

骨髓に於ける流行性脳炎核包含体(浜崎)の研究

第一報 日本流行性脳炎罹患の二十日鼠の場合

岡山医科大学病理学教室(指導 浜崎教授)

三 村 高 雅

[昭和27年8月10日受稿]

緒 論

流行性脳炎包含体の実験的研究の歴史は既に浜崎教授^{1,2)}の綜説によつて明瞭であるが、Webster 及び Fite^{3,4)}が二十日鼠を用ひて St-Louis 脳炎ウイルスの分離に成功した際に一種の核包含体を記載した事に始まる。其後本邦に於ては高瀬^{5,6)}、池田^{7,8)}及び日高⁹⁾が各々一種の核包含体を記載したが何れも特殊性に乏しく一般に認められなかつた。かくて流行性脳炎に於ける特殊核包含体の存在は専門家の間に漸く否定される様になつた。其際突如浜崎教授は細胞核病理学的研究法に準拠して流行性脳炎に特異な核包含体を発表し次いで北岡¹⁰⁾及び平木氏¹¹⁾等の追試があり、茲に確乎不動の特殊性が樹立された。

流行性脳炎罹患二十日鼠の内臓に於ける核包含体に関しては池田・日高及び入沢¹²⁾の研究があるが同氏等の脳に於ける研究と同様尙批判さるべき点が多い。然るに骨髓は組織的検索困難なる關係上未だ之の系統的研究行れず浜崎教授が鼻組織を観察中鼻骨々髓中に之を発見したに止つている。

茲に於て余は浜崎教授指導の下に之の研究を行ひ以下述べる様な注目すべき成績を得た。

實 験 方 法

接種に用ひしウイルスは日本流行性脳炎ウイルスで、当教室所蔵の佐藤株を用ひた。本ウイルスの二十日鼠累代接種にて定型的に発症した成熟二十日鼠脳を生理的食塩水を以て20倍稀釈乳剤を製し、之を20分間遠心沈澱し上澄液を約

0.4c.c. 尾静脈内に注入した。然る時は二十日鼠は多くは満5日で発病した。検索部位としては頭蓋底骨、脊椎骨、肋骨、尾骨及び下肢長管骨で、剔出せる骨は骨髓と共に多くは浜崎氏「クローム合剤」固定、一部は「醋酸アルコール」を使用し、脱灰及び固定を同時に行つた。其後は水洗後型の如く「パラヒイン切片」とし、染色法は主として H. E. 染色を行つた。実験動物は注射後 6, 12, 24, 48, 72, 96, 120, 144. 時間に於て屠殺し各時間各 3-4 匹用ひた。尙実験動物は 120 時間以後総て発病した。

實 験 成 績

6 時間後 :

各部骨髓組織に於て中等度に血管の充盈が存在するが骨髓細胞及び顆粒細胞に異常を認めず。然し乍ら、骨髓網状織細胞の腫大するものが少数にあつて其の核は染色素が稀薄なものが多く染色素分離を著明に認め、又染色素は顆粒状に変化し稍々粗大な顆粒、Hamatoxylin に濃染したものがあつた。何処にも核包含体の形成を認められない。

12 時間後 :

6 時間後の骨髓と大差ないが骨髓網状織細胞の腫大したものが稍々増加して居る。其の核の染色素は益々染色素分離を著明に認め染色素中に空隙を生じて居る。又増殖した網状織細胞が数箇一部に集合して居る事もある。此の時間に於て頭蓋底骨骨髓にのみ 42μ 大、紅色に着染し光輝著明な円形の核包含体を認めた。包含体の周囲には宏い核空隙が存在し、核壁には染色素増多が現れて染色素と空隙の

境界は明瞭である。骨髓内静脈竇内及細胞の腫大は著明ではない。

時間	組織動物番号	組織名					
		頭蓋底骨骨髓	脊椎骨骨髓	肋骨骨髓	下肢長管骨骨髓	尾骨骨髓	
6時間	1						
	2						
	3						
12時間	1						
	2	T			?		
	3			T	T		
	4						
24時間	1	T	T		T		
	2	+	+		+		
	3	+	+	T	+		
48時間	1	T	T		T		
	2	T	T	T			
	3	卍	卍		+		
	4	卍	卍	卍	卍		
72時間	1	卍	+	T	+		
	2	卍	+	T	T	T	
	3	卍	+	+	+		
	4	卍	+	卍	+		
96時間	1	+	T	T	+		
	2	+	+	T	+		
	3	+	T	T	T		
	4	T	T	T	T		
120時間	1	+	T	T	T		
	2	T	T	T	+		
	3	+	-	T	T		
	4	?	-	T	T		
144時間	1	T	T	T			
	2	T	-	T	T		
	3	T	T	T			
	4	-	-	-			

24時間後：

、骨髓網状織細胞は中等度に増殖して一部のものは塊状を呈し多核性の巨態細胞に近き形態を有するものがある。かかる網状織細胞の増殖強度なる部では骨髓顆粒細胞減少し単核球の増加があり、又静脈竇は圧縮された像がある。然しながら又一部に於ては静脈竇は著明に充盈して居る。網状織細胞の増殖著明なる部に在つては其の核は一般に染色素分離著

しく核壁肥厚も認められない。斯の如き部位に包含体は稍々集団性に現れ多くは初期形成像を呈している。即ち大きさは約 2μ 大であつて円形のものが多いで稍々卵円形のもの少数にある。該包含体は脳組織の包含体と異つて屢々包含体は核の外形に一致し細長形を呈し桿状、索状等を呈するものがある。其の大きさ $0.5 \times 5\mu$ のものを認められる。包含体の基質は往々平等でなく。時に小顆粒の集合よりなるものがあり、其の色調は橙紅色であるが稍々褐色調を帯びるものがある。核包含体は頭蓋底骨、脊椎骨及び下肢長管骨骨髓に多く肋骨骨髓に少数認められ尾骨骨髓は著明なく包含体の形成も亦陰性である。

48時間後：

各部骨髓に於ては網状織細胞の増殖は著明に認められ其の核はすべて腫大して染色素分離明瞭にして網状を示し核空隙を認める。網状織細胞の特に増殖した部では所々に多核性巨態細胞を形成して居る。尙この部に於ては骨髓性細胞の減少があり単核球は増殖し血管も圧縮されて組織は緻密に認められる。此等の部に存する網状織細胞核内に包含体は多数に現れ其の大きさは $8-8\mu$ 大卵円形のもの多数にして、色調は鮮紅色其の境界は鮮明である 8μ 大の大なる包含体にあつては核壁は染色素に乏しく(又染色素に乏しく)又染色素融解に傾けるものもある。当該核内に存する包含体自身膨化を来し光沢を失つたものがある。包含体の分布数は頭蓋底骨骨髓、下肢長管骨骨髓、脊椎骨骨髓、肋骨骨髓の順に減少し、尾骨骨髓内には包含体の形成を認めない。

72時間後：

骨髓の一部に於ては網状織細胞の増殖甚だしくて前述同様の像を呈し単核球も亦多数に浸潤して組織は緻密に認められる。かかる部に包含体は形成され其の大きさ $3-5\mu$ にして、類円形ものは境界明瞭で核空隙も明瞭である。然しながら 8μ 大卵円形或は細長の桿状に近き形を示すものは、染色素は彌満性に稀薄となつて腫大せる核中に存する。包含体の一部は膨化し着染不鮮明と化して黄色調を呈

して居る。明庭は包含体の膨化の爲狹小となり境界不明瞭化して居る。斯の如き包含体は崩壊の前階程と思はれる。尾骨骨髓内に於ては網状織細胞が少数に増殖するのを認め、其の核内に 3μ 大卵円形、黄赤色、稍々膨化せるが如き包含体がある。明庭は狹小にて甚だ不明瞭である。包含体の分布密度は頭蓋底骨骨髓に最も高度にて、下肢長管骨骨髓、脊椎骨骨髓、肋骨骨髓の順になり尾骨骨髓には一例認められたのみである。

96 時間後：

此の時間に至ると包含体の形成は増加の傾向を認めない。網状織細胞は増殖腫大して境界不明瞭な結節を形成する部がある。同細胞の染色素は一般に減少し包含体は益々崩壊の兆がある。即ち包含体の形態は核の形に依りて不規則となり細長のもの多く時に桿状にて核壁の一側に附着する様なものがある。包含体の分布密度は頭蓋底骨骨髓最高度にて下肢長管骨骨髓、脊椎骨骨髓、肋骨骨髓は同程度であつて尾骨骨髓中には包含体を認め得ない。

120 時間後：

骨髓網状織細胞の増殖は猶存続するが包含体の数は 48 - 72 時間に比較して可成り減少する。此の時期に於ては包含体は境界明瞭なるものは少くなく、膨化し核空隙には赤色に染まる蛋白様物質を容れ染色素顆粒が之に混存するものがある。又核壁の染色素は消耗し核空隙も消失し核全体の構造が不明瞭となり核壊死に傾いて居るのを認める。包含体の分布は尾骨骨髓をのぞく他は同程度に形成して居る。

144 時間後：

此の期に於ては最早網状織細胞の増殖腫大したものは僅少で、骨髓性細胞の再生を認める。包含体の数は益々減少し検索例 1 中 1 例に於て包含体を認め得ない。包含体は益々崩壊に傾き殆んど光沢なく其の基質は混濁粗造化し全く光輝を失つたものがある。一般に腫大強く従つて染色素との境界も不明瞭になり、一部に於ては両者相接して互に移行するもの

がある。包含体の分布は稍々動搖があるが頭蓋底骨骨髓に多く尾骨骨髓中には存在せず他の骨髓は同程度に存して居る。

總括及び考按

高瀬が昭和 13 年流行性脳炎核包含体の研究を発表してから約半年後阪大谷口門下に於て先づ池田^{7,8,9)}は流行性脳炎罹患二十日鼠及び脾臓、肝臓、腎臓に於て一種の核包含体を報告して之を以て流行性脳炎病毒に特異なものであると報告した。昭和 16 年浜崎教授²⁾は細胞核病理学的研究法に立脚して真に流行性脳炎病毒に特異なる核包含体を形態学的並に免疫血清学的に間然する所なく証明した。然るに再び谷口教授門下の入沢¹²⁾(昭和 17 年)は浜崎教授の研究に一言も触るる所なく「教室の池田は既に流行性脳炎罹患二十日鼠に於て一種の核包含体を発見したが之を発見したと云ふに止り其の本態に關しては何等決定した所はない」と前提して池田に比して稍々精細なる研究を発表した。氏等の研究に關する中枢神経系に於ける成績の批判は既に浜崎教授の春秋の筆法ありて茲に贅言を要しない¹⁴⁾。次に氏等の内臓に於ける核包含体に關しては未だ十分なる批判発表がなされて居ないが本研究の中心をなすべき脳研究と五十歩百歩の域に存すること想像に難くない。例へば池田の図説する遊走細胞中の包含体、入沢の記載する脾臓巨噬細胞内核包含体等は疑ひもなく誤認であると信じる。

脾臓と共に造血臓器の主機能をなす骨髓は脱灰操作の困難なる為、前述の検索に於ては除外されていたが浜崎教授の『クローム合剤』固定法は固定と共に脱灰行なはれ骨髓の検索に好適である。同教授は既に流行性脳炎及び稀に脈絡脳膜炎罹患¹³⁾二十日鼠鼻組織の研究に際して鼻骨骨髓中に定型的核包含体が出現することを認めた。余は同教授指導の下に全身骨髓に於ける包含体の形成機転に關して時間的追求を系統的に行つた。

流行性脳炎病毒を静脈内に接種する時は 6 時間後に於ける骨髓組織にあつては著変なく

唯骨髄網状織細胞の腫大するものが少数に認められる。然るに12時間後に至れば稍々骨髄網状織細胞の腫大があり且其の核に於て染色素分離の発見がある。核包含体は頭蓋底骨髄網状織細胞にのみ之を認めた。24時間後に至れば骨髄網状織細胞の増殖があり、少数の単核球の浸潤をともなつた軽度の骨髄炎が認められて包含体は尾骨骨髄を除く各骨髄に増加している。網状織細胞の多数に存する部位にては包含体も多数に現れ、骨髄性細胞減少し静脈竇は圧縮されるのを認める。包含体は大き $2\sim 5\mu$ 大で此の時期は円形の包含体多く光沢色調共に鮮明、核壁も染色素多量にて核空隙も明瞭に認められる。48-72時間後に至れば網状織細胞の増殖が甚だしく、最高度に達する。網状織細胞の増殖は概ね結節状にて一部は多核性巨態細胞を形成して居る。かかる場所に於ては核包含体は多数に存し包含体の大き $3\sim 8\mu$ 大であつて成熟せる形態を現して居る。網状織細胞の増殖部位は血管及び骨髄性細胞の減少乃至消失があり、組織は緻密に認められ単核球の浸潤が強くて非化膿性骨髄炎が著明に存して居る。72時間においてには包含体を有する網状織細胞核の少数は核壁の染色素は彌滑性に稀薄となつて、包含体は稍々膨化し色調不鮮明となり崩壊像に近きものがある。96時間に於て前記崩壊像は多数に認められ核壁は不明瞭となつて、核空隙中に赤染する蛋白様物質を認め得るものがある。120-144時間に至れば包含体は著明に減少して猶残留して居るものは基質が粗造化し膨化が著しく核空隙は甚だ狭小となつて居るが核壁染色素は融解し膨化した包含体と相移行する様になる。

骨髄の組織的変化は包含体の出現に先き立つて既に6時間後に少数の網状織細胞の増殖がある。其の後包含体の増加と共に反応が増強し同細胞の著明な増殖と共に単核球の浸潤を伴ひ非化膿性の骨髄炎を惹起する。炎竈は屢々竈状に現れ竈は充実性組織と化し骨髄性細胞の著減又は消失があり増殖した網状織細胞は往々結節状を呈する。斯の如き組織的変

化は一定の病原体によつて惹起されるものであることは各種の疾病に於て経験された所であつて本実験に於ては又同時に此の部に包含体の群在するといふ事實は病毒と包含体の直接的關係を示すものである。

骨髄に出現する流行性脳炎核包含体は其の形態に於ては脳に於ける浜崎核包含体と類似し Cowdry のA型に類屬せしめるものであつて、既に浜崎、杉原及び藤岡¹⁵⁾の報告せる静脈内接種に際して脾臓内網状織細胞内に形成された包含体に類似する。即ち類円形の包含体以外に桿状、索状等細長なる形態をなすものがあつて当該核の外形に一致するが如き傾向がある。然しながら脾臓に於ける包含体が一般に核空隙狭小であるのに反して骨髄のものは包含体の大きさに比して核空隙の大きなものが多く従つて成熟期にあつては包含体は其の境界が明瞭である。

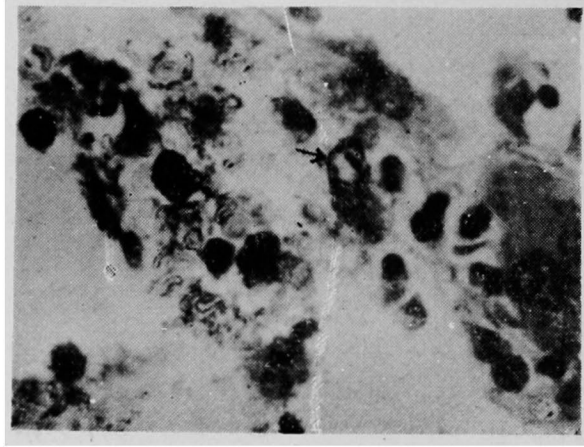
骨髄と脾臓に於ける包含体出現時間を比較すると脾臓内包含体は12時間に於て包含体が出現することは骨髄に於けると同様であるが96時間に於いて最高に達する。然し骨髄に於ては72時間後に最高に達し、96時間後に於ては既に減少の傾向があつて包含体の崩壊像を認める。発病期（約120時間後）にあつては脾臓、骨髄共に包含体減少し其後時間の経過と共に著明な遞減を示す。

脳組織に於ける包含体と比較すると大脳では24時間後に於て少数認められ、次に小脳 Bergmann 氏細胞に48時間後に包含体が発現する。而して最も多数に出現する時期は発症期に一致し骨髄内包含体とは時間的に自から異なる経過を取るものである。緒方氏¹⁶⁾の流行性脳炎罹患二十日鼠に於ける炎症性変化の消長から名付られた内臓期と脳脊髓期の別は核包含体の消長に於ても之を認め得られる。

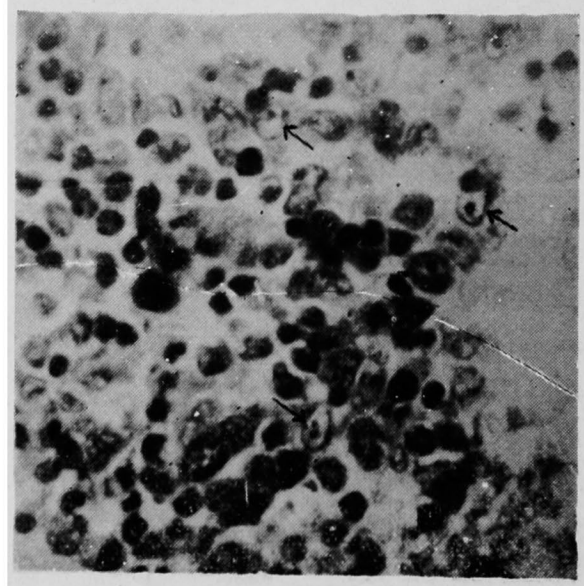
次に包含体の分布密度を各骨髄別に比較するに頭蓋底骨髄に於て最も早く且多数に現れる。これは同組織が血管に富むためであるか或隣接部に脳、眼球、内耳等の「ビールス」の最も好んで蕃殖する臓器の影響を受ける為であらう。下肢長管骨にあつては出現数は個

三村論文附圖

第 1 圖



第 2 圖



体的に著しき動搖があるだけでなく又同一個体に於ても部位によつて変動が著明である。脊椎骨及び肋骨骨髄に於ては一般に其の数が稍々下肢長管骨骨髄に劣っている。尾骨骨髄に於ては爾余の部に比して著しく少数で全例中1例に存しただけである。之は恐らく該部の骨髄は成熟動物に在つては脂肪骨髄と化し機能的並に形態的に最早赤色骨髄の性状を失へるためであらう。

結 論

- 1) 日本流行性脳炎ウイルスの二十日鼠尾静脈内接種を行ふ時は広く全身骨髄の網状織細胞中に核包含体の形成されるのを認めた。
- 2) 本包含体は接種12時間後に既に頭蓋底骨骨髄に形成される。
- 3) 包含体形成は48 - 72時間後に最も多数認められ、其後遂時的に減少し144時間に於ては全く認め得ない例に遭遇した。
- 4) 72時間に於て既に一部包含体の崩壊現

象が出現し144時間になると甚だ著明に之を認める。

5) 骨髄内に形成される核包含体は形態的に浜崎氏流行性脳炎核包含体に一致し、就中脾臓（静脈内接種）の夫れに酷似するが核空隙は一般に広く包含体の境界も亦明瞭なのが多い。

6) 骨髄の組織的変化は増殖性非化膿性炎症であつて其の消長は凡そ局所包含体の夫れと相伴つて起るが、包含体の初発に稍先き立つて現れ又末期に於て骨髄中に包含体を全く証明し得なくなつた例に於ても猶軽度に網状織の変化が遺残する。

7) 包含体の分布密度は頭蓋底骨髄に最も高く次で下肢長管骨、脊椎骨及び肋骨骨髄の順にであつて尾骨骨髄の包含体形成は甚だ稀である。

摺筆するに当り終始御懇篤なる御指導並に御検閲を賜つた浜崎教授に深謝する。

附 圖 説 明

1. 二十日鼠大腿骨々髄。H. E 染色。日本流行性脳炎ウイルス接種後24時間。中央1個の網状織細胞核に大なる桿状の包含体を認める。
2. 二十日鼠頭蓋底骨々髄。H. E 染色。全上ウイルス接種後48時間。網状織細胞は増殖し、内3個の核に包含体の形成があり骨髄細胞は一般に減少している。

主 要 文 献

- 1) 浜崎幸雄 日本医学及健康保険 3344, 昭和18年8月。
- 2) 浜崎幸雄 岡山医学会雑誌 53年, 10号, 昭和16年10月。
- 3) Webster u. Fite : Science, 78 ; 463, (1933)
- 4) Ibid. Science, J. exp. Med. 61 ; 103, (1935)
- 5) 高瀬 日本医事新報 831号, 昭和13年8月。
- 6) 高瀬 日本医事新報 870号, 昭和14年5月。
- 7) 池田 大阪医学会雑誌 37卷, 昭和13年12月。
- 8) 池田 日本微生物学会雑誌 34卷, 昭和15年。
- 9) 池田, 日高 大阪医学会雑誌 38卷, 昭和14年。
- 10) 北岡正見 日本病理学会会誌 32年 昭和17年4月。
- 11) 平木潔 岡山医学会雑誌 55年, 昭和18年。
- 12) 入沢 大阪医学会雑誌 41卷, 昭和17年。
- 13) 浜崎及高見 岡山医学会雑誌 55年, 昭和18年。
- 14) 浜崎 日本医学及健康保険 3358, 昭和18年11月。
- 15) 浜崎, 杉原及藤岡 岡山医学会雑誌 55年, 昭和18年3月。
- 16) 緒方, 三宅及高木 東京医事新誌 3074号。