ○ ● ● 16 7	● ● ● ● 17 15 14 8
10^{-5}	○ ○ ● 12	○ ○ ○ ● 15	○ ● ● ● 21 17 16

に，直接攻撃試験法によつて抗原的差異を認めえなかつた。

3) 新潟県患者鶴木株，下田 No. 71 株および大島 No. 1 株との間の交叉直接攻撃試験成績

それぞれの株についてマウスに免疫接種したのちに，鶴木株および下田 No. 71 株免疫マウス群に対しては接種後 7 日目から 11 日目まで連続 5 日間 3.0mg/ml アクロマイシン溶液 0.2ml (0.6mg) ずつを各マウス腹腔に注射し，大島 No. 1 株については，接種後 7 日目より 10 日目まで連続 4 日間，マウス 1 頭当り 4.5mg/ml アクロマイシン溶液 0.2ml (0.9mg) ずつ腹腔内注射した。接種 28 日後には，鶴木株免疫マウス群では接種 50 頭中 45 頭，下田 No. 71 株免疫マウス群では接種 48 頭中 35 頭，大島 No. 1 株免疫マウス群では接種 50 頭中 49 頭がそれぞれ生残つた。

免疫接種 28 日後に，上記 3 株のリケッチア感染マウス

第 5 表

免疫株 攻撃株	鶴 木 株	下 田 No. 71 株	大島 No. 1 株	免 疫 せ ず
鶴 木 株	○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ● ● 19 18 ● 15	● ● ● ● ● 21 20 20 20 12 ● ● ● ● ● 12 12 7 4	○ ○ ○ ○ ○ ● ● ● ● ● ● ● 21 21 21 17 16 ● 15	○ ● ● ● ● 12 10 10 9 ● ● ● ● ● 9 9 9 9 9 ● 9
下 田 No. 71 株	● ● ● ● ● 21 21 20 20 15 ● ● ● ● ● 15 15 15 15 13 ● ● ● ● ● 7 5	○ ○ ○ ○ ○ ● ● ● ● ● 5 5 5 2	○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○	● ● ● ● ● 16 16 13 13 13 ● ● ● ● ● 13 13 13 13 13
大 島 No. 1 株	○ ○ ○ ● ● 21 20 ● ● ● ● ● 15 8 8 8 8 ● 8	○ ○ ○ ○ ○ ○ ● ● ● ● 17 15 7	○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ● ● ● 8 2	● ● ● ● ● 15 15 15 13 13 ● ● ● ● ● 13 13 13 13 5
攻 撃 せ ず	○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ● ● ● 19 18 4	○ ○ ○ ○ ○ ● ● ● ● ● 10 6 6 2	○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ● 21	

の脾肝10%乳剤を 0.5ml ずつそれぞれの免疫マウス群に交叉的に攻撃した。得られた成績は第 5 表に示す。

第 5 表に示した成績によると、鶴木株免疫マウス群においては、非攻撃対照群のマウス斃死率 $\frac{1}{10}$ 、同株鶴木株攻撃群 $\frac{3}{11}$ であつて、同株攻撃に対しては、ほぼ完全な免疫を有するものと考えられる。しかるに、異株大島 No. 1 株攻撃群においては、マウス斃死率 $\frac{8}{11}$ であつて、前者に比し免疫の程度の低いことが認められ、下田 No. 71 株攻撃群においては $\frac{12}{12}$ と全マウスの斃死が観察され、攻撃株に対する免疫はまったく認められない。

下田 No. 71 株免疫マウス群においては、非攻撃対照群のマウス斃死率 $\frac{1}{8}$ であるに対して、同株下田 No. 71 株攻撃群 $\frac{1}{8}$ であつて、この場合も同株免疫マウスにおける完全なる防禦性を推測することができる。しかるに異株大島 No. 1 株攻撃群のマウス斃死率は $\frac{3}{8}$ であつて、この場合には、下田 No. 71 株攻撃群とほぼ同程度の完全な免疫の発現を認めた。一方、異株鶴木株攻撃群のマウス斃死率は $\frac{1}{8}$ であつて、下田株免疫マウスの鶴木株に対する免疫はまったく認められない。

大島 No. 1 株免疫マウス群においては、非攻撃対照群のマウス斃死率 $\frac{1}{11}$ 、同株大島 No. 1 株攻撃群のそれは $\frac{3}{12}$ であつて、ほぼ完全に近い同株免疫の発現を認めた。しかるに、異株下田 No. 71 株攻撃群のマウス斃死

率は $\frac{9}{12}$ であつて、この際には完全な交叉免疫が認められた。これに反して異株鶴木株攻撃群の斃死率は $\frac{9}{11}$ であり、大島 No. 1 株免疫マウスの鶴木株に対する免疫は不完全であつた。

以上実施した 3 株間の交叉直接攻撃試験成績により、同株攻撃に対する高度の免疫を認めると同時に、下田株と大島 No. 1 株の間には、相互に顕著な交叉免疫が認められた。しかるに、新潟県恙虫病患者鶴木株のみは特異的であつて、他の 2 株との間の交叉免疫が認められないか、あるいは認められてもその程度は軽微であつた。

この成績により、下田株は新潟県恙虫病患者株よりも七島熱リケッチャ株により近縁のものであることが推察される。

4) 新潟県恙虫病患者株と八丈島七島熱患者株との間の交叉直接攻撃試験

七島熱患者より分離されたリケッチャ株について、新潟県恙虫病患者株との間の抗原的異同を追究する目的をもつて次の実験をおこなつた。

a) 大関株と長戸路株との間の交叉直接攻撃試験成績

各株の 1% 感染マウス脾浮遊液を 0.1ml ずつ皮下接種することにより、大関株および長戸路株リケッチャ生病毒免疫をおこない、ついで両免疫マウス群に対して、接種 6 日～8 日後の 3 日間、マウス 1 頭当たり 2.4mg の

アクロマイシンを腹腔内に注射した。注射中止後全体的にマウスの衰弱が認められたので、11日目に 1.5mg ずつ追加注射した。

この治療によつて、生病毒免疫接種14日後には、大関株免疫マウス30頭中29頭、長戸路株では30頭中27頭が生残つた。

免疫接種14日後に、長戸路株リケッチア感染脾10倍階段稀釈乳剤系列を作製し、それぞれの免疫マウスに対して、0.2ml ずつ腹腔内に攻撃接種した。

得られた成績は第6表に示す。

攻撃時材料の正常マウスに対する LD_{50} 対数値は3.67

第 6 表

長戸路株感染マウス脾稀釈乳剤	大関株免疫	長戸路株免疫	対照非免疫
10^{-1}	○ ○ ● ● 21 19 ● ● ● 19 14 14	○ ○ ○ ○ ○ ○	
10^{-2}	○ ○ ○ ○ ○ ○ ● 12	○ ○ ○ ○ ○ ○	● ● ● ● 19 19 14 14
10^{-3}	○ ○ ○ ○ ○ ○ ⊗ 14	○ ○ ○ ○ ○ ○	○ ● ● ● 19 18 18
10^{-4}			○ ○ ⊗ ● 18
10^{-5}			○ ○ ○ ● 14
対照非攻撃	○ ○ ○ ○ ○ ○ ○	○ ○ ○ ○ ○ ○	

⊗は21日観察後、生き残るも、屠殺、剖検によりリケッチアを腹膜上皮細胞内に鏡検証明であつたが、同株長戸路株免疫マウスにおいては、長戸路株感染マウス脾乳剤 $10^{-1} \sim 10^{-3}$ 稀釈液をもつて攻撃した結果、いずれもマウス斃死を認めず、完全な同株免疫の存在を認めた。しかるに異株大関株免疫の場合には、マウス斃死率は 10^{-1} 稀釈乳剤では $\frac{1}{4}$ 、 10^{-2} 稀釈乳剤接種では $\frac{1}{7}$ であり、その LD_{50} 対数値は1.39であつた。

以上の成績により、長戸路株攻撃については、同株免疫および交叉免疫が発現するが、同株免疫は高度である

に対して、異株大関株による交叉免疫は、その程度の低いことが認められ、両リケッチア株の間にはいくぶんの抗原性の差異のあることが推察される。

次に、両リケッチア株については、大関株攻撃実験をおこなつたが、その成績は第7表に示すごとくであつた。

同様条件において生病毒免疫をおこなつたのち、アクロマイシンを、5日目に 4mg、6日目に 2.0mg、7日目に 4.0mg ずつ各マウスに対して注射した。この治療によつて、生病毒接種21日後には、大関株免疫マウス30頭中15頭、長戸路株では30頭中14頭が生残つた。

免疫接種21日後に、大関株感染マウス脾稀釈乳剤をもつて攻撃して得られた成績は第7表に示される。

攻撃時材料の正常マウスにおける LD_{50} 対数値は3.75

第 7 表

大関株感染マウス脾稀釈乳剤	大関株免疫	長戸路株免疫	対照非免疫
10^{-1}	○ ○ ○ ● 11	○ ○ ○ ○	
10^{-2}	○ ○ ○ ● 20	○ ○ ○ ○	● ● ● 14 11 11
10^{-3}	○ ○ ● 18	○ ○ ○ ○	● ● ● 18 14 14
10^{-4}			○ ○ ● 18
10^{-5}			○ ○ ○
対照非攻撃			

であつたが、同株大関株免疫群攻撃の場合には、マウス斃死率は、 10^{-1} 稀釈乳剤攻撃群 $\frac{1}{4}$ 、 10^{-2} 稀釈 $\frac{1}{4}$ 、 10^{-3} 稀釈 $\frac{1}{3}$ で、ほとんど完全な同種免疫の成立が認められた。さらに異株長戸路株免疫群では各稀釈ともマウス斃死率は $\frac{1}{4}$ であつて、完全な交叉免疫発展が認められた。

以上の実験成績により、免疫2週間後に長戸路株で攻撃した場合には同株免疫は完全であるが、交叉免疫は不完全であつて、同株および異株の間に差を認めたが、免疫3週間後に大関株で攻撃した場合には、同株および異株免疫はともに完全な形で発現した。このことから同株免疫は異株免疫よりも早期に発現するものであつて、両株の抗原的差異を鑑別するには、免疫発展初期に攻撃するのが必要なのではないかと考え、次におこなう実験では免疫2週間後におこなつた。

b) 鶴木株と長戸路株との間の交叉直接攻撃試験成績

1%感染マウス脾浮遊液を 0.1ml ずつ皮下接種することにより、マウスに鶴木株および長戸路株により感染免疫をおこなった。

各株についての免疫マウス群は接種後 5 日から10日まで連続 6 日間、マウス 1 頭当たり 4.5mg/ml アクロマイシン溶液を 0.2ml (0.9 mg) ずつ腹腔内注射をおこなった。

この治療によって、生病毒接種14日後には、鶴木株免疫接種マウス群では80頭中72頭、長戸路株マウス群では50頭中47頭が生残っていたのでこれらに対し再接種攻撃をおこなった。

得られた成績は第 8 表および第 9 表に示す。

第 8 表

鶴 木 株 感染マウス 脾稀釈乳剤	鶴木株免疫	長戸路株免疫	対照非免疫
10 ⁻¹	○ ○ ○ ○	○ ● ● ● ● 18 17 16	● ● ● ● ● 13 13 11 11
10 ⁻²	○ ○ ○ ● 21	○ ○ ● ● ● 21 16	● ● ● ● ● 13 13 13 11
10 ⁻³	○ ○ ○ ○	○ ○ ○ ● 21	● ● ● ● ● 20 16 15 15
10 ⁻⁴	○ ● ⊗ ⊗ 13 9 9	⊗ ⊗ ⊗ ⊗ 21 6 6 6	○ ● ● ● ● 17 17 16
10 ⁻⁵	○ ○ ○ ○	○ ○ ○ ● 20	○ ○ ● ● ● 16 15
対照非攻撃	○ ○ ○ ○ ○ ○	○ ○ ○ ○ ○ ● 13	

第 8 表の成績のごとく、鶴木株攻撃の場合には、攻撃材料の対照マウスにおける LD₅₀ 対数値は 4.77 であつた。しかるに同株鶴木株免疫マウス群においては、マウス 斃死率は 10⁻¹ 稀釈乳剤攻撃群 %、10⁻² 稀釈乳剤攻撃群 %、10⁻³ 稀釈乳剤攻撃群 %、であつて、高濃度乳剤攻撃によるマウス死亡がほとんどみられず、非常に高度の同株免疫の存在が認められた。しかるに異株長戸路免疫マウス群においては、その LD₅₀ 対数値は 2.00 であつた。対照マウスのそれに比較して 2.77 の差があつた。この結果から判断すると、長戸路株免疫マウス群は、鶴木株に対して明確なる交叉免疫を有しているが、鶴木株免疫マウスの有する同株免疫に比しては、その程度の弱いことが認められる。

第 9 表

長 戸 路 株 感染マウス 脾稀釈乳剤	鶴木株免疫	長戸路株免疫	対照非免疫
10 ⁻¹	○ ● ● ● ● 21 12 12	● ● ⊗ ⊗ 13 11 9 4	● ● ● ● ● 19 11 11 11
10 ⁻²	○ ○ ● ⊗ 11 4	○ ○ ○ ○	● ● ● ● ● 11 11 11 9
10 ⁻³	○ ○ ○ ○	○ ○ ○ ○	● ● ● ● ● 13 13 13 13
10 ⁻⁴	○ ○ ○ ○	○ ○ ○ ○	○ ● ● ● ● 21 15 15
10 ⁻⁵	○ ○ ● ⊗ 18 9	○ ○ ○ ● 21	○ ○ ○ ● 19
対照非攻撃			

長戸路株攻撃の場合には、第 9 表に示されるようにその供試攻撃材料の対照マウスにおける LD₅₀ 対数値は 4.50 であつた。しかるにその場合には、鶴木株攻撃の場合と異なり、両免疫群における防禦性は発現しているけれども完全ではなく、同株長戸路株免疫マウスの LD₅₀ 対数値は 1.50、異株鶴木株免疫マウスの LD₅₀ 対数値は 1.56 であつて、両者の間の差はほとんど認められなかつた。

c) 鶴木株と船橋株との間の交叉直接攻撃試験成績

1%感染マウス脾浮遊液を 0.1ml ずつ皮下接種することにより、鶴木株および船橋株による感染免疫をおこない、続いて両免疫マウス群に対して、接種翌日より 6 日まで連続 6 日間マウス 1 頭当たり 4.5mg/ml アクロマイシン溶液 0.2ml (0.9mg) ずつ腹腔内に注射した。

この治療によって、生病毒接種14日後には、鶴木株免疫接種マウス群では50頭中44頭、船橋株免疫接種マウス群では48頭中43頭が生残つた。

免疫接種14日後に、腹腔内に交叉攻撃接種をおこなつた。

得られた成績は、第10表および第11表に示す。

第10表の成績によると、まず攻撃のために使用した鶴木株感染マウス脾のリケッチア力価はきわめて高く、対照正常マウスにおいては、10⁻¹ より10⁻⁵ 稀釈液までの浮遊液を接種したマウスは全部斃死し、その LD₅₀ 対数値は 5.50 以上であつた。

このように高力価のリケッチアによる攻撃であつたにも拘らず、同株鶴木株で免疫したマウスは 10⁻¹ 稀釈液での攻撃に対しても 4 頭のマウスのうち 2 頭が斃死を免れた。しかるに異株船橋株免疫マウスでは、10⁻¹ 稀釈液攻

第 10 表

鶴 木 株 感染マウス 脾稀釈乳剤	鶴木株免疫	船橋株免疫	対照非免疫
10^{-1}	○ ○ ● ● 20 20	● ● ● ● ● ● 20 20 13 10	● ● ● ● ● ● 11 10 10 10
10^{-2}	○ ○ ○ ○	○ ○ ○ ○	● ● ● ● ● ● 11 11 10 10
10^{-3}	○ ○ ● ● ● ● 18 17	○ ○ ○ ● ● ● 20	● ● ● ● ● ● 13 13 13 10
10^{-4}	○ ○ ○ ● ● ● 14	○ ○ ○ ● ● ● 10	● ● ● ● ● ● 15 14 14 10
10^{-5}	○ ○ ○ ● ● ● 17	○ ○ ○ ● ● ● 11	● ● ● ● ● ● 17 16 15 15
対照非攻撃	○ ○ ● ● ● ● 14 14	○ ● ● ● ● ● 14 7	

撃により、4頭のマウスは全部斃死した。しかし、鶴木株免疫マウスと同様に、 10^{-2} 稀釈浮遊液攻撃に対しては船橋株免疫マウスもすべてこれに耐えた。そして、この場合の LD_{50} 対数値は、同株鶴木株免疫群1.71、異株船橋株免疫群1.87であつて、株の異同による防禦免疫程度の差異はほとんど認められなかつた。

第 11 表

船 橋 株 感染マウス 脾稀釈乳剤	鶴木株免疫	船橋株免疫	対照非免疫
10^{-1}	○ ○ ○ ○	○ ○ ○ ○	● ● ● ● ● ● 16 15 13 13
10^{-2}	○ ○ ○ ○	○ ○ ○ ○	● ● ● ● ● ● 18 14 14 13
10^{-3}	○ ○ ○ ○	○ ○ ○ ● ● ● 17	○ ● ● ● ● ● 20 16 15
10^{-4}	○ ○ ○ ○	○ ○ ○ ○	○ ○ ○ ○
10^{-5}	○ ○ ○ ○	○ ○ ○ ○	○ ○ ○ ○
対照非攻撃			

船橋株攻撃の場合には、第11表に示すごとく正常マウスにおける LD_{50} 対数値は3.33であつて、攻撃使用脾内のリケッチア力価が低く、そのために免疫マウスは、鶴木株および船橋株ともに、 $10^{-1} \sim 10^{-5}$ 稀釈液攻撃を受けてもほとんどすべて生残つた。

これは、両群の免疫程度を区別するにはあまりにもリケッチア力価が低かつたものであると考えられる。

以上の新潟県恙虫病患者株と八丈島七島熱患者株との間の交叉直接攻撃試験結果をみるに、感染致死力価の高い材料で攻撃した場合には LD_{50} 値の差から両者の間に差を認めることができると思われるが、異株間の交叉免疫の程度も比較的高く、また、実験条件に左右されて、その区別の不安定であることが認められた。

とくに、治療不完全のために起る生病毒免疫接種によるマウスの斃死が、実験の結果を妨害する傾向があるので、次に、微量リケッチアによるマウス免疫をおこなうとともに、今までの実験において不明確であつたマウス免疫量を明らかにするために、次の実験をおこなつた。

5) 生病毒高度稀釈液免疫による大関株および長戸路株間の交叉直接攻撃試験

大関株および長戸路株感染マウス脾 10^{-4} および 10^{-5} 稀釈乳剤をもつて、それぞれマウス免疫をおこなつた。この際の両接種材料のリケッチア力価測定成績は第12表に

第 12 表

免疫時のリケッチア力価測定

感染マウス 脾稀釈乳剤	大 関 株	長 戸 路 株
10^{-3}	● ● ● 15 15 12	○ ● ● 21 21
10^{-4}	● ● ● 15 8 8	○ ● ● 21 13
10^{-5}	● ● ● 8 8 8	● ● ● 21 21 10
10^{-6}	○ ● ● 20 17	○ ○ ○

攻撃時のリケッチア力価測定

感染マウス 脾稀釈乳剤	大 関 株	長 戸 路 株
10^{-3}	● ● ● 10 10 6	● ● ● 16 13 10
10^{-4}	● ● ● 14 14 10	○ ○ ● 10
10^{-5}	○ ● ● 18 6	○ ● ⊗ 10 6
10^{-6}	○ ○ ○	○ ○ ○

示されるごとく、大関株では LD_{50} 対数値6.25以上、長戸路株では LD_{50} 対数値5.16であつた。

免疫後は、抗生剤による治療をおこなわず、35日間観察したが、観察期間終了時の免疫マウスの生残率は、大

関株 10^{-4} 稀釈液免疫群 $^{11}/_{20}$, 10^{-5} 稀釈液免疫群 $^{17}/_{20}$, 長戸路株 10^{-4} 稀釈液免疫群 $^{17}/_{25}$, 10^{-5} 稀釈液免疫群 $^{11}/_{25}$ であった。

免疫35日後に、大関株および長戸路株感染マウス1%脾乳剤を0.2ml ずつ腹腔内接種することによつて、それぞれの免疫群および対照群を攻撃した。

攻撃時の同株接種材料のリケッチア力価測定成績は第12表に示されるごとく、大関株では LD_{50} 対数値5.25, 長戸路株では LD_{50} 対数値4.00であった。

各群マウスにおける交叉直接攻撃試験成績は、第13表に示される。

第 13 表

免疫株名	感染マウス脾稀釈乳剤	大 関 株 攻 撃	長 戸 路 株 攻 撃
大 関 株	10^{-4}	○ ○ ○ ○ ○	○ ○ ○ ○ ○
大 関 株	10^{-5}	○ ○ ○ ○ ○ ○ ● ● 18 10	○ ○ ○ ○ ● ● ● ● 16 16 16 21
長戸路株	10^{-4}	○ ○ ○ ● ● ● ● ● 13 13 13 18 13	○ ○ ○ ○ ○ ● ● ● ● ● 21 21 14 13
長戸路株	10^{-5}	○ ○ ○ ○ ● ● 10 16	○ ○ ○ ○ ● ● 18
対 照 免 疫	10^{-2}	● ● ● ● ● 10 10 10 6 6	● ● ● ● ● 16 16 16 13 6

(免疫後35日目攻撃)

大関株 10^{-4} 稀釈脾乳剤免疫群マウスでは、同株大関株および異株長戸路株攻撃に対してともに完全な免疫性を獲得しており、斃死率はともに % であった。

大関株 10^{-5} 稀釈脾乳剤免疫群マウスでは、同株大関株攻撃群の斃死率 2%, 異株長戸路株攻撃群のそれは 4% であつて、その間の差は僅少である。

長戸路株 10^{-4} 稀釈脾乳剤免疫群マウスでは、同株長戸路株攻撃群の斃死率 4%, 異株大関株攻撃群の斃死率 1% であり、 10^{-5} 稀釈脾乳剤免疫群マウスでは、2% および 1% であつて、同株および異株間の差はきわめて僅少であつた。

以上のごとく、大関株および長戸路株間の免疫性の差異はほとんど認められなかつた。

次に、同一の条件において、免疫と攻撃との間の期間を短縮した以外には変るところなく以上の実験を繰返し

たところ、次の成績が得られた。

大関株および長戸路株感染マウス脾 10^{-4} および 10^{-5} 稀釈乳剤をもつて、それぞれマウス免疫をおこなつたが、この際の両接種材料のリケッチア力価測定成績は、第14表に示されるごとく、大関株 LD_{50} 対数値 6.5以上、長戸路株 LD_{50} 対数値4.00であつた。

免疫後は、抗生剤による治療をおこなわず、観察をおこなつたが、16日後の攻撃時には、免疫マウスの生残率は、大関株 10^{-4} 稀釈脾乳剤免疫群 $^{15}/_{20}$, 10^{-5} 稀釈脾乳

第 14 表

免疫時のリケッチア力価測定

感染マウス脾稀釈乳剤	大 関 株	長 戸 路 株
10^{-3}	● ● ● 13 10 10	○ ● ● 19 19
10^{-4}	● ● ● 16 13 13	○ ○ ● 19
10^{-5}	● ● ● 21 16 9	○ ● ● 13 13
10^{-6}	● ● ● 21 21 21	○ ○ ○

攻撃時のリケッチア力価測定

感染マウス脾稀釈乳剤	大 関 株	長 戸 路 株
10^{-3}	● ● ● 13 13 11	● ● ● 14 13 8
10^{-4}	● ● ● 13 13 11	● ● ● 17 15 15
10^{-5}	● ● ● 15 14 14	● ● ● 21 17 17
10^{-6}	● ● ● 15 14 13	● ● ● 21 21 17

剤免疫群 $^{18}/_{20}$, 長戸路株 10^{-4} 稀釈脾乳剤免疫群 $^{19}/_{20}$, 10^{-5} 稀釈脾乳剤免疫群 $^{18}/_{20}$ であつた。

免疫16日後に、大関株および長戸路株感染マウス1%脾乳剤を0.2ml ずつ腹腔内接種することによつて、それぞれの免疫群および対照群に攻撃した。

攻撃時の同株接種材料のリケッチア力価測定成績は、第14表に示されるごとく、両株とも 10^{-3} から 10^{-6} 稀釈脾乳剤接種マウスはすべて斃死し、 LD_{50} 対数値はともに6.50以上であつた。

各群マウスにおける交叉直接攻撃試験成績は第15表に示される。

第 15 表

免疫株名	感染マウス脾臓液 稀釈剤	大 関 株 攻 撃	長 戸 路 株 攻 撃
大 関 株	10^{-4}	○ ○ ○ ○ ○ ● ● ● 15 11 2	● ● ● ● ● ● ● ● 18 13 11 11 11 ● ● 6 6
大 関 株	10^{-5}	○ ○ ○ ○ ○ ● ● ● ● ● 11 11 11 4	○ ○ ● ● ● 18 17 17 ● ● ● ● ● 14 11 8 8
長 戸 路 株	10^{-4}	○ ● ● ● ● ● ● ● 13 11 11 11 ● ● ● ● ● ● ● ● 11 11 8 8 8	○ ○ ○ ● ● ● ● ● 17 15 ● ● ● ● ● ● ● ● 13 13 11 11
長 戸 路 株	10^{-5}	● ● ● ● ● ● ● ● 13 11 11 11 11 ● ● ● ● ● ● ● ● 8 8 6 4	● ● ● ● ● ● ● ● 20 18 17 15 14 ● ● ● ● ● ● ● ● 13 13 11 11
対 照 非 免 疫		● ● ● ● ● ● ● ● 11 11 11 8 8	● ● ● ● ● ● ● ● 14 13 11 11 11

(免疫後 16 日目攻撃)

大関株 10^{-4} 稀釈脾乳剤免疫マウスでは、同株大関株攻撃群の斃死率は $\frac{1}{1}$ であつて、部分的な免疫性獲得を認めたが、異株長戸路株攻撃群の斃死率は $\frac{7}{11}$ があつて、まったく免疫性が認められず、同株および異株間に差異があつた。

大関株 10^{-5} 稀釈脾乳剤免疫群マウスでは、同株大関株攻撃群の斃死率 $\frac{1}{1}$ 、異株長戸路株攻撃群 $\frac{7}{11}$ であつて、ともに部分的な免疫性獲得が認められたが、同株攻撃に対する防禦性の程度がやや高い傾向を有している。

長戸路株 10^{-4} 稀釈脾乳剤免疫群マウスでは、同株長戸路株攻撃群の斃死率 $\frac{6}{11}$ 、異株大関株攻撃群 $\frac{10}{11}$ であつて、免疫の程度が低く、両株間の差異も僅少である。

長戸路株 10^{-5} 稀釈脾乳剤免疫群マウスでは、同株長戸路株および異株大関株攻撃に対してまったく防禦性を認めず、ともに斃死率は $\frac{9}{11}$ であつた。

以上のごとく、大関株免疫マウス群攻撃試験成績により、同株大関株に対する免疫が異株長戸路株に対する免疫よりも高いことが認められる。

免疫35日目に攻撃した場合には、両者の免疫性に差異の認められなかつたことから考察すると、この場合は免疫から攻撃までの期間が16日という比較的短期間であつたため、同株免疫は比較的高度に発展してきているが、異株免疫の発展はまだ軽度であるものと考えられる。

これに反して、長戸路株免疫マウス群においては、免疫性の発現が軽度で、とくに 10^{-5} 稀釈脾乳剤免疫群では

まったく免疫性が認められない。免疫時の接種材料リケッチア力価測定成績で、その LD_{50} 対数値が4.00であつたことから、これは、おそらく免疫が不充分であることによるものと思われる。

以上の両実験によつて、大関株と長戸路株との交叉直接攻撃試験においては、免疫量、免疫発展期間、攻撃量が適正であれば、両者間の差異が発現しうるものであることをうかがうことができる。

6) 長戸路株と大関株との間の交叉中和試験

免疫開始後2週間目までに、それぞれの株で3回免疫をおこなつた家兎より一部採血によつて得られた抗血清を用いて中和試験をおこなつた。感染マウス脾臓液と抗血清は混合してから1時間室温に放置し作用せしめたが、この際の室温は27°Cであつた。

大関株および長戸路株について、それぞれ家兎2頭ずつ免疫をおこない、得られた血清は、各個についてその中和能力を検した。

大関株病毒については、第16表(a)に示される成績を得た。対照マウスの LD_{50} 対数値は3.50であるが、同株大関株免疫血清を作用せしめた場合の LD_{50} 対数値は3.78および3.78であつて、同株および異株免疫血清の中和作用はまったく認められず、また、両株血清間の差異もほとんど認められない。

長戸路株病毒については、第16表(b)に示される成績を得た。対照マウスの LD_{50} 対数値は4.00であるが、同株長戸路株免疫血清を作用せしめた場合の LD_{50} 対数値は2.77および2.50、異株大関株免疫血清の場合は3.50および3.67であつて、異株大関株免疫血清の中和能力はほとんど認められないが、同株長戸路株免疫血清においては、中和対数1.23~1.50の程度の中和が認められる。

次に、3週間以内に、感染マウス脾乳剤をもつて7回静脈内注射をおこない、最終注射より8日目に全採血によつて得られた高度免疫家兎血清を用いて交叉中和試験を実施した。

各血清は感染マウス脾臓液に対して室温(17.5°C)で1時間作用せしめた。

得られた成績は第17表および第18表に示す。

大関株病毒についての成績は第17表に示されるごとくであるが、この場合対照マウスにほとんど斃死するものを認めなかつた。

同株大関株免疫血清と異株長戸路株免疫血清との中和能力を比較してみると、2頭の家兎より得られたそれぞれの異株長戸路株免疫血清を作用せしめた場合には、ともに、大関株感染マウス脾 10^{-2} 稀釈より 10^{-4} 稀釈まで

株免疫家兔血清		長戸路株免疫家兔血清	
1	No. 2	No. 1	No. 2

長戸路株感 染マウス脾 稀 積	大 関 株 免 疫 家 兎 血 清				長 戸 路 株 免 疫 家 兎 血 清				対 照											
	No. 1				No. 2				No. 1				No. 2				(SPG 液)			
10 ⁻²	● 18	● 4	● 4	● 4	● 16	● 16	● 13	● 13	○	● 21	● 16	● 13	○	○	● 7	● 7	○	● 16	● 16	● 4
10 ⁻³	○	○	○	● 4	● 18	● 16	● 16	● 16	○	○	● 18	● 16	○	○	● 21	● 11	○	● 16	● 16	● 16
10 ⁻⁴	○	● 21	● 21	● 16	○	○	○	● 18	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	● 16	● 16
10 ⁻⁵																	○	○	○	● 11

關株免疫家兎血清		長戸路株免疫家兎血清	
No. 1	No. 2	No. 1	No. 2

の接種マウスは全部斃死したが、同株大関株免疫血清の場合、抗大関株家兎血清 No. 2 では長戸株免疫血清の場合と同様に、 10^{-2} 稀釈より 10^{-4} 稀釈液までの接種マウスは全部斃死したが、抗大関株家兎血清 No. 1 では斃死マウスは 10^{-2} 稀釈液 $\frac{1}{4}$ 、 10^{-3} 稀釈液 $\frac{1}{4}$ 、 10^{-4} 稀釈液 $\frac{3}{4}$ であつて、同株大関株免疫血清の方に中和能力の高い傾向を推定することができた。

(162)

第 18 表

長戸路株感染マウス脾 稀 釈	大 関 株 免 疫 家 兎 血 清		長 戸 路 株 免 疫 家 兎 血 清		対 照 (SPG 液)
	No. 1	No. 2	No. 1	No. 2	
10^{-2}	○ ● ● ● 15 5 3	○ ● ● ● 19 15 12	● ● ● ● 21 19 19 19	○ ● ● ● 12 3 3	○ ○ ○ ○
10^{-3}	● ● ● ● 19 19 15 15	○ ● ● ● 21 21 3	○ ○ ● ● 21 3	○ ○ ○ ● 3	○ ○ ○ ○
10^{-4}	○ ○ ○ ○	○ ○ ● ● 15 3	○ ○ ○ ● 3	○ ○ ○ ● 15	○ ○ ○ ○
10^{-5}					○ ○ ○ ○

第 19 表 免疫開始 4 週間後の高度免疫血清に
よる交叉中和試験成績 (II)

大関株感染 マウス脾稀 釈	大関株免疫 家 兎 血 清	長戸路株免 疫家兎血清	対 照 (正常家 兎血清)
10^{-3}	● ● ● ● 15 15 15 8	● ● ● ● 18 15 15 15	● ● ● ● 15 15 12 12
10^{-4}	○ ○ ● ● 15 15	● ● ● ● 18 18 18 18	● ● ● ● 18 15 15 8
10^{-5}	○ ○ ● ● 8 5	● ● ● ● 18 8 5 5	○ ○ ○ ● 21
10^{-6}	○ ○ ● ● 21 18	○ ○ ○ ○	○ ○ ● ● 21 5

第 20 表

長戸路株感 染マウス脾 稀 釈	大関株免疫 家 兎 血 清	長戸路株免 疫家兎血清	対 照 (正常家 兎血清)
10^{-3}	● ● ● ● 21 18	● ● ● ● 18 18 15	● ● ● ● 21 18 15 15
10^{-4}	○ ● ● ● 18 15	○ ○ ○ ● 5	○ ● ● ● 18 15 8
10^{-6}	○ ○ ○ ● 18	○ ○ ● ● 21 21	○ ○ ○ ● 12
10^{-6}	○ ○ ○ ● 21	○ ○ ● ● 12 12	○ ○ ○ ● 21

● は 21 日観察後、生き残るも、屠殺、剖検により
リケッチアを腹膜上皮細胞内に鏡検証明

この実験において対照マウスの斃死を認めなかつたことは、おそらく室温が高かつたために、リケッチア生存性に及ぼす SPG 液の効果が低下し、放置時間内にリケッチアが急速に死滅したためであると考えられる。一方免疫血清を加えた際には、その蛋白質によるリケッチア生存保護効果が発揮されたものと推察される。

そのために対照として SPG 液の代りに正常家兎血清を使用し、実験を繰返した。

上記実験によつて、家兎の個体差による免疫血清中和能力の差異は、ほとんど認められなかつたので、それぞれ同一株によつて免疫された家兎抗血清は、等量ずつ混和して使用した。各血清は感染マウス脾稀釈液系列に対して、室温 17.5°C で 1 時間作用せしめた。得られた成績は第 19 表および第 20 表に示される。

大関株病毒については、対照マウスにおける LD_{50} 対数値は 5.00、同株大関株免疫血清を作用せしめた場合の LD_{50} 対数値は 5.00、異株長戸路株の場合は LD_{50} 対数値 5.50 であつて、同株および異株免疫血清の中和作用はまったく認められなかつた。

長戸路株病毒に対する成績では、対照マウスにおける LD_{50} 対数値 4.67、異株大関株免疫血清を作用せしめた場合の LD_{50} 対数値 4.00、同株長戸路株免疫血清の場合の LD_{50} 対数値は 4.36 であつて、それぞれ中和対数 0.67 および 0.31 の中和能力を認めた。対照マウスにおける ID_{50} 対数値は LD_{50} 対数値 4.67 と一致したが、異株大関株免疫血清の場合は、 ID_{50} 対数値 4.67、同株長戸路株免疫血清の場合には ID_{50} 対数値 4.69 であつて、これら 3 者の ID_{50} 対数値はほとんど同一の値を示した。

総括および考察

著者はマウスを用い皮下接種動物に一定期間後腹膜内攻撃接種をおこなうことによる動物の生死により免疫の成立いかんを知るいわゆる直接攻撃試験または再感染試験、および中和試験により日本各地域患者および野鼠から分離した恙虫病リケッチア株間の抗原分析をおこなひ次のごとき成績を得た。

再感染試験においては

1) 同一地域の野鼠から分離したリケッチア株下田

No. 70, 下田 No. 71および下田 No. 72株の間には顕著な抗原的差異を認めえなかつた。

2) 新潟県患者鶴木株と同一地域の野鼠から分離した新潟 No. 64株との間にも抗原的差異を認めることは困難であつた。

3) 新潟県患者鶴木株と伊豆下田市近郊および大島において捕獲した野鼠から分離した下田 No. 71株ならびに大島 No. 1株との間に抗原的差異のあることは明らかに認められたが下田 No. 71株と大島 No. 1株の間にはいくぶんの交叉免疫の存在することからこの両株は抗原的に近縁であることが想定された。

4) 新潟県患者大関株と七島熱患者長戸路株の間には免疫注射から再感染攻撃注射までの間隔を3週間にしたときは両者の間に抗原的差異を認めることが困難であつたが免疫注射後比較的早期2週間に攻撃注射をおこなったときは両者の間の抗原的差異が明らかに認められた。

かかることは補体結合反応にも認められているところであつて Smadel(1956)¹¹⁾ は恙虫病リケッチアにおいて免疫の初期においては sensitive strain のみが反応するが免疫後期には non-sensitive strain も反応し交叉反応の成立することを報告している。このことは免疫初期には株特異性抗体が多く産生され免疫後期には共通抗体が多く産生されるために株特異性が覆われてしまうものと解釈される。恙虫病リケッチア分離株間の抗原分析の問題に関しいくつの異論の存することは以上の事実もこれに関係する一つであることが考えられる。

5) 新潟県患者鶴木株および七島熱患者長戸路株の初感染皮下接種動物群に対して2週間後に鶴木株で再接種攻撃をおこなった場合には無処置対照動物群の LD₅₀ 値に比し鶴木株前処置群の LD₅₀ 値ははるかに低くこれに対し長戸路株前処置群では鶴木株前処置群のそれがかなり高い値を示したことから両者の間に抗原的差異のあることが認められた。

6) ところが両株免疫処置群を長戸路株で攻撃したときには両者の間に LD₅₀ 値の差異が顕著でなく両株の間に抗原的差異を認めることが困難であつた。

以上のごとく攻撃株の相違によつて実験結果に相違をきたすことのあることはいかなる理由によるかなお検討を要するものとする。

7) 新潟県患者鶴木株と七島熱患者船橋株との間には交叉免疫の成立がかなり強く認められたので両者の間に抗原的差異を認めることが困難であつた。

8) 感染免疫の目的にマウスへの皮下接種材料に高度稀釈のものを使用し免疫途中に抗生剤投与をおこなわな

かつた場合の攻撃試験の結果は免疫期間を比較的短く16日間にしたときは大関株と長戸路株の間に抗原的差異のあることが顕著に認められたが攻撃までの期間が35日間の長期に及ぶときは両者の間の交叉免疫が同程度に現われ抗原的差異の存することが認められなかつた。

中和試験においては

9) 大関株と長戸路株の間に抗原的差異のあることが LD₅₀ 値の差からみて比較的容易に決定することができた。

以上の成績から *R. orientalis* 株間の抗原分析には直接攻撃法によるよりも中和試験によつた方が比較的容易であるように思われる。また直接攻撃法によるときは初感染接種から再感染攻撃接種まで期間を比較的短くした方が適当であるが、かかる場合においても抗原分析の判定に難易の相違をきたすことのあることは否めない場合もある。

結 論

著者は日本各地の患者および野鼠から分離した恙虫病リケッチア株間の抗原分析について直接攻撃法および中和試験により検討しその結果ならびにそれに対する考察を記述した。

本研究の一部は地方性リケッチア症調査研究田宮班研究費の支援によるところ大である。ここにそれを記して深甚の謝意を表します。

稿を終るに臨み、終始御懇篤なる御指導と御校閲を賜わつた恩師羽里彦左衛門教授、山本俊一先生ならびに教室の方々に、心から感謝します。

文 献

- 1) 東京都：七島熱の研究。1952, 1953, 1955.
- 2) 鈴木武夫, 七山悠三, 島村多之助, 長井和行, 佐々 学, 林 滋生, 鈴木 猛, 田中 寛, 三浦昭子：千葉県下の恙虫病調査研究, 第4報。衛生動物, 6, 45, 1955.
- 3) 塩谷忠春：いわゆる野比熱患者より分離した恙虫病リケッチア株に関する研究。日本衛生学雑誌, 13, 823, 1959.
- 4) 佐々 学, 川島文夫：高知県の恙虫病及び恙虫について。衛生動物, 3, 130, 1952.
- 5) 川村明義・他：東京医事新誌, 69, 495, 1952.
- 6) 村上 栄, 藤原 清, 丸岡敏夫, 軒原 進, 浜田豊博：香川県下における馬宿病の病原体に関する研究。日本細菌学雑誌, 10, 398, 1955.
- 7) 福田武夫, 北尾忠利, 慶田彌八郎：日向熱(伝

- 染性単核症)の病原体に関する研究, 第1報. 医学と生物学, **35**, 92, 1955.
- 8) 中村賢吉: 社会保険医学雑誌, 通巻13号, 14~18, 1958.
- 9) 尖戸 亮, 大田原美作雄, 館野 進, 北岡正見: 恙虫病リケッチアの免疫に関する実験的研究. *Virus*, **7**, 455, 1957.
- 10) Kawamura, A. Jr.: Notes on the new strain of rickettsia, *Rickettsia tamiyai* n. sp. isolated from voles in Hokkaido. Japan. J. Exp. Med., **24**, 47, 1954.
- 11) Smadel, J. E.: Diagnostic procedure for viral and rickettsial diseases. pp. 513~552, Washington, Am. Publ. Health Assoc., 2nd Ed, 1956.

(受付: 1959年5月8日, 特別掲載)