

發疹チフスワクチンの抗原力に及ぼす各種防腐劑の影響

金澤醫科大學細菌學教室(主任谷教授)

鮎 谷 喜 兵 衛

Goriya Kiheï

(昭和23年4月23日受附)

第1章 緒 言

發疹チフスワクチン製造上最も重要な事は毒力の強い *Rickettsia prowazeki* (以下 R.p. と略稱する¹⁾) を大量に獲得する事であり、之に次で抗原力の低下を來さぬように施行される保存方法が重要である。後者に於ては保存温度と添加防腐劑が問題となるが、本報に於ては各種防腐劑が發疹チフス卵黄囊ワクチンの抗原力に及ぼす影響についてのみ述べる事とする。

DaRocha Lima は R.p. 感染風を材料とし生理的食鹽水を以て乳劑としたワクチンに石炭酸を 0.5% に加へ、Weigl²⁾ 及び Breinl³⁾ はその風ワクチンに石炭酸を同じく 0.5% に添加してゐる。Kligler u. Aschner は Nigg & Landsteiner の組織培養より R.p. 及び R.m. ワクチンを作り、之にホルマリンを 0.1% に加へ、Zinsser⁴⁾ は X 線を放射し抵抗力を減弱せしめた白鼠の腹腔内に R.m. を増殖せしめ、その腹腔液を洗滌しホルマリンを 0.2% に加へてゐる。又渡邊⁵⁾ はハタリスの腹腔内に R.p. を接種し、その腹腔液を生理的食鹽水で洗滌した乳劑をワクチンとし、之にホルマリンを 0.2% に加へた。次に

Castaneda⁷⁾ は鼠肺ワクチンに同様ホルマリンを 0.2% に添加し、Cox⁸⁾ はその卵黄囊ワクチンに於て石炭酸を 0.5% に添加してゐる。而して近時アメリカ合衆國發疹チフス委員會に於てはホルマリンを 0.2% に添加する事を推奨してゐる。

以上の如く先人の業績に於て、防腐の目的を以て各種の防腐劑が各種の割合に發疹チフスワクチンに添加され、夫々所期の目的を遂げてゐるが、各種の防腐劑がワクチンの抗原力に及ぼす影響の比較について考察を施したのを見ない。従つて余は石炭酸、ホルマリン、マーゾニンを種々の割合にワクチンに添加し、ワクチン製造後 1 ヶ月、4 ヶ月、7 ヶ月目の 3 時期にわたり防腐劑の抗原力に及ぼす影響を比較観察したる所、ホルマリン或はマーゾニンを添加したるワクチンの抗原力は良好であり、殊にホルマリンを 0.2% に、マーゾニンを 0.01% に同時に混合添加したるものが最も優秀なる成績を示した。依つてこゝに一括報告する。

第2章 實驗材料及實驗方法

第1節 實驗材料

1. 實驗に供した R.p.
傳染病研究所北岡正見博士より惠譲された伊藤株を使用した。

2. 鶏 卵
白色レグホーンの受精鶏卵を使用した。
3. 海 猿
體重 400g 前後、體温 38°C 前後のものを使用し、

可及的條件を等しくして實驗に誤謬なからしめん事に努めた。

4. 防腐劑

- i) ホルマリン水(武田)
- ii) マーゾニン(粉末)(武田)
- iii) 石炭酸(武田)

第2節 實驗方法

1. 大體 Cox-Craigie 法に準じてワクチンを製造した。即ち1946年9月22日 R.p. 培養第6代卵22個より無菌的に卵黄嚢を取り出し、その38gを乳鉢にて磨碎し、滅菌生理的食鹽水を以て10%乳劑を作つた。而してエーテルにて處理し、吸引ポンプにてワクチン内のエーテルを除去し、無菌なる事を確め、7個の滅菌ガラス瓶に分注した。R. 含量は1cc中10億個である。

2. 滅菌蒸溜水を以て5%石炭酸溶液、3%石炭酸溶液、2%ホルマリン溶液、0.1%マーゾニン溶液を作り、次の割合にて上述の7瓶に分注されたワクチンに添加した。

No. 1 ワクチン8容+5%石炭酸酸溶液1容+滅菌生理的食鹽水1容

No. 2 ワクチン8容(水浴槽にて60°C1時間加温したるもの)+5%石炭酸溶液1容+滅菌生理的食鹽水1容

No. 3 ワクチン8容+3%石炭酸溶液1容+2%ホルマリン溶液1容

No. 4 ワクチン8容+0.1%マーゾニン溶液1容+滅菌生理的食鹽水1容

No. 5 ワクチン8容+3%石炭酸溶液1容+0.1%マーゾニン溶液1容

No. 6 ワクチン8容+2%ホルマリン1容+0.1%マーゾニン溶液1容

No. 7 ワクチン8容+2%ホルマリン溶液1容+滅菌生理的食鹽水1容

3. No. 1 ワクチンをその製後7日目に教室員中村, 林, 伊與の3人に使用した。即ち第1日目は1cc, 次いで5日後2cc 何れも皮下注射を行つた。注射直前及び第2回注射後7日目, 14日目, 21日目に夫々採血してWeil-Felix 反應を施行した所, 次の成績を得た。

而して被接種者は3人共發疹チフス, 發疹熱の既往症なく, 該ワクチン注射も受けてみなかつたものであ

第1回注射直前 (1946年9月29日)

血清稀釋 倍數		25	50	100	200	400	800	1600	K
		被接種者							
中	村	-	-	-	-	-	-	-	-
林		+	±	-	-	-	-	-	-
伊	與	+	+	±	-	-	-	-	-

第2回ワクチン注射後7日目 (1946年10月11日)

血清稀釋 倍數		25	50	100	200	400	800	1600	K
		被接種者							
中	村	±	-	-	-	-	-	-	-
林		++	+	+	±	-	-	-	-
伊	與	+	+	+	+	-	-	-	-

第2回ワクチン注射後14日日 (1946年10月10日)

血清稀釋 倍數		25	50	100	200	400	800	1600	K
		被接種者							
中	村	+	+	±	-	-	-	-	-
林		++	+	+	+	+	±	-	-
伊	與	+	+	+	+	+	±	-	-

第2回ワクチン注射後21日目 (1946年10月25日)

血清稀釋 被接種者	倍數							
	25	50	100	200	400	800	1600	K
中 村	+	+	+	-	-	-	-	-
林	++	+	+	+	+	±	-	-
伊 興	+	+	+	+	+	+	-	-

る。

4. 以上のワクチンを永室 (10°C 前後) に保存し、1ヶ月後、4ヶ月後、7ヶ月後の3時期にわたり海猿を使用して感染防禦試験を行い、ワクチンに添加された防腐劑の抗原力に對する影響を觀察した。即ち各種ワクチン1cc宛を、體重 400g 前後、體温 38°C 前後の海猿5匹宛の背部左側皮下に注射し、5日後該ワクチン2ccを右側皮下に注射した。對照としてワクチンを注射しない5匹の海猿群を備準した。

5. 最終ワクチン注射施行後3週間毎日午前11時に1回検査しワクチンの毒性の有無を觀察し、3週間目に滅菌生理的食鹽水を以て R.p. 感染後發熱3日目の海猿腦の10%乳劑を作り、1000回10分間遠心後の上液1cc宛を各海猿腹腔内に接種し、以後4週間にわたり午前11時に檢温した。

6. 成績の判定は海猿の發熱の有無によつたが、39.6°C 以上を發熱とみなした。

第3章 實 驗 成 績

第1節 1ヶ月ワクチンの

感染防禦試験

最終ワクチン注射後3週間は各群共發熱しなかつた。

I 群： 生病毒接種後3日目に5匹中2匹は斃死し、他の3匹は何れも發熱を見なかつた。

II 群： 生病毒接種後10日目に1匹發熱し2日間の有熱期を持續した。他の4匹は發熱しなかつた。

III 群： 第2回ワクチン注射後8日目に斃死せるもの1匹にして、他の4匹は何れも發熱しなかつた。

IV 群： 5匹共發熱を見なかつた。

V 群： 最終ワクチン注射後7日目に1匹斃死、他の4匹は何れも發熱しなかつた。

VI 群： 最終ワクチン注射後6日目に1匹斃死、他の4匹は何れも發熱しなかつた。

VII 群： 最終ワクチン注射後10日目に1匹斃死、他の4匹は何れも發熱しなかつた。

對照群： 最終ワクチン注射後9日目に1匹斃死、他の4匹は病毒接種後7日目から10日目の間に發熱し、その有熱期は5日間から7日間

に及んだ。即ち生病毒接種後、2匹は7日目に發熱し、7日間持續した。1匹は10日目に發熱し、5日間持續した。1匹は8日目に發熱し、5日間持續した。

即ち No. 2 ワクチン (加熱石炭酸加) のみ發熱海猿1匹を生じ、他のワクチンは發熱を生ぜしめなかつた。

第2節 4ヶ月ワクチンの

感染防禦試験

最終ワクチン注射後3週間は各群にわたり何れも發熱を見なかつた。

I 群： 生病毒接種後4日目に1匹斃死、他の4匹は何れも發熱を見なかつた。

II 群： 5匹中3匹は發熱せず、他の2匹は發熱した。即ち1匹は生病毒接種後9日目に發熱し、1日にして下熱した。他の1匹は生病毒接種後10日目に發熱し、3日間有熱期を持續した。

III 群： 生病毒接種後8日目に5匹中2匹斃死、他の3匹には發熱を見なかつた。

IV 群： 最終ワクチン注射後2日目に5匹中1匹斃死、他の4匹には發熱を見なかつた。

V 群： 1匹は生病毒接種後6日目に斃死

1匹は生病毒接種後11日目に発熱し、1日にして下熱した。他の3匹には発熱が見られなかつた。

VI群：最終ワクチン注射後15日目に1匹斃死、他の4匹には発熱が認められなかつた。

VII群：生病毒接種後3日目に1匹斃死、他の4匹には発熱が見られなかつた。

対照群：生病毒接種後、1匹は6日目に発熱し、4日間持続した。1匹は9日目に発熱し、6日間持続した。2匹は9日目に発熱し、7日間持続した。1匹は12日目に発熱し、8日間持続した。

即ち本節に於ては、No. 2 ワクチン(加熱石炭酸加)接種海狼群に於て2匹、No. 5 ワクチン(石炭酸、マーゾニン加)接種海狼群に於て1匹発熱を見たが、他の海狼群には発熱を見なかつた。

第3節 7ヶ月ワクチンの 感染防禦試験

最終ワクチン注射後3週間は各群にわたり、何れも発熱を見なかつた。

I群：5匹中1匹は最終ワクチン注射後8日目に斃死、他の4匹中2匹に発熱を見た。即ち2匹共生病毒接種後8日目に発熱し、5日間持続した。

II群：5匹中2匹は発熱せず、他の3匹に発熱を見た。即ち生病毒接種後、1匹は6日目に発熱し、4日間持続した。1匹は7日目に発熱し、4日間持続した。1匹は9日目に発熱し、4日間持続した。

III群：5匹中3匹は発熱せず、他の2匹は何れも生病毒接種後8日目に発熱し、4日間

持続した。

IV群：5匹中1匹は最終ワクチン注射後5日目に斃死、3匹は発熱せず、他の1匹が生病毒接種後9日目に発熱し、5日間持続した。

V群：5匹中1匹は最終ワクチン注射後5日目に斃死、2匹は発熱せず、残りの2匹が発熱した。即ち生病毒接種後、1匹は6日目に発熱し、6日間有熱期を持続した。他の1匹は8日目に発熱し、3日間有熱期を持続した。

VI群：5匹中4匹は発熱せず、残りの1匹は生病毒接種後6日目に発熱し、6日間持続した。

VII群：5匹中1匹は最終ワクチン接種後5日目に斃死、3匹は発熱せず、残りの1匹は生病毒接種後8日目に発熱し、4日間持続した。

対照群：5匹共発熱した。即ち生病毒接種後、1匹は7日目に発熱し、13日間有熱期を持続した。1匹は7日目に発熱し、11日間持続した。2匹は何れも5日目に発熱し、9日間持続した。他の1匹は11日目に発熱し、7日間持続した。

本節に於ては、I群(石炭酸加ワクチン接種海狼群)に於て4匹中2匹、II群(加熱石炭酸加ワクチン接種海狼群)に於て5匹中3匹、III群(石炭酸・ホルマリン加ワクチン接種海狼群)に於て5匹中2匹、IV群(マーゾニン加ワクチン接種海狼群)に於て4匹中1匹、V群(石炭酸・マーゾニン加ワクチン接種海狼群)に於て4匹中2匹、VI群(ホルマリン・マーゾニン加ワクチン接種海狼群)に於て5匹中1匹、VII群(ホルマリン加ワクチン接種海狼群)に於て4匹中1匹発熱を見た。

第4章 總括並に考案

第3章を通觀し次の結果を得た。

1. 發熱海狼匹數よりの觀察

i. 1ヶ月目

被免疫各海狼群に於て發熱を見たるものはII群のみにして、しかも5匹中1匹に過ぎなかつ

た。而して對照群は4匹中全部高度の發熱を見た。

ii. 4ヶ月目

被免疫各海狼群に於て發熱を見たるものはII群とV群で、前者に於ては5匹中2匹、後者に

於ては4匹中1匹が發熱した。而して對照群は5匹共悉く高度の發熱を示した。

iii. 7ヶ月目

被免疫各海猿群に於て何れも多少の發熱を示した。即ちI群は4匹中2匹、II群は5匹中3匹、III群は5匹中2匹、IV群は4匹中1匹、V群は4匹中2匹、VI群は5匹中1匹、VII群は4匹中1匹發熱した。而して對照群は5匹共悉く高度の發熱を示した。

即ち發熱海猿匹數の上より觀察すれば、1ヶ月目には各ワクチンの抗原力の低下及びその優劣が殆ど認められず、No. 2 ワクチンのみが僅かに劣つてゐるようである。4ヶ月目には、II群に於て5匹中2匹、V群に於て4匹中1匹發熱してゐるに過ぎず、しかもV群に於ては後述する如くその有熱期は僅かに1日間に過ぎなかつた。即ち4ヶ月目に於てはNo. 2 ワクチン最も劣り、之に次ではNo. 5 ワクチンが劣り、No. 1, No. 3, No. 4, No. 6, No. 7 の各ワクチンの抗原力は未だ優秀であり、その低下及び優劣を認める事が出来なかつた。7ヶ月目にはNo. 6 ワクチンが最も優秀な成績を示し、之に次ではNo. 4, No. 7 ワクチンが優秀であり、第3位にNo. 3 ワクチンが良好であり、第4位にNo. 1, No. 5 ワクチンがあり、No. 2 ワクチンが最悪の成績を示した。

以上の成績により發疹チフス卵黄囊ワクチンはR. p. に對し感染防禦力を充分に有し、添加防腐劑の點より云へばホルマリン或ひはマーゼンを添加した場合抗原力の保持に良好であり、殊にホルマリンを0.2%に、マーゼンを0.01%に同時に混合添加したワクチンが最も優秀であつた。

2. 潜伏期よりの觀察

i. 1ヶ月目

No. 2 ワクチン接種海猿群(II群)に於て5匹中1匹が10日間の潜伏期を経て發熱したが、之に反し對照群に於ては夫々7日、7日、8日、10日(平均8日)間の潜伏期を有し、僅少なからず潜伏期が短かつた。

ii. 4ヶ月目

II群に於て5匹中2匹が9日、10日(平均9.5日)間の潜伏期を有し、その對照群は5匹共夫々6日、9日、9日、9日、12日(平均9日)間の潜伏期を有し、ワクチン注射により潜伏期の大なる短縮を示さなかつた。

iii. 7ヶ月目

I群は4匹中2匹が何れも8日間、II群は5匹中3匹が夫々6日、7日、9日(平均7.3日)間、III群は5匹中2匹が何れも8日間、IV群は4匹中1匹が9日間、V群は4匹中2匹が夫々6日、8日(平均7日)間、VI群は5匹中1匹が6日間、VII群は4匹中1匹が8日間夫々潜伏期を有し、對照群に於ては5匹共夫々5日、5日、7日、7日、11日(平均8.75日)間の潜伏期を示した。

即ちワクチン接種海猿群と對照群との間には潜伏期の異なる相異を認め得なかつた。

3. 有熱期よりの觀察

i. 1ヶ月目

II群に於ては2日間の有熱期を示すもの1匹對照群は夫々7日、7日、5日、5日(平均6日)間の有熱期を示した。

ii. 4ヶ月目

II群中の2匹は夫々1日、3日(平均2日)間、對照群は夫々4日、6日、7日、7日、8日(平均6.4日)間の有熱期を示した。

iii. 7ヶ月目

I群に於て4匹中2匹は何れも5日間、II群に於て5匹中3匹は何れも4日間、III群に於て5匹中2匹は何れも4日間、IV群に於て4匹中1匹は5日間、V群に於て4匹中2匹は夫々6日、3日(平均4.5日)間、VI群に於て5匹中1匹は6日間、VII群に於て4匹中1匹は4日間の有熱期を示した。對照群に於ては5匹共夫々9日、9日、11日、13日、7日(平均9.8日)間の有熱期を示した。

以上の成績によつてワクチン接種海猿中發熱せるものゝ有熱期と對照群のそれとを比較するに、前者は後者に比し何れも短縮されてゐる事

に留意せねばならない。

以上を要約すれば次表に示す通りである。

	使用海猿匹數			實驗中斃死し觀察不能の海猿匹數			發熱匹數			潜伏期間(日數)			有熱期間(日數)		
	1ヶ月目	4ヶ月目	7ヶ月目	1ヶ月目	4ヶ月目	7ヶ月目	1ヶ月目	4ヶ月目	7ヶ月目	1ヶ月目	4ヶ月目	7ヶ月目	1ヶ月目	4ヶ月目	7ヶ月目
I 群	5	5	5	2	1	1	3匹中 0匹	4匹中 0匹	4匹中 2匹	0	0	8.8	0	0	5.5.
II 群	5	5	5	0	0	0	5匹中 1匹	5匹中 2匹	5匹中 3匹	10	9.10.	6.7.9.	2.	1.3.	4.4.4.
III 群	5	5	5	1	2	0	4匹中 0匹	3匹中 0匹	5匹中 2匹	0	0	8.8.	0	0	4.4.
IV 群	5	5	5	0	1	1	5匹中 0匹	4匹中 0匹	4匹中 1匹	0	0	9.	0	0	5.
V 群	5	5	5	1	1	1	4匹中 0匹	4匹中 1匹	4匹中 2匹	0	11.	6.8.	0	1.	6.3.
VI 群	5	5	5	1	1	0	4匹中 0匹	4匹中 0匹	5匹中 1匹	0	0	6	0	0	6.
VII 群	5	5	5	1	1	1	4匹中 0匹	4匹中 0匹	4匹中 1匹	0	0	8.	0	0	4.
對照群	5	5	5	1	0	0	4匹中 4匹	5匹中 5匹	5匹中 5匹	7.7.8. 10	6.9.9. 9.12.	5.5. 7.7. 11.	7.7. 5.5.	4.6. 7.7. 8.	9.9. 11.13. 7.
摘要	尙各 No. ワクチンを保存した冷蔵庫は不完全なものであり、従つてワクチンの抗原性に對する温度の影響については今回は觸れなかつた。														

第5章 結 論

1. 孵化鶏卵卵黄囊より製造した發疹チフスワクチンは、發疹チフス生病毒に對し大なる感染防禦力を示した。

2. 該ワクチンを保存するに際し添加する防腐劑としては、ホルマリン及びマーゾニンが優秀であり、殊にホルマリンを0.2%、マーゾニンを0.01%に同時に添加する時は抗原力の保持に

最も優秀なる成績を示した。

3. 該ワクチンを使用し感染防禦試験を行う時は、たとへ感染海猿を生ずるも對照に比し潜伏期の延長と有熱期の短縮を認めた。

(擧筆するに當り、終始御懇篤なる御指導と御校閲を賜つた恩師谷教授に對し滿腔の謝意を捧ぐ。)

文 獻

1) DaRocha Lima : Münch. Med. Woch. 65: 1454 (1918). 2) Weigl, R. : Mediz. Klinik, 20: 1046, (1924). 3) Breinl, F. : Ztschr. f. Immunitätsfg. XLI: 97 (1924). 4) Kligler u. Aschner : Brit. Jour. exper. Path. XV: 337 (1934). 5) Zinsser, H. : Jour. exper.

Med. LXIX: 179 (1939). 6) 渡邊 : 滿洲醫學 33: 1303 (1940). 7) Castaneda, M. R. : Am. Jour. Path., 15: 467 (1939). 8) Dyer, R. E. : Amer. Jour. Trop. Med. XXI: 163 (1941).