

Behçet 氏病病原體に関する研究

第1報 發育鶏卵漿尿膜接種による Behçet 氏病ウイルスの分離

久留米大学 医学部 微生物学教室 (主任 中川洋教授)

中 川 洋 新 宮 正 久

緒 言

Behçet 氏病とは、トルコの皮膚科医 Behçet¹⁾ がそれまでは結核、梅毒、関節リウマチ、ブドウ球菌によるアレルギー様疾患の合併症と考えられていた前房蓄膿性虹彩炎、口腔粘膜のアфта様潰瘍及び陰部潰瘍を一つの症候群とみなし、おそらく或種のウイルスによりひきおこされる独立の疾患ならんと定義したのによるものである。

この Behçet 氏病の症状は前房蓄膿性虹彩毛様体炎、口腔粘膜のアфта様潰瘍、外性器の再発性潰瘍を三主症状とする外、血栓性静脈炎、結節性紅斑、癩などに似た発疹、関節痛を伴い、約1カ月毎に発作的に病状悪化を来し遂には失明に至ることもある極めて予後不良の疾患である。

この Behçet 氏病は、我が国では従来、1例報告が少数なされていたのみであるが、最近この症例報告例は漸次増加の傾向を示し特に北九州、筑後地方には患者の多発をみるようである。

本ウイルスの分離は Sezer²⁾³⁾⁴⁾ 及び Evans⁵⁾ により成功が報告されているのみである。我々は久留米大学附属病院松藤内科教室及び眼科教室と飯塚市飯塚病院に入院した典型的の Behçet 氏病患者4名よりウイルス分離を試みた。

実験材料及び方法

○發育鶏卵：白色レグホンの受精卵を購入し教室にて38°Cの孵卵器におさめ毎日回転しつつ11日乃至13日孵化して用いた。

○病的材料接種法並に観察：病的材料は抗生物質を添加(後述)して發育鶏卵漿尿膜上に横位法(気室転換法)を用いて接種した。ウイルス接種

後37°Cに保温し、2乃至3日後漿尿膜をとり出し、生理食塩液でよく洗つた後1%ホルマリン水に入れて黒い紙を下にして膜を観察した。感染価の測定はウイルス感染漿尿膜を燐酸緩衝生塩水で 10^{-5} 、 10^{-6} 、 10^{-7} 、……の如く10倍段階稀釈し、その0.05mlを各稀釈段階別に夫々4乃至5コの卵の漿尿膜接種を行い、膜上の結節形成を観察し終末点を判定した。その EID₅₀(50%卵感染量)を求めて感染価とした。

○マウス：マウスは生後3乃至4週(体重約10g)、及び5gマウスの健康なものを使用した。

○家兎：体重2kg前後の健康なる白色家兎を使用した。

実験成績

I. 患者病巢よりウイルスの分離

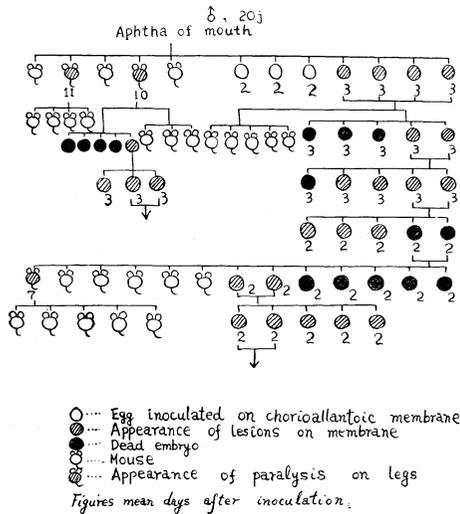
第1例. 21才. ♂. 学生.

久留米大学附属病院松藤内科教室に腎盂炎及び術後腹腔内化膿性炎症の疑いで入院加療中、昭和31年2月頃より口内頬粘膜の潰瘍形成、陰囊の潰瘍形成、下腿における結節性紅斑、眼球及び眼瞼結膜の充血等の Behçet 氏症候群を呈し、この病状悪化の発作を1カ月毎に反復して次第に Behçet 氏病の三症候を完成して来た。発病後約1年に当る昭和32年3月6日に病状が発作的に悪化したので、アфта内容液を採取し、ペニシリン 500u./ml、ストレプトマイシン2.5mg/mlを加えて5gマウスと11日發育鶏卵漿尿膜を用いて分離を試みた。その成績は図Iに示した。すなわち、發育鶏卵培養では發育鶏卵漿尿膜接種後37°C保温2乃至3日で初代においては軽度の膜肥厚を示すのみの病変

であるが、2代目より毎常、漿尿管に小出血斑を伴う小粟粒大結節と膜肥厚とが表われた。膜肥厚はしばしば数mmに達し、漿尿管の血管は細くなり、殆ど血管が目立たなくなるのが常であつた。継代するにつれ死卵が増加したが、接種ウイルス量を稀釈することにより死卵発生を防ぐことが出来た。この死卵の細菌検索は常に陰性であつた。一方マウス脳内接種により7乃至10日の潜伏期で完全な四肢麻痺を起して斃れたマウスがあつたが、このマウス脳への継代は不成功に終つた。しかしこの麻痺を起したマウス脳乳剤を11日發育鶏卵漿尿管膜に接種したところ典型的な膜肥厚と小粟粒結節形成をみる事が出来たし、これは又漿尿管接種によつて継代することが出来た。

更にこの患者の血液より同様の方法でウイルスの分離を試みて、同様に漿尿管に小出血斑をもつ結節と膜肥厚を形成するウイルスを分離することが出来た。

図 I Isolation of infective agent (1)

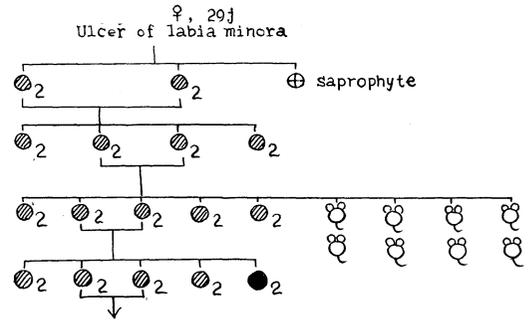


第2例. 29才. ♀. 主婦.

飯塚病院産婦人科を訪れた患者で昭和32年3月頃より眼球及び眼瞼結膜の充血、視力減退、潰瘍性口内炎、外陰部潰瘍、結節性紅斑等の Behcet 氏症候群を呈し、これらの症状は1カ月毎に悪化をくりかえした。昭和32年5月13日この患者の主

要病変部である小陰唇の潰瘍部の滲出液よりウイルスの分離を試みた。患者の小陰唇潰瘍部滲出物を採りペニシリン 500u./ml, ストレプトマイシン 2.5 mg/ml を加えて11日發育鶏卵漿尿管膜を用いて分離を試みた。發育鶏卵漿尿管膜接種後37°C 2日間培養で、初代においてやゝ膜肥厚を示し2代目より毎常漿尿管に小出血斑を伴う結節形成と膜肥厚を形成するウイルスを分離し、これを継代することが出来た。その成績は図 II に示した。

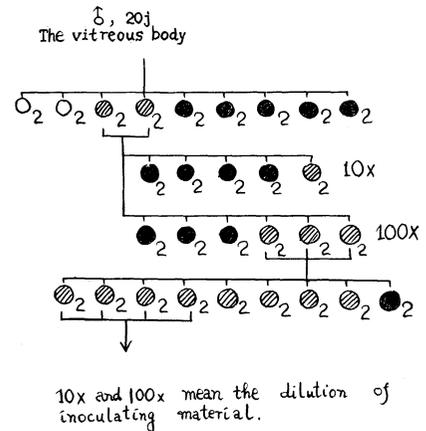
図 II Isolation of infective agent (2)



第3例. 20才. ♂. 学生.

昭和31年1月突然視力障害を来し硝子体混濁、神経症といわれ治療をうけ一進一退のまゝであつたが、昭和31年9月より悪化を来した。昭和33年1月27日本学眼科教室に入院した。その際中心性網膜炎、硝子体混濁の症状があつた。更に

図 III Isolation of infective agent (3)



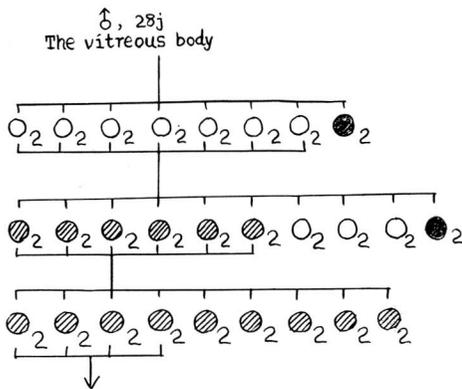
眼結膜も軽度の充血混濁を示し、口腔粘膜にアフタをみとめた。3月1日陰囊に潰瘍形成したので3月3日その潰瘍を切除しウイルス分離を試みた。

3月25日より右眼前房蓄膿をみとめ悪化のきざしがあつたため3月28日右眼球摘出を行つた。その摘出眼球的硝子体の分与をうけウイルス分離を試みた。その成績は図Ⅲに示した。なお外陰部潰瘍からのウイルスの分離も成功しているがその図は割愛した。

第4例. 28才. ♂. 会社員.

昭和29年4月より眼症状を発し一進一退で治療することなく経過したが昭和30年1月悪化を来たし始め、発作を反復しつつ昭和32年6月25日前房出血を来たし、昭和32年3月19日、4月21日、6月1日、9月9日、11月23日と反復し前房蓄膿をみとめた。昭和33年4月14日眼症状悪化を来たしたため本学眼科教室に入院し、右眼球摘出を行つたので、この摘出眼球的硝子体の分与をうけウイルス分離を試みた。その成績は図Ⅳに示した。

図Ⅳ Isolation of infective agent (4)



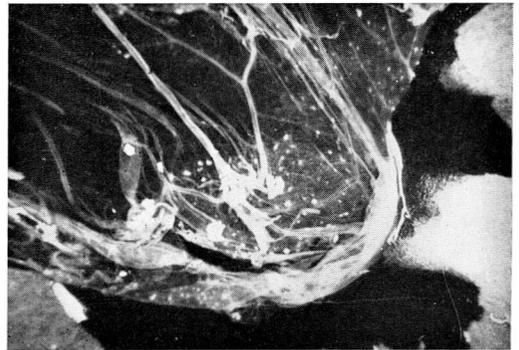
Ⅱ. 分離ウイルスの検討

1. 漿尿膜に於ける病変の所見と力価

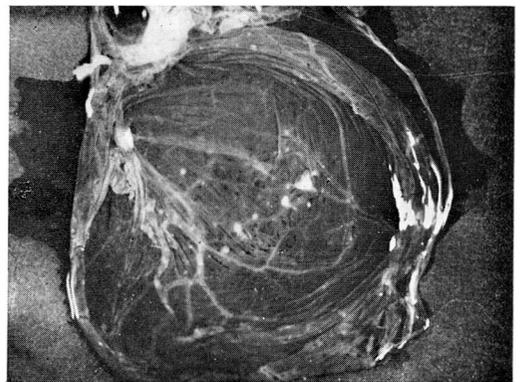
この分離ウイルスは11日孵化発育鶏卵漿尿膜に接種後37°Cに保温することにより、2乃至3日で漿尿膜の2mm内外に及ぶ肥厚とその中に散在する小結節形成を出現させる。結節の直径は0.5乃至1mmであるが、それ以上に及ぶもの時にはみること

が出来る。この結節は融合していることが多いが、 10^{-5} ~ 10^{-6} 程度稀釈して接種すると孤立した結節(P型:結節形成型)を見ることが出来る。然しそれ以上稀釈するとD型(瀰漫型)をとることがある。P型及びD型の写真はそれぞれ写真Ⅰ及びⅡに示した。

写真Ⅰ. The lesion in the chorioallantoic membrane caused by the virus. (pock formation form)



写真Ⅱ. The lesions in the chorioallantoic membrane caused by the virus. (diffuse form)



このP型とD型とは同時に出現することもあれば、P型のみ出現することもある。膜肥厚部の血管はしばしば非常に細く時には全く血管をみとめることが出来ないことがある。しかし結節部は中心に小出血斑をみることが多い。顕微鏡下の観察では結節部の中央部に壊死巣を有しその周囲に単核球様細胞の著明な集合をみとめることが出来る。EID₅₀(50%卵感染量)を測定したが、37°C

で48時間保温することにより漿尿膜においては $10^{-8.5} \sim 10^{-9.5}$ (漿尿膜0.05g当り), 漿尿液においては $10^{-8.0}$ (漿尿液0.05g当り)程度増殖した. この価はかなり高い価であるが教室保存のインフルエンザ・ウイルスPR 8株を対照として, それぞれ漿尿膜のEID₅₀(インフルエンザ・ウイルスでは血球凝集反応により感染の有無を判定し, Behçet氏病ウイルスでは結節形成で感染の有無を判定した)と, 漿尿膜の1cm²の2片をHanks液2ml, 牛血清1mlに浮遊せしめた組織培養におけるTID₅₀(インフルエンザ・ウイルスでは血球凝集反応により感染の有無を判定し, Behçet氏病ウイルスではイ・ウイルスとの干渉現象*を利用して感染の有無を判定した)とを測つて比較したところ, 表Iに示すように, イ・ウイルスでもBehçet氏病ウイルスでもTID₅₀はEID₅₀より4オーダー低く, TID₅₀でもEID₅₀でもBehçet氏病ウイルスの方がイ・ウイルスより約2オーダー高い感染価を示していた. 勿論判定方法は異なるから厳密な意味では比較は出来ないが漿尿膜に対するウイルスの親和度という点ではある程度の比較が出来るであろう.

表 I. Comparison of EID₅₀ and TID₅₀

VIRUSES	EID ₅₀	TID ₅₀
Influenza virus	$10^{-7.5}$	$10^{-3.5}$
Behçet's virus	$10^{-9.5}$	$10^{-5.5}$

2. 細菌学的検査

感染漿尿膜塗抹標本についての一般細菌染色検査と感染漿尿膜乳剤の一般細菌培地への培養とを毎常行つてみたが, 細菌の検出は毎回陰性であった.

なお, 阪大微研藤野氏の示唆であるPPLOの検出も特に入念に行つたが陰性成績に終つている.

3. 濾過試験

この分離したウイルスは濾過試験においてSeitz EKを通過することを知つた. 2及び3の成績から本病原体をウイルスと考えて差支えないであろう.

* Behçet氏病ウイルスとインフルエンザ・ウイルスPR 8株との間には干渉現象がみられるが, これは教室の高石によつて発表される.

4. 限外濾過法による分離ウイルスの大きさの測定.

グラドコール膜の作製, 孔径の測定及び濾過法はすべてElford⁶⁾の原法に準じた中川⁷⁾の記載に従つた. グラドコール膜の孔径306, 126, 120, 97, 81, 61, 48及び26m μ のものを用意して, 10^{-3} に稀釈した漿尿膜継代松村株を用いて濾過試験を行い, 11日孵化発育鶏卵漿尿膜に2代にわたり接種継代しウイルスの存否を判定した. その成績は表IIに示した.

表 II. Measurement of virus particles by ultrafiltration.

P. m μ	306	126	120	97	81	61	48	26
1st passage	## PP	## PP	## PP	++ dd	++ dd	++ dd	++ dd	++ dd
11nd passage	## PP	## PP	## PP	++ dd	++ dd	++ dd	++ dd	++ dd
11nd passage	## P	## P	## P	-	-	-	-	-
	## P	## P	## P	-	-	-	-	-

p.....Pock formation form
d.....Diffuse form

すなわち120m μ 以上の大きさの孔径のグラドコール膜を用いた場合, 第1代の漿尿膜には結節形成型が表われた. この漿尿膜乳剤を2代目の卵の漿尿膜に継代したがやはり結節形成型が表われた. しかるに97m μ 以下の大きさの孔径のグラドコール膜においては, 第1代の漿尿膜に瀰漫型が表われた. これが濾過ウイルスによるものか否かを確かめるために, この漿尿膜乳剤を2代目の卵に継代したが, 瀰漫型も又結節形成型もみとめなかつた. 故に濾過終末点は97m μ となり, 従つてウイルスの大きさは32~49m μ となるが限外濾過によるこの大きさについては更に詳細なる検討を行うつもりである. 又瀰漫型の出現はウイルス毒素の存在を思わせるがなお検討を要する問題であろう.

5. 耐熱性の検討

この分離ウイルスは56°C30分の加熱によつてすでに漿尿膜に対しても家兎前眼房に対しても病変を現わすことはなかつた.

表 III. Neutralization tests of the Behçet's Virus (1)

VIRUS STRAINS	SERA	EID ₅₀	LOG. DIFF.
MATSUMURA	patient (Matsumura*)	10 ^{-5.5}	-1.5
	normal	10 ^{-7.0}	—
	patient (Fujiyama)	10 ^{-7.5}	-1.5
	normal	10 ^{-9.0}	—
FUJIYAMA	ulcus vulvae simplex	10 ^{-9.5}	—
	normal	10 ^{-9.0}	—
	patient (Matsumura**)	10 ^{-7.0}	-2.0
	patient (Fujiyama)	10 ^{-4.5}	-2.5
	normal	10 ^{-7.0}	—
	normal ulcus vulvae simplex patient (Matsumura**)	10 ^{-9.0} 10 ^{-9.25} 10 ^{-6.5}	— — -2.5

* Serum obtained at the peak of symptoms

** Serum obtained during the period of convalescence

6. 封入体の検索

感染漿尿膜の塗抹標本及び連続切片標本をGiemsa染色, Seller染色及びヘマトキシリン・エオジン染色法を行つて封入体を検索したが, 細胞原形質内封入体も核内封入体も見出すことは出来なかつた。

7. 患者血清及び免疫血清による中和試験

まず松村株, 藤山株のウイルスに対する正常人血清及び患者血清の中和試験を行つた。まずウイルスを10⁻²より10⁻¹⁰まで稀釈し, それに等量の非働性被験血清2倍稀釈液を加え4°Cで60分放置し, そのウイルス血清混合液を0.05mlづつ各群4コの卵の漿尿膜に接種しEID₅₀を求めた。その成績は表Ⅲに示した。すなわち2株のウイルスはいずれも単純性潰瘍患者及び正常人血清によつては中和されなかつたが, 松村・藤山両患者血清によつては中和対数1.5~2.5で中和された。又同一患者では症状の極期血清よりも回復期血清の方がより著明に中和する成績を得た。又松村株ウイルスは藤山の血清により, 藤山株ウイルスは松

村の血清により夫々中和される成績が得られて松村株・藤山株両株間の中和交叉試験は陽性であつた。

次に後藤株及び森株のウイルスに対する家兎免疫血清及び患者血清の中和試験を行つた。その成績は表Ⅳに示した。すなわち後藤株, 森株のウイルスはいずれも松村株免疫血清, 後藤株免疫血清により著明に中和された。又藤山株免疫血清によりやゝ中和される成績をえた。かくして分離した

表 V. Neutralization tests of the Behçet's virus (3)

SERA	VIRUSES	Behçet's virus (E-14* (Matsumura))	Herpes simplex virus (HF 410)
	Anti-Behçet's virus rabbit serum		-3.1
Anti-Herpes simplex virus rabbit serum		0	-2.4

* E-14 means the virus of the 14th generation cultured successively on CAM.

表 IV. Neutralization tests of the Behçet's virus (2)

VIRUS STRAINS	SERA	EID ₅₀	LOG. DIFF.
GOTOH	anti-Matsumura immun.	10 ^{-4.8}	-3.7
	anti-Fujiyama immun.	10 ^{-7.5}	-1.0
	anti-Gotoh immun.	10 ^{-5.5}	-3.0
	normal rabbit	10 ^{-8.5}	—
MORI	anti-Matsumura immun.	10 ^{-5.8}	-2.2
	anti-Fujiyama immun.	10 ^{-6.8}	-1.2
	anti-Gotoh immun.	10 ^{-6.5}	-1.5
	normal rabbit	10 ^{-8.0}	—

4株とも血清学的にも同一であるといえよう。

8. Herpes simplex ウイルスとの交叉試験

以上の一般性状より既知のウイルス中で Herpes simplex との鑑別が最も必要と思われた。Herpes simplex⁸⁾ は1919年以来各地で分離が報告され一般性状も殆ど知られていて、大きき96~213 m μ 発育鶏卵の漿尿膜に結節を形成するが結節は比較的大きいものである。マウスに脳炎を惹起せしめ、正常人の血清中に正常抗体の存在がみとめられている。又、核内に Lipschütz 小体なる核内封入体のみとめる点が Behçet 氏病ウイルスとは異なる点である。しかしいずれにしても、Behçet 氏病ウイルスと Herpes simplex ウイルスとはかなり近縁関係にあるものと一応は考えねばならないであろう。

そこで Herpes simplex ウイルス*との交叉試験を行った。まず各ウイルスを10⁻²より10⁻¹⁰まで稀釈し、等量の非働性血清2倍稀釈液を加え4℃で60分放置し、そのウイルス血清混合液を0.05 ml づつ各群4コ~5コの卵の漿尿膜に接種して EID₅₀ を求め、各中和対数を測定した。その成績は表Vに示した。すなわち同種のウイルス血清間では中和対数 3.1, 2.4のかなり高い価で中和を示したが、異種のウイルス血清間では全く中和せず交叉中和試験は陰性であった。

9. 分離ウイルスの動物実験

(i) マウス脳内接種

すでに患者よりの分離の項で記載した如く、5g及び10gマウス脳内接種により7~10日の潜伏期で完全に四肢麻痺を起して斃すことがあるが、このマウス脳の継代はいずれも不成功であった。又漿尿膜に継代しているウイルスを用いて数回にわたりマウス脳内接種実験を反復したが、いずれもマウス脳の継代は成功しなかつた。しかしこの麻痺を起したマウス脳を乳剤として11日孵化鶏卵漿尿膜に接種して典型的な膜肥厚と小粟粒結節形成をみとめ且つ継代することが出来た。

(ii) モルモット腹腔内接種

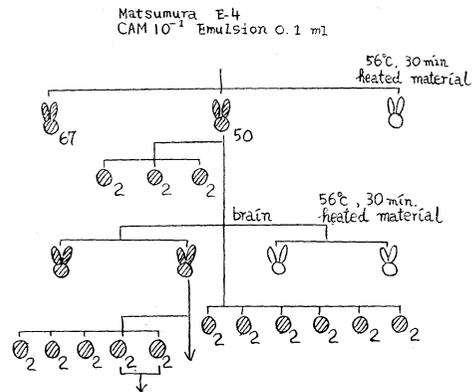
漿尿膜に継代している株をモルモット腹腔内に

接種したが、接種後2~7日の間にモルモットを斃すことを知った。この潜伏期は極めて不規則で、必ずしもウイルスの感染増殖によると思われず、むしろウイルス毒素の存在を示唆する成績を得たが、この問題は、前に記載した限外濾過の成績と共に、今後の詳細なる検討が必要であると思われる。

(iii) 家兎前眼房内接種

漿尿膜に継代している株の10⁻¹乳剤 0.1ml を2匹の家兎の前眼房内に接種し、対照実験として1匹の家兎前眼房内に56℃30分加熱したウイルス乳剤を接種した。加熱材料を接種した家兎には軽度の炎症を惹起したが24時間以内に消失した。非加熱材料を接種した2匹の家兎は接種後24時間頃より強度の眼球、眼瞼結膜の充血を来し、次いで前眼房内に白濁した滲出液を貯め、虹彩肥厚充血を来した。この症状は明らかに滲出性虹彩毛様体炎であり、人における Behçet 氏病の眼症状

図V Passages of the virus in anterior chamber of rabbits



と全く一致する。この前眼房の滲出液を11日孵化発育鶏卵漿尿膜に接種したが、小結節形成をみとめた。この家兎の眼症状は接種後5日目頃より軽快を示し、虹彩後面は水晶体と癒着するのが常であった。この家兎は接種後50日目と67日目に夫々後肢の強直性麻痺を起して斃死した。この斃死家兎の脳をとり出し次の家兎前眼房に接種したが、やはり同様に滲出性虹彩毛様体炎を惹起し、又発育鶏卵漿尿膜には小結節形成をみとめた。しかし

* 予研吉野亀三郎氏の好意により分与された HF 410株

この家兎脳の56°C30分加熱材料を接種した家兎には病変を惹起しなかつた。その成績は図Vに示した。

総括並びに考按

粘膜—皮膚—眼症候群を呈する疾患には多形滲出性紅斑 (Hebra, 1860), Neuman のアフトジス (Neuman, 1895), 再発性前房蓄膿性虹彩炎 (Neuschüler, 1898), 急性陰部潰瘍 (Lipschütz, 1912), Reiter 病 (Reiter, 1916), 多開口部糜爛症 (Ectodermose érosive pluriorficielle) (Rendu, 1916), Stevens-Johnson 病 (Stevens & Johnson, 1922), 皮膚口内炎 (Baader, 1925), Behçet 氏病 (Behçet, 1937), 慢性再発性アフトジス (Kumer, 1937), Franceschetti-Valerio 症候群 (Franceschetti & Valerio, 1947) と列挙すれば多数あるが、これらはいずれも別個の疾患とは考えられず、症状の報告者がそれぞれ名前をつけて報告しているにすぎないと思う。これらの症状を呈する病因については、梅毒、結核のアレルギー説、ブドウ球菌毒素説、膠原病説、ウイルス説とあげられているが、病因がウイルスであろうとの見解をもつていたのは Behçet のみであつた。そこでこの病原ウイルスの分離を行つた我々は Behçet 氏病という名をあえてかゝげたわけである。

我々はこの粘膜—皮膚—眼症候群を呈する4名の患者より1つのウイルスを發育鶏卵漿尿膜に分離したが、このウイルスは次の諸點から Behçet 氏病の病原体であると考えられる。(1) 4例の患者より同一のものと考えられるウイルスを、しかも患者の病巣と関連して5株分離しえた。このウイルスは5株とも分離病巣はそれぞれ異つたが(松村株: 口腔内アグタ: 藤山株: 外陰部潰瘍: 後藤株: 眼球硝子体, 外陰部潰瘍: 森株: 眼球硝子体), いづれも Seitz EK を通ること、發育鶏卵漿尿膜に結節形成型、瀰漫型の病變を呈すること、E I D₅₀ は共に10^{-8.0}以上あること、マウスに腦炎を起すことはあるが繼代は不可能であるという點、家兎の前眼房に接種することにより前房蓄膿を伴つた虹彩毛様体炎を起すこと、モルモット腹腔内接種によりモルモットを斃す事、封入体は見出されないという

こと、血清中和交叉試験では陽性であるということ等から全く同一のウイルスであろうと結論される。

(2) 對照實驗として行つた交感性眼炎の眼硝子体及び單純性外陰部潰瘍の分泌物からはこのようなウイルスは分離しえなかつた。(3) この分離したウイルスは、發育鶏卵漿尿膜に繼代して培養せられ、かつ分離されたウイルスは家兎前眼房内接種により、人と同様な滲出性虹彩毛様体炎を惹起せしめた。(4) 又この發症家兎前眼房水を發育鶏卵に接種することにより小結節を形成するウイルスを分離し繼代しうる。(5) 分離されたウイルスは患者及び恢復期患者血清との間に血清學的反應すなわち中和試験陽性の成績をえた。(6) 病的材料よりはいかなる染色法及び培養法を行つても他の細菌性病病原体と考えられるものを證明し得ない。以上の諸點よりあるウイルスがある疾患の病原体であることを證明する Koch の條件を満足せしめたと考えてよいと思われ、従つてこの病原を Behçet 病ウイルスと結論したのである。

Behçet 氏病原ウイルスの分離に関する報告は、Sezer (Turkey, 1953)²⁾³⁾⁴⁾による眼球内容液及び血液から3株の分離成功例、及び Evans⁵⁾ (England, 1957)による患者腦からの1株の分離成功例が報告されている。これらの分離成功例の原著から、分離ウイルスの一般性狀について我々の分離したウイルスのそれ等とを比較してみると、濾過試験が陽性であるという點、卵の漿尿膜に結節形成がみられるという點、Herpes simplex ウイルスとの交叉試験は陰性であつたと言う點は全く同一であつた。しかし Sezer のウイルスとは、彼のウイルスが、マウスの腦炎が常に表れかつ繼代出来るという點に於て異り、Evans 等のウイルスとは彼等のウイルスが家兎の前眼房接種により病變を起さないという點及びモルモットに病原性がないという點で異つている。これらの異同についての検討は今後に残された問題であらう。

我々の教室ではすでに本分離ウイルスについて一般性狀、中和抗体の正常人血清中の分布、組織培養、血球凝集反應、寒天ゲル内沈降反應、干涉現象、病理組織學的檢討を行つて成績をえているので近く續報として發表される豫定である。

結 論

皮膚—粘膜—眼症候群を呈する4名の患者のアフタ内容液、陰部潰瘍分泌液、眼球硝子体より11日孵化發育鶏卵漿尿膜に膜肥厚と小粟粒結節を形成する病毒を離した。

(1)この病毒は **Seitz EK** を通過し普通の細菌培地に發育しないウイルスと考えられる。

(2)56°C30分の加熱で不活化された。

(3) EID_{50} (50%卵感染量) は漿尿膜において $10^{-9.5}$ ~ $10^{-8.5}$ であり漿尿液においては $10^{-9.0}$ 内外であった。

(4)漿尿膜では封入体を形成しない。

(5)この病毒は、患者血清により中和指數 1.5~2.5で中和されたが、正常人血清、**Herpes simplex** 患者血清、單純性外陰部潰瘍患者血清では0.5以下であり中和されなかつた。

(6)**Herpes simplex** ウイルスとは血清學的に全く異なるものである。

(7)この病毒はマウス腦炎を初代で起してマウスを斃すことがあるが、2代目への繼代は不可能であつた。

(8)モルモット腹腔内接種により斃死せしめる。

(9)家兎の前眼房接種により、人の病變と類似の前房蓄膿を伴つた滲出性虹彩毛様体炎を惹起

し、接種後50日後に後肢の強直性麻痺を起して斃死させた。對照實驗として加熱材料を接種した家兎には、これらの症狀はみとめられなかつた。

(10)感染した家兎前眼房水及び發病斃死家兎腦から漿尿膜に結節を形成する病毒を分離することが出来、又之を繼代することが出来た。

以上の成績より **Behçet** 氏病ウイルスを分離したものと結論した。

主要文献

- 1) H. Behçet: Ueber rezidivierende, apthöse, durch ein Virus verursachte Geschwüre am Mund, am Auge und an den Genitalien. *Dermat. Wchnschr.* 105, 115, 1937. —2) F. Necdet Sezer: The isolation of a virus as the cause of Behçet's disease. *American Journal of Ophthalmology*, 36, 301—315, 1953. —3) F. Necdet Sezer: Further investigation on the virus of Behçet's disease. *American Journal of Ophthalmology*, 41, 41—55, 1956. —4) F. Necdet Sezer: Investigation on the virus of Behçet's disease. *Acta XVII Conc. Ophthalm.*, 170—177, 1954. —5) A.D. Evans, C.A. Pallis & J. D. Spillane: Involvement of the nervous system in Behçet's syndrome report of three cases and isolation of virus. *Lancet*, 6991, 349—353, 1957. —6) Elford: Ultrafiltration analysis. *Handbuch d virusforsch I Haelfte*, 128, 1938. —7) 中川洋: 補体構成成分に関する研究, 血清学免疫学雑誌, 1, 521—529, 昭15. —8) T.F. McNair Scott: *Herpes simplex, Diagnostic procedures.* 313—340.

Studies on the Pathogenic Agent of Behçet's Disease
Report I. The isolation of the Behçet's disease virus on the
chorio-allantois of developing chick embryos.

Yoh NAKAGAWA & Masahisa SHINGU

Department of Microbiology, Kurume University School of Medicine, Kurume, Japan

(Director: Prof. Yoh. NAKAGAWA)

In this communication a report is made on the isolation of the Behçet's disease virus. The results are summarized as follows.

(1) The new four strains of the agent of Behçet's disease were obtained from the foci (Matsumura strain: aphtha of the mouth; Fujiyama strain: ulcer of the sexual organ; Gotoh strain: ulcer of the sexual organ and the Vitreous body; Mori strain: the vitreous body) of the patients by the inoculation on chorio-allantoic membrane of developing chick embryos.

(2) The agent was inactivated at 56°C for 30 minutes.

(3) The agent passed readily through Seitz EK filter. By the routine staining and cultivating methods no other microbes have been found in the pathogenic material. This agent, therefore, is to be considered as a filtrable virus.

(4) The virus propagates in the fertile egg, especially on the chorio-allantois where it produces small pocks (pock formation form) and diffuse thickness of the membrane (diffuse form) and $10^{-8.0}$ in chorio-allantoic fluid.

(5) Developing chick embryos yield virus titers as high as $EID_{50} 10^{-9.5}$ to $10^{-8.5}$ in chorio-allantoic membrane.

(6) The sera of such patients and immunized animals neutralize specifically the virus when tested by inoculation on the chorio-allantois of developing chick embryos.

(7) The neutralization tests revealed that this virus was not related to herpes simplex virus.

(8) The virus does not show positive pathogenicity to the mouse, but causes death in the guinea pig.

(9) The virus produces an iridocyclitis with hypopyon in rabbits.

(10) No characteristic inclusions have been found in the chorio-allantois infected with the virus.
