An Epizootic of Sendai Virus Infection in a Rat Colony

Susumu MAKINO, Shōji SEKO, Hiroyuki NAKAO
and Katsumi MIKAZUKI

Aburahi Laboratories, Shionogi & Co, Ltd., Koka-cho, Shiga-Ken, Japan

(Accepted for publication : August 17, 1973)

Abstract The epidemics of Sendai virus characterized by snuffles occurred repeatedly at intervals of 8 to 10 months in a rat breeding colony of approximately 500 animals.

Outbreaks spread out over the whole colony rapidly and persisted for 2 to 3 weeks, but sometimes a limited incidence of snuffles was observed at 2 to 6 weeks after the termination of epidemics. During each epidemic, the delayed growth of youngs and the decreased weaning rate were observed. At autopsy of rats having shown snuffles the red consolidation was found in the lungs, from which a hemagglutinating virus was isolated and identified as Sendai virus by HI test. In animals exposed to the infection, there was a significant elevation of Sendai virus HI antibody titer coincidentally with each outbreak and the antibody was detectable even one year later. The rats born after the termination of an epidemic, however, had no antibody until the next outbreak. Mycoplasma was isolated from the lungs in one epidemic during a 2 year period. These findings might represent an epidemiological pattern of Sendai virus in a rat breeding colony where susceptible animals attain periodically a population large enough to provoke a new outbreak. [Exp. Animals, 22(4), 275—280, 1973.]

ラットコロニーで観察されたセンダイウイルスの 流行について

牧野 進・瀬古 彰司・中尾 博之・三日月勝見

塩野義製薬株式会社油日ラボラトリーズ

ラットにおけるセンダイウイルスの感染には Parker ら〔1〕, 朱宮ら〔2〕の報告があるが, その疫学的知見については十分な報告がない。

1961年に barrier system 維持のラットを当所に導入し, 9年間に亘る繁殖育成過程で, スナッフルを主徴とする呼吸器病の発生が間けつ的にくりかえし観察された。1968年の発生時には, 血球凝集性ウイルスが分離され, センダイウイルスに対する HI 抗体の上昇がみとめられた。そこで, 著者らは呼吸器病の発生状況, 症状と, センダイウイルス, Mycoplasma との関連を調べるため本調査を実施した。

材料および方法

動物および飼育管理: 1961年に Charles River Breeding Laboratories から導入した雌4匹, 雄2匹から育成された SD 系ラットコロニーを調査対象とした。コロニーの大きさは400~500匹で, その月平均交配数は18匹, 月平均離乳仔総数は110匹であった。また, 継代用の親は原則として2産目の仔を用いた。1968年7月以後は子宮切断術により得た Wistar 系ラットが同じ飼育室に導入されたが, その匹数は50匹までであった。飼育室の面積は4×6 m²であった。飼育室内の温度は25°C±2°Cに調節し, 湿度は除湿器

で70%以下を保つようにした。夏季には、クーラーで外気を直接取り入れ温度を調節した。当飼育室と約5 mの距離にセンダイウイルス汚染のあるマウス育成場が隣接していた。

飼育者は前室にて脱衣、121°C、30分蒸気滅菌済の帽子、マスク、衣服、履物を着用し、1%塩化ベンザルコニウム液（タケダ薬工 K.K 製）で手指を消毒してから作業に従事した。飼育者は当飼育室専任で他の飼育室と交流することはなかった。

交配、分娩用にはエコンケージ（日本クレア K.K 製）を、60日令までの育成ラットには40×50×20cm³の金属ケージと金網ケージ（日本クレア K.K 製）を使用した。ケージも1%塩化ベンザルコニウム液で消毒し、床敷は121°C、30分蒸気滅菌したものをを用いた。飼料は自家製の固型飼料を用い、水とともに自由摂取させた。

HI 抗体：ラット血清は個体別に採取し 抗体の検索をおこなった。血清には RDE (Receptor Destro-

Table 1 Occurrence of epidemic respiratory disease in a rat colony from April 1961 to January 1970

1961—1965		—
1966	Early in October	++*
1967	Late in April	++
	Late in June	+**
1968	July ~ August	++
	Late in August	+
1969	September	++
	October ~ November	+
1970	Late in January	++

*Epidemy in which over 70% of animals were affected.

**Epidemy in which less than 50% of animals were affected.

Table 2 Body weight of suckling during epidemics and non epidemic periods from 1966 to 1970

Time	Sex	Age in days	Non epidemic period					Epidemic period				
			No. of rats	Mean	±	S.D.	C.V.(%)	No. of rats	Mean	±	S.D.	C.V.(%)
1966	♀	10	18	21.9	±	2.5	11.6	19	16.7	±	3.9	24.5
		20	26	50.9	±	5.8	11.4	7	28.5	±	9.9	34.6
	♂	10	19	21.5	±	2.5	11.8	19	17.0	±	5.1	29.9
		20	24	48.0	±	7.8	16.2	6	33.9	±	8.9	26.2
1967	♀	10	25	15.0	±	1.7	11.1	4	11.5	±	0.8	6.5
		20	23	35.4	±	4.9	13.7	*				
	♂	10	25	15.5	±	2.2	13.9	7	13.9	±	3.9	28.1
		20	20	37.5	±	4.3	11.4	3	34.2	±	3.6	10.6
1968	♀	20	21	40.6	±	4.7	11.6	22	41.6	±	4.6	11.2
	♂	20	19	41.7	±	5.4	12.9	24	43.9	±	4.3	9.8
1969	♀	10	16	20.9	±	3.4	16.4	8	19.6	±	5.1	26.1
		20	16	46.1	±	5.7	12.3	6	41.0	±	8.2	19.9
	♂	10	21	22.9	±	2.8	12.3	8	20.4	±	5.5	27.2
		20	20	48.7	±	4.3	8.8	7	38.5	±	12.1	31.4
1970	♀	10	35	18.7	±	2.0	10.8	22	16.4	±	4.6	28.2
		20	34	39.9	±	3.7	9.2	15	37.7	±	5.9	16.0
	♂	10	33	20.3	±	14.4	14.4	10	16.0	±	5.6	34.5
		20	34	42.5	±	3.7	9.2	9	34.7	±	8.8	25.2

Epidemic period in each year was designated as ++ in Table 1.

*Sucklings died before 20 day old.

ying Enzyme, タケダ薬工 K.K 製) 溶液 (生理食塩水 10ml に溶解) を 2 倍量加えて処理し, 血球凝集抑制因子を除去した。さらに, 20% 鶏血球浮遊液を血清と等量加えて, 非特異的凝集素を吸収除去した。抗原には発育鶏卵で継代したセンダイウイルス Z 株をエーテルで不活化したものをを用いた。

ウイルス検索: ラットの肺を滅菌-PBS で 10% 乳剤として, 1,000rpm, 5 分遠心, 上清 0.2ml ずつを 3 コの 8 日令発育鶏卵の羊膜腔内に接種し, 37°C, 3 日間孵卵後に, 1 コでも漿尿液が鶏血球凝集性を示したものをウイルス陽性と判定した。3 コとも陰性のものについては, 羊膜および漿尿膜の乳剤をプールして, さらに 3 コの 8 日卵の羊膜腔内に接種し, 全例の漿尿液が血球凝集性を示さない場合にはじめてウイルス陰性とした。

Mycoplasma 検索: 滅菌-PBS 約 0.5ml を鼻腔内, 約 0.5ml を中耳腔に注入して得た洗滌液および前項に述べたラットの肺乳剤を 1 白金耳量 20% 馬血清加寒天培地 (Pc. 1,000 I.U./ml 含む) に塗抹した。37°C, 10 日間培養し, 特異的な目玉焼状形態を呈するコロニーの発育をみたものを Mycoplasma として分離し, 普通寒天培地で発育しないこと, 継代によってコロニー性状に変化のないことを確かめた。

成 績

1. 発生状況

Table 1 にしめすように, 9 年間の観察で呼吸器病の発生が間歇的にくりかえしとめられた。発生時にはラットはスナッフ症状を呈し, 鼻汁が鼻孔周囲に付着し黒く汚れているものも多く, 胸部聴診では squeezing, bubbling が観察された。離乳前の幼若ラットの多くはケージ内で個々に離散し, “プチュ, プチュ” という音を発した。3~4 週令ラットでは立毛, 摂餌量の減少, 運動不活発がみとめられ, 一部は発育不良が目立った。初回発生は 1966 年 10 月におこり約 3 週間持続した。しかし, この流行が終わってからは 1967 年 3 月までは発生がなかった。以後 1967 年 4 月から 1970 年 3 月までの 3 年間に 7 回の発生がみとめられたが, その内 4 回は約 300 匹以上の発病例をみた大規模の流行であり, 3 回は約 200 匹以下の比較的小規模の流行であった。前者は 2~4 週, 後者は 1~2 週の経過で終息した。流行と次の流行との間隔は最短約 2 週, 最長約 1 年であった。流行は夏-秋に多く発生した。

呼吸器病の伝播速度は急速で, いずれの流行でも群中少数の発病ラットが発見されてから数日でほぼ最大の規模に達した。1967 年 6 月, 1968 年 8 月下旬, 1969 年 10 月の発生は比較的小規模で, 約 50~100 匹が発

Fig. 1. Weanling rate during epidemics and non epidemic periods.

▨ : during epidemic.

□ : during non-epidemic period.

Fig 2. Pathological, serological & epizootiological observations on rats from June 1968 to March 1970.

/// : Epidemy was designated as + in table 1.

* : No. positive / No. tested.

□ : Epidemy was designated as - in table.

N.E. : Not examined

□ : Non epidemy.

● : Serum from rats born before October 1968.

○ : Serum from rats born after November 1968.

症したのみで、症状の持続期間も10日以内の短かいものであったが、これらはいずれも約1ヶ月前の大規模な流行に続発したものであった。各流行期における臨床所見には軽・重の程度差は若干みとめられたが、本質的には違いはなかった。また、1968年7月以後、前述したように、Wistar系ラットが同居したが、流行時には両者共に罹患し、系統による感受性の差異はみとめられなかった。

2. ラットの成長、離乳成績

1966—1970年の非流行時と流行時に無作為に選んだ10日令、20日令ラットの平均体重の比較を Table 2 に示した。流行時には、いずれも非流行時にくらべ10日令、20日令体重とも著明な体重差がみとめられた。非流行時と流行時の個々の体重のバラツキを比較するため、変動係数を求めた。流行時の変動係数は著しく大きく、20—30%であった。例えば、1970年1月の流行時には、雌、雄ともに、10日令で10g前後、20日令で30g以下の極度に发育の悪い動物が多数みとめられた。これらのほとんどはケージ内で離散したまま斃死していた。また、20日令で发育不良の著明であったラットの体重は成熟後も標準に達することはなかった。1968年の流行時だけは、幼若動物の体重は全く影響を

受けなかった。

つぎに、1966—1970年までの非流行時と流行時との離乳率〔離乳仔数：産仔数（3日令で8匹に間引き制限）〕の比較を Fig. 1. に示す。流行時には非流行時にくらべ30—40%の低下がみとめられた。とくに、1966年10月、1967年4月、1970年1月は著明であった。1968年の流行時は離乳率の低下はみとめられなかった。

3. 肺の病変

1968—1970年に斃死または殺処分した動物はすべて剖検したが、それらについて肺の病変の出現率を Fig. 2 に示した。1969年9月、および1970年1月の流行時には、30—40%の率で赤色肝変化がみとめられた。しかし、これら流行の終息後には、赤色肝変病巣はほとんどみられず、代って線状の灰白色部、おそらく線維化巣が多数例みられた。1969年9月の流行時には、親ラットにも多数赤色肝変化をみとめたが、1970年1月の流行時には、赤色肝変化をみとめた9例はいずれも30日令未満の幼若ラットであった。1968年6月—1969年8月間には、肺の病変は1例もみとめられなかった。とくに、1968年では、夏の流行時にも肺の病変はみられなかった。肉眼的に膿瘍形成をみとめ

たものはなかった。

4. センダイウイルス分離と HI 抗体の検索

1968年—1970年3月までのウイルス検索成績および HI 抗体の月別分布を Fig. 2 に示す。1968年では、ウイルスは7—8月の流行消退後に、すなわち、9月および10月にそれぞれ1例ずつ親ラットから分離された。1969年には、9月の流行発生直後に80%の高率で60日令前後のラットから分離された。しかし、その後12月までの3ヶ月間はすべて陰性であった。1970年1月の流行時では、ウイルスは約10日令の乳のみラットからのみ分離された。同時に検索した親ラットはすべて陰性であった。

HI 抗体の検索成績を月別にみると、1968年9月まではすべて陰性であったが、1968年9—10月の流行を経過したラットは11月以降の検索ですべて陽性であった。その抗体価は1969年4月頃まで高く（1：64—1：512）、その後8月頃までに徐々に低下した。これに反して、最初の流行が終りウイルス分離も陰性となった1968年11月以降に生まれたラットでは、母親からの移行抗体と考えられる翌月の陽性例を除き、次の流行、つまり1969年9月以前には、HI 抗体陽性例は1例もなかった。しかし、1969年9月の大規模流行後はすべてが HI 抗体陽性となった。このように、1969年1—8月までの期間は、同じコロニー内で流行を経過したラットと、しないラットが抗体の陽性・陰性によって明確に区別された。

ウイルス分離と肺の肉眼所見および HI 抗体価の関係をみると、1968年9—10月にウイルスが分離された2例の肺には病変はみとめられず、HI 抗体も陰性であった。1969年9月のウイルス陽性の10例、1970年1月の陽性4例では、いずれも肺に著明な赤色肝変化をみとめたが、それらの HI 価は、1969年9月に検索した6例中1例のみが陽性で、1：256であった。

5. *Mycoplasma* の分離

1968年6月—1969年12月までの *Mycoplasma* の分離率と分離部位を Fig. 2 に示した。1969年9月の流行時には約40%、10月では約60%の率で菌が分離された。陽性例では肺からの分離例がほとんどで、鼻腔、中耳腔からの分離は29例中各々2例および1例にすぎなかった。1968年の流行時では、菌は1例も分離されなかった。

考 察

9年間に亘る観察で、初期の5年間は臨床所見・剖検所見で異常はみとめられなかった。しかし、1966年からほぼ同一型の呼吸器病の流行が間欠的に数回発生し、この間、症状の発現・伝播に一致して血球凝集

性ウイルスが分離された。また、流行を契機としてラットコロニー内のセンダイウイルス HI 抗体が多数例陽性となった。丸らは1968年の流行時に分離した血球凝集性ウイルスとセンダイウイルス伏見株との比較をおこない、熱抵抗性(50°C, 5分)、中和試験、HI試験、およびセンダイウイルス陰性の30日令 SD-JCL ラット、ICR-JCL マウスを用いての経鼻感染実験から、この血球凝集性ウイルスはセンダイウイルスであると同定した(丸ら[3])。また、肺の著しい充血、赤色肝変化は流行初期に多数例にみとめられたが、流行の消退とともに陳旧な線維化病巣に変化したこと、ウイルス分離が陽性であったのは HI 抗体が出現する前の短かい期間であったこと等の病変の移り変わり、呼吸器病の一過性の経過は、Tyrrell ら[4]のラットにおけるセンダイウイルス感染実験での急性肺炎、および笹原ら[5]のセンダイウイルス感染豚の一過性呼吸器症状、林、笹原ら[6,7]がマウスにおけるセンダイウイルス感染実験でみた肺の変化と一致している。以上のことから、一連の呼吸器病はセンダイウイルスに起因したと考えられる。

ラットにおけるセンダイウイルス感染実験で、Coid ら[8]は子宮内胎仔の吸収を報告しているが、今回の流行はいずれも短期間で、しかも、ラット集団が小さいため分娩率への影響は解明出来なかった。しかし、流行時には哺乳幼若ラットの死亡および発育不良が多数観察され、加藤[9]がマウスコロニーで観察したセンダイウイルス流行例で、離乳率の低下、仔の咬殺等を報告しているのと同じであった。

Mycoplasma が分離された1969年9—10月の流行では、離乳率の低下、肺の肝変化、幼若動物の発育不良等をみとめたが、*Mycoplasma* の陰性であった1968年夏の流行では、離乳率にも、幼若動物の体重にも、異常はなかった。尾形ら[10]はラットの呼吸器からの *Mycoplasma* の検出率と、肉眼的病変および呼吸器症状には密接な関係があるとしている。これらのことから、*Mycoplasma* が二次的に関与した場合に、とくに幼若動物の病勢をより重症化することが考えられる。

マウス集団におけるセンダイウイルスの流行はそのほとんどが enzootic なもので、epizootic な流行例は Parker ら[11]がウイルス陽性の19のマウス集団中わずか1例にみとめた他は、福見ら[12]の報告があるのみで、ラット集団でのくわしい報告は見当らない。今回我々が観察したセンダイウイルスの流行は Parker らのいう epizootic な流行に相当するものであろう。Epizootic な流行が8—10ヶ月の間隔で繰り返して発生した要因として、感受性動物の集団内で

の変動が考えられる。すなわち、繁殖育成場では常に親集団は新しい動物に交替しており、流行後10ヶ月の内には、流行を経過した親ラットはそのほとんどが淘汰され、流行後に生まれた抗体陰性ラットが親集団を形成するためである。汚染源としては、一度感染を受けた親ラットがウイルスの carrier になっており、流行後8ヶ月頃から抗体価の低下とともに顕性化し、infector となったのか、前述したように、近接して位置するマウス育成場からの外部汚染によったのかは明らかでない。今後さらに追求する必要がある。

要 約

1961年からの9年間に亘る観察で総数約500匹のラット繁殖育成コロニーに、呼吸器症状を主徴とする疾病の流行が8—10ヶ月間隔でくりかえし発生し、その多くは夏—秋にみとめられた。大規模の流行の場合、蔓延は極めて速やかで、ほぼ1週間で全コロニーに波及し、2—3週後には消退した。このような大規模の流行終息から2—6週間おいて、小規模の流行がみられる場合があった。流行時には、幼若ラットの発育不良、離乳率の低下がみとめられた。発病ラットでは肺の赤色肝変化が特徴的であり、そのような材料からは血球凝集性ウイルスが分離され、センダイウイルス HI 抗体が症状、肺病変の発現と一致して顕著に上昇し、流行が終息してから1年後にも検出された。流行の終息後に生まれたラットには、生後1ヶ月令では移行抗体が検出されたが、その後新たな流行に遭遇するまですべて抗体陰性であった。1968年以後おこなった検索では肺からの *Mycoplasma* の分離が陽性であったのは1回の流行のみであった。

終りに臨み懇篤なる教示と校閲を賜った東大医科研藤原公策教授、並びに本調査を命ぜられ、かつ指導助言を賜った峰下鎮雄博士に厚くお礼申し上げる。また、有益な助言を賜った名古屋大学農学部藤尾芳久博士、シオノギ研究所丸守正氏につつしんで感謝の意を表する。

本論文の要旨は日本実験動物第5回研究発表会において発表された。

文 献

- [1] Parker J.C., Tennant R.W., Ward T.G. (1964). Enzootic Sendai virus infections in mouse breeder colonies within the United States. *Science*, 146, 936-938.
- [2] 朱宮正剛, 中村正義 (1968). 大量生産における疾病管理。日本実験動物研究会第3回発表会, 於奈良。
- [3] 丸守正, 佐藤孝三郎 (1971). ラットコロニーより分離した HVJ の性状について。日本実験動物研究会第6回発表会, 於東京。
- [4] Tyrrell, D.A.J., Path, M.C., and Coid, C. R. (1970). Sendai virus infection of rats as a convenient model of acute respiratory infection. *The Veterinary Record*, 86, 164-165.
- [5] Sasahara Jiro, Hayashi Shigemi, Kumagai Tetsuo, Hirasawa Sumi, Munakata Kozo, Okaniwa Azusa, Kato Kazuyoshi (1954). A swine disease newly discovered in Japan. Its characteristic traits of pneumonia (III). *Virus*, 4, 297-301.
- [6] Hayashi Shigeyoshi (1961). Studies on the infection of Myxovirus parainfluenza 1 (HVJ) in the experimental small animals. *Virus*, 11, 108-119.
- [7] Sasahara Jiro, Kumagai Tetsuo, and Kato Kazuyoshi (1954). A swine disease newly discovered in Japan. Its characteristic traits of pneumonia (IV). *Virus*, 4, 302-308.
- [8] Coid, C.R., Wardman, G. (1971). The effect of para-influenza type 1 (Sendai) virus infection on early pregnancy in the rat. *J. Reprod. Fert.*, 24, 39-43.
- [9] 加藤和好 (1959). マウスに於ける Myxovirus para-influenza 1 (HVJ) の流行とその長期観察について。実験動物, 8, 94-98.
- [10] 尾形学, 大島康夫, 長田恭明 (1968). ラットの *Mycoplasma* に関する研究. I. 呼吸器の *Mycoplasma* 検索について。日本獣医学雑誌, 30, 265-274.
- [11] Parker J.C., Reynolds R.K. (1968). Natural history of Sendai virus infection in mice. *American Journal of Epidemiology*, 88, 112-125.
- [12] Fukumi, H., Mizutani, H., Takeuchi, Y., Tajima, Y., Imaizumi, K., Tanaka, T. and Kaneko, J. (1962). Studies on Sendai virus infection in laboratory mice. *Jap. J. Med. Sci. Biol.*, 15, 153-163.