

岡山県の一部に発生せる泉熱の研究

第2編 病毒分離に関する動物実験

岡山大学医学部細菌学教室 (指導 村上 栄 教授)

大 日 方 一 政

[昭和 28 年 5 月 19 日受稿]

目 次

緒 言	第 1 項 症 状
第 1 章 実験材料	第 2 項 臓器塗抹染色及び培養試験
第 1 節 患者材料	第 3 項 病理解剖及び組織所見
第 2 節 実験動物	第 3 節 マウスに於る成績
第 2 章 実験方法	第 1 項 症 状
第 1 節 患者血液の接種	第 2 項 臓器塗抹染色及び培養試験
第 2 節 累代接種	第 3 項 病理解剖及び組織所見
第 3 節 接種動物の観察及び検査	第 4 節 対 照 実 験
第 3 章 実験成績	第 4 章 考 按 及 び 総 括
第 1 節 海狸に於る成績	結 論
第 1 項 症 状	文 献
第 2 項 血 液 像	附 図
第 3 項 臓器塗抹染色及び培養試験	附図説明
第 4 項 病理解剖及び組織所見	
第 2 節 ハムスターに於る成績	

緒 論

曾ては泉熱の病原体に関して細菌説が行はれ、猩紅熱と関聯して内田²⁾の如く溶連菌に依るものとする一元一型説、賀屋³⁾、伊沢⁵⁾、児玉⁴⁾、藤後⁷⁾の如く一元二型説、又泉¹⁾、滝川¹⁰⁾の如く猩紅熱との関聯性を否定して葡萄状球菌を目し、斎藤⁹⁾、落合⁹⁾等の如く溶連菌と異つた他の細菌とする二元説があつて、本疾患は専ら細菌を病原体と考へ、異型猩紅熱と云ふ名称で呼ばれて来た。

然るに昭和 24 年笠原^{11,12,13)}がウイルス説を唱へ、次で 25 年 6 月俵^{21,22,23)}、25 年 12 月北岡¹⁴⁾が之に賛意を表し、以来曾ては細菌説を唱へた人々も漸次ウイルス説に賛意を表し、昭和 25 年 10 月に開催せられた異型猩紅

熱研究会議に於ては此の疾患が一独立性疾患であることが認められ泉熱と仮称するに至つた。而して昭和 27 年度の日本伝染病学会、日本細菌学会、泉熱研究協議会等に於て泉^{26,27)}、高木^{24,25)}、堀²⁸⁾、山本³¹⁾、西岡³²⁾、木村、落合³⁰⁾等がウイルス説を支持する研究報告を行つている。

斯の如く泉熱の病原はウイルス説が斯く重きをなし、各研究者の研究方向もウイルスを指向しているが、猶各研究者の分離せる病毒は其の性状を異にするものがあつて病毒の一致を見ていないので一層の究明が必要である。

即ち笠原等^{13,14,15)}の分離した病毒はマウス

脳内接種によつて動物を致死せしめないが、海狸率丸内接種によつて発熱を示す場合があり、尚病毒の継代可能であると報じている。又北岡、前田^{16,19)}等の分離した病毒はマウス脳内接種によつて継代することにより動物を3—4日で発症致死する様に固定出来るが、海狸に対しては病原性を示さないと報じている。又高木^{24,25)}等の分離した病毒は上記二者の病毒とは多少異つている様である。昭和25年4月岡山県下に発生した患者から分離した^{21,22,23)}の病毒は笠原等の病毒に近い性状を有した。

笠原、俵の病毒は動物に於る感染標識として、専ら病理組織学的に肺臓の間質炎、胞隔炎、肝臓の実質変性、壊死、小結節巢形成、腎臓の上皮細胞変性、脾臓の非化膿性脾炎等を挙げて、脳の変化は殆ど見られない。之に対して北岡、前田^{17,18,19,50)}の病毒は病理組織学的に脳に変化が強く、軟脳膜の肥厚、血管周囲性細胞浸潤、脱髓鞘巢、エオジン嗜好性細胞封入体を認めている。

我が教室は泉熱研究協議会の一員として泉熱病原体の研究を続行している。著者は既に第1篇に於て著者が研究対象とした患者の臨床症状に就て報告したが、其処で述べた如く溶連菌の咽頭分泌物からの検出は対照健康者に比して多いとは云へず、藤後⁷⁾の如く溶連菌に依る菌血症も認められなかつた。又只1例に於て、3回の培養試験中唯一回にのみ白色葡萄状菌を検出したに過ぎなかつた。即ち著者は此等の成績からして病原体を細菌に求める根拠を全く得なかつた。

其処で著者は著者が詳細に観察した患者16例から分離することが出来た13株の病毒に就て行つた動物実験成績を茲に報告して御批判を仰ぐ次第である。

第1章 実験材料

第1節 患者材料

第1表に見る如く16例の患者で、2—6病日の血液を材料とした。此の内患者番号第6—第29は昭和27年1月より2月中旬迄、主

第1表 患者からの分離成績

患者番号	姓名	材料	病日	動物		
				マウス	ハムスター	海狸
6	山本(敏)	血液	4	+	+	+
9	樽 崎	//	3	+	+	+
10	山本(嘉)	//	6	+	/	-
11	佐々木	//	6	+	-	-
12	安 井	//	3	/	-	-
13	難 波	//	3	/	+	/
14	井 上	//	6	+	+	+
16	田 淵	//	4	/	-	-
17	社	//	2	+	+	+
18	馬 場	//	2	/	+	-
19	片 山	//	4	+	+	+
20	小 川	//	4	+	+	+
29	松 尾	//	2	+	+	+
32	万 代	//	4	-	-	/
33	荒 木	//	5	+	/	/
34	長 瀬	//	4	+	/	/

※ + : 分離成功 - : 不成功

として赤磐郡高月村に発生したもので、第32は昭和27年10月やはり高月村に発生したもので、又第33及び34は同年12月上旬吉備郡総社町に流行した例からの材料である。第1編に於て述べた如く何れも此等症例は臨牀的に充分検討後、泉熱として診定したもので、材料採取に当つては、各種抗生物質投与前の出来得る限り早期の患者から材料を得た。しかも培養試験に於て好気、嫌気性培養共に何等病原を細菌に求め得る成績を得なかつたものである。

第2節 実験動物

海狸は体重300—350g、ハムスターは生後40日以内で体重40g以内、マウスは10g内外のものを選んだ。而して使用前少くとも数日飼育してその健康であることを確めたものを使用し、飼料は成るべく質及び量竝に投与時刻を一定にした。海狸では一般症状と共に特に体温、血液像を検して異状のないことを確めた。

第2章 実験方法

第1節 患者血液の接種

患者血液を海狸に於ては腹腔内及び率丸内

に接種し、腹腔内には 2cc, 辜丸内には 両側へ夫々 0.2 乃至 0.3cc を接種した。又ハムスター、マウスは腹腔内に、ハムスターは 2cc, マウスは 0.2-0.5cc 接種した。

第2節 累代接種

接種動物は海猿に於ては 8-14 日後、ハムスターは 7-10 日後、マウスは 7 日後屠殺して、その肺、肝、脾、各臓器混合 10 倍乳剤を作り、海猿に於ては腹腔内に 2cc. 両側辜丸内に夫々 0.3cc, ハムスターは腹腔内に 1.5cc, マウスは腹腔内に 0.3cc-0.5cc, 脳内に 0.02-0.03cc 接種継代した。

此の際の 10 倍乳剤は pH 7.4 のブイヨンで稀釈しホモジナイザーで充分破碎して均等な乳剤とし、乳剤 1cc に対してペニシリン、ストレプトマイシンを夫々 500 単位、10mg 含む如く加へた。

第3節 接種動物の観察及び検査

継代迄の間各接種動物の症状を観察し、海猿では特に熱型及び血液像を研索した。又継代に当つては、各屠殺動物諸臓器の肉眼的観察、臓器塗抹染色検査、病理組織検査及び培養試験を行つた。

体温測定：海猿の体温は肛門内測定法により午前午後 2 回、飼料投与時間を避けて一

定時間に測定した。

血液検査：海猿の血液像は体温測定と同時に、心臓穿刺に依り採血して検査した。

臓器塗抹染色試験：継代に当つて各臓器を塗抹し、ギムザ染色、Macchiavello 染色を行ひ、細菌、原虫リツケチア、糸状菌等の有無を検すると共に細胞の性状を検査した。

培養試験：臓器乳剤は血液寒天を用い、好氣的、嫌氣的に培養し 48 時間後雑菌の有無を検した。

病理組織検査：諸臓器の肉眼的観察を行つた後、10% フォルマリン水中で固定し、パラフィン包埋、切片製作後ヘマトキシリン、エオジン染色を行つて組織変化を検鏡した。

第3章 實驗成績

第1節 海猿に於る成績

第1項 症状

第2表に見る如く観察期間中大部分が元氣喪失を来し、食思不振が大半にあり、中には下痢を認めるものがある。然し興奮痙攣震顫の如き脳症状を思はせるものは無かつた。

熱型は接種後 2-3 日で 39.5°C-40.5°C の熱が間稽性に出るが、発熱が著明でないものもあるし、全然発熱を示さないものもある、

第2表 接種海猿の症状

所見 株名	血液像							元氣喪失	興奮	食思減退	発熱	下痢	痙攣震顫
	白血球数		好酸球 増加	好中球 増加	淋巴球 減少	プラズマ 出現	クルロ フ細胞 増加						
	一過性 減少	増加											
山本(A)	-	+	-	+	+	+	+	+	-	+	±	-	-
"(B)	-	±	-	+	+	-	+	+	-	+	±	+	-
小川(A)	+	-	+	-	±	+	+	+	-	±	+	-	-
"(B)	+	-	±	+	+	-	+	+	-	-	+	-	-
松尾(A)	+	-	+	-	-	+	-	+	-	+	+	-	-
"(B)	+	±	±	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-
片山(A)	-	+	-	-	-	-	±	+	-	-	+	+	-
"(B)	+	-	+	+	-	+	±	+	-	-	+	-	-
樽崎(A)	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-
"(B)	-	-	-	+	-	+	+	+	-	+	+	-	-
社(A)	+	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-
"(B)	-	+	+	-	-	-	±	+	-	+	±	+	-
井上(A)	-	-	-	+	+	-	-	+	-	±	-	-	-
"(B)	-	+	-	-	+	+	+	+	-	+	+	-	-

第2項 血液像 (第2表, 第3表)

14例の接種海猿に付て検査したが、白血球数に付ては7例に一過性の減少を認めた。又始めから増加を示して減少を示さないものが5例、終始増減のないものが2例あつた。

一過性減少は接種後3-4日後に出現するが、此の内には以後次第に此常に還るもの(5例)と、以後増加するもの(2例)とがあつた。

第3表 海猿接種血液像の1例
(小川株6代)

接種後の日数		接種前	3日	6日	10日	15日	19日
白血球数		10200	12600	7000	11000	10400	9000
白血球百分率	Fos.	1	1	8	3.5	5	6
	Bas.	0	1	0	0	0	0
	Stab.	1	3	4	4	1.5	1
	Segm.	17	52	36	42	26	27
	Lym.	79	32	50	44	62.5	56
	Mo.	2	10	2	2	1.5	1
	Plas.	0	0	0	0	0	1
		0	0	0	4.5	3.5	8

白血球分類では好酸球増加を示すものが4例に認められた。好中球は9例が増加し、淋巴球減少は8例に、又形質細胞が9例に出現した。Kurloff氏小体含有細胞が観察中に認められ、此の細胞の経過を追つての増加が8例に認められた。

第3項 臓器塗抹染色及び培養試験

臓器塗抹染色では細菌、原虫、リツケチア、糸状菌等は認められなかつた。又その際出現細胞の種類は第4表の如く対照健康臓器の場合に比べて出現の度合の多いと思はれるものを表にしたが、中でも組織球、形質細胞、空泡形成細胞、核の退行細胞が全例を通じて多かつた。

好酸球、好中球がかなり出現した例があるが、此等の細胞は接種後日数を経たもの程著しかつた。

培養試験はペニシリン及びストレプトマイシン添加前の臓器乳剤を好気性及び嫌気性に48時間培養したが何等細菌の集落を認めなかつた。

第4表 塗抹臓器ギムザ染色の所見

臓器	動物所見	海猿 35例		ハムスター 136例		マウス 76例	
		例数	%	例数	%	例数	%
肺	好中球	7	20	23	17	11	14
	好酸球	2	5.7	3	2.2	3	.4
	組織球	28	80	115	84	52	68
	形質球様細胞	25	71	63	46	48	63
	空泡形成細胞	15	43	56	41	35	46
	色素含有細胞	5	14	22	16	13	17
	核の退行細胞	12	34	59	43	17	22
肝	好中球	5	14	18	13	14	18
	好酸球	6	17	28	23	5	6.6
	組織球	15	43	103	76	57	75
	形質球様細胞	7	20	47	34	18	23
	空泡形成細胞	21	60	125	92	53	69
	色素含有細胞	13	37	71	52	31	41
	核の退行細胞	16	45	76	56	22	29

※各所見は細胞が正常動物に於るより増加したものであつた。

第4項 解剖所見及び組織所見

解剖頭数 82 頭の肉眼的な解剖所見は、肺臓に於ては充血が 89 %、小出血斑 32 %、然し胸水になかつた。腹腔内では漿液性腹水の渾濁せるもの 7 %、肝臓の充血し、暗赤色を呈し腫大せるもの 88 % あつた。脾臓及び腸管には特殊所見なく、腸間膜淋巴腺の腫大もなく、黄疸も認められなかつた。脳に於ても充血その他特別所見は認められなかつた。(第5表)

組織所見は第6表に示す如く、肺臓に於ては胞隔壁が全例に認められ、肺胞隔壁の単核細胞の増加と毛細管内充血と相俟つて胞隔壁の肥厚を来していた。又時に Russel氏小体含有細胞を認めた。他に気管支周囲、血管周囲の単核細胞の浸潤に依る間質性炎が 21 % に認められ、充血が 93 %、出血が 43 % あつた。

肝臓には充血星細胞増殖、小結節巣、間質の細胞浸潤、実質性変性が認められ、壊死も 21 % に認められた。此等の内間質の血管、胆管周囲の細胞浸潤は主として日数の経過したものに多い。

小葉内の小結節性細胞浸潤は組織球、星細

第5表 各種動物解剖時所見

動物 臓器	海 狸 (82 頭)			ハムスター (136 頭)			マウ ス (76 頭)			
	所 見	頭数	%	所 見	頭数	%	所 見	頭数	%	
肺 臓	充 血	73	89	充 血	58	38	充 血	38	50	
	小 出 血 斑	26	32	小 出 血 斑	6	4.4	萎 縮 し 脾 様	2	2.6	
腹 部	腹水	漿液性腹水	6	7		—	—	粘稠漿液性腹水	8	10.5
	肝臓	充血暗赤色腫大	72	88	充血, 暗赤色腫脹	96	70	充血、腫脹	22	29
	脾 臓	腫 脹	—	—	表面粗 糙	40	29	黄 色 調	12	15.8
					腫 脹	12	8.8	腫 脹	9	11.8
					廻 盲 部 充 血	74	54			
			バイエル氏斑の腫大	23	17					
淋巴腺				腸間膜淋巴腺腫大	6	4.4				
脳	脳膜充血	—	—		—	—		—	—	

第6表 各種動物組織像概要

動物 臓器	海 狸 (14 例)			ハムスター (35 例)			マウ ス (18 例)		
	所 見	頭数	%	所 見	頭数	%	所 見	頭数	%
肺 臓	胞 隔 炎	14	100	胞 隔 炎	31	88	胞 隔 炎	12	66
	間 質 性 炎	3	21	間 質 性 炎	5	14	間 質 性 炎	3	16
	充 血	13	93	無 拡 張 症	35	100	血管気管支周囲の腫様状細胞増殖	1	5
	出 血	6	43	充 血	28	80	充 血	18	100
肝 臓	充 血	14	100	充 血	7	20	出 血	3	16
	出 血	2	14	充 血	32	91	充 血	5	28
	星芒細胞増殖	14	100	出 血	4	11	出 血	3	16.5
	小結節性浸潤	5	35	星芒細胞増殖	31	88	星芒細胞増殖肥大	15	83
	実質性変性	14	100	小結節性細胞浸潤	11	35	小結節性細胞浸潤	0	0
壊 死	3	21	実質性変性	29	82	実質性変性	8	44	
脾 臓	充 血	11	78	壊 死	3	8.6	壊 死	3	16
				充 血	33	94	充 血	5	28
腎 臓	充 血	11	78	非化膿性脾炎	8	22	非化膿性脾炎	2	11
	上皮細胞変性	10	71	充 血	12	34	充 血	6	33
	出 血	3	21	出 血	10	28	出 血	1	5.5
脳	充 血	13	93	充 血	35	100	充 血	12	67
	膠細胞増殖	—	—	膠細胞増殖	—	—	膠細胞増殖	—	—
	小 結 節	—	—	小 結 節	—	—	小 結 節	—	—

胞等の細胞より成つている。実質変性は壊死、核消失、濁濁腫脹、肝細胞索の解離、色素含有細胞、空泡形成細胞等の出現を意味する。

脾臓に於ては充血と濾胞の縮小及び脾髄細胞、網状織細胞と思はれる単核細胞の増殖が認められた、腎臓では上皮細胞の濁濁腫脹が

あり、時にエオジン嗜好性の壊死塊が管腔に脱落せるを認めた。又腎間質の細胞増殖、充血、出血等を多数の例に認めた。脳に於ては脳軟膜の肥厚、血管周囲の細胞浸潤、小結節等の特別所見は認められなかつた。

第2節 ハムスターに於ける成績

第1項 症 状

症状は海猿に比べて少いが、元気喪失し活発に運動しなくなるものが多い。下痢は1例も認めなかつた。海猿と同様に脳症状は認めないし、死亡するものもなかつた。

第2項 臓器塗抹染色及び培養試験

第4表の如く肺臓、肝臓の臓器塗抹染色試験に於ては、肺臓で組織球増加が84%、形質球様細胞46%等で海猿と大体同様であつたが、肝臓では海猿に比べて空泡形成細胞増加が92%、色素含有細胞増加が52%で少く高率であつた。勿論、細菌、原虫、リッケチア等は認められなかつた。細菌培養試験でも海猿同様何等細菌を検出し得なかつた。

第3項 解剖所見及び組織所見

第5表の如く、解剖時肉眼的に肺臓では充血が認められるもの38%、又小出血斑が4.4%で、その外は特異的な所見は認められなかつた。腹部では海猿、マウスと異なり腹水を

認めたものは1例もなかつた。肝臓では充血し暗赤色に腫脹せるものが70%、黄色調を呈し、粗糲な表面を有するものが29%あつた。脾臓は海猿と異なり8.8%に明かな腫脹があり、暗赤色を呈していた。又腸に於て廻盲部に充血を認めたものが54%、海猿、マウスと対比して興味のあることはパイエル氏板の腫大が17%に認められたこと、腸間膜淋巴腺腫大が軽度ではあるが、4.4%に認められたことである。

組織像は第6表の如く、肺臓に於ては肺胞には88%に所謂胞隔炎があり、胞隔は肥厚し、単核細胞の浸潤が認められた。又気管支血管周囲には主として単核細胞の結節性の浸潤があつて5%に間質性の炎症を形成していた。肺臓は多少共 atelektase の像を呈し充血(80%)、出血(20%)も認められた。

肝臓では充血せるもの多く、51%を占める。又出血が11%にあり、星細胞が88%に

第7表 接種ハムスター組織所見の一部

患者番号	株 別	所見 日 数	肝 臓				肺 臓				腎 臓		脾臓
			小結節	星増殖細胞	実変値性	間細潤質胞の浸	充血	胞隔炎	間性質炎	出血	上胞変皮退性細行	間細潤質胞の増	単胞核増殖
10	山本株 8代	7	-	+	±	±	+	+	+	-	+	±	+
		14	+	++	++	+	+	±	-	-	±	+	±
		20	+	+	++	+	±	-	-	-	-	±	±
20	小川株 5代	6	+	++	±	±	±	+	-	+	+	-	+
		10	-	+	+	+	-	+	+	±	+	+	+
		18	+	+	+	+	+	+	-	-	±	+	±
		23	+	+	++	++	-	-	-	-	-	+	±
14	井上株 10代	6	+	+	±	+	+	+	+	±	±	±	+
		11	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
		14	-	±	++	±	-	+	-	-	±	+	±
		20	-	+	++	+	-	±	-	-	-	±	-
17	社 株 10代	7	-	+	±	±	+	-	±	-	±	+	+
		12	-	+	++	+	+	+	-	-	+	+	-
		22	+	+	++	+	±	±	-	-	-	±	-
19	片 山 6代	14	+	+	+	+	-	+	-	-	±	+	±
29	松 尾 3代	14	+	+	+	+	-	+	-	-	±	±	±
13	難 波 7代	13	+	+	++	+	-	+	-	-	±	±	-
18	馬 場 10代	14	-	+	++	+	-	+	-	-	±	+	-

増殖していた。35%に主として単核細胞、星細胞より成る小結節性細胞集落が実質内に見られた。実質細胞の変性は濁濁腫脹、細胞特に核の消失、小壊死巣、核の退行変性、二核形成、原形質では空泡形成、脂肪変性、色素含有等があり、その他肝細胞索の解離が認められた。又間質に於ては結締織の増殖、胆管、血管周囲の各種細胞に依る浸潤があつて肝硬変を思はせる像が認められた。

脾臓では充血が94%にあり、22%が非化膿性脾炎の像を呈した。即ち濾胞のリンパ球はむしろ減少し濾胞は縮小するが、脾髄の単核細胞は増殖し充血を認めた。

腎臓では34%に細尿管、主として主部上皮細胞が濁濁腫脹し、時に管腔に非定型的壊死塊の脱落を認めた。又間質の細胞増殖が大多数に認められた。

脳に於ては軽度の浮腫性をおびる外は、軟脳膜の肥厚、血管周囲の細胞浸潤結節等は認められなかつた。

此等の病像と接種後の日数との関係は動物の個体差も考へられるが、第7表に示す所から略々推測せられる。肝臓に於る小結節の形成星細胞の増殖等の増殖的变化も、壊死、実質変性等の退行性変化も共に初期より存在しているが、退行性変化の方は日数を経た程強まる傾向を認める。又肺臓に於る胞隔炎、間質性炎、出血等は初期に強く、第2週に成ると減少又は消失している。腎臓の上皮細胞変性と間質の細胞増殖とは平行している様に思はれる。脾臓の単核細胞の増殖は持続性なく2週を超えると消失の傾向を認めた。

第3節 マウスに於る成績

第1項 症状

接種マウスは特別な症状を示さないが、時には軽度の立毛を認めることがあつた。ハムスターと同様下痢もなく、脳症体も呈しなかつた。猶脳内接種マウスも一層症状は認められなかつた。

第2項 臓器塗抹試験及び培養試験

肺臓、肝臓の塗抹染色試験の結果は第4表の如く、大体に海狸の所見に似ているが、好

酸球の出現率が低かつた。而して細菌、原虫、リッケチア、糸状菌は認めなかつた。又腹水の存在するものがあつて、腹水の塗抹染色試験を行つたが、好中球少く、形質細胞、空泡形成細胞、単核細胞等であつて、細菌、原虫、リッケチア、糸状菌は同様に認めなかつた。脳内接種マウスの場合には此等の所見は認められなかつた。

又培養試験では何等細菌を検出しなかつた。

第3項 解剖所見及び組織所見

肉眼的に肺臓は充血が50%に認められ、又2例は萎縮し脾様の所見を呈した。又腹部では8例に粘稠漿液性の腹水を認めた。肝臓は充血腫脹せるもの29%、黄色調を呈せるもの15.8%あり、脾臓では暗赤色を呈し、明かに腫脹せるものが9例(11.8%)あつた。然しハムスターの如くバイエル氏板の腫大、廻盲部充血、腸間膜淋巴腺の腫脹は認められなかつた。脳に於ても他の動物同様特異所見は認められなかつた。

組織所見は第6表に示す如く、略々ハムスターのそれに一致するが、唯2例の前記肉眼的に脾様所見を呈する肺所見では、気管支周囲、血管周囲に腫瘍状の間葉系細胞の増殖があり、為に肺胞を圧迫して *Atlektase* を呈する一方、肺胞壁細胞の増殖肥厚があり、肺胞内に一部脱落せるを認めた。脾臓では肉眼的に腫大を認めたものに於て、特に充血、単核細胞の増殖が著しかつた。

脳内接種マウスでは腹腔内接種マウスの如き所見を認めず、脳組織像に於ても著変がなかつた。

第4節 対照実験

前述せる各動物の症状、血液像、解剖及び組織所見は果して特異的なものであるか否か、検索する必要がある。

勿論、正常動物では此等の所見は認められなかつた。

正常動物臓器乳剤接種：継代も同様に各動物臓器乳剤を作つて夫々の動物に夫々の量だけ接種してみた。その結果、症状、血液像は正常と変わりなく、唯、腹腔内接種の組織像で

10倍乳剤の場合は著明でないが5倍乳剤以上の場合は組織反応が認められた。即ち、肝臓に於る間質の細胞増殖、星細胞の増殖肥大があり、脾臓に於ては単核細胞の増殖、腎に於る間質の細胞増殖が認められた。殊に肝臓に於る胆管、血管周囲の細胞増殖が著しく肝硬変の像を思はせるものもあつた。然し此等の変化は継代の場合に比べて遙に軽等であり、肝臓の壊死、小結節の形成、肺臓の胞隔炎、間質炎、間葉系細胞の腫瘍状増殖等は全く認められなかつた。

ペニシリン、ストレプトマイシン接種：此等抗生物質は網状織系細胞の活性化を促進せしめないか、又ストレプトマイシンに依つて好酸球の増加を来さないかと云ふ2つの点を考へて此等物質の影響を血液像、組織像の上で検してみた。ストレプトマイシンは乳剤1cc中に10mg入っているが、100mgを海狸に接種した場合も好酸球の増加は起らなかつた。組織像では接種に用ふる、ペニシリン、ストレプトマイシン量では変化は認められないので、濃度を上げて1cc中にペニシリン2000単位、ストレプトマイシン50mgとして各動物にその接種に用ひる量だけ腹腔内に接種した。その結果、肺臓に於ては変化を生じないが、肝臓では間質に於る細胞増殖が軽度に現れ、星細胞の肥厚が認められた。又脾臓でも単核細胞の軽度の増殖が認められた。然し此等の所見は一時的であつて7日を越えると消失する。

健康臓器乳剤と抗生物質を同時接種：継代の場合と同量の各動物健康臓器乳剤及びペニシリン、ストレプトマイシンを同時に夫々の動物に接種した場合は、肝臓に於て間質の細胞増殖と星細胞の軽度の増殖肥大、脾臓に於る単核細胞の軽度の増加、腎臓で間質の軽度の増殖が認められるが、肺臓には変化が認められないし肝臓に於る小結節形成、壊死、出血等は認められなかつた。又感染臓器乳剤接種に比べて対照実験に依つて起る変化は軽度であつた。

此等健康臓器乳剤と抗生物質の接種に於て

は各動物共大体同じ組織反応を示すが、肝臓に於る間質の細胞増殖はハムスターが最も著しかつた。

又感染臓器乳剤を凍結融解し、3000r. p. m. で遠心沈澱後、その上清を同様に接種しても継代の場合に見られると同様な変化を認めた。

第4章 考按及び總括

泉熱患者16例からウイルスを分離する目的で海狸、ハムスター、マウスに患者血液を接種し、又其の動物臓器を継代接種することに依り、前述の症状、血液像、組織像等を認め、それ等の所見は継代されることから27株のウイルスを分離することが出来たと信ずる。此の所見の中、症状、血液像は不定であつて確かな感染標識は組織像に依つて得られた。即ち、肺臓の胞隔炎、間質炎、肝臓の実質変性、壊死、小結節形成、星細胞増殖、脾臓の非化膿性脾炎、腎臓の実質変性、間質の細胞増殖である。

而して著者は第1表に示す如く16例の患者から夫々の動物に接種してマウスでは13例の接種材料から11株、ハムスターでは13例から9株、海狸では12例から7株を分離し動物実験を行つたが今日此等の株は継代途中雑菌混入感染像の消失等の理由で整理し、海狸及びハムスター継代では夫々社、井上、松尾の3株を、マウス継代では社、井上、松尾株の外、新しく分離した2株(荒木、長瀬)を加へて5株を保有し、海狸は20代、ハムスターは30代乃至35代、マウスでは10代乃至40代に至つている。

泉熱研究には多くの研究者はマウス、海狸を用ひてウイルスの分離、継代に成功しているが、ハムスターを用ひた2, 3研究者(笠原¹⁶⁾、落合²⁰⁾、北岡²⁰⁾)の報告では何れも成功していない様である。著者はハムスターに対する本ウイルスの感受性は他の動物に比べて高いことを認めた。最近栗本²⁰⁾は著者と同様な見解を泉熱研究協議会報告で述べている。

而して此等接種動物の症状に就て、海狸に

於ては可成多数に発熱を認めたが体温上昇のないものもあり、各動物を通じて症状として特記すべきものなく、主として組織像に依つて感染の有無を判定しなければならなかつた。此の点は笠原¹⁴⁾、俵²¹⁾等の指摘している所と一致した。

海猿の血液像に就ては笠原¹⁴⁾、高木²⁵⁾等も報告しているが、著者の実験でも、接種海猿の約半数に一過性白血球減少があつた。その他、患者臨床の場合と類似して、好酸球、好中球の若干の増加が認められ、プラズマ細胞の出現がある。又 Kurloff 小体含有細胞が経過に従つて増加している。之に付て天野³⁴⁾は此の細胞は単球系に所属し封入体の主なるものは赤血球としている。此の細胞が単球系細胞とすれば単球の若干の出現と合せて単球が増加していることになる。形質細胞の出現及び単球の増加から判断すると淋巴球単球—形質形系の細胞の活性が行はれていると思はれる。唯好中球の増加が何に起因するか判明しないが、ウイルス性疾患の中にも好中球の増加するものがあり一概には云へない。

白血球減少症は泉熱患者の1例にも見られたが、之と淋巴球—単球—形質球系細胞の活性と併せてウイルス性疾患の特徴とされて⁴²⁾いる。淋巴球—単球—形質球系細胞の出現は接種動物臓器塗抹に於ても認められる処である。

臓器塗抹染色で空泡形成細胞その他退行変性に陥つた細胞の出現することを既に述べた。此等の細胞はウイルス性疾患の多くに現はれるもので、ウイルスが生細胞がなければ増殖出来ず、生細胞の中でのみ増殖し、細胞を変性は陥らしめる結果であつて、此もウイルス性疾患を思はせる証左と成り得る。

接種動物組織所見：

肺臓、肝臓、脾臓、腎臓に於る所見を概括的に見ると、増殖性変化と退行性変化との組合せである。此等組織像の由来に付て、細菌性の因子は接種材料の選択に於て除かれているし、抗生物質や健康臓器乳剤に依る影響が若干あるとしても、残る因子がやはり組織像

の上で認められ、之はウイルス以外に無いと思ふ。勿論之等の変化は木下^{37,38)}の記載にもある如く、細菌の産生する毒素に依つても惹起され得るが、細菌の検出には充分の注意を払ひ、継代の都度陰性であつたし、細菌の毒素が継代され得るとも考へられない。即ち組織像に於て、此の動物に継代された変化はウイルス性変化であると推測される。

増殖性変化、退行性変化と云ふも、此の場合、どちらかと云ふと増殖性変化の強いことが窺はれた。増殖性変化の一部は接種材料に依つても惹起され得ることは実験の結果判明したが、然し此等の因子による増殖性変化は軽度なものである。

Rivers³³⁾はウイルス性疾患の組織像を分けて「増殖性変化のみ、増殖に続く変性及び変性のみ」の3者が総ゆるウイルス疾患の基本型式」だとし「若しウイルスの作用がそれほど急激でも、爆発的でもなく、しかもそのウイルスに親和性のある細胞が増殖の能力を持っているなら細胞を刺戟して増殖の形をとり、増殖に続いて通常、細胞の変性がある。若しウイルスの作用が急速且つ爆発的であり、しかも親和性細胞が分裂繁殖の能力がないなら基本的変化は細胞の変性である」と云つている。ウイルス性疾患を以上の観点から分ければ増殖を主とするものは *Molluscum contagiosum*、或種の腫瘍、変性を主とするものはリフトバレー熱、黄熱等である。

著者がハムスターの接種後日数を追つて観察した結果は動物の個体差があるとしてもほぼ増殖が先行し変性が従つている。しかも接種動物の症状は非常に穏和であり、急激な症状を呈することもなく長期に亙つて病毒を保有していることが分つた。認められた変化がウイルスに依るものなら、それは急速且つ爆発的な繁殖を遂げるウイルスではなく Rivers の云ふ所に依れば増殖及びそれに続く変性の形をとるものと云ふべきである。

次に著者の分離したと信ずるウイルスの細胞及び臓器親和性について論及すると、多臓器親和性であることは多くの臓器への所見

から窺はれる。然し肺臓、肝臓、脾臓、腎臓に親和性はあつても脳神経親和性でありそうにないことは少く共、著者の実験では云へると思ふ。

細胞に就ては組織所見から、先づ間葉系細胞に捕捉され、これと同時に或は遅れて変調を蒙つた、毛細血管の透過性を利用して実質上皮細胞を侵襲することが推定される。間葉系細胞が主として増殖の型をとり、実質上皮細胞が変性の形をとるのは間葉系細胞は自ら繁殖分裂する機能があるため早くから増殖し、実質細胞は此の機能に劣るため、同時に侵されても、間葉系細胞に遅れて変性の形で反応するのではないかと思はれる。

個々の臓器所見に於ては、肺臓には笠原¹⁴⁾、依²²⁾、泉²⁶⁾等の報告の如く、各動物共胞隔炎、間質炎が認められ、多核白血球の浸潤は少く、主として単核細胞の増殖又は浸潤から成っている。胞隔炎に就ては田部^{44, 45, 46)}、玉川⁴⁷⁾、永原⁴⁹⁾等が日本脳炎、牛痘病毒、麻疹等のウイルス疾患組織像に於て認めたものと同様である。又マウスの1例に於て気管支、血管周囲に間葉系細胞が腫瘍状に増殖せるを認めた。之は此の病毒に依つて起る組織変化の増殖性傾向を極端に表現したものと思はれる。

肝臓に於ては笠原¹⁴⁾等も実質変性、壊死、小結節形成、肝細胞索解離等を報告しているが、著者の所見も略々之に一致し、此等の変化は流行性肝炎等にも認められる所である。

脾臓では、笠原¹⁴⁾が淋巴濾胞の縮小、脾髄細胞、網状織細胞の増殖、充血等の所見を各種動物に認めているが、著者も亦此等の所見を認めることが出来た。

腎臓では笠原¹⁴⁾の云ふ蠟様変性と云へるか否か分らないが、主部上皮細胞の濁濁腫脹、核消失、壊死塊の管腔内脱落が認められ、同時に間質の細胞増殖を認めた。

脳では北岡¹⁹⁾、前田²⁰⁾はマウスの脳内接種に依つて脳症状を起さしめ組織所見で、脳室の拡張アンモン角の神経細胞崩壊、脳軟膜の肥厚、血管周囲の細胞浸潤等を報告しているが、著者はマウスに脳症状を認めず、組織所

見も軽度の浮腫以外に認めるべき所見は無かつた。

分離病毒に依つて生ずる動物の症状、組織所見等を泉熱患者の臨床所見と対比検討することも興味あることである。

海猿で下痢が少数例にあり、熱型が間稽性であること、血液像等は患者症例とやゝ類似する。併し乍ら、泉の報告²⁶⁾の如き、動物皮膚の発疹は認められなかつた。

各動物解剖組織所見に就ては、患者に肝臓の腫大があり、黄疸を稀ながら報告した人もあつて、肝臓機能障害を強く強調した報告が多い点は動物肝臓所見と或程度照合する。又蛋白尿が初期にあり、しかも軽微で下熱と共に消失する点は動物に於る腎臓所見が、ネフローゼ、腎炎等の強い所見でなく、極軽微であることゝ類似し、又脾腫は多くの症例報告に於て非常に少く動物に於る腫大の率と合致する。肺臓に於る変化が患者臨床では所見を認め得ないものが多いが、動物組織に認められる間質炎、胞隔炎等は存在したとしても、普通の場合臨床所見は非常に少いものであり、解剖所見でも肉眼的には変化が軽微なので見逃されるのではないかと思はれる。その他海猿の血液像も或程度患者の血液像と類似している。此等の事から動物実験所見と患者臨床所見とは類似性を持つていると思ふ。

結 論

1. 16例の泉熱患者血液を海猿には腹腔内及び睾丸内に、ハムスター、マウスは腹腔内、又マウスの一部には脳内接種を行ひ、泉熱病毒分離実験を行つた。

2. 接種動物は夫々一定の日数後屠殺し、その肺、肝、脾臓乳剤を以て継代接種を行つた。

3. 継代迄の間、それ等接種動物の症状、熱型、血液像等を観察すると共に、屠殺後臓器の塗抹染色試験、培養試験、組織検査等を行つて精査した。

4. 動物の症状は少く、脳症状も呈しないし死亡するものもない。又血液像も一定の所

見を得ることは出来なかつたが、病理組織学的にはウイルス性の所見を得た。同時に細菌学的検索を行つたが、菌の検出は出来なかつた。

5. 各動物の示す組織所見が特異性のあるものか否か充分検討し、非特異性所見を呈する因子を対照実験の上で検討した。而して特異性のある所見を肺、肝、脾、腎の各臓器に見出したが、脳には認められなかつた。

6. 之等組織所見は各動物、共通の性状を有し、先人の証していなかつたハムスターに於ても他の動物と同様の所見を証し、幼若ハムスターは好適な実験動物であることを知つた。然しマウスの脳内接種では所見を認め得なかつた。

7. 接種動物の感染標識と見做すべきは、肺臓の胞隔炎、間質炎、肝臓の壊死、実質変性、小結節巣形成、星細胞増殖、腎臓の実質変性、間質の細胞増殖、脾臓の単核細胞増殖による非化膿性脾炎である。

8. 此の分離ウイルスは多臓器親和性があり、間葉系細胞—実質上皮細胞親和性を持つものであるが、神経親和性を有しない。又此のウイルスに依つて起る組織反応形式はむしろ増殖性に傾くことを知つた。

9. 接種動物の肉眼的臓器所見、組織所見、症状、血液像等を泉熱患者臨床像と対比して多くの類似点を認めた。

10. 動物接種実験に依り泉熱患者血液より一種のウイルスを分離し、その成績はマウス11株、ハムスター9株、海狸7株である。分離病毒は長期間に亘つて継代し得ることを証した。

稿を終るに當つて、御指導御校閲を賜つた村上教授、多大の御助言を戴いた病理学教室浜崎教授、佐藤講師及び御援助を戴いた岡山県衛生部の方々に深く感謝致します。

猶、此の研究は岡山医学会第62回総会、第3回及び第4回泉熱研究協議会、日本細菌学会第5回中国四国支部総会に発表した。

主 要 文 献

- 1) 泉、矢ヶ崎：児科雑誌 348, 863, 昭4
- 2) 内田：日本医学及健康保険 3239, 1677, 昭16
- 3) 賀屋：日伝誌 15, 1, 117, 219, 昭15~16
- 4) 兎玉：日伝誌 16, 626, 昭16~17
- 5) 伊沢：実験医報 26, 280, 昭15
- 6) 川村：細菌誌 550, 794, 昭16
- 7) 藤後：日伝誌 16, 625, 昭16~17
- 8) 斎藤：日伝誌 12, 523, 昭13
- 9) 落合：医学 4, 49, 昭23
- 10) 滝川：日細誌 5, 201 昭25
- 11) 笠原：北研研究会 昭24
- 12) 同上：日細誌 5, 201, 昭25
- 13) 同上：医事新報 1356, 1000, 昭25
- 14) 同上：Virus 2, 35, 昭27
- 15) 同上：日細誌(第24回日本細菌学会記録) 6, 170, 昭26
- 16) 同上：泉熱(協議会1950~1951) 30~34, 昭27
- 17) 同上：Virus 2, 243, 昭27
- 18) 北岡：医事新報 1417, 1689, 昭26
- 19) 同上：泉熱(協議会1950~1951) 37, 昭27
- 20) 同上：第3回泉熱協議会プリント 昭27
- 21) 倭：第60回岡山医学会総会抄録 昭25
- 22) 同上：第3回細菌学会中国四国支部学会抄録 昭25
- 23) 同上：第24回日本細菌学会記録 昭26
- 24) 高木：医事新報 1481, 15, 昭27
- 25) 同上：日伝誌 26, 98, 昭27
- 26) 泉：日伝誌 26, 81, 昭27
- 27) 同上：昭和26年度泉熱協議会報告 49, 昭27
- 28) 堀：医事新報 1481, 24, 昭27
- 29) 栗本：第3回泉熱協議会報告 43, 昭27
- 30) 落合：同上
- 31) 山本：昭和27年8月泉熱協議会プリント 昭27
- 32) 西岡：同上 昭27
- 33) Rivers：Viral and Pickettsial diseases of man. 7, 1952
- 34) 天野：血液学の基礎 265,
- 35) 同上：同上 573,
- 36) 同上：日病会誌 38, 21, 昭24
- 37) 木下：病理学誌 1, 781, 昭17
- 38) 同上：同上 2, 151, 昭18
- 39) 小西：Virus 1, 54, 昭26
- 40) 土肥：同上 2, 131, 昭27
- 41) K. Weinbren：J. Path. Bact LXIV 395,

- 1952
- 42) F. Meythaler : Die Viruspneumonied Menschen 13, 1951
- 43) Findlay : Brit. J. Exp. path 14, 207, 1933
- 44) 田部 : 日病会誌 26, 466, 昭 11
- 45) 同上 : 同上 28, 359, 昭 13
- 46) 同上 : 東京医事新報 3075, 714, 昭 13
- 47) 玉川 : 日病会誌 40, 313, 昭 26
- 48) 原田 : 医学と生物学 24, 153, 昭 27
- 49) 永原 : 同上 24, 207, 昭 27
- 50) 江頭 : 第 4 回泉熱協議会プリント

写 真 説 明

- Fig 1 .. ハムスター系社株 8 代, 接種後 5 日の肺臓所見. 胞隔の肥厚, 充血, 細胞増殖が見られる.
- Fig 2 .. 同上の肝臓所見. 結節性の細胞浸潤及び星芒細胞の増殖肥大があり, 核消失, 空泡形成, 濁濁腫脹等の肝細胞退行変性が認められる.
- Fig 3 .. ハムスター系山本株 8 代, 接種後 14 日の肺臓所見. 胞隔炎は著明でない. 然し小気管支, 血管周囲には細胞浸潤が認められる.
- Fig 4 .. ハムスター系井上株 12 代, 接種後 18 日の肝臓所見. 単核細胞, 星芒細胞等より成る, 小結節が認められ, 他の部分には星芒細胞の増殖肥大, 肝細胞の変性が認められる.
- Fig 5 .. マウス系井上株 12 代, 接種後 7 日の肺臓組織所見. 小気管支, 血管周囲の細胞浸潤を示す.
- Fig 6 .. マウス系長瀬株 3 代, 接種後 7 日の肺臓組織所見. 気管支, 血管周囲に腫瘍状の間葉系細胞があり, 又肺胞壁も肥厚増殖を認める.

Fig 1

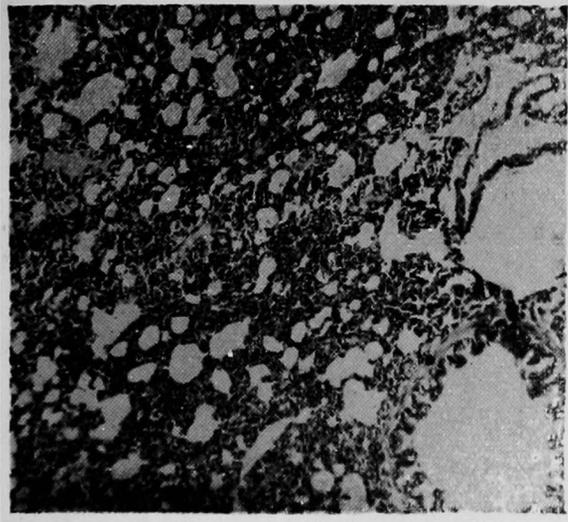


Fig 2

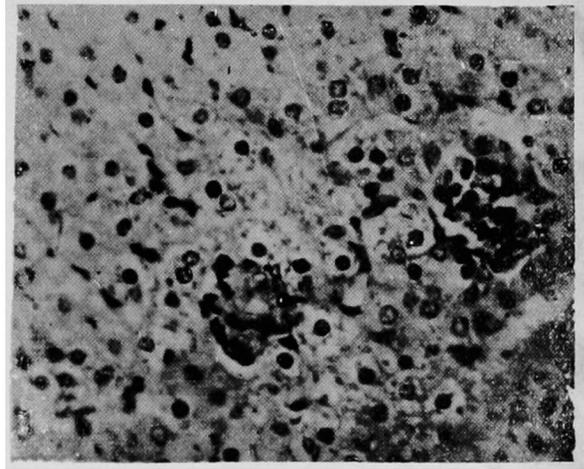


Fig 3

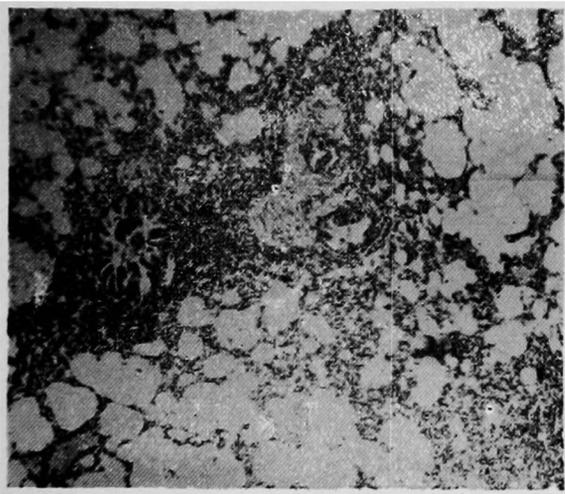


Fig 4

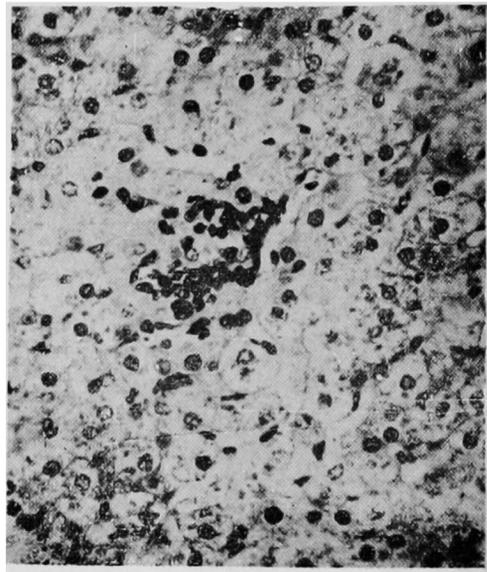


Fig 5

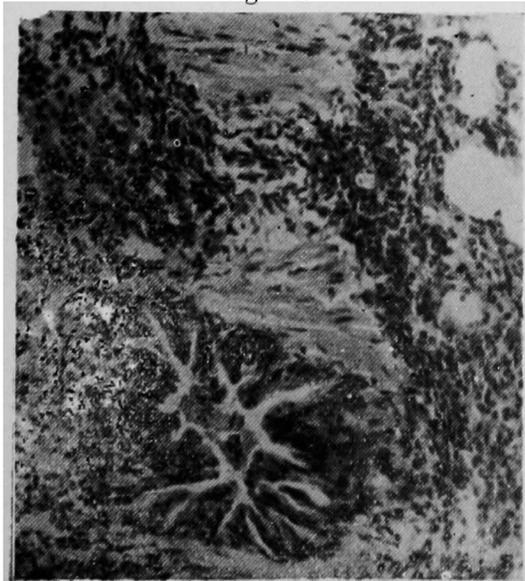


Fig 6

