

# 茨城縣下に於ける豚の日本脳炎

## 第1報 屠殺豚の血清中和抗体

玉崎幸二・川窪淳\*・久池井忠男

### Japanese B Encephalitis of Swine in Ibaraki Prefecture

#### I. Serum Neutralizing Antibodies of Slaughtered Swine

KOJI TAMASAKI, ATSUSHI KAWAKUBO and TADAO KUTII

### I. ま え が き

北海道の北部を除いて、わが国では毎年特に夏期に日本脳炎ウイルスが活動し、人及び馬が顕性感染をする他、不顕性感染をするものが多いことは周知の事実である。更にその理由は詳かでないが、いわゆる流行の型を示す顕性感染の増加が5~10年の波を示す事も過去の発生状況から窺われる。馬以外の家畜もまた不顕性感染をすることは血清中に中和抗体或は補体結合抗体の出現により認められているが、牛(北岡<sup>(1)</sup>、川島<sup>(2)</sup>、山本<sup>(3)</sup>、清水<sup>(4)</sup>等)や山羊(田淵<sup>(5)(6)</sup>等)では脳炎症状を呈する例も報告されている。

1935~1936年及び1947~1948年には人、馬に日本脳炎が大流行したが期せずして成豚では異常分娩(死流産でしかも黒仔と呼ばれるミイラ変性胎児、び爛胎児或は正常胎児のように見えるが脳の殆んど無いもの等種々の死胎児が娩出され或は亦娩出後間もなく斃死をする)をするものがあり、また仔豚ではテンカン様症状を呈するものが非常に多数発生した。この異常分娩は人馬の顕性感染が少ない年にも全国各地で相当発生をし、養豚界には大きな脅威を与えたが主として1947年以降に於て研究機関でも重視し、特に日本脳炎との関係が各方面で追究された。その結果川島<sup>(7)</sup>、清水<sup>(8)</sup>、田淵<sup>(9)(10)</sup>、北岡<sup>(1)</sup>、松本<sup>(11)</sup>、Burns<sup>(12)</sup>等多数の人々が死胎児脳或いは初生仔脳より、また福住<sup>(13)</sup>、椿<sup>(14)</sup>等は脳炎症状を呈した仔豚よりそれぞれ日本脳炎ウイルスを分離し、更に清水<sup>(15)</sup>は日本脳炎ウイルスを妊娠豚に接種して異常分娩を起させる事に成功し、中村<sup>(16)</sup>は微量の日本脳炎ウイルスを鼻腔内に接種して極めて容易に仔豚が感染する事を認め日本脳炎の疫学上豚の感染を重視すべきであると警告している。一方この異常分娩を予防する目的で椿<sup>(17)</sup>は青森県下で高松<sup>(18)</sup>は北海道及び群馬県下で各々日本脳炎予防液を応用し効果のあることを認め、既に1952年以来全国各地で相当広く本予防液は応用されている。機械的原因、中毒或いは病原性細菌等に因つても異常分娩が起ることも考えられるが、これら先人の研究は日本脳炎

ウイルスによる異常分娩或は仔豚のテンカン様症状の多いことを裏書きしている。また秋山<sup>(19)</sup>、中島<sup>(20)</sup>、高松<sup>(18)</sup>らは異常分娩の発生状況を調査して秋に分娩されるいわゆる秋仔に多いことを報告している。しかし必ずしも秋のみでなく冬から春にかけても起きていることは秋山<sup>(19)</sup>、越智<sup>(21)</sup>等が指摘しており、川窪<sup>(22)</sup>は1954年3月一部に死産した同腹の仔豚で生後3日目に死んだものから日本脳炎ウイルスを分離している。以上述べた事によつて毎年春秋2回多数の仔豚が生産されしかも全国的に極めて広く分布している豚は中村<sup>(19)</sup>等の警告にもある如く、日本脳炎の流行に大きな役目を持つていように考えられる。従つて豚の感染を充分把握しこれの防圧をものはからねば日本脳炎の徹底的排除は出来ないのではないかと思う。

茨城県下に於ける豚の日本脳炎の発生状況については詳細な調査報告を聞かないので、われわれはその実態を知らんものと、先ず土浦市屠場で屠殺される豚の血清中の日本脳炎ウイルスに対する中和抗体の有無を検査した。ここにその成績について報告する。

### II. 試験材料及び試験方法

1. 供試豚血清：1953年5月から1954年9月の間に茨城県土浦市屠場において食肉用として屠殺された健康豚より無作為的に99頭を選び可及的無菌的に採血した。分離血清は実験に供されるまで“-20°C"以下に凍結保存された。なお99例中雑菌混入或いは容器破損等のため25例は之を廃棄し、残り74例の血清を試験に用いた。
2. 供試ウイルス株：日本脳炎中山株をマウス脳内に92~98代継代したもので、そのマウス脳内LD<sub>50</sub>は6.25~8.25であつた。
3. 供試マウス：10~12grの白色市販雑マウス。
4. 中和抗体の測定法(中和試験)：ウイルス(マウス脳乳剤)を10%脱脂乳食塩水で10倍でいげん稀釈し、その各々に非稀釈の豚血清の同量を混和し37°Cに1時間保存後1群3~5匹のマウス脳内にその0.03cc宛を注射して14日間観察した。

\* 日本生物科学研究所々員

第1表中和試験成績

試験豚 No.	豚 No.	豚生年月	豚採血年月日	LD <sub>50</sub>	中和指数	判定	試験豚 No.	豚 No.	豚生年月	豚採血年月日	LD <sub>50</sub>	中和指数	判定			
1	1	1952. 10	1953. 5. 25	6.25	0	-	6	63	1954.2.26	1954. 2. 27	3.75	5600	+			
	3	"	"	5.75	3	-		66	1953. 9	1954. 3. 8	6.25	16	±			
	4	"	"	5.50	6	-		67	"	"	3.75	5600	+			
	5	"	"	5.25	10	±		69	1953. 10	1954. 4. 1	6.50	10	±			
	7	"	1953. 6. 4	6.25	0	-		70	"	"	6.50	10	±			
	9	1952. 11	"	5.50	6	-		71	"	"	6.25	16	±			
	10	"	"	5.75	3	-		72	"	"	4.50	1000	+			
	11	"	1953. 6. 15	6.25	0	-		73	1953. 9	"	3.75	5600	+			
	12	"	"	5.00	16	±		7	74	1953. 10	1954. 4. 19	7.25	0	-		
	13	"	"	4.25	100	+			75	"	"	6.50	6	-		
	14	"	"	4.25	100	+			76	1953. 3	"	3.50	5600	+		
	3	17	1951. 8	1953. 6. 29	3.75	10000			+	77	1953. 10	"	7.25	0	-	
		2	20	1952. 11	1953. 7. 13	7.50			6	-	78	"	"	6.50	0	-
			22	1951. 12	"	7.25			10	±	79	1954. 2	1954. 4. 20	4.50	560	+
25			1951. 10	1953. 7. 27	7.50	6	-		80	"	"	5.75	32	±		
28			1952. 10	"	7.25	10	±	81	1953. 11	1954. 5. 31	6.50	6	-			
3	35	1953. 4	1953. 9. 28	4.50	1600	+	82	"	"	7.25	0	-				
	37	1953. 2	1953. 10. 12	3.50	16000	+	83	1953. 12	"	5.75	31	±				
	39	"	"	3.25	32000	+	84	"	"	7.25	0	-				
	40	1953. 3	"	3.75	10000	+	85	"	1954. 7. 1	7.50	-2	-				
	41	1953. 2	"	4.50	1600	+	86	"	"	6.00	16	±				
	4	42	1953. 3	1953. 10. 22	3.50	10000	+	87	"	"	7.50	-2	-			
		43	1953. 4	"	4.50	1000	+	88	1954. 2	"	6.25	10	±			
44		1953. 3	"	4.50	1000	+	89	"	"	7.25	0	-				
45		"	"	3.75	5600	+	8	90	1954. 2	1954. 8. 18	6.50	56	+			
46		1953. 2	1953. 11. 12	3.50	10000	+		91	1953. 4	"	3.50	56000	+			
47		"	"	4.75	560	+		92	1954. 2	"	6.25	100	+			
48		1953. 2	"	4.50	1000	+		93	"	"	6.50	56	+			
49		"	"	4.50	1000	+		94	1954. 3	1954. 9. 24	4.50	5600	+			
50		1951. 10	"	3.75	5600	+		95	"	"	3.50	56000	+			
51		1951. 4	1953. 11. 30	3.50	10000	+		96	1953. 9	"	3.67	38000	+			
52		1953. 3	"	3.75	5600	+		97	1954. 1	"	3.83	26000	+			
53		"	"	3.75	6800	+		98	"	"	4.50	5600	+			
54		"	"	3.50	10000	+		99	"	"	3.50	5600	+			
5		55	1953. 5	1953. 12. 30	5.50	8		-	註：対照毒 LD <sub>50</sub>							
	56	1953. 4	"	3.75	430	+		試験 No. 1 : 6.25		No. 2 : 8.25						
	57	1952. 11	"	4.50	77	+		No. 3 : 7.75		No. 4 : 7.50						
	58	1953. 5	"	5.50	8	-		No. 5 : 6.33		No. 6 : 7.50						
	60	1953. 3	1954. 2. 1	4.40	96	+	No. 7 : 7.25		No. 8 : 8.25							
	61	1953. 4	"	3.50	770	+										

5. 結果の判定：注射後3日以内に死んだマウスは非特異死として判定から除外し観察期間中に斃死したマウス数に基いて Behrens 法<sup>(23)</sup>により試験群及び対照群の

LD<sub>50</sub> を求め中和指数を算出した。中和指数は試験群の LD<sub>50</sub> と対照群のそれとの差を対数(中和対数)とした場合の真数で中和指数が9以下のものは陰性(-), 49

以下は疑似(±), 50 以上は陽性(+)と判定した。(中和指数の実例：試験群 LD<sub>50</sub> を 3.5, 対照群 LD<sub>50</sub> を 7.5 をすれば中和指数は 10<sup>7.5-3.5</sup>=10<sup>4</sup>)

### III. 試験成績

供試血清 74 例全例の試験成績は第 1 表の通りである。中和指数の上から考察するためには全例を同一の対照すなわち一度に試験する方が好ましいのであるが 1 年半に亘つて採血をした関係もあり, またある程度の傾向を知

つてから次回の採血を行つたりしたため止むを得ず試験は 8 回に分割して行つた。従つて表に見られる中和指数の大小にもそう大きな意味はない。しかし試験全体を眺めてみると以下述べる様に月別に比較的一定した動きが見られたので 1953~54 年の豚の感染については考察出来るものとする。

1. 1953 年の感染：5 月から 7 月迄の採血豚 16 例中 3 例の陽性を除いて 13 例は陰性または疑似で 9 月以降

第 2 表 生年月と採血月との関係

採血年月 生年月	1953 5	6	7	9	10	11	12	1954 2	3	4	5	7	8	9
1951 4						● 1								
8		● 1												
10			○ 1			● 1								
12			● 1											
1952 10	○● 3 1	○ 1	● 1											
11		○●● 3 1 2	○ 1				● 1							
1953 2					● 5	● 2								
3					● 2	● 5		● 1		● 1				
4				● 1	● 1		● 1	● 1					● 1	
5							○ 2							
9								●● 1 1		● 1				● 1
10									○●● 4 3 1					
11											○ 2			
12											○● 1 1	○● 2 1		
1954 1														● 3
2								● 1		●● 1 1		○● 1 1	● 3	
3														● 2

○：中和抗体陰性    ●：疑似    ●：陽性    数字は各例数を示す。

第3表 生後月数と採血月の関係

採血月	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	● 1											
2			●● 1 1									
3												
4												
5				○● 1 1			○● 1 1		● 1			
6		●●●○ 1 1 4	●●●○ 3 1 2					●●● 3 2 1				
7			●●○●○ 1 3 1	●●○●○ 3 1 2	●●○●○ 2 1		○● 1 1			●● 2 2	○ 2	
8					○ 1		○ 1		●●●● 3 5 5 1			
9							○● 1				●● 2	
10	● 1											
11	● 1											
12											● 1	
12以上				● 1		●○●○ 1 1 1 1					●● 2 1	

は 22 例中 2 例の陰性（5 月に生れ 12 月に陰性の例で感染をしなかつたのか、感染しても、なお抗体の検出される時期でなかつたのかはわからない）を除いて 20 例は陽性となつていた。不幸にして 8 月には検査をしていないので、はつきりしたことはわからないが 1953 年には 9 月以前に豚の間に日本脳炎の感染が始まつたものと考えられる。

2. 1954 年の感染：その傾向は殆んど 1953 年のそれと同様で 8 例を除き 26 例中 18 例は 7 月迄陰性、または疑似で 8 月以降は 10 例全部が陽性となつていた。すなわち 1954 年は 8 月以前に豚の間に感染が始まつたものと考えられる。

3. 1953 年には 5 月以前の検査を行なつていないのでその間どのような姿であつたかはわからないが 1954 年の 2 月から 4 月の間には 17 例中 8 例の陽性があり、これが前年の感染に由来するもの（豚番号 60, 16, 76

の 3 例にして前年の春出産）か或いは親の抗体の移行（豚番号 63, 79 の 2 例にして生後 2 カ月以内）の結果であるか将又他の要因（豚番号 67, 72, 73 の 3 例にして前年 9~10 月生産、3~4 月採血）に由るものかは、この試験だけから考察することは極めて困難である。然し最後の 3 例に就いて考察するに、母子免疫期間を少くも 2~3 カ月続くものと仮定すれば、この 3 頭の感染成立の時期は 11 月以降 3~4 月以前の如くに思われる。即ち冬期に於ける感染（再発等をも含めた漠然とした意味に於て）も亦成立するかの如くに思われる。

4. 採血年度を度外視し生後月数と採血月との関係を見たのが第 3 表である。清水<sup>(24)</sup>は哺乳により親から仔に移行した抗体は生後 3~7 ケ月（我々は清水の表より推量し 7 ケ月は持続しないものと考えるが）迄は保持されていると報告している。今回の例でも生後 1 日の 1 例及び 2 カ月の 1 例（2 例共に正常分娩）の陽性は親から移行した抗体が証明されたものであろう。生後 5~7 ケ月になると陰陽区々となつているが之は秋仔を翌春検査したものの大半が陰性であり、春仔をその年の秋に検査した殆んどが陽性であるためであつて越夏の如何が主として問題となつているようである。ただ 5 月に生れて越夏したにもかかわらず 12 月の検査で陰性であつた 2 例は前述のように何故陰性であつたかの理由はわからないがこのような例が冬期感染によつて翌春異常分娩をする機会が多いのではないかとも考える。実際第 4 表に見られる通り土浦附近では 2~4 月に初産豚では 27 頭中 7 頭の異常分娩が見られている。これらが日本脳炎ウイルスによるものかどうかは充分検査出来なかつたが、仮りに日本脳炎ウイルスによるものとすれば、前述のように冬期間の感染を裏書きしているようにも思われる。生後 8 ケ月以上では 3 例（1951 年生れて 1953 年 7 月採血の豚番号 25 号の 1 例及び 10 月、11 月出産翌年 6 月、7 月採血の豚番号 7, 20 号の 2 例）を除いては何れも陽性であつた。従来異常分娩は初産の秋仔に圧倒的に多いことが知られているが経産のものにも若干は発生している。中和抗体の有無が必ずしも感染防禦と絶対的の関係はないにしても幾ばくかの関係のあることは疑を入れない。感染すれば免疫を獲得するのであろうが、この 3 例中 1 例（豚番号 25 号）のように生後 1 年 9 カ月も年令の経過したもので中

月 別	初産豚	経産豚
1 月	0/0	0/0
2 月	0/0	0/2
3 月	2/12	0/7
4 月	5/15	0/6
5 月	0/2	0/1
6 月	0/1	0/0

分母：分娩母豚数  
分子：異常分娩母豚数

和抗体が認められなかつたものがあることは、経産のものに異常分娩の起きることを意味しているのではないかと考える。

#### IV. 総 括

茨城県下に於ける豚の日本脳炎感染を研究する一手段として土浦市の屠場に於て屠殺される豚より 1953 年 5 月～1954 年 9 月迄月別に血清を採取し、日本脳炎ウイルスに対する中和抗体の有無を調査し次のような成績を得た。

1. 1953 年には中和抗体が 7 月迄は殆んど陰性で 9 月以降は大部分が陽性となつたことから豚の日本脳炎感染は 9 月以前に始まつたと考える。

2. 1954 年には 7 月迄は殆んど陰性で 8 月以降は全部陽性であつたことから 8 月以前に感染は始まつたと考える。

3. 1953 年 9～10 月生れて 1954 年 3～4 月に陽性であつた 3 例と、春仔に異常分娩が相当発生したと併せ考え冬期間の感染があつたようにも考えられ、このことは日本脳炎の疫学上注目すべき問題と思う。

4. 中和抗体が顕性或いは不顕性感染によつて出現する他、親から仔に移行することの有り得ることも正常分娩母豚の生後 1 日初生仔並生後 2 カ月の仔豚が陽性であつたことから考えられる。

本研究費の一部は文部省科学研究費の援助によるものである。尙本研究に終始御協力を賜つた日本生物科学研

究所中村所長及高松部長に対し深甚なる謝意を表します。

#### 文 献

- (1) 北岡等：日本脳炎調査研究協議会，日本脳炎，1948～49 年，243 (1950).
- (2) 川島等：同上 255 (1950).
- (3) 山本等：家畜衛生試験場研究報告，22, 197 (1949).
- (4) 清水等：同上 23, 111 (1951).
- (5) 田淵等：日本脳炎，1949～50 年，116 (1951).
- (6) 同上：家畜試報告，23, 165 (1951).
- (7) 川島等：日本脳炎，1948～49 年，250 (1950).
- (8) 清水等：家畜試報告，22, 117 (1949).
- (9) 田淵等：同上 22, 129 (1949).
- (10) 田淵等：日本脳炎，1949～50 年，113 (1950).
- (11) 松本等：第 22 回日本獣医学会報告 (1949).
- (12) Burns, K. F.: Proc. Soc. Exptl. Biol. & Med. 75, 621 (1950).
- (13) 福住等：日本脳炎 1949～50 年，83 (1951).
- (14) 椿 等：北里実験医学，23, 71 (1950).
- (15) 清水等：第 37 回日本獣医学会報告 (1954).
- (16) 中村等：日本獣医師会雑誌，3, 240 (1950).
- (17) 誌椿等：同上 2, 199 (1949).
- (18) 高松等：同上 7, 156 (1954).
- (19) 秋山等：同上 5, 353 (1952).
- (20) 中 島：畜産の研究，18, 332 (1954).
- (21) 越 智：日本獣医師会雑誌，6, 27 (1953).
- (22) 川 窪：未発表
- (23) Matumoto M.: J. Exp. Med. 20, 175 (1949).
- (24) 清水等：家畜試報告 25, 11 (1952).

#### Summary

We examined monthly the neutralizing antibodies of Japanese B Encephalitis Virus of swine which were slaughtered in the Tsuchiura Slaughter-House in Ibaraki Prefecture, for the period from May 1953 to September 1954, observing following results.

1) Antibodies' occurrence in 1953: The results had been negative untill July but changed to positive in September. We had not the sample swine which had been examined in August, so that the results in August are not explained here.

2) Antibodies' occurrence in 1954: The results had been negative untill July but changed to positive in August.

3) According to the above explained results, We suppose that the infection in summer season will occur before August.

4) We suppose that the infection in winter season also may occur, because the results of serum in swine which had born in September and October in the former year are positive in March or April, and some parts of abnormal still births take place in March and April.

5) We observed that there was the monther and child immunity-phenomenon which had been continued for 2 months in this research.