日本脳炎の蚊媒介説に関する実験的研究

金沢大学医学部微生学教室(主任　谷教授)
専攻生　野　村　幸　男
Yukio Nomura

(昭和30年7月8日受附)

第1章　緒　　論

日本脳炎の人体及び動物体に伝播する経路については，いまだ確定的なものが発見されず，蚊媒介説或いは小滴感染説等が存在する．自然界における蚊より日本脳炎病毒を分離することに成功したものに三田村，北岡[1]，Hammon[2]，及び Sabin[3] 等があり，更に実験的研究の方面では三田村，北岡，安東[4][5]，沼田[6]，Hammon[7] 等のものがあり，蚊媒介説が有力である．

余は日本脳炎の蚊媒介説に関する実験的研究について聊か知見を得たので報告する．

第2章　自然界の蚊よりの日本脳炎病毒分離について

第1節　研　究　方　法

マウスは体重8g程度の幼若マウスを用いた．

1953年より1954年に亘り7月上旬より8月及び9月上旬迄の間，随時日沒後約30分して富山市内の人家及び小杉高等学校の畜舎にて吸虫管を用い，主としてコガタアカイエカ，アカイエカ，シナハマダラカのみを採集した．1回の採集蚊数は最低36匹，最高824匹にして採集困難な時は2日間に採集した蚊を合して実験に用いた．

採集した蚊は乳鉢にて磨砕し，それにリンゲル液を加えて10%(重量)稀釈液を作り，蚊の目方を0.03gとし，毎分5000回転30分間遠心して採取せる上清にペニシリン 5,000 Percc 單位を加えて 10^{-2} 倍液とし，ついで 10^{-3}，10^{-4}，10^{-5} 倍に階段稀釈液を作りその0.02cc ずつをマウス脳内に接種した．

マウスは3匹宛を1群となし，接種後のマウスは一括累代法を採用し，7日間をへて生存しているマウスをエーテルにて殺し，一方の脳半球は血液寒天平板及び肝臓ブイヨンに塗布し，他方の脳半球は pH 7.4 の無蛋白ブイヨンで10%脳乳剤稀釈液を作り遠心し，その上清を 10^{-2} 稀釈液とし，マウス脳内に接種し最高6代まで継代接種を行つた．又接種後3日以内に死亡するマウスは非特異的な原因による死亡とみなし次代への接種は行わなかつた．

第2節　実　験　成　績

第1表に示す如く実験回数は10回でその内コガタアカイエカによるものは7回，アカイエカの1回，シナハマダラカ2回で，成績はすべて陰性に終つた．死亡したマウスの脳半球より夫々培養して黄色ブドウ球菌，肺炎双球菌2例を証明し，恐らく化膿性脳膜炎にて死亡したものと推察される．

又採集日は7月中に4回，8月中に4回，9月中に2回で，採集日より見れば，自然界にて充分有毒蚊が存在すると推測されながら良い結果は得られなかつた．

第3節　小　　括

日本脳炎の病毒伝播に関して今迄に三田村，北岡，安東，Hammon，Sabin 等により蚊媒介によることの有力な根拠が示されているが，自然界における蚊よりの病毒証明は三田村及び北岡のみが成功している．

即ち氏等[7]は定期的に蚊を採集しその季節的消長を追求すると共に，自然界から採集した蚊の病毒保有についての検索を反復した．

病毒分離の方法は蚊をマウスに刺螫せしめな

第1表　自然界の蚊につき実施せる日本脳炎病毒分離の成績

実験番号	採集蚊	蚊数	採集日	吸血蚊数	実験成績
No. 1	コガタアカイエカ	36 匹	10/Ⅶ	36	－（4代）死
No. 2	シナハマダラカ	52 匹	30/Ⅶ	28	－（3代）死
No. 3	コガタアカイエカ	80 匹	31/Ⅶ	62	－（4代）死
No. 4	コガタアカイエカ	140 匹	29/Ⅶ	99	－（5代）
No. 5	コガタアカイエカ	100 匹	6/Ⅸ	67	－（6代）
No. 6	シナハマダラカ	41 匹	12/Ⅸ	30	－（4代）死
No. 7	コガタアカイエカ	452 匹	24/Ⅷ	415	－（6代）
No. 8	アカイエカ	319 匹	20/Ⅷ	275	－（5代）
No. 9	コガタアカイエカ	413 匹	15/Ⅷ	381	－（4代）死
No. 10	コガタアカイエカ	824 匹	12/Ⅷ	624	－（5代）

いで，蚊乳剤のマウス脳内接種によつた．

即ち蚊10匹を磨砕しこれに P.H 7.6 の牛肉ブイヨン0.2ccを加えて乳剤となしたるものに，ペニシリン5,000單位 Percc添加し 10,000回転20分間遠心してその上清を用いた．

その内日本脳炎と同定されたものは3株であつたと述べている．

他方，小林[8]，金子[9]，は流行地の蚊を毎日捕獲し7～554匹宛5日～20日間の間隔を以て，蚊乳剤を脳内に接種し6代まで継代接種したが，すべて陰性に終つたと述べている．

余も亦先人より比較的多数の蚊を用い，吸血蚊より病毒分離に成功しないかと予想し，竹内[10]のいう脳炎病毒の弱力なものはマウス継代移植2～3代で固定すると述べているところから，最高6代までマウス脳通過を行つたが，結果は陰性に終つた．

第3章　日本脳炎患者よりの病毒分離について

第1節　研究方法

発病より接種材料採取迄最低3日より最高11日間をへた患者につき，血液及び髄液を採集し，その後，最短2分，最長2時間10分の間に，マウス脳に接種した．

先ず患者の姿勢を横臥位に固定し，髄液圧を測定し，約10ccの髄液を採集し，マウス1匹につき0.025cc宛を脳内に接種し，3匹を1群として経過を観察，4～5日の後，立毛，痙攣，四肢麻痺，不穏等の定型的な日本脳炎の発症を来たしたものは眞性とみなし，中和試験にて同定し，病理検査も行つた．

又接種7日後にても何ら症候を呈しないマウスはエーテルにて殺して一括累代法により脳半球を無蛋白ブイヨンを用いて乳剤とし，6代迄継代接種して経過を観察した．

次に患者より血液を約5ccを採集し，それにヘパリン血液としてペニシリン 5,000 Per cc 單位を加え0.025ccずつ脳内接種を行い，更に腹部皮下の接種法をも使用して継代接種を行つた．

第2節　実験成績

第2表及び第3表に示す如く実験例は10例にてこの者より髄液及び血液を同時に採集し，髄液の陽性例はNo.9，No.10，の2例で20%の陽性率を示し，残りの8例はいずれも陰性であつた．

次で血液を0.025ccずつマウスに接種したもの10例中3例が陽性で 30%を示し，残り7例は陰性を示した．

以上の病毒によつて定型的な日本脳炎を発症したものは脳半球は病理学的検査により脳実質の充血及び漿液の浸出，円形細胞浸潤像を呈し，更に補体結合反応及び中和試験により日本脳炎によることが同定された．

第2表 日本脳炎患者の髄液より病毒分離

実験番号	マウス脳内接種量	発病より実験日迄の日数	採集より接種迄の時間	実験日時	発症の有無
No. 1	0.025cc	3 日	1時間30分	5/IX	(−)
No. 2	0.025cc	4 日	2時間10分	5/IX	(−)
No. 3	0.025cc	4 日	2時間10分	5/IX	(−)
No. 4	0.025cc	3 日	30分	5/IX	(−)
No. 5	0.025cc	5 日	10分	7/IX	(−)
No. 6	0.025cc	3 日	40分	27/VIII	(−)
No. 7	0.025cc	11 日	1時間30分	27/VIII	(−)
No. 8	0.025cc	4 日	1時間30分	27/VIII	(−)
No. 9	0.025cc	5 日	2分	5/IX	(+)
No. 10	0.025cc	5 日	2分	5/IX	(+)

第3表 日本脳炎患者の血液より病毒分離

実験番号	マウス腹部皮下注射量(脳内血液接種量)	発病より実験日迄の日数	採種より接種迄の時間	実験日時	発症の有無
No. 1	0.2cc+(0.025cc)	5 日	10 分	5/IX	(−)
No. 2	0.2cc+(0.025cc)	4 日	10 分	5/IX	(−)
No. 3	0.2cc+(0.025cc)	4 日	5 分	5/IX	(−)
No. 4	0.2cc+(0.025cc)	7 日	10 分	5/IX	(+)
No. 5	0.2cc+(0.025cc)	6 日	15 分	7/IX	(−)
No. 6	0.2cc+(0.025cc)	4 日	5 分	27/VIII	(−)
No. 7	0.2cc+(0.025cc)	6 日	30 分	27/VIII	(+)
No. 8	0.2cc+(0.025cc)	3 日	10 分	27/VIII	(−)
No. 9	0.2cc+(0.025cc)	6 日	5 分	5/IX	(+)
No. 10	0.2cc+(0.025cc)	3 日	5 分	5/IX	(−)

第3節 小　　括

笠原[11]によると髄液からの日本脳炎ウイルスの分離率は10%内外であつたと述べているが，余は発病後5日を隔て2例が陽性で20%の成績を得た．

小林[12]はウイルス分離は発病3日，5日の2回に検査したが，病毒は証明されなかつたと述べ，余は発病後5日目頃が良い結果が得られ，髄液を採集してからマウスに接種する迄の時間が重大な影響を及ぼすものと考え，時間を縮め接種まで2分間を要したものが良い結果を得た．

土屋[13]は23年度において早期患者血液を枕頭においてマウスに接種し19例中1例において病毒分離に成功したが，次回は全く陰性に終つたとし，これらは患者病日数は4～5日のその5例で，病日数が分離に関係するのではないかといつている．

笠原[15]は最近髄液9例中2例から脳炎病毒を分離したと述べているが，余の陽性例と略ゝ似た成績である．

次に文献に見られる髄液よりの病毒分離について見るに川村[16]は発病後4～8日目の8例は陰性(検査回数10回)，9日目及び11日目のものは各々1例のみ検出したと述べ，小林[17]は33例及び55例中1例ずつにのみ検出し，三田村[18]は8回の実験中6回(第2～第7病日)において陽性の成績を報告している．川村は「三田村氏等のいう如き，その頻度は高くはない」と述べている．

次に血液よりの病毒分離は稲田[19]によれば病日の極期，第5，第6，第7病日迄は陽性率が著しく高いといつている．余も亦10例中陽性を示したのは3例にしてその病日も6～7日目で最も良い結果が得られた．

次に諸家の血液からの病毒分離の実験例を示すと，三田村[20]は比較的容易なりと述べ，氏等の検出は6例(発病後6～7日まで)の中4例からウイルスを検出し，小林[21]等はこれに反し34例の患者血液を検するに全部陰性の結果を得たといい，川村[22]は発病後4～11日のもの全例に陰性の成績を得たという．

藤井[23]は血液中よりウイルスを分離するには血中病毒は第1週より第2週目に証明し易きものならざるやと述べている．

次に血液のマウス脳への接種は手技が稍ゝ繁雑で同時に脳穿刺後直ちに死亡することがあつた．たまたま北岡は幼若マウスの皮下，或いは腹腔内にウイルスを接種すれば良く罹患することを確認したと述べていることより余も腹部皮下に注射し満足すべき結果が得られた．

又稲田[25]がいう如く日本脳炎病毒分離は血液を用いる方が髄液を用いるより成績が良かつたと述べているが，余も血液の方が髄液を用いるよりも稍ゝ成績が良かつたと考える．

第4章　日本脳炎患者発生家屋より採集せる家蚊よりの病毒分離について

第1節　研究方法

日本脳炎患者の発生せる家屋より日没後30分して吸出管を用いて蚊を採集し，主に家蚊について病毒分離を試みた．

No.8，及び No.9 は日本脳炎疑似症にして，発病決定と同時に地方機関の消毒が行われるので，予報を受けると同時に発生地の人家におもむくため診断の確定をまたず，蚊を採集したわけである．その後眞性日本脳炎ではなく疫痢，髄膜炎と診断された．

第2節　実験成績

実験例は9例である．患家より採集された蚊属は主としてアカイエカ，コガタアカイエカ，シナハマダラカで合計214匹を数え，その内コガタアカイエカは109匹，アカイエカは81匹，シナハマダラカは24匹であつた．

第4表　日本脳炎患者発生家屋より採集せる家蚊よりの病毒分離　C.T.（コガタアカイエカ）C.P.（アカイエカ）A.H.S.（シナハマダラカ）

実験番号	患者性別	年齢(歳)	発病日	診断日	実験に使用した蚊数	患家よりの蚊属及び数	実験成績
No. 1	♀	12	17/Ⅷ	21/Ⅷ	C.T. 17匹	C.T. 17匹	－(3代)
No. 2	♀	13	18/Ⅷ	23/Ⅷ	C.P. 19匹	C.P. 19匹，C.T. 8匹	－(3代)
No. 3	♀	8	22/Ⅷ	24/Ⅷ	C.T. 34匹	C.P. 21匹，C.T. 34匹，A.H.S. 4匹	－(6代)
No. 4	♂	12	8/Ⅸ	12/Ⅸ	C.T. 22匹	C.P. 8匹，C.T. 22匹	－(5代)
No. 5	♂	5	21/Ⅷ	23/Ⅷ	C.P. 29匹	C.P. 29匹，C.T. 24匹，A.H.S. 18匹	－(2代)
No. 6	♂	4	21/Ⅷ	25/Ⅷ	C.T. 8匹	C.T. 8匹	－(3代)
No. 7	♀	4	17/Ⅷ	21/Ⅷ	C.T. 23匹	C.T. 23匹，A.H.S. 4匹	－(3代)
No. 8	♂	15	9/Ⅷ	24/Ⅷ	C.P. 8匹	C.P. 8匹	－(3代)
No. 9	♂	16	25/Ⅷ	29/Ⅷ	C.P. 25匹	C.T. 21匹，C.P. 25匹	－(3代)

以上よりの病毒分離は第4表に示す如く，すべて陰性に終つた．

第3節　小　括

小林[26]は患者発生家屋内その他で捕獲した蚊からの病毒分離を実験し，患家より6件，及び無関係の8件の家屋内で捕獲した蚊の病毒分離は14例68匹の蚊について検査しその結果はすべて陰性に終つたと述べている．

余も亦実験例9例，214匹について病毒分離を試みたが，すべて陰性に終つた．この病毒分離の困難なる理由として考えられることはその年に発生せる脳炎病毒の强弱が関係すると思われ，更に近来発病と同時に保健所等による嚴重な消毒が行われるために益々蚊の採集を困難にするために，以後の患者家屋からの病毒分離は一層困難になつて来る．特に面倒なることは日沒後であるために患家の理解ある協力なくしては家屋全般の蚊の採集が至難な事柄である．

第5章　蚊媒介に関する実験的研究

第1節　病毒吸吮蚊のマウス刺螫による日本脳炎の発生

第1項　研究方法

日本脳炎病毒 J．2869 株の脳半球よりリンゲル液の10倍稀釈脳乳剤を作り 10^{-2} 稀釈液を原液として実験に使用した．

この脳乳剤に20%のシロップ及び家兎脱繊維素血液を加えて混合し，これを滅菌せる綿球に吸收させ，次いで2日間空腹狀態にしたアカイエカ．コガタアカイエカを夫々1回に90匹ずつ，ガーゼに水をうるほし湿度を保つた籠の中に入れ，脳乳剤と共に暗所に2時間放置し，吸血して腹部の赤色に膨満し，有毒狀態になつたと思われる蚊を吸虫管にて取り出し，吸血後4日目に，あらかじめ背部の毛を脱毛して四肢及び尾を固定した3匹の幼若マウスに1晝夜自由に刺螫せしめ，翌朝この蚊群を取り出し，更に吸血日より計算して8日目，及び14日目に同様にマウス刺螫を行わしめた．この間，蚊はシロップを用いて飼育した．刺螫されたマウスの観察期間は7日間とし実験後4日目に発症したマウスの脳をリンゲル液にて10倍稀釈脳乳剤を作りこれにペニシリン5000単位 Percc を添加し次代マウスの脳内に接種して病毒の固定をはかつた．

又7日後にも発症しないマウスはエーテルにて殺し上記の方法により作つた脳乳剤を，マウス脳内に0.02ccずつ接種し一括累代法にて継代接種を行つた．

以上の他，対象として3匹のマウスに生理食塩水を脳内に 0.02cc ずつ注入して，7日目ごとにエーテルにて殺し継代接種を試みた．

第2項　実験成績

第5表に示す如く実験番号 No.1 は吸毒した

第5表　吸吮蚊の刺螫によるマウスの発症状況

実験番号	使用した蚊属	吸吮後の日数	初　代	2　代	3　代	4　代	備　考
No. 1	C.T. (68匹)	4 日	◒ 7日→ ○○ 7日→	● 6日 ● 6日→ ● 6日 ○○ 7日→	● 5日 ● 5日→ ● 5日 ○○ 7日→	● 5日 ● 5日→ ● 5日 ○○	● 発症 ◒ 疑症 ○ 無症候
No. 2	C.P. (74匹)	4 日	○ 7日→ ○○ 7日→	◒ 5日→ ○ ○○ 7日→	● 6日 ● 6日→ ○○○ 7日→	● 5日 ● 5日→ ○○○	C.T.コガタアカイエカ C.P.アカイエカ
No. 3	C.T. (60匹)	4 日	● 7日→ ○○ 7日→	● 5日 ● 5日→ ○○ 7日→	● 5日 ● 5日→ ○○ 7日→	● 5日 ● 5日→ ○○	

Culex tritaeniorhynchus Giles の68匹を，4日目に3匹の幼若マウスに刺螫せしめたところ7日目に1匹より日本脳炎の疑似症が認められた．よつてこれより2代目のマウスにうえたところ6日目に立毛，四肢麻痺，スタート姿勢を発して死亡したために，その脳半球を10倍脳乳剤稀釈液とし，これにペニシリン5000単位 Perccを加えて0.02cc ずつ脳内に接種し，第3代目は5日目に定型的日本脳炎の発症を来たして死亡し継代接種した．他の初代2匹は陰性に終つ

た.

又実験 No.2 は吸毒した Culex pipiens pallents conquilett の74匹を4日後にマウスに刺螫させたるに第2代の1匹に5日目に疑いの日本脳炎様の発症を認め以後第3代，第4代，第5代にも発症が認められた．他の初代マウス2匹は陰性に終つた.

実験 No.3 は吸毒した Culex pipiens Pallents conquilett の60匹を4日後にマウスに刺螫せしめたるに初代の1匹に7日目に定型的日本脳炎の発症を認め以後も継代接種にて発症が確認された．残りの初代2匹には発症が認められなかつた.

対象群のマウスから何ら症候が現われなかつた.

吸血後第8日目，第14日目にも同様の方法によりマウスを刺螫せしめたが発症が認められなかつた.

第2節　病毒吸吮蚊の磨砕乳剤によるマウス脳内接種について

第1項　研究方法

日本脳炎病毒 J・2869 株をリンゲル液にて10倍脳乳剤とし，これをアカイエカ，コガタアカイエカ夫々毎回90匹宛に前法と同様に吸飲させ，吸毒後4日目，8日目，14日目にリンゲル液にて10倍蚊乳剤稀釈液を作り5000回転30分間遠心し，その上清にペニシリン5000単位 Percc を加えて 10^{-2}, 10^{-3}, 10^{-4} 倍稀釈液を作り，1群3匹とした幼若マウス脳内に 0.02cc ずつ接種し前記と同様な観察方法をとり，一括累代法により継代接種を行つた.

第2項　実験成績

実験 No.4 は Culex tritaenior hynchus Giles の64匹に 10^{-2} 倍稀釈液を吸わしめ，その後4日後にマウスに接種した.

即ち第6表に示す如く初代の3匹に接種後5日目に夫々日本脳炎の発症を来たし，2代，3代，4代にも発症が見られた．第8日目，第14日目の実験はすべて陰性に終つた.

実験 No.5 は Culex pipiens Pallents conquilett の51匹に 10^{-2} 倍稀釈液を吸わせ，その後4日目に接種した．初代3匹は夫々5日後に定型的な日本脳炎が発症し第2代，第3代にも同様発症が認められた．10^{-3}, 10^{-4} は第6表に示す如く夫々陰性に終つた.

第6表　吸吮蚊の蚊乳剤のマウス脳内接種による発症状況

実験番号	稀釈度	使用した蚊属	吸吮後の日数	初代	2代	3代	4代
No. 4	10^{-2}	C.T. (64匹)	4日	● 5日→ ● 5日→ ● 5日→	[● 5日 ● 5日 → [● 5日 ● 5日 → [● 5日 ● 5日 →	[● 5日 ● 4日 → [● 4日 ● 4日 → [● 4日 ● 4日 →	[● ● [● ● [● ●
No. 5	10^{-2}	C.P. (51匹)	4日	● 5日→ ● 5日→	[● 5日 ● 4日 → [● 5日 ● 5日 →	[● 5日 ● 5日 → [● 5日 ● 4日 →	[● ● [● ●
	10^{-3}	C.P. (32匹)	4日	○ 7日 ○ 7日 →	[○ 7日 ○ 7日 →	[○ ○	
	10^{-4}	C.P. (40匹)	4日	○ 7日 ○ 7日 →	[○ 7日 ○ 7日 →	[○ ○	

第3節　小　　括

蚊体内における病毒の運命を追及する方法は，多量の病毒を蚊体内に吸引させその病毒が蚊体内において如何なる運命をとるかを，蚊を磨砕してマウス脳内に接種するという方法以外には考えられないとされ，この方法によつて三田村[27]は吸血させた Culex tritaenior hynchus Giles 及び Culex pipiens Pallents conquilett を1週間から1カ月間室温に保つた後マウスに吸

いつかせ，或いはその乳剤をマウスの脳内に接種し，初代マウスは発症が認められなかつたが，2代後に動物罹患に成功したと述べ，更に氏等は人工的に感染させた蚊の乳剤をマウス脳内に接種し蚊体内の病毒量を逐日的に測定し病毒は蚊体内において吸吮後一旦減量するが，再び増殖するものであることを明らかにした．又同時に行われたマウス刺螫実験において初代動物に脳炎発症を認めたという．

又安東[28]は吸毒蚊と共にマウス2匹ずつを飼育し，被刺螫マウスはすべて10日間の観察期間後に屠殺し次代に接種し，1例は第2代目の1匹に，他の1例は第3代，第4代に各2系の日本脳炎病毒を得たと述べている．

次に三田村[27]は吸毒した蚊は有毒となるためには3日から2～3週間を必要とし，一旦有毒となつた蚊は終生病毒を保有すると述べている．

又高木[29]は病毒吸引後16時間及び24時間に蚊体内に病毒を証明したものは1例もなかつたと述べ，更に金子[30]も亦，吸毒蚊100匹を用いて刺咬による日本脳炎罹患試験は1日目，3日目，5日目，8日目に行つたが，成績は陰性に終つたと報告している．

余は Culex tritaeniorhynchus Giles を用いて病毒を吸吮させ，次でマウス刺螫によつて初代の1匹に日本脳炎を発症させるのに成功したが，残り2例は2代目で始めて発症した．

又病毒吸吮蚊を磨砕してマウスに接種したところ，吸毒後4日目に初代マウスに全部発症させることが出来た．

即ちこれらの実験は日本脳炎病毒が蚊によつて人間及び動物に伝播されるという三田村及び北岡の説を支持する実験成績である．

上記の実験に使用したマウスが日本脳炎に罹患したことは臨床症候，中和試験，補体結合反応，及び病理所見より確認された．

第6章 夏期におけるモルモットの日本脳炎補体結合反応について

第1節 研究方法

蚊の未だ発生しない4月上旬にモルモットを購入し，あらかじめ日本脳炎の抗体の存じないものを50匹用意し，1群を10匹とした．

即ちA群は全然防蚊装置をほどこさないで開放飼育し，B群は完全なる防蚊装置をほどこし成虫蚊の発生する時期には D.D.T. を撒布し病院の研究室内で飼育した．

C群は防蚊装置をほどこした箱の中に置き，箱内に富山市内の各地で7月初旬より9月中旬までの間に採集した幼虫より翅化させたアカイエカ，コガタアカイエカの総計2820匹を入れた．

D群は上記と同様に防蚊装置をほどこした箱内に置き富山市内及び動物舎で，7月初旬より9月中旬迄の間に採集した成虫のコガタアカイエカ総計6239匹を入れた(吸血蚊を含む)．上記の防蚊装置は寧ろ蚊の遁走を防ぐための装置である．

又E群には人家に依頼して防蚊装置をほどこさないで飼育した．

以上の各群のモルモットは7月8日，8月22日，9月12日の3回にわたり心臓穿刺によつて約5ccの血液を採集し10月点旬に一括して補体結合反応試験を施行した．

第2節 実験成績

第7表 A) モルモットの補体結合反応について

実験番号	7月8日		8月22日		9月12日	
	1:2	1:4	1:2	1:4	1:2	1:4
No. 1	(－)		(－)		(－)	
No. 2	(－)		(＋)		(＋)	
No. 3	(－)		(－)		(－)	
No. 4	(－)		(－)		(－)	
No. 5	(－)		(－)		(死)	
No. 6	(－)		(－)		(死)	
No. 7	(－)		(－)		(－)	
No. 8	(－)		(－)		(－)	
No. 9	(－)		(－)		(－)	
No. 10	(－)		(－)		(－)	

第8表 B) 防蚊装置内のモルモットの補体結合反応について

実験番号	7月8日		8月22日		9月12日	
	1:2	1:4	1:2	1:4	1:2	1:4
No. 1	(−)		(−)		(−)	
No. 2	(−)		(−)		(−)	
No. 3	(死)		(死)		(死)	
No. 4	(−)		(−)		(−)	
No. 5	(−)		(−)		(−)	
No. 6	(死)		(死)		(死)	
No. 7	(−)		(−)		(−)	
No. 8	(−)		(−)		(−)	
No. 9	(−)		(−)		(−)	
No. 10	(−)		(−)		(−)	

第9表 C) 幼虫より翅化した家蚊と飼育したモルモットの補体結合反応について

実験番号	7月8日		8月22日		9月12日	
	1:2	1:4	1:2	1:4	1:2	1:4
No. 1	(−)		(−)		(−)	
No. 2	(−)		(死)		(死)	
No. 3	(−)		(−)		(−)	
No. 4	(−)		(+)		(死)	
No. 5	(−)		(−)		(−)	
No. 6	(−)		(−)		(−)	
No. 7	(−)			(+)	(+)	
No. 8	(−)		(−)		(死)	
No. 9	(−)		(−)		(−)	
No. 10	(−)		(−)		(−)	

A群の実験動物は10例で7月8日の補体結合反応は夫々陰性を示し，8月22日に10例採血し1例(No.2)が血清稀釈1：2で陽性，9月12日迄に2匹死亡し8例採血 No.2 のみが陽性であつた．

B群の10例中死亡したもの2例で8例について補体結合反応を見ると，7月8日，8月22日，9月12日に採血したもの悉く陰性であつた．

C群は7月8日に陰性を示し8月22日迄に1例死亡し，9例中2例(No.4, No.7)陽性，9

第10表 D) 成虫蚊と飼育したモルモットの補体結合反応について

実験番号	7月8日		8月22日		9月12日	
	1:2	1:4	1:2	1:4	1:2	1:4
No. 1	(−)		(−)		(−)	
No. 2	(−)		(+)		(+)	
No. 3	(−)		(−)		(−)	
No. 4	(死)		(死)		(死)	
No. 5	(−)		(死)		(死)	
No. 6	(−)			(+)		(+)
No. 7	(−)			(+)	(+)	
No. 8	(−)		(−)		(−)	
No. 9	(−)		(−)		(−)	
No. 10	(−)		(−)		(−)	

第11表 E) 人家内に飼育せるモルモットの補体結合反応について

実験番号	採血	7月8日		8月22日		9月12日	
		1:2	1:4	1:2	1:4	1:2	1:4
No. 1	5cc	(−)			(+)	(+)	
No. 2	5cc	(−)		(−)		(−)	
No. 3	5cc	(−)		(死)		(死)	
No. 4	5cc	(−)		(−)		(−)	
No. 5	5cc	(−)		(死)		(死)	
No. 6	5cc	(−)		(−)		(−)	
No. 7	5cc	(−)		(−)		(−)	
No. 8	5cc	(−)		(死)		(死)	
No. 9	5cc	(−)		(−)		(−)	
No. 10	5cc	(−)		(−)		(−)	

月12日迄に2例死亡し採血7例中1例(No.7)陽性であつた．

D群は7月8日迄に1例死亡し採血9例ですべて陰性を示し，次で8月22日迄に1例死亡し採血せる8例中3例(No.2, No.6, No.7)が陽性，9月12日に8例採血しこの3例が陽性であつた．

E群は7月8日に夫々陰性を示し8月22日迄に3例死亡し，採血7例中陽性は1例(No.1)であり，9月12日に7例採血し陽性は同じくこの1例であつた．

以上の実験例中8月22日の採血は夫々補体結

合抗体価が高く，9月12日になつて稍ゝ低い抗体価が得られた．

第3節 小 括

この種の実験的研究の一部は既に竹内，三上，沼田，高山，山根等により発表されている．

殊に山根[31]は岡山にて蚊の実際的に消滅した時期12月～2月に生れたる仔犬11匹を2群に分ち，前者の5匹は昼間外に遊ばせて夜は金網と蚊帳を張つた箱に入れ，他の6匹は放ち飼いとして毎日1～2回採血して血中抗体の消長を見ると，箱外に開放したる群は夏を過ぎると著明な抗体を得たが，これに反して隔離した群には少しも抗体が証明されなかつたし，仔犬は昼間は箱外で戯れ共に同じ食器で食餌をとり，又互になめあつたりしているから若し接触や経口感染とすれば両群の間の抗体産生にこのようにはつきりした差が現われないことから，ウイルスの媒介は夕刻から出てしかもかやをとおらない何者かであることは想像に難くないといい，多分蚊の刺螫によるのではないかと発表した．

沼田[32]は1951年の防蚊室内飼育モルモット13匹における補体結合反応は悉く陰性であり，無防蚊室内飼育モルモットについて同上試験を行つたところ11匹中3匹に陽性を示したといい，又厚生省の衛生検査指針[33]によると本症の大流行時には全モルモットの約50%が本抗体を獲得するといい，高山[34]は東京都における1948年の観察では8月から10月迄に全モルモットの61.9%に本抗体が存在したと述べている．

但し竹内[35]は防蚊及び無防蚊装置内に家兎を用いて18カ月間に亘り中和能力を検したるにすべて差違を認めなかつたと発表した．

余は状況を異にしたる種類のモルモットの補体結合反応を検したるに，防蚊装置のモルモットはすべて陰性を示し，幼虫を翅化せる家蚊により刺螫されたモルモットの補体結合反応は8月22日に22.3%，9月12日に14.2%の陽性を示した．三田村[27]等のいう有毒化した蚊は終生病毒を保持し，更に卵巣感染を生じて幼虫も有毒化しているために補体結合反応が陽性となつたのかも知れないが，更に実験を重ねる必要を認める．

次に成虫蚊により刺螫したモルモットの補体結合反応は8月22日に37.5%の陽性を示し，9月12日に37.5%の陽性を示したのは，自然界より病毒を吸吮しこれがかくの如き高い補体結合反応を来たしたと思考される．

次に人家内に飼育せるモルモットの補体結合反応は8月22日に11.1%の陽性を示し，9月12日に始めて14.2%の陽性成績を示した．

自然界に放置せるモルモットの該試験成績は8月22日に14.2%，9月12日に14.2%の陽性成績を示した．

この2例は三上[36]等のいう恐らく蚊によつて補体結合反応が陽性となつたものであるとの考えに一致するものでなかろうか．

第7章 結 論

1) 自然界に存在する蚊を7月，8月及び9月において最低は36匹，最高824匹を採集し蚊乳剤を作り，マウス脳内に接種した10回の実験において日本脳炎病毒の分離は悉く陰性に終つた．

2) 日本脳炎患者から，発病後早きは2日，遅い例は11日を経て髄液をマウス脳内に接種したるに，実験例数10例の内2例に日本脳炎病毒を分離し，又同患者血液をマウスの腹部皮下に接種して経過を観察したるに10例中3例において病毒分離に成功した．

3) 9例の日本脳炎患者発生家屋より採集したアカイエカ及びコガタアカイエカより病毒分離を試み，蚊乳剤をマウス脳内に接種したが，すべて陰性に終つた．

4) 蚊による日本脳炎媒介の実験的研究を行

つた成績は次の如くである.

i) J. 2869株を乳剤としてアカイエカ及びコガタアカイエカに吸毒させ，4日目にマウスに刺螫せしめた3回の実験ではいずれもマウスの発症を確認した.

ii) 吸毒後4日目のコガタアカイエカ及びアカイエカを磨砕し蚊乳剤としてマウス脳内に接種した2回の実験は，初代のマウスから定型的日本脳炎が発症した.

5) モルモットを用いて日本脳炎補体結合反応について研究を行つた.

即ちA群を10匹とし4月上旬より開放装置の内に入れ，B群の10匹は防蚊装置を施し，C群の10匹は防蚊装置の内におき富山市内より幼虫を採集し，7月より9月初旬に亘り翅化せしめた成虫蚊を入れたその数は2820匹であつた.

D群の10匹は防蚊装置の内に成虫数6239匹を放ち飼育した.

E群の10匹は自然界に放置した.

以上の各群の補体結合反応を見るに，D群が最も高い陽性率を示し，次でC群，E群，A群の順に陽性を示し，絶対防蚊のB群のみ陰性であつた.

擱筆に当り恩師谷教授の御懇篤なる御指導と御校閲に対し衷心より感謝の意を表します.

文　献

1) 北岡： 日本医学会誌，第12回; 47～68, (1947). 2) Hammon: Ameri. J. Hyg. 50: 51～56, (1949). 3) Sabin, A. B.: Ameri. J. Hyg. 51: 36～62, (1950). 4) 安東： 細菌学雑誌，559号：437～460, (1942). 5) 安東：細菌学雑誌，560号：481～497, (1942). 6) Hammon: Ameri. J. Hyg. 50: 46～50, (1949). 7) 三田村・北岡： 日本脳炎, 131, (1948～1949). 8) 小林： 東京医事新誌, 3004: 3008, (1936). 9) 金子： 東京医事新誌, 3006: 3188, (1936). 10) 竹内： 関西医事, 261号: 3, (昭和10年). 11) 笠原： 日本脳炎, 48, (1950～1951). 12) 小林： 東京医事新誌, 3004号: 3004, (1936). 13) 土屋： 日本脳炎, 60, (1950～1951). 14) 安東： 日本脳炎, 13, (1950～1951). 15) 笠原： 日本脳炎, 126, (1948～1949). 16) 川村：東京医事新誌, 3007号: 3229, (1936). 17) 小林：東京医事新誌, 3004号: 3004, (1936). 18) 三田村： 東京医事新誌, 2968号: 405, (1936). 19) 稲田： 東京医事新誌, 2968号: 413, (1936). 20) 三田村： 東京医事新誌, 2968号: 410, (1936). 21) 小林： 東京医事新誌, 2968号: 395, (1936). 22) 川村： 東京医事新誌, 2975号: 911, (1936). 23) 藤井： 日本伝染病学会雑誌, 13, (6): 662, (昭和14年). 24) 稲田： 東京医事新誌, 2968号: 414, (1936). 25) 稲田： 東京医事新誌, 2968号: 420, (1936). 26) 小林： 東京医事新誌, 3002号: 2887, (1936). 27) 三田村： 東京医事新誌, 2957号: 3056～3061, (昭和8年). 28) 安東： 細菌学雑誌, 559号: 437～460, (1942). 29) 高木： 東京医事新誌, 3004号: 3008, (1936). 30) 金子：東京医事新誌, 3027号: 1013～1016, (昭和12年). 31) 山根： 日本伝染病学会雑誌, 14, (6): 402, (昭和15年). 32) 沼田： 十全医学会雑誌, 55, (3): 381, (昭和28年). 33) 厚生省衛生検査指針： 11: 128～159, (1950). 34) 高山： 日本細菌学雑誌, 4: 190, (1950). 35) 竹内： 衛生伝染病学雑誌, 38: (1～4), 119, (昭和18年). 36) 三上：実験医学雑誌, 28: 112～122, (1944).