サルモネラ属 R 型菌のムタビール型変異 (村瀬) について

第2篇 該変異型菌生菌免疫並びに R 型菌死菌免疫処置の R 型 菌感染による実験的チフス症に対する影響について(其一)

斎 藤 和 久
國立予防衛生研究所

[受付: 9 月 25 日, 1950 年]

從來実験的チフス症の免疫理論に関する研究は殆どすべて S 型菌の感染発症についてのものであつた。私は第 1 篇¹⁾に於てサルモネラ属の R 型菌を原型菌としてもムタビール型変異が行われ、豚コレラ菌 17 S 株の R 型菌の該変異に於ても S 型菌の際と同様な病原性変化の關係^{2), 3)}が存し、R 型菌に由来するムタビール変異型菌(RM 型菌)は原型(R 型)菌に比し病原性が著明に弱まる事を知つた。そこで從來病原性には重要でないと考えられていた菌体抗原(φ)を有するサルモネラ属 R 型菌の感染発症に対して此病原性の更に低下した RM 型菌による生菌免疫又は R 型菌死菌免疫が如何なる影響を及ぼすか、又其兩者の間に差があるとすれば如何なる機序によるものかを知る爲に以下の実験を行つた。

而して実験的チフス症に対する免疫効果判定の基準としては種々のものがあげられる(牛場の綜説⁴⁾参照)が、本研究に於ては主として体内菌消長を目標とした。なお紙面の都合上本篇に於ては逐日屠殺により檢した体内菌消長について述べ、続篇に於ては主として腹腔液並びに流血中の菌消長を同一個体について逐日檢した成績について述べる。

実験材料及び実験方法

1. 使用菌株及び動物

感染菌としては家兎、マウスに対して実験的チフス症を成立せしめる豚コレラ菌 17 S 株⁵⁾のブイオン培養 9 日目に得られた R 型菌を用いた。第 1 篇にて使用した R 型菌々株は既述の如くマウスに対する病原性は相当強かつたが保存後其低下を認めた爲、本 R 型菌はその後新に分離したものであつて、生菌免疫に使用する RM 型菌の原型菌とは異なる株である。その主な性状は集落はラフ性を呈し、固有運動は相当活潑で、ブイオン中の発育は沈澱を少量生じ顆粒状発育は認められぬが、凝集反應上からもトリパフラビン—ミロニー—重金属イオン—反應からも R 型菌と認められたものである。本菌のマウスに対する病原性は腹腔内接種 10^{-2} mg で $7/7$ 、 10^{-6} mg で $2/7$ 匹

の感染斃死を見、之等は肝、脾等に肉眼的変化を有し実験的チフス症を成立せしめているものと思われた。而して数回の実験で腹腔内接種による確実致死量は 10^{-2} mg 以下である事を知つたので本実験にては 10^{-2} mg を以て感染菌量とした。生菌免疫に使用した RM 型菌は第 1 篇に述べたもので、マウスに対し腹腔内接種 10^{-1} mg 以下では殆ど感染斃死を見ないので本実験に於てはすべて 10^{-2} mg を以て生菌免疫接種菌量とした。

動物は 11~15 g のマウスを用い、同一系列の実験にはすべて同時に購入したものの中で体重の差の範囲が 2 g 程度のものを用い、できるだけ同一條件の下で飼育した。

2. 実験方法及び記載方法

免疫及び感染はすべて腹腔内接種によつた。生菌免疫又は感染には 37°C 約 18 時間普通斜面に培養した菌を 5% ブイオン加食塩水に浮遊し、所要菌量が含まれる様に稀釈した生菌液の 0.25 cc をマウスの右側腹腔内に接種した。尙生菌免疫の期間は 25 日とした。死菌免疫としては本研究に於ては死菌免疫法の優劣を見る目的ではないので菌体抽出物其他を用いる事なく單なる 58°C 30 分加熱死菌を用い、其 0.25 cc をマウスの右側腹腔内に接種した。接種回数、菌量等は後に述べるが免疫期間は 12 日とした。

観察方法としては各系列のマウスを逐日一定数屠殺し、黒川⁶⁾、牛場⁷⁾に従い心血、頸腺、鼠蹊腺、腹腔液、脾、腸間膜腺、肝、腎を平板培地の半部に培養した。使

SAITO, Kazuhisa: On the variation of mutable type (Murae) originated from rough phase of salmonellae. II. Influences of immunization with attenuated mutable variant or killed R type organisms against experimental typhoid of mice caused by rough variant. (1st Report) Jap. J. Bact., 6 (1): 21—25, 1951,

The National Institute of Health of Japan

第1表對照群 R 10⁻² mg i.p.RM 10⁻² mg i.p.

日	心 血	頸 腺	股 腺	腸 腺	肝	脾	腎	腹 水	日	心 血	頸 腺	股 腺	腸 腺	肝	脾	腎	腹 水	日	心 血	頸 腺	股 腺	腸 腺	肝	脾	腎	腹 水			
一	—	—	—	—	—	—	—	—	十	—	70	+	+	+	38	3	43	七	—	—	—	13	—	—	—	—			
日	—	—	3	2	5	63	—	+	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	—	—	—	7	—	—	—	+			
	—	—	3	11	10	24	—	+	8	+	+	冊	冊	冊	冊	冊	24	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊			
	—	—	—	1	—	—	—	1	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	21	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊			
	—	—	—	—	—	1	—	+	—	22	7	70	58	16	—	4	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊			
二	—	—	42	26	36	9	11	冊	十五	—	+	50	44	18	7	1	41	九	—	—	1	10	—	—	—	1			
日	—	—	—	6	3	1	—	2	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊			
	—	—	26	36	13	86	1	冊	69	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊			
	—	—	—	31	18	5	1	+	1	+	49	冊	冊	冊	冊	冊	3	77	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊			
	5	1	—	13	+	冊	25	冊	RM 10 ⁻² mg i. p.										冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
三	12	+	32	+	冊	冊	11	冊	日	心	頸	股	腸	肝	脾	腎	腹	十	—	—	1	+	2	6	—	27			
日	+	+	—	冊	冊	冊	13	冊		血	腺	腺	腺	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊			
	—	22	冊	+	冊	冊	7	冊		冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊			
	+	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊		冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊			
	—	21	+	冊	冊	冊	冊	冊		冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊			
四	1	40	1	冊	冊	冊	6	+	一	—	—	—	—	—	—	—	1	十	1	—	1	9	—	—	—	+			
日	1	—	6	冊	16	+	—	69	日	—	—	—	—	—	2	—	2	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊			
	—	14	8	+	64	冊	—	+		—	—	—	—	+	—	3	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊			
	—	5	—	+	72	7	—	+		—	—	—	—	—	—	+	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊			
	—	34	17	72	50	+	—	冊		—	—	—	2	—	1	—	49	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊			
五	+	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	二	—	—	2	—	—	—	—	41	十	4	冊	64	冊	冊	冊	冊	冊			
日	—	冊	—	冊	冊	冊	冊	冊	日	—	—	1	—	—	—	—	1	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊			
	—	+	冊	冊	冊	冊	冊	冊		—	—	33	—	—	1	—	4	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊			
	—	20	8	36	14	+	—	79		—	—	—	—	—	17	18	53	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊			
	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊		—	—	—	—	—	1	—	8	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊			
六	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	三	—	—	—	—	—	—	—	—	十	—	—	50	+	2	7	59	+			
日	冊	冊	87	冊	冊	冊	冊	冊	日	—	—	—	41	—	—	—	87	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊			
	1	1	—	冊	5	—	—	冊		—	—	—	—	—	—	—	39	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊			
	7	+	冊	冊	冊	冊	冊	冊		—	—	—	—	—	—	—	27	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊			
	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊		—	—	—	—	—	—	—	42	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊			
七	+	22	—	冊	冊	冊	冊	冊	四	2	24	+	冊	18	冊	冊	冊	二	—	—	2	—	—	—	—	3			
日	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	日	—	—	—	6	—	30	—	8	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊			
	—	冊	2	+	78	冊	—	92		—	—	48	—	2	—	—	66	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊			
	5	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊		—	1	—	20	—	1	—	35	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊			
	65	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊		—	—	—	—	—	—	—	79	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊			
九	2	+	49	+	冊	23	2	9	五	—	—	5	6	—	3	—	16	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊			
日	5	+	87	52	冊	冊	+	6	日	—	—	4	—	—	3	—	7	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊			
	80	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊		1	—	45	66	11	13	—	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊			
	2	35	53	83	49	30	1	93		—	1	—	85	—	5	29	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊			
	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊		—	—	—	1	—	6	—	6	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊			

十 一 日	16	+	+	+	+	+	+	10	47	六 日	—	—	—	—	—	—	25	三 十 五 日	—	—	2	+	6	12	—	+	
	+	+	+	+	+	+	+	+	+		—	—	—	5	—	2	—		—	—	17	46	20	1	1	—	25
	∞	+	+	+	∞	∞	∞	∞	∞		—	—	—	—	—	—	—		—	—	—	4	—	—	—	—	23
	+	+	+	+	+	+	+	∞	+		—	—	—	—	—	6	—		5	—	—	25	22	—	—	—	—
	—	+	72	21	15	53	1	15			—	—	19	—	—	—	—		1	—	—	—	—	—	—	—	—

第2表 免 疫 群

死 菌 免 疫 群										生 菌 免 疫 群									
日	心	頸	股	腸	肝	脾	腎	腹	水	日	心	頸	股	腸	肝	脾	腎	腹	水
一	—	—	2	1	—	1	—	—	—	一	—	—	—	—	—	—	—	—	0/+
日	—	—	25	1	—	—	—	—	—	日	—	—	—	2/20	—	—	—	—	0/16
	—	—	11	1	1	7	74	+	+		—	—	—	0/30	—	—	—	—	0/1
	—	—	1	—	—	—	—	—	—		—	—	0/1	0/9	0/1	—	—	—	0/1
二	—	—	—	—	—	—	—	—	—	二	—	0/4	0/11	2/5	0/1	—	—	—	34/66
日	—	—	—	5	3	10	—	—	—	日	0/3	0/70	0/+	0/+	0/32	0/+	—	—	0/+
	—	—	17	6	+	+	+	+	+		—	—	0/40	0/6	—	0/1	—	—	22/3
	—	—	82	38	1	—	—	—	—		—	—	—	1/1	—	—	—	—	16/0
三	—	5	63	+	51	97	20	+	+	三	0/6	—	0/51	72/+	1/0	18/2	0/1	—	19/81
日	—	4	3	+	17	+	6	+	+	日	—	—	7/0	47/0	18/0	—	2/0	—	+/+
	67	+	44	+	+	+	+	+	+		—	—	51/0	—	+/1	1/0	37/0	—	+/0
	—	4	—	+	24	53	42	+	+		—	44/0	—	+/0	6/0	4/0	—	—	21/5
四	—	12	+	+	81	83	1	+	+	四	0/3	0/+	0/+	2/50	0/58	0/+	0/1	—	0/54
日	—	52	+	+	+	+	+	+	+	日	—	23/0	—	59/1	58/+	+/0	—	—	28/0
	—	—	—	—	+	20	95	3	+		—	24/0	0/31	+/8	34/0	5/0	—	—	0/33
	3	16	—	+	+	65	17	+	+		0/34	0/2	0/15	1/+	13/+	8/+	0/2	—	+/+
五	—	5	+	+	+	+	+	+	+	五	1/11	1/0	—	+/1	+/28	+/21	1/1	—	64/+
日	—	32	18	+	+	+	+	+	+	日	—	—	—	+/0	44/0	2/0	—	—	+/0
	6	+	20	+	+	+	+	+	+		—	—	—	14/+	0/1	0/23	—	—	0/17
	62	11	31	—	—	—	—	—	—		—	0/2	0/1	16/0	6/0	20/0	—	—	7/0
六	—	8	5	—	+	+	+	+	+	六	—	—	—	+/4	—	1/0	—	—	58/31
日	—	1	20	6	+	+	+	+	+	日	2/+	0/+	0/+	12/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+
	—	1	2	13	34	50	28	2	+		—	14/0	2/0	+/0	18/0	+/0	1/0	—	+/19
	—	72	4	40	+	+	+	+	+		1/0	74/9	66/5	+/3	57/0	+/0	—	—	19/0
七	+	+	+	+	+	+	+	+	+	七	—	—	—	15/0	3/0	13/0	3/0	—	52/0
日	—	44	+	+	+	+	+	+	+	日	—	—	8/0	3/0	3/0	2/0	—	—	51/0
	—	—	—	—	45	11	—	—	—		0/1	0/+	—	62/59	1/4	0/8	—	—	0/11
	—	11	+	17	7	33	—	—	—		1/0	38/15	21/43	+/10	18/1	8/0	—	—	0/+
九	+	+	+	+	+	+	+	+	+	九	—	26/0	0/22	+/0	25/0	+/0	—	—	24/0
日	—	+	+	+	+	+	+	+	+	日	—	+/0	—	+/5	85/0	+/0	1/0	—	17/0
	+	+	+	+	+	+	+	+	+		—	0/26	—	0/+	—	2/2	—	—	1/12
	+	+	+	+	+	+	+	+	+		79/0	+/0	+/0	+/0	+/0	+/0	+/0	—	+/0
十一	+	+	+	+	+	+	+	+	+	十一	3/0	+/0	+/0	+/2	+/0	+/0	6/0	—	+/0
日	—	+	+	+	+	+	+	+	+	日	16/0	5/0	—	34/0	24/0	49/0	—	—	20/0
	+	+	+	+	+	+	+	+	+		21/+	0/+	+/+	+/+	+/+	+/+	31/+	—	+/+
	+	+	+	+	+	+	+	+	+		—	24/+	0/75	+/+	24/22	55/+	2/3	—	28/0
十三	+	+	+	+	+	+	+	+	+	十三	—	+/0	—	32/0	+/0	+/0	—	—	45/0
日	—	+	+	+	+	+	+	+	+	日	5/0	+/16	0/5	92/2	17/0	+/0	2/0	—	37/0
	+	+	+	+	+	+	+	+	+		—	22/13	—	5/42	19/0	29/1	—	—	1/39
	+	+	+	+	+	+	+	+	+		—	16/12	—	0/58	1/0	57/17	—	—	21/33
											18/0	+/0	1/0	96/0	+/0	+/0	—	—	75/0
											—	—	—	5/0	—	11/0	—	—	0/18
											0/4	64/36	46/0	17/31	39/5	+/18	1/0	—	10/57
											6/1	+/0	3/5	+/9	+/15	+/1	5/3	—	1/41
											—	—	—	14/0	—	—	—	—	6/0
											14/0	+/+	—	11/1	60/0	1/0	—	—	47/0
											—	—	9/0	29/54	+/9	+/6	2/0	—	54/0
											—	—	1/0	25/0	6/0	+/0	—	—	12/0
											1/0	+/0	28/0	+/0	+/0	+/0	+/0	—	24/0
											—	54/0	0/13	11/0	83/0	+/0	3/0	—	—
											—	9/0	23/61	16/0	3/0	12/0	—	—	15/0
											1/0	8/0	7/0	10/0	6/0	10/0	—	—	1/0
											—	46/0	4/0	63/0	6/0	38/0	1/0	—	21/0
											—	+/0	95/0	+/0	+/0	+/0	5/0	—	5/0
											—	1/0	—	—	15/0	82/0	—	—	—

分数の分子はR,
分母は RM 型菌の菌数

用培地は生菌免疫群

には RM 型菌がガ

ラクトースムタビ

ル型菌²に変化し感

染菌との区別が難し

くなる事を慮り, ガ

ラクトース遠藤培地

を使用せる他はすべ

て遠藤培地を用い,

原則として増菌法は

行わなかつた。生じ

た集落は其特異な性

状により接種菌たる

事を識別し, 疑わし

い時には試験的凝集

反応により確めた。

集落数の算定は100

以下は実数, 101~

250は+, 251~500

は++, 501~1000は

+++, 1001以上は++++

菌苔形成は∞で現し

たが, 之等はシャー

レ上に作った模型集

落と比較判定した。

実験成績

1. 対照マウス群

にR型又はRM型

菌を腹腔内接種した

後の体内菌消長

免疫実験を行う前

に対照として感染菌

たるR型菌及び免疫

菌たるRM型菌を

無処置マウスに10⁻²

mg接種後逐日屠殺,

接種菌の体内消長を

見た結果を第1表に

示す。本実験は後述

免疫実験と時間的にづれて行つたが、使用菌株の病原性が略々一定している事等から考え比較判定に支障はないと思われる。

第1表よりR型菌の消長を見るに勿論マウス個体の差はあるが接種後第1日には腹腔液の他は菌の出現は極めて少いが、2日目頃より其菌数も出現個処も増し、5日目以後には多数の菌が各処に認められ心血に出現する数も多くなり、それ以後は心血にも相当数の菌が出現する。各個体につき見る時体内に接種菌が侵入増殖し第二次敗血症を惹起する状況が推察される。即ち本R型菌 10^{-2} mg 腹腔内接種によりマウスに実験的チフス症を成立せしめ次いで第二次敗血症を惹起するものと思われた。尙本実験期間中に本群マウス100匹中46匹が感染斃死した。本実験の結果を菌種、動物種、菌量等を異にする先人の成績と比較する事は困難と思われるが、黒川⁹⁾、飯谷¹⁰⁾の実験等に比し体内での菌増殖が遅れているがその傾向は同様と認められた。

次にRM型菌接種群を見るに、接種後初期には腹腔液中の菌数も少く他の個処にも殆ど菌が証明されず、4日目以後に於ても例外はあるが大体体内での菌増殖は認められなく殊に心血には殆ど出現しない。マウス各個体について見ても接種された菌が極めて限局されて少数体内に分布している。要するにRM型菌は諸臓器、淋巴腺には達するが其処に増殖する傾向が少く、惹起するチフス症も軽度で第二次敗血症は殆ど起さぬものと思われる。なお本群マウス90匹中6匹が感染斃死したのみで35日目にも5匹の生残者を見た。以上の結果は菌種、変異菌の種類、動物種は異なるが弱毒変異菌についての多数先人の記載^{2), 9)-11)}と大差はない。

2. R型菌死菌免疫マウス群にR型菌を腹腔内接種感染せしめた後の体内菌消長

死菌免疫については多数回免疫を以て有効とする記載¹²⁾⁻¹⁴⁾がある。よつて本実験に於てもR型菌加熱死菌0.1, 0.1, 0.3, 0.3, 0.5 mgを3~7日間隔に接種免疫後12日目にR型菌を感染せしめ、以後逐日屠殺しマウス体内の菌消長を検した。之は後述生菌免疫実験と同時に付したが、本群マウスの一部飼育箱にのみ免疫中にサルモネラD群による斃死者24匹を出した。然しR型菌とD群の菌集落は明かに区別されるし、疑わしき時には試験的凝集反應を行つていたので判定に過誤を来すおそれはないと思われる。尙本免疫処置により130匹中上記D群感染斃死マウスの他48匹の死亡を見た。

本実験の結果は第2表に示すが、本表によればマウス個体による差はあるが概して前項R型菌接種対照群の結

果と大差はなく、明かにチフス症を成立せしめてい、第二次敗血症も防ぐとは認められなかつた。而してR型菌感染に供した58匹中16匹の感染斃死を見、又本実験及び3に述べる実験の対照として無処置マウス24匹に同様R型菌を感染せしめたが4~17日の間にすべて感染斃死した。以上の結果は本R型菌より菌力大と思われる黒川⁹⁾のブレスラウ菌対マウスの実験に於て死菌免疫処置をうけたマウスでは腹腔液、肝、脾内の検出菌数が少く、殊に心血に出現する菌数が少くて敗血症への傾向が少かつたと云う成績とは異つている。

3. RM型菌生菌免疫マウス群にR型菌を腹腔内接種感染せしめた後の体内菌消長

本実験は前項2と同時に付し感染日を一致せしめる様にし、対照マウス群も共通である。RM型菌生菌免疫後25日目にR型菌を感染せしめ、以後逐日マウスを屠殺、体内菌消長を検した結果は第2表に示す如くである。

本表に於て感染菌(R型菌)につき概観すれば(表中分数の分子)、感染後初期には殆ど感染菌は証明されず、殊に第1日目には腹腔液中にも証明されなく、3日目以後には諸処に出現するが其出現個処も菌数も少く、以後は殆ど同様な状況を示し体内で感染菌が増殖する傾向が非常に少く、心血には殆ど全く出現しない。即ち前項死菌免疫群及びR型菌接種対照群に於ける結果に比し、感染菌の腹腔内に於ける増殖が初期に抑えられ、以後の諸臓器淋巴腺での増殖も抑制され、心血への出現も極度に抑えられている。尙本生菌免疫中に130匹中免疫菌による感染斃死18匹を見、又感染に供した82匹中19匹が感染菌の爲斃死した。以上の結果は黒川⁹⁾の生菌免疫実験よりも強く感染菌の体内増殖を抑制してい、菌種、動物種、感染方法等は異なるが多数先人の記載^{2), 7), 15) 16)}と一致する。

一方免疫菌たるRM型菌(表中分数の分母)の体内消長を見るに、勿論例外はあるが概して其菌数及び出現個処は少く、時間的なずれはあるが第1項RM型菌接種対照群と同様な傾向が見られ、殊にR型菌感染後17日目以後には殆ど出現しなかつた。又此免疫菌と感染菌の出現の間に何等かの関係があるとも思われぬが、之は牛場⁷⁾安東¹⁶⁾の記載と同様であり遠山¹⁷⁾の異種の菌を前処置菌とした場合の成績とは異なる。

小 括

1) 豚コレラ菌17S株のR型菌腹腔内接種感染による実験的チフス症に対する本R型菌加熱死菌免疫の影響は逐日屠殺法によるマウス体内菌消長に対しては殆ど認められず、対照群に於けると同様であつた。

2) 同上R型菌に由来するムタビール変異型菌生菌免疫処置はR型菌感染に対し感染菌の体内増殖を著しく抑制した。

考察, 総括, 文献は第3篇に於て述べる。

終りに臨み終始御懇篤なる御指導御校閲を賜つた恩師
小林所長, 並びに慶大牛場教授に心から感謝の意を表す。