野兎病菌の免疫学的研究

第1報 生菌免疫と死菌免疫の比較

樋 渡 喜 一

茨城県衛生研究所 (所長 根津尙光)

〔受付: 12 月 13 日・1957 年〕

緒 言

此の研究は十数年前に行つたものであるが、或事情によつて今日迄発表を控えていたものである。また此の研究の目的は元来野兎病はその病原菌として独特の侵襲力を持つてゐること、診断が容易でないこと、及び菌の分離培養も比較的困難であることに注意して感染免疫学的に意義ありと考へたからである。近頃我国でも諸所に発生報告を見る様になり、研究班が組織され、この病気の研究が盛になつて来たので、陳腐の点もあるとは考へたが当時の記録によつて報告することにした。それ故文献等もその当時迄のものについて参考としたから御諒願いたい。

免疫現象研究の目的は感染防禦にあるから、その角度から文献を調べてみると、随分古くから手がつけられていた事が判る。そして古い時代には死菌ワクチンの予防効果無しとする報告が多いのである。まず Francis (1929) は人では感染後の免疫は完全に近いものであつて、再感染は無いが、モルモットの動物実験では様子が余程違う事を報告している。即ち加熱死菌、ホルマリン或は石炭酸処置で作つたワクチンでは、モルモットに感染防禦能力を与える事が出来ず、又野兎病菌液体培養濾液を Berkefeld 濾過器で濾過した無菌濾液で免疫してもモルモットは強毒菌に対する防禦力を獲得しなかつた。

また、Cystine 葡萄糖血液寒天で累代培養して毒力をなくした菌株で兎を免疫しても感染防禦力を証明出来なかつた。他方ヒツジの免疫血清はマウスに対する感染防禦効果はあるがウマの免疫血清は其の効果が弱いと云う。

又、Sarchi (1929) は野兎病菌感染動物の脾臓をグリセリン中に貯蔵し感染力の全く無くなつたもので、モルモットを免疫したが、再感染を全く防ぐ事が出来なかつたと報告している。エリベルト等の研究では、ウサギ、ラッテ、モルモットについては弱毒生菌では感染防禦力

を賦与する事が出来るが、加熱死菌或はホルマリン処理ワクチンでは、ラッテ、モルモットに防禦力を与え得ず、ウサギについても、程度の弱い感染防禦効果が見られたに過ぎなかつたので、前記 Francis の見解に賛成している。

これらの意見に対して死菌ワクチンの有効を主張する報告も多いのである。其の最初は Downs (1932) であつて、ウサギについての実験で菌の血中証明、局所及び臓器の病変の比較及び凝集素産生等の検討からホルマリン処置ワクチンも高度の免疫を与え得る事を報告している。更に進んで、Foshay (1933) 大原^{21,22,24,25}、佐々木坪内²³、原¹⁰、小林 (正)¹³、工藤 (治)¹⁴、工藤 (治)、川上¹⁵、川上¹⁶、大原・川上²³等は生菌は勿論の事、死菌免疫でも、人及び動物に対して感染防禦力を明らかに与え得る事を報告しているのである。

免疫血清による予防及び治療効果の研究報告もある。前記 Francis に依ると、ヒツジの免疫血清は、マウスに対する感染防禦効果はあるが、ウマの免疫血清は其の効果が弱いと報告し、我国においても、上記大原及び其の門下の報告あり、工藤 (正) はウサギ免疫血清について予防治療効果を認めている。

又、Foshay (1932, 1933, 1941) は主としてヤギ、ウマ、の免疫血清について臨床的予防効果のある事を報告し、Flinn (1936) も同様に有効な成績を得ている。

現象論的には、免疫の成立する事は、実証された事になると考えられるが、其の機序については未だ問題が残されている様である。それは小林 (六) 門下の広範の研究があつたとは云え未だに問題になつてゐるサルモネラ感染症における生菌免疫対死菌免疫の議論である。野兎

HIWATASHI, Kiichi: Immunological Studies on *Pasteurella tularensis* (1), Comparison between Immunization with living calls and heat-killed cells, Ibaraki Prefectural Institute of Health. —Jap. J. of Bact., 13(3), 249-255, 1958.

表 1 各株生菌免疫マウスの Hen 株 10^{-6} mg 皮下攻撃試験

免使菌疫 株にた	マウ ス数	観 察 日 数																						生ウ 残ス マ数
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	
太田	4				●																	○ ○ ○	3	
熊田	4					●		●		●										●				0
Col	4		●																			○ ○ ○	3	
佐藤(医)	3	●						●														○		1
斎藤	3												●			●						○		1
八巻	4							●		●												○ ○		2
佐藤	2			●															●					0
Hen	3							●														○ ○		2
対(無 処 置)	5		●		●			●		●		●												0

●……斃死, ○……生残

病の此の点についての研究は殆んど無く、僅かに小林(正)がウサギについて「トロトラスト」造影法で脾肥大を目標として研究した報告が有るだけである。以上の事から私は生菌免疫及び死菌免疫、免疫血清の予防及び治療効果を再検討するべく以下述べる様な実験を行った。

まずマウスの発症斃死を指標として生菌及び死菌免疫の効果を検討した。

材料及び方法

実験動物：前述した様に色の動物が実験に使用されているが前に報告した私の研究の結果、マウスの感染発症の様子が他の動物におけると本質的に相違が無かつたので、此の実験でもマウスを使用した。マウスは白色ドイツマウスであつて、体重12~15gのものである。

使用菌株：まず免疫に使う菌株を選定するために東京大学伝染病研究所から分与を受けた業室保存の太田、熊田、Col、佐藤(医)、齊藤、八巻、佐藤、Henの各菌株を Cystine 葡萄糖加血液寒天培地に 37°C 48時間培養の生菌を 0.025~0.1 mg を生理食塩水 0.1 ml に浮遊さ

せて、皮下又は腹腔内に1週間の間隔で2回注射して最後の注射から7日目に生残したマウスに、大原博士から分与を受けた強毒菌株の 10^{-6} mg を 0.1ml の生理食塩水に浮遊して皮下注射し、21日間、其の症状及び斃死等を観察した。

其の結果は第1表に示した通りであつて、太田、Col、八巻、Hen 株の免疫力が強かつた。同様の検査をマウスの数を増加し観察期間を30日に延長して行つたが同じ結果であつた。それ故更に太田、Col 株について60°C30分加熱殺菌した死菌ワクチン(1ml の生理食塩水に1mg 含ませる)を作つてマウスを免疫し、国井株及びHen 株の 10^{-6} mg を皮下注射して攻撃したのに予防効果は前記生菌免疫より劣るけれども対照に比較して明らかに死期の延引されることを知つた。それ故免疫用としては、比較的毒力の弱い太田株を使用する事にした。勿論此の太田株は形態学的にも血清学的にも野兎病菌である事を確め、毒力は12~15gのマウスに対して皮下注射では、1mld が25mg であり、静脈注射では10mg 生菌で翌日、1mg で第6日目に斃死した。60°C30分加熱した

死菌では 50mg でもマウスは斃死しなかつた。

攻撃用菌株は大原(八)博士から分与を受けた国井, Hen 両株であつて, いずれも 12~15g のマウスに対し静脈内注射で 10^{-8} ~ 10^{-9} mg が10日前後で斃死する程度の最少致死量であつた。実験経過中其の毒力を低下させない様に時々マウスを通過した。

免疫方法: 上記太田株の Cystine 葡萄糖加血液寒天 37°C , 2日培養菌を標準白金耳で掻き取り, 所要菌量を 0.1~0.2 ml の生理食塩水に含ませる様に浮游液とし折半して生菌免疫には其のまま, 死菌免疫には 60°C ~ 65°C の水浴中に30分間保つて, 加熱殺菌した。免疫注射は腹部皮下に行い, 目的に依つて1回又は数回注射免疫した。

攻撃注射: 主として前記国井株を使用し, 最後の免疫注射から概ね1週間後に攻撃注射した。Cystine 葡萄糖加血液寒天に 37°C 2日培養したものの所要菌量を10%にブイオンを含ませた生理食塩水 0.1 ml 中に浮游させた。攻撃注射法は色々で, 皮下, 腹腔内等である。

観察: 攻撃注射後凡そ15日間観察し, 其の間斃死したものは, 其の都度剖検し, 主として肝, 脾について病理変化を調べると同時に, 豚肝浸出液で作った Cystine 葡萄糖加血液寒天にそれ等臓器を塗抹し, 37°C 4~5日培養して菌の検索を行つた。生存したマウスはクロロホルムで麻酔し同様に剖検, 菌検索を行つた。

実験1, 生菌及び死菌免疫の後, 生菌攻撃注射法の相違に依る感染防禦効果比較:

免疫は10匹のマウス(13~15g)を一群として, 太田株2日培養の生菌及び加熱死菌共それぞれ 0.1mg を 0.1 ml の生理食塩水に含ませてその 0.1 ml ずつ1週間の間隔で2回皮下注射して行い, 最後の注射から1週間目に攻撃注射をした。攻撃注射には, 国井株の2日培養の生菌を使用した。攻撃注射後18~20日間観察し, 斃死したものは其の都度, 生残したものは最後にクロロホルム麻酔で剖検, 菌検索を行つた。

a) 静脈内攻撃注射に依る成績,

上記の様に, 生菌或は死菌で免疫した10匹のマウス群及び対照の健常マウス10匹に国井株生菌 10^{-14} 及び 10^{-6} mg を 0.1ml の生理食塩水に浮游させたものを 0.1ml ずつを尾静脈に攻撃注射し18日間観察した。其の成績は表2, 3に示した通りであつて, 10^{-4} mg の攻撃の場合は, 生菌及び死菌免疫のいずれも5日以内に定型的急性症状を示して斃死し, 対照群とも殆ど相違の認められない経過を取つたので, 10^{-4} mg の大量の静脈内攻撃では, 生菌及び死菌免疫の相違は認められなかつた。生菌 10^{-6} mg の

表 2 生菌 10^{-4} mg 静脈内攻撃試験

免疫法	マ番号 ウス号	観 察 日 数					
		1	2	3	4	5	6
生菌免疫群	1		●				
	2			●			
	3				●		
	4				●		
	5				●		
	6				●		
	7				●		
	8				●		
	9					●	
	10					●	●
死菌免疫群	1			●			
	2				●		
	3				●		
	4				●		
	5				●		
	6				●		
	7				●		
	8				●		
	9				●		
	10				●		
対 照 群	1		●				
	2			●			
	3			●			
	4			●			
	5			●			
	6				●		
	7				●		
	8				●		
	9				●		
	10				●		

表 3 生菌 10^{-6} mg 静脈内攻撃試験

免疫法	マ番号 ウス号	観 察 日 数																	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
生菌免疫群	1						●												
	2											●							
	3											●							
	4															●			
	5																		
	6																		
	7																		
	8																		
	9																	○	○
	10																	○	○
死菌免疫群	1						●												
	2						●												
	3						●												
	4							●											
	5							●											
	6							●											
	7								●										
	8								●										
	9									●									
	10										●								
対 照 群	1						●												
	2						●												
	3						●												
	4						●												
	5						●												
	6						●												
	7						●												
	8						●												
	9						●												
	10						●												

攻撃注射の結果は、表3の様であつて対照無処置のマウス群では5～6日目に急性症状を示して全部斃死しているが、死菌免疫群では、症状少々慢性で、第6日目から死亡し始め第11日目迄に全部斃死した。これらの成績に反して生菌免疫群では、1匹だけが比較的急性症状を示して第6日目に斃死し他の病状も弱く第11日目から死亡しはじめて、観察終了の18日目に4匹生残と云う結果であつた。それ故死菌免疫でも多少死期を延長する事は出来るが、生菌免疫では、相当明らかな感染防禦効果のある事が判つた。

b) 足蹠皮下攻撃注射に依る成績、

前実験同様に、免疫したマウス群について、足蹠皮下に同様生菌 10^{-4} mg 及び 10^{-6} mg を0.1 ml に含ませて攻撃注射した。

表4 生菌 10^{-4} mg 足蹠皮下攻撃試験

免疫法	マウス号	観察日数																	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
生菌免疫群	1																		
	2																		
	3																		
	4																		
	5																		
	6																		
	7																		
	8																		
	9																		
	10																		
死菌免疫群	1																		
	2																		
	3																		
	4																		
	5																		
	6																		
	7																		
	8																		
	9																		
	10																		
対照群	1																		
	2																		
	3																		
	4																		
	5																		
	6																		
	7																		
	8																		
	9																		
	10																		

生菌 10^{-4} mg の攻撃注射の結果は表4に示した通りであつて、対照群では第5日目迄に急性症状に依て、全部斃れている。死菌免疫群では、第3日目迄に急性症状を示して斃れたものもあるが概ね症状も慢性経過をとり18日目に生残1匹と云う結果であるのに対して、生菌免疫群では発症斃死が第8日目以後であり、6匹生残と云う良い防禦効果であつた。

表5 生菌 10^{-6} mg 足蹠皮下攻撃試験

免疫法	マウス号	観察日数																	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
生菌免疫群	1																		
	2																		
	3																		
	4																		
	5																		
	6																		
	7																		
	8																		
	9																		
	10																		
死菌免疫群	1																		
	2																		
	3																		
	4																		
	5																		
	6																		
	7																		
	8																		
	9																		
	10																		
対照群	1																		
	2																		
	3																		
	4																		
	5																		
	6																		
	7																		
	8																		
	9																		
	10																		

生菌 10^{-6} mg の攻撃注射の結果は、表5であつて、生菌 10^{-4} mg の前実験と一寸様子が違い生菌免疫群の成績が死菌免疫群よりも、劣っている様であるが両群共に可成の防禦効果が見られた。

c) 経鼻攻撃感染による成績。

前項同様に免疫したマウス群について経鼻感染を行つた。其の方法は、国井株生菌1 mg/ml 及び 10^{-2} mg/ml の菌液を作り、 $\frac{1}{3}$ 注射針で1滴ずつマウス鼻腔内に滴下し充分吸入し終るを待った。此の菌液1 ml は凡そ60滴に相当した。

1 mg/ml 生菌液に依る経鼻攻撃の結果は表6に示した。対照群では、第5～7日目に全部定型の症状を示して斃死しているが、免疫群では、症状発現斃死が対照群に比較して早いマウスもあつたけれども、全般的には死期の延長が見られ、全部斃死したのは第12日であつた。たゞ生菌免疫群の1例が第18日にも生残した。此の成績に比較して、 10^{-2} mg/ml の生菌液実験成績は第7表に示した様に生菌及び死菌免疫群は対照群に比較して相当死期が延長され、特に生菌免疫群では第18日目に生残マウス5匹と云う良好な成績であつた。それ故此の感染方法でも生菌及び死菌免疫の感染防禦効果のある事が判り

表 6 1 mg/ml 生菌液による経鼻攻撃試験

免疫法	マウス番号	観 察 日 数																	
生菌免疫群	1	●																	
	2	●																	
	3		●																
	4		●	●															
	5			●	●														
	6				●	●													
	7					●	●												
	8						●												
	9							●											
	10								●										○
死菌免疫群	1	●																	
	2		●																
	3			●															
	4				●	●													
	5					●	●												
	6						●	●											
	7							●											
	8								●										
	9									●									
	10										●								
対 照 群	1																		
	2																		
	3																		
	4																		
	5																		
	6																		
	7																		
	8																		
	9																		
	10																		

表 7 10^{-2} mg/ml 生菌液による経鼻攻撃試験

免疫法	マウス番号	観 察 日 数																	
生菌免疫群	1	●																	
	2																		
	3																		
	4																		
	5																		
	6																		
	7																		
	8																		
	9																		
	10																		○
死菌免疫群	1	●																	
	2	●																	
	3	●																	
	4																		
	5																		
	6																		
	7																		
	8																		
	9																		
	10																		
対 照 群	1	●																	
	2																		
	3																		
	4																		
	5																		
	6																		
	7																		
	8																		
	9																		
	10																		

特に条件に依ては、生菌免疫の勝っている事を知つたのである。

d) 経口攻撃感染に依る成績

前項同様の3つのマウス群について、前項同様の生菌液を作つて、 $1/3$ 注射針に依つて、生菌液1滴ずつを可検マウス口腔に滴下し嚥下するのを待つて飼育観察した。

表 8 1 mg/ml 生菌液による経口攻撃試験

免疫法	マウス番号	観 察 日 数																	
生菌免疫群	1																		
	2																		
	3																		
	4																		
	5																		
	6																		
	7																		
	8																		
	9																		○
	10																		○
死菌免疫群	1																		
	2																		
	3																		
	4																		
	5																		
	6																		
	7																		
	8																		
	9																		○
	10																		○
対 照 群	1																		
	2																		
	3																		
	4																		
	5																		
	6																		
	7																		
	8																		
	9																		
	10																		

1 mg/ml 生菌液に依る成績は、表8の通りであつて、対照に比較して前項同様発症斃死の早いものもあつたが、全般的には死期が延長され対照は第9日目迄に全部発症斃死、第18日目生残マウス生菌免疫では3匹、死菌免疫では2匹と云う良好成績であつた。更に 10^{-2} mg/ml 生菌液では第18日目に対照中3匹が生存し死菌免疫群との間に著しい差異は認められなかつたが、生菌免疫群ではたゞ1例18日目に斃死し他は生残と云う極めて良好な成績であつた。(表9)

此の実験成績からも生菌免疫の効果の良い事を否定する事は出来ない。

以上の結果から免疫条件一定の場合は感染の条件如何では死菌免疫でも相当の感染防禦効果があり、特に生菌免疫に依れば、更に其の効果顕著な事が判つた。

実験Ⅱ 強度免疫マウスについての感染防禦：

表 9 10⁻²mg/ml 生菌液による経口攻撃試験

免疫法	マウス号	観 察 日 数																	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
生菌免疫群	1																		●
	2																		○
	3																		○
	4																		○
	5																		○
	6																		○
	7																		○
	8																		○
	9																		○
	10																		○
死菌免疫群	1	●																	
	2		●																
	3			●															
	4				●														
	5					●													
	6						●												
	7							●											
	8								●										
	9									●									
	10										●								○
対 照 群	1	●																	
	2		●																
	3			●															
	4				●														
	5					●													
	6						●												
	7							●											
	8								●										
	9									●									
	10										●								○

前実験から更に免疫度を高めれば、感染防禦効果が著明になるであろう事が推定され、又攻撃菌量も変量すれば防禦効果の關係が判るであろうと考えたので、以下述べる様な検索を進めた。前実験での免疫方法は生菌死菌共に 0.1 mg ずつの皮下注射 2 回であつたが更にそれから 20 日後 0.2 mg、27 日後に 0.4 mg ずつを皮下注射し、最後の免疫から 15 日目に国井株生菌 1 mg、10⁻¹mg、10⁻²mg 及び 10⁻³mg の攻撃注射を各群 3 匹ずつのマウスの足蹠皮下に行つてその予防効果を見た。足蹠皮下攻撃を選んだのは、前実験での成績が比較的明瞭であつたからである。成績は表 10 の通りであつて、死菌免疫でも対照に比較して死期の延長あり、相当の免疫効果は認められたが、明らかに生菌免疫の効果の著明な事が判つた。

実験Ⅲ 死菌免疫マウスを毒力を異にする菌株で攻撃した場合の感染防禦効果：

以上の成績から攻撃感染方法に依て生菌及び死菌免疫に依る感染防禦効果に差異のある事を知つたのであるが本実験では多少毒力に相違のある 2 株即ち Hen 株及び国井株に依る攻撃を死菌免疫マウス群について行つた。

此の際免疫は強毒 Hen 株について行い、実験Ⅰと同様に培養し、此の菌株の菌液を 60°, 30 分加熱し、0.25

表 10 強度免疫マウス足蹠皮下生菌攻撃試験

免疫法	攻 菌 量	観 察 日 数															
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
生菌免疫群	1 mg	●							●								
	10 ⁻¹ mg		●		●												
	10 ⁻² mg						●										
	10 ⁻³ mg	●															
死菌免疫群	1 mg	●						●									
	10 ⁻¹ mg						●		●								
	10 ⁻² mg								●								
	10 ⁻³ mg	●			●												
対 照 群	1 mg	●	●		●												
	10 ⁻¹ mg		●	●	●												
	10 ⁻² mg				●	●											
	10 ⁻³ mg				●	●	●										

ml 中に 0.1 mg、0.2 mg、0.4 mg を含ませて、3 日間隔 3 回皮下に注射して免疫し、最後の注射から 10 日後に 10⁻⁶mg の各生菌を足蹠皮下に注射して攻撃感染した。

其の結果は、表 11 の通りであつて、強毒菌株である Hen 株では対照に比較して死期を延長する程度であつたが、比較的弱毒株である国井株では対照に比較して、早く斃死した 2 匹を除いて他は死期の延長を見、1 匹は 30 日後も生存すると云う結果であつた。この事から感染防禦実験については攻撃菌株の毒力が相当影響する事が判つた。

小括及び考察

以上第 1 報の成績をまとめると次の通りである。比較的毒力の弱い太田株の生菌及び死菌免疫に依るマウスの感染防禦効果を毒力の強い菌株を使つて、静脈内、足蹠皮下注射或は経鼻経口攻撃感染に依つて検討した。免疫

表 11

攻菌株	免疫法	番号 マウス	観 察 日 数																													
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
Hen 株 10 ⁻⁶ mg	死菌免疫群	1		●																												
		2		●																												
		3			●																											
		4				●																										
		5					●																									
		6						●																								
		7							●																							
		8								●																						
		9									●																					
		10										●																				
国井株 10 ⁻⁶ mg	死菌免疫群	1		●																												
		2		●																												
		3																														
		4																														
		5																														
		6																														
		7																														
		8																														
		9																														
		10																														
国井株 10 ⁻⁶ mg	対照群	1																														
		2																														
		3																														
		4																														
		5																														

攻撃法の色々の条件に依つて, 多少の相違は有るが, 全般的には, 生菌及び死菌免疫共に感染発症, 死期の延長が見られ, 防禦効果のあることが判つた。特に生菌免疫に依る場合の方が感染防禦効果は著明であつた。

文 献

- 1) Dwijkoff, P.P.: Virchow's Arch., 278, 481, 1930
- 2) Downs, C.M.: J. Infect. Dis., 51, 313, 1932
- 3) Francis, E.: Kolle-Kraus-Uhlenhuth, Handbuch d. Pathogenen Mikroorganismen III, 207 1929
- 4) Foshay, L.: J. A. M. A., 98, 552, 1932; ibid. 98, 917, 1932; ibid. 101, 1447, 1933; Bulletin of Hygiene, 16, 26, 1941
- 5) Flinn, L. B.: J. A. M. A. 106, 251, 1936
- 6) Philip, C. B. et al.: J. Amer. Veter. Med. Assoc. 86, 726, 1935
- 7) Sarchi, G. J.: Zbl. f. Bakt., org., 55, 114, 1929
- 8) Tularemia (Rabbit fever), Publ. Health Rep. vol. 55, 1940
- 9) エリベルト, ベ・ヤ: 医校防研報, 2 部, 574号
- 10) 原重熊: 国民衛生, 10, 2, 275, 昭 8
- 11) 樋渡喜一: 医校防研報, 2 部, 642号及び941号
- 12) 川上文雄: 国民衛生, 15, 7, 473, 昭11
- 13) 工藤正四郎: 実験医学雑誌, 18, 9, 1190, 昭 9
- 14) 工藤治助: 国民衛生, 12, 1, 1, 昭10
- 15) 工藤治助, 川上文雄: 国民衛生, 13, 1, 88, 昭11
- 16) 小林正: 国民衛生, 10, 10, 1325, 昭 8
- 17) 小林六造: 日本医事新報, 940 号, 昭 15
- 18) 内藤良一: 医校防研報, 2 部, 239 号
- 19) 大原八郎: グレンツゲベート, 1, 11, 1475, 昭 2; 治療及処方, 114, 1396, 昭 4; 医事公論, 994-995号, 昭 6; 臨床医学, 21, 10, 1464, 昭 8; 本邦の動物界における野兎病の研究, 人文書院, 昭10
- 20) 大原八郎, 川上文雄: 国民衛生, 15, 7, 489, 昭13
- 21) 笹原登: 医校防研報, 2 部, 502 号
- 22) 佐々木繁, 坪内直通: 国民衛生, 9, 1, 83, 昭 7