ニューカッスル病ウイルスのマウスにおける neuropathic effect に関する研究*

山 田 保 雄**

STUDY ON THE NEUROPATHIC EFFECT OF NEWCASTLE DISEASE VIRUS IN MICE

Yasuo YAMADA

[受稿 7 月 28 日, 1963]

序

NDV の脳内接種によるマウス感染の試みは Brandy 等¹⁾により始めてなされ、マウスは死の転帰をとるもウイルスは増殖しない事を認めた。さらに Liu 等²⁾は NDV の鶏適応感染性株の 10^{-5} 程度の高希釈液を接種しても、マウスは脳炎および死を惹き起こし得るも、その脳からのウイルス回収は非常に低い titer に止まり、その病変は継代不能であつたという。Upton 等³⁾は NDV 25 株に対する weanling mice の感受性を調べて、マウスの中枢神経系に激しい障害を惹き起すのは、静脈内接種により鶏に高い致死作用を示す株であることを明らかにした。Kilham は卵継代 NDV は suckling mice 脳内⁴⁾で、また予め suckling mice に適応せしめた株は adult mice 脳内⁵⁾でともに増殖出来ることを認めた。さらに Upton 等⁶⁾は NDV および suckling mice 適応感染性 4 株に対するマウス年齢差に基づく感受性差を調べた。Reagan 等⁷⁾は、また NDV ハムスター適応株も adult mice に継代可能なことを観察した。

Upton 等³⁾はかかる中枢神経系失調症をおこす NDV の性質は、ウイルスの感染能とは無関係に存在すると考えて“neuropathic factor”(以下略して N.F.)と呼んで、

Groupé 等¹⁰⁾は NDV の N.F. をウイルス毒素 (Cox 参照)¹¹⁾と比較すると共に、濃縮、高希釈両 NDV 液接種時に、同様、マウスに neuropathic effect (以下略して N.E.) が見られる株と、濃縮ウイルス液接種時にのみ起る株とがあることを認め、両株の組成差の考察、ならびに、濃縮、高希釈ウイルス液接種によるマウス病変の原因は、前者による N.E. は NDV の pneumotoxic effect と平行関係にあるも、後者は、その機構が複雑で説明困難ではあるが、一応、不完全ウイルス合成説をあげているが、マウス脳内不完全ウイルス量の測定は行っていない。

さて私は NDV、宮寺株を adult mice 脳内に接種した結果、濃縮、高希釈の何れにも N.E. が見られた。前者の N.E. は、肺コンソリデーション形成効果¹²⁾¹³⁾、腸出血性病変形成効果¹⁴⁾¹⁵⁾¹⁶⁾と平行関係にあり、後者のそれは、説明になお不充分な点はあるが、マウス脳内ウイルスの卵に対する感染価や、トリ血球凝集価の増加が認められぬ故、マウス脳内ウイルス増殖や、不完全ウイルス合成の結果でなく、おそらく前者と同様、ウイルスの毒性によるものと考えられる。

材料と方法

1) ウイルス.

NDV、宮寺株を使用。その 10^{-8} 希釈液に penicillin を 1000 u/ml と streptomycin を 1mg/ml の割合に添加、その 0.25 ml を 10~11 日孵化トリ 卵尿膜腔内接種。37°C, 48 時間 incubate。感染孵化トリ 卵を冷蔵庫内冷却後、その感染漿尿液を採取、低速遠心上清を Spinco Ultracentrifuge Model E で 24,630 rpm 30 分遠心、得たペレット状沈渣を磷酸塩緩衝生理食塩水¹⁷⁾ (以下略して PBS) に再浮遊し、使用時迄 -30°C に貯蔵。

* 本論文の 1 部は文部省科学研究費(総合)による“インフルエンザの予防に関する基礎的研究”の第 3 回 (1960, 東京), 第 4 回 (1961, 東京) 連絡会および“ウイルスおよびウイルス病に関する総合的研究”発表会 (1962, 東京) に於て発表された²⁶⁾²⁷⁾。

** 名古屋大学医学部細菌学教室 (指導: 小笠原一夫教授) Department of Bacteriology, Nagoya University School of Medicine, Nagoya, Japan, (Director: Prof. K. Ogasawara)

2) 赤血球凝集価 (HA) 測定.

Salk 法¹⁸⁾により、測定 HA/ml にて表した.

3) 感染価測定.

試料の 10 倍段階希釈液 0.25 ml 宛 1 群 4 個からなる孵化トリ卵の尿膜腔内接種. 37°C 48 時間, incubate. その漿尿液のトリ血球凝集の有無を判定し、感染終末点 (EID₅₀) を Reed and Muench 法¹⁹⁾により算出した.

4) 血球凝集素分離.

音波処理ウイルス材料にトリ血球を 1% に加え、充分振盪混合, 4°C, 15 分間放置, 冷却遠心管に移し, 2,000 rpm 5 分間遠心, その上清を血球凝集素除去上清とした.

またその沈渣血球は 1 度冷 PBS で洗滌後, 元の倍量の PBS に再浮遊, 37°C 恒温槽中 60 分間放置, 溶出血球凝集素を低速遠心で血球と分離, さらに Ultracentrifuge Model E にて, 25,000 rpm 30 分間遠心, 得たペレット状沈渣を元と同量の PBS に再浮遊せしめてトリ血球凝集素浮遊液とした.

5) 赤血球凝集抑制抗体価 (HI) 測定.

56°C 30 分間非働化被検血清の 2 倍段階希釈液 0.5 ml を含む各試験管に, 8 HU/0.5 ml 含有ウイルス浮遊液 0.25 ml を加え, 氷室内 1 時間放置後, 1% トリ血球浮遊液 0.25 ml を加え, 振盪混合, 氷室内 90 分間静置, 凝集抑制最大希釈倍数を以て, 血清のトリ血球凝集抑制抗体価とした.

6) 音波処理.

ウイルス浮遊液を 10 k 久保田式 KMS-100 強力音波発生装置にて, 10 k の音波を所要時間あてた.

7) マウス脳内接種, 経鼻接種, および静脈内接種.

白色雑系マウス (体重 8~9 g, ♂) をエーテル: クロロホルム (2:1) 混液にて, 軽い麻酔下に, 脳右半球に, ウイルス材料の 0.03 ml を脳内接種. 各マウス共 15 日間毎日観察. 脳内接種後 1 時間以内の死亡マウスは除外. NDV に対するマウスの反応は, Upton 等²⁰⁾の記載の如く, 過敏, 四肢痙攣, 衰弱, 死亡の順であつた. ウイルス接種からマウスが明確な症状により死亡する迄の日数を記録.

経鼻接種は, 同様麻酔下, ウイルス材料の 0.05 ml をマウス鼻腔内点滴接種, 72 時間観察, 生, 死マウス共剖検により肺病変度を調べ, コンソリデーション程度を Horsfall の記載法²¹⁾により示した.

静脈内接種は, マウス尾静脈よりウイルス材料の 0.1 ml を接種, 7 日間観察, 死亡マウスは剖検により腸出血性病変に基因する事を確認.

8) KJO₄ 処理.

10% マウス脳乳剤の低速遠心上清液に, M/50 KJO₄ 液を同量加え, 氷室に 20 時間保ち, KJO₄ 液と同量の

10% glucose 液を加えて中和.

9) クロールプロマジン.

Contomin (武田) を使用.

成績

I. NDV 脳内接種によるマウスの response.

Fig. 1 は, 接種ウイルス量とマウスの死亡日数が, ほぼ逆比例の関係にあることを示す.

HA titer of inoculum	Intracerebral inoculation															*
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	
10240	□	□														3/3
1280	□	□	□													3/3
640		□	□	□												3/3
320					□	□										2/3
160						□	□									2/3
80							□								□	3/3
40								□	□							3/3
20									□	□						2/3
16														□		3/3
8															□	3/3
4															□	2/3
<4															□	2/3
PBS (Control)																0/3

Fig. 1 Relation between hemagglutinin titer of inoculum and the incubation period of the neuropathic effect of NDV in mice.

□ = death from encephalitis.

* enumerator denotes number of mice which died from encephalitis; denominator denotes number of mice inoculated.

Fig. 2 Failure of propagation of NDV and of incomplete virus synthesis in brain tissue.

Fig. 2 は, 接種ウイルスが, マウス脳内に少くとも 6 日間は低濃度ではあるが存在し, そしてこの間ウイルス増殖および HA の増加が認められぬことを示す. この実験は, 予め 20 頭のマウスに 80 HA のウイルス材料の 0.03 ml 宛脳内接種し, 0, 2, 4, 6, 10 日目に, 可

Table 1 Attempt to passage of NDV by the intracerebral route.

Intra-cerebral passage No.	Result of intracerebral injection	Result of subinoculation of chick embryos
1	D ₂ * D ₂ D ₄ D ₄ D ₄ D ₄	$\frac{2}{2}$ ****
2	K ₈ ** K ₈ K ₈ K ₈ K ₈	$\frac{2}{2}$
3	K ₈ K ₈ K ₈ K ₈ K ₈	$\frac{0}{2}$
4	S ₁₀ *** S ₁₀ S ₁₀ S ₁₀ S ₁₀	
3'	K ₂ K ₂	$\frac{0}{2}$
4'	S ₁₀ S ₁₀	

*D₂=mouse died on the 2nd day after intracerebral inoculation of NDV.

**K₈=mouse killed on the 8th day for passage of the brain.

***S₁₀=mouse survived ten days.

**** $\frac{2}{2}$ =two out of two embryos developed hemagglutination.

及的に発症マウスを選び2頭痲酔死せしめ、無菌的に脳を摘出 pool し10%乳剤を作成、さらに低速遠心上清を KJO₄ 処理後、HA、EID₅₀ を測定。脳内接種直後のマウスを0日目として対照とした。

Table 1 は NDV のマウス脳継代不能を示す。すなわち、マウス6頭に640 HA ウイルス材料の0.03 ml を脳内接種。全マウスは、2~4日目に死亡(第1代)。この脳を無菌的摘出 pool、10%乳剤作成、低速遠心上清液0.03 ml 宛新マウス5頭に接種の結果、何れにも発症が見られず生存(第2代)。これらの脳より8日目毎の継代を第4代迄試みたが、何らの症状も呈せず生存。別に、第2代より第3'代、第4'代へと2日目毎に、2頭宛継代を試みたが、何れも生存。各継代マウスの脳内ウイルスの検出結果は、第2代迄陽性で以後陰性であった。

Table 2 は NDV の N.E. が NDV 免疫血清により完全に中和されることを示す。320, 640, 1280 各 HA 価の NDV 浮遊液と同量の抗 NDV 家兔免疫血清(HI 価1280)を混合、対照には、ウイルス液に正常家兔血清を加え、37°C、30分間 incubate 後、各液の0.03 ml 宛1群3頭のマウスに接種、毎日観察。正常家兔血清はその N.E. を中和しないが、抗 NDV 免疫家兔血清は完全に中和し得た。

Table 3 は、クロールプロマジンを予め投与されたマウスの一部は、攻撃ウイルス量の大小を問わず、同程度にその N.E. を阻止しうることをしめす。PBSで所定濃度に稀釈したクロールプロマジン液0.5 ml をマウスに腹腔内注射30分間後、睡眠状態のまま、<4, 256,

Table 2 Neutralization of neuropathic factor in NDV by specific immune serum.

Rabbit serum	HA titer of inoculum	Result
Anti NDV	1280	S S S
	640	S S S
	320	S S S
Normal	1280	D ₃ D ₃ D ₃
	640	D ₂ D ₃ D ₃

Table 3 Modification of the neuropathic effect of NDV in mice by prior intra-abdominal injection of chlorpromazine.

HA titer of inoculum	Dose of C.P. (γ/0.5 ml)	Result
1280	250	S D ₂ D ₃
	100	S S D ₅
	50	S D ₃ D ₄
	0	D ₂ D ₂ D ₃
256	250	S S D ₃ D ₆ D ₇
	100	S S S D ₃ D ₅
	50	S S D ₂ D ₅ D ₆
	0	D ₂ D ₃ D ₃ D ₆ D ₇
<4	250	S S D ₇ D ₁₂ D ₁₃
	100	S S S D ₁₄ D ₁₅
	50	S S S D ₉ D ₁₄
	0	D ₉ D ₁₀ D ₁₀ D ₁₂ D ₁₅

C.P.=chlorpromazine.

1280 各 HA 価 NDV 液の0.03 ml を脳内接種。対照のクロールプロマジン未投与マウスにも同様、ウイルス攻撃を行つた。

II. NDV の N.E. と肺コンソリデーション因子、腸出血性病変形成因子、および溶血症との関係。

Table 4 は、紫外線照射により NDV の N.E. は、肺コンソリデーション効果、および腸出血性病変形成効果と平行的に消失することを示す。本実験は、滅菌小型シャーレに入れた NDV 材料を直上45 cm の紫外線殺菌灯(三菱電機社製、100 V、15 W、GB-15 型)で所要時間照射、HA とマウスに対する N.E. の変動を調べた。すなわち、1群2頭のマウスに脳内、経鼻、および静脈内接種。その反応を観察。卵に対する感染力の有無をも調べた。60分間紫外線照射 HA 不変、感染力残存 NDV 材料において、N.E. は肺コンソリデーション形成効果、腸出血性病変形成効果と平行的に消失した。

Table 5 は、NDV の N.E. がその属性である溶血症に基づく病変ではないことを示す。この実験は、NDV

Table 4 Correlation of neurotoxicity of NDV for mice with other toxicity caused by intranasal and intravenous inoculation of NDV in mice.

Time of U.V. irradiation (min.)	Change of HA titer	Intracerebral inoculation	Intravenous inoculation	Intranasal inoculation	Result of subinoculation of chick embryos
0	10240	D ₂ D ₂	D ₁ D ₂	S* (2) S (2)	$\frac{2}{2}$ **
15	10240	D ₂ D ₄	D ₁ D ₃	S (1) S (1)	$\frac{2}{2}$
30	10240	D ₃ D ₄	D ₁ D ₂	S (1) S (1)	$\frac{2}{2}$
60	10240	S S	S S	S (0) S (0)	$\frac{2}{2}$
90	10240	S S	S S	S (0) S (0)	$\frac{2}{2}$

* S (1) =survived mice with 1/4 lung red consolidation.

S (2) =survived mice with 1/2 lung red consolidation.

** $\frac{2}{2}$ =two out of two embryos developed hemagglutination.

Table 5 Effect of formalin on neuropathic factor in NDV and hemolytic activity of NDV.

Virus preparation	HA titer	Hemolysis	Intracerebral inoculation	Result of subinoculation of chick embryos
NDV	1280	0.130*	D ₅ D ₇ D ₇	$\frac{2}{2}$ **
0.2% formalin treated NDV	1280	0.125	S S S	$\frac{1}{2}$
PBS		0	S S S	

* optical density.

** two out of two embryos developed hemagglutination.

浮遊液に同量の 0.4%ホルマリン液を加え、4°C に 12 時間保ち、スピンドル処理 (25,000 rpm 30 分) 沈渣を元と同量の PBS に再浮遊。このウイルス材料について HA、感染能、および N.E. を調べた。また溶血能測定には、この材料液 0.5 ml をとり氷冷。別に冷却した 2%トリ血球浮遊液 1.5 ml を加え、充分混合、氷室内 60 分間放置、1,000 rpm 2 分間遠心、分離血球を PBS 4.0 ml に再浮遊、37°C、2 時間 incubate。1,000 rpm 5 分間遠心、血球除去後、その溶血上清液中のヘモグロビン量を Hilger 光電比色計 H 810 ($\lambda=5450 \text{ \AA}$) を使用、optical density にて測定。対照には、ホルマリン処理 NDV 液の代りに、同力価正常 NDV 液、および PBS を用いて同じ操作を行い、それぞれの上清液を対照とした。最終濃度 0.2%ホルマリン処理 HA、溶血能ほとんど完全に保有せる材料において、感染力なお残存のまま、マウスに対する N.E. は完全に消失せられた。

III. 音波処理 NDV のマウスにおける N.E. の変化。

Table 6 は、音波処理 NDV のマウスにおける N.E. が、対照よりさらに高稀釈にまでおこることを示す。この実験は、NDV 浮遊液 2.0 ml を 60 分間、120 分間そ

Table 6 Effect of sonic vibration on neuropathic factor in NDV.

Time of sonic vibration (min.)	Change of HA titer	Dilution of inoculum (-log.)	Result	
0	2560	8	S	S
		7	S	S
		6	D ₉	S
		5	D ₉	D ₁₅
		4	D ₁₀	D ₁₂
		3	D ₄	D ₁₀
		2	D ₄	D ₉
60	7680	1	D ₂	D ₃
		8	D ₁₁	D ₁₄
		7	D ₉	D ₉
		6	D ₈	D ₉
		5	D ₁₀	D ₁₀
		4	D ₁₀	D ₁₅
		3	D ₄	D ₉
120	5120	2	D ₄	D ₉
		1	D ₅	D ₅
		8	D ₁₄	S
		7	D ₇	D ₁₀
		6	D ₁₁	D ₁₁
		5	D ₁₃	D ₁₅
		4	D ₉	D ₁₀
PBS		3	D ₇	D ₉
		2	D ₈	D ₉
		1	D ₅	D ₅

れぞれ音波処理し、正常 NDV 浮遊液を対照として、HA の変化と 10 倍段階稀釈液を作成し、1 群 2 頭のマウスに脳内接種を行い、N.E. の変化を調べた。HA 価が、対照より 60 分間処理材料にて 3 倍に、120 分間にて 2 倍へと増加した。この変化は長時間処理による発熱が血球凝集素を不活化するためであろう。一方、N.E. は 60 分間、120 分間処理材料共対照材料より一層高稀釈にまで見られるようになった。

音波処理による NDV の感染力の変化を、60 分間処理 HA 価 2 倍に増加した材料について測定した所、Table 7 に示した如く対照より $1/100$ に減少した。

Table 8 は、音波処理 NDV 材料の血球吸着による血球凝集素除去上清中に、マウスに対し N.E. をしめす因子が存在していることをしめす。実験方法は、60 分間音波処理 HA 価 1.5 倍に増加した材料を、未処理ウイルス液を対照として、共に血球吸着法により血球凝集素とその上清液とに分画、両分画につき HA およびその 10 倍段階稀釈液を 1 群 2 頭のマウスに脳内接種して N.E. を調べた。この結果、ほとんど全部の血球凝集素が除去された音波処理材料の上清が、なお対照材料の上清より

さらに高稀釈にまでマウスに対して N.E. をしめした。

これらの結果は、インフルエンザ・ウイルスにおける実験結果^{21) 23) 24)}と類似する。

考 察

本実験に使用した卵継代 NDV、宮寺株は、RO-NDV¹⁹⁾と同様、濃縮、高稀釈何れの脳内接種マウスにも同じ neuropathic effect (N.E.) が観察せられた。

濃縮 NDV 接種後、短時日にマウスにみられる N.E. は、マウス脳内ウイルス増殖の結果ではなく、NDV の neuropathic factor (N.F.) のためであると考えられる。これはマウス脳内ウイルスの感染価の増加が認められぬこと、物理化学的処理により未だ感染力残存せるウイルス材料に、マウスに対する N.E. の消失が認められるこ

Table 7 Effect of sonic vibration on infectivity of NDV.

Virus preparation	HA titer	EID ₅₀
Sonically vibrated NDV	20480	$10^{8.5}$
	10240	$10^{10.5}$

Table 8 Neuropathic effect of fractions from sonically vibrated NDV

Time of sonic vibration (min.)	Change of HA titer	Fraction	HA titer of fraction	Dilution of inoculum (-log.)	Result	
0	3840	Hemagglutinin	3840	8	S	S
				7	S	S
				6	D ₆	S
				5	D ₉	D ₁₅
				4	D ₅	D ₇
				3	D ₈	D ₁₀
				2	D ₂	D ₁₀
		Supernatant after removal of hemagglutinin	<20	8	S	S
				7	S	S
				6	S	S
				5	D ₁₂	S
				4	D ₇	S
				3	D ₁₁	S
				2	D ₁₁	D ₁₄
60	5120	Hemagglutinin	5120	8	D ₇	S
				7	D ₁₃	S
				6	D ₅	D ₁₀
				5	D ₄	D ₉
				4	D ₆	D ₁₀
				3	D ₇	D ₈
				2	D ₄	D ₁₁
		Supernatant after removal of hemagglutinin	<20	8	S	S
				7	D ₁₅	S
				6	D ₁₃	D ₁₅
				5	D ₆	D ₉
				4	D ₅	D ₁₀
				3	D ₉	D ₁₄
				2	D ₇	D ₁₀
PBS					S	S

とがその理由にあげられる。

そして、NDV のマウスにしめす N.E. が、肺コンソリデーション形成効果、腸出血性病変形成効果と平行する傾向にあることからこれらが同一因子にもとづいた病変と考えられる。

さらに、この N.E. は NDV の属性である溶血能による病変ではないことは、ホルマリン処理 NDV 材料がなお溶血能を有するに拘わらずマウスに対する N.E. の消失がみられることから考察せられる。

卵に接種してもウイルス増殖が起らぬ程、高稀釈の NDV 材料を接種したマウスにみられる N.E. は、ウイルス接種時からある日数経過後におこる。Groupé 等¹⁰⁾ は RO-NDV で同様の現象を認め、その原因として次の3つをあげた。(1) RO-NDV 中に非常に高い毒性のウイルス粒子が含有される。(2) masked virus を思わせる反応をしめすウイルス粒子を含有する。(3) 不完全ウイルス合成。そして、高稀釈材料接種マウスの N.E. は、濃縮材料のそれと異なり、xerosin により抑制せられぬ等を理由に (3) を想定した。併しながら、私の実験結果は不完全ウイルス合成説を支持出来なかつた。そして、濃縮材料接種マウスの N.E. と同様、高稀釈 NDV 接種材料にふくまれる N.F. によるものと考え。その理由として、(1) KJO₄ 処理マウス脳乳剤中の HA の増加が認められない。(2) 濃縮、高稀釈 NDV 材料接種マウスにおける N.E. を同程度に、クロールプロマジン²⁵⁾ が阻止することは、N.E. をしめす両原因の同一性を示唆する。(3) 音波処理 NDV 材料は、感染力が減少するに拘わらず一層高稀釈にまでマウスに N.E. をしめす変化を、マウス脳内における不完全ウイルス合成説で説明することは困難である。もしも NDV の N.F. を物質的概念を以て考えるならば、音波処理によるウイルス粒子破壊と共に、粒子内部より N.F. が出現したその量的増加の結果かもしれない。

さらに、音波処理 NDV 材料中の血球凝集素を除去した上清液が、対照より高稀釈にまでマウスに N.E. をしめす現象は、この試料中には、なおウイルス粒子および血球凝集素の各痕跡が夾雑する可能性はあるが、一応これらの大部分とは、離れて N.F. が存在しているためと考えられる。

しかしながら、NDV 高稀釈材料接種マウスの発症に至る潜伏期間を説明することは現在では困難であり、さらにこの点について追求すべきであると考え。

結 論

1) 卵継代 NDV、宮寺株は濃縮、高稀釈材料何れを

接種されたマウスにも同じ neuropathic effect (N.E.) が示された。この間マウス脳内において、ウイルス増殖、および不完全ウイルス合成は認められなかつた。

2) NDV のマウスにしめす N.E. は、ウイルスの HA、感染力、および溶血能とは違った活性に基づくものと考えられる。

3) 紫外線照射 NDV 材料の N.E.、肺コンソリデーション形成効果、および腸出血性病変形成効果は、平行的に減少消失した。

4) クールプロマジンは、濃縮、高稀釈 NDV 材料何れの接種マウスの N.E. にも、同程度の阻止作用をしめした。

5) 音波処理 NDV 材料は、対照より感染力は減少したが、マウスに対する N.E. はさらに高稀釈にまでしめされる様になつた。

6) 音波処理 NDV 材料の血球凝集素除去上清液の N.E. は、対照 NDV 上清液の N.E. よりさらに高稀釈にまでおこつた。

本実験に際し、御懇篤なる御指導、御校閲を賜つた恩師小笠原一夫教授に感謝します。

Summary

Egg-propagated Newcastle disease virus (NDV), Miyadera strain, was neuropathic for mice in low and high dilutions. Multiplication of virus or incomplete virus synthesis did not occur in the brain, and the disease was not transmissible by serial passage in mice.

Neuropathic effect would be caused by different activity from HA, infectivity, and hemolytic activity of the virus.

The effect seemed to parallel with the lung consolidation effect and the intestinal hemorrhage producing effect of virus in mice.

Prior intra-abdominal injection of chlorpromazine reduced the death ratio of mice resulting from the intracerebral inoculation of NDV.

Decrease of infectivity titer and relative increase of neuropathic effect of the virus were resulted from the sonic vibration.

The supernatant fluid of sonically vibrated virus preparation was neuropathic for mice even after the complete removal of the hemagglutinin.

文 献

- 1) Brandly, C. A., Moses, H. E., Jungherr, E. L., and Jones, E. E. (1946): The isolation and identification of Newcastle disease virus. *Am. J. vet. Res.*, 7, 289-306. — 2) Liu, C., and Bang, F. B. (1952): Encephalitis and pneumonia following the intranasal inoculation of Newcastle disease virus in

- different strains of mice. *Am. J. Hyg.*, 55, 182-189. — 3) Upton, E., Hanson, R. P., Dow, D., and Brandly, C. A. (1953): Studies on intracerebral inoculation of Newcastle disease virus (NDV) in mice. I. Response of weanling mice to 25 strains of NDV. *J. Infectious Diseases*, 92, 175-182. — 4) Kilham, L. (1950): Transmission and multiplication of Newcastle disease virus (NDV) in brains of suckling mice. *Proc. Soc. Exptl. Biol. & Med.*, 74, 220-222. — 5) Kilham, L., Loomis, L. N., Peers, J. H. (1952): Variations in behavior of two strains of Newcastle disease virus on passage through brains of adult mice. *Am. J. vet. Res.*, 46, 95-98. — 6) Upton, E., Hanson, R. P., Dow, D., and Brandly, C. A. (1955): Intracerebral inoculation of mice with Newcastle disease virus. II. The response of mice of different ages. *J. Infectious Diseases*, 96, 24-28. — 7) Upton, E., Hanson, R. P., and Brandly, C. A. (1955): Intracerebral inoculation of mice with Newcastle disease virus. III. Serial passage of NDV in suckling mice. *J. Infectious Diseases*, 96, 29-33. — 8) Reagan, R. L., Lillie, M. G., and Brueaker, A. L. (1949): Transmission of the hamster-adapted Newcastle virus to swiss albino mice. *Proc. Soc. Exptl. Biol. & Med.*, 70, 5-6. — 9) Reagan, R. L., Brueckner, A. L. (1951): Response of the swiss albino mouse to the virus of Newcastle disease. *J. Bacteriol.*, 61, 435-454. — 10) Groupé, V., and Dougherty, R. M. (1956): Neuropathic effect of Newcastle disease virus in mice and modification of host response by receptor destroying enzyme, viral interference and xerosin. *J. Immunol.*, 76, 130-137. — 11) Cox, H. R. (1953): Viral and Rickettsial Toxins. *Ann. Rev. Microbiol.*, 7, 197-218. — 12) 中山幹雄(1958): ニューカッスル病ウイルス (NDV) による肺コンソリデーションの形成機序. コンソリデーション因子の研究 (2). *ウイルス*, 8, 262-271. — 13) Ogasawara, K., Nakayama, M. (1958): Mechanism of production of pulmonary consolidation in mice by Newcastle disease virus (NDV). *Virology*, 6, 288-290. — 14) Markham, F. S. (1957): 小笠原一夫教授宛私信. — 15) 安江敏夫 (1959): ニューカッスル病ウイルス (NDV) によるマウス腸管出血, コンソリデーション及びアレルギー成立に関する研究. コンソリデーション因子の研究 (3). *ウイルス*, 9, 282-290. — 16) Ogasawara, K., Yasue, T. (1959): Intestinal hemorrhage caused by Newcastle disease virus (NDV) in mice. *Virology*, 8, 268-269. — 17) 伝染病研究所学友会編(1958): 細菌学実習提要, 丸善株式会社, 東京. — 18) Salk, J. E. (1944): A simplified procedure for titration hemagglutinating capacity of influenza virus and the corresponding antibody. *J. Immunol.*, 49, 87-98. — 19) Reed, L. J., and Muench, H. (1938): A simple method of estimating fifty percent endpoints. *Am. J. Hyg.*, 49, 493-497. — 20) Horsfall, F. L. (1938): Neutralization of epidemic influenza virus. The linear relationship between the quantity of serum and the quantity of virus neutralized. *J. Exp. Med.*, 70, 209-222. — 21) 清水一徳(1959): インフルエンザ・ウイルス (PR8) 家兔皮内接種による皮膚病変. コンソリデーション因子の研究 (4). *ウイルス*, 9, 558-573. — 22) Kilham, L. (1949): A Newcastle disease virus (NDV) hemolysin. *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, 71, 63-66. — 23) Kato, N., Simizu, K., and Hara, H. (1961): Local skin reactivity to influenza virus. *Brit. J. Exp. Path.*, 42, 445-454. — 24) Kato, N., and Okada, A. (1961): The relation of the toxic agent to the subunits of influenza virus particles. *Brit. J. Exp. Path.*, 42, 253-265. — 25) 小笠原一夫 (1961): ウイルス・細菌の2, 3の毒素による肺炎の成立とその機序. *日新医学*, 48, 223-231. — 26) 小笠原一夫 (1961): インフルエンザの予防に関する基礎的研究 (文部省科研総合班, 班長甲野礼作), 第3回連絡会 1960年, 第4回連絡会 1961年. — 27) 小笠原一夫 (1962): ウイルス及びウイルス病に関する総合研究 (文部省科研総合班, 班長 川喜田愛郎) 発表会, 1962年.