ハムスター (*Mesocricetus auratus*) の馬流産菌感染実験

特に宿主側の諸条件を考慮した研究

野 村 達 次

実験動物中央研究所 (指導 前東京大学伝染病研究所 安東洪次)

〔受付: 3月10日1956年〕

は し が き

さきに Shimojo & Nomura (1951) はハムスター (*Mesocricetus auratus*) の馬流産菌 (*Salmonella abortusequi*) 感染実験を行い、この動物が馬流産菌に感受性があり、腹腔内接種あるいは経口投与によつて、著明な臨床症状を現して斃死し、その諸所見を総合してみると、馬流産菌対ハムスターの関係がいわゆる実験チフス症の範疇に属するものではないかと想像した。

そこで、この馬流産菌対ハムスターの関係において、クローム処理 (安東等1952) をした死菌の感染防禦能についての検索を行つてみたが、このような実験を行うに際して、菌の側並びに動物の側、さらには動物の環境としての飼育管理の規定を詳細に検討しておくことが必要であることを感じ、こゝに改めて馬流産菌対ハムスターの関係を検討した。これらの実験は1951年10月から1954年3月にわたつて行われたものであり、供試ハムスターは1948年11月15日出生の♀・♂1対より出発、筆者自身で系統的に撰択繁殖している 0—均一系である。以下その大要を記する。

なお、前報告 (Shimojo & Nomura 1951) で、臨床所見のうち *Diarrhea* として記述した点は、尿失禁の誤りであつて、その後の検索において、尿失禁で肛門部がよごれ、*Diarrhea* と誤認していたことが判明したのでこゝに訂正しておく。

実 験 I

1. クローム処理死菌前処置の感染防禦実験 (9/X '51 開始)

i. 実験方法

供試ハムスター: 生後3ヶ月の♂37頭を4群に分け、第1表に見るように1群 (IV) は対照、他は前処置終了後感染までの期間が21, 14, 7日になるように3群 (I, II, III) に分つた。

クローム処理死菌前処置: クローム処理死菌の調製は新たに分離された馬流産菌竹中株の普通寒天37°C18時間培養菌を1%ホルマリン加食塩水に200mg per mlに浮遊せしめ、それに等量の0.4%クローム明礬液を加え、37°Cに毎日1回攪拌して5日間放置したのち、遠心分離して0.1%マーゾニン加食塩水に再浮遊させ100mg per mlのクローム処理死菌原液 (Vae. No. 11) とした。この原液を2mg per mlに生理的食塩水で稀釈し、8日間に3回各1ml宛腹腔内に接種した。

感染及びその後の観察: 感染は竹中株の18時間培養菌の0.25mg (0.1ml) を口腔内に注入した。感染後1ヶ月にわたつて体重、臨床所見 (特に眼賦、尿失禁、動作緩慢) を観察し、斃死したものは剖検並びに菌培養を試みた。

ii. 実験成績

第1表にみるように無処置対照群をみると1例は発症並びに斃死期が遅れたが、他の9例は4~7日に体重減少をみせて発症し、さらに経過するにつれて眼賦・尿失禁・動作緩慢等の症状を発現し斃死した (体重減少と上記のその他の症状はハムスターの馬流産菌感染における定型的な臨床症状であると思われる)。これに対しI~III群の前処置群は斃死率並びに斃死に到るまでの時間に対照群と差がみられ、クローム前処置はある程度感染を防ぐようにみられた。

2. クローム処理死菌及び加熱死菌前処置の感染防禦実験 (18/I '52 開始)

NOMURA Tatsuji: Studies on Experimental Infection with *Salmonella abortusequi* in Hamster (*Mesocricetus auratus*) With special reference to conditions in in the host. Central Laboratories for Experimental Animal Tokyo. (For-Jap. J. of Bact., 11 (8), 699-707, 1956.

第1表 クローム処理死菌前処置の感染防禦実験 (供試ハムスター: 生後3ヶ月, ♂)

群	頭数	体重 (平均)	前処置期日	前処置 —感染 期日	感染時(6/XI) 体重 (平均)	感染	斃死数 (%)	斃死例		備 考
								感染—発 症期間 (平均)	感染—斃 死期間 (平均)	
I	9	81.5~104.0 (91.7) ^g	9/X, 16/X	21 ^日	86.5~110.0 (97.9) ^g	mg 0.25 口腔内	7 (77.8)	5~8 (6.1) ^日	16~25 (20.0) ^日	生残2: 8日目 発症(+), 体重 復元(-)
II	9	79.5~103.0 (89.6)	16/X, 23/X	14	91.5~110.0 (100.7)		7 (77.8)	5~12 (6.3)	16~28 (19.7)	生残2: 1: 発症(-) 1: 5~8日間 発症(+)
III	9	79.0~105.0 (90.7)	23/X, 30/X	7	91.5~112.0 (101.0)		7 (77.8)	2~12 (6.0)	14~21 (18.3)	生残1: 5~7日間 発症(+) 事故死1: 9日目死 菌培養(-)
IV	10	79.0~105.0 (90.7)	.	.	89.0~112.0 (98.0)		10 { 9 (100.0) { 1	4~7 (5.2) 19	15~18 (16.4) 28	3~8日間発症(+), 恢復後19日目より再 発症

註 発症は持続的体重減少並びにその他の臨床所見の発現を指標とした。

前実験に引つゞいて、さらに加熱死菌を加えて実験を行った。

i. 実験方法

供試ハムスター: 生後7週の♀36頭を第2表にみられるように3群に分けた。

死菌前処置: クローム処理死菌は前実験と同一のもの(Vae. No. 11)であり、加熱死菌は竹中株の普通寒天37°C18時間培養菌生理的食塩水浮游液の60°C30分加熱処理したものを用いた。接種はクローム死菌・加熱死菌共同しく2mg(1ml)宛1週間々隔て2回、腹腔内に行った。

感染及びその後の観察: 感染は竹中株18時間培養菌0.25mg(0.1ml)を口腔内に第2回前処置後17日目に注

入し、観察は前実験と同様に行つた。

ii. 実験成績

第2表でみるように、クローム処理死菌群(I)では対照無処置群(II)と斃死率、感染から斃死までの期間に差がみられたが、加熱死菌群(II)の斃死率は対照群と差がみられなかった。

実 験 II

実験Iにおいてクローム処理死菌前処置がある程度感染を防禦することがわかつた。しかしその成績を詳細に検討すると、1の実験でクローム処理死菌前処置群の斃死率は $\frac{1}{11}$, 77.8%(第1表)であつたが、2の実験では $\frac{1}{12}$, 58.3%(第2表)であつた。このような差が供試動物の年令・性別(1の実験では生後3ヶ月の♂, 2

第2表 クローム処理及び加熱死菌前処置の感染防禦実験 (供試ハムスター: 生後7週, ♀)

群	頭数	体重 (平均)	前 処 置	前処置 —感染 期間	感染時 (12/II) 体重 (平均)	感染	斃死数 (%)	斃死例		備 考
								感染—発 症期間 (平均)	感染—斃 死期間 (平均)	
I	12	88.0~112.0 (100.4) ^g	クローム死菌	17 ^日	84.0~100.0 (94.0) ^g	mg 0.25 口腔内	7 (58.3)	8~21 (13.0) ^日	13~27 (23.9) ^日	生残5: 1: 発症(-) 4: 2~3週目に 3~8日間体重減少
II	12	85.0~112.0 (100.2)	加熱死菌	17	79.0~102.0 (88.0)		12 (100.0)	6~12 (8.2)	10~22 (16.9)	
III	12	85.0~113.0 (99.0)	.	.	87.0~115.0 (100.0)		12 (100.0)	5~8 (6.4)	9~14 (11.6)	

註 発症は持続的体重減少並びにその他の臨床所見の発現を指標とした。

の実験では生後7週の♀)にあるのか,あるいは飼育管理その他の実験条件にあるのか不明であった。しかし,いずれにしても,菌対動物の関係についてこのような実験を行う場合には,まず種々なる実験条件を詳細に吟味した上で,感染実験の様相を正確に把握しておくことが必要であるように思われた。

そこで,つぎのように感染実験について菌の側,動物の側,並びに飼育管理の面について吟味を行った。

A. 供試菌・接種方法についての吟味

まず菌の側についての吟味を行ったが,この際動物側をできるだけ一定にして諸条件の吟味が充分できるようにするために,本実験以後は供試ハムスターの系統繁殖を更に厳密に行った。

1. 接種菌量についての実験

a. 第1回実験(4/II, '53開始)

生後6週の同一腹13頭(♀5, ♂8, 体重83~100g)を3群に分け,新鮮分離菌(雪甲腫由来)18時間培養の0.01, 0.05, 0.25mgをそれぞれ口腔内に注入したが,全定型的に発症し,11~35日の経過で斃死した。また本実験と同時に1, 4, 16ずつ投与した群も同様の所見がみられた。

b. 第2回実験(20/II, '54開始)

前実験a.では0.01mg投与で感染したが,一体どの程度の菌量で確実に感染するかは明らかでない。その点を知るために次の実験を行った。

i. 実験方法

供試ハムスター:生後5週の♀21頭を5群に分けた。

感染並びにその後の観察:感染菌としては秀麗株(A型)を用い第3表に示すような菌量をできるだけ正確に舌上になすつてなめさせた。この時利用した菌数は0.08mgが 326×10^5 個と計算された。

観察は約1カ月にわたつて型の如く行つたが,その間本実験においては表示の時期にSS寒天及びKauffmann増菌培地を用いて糞便からの菌検出を試みた。

ii. 実験成績

第3表にみるように,0.05mgでは斃死したが0.01mgでは生存した。この成績を実験a.のそれと併せ検討すると,供試菌株の毒力により差があると思われるが,大体0.01~0.05mg前後が感染発症させる境界にあたるものゝようにみられた。なお糞便培養では4時間後は殆んど全例に検出したが3日目頃には消失し,7日目より再び出現した。

2. 菌株(菌型)についての実験(6/III, '53開始)

i. 実験方法

供試ハムスター:系統繁殖中の5系統,計10腹の仔(生後6週,♀♂各40頭)について♀♂各30頭をえらび,なるべく同一条件になるように考えて第4表にみるように各3群を編成した。

供試菌:3株即ち秀麗(A型),栄枝(B型),ボジュール(C型)を用いた。これらの菌株の抗原構造は同一(IVX: enx:)と思われたが,その集落型態は上記のように上田等(1954)の記載によるA・B・C型を示し

第3表 感染菌量についての検索

群	頭 数	体 重 (平均)	接種 菌量	斃死数 (%)	感染後発症・斃死までの日数 (平均)〔発現数/検数〕					糞便における菌出現陽性数/検数									
					体重減	尿失禁	眼 賦	動作 緩慢	斃 死	4時間	1日	3	5	7	9	11	13	15	
I	5	85~107 ^g (95.6)	0.5 ^{mg}	3 (60.0)	6~8 ^日 (7.0) [3/5]	7~10 ^日 (8.7) [3/5]	9~12 ^日 (10.7) [3/5]	7~11 ^日 (9.0) [3/5]	10~13 ^日 (12.0)	5/5	3/5	—	—	2/5	2/5	2/4	・	・	
II	4	76~101 (90.3)	0.1	4 (100.0)	6~15 ^日 (10.8) [4/4]	8~10 ^日 (9.3) [3/4]	10~11 ^日 (10.5) [2/4]	8~18 ^日 (11.5) [4/4]	11~23 ^日 (16.3)	4/4	3/4	—	—	—	2/4	3/3	1/2	—	
III	4	75~109 (92.3)	0.05	4 (100.0)	17~26 ^日 (24.0) [4/4]	18~28 ^日 (24.0) [4/4]	28 ^日 (28.0) [1/4]	18~28 ^日 (24.0) [4/4]	23~29 ^日 (26.5)	4/4	4/4	—	—	—	—	3/4	—	—	
IV	4	74~84 (79.3)	0.01	0 (0)	—	—	—	—	—	3/4	1/4	—	—	—	—	—	—	—	
V	4	71~86 (76.5)	0.005	0 (0)	—	—	—	—	—	1/4	1/4	—	—	—	—	—	—	—	

第4表 菌株(菌型)の毒力の差(経口投与)

群	性	頭数	体重 (平均)	感染菌株 菌数	死亡率 (%)	感染後発症・死亡までの日数 (平均) [発現数/検数]				
						体重減	尿失禁	眼 賦	動作緩慢	死亡
I	♀	10	73~101 ^g (88.7)	秀麗(A型) 596×10 ⁵	10 (100.0)	2~5 ^日 (3.7) [10/10]	6~8 ^日 (7.0) [10/10]	8~12 ^日 (9.3) [8/10]	7~10 ^日 (8.6) [9/10]	9~14 ^日 (10.9)
II		10	81~94 ^g (88.5)	栄枝(B型) 160×10 ⁵	10 (100.0)	3~6 ^日 (4.2) [10/10]	6~9 ^日 (6.6) [10/10]	6~9 ^日 (7.8) [8/10]	7~19 ^日 (8.6) [10/10]	9~20 ^日 (10.9)
III		10	77~99 ^g (86.2)	ボジュール(C型) 320×10 ⁵	0 (0)	0	0	0	0	0
IV	♂	10	68~90 ^g (77.7)	秀麗(A型) 596×10 ⁵	10 (100.0)	4~6 ^日 (4.9) [10/10]	7~12 ^日 (10.3) [10/10]	6~13 ^日 (10.9) [10/10]	6~12 ^日 (10.0) [10/10]	9~17 ^日 (14.5)
V		10	78~104 ^g (88.6)	栄枝(B型) 160×15 ⁵	10 (100.0)	3~13 ^日 (5.4) [10/10]	7~19 ^日 (9.8) [9/10]	7~22 ^日 (10.7) [10/10]	7~19 ^日 (10.1) [10/10]	10~24 ^日 (13.4)
VI		10	70~104 ^g (85.4)	ボジュール(C型) 320×10 ⁵	0 (0)	0	0	0	0	0

た。

感染並びにその後の観察：各菌 18 時間培養の 0.04mg (0.2ml) を口腔内に注入したが、菌数は第 4 表に示す通りであった。観察は菌接種後 40 日間行つた。

ii. 実験成績

第 4 表にみるように菌株(菌型)別にみると♀・♂を通じ A 型(秀麗株)と B 型(栄枝株)の差はみられず且これまでの実験とほぼ同様な成績を示したが、C 型(ボジュール株)はハムスターに対し殆んど毒力がみられなかつた。なお性別の比較をみると、♀の方が発症時期・死亡時期ともに♂にくらべやゝ早いようにみられた。

3. 経口感染方法についての実験(23/X, '53開始)

生後 7 週の♂ 4 頭を 2 分し、1 群は先端に鉛のたまをつけた注射針(1/4 mm)を用いて 0.1ml (0.4mg) を口腔内に注入し、他の群は 10mg 標準白金耳の 1 ます(0.01 ml) に同一菌量を含むようにして舌上になすつてなめさせる方法で投与し、感染の有無を検索した。

その結果、両群とも同様に発症したが、この際注射針を用いる方法では鼻腔内流入が考えられるので、経口感染方法として爾後は白金耳を用いる方法をとることにした。

B. 供試ハムスターについての吟味

今回の感染実験の目的は菌接種によつておこされる宿主側の反応を詳細に検索することにあるのだが、その検

索を試みる前に、ハムスターの性別、生後日令、体重によつて感染の様相に差がみられるかどうかを検討した。これらの検討は特に新たに実験計画を設置したものでなく、1951 年 10 月以来後に述べる実験Ⅲを行つた 1953 年 11 月までの期間に何回かにわたつて試みた実験を集積し、それ等を取りまとめて考察したものである。

即ち、♀・♂各 7 回にわたつて行つた経口感染の成績をまとめてみると第 5 表のようになった。この表について性別の点からみると死亡率は♀ 70/71 (98.6%)、♂ 67/69 (97.1%) で殆んど差がみられなかつたが、感染後死亡するまでの日数についてみると♀の方が♂にくらべて短く且比較的ばらつきが少いように思われた。

次に体重による感受性の差は♀・♂を通じて明らかでなく、むしろ差がみられないように思われた。

なお、生後の日令と感受性との関連性については、これら供試動物の上述のように 7 回にわたつて試みられたものでいづれも生後 4 週以後のものだが、毎回異なる生後日令のものを供試した関係上、この点については正確に比較検討出来なかつた。しかし、供試した O-均一系はすべて体重と生後日令との平行関係を考慮した上で実験列に配置したものであつて、この第 5 表にみられた体重と感受性の関連性はある程度生後日令にも関連し、従つて体重と同様 4 週以後のものについては生後日令による感受性の差はあまり大きなものがあるようには思われな

第5表 性別・体重別にみた感受性

性	体 重	供試頭数	斃 死 頭 数 (斃 死 率)	感 染 後 斃 死 ま で の 日 数																									生 残
				8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28					
♀	61~ 70	・	・																										
	71~ 80	2	2	●●																									
	81~ 90	16	16	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●
	91~100	21	21	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●
	101~110	13	12		●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	1
	111~120	6	6	●●	●●		●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●
	121~130	4	4		●●		●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●
	131~140	3	3			●●		●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●
	141~150	5	5		●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●
	151~160	1	1			●●																							
	合 計	71	70 (98.6%)	0	6	15	14	11	6	10	7	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
♂	61~ 70	3	3				●●		●●																				
	71~ 80	14	14		●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●
	81~ 90	22	21		●●			●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	1
	91~100	14	14				●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●
	101~110	9	8				●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	1
	111~120	6	6				●●		●●		●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●	●●
	121~130	・	・																										
	131~140	・	・																										
	141~150	1	1							●●																			
	151~160	・	・																										
	合 計	69	67 (97.1%)	0	1	2	3	3	6	6	3	12	10	6	1	2	5	4	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	2

註: ● は死亡ハマスター1匹を示す。

かった。

以上の検討から、ハムスターは馬流産菌に極めて高い感受性があること、♀と♂では斃死率には差がみられないうが、斃死時期は♀の方がばらつきが少いこと等がみられ、安定した実験成績を求めるには♀を供試することが有利であることを知った。

C. 飼育管理・環境等についての規定

以上のように菌並びに動物の種々なる条件を検討したが、同時に飼料・飼育管理・環境等についても次の様な規定をもうけて実験を行った。

飼料：つねに一定した飼料を与えることが必要なので固型飼料（実験Ⅰはオリエンタル酵母株式会社 No. 4, 以後は実験動物中央研究所製 C E-2 を使用した。給餌量は 1 日量 1 匹 10 g とした。

水：固型飼料での飼育の場合給水が絶対必要条件となるので（野村 1952），一定の給水瓶（柴田化学製 EARC 型，60 ml 瓶，先管 M 4）をケージの側面に 2 個ずつ付けて、新鮮な水道水を 1 日 2 回補給した。

ケージ：観察・取扱いが容易で、運動面積が充分であるように設計したハムスター用ケージ（東洋化工機製作所製 H E-1 型，38×25×20 cm，上部金網）に 10～15 頭宛収容した。

床敷：かなな屑を用い、床がえは週 2 回行つた。

温度・湿度：摂餌・飲水量に影響を与える温度・湿度の変化が体重の変動の原因となりうるので温度は 18～24℃ に保つように心がけた。しかし湿度は一定に保ちえなかつた。

その他：ハムスターは飼料を頬袋にたくわえる性質があるので、体重測定は給餌前に行い、また共喰いを防ぐために感染後症状の発現したものは直ちに隔離して観察した。

実 験 III.

以上の実験で感染菌並びに宿主の側、更に飼料・飼育管理等についてある程度検討を行つたので、その得られた成績を考慮して次のような条件を規定し、馬流産菌対ハムスターの感染実験を行い、宿主側の変化を追及した（9/XI, '53 開始）。

i. 実験方法

供試ハムスター：生後 41～45 日，体重 65～89 g の 43 頭すべて♀をえらび第 6 表に示すように配置した。

飼育管理は実験Ⅱに述べた方法を厳格に行つた。

感染並びにその後の処置：感染菌としては前実験Ⅱで検討された秀麗株（A 型）を用い，18 時間培養菌の 50 mg per ml 生理的食塩水浮游液を白金耳（0.01 ml）で舌上

になすつてなめさせた。菌数は 530×10^6 と計算された。

菌接種後 37 例は表示のような経過にそれぞれの頭数をエーテル麻酔後，放血屠殺し，下記の検索を行い，残余の 6 頭は放置して経過を観察した。

検索項目：臨床所見—体重・眼賦・尿失禁・動作を観察した。血液所見—各個体についてエーテル麻酔後腋下動脈より放血，その血液について赤血球・白血球数，血液像を検索した。菌検索—Drigalski 培地，SS 培地，Kauffmann 増菌培地を用いて定量的に検索した。検索部位は口腔・消化器（胃・小腸・盲腸・大腸）リンパ節（頸・腸）内部臓器（心・肺・肝・脾・腎・子宮）骨髓及び眼賦・尿・糞であつた。血清反応—秀麗株アルコール処理抗原を用いて O 凝集反応を検索した。病理学的検索—各個体について肉眼的処見を観察した後，組織病理学的検索を行つた。

ii. 実験成績

上述のような実験方法で感染実験を行つた結果，第 6 表のような成績が得られた。

臨床的には 5 日以後に殺したものにおいて感染後 4～5 日目に体重減少で発症し，それよりやや遅れて 8～9 日目頃より各種の症状の発現がみられた。

血液所見として赤血球は 11 日以後，白血球は 9 日以後夫々増加し，中性多核白血球対リンパ球の比は 5～7 日目に交叉し，以後中性多核白血球は増加するがリンパ球は減少した。

菌検索の結果，始めは口腔及び消化器だけに菌の存在がみられたが，3 日目リンパ節に出現する頃に消化器から消失し，5 日目には内部臓器（肝・脾）に出現し，7 日以後は全身に認められ，以後は排泄物にも出現した。

凝集素の産生は菌が全身から分離された後即ち 9 日以後に明らかに認められた。

病理学的には肉眼的に 5 日目にリンパ節の腫脹，肝濁濁（脂肪化），脾腫がみられ，9 日目には盲腸部位の顕著な出血・潰瘍がみられた。組織病理学的には肉眼的所見と撥を—にする像が認められ，特に肝において多核白血球を主体とする細胞結節（いわゆるチフス結節）の散発（5 日目），増数（7 日目），脈管周囲浸潤（7 日目），末期（9 日以後）に至つての肝細胞の強度の変性は一連の病変として時期的にも明瞭に識別する事が出来た。脾における初期濾胞の腫大と多形核白血球を主体とする小結節の出現は肺における同様結節の出現とともに，肝の病機と時期的に因果関係が成立した。末期における脾は濾胞の消失とともに瀰慢性浸潤に移行していた。肺は限局性

第6表 感染による宿主の反応

感染後 殺時間	頭 数	体 重 (平均)	臨床所見・感染後日数 (平 均) 〔発現数/検数〕				血 液 所 見 (平 均)						
			体重減	尿失禁	眼 賦	動作緩慢	赤血球	白 血 球	Eos	St	Se	Ly	M
4～6 時間	5	84～89 (86.2)	—	—	—	—	462～618 ^万 (527.6)	2900～4400 (3540)	0～2 (0.4)	0～2 (0.6)	21～43 (28.2)	57～77 (70.4)	0～1 (0.4)
1日	5	79～82 (80.0)	—	—	—	—	504～678 (591.2)	2200～5000 (3620)	0 (0)	0～4 (1.2)	23～56 (39.8)	42～78 (56.6)	1～4 (2.4)
3日	5	77～89 (81.6)	—	—	—	—	476～616 (544.8)	3000～7400 (4775)	0 (0)	0～1 (0.4)	39～82 (54.0)	17～60 (44.6)	0～3 (1.0)
5日	5	77～81 (78.8)	5 (5.0) [2/5]	—	—	—	528～642 (603.6)	2800～7300 (5300)	0～1 (0.2)	0～2 (0.4)	44～80 (57.6)	19～52 (40.6)	0～3 (1.2)
7日	5	73～79 (75.4)	5～6 (5.4) [5/5]	—	—	—	606～728 (646.0)	2200～5300 (3900)	0 (0)	2～6 (4.2)	41～63 (49.8)	30～57 (43.0)	0～6 (3.0)
9日	5	69～77 (74.6)	5～7 (5.6) [5/5]	8～9 (8.8) [5/5]	9 (9.0) [3/5]	9 (9.0) [3/5]	505～885 (667.0)	4700～18200 (10500)	0 (0)	1～21 (11.6)	60～74 (66.0)	11～28 (20.6)	0～4 (1.8)
11日	5	65～77 (72.2)	4～6 (5.6) [5/5]	9～11 (10.2) [5/5]	9～11 (10.2) [5/5]	9～10 (9.8) [5/5]	614～756 (710.8)	4800～21000 (12600)	0 (0)	0～17 (11.0)	54～81 (72.8)	5～26 (15.0)	0～3 (1.2)
13日	2	72～73 (72.5)	5～6 (5.5) [2/2]	10～11 (10.5) [2/2]	12～13 (12.5) [2/2]	10～13 (11.5) [2/2]	896～918 (907.0)	13700～29800 (21750)	0 (0)	6～19 (12.5)	67～86 (76.5)	8～10 (9.0)	0～4 (2.0)

第6表 (つゞき)

感染後 殺時間	頭 数	体 重 (平均)	菌 検 出 状 況 陽性数/検数								O—凝集価 〔陽性数/検数〕	主 要 病 変 〔陽性数/検数〕					
			口 腔	消 化 器	リ ン パ	内 器 部 臓	心 血	眼 賦	尿	糞		リンパ 腫脹	節 腫瘍	肝 結節 変成	脾 腫脹	肺 出血	盲腸 出血— 潰瘍
4～6 時間	5	84～89 (86.2)	5/5	4/5	—	—	—	•	•	5/5	1: 10 —	—	—	—	—	—	—
1日	5	79～82 (80.0)	1/5	2/5	—	—	—	•	•	2/5	1: 10 —	—	—	—	—	—	—
3日	5	77～89 (81.6)	—	—	3/5	2/5	—	•	•	2/5	1: 10 —	± [2/5]	—	—	—	—	—
5日	5	77～81 (78.8)	—	—	5/5	4/5	2/5	—	—	—	1: 10 —	+	+	±～+	±	—	—
7日	5	73～79 (75.4)	2/5	3/5	5/5	5/5	5/5	—	—	—	1: 10 —	+	+	±～+	+	+	—
9日	5	69～77 (74.6)	4/5	5/5	5/5	5/5	5/5	1/5	5/5	5/5	1: 160 [2/5] 1: 320 [2/5] 1: 640 [1/5]	+	+	+	+	+	+
11日	5	65～77 (72.2)	4/4	4/5	5/5	5/5	5/5	2/5	3/5	4/5	1: 640 [1/5] 1: 1280 [4/5]	+	+	+	+	+	+
13日	2	72～73 (72.5)	•	2/2	•	•	2/2	2/2	2/2	2/2	1: 5120 [1/1]	+	+	+	+	+	+

出血巣以外には病変の進展が認められなかった。腎は肉眼的変化が明瞭でなかったが、組織学的検索においても比較的軽く全般にボーマン氏嚢の腫大と、部分的に間質

における限局性細胞浸潤及び細尿管上皮の変性壊死が認められる程度であった。

なお、放置した6例のうち、瀕死期に殺した2例を除

く4例は6~25日(平均17.3日)に発症し, 13~37日(平均25.3日)に斃死した。

考 察

微生物の動物感染実験の目的の一つはいわゆる Host-Parasite-Relationships の検索であつて, Parasite としての菌の遺伝的構成(変異・菌力等)・環境(培地・培養条件等)と, Host としての動物の遺伝的構成(系統・年令・性別等)・環境(飼育管理)の種々なる結びつきにおける Host 即ち感染動物の時々刻々の変化を追及することにある。この種の実験は種々なる病原菌と種々なる動物との組合せにおいて多くの実験が行われて来ている。従来日本で試みられたそれらの実験を通覧すると, 菌の側の検討については比較的多く行われているが, 動物側が十分に検討された上で実験が行われているとは考えられないように思われる。

しかし, 動物側の種々なる条件が実験成績に影響を及ぼすことは多くの研究者によつて報告されている。即ち動物の遺伝的構成に関してはマウスについての Gowen & Schott (1933), Webster (1933, 1937), モルモットについての Wright & Lewis (1921), Lewis & Lomomis (1928), ラットについての Irwin (1933), ウサギについての Manresa (1932), Lurie (1938, 1941) 等の報告, 環境に関しては飼料についての Webster & Pritchett (1924), Robertson & Doyle (1936), 温度・湿度についての Kliegler & Olitzky (1930) 等の報告以来, 現在に到るまで多くの報告がみられ, 動物の遺伝的構成としての系統・年令・性別, 環境としての飼料・飼育室の温度・湿度, 動物の取扱ひ方等が実験成績に影響する場合のあることが知られてきた。

従つて Host-Parasite-Relationships を検討する場合には, 菌の側は勿論, 動物の側についても条件をまず十分に吟味し, 出来る限り環境を一定に規定した上で検索し, そこに現われた両者の関係の様相をその後の研究の基礎として用いるような実験を行わなければならない。筆者が実験Ⅰにおいて1と2のいずれにおいてもクローム処理死菌前処置が感染防禦にある程度有効であつたように成績がえられたものの, より深い読みとりを躊躇したこと, またそこから実験Ⅱ及びⅢを行つたことも上述のような動物側の吟味を重視したからに他ならない。

そこで, 実験Ⅱにおいて, 菌の側, 動物の側, 並びに飼育管理を厳格に規定して検討した。即ち菌の側については菌株(菌型), 菌量, 接種方法について検索し, その結果一定の培地に培養したA型菌秀麗株(その集落形態は新鮮分離菌のそれと一致している)を用い, 接種方

法は最も自然に吸収されるように少量の菌(0.01mg)を口腔内に注入する方法によつて確実に感染させることを知つた。なおこの場合, 鼻腔内に菌液が流入するのを防ぐため菌液は少量(0.01ml)を舌上になすつてなめさせる方法が採られた。

またハムスターの側については筆者自身が厳密な系統繁殖を行つているO一均一系を用いた。これらのハムスターは経口感染に対し体重・生後日令による感受性の差は明らかでないが, 性別によつて発症時期・斃死時期に差があり, ♀は♂に比べ比較的ばらつきが少いことがみられた。そこで感染実験には♀を用いる方が安定な成績がえられることがわかつた。

つぎに飼育管理は温度18°C~24°Cに安定させた。湿度は恒湿装置がでなかつたので, 收容動物数の制限・換気によつて多湿をさけるように試みた。また飼料は一定の固型飼料と水を給与したが, この際給水は飼料摂取量に影響するので特に注意した。

以上のように実験Ⅱにおいて各種の条件が検討された後に実験Ⅲの感染実験を行い, 遂日的に屠殺剖検して種々の検索を行つたが, その結果経口投与された菌はまずリンパ節に出現し(3日目), 次第に内部臓器に出現した。その内部臓器への出現時期についで臨床的に体重減少の発現する時期(5~7日目)に, 血液学的には中性多核白血球とリンパ球の比の交叉, 菌の心血への出現, 組織病理学的には肝のチフス結節形成がみられた。また血清学的検索においてはこれらの所見におくれ, 9日目即ち他の諸臨床所見の出現と同じ頃にO抗体の産生がみられた。これらの各種の所見は時間の経過につれて増強し, 遂には敗血症の像を呈して動物は斃死した。

この馬流産菌のハムスター感染にみられる諸所見, 即ち菌の侵入増殖の様相, 肝におけるチフス結節の形成, その他臨床所見, 血液所見等を綜合判断すると, 馬流産菌対ハムスターの組合せは小林学派(Kobayashi & Ushiba 1952)のいういわゆる実験チフス症の範疇に属するものと考えてよからう。しかも本実験において各種の臨床症状の著明な発現がみられ, それらの症状発現時期と菌増殖, 病変の形成時期との関連性がある程度うかづえたことは, 今後実験チフス症の研究に馬流産菌対ハムスターの組合せは極めて有利であるものといえよう。しかしこれら諸種の臨床所見の読みとりを容易に行うことは, 実験条件の厳密な規定が前提であることはいふまでもないであらう。

総 括

1対の♀・♂から出発し, 厳密な撰択的系統繁殖を行

つたハムスター〇一均一系を用い、予め菌の側、動物の側、並びに飼育管理の検討を充分に行つた後、馬流産菌の感染実験を試みたが、その結果次のような成績がえられた。

経口投与された馬流産菌はまずリンパ節にあらわれ、その後次第に内部臓器に出現がみられた。血液所見としては白血球増多症（中性多核白血球増、リンパ球減）病理所見としては肝のチフス結節形成その他がみられ、凝集素の産生も認められた。なお臨床的には体重減少によつて先駆され、ついで眼瞼・尿失禁・動作緩慢等の症状があらわれた。これらの臨床症状の発現時期は菌の増殖、病変の形成時期とある程度の関連性がうかされた。以上の所見から馬流産菌対ハムスターの関係はいわゆる実験チフス症の範疇に新たに加えられる組合せであると思われた。

なお、ハムスターの馬流産菌に対する感受性は性別によつて異り、♀の発症時期・斃死時期は♂に比べて短期であり、またばらつきも少いようにみられた。

終りに臨み、御懇篤な御指導と御校閲を賜つた恩師前伝染病研究所第5細菌研究部長安東博士に感謝の意を捧げ、種々御討議と御校閲を辱うした慶応義塾大学医学部細菌学教室牛場教授並びに伝染病研究所獣疫研究部長田嶋教授に謝意を表します。本実験に供試した馬流産菌（新鮮分離菌並びに各型菌）の分与をうけた北里研究所添川・三浦両博士、又病理学的並びに血液学的検索に絶大なる御援助を賜つた伝染病研究所病理学研究部草野助教授、予防衛生研究所獣疫部今泉・田中西技官に深謝します。

本論文の要旨は第26回日本細菌学会総会において口演

された。

文 献

- 1) 安東洪次, 田所一郎, 下条寛人: 医学通信, 7年, 307号, 1952.
- 2) Gowen, J. W. & Schott, R. G.: J. Hyg., 33, 370-378, 1933. Amer. J. Hyg., 18, 674-687, 1933.
- 3) Irwin, M. R.: J. Immun., 24, 285-295, 297-312, 313-318, 319-327, 329-342, 343-348, 1933.
- 4) Kliegler, I. J. & Olitzky, L.: Zeitschr. Hyg. Infekkr., 111, 711-727, 1930.
- 5) Kobayashi, R. & Ushiba, D.: Keio J. Med., 1, 35-47, 1952.
- 6) Lewis, P. A. & Loomis, D.: J. Exp. Med., 47, 437-448, 449-468, 1928.
- 7) Lurie, M. B.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 39, 176-181, 181-187, 1938. Amer. Rev. Tuberc., 44, Sup. 1-125, 1941.
- 8) Manresa, M.: J. Inf. Dis., 51, 30-71, 1932.
- 9) 野村達次: 実験動物集報, 1, 11-13, 1952.
- 10) Rebertson, E. C. & Doyle, M. E.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 35, 374-376, 1936.
- 11) Shimojo, H. & Nomura, T.: Jap. J. Exp. Med., 21, 253-257, 1951.
- 12) 上田善貞, 松本邦人, 添川正夫: 日本獣医学雑誌, 15, 59-60, 1954.
- 13) Webster, L. T.: J. Exp. Med., 57, 793-817, 819-843, 1933. J. Exp. Med., 65, 261-286, 1937.
- 14) Webster, L. T. & Pritchett, L. W.: J. Exp. Med., 40, 397-404, 1924.
- 15) Wright, S. & Lewis, P. A.: Amer. Naturalist, 55, 20-50, 1921.