

各種鳥類に対する流行性肝炎ウイルスの 感受性に関する研究

第 I 編

継代並びに感染価測定実験に就いて

岡山大学医学部微生物学教室（主任：村上 栄教授）

鬼塚 良太郎

（昭和31年12月18日受稿）

目 次

I. 緒 言	v) カシラダカ
II. 実験材料並び実験方法	vi) ウソ
1) 接種ウイルス	vii) ホホジロ
2) 供試動物	viii) メジロ
3) 接種方法	(其の2) — 感染価測定実験
4) 実験方法	IV. 総括及び考察
III. 実験成績（其の1）— 継代実験	V. 結 語
i) コカワラヒワ	文 献
ii) ジュウシマツ	本論文の要旨は昭和30年11月19日、第65回岡山
iii) スズメ	医学会総会並びに昭和31年11月8日第4回日本ウイ
iv) カナリヤ	ルス学会総会に於て発表した。

I. 緒 言

流行性肝炎の動物実験に関しては極めて多くの人達の手により多大の努力が払われているにも拘わらず未だ感受性動物の見出し得ない為、病原ウイルスの分離、同定の成功を見るに至っていない現状である。古くは Andersen u. Tulinius(1938),⁶⁾ の豚を用いての実験以来各種の動物に対する接種が多数の人々⁹⁾ より試みられ、或は陽性結果を報じ或は陰性結果の相次ぐ為、一部の人々の間では不可能に近いと迄考えられて来た。その間 Herzberg, K. (1943),⁴⁾ のカナリヤを用いての実験も行われたが未だ追試確認の域に達していない状態であつた。処が木村等(1948),¹⁰⁾ のマウス肝内へ接種、分離継代を重ねたウイルスを以て不全型乍らも人体接種に成功を認め、猶更に

吾が教室の実験と殆んど相前後して Wildführ, G. (1953),¹⁾ Henle et al. (1950)¹²⁾¹³⁾, Mac Callum (1955),¹⁴⁾ 等の多数患者材料から数種に及ぶウイルスの分離乃至慢性化実験の報告が為されるに及んでかくも困難視された動物を用いての同ウイルスの分離も適当な材料、及び極めて精細な留意の下に努力を傾ける事により実験の可能性が考えられるに至つたといつても過言ではなからう。

昭和27年末来の岡山県赤磐地方に於ける高死亡率(15%)、重篤症状を呈する悪性流行性肝炎はその死亡者は減少し来つつあるが現在猶、同県下各地にその発生は跡を絶たず当教室に於ては岡山県衛生部、岡山大学山岡内科、及び浜崎病理学教室との協力の下に病原体分離に関し多大の努力が払われた結果、或種のウイルスを分離、先般米ウイルス学会⁷⁾⁸⁾ 並

び各学会に於て報告を重ねて来たのであるが、今般著者は感染スペクトル並びに感染源検索の意図をも含めて以下詳述する如く小型渡り鳥を含む8種類に及ぶ燕雀目鳥類を使用し数種類に及ぶ分離ウイルスを用いて接種実験を行い、数代に亘り累代を試み特に肝、肺の病理組織像に基く判定によりその継代の可否を検索した。

又本実験は同分離ウイルスの Hostrange の検索並びにそれ等鳥類の Reservoir としての意義をも検討する目的を兼ねたもので、従つて可及的鳥類種別の増加に努めた次第である。

なお又接種ウイルス量と病理感染所見との関係を検討せんがため、特にカナリヤ、ジュウシマツに於ては各階段希釈をなしたウイルス希釈液を以て感染価測定実験 (Titration) を行つた。

II. 実験材料並びに方法

1) 病毒：第1表に示す如く何れも当教室に於て分離、マウス或は孵化鶏卵培養により累代を重ねたものである。

2) 供試動物：燕雀目 (PASSERES) 雀科 (Fringillidae) に属す鳥類¹⁾、即ちコカラヒワ (*Chloris sinica minor* T. & S.), ジュウシマツ (*Uroloncha domestica*), スズメ (*Passer montanus saturatus* Stejneger), カナリヤ (*Serinus canaria*), カシラダカ (*Ember-*

第1表 供試ウイルスの由来及び性状概要

供試 ウイルス	接種材料	分離年月日	使用動物及累代数
石原系	急肝患者肝 (重症死)	1954. 6. 2	孵化鶏卵累代10代 マウス累代23代
金光系	急肝患者糞便 (発病後2週目)	1953. 1. 21	孵化鶏卵累代25代 マウス累代13代
野田系	急肝患者肝 (重症死)	1955. 4. 2	マウス累代9代
森本系	肝炎患者血清 (中等症)	1953. 9. 24	孵化鶏卵41代 マウス累代12代
青森系	肝炎患者肝 (重症死)	1955. 2. 7	マウス累代10代
小川系	急肝患者肝 (重症死?)	1953. 6. 7	孵化鶏卵52代 マウス累代10代

iza rustica latifascica Portenko), ウソ (*Pyrrhula pyrrhula griseiventris* Lafresnaye), ホホジロ (*Emberiza ciconioides ciopsis* Bonaparte) の7種及び同目中、繡眼児科 (*Zosteropidae*) のメジロ (*Zosterops palpebrosa japonica* T. & S.) を使用しそれ等の内、雀、コカラヒワ等野鳥の馴れにくいものでは捕獲後約1ヶ月間飼育した後使用した。

飼育管理に関しては省略するが寄生性疾患、鳥類間に分布する各種の疾病を考慮し特に健康保持のために飼料並びに飼育籠の手入、消毒等に関しては細心の注意を払つた。

3) 接種方法：

累代マウスの肝並びに同鶏胎児肝を無菌的採

第2表

供試鳥類種別	使用頭数	継代数	病毒種別	接種方法	接種ウイルス量	病理判定
1. コカラヒワ <i>Chloris sinica minor</i> (T. & S.)	3羽宛15羽	5代	金光株	im (胸筋内接種)	10 ⁻² 0.25ml	卅
2. カナリヤ <i>Serinus canaria</i>	3羽宛15羽	5代	小川株	im	10 ⁻² 0.25ml	卅
3. ジュウシマツ <i>Uroloncha domestica</i>	3羽宛15羽	5代	森本株	im	10 ⁻² 0.2 ml	卅
4. スズメ <i>Passer montanus saturatus</i> Stejneger	3羽宛15羽	5代	小川株	im	10 ⁻² 0.25ml	卅
5. カシラダカ <i>Emberiza rustica latifascica</i> Portenko	2羽宛8羽	4代	青森株	im	10 ⁻² 0.25ml	卅
6. ウソ <i>Pyrrhula pyrrhula griseiventris</i> Lafresnaye	2羽宛6羽	3代	石原株	im	10 ⁻² 0.25ml	卅
7. ホホジロ <i>Emberiza ciconioides ciopsis</i> Bonaparte	3羽宛15羽	5代	青森株	im	10 ⁻² 0.25ml	+
8. メジロ <i>Zosterops palpebrosa japonica</i> (T. & S.)	2羽宛6羽	3代	野田株	im	10 ⁻² 0.2 ml	+

(註)；(卅)～(一)は病理組織学的所見の程度を表わす。

取, Homogeneizer で磨碎, 乳剤となし, PH 7.6 の緩衝液或は滅菌生理食塩水にて 10 倍稀釈の後, 3000 r. p. m. 10' 或は 2000 r. p. m. 20' 遠心せるものを 10^{-1} となしその上清に Penicillin 1000u./ml Streptomycin 0.5mg/ml の割に添加後々々滅菌生理食塩水にて 10^{-2} に稀釈, その 0.25 ml 宛を 70% Alcohol, 5% Jodtink による消毒の後胸筋内接種を以て行つた。

4) 実験方法:

継代は何れも接種第 12 乃至 14 日目に屠殺, 各代共 3 羽以上より無菌的操作の下に肝組織片を採取, pool して Homogeneizer で磨碎後接種方法の所で述べた如き方法にて 10^{-2} 稀釈病毒液を作製し順次次代接種を継続した。その際毎回次代接種前には普通寒天, 血液寒天, ブイヨン等人工培地に材料の一部を培養し雑菌陰性なる事を確認した上接種した。累代は一部のものを除き 5 代迄行い, その可否は全て肝, 肺病理感染所見によつた。

カナリヤ, 十姉妹に対する感染価測定は 10^{-5} より 10^{-9} に至る各階段稀釈病毒液を作製し夫々の濃度について各々 2 羽以上接種, 第 14 日目屠殺, 肝, 肺病理組織所見よりその

程度を検索した。

III. 実験成績 (其の 1) 一継代実験

i) コカワラヒワ

第 3 表の如く核大小不同, 核及び細胞質内に於ける大小様々な空胞形成, 核の粗大化乃至緻密濃縮化, 好酸性小体, 空胞性腫脹等の極めて多彩な形を以て表れる肝細胞変性は極めて高度, 間質グリソン氏鞘域に於ける円形細胞の著るしい浸潤, グリソン氏鞘近く肝小葉中間帯に於ける限局性壊死は各供試鳥類中最も顕著に証明され該部の肝実質細胞は著明萎縮状となり消失に傾し星細胞の比較的増殖が認められた。

肺所見は肝より遅れて出現するものの如くⅢ代後に於ける No. 7 の如く血管, 気管支周辺浸潤と共に胞隔炎像の確認を継続する様になつた。これ等肝, 肺所見は累代と共に増強され毎回恒常的に認められ, 就中肝細胞変性, 壊死, 類壊死の状態は略々継続的に出現したが実質内結節の形を取つた円形細胞浸潤は一時少々軽度な時期が見られるが再び高度に発現し, 一方実質内瀰漫性出血はⅢ代以後に於て増強傾向を認めた。

第 3 表 コカワラヒワに於ける継代実験

Passage		I			II			III			IV			V		
No.		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
L I V E R	Degeneration	+++	++	++	+++	++	++	+++	++	++	++	++	++	+++	++	++
	Necrosis	++	++	++	+	++	+	++	++	++	+	++	++	+	-	++
	Neerobiosis	+++	++	++	++	++	++	+++	++	++	++	++	++	+++	++	++
	Infiltration { Pa. Pp.	+++	++	++	+	+++	++	++	++	++	+	++	++	+	+	-
		+++	++	++	+++	++	++	+++	++	++	++	++	++	+++	++	++
	Bleeding	+	+	+	-	-	-	+++	++	+	-	-	-	+	++	+
L U N G	Hyperemia	+	++	++	-	-	-	++	++	+	+	-	++	-	-	-
	Infiltration { Vess. Br.	++	++	++	-	+	-	++	+	-	-	+	++	++	+	+
		+	+++	++	++	+	+	+++	++	++	++	++	++	++	-	++
	Thickness of alv. sep.	+	++	++	-	-	-	++	++	-	-	-	-	+	-	-
	Alveolitis	++	++	++	++	++	++	+++	++	++	+++	++	++	++	++	++
	Bleeding	+++	++	++	-	-	-	+++	++	-	++	-	-	+	++	+
L U N G	Hyperemia	-	++	++	-	-	-	++	+	-	-	+	-	-	-	++

(註); Pa. = Parenchymal, Pp. = Periportal connective tissue, Vess. = Vessels, Br. = Bronchi, の略

ii) シュウシマツ

第 4 表の如く初代より極めて顕著な肝細胞

核乃至細胞実質内の大小様々な空胞形成はその他の肝細胞変性と共にⅣ, Ⅴ代継代後に於

第4表 ジュウシマツに於ける継代実験

Passage		I			II			III			IV			V		
No.		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
L I V E R	Degeneration	+++	+++	+++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++	+++
	Necrosis	++	+++	+++	-	++	+	++	++	+++	++	++	++	-	+++	-
	Necrobiosis	++	+++	+++	+	++	++	+++	+++	+++	+++	++	++	++	+++	+++
	Infiltration { Pa. Pp.	+++	+++	+++	+	++	++	+++	+++	+++	++	+++	+++	-	++	-
		++	+++	+++	++	++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++	+
	Bleeding	++	+++	-	++	+++	+++	-	+++	+	+	⊥	++	++	++	-
	Dilatation of vessels	++	+	-	++	++	++	⊥	+	-	+++	+	++	-	-	-
L U N G	Infiltration { Vess. Br.	++	+	++	+++	++	++	+	+	+	++	++	++	+++	++	-
		+++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++	++	++	-	+
	Thickness of alv. sep.	++	++	+++	+	+++	++	+	-	-	+++	++	++	+	++	-
	Alveolitis	+++	++	+++	++	+++	+++	+++	++	+++	++	+++	+++	+	+	++
	Bleeding	++	+++	+++	⊥	+++	++	++	-	+++	+++	+++	+++	++	++	++
	Dilatation of vess.	-	-	-	++	++	+++	+	-	-	-	-	-	-	-	-

てもなお継続して著明に認められ小葉中間帯より周辺部に於ける結節及び円形細胞浸潤はグリソン氏鞘域円形細胞浸潤と共に随所に認められ毎代極めて高度に証明し得た。中心静脈域に於ても略々同様リンパ球乃至単球よりなる円形細胞浸潤を証明し、殊に小葉周辺部結節附近に於て偽胆管増生を継続的に証明、グリソン氏鞘域の小壊死巣を認め、その周辺に単球浸潤を認めたがコカワラヒワに比べ軽度であつた又、肺に於ては気管支、気嚢、血管周辺に間葉性幼弱細胞浸潤を認め実質内出

血は累代と共に増強傾向を辿る模様であつた。

iii) スズメ

第5表の如くI代よりV代に互り肝細胞変性は毎代著明、壊死はV代に於て増強され又類壊死を高度に認めた。間質域円形細胞浸潤は各代継続して実質よりも強く発現し、肝実質内出血はII代頃迄は著るしく肝細胞間に瀰漫型を以て認められ、肝細胞変性も強く紡錘形となり核は殆んど消失、肝細胞索は全く乱れ原型を留めない迄に変性を見た事は特に印

第5表 スズメに於ける継代実験

Passage		I			II			III			IV			V		
No.		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
L I V E R	Degeneration	+++	+++	+++	+++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	Necrosis	+++	++	+++	+++	++	+	++	++	⊥	+	⊥	-	+++	+	+
	Necrobiosis	+++	++	+++	+++	+	+	+++	+++	⊥	++	++	++	+++	+++	++
	Infiltration { Pa. Pp.	++	++	+	+++	+	++	+	++	⊥	++	++	+++	+	+	+
		+++	+++	+	+++	++	+++	+++	+++	++	+++	+++	++	++	++	++
	Bleeding	+++	+++	++	+++	+++	+++	++	+++	++	⊥	++	+++	-	++	+
	Dilatation of vessels	⊥	-	-	-	++	+	-	+	+	++	++	+	-	-	-
L U N G	Infiltration { Vessels Br.	++	++	++	++	++	++	+++	++	+	-	⊥	+	+	+++	+
		+++	++	++	++	+++	+++	++	+	+++	-	+++	+++	-	+	++
	Thickness of alv. sep.	+	++	++	+	+	++	++	-	+	+	++	++	++	++	++
	Alveolitis	++	++	+++	+++	+++	+++	++	++	++	++	+++	+++	++	⊥	++
	Bleeding	++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	++	+++	+++	+++	++	+++	++
	Dilatation of vessels.	+	-	⊥	-	++	-	⊥	+	+	-	++	+++	+	++	++

象的な変化であつた。核大小不同、変性肝細胞はⅢ代頃より高度となる模様であつた。

一方肺に於ては血管、気管支周辺細胞浸潤は同様Ⅲ代頃から増強され、胞隔炎像はⅡ代頃から著明となり出血は略々継続的に之を認めた。鬱血も中等度にみられた。

iv) カナリヤ

肝細胞変性は継代数を重ねるに従い、増強しⅣ代以後極めて高度となり、第6表の如く限局性壊死及び類壊死の状態はⅢ乃至Ⅳ代に於て最も著しく、グリソン氏鞘域殊に門脈

周辺の小円形細胞浸潤はⅣ代に於て最も著明となり、増強傾向を辿り実質殊に小葉中間帯に於ける変性肝細胞を混えた結節形成は略々同様Ⅳ代に於て最も増強されⅤ代では少々軽度となつた。その他Ⅳ代目に於ては中心静脈周辺細胞浸潤も認められた。肝実質内出血は軽微に過ぎなかつたがⅤ代目には少々増強傾向を示した。Ⅳ代目 No. 11 に見る如き変性肝細胞を混え、なおその周辺に円形細胞（主に単球、一部リンパ球より成る）浸潤を伴う線維巣は限局性壊死巣の一部修復機転を物語

第6表 カナリヤに於ける継代実験

Passage		I			II			III			IV			V		
No.		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
L I V E R	Degeneration	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
	Necrosis	++	+	-	++	++	++	+	+	+	+	++	++	+	+	-
	Necrobiosis	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
	Infiltration { Pa.	++	+	+	++	++	+	+	++	+	++	++	++	+	++	++
	Pp.	++	++	++	++	++	++	++	++	+	++	++	++	+	++	++
	Bleeding	+	+	-	++	++	-	+	++	+	+	++	+	+	+	++
L U N G	Dilatation of vess.	+	-	-	++	++	+	-	++	+	++	++	++	+	++	++
	Infiltration { Vess.	+	-	-	++	++	-	-	++	++	++	++	++	++	-	++
	Br.	++	+	++	++	++	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++
	Thickness of alv. sep.	++	+	++	++	++	+	+	++	++	++	++	++	++	++	++
	Alveolitis	++	++	++	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
	Bleeding	+	-	-	++	++	+	-	++	++	++	++	++	++	++	++
L U N G	Dilatation of vess.	-	-	-	-	+	-	+	+	++	++	+	+	++	++	++

るものとして上述せる如く実質内結節がⅤ代頃では反つて軽微となつた点を合せ、累代と共に病理感染像発来迄の日数が短縮される事を証明したのである。又肺に於ける血管、気管支周辺細胞浸潤はⅢ代以後に於て増強され胞隔炎像は殆んど毎代出現し又、初代よりⅤ代に亙る実質内出血は瀰漫型を以て継続的に高度に認め得た。

v) カシラダカ

上記三種鳥類に比べると組織変化は概して軽度であるが累代と共に増強傾向を認め得た。即ち、第7表の如く初代では殆んど認められなかつた限局性壊死はⅢ代後に於て認められる様になり肝細胞変性もⅢ代後に高度となつた。円形細胞浸潤及び出血はⅢ代後では未だ

第7表 カシラダカに於ける継代実験

Passage		I		II		III		IV	
No.		1	2	3	4	5	6	7	8
L I V E R	Degeneration	++	++	++	++	++	++	++	++
	Necrosis	+	+	+	+	++	++	++	++
	Necrobiosis	+	+	++	++	++	++	++	++
	Infiltration { Pa.	+	+	+	+	+	+	+	+
	Pp.	++	++	++	++	++	++	++	++
	Bleeding	++	+	+	++	++	++	++	++
L U N G	Dilatation of vess.	++	+	+	++	++	++	++	++
	Infiltration { Vess.	++	++	++	++	++	++	++	++
	Br.	++	++	++	++	++	++	++	++
	Thickness of alv. sep.	++	++	++	++	++	++	++	++
	Alveolitis	++	++	++	++	++	++	++	++
	Bleeding	++	++	++	++	++	++	++	++
L U N G	Dilatation of vess.	+	+	+	++	++	++	++	++

軽度乃至中等度に認められたが類壊死状態は非常に著明となつた。肺では累代と共に気嚢周辺細胞浸潤及び胞隔々壁の肥厚、胞隔炎像が累代により強く起つたが出血は毎代軽微に過ぎなかつた。

vi) ウソ

第8表の如く初代に於て中等度の肝細胞変性も累代と共に著明にみられⅢ代後では類壊死の状態を強く発現、微細乃至中等大肝細胞質内空胞変性も高度となつた。壊死巣は累代によるも軽度に認められたに過ぎず、間質域円形細胞浸潤は累代と共に軽度乍ら増加し、出血はⅢ代に於て著明となつた。肺に於ては初代に軽度な気管支、血管周辺の間葉性幼稚細胞浸潤もⅢ代後には気嚢周辺域に於て同様細胞浸潤を伴い気管支壁肥厚を共に認めた。又実質内広範域出血巣を瀰漫型を以て認めたが鬱血は認められなかつた。

vii) ホホジロ

第9表の如く肝細胞変性は累代と共に増強され、就中空胞変性を著明に認めたが壊死は殆んど認められずⅤ代後に於ては種々な形の変性に基く類壊死状を認めた。円形細胞浸潤は概して比較的軽度であつたが、グリソン氏

第8表 ウソに於ける継代実験

Passage		I		II		III	
No.		1	2	3	4	5	6
L I V E R	Degeneration	++	++	++	++	++	++
	Necrosis	—	+	+	—	+	+
	Necrobiosis	++	++	++	++	++	++
	Infiltration { Pa. Pp.	++	++	—	—	++	++
		++	++	++	++	++	++
	Bleeding	++	—	++	++	++	++
L U N G	Dilatation of vess.	++	++	++	++	++	++
	Infiltration { Vess. Br.	++	++	++	++	++	++
		++	++	++	++	++	++
	Thickness of alv. sep.	+	—	++	++	—	++
	Alveolitis	++	++	++	++	++	++
	Bleeding	++	—	++	++	++	++
	Dilatation of vess.	—	—	++	++	++	++

鞘域に於けるそれは実質内よりも強く見られ他種鳥類の如くウイルス性肝炎の像を証明し得たが、出血はⅢ代に於て著るしくⅤ代では中等度に認められた。肺に於ては累代により胞隔炎、胞隔々壁の肥厚、出血を認めたが気管支周辺細胞浸潤は比較的軽度に過ぎず上記燕雀目、雀科鳥類中最も軽度な変化を得たに過ぎなかつた。

第9表 ホホジロに於ける継代実験

Passage		I			II			III			IV			V		
No.		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
L I V E R	Degeneration	+	++	+	+	+	+	++	++	+	+	++	++	++	++	++
	Necrosis	—	++	+	—	—	+	+	+	—	+	+	++	+	—	++
	Necrobiosis	+	++	+	+	+	++	++	+	++	++	—	++	++	++	++
	Infiltration { Pa. Pp.	—	+	+	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+
		+	++	++	+	+	+	++	++	+	++	++	++	++	++	++
	Bleeding	—	—	—	—	—	+	++	++	+	—	++	++	+	++	++
L U N G	Dilatation of vessels	—	—	—	—	—	—	++	++	—	—	+	—	—	—	+
	Infiltration { Vessels Br.	—	+	++	+	—	—	+	—	—	—	+	+	—	+	+
		+	—	++	+	+	+	++	+	+	++	+	+	+	+	+
	Thickness of alv. sep.	++	++	++	++	—	—	++	+	—	+	++	++	+	++	++
	Alveolitis	+	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
	Bleeding	—	++	++	—	+	—	++	—	+	+	—	—	++	++	++
	Dilatation of vessels	—	—	—	—	—	—	++	—	—	+	—	+	—	++	++

viii) メジロ

第10表の如く累代と共に空胞変性、核大小

不同殊に粗大鬆粗化等の肝細胞変性等の状態は増強され門脈周辺の細胞浸潤巣附近に於け

る肝細胞の類壊死はⅡ代以降に於て現れ、グリソン氏鞘域に於ける円形細胞浸潤もⅢ代目に著しく認められたが壊死は殆んど認め得ず、出血はⅡ代目頃から認められたが鬱血は証明し得なかつた。

気管支、血管周辺の間葉性細胞浸潤は累代により増強、Ⅱ代後に可成り強くⅢ代では非

常に顕著な血管周辺全層に互る同様細胞浸潤を認め、かかる所見は燕雀目鳥類中本種類鳥類にのみ得られた特異的变化といえる。

実験成績（其の2）—Titration

小川株 10^{-5} より 10^{-10} に及ぶ各階段稀釈病毒を夫々 0.25 ml 宛胸筋内接種により各階段に於て2羽宛のカナリヤを使用し特に肝、肺病理組織変化に基き感染価測定実験を行つた処、 10^{-2} 、0.25 ml 胸筋内接種により得られた所見よりも 10^{-5} の方に特に肝細胞変性、網状壊死の形に於て一層強い病理変化を証明し、 10^{-6} 、0.25 ml 接種ではグリソン氏鞘域により一層強い円形細胞浸潤を証明、 10^{-9} 接種に於て各稀釈濃度病毒使用の内最も高度に変性、壊死、類壊死、細胞浸潤及び出血を認め、又肺に於ては 10^{-7} 接種に於て最も高度な気管支周辺細胞浸潤を、又 10^{-10} に於ては一層顕著な気管支、血管周辺細胞浸潤及び胞隔炎を認めた。実質内出血は 10^{-7} 接種に於て最も著明に認められたが、鬱血は軽度乃至中等度に見られたに過ぎなかつた。（以上第11表参照）

第10表 メジロに於ける継代実験

Passage		I		II		III	
No.		1	2	3	4	5	6
L I V E R	Degeneration	++	++	+++	+++	+++	+++
	Necrosis	—	—	—	—	—	—
	Necrobiosis	++	++	++	++	++	++
	Infiltration { Pa. Pp.	++	++	++	++	++	++
		++	++	++	++	++	++
	Bleeding	++	++	++	++	++	++
L U N G	Dilatation of vessels.	++	++	++	++	++	++
	Infiltration { Vess. bronch.	++	++	++	++	++	++
		++	++	++	++	++	++
	Thickness of alv. sep.	++	++	++	++	++	++
	Alveolitis	++	++	++	++	++	++
	Bleeding	++	++	++	++	++	++
	Dilatation of vess.	—	—	—	—	—	—

第11表 カナリヤに於ける感染価測定実験

Dilution of virus		10 ⁻⁵		10 ⁻⁶		10 ⁻⁷		10 ⁻⁸		10 ⁻⁹		10 ⁻¹⁰	
No.		16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27
L I V E R	Degeneration	++	++	++	++	+	++	++	++	++	++	++	++
	Necrosis	++	++	++	++	+	++	+	++	++	++	+	++
	Necrobiosis	++	++	++	++	+	++	++	++	++	++	+	++
	Infiltration { Pa. Pp.	++	++	++	++	+	++	++	++	++	++	++	++
		++	++	++	++	+	++	++	++	++	++	++	++
	Bleeding	++	++	++	++	++	++	+	++	++	++	+	++
L U N G	Dilatation of vessels.	+	—	++	+	++	++	—	—	++	++	++	++
	Infiltration { Vess. Bronch.	++	+	++	++	—	—	—	—	++	++	++	++
		++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
	Thickness of alv. sep.	++	++	++	++	+	++	—	++	++	++	+	++
	Alveolitis	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
	Bleeding	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
	Dilatation of vess.	—	—	++	++	++	++	++	—	++	++	+	++

ジュウシマツ感染価測定実験は森本株 10^{-5} より 10^{-10} に至る各階段稀釈病毒を使用、夫々 0.25 ml 宛胸筋内接種を行い各階段稀釈濃

度に於て2羽宛使用しカナリヤ同様、肝、肺病理組織変化により判定を試みた処、第12表の如く肝細胞変性は 10^{-6} 附近に一旦増強し

それ以上の稀釈濃度では再び減少するが 10^{-10} に於て最も著明となり壊死、類壊死に於ても同様傾向を伴い 10^{-10} に最高の変化を認めた。細胞浸潤も 10^{-10} では最強度の発現を証明、小葉周辺域に互り実質内大小様々な浸潤細胞より成る結節を極めて多数認め、一見してそれを知る事が可能な位高度の変化を得た。出血は 10^{-7} に軽度乃至中等度に認めたが 10^{-10}

では一層増強された。

肺変化は肝と略々平行関係を以て出現し 10^{-7} に於て著明な胞隔炎と共に気管支周辺細胞浸潤を証明したが 10^{-8} では減弱、 10^{-10} では血管周辺細胞浸潤、胞隔々壁の肥厚、極めて広範囲に互る出血を伴い最も顕著な病理変化を証明し得た。

第12表 ジュウシマツに於ける感染価測定実験

Dilution of virus		10 ⁻⁵		10 ⁻⁶		10 ⁻⁷		10 ⁻⁸		10 ⁻⁹		10 ⁻¹⁰	
No.		16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27
L I V E R	Degeneration	++	++	+++	+++	+++	++	+	++	++	++	+++	+++
	Necrosis	-	+	++	++	+++	+	+	++	++	++	+++	+++
	Necrobiosis	+	+	++	++	+++	++	+	++	+++	+++	+++	+++
	Infiltration { Pa. Pp.	++	++	+++	++	+++	+	+	++	++	++	+++	+++
		++	++	+++	++	+++	++	++	++	++	++	+++	+++
	Bleeding	++	+	++	++	++	++	+	+	++	++	+	++
L U N G	Dilatation of vess.	+	+	++	++	+	++	++	++	++	++	++	++
	Infiltration { Vess. Br.	-	+	+	+	+	+	++	+	++	++	++	++
		++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
	Thickness of alv. sep.	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
	Alveolitis	++	++	+++	+++	+++	++	++	++	+++	+++	+++	+++
	Bleeding	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
G	Dilatation of vess.	++	++	++	-	++	++	+	++	++	++	++	++

IV. 総括及び考察

岡山県下に流行した悪性流行性肝炎患者材料より、吾が教室に於て分離された肝炎ウイルスに擬せられるべき Agent を以て上記燕雀目、雀科鳥類を主な対照として感染スペクトルを調査し又、継代による病理感染像検索の結果得られた所見は各代共継続して組織変化を確認した点から不顕性感染を主とした感染成立を極めて高率に証明し得たといえるであろう。該 Agent は Chamberland L₃ 及び Seitz E. K. を通過し各種人工培地に於ける雑菌試験は毎回陰性、又耐熱試験に於ては他種ウイルスよりも抵抗が強く 75°C 30' でも不活化されず組織変化を呈し得、50%グリセリン食塩水 -4°C の保存材料では約2ヶ月後に於てもなお感染を惹起し得た。

現今、哺乳動物の体内に於てウイルスの増

殖を許し、為にその動物が発症斃死を見る如き感受性のある特定種類のあるものが未だ発見されないため、場合によつては人体実験をも敢行せざるを得ない様な動物実験の非常に困難な状況にあるにも拘らず、著者の行つた上記の如き雀科鳥類使用による実験に於て、特にコカワラヒワ、ジュウシマツ、カナリヤに於て顕著な病理感染像の成立、及び一部に発症斃死を認めた事は肝炎ウイルスの動物実験上特記すべき結果として誠に意義あるものというも過言ではなからう。更に著者は渡り鳥及び燕雀目、繡眼児科鳥類を含む8種に及ぶ鳥類を使用する事により同目、雀科鳥類中、渡り鳥であるコカワラヒワに最も高度の感受性のある事を証明し得た事から、雀科鳥類が肝炎病毒の Reservoir として一役を担っているのではないかと考えられる。

感染価測定実験に於てカナリヤでは 10^{-9} 、

ジュウシマツでは 10^{-10} の如き高度稀釈病毒接種により 10^{-1} , 10^{-2} の如き低稀釈病毒接種時よりもなお一層顕著な組織変化を証明し得た事は Dresel E. G., Meding B.²⁾ 等の行った実験結果とも一致しその発現機序に関しては今後の検索を要するものと思われるが後者の如き病毒では干渉現象のため減弱されたのではないかと考えられる。

V. 結 語

著者は昭和27年末来岡山県下に流行した重篤症状を呈する流行性肝炎患者材料より、吾が教室に於て分離された石原、金光、野田、小川、森本、青森の6種類に及ぶ病毒を以て燕雀目、雀科鳥類中カナリヤ、コカワラヒワ、ジュウシマツ、スズメ、カシラダカ、ウソ、ホホシロ及び繡眼児科メジロに対し接種実験を試み、肝による累代実験を行い特に肝、肺病理組織所見の強弱から継代可否を検討すると共に 10^{-5} より 10^{-10} に至る各階段稀釈病毒を以て特にカナリヤでは小川株及びジュウシマツでは森本株使用により、その感染価測定を行つた結果、

- 1) 病理感染所見はコカワラヒワ、ジュウ

シマツ、カナリヤ、スズメ、カシラダカ、ウソ、ホホシロ、メジロの順に強く認められた。

- 2) 継代は上記鳥類共全て可能。

3) 上記鳥類共継代を重ねるに従つて程度の差はあるも肝、肺病理変化は漸次増強傾向を示し略々V代に於て固定された。

4) 10^{-5} より 10^{-10} に至る各階段稀釈病毒による感染価測定実験に於ては、カナリヤでは 10^{-9} 、ジュウシマツでは 10^{-10} に於て最も顕著な組織変化を証明した。

5) 継代実験中マウスに対する復原試験は陽性結果を得た。

上記の如き結果を総合すると吾が教室に於て分離された病毒は非細菌性、濾過性病毒であり耐熱性、各種薬品に対する抵抗、動物実験にて証明した組織変化、継代実験、感染価測定実験等よりして肝炎ウイルス乃至之に極めて近似した位地に位するものと考えられ、又感受性動物として燕雀目、雀科鳥類に感受性鳥類を認め就中、特にコカワラヒワ、ジュウシマツ、カナリヤに極めて著明な感受性を証明し得たのである。

終りに臨み御指導並び御校閲を賜つた恩師微生物学教室村上 栄教授に心から感謝の意を表します。

文 献

- 1) Wildführ, G.: Experimentelle Versuche mit dem Hepatitisvirus. Z. ges. Inn. Med., 8, 573~581 (1953)
- 2) Dresel, E. G., Meding, B. u. Weineck, E.: Ueber das Virus der Hepatitis epidemica. Z. Immunif. 103, 129~136 (1943)
- 3) Havens, W. P. & Paul, J. R.: Infectious Hepatitis & Serum Hepatitis. Viral & Rickettsial Infection of man. 269~283 (1948)
- 4) Herzberg, K.: Der Kanarienvogel als Versuchstier in der Hepatitis Contagiosa-Forschung. Klin. Wschr. 22, 676~677 (1943)
- 5) Rivers, T. M.: Viral and Rickettsial Infection of Man, (1952)
- 6) Andersen, T. T., and Tulinius, S.: Etiology of hepatitis epidemica (epidemic jaundice). Acta Med. Scandinav., 95, 497~509 (1938) ((5)より)
- 7) 村上 栄: 流行性肝炎の病原特に孵化鶏卵培養に依り分離せる病毒に就て, Virus, 5, 57~59 (1955)
- 8) 村上 栄他6名: 岡山県下に発生せる流行性肝炎特に病原体分離に関する研究(第四報), Virus, 5, 148~150 (1955)
- 9) 中村 隆: 動物実験その他, 伝染性肝炎, 医学書院発行, 第1版 (1953)
- 10) 木村 廉: 伝染性肝炎の実験的研究, Acta Scholae Medicinalis Universitatis in Kioto, 30, 133 (昭27)
- 11) 内田清之助: 新篇日本鳥類図説, 創元社発行, 初版 (昭24)
- 12) Henle et al.; J. Exp. med. 92, 271, (1950.)
- 13) Henle et al.; Proc. Soc. Exp. Biol. & Med. 73, 603, (1950.)
- 14) Mac Callum. Virus & Rickettsial of Diseases. (1955.)

写真説明

- Fig. 1 : コカワラヒツ肝, 極めて広範域に互る壊死並び細胞浸潤.
 Fig. 2 : コカワラヒツ肺, 気管支周辺域の細胞浸潤並び胞隔炎像.
 Fig. 3 : ジュウシマツ肝, 肝小葉周辺部より中間帯に及ぶ結節形成及び高度の細胞浸潤.
 Fig. 4 : ジュウシマツ肺, 気管支, 気嚢周辺部の極めて高度な細胞浸潤.
 Fig. 5 : カナリヤ肝, グリソン氏鞘並びにその周辺に於ける中等度の細胞浸潤及び小葉内の多数の小結節.
 Fig. 6 : カナリヤ肺, 高度の気管支周辺細胞浸潤及び著明な出血巢.
 Fig. 7 : スズメ肝, 軽度の細胞浸潤並び鬱血.
 Fig. 8 : スズメ肺, 中等度の気管支周辺細胞浸潤並び胞隔炎像.
 Fig. 9 : カシラダカ肝, 間質域に於ける軽度の細胞浸潤.
 Fig. 10 : カシラダカ肺, 気管支壁の肥厚, 周辺の細胞浸潤及び胞隔炎像.
 Fig. 11 : ウソ肝, グリソン氏鞘域細胞浸潤.
 Fig. 12 : ウソ肺, 血管充盈及び血管, 気管支周辺に於ける中等度の細胞浸潤.
 Fig. 13 : ホホシロ肝, 間質域に於ける軽度の円形細胞浸潤.
 Fig. 14 : ホホシロ肺, 気管支並び血管周辺細胞浸潤.
 Fig. 15 : メジロ肝, 肝細胞変性を軽度に認めるが細胞浸潤を認めず
 Fig. 16 : メジロ肺, 気管支, 血管周辺の顕著な細胞浸潤並び著明な胞隔炎像.

Studies on the Susceptibility of Fowls to Hepatitis Virus

Report 1: Successive transmission and determination of infection titer

By

Ryotaro Onizuka

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

In order to study the possibility of successive transmission and the determination of infection titer of hepatitis virus in fowls, the author used six strains of virus, Ishihara Kanamitsu, Noda, Ogawa, Morimoto, and Aomori stains, which were isolated from the patient materials by the successive transmission through mice and embryonated eggs in our laboratory. As the criteria of infection, the author took the hepatitis-specific pathologic changes of the liver and lung. Of the fowls tested, infection was the severest in *Chloris sinica minor* T. & S, and became milder in the following order: *Chloris sinica minor* T. & S. *Uroloncha domestica*, *Serinus canaria*, *Passer montanus saturatus* Stejeneger, *Emberiza rustica latifascia* Portenko, *Pyrhula pyrrhula griseiventris* Lafresnaye, *Emberiza ciconides* Bonaparte of *Passeres* and *Fringillidae*, and *zosterops palpebrosa japonica* T. & S. of *Zosteropidae*.

In each fowl, the histological changes became severer with the successive transmissions, and seemed to be fixed at about the fifth transmission.

As to the determination of infection titer, the most remarkable pathologic changes were observed around $10^{-9} \times$ in *Serinus canaria* and $10^{-10} \times$ in *Uroloncha domestica*. The tests of reversion of virus from fowls to mice were positive in all cases.

鬼塚論文附図

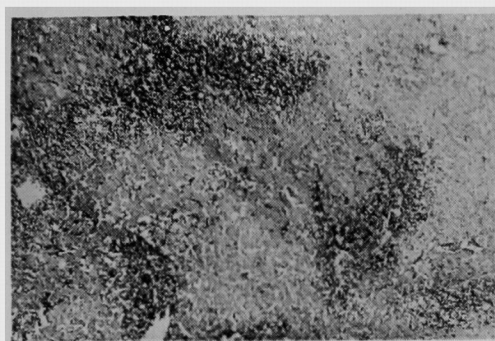


Fig. 1

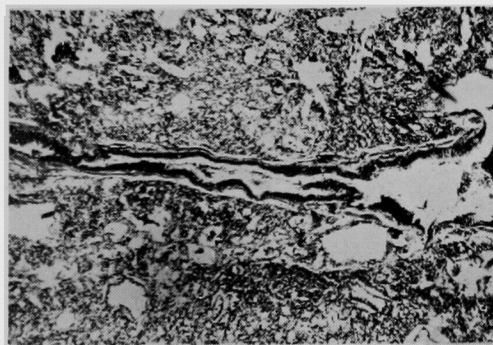


Fig. 2

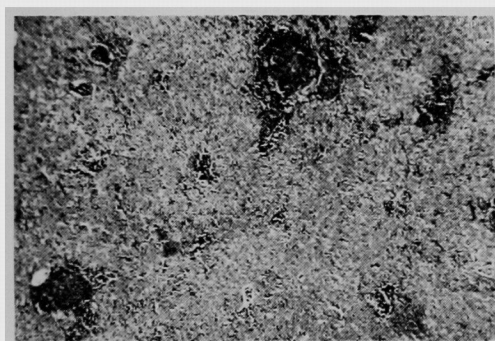


Fig. 3

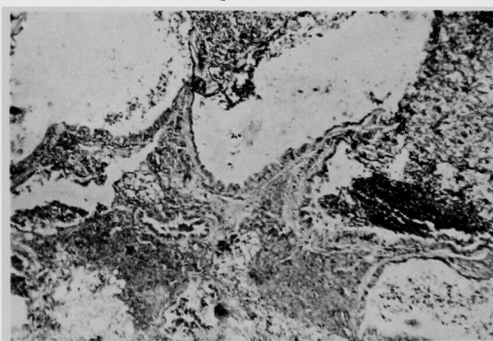


Fig. 4

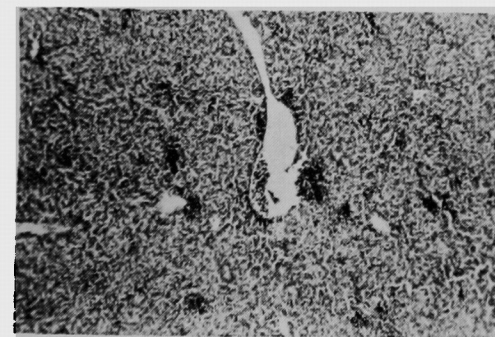


Fig. 5

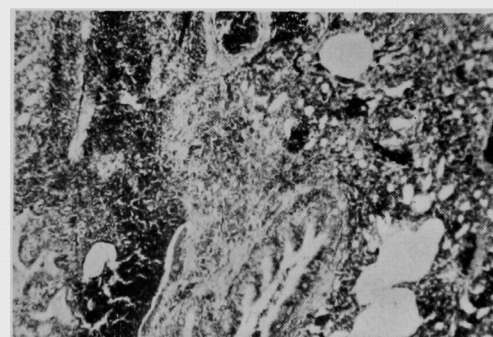


Fig. 6

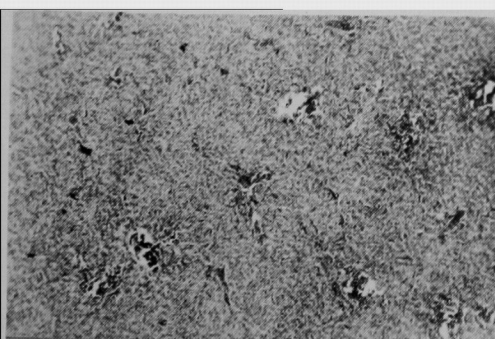


Fig. 7

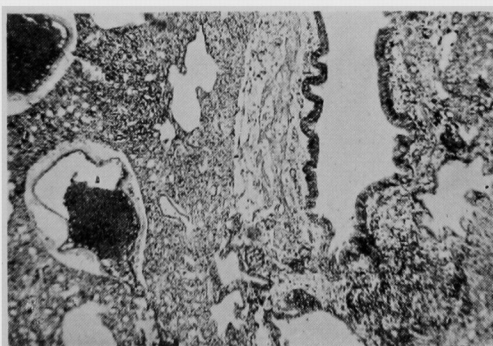


Fig. 8

鬼塚論文附図

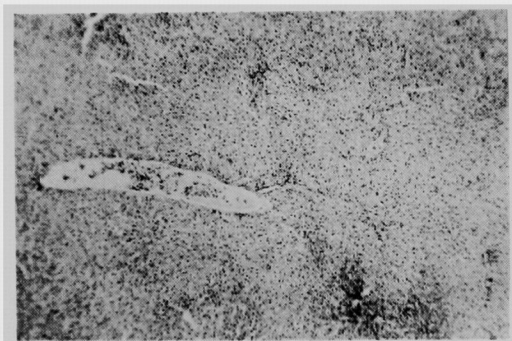


Fig. 9

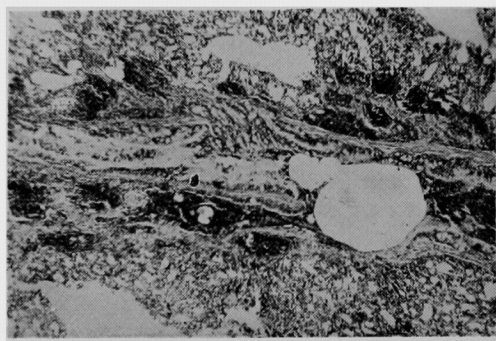


Fig. 10

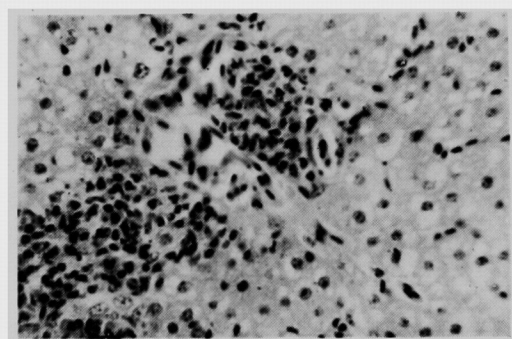


Fig. 11

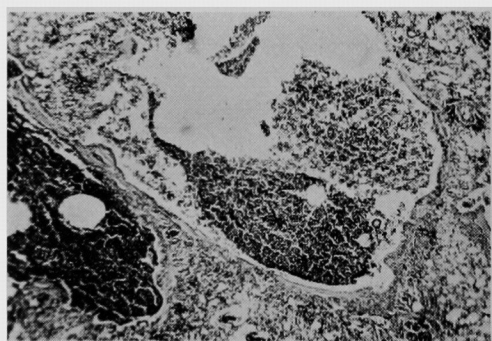


Fig. 12

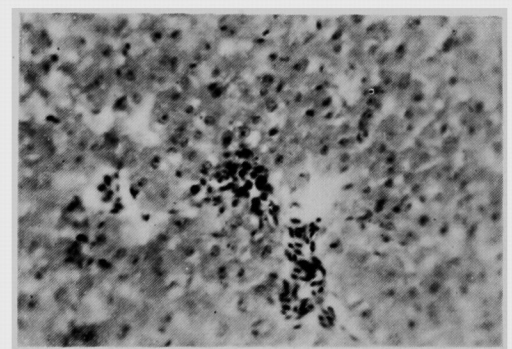


Fig. 13

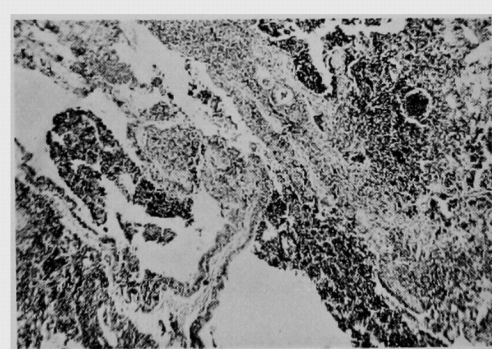


Fig. 14

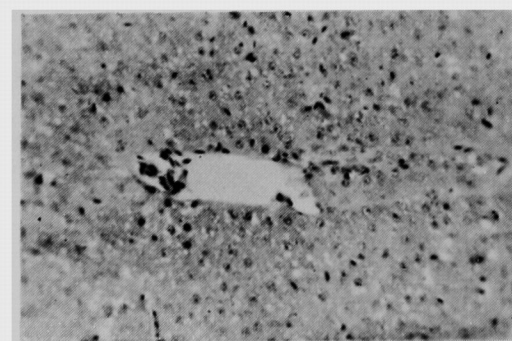


Fig. 15

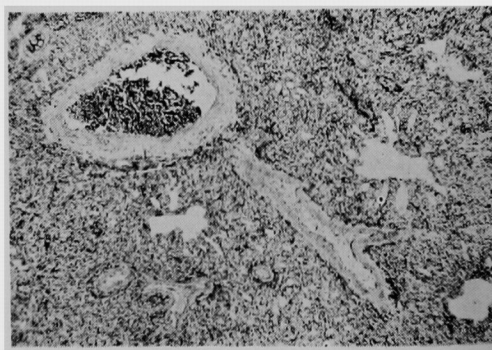


Fig. 16