恙虫病リケッチア株の直接攻撃試験および中和 試験に関する研究

Studies on the Direct Challenge Tests and Neutralization Tests of Tsutsugamushi Disease Rickettsia Strains

東京大学医学部衛生学教室（主任 羽里彦左衛門教授）

中 村 秀 雄

Hideo Nakamura

Department of Hygiene, Faculty of Medicine, University of Tokyo

(Director: Prof. H. Hazato)

緒 言

最近日本各地において患者および野鼠から分離された多数のリケッチア株については、以前より知られていた恙虫病患者から分離された *Rickettsia orientalis* 株との区別、あるいは分離株間の抗原的異同に関して多くの研究報告が出されている。

しかるに、これらの成績の間には必ずしも一致がみられず、鑑別しようとするもの、あるいはまったく区別ができないとするもの、あるいは量的差異が認められるがその差は僅少であるとするものなどがある。

この点に関して、交叉直接攻撃試験あるいは交叉中和試験によつてこれらリケッチア株を比較する場合に、実験条件によつてその成績が大きく変動することがあるのではないかと考え、両法によるリケッチア株の同定に関する基礎的実験をおこなつた。

そして、各種の条件下におけるリケッチア免疫の状態、程度および特異性に関して、いささか注目に値する成績が得られたので、ここに報告する。

実験材料および方法

1) 実験材料

1) 供試リケッチア株

a) 鶴木株：1953年新潟県恙虫病患者血液より分離されマウス継代により保存されたもので、予研ウイルス・リケッチア部より分与された。

b) 中崎株：1953年宮崎県日向熱患者血液より分離されマウス継代により保存されたもので宮崎県衛生研究所

より分与された。

c) 大阪 No. 8 株：1957年2月21日大阪府河内郡千早赤坂村東坂中井寺において捕獲された野鼠アカネズミより分離されたリケッチア株。東京医科歯科大学微生物学教室より分与された。

d) 竹瀬株：1955年2月8日宮崎県東臼杵郡北川村竹瀬において捕獲された野鼠アカネズミより東京大学医学部衛生学教室においてマウス継代により分離されたリケッチア株。

2) S P G 液

蔗糖、第1および第2 磷酸カリおよびグルタミン酸の混合溶液。リケッチア生存に対して保護効果を有するものとして Bovarnick ら¹⁾により考案された溶液であつて、その組成は Sucrose 0.218 Mol, 第1 磷酸カリ 0.0038 Mol, 第2 磷酸カリ 0.0072 Mol, グルタミン酸カリ 0.0049 Mol からなつている。

2) 実験方法

1) 生リケッチア皮下接種によるマウスの感染免疫

充分に発症したリケッチア感染マウスを屠殺開腹し、各株リケッチア感染に特有の病変である粘濁性ある腹水の滯溜を認め、かつ腹膜上皮細胞内リケッチアの在生を確認したのちにその脾臓を剔出し、秤量したのち滅菌乳鉢および乳棒をもつて磨碎し、10%乳剤となるように S P G 液を加える。ついて、これを 2,000 rpm 5 分間遠心したのち、その上清をとり、同じく S P G 液を用いて10倍段階的稀釈液系列を作製した。実験の目的に応じて、これらのうちの適当な稀釈液をマウス1頭当たり 0.1cc ず

つ大腿部皮下に接種した。その後はマウスを毎日観察し、斃死マウスについては斃死までの日数を記載した。生残マウスを免疫動物として取り扱った。

2) 抗生剤による皮下接種マウスの治療

比較的高濃度または感染力価の高い感染材料を用いた場合には皮下接種によっても重篤な感染症を起して斃死することがあるので、これを防ぐために抗生剤による治療をおこなった。抗生剤としては水溶性の静脈注射用 *Achromycin* を用いたが、一部 *Terramycin* をも使用した。

a) 抗生剤注射による治療：抗生剤水溶性 *Achromycin* を滅菌蒸留水を用いて溶解せしめ、免疫マウス1頭当たり 0.9~2.5 mg に相当する量を腹腔内に注射した。

b) 抗生剤経口投与による治療：水溶性 *Achromycin* を蒸留水を用いて 0.625 mg/cc (40cc 中 25 mg) の濃度に溶解せしめ、マウス吸水瓶の中にその溶液を入れマウスに飲用せしめた。溶液は毎日同一時刻に新しい抗生剤溶液と交換し、その際、最初の液量と24時間後の液量を測定し、マウスの抗生剤飲用量を算出した。

3) 免疫マウスに対する再感染攻撃接種

免疫マウスは、2~4週後に同株および異株リケッチアによって攻撃接種を受けた。

攻撃接種材料としては感染マウス脾および肝より免疫時と同様にして稀釈乳剤系列を作製し、各稀釈液を腹腔内に 0.2cc ずつ注射した。免疫対照としては、正常マウス群に、同様の接種をおこなった。

攻撃接種後は、3週間マウス観察をおこない、その間斃死したマウスにはその日数を記載した。

観察期間終了後は直ちに生残つたマウスを屠殺剖検し、その病変の有無を検し、病変ある場合には、腹壁腹膜上皮の塗抹標本をつくりメチルアルコール固定、*Giemsa* 染色後鏡検し、細胞内リケッチアの存否を追求し、リケッチア感染の有無を判定した。

4) 抗リケッチア家兎血清の調製

体重 2.5~3 kg の家兎に対し、感染マウス脾の10%乳剤を 1.0cc 耳静脈より注射し、ついて、2~4日おきに静注免疫処置を反復し、3週間までに6~7回の免疫注射をおこなった。最終注射より8~10日後に免疫家兎の全採血をおこない、血清分離後56°C30分間加熱による非働化をおこない氷室内に保存したものを実験に応じて供試した。

5) 中和試験

SPG 液により作製した感染マウス脾10%乳剤を 2,000

rpm 5分間遠心沈澱した上清をSPG液をもつて段階的に10倍稀釈をなし、0.5cc 各稀釈液系列の各試験管に等量の非働化した免疫家兎血清を加え、室温に1時間放置したのち、その混合液の 0.2cc ずつを正常マウス腹腔内に注射した。対照としては抗血清の代りにSPG液または正常家兎非働化血清を上記各稀釈液に等量混合し、同様に室温に1時間放置したのち、その混合液の 0.2cc ずつを正常マウス腹腔内に注射した。

注射したマウスはその後3週間毎日観察し、斃死までの日数を記載した。

6) LD₅₀ 値および ID₅₀ 値の算出

両値の算出は Behrens の法 (伝染病研究所学会編：細菌学実習提要) によった。

接種後数日間に斃死したものは接種による事故死として、算出をおこなう場合に計算から除外した。さらに、明らかに事故死と考えられる場合も同様にこれを除外した。

7) 感染マウス脾材料のマウスに対する LD₅₀ 値および ID₅₀ 値測定

初感染および再感染接種に使用した感染マウス脾材料についてはその都度正常マウスに対する LD₅₀ および ID₅₀ 値の測定をおこなった。すなわち、同材料の10倍段階的稀釈液系列をSPG液を用いて作製し、そのうちの適当な稀釈液を正常マウス腹腔内に 0.2cc ずつ注射しその後3週間にわたり生死を観察し、斃死マウスおよび斃死までの日数を記載し、LD₅₀ 値を求め、3週間後には、生残マウスの全部を剖検し、リケッチア感染の有無を判定し、ID₅₀ 値を求めた。

実験成績

1) 皮下接種感染マウスの抗生剤治療後の脾臓内リケッチアの消長

皮下接種感染マウスの感染死を防止する目的のため抗生剤投与により治療を施した場合に、感染リケッチアがその後生体内でいかなる態度をとるかを明らかにし、直接攻撃試験の結果を判定する場合の根拠を確実ならしめんとして次の実験をおこなった。

感染免疫に使用した株は鶴木株であつたが、感染マウス脾1%乳剤を45頭のマウスに皮下接種した。この際、接種に用いた脾乳剤の LD₅₀ 値を求めたが、その成績は第1表に示すごとくであつた。この場合のマウス LD₅₀ 対数値は4.00であつた。

皮下接種5日後に任意に5頭を選び、その脾をプールして乳剤となしそのマウスに対する LD₅₀ 値の測定をお

第 1 表 皮下接種に使用した鶴木株の LD_{50} 対数値測定成績

10^{-2}	●	●	●
	15	14	12
10^{-3}	●	●	●
	15	15	14
10^{-4}	○	●	●
		18	15
10^{-5}	○	○	●
			21
10^{-6}	○	○	○
$LD_{50}=4.00$			

第 2 表 鶴木株免疫接種 5 日後のマウス脾乳剤の LD_{50} 対数値測定成績

10^{-1}	○	●	●	●
		16	15	13
10^{-2}	○	○	●	●
			17	16
10^{-3}	○	●	●	●
		19	16	15
10^{-4}	○	○	●	●
			19	17
$LD_{50}=3.18$				

となった。その成績は第 2 表に示すごとく LD_{50} 対数値は 3.18 であった。

残りのマウス 40 頭はこれを 2 群に分ち、1 群には腹腔内抗生剤注射をおこない、他の 1 群には、同一抗生剤のほぼ同量を経口投与した。抗生剤投与は皮下感染接種 5 日後から開始した。

各群は、それぞれ、5 日間治療群および 10 日間治療群に分ち、さらにこれら各群について、治療終了 2 日後および 13 日後に生残マウスの脾をプールしその混合乳剤のマウスに対する LD_{50} 値を求めた。

Achromycin 注射量は、マウス 1 頭当たり、5 mg/cc

濃度の水溶液を 0.5cc ずつ、すなわち 2.5 mg ずつを毎日腹腔内に注射した。

水溶性 Achromycin の経口投与の場合には、マウスの飲用量が日によつて同一ではなかつたが、その詳細は第 3 表に示されている。

平均 Achromycin 飲用量は、10 日間経口投与群ではマウス 1 頭当たり 2.17 mg/day、5 日間経口投与群では 2.47 mg/day であった。

第 4 表には各マウス群についての Achromycin の投与回数、感染マウス群の脾のマウス LD_{50} 対数値測定の日時およびその日時までのマウス生存の状態を示した。

各マウス群の脾内リケッチアのマウス LD_{50} 対数値は第 5 表に示すごとくであった。

まず経口投与群では、投与完了 2 日後において、5 日間投与群の LD_{50} 対数値 3.25 以上、10 日間投与群 LD_{50} 対数値 2.40 であつて、投与開始時の LD_{50} 対数値 3.18 に比較すれば 10 日間投与群においては、 LD_{50} 値の低下があり、いくぶんの治療効果を認めたが、その程度は不完全であつた。しかるに、比較的短期間の 5 日間投与群においては、投与開始前よりも LD_{50} 値が増大し、まったく治療効果が認められなかつた。経口投与終了 13 日後における脾内リケッチアの LD_{50} 対数値の結果はそれぞれ

第 3 表 抗生剤経口投与マウス群におけるマウス飲用経過

免接種後 日	10 日間投与群				5 日間投与群			
	マウス数	飲水量 (cc)	アクロマイ シン含有量 (mg)	1 頭当たり アクロ マイシン (mg)	マウス数	飲水量 (cc)	アクロマイ シン含有量 (mg)	1 頭当たり ア クロマイ シン (mg)
1	10	40	0		10	41	0	
2	10	35	0		10	38	0	
3	10	36	0		10	31	0	
4	10	40	0		10	40	0	
5	10	40	25	2.5	10	40	25	2.5
6	10	32.5	20.3	2.0	9	34.5	21.6	2.4
7	10	29	18.1	1.8	9	35	21.9	2.4
8	10	27	16.9	1.7	9	32	20.0	2.2
9	10	40	25	2.5	9	40	25	2.8
10	10	33.5	20.9	2.1	計 113.5 mg 2.47 mg/mouse daily			
11	10	40	25	2.5				
12	10	40	25	2.5				
13	10	31	19.4	1.9				
14	10	38	21.2	2.1				
15								

計 217 mg
2.17 mg/mouse daily

第 4 表 免疫マウス各群における抗生剤投与方法および回数, LD₅₀ 対数値
測定期日ならびにマウス斃死状況

免疫後 の日数	経 口 投 与 群				腹 腔 内 投 与 群				無処置							
1																
2																
3																
4																
5	×	×	×	×	△	△	△	△	(T)							
6	×	×	×	×	△	△	△	△								
7	×	×	×	×	△	△	△	△								
8	×	×	×	×	△	△	△	△								
9	×	×	×	×	△	△	△	△								
10	×	×			△	△										
11	×	×		(T)	△	△		(T)								
12	×	×			△	△										
13	×	×			△	△										
14	×	×			△	△										
15																
16		(T)				(T)										
17																
18																
19																
20																
21																
22			(T)				(T)									
23																
24																
25																
26																
27	(T)				(T)											
マウス斃死 状況および その日数	○ ○ ○ ○ ○	○ ○ ○ ○ ○	○ ○ ○ ○ ●	22	○ ○ ○ ○ ●	6	○ ○ ○ ○ ●	19	○ ○ ○ ○ ●	15	○ ○ ○ ○ ●	22	○ ○ ○ ○ ●	8	7	○ ○ ○ ○ ○

× : アクロマイシン経口投与 △ : アクロマイシン腹腔内投与 (T) : 免疫マウス脾リケッチア力価測定

3.60および3.78であつてともに治療開始前を上回る値を示した。

これに反して、抗生剤腹腔内投与群においては、5日間投与群および10日間投与群ともに、投与完了後は脾のLD₅₀値は著明に低下してほとんど無リケッチア状態になっていることが明らかにされた。すなわち、免疫マウス脾の10⁻¹より10⁻³稀釈乳剤を接種したマウスには、斃死するものを認めなかつた。しかるに注射終了13日後におこなつた脾のLD₅₀値測定試験においては、10⁻¹より10⁻⁴稀釈脾乳剤を接種したマウスはすべて斃死し、5日間注射群および10日間注射群ともにLD₅₀値は4.50以

上と判定された。このように Achromycin 水溶液腹腔内注射による治療は、治療直後においては非常に効果的で、脾内リケッチアはほとんど消失してしまうが、治療を中止するときは早期に再増殖が起つてくるものと考えられ、投与中止13日後には第5表に示す成績のように、高度のリケッチア再増殖をきたすことが明らかとなつた。

由来抗生剤の治療的效果は rickettsiostatic によるものであり、rickettsiocidal によるものでないことは一般に認められているところであつて、無リケッチアの状態になるのは抗体産生によるものと解釈されている。したがつ

第 5 表 各治療群マウス脾の LD₅₀ 値測定成績

5 日間経口投与 2 日後 (マウス 4 頭)					5 日間腹腔内投与 2 日後 (マウス 3 頭)				
10 ⁻¹	○	●	●	●	10 ⁻¹	○	○	○	○
		20	20	16					
10 ⁻²	●	●	●	●	10 ⁻²	○	○	○	○
	20	20	17	17					
10 ⁻³	○	●	●	●	10 ⁻³	○	○	○	○
		21	20	17					
LD ₅₀ > 3.25									
10 日間経口投与 2 日後 (マウス 5 頭)					10 日間腹腔内投与 2 日後 (マウス 4 頭)				
10 ⁻¹	○	○	●	●	10 ⁻¹	○	○	○	○
			20	16					
10 ⁻²	○	●	●	●	10 ⁻²	○	○	○	○
		18	18	16					
10 ⁻³	○	○	○	●	10 ⁻³	○	○	○	○
				18					
LD ₅₀ = 2.40									
5 日間経口投与13日後 (マウス 4 頭)					5 日間腹腔内投与13日後 (マウス 4 頭)				
10 ⁻¹	○	●	●	●	10 ⁻¹	⊕	●	●	●
		14	14	13		2	14	13	13
10 ⁻²	○	●	●	●	10 ⁻²	⊕	●	●	●
		19	16	13		2	14	14	13
10 ⁻³	●	●	●	●	10 ⁻³	●	●	●	●
	16	16	14	14		18	14	13	9
10 ⁻⁴	○	○	●	●	10 ⁻⁴	⊕	●	●	●
			18	7		2	18	16	14
LD ₅₀ = 3.60					LD ₅₀ > 4.50				
10 日間経口投与13日後 (マウス 5 頭)					10 日間腹腔内投与13日後 (マウス 4 頭)				
10 ⁻¹	○	●	●	●	10 ⁻¹	●	●	●	●
		17	15	14		14	13	13	13
10 ⁻²	●	●	●	●	10 ⁻²	●	●	●	●
	18	18	13	12		15	15	15	14
10 ⁻³	●	●	●	●	10 ⁻³	●	●	●	●
	21	15	9	9		15	15	14	13
10 ⁻⁴	○	○	●	●	10 ⁻⁴	●	●	●	●
			18	14		15	15	15	14
LD ₅₀ = 3.78					LD ₅₀ > 4.50				

第 7 表 交叉直接攻撃試験成績

	竹瀬株攻撃	鶴木株攻撃
第 1 群	○ ○ ○ ○ ○	○ ● ● ● ●
第 2 群	○ ● ● ● ●	○ ● ● ● ●
第 3 群	○ ● ● ● ●	○ ● ● ● ●
第 4 群	○ ○ ○ ○ ●	○ ○ ○ ○ ●
第 5 群	○ ○ ○ ○ ○	○ ○ ○ ○ ○
対 照	● ● ● ● ●	● ● ● ● ●
	16 14 14 12 10	16 14 14 11 10

て LD₅₀ 値が上昇しないことが発育阻止の効果があつたと認むべきで、LD₅₀ 値が 0 に近くなりまた 0 になつたとしても直接抗生剤治療それ自身の効果と看做すべきではなく、そこには抗体の関与が考慮さるべきである。治療中止後リケッチアの再増殖が認められる場合は抗体関与が少なかったことが考えられる。

2) リケッチア生病毒接種後の治療開始期間がマウス免疫発現に及ぼす影響

リケッチア生病毒でマウスを免疫したのちにリケッチア症がまだ発展しないうちに早期に治療を開始するか、あるいは、一定期間リケッチア症が進行したのちに治療を開始するかによつて攻撃接種に対する免疫性の程度が異なるか否かを検討するために次の実験をおこなつた。まず50頭のマウスを竹瀬株リケッチア感染マウス脾1%乳剤で皮下接種により感染免疫を施した。

第6表に示すごとく皮下接種マウスを5群に分ち、治療開始を接種1日後から5日後まで1日ずつずらし Terramycin または Achromycin 腹腔内注射による治療を5日間連続おこなつた。すなわち各群とも抗生剤投与全量は同一とした。

第 6 表 各感染免疫マウス群に対する抗生剤投与方式

免疫接種後日数	1	2	3	4	5	6	7	8	9
第 1 群 (10 頭)	×	×	×	×	×				
第 2 群 (")		×	×	×	×	×			
第 3 群 (")			×	×	×	×	×		
第 4 群 (")				×	×	×	×	×	
第 5 群 (")					×	×	×	×	×
使用した抗生剤	Ter.	Ter.	Ach.	Ach.	Ach.	Ach.	Ach.	Ter.	Ter.

×: Ter.=テラマイシン
Ach.=アクロマイシン >0.9 mg/mouse 腹腔内投与

するものと期待される。

この点を検討するために、鶴木株および大阪 No. 8 株を用いて実験をおこなった。

第1回試行成績

鶴木株および大阪 No. 8 株の感染マウス脾乳剤を調製し、それぞれ、 10^{-4} 稀釈液より 10^{-6} 稀釈液をもつて、各群につき、マウス20頭ずつ免疫した。この際の両株脾材料の LD_{50} 対数値は第8表に示されるごとく、鶴木株では6.33、大阪 No. 8 株では同じく6.33であつた。

免疫後は抗生剤をもつて治療をおこなうことなく4週間観察したが、その間の各免疫群マウスの斃死状況およ

鶴木株および大阪 No. 8 株の攻撃に対してほとんど防禦性を示さず、攻撃各群の致命率は100%であつた。ただ、例外的に大阪 No. 8 株 10^{-5} 稀釈液免疫、異株鶴木株攻撃群においてのみ攻撃マウス7頭のうち2頭のみが生残した。

第2回試行成績

鶴木株と大阪 No. 8 株を用いて、第1回とまったく同一の実験を繰り返した。

この際、マウス免疫に使用した両株の感染マウス脾材料のマウス LD_{50} 対数値は第12表に示すごとくであつて、鶴木株7.00、大阪 No. 8 株4.75であつた。

第11表 交叉直接攻撃試験成績

		鶴 木 株 攻 撃								大 阪 No. 8 株 攻 撃							
鶴 木 株 ウ 免 ス	10^{-4}	○	○	○	○	○	○	●	●	○	○	○	○	●	●	●	
								11	11					16	10	6	
	10^{-5}	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
		16	14	14	13	13	12	12	11	10	10			19	16	16	15
	10^{-6}	●	●	●	●	●								●	●	●	●
		11	10	9	9	9								16	16	12	6
大 阪 疫 No. 8 ウ 株 ス	10^{-4}	●	●	●	●	●	●			●	●	●	●	●	●	●	
		16	12	12	11	11	10			16	16	16	16	16	15		
	10^{-5}	○	○		●	●	●	●	●					●	●	●	●
					16	13	13	12	10					18	18	16	16
	10^{-6}	●	●	●	●	●	●	●	●					●	●	●	●
		16	12	11	11	11	11	10						18	18	16	16

びその日数は第9表に示すごとくであつた。

感染28日後に鶴木株および大阪 No. 8 株感染マウス脾 10^{-2} 稀釈乳剤を用いて、各免疫マウス群に対して、それぞれ交叉的に攻撃した。

攻撃の際に使用した両株の感染脾材料のマウス LD_{50} 対数値は第10表に示すごとく鶴木株では7.00、大阪 No. 8 株では7.50以上であつた。

直接攻撃試験の成績は第11表に示されている。すなわち、鶴木株免疫群においては、 10^{-5} および 10^{-6} の高度稀釈液免疫マウスは、同株鶴木株および異株大阪 No. 8 株攻撃に対してまったく防禦性を発揮せず、攻撃をおこなつたマウスはすべて斃死した。しかるに、 10^{-4} の比較的高濃度のリケッチア浮遊液をもつて免疫したマウス群は、攻撃に対してある程度の免疫性を有し、防禦率は、同株鶴木株攻撃に対しては $\frac{1}{8}$ 、異株大阪 No. 8 株攻撃に対しては $\frac{1}{4}$ であつた。しかし、この場合には同株攻撃および異株攻撃の間の防禦率の有意の差はほとんど認められなかつた。これに反して大阪 No. 8 株免疫マウス群は、

第12表 皮下接種に使用した感染マウス脾材料の LD_{50} 対数値測定成績

鶴 木 株			大 阪 No. 8 株		
10^{-3}	●	●	10^{-3}	●	●
	13	12		18	16
10^{-4}	●	●	10^{-4}	●	●
	14	10		25	20
10^{-5}	●	●	10^{-5}	○	○
	16	15			22
10^{-6}	○	●	10^{-6}	○	○
		8			
10^{-7}	○	●	10^{-7}	○	○
		23			3
$LD_{50}=7.00$			$LD_{50}=4.75$		

免疫後は、抗生剤治療をおこなうことなく4週間観察したが、両株についての、 10^{-4} 、 10^{-5} および 10^{-6} 稀釈液免疫群のマウス斃死状況および斃死までの日数は第13表に示すごとくであつた。

感染28日後に、鶴木株および大阪 No. 8 株感染マウス脾 10^{-2} 稀釈乳剤を用いて、各感染マウス群に対して、そ

第 13 表 皮下接種マウス各群の斃死状況
および斃死日数

鶴木株 免疫群	10^{-4}	○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ⊕ ⊕ 26 26 22 21 20 20 20 18 16 4
	10^{-5}	○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ 28 20 10 9
	10^{-6}	○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ 28 20 19 17 11 10 8
大 阪 No. 8 株 免疫群	10^{-4}	○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ 27 20 20 18 14 12 12
	10^{-5}	○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ 26 12
	10^{-6}	○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ 15 13 4

- : 剖検にて病変あり
⊕ : 剖検にて病変なし
⊙ : 衰弱のため攻撃時使用せず

れぞれ交互的に攻撃した。攻撃に使用した両株感染材料のマウス LD_{50} 対数値測定結果は、第14表に示すごとく鶴木株2.68、大阪 No. 8 株4.77であつた。

直接攻撃試験成績は第15表に示されている。

鶴木株免疫群の 10^{-4} 稀釈液免疫群においては、防禦率は同株鶴木株攻撃群 $\frac{2}{4}$ 、異株大阪 No. 8 株攻撃群 $\frac{1}{3}$ であつて不完全ながらも両株攻撃に対して免疫性を有していたが、異株および同株株間の免疫性の有意の差は認められなかつた。しかるに、鶴木株 10^{-5} 稀釈液免疫群にお

第 14 表 攻撃に使用した感染マウス脾材料の
 LD_{50} 対数値測定成績

鶴 木 株	大 阪 No. 8 株
10^{-2} ○ ○ ● ● ● 12 9 8	10^{-2} ● ● ● ● ● 15 15 14 14 12
10^{-3} ○ ● ● 21 21	10^{-3} ○ ● ● 20 16
10^{-4} ○ ○ ○	10^{-4} ● ● ● 21 20 19
10^{-5} ○ ○ ○	10^{-5} ○ ○ ● 8
10^{-6} ○ ○ ○	10^{-6} ○ ○ ● 19
$LD_{50}=2.68$	$LD_{50}=4.77$

いては、防禦率は同株鶴木株攻撃群 $\frac{2}{4}$ 、異株大阪 No. 8 株攻撃群 $\frac{1}{3}$ であつて、同株攻撃に対しては不完全ながらも免疫性を発揮したが、異株大阪 No. 8 株攻撃に対してはまったく免疫性が認められず、両者の間に差異を認めることができた。さらに高稀釈液であるところの 10^{-6} 稀釈液免疫群においては、同株鶴木株 および 異株大阪 No. 8 株攻撃に対してマウス致命率はともに $\frac{0}{3}$ であり、免疫性は両者ともにまったく認められなかつた。

これに反して、大阪 No. 8 株免疫マウス群は、同株大阪 No. 8 株および異株鶴木株攻撃に対してまったく防禦性を示さず、 10^{-4} 、 10^{-5} および 10^{-6} 稀釈液免疫マウス群は、いずれの株の攻撃に対しても致命率はすべて 100% であつた。

第 3 回試行成績

以上 2 回の試行により得られた成績をさらに確認する目的をもつて、同一の実験をもう一度繰り返した。

この際マウス免疫に使用した両株の感染マウス脾材料

第 15 表 交 叉 直 接 攻 撃 試 験 成 績

		鶴 木 株 攻 撃	大 阪 No. 8 株 攻 撃
鶴 木 株 免 疫	10^{-4}	○ ○ ● ● 20 11	○ ● ● 12 8
	10^{-5}	○ ○ ○ ● ● ● ● ● 10 10 9 8 8	● ● ● ● ● ● ● ⊕ ⊕ 14 14 14 13 12 11 6 4
	10^{-6}	● ● ● ● ● ● 12 11 11 8 8 8	● ● ● ● ● ● 19 16 16 15 15 14
大 阪 免 疫 No. 8 株 免 疫	10^{-4}	● ● ● ● ⊕ 10 8 8 5 4	● ● ● ● ● 16 14 13 8 2
	10^{-5}	● ● ● ● ● ● ● ● ⊕ 20 18 17 15 15 14 13 8 6	● ● ● ● ● ● ● ● ● 16 16 16 15 15 15 14 14 13
	10^{-6}	● ● ● ● ● ● ● ● ● 16 13 11 11 10 10 8 8 8	● ● ● ● ● ● ● ● ● 16 16 16 15 15 14 14 14 12

のマウス LD₅₀ 対数値は第16表に示すごとくであつて、
 鶴木株6.00、大阪 No. 8 株5.50であつた。

第 16 表 皮下接種に使用した感染マウス脾材料の LD₅₀ 対数値測定成績

鶴 木 株	大 阪 No. 8 株
10 ⁻³ ● ● ●	10 ⁻³ ● ● ●
16 13 12	16 16 15
10 ⁻⁴ ● ● ●	10 ⁻⁴ ● ● ●
15 15 14	18 18 17
10 ⁻⁵ ● ● ●	10 ⁻⁵ ● ● ●
17 16 16	20 20 14
10 ⁻⁶ ○ ○ ●	10 ⁻⁶ ○ ○ ○
	18
10 ⁻⁷ ○ ○ ●	10 ⁻⁷ ○ ○ ○
	16
LD ₅₀ =6.00	LD ₅₀ =5.50

両株について 10⁻⁴、10⁻⁵ および 10⁻⁶ 感染マウス脾稀
 釈液をもつて皮下感染せしめたのち、治療をおこなわず
 に 4 週間観察した際の、各群のマウス斃死状況および斃
 死までの日数は第17表に示すごとくであつた。

第 17 表 皮下接種マウス各群の斃死状況および斃死日数

鶴木株 免疫群	10 ⁻⁴	{ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ⊕ }	23
	10 ⁻⁵	{ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ⊕ ⊕ }	23 6
	10 ⁻⁶	{ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ⊕ ⊕ ⊕ }	27 12 12
大 阪 No. 8 株 免疫群	10 ⁻⁴	{ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ⊕ ⊕ }	25 24 21 20 19 18 18 17
	10 ⁻⁵	{ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ⊕ ⊕ ⊕ }	28 26 21
	10 ⁻⁶	{ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ⊕ }	18

感染28日後に鶴木株および大阪 No. 8 株感染マウス脾
 10⁻² 稀釈剤を用いて、各免疫マウス群に対して、それ
 ぞれ交互的に攻撃したが、その際の両株感染材料のマウ
 ス LD₅₀ 対数値は第18表に示すごとく、鶴木材3.23、大
 阪 No. 8 株3.45であつた。

直接攻撃成績は第19表に示す。

鶴木株免疫群の10⁻⁴ 稀釈液免疫群における防禦率は同
 株鶴木株攻撃に対して 1/10、異株大阪 No. 8 株攻撃群 1/10
 であつて、ともに強度の防禦力を示し、同株および異株

第 18 表 攻撃に使用した感染マウス脾材料の LD₅₀ 対数値測定成績

鶴 木 株	大 阪 No. 8 株
10 ⁻² ○ ● ● ● ●	10 ⁻² ● ● ● ● ●
20 19 11 10	18 16 14 13 11
10 ⁻³ ○ ● ●	10 ⁻³ ○ ● ●
19 16	18 17
10 ⁻⁴ ○ ○ ○	10 ⁻⁴ ○ ○ ○
10 ⁻⁵ ○ ○ ○	10 ⁻⁵ ○ ○ ○
10 ⁻⁶ ○ ○ ●	10 ⁻⁶ ○ ○ ●
20	18
10 ⁻⁷ ○ ○ ○	10 ⁻⁷ ○ ○ ○
10 ⁻⁸ ○ ○ ○	18 ⁻⁸ ○ ○ ○
LD ₅₀ =3.23	LD ₅₀ =3.45

攻撃に対する防禦力の差異は認められない。しかるに、
 同株10⁻⁵ 稀釈液免疫群においては、同株鶴木株攻撃に対
 する防禦率が 1/10、異株大阪 No. 8 株攻撃に対しては 1/10
 であつて、同株攻撃に対しては不完全ながら免疫性を発
 揮したが、異株大阪 No. 8 株攻撃に対しては致命率 100
 %であつて、まったく免疫性を発揮せず、両者の免疫程
 度に差異のあることが認められる。さらに高稀釈液すな
 わち同株10⁻⁶ 稀釈液免疫群においては、両株攻撃に対
 してはほとんどまったく免疫性を示さず、致命率は鶴木株
 攻撃群 1/10、大阪 No. 8 株攻撃群 1/10 であつた。

これに反して、大阪 No. 8 株免疫マウス群においては、
 前回と同様に、両者いずれの攻撃に対してもまったく免
 疫性を示さず、各免疫マウス群での致命率はすべて 100
 %であつた。

以上のごとく同一実験を 3 回繰り返して確認したところ
 では、まず鶴木株免疫マウス群について成績が示すご
 とく、抗リケッチャ感染免疫は、免疫時のリケッチャ感染
 量によつて著しく左右され、高度稀釈液すなわち低濃度
 リケッチャ浮遊液をもつて免疫した場合には、免疫が発
 現してこないことを認めた。換言すれば、免疫マウスが
 防禦性を発揮するためにはある程度以上のリケッチャ量
 による免疫を必要とする。

また一方ではこの場合の免疫は感染免疫であつて、免
 疫の成立には体内組織内でのある程度の感染リケッチャ
 量の存在が必要であるにも拘らず、初回皮下接種材料の
 高度稀釈の場合には感染リケッチャ量が著しく僅少また
 は皆無のため免疫成立に必要な量までにリケッチャが発
 育増殖しなかつたことも考えられる。

次に、第 2 回および第 3 回試行における鶴木株 10⁻⁵ 稀
 釈液免疫群に対する交差直接攻撃試験の成績が示すご
 とく、免疫を発現せしめる最低濃度のリケッチャ量を接種

第 19 表 交 叉 直 接 攻 撃 試 験 成 績

		鶴 木 株 攻 撃	大 阪 No. 8 株 攻 撃
鶴 疫 木 マ 株 ウ 免 ス	10 ⁻⁴	○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ● ● 12 10	○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ● 12
	10 ⁻⁵	○ ○ ○ ● ● ● ● ● ● ● 13 12 12 12 11 11	● ● ● ● ● ● ● ● ● ● 20 19 18 17 15 14 14 14 11
	10 ⁻⁶	● ● ● ● ● ● ● ● ● ● 16 15 13 13 12 12 11 11	○ ● ● ● ● ● ● ● ● ● 17 15 14 14 14 14 10
大 免 阪 疫 No. 8 マ ウ 株 ス	10 ⁻⁴	● ● ● ● ● ● ● ● 14 14 13 13 11 11	● ● ● ● ● ● ● ● 14 14 14 14 11 11
	10 ⁻⁵	● ● ● ● ● ● ● ● ● ● 16 13 13 13 12 12 11 11 10	● ● ● ● ● ● ● ● ● ● 16 16 16 15 15 14 14 13
	10 ⁻⁶	● ● ● ● ● ● ● ● ● ● 14 13 13 13 13 12 11 11 11 10	● ● ● ● ● ● ● ● ● ● 16 15 15 15 14 14 14 12 10

した場合には、同株のリケッチア株に対しては不完全ながらも防衛性を示すが、異株リケッチア株に対してはまったくそれを有しない。このことは初回接種リケッチアの量が僅少で、防衛性を発するにはある程度リケッチア量が必要であり、防衛性のあらわれ方は免疫の初期には株特異性であり、後期には群特異性となることが考えられ、鶴木株攻撃に対して株特異性の防衛力をあらわしたことは、感染4週間後の攻撃としても一定量のリケッチア増殖をきたすにはその間ある一定期間を必要とし、その後免疫性をあらわす時期に達してからの期間は比較的短かつたためと解釈される。

高濃度感染材料を接種した動物群においては感染免疫をあらわすまでに要する期間がこれに比し、短期間で充分であり、したがってその時期から攻撃までの期間が比較的長期であつたためと考えられる。

さらに、以上の実験におけるような比較的低濃度のリケッチア浮遊液をもつて免疫した場合には、大阪 No. 8 株のごとく、異株リケッチア株のみならず、同株リケッチア株に対しても防衛性を発揮しないことがある。これに反して、同程度のリケッチア感染量による免疫であつたにも拘らず、鶴木株は比較的容易に抗リケッチア免疫の成立を達成せしめる能力を有している。このように、両株の間には、寄宿主たるマウスに免疫を招来する態度に差異があることも認められる。

4) 低濃度リケッチア浮遊液で感染せしめたマウス に対する直接攻撃試験

上記実験により、各種濃度のリケッチア浮遊液をもつて感染する場合に、感染濃度が適当であれば、マウスは

リケッチア攻撃接種に対して防衛性を示し、しかもその防衛性には抹特異性の量的差異があることが認められた。

そこで、両株の特異性を直接攻撃に対する免疫程度の量的差異をもつて表示する目的をもつて、鶴木株および大阪 No. 8 株感染マウス脾10⁻⁴稀釈液を用いて、それぞれマウス20頭ずつに皮下接種感染免疫を施した。この際、感染に使用した両株脾材料のマウス LD₅₀ 値は第20表に示すごとく鶴木株では7.50以上、大阪 No. 8 株では6.00であつた。

第 20 表 皮下接種に使用した感染マウス脾材料の LD₅₀ 対数値測定成績

鶴 木 株	大 阪 No. 8 株
10 ⁻³ ● ● ● 13 13 11	10 ⁻³ ● ● ● 14 13 11
10 ⁻⁴ ● ● ● 16 16 13	10 ⁻⁴ ● ● ● 18 17 14
10 ⁻⁵ ● ● ● 16 15 14	10 ⁻⁵ ○ ● ● 19 15
10 ⁻⁶ ● ● ● 17 16 15	10 ⁻⁶ ○ ● ● 21 20
10 ⁻⁷ ● ● ● 16 16 13	10 ⁻⁷ ○ ○ ○
LD ₅₀ > 7.50	LD ₅₀ = 6.00

感染マウスは、抗生剤による治療をおこなうことなく、3週間観察したが、その期間中におけるマウスの斃死状況および斃死までの日数は第21表に示すごとくであり、両株ともその約半数は斃死してしまつた。

3週間後の生残マウスに対しては、それぞれ鶴木株および大阪 No. 8 株感染マウス脾肝10%乳剤をもつて腹腔内に交叉的に攻撃した。この際は、攻撃に使用した両株

第 21 表 皮下接種後観察期間中のマウス斃死状況

鶴木株	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
免疫	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
	21	20	19	16	15	15	15	14	12	12
大阪 No. 8 株免疫	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
	○	●	●	●	●	●	●	●	●	●
		21	20	18	18	17	15	15	15	

第 22 表 交叉直接攻撃試験成績

	鶴木株攻撃	大阪 No. 8 株攻撃
鶴木株免疫	○ ○ ○ ● 20	● ● ● ● ● 18 16 8 7 2
大阪 No. 8 株免疫	○ ○ ○ ○ ○ ● 5	● ● ● ● ● ● ● ● 14 13 13 11 9 6
対 照 (非免疫)	○ ● ● ● ● 15 11 11 9	● ● ● ● ● ● ● ● 14 14 14 13 8

脾肝材料のマウス LD₅₀ 値測定はおこなわなかつた。

得られた成績は第22表に示されるごとくであつて、鶴木株攻撃に対しては、同株あるいは異株免疫の区別なく、ともに高度の免疫が認められ、防禦率は、同株鶴木株免疫群では 100%、異株大阪 No. 8 株免疫群では 50% であつた。

これに対して大阪 No. 8 株攻撃群においては、同株大阪 No. 8 株免疫群においても、異株鶴木株免疫群においてもマウス致命率は 5% および 5% であつて、まったく免疫性を認めることができなかった。

以上の成績によつては、鶴木株および大阪 No. 8 株の交叉直接攻撃試験においては、両者の間に免疫程度の差による特異性を認めることができなかったが、ここで注目すべきは、大阪 No. 8 株攻撃の場合には、いずれのリケッチャ株であるかを問わず免疫マウスはすべて斃死したことである。

前記実験 3) においては、低感染力価の大阪 No. 8 株リケッチャによつて免疫されたマウスには防禦性の発現が乏しいという成績が得られたが、本実験においても大阪 No. 8 株高濃度リケッチャ浮遊液による攻撃に対して免疫マウスは充分な防禦性を発揮しないという成績が得られた。これらの成績は大阪 No. 8 株に対する免疫産生の困難さを物語るものと考えられる。

5) 各株について同一感染力価を有する各株材料で感染せしめたマウスに対する直接攻撃試験

上記実験により、マウスをリケッチャ感染免疫する場合に、免疫接種に使用する感染材料の濃度によつて免疫の程度が大きく左右されることが明らかとなつたので、再接種に対する防禦率の大小とそれによつて現われる免

疫の株特異性の程度を比較検討するために、各株についてそれぞれ同一感染力価を示す材料で感染せしめたマウスについて攻撃をおこない、現われる免疫の状態を比較しようとして次の実験をおこなつた。

まず、鶴木株、大阪 No. 8 株および中崎株の感染マウス脾肝より、それぞれ S P G 液を用いて 50% 乳剤を作製し、硬質硝子製の小試験管内に分注し、ゴム栓にて密栓し、-30°C のドライアイス箱の中に保存した。それと同時にそれぞれの株について、同一脾肝乳剤より S P G 液を用いて 10 倍階段的稀釈液系列を作製し、その 10⁻² 稀釈液より 10⁻⁶ 稀釈液を 0.2cc ずつマウス腹腔内に注射し、各稀釈液のマウス LD₅₀ 値測定をおこなつた。得られた成績は第23表に示されている。得られた各株材料のマウス LD₅₀ 値は、鶴木株 3.48、大阪 No. 8 株 3.60、中崎株 3.67 であつた。

以上により、3 株の材料のマウス LD₅₀ 値が得られたので、ドライアイスボックス内に保存したそれぞれの材料をとり出し、同一方価になるように次のごとき方法によつて稀釈し、その稀釈液をもつてマウスに感染免疫を施した。

なお、ドライアイス内保存期間は、3 株とも 105 日間であつた。

まず鶴木株については LD₅₀ 値 3.48 であるので、その逆対数は 3020 である。ドライアイス内保存 50% 乳剤 0.25 cc に S P G 液 3.75cc を加えて 16 倍に稀釈し、その 0.1cc をマウス皮下に接種したので、1 頭当たりマウス 50% 致死量 47 単位をもつて感染せしめたことになる。

大阪 No. 8 株のマウス LD₅₀ 値が 3.60 であるので、その逆対数は 3980 である。ドライアイス内保存 50% 乳剤 0.25cc に S P G 液 5.0cc を加えて 21 倍に稀釈し、その 0.1 cc をマウス皮下に接種した。すなわち、1 頭当たりマウス 50% 致死量 47 単位をもつて免疫をおこなつた。

中崎株のマウス LD₅₀ 値は 3.67 であるので、その逆対数は 4680 である。ドライアイス内保存 50% 乳剤 0.25cc に S P G 液 6.25cc を加え、26 倍に稀釈し、その 0.1cc をマウス皮下に接種した。すなわち、1 頭当たりマウス 50% 致死量 45 単位をもつて感染免疫を施した。

以上のごとく、3 株について、ほぼ同等の感染力価をもつて感染接種をおこなつたのち、抗生剤による治療をおこなつた。感染後 7 日目に 1 頭当たり Achromycin 2.5 mg をそれぞれ免疫マウスに注射した。その後感染マウスの一般状態が不良になつたので、13 日目から 19 日まで 7 日間、マウス 1 頭当たり 1.0 mg を連日投与した。

第 23 表 皮下接種に使用した各株の LD₅₀ 対数値測定成績

中 崎 株	大阪 No. 8 株	鶴 木 株
10 ⁻² ● ● ⊕ 17 14 2	10 ⁻² ● ● ● 18 17 3	10 ⁻² ○ ○ ● ● ⊕ 13 12 3
10 ⁻³ ● ● ● 18 17 16	10 ⁻³ ○ ● ● 18 4	10 ⁻³ ○ ● ● ● ● 17 16 16 16
10 ⁻⁴ ○ ○ ○	10 ⁻⁴ ○ ○ ○	10 ⁻⁴ ○ ○ ○ ○ ○
10 ⁻⁵ ○ ○ ● 19	10 ⁻⁵ ○ ○ ○	10 ⁻⁵ ○ ○ ○ ○ ⊕ 2
10 ⁻⁶ ○ ○ ○	10 ⁻⁶ ○ ● ● 20 12	10 ⁻⁶ ○ ○ ○ ○ ○
LD ₅₀ =3.67	LD ₅₀ =3.60	LD ₅₀ =3.48

第 24 表 皮下接種後観察期間中のマウス斃死状況

中 崎 株	大阪 No. 8 株	鶴 木 株
○ ○ ○ ○ ○ ○	○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○	○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○
○ ○ ○ ○ ○ ○	○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○	○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○
○ ○ ○ ○ ○ ○	○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○	○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○
⊕ ● ● ● ● ● 25 25 25 17 16	● ● ● ● ● ● 13 9 9 8 8 8	⊕ ● ● ● ● 21 21 11 9
● ● ● ● ● ● 13 11 11 11 11 9		

⊕ : 衰弱のため攻撃に使用せず

そして、感染 4 週間後に攻撃をおこなったが、攻撃時までのマウス斃死状況および斃死までの日数は第 23 表に示すごとくであった。ほぼ同一 LD₅₀ 値を有する材料で感染し、平等に同量の抗生剤投与による治療をおこなったにも拘らず、第 24 表に示すごとく、中崎株のみは、他の 2 株に比較して同一期間内に斃死するマウスの数が多く、抗生剤に対するリケッチア株の感受性に、株による差異があることをうかがうことができた。

感染 28 日後に、鶴木株および大阪 No. 8 株をもつて感染マウスに対する攻撃をおこなった。両株とも感染マウス脾 10% 乳剤を 0.2cc 腹腔内に接種攻撃したが、この際の脾材料のマウス LD₅₀ 対数値は第 25 表に示すごとく、

第 25 表 攻撃に使用した感染マウス脾材料のリケッチア力価測定成績

鶴 木 株	大阪 No. 8 株
10 ⁻³ ○ ● ● 14 11	10 ⁻³ ● ● ● 19 18 15
15 ⁻⁴ ○ ○ ● 19	10 ⁻⁴ ● ● ● 19 15 15
10 ⁻⁵ ○ ○ ○	10 ⁻⁵ ○ ● ● 20 16
10 ⁻⁶ ○ ○ ○	10 ⁻⁶ ● ● ● 19 19 11
10 ⁻⁷ ○ ○ ○	10 ⁻⁷ ○ ○ ○
LD ₅₀ =3.00	LD ₅₀ =6.33

第 26 表 直接攻撃試験成績

	鶴 木 株 攻 撃	大阪 No. 8 株攻撃	攻 撃 セ ず
鶴木株免疫	○ ● ● ● ● ● ● ● 11 11 11 11 11 11 2	● ● ● ● ● ● ● ● ● ● ● ● ● ● ● ● 18 18 16 15 14 14 12 12 12	○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○
大阪 No. 8 株 免 疫	○ ○ ○ ○ ● ● ● ● ● ● 18 18 18 11	○ ● ● ● ● ● ● ● ● ● ● ● ● ● ● ● ● 21 20 18 17 17 15 14	○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○
中崎株免疫	○ ● ● ● ● ● ● ● 18 11 11 11 6	● ● ● ● ● ● ● ● ● ● ● ● ● ● ● ● ● 18 15 15 15 11 10	○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ○

鶴木株3.00, 大阪 No. 8 株 6.33 であつた。

直接攻撃試験の成績は, 第 26 表に示すごとくであつて, 一般に防禦力の発現の低いことが特徴的であつた。

鶴木株攻撃に対する防禦率は, 同株鶴木株免疫群 $\frac{1}{2}$, 異株大阪 No. 8 株免疫群 $\frac{1}{2}$, 異株中崎株免疫群 $\frac{1}{2}$ であつて, 異株大阪 No. 8 株免疫群においてのみ, ある程度の高い防禦率が認められるのみであつた。同株攻撃に対し低い防禦率しか示さなかつたことは, 前記の実験結果および他の研究者の報告する成績とも一致しないところである。本実験においては, この群のマウスの大部分が, 攻撃後11日目に一挙に斃死してしまつてなんらかの事故が疑われるのであるが, その本態の究明はできなかつた。

て等量の血清を加え, 24°C の室温で1時間作用せしめたのち, マウスに接種した。

対照としては抗血清の代りに正常家兎非働化血清を用いた。得られた中和試験の成績は, 第 27 表に示すごとくであつた。

抗原が鶴木株リケッチアの場合の LD₅₀ 対数値は, 同株鶴木株免疫抗血清作用群2.67, 異株大阪 No. 8 株免疫抗血清作用群4.15, 正常家兎血清対照群4.52であつて, 同株抗血清の場合には著明なりケッチア中和作用が認められ, 中和対数は1.85である。これに反して, 異株抗血清の場合にはほとんど中和作用の発現が認められず, 中和対数の値は, わずかに0.37であつた。

抗原が大阪 No. 8 株リケッチアの場合の LD₅₀ 対数値

第 27 表 交叉中和試験成績 (鶴木株および大阪 No. 8 株)

抗原 抗体	鶴木株抗血清			対 照 (正常家兎血清)	抗体 抗原	大阪 No. 8 株 抗 血 清			対 照 (正常家兎血清)
	鶴木株抗血清	大阪 No. 8 株 抗 血 清	対 照 (正常家兎血清)			鶴木株抗血清	大阪 No. 8 株 抗 血 清	対 照 (正常家兎血清)	
鶴木株 10 ⁻¹	○ ○ ● ⊕ ⊕ 15 2 2	● ● ● ● ● ● 13 11 11 10 9			大阪 No. 8 株 10 ⁻¹	● ● ● ● ● ● 15 14 12 10 9	● ● ● ● ● ⊕ 16 15 14 10 6		
10 ⁻²	○ ○ ● ⊕ ⊕ 15 2 2	○ ● ● ● ● ● 14 14 14 12	○ ● ● ● ● ● 15 15 12 9		10 ⁻²	● ● ● ● ● ● 15 15 14 14 14	● ● ● ● ● ● 20 19 17 14 10	● ● ● ● ● ● 15 14 14 14 14	
10 ⁻³	○ ○ ● ● ● ● 20 19 14	● ● ● ● ● ● 15 15 14 14 12	● ● ● ● ● ● 18 16 15 14 14		10 ⁻³	● ● ● ● ● ● 15 15 15 14 14	● ● ● ● ● ● 20 18 17 17 10	● ● ● ● ● ● 17 16 15 14 12	
10 ⁻⁴	○ ○ ○ ● ● ● 19 17	○ ○ ● ● ● ● 16 15 15	● ● ● ● ● ● 18 16 16 16 14		10 ⁻⁴	● ● ● ● ● ● 20 20 20 17 17	○ ● ● ● ● ● 21 21 21 18	● ● ● ● ● ● 20 18 18 18 17	
10 ⁻⁵	○ ○ ○ ⊕ ⊕ 6 2	○ ○ ○ ○ ● 20	○ ○ ○ ○ ● 14		10 ⁻⁵	○ ○ ○ ● ● ● 12 9	○ ○ ○ ● ● ● 12 10	○ ○ ○ ● ● ● 21 14	

大阪 No. 8 株攻撃群においては, 実験 4) の場合と同様に, 免疫マウスのほとんどすべてが斃死した。すなわちマウス致命率は, 同株大阪 No. 8 株 $\frac{1}{2}$, 異株鶴木株 $\frac{1}{2}$, 異株中崎株 $\frac{1}{2}$ であつた。

以上のごとく同一感染力価のリケッチアをもつてマウスを免疫し, 攻撃に対する免疫発現の程度をもつて, 免疫の株特異性を知ろうとする試みは, 予期した成果を得ることができなかつた。この原因は, 接種量が同一であつてもリケッチア各株の病原性および治療剤としての抗生剤に対する感受性の差異により, マウス体内におけるリケッチアの増殖ならびに免疫性の発現が異なるためであらうと思われる。

6) 鶴木株と大阪 No. 8 株との交叉中和試験

7 回静注免疫処置を反復して調製した抗鶴木株家兎血清と, 6 回反復処置による抗大阪 No. 8 株家兎血清を用いて中和試験をおこなつた。

感染マウス脾10倍階段的稀釈液系列の各 0.5cc に対し

は, 同株大阪 No. 8 株免疫抗血清作用群4.68, 異株鶴木株免疫抗血清作用群4.83, 正常血清対照群4.83であつて3者の値はほとんど一致し, その間に有意の差は認められなかつた。

第 1 図 中和試験における逐日マウス LD₅₀ 値曲線 (抗原: 鶴木株リケッチア)

第27表に示された成績より、観察期間中のマウス LD_{50} 値を逐日的に算出し、その経過を示したものが、第1図および第2図である。

第1図は、抗原鶴木株リケッチアに両抗血清および正常血清を加えた場合の LD_{50} 値曲線である。この図より、同株鶴木株免疫抗血清作用群マウスの LD_{50} 値は、他の2群のそれに比較して著明に上昇が遅延し、しかも、その上昇率が緩徐であることを認めることができる。これに反して異株大阪 No. 8 株免疫抗血清作用群は、正常血清対照群に比較して、 LD_{50} 値はわずかに先行して上昇するが、接種16日以後は、逆に対照群より低い値をとる傾向があるが、いずれにしても、両者の上昇率の間には著明な差異はない。

このように、本実験においては、同株抗血清のみが著明な中和能力を発現し、それが株特異性の反応によるものであることを示唆するに充分であると考えられる。

第2図は、抗原が大阪 No. 8 株リケッチアにおける場合の LD_{50} 値の逐日的上昇経過を示すものである。この

第2図 中和試験における逐日マウス LD_{50} 値曲線
(抗原：大阪 No. 8 株リケッチア)

図より、異株鶴木株免疫抗血清作用群マウスの LD_{50} 値は、正常血清対照群のそれと比較すると、両者の間にほとんど有意の差異はなく、観察最終日である21日目には両者の値が完全に一致することが認められ、異株抗血清のリケッチア中和能力はほとんどまったく発現してこない。これに反して、同株大阪 No. 8 株免疫抗血清作用群においては、最終 LD_{50} 値は、前記2者に比較してほとんどその差を認められないけれども、観察経過中の LD_{50} 値上昇曲線について、ある程度の差異を認めることができる。すなわち、同群マウス LD_{50} 値は、接種10~13日までは、他の2群に対して高値をとつたが、14日以後においては、低い値をとりながら上昇して行く。すなわち、 LD_{50} 値の最終値においては有意の差はないが、マウス斃

死期間は、他の2群に比較して明らかに遅延している。

以上の鶴木株と大阪 No. 8 株との間の交叉中和試験成績から、中和能力の差異により両株の間の株特異性の存在が立証された。

対照群として非働化正常血清の代りにSPG液を用いておこなつた中和試験においても同株抗血清を作用せしめたときの方が、異株抗血清を作用せしめた場合よりもマウス生存日数を延長する効果が大であり、しかもこれは実施した実験例において毎常認められた。

しかし、リケッチア中和試験において対照群としてSPG液を使用すると血清作用時間に相当する間放置することによつてリケッチアの死滅が、かなりの程度にまで進行するので、非働化正常家兎血清を使用する方がより合理的であることが明らかとなつた。

総括および考察

著者は恙虫病患者より分離した鶴木株、宮崎県日向熱患者から分離したリケッチア中崎株、および野鼠から分離したリケッチア大阪 No. 8 株および竹瀬株の4株を用い直接攻撃試験ならびに中和試験をおこない、以下のごとき成績を得た。

1) 直接攻撃試験においては毎常同一傾向の結果が得られず、各株の抗原分析または株特異性を判定するに困難であつた。

かかる結果をきたしたのは、株によるマウスに対する毒力の著しい相違、および免疫成立を与える抗原力および抗体産生時期の相違、マウス飼育箱別による動物の生活環境および事故死頻発程度の相違に基因したものと考えられる。

2) これに反し、中和試験においては、同株免疫血清による中和能力が異株免疫血清によるそれよりも毎常顕著に現われることが認められ、恙虫病リケッチア群の株間に株特異性の存在することを明らかにすることができた。

以上の結果を総合するに、恙虫病の流行季節および流行地域を異にする地区の患者および野鼠から分離したリケッチア株間の抗原分析または株特異性を明らかにするには、直接攻撃試験によるよりも中和試験による方が便宜であると考えさせられた。

結 論

著者は、患者および野鼠から分離した恙虫病リケッチア株について、直接攻撃試験および中和試験による抗原分析に関する検討をおこない、得られた実験成績およびこれに対する考察を記載した。

本実験の一部は地方性リケッチア症調査研究田宮班の研究費の援助によるものであることをここに付記して深甚の謝意を表します。

なお、実験の遂行に際しては、田宮研究班の各位および衛生学教室各位の御支援を受けましたことを感謝いたします。

終りに臨み、終始御懇篤なる御指導と御校閲を賜った恩師羽里彦左衛門教授に謹んで深甚なる感謝の意を捧げ、併せて御指導を賜った当教室の山本俊一先生に深謝の意を表します。

参考文献

- 1) Bovarnick, M. R., Miller, J. C. & Snyder, J. C.: J. Bact., 59, 509, 1950.
- 2) 宋戸亮, 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研究. Virus, 7, 455~

457, 1957.

- 3) 中村賢吉: 日本に於ける患者及び野鼠から分離した恙虫病リケッチア株間の交叉直接攻撃法による免疫的關係. 社会保険医学雑誌, 通巻13号, 14~18, 1958.
- 4) 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, 第13巻第6号, 823~829, 1959.
- 5) 石橋英雄: R. orientalis 感染家兎における Chloramphenicol 投与の抗体産生に及ぼす影響. 日本衛生学雑誌, 第14巻第2号, 162~170, 1959.
- 6) 野原孝七: 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. 日本衛生学雑誌, 第14巻第3号, 334~347, 1959.
- 7) 羽里彦左衛門: 日本における恙虫病研究の最近の進歩, 病原体方面. 第15回日本医学会総会主題33発表, 1959.

(受付: 1959年5月20日, 特別掲載)