

41 Hemagglutinating Virus of Japan (HVJ) に関する研究 2

HVJ の溶血性に関する研究

41 Studies on Hemagglutinating Virus of Japan (HVJ) II.

Studies on the hemolytic activity of HVJ

北海道立衛生研究所 (所長 中村 豊)
技 師 桜 田 教 夫

緒 論

われわれの教室では昭和 28 年夏、小樽市に多数発生した漿液性髄膜炎患者から一種のウイルスを分離した。⁹⁾ その性状についてはすでに昭和 30 年 4 月、第 3 回ウイルス学会および第 2 回日本ウイルス学会東日本支部会においてその一部を報告した。

該ウイルスはさきに福見氏等がマウスより、⁷⁾ 黒屋氏等が新生児肺炎より、⁸⁾ さらにわれわれと相前後して渡辺氏および笹原氏等が豚などから分離した¹¹⁾ ウイルスと同一種であつていわゆる **Hemagglutinating Virus of Japan (HVJ)** である。このウイルスは赤血球凝集性、遊出、増殖等の態度から MNI 群ウイルスに属すると考えられている。¹²⁾

このウイルスは赤血球吸着後 37°C で遊出する時溶血を起すのが特徴であつて、この性質は MNI 群における Mumps および NDV に似ている。

著者は漿液性髄膜炎患者から分離した前述の HVJ についてその諸性状を検索しているがその研究の一環として該ウイルスの溶血性を種々な角度から検討したのでここに報告したいと思う。

実験材料および方法

ウイルス

実験に主としてもちいたのは小児の漿液性髄膜炎より分離した HVJ、安井株である。本株は小樽市に発生した漿液性髄膜炎の患者の脊髄液からマウス鼻腔内接種によつて分離され、その後孵化鶏卵継代によつて保存された株であつて、その感染漿尿液の赤血球凝集 (HA) 価は通常 1,024 ~ 2,048 倍である。

安井株のほか HVJ としては田無株 (笹原等が神経症状を呈した豚から分離したもの) および M-N 株 (福見等がマウスから分離したもの) を使用した。

また溶血性を比較する目的で Mumps virus の Enders 株および Newcastle Disease Virus (NDV) の宮寺株ももちいた。

免疫血清

HVJ 感染漿尿液を鶏の皮内と静脈内に数回接種後赤血

球凝集抑制 (HI) 価のいちぢるしく上昇したものを全採血して免疫血清をえた。免疫血清の HI 価は 4 凝集単位の抗原と 0.5% 鶏赤血球浮遊液を稀釈血清に加えてから測定した。各血清の HI 価は抗安井株血清 1,024 倍、抗田無株血清 512 倍、抗 M-N 株血清 1,024 倍である。

赤血球浮遊液

鶏赤血球を使用した。3.8% クエン酸ソーダを入れた注射器で鶏から心穿刺によつて採血し、緩衝食塩水で 3 回洗滌、遠心沈澱をおこなつてから、最後に 1,500rpm 10 分間遠心し、その沈澱を 100% としてそれぞれ 0.5% および 2% の赤血球浮遊液を作つた。

溶血度の測定

通常 8 本の小試験管に 1cc 宛緩衝食塩水を入れ、第 1 管に感染漿尿液を 1cc 加えてから倍数稀釈をおこなつた。つぎに 2% 鶏赤血球浮遊液を 1cc 宛各管に加えて混合し、直ちに試験管を 37°C の恒温槽に 3 時間保つた。3 時間後各試験管を取り出して冷却した緩衝食塩水を 3cc 宛加え、室温において 2,000rpm 10 分間遠心沈澱をおこない、その上清を比色用試験管に移し、ヘモグロビン量を測定した。

溶血度のパーセントは 2% 赤血球浮遊液 1cc に蒸溜水 4cc と 1 滴の稀釈アンモニア水を加えたものを standard reference として計算した。また 2% 赤血球浮遊液 1cc 液と緩衝食塩水 4cc を含む試験管の遠心上清を stability control としてもちいた。

比色には平間理化研究所の比色計を使用し、フィルターは green の No. 532 をもちいた。

赤血球凝集 (HA) 価の測定

感染漿尿液を緩衝食塩水で倍数段階的に稀釈し、その 0.5cc 宛を試験管にとり、0.5% 鶏赤血球浮遊液を 0.5cc 宛加えた後 4°C に 1 ~ 1.5 時間放置してから判定した。

実験成績

I 物理的影響

HVJ の溶血性におよぼす物理的因子の影響について、最初赤血球凝集性と溶血性の加熱および紫外線に対する抵抗性、および感染漿尿液の凍結融解の溶血におよぼす影響を観察した。つぎに Mumps と NDV の感染漿尿液の凍結融

解をおこなつて HVJ と比較してから、溶血性増強の機序について特に漿尿液中の inhibitor との関係をしらべた。

1 加熱

HVJ 安井株の感染漿尿液を 6 本の試験管に分注してから 35°C、10 分、30 分、45°C、10 分、30 分、50°C、10 分、40 分加熱した。その後各サンプルについて赤血球凝集価と溶血価を測定した。

第 1 表 加熱の影響

温度	時間	赤血球凝集価	溶血価								
			16	32	64	128	256	512	1,024	2,048	
35°C	10分	2,048	※26	25	15	11	7	4	3	2	0
35°C	30分	2,048	25	22	19	11	9	6	3	2	0
45°C	10分	2,048	24	21	20	16	12	8	3	3	0
45°C	30分	512	21	20	16	14	11	6	3	2	0
50°C	10分	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0
50°C	30分	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0
対照		2,048	26	25	21	17	10	6	4	3	0

※: 溶血度パーセント

第 1 表に示す如く HVJ 安井株感染漿尿液の赤血球凝集価および溶血率は 35°C、10 分、30 分、45°C、10 分の加熱でも失われない。45°C、30 分の加熱では両方共幾分低下する。50°C、10 分の加熱では赤血球凝集価も溶血価も完全に破壊される。45°C、30 分の加熱の成績にみられる如く、赤血球凝集性の方が溶血能よりも速かに低下するようであるが、加熱によつてこの 2 つの性質を分離することはできなかった。

2 紫外線

予め緩衝食塩水に対して 24 時間透析した HVJ、安井株の感染漿尿液を液層が 1 mm になるように直径 2.7cm のシャーレに分注し、20°C において振動させながら紫外線を 10 分、20 分、30 分、40 分間照射した。照射距離は 13cm である。紫外線は東芝の GL 15 (波長 2,537Å) を使用した。

第 2 表 紫外線の影響

照射時間	赤血球凝集価	溶血価								
		16	32	64	128	256	512	1,024	2,048	
10分	2,048	※24	22	20	17	10	8	4	3	0
20分	2,048	24	22	20	16	9	4	4	2	0
30分	512	9	2	0	0	0	0	0	0	0
40分	-	0	0	0	0	0	0	4	0	0
対照	2,048	24	23	20	17	10	10	4	2	0

※: 溶血度パーセント

第 2 表にみられる如く、紫外線を 20 分間照射しても赤血球凝集価、溶血価共に全く影響を受けないが、30 分間照

射によつて双方の性質は急激に減し、40 分間照射では完全に失われる。

30 分照射の成績が示すように赤血球凝集素の方が紫外線に抵抗があるようであるが、紫外線照射によつて赤血球凝集性あるいは溶血性のいつれか一方の性質を有する感染漿尿液をうることはできなかった。

3 凍結融解

i 凍結融解の HVJ, Mumps, NDV の溶血におよぼす影響

HVJ、安井株、Mumps および NDV の各感染漿尿液をアセトン・ドライアイスで凍結し、直ちに微温湯で融解した。この操作を 10 回繰返してから 4,000rpm 30 分間遠心し、上清について溶血価と赤血球凝集価を測定した。

第 3 表 HVJ, Mumps & NDV の溶血性に及ぼす凍結融解の影響

感染漿尿液	処理	赤血球凝集価	溶血価								
			4	8	16	32	64	128	256	512	
HVJ	前後	1,024	※21	19	18	17	10	10	3	2	0
		1,024	33	25	21	18	14	11	10	7	0
Mumps	前後	64	30	16	13	1	0	0	0	0	0
		64	34	20	16	3	0	0	0	0	0
NDV	前後	512	6	5	4	4	3	2	0	0	0
		512	25	31	22	16	9	4	0	0	0

※: 溶血度パーセント

第 3 表に示した如く、各株共凍結融解処理により明らかに溶血能の増強を示しているが、赤血球凝集性は凍結融解によつて影響されない。3 株のうち NDV の溶血性の増強が最もいちぢるしく、第 1 管において 6% の溶血度であつたものが凍結融解処理によつて 25% 迄上昇した。これに引き続いて HVJ の上昇がみられ、Mumps は最も低かつた。

3 株の感染漿尿液について同一操作をおこなつたにもかかわらず一致した溶血性の増強を示さなかつたことはこれら株の溶血素の性質がそれぞれ異つているためと考えられる。

ii 漿尿液中の inhibitor と溶血との関係

HVJ の凍結融解による溶血性の増強と正常および感染漿尿液中の inhibitor との関係をみる目的でつぎの実験をおこなつた。

すなわち凍結融解処理前後の安井株感染漿尿液を正常漿尿液、凍結融解正常漿尿液、加熱正常漿尿液、加熱感染漿尿液および加熱、凍結融解感染漿尿液の 5 種類の稀釈液をもちいて階段稀釈をおこない、赤血球凝集価および溶血価を測定した。

第 4 表に示すように正常漿尿液を稀釈液として稀釈した場合、凍結融解処理前後の安井株感染漿尿液の赤血球凝集性と溶血性は緩衝食塩水を稀釈液とした場合に比較して阻止されており、特に赤血球凝集性がいちぢるしく阻止され

第4表 凍結融解処理 HVJ の溶血と希釈液との関係

希 釈 液	ウイ ルス 処理	赤血球 凝集価	溶 血 価							食塩 水対 照
			ウイルス希釈倍数							
			4	8	16	32	64	128	256	
緩衝食塩水	前後	2,048	※41	35	33	26	17	7	0	0
		2,048	88	86	76	59	41	29	17	0
正常漿尿液	前後	32	38	24	19	13	10	0	0	0
		32	39	24	20	12	9	0	0	0
凍結融解正常 漿尿液	前後	32	39	32	30	22	15	0	0	0
		32	39	33	29	21	16	0	0	0
加熱正常 漿尿液	前後	32	37	33	25	25	21	0	0	0
		32	40	35	30	13	5	0	0	0
加熱感染 漿尿液	前後	2,048	45	42	32	26	18	9	0	0
		2,048	47	42	37	29	16	11	0	0
加熱凍結融解 感染漿尿液	前後	2,048	45	29	23	16	13	0	0	0
		2,048	45	29	23	13	10	0	0	0

※：溶血度パーセント

ている。この正常漿尿液中の赤血球凝集性と溶血性に対する inhibitor の凍結融解による影響をみる目的で、正常漿尿液を 10 回凍結融解し、これを希釈液として同様な実験をおこなった。

結果は第4表にみられる如く凍結融解を繰返した正常漿尿液を希釈液としてもちいた場合も、処理前の正常漿尿液を希釈液として使用した時と同じ程度に赤血球凝集性及び溶血性の阻止がみられる。すなわち正常漿尿液中に含まれる赤血球凝集性と溶血性を阻止する inhibitor は凍結融解によつて何ら影響を受けないと考えられる。次に安井株の感染漿尿液を 56°C 30 分間加熱して赤血球凝集性が完全に失われていることを確かめてから希釈液として用いた。対照には 56°C 30 分間加熱した正常漿尿液をおいた。

加熱感染漿尿液を希釈液として用いた時には赤血球凝集阻止に働く inhibitor は失われ、緩衝食塩水を用いて希釈した場合と同じく 2,048 倍迄赤血球を凝集した。(第4表) 然し溶血阻止は加熱正常漿尿液の溶血阻止に比較するとやや低下しているが依然としてみられた。このことから感染漿尿液中には赤血球凝集阻止の inhibitor は認められないが、溶血阻止の inhibitor が正常漿尿液と同程度に含まれていると考えられる。

最後に加熱感染漿尿液中に含まれている溶血阻止の inhibitor に対する凍結融解の影響をみる目的で、加熱、凍結融解感染漿尿液を希釈液として実験をおこなった。結果は第4表に示すように赤血球凝集阻止の inhibitor は前実験と同じくみとめられないが、溶血阻止は依然として加熱感染漿尿液をそのまま希釈液とした場合と同じ程度にみとめられた。

これらの結果から正常漿尿液と HVJ、感染漿尿液中には溶血阻止の inhibitor が大体同量含まれており、この inhibitor の作用は凍結融解の操作による影響を受けないと考えられる。

III 正常漿尿液中の inhibitor と凍結融解処理ウイルスとの関係

凍結融解後の安井株感染漿尿液を緩衝食塩水をもつて希釈した場合には明らかに溶血性増強がみとめられるが、正常漿尿液を含めて5種類の希釈液をもちいて希釈した時には溶血性増強がみとめられない。(第4表) この機序を追及する目的でウイルス粒子の赤血球に吸着するメジウムに正常漿尿液と緩衝食塩水の2種類をもちい、遊出するメジウムにも同様に正常漿尿液と緩衝食塩水をもちいて、それぞれを組合せた。

実験方法は鶏赤血球を2%になるように浮遊させた緩衝食塩水と正常漿尿液に凍結融解処理前と後の安井株感染漿尿液を等量加えた。これらを4°Cに1時間放置してから遠心し、上清の赤血球凝集価を測定した。(吸着) つぎに沈渣の赤血球を低温において冷却した緩衝食塩水をもちいて3回洗濯してから、緩衝食塩水と正常漿尿液の2種類のメジウムをもちいて元の量に再浮遊させた。その後37°Cの温浴槽に3時間保つてから遠心し、上清の赤血球凝集価(遊出)と溶血価を測定した。

第5表 凍結融解処理 HVJ の溶血に及ぼす正常漿尿液の影響

ウイルス処理	吸 着 メジウム	吸着	遊 出 メジウム	遊出	溶血 度 (%)
原液 (2,048)	※ 緩衝食塩水	※64	正常漿尿液	※512	64
			緩衝食塩水	512	79
10回凍結融解 (2,048)	緩衝食塩水	64	正常漿尿液	1,024	64
			緩衝食塩水	1,024	98
原液 (2,048)	正常漿尿液	256	緩衝食塩水	512	64
			正常漿尿液	512	74
10回凍結融解 (2,048)	正常漿尿液	256	正常漿尿液	512	63
			緩衝食塩水	1,024	98

※：赤血球凝集価

結果は第5表に示す通りであつて、ウイルス粒子の吸着率はメジウムに正常漿尿液があると低下するが、遊出の場合にはメジウムの差に関係なく、ほとんど同じ程度にウイルスの遊出がみられる。2種類のメジウムをもちいた時に最もいちぢるしい差がみられるのは遊出に伴う溶血である。すなわち凍結融解処理ウイルス粒子は緩衝食塩水をメジウムとすれば遊出と同時に溶血能の増強がみとめられるが、遊出メジウムを正常漿尿液とすればウイルス遊出しても溶血価は凍結融解しないウイルス粒子の値と同一である。

II 化学的影響

1 pH

種々な pH の隣液緩衝液を作り、1容の安井株感染漿尿液に7容の緩衝液を混合し、pH をそれぞれ 4.0, 5.0, 6.0, 7.0, 8.0, 9.0 としてから室温に1時間放置した。その後中和して溶血価および赤血球凝集価を測定した。

第6表 pH の影響

Ha 価 & HL 価	pH					
	4	5	6	7	8	9
赤血球凝集価	-	512	512	512	512	-
溶血価(%)	0	16	21	33	24	0

第6表にみられる如く pH 5~8 の間では赤血球凝集価には全く差をみとめない。溶血の至適 pH は 7.0 であつて、pH 5.0 では溶血価は半減する。

pH 4.0 以下および 9.0 以上では赤血球凝集性および溶血性が共に同時に破壊された。したがつて pH を変えることによつて赤血球凝集性と溶血性を分離することはできなかった。

2 エーテル

エーテルは麻酔用エーテル (スクイブ会社製) を使用した。

HVJ, 安井株感染漿尿液 (赤血球凝集価 2,048 倍) に同量のエーテルを加え、Magnetic stirrer をもちいて約 30 分間混和後、分溜ロートに移し、混合してから一夜室温に放置した。翌日感染漿尿液を分離してからつぎの実験をおこなつた。

安井株感染漿尿液とエーテル処理安井株感染漿尿液にそれぞれ同量の 2% 鶏赤血球浮游液を加え、4°C に 1 時間放置してから上清の赤血球凝集価 (吸着) を測定した。つぎに沈渣の赤血球を低温で冷却した緩衝食塩水をもちいて洗滌してから元の量に緩衝食塩水をもちいて再浮游し、37°C、3 時間温水中に保つてから遠心し、上清の赤血球凝集価 (遊出) と溶血価を測定した。

第7表 エーテルの HVJ 溶血に及ぼす影響

感染漿尿液	Ha 価 & HL 価	原液	吸着	遊出
エーテル処理	赤血球凝集価 溶血価(%)	1,024 0	64 -	512 0
対照	赤血球凝集価 溶血価(%)	2,048 46	64 -	512 39

第7表に示す如くエーテル処理ウイルス粒子は吸着、遊出共に原液と差がみられないが遊出の際に溶血を伴わない。エーテルによつてウイルス粒子から Lipid が溶解、遊離し、赤血球凝集素を分離し得られるが溶血を起す因子は Lipid のような物質でウイルス粒子に存在するときに発揮され溶解遊離するとその性質は失われるものと思われる。

3 ホルムアルデヒド

i ホルムアルデヒドによるウイルス処理

HVJ, 安井株感染漿尿液にホルムアルデヒド (F. と略す) を 0.1, 0.25, 0.5, 1.0% の割合になるように加えて一夜放置し、翌日各サンプルの一部をとつて赤血球凝集価を測定し、残りに等量の 2% 鶏赤血球浮游液を加えた。充分混

和後、4°C に 1 時間おいてから遠心して上清を得、その赤血球凝集価 (吸着) を測定した。つぎに沈渣である赤血球を冷却した緩衝食塩水で低温において十分に洗滌して、緩衝食塩水をもちいて元の量に再浮游し、これらを 37°C の恒温槽に 3 時間保つた後遠心し、その上清を遠心しその上清の赤血球凝集価 (遊出) と溶血価を測定した。

感染漿尿液に F. を 0.5, 1.0% に加え、鶏血球を混和し、4°C、1 時間放置すると赤血球が変質して暗褐色の粘着性のメトヘモグロビンを生じ、¹⁰⁾ これから赤血球浮游液を作ることが不可能となつた。したがつて 0.1% と 0.25% になるように F. を加えた感染漿尿液のみをもちいた。

第8表 フォルムアルデヒド処理ウイルスと溶血との関係

感染漿尿液	溶血価(%)			赤血球凝集価		
	0*	0.1	0.25	0	0.1	0.25
原液	-	-	-	2,048	2,048	2,048
吸着(4°C 1 時間)	-	1	-	256	64	64
遊出(37°C 3 時間)	13.9	12.9	8.8	1,024	512	512

*: フォルムアルデヒド濃度 (%)

その結果は第8表に示すように感染漿尿液に F. を 0.1, 0.25% に加え一夜放置しても赤血球凝集性には変化がない。F. 処理ウイルスの赤血球への吸着率は対照に比較するとかえつて高いが、一方遊出率は逆に低下している。また F. 処理ウイルスの遊出に伴つて溶血がみとめられるがその程度は対照に比較すると幾分低い。したがつて赤血球自身に影響を与えない濃度の F. を使用して溶血性あるいは赤血球凝集性の一方のみを有するウイルス粒子はえられなかつた。

ii ホルムアルデヒドによる血球処理

あらかじめ 0.1, 0.25, 0.5, 1.0 および 2.0% の F. 食塩水を作つておき、各々に洗滌鶏赤血球原液を 2% になるように浮游させてから 4°C に一夜放置した。翌日各サンプルの赤血球を緩衝食塩水をもちいて洗滌した。洗滌後遠心した沈渣の赤血球から最初 0.5% の赤血球浮游液を作り、これを安井株感染漿尿液の 2 倍段階稀釈液に加えて、赤血球凝集価を測定した。この時 1~2% F. 食塩水に加えられた赤血球は血球自身の変化がいちじるしくメトヘモグロビンを生じ、0.25~0.5% F. 食塩水で処理した血球は食塩水対照において自発凝集を起したので 0.1% F. 食塩水処理血球のみを次の実験に使用した。

0.1% F. 食塩水処理赤血球を洗滌後、遠心沈渣から 2% の血球浮游液を作り、同量の安井株感染漿尿液を加えた。4°C、1 時間放置後、遠心して上清の赤血球凝集価 (吸着) を測定し、沈渣の赤血球を冷却した緩衝食塩水をもちいて低温で洗滌してから、緩衝食塩水で元の量に再浮游した。次にこれを 37°C に 3 時間恒温槽に保つてから遠心し、上清の赤血球凝集価 (遊出) と溶血価を測定した。

第9表 フォルムアルデヒド処理赤血球と溶血との関係

感染漿尿液	溶血価		赤血球凝集価	
	0※	0.1	0	0.1
原液	-	-	2,048	2,048
吸着(4°C 1時間)	-	-	128	256
遊出(37°C 3時間)	17.5%	?	1,024	512

※: フォルムアルデヒド濃度

結果は第9表に示したように0.1% F. 処理血球に対するウイルス粒子の吸着率および遊出率は対照の非処理血球とほぼ同一である。一方0.1% F. 処理血球は急速かついぢるしく溶血を起した。しかしこの溶血がウイルス遊出のためのみでないことは対照実験から明らかである。すなわち0.1% F. 食塩水処理赤血球を洗滌後、沈渣赤血球から2%血球浮遊液を作り、同量の緩衝食塩水を加えてから4°C、1時間放置後血球を再び洗滌した。次に沈渣の赤血球から2%浮遊液を作り37°C、3時間温水中に放置するといぢるしい溶血がみとめられた。この溶血はF. 処理のための血球の fragility のためであると考えられる。

したがって第9表におけるF. 処理血球から起る溶血は、ウイルス遊出に伴う溶血と血球表面のF. による変化のための溶血とが同時に起つたものと考えられる。

以上のことからF. を血球に作用させた場合にはメトヘモグロビンの形成、血球に自発凝集を起させることおよび血球を fragile にする等の理由で処理血球にHVJを吸着、遊出させて赤血球凝集性および溶血性の関係を追及することが不可能であつた。

4 KIO₄

HVJ, 安井株感染漿尿液にM/50, M/100 および M/500 のKIO₄ 溶液を等量に加え、27°C、1時間作用させてからKIO₄ 溶液と等量の10%葡萄糖溶液を加え室温に15分放置してKIO₄ の作用を中和した。対照としてM/50 KIO₄ 溶液に同量の10%葡萄糖液を加え、室温に15分放置した後、更にKIO₄ 溶液と同量の安井株感染漿尿液を加え、27°C に1時間おいた。

これらの処理感染漿尿液に同量の2%鶏赤血球浮遊液を加え、4°C、1時間放置後遠心し上清の赤血球凝集価を測定した。(吸着) 次に沈渣の赤血球を低温で冷却した緩衝食塩水をもちて洗滌してから元の量に再浮遊し37°Cの温水中に3時間保つた後遠心し、遠心上清について赤血球凝集価(遊出)および溶血価を測定した。

第10表に示す如く安井株感染漿尿液をM/50, M/100 KIO₄ 溶液で処理すると赤血球凝集価はわずかに低下するが吸着率は対照とほぼ同一である。しかし吸着後赤血球から全く遊出せず、かつ溶血も示さない。一方M/500 KIO₄ 処理感染漿尿液では吸着、遊出および溶血は対照とほぼ同程度にみとめられる。

第10表 KIO₄ のHVJ 溶血に及ぼす影響

KIO ₄ 処理ウイルス	赤血球凝集価			溶血価(%)
	原液	吸着	遊出	遊出
M/50	512	32	< 16	0
M/100	1,024	64	< 16	0
M/500	2,048	64	1,024	29
M/50 + Glucose(対照)	2,048	64	1,024	31

これらの結果からM/50, M/100 KIO₄ で処理され、吸着した血球から遊出する能力を失つたウイルス粒子は同時に溶血も起さないことがみとめられた。

III 生物学的影響

MNI 群ウイルスのうち、NDV の溶血性がメジウム、sonic vibration および osmotic shock の影響により増強され、¹⁷⁾ また Mumps ¹⁸⁾ および HVJ ¹⁹⁾ の溶血性が凍結融解の操作により増強されることはすでに報告されている。

著者はHVJの溶血に際して補体が加えられると溶血性が増強されることを観察したのでその機序を追及した。

次にHVJの3株をもちてそれぞれの免疫血清が溶血性におよぼす影響を検討した。最後に各種動物の赤血球に対するHVJの溶血性について観察した。

1 補体

I 補体血清のHVJ, Mumps, NDV の溶血におよぼす影響

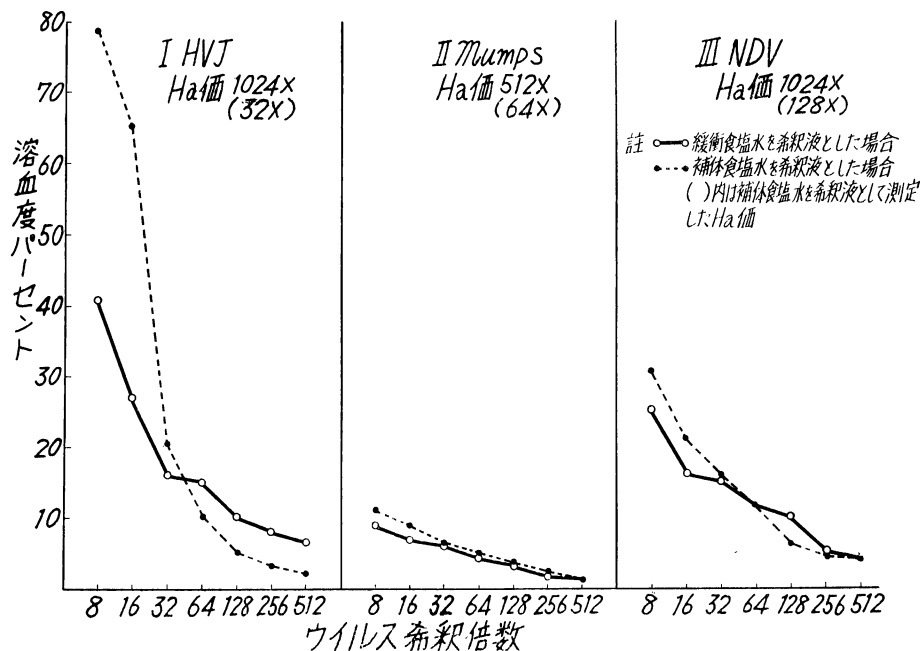
実験に使用した各株の赤血液凝集価はHVJ(安井株) 1,024倍、Mumps(Enders株) 512倍、NDV(宮寺株) 1,024倍である。

補体は市販の凍結乾燥補体(凍結乾燥モルモット血清)をもちいた。最初滅菌緩衝食塩水をもちて30倍稀釈液を作り、8本の小試験管にこれを1cc宛分注してから最初の第1管にそれぞれHVJ, Mumps, NDVの感染漿尿液を1cc宛加え倍数稀釈をおこなつた。次に各試験管に2%鶏赤血球浮遊液を1cc宛加えてから37°Cの温水中に3時間おいた後、前述の方法によつて溶血価を測定した。

第1図にみられる如く補体血清食塩水を稀釈液としてもちいた場合HVJの溶血性はいぢるしく増強される。すなわち8~16倍のウイルス稀釈においては補体が存在すれば緩衝食塩水よりも溶血度は明らかに約2倍の増強をみとめた。これに反してNDVおよびMumpsにはHVJにみられるようないぢるしい溶血性の増強はなかつた。これらの事実から補体血清のウイルスによる溶血におよぼす影響は、ウイルスの種類によつて異なることが判つたが、これから逆にHVJの溶血の機序はNDVおよびMumpsのそれと異つていると考えられる。

次に本実験にもちいた補体血清は正常モルモット血清であるから、ウイルスの赤血球凝集に対するinhibitorを含んでいると考えられるのでその量を測定した。補体血清原液を倍数稀釈し、その0.25cc宛を1列の試験管にとり、

第1図 HVJ, Mumps, NDV の溶血に及ぼす補体の影響



4 凝集単位の安井株感染漿尿液 0.25cc と 0.5 % 鶏赤血球浮遊液 0.5cc を加えてから混合し、4 °C に 1 時間おいた後判定した。この結果 64 倍稀釈迄 inhibitor の存在がみとめられた。また補体血清を 56 °C 30 分間加熱し、非動化してから同様な方法で inhibitor の量を測定したが、その力価はやはり 64 倍であつたので、この程度の加熱によつては血清中の inhibitor は全く影響されないことを知つた。30 倍稀釈補体血清を稀釈液として使用した場合、Mumps, NDV の溶血にはほとんど影響を与えないが HVJ の場合は溶血が増強されるのをみとめた。すなわち補体血清には HVJ の赤血球凝集および溶血作用に対して相反する 2 つの作用がある。一つは inhibitor として凝集を抑制し、他は溶血を増強する作用である。しかしウイルスによる溶血は飽くまでもウイルスが赤血球に吸着することが前提条件であつて、ウイルスの血球吸着量、換言すれば凝集の度合と溶血の度合とは平行関係にあると考えられる。

上記の場合、30 倍稀釈補体血清があると、ウイルスの高濃度例えば 8 ~ 16 倍稀釈のところでは inhibitor による凝集阻止の度合は、そのウイルス濃度における凝集の度合に比べてきわめて小さいので相対的に見て inhibitor の影響は無視できる。その故補体の溶血増強作用の方が顕現される。しかるに低濃度のウイルス、例えば 64 ~ 512 倍のところでは inhibitor による凝集阻止の度合はそのウイルス濃度における凝集の度合に近くなつていたので相対的にみて inhibitor の影響が大きく現われる。したがつて例え補体の溶血増強作用があつたとしても、赤血球に吸着するウイルス量が少いので、二次的に起る溶血の度合が低いものと考えられる。

ii 補体血清の検討

a) 補体血清中の正常異種溶血素について

30 倍稀釈補体血清食塩水と緩衝食塩水のおおのに 2 % 鶏赤血球浮遊液を同量加え、37 °C、3 時放置すると前者は後者に比較して溶血が 2 % 高く現われる。これは補体血清自身に含まれる正常異種溶血素のためと考えられる。しこうして正常異種溶血素は低温でも赤血球と結合するので、寒冷飽和をおこなつてこれを除去した。方法は 2 倍稀釈補体血清に等量の洗滌鶏赤血球原液を加え、氷中に 1 時間おき、素早く遠心沈澱してその上清をもちいた。吸収後の血清を食塩水で 15 倍に稀釈し、溶血実験をおこない緩衝食塩水対照と比較したがもはや溶血はみとめられなかつた。よつて HVJ の溶血におよぼす補体血清の作用にはすべて寒冷飽和处理後の血清をもちいた。

b) 漿尿液中の溶血性因子について

補体血清による HVJ の溶血増強作用の実験をおこなうに当つて、感染漿尿液中のウイルス粒子以外の溶血作用を一応考慮しなければならぬ。よつて次の実験をおこなつた。

孵化 12 日卵の正常漿尿液を緩衝食塩水と 30 倍稀釈補体血清食塩水をもつて倍數稀釈をおこない、2 % 鶏赤血球浮遊液を各管に等量加えてから 37 °C の温水中に 3 時間放置後、遠心上清について溶血能の有無を判定した。

その結果 30 倍稀釈補体血清食塩水と緩衝食塩水をもつて正常漿尿液を稀釈しても正常漿尿液中には溶血性を有する因子が含まれていないことがみとめられた。

c) 補体濃度

緩衝食塩水をもちいて補体血清原液を 60 倍および 120

倍に稀釈し、これらを稀釈液として安井株感染漿尿液を稀釈してから型の如く血球浮遊液を加え溶血価を測定した。

第 11 表 希釈補体及び加熱補体血清の HVJ 溶血に及ぼす影響

希 釈 液	溶 血 価							食 塩 水 対 照
	ウイルス希釈倍数							
	8	16	32	64	128	256	512	
緩 衝 食 塩 水 (対 照)	※46	27	16	15	10	8	7	0
30 倍希釈補体食塩水	79	65	20	10	5	3	3	0
60 倍希釈補体食塩水	58	52	43	16	6	5	3	0
120 倍希釈補体食塩水	37	28	24	23	10	7	6	0
加 熱 補 体 食 塩 水	40	27	16	12	6	5	4	0

※：溶血度パーセント

第 11 表に示す通り 60 倍稀釈補体血清をもちいた時には補体血清の溶血増強作用を多少みとめたが、120 倍稀釈ではその作用は全くみとめられない。すなわち HVJ の溶血性増強のための補体血清の力価は 60 倍程度である。

d) 補体の非動化と溶血増強作用

この溶血性の増強に關与する物質が果して補体それ自身であるか否かを確認する目的で補体血清を 56°C、30 分加熱後 30 倍稀釈食塩水を作り、前述の方法で実験した。

第 11 表にみられる如く、加熱補体血清食塩水を稀釈液とした場合、同一濃度に補体血清が含まれているにもかかわらず溶血性の増強は全くみられない。このことから補体血清中にある HVJ 溶血性増強に關与する因子は恐らく補体それ自身であろうと考えられる。

また前述の如く補体血清中に含まれる赤血球凝集阻止の inhibitor の量は加熱後も変わらない。したがって補体血清中にはウイルスの溶血作用を増強する因子と赤血球凝集を阻止する inhibitor が含まれている。これについては既述した通りである。

iii 補体血清の HVJ、溶血増強作用の機序に対する考察

HVJ の溶血現象には第一段階としてウイルス粒子の血球への吸着が必要であることは RDE, Influenza virus 等で赤血球の Receptor 破壊をおこなった時にその赤血球の溶血性が失われる²⁰⁾等の実験から推察される。次に低温で HVJ を吸着させた血球を 37°C におくと第 2 段階としてメジウム中に HVJ は遊出し、同時に溶血が起る。

前回の実験においては補体が HVJ の溶血作用を増強するのをみとめたが、しからば補体は如何なる時期に作用するか、補体の作用する赤血球表面の部位が HVJ の吸着する Receptor と同一であるか等を追及する目的で次の諸実験をおこなった。

a) HVJ、処理により溶血を起した赤血球におよぼす補体の影響

実験方法の概略は第 12 表の ①に示した。安井株感染漿

尿液中に洗滌鶏赤血球原液を 2% の割合に加え、37°C の恒温槽に 3 時間保ち、溶血を充分起させる。3 時間後に遠心して上清水を捨て、低温遠心により冷却した緩衝食塩水をもつて、上清の色がなくなる迄十分に血球を洗滌する。対照として緩衝食塩水に 2% に赤血球を加え、上と同じ過程で処理したものをおいた。次に補体食塩水と緩衝食塩水の 2 種類のメジウムで感染漿尿液を 2 倍に稀釈したものを作り、これらに前述の処理血球を 2% になるように浮遊してから 37°C に 3 時間保ち遠心後上清の溶血価を測定した。

第 12 表 HVJ 及び補体処理血球と補体の溶血増強作用との関係

No.	血 球 処 理	処 理 方 法	血 球 再 浮 遊 メ ジ ウ ム	作 用 時 間 と 温 度	溶 血 価 (%)
①	HVJ + 血球	37°C 3 時間作用後 洗 滌	HVJ + 補体	37°C 3 時間	0
	"		HVJ + PBS		0
	※ PBS + 血球		HVJ + 補体		73
	"		HVJ + PBS		41
②	HVJ + 血球	4°C 1 時間作用後 洗 滌	補体	37°C 3 時間	79
	"		PBS		34
③	補体 + 血球	37°C 3 時間作用後 洗 滌	HVJ + 補体	37°C 3 時間	68
	"		HVJ + PBS		42
	PBS + 血球		HVJ + 補体		67
	"		HVJ + PBS		42

※：緩衝食塩水

結果は第 12 表に示した。HVJ をもつて充分溶血せした血球に HVJ を加えても溶血は最早みられない。この時同時に補体を加えても同様に溶血は起らない。このことはウイルス粒子が赤血球に働いて表面の Receptor を完全に破壊したために続いて HVJ を加えても吸着されず、したがって遊出、溶血が起らなかつたためと考えられる。すなわち赤血球にウイルスが吸着した時に補体が恐らく結合して溶血が増強されるものと思われる。

b) HVJ 吸着赤血球の溶血におよぼす補体の影響

安井株感染漿尿液に 2% 鶏赤血球浮遊液を同量加え 4°C に 1 時間放置後遠心し、沈渣の赤血球を低温環境で冷却した緩衝食塩水をもつて洗滌してから、補体食塩水と緩衝食塩水中に 2% になるように再浮遊した。ついで 37°C、3 時間温水に保つてから遠心し、上清の溶血価を測定した。

第 12 表 ②にみられる如く、HVJ がすでに赤血球に吸着してから補体食塩水を加えた場合も明らかに溶血性の増強がみられる。このことからウイルス粒子が血球へ吸着した後に補体を加えても、補体はウイルスの溶血作用を増強することを示している。

c) 赤血球の補体処理の HVJ 溶血におよぼす影響

30 倍稀釈補体食塩水に洗滌鶏赤血球原液を 2% に浮遊せしめ、37°C の恒温槽に 3 時間保つてから遠心後、沈渣の赤血

球を冷却した食塩水をもつて低温で充分洗滌した。別に緩衝食塩水中において同一過程で処理した赤血球を対照においた。次に補体食塩水と緩衝食塩水で2倍に稀釈した感染漿尿液にこれらの血球を2%になるように再浮遊し37°Cの恒温槽に3時間おいた後遠心し、上清の溶血価を測定した。

第12表⑨にみられる如く、予め補体で赤血球を処理しても、非処理赤血球とHVJによる溶血度には全く差はみられない。しかも両者とも遊出メジウムに加えられている補体によつて同程度の溶血の増強がみられた。これらのことから補体は単独で赤血球表面に働いて溶血を増強せしめるのではなく、補体がHVJと同時にメジウムに存在する時のみ増強作用が起るものと考えられる。

以上の実験から補体がHVJの溶血能を増強する作用時期はウイルス粒子が赤血球のReceptorに吸着する時、同時にメジウムに存在しているか、あるいは第12表②の実験結果の如くウイルス粒子が血球に吸着された後にメジウムに加えられても起る。ただし赤血球表面のウイルス粒子に対するReceptorが完全に破壊された後にはウイルス粒子と補体を加えてももはや作用しない。

2 抗血清

HVJ, 安井株, 田無株およびM-N株の感染漿尿液とそれぞれの株の抗血清をもちいて、各抗血清の溶血におよぼす影響およびその機序を検討した。

8本ずつ3列の小試験管を立て第1列の第2管より第8管まで緩衝食塩水を1.5ccずつ加える。予め8倍に稀釈した抗血清を各列第1管に0.5ccずつ、第1列第2管に1.5cc加える。

第1列第2管をよく混合し、0.5ccずつ第2列および第3列の第2管へ、1.5ccを第1列の第3管に移す。かくして各管0.5ccを容れた全く同等の2倍階段稀釈系列が3列えられる。次に前述のHVJ3株の感染漿尿液をそれぞれ第1列、第2列および第3列の各管に0.5ccずつ分注し、よく振盪混合してから4°Cに一夜放置した。

翌日各試験管に2%鶏赤血球浮遊液を1ccずつ加え、振盪混和し、37°Cの温水中に3時間おいてから前述の方法によつて溶血価を測定した。

3株の抗血清についておこなつた交叉赤血球凝集抑制試験の成績は第13表に示す通りである。

抗原には4凝集単位の感染漿尿液を使用した。同表にみられる如く3株の免疫血清の各々はすべての株を同一稀釈

第13表 交叉的赤血球凝集抑制反応

ウイルス 抗血清		ウイルス		
		安 井	田 無	M-N
安	井	※ 1,024	1,024	1,024
田	無	512	512	512
M-N		1,024	1,024	1,024

※: 赤血球凝集抑制値

第14表 HVJ 3株の溶血性と各抗血清との関係

HVJ	抗血清	溶 血 価								食塩対水 対照	
		32	64	128	256	512	1,024	2,048	4,096		
安井	安井	0	※ 3	5	6	7	9	13	27	45	0
田無	〃	0	0	5	6	7	11	39	49	49	0
M-N	〃	0	4	7	7	10	12	37	59	70	0
安井	田無	0	0	0	7	11	19	35	35	38	0
田無	〃	0	0	0	10	12	16	49	49	49	0
M-N	〃	0	0	0	12	14	31	56	56	66	0
安井	M-N	0	0	5	6	7	10	11	21	45	0
田無	〃	0	0	0	4	5	10	14	37	49	0
M-N	〃	0	0	6	7	10	11	17	41	70	0

※: 溶血度パーセント

において抑制している。

次に同じ血清について3株のMVJの溶血との関係を見みると、各株の免疫血清の各々は大体同一稀釈濃度においてすべての株の溶血を阻止している。(第14表)たとえば安井株抗血清は安井株の溶血を64倍稀釈前後において阻止しているが、田無株は256倍、M-N株は128倍稀釈前後において溶血が阻止されている。この結果は交叉的赤血球凝集抑制試験の成績とよく平行一致している。したがって溶血阻止現象からみても各株は同じ抗原性を有するものと思われる。

以上の実験はウイルス粒子に抗血清を予め作用させてから赤血球を加えたのであるが、次にウイルスをさきに血球に吸着させてから抗血清を加えてその溶血におよぼす影響をしらべた。

予め同一ウイルスについて2倍階段稀釈液を0.5ccずつ容れた6列の試験管を用意した。次に各試験管に4%鶏赤血球浮遊液を0.5ccずつ加え、4°C1時間放置し、全管に赤血球凝集像を確かめてから各系列に5-0, 5-1, 5-2, 5-3, 5-4, 5-5稀釈の各株に対応する抗血清を1ccずつ加え、これを4°Cに一夜放置した。翌日これらの試験管を充分振盪混和後37°Cの恒温槽に3時間保つた後、型の如く溶血価を測定した。

第15表に示す如く、前実験と異りウイルスを赤血球に吸着せしめた後に抗血清を加えると、大体溶血阻止はみとめられない。ただし抗血清の高濃度の部分では幾分溶血は阻止されているのみとめるが、これは対照においたM-N株(3株のうちでは溶血能が最も大である)の溶血と正常鶏血清との関係から推察されるように、鶏血清中の非特異的な成分が溶血阻止的に働くものと考えられる。

HVJ免疫血清をもちいた第1の実験における溶血阻止はウイルス粒子が抗体と結合したために起ると考えられるが、抗体と結合したウイルス粒子が赤血球へ吸着するかどうかは不明である。換言すれば抗体の溶血阻止は抗体と結

合したウイルス粒子が赤血液へ吸着しないためによるか、あるいは吸着してもなお溶血は阻止されるものか明らかでない。第2の実験では HVJ の血球への吸着後に抗体を与

えても溶血阻止が起らないことを示している。このことはウイルス粒子は抗体が存在していても赤血球から遊出し、そのときは抗体はもはや溶血阻止的には働かないことを意味している。

第15表 赤血球吸着 HVJ と免疫血清との関係

HVJ	免疫血清	溶血価						食塩水対照	血清対照	
		ウイルス希釈倍数								
		8	16	32	64	128	256			
安井	安井	5-1	10*	8	7	7	4	4	-	0
"	"	5-2	10	8	8	5	4	4	-	0
"	"	5-3	11	11	10	8	8	6	-	0
"	"	5-4	12	11	10	10	6	5	-	0
"	"	5-5	13	13	12	12	11	6	-	0
"	"	0	20	17	15	12	11	6	0	-
田無	田無	5-1	18	17	14	13	12	-	-	0
"	"	5-2	19	18	17	16	15	-	-	0
"	"	5-3	27	20	17	16	15	-	-	0
"	"	5-4	29	23	21	19	17	-	-	0
"	"	5-5	26	21	20	17	11	-	-	0
"	"	0	30	23	21	19	13	-	0	-
M-N	M-N	5-1	32	30	26	15	15	14	-	0
"	"	5-2	34	29	24	19	15	10	-	0
"	"	5-3	39	32	32	27	20	12	-	0
"	"	5-4	41	39	34	29	16	15	-	0
"	"	5-5	49	44	34	29	26	20	-	0
"	"	0	59	54	44	39	29	21	0	-
M-N	正常鶏	5-1	45	34	29	26	23	22	-	0
"	(対照)	5-2	54	40	36	35	28	23	-	0
"	"	5-3	54	41	37	36	28	23	-	0
"	"	5-4	54	43	42	36	28	23	-	0
"	"	5-5	59	46	45	36	34	23	-	0
"	"	0	60	55	43	37	34	30	0	-

※：溶血度パーセント

3 赤血球の種類

鶏, モルモット, 人, うさぎ, 羊, 馬の6種類の血球をもちい, HVJ, 安井株, 田無株および M-N 株の感染漿尿液の溶血価と赤血球凝集価を測定した。

溶血価は3株の HVJ 感染漿尿液に等量の各種動物の2%赤血球浮游液を加え, 37°C, 3時間恒温槽に保つてから遠心し, 上清について測定した。赤血球凝集価は3株の HVJ の感染漿尿液の2倍階段漿尿液の倍数階段稀釈液に各種動物の赤血球の0.5%浮游液を等量加え, 4°Cに1.5~2時間放置後判定した。

第16表 血球の種類と HVJ 溶血に及ぼす影響

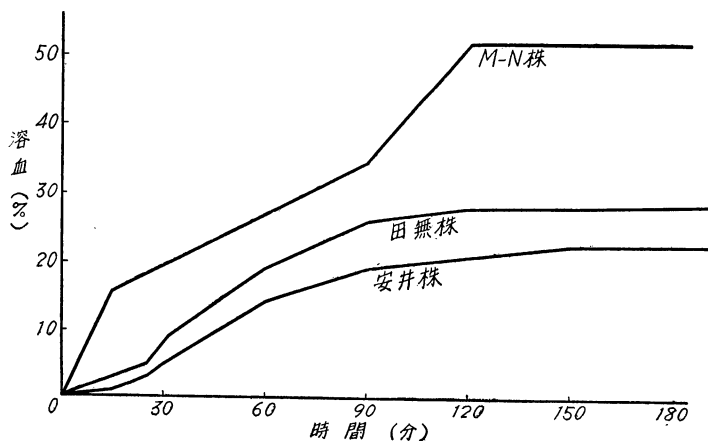
HVJ	血球 Ha & HL価	溶血価					
		鶏	モルモット	人	ウサギ	羊	馬
安井	赤血球凝集価 溶血価(%)	2,048 23	512 29	256 20	512 4	512 3	- 0
田無	赤血球凝集価 溶血価(%)	2,048 24	1,024 81	512 63	1,024 7	512 20	- 0
M-N	赤血球凝集価 溶血価(%)	2,048 50	512 84	512 73	1,024 10	512 17	- 0

結果は第16表に示した。3株の HVJ の溶血の強さは全体として M-N 株が最も大で, 田無株と安井株がこれについている。

これらの株の感染漿尿液に最も溶血されるのはモルモット血球であり, 人, 鶏, 羊の順序でこれについている。一方これらの血球による凝集は溶血の強さと一致せず鶏血球の凝集価が最も高く, 他は大体同程度の稀釈倍数において凝集している。馬血球は HVJ によつて凝集されないが同時に溶血も起らない。

以上のことから HVJ によつて凝集される赤血球は同時

第2図 HVJ 溶血の時間的観察



に溶血されるが、血球の凝集の強さは必ずしも溶血の強さ
と一致せず、また溶血の程度は動物の血球の種類によつて
いちじるしい差のあることがわかる。

IV 溶血の時間的観察

HVJ, 安井株, 田無株および M-N 株の各感染漿尿液 (赤
血球凝集価は各々 2, 048 倍) を数本の試験管に分注してか
ら、同量の 2% 鶏赤血球浮遊液を加え、37°C の恒温槽に入
れ種々な時間に取り出してから遠心し、上清の溶血価を測
定した。

第 2 図に示す如く、3 株のうち M-N 株は溶血の始まる
時間がほかの 2 株より早く、溶血能も大である。また田無
株は安井株よりも幾分溶血度が大である。M-N 株感染漿尿
液は 37°C におかれるとほとんど同時に溶血を開始するが
安井株と田無株は 15 分後によく溶血がみとめられる。
30 分後には 3 株共一旦いちじるしく溶血が増し、その後は
一定の率で上昇する。

2 時間後には 3 株共溶血価は最高に達し、その後は上昇
はみられない。

すなわち全体として HVJ の溶血は 15 分以内に開始し、
その後は一定の率で上昇するが 2 時間後にはピークに達
し、それ以後は溶血が進行しない。

考 察

HVJ の溶血性が MNI 群ウイルスの Mumps, NDV の溶
血性と異なることは凍結、融解における比較実験で一定した
溶血増強の成績がえられなかつたことから推察されるが、
他方 HVJ の溶血性は補体によつて増強されるにもかかわらず
他のウイルスではかかる影響がみられない点からも明
らかである。

HVJ の溶血は Mumps, NDV と同じくウイルス粒子の血球
への吸着後の遊出に伴つて起ると考えられている。ウイル
ス粒子の遊出と溶血を分離する試みは Morgan²¹⁾ が Mumps
について、Sagik²²⁾ 等が NDV についておこなつてい
るが、いずれも成功していない。著者の実験においても加熱、紫
外線的作用、pH の変化等によつては赤血球凝集素と溶血
素を区別することができなかつた。またホルムアルデヒド
をウイルス粒子あるいは血球に作用させたが、ホルムアル
デヒド自身が血球を溶血し易い状態にするため、低濃度の
ホルムアルデヒドをウイルス粒子に作用させたに過ぎなかつ
た。しかし赤血球凝集素あるいは溶血素の一方を失つた
ウイルスをうることはできなかつた。

Chu¹⁸⁾ は Mumps virus について KIO₄ を作用させると
ウイルス粒子の吸着能を保ち遊出能を破壊することができ
るといい、佐藤²⁰⁾ は HVJ 伏見株について同様の結果をえ
ている。いずれも M/50~M/100 濃度においてはウイルス
の遊出能は失われており、同時に溶血もみられない。著者
は HVJ, 安井株をもちい M/100 濃度において同様な結果
をえた。

HVJ の溶血能がエーテル処理により失われることはす
でに松本²³⁾ によつて報告されている。吉田²⁴⁾ は HVJ の溶
血能が lecithinase activity によるものであることを想定し
て実験したが証明できなかつた。著者は HVJ 安井株のエ
ーテル処理により遊出能は保たれているが溶血性を失つた
ウイルス粒子をえたが、このことからウイルス粒子の溶血
に与える部分はエーテルによつて破壊されるか、あるいは
ウイルス粒子から遊離するものと考えられる。一方赤血球
凝集素はエーテル処理によつて全く影響を受けないことは
Influenza virus の場合と同様である。

凍結融解の操作による溶血性の増強はすでに Mumps¹⁸⁾
と NDV²⁰⁾ について観察されており、一方 HVJ の凍結融
解については保坂等¹⁹⁾ が Z 株について発表している。A.
Granoff & W. Henle¹⁷⁾ は NDV の溶血性が凍結融解によ
つて増強されることについて、その機序は不明であるが恐
らくこの操作がウイルス粒子の表面に変化をもたらすか、
表面から抑制物質を除去するか、あるいはウイルス粒子を
細かな hemolytic units に迄破壊するためであろうと仮定
している。

著者は HVJ の溶血性と inhibitor との関係をみる目的で
最初に正常漿尿液、次に感染漿尿液の inhibitor をもちい
て実験した。正常漿尿液中には溶血と赤血球凝集を阻止す
る inhibitor が含まれており、これらの inhibitor は 10 回
凍結融解を繰返しても除かれない、正常漿尿液中の赤血球
凝集阻止の inhibitor については教室の押見²⁰⁾ の報告があ
るが、溶血阻止の inhibitor の本態についてはまだ知られて
いない。また感染漿尿液中には赤血球凝集阻止の inhibitor
はないが溶血阻止の inhibitor は正常漿尿液とほぼ同程度
に証明され正常漿尿液と同じく凍結融解を繰返しても破壊
されない。これらのことから HVJ, 感染漿尿液の凍結融解
を繰返してもその中に含まれている溶血阻止の inhibitor
の量は処理前と変わらないと考えられるから、HVJ の溶血性
の増強と以上の実験でみとめられた溶血阻止の inhibitor
とは関係がないと思われる。

一方凍結融解処理を受けたウイルス粒子の血球への吸
着、遊出と溶血増強の関係をみるに遊出メジウムが緩衝食
塩水の時では凍結融解による溶血能の増強をみとめるが、遊
出メジウムが正常漿尿液であるときにはこの溶血能の増強
はみられない。

ウイルスと補体の関係については Morgan¹⁷⁾ の西部馬脳
脊髄炎ウイルスの中和試験に関する報告があるが、ウイル
スの溶血との関連についての報告はない。すなわち補体は
HVJ と協同的に働いて溶血を増強することのみとめた、し
かし補体単独ではもちろん溶血作用はない。補体は最初か
ら HVJ と共に同じメジウム中にあつても、あるいは最初に
HVJ を血球に吸着せしめた後未だウイルスが遊出しないと
き補体を加えても共に溶血増強的に働く。しかしウイルス
が遊出した後の赤血球に補体を与えても溶血は起らない。

これらのことから補体の作用部位は HVJ の吸着する Receptor と同一であろうと考えられる。

溶血を時間的に観察すると 3 株の HVJ のなかでは M-N 株の溶血性が最も大であつて、田無株、安井株がこれにつき、時間的に 3 株の示す溶血値は一定していない。また各種動物の血球をもちいた実験においても、同一の血球をもちいてもそれぞれ異つた溶血値がえられた。これらのことから 3 株のウイルス粒子の酵素作用の活性度もそれぞれ異なるものと考えられる。また 3 株の感染漿尿液とそれぞれの免疫血清をもちいて交叉溶血阻止反応をおこなつたが、全く同じ交叉反応を示し、これは交叉赤血球凝集抑制反応にかけるとほぼ同一の成績であつて各株の抗原性の差はみとめられなかつた。すなわち HVJ は抗原性の上から均一性と考えられているがこれは溶血阻止からも知られた。

結 論

主として HVJ、安井株感染漿尿液をもちい、HVJ の溶血について検討し次の結果をえた。

1 溶血性と赤血球凝集性は 50°C、10 分の加熱で同時に失われる。

2 紫外線の 40 分間照射によつて溶血性と赤血球凝集性は同時に失われるが、後者の方が幾分抵抗があるようである。

3 凍結、融解を 10 回繰返すことによりウイルスの溶血能は増強する。感染漿尿液中に溶血阻止性の inhibitor があるが凍結、融解による溶血能増強はこの inhibitor の破壊ではない。

4 溶血の至適 pH は 7.0 であつて、pH 4.0 以下および pH 9.0 以上では溶血性と赤血球凝集性の両方が失われる。

5 感染漿尿液のエーテル処理により赤血球凝集能および遊出能は有するが、溶血能を失つたウイルス粒子をえた。

6 ホルムアルデヒド処理によつて、遊出能あるいは溶血能の一方のみを有するウイルス粒子はえられない。

7 M/100 KIO₄ の処理によりウイルスは遊出能を失うが同時に溶血能も失われる。

8 一定濃度の補体は HVJ の溶血を増強するが、それはウイルス粒子が血球へ吸着した後であると考えられる。

9 予めウイルス粒子が抗血清と結合してから赤血球を加えると溶血阻止がみられる。しかし一旦ウイルス粒子が血球に吸着後に抗血清を加えても溶血阻止はみられない。

10 HVJ によつて凝集される赤血球は同時に溶血を示すが、その程度は動物の種類によつていちじるしく異なる。

11 HVJ の溶血はおそくとも 15 分以内に始り、2 時間で最高に達し、その後は増強はみられない。

稿を終えるに臨み、終始御懇篤な御指導を賜つた山田守英教授に感謝致します。

文 献

- 1) Burnet, Mc Crea & Stone : Br. J. Exp. Path., 27, 228 (1946)
- 2) Friedenrich : Acta Path. Microbiol. Scand., 5, 59 (1928)
- 3) F. M. Burnet & J. D. Stone : Aust. J. Exp. Biol. & Med. Sc., 25, 227 (1947)
- 4) G. K. Hirst : J. Exper. Med., 91, 2, 161 (1950)
- 5) Taylor R. M. : Am. J. Pub. Health., 39, 171 (1949)
- 6) G. K. Hirst : J. Exper. Med., 91, 2, 177 (1950)
- 7) 西川, 北山, 福見 : 日本細菌学会雑誌, 9, 85 (1954)
- 8) 黒屋, 石田, 白取 : ウイルス, 3 巻, 4 号 (1953)
- 9) 山田, 市橋 : 小児科臨床, 7 巻, 12 号 (昭和 29 年)
- 10) 深井他 : ウイルス, 5 巻学会特別号 (1955)
- 11) 笹原他 : ウイルス, 4 巻, 2 号 (1954)
- 12) 厚生省編纂 : 衛生検査指針, 1 (VII) (1957)
- 13) 山田他 : ウイルス, 2 巻, 3 号 (1952)
- 14) 山田他 : 小児に多発せる 髄膜炎様疾患の病原に関する研究未発表
- 15) 福見 : 第 2 回日本ウイルス学会東日本支部学会 演説要旨 (1956)
- 16) Keith E. Jensen & Thomas Francis Jr. : J. Exper. Med., 98, 619 (1953)
- 17) Allen Granoff & Werner Henle : J. Immunol., 72, 322 (1954)
- 18) Chu, L. W. & Morgan H. R. : J. Exper. Med., 91, 393 (1950)
- 19) 保坂その他 : 第 5 回日本ウイルス学会抄録 (1957)
- 20) 佐藤 : ウイルス, 8 巻, 1 号 (1953)
- 21) Masao Morimoto & Herbert R. Morgan : P. S. E. B. M., 86, 795 (1954)
- 22) Bernhard Sagik & Seymour Levine : Virology., 3, 401 (1957)
- 23) 松本 : 第 5 回日本ウイルス学会報告 (1957)
- 24) 吉田 : ウイルス, 8 巻, 4 号 (1958)
- 25) Liu C. : P. S. E. B. M., 81, 646 (1952)
- 26) 押見 : 北海道医学雑誌, 29 巻, 3 号 (昭和 29 年)
- 27) Morgan I. M. : J. Immunol., 50, 359 (1945)