

文 献

- 1) 浜崎 : 癌. 41 ; 109. (1950)
- 2) 浜崎, 他 : 癌. 42 ; 237. (1951)
- 3) 浜崎, 他 : 癌. 42 ; 238. (1951)
- 4) 大島 : 第 10 回日本癌学会 (昭. 26)
- 5) 浜崎, 他 : Folia Psych. et Neurol Jap. 5 ; 40 (1951)
- 6) 本多 : 北里実験医学. 23 ; 120. (1950)
- 7) 吉田 : 吉田肉腫. 61. 寧学書房. (昭. 24)
- 8) 木下, 釜洞 : 癌. 40 ; 139. (1949)
- 9) 寺田 : 東京医事雑誌. 67 ; 16. (1949)
- 10) 吉田, 石橋 : 癌. 40 ; 131. (1949)
- 11) 浜崎, 他 : 癌. 42 ; 237. (1951)
- 12) 川喜田 : 濾過性病原体. 117. 学術書院(1949)
- 13) 白淵, 相沢 : 新臨床. 4 ; 149. (1950)
- 14) 浜崎 : 細胞核の生理と病理. 508. 永井書店 (昭. 27)
- 15) 佐々木 : 日病会誌 (地方会号) 40 ; 203. (昭. 26)
- 16) 谷 : 投稿中.

吉田腫瘍より分離した Virus HST (Hamazski) の 免疫学的研究

第Ⅰ篇 白鼠抗血清による中和実験

岡山大学医学部病理学教室 (指導 浜崎教授)

青 木 徹

(本研究に対し文部省科学研究費の補助を受けたことを感謝する.)

〔昭和 27 年 10 月 10 日受稿〕

緒 言

Virus HST. (Hamazaki) は吉田腫瘍腹水より分離されたものである¹⁾。その免疫血清学的性状については既に第 1 篇に於て家兎の抗ビールス血清及び抗腫瘍腹水血清中に Virus HST. に特異的に作用し之を不活性化する中和抗体の産生せられること及び家兎, マウスの抗ビールス血清中に補体結合性抗体の出現することを明かにした。その後当教室に於て Virus HST. による免疫実験に際して雑系白鼠が Virus HST. に対する免疫性を獲得し難いことから, 本ビールスが正常白鼠の潜在性ビールスではないかとの疑いをもち分離を企てた所, 遂に雑系白鼠腹腔より Virus HST. と類似の病毒 (正常白鼠病毒) を分離し得たので, 本実験では Virus HST. と正常白鼠病毒との免疫血清学的関係を追求し又雑系白鼠

並に Wistar 系 (W系) 白鼠の抗ビールス血清, 吉田腫瘍罹患白鼠の血清等についても中和実験を試みた。

實 験 方 法

I. 使用ビールス

第 1 篇に於て述べたと同様

II. 使用血清

1. (1) 雑系正常白鼠血清

(2) マウスより得た抗正常白鼠病毒血清 : 谷, 有木²⁾ が正常白鼠腹腔液から分離した Virus HST. に類似の病毒を抗原に使用した。即ちこの病毒は潜伏性に感染していると思はれるので免疫血清を得るには他種動物を用ふべきである。そこでこの病毒の脳内接種を受けたマウスから 10 倍生理食塩水脳乳剤をつくり, 之を正常マウスの腹腔内に 1 週間々隔で 7 回 (0.15c.c., 0.2c.c., 0.25c.c., 0.3c.c.,

0.35c.c., 0.4c.c., 0.5c.c.) 注射し最終回注射後10日目に採血した。

(3) 雑系白鼠の抗ビールス HST. 血清: Virus HST. 累代接種マウスの肝を10倍生理食塩水乳剤となし雑系白鼠の皮下に6回(0.5c.c.づつを1週間間隔)注射し最終回後10日目に採血した。

(4) 吉田腫瘍移植白鼠血清: 吉田腫瘍腹水 0.5c.c. 接種し腫瘍の形成を見た雑系白鼠を死亡前(移植後9日目)に屠殺し採血した。

(5) ウィスター系白鼠の抗腫瘍腹水血清: 雑系白鼠の吉田腫瘍腹水を45°Cの恒温槽で30分間処置し腫瘍の移植性を低下せしめた後、最初皮下に、その後は腹腔に4回(1.0c.c., 2.0c.c., 3.0c.c., 4.0c.c.)注射し最終注射後11日目に採血した。

実験成績

I. 雑系正常白鼠血清によるビールスHST. 中和実験

Virus HST は吉田腫瘍腹水から分離されたが¹⁾、その後雑系正常白鼠の腹腔液からもマウス脳内累代接種によつて、Virus HST. によつて惹起されたと同様の肉芽性炎症を起す濾過性ウイルスを分離し得た。そこで雑系正常白鼠血清中に Virus HST. に対する中和抗体の存否を検査した。使用ビールスは第1篇同様に Virus HST. 累代接種マウスの10%食塩水乳剤(10⁻¹稀釈液)となし遠沈、その上清を10倍稀釈法により10⁻⁴~10⁻⁷までの稀釈列を作る。被検血清との試験管内中和法は第1篇の方法と全く同様であり中和の判定はすべて血清ビールス混合液接種後3週間目のマウスの肝、肺の病理組織学的変化を指標とした。

Virus HST. と正常白鼠病毒とが免疫血清学的に同定し得るか否かにつき3回にわたつて中和実験を試みたが第1表の如く何れの場合も中和は成立しなかつた。

II. 正常白鼠病毒で免疫されたマウス血清によるビールス HST の中和実験

前記の如く正常白鼠血清による Virus HST

第1表 雑系正常白鼠血清による Virus HST 中和実験

ビールス 稀釈度	血清ビールス 混合液 接種量	動物 番号	第1回		第2回		第3回	
			肝	肺	肝	肺	肝	肺
10 ⁻⁴	0.03cc	NR ₁	+	+	+	-	T	-
		NR ₂	+	+	+	-	+	-
		NR ₃	+	+	T	+		
10 ⁻⁵	0.03cc	NR ₄	T	-	+	-	+	±
		NR ₅	+	T	T	±	+	+
		NR ₆	+	±	+	-		
10 ⁻⁶	0.03cc	NR ₇	T	+	T	-	+	+
		NR ₈	+	+	T	T	+	-
		NR ₉	T	±	T	-	+	+
10 ⁻⁷	0.03cc	NR ¹⁰	T	+		-	T	-
		NR ¹¹	+	T	T	-	+	-
		NR ¹²	±	-	+	-	+	-

の中和実験は全く成立しなかつた。それでは正常白鼠病毒で免疫されたマウス血清は Virus HST. を中和する能力を持つてあらうが、抗原には谷、有木の分離したH列を用ひ、中和実験は型の如く行つた。

第2表 正常白鼠病毒で免疫されたマウス血清によるビールスHST中和実験

ビールス 稀釈度	血清ビールス 混合液接種量	動物 番号	組織所見	
			肝	肺
10 ⁻⁴	0.03cc	NV ₁	+	T
		NV ₂	+	T
		NV ₃	-	-
10 ⁻⁵	0.03cc	NV ₄	T	-
		NV ₅	+	-
10 ⁻⁶	0.03cc	NV ₆	-	-
		NV ₇	T	-
10 ⁻⁷	0.03cc	NV ₈	T	T
		NV ₉	-	-

本実験は動物の事故死が多く成績の判定は困難であるが正常白鼠病毒で免疫されたマウスの血清中には Virus HST. を中和する抗体を殆ど有しないようである。

III. 雑系白鼠の抗ビールス HST 血清による同ビールス中和実験

第3表 ビールスHSTで免疫した雑系白鼠の血清による同ビールス中和実験

ビールス 稀釈度	血清ビールス 混合液接種量	動物 番 号	組 織 所 見	
			肝	肺
10 ⁻⁴	0.03cc	V ₁	+	-
		V ₂	+	-
		V ₃	+	+
10 ⁻⁵	0.03cc	V ₄	+	-
		V ₅	+	-
		V ₆	+	±
10 ⁻⁶	0.03cc	V ₇	+	-
		V ₈	+	-
		V ₉	+	+
10 ⁻⁷	0.03cc	V ₁₀	+	+
		V ₁₁	±	-
		V ₁₂	-	-

IV. 腫瘍免疫を得たウイスター系白鼠の血清によるビールス HST 中和実験

第4表 腫瘍免疫を得たウイスター系白鼠の血清によるビールス HST 中和実験

ビールス 稀釈度	血清ビールス 混合液接種量	動物 番 号	組 織 所 見	
			肝	肺
10 ⁻⁴	0.03cc	AS ₁	-	-
		AS ₂	+	-
		AS ₃	+	+
10 ⁻⁵	0.03cc	AS ₄	+	-
		AS ₅	+	-
		AS ₆	±	-
10 ⁻⁶	0.03cc	AS ₇	+	+
		AS ₈	-	-
		AS ₉	+	-
10 ⁻⁷	0.03cc	AS ₁₀	-	-
		AS ₁₁	-	-
		AS ₁₂	-	-

上記Ⅲの実験では抗血清に中和抗体が全く認められなかつたが、IVの成績を見ると一般に感染力を遞減し 10⁻⁷ 稀釈列で特異な病理組織学的変化は全く認められず完全に中和されている。尙成熟ウイスター系白鼠は雑系白鼠に比し吉田腫瘍の移植性が低率(約50%)

であるが、腫瘍移植が陽性になつては抗体の発生が十分でないので恒温槽で腹水の前処理を行つてこれを避けた。因に腫瘍細胞の移植性は 47°C 30 分で失はれるが、Virus HST. は 60°C 30 分までは尙組織に特異な肉芽性炎を起す能力が保存されている。

V. 吉田腫瘍を移植された雑系白鼠血清によるビールス HST 中和実験

吉田腫瘍腹水を移植され腫瘍を形成した雑系白鼠は殆ど 100% に腫瘍死を来すので、本実験例では大体死亡の予定される前日(概ね移植後9日目)の血清を使用した。

第5表 吉田腫瘍を移植された雑系白鼠血清によるビールス HST 中和実験

ビールス 稀釈度	血清ビールス 混合液接種量	動物 番 号	組 織 所 見	
			肝	肺
10 ⁻⁴	0.03cc	T ₁	+	+
		T ₂	±	+
		T ₃	-	+
10 ⁻⁵	0.03cc	T ₄	+	-
		T ₅	+	+
		T ₆	+	+
10 ⁻⁶	0.03cc	T ₇	+	-
		T ₈	+	+
		T ₉	+	+
10 ⁻⁷	0.03cc	T ₁₀	+	-
		T ₁₁	+	+
		T ₁₂	±	-

実験成績は上記の如く中和抗体の効果は全く認められない。然も肝臓に於ける肉芽性炎症は他のすべての場合に於て認められたより遙かに強大である。

總括及び考按

Virus HST. は昭和 25 年 10 月吉田腫瘍腹水から分離され¹⁾ その生物学的性状については当教室に於てあらゆる方面から研究されてその性格の大要が明かにされた。更にその免疫学的研究の一環として第 1 篇に於て既に家兎の抗血清による中和実験及び補体結合反応の成績を詳述した。即ち家兎の抗ビールス血清

及び抗腫瘍腹水血清の何れも Virus HST に対し特異的に反応する中和抗体の産生せられること及び家兎並にマウスの抗ビールス血清中に Virus HST. に対する補体結合性抗体の産生され得ることを実証した。然もこの際家兎抗腫瘍腹水血清及びマウス抗ビールス血清が夫々 Virus HST. 及び腫瘍腹水抗原と特異反応を示すことは本ビールスが吉田腫瘍と特殊な關聯性を有するものである証明となる。この様に家兎、マウス等は Virus HST. に対する免疫を獲得するが、雑系白鼠を免疫することは非常に困難な所から本ビールスが正常白鼠の潜在性ビールスではないかとの疑いから正常白鼠よりビールスの分離を企てた所、マウス脳内接種により Virus HST. 接種で見られたと同様の肉芽性炎症を起すウイルスを証明し得た⁵⁾。本実験では主として Virus HST. と正常白鼠病毒との免疫血清学的關係及び腫瘍免疫を得たウイスター系白鼠、吉田腫瘍罹患雑系白鼠血清による Virus HST. の中和が可能かどうか等について実験を行つた。次にこれら実験成績について考按を行つてみる。

(1) Virus HST. と正常白鼠病毒との免疫血清学的關係について

上述の如く正常白鼠病毒は正常雑系白鼠の腹腔洗滌液及び内臓から分離され、然も病理組織学的に肝、肺に Virus HST. によつて起ると同様の肉芽性炎症を惹起する。従つて正常白鼠病毒と Virus HST. とは免疫血清学的に類族關係を有するのではないかと言ふ考への下に中和実験を行つた。先づ予備実験として正常白鼠血清中に Virus HST. に対する中和抗体の存否を確めた。実験成績は第1表の如く正常白鼠血清中には Virus HST. に対する中和抗体は証明されなかつた。次に雑系白鼠の腹腔から分離された病毒をマウス腹腔に接種して得た抗血清で Virus HST. を中和した効果が認められなかつた。尙高橋⁴⁾は同様の方法で病毒K列を分離し得た雑系白鼠の血清による Virus HST. 中和実験を試みているが之も中和は成立しなかつた。更に高橋⁵⁾は家兎を Virus HST. 乳剤を以て8回免疫した

抗ビールス血清及び対照家兎血清について正常白鼠病毒 (C列) と中和実験を行つたが、この場合も中和は認められなかつた。即ち正常白鼠病毒と Virus HST. とはその組織反像に於て極めて似かよつた性質を有することは事實であるが、免疫血清学的性状に於て同定し難いものがある。然しながらこのことは両者が全く無關係の存在であるとの決論にはならない。その後林、有木の行つた正常白鼠 C列は Virus HST. との間に軽度ではあるが類族反像を認めた。この Virus HST. 類似の病毒は雑系正常白鼠腹腔内に潜在性の状態に存在するが、この病毒が何らかの要因によつて腫瘍原性の性格を賦与せられるものと考えられることも出来る。例へば浜崎、佐藤等の実験によると抗腫瘍血清で不活性化せられた吉田腫瘍細胞は之に Virus HST. を付加すると再び移植性を取り戻すのであるが、此の際 Virus HST. の代りに正常白鼠病毒を用いてもやゝ不定であるが移植性が再現する。元來吉田腫瘍は前処置としてアゾ色素にて飼養した雑系白鼠の一群から偶然に発生したものであり⁶⁾、然もアゾ色素飼養白鼠及びその肝臓からは同様の病毒が濃厚に証明し得⁷⁾る事實は Virus HST. が雑系白鼠の潜在性ビールスの一種であつて、アゾ色素飼養によつて賦活せられ体腔上皮腫の形成に与るものではないかと考へられる。

(2) ビールス HST. で免疫された雑系白鼠の血清による中和実験について

次いで Virus HST. で免疫した雑系白鼠血清についてビールス HST. 中和実験を行つたが第3表の如く中和抗体の産生は全く見られなかつた。Virus HST. は吉田腫瘍の移植成立には缺くことの出来ない腫瘍性ビールスであり、試験管内で家兎抗ビールス血清によつて不活性化された腫瘍細胞は白鼠腹腔に接種されても腫瘍を形成しない⁸⁾。又雑系白鼠に Virus HST. を数回腹腔内に接種した後に吉田腫瘍腹水の移植を行うと吉田腫瘍の發育を促進せしめることが既に実験的に証明されている⁹⁾。このことは本ビールスの接種を受け

た白鼠が Virus HST, のために感作され、為に腫瘍増殖に対し促進的に作用するものと考へられ、家兎、マウス等のやうに本ビールスに対する免疫性を獲得することは非常に困難なものと考へられる。尙板倉¹⁰⁾は吉田腫瘍自然治癒鼠血清の吉田腫瘍効果に於て、ウイスター系吉田腫瘍は全例治癒するのに對し雑系吉田腫瘍に於ては治癒効果の認められないことを指摘し、雑系体内には腫瘍細胞の殲滅的消失に不可欠な変性過程を進行せしむべき機転が持続され難い要約があると思ふ。この事は雑系正常白鼠より Virus HST, 類似の病毒の分離されること及び Virus HST, に対する免疫を獲得し難い事実等と一連の關聯性があるものと想像され興味ある問題である。

(3) 腫瘍免疫を得たウイスター系白鼠の血清によるビールス HST 中和実験について

家兎の抗腫瘍血清中に Virus HST, に対する中和抗体の産生せられ¹¹⁾、雑系白鼠では之を形成しないことは明かとなつた。ウイスター系白鼠は吉田腫瘍に相等強い天然免疫を有しているため雑系白鼠とは異つた成績が得られるだらうと期待を以てこの中和実験を行つた。実験成績は第4表の如くで 10^{-6} 列までは中和抗体の効果は尙不充分であるが、 10^{-7} 列で完全に中和が成立している。これを家兎免疫血清に比較すると中和能力はかなり弱いようであるが、之には腹水の免疫回数不足なども關係しているかも知れない。ウイスター系白鼠は入手困難なので詳細は今後の研究に譲りたい。尙特筆すべきはウイスター系白鼠からは Virus HST, 類似病毒が証明され得ないこと¹²⁾であり、ウイスター系白鼠が正常白鼠病毒陽性の雑系白鼠に比し吉田腫瘍の移植性が低率であること及雑系白鼠は Virus HST, を以て免疫し難い等の事實は正常白鼠病毒が吉田腫瘍と密接な關係にあることを示すものと思へられる。

(4) 吉田腫瘍に罹患した雑系白鼠血清による中和実験について

雑系白鼠は Virus HST, で免疫し得ないこ

とは前記の通りであるが、吉田腫瘍を形成した瀕死の雑系白鼠血清(原液)中にも腫瘍細胞に対する抗体は全く見られないことが報告されている¹³⁾。今回私の行つた中和実験でもかゝる雑系白鼠の血清には Virus HST, に対する中和抗体の全く認められないことが確實となつた。のみならず血清とビールスの混合液の接種を受けたマウスにはその肝、肺に却つて Virus HST, に特有な肉芽性炎症が甚だ強く現れた。

尙 Virus HST, に関しては最近当教室に於て電子顕微鏡的観察がなされ、その形態が明かにされた¹⁴⁾。即ちアルコール沈降法或は超遠沈 50000r, p, m. 分割実験に於て $30\sim 40m\mu$ 類円形の微子を多数に証明し尙この復元実験にも成功した¹⁵⁾。

以上の実験成績は第1篇の成績と共に Virus HST, が吉田腫瘍と特殊關係にあることをものがたり同時に本ビールスの免疫血清学的性状の大綱を明かならしめたと信じる。

結 論

吉田腫瘍より分離した Virus HST (Hamazaki) と雑系白鼠腹腔より分離し得た正常白鼠病毒との免疫血清学的關係を追求し、あはせて雑系白鼠の抗ビールス血清、吉田腫瘍罹患白鼠血清及び腫瘍免疫を得たウイスター系白鼠血清の Virus HST, に対する中和能力を検査し次の如き結論に達した。

(1) 雑系正常白鼠血清には Virus HST, に対する中和抗体を認め得ない。

(2) Virus HST, で免疫された雑系白鼠血清中にも本ビールスに対する中和抗体を産生しない。

(3) 吉田腫瘍を移植された瀕死の雑系白鼠血清中には Virus HST, に対する中和抗体を見出し得ない。

(4) 吉田腫瘍復水で免疫したウイスター系白鼠血清中には Virus HST, に対する中和抗体が現れるが、家兎の場合ほど著しくない。

摺筆に際し恩師浜崎教授の御指導並に御校閲に對し衷心より感謝致します。

文 献

- 1) 浜崎, 佐藤他: 癌, 42; 237. (1951)
- 2) 谷, 有木: 未投稿.
- 3) 浜崎: 第11回日本癌学会抄録(1952)
- 4) 高橋: 未発表.
- 5) 高橋: 未発表.
- 6) 吉田: 吉田肉腫. 43. 寧楽書房(1949)
- 7) 浜崎: 第11回日本癌学会抄録(1952)
- 8) 浜崎, 佐藤他: 岡山医学会雑誌. 63; 229. (昭26)
- 9) 浜崎, 佐藤他: 岡山医学会雑誌. 63; 230. (昭26)
- 10) 板倉: 新臨床. 4; 146. (1950)
- 11) 青木: 第1篇(印刷中)
- 12) 浜崎: 第11回日本癌学会抄録(1952)
- 13) 白淵, 相沢: 新臨床. 4; 150. (1950)
- 14) 浜崎, 隅岡: 第11回日本癌学会抄録(1952)
- 15) 佐藤 二, 佐藤 博: 第62回岡山医学会総会(1952)

組織内核酸系物質に対する過塩素酸処理について

第I篇 リボ核酸に対する冷過塩素酸処理について

岡山大学医学部病理学教室(指導 浜崎教授)

助手 青 木 徹

〔昭和27年10月10日受稿〕

緒 言

リボ核酸(RNA)の組織内証明は紫外線顕微鏡及びRibonuclease(R-ase)の応用に基礎を置いている。紫外線顕微鏡技術はCaspersson¹⁾(1936~1941), 天野²⁾, 古賀(1940)等によつて確立され, 殊にCasperssonは核酸の極大紫外線吸収性に着眼し, 2600Åの光源を用いて顕微鏡写真撮影に成功し, 又細胞原形質内の好塩基性物質はその吸収像に一致するがFeulgen反応陰性である所から彼は本物質をRNAに他ならぬとなした。更にBrachet³⁾はR-aseによる消化作用を組織切片に適用すると細胞質内の塩基性色素で染る物質が消失すること及び之が紫外線吸収性物質と消長を同じくすることを確め本物質をRNAなりと同定した。

その後チオン, ピロニンメチル緑及びトリジン青等の塩基性アニン色素による異調染色(Mtch.)及びR-ase並にBaryt水(B水)分別を応用せる業績は多い。先に教室の浜崎, 小西⁴⁾はマウスに就てチオニンの示す

Mtch及びR-aseを利用し諸臓器のRNAの分布を考察したが, 私はマウス主要臓器について過塩素酸(P.酸)分別法を応用し些かの知見を得た。

実験材料及び実験方法

正常なるマウスの主要臓器の小片を無水硫酸銅加純アルコールで48時間固定後, 型の如く5μのパラフィン切片となしその後の処理は永野の方法に従ひ0.5%チオン飽和水溶液にて5分間染色, 一方同パラフィン切片に4°C 10%P酸及び4°C 0.25%B水にて夫々18時間前処理を施し以後上記同様の染色を行ひ比較検討した。

実験成績

心臓: 核のみ美麗なMtchを呈し鮮明に現はれる。心筋繊維は淡青色を呈し横紋は染らないがその屈光性によつて明瞭に認められる。RNA顆粒は存しない。P酸及びB水分別を行ふも殆ど変化を見ない。

肺臓: 肺胞中隔では核は鮮明なMtchを呈