X線照射孵化鶏卵内に於けるインフルエンザウイルス (PR 8 株) の増殖について* (第3報)

本 間 彬**

AKIRA HOMMA: INFLUENZA VIRUS TYPE A (PR 8 STRAIN)
MULTIPLICATION IN X-IRRADIATED CHICK EMBRYONATED
EGGS Part (III)

[受稿 2月5日 1959]

I 緒 言

第II報に於て孵化鶏卵に PR 8 株接種後ウイルスの growth cycle の初期の phase に一致した時期に600 r 照射する実験方法を採用することによりその後のウイルス合成の態度に大きな影響を与えるものであることを観察し且そのウイルス合成が広義の細胞組織の活性度に一致するようと思われることを報告した。特に興味あることはウイルス接種後最大耐量に近いX線照射を与える場合、細胞組織の活性度から観察するとウイルス接種のみの対称に比して宿主細胞組織の再生修復がより早く営まれることが明らかにされた。更に漿尿膜細胞から抽出されたウイルス粒子の感染性の有無よりX線照射によるウイルス合成に及ぼす具体的な資料がえられた。

今回は増殖母地たる漿尿膜の各胚葉染色法により細胞組織の検索並びに組織化学的研究の成績について述べ少量のX線照射が PR 8 株の latent period との相関々係に於てウイルス合成に与える影響について報告する。

II 実験材料及び実験方法

1) ウイルス株

前回使用した孵化鶏卵継代 PR 8 株を接種原ウイルス液とした。

2) X線照射方法並びにX線発生装置

前回使用した同じ深部治療機械 (Siemens) を使用した。実験条件も同様。但し照射量は10 r 並びに50 r 量である。

3) 実験供試孵化鶏卵

培養温度及び湿度等の条件は前回に同じ。

4) 接種ウイルス量

standard passage PR 8 株 ($EID_{50}=10^{9.6}$ per ml. CCA 価 $=10^{3.3}$ IA ratio $=6.3$) の $10^4 EID_{50}$ 0.1cc. をその接種量とした。

5) 感染価並びに赤血球凝集価測定法

前回に同じ。

6) 漿尿膜よりのウイルス粒子抽出法

前回に同じ。

Fig. 1 HA Titers of allantoic fluids and chorio-allantoic membranes after 50γ irradiation

**東京大学医学部衛生看護学科基礎医学教室 (主任 後藤正勝教授)

*本論文内容要旨は昭和33年第6回ウイルス学会総会にて報告された。

Ⅲ) 実験並びに実験成績

1) インフルエンザウイルス接種後3時間に50r照射した実験……尿膜液のHA価の変動について。
ウイルス接種後14時間に於て対称群の凝集価は32倍であるが照射群の凝集価は4倍と8倍の差で照射群は

ウイルス増殖の抑制を示す16時間では対称群の128倍に対し照射群の64倍で2倍の差を以て同様抑制の傾向を示し22時間では対称群の2560倍の凝集価に対し照射群は1280倍の2倍の差で抑制の傾向を示すが培養40時間では5120倍と両群に差を認めない。(Fig 1)

Table 1 Hourly yields of virus materials from 11-day-old fertile eggs after 50 γ irradiation

PR 8 10 ⁴ EID ₅₀ 0.1ml inoculum	Hours after infect- ion	Allantoic fluid						Chorio allantoic membrane					
		Control Group			Irradiated Group			Control Group			Irradiated Group		
		HA/ml	ID ₅₀ /ml	ID ₅₀ /HA	HA/ml	ID ₅₀ /ml	ID ₅₀ /HA	HA/ml	ID ₅₀ /ml	ID ₅₀ /HA	HA/ml	ID ₅₀ /ml	ID ₅₀ /HA
		HA/ml	ID ₅₀ /ml	ID ₅₀ /HA	HA/ml	ID ₅₀ /ml	ID ₅₀ /HA	HA/ml	ID ₅₀ /ml	ID ₅₀ /HA	HA/ml	ID ₅₀ /ml	ID ₅₀ /HA
	5	—	2.0	—	—	2.0	—	1.5	2.5	1.0	1.2	2.0	0.8
	8	—	3.2	—	—	3.3	—	2.0	4.0	2.0	1.5	3.0	1.5
	14	1.5	5.6	4.1	0.6	5.0	4.4	2.4	—	—	2.0	—	—
	16	2.1	7.0	4.9	1.8	7.0	5.2	2.8	6.3	3.5	2.5	4.5	2.0
	22	3.4	8.5	5.1	3.1	8.0	4.9	2.8	7.0	4.2	2.8	7.0	4.2
	24	3.6	10.0	6.4	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Fig. 2 Infectivity and HA Titer of allantoic fluid after 50 γ irradiation. One plot indicates the average titer of five eggs.

2) インフルエンザウイルス 10⁴EID₅₀ 接種後3時間に50r照射した後の Infectivity の変動について

本実験には 600 r 照射後感染価変動を追究した実験と同条件即ち接種ウイルス量を一定にし最大耐量の600 r 照射に対して微量照射量の範疇に属する50 r 照

射の影響を比較検討することによりウイルス増殖の機作の一端を明らかに出来るのではないかと考え行つたものである。

Fig. 3 Infectivity and HA Titer of chorio-allantoic membrane after 50 γ irradiation. One plot indicates the average titer of five eggs.

即ちウイルス接種後5時間から22時間に於ける漿尿膜内からのウイルス抽出法による感染粒子測定並びにHA価測定及び尿膜液の感染価及びHA価についての成績は Table 1に示した。Fig 2は尿膜液に於ける

HA 価, 感染価の相互関係を現わしたものであり Fig 3 は漿尿膜に於ける HA 価及び感染価の相互関係を示したものである。

尿膜液の感染価はウイルス接種後 5 時間では $10^{2.0}$ となり対称群照射群に差は認められないが 14 時間では対称群の $10^{5.6}$ に対し照射群の $10^{5.0}$ となり照射群の感染力ある粒子産生は抑制されるが 16 時間では両群に差を認めず 22 時間では照射群は $10^{8.0}$ となり対称群は $10^{8.5}$ で照射群の抑制がみられ全体の傾向として照射により抑制される影響が濃厚の様に見える。一方ウイルス産生の場合である漿尿膜の感染価をみると接種後 5 時間で対称群の $10^{2.5}$ に対し照射群の $10^{2.0}$ となり照射群に感染力のある粒子産生は X 線照射後 5 時間に既に抑制されていることが分つた。接種後 8 時間では対称群の $10^{4.0}$ に対し照射群の $10^{3.0}$ となり接種後 16 時間では対称群の $10^{6.3}$ に対し照射群の $10^{4.50}$ となり相当抑制されている傾向が維持されていると思われるが接種後 22 時間に於て両群共に $10^{7.0}$ となり差を認めない。

一方 HA 価については既に感染価が証明されうる 8 時間に於ても尿膜液では検出されなかつたが 14 時間に於て対称群は $10^{1.5}$, 照射群は $10^{0.8}$ となり照射群は抑制されており (600 r 照射の成績とは反対の価) 16 時間に於ても対称群の $10^{2.1}$ に対し照射群の $10^{1.8}$, その後 22 時間にも $10^{3.4}$ に対し照射群の $10^{3.1}$ となつて抑制傾向は維持される。漿尿膜についてみると照射後 5 時間に既に尿膜液の場合と異なり HA 価が証明され対称群の $10^{1.5}$ に対し照射群の $10^{1.2}$, 8 時間でも $10^{0.5}$ の差を以て照射群は抑制され 14 時間では $10^{0.4}$ の差, 16 時間では $10^{0.3}$ の差を以て抑制の傾向を示すが 22 時間では両群共に $10^{2.8}$ となり HA 価産生に有意な差を認めない。

病理組織学的所見

対称群及び照射群鶏胎漿尿膜の Formalin 液及び Carnoy 液固定後, Paraffin 切片としてヘマトキシリンエオジン染色により概観的所見を検討した。即ちインフルエンザウイルス接種後 3 時間に 50 r 照射せる実験では病理組織学的には接種後 5 時間では全胚葉の炎症, 変性等の侵襲荒廃像が中等度乍ら瀰漫性に分布し正常像では僅かに内胚葉に認められ次第に侵襲荒廃像は軽度乍ら減少し 14 時間で全胚葉の正常像, 増殖像が出現し始め, 荒廃の軽減, 修復像並びに再生像の増大を来し 22 時間でこの傾向は増強し従つて組織の活性度は最高を示し且両群共略々一致する。即ち組織所見よりの組織活性度の傾向は 600 r 照射に於けると同

Fig. 4 Histologic comparison in chorio-allantoic membranes of 50γ irradiated Groups 3 hours after PR8 inoculation (VX Groups) and only inoculated Groups (V Groups)

様にウイルスの生物学的曲線と一致する。(Fig 4)

3) インフルエンザウイルス接種後 3 時間に 10r 照射した実験……赤血球凝集価の変動について。

ウイルス接種後 12 時間に於て対称群の尿膜液の HA 価は 32 倍照射群の HA 価は 8 倍と 4 倍の差を以て照射群は増殖抑制を示すが 14 時間では対称群は 128 倍照射群は 64 倍の HA 価を夫々示し 2 倍の差で同様照射群の増殖抑制は持続しその後 18 時間では両群共に 1280 倍の HA 価を示し有意の差を示さない。その後 26 時間でも同様両群共に 5120 倍の HA 価を示し有意の差は認められない。一方漿尿膜の HA 価は接種後 5 時間の初期に早くも変動を示し対称群の HA 価は 32 倍, 照射群は 16 倍でやや照射群の HA の抑制の傾向がみられるが接種後 8 時間では対称群は 164 倍の HA 価を示すが照射群は 80 倍の HA 価を示し接種後 14 時間, 18 時間, 及び 26 時間では夫々 log 0.3, 0.3, 及び 0.2 の差で照射群の HA 価の抑制が認められた。(Fig 5)

Fig. 5 HA Titters of allantoic fluids and chorio-allantoic membranes after 10γ irradiation

4) インフルエンザウイルス 10^4EID_{50} 接種後3時間に 10r 照射しその後の Infectivity の変動について.

接種後5時間より26時間迄の各時間に於ける尿膜液の感染価、及び漿尿膜からのウイルス抽出法による感染粒子測定成績である。(Table 2)

尿膜液の感染価はウイルス接種後5時間では対称群、照射群共に $10^{2.0}$ となり差は認められないが接種

Fig. 6 Infectivity and HA Titer of chorio allantoic membrane after 10γ irradiation. One plot indicates the average titer of five eggs.

Fig. 7 Infectivity and HA Titer of allantoic fluid in eggs after 10γ irradiation. One plot indicates the average titer of five eggs.

Table 2 Hourly yields of virus materials from 11-day-old fertile eggs after 10γ irradiation

PR 8 10^4EID_{50} 0.1ml inoculum	Hours after infection	Allantoic fluid						Chorio allantoic membrane					
		Control Group			Irradiated Group			Control Group			Irradiated Group		
		HA/ml	ID ₅₀ /ml	ID ₅₀ /HA	HA/ml	ID ₅₀ /ml	ID ₅₀ /HA	HA/ml	ID ₅₀ /ml	ID ₅₀ /HA	HA/ml	ID ₅₀ /ml	ID ₅₀ /HA
		HA/ml	ID ₅₀ /ml	ID ₅₀ /HA	HA/ml	ID ₅₀ /ml	ID ₅₀ /HA	HA/ml	ID ₅₀ /ml	ID ₅₀ /HA	HA/ml	ID ₅₀ /ml	ID ₅₀ /HA
	5	—	2.0	/	—	2.0	/	1.5	2.7	1.2	1.2	2.0	0.8
	8	—	3.7	/	—	3.2	/	2.2	4.5	2.3	1.9	3.7	1.8
	14	2.1	5.5	3.4	1.8	4.2	2.4	2.4			2.1		
	18	3.1	7.0	3.9	3.1	6.0	2.9	2.8	7.0	4.2	2.5	6.3	3.8
	26	3.7	9.0	5.3	3.7	8.0	4.3	3.0	8.0	5.0	2.8	7.0	4.2

後8時間では対称群は $10^{3.7}$ 照射群は $10^{3.2}$ となりや、照射群の感染力ある粒子産生は抑制される傾向にある14時間に於いて対称群の $10^{5.5}$ に対し照射群の $10^{4.2}$ とその増殖抑制傾向はやゝ著明にみられ18時間に於て対称群は $10^{7.0}$ に対し照射群は $10^{6.0}$ となり26時間では対称群の $10^{9.0}$ に対し照射群は $10^{8.0}$ と依然として抑制状態が維持される。一方ウイルス粒子産生の場合である漿尿膜の感染価は接種後5時間では尿膜液では有意の差が認められない時期であるに拘らず対称群は $10^{2.7}$ に対し照射群は $10^{2.0}$ となり照射群の感染価の抑制がみられ8時間では対称群の $10^{4.5}$ に対し照射群の $10^{3.7}$ となり18時間では $10^{7.0}$ の対称群に比し照射群は $10^{6.3}$ を示し26時間では対称群は $10^{8.0}$ に対し照射群は $10^{7.0}$ となりウイルスの感染力をもつ粒子産生は抑制されていることを認めた。

Fig. 8 Histologic comparison in chorio-allantoic membranes of 10γ irradiated Groups 3 hours after PR8 inoculation (VX Groups) and only inoculated Groups (V Groups)

Fig 6 は漿尿膜の Infectivity と HA 価曲線との相互関係を傾向曲線で表わしたものであり Fig 7 は尿膜液に於る Infectivity 及び HA 価曲線との相関々係を示したものである。

病理組織学的所見

インフルエンザウイルス接種後3時間に10 r 照射せる実験では病理組織学的には接種後5時間の初期に於て照射群では侵襲像並びに荒廃像がX線量の少い割に減少しているという所見は見当らず却つて相当高度の変性像及び炎症像を示しているが一方に於て既にこの時間にかんがりの修復再生像を認める。以後経時的に侵襲像は漸減し増殖像は増加し正常化してゆくが対称群に比較すると侵襲像はいくらか強く増殖像は24時間ではほぼ同程度となる。即ち組織活性度としては照射群は対称群に僅かながら劣る成績がえられた。

以上の所見はウイルスの生物学的曲線とほぼ一致するように考えられる。(Fig 8)

Fig. 9 Comparison of RNA and DNA in chorio-allantoic membrane of 600 r irradiated Group (VX) after inoculation (PR8 strain) and only inoculated Group (V)

漿尿膜に於ける RNA, DNA の変動について。

既述せる同じ組織標本につき核酸の時間的変動をウナパッペンハイム染色、並びにフォイルゲン反応等

により検討するに、DNA の変動についてはウイルス接種後3時間に600r, 50r 及び10 r 照射の各時間の胚葉別に追究した結果、有意な所見はえられなかつたが、RNA について追究した処、侵襲、荒唐像の強い初期に於て減少を見、再生修復像の増強と共に増加し接種後22時間では正常像をはるかに凌ぐ成績がえられた。即ち RNA のこの傾向は組織活性度の傾向に一致する。この成績に関しては600r, 50r, 及び10 r 照射の各実験に於て同様である。又一般に RNA の変動は外胚葉に於て著明であることは侵襲、荒唐及び修復像の各組織変化が外胚葉に著しいことに一致している。(Fig 9)

考 察

ウイルス感染の実験に於て現在多くのウイルスについて allantois の感染実験が行われているがウイルス増殖の追究が主眼とされ漿尿膜の病理組織学的変化の相互的關係について系統的研究を実施した実験は少く、特にウイルス増殖の早期より経時的に組織変化を検討したものは皆無に近いと思われる。この中で Burnet¹⁾ のインフルエンザウイルスについての組織変化の成績が一応の基準としてみられる。即ち Allantois の病変は外胚葉性細胞の増殖と変性並びに細胞浸潤を示すが強毒の場合は外胚葉性細胞の増殖及び壊死の病変が高度で、弱毒の際は外胚葉細胞より壊死巣は分離脱落することを認めると報告している。ウイルス感染によつて起る病理組織を検討する場合、細胞組織変化がウイルス感染による一次反応であるか或は他の機械的、化学的刺戟例えば穿刺、生理的食塩水、尿膜液によるための炎症反応であるかどうかについて鑑別することは重要である。此の点に關しての実験成績は別紙に発表²⁾ する。漿尿膜は未分化の組織であり孵化後胎児の發育と共に一部組織では退化過程にあるものでその發育及び退化途上の時期的断面についての考察は慎重を要すると考える。形態學的には Voss and Vauck³⁾ によると孵化後大体10日頃に外胚葉上皮細胞は消失し、外胚葉位にあつて10~12日目に最もよく増殖している細胞は毛細管内皮細胞であり之も14日目以後増殖が弱くなるという。此の成績からもウイルス接種時期により感染をうける細胞側に於ける代謝機能が異なることは充分考えられる。此の外胚葉の血管内皮細胞の發生は Füllborn⁴⁾ により提唱され Voss and Vauck により追究されているが機能的には胎児ガス代謝を行うもので生体の肺胞壁と類似の構造をも

つものと考えられる。ウイルス感染により起る病理組織学的変化は宿主細胞の炎症変性乃至壊死はいずれもウイルス増殖に随伴する宿主細胞物質代謝系の変化による結果とみられる。

こゝで報告した実験成績はウイルス感染後ウイルス合成過程にある時期に10 r 及び50 r の微量照射した場合であり漿尿膜の HA 価はウイルス接種後8時間には証明されず X 線照射により latent period に明らかな短縮がみられないことは600 r 照射実験に於ける場合と同様である。一方尿膜液の感染価は50 r 照射の実験に於ては接種後5時間より22時間までの間で対称群、照射群相互の差は $\log 1.0$ 以下であり感染力をもつ粒子產生の割合からみると照射により抑制される成績をえた。10 r 照射の実験では接種後8時間では $\log 0.5$ の差を示し照射群は抑制され14時間以後26時間迄は照射群は constant に $\log 1.0$ の差を以て抑制を示した。以上の実験結果に対し50 r 及び10 r 照射の漿尿膜の感染価をみると照射群の Infective particle 產生の割合は対称群に比し常に抑制されていることが認められ此の事実より尿膜の感染価の消長は漿尿膜内に於ける Infective particle 產生の反映されたものであることが推察される。尿膜内に接種されたウイルスは増加の起らない latent period はインフルエンザ A ウイルスでは5~6時間、B ウイルスでは8~10時間⁵⁾ であるが此の latent の状態はウイルス量の比較的多い場合とか温度を高めた場合には短縮するといわれる。このことは接種ウイルス量が如何に重要であるかを物語るものと思われる。又漿尿膜の感染価は Henle の研究⁷⁾ によりインフルエンザウイルスに關しては尿膜液の感染価とほぼ平行して認められるが略々 $\log 1.0$ の差の低下が認められると報告している。此の成績は私の実験に於ても確認された。

ウイルス性病変を Rivers⁸⁾ は変性壊死及び増殖を一次性で炎症は二次的变化であると述べているがその考え方に従い、その変性炎症像を一方におき他方に再生修復、正常像をおいてその質的、量的性状を加味した組織活性度曲線を作成しウイルスの感染価曲線と比較検討した所平行關係にあることが認められたウイルス性病変の本質的な解明はウイルス感染と宿主細胞間の相互作用の検討に俟たねばならないことは周知の事と思われるが、ウイルス性病変を組織活性度よりの觀察方法を採用することによつて或る程度ウイルス増殖との不可解な關係を鮮明しえたように思う。

X 線照射は細胞分裂の正常過程に於て著しい障害を

来たし核酸特に核によるものは此の機作に密接に関係している。又核酸代謝の変化はX線照射の結果として Mitosis の障害と同時に起る事を認めている⁹⁾。また Mitchell¹⁰⁾ は核酸代謝障害について Microspectrophotometric technique により照射、非照射腫瘍につき検討し cytoplasm に於て核酸成分と思われる紫外線吸収物質の蓄積されることを観察した。Kelly¹¹⁾ 等は照射エーリッヒ腹水癌細胞に於ける DNA 合成並びに P³² incorporation について測定し percell に於ける DNA 量及び核酸総量は13時間、20時間に増加し又核の DNA の増加を Feulgen microspectrophotometry により検討した結果照射後48時間には著明にみられたことを報告している。詳細は不明であるが Bate¹²⁾ によればインフルエンザウイルス増殖時に pyronin staining substanz が増加すると報告しているがこのことは私の実験成績に一致する。

結 論

1) Embryonated egg にインフルエンザウイルスを接種しその後3時間に即ち immature form 形成期にX線照射しウイルス増殖過程を尿膜液並びに漿尿膜について追究し同時に漿尿膜の組織学的所見を比較検討した。

2) インフルエンザウイルス感染漿尿膜に於て50r、並びに10r 照射時にはウイルス合成の初期には infective particle 産生が非照射群より抑制される傾向を示すが漸次対称群に一致する成績をえた。

3) X線照射後 Infective titer に対する hemagglutinin titer はほぼ比例的に一致することを認めた。

4) 漿尿膜の組織所見については侵襲像、荒廃像、正常像並びに修復像を基盤として検討し之より組織活

性度曲線を作成した所、変化の推移はウイルスの感染価曲線と一致する結果をえた。

5) 600 r 照射をうけた漿尿膜の反応性修復像は24時間より48時間後には、微量照射量に属する50r、10r 照射の場合よりも却つて強い再生修復像を示した。

6) 核酸の変動に於て DNA では照射群、対称群の間に有意の差は認められないが RNA の変動はウイルス増殖曲線とその傾向を一にし且つ組織治性度曲線と平行する。

7) インフルエンザウイルスの増殖著明な接種後8時間16時間に組織の型態学的病変が強く特に外、中胚葉に強度で、内胚葉に比較的微温な成績をえた。

稿を擱くに臨み終始御懇切な御指導と御校閲を賜つた後藤教授に衷心よりの謝意を表し又病理組織学的検索に当つて有益な御指導を戴いた三宅教授並びに御支援を戴いた福士博士、松岡氏に深謝する。

文 献

- 1) Burnet F.M.; Brit. J. Exp. Path., **17**, 282, 1936.
- 2) 松岡真平, 本間彬: 日本病理学会投稿中 1959
- 3) Voss, H. & Vauck; Virchow Arch, **127**, 327, 1955.
- 4) Füllborn F.; Am. J. Anat., **21**, 407, 1917.
- 5) Henle W. & Rosenberg, F.B.; J. Exp. Med., **89**, 279, 1949.
- 6) Von Magnus P., Acta. Path. Microbiol. Scand.; **28**, 250, 1951.
- 7) Henle W, & Henle G., J. Exp. Med. **90**, 23, 1949.
- 8) Rivers, T.M. Lippincott phila. 1952.
- 9) J.N. Davidson; The nucleic acid. Chemistry and Biology Vol. II, 414, 1955.
- 10) J.S. Mitchell; Brit. J. Radiology **16**, 339, 1943.
- 11) L.S. Kelly, J. Dorothy Hirsch, G. Beach & N.L. Petrakis; Proc. Soc. Exp. Biol. & Med **94**, 83, 1957.
- 12) Burnet, F.M., "Principles of Animal Virology" 1st. ed. 1955.

Photo. 1 10r irradiated 3 hours after virus inoculation (PR8 strain) and sacrificed 32 hrs, later.

- a) Ectoderm; vacuole degeneration and multi-layer formation (small round pyroninophilic body in vacuole in the protoplasm of an ectoderm cell)
- b) Mesoderm; pyknosis of nuclei, edema.

Photo. 2 50r irradiated 3 hrs. after virus inoculation and sacrificed 5 hrs, after infection.

- a) Ectoderm; vacuole degeneration in the protoplasm of an ectoderm cell and disappearance of nucleus.
- b) Mesoderm; edema, infiltration of eosinophil leucocytes.

Photo. 3 600r irradiated 3 hrs. after virus inoculation and sacrificed 12 hrs. after infection.

Mesoderm; edema. reparation.

Photo. 4 50r irradiated 3 hrs. after virus inoculation and sacrificed 12 hrs. after infection.

- a) Mesoderm; pyknosis, new growth of capillaris, diminution of cytoplasmic processes.
- b) Endoderm; swelling hyalinization.

Photo. 5 Chorio-allantoic membrane of 11-day old chick embryo, sacrificed 12 hrs. after virus infection. Reparation and proliferation observed in Ecto-, Meso-, and Endoderm.

Photo. 6 Chorio-allantoic membrane of 11 day old chick embryo, 10r irradiated 3 hrs. after virus infection and sacrificed 12 hrs. after infection.
a) Mesoderm: hyperamia, new growth of blood vessel, infiltration of small round cell, pyknosis of cell.
b) Endoderm: pyknosis and round cell infiltration.

Photo. 7 Chorio-allantoic membrane 32 hrs. after virus infection.
a) Ectoderm: multi-layer formation and round cell infiltration.
b) Mesoderm: pyknosis, eosinophil leucocytes and small round cell infiltration, hyperamia, new growth of blood vessel.
c) Endoderm: swelling

Photo. 8 10r irradiated 3 hrs. after virus inoculation and sacrificed 12 hrs. after infection.
a) Ectoderm: markedly proliferation
b) Mesoderm: diminution of cell, pyknosis
c) Endoderm: swelling, hyalinization.