

麻疹並びにジステンパーウイルス感染細胞の 細胞化学的研究

第 2 編

主としてジステンパーウイルス封入体の性状の研究 並びに麻疹ウイルス封入体との比較観察

岡山大学医学部微生物学教室 (主任: 村 上 栄教授)
(指導: 俵 寿太郎助教授)

大学院学生 柴 田 醇

[昭和41年6月17日受稿]

緒 言

ミクソウイルスに含まれるもののうちでパラインフルエンザ, おたふくかぜ, ニューカッスル病, 麻疹, 犬ジステンパー, 牛痘及び RS ウイルス (Respiratory syncytial virus) は, その生物学的性状 (RNA ウイルス, エーテル感受性, 赤血球凝集素及び赤血球溶血素をもつこと並びに多核巨大細胞及び細胞質内封入体を形成することなど) 及び電子顕微鏡により観察される形態 (大きさ平均 140 m μ , エンベロプを持ち外周に突起を持つこと, 核蛋白質と考えられる巾 180 Å の螺旋状の内部構造を持つこと及び不完全粒子をつくらないことなど) の相似性により類縁のウイルス群と考えられパラインフルエンザウイルス亜群として分類することが提唱されている (Waterson¹²⁾, 豊島³⁾, Brandt⁴⁾).

特に, その中で麻疹ウイルス (以下 MV と略記), 犬ジステンパーウイルス (以下 DV と略記) 及び牛痘ウイルス (以下 RV と略記) の3者は, それぞれ免疫学的に交叉反応が認められるのでより近縁のウイルスと考えられている。即ち, MV 及び DV の関係については Pinkerton⁵⁾ が, 小児肺炎において肺上皮細胞に形成される多核巨大細胞は DV 感染細胞のそれに似ていると報告していらい Adams⁶⁾⁷⁾, Imagawa⁸⁾, Karzon⁹⁾¹⁰⁾ 及び Carlström¹¹⁾ らが動物実験により或いは組織培養により交叉反応を認めると報告している。又, Imagawa は¹²⁾, MV, DV 及び RV 3 者の免疫血清学的関係について報告している。

DV についてはいたちを使った動物実験或いはジ

ステンパーに自然感染後死亡した犬の剖検例などから, Moulton¹³⁾¹⁴⁾, Liu¹⁵⁾, Coffin¹⁶⁾ 及び Adams¹⁷⁾ らは, 感染動物の脳神経細胞, 肺上皮細胞或いは膀胱上皮細胞などに多核巨大細胞, 細胞質内封入体及び核内封入体の形成などが認められると述べている。又, DV 感染細胞の形態変化を観察するために組織培養の試みが行なわれたけれども細胞変性効果 (以下 CPE と略記) が起りにくいため (Adams⁶⁾ の報告) 成功した例は比較的少ない。Rockborn¹⁸⁾ は, 犬腎細胞を用いた実験において多核巨大細胞の形成を観察したと報告し, Karzon¹⁹⁾ は, 鶏胎児の線維芽細胞を用いた組織培養において感染細胞は円形化, 分断化していつたが, 多核巨大細胞或いは封入体の形成は認められなかつたと述べている。又, Cabasso²⁰⁾ は, 同じく鶏胎児を用いた組織培養において CPE は全く観察されなかつたけれどもウイルスの増殖は認められたと報告している。Hopper²¹⁾ は, 未染色標本において同じく多核巨大細胞の存在を報告し, Busse²²⁾ は, 鶏胎を用いた組織培養において, 円形化, 線維芽細胞, 多核巨大細胞, 或いはエオジン好性の細胞質内封入体の形成が認められたと述べ, 更に, プラックの性状について報告している。

以上が DV の組織培養による研究の現状であつて, 詳細にわたる実験報告は未だない状態である。まして DV 感染培養細胞にみられる封入体その他の細胞化学的観察にいたつては全くその報告に接しない。故に, このウイルス感染細胞の細胞化学的変化の観察を行ない, 第1編に述べた麻疹ウイルスのそれとを比較検討する目的で同様の実験を行なつた。

得られた結果について報告する次第である。

第1章 実験材料及び方法

1) ウイルス：使用した DV は、日本生物科学研究所の本橋博士より分与していただいた Hokkaido 株で犬腎細胞により継代中のものである。MV は、同じく犬腎細胞で継代中の Edmonston 株である。

2) 培養細胞：使用した犬腎細胞は固定株の MDCK 細胞及び当教室で分離継代している犬腎細胞（以下 CS と略記）を用いた。

3) 細胞培養液：第1編と同じであり略述する。20%に牛血清を加えた YLE 溶液を増殖用とし、5%に牛血清加 YLE 溶液を維持用として用いた。

4) 細胞培養及びウイルス接種：第1編と同じであり略述する。0.02% EDTA 及び 0.25% Trypsin により分散した細胞を試験管内カバースリップ上に単層培養した。細胞が 1.5 ないし 2.0×10^5 cell/cc に増加した時、 10^8 TCID₅₀ の MV 浮游液を 0.1 cc 及び $10^{8.5}$ TCID₅₀ の DV 浮游液を 0.1 cc それぞれ接種し以後培養液を 3 ないし 4 日目毎に交換しながら培養を続けた。

5) 染色方法：ヘマメキシリン・エオジン染色（以下 HE 染色と略記）、ギムザ染色（以下 Gi 染色と略記）、フォイルバン反応（以下 F 反応と略記）、メチルグリーン・ピロニン染色（以下 MgP 染色と略記）及びアクリジン・オレンジ染色（以下 AO 染色と略記）を行ない、更に、リボヌクレアーゼ（以下 RNase と略記）による消化試験及び 10% 過塩素酸による脱 RNA 反応を行なった。

各染色法及び対照のとり方については第1編と同じであり省略する。尚、10% 過塩素酸による脱 RNA 反応は、Erickson²³⁾ の報告に従って行なった。即ち、PBS で洗ったカバースリップを Carnoy 液で 5 分間固定した後 10% 過塩素酸を 4°C で 24 時間作用させた。その後は常法通りに AO 染色を行なって観察した。対照としては蒸溜水中で 4°C に 24 時間作用させたカバースリップを観察した。

第2章 実験結果

麻疹ウイルス感染細胞に形成される CPE は、多核巨大細胞、細胞質内封入体、核内封入体及び線維芽細胞様変化である。これらの CPE は、CS 細胞の場合細胞質内封入体は、MV 接種後 3 ないし 4 日目頃より、核内封入体は MV 接種後 5 ないし 7 日目頃より出現し始め、多核巨大細胞形成及び線維芽

細胞様変化はウイルス接種後 1 ないし 2 日目頃より出現した。MDCK の場合、CPE の出現は CS の場合よりも遅くウイルス接種後 5 ないし 7 日目頃であつた。

DV 感染細胞に形成される CPE は、犬腎細胞を用いた組織培養においては細胞質内及び核内封入体の出現が主であり、多核巨大細胞は形成されるけれども核の数は 10 個位いのものが多く MV の場合のように 40 ないし 50 個に及ぶものは稀であつた。又、線維芽細胞様変化も初期はあまり著明でなかつた。更に、AO 染色を行なった場合、MV 感染細胞に形成される小さい赤い螢光を発する顆粒は全く認められなかつた。

従つて、MV 及び DV 感染細胞に形成される封入体を比較した場合、その性状は全く同一であるけれども、CPE の出現が DV においては MV のそれよりも遅れること、又、DV においては核内封入体の出現が細胞質内封入体の出現と殆んど同時ないし少し早期に出現する点において異なる。以下、各染色法により得た結果を順に詳述する（表 I 参照）。

1) HE 染色 DV 感染 CS 細胞においては、細胞質内封入体の存在は早いものではウイルス接種後 14 日目頃より観察されはじめた。しかし、通常観察されるようになったのはウイルス接種後 16 日目頃からであつた。MV の場合と同様にハローを持った小さい円形ないし楕円形のエオジン好性のものであつた。感染の進行とともに細胞質内封入体は、次第に大きくなり、円形化縮小した細胞の細胞質全体を占めるようなものも多く観察された。

多核巨大細胞は、4 ないし 5 核のものは対照においても観察され、はつきりウイルス感染によるものと同定できるような多核巨大細胞は接種後 12 ないし 13 日目頃、即ち、封入体の出現しはじめる頃からであつた。核の数は、多いもので 15 ないし 16 個であり、10 個程度のものが多く MV の場合のように多くはなかつた。その形状は、淡赤色の細胞質を囲んで環状に核が配列し、その外周部に細胞質内封入体が存在した。この点は MV 感染細胞のものと同様であつた。

核内封入体の出現は、MV 感染細胞の場合細胞質内封入体の出現に数日遅れるけれども、DV 感染細胞の場合殆んど同時に観察されるようになった。即ち、核内に小さい円形ないし楕円形の好酸性の封入体として出現した。数は初期には 1 ないし 2 個であり感染の進行とともに増加した。この核内封入体は

表 I 麻疹ウイルス及びジステンパーウイルス感染細胞*における
細胞質内封入体及び核内封入体の比較

ウイルス 封入体 染色法	麻 疹 ウ イ ル ス		ジステンパーウイルス	
	細胞質内封入体	核内封入体	細胞質内封入体	核内封入体
HE 染色	3～5日目頃より エオジン好性	5～7日目頃より エオジン好性	14～16日目頃より エオジン好性	14～16日目頃より エオジン好性
Gi 染色	3～5日目頃より 初期非染色, 末期 赤紫色	5～7日目頃より 非染色, 一部赤紫色	14～16日目頃より 初期非染色, 末期 赤紫色	12～14日目頃より 非染色, 一部赤紫色
F 反応	終 始 緑 色	終 始 緑 色	終 始 緑 色	終 始 緑 色
MgP 染色	終始ピロニン好性	終始ピロニン好性	終始ピロニン好性	終始ピロニン好性
AO 染色	3～5日目頃より 青白色ないし青緑色	5～7日目頃より 非染色, 一部青緑色	14～16日目頃より 青色ないし青緑色	12～14日目頃より 非染色, 一部青緑色
RNase 処理	抵 抗 性	抵 抗 性	抵 抗 性	抵 抗 性
10%過塩素酸処理	消 失 せ ず	消 失 せ ず	消 失 せ ず	消 失 せ ず

* 組織培養には犬腎細胞を使用

細胞質内封入体と同じように多核巨大細胞に或いは個々の細胞にも等しく認められた。

2) Gi 染色 Gi 染色により観察される DV 感染細胞の CPE の特徴は、核内封入体の出現が細胞質内封入体の出現よりも早期に始まることである。即ち、MV 感染細胞においては核内封入体は一部赤紫色を呈するものを除いて非染色のものが多かった。しかし、その出現は HE 染色の結果と同様に細胞質内封入体の出現よりも遅れていた。DV の場合、ウイルス接種後12ないし14日目頃より核内に円形の非染色性の部分が観察されるようになり、それに続いて14ないし16日目頃より細胞質内に非染色の部分が認められるようになった。細胞質内封入体は、初期一部淡青色を呈するものも観察されたけれども、次第に赤色調を増してゆく完成されたものは赤紫色を呈するようになった。細胞質内封入体が非染色性のものから次第に赤色を帯びてゆく点は MV のそれと同じであつた。Gi 染色の場合ハローは殆んど観察されなかつた。

3) F 反応 ウイルス接種後10, 15, 20及び25日目の細胞を染色し観察した。その結果は、10日目では封入体が存在しない場合を除いて MV の場合と同様にウイルス接種後の培養日数の多少に拘わらず、細胞質内及び核内封入体はいずれも共染色に用いたメチルグリーンの緑色を呈し F 反応陰性であつた。

対照の細胞は、一様にメチルグリーンの緑色を呈して F 反応が正確に行なわれていることを確認した。この結果は、動物実験における結果ではあるけれども組織切片中の細胞にみられる細胞質内封入体は F 反応陰性であるという Moulton¹³⁾ の報告と一致する。

4) MgP 染色 ウイルス接種後10, 15, 20及び25日目の細胞を染色し観察した。MgP 染色の結果も MV の場合と同様に核はメチルグリーン好性であり、両封入体、核小体及び細胞質はピロニン好性であつた。10日目のものにおいては封入体は観察されなかつた。

5) AO 染色 ウイルス接種後2, 4, 6, 8, 10, 12, 18, 24, 36 及び48時間目のもの、それ以後は26日目のものまで連日的に観察した。CS 及び MDCK 細胞に MV を接種した場合、接種後12ないし18時間目頃より核小体は大きくなり赤色の螢光を増し、同時に、核も大きくなり黄緑色の螢光を増強した。しかし、CS 及び MDCK 細胞に DV を接種した場合、接種後48時間目頃までの細胞は対照の細胞と殆んど変りなく、接種後3ないし4日目頃の細胞の中に大きな明るい赤色の螢光を発する核小体をもつ細胞が少数観察された。一般には核及び核小体の変化は MV のものほど著明ではなかつた。この様に核酸代謝において著しい亢進が認められないこ

とは CPE の出現の遅いことと関係するものと推定される。しかし、CPE が十分に認められる時期においても核及び核小体の変化はあまり著明ではなかった。即ち、MV 感染細胞の場合、淡緑色の核内にあざやかな赤色の核小体をもつ細胞、或いは、黄色の螢光の強い核をもつ大小様々な細胞など多彩な変化を呈していた。一方、DV の場合には核は対照の細胞に比較してその螢光に差位を認めず、又、大小不同もなく単調な細胞の集団であつた。

又、MV 感染細胞の細胞質内には感染の時期を問わず帽針頭大までの赤色の螢光の強い顆粒……HE 染色で後染色するとヘマトキシリン好性であつた……が散見されたけれども、DV 感染細胞のなかには全く観察されなかつた。

AO 染色の場合も Gi 染色と同様にまず核内封入体が観察され始めた。ウイルス接種後、12ないし14日目頃より核内に小さい円形の非染色部分が数個出現した。これを HE 染色で後染色すると、この非染色部分は赤色を呈し核内封入体と同定された。この結果は MV の場合と同様である。細胞質内封入体は核内封入体より数日遅れて観察されはじめることが多い。この様に封入体の出現の時期は、MV と DV との間に相違が認められるけれども、封入体自身の性状はほぼ同一と考えられる。即ち、DV 感染細胞の細胞質内封入体は、青色ないし淡緑色を呈し、小さい封入体が細胞質内に散在するもの、或いは、細胞質の大半を占めるような大きな封入体も観察され、MV のそれと殆んど相違を認めることができなかった。

AO 染色による DV 感染細胞の多核巨大細胞には、前述したように核の数は少ないけれども形態は MV のそれと全く同じであつた。又、カバースリップより脱落してゆく過程も MV のそれと著しい相違はなかつた。ただし、前述したように線維芽細胞様変化は MV のものほど著明でなく円形化縮小化してゆく傾向が強かつた。

6) RNase による消化試験 MV の場合と同様に両封入体は RNase 抵抗性であつた。即ち、RNase 処理後 MgP 染色を行なつた場合、封入体は依然としてピロニン好性であり、RNase 処理後 AO 染色を行なつた場合、細胞質内封入体は青緑色を呈し、核内封入体は非染色のままであつた。

7) 10%過塩素酸による RNA 除去試験 核及び核小体は、10%過塩素酸処理後 AO 染色を行なつた場合にオレンジ色を呈し、両封入体及び細胞質は

青白色を呈した。核のオレンジ色は、Kurnick²⁴⁾ 及び Pollister²⁵⁾ らが述べているように酸加水分解により低重合 DNA が生じたためと解釈される。対照の細胞は全く正染色であつた。

第3章 総括並びに考按

DV 感染細胞にみられる CPE の記載については、前述した如く培養細胞を用いて Rockborn¹³⁾、Karon¹⁹⁾ 及び Bussel²²⁾ らが報告している。それらは多核巨大細胞であり、細胞質内封入体であり、或いは円形化縮小化であつた。この実験においても同じような結果を得た。

さて、DV 感染細胞に形成される細胞質内及び核内封入体の出現の時期は異なるけれども、各種核酸染色法により得た結果は MV の結果と同じであつた。従つて、各染色法についての検討は第1編において述べたので今回は省略する。

細胞質内封入体は F 反応陰性であり DNA の存在は否定されよう。RNA の存在については、MgP 染色の結果ピロニン好性であること、又、RNase 抵抗性の RNA の存在も報告されているから (Gomatos²⁶⁾)、封入体の中の1つの成分として存在することは考えられよう。AO 染色の結果は、酸性粘液多糖質の存在も推定され、更に、これらの結果を総合してみても塩基性蛋白の存在を否定することも出来ない。

MV、DV 及び RV の合成場所及び合成様式については、Bernhard²⁷⁾ が総説において述べているように現在の所明でない。DV については、ウイルス素材の1つであるウイルス蛋白の合成について Coffin¹⁶⁾、Liu¹⁵⁾ 及び Moulton¹³⁾ らが興味ある報告をしている。Coffin は DV 感染後死亡した実験動物たちの膀胱上皮細胞を螢光抗体法により観察した。その結果、Seller 染色により好塩基性の封入体は特異螢光を認め抗原性があり、感染後期に観察される Shorr 染色により好酸性の封入体は抗原性がないと述べている。Moulton も螢光抗体法により特異螢光を認める部分は Seller 染色により後染色を行なうと封入体と同定されることを報告している。しかし、Liu の報告はやや異なり、いたちを使った動物実験において HE 染色及び Shorr 染色により好酸性に染まる部分にもウイルス抗原は認められると述べている。

MV 感染細胞に対して螢光抗体法を行なつた唐木²⁸⁾ 及び長浜²⁹⁾ らは、細胞質内封入体と一致して

特異螢光を認める場合も少数ながら観察されると報告している。しかし、Rapp³⁰⁾, Enders³¹⁾, Toyoshima³²⁾ 及び Palacios³³⁾ らは、特異螢光は細胞質内に瀰漫性に認められ、限局しないと報告している。この点、DV と MV とは異なつた増殖様式をもつことも考えられる。Coffin の見解に従えば、加藤³⁴⁾³⁵⁾ が報告しているボックス・ウイルスグループと同じような増殖態度を示すように考えられる。この実験においては、各種核酸染色法を行なつた結果では少なくとも Coffin が述べているように2種類の封入体を観察することはできなかった。

核内封入体については、AO 染色において殆んどものが非染色であるという結果より MV の場合と同様に核酸は存在しないものと考えられる。

電子顕微鏡観察による田島³⁶⁾の報告によれば、細胞質内封入体に一致して電子密度の高い微細顆粒状、フィラメント状ないし線維様物質が認められると述べ、更に、一部のものは 40m μ の電子密度の高い粒子を含むけれどもこれが DV 粒子とは速断できないと述べている。Tawara³⁷⁾ は、DV 感染した細胞の細胞質内及び核内封入体に一致して MV と全く同じ糸状構造物を認めると報告している。それらの意義についても尚明らかでない現状である。

第4章 結 語

1) DV 感染細胞の細胞変性の出現は、犬腎細胞において MV のそれよりも遅くウイルス接種後 12 ないし 14 日目頃より観察されはじめた。

2) 細胞変性としては、多核巨大細胞、細胞質内封入体及び核内封入体为主であり、MV に見られる線維芽細胞様変化はそれ程著明でなかった。

3) 核酸染色による封入体の性状は、MV のそれ

と全く同じであり F 反応陰性、MgP 染色においてピロニン好性、及び RNase 抵抗性であつた。AO 染色においては、細胞質内封入体は青色ないし青緑色であり、核内封入体は非染色であつた。この結果より細胞質内封入体は、RNA、酸性粘液多糖質或いは塩基性蛋白質などの存在が考えられ、核内封入体は核酸成分を含まないと推定された。

4) Gi 染色及び AO 染色により観察した場合、MV の場合と異なり核内封入体の出現は細胞質内封入体の出現よりも早いか、或いは同時であつた。

5) AO 染色により観察した場合、MV 感染細胞の細胞質内には赤い帽針頭大までの顆粒が認められたけれども、DV 感染細胞の中には全く観察されなかった。

6) AO 染色によると核、核小体の大きさ及び螢光の強さは、対照の細胞と比較して著しい相違が認められなかった。従つて、MV の場合と異なり、著しい核酸代謝の亢進は認められないという結果を得た。

7) 結局、DV 感染細胞にみられる細胞化学的变化は、MV のそれと比較して、ウイルス接種後にみられる CPE 発現の時間的差異以外は全く同様なものであつた。

本論文の要旨は、第18回日本細菌学会中国四国支部総会において発表した。

稿を終るにあたり、この実験に終始御懇篤なる御指導を賜つた村上 栄教授並びに俵 寿太郎助教授に深甚の感謝を捧げ、本研究に対しジステンパーウイルスを御分与下さつた日本生物科学研究所本橋博士に心より感謝いたします。

文 献

- 1) Waterson, A. P. and Cruickshank, J. G.: *Virology* 15, 379, 1961.
- 2) Waterson, A. P.: *Nature* 193, 1163, 1962.
- 3) 東 昇, 石田名香雄: ウイルス学, 754, 朝倉書店, 東京, 1964.
- 4) Brandt, C. D.: *Virology* 14, 1, 1961.
- 5) Pinkerton, H., Smiley, W. L. and Anderson, A. D.: *Amer. J. Path.* 21, 1, 1945.
- 6) Adams, J. M.: *Pediatrics* 11, 15, 1953.
- 7) Adams, J. M. and Imagawa, D. T.: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 96, 240, 1957.
- 8) Imagawa, D. T., Yoshimori, M., Wright, S. W. and Adams, J. M.: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 87, 2, 1954.
- 9) Karzon, D. T.: *Pediatrics* 16, 809, 1955.
- 10) Karzon, D. T.: *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 101, 527, 1962.
- 11) Carlström, G.: *Acta Pediat.* 45, 180, 1956.
- 12) Imagawa, D. T., Goret, G. and Adams, J. M.: *Proc. Nat. Acad. Sci.* 46, 1119, 1960.

- 13) Moulton, J. E. and Brown, C. H.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. **86**, 99, 1954.
- 14) Moulton, J. E.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. **91**, 460, 1956.
- 15) Liu, C. and Coffin, D. L.: Virology **3**, 115, 1957.
- 16) Coffin, D. L. and Liu, C.: Virology **3**, 132, 1957.
- 17) Adams, J. M., Imagawa, D. T., Yoshimori, M. and Huntington, R. W.: Pediatrics, **18**, 888, 1962.
- 18) Rockborn, G.: Arch. Virusforsch. **8**, 485, 1958.
- 19) Karzon, D. T. and Bussell, R. H.: Science **130**, 1708, 1959.
- 20) Cabasso, V. J., Kiser, K. and Stebbins, M. R.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. **100**, 551, 1959.
- 21) Hopper, P. K.: J. Comp. Path. **69**, 78, 1959.
- 22) Bussell, R. H. and Karzon, D. T.: Virology **18**, 589, 1962.
- 23) Erickson, R. O., Sax, K. B. and Ogur, M.: Science **110**, 472, 1949.
- 24) Kurnick, N. B.: J. Gen. Physiol. **33**, 243, 1950.
- 25) Pollister, A. W. and Leuchtenberger, C.: Proc. Nat. Acad. Sci. **35**, 111, 1950.
- 26) Gomatos, P. J. and Tamm, I.: Proc. Nat. Acad. Sci. **49**, 707, 1963.
- 27) Bernhard, B.: Cellular injury 209, Churchill, London, 1964.
- 28) 唐木利郎: 日伝染会誌. **38**, 445, 1965.
- 29) 長浜齊, 中村健, 藤井良知, 川村明義, 川島豊作: 第11回日本ウイルス学会総会記録.
- 30) Rapp, F., Gordon, I. and Baker, R. F.: J. Biophysic. Biochem. Cytol. **7**, 43, 1960.
- 31) Enders, J. F.: Amer. J. Med. Sci. **231**, 622, 1956.
- 32) Toyoshima, K., Hata, S., Takahashi, M., Miki, T. and Okuno, Y.: Biken's J. **3**, 241, 1960.
- 33) Palacios, O.: Arch. Virusforsch. **16**, 83, 1965.
- 34) 加藤四郎, 亀山達, 柳田隆穂, 岩瀬正臣, 新居志郎, 釜洞醇太郎: 細胞化学シンポジウム, **11**, 75, 丸善, 東京, 1961.
- 35) 加藤四郎, 釜洞醇太郎: 細胞化学シンポジウム **12**, 47, 丸善, 東京, 1962.
- 36) 田島正典: 細胞化学シンポジウム, **12**, 193, 丸善, 東京, 1962.
- 37) Tawara, J., Goodman, J. R., Imagawa, D. T. and Adams, J. M.: Virology **14**, 410, 1961.

写 真 説 明

- 図 1. 培養後15日目. ウイルス無接種の対照犬腎細胞 (CS). 対照の細胞の中にも時として写真の如き多核巨大細胞が観察されることがある. HE 染色 ×400.
- 図 2. ジステンパーウイルス接種後21日目の細胞質内封入体 (黒矢印) 及び核内封入体 (白矢印). 封入体はいずれもエオジン好性である. CS 細胞. HE 染色 ×400.
- 図 3. ジステンパーウイルス接種後14日目の犬腎細胞 (MDCK). ハローを持つた封入体 (黒及び白矢印) 及び多核巨大細胞の形態は麻疹ウイルスのそれと全く同じである. HE 染色 ×800.
- 図 4. 麻疹ウイルス感染 MDCK 細胞に認められる封入体. ウイルス接種後16日目. 白矢印は細胞質内封入体, 黒矢印は核内封入体. HE 染色 ×800.
- 図 5. ジステンパーウイルス接種後12日目の CS 細胞. Gi 染色を行なうと12ないし14日目頃より核内に非染色の部分が出現する (黒矢印). Gi 染色 ×400.
- 図 6. Gi 染色による細胞質内封入体. 出現初期のものは (黒矢印) 非染色ないし淡青色を示す. ジステンパーウイルス接種後18日目の CS 細胞. Gi 染色 ×800.
- 図 7. Gi 染色による細胞質内封入体. 細胞質内封入体は次第に赤味を増してゆき, 完成されたものは赤紫色を示す (黒矢印). 白矢印は核内封入体. ジステンパーウイルス接種後21日目の CS 細胞. Gi 染色 ×800.
- 図 8. 麻疹ウイルス接種後の MDCK 細胞. 赤紫色の細胞質内封入体は (黒矢印) 細胞質周辺部に偏在する. 白矢印は核内封入体. Gi 染色 ×400.
- 図 9. ジステンパーウイルス接種後20日目の核内封入体 (黒矢印), フォイルゲン反応陰性である, F 反応 ×800.

- 図 10. ジステンパーウイルス接種後 25 日目の細胞質内封入体（黒矢印）、細胞質内及び核内封入体は培養日数の多少に拘わらず常に F 反応陰性である。F 反応。×800。
- 図 11. ジステンパーウイルス接種後 25 日目の F 反応の対照。細胞は一樣に共染色に用いたメチルグリーンの緑色を呈す。黒矢印は細胞質内封入体。F 反応。×800。
- 図 12. 麻疹ウイルス感染細胞に対する F 反応。細胞質内（黒矢印）及び核内（白矢印）封入体はともに F 反応陰性。ウイルス接種後 12 日目。F 反応。×500。
- 図 13. ジステンパーウイルス接種後 25 日目の MDCK 細胞。MgP 染色の結果。核内封入体（白矢印）はピロニン好性である。MgP 染色。×400。
- 図 14. ジステンパーウイルス接種後 20 日目の CS 細胞。MgP 染色の結果。細胞質内封入体（白矢印）もピロニン好性である。MgP 染色。×800。
- 図 15. ジステンパーウイルス接種後 20 日目の CS 細胞。RNase 処理後 MgP 染色を行つた場合も依然として封入体はピロニン好性を示し RNase 抵抗性である。写真は核内封入体の場合を示す。RNase 処理後 MgP 染色。×600。
- 図 16. 麻疹ウイルス感染 MDCK 細胞の MgP 染色。ウイルス接種後 15 日目の細胞質内封入体（黒矢印）及び核内封入体（白矢印）。いずれもピロニン好性である。MgP 染色。×600。
- 図 17. AO 染色におけるウイルス無接種対照 CS 細胞。核小体及び細胞質は赤色の、核は黄緑色の螢光を發す。培養後 5 日目。AO 染色。×400。
- 図 18. ジステンパーウイルス接種後 5 日目の CS 細胞。核小体は赤色の輝きを増し大きくなり、又、核自身も大きくなる。しかし、ジステンパーウイルス感染細胞の場合、この様な変化は稀で対照の細胞と殆んど差位のないものが多い。この点 MV の場合と異なる。AO 染色。×600。
- 図 19. 培養 14 日目のウイルス無接種の対照 MDCK 細胞。AO 染色。×800。
- 図 20. ジステンパーウイルス接種後 14 日目の MDCK 細胞。AO 染色においても核内封入体（白矢印）の出現は細胞質内封入体の出現よりも早い場合が多い。そして、Gi 染色と同じように非染色性のものが多い。AO 染色。×800。
- 図 21. ジステンパーウイルス接種後 18 日目の細胞質内封入体。核内封入体（白矢印）に遅れて出現する細胞質内封入体（黒矢印）は、麻疹ウイルスの場合と同じく青色ないし青緑色を示す。AO 染色。×800。
- 図 22. 図 21 の細胞を HE 染色により後染色すると核内封入体（白矢印）及び細胞質内封入体（黒矢印）と同一とすることができる。HE 染色。×400。
- 図 23. RNase 処理後 AO 染色を行つたジステンパーウイルス感染細胞。ウイルス接種後 23 日目の MDCK 細胞で、細胞質内封入体（黒矢印）及び核内封入体（白矢印）は RNase 抵抗性である。RNase 処理後 AO 染色。×400。
- 図 24. 麻疹ウイルス感染細胞の AO 染色。ウイルス接種後 10 日目の CS 細胞で、核内封入体（白矢印）は非染色性のものが多く、細胞質内封入体（黒矢印）は青白色ないし青緑色を示す。AO 染色。×800。
-

The cytochemical studies on the tissue culture cells infected
with measles virus and distemper virus

Part II. A comparative study on dog kidney cultured cells of
measles virus and distemper virus infection.

By

Jun SHIBATA

Department of Microbiology, Okayama University Medical School, Okayama, Japan

(Chief : Prof. S. Murakami)

(Director : Ass. Prof. J. Tawara)

Author's abstract

The morphological changes observed in dog kidney cultured cells infected with distemper virus (Hokkaido strain) were compared cytochemically with those of measles virus (Edmonston strain). The results were as follows.

1) Twelve to fourteen after inoculation the CPE was first observed in dog kidney cells infected with distemper virus. The appearance of the CPE was seven to ten days later than that of measles virus.

2) The CPE of the distemper virus infected cells was the same multinucleated giant cells, cytoplasmic inclusion bodies, and intranuclear inclusion bodies as those observed in the measles virus infected cell.

3) Both the inclusion bodies in the distemper virus infected cells also showed Feuglen negative, red staining with methylgreen pyronine, RNase resistant, and the cytoplasmic inclusion bodies blue to bluish green, otherwise the intranuclear inclusion bodies unstainable with acridine orange. This indicates that as with measles virus infection the cytoplasmic inclusion bodies have RNA, acid mucopolysaccharides and basic proteins, the intranuclear inclusion bodies no nucleic acids.

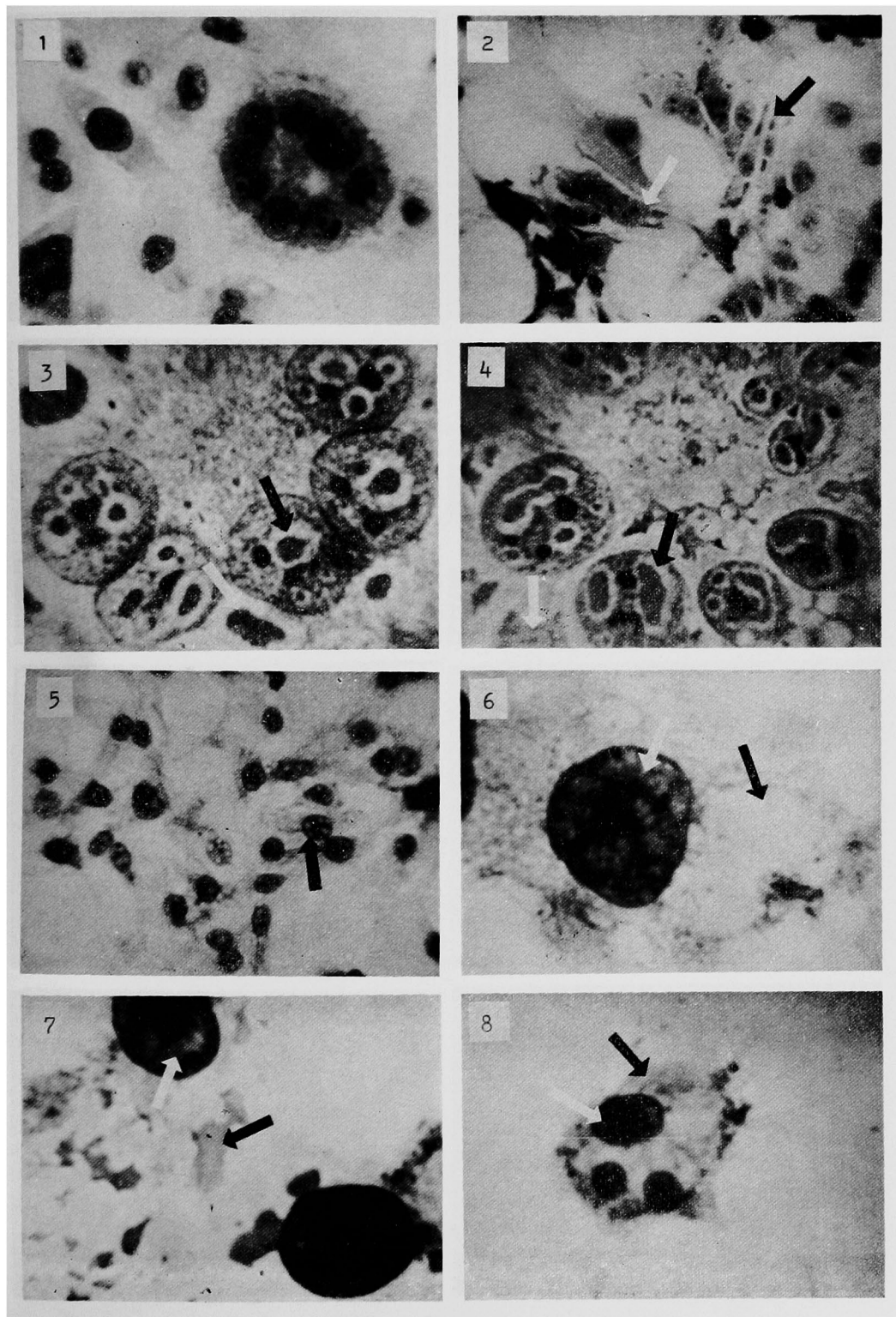
4) In the tissue culture cells inoculated with distemper virus the intranuclear inclusion bodies appeared at the same time or a few days earlier than the cytoplasmic inclusion bodies when stained with Giemsa or acridine orange.

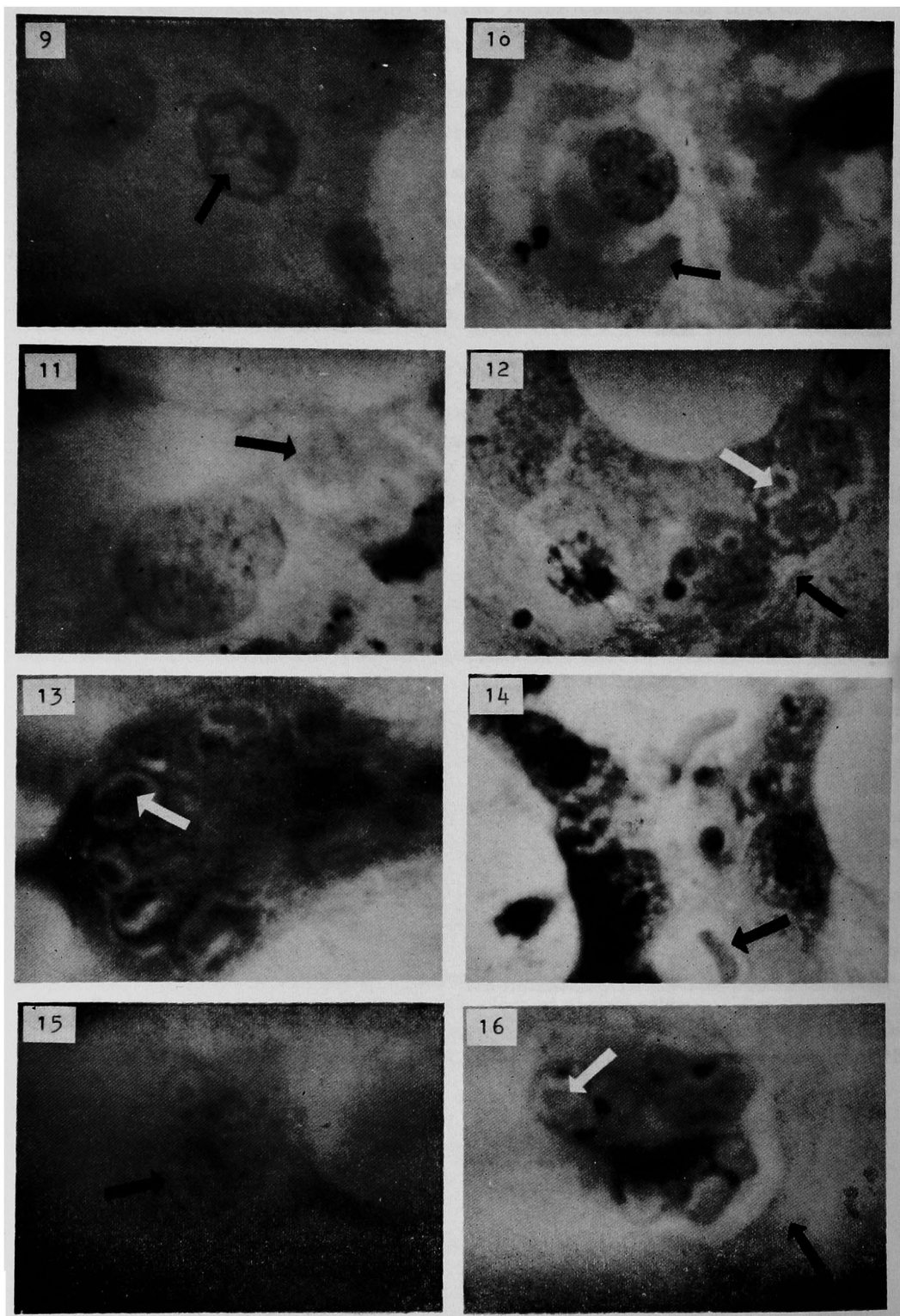
5) The red particles in the cytoplasm of the measles virus infected cells were not detected in the cells inoculated with distemper virus when stained with acridine orange.

6) With acridine orange staining there were no differences of largeness and brightness of the nuclei and nucleoli between the distemper virus infected cells and the control cells. Then it seemed seldom to be an increased metabolism of nucleic acids.

7) Summing up, the morphological changes in the tissue culture cells infected with measles virus and distemper virus were quite the same except for the appearance of the CPE after virus inoculation.

柴田論文附図





柴田論文附図

