

岡山県下に発生せる流行性肝炎 特に その病原体に関する研究

第二編

分離ウイルスの消化管感染に関する研究

岡山大学医学部微生物学教室（主任：村上 栄教授）

大 賀 寿 朗

〔昭和 32 年 3 月 26 日受稿〕

緒 言

流行性肝炎ウイルスの伝染説に就ては種々論議されているが、水¹⁾、牛乳²⁾、食物³⁾等による経口感染が挙げられている。岡山県下に於ける流行性肝炎の発生に際しての小坂⁴⁾、石田⁵⁾の詳細な研究報告には“Fecal oral Route”が強く指摘されている事は注目すべき所見と考えられる。

著者は村上等の分離したウイルスを用いて、従来迄マウスに対する感染方法として採用されている諸種の感染経路に就て実験を行うと共に、新しく消化器感染に就て実験を行い、経口的に投与されたウイルスが速かに肝臓に定着増殖するに至る過程に就て病理組織学的に追究し、消化器感染の成立及び累代の可能である事を知つた。経口的に投与されたウイルスの運命に就ては更に詳細に追究する必要がある。本編に於ては殊に胃及び腸に於けるウイルスの消長に就て実験を進めたので、その大要を報告する次第である。

実験材料及び方法

ウイルス：第一編に述べたウイルス株をそのまま使用した。ウイルスの累代は孵化鶏卵及びマウスを用いて保存され、著者が分譲を受けて以来累代し、夫々のウイルス共に 5 代以上を経過している。

感染方法：第一編と同様に罹患マウス臓器乳剤を調製し、直ちに 2000 r. p. m. 20 min.

遠心沈澱して得た上清をウイルス含有乳剤として使用し、その 10^{-2} 稀釈のものをビニール製の毛細管を附して確実に胃中に挿入し、注射針を直結して 0.25 ml 宛投与した。この際可及的自然の状態でビニール管を挿入し、消化器の損傷を防ぐと共に逆流したものは総て除外し経鼻感染の起らぬ様に努めた。

胃内注入後の処置：ウイルスを先づ経口的に投与したる後 10 分、30 分、60 分と時間をおき、罹患マウスの胃内容を pool しよく混合し、ストレプトマイシン 250mg/ml、ペニシリン結晶液 1000 μ /ml を夫々に混和し雑菌を防ぎ、予め準備したマウスに接種して、胃内に於けるウイルスの消長を検討した。この際対照として pH 7.0、3.0、2.0 と補正した滅菌食塩水をおき夫々にウイルスを混和し、同様マウスに接種してウイルスに対する影響を検した。

腸管よりウイルスの証明：前記と同じ方法にてマウスに肝粗乳剤を注入した後、3 時間、5 時間、12 時間にてマウスを屠殺し、無菌的操作の下に腸をとり出し、滅菌食塩水溶液内に入れて腸を開きこれを数回にわたり洗滌して、腸を大腸、十二指腸、空腸、廻腸、結腸に分けて、夫々にペニシリン 1000 μ /ml、ストレプトマイシン 125mg/ml を加え、夫々を 12000 r. p. m. にて冷却遠心 30 分を行い、その上清を他に予め用意したマウスの皮下に接種して検した。

実 験 成 績

1. 胃内に於ける病毒の運命

ビニール製の小管を通じ胃内に投与した。その結果は表示した如くである (第1表)。

第1表 胃内注入後の分離病毒の消長

		注入後時間		
		10分	30分	60分
胃 内 容		卅	卅	+
対 照 食 塩 水	pH7	卅	卅	+
	pH3	卅	卅	卅
	pH2	+	卅	+

註：病毒は小川株

即ち注入10分経過した後のものに於ける感染は定型的な病理所見を示し、その後30分、60分と時間の推移に伴い病毒の損傷は大きく、次第に病理所見が減少している。対照に於ては pH 2.0 の場合に著しい損傷を受けている。そして pH が酸性に傾く程病毒の損失が大きい。この所見は時末⁶⁾の実験に於て見られた酸性で加熱した場合に於て、病毒の損失が大きいと述べた結果と一致している。

更に胃内に於ける病毒の消長を追究した。その成績は第2表に示した如く、石原、小川株共に共通した性格をもつ所見が認められる。即ち10分後に於てはその感染所見に於て、肝細胞障害 (肝細胞の変性及び壊死) と共に多

第2表 分離病毒の胃液による影響

接 種 後 時 間 病 理 所 見 株 種	肝								肺									
	肝細胞	星 實 質 細胞 浸 潤	星 實 質 細胞 浸 潤	星 實 質 細胞 浸 潤	星 實 質 細胞 浸 潤	星 實 質 細胞 浸 潤	星 實 質 細胞 浸 潤	星 實 質 細胞 浸 潤	肝 鬱	肝 鬱	肝 鬱	肝 鬱	肝 鬱	肝 鬱	肝 鬱	肝 鬱	肝 鬱	肝 鬱
	壊 死	変 性	肥 大 及 増 殖	限 局 性	門 脈 域	間 質 浸 潤	肝 索 解 離	肝 鬱	肝 鬱	肝 鬱	肝 鬱	肝 鬱	肝 鬱	肝 鬱	肝 鬱	肝 鬱	肝 鬱	肝 鬱
石 原 株	10分	卅	卅	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
	30分	-	+	卅	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
	60分	●	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
小 川 株	10分	卅	卅	-	-	-	卅	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	30分	-	卅	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	60分	-	+	+	卅	卅	+	-	+	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅

註. i) 病毒稀釈は 10⁻²
ii) (卅) (卅) (+) (-) 病変の程度を示す。

種なる細胞浸潤 (淋巴様細胞浸潤の場合が多いが単球を含む場合があり、変化が強い時は中性多核白血球を含む) が発現し、また肝細胞の壊死巣の周囲に極めて多数の単球の集簇が見られる場合がある。

肝細胞の変性は極めて強く発来する場合があり、空胞性若しくは顆粒性の変性があり、次第に好酸性の傾向が見られ、核もまた染色性を喪失するに至るもの迄多様の病理学的所見が認められた。これ等の所見と共に星芒細胞の肥大及び増殖が出現し、肝索の解離等の

所見も多い。両病毒共に30~60分に於て、肝炎の特徴とする肝細胞の変性及び壊死の像は漸次減少し病毒の損傷を示している。

2. 腸内に於ける病毒の運命

胃内に注入された病毒が一部は不活化されたとしても、一部は胃を経て更に腸内に侵入すると考えられる。そして時間の経過に伴い次第に内容物と共に下行しつつ漸次吸収されると考えられる。それで時間の経過を追って腸を剔出し、切離した各部分に就て腸壁内病毒の存在を、マウス接種による感染像から病

毒の分布を追究した。

即ち病毒を胃内に注入した後、3、5、12時間と夫々時間をおき、十二指腸、空腸、廻腸、結腸を截り取り、細挫後粗乳剤とし抗生物質を混和して、マウスに接種した後の病理所見を観察する方法によつた。その成績は第3表に示した。

第3表 分離病毒時腸管よりの吸収状況

注入後の時間	部位	十二指腸	空腸	廻腸	結腸
3 時間		-	+	+	+
5 時間		++	+	+	+
12 時間		+	++	++	⊥

- 註. i) 病毒株は小川株
 ii) 投与の病毒稀釈は 10⁻²
 iii) (++) (+) (-) は病変の程度を示す。

即ち3時間に於ける感染程度を見るに、十二指腸では陰性であつたがその他は感染程度に優劣はない。5時間、12時間では何れの部分からも病毒の存在が認められた。而して腸内容物中に存在する病毒によつて、腸各部分の汚染も考えられるので、この成績が直ちに各部腸壁に吸収された病毒によるものと断定せんとするものではないが、腸からの病毒の吸収される事は明かである。

ともあれ此等のマウスの示す病理所見を更に詳細に追究した結果を表示した(第4表)。即ち3、5時間に於ける所見では、腸の各部位に於ける病毒の存在は少いものの如く、病理所見殊に肝臓に於ける所見は乏しい。肝細胞障碍等の所見が殆んど見られず、軽度の細胞浸潤を散見するに過ぎない事は、病毒の存

第4表 腸壁よりの吸収状況

病 理 学 的 所 見		注入後時間												
		3 時間				5 時間				12 時間				
		十二指腸	空腸	廻腸	結腸	十二指腸	空腸	廻腸	結腸	十二指腸	空腸	廻腸	結腸	
小川株	肝	肝細胞壊変	死性	-	⊥	-	-	-	-	-	-	-	-	
		星芒細胞肥大増生		⊥	+	+	+	+	+	+	+	+	⊥	
		実質細胞浸潤	限局性	⊥	++	-	+	++	-	-	+	⊥	++	+
		門脈	区域	-	+	⊥	+	-	-	⊥	+	-	+	⊥
		間質細胞浸潤(グリソン氏鞘)		-	⊥	-	+	++	⊥	⊥	-	-	+	⊥
		肝索解離		-	⊥	-	-	-	-	-	+	+	-	-
	鬱血		-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	
	肺	胞隔炎	-	+	-	++	⊥	+	⊥	+	++	-	++	-
		気管支周囲細胞浸潤	-	-	-	++	⊥	-	-	-	-	-	++	-
		血管周囲細胞浸潤	-	-	-	+	-	-	-	⊥	-	-	+	-
胞隔肥厚		-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	
出血		-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-		

- 註. i) 病毒稀釈は 10⁻²
 ii) (++) (+) (⊥) (-) 病変の程度を示す。

在の乏しい証左ともなろうと思う。5~12時間と経過するに伴い稍病変の増強が見られるが、先の胃内容物の場合に比し弱い所見である。これは恐らく胃そして腸に移行する間に減毒されるものであろうと推測される。

総括及び考察

流行性肝炎病毒の伝染経路に就て消化器感染が重視されているが、岡山県下に爆発的に発生した肝炎の流行についても、その感染経路は Fecal oral Route が挙げられている⁴⁾⁵⁾。

著者は村上等の分離ウイルスを用いて経口感染を行い、その感染は極めて容易に而も確実に成立するものであり、累代も完全に行われる事実を実証した。この事実を更に詳細に検討する意図のもとに、胃内に注入されたウイルス及び腸内に於けるウイルスの運命に就て実験を反復した。著者の経口感染に就ての意図は、兎に角胃内に注入された後ウイルスが胃内容物と混和され、而も次第に稀釈され胃液の混入があつた場合にもその一部のウイルスは不活化されず、腸に送られ吸収され、親和性臓器に定着増殖を営むに至る間の運命を、可及的感染という現象の中で把握したいとの念願であつた。この目的が完全な形で把握されたかどうか疑問はあるが、兎に角一応の消化器内に於けるウイルスの消長に就て論及した。著者の実験成績からすれば、胃内に注入されたウイルスは少くとも1時間以上感染力を保有している。そして3~12時間後の検索によると、この時期に腸壁(空、廻腸)にウイルスが検出される事を確めた。爾後肝臓その他の臓器に定着するに至る迄に、腸壁その他の関係臓器内でウイルスが一度増殖するものであるか、或はただ通過するだけのものであるか、是等の点に就ては次編で述べた。

結 論

流行性肝炎患者より分離したウイルスを用いて経口感染の成立及び累代の可能性を第一編に於て検討し、他の接種方法と比較し容易に而も確実な感染方法である事を報告した。本編では更に引続いて消化器を経て肝臓に至る殊に胃及び腸に於けるウイルスの運命について吟味し次の結果を得た。

1) 胃内に注入されたウイルスは、時間の経過に伴い一部は不活化されるが、一部は残存して腸内に下行していくものと考えられるが、胃内容物よりのウイルスの復原は可能で、マウスに接種する事により感染を確めた。なおウイルスはpHが酸性側に移動するにつれ抵抗性は減少する。

2) 胃を経て腸に移行したウイルスの一部は損失を蒙るものと考えられるが、大略3~12時間で十二指腸、空腸、廻腸、結腸等の腸壁内に充分証明される。ウイルスの腹壁よりの吸収は主に空、廻腸に於て行われる様に推測された。

稿を終るに臨み、終始御懇篤なる御指導と御援助を与えられ御校閲の労を賜つた恩師村上栄教授に深甚なる謝意を表す。

文 献

- 1) Neefe, J. R. and Stokes, J. Jr.: J. A. M. A. 128, 1063, 1945.
- 2) Murphy, W., J. Pst ie L. M. and Work, S. D.: Am. J. Publ. Hlth. 36, 169, 1946.
- 3) Havens, W. P., Jr. Wand, R., Drill, V. A. and Paul, J. R.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 57, 206, 206, 1944.
- 4) 小坂淳夫・日本臨床, Vol. 12, No. 133, 1954.
- 5) 石田立夫: 日本公衆衛生雑誌, Vol. 3, No. 7, 1956.
- 6) 時末聰: 岡医誌第69巻4号, 1957.

**Studies on the Pathogenic Agent of Infectious Hepatitis
In Okayama Prefecture**

II: The course of infection by the alimentary canal

By

Toshio Ohga

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

In the preceding part, the author reported that the alimentary canal was the most favorable and the most certain site for the establishment of infection as compared with others. In the present part, the author studied the course of infection from the administration of virus to its fixation in the liver, paying special attention to that in the stomach and intestine. Mice were used as the test animal. The results were as follows:

1) Some of the virus injected into the stomach were inactivated as the time elapsed, but the rest, not inactivated in the stomach, descended to the intestine. It was possible to recover the injected virus from the stomach. The further the environmental pH went to the acid side, the severer the virus was inactivated.

2) In about 3 to 15 hours after the injection, the virus was clearly proved in the wall of duodenum, jejunum, ileum and colon, through which the invasion of the virus seemed to be carried out.
