

# 動物臓器乳剤に依るインフルエンザ・ウイルスの 血球凝集阻止反応に関する研究

## 第一編

### 各種動物臓器乳剤の血球凝集阻止反応に就いて

岡山大学医学部微生物学教室（主任：村上 栄教授）

福 島 里 志

〔昭和33年10月1日受稿〕

#### 緒 言

インフルエンザ・ウイルスによる赤血球凝集反応の機作について、Hirst<sup>1)</sup> (1942) はインフルエンザ・ウイルスが酵素作用をもち、赤血球は基質として働くとの説を出して以来、赤血球の接受体、又これを破壊する破壊因子に関する種々なる研究が進められ、Stone<sup>2)</sup> (1947); Briody<sup>3)</sup> (1948) 等によつてコレラ菌の培養濾液が、又 Forster<sup>4)</sup> (1947)、鈴木、堀川<sup>5)</sup> (1950) 等によつて、肺炎双球菌の培養濾液が赤血球に作用して、赤血球凝集阻止反応を呈する事が認められた。

著者はインフルエンザ・ウイルスによる赤血球凝集阻止反応に及ぼす各種動物の臓器乳剤の影響を検べこの阻止作用は、コレラ菌や肺炎双球菌の培養濾液が赤血球に作用して、凝集阻止反応を呈するのに反し、臓器乳剤はウイルスに作用して凝集阻止反応を起す事を知つた。

#### I 実験材料及び方法

##### 1) 供試ウイルス

本実験に使用したインフルエンザ・ウイルスは、大阪大学微生物病研究所から分与された PR<sub>8</sub> 株及び Lee 株であるが、主に PR<sub>8</sub> 株を使用した。此等のウイルスはインフルエンザ・ウイルス感染漿尿腔液を 10<sup>-6</sup> に生理的食塩水で希釈し、その 0.2 cc 宛を10日～11日目の孵化鶏卵に漿尿腔内接種を行い、37°C、48時間培養を行つた後、一夜氷室中に保存し漿尿腔液を無菌的に採取して使用した。鶏卵1個からは平均7ccの漿尿腔液を採取でき、常に1280～2560倍の鶏赤血球凝集価を示した。

##### 2) ウイルス材料の作製

ウイルスの培養された漿尿腔液を厚生省衛生検査指針に従い凝集価を測定し実験に当つては8凝集単位を使用した。

##### 3) 動物臓器乳剤の作製

各種動物をエーテル麻酔し、生体解剖を行い各種臓器を剔出し、臓器重量1に対し生理的食塩水を9の割合に加えたものを、4000 r. m. p. 2分間ホモゲナイザーにかけ、10%臓器乳剤とした後、冷凍遠心沈澱器で4000 r. p. m. 20分間遠心沈澱を行い、その上清を使用した。使用臓器は脳、肺臓、肝臓、腎臓及び脾臓である。

##### 4) 血球浮游液の作製法

厚生省衛生検査指針に従い鶏雛をエーテル麻酔し、生体解剖を行い、5ccの注射器で5%拘縁酸ソーダを1、血液を4の割合になる如く心臓穿刺に依り採血し、これを目盛付遠心沈澱管に移し、1500 r. p. m.、10分間遠心沈澱後上清をすて、血球1に対して生理的食塩水9の割合に加え、10%血球浮游液を作り、これを原液とし、用へのぞみ0.5%及び0.25%血球浮游液に希釈して使用した。

##### 5) 反應用生理的食塩水の作製

大塚製薬会社製品の日本薬局方食塩8.5gを1lの蒸留水に溶解して使用した。

##### 実験方法： 1) 血球凝集価の測定

厚生省衛生検査指針に順じ、小試験管10本を並べ生理的食塩水を0.5ccずつ分注する。これにあらかじめ10倍に希釈したウイルス液を第1管に0.5ccに加え、よく混和し第2管に移す。以下同様にして第9管まで行い、最後に0.5ccを捨てる。第10管は食塩水対照でウイルス液は加えない。次いで全管に0.25%血球浮游液を0.5ccずつ加えた後よく振盪

混和して 10°C 以下に静置し、2 時間後結果を判定した。

2) 血球凝集阻止反応の術式

試験管台に 1 組 15 本の小試験管を並べ、生理的食塩水を第 2 管目より 0.5 cc ずつ分注する。これに 10% 臓器乳剤上清を 0.5 cc 第 1 管及び第 2 管に加へ、よく混和し、第 2 管の 0.5 cc を第 3 管に移す。以下同様にして第 10 管まで行い、最後に 0.5 cc を捨てる。次に 8 凝集単位のウイルス液を第 1 管から 14 管まで 0.25 cc 宛加える。最後に 0.5% 血球浮遊液を第 1 管より第 15 管まで一律に 0.25 cc 宛加へよく振盪混和後 10°C 以下に静置する。此の場合第 11 管より第 14 管まではウイルス対照、第 15 管は食塩水対照となるわけである。

3) 反応温度と反応時間

反応温度は 10°C 以下で安定であるので、常にその状態で反応せしめ、2 時間後の結果を判定した。

4) 血球凝集阻止像の判定

臓器乳剤によつて、血球凝集阻止反応を完全に起したものは、第 15 管の食塩水対照と全く同様な管底像を示し、血球凝集はみられず管底にまるく血球が沈澱する。これと反対にウイルス対照と同様な管底像を示すものを阻止反応のないものとし、両者の中間のものを不完全阻止反応とし、便宜上完全阻止反応 (-) 不完全阻止反応 (±) 阻止反応のないものを (+) の符号で示した。又実験に当つて、実験材料の作製は使用当日行つた。

II 実験成績

1) マウス各種臓器乳剤による血球凝集阻止反応の実験成績

マウス各種臓器乳剤を使用して血球凝集阻止反応を試みたが各臓器とも阻止反応を呈した。

第 1 表に示す如く肺臓乳剤に於て最高の血球凝集阻止反応を呈し、之に反し脳乳剤が最低で、ほぼ肺

第 1 表 マウス臓器乳剤による血球凝集阻止反応

臓器名	臓器乳剤稀釈								対照	
	20	40	80	160	320	640	1280	2560	食塩水	ウイルス
肺臓	-	-	-	-	-	-	-	±		
肝臓	-	-	-	-	-	-	-	±	+	
腎臓	-	-	-	-	-	-	-	±	±	(-)(+)
脾臓	-	-	-	-	-	-	-	±	+	
脳	-	-	-	-	±	+	+	+		

臓乳剤の 8 分の 1 の阻止を示した。阻止価は肺臓乳剤に続き、腎臓、肝臓、脾臓、脳、の順序であつた。

2) マウス肺臓乳剤遠沈分割別血球凝集阻止反応の実験成績

実験成績 1) で最高の阻止価を示した肺臓乳剤を使用して遠沈分割別血球凝集阻止反応を試みた。最初 4000 r. p. m. 20 分遠心沈澱を行つた乳剤上清を、第 2 表に示す如く 5000 r. p. m. ~14000 r. p. m.

第 2 表 マウス肺臓乳剤による遠心沈澱分割別血球凝集阻止反応

遠沈回数 20分間	材料	臓器乳剤稀釈									対照	
		20	40	80	160	320	640	1280	2560	5120	食塩水	ウイルス
3000	上清	-	-	-	-	-	-	-	-	±		
4000	上清	-	-	-	-	-	-	-	-	±	+	
5000	上清	-	-	-	-	-	-	-	±	+	+	
	沈澱	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	
6000	上清	-	-	-	-	-	-	+	+	+		
	沈澱	-	-	-	±	+	+	+	+	+	+	
8000	上清	-	-	-	-	-	±	±	+	+	(-)(+)	
	沈澱	-	-	-	-	±	+	+	+	+	+	
10000	上清	-	-	-	-	-	±	+	+	+		
	沈澱	-	-	-	±	±	+	+	+	+	+	
12000	上清	-	-	-	-	±	+	+	+	+		
	沈澱	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	
14000	上清	-	-	-	±	+	+	+	+	+		
	沈澱	-	-	-	-	-	-	±	+	+		

まで 6 段階に区分して、再遠心沈澱後、その上清及び沈澱について阻止価を検した。3000 r. p. m. 20 分、及び 4000 r. p. m. 20 分の上清による反応では、3000 r. p. m. 20 分間遠沈した上清の方に阻止反応に関与する物質が多く含まれている事がわかる。回転数の増加するに伴い、阻止物質は上清中から次第に減少し、沈澱に増加してきて、12000 r. p. m. ではほぼ上清及び沈澱に阻止物質が同程度に含まれ、14000 r. p. m. では沈澱に強く阻止反応が現れ、阻止反応に関与する物質の移行がみられた。

3) 各種凝集単位ウイルスに対する肺臓乳剤の血球凝集阻止反応の実験成績

ウイルス液の凝集単位別阻止反応をマウス肺臓乳剤で試みた。実験第 3 表に示す如く、マウス肺臓乳剤が定量的に阻止反応を呈することが知られる。又

第3表 マウス肺臓乳剤によるウイルス凝集単位別血球凝集阻止反応

ウイルス単位	臓器乳剤稀釈										対照	
	20	40	80	160	320	640	1280	2560	5120	10240	食塩水	ウイルス
4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±		
8	-	-	-	-	-	-	-	-	±	+		
16	-	-	-	-	-	±	+	+	+	+	(-)	(+)
32	-	-	-	-	±	+	+	+	+	+		
64	-	-	-	±	+	+	+	+	+	+		

鶏肝臓乳剤によつても、同様の実験を行つたが、マウス肺臓乳剤とはほぼ同様な曲線を示して阻止反応を呈した。

4) 各種動物臓器乳剤による血球凝集阻止反応の比較実験成績

海猿、ラッテ、家兎及びマウス、等の各種動物臓器乳剤の血球凝集阻止反応を試み、動物別及び臓器

第4表 各種動物臓器別血球凝集阻止反応

動物名	臓器名	臓器乳剤稀釈										対照	
		20	40	80	160	320	640	1280	2560	5120	食塩水	ウイルス	
海猿	脳	-	-	-	±	+	+	+	+	+			
	肺臓	-	-	-	-	-	-	-	±	+			
	肝臓	-	-	-	-	-	±	+	+	+			
	脾臓	-	-	-	-	-	-	±	+	+			
	腎臓	-	-	-	-	-	±	±	+	+			
ラッテ	脳	-	-	±	+	+	+	+	+	+			
	肺臓	-	-	-	-	-	-	±	+	+			
	肝臓	-	-	-	-	±	+	+	+	+			
	脾臓	-	-	-	-	±	+	+	+	+			
	腎臓	-	-	-	-	-	±	+	+	+			
家兎	脳	-	-	-	±	+	+	+	+	+	(-)	(+)	
	肺臓	-	-	-	-	-	-	±	+	+			
	肝臓	-	-	-	-	-	±	+	+	+			
	脾臓	-	-	-	-	-	±	+	+	+			
	腎臓	-	-	-	-	-	±	+	+	+			
マウス	脳	-	-	-	-	±	+	+	+	+			
	肺臓	-	-	-	-	-	-	-	±	+			
	肝臓	-	-	-	-	-	-	±	+	+			
	脾臓	-	-	-	-	-	±	+	+	+			
	腎臓	-	-	-	-	-	-	±	±	+			
鶏	肝臓	-	-	-	-	-	±	+	+	+			
蛙	肝臓	-	-	-	±	+	+	+	+	+			

別について比較検討した。臓器別の阻止反応を比較すれば、実験成績 1) で報告した様に各動物とも、肺臓乳剤が最も強く阻止反応を呈し、脳乳剤が最も弱い。肝臓、腎臓、脾臓、の各乳剤は動物によつてその順位は異り、ラッテ及び家兎は同様の順序を示し、肺臓、腎臓及び肝臓、脾臓、脳の順であるが、海猿及びマウスは脾臓が肝臓及び腎臓と逆になっている。総体的に阻止価の強度はマウス、海猿、家兎、ラッテ、の順に弱くなる。

5) 鶏肝臓乳剤の血球凝集阻止反応の温度別比較の実験成績

反応温度を-5°C, 0°C, 10°C, 15°C 及び 37°C の5段階に就いて比較した実験成績を第5表に示し

第5表 反応温度別血球凝集阻止反応

反応温度	鶏肝臓乳剤稀釈						対照	
	20	40	80	160	320	640	食塩水	ウイルス
37°C	-	-	-	±	+	+		
15°C	-	-	-	-	±	+		
10°C	-	-	-	-	-	±	(-)	(+)
0°C	-	-	-	-	-	±		
-5°C	-	-	-	-	-	±		

た。10°C 以下では反応は安定であり、15°C 及び 37°C の場合は阻止価は次第に低下した。この事についてはマウス肺臓乳剤を使用して行つた実験成績でも同様の結果を得た。凝集阻止反応は高温のもの程早く完了し、37°C では1時間、15°C では1.5時間、10°C 及び 0°C では2時間、-5°C では2.5時間を要した。

6) 臓器乳剤加熱温度別阻止反応の実験成績

マウス肺臓乳剤及び鶏肝臓乳剤について、加熱温度別阻止反応を試みた。第6表の如く、40°C, 50°C, 30分の加熱では乳剤は絮雲状を呈すので、一律に加熱後 1000r. p. m. 10分間遠心沈殿後の上清を用いて阻止反応を行つた。マウス肺臓乳剤では80°C 30分、鶏肝臓乳剤では70°C 30分の加熱乳剤でかろうじて阻止するに過ぎず、マウス肺臓乳剤では90°C, 30分で又鶏肝臓乳剤では80°C 30分の加熱では阻止反応は見られなかつた。しかし阻止反応に関与するこれ等の物質は易熱性のものであるが、比較的高温に耐えることが判る。

第6表 臓器乳剤加熱別による凝集阻止反応

臓器名	加熱温度(分)	臓器乳剤稀釈								対 照	
		20	40	80	160	320	640	1280	2560	食塩水	ウイルス
マウス肺臓	無処置	-	-	-	-	-	-	-	±	(-)	(+)
	40°C	-	-	-	-	-	-	-	+		
	50°C	-	-	-	-	-	±	+	+		
	60°C	-	-	-	-	+	+	+	+		
	70°C	-	-	±	+	+	+	+	+		
	80°C	±	+	+	+	+	+	+	+		
鶏肝臓	無処置	-	-	-	-	-	±	+	+		
	40°C	-	-	-	-	±	+	+	+		
	50°C	-	-	-	±	+	+	+	+		
	60°C	-	-	±	+	+	+	+	+		
	70°C	±	+	+	+	+	+	+	+		

7) 鶏肝臓乳剤の pH 別血球凝集阻止反応の実験成績

燐酸緩衝液を溶媒として pH 別凝集阻止反応を試みた。pH は硝子電極式 pH meter にて測定し、所定の pH に再調整する場合には、N/10 苛性ソーダ、又は N/10 塩酸を使用した。第7表に示す如く、

第7表 鶏肝臓乳剤による pH 別血球凝集阻止反応

燐酸緩衝液 pH	臓器乳剤稀釈								対 照	
	20	40	80	160	320	640	1280	食塩水	ウイルス	
8.3	-	-	-	-	±	+	+	(-)	(+)	
8.04	-	-	-	-	-	+	+			
7.73	-	-	-	-	-	±	+			
6.81	-	-	-	-	-	±	+			
5.91	-	-	-	-	-	±	+			
5.59	-	-	-	-	±	+	+			
5.29	-	-	-	-	+	+	+			

pH 5.91~8.04では安定な阻止反応を示し、pH 8.3では阻止価は減少し、pH 5.59以下でも同様減少している。

8) 不活性化ウイルスによる阻止反応の実験成績

56°C, 30分加熱, 2000倍マーゾニン添加(1週間氷室保存), 2000倍ホルマリン添加,(1週間氷室保存), による3種の不活性化ウイルスを使用して阻止反応を検討した。第8表によつて明らかな如く無処置の対照と何らの変化はみられず、全く同程度の阻止反応を呈した。

第8表 不活性化ウイルスによる血球凝集阻止反応

不活性化別ウイルス材料	鶏肝臓乳剤稀釈								対 照	
	20	40	80	160	320	640	1280	食塩水	ウイルス	
2000倍マーゾニン	-	-	-	-	-	±	+	(-)	(+)	
2000倍ホルマリン	-	-	-	-	-	±	+			
56°C 30分加熱	-	-	-	-	-	±	+			
無処置ウイルス	-	-	-	-	-	±	+			

9) 臓器乳剤濾液による阻止反応の実験成績

臓器乳剤の Seitz E. K. 濾液で阻止反応を試みた結果が第9表である。濾液対照は所定の阻止価を

第9表 臓器乳剤濾液による血球凝集阻止反応

臓器名	濾 過	臓器乳剤稀釈								対 照	
		20	40	80	160	320	640	1280	2560	食塩水	ウイルス
マウス肝臓	無処置	-	-	-	-	-	-	±	+	(-)	(+)
	濾 過	+	+	+	+	+	+	+	+		
鶏肝臓	無処置	-	-	-	-	-	-	±	+		
	濾 過	+	+	+	+	+	+	+	+		

示すが、いずれの臓器乳剤濾液に於ても阻止反応はみられなかつた。この事は阻止反応に関与する物質が Seitz E. K. 膜を通過しないと云うことが判る。即ちインフルエンザ・ウイルスより大きな物質であることが知られる。

10) 臓器乳剤凍結融解による阻止反応の実験成績

臓器乳剤をドライアイスで凍結, 37°C の恒温槽で融解することを20回くり返したもので阻止反応を試みた。第10表に示す如く、マウス及び鶏の何れの

第10表 臓器乳剤凍結融解による血球凝集阻止反応

臓器名	凍結融解	臓器乳剤稀釈								対 照	
		20	40	80	160	320	640	1280	2560	食塩水	ウイルス
マウス肝臓	無処置	-	-	-	-	-	-	±	+	(-)	(+)
	処 置	-	-	-	-	-	-	±	+		
鶏肝臓	無処置	-	-	-	-	-	-	±	+		
	処 置	-	-	-	-	-	-	±	+		

肝臓乳剤でも凍結融解によつて差がみられなかつた。

11) 臓器乳剤感作血球による阻止反応の実験成績

マウスの肺臓, 肝臓, 脾臓, 腎臓及び脳の各10%臓器乳剤の 3000 r. p. m. 20分間遠心沈澱した上清

を、各々2倍階段稀釈し、10倍から5120倍まで作り、各試験管中に血球を0.25%の割になる如くに加え、室温で3時間臓器乳剤を血球に感作させた後、各上清をすて、沈澱せる血球に元の液量迄生理的食塩水を加え、之を0.25%感作血球浮游液とした。この0.5 cc に、2単位のウイルス液0.5 cc を加えて、よく振盪混和後、10°C 以下に2時間静置し成績を判定した。阻止反応は陰性であつた。又マウス肺臓乳剤を使用して、乳剤中の阻止反応に關与する物質は赤血球に作用して阻止反応を呈するの否かを実験した。即ち10%マウス肺臓乳剤の3000 r. p. m. 20分間遠心沈澱した上清に1.5%になる如く血球を加え、室温で3時間感作後、2000 r. p. m. 10分間遠心し上清をすて、再び元の液量迄生理的食塩水を加え、1.5%血球浮游液を作る。これの0.5 cc にウイルス液0.5 cc を加え、0°C、1時間作用せしめた後、1500 r. p. m. 10分間遠心沈澱を行い、その上清について凝集価を測定した。実験の結果、阻止反応はすべて陰性であつた。即ち臓器乳剤は血球と作用して阻止反応を呈するのではないと云うことが出来る。換言すれば臓器乳剤中に含まれる阻止物質は従来発表されているコレラ菌及び肺炎双球菌の培養濾液の如く血球に作用してその接受体を破壊する事によつて阻止反応を呈するのではなく、ウイルスと作用して阻止反応を起すことが明である。

#### 考 按

血清Mucoprotein, Ovarian cyst mucoid, Oromucin, Gonadotrophic hormon 等がインフルエンザ・ウイルスの赤血球凝集反応を抑制し、此等の物質は生インフルエンザ・ウイルスによつて消化される物質であると考えたBurnet<sup>(6)(7)(8)(9)(10)</sup> (1947) 等の研究以来、この方面の研究が血球凝集反応阻止物質の探究とその機構を明かにせんとする方向に向つてきた。其の後にはコレラ菌の培養濾液に就てはStone & Briody (1947) が、肺炎双球菌の濾液に就ては鈴木、堀川 (1950) が、胆汁中のMucoprotein については後藤、木村<sup>(11)(12)</sup> (1952) がそれぞれ報告した。

以上の実験とは全く別個に著者は、各種動物臓器乳剤がPR<sub>8</sub>株に対する赤血球凝集抑制効果を有することに気がつき又其の物質はいづれの動物のいづれの臓器に最も大きいか、又それ等は分割遠沈でいづれの分割に依るものであるかを知る事が出来た。之について少し考察を加える事とした。

此等の血球凝集抑制物質はいづれの動物に於ても

肺臓中に最も多くみられ、脳乳剤中に最も少い。然し動物の種類に依りその程度には大小の差があることは勿論でマウスに於いて最高である。又此等の反応は10°C 以下の温度で安定であり、乳剤のpHは5.91~8.04の範囲で安定であり、此の物質は加熱度の上昇に従つて抑制価は減少してくる性質がある。遠心沈澱法で分割すれば可成の高度の回転数でも得られるがSeitz E. K. 膜を通過しない。又逆にウイルスを不活化したもので行つても抑制反応は全く認められずこのものはウイルスに作用して反応を抑制するものであることが判つた。

#### 結 語

- 1) マウスの脳、肺、肝臓、腎臓、脾臓の各臓器乳剤を使用して血球凝集阻止反応を行つた。肺臓乳剤の阻止価が最高を示し、脳乳剤が最低であつた。
- 2) 阻止反応に關与する物質は、高度の回転数程、沈澱の方に多く移行する。
- 3) 海猿、ラッテ、家兎、マウスの各種動物、各種臓器の阻止反応では、肺臓が最も強く、脳が最も弱い阻止価を示した。動物の種類に依り臓器乳剤の阻止価の順序は一定しない。
- 4) 反応温度は10°C 以下では安定であつた。
- 5) 乳剤を加熱すると阻止価は次第に減少しマウス肺臓乳剤では80°C 30分、鶏肝臓乳剤では70°C 30分加熱すると、ほとんど阻止反応がみられない。
- 6) 乳剤は、pH 5.91~8.04で安定した反応を示す。
- 7) ウイルスを不活性化しても阻止反応に変化はみられない。
- 8) 阻止反応に關与する物質はSeitz E. K. 膜を通過しない。
- 9) 臓器乳剤を凍結融解しても阻止反応の変化はなかつた。
- 10) 臓器乳剤による感作血球とウイルスとの凝集性を、無処置血球とで比較したが、変化はみられなかつた。即ち臓器乳剤はウイルスと作用して阻止反応を呈すると推測される。

稿を終るに臨み終始御懇切なる御指導並びに御閲覧を賜つた村上栄教授に謝意を表します。本論文の要旨は岡山医学会及び第10回中国四国細菌学会に於いて発表したものである。

## 主 要 文 献

- 1) Hirst, G. K. : Adsorption of influenza hemagglutinins and virus by red blood cells. *J. Exp. med.* **76**, 195~209, 1942.
- 2) Stone, J. D. Comparison of the Action of *Vibrio cholerae* enzyme and of viruses on the red cell surface. *Austr. J. Exp. Biol. & Med. sci* **25**, 137~146, 1947.
- 3) Briody, B. A. : Characterization of "Enzymic" action of influenza virus of human red cell. *J. immunol.* **59**, 115~127, 1948.
- 4) Floyd, A. S. & Forster, G. F. : Inhibition of the Hirst hemagglutination reaction by pneumococcal extract, normal serum and blood cell esterase proc. *Soc. Exp. Biol. & Med.* **66**, 20~23, 1947.
- 5) 堀川, 鈴木 : Studies on receptor-destroy enzyme in the cultural filtrates of various bacteria. *Mic. Med. college* **1**, 5~9, 1950.
- 6) Burnet, F. M., Mc. Crea, J. F. & Anderson, S. G. : Mucin as substrate of enzyme action by viruses of the mumps influenza group. *Nature*, **160**, 404~405, 1947.
- 7) Burnet, F. M. : Ovomucin as a substrate for the mucinolytic enzymes of *Vibrio cholerae* filtrate. *Austr. J. Exp. Biol. & Med. Sci.* **27**, 245~252, 1949.
- 8) Burnet, F. M. et al. : Mucin and mucoids in relation to influenza Virus action. III. Inhibition of Virus hemagglutination by glandular mucins. *Austr. J. Exp. Biol. & Med. Sci.* **26**, 371~379, 1948.
- 9) Burnet, F. M. et al. : Mucin and mucoids in relation to influenza virus action. IV. Inhibition by purified mucoid of infection and hemagglutination with virus strain WSE. *Austr. J. Exp. Biol. & Med. Sci.* **26**, 381~387.
- 10) Burnet, F. M. et al. : Mucin and mucoids in relation to influenza virus action. V. The destruction of "Francis inhibitor" activity in a purified mucoid by virus action. *Austr. J. Exp. Biol. & Med. Sci.* **26**, 389~402, 1948.
- 11) 後藤, 木村 : インフルエンザ・ウイルスによる Hirst 現象の機作について, II 胆汁中 Mucoprotein 様物質の赤血球凝集抑制について, ウイルス **2**巻 **1**号, 6~11, 1952.
- 12) 後藤, 木村 : インフルエンザ・ウイルスによる Hirst 現象の機作について III. 胆汁中 Mucoprotein 様物質による M. N. 1 群ウイルスの鑑別について, ウイルス **2**巻 **1**号, 168~175, 1952.

## Studies on the Inhibitory Action of Animal Organ Emulsions to Hemagglutination by Influenza Virus

### I: Hemagglutination Inhibition by Various Animal Organ Emulsions

By

Satoshi Fukushima

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

With the use of various animal organs, the author studied the inhibition to the hemagglutination reaction by influenza virus. The results are summarized as follows:

1) In all of the mouse, the rat and the guinea-pig, and of all the organs tested, the brain, the lung, the liver, the kidney and the spleen, the lung showed the highest and the brain the lowest hemagglutination inhibition.

2) The inhibition titer diminished by heating; in the mouse lung emulsion and in the fowl liver emulsion, heating at 80°C for 30 minutes and that at 70°C for 30 minutes respectively destroyed the hemagglutinationinhibitory activity nearly completely.

3) In the range from pH 5.9 to 8.0, the fowl liver emulsion showed a stable hemagglutination inhibition.

4) In the virus inactivated by heating at 56°C for 30 minutes, by adding 2,000× merzonin (kept refrigerated for 1 week) or by adding formalin (kept refrigerated for 1 week), no change was observed in the hemagglutination inhibition.

5) The hemagglutination-inhibiting substance was not filtrable through Seitz E. K.

6) Freezing and thawing of organ emulsions produced no effect on their hemagglutination inhibitory activity.

7) Sensitization of red cells with organ emulsions caused no change in the hemagglutination inhibition; the organ emulsions directly act on the virus.

---