

Ectromelia virus に依る実験的肝炎の研究

第 1 編

Ectromelia virus 感染 Maus の肝臓内 Virus 量の消長について

岡山大学医学部第一内科教室 (主任: 小坂 教授 指導: 九州大学 山岡教授)

積 舍 龍 夫

〔昭和 34 年 9 月 8 日受稿〕

緒 言

流行性肝炎の発症病理は Rössle u. Eppinger¹⁾ が漿液性炎症説を記載し、山岡²⁾ は流行性肝炎の本態は、血管の機能的および器質的障害を第一義的なものとし、肝炎は後遺症的性格に属するものとの見解を報告、小坂³⁾ 等は岡山県下に流行性肝炎が蔓延した際の疫学的調査の結果から経口感染説を再々強調した。翻つて、流行性肝炎は一つの Virus 性疾患と信ぜられてはいるが、本疾患の病原 Virus は未だ研究の途上にある。幸に Ectromelia virus の一定量を甘日鼠の腹腔内に接種すると該動物は 5~6 日に斃れ、此際の肝変化は急速瀰漫性に現われて、その極期の像は全く流行性肝炎 (Roholm & Iversen の記載) 時の所見と一致し、さらに該 Virus の接種様式に応じて種々の臓器病像を起す事が出来るとの報告⁴⁾ から流行性肝炎の発症並びに感染経路を知る上の Model 実験として Ectromelia virus による実験は好都合であろう。Ectromelia virus は Machal⁵⁾ に依り発見され、その性質は甘日鼠に感染能力が強く、汎臓器親和性で、封入体⁶⁾⁷⁾⁸⁾ は罹患動物の腹水から容易に検出され、基本小体⁹⁾ の大きさはおよそ Virus 中の最大級に属し、Fennel⁸⁾、Burnet により赤血球凝集反応並びに赤血球凝集抑制反応が知られ、それによつて該 Virus 量の測定と抗体量の測定が可能となつた。そこで本 Virus を用い甘日鼠に接種部位を変えて感染させ、肝臓内 Virus 量の消長を追及し、感染様式についての興味ある所見をえたので報告する。

実験材料、実験方法およびその吟味

1. 実験動物と飼育方法

実験動物は 10g 前後の健康市販甘日鼠を使用し、

汚染の防止と実験条件を均一にする目的で金属性飼育箱 (柴田工業株式会社) 中で、毎日オリエンタル M 7 号固形飼料 (甘日鼠用) を飼料とし、滅菌水を給水瓶で与え、20°C 前後の室温で飼育した。

2. 使用 Virus について

京都大学土肥博士の御厚意により分与を受けた Ectromelia virus を甘日鼠の腹腔内に接種し、死直前の肝臓を滅菌生理的食塩水を加えて肝乳剤としたものを甘日鼠腹腔内に累代接種して保存し、実験時 Virus の毒力が 10⁹ LD₅₀ のものを生理的食塩水をもつて 10⁷ 倍に稀釈し、その 0.05cc を使用した。

3. 肝乳剤の赤血球凝集価測定法

肝乳剤中の Virus 量を測定する手段として赤血球凝集反応 (Hirst 氏現象) を用い、その赤血球凝集価を測定した。その方法をのべる。あらかじめ用意された 10 本の小試験管に生理的食塩水 0.5cc あてを分注した後、被検液 0.5cc を第一の試験管に加え、よく混和した後、その 0.5cc を第二の試験管に加え、以下同様の操作で順次 2 倍階段稀釈を行い、ついで各試験管にあらかじめ甘日鼠より採血、調製した赤血球生理的食塩水浮游液 0.5cc あてを加え、一定温度下に静置した後、一定時間後に判定した。判定は沈降像が試験管底に分散するものを陽性とし、平滑な円盤を形成するものを陰性とした。しかして以上の方法では被検液たる肝乳剤の調製法、赤血球生理的食塩水浮游液の濃度、赤血球の個体差の有無、測定温度、測定時間等についての詳細な報告は Ectromelia virus に関してはないためにあらかじめ検討を加え、最良の条件を採用することにした。

3. 1. 肝乳剤の調製法

被検肝臓を Homogenizer でもつて乳剤とし、この原液と生理的食塩水をもつて 10, 20, 50, 100 倍に稀釈したものを、原液はそのまま、稀釈液は遠心

沈澱器を用いて2,000廻転20分間遠心沈澱を行つた後にえられた上清でのおおの倍数稀釈し、血球浮游液は0.25%を用い、20°C、4時間後に判定してみると表1の通り、原液は判定困難で、10%稀釈上清液から判定可能となり、遠心沈澱前稀釈度の高いもの程最高値を示したが、第一の試験管から高稀釈の肝乳剤上清で測定すると、Ectromelia virus 接種初期の赤血球凝集価が低値であるものと予想される関係上、結局10%稀釈肝乳剤上清液として肝臓内 Virus 量の消長を追究することにした。

表1 赤血球凝集価と被検液調製時の肝乳剤原液稀釈度との関係

原液稀釈度%	例数	a	b	c
10		320	160	160
20		320	320	160
50		400	400	200
100		800	400	800

2. 3. 赤血球凝集価と被検液調製時の遠心沈澱速度との関係

任意の肝乳剤稀釈液の遠心沈澱速度を2,000, 3,000, 5,000廻転20分間とした場合の上清液について同様検討すると表2のごとく廻転数が増加するにつれて赤血球凝集価は低値を示し、2,000廻転20分間が好適であつた。

表2 赤血球凝集価と被検液調製時の遠心沈澱速度との関係

r. p. m.	例数	a	b	c	d	e
0		?	?	?	?	?
2,000		400	400	1600	800	800
3,000		200	200	800	800	400
5,000		200	100	100	200	200

3. 3. 赤血球生理的食塩水浮游液濃度の検討

任意の濃度に稀釈した肝乳剤を2,000廻転20分間遠心沈澱した被検肝乳剤上清を用い、赤血球生理的食塩水浮游液の濃度をそれぞれ1.0, 0.5, 0.25, 0.1%にしたものを加え、20°C、4時間後に判定すると表3のごとく、0.25%が好適であつた。したがつて以後0.25%のものを使用することにした。なお赤血球生理的食塩水調製はつきのごとく行つた。すなわちあらかじめ3.8%拘攣酸曹達水を生理的食塩水に約20%の割に加えた溶液に、廿日鼠の頸動脈を切断して放血させた血液を混じり、同様遠心沈澱を行い、

ふたたび上清を棄てる。この操作を3回繰返した後、沈澱の赤血球を用いて所定の生理的食塩水浮游液を調製した。

表3 赤血球凝集価と赤血球浮游液%との関係

%	例数	a	b	c
1.0		80	40	200
0.5		320	320	800
0.25		320	320	800
0.1		?	?	?

3. 4. 赤血球の個体差の有無についての検討

5匹の廿日鼠で0.25%赤血球生理的食塩水を別個に調製し、任意に稀釈した肝乳剤を2,000廻転20分間遠心沈澱した被検液上清の赤血球凝集価を20°C、4時間後に判定すると、表4のごとく、各個体に依り差異がみられた。したがつて以後の赤血球浮游液は数匹の血液をよく混和したものを使用することにした。

表4 赤血球凝集価と血球浮游液の個体差

被検液	血球	a	b	c	d	e
A		320	160	160	160	320
B		320	160	80	160	320
C		640	320	320	320	320

3. 5. 測定温度の検討肝乳剤調製のほかは上記の検討された条件に倣い、静止温度10, 20, 37°Cに変じ、4時間後に判定してみると表5のごとく、20°Cがもつとも好適であつた。

表5 赤血球凝集価と測定温度との関係

°C	例数	a	b	c	d	e
10		80	80	80	160	160
20		640	320	320	1280	640
37		320	320	320	1280	640

3. 6. 放置時間の検討

上記の条件で、放置時間のみ1時間より10時間迄変じて観察すると表6のごとく反応は4時間で完了し、7時間以後からは溶血を起す傾向がある。

3. 7. 末感染廿日鼠肝乳剤上清での成績

上記の検討された条件で、10匹の末感染廿日鼠肝乳剤上清を用いて赤血球凝集反応を測定したところ、何れも陰性であつた。

表 6 赤血球凝集価と測定時間との関係

時間	凝集価						対照
	40	80	160	320	640	1280	
1	?	?	?	?	?	?	?
2	±	±	?	?	?	?	?
3	+	+	+	±	-	-	?
4	+	+	+	±	-	-	-
5	+	+	+	±	-	-	-
6	+	+	+	±	-	-	-
7	+	+	+	±	-	-	-
10	溶血	"	"	"	"	"	"

以上の実験結果は、M. I. N. 10) 群 Virus ですでに検討記載された成績とはほぼ一致するものの様であり、以後の実験には肝乳剤は10%生理的食塩水混液を2,000廻転20分間遠心沈澱した後の上清液を用い、赤血球生理的食塩水浮游液は0.25%とし、20°C、4時間静置した後判定することにした。

4. Virus 接種方法

腹腔、経口、足底、経鼻、皮下(背部)接種を行った。経口接種は Sonde を用いて胃内に投与し、経鼻接種はあらかじめ Ether 麻酔で咳嗽発作を抑制し、鼻腔内に注入した。

5. 網内系臓器墨汁填塞法

あらかじめ古梅園製の紅花墨を擦つて5%の生理的食塩水溶液とし、濾紙で濾過後、蒸気消毒に依り1時間滅菌したものを廿日鼠の腹腔内に0.1cc あて毎日1回、5日間注入したものを実験に使用した。なおこの際網内系の墨粒貪食程度を確かめるため初回注入後15日間毎日3匹ずつ放血死させ、全身の墨汁貪食度を検査すると表7のごとく、肝、脾、骨髓、腸間膜淋巴腺等網内系の發育の良好な部位では何れも著明な貪食状態を示し、墨汁注入中止後でも永くその程度が維持された。

表 7 網内系墨粒貪食成績

臓器	日数	5%墨汁0.1ccを1日1回5日間注入					墨汁注入中止後の墨粒貪食度								
		1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	6	7	8	9
		肝	+++	+++~++++	+++~++++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++~++++
脾	+++	+++	+++	+++	+++~++++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++~++++	+++~++++	+++~++++	+++
骨	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++~++++	+++~++++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
腸間膜淋巴腺	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
脳	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
肺	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
小腸	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
腎	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

実験成績並びに考察

Ectromelia virus をあらかじめ定めた廿日鼠の腹腔内、経口、足底、経鼻あるいは皮下(背部)に接種した。まず腹腔内接種群では第5、6病日から立毛、運動不活澁を示して発病し、第5、6、7病日中にその大多数が斃れる。経口、足底、経鼻あるいは皮下接種群では大約第6~7病日頃から発症し、第8病日前後が極期で、その感染動物の中約半数が死を免れる。これ等各接種群の肝臓内 Virus 量の消長を肝乳剤上清の赤血球凝集価の消長で各病日毎に

表 8 腹腔内接種群の肝臓内赤血球凝集価

a. 見掛上健康例

病日	例数						
	1	2	3	4	5	6	7
1	20	40	20	20	40	40	80
2	40	80	40	40	80	80	
3	40	80	80	160	80	80	
4	40	160	80	160	320	320	
5	160	160	80	160	320	640	
平均値	60	104	60	108	168	232	

b. 立毛不活発例

病日	赤血球凝集価
4	160
5	640
6	160
"	1280
"	1280
7	320
平均値	640

c. 死直前例

病日	赤血球凝集価
5	80
5	320
5	320
6	160
6	640
6	640
7	160
平均値	331

備考：各病日群の症例は夫々別個の症例である

表 9 経口的接種群の肝臓内赤血球凝集価

a. 見掛上健康例

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	13	15
1	20	80	20	20	20	20	20	40	40	40	20	(-)	(-)
2	20	80	20	20	20	80	40	160	80	80	20	40	(-)
3	40	80	40	40	40	160	80	160	160	80	80	40	(-)
4	40	80	40	40	80	320	320	160	160	160	160		
5	80	80	40	80	80	640	640	320	320	160	160		
平均値	40	80	32	40	48	244	220	168	152	104	88		

b. 立毛不活発例

病 日	赤血球凝集価
6	320
7	80
7	80
7	320
8	40
8	40
8	40
8	40
8	320
—8	640
平均値	192

c. 死直前例

病 日	赤血球凝集価
8	40
8	40
8	40
8	160
9	80
平均値	72

備考：各病日群の症例は夫々別個の症例である

斃した5例の平均値についてみると、腹腔内接種群では、すなわち第1病日すでに上昇して104倍に、第3病日は一時減少して60倍となり、第4病日よりふたたび上昇を示し108倍、ついで上昇して第6病日は232倍に及ぶ。この時期は発症直前に相当する。ついで発症するのであるが、このさい立毛、運動不活発等他覚的に発症したと思われる時期の例と、消耗し死直前と考えられる例とについて、肝臓内赤血球凝集価を比較すると表8 b, c, のごとく、発症時期が高値で、死直前では却つて減少している。すなわち第1病日より上昇した赤血球凝集価は第2病日でさらに上昇した後、第3病日でやや減少し第4病日よりふたたび上昇を初め、発症期に最高値を示し、死直前で却つて減少を示している。

経口接種群で、第1病日にすでに上昇を示し、第2病日でさらに上昇した後、第3病日で減少、第4、5病日はほぼ同一値を示し第6病日より急激に上昇しついで死を免れたものは次第に赤血球凝集価は減少してゆくのであるが、死亡するものでは表9 b, c のごとく、急激に赤血球凝集価は減少し、死を免れ

た8, 9, 10, 11病日の赤血球凝集価より、死直前の価が低値を示した。以上のごとく経口接種例では赤血球凝集価の消長は腹腔内接種例とほぼ同じで、第一と第二の山の病日も同じであるが、間の谷が平低であった。

足底接種例では第2病日の上昇は前実験と同様で、第二の上昇期は第5病日に始まり、第6病日を最高とし、経過と共に次第に減少している。

表10 足底接種群の肝臓内赤血球凝集価

a. 見掛上健康例

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	40	20	40	40	80	320	80	40	20	40
2	40	80	40	80	160	640	80	80	40	40
3	80	320	80	80	320	640	160	160	160	160
平均値	53	140	53	66	187	533	107	93	73	80

b. 立毛不活発例

病 日	赤血球凝集価
6	160
7	320
9	80
平均値	186

備考：各病日群の症例は夫々別個の症例である

c. 死直前例

病 日	赤血球凝集価
7	40
7	40
8	20
8	20
8	20
8	20
8	40
8	40
9	20
平均値	29

経鼻接種例では第二の上昇期が第4病日に始まり、第6病日を最高とし、次第に減少している。

背部皮下接種例では第一の山の上昇は軽度で第2病日より始まり、第5病日はやや減少して第6病日

表11 経鼻接種群の肝臓内赤血球凝集価

a. 見掛上健康例

例数	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	20	80	20	40	40	80	160	20	20	40
2	40	80	20	80	80	320	160	80	80	80
3	160	160	40	80	160	640	320	160	80	80
平均値	73	106	27	67	93	347	213	87	60	67

b. 立毛不活発例

病日	赤血球凝集価	病日	赤血球凝集価
7	160	6	20
8	20	8	20
8	40	8	20
9	20	平均値	20
9	80		
平均値	62		

c. 死直前例

備考：各病日群の症例は夫々別個の症例である

表12 皮下（背部）接種群の肝臓内赤血球凝集価

a. 見掛上健康例

例数	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	40	80	80	80	40	160	160	80	160	20
2	80	80	80	160	80	160	320	160	160	160
3	160	160	160	160	160	160	640	320	160	320
平均値	93	107	107	133	93	160	373	187	160	167

b. 立毛不活発例

病日	赤血球凝集価	病日	赤血球凝集価
6	20	9	80
7	20		
8	80		
9	80		
9	80		
9	160		
平均値	73		

備考：各病日群の症例は夫々別個の症例である

より第二の山に移行し、第7病日を最高とし、以後次第に減少している。すなわち本接種例のみ最高病日が1日遅れている。

尚足底、経鼻、背部皮下接種の例で死亡した例についても発症期と死直前では明かに差があり、死直前に減少している。

以上の成績から、腹腔内、経口、足底、経鼻、背

部皮下接種のいずれも、接種後肝臓の赤血球凝集価は一時急速に上昇し、背部皮下接種を除いては第2日に最高を示し、ついで下降した後ふたたび上昇して発症し、最高値を示し、死亡例では直前に下降し、恢復例では次第に下降を示した。しかしてその最高値を示す時期は発症期に一致した。肝臓の赤血球凝集価は、Ectromelia virus の肝臓内 Virus 量を示すと考えられているから、Ectromelia virus は接種後はいずれの例でも第1日にすでに肝臓内に浸入して、第2日迄その量を増加した後、減少し、ついで接種方法の如何により多少の差はあるが、ついでその量を急に減じて死亡するか、次第に減少して治療に向うこととなる。以上の実験成績から一定量の Ectromelia virus を廿日鼠に接種すると、該 Virus は生体内での増殖最盛期が二週期あることを知りえた。すでに、Fenner⁸⁾ は Ectromelia virus の生体内伝播経路について、廿日鼠の足底に接種すると、まず Virus は接種局所の皮膚および局所淋巴腺で増殖し、ついで血行に移行（一次性 Virämie）して親和性臓器である肝、脾で増殖し、ふたたび血行を介して（二次性 Virämie）全身に運ばれるものと記載していることから、上記著者の赤血球凝集価の消長曲線と比較すると、Virus 接種第1、第2病日の増殖最盛期は一次性 Virämie 開始時期に、第6病日を頂点とする増殖最盛期は二次性 Virämie 開始時期に相当するものであつて、第3病日にみられる赤血球凝集価減退の兆候は、例えば Phage が細菌に吸着、侵入、増殖する各段階の性質を異にする様に、未だ Ectromelia virus が赤血球凝集素の性質を有しない未完成 Virus の結果とも想像されるが、他方 Pirque¹¹⁾ が数十年前に急性伝染病の潜伏期は、病原体の増殖と共に抗体産生期間であると説明しているように、元来個々の Ectromelia virus が一定の増殖周期をもつて親和性細胞内でそれぞれ連発的に増殖するが、生体内であるが故の当然生体は防衛機転として感染 Virus に対して抗体を産生し、その抗体により Virus の増殖は一時抑制されるものと推察される。現在 Ectromelia virus 個々の増殖周期に要する時間は確定されていないので両者のいずれであるかを解決するのは困難である。しかしながら死前には赤血球凝集価は急激に減少し、その際の肝組織像では表13のごとく、血管壁の膨化、粗化、滲出、結合織の fibrinoid 膨化等の間葉性細胞系反応と、実質細胞の強度の変性、壊死を認めておることから、赤血球凝集価の減少は親和性細胞の新陳代謝過程が

強度に障害されて Virus の増殖が停止し、ついで Virus の不活性の起るためと考えられるが、むしろ上記結合織の fibrinoid 膨化は, allergie 性病変と一般に知られているので、生体内での抗原抗体反応が赤血球凝集価の抑制現象として現われたものと解するのが妥当ではないかと思われる。事実該 Virus の赤血球凝集抑制抗体は、すでに赤血球凝集抑制反応において知られ、足底接種の際に後肢が脱落するのは天野¹²⁾等によれば、激烈な抗原抗体反応の結果が直接的な原因だとされている。また土肥¹³⁾は Ectromelia virus の性質に類似する牛痘 Virus を家兎に接種して赤血球凝集抑制反応を測定した結果、接種後第 4 病日頃から赤血球凝集抑制価は上昇の兆が見られるが、直接局所に出血性 Arthus 現象が起ることを認め、抗原抗体反応より Virus の殺滅が展開され、その結果として一過性に抗体の低下を認められると解した。allergie と免疫の二つの現象は結局つねに一つの抗原抗体反応中に内包されているもので、むしろ立場を異にした現象の表と裏の表現であるとの武田¹⁴⁾の見解にしたがえば、上記に示した成績から、死亡したものと死を免れたものとの間に赤血球凝集価に差がみられたのは、生体内での抗原抗体反応の量的関係に左右された結果とも解される。つきに抗体産生の場として網内系説¹⁵⁾、淋巴球

説¹⁶⁾、形質細胞説¹⁷⁾¹⁸⁾があり、とくに Arthus 形反応を惹起する抗体の生成には天野¹²⁾は形質細胞が関与するとしている。すなわちある種の抗原に対する抗体は血液中に多く現われ、そのさいの allergie は血中抗体の吸着した血管や、滑平筋系に強く起る(血清親和性抗原抗体反応)、それに対してある種の抗体は、血清中に証明され難く、しかも組織に注射された抗原に対しては血管変化をほとんど欠いた allergie 反応を起す(組織親和性抗原抗体反応)が、前者は Arthus 現象、後者は Tuberkulin 反応が好例で、体液性 allergie の抗体産生は形質細胞であつて、従来考えられて来た所謂網内系は貪食形式によつて個形抗原を破碎し、液性抗原として初めて外膜形質細胞系に刺戟を提供する間接的な割合を演ずるものと解している。この形質細胞は Ectromelia virus 肝炎発症実験にさいしても、感染早期に末梢血液中に出現¹⁹⁾するのであるが、はたして Ectromelia virus 感染動物の抗体は形質細胞から産生せられるものであるか、また該 Virus は墨汁粒子より大きい Virus であるから、一般 Virus と異なつて、有形性抗原と同様に、それに対する抗体の産生には網内系の存在が必要であるか、また網内系が Ectromelia virus の増殖の場と考えている報告²⁰⁾もあるので、その真偽を解決するために、あらかじめ網内系を墨

表 14 肝臓の病変 Ectromelia virus を網内系墨汁填塞廿日鼠に接種した諸臓器の病変

註. ○……対照群

病日	病像	血 管 系					Glison 氏鞘結合組織線維膨化粗化	円形細胞浸潤	肝細胞	
		充 血	出 血	滲 出	壁の膨化粗化	星細胞の反応			変性壊死	再生像
1	○ ± +	- -	- -	- -	干 -	± 卅	- -	- -	- -	- -
2	○ ± +	- -	- -	- -	干 -	± 卅	- -	干 -	- -	- -
3	○ + +	- -	干 -	干 -	干 ±	干 卅	-~± -	干 -	干 -	- -
4	○ + +	- -	± -	± -	干 ±	干 卅	-~± -	干 ±	干 ±	- -
5	○	+~卅(卅~卅) +(卅)	-(+) -(±)	+(卅) ±(+)	+~卅(卅) +(+)	卅(卅) 卅(卅)	+(+~卅) ±(+)	±~+(±~+) ±(±)	+~卅(卅~卅) +(卅)	±(±) ±(±)
6	○	+~卅(卅~卅) +(卅)	±(卅) ±(卅)	±(卅) ±(+)	+~卅(卅) +(+~卅)	卅(卅) 卅(卅)	+~卅(卅) ±(+)	±~+(+) ±(±)	+~卅(卅) +(卅)	±(±) ±(±)
7	○	+~卅(卅) +(卅)	-(+) -(+)	+(卅) -(+)	+(卅) +(+)	卅(卅) 卅(卅)	+(+~卅) -(+)	±~+(+) ±(±)	±~+(卅~卅) +(卅)	±(±) ±(±)

表 15 Ectromelia virus を網内系墨汁填塞廿日鼠に接種した諸臓器の病変
その他諸臓器 (死直前) の病変

病 像	脾 臓				脳		肺 臓		心 臓	腎 臓	小 腸
	充 血	出 血	変 性 壊 死	網 状 織 細 胞 の 反 応	充 血	血 管 周 圍 淋 巴 腔 拡 大	出 血 性	胞 内 炎	心 筋 性 心 交	ネ フ ロ 腎 炎	腸 炎
対 照	卅~卍	卅~卍	卅	卅	+	+	卅	-	卅	卅	卅
墨 汁	卅~卍	卅~卍	卅	卅	+	±	+	-	卅~卍	卅~卍	+

汁で十二分に填塞した廿日鼠に該 Virus を対照群と同量を腹腔内に接種して病像の時間的、質的、量的な差異並びに生体内 Virus 量の消長を測定した。その結果は潜伏期、死亡率は対照群との間には大差がなく、5、6病日頃から発症し、7病日には、そのほとんどが斃れる。組織病像(表14)も質的に異なる所見なく、量的に極期の組織病像の程度が対照群と比較して軽度であつたが、これは墨汁填塞の処置によつて、廿日鼠の死の閾が低下した為に発症のさいに起る強烈な反応の早期に動物が斃れた結果とも解釈された。新保²¹⁾等は網内系填塞のために肝、脾以外の他臓器に病変が強くみられるが、これは Virus 増殖の場の移動が考えられるのではないかと述べているが、著者の実験成績(表15)では、網内系臓器と並行して全身臓器の病変も軽度であり、これは当らない。

また、つぎの表のごとく、赤血球凝集価の消長から網内系填塞処置に関係なく、Virus は増殖するものと解されるが、土肥⁴⁾によれば該 Virus は光学的顕微鏡で可視大の大きな Virus であるから、静注された墨汁と同様に網内系にまず摂取され、しかる後に汎臓器親和性によつて種々の臓器に侵入するものと解しており、著者の成績と相反するが、Ectromelia virus の感染には、所謂網内系の貪食を必要とせず、おそらく特種の酵素作用²²⁾で、直接に親和性細胞に吸着、侵入、増殖するものと解するのが妥当と思われる。これにより墨粒の侵入しえない種々の上皮細胞に如何にして Virus が侵入するかの問題をも説明出来よう。また網内系填塞例でも増殖した Virus は、死期には対照群と同様に赤血球凝集価の低下として減少を示し、これと並行して allergie 病像が増強し、網内系非填塞例と変らなかつたが、これは抗原抗体反応に因るものである。そうすると、その抗体は網内系から産生されたものではなく、その抗原抗体反応は Serotropic な反応と解され、抗体産生の役目はおそらく形質細胞ではないかと思われる。

表16 Ectromelia virus を網内系墨汁填塞廿日鼠腹腔内に接種した肝臓内赤血球凝集価
a. 見掛上健康例

例数	病日						
	1	2	3	4	5	6	7
1	20	80	20	20	40	40	40
2	40	160	20	80	80	40	
3	40	160	40	80	320	320	
平均値	33	133	27	60	147	133	
対照平均値	60	104	60	108	168	232	

b. 立毛不活発例

病 日	赤血球凝集価
4	160
5	640
5	640
6	80
平均値	380
対 照 平均値	640

c. 死直前例

病 日	赤血球凝集価
5	320
6	320
6	160
6	80
平均値	220
対 照 平均値	331

備考：各病日群の症例は夫々別個の症例である

表13 各種接種群死亡直前の肝組織病像

接 種 様 式	病 像	血 管 系 の 変 化	Glison 氏 鞘 結 合 織 維 粗 化	円 形 細 胞 の 浸 潤	実 質 細 胞 性 死	再 生 像	病 変 の 分 布
経 口	卅	卅	+	卅	±	"	
足 趾	卅	卅	+	卅	+	限局性	
経 鼻	卅	卅	+	卅	+	"	
皮下(背部)	卅	卅	+	卅	+	"	

なお各種接種群極期の肝組織病像は表13のごとく、腹腔、経口感染群では瀰漫性の病像がみられ、他の足底、経鼻および皮下(背部)の感染群では限局性病像であつた。かかる理由について土肥⁴⁾は腹腔接種時のほとんど瀰漫性に肝小葉を侵す場合は、腹腔

から直接門静脈に入った多量の Virus が肝に到達して、此処に一見肝親和性 Virus たる流行性肝炎や黄熱の場合ときわめて近い組織障害像を呈する。時には肝細胞が壊死に陥りつつあるにかかわらず、単球その他の浸潤細胞がほとんど現われない。これに反して、後足底接種法によると、肝の変化はきわめて限局的で、しかも単球反応が迅速でかつ強い。これは菌栓子と同じ態度で肝の星細胞に大集団として侵入し、しかる後にこの附近の肝細胞を急激に障害壊死せしめ、急速に単球反応を招くものと考えられることから、前者を anergie 反応とすれば、後者は normergie 乃至 hyperergie と解する事も出来るとの報告があるが、著者の実験成績では上記のごとく、抗原としての Virus 量の消長は各接種群の間に大差なく、極期の組織病像はその程度に差はあるが、血管系の変化、結合織の fibrinoid 膨化と実質細胞障害、勿論円形細胞浸潤等を認める点は同様であることから、各接種群の間では、その反応形式において質的に異にするものとは考えられず、血清親和性抗原抗体反応を期に発症するものであつて、瀰漫性病像と限局性病像の発生の相違は解剖学的に前者は門脈系から、後者は大循環を介して肝動脈より肝細胞に Virus が達するものと理解され、このような感染経路を異にして病像の場に見られるとの実験を緒方²³⁾が流行性脳炎 Virus を用いて皮下乃至静脈内接種群のそれが人間の病変分布にもつともよく似ていることから、流行性脳炎の自然感染経路が蛟によるものである説を合理的に裏づけているが、この場合には Ectromelia virus の腹腔、経口の両感染群が人の流行性肝炎像と類似することからして、肝炎発症病理はもとより、流行性肝炎の感染経路について小坂³⁾等が per oral infection を主張している

ことも妥当なものと思われる。

結 言

Ectromelia virus の一定量を甘日鼠の腹腔、経口、足底、経鼻並びに皮下（背部）に接種し、該感染動物の肝乳剤上清で赤血球凝集反応（Hirst 氏現象）を測定してつぎの結果をえた。

1. 赤血球凝集価の消長から各接種群はともに感染の早期と発症早期に Virus 増殖の最盛期がみとめられた。
2. 発症極期には各接種群の赤血球凝集価は急激に低下し、その理由の一つは抗原抗体反応に因るものと解される。
3. 網内系は Ectromelia virus 増殖の場として必要でなく、抗体産生の場としての能力もない。
4. Ectromelia virus の抗原抗体は血清親和性抗原抗体反応で、血管系の変化を主体として発症するものと思われる。
5. 腹腔、経口感染群の瀰漫性病像と、足底、経鼻、皮下（背部）感染群にみられる限局性病像の病変分布の差は、allergie 性炎の反応形式を異にするものではなく、感染経路の解剖学的相違によるものと解される。
6. その意味から流行性肝炎の発症形式並びに感染経路についての教室従来の成績に一定の理論的根拠を与えたこととなる。

文 献

- 1) Eppinger, H.: Leberkrankheiten, J. Springer, Wien (1937).
- 2) 山岡：臨と研, 31, 1131 (昭29).
- 3) 小坂・日内会誌, 42, 693 (昭28).
- 4) 土肥：Virus, 2, 131 (1952).
- 5) Marchal, J.: J. Path. and Bact., 33, 713 (1930).
- 6) F. Baumgartner: Zbl. f. Baet. labt. Orig., 133, 282 (1935).
- 7) 土肥：Virus, 1, 127 (1951).
- 8) F. Fenner: J. Immunol., 63, 341 (1949).
- 9) Boswell, F. M.: Brit. J. Exper. Path., 28, 255 (1947).
- 10) T. M. Rivers: Viral and Rickettsial Infections of Man, J. B. Rippincot CO., London (1952).
- 11) Pirquet, C. F.: Allergie, Berlin (1910).
- 12) 天野・日病理会誌, 38, 15 (昭24).
- 13) 土肥 日病理会誌, 総会号, 40, 2 (昭26).
- 14) 武田・アレルギーと結核, 東西医学社, 東京, (昭26).
- 15) 木村：東京医誌, 3084, 1425 (昭13).
- 16) Harris, T. N.: J. Exp. Med., 81, 73 (1945).

- 17) Fagraeus, A.: J. Immun., 58, 1 (1948).
 18) 天野: 血液学の基礎上巻, 丸善, 東京 (昭23).
 19) 大口・未発表
 20) 奥山: 日病会誌, 地方会号, 42, 323 (昭28).
 21) 新保: 日病会誌, 地方会号, 39, 47 (昭25).
 22) S. E. Luria: General Virology, John, Wiley, New York (1953).
 23) 緒方: 日医及健保, 3269, 271, (昭17).

Studies on Experimental Hapatitis by Ectromelia Virus

Part 1. Changes of the Virus Content in the Mouse Liver Infected with Ectromelia Virus

By

Tatsuo Tokiya

Department of Internal Medicine Okayama University Medical School
 (Director: Prof. Kiyowo Kosaka, Prof. Yamaoka, Kyushu University)

By inoculating a given amount of Ectromelia virus to groups of mice, intraperitoneally, orally, in toe foot, through the nasal passage, or subcutaneously (the back), and by preparing the supernatant of the liver emulsion from these infected mice, the author performed erythrocyte agglutination tests (Hists's phenomenon); and obtained the following results.

1. Judging from the changes in the agglutination values, the most vigorous proliferation of the virus seems to occur at the early stage of the infection and of the onset of symptoms in every group.

2. At the peak of the infection the erythrocyte agglutination value in every group falls rapidly, and this seems to be due to the antigen-antibody reaction.

3. The reticulo-endothelial system is not the necessary site for the infection of Ectromelia virus nor does it have any function as the site of the antibody production.

4. It seems that the antigen-antibody reaction of Ectromelia virus is the serum affinity antigen-antibody reaction and it is represented by the changes in the blood vessel lumen as its main symptoms.

5. The difference in the distribution of pathologic changes between the diffuse hepatic changes in the group infected intraperitoneally or orally and localized changes in the group infected under foot, via nasal passage or subcutaneously (the back) may be interpreted as not to be dependent on the reaction pattern of allergic inflammation but to be due to the anatomical difference in the infection route.

6. This interpretation will offer a certain theoretical basis in support of the assumptions made in our department as regards the pattern of infectious hepatitis and the route of its infection.
