

Rickettsia prowazeki 及び Rickettsia mooseri の 發育促進物質に関する研究

金澤醫科大學細菌學教室(主任谷教授)

鮎 谷 喜 兵 衛

Goriya Kihue

(昭和23年4月23日受附)

第1章 緒 言

R. P. 及び R. m. は向細胞性で、その發育には生きた細胞が必要である。従つて一般細菌用の培養基を用ひてRを純粹培養することは不可能であり、今日に於ても組織培養の域を脱せず、一般には孵化鶏卵及びマウス、海狸、家兎等の動物體內繼代接種により株を保存してゐる。而して之等 R. p. に感受性を有する動物の諸臓器を材料として發疹チフスワクチンを作つた先人の業績は多々存するが、或ひはその効力大ならず、或りひは効力大なるも製造技術困難にして大量生産に適せぬ憾みがあつた。1938年Coxの孵化鶏卵卵黄囊内接種法出づるに及んで、R. p. の大量獲得の目的は半ば達せられたかの觀があつた。

余も2孔法(第2章第2節参照)によりR. p. 及びR. m. の鶏卵内培養を行ひ、それらの發育促進物質について研究の歩を進めた。即ち鶏卵内内容物、海狸及び家兎の前眼房水、腦髓及び睾丸の化學的組成よりみて各種アミノ酸、ヒヨ

レステリン、レチチン、各種ビタミン類、各種ホルモン劑を選び、孵化鶏卵内添加培養を行つた。

翻つて上述の添加培養に関する先人の業績を顧みるに、貴實院²⁾は痘毒の孵化鶏卵内培養に於て上述の諸添加物質が發育促進作用を有し、就中グルタミン酸曹達が顯著なる作用を示したと報告してゐる。R. m. に對するマウスの感受性を高める要因として白川³⁾はビタミンC及び或種ホルモン劑をあげ、有田⁴⁾はビタミンA, Bは促進するが、Cは影響なしと述べ、又崔⁵⁾はビタミンCがR. m. の發育を佳良ならしめたと報告してゐる。然し未だ各種アミノ酸、ヒヨレステリン、レチチンがR. p. 及びR. m. の發育促進物質として實驗に供せられたのを聞かない。余の研究に於て之等の物質の或物はよくR. p. 及びR. m. の發育を促進せしめ、殊にグルタミン酸曹達は顯著なる増殖を認めしめたるを以て茲に一括報告する。

第2章 實驗材料及び實驗方法

第1節 實 驗 材 料

1. 培養に供したR.

R. p. 及びR. m. は傳染病研究所北岡正見博士より惠與された伊藤株及び横井株である。

2. 鶏 卵

鶏卵は市内養鶏業者と特約購入した新鮮なる白色レグホンの受精鶏卵を使用した。

3. 添加物質

a) アミノ酸

- i) グリコロール(武化), ii) d-アラニン(武化), iii) l-アスパラギン酸(武化), iv) l-グルタミン酸ソーダ(武化), v) l-チロジン(武化), vi) l-トリプトファン(武化), vii) l-チスチン, viii) l-チステイン(武化), ix) d-アルギニン(武田)で、之等の

濃度は普通 1/100mol 蒸留水水溶液として使用した。但し溶解度の低い品種に於ては 1/1000-1/10000mol 溶液とした。b) i) ヒヨレステリン(武化), ii) レチチン(武化), c) ビタミン, i) ビタドール(林兼): ビタミン AD を含んだ注射液にして, 本液 0.5cc 中ビタミン A 6 萬國際單位, ビタミン D 12,000 國際單位を含有する。ii) ビタミン B (富山化学): ビタミン B₁ 結晶 4mg を蒸留水 2cc 中に溶解して作ったもので, 實驗に於ては之を原液とした。iii) ビタミン C (武田): 1cc 中に日本藥局方ビタミン C 0.05g を含む。

b) ホルモン劑 i) スペルマチン(帝國社臟器藥研究所): 1cc 中有効成分 30mg 含有すると稱せられる。ii) ビバモン(田邊): 水溶性男性ホルモン劑にして 1cc 中 25 鷄冠單位を有すると稱せられる。iii) オーフオルミン(帝國社臟器藥研究所): 卵巢實質より抽出したる總ホルモン製劑にして 1cc 中有効成分 30mg を含有すると稱せられる。iv) オヴァホルモン(帝國社臟器藥研究所): 1cc 中卵胞ホルモン 100 M. E. を含有すると稱せられる。

第2節 實驗方法

1. 培養法

培養法はほぼアメリカ合衆國發疹チフス委員會の方法に準じた。

i) 接種材料: 感染海狸腦を發熱第 2~4 日目に無菌的に取出し, 乳鉢の中で磨碎し, 滅菌生理的食鹽水で 10% の乳劑となし, 毎分 1000 回廻轉 10 分間遠心して上液を採り接種材料とする。

ii) 卵接種法: 39°C にて孵卵 7 日目の受精鶏卵に 2 孔法で接種する。先づ暗室にて電球透過光線により横位鶏卵の脈絡尿膜の輪廓をマークして置き, その遊離端の中央部及び卵の鈍端部(氣室)を 3% ヨードチンキで消毒し, この兩箇所に錐で小孔を開け, 脈絡尿膜遊離端中央部の開口部に 1½ インチ, 21 ゲージの針を

水平に通し接種液 0.5cc を卵黄の中央部に注射し, 次で接種孔を 70% アルコールで拭いて溶融パラフィンで兩孔を閉ぢる。

iii) 接種した鶏卵は 36°C の孵卵器に置く。接種後 6 日目に卵の氣室部表面をヨードチンキ, 次で 70% アルコールで清拭し, 氣室上部の卵殻を滅菌ピンセットで破り, 卵黄囊の内容全部をペトリ皿の中にあける。

iv) 卵黄囊の小片を採り, 組織を載物ガラス上に塗抹して室温で乾燥し, メチールアルコールで固定しギームザ染色液で染色し, 雑菌混入なきを確かめ R の多い卵黄囊を接種材料として使用し, 同様の方法で次代卵に繼種する。以上の如くして繼代接種を行ふ。

v) 添加物質は 2~3 を除き悉く蒸留水にて 1/100 Mol 水溶液となし, pH を 7.0 に修正しザイツの濾過板にて濾過したものをを用いた。而して之を添加して鶏卵内培養をなすには, 注射筒内で接種用 10% 卵黄囊乳劑 0.5cc に上記添加物質の 0.1cc を加へ, 混和して注射した。對照として生理的食鹽水を同容量添加したものを設けた。

2) 判定方法

添加物質を加へた接種群と對照群の, 鶏胎仔に近い卵黄囊の部分より小切片を切り取り載物ガラス上に塗抹, ギームザ染色法を施し 1 視野に於ける R の數を計算し R の殖増を比較した。その際網眼レンズを使用し, 鶏卵 1 個につき 3 枚の標本を作り, 各標本についてその兩端及び中央に於て夫々 10 視野を観察, 平均してその 1 視野菌數を計算した。而して對照群の 1 視野平均菌數を以て添加接種群のそれを除した數値を以て平均増殖率と稱して成績を比較することにした。

3. 海狸に對する毒力試験法

R.p. 及び R.m. 感染卵黄囊の 1% 生理的食鹽水乳劑 1cc にグルタミン酸曹達の 1/100 Mol 水溶液 1cc を添加し, 之を正常海狸の腹腔内に接種し, 潜伏期間の長短及び發熱の高低を追及し, 毒力の比較をも試みた。

第3章 實驗成績

第1節 R.p. に對する諸種アミノ酸の發育促進作用

第1項 グリココル

グリココルはアミノ酸中最も簡單なる構造式を有し, 從來一般細菌に對しては良好なる榮養

物質とみなされて居らず, 特に Pierce は細菌の發育を阻害すると稱してゐる。R.p. に對しても, 2 代卵, 3 代卵, 5 代卵の 3 代にわたつて觀察したが, 第 1 表に示す如く同様良好な成績を示さず, 増殖率は 1.6 であつた。然し Pierce

の言ふようにその發育を阻害するようなことは認められなかつた。

率は 2.72 であつた。

第1表： グリコルの影響

	世代	使用卵數	生存卵數	1視野平均菌數	増殖率	平均増殖率
添加群	2	5	4	140.	2.	1.6
	3	5	5	150.	1.76	
	4	5	4	550.	1.03	
	5	5	4	550.	1.03	
對照群	2	5	5	70.	1.	1.
	3	5	5	85.	1.	
	5	5	5	530.	1.	

第2項 d-アラニン

d-アラニンは現在迄細菌に對してはグリコルと同様良好なる營養物質とみなされなかつたが、R.p. に對しても 2代卵、3代卵、5代卵の3代にわたり觀察したが、第2表に示す如く増殖率は 1.38 で發育増殖を促進する作用は殆ど認められなかつた。

第2表： d-アラニンの影響

	世代	使用卵數	生存卵數	1視野平均菌數	増殖率	平均増殖率
添加群	2	5	4	100.	1.25	1.38
	3	5	4	160.	2.0	
	5	5	5	500.	0.90	
對照群	2	5	4	80.	1.	1.
	3	5	5	85.	1.	
	5	5	5	550.	1.	

第3項 L-アスパラギン酸

アスパラギン酸は植物殊にその幼芽中にアスパラギンとして存在し、植物の發育に關して重要なアミノ酸である。而してアスパラギン酸曹達と共に以前より細菌培養基に屢々配分されてゐるが、細菌に對しその發育を促進すること強く、加之或細菌に對しては必須の營養物とさへ稱されたものである。

R.p. に對しても、2代卵、3代卵、4代卵、5代卵の4代にわたり觀察したが、第3表に示す如く發育増殖を促進すること強く、その増殖

第3表： L-アスパラギン酸の影響

	世代	使用卵數	生存卵數	1視野平均菌數	増殖率	平均増殖率
添加群	2	5	5	530.	3.4	2.72
	3	5	5	750.	3.40	
	4	5	4	4000.	1.81	
	5	5	4	870.	2.3	
對照群	2	5	4	157.	1.	1.
	3	5	5	220.	1.	
	4	5	4	2200.	1.	
	5	5	4	375.	1.	
	5	5	4	375.	1.	

第4項 グルタミン酸曹達

d-グルタミン酸曹達はアスパラギン酸と同様、從來細菌の培養に窒素源として用ひられたが、2代卵より6代卵に至る5代にわたり觀察した所、第4表の成績にみる如く、R.p. に對しては極めて優秀なる發育促進作用を認めしめ、増殖率 4.6 で使用藥品中最高であつた。

第4表： グルタミン酸曹達の影響

	世代	使用卵數	生存卵數	1視野平均菌數	増殖率	平均増殖率
添加群	2	5	5	670.	4.2	4.6
	3	5	4	1760.	8.0	
	4	5	5	6600.	3.	
	5	5	3	4250.	2.5	
	6	5	3	2110.	5.7	
對照群	2	5	5	160.	1.	1.
	3	5	3	220.	1.	
	4	5	4	2200.	1.	
	5	5	5	1700.	1.	
	5	5	5	1700.	1.	
	6	5	3	270.	1.	

第5項 L-チロジン

L-チロジンは溶解度が低い爲、余は 1/1000 Mol 水溶液を使用した。L-チロジンは通常動物性蛋白質の分解によりて得られ、生物の發育に關して重要なアミノ酸の一つであるが、細菌に對しては發育を促進せしめる範圍及び程度共に一般に佳良ならずとみなされてゐる。然し R.p.

の發育増殖に對しては第5表に示す如く比較的
良好なる成績を示し、増殖率2.0であつた。

第5表：L-チロジンの影響

	世 代	使用 卵數	生存 卵數	1 視 野 平均菌數	増殖率	平 均 増殖率
添加群	3	5	4	2050	1.6	2.0
	4	5	4	6960	2.4	
對照群	3	5	3	1250	1.	1.
	4	5	5	2900	1.	

第6項 L-トリプトファン

L-トリプトファンは動物の營養上特殊の意義
を有するもので、食物中之を缺く時は容易に營
養障害を起すものとせられる。而して細菌に對
して良好に作用するとみなされてゐるが、R.p.
に對しても第6表に示す如く増殖率2.8で、比
較的良好なる發育促進作用を示した。

第6表：L-トリプトファンの影響

	世 代	使用 卵數	生存 卵數	1 視 野 平均菌數	増殖率	平 均 増殖率
添加群	3	5	4	3750	3.0	2.8
	4	5	5	7540	2.6	
對照群	3	5	4	1250	1.	1.
	4	5	5	2900	1.	

第7項 L-チスチン

L-チスチンは水に難溶性であるから蒸溜水に
て $\frac{1}{10000}$ Mol 水溶液を作り使用した。

チスチンは殆ど凡ての蛋白質に存在し、蛋白
質の基礎成分の一つに屬する化合物にして、生
物の發育に重要なアミノ酸である。而してそ
の構成上、アミノ酸中硫黄原子を有する唯一の
ものである。細菌に對する發育促進作用につ
いては、發育を促すとするもの、影響を與へずと
するもの、發育を阻止するとするもの等諸説あ
るも、R.p.に對しては第7表に示す如く増殖
率1.36で、發育増殖を促進する作用は殆ど認め
られなかつた。

第7表：L-チスチンの影響

	世 代	使用 卵數	生存 卵數	1 視 野 平均菌數	増殖率	平 均 増殖率
添加群	2	5	3	230.	2.0	1.36
	3	5	4	340.	0.6	
	5	5	4	2850.	1.5	
對照群	2	5	5	110.	1.	1.
	3	5	4	550.	1.	
	5	5	5	1890.	1.	

第8項 L-チステイン

2代卵、3代卵、5代卵の3代にわたり觀察
したが、その成績は第8表に示す如く増殖率
1.21で發育促進作用は殆ど認められなかつた。

第8表：L-チステインの影響

	世 代	使用 卵數	生存 卵數	1 視 野 平均菌數	増殖率	平 均 増殖率
添加群	2	5	5	170.	1.53	1.21
	3	5	4	390.	0.70	
	5	5	4	2648.	1.4	
對照群	2	5	5	110.	1.	1.
	3	5	4	550.	1.	
	5	5	5	1890.	1.	

第9項 d-アルギニン

d-アルギニンは蛋白質中に廣く含有せられ、
殊にヒストン及びプロタミン中に多量に存在す
る。而して細菌の發育に對しては、その影響比
較的良好であるが、グルタミン酸曹達等に比す
れば大いに劣ると稱せられた。R.p.に對して
は、2代卵、3代卵、4代卵の3代にわたり觀

第9表：L-アルギニンの影響

	世 代	使用 卵數	生存 卵數	1 視 野 平均菌數	増殖率	平 均 増殖率
添加群	2	5	4	50.	1.0	0.91
	3	5	4	550.	1.	
	4	5	4	1250.	0.73	
對照群	2	5	4	48.	1.	1.0
	3	5	4	550.	1.	
	4	5	4	1700.	1.	

察したが、第9表に示す如く増殖率0.91で發育促進作用は全く認められなかつた。

第10項 アミノ酸の濃度と R.p.

發育促進作用の關係

余はアミノ酸の濃度が R.p. の發育促進に及ぼす影響を觀察する爲、R.p. に對し良好なる發育促進作用を示した L-グルタミン酸曹達、L-アスパラギン酸、L-チロジン、L-トリプトファンを選び、夫々 1, 1/10, 1/100, 1/1000, 1/10000 Mol 水溶液を作り、その 0.1cc を R.p. 感染卵黄囊 10% 乳劑 0.5cc に添加培養したる所第10, 第11, 第12, 第13表に示す如き成績を得た。即ち L-グルタミン酸曹達に於ては 1/100 Mol 水溶液が最もよく、その増殖率は 4.0, 次に 1/1000 Mol, 1/10 Mol 水溶液がよく、増殖率は夫々 3, 2.7, 1 Mol 水溶液は比較的良好で、増殖率は 2.0 であつた。1/10000 Mol 水溶液は増殖率 1.8 で殆ど影響がなかつた。アスパラギン酸は 1/100 Mol 水溶液が最もよく、増殖率は 2.3, 次に 1/100 Mol 水溶液がよく、増殖率は 2.0 であつた。1 Mol, 1/1000 Mol, 1/10000 Mol 水溶液は増殖率が 1.5, 1.4, 1.0 で何れも殆ど發育促進作用が認められなかつた。L-チロジンは 1/100 Mol, 1/1000 Mol 水溶液が最もよく、増殖率は夫々 2.6, 2.5, 次に 1/10000 Mol, 1/10 Mol 水溶液がよく、増殖率は夫々 2.2, 2.1, 1 Mol 水溶液は増殖率が 1.8 で殆ど發育促進作用を認めなかつた。L-トリプトファンは 1/10 Mol, 1/100 Mol 水溶液が最もよく、増殖率は夫々 2.3, 2.2, 1 Mol, 1/1000 Mol, 1/10000 Mol 水溶液は増殖率が夫々 1.6, 1.5, 1.5

第10表： グルタミン酸曹達の
各種稀釋液添加培養

世代	稀釋濃度	使用卵數	生存卵數	1視野平均菌數	平均増殖率
3	1 Mo1	5	4	1620.	2.
	1/10 Mo1	5	4	2200.	2.7
	1/100 Mo1	5	5	3240.	4.0
	1/1000 Mo1	5	5	2430.	3.
	1/10000 Mo1	5	5	1458.	1.8
	對照	5	5	810.	1.

で何れも促進作用を認めなかつた。

本項に於てもグルタミン酸曹達の 1/100 Mol 水溶液が最も優秀なる成績を示し、次でアスパラギン酸、トリプトファン、チロジンは何れも良好な成績を示した。

第11表： アスパラギン酸の
各種稀釋液添加培養

世代	稀釋濃度	使用卵數	生存卵數	1視野平均菌數	平均増殖率
4	1 Mo1	5	4	1486.	1.5
	1/10 Mo1	5	5	1980.	2.0
	1/100 Mo1	5	4	2290.	2.3
	1/1000 Mo1	5	4	1440.	1.4
	1/10000 Mo1	5	5	1000.	1.0
	對照	5	5	990.	1.

第12表 L-チロジンの各種
稀釋液添加培養

世代	稀釋濃度	使用卵數	生存卵數	1視野平均菌數	平均増殖率
5	1 Mo1	5	4	2430.	1.8
	1/10 Mo1	5	4	2840.	2.1
	1/100 Mo1	5	4	3510.	2.6
	1/1000 Mo1	5	5	3375.	2.5
	1/10000 Mo1	5	4	2970.	2.2
	對照	5	4	1350.	1.

第13表： L-トリプトファンの
各種稀釋液添加培養

世代	稀釋濃度	使用卵數	生存卵數	1視野平均菌數	平均増殖率
4	1 Mo1	5	3	3600.	1.6
	1/10 Mo1	5	5	5175.	2.3
	1/100 Mo1	5	5	4950.	2.2
	1/1000 Mo1	5	3	3380.	1.5
	1/10000 Mo1	5	4	3375.	1.5
	對照	5	5	2250.	1.

第11項 グルタミン酸曹達 連續使用の影響

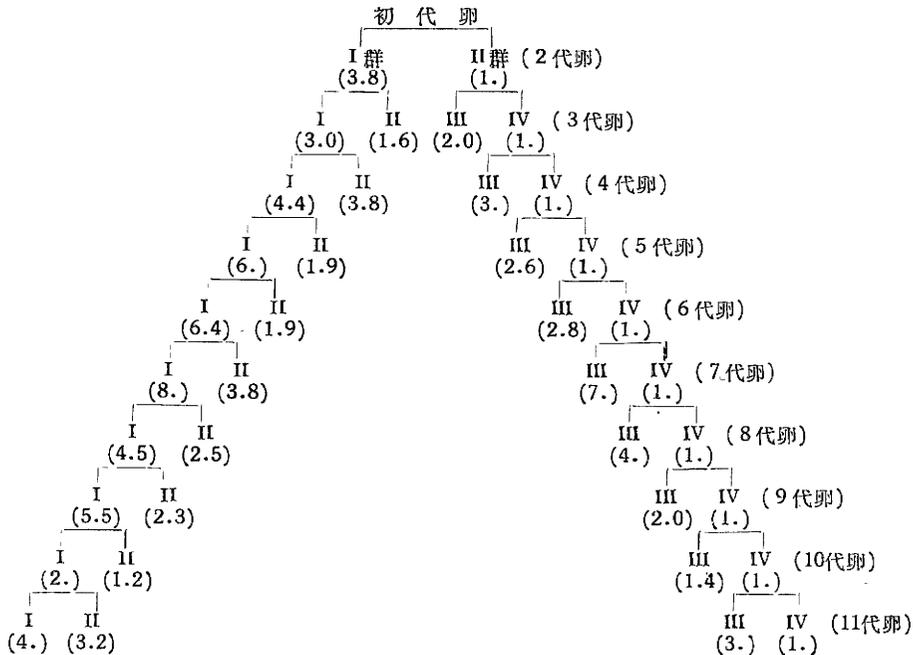
前記各項に於て認められた如く、グルタミン酸曹達が R.p. の發育促進作用最も強きを示し

たが、之を連続して各世代接種に用ひたる場合、如何なる影響を及ぼすかを見る爲2代卵より11代卵に至る10代にわたつて観察した。添加物質を加へざりし初代卵黄囊10%乳劑を1000回10分間遠心し、その上液 0.5cc に $\frac{1}{100}$ Mol グルタミン酸曹達水溶液 0.1cc を添加接種した群を第2代第I群とし、同上液に滅菌生理的食鹽水 0.1cc を添加接種した群を第2代第II群とした。第2代卵に於て、第I群の上液 0.5cc に $\frac{1}{100}$ Mol グルタミン酸曹達水溶液 0.1cc を添加接種した群を第3代第I群とし、同上液に滅菌生理的食鹽水 0.1cc を添加接種した群を第3代第II群とし、第2代卵第II群の上液 0.5cc にグルタミン酸曹達水溶液 0.1cc を添加接種し

た群を第3代第III群、同上液に滅菌生理的食鹽水 0.1cc を添加接種した群を第3代第IV群とした。次に第3代卵の第I及び第IV群より第2代卵第I及び第II群の如く夫々グルタミン酸曹達水溶液添加群と對照群を作り、第4代卵の第I、第II、第III、IV群とし、以下同様にして11代卵迄に及んだ。かくの如くして、グルタミン酸曹達水溶液の連続作用、その後続作用、唯1回の使用時の影響を比較した。その成績は第14表に示した通りである。

註：同表の時計文字は群名を示し、アラビア數字は第IV群(2代卵は第II群)の R.p. 平均數を以て各群のそれを除した増殖率である。

第14表： グルタミン酸曹達連続使用の影響



各群共に各々受精鶏卵5個宛使用した。10代にわたる各群の増殖率を平均するに、第I群4.7、第II群2.21、第III群2.78、第IV群1となり、毎回グルタミン酸曹達水溶液を添加した第I群を毎回グルタミン酸曹達水溶液を添加しなかつた第IV群に比較すれば、明かにグルタ

ミン酸曹達の R.p. 發育促進作用の顯著なことを認めさせるであらう。又第I群は第II群より、第III群は第IV群より増殖率大にして、第III群は第II群より増殖率は大であつた。

之によればグルタミン酸曹達の連続使用が最もよく、次が1回接種である。一旦増殖した

R.p. は次代に於てグルタミン酸曹達の後續影響が尙存する。

第2節 R.p. の海狸發病に及ぼす

グルタミン酸曹達の影響

余は滅菌生理的食鹽水を以て R.p. 及び R.m. 感染卵黄囊（ギームザ塗抹染色標本上、前者は一視野に 5000 個、後者は一視野に 4000 個の 1% 乳劑を作り、之の 1cc にグルタミン酸曹達の $\frac{1}{100}$ Mol 水溶液 1cc を添加し體重 400g 前後の海狸各々 4 匹の腹腔内に接種を行つた。對照として同上乳劑に生理的食鹽水 1cc を添加接種した動物群及び別に病毒を接種しない健康群を置いた。而して接種後 4 週間にわたり毎日定時に檢温を行い、潜伏期の長短及び發熱の高低を比較した。動物群の類別は次の如し。

I 群：R.p. 感染卵黄囊乳劑にグルタミン酸曹達水溶液を添加接種したる海狸群

II 群：同上乳劑に生理的食鹽水を添加接種したる海狸群

III 群：R.m. 感染卵黄囊乳劑にグルタミン酸曹達水溶液を添加接種したる海狸群

IV 群：同上乳劑に生理的食鹽水を添加接種したる海狸群

V 群：健康海狸群

夏(19/VIII, 47接種)及び秋(11/X, 47接種)の2回實驗を行つた。夏のもの、I 群は接種後10日目に發熱し、4日間發熱期間を持続したが、II 群は發熱を見なかつた。III 群に於ては、接種後9日目に發熱し、4日間發熱期間を持続したが、IV 群には發熱を見なかつた。

尙夏季の海狸の體温は日中に於て健康海狸に於ても非常に高く、實驗不明の爲、毎朝7時に檢温し、 39°C 以上を發熱とみなした。

秋のものは、I 群は接種後5日目に發熱し、發熱期5日間を持続した。II 群は接種後8日目に發熱し、4日間の發熱期間を持続した。又 III 群は接種後7日目に發熱し、5日間の發熱期間を持続したが、IV 群は接種後9日目に發熱し、4日間發熱期間を持続した。即ち I 群は對照(II 群)に比して潜伏期を3日間短縮し、發熱期間

に於ける發熱度は平均 0.6°C 高かつた。又 III 群は對照(IV 群)に比して潜伏期を2日間短縮し、その發熱期間に於ける發熱度は同じく平均 0.6°C 高かつた。

第3節 ヒヨレステリン及び

レチチンの影響

R.p. が或種實驗用動物の辜丸及び腦髓内によく増殖することは先人の業績により明かである。而して之等の組織就中腦組織はヒヨレステリン、レチチンを他臓器より遙かに多量に含有する故、之等の組織の R.p. 發育に及ぼす影響がヒヨレステリン、レチチンに原因するのではないかと思ふこの實驗を試みた。

第1項 實驗材料

1. 培養に供した R. } 何れも第2章第1節と同様で
2. 鶏卵 } ある。
3. 添加物質

i) ヒヨレステリン

之を $\frac{1}{100}$ Mol 水製乳劑として使用した。乳劑の製法は法の如く蒸溜水にてアラビヤゴムの3%溶液を作り、之に $\frac{1}{100}$ Mol の割合にヒヨレステリンを加へ乳針中にて平等となるまで乳棒にて攪拌する。かくして作つた乳劑を試験管にとり30分宛蒸氣滅菌を3日間行つて保存した。

ii) レチチン

蒸溜水を以て $\frac{1}{100}$ Mol 水溶液を作つたが、その方法は第2章第2節と同様である。

第2項 實驗方法

1. 培養方法 } 何れも第2章第2節と同様に行つ
2. 成績判定法 } た。

第3項 實驗成績

1. ヒヨレステリン

第15表に示す如く、増殖率 0.46 で、ヒヨレス

第15表：ヒヨレステリンの影響

	世代	使用卵數	生存卵數	1 視野平均菌數	増殖率	平均増殖率
添加群	3	5	4	1050.	0.67	0.46
	4	5	2	1200.	0.24	
對照群	3	5	4	1500.	1.	1.
	4	5	5	5000.	1.	

テリンは寧ろ R.p. の發育を阻止することなきやを考へさせる。

2. レチチン

第16表に示す如く、増殖率 0.55 でレチチンも亦寧ろ R.p. の發育を阻止することなきやを考へさせられる。

第16表：レチチンの影響

	世代	使用卵數	生存卵數	1視野平均菌數	増殖率	平均増殖率
添加群	3	5	4	1250.	0.8	0.55
	4	5	5	1500.	0.3	
對照群	3	5	4	1500.	1.	1.
	4	5	5	5000.	1.	

第4節 諸種ビタミン類の發育促進作用

第1項 實驗材料

- 1. 培養に供したR. } 何れも第2章第1節に於ける
- 2. 鶏卵 } と同様である。
- 3. 添加物質

第2項 實驗方法

- 1. 培養方法 } 何れも第2章第2節と同様である。
- 2. 成績判定法 } 。

第3項 實驗成績

1. ビタミン AD

ビタドール注射液 0.1cc を接種材料 0.5cc に添加培養したが、その成績は第17表に示す如く増殖率 1.1 で、發育増殖を促進する作用は殆ど認められなかつた。

第17表：ビタミンADの影響

	世代	使用卵數	生存卵數	1視野平均菌數	増殖率	平均増殖率
添加群	8	5	4	205.	1.	1.1
	9	5	4	396.	1.2	
對照群	8	5	5	200.	1.	1.
	9	5	4	330.	1.	

2. ビタミン B

ビタミン B₁ 結晶を 1cc 中 2mg の割に溶解した水溶液 0.1cc を接種材料 0.5cc に添加培養し

たが、その成績は第18表に示す如く増殖率 2.2 で、R.p. に對する發育促進作用は相當強きものがあつた。

第18表：ビタミンBの影響

	世代	使用卵數	生存卵數	1視野平均菌數	増殖率	平均増殖率
添加群	2	5	5	960.	3.4	2.2
	3	5	5	2100.	1.3	
	4	5	4	1850.	2.	
對照群	2	5	4	280.	1.	1.
	3	5	5	1540.	1.	
	4	5	4	920.	1.	

3. ビタミン C

ビタミンC注射液 0.1cc を接種材料 0.5cc に添加培養したが、その成績は第19表に示す如く増殖率 1.5 で、發育促進作用には殆ど影響が認められなかつた。

第19表：ビタミンCの影響

	世代	使用卵數	生存卵數	1視野平均菌數	増殖率	平均増殖率
添加群	2	5	4	500.	1.	1.5
	8	5	4	400.	2.	
對照群	2	5	5	500.	1.	1.
	8	5	5	200.	1.	

4. ビタミンの濃度と R.p. 發育促進作用の關係

ビタミンの濃度が R.p. の發育増殖を促進する上に如何なる影響あるかを觀察する爲、再び最も發育促進作用強きビタミン B₁ 水溶液を選び、第20表に示す如き成績を得た。

第20表：ビタミンB₁の各種稀釋液添加培養

世代	稀釋濃度	使用卵數	生存卵數	1視野平均菌數	増殖率
3	1cc 中 2mg	5	4	2650.	2.9
	1cc 中 0.2mg	5	4	1750.	1.8
	1cc 中 0.02mg	5	5	1160.	1.2
	對照	5	5	900.	1.

即ちビタミン B₁ 水溶液に於て 1cc 中 2gm 含有のものが最も R.p. 發育促進作用強く、増殖は 2.9 で、1cc 中 0.2mg 及び 0.02mg 含有のものには殆どその影響が認められず、増殖率は夫々 1.8, 1.2 であつた。

第5節 諸種ホルモンの及ぼす影響

第1項 實驗材料

- 1. 培養に供せる R. } 何れも第2章第1節に於ける
- 2. 鶏卵 } と同様である。
- 3. 添加物質 }

第2項 實驗方法

第2章第2節と同様に行つた。

第3項 實驗成績

何れも R.p. に對し發育促進作用を示さなかつた。

附：パラアミノ安息香酸の及ぼす影響

第1項 實驗材料

- 1. 培養に供した R. } 何れも第2章第1節に於ける
- 2. 鶏卵 } と同様である。
- 3. 添加物質 }

パラアミノ安息香酸(武田)

第2項 實驗方法

- 1. 培養方法 } 何れも第2章第2節と同様に行つ
- 2. 成績判定法 } た。

第3項 實驗成績

Hamilton, Plotz & Smadel はパラアミノ安

息香酸の大量は發育中の鶏胎兒の卵黄囊内に接種した地方性 R の發育を阻止すると述べ、Grief, Pinkerton & Maragues は獨立にこの結果を確認してゐる。又 A. Yeomans 等は發疹チフス患者17名にパラアミノ安息香酸を投與し、死亡者なく、對照中8例18%が死亡たと報告し、H. M. Rose 等はロッキー山紅斑熱患者に、N. A. Tierney は恙蟲病患者に、P. K. Smith は發疹熱患者に對しパラアミノ安息香酸を投與したが何れも對照例に比し好結果を収めたと報告してゐる。1944 年余は獨立に R.p. の受精鶏卵卵黄囊内培養に際しパラアミノ安息香酸の 1/100 Mol 水溶液を添加接種し、その影響を觀察したが、その成績は第21表に示す如く増殖率 0.85 で、R.p. に對する發育促進作用は殆ど認められぬか或は却て阻止作用を示した。

第21表：パラアミノ安息香酸の影響

	世代	使用卵數	生存卵數	1視野平均菌數	増殖率	平均増殖率
添加群	2	5	3	210.	1.3	0.85
	3	5	3	920.	0.4	
對照群	2	5	4	160.	1.	1.
	3	5	4	2280.	1.	

第4章 總括

以上の成績を總括するに、アミノ酸、ビタミンの中或種ものは R.p. の發育に對して甚だ良好なる影響を及ぼすことを確認し得たが、更に余の實驗に供した諸種アミノ酸及びビタミン類についてその R.p. 増殖率 (R.p. 増殖を促進したる程度にして、各種添加物質を加へ培養した場合の一視野平均菌數を對照のそれを以て除した數値) を比較表示すれば第22, 第23表の通りである。

即ちアミノ酸中 R.p. の發育促進作用最も著明なるものはグルタミン酸曹達にして、その増殖率は 4.6, トリプトファン, アスパラギン酸

第22表 (アミノ酸)

添加物質	増殖率	對照増殖率
グルタミン酸曹達	4.6	1.
トリプトファン	2.8	1.
アスパラギン酸	2.72	1.
チロゼン	2.0	1.
グリコロール	1.6	1.
アラニン	1.38	1.
チスチン	1.36	1.
チステイン	1.21	1.
アルギニン	0.91	1.

之に次ぎ、増殖率は夫々 2.8, 2.72, 稍微弱な促

第23表 (ビタミン類)

添加物質	増殖率	對照増殖率
ビタミン AD	1.1	1.
ビタミン B ₁	2.2	1.
ビタミン C	1.5	1.

進作用を呈するものにチロジンがあり、増殖率は2.0であつた。グリココル、アラニン、チスチン、チステイン、アルギニンには殆ど促進作用が認められず、増殖率は夫々1.6, 1.38, 1.36,

1.21, 0.91 であつた。而して R.p. 乳劑の海狸腹腔内接種に際しグルタミン酸曹達水溶液を同量添加した所、對照に比し潜伏期の短縮、發熱度の高騰を見た。又ビタミン類に於て R.p. の發育促進作用最も著明なるものはビタミン B₁ にして、増殖率は2.2、ビタミン AD, C には促進作用が認められず、増殖率は夫々1.1, 1.5 であつた。又ホルモン劑、ヒヨレスチリン及びレチチンには促進作用が認められなかつた。

第5章 結 論

1. アミノ酸中 R.p. の發育促進作用最も顯著なるものはグルタミン酸曹達にして、トリプトファン及びアスパラギン酸之に次ぎ、稍微弱な促進作用を呈するものにチロジンあり、グリココル、アラニン、チスチン、チステイン及びアルギニンには殆ど促進作用が認められなかつた。

2. アミノ酸の R.p. 發育促進作用は水溶液の濃度により強弱あり、グルタミン酸曹達、アスパラギン酸、チロジンは $\frac{1}{100}$ Mol 水溶液に於て、トリプトファンは $\frac{1}{10}$ Mol, $\frac{1}{100}$ Mol 水溶液に於て最も著明なる促進作用を呈した。

3. グルタミン酸曹達の R.p. 發育促進作用は、その連続使用が最も有効であり、次で1回使用も良好であつた。かくして一旦増殖した R.p. は次代に於てグルタミン酸曹達を添加せずとも尙

その増殖影響が存続した。

4. グルタミン酸曹達を添加培養した R.p. の毒力は對照のそれに比して強力であり、發熱度高く且潜伏期を短縮した。

5. ビタミン B₁ は R.p. の發育を促進し、ビタミン AD, C にはその作用が認められなかつた。

6. ビタミン B₁ の發育促進作用は水溶液の濃度により強弱あり、1cc 中 2mg 含有のものに於て最も強力なる促進作用を認め、1cc 中 0.2mg, 0.02mg 含有のものには殆どその影響が認められなかつた。

(濶筆するに當り、終始御懇篤なる御指導と御校閱を賜つた恩師谷教授に對し、滿腔の謝意を捧げ、又 R. 病毒分譲の御承諾を賜つた傳染病研究所北岡博士に衷心より感謝す。)

文 獻

- 1) Weigl, R. : Mediz. Klinik. 20, 1046 (1924).
 2) 貴賓院 : 京都府立醫大雜誌, 20卷, (1924).
 3) 白川 : 第16回連合微生物學會記

- 録, 197頁, (昭和19年).
 4) 有田 : 同上
 5) 崔 : 第14回連合微生物學會記録, 198頁, (昭和15年).