

岡山県下に発生した流行性肝炎 特に病原体に関する研究

第二編

分離方法を異にして得られたウイルスの比較的研究

岡山大学医学部微生物学教室（主任：村上 栄教授）

真 鍋 正 富

〔昭和32年6月6日受稿〕

緒 言

既に著者は村上等¹⁾の流行性肝炎患者より孵化鶏卵の累代により肝炎ウイルスに擬すべき一種のウイルスを分離した実験に倣い、同様ウイルスの分離に成功したが、その後孵化鶏卵に馴化しないウイルスの分離がマウスの累代によつて可能である事実を知り、更に肝炎の診断法として応用されている肝臓穿刺器により切除された肝臓の小片を用いて孵化鶏卵培養によりウイルスの分離を行い、又患者材料を直接マウスに接種することによりウイルスを分離し、マウスの病理学的所見により等しい性格をもつウイルスである事実を証明した。

著者は第一編に述べた分離材料及び分離方法を異にして得られたウイルスを用い、殊に本編に於てはその血清学的性状を Wildführ の "Absättigungs-versuch" を応用して詳細に検討すると共に感染防禦試験を併用して免疫血清学的に分離ウイルスの性状を追究した。

実験材料及び方法

供試ウイルス：第一編で述べた著者の分離したウイルス原、小川、青森、野田、佐藤株と肝臓穿刺片より分離したウイルス高取株であり、孵化鶏卵で累代保存中の石原、小川株を除き、マウスの累代で保存されている。之等のウイルス株は総てマウスに定型的な病理所見を招来し、而もその病理学的変化に現われる性状は一般に同一の性格を有すると認めている。

交叉的 "Absättigungs-versuch" : Wildführ の原法に倣つたが、術式と判定要領に於てはその儘を採用出来ないので種々改良を試みた。即ち動物はマウスを使用し、各種の免疫血清 0.25 ml 宛 30 分間隔 2 回皮下接種し、体内に免疫抗体を移し飽和の状態に達せしめた後、生ウイルスを腹腔内に 0.25 ml 宛接種攻撃を行い、ウイルス接種後 14 日及び 21 日後に於ける病理所見を観察し中和の程度を判定した。その実験方法は殆んど村上等の方法¹⁾²⁾³⁾ に従つた。

感染防禦試験：先に数回試みた²⁾³⁾ の方法に倣つた。即ち不活化ウイルスを以て免疫処理した後稀釈ウイルスによりて攻撃した。分離ウイルス々々をマウスに接種したる後、その肝臓を多数 pool したる上、Homogenizer を用いて均等なウイルス含有粗乳剤を作り、Marzonin を 10,000 倍の割に添加して氷室に 3 週間保存し不活化した事を確かめたる後、多数のマウスに接種免疫を行い (ip 0.25, 0.3, 0.3 ml 3 回 5 日間隔)、一定期間後生ウイルス 0.3 ml 宛接種攻撃を行つた。その判定要領は専ら病理所見に従つた。

免疫血清調製：マウス免疫血清の調製は予め準備したマウス夫々 150~200 匹宛分離ウイルス乳剤を 3 日間隔 5 回 (10⁻² 稀釈液 0.2 ml, 0.25 ml, 0.3 ml, 0.3 ml, 0.3 ml) 反復腹腔内に接種し最後の注射より 2 週間後採血して実験に供した。

ウイルスの不活化試験：Marzonin 添加による

不活化試験は時末の実験に倣い、10,000倍(0.01%)の割合に添加後1~5週に亘り、マウスに復原試験を行い、病理学的所見により病毒の不活化を確かめた。紫外線照射では病毒稀釈液 10^{-2} 浮遊液を直径9cmのシャーレ内に1.0ml宛分注し、10cmの距離からマツダ紫外線殺菌灯(GL-15WL)により100V, 3Aにてシャーレを絶えず振盪を続け10', 20', 30', 40'と照射を行った。

実験成績

1. "Absättigungs-versuch"

Wildführは同氏が初めて行つた"Absättigungs-versuch"を用い肝炎病毒間に型別の存在することを述べているが、既に村上等により追試せられており、Wildführの原法

は諸種の事情より確認出来なかつたが、用いられる免疫血清の免疫力価が高い場合は比較的他の免疫試験の結果と相通ずる所見が得られるが、免疫力価の低い際には十分に効果を發揮しないことが実験的に証明されている⁶⁾。

著者は本実験を行うに当り、実験に使用する病毒の分離方法に従つた病毒群の免疫血清を作り実験に使用した。即ち第1群は孵化鶏卵型(石原, 小川株)と孵化鶏卵累代保存中のもの、第2群では直接マウスで分離しマウスで保存中のマウス系(青森, 野田, 佐藤株), 肝穿刺片より分離累代中の肝穿刺系(高取株)を第3群に分ち夫々の病毒を用いて免疫を行い血清を得た。と同時に既知の恢復患者血清をも併せて使用した。

実験結果は表示した如くである(第2表)。

第1表 Absättigungs-Versuch

血清区分	攻撃株	d-d (maus)	雑系 (maus)	C. F. W. (maus)	病理学的所見
1 肝炎患者 恢復血清 (片山, 窪田)	石原株	No. 25 No. 26			++ + + + + +
	青森株			No. 27 No. 28	++ ++ ++ + + +
	高取株		No. 29 No. 30		++ ++ ++ ++ ++ ++
2 肝炎患者 恢復血清 (船越, 水船, 長田)	青森株	No. 31 No. 32			++ +++ ++ +++ +++ ++
	野田株	No. 33 No. 34			+++ ++ ++ ++ ++ ++
	佐藤株			No. 35 No. 36	++ ++ ++ ++ ++ ++
	石原株		No. 37 No. 38		+++ +++ ++ ++ ++ ++
	小川株			No. 39 No. 40	++ ++ ++ +++ +++ ++
	高取株		No. 41 No. 42		++ ++ ++ ++ ++ ++
3 健康人血清	No. 1 石原株		No. 43 No. 44		+++ ++ ++ ++ ++ ++
	No. 2 森本株			No. 45 No. 46	+++ ++ ++ ++ ++ ++
	No. 3 青森株		No. 47 No. 48		+++ ++ ++ ++ ++ ++
	No. 4 高取株	No. 49 No. 50			++ ++ ++ ++ ++ ++
	No. 5 攻撃行わず		No. 51 No. 52		- - - - - -

註. i) 病理学的所見中(++)(+)病理変化の程度を示す。
ii) 肝炎血清中(1)群混合血清陽性, (2)群陰性(C. f. t.)

即ち供試血清を肝炎恢復患者に限つた場合、第1群免疫血清反応陽性の血清と免疫反応陰性の第2群血清に分ち飽和試験を行つた成績では、Wildführの如き確実な所見ではないが、その判定を病理学的所見で行つた結果では、第1群の方に於て感染阻止現象が惹起しており、第2群に於ては感染阻止は明瞭でない。

次に用いた動物別の血清の場合でも、更に病毒を異にした群でも、大体中和の傾向は見られるが、肝穿刺片より得た高取株に於ては感染阻止は明かでない。この場合の高取株は分離後累代が浅く、比較的病理変化が不定でありたまたま斯る病変に遭遇したとも解せられるものであり、病毒間に型別が存在するための差異とは考えられない。

なお肝炎恢復患者血清の免疫力価は実験に用いた分離病毒による補体結合反応で測定した際は1:8~1:16程度のものであり量が少いため混合血清として用いた。次に免疫血清を用いて同様な実験を行つた。既に免疫したマウス血清の場合は飽和試験の結果が信頼し得られる事実があるが、著者もマウスを免疫しその血清を集めて供試血清とした。マウス免疫血清に対して分離病毒別に行つた結果では、病毒株により些少の差異はあるが等しく感染阻止作用のあることが、病理所見に於て窺われた。

これ等の実験で特異的と考えられるのは石原株免疫血清に対して、石原株病毒の中和が明瞭に進行し、他の病毒株ではやや軽度ながらも病理所見が見られる事実は、高取株による中和が明かに發揮されている事実と共に、飽和試験に於ける中和が特異的に進行していることを意味し、更に供試血清の免疫力価の高い場合が良結果を得るとの証明にもなると思うのである(第2表)。この際用いた免疫血清の補体結合反応の結果では1:32~1:64の陽性結果を得ており、他の中和試験でも中和現象の惹起することを確かめた血清であった。

更に各病毒株間に於ける交叉試験を行つた。

第2表 Absättigungs-Versuch

血清区分	攻撃株	雑系 (Maus)	C. F. W. (Maus)	病理学的所見		
免疫血清 (石原株免疫血清) No. 1 } No. 2 } No. 5 }	金光株	No. 13	No. 15 No. 16 No. 21 No. 22	上 上 上		
		No. 14		上 上 上		
	森本株	No. 17		上 上 上		
		No. 18		上 上 上		
	石原株	No. 19 No. 20		No. 23 No. 24	上 上 上	
					上 上 上	
	青森株	No. 25 No. 26		No. 27 No. 28	上 上 上	
	野田株				上 上 上	
	佐藤株	No. 29 No. 30		No. 31 No. 32	上 上 上	
	高取株				上 上 上	
	健康血清 (雑系マウス血清)	金光株		No. 33 No. 34 No. 35 No. 36 No. 37 No. 38 No. 39 No. 40	No. 29 No. 30	上 上 上
		石原株				上 上 上
上 上 上						
小川株		上 上 上				
野田株		上 上 上				
		上 上 上				
青森株		上 上 上				
攻撃行わず		上 上 上				
		上 上 上				
		上 上 上				
	上 上 上					

註) i. 病理所見中(上)~(下)病変の程度を示す。

第1群病毒では石原株、第2群では青森株、第3群では高取株各血清を用いたが、夫々の場合によく中和の促進するのが認められ、対照群と比較し病理所見に軽度であるが定型的所見に欠ける場合が見られた。

要之するに著者の行つた“Absättigungs-versuch”では肝炎恢復患者血清を供試した時は納得し得ない結果が稀に見られるのは、含まれる免疫抗体の量的に少いためであり、抗体の含有量の多いと推定される免疫血清ではよく中和現象が観察された。この事実は抗体の量的関係によりその結果が支配されるものであると考えられ、広義の中和試験がマウス体内で行われたものと解されるのである。分離方法を異にした夫々の分離病毒の間にはその性状に大差なく抗原性から見れば明かに一元性であり、Wildführの述べたような病毒

第 3 表 Absättigungs-Versuch

		雑系 (maus)	C. F. W. (maus)	d-d (maus)	病理学的所見	
免疫血清	青 森 株	No. 61			⊥ ⊥ +	
		No. 62			⊥ ⊥ +	
	青森株	No. 63			+ + +	
		No. 64			+ + ⊥	
	マウス免疫血清	No. 65			⊥ ⊥ +	
		No. 66			⊥ ⊥ +	
	No. 2 } 血清	小 川 株	No. 67		No. 67	⊥ ⊥ ⊥
			No. 68		No. 68	⊥ ⊥ ⊥
	No. 3 } 血清	野 田 株	No. 69			+ + +
			No. 70			⊥ ⊥ +
	No. 7 } 血清	高 取 株	No. 71	No. 71	No. 71	⊥ ⊥ ⊥
			No. 72	No. 72	No. 72	⊥ ⊥ ⊥
		佐 藤 株	No. 73			⊥ ⊥ ⊥
No. 74					⊥ ⊥ ⊥	
	攻 撃 行 わ ず	No. 75		No. 75	- ⊥ -	
		No. 76		No. 76	- - -	
健康血清(マウス)						
No. 1	青 森 株	No. 77	No. 77		卅 卅 卅	
		No. 78	No. 78		卅 卅 卅	
No. 2	石 原 株	No. 79			卅 卅 卅	
		No. 80			卅 卅 卅	
No. 3	金 光 株	No. 81	No. 81		卅 卅 卅	
		No. 82	No. 82		卅 卅 卅	
No. 4	高 取 株		No. 83	No. 83	卅 卅 卅	
			No. 84	No. 84	卅 - -	
No. 5	小 川 株	No. 85			卅 卅 卅	
		No. 86			卅 卅 卅	
No. 6	攻 撃 せ ず	No. 87			- ⊥ ⊥	
		No. 88			- - -	

第 4 表 Absättigungs-Versuch

供試血清	病毒株	雑系 (Maus)	C. F. W. (Maus)	病理学的所見		
				肝臓	肺臓	判定
免疫血清	金光株	No. 91		⊥	+	⊥
		No. 92				
高 取 株	森本株	No. 93	No. 95	⊥	+	⊥
		No. 94	No. 96			
マウス免疫血清	小川株		No. 97	⊥	+	⊥
			No. 98			
No. 1 } 血清	石原株	No. 99		⊥	⊥	⊥
		No. 100				
No. 3 } 血清	青森株		No. 101	+	⊥	+
			No. 102			
	野田株	No. 103	No. 105	⊥	+	+
		No. 104	No. 106			
	佐藤株	No. 107	No. 109	⊥	+	+
		No. 108	No. 110			
	高取株	No. 111	No. 113	⊥	+	+
		No. 112	No. 114			

健康血清マウス No. 1	金光株	No. 115			卅	卅	卅
		No. 116					
No. 2	森本株	No. 117	No. 119		卅	卅	卅
		No. 118	No. 120				
No. 3	石原株		No. 121		卅	卅	卅
			No. 122				
No. 4	青森株	No. 123			+	卅	+
		No. 124					
No. 5	野田株		No. 125		卅	卅	卅
			No. 126				
No. 6	高取株	No. 127	No. 129		卅	卅	卅
		No. 128	No. 130				

間の型別は認めることは出来なかつた(第3, 4表).

分離病毒間に存する病原性には比較的初期のものに孵化鶏卵胎児の死亡率が高く, 分離後長期の累代を経たものでは死亡率の低下する事実があり, マウスに於ても同様に分離初期のものでは病理変化の強弱が累代数により

やや異り、分離後長期累代をしたウイルスでは各累代に於ける病理変化は殆んど同程度の所見が得られる等の諸点に鑑み、分離累代数の若い青森株更に高取株に於ては“Absättigungsversuch”の成績判定に考慮しなければならない問題があると考えられる。

2) 感染防禦試験

感染防禦試験を行うに当り不活化ウイルスを得る目的から時末⁷⁾の実験による Marzonin 添加による実験を追試すると共に、紫外線照射による不活化を試みた。

Marzonin 添加により時末は概ね 3 週間以上放置することによりウイルスの不活化が行われる事実を述べたが、著者の実験では新に分離した高取株を用いた結果、3 週間の保存により殆んど不活性化され、病理変化は明瞭でないか殆んど見られないが、多少の細胞浸潤を認めたに過ぎない例もあつたが、大略 3 週間以上の保存により不活化がほぼ行われるものと判定すべき結果であつた。この実験と共に累代も行い累代 2~3 代に於ても確めた結果判定した (第 5 表)。

第 5 表 Marzonin 添加に依るウイルスの不活性化試験

病理学的所見 不活化の方法	肝			臓				肺 臓			
	壊死	肝細胞変性	及星細胞増殖の腫生大	肝索の解離	間細胞質浸潤	実細胞質浸潤	充血及出血	胞隔炎	胞周管の枝及形管	胞隔肥厚	出血
Marzonin 添加 (10,000倍) 1 週間	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Marzonin 3 週間	⊥	⊥	⊥	⊥	+	+	⊥	⊥	⊥	+	⊥
Marzonin 4 週間	⊥	⊥	⊥	⊥	+	⊥	⊥	⊥	⊥	⊥	⊥
Marzonin 5 週間	⊥	⊥	⊥	⊥	+	⊥	⊥	⊥	⊥	+	⊥

- 註. i) Marzonin 添加後氷室保存.
- ii) (+)~(⊥)病理変化の程度を示す.
- iii) 病毒は高取株.

次に紫外線照射では照射10分では未だ定型的な病変殊に肝細胞の変性及び壊死が著明であり、壊死巣周辺に於ける単球の出現が特異的で、而もマロリー氏小体も含み、更に多形核も少数ながら認められた事実は特異的な病変であつた。照射時間を30分に延長する場合は先述の病理変化が全く見られず、40分に至つても明かでない点から紫外線照射による不活化は30~40分で確実にされるものの如くであり、爾後の実験では30分の照射により完全に不活化されることを知つたので主に紫外線照射により不活化ウイルスを得た (第 6 表)。

紫外線照射を更に確める意味から他の病毒

株に就ても同様な方法で同一照射を行つた結果、大体他の病毒株も同様に不活化されることを病理学的所見の上で知り得た (第 7 表)。

よつて各病毒株に紫外線照射を行い不活化ウイルスを得、マウスを免疫して各種ウイルスを用いて攻撃する感染交叉免疫実験を行い、不活化ウイルスによる免疫の成立と、抗原性に就て知り得た。即ち免疫の成立する事実は、不活化ウイルスを接種した場合よく生ウイルスの攻撃に耐過した。青森株による免疫ではよく青森株の攻撃に耐えたと共に他の石原、高取株にも (多少とも病理所見に於ける差異は存するが) 耐過する事実は明かであつた (第 8 表)。次に石原

第 6 表 紫外線照射に依る病毒の不活化試験

病理学的所見 病毒不活化の方法	肝 臓							肺 臓				
	壊 死	肝 細胞 変性	腫 星 大 芒 及 細 胞 増 殖	肝 索 の 不 整	間 細 胞 質 浸 潤	実 細 胞 質 浸 潤	充 血 及 出 血	胞 隔 炎	胞 周 形 細 胞 浸 潤	氣 管 枝 及 血 管 周 圍 に 於 ける 浸 潤	胞 隔 肥 厚	出 血
殺菌灯照射 10分	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
殺菌灯照射 20分	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
殺菌灯照射 30分	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
殺菌灯照射 40分	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

註. i) 野田株 10⁻²を用う.

第 7 表 紫外線照射に依る病毒の不活化試験

病理学的所見 病 毒 株	肝 臓							肺 臓				
	壊 死	肝 細胞 変性	腫 星 大 芒 及 細 胞 増 殖	肝 索 の 解 離	間 細 胞 質 浸 潤	実 細 胞 質 浸 潤	充 血 及 出 血	胞 隔 炎	胞 周 形 細 胞 浸 潤	氣 管 枝 及 血 管 周 圍 に 於 ける 浸 潤	胞 隔 肥 厚	出 血
青 森 株	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
石 原 株	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
高 取 株	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
対 照	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

註. i) 紫外線照射夫々30分.

第 8 表 不活性化病毒に依る感染防禦試験

動物使用別		攻撃病毒株稀釈								
		10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷	10 ⁻⁸	10 ⁻⁹	
青 森 株	免 疫 群	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	対 照 群	+	+	+	+	+	+	+	+	+
石 原 株	免 疫 群	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	対 照 群	+	+	+	+	+	+	+	+	+
高 取 株	免 疫 群	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	対 照 群	+	+	+	+	+	+	+	+	+

註. i) 不活化病毒は青森株.

株による不活化病毒の免疫の時も同一生病毒による攻撃に耐えると共に、青森、高取株には軽度の病理変化が認められたに過ぎない(第9表).

更に高取株に於ける免疫でも対照に比較し

て病理所見が著しく軽微であることは、免疫性を賦与されたものと推測される所見である(第10表).

以上の実験結果では不活化病毒株の接種により容易にマウスに免疫性を賦与し得るもの

第9表 不活性化ウイルスに依る感染防禦試験

ウイルス株		使用動物別		攻撃ウイルス稀釈							
				病 毒 稀 釈							
				10-2	10-3	10-4	10-5	10-6	10-7	10-8	10-9
石原株	免 疫 群	対 照 群		⊥	⊥	⊥	⊥	⊥	⊥	⊥	⊥
	+			+	+	+	+	+	+		
青森株	免 疫 群	対 照 群		+	⊥	⊥	+	+	+	⊥	⊥
	+			+	+	+	+	+	+		
高取株	免 疫 群	対 照 群		+	⊥	⊥	⊥	+	+	⊥	+
	+			+	+	+	+	+	+		

註. i) 不活性化ウイルスは石原株.

第10表 不活性化ウイルスに依る感染防禦試験

ウイルス株		使用動物別		ウイルス稀釈							
				病 毒 稀 釈							
				10-2	10-3	10-4	10-5	10-6	10-7	10-8	10-9
高取株	免 疫 群	対 照 群		+	⊥	⊥	⊥	⊥	⊥	⊥	⊥
	+			+	+	+	+	+	+		
石原株	免 疫 群	対 照 群		+	⊥	⊥	⊥	+	+	+	+
	+			+	+	+	+	+	+		
青森株	免 疫 群	対 照 群		+	⊥	⊥	⊥	⊥	⊥	+	+
	+			+	+	+	+	+	+		

註. i) 不活性化ウイルスは高取株.

であり、而も他のウイルス株で攻撃した場合にも病理変化の発現をよく阻止する事実から、供試ウイルス間に於ける抗原性の差は少いものと推定される。

次に上記の実験に使用しなかつた他のウイルス

間との関連性を見るに、青森株の不活性化ウイルスで免疫されたマウスに対して他の生ウイルスによる攻撃を行う場合、対照群の病理所見と比較して抗原性は殆んど等しいものと判定してもよい結果であつた。

第11表 不活性化ウイルスに依る感染防禦試験の主要病理所見

ウイルス株		動物使用別		病 理 学 的 所 見					病 理 学 的 所 見					
				肝 臓					肺 臓					
				壊死	肝細胞変性	腫大及増殖	肝索の解離	間細胞質浸潤	末細胞質浸潤	充血及出血	肺炎	肺動脈炎	肺動脈管	出血
青森株	免 疫 群	対 照 群		⊥	⊥	⊥	⊥	+	+	⊥	+	⊥	⊥	⊥
	+			+	+	+	+	+	+	+	+	+		
石原株	免 疫 群	対 照 群		⊥	⊥	⊥	⊥	+	+	⊥	+	⊥	⊥	⊥
	+			+	+	+	+	+	+	+	+	+		
高取株	免 疫 群	対 照 群		⊥	⊥	+	⊥	+	+	⊥	+	⊥	⊥	⊥
	+			+	+	+	+	+	+	+	+	+		

註. i) ウイルス株の不活性化は紫外線照射30分.

ii) (++)~(⊥) 病変の程度を示す.

第12表 不活化ウイルスに依る感染防禦試験

免疫株	攻撃株	病 毒 稀 釈								
		10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷	10 ⁻⁸	10 ⁻⁹	
青森株(不活化ウイルス)	青森株	+	⊥	⊥	⊥	⊥	+	+	+	
	金光株	+	⊥	⊥	⊥	⊥	⊥	⊥	⊥	
	森本株	+	⊥	⊥	⊥	⊥	+	+	+	
	小川株	⊥	⊥	⊥	⊥	⊥	+	+	+	
	野田株	+	⊥	⊥	⊥	⊥	+	+	+	
佐藤株	⊥	+	⊥	⊥	⊥	+	+	+		
対照免疫行わず	青森株	⊥	⊥	⊥	⊥	⊥	⊥	⊥	⊥	

註. i) 不活化は紫外線照射30分.

総括及び考按

肝炎患者から分離したウイルスを分離方法別に血清学的性状を検べ抗原性を窺い、Wildführの“Absättigungs-versuch”を応用して、更に感染防禦試験を併用することにより分離ウイルス間の血清学的同定を行い、供試ウイルス間に抗原性の差は殆んどないものと見てよい成績を得た。

之を詳細に検討するに“Absättigungs-versuch”の効果は血清の免疫価に影響を受け、肝炎回復患者血清の如き免疫の量的に低いものに対しては一種の飽和現象は中和の形では明瞭に発揮されないが、免疫血清に於ては明瞭に区別されることが少くない。而し全般的に見て所謂飽和試験単独ではその中和効果は批判出来るものではなく、他の方法との併用にまつのが望ましいと推測される。

ウイルスの不活化は本編に於ては Marzonin よりも簡便にしてかつ効果的な紫外線照射によつた。本法は長期日を要せず、而も薬品を添加しない利点があり、しかも抗原性を低減させない点に於て、Marzonin より優れていると思われた。而も感染防禦試験に於て免疫原性をよく発揮している事実は今後の肝炎に於ける Vaccination に希望を抱かせるに充分なものがある。

実験結果では不活化ウイルスの接種によりよく免疫性を賦与し、同種のウイルスの攻撃によく耐えらると共に、他種のウイルスに対しても強い抵抗

性を発揮する事实在明瞭に認められた。

要之するに分離方法を異にして得られたウイルス間に於ける生物学的及び血清学的性状は概ね一致した性状を有する。従来記載されたウイルス群と明瞭に区別される事实在より、之等のウイルスが肝炎患者に由来するものであることは明かと考えられる。

結 論

先の第一編に引続き流行性肝炎患者の各種材料より得られたウイルスを用いて免疫血清学的性状に就て検討した。次の所見を結論として得た。

1) 分離材料及び方法を異にして得られた各ウイルスを用いて“Absättigungs-versuch”を行つた。この飽和試験は Wildführ の原法と多少その術式及び判定に於て異なるが、時に肝炎患者血清を用いた場合には納得し得ない結果も少くなかつた。免疫価の高い血清ではよくマウス体内に於ける飽和現象による中和が進行するものの如く、その病理所見により明瞭に感染の阻止が発揮されるのが観察された。

2) ウイルスの不活化試験では紫外線照射による場合が、Marzonin 添加の場合よりも簡単にして確実な結果であつた。而も感染防禦試験に於ける不活化ウイルスの免疫効果より推定してよく抗原性が保有されていた。

3) 各種分離ウイルスの間に於ける感染防禦試験の結果から判定して、同種の不活化ウイルスの免疫に対して同種の生ウイルスの攻撃に耐えらると

共に、他種の生病毒の攻撃にもよく耐過する事実を知り得たと同時に、之等の病毒間には殆んど抗原性の差は存在しない。

4) 以上の成績は肝炎患者の各種材料より夫々異つた方法で分離し得た病毒が肝炎患者

に由来し、而も病的意義をもつものであることを強く示唆していると考えられる。

稿を終るに当り、御懇篤なる御教示を戴き、御校閲の労を賜つた恩師村上栄教授に心から深謝する。

主 要 文 献

- | | |
|--|--|
| 1) 村上等：第2回ウイルス学会総会肝炎シンポジウム, 1955. | 6) 村上等：第4回ウイルス学会総会講演要旨, 1956. |
| 2) 村上等：第3回日本ウイルス学会講演要旨, 1955. | 7) 時末：未発表. |
| 3) 村上等：岡山医学会総会講演要旨, 1955. | 8) Havens : J. A. M. A. 134, 653, 1947. |
| 4) 藤原：未発表. | 9) Maccallum · Virus and Rickettsial Disieases, 195. |
| 5) Wildführ, G.: Zeitschr. f. d. Ges. inner. Med. 573, 1953. | 10) Rivers Viral and Rickettsial infection of man, P. 269, 1951. |

Studies on the Pathogenic Agent of Infectious Hepatitis in Okayama Prefecture

II: Comparative studies on the viruses isolated from different materials and by different methods

By

Masatomi Manabe

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

The comparative studies on the viruses isolated from different materials and by different methods were carried out sero-immunologically. The findings are summarized as follows:

1) Using the viruses isolated from different materials and by different methods, the "Absättigungsversuch" was tried. Though the "Absättigungsversuch" was somewhat different from the original wildführ's method, unacceptable results were sometimes obtained when the sera of hepatitis patients were used. In the mouse the neutralization test was well established between the virus and the immune serum of high titer, and this was proved by the non-appearance of the pathological changes in the mouse.

2) For the inactivation of the virus, ultra-violet irradiation was more simple and certain than the addition of marzonine. It was proved, moreover, that thus inactivated virus still preserved the antigenicity.

3) In the infection-protecting test, the immunization by the inactivated virus protected the attack not only by the same living strain but also by the different strains.

4) These above-mentioned results suggest that the viruses isolated from different materials and by different methods come all from the hepatitis patients and have a pathogenic significance.