II. インフルエンザウイルスの変性に伴うウイルスの感 染能, 赤血球凝集能及免疫能の解離

中西謙三*・吉岡勇雄*・大久保つる*

KENZO NAKANISHI, ISAO YOSHIOKA, AND TSURU OKUBO: STUDIES
ON THE DISSOCIATION OF INFECTIVITY, CCA ACTIVITY
AND IMMUNIZING ABILITY OF INFLUENZA VIRUS BY UL-
TRAVIOLET IRRADIATION OR UREA.

[受稿; 4月1日, 1954]

序 言

前篇に於てインフルエンザウイルスの赤血球凝集能と感染能と免疫能との解離することを述べたが、私達はここに更に、インフルエンザウイルスを変性させることによつてその解離の機序を実験的に究めたいと考えた。インフルエンザウイルスの不活化の方法としては pH, 加熱, ホルマリン, オレイン酸その他 H_2O_2 , Sod. desoxycholate, Prokylen glycol 等による種々の報告があるが、私達は先ず茲に於ては、紫外線照射並に変性剤尿素によるウイルスの変性に伴つて生ずる感染能と凝集能と免疫能との解離を究めることを試みた。

実 験

インフルエンザウイルスとしては A 型 PR8, A-Prime 型 FMI, 松本, 及び B 型 Lee を用いた。即ちそれ等の孵化鶏卵漿尿膜腔液に接種増殖したものを用いた。ウイルス変性の方法としては、一般に蛋白質変性に用いられる紫外線或は尿素を用いた。

1) 紫外線照射によるウイルスの血球凝集能と鶏胎感染能との解離

紫外線照射により両因子の相違を立証したものには Tamm, Henle の研究がある。Tamm は PR8 で $2803 \text{ \AA}$ で血球凝集能が、 $2652 \text{ \AA}$ で感染力が破壊されることを報告して居る。私達は適当な紫外線フィルターを得ることが出来なかつたので殺菌燈として用いられる電源電圧 100V, 波長 $2578 \text{ \AA}$ の紫外線殺菌燈を照射源とした。

新鮮なインフルエンザウイルス浮游尿膜腔液を採り、此を直径 9cm のシャーレに 0.2cc 宛を入れてそ

れになるべくうすくひろがる様にし、50cm の距離より 100V の電圧で $2578 \text{ \AA}$ の紫外線を夫々 2, 5, 10, 30, 60, 90, 120 分間照射した後、それ等の C.C.A. 価を測定すると同時に生理的食塩水で 10 倍或は 20 倍に稀釈し、その 0.1cc を数ヶ宛の 10 乃至 12 日孵化鶏卵漿尿膜腔内に接種し、更に 2 日孵化した後、尿膜腔液を採取し、その C.C.A. 価を測定することによりウイルスの感染力の有無を検した。

Fig. 1. Variation of CCA Activity and Infectivity of Influenza Virus by Ultraviolet Irradiation.

その成績は第1図に示す如くである。即ち PR8, FMI, 松本, Lee の何れに於ても、Stanley の報告と異なり、C.C.A. 価には著明な変化は認められなかつた。Henle は紫外線照射により B 型 Lee 株は 200~300% C.C.A. 価が増加すると述べて居るが、私達の例ではかかることは認められなかつた。孵化鶏卵に於ける感染力に関しては、何れの型のウイルスに於ても、紫外線照射 10 分, 30 分では残存して居たが、60 分或は 90 分の照射では全く破壊されて居た。

紫外線の温度作用を除外するため、ウイルス液 (尿膜腔液, PR8) をシャーレに入れ 0°C に保ちつゝ前記

* 北里研究所ウイルス・リケツチア部, 東京都港区芝白金三光町 (部長 笠原四郎)

の紫外線を 40cm の距離より 90 分間照射した後、急激な温度変化を避けるため 4°C 或は 22°C に数時間保存し 20 倍に食塩水で稀釈し 孵化鶏卵に接種した。此の際、尿膜腔液は何れも C.C.A. 価は残存して居たけれども、感染力は認められず、ウイルス不活化の阻止は行われなかつた。

2) 尿素変性によるウイルス感染能と血球凝集能との解離

濃い尿素溶液中ではタバコモザイクウイルスは分裂して核酸を遊離し、SH 基も殆ど解放される。これに反し分子の分裂はそれよりずっと薄い濃度でも起る。私達は尿素を生理的食塩水に加えて 8 モルの尿素液を作り、此を Seitz の濾過器 (滅菌用 No. 85) で濾過した後 6, 4, 2, 1 モル溶液を作った。pH は 7.0 である。此等各モル溶液 0.2cc にウイルス浮游尿膜腔液 0.2cc を加え (6.4 モルはウイルス液 0.2cc と 8 モル尿素液 0.8cc とを混合した) 此を 4°C, 22°C 或は 37°C に 18 乃至 24 時間保つた後、その C.C.A. 価を測定すると共に、4°C で作用させたものの 10 倍或は 20 倍稀釈ウイルス液 (生理的食塩水で稀釈) 0.1cc を 10 日乃至 12 日孵化鶏卵尿膜腔内に接種してその感染力の有無を調べた。

Fig. 2. Variation of CCA Activity and Infectivity of Influenza Virus by Urea.

その成績は第 2 図に示す如くであつた。即ち A 型 (PR8), A-Prime 型 (FMI, 松本), B 型 (Lee) の何れに於ても尿素 2 モル以下の作用では感染能は失われて居なかつたが、3 モル以上ではウイルスの増殖は認められず感染力は失われたものと思われる。

赤血球凝集能に関しては尿素濃度のみならず作用温度も影響するのが認められた。即ち各型ウイルスに於て 22°C と 4°C との間では C.C.A. 価の変化に著明な差が認められなかつたが、37°C では前者よりも C.C.A. 能の低下が著しいのが認められた。即ち第 3 図に

Fig. 3. Destroy of Hemagglutinating Activity by Urea.

示す如く、A 型 (PR8) では 4°C, 22°C では 3 モルまでは C.C.A. 能が存在するが、4 モルでは消失した。37°C では 3 モルで既に C.C.A. 能は認められなかつ

た。A-Prime型 (FMI) では A型 PR8 と同じく 4°C, 22°C では 4 モルで, 37°C では 3 モルで C.C.A. 能が破壊されるのを認めた。A-Prime 型でも松本は 4°C, 22°C では 4 モルまで, 37°C では僅かに 2 モルまで C.C.A. 能が残存した。B型 Lee では 4°C, 22°C では 6.4 モルに於てもなお C.C.A. 能は破壊されなかつたが, 37°C では 4 モルまで C.C.A. 能が残存するのが認められた。この点から見ると松本は同じ A-Prime 型でも FMI より B型 Lee に近い性状を示した。

尿素によるウイルスの変性に関してはタバコモザイク病ウイルスに於ける Lauffer¹⁴⁾ の, インフルエンザウイルス PR8 に於ける Lauffer¹²⁾ 等の報告がある。

3) 免疫能について

インフルエンザウイルスのマウス免疫能に関して, 福見等¹³⁾ はマウス中和試験法, 西川等¹⁴⁾ は卵中和試験法による成績を報告して居り, 中西は卵馴化のインフルエンザウイルスのマウスに対する免疫能は WS 株に於ては HA 能と感染防禦能と赤血球凝集抑制抗体産生能との間には密接な関連性を有することを報告した。然し此を PR8, FMI, Lee 株について実験して見ると必ずしも互に相関連しないことを認めた。私達は更に, 前述の不活化されたウイルスの免疫能に就て実験を試みた。この実験に於ては卵馴化のインフルエンザウイルスが用いられたので免疫能の検査には産生抗体定量法が用いられた (凝集抑制試験法及卵中和試験法)。この定量法を用いる限りに於ては HA 能と免疫能との間には密接な関係が認められた。然し此が真の感染防禦力を示すものであるか否かは更に検討を要するものと思われる。この項に関しては後報にゆずりたい。

結 論

紫外線又は尿素によつてインフルエンザウイルス A 型 PR8, A-Prime 型 FMI, 松本, 及び B型 Lee を変性させると感染能は比較的容易に破壊されるが鶏赤血球凝集能は影響される所が少い。免疫能については尙詳細な検討を要する。

(本篇の要旨は第25回日本細菌学会総会で発表した。文部省科学試験研究費に拠る所あり茲に謝意を表する)

文 献

- 1) 福見秀雄, 山本繁夫: インフルエンザウイルスに対する中和抗体を赤血球凝集抑制反応を用いて測定する方法: 総合医学, 4, 397, 昭22. 2) 中西謙三, 笠原四郎, 大久保つる: インフルエンザウイルスの変性: 第25回日本細菌学会記録, 日本細菌学雑誌, 7, 408, 1952. 3) 山本繁夫, 福見秀雄: インフルエンザウイルスによる赤血球凝集現象及びその応用に関する研究, 第7報: 医学と生物学, 12, 109-111, 昭23. 4) Van Rooyen, C.E. and Rhodes, A. J. Virus Diseases of Man, Williams & Wilkins Comp. Baltimore, 1951, 630-645. 5) Francis, T. Jr.: Immunological relationships of strains of filtrable virus recovered from cases of human influenza: Proc. Soc. Exp. Biol. & Med., 1935, 32, 1172-1175. 6) Tamm, I. and Flucker D.J.: The effect of ultraviolet radiation on the infectivity and hemagglutinating ability of the influenza virus type A strain PR8: J. Bact., 1950, 59, 449-461. 7) Von Magnus, P.: Acta path. et microbiol. Scand., 1951, 28, 278. 8) Cairnes, H. J. F. and Edney, M.: Quantitative Aspects of Influenza Virus Multiplication. 1. Production of "Incomplete" virus: J. Imm. 1952, 69, 155-160. 9) 中西謙三: マウスに於けるインフルエンザの実験流行病学, 第三篇, 感染後の免疫について: 昭24年3月北里研究所研究會. 10) Henle, W. and Henle, G.: The effect of ultraviolet irradiation on various properties of influenza viruses.: J. Exp. Med.: 1947, 85, 347-364. 11) Stanley, W. M.: The preparation and properties of influenza virus vaccines concentrated and purified differential centrifugation: J. Exp. Med., 1945, 81, 193-218. 12) Lauffer, M.A., Price, W. C. and Petere, A. W.; The nature of Viruses; Advances in Enzymology, 1949, 9, 171-240. 13) 山本繁夫, 福見秀雄: インフルエンザワクチンに関する基礎的研究, 第一報: 日本医学, 昭23, 3418, 11. 14) 西川文雄, 加地正郎, 福見秀雄: インフルエンザワクチンの力価検定法の研究: Virus, 1953, 3, 121-127.