

岡山県に発生せる流行性肝炎病原体の研究特に孵化 鶏卵に依り分離せるウイルスに就て

第 1 編

病 原 体 分 離 に 関 す る 実 験

岡山大学医学部微生物学教室 (指導: 村上 栄教授)

俵 寿 太 郎

〔昭和 34 年 3 月 25 日受稿〕

目 次

緒 言	第 1 節 実験方法
第 1 章 患者材料の細菌学的検査	第 2 節 実験成績
第 1 節 実験方法	第 4 章 分離ウイルスのハムスターへの接種実験
第 2 節 実験成績	第 1 節 実験方法
第 2 章 分離試験	第 2 節 実験成績
第 1 節 実験方法	第 5 章 考 按
第 2 節 実験成績	結 語
第 3 章 累代接種	

緒 言

近時各地に流行をみる流行性肝炎の病原体に就ては、北岡 (1942)¹⁾ の述べる如く、従来種々のものが挙げられてきたが、我国に於ける弘 (1941)²⁾、及び北岡 (1943)³⁾ 等、外国に於ける Voegt (1942)⁴⁾、Cameron (1943)⁵⁾、Havens (1944)⁶⁾、Oliphant (1944)⁷⁾、MacCallum (1944)⁸⁾、Findlay (1945)⁹⁾、Neefe (1945)¹⁰⁾、及び Francis (1946)¹¹⁾ 等の人体実験例が陽性であり、又それらが各種の濾過管を通過するということを報告して以来、本病々原体はウイルスであろうことが証明され、その後内外共に多くの学者の発表もあつて、いづれもがウイルス説を唱え、この点は疑のないように思われる。然しそれにも拘らず、動物実験及び病原体の性状等に関する結果は、いづれも異つていて、我国では北岡 (1943)³⁾、操・山田 (1944)¹³⁾、坂本 (1946)¹⁴⁾、荒川・多ヶ谷 (1951)¹⁵⁾、原 (1953)¹⁶⁾、柏木等 (1953)¹⁷⁾、城谷等 (1953)¹⁸⁾、森 (1953)¹⁹⁾、谷口等 (1954)²⁰⁾、及び久保等 (1954)²¹⁾ の病原体分離成功の報告があるが、未だ完全には確認されるに至らず、又外国では欧米の1949年迄の成績を包括的な綜

説としている Colbert (1949)²²⁾ の報告があり、ウイルスの動物実験は不成功か、或はたとえ動物に伝達し得たとして成績を報じているものでも、未だ全面的承認を得るに至つたものはなく、尚疑問視されている。

最近 Henle 等 (1950)²³⁾ は、組織培養法に依り分離したウイルスを、人体に復元接種して、肝炎症状を起したと報じ、又木村・堀田 (1949)²⁴⁾、藤田等 (1953)²⁵⁾ に依る、患者血液から出発してマウスの肝内接種法に依り、特異な病変を示す病原体を分離し、人体実験に依る不全型感染が成立したと報告しているのは注目に値する。更に Wildführ (1953)²⁶⁾ は肝炎患者の血清及び胆汁から、ゴールドハムスター、孵化鶏卵、カナリヤ及びヒワ類に依り多数例のウイルスを分離し、血清学的にも流行性肝炎と関連性があり、その大きさは 30~35 μ の小粒子であると報告しているのも注目すべきものである。然しこれらも追試確認されてはいない。

やはり現今では、最も根本問題の一つである適当な実験動物を見出すことと、適切な分離方法を探究することに、究々たる現状なのではなからうか。

流行性肝炎の病原体に関する内外の研究現況は、

大体以上の如くであるが、昭和26年末から昭和28年にわたり、岡山県赤磐地方に於て、死亡例を含む極めて重篤なる流行性肝炎の多数発生例に遭遇し、しかもその後は終熄することなく、県下全般に亘り波及蔓延した。この様な重篤例の発生した原因は勿論不明であるが、これらの病原体は従来報告されてきたものと異なるものなのか、毒力のみが強いものか或は環境の差異に依るものであるのかは全く不明である。

著者は、これら流行性肝炎患者の多くの材料から、兎に角病原体を分離することにつとめた。その結果、孵化鶏卵を使用して、或種のウイルスを分離したので、その経過に就て報告する。

第1章 患者材料の細菌学的検査

流行性肝炎の病原体分離に関するこれ迄の報告は甚だ多いが、未だ悲観的であることは前述の通りである。

而して分離原材料として使用された患者材料の種類も甚だ多く、文献に見られるものは、血液、血清、肝臓、十二指腸液、尿、糞便、白血球分屑、胃洗滌液及び口腔液乃至鼻咽腔液等であり、これらの中から一応陽性結果を得たとしている報告は、血液からは北岡 (1943)、操・山田 (1944)¹³⁾、坂本 (1946)¹⁴⁾、北岡 (1946)²⁷⁾、木村・堀田 (1949)²⁴⁾、森 (1953)¹⁹⁾、城谷等 (1953)¹⁸⁾、石井 (1954)²⁸⁾、谷口等 (1954)²⁰⁾、久保等 (1954)²¹⁾ 及び血清からの金丸 (1952)²⁹⁾ と山本等 (1953)³⁰⁾ であり、肝臓からは Andersen & Tulinius (1937~1938)³¹⁾、坂本 (1946)¹⁴⁾、原 (1952)³²⁾、森 (1953)¹⁹⁾、柏木等 (1953)¹⁷⁾ 及び久保等 (1954)²¹⁾、十二指腸液からは Siede & Luz (1943)³³⁾、尿からは Dresel 等 (1943)³⁴⁾、荒川・多ヶ谷 (1946)、坂本 (1946)¹⁴⁾、北岡 (1946)²⁷⁾、糞便からは MacCallum & Miles (1946)³⁵⁾、坂本 (1946)¹⁴⁾、城谷 (1953)¹⁸⁾、胆汁からは Wildführ (1953)²⁶⁾、口腔分泌液からは坂本 (1946)¹⁴⁾、北岡 (1946)²⁷⁾、含嗽液からは森 (1953)¹⁹⁾ であり、分離したものは、いずれも全てウイルスである。

而して、本実験に於ても各種患者材料に就て、細菌学的検査を行つてみた。これらの材料は、臨床上流行性肝炎と診断された患者及びその死亡者から無菌的に得られたものであることは勿論である。

第1節 実験方法

患者材料は発病中の患者21名及び死亡者6名、計27名から採取した。即ち発病中のものは、血液13例、

尿2例、糞便6例で、いずれも各種抗物質投与前の発熱期又はその直前の比較的早期のものであり、死亡者からの肝8例、脾3例及び胆汁4例は死亡直後、出来得る限り無菌的に採取したものである。これら6種類の材料を細菌検査したのであるが、培養基には普通寒天、血液寒天、ブイヨン、血清ブイヨン、チステインブイヨン及び肝片加肝臓ブイヨン等に依る好氣的及び嫌氣的培養を3日間行い、菌集落の発生を確めた。又、スピロヘータ、リケツチャ及び原虫類の検査には海狸、家兎及びマウス等に腹腔内及び睪丸内接種を行つて検した。

第2節 実験成績

その結果、血液から白色葡萄状球菌2例がみられたが、いずれも患者血清で凝集せず、その他の材料からも、病原体を細菌に求め得る成績を得ず、細菌検索は全く陰性であつた。又海狸、家兎及びマウス等に接種したもので、スピロヘータ、リケツチャ及び原虫類を分離することは出来なかつた。従つて、専らウイルスの分離に力を注いだ。

第2章 分離試験

1938年にデンマークの Andersen 及び Tulinius が本疾患の病原体を、始めて豚に移し得たと報告して以来、多くの人々が種々の動物に実験を行い、現在迄に使用報告されているものは、マウス、ラット、野鼠、家鼠、ハムスター、栗鼠、家兎、海狸、フェレット、犬、猫、豚、馬、緬羊、鶏、鳩、カナリヤ、ヒワ、猿、狒々及び孵化鶏卵等であり、マウスで陽性結果を報じているものは、北岡 (1946)²⁷⁾、操・山田 (1944)¹³⁾、荒川・多ヶ谷 (1946)、木村・堀田 (1949)²⁴⁾、金丸 (1952)²⁹⁾、原 (1952)³²⁾、藤田等 (1953)²⁵⁾、谷口等 (1953)²⁰⁾、武内 (1953)³⁶⁾、小林 (1953)³⁷⁾、城谷等 (1953)¹⁸⁾、山本 (1953)³²⁾、石井 (1954)³⁰⁾ 及び久保等 (1954)²¹⁾ である。又外国に於ては Mac Callum 等 (1946)²⁷⁾ と Haagen (1950) 以外は失敗している。ラットでは坂本 (1946)¹⁴⁾、Mac Collum 等 (1946)²⁷⁾ 及び山本 (1953)³⁰⁾ が、海狸では Verlinde (1946)³⁸⁾ 及び山本 (1953)³⁰⁾ が、ハムスターでは Wildführ (1953)²⁶⁾ が、カナリヤでは Dresel 等 (1943)³⁴⁾ 及び Wildführ (1953)²⁶⁾ が、ヒワ類では Wildführ (1953)²⁶⁾ が陽性成績を報告している。孵化鶏卵では Siede 等 (1941)³⁹⁾、Dresel 等 (1943)³⁴⁾、Henle 等 (1950)²³⁾、Wildführ (1953)²⁶⁾、我国に於ける荒川・多ヶ谷 (1951)¹⁵⁾、北岡 (1943)³⁾、山本 (1953)³⁰⁾、石井 (1954)²⁸⁾、

久保等(1954)²¹⁾, 谷口等 (1954)²⁰⁾ 及び森 (1953)¹⁹⁾ である。

而して著者が病原体分離の為に使用した実験動物は、孵化鶏卵、ハムスター、マウス、ラッテ、家兎、海狸及び幼若鶏雛等がその主なものであるが、孵化鶏卵により数株のウイルスを分離することが出来た。

第1節 実験方法

分離材料の血液及び胆汁は、そのまま及び pH7.4 のブイオン又は生理的食塩水で階段の希釈したものを使用し、肝、脾、腎等は pH7.4 のブイオン又は生理的食塩水でホモゲナイザーに依り充分破碎して、均等なる10倍乳剤として後、血液の場合と同様各階段希釈したものを使用し、尿及び糞便は同様に10倍希釈後の遠心沈澱上清、又は Seitz E. K に依る濾過液を階段希釈して、それらにはいづれも各 1.0 ml に対してペニシリン及びストレプトマイシンを夫々 500単位、10 mg 含む如く加えて後動物に接種した。

接種方法は各種実験動物に対して出来得る限り多くの接種方法を試み、接種量は各接種方法に応じた

一定量を接種して、動物の症状を観察し、海狸、ハムスター及び家兎等では特に熱型及び血液像を検索した。又累代に当つては各屠殺動物諸臓器の内眼的観察、臓器塗抹染色検査、病理組織検査及び培養試験を行つた。体温測定は肛門内測定法により午前及び午後の2回、飲料投与時間を避けて一定時間に測定し、血液検査は体温測定と同時に心臓穿刺に依り採血して検査した。臓器塗抹染色標本では、各臓器を塗抹後ギムザ染色及び Macchiavello 染色に依つて、細菌、原虫、リケッチャ及び糸状菌等の有無を検すると共に細胞の性状も検査し、培養試験では臓器乳剤を血液寒天で好氣的及び嫌氣的に48時間培養して観察した。尚病理組織検査は内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その変化を鏡検した。

第2節 実験成績

成績の概略は第1表に示す如く、孵化鶏卵漿尿腔内接種法に於てのみ、糞便から1例、血液から4例、

表 1 肝炎患者材料の動物接種実験

患者材料	症 状	採取月日 (病日)	例 数	孵 化 鶏 卵			ハム ス タ ー	鶏 雛	海 狸	マ ウ ス							
				漿尿膜 腔 内	卵 黄 内	羊 膜 内	腹腔内	腹腔内	腹腔 内	腎丸 内	脳内	肝内	腹腔 内				
血 液 (血清)	重症(死)	3~5	5	4 (+)	1 (-)	3 (+)	1 (-)	4 (+)	2 (+)	5 (-)	2 (-)	4 (-)	4 (-)	3 (-)			
	中等症	10~16	4			2 (-)		4 (+)				1 (-)		2 (-)			
	軽 症	7~13	6			2 (-)	2 (-)	2 (+)	2 (-)				1 (-)				
	不全型	4~13	3				1 (-)										
尿	重症(死)	13	2	1 (-)		1 (-)	1 (-)	1 (-)	1 (-)			1 (-)		1 (-)			
	軽 症	14	2									1 (-)					
糞 便	中等症	22	4	1 (+)	3 (-)			1 (+)	1 (-)	2 (-)		2 (-)	2 (-)	1 (-)			
	軽 症	37	2									1 (-)	1 (-)	1 (-)			
肝	重症(死)	4~13	8	5 (+)	1 (-)			4 (+)	2 (-)	3 (-)		2 (-)	1 (-)	2 (-)			
胆 汁	重症(死)	4~13	4	1 (+)	2 (-)			1 (+)	1 (-)	2 (-)	1 (-)			2 (-)			
脾	重症(死)	4~13	3	2 (-)				2 (-)	2 (-)	1 (-)	1 (-)	2 (-)	1 (-)	2 (-)			
合 計			38	10 (+)	10 (-)	3 (+)	4 (-)	4 (4)	16 (+)	4 (-)	2 (+)	9 (-)	14 (-)	4 (-)	14 (-)	10 (-)	14 (-)

表中 (+)……は胎児死亡又は臓器に病変のあつたのを示す

(-)……は陰性

数字……は例数

肝から5例、計10例の同じ性状を示す或る種のウイルスを分離した。而してその他の実験動物に就ては全く陰性であつた。これらのウイルスの分離は接種

死亡孵化鶏卵の漿尿腔液、胎児、及び羊水等の混合乳剤に依る6~7代の盲目累代に依り固定の域に達したものと思われ、その他の材料からの分離は出来

ず、脾、腎、胆汁及び尿からの分離は多くの接種方法に依るも無駄であつた。

そして以後の実験には、血液から分離した2例と、糞便から分離した1例及び肝臓から分離した1例の計4例を主として使用した。

これらのウイルスを分離した患者材料4例の由来は、第2表に示す如く、いずれも発熱初期の血液及

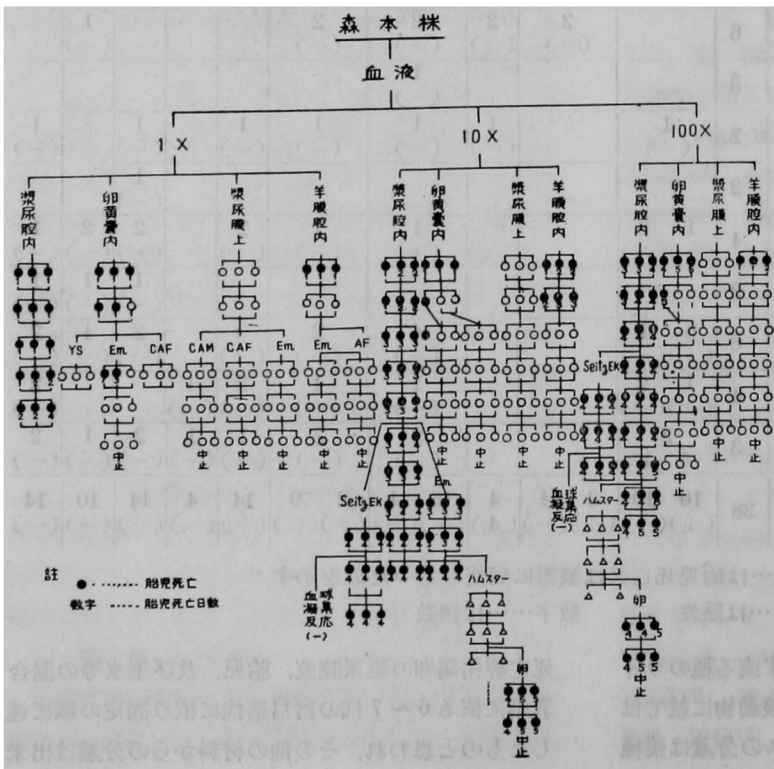
表2 患者材料の由来

氏名	性別	病名	症状	分離材料	病日	発病年月日
金光	女	急性肝炎	中等症	糞便	14日	1953.1.7
森本	男	急性肝炎	中等症	血清	14日	1953.9.10
河本	女	急性肝炎	軽症	血清	7日	1953.8.5
野田	男	急性肝炎	重症(死)	肝	10日	1955.3.23
佐藤	男	急性肝炎	重症(死)	肝	15日	1955.1.18
石原	男	急性肝炎	重症(死)	肝	14日	1954.5.18
青森	女	急性肝炎	重症(死)	肝	15日	1955.1.24

び糞便と、死亡直後の肝である。これらのウイルスは鶏卵培養累代数も既に50代に及んでいるものもある。

次に孵化鶏卵培養法に依る分離過程の1例を森本株に就いて述べれば、第3表の如く、全て漿尿腔内接種法に依つたもので可能であつた。全般的にみて、患者血液又は血清をそのまま接種した場合は、胎児

表3 病毒の分離過程



は殆ど接種後1日で死亡し、漿尿腔液、羊水及び胎児の混合乳剤で盲目累代するときは、3~5代もこの様な状態が続き、これが果してウイルスに依るものか、技術的過失に依るものかの判断は甚だ困難である。然し10倍乃至100倍に希釈した血液又は血清の場合の胎児の死亡日数は1日乃至5日位で、これは技術的過失死に依つたものとも思われず、3代目頃から胎児の死亡は3日乃至5日目に一定してくる。肝を分離材料とする時は10倍乳剤で始まるのが適当であつたし、糞便に依るものも10倍で始まるのが適当であつた。漿尿膜上接種法では胎児の死亡することとはなく、膜上の白斑形成、漿尿腔液の濁濁及びその他の病変も認められず、全く対照と変りはなかつた。卵黄囊内接種法では、時に胎児の死亡した例も認められるが、その後の経過は全く不規則であり、ウイルスを分離することは出来なかつた。羊膜腔内接種法では胎児の死亡を認め、羊水及び胎児乳剤に依り或る程度この現象が累代されるが、次第に消失してゆき6代以上も続いたものはなかつた。

第3章 累代接種

第1節 実験方法

ウイルス接種孵化卵の死亡直前又は直後の胎児及び漿尿腔液の混合物を、ホモゲナイザーで充分破壊

して均等な乳剤とし、pH7.4のブイオンで10倍乃至100倍希釈乳剤を作り、1500 r. p. m. に5分間遠心沈澱して、その上清には1.0 ml に対してペニシリン及びストレプトマイシンを夫々500単位、10 mg/ml 含む如く加えて、0.2ml を漿尿腔内接種法に依り累代接種した。使用した孵化卵は孵化7日前後のものから12日前後のものであり、常に1群3~5ヶ宛の卵を使用した。

以上が方法の概略であるが、接種方法の検討及び接種卵の孵化日数に依る感染の適、不適等をも検討しながら実験を行つた。

第2節 実験成績

ウイルスを孵化鶏卵内に接種し、この愛染胎児の眼及び肢を

除いたものを、漿尿腔液と混じて次代の漿尿腔内に接種する時は、胎児は3～5日目に死亡する。この死亡日数は累代を重ねるに従つて次第に延期されてくる傾向がある。即ち最初2～3日目に死亡していたものが、次第に3～5日目に死亡するようになり、遂には5～7日目に死亡するまで延長されるが、5日目頃からは割合に長い累代にみられる。この累代別に変わる胎児死亡日との関係を示すと表4の如くである。

表4 孵化卵によるウイルス分離及び累代

病毒株	分離方法	累代	感染接種後(日)	LD ₅₀
河本株	患者血液 ↓ 漿尿腔	1	4	9代…8.8 26代…8.1 57代…6.8
		2～4	3～4	
		5～7	4	
		8～35	4～5	
金光株	糞便 ↓ E. K ロカ ↓ 漿尿腔	1～2	3	22代…8.8 42代…8.0 51代…5.8
		3～8	3～5	
		9～40	4～5	
		41～	5～7	
森本株	患者血液 ↓ 漿尿腔	1	4	10代…8.5 18代…8.5 41代…5.8
		2～4	1～3	
		5～9	3～4	
		10～40	4～5	
石原株	肝臓 ↓(死亡) 漿尿腔	1	6	—
		2～16	6～8	
小川株	肝臓 ↓(死亡) 漿尿腔	1	7	—
		14	6～8	
日赤株	肝臓 ↓(死亡) 漿尿腔	5	5	—
		6～16	6～9	
野田株	肝臓 ↓(死亡) 漿尿腔	5	6	—
		6～10	6～10	

即ち河本株に於ては、累代第2～4代で3～4日目に死亡していたものが、第8代から第35代迄の間には4～5日目に死亡し、更に第36代から第62代に及ぶ間は5～7日に胎児の死亡が延長されている。それに伴つて胎児の死亡するLD₅₀も次第に減少してくる傾向がある。9代目でLD₅₀が8.8もの高い感染価を示したものが、26代目では8.1に下り、57代も重ねると6.8に迄低下している。これらの現象

は他の株に於ても同様に認められる。現在最高の累代数は森本株で、第71代目で尚接種後7日目に胎児が死亡している。

この累代を重ねるに従つて胎児の死亡日が延長され、そのLD₅₀も低下してくるのは、ウイルスの減弱化もあるかも知れないし、他にまだ別の原因が存在するかも知れないが、孵化鶏卵の孵化日数が大いに原因することも考えられる。即ち経験的に孵化7日卵に接種する時は、表の如き状態で、7日卵で5日目に胎児の死亡を認めている時、これを同じく孵化10卵に接種する時は7日目で死亡するか或は死亡せず、孵化12卵に接種するに到つては全く死亡しない。結局孵化7日卵の漿尿腔内に、接種材料として胎児乳剤を接種するのが最良の累代であつた。

第4章 分離病毒のハムスターへの接種実験

先に表1に於てハムスターの欄で腹腔内接種した患者材料中(+)とあるのは単に肝に病変のみられたもののある事を示したに過ぎず、ウイルスを分離し得たことを意味するものではない。然し他の実験動物は全く病変を示さなかつたので、この分離ウイルスをハムスターに再び接種してみる為次の実験を行つた。

第1節 実験方法

ウイルス感染孵化卵の死亡胎児乳剤の1.0 mlを、生後間もない体重約30g前後の幼若ハムスターの腹腔内に接種し、症状を観察した。

ハムスターは本教室に於て飼育繁殖せしめて、その健康であることを確かめたものを使用し、飲料はなるべく質、量及び投与時間を一定にした。体温測定、血液像の検査、病理組織標本に依る臓器病変の検査、次代接種に際しての培養試験を行つた。尚次代への接種材料は、腹腔内接種後14日目に屠殺し、肝、肺及び脾の混合ブイオン乳剤を作り、10倍稀釈した後、1,500 r. p. m. 20分遠心沈澱した上清を腹腔内に接種したのである。接種方法に就ては、主として腹腔内接種法を行い、皮下接種法、経鼻感染法、経口接種法、肝内接種法及び脳内接種法等も併せ行つてみた。

第2節 実験成績

いづれの接種方法に依つてもハムスターは死亡することはなく、立毛、下痢、発熱、顫立及びその他の症状を認めることはなかつた。ハムスターは全く死亡することがないので接種後10～14日目に屠殺し、

一部臓器をホルマリン固定して病理組織標本とし、一部は接種材料とした。接種材料中からは培養に依つて他に何ら病原体らしきものを認めなかつた。病理組織学的には写真に示す如く肝臓に於て著しく、グリソン氏鞘附近の円形細胞浸潤の著しい像と、肝実質の高度の変性壊死が、その特徴であつた。星芒細胞の増加に可成りみられ、肺に於ける胞隔炎もみられた。而して他の臓器には差程著変は認められなかつた。これらの病変がハムスターに於ける感染標

識と考えられ、この病変は森本株に於ては14代、河本株では12代に及んでも尚認められた。然し成熟ハムスターに於てはこの病変は極く微弱か全く認められない程度であつた。勿論対照の健康乳剤接種群には、これらの病変はみられなかつた。封入体は現在迄のところ認めてはいない。

ハムスターに接種した鶏胎乳剤の関係は表5に示す如くで、いつれの株も累代数は異つてはいない、同じ所見を示した。

表 5 ウイルスの由来及び性状

病 毒 株	分 離 材 料	分 離 年 月 日	孵 化 鶏 卵 累 代 数	動 物 感 染 試 験
金 光 株	急性肝炎患者 糞便 (発病後2週間)	1953.1.21	52	ハムスター (+)
河 本 株	急性肝炎患者 血清 (発病後1週間)	1953.8.12	57	ハムスター (+)
森 本 条	中等症肝炎患者 血清 (発病後2週間)	1953.9.24	41	ハムスター (+)
石 原 株	急性肝炎患者 肝臓 (死亡直後)	1954.6.2	14	

又ハムスターから孵化鶏卵への復元接種を3代目毎に行つたが可能であつた。

その他の接種方法では皮下接種法が同程度に病変を示し、他の接種法は陰性であつた。

斯の如く孵化卵に依り分離したウイルスは幼若ハムスターに感受性を有しているの、孵化卵系のこれらのウイルスを、ハムスターに接種したものと、患者材料を直接ハムスターに接種したものとに就て比較してみた結果は、表6に示す如く、直接系では、時に初期のみ病変が認められ、2~3代後は次第に減弱し遂に消失する。

第5章 考 按

各種伝染病々原体の研究に当り、その病原体を分離累代することは極めて重要なことは言を俟たないが、ウイルスの如く生体外で増殖させることの出来ないものでは、感受性の高い動物を選択し、分離の目的を達すると共に累代固定を行い、長期間に亘りウイルスを保存することが望まれるわけである。

殊に流行性肝炎の病原体を分離するに当つても、実に多くの実験動物が使用され、又接種方法等に就ても多くの報告が存在するが、いずれも確実性に乏

表 6 ハムスターに依るウイルス分離試験

系別	氏 名	経 過	材 料	累 代	病 理 組 織 所 見
患 者 系	小林	死亡	肝	5	3代目迄 +
	橋本	"	肝	5	初代 +
	"	"	尿	2	-
	矢部	軽症	血液	4	3代迄一其後減弱
	南	"	"	2	-
	金光(ウ)	中等症	糞	4	2代迄 +
	河本	"	血液	5	3代迄一其後減弱
	金光(保)	軽症	糞	2	-
孵 化 卵 系	森本	中等症	血液	4	2代迄 +
	難波	軽症	"	2	初代 +
	河本	中等症	"	6	腹腔内皮下接種 +
	森本	"	"	6	"
	金光	"	糞	6	"

しく、たとえ陽性結果を報告した者も、後になつて取消すことが多い状態である。

著者も岡山県に発生した流行性肝炎患者から病原体を分離する目的で、種々実験を行い、孵化鶏卵に依り分離したウイルスは、胎児乳剤に依る累代接種で、常に3~5日で胎児を死亡させる性質を数十代

に亘つて保つことが出来た。この分離に際しては、患者材料を接種後直ちに胎児の死亡が認められても、雑菌類を証明しない限り、事故死又は技術的過失に依るものとは思わずに、繰返し繰返し累代を続行していくことである。

この分離ウイルスは、接種卵の孵化日数として、胎児の死亡し難い孵化日数12日位のものを用いるよりは、胎児の生死で感染の有無を判定する日数の浅い孵化7日前後のものを用いることが望ましい。

又、幼若ハムスターに対して、孵化卵系のこのウイルスは感染するが、患者材料からの直接系では、分離が困難であるという事実は、或る程度このウイルスが孵化卵により馴化固定されたものに依る事以外の何者でもない。

著者は流行性肝炎患者材料から、兎に角或る種のウイルスを数例分離することに成功した。然しこれが果して流行性肝炎の病原体であると断定するわけにはゆかないが、少なからず患者と関連性のある病原ウイルスを得たものと信ずる。

結 語

流行性肝炎の病原体を分離する目的で、患者材

写 真 説 明

写真 1) 森本株 4 代目ハムスターの接種後 2 週間目の肺臓で胞隔の肥厚を示す。

写真 2) 森本株 9 代目ハムスターの接種後 2 週間目の肝臓で、グリソン氏鞘附近の円形細胞浸潤と、肝細胞の変性壊死を示す。

料の血液、尿、糞便、肝、脾及び胆汁等を用いて、各種実験動物に接種した。その結果血液、糞便及び肝から数株のウイルスを分離した。これらのウイルスは全て孵化鶏卵培養法に依つてのみ分離することが出来、他の動物は全て陰性であつた。尚このウイルスは孵化 7 日卵の漿尿腔内接種法に依り、胎児乳剤での累代が可能であり、幼若ハムスターに接種して、ハムスターの死亡することはないが肝に於て見られるグリソン氏鞘附近の円形細胞浸潤と、強度の変性壊死はその感染標識である。肝乳剤に依る累代も可能であり、孵化鶏卵への復元接種も可能であつた。

(参考文献は第 3 編の末尾に一括記載する)

稿を終るに当り、終始御懇篤なる御指導を仰いだ村上栄教授に対して深く心より感謝致す次第である。

Studies on the Pathogenic Agent of Infectious Hepatitis in Okayama
Prefecture, Particulary on the Virus Isolated by the
Embryonated Hen's Egg

I: Isolation of virus

By

Jutaro Tawara

Department of Microbiology, Okayame University Medical School
(Director: Prof. Dr. Sakae Murakami)

To isolate the pathogenic agent from the patients of infectious hepatitis in Okayama Prefecture, the author inoculated patient materials into various sorts of laboratory animals. The results are briefly summarized as follows:

1) By inoculation of the patient blood, the feces and the liver emulsion into the embryonated hen's egg, a few strains of virus could be isolated. The inoculation by the chorio-allantoic route gave the most excellent result, and the serial passge could be well carried out by the infected chick-embryo.

2) The hamster did not succumb to inoculation of the virus habituated to the chick-embryo. In the liver, however, high degree of degeneration and round cell infiltration around Glisson's sheath were observed, which could be regarded as the mark of infection. The reinfection from the hamster to the chick-embryo could be also well established.

俵 論 文 附 図

写真 1

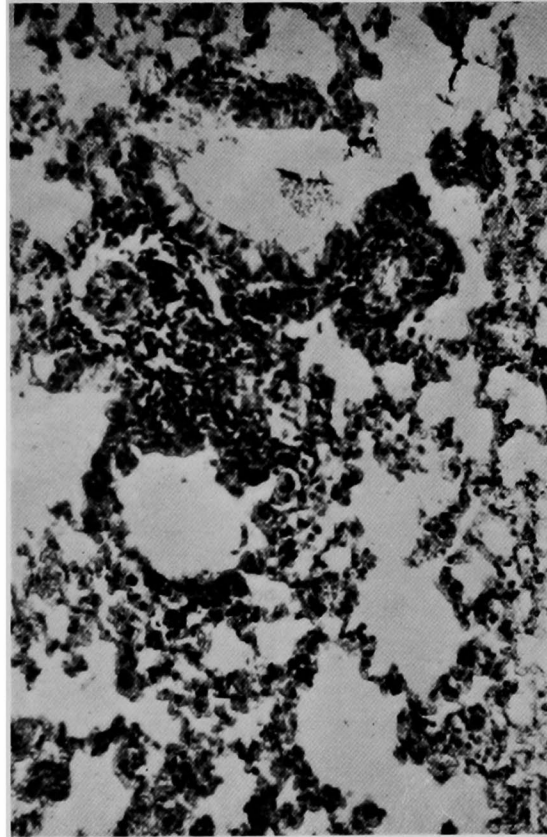


写真 2

