ニューカッスル病ウイルス(NDV)によるマウス腸管出血、肺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)

安 江 敏 夫*

TOSHIO YASUE: INTESTINAL HEMORRHAGE, LUNG CONSOLIDATION, AND DEVELOPMENT OF ALLERGIC STATE IN MICE BY NEWCASTLE DISEASE VIRUS (NDV)
STUDIES ON CONSOLIDATION FACTOR (3)

〔受稿 2月3日 1959〕

1. は じ め に

新鮮なニューカッスル病ウイルス(NDV)の静脈内接種によりマウスの腸に出血性病変が惹起されることを最初に確認したのは Markham¹⁾であり、つづいて当教室中山³⁾により研究された。又肺コンソリデーション形成に関しては1942年Burnet²⁾の報告以来少なからぬ報告がなされている。すなわち新鮮な活性ウイルスをある程度大量マウスの静脈内に接種することにより腸管の出血性病変が形成され、これを死に至らしめること及鼻腔内攻撃の時、宿主マウスの組織内において増殖が殆んど見られないにもかかわらず、肺に一定の病変すなわち Consolidation を形成し、これを死に至らしめることが判明している。教室の小笠原³⁾中山⁴⁾はさきにこの Consolidation の効果が感染力と密接不離の関係にあるかどうか疑問をもち研究を進め、エチル水銀チオサルチル酸ナトリウム(マーゾニン)不活化により感染力は消失しこれにともない腸管出血性病変形成能力も失われるがマウス肺に Consolidation を惹起する能力は依然もつていることを明らかにした。また-30℃に一夜放置すれば NDV の感染力は、ほとんど低下しないにもかかわらず腸出血性効果は全く失われる事実⁵⁾をも認めた。小笠原³⁾、中山⁴⁾等は肺及び腸における病変像が共に NDV の局所刺激による血管系の反応を基礎としているらしいことから自律神経遮断剤の効果をみた。すなわち適量をあらかじめ投与したところ、肺の Consolidation 形成も腸出血性病変も共に防止されることをみた。この NDV のもつ腸

出血効果及肺 Consolidation 形成効果に關与する夫々の因子はアレルギー抗原の性格をもつことが予測される¹⁵⁾¹⁶⁾¹⁷⁾ところから私はさらにこれら因子の性状を詳しく検討し2,3の知見をうるとともに相互の近似性をみとめることがのでき、ここに報告する。

2. 実験材料及方法

- 1) 供試ウイルス株：宮寺株(NDV)，PR 8株(I. V.)
- 2) 供試マウス：雑系白色マウス(体重8~10gr)及び均一系CFW(体重17~20gr)
- 3) 精製ウイルス液の調製：ウイルス感染漿尿液(48時間 incubate)を3000 r.p.m. 30分間遠心沈澱し、その上清をスピコン超遠心機で20480 r.p.m. 30分間遠心沈澱、その沈澱を原量の1/10量の生理的食塩水に再遊遊し更に3000 r.p.m. 15分間遠心して、その上清を濃縮ウイルス液として使用した。
- 4) ウイルス力価は Salk⁵⁾の管底像法による鶏赤血球凝集反応法(H.A法)で凝集陽性の最高稀釈倍数を以て示した。
- 5) マウスの麻酔はエーテル：クロロホルム2：1の割合の混合液を使用した。
- 6) ウイルスの不活化
 - a) 加熱操作：60℃20分間恒温槽に入れ不活化せしめた。
 - b) 紫外線操作：三菱電機製作所製100V. 15W紫外線照射器を使用して60cmの距離より直径4.0cm、深さ2.5cmの小型シャーレにNDV浮遊液

* 名古屋大学医学部細菌学教室(指導 小笠原一夫教授)

0.5cc を注入し70分間照射して不活化せしめた。

- c) フォルマリン操作：局方フォルマリンを最終濃度 0.05% になるように加えこれを 37°C に 12 時間放置して不活化せしめた。

7) 副腎皮質ホルモン製剤

- a) ハイドロコチゾン

b) プレドニゾロン Prednisolone
プレドニン塩野義

3. 実験並びに実験成績

A. NDVによるマウス腸出血性病変形成に関する実験

1) 濃縮ウイルス浮遊液によるマウス腸病変とマウス体内におけるウイルス分布

精製ウイルス浮遊液 (2048 HA) をマウス尾静脈より 0.1 ml 接種すると 24 時間以内に大部分、一部は 48 時間以内に全部死亡した。剖検処見としては肉眼的に小腸全域に亘る高度の出血性病変を認め、肺には処見はないが屢々肝に充血及び出血点を認める。顕微鏡的処見として小腸に粘膜出血を認め、出血は腸管内にも及んでいる。肺、腎には変化なく肝にウツ血と小出血を、脾にはウツ血及び濾胞が軽度になくなっていたのがみられた。斃死マウスの腸・肝・腎・脾・肺及び脳等各臓器の切片 0.5gr. 宛をとり海砂を加えスリッブして、エムルジョンとなし、これに 5 倍量の生理的食塩水を加え遠心沈澱し、その上清について HA 価を測定した。その成績は表 1 に示す通りであつて大腸特に小腸におけるウイルス力価は 8~32 HA でこの力価は供試マウス全例において認めることが出来た。半数近く

のマウスの肝では 4~8 HA、脾で 2HA を認めたが、肺・腎・脳などは全くみとめられなかつた。このマウス体内におけるウイルスの分布は当然ながら剖検処見とはほぼ一致し腸出血性病変部に多く肺・腎・脳など変化のないところでは全く認めることができなかった。

Table 1. Distribution of NDV in Organs of Mice inoculated intravenously.

Organs	No. of Mice inoculated				
	1	2	3	4	5
Brain	0	0	0	0	0
Lung	0	0	0	0	0
Liver	0	8	0	0	4
Spleen	0	0	2	0	2
Kidney	0	0	0	0	0
Small Intestine	32	32	16	8	16
Large Intestine	16	32	16	8	16

Numerals indicate HA titers

2) 宿主マウスの飼育系統と腸出血性病変形成との関係

これまで NDV の腸管出血効果をしらべるのに雑系のマウスが使用されたが、宿主マウスの系統によつて感受性が相違することも考えられるので均一系、CFW 系 (伝研田嶋研究室より提供) と市販雑系のマウスとを同時に使用して腸出血性病変形成の比較をおこなつた。128HA, 256HA, 512HA, 1024HA, 2048HA の各段階の NDV 浮遊液を作り、CFW 系及び雑系白色マウスの尾静脈に 0.1 ml 宛接種したところ次の表 2 に示す通り 128HA, 256HA ではその差を認め得なかつたが 512HA 以上においては CFW 系は雑系に比し腸出血性病変が早期に認められる傾向にあることを知つた。

3) 皮下感作マウスにおける腸出血性病変形成

イ) NDV 免疫感作マウスにおける赤血球凝集抑制 (HI) 抗体産生：生 NDV 浮遊液 (1024HA) 0.1 ml を皮下接種し一定時間を経過せるマウスの血清を分離して 56°C, 30 分間加熱非働化せしめ、10 倍より 2 倍階段稀釈を行う。一方 NDV 感染漿尿液を生理的食塩水にて、その血球凝集価が 8HA/0.5ml になるように稀釈する。この稀釈ウイルス液 0.25 ml を上述の稀釈マウス血清系 0.25 ml に加え、更に 1% 雞赤血球浮遊液 0.25 ml を加え室温に 10 分間放置し冷蔵庫に入れ、この血球凝集反応をしらべた。その成績は図 1 に示す通りで 7 日目では僅かに赤血球凝集抑制抗体の産生を認めるが、10 日目では既に最高値に達し 14 日まで続きそれ以降は徐

Table 2. Inbred strain of Mice and Production of Intestinal Hemorrhagic Lesion by NDV.

Inoculum 0.1ml	Strain of Mice	Number of Mice	Time to Death (hrs)			
			24	48	72	72<
128 HA	Inbred CFW	4	0	0	0	4
	Noninbred	4	0	0	0	4
256 HA	Inbred CFW	4	0	0	0	4
	Noninbred	4	0	0	0	4
512 HA	Inbred CFW	4	0	1	0	3
	Noninbred	4	0	0	0	4
1024 HA	Inbred CFW	4	0	2	1	1
	Noninbred	4	0	1	0	3
2048 HA	Inbred CFW	4	2	2	0	0
	Noninbred	4	0	3	1	0

々に減少してゆくのがみられた。従つて以下の実験では免疫後10日にNDV静脈攻撃を行った。

Fig. 1 Variation of HI Antibody Titers of Mice Immunized Subcutaneously with NDV.

ロ) 生NDV感作マウスにおける腸出血性病変

生NDV浮遊液 (1024 HA) 0.1mlを皮下接種感作し抗体産生の最高の時期即ち10日後このマウスにNDV (2048 HA) 0.1mlを尾静脈に接種した。非感作対照マウスは5頭とも24時間以内に腸出血性病変を示して死亡したのに対し、感作マウスでは72時間迄に斃死せるものは9頭中1例もなく、5日迄に2頭、7日後に4頭の斃死をみた。しかもこの斃死せるものを剖検しても腸の出血性病変は明瞭に認めることは出来なかつ

た。(表3参照)

ハ) 加熱不活化NDVにて感作した場合

NDV浮遊液(力価1024HA)を60°C, 20分間加熱し、これを9日卵に接種してウイルスが不活化されていることを確かめ、この熱処理NDVをマウスの皮下に0.1ml接種し、9日後に生NDV浮遊液(力価2048HA) 0.1mlを尾静脈より接種したところ、5頭中3頭は48時間以内に小腸の出血性病変を認めた。(表3)

ニ) 紫外線不活化NDVにて感作した場合

力価1024HAのNDV浮遊液を紫外線にて不活化し皮下に0.1ml接種し、9日後に生NDV浮遊液(2048HA) 0.1mlを尾静脈より接種したところ5頭中4頭に小腸の出血性病変を認めた。(表3)

ホ) フォルマリン不活化NDVにて感作した場合

NDV浮遊液(力価1024HA)をフォルマリンで不活化し皮下に0.1ml接種し、9日後に生NDV浮遊液(2048HA) 0.1mlを尾静脈より接種したところ、加熱、紫外線不活化例と同様5頭中4頭に小腸の出血性病変を認めた。

以上を一括すれば表3の通りであつて皮下感作マウスにおいては生ウイルスをもつて感作した時のみ生ウイルスの尾静脈内接種によつておこる腸出血性病変を防ぐことが出来るが、これを不活化した場合は加熱、紫外線、及びフォルマリン何れの方法を問わず腸出血性病変を完全には防ぐ能力を与え得ない。(表3参照)

4) 少量のNDVを静脈接種し24時間後更に大量の

Table 3 Production of Intestinal Hemorrhagic Lesion by NDV in Mice Sensitized Subcutaneously with NDV.

Treatment of NDV Antigen	Size of Inoculum 0.1ml	Interval (Day)	Dose of Challenge (i.v.) 0.1ml	Number of Mice	Death with Intestinal Lesion within 48 hrs
Live(Fresh)	1024 HA	10	2048 HA	9	0
Heated(60°C20min)	"	9	"	5	3
UV-irradiated	"	9	"	5	4
Formolized	"	9	"	5	4
Control	—	—	"	5	5

NDVを接種した場合の腸出血性病変形成

イ) 少量の生NDV前処置による腸出血性病変の抑制
生NDVが腸に病変を起すに必要な最少ウイルス量は512HA 0.1mlであつて、それより以下の量即ち128~256HA 0.1mlでは僅かに腸間膜に充血が見られるだけであるが、64HA 0.1ml以下では肉眼で病変は全くみられない。そこで私は生NDV (128HA) 0.1mlを雄系マウスの尾静脈より接種し、24時間後に生NDV (2048HA) 0.1mlを尾静脈に接種したが、72時間以内に死亡したものは10頭中1頭もなく勿論小腸の出血性病変は全く認めることが出来なかつた。これにより予じめ少量の生NDVを接種することによつて、大量のウイルスの再接種によつておこりうる小腸出血性病変の成立を完全に抑制することが出来ることを知つた。

ロ) 加熱不活化NDVの前処置による腸出血性病変の抑制

NDV浮遊液128HAを60°C、20分間加熱することにより、これの不活化せることを確かめ、その0.1mlをマウスの尾静脈に接種し、更に24時間後精製ウイルス(2048HA) 0.1mlをマウス尾静脈に接種したところ、3頭中1頭は24時間以内に、残りの2頭は48時間内に腸出血性病変を起こして斃死した。

ハ) 紫外線不活化NDVの前処置による腸出血性病

変の抑制

力価128HAのNDVの浮遊液を紫外線にて不活化しその0.1mlをマウスの尾静脈に接種し、更に24時間後に精製ウイルス(2048HA) 0.1mlをマウスの尾静脈に接種したところ、3頭中1頭は24時間以内に、残りは48時間以内に斃死し、腸出血性病変を認めることが出来た。

ニ) フォルマリン不活化NDVの前処置による腸出血性病変の抑制

NDV浮遊液(128HA)をフォルマリンで処理、その0.1mlをマウスの尾静脈に接種し、24時間後さらに生NDV力価(2048HA) 0.1mlを静脈内に接種したところ、3頭中2頭は24時間以内に、残りの1頭は48時間内に腸出血性病変を起して斃死した。即ち少量の生ウイルス前処置によりもたらされる腸出血性病変を防禦する能力は加熱、紫外線、フォルマリン等による不活化NDVの前処置によつては獲得されないことを知つた。

以上の成績は表4に一括した。

ホ) インフルエンザ・ウイルス前処置による腸出血性病変の抑制

インフルエンザ・ウイルス(PR8,400HA) 0.1mlをマウス尾静脈に0.1ml接種し、24時間後に精製NDV(2048HA) 0.1mlを尾静脈に接種したところ、前処置しなかつたマウス群では24時間内に腸出血性病変を起

Table 4. Inhibition of Intestinal Hemorrhage by Inoculation with Small Amount of NDV.

Pre-inoculation (i.v) 0.1ml	Interval (hour)	Dose of Challenge (NDV) (i.v) 0.1ml	Number of Mice	Death with Hemorrhage Lesion within 48 hrs.
Live 128 HA	24	2048 HA	10	0
Heated 128 HA	"	"	3	3
UV-irradiated 128 HA	"	"	3	3
Formolized 128 HA	"	"	3	3
Influenza Virus 400HA	"	"	3	0
Control none	—	"	3	3

して斃死するものが半数を数えたがインフルエンザ・ウイルス前処置群では48時間迄には斃死するものなく72時間で半数死亡した。然し何れの斃死例でも腸出血性病変を確認することができた。(表4参照)

5) 副腎皮質ホルモン製剤のNDVによる腸出血性病変成立に及ぼす影響

イ) ハイドロコチゾンのNDV腸管効果に及ぼす影響

ハイドロコチゾン200 γ /0.1mlをマウスの左大腿内側筋内に注射し、30分間後にNDV 2048HA, 0.1mlを尾静脈に接種し経過をみた。5頭中2頭のみ48時間以内に小腸の出血性病変をともなつて死亡したが、他の3頭は生存し剖検処見でも小腸の病変を認めることが

出来なかつた。ハイドロコチゾンを注射しなかつた対照マウス3頭は何れも定型的な腸の出血性病変を示して48時間以内に死亡した。

ロ) プレドニゾロンのNDV腸管効果に及ぼす影響
プレドニン200 γ /0.1mlをイ)と同様に注射し30分間後に尾静脈よりNDV浮遊液2048HA 0.1mlを接種して経過をみた。5頭中1頭のみ小腸の出血性病変をともなつて48時間以内に死亡したが他の4頭は生存し小腸の病変は全然認めることが出来なかつた。プレドニンを注射しなかつた対照マウスは、5頭とも全例定型的病変をともなつて死亡した。

以上の成績は一括して表5に示した。

Table 5. Production of Intestinal Hemorrhagic Lesion by NDV and Corticosteroid Hormones.

Corticosteroid Hormones	Dose of Drugs (i.n)	Number of Mice	Death with Hemorrhagic Lesion within 48 hrs
Hydrocortisone	200 γ	5	2
Prednisolone	200 γ	5	1
Control	—	5	5

B. NDVによる肺コンソリデーション形成に関する実験

1) 生NDVによるマウス肺 Consolidation 精製ウイルス浮遊液(力価2048 HA)をエーテル：クロロホルム、2：1の割合の混合液で軽く麻酔したマウスに経鼻的に0.1 mlを接種すると多くは3日以内に斃死し、何れも著明な肺 Consolidation の形成を示した。肺の病理学的処見としては肺全葉にウツ血が強く気管支周囲リンパ装置が増生している。気管支管中には剝脱細胞が著明であり、又所々に多核白血球、リンパ球を主とした円形細胞が結節状に浸潤している所がある。

NDVによる肺コンソリデーション Production of Lung Consolidation in Mice by NDV.

(写真参照)

2) NDV不活化操作のマウス肺病変(Consolidation)成立に及ぼす影響

イ) 熱不活化NDV接種マウスの肺処見

NDV浮遊液(2048 HA)を60°C, 20分間加熱することによりHAは消失した。この0.1 mlを9日卵漿尿膜腔内に注入、48時間 incubate 後 allantoic fluidのHAを測定したが凝集は認められず、ウイルスの不活化せるを確認した。この熱処理NDVをマウスに経鼻接種してもマウスはすべて生存し且4日後剖検しても肺に Consolidation の如き病的処見は認めることが出来なかつた。

ロ) 紫外線不活化NDV接種マウスの肺処見

100V 15W, 型名GB-15紫外線照射器を使用して60 cmの距離より直径4.0cm深さ2.5cmの小型シヤーレにNDV浮遊液(2048HA) 1.5 mlを注入し、なるべく広がるようにして70分間照射した。

これを9日卵漿尿膜腔内に注入するも48時間 incubate 後 allantoic fluidは血球凝集を認めずHA価はみられなかつた。この紫外線照射NDV浮遊液をマウスに経鼻接種したがマウスはいづれも生存し、肺に Consolidation などの病的処見は認められなかつた。

ハ) フォルマリン不活化NDV接種マウスの肺処見
NDV浮遊液(2048HA)に局方フォルマリンを最終

濃度0.05%になるように加え 37°C, 12 時間放置し, その0.1mlを9日卵漿尿膜腔内に注入, 48時間 incubate 後の allantoic fluidのHAは陰性を示しウイルスの不活化されていることを確認しこのフオルマリン不活化 NDV をマウスに経鼻接種したが, マウスは全例死亡せず, なお肺に著明な変化もなかつた。

対照である生NDV (2048HA) を経鼻接種したマウスは5頭中4頭が72時間以内に斃死し肺には高度の Consolidation の形成があつた。これらを一括して表6に示したが, これによると NDV 粒子に認められる肺 Consolidation 形成因子は, 熱, 紫外線, フオルマリン等の不活化操作により変性をうけ, その能力を消失することが明瞭である。

Table 6. Production of Lung Consolidation in Mice by Inactivated NDV.

Inoculum (i.n) 0.03 ml		Number of Mice	Death within 72 hrs
HA	Treatment		
2048	Live	5	4 ③④④④
2048	Heated(60°C, 20min)	5	0
2048	UV-irradiated	5	0
2048	Formolized	5	0

③④: Grade of Consolidation (by Horsfall (10))

ニ) 不活化NDV接種10日後に NDV 接種マウスの肺処見

熱, 紫外線あるいはフオルマリン等により不活化したNDV (2048HA) 0.03mlを5頭のマウスに経鼻接種し外見異常なく耐過し生存せるものに更に10日後 NDV浮遊液 (2048 HA) 0.05mlの経鼻接種をおこなってみたが, 何れも72時間以内に斃死し, 肺には Consolidation の病理処見が認められた。即ち感染力も肺 Consolidation 形成能力もともに消失したNDVを10日前に経鼻接種しておいても活性 NDV の経鼻攻撃に対し

ては何らの防禦効果を示さなかつた。

3) 皮下感作マウスにおける肺 Consolidation 形成

イ) 生 NDV 皮下感作マウスに NDV を経鼻接種した場合

生NDV浮遊液 (1024 HA) 0.1mlをマウス皮下に接種し抗体の最も上昇しているとみなされる時期即ち10日後に精製NDV (力価: 2048HA) 0.5mlを経鼻接種したところ, 5頭中4頭は間もなく“ビュービュー”という喘鳴音を数分乃至十数分間発し48時間以内に斃死した。即ち皮下免疫群は対照非免疫群にくらべ時間的に著しく早期に比較的軽度の肺 Consolidation で死亡することが認められた。しかもその肺病変度が対照にくらべ軽度であることも又特徴的であつた。誘起攻撃によりマウスは“ビュービュー”という気管支音を発し喘息様症候を示したことも注目すべき特徴であつた。かく早期に死亡したマウスの肺の病理組織学的処見としては気管支上皮細胞の早期変性脱落, 単核細胞と赤血球の間質浸潤, アテレクターゼ及び著明な肺水腫を認めることが出来た。

ロ) 加熱不活化 NDV 皮下感作マウスに NDV を経鼻接種した場合

NDV浮遊液 (1024HA) を60°C, 20分間加熱することによりHAは消失した。この0.1 mlを9日卵漿尿膜腔内に注入, 48時間 incubate 後 fluid の凝集反応を行いウイルスの不活化されていることを確かめた。この熱処理NDVを0.1mlウイルスの皮下に接種, 10日後に精製NDV (2048HA) 0.05mlの経鼻接種をおこなつた。この際喘鳴は発現しなかつたが, 5頭中1頭は24時間内に, 2頭は48時間内に残りも72時間内に斃死した。

いづれも肺には著明な Consolidation が認められた。

ハ) 紫外線不活化 NDV 皮下感作マウスに NDV を

Table 7. Lung Consolidation in Mice Sensitized Subcutaneously with NDV, by Nasal Inoculation with NDV.

Sensitization with NDV	Interval	Challenge (i.n.)	Number of Mice	Death within		
				24 hrs	48 hrs	72 hrs
Live	10 Days	2048HA 0.05 ml	5	② ② ②	②	③
Heated (60°C 20 min)	〃	〃	5	④	④④	④③
UV-irradiated	〃	〃	7	④④④④	④	④③
Formolized	〃	〃	5	④ ④	④④	③

②③④: Grade of Consolidation (by Horsfall (10))

経鼻接種した場合

紫外線照射により不活化せるNDV浮遊液(1024HA) 0.1mlをマウスの皮下に接種10日後に精製NDV (2048HA) 0.05mlの経鼻接種をおこなったところ全例に喘鳴をきかず7頭中4頭は24時間内に、1頭は48時間内に残りは72時間内に斃死した。何れの例でも肺のConsolidationは高度に認められた。

ニ) フオルマリン不活化NDV皮下感作マウスにNDVを経鼻接種した場合

フオルマリンにより不活化せるNDV浮遊液(1024HA) 0.1mlをマウスの皮下に接種、10日後精製NDV(2048HA) 0.05 mlの経鼻接種を行つたところすべてのマウスに喘鳴をきかず5頭中2頭は24時間内に更に2頭は48時間内に、残りは72時間内に斃死した。全例とも肺 Consolidationは著しかった。以上を一括して表7で表はした。

ホ) NDV感作マウスにインフルエンザ・ウイルスを経鼻接種した場合

生NDV浮遊液(1024HA) 0.1 mlをマウスの皮下に接種、10日後にインフルエンザ・ウイルスPR8 (2048HA) 0.05mlの経鼻接種を行つたところ経鼻接種にNDVを用いた時とは異なり、定型的な気管支の喘鳴なく48時間以内に斃死したのは8頭中3頭であつたが、肺のConsolidationはいづれも著名であつた。72時間以内に2頭、96時間内に1頭が死亡し、残り2頭は死をまぬがれた。死亡例の肺の病変はいづれもConsolidationが定型的であつて病変度は3~4で無処置マウスにインフルエンザ・ウイルスを経鼻接種を行つた時と殆ど同じ位の病変度を示した。

ヘ) IV感作マウスにNDVを経鼻接種した場合

生インフルエンザ・ウイルスPR8 (2048HA) 0.1mlをマウス皮下に接種、10日後に精製NDV (2048HA) 0.05mlを経鼻接種したが、直後に気管支喘鳴音をきかず、48時間内に死亡したものは4頭中1頭で残りの3頭は72時間以内に死亡するのがみられ、その肺病変度は3~4を示した。

4. 考 察

当教室、小笠原、会田、中山^(3,4,15,16,17)等によるインフルエンザ・ウイルス、NDV或はHVJ等によるマウス肺炎の研究によれば、肺 Consolidationの成立にはウイルス粒子構成成分中の“コンソリデーション因子”の肺局所自律神経センイ終末刺戟が第一段階として要求されるもので、ウイルスの感染力乃至増殖は必須条

件でないことが明かとなり、感染力、血球凝集能力及び Consolidation 形成作用という夫々のウイルス属性は独立別個のものであることを明かにして抗原性を有する“Consolidation factor”の存在を提唱した。また同時に、少くともインフルエンザ・ウイルスにおいては、アレルギーに關与する抗原の存在を報告している。

一方、Markham⁽¹⁾はNDV感染漿尿液の大量静脈内接種により、マウスは腸管出血をきたして死亡することをみとめ、中山⁽³⁾もこれを追試し且つこの成立機序に關する研究により、この腸管出血効果がNDV粒子構成成分中の宿主親和組織を支配する自律神経センイ末端を刺戟する因子によることを明かにしこの因子が、“Consolidation factor”と作用機作を同じくするものであることを記述した。

私は実験にのべた如く、まずNDVによるマウス腸管出血作用を確認し、この現象が一定のHA力価以上をもつ新鮮なNDV粒子によつておこること、このウイルスは腸組織に対する親和性は強いが局所において増殖はしないこと、マウスの系統によりこの感受性に若干の差があることなどを知つた。次に、あらかじめ生NDVで免疫されたマウスではある程度血球凝集抑制抗体の産生された時期においては、この腸管出血効果が抑制されること即ち、この効果に關与する因子は抗体により不活化されることを知つた。しかし乍ら、加熱(60°C, 20分間)、紫外線照射あるいはフオルマリン処理等により不活化されたNDVで免疫されたマウスでは、生NDVによる腸出血効果が抑制されないもので、この効果に關与するウイルス粒子中の抗原因子はかなり不安定なものであることが判つた。

Khoobyarian and Walker⁽¹⁸⁾は、あらかじめインフルエンザ・ウイルス(A, B型)NDV, RDEあるいは熱不活化RDEの少量静注処置により、マウスはインフルエンザ・ウイルスの静注致死をまぬがれうという。またDougherty and Groupéは、あらかじめ致死下量の内毒素を静注しておくことにより、マウスは24時間後の同じ内毒素もしくはインフルエンザ・ウイルスの致死攻撃に耐え得たという。私は、あらかじめ少量の生NDVをマウスの静脈内に接種しおくときは、24時間後のNDV攻撃による腸管出血性病変の形成を阻止することを認めた。

しかし乍ら、前処置NDVを加熱(60°C, 20分間)、紫外線照射あるいはフオルマリン処置等により不活化した場合には、この腸管出血効果は抑制されなかつた

し、生インフルエンザ・ウイルス（A型）による前処置によっても抑制されなかつた。私の行つたこの実験は Khoobyarian and Walker あるいは Dougherty and Group² 等の実験とアナログな性格のものと考えられる。Khoobyarian 等の示した迅速に獲得されるマウスの抵抗力が血清学的にヘテロログスである点とはとくに考慮を要する問題であるが、これら一種の成績に共通する抵抗力が迅速短時間に成立する現象は、前処置接種に基く特異免疫の成立とは関連がないものの如く考えられる。私の実験の場合、NDV を上述の各方法のいずれで不活化しても、もはやこの抵抗力をマウスに賦与する能力を失うことは、これに関連するウイルス粒子構成成分が極めて不安定なものであることを示し、前述の腸管出血効果に関与する抗原性因子と極めて密接近似の関係にあることを示唆するものであり、あるいはこの両因子は同一抗原であるかも知れないと思われるが、この点今後さらに検討すべきものであろう。またさらにこの抵抗力が迅速に成立する機序については今日ほとんど説明されるに至っていない。この問題に関しても今後の研究が期待される。

当教室中山³⁾はNDV静注により惹起される腸管出血性病変は経鼻接種により惹起される肺 Consolidation の場合と同様に、適当な自律神経遮断剤を投与しておくことにより完全にその成立が阻止されることを認めた。私は副腎皮質系ホルモン製剤すなわち、ハイドロコルチゾンあるいはこれと極めて近似の化学構造を有するプレドニゾロンの適量（ともに200 γ ）をあらかじめ投与しておくことにより生 NDV による腸管出血性病変がある程度阻止されうること、とくにプレドニゾロンの阻止効果はみるべきものがあることを実験した。近時、臨床医学に脚光を浴びつつあるこれら副腎皮質系ホルモン製剤は最近感染症の領域においても興味ある知見が得られつつあることは周知の如くであるが、その抗炎症作用機序については種々なる学説が発表されているが、ここにそれらにつき述べる余裕をもたない。しかしながらその血管系とくに毛細血管透過性亢進を抑制する作用は抗アナフィラキシー、抗アレルギー作用を説明するに好都合である²⁰⁾。組織学的所見から血管系の侵襲が基礎をなすと考えられる NDV による腸管出血病変³⁾に対してもこれらの薬物が阻止的に作用するのは、腸管局所における血管透過性亢進を抑制するためではあるまいかと考えられる。

当教室小笠原、中山⁴⁾はNDVによるマウス肺Consolidation形成の機序に関し見解をのべている。それによ

れば蛋白質のSH基をブロックする作用をもつ有機水銀製剤の如きもので不活化された場合は Consolidation 因子は変性をうけないが、その他の方法による不活化によれば変性をうける。私もNDVを加熱（60°C, 20分間）、紫外線照射あるいはフオルマリン処理等の方法で不活化した場合、これを経鼻接種するも Consolidation は全く形成されず且つマウスは死をまぬがれることをみとめた。また熱（60°C, 20分間）、紫外線あるいはフオルマリンにより不活化した NDV をもつてあらかじめ経鼻免疫（感作）をおこない、抗体の形成された時期とみなされる10日後に生 NDV 経鼻攻撃をおこなつたが、Consolidation の阻止はみとめられなかつた。

当教室小笠原^{21,16,15,17)}等によれば、適当濃度のエチル水銀チオサリチル酸ソーダ（マーズニン）により不活化されたインフルエンザ・ウイルス（A型）を用いてマウスに経鼻接種を行い、適当な期間後、生ウイルスにより感染攻撃をおこなうときは、そのうちの35%位は無処置対照よりも早期に死亡し且つその肺病変も対照より軽度であることをみとめ、残りのマウスもこの免疫操作によりとくに抵抗力が増大したということとはみとめられなかつたという。さらに高濃度マーズニン・ワクチン皮下免疫マウスに9日間後高濃度マーズニン・ワクチン（20000 HA, 0.2 ml）を経鼻投与したところ、免疫しない対照はすべて、48～72時間のうちに高度の Consolidation の下に死亡したのに対し、10～20分間という短時間のうちに“ビュービュー”という気管支音を発して死亡したが、肺 Consolidation は甚だ僅微であり、胸郭を開くと肺は著しい隆起を示したといひ、これらの感作マウスにみられる特異的抵抗力の低下はインフルエンザ・ウイルスに一種のアレルギー性抗原が存在するためであるという。私はインフルエンザ・ウイルスの場合の如く、生 NDV の一定量でマウスを皮下免疫（感作）しておき、10日間を経て比較的高濃度（2048 HA）の同生ウイルスを経鼻接種したところ、その大多数は間もなく“ビュービュー”という気管支喘鳴音を発し、数分乃至十数分間にわたりこの発作が継続するのが観察された。これらのマウスは非感作対照群よりも早期に（48時間以内に）死亡し、しかも肺の Consolidation 度は対照よりも軽度であつた。この感作成立は比較的大量の生 NDV によつてのみ成立し、加熱（60度, 20分間）、紫外線照射あるいはフオルマリン処理等による不活化ウイルスによつて感作せしめることはできなかつた。NDV 感作マウス

にインフルエンザ・ウイルスA型による経鼻攻撃を行つても、その逆のインフルエンザ・ウイルス(A型)感作マウスにNDV攻撃を行つても、気管支喘鳴音を認めることはできなかつた。以上の成績により、NDV粒子においてもインフルエンザ・ウイルスと同様に、甚だ変性し易い不安定な一種のアレルギー性抗原が存在することが確認される。しかもこれはインフルエンザ・ウイルスのそれとは血清学的に別個のものであり、物理的、化学的不活化処理による変性の状態からみれば、NDV粒子にみとめられる肺 Consolidation 因子、腸管出血性病変因子(intestinal hemorrhagic lesion factor)と極めて密接な関係にあるものといふことができる。しかしながらこれら3因子の相互の関係は、さらに今後の研究の進展により、より明瞭となつてくるものと考えられる。

5 総 括

1. 一定力価以上の新鮮NDVの静脈内接種によりマウスは腸管に高度の出血性病変を示して斃死する。この際NDVは感染力を必要とするのみでなく新鮮であることが要求され、種々なる理化学的不活化によりこの効果は陰性となる。腸管すなわち病変部位において侵入ウイルスは証明されるが増殖はみとめられない。

2. 新鮮生NDVで免疫されたマウスではNDVの静脈内致死攻撃をうけるも腸管の出血性病変は成立せず且つ著しい死期の延長を示した。しかし、加熱(60度, 20分間)、紫外線照射、フオルマリン処理等により不活化されたNDVにより免疫した場合はこの様な腸管出血病変の阻止は成立しなかつたし、死期の延長もみとめられなかつた。

3. 少量の生NDVを24時間前に静脈接種しておくと、NDVによる腸管出血病変の成立は抑制される。しかし、加熱、紫外線照射、フオルマリン処理等により不活化されたNDVによるもしくはインフルエンザ・ウイルス(A型)による前処置によつては、この効果の抑制はおこらない。

4. 生NDVによる腸管出血病変は副腎皮質ホルモン

製剤(ハイドロコチゾン・プレドニゾン)の適量をあらかじめ投与することにより著しく抑制される。

5. 生NDVの適量により皮下免疫されたマウスは高濃度の生NDVの経鼻接種により気管支喘鳴音を発し、非感作対照マウスよりも早期に死亡するも、肺Consolidationは軽度である。このマウスのアレルギー獲得は生NDV感作によつてのみ成立し、不活化NDVによつては感作されない。このアレルギー成立を促すNDV粒子の抗原はインフルエンザ・アレルギーの抗原と血清学的に区別される。

6. NDVとマウスとの交渉にもとづく上述の諸現象に対し考察を試みた。

擧筆するにあたり終始御懇篤なる御指導と御校閲を賜つた恩師小笠原一夫教授に感謝の念を捧げると共に、御助言並に御協力を頂いた阿多実茂助教授、及び教室員各位に対し心から厚く御礼申し上げます。

文 献

- 1) Markham, F. S., 小笠原一夫あて私信, 1957.
- 2) Burnet, F. M., Aust. J. exp. Biol., **20**, 81, 1942.
- 3) 中山幹雄: ウイルス, **8**, 254, 1958.
- 4) 小笠原一夫, 中山幹雄: Virology, **6**, 288, 1958.
- 5) Salk, J. E., J. Immunol., **49**, 87, 1944.
- 6) 木村義民他編: アレルギー, 880, 1957. 金原出版
- 7) Ginsberg, H. S., J. exp. Med., **94**, 191, 1951.
- 8) Davenport, F. M., J. Immunol., **69**, 461, 1952.
- 9) Henle, G., and Henle, W., Science, **100**, 410, 1944.
- 10) Horsfall, F. L., J. exp. Med., **70**, 391.
- 11) Anderson, S. G., and Burnet, F. M., Austral. J. exp. Biol., **25**, 235, 1947.
- 12) Sugg, T. Y., J. Bact., **57**, 399, 1949.
- 13) Ginsberg, H. S., J. Immunol., **72**, 24, 1954.
- 14) Straub, M., J. Path. Bact., **47**, 75, 1937.
- 15) 小笠原一夫, 会田真: ウイルス **8**, 242, 1958.
- 16) 会田真: 名古屋医学, **73**, 987, 1957.
- 17) 小笠原一夫: 現代医学 **5**, 3, 1958.
- 18) Khoobyarian, N. and Walker, D. L., Proc. Soc. exp. Biol. and Med., **88**, 246, 1953.
- 19) Dougherty, R. M., and Groupé, V., ibid., **95**, 593, 1957.
- 20) 田中定平: アレルギー, **7**, 323, 1958.
- 21) 小笠原一夫, 永田育也, 会田真, 飯島宗一: 日本ウイルス学会第2回総会, 1954.