日本並に米國流行性腦炎罹患二十日鼠淋巴腺に於ける核包含體形成に就て

第3報　免疫血清注射に依る淋巴腺に於ける包含體の變化及び同病毒皮下接種，腹腔內接種に依る淋巴腺の包含體に就て

岡山醫科大學病理學教室（指導 濱崎教授）

松　本　　久

（昭和25年1月21日受稿）

I. 緒　言

流行性腦炎病毒の中和試驗は1933年 Webster, Fite and Clow[1] が米國流行性腦炎病毒 St.Louis 株を用ひて行つたのが最初で Levaditi[2], Andrew[3] 氏等は嗜眠性腦炎で，川村氏[4]等は日本流行性腦炎病毒に於て各々中和試驗を行つた．他方 Andrew は1929年 Virus III[5], 1930年 Herpes virus[6], Salivary virus[7] の研究で，組織培養の際に免疫血清を Virus と同時に又はその少し以前に組織に加へれば Virus は增加しないが，この後に與へられた時は Virus は繁殖し得る事を發表した．この事實は其の後諸家に依り他種 Virus に就いても追證された．濱崎教授[8] は昭和16年日本並に米國流行性腦炎に特殊な核包含體を發見し，爾來それに關する多數の研究を行つたが，1944年濱崎教授及びその門下生永瀨，高見等は二十日鼠を用ひて流行性腦炎 Virulicidin の核包含體に及ぼす影響に就て發表し日本及び米國流行性腦炎病毒の交叉中和を行つた際に中和試驗例ではその罹患は遲れ又は完全に阻止され，發病の遲れた二十日鼠では非中和例に比して包含體形成は遙かに尠なく免疫血清の包含體形成に對する阻止作用を明らかに認め得た．併し乍ら同病毒接種後二十日鼠に免疫血清を注射した場合には發病阻止は勿論，發病遲延すら認め得なかつたが腦組織に於ける包含體形成は著しく阻止された事實を確認した．私は第1報及び第2報に於て流行性腦炎病毒の靜脈內接種並に鼻內接種を行つた二十日鼠淋巴腺に就て核包含體形成機轉を時間的に追求したが今回濱崎教授指導の下に日本流行性腦炎病毒接種二十日鼠に免疫血清注射を行つた例の淋巴腺に就て包含體の狀況を檢し，其の他に流行性腦炎病毒の皮下接種腹腔內接種法に依る二十日鼠淋巴腺に於て核包含體を檢索し得たので玆に併せ報告する次第である．

II. 實驗材料並に實驗方法

流行性腦炎病毒日本株は北山內科患者より分離された佐藤株，米國流行性腦炎病毒は St. Louis 株（Webster No. 3）を使用した．免疫血清注射例では日本株を用ひ定型的に發症した二十日鼠の10倍腦乳劑を前報の如くして鼻內接種を行ひ動物番號 No. H 67 では病毒接種後より斃死までに免疫血清注射1回，動物番號 No. H 68 では同じく2回，動物番號 No. H 63, No. H 64, No. H 65, No. H 66 では病毒接種直後より隔日に斃死まで3回注射を行ひ，動物番號 No. H 61, 及び No. H 62 に於ては病毒接種前日に1回爾後斃死まで隔日に同免疫血清注射を3回計4回を注射した．發病斃死直後淋巴腺（頸部，前脚，後脚淋巴腺）を摘出前報同樣濱崎教授創案に依るクローム固定液にて固定，パラフィン切片，Haematoxylin-Eosin 染色を行つた．免疫血清は家兎を使用し定型的に日本流行性腦炎に罹患した二十日鼠20位腦乳劑を20分間遠心沈澱（每分3000回轉）を行ひ每週1cc,

2 cc, 4 cc, 7 cc, 10 cc. と5週に亘り家兎の耳靜脈より靜脈內接種を行ひ最終注射より2週の後に血清を採取したものである.

皮下接種例では日本（佐藤株）の定型的に發症した二十日鼠10倍腦乳劑0.3～0.5 ccを二十日鼠背部皮下に接種し接種後8日乃至10日に屠殺し，腹腔內接種法では米國株（St. Louis 株 Webster No. 3）及び日本株を使用し前述同樣の10倍腦乳劑を 0.25～0.5 ccを右側腹部より腹腔內に接種し接種後6日乃至7日に屠殺し，屠殺後直ちに頸部，腸間膜，前脚並に後脚淋巴腺を摘出しこれ等を皮下接種例では硫酸銅加純アルコール，米國株腹腔內接種例は濱崎氏クローム固定液，日本株腹腔內接種例は昇汞アルコールで固定しパラフィン切片となし Haematoxylin-Eosin 染色を行つたものである.

III. 實驗成績

1) 免疫血清注射例に依る淋巴腺に就て

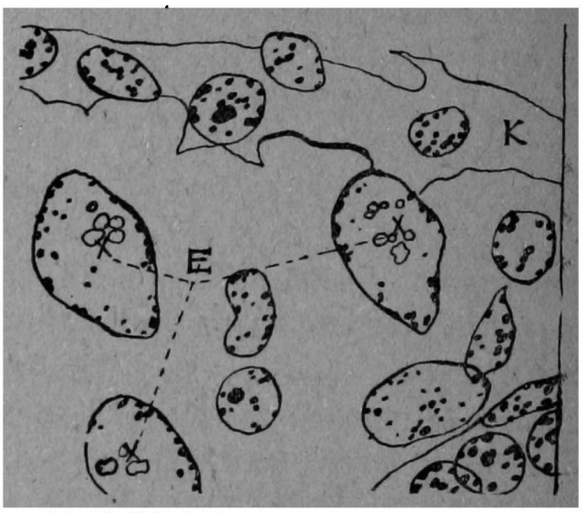
i) 免疫血清注射1回の場合. クローム固定.

動物番號 No. H 67, 頸部淋巴腺では核包含體は緣竇の腫大した竇內皮細胞，網狀織細胞核內に存し大いさ2～4 μ橙黃色で光澤も可成り著しく，類圓形乃至楕圓形の包含體が相當數に認められ核空隙も可成り廣く多くは空虛である. 髓質網狀織細胞核內にも稍々小形の前述の樣な包含體が見られる. その他に顆粒狀集團として現はれてゐるものも認められる. 血管內皮の增殖，腫大は著明である. 實質中には僅かのプラスマ細胞，單核球が認められる. 前脚及び後脚淋巴腺では前記兩種細胞の腫大してゐるものでは核及び胞體共に退行性變化を起してゐるものが多く，同核內には淡黃褐色顆粒狀乃至は絲狀物を認め得るが包含體と斷じ得ない狀態にある.

ii) 免疫血清注射2回の場合. クローム固定.

動物番號（No. H 68） 頸部淋巴腺では包含體は緣竇及び中間竇の內皮及び網狀織細胞核內に3 μ大の橙黃色の包含體が可成り認め得られるがその光澤は失はれ核空隙は少量の蛋白塊を容れてゐる. 一方包含體は不整形乃至1 μ大顆粒狀集團として存するものが增加する.（揷圖）斯る場合核空隙は微細顆粒狀に現はれてゐる. 實質中では網狀織細胞が增殖

免液血清注射2回核包含體



E 顆粒狀集團の包含體 K 被膜

しプラスマ細胞や單核球の輕度の浸潤が認められた. 前脚及び後脚淋巴腺では核包含體は全く認められない. 尙竇內皮及び網狀織細胞の退行性變化が認められ，特に著しく腫大したものでは核及び胞體ともに同變化が强い.

iii) 免疫血清注射3回の場合. クローム固定.

動物番號（No. H 63, No. H 64, No. H 65, No. H 66），頸部淋巴腺では包含體は免疫血清注射2回に比して其の數は更に減少し，1 μ以下の橙黃色顆粒狀に崩壞し，（No. H 66, No. H 64, No. H 63）微細顆粒狀の染色素が再生しその爲に核空隙は不明瞭化してゐる. No. H 65 の頸部淋巴腺では前記の樣な包含體も多數に認められるが稀に2 μ～3 μ大の包含體も見られた. 前脚及び後脚淋巴腺では竇內皮及び網狀織細胞の退行性變化が强い（特に H 66, H 63）. 包含體は全く認められない.

iv) 免疫血清注射4回の場合.

動物番號（No. H 62, No. H 61），頸部淋巴腺では包含體は總て微細顆粒狀の淡黃褐色乃至淡橙黃色光澤の鈍い小體として現はれてゐ

るに過ぎない．核空隙は微細顆粒狀の染色素の再生に依つて充される．前脚後脚淋巴腺では包含體は全く認められない．

2) 皮下接種に依る淋巴腺に於ける包含體．

i) 接種後8日，頸部淋巴腺に於ては包含體は2μ～3μ圓形，境界不明瞭で染色素の微細顆粒で被覆されてゐる．或はまた淡黃褐色の1μ以下の顆粒狀に崩壞してゐる．併乍ら崩壞して居らない包含體では色調が淡黃紅色で光澤が可成りに存するものも多い．淋巴細胞は實質中では可成りに增加し又血管內皮細胞も輕度に腫脹してゐる．前脚淋巴腺では核包含體は僅かに黃褐色顆粒狀に認められる．又稀に2μ大不整形の包含體も見られるが光澤は失はれてゐる．包含體は殆ど總て染色素の微細顆粒で被覆されてゐる．

ii) 接種後10日，頸部淋巴腺では接種後8日に較べて包含體は著しく減少し稀に1μ大の淡黃褐色と小體として網狀織細胞核內に認められる．又再生した微細染色素顆粒に覆はれた2μ大不整形の崩壞に瀕した包含體も見られる．一方包含體は吸收されて染色素の再生と相俟つて正常核構造に近ずいたものも認められる．一側の前脚淋巴腺では包含體は淡黃褐色顆粒狀に崩壞し更に淡黃灰白色に褪色したものを可成り多數に見られた．他側の前脚淋巴腺では包含體は更に僅少であつた．後脚淋巴腺では一側では前脚同樣の運命にある包含體が少數見られたが他側の後脚淋巴腺では，網狀織細胞が少し腫脹し核中心部が僅かに淡明で包含體吸收後を思はせるものもある．接種後10日では血管內皮の增殖は極めて輕微である．

3) 米國株流行性腦炎病毒腹腔內接種に依る二十日鼠淋巴腺の核包含體．

（i） 接種後6日(動物番號 No. 612 ～ No. 613) 頸部淋巴腺では No. 613 にては包含體は皮質に多く竇內皮及び網狀織細胞核內に境界比較的明瞭な3μ～5μ大の橙黃色の稍々光澤のある包含體が相當數に認められる．髓質にてはこれより稍々小形で1μ～2μ大のものが多い．核空隙も宏く基質も等質性のものも認められるが，一方微細な染色素の再生に依つて核空隙は充されこれを透して黃褐色に變性を起した包含體も見られる．一般に網狀織細胞に認められるものは包含體の變性の進んだものが多く見られる．

No. 612 の頸部淋巴腺では包含體は前者に比して成形が微弱で且つ變性も進み黃褐色顆粒狀に現はれるものが多い．血管內皮細胞は輕度に增殖腫大を呈してゐる．腸間膜淋巴腺では顆粒狀に崩壞した包含體の外に光澤は乏しいが境界の稍々明瞭な包含體が僅かに認められる，前脚及び後脚淋巴腺は腸間膜淋巴腺より更に包含體形成は微弱でその半數に於て僅かに淡黃褐色顆粒に崩壞した包含體が認められた．腸間膜，前脚及び後脚淋巴腺に於ても頸部淋巴腺で見られた樣な染色素の再生が起つて核空隙中には微細な顆粒染色素が核空隙を充してゐる．

（ii） 接種後7日(動物番號 No. 614 ～ No. 615)，No. 615 の頸部淋巴腺では竇內皮及び網狀織細胞の核及び胞體共に退行性變化が强く，斯る核內の包含體は亦變性が强くて淡黃褐色顆粒狀に崩壞してゐるが，No. 614 では前記の樣な包含體の外に2μ～4μ黃褐色光澤の乏しい包含體が可成り見られ，尙少數ではあるが2μ～4μ大光澤のある境界明瞭な包含體も認められた．本淋巴腺では實質內に單核球やプラスマ細胞の輕度の浸潤が見られた．腸間膜淋巴腺，前脚及び後脚淋巴腺では被檢例の半數に强く變性に陷つた淡黃褐色乃至淡黃灰白の光澤の鈍い小體に崩壞した包含體と思はれるものを認めたに過ぎない．これ等のものは核壁より再生した微細染色素顆粒を透して望見される．尙日本流行性腦炎病毒（佐藤株）の腹腔內接種に依る二十日鼠淋巴腺の接種後6日の所見は米國株(St. Louis)の同6日後の所見と大同小異であるが後者に比して包含體は數的に幾分多く認められる．

IV. 實驗成績總括

曩に濱崎教授[9]及び門下生永瀨，高見等は日本流行性腦炎病毒の經鼻被接種二十日鼠に

免疫血清注射を行つた際にこれ等二十日鼠に腦炎の發病を阻止し得なかつた許りでなくその發病の遲延すら認める事は出來なかつた．然し乍ら該二十日鼠腦組織に於て著明な包含體形成の阻止作用を確認し得た．私は同樣に處置せられた二十日鼠淋巴腺に於て核包含體の變化に就て檢索した結果，免疫血清注射1回の場合では頸部淋巴腺に於ては2μ～4μ橙黃色で光澤も可成りある類圓形乃至橢圓形の包含體が竇內皮細胞や網狀織細胞核內に認められ核空隙も可成り廣く多くは空虛であつた．前脚及び後脚淋巴腺では前記兩種細胞の腫大した核には時に淡黃褐色顆粒狀乃至絲狀物を認め得たが包含體と斷じ得ない狀態にある．私は前篇で病毒鼻內接種に依る日本及び米國流行性腦炎罹患二十日鼠淋巴腺の核包含體形成に就て時間的に追求したが接種後6日では頸部淋巴腺に於てのみ猶定型的包含體が可成の數に殘存して居たが前脚，後脚淋巴腺に於ては包含體は强く變性を起して崩壞し次いで吸收されその數は著しく減少してゐた．本實驗例では病毒接種から斃死まで7日の經過があり，而も頸部淋巴腺に於ては猶可成りの定型的包含體が認められた，然し前脚，後脚淋巴腺では包含體と斷じ得る程度のものは認められなかつた．本實驗例には對照例は無いが前篇鼻內接種例と比較して免疫血清注射1回では包含體に特記すべき影響があつたとは認め難い．免疫血清注射2回行つた例では包含體は數量的には前回に比して左程減少して居らず，猶3μ～4μの包含體も認め得たがその光澤は失はれ，不整形に崩壞しかけたものや，1μ大顆粒狀に崩壞したものか多數增加する．核空隙も前回の場合には明瞭なものが多かつたが2回注射では核空隙は不明瞭化してゐる．濱崎教授[9]の研究に依ればVirulicidin の核包含體に及ぼす影響に就いてはその包含體の量的減少より質的變化に注意すべきことを提唱せられて居る．本例に於ても亦質的變化が認められた．尙前脚及び後脚淋巴腺では包含體は全く認め得なかつた．免疫血清注射3回行つたものでは，頸部淋巴腺に於て包含體は前例に比して更に減少し且つ總て1μ乃至1μ以下の橙黃色顆粒狀に崩壞し微細顆粒狀の染色素が核空隙內に再生してゐる．一例の頸部淋巴腺では斯る崩壞した包含體の外に猶稀に2μ～3μ大の包含體も認められた．前脚及び後脚淋巴腺では包含體は全く見られなかつた．即ち免疫血清注射を3回行つたものでは包含體には質的にも量的にも著明の阻止作用が認められた．免疫血清を4回注射した場合には頸部淋巴腺では包含體形成は更に微弱となり，總て淡黃褐色の光澤の鈍い小體として僅かに認められるに過ぎず，一方微細顆粒狀の染色素再生が著明で核空隙はこれを以つて充されてゐる．免疫血清注射に依る包含體形成阻止作用は腦組織に於けると同樣（濱崎等）4回注射の時に最も顯著に認められた．

日本流行性腦炎病毒皮下接種8日後の頸部淋巴腺では網狀織及び竇內皮細胞核內に包含體は猶相當數に認められ，2μ～3μ圓形，境界不明瞭で染色素の微細顆粒で覆はれ，或は淡黃褐色の1μ大の顆粒狀に崩壞したものも認められる．然し一方には淡黃紅色で光澤も可成り存する包含體も多い．前脚及び後脚淋巴腺では頸部淋巴腺より包含體の出現率が低く且つその變性が更に進み淡黃褐色顆粒狀に現はれる．稀には2μ大の不整形の包含體も見られるが光澤を失つてゐる．これ等の包含體は染色素の再生に依つて被覆されてゐるものが多い．之と同樣な所見は鼻內接種後概ね6日後の所見に現れるのであるから，包含體の崩壞吸收は皮下接種では鼻內接種に比較して2～3日の「ずれ」が認められる．この差異は恐らく鼻內接種では發病が5～7日後に起り，皮下接種では8～10日後でその潛伏期間の長短に依るものであらう．血管內皮の增殖增大も皮下接種に於て認められるが，他の何れの接種よりも輕微である．接種後10日では8日後の包含體に比して崩壞，變性は更に進み，染色素の再生と包含體の吸收に依つて核は正常構造に近ずいたものが認められる．

米國株病毒の腹腔內接種後6日の頸部淋巴腺では核包含體は比較的多數に認められ，橙黃色，圓形で境界の比較的明瞭なものがあるが多くは染色素が既に再生して微細顆粒狀に核空隙中に侵入してゐる．尙包含體の變性が進み淡黃褐色顆粒狀に崩壞したものも多數に認められる．實質では網狀織細胞や血管內皮の增殖が見られるが鼻內接種より一般に輕微である．前脚及び後脚淋巴腺では頸部淋巴腺より形成は更に微弱で變性，崩壞は進み定型の包含體は認められず淡黃褐色顆粒狀のものが僅かに見られるに過ぎない．接種後7日では包含體は頸部淋巴腺に於て少數の境界明瞭な包含體も認め得たが大部のものは光澤を失ひ且つ顆粒狀に崩壞してゐる．前脚，後脚では6日後に比して包含體の變性が更に進み一方核壁より染色素再生が起りこの顆粒狀染色素を透し包含體が望見される．核包含體の發現頻度は鼻內，腹腔內，皮下接種法3者の孰れの場合でも頸部淋巴腺に最も多く認められ且つ前脚，後脚淋巴腺に於て包含體が崩壞後も猶少數乍ら定型的のものが殘存する．頸部淋巴腺に次いで鼻內接種では前脚淋巴腺に包含體は多く認められたが，腹腔內接種では前脚より稍々多く後脚淋巴腺に認められ，皮下接種では前脚，後脚淋巴腺に略ぼ，同程度に見られた．

日本流行性腦炎病毒接種二十日鼠の免疫血清注射に依る淋巴腺に於ける核包含體一覽表

動物番號	注射回數	頸部淋巴腺	前脚淋巴腺	後脚林巴腺
H. 67	1回	＋	±	±
H. 68	2回	＋	－	－
H. 66		＋	－	－
H. 65	3回	＋	－	－
H. 64		＋	－	－
H. 63		＋	－	－
H. 62	4回	＋	－	－
H. 61		＋	－	－

日本流行性腦炎罹患二十日鼠（皮下接種法）淋巴腺の包含體一覽表

動物番號	經過日數	頸部淋巴腺	前脚淋巴腺	後脚淋巴腺
229	8日	＋	＋	＋
228	10日	＋	＋＋	＋－

流行性腦炎罹患二十日鼠（腹腔內接種法）淋巴腺の包含體一覽表

動物番號	病毒別	經過日數	頸部淋巴腺	前脚淋巴腺	後脚淋巴腺	腸間膜淋巴腺
613	米國株	6日	＋	－＋	－＋	＋
612	〃	6日	＋	＋－	＋－	＋
614	〃	7日	＋	－－	＋－	＋
615	〃	7日	＋	＋－	－＋	－
269	日本株	6日	＋	＋－	＋＋	

V. 結　論

日本流行性腦炎病毒接種の二十日鼠に免疫血清注射を行ひ，淋巴腺に於ける核包含體の變化と，同病毒の皮下接種，米國株病毒の腹腔內接種後罹患二十日鼠淋巴腺の核包含體を檢し次の成績を得た．

1) 免疫血清注射1回行つた淋巴腺に於ては特記すべき核包含體形成阻止作用は認められなかつた．

2) 免疫血清注射2回行つた淋巴腺の包含體は前者に比して數量には著しい減少は現はれないが質的變化が見られ，包含體の崩壞，核空隙の不明瞭化等が認められ包含體形成阻止作用が確認された．

3) 免疫血清注射3回行ふと淋巴腺の包含體は更に減少し，光澤は失はれ，色調も低下し橙黃色顆粒狀に現はれ，包含體形成阻止作用が著しく認められた．

4) 免疫血清注射4回行ふと包含體は總て淡黃褐色顆粒狀の光澤の鈍い小體と化しその數も著しく減少し包含體形成の阻止作用が顯著に認められた．

5) 淋巴腺別に依る包含體形成頻度は鼻內接種では頸部淋巴腺に最も多く，腸間膜，前脚，後脚淋巴腺の順位であるが，腹腔內接種法では頸部淋巴腺最も多く，前脚淋巴腺より後脚のそれに稍々多く認められたが，皮下接種法では頸部淋巴腺に最も多く，前脚及び後

脚のそれには略々同程度に認められた.

6) 淋巴腺包含體の崩壊. 吸收は鼻内接種では接種後概ね6日, 皮下接種ではこれより2～3日遲れ, 腹腔内接種法では兩者の中間に位する.

擱筆に臨み, 終始御懇篤な御指導と御校閲を賜つた, 恩師濱崎教授に深甚な謝意を表する次第です.

文 献

1) Webster, Fite, and Clow: J. exper. Med., Vol. 62, 827, 1935. 2) Levaditi: Hand. Virusforsch. Wien, 1939. 3) Andrew: J. Path. a. Bact. 32, 265, 1929. 4) 川村他: 東京醫事新誌, No. 2975, 911, 1926. 5) Andrews: Brit. J. exper. Path: 10, 273, 1929. 6) Andrews: J. Path. and Bac. 33, 301, 1930. 7) Andrews: Brit. J. exper. Path. 11, 23, 1930. 8) 濱崎: 岡醫誌, 第53年, 第61號, 9) Y. Hamazaki, S. Nagase, S. Takami: Jap. J. of Medical Scienc; VI. Bacter. & Parasit. Vol. II. No. 4, 1944. 10) 其他: 第1報, 第2報, 文献參照.

レ線作用の核病理學的檢索 (III)
(Feulgen 反應による檢索)

岡山大學醫學部病理學教室 (指導 濱崎教授)
助手 佐藤二郎

(昭和24年10月5日受稿)

序 論

前報に於て[1] 成熟マウスにレ線を200γ照射するとケトエノール顆粒 (KEG) は3時間で殆ど消失することを報告した. 又之に反し無菌的に保存された生存組織に600γレ線を照射した場合[2]にはKEGは殆ど變化しなかつた.

上記實驗から私は「レ線は細胞核の機能麻痺を一時的に起す.」と結論したが, レ線照射は又必然的に核蛋白代謝にも影響を及ぼすべきである. 玆にレ線作用の核病理學的檢索の一環として Feulgen 反應によつて照射された組織の核蛋白の消長を檢索した.

實驗方法. 成熟マウスにレ線600γを全身照射し逐時的に絞殺し, 濱崎氏汞合劑固定をして後 Feulgen 反應を行つて無操作動物の組織像と比較した. 又同時にクローム合劑固定を行つて參照した. レ線の性質は前報[1]と同様にした.

實驗成績. (I) Feulgen 反應. 心臟. (3時間) 對照に比して筋線維は一樣に淡紅色を呈し筋線維核は一般に著しく呈色を減ずる. 正常核の中心部で光輝性赤染色に呈色した核網結節は褪色著しくはないが, 他の核網結節及び核膜は著しく褪色する. 結締織細胞核は實質細胞のそれに比べると變化は輕いが, 核形質は呈色性を失ひ核網結節が少數殘留する. (2日) 筋纖維核は一般に呈色を失つて, 筋纖維は僅かに淡紅色を呈する. 結締織細胞核も更に呈色を減少する. (4日) 筋線維核は辛じて認め得る程度に呈色性を恢復するが, 猶非常に呈色は弱い. 結締織細胞核は前回よりもやや呈色性を亢め核形質が淡く瀰漫性紫色に現れる. 筋漿は猶瀰漫性淡紅色に染る. (6日) 筋線維核は核膜及び少數の核網結節が僅かに淡紅色を帶びて可視性となる. 結締織細胞核は中等度に呈色している. (8日) 實質及び間質細胞核は正常核に比して赤色調やや强く對照よりも呈色の增强があるやうである.