

流行性肝炎ウイルス感染過程に及ぼす 諸種抽出物質の影響について

(I) 細菌性抽出物質の影響 (II) 動物臓器抽出物質の影響

岡山大学医学部微生物学教室 (主任: 村上 栄教授)

高橋 学

〔昭和 35 年 4 月 23 日受稿〕

緒 言

ウイルス感染と細菌、或は細菌性物質との相関関係に就いては、豚インフルエンザ症の発症要因に関する Shope¹⁾ の研究以来、幾多の実験的究明がなされている。

向肺性ウイルスについては、Horsfall²⁾ 等は、マウスの肺炎ウイルス感染過程に於ける溶血性連鎖球菌 MG 株の影響を観察し、溶連菌が肺炎ウイルスの発症を著明に阻止した成績を得、更に溶連菌より、その本態的阻止物質として、細菌性多糖体を発見抽出した。又、インフルエンザウイルス及び肺炎ウイルスの肺結核に及ぼす影響をしらべた結果、共に肺結核を促進させた成績を報告している。

Budding³⁾ は、インフルエンザウイルスと H. influenza との混合感染実験を行ない、ウイルスが、H. influenza の感染を増悪したと述べている。

Burnet⁴⁾ 等は、Mumps influenza ウイルスを用いて、コレラ菌培養濾液によるウイルス感染の予防実験を行ない予防的効果を認めた。

尚 Stone⁵⁾⁶⁾, Cairns⁷⁾, Hirst⁸⁾ はウイルス血球凝集反応の応用による向肺性ウイルスと細菌、或は細菌抽出物質の影響を明らかにした。向神経性ウイルスに関しては、後藤⁹⁾¹⁰⁾¹¹⁾¹²⁾ 等の日本脳炎ウイルス感染に及ぼす細菌性多糖体の研究で感染阻止作用の効果を報告し、中川¹³⁾ 等の向神経性ウイルスに及ぼす細菌性物質の研究では、マウス脳脊髄炎ウイルス GD 株に対して、V. Cholerae, E. Coli 等は阻止的に、Sarcina は促進的に作用したと述べている。

以上の実験的研究業績より、ウイルス感染と細菌、

或は細菌性物質との関係を考察するに、細菌の種類、並びにその抽出物質の相異によつて、感染を阻止するものもあり、又逆に促進するものもあり、それ等についての実験成績よりみて、阻止的効果を有する物質として細菌性多糖体が見出されている。

著者は、最近とみに著しい発展を遂げた核酸化学に鑑み、肝炎ウイルス感染に及ぼす細菌性物質、特に核酸、核蛋白を中心とした細菌性抽出物質の影響を検査しようと試みた。

スエーデンの Casperson の始めた、紫外線吸収スペクトル測定の研究より端を発した、核酸の細胞化学、ないしは核酸の生物化学的研究¹⁴⁾¹⁵⁾ は急速に進歩し、重要な発見が陸続としてもたらされた。それ等の研究によると蛋白合成の盛んな細胞、即ち肝細胞を初め、脾の分泌細胞、胃の主細胞、卵黄蛋白合成中の卵細胞等は何れも RNA が多量に含まれており、特に再生肝のように自己組織の蛋白質の合成が盛んである場合には細胞核の RNA の合成も旺盛であると云う興味深い事実を実証している。更に哺乳類のみならず酵母や細菌も盛んに増殖する時期、細菌では殊に対数増殖期の前に RNA が増加している。

又 Gale¹⁶⁾ の蛋白合成に於ける核酸の影響についての実験でも、酵素蛋白質の合成に当つては、DNA→RNA→蛋白質と云う順序に蛋白の型を規定する information が考えられている。

結局細胞の RNA 量と蛋白合成との間には密接な関係があることを物語っているものであり、核酸—蛋白合成—自己増殖系—細胞の増殖と云う一連の関係が明瞭となつて来ている。

そこで、若し投与された抽出物質が、肝炎ウイルス増殖過程に介入して増殖機構を乱し病原性を低下

させるか、或は又肝炎ウイルスの感染により機能低下を来している肝細胞の再生活動に一役を担うとすれば、感染阻止物質として更には治療物質として重要な意義を有するものであり、又仮りに細菌性核酸物質を使用することにより、ウイルス感染が増強されたとするならば、ウイルスは核酸を含む自己増殖

系であるからして、ウイルスの細胞内での増殖、云いかえると、ウイルスの核酸、蛋白が細胞内部で合成される場合、投与された細菌性核酸がウイルス核酸の生成に多少とも関与しているのではないかと推測され得る。

以上の如き推考のもとに実験的研究を行なつた。

(I) 細菌性抽出物質の影響

供試 病 毒

先に村上等⁽¹⁹⁾⁽¹⁸⁾⁽¹⁹⁾の報告した流行性肝炎患者肝臓より孵化鶏卵分離後それぞれ累代移植を行ない孵化鶏卵馴化病毒として保存されている肝炎ウイルス小川株及び石原株を使用した。

これらの病毒は病理学的所見に於いて定型的な変化を発現し、感染防禦試験に於いても免疫原性は殆んど一元的なものと推定されている。

実験材料及び方法

細菌及びその抽出物質と抽出方法

使用せる細菌の種類並びにそれらの細菌より抽出せる物質の種類とその化学的性状は、第1表と第2表に示す如くである。

これらの各種細菌はすべて普通寒天にて培養し集菌乾燥後抽出を行なつた。抽出方法はすべて下記の如き方法にて行なつた。

粗製核蛋白、蛋白、及び核酸抽出方法

生ず乾燥菌体に蒸留水を添加し良く磨碎してN-NaOHにてpH 7.8に補正した後氷室に一夜保存後pH 7.2に修正し、3000 r. p. m. 30分遠心沈

第1表 細菌及び抽出物質の種類

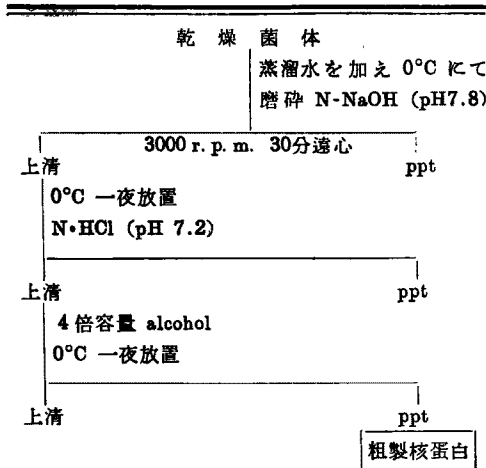
細菌	抽出物質	抽出物質の種類			
		核酸	粗製核蛋白	蛋白	Boivin Julianelle 物質物 質
コレラ菌	原型	◎	◎		
	原型K7R	◎	◎		
	中間型	◎	◎	◎	
	異型	◎	◎		◎
チフス菌	R型	◎	◎	◎	
	S型	◎	◎	◎	
赤痢菌	駒込B ₃	◎	◎		◎
	大原R型	◎	◎		◎
	大原S型	◎	◎	◎	◎

◎印は実験に使用せる抽出物質を示す

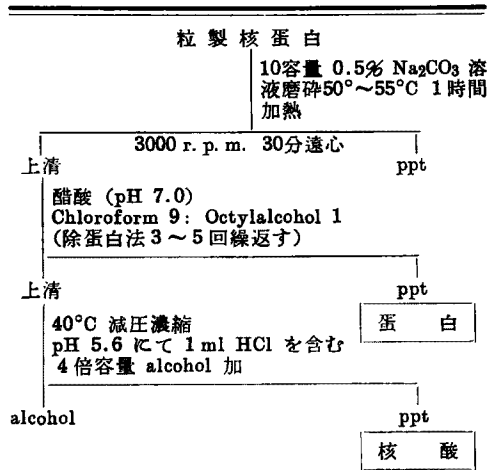
第2表 抽出物質の化学的性状

細菌	抽出物質	反応名		
		オルソニン HCl 反応 (RNA)	Indol 反応 (DNA)	Biuret 反応 (蛋白)
原 型 (稲葉)	核 酸	卅	+	-
	粗製核蛋白	卅	+	+
コ レ	原 型	+	+	-
	K7R 粗製核蛋白	卅	+	+
ラ 菌	核 酸	+	+	-
	粗製核蛋白 蛋 白	卅	+	+
異 型	核 酸	卅	+	-
	粗製核蛋白	卅	+	+
チ フ	核 酸	+	+	⊥
	粗製核蛋白	+	+	卅
	蛋 白	-	-	卅
ス 菌	核 酸	+	+	-
	粗製核蛋白 蛋 白	+	+	卅
赤 痢	駒込 B ₃	+	+	-
	粗製核蛋白	+	+	+
菌	大原 R 型	卅	+	⊥
	粗製核蛋白	⊥	⊥	卅
	大原 S 型	+	+	-
核 酸	粗製核蛋白	+	+	卅
	蛋 白	-	-	卅

第3表 粗製核蛋白抽出法
(Alkali 抽出法)



第4表 核酸及び蛋白抽出法
(Sevag 法)



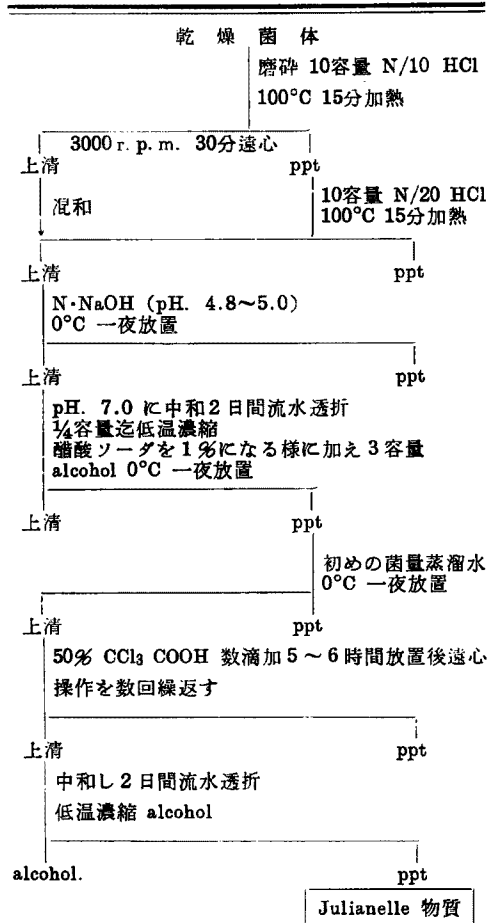
Boivin 物質抽出法

乾燥菌体を磨碎し、蒸溜水の40倍浮游液を作り N/2CCl₃COOH を同量宛加え、4°C 以下に2日間放置して後遠沈(3000 r. p. m. 30分)し、上清を低温濃縮し、3倍容のアルコールを加えて冷所に一夜放置後 3000 r. p. m. 30分遠沈し、その沈渣を pH 7.0 の蒸溜水に溶解、0°C で一夜放置後遠沈せる上清に4倍容のアルコールを添加して一夜放置、再び同様の操作を行ない、沈渣として Boivin 物質を得る。(第5表参照)

Julianelle 物質抽出法

乾燥菌体を磨碎して10容量 N/10塩酸を加え、100°C 15分間加熱後、3000 r. p. m. 30分遠沈し、

第5表 Julianelle 抽出法



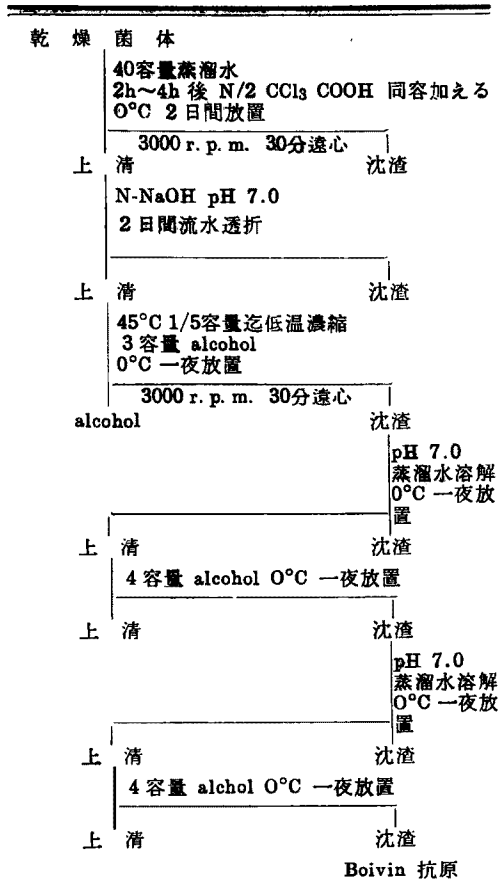
その沈渣に10容量の N/20 塩酸を加えて再び 100°C 15分間加熱後遠沈して得た上清に前回の上清を混和し、N. NaOH を白濁の生ずるまで添加し (pH 4.8—5.0) 0°C 一夜放置後 3000 r. p. m. 30分遠沈、その上清を pH 7.0 となして流水中で2日間透折し、1/4容量まで低温濃縮した後醋酸ソーダを1%になるように添加し、3容量アルコールを加えて 0°C 一夜放置後再び遠沈、その沈渣を蒸溜水にとかし、50% CCl₃ COOH を数滴加え、5~6時間放置後再び遠沈し、これを繰返して得た上清を流水透折2日間行ない、低温濃縮し菌体多糖体を得る(第6表参照)。

実験方法

実験動物は健康成熟マウスを用い、マウスは3匹を1単位として使用した。

腹腔内接種により稀釈病毒を感染させ、2時間後に抽出物質を同じく腹腔内接種により使用せるもの

第6表 Boivin 物質抽出法



と、先に抽出物質を使用し、その2時間後に病毒を接種せるものと分けて実験を行ない、更に稀積病毒は 10^{-6} を使用せるものと、 10^{-8} を使用せるものとの二群について実験を行なつた。

稀積病毒使用量は 10^{-6} 、 10^{-8} 共にすべて 0.25 ml 宛使用し、又細菌抽出物質は 0.85% 食塩水に溶解し、75°C の温水に15分間加温滅菌後、その 0.25 ml を接種した。

マウスは病毒接種より10日後に屠殺し、肝臓並びに肺臓を採取して組織標本を作製し、その病理学的所見より判定を行なつた。

実験成績

肝臓の病理学的所見^{20,21)}としては、軽度の場合には肝細胞の原形質は濁濁腫脹、不透明化し、肝索の乱れ、更には解離がみられ Kupffer 星細胞の肥大増殖が認められる。核異常としては、pyknosis、逆に染色性を喪失するものもあり、大小不同の所見も散見される。小葉内、グリソン氏鞘の一部には小円

形細胞浸潤がみられ病変が高度になると肝細胞は空胞変性若しくは顆粒性変性を来すと同時に好酸性萎縮の状態に至り、更には特有の類壊死から壊死を来たし壊死病巣附近には組織球性細胞浸潤と混在して単球の出現が見られる。円形細胞浸潤は門脈域に強い場合も多く、又グリソン氏鞘内に高度に現われる場合も少なくない。

斯る諸変化は一定しては現われず、混在して多様な様相を呈する場合が多い。本実験に於いては、病変の種類を9項目に分ち、各病変の程度を〜Ⅲで表現した。以下図表を併用して実験成績を述べる。

1) コレラ菌

a) 原型

核酸 (N) 及び粗製核蛋白 (NP) を使用した。N はウイルスの感染を軽度に、NP は中等度に抑制した。抽出物質をウイルス接種前に使用せる前処置の成績と、後に使用せる後処置の成績に於いては大差なく、病毒稀積量による変化もみられなかつた (第7表参照)。

b) 原型 K₇R

N, NP, を使用したが原型と殆んど同様で二者共軽度の抑制的効果があつた (第8表)。

c) 異型

N, NP, Boivin 物質 (B) の3種類を用いたが三者共本実験に使用せるものの内、ウイルス感染を抑制せる作用が最も著明であつた。

殊に N, NP に於いて著しかつた。抽出物質と病毒接種時期、並びに病毒稀積量とに於ける差異は認められなかつた。尚本実験に使用せる N, NP の化学的性状検査成績で本菌型に於いてオルシン HCl 反応が最も著明に陽性であつた事は注意されるべきものと思われる (第9表)。

d) 中間型

N, NP, 蛋白 (P) の3種類を使用のた。

N は感染を著明に抑制し、P は中等度に抑制したが、前処置の方が後処置よりわずかによい結果が出ている。NP は殆んど何んらの影響もみられなかつた (第10表)。

2) チフス菌

a) R 型

N, NP, P の3種類を使用した。N, NP は極く軽度の抑制的効果があつたに過ぎないが、P は前処置も後処置も共に感染発症に対し促進的効果が強かつた (第11表)。

第 7 表 a) コレラ菌原型 (稲葉株)

病毒稀釈量	臓器		肝臓							肺臓						
	使用時期	病理所見 抽出物質	壊死	変性	粗鬆稀薄	肝素解離	核異常	星肥大細胞	肥大細胞	細胞浸潤 実質	間質	出血	細胞浸潤	胞隔炎	出血	胞隔肥厚
10 ⁻⁶	後	N	-	+	⊥	+	⊥	-	⊥	+	-	-	-	⊥	⊥	-
		NP	⊥	+	+	⊥	⊥	-	⊥	⊥	⊥	⊥	-	⊥	⊥	⊥
	前	N	+	⊥	⊥	⊥	+	⊥	-	-	-	-	-	⊥	⊥	-
		NP	-	+	+	+	⊥	+	⊥	+	⊥	⊥	⊥	-	⊥	-
		Control	⊥	⊥	⊥	⊥	⊥	+	⊥	⊥	-	-	⊥	-	+	⊥
10 ⁻⁸	後	N	+	+	⊥	+	+	-	⊥	⊥	-	-	-	-	+	-
		NP	-	+	+	⊥	⊥	-	⊥	⊥	⊥	⊥	-	⊥	⊥	⊥
	前	N	+	⊥	⊥	+	+	-	⊥	-	-	-	-	⊥	+	-
		NP	⊥	+	+	⊥	+	⊥	+	-	⊥	⊥	⊥	-	⊥	-
		Control	+	⊥	⊥	+	+	+	⊥	+	-	-	⊥	⊥	+	⊥

註 1) (-)~(⊥), 病理所見の程度を現はす
 2) N=核酸 NP=粗製核蛋白 P=蛋白 B=Boivin 物質 J=Julianelle 物質
 3) 使用時期 後=抽出物質接種2時間後病毒使用
 前=病毒接種2時間後抽出物質使用

第 8 表 b) コレラ菌原型 (K7R)

病毒稀釈量	臓器		肝臓							肺臓						
	使用時期	病理所見 抽出物質	壊死	変性	粗鬆稀薄	肝素解離	核異常	星肥大細胞	肥大細胞	細胞浸潤 実質	間質	出血	細胞浸潤	胞隔炎	出血	胞隔肥厚
10 ⁻⁶	後	N	⊥	+	+	+	⊥	⊥	-	-	-	-	⊥	⊥	-	-
		NP	-	⊥	+	⊥	⊥	⊥	⊥	-	⊥	-	⊥	⊥	⊥	-
	前	N	-	+	⊥	⊥	⊥	-	-	⊥	⊥	⊥	+	-	⊥	-
		NP	-	+	+	+	+	+	⊥	+	⊥	⊥	⊥	-	⊥	-
		Control	+	⊥	⊥	⊥	+	⊥	⊥	⊥	-	-	⊥	⊥	⊥	-
10 ⁻⁸	後	N	-	⊥	⊥	⊥	⊥	+	⊥	-	-	-	⊥	-	⊥	-
		NP	⊥	+	+	+	+	⊥	⊥	⊥	⊥	-	⊥	-	⊥	-
	前	N	-	+	⊥	⊥	⊥	⊥	⊥	-	-	-	-	-	+	-
		NP	-	⊥	+	-	⊥	⊥	⊥	⊥	-	⊥	-	⊥	⊥	+
		Control	+	⊥	⊥	+	+	+	⊥	⊥	⊥	⊥	-	-	+	⊥

b) S 型

R型と同様に N, NP, P を用いたが, R型にみられた如く, Pは前処置, 後処置共に促進的作用が著明であつた。N, NP は何れも抑制的效果も, 促進的作用もみられなかつた (第12表)。

3) 赤痢菌

a) 駒込菌 BIII

N, NP, B, Julianelle 物質 (J) を使用した。N, B, J の三者に於いて, 病毒接種前処置で軽度感染を抑制したが, 後処置では殆んど何らの影響もみられなかつた。

第 9 表 c) コレラ菌異型

病毒稀釈量	臓器		肝臓							肺臓							
	使用時期	病理所見 抽出物質	壊	変	粗	肝	核	星	肥	細胞	浸	潤	出	細胞	胞	出	胞
			死	性	鬆	素	異	細	大	實	間	血	血				
10-6	後	N	-	-	↓	-	↓	↓	-	+	-	↓	-	↓	-	↓	-
		NP	-	↓	↓	-	↓	+	↓	+	-	↓	-	↓	-	↓	-
		B	-	-	↓	-	↓	↓	↓	↓	↓	+	↓	-	-	+	↓
	前	N	-	-	↓	-	-	↓	-	-	-	-	-	-	-	↓	-
		NP	-	↓	+	-	↓	↓	↓	+	-	↓	-	↓	↓	-	-
		B	-	-	+	-	↓	↓	+	↓	+	↓	+	-	-	+	-
Control			+	+	+	+	+	↓	+	+	+	-	↓	-	↓	↓	
10-8	後	N	-	-	-	-	-	↓	↓	-	-	-	↓	-	-	-	
		NP	-	↓	+	-	↓	↓	↓	+	-	↓	-	↓	-	↓	-
		B	-	↓	↓	-	-	↓	↓	↓	↓	↓	↓	-	-	↓	-
	前	N	-	-	-	-	-	+	-	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	-
		NP	-	-	-	-	↓	↓	-	↓	↓	↓	↓	-	-	-	-
		B	+	+	+	↓	↓	↓	↓	+	-	↓	+	-	-	↓	↓
Control			+	+	+	+	+	↓	-	↓	-	-	↓	-	+	-	

第 10 表 d) コレラ菌中間型

病毒稀釈量	臓器		肝臓							肺臓							
	使用時期	病理所見 抽出物質	壊	変	粗	肝	核	星	肥	細胞	浸	潤	出	細胞	胞	出	胞
			死	性	鬆	素	異	細	大	實	間	血	血				
10-6	後	N	-	↓	+	↓	+	↓	-	↓	-	↓	-	↓	-	↓	↓
		NP	↓	+	+	↓	↓	+	+	+	-	↓	-	↓	↓	↓	↓
		P	-	↓	↓	-	↓	-	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	+	-
	前	N	-	-	-	-	-	-	-	↓	+	-	-	↓	-	↓	-
		NP	-	+	+	↓	↓	+	↓	+	-	↓	-	↓	↓	↓	-
		P	-	↓	+	↓	↓	-	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	-
Control			+	+	+	+	+	↓	↓	↓	↓	-	↓	↓	+	-	
10-8	後	N	-	-	↓	-	↓	-	-	↓	-	-	↓	↓	-	↓	↓
		NP	+	+	+	+	+	-	↓	↓	-	↓	-	↓	↓	↓	-
		P	-	+	+	+	+	↓	↓	↓	↓	↓	-	+	↓	+	↓
	前	N	-	↓	+	-	↓	↓	-	-	-	-	-	↓	-	↓	-
		NP	+	+	+	+	+	-	↓	↓	-	↓	-	-	-	+	-
		P	-	+	+	↓	↓	↓	↓	↓	↓	+	+	↓	+	↓	-
Control			+	+	+	+	+	↓	-	↓	-	-	↓	-	+	-	

NP は前処置, 後処置共影響がなかつた (第13表).

b) 大原菌 R 型

N, NP を使用したが, 前処置, 後処置共全く何ら

の影響もなく, 対照群と同様の結果を得た(第14表).

c) 大原菌 S 型

N, NP, P, J, B の 5 種類を使用し, 前処置に

第 11 表 a) チ フ ス 菌 R 型

病毒稀釈量	臓 器		肝 臓								肺 臓				
	使用時期	病理所見 抽出物質	壊死	変性	粗鬆稀薄	肝索解離	核異常	星肥大細胞生	細胞浸潤 実質	出充 血・血	細胞浸潤	胞隔炎	出血	胞隔肥厚	
10 ⁻⁶	後	N	⊥	+	⊥	⊥	⊥	+	-	⊥	⊥	⊥	-	⊥	
		NP	-	+	+	⊥	⊥	+	-	⊥	-	-	+	-	
		P	+	⊥	⊥	⊥	+	+	-	⊥	-	⊥	⊥	-	-
	前	N	⊥	+	+	+	+	+	-	-	⊥	-	⊥	-	-
		NP	+	⊥	⊥	⊥	+	⊥	-	⊥	-	-	⊥	-	-
		P	⊥	⊥	⊥	⊥	+	⊥	⊥	⊥	-	⊥	⊥	-	⊥
Control			+	⊥	+	⊥	+	⊥	+	⊥	+	-	-	⊥	
10 ⁻⁸	後	N	⊥	+	+	⊥	+	+	-	⊥	-	-	-	⊥	
		NP	-	+	+	⊥	+	+	⊥	⊥	-	-	⊥	-	
		P	⊥	⊥	⊥	⊥	+	+	⊥	⊥	-	⊥	-	⊥	
	前	N	-	⊥	⊥	⊥	+	⊥	⊥	-	-	-	-	⊥	
		NP	⊥	+	⊥	⊥	⊥	⊥	⊥	⊥	⊥	-	⊥	-	
		P	+	⊥	⊥	+	+	⊥	+	⊥	-	⊥	⊥	-	
Control			+	⊥	⊥	+	+	+	⊥	-	⊥	⊥	-	-	

第 12 表 b) チ フ ス 菌 S 型

病毒稀釈量	臓 器		肝 臓								肺 臓			
	使用時期	病理所見 抽出物質	壊死	変性	粗鬆稀薄	肝索解離	核異常	星肥大細胞生	細胞浸潤 実質	出充 血・血	細胞浸潤	胞隔炎	出血	胞隔肥厚
10 ⁻⁶	後	N	⊥	+	+	⊥	+	⊥	⊥	⊥	-	-	⊥	+
		NP	-	⊥	⊥	-	⊥	⊥	⊥	⊥	-	⊥	⊥	-
		P	+	⊥	⊥	⊥	+	⊥	⊥	⊥	-	-	⊥	⊥
	前	N	-	+	⊥	-	+	-	⊥	⊥	-	+	-	⊥
		NP	⊥	⊥	⊥	+	+	⊥	-	⊥	-	⊥	-	⊥
		P	+	⊥	⊥	⊥	+	⊥	⊥	-	-	-	-	-
Control			⊥	+	+	+	+	+	⊥	+	-	⊥	-	⊥
10 ⁻⁸	後	N	-	-	+	⊥	⊥	⊥	-	-	-	⊥	⊥	-
		NP	-	⊥	+	-	⊥	⊥	⊥	⊥	-	⊥	-	⊥
		P	+	⊥	⊥	⊥	+	-	+	+	-	-	+	-
	前	N	-	+	+	-	⊥	⊥	-	-	-	+	⊥	-
		NP	⊥	+	+	⊥	+	⊥	-	⊥	-	⊥	-	⊥
		P	⊥	⊥	+	+	+	⊥	-	⊥	-	⊥	⊥	⊥
Control			⊥	⊥	+	+	+	+	⊥	+	⊥	⊥	-	⊥

於いて N, P の二者に中等度の抑制的效果をみ、NP, J は軽度の抑制作用を表わした。後処置では、P, J の一部に於いて軽度の促進的結果をみたが、

他のものは前処置、後処置共影響がみられなかつた (第15表)。

第 13 表 a) 赤 痢 菌 (胸 达 菌 B₉)

病 毒 稀 釈 量	臟 器		肝							肺 臟						
	使 用 時 期	病理所見 抽出物質	壞	變	粗	肝	核	星	肥	細	浸	出	細	胞	出	胞
			死	性	鬆	索	異	大	大	實	潤	充				
10 ⁻⁶	後	N	-	⊥	+	⊥	⊥	⊥	+	+	-	-	-	+	-	
		NP	⊥	+	+	+	+	⊥	+	+	-	-	⊥	⊥	⊥	
		B	-	⊥	+	⊥	⊥	-	+	+	-	-	⊥	-	⊥	
		J	-	⊥	+	-	⊥	⊥	+	⊥	⊥	-	⊥	-	⊥	
	前	N	-	⊥	⊥	-	⊥	⊥	⊥	+	-	⊥	⊥	⊥	-	
		NP	⊥	+	+	+	⊥	⊥	⊥	+	-	-	⊥	⊥	-	
		B	+	+	+	+	+	⊥	⊥	⊥	-	-	+	-	⊥	
		J	+	+	+	+	+	+	⊥	⊥	-	-	⊥	-	⊥	
	Control		+	+	+	+	+	⊥	⊥	+	-	-	⊥	-	⊥	
	10 ⁻⁸	後	N	-	-	⊥	-	⊥	+	⊥	⊥	⊥	⊥	⊥	+	-
NP			⊥	+	+	+	+	⊥	+	+	-	-	+	⊥	⊥	
B			-	-	⊥	-	⊥	⊥	⊥	+	-	-	⊥	-	-	
J			-	-	+	⊥	⊥	+	+	+	-	-	+	-	⊥	
前		N	⊥	+	+	+	+	⊥	⊥	+	-	-	-	+	-	
		NP	⊥	+	+	+	+	+	⊥	⊥	-	-	⊥	+	⊥	
		B	⊥	⊥	+	⊥	+	+	⊥	⊥	-	-	-	+	⊥	
		J	-	+	⊥	+	⊥	⊥	⊥	+	⊥	-	⊥	⊥	+	
Control		⊥	+	+	+	+	⊥	⊥	+	-	-	+	⊥	⊥		

第 14 表 b) 赤 痢 菌 (大原菌 R 型)

病 毒 稀 釈 量	臟 器		肝							肺 臟						
	使 用 時 期	病理所見 抽出物質	壞	變	粗	肝	核	星	肥	細	浸	出	細	胞	出	胞
			死	性	鬆	索	異	大	大	實	潤	充				
10 ⁻⁶	後	N	+	+	+	+	⊥	+	⊥	+	-	⊥	⊥	⊥	-	
		NP	⊥	+	+	+	+	+	⊥	⊥	-	-	⊥	-	+	
	前	N	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	
		NP	+	+	+	+	+	+	⊥	-	-	-	-	⊥	⊥	
	Control		+	+	+	+	+	+	⊥	-	-	-	⊥	⊥	+	
	10 ⁻⁸	後	N	+	+	+	+	+	⊥	⊥	-	-	⊥	⊥	-	⊥
NP			+	+	+	+	+	⊥	-	-	-	-	⊥	+	⊥	
前		N	+	+	+	+	+	+	⊥	⊥	-	-	+	+	-	
		NP	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	⊥	+	-	
Control		+	+	+	+	+	+	⊥	⊥	-	-	-	⊥	⊥		

第 15 表 e) 赤痢菌 (大原菌 S 型)

病 毒 稀 釈 量	臓 器		肝 臓							肺 臓					
	使用 時期	病理所見 抽出物質	壊 死	変 性	粗 鬆 稀 薄	肝 索 解 離	核 異 常	星 肥 大 増 肥 生	細 胞 浸 潤 実 質	出 充 血 ・ 血	細 胞 浸 潤	胞 隔 炎	出 血	胞 隔 肥 厚	
10-6	後	N	-	-	⊥	⊥	⊥	⊥	⊥	-	⊥	⊥	-	⊥	
		NP	⊥	+	⊥	+	⊥	+	⊥	⊥	+	-	⊥	-	
		P	-	-	⊥	-	⊥	⊥	-	+	⊥	⊥	-	⊥	
		J	-	⊥	+	⊥	⊥	⊥	+	⊥	-	⊥	+	-	
		B	+	⊥	⊥	⊥	+	⊥	⊥	-	⊥	⊥	+	-	
	前	N	+	⊥	⊥	⊥	⊥	-	-	-	⊥	-	-	⊥	
		NP	⊥	+	+	+	+	⊥	-	-	-	-	-	-	
		P	⊥	⊥	⊥	⊥	⊥	+	⊥	-	+	+	+	⊥	
		J	+	⊥	⊥	⊥	⊥	+	-	-	+	⊥	+	-	
		B	⊥	⊥	⊥	+	+	+	⊥	⊥	⊥	+	⊥	-	
	Control		+	⊥	⊥	⊥	⊥	+	-	-	+	⊥	⊥	-	⊥
	10-8	後	N	-	⊥	⊥	⊥	-	-	⊥	-	+	-	-	⊥
NP			+	+	+	+	⊥	⊥	⊥	-	⊥	-	+	-	
P			-	-	+	⊥	⊥	+	⊥	-	⊥	-	⊥	-	
J			⊥	+	+	⊥	⊥	+	⊥	⊥	+	⊥	⊥	+	
B			-	-	⊥	-	⊥	⊥	+	⊥	+	+	⊥	⊥	
前		N	+	⊥	⊥	+	+	⊥	-	-	⊥	-	-	-	
		NP	-	⊥	+	⊥	⊥	⊥	⊥	+	⊥	-	+	-	
		P	+	⊥	⊥	+	+	⊥	⊥	⊥	⊥	-	⊥	-	
		J	+	⊥	⊥	⊥	+	⊥	-	-	+	⊥	⊥	-	
		B	+	⊥	⊥	⊥	+	+	+	+	+	-	⊥	+	
Control		+	⊥	⊥	+	+	+	⊥	-	⊥	-	⊥	⊥		

(II) 動物臓器抽出物質の影響

以上の実験に於いては、すべて細菌より抽出せる物質を使用し感染に対する影響を観察したのであるが、抽出物質が病毒の侵入を阻止し、ウイルス増殖を防止して抗ウイルス性の作用機転を有するものか、methionin, glucuronic acid 等の薬剤に類似して、肝臓の恢復、増強、更には生体機能の賦活作用等によるものか明らかにすることは出来なかつたが、或る種の細菌性抽出物質、殊に核酸に於いて或る程度の感染阻止作用を有するものがあつた事を見出した。そこで細菌より一層関係の深い動物臓器を使用すれば如何なる影響があるかを検索しようと試み、モルモットの肝臓並びに脳髓よりそれぞれ粗核酸及び多糖体を抽出し (I) の実験と全く同様の方法により

実験を行なつた。

粗核酸並びに多糖体抽出方法

各臓器を2回洗滌後細切し、2%クエン酸を添加して500回転10分間混和攪拌後 4000 r. p. m. 30分間遠心沈澱 (A) を行なう。

粗製核酸—上記遠心沈澱 (A) で得た沈澱を2%クエン酸で3回洗滌、0.01Mクエン酸ソーダを加えて食塩水で1回洗滌し mixer で2万回転3分間行なつて後氷室に3日間放置す。それを取り出して4000 r. p. m. 遠心沈澱して得た上清にアルコール3倍量加えて得た沈澱に1Mの食塩水に1/3容量のchloroform : octalcohol (9 : 1の割合) を加え

mirar で2万回転3分間行なつた後 4000 r. p. m. で遠心沈澱を行なうと、上清として核酸液を得る。上記同様の操作を8回行ない得た上清に2倍容量の alcohol を加えて得た沈澱を乾燥して粗製核酸を得る。

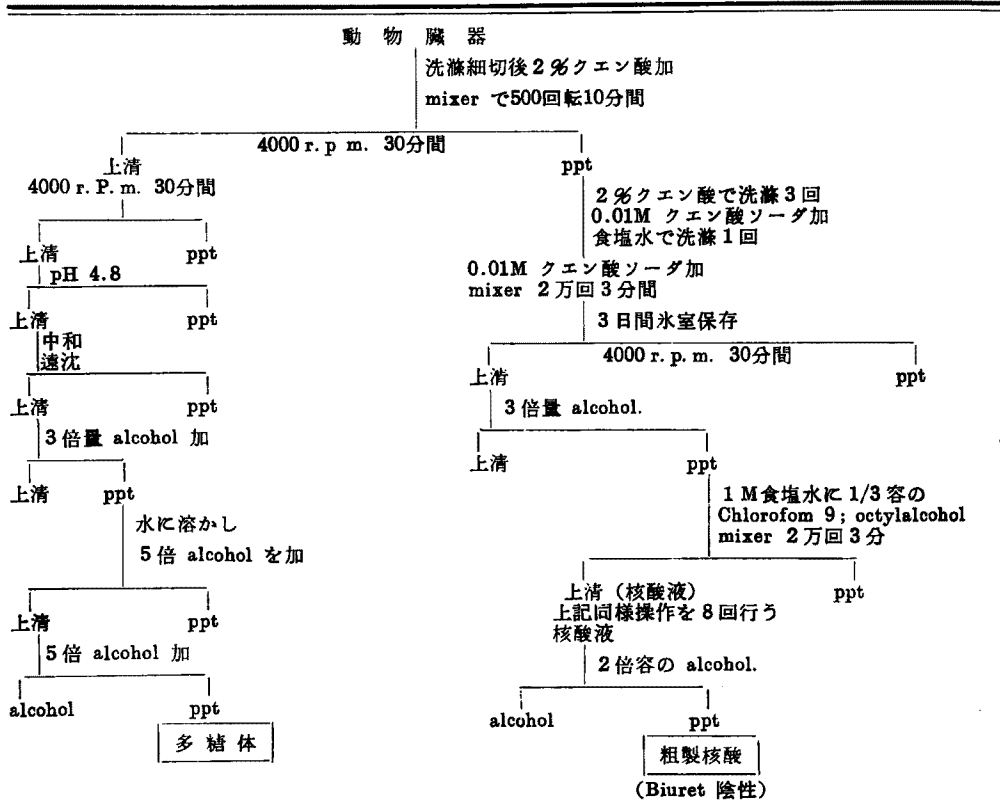
多糖体—遠心沈澱 (A) で得た上清を更に 4000 r. p. m. 30分間遠心沈澱し、その上清を pH 4.8 に修正して沈澱を起させて得た上清を中和後更に遠

心沈澱を行なつた上清に3倍容量のアルコールを加え、その沈澱を水に溶かして後5倍容量のアルコールを加えて沈澱を起させ更にその上清に5倍容量のアルコールを加えて得た沈澱を乾燥させ多糖体を得る (第16表)。

実 験 成 績

臓器抽出物質の感染に及ぼす影響を細菌抽出物質の成績と比較してみると細菌性物質の場合と異なり

第 16 表 粗製核酸及び多種体抽出法 (動物臓器)



第 17 表 モルモット肝臓及び脳髓

病 毒 稀 釈 量	臓 器		肝 臓							肺 臓				
	臓 器	病理所見 抽出物質	壊 死	変 性	粗 鬆 稀 薄	肝 索 解 離	核 異 常	星 肥 大 細 胞 生	細胞浸潤 実質 間質	出 血 ・ 血	細胞浸潤	胞 隔 炎	出 血	胞 隔 肥 厚
10 ⁻⁶	肝 臓	N. R.	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
		P. I.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	脳 髓	R. N.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+
		P. I.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
	Control		+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	

10 ⁻⁸	肝臓	R. N.	-	-	⊥	⊥	⊥	⊥	+	+	+	⊥	⊥	-	-
		P. I.	⊥	+	⊥	⊥	+	⊥	⊥	⊥	-	⊥	-	⊥	-
	脳髓	R. N.	-	⊥	+	-	+	+	+	⊥	+	-	-	-	⊥
		P. I.	-	+	+	+	+	+	+	+	+	⊥	-	-	+
	Control		⊥	+	+	+	+	+	+	+	⊥	-	⊥	⊥	

- 註 1) material モルモット肝臓及び脳髓 RN=粗製核酸 PI=polysaccharide
 2) 抽出物質を生理的食塩水に溶解 70°C 15分加温滅菌後 0.25 ml をマウス腹腔内播種
 3) 60分後病毒稀釈液 10⁻⁶ Or 10⁻⁸ 腹腔内播種

感染発症に対して促進的作用のあつたものは全くなく、全般的にみて軽度ながら抑制的効果がみられた(第17表)。

1) 肝臓抽出物質

a) 粗製核酸

本実験成績中感染阻止効果は最も良好で殊に病毒稀釈量 10⁻⁸ の群では変性壊死像は全くみられず、実質及び間質に於ける円形細胞浸潤がある程度の変更に過ぎなかつた。

b) 多糖体

粗製核酸の場合と正反対で感染阻止作用は 10⁻⁶ の群では最も不良であつたが、a) の場合に見られた如く 10⁻⁸ の群では比較的良好であつた。

2) 脳髓抽出物質

a) 粗製核酸

軽度の感染阻止的作用があつたが、肝臓抽出物質の成績と似て病毒稀釈量 10⁻⁸ の方が抑制的効果はやや良好であつた。

b) 多糖体

極く軽度の感染阻止作用がみられたに過ぎなかつた。10⁻⁶ では殆んど影響がなかつた。

総括及び考按

肝臓時に於ける核酸代謝の量的変動について述べられた実験成績(22)(23)(24)(25)をみると、肝臓が高度になるに従つて核酸、殊に RNA が著明に減少している。人の急性肝炎及び肝硬変症でも RNA/DNA 比の低下している例が多く、RNA の減少が認められている。ウイルス性肝炎では、肝細胞の RNA は減少消失し、mallory の硝子様小体では、RNA は完全に欠如する。又三宅等(26)は、ウイルス性肝炎の肝穿刺片による材料を用いて DNA 量の消長を測定し、発病後 DNA は逐次減少を来たすと述べている。これが臨床的に恢復に向う例では、核酸及び蛋白質量の増加が認められている。Stowell(27)は白鼠を用いて肝の再生時の RNA を顕微鏡光学的に

詳しく調べ、肝細胞の再生に際して RNA の著しい増加を来たす実験成績を得ている。

以上の事実よりみて、肝臓時に核酸系物質を使用することは、障害を受けた肝細胞の再生活動を助長するかも知れないと云う意味に於いて治療的効果を期待出来ないこともない。

又一方、ウイルスの核酸代謝に就いては未だ全く不明であるが、ウイルスは宿主細胞の酵素系を利用して増殖を計るとも考えられるので、病毒ウイルスの増殖に対して阻害的作用を有する物質を検索する意味に於いて、酵素機構に重要な位置を占める核酸系物質を使用してみることは、ウイルス感染の予防、更には治療への一途を得るかも知れないと思われる。

流行性肝炎に対して核酸系物質を用い、その成果を病理組織学的所見より考究した実験的研究の記載はない。

そこで著者は村上等の分離した分離病毒をマウスに接種し、この感染マウスに対して、コレラ菌、チフス菌及び赤痢菌の各菌型 9 種類よりそれぞれ分離抽出した抽出物質、(核酸、粗製核蛋白を主とし、蛋白、Boivin 物質及び Julianelle 物質)並びにモルモットの肝臓及び脳髓より抽出した粗核酸と多糖体を使用し、感染過程に対して如何なる影響があるかを検討した。

実験成績を通過してウイルス感染に及ぼす影響をみてみると、感染発症を促進するもの、抑制するもの、殆んど影響を与えないものにとり大別すれば、菌種別にみて抑制的効果のあつたものはコレラ菌抽出物質であり、促進的傾向にあつたのはチフス菌抽出物質で、赤痢菌抽出物質は全般的にみて抑制も促進も判然としないものが多かつた。コレラ菌では異型の抽出物質が最も抑制的効果顯著で、殊に N に於いて著明であつた。中間型及び原型に於いても、N の抑制的効果は良好であつた。チフス菌は R 型、S 型抽出物質の内、何れも蛋白は促進的作用を現わした。

モルモットの肝臓及び脳髓より抽出した物質はごく軽度の抑制的効果があつた。

以上の実験成績より、使用した菌種の内、チフス菌より抽出した蛋白は感染発症に対して促進的作用を発現した。この作用機構については、使用物質がウイルス蛋白合成に関与したものか、或は異種蛋白として肝臓を来たしたものか不明であるが、肝臓に対して有害物質として作用したか否かの問題については病毒を使用せずに実験を試みれば明瞭となるものである。

これに反しコレラ菌株に異型より抽出した核酸が本実験中最も著明に感染阻止作用を現わした事は注意すべきことであるが、如何なるメカニズムで阻止的効果を発現したかは明らかでない。ウイルスの増殖自体に作用せるものか、或は肝細胞の被護物質として効果があつたものかの何れに属するかについては、病毒攻撃と作用物質の使用時期を更に多くの段階に分けて追求すればかなり明瞭となつて来るものと思われる。ウイルス自体に対して阻止作用があるものとするれば、ウイルスの増殖過程が未だ究明されていない現在、その阻止機構を検索することは容易でない。

しかし或る種の核酸系物質が肝炎ウイルス感染に対して阻止物質として作用したことは、治療面に於いて意義あることであり、更に他種の核酸系物質を使用考察すれば一層良好な阻止物質を得る可能性があるものと考えられる。

又核酸の生合成に重要な役割を果しているビタミン即ち葉酸、VB₁₂及び生合成に関与し得る可能性のあるものとして Biotin, VB₆, E, C, 等の Vitamine

類、或は肝臓の RNA 量を増加させる Cortisone⁸⁸⁾ Thyroxine²⁹⁾ Estrogen³⁰⁾ 及び成長ホルモン等の Hormone を併用使用すれば、核酸研究の進歩と相俟つて更に一層良好な成績を得るものと思われる。

結 論

流行性肝炎患者分離病毒を用いて、マウス腹腔内接種により感染を起させ、その病毒攻撃2時間前、並びに2時間後に分けて9菌種の細菌よりそれぞれ分離抽出した核酸、粗製核蛋白、蛋白、Boivin 物質、及び Julianelle 物質、並びにモルモット肝臓及び脳髓より分離抽出した粗核酸と多糖体を使用して感染に及ぼす影響を主として肝臓並びに肺臓の病理組織学的所見より詳細に観察した。

感染促進作用のあつたものは、チフス菌より分離抽出した蛋白であり、抑制的効果を現わしたのはコレラ菌株に異型より抽出せる核酸に於いて著明であつた。

以上の実験結果よりみて或る種の核酸系物質には感染阻止作用を有するものがあり、更に他種のものにつき研究を進めるならば一層良好な成果を期待出来るものと思われる。

尚、本実験に於ける感染阻止並びに促進作用機構は不明であつた。

稿を終るに当り、終始御訓導を賜り且つ御校閲の労を辱うした村上栄教授に深甚の謝意を表する。

主 要 文 献

- 1) Shope, R. E.: N. Y. Cornell Univ. Press 85, 1943.
- 2) Horsfall, Jr. F. L. & Mc Carty, M.: J. Exp. Med. 85, 623~646, 1947.
- 3) Buddingh, G. J.: J. Exp. Med. 104, 947~958, 1956.
- 4) Burnet, F. M.: Lancet, 254, 7~11, 1948.
- 5) Stone, G. D.: J. Exp. Biol. 26, 49~64, 1948.
- 6) Stone G. D.: J. Exp. Med. 26, 287~298, 1948.
- 7) Cairns, H. G. F.: Nature, 4269, 335~335, 1951.
- 8) Hirst, G. K.: J. Exp. Med. 78, 99~109, 1943.
- 9) 後藤: 日本医事新報, 1369, 1899~1901, 1952.
- 10) 後藤, 大久保, 木村: 生体の科学, 2, 2~7, 1951.
- 11) 後藤, 大久保, 岩原, 吉岡, 佐野: 東大立地研報告, 10号, 60~66, 1952.
- 12) 後藤: 最新医学, 8, 537~543, 1953.
- 13) 中川, 中村: ウイルス, 7, 4, 1957.
- 14) Davidson, J. N.: The biochemistry of the nucleic acid. London & New York 1950.
- 15) 江上不二夫: 核酸及び核蛋白質, 上下共立出版, 1951.

- 16) Gale E. F. & Folkes, J. P. *Nature*, **173**, 1223~1226, 1954.
- 17) 村上：第2回日本ウイルス学会総会肝炎シンポジウム, 1955.
- 18) 村上：第3回日本ウイルス学会総会抄録, 1956.
- 19) 遠迫：岡山医学雑誌, **69**, **8**, 1957.
- 20) Lichtmann, S. S. *Diseases of the liviver gallbladder & bile ducts*. Lea & Febiger philadelphia 1953.
- 21) Rivers, T. M. *Viral and Rickettsial infeetion of man*. J. B. Lippincott Company 1948.
- 22) 織田, 鈴木：総合臨床, **8**, **3**, 45~51, 1959.
- 23) 岡：日本消化器病学会雑誌, **50**, **13**, 1953.
- 24) Stowell, R. : *Arch Pathol*. **50**, **519**, 1950.
- 25) Campbell, R. M. & Kor terlitz, H. W: *Brit. J. Exp. Path* **33**, **518**, 1952.
- 26) 三宅等：Acuta Pathol. Jap. **3**, **161~179**, 1954.
- 27) Stowell, R. E. : *Arch. pathol*, **46**, **164~178**, 1948.
- 28) Lowe, C. V. et al. : *Proe. Soe. Exp. Biol. Med.* **78**, **818**, 1951.
- 29) Barnum, C. P. et al: *Arch. Biochem.* **25**, **376**, 1946.
- 30) Campbell, R. M. et al. . *J. Endocrinol.* **9**, **52**, 1953.

On the Effect of the Various Extracts In the Course of Infection with Infectious Hepatitis Virus.

I) The Effect of the Various Bacterial Extracts

II) The Effect of the Organ Extracts of the Animal.

By

Manabu TAKAHASHI

Department of Microbiology, Okayama University Medical School
(Director. Prof. Dr. Sakae Murakami)

Author's Abstract

The influence of the various extracts of various bacteria and organs of animals on the infections aspect of hepatitis virus was studied by the histopathological findings in the inoculated mice.

According to the results of experiments, some extracts showed inhibitory action and someone revealed promoting effect, but also others were no influence on the course of infection.

It was nucleic acid and nucleo protein that were extracted from cholera vibrio which was inhibitory effect.

The Proteins which were extracted from Typhoid bacillus showed raising effect on the sensitivity of the mouse against the infectious hepatitis virus.

It will be found more effective substances which have inhibitory action, if further studies are performed on the other various substances.
