野兎病菌の免疫学的研究

第2報 攻撃感染菌のマウス体内における増殖を
指標とした生菌及び死菌免疫の効果

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〕

第1報では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、免疫操作及び攻撃法の条件に依っては多少の相異はあるけれども免疫効果のある事を記載した。本報では更に生菌及び死菌免疫マウスの臓器内での攻撃感染菌の増殖状況を検討して免疫効果の批判を行った。

材料及び方法

実験に使用した材料及び方法は、前報告と同様である。即ち比較的毒力の弱い太田株の生菌及び死菌で免疫したマウス群について毒力が強い国井株を使って、静脈内、足趾皮下、経鼻、経口、及腹腔内攻撃感染を行い、逐日麻酔剖検し、局所淋巴線、肝及び脾を切り取り樋渡の豚肝臓浸出液を使った Cystine 葡萄糖加血液 寒天平板に塗抹培養し、37°C 4～5日培養後菌集落数を計算して比較検討した。菌集落数の標示は次の表1の通りである。

第 1 表

標示	集落数
—	0
+	1～5
++	6～50
+++	51～200
	201～1,000
∞	1,000以上

各免疫群25匹ずつとし、攻撃感染を行い15匹ずつについては逐日麻酔剖検し病理学的細菌学的検索を行った。残りの10匹ずつは、剖検を行わず其のまま経過を観察した。此の10匹の中には、前記15匹についての検索の終らない前に発症斃死するものが可成り有った。剖

検所見の程度は結節、肥大、充血を目標として—, +, ++及び+++の記号で示したのである。

実験Ⅰ. 静脈内攻撃注射による成績:

前報同様に生菌及び加熱死菌で免疫したマウス群に毒力の強い国井株生菌 10^{-4} mg 及び 10^{-6} mg を 0.1ml の10

%ブイヨン加生理食塩水中に含ませて、マウス尾静脈に注射感染させた。其の翌日から1日置きに3回即ち第5日迄クロロホルム麻酔で5匹ずつ剖検し、其の肝・脾の肉眼的病変を検査すると共に、肝脾を塗抹培養して菌集落数を計算した。

a) 生菌 10^{-4} mg 静脈内攻撃実験:

其の成績は表2の通りであつて、逐日剖検するものが可成り有った。又攻撃感染を受けた他の10匹ずつのマウス群では、表示した様に、生菌及び死菌免疫群対照群共に第5日迄に斃死した。表中●で示したのは第5日目の検査迄に斃死したものであつて、生菌免疫群中に3匹死菌免疫群中に4匹、対照群に5匹と云う結果であつた。成績を総合的に検討して見たのに攻撃菌量多量のため著明の相違は認められなかった。

b) 生菌 10^{-6} mg 静脈内攻撃実験:

攻撃菌量を減少すれば此の関係が明らかになると考えられ行つたのが、此の実験であつて、生菌 10^{-6} mg 感染実験の成績は表3の通りである。表に示した様に此の実験では第5日目の剖検迄に斃死したものは無かつたし、前実験に比較して、生菌免疫と死菌免疫と対照群との間に、剖検所見、培養成績の差異は著明とは云えない程度であつたが、唯培養試験において或る程度の差異が見られた。10匹ずつについて経過を観察した成績からは、3群における相違が著明であつて、対照群に比較して、免疫群では著明に死期の延長が見られた。

実験Ⅱ. 足趾皮下攻撃感染に依る成績:

実験Ⅰにおけると同様に生菌 10^{-4} mg, 10^{-6} mg を 0.1

HIWATASHI, Kiichi: Immunological Studies on *Pasteurella tularensis* (2), Effect of Active Immunization with living cells and heat-killed cells on the growth-inhibition of challenged strain in mouse organ. Ibaraki Prefectural Institute of Health. — Jap. J. of Bact., 13 (4), 279-289, 1958.

第2表 生菌 10^{-4} mg 静脈内攻撃試験

マウス 番号	生菌免疫群 25 匹						死菌免疫群 25 匹						対照群 25 匹					
	観察日数			剖検所見		培養試験	観察日数			剖検所見		培養試験	観察日数			剖検所見		培養試験
	1	2	3	4	5	肝 脾	1	2	3	4	5	肝 脾	1	2	3	4	5	肝 脾
1	⊕					— —	⊕					∞ ∞	⊕					∞ ∞
2	⊕					— —	⊕					∞ ∞	⊕					∞ ∞
3	⊕					— —	⊕					∞ Ⅲ	⊕					∞ ∞
4	⊕					— —	⊕					∞ ∞	⊕					∞ ∞
5	⊕					— —	⊕					Ⅲ ∞	⊕				+	Ⅲ ∞
6		⊕				+	+	⊕		+	+	∞ ∞		⊕		+	+	∞ ∞
7		⊕				+	+	⊕		+	+	∞ ∞		⊕		+	+	∞ ∞
8		⊕				+	+	⊕		+	+	∞ ∞		⊕		+	+	∞ ∞
9		⊕				+	+	⊕		+	+	∞ ∞		⊕		+	+	∞ ∞
10		⊕				+	+	⊕		+	+	∞ ∞		⊕		+	+	∞ ∞
11			⊕			+	+	●		+	+	∞ ∞			●	+	+	∞ ∞
12			⊕			+	+	⊕		+	+	∞ ∞			●	+	+	∞ ∞
13			●			+	+	●		+	+	∞ ∞			●	+	+	∞ ∞
14			●			+	+	●		+	+	∞ ∞			●	+	+	∞ ∞
15			●			+	+	●		+	+	∞ ∞			●	+	+	∞ ∞
残り10匹の斃死状況	0 1 1 6 2						0 0 1 9						0 1 4 5					
	生残数-0						生残数-0						生残数-0					

●：斃死，○：生残，⊕：生残クロロホルム麻醉剖見，培養試験欄空白は雑菌のため不明

ml 生理食塩水に含ませて3群のマウスの足蹠皮下に注射攻撃試験を行い，肝脾の培養と同時に所属単蹠淋巴腺についても培養検査を行った。

a) 生菌 10^{-4} mg 攻撃実験：

其の成績は表4に示した通りであつて剖検所見，培養試験では，明らかに生菌及び死菌免疫群の成績が対照群に比較して良好であり，同時に経過を観察した10匹ずつについても明らかに死期の延長あり，特に生菌免疫群では18日間の観察で生残率 $\frac{1}{10}$ と云う良結果であつた。

b) 生菌 10^{-6} mg 攻撃実験：

更に攻撃菌量を少くした場合の検討が此の実験であつて其の成績は表5の通りである。総合的に検討すると，剖検所見，培養試験の結果は明らかに生菌免疫群，死菌免疫群，及び対照群の順位で悪くなっており，経過を観察した10匹ずつについては対照群に比較して，著明の死期の延長と同時に両免疫群ではいずれも $\frac{1}{10}$ の生残率であつた。それ故此の様な条件に依て実験を進めた場合，両免疫法に依て，相当の感染防禦効果は認められ，死菌よりも生菌に依る方が更に良く防禦する事が判つた。

c) 足蹠皮下攻撃後の体内各臓器における菌の分布増殖：

前2項で生菌 10^{-4} mg， 10^{-6} mg 攻撃法に依て良好の成績を得，且つ肝，脾及び所属単蹠淋巴腺内の菌の凡その増殖状況が判つたのであるが更に攻撃から検査迄の時間を短縮し詳細検査した。此の実験では生菌，死菌免疫群及び対照群各々60匹ずつのマウスを用意し，其中10匹

ずつに生菌 10^{-6} mg の攻撃注射を足蹠皮下に行い，6時間，24時間，2日，3日，及び4日目の5回に亘て，各2匹ずつをクロロホルム麻醉に依る剖検，肝，脾，腎，肺，心，所属淋巴腺，及び注射局所の培養試験を行うと同時に，残りの50匹ずつの経過を16日間観察した。注射局所の培養試験は次の順序で行つた。まずアルコールで局所を充分消毒した後切り取つた足蹠部を乳鉢で骨と共に磨碎し，生理食塩水数滴を加えて，乳剤とし，その1白金耳ずつを平板培地に塗抹培養した。又所属淋巴腺は攻撃注射した側の単蹠淋巴腺，肺は1側の全部をシャーレ内に入れて，硝子棒でつぶして白金耳で塗抹培養した。心は肝・脾・同様其の切口を塗抹培養した。いずれの培養に際しても，可及的平板培地全面を蔽う様に塗抹し， 37°C 4～5日培養後菌集落数を数えた。培地は前述の豚肝 Cystine 葡萄糖加血液寒天の平板である。其の成績は表6の通りであつて前項に於ける成績よりも明らかに対照群に比較して免疫群特に生菌免疫群の培養試験から見た成績の良い事が判つた。又16日間の経過を観察した50匹については対照群では10日目迄に全部斃死しているのに対して，免疫群では著明の死期延長と同時に生菌免疫群では $\frac{1}{10}$ と云う素晴らしい生残率であつた。

実験Ⅲ 経鼻感染攻撃に依る実験：

a) 生菌 1 mg/ml の菌液に依る鼻腔感染実験：

型の如く生菌及び死菌で免疫したマウス群及び対照群25匹ずつに攻撃生菌 1 mg/ml の菌液を作り， $\frac{1}{10}$ 注射針で1滴(60滴が1 ml に当る)をマウスの鼻腔に滴下し充

第3表 生菌 10^{-6} mg 静脈内攻撃試験

免疫法	マウス号	観 察 日 数																	剖検所見		培養試験			
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	肝	脾	肝	脾	
生菌免疫群 25匹	1	⊕																		—	—	++	++	
	2	⊕																		—	—	++	++	
	3	⊕																	+	—	—	+		
	4	⊕																	+	+	+	+		
	5	⊕																	—	—		++		
	6			⊕															—	+	++	++		
	7			⊕															—	—	++	∞		
	8			⊕															—	—	++	∞		
	9			⊕															—	+	++	++		
	10			⊕															—	—	++	++		
	11					⊕													+	++	++	++		
	12					⊕													+	++	++	++		
	13					⊕													+	++	—	++		
	14					⊕													++	++	++	++		
	15					⊕													+	++	++	++		
残り10匹の斃死状況		0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	2	0	0	0	1	0	0	1	生残数-4				
死菌免疫群 25匹	1	⊕																	—	—		++		
	2	⊕																	—	—		++		
	3	⊕																	—	—	—			
	4	⊕																	—	—	++			
	5	⊕																	—	—	—	++		
	6			⊕															+	+	∞	∞		
	7			⊕															—	+	∞	∞		
	8			⊕															—	—	∞	∞		
	9			⊕															—	—	∞	∞		
	10			⊕															—	+	∞	∞		
	11					⊕													+	+	∞	∞		
	12					⊕													+	++	∞	∞		
	13					⊕													+	++	∞	∞		
	14					⊕													++	++	∞	∞		
	15					⊕													++	++	∞	∞		
残り10匹の斃死状況		0	0	0	0	0	3	3	1	1	1	1	生残数-0											
対照群 25匹	1	⊕																	+	+		∞		
	2	⊕																	—	+	++	++		
	3	⊕																	—	+		++		
	4	⊕																	—	—	++	++		
	5	⊕																	—	—	++	++		
	6			⊕															—	+	++	∞		
	7			⊕															+	+	++	∞		
	8			⊕															+	+	++	∞		
	9			⊕															—	+	++	∞		
	10			⊕															+	++	∞	∞		
	11					⊕													+	++	∞	∞		
	12					⊕													++	++	∞	∞		
	13					⊕													+	++	∞	∞		
	14					⊕													+	++	∞	∞		
	15					⊕													+	+	∞	∞		
残り10匹の斃死状況		1	0	0	0	4	5	生残数-0																

第4表 生菌 10⁴mg 足蹠皮下攻撃試験

免疫法	マウス号	観 察 日 数																	剖検所見		培養試験			
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	肝	脾	肝	脾	腺
生菌免疫群 25匹	1	⊕																		—	—	+	++	+
	2	⊕																		—	+	—	—	—
	3	⊕																		—	—	—	—	—
	4	⊕																		—	—	—	—	—
	5	⊕																		+	+	—	+	++
	6			⊕																—	—	++	++	—
	7			⊕																—	++	—	++	+
	8			⊕																—	++	—	++	+
	9			⊕																+	+	—	++	++
	10			⊕																+	—	++	++	++
	11					⊕														+	+	++	∞	∞
	12					⊕														+	+	++	++	
	13					⊕														+	+	++	++	
	14					⊕														+	+	—	—	++
	15					⊕														—	+	++	++	++
残り10匹の斃死状況		0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1	生残数-6				
死菌免疫群 25匹	1	⊕																		—	—	++	∞	—
	2	⊕																		—	—	—	—	—
	3	⊕																		—	—	—	—	—
	4	⊕																		+	++	—	—	—
	5	⊕																		—	—	++	∞	∞
	6			⊕																++	++			—
	7			⊕																—	—	—	—	—
	8			⊕																—	—	++	++	—
	9			⊕																—	—	—	—	—
	10			⊕																—	+	—	—	+
	11					⊕														—	+	++	—	∞
	12					⊕														+	+	—	—	—
	13					⊕														+	+	++	++	∞
	14					⊕														+	+	++	++	∞
	15					⊕														—	—	++	++	++
残り10匹の斃死状況		0	0	1	0	0	1	2	1	1	0	0	1	1	0	0	1	0	0	生残数-1				
対照群 25匹	1	⊕																		—	+	+	++	—
	2	⊕																		—	+	++	++	++
	3	⊕																		—	+	++	++	++
	4	⊕																		—	—	—	—	—
	5	⊕																		—	—	—	—	++
	6			⊕																+	++	∞	∞	∞
	7			⊕																++	++	++	++	∞
	8			⊕																+	++	∞	∞	∞
	9			⊕																+	+	++	++	∞
	10			⊕																—	+	∞	∞	∞
	11					⊕														+	++	∞	∞	∞
	12					⊕														++	++	∞	∞	∞
	13					⊕														+	++	∞	∞	∞
	14					⊕														+	++	∞	∞	∞
	15					⊕														+	++	∞	∞	∞
残り10匹の斃死状況		1	0	0	0	9														生残数-0				

第5表 生菌 10^{-6} mg 足蹠皮下攻撃試験

免疫法	マウス号	観 察 日 数																	剖検所見		培養試験			
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	肝	脾	肝	脾	腺
生菌免疫群 25匹	1	⊕																		—	—	—	—	—
	2	⊕																		—	—	—	卍	—
	3	⊕																		—	—	—	—	—
	4	⊕																		—	—	—	—	—
	5	⊕																		—	—	—	—	—
	6			⊕																—	+	—	—	—
	7			⊕																—	—	—	卍	—
	8			⊕																+	+	—	—	—
	9			⊕																—	+	—	—	—
	10			⊕																—	—	—	—	—
	11					⊕														+	+	卍	卍	卍
	12					⊕														—	—	—	—	—
	13					⊕														+	+	—	—	∞
	14					⊕														卍	+	—	—	卍
	15					⊕														—	—	—	—	+
残り10匹の斃死状況		1	2	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	生残数-5				
死菌免疫群 25匹	1	⊕																		—	—	—	—	—
	2	⊕																		+	+	—	—	—
	3	⊕																		—	—	—	—	—
	4	⊕																		—	—	—	—	卍
	5	⊕																		—	—	—	—	—
	6			⊕																—	+	—	—	—
	7			⊕																+	+	—	—	—
	8			⊕																—	—	—	—	—
	9			⊕																+	卍	—	—	—
	10			⊕																+	+	—	—	—
	11					⊕														—	+	卍	卍	卍
	12					⊕														+	+	卍	卍	卍
	13					⊕														+	卍	卍	∞	∞
	14					⊕														+	卍	卍	+	卍
	15					⊕														+	+	卍	卍	∞
残り10匹の斃死状況		0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	2	生残数-5				
対照群 25匹	1	⊕																		—	+	—	—	—
	2	⊕																		—	—	—	—	—
	3	⊕																		—	—	—	—	—
	4	⊕																		—	—	—	—	—
	5	⊕																		—	—	—	—	—
	6			⊕																—	+	卍	—	—
	7			⊕																—	—	∞	卍	—
	8			⊕																—	+	—	—	—
	9			⊕																+	+	—	—	—
	10			⊕																+	+	—	—	—
	11					⊕														+	+	—	∞	—
	12					⊕														+	卍	∞	∞	∞
	13					⊕														+	+	卍	∞	∞
	14					⊕														+	卍	∞	∞	—
	15					⊕														卍	+	∞	∞	∞
残り10匹の斃死状況		0	0	0	0	1	2	6	0	0	0	0	1							生残数-0				

第6表 足蹠皮下攻撃注射後の体内臓器における菌分布

免疫法	マウス番号	観 察 日 数															培 養 試 験								
		6時	1日	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	局所	腺	肝	脾	腎	肺	心
生菌免疫群	1	+																	-	-	-	-	-	-	-
	2	+																	-	-	-	-	-	-	-
	3		+																-	-	-	-	-	-	-
	4			+															-	-	-	-	-	-	-
	5				+														++	-	-	-	-	-	-
	6					+													-	-	-	-	-	-	-
	7						+												-	-	-	-	-	-	-
	8							+											-	-	-	-	-	-	-
	9								+										-	-	-	-	-	-	-
	10									+									++	-	++	++	-	-	-
60匹	残り50匹の斃死状況	0	0	0	0	1	0	0	2	2	3	1	3	2	0	1	1	0	生残数-34						
死菌免疫群	1	+																	-	-	-	-	-	-	-
	2	+																	-	-	-	-	-	-	-
	3		+																-	-	-	-	-	-	-
	4			+															-	-	-	-	-	-	-
	5				+														-	-	-	-	-	-	-
	6					+													-	-	-	-	-	-	-
	7						+												++	-	+	++	-	-	-
	8							+											+	-	++	++	-	-	-
	9								+										++	-	+	++	-	-	-
	10									+									∞	∞	++	++	-	-	-
60匹	残り50匹の斃死状況	0	0	2	0	3	1	1	2	9	6	4	6	6	1	1	1	1	生残数-6						
対照群	1	+																	++	-	+	-	-	-	-
	2	+																	+	+	+	+	-	-	-
	3		+																+	+	+	+	-	-	-
	4			+															+	+	+	+	-	-	-
	5				+														+	+	+	+	-	-	-
	6					+													+	-	∞	∞	-	-	-
	7						+												+	-	∞	∞	-	++	++
	8							+											+	-	∞	∞	++	++	++
	9								+										∞	∞	∞	∞	++	++	++
	10									+									∞	∞	∞	∞	++	++	++
60匹	残り50匹の斃死状況	0	0	0	0	0	2	5	32	8	0	3						生残数-0							

分吸入するのを待って、飼育箱に収めた。実験Ⅰ同様に各群の15匹ずつについて5匹ずつ24時間後（第1日目）、第3日目、第5日目にクロロホルム麻酔に依り剖検、肝・脾・及び頸部淋巴腺を剔出して、其の乳剤について培養検査をした。又各群の10匹ずつについては感染後其の儘18日間経過を観察した。其の結果は表7に示した通りであつて剖検所見、菌培養成績では対照群に比較して、免疫群の成績良好であり、18日間経過を観察したマウス群についても、明らかに死期の延長が見られた。しかし成績全般的には此の実験の条件では前項の実験例に比較して良い結果では無い。

b) 生菌 10^{-2} mg/ml 菌液に依る鼻腔感染実験：

更に少量感染では成績が明瞭となるであろうと考えられたので、前項同様生菌 10^{-2} mg/ml 菌液を作つて実験した。表8に示した様に、剖検所見、菌培養の結果では明

らかに免疫群の成績良好であり、特に生菌免疫群の結果が良かった。又各群10匹ずつについて見た経過では免疫群の死期延長特に生菌免疫群の生残率 $\frac{1}{10}$ と云う良好結果であつた。

実験Ⅳ 経口感染攻撃に依る実験：

前実験同様生菌1mg/ml、 10^{-2} mg/mlの菌液を作り其の各々に $\frac{1}{10}$ 注射針で、1滴ずつをマウスの口腔に滴下し、嚥下し終るを待つて飼育箱に収めた。

a) 生菌1mg/ml 菌液に依る実験：

前実験同様経口感染を完了した各群の15匹ずつについては24時間後（第1日目）第3日目、第5日目にクロロホルム麻酔で剖検して肝脾の所見及び肝脾頸部淋巴腺及び腸間膜淋巴腺の乳剤について培養試験を行い、各群の残り10匹ずつについて其の経過を18日間観察した。其の結果は表9の通りであつて、剖検所見培養成績では多少

第7表 1 mg/ml 生菌液による経鼻攻撃試験

免疫法	番号 ウス号	観 察 日 数																		剖検所見		培養試験		
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	肝	脾	肝	脾	腺
生菌免疫群 25匹	1	⊕																		+	+	—	—	—
	2	⊕																		+	+	—	—	—
	3	⊕																		+	+	—	—	—
	4	⊕																		—	—	—	—	—
	5	⊕																		—	—	++	++	—
	6			⊕																+	++	—	—	
	7			⊕																+	+	—	—	∞
	8			⊕																+	+	∞	∞	∞
	9			⊕																+	+	++	++	∞
	10			⊕																—	+	++	++	∞
	11					⊕														+	++	∞	∞	
	12					⊕														+	++	∞	∞	∞
	13					⊕														+	+	++	∞	∞
	14					⊕														++	++	∞	∞	∞
	15					⊕														++	+	∞	∞	∞
残り10匹の斃死状況		2	0	2	2	2	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	生残数-1				
死菌免疫群 25匹	1	⊕																		—	—	—	—	—
	2	⊕																		—	—	—	—	—
	3	⊕																		—	—	—	—	++
	4	⊕																		—	—	—	—	—
	5	⊕																		++	++	—	—	—
	6			⊕																—	+	—	—	∞
	7			⊕																—	+	++	++	∞
	8			⊕																+	+	—	—	—
	9			⊕																++	++	—	—	—
	10			⊕																—	—	—	—	∞
	11					⊕														++	++	∞	∞	∞
	12					⊕														+	++	—	∞	∞
	13					⊕														++	++	∞	∞	∞
	14					⊕														++	++	∞	∞	∞
	15					⊕														+	+	∞	∞	∞
残り10匹の斃死状況		1	0	1	0	1	3	0	1	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	生残数-0				
対照群 25匹	1	⊕																		—	—	—	—	—
	2	⊕																		—	—	—	—	—
	3	⊕																		+	++	—	—	++
	4	⊕																		—	—	—	—	—
	5	⊕																		—	—	—	—	—
	6			⊕																—	—	∞	∞	∞
	7			⊕																—	—	++	++	∞
	8			⊕																—	—	++	+	∞
	9			⊕																—	—	++	++	∞
	10			⊕																—	—	++	++	∞
	11					⊕														++	+	∞	∞	∞
	12					⊕														+	++	∞	∞	∞
	13					⊕														+	++	∞	∞	∞
	14					⊕														++	+	∞	∞	∞
	15					⊕														+	+	∞	∞	∞
残り10匹の斃死状況		0	0	0	0	4	4	2												生残数-0				

第8表 10^{-3} mg/ml 生菌液による経鼻攻撃試験

免疫法	マウス号	観 察 日 数																	剖検所見		培養試験				
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	肝	脾	肝	脾	腺	
生菌免疫群 25匹	1	⊕																		—	—	+	—	—	
	2	⊕																		—	—	—	—	—	
	3	⊕																		—	+	—	—	—	
	4	⊕																		+	+	—	—	—	
	5	⊕																		—	+	冊	冊	—	
	6			⊕																+	+	+	—	冊	
	7			⊕																—	—	—	—	冊	
	8			⊕																—	+	—	—	冊	
	9			⊕																冊	冊	—	—	—	
	10			⊕																—	冊	—	—	—	
	11					⊕														—	+	+	—	冊	
	12					⊕														+	冊	冊	冊	冊	
	13					⊕														冊	冊	冊	冊	冊	
	14					⊕														冊	冊	冊	冊	冊	
	15					⊕														冊	冊	冊	冊	冊	
残り10匹の斃死状況		1	0	0	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	生残数-5					
死菌免疫群 25匹	1	⊕																		—	+	—	—	—	
	2	⊕																		+	+	—	—	—	
	3	⊕																		—	+	—	—	—	
	4	⊕																		—	冊	—	—	—	
	5	⊕																		—	+	—	—	—	
	6			⊕																+	+	冊	冊	∞	
	7			⊕																+	+	∞	∞	∞	
	8			⊕																—	冊	冊	冊	∞	
	9			⊕																—	冊	冊	冊	∞	
	10			⊕																—	冊	冊	冊	—	
	11					⊕														+	冊	冊	冊	∞	
	12					⊕														冊	冊	冊	冊	冊	
	13					⊕														冊	冊	冊	冊	冊	
	14					⊕														冊	冊	冊	冊	冊	
	15					⊕														冊	冊	冊	冊	冊	
残り10匹の斃死状況		3	0	0	0	0	0	1	0	3	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	生残数-0				
対照群 25匹	1	⊕																		—	—	—	—	—	
	2	⊕																		—	—	—	—	—	
	3	⊕																		—	—	—	—	—	
	4	⊕																		—	—	—	—	—	
	5	⊕																		—	—	—	—	—	
	6			⊕																—	—	冊	冊	∞	
	7			⊕																冊	冊	冊	冊		
	8			⊕																+	冊	冊	冊		
	9			⊕																冊	冊	冊	冊		
	10			⊕																冊	冊	冊	冊		
	11					⊕														+	冊	冊	冊		
	12					⊕														冊	冊	冊	冊		
	13					⊕														冊	冊	冊	冊		
	14					⊕														冊	冊	冊	冊		
	15					⊕														冊	冊	冊	冊		
残り10匹の斃死状況		1	0	0	0	1	0	0	4	3	1	生残数-0													

第9表 1mg/ml 生菌液による経口攻撃試験

免疫法	マ番号 ウス号	観察日数																	剖検所見 肝 脾	培養試験 肝 脾 頸腺 腸腺			
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18				
生菌免疫群 25匹	1	⊕																		—	—	—	—
	2	⊕																		—	—	—	—
	3	⊕																		—	+	—	—
	4	⊕																		—	+	—	—
	5	⊕																		—	—	—	—
	6			⊕																+	+	+	+
	7			⊕																+	+	+	+
	8			⊕																+	+	+	+
	9			⊕																+	+	+	+
	10			⊕																+	+	+	+
	11					⊕														+	+	—	—
	12					⊕														+	+	—	—
	13					⊕														+	+	—	—
	14					⊕														+	+	—	—
	15					⊕														+	+	—	—
	残り10匹の斃死状況	0	0	0	0	1	2	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	生残数-3			
死菌免疫群 25匹	1	⊕																		—	+	—	—
	2	⊕																		—	—	—	—
	3	⊕																		—	—	—	—
	4	⊕																		—	—	—	—
	5	⊕																		+	+	—	—
	6			⊕																—	—	—	—
	7			⊕																+	+	—	—
	8			⊕																+	+	—	—
	9			⊕																+	+	—	—
	10			⊕																+	+	—	—
	11					⊕														+	+	—	—
	12					⊕														+	+	—	—
	13					⊕														+	+	—	—
	14					⊕														+	+	—	—
	15					⊕														+	+	—	—
	残り10匹の斃死状況	0	1	0	0	2	1	1	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	生残数-2			
対照群 25匹	1	⊕																		—	—	—	—
	2	⊕																		—	—	—	—
	3	⊕																		—	—	—	—
	4	⊕																		—	—	—	—
	5	⊕																		—	—	—	—
	6			⊕																+	+	—	—
	7			⊕																+	+	—	—
	8			⊕																+	+	—	—
	9			⊕																+	+	—	—
	10			⊕																+	+	—	—
	11					⊕														+	+	—	—
	12					⊕														+	+	—	—
	13					⊕														+	+	—	—
	14					⊕														+	+	—	—
	15					⊕														+	+	—	—
	残り10匹の斃死状況	0	0	0	0	2	0	7	1											生残数-0			

第10表 10^{-3} mg/ml 生菌液による経口攻撃試験

免疫法	マウス号	観 察 日 数																		剖検所見		培 養 試 験			
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	肝	脾	肝	脾	頸腺	腸腺
生菌免疫群 25匹	1																			++	++	-	-	-	-
	2																			-	-	-	-	-	-
	3																			-	-	-	-	-	-
	4																			-	-	+++	+++	+++	+++
	5																			++	++	-	-	-	-
	6																			++	++	-	-	-	-
	7																			+	+	-	-	-	-
	8																			+	+	∞	∞	∞	∞
	9																			-	-	+++	+++	-	-
	10																			++	++	-	-	-	-
死菌免疫群 25匹	1																			-	+	-	-	-	-
	2																			-	-	-	-	-	-
	3																			-	-	-	-	-	-
	4																			-	-	-	-	-	-
	5																			-	-	-	-	-	-
	6																			-	+	-	-	-	-
	7																			+	+	-	-	-	-
	8																			++	++	-	-	-	-
	9																			-	-	-	-	-	-
	10																			+	+	-	-	-	-
対照群 25匹	1																			-	-	-	-	-	-
	2																			-	-	-	-	-	-
	3																			-	-	-	-	-	-
	4																			-	-	-	-	-	-
	5																			-	-	-	-	-	-
	6																			-	-	++	++	-	-
	7																			-	-	++	++	-	-
	8																			-	-	++	++	-	-
	9																			-	-	-	-	-	-
	10																			-	-	-	-	-	-
残り10匹の斃死状況	残り10匹の斃死状況	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	生残数-10					
	残り10匹の斃死状況	1	0	1	0	2	0	0	1	1	1	0	2	0	0	0	0	0	0	生残数-1					
	残り10匹の斃死状況	1	0	0	0	2	0	0	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	生残数-3					

第 11 表 腹腔内攻撃後腹腔液培養試験

観察日数	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
生菌免疫マウス	++	++	++	++	++	++	++	+	-	-	-	-	死
対 照 マ ウ ス	++	++	死	++	死								

? 雑菌のため不明

免疫群の結果が良い様であるが菌培養の結果は、死菌免疫群の結果が良く、前項までに見られなかった矛盾成績であった。これに反して、経過観察では免疫群の死期延長著明であり、生残率も生菌免疫群 $1/10$ 、死菌免疫群 $2/10$ と云う良好な感染防禦効果を示した。

b) 生菌 10^{-2} mg/ml 菌液に依る実験:

此の成績は、表10の通りであつて各群の剖検所見、培養成績を比較すると、生菌免疫群最も悪く即ち感染防禦の影響が現われておらず死菌免疫群でも対照群に比較すると、剖検所見では、劣るが培養成績では稍良好と云う結果で全般的には免疫効果の認められない結果であるけれども経過観察でも前項に見られなかった様な多少の矛盾、即ち死菌免疫群の生残率 $1/10$ であつて対照群生残率 $2/10$ に劣る結果であつたが、生菌免疫群では $10/10$ と云う完全免疫成立の結果であつた。それ故経口攻撃法は色々の因子に依て実験其の物が整一に行い難い事と、攻撃後の臓器感染、臓器内菌培養成績及び生体全体としての感染防禦機構とが必ずしも平行しないのではないかと考えさせられたのである。

実験 V 腹腔内攻撃感染実験:

腹腔内攻撃後の免疫したマウス及び対照マウスの腹腔内での菌の消長を見るために此の実験を行つた。各々2匹ずつに毒力の強い国井株生菌 0.01mg を0.25ml の生理食塩水に含ませて腹腔内注射し翌日から毎日毛細管ピペットで腹腔液を採取し、其の1滴を前記培地の斜面寒天に培養して検索した。其の成績は表11の通りである。生菌免疫マウスでは第9日迄少数の菌集落の発生するのを認めたが、それ以後は集落発生なく、第13日目に2匹共斃死した。対照の方は著明な菌集落発生を見1匹は第3日目、他の1匹は第5日目に斃死した。これらの

事から生菌免疫したマウス腹腔内では菌の増殖が抑制され、死期延長される事が判つた。なお毒力の弱い生菌で同様攻撃したが、其の後の腹腔液からは、菌を証明する事が出来なかつたし、第13日目にクロロホルム麻酔で剖検したが著明なく、臓器からの菌培養も陰性であつた事も附記する。

小括及び考察:

第2報の成績を総合的に批判すると、次の通りである。

1) 静脈内、足蹠皮下に 10^{-4} mg, 10^{-6} mg の生菌を攻撃注射した場合は免疫群では剖検所見菌培養の結果は、対照群に比し感染後の菌の増殖は稍抑えられた成績であり、殊に生菌免疫群では著明であると同時に、免疫群マウスの死期延長も明らかに認められた。此の様な免疫効果を知るためには前処置攻撃法等の条件が問題になるわけであるが実験の範囲内では足蹠皮下 10^{-6} mg 攻撃が最も感染防禦効果を知るのに良い方法であつた。

2) 此の様な観点からは、経鼻、経口攻撃法では、感染量が不定になるためか剖検所見、菌培養の結果にも矛盾が起つた。けれども経過観察では免疫群マウスの死期延長、生残率が良好で感染防禦効果のある事は判つた。

3) 腹腔内攻撃に依つて、逐日腹腔液について、菌検索を行つた。其の成績から生菌免疫に依て、相当菌の増殖が体内で抑制される事が判つた。以上の事から生菌免疫でも、死菌免疫でも条件に依ては、体内での菌の増殖、感染機作が抑えられ、相当の感染防禦効果があり、殊に生菌免疫の方がより明らかな効果を示すものである事を知つた。

文献第1報終にあり