ニューカッスル病ウィールスのハムスター

(*Mesocricetus auratus*) に対する病原性に就いて

第2報 ハムスター脳馴化ニューカッスル病ウィールスの性狀

松 本 節 郎

京都大学医学部微生物学教室 (主任 木村教授)

[受付: 5月8日, 1952年]

さきに、私はニューカッスル病ウィールス (ハムスター脳不馴化) 及び同馴化ウィールスの廿日鼠、海狸に対する病原性を検討したが、第1報に記述せる如く、何れも感染発症させ得る事が出来なかつた。然しハムスターに於ては感染させ得ることが出来たので更にハムスター脳馴化ウィールスの性狀に就いて追及したところ興味ある成績を得たので報告する。

実験材料及び実験方法

1. 供試病毒: 本実験も前報と同様にニューカッスル病ウィールス宮寺株で家鶏6代、孵化鶏卵34代通過せるものである。接種材料は感染孵化鶏卵漿尿膜の5倍稀釈乳剤である。

2. 供試動物: ハムスター (*Mesocricetus auratus*) 体重100g前後のものを選んだ。

3. 接種法: 前報と同様に脳内接種法を施した。1群3~5の動物を用いた。被接種動物はその一般状態に留意しつつ飼育し、毎日一定時刻に体温並びに体重測定を行った。又ウィールス接種後は発病の状態即ち潜伏期、死亡に至る迄の経過を観察し、死亡せる場合は脳及び各臓器の肉眼的変化を検査した後、切除して一部は病理組織標本を製作し、他の一部は生理的食塩水 (pH 7.2) を加え5倍稀釈乳剤とし、遠心沈澱後その0.05 cc を次代に移植した。

4. 赤血球凝集反應: 先づ新鮮家鶏赤血球 (2%枸橼酸ソーダ加) を3回生理的食塩水にて良く洗い最終遠心廻轉数を1500廻轉10分とし、洗滌赤血球の1%生理的食塩水浮游液0.5 cc を、 $10, 2 \times 10, 2^2 \times 10, \dots, 2^{10} \times 10$ に順次稀釈したウィールス液0.5 cc に加え強く振盪した後、室温 (5~15°C) に2時間放置して管底の赤血球沈澱像を調べた。

実験成績

1. 死亡率、潜伏期及び経過日数

潜伏期とはハムスターにニューカッスル病ウィールス

を脳内接種した時から、ハムスターが食欲不振、沈鬱、不活潑等の症状を発する迄の日数を言い、経過日数とは以上の材料をハムスター脳内累代接種により潜伏期を経て発症から死亡する迄の日数とする。その一系列の成績は第1報にも示したが、別の系列の成績を第1表に纏めて示す。即ち初代に於ては死亡率低く、潜伏期、経過日数は長く、且つ不揃いであつたが、世代を累ねるにつれて死亡率は高くなり、潜伏期、経過日数は共に短縮し、且つ一定となる傾向を示した。

2. 症状

ニューカッスル病ウィールスをハムスター脳内に接種して1~12代迄に接種数40例中36例は死亡した。

臨床症状は初代に於ては不確実な発現するが、累代接種が進むにつれて症状の発現は必然的となる傾向を示した。潜伏期は初代には5~6日なるも、累代12代に於ては2~3日に短縮された。(第1表参照) 脳内接種後3~6日の潜伏期後、動作不活潑、沈鬱となり食欲減退し箱の隅にて蹲居し勝ちとなり毛並が逆毛し軀幹を彎曲し両側前後に引きつけ顔を引き猫背を呈する。衰弱羸瘦及び体重減少は著しい。此の頃は運動が緩慢となり取扱が容易である。時には外界の刺激を加えると突然跳躍し、神経の興奮状態を来したのも見られた。尚お経過が進めば四肢の何れか麻痺を起し歩行緩徐となり、体位の均衡も失われ、平衡失調を来し、遁走に円滑を欠く。

麻痺は一樣でなく前肢より始まるものあり、後肢より始まるものあり、又明瞭でないこともある。就中後肢の麻痺が著明なものは腹部を床につけて前肢のみで軀幹を

MATUMOTO Seturō: Response of the Golden Hamster (*Mesocricetus auratus*) to the Newcastle Disease Virus. II Nature of the adapted Virus (to Golden Hamster brain) of the Newcastle Disease Virus. Institute of Microbiology, Faculty of Medicine, Kyoto University. —Jap. J. of Bact., 7 (5): 549-552, 1952.

第1表 ニューカッスル病ウィールスのハム
スター脳内通過による死亡率、潜伏
期及び経過日数

世代数	死亡率	死亡 (%)	潜 伏 期 (日)	経 過 日 数 (日)
1	3/5	60	5, 6, 6	5, 3, 3
2	3/3	100	5, 4, 4	4, 4, 4
3	3/3	100	4, 4, 4	5, 5, 4
4	3/3	100	5, 3, 3	4, 5, 4
5	2/3	66.6	4, 3	6, 4
6	5/5	100	3, 3, 4, 4, 4	3, 3, 4, 5, 3
7	3/3	100	4, 4, 3	3, 3, 3
8	3/3	100	3, 3, 3	4, 3, 3
9	3/3	100	2, 3, 3	4, 3, 3
10	3/3	100	3, 3, 4	2, 2, 3
11	3/3	100	3, 4, 3	2, 1, 2
12	3/3	100	2, 2, 3	4, 3, 2

死亡率： 分母は接種数，分子は死亡数

引きつり前進し，起立させれば平衡失調状態を示し，歩行蹣跚し，軽度の打撃に逢えば容易に転倒し易く，若し一度転倒すれば復位に返ることが困難である。時には全身を廻轉させ，不随意運動を起したものもあつた。以上の症状の時期には鼻カタルの症状が著明で鼻汁の分泌及び流涎亢進し，下顎及び胸部の被毛を濕潤させ，眼部には眼脂漏が著しく眼瞼閉鎖の際眼脂漏の分泌が増加した。又果代経過中に於て2例に於て膀胱出血のため血尿を来したものがあつた。

以上の症状を来す様になれば1~3日の中に多くは死亡した。その他著明なものとして，体温並に体重の変化がある。その1例を示すと次の通りである。

1. 体温の変化

体温の動搖は第2表に示す如く，接種翌日は上昇した

第2表 ニューカッスル病ウィールスのハムスター
脳内接種に於ける体温の変化

が，1~2日後には下降し，再び3~4日後には上昇し，爾後稽留，死の末期に及んで急に下降した。

2. 体重の変化

第3表 ニューカッスル病ウィールスのハム
スター脳内接種に於ける体重の変化

第3表に示す如く，接種後48時間迄は対照と殆んど同じであるが，3日以後は日数と共に体重の減少が著明となり，死の末期に於ては30~35gの減少を認めた。尚おハムスター脳内通過の際は，潜伏期及び病日数の短縮に伴つて症状が著明に現われずに又卒然死亡するため体重の減少が左迄強く認められないこともある。(写真6参照)

3. 毒力の変化

ニューカッスル病ウィールスのハムスター脳内通過とLD₅₀の推移の関係を観察した。即ちハムスター脳内通過1代，5代，12代目の脳乳剤を作り，これを通減希釈し，その各々の0.05ccをハムスターの脳内に接種した。第4表に示す如くLD₅₀は1代に於ては10^{-3.66}であつたが，5代では10⁻⁴となり，12代では10^{-4.5}であつた。1~12代迄の間に10^{-1.16}の増強を認めた。

第4表 ニューカッスル病ウィールスのハム
スター脳内通過による毒力の変化

世代数	病 毒 稀 釋						LD 50
	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	
1	4/4	4/4	4/4	1/4	2/4	0/4	10 ^{-3.66}
5	4/4	4/4	4/4	2/4	0/4	0/4	10 ⁻⁴
12	4/4	4/4	4/4	4/4	0/4	0/4	10 ^{-4.5}

分母は接種数 分子は死亡数

4. ハムスター脳内接種に於ける体内のウィルス分布

ニューカッスル病ウィールスに感染したハムスターの各臓器(脳，脊髓，血液，肝，脾，肺，腎)の乳剤を作り，その各々を夫々別個のハムスターの脳内及び孵化鶏卵漿尿膜腔内に接種すると第5表に示すが如き成績を得た。即ち脳以外の臓器乳剤を接種した場合にはハムスターをも，鶏卵をも感染させることが出来なかつた。換言

第5表 ハムスター脳内接種に於けるハムスター体内ウィール分布

接種材料	ハムスター脳内接種						孵化鶏卵内接種					
	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	LD 50	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	LD 50
脳	4/4	4/4	4/4	2/4	0/4	10 ⁻⁴	4/4	4/4	4/4	4/4	0/4	10 ^{-4.5}
脊髄	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4		0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	
血液	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4		0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	
肝	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4		0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	
脾	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4		0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	
肺	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4		0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	
腎	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4		0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	

分母は接種数 分子は死亡数

ずれば脳以外の臓器にはウィールスの分布を証明しなかつた。以上の実験成績は、ハムスター脳内に接種されたニューカッスル病ウィールスは著明な中枢神経親和性をもっていることを示した。

5. ハムスター脳内累代接種と赤血球凝集反應の關係
ハムスター脳内累代接種と赤血球凝集反應の消長を検索するに、脳乳剤に於ては該反應抑制物質を含有するためと覺しく、pH 7.0 附近では反應は認められない。然し脳乳剤の 10⁻²~10⁻³ 稀釈液 0.1 cc を一旦孵化鶏卵内に接種し、それから得た乳剤で反應を行えば満足すべき結果を得ることが出来る。この事実によりハムスター脳内累代通過に於て、各代数ごとに孵化鶏卵内に接種を行つて接種後 48 時間後に赤血球凝集反應の凝集價を調べた。第6表に示す通りハムスター脳内接種前のウィールスの凝集價は 1:640 であつたが、1代の脳通過に依つて凝集價は 1:1280 に増強した。6代に於ても 1:1280 で、12代に於ては 1:2560 の凝集價を呈した。即ち脳内通過に依つて赤血球凝集價の増強を認めた。

第6表 ハムスター脳内累代と赤血球凝集反應の關係

世代数	凝集價
脳内接種前	1:640
1	1:1280
6	1:1280
12	1:2560

6. 病理学的所見

肉眼的検査では穿刺による機械的損傷は殆んど認められなかつた。脳表面、脳膜、脳実質には殆んど変化はないが、或は軽度の充血が存するに過ぎなかつた。

組織学的検査では脳膜脳炎の像が認められ、軟脳膜の

肥厚充血、時には出血があり、最も屢々血管周囲に細胞浸潤を伴つた。其の強さの程度は種々で、浸潤細胞は主として淋巴球で、これに多少組織球性細胞 (Aschoff, 清野)、稀に多核白血球を混ずることもあつた。脳の各部に於ける変化の分布は第7表の通りである。尙お参考のため感染孵化鶏卵漿尿膜の変化をも併せて検討した。

第7表 病理組織学的変化の分布

部位	血細胞 血管周 浸潤	出血	脳膜 炎	部位	血細胞 血管周 浸潤	出血	脳膜 炎
嗅球	++	—	—	後頭葉	++	—	+
前頭葉	++	—	—	大脳脚	+++	—	+
中心廻轉	+++	+	+	腦橋	++	—	—
尾狀核	+++	±		小腦	+	—	+
視丘	++	—		延髓	—	—	—
顳頂葉	++	—					

孵化鶏卵の感染は漿尿膜腔内接種法を行つた。その所見は内胚葉層は細胞の膨化増殖及び細胞の壊死崩壊を認める。中胚葉層に於ては中等度の血管の拡張及び炎症諸細胞の浸潤を認める。浸潤細胞の主なるものは淋巴球、組織球性細胞、結締織芽細胞である。外胚葉層に於ても細胞の増殖が認められた。(写真 1, 2, 3, 4, 5 参照)

総括及び考按

ハムスター脳内累代通過では死亡率、潜伏期及び経過日数は、初代に於ては毒力の不確実なため屢々不定であつたが世代の進むにつれて潜伏期及び経過日数は漸次短縮した。Reagan¹⁾に依ればハムスター脳内通過 8 代迄は接種数の 50% のみが発病したにすぎず、12 代目に於ては潜伏期は 2~6 日であつた。18 代以後では総て定型的症状を以て発病、70~120 代の通過では 36 時間で発病。

48時間で死亡した。160～190代通過では24時間で発病、36時間以内に死亡した。190代以後では12時間で発病、24時間以内に75%の死亡を来したと言う。本実験に於ては1代では死亡率60%、潜伏期5～6日、経過日数3～5日であつたが、12代目では死亡率100%、潜伏期2～3日、経過日数2～4日で Reagan¹⁾の成績の如く、累代接種により潜伏期、経過日数の短縮及び死亡率の上昇が認められた。

症状は潜伏期後食欲不振、不活潑、沈鬱となり飼育箱の隅にて蹲居し勝ちとなり、病日経過と共に四肢の何れかに麻痺を来し、歩行緩徐となり体位均衡が失われ平衡失調を起す。麻痺は一樣でないが、前肢に来ることもあり、又後肢に見る事もある。この際粘膜のカタル症状が著しく、鼻汁、眼脂の分泌及び流涎の増加を来す。体重は3日迄はあまり動搖を認めないが4日以後は減少し、死の末期には30～35gの減少を呈す。体温は接種翌日は上昇、1～2日後下降し再び3～4日後に上昇、爾後稽留し、末期には急に下降する。本ウィールスのハムスター脳内通過と LD₅₀ の推移との関係は、世代の進むにつれて毒力の増殖を認め、1～12代迄の間に 10^{-1.16} の増強を来した。

脳内接種ハムスター体内の本ウィールスの分布は中枢神経組織に限られ、それ以外の臓器には分布を認めなかつた。換言すれば本ウィールスは著明な中枢神経親和性を有するものと考えられる。

ハムスター脳内累代接種と赤血球凝集反応の関係は、脳内通過により赤血球凝集價の増強を認めた。

剖検所見に於ては確實な所見に乏しく、脳及び脳膜に軽度の充血を認めるに過ぎなかつた。組織学所見では脳膜脳炎の像が認められ、血管周囲の細胞浸潤が著明である。

結 論

1. 本ウィールスはハムスター脳内通過を行う時は世代の進むにつれて毒力は確實安定となり、死亡率は上昇し、潜伏期及び病日数は短縮した。又 LD₅₀ の増強を認めた。

2. ハムスター脳内通過ウィールスのハムスター体内に於ける分布は中枢神経に限られた。

3. ハムスター脳内通過に依り赤血球凝集反応の凝集價の増強を認めた。

4. 剖検所見では脳には特殊な変化を認めなかつたが組織学的に脳膜脳炎の像が認められた。

拙筆に当り御懇篤なる御指導と御校閲を賜つた恩師木村教授に謹んで満腔の謝意を表し、併せて御助言を與えられた堀田講師並に徳田助手に深謝す。

文 献

- 1) Regan, R. L., Lillie, M. G., Smith, D. E. and Brueckner, A. L.: 1948, Proc. Soc. Exper. Biol. & Med. 68, 293.

寫眞 1. 腦實質及び腦小血管周囲の細胞浸潤
(ハムスター脳内通過2代)
(Zeiss, okul. 8. obj. 10. K.L. 25 cm)
(Hämatoxylin-Eosin 染色)

寫眞 2. 腦實質及び腦小血管周囲の細胞浸潤
(Zeiss, okul. 8. obj. 45. K.L. 25 cm)
(Hämatoxylin-Eosin 染色)

寫眞 3. 腦實質及び腦小血管周囲の細胞浸潤
(ハムスター脳通過6代)
(Zeiss okul. 8. obj. 45. K.L. 25 cm)
(Hämatoxylin-Eosin 染色)

寫眞 4. ニューカッスル病ウイルス
感染尿囊膜の變化
(Zeiss okul. 8. obj. 45. K.L. 25 cm)
(Hämatoxylin-Eosin 染色)

寫眞 5. ハムスター脳馴化ウイルス
感染尿囊膜の變化
(Zeiss, okul. 8. obj. 45. K.L. 25 cm)
(Hämatoxylin-Eosin 染色)

寫眞 6. 後肢麻痺のため腹這いの姿勢