



Title	流行性耳下腺炎ウイルスの干渉診断法その利用とその生物学的性質
Author(s)	深江, 省三
Citation	大阪大学, 1959, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/28197
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

【19】

氏 名・(本籍)	深 江 省 三 ふか え しよう じよう
学 位 の 種 類	医 学 博 士
学 位 記 番 号	第 5 1 号
学位授与の日付	昭 和 34 年 6 月 3 日
学位授与の要件	医 学 研 究 科 病 理 系 学位規則第5条第1項該当
学 位 論 文 題 目	流行性耳下腺炎ウイルスの干渉診断法 その利用とその生物学的性質
論 文 審 査 委 員	(主 査) (副 査) 教 授 奥 野 良 臣 教 授 藤 野 恒 三 郎 教 授 釜 洞 醇 太 郎

論 文 内 容 の 要 旨

研 究 題 目

流行性耳下腺炎ウイルスの干渉診断法への利用とその生物学的性質

目 的

一般に発育鶏卵におけるウイルスの増殖は漿尿膜上の白斑形成，封入体の出現等の形態学的所見，胎児の死亡，感受動物への還元接種，赤血球凝集反応等によって判定できる。しかし一部のウイルス，例えばポリオ，麻疹等のウイルスの増殖は，これ等の方法では判定できなかった。

われわれの研究室では，発育鶏卵内のウイルス増殖を判定できる他の適当な方法がないかと考え，二種ウイルス間の干渉現象の利用に着目し，MNI 群のウイルスを攻撃接種 (challenge) して干渉実験をすすめてきた。

其結果，発育鶏卵における日本脳炎ウイルス，リフトバレー熱ウイルス等は攻撃接種した MNI 群ウイルスの増殖を抑制するので，first virus (或は interfering virus) の増殖が判定できた。

麻疹，ポリオ等のウイルスの干渉診断に対してはムンプス・ウイルス(MV) が利用できること，そしてニューカッスル病ウイルス (NDV)，インフルエンザウイルス (IV)，HVJ 等是不適当であることを実験した。

ところが MV は NDV,IV,HVJ と異り，漿尿腔細胞に於て増殖し難いので，漿尿腔細胞で干渉実験を行なうためには，羊膜腔細胞に増殖したウイルス (感染羊水) の大量を challenge virus として用いなければならなかった。のみならず感染羊水を使用する場合でさえも MV は漿尿腔において増殖不十分のため，干渉による interfering virus の増殖を判定できないことがあった。

従って麻疹，ポリオ等のウイルスの漿尿腔における干渉実験を明確に実施するためには，指標となる challenge virus (MV) を常に充分な量に於て漿尿腔細胞に増殖させる必要が生じて来た。漿尿腔細胞に

適応してよく増殖する MV の一つの系列を得るならば、麻疹ウイルスとMVの間の干渉現象は再現性に富むものとなると考えて、先づ MV を漿尿腔細胞に適応させる方法の探求を目的として実験を始めた。

方 法

麻疹材料：患者より採取した血液或は鼻咽腔洗液

ムンプス・ウイルス：藤村株, Enders 株

感染価(ID₅₀)：型の如く MNI 群における通常の方法で測定した。

凝集価(CCA価)：型の如く MNI 群における通常の方法で測定した。

干渉実験：7日卵の漿尿腔に最初の麻疹材料(interfering virus)を接種した後、96時間目(4日目)にMV(challenge virus)を同一腔内に接種し更に96時間目(4日目)にその漿尿腔の CCA 価をしらべ、対照卵の CCA 価と比較して干渉されたウイルス量を測定した。なお対照卵とは干渉実験に関する対照卵であって interfering virus を接種しない外は本実験と同一の条件の鶏卵である。

溶血価：MV の溶血能の測定には鶏赤血球の2%浮游液(生理的食塩水)を用い、放出されたヘモグロビン量をコールマンの Spectrophotometer (540m μ) を利用し、その溶血価を測定した。

Hela 細胞：われわれの研究室において継代培養している Hela 細胞を用いた。使用した栄養液は YLH (Yeast Extract+Lactalbuminhydrolysate+Hanks 液)に牛血清を加えたものである。

結 果

I ムンプス・ウイルス Enders 株を用いて漿尿腔細胞に適応させ、継代培養が可能となり干渉実験の challenge virus として充分に利用出来るウイルスを得ることができた。

II この漿尿腔細胞に適応したウイルスを用いた際の干渉実験の条件は次の様に決めることができた。

(A) challenge virus 接種後4日迄に干渉の判定をしようとする時は CCA 価の差(本実験の卵の CCA 価と対照卵の CCA 価の差)を実際干渉されたウイルス量とみなしてもよい。

(B) 対照卵における増殖曲線から考えて、CCA 価と ID₅₀ が平行していて、しかも CCA 価の高い値を示す時期は、challenge virus 接種後4日目である。よって、判定する時期は challenge virus 接種後4日目とした。

(C) challenge virus 接種量は約 10⁸ID₅₀ とすべきである。

III 各々の干渉実験の条件が常に一定であるかどうかを確認するため、漿尿腔原液継代中に起る可能性のある MV の性状の変異を検討した結果次のことが明らかとなった。

(A) von Magnus 現象はみられなかった。

(B) 漿尿腔原液継代を続けても対照卵における増殖曲線は変化しなかった。

(C) 漿尿腔原液継代してもその溶血能及び Hela 細胞に対する病原性の強さに変化をきたさなかった。このように漿尿腔原液継代によって起りうる可能性のある生物学的性質の変化は全然みとめられなかった。

総 括

以上の実験から、発育鶏卵に於て challenge したムンプス・ウイルスの増殖を検べることによって、麻疹、ポリオ等の未知ウイルスの増殖を判定する干渉実験法が一定に且つ定量的に行えるようになった。

尚、この研究によって MNI 群中に於ける MV の一部の生物学的特性が明らかとなった。

論文の審査結果の要旨

ウイルスの増殖を判定する一つの方法として二種のウイルス間の干渉現象を利用できることは、著者の研究室において今日まで研究されてきた。

その中でも麻疹ウイルス、ポリオ・ウイルスはともに孵化鶏卵において増殖したという直接的な証明方法はないので、これらのウイルスの発育鶏卵内増殖が容易に定量的に測定されるならば、利用価値に富んだ新しいウイルス学的研究方法と言えよう。

この際干渉されるウイルス (challenge virus) の増殖程度は容易に定量できるものを選ぶべきであり、先づ MNI 群のウイルスを用いて実験した。しかし麻疹ウイルス、ポリオ・ウイルスに著明に干渉されるのはムンプス・ウイルスだけであることが証明できた (副論文)。

麻疹ウイルスの干渉実験において用いられたムンプス・ウイルスは羊水腔継代のものであり、それを challenge virus として漿尿腔に接種して干渉実験を行っている。その場合 challenge virus であるムンプス・ウイルス側に二つの欠点があった。

第一はムンプス・ウイルスだけを接種した対照群において、CCA (赤血球凝集反応) を全然示さない場合や僅かしか示さない場合があり、従ってその様な場合は干渉現象による判定は不明確であった。

第二は羊水腔継代ムンプス・ウイルスの感染価測定は技術的困難が多いため、干渉実験の条件決定が困難であった。

著者は以上二つの問題点を克服するための研究を企てた。

第一の問題点を是正するために行った実験において、羊水腔継代されたムンプス・ウイルスを7日卵漿尿腔細胞に増殖させ、それを更に漿尿腔原液継代を続けうることに成功し、かくして得られた継代ウイルスは干渉実験における対照卵 (11日卵) において常に CCA 価で 512 単位を示すことができた。即ち干渉実験の対照試験成績を一定化することができた。

第二の問題点を克服するために新しく漿尿腔細胞に適応したムンプス・ウイルスを challenge virus として利用する際の条件を検討した。すなわちこの適応ウイルスは7日卵の漿尿腔に接種して第6日目にはその増殖度が 10^9ID_{50} 前後を示し再現性に富んだ増殖曲線がえられた。そのため干渉実験の至適条件を次の如く決定できた。

1) challenge virus 接種後2日、3日、4日までに干渉現象を判定するならば、CCA 価と ID_{50} とは平行し、しかも対照卵の CCA 価と比較することにより干渉されたウイルスの量をほぼ正確に表すことができる。2) challenge virus 接種後4日目は対照卵における CCA 価は最も高く現れるので、この時期が干渉現象を判定するのに最適である。3) 接種すべき challenge virus の量は約 10^8ID_{50} が最適である。

更に或世代のウイルスだけを challenge virus として使用するため凍結乾燥もしくは凍結のみによって保存された漿尿腔適応ウイルスを challenge virus として使ってみたが、感染価の減少が大きく干渉実験

には使用できないことが判明した。

そこで継代しながら常に新しいウイルスを **challenge virus** として使用する以外に方法はない。しかし漿尿腔原液継代する場合 MNI 群ウイルスの性質としてその生物学的性質に変化を来す可能性があるためにかかる性質変化の有無について検討した。すなわち継代によりその増殖曲線が変わるかどうか、**Von-magnus-Fukai** 現象が起るかどうか、及び継代によるウイルスの溶血能と **HeLa** 細胞に対する病原性の増大があるかどうかの三点である。実験の結果何れも原液継代によってかかる変化はみとめられなかったので、原液継代により干渉実験用 **challenge virus** を作成することにした。

要するに著者は麻疹ウイルスの孵化鶏卵内増殖をムンプス・ウイルスとの間の干渉現象によって認定する際の判定不能例の出現を解消し、再現性に富んだ術式の確立に成功したといえる。又同時にムンプス・ウイルスのウイルス学的性質の一部を明確にした。かくて本研究は今後のウイルス学の進展に貢献するものと認めた。