

## 4 Rickettsia Orientalis の免疫に関する実験的研究 (第2報)

北海道立衛生研究所 (所長 中村 豊)  
奥原 広 治  
飯田 広 夫

### 緒 言

第1報<sup>(1)</sup>においてわれわれは、*Rickettsia orientalis* (以下 *R. orientalis* と略す) をマウスの腹腔内に注射し、発症の極期に Aureomycin (以下 AM と略す) を投与してこれを回復せしめると、Rは長期に亘つてマウスの体内に生存し、且つこれらのマウスは同一Rの再接種に対して強い免疫を示すことを報告した。

この際、初回のR接種後早期にAMを与えると、マウスの体内にRは証明されないが、再接種に対する免疫もまた成立しない。従つて免疫の成立には、マウスの体内におけるRの増殖、定着が重要な条件と考えられる。

今回はマウスの体内におけるRの存在と再接種に対する免疫との関係を明らかにするために、R感染マウスの体内からRを排除して、その後における免疫の有無を検討した。

### 実験材料及び方法

実験には *R. orientalis* (大関株) を用いた。

R感染マウス脾の稀釈方法及びR感染の有無の判定方法は、第1報に述べたと同じである。

マウスは体重15g内外の市販雑系の雄マウスを用いた。その他の実験方法の詳細は、個々の実験において記載する。

### 実験成績

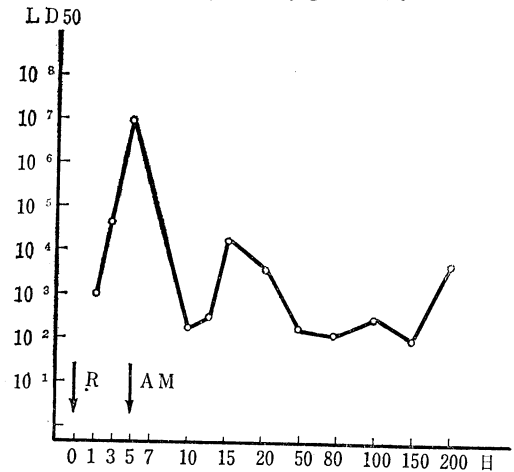
#### 実験1：感染後AMを投与したマウスの脾内におけるRの消長

この実験結果は既に第1報に報告したが、本実験は以下の諸実験の基礎となるべきものであるからここに再び記載する。

R感染脾乳剤(脾の10%乳剤のLD<sub>50</sub>は通常10<sup>-7</sup>~10<sup>-8</sup>)をマウスの腹腔内に接種した後、第5日目にAM 2.5mgを1回腹腔内に注射して、注射後4日目から所定の日数に3匹宛のマウスを犠牲にし、その脾の感染価を測定した。感染価(LD<sub>50</sub>)は第1図に示す通りである。

即ち、感染後マウスの臓器内のRは逐日増加するが、その極期にAMを注射すると一旦Rの感染価は低下する。しかしAMの影響が消失すると共に再び感染価は上昇しはじめ、R接種後2~3週目に再び低下を示す。これはマウスの体内における防禦反応の発現の時期に一致するものと考

第1図 感染後AMを投与したマウスの体内におけるRの消長



えられる。その後体内のRと生体の防禦機転との間には安定した平衡関係が保たれ、Rは長期に亘つてマウスの脾内に存在し続ける。

このようなマウスを同一Rの腹腔内接種で攻撃すると、すべてこの再感染に耐える。

#### 実験2：感染後AMを投与したマウスの血中におけるRの消長

次に同様の条件下におけるマウスの流血中のRの消長を調べた。即ち実験1と同様にR感染後5日目及び7日目にAM 2.5mgを夫々腹腔内に注射し、その後一定の日数に3匹宛のマウスの心血をプールし、その感染価を測定した。その結果は第2図及び第3図に示した通りである。

即ち、流血中のRは感染後かなり長期に亘つて証明されるが、日数と共に次第にその感染価は低下し、感染後140~160日目には略々証明されなくなる。脾内のRが200日を過ぎててもなお明らかに証明されるのに反し、血中のRが消失する理由は不明である。

#### 実験3：免疫マウスに対する再感染の影響

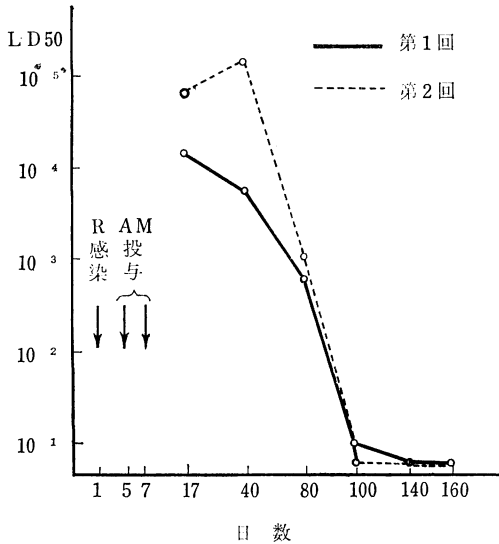
計120匹のマウスを、実験1と同様にしてR接種を行い、5日後にAM 1.25mgを、7日後に再び同量を腹腔内に注射して感染から回復せしめた。これらのマウスを5群に分ち、いろいろの時期に同一Rの再接種を行つて、それがマウスの肝脾のR量にどのような影響を与えるかを調べた。R量の測定には、3匹ずつのマウスを犠牲にしてその

第2図 感染後 AM を投与したマウスの血中における R の消長 (1)

マウス前処置	実験	日 マウス 数	流 血 中 の R (LD <sub>50</sub> )					
			17	40	80	100	140	160
1日 5日 7日 16日 R感染 AM AM 10 <sup>-1</sup> 2.5mg 2.5mg 無処置マウス	第1回	20	10 <sup>-4.15</sup>	10 <sup>-3.75</sup>	10 <sup>-2.75</sup>	10 <sup>-1.0</sup>	<10 <sup>-1.0</sup>	<10 <sup>-1.0</sup>
(1) ● <sub>8</sub> ● <sub>8</sub> ● <sub>8</sub> (2) ● <sub>8</sub> ● <sub>9</sub> ● <sub>9</sub>	第2回	20	10 <sup>-4.75</sup>	10 <sup>-5.16</sup>	10 <sup>-3.0</sup>	<10 <sup>-1.0</sup>	<10 <sup>-1.0</sup>	<10 <sup>-1.0</sup>

注：●<sub>8</sub> はマウス斃死及び日数を示す。

第3図 感染後 AM を投与したマウスの血中における R の消長 (2)



肝、脾の10%乳剤を作り、これを10<sup>-1</sup>として10倍稀釈を行い、各稀釈についてマウスの腹腔内接種により感染価(LD<sub>50</sub>)を測定した。

A群：マウス25匹

Rを最初に感染させてから14, 21, 28, 50, 90, 140, 170及び200日に肝、脾の感染価を測定したが、それぞれその7日前に1回のみRの再感染を行つた群。

B群：マウス25匹

A群と同じ日に再感染及び感染価の測定を行つたが、その間更に頻回にR再感染を繰返し行つた群。

C群：マウス25匹

両群の対照として全く再感染を行わず、両群と同じ日に感染価の測定を行つた群。

D群：マウス21匹

Rを最初に感染させてから30日後に1回再感染を行つて、再感染前、再感染後1, 3, 5, 7, 10及び15日目に3匹ずつのマウスを犠牲にし、再感染の影響を詳細に調べた。

E群：マウス21匹

Rを最初に感染させてから100日後に1回再感染を行つて、D群と同じ日に肝、脾の感染価を測定した。

これら5群のマウスについての実験のうち、A, B及びC群の実験方法及び成績は第4図及び第5図に示されている。

第4図 R免疫マウスにおける再感染の影響 (1)

マウス前処置	実験	R再接種及び感染価測定																			
		14日	21	28	43	50	65	83	90	110	125	133	140	145	155	163	170	180	187	193	200
R感染	A	10 <sup>-1</sup> LD <sub>50</sub>	↓	↓	↓		↓					↓					↓				↓
10 <sup>-1</sup>	B	10 <sup>-1</sup> LD <sub>50</sub>	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓
無処置マウス	C	LD <sub>50</sub>	10 <sup>-5.5</sup>	10 <sup>-5.66</sup>	10 <sup>-4.0</sup>	10 <sup>-2.75</sup>		10 <sup>-2.66</sup>				10 <sup>-3.0</sup>					10 <sup>-3.16</sup>				10 <sup>-3.0</sup>

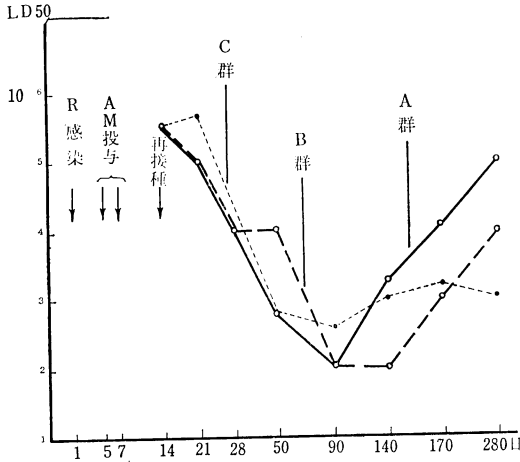
注：●<sub>7</sub> マウス斃死及び日数，↓は再接種を示す。

すなわち、対照のC群においては、一旦増殖したRは日数と共に減少し、その後Rの増殖とマウスのこれに対する免疫との間には一定の平衡関係が保たれて、体内のRの感染価は略々一定した値を示す。このR抑制能は、再接種に対してもかなりの期間効果を示すもので、90日後も

なお再接種による体内のRの増殖は認められていない。しかしながら、140日以後には再接種によるRの増殖が見られ、この傾向は日数を経ると共に益々顕著となつてくる。200日後には、対照との間に10<sup>-2</sup>の差が見られている。

頻回にRを接種したB群においては、この接種によつ

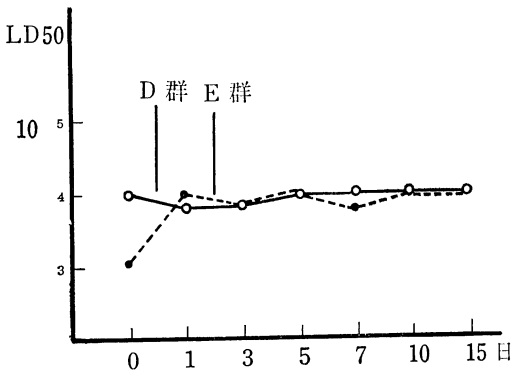
第5図 R免疫マウスにおける再感染の影響 (2)



第6図 R免疫マウスにおける再感染の影響 (3)

マウス 前処置	方 法			実 験			R 再 接 種 後 の LD <sub>50</sub>					
	群	再接種ま での日数	再接種前 LD <sub>50</sub>	再接種 R	1	3	5	7	10	15		
1日 R感染 10 <sup>-1</sup> 無処置マウス ● 7	D	30	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-3.75</sup>	10 <sup>-3.75</sup>	10 <sup>-4.0</sup>	10 <sup>-4.0</sup>	10 <sup>-4.0</sup>	10 <sup>-4.0</sup>		
5日 AM 2.5mg ● 8	E	100	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-4.0</sup>	10 <sup>-3.75</sup>	10 <sup>-4.0</sup>	10 <sup>-3.75</sup>	10 <sup>-4.0</sup>	10 <sup>-4.0</sup>		
7日 AM 2.5mg ● 8												

第7図 R免疫マウスにおける再感染の影響 (4)



くとも100日目までは知られる。

実験4: AMによる免疫マウス臓器内からのRの除去

R感染後AM投与によつて回復せしめても、マウスの体内には長期に亘つてRが保有されることは第1報に報告した通りである。またRをこのように保有するマウスが、再接種に対して強い免疫を示すことも既に述べた通りである。

そこで次には、このようなマウスの体内からRを除去した場合、そのマウスは再接種に対してどのような抵抗性を示すかという問題をとり上げることにした。

先ずAMを頻回注射することによつて臓器内のRを除去することを試みた。すなわち、R(10<sup>-4</sup>感染脾乳剤)感染後5日目から、毎日1mgのAMを腹腔内に注射し、これ

て、A群よりも更に長期に亘る再接種に対する免疫が認められ、170日以後にはじめて再接種によるRの増殖が見られている。このような頻回接種を受けたマウスにおいても、初感染後一定の期間を経過すると、再感染によつてRが増殖してくるという現象は、第1報に述べた発症と免疫成立との関連性を示唆しているかも知れない。

D群及びE群の実験方法及び成績は、第6図、第7図に示されている。

初感染後、それぞれ30日及び100日目に再接種を受けた両群の間にはあまり顕著に差異は認められず、肝、脾内のRの感染価は、略々再接種時のそれと同じレベルを示している。

また、A群及びB群において、臓器内のRは再接種後、日数によつてほとんど動揺を示さないことが、初感染後少

を10日間連続行つた。その間、毎日3匹ずつのマウスをとり出し、最後のAM注射から7日目にそれらを犠牲にして肝及び脾をプールし、その10%乳剤をマウスに接種してRの有無を調べた。その成績は第8図に示した通りである。

第8図 AMによるマウス体内Rの除去 (1)

日 回	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	1mg 1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
2		1	1	1	1	1	1	1	1	1
3			1	1	1	1	1	1	1	1
4				1	1	1	1	1	1	1
5					1	1	1	1	1	1
6						1	1	1	1	1
7							1	1	1	1
8								1	1	1
9									1	1
10										1
計	1mg 2	3	4	5	6	7	8	9	10	
R	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)

すなわち、1日1回1mgのAMを10日間連続して腹腔内に注射しても、マウスの臓器内のRを除去することは不可能であつた。

そこで次には、やや大量のAMを投与間隔を長くして注射しRの除去を試みた。すなわち、A、B各群20匹のマウ

スにR (10<sup>-1</sup>) を感染させた後、5日目及び7日目にそれぞれ AM 2.5mg を注射した。マウスは回復したが、14日目にそれぞれその3匹を犠牲にして臓器のRを調べて見ると、Rを保有することが知られた。そこで残るマウスを、A群では2〜3日間隔で2.5mg AM 投与を連続し、B群では3〜6日間隔で5mg、次で2.5mg AM 投与を連続し

て行い、その間10日目ごとに2〜3匹ずつを犠牲にして臓器内Rの有無を調べた。肝及び脾をプールした材料を接種した初代のマウスが発症しない時は、その肝及び脾を再びプールして次代のマウスに接種し、これを3代まで行ってマウスが発症しない時にR陰性とした。その実験方法及び成績は、第9図、第10図に示してある。

第9図 AMによるマウス体内Rの除去 (2)

マウス前処置				実験	A M 投 与																					
1日	5日	7日	14日		15	17	20	28	30	31	33	35	37	40	43	45	49	51	53	56	59	61	65	68	71	
R感染	AM	AM		A群	AM 2.5mg	↓	↓	↓	↓		↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓		
10 <sup>-1</sup>	2.5mg	2.5mg		マウス体内Rの証明				第1回 (+)	第2回 (+)	第3回 (+)	第4回 (-)	第5回 (-)														
無処置マウス				B群	AM 5mg	↓	↓	↓		↓	↓	↓	↓	↓	↓				※	※	※					
				マウス体内Rの証明				第1回 (+)	第2回 (+)	第3回 (+)	第4回 (-)	第5回 (-)														

注：↓AM投与を示す。※2.5mg投与。

第10図 AMによるマウス体内Rの除去 (3)

Rの証明	第1回	第2回	第3回	第4回	第5回
マウス継代	初代 2 3	初 2 3	初 2 3	初 2 3	初 2 3
A 群	● <sub>10</sub> ● <sub>8</sub> ● <sub>10</sub> ● <sub>8</sub> ● <sub>10</sub> ● <sub>9</sub>	● <sub>11</sub> ● <sub>9</sub> ● <sub>11</sub> ● <sub>9</sub> ● <sub>11</sub> ● <sub>10</sub>	● <sub>10</sub> ● <sub>9</sub> ● <sub>8</sub> ● <sub>10</sub> ● <sub>9</sub> ● <sub>7</sub> ● <sub>10</sub> ● <sub>9</sub> ● <sub>7</sub>	○ <sub>11</sub> ○ <sub>12</sub> ○ <sub>21</sub> ○ <sub>11</sub> ○ <sub>12</sub> ○ <sub>21</sub> ○ <sub>11</sub> ○ <sub>12</sub> ○ <sub>21</sub>	○ <sub>13</sub> ○ <sub>11</sub> ○ <sub>21</sub> ○ <sub>13</sub> ○ <sub>11</sub> ○ <sub>21</sub> ○ <sub>13</sub> ○ <sub>11</sub> ○ <sub>21</sub>
B 群	○ <sub>11</sub> ● <sub>9</sub> ○ <sub>11</sub> ● <sub>9</sub> ○ <sub>11</sub> ● <sub>9</sub>	● <sub>12</sub> ● <sub>8</sub> ● <sub>12</sub> ● <sub>8</sub> ● <sub>12</sub> ● <sub>9</sub>	○ <sub>12</sub> ● <sub>8</sub> ○ <sub>12</sub> ○ <sub>9</sub> ● <sub>12</sub> ● <sub>9</sub>	○ <sub>13</sub> ○ <sub>11</sub> ○ <sub>21</sub> ○ <sub>13</sub> ○ <sub>11</sub> ○ <sub>21</sub> ○ <sub>13</sub> ○ <sub>11</sub> ○ <sub>21</sub>	○ <sub>11</sub> ○ <sub>12</sub> ○ <sub>21</sub> ○ <sub>11</sub> ○ <sub>12</sub> ○ <sub>21</sub> ○ <sub>11</sub> ○ <sub>12</sub> ○ <sub>21</sub>

注：●マウス死。○剖検の際、脾腫、リンパ腺腫、粘液などなんらかの病変を認めたもの。○生存。

すなわち、A、B両群ともに51日目(A群においてはAM 35mg、B群においてはAM 40mg)まではRが臓器内に証明されているが、61日目(A群 AM 45mg、B群 AM 47.5mg)に到つてはじめてRが証明されなくなっている。

すなわち、AM単独でも、これを大量に、かつ長期に亘つて投与すれば、マウスの臓器内Rを除去することが可能であることを知つた。

しかしこの方法でRを除去するにはかなりの期間を必要とするので、更に短期間に同一の目的を達するべく、他の抗R剤の投与を試みた。

#### 実験5：Israviv, Rimaon 及び Igrosin の抗 R 作用

Acridin 系の色素剤及び有機水銀剤が、実験的リケツチア症にある程度の効果を挙げ得ることは既に報告されている<sup>(2)</sup>。

吾々は、前者として Israviv (3.6-Diamio-10-methyl-acridium chlorid) 及び Rimaon (2-alhoxy-6, 9-diamino-acridium lactate) を、後者として Igrosin (サリチルアリアルアミド酢酸ナトリウム水銀化合物を10%に含有) を用

い、マウスを用いて先ずこれらの毒性試験を行い、次でこ

第11図 Israviv, Rimaon 及び Igrosin の毒性試験

薬剤稀釈	ISRAVIN	RIMAON	IGROSIN
1: 10			● <sub>1</sub> ● <sub>1</sub> ● <sub>1</sub>
1: 20			● <sub>2</sub> ● <sub>2</sub> ● <sub>2</sub>
1: 40			○ <sub>10</sub> ○ <sub>10</sub> ○ <sub>10</sub>
1: 80			○ <sub>10</sub> ○ <sub>10</sub> ○ <sub>10</sub>
1: 100	● <sub>1</sub> ● <sub>1</sub> ● <sub>1</sub>	● <sub>1</sub> ● <sub>1</sub> ● <sub>1</sub>	
1: 200	● <sub>1</sub> ● <sub>2</sub> ● <sub>5</sub>	● <sub>1</sub> ● <sub>4</sub> ● <sub>7</sub>	
1: 400	● <sub>3</sub> ● <sub>4</sub> ● <sub>7</sub>	○ <sub>10</sub> ○ <sub>10</sub> ○ <sub>10</sub>	
1: 800	○ <sub>10</sub> ○ <sub>10</sub> ○ <sub>10</sub>	○ <sub>10</sub> ○ <sub>10</sub> ○ <sub>10</sub>	
1: 1,600	○ <sub>10</sub> ○ <sub>10</sub> ○ <sub>10</sub>	○ <sub>10</sub> ○ <sub>10</sub> ○ <sub>10</sub>	
致死量	1: 400	1: 200	1: 20
耐量	1: 800	1: 400	1: 80

注：○<sub>10</sub> ●<sub>1</sub> = マウスの生死を示す。

注射量は0.5ml腹腔内。

れら薬剤を単独で用いた場合のR感染に対する効果を調べて見た。

すなわち、第11図のように各薬剤を稀釈し、その0.5mlを、それぞれ3匹ずつのマウスの腹腔内に注射して、10日間観察を行った。

次にA、B2群のマウスにR(10<sup>-1</sup>)を接種し、それぞれ次のようにして各薬剤の効果を調べた。

すなわちA群は、R感染の10時間前、或いは10時間後に各薬剤の耐量を1回注射する。B群は、R感染の24時間前、或いは24時間後に各薬剤の耐量を1回注射する。薬剤はすべて腹腔内に注射した。なお対照としてAM(2.0mg)を用いたものを置いた。結果は第12図に示した通りである。

第12図 Isravin, Rimaon 及び Igrosin の効果試験

実 験			薬 剤 投 与		効 果	
薬 品 名	稀 釈	注 射 量	R 感 染 10 時 間 前	R 感 染 10 時 間 後	前 (%)	後 (%)
AM	2.0mg	0.5ml	○ ○ ○ ○ ○	○ ○ ○ ○ ○	100	100
Isravin	1 : 800	//	● <sub>7</sub> ● <sub>9</sub> ● <sub>9</sub> ● <sub>9</sub> ● <sub>10</sub>	● <sub>8</sub> ● <sub>8</sub> ● <sub>8</sub> ● <sub>9</sub> ● <sub>9</sub>	0	0
Rimaon	1 : 400	//	● <sub>8</sub> ● <sub>9</sub> ● <sub>9</sub> ● <sub>9</sub> ● <sub>9</sub>	● <sub>9</sub> ● <sub>9</sub> ● <sub>9</sub> ● <sub>10</sub> ● <sub>10</sub>	0	0
Igrosin	1 : 40	//	● <sub>7</sub> ● <sub>9</sub> ● <sub>9</sub> ● <sub>9</sub> ● <sub>9</sub>	● <sub>7</sub> ● <sub>9</sub> ● <sub>9</sub> ● <sub>7</sub> ● <sub>9</sub>	0	0
対 照			● <sub>9</sub> ● <sub>9</sub> ● <sub>9</sub> ● <sub>10</sub> ● <sub>10</sub>			
			R 感 染 24 時 間 前	R 感 染 24 時 間 後	前 (%)	後 (%)
AM	2.0mg	0.5ml	● <sub>15</sub> ● <sub>15</sub> ● <sub>27</sub> ● <sub>29</sub> ○	○ ○ ○ ○ ○	20	100
Isravin	1 : 800	//	● <sub>8</sub> ● <sub>9</sub> ● <sub>10</sub> ● <sub>10</sub> ● <sub>10</sub>	● <sub>8</sub> ● <sub>9</sub> ● <sub>9</sub> ● <sub>9</sub> ● <sub>9</sub>	0	0
Rimaon	1 : 400	//	● <sub>10</sub> ● <sub>10</sub> ● <sub>10</sub> ● <sub>10</sub> ● <sub>10</sub>	● <sub>8</sub> ● <sub>9</sub> ● <sub>9</sub> ● <sub>9</sub> ● <sub>9</sub>	0	0
Igrosin	1 : 40	//	● <sub>7</sub> ● <sub>8</sub> ● <sub>9</sub> ● <sub>9</sub> ● <sub>9</sub>	● <sub>7</sub> ● <sub>8</sub> ● <sub>8</sub> ● <sub>9</sub> ● <sub>9</sub>	0	0
対 照			● <sub>9</sub> ● <sub>10</sub> ● <sub>10</sub> ● <sub>10</sub> ● <sub>10</sub>			

注：○●<sub>s</sub> はマウス生死、日数を示す。

結局、この方法で薬剤を投与した場合には、Isravin, Rimaon, Igrosin はいずれも治療効果なくAMにのみ明らかな効果が認められた。AMも、R感染24時間前に2mgを1回注射しただけでは、5匹中4匹が感染死することを知った。

実験6：Isravin, Igrosin 及びこれらと AM の併用によるマウス臓器内Rの除去

上述の実験から、Isravin, Igrosin は単独で1回注射ではR感染からマウスを救い得ないことを知った。しかし、これを連続投与すれば、一部のマウスは薬剤の毒性のために斃死するが、残りのマウスはよくR感染を耐過すること

が知られた。そこで、Isravin 及び Igrosin を単独で連続投与した場合、及びこれらとAMを併用した場合、感染を耐過したマウスの臓器内にRが保有されるか否かを調べて見た。

すなわち、マウスをA、B2群に分け、A群は Isravin 単独及び Isravin と AM の併用投与群とし、B群を Igrosin 単独及び Igrosin と AM の併用投与群とした。投与の量、間隔は多少異なるが、その実験方法は略々実験4のそれと同じである。A群の実験方法及び成績は第13図、第14図に、B群の実験方法及び成績は第15図、第16図に示した通りである。

第13図 Isravin 単独及び Isravin と AM 併用によるマウス体内 R の除去 (1)

マウス前処置	薬 剤	投 与
1日 5日 7日	15 16 18 19 20 21 22 23 25	29 31 32 33 35 37 39 40 43 44 47 48 50 53 54
R感 染 AM AM	ISRAVIN 1 : 2,000 0.5ml	↓ ↓ ↓ ↓ ↓
	マウス体内 R の 証 明	第 1 回 (+) 第 2 回 (+) 第 3 回 (+) 第 4 回 (+)
10 <sup>-1</sup> 2.5mg 2.5mg	ISRAVIN 1 : 2,000 0.5ml	↓ ↓ ↓ ↓ ↓
	AM 2.5mg	↓ ↓ ↓ ↓ ↓
無処置マウス	AM 2.5mg	↓ ↓ ↓ ↓ ↓
	マウス体内 R の 証 明	第 1 回 (-) 第 2 回 (-) 第 3 回 (-) 第 4 回 (-)

注：↓は薬剤の投与を示す。

第14図 Isravlin 単独及び Isravlin と AM 併用によるマウス体内 R の除去 (2)

R の 証 明	第 1 回	第 2 回	第 3 回	第 4 回
マウス継代	初 2 3	初 2 3	初 2 3	初 2 3
ISRAVIN	● <sub>12</sub> ● <sub>13</sub> ● <sub>12</sub> ● <sub>13</sub> ● <sub>12</sub> ● <sub>13</sub>	● <sub>11</sub> ● <sub>10</sub> ● <sub>11</sub> ● <sub>10</sub> ● <sub>11</sub> ● <sub>9</sub>	● <sub>11</sub> ● <sub>7</sub> ● <sub>11</sub> ● <sub>9</sub> ● <sub>11</sub> ● <sub>9</sub>	● <sub>12</sub> ● <sub>8</sub> ● <sub>12</sub> ● <sub>9</sub> ● <sub>12</sub> ● <sub>9</sub>
ISRAVIN+AM	○ <sub>12</sub> ○ <sub>13</sub> ○ <sub>21</sub> ○ <sub>12</sub> ○ <sub>13</sub> ○ <sub>21</sub> ○ <sub>12</sub> ○ <sub>13</sub> ○ <sub>21</sub>	○ <sub>11</sub> ○ <sub>10</sub> ○ <sub>21</sub> ○ <sub>11</sub> ○ <sub>10</sub> ○ <sub>21</sub> ○ <sub>11</sub> ○ <sub>10</sub> ○ <sub>21</sub>	○ <sub>11</sub> ○ <sub>12</sub> ○ <sub>21</sub> ○ <sub>11</sub> ○ <sub>12</sub> ○ <sub>21</sub> ○ <sub>11</sub> ○ <sub>12</sub> ○ <sub>21</sub>	○ <sub>12</sub> ○ <sub>13</sub> ○ <sub>21</sub> ○ <sub>12</sub> ○ <sub>13</sub> ○ <sub>21</sub> ○ <sub>12</sub> ○ <sub>13</sub> ○ <sub>21</sub>

注：●, ○は第10図に同じ。

第15図 Igrosin 単独及び Igrosin と AM 併用によるマウス体内 R の除去 (1)

マウス前処置	薬	剤	投	与	
1日 5日 7日	15 17 20 21 23 25	28 29 32 34 35	36 38 39 42 43 45	46 48 50 52 54 56	
R感 染 AM AM 10 <sup>-1</sup> 2.5mg 5.2mg	IGROSIN 1:80 0.5ml マウス体内 R の 証 明	↓ ↓ ↓ 第 1 回 (+)	↓ ↓ ↓ 第 2 回 (+)	↓ ↓ ↓ 第 3 回 (+)	↓ ↓ 第 4 回 (+)
	IGROSIN 1:80 0.5ml AM 2.5mg マウス体内 R の 証 明	↓ ↓ ↓ 第 1 回 (-)	↓ ↓ ↓ 第 2 回 (-)	↓ ↓ ↓ 第 3 回 (-)	↓ ↓ 第 4 回 (-)
無処置マウス ● <sub>8</sub> ● <sub>8</sub> ● <sub>8</sub>					

注：↓は薬剤の投与を示す。

第16図 Igrosin 単独及び Igrosin と AM 併用によるマウス体内 R の除去 (2)

R の 証 明	第 1 回	第 2 回	第 3 回	第 4 回
マウス継代	初 2 3	初 2 3	初 2 3	初 2 3
IGROSIN	● <sub>9</sub> ● <sub>6</sub> ● <sub>9</sub> ● <sub>6</sub> ● <sub>9</sub> ● <sub>6</sub>	● <sub>10</sub> ● <sub>8</sub> ● <sub>10</sub> ● <sub>8</sub> ● <sub>10</sub> ● <sub>9</sub>	● <sub>11</sub> ● <sub>7</sub> ● <sub>11</sub> ● <sub>7</sub> ● <sub>11</sub> ● <sub>8</sub>	● <sub>12</sub> ● <sub>8</sub> ● <sub>12</sub> ● <sub>8</sub> ● <sub>12</sub> ● <sub>8</sub>
IGROSIN+AM	○ <sub>9</sub> ○ <sub>10</sub> ○ <sub>21</sub> ○ <sub>9</sub> ○ <sub>10</sub> ○ <sub>21</sub> ○ <sub>9</sub> ○ <sub>10</sub> ○ <sub>21</sub>	○ <sub>10</sub> ○ <sub>11</sub> ○ <sub>21</sub> ○ <sub>10</sub> ○ <sub>11</sub> ○ <sub>21</sub> ○ <sub>10</sub> ○ <sub>11</sub> ○ <sub>21</sub>	○ <sub>11</sub> ○ <sub>13</sub> ○ <sub>21</sub> ○ <sub>11</sub> ○ <sub>13</sub> ○ <sub>21</sub> ○ <sub>11</sub> ○ <sub>13</sub> ○ <sub>21</sub>	○ <sub>12</sub> ○ <sub>11</sub> ○ <sub>21</sub> ○ <sub>12</sub> ○ <sub>11</sub> ○ <sub>21</sub> ○ <sub>12</sub> ○ <sub>11</sub> ○ <sub>21</sub>

注：●, ○は第10図に同じ。

これらの図から分るように、Isravlin 及び Igrosin はそれぞれ単独で使用したのでは、連続投与してもマウスの肝及び脾内のRを除去し得ない。しかし、これらの薬剤をAMと併用——交互に注射——すれば、比較的速かに臓器内のRを除き得ることが知られた。

これらの実験の際、Isravlin 及び Igrosin の連続投与は、マウスに対してかなりの毒性を示し、またAMも大量を連続投与すれば肝、脾にかなりの肉眼的変化を及ぼすことが知られたので、これら薬剤の注射がその後のR感染に影響を与えないかどうかを調べて見た。

すなわち、マウスをA、B、C及びDの4群に分け、A

群は Isravlin 1:2,000 稀釈液 0.25ml を、18日間に6回腹腔内注射、B群は Isravlin 1:2,000 稀釈液と AM 10 mg/ml 浮游液の同量混合液を 0.25ml ずつ A群と同様に注射、C群は AM 5mg/ml 浮游液を 0.5ml ずつ同様に注射、D群は対照として薬剤を投与しない群とした。

薬剤の投与を中止してから15日間そのまま観察し、次で R (10<sup>-1</sup>) を感染させ、その後1、4及び7日目に1~2匹ずつのマウスを犠牲にして、その肝のR感染価を測定した。その結果は第17図に示されている。

すなわち、各群のR感染後の臓器内Rの感染価は略々ひとしく、これら薬剤投与そのものの影響は、投与後15日目



第20図 R 除去マウスの再接種試験 (3)

実験 日数	A 群	B 群	C 群	
再接種前	0	(-)	10 <sup>-1.75</sup>	(-)
再接種後	1	10 <sup>-4.0</sup>	10 <sup>-1.75</sup>	10 <sup>-4.0</sup>
	3	10 <sup>-3.75</sup>	10 <sup>-2.0</sup>	10 <sup>-4.0</sup>
	5	10 <sup>-2.75</sup>	10 <sup>-3.0</sup>	10 <sup>-5.75</sup>
	7	10 <sup>-2.75</sup>	10 <sup>-3.5</sup>	10 <sup>-7.0</sup>
	10	10 <sup>-2.0</sup>	10 <sup>-4.0</sup>	
	15	10 <sup>-1.75</sup>	10 <sup>-3.16</sup>	
	21	10 <sup>-1.16</sup>	10 <sup>-2.0</sup>	

実験 8 : R 除去マウスの感染防禦試験

第21図 R 除去マウスの感染防禦試験 (1)

マウス前処置	実験	薬	剤	投	与	
1日 5日 7日				15 16 18 19 22 24 26 27 29 30 31 34 35 37 44	54	
R 感染 AM AM 10 <sup>-1</sup> 2.5mg 2.5mg	A	ISRAVIN 1 : 3,000 0.5ml		↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓	薬剤投与中止20日 後攻撃	
		AM 2.5mg		↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓		
		マウス体内Rの証明 (-)				
無処置マウス ●7 ●7 ●8	B	AM 5mg		↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓	薬剤投与中止10日 後攻撃	
			マウス体内Rの証明 (-)			
	C				同日攻撃	
		マウス体内Rの証明 (+) 10 <sup>-2.75</sup>				

注 : ↓ 薬剤投与を示す。

第22図 R 除去マウスの感染防禦試験 (2)

実験	マウス体内R	免疫日数(日)	R再接種攻撃	マウス	マウス生死	R再接種攻撃後の免疫マウス体内R
A	(-)	54	10 <sup>-2</sup>	7	○ ○ ○ ○ ⊕ ⊕ ⊕	10 <sup>-4.37</sup>
			10 <sup>-4</sup>	6	○ ○ ○ ⊕ ⊕ ⊕	10 <sup>-4.75</sup>
			10 <sup>-6</sup>	6	○ ○ ○ ⊕ ⊕ ⊕	10 <sup>-2.75</sup>
B	(-)	54	10 <sup>-2</sup>	6	● <sub>16</sub> ● <sub>16</sub> ● <sub>17</sub> ⊕ ⊕ ⊕	10 <sup>-4.16</sup>
			10 <sup>-4</sup>	6	● <sub>16</sub> ● <sub>16</sub> ○ ⊕ ⊕ ⊕	10 <sup>-4.0</sup>
			10 <sup>-6</sup>	6	● <sub>10</sub> ● <sub>16</sub> ● <sub>16</sub> ⊕ ⊕ ⊕	10 <sup>-3.0</sup>
C	(+)	54	10 <sup>-2</sup>	10	○ ○ ○ ○ ○ ○ ○ ⊕ ⊕ ⊕	10 <sup>-3.0</sup>
対照			10 <sup>-6</sup>	5	● <sub>13</sub> ● <sub>14</sub> ● <sub>14</sub> ● <sub>13</sub> ● <sub>13</sub>	

⊕ R再接種攻撃後A群は14日後、B群及びC群は24日後それぞれ3匹を犠牲にして体内のRについて調べた。

すなわち、Rを体内に保有するC群では、既に屢々述べたように再接種に対して強い免疫を示す。また Isravine と AM の併用によつてこの R を除去した A 群のマウスも、再接種に対して同じように強い免疫を示す。しかし、AM 単独で R を除去した B 群の中には、再接種後やや後になつ

次に一旦感染せしめた後 AM で回復せしめ、その後臓器内に保有されている R を更に除去したマウスについて、これが同一株の R の再接種に対しどのような態度を示すかを更に詳細に検討した。

すなわち、A、B 及び C の 3 群にマウスを分ち、A 群は Isravine と AM を併用して R を除去し、B 群は AM 単独で R を除去した。C 群はこれら 2 群の対照として R を除去しない群とした。A 群は投薬中止後 20 日目に、B 群は 10 日目に—どちらも初感染後 54 日目に—10<sup>-2</sup>、10<sup>-4</sup>、10<sup>-6</sup> の R をもつて再攻撃した。C 群は 10<sup>-2</sup> のみで再攻撃した。どの群においても、生残つたマウスはその 3 匹宛を犠牲にして、その臓器内の R 感染価を測定した。これらの実験方法及び成績は第 21 図及び第 22 図に示してある。

て斃死するマウスが出てくることを知つた。同じように体内の R を除去したマウスにおいても、その除去の方法によつて再攻撃に対するこのような免疫の差異を生ずる理由は不明である。

なお A、B 及び C のどの群においても、生残つたマウス



の臓器内にはすべてRの存在することが知られた。

実験9：R除去マウスを用いた交叉免疫試験

最後に上述のような方法で体内Rを除去したマウスを用いて、数株のRの間に交叉免疫試験を行つた。実験に用いた R. orientalis の株は、大関株、北13株、野幌23株及びイタチ株の4種である。大関株は伝研川村博士より分与を受けて、吾々の研究室でマウス継代を行つている株、北13株は1953年札幌市円山において野鼠から分離された株<sup>(5)</sup>、野幌23株は1959年北海道野幌原始林において同じく野鼠から分離された株<sup>(4)</sup>、またイタチ株は同じ地区において

捕獲されたイタチから分離された株<sup>(4)</sup>である。

先ずマウスを2群に分け、それぞれ大関株及びイタチ株を腹腔内に接種(10<sup>-1</sup>)した後、5日目及び7日目にAM 2.5mgずつを投与して回復せしめ、15日目から Israviv と AMを併用して体内のRを除去した。

この2群のマウスのそれぞれを更に4グループに分け、大関株、北13株、野幌23株及びイタチ株をもつて攻撃した。対照として、正常マウスを上述の4株のRでそれぞれ攻撃した。これらの実験方法及び成績は第23図及び第24図に示してある。

第23図 R除去マウスを用いた交叉免疫試験 (1)

実験 R株	マウス前処置				薬	剤 投 与								与	
	1日	5日	7日	14日		15	16	17	21	23	27	28	29		43
大関株	R感染 10 <sup>-1</sup>	AM 2.5mg	AM 2.5mg	無処置	ISRAVIN 1:3,000+AM 10mg/ml0.5ml	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	マウス体内Rの証明 (-)	薬剤投与中止14日後再接種攻撃、同時にマウス体内Rの証明試験を行う
イタチ株	〃					↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓		

注：↓薬剤投与を示す。

第24図 R除去マウスを用いた交叉免疫試験 (2)

免 疫 株	日 数	疫 体 内 R	攻 撃			マ ウ ス 生 死								再接種攻撃14日Rの感 染 後 感 染 価	
			攻 撃 株	R 濃 度	マ ウ ス										
大 関 株	43	(-)	大 関 株	10 <sup>-2</sup>	7	○	○	○	○	○	○	○	○	○	10 <sup>-4.0</sup>
			北 13 株	10 <sup>-2</sup>	6	○	○	○	○	○	○	○	○	○	10 <sup>-4.75</sup>
			野幌23株	10 <sup>-2</sup>	6	○	○	○	○	○	○	○	○	○	10 <sup>-2.75</sup>
			イタチ株	10 <sup>-2</sup>	6	○	○	○	○	○	○	○	○	○	<10 <sup>-1.0</sup>
イタチ株	43	(-)	イタチ株	10 <sup>-2</sup>	8	○	○	○	○	○	○	○	○	○	10 <sup>-1.0</sup>
			大 関 株	10 <sup>-2</sup>	8	○	○	○	○	○	○	○	○	○	10 <sup>-3.16</sup>
			北 13 株	10 <sup>-2</sup>	8	○	○	○	○	○	○	○	○	○	10 <sup>-3.0</sup>
			野幌23株	10 <sup>-2</sup>	8	○	○	○	○	○	○	○	○	○	10 <sup>-4.0</sup>
対 照			大 関 株	10 <sup>-2</sup>	5	●	●	●	●	●	●	●	●	●	
			北 13 株	10 <sup>-2</sup>	5	●	●	●	●	●	●	●	●	●	
			野幌23株	10 <sup>-2</sup>	5	●	●	●	●	●	●	●	●	●	
			イタチ株	10 <sup>-2</sup>	5	●	●	●	●	●	●	●	●	●	

すなわち、大関株及びイタチ株をもつて感染させ、薬剤投与によつてこの感染Rを除去したマウスは、いずれも大関株、イタチ株、北13株及び野幌23株の攻撃に対して強い免疫を示した。しかしこれら免疫マウスの体内にはいずれもRが証明された。

なおこれと比較する意味で上述の4株を用いて4群の免疫マウス群をつくり、それぞれのR株で交叉的に免疫試験を行つた。その結果は第25図に示してある。

これらの免疫マウスは体内にRを保有しており、その感

染価は再接種の前後にほとんど変化を示さなかつた。

考 察

第1報<sup>(1)</sup>に報告した諸実験の結果、吾々はR感染後速かにAMを投与した場合には、マウスの体内にRは証明されず、このようなマウスでは再接種に対する免疫もまた成立しないこと、これに反して、Rが体内である程度増殖してからAMを投与した場合は、回復後もマウスの体内に長期に亘つてRが証明され、このようなマウスは再感染に対し



(4) “prémunition”の状態は、重感染に対する相対的な抵抗性として表現される。その抵抗性の強さ、病原体の病原性、侵入量によつて、生体の重感染に対する反応は、陰性、不顕性の重感染及び臨床症状を伴つた重感染というように異なる。

(5) “prémunition”の機序としては、ある種の微生物が既に占めている生体内では、他種の微生物は増殖出来ないという原則 (“loi de préséance”) が考えられる。

この Sergent 等<sup>9)</sup>の “prémunition” という考えは、その後 Parrot & Parrot<sup>(10)</sup>によつて R 症に適用されたが、Zdrovskii & Golinevich<sup>6)</sup>は必ずしもこの考えの妥当ではないことを指摘している。彼等の反論の根拠としては、発疹チフスに対して不活化のワクチンが有効であること、自然に もしくは実験的に発疹チフスに感染した個体の血清中には感染を防禦する抗体の証明されることが挙げられている。

しかし一方彼等自身も述べているように、不活化ワクチンによる免疫は単に感染の臨床像を軽くし、その致命率を低くするものであつて、感染を完全に防ぎ得るというものではない。またワクチン接種を受けた者が感染して軽度の発症を示した場合、その20~39%に血中から R が証明されると云われている。更にまた、不活化ワクチンでモルモットを免疫した場合、極めて大量の R を用いなければ免疫を証明出来ないのに反し、感染して回復したモルモット、或いは発疹熱の無症状感染から回復したモルモットは、発疹チフスに対して強い免疫を示すことが知られている。

結局不活化ワクチンによる免疫と感染後の免疫との間には、大きな差異が認められ、また R 症の場合、感染から回復しても長期に亘つて R が血中から証明されることが多いことから、この場合血中抗体の免疫に演ずる役割は必ずしも重要とは考えられない。従つて、この点では Zdrovskii & Golinevich<sup>(6)</sup>の反論の根拠は必ずしも当を得たものとは云えない訳である。

Sergent 等<sup>(9)</sup>の云う “prémunition” が “loi de préséance” に従うと云う点は、現在その言葉通りの意味には受取ることが出来ないであろう。例えば、桑田<sup>(11)</sup>は恙虫病 R の強毒及び弱毒株を用いて、弱毒株感染マウスが強毒株の再攻撃に対して強い免疫を示すが、強毒株 R の体内増殖はある程度認められることを報告している。

R 症の免疫において、所謂干渉現象と呼ばれるものが認められることについては幾つかの報告<sup>(5)</sup> <sup>(12)</sup>がある。しかしそのいずれもが、干渉現象の機序が、単なる R の間の細胞の競り合いではない点を指摘している。これを支持する実験的な根拠として、同一細胞内における異なる R の増殖が報告<sup>(13)</sup>されている。干渉現象と呼ばれる現象が、その素朴な初期の意味を失つて、多様な細胞機能のひとつとして究明されつつある現在、Sergent 等<sup>(9)</sup>の云う意味で “prémunition” の機作は、更に新たな見地に立つて考察さ

れなければならないであろう。

ともあれ、R 症の免疫において、生きた R の存在が同一 R の再接種に対する抵抗性に必要な条件であるかどうかという問題を究明することは、“prémunition”の説の妥当性を確める最も確実な方法であろう。実験 4 以下はこの点を解明するために行われたものである。

これら一連の実験結果から、吾々はマウスの体内に生きた R が存在しなくなつた後でも、再接種に対する強い免疫の残されている場合のあることを知り得た。この事實は、R 症における免疫が、必ずしも “prémunition”、或いは “infection-immunity” によつてのみ成立するものではないことを明らかに示している。

それではこの “sterile immunity” は、どのような機作によつて成立しているのであろうか。ここに再び免疫の本質に関する根本的な問題が提出される。この点を更に掘り下げてゆくためには、R を除去したマウスの血清抗体の量的な検討、このマウスの示す免疫の特異性の有無、免疫の持続性などについての検討が更に必要であると思われる。今後われわれは、これらの点についての解析を進めてゆきたいと考えている。

## 結 論

*Rickettsia orientalis* (大関株) をマウスの腹腔内に注射し、発症の極期に Aureomycin を投与してこれを回復せしめると、R は長期に亘つてマウスの体内に生存し、且つこれらのマウスは同一 R の再接種に対して強い免疫を示す。

この際、これらのマウスの血中には感染後 80~100 日頃まで R が証明され、その後は臓器にのみ R が証明されるようになる。

このようなマウスに、Aureomycin 単独、或いは Aureomycin と Isravine、或いは Igrosin の併用連続投与を行つて、マウスの臓器内の R を除去することが出来た。これらの R 除去マウスは、同一 R の再接種に対して、強い免疫を示した。

すなわち、マウスにおける *R. orientalis* 感染の免疫においては、マウスの体内に生きた R が存在することは必ずしも必要ではないことを知つた。

## 文 献

- (1) 奥原広治、飯田広夫：*Rickettsia orientalis* の免疫に関する実験的研究（第 1 報）、北海道立衛生研究所報第 12 集、79~84、1961。
- (2) 石橋晏教：発疹熱の実験的研究、千葉医学会雑誌、21、1~32、昭18。
- (3) 川村明義、常松之豊その他：北海道札幌市円山にて捕獲せる野鼠から分離した *Rickettsia tamiyai* について、日本医事新報、No. 1611、5~7、昭30。
- (4) 飯田広夫：北海道におけるリケツチア症（エゾ熱を含

- めて)の研究, 日本伝染病学会雑誌, 35, 497~499, 1961.
- (5) Shishido, A., Ohtawara, M. et al. : The Nature of Immunity against Scrub Typhus in Mice, Jap. J. Med. Sci. & Biol., 11, 383~399, 1958.
- (6) Zdrodovskii, P. F. & Golinevich, H. M. : "The Rickettsial Diseases", Pergamon Press, Inc., 486~515, 1960.
- (7) Wilson, G. S. & Miles, A. A. : "Topley and Wilson's Principles of Bacteriology and Immunity" 4th. Ed., Arnold Co., 1,333~1,335, 1955.
- (8) Raffel, S. : "Immunity" 2nd Ed., Appleton Inc., 224~225, 1961.
- (9) Sergent, E. D. M. & Parrot, L. : Immunité et Prémunition, Ann. Inst. Past., 55, 385~401, 1935.
- (10) Parrot, L. & Parrot, G. : Sur la prémunition dans les rickettsioses, Arch. Inst. Past., Algérie, 27, 275~261, 1949.
- (11) Kuwata, T. : Analysis of Immunity in Experimental Tsutsugamushi Disease, J. Immunol., 68, 115~120, 1952.
- (12) Prince, W. H., Johnson, J. W. et al : Rickettsial Interference Phenomenon : A New Protective Mechanism, Science, 120, 457~459, 1954.
- (13) Takemori, N., Henmi, M. & Kitaoka, M. : Simultaneous multiplication of two different rickettsiae in the same cell, Proc. Soc. Exp. Biol., (N. Y.) 81, 633~636, 1952.

(受付 : 昭和38年9月1日)

## Studies on Immunity against *Rickettsia* *Orientalis* Infection in Mice, Part 2

Hiroji Okuhara and Hiroo Iida  
(Hokkaido Institute of Public Health)

It was reported in the first report that mice injected intraperitoneally with *Rickettsia orientalis* and recovered from the disease by the administration of Aureomycin retain *Rickettsia* for the long period and show a high degree of immunity to re-infection.

It was found possible to eliminate *Rickettsia* from such mice by the continuous administration of Aureomycin or Aureomycin plus Israviv (or Igrosin). It was found that these mice still show a strong immunity to re-infection. This suggests that the presence of live *Rickettsia* in mice is not always necessary for the immunity to re-infection.