

Herpesvirus hominis-II 型感染細胞における 形態学的変化に関する実験的研究

大内 義 智*

(昭和51年12月17日受付)

要 旨

膾細胞診により、稀にしか検出することが出来ない Herpesvirus hominis (以下 HVH) 性器感染の診断に寄与するため、培養細胞およびウサギに HVH-II 型標準株を接種し、多角的に経時的観察を試みた。

1. Papanicolaou 染色による HVH-II 型感染 Vero 細胞の形態学的な経時変化として最初に認められる所見は、細胞質好塩基性の亢進である。以下核クロマチン不均等分布、核不透明化、核クロマチン辺縁付着、多核形成の順で変化が見られる。完全な核小体消失および典型的すりガラス様核の出現は遅れる。

2. HVH 感染の特徴的な諸所見について、出現頻度の検討を試みた。最も特徴的所見といわれる核内封入体は、培養細胞およびウサギ膾細胞診の両者共に、見出すことが出来なかった。多核細胞は高頻度に出現した。培養細胞ではすべての感染単核細胞に、核縁肥厚、すりガラス様核を認めた。核相互 molding の出現頻度は低かった。

3. 細胞化学的染色により、細胞質 RNA 増量および多核形成に関連すると考えられる ATPase や G-6-PDH の著明な活性亢進を示す感染細胞が多数認められた。

4. ウサギ HVH-II 型経膾接種による膾細胞診に最も高頻度に認められた所見は、核縁肥厚を欠く核無構造多核細胞であった。

5. ウサギ膾細胞診により感染細胞を採取出来る期間は1週間前後、またウイルス分離可能期間は10日前後であった。

以上の結果から、HVH 感染の最も特徴的所見といわれる核内封入体が認められなくても、出現頻度の高い多核細胞に、すりガラス様核、無構造核、核縁肥厚、細胞質好塩基性亢進を認めれば、HVH 感染と診断してもよいと思われる。ウサギ膾細胞診およびウイルス分離の両者共、陽性期間は短く、ヒトにおける HVH 性器感染検出の低頻度を示唆するものとする。

Keywords: Herpesvirus hominis-II 型標準株, Vero 細胞, ウサギ経膾接種, Papanicolaou 染色, 細胞化学的染色, 経時変化

略語一覧: HVH: Herpesvirus hominis, ATPase: アデノシン・トリフォスファターゼ, G-6-PDH: グルコース-6-リン酸脱水素酵素, BSS: balanced salt solution, CPE: cytopathic effect, TCID₅₀: 50% tissue culture infectious dose, PBS (-): リン酸緩衝液, Pap.: Papanicolaou, SDH: コハク酸脱水素酵素

* 千葉大学医学部附属病院検査部細胞診

YOSHITOMO ŌUCHI: Experimental Studies on Morphological Changes in Herpesvirus hominis Type-II Infected Cells.

Diagnostic Cytology, Department of Clinical Laboratory, Chiba University Hospital, Chiba 280.

Received for publication, December 17, 1976.

緒 言

単純疱疹ウイルス (Herpes Simplex Virus- Herpesvirus hominis (以下 HVH)) は Grüter により、ウサギの角膜で分離されて以来、主に疫学的、血清学およびウイルス学的な面より多くの研究がなされて来た¹⁾。

1967年 Nahmias ら²⁾により、HVH は抗原性の差異および感染部位と関連して I 型と II 型に分けられることが明らかにされた。HVH-I 型は非性器部位より、II 型は性器部位より主に分離されることが多いと言われている¹⁻³⁾。特に HVH-II 型による女性性器感染は、子宮頸癌および新生児の経産道全身感染との関連性、流早産および経胎盤感染による奇形児の原因として、産婦人科領域で注目されている³⁾。

HVH 女性性器感染の診断に際し、手技の簡便さ、診断の迅速性、経済性などの点から臙細胞診による検出は重要となって来た。

HVH 感染による形態学的特徴所見について、Blank & Rake (1955)⁴⁾、Stern & Longo (1963)⁵⁾、Naib ら (1966)⁶⁾などが、明量に囲まれた好酸性核内封入体、多核巨細胞、所謂“ground-glass” (すりガラス) 様核、核相互 molding (鑄型形成)、核クロマチン辺縁付着 (margination) などの所見を挙げている。

HVH 女性性器感染症例では、初診時より 1 週間前後の再来時臙細胞診に、感染像がすでに認められないとする報告が多く⁷⁻⁹⁾、断片的な細胞像しか見ることが出来ない。また本邦では、臙細胞診に HVH 感染を認める頻度が極めて低く^{9,10)}、少数の報告例を見るにすぎない^{8,11)}。

著者は、臙細胞診による女性性器 HVH 感染の検出に寄与すべく、培養細胞および動物に HVH-II 型標準株を接種し、多角的に経時的観察を試みた。

実 験 方 法

1. 細胞：ミドリザルの腎臓株化細胞 (Vero 細胞)¹²⁾ を使用した。

2. ウイルス：HVH-II 型標準株として、MS 株¹³⁾ (国立予研ウイルス中央検査部より分与)、UW-268 株^{14,15)} (東大・医科研、吉野亀三郎教授より分与) を使用した。各々 Vero 細胞で継代したものである。

3. 培養液：増殖用培養液として、Earle の balanced salt solution (以下 BSS) にウシ血清を 10%、ラクトアルブミン加水分解物を 0.5%、ペニシリン 100 μ /ml、ストレプトマイシン、カナマイシン各々 100 γ /ml となるように

加え、7% NaHCO₃ 液にて pH 7.0~7.2 に調整したものを使用。維持用培養液は、Eagle's minimum essential medium にウシ血清アルブミン・フラクション V を 0.05% となるように加えた。抗生物質および pH は増殖用培養液と同様である。

4. 培養細胞 HVH-II 型接種実験

a. カバースリップ法による Vero 細胞単層培養：9×24mm の短冊カバーガラスを入れた Leighton 管に、Vero 細胞浮遊増殖用培養液を 1.0ml ずつ注入 (細胞数は約 2.0×10⁵/ml)。37°C ふらん器にて静置培養。

b. ウイルスの定量：Vero 細胞の単層培養を試験管で作製。MS 株を Hanks BSS で 10 倍段階希釈したものの 0.1ml ずつ接種。37°C ふらん器にて静置培養。連日 cytopathic effect (以下 CPE) の出現を観察。接種後 7 日目に判定。終末値より Reed-Muench 法で感染価 (TCID₅₀/ml) を求めた¹⁶⁾。

c. ウイルス接種法：Vero 細胞の増殖状況を観察後増殖用培養液を捨て、リン酸緩衝液 (以下 PBS(-)) で細胞表面を洗滌。感染価 10^{5.34}TCID₅₀/ml の MS 株 10 倍希釈液を 0.2ml ずつ Leighton 管へ接種し 37°C にて 2 時間吸着。吸着終了後ウイルス液を捨て、PBS(-) にて洗滌。維持用培養液を 1.0ml 加え、37°C ふらん器で静置培養。

d. 標本採取と染色法：ウイルス接種後 8 時間、18 時間、28 時間、42 時間、56 時間に接種および非接種標本を採取。染色別に固定し、後日同一条件にて染色。形態学的観察のため Papanicolaou (以下 Pap.) 染色。細胞化学的酵素染色として、コハク酸脱水素酵素 (以下 SDH)、グルコース-6-リン酸脱水素酵素 (以下 G-6-PDH) をテトラゾリウム法で、アデノシン・トリフォスファターゼ (以下 ATPase) は金属塩法で行なった。また細胞化学的特殊染色として、RNA (ピロニン) 染色、多糖類 (PAS) 染色、脂質 (ズダン・III) 染色を行なった^{17,18)}。

e. 観察法：各時間の、ウイルス接種 Pap. 染色標本の各々について、400 倍、50 視野を任意に選び、感染および非感染細胞を観察した。HVH 感染に特徴的な所見といわれているものおよび細胞形態について経時的出現数および頻度を検討した。ウイルス非接種標本は、ウイルス接種標本所見の対照とした。

細胞化学的染色標本では、酵素活性度ないし染色度を (-), (±), (+), (++)、(+++) の 5 段階に分けた。ウイルス接種後 42 時間標本の感染単核および多核細胞と、ウイルス非接種 (42 時間) 標本の単核および多核細胞を各々 500 ずつ選び、酵素活性度ないし染色活性度ないし染色度別細胞出現頻度を観察。感染と非感染細胞、および

単核と多核細胞を対比し検討した。

5. ウサギ HVH-II 型経腔接種実験¹⁹⁾

a. 実験動物：成熟雌ウサギ（体重2.5～3.5kg）
 b. 前処置およびウイルス接種法：ウイルス接種前に腔ぬぐい液、血清を採取し、細胞形態学的、ウイルス学のおよび血清学的検査により、HVH 感染のないことを確認した。ウイルスの腔接種は、綿球を HVH 液0.5ml に浸し、腔内深く挿入。2～3 時間後綿球除去。4羽は MS 株（感染 $10^{5.50} \sim 10^{6.77}$ TCID₅₀/ml）、2羽には UW-268株（感染 $10^{5.67}$ TCID₅₀/ml）を接種。

c. 標本採取法：生理的食塩水に浸した綿棒を腔腔へ挿入。腔壁を擦過し細胞採取。腔細胞診用としてスライドグラス2～3枚へ塗布。ウイルス分離用は、抗生物質加 Hanks BSS 1.0ml に浮遊させた後、分離時まで超低温庫（-70°C）に保存。標本採取はウイルス接種後2週間毎日行ない、2週以降2～3日毎に行なう。

d. 腔細胞診染色法およびウイルス分離法：腔細胞診は、95%エタノールで湿固定後、Pap. 染色を行なう。ウイルス分離は、試験管に Vero 細胞の単層培養を作製。増殖用培養液を捨てた後 PBS(-)にて数回洗滌し、維持用培養液交換。腔ぬぐい液を3,000r.p.m., 10分間遠沈し、その上清0.2ml を接種。37°C ふらん器にて回転培養し、2週間毎日 CPE の出現を観察、初代で CPE の出現しなかったものについては、3代まで盲継代し、分離の可否を判定した。

e. 観察法：ウイルス接種前に採取した標本の Pap. 染色細胞所見およびウイルス分離結果を参考にし、標本に認められる HVH 感染細胞をすべて選び出し、その所見、採取可能期間、採取細胞数の経日的変動およびウイルス分離可能期間を検討した。

実験成績

I. 培養細胞 HVH-II 型接種実験

1. Pap. 染色による Vero 細胞標本所見

a. ウイルス非接種対照標本：シート状に増殖している Vero 細胞を認めた。細胞の各々の核は類円形、クロマチン顆粒状、均等分布を示し、有糸分裂像を認めるものもある。赤染性、類円形、大きな1～2個の核小体が核中心部に存在する。細胞質は淡い。ほとんどの細胞は単核であり、多核細胞では大部分2～3核、核数の多いものでも5～6核までである。観察を行なった時間では、著明な変化は認められなかった(図1)。

b. ウイルス接種標本：感染細胞と非感染細胞が混在して認められる。人体感染時に似た感染細胞は経時的に

表 1 感染細胞出現頻度

| 採取時間 | 8 (時間) | 18 | 28 | 42 | 56 |
|------|--------|------|------|------|------|
| 単核 | 25 | 333 | 2223 | 4299 | 5025 |
| | 9583 | 7265 | 7167 | 5064 | 5387 |
| 多核 | 13 | 159 | 450 | 847 | 881 |
| | 207 | 296 | 592 | 878 | 916 |

分子；感染細胞数、分母；単核および多核別の総細胞（非感染+感染）数
 各時間の分母の数値の和は400倍50視野で認められた細胞総数（観察法については実験方法4・e参照）

増加し、いずれの時間の採取標本にも核内封入体は認め得なかった(図2, 3, 4)。

2. Pap. 染色による HVH-II 型感染 Vero 細胞の形態学的所見の検討

a. 単核および多核別感染細胞の出現頻度の経時変化(表1)：単核では、感染細胞が、28時間後約30%、42時間後約85%と急激に増加する。多核では、18時間後に、すでに50%以上が感染細胞で占められ、42時間後には、約96%が感染細胞となっている。感染多核細胞の全多核細胞に対する出現率は、単核細胞のそれに比し、より短時間に高まる。

b. 感染多核細胞の核数別出現数の経時変化(表2)：各時間について、核数が増すにつれその出現数は減少するが、経時的には核数の多い多核細胞が出現して来る。

c. 感染細胞の核質像と核小体の関係(表3)：感染細胞の各々の核について、核質像（すりガラス様核と顆粒状核）と核小体の2つの所見に注目し、感染細胞を下記のI～V型に分け、その経時変化を観察した。I型：すべての核はすりガラス様で核小体が存在する型。II型：すべての核はすりガラス様で核小体が消失した型。III型：すべての核はすりガラス様で核小体が存在するものと消失したものが混在する型。IV型：すべての核は核小体が存在するが、すりガラス様核と顆粒状核が混在する型。V型：核小体が消失したすりガラス様核と、核小体が存在する顆粒状核の混在する型。

感染単核細胞では、II型、すなわち核小体の消失したものは、数および頻度共、経時的に漸次増加する。感染多核細胞では、III, IV, V型の合計、すなわち混在型の各時間における全感染多核細胞数に対する比は、約62%→約22%と経時的に減少する。核小体の認められる多核細胞（I, III, IV, V型）を合わせたものの出現頻度は経時的に減少するが、42時間約50%、56%時間約27%であり、核小体の消失は比較的遅いといえる。

d. 感染多核細胞の核相互関係(表4)：核相互 molding 像の出現頻度は少なく、28時間に約12%と極大値

表 2 感染多核細胞の核数別出現数

| 核 数 | 2(個) | 3 | 4 | 5 | 6~7 | 8~10 | 11~15 | 16~20 | 20< | 計 |
|------------------|-----------|-----|-----|----|-----|------|-------|-------|-----|-----|
| 採 取 時 間 | (時間) 8 | 12 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 13 |
| | 18 | 77 | 35 | 19 | 14 | 8 | 5 | 1 | 0 | 159 |
| | 28 | 264 | 91 | 45 | 11 | 22 | 10 | 6 | 1 | 450 |
| | 42 | 522 | 156 | 66 | 35 | 35 | 18 | 9 | 4 | 847 |
| | 56 | 541 | 155 | 73 | 32 | 42 | 19 | 14 | 2 | 881 |

数値は細胞数

各時間の数値の和は、表1の多核の分子に当たる。

表 3 感染細胞の核質像と核小体の関係

| | 採取時間 | I 型 | II 型 | III 型 | IV 型 | V 型 |
|--------|-----------|--------------|------------|-----------|----------|---------|
| 単 核 | (時間) 8 | % 25(100) | 0(0) | | | |
| | 18 | 316(94.9) | 17(5.1) | | | |
| | 28 | 1099(49.4) | 1124(50.6) | | | |
| | 42 | 1341(31.2) | 2958(68.8) | | | |
| | 56 | 887(17.7) | 4138(82.3) | | | |
| 多 核 | 8 | 5(38.4) | 0(0) | 2(15.4) | 3(23.1) | 3(23.1) |
| | 18 | 45(28.3) | 35(22.0) | 50(31.4) | 22(13.8) | 7(4.5) |
| | 28 | 91(20.2) | 147(32.7) | 157(34.8) | 21(4.7) | 34(7.6) |
| | 42 | 152(17.9) | 419(49.5) | 266(31.4) | 5(0.6) | 5(0.6) |
| | 56 | 49(5.6) | 641(72.7) | 139(15.7) | 26(3.0) | 26(3.0) |

数値は細胞数。 I~V型については本文参照。

() 内は各時間の細胞総数に対する I~V型毎の出現比率。

各時間の I~V型の数値の和は、表1.の分子に当たる。

表 4. 感染多核細胞の核相互関係

| 核相互関係 | (時間) | | | | |
|--------------------------|------|----|-----|-----|-----|
| | 8 | 18 | 28 | 42 | 56 |
| molding | 1 | 13 | 55 | 58 | 32 |
| 重積 { 軽度 | 5 | 68 | 194 | 502 | 592 |
| | 2 | 8 | 38 | 175 | 108 |
| { molding (-)* 重積 (-) | 5 | 70 | 163 | 112 | 149 |

数値は細胞数、 (-)* は認められないの意。

各時間の数値の和は、表1.の多核の分子に当たる。

を示す。重積像の軽度のは、経時的に数および頻度共に増加し、高度のものより多数出現する。その頻度の差は大きい。molding 像も重積像も認められない多核細胞は、28時間まで40%前後存在するが、42時間、56時間では少ない、核相互の関係で最も高頻度に認められる所見は、軽度の重積像である。

e. 感染単核細胞の核縁肥厚度およびその分布(表5): 感染細胞には、程度の差はあれすべてに核縁肥厚像を認めた。核縁均等のは不均等のものより、各時

間共圧倒的多数を占め、その出現頻度は経時的に増加する。肥厚度については、軽度のものが多数を占め出現比率は経時的に減少する。軽度肥厚均等分布のものは各時間毎に70%前後を占め、経時変化を余り認めないのに対し、高度肥厚均等分布のものが経時的に増加する。

f. 感染細胞における細胞形態の経時変化(表6): 単核細胞では、圧倒的に不定形を呈するものが多い。類円形は経時的に増加し、56時間ではその出現頻度は約23%となる。多核細胞では、42時間以降類円形の出現数が急激に増加し、56時間には60%近く認める。

3. 細胞化学的染色による HVH-II 型感染 Vero 細胞および非接種標本 Vero 細胞の酵素活性度および染色度の検討 (HVH-II 型接種42時間)

a. 各種細胞化学的酵素染色(表7)

1) SDH: 感染細胞での本酵素活性は、非感染のそれより低く、多核形成による活性亢進も認められない。単核細胞では(++)以上の酵素活性亢進を示すものは、非感染の約60%、感染の約34%に認められ、軽度ながら感染細胞の方が頻度が低い。また(++)のものは感染細

表 5 感染単核細胞の核縁肥厚度およびその分布

| 採取時間 | (時間) | | | | | | | | | | |
|-------|------|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|------|-----|
| | 8 | | 18 | | 28 | | 42 | | 56 | | |
| 肥 厚 度 | (+) | (++) | (+) | (++) | (+) | (++) | (+) | (++) | (+) | (++) | |
| 分 布 | 不均等 | 5 | 1 | 65 | 15 | 362 | 108 | 455 | 202 | 513 | 103 |
| | 均 等 | 19 | 0 | 237 | 16 | 1537 | 216 | 3136 | 506 | 3594 | 815 |

数値は細胞数。(+) ; 軽度肥厚, (++) ; 高度肥厚。
各時間の数値の和は, 表1. の単核の分子に当たる。

表 6 感染細胞における細胞形態

| | 採取時間 | 細胞形態 | | | 総 数 |
|----|------|------------|-----------|------------|------|
| | | 類 円 形 | 星 芒 形 | 不 定 形 | |
| | (時間) | % | | | |
| 単核 | 8 | 1(4.0) | 1(4.0) | 23(92.0) | 25 |
| | 18 | 5(1.5) | 9(2.7) | 319(95.8) | 333 |
| | 28 | 221(9.9) | 169(7.6) | 1833(82.5) | 2223 |
| | 42 | 820(19.1) | 143(3.3) | 3336(77.6) | 4299 |
| | 56 | 1172(23.3) | 92(1.9) | 3761(74.8) | 5025 |
| 多核 | 8 | 1(7.7) | 4(30.8) | 8(61.5) | 13 |
| | 18 | 15(9.5) | 46(28.9) | 98(61.6) | 159 |
| | 28 | 48(10.7) | 160(35.6) | 242(53.7) | 450 |
| | 42 | 411(48.5) | 179(21.2) | 257(30.3) | 847 |
| | 56 | 513(58.2) | 127(14.4) | 241(27.4) | 881 |

数値は細胞数。() 内は各時間の細胞総数に対する細胞形態毎の出現比率。
各時間の数値の和は, 表1. の分子に当たる。

表 7 各種細胞化学的酵素染色

| | 酵 素 活性度 | SDH | | G-6-PDH | | ATPase | |
|----|------------|-----|-----|---------|-----|--------|-----|
| | | IC | NIC | IC | NIC | IC | NIC |
| 単核 | (-) | 0 | 0 | 0 | 0 | 33 | 302 |
| | (±) | 0 | 0 | 15 | 292 | 165 | 123 |
| | (+) | 332 | 198 | 165 | 190 | 115 | 75 |
| | (++) | 168 | 287 | 235 | 18 | 127 | 0 |
| | (+++) | 0 | 15 | 85 | 0 | 60 | 0 |
| 多核 | (-) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 215 |
| | (±) | 0 | 0 | 0 | 245 | 0 | 160 |
| | (+) | 320 | 240 | 115 | 220 | 145 | 105 |
| | (++) | 177 | 245 | 282 | 35 | 192 | 20 |
| | (+++) | 3 | 15 | 103 | 0 | 163 | 0 |

数値は細胞数。 単核および多核について各々, 非感染細胞, 感染細胞を500個ずつ観察。

IC ; HVH-II型接種(42時間)標本の感染 Vero 細胞, NIC ; ウイルス非接種(42時間)標本の Vero 細胞。

胞には認められない。多核細胞では(++)以上の活性亢進を示すものは, 非感染で48%であるのに対し, 感染では36%と, 単核同様感染により出現頻度はやや低下する。

2) G-6-PDH: 本酵素は感染による活性亢進が著し

く, また多核形成による影響は特に認められない。酵素活性(++)以上のものが, 単核細胞では非感染の約4%, 感染では60%以上に認められる。多核細胞でも, 感染では77%と, 非感染の11倍の高頻度で出現する。

表 8. 各種細胞化学的特殊染色

| | 染色度 | RNA | | 多 糖 類 | | 脂 質 | |
|----|-------|-----|-----|-------|-----|-----|-----|
| | | IC | NIC | IC | NIC | IC | NIC |
| 単核 | (-) | 0 | 0 | 290 | 302 | 216 | 275 |
| | (±) | 135 | 367 | 200 | 195 | 101 | 135 |
| | (+) | 160 | 125 | 10 | 3 | 170 | 77 |
| | (++) | 205 | 8 | 0 | 0 | 13 | 13 |
| | (+++) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 多核 | (-) | 0 | 0 | 0 | 0 | 19 | 78 |
| | (±) | 107 | 290 | 83 | 105 | 8 | 37 |
| | (+) | 135 | 190 | 247 | 230 | 260 | 255 |
| | (++) | 195 | 20 | 170 | 165 | 200 | 115 |
| | (+++) | 63 | 0 | 0 | 0 | 13 | 15 |

数値は細胞数。単核および多核について各々、非感染細胞、感染細胞を500個ずつ観察。

IC; HVH-II型接種(42時間)標本の感染 Vero 細胞, NIC; ウイルス非接種(42時間)標本の Vero 細胞。

3) ATPase: 本酵素も感染による影響が著明であり、多核形成による活性亢進は少ない。単核細胞では、(+)以上の活性を示すものは非感染の15%、感染の60%に認められる。(++)以上の活性亢進を示すものは非感染になく、感染では約37%の細胞に認める。多核細胞でも、(++)以上の活性亢進を示すものは、非感染の4%に対し、感染では71%の高頻度で認められる(図5)。

b. 各種細胞化学的特殊染色(表8)

1) RNA: 非感染単核細胞では、染色度(++)以上の亢進を示すものは極めて稀で、感染では41%に認める。多核細胞でも同様の傾向を認め、感染と非感染の出現頻度の差は大きい。染色度(+++)のものは非感染には認められない。また感染細胞では単核と多核の染色度(++)亢進以上のものの差は少なく、RNA染色度亢進は、多核形成による影響よりも感染による方が著明である(図6)。

2) 多糖類: 単核細胞では染色度(-)~(±)のものが99%近くを占め、非感染と感染の差は認められない。多核細胞では、非感染、感染共に80%前後の頻度で(+)以上の染色度亢進のものを認めるが、両者の間に差はほとんどない。多糖類は、多核形成による変化が認められるのみである。

3) 脂質: 単核細胞では、染色度(+)以上を示すものは非感染の18%、感染の約37%に認め、その差は軽度である。多核細胞では、染色度(++)以上を示すものは、非感染の26%、感染の約43%に認め、その差は少ない。脂質は、感染細胞に軽度ながら染色度亢進したものが多いが、多核形成による影響の方がやや大きい。

II. ウサギ HVH-II 型経腔接種実験

1. Pap. 染色による腔細胞診の HVH-II 型感染細胞に関する観察

a. 感染細胞所見: 人体感染時に認められる所見によく似た細胞像を観察出来た。MS株および UW-268株接種の両者共、核内封入体は培養細胞同様認められなかった。多核感染細胞および細胞質好塩基性亢進を認める(図7)。

b. 感染細胞採取可能期間: 短いもので4日目まで、長いもので10日目まで採取出来た。その内容は、4日、5日、6日目までが各々1羽ずつ、8日目までが2羽、1羽は10日目までであった。

c. 感染細胞採取数の経日的変動: 採取出来る感染細胞数は1標本当たり非常に少ない。5日目までは出現数が比較的多いが、6日目以降採取数は減少する(表9)。

d. 感染細胞の核所見の検討: 単核では、すりガラス様核で核縁肥厚を認めるものの方が、認められないものより多かった。多核細胞では、すりガラス様核のみのは約17%、無構造核のみのも約70%、両者が混在しているもの約14%である。すりガラス様核とはいいがたい無構造核のみで構成されている多核細胞が最も多い。核縁肥厚像については、すべての核に核縁肥厚を認めるものが約24%、全く認めないものは約55%を占め、約半数の多核細胞に核縁肥厚が認められない。核質像と核縁肥厚を関連して見ると、すりガラス様核のみのおよびすりガラス様核と無構造のものが混在する多核では、核縁肥厚を認めるものが多い。逆に無構造のみの多核では、核縁肥厚のないものが多い。核 molding 像は45の

表 9. ウサギ臍細胞診における感染細胞の経日的採取数および核所見

| | 核 所 見 | | 接 種 後 日 数 | | | | | | | | | |
|------------------|------------------|------|-----------|----|----|----|----|----|---|---|---|----|
| | 核 質 像 | 核縁肥厚 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
| 単 核 | すりガラス様核 | 無 | 5 | 3 | 21 | 13 | 2 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 有 | 48 | 56 | 36 | 31 | 6 | 4 | 3 | 2 | 2 | 2 |
| 多 核 | すりガラス様核 | 無 | 4 | 7 | 2 | 6 | 6 | 6 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| | | 有 | 6 | 13 | 7 | 6 | 4 | 0 | 0 | 0 | 2 | 2 |
| | 無+有 | 1 | 1 | 0 | 2 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | |
| | すりガラス様核 + | 無 | 0 | 4 | 4 | 2 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 有 | 2 | 6 | 1 | 3 | 5 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | 無 構 造 核 | 無+有 | 3 | 11 | 8 | 5 | 4 | 0 | 0 | 1 | 2 | 1 |
| 無 | | 21 | 57 | 36 | 22 | 37 | 16 | 19 | 4 | 3 | 2 | |
| 無 構 造 核 | 有 | 10 | 10 | 11 | 6 | 6 | 3 | 5 | 2 | 1 | 0 | |
| | 無+有 | 4 | 22 | 9 | 6 | 10 | 0 | 5 | 0 | 0 | 0 | |

数値は細胞数。

感染多核細胞に認められたのみで、出現頻度は低い。ウサギ臍細胞診で最も高頻度に認められる所見は、核縁肥厚を欠く無構造多核細胞であった(表9)。

2. ウイルス分離可能期間

短いもので8日目まで、長いもので13日目まで分離出来た。その内容は、3羽は9日目まで、あとの3羽は各々8日、11日および13日目までであった。

3. 感染細胞採取可能期間とウイルス分離可能期間の比較

全例において、分離可能期間の方が長かった。

考 察

HVH は、もっとも広くヒトを侵襲しているウイルスの一つで、大多数のヒトは生後4ヶ月頃から数年の間にこのウイルスの感染を受けると言われている²⁰⁾。HVH-I型とII型に関しては、抗原性、感染部位だけでなく組織培養における増殖、発育鶏卵漿尿膜上のポック、動物における向神経作用および電子顕微鏡所見などにおいても差異が認められている^{1,3,13,21,22)}。血清疫学的には、HVH-I型中和抗体保有が成人の60~90%に認められるのに対し²³⁻²⁵⁾、II型抗体を思春期以前には、ほとんどのヒトが保有しておらず、成人に達しても保有率は20%にとどまると言われる^{23,24,26)}。これはHVH-II型が性行為により伝播されることと関連すると考えられている。

HVH 性器感染に関して、1946年 Slavin & Gavett²⁷⁾により、外陰膺炎症例から初めてHVH が分離されて以来、主として臨床的、血清疫学的に研究がなされている²⁸⁾。とくに Naib ら(1966, 1969)^{6,29)}の形態学的研究

および Rawls ら(1968)³⁰⁾の血清学的研究により、HVH 女性性器感染と子宮頸癌との関連性が示唆されて以来注目を集め今日に至っている。

HVH 感染の形態学的所見については、Lipschütz (1921)が好酸性核内封入体を最初に記載したことに始まるという³¹⁾。HVH 女性性器感染症例において、ウイルスの分離を行い、臍細胞診に認められる形態学的変化を最初に裏付けたのは、Stern & Longo(1963)³²⁾である。Pap. 染色臍細胞診に見られるHVH 感染の細胞形態学的特徴所見を報告した主なものを列挙してみると、Stern & Longo(1963)³²⁾、Yen ら(1965)³²⁾、Naib ら(1966)⁶⁾、Nowakovsky ら(1968)³³⁾、An(1969)³⁴⁾、Ng ら(1970)³⁵⁾などがある。臨床細胞学的立場による、HVH 感染の実験的研究は極めて少ない。位相差顕微鏡所見と Pap. 染色所見との対比を培養細胞を用いた Wilbanks ら(1970)³⁶⁾と森脇ら(1974)³⁷⁾の人体症例およびその新鮮分離株を培養細胞に接種し、Pap. 染色所見および電子顕微鏡所見について論じた実験がある。

ウイルス学的立場によるHVH 感染実験報告は多数なされているが、その大部分はウイルスの増殖に主眼が置かれている。比較的詳しく形態学的変化について検討しているものとして、次のごとき報告がある。発育鶏卵漿尿膜を用い、核内封入体の性状を論じた Crouse ら(1950)³⁸⁾、Wolman & Behar(1952)³⁹⁾の報告。また、ウサギ腎臓由来培養細胞を使い、HVH 増殖と核内封入体形成の関係につき言及しているのは、Scott ら(1953)⁴⁰⁾、Sosa-Martinez ら(1955)⁴¹⁾である。抗原の局在性を中心に形態学的変化も検討した Lebrun (1956)⁴²⁾は、ヒト由来培養細胞を用いている。いずれの報告も、Hemato-

xylin-Eosin 染色ないし Giemsa 染色によるものである。

これまで報告されている所見と Pap. 染色による本実験の成績を対比してみると、文献的には核内封入体^{43,44}が最も特徴所見として、すべての報告に挙げられている。しかし、本邦の症例報告例では、認められなかったとするものも、かなりある^{8,9,45,46}。本実験では、培養細胞およびウサギ腔細胞診の両者、また MS および UW-268両 HVH 株に関係なく、核内封入体像は認められなかった。

多核形成は、すべての報告に挙げられているごとく、本実験でも確認し得た。著者はこの所見を、培養細胞、ウサギ両者で認め、最も特徴的所見と考える。培養細胞では、初期には核数の比較的少ない多核細胞しか認められず、経時的に核数の多い多核細胞が出現して来る。

いずれの腔細胞診に関する報告でも、特徴的所見として、核すりガラス様構造を挙げているが^{5-11,31-35}、本実験でも、培養細胞では、終局的には、ほぼすべての感染細胞にこの所見が出現した。またウサギ腔細胞診では、単核感染細胞のすべて、多核感染細胞については、無構造混在型も含め、約3割に認められた。残りの多核細胞の核はすべて無構造を呈した。無構造多核細胞は、正常ウサギ腔細胞診には認められないことから、典型的なすりガラス様構造を示さなくても、これも感染を現わす細胞像に入れてよいと考える。

多核細胞における核相互関係の特徴像に関しては、Naib ら^{6,31}、Nowakovsky ら³³は、核相互が圧排し、重積性を認めない molding (鑄型形成) と表現し、本邦では、この非重積性の所見を比較的強調しているものが多い^{9-11,45,46}。本実験では、出現頻度は10%前後であり、特徴所見であっても、頻度としては、高くなかった。軽度重積像を示す多核感染細胞が最も高頻度に見られた。

核質像については、核クロマチン辺縁付着 (margination) ないし核縁肥厚を認めるとする報告が多い^{4-7,11,31-40,42}。本実験では、培養細胞の感染単核細胞すべてに核縁肥厚を認めた。肥厚度および分布について検討してみると、軽度肥厚均等分布のものが、最も多く出現した。ウサギ腔細胞診でも、約57%に認められ、出現頻度の高い所見であった。

形態学的な経時変化に関する記載を見ると、in vitro の実験系の報告として、Crouse ら³⁸は、核小体肥大を第一に挙げ、以下核クロマチン辺縁付着、好塩基性核内封入体、多核巨細胞形成、好酸性核内封入体の順で変化が出現するとしている。他の報告でも、核小体の肥大および消失を最初に出現する所見とするものが多い^{39,40,42}。

以下核内空胞、核クロマチン辺縁付着とするもの³⁹や、細胞質内空胞、核クロマチン凝集、辺縁付着とするものがある^{40,42}。Wilbanks ら³⁶は、核クロマチン辺縁付着、細胞質肥厚、すりガラス様核、核小体の消失および多核形成の順で起ると述べている。in vivo による報告では、最初に出現する所見として、核クロマチンと核小体の区別が出来なくなるとするもの⁴¹、核および細胞質の肥大、核小体の肥大とするものがある^{6,31}。An³⁴は変化の第1相として、核内空胞、核クロマチン凝集を挙げ、第2相は好塩基性核内封入体、クロマチン辺縁付着、すりガラス様核、多核形成の順で起り、第3相は好酸性核内封入体の出現としている。本実験では、最初に出現する形態学的変化として、細胞質好塩基性の亢進を認めた。次に核クロマチンの顆粒状均等分布が乱れ、不均等に分布し、一部凝集像を呈す。核は軽度不透明化し、核クロマチンの部分的辺縁付着を認める。核小体は不整形を呈する。さらに核の不透明化が進み、核縁は不均等軽度肥厚から均等肥厚し、著明となる。核小体は完全に消失し、典型的すりガラス様核を呈す。細胞形は感染が進行するにつれ円形化して来る。多核形成との関係について見ると、細胞質好塩基性の亢進は多核形成に先行する。多核形成は、核縁肥厚やすりガラス様核出現より、やや早いか同時に起るが、核小体の完全な消失より一般に早い(図8)。細胞質に関しては、in vivo によるものでは、好塩基性の亢進を認めるとするものと^{5,6,31,35}、境界不鮮明になるとするものがある^{9,32,33,37}。in vitro では、初期像として、細胞質の肥厚を挙げているものと³⁶、後期像として境界不鮮明化を挙げているものがある³⁷。核小体は比較的早期に消失するとする報告が多いが^{6,31,40,42}、本実験では、Wilbanks ら³⁶と同様感染がかなり進行するまで、残存を認めた。

HVH 感染細胞について、細胞化学的染色、とりわけ酵素染色により、検討を加えた報告は極めて少なく、Crouse ら³⁸、Wolman & Behar³⁹によるものがある。しかし、そのいずれも核内封入体の性状のみについて言及し、感染細胞の細胞質に関する検討は加えていない。本実験では、酵素染色により、ATPase および G-6-PDH の著明な酵素活性の亢進を示す感染細胞が対照群に比し、多数認められた。ATPase の活性亢進は、細胞融合の機序に関与している細胞膜 ATP の変動と関連⁴⁷して興味ある所見と考える。また、G-6-PDH に関して、Scott ら(1961)⁴⁸は、HVH 接種12時間の感染細胞に、本酵素の活性亢進を認めている。また、その意義についても言及し、G-6-PDH 活性亢進は、細胞膜透過性の亢進によるとしている。従来、HVH 感染により、細胞質

RNA の合成は抑制される⁴⁰⁾とされており、著者のピロニン染色による成績と異なる。Naib ら(1973)³¹⁾は、Pap. 染色による HVH 感染細胞の細胞質好塩基性濃染は RNA 合成が促進されることと関連すると述べているが、ピロニン染色所見については言及していない。

ウイルス感染による多核形成の機序に関して、2つの見解がある⁴⁷⁾。核異常分裂によるもの^{5, 6, 31, 40, 48, 50)}と細胞融合によるもの^{8, 33, 36, 47, 51, 52)}。本実験の Pap. 染色標本では、感染細胞に核異常分裂、とりわけ無糸分裂の経過を示す細胞像が、ほとんど認められなかった。経時的には、多核細胞において、核数の多いものが出現して来た。また、多核感染細胞の各々の核に、変化の相のずれを認めた(図3, 4)。特に細胞辺縁に存在する核に核小体が見い出される(図3)。これは周囲の細胞を新たに融合したものと考える。著者は、Pap. 染色および細胞化学的酵素染色所見より、HVH 感染の多核形成は、細胞融合によると解釈するのが妥当であると考ええる。

HVH 経膈接種による発癌を目的とした動物実験報告は盛んになされている^{53, 54)}。ヒト性器 HVH 感染症のモデル実験として、膈ぬぐい液による膈細胞採取およびウイルス分離を試みた報告は少ない。Nahmias ら^{7, 55, 56)}は、動物に HVH 経膈接種を試み、マウスでは、膈細胞診に感染細胞を見い出したが、サルでは、感染細胞が採取出来なかったと報告している。また、感染細胞の採取可能期間および所見について言及していない。本実験では、盲目的に細胞採取をせざるを得なかったためか、感染細胞の採取数が1標本当たり少なかった。HVH 感染細胞と同定出来た細胞において、最も高頻度に認められた所見は、核縁肥厚を欠く無構造多核細胞であった。ウイルス分離可能期間については、前述の Nahmias らは、マウスでウイルス接種12日目まで、サルでは6日目まで分離出来たとしている。Overall ら(1975)⁵⁷⁾のマウス経膈接種実験では、8~10日目まで、また Kalter ら(1972)⁵⁸⁾、Felsburg ら(1972)⁵⁹⁾のサルによるものでは、大部分が10日目頃まで分離可能であった。著者のウサギの実験でも、ほぼ同様の成績であり、動物による差異は余り認められない。また、膈細胞診、ウイルス分離の両者とも、長期間の陽性は望めず、人体感染例における検出の低頻度を示唆するものと考ええる。

稿を終るにあたり、ご指導、ご校閲賜りました降矢震教授ならびに直接に終始絶えざるご指導とご鞭撻を頂いた武田敏博士(千葉大学教育学部教授)、芦原義守博士(千葉県衛生研究所次長)に心から感謝を捧げます。また、実験を許可して下さいました宮入正人博士(前千

葉県衛生研究所所長・現千葉大学看護学部教授)およびウイルス標準株を分与下さいました吉野亀三郎教授(東京大学医科学研究所)、甲野礼作博士(国立予防衛生研究所ウイルス中央検査部)に衷心より深謝致します。最後に、実験にご協力下さいました千葉県衛生研究所ウイルス研究室の皆様へ感謝致します。

本論文の要旨は、第47回日本産婦人科学会関東連合地方部会(昭和48年10月14日、於静岡)、第15回日本臨床細胞学会総会(昭和49年5月11・12日、於千葉)、第16回日本臨床細胞学会総会(昭和50年5月16・17日、於米子)に発表した。

本論文は審査学位論文である。

SUMMARY

Cytological studies were performed on both cultured cells (Vero cell) and animal experiment to elucidate morphological characters of Herpesvirus hominis (HVH) type II infected cells.

HVH infected cells were compared with non-infected control cells and the following findings were noticed. The first morphological change of HVH infection was an increase in cytoplasmic basophilia and this was then followed by irregular condensation of chromatin, margination, and multinucleation. Disappearance of nucleoli and "ground-glass" appearance of nuclei generally took place subsequent to the above-mentioned changes.

Cytological examinations of vaginal smears in HVH infected rabbits also revealed multinucleation, margination, pale opaque nuclei, and increased cytoplasmic basophilia of infected cells.

No nuclear inclusion body was detected in both infected cultured cells and rabbit vaginal smears.

Cytochemical stainings were also applied to infected and non-infected cultured cells. On infected cells, the synthesis of cytoplasmic RNA was presumed to be enhanced, reflecting a high basophilia of the cytoplasm. ATPase and glucose-6-phosphate dehydrogenase activities of infected cells were also elevated.

These findings will contribute to the cytological diagnosis of HVH infection in the female

genital tract.

Viral isolation was possible only 10 days or so after inoculation of HVH to the rabbit vagina, and the characteristic cellular changes of HVH infection appeared about 7 days in vaginal preparation.

These results imply the presence of time-limits in diagnosing female genital HVH infection.

文 献

- 1) Nahmias, A. J. and Dowdle, W. R.: Antigenic and biologic differences in herpesvirus hominis. *Progr. Med. Virol.* **10**, 110-159, 1968.
- 2) Dowdle, W. R., Nahmias, A. J., Harwell, R. W. and Pauls, F. P.: Association of antigenic type of herpesvirus hominis with site of viral recovery. *J. Immunol.* **99**, 974-980, 1967.
- 3) Nahmias, A. J., Naib, Z. M. and Josey, W. E.: Herpesvirus hominis type 2 infection-Association with cervical cancer and perinatal disease. *Perspect. Virol.* **7**, 73-89, 1971.
- 4) Blank, H. and Rake, G.: Herpes Simplex. Viral and rickettsial diseases of the skin, eye and mucous membranes of man. pp. 44-70. Little, Brown and Co., Boston, 1955.
- 5) Stern, E. and Longo, L. D.: Identification of herpes simplex virus in a case showing cytological features of viral vaginitis. *Acta Cytol.* **7**, 295-299, 1963.
- 6) Naib, Z. M., Nahmias, A. J. and Josey, W. E.: Cytology and histopathology of cervical herpes simplex infection. *Cancer* **19**, 1026-1031, 1966.
- 7) Nahmias, A. J., Naib, Z. M., Josey, W. E. and Clepper, A. C.: Genital herpes simplex infection. *Virologic and cytologic studies. Obstet. Gynecol.* **29**, 395-400, 1967.
- 8) 野田 定: ヘルペス症. 稀少症例の細胞診. 天神美夫, 服部正次編, pp. 262-263. 文光堂, 東京, 1974.
- 9) 森田恒之, 青木健治: 婦人性器ヘルペスウイルス感染症の3例. *日臨細胞誌* **13**, 176-179, 1974.
- 10) 鈴木忠雄: 子宮頸癌スミアにみられた Herpes 感染像. 第11回日本臨床細胞学会秋季大会講演要旨. *日臨細胞誌* **12**, 50, 1973.
- 11) 蔵本博行, 加藤芳克, 西田正人, 上坊敏子, 田口明, 大野英治, 鶴野和則: 子宮頸癌とヘルペスII型ウイルス. *臨婦産* **30**, 351-359, 1976.
- 12) 安村美博, 川喜田愛郎: 組織培養による SV₄₀ の研究—ガラス器内における癌研究の予備段階— *日臨* **21**, 1201-1219, 1963.
- 13) Schneeweis, K. E.: Herpes simplex virus. Strains of human viruses. Majer, M. and Plotkin, S. A., pp. 66-84. S. Karger, Basel, 1972.
- 14) Wentworth, B. B. and French, L.: Plaque assay of herpesvirus hominis on human embryonic fibroblasts. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **131**, 588-592, 1969.
- 15) Chiang, W., Wentworth, B. B. and Alexander, E. R.: The use of immunofluorescence technique for the determination of antibodies to cytomegalovirus strains in human sera. *J. Immunol.* **104**, 992-999, 1970.
- 16) 北村 敬: 組織培養を用いたウイルス定量. ウイルス検査のための組織培養技術. pp. 179-188. 近代出版, 東京, 1976.
- 17) 田島基男: 細胞観察法. 国立がんセンター悪性腫瘍の診断図譜シリーズ別巻. 細胞診特論. 久留勝, 石川七郎監修, pp. 31-66. 中山書店, 東京, 1970.
- 18) 岡本耕造, 上田政雄, 前田隆英, 水谷 昭: 酵素. 顕微鏡的組織化学. 第3版. pp. 473-650. 医学書院, 東京, 1965.
- 19) 大内義智, 芦原義守: II型ヘルペスウイルスによる家兎経膣感染実験(予報). *臨とウイルス* **3**, 407-411, 1975.
- 20) 吉野亀三郎: ヘルペス感染論. 実験感染学. 宮川正澄, 三橋 進, 石田名香雄編, pp. 510-521. 朝倉書店, 東京, 1967.
- 21) 吉野亀三郎: ヘルペスウイルスのI型とII型. *臨とウイルス* **2**, 117-125, 1974.
- 22) 新居志郎: ヘルペスウイルスと培養細胞の関係. *臨とウイルス* **2**, 126-134, 1974.
- 23) Rawls, W. E., Tompkins, W. A. F. and Melnick, J. L.: The association of herpesvirus type 2 and carcinoma of the uterine

- cervix. *J. Epidemiol.* **89**, 547-554, 1969.
- 24) Nahmias, A. J., Josey, W. E. Naib, Z. M., Luce, C. F. and Duffey, A.: Antibodies to herpesvirus hominis type 1 and 2 in humans. 1. Patients with genital herpetic infections. *J. Epidemiol.* **91**, 539-546, 1970.
- 25) 沢登昭一: Herpes simplex virus (HSV) 感染症の血清疫学的研究. I: HSV (type 1) に対する年齢別抗体分布について 日小会誌 **76**, 252-260, 1972.
- 26) 沢登昭一: Herpes simplex virus (HSV) 感染症の血清疫学的研究. II: HSV-2型に対する年齢別抗体分布について 日小会誌 **77**, 477-482, 1973.
- 27) Slavin, H. B. and Gavett, E.: Primary herpetic vulvovaginitis. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **63**, 343-345, 1946.
- 28) Poste, G., Hawkins, D. F. and Thomlinson, J.: Herpesvirus hominis infection of the female genital tract. *Obstet. Gynecol.* **40**, 871-890, 1972.
- 29) Naib, Z. M., Nahmias, A. J., Josey, W. E. and Kramer, J. H.: Genital herpetic infection. Association with cervical dysplasia and carcinoma. *Cancer* **23**, 940-945, 1969.
- 30) Rawls, W. E., Tompkins, W. A. F., Figueroa, M. E. and Melnick, J. L.: Herpesvirus type 2: Association with carcinoma of the cervix. *Science* **161**, 1255-1256, 1968.
- 31) Naib, Z. M., Nahmias, A. J., Josey, W. E. and Zaki, S. A.: Relation of cytohistopathology of genital herpesvirus infection to cervical anaplasia. *Cancer Res.* **33**, 1452-1463, 1973.
- 32) Yen, S. S. C., Reagan, J. W. and Rosenthal, M. S.: Herpes simplex infection in female genital tract. *Obstet. Gynecol.* **25**, 479-492, 1965.
- 33) Nowakovsky, S., McGrew, E. A., Medak, H., Burlakow, P. and Nanos, S.: Manifestations of viral infections in exfoliated cells. *Acta Cytol.* **12**, 227-236, 1968.
- 34) An, S. H.: Herpes simplex virus infection detected on routine gynecologic cell specimens. *Acta Cytol.* **13**, 354-358, 1969.
- 35) Ng, A. B. P., Reagan, J. W. and Lindner, E.: The cellular manifestations of primary and recurrent herpes genitalis. *Acta Cytol.* **14**, 124-129, 1970.
- 36) Wilbanks, G. D., Campbell, J. A. and Kaufmann, L. A.: Cellular changes of normal human cervical epithelium infected in vitro with herpesvirus hominis, type two (Herpes Simplex). *Acta Cytol.* **14**, 538-543, 1970.
- 37) 森脇昭介, 山内政之, 宇佐美孝子, 山本陽子: ヘルペス膺炎および帯状ヘルペスの細胞学的, 電顕的研究 日臨細胞誌 **13**, 33-49, 1974.
- 38) Crouse, H. V., Coriell, L. L. Blank, H. and Scott, T. F. M.: Cytochemical studies on the intranuclear inclusion of herpes simplex. *J. Immunol.* **65**, 119-128, 1950.
- 39) Wolman, M. and Behar, A.: Cytochemical evidence for the nature of herpes simplex inclusion bodies. *J. Infect. Dis.* **91**, 63-68, 1952.
- 40) Scott, T. F. M., Burgoon, C. F., Coriell, L. L. and Blank, H.: The growth curve of the virus of herpes simplex in rabbit corneal cells grown in tissue culture with parallel observations on the development of the intranuclear inclusion body. *J. Immunol.* **71**, 385-396, 1953.
- 41) Sosa-Martinez, J., Gutierrez-Villegas, L. and Sosa-Martinez, R.: Propagation of herpes simplex virus in tissue cultures of rabbit kidney. *J. Bacteriol.* **70**, 391-399, 1955.
- 42) Lebrun, J.: Cellular localization of herpes simplex virus by means of fluorescent antibody. *Virology*, **2**, 496-510, 1956.
- 43) Cowdry, E. V.: The problem of intranuclear inclusions in virus diseases. *Arch. Pathol.* **18**, 527-542, 1934.
- 44) 加藤四郎, 釜洞醇太郎: Poxvirus group 及び Herpes simplex virus による封入体形成の意義 細胞化学シンポ **12**, 47-89, 1962.
- 45) 植田健治: 外陰ヘルペス感染症の1例. 第14回日本臨床細胞学会総会講演要旨. 日臨細胞誌 **12**, 189, 1973.
- 46) 鈴木忠雄: 頸癌スミア中にみられたヘルペス症. 稀少症例の細胞診. 天神美夫, 服部正次編, pp.

- 264-265. 文光堂, 東京, 1974.
- 47) Poste, G.: Virus-induced polykaryocytosis and the mechanism of cell fusion. *Adv. Virus Res.* **16**, 303-356, 1970.
- 48) Scott, T. F. M., McLeod, D. L. and Tokumaru, T.: A biologic comparison of two strains of herpesvirus hominis. *J. Immunol.* **86**, 1-12, 1961.
- 49) 新居志郎: ヘルペスウイルス群. 新ウイルス学 II. 東昇, 石田名香雄編, pp. 491-508. 朝倉書店, 東京, 1974.
- 50) Kaplan, A. S. and Ben-Porat, T.: The effect of pseudorabies virus on the nucleic acid metabolism and on the nuclei of rabbit kidney cells. *Virology*, **8**, 352-366, 1959.
- 51) Roizman, B.: Polykaryocytosis induced by viruses. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **48**, 228-234, 1962.
- [52) Bungay, C. and Watkins, J. F.: Observations on polykaryocytosis in HeLa cells infected with herpes simplex virus. *Br. J. Exp. Pathol.* **45**, 48-55, 1964.
- 53) Sever, J. L.: Herpesvirus and cervical cancer studies in experimental animals. *Cancer Res.* **33**, 1509-1510, 1973.
- 54) Wentz, W. B., Reagan, J. W. and Heggie, A. D.: Cervical carcinogenesis with herpes simplex virus, type 2. *Obstet. Gynecol.* **46**, 117-121, 1975.
- 55) Nahmias, A. J., Naib, Z. M., Highsmith, A. K. and Josey, W. E.: Experimental genital herpes simplex infection in the mouse. *Pediatr. Res.* **1**, 209, 1967.
- 56) London, W. T., Catalano, L. W., Nahmias, A. J., Fuccillo, D. A. and Sever, J. L.: Genital herpesvirus hominis type 2 infection of monkeys. *Obstet. Gynecol.* **37**, 501-509, 1971.
- 57) Overall, J. C., Kern, E. R., Schlitzer, R. L., Friedman, S. B. and Glasgow, L. A.: Genital herpesvirus hominis infection in mice. I. Development of an experimental model. *Infect. Immun.* **11**, 476-480, 1975.
- 58) Kalter, S. S., Felsburg, P. J., Heberling, R. L., Nahmias, A. J. and Brack, M.: Experimental herpesvirus hominis type 2 infection in nonhuman primates. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **139**, 964-968, 1972.
- 59) Felsburg, P. J., Heberling, R. L. and Kalter, S. S.: Experimental genital infection of cebus monkeys with oral and genital isolates of herpesvirus hominis type 1 and 2. *Arch. Gesamte Virusforsch.* **39**, 223-227, 1972.

図 説 明

- 図 1. HVH 非接種対照標本の Vero 細胞, Pap. 染色 ×400 18時間, ↖ : 有糸分裂像
- 図 2. HVH 感染 Vero 細胞, Pap. 染色 ×400 42時間, ← : molding 像, → : 典型的すりガラス様核
- 図 3. HVH 感染 Vero 細胞, Pap. 染色 ×400 42時間, ↗ : 外側辺在核に核小体を認める
- 図 4. HVH 感染 Vero 細胞, Pap. 染色 ×400 56時間, ↘ : 核の変化相にずれを認める
- 図 5. HVH 感染 Vero 細胞, ATPase 染色 ×400 42時間, ↖ : 活性度(卅)
- 図 6. HVH 感染 Vero 細胞, RNA 染色 ×400 42時間, ↖ : 染色度(卅)
- 図 7. ウサギ脳細胞診に見られた HVH 感染細胞, Pap. 染色 ×400 接種2日目
- 図 8. Pap. 染色による HVH-II 型感染 Vero 細胞の経時変化. 説明は本文参照

