泉熱患者よりの病毒分離について

石 田 國 男

北里研究所ウイルス・リケッチャ部 (部長 笠原四郎)

[受付: 2月10日 1954年]

緒 言

昭和2年泉仙助教授等によつて初めて観察せられた一種の猩紅熱様発疹性疾患, 即今日の泉熱の病原体に関しては細菌説に統一せられていた観があつた。笠原は昭和24年7月宇都宮に集団発生せる不明発疹性熱性患者を泉熱(当時の所謂異型猩紅熱)であるとの診断を下し病原検索を開始し私もこれに従事した。この場合血液からは細菌, スピロヘータ, 原虫, 糸状菌を検出できなかつたので主力はウイルスの検出に指向せられた。動物実験の結果, 殊に熱型血液像病理組織学的変化から考察して笠原は本症は猩紅熱とは全く異なる一独立性ウイルス疾患であることを報告したのである。(昭和24年11月30日北里研究所研究会) 茲に昭和24年宇都宮流行例に於て初めて本症病原体を分離して以来引き続き27年3月迄 都内及び各地の集団発生例並に散发例について行つた患者よりの病毒分離について報告する。

A 集團発生例について

I 宇都宮流行例

1 臨床所見

昭和24年7月下旬宇都宮市某社宅に約20名患者が発生した。多くは悪寒と共に38~39.5度に発熱し発疹を伴い極期以後に結節性紅斑を生じたものもあつた。其他頭痛腰痛腹痛関節痛を訴え咽頭は殆ど異常なく時に下痢を伴つた。発熱後多くは7~14日で下熱回復し後遺症合併症をみず死亡例もなかつた。血液像は初期に一時軽度の白血球減少, 極期に白血球増加と比較的並絶対的淋巴球減少比較的好中球増加がみられた。患者発生地区は密集せる社宅であり各棟の間には共用の井戸があり数個の井戸の中一つ特定の井戸を使用していた家族間のみから患者が発生せることについての着目は本症感染様式の一つである水系感染成立を推定する端緒となつた。

2 病毒分離試験

(1) 動物接種方法: 血液 第1例(増田, 28歳, 女)第2病日の3.8%クエン酸ソーダ加血液を400gのモルモット両側睪丸内に0.8cc接種し7日後に殺し睪丸リンゲル10倍乳剤を次代モルモット睪丸内に接種し

7~8日で7代迄継代した。同じ血液を2.5kgのウサギ一側睪丸内に1.5ccを, 一側前眼房内に0.05ccを接種し他側眼角膜に乱切接種を行い7日後に殺し睪丸乳剤を次代ウサギの睪丸内に接種し7~8日で5代迄継代した。又同患者第2病日の血清を7~10gのマウス脳内に接種し5日後に殺し脳乳剤を次代マウスの脳内に, マウス腹腔内に0.3cc接種し5日後に殺し肝腎脾乳剤を次代マウスの腹腔内に接種し夫々5日で殺し3代迄継代した。

第2例(伊沢, 38歳, 女)第18病日の血清をモルモット両側睪丸内に接種し6日後に殺し睪丸乳剤を用いてモルモット睪丸内6~12日で5代迄継代した。又同病日のクエン酸ソーダ加血液をウサギ一側睪丸内に0.5ccを, 一側前眼房内に0.05ccを接種し9日後に殺し前眼房水を用いて前眼房内に3日で3代迄継代した。ii 尿 第1例患者第8及び第11病日の尿(凍結保存)を混じ1%卵黄加磷酸緩衝液(pH 7.6)で20倍に稀釈しドライアイス・アセトンで5回凍結融解を行つた後3000回転15分遠心せる上清をSeitz EKで濾過し0.6ccをモルモット両側睪丸内に接種し7日で殺し睪丸乳剤を用いて6~8日で睪丸内3代迄継代した。接種動物中モルモットウサギは体温体重を測定し血液像の検査を行い一般状態を観察, 7~8日(発熱のみられた時は発熱当日又は翌日)で殺し睪丸肝腎脾を次代動物への接種材料としその一部を好気性並嫌気性培養に供し押捺標本を製しギムザ染色で細菌, リケッチャ, 原虫の有無を検し残部はホルマリン固定病理組織学的検索用に供した。

(2) 接種動物の示す反応 i モルモット(21頭) 接種部位の睪丸は何れも外見上何等の変化もみられず体温は4~6日後40度以上に達せるものは4例, 他は殆ど変化なく接種当日又は1日後40度以上の反応熱のみられたものは約半数あり体重も殆ど変化なかつた。血液像中, 白血球数は2~5日後一時減少しついで増加の傾

ISHIDA Kunio: Isolation of the Izumi's fever virus. Kitasato Institute for Infectious Diseases. Jap. J. of Bact., 9(4), 283-287, 1954.

向のみられたものは4例、他は殆ど変化がみられず、淋巴球は3〜7日後減少、好中球の増加がみられた。其他観察期間中、一般状態の変化は何れもみられなかつた。

ii ウサギ(8頭) 患者血液を睾丸内に接種せられたウサギは1日後陰嚢に軽度の浮腫がみられたが2日後には正常に復し、前眼房内接種では1〜2日後軽度の充血、浮腫、繊維析出等がみられたが何れも2〜3日後には正常に復し眼眼角膜乱切接種では全く変化はみられなかつた。体温は1例6日後一時40.5度の発熱がみられたのみであり体重の変化もなく、血液像では3〜6日後一時白血球減少淋巴球減少好中球増加等のみられたものがあつた。

iii マウス 脳内及び腹腔内接種の何れも殆ど変化はみられず斃死せるものもなかつた。(図表1 モルモット体温表)

第1図 モルモット体温表

宇都宮例 増田株2代モルモット(睾丸, 肝乳剤睾丸内接種)

(3) 感染標識並病毒分離成績 第1例血液を睾丸内に接種継代せられた2代モルモットは8日後に殺し腎の主部上皮細胞の蠟様変化、肝細胞索の解離、脾の濾胞減少充血等がみられ、この変化は3代以後7代迄、7代以後脳内又は腹腔内に接種継代せられたマウス、モルモット肝腎脾乳剤を経口的に投与せられたモルモット、睾丸内に接種継代せられたウサギ、患者尿濾液を睾丸内に接種継代せられたモルモットに於て、又第2例血液を睾丸内に接種継代せられたモルモットに於て何れも強弱の差はあつても一卵の共通せる性格を有する病理組織学的変化がみられ、これを総括すれば、腎主部上皮細胞の変性壊死、間質に於ける組織球単球の瀰漫性限局性増生、糸毬体蹄係の変性、肝に於ける肝細胞の変性及び弧在性壊死乃至小壊死巣、星細胞の腫脹増生、脾に於ける濾胞内淋巴

球の壊死消失、脾髓細胞の増生、肺に於ける間質性肺炎等であつて、系統的には諸臓器実質細胞の変性壊死と細胞網細胞の活性化であり、かかる病変は健康人血液或は正常動物臓器乳剤を接種せられた動物にあつては決してみられない所見であるのでこのような病理組織学的変化並に熱型血液像を感染標識として以後の実験を施行した。

II 中野流行例

昭和26年11月下旬 東京中野区住宅間に13名の患者が発生し感染源は共同井戸であり臨床所見は定型的発熱であつた。

I 病毒分離成績

(1) 第1例(篠原, 8歳, 女) 第2病日のクエン酸ソーダ加血液をモルモット両側睾丸内に接種し8日後に殺し陽性の所見を得、6〜17日で睾丸乳剤睾丸内接種9代迄、以後はラッテ肝腎脾乳剤腹腔内接種10〜94日で6代迄何れも陽性の所見を得た。

(2) 第2例(佐々木, 8歳, 女) 第4病日の血液をモルモット睾丸内に接種し9日後に殺し初代は感染軽度2代以後7代迄何れも陽性の所見を得た。

2 中和試験

第1例篠原株病毒と昭和25年11月都内散発例患者血液より分離せる土田株病毒ウサギ免疫血清とを用いてモルモット腹腔内接種後組織検索法により中和試験を試みた。睾丸内に接種継代せられた篠原4代モルモット7日後の肝腎脾5倍乳剤3000回転15分遠心上清より50倍稀釈液を製し56度30分加温せるウサギ免疫血清と等量に混じ室温に30分放置せる後モルモット腹腔内に2.0cc接種し8日後の組織標本を作り、篠原及び土田株病毒10倍、100倍稀釈液のみを接種せる対照モルモットと主に肝腎脾肺の各臓器について判定せる結果、新に分離せる篠原株病毒も既得の上田株ウサギ免疫血清によつて中和される成績を得た。又篠原株病毒のラッテ腹腔内接種3月後に採血せる血清を用いて同様にモルモット腹腔内で試みたがラッテ血清はウサギ血清に比して中和能力を有していないことを知つた。

III 麻布流行例

昭和27年3月下旬 都内麻布小学校に約190名の患者が発生し症状は定型的発熱であり感染は給食によるものと推定せられた。

1 病毒分離成績

(1) 血液 第1例(三井, 8歳, 男) 第4病日の血液をラッテ腹腔内に接種し13日後に殺し陽性、肝腎脾乳剤を腹腔内に接種継代せられた2代ラッテは19日後に斃死し強陽性、その肝腎脾乳剤を Berkefeld N (松

風)を用いて濾過しラッテ腹腔内に接種, 以後7~75日で18代迄約1年半に亘り継代し何れも陽性の所見を得た。又5代ラッテ7日後の心血をウサギ睪丸内に接種せるところ3~4日後睪丸は軽度に充血し浮腫性腫脹がみられた。

(2) 尿 第1例 第7病日の尿を Seitz EK で濾過しモルモット睪丸内に接種継代を行つたが陰性に終つた

(3) 尿 第2例 (酒井, 14歳, 女) 第7病日の尿をラッテ腹腔内に接種し21日後に殺し陽性, 以後7代迄何れも陽性の所見を得た。

2 猿感染試験

第1例 三井株10代ラッテ腹腔内接種後30日の肝腎脾乳剤を2kgの猿(*Macacus cyclopes*)の皮下に3.0cc接種した。13日後より37.5度に発熱し14日最高38.5度に達し10日間発熱がみられた。血液像は3日後から変化し白血球数は7日後約2倍に増加し下熱迄増加の傾向がみられ淋巴球は3日後著明に減少した他発熱中, 好酸球の減少と好中球の増加がみられた。其他には発疹下痢等何等症状はなく食欲元氣共に正常体重の減少もなかった。24日後に殺し腎肝に感染軽度の所見を得た。

(図表2 猿体温表)

第2図 猿 体 温 表

麻布流行例猿 (*Macacus cyclopes*) 三井株10代ラッテ肝腎脾乳剤3.0cc皮下接種

IV 其他の集團発生例

前記3例の他都内及び各地の9集團発生例についても同様に患者よりの病毒分離を試みた結果, 24年10月都内渋谷猿楽小学校血液2例よりモルモット初代2例陽性11月藤沢川名杜宅血液10例よりモルモット初代1例ラッテ初代4例陽性, 都内品川住宅血液1例よりモルモット初代陽性, 25年1月福島伊達町小中学校血液15例よりモルモット初代3例ラッテマウス初代3例陽性, 3月横浜戸塚杜宅血液3例よりモルモット初代3例, 尿1例

よりマウス2代陽性, 11月水戸市住宅血液1例よりラッテマウス初代陽性, 26年12月藤沢仲通住宅血液2例よりラッテ初代1例2代1例陽性, 27年3月山形小学校血液5人混合1例よりモルモット初代陽性の成績を得た。

B 散発例について

泉熱は集團発生以外に散発例のあることが知られている。茲に昭和24年11月より27年3月迄都内散発例患者(都立豊島病院同豊多摩病院に收容せられ泉熱と診断されたもの)について行つた病毒分離について報告する。

I 第1例 (榎本, 8歳, 男) 昭和24年11月16日夕刻熱感あり両膝蓋部に掻痒感ありて同部の発疹に気付く。翌朝39.8度発疹は胸腹部大腿前膊手背にみられ腹痛下痢あり。第3病日一時下熱せるも第4病日より7日間再び37~38.5度の弛張熱続き第16病日全治退院す。第2病日白血球数13900, 淋巴球9.0桿状核8.0分葉核75.0好酸球6.5単球1.0%であり尿ウロビリノゲン反応陽性。第2病日のクエン酸ソーダ加血液をモルモット睪丸内, ラッテ腹腔内, マウス脳内に接種継代を行つた。睪丸内接種モルモットは7日で殺し3代迄何れも陽性, 腹腔内接種マウスは7日で殺し陽性, 腹腔内接種ラッテは30日で殺し陽性の所見を得た。

II 第2例 (土田, 6歳, 女) 昭和25年11月17日第4病日入院第17病日迄37~39.5度, 第34病日迄36~38.9度の弛張熱続き気管支炎を合併したが第35病日漸く下熱し其後の経過良好であつた。第4病日の血液をモルモット睪丸内ラッテ腹腔内マウス腹腔内に接種し夫々7, 30, 14日で殺し何れも陽性の所見を得たが第41病日即下熱7日後の血清をマウス腹腔内に接種し15日で殺し又陽性の所見を得た。腹腔内に接種継代せられた3代ラッテ7日後の心血をモルモット心臓内に

に0.2cc接種せるところ4日後に40.1度に発熱しその心血を次代モルモット心臓内に接種し4~6日で5代迄心血を用いて継代し何れも陽性の所見を得た。

III 仔猫感染試験 第3例 (斎藤, 6歳, 男) 第1病日の血液0.8ccを700g(生後1月)の仔猫の腹腔内に接種したが発熱其他何等の変化はみられず9日で殺し肝腎脾乳剤を次代仔猫の腹腔内に接種せるところ6日後41度の発熱をみ有熱3日以下熱し血液像は3日後一時白血球数の減少, 発熱極期には増加, 淋巴球減少及び好

中球増加がみられ10日で殺し陽性の所見を得た。

前記3例の他、昭和24年11月より12月迄血液9例よりモルモット初代4例、尿2例よりラッテ、マウス2代陽性。25年血液11例よりモルモット、ラッテ3例初代、マウス2例初代、尿1例よりマウス初代、尿1例よりモルモット初代1例、マウス2代1例、水泡内容液（膝蓋下部皮膚に発生せるもの）1例よりマウス初代陽性。26年血液5例よりラッテ初代1例、マウス初代1例尿2例よりマウス初代1例、尿1例よりモルモット初代陽性。27年1月より3月迄血液3例よりマウス初代1例陽性の成績を得た。

綜 括

1. 病毒分離のために用いられる患者材料は（1）血液（血清）発病初期少くとも2〜3病日迄のものを採用後直に接種するかクエン酸ソーダ加血液又はヘパリン加血液として冷温に保存すれば数日後に於ても尚使用可能である。分離陽性率は第3病日迄は80%以上であるが其以後は30%以下になる。（2）尿 有熱期に出来得れば無菌的に採取し直に接種する。（3）尿 有熱期又は下熱開始期に採取し凍結融解後濾過（Seitz EK, Berkfeld N, Chambelland L₃等）して接種する。

2. 病毒分離のために用いられる動物はモルモット、ラッテ、ウサギ、マウスの何れでもよく仔猫も使用出来る。

3. 病毒継代材料としてはモルモット、ウサギ睾丸、モルモット、ウサギ、マウス、ラッテ肝腎脾、マウス脳等の乳剤が用いられ時に発熱時のモルモット心血も用いられた。尚各臓器は50%グリセリン・リンゲル水中1〜4度冷温保存で少くとも1月は感染能力を有する。

4. 病毒分離並に継代のための接種部位はモルモット睾丸又は腹腔内、ラッテ腹腔内、マウス脳内又は腹腔内の何れも用いられた。

5. 継代日数はモルモット、ウサギ、マウスでは7〜14日、ラッテでは15〜30日を原則としたが、ラッテでは1年後に於ても尚病毒を保有して居り次代動物に接種可能であり、このことは笠原の提唱せる泉熱病毒属族保有説の有力な根拠となるものである。

6. 動物症状は接種材料並に接種部位の如何にかゝらず殆どみられず且斃死せるものもないのが普通であるがラッテでは極めて稀ではあるが15〜30日後 斃死せる例があり、かゝるラッテの病理組織学的変化は著しく強くみられた。ウサギ睾丸内接種では1〜2日後陰嚢は軽度浮腫性に腫脹し充血のみられたことがあつた。マウス脳内接種を哺乳マウス、幼若マウス等を用いて22株

の病毒（脳19例、臓器15例、血液10例、尿8例、尿8例）につき5〜7日で3〜22代に亘つて継代を試みたのであつたが未だ脳固定化をみるに到らない。又マウスは病的材料の腹腔内接種によつて脾腫を生じない。

7. 熱型はモルモットで定型的な例では4〜7日後1〜2日に亘り40度以上の発熱をみたが124頭中かゝる発熱のみられたのは36頭、31%であつた。

8. 血液像は発熱の有無にかゝらず変化がみられ3回以上検査を行つた102頭のモルモット中、2〜7日後一時白血球減少しついで増加の傾向のみられたものは59頭、58%、増加の傾向のみのみられたものは28頭、27%であり、発熱極期には絶対的並相対的淋巴球の減少と好中球の増加がみられた。

9. 感染標識とせる病理組織学的変化の中主なるものを挙げれば、腎の主部細尿管上皮細胞の蠟様変化濁濁腫脹限局性壊死融解剥離、糸絨体蹄係の融解壊死空胞化、絨鞘上皮細胞の膨化、皮質間質内単球組織球の限局性増生、充血（特に髓質又は乳頭部）等。肝小葉内小壊死充血、肝細胞索の解離、肝細胞の顆粒变性、血管周囲細胞浸潤、星細胞腫脹増生、単球組織球よりなる小結節形成等。脾の濾胞内淋巴球減少、濾胞縮小、脾髓細胞濾胞内細網細胞の増生、エリトロファギー等。肺の間質性肺炎、血管周囲単球組織球の増生、浮腫充血等。淋巴腺の濾胞内淋巴球減少、小壊死巣、細網細胞増生等。心では時に心筋の变性、単球組織球よりなる小結節形成。間質性睾丸炎等である。

10. 諸種動物で継代中その病理組織学的変化は動物の個体差による感受性の相違もあろうが季節による差がみられた。殊にラッテに於て長期に亘り観察を行つた結果分離当初の病変は強いが継代を重ねるにしたがい次第に弱くなり又強くなるのがみられ、このことは各地で分離せる病毒について屢々経験せることであり春と秋が強く夏には弱くなる傾向がみられたが本症の発生が春と秋に多いことゝ何等かの関係があるのではないかと考えられる。

11. 昭和24年7月宇都宮流行例以来27年3月迄各地の流行例並に都内散発例患者について病毒分離を行つた結果、血液73例より42株（57.5%）、尿9例より6株尿10例より4株、水泡内容液より1株、合計53株の泉熱病毒を分離した。（図表3 病毒分離表）

私の分離せるウイルスが泉熱病毒であるとする根拠は次の諸点である。

（1）分離率が高率である。

（2）実験的感染動物の血液像は患者のそれに一致する

第3表 ウィルス分離成績 (昭24.7~27.3)

No.	発 生 地	年 月	場 所	患者数	推定感染源	病 毒 分 離			
						血 液 (血清)	尿	尿	其 他
1	宇都宮花園町	24. 7	社 宅	20	井 戸	2/2		1/1	
2	東京澁谷	24. 10	小 学 校	38	不 明	2/2			
3	藤沢川名	24. 11	社 宅	69	井 戸	5/7			
4	東京二葉町	24. 11	住 宅	14	井 戸	1/1			
5	福島伊達町	25. 1	小, 中学校	52	井 戸	6/15			
6	横浜戸塚	25. 3	社 宅	10	井 戸	3/13	1/1		
7	水戸常盤町	25. 11	小 学 校	16	不 明	1/1			
8	東京中野	26. 11	住 宅	13	井 戸	3/3			
9	藤沢仲通	26. 12	住 宅	10	井 戸	2/2			
10	東京麻布	27. 3	小 学 校	194	食 餌	4/4	1/3	0/2	
11	山形城北	27. 3	小 学 校		不 明	1/5 (混)			
						(30/45)	(2/4)	(1/3)	
	東京散発例	24.11~12				4/9	2/2	0/2	
		25.				5/11	1/1	2/4	1/1
		26.				2/5	1/2	1/1	水泡
		27.1~3				1/3			
						(12/28)	(4/5)	(3/7)	(1/1)
					計	42/73	6/9	4/10	1/1
						(57.5%)			

(3) 感染動物の病理組織学的変化は患者の臨床症状の発来を肯定せしめる。

(4) 集団発生例と散発例に於て免疫学的一致を証明した。

(5) 猿に接種して泉熱感染と考えられる所見を得た。

む す び

泉熱病原体は一種の向汎性ウィルスであつて、組織細胞の親和性より観れば、実質間質親和性ウィルス(笠原)である。

拙筆に当り終始御懇篤なる御指導御鞭撻を賜つた笠原部長に深く感謝の意を表すると共に多大の御協力を頂いた同室の吉岡、牧野、有馬、大久保の諸兄、並びに中西謙三博士に厚く感謝する。

尙お、本研究は笠原部長に與えられた文部省科学研究費及び同試験研究費並びに厚生省厚生科学研究補助費によることが大きい。こゝに感謝の意を表する。

文 献

- 1) 笠原四郎：宇都宮に於ける所謂異型猩紅熱の流行とその病原体について，医学通信，5，195，3~4 昭25 (1950)。
- 2) 笠原四郎，石田国男：所謂異型猩紅熱の動物感染試験，日本病理学会会誌，39，昭25 (1950)。
- 3) 笠原四郎，石田国男，吉岡勇雄，牧野慧，有馬速水，大久保つる：泉熱（所謂異型猩紅熱）病原体の研究，日本病理学会会誌，41，昭27 (1952)。
- 4) 笠原四郎：泉熱（所謂異型猩紅熱）の流行と臨床：Virus, 1, 3, 1~24, 昭25 (1950)。