超音波の家鶏ペストウイルスに及ぼす影響に就て

超音波処理抗原を以てする鶏ペストの免疫

松 本 節 郎

Matumoto, Seturō

京都帝國大學醫學部微生物學教室(主任: 木村教授)

[受付: 昭和 19 年 6 月 26 日]

第 1 章 緒 言

前回の報告(日微生物誌, 37 卷, 4 號, 269 頁, 昭和 18 年)に於て鶏ペストウイルスの鶏卵内培養成績, Rivevs Kolben 内培養成績及び之等人工培養ウイルスに對する超音波の作用を檢査して其の成績を報告した。

鶏ペストに對する自動免疫法に就ては多數先人⁽²⁾⁽³⁾⁽⁴⁾⁽⁵⁾⁽⁶⁾⁽⁷⁾⁽⁸⁾によつて企圖されたが, 未だ確定せる効果を擧げてないように思はれる。本報告に於ては超音波処理抗原を 供試して得た免疫實驗の成績に就て報告せんを欲する者である。

第 2 章 實驗材料並びに實驗方法

第 1 項 實 驗 動 物

名古屋コチン種及び白色レグホン種の體重 1kg 前後の家鶏を人工孵化後 2, 3 週間を経過した雄性家鶏を用ひた。

第 2 項 供試鶏ペストウイルス

實驗に供したウイルスは昭和 11 年教室の増永氏が分離した鶏ペストウイルス(教室株), 及び農林省獸疫調査所より分與された佐藤系鶏ペストウイルス(佐藤株)の 2 種で, その最少致死量は教室株は 5×10^{-5} で, 佐藤株は 10^{-5} である。

第 3 項 超音波發生裝置

本實驗に供した超音波發生裝置は本大學生理學教室鈴木光夫氏の作製になるもので, 750Watt 2 個の發振用真空管を有し, 5 mm の水晶板を備へ, 周波數每秒 550 萬 K.C. に達するものである。水晶發振板は, 電氣的絶縁を強力なる音波傳達の必要上油槽中に設備した。

余は實驗に際して音波の強さを次の 3 階段に分ち, その各々に就て各一定時間作用せしめた。

	電 壓	陽極電流の強さ	高周波電流
1. 弱	度 1500Volt	0.3 A	0.7 A
2. 中 等	度 1800Volt	0.35A	0.9 A
3. 強	度 2100Volt	0.4 A	1.0 A

第4項 供試抗元

イ) 超音波鶏ベスト抗元. 先づ人工感染屍鶏の腦實質を秤量して滅菌乳鉢に收め、鉢にて可及的に細かく亂切し、更に海砂を混じて充分に磨碎する。然る後其の量に應じ夫々10倍量のTyrode液を加へてよく攪拌し、均等な乳劑となし、本乳劑を1分間3000廻轉で15分間遠心沈澱し其の上澄液を採取した。次にこの上澄液の3—5ccを口径5分、壁の厚さ0.5耗の硬質試験管に容れ、超音波に15—20分間作用せしめたものを超音波處置抗元として實驗に供した。

ロ) フォルマリン鶏ベスト抗元. 感染致死腦實質1gに0.2%フォルマリン液を5ccの割合に加へ滅菌乳鉢で磨碎して粥狀となし、之を37°C孵卵器に72時間放置したものを使用した。

ハ) エーテル鶏ベスト抗元. 鶏ベスト感染屍鶏の腦實質8gを滅菌乳鉢中で充分磨碎し、之に20ccのエーテルを加へて3日間浸漬した病毒を用いた。

第5項 免疫方法

イ) 皮下免疫方法. 超音波處置抗元を10日の間隔を以て1—5cc宛家鶏大腿又は胸部皮下に1—5回注射して免疫を完了した。

ロ) 筋肉免疫方法. 超音波處置抗元を10日の間隔を以て家鶏大腿筋肉又は胸部筋肉内に1—5cc宛注射し、1—5回を以て免疫を完了した。

ハ) 靜脈内注射免疫方法. 超音波處置抗元を前方法と同様に腋窩靜脈内に1—5回注射し免疫を完了した。

第6項 病毒耐過試験法

免疫完了せる家鶏に就き一定期日を經過せる後、鶏ベスト病毒浮游液の一定量を皮下、筋肉内或は靜脈内に注射し、爾後の經過を観察し、家鶏が病毒の接種に耐過し得るや否や即ち病毒感染に對する防禦力ありや否やを検し、以て免疫が成立せるや否やを判斷した。本實驗に際しては常に非免疫健常家鶏に就て同様の感染試験を行ひ以て對照とした。

第7項 中和試験

免疫完了後30乃至28日經過せる家鶏の免疫血清を採取し、之を生理的食鹽水を以て10倍、100倍、1000倍の如く遞減稀釋する。この稀釋血清の0.2ccに鶏ベスト病毒のM.L.D. $\times 10$ を加へてよく混和し、37°C孵卵器に2時間放置した後、其の0.3ccを3羽宛1群とした家鶏雛の筋肉内に接種し、其の感染の有無を以て病毒が滅殺されたか否かを検査した。

第3章 實驗成績

第1節 供試病毒の最少致死量

豫備實驗として最少致死量を測定した。先づ感染屍鶏の腦實質を無菌的にとり出し、滅菌乳鉢で腦實質1gにTyrode液9ccを加へ充分磨碎し之を1500廻轉15分間遠心し、其の上清を病毒の10倍稀釋液と見做し、之を基準として更に 10^{-2} — 10^{-3} ……の如く遞減稀釋を行つた。次に之等各稀

釋液を成家鶏の體重1斤につき1ccの割合で皮下に接種し、7日間其等の経過を観察した。

本實驗の成績は第1表に示す如くである。

第1表 供試病毒の最少致死量

病毒別	病毒稀釋	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	5×10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	5×10 ⁻⁵	10 ⁻⁶
教室株		334	344	464	556	555	665	666	SS
佐藤株		333	334	554	544	556	66S	SSS	SSS

表中數字は3例宛の成家鶏の罹患致死に至る日数を示しSは生存せるを示す。

第1表に示す如く家鶏に對する M.L.D. は、教室株は 5×10⁻⁵で佐藤株は 10⁻⁵である。

第2節 超音波の抗元に及ぼす影響

第2章4(1)に述べた病毒浮游液に弱度、中等度、強度の超音波を夫々20, 30, 45, 60分間作用せしめ、之等に於ける免疫元性の有無、其の後に於ける病毒を以てせる感染試験の成績より判定したものである。

第1項 弱度の超音波の抗元に及ぼす影響

電壓1500Volt, 陽極電流0.3A, 高周波電流0.7Aの弱度超音波を作用せしめた場合の成績は第2表に示す如くである。

第 2 表

抗 元	實驗動物	感染有無	免疫有無	M. L. D. × 10								
				1日	2日	3日	4日	5日	6日	7日	8日	
超 音 波 弱 度 作 用	20'	1060g♀	D(4)									
		1080g♀	D(4)									
		1120g♂	S	+	S	S	S	D				
	30'	1030g♂	S	+	S	S	S	S	S	S	S	S
		960g♀	S	+	S	S	S	S	S	S	S	S
		1050g♂	S	+	S	S	S	S	S	S	S	S
	45'	980g♀	S	+	S	S	S	S	S	S	S	S
		1030g♂	S	+	S	S	S	S	S	S	S	S
		1160g♀	S	+	S	S	S	S	S	S	S	S
	60'	1110g♀	S	—	S	S	S	S	D			
		1050g♂	S	—	S	S	S	S	D			
		1170g♂	S	—	S	S	S	D				
對 照	1070g♀	D(3)										
	1100g♂	D(3)										
	1050g♀	D(4)										

第2表に示す所より、弱度超音波20'作用では病毒は未だ發病性を有し、3羽中2羽は感染斃死したが1羽は耐過生存した。この生存鶏は感染試験の結果4日目に斃死したから先づこの抗元を以

でする場合には免疫効果はないと思はれる。超音波を30分、45分作用せしむるゝ病毒は其の發病性を失ひ、之によつて處置した家鶏は爾後に於ける病毒の感染に總て耐過生存して免疫の效果を示したのに反し、60分作用せしめたものでは發病性も抗原性も共に失はれて居る。本實驗と同時に實驗した對照實驗では3羽共すべて感染致死した。

第2項 中等度の超音波の抗原に及ぼす影響

本實驗に於ては電壓1800Volt, 陽極電流0.35A, 高周波電流0.9Aの中等度の超音波の抗原に及ぼす作用を檢査した。

第 3 表

抗 元		實 驗 動 物	感 染 有 無	免 疫 有 無	M. L. D. × 10							
					1 日	2 日	3 日	4 日	5 日	6 日	7 日	8 日
超 音 波 中 等 度 作 用	20'	960 g ♀	S	—	S	S	S	S	D			
		920 g ♂	S	+	S	S	S	S	S	S	S	S
		900 g ♀	S	+	S	S	S	S	S	S	S	S
	30'	960 g ♂	S	+	S	S	S	S	S	S	S	S
		940 g ♀	S	+	S	S	S	S	S	S	S	S
		950 g ♂	S	+	S	S	S	S	S	S	S	S
	45'	1050 g ♀	S	+	S	S	S	S	S	S	S	S
		930 g ♂	S	—	S	S	S	S	D			
		920 g ♀	S	—	S	S	S	S	S	D		
	60'	980 g ♂	S	—	S	S	S	D				
		950 g ♂	S	—	S	S	S	S	D			
		1020 g ♂	S	—	S	S	S	S	D			
對 照		930 g ♂	D (5)									
		980 g ♂	D (4)									
		1010 g ♂	D (4)									

第3表に示す如く、中等度超音波20分間の作用では病毒は發病性を失ふが抗原性は有して居る。超音波30分間の作用では、其の發病性を失ふが前者と同様に抗原性を有し供試家鶏は總て生存した。45分間作用では病毒は發病性を失ふと同時に抗原性も失ふ。本群に於ては免疫後に行はれた感染試験で3羽中1羽に於て免疫効果を認める事が出來た。60分作用では發病性も抗原性も共に全く失はれる。本實驗と同時に施行した對照群は總て斃死した事は表に示した如くである。

第3項 強度の超音波の抗原に及ぼす影響

本實驗に於ては電壓2100Volt, 陽極電流0.4A, 高周波電流1.0Aの強度の超音波を抗原に作用せしめた。

第4表に示す如く、強度の超音波を20分作用せしめた場合に病毒の發病性は失はれるが其の免疫性は明かに残存する。30分間の作用では發病性が失はれ、其の抗原性も弱くなり8例中の1例

第 4 表

抗 元		實 驗 動 物	感染有無	免疫有無	M. L. D.×10							
					1 日	2 日	3 日	4 日	5 日	6 日	7 日	8 日
超 音 波 強 度 作 用	20'	930 g ♂	S	+	S	S	S	S	S	S	S	S
		960 g ♀	S	+	S	S	S	S	S	S	S	S
		950 g ♂	S	+	S	S	S	S	S	S	S	S
	30'	1020 g ♂	S	+	S	S	S	S	S	S	S	S
		980 g ♂	S	+	S	S	S	S	S	S	S	S
		940 g ♂	S	—	S	S	S	D				
	45'	960 g ♀	S	—	S	S	S	S	D			
		1020 g ♂	S	—	S	S	S	S	D			
		1040 g ♂	S	—	S	S	S	D				
	60'	980 g ♂	S	—	S	S	S	S	S	D		
		940 g ♀	S	—	S	S	S	S	D			
		1020 g ♂	S	—	S	S	S	S	D			
對 照	1100 g ♂	D (5)										
	1010 g ♂	D (6)										
	950 g ♀	D (5)										

はその後の感染試験で斃死した。

45 分, 60 分作用では發病性も抗元性も共に失はれる。本實驗と同時に實施した無處置對照家鶏群は M.L.D. × 10 病毒の接種により總て斃死した。

第 4 項 加熱病毒で免疫した場合

第 5 表

	實 驗 動 物	注 射 量	回 數	D. L. M. × 10 接種						
				1 日	2 日	3 日	4 日	5 日	6 日	7 日
教 室 株	740 g ♂	D.L.M. × 10 ⁴	5	S	S	S	S	D		
	710 g ♀	„	5	S	S	S	D			
	1020 g ♂	„	5	S	S	S	D	D		
	830 g ♂	D.L.M. × 10 ⁶	3	S	S	S	S	D		
	920 g ♂	„	3	S	S	S	S	D		
	960 g ♂	„	3	S	S	S	D			
佐 藤 株	1050 g ♂	D.L.M. × 10 ⁴	5	S	S	S	S	S	D	
	1100 g ♀	„	5	S	S	S	S	S	D	
	980 g ♂	„	5	S	S	S	S	D		
	830 g ♂	D.L.M. × 10 ⁶	3	S	S	S	S	S	D	
	1020 g ♂	„	3	S	S	S	S	D		
	1050 g ♂	„	3	S	S	S	S	D		

本實驗に於ては、本節第1, 2, 3項で述べた各實驗に對する 對照試驗の意味で、加熱病毒液を以て免疫した場合の免疫效果に就て検討を加へた。

(イ) 60°C, 1時間加熱病毒を以て免疫した場合

M.L.D. $\times 10^4$, M.L.D. $\times 10^6$ を 60°C 1時間加熱して病毒を死滅せしめ、之を體重毎羽 1 ccの割合で 10 日の間隔で 3 回乃至 5 回家鶏靜脈内に接種し、最終接種後 10 日を経て新鮮腦病毒の M.L.D. $\times 10$ を筋肉内に接種して感染せしめ爾後に於ける経過を觀察した。第 5 表に示す如く、本實驗に供試した家鶏は新鮮腦の病毒接種後一定期日を経て總て斃死し免疫效果を認め得たものは 1 例も存在しなかつた。

(ロ) 70°C, 30 分加熱病毒を以て免疫した場合

本實驗に於ては、D.L.M. $\times 10^3$, D.L.M. $\times 10^5$ を 70°C 30 分加熱し之を使用して 10 日の間隔を以て靜脈内に 3 回注射し、注射終了 2 週間後に M.L.D. $\times 10$ の病毒を筋肉内に接種して感染せしめたのであるが、供試家鶏は總て、第 6 表に示す如く、一定期日後に斃死し免疫效果を認める事は出来なかつた。

第 6 表

	實驗動物	注 射 量	D. L. M. $\times 10$ 接種						
			1 日	2 日	3 日	4 日	5 日	6 日	7 日
教 室 株	1050 g ♂	D.L.M. $\times 10^3$	S	S	S	S	D		
	1100 g ♂	„	S	S	S	D			
	160 g ♂	„	S	S	S	D			
	980 g ♂	D.L.M. $\times 10^5$	S	S	S	S	D		
	1050 g ♂	„	S	S	S	S	D		
	990 g ♂	„	S	S	S	S	S	D	
佐 藤 株	1120 g ♀	D.L.M. $\times 10^3$	S	S	S	S	S	D	
	1060 g ♂	„	S	S	S	S	S	D	
	1050 g ♂	„	S	S	S	S	S	D	
	1080 g ♂	D.L.M. $\times 10^5$	S	S	S	S	D		
	990 g ♂	„	S	S	S	S	D		
	1030 g ♀	„	S	S	S	S	S	D	

要するに加熱處置抗原を以てしては、本實驗の範圍内に於ては、免疫效果を認める事が出来なかつたのである。

第 5 項 超音波抗原、フォルマリン處置抗原、エーテル處置抗原を以てせる免疫試験に於ける免疫回数と免疫效果に關する吟味

本節第 1, 2, 3, 4 項に述べた所から、家鶏を、一定條件下で調製した超音波處置抗原を以て一定條件下に免疫すれば、爾後に於ける病毒の接種に對して一定度の免疫效果のあらはれる事は明かである。本實驗に於ては、免疫回数と免疫效果との關係を検討すると共に、Staub⁽⁷⁾等のフォルマリン

處置病毒並に Belfanti u. Ascoli⁽⁴⁾ のエーテル處置病毒を以てする免疫の救果に就ても検討を加へた。

(イ) 1回免疫の効果

本實驗に於ては超音波處置抗原(弱度 45 分處置), フォルマリン處置抗原, エーテル處置抗原を家鶏體重 1 疋に就き 1.0 或は 3.0cc 皮下接種し, 之に耐過生存したものには更に 10 日後 M.L.D.×10 の病毒を胸筋内に接種し, 之等各群家鶏に於ける免疫成生の有無を検査した。實驗成績は第 7 表に示す如くである。

第 7 表 1 回免疫の効果

實驗動物	免 疫				免疫終了後再接種に至る日数	耐過試験	病 毒 耐 過 試 験 後 の 經 過						
	注同	射數	注射量	期 間			1 日	2 日	3 日	4 日	5 日	6 日	7 日
超音波處置抗原	990 g ♂	1	1.0	12	10	10×D.L.M.	S	S	S	D			
	1160 g ♂	"	"	"	"	"	S	S	S	D			
	1030 g ♂	"	"	"	"	"	S	S	S	S	D		
	1080 g ♂	"	3.0	"	"	"	S	S	S	S	D		
	1060 g ♂	"	"	"	"	"	S	S	S	S	D		
	980 g ♂	"	"	"	"	"	S	S	S	S	S	D	
フォルマリン處置抗原	1060 g ♀	1	1.0	12	10	10×D.L.M.	S	S	S	D			
	1130 g ♀	"	"	"	"	"	S	S	S	D			
	1090 g ♂	"	"	"	"	"	S	S	S	S	D		
	1130 g ♂	"	3.0	"	"	"	S	S	S	S	D		
	1120 g ♀	"	"	"	"	"	S	S	S	S	S	D	
	1080 g ♂	"	"	"	"	"	S	S	S	S	S	D	
エーテル處置抗原	1060 g ♂	1	1.0	12	10	10×D.L.M.	S	S	S	D			
	1050 g ♂	"	"	"	"	"	S	S	S	S	D		
	1170 g ♂	"	"	"	"	"	S	S	S	S	D		
	1050 g ♂	"	3.0	"	"	"	S	S	S	S	D		
	1110 g ♀	"	"	"	"	"	S	S	S	S	D		
	1070 g ♂	"	"	"	"	"	S	S	S	S	S	D	

第 7 表 に示す如く 1 回免疫を以てしては供試各抗原に於て免疫効果を認むる事は出来ない。家鶏は總て M.L.D.×10 の病毒の接種により 6 日以内に斃死した。

(ロ) 3回免疫の効果

超音波處置抗原(弱度 45 分), フォルマリン處置抗原, エーテル處置抗原の夫々 1 及び 3 cc 宛を以て 3 回免疫を施し, 免疫終了 10 日後に 10×M.L.D. 量の鶏ベスト病毒を接種して免疫効果を判定した。其の成績は第 8 表に示す如くである。

超音波處置抗原に於ては 1 cc 3 回注射群及び 3 cc 3 回注射群に於て各 3 例中 1 例鶏ベスト病毒接種に耐過生存し, フォルマリン處置抗原に於ては 3 cc 3 回接種群に於てのみ 1 例生存し, エーテル處置抗原を接種したものに於ては全部斃死した。

	實驗動物	免 疫				免疫終了後再接種に至る日數	耐過試驗	病 毒 耐 過 試 驗 後 の 經 過						
		注 射 數	注 射 量	期 間	1 日			2 日	3 日	4 日	5 日	6 日	7 日	
超音波處置抗原	1110 g 公	5	3 cc	50	10	D.E.M. × 5	S	S	S	S	S	S	S	
	1070 g 公	”	”	”	”	”	S	S	S	S	S	S	S	
	1050 g 公	”	”	”	”	”	S	S	S	S	S	S	S	
	1120 g 母	”	”	”	”	D.L.M. × 10	S	S	S	S	S	S	S	
	1080 g 公	”	”	”	”	”	S	S	S	S	S	S	S	
	1030 g 母	”	”	”	”	”	S	S	S	S	D			
	980 g 公	”	”	”	”	D.L.M. × 12	S	S	S	S	S	S	S	
	1080 g 公	”	”	”	”	”	S	S	S	S	D			
	1160 g 公	”	”	”	”	”	S	S	S	S	D			

フオルマリン 處置抗原	990 g ♂	5	3 cc	50	10	D.L.M. × 5	S	S	S	S	S	S	S
	1120 g ♂	"	"	"	"	"	S	S	S	S	S	S	S
	1170 g ♂	"	"	"	"	"	S	S	S	S	S	S	S
	1050 g ♂	"	"	"	"	D.L.M. × 10	S	S	S	S	S	S	S
	1080 g ♂	"	"	"	"	"	S	S	S	S	D		
	1120 g ♀	"	"	"	"	"	S	S	S	S	D		
	1160 g ♂	"	"	"	"	D.L.M. × 12	S	S	S	S	D		
	1200 g ♂	"	"	"	"	"	S	S	S	S	S	D	
エーテル 處置抗原	1190 g ♂	"	"	"	"	"	S	S	S	S	D		
	1050 g ♂	5	3 cc	50	10	D.L.M. × 5	S	S	S	S	S	S	S
	1210 g ♂	"	"	"	"	"	S	S	S	S	S	S	S
	1180 g ♂	"	"	"	"	"	S	S	S	S	S	D	
	1090 g ♂	"	"	"	"	D.L.M. × 10	S	S	S	S	S	D	
	1050 g ♂	"	"	"	"	"	S	S	S	S	S	D	
	1120 g ♂	"	"	"	"	"	S	S	S	S	S	S	S
	1060 g ♂	"	"	"	"	D.L.M. × 12	S	S	S	S	D		
	1120 g ♂	"	"	"	"	"	S	S	S	S	D		
	1090 g ♂	"	"	"	"	"	S	S	S	S	S	D	

マリン處置抗原接種群に於ては 9 例中 4 例，エーテル處置抗原接種群に於ては 9 例中 3 例が夫々生存した。

第 6 項 接種部位による超音波處置抗原の免疫効果の比較

皮下注射，筋肉内接種，静脈内注射の三方法により鶏ベスト病毒超音波處置（弱度，45 分）抗原の 1 及 3 cc を以て 5 回免疫を施し，之等各免疫方法による免疫効果を比較吟味した。其の成績は第 10 表に示す如くである。

第 10 表に示す所から，静脈内接種方法では供試例全て生存せるに對し，皮下及び筋肉内接種では夫々 5 例中 2 及び 1 例生存して居る。従て超音波處置抗原を以て家鶏を免疫する場合には之を静脈

第 10 表

部 位	實驗動物	免 疫				耐過試験	病 毒 耐 過 試 験 後 の 經 過						
		注 回	射 数	注 射 量	期 間	免 疫 終 了 後 再 接 種 に 至 る 日 数	1 日	2 日	3 日	4 日	5 日	6 日	7 日
皮 下 接 種	1070 g ♂	5	1 cc	50	10	10 × M.L.D.	S	S	S	S	D		
	1110 g ♂	"	"	"	"	"	S	S	S	S	D		
	1040 g ♂	"	3	"	"	"	S	S	S	S	D		
	1130 g ♂	"	"	"	"	"	S	S	S	S	S	S	S
	990 g ♂	"	"	"	"	"	S	S	S	S	S	S	S
筋 肉 接 種	1060 g ♀	5	1 cc	50	10	10 × M.L.D.	S	S	S	S	D		
	1050 g ♂	"	"	"	"	"	S	S	S	D			
	1120 g ♂	"	3	"	"	"	S	S	S	D			
	1030 g ♂	"	"	"	"	"	S	S	S	S	D		
	1050 g ♂	"	"	"	"	"	S	S	S	S	S	S	S

静脈接種	1100 g ♂	5	1 cc	50	10	10×M.L.D.	S	S	S	S	S	S	S
	1120 g ♂	"	"	"	"	"	S	S	S	S	S	S	S
	1010 g ♂	"	3	"	"	"	S	S	S	S	S	S	S
	1030 g ♂	"	"	"	"	"	S	S	S	S	S	S	S
	1070 g ♂	"	"	"	"	"	S	S	S	S	S	S	S

内に注射した場合に最大の免疫効果が得られる事は明かである。

第7項 超音波處置抗原による免疫完成期に就て

超音波處置抗原の5 ccを家鶏に皮下接種し、接種後10, 25, 50日を経て夫々鶏ベストウイルスの10×M.L.D.を以て感染試験を行ひ、超音波處置抗原の接種による免疫の完成期を見出さんとした。其の成績は第11表に示す。

第11表 超音波處置抗原による免疫完成期

實驗動物	注 射 量	接 種 病 毒	免疫終了後再接種試験迄の日数	結 果
1190 g ♂	5 cc	10×M. L. D.	10	D (5)
1080 g ♀	"	"	"	D (6)
1050 g ♂	"	"	"	S
1120 g ♀	"	"	25	S
1110 g ♂	"	"	"	S
1180 g ♀	"	"	"	S
1080 g ♂	"	"	50	D (5)
1020 g ♀	"	"	"	S
1050 g ♂	"	"	"	S

第11表に示す如く、此の場合に於ける免疫は免疫終了後25日頃に完成されるものと思はれ、10日及び50日後に於ける免疫の程度は低いようである。

第8項 超音波處置抗原の注射量及び回数と免疫完成との關係

超音波處置抗原の皮下注射回数及び注射量を種々變化せしめ、之等に於ける免疫完成期を検討した。其の成績は第12表に示す。

第12表 超音波處置抗原注射の量及び回数と免疫完成との關係

實驗動物	注射日数	注 射 量	接 種 病 毒	日 数	結 果
1200 g ♂	5	5 cc	10×M. L. D.	10	D(5)D(4)S
1050 g ♂	5	"	"	25	S S S
1020 g ♂	3	"	"	10	D(6)S S
1120 g ♂	3	"	"	25	S S S
1070 g ♂	3	3 cc	"	25	S S D(5)
1050 g ♂	1	5 cc	"	14	S S D(4)
1170 g ♂	1	"	"	25	S S D(5)
1050 g ♂	1	3 cc	"	25	S D(4)D(6)

第12表に示す如く、抗原の多量1回注射のものよりも少量宛数回に互り分割注射せるものに於て免疫効果は良好であつて、何れも免疫終了後25日後のものに於て免疫効果優秀なるを認めた。

第9項 超音波處置抗原を以て免疫せる家鶏に於ける免疫持続期間の吟味

本實驗に於ては超音波處置抗原を以て家鶏を免疫した場合に於ける免疫持続期間に就て検討を加へた。即ち抗原の靜脈内注射法により3回免疫を施し、免疫終了後10, 30, 35, 40, 50, 60日目に夫々 $10 \times \text{M.L.D.}$ の病毒を接種して感染せしめ、之に耐過生存した家鶏に就ては更に2, 3, 4, 5, 6, 7, 8ヶ月後に病毒の第3回接種を行ひ免疫の有無を検定せんとした。この種の實驗方法で免疫の持続期間を判定するのは理論上無理があるのは明かであつて、其の結果は慎重に取扱ふべきものである。

本實驗の成績は第13表に示す如くである。

第13表 免疫持続期間の吟味

實驗動物	超音波處置抗原注射完了後試験迄の日數	感 染 試 験		感染試験後再感染試験迄の日數	免疫有無
		接種病毒量	結果		
1120 g ♀	10	$10 \times \text{M.L.D.}$	S	2ヶ月	+
990 g ♂	10	"	S	3ヶ月	+
1030 g ♂	30	"	S	3ヶ月	+
1060 g ♂	30	"	S	4ヶ月	+
980 g ♂	35	"	S	5ヶ月	+
1050 g ♀	35	"	S	6ヶ月	+
1030 g ♂	40	"	S	6ヶ月	+
1160 g ♂	42	"	S	7ヶ月	+
1030 g ♀	50	"	S	8ヶ月	+
1110 g ♂	60	"	S	5ヶ月	+

第13表に示す如く免疫終了後10, 30, 35, 40, 42, 50, 60日目に實施した第1次感染試験では總ての家鶏は耐過生存し、第1次感染試験後、2, 3, 4, 5, 6, 7, 8ヶ月後に行つた再感染試験でも全て生存した。本實驗の成績からすれば免疫終了後60日迄は免疫効果のある事は明かである。

第10項 超音波處置抗原を以て調製せる免疫家鶏血清とベスト病毒の中和試験

超音波處置抗原を以て5回免疫を施した家鶏から、免疫終了15, 35, 80, 100日後に採血血清を採取し、之に就き實驗方法第5項に記載した方法により其の病毒滅殺素の存否並に消長を検査した。其の成績は第14表に示す。

第14表 超音波處置抗原を以て調製せる免疫家鶏血清の病毒中和能力

免 疫		免疫血清		鶏ベスト病毒		作用時間	實驗動物	中和病毒注射量	中和成績
免疫回数	免疫終了後日數	血清稀釋倍數	血清量	毒 力	量				
5	100	1×10	0.2cc	$\text{D.L.M.} \times 10$	0.2cc	2時間	1100 g ♂	0.3	+
"	"	"	"	"	"	"	1090 g ♂	"	+
"	"	"	"	"	"	"	1120 g ♂	"	+

5	80	1×100	0.2cc	D. L. M.×10	0.2cc	2時間	1100 g ↑	0.3	+
"	"	"	"	"	"	"	1080 g ↑	"	+
"	"	"	"	"	"	"	1120 g ↑	"	+
"	35	1×1000	"	"	"	"	1070 g ↑	"	+
"	"	"	"	"	"	"	1110 g ↑	"	+
"	"	"	"	"	"	"	1090 g ↑	"	+
"	15	1×10000	"	"	"	"	1030 g ↑	"	+
"	"	"	"	"	"	"	980 g ↑	"	+
"	"	"	"	"	"	"	1130 g ↑	"	+
"	"	"	"	"	"	"	1030 g ↑	"	+

第14表に示す如く、超音波處置抗原を以て5回免疫を施した家鶏から免疫終了後15日目に採取した血清は 10^1 稀釋に於て病毒中和能力を有し、35日、80日、100日後に採取した血清は夫々 10^3 、 10^2 、 10^1 稀釋に於て病毒を試験管内で殺滅中和する性能を有する。

第11項 免疫終了後の経過日数と血清中和能との關係

超音波處置抗原を以て5回靜脈内注射免疫を施した家鶏に就き、免疫終了後、30、64、95、100、105、130、210、280日に夫々血清を採取し其の病毒中和性能を檢査した。其の成績は第15表に示す如くである。

第15表 免疫終了後の経過日数と血清中和能との關係

免 疫		免 疫 血 清		鶏 ペ ス ト 病 毒		作用時間	實驗動物	中和病毒 注 射 量	中和 成績
免 回	疫 後 日 数	血 清 稀 倍 數	血 清 量	毒 力	量				
5	30	1×10	0.2cc	M. L. D.×10	0.2cc	2時間	1050 g ↑	0.3	+
"	"	"	"	"	"	"	1120 g ↑	"	+
"	"	"	"	"	"	"	1050 g ↑	"	+
"	64	"	"	"	"	"	1120 g ↑	"	+
"	"	"	"	"	"	"	1150 g ↑	"	+
"	"	"	"	"	"	"	1030 g ↑	"	+
"	95	"	"	"	"	"	1140 g ↑	"	+
"	"	"	"	"	"	"	1080 g ↑	"	+
"	100	"	"	"	"	"	1070 g ↑	"	+
"	"	"	"	"	"	"	1110 g ↑	"	+
"	105	"	"	"	"	"	1090 g ↑	"	+
"	"	"	"	"	"	"	1010 g ↑	"	+
"	"	"	"	"	"	"	1130 g ↑	"	+
"	130	"	"	"	"	"	970 g ↑	"	+
"	"	"	"	"	"	"	1030 g ↑	"	+
"	210	"	"	"	"	"	1070 g ↑	"	+
"	280	"	"	"	"	"	1120 g ↑	"	+

第15表に示す如く、超音波處置抗原を以て免疫した家鶏血清は、免疫終了後、280日迄鶏ベスト病毒を中和し得る性能を有するものである。

以上二つの實驗成績からすれば超音波處置抗原を以て免疫した家鶏血清は、鶏ベストウイルスを殺滅中和する性能を有する事は明かであるが、本抗原で處置した場合に得られる家鶏の免疫性の總てをこの中和抗體のみに歸せしめる事には慎重を要すると思ふ。

第4章 總括及び考案

鶏ベストの人工免疫に関しては幾多の報告がある。例へば加熱、乾燥、日光等を作用せしめて免疫効果のある豫防接種材料を得んした者⁽²⁾、病毒に Saponin を作用せしめて安全な豫防接種材料を得んした者⁽³⁾、エーテルで處置した病毒を以て免疫せんしたものの⁽⁴⁾⁽⁵⁾⁽⁶⁾、病毒をフォルマリンで處置して免疫劑を調製せんした者⁽⁶⁾⁽⁷⁾、及び Phenol を加へた病毒を免疫劑として良結果を得た者⁽⁸⁾等があるが、之等業績に於ける免疫實驗の成績は不定であつて、現今鶏ベストに對して確實な免疫方法は未だ決定されてゐない様である。

余は曩に發表⁽¹⁾した鶏ベスト病毒に對する超音波の作用に關する研究に引き續き、前人の未だ企て居らざる超音波處置抗原を以てする免疫實驗を実施し、本論文第3章所載の如きいさゝか興味ある成績を得た。茲に本研究の成果を綜括して考察すれば次の如くである。

本研究に供試した鶏ベスト病毒は教室保存株及び佐藤株の2株であつて其の家鶏に對する M.L.D. は夫々 5×10^{-5} 及び 10^{-5} である。

本研究に於ては極めて安全で而も免疫元性の高い抗原を發見するのが主目的であるから、超音波は弱度、中等度、強度の3段階に分つて夫々20分、30分、45分、60間の如く作用せしめた。

弱度の超音波を20分間作用せしめた場合に就てみるに、この程度の處置では病毒は尙ほ發病性を有して居つて、この抗原を以てする免疫處置のみでも斃死する家鶏が存在した。弱度の超音波30分及び45分間の作用では病毒は發病性を失ひ而も免疫元性も充分に具へてゐる。60分作用では病毒は發病性は完全に失ふが其の免疫元性も亦失はれてゐる。

中等度の超音波を作用せしめた場合に就て觀るに、この場合には30分間作用せしめた抗原が安全で且つ免疫元性も充分であるが、20分及び40分作用のものでは免疫元性が稍々劣り、60分間作用では免疫元性が失はれて了ふ。

強度の超音波を作用せしめた場合には、20分間作用せしめた抗原は其の安全性竝に免疫元性共に満足すべきものであるが、30分、45分、60分間作用せしめた抗原では安全性は認め得るが、免疫元性は作用時間の延長と共に遞減する。

以上の成績から、超音波の作用は弱度の場合には45分間、中等度の場合には30分間、強度の場合には20分間作用せしめた場合に安全且つ有効な豫防接種劑が得られる。

この超音波處置抗原を以てする免疫實驗を併行して加熱病毒の免疫元性に就て検討を加へたが、この場合には 60°C 1時間、 70°C 30分間加熱處置した抗原は安全性は充分であるが免疫元性は其の何れに於ても認め得ない。

鶏ベストの豫防接種剤としては、從來 Formalin⁽⁶⁾ の及びエーテル處置抗原に關し有效なりと唱へる學者⁽⁴⁾⁽⁵⁾⁽⁶⁾ があるので、之等抗原による免疫効果を、免疫回数を吟味し乍ら比較検討した。即ち、皮下接種1回免疫では何れの抗原に於ても免疫効果は認め得ない。皮下接種3回免疫では超音波處置抗原に於て30%、Formalin 處置抗原に於て6%の生存率を得たが、エーテル處置抗原では生存したものはない。皮下接種5回免疫では超音波處置抗原では66%、Formalin 處置抗原では44%、エーテル處置抗原では33%の生存率を得た。この成績からすれば、何れの抗原を以てするも免疫回数を増加すれば免疫効果が大きなる事は明かであり、又供試3種抗原の中では超音波處置抗原による免疫効果が最もよく、他の2者による免疫効果は劣る可言へるのである。而し乍ら後2者の抗原と雖も全く免疫元性をもつてゐないとは言へないのであつて、この點、近藤⁽⁶⁾、金澤⁽⁶⁾、Staub⁽⁷⁾等の成績と略々一致するものである。

豫防接種の効果に關しては接種部位、接種量、接種回数等が重要な因子をなす事は明白な事實である。余は在來研究された豫防剤に比し優れた成果を示す超音波處置抗原を以て、之等諸因子の其の效果に及ぼす影響につき吟味を加へた。その結果、超音波處置抗原を以てする豫防接種は、之を皮下及び筋肉内に接種した場合に較べて、靜脈内に接種した場合に極めて優秀な効果が得られ、抗原の皮下接種法による免疫の際には抗原の多量を1回に接種するよりも少量宛數回に互り接種する方が效果優秀であり、免疫は免疫終了25日後には完成され、後漸次低下し、又抗原を靜脈内に接種した場合に於ける免疫性は少く共60日迄は持續するものである事が明かとなつた。

超音波處置抗原を以て免疫した家鶏の血清中には病毒中和抗體を證明する事が出來たのみならず本抗體は免疫終了28日迄は致死量の10倍量の病毒の感染を救ひ得る如き能力を有するものである。本抗體を證明し得た事は、鶏ベストの血清療法に對し興味ある示唆を與へるものであるが、之を以て超音波處置抗原接種による家鶏免疫性の全てを説明せんとする事は妥當でないを考へる。

第5章 結 論

1. 超音波處置抗原を以て家鶏に鶏ベストに對して免疫性を附與する事は可能である。
2. 超音波處置抗原を以てする免疫は、之を靜脈内に接種した場合に最もよい免疫効果が得られる。皮下並に筋肉内接種による効果は之に次ぐ。
3. 超音波處置抗原は、之を1回に多量接種するよりも、少量宛數回に分割して接種した場合に於て效果著明である。而してこの免疫性は免疫終了後25日には完成する。
4. 超音波處置抗原を以て免疫して獲得せしめた免疫性は少く共60日間は持續する。
5. 超音波處置抗原を以て免疫した家鶏血清には病毒中和抗體を證明する事が出来る。
6. 超音波處置抗原による免疫試験と同時に付したフォルマリン處置抗原及びエーテル處置抗原を以てしても鶏に免疫性を獲得せしめる事が出来る。而して其の效果は超音波處置抗原の場合に於て最大である。加熱處置抗原を以てしては、免疫性を獲得せしめる事は出来ない。

拙筆に臨み御懇篤なる御指導と御校閲を賜はつた木村教授に満腔の謝意を表す。

文 献

- 1) 松本: 日微生物誌. 37, 269, 昭18.
- 2) Ostertag u. Wolfhügel: Mh. Tierheilk, 14, 49, 1902.
- 3) Prowazek: Münch. Med. Wschr., 4, 165, 1908.
- 4) Belfauti u. Ascoli: Chin. Vet., 577, 1916.
- 5) 近藤: 獣疫調査所研究報告. 16 號, 昭 13.
- 6) 金澤: 日微生物誌. 33, 529, 719, 昭 15.
- 7) Staub: Cr. Soc. Biol. 95, 1193, 1926.
- 8) Zanzucchi: Heneoparm, 2, 176, 1930.