

吉田腫瘍腹水より分離し得た Virus HST (Hamazaki) について

第 1 篇

分離方法及び分離初期におけるマウス所見

岡山大学医学部病理学教室 (指導 浜崎教授)

高 橋 正 文

[昭和 27 年 5 月 10 日受稿]

1. 緒 言

1943 年吉田腫瘍が発見されて以来、このシロネズミの新系可移植性腫瘍は一つの液態腫瘍であつて、その独特な腫瘍研究に至便な性状によつて今日盛んに各方面の研究者によつてあらゆる角度から種々な方面に互つて研究利用されている。中でもこの腫瘍の腫瘍原並に母細胞が解明せられるならば悪性腫瘍研究上偉大な新分野を開拓することになるので本腫瘍の発見者吉田^{1),2)}はじめ、浜崎³⁾天野^{4),20)}等諸権威により鋭意探求され今日尙論議されている。

しかるに 1948 年日本癌学会席上、本腫瘍を吉田肉腫と命名する提案がなされ当時絶対多数をもつて受諾されたが、浜崎教授は独自の研究的見地から本腫瘍が肉腫の性質に一致しない点を指摘し、他方腹腔漿膜細胞より発生する体腔上皮腫の性状に合致する所見を多々あげて、肉腫なる命名が尙早の恐れあり、よろしく弾力をもたしめ「吉田腫瘍」と呼ぶにしかずと主張した。ついで 1950 年の同学会の席上浜崎教授は吉田腫瘍母細胞につき其の後の自他の研究成績に立脚して上記の見解を再び強調し体腔上皮腫説を再強調した。これと同時に体腔上皮母地における核酸及びその分解産物の観察よりして、本腫瘍内に Virus の存在すべきことを理論的に主張し、当時ビールス否定説の支配した同学会に多大の反響を惹起せしめた。爾来当教室において

は浜崎教授指導のもとこの理論的見解の裏づけに努力を傾倒した結果、一年ならずして吉田腫瘍腹水をマウス脳内に接種し極めて特異な脳膜脳炎を起さしめ、これをマウス脳内累代接種に成功し前人の成し得なかつたビールスの発見分離に成功した⁵⁾。

吾々の分離した本ビールスによるマウス脳膜脳炎は他のマウスのビールス性脳炎に比し、その症状及び病理組織像は極めて特異であること及び本ビールスによる免疫血清学的実験の結果、本ビールスが吉田腫瘍と甚だ密接な関係を有し⁶⁾、本ビールスが吉田腫瘍の移植成立に主要な働きをなす必須の因子であることが確認された。即ち本ビールスを静注して得た免疫血清で腫瘍細胞内のビールスを中和すると移植性を失ふが、これに新しくビールスを加えてやると再び移植性が取り戻されるのである⁶⁾。尙マウスを使用してのビールスの研究に当つては自然発生のある脊髄脳炎^{7),10),18)}、脈絡脳膜炎⁸⁾、アクチノマイシエス・ムーリス^{8),9)}による脳炎の除外が注意深く行はねばならない。本ビールスの研究に当つては特にこの点に意を用いた。私は本ビールスの分離、マウス脳内累代移植にたづさわり現在 (1952, 6) までに 70 数代に及んでいるが、こゝに第一篇として当初の分離方法及び分離初期におけるマウス所見について報告する。因に本ビールスの向神経性が著しかつたのは 30 代頃までと、それ以後はこれに代つて向内臓性が強くなつてきた。

2. 実験方法 (ビールス分離方法)

最初吉田腫瘍腹水 (以下腹水と略記する) からビールスを分離するために次の三方法を試みた。

第1回分離実験 (大阪系) 阪大第二病理教室から分株された腹水腫瘍を使用した。

- 1) 腹水そのままをマウス脳内に接種を行う方法。

第2回分離実験 (東京系) 東京警察病院から分株された腹水腫瘍を使用した。

- 1) 第1回分離実験法
- 2) 腹水を遠沈濾過してその濾液をマウス脳内に接種する方法
- 3) 腹水そのままを最初マウス腹腔内に接種する方法

以上の三方法であるが以下順次その詳細を述べることにする。

1) 腹水脳内接種。腫瘍細胞が充分増殖成熟した時期即ち移植後7日目にあたる腹水を採取し、これをそのまま市販の体重約10gの正常マウス脳内に0.02c.c. ずつ3例に接種した。接種翌日より2例は稍不安状となり3日目には過敏症状を現し頭部に立毛を来した。4日目になるとすでに1例は頭頂部が著明に立毛且膨隆し麻痺状態となり、其の後12時間経過すると死戦期状態に陥つた。2例中他の1例も1日遅れて同じ転帰を辿つた。そこで死戦期状態のマウスを殺し、厳重な無菌的操作のもとに Bouillon (pH≒7.6) にて10倍稀釈脳乳剤を作り、これを毎分2500回、5分間遠沈して得た上澄液を新しいマウス5例に0.02c.c. ずつ脳内接種した。第2代目も略々同じ結果を生じたが、変化の程度は一般に軽減し過敏症状次で麻痺が現れたが前者が稍強くなつた。そこで3例中過敏症状の最強のものを選んで上記同様の方法にて第3代目マウスに接種を行つたところ、2~3日の潜伏期を経て過敏症状のみ著しく発現する様になり麻痺症状は完全に消失してマウスは死亡しなくなつた。併しこの系統は6代後に一部のマウスに混合感染を起したので累代接種を中止し

た。他方上記第2代目マウス5例中2例の脳乳剤遠沈上澄液をザイツ濾過板 (靈菌を通さない) にて毎分5000回、5分間遠沈濾過しその濾液を0.03c.c. ずつ正常マウス脳内に3例接種を試みたところ、接種4日後1例は不明の原因にて死亡したが他の2例はその頃より稍不安状となり次第に運動活潑となり、7日目になると過敏状態となり其の後麻痺を来すことなく14日目になると著明に過敏となつたので2例を殺し上記同様に脳乳剤上澄液を作り0.02c.c. ずつ正常マウス脳内に3例接種したところ、やはり同様な症状を起し3例中2例は4日頃より稍不安状となり中1例は5日以後強度過敏状態となつたので7日目殺し、上記同様にして累代マウス脳内接種を行つた。この様な方法にて4~5代経過すると発症症状及び経過に大体の規則を生じたので以後週一回の割合にて接種を試み幸に累代接種に成功した。

他方この第1回分離実験より1ヶ月遅れて東京警察病院から別の系統の腹水を手したので、更に新しい分離方法として上記2)及び3)の実験を試みた。

2) 腹水濾液接種。腹水を今回はあらかじめ軽く遠沈して得た上澄液をザイツ濾過板 (靈菌を通さない) にて毎分5000回、5分間遠沈濾過しその濾液を体重約10gの正常マウス脳内に0.03c.c. ずつ4例接種を行つた。接種後2日間は全然変化なく3日目より稍不安状となり、中2例は4日目他の2例は7日目共に過敏状態となり触れると啼き逃げ走るよくなつたので、症状の著明な2例を殺して上記同様な方法で脳乳剤上澄液を作り正常マウス2例に脳内接種した。ところが接種後9日経過するも殆んど変化なく14日後になり1例が稍不安状を呈したが以後確実な発症をみながつたので一応この方法は中止した。

3) 腹水腹腔内接種。上記2)の濾過実験に用ひたと同じ腹水及び他のシロネズミの腹水を用ひ今度は厳重な無菌的操作のもとに腹水そのままを体重約12gの正常マウス腹腔内に0.3~0.5c.c. 3例に他の2例に大量即ち

1.0~2.0c.c. 接種を試みた。接種後5~6日頃よりマウスは腹部が膨満し、相当量の腹水を生じ同時に不安状態を呈し始め漸次増強して腹水が減少する頃になると過敏症状を顕著に現した。そこで5例中3例を殺し（腹水接種後2例は10日、1例は17日）前記同様な方法で脳乳剤上澄液を作り、正常マウス脳内に0.02c.c. づつ2例接種を行ったところ7日後には過敏症状を現した。この第2代目脳乳剤上澄液を用ひて同じ方法で第3代目マウス脳内接種を行い6日後に発症を認め以来同方法を反復して累代脳内接種に成功した。これに反して5例中他の2例（腹水接種後12日）を殺し、上記同様な方法で脳乳剤を作り遠沈せず暫く静置してその上層液を正常マウス腹腔内に0.5c.c. づつ2例に接種を試みたが3週間を経ても変化なく過敏症状を現さなかつた。

以上述べた1)及び3)の方法にてVirusの分離に成功しマウス脳内累代接種に成功したが、両Virusを実験の便宜上区別するため、吾々は分離に使用した腹水の最初のもの入手した地名を附して、仮に前者を大阪系後者を東京系とした。尙本Virusは、後に浜崎教授によりVirus HST (Hamazaki) と正式に命名された。次にVirusの分離実験概況を図示すると別表1の如くなる。

3. 実験成績

(I) 臨牀所見

第1回分離実験群におけるマウス所見

a) 腹水脳内接種第1代マウス

腹水脳内接種手技の良否、注入量等により多少症状に差異が認められたが、確実に腹水が0.02~0.03c.c. 脳内接種されると、接種後平均2~3日ですでに元気を失ひ衰弱の傾向をとるか、又は不安状態を呈した。3~4日後では全身の毛が乱れ耳及び尻尾は貧血性となり一見マウスは汚くなる。皮膚を刺戟すると余り動かずのろのろと運動するものと、反対に過敏性の運動を起すものが認められた。4~5日後では衰弱の度を加え頭頂部殊に両耳間に

立毛膨隆を著明に起し、体は前屈して丸くなり過敏症状を呈したものもすでにその症状殆んど消失し反対に麻痺状態となり早いものでは死戦期状態に近づいた。5~6日後では殆んど全例麻痺状態となり、頭部の立毛膨隆の著明なもの程麻痺が強く四肢の麻痺、又は震顫麻痺状を呈しこの時期までに殆んど全例衰弱死亡した。以上要約すると初代実験動物は最初から衰弱麻痺死の経過をとるものと、半日乃至1日軽度過敏状態を経て麻痺死するものがある。殊に前者の型をとるものに頭頂部の立毛膨隆が著明で四肢の麻痺の強いものが多かつた。

b) 第2代マウス

第1代に比し症状は軽減し、接種後3日で稍不安状となり6日頃から過敏症状を現し、9日目著明に過敏状態となつたが麻痺症状はマウスにより程度の差が存したが第1代に比し軽く、頭頂部では立毛は尙認められたが膨隆は殆んど起らなかつた。

c) 第3代マウス

この代になると接種後4~5日で稍不安状となり次第に過敏性運動が増加し平均8日で過敏状態を現し麻痺症状は殆んど認め難くなつた。全身衰弱の傾向は殆んどなく過敏症状が目立つて来た。

d) 第2代脳乳剤遠沈濾過第1代マウス

濾液接種後4日間は殆んど変化なく5日目になり稍不安状を呈し其の後次第にこれが増強したが日により程度の差がみられた。8日後には過敏状態となり以後日を追つて増強し、14日目には相当著明になつた。この間立毛、麻痺等を来すことなく全身状態は良好であつた。

e) 第4代(ロカ第2代)マウス

接種3例中2例は3日目からすでに過敏状態となり5日後では著明に過敏となり7日目には発症確定し、刺戟を与えると盛んに防禦運動を行つた。濾過第1代に比し発症に要する期間が半減した。他の1例は5日後から不安状となり全身に軽度立毛を生じたが過敏症状を現さなかつた。

f) 第5代(ロカ第3代) マウス

3例中2例は3日後から不安状となり皮膚に触れると啼き後肢で蹴る如き運動を盛んに行つた。他の1例はやゝ衰弱し立毛を生じ左後肢に軽度の麻痺を生じたが6日後には恢復し他の2例と同様の症状を呈した。

g) 第6~10代マウス

第6,7代は7日後発症をみたが稍程度が弱化した。第8代は4例接種したが2例は翌日から相当活潑で運動量多かつたが、接種侵襲による脳膜刺戟症状であつたのか次第に常態に戻り6日後1例は再び不安状態となつた。他の2例は3日目より次第に過敏状となり皮膚に触れると跳躍し、5日後では著明に過敏となつたが中1例は頭頂部に軽度立毛を認め翌日予期しない死に陥つたので直ちに次代接種を試みたが著変をみず別段ビールの毒力が増強した様な所見は得なかつた。第9代は著変なく発症し、第10代は発症がやゝ遅れたが12日後著明な発症をみた。

第2回分離実験群におけるマウス所見

1) 第1回分離実験の追試実験におけるマウス所見

第1代はすでに上述した a) の所見と変りなく、第2,3代は上述 b) c) に比し第1代との差が更に顯著で過敏症状のみ次第に増強し、其他の立毛、麻痺等は第2代目ですでに殆んど消失した。

2) 腹水遠沈濾過分離実験のマウス所見

a) ロカ第1代マウス

ザイツ濾液を接種後4例中2例は3日目から稍不安状となり4日目ではすでに過敏状を呈し体に触れると啼き跳躍しこれが次第に増強して7日目では甚しく過敏となり刺戟防禦運動を盛んに行ひ1例は怒つて噛みに来る様になつた。他の2例は発症がやゝ遅れて5日後から変化現れ7日目過敏状態となつたが上記2例より程度は弱かつた。4例とも8日目を頂点として以後過敏症状は漸次弱化する傾向が認められた。全経過を通じ腹水を脳内接種した第1代マウスに認められた頭頂部の立毛、膨隆、麻痺衰弱等の症状は全く認められ

なかつた。

b) ロカ第2代マウス

接種後殆んど変りなく運動は寧ろ鈍重で体に触れてものろのろと動き14日後1例がやゝ活潑化した但それも数日で恢復し、4週後他の1例が稍不安状を呈したのみで発症をみるに到らなかつた。

3) 腹水を最初腹腔内接種した分離実験のマウス所見

a) 腹水0.3~0.5c.c. 接種したマウス

接種後2日して運動活潑となり4日後には全例過敏状となり軽度立毛を頭頂部に認め触れると跳躍し尻尾を強直状に立てた。6日目から腹部が膨大して来たのに気づき(全例)腹水の溜溜を証明した。其の後10日目までに全例腹水は減少し消失したが、過敏状態のみは相当著明に存続し17日後やゝ弱化する傾向を認めた。

b) 腹水1.0~2.0c.c. 接種したマウス

大量接種のため翌日は腹部が大きかつたが3日後には消失した。4日後から再び1例は腹部膨大し始め7日後に腹水を生じ、9日後から減少し同時に過敏症状を出現した。他の1例は腹部膨大は著明に起らず過敏症状が7日目から現れた。共に立毛、麻痺等の変化は認められなかつた。

c) 第2代マウス

接種2日後から活潑な運動を行つたが過敏状ではなかつた。6日後不安状となり7日後には触れると悲鳴をあげる様に啼き跳躍し過敏状態に陥つたが第1代に比し稍程度は弱かつた。

d) 第3~10代マウス

この間の所見は上記第1回分離実験群のマウスと大差なく、発症までの時間、発症程度等は各代で多少の差異があつた。即ち早いものでは3~5日後に、遅いもので7~8日後に過敏状態を呈した。この間マウスの死亡はみられなかつた。次に累代接種概況を図示すると別表2の如くなる。

(II) 脳開検肉眼所見

i) 腹水そのまま脳内接種したマウス

頭部の立毛，膨隆の著しい例程変化強く，頭皮を開くと頭骨は内圧上昇のため挙上され矢状縫合，三角縫合は著明に離開して表面血管は充盈が著しい。頭骨を除去すると脳膜は著しく肥厚し殊に後頭部より中脳背面及び小脳上面にかけて黄白色粘調な一見膿様の物質が膜様に拡がっている。かゝる膿様物質は脳底部，各脳溝にも存在していた。脳実質は一般に浮腫状で硬度は正常のものに比して軟かつた。

ii) 第2及び第3代マウス

第1代に比し変化は僅少となり，前記膿様物質は認められず，脳膜及び脳実質は浮腫状で脳脊髄液の増量を認めた。

iii) 腹水遠沈濾過第1代マウス及び腹水そのままを腹腔内接種したマウス

共に肉眼的変化は認められなかつた。

iv) 第4代～第10代マウス

大阪系，東京系共に殆んど著明な変化は認められなかつたが，脳水腫のためか開検に際し頭骨下に脳脊髄液の移動するのがよく分る例が時々存した。

(Ⅱ) 脳病理組織像

組織検査は接種側と反対の脳半球を用ひ，アルコール又はホルマリン固定後主としてパラフィン切片によりヘマトキシリン・エオン及びニッスル染色を行つた。

a) 腹水脳内接種第1代マウス

動物番号(以下略) 1/I・0, 2/I・0, 3/I・0, 32/I・t, 33/I・t, 34/I・t, 前記肉眼所見の項で述べた膿様物質を塗抹標本としてギムザ染色をほどこして鏡検すると，このものは殆んど吉田腫瘍細胞よりなり核分裂を営むものから変性に陥れるものまで各期の細胞が混在していて，注入された腫瘍細胞がマウス脳内で一定期間旺盛に増殖することが分つた。脳を鏡検すると腫瘍細胞は無制限に増殖して脳溝を充し更に血管周囲リンパ腔を伝つて脳実質に浸潤しその部では神経細胞の変性，喰神経現象の像も認められた。又脳底脳膜炎が著明で多数の単球，中等数の腫瘍細胞の浸潤は前後両穿孔質の血管周囲から上昇して深く四丘

体及び視丘床背面に拡がっている。しかし脳質深部に進むに従つて腫瘍細胞の数は急激に少くなり，変性，核濃縮を起していた。単球も大部分に変性が認められて核粉末が多数存在した。又中脳背面で増殖した腫瘍細胞は海馬裂に侵入しその血管周囲から脈絡叢に強い浸潤が認められた。概して脳全体に Gliose が強く殊に側脳室前角部及び第3脳室の脳室下の線維グリア細胞は星芒状に突起が明瞭になり網状様構造を呈し増殖強く，脳質中にも一部彌蔓性に浸潤し前連合尾側に達し Gliom 状をなすものがあつた。脳室上皮細胞は腫瘍状に増殖してるものも認められたが一般に軽度で，腫瘍細胞は脳室内にては全く認められなかつた。

第2代マウス (5/I・0, 6/I・0, 44/I・t) になると主病変部及び病変像は第1代のそれに類似しているが，著明な相異点はもはや腫瘍細胞が認められないことであつた。

b) 大阪系第2代脳乳剤を遠沈濾過しその濾液を接種したマウス (12/I・0, 13/I・0) について脳を鏡検すると病変は比較的軽くて，後頭葉と中脳間から海馬裂を口端に向つて軽度の脳膜炎の像を呈し，軟脳膜に癒着が存した。後穿孔質部では軽度に血管外膜細胞の増殖を認め，側脳室天蓋部の脳梁中に小グリア病巣が存在しその核は変性して核破片が認められ，これが脳室上皮下のグリア細胞の増殖巣と連絡している像が認められた。

c) 腹水を遠沈濾過しその濾液を接種したマウス (30/I・t, 31/I・t, 37/I・t, 38/I・t) の脳を鏡検すると，30/I・t では脳底及び中脳背面に脳膜炎を認め後穿孔質部蜘蛛膜下腔内皮細胞は中等度網状に増殖し，海馬截痕部では軟脳膜は癒着し血管周囲に単球及び少数の中好球の浸潤が認められた。又後四丘体部の小動脈血管壁及び周囲に細胞浸潤を認めた。脳室上皮自身の変化は認められなかつたが前角前端附近の線維グリアが著明に増殖しており又海馬角窩状層にグリアの彌蔓性増殖が存した。31/I・t では同様な脳膜炎が認められ，尾状核部で前連合に近く可成り大きいグリア結

節を認め色々の形のオルテガグリアが認められ、他方この部には神経細胞の脱落が認められた。側脳室前角前端部の脳室上皮には線維グリアの増殖が甚だ強く、その核の大小、形、染色素量は不規則に変性が著しく浮腫を伴ひ脳実質との境が不明瞭になり血管は拡大していた。37/I.t, 38/I.tでは主として後頭葉と中脳との間及び中脳と小脳間に脳膜炎を認め脳膜は癒着し、強い浮腫を伴ひ脳膜下には線維グリアが増殖し、少数の単球浸潤が認められた。海馬角では桿状細胞の軽度の増殖があり、脳梁部の血管外膜細胞の増殖を、又視丘下部では小動脈に内皮細胞の増殖を認めた。本例も 30/I.t, 31/I.t 同様脳室上皮には変化少く上皮下の線維グリアの増殖が著明で核も前記同様であった。又被殻と視丘の境に境界鋭利な小グリア結節、後四丘体上面に近く可成り大きいグリア結節が存在し主としてオルテガグリアよりなり核は不正円形、馬蹄形、S字状形等甚だ不規則で結節部には細血管を有し、附近の神経細胞の変性、脱落が認められた。

d) 腹水を腹腔内接種したマウス(東・1号, 2号, 3号, 45/195, 46/195)本例も中脳背面, 後穿孔質, 海馬裂, 前小脳截痕部等に著明な脳膜炎を認め脳膜は癒着し, 血管は充血しその内外に多数の単球及び稀れに少数の中好球浸潤を認め, 後穿孔質部では浮腫を伴つてのもも存した。脳実質では海馬角内に病変が共通して存し, 窩状層の血管は拡張しその周囲に単球及びグリアの増殖が認められた。脳梁では2例(東・1号, 46/195)にグリアの列状増殖を起して中1例は更に膝部細血管周囲に軽度の細胞浸潤を認めた。尾状核, 被殻附近では充血があり血管内皮細胞の増殖を伴ひ, 1例では周囲に少数の中好球浸潤を認めた。脳室上皮は(東・1号, 2号)側脳室前角部で稍強く増殖していた。又上皮下の線維グリアは各例共著しく増殖し, 紡錘形, 星芒形を呈し網状に突起を出し浮腫を伴ひ一部は脳室内に侵入して結節を形成し, 核分裂を(東・1号)認め(東・3号)では側脳

室は著しく拡大していた。又(東・3号)は殊に Gliose の傾向強く前頭部口端, 尾状核, 被殻, 前四丘体に血管に沿ふてグリア結節を形成し第3脳室は著しく拡大されていた。しかし腫瘍細胞は全例に全く認められなかつた。

e) 第2, 3代目を検査すると, 第1代同様な脳膜炎像を呈し, 軟膜の癒着, 血管周囲細胞浸潤が中脳背面, 前小脳截痕部, 脳底殊に後穿孔質部に著明であつた。第3脳室前角部脳室上皮下の線維グリアは増殖し, 脳梁では浮腫のため神経線維束間が離解し多数のグリア核の増加が認められ核団塊を形成してゐるものがあつた。又小さいグリア結節も認められた。

f) 大阪系, 東京系両系の第4, 5, 6代を通じてみると, 大阪系においては主病巣は大體脳梁, 海馬角に局在しその部の血管周囲は浮腫状となりグリアの増殖, 単球浸潤を認め一部では脳室前角部で脳室上皮炎に移行してゐる像がみられた。他方海馬角窩状層におけるグリアの増殖はこの世代に共通して存し, 一部では結節状増殖をなしその部の血管壁に単球浸潤を伴ふものがあつた。殊に 49/VI.0 では脳梁前端に分布する小血管の分岐点に大グリア結節が存し, 不整形のオルテガグリアの増殖, その部の神経細胞の変性, 脱落が認められ血管は拡張して多数の単球及び少数の中好球を入れ血管周囲浸潤も認められた。東京系においては第4代では大體脳底脳膜炎の像を主とし, 中に内脳水腫の著明なものが存した。次に第5代, 第6代では脳幹部に浮腫が強く現れ殊に脳梁, 尾状核, 被殻, 視丘等に著明で Virchow-Robin 氏腔は強く拡大し神経細胞に水腫変性が認められ脱落が可成り著明で同時にグリアの増殖が認められた。殊に 115/VI.t では以上述べた脳幹部諸神経節の浮腫形成, 神経細胞の変性, 脱落が著明なる上に, 脳室上皮細胞の増殖が甚だ顯著で一部乳嘴状にみえ脈絡叢を疑はしめる程であつた。その下部の線維グリアも又著しく増殖して網状をなして前連合部まで及び, 附近の尾状核基質は浮腫が甚だ強く神経細胞の変性,

脱落が殊に強かつた。

g) 両系の第 7, 8, 9 代を通じてみると、先づこの代において代表的な変化を呈した 54/Ⅷ・0 について述べると前記同様脳底部、前小脳截痕部等に脳膜炎が認められたが、初期に比して程度は稍弱くなり代つて脳炎の像が著明になつた点が大きな変化であつた。側脳室前角部の脳室上皮は結節状に増殖し、又上皮下の線維グリアの増殖も可成り著明であつた。前頭部で口端腹側に近く中等大のグリア結節があり充血した細血管を入れその分岐部ではグリア核の変性や強く、神経細胞の脱落も認められた。尾状核口端部で脳梁前端と側脳室前角前端部の間に稍広くグリアの増殖巣が存しこの増殖は充血を起した細血管周囲から起つたことが明に認められた。オルテガグリアの核は不規則に変形し核破壊に陥つたものも認められ、この部にも神経細胞の脱落が存在した。四丘体下部では中等大のグリア結節及びその附近に稍境界不明瞭の小さいグリア結節が存した。脳脚根部には桿状細胞がやゝ彌蔓性に中等度増殖し、小脳では普通あまり変化がみられなかつたのであるが本例は前小脳截痕部に接する小脳回転中の軟膜血管を中心に血管外膜細胞の増殖及び単球の増殖浸潤があり連続的に分子層に及んでる所見が認められた。尙本世代 3 代を通じて東京系では第 6 代より著明になつた脳幹部諸神経節における浮腫形成像が毎常特異的に強く出現した。

4. 總 括

吉田腫瘍は癌原性物質を用ひて発癌実験中の一動物に偶然発生したもので、その母細胞及び腫瘍成立について当然異常な努力が傾倒されているが今尙決定的な結果をみていない。他方この腫瘍と同一のものを適当な方法により人為的に再発生せしめてその成立を追求し、合せて母細胞問題の解明にあたらうとの考へが行れた結果この腫瘍の腫瘍原の問題が重視され多数の腫瘍学者及至細菌学者等の盛んに研究するところとなつた。殊に吉田腫

瘍が一種の液状腫瘍で、その高度の移植性、甚だ速かな増殖性からして腫瘍原としてビールスが早くから想像された。先づ最初本腫瘍の発見者吉田はじめその協力者¹⁾はこの問題に手をつけたが陰性に終りビールス存在説を否定した。木下及びその門下生^{11), 12)}は吉田腫瘍罹患ラツテの血清及び尿を健康なラツテに接種し腫瘍の発生をみビールス説を称えたが、接種材料中に偶々少数の腫瘍細胞が混在してそれから腫瘍が出来たかも知れないとの疑義を生じ、まもなくビールス説を撤回した。寺田等¹³⁾は腫瘍腹水を濾過し濾液接種し実験を行つたが陰性成績に終つた。石橋¹⁴⁾は腹水遠沈上澄液を更に顕微鏡下に一滴づつ検討する方法によつて得た無細胞の材料により 15 例中 1 例に吉田腫瘍を発生せしめたが、これも厳密に全く無細胞であつたか否か証明できないものであつた。又安田及び長谷川等¹⁵⁾は腹水の遠沈上澄液並びにシャンペラン L₂ 又はベルケフェルトによる上澄濾過実験を行ひ、上澄液接種により吉田腫瘍を発生せしめたがこれ又無細胞の確証を得ず、又濾過実験は常に陰性成績に終つた。他方吉田、石橋^{1), 14), 16)}は少数腫瘍細胞による移植実験を行ひ、その技術的進歩を重ねて唯 1 箇の細胞でも移植が可能であることを証明したこと等より、この腹水腫瘍の移植は腫瘍細胞を接種する以外には移植できないといふ見解が大方を占める様になつてビールス説は影をうすめつゝあつた。しかるに浜崎、佐藤等⁸⁾は吉田腫瘍の増殖状態並びに腫瘍細胞のリボ核酸及びデオキシリボ核酸の研究並びにフォイルゲン反応を用ひて細胞質内に極めて微細な重合性の DNA 顆粒を発見証明した結果、この腫瘍の腫瘍原はビールスであらうと理論的に主張した。更に吉田腫瘍ラツテの腸間膜リンパ節に Cowdry 氏 A 型に属する特殊な核包含体の発見等により¹⁷⁾、ビールスの存在は益々有望視されるに到つた。

以来腫瘍腹水よりビールスを発見証明すべく種々な方法を試みた結果、今回腹水をマウス脳内及び腹腔内接種方法により特殊なビー

ルス(Virus HST)を分離しマウス脳内累代接種に成功した。即ち腹水そのままを 0.02c.c. マウス脳内に接種すると腫瘍細胞は無制限に増殖し、ためにマウスは一種の脳膜脳炎を起して激しい脳症状を呈し四肢の麻痺或ひは震顫麻痺を伴つて平均5~6日後に全例衰弱死亡するのであるが、このマウスを死戦期において殺し Bouillon (PH=7.6) にて10倍稀釈脳乳剤を作り毎分 2500 回、5分遠沈してその上澄液を 0.02c.c. 健常マウス脳内に接種すると2代目では症状は軽減し、同操作を数代反復すると麻痺症状は全く消失して反対に過敏症状が強くなりマウスは死亡しなくなる。他方第2代目脳乳剤をザイツ濾過板(靈菌を通さない)にて遠沈濾過しその濾液を 0.03c.c. 脳内接種したところすでに麻痺症状は全く消失し上記同様に過敏症状のみ現すようになった。そこでこのマウスの脳乳剤遠沈上澄液を用ひて累代脳内接種を行い之が固定に成功した。又腹水そのままを 0.3~2.0c.c. マウス腹腔内に接種すると、4~6日後腹水を生じ同時に過敏症状を起したが麻痺は全然認められなかつた。そこでこのマウスの脳乳剤遠沈上澄液を上記同様に作り累代脳内接種に成功した。

本 Virus HST を脳内接種したマウスは腹水接種に比し臨牀症状は軽度で通常死亡せず唯一の症状は過敏症状でマウスは皮膚に触れると逃げ走り、跳躍し又悲鳴をあげるものもあり或ひは怒り噛みつくものもある。分離初期では尙潜伏期、発症程度、症状等不安定で各代で多少の差があり10代頃までは一定しなかつた。頭部所見では腹水接種マウスは著明な変化を起し、頭頂部から後頭部にかけて立毛、膨隆が甚だしく頭蓋腔を開検すると黄白色膿様物で脳表面が蔽われていたが、固定された本 Virus HST 接種マウスでは殆んど肉眼的にみるべき変化を生じない。組織変化をみると腹水接種では蜘蛛膜下腔内皮細胞は増殖強く、腫瘍細胞は各脳溝を充し血管周囲リンパ腔を伝つて脳質に深く浸潤している。主病変は脳底並びに中脳背面から海馬裂に互

る脳膜炎及び側脳室壁にみられる変化である。脳室上皮細胞は左程強く増殖しないが概して全体に Gliose の傾向強く、殊に側脳室前角部及び第3脳室上皮下の線維グリアが著明に増殖し一部では脳質に彌蔓性に浸潤している。Virus HST 累代接種例では上記に比し変化は弱いが病変の分布及び性質は非常によく似ている。即ち共通して存する変化は脳底殊に両穿孔質部及び中脳背面から海馬裂に互る部分に脳膜炎が認められ滲出細胞は比較的少く、蜘蛛膜下腔の内皮細胞増殖が割合強い。側脳室の変化は特異的であつて脳室上皮と共に上皮下の線維グリアが屢々著明に増殖して網状構造をなすものが多かつた。このグリアは多少に拘らず脳質内に侵入し主として脳梁線維束間、尾状核、被殻等に浸潤している。グリア結節は中脳、前穿孔質深部、前頭部口端附近等に好んで現れ、大阪系では第5~8代に、東京系では初代から数代の間比較的よくみられた。又脳幹部諸神経節に浮腫を相当数認め、特に東京系では第6~8代に毎常著明に現れ又内脳水腫を伴つて脳室の著明に拡大してものも認められた。大阪系では第7代頃よりやゝ脳炎の像が強くなり脳膜炎像は弱化した様な所見を得た。

以上の如く本 Virus HST による脳膜脳炎は軽度であるが既知のマウス脳炎例えば特発性脳脊髄炎¹⁸⁾、流行性脳炎¹⁹⁾、脈絡脳膜炎²⁰⁾、ヘルペス脳炎²¹⁾、跳躍病²²⁾、種痘脳炎²³⁾、米國馬脳炎²⁴⁾等の組織所見に比して著しい特徴がある。これ等脳炎ではすでに浜崎等が報告したように夫々特殊な包含体を形成するが本 Virus HST では之を形成しないし、又炎症症状が弱くて増殖機転が著明であつた。

5. 結 論

1) 吉田腫瘍腹水から新しいビールス(Virus HST)を分離し、マウス脳内累代接種に成功した。

2) Virus HST の発見証明は吉田腫瘍の腫瘍原問題に新分野を開拓し、先に浜崎等の核酸研究より予報した理論的ビールス存在説

を実験的に証明し得た。

3) 分離には二つの方法が成功した。即ち腹水そのままをマウス脳内に接種し、そのマウス脳乳剤遠沈上澄をマウス脳内に累代接種し途中でザイツ濾過板で遠沈濾過した方法と最初腹水そのままをマウス腹腔内に接種し以後そのマウス脳乳剤遠沈上澄を次代マウス脳内に接種しこれを反復した方法である。

4) 腹水遠沈濾過液をマウス脳内に接種する方法は今回の実験では累代接種不成績に終り第1代のみ発症した。

5) 腹水を脳内接種したマウスは平均5~6日後に全例麻痺衰弱死することが分つた。肉眼的変化では頭頂部より後頭部にかけて立毛、膨隆著しく、頭蓋腔内には腫瘍細胞無数に増殖した。組織変化では腫瘍細胞の無制限

増殖、脳底及び中脳背面より海馬裂に亘る脳膜炎と全般的にグリアの増殖、浸潤が強かつた。

6) 本 Virus HST 接種マウス10代頃までは、尙潜伏期、症状等不安定であつたが、平均2~6日後より不安定となり、其の後4~5日で過敏症状が著明に現れるが麻痺は起らず通常死亡しない。組織変化では腹水脳内接種マウスに比し軽度であるが、主病変部位並びにその性状は類似し、特に側脳室附近の变化及び脳質の浮腫、内脳水腫の傾向が屢々特異的に認められた。特有な包含体の形成は今までのところ認められず、小脳部では殆んど、脊髓では全然変化を認めなかつた。

終りに臨み、終始御鞭撻御指導並びに御校閲を賜つた恩師浜崎教授に心からの感謝を捧げる。

文

- 1) 吉田富三著：吉田肉腫，學樂書房，(1949)。
- 2) 吉田：癌，42；141，(1951)。
- 3) 浜崎，佐藤等：癌，41；109，(1950)。
- 4) 田頭，天野等：日病会誌，39；311，(1950)。
- 5) Hamazaki, Y. et al: Folia Psychi. et Neurolog. Jap., Vol. 5, No. 1, (1951)。
- 6) 浜崎，佐藤等：癌，42；237，(1951)。
- 7) Theiler, M.: Science, 80; 122, (1934)。
- 8) Topley and Wilson: The principles of Bacteriology and Immunity, I. Edition, P. 274, (1936)。
- 9) 笠原，石田等：第25回日本細菌学会総会抄録，(1952)。
- 10) 三田村等：日本医学及び健康保険，3270；35，(昭17)。
- 11) 滝，釜洞等：癌，39；197，(1948)。

献

- 12) 加藤：癌，39；91，(1948)。
- 13) 寺田等：東京医事新誌，67；16，(1949)。
- 14) 石橋：癌，40；131，(1949)。
- 15) 安田，長谷川等：癌，40；137，(1949)。
- 16) 石橋：癌，39；85，(1948)。
- 17) 浜崎等：日病会誌(地方会号)，39；244，(1950)。
- 18) Iguchi, M.: Kitasato Arch. of Exp. Med., 16；56-78，(1939)。
- 19) Hamazaki, Y.: Arbeit aus d. med. Fakultät Okayama, 7-2；107，(1943)。
- 20), 21), 22), 23), 24), 浜崎：岡山大学医学部紀要，1；44-70，(1949)。
- 25) 川喜田愛郎著：濾過性病原体，医学書院，(1949)。
- 26) 本城，天野等：癌，42；151，(1951)。

STUDIES ON THE VIRUS HST (HAMAZAKI) ISOLATED FROM YOSHIDA TUMOR.

I. Method of virus-isolation and findings of the mice, inoculated with this virus, in its early stage.

MASABUMI TAKAHASHI

Dept. of Pathology, Okayama University Medical School.

(Director : Prof. Y. Hamazaki)

During the last ten years since Yoshida discovered his ascites tumor (1943), many authors have intended to isolate a certain living agent immediately from the tumor ascites, but nobody succeeded.

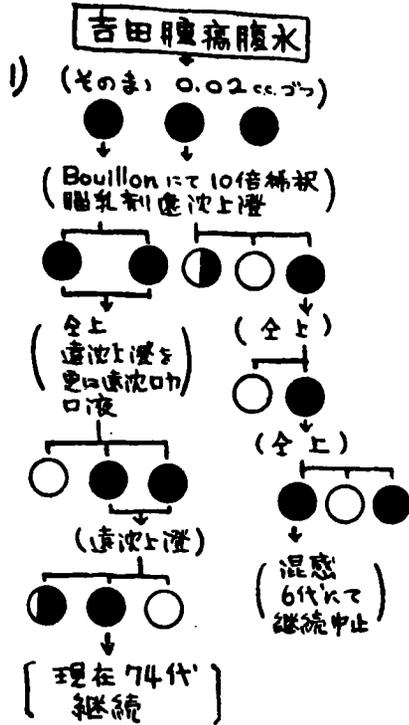
In 1950 Y. Hamazaki et al. have theoretically concluded that the tumor cell must contain a certain virus, because they have verified many fine granules of polymerized desoxyribonucleic acid in the cytoplasm which were demonstrated by Feulgen's reaction. And then, about a year later we and I fortunately succeeded in isolating and successive transmissions of a new virus (virus HST) from the tumor ascites and proofed sero-immunologically that the virus is necessary to complete the transplantation of the ascites tumor successfully.

Method of isolation. - Mice which were transmitted intracranially with 0,02 cc of the ascites, as a rule, died in a range of 5-6 days under serious brain symptoms with paralysis. The agonized animals were killed to prepare an emulsion of their brain which was diluted decimal with bouillon and centrifuged 2500 r. p. m. for 5 mins. By several successive intracranially transmissions of 0,02 cc of supernatant from brain emulsion, the animals became very sensitive and paralysis disappeared. Transmitting it continuously (on the course of passage, filtration of the emulsion by Seitz's filter-plate was done once a time), we could obtain a fixed virus causes a certain meningoencephalitis in mice. The other case, we have immediately transmitted the ascites afresh into the abdominal cavities of normal mice. 4-6 days later, they suffered from the heavy ascites and gradually became very sensitive too. Their brains were made into emulsion in the same way as mentioned above and intracranial transmissions of it was done successively.

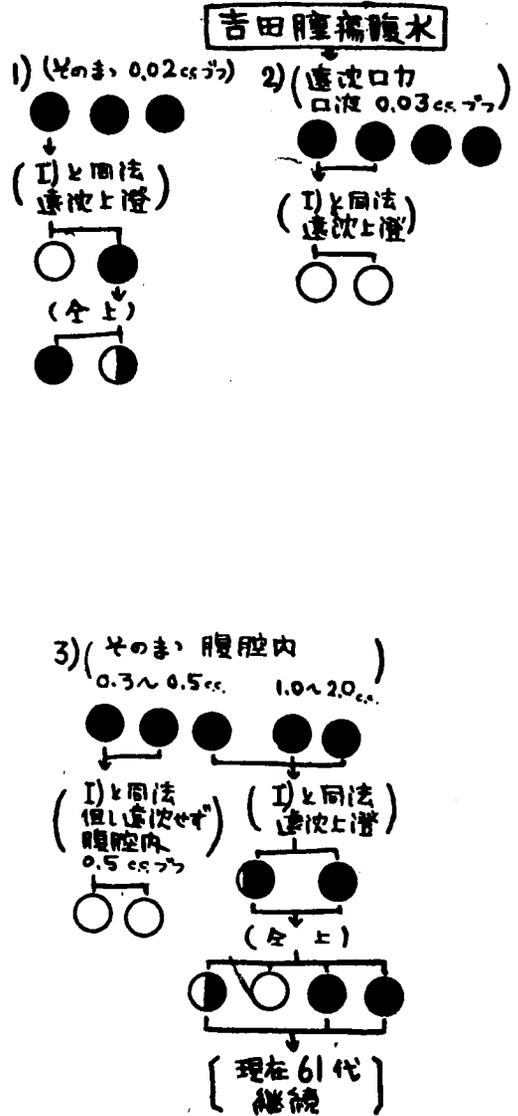
Histological findings, 1) Mice inoculated with the ascites. Dissecting the cranial cavities you can find an unclean, yellow, thick foil on the pia mater. The tumor cells multiply limitlessly in and out of the brain. The meningitis takes place chiefly in the ventral surface of the brain and the dorsal surface of the midbrain. The glia cells, especially the subependymal fibrillary glia cells often multiply in enormous numbers and infiltrate near by. 2) Mice inoculated with the isolating virus. Similar histological changes, as above mentioned, could in miniature be seen. Especially, changes of the adjacent area of the lateral ventricle cavities and the edema of the brain parenchyma or the hydrocephalus interna often could be seen characteristically.

表・1

I) 次1回分離実験(大阪系)



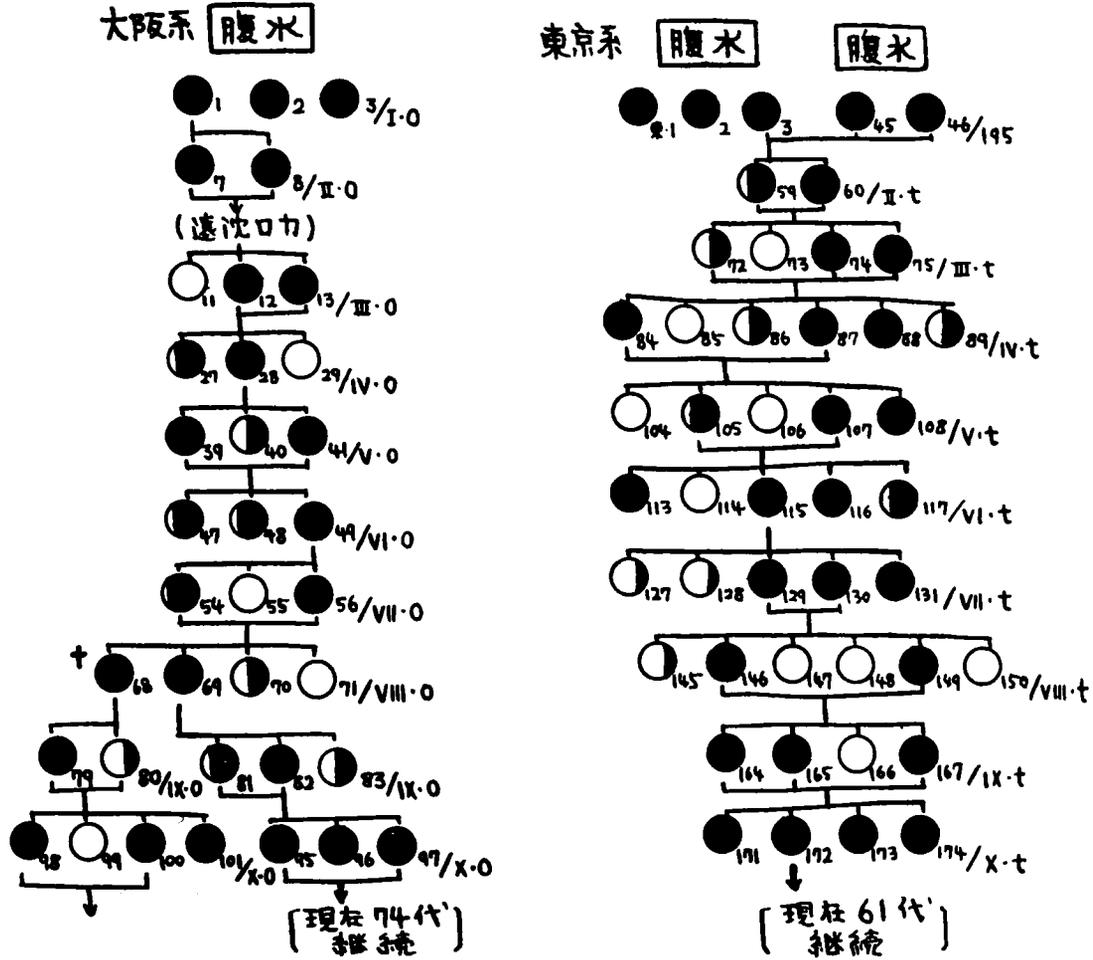
II) 次2回分離実験(東京系)



註. ● ... 発症(+) 以上を含む
 ● ... (T)
 ○ ... (-)

・特に傍記せぬ限り全て脳内接種.

表・2 Virus HST (Hamazaki) マウス脳内累代接種概況



註. アラビア数字 …… マウス番号
 ローマ数字 …… 世代数
 0. …… 大阪系略号
 t. …… 東京系略号
 ○ …… 陰性 (-)
 ◐ …… 発症 (±)
 ◑ …… " (丁)
 ◒ …… " (+) 弱
 ◓ …… " (++) 以上

・ 東京系 61代' のみは腹腔内接種。

附 圖

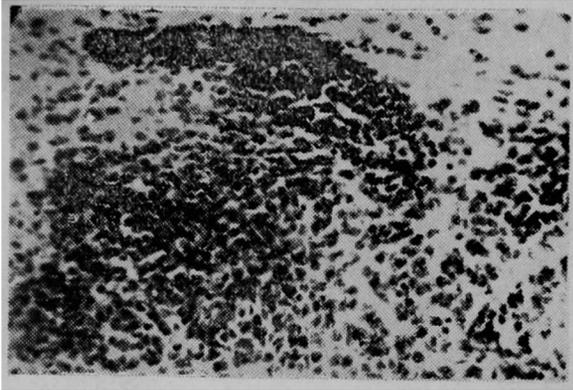


Fig.1 動物番号 33/Ⅰ.t
前連合部附近に認められたグリア細胞の Gliom 状増殖巣。

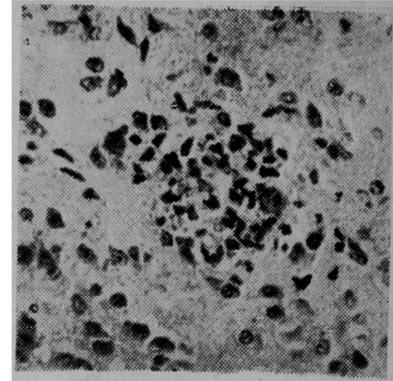


Fig.2 動物番号 37/Ⅰ.t
後四丘体上面に近く認められたグリア結節。その核型は甚しく不規則である。

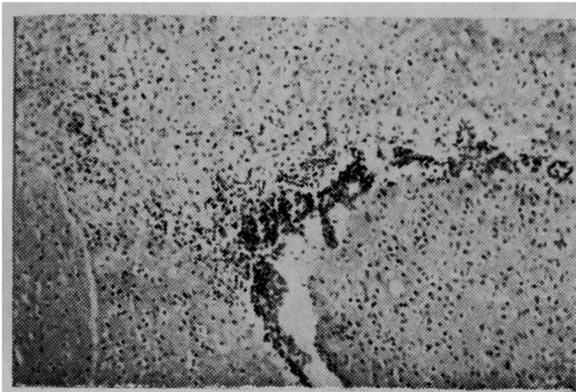


Fig.3 動物番号 115/Ⅵ.t
脳室上皮細胞の顕著な増殖（一部乳嘴状）及びその下部の線維グリアの著明な増殖並に尾状核への浸潤。

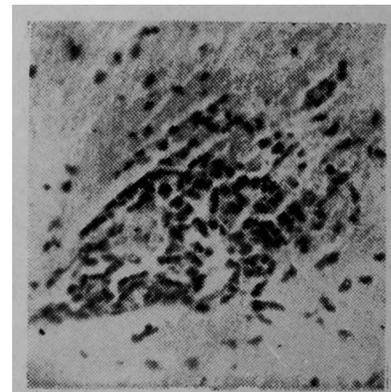


Fig.4 動物番号 54/Ⅶ.O
前小脳藏痕部に接する小脳回轉中に認められた軟膜血管を中心とする血管外膜細胞増殖及び小脳分子層への単球浸潤並にグリアの増殖。

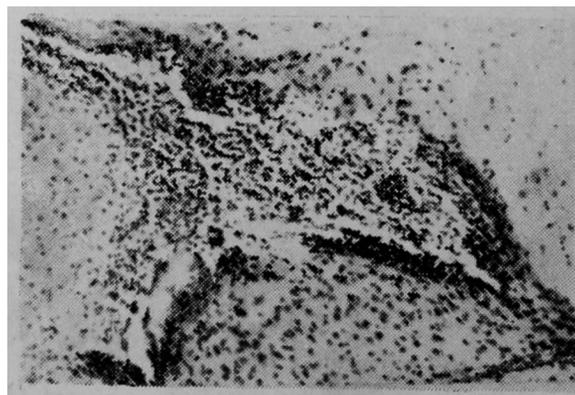


Fig.5 動物番号 82/Ⅸ.O
側脳室前角壁に認められた広範な線維グリアの増殖巣及び脳質への圧迫浸潤