再帰熱感染マウスの抗生物質療法に関する実験的研究

第1編 *Borrelia duttoni* の雑マウス及び同胞

マウス体内における消長

花 岡 正 儀

国立予防衛生研究所, 研究生 (指導 リケツチャウィルス部 北岡正見部長)

〔受付: 4月1日 1954年〕

まえがき

再帰熱の病原体である再帰熱ボレリア (以下 Bor と略す) は 1868 年 Obermeier により始めて発見されて以来, 世界各地で形態的に似た多くの Bor 株が相次いで発見分離された。これ等世界各地で発見された Bor の分類について, 現在, 学者により多少意見の相異はあるが, 動物に対する病原性及び地理的分布等の面から幾何かに分類され¹⁾²⁾³⁾ 1952 年に発刊された Dubos²⁾ の成書では *Bor. recurrentis*, *Bor. obermeieri*, *Bor. hispanica* (以上欧州): *Bor. duttoni*, *Bor. kochi*, *Bor. russi*, *Bor. berbera*, *Bor. aegyptica*, *Bor. marocana*, *Bor. sogdiana* (以上アフリカ): *Bor. persica* (中東): *Bor. carteri* (印度): *Bor. "latyshevi"* (ロシア): *Bor. novyi*, *Bor. turicatae*, *Bor. parkeri*, *Bor. hermsi* (以上北アメリカ): *Bor. venezuelense*, *Bor. neotropicalis* (以上中南米) に分類記載されている。

これ等 Bor のうち, 最も屢々実験に使用されているのは *Bor. duttoni* で, その理由は, この Bor は動物スペクトルが広く, 猿, ラッテ, マウス, 家兎, モルモット, 犬及び馬等に病原性があり, またマウスからマウスへの累代が容易で, マウスによつて株が保存出来るからであろう。しかし, 再帰熱の実験を行う場合, 常に念頭に置くべきことは, 接種された Bor がマウス体内でどのような分布消長を示すかを理解することである。事実この方面については既に幾多の報告が発表されている。¹⁾³⁾⁴⁻¹⁵⁾

実験的感染マウスの血中 Bor の消長に関する文献を通覧すると, その潜伏期は 4~8 日¹⁾, 1~10 日³⁾, 0~9 日¹⁰⁾, 17 時間~7 日⁷⁾ 最長 12 日⁷⁾ と記載され, また Bor の末梢血中の出現持続期間は凡そ 2~6 日³⁾¹⁰⁾ とされている。このように報告者によりその成績に差異のあるのは, Bor の接種部位, 使用 Bor 株の差, 接種 Bor

の数⁷⁾¹⁰⁾¹¹⁾¹²⁾¹³⁾¹⁴⁾, 被接種マウスの個体⁷⁾⁸⁾⁹⁾¹⁰⁾¹¹⁾¹⁶⁾¹⁷⁾¹⁸⁾

等実験要約の差に基づくものと考えられている。また幼若マウスと成長マウス⁷⁾⁸⁾¹⁶⁾ 及び同胞マウス¹¹⁾ 等の個体差についても詳細な報告がある。

実験的感染マウス体内における Bor 分布についてみると, 嘗ては, Bor は血液及び血液臓器にのみ占居寄生し, 血管壁を破り他の組織細胞内に侵入しない⁴⁾⁵⁾ と考えられたが, 其の後, 鍍銀法で検査すると, 各臓器にも Bor が証明され, また Bor が末梢流血中に見出される時は心血及び造血臓器内にも見出され, 殊に発熱発作が過ぎた間歇時, 或は一見治癒したと思われる時の心血, 脾, 肝, 腎, 睪丸中に⁸⁾¹⁵⁾, また, 臨床上治癒した末梢血中に Bor が最早見出されない時の髄液中に⁶⁾ 或は心血, 脾, 肝, 腎に⁷⁾ Bor が暗視野下或は動物接種試験の上で認められて来た。更に Bor の脳内永存性は免疫の問題と関連し多くの学者によつて研究承認されている¹⁹⁾²⁰⁾²¹⁾²²⁾²³⁾。例えば, 接種後 90 日を経過し血中に最早 Bor が認められない時に, その脳乳剤を正常マウスに接種すると Bor が証明されたり⁸⁾²⁴⁾, 脳内の Bor を鍍銀法で組織学的に検索したり²⁵⁾, また株の差により, その脳内永存性に差のあること等が認められて来た¹⁵⁾²⁶⁾²⁷⁾²⁸⁾。このように, 暗視野顕微鏡法のみによる Bor の体内消長所見は鍍銀法, 動物接種法の併用によつて是正されて来たことは, 野平¹⁷⁾の詳細な報告でも明かのように, マウス体内における Bor を質的並に量的に追及する場合, 暗視野法のみでは不完全であることを如実に示すものであ

HANAOKA Masanori: Experimental studies on the antibiotic treatment in mice infected with *Borrelia duttoni*. I: Distribution of *Borrelia duttoni* in the body of mixed and inbred mice. National Institute of Health — Jap. J. of Bact., 9(6), 439-448, 1954.

る。

さて著者はマウスを用い、Borに感染せしめ、次いで Aureomycin, Terramycin, Penicillin, Streptomycin 等の抗生物質を用い治療試験を試みた。その基礎的試験として、先づ Bor のマウス体内における動態を追及することにした。そのために著者は、北岡等²⁰⁾が嘗てレプトスピラの研究で行つた方法を基とし、最少感染量法を案出し、その方法により最少感染量からみたマウス生体内の Bor 動態曲線を描くことに成功した。またこれにより、文献上未報告のことであるが、潜伏期における Bor のマウス体内分布、特に、どの臓器に最も早く Bor が出現するかを明かにすることが出来た。ここにその大要を報告することとする。

実験材料及び実験方法

Bor 株：当研究所保存のマウス累代の Bor. duttoni 株である。

使用動物：体重凡そ 12~16 gr の成熟正常マウスを用いた。また同胞マウス 10 匹は当所獣医部より分与を受けたもので、純系マウス A 5 種と 55 種を両親とする生後 1 カ月のものである。

Bor の観察方法：マウスの尾部を切り、流出する末梢血液を生理的食塩水で略々 15~20 倍に稀釈し、野平¹⁾の方法に従い、生染標本を作製し、Leitz 顕微鏡の暗視野装置で、対物レンズ $1/12$ 対眼レンズ 1 油浸により観察した。

Bor 数の判定：同胞マウスの場合は視野内の Bor 数の多寡により後述のような記号を用いたが、他は Bor 数を数えることなく、単に陽性或は陰性と記載した。

最少感染量法によるマウス生体内の Bor の動態観察方法：本実験でマウスを Bor に感染させる場合、総べて次の方法によつた。先づ明かに Bor が認められる血液の稀釈液 0.1 cc を正常マウスの右下腹部皮下に接種し、接種 3 日後、その心血の 10^{-2} 稀釈液中に、暗視野下で一視野に 2~3 匹の Bor が認められる程度の稀釈液の 0.1 cc 宛を一群の正常マウスの右下腹部皮下に正確に接種した。

之等被接種マウスを更に数組に分け、逐時日的逐次一組宛のマウスから心血或は各臓器を採取し、各一組の混合心血を更に 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} に稀釈し、また各臓器別にそれぞれ 20% の乳剤を作り、次で各血液稀釈液及び各臓器別乳剤の 0.1 cc をそれぞれ一群凡そ 3~4 匹の正常マウスの右下腹部皮下に接種した。各被接種マウスは 14 日間に亘り暗視野下で Bor の出現の有無について観察された。その記号は Bor の数

ではなく陽性か陰性かの記載に止めた。

かくして逐時日的に採血した各感染血液について最少感染量が測定され、感染マウス体内における逐時日的最小感染量の動態が明かにされた。

基礎実験

感染マウス生体内における最少感染量による Bor 動態曲線を求めるため次のような基礎的実験を行つた。先づ感染マウス体内の Bor の出現消長を、血液と各臓器乳剤の直接暗視野顕微鏡法によつて追及した。次いで Bor 感染マウスから採集した血液を 10 進稀釈し、各稀釈液の接種を受けたマウスの血液内に Bor が出現するか否かを暗視野で検査した。

1. 暗視野顕微鏡法による血液内 Bor の出現消長

実験方法の順で述べたような毒力の Bor を一群凡そ 8~10 匹のマウスに接種し、接種直後、3 時間、6 時間、12 時間、24 時間、2 日、3 日、4 日、5 日、6 日、7 日、8 日及び 9 日後に亘り、逐時日的にこれ等のマウスの尾部を切り、流出する血液を生理的食塩水で略々 15~20 倍に稀釈し、暗視野下で Bor の出現が陽性か陰性かを観察した。

同一条件下で反復した 8 回の実験を一括し第 1 表及び第 1 図に掲げた。逐時日的観察マウス数は日により 12~82 匹の範囲内で動揺しているが、24 時間までは全く陰性、2 日後では 17 匹中 3 匹が陽性 (17.6%)、3 日後では 82 匹中 81 匹 (98.7%)、4 日後では 49 匹中 47 匹 (95.5%)、5 日後では 19 匹中 10 匹 (52.6%)、6 日後では 18 匹中 2 匹 (11.0%)、7 日後では 15 匹中 0 匹 (0%)、8 日後では 13 匹中 2 匹 (15.3%)、9 日後では 12 匹中 3 匹 (25%) がそれぞれ陽性となつた。

以上の所見を要約するとマウスの皮下に接種された Bor は、接種 24 時間後迄は血中に出現せず、2 日後から血中に出現し始め (第一次 Bor 血症)、3~4 日後には殆ど 100% に近い陽性率を示し、5~6 日後には激減し、7 日後には一旦陰性となるが、8~9 日後から再び徐々に血中に Bor が出現し始める (第二次 Bor 血症) ことがわかつた。マウスの個体差のためか、Bor の出現消長の遅速に多少の差が認められ、接種 3~4 日後でもマウスはすべて一齊に陽性とはならず陰性のものも僅かに認められた。しかし、全期間を通じて全く Bor 陰性に終つたものはなかつた。

2. 暗視野顕微鏡法による臓器内 Bor の出現消長

血液の場合と同様に逐時日的に毎回感染マウスの一群 (4~5 匹) から脳、脾臓、肝臓、腎臓をそれぞれ臓器別に無菌的に取出し、出来るだけ臓器内の血液を排除し

第1表 暗視野法による Bor の血中の出現消長

接種後観察日	直後	3時間	6時間	12時間	24時間	2日	3日	4日	5日	6日	7日	8日	9日
陽性マウス/ 使用マウス	0/34	0/38	0/39	0/38	0/19	3/17	81/82	47/49	10/19	2/18	0/15	2/13	3/12
陽性率 (%)	0	0	0	0	0	17.6	98.7	95.5	52.6	11.0	0	15.3	25.0

接種量：感染3日後 10^{-2} 稀釈心血内に Bor が2～3匹認められる材料の0.1 cc を皮下に接種する

第1図 Bor のマウス血中陽性率曲線（直接暗視野法による）

次いで各臓器別に一括し生理的食塩水で20%乳剤を作り、逐時日的（3時間、6時間、12時間、24時間、4日及び7日後）に前述と同様に暗視野下で Bor の出現消長を観察した。第2表に示すように、2～3日及び5～6日後の観察は欠けているが、接種4日後のみにいずれの臓器乳剤にも Bor が認められた。

第2表 暗視野法による Bor の臓器内の出現消長

接種後観察時日	3時間	6時間	12時間	24時間	4日	7日
臓器						
脳	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)
脾	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)
肝	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)
腎	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)

3. Bor 感染マウス血液の各10進稀釈液を接種した場合の Bor の出現消長

1及び2の実験成績は一定数の Bor を含む 10^{-2} 稀釈血液をマウスに接種した場合に、暗視野下で、被接種マウスの一定稀釈血液及び臓器乳剤中に Bor が認められ

るか否かの所見である。その際、マウスの個体差によりその所見に差が認められることについても述べた。ここではマウスの個体差を更に検討すると共に、接種血液を 10^{-2} 稀釈のみでなく更に 10^{-7} まで10進稀釈し、各血液稀釈液をマウスに接種した場合、それぞれのマウスにおける Bor の出現消長はどうなるかを吟味した。即ち Bor 感染血液を 10^{-2} 、 10^{-3} 、 10^{-4} 、 10^{-5} 、 10^{-6} 及び 10^{-7} に稀釈し、それぞれ一群10匹宛のマウスの皮下に接種し、各マウスにおける血液内の Bor の出現消長を観察した。因みに Bor 出現が陰性のままで斃死したマウスは実験成績から除外した。

第3表に掲げたように、 10^{-2} 稀釈液接種マウス10匹についてみると、3匹が2日後に、6匹が3日後に、残り1匹は4日後に陽性となり、その出現日はマウス個体差により多少ずれることが認められた。しかし4日後には総てのマウスは陽性となつた。 10^{-3} の場合は10匹中6匹が4日後に、1匹が5日後にそれぞれ陽性となつたが、1匹は8日後に至つても陰性、残り2匹は接種2～3日後にそれぞれ斃死したので実験成績より除外した。

[illegible]

10⁻⁴の場合、6日後に5匹、7日後に1匹、8日後に2匹がそれぞれ陽性となつたが、残りの2匹は11~12日後に至つても陰性であつた。10⁻⁵の場合、5日、6日、及び9日後にそれぞれ1匹宛陽性、5匹は11~14日後に至つても陰性、残り2匹は実験途中で斃死した。10⁻⁶の場合は6日及び8日後にそれぞれ1日間だけ1匹宛が陽性、5匹は11~14日後に至つても陰性、残り3匹は実験途中で斃死した。10⁻⁷の場合、8匹は13~14日後に至つてもすべて陰性に終つた。

、以上の実験成績から次のことが云える。 10^{-2} のような濃厚な Bor 浮游液を接種した場合は、Bor の出現日に多少の個体的差があるが、100 %に陽性となる。しかし稀釈が進むにつれ、陰性のマウスが始め、殊に 10^{-5} 以上の稀釈液を接種すると急に陰性のマウスが多くなる。例えば、 10^{-3} の場合は8匹中1匹、 10^{-4} の場合は10匹中2匹、 10^{-5} の場合は8匹中5匹、 10^{-6} の場合は7匹中5匹に Bor の出現が認められなかつた。換言すると、 10^{-4} より濃い稀釈液接種マウスでは個体差は蔽いかぶされ、被接種マウスの凡そ80 %以上が陽性となるが、 10^{-5} 或は 10^{-6} のような高稀釈液を接種したマウスでは個体差が著しく目立つのである。

各稀釈液接種マウスの Bor 出現までの潜伏期についてみると、 10^{-2} では 1~3 日、 10^{-3} では 3~4 日、 10^{-4} では 5~7 日、 10^{-5} では 4~8 日、 10^{-6} では 5~7 日となり、接種稀釈血液の濃い程潜伏期は短く (1~4 日)、 10^{-4} 、以上の稀釈血液のそれは長くなるが、凡そ一定 (5~8 日) して来ることが注目される。従つ

て第一次 Bor 血症の有無を検討するには少くとも、接種後 10 日間観察すべきであることがわかる。

第一次 Bor 血症の持続日数についてみると、高稀釈血液 (10^{-6}) 接種マウスでは1日間のみであつたが、 10^{-5} 以下のそれではいずれも2~4日間であつた。

最小感染量からみたマウス生体内の Bor の動態

1. 血液内 Bor の最小感染量の動態

最小感染量よりみたマウス生体内の Bor の動態を検討するため、北岡等²⁹⁾がレプトスピラで行った方法を基とし、次のような実験を行つた。

実験方法の項で述べたと同じ方法で、一定の毒力の Bor 含有血液を体重の略々一定した一群のマウスに接種し、直後、3時間、6時間、12時間、24時間、2日、3日、4日、5日、6日、7日、8日、9日及び10日後にそれぞれ3〜4匹のマウスから同量の心血を採取混合し、その混合心血を更に、 10^{-1} 、 10^{-2} 、 10^{-3} 、 10^{-4} 、 10^{-5} 、及び 10^{-6} に稀釈し、各稀釈液の0.1 cc 宛を一群3〜4匹宛の正常マウスに接種した。各接種マウスは Bor が出現するか否かについて、暗視野下で14日間観察された。実験は3回繰返えされた。その成績を総括すると、第4表及び第2図のようになり、従来の推定を是正すべき所見が得られた。この際、最小感染量に相当する血液稀釈度が Bor の増殖数に、比例すると考えれば、次のことが云える。

Bor (感染血液の 10^{-2} 稀釈) を皮下接種すると、既に 3 時間で Bor が血中に出現し、12 時間頃より増殖し始め、2 日後に略々最高に達し、2~4 日後までは略々同

第4表 最小感染量法による被接種マウス血液内の Bor の消長及び ID₅₀

接種後の観察時日 血液 稀釈	直後	3時間	6時間	12時間	24時間	2日	3日	4日	5日	6日	7日	8日	9日	10日
10 ⁻¹	0/2	2/4	4/4	4/4	5/5	2/2			2/2	5/6	7/8	5/6	4/4	3/3
10 ⁻²	0/2	0/4	0/4	3/4	5/5	3/4	2/2		3/4	1/6	0/6	2/4	3/4	2/3
10 ⁻³		0/4	0/2	0/3	6/6	4/4	6/6	4/4	1/4	0/4	0/4	1/4	0/4	1/2
10 ⁻⁴					1/4	2/4	5/5	4/4	0/4					2/2
10 ⁻⁵						1/4	2/6	1/4	0/2					
10 ⁻⁶						0/4	0/4	0/4						
ID ₅₀		1.0	1.5	2.33	3.66	4.23	4.74	4.66	2.5	1.5	1.43	2.0	2.33	

分子: Bor をみとめたマウスの数

分母: 観察したマウスの数 (被接種マウス)

第2図 最小感染量法によるマウス体内の Bor の動態曲線

じ最高値を示し、5～6日後は減少し、7日後最低に達する。次いで8日後から再び増殖の傾向が見られた。この関係を第2図に図示した。因みに3回の実験成績を一括し、逐時目的の ID₅₀ を計算すると⁸⁾ 次のようになる (対数で示す)。3時間後 1.0, 6時間後 1.5, 12時間後 2.33, 24時間後 3.66, 2日後, 4.23, 3日後 4.74, 4日後 4.66, 5日後 2.5, 6日後 1.5, 7日後 1.43, 8日後 2.0, 9日後 2.33 となり、10日後では求められなくなつた (第4表及び第3図)。尚お第2図で認められるように、接種後7日迄の第一次 Bor 血症の出現状況について、3回の実験の所見は殆ど一致したのであるが、

8日以後の第二次 Bor 血症の出現は、実験により多少異なる所見が得られ、従つて実験別に異つた線を用いて図示した。尚お既に述べたように高稀釈の血液接種を受けたマウスでは個体差が認められた。

2. 臓器内の Bor の動態

前記血液の場合と同様に、Bor 含有血液を一群のマウスに接種し、逐時目的 (3時間, 6時間, 12時間, 24時間, 4日及び7日後) に毎回4～5匹のマウスから脳, 脾, 肝及び腎を別々に取り出し、各臓器別にそれぞれ20%乳剤を作り、直接暗視野下で Bor の有無を観察した (第2表)。更にこれ等の各乳剤の 0.1 cc 宛を正常マウ

第 3 図 被接種マウスにおける逐時日的 ID₅₀ 値曲線

第 6 表 同胞マウスを用いての Bor₊の血中消長（暗視野法による）

鼠番号 接種後の 観察日程	体重	No. 1	No. 2	No. 3	No. 4	No. 5	No. 6	No. 7	No. 8	No. 9	No. 10
		13.5	12.5	13.5	13.0	12.0	14.0	12.5	13.0	12.5	12.0
1 日		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2		+W	+SW	+W	+W	+SW	+W	+W	+W	+W	+W
3		++	+	++	++	+W	+	++	+	+	++
4		∞	++	+++	+++	∞	+	∞	++	+++	+++
5		∞	+W	—	+W	∞	—	死	—	∞	∞
6		—	+SW	—	+W	—	—	—	—	死	死
7		—	+SW	—	+SW	—	—	—	—	—	—
8		+W	+SW	+SW	+SW	+W	—	—	+W	—	—
9		+SW	—	—	—	—	+SW	—	—	—	—
10		—	—	—SW	—	—	—	—	—	—	—
11		+SW	—	—	—	—	—	—	—	—	—
12		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

スの右下腹部皮下に接種し、被接種マウスが Bor 血症を起すか否かについて 14 日間観察した。第 5 表に示すように、各臓器乳剤の直接暗視野法では 24 時間後に至つても尙お Bor が認められなかつたに拘らず、次代接種法では接種 6 時間後に既に脳、肝、腎に、また 12 時間後にはすべての臓器に Bor が見出された。また直接暗視野下では Bor が認められず、Bor の間歇時と思われる 7 日後の各臓器乳剤をマウスに接種したところ、これら乳剤中に Bor の残存していることが明かにされた。

附。同胞マウス群における血中 Bor の消長

実験方法の項で述べた毒力の Bor を、A 5 種と 55 種から生れた生後 1 カ月の 同胞マウス 10 匹の右下腹部皮下に接種し、実験方法の順で述べたと同様に尾部の断端から出る血液を略々 15~20 倍に稀釈し逐次日的に直接暗視野下で Bor の出現消長を観察した（第 6 表）。Bor

第 5 表 臓器内 Bor の逐日的分布

観察時日 臓器	3 時間	6 時間	12 時間	24 時間	4 日	7 日
脳	0/3	1/5	4/4	2/2	3/3	2/3
脾	0/5	0/3	1/4	5/5	2/2	2/3
肝	0/4	1/3	6/6	3/3	3/3	3/3
腎	0/4	1/3	3/4	2/2	2/2	1/3

分子：Bor をみとめたマウスの数

分母：観察したマウスの数（被接種マウス）

の出現は単に陽性或は陰性とせず、一視野に認められる Bor の数により下記の記号を用いた。

—：全視野に Bor を発見し得ない場合

+sw：全視野に Bor が 1~3 匹（sehr wenig の略）

+w : 前者と+の中間 (wenig の略)

+ : 1 視野に 1~5 匹

++ : 1 視野に 6~15 匹

+++ : 1 視野に 16~30 匹

∞ : 1 視野に 31 匹以上無数

同胞マウスにおける血中 Bor の出現消長と雑マウスにおけるそれとを比較すると、前者においても後者におけると略々同様に、Bor は 2 日後に出現し始め (第一次 Bor 血症)、いづれも 4~5 日後に最高 (No. 1, 3, 4, 5, 7, 9, 10, の 7 匹では +++ または ∞, No. 2 及び No. 8 では ++, No. 6 では +) に達した。陽性持続期間について、すべてのマウスが観察されなかつたが、No. 2 及び No. 4 は他に比して第一次の陽性期間が長く、接種 2 日後から 8 日後に至る 7 日間陽性を示した。他のマウスでは接種 2 日後から凡そ 3~4 日間陽性を示した。

第二次 Bor 血症の出現は 接種 8 日後から認められたが、その持続期間はマウスにより区々で 1~3 日間、しかも Bor の出現が極めて少いことが注目された。

考 え 方

再帰熱患者を何等の治療もせず観察すると、2~6 回或はそれ以上の熱発作を繰返し、自然に治癒するか、または合併症による死亡の転帰を辿る。また不自然な腹腔内または皮下接種を受けたマウスでも、接種 Bor の数、Bor 株の種別、マウスの個体差等により異なるとは云え第一及び第二次 Bor 血症を示す。この Bor 感染マウス体内における Bor の出現消長を追及するため、雑マウス及び同胞マウスを用い、先づ従来の暗視野法により血液内の逐時日的 Bor 出現を検査した。その結果接種 24 時間後迄は陰性、2 日後から Bor 出現陽性となり、3~4 日後に最高に達し、5~6 日後には減少し、7 日後に陰性となり、8~9 日後に再び陽性となり、従来の報告と大同小異の所見が得られた。この所見を、著者の考案した最小感染量法によるそれと比較すると、マウスの皮下に接種された Bor は、既に 3 時間後に血中出现し、以後次第に上昇し、3~4 日後に最高に達し、再び減少するが、Bor は決して血中から消失しないのである (第 4 図)。また感染マウス臓器内の Bor の逐時日的消長についても従来の直接暗視野法による所見とマウス次代接種法のそれとの間に差が認められた。

さて著者はマウス感染方法として皮下接種法を行つた

第 4 図 暗視野法による陽性率曲線と最小感染量法による Bor の動態曲線との比較

が、他に経結膜、経口、経鼻、経皮、腹腔内等の接種も報告されている⁷⁾¹⁵⁾。

野平¹¹⁾は同一母獸より同年月日に生れた同胞正常マウスを用いても、それ等同胞は必ずしも同じ所見を示さず殊に第二次 Bor 血症の経過が不整齊であると述べているが著者の所見と略々一致する。

Bor の最小感染量に関する文献を通覧すると、1 cm³ 中 50 匹のもの 0.1 cc で足りるが、実験マウスを 100% に陽性とするには、1 cm³ 中 150 匹のもの 0.1 cc (子安¹²⁾)、一視野 5~6 匹乃至 10 匹の材料では陽性陰性相半するが、100 匹以上では毎常陽性 (野平¹¹⁾)、また罹患困難な海狗を罹患させるには、1 cm³ 中 6000 匹のもの 1 cc を要する (杉本¹³⁾)と報告された。しかし、小松⁹⁾ 水口¹⁴⁾ は接種 Bor の数のみでなく、マウスの個体差のあることを指摘し、水口¹⁴⁾ は接種材料を稀釈し 10⁻⁶ 稀釈液では全く感染はみられないと報告している。著者の感染マウス血液について最小感染量を測定した成績によると、流血中の Bor 数に相当の開きがある場合でも、最小感染度の差は凡そ 10⁻¹ 程度で、最高となる 3~4 日後でも、10⁻⁶ 稀釈を超えないのである。

潜伏期について、三木⁷⁾ は、接種 Bor 数が多ければ、潜伏期も短くなるのが普通であるが、一視野数 10 匹のものと 1 視野 1 匹位のものを同量注射しても、その潜伏期に著しい差をみないと述べているが、著者の実験においても略々同様の所見が得られた。

次に臓器内の Bor の分布についてみると、Buschke und Kro6³⁰⁾ は接種 20 時間後に Bor は脳内に陽性であつたと報告しているが、著者のマウス次代接種試験では接種 6 時間後に既に、脳、肝、腎に、12 時間後には脾にも Bor が陽性となつた。また第一次 Bor 血症が終つた間歇時にも、直接暗視野下では陰性であるが、マウス次代接種試験で陽性であることは多くの研究者の報告⁸⁾¹⁵⁾²⁴⁾²⁵⁾と一致する。ここに附言すべきことは、間歇時に暗視野下で Bor の認められないのは、水口¹⁴⁾も文献を挙げているように、Bor が顆粒小体状に変形し、或は不可視の状態にあるのであろうとの説があるが、著者の実験成績はこの説に対し、批判的材料を提供していない。また第一次 Bor 血症後、暗視野下では末梢血中に Bor が認められなくなり、次いで再び出現する理由についても、著者の実験成績は推定根拠とならないが、Buschke und Kro6³¹⁾は 1922 年に真性免疫ではなく、脳内に Bor が残存する期間に限定される感染免疫に基づくものであるとの説を樹てたが、この説を追試承認するもの、¹⁹⁾²⁰⁾²⁶⁾³²⁾³³⁾また反対するもの⁸⁾²⁷⁾³⁴⁾³⁵⁾³⁶⁾³⁷⁾も出た。三木⁷⁾は恐らくは Bor が顆粒形態に変化し内臓に潜伏し、やがてその血清に対し耐性を獲得し、再発するのであろうとの考えを述べている。

之を要するに Bor をマウスに接種した場合、Bor が生体内でどのように消長するかについて、暗視野法のみでなく、マウス次代接種法によつて追及し種々新見を得ることが出来た。その所見はレプトスピラのそれ²⁹⁾と類似しているが、その意味づけについては更に実験を重ねなければならない。またこの所見は次に述べる抗生物質治療効果判定の基礎資料として重要な役を果しているのである。

む す び

1. Bor 接種マウスの尾端から逐時的に採血し直接暗視野下で Bor の出現消長を追及したところ、接種後 24 時間までは 0%，2 日後は 17.6%，3 日後 98.7%，4 日後 95.5%，5 日後 52.6%，6 日後 11.0%（第一次 Bor 血症），7 日後では一旦 0% となり、8 日後再び 15.3%，9 日後 25% となつた（第二次 Bor 血症）。

2. 上述の接種マウスを逐時的に殺し、それぞれの脳、脾、肝、腎について直接暗視野下で Bor の出現消長を追及したところ、4 日後の各臓器乳剤中に Bor が認められたが、他の 3 時間、6 時間、12 時間、24 時間及び 7 日後のそれは陰性に終つた。

3. Bor 陽性マウス心血の各 10 進稀釈液（ 10^{-2} 、 10^{-3} 、 10^{-4} 、 10^{-5} 、 10^{-6} 及び 10^{-7} ）をそれぞれ一群 10

匹のマウスに接種し、各被接種マウスにおける Bor の出現日及び陽性率を暗視野下で追及すると、 10^{-2} 接種マウスでは、Bor の出現日は 2～4 日後、その陽性率は 10 匹中 10 匹、 10^{-3} 接種マウスでは Bor の出現日は 4～5 日後、陽性率は 8 匹中 7 匹、 10^{-4} 接種マウスでは、出現日は 6～8 日後、陽性率は 10 匹中 8 匹、 10^{-5} 接種マウスでは出現日は 5～9 日後、陽性率は 8 匹中 3 匹、 10^{-6} 接種マウスでは、出現日は 6～8 日後、陽性率は 7 匹中 2 匹、 10^{-7} 接種マウスでは全部陰性に終つた。即ち 10^{-2} 及び 10^{-3} では 2～5 日後、 10^{-4} ～ 10^{-6} では 5～9 日後に Bor が出現しているが、その持続期間をみると 10^{-6} では 1 日間のみであつたが、他の 10^{-2} ～ 10^{-5} の所では 2～4 日間で、その間大差は認められなかつた。この際濃厚材料接種マウスではマウスの個体差は余り認められなかつたが、高稀釈血液接種マウスではマウス個体差が明かに認められた。

4. Bor 接種マウス血液内における Bor の出現消長を著者の最小感染量法によつて検討すると、マウス皮下に接種された Bor は 3 時間後既に血中に証明され始め、2～4 日後には最高 10^{-5} 稀釈血液内にも Bor が証明され、次いで Bor は減少し、7 日後には最低で 10^{-1} 稀釈血液で Bor が陽性となり、8 日以後は再び上昇を始めるが、その上昇の状況は実験例により著しい差が認められた。

5. 上述の Bor 接種マウスから逐時的に採集した脳、脾、肝及び腎の 20% 乳剤をマウスに接種すると、脳、肝及び腎では接種 6 時間後既に Bor が証明され、脾では 12 時間後に陽性となり、間歇時となつても各臓器に Bor の残存していることが証明された。

6. A 5 種と 55 種を両親とする生後 1 カ月の同胞マウスに、Bor を接種し、逐時的に直接暗視野下で Bor の出現消長を追及したところ、全部に Bor の出現が認められ、その第二次 Bor 血症の発現状況は雑マウスのそれと著しい差異は認められなかつた。

文 献

- 1) Muehlens, P.: Rückfallfieber, Handbuch d. Pathogenen mikroorganismen 3 Auflage, VII, 1, 383～486, 1930.
- 2) Eagle, H.: Borrelia recurrentis and tropical relapsing fever, Bacterial and mycotic infections of man, 2. nd. E. D, 590～595, 1952.
- 3) Hindle, E.: Blood spirochaete, A System of Bacteriology, 8, 146～186, 1931.
- 4) Bertarelli, E.: Ueber die Färbung und die Gegenwart der Spirochäte Obermeyers in den Organschnitten der an Rückfallfieber verstor-

- benen Individuen, Zentralbl. f. Bakt. Orig., 41., 492~496, 1906.
- 5) Mühlens, P.: Untersuchungen über Spirochaeta pallida und einige andere Spirochätenarten, insbesondere in Schnitten, Zentralbl. f. Bakt. Orig., 43, 674~693, 1907.
- 6) Plaut, F. und Steiner, G.: Über das Auftreten von Spirosomen und entzündlichen Veränderungen im Liquor bei Rekurrenkranken, Arch. f. Schiffs- u. Tropen-Hyg., 24, 33~48, 1920.
- 7) 三木利一: 再帰熱「スピロヘータ」に関する実験的研究, 福岡医科大学雑誌, 18, 407~457, 519~564, 大14.
- 8) 小松経雄: 再帰熱スピロヘータの動物体内に於ける分布特に中枢神経に於ける永続性に就て, 細菌学雑誌, 471~484, 昭2.
- 9) 本田正則: 「スピロヘータ」の再接種に関する知見補遺 (其一) 再帰熱「スピロヘータ」の再接種に就て, 皮膚科紀要, 12, 343~359, 昭3.
- 10) 野平安藝雄: 再帰熱の実験的研究 (II) 種々の接種量を用いて発生せしめたる「マウス」再帰熱の病型比較, 皮膚科紀要, 12, 343~359, 昭3.
- 11) 野平安藝雄: 再帰熱の実験的研究 (III) 種々の接種量を用いて発生せしめたる「マウス」再帰熱の病型比較 (第二回報告), 皮膚科紀要, 12, 581~603, 昭3.
- 12) 子安頼義: 満洲系再帰熱「スピロヘータ」株の「マウス」に対する最小接種量に関する研究, 皮膚科紀要, 16, 1~8, 昭5.
- 13) 杉本大周: 奉天系再帰熱「スピロヘータ」の海豚に対する最小接種量に就て, 皮膚科紀要, 23, 203~214, 昭9.
- 14) 水口哲三: マウスに対する再帰熱スピロヘータ感染要約並に脳内永存性に就て第一編再帰熱スピロヘータ及びトリパノゾマ感染と接種菌量並に23感染要約に就て, 日本微生物病理学雑誌, 29, 1347~1371, 昭10.
- 15) 水口哲三: マウスに対する再帰熱スピロヘータ感染要約並に脳内永存性に就て, 第二編再帰熱スピロヘータの脳内永存性並にアルゼノベンゾール剤の浄芽力に就て, 日本微生物病理学雑誌, 29, 1372~1396, 昭10.
- 16) Feldt, A. und Schott, A.: Empfänglichkeit junger und alter Mäuse für Recurrens, Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskr., 105, 241~246, 1925
- 17) 野平安藝雄: 再帰熱の実験的研究 (I) 実験方法及びそれに関する考察, 皮膚科紀要, 12, 237~252, 昭3.
- 18) 中込叶: 満洲再帰熱の研究, 第一編再帰熱スピロヘータの諸動物に対する病原性に就て, 新潟医学会雑誌, 65, 391~409, 昭26.
- 19) Steiner, G. und Steinfeld, J.: Experimentelle Untersuchungen zur Pathologie und Therapie der Spirochätenkrankheiten. 1 Die Immunitätsverhältnisse des Gehirns und der Serums im ihren Beziehungen zueinander bei experimenteller Recurrens, Klin. Wchnschr., 4, J. Nr. 42, 1995~1997, 1925.
- 20) Steiner, G. und Schauder, H.: Experimentelle Untersuchungen zur Pathologie und Therapie der Spirochätenkrankheiten. II Zur Frage der Spirochätenpersistenz im Zentralnervensystem bei experimenteller Recurrens, Klin. Wchnschr., 4, J. Nr. 48, 2288~2289, 1925.
- 21) Plaut, F.: Untersuchungen über die Sonderstellung des Nervensystems zur Spirochäteninfektion (Rekurrensinfektion des Nervensystems bei dem als rekurrensimmun geltenden Kaninchen.) München. med. Wchnschr., 73, J. Nr. 38, 1552~1555, 1926.
- 22) Jahnel, F.: Veber das Vorkommen der Spirochaeta Duttoni im Hirngewebe des Menschen (Paralytikers) während der Rekurrensinfektion, München. med. Wchnschr., 73, J. Nr. 48, 2015~2016, 1926.
- 23) Schauder, H.: Zur Frage der Spirochätenpersistenz im Zentralnervensystem und ihrer chemotherapeutischen Beeinflussbarkeit bei experimenteller Rekurrens, Arch. f. Schiffs- u. Tropen Hyg., 32, 1~13, 1928.
- 24) Kroó, H.: Zur Frage der Persistenz der Spirochäten bei experimenteller Rekurrens, Deutsche med. Wchnschr., 52, J. Nr. 33, 1375~1376, 1926.
- 25) Strempel, R. und Armuzzi, G.: Studien über das experimentelle Rückfallfieber. Die Beziehungen der Recurrensspirochäte zum Gewebe, Klim. Wchnschr., 6, J. Nr. 5, 200~204, 1927
- 26) Kritschewski, J. L.: Die experimentellen Grundlagen der Lehre von den neurotropen und Somatropen Rassen der Spirochaeten, Klin. Wchnschr., 6, J. Nr. 29, 1370~1374, 1927.
- 27) Prigge, R. und Rothermundt, M.: Experimentelle Untersuchung über die Persistenz der Recurrensspirochäten in Gehirn der Mäuse, Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskr., 108, 398~410, 1928.
- 28) Sergeant, E.: Persistance de Spirochaeta hispanica pendant trois ans le cerveau d'un cobaye 3 e Note, Arch. Inst. Pasteur d'Algerie, 23, 245~248, 1945. (Trop. Dis. Bull., 43, 560~561, 1946).
- 29) 北岡正見, 井上裕正, 小林一郎: ワイル氏病の抗生物質療法に関する実験的研究, V. ワイルレプトスピラ感染モルモットに対する Aureomycin,

- Terramycin 治療, 日本細菌学雑誌, 7, 1~9, 昭 27.
- 30) Buschke, A. und Kroó, H.: Histologischer Nachweis von Spirochäten im Gehirnparenchym bei experimentelle Recurrens, Klin. Wchnschr., 1. J. Nr. 50, 2470~2471, 1922.
 - 31) Buschke, A. und Kroó, H.: Experimentelle Untersuchungen über die Immunität bei Recurrens und ihre Beeinflussung durch Salvarsan, Klin. Wchnschr., 1. J. Nr. 47, 2323~2326 1922.
 - 32) Werner, J.: Einige parasitologische Beobachtungen bei artifizierter Recurrensinfektion, Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskr., 103, 157~161, 1924.
 - 33) Kranz, W.: Salvarsanwirkung bei der Rekurrensinfektion weisser Mäuse, Deutsche med. Wchnschr., 52. J. Nr. 6, 234~235, 1926.
 - 34) Tomioka, Y.: Experimenteller Beitrag zur Frage der Immunität bei Recurrens und ihrer Beeinflussung durch die Salvarsantherapie, Zentralbl. f. Bakt. Orig., 92, 41~61, 1924.
 - 35) Prigge, R.: Experimentelle Studien mit Syphilis und Rekurrens-spirochäten. II Die Sterilisierung mit Salvarsan und die Beziehungen der Immunität zur Persistenz der Spirochäten bei experimenteller Rekurrensinfektion der Mäuse, Deutsche med. Wchnschr., 52. J. Nr. 9, 356~358, 1926.
 - 36) Strenpel, R. und Armuzzi, G.: Immunitätsstudien bei dem experimentellen Rückfallfieber der Maus, Klin. Wchnschr., 6. J. Nr. 2, 62~64, 1927.
 - 37) 戸田忠雄: 脳内滞留性再帰熱スピロヘータに対する化学療法剤主として金製剤の効果並びに再帰熱スピロヘータの脳内滞留性に関する基礎的実験, 満洲医学雑誌, 15, 773~801, 昭 6.
 - 38) 生物学的製剤基準, P, 39~41, 厚生省発行, 昭 28