

岡山県下に発生した流行性肝炎の病原体に関する研究

第 1 編

孵化鶏卵培養における肝炎ウイルスの増殖

岡山大学医学部微生物学教室 (主任: 村上 栄教授)

小 笠 原 元 日

〔昭和 33 年 5 月 8 日受稿〕

緒 言

岡山県下に発生した流行性肝炎特に病原体に関する研究は、既に村上等¹⁾の報告に端を発し、その後広汎な領域にまで研究は発展するに至つた。²⁾³⁾⁴⁾

その研究の重大な要点は、従来迄に肝炎ウイルスの分離及び動物実験によるウイルスの固定は、殆ど困難視されていた現状に鑑み、肝炎ウイルスの分離及び感受性動物の探索、更に実験動物によるウイルスの感染及び累代の可能性等に就ては詳細に検討を続けられた。

村上等¹⁾は、先づ諸種の実験動物を使用し、肝炎ウイルスの分離を試みたが、既に先人の業績に於て見られる成績と殆ど差違のない結果で、分離実験は頓挫した結果に終つた。その後偶然にも、孵化鶏卵培養により、一種の肝炎ウイルスに擬すべき病毒の分離に成功し、その後の実験は本分離ウイルスによる実験に終始した。

著者は、村上等の肝炎ウイルスの得られた孵化鶏卵培養に於ける肝炎ウイルスの増殖性を再検討する意味から、分離ウイルスの孵化卵に於ける分布について詳細に比較実験を行つた。

翻つて先人の肝炎ウイルスに対する夫々の報告を窺ふに、各種の実験動物への累代移植は、未だ確実に成功した段階ではないが、特に孵化鶏卵を用いた肝炎ウイルスの分離の試みは、既に Siede u. Meding (1941)⁶⁾ に初り、Dresel, Meding and Weinick (1943)⁷⁾ Siede u. Luz (1943)⁸⁾ 等主として独乙学派の唱うるものであり、更に Essen u. Lembke (1944)⁹⁾ により電子顕微鏡的観察も行われ、前記の孵化鶏卵による肝炎ウイルスの累代の可能性を強く支持している。

又以上の独乙学派の業績を、追試した Wildführ

G. (1953)¹⁰⁾ の報告は特記すべき示唆を含んでいる。既に Wildführ, G. は、孵化鶏卵培養と共に、諸種の実験動物を用いて、肝炎ウイルスの分離を試み、分離し得た夫々のウイルスを使用し、広汎な動物実験を行い、感染及び累代の可能性を実証すると共に、血清学的研究まで論及し、ウイルスの慢性化実験により、分離した肝炎ウイルスの特性を明にした。

別に Essen u. Lembke (1944)⁹⁾ は孵化鶏卵胎児を斃死せしめるウイルス様小体を電子顕微鏡で把えることに成功し、各ウイルス様小体は電子顕微鏡所見に於て、180 m μ と計測している。

是等の業績と平行して、Henle et al (1951)¹²⁾¹³⁾ も、孵化鶏卵及び組織培養を併用して、肝炎ウイルスの分離併に累代移植に成功し、而も分離ウイルスを用いて、皮膚反応を試み、一応の成果を収めていることも注目される。

本邦に於ても、全国的に発生した流行性肝炎の研究は、各研究者によりて行われたに拘らず、未だ成果を見るに至つていないが、只荒川 (1956)¹⁴⁾ が、肝炎ウイルスの分離に成功したと報じ、電子顕微鏡的に大きさを計測していることは注目される。

著者は、村上等の分離したウイルスの分譲を受け、特に先人の報告に倣い、孵化鶏卵に於ける培養を継続すると共に、マウスに復原して、主として感染標識を病理学的所見におき、孵化鶏卵内に於けるウイルスの増殖状態、更に接種部位による感染の様相、等を詳細に究明した結果、極めて特異的なウイルスの性状を明にし得たと信ずる所見を得たので茲に報告する次第である。

実験材料及び方法

ウイルス · 村上等によつて分離されたウイルスの内、特に孵化鶏卵で累代を継続して保存されてい

るウイルスであり、先に分離されたウイルス株としては、金光、森本、石原、小川株、後に分離されたウイルス株である野田株を用いた。夫々のウイルス株の性状及び由来は表示した。(第1表)

感染及び累代： 既に表示したウイルスは、急性肝炎の患者材料より、孵化鶏卵の累代により保存されていたが、著者は同ウイルスの分離を受け、孵化鶏卵培養を行い培養を継続した。

第1表 ウイルスの由来及び性状

供試ウイルス	接種材料	分離年月日	分離動物及び累代方法
金光株	急性肝炎患者糞便 (発病後2週間目)	1953. 1. 21	分離：孵北卵 累代：孵化卵を経てマウス累代75代
森本株	肝炎患者血清 (中等症)	1953. 9. 24	分離：孵化卵 累代：孵化卵のみ累代
石原株	急性肝炎患者肝 (重症死)	1954. 6. 2	分離：孵化卵 累代：孵化卵48代マウス34代
小川株	急性肝炎患者肝 (重症死)	1954. 9. 3	分離：孵化卵 累代：孵化卵52代マウス34代
野田株	急性肝炎患者肝 (重症死)	1954. 9. 3	分離：マウス直接腹腔内接種 累代：マウス腹腔接種16代

孵化卵の漿尿腔内に0.25 ml 宛ウイルスを接種し、培養を行うに、接種後6~10日にして鶏胎児の斃死を認める場合が多く、稀に死亡しない場合もあるが、適宜胎児を集め、眼球、嘴、肢等を除き、Homogenizer で細粒均等なる乳剤を調製し2,000 r. p. m. 20 min 遠心沈澱して、その上清を次代接種材料とした。乳剤の調製に当り、稀釈液は漿尿腔液若くは生理的食塩水(pH. 7.6)を用いた。次代接種材料として漿尿腔液又は胎児肝臓乳剤を使用しても累代は可能であることも既に経験した。之等の孵化卵累代に当つては、孵化卵自体の感染標識となるものは、胎児自体の充血又は出血が挙げられるが、他に特徴となるべきものは認められないので、胎児の斃死は大きな標識となるものである。

実験方法： 上記の如き方法で累代された場合感染標識に乏しく、容易にウイルスの増殖の判定が出来ない憾があるので、村上等の実験に倣い、孵化鶏卵にウイルスを接種し、斃死した胎児若くは胎児肝臓の多数を集め、Poolしたる後、マウスの腹腔に0.25 ml 宛接種し、2週間後、各臓器を取り、フォルマリンで固定し、H-E染色を行い、病理標本を作り、その病理所見を窺い、感染の様態を判定した。

実験成績

孵化鶏卵に於けるウイルスの増殖を詳細に究明す

る意味より、本実験に於ては5株のウイルスを使用し、夫々のウイルスの示す態度、殊に孵化卵胎児の生死、培養日数、ウイルスの稀釈、孵化日数等に岐ち、孵化卵側(宿主)とウイルス側(寄生体)との関係を明にし、ウイルスの増殖度を窺うにあつた。ウイルス接種経路を先の村上等の実験と同様に漿尿腔内と定め、次代接種材料は、鶏胎児乳剤を用いた。更に此等胎児乳剤に於けるウイルスの増殖を定量的に知ることが出来ないため、マウスに接種を施し、ウイルス増殖の程度を推測する方法をとつたが、その病理学的所見に就ては、村上等の指摘した所見に倣つた。

即ち、マウスの病理学的所見として、主要な病変は肝臓及心肺臓に局限されている。肝臓に於ては、肝実質細胞の変性及び壊死の像が認められ、殊に壊死巣形成が著明に比較的広汎に拡つている場合と、類壊死に止つている場合があり、その周辺に出現する細胞変化は極めて特異的である。之等の変化に続いて星芒細胞の腫大及び増生、肝細胞索の解離があり、実質、間質に於ける細胞浸潤の認められることも、特長である。肺臓に於ては、胞隔炎及び之に伴う気管、血管周辺に於ける円形細胞浸潤が認められ、胞隔壁の肥厚、充血若くは出血が見られた。(第2表)

是等の病理学的諸変化を諸条件のもとに、孵化鶏卵培養を行つた成績は次の如くである。

第2表 ウイルス接種マウスに於ける主要病理学的所見

病理学的所見 ウイルス	肝 臓					肺 臓			
	肝及細胞の壊変性死	星芒細胞の腫大増生	肝細胞索の解離	実質内の細胞浸潤	間質内の細胞浸潤	胞隔炎	気管及び血管周囲の門形細胞浸潤	胞隔の肥厚	充血及び出血
金光株	+	+	+	卅	+	+	+	+	+
森本株	+	+	+	卅	卅	卅	+	+	+
石原株	卅	+	+	卅	卅	卅	卅	+	卅
小川株	卅	+	+	卅	卅	卅	卅	卅	+
野田株	+	+	+	卅	卅	卅	+	+	+

(註) i) 一群3~5匹のマウスを使用す。
ii) (卅)~(+)病変の程度を示す。

1) 孵化日数によるウイルス増殖性の比較

村上等の報告した孵化鶏卵に於けるウイルスの感染及び累代には、孵化後6~8日卵が用いられ、好結果を得たと述べている。著者は孵化後5~12日に亘り、詳細に孵化日数の適当な日を選ぶと共に、ウイルスの増殖性を検討した。孵化日数を5~12日と定め、ウイルスを接種後5~7日培養を継続して、鶏胎児の生死を観察し、後に孵化卵3~5個の鶏胎児をPoolして、マウス腹腔に接種して、その病理学的所見を窺った成績では、鶏胎児の若い時期即ち5~8日に於て、鶏胎児の斃死が良く認められ、孵化日数を次第に延長するに従い、斃死例も減少する傾向があるが、稀にウイルス株により斯る傾向を殆ど認めぬ場合もあつた。著者が分譲を受け、実験に用いた5株のウイルス株は、夫々の株により累代数に多少の差異はあるが、一般に30~75代の孵化卵通過を経て、毒性が累代と共に減少した現象が既に指摘され¹⁶⁾、孵化卵の胎児斃死が、ウイルス接種後より胎児斃死迄の日数が延長され、斃死率も漸次減少している状態にあるので、更に分離後累代を重ねないウイルスを用いて、実験をした成績と、比較検討する必要がある。著者の実験では、ウイルス株によりて、孵化日数に伴う鶏胎児の斃死は、種々の様相を示すが、累代と共に減少する様に推測された。次に孵化日数如に採取した鶏胎児を夫々にpoolし乳剤としてマウスに接種した時の病理所見を比較するに、夫々のウイルス株共に孵化日数5~7日に接種した場合が優れ、殊に定型的に鶏胎児の斃死を見

た小川株、森本株、石原株が病変としては常に高度である所見を得た。殊に小川株では、孵化日数は5日より10日に延長された場合でも、マウスの病変は他のウイルス株と比較して、常時高度であることが窺われた。又野田株に於ては、ウイルス分離後孵化卵の通過が、16代を経過しているに止り、ウイルス株では分離後比較的若い時期と考えられ、而も鶏胎児の斃死例が乏しいにも拘らず、病理学的所見は著明であることも注目し得る所見であると思料された。

以上の所見より、孵化卵に良く馴化するに至つたウイルス株は、夫々の株により異なるが、一様に5~12日卵に於てウイルスの増殖があるものと考えられ、而もウイルス感染の標識としては、鶏胎児の感染死により一部は察知し得られるとしても、絶対的なものではない。マウスに接種して得た病理所見より、ウイルスの増殖性を推測すれば、一般に分離ウイルスは5~7日の孵化日数を経たものが、最も高度な増殖を示すものと推定された。夫々のウイルスの増殖は、常時差が示される例から見て、本ウイルスの増殖はかつて Henle et al. (1951) が指摘した如く、非常に良好な増殖を営むものでなく、ウイルスの増殖性に著しい差異があるものであり、而も此の性状は、ウイルス株により、孵化卵累代に伴い、大きな差異が示されるものであることが強く示唆された。(第3表)

第3表 孵化日数のウイルス増殖に及ぼす影響

ウイルス	孵化日数				
	5日卵	7日卵	8日卵	10日卵	12日卵
金光株	+	+	+	+	±
森本株	卅	+	±	±	+
石原株	卅	+	+	+	+
小川株	卅	卅	+	卅	+
野田株	卅	卅	+	±	±

(註) i) (卅)~(±) 病変の程度を示す。
ii) 孵化日数を主として、各群胎児の生死を考慮せずを用いた。
iii) マウス是一群3~5匹を用いた。

2) 感染標識としての鶏胎児の生死

前記のウイルス株接種による孵化卵に於ける胎児の生死は、一部感染標識として注目したが、ウイルス接種後、ウイルス増殖による宿主側の蒙る影響として発現する所見としては、重要である。多少この所見には例外はあるが、実験成績より見れば、鶏胎

児の死亡は、常時ウイルスの増殖度を知る最も簡便なる所見である。本実験では鶏胎児の生死を目標として、夫々のウイルス株を用いて、鶏胎児の生死によるウイルスの増殖性を、前の実験と同様にマウスの病理学的変化に就て、比較検討した。

孵化卵にウイルス株を接種するに、通常5～10日にして鶏胎児の斃死が認められる。此の際剖卵して見ると、鶏胎児全般に亘り、充血若しくは出血斑点を散発する場合が少なく、稀に胎児があたかも血液凝塊を以て充たされた如く暗赤色の出血斑点を密発する場合がある。

胎児の外観は斯くの如く種々であるが、胎児を剖見するに、軽度の肝臓の腫大が通常認められ、而も表面に小出血点が認められる。是等胎児の病理標本では、肝実質細胞の壊死が認められることは、Wildführ G. (1953)¹⁰⁾の所見と良く一致する結果であつた。

著者の実験で見るに、ウイルス接種後5～10日の間に鶏胎児の斃死する場合と、斃死しないで経過する場合があります。斃死と斃死せぬ場合に於ける5株のウイルス株の示す増殖の状態を比較した結果では、胎児の死亡した場合は一般にウイルスの増殖は高度であることが、マウスの病変より推測された。鶏胎児の死亡を認めた小川株、石原株、森本株、金光株は共に、病変と平行して、小川株はその病変は著しく高度であることが見られた。鶏胎児の全く死亡しないで経過した場合に於てもウイルスの増殖は認めない訳ではなく、軽度の病変は認められ、且累代も亦可能であることを経験した。要するに本ウイルスの孵化卵に於ける特徴は、ウイルスの増殖が一樣でなく、ウイルス株によりては、野田株の如く分離当時より殆ど鶏胎児の斃死を認めずして経過し、後にマウスの病理所見にて始めて感染及び累代が行われているのを知り得る有様であつて、他のウイルスに見られる所謂固定の時期が、漸く定着の域に達したと呼称される時期と思推された。ウイルス接種による鶏胎児の死亡が、総てウイルスの感染標識とはならないが、胎児の死亡がある場合は、ウイルスの充分な増殖は予想し得る所である。尚鶏胎児の死亡が累代を重ねるに従い、死亡日数が延長され、而も斃死数が漸次減少している事実、既に前田¹⁰⁾真鍋¹¹⁾等も指摘しているが、孵化卵の孵化日数を5～7日と定め、所定の累代法に従うならば、比較的胎児の死亡数は保持出来ることをも知り得たが、本ウイルスの孵化卵に対する態度は極めて定着性に於て

差があり、馴化し難い点は、最良の感受性をもつと断言し得られぬ所以である。(第4表)

第4表 鶏胎児の生死のウイルス増殖に及ぼす影響

ウイルス株	金光株	森本株	石原株	小川株	野田株
胎児生死別					
鶏胎児の死亡した場合	+	++	++	+++ ~	+
鶏胎児の死亡なき場合	⊥	⊥	+	+	+

(註) i) (++)~(⊥)病変の程度を示す。

ii) 一群孵化卵3～5ヶpoolした。

3) ウイルス接種後に於ける培養日数

本実験では、孵化鶏卵の孵化5日卵を選び、一定に接種を行い、培養日数を経過後4～6日、7～10日、11～15日と分ち、夫々のウイルス株を接種培養を行い、マウスに復原して、その病変を比較した。実験成績では、その病変は4～6日に於て特に高度な場合が多く、7～10日、11～15日と培養を継続するに伴い、次第に病変は軽度となる傾向がある。前者に於ては、類壊死、若くは壊死形成が著しく、細胞変化は類壊死の周辺に於て良く観察され、就中好中球の少数の出現も認められ、又 Mallory 氏小体も認められた。

是等の細胞変化は、かならずしもウイルス性変化とは断言し難いが、炎症性変化に伴うウイルス性変化と称すべきものと推測された。又実質及び間質周辺に於ける細胞浸潤も良く認められた。反之して後者に於いては、壊死巣の形成は著明でなく、存在する場合は、小なる限局性壊死巣が稀にあり、他は細胞浸潤を散見するに過ぎない場合が多い。之等の病理所見を単純に、ウイルスの増殖程度を比較することは出来ないが、少くともウイルスの増殖の経過は窺い得られ、胎児の生死に拘らず、若い時期に於ては、孵化卵に定着し易き性状をもつことは理解され得るのである。此の事実はウイルス株全般に就て云い得るが、稀に例外があり、小川株、森本株に於ては殊に、11～15日の培養でも同程度の病変をマウスに惹起し得ることは、ウイルスの定着性が引続き保持されていることを意味し、宿主側の抵抗にも拘らず、ウイルス増殖の場となり得ることは明である。之等の解釈に就ては、宿主対寄生体との相関関係の上から、又代謝の面よりも論議される問題であると思推される。

培養日数別に、夫々累代を行つた成績でも、殆ど同様な傾向が認められ、培養日数は、大体4~15日に於ては、どのウイルス株に於ても、累代は可能であり、而もマウスに復原も容易であることが窺い知られた。特異な例として小川株に就て、詳細に培養日数別に、マウスの病理所見を見るに表示した如くである。

小川株に於ては培養日数に余り影響を蒙ることなくウイルスの増殖があるものの如く、その病変も比較的不变に維持されている。即ち肝臓に於ける肝実質細胞の変性壊死は4~6日のものにもあり、而も11~15日と日数を経ても同様に証明される事實は、マウスの実験の倉内¹⁷⁾の成績に示された慢性化の傾向を示す性状の一端とも解されるものであつて、Wildführ. G. の所見と良く類似した性状である。(第5表)

第5表 ウイルス増殖に及ぼす培養日数の影響

ウイルス			培養日数		
			4日 ~6日	7日 ~10日	10日 ~15日
金光株	株	株	卅	卅	上~(+)
森本株	株	株	卅	+	卅~(卅)
石原株	株	株	卅	+	卅~(卅)
小川株	株	株	卅	卅	卅~(卅)
野田株	株	株	卅	+	卅~(卅)

(註) i) (卅)~(+)病変の程度を示す。

4) ウイルス稀釈による病変の発現程度の比較
 孵化鶏卵に於ける累代は、総てウイルスに感染し

た胎児乳剤を用いたが、次代接種に際してウイルス乳剤が濃度の濃い時と、稀釈して用いられた場合では、マウスに復原された時の病理所見は、前者よりも、後者の場合が、著しく高度な病変が発現することが多い事實は先に池田¹⁵⁾真鍋¹⁶⁾も報告した。

著者も孵化卵に就て斯る見解により、夫々のウイルス株を、夫々に倍数稀釈を行い、10⁻²~10⁻⁹の稀釈域に於て観察を行つた。その結果では殆どのウイルス株に於て斯る傾向があり、10⁻⁶~10⁻⁹の域に於て著しく病変は強く、ウイルスの増殖度も、旺盛となる事實を知つた。(第6表)

又胎児死亡率から見れば、10⁻²⁻⁵の域よりも、10⁻⁶⁻⁹の稀釈域に於て、斃死が多く見られることも亦興味深いことである。

是等の理由を始めは、ウイルスの自己干渉現象と解していたが、寧ろ著者の実験より、或は橋本²³⁾の実験より推測して、ウイルス乳剤内に混在する組織

第6表 ウイルス稀釈による病理学的変化

ウイルス		ウイルス稀釈							
		10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷	10 ⁻⁸	10 ⁻⁹
金光株	株			+	+	卅	卅	卅	卅
森本株	株			+	+	卅	卅	卅	卅
石原株	株	+	卅	+	+	卅	卅	卅	卅
小川株	株	+	+	+	+	卅	卅	卅	卅
野田株	株			+	+	+	+	+	卅

(註) i) (卅)~(+)病変の程度を示す。

第7表 小川株の病理学的所見

ウ イ ル ス	孵 化 日 数	培 養 日 数	実 験 生 死 別 用 別	ウ イ ル ス 稀 釈																		
				10 ⁻¹		10 ⁻²		10 ⁻³		10 ⁻⁴		10 ⁻⁵		10 ⁻⁶		10 ⁻⁷		10 ⁻⁸		10 ⁻⁹		
				肝	肺	肝	肺	肝	肺	肝	肺	肝	肺	肝	肺	肝	肺	肝	肺	肝	肺	
小 川 株	5日卵	5日	死	卅	卅					卅	+	卅	+	卅	卅	卅	卅	卅	卅	+	+	
	7日卵	4日	死			卅	+	卅	+	卅	+	卅	+	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	+	+
	8日卵	6日	生			卅	+	卅	卅	卅	卅	+	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	+	卅
	10日卵	6日	生					+	+	+	+	+	+	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	+	+
	12日卵	8日	生・死							+	+	卅	+	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	+	

(註) i) (卅)~(上)病変の程度を示す。

ii) 各稀釈如にマウス3~5匹を用いた。

第 8 表 野田株の病理学的所見

ウ イ ル ス	孵 化 日 数	培 養 日 数	実 験 生 死 用 別	ウ イ ル ス 稀 釈									
				10-6		10-7		10-8		10-9		10-10	
				肝	肺	肝	肺	肝	肺	肝	肺	肝	肺
野 田 株	5日卵	4日～6日	生	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	7日卵	4日～6日	生	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	8日卵	4日～6日	生	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	10日卵	4日～6日	生	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	12日卵	4日～6日	生	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

(註) i) (+)～(-) 病変の程度を示す。

ii) 各稀釈如にマウス3～5匹を用いた。

片が抑制的に働くことも考えられるに至つた。この事實は精製ウイルスにより確めた橋本の指摘する所であつた。

稀釈による影響を更に特に分離後累代を重ねた小川株と、分離後半日目の浅い野田株に就て比較するに、高度に稀釈されたウイルス乳剤を接種した場合は、病変が強く発現する傾向は両方共に認められるが、小川株に鶏胎児の死亡率が高く認められ、病変も維持されるが、野田株は鶏胎児の死亡が全く認められぬに拘らず、病変は各稀釈により程度の差はあれ認められることは興味があり、ウイルスの稀釈程度が窺われた。(第7, 第8表)

5) 季節によるウイルスの増殖性

著者は5株のウイルス株の分与を受け、孵化卵による累代を続行して経験したことは、季節によりウイルスの増殖は影響を蒙るものの如く、冬期に於て鶏胎児の死亡率も高く、マウスの病変も高度であるが、夏期に於ては、次第に胎児死亡率は減少し、マウスの病理学的所見も軽度に経過することを知つた。ウイルスの取扱いに当り考慮すべき問題と思量された。

総括及び考按

著者は村上等の分離ウイルスに就て、先づ孵化卵に於けるウイルスの感染より進み、諸種の条件を述べて、ウイルス増殖の場としての孵化卵に就て検討した。

ウイルスと孵化卵との相互作用の内、重視される条件として諸種の場合が挙げられ、宿主側に於ける孵化日数、鶏胎児の生死、寄生体側に於けるウイルス培養日数、ウイルス稀釈の影響、外界温度による影響、更にウイルスと孵化卵の間の関係等に就て吟

味した結果、各種の条件に支配されることが窺われた。

又ウイルス株に就て見ても、ウイルスの夫々の株に於て孵化卵に対する態度が又も異つた傾向を示すことは明かであるが、孵化卵の累代を重ねるに従い、著しい差異が生ずる様に推測されることである。而もウイルス増殖の度を、更にマウスに復原して病理学的所見により、感染の様相を確かめると云う繁雑な形式に拠るために、直接的に定量的な測定が困難な事実も亦一応条件としては考慮する必要がある。

前者の場合では、孵化卵通過によるウイルスの変異現象が惹起しているとも考えられ、又は孵化卵の胎児乳剤にも恐らく抑制的に働く組織成分の存在も考えられる。それと共に後者では直接的に感染価を知悉し得られぬ憾もあり、著者の行つた実験が最良の方法と断じ難いが、肝炎ウイルスの研究途上にある現状では、之等の方法に従つた訳である。

本ウイルスを用いた実験成績より、判断するにその増殖形式は、インフルエンザ・ウイルスと大きな差異があり得るとは考えられず、先の実験よりウイルス増殖の頂点は接種後5～7日にあり、更に日を経る10～15日に第二の頂点を示すものと推測されるのは、小川株ウイルスに於て顕著である。

之等の間に於けるウイルスの増減が絶えずあることは当然であるが、特に斯る場合に於ては著しいものと判断し得る様に思惟された。而しながら此の傾向は、インフルエンザ・ウイルスの様に定量的にウイルスの増減を測定し得られぬので、マウスの病変を参考にして判断した所見であつて、詳細なウイルスの増殖形式は明かではない。その間鶏胎児に起る斃死と云う現象は、一部的にウイルス増殖の一表現と解し得るものと推測されたが、他のウイルスに見

られる固定の域に達するに至らぬのは、ウイルスの定着性に於て、夫々に選択性を有するものと理解すべきか、容易に結論し得られぬ問題である。

尚肝炎ウイルスの分離の困難性は、先人の報告により知られるが、前述の如き比較的感受性をもつと推定される孵化卵に於ても、定着に夫々の差のある事実、それに伴う特異的な性状をもつウイルスに起因するものであると判断されるのである。

斯るウイルスの増殖様式を辿る孵化卵は、実験動物としては最良のものとは云い難いが、用いられる実験動物であることは明かであり、諸種の条件を考慮して行う孵化鶏卵培養は、有意なもの判断する論拠を得た。

結 論

村上等により流行性肝炎材料より分離されたウイルスの分譲を受け、孵化鶏卵に於ける増殖形式及びウイルスの特異性状に就て検討を重ねた結果、次の所見を得た。

1) 本ウイルスの孵化卵に対する感受性は、強いとは云い得ないが、適当な実験動物の得られぬ今日、最良のものと推奨出来る。而し孵化卵培養のみでは、感染標識の欠ける憾があり、他に補助手段を行い、

感染の判定を求める必要がある。

2) 孵化卵に於ける本ウイルスの増殖は、孵化卵に馴化するにつれて、多少とも性状の変化と共に、その増殖様式も変更される様であるが、一般に増殖期の頂点が、5～7日と10～15日に示され、増殖サイクルは他のウイルスとは異り、特異な形式を示すものと推測された。

3) 本ウイルスの孵化卵接種により、宿主対寄生体の相関関係から見れば、その増殖は、孵化日数、鶏胎児の生死、培養日数、ウイルスの稀釈、培養温度等、諸種の条件に影響を受け易く、而も感染の判定が、直接定量的に知り得られない不利もあり、詳細に検討し得られぬ点も尠くないが、マウスの復原試験により、その病理所見により、感染の様相を窺う方法も亦用い得るものと推定される。

4) 孵化卵に示す本ウイルスの性状に鑑み、ウイルスの分離及び累代に就ては、孵化卵培養による長短を知り、検討を要するものと判断された。

稿を終るに臨み、絶えず御懇篤なる御指導と御鞭撻を辱うし、更に御校閲の労を賜つた恩師村上栄教授に深甚の謝意を表する。

主 要 文 献

- 1) 村上等：第2回日本ウイルス学会肝炎シンポジウム, 1955.
- 2) 村上等：岡山医学会講演要旨, 1955.
- 3) 村上等：中四国細菌学会講演要旨, 1955.
- 4) 村上等：第4回日本ウイルス学会講演要旨, 1956.
- 5) 村上等：第5回日本ウイルス学会講演要旨, 1957.
- 6) Siede u. Meding Klin. Wochr. 20, 1665, 1941.
- 7) Dresel, Meding a. Weineck. Ztschr. f. Imm.forsch u. exp. Thrap. 103, 129, 1943.
- 8) Siede a. Luz: Klin. Wchensch. 22, 70, 1943.
- 9) Essen u. Lembke: Med. Ztschr. 1, 99, 1944.
- 10) Wildführ, G.: Zeitschr. Ges. Imm. Med. 8, 573~581, 1953.
- 11) Henle et al.: J. Exp. Med., 92, 271, 1950.
- 12) Henle et al.: Proc. Soc. Exp. Biol. & Med., 73, 603, 1950.
- 13) 荒川：第4回日本ウイルス学会講演要旨, 1956.
- 14) 池田：岡山医学会雑誌, 第68巻, 11号, 1956.
- 15) 真鍋：岡山医学会雑誌, 第69巻, 6号, 1957.
- 16) 倉内：岡山医学会雑誌, 第69巻, 7号, 1957.
- 17) 前田 岡山医学会雑誌, 第69巻, 10号, 1957.
- 18) River's Viral and Rickettsial infection of man, P. 267, 1951.
- 19) Maccallum Virus and Rickettsial Disises, 1951.
- 20) Van Rooyen: Virus Disises of man, 1164, 1948.
- 21) 中村隆 伝染性肝炎, 医学書院, 1950.
- 22) 橋本：岡山医学会雑誌掲載予定.
- 32) Ginsberg, H. S. and Horstfall, F. L. Jr. J. Exp. Med., 89, 37~52, 1949.
- 24) Henle, W., Henle, G. and Rosenberg, E. B.: J. Exp. Med., 86, 423~437, 1947.

Studies on the Pathogenic Agent of Infectious Hepatitis
in Okayama Prefecture

I: Multiplication of Infectious Hepatitis Virus
in the Chick Embryo

By

Motohi Ogasahara

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

From the patients of infectious hepatitis in Okayama Prefecture, a kind of virus was isolated by Murakami et al. In the present paper, the author studied on the mode of multiplication of this virus in the chickembryo. The results are summarized as follows:

1) The susceptibility of the chickembryo to this virus can not be said a strong one. However, now that no more susceptible laboratory animal is found, the chickembryo seems to be the best one to establish the infection of this infectious hepatitis virus. The other supplemental experiments are also needed for determination of infection.

2) As compared with that of other viruses, the mode of multiplication of this hepatitis virus is a peculiar one showing the multiplication maxima 5 to 7 and 10 to 15 days after inoculation. However, the mode of multiplication and the characters of this virus show some variation with the passages in chickembryos.

3) The multiplication of the virus in the chickembryo is easily influenced by the age of the chickembryo, the life or death of the embryo, which is used as virus material, the cultivation period, the grade of dilution of the virus, the cultivation temperature and other various conditions, which make the direct quantitative determination of infection impossible. The infectious aspect of the virus in the chickembryo, however, can be inferred by pathologic findings in the mice re-infected.
