

ガンマ線照射マウスに対する緑膿菌ワクチンの影響について

佐藤平二・上田智之*

(家畜微生物学研究室)

昭和54年8月20日 受理

Effect of *Pseudomonas aeruginosa* Vaccine on Irradiated Mice

Heiji Sato and Tomoyuki Ueda

(Laboratory of Veterinary Microbiology)

緒 言

コーチゾン投与マウスにおける緑膿菌の感染と免疫については前報¹⁹⁾に報告した。ひきつづき生体防御機能の低下をもたらすといわれる放射線照射マウスにおいて緑膿菌の感染と免疫がどのように経過するかを知るために本実験を行ったのでその概要についてのべる。

材 料 と 方 法

1. 実験動物

マウスは、日本クレアで生産された JCL-ICR SPF の何れも雌4週令、体重 17~21 g のものと本学科家畜薬理学教室で繁殖された JCL-ICR 自然マウス体重 18~25 g のものを使用した。

SPF マウスは原則として滅菌固型飼料と滅菌水道水で飼育した。使用マウスの検疫は前報同様に行ったが、SPF、自然マウス共緑膿菌の検出されたものはなかった。

2. 使用菌株

自家融解ワクチン調製および攻撃菌株としては前報同様当教室保存の *Pseudomonas aeruginosa* 1300 株 (Lanyi の分類による sero group 7) を用いた。

3. 自家融解ワクチンの調製

使用ワクチンは前報¹⁹⁾と同様であって Minimal medium で1夜培養した菌液にチメロサルを1:10,000に加え、3週間室温暗所に放置して自家融解をおこさせたものを 5000 rpm 30分遠沈後ミリポアフィル

ター (孔径 220 nm Type GS) で濾過したものをを用いた。(MMAF と略す)

4. 抗緑膿菌血清の作製

前報¹⁹⁾で調製した抗血清を用いた。即ち、抗血清は MMAF と等量の Freund complete adjuvant を混和し、この抗原を兔皮下に1週間間隔で2回それぞれ 5 ml ずつ2部位 (背部および腰部皮下) に注射し、初回免疫後3週間目に心臓穿刺により採血した。血液は室温に一夜静置して血清分離を行いこれを IRS (Immune Rabbit Serum) と称した。

5. マウスの免疫

能動免疫は MMAF とワクチン 0.5 ml を腹腔へ1回、もしくは2又は4日間隔で2回行った。受動免疫には上記 IRS 血清原液 0.2 ml を攻撃直前に腹腔注射を行った。

6. ガンマ線照射

木箱 (20 cm×15 cm×4 cm) に約 20 匹のマウスを入れ、アクリル樹脂板で蓋をし、島津 RTGS-2 A 回転型治療用コバルト60ガンマ線照射装置により所定の吸収線量を得るように計算して全身照射を行った。

7. 緑膿菌による攻撃

Pseudomonas aeruginosa 1300 株のハートインフュージョンブロス (栄研化学) 一夜培養液を滅菌生理食塩水で10倍段階希釈し、約 $10^1 - 10^7$ の生菌を4%ムチン液 0.5 ml に含むように調製し腹腔より注射した。LD₅₀ は Behrens-Kärber 法により求めた。

8. 細胞輸注試験

ICR 普通マウスに MMAF ワクチン 0.5 ml 腹腔注射し翌日1%グリコーゲン 0.5 ml を腹腔に注射し免疫開始後5日目にヘパリン加メジウム199 (日水製薬) を用いて血液、腹水、脾細胞を取り出し血液は2倍希釈、腹水細胞、脾細胞は洗滌後懸濁し、マウス1匹当

本論文の要旨は1977年11月第84回日本獣医学会 (宮崎) において発表された。

* 鹿児島大学医学部附属動物実験施設 Institute of Laboratory Animal Science, Faculty of Medicine, Kagoshima University

り血液は 0.5 ml, 腹水細胞は 5×10^6 個, 脾細胞 10^7 個を夫々 0.5 ml に含むようにして腹腔内に注射し 1.6×10^5 個の菌 ($10^{3.1} \times LD_{50}$) で腹腔攻撃を行った。

結 果

1. 照射マウスに対する MMAF ワクチンの効果

1) 300 rad 照射マウス

照射前 12 日, 8 日目にワクチン注射した ICR SPF マウスと無処置マウスとを 300 rad 照射後, 夫々を清浄飼育群と緑膿菌水給水群とに分け 24 日間に亘り観察した。免疫照射群では清浄飼育群の 40 匹中 1 匹斃死し, 緑膿菌水給水群では 12 匹全部生残った。無免疫照射群では清浄飼育群で 50 匹中 5 匹が死亡し, 緑膿菌水給水群では 11 匹全部生残った。各群の生残ったマウスに 24 日目に菌攻撃を行った所, Table 1 に明らかなように免疫群は照射の有無にかかわらず強い抵抗力を示し,

Table 1. Effect of whole-body irradiation in vaccinated mice on the 24th day after 300 rad irradiation

Treatment* ¹	No. of mice employed	LD ₅₀ * ²	PD ₅₀ * ³
VR	25	$>1.6 \times 10^{6.5}$	>4.2
V	20	$>1.6 \times 10^{6.5}$	>4.2
R	20	$1.6 \times 10^{2.5}$	0.2
Control	25	$1.6 \times 10^{2.8}$	

*¹ V: Vaccinated on the 12th and 8th day before irradiation.

R: Irradiated.

*² LD₅₀: Calculated by Behrens-Kärber's method.

*³ PD₅₀: LD₅₀ of vaccinated mice/LD₅₀ of control, figures relate to log 10.

Table 2. Production of immunity in whole-body irradiated mice

Treatment* ¹	No. of mice employed	LD ₅₀ * ²	PD ₅₀ * ³
RV	25	$>1.0 \times 10^{7.5}$	>5.25
V	25	$>1.0 \times 10^{7.5}$	>5.25
Control	20	$1.0 \times 10^{2.25}$	

*¹ R: 300 rad irradiated.

V: Vaccinated on the 24th and 32nd day after irradiation.

*² LD₅₀: Calculated by Behrens-Kärber's method.

*³ PD₅₀: LD₅₀ of vaccinated mice/LD₅₀ of control, figures relate to log 10.

一方, 無免疫群でも照射による抵抗性の減弱は明らかでなかった。照射後 24 日, 28 日目に夫々ワクチン接種を行い 4 日後に攻撃を行ったところマウスは Table 2 のように強い免疫をもっていることが明らかであった。

2) 600 rad 照射マウス

ICR 普通マウスを照射前免疫・照射後清浄飼育 (第 1 群), 照射前免疫・照射後緑膿菌水飼育 (第 2 群), 無免疫, 照射後清浄飼育 (第 3 群), 無免疫・照射後緑膿菌水飼育 (第 4 群), の 4 群に分けて観察した。その結果は Fig. 1 に示すように免疫されたマウスは第 1 群, 第 2 群共にすべて生残ったが, 無免疫清浄飼育群では 1 匹, 第 4 群すなわち無免疫緑膿菌水飼育群では 15 匹中, 13 匹が死亡し, 第 2 群とは 0.1% の危険率で, 有意差が認められた。しかしここに注目すべきことは

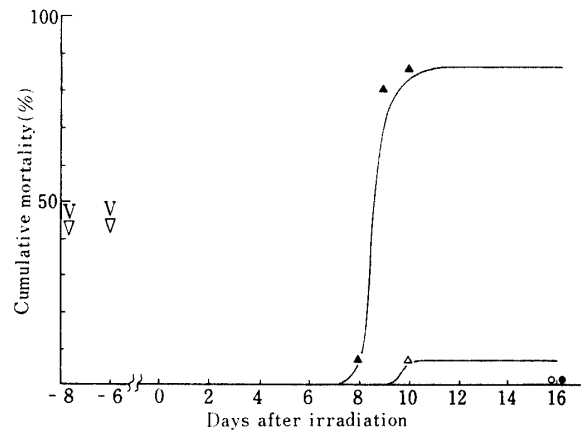


Fig. 1. Effect of vaccination on survival in whole-body gamma-irradiated mice. Open symbols indicate cleanly-fed-groups and closed symbols indicate pseudomonas-fed-groups: circles represent vaccinated mice before irradiation and triangles indicate non-vaccinated mice.

Table 3. Effect of whole-body irradiation in vaccinated mice on the 16th day after 600 rad irradiation

Treatment* ¹	No. of mice employed	LD ₅₀ * ²	PD ₅₀ * ³
VR	29	$>1.0 \times 10^{3.5}$	>0.67
R	14	$>1.0 \times 10^{2.5}$	>-0.33
Control	18	$1.0 \times 10^{2.88}$	

*¹ V: Vaccinated on the 8th and 4th day before irradiation.

R: Irradiated.

*² LD₅₀: Calculated by Behrens-Kärber's method.

*³ PD₅₀: LD₅₀ of vaccinated mice/LD₅₀ of control, figures relate to log 10.

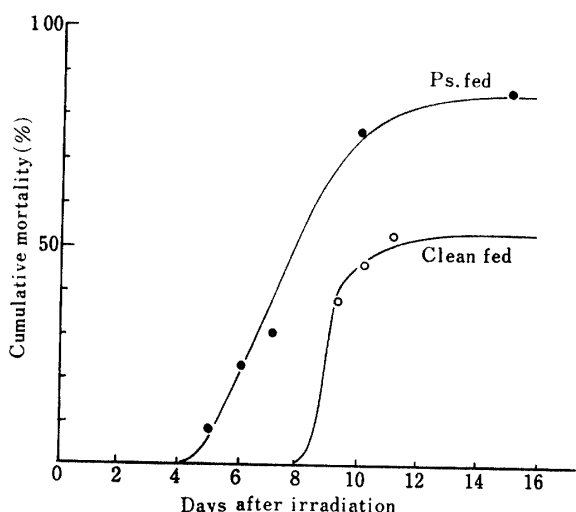


Fig. 2. Effect of whole-body gamma-irradiation (600 rad) on survival in clean fed or Ps. fed ICR SPF mice.

第4群の死亡マウスの心血を NAC 寒天培地で培養した成績は緑膿菌陰性だったことである。照射16日目に生残っていた3群のマウスに各群毎段階希釈菌による攻撃を行った所 Table 3 のように免疫をうけた第1群、第2群とも PD₅₀ は0.67以下であり、腹腔攻撃に対する防禦能は殆んど消滅していた。

無免疫 ICR SPF マウスで照射後の死亡率を見た実験は Fig. 2 に示すように自然マウスと異なり清浄飼育でも13匹中7匹が死亡し、緑膿菌水給水では13匹中11匹死亡し、両者の差ははっきりしなかった。死亡したマウスについての菌検索では、緑膿菌水飼育群の死亡マウス心血から緑膿菌が分離され敗血症がおこっていたことが明らかであった。

2. 500 rad 照射マウスにおける免疫の消長

ICR SPF マウスを4群に分け、第1群は無免疫の

Table 4. Effect of time-interval between immunization, gamma-irradiation and bacterial challenge

Groups	Days from single whole-body gamma-ray irradiation (500 rad)							
	-4	0	4	8	12	16	20	24
1		Ir* ¹	C* ² 1, 1, 1, 1, 1					
		Ir		C 1, 1, 1, 1, S* ³				
		Ir			C 1, 1, 1, 1, 1			
		Ir				C 1, 1, 1, 1, 1		
		Ir					C 1, 1, 1, 1, 2	
		Ir						C 1, 1, 1, 1, S
2		Ir	V* ⁴	C 1, 1, 1, 2, S				
		Ir		V	C 1, 1, 1, 7, * ⁵ S			
		Ir			V	C 4, 4, 4, 4, 4		
		Ir				V	C S, S, S, S, S	
		Ir					V	C S, S, S, S, S
3	V	Ir	C 1, 1, 1, S, S					
	V	Ir		C 1, 1, 1, S, S				
	V	Ir			C 1, 1, 2, 7, S			
	V	Ir				C 1, 3, 4, 4, 4		
	V	Ir					C 1, S, S, S, S	
	V	Ir						C S, S, S, S, S
4		Ir	Sr* ⁶ C S, S, S, S, S					
		Ir		Sr C S, S, S, S, S, S				
		Ir			Sr C 1, 1, 2, 7, S			
		Ir				Sr C 1, 2, 3, 4, 4		
		Ir					Sr C S, S, S, S, S	
		Ir						Sr C S, S, S, S, S
Control 1	V		C S, S, S, S, S					
Control 2			Sr C S, S, S, S, S					

*¹: ⁶⁰Co gamma ray 500 rad whole body irradiated.

*²: Intra peritoneal challenge with mucin suspended *Pseudomonas aeruginosa* dose of 0.2-2.2 × 10⁴.

*³: Survival on 10th day.

*⁴: 0.5 ml of MMAF vaccine administered from ip route.

*⁵: Numeral indicates the time of death after challenge, bar shows none of *Pseudomonas aeruginosa* isolation.

*⁶: 0.2 ml of immune-rabbit-serum ip administration.

まま照射し、その後第4, 8, 12, 16, 20, 24日に攻撃を行い、第2群は照射後4, 8, 12, 16, 20日目ワクチネーションを行い、ワクチネーションの4日後に攻撃を行った。第3群は照射の4日前にワクチン注射を行い、照射後4, 8, 12, 16, 20, 24日目に攻撃し、第4群は照射後4, 8, 12, 16, 20, 24日に非働化しない家兎血清を0.2ml腹腔注射し、直ちに攻撃を行った。その他、ワクチン注射のみの対照と正常マウスに免疫家兎血清のみの対照をおいた。攻撃に用いた菌量は $0.2-2.2 \times 10^4$ 個であった。その結果の詳細はTable 4の通りで、能動免疫は照射により共に16日後まで著しい低下が見られたが、20日後からは回復し、免疫血清による防禦は照射後4日、8日目までは見かけ上影響を受けないが12日、16日目には著しい低下を示し同様に20日以降は抵抗性を回復した。この実験に

において免疫をうけて死亡したもののうちには心血に緑膿菌を証明することの出来なかったものも多く、すべてが敗血症死したわけではなかった。

3. 細胞輸注実験

ワクチンと免疫血清によっても照射後12日目、16日目のマウスは感染防禦が出来なかったので、免疫動物、正常動物の血液、腹腔細胞、脾細胞を照射 recipient に輸注して免疫の伝達を試みた。因子の組合せと結果はTable 5の通りで、完全な免疫を示した組合せはなく、僅かに、免疫後照射されたマウスに免疫マウス血液と腹腔細胞を輸注した組合せで5匹中4匹生残ったのが最良の成績であった。しかし効果を予想された免疫血清や免疫マウス腹腔細胞などの組合せでも高い防禦は見られず、有効因子を見付けることは困難であった。

考 察

放射線の照射が微生物の感染に対する宿主の抵抗性を減弱するという報告は多い^{2,12,13,14,20,21,22,24}。しかし放射線がエンドトキシンに対する宿主の抵抗性を高める報告^{9,10,27,28}や、エンドトキシン投与が逆に放射線死を減弱するという研究もあって²³、放射線と感染の関係が単純なものでない事を示している。本実験は放射線照射動物で屢々みられる緑膿菌症の予防にワクチンが有効かどうかを知る目的で、ワクチン接種の影響をマウスの生死を指標として判別したものであるから、マウス体内におこっている変化の詳細を伺い知ることが出来なかった。しかし、得られた結果を通していくつかの興味ある事実が知られた。

まず吸収線量300radの⁶⁰Coのγ線全身照射を受けたマウスでは何れの群でも死亡率は低かった。照射前ワクチン接種をうけ、照射後24日目に行われた攻撃では免疫・不照射群と同様に強い防禦能を示し照射後24日目と28日目に免疫を始めたものでもほぼ完全な免疫の誘導が行われた。しかし後にのべるように、500rad照射マウスの実験によれば照射マウスは照射20日以降は獲得した免疫を再び恢復することが明らかであったことから、300radでも20日以前の時期に一時的に免疫抑制がおこっていた可能性は否定出来ない。これに対し600rad照射したICR自然マウスは無免疫菌水給水群と免疫菌水給水群との間の死亡率に有意差が認められた。しかし無免疫菌水給水群のうちで死亡したマウスの心血からは緑膿菌が検出されなかったので、この差が免疫による特異的防禦と考えることは難かしく、前報¹⁹)におけるMMAFワクチンの非特異的なブレドニゾン死の防禦と同様な現象と考えられた。緑

Table 5. Effect of various treatments in passive immunity for irradiated mice (500 rad)

Treatments*							
V	R	B	IB	P	IP	S	IS
	○	○					1 1 1 3 S
	○		○				2 2 S S S
	○		○	○			1 1 2 S S
	○	○			○		1 1 2 S S
	○	○				○	1 1 1 1 S
	○		○			○	1 1 1 S S
○	○	○			○		1 1 1 2 3
○	○	○				○	1 1 1 2 3
○	○	○				○	1 1 1 S S
○	○		○				2 2 S S S
○	○		○	○			1 S S S S
○	○		○		○		1 1 1 2 3
○	○		○			○	2 2 2 S S
○	○		○			○	1 1 3 S S
○	○	○			○	○	1 1 2 2 2
○	○	○		○		○	1 1 3 S S
○	○		○		○	○	1 1 2 2 S
○	○		○	○		○	1 1 2 S S
○	○			○			1 1 1 2 S
○	○				○		1 1 1 2 2
○	○					○	1 2 3 S S
○	○					○	1 1 1 1 2

* V: Vaccinated 4 days prior irradiation. R: Irradiated. B: Normal mouse blood transfused. IB: Blood transfusion from immune mice. P: Transfusion of peritoneal cells from normal mice. IP: Transfusion of peritoneal cells from immune mice. S: Transfusion of spleen cells from normal mice. IS: Transfusion of spleen cells from immune mice. All mice were challenged with dose of $10^{3.1} \times LD_{50}$.

膿菌の起病性について行った 600 rad 照射 ICR SPF 無免疫マウスの飼育実験では、自然マウスの場合と異なり清浄飼育群と菌水給水群との間に画然とした死亡パターンの差がみられなかった。すなわち γ 線照射は清浄飼育群でも高い死亡率を示した。宮川¹³⁾によれば放射線に対する影響は自然マウスの方が無菌マウスに比して死亡率が高く、また白血球の減少も無菌マウスの方がはるかに少いといわれるが²⁶⁾、600 rad 照射では SPF マウスは菌水飼育でより早期に死亡し、且敗血症を示すなど緑膿菌に対する感受性を増大していた。一方清浄飼育群でも自然マウスでは極く低い死亡率しか示さなかったのに比べて54%の死亡率を示し、放射線に対する抵抗性が弱いことが明らかにされた。これは Wilson²⁹⁾ が緑膿菌、*Strept. faecalis*, *E. coli*, 各一つを与えた Gnotobiotte でも放射線に対しては自然マウスより抵抗を示すという成績とも異っていた。本実験における SPF マウスが照射後清浄飼育でも抵抗性がないのは自然マウスと SPF マウスとの間の宮川¹⁴⁾ の言う反応準備状態の相違によるのか、SPF マウスの腸内菌毒素の血中への透過性が照射により亢進するためかは明らかにし得なかった。しかし前報においてブレドニゾロンで菌の経口投与によっては緑膿菌敗血症を作り得なかったが 600 rad 照射 SPF で敗血症を作ることが出来たことは注目された。照射16日後の各群の生残自然マウスで菌攻撃試験を行ったところ、すべてのマウスは斃死し、免疫マウスは本来の抵抗性を完全に失っていた。そこで γ 線全身照射と免疫との関係について時間を追って抵抗性の消長を調べたところ、照射後16日目に免疫し免疫後4日目に攻撃したものは完全に防禦したが照射後12日目の免疫は菌攻撃に対し緑膿菌敗血症は防ぐもののマウスは攻撃4日後に死因不明で全例斃死した。これに対して照射後4日から8日目までにワクチンを注射されたものは免疫の発現が認められなかった。又照射の4日前に免疫したマウスは照射の時点ですでに強い免疫を獲得していると思われたにもかかわらず照射後16日目まではかなりの部分の免疫をマスクされていた。しかしこのマスクされた獲得免疫は照射後20日以降には恢復した。放射線照射の抗体産生に及ぼす効果については数多くの研究があり^{2,3,4,5,8,17,26)} 照射後の抗体産生は一定期間抑制されたのち亢進するという報告が多いが^{3,26)} 放射線被曝により抗体産生能が変わらないか^{11,17)}、亢進するという報告⁴⁾ もある。感染死を指標にした本実験ではこの他に RES 系の作用も無視出来ない。放射被曝は RES 系又はマクロファージの数又は細胞の食菌作用、殺菌

作用の減退を招くとするものが多く^{5,7,16,22,25)} 又ロイコペニヤもおこりそれが感染を高めるといふ報告^{1,24)} や、無関係とするもの²⁵⁾ ロイコペニヤはエンドトキシンの毒作用を減少するという報告⁹⁾ もあり定説がないが、概観する所では照射後10日から21日の間において液性抵抗が強く抑制されるように思われる。我々の成績では照射後能動免疫を行った群では照射後12日目までは極めて弱い感染防禦しか誘導されないが、16日目には投与抗原に対する免疫反応は始動しており、4日後の20日以降は完全に免疫が成立していた。又照射前に免疫を行ったマウスも16日目までは不完全な免疫を示し、20日目には完全な免疫を示した。この群における20日以降の免疫は獲得した抵抗性が一時的にマスクされていただけでそれが恢復したのか、或は体内に残留していた抗原物質の情報が16日目頃から刺激をうけて新たに形成されたものかのどちらかに考えられた。Dixon⁴⁾ によれば注射された 500 mg の牛 γ グロブリン抗原が兎の血中から消失するのは約8日であるというから、本実験の20日後再現した免疫に関与する抗体は secondary type antibody である可能性がある。我々のこの実験で抗原情報が体内のどこでどのように潜伏していたかは大そう興味ある所であった。一方免疫兎血清による受動免疫では12日目と16日目のマウスは防禦されなかったが4日、8日、20日、26日目のマウスが防禦されており、Donald ら⁵⁾ の 350 rad 照射免疫マウスで6~14日後の間に食作用が減り2日及び18日以降は正常に戻り、しかも抗体は影響されないという報告や Stewart らの²⁵⁾ 肺の菌清掃作用が照射後14日~21日の間に抑制され、それ以前でも以後でも抑制されないという報告と同じような現象であった。この事から本実験においても照射後8日までは食細胞の機能は十分であったが12~16日の間に低下して20日以降は恢復したと考える事が出来る。照射前免疫したのち照射をうけたマウスの体内の抗血清の作用が16日までずっと無力であったのに対し兎抗血清による防禦がより強かった理由としては、12日から20日までマクロファージの完全失活、照射による体内抗体の修飾、照射による補体の損傷、家兎血清の食菌に対する賦活作用、家兎血清菌結合物が食菌され易くなるなどの他に自家抗体が固有に働くためには γ 線感受性の補助細胞が必要など様々の要因が想像される。

実験の結果から照射後12~16日の間は自動免疫でも受身免疫でも感染死を防げない事が明らかになったので正常マウスまたは免疫マウスの血液、腹腔細胞、脾細胞の輸注による照射マウスへの抵抗性の伝達を試みた。

この時期のマウスは細胞性免疫も低下していると考えられるから^{1,3,5,6,8)} 同種細胞であっても輸入細胞の障害は少く、感染から斃死までの時間の短い緑膿菌感染実験ではある程度の効果が期待された。実験結果では照射マウスに完全な抵抗を伝達したものはなく、わずかに照射前免疫したマウスに免疫マウス全血と正常マウスの腹腔細胞を輸注したものだけが80%生残したのみであった。しかし能動免疫マウスに免疫マウス血液と免疫マウスの腹腔細胞を混合輸注したものは全例死亡するなど有効因子の確定は出来ず、因子の組合わせに対するマウス recipient の反応の複雑さが推測された。以上のように γ 線照射がマウスの免疫に与える効果は、本質的にはプレドニゾンによる効果とは異なるものがあると思われ、照射マウスにおける免疫喪失の詳細な解析は今後いろいろなアプローチから試みられなければならないが、特に照射前免疫された体内抗原の消長、抗原活性の修飾の実態、免疫の伝達などの点ははなはだ興味がありそれらの一部についての実験は現在進行中である。

要 約

ICR マウスにコバルト 60 ガンマ線を照射して、感染と免疫に及ぼす影響について緑膿菌と MMAF ワクチンを用いてしらべた結果、次のような結論を得た。

1. ICR SPF マウスにコバルト60の γ 線 600 rad を全身照射して緑膿菌水給水することにより経口的に実験的緑膿菌敗血症を作ることが出来た。

2. 緑膿菌 MMAF ワクチンにより免疫した ICR 自然マウスと無免疫同マウスにコバルト60の γ 線 600 rad を照射し緑膿菌給水を行うと、無免疫マウスが高い死亡率(86%)を示したのに対し、ワクチン注射を受けたマウスは全例生残した。

3. ICR 自然マウスにコバルト60ガンマ線 500 rad を照射した前後にワクチン接種し、免疫の発現、持続をしらべたところ、照射後16日目までは完全な免疫は誘導されず、且、獲得した免疫の発現は抑制された。しかし20日以降は共に完全な免疫を発現した。

4. ICR 自然マウスにコバルト60ガンマ線 500 rad 照射して緑膿菌攻撃の直前免疫血清を注射した群では照射後12日、16日目のマウスは抗血清で防禦されなかったが10日目までと20日目以降では防禦された。

謝辞 本研究は文部省科学研究費(特定研究「実験動物の純化と開発」課題番号50年 012202, 51年 111502, 52年 210703)により行われたものである。ここに記して謝意を表します。

また γ 線照射に当り御指導と便宜を賜った鹿児島大学医学部附属病院放射線部赤崎郁郎助教授と部員各位およびマウスの分与飼育について御協力頂いた鹿児島大学医学部動物実験施設山内忠平助教授と施設員各位に深甚の謝意を表します。

文 献

- 1) Allen, J. R., Van Lancker, J. L. and Wolf, R. C.: Pathologic alteration produced by total body irradiation in monkeys. *Am. J. Path.*, **48**, 317-331 (1966)
- 2) Bauer, H., Horowitz, R. E., Paronetto, E., Einheber, A., Abram, G. D. and Popper, H.: Influence of the microbial flora upon response of serum gammaglobulin and lymphatic tissue to irradiation. *Lab. Invest.*, **13**, 381-388 (1963)
- 3) Dixon, F. J., Talmage, D. W. and Maurer, P. H.: Radiosensitive and radioresistant phases in the antibody response. *J. Immunol.*, **68**, 693-700 (1952)
- 4) Dixon, F. J. and McConahey, P. J.: Enhancement of antibody formation by whole body X-irradiation. *J. Exp. Med.*, **117**, 833-847 (1963)
- 5) Donaldson, D. M., Marcus, S., Gyi, K. K. and Perkins, S. M.: The influence of immunization and total body X-irradiation on the intracellular digestion by peritoneal phagocytosis. *J. Immunol.*, **76**, 192-199 (1956)
- 6) Ernström, U.: Effect of irradiation on the release of lymphocytes from the thymus. *Acta Radiol. (Ther)*, **11**, 257-276 (1972)
- 7) Hahn, F. F., Goldstein, F. E. and Dungworth, D. L.: Effect of whole body X-irradiation on pulmonary bactericidal function. *Rad. Research*, **47**, 461-471 (1971)
- 8) Hodge, F. A., Leif, W. R. and Silverman, M. S.: Susceptibility to infection with *Pasteurella tularensis* and the immune response of mice exposed to continuous low dose rate gamma radiation. *J. Infect. Dis.*, **120**, 356-365 (1969)
- 9) Liu, C. T. and Hilmas, D. E.: Effect of X irradiation on survival of rabbits with staphylococcal B endotoxemia. *Rad. Research*, **76**, 402-409 (1978)
- 10) Liu, C. T., Griffin, J. and Hilmas, D. E.: Effect of staphylococcal function and survival in X-irradiated rhesus macaques. *Am. Vet. Res.*, **39**, 1213-1217 (1978)
- 11) Makinodan, T., Kastenbaum, M. A. and Peterson, W. J.: Radiosensitivity of spleen cells from normal and preimmunized mice and its significance to intact animal. *J. Immunol.* **88**, 31-37 (1962)
- 12) Matsuzawa, T. and Wilson, R.: The intestinal mucosa of germ-free mice after whole-body X-irradiation with 3 kiloroentgens. *Rad. Research*, **25**, 15-24 (1965)
- 13) Miller, P. C., Hammond, C. W. and Thompkins, M.: The role of infection in radiation injury. *J. Lab. Clin. Med.*, **38**, 331-343 (1950)
- 14) 宮川正澄: 無菌動物—医学・生物学への応用. p. 245-271, 医歯薬出版, 東京 (1973)
- 15) 宮川正澄: 無菌動物—医学・生物学への応用. p. 129-

- 300, 医歯薬出版. 東京 (1973)
- 16) Nelson, E. L. and Becker, J. R.: The effect of whole body X-irradiation on the bactericidal activity of phagocytic cells. I. Survival of *Pseudomonas aeruginosa* within phagocytes from peritoneal exudates of mice. *J. Infect. Dis.*, **104**, 13-19 (1959)
 - 17) Nutter, J. E. and Guss, M. L.: Influence of sublethal X-irradiation on immunity of guinea pigs administered live tularemia vaccine. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **126**, 450-452 (1967)
 - 18) Sato, H. and Diena, B. B.: A polyvalent pseudomonas vaccine. *Rev. Can. Biol.*, **3**, 93-97 (1974)
 - 19) 佐藤平二・上田智之: プレドニゾロン投与マウスに対する緑膿菌ワクチンの影響について. 鹿大農学術報告, **No. 30**, 131-137 (1980)
 - 20) Schildt, B. E. and Erikson, K. H.: Function of the reticuloendothelial system in whole body irradiated mice. *Acta Radiol. (Ther)*, **11**, 48-58 (1972)
 - 21) Shechmeister, I. L., Bond, V. P. and Swift, M. N.: The susceptibility of irradiated mice to infection as a function of post-irradiation time. *J. Immunol.*, **68**, 87-95 (1952)
 - 22) Silverman, M. S., Greenman, V., McKee, A. E., Hadley, K., Hodge, F. A. and Buriss, C.: Cellular response of mice to infection with *Pasteurella tularensis* (live vaccine strain) following continuous exposure to low gamma radiation. *J. Infect. Dis.*, **120**, 366-371 (1969)
 - 23) Smith, W. W., Alderman, I. M. and Gillespie, R. E.: Increased survival in irradiated animals treated with bacterial endotoxin. *Am. J. Physiol.*, **191**, 124-130 (1957)
 - 24) Smith, M. R., Fleming, D. O. and Wood, W. B.: The effect of acute radiation injury on phagocytic mechanisms of antibactericidal defense. *J. Immunol.*, **9**, 914-924 (1963)
 - 25) Stewart, R. H., Pribnow, J. F. and Silverman, S.: Effect of chronic gamma radiation on airborne infection of mice with *Listeria monocytogenes*. *Rad. Research*, **24**, 96-107 (1965)
 - 26) Taliaferro, W. H. and Taliaferro, L. G.: Enhancement of natural hemolysin in adult rabbits after radiation. *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.*, **53**, 139-146 (1965)
 - 27) Vick, J. A., Degraaf, R. and Berdjis, C. C.: Interaction of ionizing radiation and *Escherichia coli* endotoxin.: I. Effect of radiation on endotoxin shock. *Milit. Med.*, **133**, 387-390 (1968)
 - 28) Vittorio, P. V., Watkins, E. A., Dziubalo-Blehm, S.: Changes in the sensitivity of X-irradiated mice to bacterial endotoxin. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, **45**, 395-400 (1967)
 - 29) Wilson, R.: Survival studies of whole body X-irradiated germ-free mice. *Rad. Research*, **20**, 477-483 (1963)
 - 30) Wilson, R., Thomas, A. B. and Bealmear, P. M.: Alteration in serum iron in germfree and conventional mice after whole-body X-irradiation. *Life Science*, **8**, 401-419 (1969)

Summary

Radiation protection experiments were frequently affected by bacterial infection especially *Pseudomonas aeruginosa*. This paper deals with disclosing whether *Pseudomonas aeruginosa* vaccine protect the irradiated animals from infection. Two groups of conventional mice vaccinated 8 and 4 days in advance of 600 rad whole-body irradiation of ^{60}Co , and of those irradiated, but not vaccinated, were fed separately with or without living pseudomonad. Through the observation period none of the mice died in the vaccinated group, while in the non-vaccinated mice, the mortality rate was 86.6% in the pseudomonas fed group and 6.6% in the clean fed (sterile water and pellets in sterile cage) one.

It was noteworthy that if an SPF mouse was substituted for a conventional mouse in a similar experiment, both groups irradiated without vaccination showed high mortality, and pseudomonas septicemia was induced in the pseudomonas fed group. Development, durability and restoration of immunity affected by irradiation as high as 500-600 rad were carried out in variably conditioned mice. Results exhibited that the acquired immunity was considerably masked at least until 16 days after irradiation, and development of immunity was also disturbed by the 16th day. However, when it continued to the 20th day, specific resistance was restored almost entirely, in both the pre and post vaccinated groups. Interesting phenomena were obtained when the irradiated mice were administered immune rabbit-serum just prior to challenge. The mice belonging to this group were not resistant on the 12th and the 16th days, however, fairly strong protection was observed on the 4th and 8th days and immunity was restored on the 20th day. That is to say, an immune serum injection was the most effective treatment in the sense of a reduction in the immuno-suppressive period. Transfer of immunity to irradiated mice was studied, using blood and variable leucocytes isolated from both the vaccinated and the normal mice. Limited protection was expected by means of blood-transfusion from the immunized mice.