

뉴캐슬病 免疫에 對한 檢討

II. 接種經路를 달리하여 B₁ Strain을 應用한 免疫效果 檢討

李學喆, 鄭由烈
(嶺南大學校 農畜產大學)

Studies on the Immunization Against Newcastle Disease

II. Investigation on the Immune Effect by Different Vaccination Route with B₁ Strain

Hak-Cheul Lee, Yue-Yerl Chung
College of Agriculture and Animal Science,
Yeungnam University

SUMMARY

The experiment was carried out to observe whether the route of administration of allantoic amniotic fluid obtained from the chicken embryo infected with B₁ virus would affect the protectivity of birds against the challenge exposure of a virulent strain of ND virus. Four groups of birds of 30 days of age were immunized intranasally (0.1 ml), intramuscularly (1.0 ml), by spray administration (0.00015 ml/1 cm³) or via drinking water (10.0 ml), with 1 in 100 dilution of the fluid containing B₁ virus titre of 10^{4.5}·ELD₅₀ per ml and all the immunized birds, after 15 days of vaccination, were challenged intramuscularly with 1.0 ml of 10,000 MLD per ml of a virulent ND virus.

The results obtained are summarized as follows:

1. Good immunity was induced when 1 in 100 dilution of allantoamniotic fluid with B₁ virus titre of 10^{4.5}·ELD₅₀/ml was applied to 30 day old chicks intramuscularly, intranasally and by spray application, but it was not the case when the allantoamniotic fluid was diluted to 1 in 1,000. The ID₅₀ of birds immunized with 1 in 100 dilution of allantoamniotic fluid by various routes of administration such as intramuscular

injection, spray application and intranasal instillation were $10^{2.5}$, $>10^{4.1}$ and $>10^{4.2}$

2. The high protectivity against the challenge exposure with a virulent Newcastle disease virus with 10,000 MLD/ml were observed when the birds were immunized with a live vaccine of $10^{6.5}$ ELD₅₀/ml by intramuscular injection, intranasal instillation or spray application, and the rates by different routes of application were 92.62%, 95.33% and 93.75%, respectively. On the contrary, no good immunity was induced in the groups of birds immunized via drinking water with the live vaccine, the rate of protection against the challenge exposure being 47.18%.

I. 緒 論

前編의 研究에서는 우리나라 養鷄業界의 큰 關心事가 되어 있는 뉴캐슬病(ND)免疫에 對한 問題點 把握의 一環으로 野外에서 實地로 應用된 ND 豫防 接種結果에 따르는 免疫效果를 間接적으로 알기 위하여 本病 流行이 極甚하였던 地域에서의 健康 免疫 鷄群에 對한 豫防接種經歷과 血球凝集抑制 抗体價(HI價)를 調査하였고, 한편 同一地域內에서의 本病發生鷄群과 非發生鷄群에 對한 豫防接種經歷 및 發生鷄群의 被害狀況을 調査함으로써 實施된 ND 豫防藥의 應用方法과 本病發生 및 被害狀況과의 相關에 對해서도 追求하였다.

이번 研究는 ND豫防接種 目的에 應用되는 Adjuvant加 不活化豫防藥(KV)과 弱毒株 生毒豫防藥(LV)의 두가지중 特히 研究者間에 論議가 많은 LV의 接種經路에 따르는 免疫效果를 明確히 밝히기 위하여 試驗하였다.

KV接種은 여러 研究者에 의해서 共通적으로 認定하는 바에 따라서 筋肉內接種(IM)으로 應用하고 있으나(Brandly 등, 1946; Haddow 등, 1946; 林 등, 1954, 1962; 中村 등, 1956), 널리 쓰여지고 있는 LV의 경우는 集團免疫手段으로 噴霧: SP(Crawley, 1954; Johnson, 1952), 飲水投與: DW(Winterfield, 1956, 1957, a, b) 粉塵吸入: DI(Markham 등, 1955), 個體免疫方法으로는 鼻腔內滴下(IN) 혹은 眼結膜內滴下: IO(Doll 등, 1950), IM 혹은 皮下接種: SC(Bankowski 등, 1957) 등의 여러가지 方法을 使用하고 있다. Beard 등(1967)은 ND病毒 感染上으로 보아 接種經路는 確實한 免疫性을 賦與하는데 매우 重要함을 報告하였다. 즉 豫防藥病毒이 呼吸器內에 導入되지 않을때는 攻撃毒感染에 對해서 一時的인 微弱한 抵抗性을 갖게 될 뿐이고, IO 혹은 IN는 SP보다 免疫效果가 좋지 않음을 認定하였다. 文 등(1957)은

病毒株名이 밝혀지지 않은 弱毒株ND病毒을 使用한 國內 最初의 生毒免疫研究에서 SP는 靜脈注射, IM, IN, DW중의 어느 것보다 免疫效果가 良好하였음을 認定하였다. 林(1962)는 B₁ 毒株를 使用한 몇가지 基礎的 ND免疫研究을 통해서 DW의 免疫率은 IM보다 낮고, B₁ 株와 萬株의 比較試驗에서 林 등은 IM와 IN은 다같이 免疫效果에는 큰 差異가 없으나 DW는 免疫性賦與에 있어서 問題點이 많다고 하였다. 이 등(1971a, b)은 DW에 의한 B₁의 應用試驗을 통해서 그 免疫效果가 優良함을 報告하였으며 現在 우리나라에서 널리 應用하고 있는 集團免疫의 基礎가 되었던 것이다. 그러나 Bankowski 등(1954), Dardili 등(1962)은 DW에 의한 集團免疫方法은 實際 應用時 使用病毒 力價에 影響을 미치게 하는 不利한 여러 要因의 介在 可能性이 많으므로 賦與되는 免疫效果가 매우 不安定하다는 見解를 밝힌 바 있다.

以上과 같이 LV應用에 있어서 接種經路에 關한 問題는 ND免疫上 매우 重要한 問題임으로 LV生産 材料로 使用되는 B₁ 病毒 接種發育鷄卵에서 얻은 漿尿膜腔液(AAf)의 接種經路別 免疫力價를 30日令 雛에 對하여 測定한 후, 그 有效量을 使用하여 SP, IN, IM, DW의 4가지 經路를 통해서 上記試驗일 때와 同一하게 30日令 雛에 各各 接種, 接種經路別로 免疫效果를 比較 檢討하였다.

II. 材料 및 方法

1. B₁ AAf材料의 免疫力價試驗

1) 試驗材料

12日令 發育鷄卵에 對해서 $10^{8.5}$ EID₅₀/ml의 力價를 가진 B₁ AAf材料를 使用하였고, 供試된 30日令 雛는 14日, 1個月令, 그리고 그 以後는 4個月

間隔으로 KV免疫된 白色레그혼種 母鷄에 由來한 것이다.

2) 試驗方法

上記 AAF材料를 生理食塩水로 10進稀積한 各段階稀積液을 接種經路別로 區分된 IM, SP, IN의 3個試驗區에 各稀積段階別로 30首씩 各各配置된 供試雛에 經路別 所定量을 接種하였다. 즉 10^{-2} ~ 10^{-4} 의 各段階稀積 B, AAF材料를 IM의 경우는 供試雛의 大腿部 筋肉內에 首當 1ml, IN의 경우 Tuberculin注射器로 鼻腔內에 首當 0.1ml滴下, SP의 경우는 가로75cm×세로60cm×높이 45cm (202,500cm³) 크기의 종이箱子內에 供試雛群을 收容하여 小型噴霧器로 約30ml (0.00015ml/cm³基準) 噴霧한 后 두 정을 덮어 2~3分間 密閉해 두었다가 試驗케이지에 옮겨 飼育하였다. 攻擊은 B, 接種 10日后에 強毒株 ND病毒 矯正院株 (10,000MLD/ml) 1ml를 IM 하였으며 그 后 2週間 觀察하여 耐過與否를 判斷하고, 免疫力價는 LD₅₀ (-log)로 表示하였다. 斃死雛에 對해서는 必要에 따라 病毒證明을 하였다.

2. B₁ AAF材料의 有效量을 使用하여 接種經路를 달리 한 免疫試驗

1) 試驗材料

供試한 B₁材料 및 30日令雛는 上記試驗時 使用된 것과 同一하며, B₁材料는 蒸溜水로 10^{-2} 稀積하

여 使用하였다.

2) 試驗方法

本試驗에서 採擇된 接種經路는 一般이 쉽게 實施할수 있다고 보여지는 SP, IN, IM 및 DW의 4가지이며 前了者의 接種量과 接種方法은 前記試驗時와 同一하다.

다만 DW의 경우 首當 10ml基準으로 約 4時間 集團飲水시켰다. 그리고 接種經路別 各試驗區에 150首씩 供試雛를 配置하였다. 그리하여 B₁ 接種后의 攻擊과 觀察은 前記試驗時와 同一한 要領으로 施行하였다

III. 結果

1. B₁ AAF材料의 免疫力價試驗

$10^{8.5}$ EID₅₀/ml의 力價를 가진 B₁ AAF材料를 接種經路別로 各 所定量을 供試雛에 接種하였을때 그 免疫力價 즉 ID₅₀ (-log)는 Table 1 과 같다. 즉 IM에서는 =2.8, SP에서는 >4.1, IN에서는 >4.2 이었다. 各試驗區는 接種經路別 B₁ AAF材料의 各 所定 應用量에 있어서 10^{-2} 稀積은 所定力價 強毒株 ND病毒의 攻擊에 對하여 30日令雛에 100%의 感染防禦力을 賦與하였으나 그 以上の 稀積應用은 10^{-3} 에서 30~96.6%, 10^{-4} 에서 0~76.6%耐過의 免疫效果를 나타 냈다. 한편 對照區 供試雛는 強毒株 ND病毒 攻擊에 對하여 5日以內의 經過로 全例 斃死하였다.

Table 1. Titration on the Infective Doses for 30 Day-Old Chicks by Allantoic -Aminiotic Fluid Obtained from the Embryos Infected with B₁ Virus

Inoculation route	Dilution	Dose	No. chicks examined	No. chicks survived	Mortality (%)	Control ^d	ID ₅₀ (-log)
IM ^a	10^{-2}	1.0ml	30	30	100	0/10	2.8
	10^{-3}	"	30	9	30		
	10^{-4}	"	30	0	0		
SP ^b	10^{-2}	ml/cm ³ 0.00015	30	30	100	0/10	>4.1
	10^{-3}	"	30	27	90		
	10^{-4}	"	30	21	70		
IN ^c	10^{-2}	0.1ml	30	30	100	0/10	>4.2
	10^{-3}	"	30	29	96.6		
	10^{-4}	"	30	23	76.6		

a Intramuscular inoculation.

b Spray application.

c Intranasal inoculation.

d Denominator =no. of birds survived, numerator =no. of birds challenged.

2. B₁ AAF材料的 有効量을 應用하여 接種經路를 달리 한 免疫試驗

本試驗의 結果는 Table 2.와 같다.

즉 B₁ AAF材料 10⁻²稀積한 接種經路別 所定量을 SP, IN, IM, DW로 各各 接種한 30日離의 強毒株 ND病毒 攻擊에 對한 耐過率은 各各 93.75%,

95.33%, 92.62%, 47.18%이었으며 SP, IN, IM의 3者는 相互間 僅少한 差異로 90%水準 以上の 좋은 成績을 나타냈다. 또 SP와 IM은 거의 同一한 成績이었다. 그러나 DW는 應用한 4가지 接種經路중 가장 不良한 不過 40%水準을 넘는 成績을 보였다.

Table 2. Immune Effect by Different Vaccination Route with Allantotic-Aminiotic Fluid of B₁ Virus of 30 Day-Old Chicks

Inoculation route	Dose	No. chicks examined	No. chicks died ^a	No. chicks challenged	No. chicks survived	Survival (%)	Control ^b
SP	10 ⁻² ml/cm ³ 0.00015	150	6	144	135	93.75	0 / 20
IN	10 ⁻² 0.1ml	150	0	150	143	95.33	0 / 20
IM	10 ⁻² 1.0ml	150	1	149	138	92.62	0 / 20
DW	10 ⁻² 10ml	150	8	142	67	47.18	0 / 20

a Died by other causes.

b Denominator =no. of birds survived
numerator =no. of birds challenged.

IV. 考 察

1. B₁ AAF材料的 免疫力價試驗

LV免疫의 機轉上으로 보아 이에 關聯되는 여러 主要因중 接種經路에 關한 問題는 매우 重要하다. 本試驗結果에 對해서 考察하면 다음과 같다. 즉 Beard (1967), Hanson (1972)의 報告를 통해서 볼때 ID₅₀ (-log)에 있어서 SP가 IN보다 낮은 數値를 豫想했으나 前者가 >4.1, 後者가 >4.2로 거의 同一한 成績이었다. 그리고 IM은 SP, IN보다 높은 數値인 2.8을 나타낸 것은 SP, IN의 最少安全限界 所要 病毒量보다 더 많은 量이 所要 됨을 뜻 하는 것이다. 그리하여 上記成績을 통해서 上記成績上으로 보아 SP, IN, IM의 各 所定接種에 對한 B₁ AAF材料 (10^{6.5} EID₅₀/ml)의 共通安全稀積度는 10⁻²임을 認定하였다.

ND免疫上 接種病毒의 力價 및 量에 關한 問題는 免疫效果와 密接한 關係를 갖고 있다는 것이 알려져 있다. 즉 Hitchner 등 (1952)은 10 EID₅₀/ml의 B₁材料 20% 浮遊液을 1,000首當 20ml씩 SP한 結果 強毒株 ND病毒의 攻擊에 對하여 100% 耐過하였으 며, 10^{6.0} EID₅₀/ml의 경우는 耐過率이 70%

이었다. 또 堀内 등 (1969)에 의하면 100%免疫性을 賦與한 接種病毒量을 5로 減量시켰을 때는 70%, 10減量일때는 不過 20%이었다고 한다. 本試驗成績을 上記 Hitchner의 試驗結果와 比較考察하면 다음과 같다.

즉 接種 病毒量을 B₁材料 原液으로 換算하면 Hitchner의 首當 接種量은 0.004ml이고, 本試驗의 首當 SP接種量은 0.01ml에 該當됨으로 Hitchner에 比해서 2.5배量이 되고, 使用病毒의 力價上으로 볼 때 이보다 더 많은 病毒量이 應用된 것으로 判斷되 나 Hitchner의 報告에서는 SP한 容積이 明示되어 있지 않으므로 더욱 正確한 比較는 어렵다.

한편 林 등 (1962)은 B₁ AAF材料에 의한 初生雛 免疫研究에서 一定量以上の 病毒을 接種하지 않을 경우 安全한 免疫性을 賦與할수 없다고 하였으며, 野外應用試驗에서 一定力價 10^{6.5} EID₅₀/ml의 B₁ AAF材料의 10~200倍稀積液을 IN의 경우 0.1~0.5ml, IM의 경우 1ml를 應用한 結果 모두 有效 하였으며 上記 病毒稀積範圍의 試驗成績 즉 全体平均耐過率은 IN, IM 各各 95%, 98%이었음을 報告하였다.

2. B₁ Aaf材料的有効量을 應用하여 接種經路를 달리한 免疫試驗

LV의 接種經路에 關해서는 많은 研究者에 의해서 여러가지의 個體的 혹은 集團의 接種方法이 報告되었음은 이미 緒論에서 言及한 바와 같다. 特히 Beard등(1967)은 ND 感染防禦上 接種經路는 確實한 免疫性을 賦與하는데 매우 重要하다고 報告하였다. 本試驗에서 採擇한 接種經路는 SP, IN, IM, DW의 4 가지이며 接種經路別로 B₁ Aaf 有効量을 應用한 免疫試驗成績은 前了者의 耐過率 이 92.5~95.5%의 僅少한 差로 IN이 가장 上位이고 다음이 SP와 IM의 順인 것은 Beard등(1967)이 IN는 SP에 比해서 免疫效果가 떨어진다고 報告한 것과는 다르다. IM의 成績이 92.5%로 比較的 좋은 편이나 林등(1962)이 60~89日令雛에 對한 B₁ 應用成績에서 IM가 IN보다 3% 좋은 98%의 높은 耐過率을 보인 成績에 比하면 若干 떨어진다. DW의 耐過率은 40%水準으로 上記 3經路 成績의 約半밖에 되지 않는 가장 不良한 結果를 보였다.

Bankowski(1954), Dardili등(1962)은 LV를 應用할 경우 豫防接種에 影響을 미치는 環境 要因이 크게 問題가 될 뿐만 아니라 Lancaster(1964, 1966)는 均一하게 免疫性을 獲得케 하는데도 問題點이 있다고 하였다. 또한 林등(1962), 林(1962)도 幼, 中 雛免疫에 DW應用은 IN, IM에 比해서 免疫成績이 不良할 뿐만 아니라 免疫率이 不安定하므로 再考의 餘地가 많다고 하였다. 따라서 本試驗에서 DW應用에 對한 試驗成績은 上述한 여러 研究者의 見解와 試驗成績과 全적으로 一致한다고 認定하였다. 그리고 前記 免疫力價試驗 및 本試驗의 供試雛는 常現ND 免疫母鷄에 由來한 30日令雛이라는 點에서 Bornstein등(1952), Lee(1967), 李등(1967)의 報告를 통해서 볼때 移行抗体가 거의 喪失 되었던

日令雛이라고 보여짐으로 이 研究의 免疫試驗成績에는 別 影響을 미치지 않았다고 본다.

V. 摘要

本研究는 오늘날 뉴캐슬病(ND) 豫防接種 目的에 널리 쓰여지는 Adjuvant加 不活化豫防藥과 弱毒株 生毒豫防藥(LV)의 두가지중 特히 論議가 많은 LV의 接種經路에 따르는 免疫效果를 밝혀, 그結果를 一般에게 明確히 提示하여 本病防過에 도움을 주는 目的으로 施行하였다.

이 研究를 위해서 먼저 LV生産材料로 使用되는 B₁ 接種 發育鷄卵에서 얻은 漿尿膜腔液의 接種經路別 免疫力價를 30日令雛를 供試하여 測定한 后, 그 有効量을 使用하여 噴霧, 鼻腔內滴下 筋肉注射, 飲水投與의 4 가지 經路를 통해서 上記試驗일때와 同一하게 30日令雛에 各各 接種, 接種經路別로 免疫效果를 比較 檢討하였다.

그리하여 얻어진 結果를 要約하면 다음과 같다.

1. $10^{6.5}$ EID₅₀/ml의 力價를 가진 B₁ 毒株 漿尿膜腔液材料의 10進稀積 各段階液을 30日令雛에 對하여 接種經路別 各所定量을 噴霧, 鼻腔內滴下, 筋肉注射하였을때 上記材料의 10^{-2} 稀積 ($10^{4.5}$ EID₅₀/ml) 應用은 滿足한 免疫性을 賦與하였으나, 10^{-3} 稀積 ($10^{3.5}$ EID₅₀/ml)에서는 滿足스럽지 못 하였으며 ID₅₀ (-log)는 筋肉注射=2.8, 噴霧>4.1, 鼻腔內滴下>4.2 이었다.

2. 10^{-2} 稀積 漿尿膜腔 ($10^{6.5}$ EID₅₀/ml)의 接種經路別 各所定量을 30日令 供試雛에 接種經路를 달리하여 接種하였을때 10,000MLD/ml ND 病毒/ml의 筋肉內接種攻擊에 對한 耐過率은 噴霧가 93.75%, 鼻腔內滴下が 95.3%, 筋肉內接種이 92.6%의 좋은 成績이었는데 反하여 飲水投與는 47.18%로 極히 不良하고, 試驗한 4 가지 接種經路중 가장 낮은 成績이었다.

<參 考 文 獻>

- Bankowski, R.A. 1957. A modified live Newcastle disease virus vaccine. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 96:114-118.
- Bankowski, R.A., And Hill, R.W. 1954. Factors influencing the efficiency of vaccination of chickens against Newcastle disease by the air-borne route. Proc. Am. Vet. Med. Ass. 91st Ann. Meet. pp. 317-327.

- Beard, C. W., and Easterday, B.C. 1967. The influence of the route of administration of Newcastle disease virus on host response.
- I. Serological and virus isolation studies.
 - II. Studies on artificial passive immunity
 - III. Immunofluorescent and histopathological studies
- J. Infect. Disease 117:55-61, 62-65, 66-70.
- Bornstein, S., Rautenstein, A., and Simberg, Y. 1952 a. Some aspects of congenital passive immunity to Newcastle disease in chicks. 1. The transfer of hemagglutination inhibitors from the maternal yolk to the chick. Am. J. Vet. Res. 13:373-378
- Brandly, C.A., Moses, H.E., Elizabeth Jones, E., and Jungherr, E.L. 1946. Immunization of chickens against Newcastle disease. Am. J. Vet. Res. 7:307-332.
- Crawley, J.E. 1954. Immunization of chickens against Infectious bronchitis and Newcastle disease by the spray method. Proc. 10th World's Poultry Congr. 2:234-237.
- Dardiri, A. H., Yates, V. J., and Filanagan, T. D. 1962. The reaction to infection with the B₁ strain of Newcastle disease virus. Avian disease. 12:434-440
- Doll, E.R. 1950. Reinfection of chickens vaccinated by the intranasal method with live B₁ Newcastle disease virus. Am. J. Vet. Res. 11:437-440.
- Haddow, J.R., and Idanoni, J.A. 1946. Vaccination against Newcastle (Ranikhet) disease. Indian J. Vet. Sci. 16:45-48
- Hanson, R. P. 1972. Newcastle disease. In disease of poultry. 6th ed. Hofstad, M.S., Calnek, B.W., Helmboldt, C.F., Reid, W.M., and Yoder, H.W. Jr. ed. Iowa State University Press. Ames.
- Hitchner, S. B., And Reising, G. 1952. Flock vaccination for Newcastle disease by atomization of the B₁ strain of virus. Porc. Cook. AVMA. 89:258-264
- Johnson, E. P., And Gress, W. B. 1952. Vaccination against pneumoencephalitis (Newcastle disease) by atomization of nebulization in incubators and chicken boxes with the B₁ virus. Vet. Med. 47:364-366, 371.
- Lancaster, J.E. 1964. Newcastle disease control by vaccination. Vet. Bull. 34:57-76.
- . 1966. Newcastle disease, a review 1926-1966.
- Lee, H. C. 1966. personal communication at the annual poultry disease in Korea.
- . 1967. Hemagglutinating-inhibiting antibodies from the dam to her chicks via egg yolk. Kyungpook University Thesis Collection. 11:105-112.
- Markham, F.S., Hammar, A. H., Gingher, P., Cox, H. R., and Storie, J. 1955. Vaccination against Newcastle disease and Infections bronchitis. I. Preliminary Studies in mass vaccination with live virus dust vaccine. Poult. Sci. 34:442-448.
- Winferfield, R.W., And Seadale, E. H. 1956. Newcastle disease immunization studies. 1. Viability of Newcastle disease virus administered as a vaccine in the drinking water. Am. J. Vet. Res. 17:5-11.
- . 1957 a. Newcastle disease immunization studies. 2. The immune response of chickens vaccinated with B₁ Newcastle disease virus administered through the drinking water. Poult. Sci. 36:54-64.
- . 1957 b. Newcastle disease immunization studies. 3. The immune response of chickens vaccinated at an early age with B₁ Newcastle disease virus administered through the drinking water under field conditions. Poult. Sci. 36:65-70.
- 堀内貞治：川村齊，関令二，1969. ニュカツスル病，鶏病図説，第2刷，日本畜産振興会。
- 이창구·장세창：1968. 모체 이행항체가 초생추면역에 미치는 영향. 가축위생연구소 시험보고서, PP. 143-148.
- ：1971. b, 초생추에 대한 뉴캐슬병 생독 음수예방약의 면역효과시험, 家畜衛生 研究所, 第1卷, PP. 1-4.
- 이창구·정병탁：1971. a, 성계에 대한 뉴캐슬병 생독 음수예방약의 면역효과시험, 家畜衛生

- 研究所報, 第17卷, PP. 5 - 9.
- 林永文: 1962. B, ND Virus strain에 관한 몇가지 實驗 (非乾燥 Vaccine), 家畜 衛生研究所報, 第8号, PP. 24 - 30.
- 林永文: 趙灌水: 1962. B, Vaccine의 初生雛에 對한 免疫에 關하여, 家畜衛生研究所報, 第8号, PP. 62 - 70.
- 林永文·吳和鐸: 1954. Aluminum Hydroxide Gel 添加 Newcastle Disease Vaccine에 對하여, 中央家畜衛生研究所報告, 第2報, PP. 135 - 142.
- 文載鳳·金丁圭·李南信: 1967. Newcastle disease living Vaccine株의 實驗的研究, 農林部 家畜衛生研究所報告, 第5号, PP. 15 - 25.
- 中村稔治·宮本猛·長島活男: 1956. 水酸化アルミニウム添加ニユガツスル病ワクチンの研究, 日本生物科學研究所報告, 第1卷, PP. 159 - 168.