

# 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 3 編

### 免 疫 血 清 学 的 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 章 中和試験

##### 第 1 節 実験方法

##### 第 2 節 実験成績

#### 第 2 章 皮内反応

##### 第 1 節 実験方法

##### 第 2 節 実験成績

#### 第 3 章 血球凝集反応

##### 第 1 節 実験方法

#### 第 2 節 実験成績

#### 第 4 章 Absättigungsversuch

##### 第 1 節 実験方法

##### 第 2 節 実験成績

(附) 他のウイルスとの鑑別

#### 第 5 章 考 按

#### 結 語

#### 引用文献

#### 緒 言

ウイルスの免疫血清学的研究には、中和試験、補体結合反応、Absättigungsversuch、血球凝集反応、皮内反応及びその他諸種の方法が行われ、これらは主として、ウイルスの同定及びそれら相互間の抗原性の比較試験等に應用されている。然し、これらの方法は全て一長一短を有し、その価値に就ては、種々論議されつつある。

即ち、同定のために行われるこれらの免疫血清学的検索の重要性とその信頼性は、供試されるウイルスの本質に依つても可成り異つている。殊に中和試験は、ウイルスの免疫血清学的研究方法の中でも、その応用範囲が広く、それぞれ交叉的に中和試験が行われ、ウイルス株の異同が論ぜられる。又、これに依り相当詳細な抗原構造の異同も論ぜられるわけで、これらの免疫反応に就ては、Smadel (1948) の綜説がある。

而して、流行性肝炎の免疫血清学的研究に関しては、これ迄病原体の分離確認されているもののなかつた今日では、この方面の報告は極めて少く、従つ

て陽性結果を報じているものは皆無であるといつてもよい。只 Wildführ (1953) が、患者の血清及び胆汁から、孵化鶏卵、ハムスター及びカナリヤを用いて分離したという肝炎ウイルスと、恢復患者血清との間の Absättigungsversuch で陽性結果を得、これら分離ウイルスには、数種の血清学的型別があることを報告しているのは、注目に値する。

著者は、岡山県下の流行性肝炎患者から分離したと思われるこれらのウイルスに就て、血清学的性状の検査並びに該ウイルスと患者との関係を血清学的に実験し、これらが果して流行性肝炎のウイルスなりや否や、その関連性の有無或は他の已知ウイルスとの鑑別等を行う目的で、中和試験、血球凝集反応、Wildführ に依る Absättigungsversuch 及び皮内反応等を行つた。

#### 第 1 章 中 和 試 験

或る種の未知ウイルスが、中和試験に依り同定されるためには、未知ウイルスの一定量が、既知ウイルスに依つて免疫された免疫血清中の抗体の一定量で、過不足なく中和され、ウイルスの病原性が滅殺

されるか、或は不活化されるかに依り、感受性の高い供試動物の感受性臓器に接種されても、何ら感染を起さないことにある。

而して、流行性肝炎ウイルスに於ては、未だ確認決定されたものない現在、その中和試験に関する報告は少く、荒川・多ヶ谷 (1951) が患者の血液及び尿をマウスの脳内に接種して分離したウイルスで、患者1ヶ月後の血清が8代目の病毒に、極く弱い乍ら中和関係を示したという報告と、又 Henle 等 (1950) が、中和試験には失敗したという報告があるに過ぎない。

第1節 実験方法

中和試験に用いた抗原は、孵化鶏卵に依り累代中の病毒株で、その作製法は、感染死亡直前の鶏胎児の10%生理的食塩水又はブイオン乳剤を作り、更にいずれも 3,000 r. p. m. 30分間遠心沈澱し、上清を 100 LD<sub>50</sub> の値になる稀釈抗原として使用した。

使用した患者血清は、流行性肝炎患者の恢復後2週から50週迄の恢復者血清で、対照としては既往歴の全く無い健康人血清を用いた。

抗原及び血清の感作術式は、これらの血清の10倍階段稀釈した試験管列を作り、その各々に血清と等量の抗原を加え混和し、37°C に2時間静置後、その 0.1 ml づつを、1群3個宛の孵化7日卵に漿尿腔内接種し、37°C で培養を続け、胎児の死亡を以て判定標識とした。尚、血清と抗原の感作方法とし

て、氷室内で2時間感作させたもの、及び 37°C に1時間静置後、氷室中に1時間静置したものに就ても比較検討を加えてみた。

第2節 実験成績

結果の一部を示せば表1-A及び1-Bの如くで、中和指数50以上を示したものを完全陽性として考えれば、前者の表では、4回行つた結果、中和指数50を示したものが2例、1000を示したものが1例であり、50を示したものは恢復後30週以上も経過しているに拘らず陽性を示し、恢復後41週を経過して1000を示したのに至つては、正に驚くべきである。斯の如く、長期間中和抗体を有している者のいる反面、その他の者の血清では、陰性の結果を示した。この事は流行性肝炎ウイルスに免疫学的な型別のあることを示すものかどうかという事が、1原因と考えられ、重要且つ興味のある問題であるが、目下は不明である。又、更に他の原因としては、その場合の対照の LD<sub>50</sub> が高い値を示したことに依るのも明かな原因である。4回行つた対照血清が、悉く異つた LD<sub>50</sub> を示したことは、健康人血清中にも或程度の抗体を有する者のあることを、意味するものと考えられる。故に健康人血清の選択には慎重を要するわけである。

次に、後者の表では、患者高〇敏〇の血清を2週間毎に採取して、中和抗体の消長を比較したのであるが、第2週 of 血清で中和指数が100、第4週で52と100、第6週で250を示し、恢復後日数の経過に従

表1-A 孵化鶏卵に依る中和試験 (河本株)

患者血清	ウイルス稀釈 恢復後(週)	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-7</sup>	10 <sup>-8</sup>	10 <sup>-9</sup>	10 <sup>-10</sup>	LD <sub>50</sub>	中和 指数
		高 〇 敏 〇	2	●●●	●●●	●●●	●○○		
内 〇 小 〇	41	●●●	●○○	●○○	○○○	○○○	○○○	-6.1	1000
川 〇 勇	15	●●●	●●●	●●●	●●●	○○○	○○○	-8.5	4
対 照 血 清		●●●	●●●	●●●	●●●	●●○	○○○	-9.1	—
竹 〇 孝	50	●●●	●●●	●●●	●●●	●○○	○○○	-8.1	0
川 〇 勇	15	●●●	●●●	●●●	○○○	○○○	○○○	-7.5	20
対 照 血 清		●●●	●●●	●●●	●●●	●○○	○○○	-8.8	—
飯 〇 龍	35	●●●	●●○	●○○	○○○	○○○	○○○	-6.5	3
難 〇 シ ヅ 〇	45	●●●	●●●	●●○	○○○	○○○	○○○	-7.1	0
対 照 血 清		●●●	●●○	●●●	○○○	○○○	○○○	-7.1	—
藤 〇 ア キ 〇	41	●●●	●●●	●●○	●●○	○○○	○○○	-7.8	0
西 〇 チ エ 〇	36	●●●	●○○	○○○	●○○	○○○	○○○	-6.1	50
山 〇 正 〇	32	●○○	●●●	●○○	○○○	○○○	○○○	-6.1	50
対 照 血 清		●●●	●●●	●●○	●●○	○○○	○○○	-7.8	—

表1—B 孵化鶏卵に依る中和試験 (森本株)

患者血清	ウイルス稀釈度						LD <sub>50</sub>	中和指数
	恢復後(週)							
	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-7</sup>	10 <sup>-8</sup>	10 <sup>-9</sup>	10 <sup>-10</sup>		
高○敏○	●●●	●●○	●○○	●●○	○○○	○○○	-7.1	100
対 照 血 清	—	—	—	—	—	—	-9.1	—
岸 ○ 郎	●●●	●●●	●●●	●●○	○○○	○○○	-8.5	—
対 照 血 清	—	—	—	—	—	—	-8.1	—
小 ○ 田 ○ 五	●●●	●●●	●●●	●●●	○○○	○○○	-8.5	0
沢 ○ 勝 ○	●●●	●●●	●●●	●●●	○○○	○○○	-8.6	0
高 ○ 敏 ○	●●●	●●○	●○○	●○○	○○○	○○○	-6.8	52
対 照 血 清	—	—	—	—	—	—	-8.5	—
高 ○ 敏 ○	●●○	●●●	●○○	○○○	○○○	○○○	-6.5	100
西 ○ 重 ○	●●●	●●●	●○○	○○○	○○○	○○○	-7.5	10
松 ○ 博	●●●	●●●	●○○	●●○	○○○	○○○	-7.8	5
対 照 血 清	—	—	—	—	—	—	-8.5	—
高 ○ 敏 ○	●●○	●○○	●○○	○○○	○○○	○○○	-5.1	250
中 ○ 博	●●○	●○○	●●○	●●○	○○○	○○○	-6.8	5
対 照 血 清	—	—	—	—	—	—	-7.5	—
江 ○ 裕 ○	●●●	●●○	●○○	○○○	○○○	○○○	-6.5	0
森 ○ 美 ○	●●●	●●○	●○○	○○○	○○○	○○○	-6.5	0
対 照 血 清	—	—	—	—	—	—	-6.8	—

つて抗体の量が増加しているものと思われる結果を得た。然し、第2週で100を示したものが、第4週で52と100に、低下或は同程度であつたのは、やはり、第2週の時の対照血清が純粹に近い健康人血清であつた事も、1原因として考えねばならない。故に若し、第4、6週の時に行つた実験の対照のLD<sub>50</sub>が、第2週の時に行つた実験と同じLD<sub>50</sub>を示したとしたら、更に陽性度の上昇を恢復後の日数の経過に従つて示したことになる。

いづれにもせよ、健康人血清対照よりも、中和の傾向を示したことは事実であつて、中和試験の結果は陽性結果を示したものとみてよいと考えられた。

## 第2章 皮内反応

微生物に依る患者の皮内反応に関しては、反応原として微生物自体、微生物体の抽出物乃至体内毒素等が使用されている。その目的は、局所に発現されるアレルギー現象を観察する場合と、生体に産生された中和抗体又は抗毒素による中和作用をみる場合と、反応原の病原性乃至毒作用を定量的に観察する場合に應用されるのが主なるものである。

ウイルスの分野に於ては、それ自体を反応原とす

る皮内反応に就ての先人の業績は少い。然しながら、ウイルスに起因する疾病の診断なり、免疫学的分野の研究には、皮内反応は必要なる実験である。

著者は、孵化鶏卵に依り分離したウイルスの同定、患者免疫との関係、更には診断にも役立つのではなからうかという目的のもとに、次の実験を行つた。

### 第1節 実験方法

使用ウイルス株は、患者材料の血液から分離した森本株、糞便からの金光株及び肝臓からの石原株である。

抗原作製法は、感染漿尿腔、羊水、鶏胎児及び接種後7~10日目の幼若ハムスター肝をそれぞれ10%生理的食塩水乳剤とし、3,000 r. p. m. 30分間の遠沈上清に、いづれも0.1%の割にホルマリン又はマーゾニンを加え、更に生理的食塩水で50倍乃至150倍に稀釈したものを、4°Cに7日間保存後使用する方法である。対照抗原は勿論非感染材料と同様処理したものである。

患者は罹患中及び恢復各時期の者で、左前膊皮内には被検抗原を、右前膊皮内には対照抗原をそれぞれ0.1 ml 宛接種し、12、24、36及び48時間後に、発赤部直径の大きさを読み判定した。患者は小坂内

科入院患者及び赤磐地区の患者で、健康人対照は岡山市内の者である。尚反応実施に際しては、これら不活化抗原に病原性の既に存在しないことを、孵化鶏卵培養法に依り検討して後に使用した。

## 第2節 実験成績

石原株の鶏胎児乳剤を抗原としたものに就ての成績を示せば、表2の如くで、流行性肝炎患者7名に就き、その症状の経過に依り、患者を重症者、中等

表 2 皮 内 反 応

抗 原	患 者 名	経 過	24 時 間 目		48 時 間 目	
			抗 原	対 照	抗 原	対 照
石 原 株	高 橋	肝炎 重症 無熱期 4ヶ月	0×0 <sup>mm</sup>	0×0 <sup>mm</sup>	0×0 <sup>mm</sup>	0×0 <sup>mm</sup>
	望 月	肝炎 中等症 無熱期 5ヶ月	22×14	7×4	0×0	0×0
	松 尾	肝炎 軽 症 無熱期 7ヶ月	30×21	22×15	44×34	33×17
	河 原	肝炎 重症 無熱期 18ヶ月	32×26	6×15	5×3	4×8
	渡 辺	肝炎 重症 無熱期 36ヶ月	34×25	13×13	8×10	7×10
	小 林	肝炎 軽 症 恢復期 7ヶ月	21×16	6×5	5×3	0×0
	上 野	肝炎 軽 症 恢復期 4ヶ月	3×2	5×4	0×0	0×0
	小 川	対照 肝 硬 変 症	4×4	4×3	2×2	1×1
	種 坂	対照 肝 硬 変 症	8×9	5×6	5×7	3×2

症者及び軽症者に分け、更に抗原接種時の状態に依り、恢復期の者と尚罹患中無熱期の者とに分けて検べたものである。

その結果、抗原接種部の発赤は、接種後24時間目に最も大きく現われ、その大きさを測定した値は、●抗原使用側に見られた皮膚の発赤が、対照抗原使用側に見られたものに比較して、可成り大きく現われたことを示したし、又、対照患者である肝硬変症患者に於ては、差程著明な差を両者間に認めることは無かつた。更にこの発赤は、48時間値に於て、わづかに1例の患者が、24時間値よりも一層増大した値を示した以外は、いづれも大きさは減少し、而も抗原使用側と対照抗原使用側との間に大差を認めることが出来なかつたか、或は共に全く消失してしまつて、その存在を認めることが出来なかつた。この外に抗原として使用した森本株、河本株及び金光株に於ても、同様の結果が得られ、又抗原材料のハムスター肝乳剤、鶏卵漿尿腔液及び羊水に於ても同様の傾向が見られた。

然しこの皮内反応法に関しては、今後種々の検討を必要とする点が甚だ多い。即ち、対照抗原を接種した場合に於ても、又、対照患者に於ても、抗原側に比較して可成りの差はあるにせよ、同種類の発赤を示したことであつて、この事は抗原の作製に當つて使用した不活剤のホルマリン、或いはマーゾニン等に依る反応も、その1原因をなすものと考えられるし、個体差に依る反応結果の相違等も考えられる

であろう。更には、それに伴う抗原の作製法、濃度、接種量及び反応測定時間の問題等に改良を加えるべきであると考えられるからである。

然し乍ら、以上の結果から考えて、この方法に依つた皮内反応抗原は、流行性肝炎患者との間に、或程度の関連性のあることを示したことだけは、充分うなづける結果を得たものと信ずる。

## 第3章 血球凝集反応

ウイルス学の領域に於ける血球凝集反応は、インフルエンザウイルスに於ける Hirst 現象の発見以来、その他多くのウイルスに於て、診断、同定及び精製等に応用せられ、又、これらの研究に重要視されている血清反応の一つである。著者が流行性肝炎患者から分離したこれらのウイルスが、若し、血球凝集反応陽性であれば、免疫血清及び恢復患者血清に依る凝集抑制反応も可能であり、同定に役立つのみならず、患者の免疫に関する研究及び診断も容易になる筈である。この目的のために、対照群には常に MNI 群のニューカッツルウイルス、インフルエンザウイルス及びエクトロメリヤウイルスを使用して、血球凝集反応を行つた。

### 第1節 実験方法

抗原には分離した株のウイルスに就て、鶏卵培養に依るものは漿尿腔内接種後3日目から胎児死亡直前の7日迄の漿尿腔液、羊水及び胎児を採取し、胎児のみは10%生理的食塩水乳剤の 3,000 r. p. m. 30

分間遠沈した上清を用い、幼若ハムスターに依るものは、腹腔内接種後 7, 10, 14日目の肝を同様処理した遠沈上清を用いた。

赤血球浮游液は、生理的食塩水で1—3回洗滌し、0.25%の生理的食塩水浮游液としたものを使用した。

反応術式はインフルエンザウイルスの血球凝集反応術式に従つた。即ち1例の試験管10本に、生理的食

塩水で抗原の2倍階段稀釈液を作り、その0.5 mlに血液浮游液0.5 mlを加え混和し、各種の温度下に静置し、2時間後の管底像を以て判定し、陽性を(+), 陰性を(-), その中間を(±)とした。

### 第2節 実験成績

数多く行つた鶏赤血球凝集反応成績の1例を示せば表3の如くで、これは抗原として3株に依る感染

表 3 鶏 赤 血 球 凝 集 反 応

ウイルス	稀 釈 度	判定時間	10	20	40	80	160	320	640	1280	2560	生理的食塩水対照	
分 離 株	金光株	I	2時間	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
			4 "	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	河本株	I	2 "	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
			4 "	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	森本株	I	2 "	(±)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
			4 "	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	II	2 "	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		4 "	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
対 照	ニューカッスルウイルス		2 "	卅	卅	+	+	+	±	±	-	-	-
			4 "	卅	+	+	+	±	-	-	-	-	-
	エクトロメリヤウイルス		2 "	卅	卅	卅	+	+	+	±	±	-	-
			4 "	卅	卅	+	+	+	+	-	-	-	-
健康鶏胎児	I	2 "	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		4 "	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	II	2 "	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
		4 "	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

後5日目の死亡直前の鶏胎児乳剤の遠心沈澱上清を用い、室温に於て作用させたものの結果である。即ち、対照の血球凝集性ウイルスとして用いたニューカッスルウイルス及びエクトロメリヤウイルスは、常に判然たる陽性結果を示したのに反して、分離ウイルス群は、2時間値に於ても4時間値に於ても、いづれも陽性凝集像を全く示さず、健康鶏胎児乳剤に依る対照と全く同一の陰性像を示した。

その他の抗原杯料として、ハムスター肝乳剤及び鶏卵の漿尿腔液及び羊水等を用いたものに就ても比較検討し、又、それら各々の材料を感染後の日数別

に採取精製したものに就ても実験を試みたが、いづれも同一結果であつた。

更に反応温度を0°C, 4°C及び室温の3段階に分けて行つた実験も、赤血球浮游液作製時の血球洗滌を、1回、2回及び3回の洗滌回数別に分けて行つた実験も、共に何等の変化を示さなかつた。

兎に角、これら分離ウイルスの鶏赤血球凝集反応は、如何なる方法を試みても、対照と全く同一の陰性結果しか得られず、これらに鶏赤血球凝集能の存在しないものであることを知つた。

## 第4章 Absättigungsversuch

Wildführ (1953) は、彼が流行性肝炎患者から分離したウイルスに対する血清反応の一方法として、ハムスターに依る Absättigungsversuch を行い、陽性結果を得たと報告している。而してその他にはこの種の報告に接していない。

著者の分離したウイルスも、幼若ハムスターに感染して病変を起すことは、第1編に於て述べたところであり、Wildführ に従つて、これら分離ウイルスと恢復患者血清とに依る Absättigungsversuch を行つてみた。

## 第1節 実験方法

実験に使用したハムスターは、生後1ヶ月以内35g程度の幼若なものであり、抗原は幼若ハムスターで累代中のものの中、腹腔内接種後7日目の肝で、これを10%生理的食塩水乳剤として後、3,000 r. p. m. 30分間遠沈した上清である。

術式は、先づ恢復患者血清の10倍階段希釈を行い、その各稀釈群毎に3匹宛の幼若ハムスターを用いて、各々に稀釈血清 1.0 ml 宛を皮下接種し、4時間経過後に抗原の 1.0 ml 宛を腹腔内接種する方法である。結果の判定は、接種終了後14日目にハムスターを屠殺し、肺及び肝の病理組織標本に依る感染像を鏡検比較する方法である。対照の健康人血清には、極力未汚染者を選ぶため、幼児血清等をも用いた。

## 第2節 実験成績及び鑑別

森本株に依る Absättigungsversuch の結果は表4に示す如くで、ハムスター免疫血清との間には、明らかに中和を示したが、恢復者血清50週間目のもの及び18週間目のものでは、健康人血清対照のものと同稀釈度迄同一病理組織所見を示し、又、2名の泉熱患者血清との間のものとも、同じ程度であつた。

この外に、孵化鶏卵に依る中和試験で陽性結果を示した恢復者血清を使用した場合に於ても、Absättigungsversuch では、陽性結果を得られない例がみられた。故に、この方法には、更にその操作に、或は判定方法に、工夫を要するか、又は多くの血清に就て行う事により、良い結果を得られることとなるかも知れないが、現在のところでは、斯の如き結果のみが得られ、余り希望の持てるものとは思われなかつた。

以上の如き結果であるが、これらのウイルスが鑑別されるべき他のウイルスとしては、孵化鶏卵培養

表4 Absättigungsversuch

患者名	病名	血清 恢復後 日(週)	ハムスター	
			番号	病理所見
富田	肝炎	50	No. 1	++
			No. 2	+++
望月	肝炎	18	No. 3	+++
			No. 4	+++
矢部	泉熱	9	No. 5	+++
			No. 6	++
小引	泉熱	10	No. 7	+++
			No. 8	+++
対照	健康人	—	No. 9	+++
			No. 10	+++
対照	ハムスター 免疫血清 健康 ハムスター	4	No. 11	++
			No. 12	—
対照	健康 ハムスター	—	No. 13	+++
			No. 14	+++

に依る累代の可能なところから考えて、ユーカウスウイルス及びインフルエンザウイルスと比較すべきであるが、これら両者は血球凝集反応が陽性であるために、容易に区別することが出来るし、又、エクトメリヤウイルスが肝炎に似た症状を起すが、これも血球凝集反応が陽性であり、マウスに感染させた場合、マウスを死亡させ、封入体をみる事が出来るので、鑑別は容易である。

次に、マウス肝炎ウイルスは、最も注意すべきものとするが、哺乳マウスのみで感染が可能であり、孵化鶏卵培養は陰性であつたので、これとの区別も出来た。戦後流行のよくみられる泉熱とは、患者症状及び流行状態に似たところがあるが、泉熱の病原体の確定されていない今日、そのいづれと比較して良いのか甚だ困難であるが、当教室、大日方の分離したウイルスでは、孵化鶏卵培養の困難であつたことから、これも除外することが出来た。

## 第5章 考 按

病原体未知の伝染性疾患から、新たに病原体を分離した場合、それらと患者又は恢復者血清との間に免疫血清学的実験就中、中和試験に依り陽性結果を得ることは、同定えの必要条件である。

流行性肝炎ウイルスと恢復者血清との間の中和試験に関しては、荒川・多ヶ谷(1951)は血液及び尿をマウスの脳内に接種することに依り得たウイルスが、患者1ヶ月後の血清で8代目の病毒が極く弱い中和関係を示したと報告し、Henle (1950)等は、彼等の分離ウイルスで、人体復元接種に依り陽性結果を得たのに、中和試験及び補体結合反応は、共に失敗したと報告した。そしてその他にこの種の報告をみ

ない。斯の如く、流行性肝炎ウイルスの中和試験は、甚だ困難なるものなることが良く判るが、Wildführ (1953) の Absättigungsversuch で陽性結果を得たと報じているのは、注目に値する。著者は、幼若ハムスター及び孵化鶏卵を用いて中和試験を行つたが、幼若ハムスターに依る中和試験では陽性結果を得ることは出来ず、孵化鶏卵を用いた中和試験では、明かに中和を示したものがみられた。

結局、これ迄の中和試験結果に、陽性結果の報告の少いのは、種々の原因もあろうが、その一つには、孵化鶏卵に依る如く、実験動物の死亡を以て結果を判定するのではなく、病理組織変化を以て比較決定するのであるから、判定に少々難点のあることが大きな原因として考えられる。この事は、幼若ハムスターを用いた Absättigungsversuch に於ても同様であつた。

次に患者の皮内反応であるが、ウイルスに起因する疾病の診断なり、免疫学的分野の研究に必要な皮内反応は、その実施方法も比較的簡易であるのに拘らず業績は少い。流行性肝炎の皮内反応は、石井 (1954) の報告をみるのみである。著者は、分離ウイルスの同定或は患者免疫との関係を知ることをのみ目的で皮内反応を行つたが、その結果大いに関連性を有する病原体なることを証明する結果を得た。そして、反応原として如何に処理された材料を供するかを解決することに依り、或は将来診断に役立つようになるまでに到るのではないかと考えられた。

尚、藤原 (1957) が行つた補体結合反応の結果も陽性であつたことから、これらの分離ウイルスは、岡山県下に発生した流行性肝炎の病原体と考えて間違ひはないと信ずる。但し流行性肝炎なる疾患を起す病原体には、その流行に依り、地域に依り、更に異つた数種類のウイルスが存在するのも知れないし、或は血清学的に異なる型が存在するのも知れない。

## 結 語

岡山県下に発生した流行性肝炎患者材料から、孵

化鶏卵培養法に依り分離したウイルスの免疫血清学的実験を行つて、次の事を知ることが出来た。

即ち、幼若ハムスターを用いて行つた流行性肝炎恢復患者血清との中和試験、及び Absättigungsversuch に於ては、陽性結果を得ることが出来なかつたし、又、この場合の結果の判定も、病理組織変化を比較することを以て行うために、やや困難でもあつた。然し乍ら、胎児の死亡を以て感染標識とする孵化鶏卵を用いて行つた恢復患者血清との中和試験に於ては、結果の判定が容易であり、しかも明かに中和を示すものがあつた。

又、これらの感染臓器から精製したウイルスを抗原とする流行性肝炎患者の皮内反応に於ても、対照抗原との間に、明かに差異を認め、流行性肝炎と関係のあることが判つた。

しかも更に、鶏赤血球を以てする血球凝集及応では、如何なる工夫を加えてみても、陰性の結果しか得られなかつた事は、類似する多くの他のウイルスとの鑑別を容易にすることが出来た。

流行性肝炎なる疾患の病原体には、その流行に依り、又、地域に依り、多くの種類のウイルスが存在するのも知れない。然し乍ら、これ迄の実験結果から考えて、兎に角これらの分離ウイルスは、岡山県下に発生した流行性肝炎患者から、その病原体として分離したウイルスであると考えられる結果を得たと信ずる。

稿を終るに当り、終始御懇篤なる御教示を賜つた村上栄教授に心からの謝意を表する次第である。又、小坂内科教室の小坂淳夫教授には、患者材料及びその他の諸事に、病理学教室の浜崎幸雄教授には病理組織の鑑定等に多大の御援助と御指導を賜つた。併せて厚く謝意を表する次第である。

## 引 用 文 献

- 1) 北岡正見：医学の進歩，1，638，(1942)
- 2) 弘好文，田坂重元 児科雑誌，47，975，(1941)
- 3) 北岡正見 日本内科学会誌，31，185，(1943)
- 4) Voegt, H. Munch med. Woch., 89, 76, (1942)
- 5) Cameron, J. D. S. : Quart. J. Med., 12, 139, (1943)
- 6) Havens, W. P. J, A. M. A., 126, 7, (1944)
- 7) Oliphant, J. W. : Pub. Health Rep. Wash., 59, 1614, (1944)

- 8) Mac Callum, F.O. : Proc. Roy. Soc. Med.,  
37, 449, (1944)
  - 9) Findly, G.M. : Lancet, 2, 594, (1945)
  - 10) Neefe, J.R. : J. A. M. A., 128, 1063, (1945)
  - 11) Francis, T. : Proc. Soc. Exp. Biol. N. Y.,  
61, 276, (1946)
  - 12) 北岡正見 : 総合医学, 31, 1344, (1943)
  - 13) 操坦道, 山田泰 : 日本伝染病学会誌, 18, 461,  
(1944)
  - 14) 坂本陽, 他 : 病理学雑誌, 4, 47, (1946)
  - 15) 荒川清一, 多ヶ谷勇 : 日本医学, 3407, 146,  
(1951)
  - 16) 原 享 : 総合臨床, 2, 10, 1000~1011,  
(1953)
  - 17) 柏木 胖 : Virus, 3, 190, (1953)
  - 18) 城谷 : 第二回, 肝炎シンポジウム, (1955)
  - 19) 森 喜一 : 第二回, 肝炎シンポジウム (1955)
  - 20) 谷口臙二 : Virus 3, 189, (1953)
  - 21) 久保 : 第二回, 肝炎シンポジウム, (1955)
  - 22) Colbert : Proc. Soci. exp. Biol. a. Med. 79,  
339, 1951.
  - 23) Henle, W., Harris, S., Henle, G., Harris.,  
T. N., Drake, M. E., Maugold, E., and Stokes,  
J. : J. Exp. Med., 92, 271, (1950)
  - 24) 木村廉, 堀田進 : 東京医事新報, 66, 307,  
(1949)
  - 25) 藤田 : 日本医事新報, No. 1475, 1713, 1953.
  - 26) Wildführ, G. : Zeitscher. f. d. Ges. innere  
medizin. 573, (1953)
  - 27) 北岡正見 : 臨床医学, 3, 172, 198, (1946)
  - 28) 石井潔, 山本裕夫, 辻野一秋 : 日本内科学会誌,  
42, 337, (1953)
  - 29) 金丸 準 : 臨床と研究, 29, 420, (1952)
  - 30) 山本裕夫 : 日本内科学会誌, 42, 337, (1953)
  - 31) Andersen, T. T. and Tulinius, S. : Actam de  
Scandinav, 95, 467, (1938)
  - 32) 原 享, 柏木 胖 : 日本医事新報, 1475, 27,  
(1952)
  - 33) Siede, W. and Luz : Klin. Wehnscher, 22,  
70, (1943)
  - 34) Dresel, E. Meding, B. and Weineck, E. Z. :  
Immunif., 108, 129, (1943)
  - 35) Mac Callum and Miles, J. A. R., Lancet., 3,  
(1946)
  - 36) 武内忠男 : 日伝会誌, 27, 247, (1953)
  - 37) 小林健三 : 日伝会誌, 27, 247, (1953)
  - 38) Verlinde, J. D. : Ned., Tijdscher, Geneesk.,  
90, 1309, (1946)
  - 39) Siede, W. and Meding, G. : Klin. Wehnsch.,  
20, 1665, (1941)
-

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

**III: Sero-Immunological Experiments**

By

**Jutaro Tawara**

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

The author studied the sero-immunological characters of the infectious hepatitis virus isolated by the chick-embryo technic. The results are briefly summarized as follows:

1) In some cases of the neutralization test and Absaettigungsversuch, with young hamsters, a pretty high degree of noutralizatiem could be observed, but no definite result could be obtained.

2) With the use of chick-embryos, the neutralization could be well established between the isolated virus and convalescent sera; this fact indicates that the isolated virus is from the patients of infectious hepatitis.

3) The intracutaneous reaction with the antigen prepared from the isolated virus-infected animal organs showed a unequivocal difference to the control. Though further studies are needed, this fact suggests the existence of the relationship between the isolated virus and the infectious hepatitis.

---