

# 岡山醫學會雜誌

第69卷8号(742号)

昭和32年8月30日発行

616.36—002.1—022

## 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

第一編

流行性肝炎の予防及び治療に関する実験的研究

岡山大学医学部微生物学教室(主任:村上栄教授)

遠 迫 克 美

[昭和32年7月16日受稿]

岡山県下における流行性肝炎の発生は昭和27年赤磐郡可真村に爆発的に始り、高度の死亡率を示し、次第に蔓延の兆を見せたので漸く注目されるに至つた。

爾来本疾患の流行は、漸次発生地域を拡大して発生するに及びその病状は急性経過を辿り死の転帰をとるものから、慢性型に移行する傾向を呈し、現在においても県下全般に互りウイルスの侵襲はあるものの如く、未だ終熄を見ぬ状態である。

村上等(1955)<sup>1)</sup>は本疾患の発生と同時に特に病原体に関する研究就中病原体の分離及び固定に向け努力を続けた結果再三の動物実験の失敗を経て漸く孵化鶏卵による累代を継続することに依り一種のウイルスの分離に成功した。翻つて先人の業績より肝炎病原体に関する研究を見るに、一種のウイルス性疾患であるとの推定は Havens et al. (1944)<sup>2)</sup>の人体接種実験以来確定的な事実となり、而もそのウイルスの特性までも窺い得た。就中熱及び消毒薬等に対し強い抵抗性を保持する性状は明

らかに特異的であり、而も他のウイルスと明瞭に区別し得る訳でもある。

その後肝炎ウイルスの研究は主にウイルスの分離及び固定の面に向けられ、実験動物を用いての累代移殖が試みられたに拘らず、未だ確実な結論を得るに至らなかつた。

最近に至り Henle et al. (1951)<sup>3)4)</sup>は組織培養及び孵化鶏卵培養に依りウイルスを分離し、血清学的研究は不成功に終つたが、培養し得たウイルスを用いて皮膚反応を行い血清肝炎と鑑別し得る点を指摘しているのは興味深いものがある。

又 Wildführ. G (1953)<sup>5)</sup>は広汎に肝炎患者材料を集め、各種の動物を使用して分離を試み数株の分離に成功すると共にウイルスの感染及び累代の様相を明にし、而も慢性化の経過に就て詳細に論及した。

此等の認むべき業績から流行性肝炎に関する研究は光明を見出した感があるが、未だ病原体に関しては論議されることが多い。即ち他のウイルス群の如く容易に分離固定が行わ

れず、血清学的研究は未だ途達の感がある。

著者は村上等 (1955)<sup>6,7)</sup> により分離されたウイルスの分離を受け、殊に最近 Stokes, J. & Neefe J. R. (1945)<sup>8)</sup>, Havens W. P. & Poul J. R. (1945)<sup>9)</sup>, Brooks B. F., Hsia D. Y. & Gellis S. S. (1953)<sup>10)</sup>, により人血清  $\gamma$ -Globulin による受働免疫が行われている現状に鑑み、之等の  $\gamma$ -Globulin を用いて分離ウイルスに対する影響を検討すべく試みた。Neefe, Stokes, Havens. の実験成績に依れば、肝炎発病前の潜伏期中に接種すれば本病の発現若くは感染を防止又は遅延せしめると述べている。

既に岡山県下に発生した流行性肝炎に就いても人血清に依る  $\gamma$ -Globulin による予防は石田 (1956)<sup>12)</sup> によつて試みられているのは注目される。

著者は諸種の条件を考慮し  $\gamma$ -Globulin を用いて、マウスに特異的な病理変化を惹起せしめた場合の病変の程度に変化が窺われるかの問題、換言すれば感染の抑制が認められるかの点について検討を行つたのでその大要を報告する。

#### 実験材料及び方法

供試ウイルス： 実験に供したウイルスは先に村上等 (1955)<sup>6)</sup> の報告した孵化鶏卵分離後夫々累代移植を行い孵化鶏卵馴化ウイルスとして保存されている金光、森本、石原、小川株、更に其の後直接患者材料をマウスに接種し分離した青森株であり、之等のウイルスは夫々その病理学的所見において共通する性格を保持し、而も感染防禦試験においても殆どその免疫原性は一元的なものと推定されている<sup>13)</sup>。

感染方法： マウスに対するウイルスの感染方法及び累代に就いては諸種の方法が行われたが、累代移植においては主に腹腔内接種により、次代接種材料としては肝臓乳剤を用いた。別に実験では感染経路として大賀<sup>14)</sup>の試みたビニール製の小管を用いて経口感染を行つた。

$\gamma$ -Globulin 及び各種薬剤投与方法： 実験では感染阻止と飽和試験とに別つて行つた。

感染阻止実験： 予め稀釈ウイルスを 0.3 ml 宛マウスの腹腔内に接種し、1時間後  $\gamma$ -Globulin 0.25 ml 宛皮下に接種して、接種回数を 3～5 回と別けて繰返した。その後ウイルスの攻撃より 14～15 日を経てマウスを屠殺し、夫々の臓器を採取して病理学的所見を窺つた。

飽和試験の方法： 飽和試験の要領は Wildführ の “Absättigungsversuch” に倣つたが、種々の事情より術式は次の如く改良した。即ち  $\gamma$ -Globulin の 0.25 ml を皮下に連続 5 日間接種を続け、最初の接種を終つて 3 回目の接種後夫々の稀釈ウイルスを腹腔内に 0.3 ml 宛接種攻撃し、14～15 日後の病理所見に依り感染の様相を観察した。

$\gamma$ -Globulin 調製方法： 健康人血清より調製した  $\gamma$ -Globulin は総て市販の製品を使用した。肝炎恢復患者血清よりの  $\gamma$ -Globulin の分離は中川、神田<sup>17)</sup> の方法に倣つた。即ち無水硫酸曹達により分離した。即ち 37°C に保つた肝炎恢復患者血清に終濃度 16% になる迄無水硫酸曹達を添加すると、共に之を 37°C 12 時間保つた後 3000 r. p. m 15 min 遠心沈澱により上清を捨て去り、沈澱を 16% 硫酸曹達溶液にて 2 回洗滌する。最期に得られた沈澱より更に塩液部分を濾紙でとり、次で氷室中で 48 時間透析する。此の間可及的無菌的処置をとつたが、雑菌の混入を防ぐ意味から、Streptomycin を 0.1 mg/ml 及び Penicillin を 100 u/ml の割合に添加して、滅菌皿に移し 37°C で少時濃縮した後実験に供用した。かくて得られた  $\gamma$ -Globulin 溶液の力価は明瞭に判明し難いが、抗体を含むものと推定して実験を行つた。

#### 実験成績

流行性肝炎患者材料より分離されたウイルスが孵化鶏卵に培養され、累代を継続されるに伴い、次第にマウスに対して強い感受性を示すに至る事実は既に村上等の予報<sup>16,7)</sup>、及び真鍋<sup>15)</sup>の実験報告に詳しい。其後に於て分離材料が適当であれば容易にマウスに直接接種する場合でも一定の感染が起り特異な病理学的

第1表 分離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	分離動物及累代方法
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
金光株	急性肝炎患者糞便 (発病後2週間目)	1953. 1. 21	分離: 孵化卵 累代: 孵化卵
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62代マウス41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30代
青森株	急性肝炎患者肝 (重症死)	1955. 7. 6	分離: マウス 累代: 18代

所見が認められる事が明らかになった。著者は村上等の分離ウイルスの分譲を受け、マウスにおける累代継続したが、大賀の述べた経口感染若しくは腹腔感染による接種経路何れを選んだ場合でも容易に感染の成立があり、殊に肝臓を中心に特異な病理学的所見が確実に累代毎に認められた。即ち病理学的所見としての特異的变化は肝細胞の変性及び壊死併に実質及び間質における細胞浸潤等を主要病変とするものであつて、実験に使用するために累代保存中のウイルス株の示す病理学的变化は殆ど等しい性格を保有して、その病原性は大差ないものと推測された。

著者の行つた実験では、 $\gamma$ -Globulin を夫々の投与方法で病毒粗乳剤と相前後して投与若くは接種を行い、マウスの示す病理変化に依り感染の様相を観察した。

#### 1) $\gamma$ -Globulin に依る実験

此の実験に使用した  $\gamma$ -Globulin は人血清より抽出せられた市販の製品であり、その製品は夫々北里研究所、日本製薬、日本ブラッドバンク製であり、60 mg/mg~90 mg/mg の濃度に含むものである。

実験に使用する際は都度濃度製品会社を明記して参考にした。 $\gamma$ -Globulin が肝炎に対して若し予防的意義があると解釈する場合には、健康人血清中に含有されていると予想せられる微量ながらも免疫抗体の存在が考えなければならないもので、免疫力価は確実に明かでないが、その微量な免疫抗体を受動免疫の形で賦与するにあると考えられたのである。

マウスに投与方法及び用量更に投与時

期等に関しては人の場合と異り、夫々に制限があり、その感染阻止の状態にも聊か差異を生ずるものと思われたが、注射方法は腹腔内に 0.25 ml 宛数回に互り注射するのが例であつたが、著者の感染阻止実験では予め稀釈ウイルスを接種しおき後で  $\gamma$ -Globulin を繰返し接種する方法を採用し、別に Wildführ の "Absättigungsversuch" に倣つた要領で  $\gamma$ -Globulin を数回注射を経続し途中ウイルスを用いて攻撃する法に分つたが、慢性肝炎の場合には適宜方法を改良する等の変法も用いた。 $\gamma$ -Globulin の感染に及ぼす影響は主として肝臓を中心に病理学的所見に依つて感染の程度を注視した。

$\gamma$ -Globulin を投与する場合人の肝炎にあつては予防的効果を發揮するとの報告があるが、病理学的性状に及ぼす影響があるかどうかの問題は解決していない。著者の実験では分離ウイルスに対して感受性の強いマウスを使用しているが、此の種の実験に於ける病理所見の判定には当然マウスの個体差、若くは  $\gamma$ -Globulin の投与時期、方法が考慮されなければならないことは勿論であるが、終始一貫した病理所見に見られる阻止効果は望み難いことは理論的にも推測された。即ち健康人血清より製造された  $\gamma$ -Globulin の肝炎に対する免疫抗体があるとしても極めて微量なものであり、侵襲ウイルスの強い場合は必然的に感染阻止は惹起しないものと予想された。併も病毒が組織内に増殖を営む事実が明瞭であり、若し組織内に定着したウイルスに対して抗病毒性に働くならば微量な免疫抗体では中和現象は十分に惹起しないものと推定された。

著者の行つた実験結果に就て見るに感染阻止実験の形で行われた夫々の実験例では先づ

森本株を経口的に投与しおき後各種積病毒により攻撃した場合(第2表)大賀<sup>14)</sup>の実験例

第2表  $\gamma$ -Globulin に依る感染阻止試験

病 毒 稀 釈	薬劑投与量	病理学的所見							肺 臟			
		肝	臟	充出	肺	臟	出	胞	氣管形	胞	出	
		実壞 質 細 胞死	変 性	星肥 大 及 增 殖	肝解 索 の 離	実細 胞 質 浸 潤	間細 胞 質 浸 潤	充出 血 及	胞 隔 炎	氣管周 支及 血門 の浸 潤	胞 隔 肥 厚	出 血
10-5	$\gamma$ -Globulin 0.25ml×5	⊥	⊥	⊥	⊥	+	+	⊥	+	⊥	⊥	⊥
	Control	卅	卅	卅	卅	卅	+	卅	卅	⊥	+	⊥
10-6	$\gamma$ -Globulin 0.25ml×5	⊥	⊥	⊥	⊥	卅	+	⊥	+	⊥	-	⊥
	Control	⊥	+	+	+	卅	+	+	卅	卅	⊥	⊥
10-7	$\gamma$ -Globulin 0.25ml×5	⊥	⊥	⊥	⊥	卅	卅	⊥	+	⊥	⊥	⊥
	Control	⊥	+	+	⊥	卅	卅	⊥	卅	+	⊥	⊥
10-8	$\gamma$ -Globulin 0.25ml×5	+	+	+	+	卅	+	+	⊥	⊥	⊥	⊥
	Control	卅	+	+	+	卅	卅	卅	卅	⊥	⊥	⊥

註. i) 供試株 森本株経口投与0.3ml  
 ii) (卅)~(-) 病理変化の程度を示す.  
 iii) 供試マウスは一群3~5匹を用いた.

において認めたとく胃内に病毒の注入されてより3~4時間前後において既に流血中に病毒が微量ながら証明されたと思われる所見を得てをり、病毒投与後1時間にして腹腔内に接種された  $\gamma$ -Globulin の予防的効果があるものならば、多少とも抗体によりて捕捉されるであろう病毒もあると思われるが、病理所見では対照群と比較して大差は認められない。

幾分とも本実験においては対照群に比し病理変化に細胞浸潤等の所見が強く、重要な所見と推定される肝細胞障碍等の知見が少い傾向を呈している。病毒稀釈が高度となるに伴い、前述の所見が明瞭化する事実も認められる。

次に病毒を腹腔内に接種した所見では濃度の高い90 mg/ml の  $\gamma$ -Globulin を5回に互つて接種したに拘らず、病理変化を阻止する事は不可能であり、殆ど対照群と等しい結果であつた。(第3表)

之等の実験を反復し肝臓だけに限局して詳細に検討した。(第4表) 接種回数を3~5回と増加し  $\gamma$ -Globulin を投与した場合夫々の各種積病毒にて攻撃した所見においても、殆んど病理学的所見に差異を認めない程度のもので特に  $\gamma$ -Globulin の演ずる役割は認めないと言つても過言ではない程である。

$\gamma$ -Globulin 注射における濃度投与回数投与時期投与量等は重要な条件であろうと推測されたが、此等諸種の条件は実験回数を増加して各種の実験を行つた結果明瞭となる様に思われたので、更に投与時期を厳密にして  $\gamma$ -Globulin の連続注射により確めた。(第5表) その実験でも感染に及ぼす影響は多少ともあるものと推定される病理所見があるが、他面においては一般に対照群と比較して特に注目すべき病理所見が得られたとも評価し得ぬ結果であつた。

分離病毒をマウスに接種する場合慢性の経

第3表  $\gamma$ -Globulin に依る感染阻止試験

病 毒 稀 釈		病理学的所見 薬剤投与量	肝 臓						肺 臓				
			肝壊 細 胞死	肝変 細 胞性	星肥 芒大 及細 胞増 殖	肝解 索 の離	実細 胞質 浸 内潤	間細 胞質 浸 内潤	充出 血 及血	胞 隔 炎	管 周 支 及 血 門	形 細 胞 浸 潤	胞 隔 肥 厚
10 <sup>-5</sup>	$\gamma$ -Globulin 0.25ml×5		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Control		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10 <sup>-6</sup>	$\gamma$ -Globulin 0.25ml×5		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Control		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10 <sup>-7</sup>	$\gamma$ -Globulin 0.25ml×5		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Control		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10 <sup>-8</sup>	$\gamma$ -Globulin 0.25ml×5		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Control		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

註. i) 供試病毒：小川株 i. p. 0.3ml  
 ii) (++)~(-)：病理変化の程度を示す。  
 iii)  $\gamma$ -Globulin 90mg/ml (日本ブラッド バンク製)

第4表  $\gamma$ -Globulin 投与に依る肝臓変化阻止実験

病 毒 稀 釈		病理学的所見 薬剤投与量	肝 細 胞 障 碍				細 胞 浸 潤			脂 肪 浸 潤		
			膨 満	粗 鬆	好 酸 性 萎 縮	壊 死	肝 索 の 不 整	核 変 肥 大 及 化	星 肥 芒 大 及 細 胞 増 殖		限 局 性	門 脈 域
10 <sup>-4</sup>	$\gamma$ -Globulin 0.25ml×3		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	$\gamma$ -Globulin 0.25ml×5		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Control		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10 <sup>-8</sup>	$\gamma$ -Globulin 0.25ml×3		+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
	$\gamma$ -Globulin 0.25ml×5		+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
	Control		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

註. i) 病毒：小川株 i. p. 0.3ml  
 ii) (++)(-) 病理学的変化の程度を示す  
 iii)  $\gamma$ -Globulin 90mg/ml (日本ブラッド バンク製)

第 5 表  $\gamma$ -Globulin に依る感染阻止試験

病 毒 稀 釈	薬 剂 投 与 量	病 理 学 的 所 見											
		肝				膵				肺	膵		
		肝 壊 死	細 胞 変 性	星 芒 大 細 胞 及 増 殖	肝 解 索 の 離	実 質 浸 潤	細 胞 質 浸 潤	間 質 浸 潤	出 血	胞 隔 炎	氣 管 支 及 血 管 周 圍 の 浸 潤	形 成 細 胞 の 浸 潤	胞 隔 肥 厚
10 <sup>-4</sup>	$\gamma$ -Globulin S. C. 0.25ml × 5	+	+	⊥	⊥	+	卅	+	卅	+	卅	+	卅
	Control S. C.	卅	+	+	+	卅	卅	⊥	卅	+	卅	卅	卅
10 <sup>-6</sup>	$\gamma$ -Globulin S. C. 0.25ml × 5	+	+	+	+	卅	卅	⊥	+	+	+	+	+
	Control S. C.	卅	卅	+	+	卅	卅	+	卅	+	卅	+	+

註. i)  $\gamma$ -Globulin S. C. : 1)~5)連日注射0.25ml 病毒攻撃は第1日注射後2時間にして行う。  
 ii) 病毒小川株 : i. p. 0.3ml  
 iii)  $\gamma$ -Globulin 60mg/ml (日本製薬)

第 6 表  $\gamma$ -Globulin に依る感染阻止試験

病 毒 稀 釈	薬 剂 使 用 量	病 理 学 的 所 見													
		肝				膵				肺	膵				
		肝 壊 死	細 胞 変 性	星 芒 大 細 胞 及 増 殖	肝 解 索 の 離	実 質 浸 潤	細 胞 質 浸 潤	間 質 浸 潤	充 出 血	及 血	胞 隔 炎	氣 管 支 及 血 管 周 圍 の 浸 潤	形 成 細 胞 の 浸 潤	胞 隔 肥 厚	出 血
10 <sup>-5</sup>	$\gamma$ -Globulin 0.25ml × 2	+	+	+	+	+	卅	+	卅	+	卅	+	卅	+	卅
	Control	卅	+	+	+	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
10 <sup>-6</sup>	$\gamma$ -Globulin 0.25ml × 2	+	+	+	+	+	卅	+	卅	+	卅	+	卅	+	卅
	Control	卅	+	+	+	卅	卅	+	卅	+	卅	+	卅	⊥	卅
10 <sup>-7</sup>	$\gamma$ -Globulin 0.25ml × 2	+	+	+	+	+	卅	+	卅	+	卅	+	卅	⊥	卅
	Control	卅	+	+	+	+	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
10 <sup>-8</sup>	$\gamma$ -Globulin 0.25ml × 2	+	+	+	+	卅	卅	+	卅	卅	卅	+	卅	+	卅
	Control	+	⊥	+	+	卅	卅	+	卅	卅	卅	+	卅	+	卅
10 <sup>-9</sup>	$\gamma$ -Globulin 0.25ml × 2	卅	⊥	+	+	卅	卅	卅	卅	卅	卅	+	卅	卅	卅
	Control	+	+	⊥	+	卅	卅	⊥	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅

註. i) 供試病毒 : 森本株経口投与 0.25ml  
 ii) 病毒投与後21日後の病理所見に依り判定  
 iii) (卅)~(-) 病理所見の程度を示す。  
 iv)  $\gamma$ -Globulin 60mg/ml (日本ブラッド パンク製)

第7表  $\gamma$ -Globulin に依る感染阻止実験

病毒稀釈	薬剤使用量	病理学的所見										
		肝			脾				肺			
		肝細胞壊死	肥大型細胞増殖	肝解素の難	実細胞質浸潤	間細胞質浸潤	充出血及血	細胞隔炎	気管支周囲の浸潤	形細胞の肥厚	出血	
10 <sup>-2</sup>	$\gamma$ -Globulin 0.25ml × 3	+	⊥	⊥	⊥	+	+	-	+	+	+	⊥
	$\gamma$ -Globulin 0.25ml × 5	+	⊥	+	⊥	+	+	⊥	+	⊥	+	⊥
	Control	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	⊥
10 <sup>-4</sup>	$\gamma$ -Globulin 0.25ml × 3	+	+	⊥	⊥	+	+	⊥	+	⊥	⊥	⊥
	$\gamma$ -Globulin 0.25ml × 5	+	+	+	⊥	+	+	⊥	+	+	⊥	⊥
	Control	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10 <sup>-6</sup>	$\gamma$ -Globulin 0.25ml × 3	+	+	⊥	⊥	+	+	⊥	+	⊥	+	⊥
	$\gamma$ -Globulin 0.25ml × 5	+	+	⊥	⊥	+	+	⊥	+	⊥	⊥	⊥
	Control	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10 <sup>-8</sup>	$\gamma$ -Globulin 0.25ml × 3	+	⊥	⊥	⊥	+	+	⊥	+	+	+	+
	$\gamma$ -Globulin 0.25ml × 5	+	⊥	⊥	+	+	+	⊥	+	+	⊥	⊥
	Control	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

- 註. i) 供試病毒: 森本株 i. p. 0.3ml  
 ii) (+)~(-) 病理所見の程度を示す.  
 iii)  $\gamma$ -Globulin 60mg/ml (日本製薬)

過を辿る事実は既に同僚倉内の指摘した所であるが、本実験に於ても慢性の経過を辿つた場合を考慮し3週後に於ける病理学的所見を観察した。之の実験例においても攻撃した稀釈病毒によりて示す、病理変化に多少の有意の差とも推定される部分があるが、対照群の示す病変と比較して病変の阻止はない。

(第6表)更に諸種の条件を異にし、同様な実験を反復した場合にも病理学的変化に及ぼす影響は多少とも認める例があり、また感染の進行を呈する時があり、 $\gamma$ -Globulinの投与することが、微量乍ら存在するであろうと推測する免疫抗体の作用を期待している訳であり、 $\gamma$ -Globulinに含有される免疫抗体

に捕捉される公算が大なればなる程感染の程度は低く、病理所見は少いものと推測されるが、前述した如く含まれる免疫抗体の微量な場合は強い侵入病毒の時は全く抵抗し難いものと思われる。また投与時期の問題にしても病毒の組織内に定着しない時期に投与することは必要欠ぐべからざる条件ともなると推測されるので、 $\gamma$ -Globulin投与に依つて病状を頓挫せしめる程のものでなく、接種することによりて予防的価値を有するものと想像された。次に $\gamma$ -Globulinを投与する際の諸種の条件(投与時期、投与回数、投与量等)に支配されるものであろうことは想像されるが、著者の実験でも従来の方法と異つた所謂中和

第 8 表  $\gamma$ -Globulin に依る感染阻止実験

病 毒 稀 釈	薬 劑 使 用 量	病 理 学 的 所 見						肺 臟					
		肝			臟			肺		臟			
		肝 壞 死	細 胞 變 性	星 肥 大 及 增 殖	肝 解 索 の 離	実 細 胞 質 浸 潤	間 細 胞 質 浸 潤	出 血	胞 隔 炎	氣 管 支 及 血 管	形 態 浸 潤	胞 隔 肥 厚	出 血
10 <sup>-2</sup>	$\gamma$ -Globulin 0.25ml×3	+	+	+	+	+	++	⊥	++	++	+	+	+
	$\gamma$ -Globulin 0.25ml×5	+	+	+	+	+	++	⊥	++	+	+	+	+
	Control	+	+	++	+	+	++	+	++	++	++	++	+
10 <sup>-4</sup>	$\gamma$ -Globulin 0.25ml×3	++	+	+	+	++	++	+	++	+	+	+	+
	$\gamma$ -Globulin 0.25ml×5	+	+	+	+	+	++	⊥	++	+	+	+	+
	Control	++	+	+	+	++	++	+	++	+	+	++	++
10 <sup>-6</sup>	$\gamma$ -Globulin 0.25ml×3	+	+	+	+	+	++	+	++	+	+	+	+
	$\gamma$ -Globulin 0.25ml×5	+	+	+	+	+	++	+	++	+	+	+	+
	Control	+	+	+	+	+	++	+	++	+	+	++	++
10 <sup>-8</sup>	$\gamma$ -Globulin 0.25ml×3	++	+	+	+	+	++	+	++	++	++	++	+
	$\gamma$ -Globulin 0.25ml×5	+	+	+	+	+	+	+	++	++	+	+	+
	Control	++	+	+	+	+	++	+	++	+	+	++	++

註. i) 供試病毒: 石原株 i. p. 0.3ml  
 ii) (++)~(-): 病理所見の程度を示す.  
 iii)  $\gamma$ -Globulin 60mg/ml (北里研究所製)

試験の方法に倣つた Wildführ の“Absättigungsversuch”の術式の如く予め  $\gamma$ -Globulin を注射後 3 回にして病毒を用いて攻撃し、更にあと 2 回の  $\gamma$ -Globulin を注射した。結局  $\gamma$ -Globulin の注射量は 1.25 ml を用いた訳である。之等の所謂飽和実験は一応生病毒の生体侵入以前に  $\gamma$ -Globulin を投与し、生体に次第に抗毒性を賦与したあとで病毒による攻撃を行い、感染の様相を病理学的変化の上で観察するにあつた。前 3 回の  $\gamma$ -Globulin 注射は予防的措置であるとともに、多少とも受働免疫の完成を計画した訳である。本実験に於ても病理学的所見における感染の様相を窺つた結果では予防的効果が一樣にあつたと

思われぬ結果であつた。即ち多少とも対照群との間の差異があると見做し得る例も尠くはないが、また反対に病変の続行したと思われる例もない訳ではない。例えば対照群に比較して細胞浸潤の度が軽度となり、特有の肝細胞の変性壊死が阻止されたと認められる像も散見された。(第9, 第10表)

此等の病理学的所見のみに依つて  $\gamma$ -Globulin による感染阻止効果、予防効果を論ずることは尙早計の感があるが、健康人血清より抽出された  $\gamma$ -Globulin を用いた場合病毒に対する予防効果は含有される病毒に対する免疫抗体の力価に依つて決定するものと推測される。



第9表 飽和試験に依る  $\gamma$ -Globulin の感染に及ぼす影響

病 毒 稀 釈	薬 劑 使 用 量	病 理 学 的 所 見													
		肝				臓			肺		臓				
		肝 壊 死	細 胞 變 性	星 芒 大 及 細 胞 殖	肥 大 及 増 殖	実 質 浸 潤	肝 索 の 解 離	グ リ ソ ン 氏 に 於 て 浸 潤	細 胞 浸 潤	出 血	肺 炎	氣 管 支 及 周 辺 の 浸 潤	形 成 細 胞 の 浸 潤	肥 厚	出 血
10 <sup>-4</sup>	$\gamma$ -Globulin 0.25ml×5	⊥	⊥	+	+	⊥	+	⊥			+	+	⊥	⊥	
	Control	+	+	+	+	⊥	+	+			+	+	+	+	
10 <sup>-6</sup>	$\gamma$ -Globulin 0.25ml×5	+	+	+	+	+	+	+			+	+	+	+	
	Control	+	+	⊥	+	⊥	+	⊥			+	+	+	+	
10 <sup>-8</sup>	$\gamma$ -Globulin 0.25ml×5	+	+	⊥	⊥	+	+	⊥			+	+	⊥	⊥	
	Control	+	+	+	+	+	+	+			+	+	+	⊥	

- 註. i) 供試病毒：森本株経口投与 0.3ml  
 ii) 予め  $\gamma$ -Globulin を注射後 5 回, 3 回終了後病毒にて攻撃を行う。  
 iii)  $\gamma$ -Globulin 90ml/ml (日本ブラッドバンク製)

第10表 飽和試験に依る  $\gamma$ -Globulin の感染に及ぼす影響

病 毒 稀 釈	薬 劑 使 用 量	病 理 学 的 所 見													
		肝				臓			肺		臓				
		肝 壊 死	細 胞 變 性	星 芒 大 及 細 胞 殖	肥 大 及 増 殖	肝 索 の 解 離	実 質 浸 潤	間 質 浸 潤	細 胞 浸 潤	出 血	肺 炎	氣 管 支 及 周 辺 の 浸 潤	形 成 細 胞 の 浸 潤	肥 厚	出 血
10 <sup>-2</sup>	$\gamma$ -Globulin 0.25ml×5	+	+	⊥	⊥	+	+	⊥			+	⊥	⊥	⊥	
	Control	+	+	+	+	+	+	+			+	+	+	+	
10 <sup>-4</sup>	$\gamma$ -Globulin 0.25ml×5	+	+	+	+	+	+	⊥			+	+	+	⊥	
	Control	+	+	+	+	+	+	+			+	+	+	+	
10 <sup>-6</sup>	$\gamma$ -Globulin 0.25ml×5	+	+	+	+	+	+	⊥			+	+	+	⊥	
	Control	+	+	+	+	+	+	+			+	+	+	+	
10 <sup>-8</sup>	$\gamma$ -Globulin 0.25ml×5	+	+	+	+	+	+	+			+	⊥	+	⊥	
	Control	+	+	+	+	+	+	+			+	+	+	+	

分離病毒に対して一定の感染阻止とか, 予防的效果を挙げ得られぬことは本実験においても明であるが, 実験中に対照群と比較して些少とも見た感染阻止効果はかつて Hammon<sup>16)</sup> の指摘した予防的效果と見做し

得るものかどうかはいまだ疑問である。

2) 肝炎恢復患者血清より抽出した  $\gamma$ -Globulin による実験

既に健康人血清より抽出した  $\gamma$ -Globulin を用いて感染阻止現象を見, 感染阻止の様態

は頗る不安定なものであり、その予防効果は判然としたものではなかつたが、本実験においては肝炎恢復患者血清より抽出した  $\gamma$ -Globulin を使用して実験を試みた。

肝炎恢復患者肝炎より中川、神田の方法に倣つて分割した  $\gamma$ -Globulin を実験に供した。之等の肝炎恢復患者血清は臨床的及び肝機能検査により選出された肝炎患者の血清であるが、採血患者が殆ど慢性の経過を辿つた慢性肝炎患者の恢復血清であるので、免疫抗体価を知るために行つた補体結合反応の抗体価は低く 1:4~1:8 を示す例が多く抗体価の証明されぬ例も尠くなかつた。而し対照とした患者が肝炎浸潤地帯に住む住民であり、而も過去において肝炎に罹患した経歴を有する住民であつたので、多少とも抗体価は存在するものと推測されたものである。

実験は先述の健康人血清より分割された  $\gamma$ -Globulin を用いた例と同様に行つた。即ち飽和試験の例に準じて  $\gamma$ -Globulin 0.25 ml 30分おきに2回接種し4時間後に病毒稀釈液を腹腔内に0.3 ml 宛接種攻撃して14~15日後の病理所見により感染の状態を窺つた。又対照群は健康人血清を同様に接種病毒による攻撃を行い判定は病理所見を比較検討した。

之等の実験結果を詳細に観察するに、肝臓を中心とする病理学的変化では各病毒稀釈によりて病変の程度もやや異なる傾向があるが、一般に肝細胞障害と見られる実質細胞の変性及び壊死の程度が低い例がかなりあり、而も高稀釈病毒の攻撃例では、更に炎症性変化も著しく抑制された例も尠くない。而し他の肺臓に於ては胞隔炎の程度はかなり明瞭である。

以上の実験成績だけで、もとより  $\gamma$ -Globulin 中に存在する免疫抗体量を量的に推定する訳にはいかないし、又抑制効果を云う訳にもいかない。此の実験に用いた肝炎恢復患者血清内における免疫力価は僅かに補体結合反応で推定し得たに過ぎず、 $\gamma$ -Globulin 中に存在する免疫抗体の量も単に推測の域を

出ない程度の量的存在であると考えられるので、容易に  $\gamma$ -Globulin の効果は結論されない訳である。

従来ウイルスの血清療法に関しては論議されてい未だ決定的な見解はない様である。

即ち接種された免疫血清が相当に免疫抗体を含有しているとしても、果してウイルスの存在する細胞内に迄作用するかの問題がある。既に Rivers Andreus 等は治療の効果を期待し得ないと云い、川喜田、田崎或は Magil 及び Francis, 等は細胞内に存在するウイルスに作用することを明にし治療効果を期待し得ると述べた。侵入し親和性臓器に定着増殖したウイルスに直接的に作用するか、第二次感染を阻止する作用があるかも問題とすべきことである。

著者の実験では此等の問題に就て解明を試みるのが問題ではないので、肝炎恢復患者血清より抽出した  $\gamma$ -Globulin が病理所見に幾分かの変動を与えるのであろうかの問題がある訳である。

この実験結果では期待する病理所見が得られていないのは明であるが、ただ肝臓における病理変化の程度が幾分ともに抑制されて、肺臓における病変が之に伴わず惹起している事実は、血清療法に対する一つの試みとして興味を感じるものがある。もとより  $\gamma$ -Globulin 中に存在する免疫抗体量も推測し難く、細胞内に増殖したウイルスに直接に衝撃を与えたとは推定されないが、将来の問題としてより充分な抗体量を含んだ免疫血清を直接ウイルスに接触せしめ、作用させ得る方法を検討する必要があると思われる。肝炎恢復患者即ち慢性肝炎を経過した患者血清内には著者の経験からすれば補体結合反応抗体価も低く、中和抗体価も極めて低い点から考えて、 $\gamma$ -Globulin の効果も制限されるものであると推測されるのである。

第11表 肝炎恢復者より抽出した  $\gamma$ -Globulin の効果

病 毒 稀 釈	薬劑使用量	病理学的所見											
		肝			臓				肺				臓
		肝 壊 死	細 胞 變 性	星 芒 大 及 細 胞 殖	肝 索 の 解 離	実 質 細 胞 浸 潤	間 質 細 胞 浸 潤	充 血 及 出 血	肺 炎	氣 管 支 及 血 管 周 圍 の 浸 潤	形 態 細 胞 の 肥 厚	其 の 他	充 血 及 出 血
10 <sup>-5</sup>	$\gamma$ -Globulin S. C. 0. 25ml $\times$ 2	⊥	⊥	⊥	⊥	⊥	+	⊥	+	⊥	⊥	⊥	+
	Control	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10 <sup>-6</sup>	$\gamma$ -Globulin S. C. 0. 25ml $\times$ 2	-	±	⊥	⊥	⊥	+	+	+	⊥	⊥	⊥	⊥
	Control	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10 <sup>-7</sup>	$\gamma$ -Globulin S. C. 0. 25ml $\times$ 2	⊥	+	⊥	⊥	⊥	±	+	+	+	⊥	⊥	+
	Control	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10 <sup>-8</sup>	$\gamma$ -Globulin S. C. 0. 25ml $\times$ 2	⊥	±	⊥	⊥	+	+	+	+	⊥	⊥	⊥	⊥
	Control	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10 <sup>-9</sup>	$\gamma$ -Globulin S. C. 0. 25ml $\times$ 2	⊥	+	⊥	⊥	+	+	+	+	⊥	⊥	+	⊥
	Control	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

註. (⊥)~(±)病理学的所見の程度を示す.

総括及び考按

ウイルス性疾患に対する血清療法はまだ論議され、その効果に就いても確実な結果は得られていない。流行性肝炎の血清療法即ち健康人血清より抽出した  $\gamma$ -Globulin に就いては臨床的方面に広く利用されているが、実験的に病理所見における感染の様相を窺つた記載はない。

著者は村上等の分離した分離ウイルスの感染における  $\gamma$ -Globulin 及び肝炎血清より抽出した  $\gamma$ -Globulin の病変に如何なる影響があるかを実験的に検討した。

之等の  $\gamma$ -Globulin の予防的効果を期待するとなれば当然肝炎に対する免疫抗体の多寡によりて評価されるものと推定される。

N- $\gamma$ -Globulin では斯る免疫抗体の存在はあるとしても極めて微量なものである。肝炎恢復患者においては期待してよい程の免疫抗体の存在が予想されたので、実験を反復実

施した。その結果では一貫した感染の抑制効果は認めなかつたが、肝炎恢復患者血清より抽出した  $\gamma$ -Globulin に於いては可成り感染の阻止現象とも云うべき感染の強弱が見られた。此等の所見を直ちに予防的効果と判定することは出来ないが一応の所見と見做し得られる。

之等の実験において  $\gamma$ -Globulin の効果には諸種の条件が関与することが考えられる。その条件としてはマウスの個体差、 $\gamma$ -Globulin 投与時期、病毒攻撃等の事項が考えられるが、本実験においては感染防止試験と飽和試験の術式に依つたが、この方法が良策であつたかどうかは確言出来ない。

更に著者の用いた肝炎恢復患者より抽出した  $\gamma$ -Globulin については免疫抗体の側からの量的関係は明らかではない。肝炎恢復患者が総て慢性肝炎であつて殆ど重篤な急性例を含まぬものであつたために、種々の時期の患者血清であつた混合血清としても免疫抗体の

存在が量的に多くないであろうとも想像される。

村上等の予報に示された慢性肝炎に就いての血清反応に就いて見るに存在している抗体量は慢性経過中でも著しい変動がある。

倉内<sup>18)</sup>の慢性化実験に示されたウイルスの消長は極めて区々であり、絶えずウイルス量の動揺を繰り返して300日前後に於いても病毒の消長は反復している。その間の血清中に於ける免疫抗体の変動も推察し得ることである。

以上の点から考えた場合 N- $\gamma$ -Globulin と比較してその受動免疫を賦与する点に就いては諸種の段階があるとしても、量的には大きなものではないと思われる。

かりに細胞内に存在するウイルスに対抗的に働く抗体があつたとしても、或は第二次的に血中に流出するウイルスがあつたとしても、それを捕捉する抗体の存在と、更にウイルスに接触するために中川、神田の云う adjuvant の必要性も考えられるかと思われれるが、血清療法の一つの試みとしての  $\gamma$ -Globulin に就いては肝炎に対する十分な抗体を含んだ  $\gamma$ -Globulin を感染細胞に対して作用させることに検討の必要があると思われるのである。

## 結 論

流行性肝炎に対する予防対策として  $\gamma$ -Globulin を用うることが広く臨床領域に応用されているがその効果に就ては尚論議されている現況である。

著者は分離病毒を用いて主として病理学的所見により、健康人及び恢復患者血清から得た  $\gamma$ -Globulin の投与による感染の様相を詳細に観察した。 $\gamma$ -Globulin を予防に用いる目的は肝炎に対する免疫抗体による感染の抑制が考えられるが、その病理変化からは一定した予防的效果は期待できなかつたが、只恢復患者血清より抽出した  $\gamma$ -Globulin に多少とも認むべき結果が得られたことは注目された。

以上の諸点より考えて、更に他の種々の方法を利用し、また工夫することにより、他方十分な抗体量を含有した  $\gamma$ -Globulin を使用することにより、確実な効果を挙げるに至るであろうとは推測されるが、本研究においては明瞭な結論を得るまでに至らなかつた。

## 主 要 文 献

- 1) 村上等：第2回日本ウイルス学会総会肝炎シンポジウム，1955.
- 2) Havens, et al.: J. A. M. A. 126, 17, 1944.
- 3) Henle et al.: J. Exp. Med. 95, 231, 1952.
- 4) Henle et al.: Proe. Soc. Exp. Biol. & Med. 73, 603, 1952.
- 5) Wildführ, G.: Zeitschr. f. d. ges. innere. Med. 573, 1953.
- 6) 村上等：第3回日本ウイルス学会総会抄録，1956.
- 7) 村上等：岡山医学会総会講演要旨 1956.
- 8) Stokes, J. & Neefe, J. R.: J. A. M. A. 127, 144, 1945.
- 9) Havens, W. P. & Poul: J. A. M. A. 129, 270, 1945.
- 10) Brooks, B. F. Hsia, D. Y. & Gellis, S. S.: New. Engl. J. Med. 249, 58, 1953.
- 11) Havens et al.: J. inf. Dis. 93, 14, 1953.
- 12) 石田：日本公衆衛生雑誌，第3巻，7号，1956.
- 13) 村上等 中四国細菌学会講演要旨，1956.
- 14) 大賀：岡山医学会雑誌に掲載予定，1956.
- 15) 真鍋：岡山医学会雑誌に掲載予定，1957.
- 16) Hammon, W. Mea, Coriell, L. L., Wehle, P. F., Klimt, C. R. & Stokes, J. Jr.: J. A. M. A. 150, 757~750, 1952.
- 17) 中川，神田：日本ウイルス学会雑誌，第5巻，4号，1955.
- 18) 倉内：岡山医学会雑誌，69巻7号，1957

**Studies on the Pathogenic Agent of Infectious Hepatitis  
in Okayama Prefecture**

**I. Experimental Studies on the Prevention and Therapy  
of Infectious Hepatitis**

By

**Katsumi Ensako**

Department of Microbiology, Okayama University Medical School

(Director: Professor Dr. Sakae Murakami)

Recently  $\gamma$ -globulin is widely used for the prevention of infectious hepatitis in the field of clinical medicine, but its conclusive effect is still in question. In the present part, the author studied what changes the administration of  $\gamma$ -globulin produced in the infectious aspect of hepatitis. The  $\gamma$ -globulin obtained from the healthy men and the one from the convalescents of hepatitis were used, and the infectious aspect was judged by the pathological findings in the mouse.

It is noteworthy that the  $\gamma$ -globulin of convalescent sera showed a little noticeable preventive effect, though not a remarkable one. Consequently, it is inferred that more reliable effect will be obtained by using the  $\gamma$ -globulin containing a sufficient amount of antibody, and also by employing other various methods.

---