

恙虫病病毒の変異に関する研究

第一編

変異恙虫病病毒の病原性に関する吟味

岡山大学医学部微生物学教室（主任：村上 栄教授）

藤 村 保

〔昭和34年7月27日受稿〕

緒 言

リケッチア（以下Rと略記する）症の治療，ならびに，その実験には，Chloramphenicol（以下CPと略記する）等の抗生物質が好んで投与され，実験に供される。

治療の目的に，慣行投与されるCPの量は，1日量 kg 当り，30～50 mg を，初回倍量として，4～6時間毎に，分割投与されている。しかしながら，今，一般に行われる1日量，体重 kg 当り30～50 mg の分割投与方法では，疾病の自然経過，あるいは，対称療法に較べ，再発，または，再燃のあることが，注目され始めた。Woodward (1949) 等は，ロッキー山紅斑熱・恙虫病等において，桂 (1954) 等は恙虫病において，長岐 (昭28) 等は赤痢において，当該疾病の再発・再燃の多いことを警告している。

CP等の抗生物質を投与したときに，むしろ，再発・再燃の多い理由として，個体の免疫発生が，なお不十分な早期に，抗生物質が連続投与されるが故に，抗体の発生が阻害されるからであろうとみている。

一方，内山・長岐 (昭29) 等は，抗生物質療法を，早期に行つても，遅れて投与しても，再発の起り方に差がなく，したがつて，再発のすべてを，抗体生産阻止に求めるべきではなく，抗生物質が病原体に作用する機序からみた投与方法が必要であると，説く者もある。

Rを病原とする疾病に対し，Woodward は，免疫に関する機転から，本症の有効な投与方法の研究を行い，R症は，自然感染後約14日で，免疫ができ，再発が起らないのに反し，CPでは，再発が起り易く，発病後5～7日を経過してから投与すべきであるとしている。したがつて，再発防止を目的とする晩期投

与方法，あるいは，間歇衝撃療法が採用されるか，再発防止の為に，抗生物質とワクチンの接種をも，試みるべきであるとしている。

一方において，長期間抗生物質を連続投与した，感受性実験動物を供し，恙虫病毒を通過させれば，病毒は死滅することなく抗生物質なる障壁に，生体内で連続して，作用させれば，供試する恙虫病病毒の性質が，一部変換されるであろうことも予想される。

そこで，著者は，抗生物質として，CPを供し，恙虫病病毒に感受性を示すハツカネズミに，CPを予め微量投与処理し，接種する恙虫病病毒の発育を，幾分阻止するべく企図したところ，供試した恙虫病病毒の性質を一部変換することに成功したので，ここに，その詳細を報告し，御高批を仰ぐ次第である。

I. 実験材料とその方法

1. 供試動物

著者の実験には，体重15～20 gの雄性ハツカネズミと，体重が350～450 g程度の天竺鼠を供した。とくに，実験のために純系動物を供していない。

2. 病毒材料

性質を変換させる為の実験には，香川県において，村上・浜田・軒原 (昭29) により分離された人系三谷株病毒を供した。

この病毒株は，毎常，脾・肝→腹腔系伝達をもつて，累代されたものである。

3. Chloramphenicol

三共製薬会社から分与を受けた，CPの純末をこの実験に供した。

供試病毒材料を腹腔内に接種する前，10日より経口的に，ハツカネズミの体重10 g当り，0.5・1.0・2.0・5.0 mgのCPを，毎日経口的に微量の水で

混じ、硝子製管をもつて投与服用させた。連日10日間にわたり投与に成功したハツカネズミを選び、第11日目に、恙虫病ウイルスである三谷株ウイルスと、大関株ウイルスの肝・脾混合乳剤の100倍に稀釈したウイルス材料を0.3~0.5 ml 腹腔内に接種した。

II. 実験成績

A. CP の微量投与ハツカネズミにおける感染細胞像と顕性Rの吟味について。

1. 体重10g 当り 5.0 mg の CP を連続投与する実験。

ハツカネズミに、経口的に CP を、体重10g 当り 5.0 mg 宛10日間投与服用させ、その翌日、すなわち第11日目に三谷株ウイルスと大関株ウイルスの接種を行い、定型的に発病したハツカネズミを、エーテル麻酔死させ、その肝と脾を摘出して、接種材料を調製し、CP 処理ハツカネズミの腹腔内に接種し、その成績を表1に示す。

表1 CP 投与の実験 I

CP 投与量	接種ウイルス	成績
体重10g 当 5.0mg	大関株	0/10
	三谷株	0/10

すなわち、全例の供試ハツカネズミはウイルス接種の後、10日を経過しても生存するものを第11日目に殺して開腹した所見は、いずれの動物にも、Rを認めることが出来ず感染細胞像も漿膜細胞を主とし、淋巴球を少しく見るに過ぎない。

2. 体重10g 当り 2.0 mg の CP を連続投与する実験。

ハツカネズミに、予め経口的に投与した CP の量を、体重10g 当り 2.0 mg としたときの成績を、表2に示した。すなわち、CP で処理したハツカネ

表2 CP 投与の実験 II

CP 投与量	接種ウイルス	成績
体重10g 当 2.0mg	大関株	0/10
	三谷株	0/10

ズミは、ウイルス接種の後10日を経過しても、立毛・跪坐を示すことなく、開腹したときの腹水の滯溜もみられない。Rを認めた例は全くなく、腹水の細胞像をみても表2に示す如く漿膜細胞が主であり、淋巴球・多核白血球・線維細胞が僅かにみられるにすぎ

ない。

3. 体重10g 当り 1.0 mg の CP を連続投与する実験。

ハツカネズミについて、その体重の10g 当りにつき、1.0 mg の CP を連続して、10日間にわたり投与し、これの腹腔内に、 $LD_{50}=10^{-5.7}$ の三谷株ウイルスを接種して、発症の状況を観察しその成績を表3

表3 CP 投与の実験 III

CP 投与量	接種ウイルス	成績
体重10g 当 1.0mg	大関株	0/10
	三谷株	0/10

に示す。すなわち、定型的な発症を示すものではなく、腹水のみず、塗抹標本からは、Rをも検出しない。また、細胞像は漿膜細胞を主とするが破壊する漿膜細胞も少なく、その他に淋巴球・多核白血球・線維細胞・線組球を少数に認めるに過ぎない。

4. 体重10g 当り 0.5 mg の CP を連続投与する実験。

ハツカネズミに、体重10g 当り 0.5 mg の CP を10日間にわたり、連続投与した後、 $LD_{50}=10^{-5.2}$ に相当する三谷株ウイルスを0.5 ml 腹腔内に接種し、10日間観察したが、ウイルス接種の後約8日目より、立毛する動物を認めることができ、ウイルス接種後10日目に開腹観察したときの成績を表4に表す。塗抹標本

表4 CP 投与の実験 IV

CP 投与量	接種ウイルス	成績
体重10g 当 0.5mg	大関株	16/19
	三谷株	18/20

において、Rを認めるものは大関株ウイルス接種群において19例中16例に達し、感染細胞像は漿膜細胞・組織球・線組球が主であり、その他は多核白血球・淋巴球が少数に見られたのにすぎない。また三谷株ウイルスを接種した群では20例中18例が定型的に発症を示す。

B. CP の微量を連続投与した恙虫病ウイルス感染ハツカネズミにおける各臓器の最少感染量。

Aの実験において体重10g 当り 1.5 mg を10日間にわたって連続投与したハツカネズミに、恙虫病ウイルスである三谷株ウイルスを腹腔内に接種すれば供試動物の体内に接種したRが増殖したと理解される。し

かしながら、CP を長期間にわたって投与したハツカネズミが仮に、感染・発症したとしても各臓器における恙虫病病毒の LD₅₀ は、CP を投与しない供試動物の場合と異なるものがあるかも知れぬと考えられる。

1. 三谷株病毒の実験

三谷株病毒を、体重 10 g 当り 0.5 mg の CP を、10 日間にわたって連続投与したハツカネズミの腹腔内に接種したときに発症した供試動物の肺・脳・肝・脾のそれぞれを混和してえた病毒材料の 50% 致死量を求め、その成績を表 5 に示した。すなわち、顕微鏡下に R を多数に認めるにもかかわらず、各臓器の 50% 致死量は小さく、肺の LD₅₀=10^{-2.1}、脳の

表 5 (1) CP 処理感染ハツカネズミの各臓器の LD₅₀

病毒株	臓器	稀 釈						LD ₅₀
		10 ⁻⁶	10 ⁻⁵	10 ⁻⁴	10 ⁻³	10 ⁻²	10 ⁻¹	
三谷株病毒	脳	○	●	●	●	●	●	10 ^{-4.3}
		○		●	●	●	●	
		○		●	●	●	●	
		○	○	●	●	●	●	
		○	○	○	●	●	●	
		○	○	○	●	●	●	

表 5 (2) CP 処理感染ハツカネズミの各臓器の LD₅₀

病毒株	臓器	稀 釈						LD ₅₀
		10 ⁻⁶	10 ⁻⁵	10 ⁻⁴	10 ⁻³	10 ⁻²	10 ⁻¹	
三谷株病毒	肺	○	○	○	○	●	●	10 ^{-2.1}
		○	○	○	○	●	●	
		○	○	○	○	●	●	
		○	○	○	○	○	●	
		○	○	○	○	○	●	
		○	○	○	○	○	●	

表 5 (3) CP 処理感染ハツカネズミの各臓器の LD₅₀

病毒株	臓器	稀 釈						LD ₅₀
		10 ⁻⁶	10 ⁻⁵	10 ⁻⁴	10 ⁻³	10 ⁻²	10 ⁻¹	
三谷株病毒	肝	○	○	○	●	●	●	10 ^{-2.5}
		○	○	○	○	●	●	
		○	○	○	○	●	●	
		○	○	○	○	●	●	
		○	○	○	○	○	●	
		○	○	○	○	○	●	

表 5 (4) CP 処理感染ハツカネズミの各臓器の LD₅₀

病毒株	臓器	稀 釈						LD ₅₀
		10 ⁻⁶	10 ⁻⁵	10 ⁻⁴	10 ⁻³	10 ⁻²	10 ⁻¹	
三谷株病毒	脾	○	○	○	●	●	●	10 ^{-2.7}
		○	○	○	○	●	●	
		○	○	○	○	●	●	
		○	○	○	○	●	●	
		○	○	○	○	○	●	
		○	○	○	○	○	●	

LD₅₀=10^{-4.3}、肝の LD₅₀=10^{-2.5}、脾の LD₅₀=10^{-2.7} にすぎない。

2. 大関株病毒の実験

体重 10 g 当り 0.5 mg の CP を連続投与したハツカネズミの腹腔内に大関株病毒を接種した後 10 日目になお生存する供試動物の脳・肺・肝・脾をそれぞれ混和し、各臓器の平均した 50% 致死量を求め、その結果を表 6 に示した。すなわち脳の LD₅₀=

表 6 CP 処理感染ハツカネズミの各臓器の LD₅₀

病 毒	臓 器 別 の LD ₅₀			
	脳	肺	肝	脾
大関株病毒	10 ^{-3.7}	10 ^{-2.3}	10 ^{-3.1}	10 ^{-2.1}

10^{-3.7}、肺の LD₅₀=10^{-2.3}、肝の LD₅₀=10^{-3.1} 脾の LD₅₀=10^{-2.1} と求められ、各臓器の 50% 致死量はかなり弱い。

C. CP の微量を連続投与した感染ハツカネズミの病毒材料を、天竺鼠の腹腔内に接種したときの季節別実験。

1. 春季における実験

この季節として昭和 32・33 年の 4 月をえらび、体重が 350~450 g 程度の天竺鼠を撰んでその腹腔内に予め、Chlorpromazine (以下 CPm と略記する) の注射を行い、感染・発症したハツカネズミの病毒材料を接種したときの結果を観察した村上・浜田・瀬尾 (昭 31) が、天竺鼠の体重 kg 当り 20 mg の CPm を予め、接種しておけば、恙虫病に対する感受性が異常に亢進するものであることを発見し、感染・発症した天竺鼠の腹腔中に、多量の腹水と R が出現することを認め、恙虫病に関するワクチン製造への端緒をえたことは劃目に値する。しかしながら、天竺鼠を CPm で処理するときいろいろあるであろう条件、あるいはその因子については解明が

未だ行われていない。真夏と寒冷の候には、腹水の出現が少なく、春・秋の2季にむしろCPm処理天竺鼠が、恙虫病ウイルスに対し感受性の亢進する理由も明らかにされていないというのも過言ではない。

変異三谷株ウイルスの実験

ハツカネズミの体重10g当り0.5mgのCPを、10間にわたって経口的に摂取させてハツカネズミの腹腔内に、三谷株ウイルス材料(LD₅₀=10^{-4.0})を接種したときに発症した供試物の肝・脾の混合乳剤をCPm処理天竺鼠の腹腔内に接種し、その10日後に発症の徴候を発現した供試物からRの確認されるものを採り、接種のためのウイルス材料を調製し、天竺鼠の腹腔内に1.0ml宛接種して、発症の状況を観察しその結果を表7に示した。

表7 三谷株ウイルスをCPm処理天竺鼠に接種する春における実験

天竺鼠 番号	供試 ウイルス	腹 水量	R	腹水の細胞像		
				Hc	FHc	S
1	三 谷 株	35.0	+	+	+	+++
2		32.0	+	+	+	++
3		36.0	+	+	+	++
4		45.0	+	+	+	++
5		40.0	+	+	+	++
6		32.0	+	+	+	++
7		36.0	+	+	+	++
8		39.0	+	+	+	++
9		40.0	+	+	+	++
10		31.0	+	+	+	++
11		45.0	+	+	+	++
12		39.0	+	+	+	++
13		47.0	+	+	+	++
14		45.0	+	+	+	++
15		39.0	+	+	+	++

すなわち、供試した天竺鼠のうち実験の途中で斃死したものを除き、ウイルス接種後10~14日目まで生存する供試天竺鼠の腹腔内に32~40mlの微かに濁る腹水の出現を認め腹水と腸管の漿膜面の押捺標本から多くのRの出現を確認することができた。また、感染細胞像をみると漿膜細胞・組織球・線組織球が最も多くみられ、Rは細胞外に游出するものもあるが、多くのRは漿膜細胞と組織球の形質内にみられた。

すなわち、春季の実験ではCPで処理した感染

ハツカネズミの恙虫病ウイルス材料でも、よくCPm処理天竺鼠を発症させることができる。

変異大関株ウイルスによる実験

恙虫病ウイルス株の代表である大関株ウイルスを供し、予めCPで処理したハツカネズミに接種し、発症したハツカネズミの肝・脾の混合乳剤をCPmで処理した天竺鼠の腹腔内に接種し、その感染像について吟味しその結果を表8に示した。すなわちCPmを

表8 変異大関株ウイルスをCPm処理天竺鼠に接種する春における実験

天竺鼠 番号	供試 ウイルス	腹 水量	R	腹水の細胞像		
				Hc	FHc	S
1	変 異 大 関 株	32.0	+	+	+	++
2		40.0	+	+	+	++
3		40.0	+	+	+	++
4		33.0	+	+	+	++
5		42.0	+	+	+	++
6		39.0	+	+	+	++
7		40.0	+	+	+	++
8		39.0	+	+	+	++
9		39.0	+	+	+	++
10		40.0	+	+	+	++
11		42.0	+	+	+	++
12		39.0	+	+	+	++
13		39.0	+	+	+	++
14		40.0	+	+	+	+
15		42.0	+	+	+	++
16		38.0	+	+	+	+++

もつて処理した天竺鼠のうち、感染・発症に耐えて生きのびた天竺鼠の腹腔内には32~42mlの微濁する液が溜まり、その腹水と腸管の押捺標本からは組織球・漿膜細胞と線組織球の形質の中に定型的なRを繞多に認めることができた。感染細胞像も、各株ウイルスを、CPm処理天竺鼠に接種したときのそれと大差なく、組織球・線組織球・漿膜細胞が主であり、多核細胞・リンパ球が僅かにしかみられない。

三谷株ウイルスによる実験

ハツカネズミにCPを投与することなく、型の如く腹腔系伝達を行つた三谷株ウイルスをCPm処理を行つた天竺鼠の腹腔内に接種したときの感染像について吟味し、その結果を表9に示した。

すなわち、供試した天竺鼠の腹腔内には29~48ml

表9 三谷株病毒を CPm 処理天竺鼠に接種する春における実験

天竺鼠 番号	供試 病毒	腹 水 量	R	腹水の細胞像		
				Hc	FHc	S
1	三 谷 株	38	卅	卅	+	卅
2		29	卅	卅	+	卅
3		36	卅	卅	+	卅
4		48	卅	卅	+	卅
5		32	卅	卅	+	卅
6		38	卅	卅	+	卅
7		37	卅	卅	+	卅
8		36	卅	卅	+	卅
9		38	卅	卅	+	卅

のわずかに濁る粘稠液をみとめる。

腹水の塗抹、および腸管の漿膜面の押捺標本からは多くの定型的なるRを認めることができる。また感染細胞像についても、組織球・線組球・漿膜細胞が主として出現し、その形質のうちにRの多くを容れる。

大関株病毒による実験

CP 処理を行わないハツカネズミについて腹腔系伝達を累代行つて来た大関株病毒材料の、LD₅₀=10^{4.7}と示される病毒を予め、CPm 処理を行つた天竺鼠の腹腔内に接種し、約10~14日間に亘つて観察し、その結果を表10に示した。

表10 大関株病毒を CPm 処理天竺鼠に接種する春の実験

天竺鼠 番号	供試 病毒	腹 水 量	R	腹水の細胞像		
				Hc	FHc	S
1	大 関 株 病 毒	30	+	+	+	卅
2		37	+	卅	+	卅
3		31	卅	卅	+	卅
4		35	卅	+	+	卅
5		39	卅	+	+	卅
6		31	卅	卅	+	卅
7		36	+	卅	+	卅
8		37	卅	卅	+	卅
9		35	卅	卅	+	卅
10		32	卅	+	+	卅

すなわち生存する天竺鼠は、いずれの腹腔の中にも多量の腹水を溜め、腹水の塗抹、腸管の漿膜細胞の押捺標本において組織球・線組球・漿膜細胞等の

形質の中に多くのRを認めることが出来る。

天竺鼠の感染細胞像においても全細胞のうち、漿膜細胞・組織球・線組球が主としてみられ、多核細胞・淋巴球は比較的少ない。

この大関株病毒による実験の結果は、変異大関株病毒における天竺鼠の感染像と、とくに異なるところはない。また変異三谷株病毒による CPm 処理天竺鼠の場合も、ほとんど同じであるといえる。

2. 夏季における実験。

CPm 処理天竺鼠に恙虫病病毒を接種しても、夏季における供試天竺鼠の感染像は著しく弱いことがすでに知られている。

言いかえるならば、腹水の溜溜もほとんどなく、Rも顕微鏡下に観ることがほとんどない。

そこで、著者は真夏の8月における大関株病毒・三谷株病毒・変異大関株病毒・変異三谷株病毒が、CPm 処理天竺鼠に対し如何なる変度を示すかについて実験をすすめた。

大関株病毒の実験

ハツカネズミを供し、累代腹腔系伝達を行つた大関株病毒材料として発症したハツカネズミの、肝・脾の混合乳剤を予め、CPm で処理した天竺鼠の腹腔内に接種し、10~14日にわたり発症の程度を観察し、その成績を表11に示した。

表11 大関株病毒を CPm 処理天竺鼠に接種する夏の実験

天竺鼠 番号	接種 病毒	腹 水 量	R	腹水の細胞像		
				Hc	FHc	S
1	大 関 株 病 毒	-	-	-	-	+
2		-	-	-	+	+
3		-	-	+	-	+
4		-	-	-	-	+
5		-	-	-	-	+
6		-	-	-	-	+

供試した CPm 処理天竺鼠は大関株病毒が接種されたにもかかわらず、腹水の溜溜を見ることができず、腸管の漿膜細胞の押捺標本にみられる細胞像も漿膜細胞が主であり、一部に淋巴球と多核細胞がみられるにすぎない。

すなわち、春季における大関株病毒を供したときの天竺鼠が示す所見とはなはだしく異なるといえる。

三谷株病毒による実験

CPm を体重 kg 当り 20 mg 投与した天竺鼠の腹腔内にハツカネズミに対する LD₅₀ が 10-5.2 に相当する三谷株病毒を接種したときの天竺鼠があらわす所見を一括して表12に示す。

表12 三谷株病毒を CPm 処理天竺鼠に接種する夏の実験

天竺鼠 番 号	接種 病毒	腹 水 量	R	腹水の細胞像		
				Hc	FHc	S
1	三 谷 株 病 毒	—	—	+	+	卅
2		—	—	+	+	卅
3		—	—	+	+	卅
4		—	—	+	+	卅
5		—	—	+	±	卅
6		—	—	+	+	卅
7		—	—	±	+	卅
8		—	—	—	+	卅

すなわち、前項に記述した大関株病毒による実験と同じく供試する CPm 処理天竺鼠の腹腔内には腹水の滯溜をみず、また腸管の押捺標本についても主としてみられる細胞が漿膜細胞のみであり、組織球・線組球はほとんどみることができず、R の出現をも確認することができない。

すなわち、CPm 処理を生じた天竺鼠が示す感染像は、大関株病毒を供したときの実験と大差なく、その感染像は著しく弱いとみななければならない。

変異大関株病毒による実験

ハツカネズミの体重について 10 g 当り 0.5 mg の CP を、10日間連続投与し、次いで感染・発症させてえた大関株病毒、すなわち変異大関株病毒を CPm 処理天竺鼠の腹腔内に接種し、10~14日間にわたり観察したときの成績を表13に示した。

この供試天竺鼠が示す感染像はかなり激しく、腹水の滯溜は 30~45 ml に及び、顕微鏡下にみる R の出現もはなはだしく多い。

夏季において大関株病毒と、変異大関株病毒が示す CPm 処理天竺鼠の病原性は変異大関株病毒が激しく発症する天竺鼠が示した感染像も、春季に大関株病毒を供したときの実験と大差のない点は注目しなければならない。

表13 変異大関株病毒を CPm 処理天竺鼠に接種する夏の実験

天竺鼠 番 号	接種 病毒	腹 水 量	R	腹水の細胞像		
				Hc	FHc	S
1	変 異 大 関 株	30	卅	卅	卅	卅
2		33	卅	卅	卅	卅
3		30	卅	卅	卅	卅
4		36	卅	卅	卅	卅
5		45	卅	卅	卅	卅
6		39	卅	卅	卅	卅
7		30	卅	卅	卅	卅
8		38	卅	卅	卅	卅
9		44	卅	卅	卅	卅

変異三谷株病毒による実験

ハツカネズミに、体重 10 g 当り 0.5 mg の、CP を連日投与し、次いで感染・発症させたハツカネズミからえたいわゆる変異三谷株病毒を予め、CPm で処理した天竺鼠の腹腔内に接種し、10~14日間にわたり観察した結果を表14に示した。

表14 変異三谷株病毒を CPm 処理天竺鼠に接種する夏の実験

天竺鼠 番 号	接種 病毒	腹 水 量	R	腹水の細胞像		
				Hc	FHc	S
1	変 異 三 谷 株	42	卅	卅	卅	卅
2		40	卅	卅	卅	卅
3		44	卅	卅	+	卅
4		45	卅	卅	卅	卅
5		43	卅	卅	卅	卅
6		50	卅	卅	卅	卅
7		40	卅	卅	卅	卅

腹水の滯溜は、40~50 ml に及び、微濁しやや粘稠である。

腹水の塗抹、腸管の漿膜面の押捺標本においては顕微鏡下に R を多く認めることができる。また、出現する感染細胞像は、組織球・線組球・漿膜細胞が主にみられ、CP 処理天竺鼠を供する夏季の感染実験では大関株・三谷株病毒はともにその発症させる感染像が尋常に近く、これに反し CP に衝突せしめてえた変異大関株・変異三谷株病毒は、CPm 処理天竺鼠に対する病原性がはげしく、あたかも春季における大関株・三谷株病毒が CPm 処理天竺鼠に引き起こす感染像に近似する事実は劃目すべきであ

ると信じる。

3. 秋季における実験。

大関株・三谷株病毒と、変異大関株・変異三谷株病毒が、CPm 処理天竺鼠に示す病原性について吟味を行った。

大関株病毒による実験

昭和32年10月の候を撰び、未処理の大関株病毒が CPm 処理天竺鼠にいかなる感染像をひき起すものかについて吟味し、その結果を表15に示した。

表15 大関株病毒を CPm 処理天竺鼠に接種する秋の実験

天竺鼠 番号	接種 病毒	腹 水量	R	腹水の細胞像		
				Hc	FHc	S
1	大 関 株 病 毒	38	+	+	+	+
2		35	+	+	+	+
3		38	+	+	+	+
4		40	+	+	+	+
5		39	+	+	+	+
6		39	+	+	+	+
7		40	+	+	+	+
8		37	+	+	+	+
9		36	+	+	+	+
10		38	+	+	+	+
11		37	+	+	+	+

CPm 処理に耐え、生き残つた天竺鼠の腹腔内に LD₅₀=10^{-4.7} に相当する大関株病毒の病毒材料を接種し、10~14日間にわたつて発症の有無と、その感染像を吟味した結果、いずれの天竺鼠の腹腔内にも 35~40 ml の腹水が滯溜し、組織球・線組球・漿膜細胞の形質のうち R を多くみる。出現する細胞も、組織球・線組球・漿膜細胞が主であり、その他は淋巴球・多核細胞が少数にみられるにすぎない。

三谷株病毒による実験

昭和32年10月の候に、この実験を行つたハツカネズミを供し、腹腔系伝達により累代した三谷株病毒材料として発症ハツカネズミの肝・脾を供し、LD₅₀ が 10^{-5.1} に相当する病毒材料を、CPm 処理天竺鼠の腹腔内に接種し、発症の状況を10~14日間にわたつて観察し、その結果を表16に示した。

いずれの天竺鼠も腹水の滯溜がはげしく、40~45 ml の量に及ぶ。

腹水の塗抹、腸音の漿膜面の押捺標本を顕微鏡下

表16 三谷株病毒を CPm 処理天竺鼠に接種する秋の実験

天竺鼠 番号	接種 病毒	腹 水量	R	腹水の細胞像		
				Hc	FHc	S
1	三 谷 株 病 毒	41	+	+	+	+
2		41	+	+	+	+
3		40	+	+	+	+
4		45	+	+	+	+
5		45	+	+	+	+
6		42	+	+	+	+
7		45	+	+	+	+
8		42	+	+	+	+
9		45	+	+	+	+
10		40	+	+	+	+

で検すると、組織球・線組球・漿膜細胞が主としてみられ、多核細胞が主としてみられ、多核細胞と淋巴球が少数にみられるにすぎない。

R もまたこれらの主細胞の形質の中に多くみられ、一部細胞外に游出するものをもみる。

すなわち、秋の候においては大関株病毒も、三谷株病毒も、ともによく CPm 処理天竺鼠に病原性を示し、これらの病毒株による春に行つた実験の結果とよく近似する。

変異大関株病毒による実験

CP を連日投与したハツカネズミに、恙虫病病毒である大関株病毒を接種し、発症したときにえた病毒株、すなわち変異大関株病毒を、CPm で予め処理した天竺鼠の腹腔内に接種し、10~14日間にわたつて発症の程度を吟味しその結果を表17に示した。

表17 変異大関株病毒を CPm 処理天竺鼠に接種する秋の実験

天竺鼠 番号	接種 病毒	腹 水量	R	腹水の細胞像		
				Hc	FHc	S
1	変 異 大 関 株	45	+	+	+	+
2		40	+	+	+	+
3		41	+	+	+	+
4		43	+	+	+	+
5		45	+	+	+	+
6		40	+	+	+	+
7		45	+	+	+	+
8		41	+	+	+	+
9		44	+	+	+	+
10		44	+	+	+	+

いずれの天竺鼠も、40~45 ml の腹水を溜溜し、腹水の塗抹標本、腹管の漿膜面の押捺標本から主として組織球・線組球・漿膜細胞がみられ、これらの諸細胞の形質のうちRを多くみることが出来る。

変異三谷株病毒による実験

CP の微量を連日投与したハツカネズミが三谷株病毒の接種によつて発症し、その供試動物からえたところの変異三谷株病毒を CPm をもつて予め処理した天竺鼠の腹腔内に接種し、供試天竺鼠が現わす感染像について吟味し、その結果を表18に示した。

表18 変異三谷株病毒を CPm 処理天竺鼠に接種する秋の実験

天竺鼠 番 号	接種 病每	腹 水 量	R	腹水の細胞像		
				Hc	FHc	S
1		40	卅	卅	卅	卅
2		37	卅	卅	卅	卅
3	変	41	卅	卅	卅	卅
4	異	39	卅	卅	卅	卅
5	三	44	卅	卅	卅	卅
6	谷	46	卅	卅	卅	卅
7	株	43	卅	卅	+	卅
8		38	卅	卅	卅	卅
9		41	卅	卅	卅	卅
10		40	卅	卅	卅	卅

発症したいずれの天竺鼠も 37~46 ml の腹水を溜溜し、その塗抹標本、また腸管の漿膜面の押捺標本からは、主として組織球・線組球・漿膜細胞がみられ、これらの細胞の形質のうち定型的なRを多数にみることが出来る。

すなわち、秋季の候における CPm 処理を行つた天竺鼠では、大関株・三谷株・変異大関株・変異三谷株のいずれもが同じ程度の感染像を發揮できると理解できる。

4. 冬季における実験.

大関株・三谷株・変異大関株・変異三谷株病毒を供し、CPm 処理天竺鼠の腹腔内に接種したときに現われる感染像について吟味した。

大関株病毒による実験

昭和32年1月の冬季に、この実験を行つた。CPm 処理天竺鼠のうち、病毒接種までに生存した供試動物についてその腹腔内に大関株病毒を接種し、その供試動物が示す感染像について吟味し、その結果を

表19に示した。

表19 大関株病毒を CPm 処理天竺鼠に接種する冬の実験

天竺鼠 番 号	接種 病每	腹 水 量	R	腹水の細胞像		
				Hc	FHc	S
1		—	—	—	+	卅
2		—	—	—	—	卅
3	大	—	—	—	—	卅
4		—	—	+	—	+
5	関	—	—	—	—	+
6		—	—	+	—	卅
7	株	—	—	+	—	卅
8		—	—	—	+	卅
9		—	—	+	—	卅
10		—	—	—	—	卅

いずれの供試動物も、腹水の発現するものを認めず、Rもまた認めない。

細胞像については漿膜細胞の出現が主であり、その他に淋巴球・多核細胞の少数をみるにすぎない。

三谷株病毒による実験

ハツカネズミを供する腹腔系伝達により累代された三谷株病毒を、CPm 処理天竺鼠の腹腔内に接種し、10~14日間にわたり観察・吟味し、その結果を表20に示した。

表20 三谷株病毒を CPm 処理天竺鼠に接種する冬の実験

天竺鼠 番 号	接種 病每	腹 水 量	R	腹水の細胞像		
				Hc	FHc	S
1		—	—	+	+	卅
2		—	—	—	+	卅
3	三	—	—	—	—	卅
4		—	—	—	—	卅
5	谷	—	—	+	—	卅
6		—	—	—	+	卅
7	株	—	—	—	—	卅
8		—	—	—	—	卅
9		—	—	—	—	卅
10		—	—	+	—	卅

いずれの天竺鼠も、腹水の溜溜する例はなくその腸管の漿膜面の押捺標本からRをみることはない。

変異大関株病毒による実験

CP の微量を連日投与したハツカネズミに大関株病毒を接種して発症させ、その罹患した供試動物からえた、いわゆる変異大関株病毒を、CPm 処理天竺鼠の腹腔内に接種し、10~14日間にわたって観察・吟味し、その結果を表21に示した。

表21 変異大関株病毒を CPm 処理天竺鼠に接種する冬の実験

天竺鼠 番号	接種 病毒	腹 水 量	R	腹水の細胞像		
				Hc	FHc	S
1	変異 大関 株	40	+	+	+	+
2		43	+	+	+	+
3		32	+	+	+	+
4		36	+	+	+	+
5		33	+	+	+	+
6		47	+	+	+	+
7		41	+	+	+	+
8		39	+	+	+	+
9		46	+	+	+	+

いずれの供試天竺鼠も 32~47 ml の腹水を溜め、腹水の塗抹標本および腸管の漿膜面の押捺標本にみられる組織球・線組織球・漿膜細胞の形質には、多くのRをみる事ができる。

また、感染細胞像としてはRを含む組織球・線組織球・漿膜細胞が主である。

変異三谷株病毒による実験

CPm で、予め処理した天竺鼠の腹腔内に、変異三谷株病毒を接種し10~14日間にわたって観察・吟味した結果を表22に示した。

表22 変異三谷株病毒を CPm 処理天竺鼠に接種する冬の実験

天竺鼠 番号	接種 病毒	腹 水 量	R	腹水の細胞像		
				Hc	FHc	S
1	変異 三 谷 株	40	+	+	+	+
2		38	+	+	+	+
3		43	+	+	+	+
4		39	+	+	+	+
5		42	+	+	+	+
6		39	+	+	+	+
7		41	+	+	+	+
8		42	+	+	+	+
9		38	+	+	+	+
10		32	+	+	+	+

いずれの供試天竺鼠も多量の腹水を溜め、腹水の塗抹標本、ならびに腸管の押捺標本からは主として組織球・線組織球・漿膜細胞がみられ、それらの細胞の形質のうち多くのRをみる事ができる。

すなわち、冬季における実験では大関株・三谷株病毒はともに CPm 処理ハツカネズミに対し、激しい病原性を示さないが変異大関株・変異三谷株病毒は、いずれも供試する処理天竺鼠に激しい病原性を示すものであることはきわめて興味深いものである。

考 察

恙虫病病毒に関する摘発の労作は、終戦後著しいものがある。また恙虫病病毒の性状、あるいは恙虫病病毒に関する血清・免疫学的研究も終戦後著しい発展をみた。

R 症の治療の分野においても、抗生物質の発見は大なる貢献をもたらした。夏型の重症型の恙虫病の治療も、今では期待しうる段階に到つた。

しかしながら、Woodward が考えた如く発病の早期における衝撃的療法は疾病自体に幸しても抗体産生の機序が、截断されることから再発・再燃の現象が現われるのであろうことは考えうると同時に、桂(昭29)も臨床的にこの事実を確認し、恙虫病に対する抗生物質による治療方法に一警告を放つているのも一理なしとしない。

一方微生物の分野において供試される微生物が、当該抗体に接触がつづくならば、その微生物の性質に何等かの変換が起りうるものがあると考えられる。

著者はここにおいて、微量の CP を恙虫病病毒の感受性動物であるハツカネズミに連続投与し、しかる後に恙虫病病毒材料を接種したときに、もしも生き残つた供試動物があるとするならば、その病毒の性質の一部に固定的であると否とを問わず性質の変換は起りうると考え、実験を行つたのでその経過と結果について要約して以下に述べる。

1. ハツカネズミを実験動物として供し、この供試動物に CP を体重 10g 当り 5.0・2.0・1.0・0.5 mg の割にそれぞれ経口的に 10 日間にわたって投与し、しかる後に恙虫病病毒である大関株及び三谷株病毒を腹腔内に接種し、恙虫病病毒が残存しうる CP 量を究めたところ、ハツカネズミを供する限り体重 10 g 当り 0.5 mg の CP を連続投与した供試動物の群にその病毒の生存、あるいは軽度の増殖があるとする事実を認めた。

そこで、CP 投与ハツカネズミの体内から分離した大隈株・三谷株病毒を便宜上、変異大隈株・変異三谷株病毒と呼ぶこととした。

2. 恙虫病病毒をハツカネズミの腹腔内に接種することにより、発症した伊試ハツカネズミの漿膜面の押捺標本から、または腹水の塗抹標本からRの所在について論ずるにあたり、単に大単核細胞の形質にみられるという如き表現がなされて来たが、同僚牛田(昭32)はRが積極的に増殖する細胞は主として、漿膜細胞の形質の中であり、Rの発育が極度に達するか強度に達したときにその細胞自体は変性に陥り、破れ、Rを細胞外に出すものであろうと説き、さらに游出するRを組織球・絛細胞が貪喰するものであり、従つてRを主として認める細胞は腹腔内であるかぎり漿膜細胞・組織球・絛細胞が主であらうと注目すべき事実を指摘した。

著者は、CP の異なる戸をハツカネズミに連続投与した場合、体重10g 当り5.0・2.0・1.0 mg のCPの量であればRの発現は顕微鏡下に確認しえないと同時に、腹腔内に出現する細胞も漿膜細胞が最も多く、一部に多核細胞・リンパ球がみられるにすぎないことを知った。

言いかえるならば、かかる供試動物は感染細胞像の定型的な様式を示していないといえる。

しかしながら、ハツカネズミの体重10g 当り0.5 mg の少量のCPを連続投与した群であれば、供試ハツカネズミにはRを認め、腹腔に出現する細胞像は漿膜細胞も多いが、その中にRを容れ、さらに組織球・絛細胞が増加してみられることが理解された。

3. ハツカネズミの体重10g 当り0.5 mg のCPを連日投与したハツカネズミの群を大隈株・三谷株病毒をもつて接種・発症させ、その脳・肺・肝・脾が含む病毒の濃度を知るべく、各臓器の50%致死量を検したが、いずれも低い値にみられた。

4. 村上・浜田・瀬尾(昭32)等は天竺鼠を供し、体重kg 当り20 mg のCPmを投与しておけば、天竺鼠の恙虫病病毒に対する感受性が異常に昂まると同時に腹腔内にRを多く含む多量の腹水の滲溜が発現されるとする注目すべき業績をえたことは、恙虫病病毒によるワクチン製造への端緒を把握したものであるともいえる。

しかしながら、天竺鼠の腹腔内における腹水の滲溜にはなお安定性を欠き、高気温・低気温に支配されるものであることが理解され、従つて冬・夏の両

季にはCPm処理を行つても天竺鼠の恙虫病病毒に対する感受性が高まるものではないことが明らかにされている。

著者は大隈株・三谷株・変異大隈株・変異三谷株病毒を供し、CPm処理天竺鼠に接種する実験を行つたが両変異病毒株はともに季節を問わず、激しい病原性を示し、伊試した天竺鼠の腹腔内に多くの腹水とRをみることが出来ると確認することができた。

5. 要之、CPによつて性質変換を来されたいわゆる変異大隈株・変異三谷株病毒は原型株病毒と異り、夏季・冬季にもCPm処理天竺鼠に病原性を發揮しうるとする重要な知見をえたものである。

結 語

ハツカネズミの生体内において恙虫病毒と、微量のChloramphenicolを接触させるときに供試病毒の性質の一部が変換されるのではないかとの意図から、いわゆる変異病毒株の性質を究めるべく本編において、Chlorpromazine処理天竺鼠に対する病原性の変化について吟味した。その結果を以下に要約して述べる。

1. 原型病毒株である大隈株・三谷株病毒は共に暑熱の候と寒冷の候にはCPm処理天竺鼠に対しては病原性を示さない。

2. 変異病毒株である変異大隈株・変異三谷株はともに季節の如何を問わず、CPm処理天竺鼠に対し強い病原性を示し、供試天竺鼠の腹腔に多くの腹水とRickettsiaの増殖を来す。

3. 要之、Chloramphenicolに長期接触させられた恙虫病毒はCPm処理天竺鼠に対する病原性に、原型株病毒とは異つた態度をとるものであるとする重要な知見をえたものである。

終りに御指導を賜つた恩師村上教授に満腔の謝意を捧げるとともに、御鞭撻と便宜を供与された浜田博士に衷心から感謝の意を表します。

文 献

- 1) 内山, 長岐: 日本細菌学雑誌, 昭29.
- 2) Smadel, J. E. and Jackson, E. B.: Antibiotic with chemotherapeutic activity in experimental rickettsial and infections. *Science*, 106, 418~419 (1947).
- 3) Smadel, J. E. Woodward, T. E., Ley, H. L., Jr. and Lewthwaite, R.: Chloramphenicol (Chloromycetin) in the treatment of tsutsugamushi disease (Scrub typhus). *J. Clin. Invest.* 28, Sept. (Part II), 1196~1215, (1949).
- 4) 村上栄, 浜田豊博, 瀬尾昌克: 香川県衛生研究所報, 37号, 昭31.
- 5) 福住定吉: 恙虫病ワクチンの研究, (1) 紫外線照射不活化ワクチン, 東京医事新誌, 74巻, 10号, 573, 昭31.
- 6) 桂重鴻: 恙虫病の臨床, 総合医学, 10, 6, 288, (1953).
- 7) 緒方規雄, 寺邑政徳: 恙虫病の抗生物質療法と免疫との関係, 日本伝染病学会雑誌, 27, 5~6, 174 (1953).
- 8) 川村麟也, 伊藤辰治, 中村隆治, 上村忠雄, 佐藤猪久彦: 恙虫病の予防に就いて, (第1報); 日本医事新報, 754号, (697~700), (1937).
- 9) Philip, C. B., Traub, R. & Smadel, J. E.: Chloramphenicol (Chlormycetin) in the chemoprophylaxis of scrub typhus (Tsutsugamushi disease). I. Epidermiological observation on hyperendemic areas of scrub typhus in Malaya.; *Amer. Jour. Hyg.*, 50, 63~74 (1949).
- 10) 中村清: 恙虫病の免疫に関する研究 (I), 病毒量と発病, 更に免疫との関係に就いて, *Virus*, 4, 198~203 (1954).
- 11) 中村清: 恙虫病の免疫に関する研究 (II), 抗生物質で早期に解熱させてしまつた接種恙虫病後の免疫に就いて, *Virus*, 4, 330~337 (1956).
- 12) 川村麟也, 笠原四郎, 外山富雄, 西成田富智男, 椿精一: 恙虫病の予防に就いて (第2報), 有毒地住民に実施せる予防接種成績に就いて, 東京医事新報, 3115号, 3323~3336 (1938).
- 13) 上村忠雄: 恙虫病の免疫持続期に関する実験的研究, 北越医学会雑誌, 59, 1269~1271 (1944).
- 14) 安東洪次, 金子順一, 染谷四郎: ワクチンと血清, 医医書院発.
- 15) 川村, 伊藤, 中村, 佐藤: 恙虫病の予防に就いて (第I報), 日本医事新報, 754, 697~700, 1937.
- 16) 西成田富智男: 弱毒 (澎湖島系), 恙虫病微量人体接種による免疫獲得, 日本医学, 3382号, 12~15, 1944.

Studies on Variation of Tsutsugamushi Disease Rickettsia

Part I Some Findings on the Pathogenicity of Varied
Tsutsugamushi Disease Rickettsia

By

Mamoru FUJIMURA

Department of Microbiology, Okayama University Medical School
(Director: Prof. Sakae MURAKAMI)

While the use of chloramphenicol showed marked curative effect on tsutsugamushi disease, especially in the case of a large dose at the same time. WOODWARD and KATSURA expressed a doubt on this effect, above all KATSURA reported the possible occurrence of re-infection of this disease following after the therapy by such method of dose. On the other hand, the repeated use of small dose of the drug might allow the pathogenic rickettsia to

survive the action of the drug, also allow to cause the variation of the rickettsia.

From the viewpoint of this, the author investigated the variation of pathogenicity of the tsutsugamushi disease rickettsia, OSEKI's and MITANI's strains, by action of chloramphenicol; the variation was determined by the use of LD₅₀ for a intraperitoneal inoculation of the organism on the previously treated mice, that were given chloramphenicol perorally for 10 days so as each mouse to have the different dose daily, namely 5 mg., 2 mg., 1 mg. and 0.5 mg. per 10 g. of body weight respectively. Contrarily to the control, it was noticed the very low value for the LD₅₀ of the test animals. Further the author conducted the study on the varied organism thus obtained, namely varied OSEKI's and varied MITANI's strains, in that the rickettsia was inoculated intraperitoneally to the guinea pigs that were previously injected 20 mg. of chlorpromazine per Kg. of body weight daily for 4 days; and the result of the test was determined on the basis of the amount of ascites produced, the amount of free cells and the presence of the rickettsia in the ascites.

In this study, it was demonstrated that the infection of the original strain did not reveal the illness during summer and winter, but the varied strain could reveal the marked sign of illness at any time of seasons and the much production of ascites and marked proliferation of the rickettsia were observed in abdominal cavity.

These facts showed supposedly that the marked variation was occurred on the pathogenicity of the tsutsugamushi disease rickettsia treated by chloramphenicol compared with the untreated organism.
