鶏べすとウイルスノ培養組織ノ發育ニ及ボス影響

京都帝國大學醫學部微生物學教室 (主任 木村教授)

醫學士 金 澤 六 郎
Rokuro Kanazawa

(昭和16年2月28日受付)

【内 容 抄 録】

教室ノ増永氏ガ分離シタル種ノ鶏べすとウイルス(教室株)ノ無處置及免疫家鶏肺, 肝組織ノ發育ニ及ボス影響ヲ檢シタガ, 培養初期ニ於テハ發育ヲ促進スルガ後抑制スル事ヲ認メタ。

目 次

第1章 緒 言	場 合
第2章 實驗材料及實驗方法	第3節 免疫組織ニウイルスヲ接觸セシメテ培養シタ場合
第3章 實驗成績	第4章 總括並ニ結論
第1節 正常組織ヲ培養シタ場合	主要文献
第2節 鶏べすとウイルス感染組織ヲ培養シタ	

第1章 緒 言

培養組織ニ及ボス諸條件ノ影響ハ枚舉ニ追ナク, 或ハ物理化學的或ハ細菌及細菌毒ニ依ル, 又ハほるもん, ビタミンニ因ル等ニ周知ノ事實デアル。

昭和6年藤澤氏ハ初メテウイルスノ培養組織ニ及ボス影響ヲ報告シタノデアルガ, 氏ハ痘毒ヲ正常及痘毒感染家兎各種内臓組織ニ作用セシメ其ノ影響ヲ檢シタノデアル。

初メテ鶏べすとウイルスヲ體外ニ培養シタノハ Rhoda Erdmann デ, 氏ハ骨髓細胞ト共ニ培養シタガ良好ナル成績ハ得ラレナカツタ。然ルニ1936年 Hallauer ハ系統的ニ家鶏胎兒, 成熟家鶏ソノ他異種動物ノ各種臓器組織ト共ニ培養シ精細ナル報告ヲナシテ居ル。

鶏べすとウイルスノ培養組織ノ發育ニ及ボス影響ニ關シテハ昭和14年増永氏ガ, 無處置ノ家鶏胎兒心及脾臓組織ヲ用ヒテ實驗シタノデアル。氏ハウイルスノ稀釋率ニヨツテ相違ハアルガ, 要スルニ鶏べすとウイルスハ培養組織ニ對シ一定度ノ發育阻止作用ヲ有スルト結論シタ。

予ハ本ウイルスヲ無處置及免疫家鶏肺及肝臓組織ニ作用セシメ, 之ガ培養組織ノ發育ニ及ボス影響ヲ檢シ, 其ノ結果ヲ報告セントスルモノデアル。

第2章 實驗材料及實驗方法

第 1 節 實 驗 材 料

- (1) 實驗動物：白色れぐぼん種ノ生後3~4月體重1.0kg前後ノ幼若家鶏ヲ用ヒタ。
- (2) 鶏べすとぐいーるす：實驗ニ供シタ鶏べすとぐいーるすハ、教室ノ増永氏ガ感染致死家鶏カラ分離培養シタ教室株デ、D.L.M.ヲ成熟家鶏ニツキ檢シタル結果ハ 10^{-6} (Pro. kg. 1cc)デ接種後3~4日ノ經過デ斃死シタ。
- (3) 培養基：Carrel氏壘ヲ當教室ニ於テ改良シタモノデ、圓形部ハ直徑2.6cm、深サ1.0cm、側面ニ長サ2.0cm、口徑0.5cmノ管口ヲ有スルー口壘デアル。
- (4) 發育促進成分：孵化7~9日目ノ家鶏胎兒ヲ無菌的ニ摘出シ、たいろーど氏液ヲ以テ洗滌後壓搾器ヲ用ヒテ壓搾シ、得タル胎兒粥ヲ遠心沈澱(3000回轉30分)セシメタル上清ヲ原液ト看做シ、之ヲ適宜稀釋シテ用ヒタ。
- (5) 支持體：生後約1年、體重1.5kg前後ノ名古屋こーちん種ノ雄性家鶏カラ採取シタ血漿ヲ用ヒタ。血漿ノ採取ハ加熱流動ばらふいん中デ滅菌シタかにゆーれヲ家鶏ノ頸動脈ニ挿入シ、豫メばらふいにーれんシタ數個ノ分厚滅菌硝子管ニ採血シ、直ニ遠心沈澱(3000回轉20分)シテ血漿ヲ分離セシメ、更ニ血漿ヲばらふいにーれんシタ試験管ニ分注シ魔法壘ニ入レテ氷室内ニ貯藏シ、用時無菌ナルヲ確メタ後使用シタ。
- (6) たいろーど氏液：木村教授著〔組織培養ノ研究〕ノ記載ニヨツテ調製シ、内容100ccノ小こるべんニ第1液及第2液各30ccヲ分注シ、蒸氣釜ニテ8分、9分、及10分間3日間ニ亘リテ加熱滅菌シ置キ、使用前ニ兩者ヲ混合シテ之ヲ用ヒタ。
- (7) 培養基：固形成分ト液狀成分ヨリ成立ツ。

固 形 相	1. 家 鶏 血 漿	0.3cc
	2. 5%鶏胎えきす含有たいろーど氏液	0.9cc
液 狀 相	1. 家鶏胎兒えきす	0.2cc
	2. <u>たいろーど氏液</u>	0.6cc

- (8) 培養組織：上記實驗動物ノ無處置及免疫セル肺、肝組織ヲ培養シタ。免疫ノ方法ハほるまりん處置病毒(0.2%ほるまりん加10倍稀釋病毒ヲ37°Cノ孵籠ニ3日間放置シタモノ)ノ2ccヲ翼下靜脈ニ注射シ、10日後D.L.M. $\times 10^2$ ヲ筋肉内ニ注射シタ。而シテ2週間耐過セル家鶏ヲ用ヒタ。

此ノ如ク免疫セル家鶏及無處置ノ家鶏ノ頸動脈ヲ切斷シ放血後、肺臟及肝臟ノ周邊部ヲ無菌的ニ剔出シ、直ニ細切シテ約1mm平方ノ薄キ細片トナシ、たいろーど氏液ヲ以テ充分洗滌シタル後培養シタ。

第2節 實驗方法

第1項 培養方法

培養操作ハ木村教授著〔組織培養ノ研究〕ニ記載セラレタル方法ニ從ツタ。上述ノ無處置及免疫家鶏肺、肝組織ノ細片ヲ、鶏ペすと感染致死家鶏腦ヲたいろード氏液ヲ以テ1000倍ニ稀釋セル溶液中ニ、室溫ニ於テ30分接觸後培養シタ。

第2項 培養組織ノ發育計測

組織ノ發育計測ハ培養直後（原面積）、24時間後、48時間後、3日後及5日後 *Edinger's Vertikaler Projektionsapparat* ニテ描寫シ、*Planimeter* (Gebr. Wichmann, M. b. Berlin) ヲ以テ面積ヲ測定シ絶對成長價、比較成長價ヲ算出シテ發育狀態ヲ觀察シタ。

$$\text{比較成長價} = \frac{\text{發育面積} - \text{原面積}}{\text{原面積}} = \frac{\text{生長面積}}{\text{原面積}}$$

第3章 實驗成績

各例ニツキ3壺宛培養シ、1壺中3個ノ組織片ヲ含有スルヲ以テ、合計9個ノ平均數値ヲ表示シタ。培養直後ハ原面積ヲ、24時間以後ハ比較成長價ヲ示スモノデアル。

第1節 正常家鶏組織ヲ培養シタ場合

正常家鶏肺臟組織ハ培養1—2日ニ於テハ發育不良デアルガ、此ノ培養ノ初期ニ於テ肺胞上表様細胞ノ發現ヲ見ル。後次第ニ原組織ノ周圍ニ突起ヲ有スル細胞盛ニ發育シ互ニ連絡シ中ニ圓形細胞ヲ滿ス。培養3日頃カシ發育活潑トナリ初メル。培養5日ニ於テハ已ニ退行性トナリ、一側ニハ發育ヲ見ルガ他側カラハ自家融解ヲ起シ空洞ヲ形成スルニ至ル。

第1表 正常家鶏組織ヲ培養シタ場合（對照）

組 織	家鶏番號	平 均 原面積	24時間	48時間	3 日	5 日
肺 臟	1	1.25	0	0.35	1.26	3.06※
	2	1.41	0.22	0.68	1.50	3.45※
	3	1.23	0	0.44	1.14	3.32
	平 均	1.33	0.07	0.49	1.30	3.28
肝 臟	4	1.18	0.25	1.06	2.28	5.16
	5	0.82	0.18	1.20	2.09	4.28
	6	0.80	0.09	0.81	2.11	4.43
	平 均	0.95	0.17	1.02	2.18	4.62

但シ※ハ自家融解輕度ニ存ス。

正常家鶏肝臓組織ハ培養1—2日ニ於テハ單核細胞及結締組織母細胞ガ原組織ノ周圍ニ見ラレルノデアルガ、培養3日ニ至ツテ結締組織母細胞ノ増殖ト共ニ肝細胞ノ新生ガ見ラレル。肝細胞ハ相集ツテ索狀ヲ呈スル事ガ多イ。培養5日ニ於テハ結締組織母細胞ハ更ニ増殖ヲ見ルガ肝細胞ハ退行性變性ヲ初メル。然シナガラ未ダ空洞ヲ形成スルニハ至ラナイ。

第2節 鶏ペすと感染組織ヲ培養シタ場合

正常家鶏肺、肝組織ニ鶏ペすと病毒ヲ體外ニ於テ接觸セシメテ培養シタ時ハ、培養1—2日ノ初期ニ於テハ對照ニ比較シテ發育良好デアルガ、培養3日ニ於テハ發育ハ對照ト略同様デアル。培養5日ニ於テハ發育不良トナリ、又自家融解ヲ起スモノ多ク特ニ肺臓組織ニ於テ顯著デアル。

第2表 正常家鶏組織ニ病毒ヲ接觸セシメテ培養シタ場合

組 織	家鶏番號	平 均 原面積	24時間	48時間	3 日	5 日
肺 臓	7	0.86	0.12	0.55	1.19※	P
	8	0.92	0.19	0.48	1.06	3.10※
	9	0.73	0.23	0.72	1.38※	P
	平 均	0.87	0.18	0.65	1.28	3.10
肝 臓	10	0.96	0.19	1.36	2.01	3.95※
	11	0.72	0.23	1.92	2.19	4.41
	12	0.78	0.28	1.95	2.56	4.68※
	平 均	0.82	0.23	1.74	2.25	4.28

但シPハ自家融解ヲ示ス。

第3節 免疫家鶏組織ニ病毒ヲ接觸セシメテ培養シタ場合

免疫家鶏肺、肝組織ニ鶏ペすと病毒ヲ體外ニ於テ接觸セシメテ之ヲ培養シタ時、肺、肝組織共ニ培養1—2日ノ初期ニ於テハ、對照及正常組織ニ病毒ヲ接觸セシメテ培養シタ場合ニ比

第3表 免疫家鶏組織ヲ病毒ニ接觸セシメテ培養シタ場合

組 織	家鶏番號	平 均 原面積	24時間	48時間	3 日	5 日
肺 臓	13	1.25	0.36	0.82	1.28※	P
	14	1.36	0.21	0.73	1.19※	P
	15	1.18	0.32	0.85	1.35※	P
	平 均	1.25	0.28	0.80	1.27	
肝 臓	16	1.16	0.37	1.68	2.13	3.89※
	17	1.19	0.34	1.65	2.03	4.03※
	18	1.03	0.42	2.31	2.56	4.45※
	平 均	1.13	0.38	1.83	2.26	4.19

較　テ發育ハ良好デアアルガ、培養3日ニ於テハ正常組織ニ病毒ヲ接觸セシメテ培養シタ場合ト略同様デアアル。培養5日ニ於テハ肺組織ハ全組織片ガ自家融解ヲ起ス。然ルニ肝組織ハ一部分自家融解ヲ起スニ過ギズ。

第4章　總括並ニ結論

教室ノ増永氏が感染致死家鶏カラ分離シタ1種ノ鶏ベすと病毒(教室株)ヲ、正常及免疫家鶏肺、肝組織ニ於テ接觸セシメ、本病毒ノ之等2種ノ組織ノ發育ニ及ボス影響ヲ檢シタノデアアル。體外デ接觸ノ方法ハ、之等正常及免疫組織ヲ、感染致死腦ヲたいろーど氏液ヲ以テ1000倍ニ稀釋セル溶液中ニ、室溫(17°C)ニ於テ30分間接觸セシメタノデアツテ、然ル後體外ニ培養シ組織ノ發育ヲ測定シタノデアアル。

病毒ニ接觸セシメテ培養シタ正常及免疫組織ハ、肺、肝臟共ニ正常無處置ノ組織(對照)ニ比較スレバ培養初期(1—2日)ハ發育ハ良好デアアルガ、培養3日ニ於テハ略對照ニ等シク、培養5日ニ於テハ發育ハ不良トナル。自家融解ハ對照ニ於テモ肺組織ガ肝組織ヨリモ高度デ、培養5日ニ於テハ相當ニ現ハレテ來ルガ、病毒ニ接觸セシメテ後培養スレバ更ニ早期ニ、其ノ程度モ強ク、ソノ内免疫組織ニ病毒ヲ接觸セシメテ後培養シタ場合ガ最モ顯著デアアル。

擱筆ニ臨ミ終始御懇篤ナル御指導御校閲ヲ賜ハリシ恩師木村教授ニ衷心感謝ノ意ヲ捧グ。

主　要　文　献

- 1) Rhoda Erdmann : Arch. Protistenk., 41, 190, 1920.
- 2) Hallauer : Z. Hyg., 113, 61, 1936.
- 3) 藤澤 : 日微生物誌, 25卷上, 825, 昭和6年.
- 4) 増永 : 日微生物誌, 33卷, 397, 昭和14年.
- 5) 金澤 : 日微生物誌, 34卷, 511, 昭和15年.
- 6) Todd : J. Exp. Path., 9, 19, 1928.
- 7) 木村 : 組織培養之研究(術式及現況), 昭和5年.
- 8) Kolle, Kraus u. Uhlenhuth : Handbuch d. Path. Mikro., IX, 182.