

単純ヘルペスウイルスによる実験的網膜炎

第1報 感染初期の変化

吉岡 正樹, 大熊 紘, 宇山 昌延, 谷村 英紀*, 大山 昭夫*

関西医科大学眼科学教室, *関西医科大学微生物学教室

要 約

単純ヘルペスウイルス1型(HSV-1)による壊死性網膜炎に至る過程と、眼内におけるウイルスの局在を明らかにするため感染初期の観察を行った。HSV-1 Miyama株のうち特にVero細胞に強い細胞変性を示すクローンを選び、Vero細胞に感染2日後に凍結融解、遠心分離した上清をハンクス液で 1.5×10^3 pfu/mlに希釈し0.1mlを有色家兎の硝子体内に接種した。接種後1～2日で滲出性虹彩炎、2～4日で硝子体混濁、2～6日で網膜に大小の滲出斑が観察された。この滲出斑は組織学的には初期には内顆粒層を中心とする細胞変性による壊死病巣であったが、感染の進展と共に滲出巢は互いに融合して大きな滲出巢を形成していき、網膜は全層が変性壊死に陥っていることがわかった。電顕的にはウイルス粒子をまず内顆粒層の核内に認め、次いでMüller細胞、神経節細胞の核内、更に神経線維層の軸索内に認めた。HSV-1の硝子体内接種により、病変はまず網膜内顆粒層のウイルスの初期増殖により発生することが示された。(日眼会誌 94:367-376, 1990)

キーワード：単純ヘルペスウイルス1型、壊死性網膜炎、ウイルス性ぶどう膜炎、ウイルス局在

Endophthalmitis Induced by Herpes Simplex Virus, A Study on Early Phase

Masaki Yoshioka*, Hiroshi Ohkuma*, Masanobu Uyama*, Eiki Tanimura** and Akio Ohyama**

*Department of Ophthalmology, Kansai Medical University

**Department of Microbiology, Kansai Medical University

Abstract

We studied the early phase of herpetic endophthalmitis to clarify the process of necrotizing retinitis by herpes simplex virus type-1 (HSV-1) and viral localization in the retina. A clone, isolated from HSV-1 Miyama for its high yield on Vero cells, was inoculated on mono-layers of Vero cells. Two days after inoculation, the cells were frozen-and-thawed once and were centrifuged. The supernatant was diluted with Hanks' balanced salt solution. The viral suspension (1.5×10^3 pfu/ml) was injected intravitreally to colored rabbits for 0.1ml. All rabbits showed exudative iritis from 1 to 2 days after inoculation, vitreal opacities from 2 to 4 days and retinal exudates from 2 to 6 days. These exudates initially consisted of necrotic materials of the inner nuclear layer. These fused with one another gradually and formed massive exudates which spread to the whole retinal layer, causing retinal necrosis. Viral particles were found in the nuclei of the inner nuclear layer at first, and later in the nuclei of Müller cells, ganglion cells and axon of the nerve fiber. These findings indicated that retinal

別刷請求先：570 大阪府守口市文園町1 関西医科大学眼科学教室 吉岡 正樹

(平成元年8月22日受付, 平成元年10月17日改訂受理)

Reprint requests to: Masaki Yoshioka, M.D. Dept. of Ophthalmol., Kansai Medical Univ.

1 Fumizono-cho, Moriguchi 570, Japan

(Received August 22, 1989 and accepted in revised form October 17, 1989)

lesion occurred primarily in viral replication of the inner nuclear layer. (Acta Soc Ophthalmol Jpn 94 : 367-376, 1990)

Key words : HSV-1, Necrotizing retinitis, Viral uveitis, Viral localization

I 緒 言

最近単純ヘルペスウイルス1型(以下 HSV-1)が壊死性網膜炎を起こすことが注目されている。HSV を感染させた実験的網膜炎は Goodpasture¹⁾が最初であり、家兎を使用した眼内接種実験では、von Szily²⁾が毛様体と強膜の間に cleft を作り HSV を接種し、接種眼及び他眼にぶどう膜炎の発症をみ、毛様体、脈絡膜に多数の炎症細胞浸潤、網膜には広範な壊死を認めた。Abe³⁾は家兎の硝子体内で同様の所見を得た。しかし病変部組織より HSV を分離培養できなかったのが彼等はこの眼内炎の原因が HSV の直接侵襲か或は免疫反応か断定できなかった。Kimura⁴⁾は家兎の前房内に HSV を接種し、接種眼の角膜潰瘍部、虹彩、毛様体から HSV を分離した。また病理組織学的には虹彩、毛様体、網膜内層に多数の炎症細胞浸潤を認めた。Pettit⁵⁾は HSV を家兎の前房に接種し、蛍光抗体法を用いて HSV の局在を調べ、接種側の角膜、虹彩、毛様体、網膜、後毛様神経、中枢神経組織に抗原が存在することを証明し、ウイルスなどの抗原の存在の証明には免疫学的方法が有用であることを示した。Minckler⁶⁾はヘルペス性脳炎で死亡した44歳の患者の網膜、視神経、脳組織より HSV-1と思われるウイルス粒子を電顕で初めて検出し、HSV-1性眼内炎は HSV-1の直接侵襲によるものであろうと推察した。林⁷⁾は HSV-1を硝子体に接種し蛍光抗体法を用いて、接種眼の角膜、虹彩、毛様体、脈絡膜、網膜(内外顆粒層、神経節細胞)に HSV-1を証明し、HSV-1によって眼内炎が発症し、HSV-1抗原が眼内全組織に広く拡散していることを明らかにした。また彼の続報⁸⁾での網膜下腔接種では眼底の観察から、網膜炎後期には網脈絡膜萎縮が起こることが分かった。過去の文献を検索してみると、感染後壊死性網膜炎に至るまでの早期の変化、及び眼内におけるウイルスの局在については未だ不明な点が多い。我々は最も眼内炎を起こし易い硝子体内接種法による感染実験を行い、眼内に生じる病変についてその臨床的観察ならびに病理組織学的観察を行ったので報告する。

II 実験材料及び方法

1. 接種ウイルス並びにその培養

1) 使用ウイルス

Vero 細胞にて教室で継代してきた HSV-1 Miyama 株を用いた。Miyama 株は京大ウイルス研究所、徳田正夫教授より昭和52年に分与された。

2) 培養細胞

角型培養瓶(250ml)で単層培養したアフリカミドリザル腎由来の株化細胞(Vero 細胞)⁹⁾を、常法¹⁰⁾に従い 0.25%トリプシン液(Difco 1 : 250)で37℃に加熱処理し、ガラス壁より細胞を剝離し、分散して毎分800回転5分間遠心沈殿を行い、細胞を集めた。細胞は加熱非動化(56℃30分)した仔牛血清を10%含むイーグル基礎培地(MEM 培地)¹¹⁾に3~5×10⁵cell/mlの濃度に希釈浮遊させた。培養にあたってはカバーグラスを挿入したレイトン管には1ml、角型培養瓶には10mlの上記細胞浮遊液を分注し、37℃で静置培養した。なお細胞の継代及びウイルスの感染実験には単層培養の完成した4日培養のものを使用した。

3) ウイルスの培養

単層に培養された細胞の培養液を除き、ハンクス緩衝生理食塩水(HBSS)により細胞表面を静かに洗浄し、100倍に希釈されたウイルス浮遊液を培養細胞の1/10量細胞表面に均一にゆきわたる様に接種した。ウイルスを吸着させる目的で37℃、90分間保温した。

吸着時間終了後、未感染ウイルスを除去するため、細胞表面を HBSS にて3回十分洗浄した後、3%仔牛血清を含む MEM 培地を加え、37℃で静置培養した。尚実験には3回凍結融解した後、3,000回転で5分間遠心沈殿した上清をウイルス浮遊液として使用した。

2. 実験動物

体重2kgの有色家兎を使用した。いずれの家兎もウイルス接種前に HSV-1に対する血清抗体価を測定し感染の既往のないことを確認した。

3. 硝子体内接種法

ウイルス液(遠心分離した上清)を HBSS で希釈して1.5×10⁸plaque-forming unit (pfu)/mlのウイルス浮遊液にし、0.1mlを注射筒にとり、26G注射針により

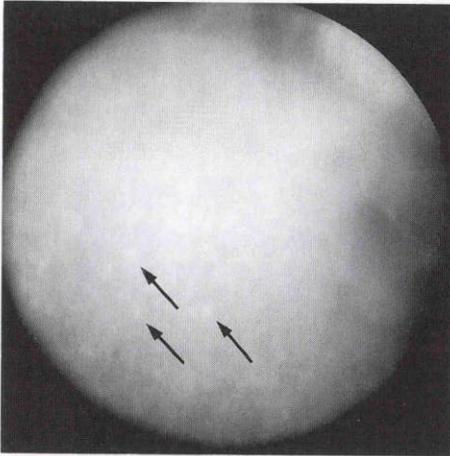


図1 眼底写真:接種4日, 点状滲出斑

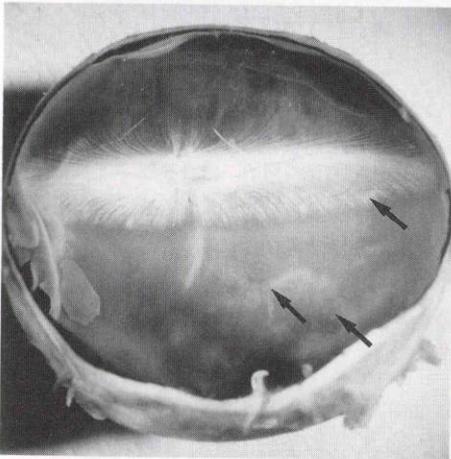


図2 接種3日, 網膜表層に出血斑(矢印)がみえる。

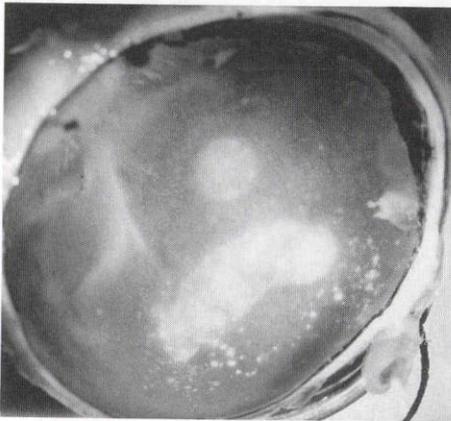


図3 接種4日以後になると, 小さい点状の滲出斑と大きい斑紋状の滲出斑がみられた。

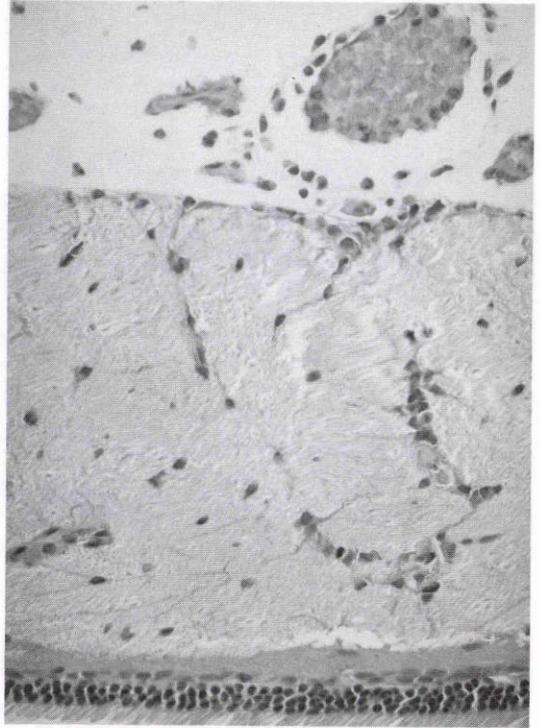


図4 接種3日, 乳頭上及び髄翼付近の網膜血管に閉塞性血管炎, 乳頭付近の髄翼, 血管周囲及び硝子体にリンパ球よりなる少数の炎症細胞浸潤がみられ, 硝子体内には少数のリンパ球をみる程度の軽い炎症反応がみられた。(H・E染色, ×10)

輪部強膜を経て硝子体内で視神経乳頭前面に直接接種した(25頭25眼)。また, 対照としてはウイルス浮遊液のかわりにHBSSを同量同方法で接種した(5頭5眼)。

4. 臨床的観察

硝子体内接種後1日から6日まで, 前眼部及び前部硝子体をポータブル細隙間灯顕微鏡で, 眼底は倒像検眼鏡にて経時的に観察した。

5. 病理組織学的観察

硝子体内接種後, 3日, 4日, 5日, 6日に眼球を摘出し, 2.5%グルタルアルデヒドを含むカルノフスキー固定液にて固定し, 光顕切片はエタノール系列で脱水後パラフィン包埋, 切片を作製しヘマトキシリン・エオジン染色(H・E染色)を行って観察した。また12時間後カルノフスキー液で前固定した後, 0.1M-リン酸緩衝液(pH 7.2)にて洗浄後, 眼内各組織を細切し1%オスミウム酸リン酸緩衝液(pH 7.4)で後固定した。エタノール系列にて脱水し, Luftの方法にした

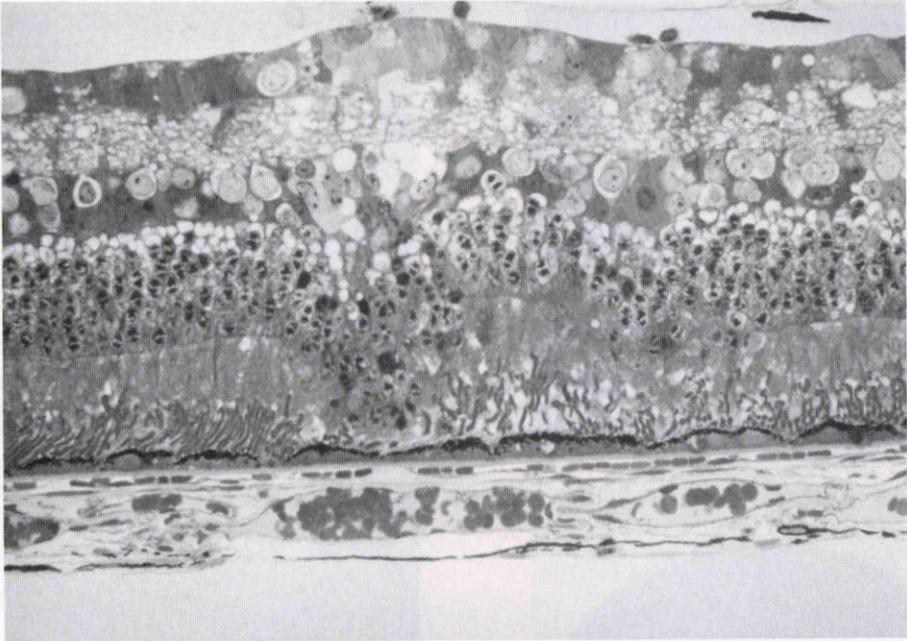


図5 接種2日以降に出現した点状の小さい滲出斑の観察では、内顆粒層に核の配列の乱れ、核の染色性の低下、核内クロマチンの凝集性変化、胞体の崩壊、細胞壊死がみられた。更に神経節細胞、神経線維層の染色性の低下があり、外顆粒層の核は配列が乱れ、部分的に視細胞外節の位置まで陥入し、外節の乱れ、短縮化がみられた。網膜色素上皮層にはほとんど変化がみられなかった。(トルイジン青染色, ×20)

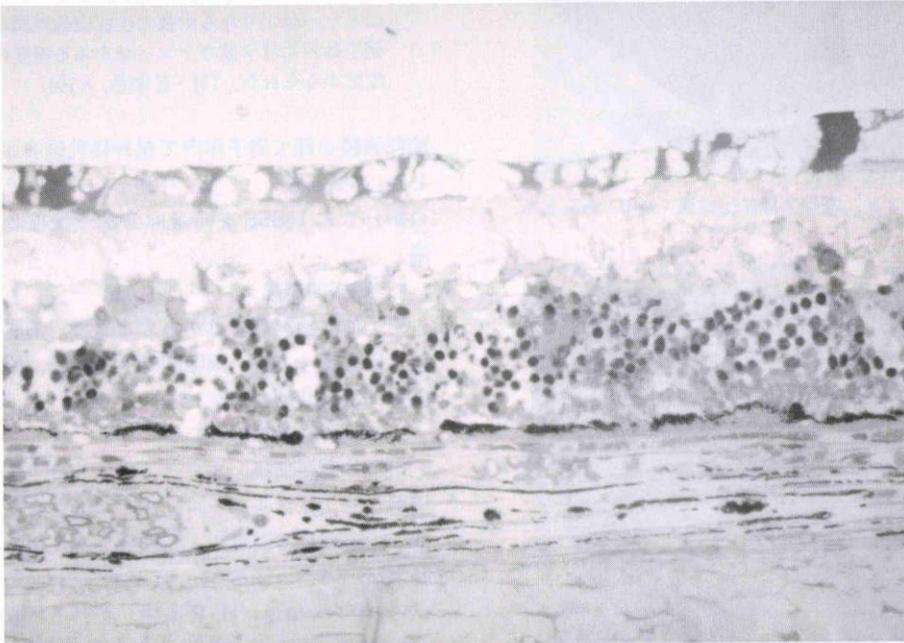


図6 大きい斑紋状滲出斑：網膜は全層にわたって壊死に陥り、特に内層の壊死が著しく、神経線維層、内網状層、内顆粒層の細胞に空胞変性と核の染色性低下が強くみられた。外顆粒層の核は残っていたが配列が乱れ、視細胞外節は消失していた。(トルイジン青染色, ×20)

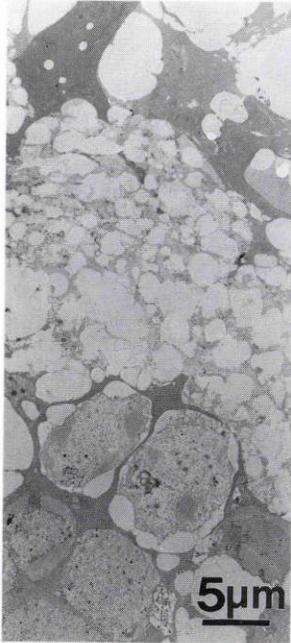


図7 接種後4日の斑紋状滲出斑の部位(図6と同一部位):内境界膜の下に壊死に陥った神経線維層,内網状層,空胞変性を示す内顆粒層をみとめた。(×1,600)



図8 内顆粒層の核内(図7の強拡大写真):集合或は散在した直径100nmの粒子(矢印)が多数みられ,粒子の内部には様々の電子密度を持つ物質がみられた。また同じ細胞の核内の所々に集合している電子密度の高い顆粒状物質(矢印頭)がみられた。(×11,000)

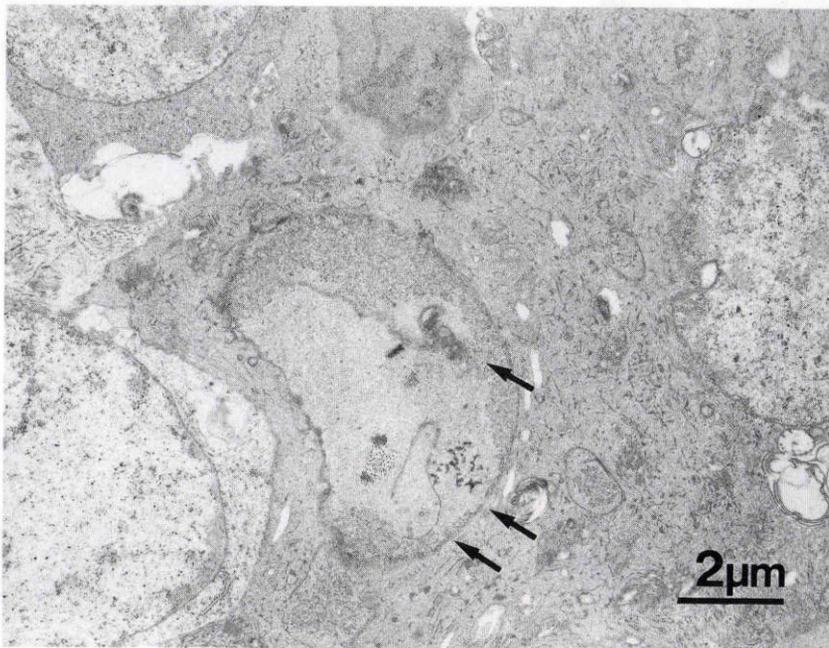


図9 内顆粒層:変性の軽い細胞(中央の細胞)に二重構造物が多くみられ,強く変性した細胞(上,左方,右方の細胞)にはこのような構造物はみられなかった。(×4,500)

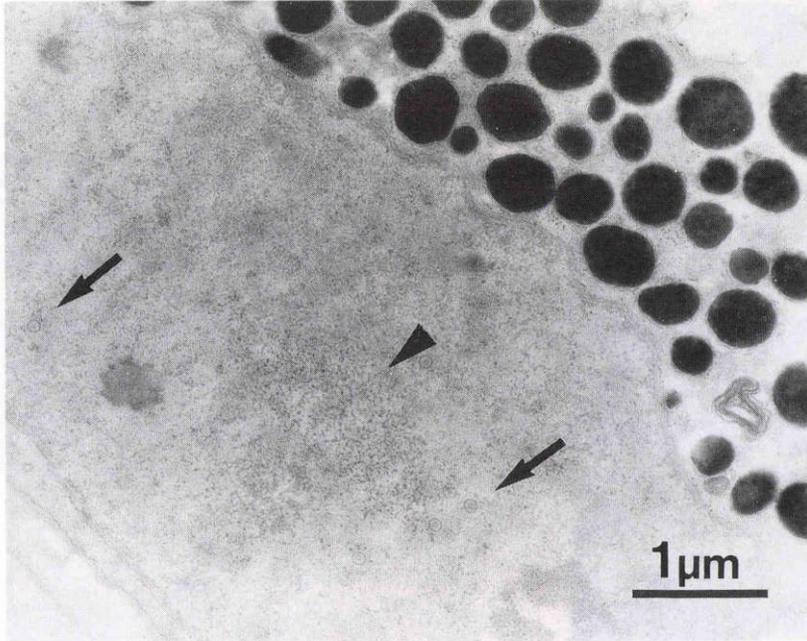


図10 網膜色素上皮細胞の核内にも二重構造物(矢印)及び顆粒状物質(矢印頭)をみることがあったが細胞変性は軽度であった。(×18,000)



図11 接種6日、髄翼部分のMüller細胞の胞体内に二重構造物(矢印)を観察した。(×18,000)



図12 接種6日、髄翼部分の神経節細胞の核内、細胞質に二重構造物(矢印)を観察した(×21,000)

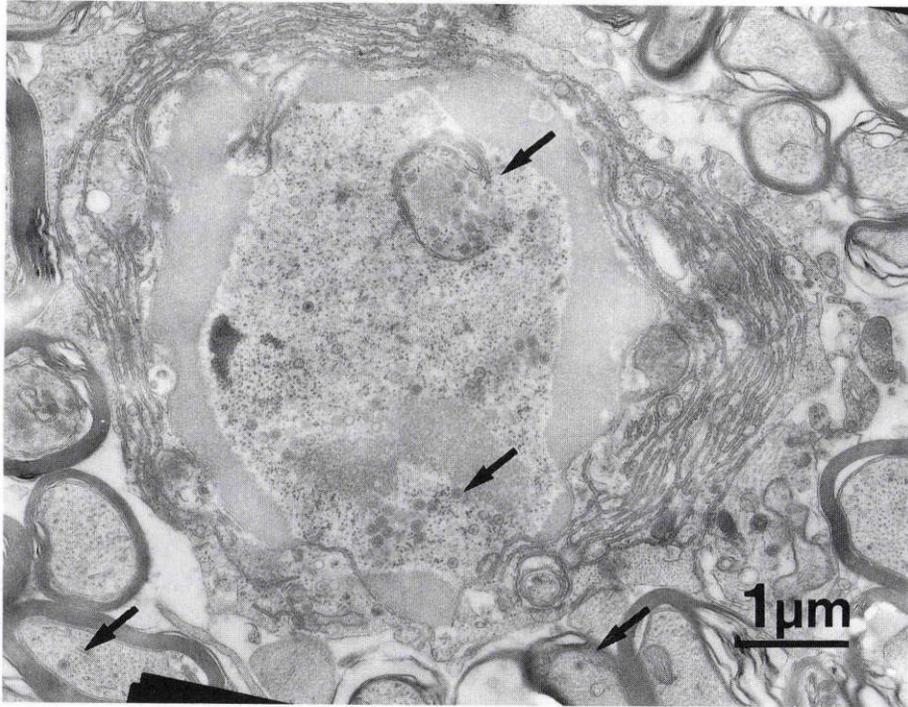


図13 接種6日, 神経節細胞の核内, 神経線維層の軸索内に二重構造物(矢印)をみとめた。(×15,000)

がってEPON812に包埋した。LKB 8800 型型超ミクロトームIIIにて超薄切片を作り, 酢酸ウランとクエン酸鉛の二重染色を行い, 日立HU-500 型電子顕微鏡にて加圧電圧100KVで観察した。

6. 血清抗体価の測定

血清反応は, Scott 等の方法を一部改良した感作赤血球凝集反応により家兎血清の抗体価を測定した。即ちタンニン酸処理ヒツジ赤血球1容と1/15M 磷酸緩衝生理食塩水(pH 6.4)4容とを混合して赤血球浮遊液を作製した。さらに日立65P 型超高速遠心機を用い, ローターとしてRP40を使用して200,000回転, 2時間遠心分離を3回繰り返した精製ウイルス浮遊液(50% tissue culture infective dose; TCID₅₀ 10⁶/ml)1容を赤血球:PBS:ウイルス浮遊液=1:4:1とに混合(phosphate buffered saline; PBS, pH=7.2), 室温にて15分間ウイルスを赤血球に吸着させ感作赤血球を作製した。被検血清の2倍階段希釈0.5mlに2.5%感作赤血球液0.05mlを加え37°C, 1時間保温後, 凝集の有無を管底像から判定した。

III 実験結果

1. 臨床的所見

HSV-1を硝子体内に接種した後, 1~2日で全動物に毛様充血をみ, 26眼中21眼(80%)に線維素滲出を示す虹彩炎が発症し, 症状の激しいもの(9眼, 35%)では瞳孔縁に滲出物が付着し, 中等度の虹彩後癒着を生じた。25眼中24眼(96%)で瞳孔は中等度散大し, 対光反射は消失していた。虹彩炎の強い時期には強い角膜浮腫をきたしたものは20眼中4眼(20%)あったが, 角膜潰瘍はみられなかった。接種2~4日後に26眼中21眼(80%)に強い硝子体混濁が発症し, 数日後消退した。15眼中7眼(47%)の眼底には中等度の網膜血管の拡張, 少数の点状出血がみられた。25眼中22眼(88%)に軽度の乳頭充血が接種後2日からみられ, 1週間後に消失した。15眼中11眼(73%)に接種4~6日で小さい多数の灰白色の滲出斑が出現し, (図1, 矢印), 次第に融合して, 数日で大きい斑紋状の滲出斑を形成した。

対照群には全例に硝子体混濁及び軽い虹彩炎がみられたが, 乳頭炎と滲出斑はみられなかった。

2. 病理組織学的所見

1) 実体顕微鏡で接種3日の眼球の半切標本を観察すると、4眼中4眼に矢印の様に網膜表層に出血斑(図2)、接種4日以後になると17眼中15眼(88%)の網膜に小さい点状の滲出斑と大型の斑紋状滲出斑がみられた(図3)。

2) 光顕所見

H・E染色またはトルイジンブルー染色で接種後3日の眼球を観察すると、全例で図4のように乳頭上及び髄翼付近の網膜血管に閉塞性血管炎を、また乳頭付近の髄翼、血管周囲及び硝子体内に主にリンパ球よりなる少数の炎症細胞浸潤をみたが、他の網膜には変化がなく、硝子体内に少数のリンパ球をみる程度の軽い炎症反応のみがみられた。

接種後4日以後になると、乳頭付近の血管内腔、及び血管周囲に多数の炎症細胞浸潤がみられたが、網膜内には病巣に一致した網膜にわずかなリンパ球浸潤がみられるのみであった。

接種4日以降に出現した点状の小さい滲出斑の観察で得られた代表的所見では(図5)、内顆粒層に核の配列の乱れ、核の染色性の低下、核内クロマチンの凝集性変化、胞体の崩壊、細胞壊死がみられ、更に、神経節細胞、神経線維層、内網状層の浮腫があった。外顆粒層の核は配列が乱れ、部分的に視細胞外節の位置まで陥入し、外節の乱れ、短縮がみられた。網膜色素上皮層にはほとんど変化がみられなかった。

大きい斑紋状滲出斑の代表的所見では網膜は全層に互って壊死に陥り、特に内層の壊死が著しく、神経線維層、内網状層、内顆粒層の細胞に空胞変性と核の著しい染色性低下がみられた(図6)。外顆粒層の核は残っていたが配列が乱れ、視細胞外節は消失していた。網膜色素上皮にも軽い壊死がみられた。網膜内には炎症細胞浸潤は少なかった。

3) 電顕所見

接種後4日の斑紋状滲出斑の網膜内層(図7:光顕写真図6と同一部位)の観察で得られた代表的所見は、内境界膜の下の神経線維層、内網状層、内顆粒層は壊死に陥って空胞変性を示した。内顆粒層を強拡大で観察すると、その核内(図8:図7の強拡大写真)に集合或は散在した直径100nmの粒子(矢印)が多数みられ、粒子の内部には、様々の電子密度を持つ物質がみられ、二重構造を示した。これらの二重構造物は対照群には観察されなかった。また同じ細胞の核内の所々に集合している電子密度の高い顆粒状物質(矢印頭)

がみられた。内顆粒層であっても、強く変性した細胞にはこのような二重構造物はみられず、隣接する変性の軽い細胞に多い傾向が5眼中4眼にみられた(図9)。この時期に5眼中1眼に網膜色素上皮細胞の核内(図10)にも二重構造物(矢印)及び顆粒状物質(矢印頭)をみる事があったが網膜色素上皮の細胞変性は軽度であった。網膜の他の細胞にはこの様な粒子はみられなかった。

感染6日目の4眼中3眼で髄翼部のMüller細胞の胞体内(図11)及び神経節細胞の核内、更に細胞質(図12)に二重構造物(矢印)を観察した。また感染6日目の4眼中2眼で神経節細胞の核内、更に神経線維層の軸索内にも二重構造物をもとめた(図13)。

IV 考 按

HSV網膜炎が発症すると、網膜に炎症が起こり後に壊死になることは、臨床的にはMinckler⁶⁾、Cibis¹²⁾が、実験的にはHowe¹³⁾、Anderson¹⁴⁾、Peiffer¹⁵⁾が報告している。

我々の実験の臨床観察では接種1日より滲出性虹彩炎を生じたが、後眼部の炎症は少し遅れ、硝子体混濁は接種2~3日から生じ増強した。乳頭充血は接種2日からみられ、網膜滲出斑は接種2~6日に観察された。前眼部の炎症が後眼部の炎症より早く起こり、そして早く消退した。対照群では軽い虹彩炎と軽度の硝子体混濁を認めたが、乳頭充血、網膜滲出斑はみられなかった。

文献的にはOh¹⁶⁾は前眼部の炎症を4日から見たと報告しており、Tessler¹⁷⁾は眼内炎が接種した次の日から起こったと報告しており、また林は1~2日で発症を認めている。これらの症状の差異は使用したウイルス株や接種ウイルスの量の相違によると考えられた。

病理組織学的には、まず接種3日までに、乳頭付近の軽度のリンパ球浸潤、閉塞性血管炎を認めた。網膜に接種後2~6日から滲出斑を生じたが、これは初期には網膜内顆粒層を中心とした限局性の網膜内層の壊死であり、次いで拡大融合して大きい滲出斑となったが、これは網膜全層の強い壊死病巣の形成であった。しかし網膜内には炎症細胞浸潤は少なく、また脈絡膜にも殆ど炎症性細胞の浸潤をみなかったが、これはウイルス性網膜脈絡膜炎の特徴であった。

電顕的には網膜滲出病巣の内顆粒層の核内、網膜色素上皮の核内、Müller細胞と神経節細胞の核内、胞体内、有髄部の軸索(胞体)内に、内部に様々の電子密

度を持つ直径100nmの粒子様二重構造物が見られ, この二重構造物は対照群には観察されなかった. 形態学的にはこれらの二重構造物は新居ら¹⁸⁾によって詳細に報告されているヘルペスウイルス粒子のヌクレオカプシドと同定され, これらはウイルス粒子が細胞核内で増殖している所見であった. また内顆粒層と網膜色素上皮の感染細胞の核内の所々に集合している電子密度の高い顆粒状物質がみられ, これは大きさ, 電子密度, 集合状態から Miyamoto¹⁹⁾の報告しているウイルス関連物質に相当すると思われた.

接種4~5日の早期の網膜滲出病巣に於て, 内顆粒層が最も強い壊死になり, 内顆粒層の核内に多数のウイルス粒子及びウイルス関連物質がみられる頻度が最も高かった. これはこの部位にウイルスが最も多く分布していることを示していた. 感染の進行に伴い, ウイルス粒子は多数認められ, 細胞変性が強くなったが, 高度に変性した細胞にはウイルス粒子がみられず, 隣接する変性の軽い細胞に多く見られた. 時には色素上皮細胞の核内にウイルス粒子を認めた. またこの時期には Müller 細胞, 神経節細胞など他の網膜の細胞にはウイルス粒子はみられなかった.

このように硝子体内接種された HSV-1はまず内顆粒層の核内で増殖すると思われた. 網膜の他の層には HSV-1がみられないのに内顆粒層に多量の HSV-1がみられ, 網膜色素上皮にごく少量の HSV-1がみられることがあった.

接種6日の病巣の観察より, HSV-1は神経節細胞に移行して核内で増殖し, 神経線維層の軸索に達すると思われた.

我々の実験ではウイルス粒子は核内の核膜付近に多くみられる傾向があった. 感染が進むと, 細胞質にもウイルス粒子がみられたが, 細胞内器官があるため判別が困難であり, 多くはみられなかった.

我々の実験で電顕で認められたウイルス粒子の形態は核内, 細胞質内, 軸索内においてほとんど全てエンペロープを被らない形態であるヌクレオカプシドであった. 細胞外にはウイルス粒子は認められなかった. Hill²⁰⁾はマウスの脚に HSV-1, HSV-2を接種して神経線維中にヌクレオカプシドのウイルスを認め, 同じような実験で Cook²¹⁾はエンペロープを被った形態の完全粒子のウイルスを認めた. Anderson¹⁴⁾は核内, 胞体内にヌクレオカプシドウイルスのみを認め, Peiffer¹⁵⁾は壊死に陥った網膜内に両者の形態のウイルスを認めた. よって硝子体内接種されたウイルス粒子はヌクレ

オカプシドのまま cell to cell の伝様式で細胞間を移行していくと思われた.

HSVの感染病理を電顕で観察した実験報告は多くない. Anderson¹⁴⁾は HSV-1のアシクロビル耐性株をマウスの脳内に接種し, 脳と眼球を電顕で検索したところ, 汎脳炎になるマウスはなかったが, 3週間以内に殆どのマウスが壊死性網膜炎を示した. 更に Anderson は接種7~10日の感染早期の網膜ではまず内顆粒層の核内, 胞体内にウイルス粒子を認めたと報告している. この実験は脳内接種であり, ウイルスは視神経を経て網膜に達したと思われるが, 早期には内顆粒層にウイルスが局限していたという点で我々の硝子体内接種実験と共通点がある.

このように HSV-1は硝子体内接種による網膜感染においては内顆粒層の細胞核内にまず感染, 増殖し, 病変を起こし, 細胞の壊死をもたらすことが示された.

本報は電顕による観察のべ, 更にウイルスの局在に関しては免疫学的方法(酵素抗体法等)を併用して検討したので次報で述べる.

本稿の要旨は第90回日本眼科学会総会(1986,5,22津)において吉岡が報告した. 尚, 本研究には文部省科学研究費(奨励研究 A61771386)の補助を受けた, ここに深謝致します.

文 献

- 1) Goodpasture EW, Teague O: Transmission of the virus of herpes febrilis along nerves in experimentally infected rabbits. *J Med Res* 44: 139-141, 1923.
- 2) von Szily A: Experimentelle endogene Infektionsübertragung Von Bulbus zu Bulbus. *Klin Mbl Augenheilk* 72: 593-602, 1974.
- 3) Abe T: Experimente über die durch Herpesvirus erzeugte sympathische Ophthalmie (v. Szily) unter besonderer Berücksichtigung der Fortleitungsbahn. *von Graefes Arch GE* 117: 375-398, 1926.
- 4) Kimura SJ: Herpes simplex uveitis. *Am Ophthalmol Soc* 60: 440-470, 1962.
- 5) Pettit TH, Kimura SJ, Uchida Y, et al: Herpes simplex uveitis: An experimental study with the fluorescein-labelled antibody technique. *Invest Ophthalmol* 4: 349-357, 1965.
- 6) Minckler DS, McLean EB, Shaw CM, et al: Herpesvirus hominis encephalitis and retinitis. *Arch Ophthalmol Vis Sci* 94: 89-95, 1976.
- 7) 林 重伸: 単純ヘルペスウイルスによる実験的網膜炎の研究. 第1報. 硝子体内接種実験. *日眼会誌* 84: 1715-1722, 1980.

- 8) 林 重伸: 単純ヘルペスウイルスによる実験的眼内炎の研究. 2. 総頸動脈内接種. 日眼会誌 85: 1503—1508, 1981.
- 9) 伊藤富由: 蚊の培養細胞における日本脳炎の増殖に関する研究. 関西医科大学雑誌 29: 591—625, 1977.
- 10) 大山昭夫: 組織培養・基本と実際(木村 廉監修). 永井書店, 大阪, 47—88, 1976.
- 11) Eagle H: Amino acid metabolism in mamalian cell culturss. Science, 130: 432—437, 1959.
- 12) Cibis GW, Flynn JT, Davis ED: Herpes simplex retinitis. Arch Ophthalmol 96: 299—302, 1978.
- 13) Howe JW, Narang HK, Codd AA: Herpes simplex virus uveitis and optic neuropathy. An experimental investigation. Trans Ophthalmol Soc UK 99: 111—116, 1979.
- 14) Anderson JR, Field HJ: The development of retinitis in mice with non-fatal herpes simplex encephalitis. Neuropathol. Appl Neuro Biol 8: 277—287, 1982.
- 15) Peiffer RL, Dekker CD, Siegel FL: Ocular lesions in mice following intracerebral injection of herpes simplex type 1. Invest Ophthalmol Vis Sci 24: 1070—1078, 1983.
- 16) Oh JO: Primary and secondary herpes simplex uveitis in rabbits. Surv Ophthalmol 21: 178—184, 1976.
- 17) Tessler HH, Oh JO: Type 1 and Type 2 herpes simplex uveitis in immune rabbits, importance of pure virus preparation. Canad J Ophthalmol 10: 277—280, 1975.
- 18) 新居志郎: 電子顕微鏡図説ウイルス学. 保坂康弘, 松本 明 編. 朝倉書店, 50—59, 1979.
- 19) Miyamoto K, Morgan C, Hsu KC, et al: Differentiation by immunoferritin of herpes simplex virion antigens with the use of rabbits 7S and 19S antibodies from ealy (7-week) immune sera. J Natl Cancer Inst 46: 629—646, 1971.
- 20) Hill, TJ: Intra-axonal transport of infection. Infect Immun 7: 272—288, 1973.
- 21) Cook ML, Stevens JG: Pathogenesis of herpetic neuritis and ganglionitis in mice. Evidence for intra-axonal tranport of infection. Infect Immun 7: 272—288, 1973.