日本脳炎マウス感染に対する抗体の意義

II 免疫処置マウス脳組織乳剤の中和能について

黒 崎 嘉 平

慶應義塾大学医学部小兒科教室 (主任 中村教授)

慶應義塾大学医学部臨床細菌研究室 (指導 牛場教授)

[受付: 2月19日1953年]

緒 言

私は第1編りに於て日本脳炎ウィールス中山株¹⁾の生ウィールスとフォルマリン不活化ワクチンとで数回腹腔内に前処置をしたマウス群につき、その脳内及び経鼻感染防禦能、血中中和能及び補体結合素價の消長に関し実験し其の成績を報告した。

其の成績は従来の諸報告と略々同様であつて、前処置後早期に高位を示した脳内感染防禦能は以後急速に低減するが、血中中和能は早期よりもむしろ前処置後数週後に上昇し最高位となり其の中和能曲線は防禦曲線と交叉する。次で中和能は漸減するが尙お長期に亘り有効な力價を持続しているが、此の時期には脳内感染防禦能は全く失われ、血中中和抗体は脳内感染に対しては全く役割を果さないように思われた。

此の点に関しては竹内²⁾は血中中和抗体は感染防禦能に密接な関係ありと説き、之に反しセント・ルイス脳炎につき報告せる Webster and Hodes³⁾ 及び小林他⁴⁾等は血中中和抗体は脳内感染防禦能には大なる役割を果していないと述べて居り、感染防禦能と血中中和抗体との関係は今日尙お不明の域に残されている。

本報告は此の点から日本脳炎ウィールス免疫マウスの脳内感染防禦能を示す時期に、其の脳組織内の血液を可及的に除いた場合にもウィールスを中和する物質が脳の組織内に証明出来るか否か、又斯様な物質が存在した場合には血中中和抗体及び従来の脳内感染防禦能と如何なる関係を示すかを観察したので、以下に之を報告する。

実験材料

1. ウィールス 日本脳炎ウィールスは昭和10年笠原博士が患者より分離された中山株を使用。狂犬病ウィールスは慶大細菌学教室保存の西原株、ロシア春夏脳炎ウィールスは予防衛生研究所より分與されたものである。

2. ウィールス浮游液 定型的日本脳炎発症瀕死期マウス脳を摘出秤量、その10倍量の笠原氏リンゲル液⁵⁾を加えホモゲナイザー (1分間16,000廻轉) に40秒かけ乳剤とし次で3,000 r.p.m. 15分の遠沈上清をウィールス浮游液とし、通常之を10%乳剤と呼び、中和試験用には20%のものを作つた。ウィールス浮游液の稀釈用にも笠原氏リンゲル液を使用した。又狂犬病及びロシア春夏脳炎のウィールス浮游液も同様にして作つた。

3. 生ウィールス・ワクチン 前項のウィールス浮游液を使用した。

4. フォルマリン・ワクチン 日本脳炎発症瀕死期マウス脳の10%乳剤を用いた。但しリンゲル液の代りに緩衝生理食塩水 (pH 7.9~8.0) を用い、遠沈は2,000 r.p.m. 5分とし、最後にフォルマリンを0.2%になるように加え、ゴム密栓し2~3°Cの冷蔵庫に保存した。

調製後1週、2週目に8~10gの幼若マウスに脳内接種を行い2週間観察してその不活化を確めた。

5. マウス脳組織乳剤 対照及び前処置マウスの脳組織乳剤は次のように作つた。先ずマウスを稍々深くエーテル麻醉し固定台に四肢を固定し胸廓を開き、心穿刺により血清中和試験用の爲め採血した後、脳血管の灌流を良くする爲め右心室壁に切開を加えた後、 $\frac{1}{2}$ 注射針20cc注射器を用い、1%クエン酸ソーダ・0.9%食塩水 (滅菌) を左心室から注入し灌流を行つた。灌流液の量は約20ccでマウス体重1g当1~2ccである。血液及び灌流液は右心室の切開口から流出し灌流液10cc前後で

KUROSAKI Kahei: Significance of Antibodies in the Japanese Encephalitis Infections of Mice. II. Virus Neutralizing Property of the Brain Tissue of Immunized Mice. Dept. of Pediatrics and Clinical Bacteriology, Keio-Gijuku University School of Medicine. —Jap. J. of Bact., 8(4): 397-402, 1953.

血液色は消失し水様澄明となった。灌流後直ちに脳を摘出し、脳膜上の血液を除く爲め前記の食塩水で軽く洗滌した。斯様に灌流、洗滌した脳は帶黄白色で血管及び血液色を止めなかつた。尙お肉眼的に血液色の残存している脳は実験に用いなかつた。

1 回に実験に使用したマウスは約 15 匹で摘出脳を秤量、同量の生理的食塩水(pH 7.6)を加えホモジナイザーに 90 秒かけ乳剤とし、次で 7,000~8,000 r.p.m 15 分遠沈し其の上清をとり其のまゝウィールス浮游液と混合して実験に使用した。上清はオパール色、粘稠で 56°C 加温により凝固した。

6. 中和試験用マウス血清 前項に於て心穿刺によつて採取したマウス血液は全マウスのものを集め血清分離、56°C 30 分加温後中和試験に用いた。

7. マウス 8~10 g の市販のマウス。フォルマリンワクチン用には稍大の大型のものを使用した。

実験及び成績

I 第 1 回実験 フォルマリン・ワクチン前処置マウス群

a) 前処置法 0.2% フォルマリン・ワクチン第 1 回 0.1 cc, 第 2 回 0.2 cc, 第 3 回 0.3 cc, 第 4 回 0.3 cc, 總計 0.9 cc を 4 日, 4 日, 7 日間隔で 8~10 g のマウスに腹腔内接種した。使用したマウス数は対照群 130 匹, 前処置群 150 匹で, 前処置群は前処置終了までに 22 匹が事故死した。両群共 6 匹づゝをマウス籠に入れ同様な条件下で飼育した。

b) 脳内感染防禦能試験 最終前処置後 1, 3, 7 及び 11 週目に前処置, 対照両マウス群に脳内感染防禦能試験を行つた。感染はウィールス浮游液の 10 倍稀釈液 0.03 cc を $\frac{1}{4}$ 注射針を用いマウス脳内に接種した。

感染後 3 日以内に死亡したものは事故死とし記録より削除, 4 日以後不明の原因で死亡したマウスは其の 10% 脳乳剤を幼若マウス 3 匹に脳内接種し, 定型的な発症をみたもののみを記録に採用した。此の継代は 1 代のみに止めた。尙お成績判定は Reed, L. J., Muench, H. 氏法²⁾に従つた。(以下同じ)

c) 血中中和能及び脳組織乳剤の中和能試験 感染防禦試験と同時に採取した血清及び脳組織乳剤とを用い

第 1 表 日本脳炎フォルマリンワクチン前処置マウスの感染防禦能, 血中中和能及び脳組織乳剤中和能

	前処置後	マウス群	接 種 ウ ィ ー ル ス 稀 釈								LD ₅₀	防禦指数 中和指数
			10 ⁻²	10 ⁻³	2×10 ⁻⁴	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷	10 ⁻⁸		
感 染 防 禦 能	1 週	前処置 対 照	1/3*	0/2		0/3 3/3	0/3 3/3	2/3	1/3	0/3	<1.75 6.50	>56,240
	3	前処置 対 照		2/2		3/3 3/3	3/3 3/3	0/3 3/3	3/3	0/3	5.50 7.50	100
	7	前処置 対 照				3/3 3/3	3/3 3/3	2/3 3/3	0/3 2/3	0/2 0/3	6.25 7.25	10
	11	前処置 対 照				2/3 3/3	2/2 3/3	2/3 1/3	2/3 2/3	0/2 0/3	6.62 6.50	-1
血 中 中 和 能	1	前処置 対 照		1/3		0/3 3/3	0/3 2/2	0/3 3/3	0/3		<2.75 6.50	>5,624
	3	前処置 対 照	2/3	0/3		0/3 3/3	0/3 3/3	3/3	0/3		<2.25 6.50	<17,780
	7	前処置 対 照	3/3	1/3		0/2 3/3	0/3 2/3	1/3	0/3		2.75 5.50	562
	11	前処置 対 照		1/3		0/2 3/3	0/3 3/3	0/2 0/3	0/3		<2.75 5.50	>562
脳 組 織 乳 剤 の 中 和 能	1	前処置 対 照			1/3	0/3 3/3	0/2 3/3	0/3 2/3	0/3		<3.37 6.25	>759
	3	前処置 対 照		4/4		3/4 3/3	2/4 3/3	0/4 2/3	1/3	0/3	4.76 6.50	55
	7	前処置 対 照		3/3		3/3 3/3	2/3 3/3	1/3 3/3	0/3 0/2		5.50 6.50	10
	11	前処置 対 照		3/3		3/3 3/3	0/3 1/3	0/3 0/3	0/3		4.50 4.75	2

* 1/3: 分母は使用マウス数, 分子は発症死マウス数

第1図 日本脳炎フォルマリンワクチン前処置
マウスの感染防禦能, 血中中和能及び脳組織
乳剤中和能の消長

て夫々の中和能試験を行つた。血清は56°C 30分加温, 脳組織乳剤は遠沈上清を其のまゝ, 各々の0.2ccづつを小試験管に分注, 次で20%ウィールス浮游液の10倍稀釈液0.2ccづつを加え振盪混和後37°C 2時間加温, 次で18~20時間氷室に静置し, その0.03ccを8~10gのマウス3匹づつに脳内接種し, 其の経過を2週間観察した。

d) 成績(第1表及び第1図)

i) 脳内感染防禦能 前処置後第1週目には防禦能は最高位を示し, 3週, 7週目には急減し, 遂に11週目

には全く失われた。

ii) 血中中和能 前処置後第1週には中和能は脳内感染防禦能より低位にあつたが, 第3週目には上昇して最高を示し, 次で第7, 第11週目には低減したが依然中等度の中和能が保持されていた。

iii) 脳組織乳剤の中和能 前処置後第1週目の中和指数は >759 を示し前二者の何れよりも低位にあつたが, 脳組織乳剤の中和能のうちでは最高位を示し, 第3, 第7, 第11週目には中和能は漸次低下し夫々55, 10, 2の中和指数を示した。

e) 小括 フォルマリン・ワクチン前処置マウス群の脳内感染防禦能と血中中和能の消長は従來の報告と同様であつて, 前者は早期には高位を示すが以後低減し遂に防禦能を失うが, 後者は数週後まで中和能の上昇があり, 以後低減するも尙お相當の中和能は依然保持されていた。脳組織乳剤の現わす中和能は前処置早期に高位で以後漸減し遂に中和能を失ひ, 其の全経過は脳内感染防禦能とよく一致していた。

II 第2回実験

今回はマウスを2群に分ち生ウィールスとフォルマリン・ワクチン前処置とを併行して行つた。

A 生ウィールス前処置マウス群

a) 前処置法 生ウィールス浮游液を第1回 10^{-3} , 第2回 10^{-2} , 第3回 10^{-1} 稀釈のもの各々0.2ccづつを4日間隔でマウスの腹腔内に接種した。接種ウィールスの LD_{50} は夫々7.0, 6.5, 6.75であつた。使用したマウス数は対照群100匹, 前処置群は120匹で, 前処置群

第2表 日本脳炎生ウィールス前処置マウスの感染防禦能・血中中和能及び脳組織乳剤中和能

	前処置後	マウス群	接種ウィールス稀釈								LD_{50}	防禦指数 中和指数
			10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}	10^{-8}		
感染防禦能	2週	前処置対照	1/3*	0/2	0/3	2/3	0/2	0/3	2/3	0/3	<1.37	>741,300
	9	前処置対照			2/2	3/3	3/3	1/2	1/3	0/2	>6.00 6.75	<6
血中中和能	2	前処置対照		3/3	2/2	0/3	0/3	1/3	0/3		3.50 5.50	100
	9	前処置対照	3/3	3/3	0/3	0/3	3/3	0/3	0/3		2.50 5.50	1,000
脳組織乳剤中和能	2	前処置対照			3/3	2/3	0/3	0/3	0/3		4.25 >6.00	56
	9	前処置対照			3/3	3/3	3/3	1/2	0/3		>6.00 6.50	<3

* 分母は使用マウス数・分子は発症死マウス数

第3表 日本脳炎フォルマリンワクチン前処置マウスの感染防禦能血中中和能及び脳組織乳剤中和能

	前処置後	マウス群	接種ウィールス稀釈								LD ₅₀	防禦指数 中和指数
			10-1	10-2	10-3	10-4	10-5	10-6	10-7	10-8		
感染防禦能	1週	前処置 対照	0/3*	0/3	0/2	0/2	3/3	3/3	3/3	0/3	0	31, 620, 000
	6	前処置 対照			3/3	3/3	3/3	2/3	0/3	0/3	7.50 >6.25 6.50	
血中中和能	1	前処置 対照	3/3	2/3	0/3	0/3	3/3	1/3	0/3		2.25 5.75	3, 162
	6	前処置 対照	3/3	1/3	0/3	0/3	2/3	0/3	0/3		1.75 5.25	3, 162
脳の組織乳剤中和能	1	前処置 対照		3/3	3/3	0/3	0/3	0/3	0/3		3.50 5.50	100
	6	前処置 対照			3/3	2/2	1/3	0/3	0/3		4.75 5.50	6

* 0/3: 分母は使用マウス数, 分子は発症死マウス数

は前処置終了時までに事故死16匹, 脳炎発症死8匹であつた。

b) 脳内感染防禦能試験 最終前処置後2, 9週目に脳内感染防禦能試験を行つた。脳内接種量はウィールス浮游稀釈液0.03ccであつた。

c) 血中中和能及び脳組織乳剤中和能試験 前項の試験と同時期に採取した血清及び脳組織乳剤を用い第1回実験と同様の方法でウィールスに対し各々の中和試験を行つた。

d) 成績(第2表及び第2図) 脳内感染防禦能は前処置後第2週目には著しく高位であつたが, 9週目には急減して失われた。

血中中和能は第2週目には少々低位であつたが第9週目には上昇した。脳組織乳剤の中和能は第2週目には低位ながら認められたが第9週目には失われた。

e) 小括 生ウィールス前処置マウス群の脳内感染防禦能と脳組織乳剤の中和能とは前処置後早期には, 前者では高位に, 後者では低位であつたが発現した。然し両者共後期には何れも其の力價が著しく低減した。

之に反し血中中和能は前処置後早期に既に示されたが後著明に上昇し, 前二者の消長とは反対を示した。

B フォルマリン・ワクチン前処置マウス群

これは第1回実験の再試であり殆んど同様の方法で行つた。前処置法は0.2% フォルマリン不活性ワクチンを第1回0.1cc, 第2回0.2cc, 第3回0.3cc, 第4回0.3cc総計0.9ccを4日間隔でマウス腹腔内に接種。使用マウス数は対照群100匹, 前処置群120匹で, 前処置終了時までに16匹が事故死した。但し脳内感染防禦能, 血

第2図 日本脳炎生ウィールス及びフォルマリンワクチン前処置マウスの感染防禦能, 血中中和能及び脳組織乳剤中和能の消長

中中和能及び脳組織乳剤中和能試験は前処置終了後第1及び第6週目の2回にのみ行つた。

その成績は第3表及び第2図に示す如く, 前回の実験成績と殆んど同様で, 脳内感染防禦能及び脳組織乳剤の中和能は前処置後早期には力價に高低の差はあるが何れ

も発現するが、後期には両者共失われた。之に反し血中中和能は早期、後期共低減することなく存続した。たと第1回実験との差は第1週に於ける脳内感染防禦能と脳組織乳剤中和能との比が今回は著るしく大であつたことである。即ち両者は消長に於て一致するがその力價は必しも平行するものでないことが示唆された。

III 前処置マウス脳組織乳剤の中和能保存試験

第2回実験に使用した生ウィールス及び0.2% フォルマリン・ワクチン前処置マウスの血清及び脳組織乳剤の一部をゴム密栓した小試験管に入れ氷室に保存し、生ウィールス前処置群のものは20日、フォルマリン・ワクチン前処置群のものは13日後に中和能試験を前回の実験と同様の方法で行つた。その結果、生ウィールス群の脳組織乳剤の中和指数は保存前56、保存20日後>31、フォルマリン・ワクチン群では保存前100、保存13日後219であつた。

血清の保存前後の中和指数は、生ウィールス群では夫々100及び178、フォルマリン・ワクチン群では夫々>3,162及び>316であつた。即ち脳組織乳剤の中和能は血清のそれと同様に短期間ではあつたが氷室保存に耐えその力價は維持されていた。

IV 日本脳炎ウィールス前処置マウスの脳組織乳剤中和能の特異性

a) 前処置法 生ウィールスとフォルマリン・ワクチンとを用い第2回実験と同様の方法で前処置を行つた。

b) ウィールス 慶大細菌学教室保存の狂犬病ウィールス西原株と予防衛生研究所より分與されたロシア春夏脳炎ウィールスを使用。

c) 実験及び成績 生ウィールス及びフォルマリン・ワクチン前処置後1週目に前回の実験と同様の方法で作つたマウス脳組織乳剤に日本脳炎、狂犬病、ロシア春夏脳炎ウィールス浮游液を夫々等量に混合、37°C 2時間、氷室に約18時間静置後、其の各々0.03ccづつを8~10gのマウス3匹づつに脳内接種した。

成績は第4表に示す通りで、日本脳炎ウィールス前処置マウス脳組織乳剤は日本脳炎ウィールスを中和することは前2回の実験と同様であつたが、狂犬病及びロシア春夏脳炎ウィールスは全く中和しなかつた。

考 按

セント・ルイス脳炎及び日本脳炎マウス感染に於ける中和抗体と感染防禦との関係についての従来の報告については第1編で考案した。^{3,4,5,8,9)}

私の第1編に於ける実験りは再度本実験によつても追証され、脳内感染防禦能と中和能との曲線は交叉して平行の関係を示さないことは前記 Webster, 小林, 村尾等の成績と一致するところであつた。

1947年及び1949年 Isabel M. Morgan^{10, 11, 12)}は Poliomylitis virus を用い免疫猿の感染防禦能及び血中中和抗体の発生とその消長を詳細に実験し、殊に生ウィールスを以て強力に処置し四肢に麻痺を遺したものと然らざるものと中枢神経系各部の組織及び髄液等のウィールス中和能を検索し、活性ウィールス筋肉内接種で症状を示さなかつた猿では血清に中和能を示した他は中枢神経系組織には認められなかつた。然るにウィールスを脳内に接種し発症後麻痺を遺した動物の脊髓前角に、即ちウィールスに最も強く侵される部位に高度の中和能が見

第4表 日本脳炎ウィールス前処置マウス脳組織乳剤⁺の中和能の特異性

接 種 ウィールス	前 処 置	接 種 ウ イ ー ル ス 稀 釈						LD ₅₀	中和指数
		10-3	10-4	10-5	10-6	10-7	10-8		
日 本 脳 炎 (中山株)	生 ウ イ ー ル ス	3/3*	3/3	0/2	0/3			4.50	>316
	フォルマリンワクチン	3/3	2/3	0/3	0/3			4.25	>562
	対 照		3/3	3/3	2/3	2/3		>7.00	
狂 犬 病 (西原株)	生 ウ イ ー ル ス		3/3	1/3	0/3			4.75	1
	フォルマリンワクチン		3/3	0/3	0/3			4.50	2
	対 照		3/3	1/3	0/3			4.75	
ロシア春夏脳炎	生 ウ イ ー ル ス			3/3	3/3	3/3	0/3	7.50	-31
	フォルマリンワクチン			3/3	3/3	1/3	0/3	6.75	-6
	対 照			3/3	1/3	1/3	0/3	6.00	

* 3/3: 分母は使用マウス数, 分子は発症死マウス数

+ マウス脳組織乳剤は前処置後1週目のもの

られ之に反して血清及び髄液等の中和能は比較的低位にあつた。此の事實は Poliomylitis virus の第二次の攻撃に対する免疫現象を説明するものであると述べている。

尙お 1938 年小林他⁹⁾, 1940 年北山¹⁴⁾等は免疫家兎の血清及び血液灌流後の脳、脾の日本脳炎ウィールス中和能を実験したが、血清と脾には中和能を認めたが脳には認めなかつた。

併し日本脳炎患者屍体の血液、各臓器中の中和能を検索した 1943 年木下¹⁵⁾の実験では殆んど全てに中和能を認め、殊に副腎、腎、肝、心血に著明であることを報じた。

本実験に於て日本脳炎ウィールスの活性及び不活性ワクチンで免疫した後、その血液灌流後のマウス脳組織乳剤中にウィールスに対する中和能の存在することが明かにされた。此の脳組織乳剤中の中和能は同時期に行つた脳内感染防禦能とその消長は相似で、血中中和能とは平行しなかつた。此の事實は免疫マウス脳組織乳剤が示す中和能物質は脳内感染防禦能と一定の関聯を有するものであるとの考案を可能ならしめる。但し前述した通り両者の間には出現の消失が一致してもその力價の高低が必ずしも平行しないことが 2 回にわたるフォルマリン・ワクチン前処置実験で認められたのであつて、このことは将来の解決にまたねばならない。また脳組織乳剤中和能が唯一の感染防禦に關係する因子と考えることを不当とする。

尙お Isabel M. Morgan¹¹⁾ の Poliomylitis virus に関する実験に於て猿の脊髓前角に証明された中和能は活性ウィールスの脳内接種により発症し四肢に麻痺を遺した動物にのみ認められ、例え活性ウィールスであつても筋肉内に用いられ発症しなかつた動物には認められなかつた。而も血清中和抗体は全く反対の關係を示した。然るに本実験の免疫マウス脳組織乳剤の中和能は活性ウィールスは勿論、不活性ウィールスによつても発現し、且つ血清中和能も同時に証明されたと云う点も、動物及びウィールス種の差を考慮し将来追求すべき点であろう。

結 論

1. 日本脳炎ウィールス中山株の活性及び 0.2% フォルマリン不活性ワクチンでマウスに前処置を行つた後、その脳内感染防禦能、血中中和能及び血液灌流後の脳組織乳剤の中和能につき其の消長を実験観察した。

2. 脳内感染防禦能は前処置後 1 乃至 2 週目の早期には両前処置群共に高位を示し、以後急速に低減し活性ワクチン群では 9 週目に、不活性ワクチン群では 9 週乃至 11 週目には殆んど失われた。

3. 血中中和抗体の消長は両前処置群共に前処置後早期には感染防禦能より低位であつたが以後高位となり、従つて防禦曲線と交叉して 6 週乃至それ以後にも著明な中和能を維持した。

4. 脳組織乳剤の中和能は両前処置群共に前処置後 1 乃至 2 週の早期に既に認められたが、其の力價は感染防禦能及び血中中和能より低位であつた。其の消長は前処置後早期に最高位を示し、以後低減し 6 週乃至 11 週目には殆んど中和能を認めなくなつた。これは脳内感染防禦能の消長とよく一致していた。

5. 此の脳組織乳剤の中和能は氷室に 13 日乃至 20 日間の保存では其の力價に変化は認められなかつた。

6. 此の脳組織乳剤の中和能は狂犬病(西原株)、ロシア春夏脳炎ウィールスを中和せず、日本脳炎ウィールスに特異性が認められた。

7. この脳組織乳剤の中和能については将来追及されるべき諸点が残されている。

擧筆するに臨み、常に御鞭撻と御校閲を賜つた恩師中村教授及び不斷の御指導と御校閲を賜つた恩師牛場教授に深く感謝の意を表す。又慶大細菌学教室阿部和男氏の御援助を謝す。

文 献

- 1) 黒崎嘉平：日本脳炎マウス感染に対する抗体の意義。I. 感染防禦能、血中中和能及び補体結合素價の消長。日本細菌学雑誌 8 (3) : 313-318, 1953.
- 2) 笠原四郎他：東京医事新誌。2954, 2806-2811, 1935.
- 3) 竹内松次郎他：東京医事新誌。3141, 1752-1760, 1939.
- 4) H. L. Hodes, L. T. Webster : J. Exp. Med., 68, 263-271, 1938.
- 5) 小林六造他：東京医事新誌。3141, 1738-1742, 1939.
- 6) 笠原四郎他：東京医事新誌。3023, 669-672, 1937.
- 7) Reed, L. J., Muench, H. : A. J. Hyg., 27, 493, 1938.
- 8) 村尾英次：細菌学雑誌。549, 713, 1941.
- 9) 村尾英次：細菌学雑誌。549, 726, 1941.
- 10) Isabel M. Morgan, D. Bodian : A. J. Hyg. 45, 379-389, 1947.
- 11) Isabel M. Morgan : A. J. Hyg., 45, 390-400, 1947.
- 12) Isabel M. Morgan : J. Immunol., 62, 301-310, 1949.
- 13) 小林六造他：東京医事新誌。3074, 708-715, 1938.
- 14) 北山加一郎他：日本医学及健康保険。3209, 812-820, 1940.
- 15) 木下直幹：岡山医学会雑誌。55 年(上). 17-33, 1943.