

岡山県下に発生せる流行性肝炎 特に その病原体に関する研究

第三編

経口感染に関する知見補遺

岡山大学医学部微生物学教室（主任：村上 栄教授）

大賀寿朗

〔昭和32年3月26日受稿〕

緒 言

岡山県下に発生した流行性肝炎は、昭和27年以来県下全地域に蔓延波として増加の一途を辿り、終息する迄に至らぬまま次第に慢性肝炎の傾向を示して未だに発生は絶えぬ現況である。その疫学的観察は小坂¹⁾、石田²⁾等により広汎に行われている。その内特に感染経路に就ての所見では、“Fecal oral Route”は先づ挙げられる経路であると推測している。

既に先人によつて消化器感染³⁾⁴⁾⁵⁾の可能性は唱えられた所であり、汚染された水及び食事が先づ推定される事は、夫々の地域に於ける流行は極めて淫浸度が強く、かつ分布が広い地域に迅速に移る事、又家族内感染が極めて多い事例等より推測された。

著者は流行性肝炎の発生が、前述の消化器感染によるものと推定のもとに、村上等の分離した病毒を用い、経口感染の成立するかどうかを実験的にマウスを用いて行つた。その結果マウスに於ける経口感染は、容易に而も確実に行われる事実を知ると共に、累代移植もまた容易な事実を知つた。更に引続いて胃及び腸内に於ける病毒の運命を追究した。本編に於ては主としてウイルス血症に関する実験を行つたのでその所見に就て述べる。

実験材料及び方法

供試病毒：実験に使用した分離病毒は、前回の実験と同様にマウスに累代を継続してい

るものを使用した。石原、小川の両株であり共に孵化鶏卵で累代し、マウスに接種する事により定型的な病変を惹起する病毒株である。

ウイルス血症の検討方法：罹患マウス肝臓を多数集め pool した後秤量、10倍量の食塩水 (pH 7.6) を添加して Homogenizer に装して均等な乳剤とし、3000 r. p. m. 10分遠心沈澱して上清を病毒含有粗乳剤として使用した。この病毒粗乳剤を前回と同様に経口的に投与した後、逐次心血を採取して新しく準備したマウスの腹腔内に接種を行い、14日後に屠殺、型の如く病理標本を作り、その病理学的検索を行い感染の程度を検討した。

飽和試験：Wildfuhr の原法 (1953)⁶⁾に倣つた。即ち腹腔内に家兔免疫血清 0.5 ml 宛 2 回に亘り皮下に接種しておき、4 時間後に於て生病毒 0.3 ml 宛 (10⁻² 稀釀を用いた) 経口的にビニール製の小管により自然に胃内に注入させ、更に 14 日経過した後夫々の臓器を取り病理学的所見を検討した。

実験成績

前回に倣い経口的にビニール製の小管を用い、病毒含有粗乳剤を胃内に投与すると感染が惹起する事実、殊に胃及び腸に於ける病毒が如何なる経過を辿るかとの疑問は既に第二編に記載した如く、胃腸に於て相等度の損傷を蒙り滅毒されるが、一部は腸壁より吸收されると推測すべき結果を得た。本編に於ては

病毒が胃内に注入されてから腸より吸收され、血行又は淋巴行を介して門脈を経て肝臓に定着増殖する過程に於ける第一次的のウイルス血症が推測され、更に肝臓に定着後の第二次的ウイルス血症も予想されるので、之等のウイルス血症の発現状態を知るために血液内ウイルスの消長を追究した（第1表）。

第1表 肝炎罹患マウス肝摂食後マウスのウイルス血症

時日	株種	石原株	小川株
3時間	—	—	—
5時間	—	+	—
7時間	—	—	—
12時間	—	—	—
24時間	—	—	—
2日	—	+	—
3日	—	+	—
4日	+	+	—
5日	—	—	—
6日	—	++	—
7日	++	+	—
10日	—	+	—
12日	++	++	—
16日	++	++	—
20日	+	+	—

註. i) (++) (++) (++) (+) (+) (—) 病変の程度を示す。

表示した如く経口的に病毒を胃内に注入後、心臓血液を心臓穿刺により血液の凝固を防ぎ採取し、新しく準備したマウスに接種した。その間所定の時間をおき同様な操作を反復した結果、石原、小川両株共に3~24時間に於ける所見では、初の3、5、7、12時間までは殆んど病理所見は認められないが、小川株では3及び5時間のものでは軽度の病変を認めた。爾後両病毒間に多少の差はあるが、1~5日のものでは軽度な病変が見られ、略定型的な病変は小川株に於ては6日、石原株に於ては7日のもので見られ、その後著者の検じた20日迄略確実な所見を示した。而して本病は非経口的に接種した場合のマウスに於ける定型的な所見は、6~7日以後に認められる事実に従すれば、血液中の病変が5~7日

から多くなる事と平行関係が成立つといえる。

肝臓に於ける6日前後の病理所見は、星細胞の肥大及び増殖が現われ、特に肝細胞の配列の乱れた部分が著明である。同時に肝細胞解離して原形質漏出不透明化して核が濃縮されたもの、又は染色性を失つたものも認められた。細胞浸潤の発現は一部のグリソン氏鞘に小円形細胞が見られる以外は軽度であり、壊死巣周囲を単球に囲まれた特異的な所見は未だ発現していない。爾後次第に病理学的所見は高度な様相を呈するに至り、14日後に於ては肝細胞の変性もまた空胞性若しくは顆粒性となり、先に述べた細胞浸潤も門脈域若しくは小葉内に著明に認められる。この時の細胞は淋巴様細胞浸潤が主であるが、単球を含む場合が少くなく中性多核白血球を屢々散見せられる。また壊死巣を囲む単球が定型的に発現して来る等、之等の所見が多種多様に混合して実に多彩な病変を呈するのが認められる。この時期は大略14日前後である事実は、一応の本病の示す病変の頂点を示すものであろう。而して倉内⁷⁾の指摘した所謂慢性化の所見は、斯かる14日前後の病変が此後長期間に亘り観察されるもので本病の特徴ともいえる。

次に経口的に病毒を胃内に注入し、一定時間後に心血を採取し新しく準備したマウスに接種した後、元の感染マウスの病理学的所見を検した。この検索は最初経口的に投与した病変がマウスに確実な感染を惹起していたか何うかを確めるためのものである。この実験の結果は、等しく6~7日に於て肝臓の所見が略定型的に始り、逐次感染所見は進展していく事を明瞭に示している（第2、3表）。

上記の成績から胃内に経口的に病変が注入された後、一定時期を経て肝臓に定着増殖し第二次的ウイルス血症を惹起する過程に於ては、一応の結末を得たと推測されるが、次に之等の場合病変の分布状態を追究した。その成績は第4、5表に示した。この場合に於ける稀釈実験では、経口投与の凡そ14日前後

第 2 表 肝炎罹患マウス肝摂食後時間的推移に於ける肝肺病理所見

第3表 肝炎罹患マウス肝摂食後時間的推移に於ける各臓器所見

註. i) (+)～(−) 病変の程度を示す。

第4表 経口感染時の体内分布

検索臓器 病原稀釈	脳			肝		肺		脾		腎	
	肝	肺	脳	肝	肺	肝	肺	肝	肺	肝	肺
10 ⁻²	++-	+-	+	++	+-	+-	+-	+-	+-	+-	+-
10 ⁻³	+-	-	+	+-	++	+-	+-	+-	++	++	++
10 ⁻⁴	+-	-	++	++	+-	+-	+-	++	++	++	++
10 ⁻⁵	+-	-	++	++	+-	+-	+-	++	++	++	++
10 ⁻⁶	+-	-	++	++	+-	+-	+-	+-	+-	+-	+-
10 ⁻⁷	-	-	-	+-	-	-	-	+-	-	-	-
10 ⁻⁸	-	-	-	+-	++	+-	+-	-	-	-	-
10 ⁻⁹	-	-	-	+-	+-	+-	+-	+-	+-	+-	+-

註. i) (++) (++) (++) (--) 病変の程度を示す。

ii) 病毒株は小川株

の各臓器を用いたので、病原の分布がある程度推定される時期である。即ち各臓器別に見ると肝、肺に病原は最も多く、次いで腎、脾、脳の順に病原力は少いと考えられる。

病原の経口感染がよく成立し、病理学的所見が比較的安定している事実を知り得たので、感染経路に経口感染を選び、Wildfähr が血清学的に型別試験を行つた“Absättigungsversuch”を応用して中和反応を試みた。この実験に就ては藤原⁸⁾の報告した方法を踏襲した。即ち家兔免疫血清を用いてマウスを処置し、4 時間後に生病原にて攻撃し、マウスの示す病理所見により中和の有無を検討した。元来この飽和試験では、ある場合にはよく中

第5表 経口感染時体内分布(肝、肺病理所見)

検索臓器 株 病理所見	脳			肝			肺			脾			腎		
	10 ⁻⁴	10 ⁻⁶	10 ⁻⁹	10 ⁻⁴	10 ⁻⁶	10 ⁻⁹	10 ⁻⁴	10 ⁻⁶	10 ⁻⁹	10 ⁻⁴	10 ⁻⁶	10 ⁻⁹	10 ⁻⁴	10 ⁻⁶	10 ⁻⁹
小川	肝	肝細胞壊死	-	-	-	++	-	+-	-	-	-	-	-	-	-
		変性	+	+	-	+	+	-	++	-	+	+	-	++	++
		星芒細胞肥大増殖	+	++	-	++	++	+	++	+	++	-	++	++	++
		実質細胞浸潤限局性	-	+	+	+	+	-	++	+	++	-	++	++	++
		門脈域	+	+	+	+	+	-	++	-	++	-	++	++	++
		間質細胞浸潤(グリソン氏鞘)	-	+	-	-	+	-	+	-	-	+	-	++	-
		肝索解離	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-
		纏血	-	-	+	+	-	+	-	-	+	+	-	-	+
株	肺	胞隔炎	+	++	-	-	+	+	+	-	++	-	++	++	++
		気管支周囲細胞浸潤	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	++	-
		血管周囲細胞浸潤	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	++	+
		胞隔肥厚	++	++	-	-	+	-	-	-	++	-	-	-	-
		出血	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-

註. i) (++)～(--) 病変の程度を示す。

和能を推測すべき所見も見得るが、免疫血清の抗体価が低い場合は良結果が得られない事も少くない。

その成績に就て見るに(第6.7表)、使用した免疫家兔血清の免疫力価は高いものであつたが、病理所見の上から多少中和の傾向が認められたに過ぎなかつた。之はマウス体内

第6表 経口感染時の“Absättigungsversuch”

病原稀釈	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷	10 ⁻⁸	10 ⁻⁹
経口接種	-	-	+	-	+	+	+	+
対照	+	+	++	++	+	+	++	++

註. i) 病毒株は小川株

ii) 経口注入は夫々稀釈病原0.3ml使用

iii) (++) (++) (++) 病変の程度を示す。

第7表 飽和試験(肝, 肺病理所見)

株	病理所見	経口接種(0.3ml)									対照								
		10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷	10 ⁻⁸	10 ⁻⁹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷	10 ⁻⁸	10 ⁻⁹		
小川株	肝細胞壊死	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	+	+	—	+	+	—	
	変性	—	—	+	+	—	+	+	—	—	+	+	+	+	+	+	+	—	
	星芒細胞肥大増殖	+	+	—	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	—	+	+	+	
	実質細胞浸潤	—	—	+	+	+	+	+	+	—	—	+	—	—	—	+	+	—	
	限局性	—	—	+	+	+	+	+	+	—	—	+	—	—	—	+	+	—	
	門脈域	+	+	—	+	+	+	+	+	—	—	—	+	+	+	+	+	—	
	間質細胞浸潤(グリソン氏精)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—	+	—	—	—	+	—	
	肝索解離	—	+	+	—	—	+	+	—	—	—	—	+	—	—	+	+	—	
株	鬱血	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
	胞隔炎	+	+	—	—	—	—	—	+	—	—	+	—	—	—	+	+	—	
	気管支周囲細胞浸潤	+	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
	血管周囲細胞浸潤	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
	胞隔肥厚	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
肺	出	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
	血	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	

註. i) (+)～(−) 病変の程度を示す。

に於ける中和が完全に行われなかつた事を意味するもので、生病毒の稀釀、純化或は低温度に於ける両者の接觸時間等考慮すべき問題を示唆していると考えられる。

更に著者は小川株を用いて経口感染を行い、14, 50及び65日後に於ける病理変化を検べた(第8表)。即ち病毒の経口投与による感染は、

6～7日で略確実な病理所見として認められ、14日前後で特有の壊死巣を囲む单球が現われるに至る事は既に述べたが、50日、65日の所見でも病変が著しく進行したと思われない。

慢性化の経過は、更に長時間の観察を必要とするものと考えられるが、著者の成績から推測すれば、慢性化の状態は感染経路殊に経口

第8表 経口感染時慢性化の際の肝、肺病理所見

株	日数	病理所見	肝							肺						
			肝細胞死	星芒細胞肥大増殖	間質細胞浸潤	肝壊死	肝変性	門脈域	肝索解離	胞隔炎	気管支周囲細胞浸潤	血管周囲細胞浸潤	胞隔肥厚	出		
小川株	50日	A	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		B	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
小川株	65日	A	—	—	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
		B	—	—	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
小川株	14日	A	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—
		B	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—

註. i) (+)(+)(±)(−) 病変の程度を示す。

感染によつて特有な病変を示すものでなく、腹腔内感染の場合⁷⁾と比較して大差なき病理所見として見られるものと推測された。

総括及び考察

流行性肝炎患者より分離された病毒を用いて実験を行い、著者は既に病毒を胃内に注入すると腸壁より吸收され感染が起り、各臓器に定着増殖する事を知つたので、本編に於ては経口的に注入された病毒の運命を知る意味から、ウイルス血症に就て実験を行うと共に、その後に於ける病毒の分布、更に経口感染による飽和試験及び慢性化の経過に就て、病理組織学的に追究し検討した。

経口的に病毒を投与した後、一定時間後心血を採取する事により、血液中のウイルス血症を検したが、1～5日のものでは軽度の病変に過ぎないが、定型的な病変が6～7日に於て見られる様になり、20日迄の実験にて略確実な所見を示した。又時間的に逐次屠殺したマウスの病理所見にても、6～7日頃より肝臓に略定型的な所見を示し、14日前後を最高として後に引続き様相が見られた。なおその時期に於ける体内臓器内の病毒の分布は、肝、肺、腎、脾、脳の順に病毒力が存する所見を見た。之等の実験から肝炎患者よりの分離病毒は、明かに向肝性ウイルスであるとの推定が確実となつた。而も真の意味の肝炎病毒と同様に、経口感染が容易に而も確実に成立する証明ともなる所見を得た。なお経口感染の際の肝臓に於ける第二欠クウイルス血症は確実に惹起するものであるが、著者の推定した如くそのウイルス血症に対しても多少の疑問は残つているが、前述した経過を辿るのが大略本米の形であろうと推察されるのである。

更に藤原⁸⁾が報告した飽和試験を踏襲して経口感染せる場合のものについて検したが、

病理所見の上から多少中和の傾向が認められたが、之は未だマウス体内に於ける中和が完全に行われなかつた事を意味し、今後更に種々考慮すべき問題を示唆していると思われる。

更に又50日、65日経過せる場合の所見も観察したが、病変が著しく進行したとも思われず、元来分離病毒が、倉内⁷⁾の指摘している様に慢性化の経過を経る傾向が強いので、著者の急性の経過を経た場合の推測が一般に行われるのが普通としても、その後に於けるウイルス血症が如何に移行し推移して行くものか全く予想されないが、実験の結果から見て病毒接種後14日前後に始つたウイルス血症が、肝臓に於ける病変の増殖後漸次増強され、而も持続されるものと観察するより外には解釈に苦しむ所であろう。

結論

県下に発生した流行性肝炎患者より分離された病毒を用いて、第一編より引き続き経口感染に於ける分離病毒の感染及び累代、更に感染の機転及びウイルス血症に就て、主としてその病理学的所見より追及して次の結論を得た。

1) 病毒を胃内に注入した場合、病毒は先ず肝臓に定着増殖を行うと共に、略之と平行してウイルス血症を発来し、凡そ病変の体内侵入後14日前後に於てウイルス血症の頂点が見られるものであろうという事は、病変の示す病理学的所見及び病変の体内分布等より示唆された。

2) 経口感染に於ける本来の感染の機転は、大体著者の推定した結果を得たが、病変が慢性の経過を辿つた場合の感染及びウイルス血症に就てはなお疑問がある。

稿を終るに臨み、種々御指導御教示並びに御校閲の勞を賜つた恩師村上栄教授に深甚の謝意を表する。

文

1) 小坂淳夫：日本臨床、流行性肝炎総合シンポジウム、Vol. 12, No. 133, 昭和29年10月。

2) 石田立夫：日本公衆衛生雑誌、Vol. 3, No. 7, 昭和31年7月。

- 3) Findlay, G. M. and Willcox, R. R.: Lancet 128, 1063, 1945.
ii 594, 1945.
- 4) Van Rooyen: Virus Diseases of man, P. 573, 1953.
- 1164, 1948.
- 5) Neefe, J. R. and Stokes, J. Jr.: J. A. M. A. 273, 1957.
- 6) Wildfuhr: Zeitschr. f. d. ges. innere Med.
- 7) 倉内嘉人: 未発表.
- 8) 藤原清: 岡医誌第69巻4号, 1957.

Studies on the Pathogenic Agent of Infectious Hepatitis
In Okayama Prefecture

III: The supplemental studies on the infection by the
alimentary canal

By

Toshio Ohga

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

Following the studies in part I and II, the author studied the establishment of infection by the oral administration of virus, the mechanism of infection, and viremia. These were investigated chiefly by the observation of pathological changes of the tested mice. The results were as follows:

- 1) The investigation of the pathological changes and the distribution of virus in the animal body revealed that the fixation and multiplication of the virus occurred in the liver, and, in parallel with these, the viremia went and reached the maximum around the 14th day after the injection of virus into the stomach.
 - 2) As for the essential mechanism of the alimentary infection, the previously inferred results were obtained. In case of the chronic infectious course, however, there remained some questionable points as to the mechanism of the establishment of infection and viremia.
-