北海道居住馬のインフルエンザ抗体調査

阿 部 武 丸

A SERO-EPIZOOTIOLOGICAL SURVEY ON INFLUENZA AMONG HORSES IN HOKKAIDO, JAPAN

Takemaru ABE

Department of Hygiene, Sapporo Medical College, Sapporo 060

[受付: 10月2日, 1972年]

総 括

1965年から1971年にかけて北海道の248頭の馬から集めた血清について4種の馬および人インフルエンザウイルス(イ・ウ), A/Equi-1/Prague/56(馬1型), A/Equi-2/Miami/63(馬2型), A/愛知/2/68(香港型), A/熊本/1/67(A2型), に対する HI ならびに CF 抗体を測定した。

1. 在来馬168頭はいずれの型のウイルスに対する HI 抗体も全く保有せず, さらにこのうち馬イおよび香港型に対する CF 抗体を調べた129頭にも抗体を保有するものは全くなかった。

2. 輸入馬80頭のうち, それぞれ馬1型には48頭(60.0%), 馬2型には23頭(28.8%), さらにこのうちの66頭中香港型に14頭(21.2%)が HI 抗体陽性で, A2型に対する HI 抗体陽性例はなかった。またこのうち CF-V 試験では馬1型61頭中26頭(42.6%), 馬2型63頭中27頭(42.9%), 香港型61頭中6頭(9.8%)が陽性となった。CF-S 試験では63頭中すべてが陰性であった。

3. 馬1型 HI 抗体は輸入馬の輸入年次にかかわらず全年次にわたって広く検出されたが, 馬2型および香港型抗体は1966年以降に輸入された馬に限って認められた。

4. 馬イ HI 抗体陽性率の輸出国別比較では米国からの馬が最も高く, ついでイギリス, フランスの順となった。平均抗体価の順もほぼこれに一致した。

5. 馬1型 HI 抗体の陽性率とそのレベルは輸出国での感染可能期間の長さとともに上昇し, また輸入後の

在日期間の長さとともに, 陽性率はあまり変わらず, 抗体レベルは下降した。感染後18年目でなおかなり高い抗体価を示す1型ウイルスの自然感染例を認めた。

6. 輸入馬における香港型陽性例は馬2型抗体の交差反応によるものと結論された。

7. 馬血清の香港型に特有な HA-Inhibitor は KIO₄ 処理と RDE 処理の組み合わせで完全に除去できた。

序 文

最近, わが国に馬インフルエンザ(イ)の流行が発生したが, この流行以前に発生の報告はなくわが国は馬イの非流行地であつたと考えられている。しかしそれまでに血清疫学的見地をも含めて積極的に調査された例はなく, 今回著者はこの流行以前の北海道在来馬について馬イの抗体調査を行ない, 北海道が非流行地であつたことを血清学的に明らかにした。このことから欧米で感染した後, 北海道へ輸入されていた馬は感染時の抗体を維持しており, 血清学的に輸出国の流行状態を反映すると考えられた。輸入馬を調べることによって抗体の消長その他重複感染に障害されるため欧米では観察し難い問題が解明できる可能性が考えられた。この観点から輸入馬についても調査を行なつた。さらに供試血清の大部分は香港型イウによる人イの流行直後に採取されていることから, すでに馬へ人工感染が成功している同ウイルスの自然感染の可能性を確かめようとしその抗体についても調べた。本報ではこれらの成績について報告する。

材料と方法

馬血清:

(i) 在来馬血清: 北海道の日高, 十勝, 網走および

宗谷地区で飼育されている168頭から採血した。いずれも北海道で生まれ育成された馬で、年齢は当歳から20歳にわたる。採血は1965年12月から1971年4月の間に行なった。

(ii) 輸入馬血清：北海道の日高および十勝で飼育されている80頭から採血した。米国、イギリスおよびフランスから直接輸入された馬で、年齢は当歳から17歳にわたる。採血は1969年10月から1971年12月の間に行なった。

血清は -20°C で凍結保存した。

ウイルス：抗原として用いた馬イ・ウは A/Equi-1/Prague/56 (Heq 1 Neq 1) と A/Equi-2 Miami/63 (Heq 2 Neq 2) の2株で、いずれも WHO、イ・センターの Pereira 博士の厚意により分与されたものである。人イ・ウは A/愛知/2/68 (H3N2) および A/熊本/1/67 (H2N2) の2株を用いた。これらを11日卵の漿尿腔内に接種、増殖させて使用した。

血清処理：HI 試験では血清のインヒビターを除くためあらかじめ処理を行なった。香港型以外の抗原では 60°C 20分加熱非働化後、血清の1容あたり M/60 KIO₄ を1容加え、室温15分放置した後、3% Glycerol saline を2容加えて残りの KIO₄ を中和する方法を採った。香港型を抗原とした場合の処理については成績の項で述べる。

HI 試験：WHO の術式に従って行なった (WHO monograph ser., No. 20, p. 115)。抗原には上記感染

漿尿液をそのまま用いた。鶏血球液は4羽分のプール血球を生理食塩水で3回洗浄後0.5%浮遊液とした。抗体価は血清の Initial dilution で表わし1:8以上を陽性とした。

CF 試験：CF-S 抗原としては A/熊本/1/67株の感染漿尿液の超遠心 (25000r.p.m., 60分) 上清を用いた。CF-V 抗原としては各ウイルス株の感染漿尿液の超遠心 (25000r.p.m., 60分) 沈渣を原液の $\frac{1}{5}$ 量の PBS に再浮遊させたものを用いた。羊血球、溶血素および補体はすべて市販されているものを用い、抗体測定術式は Microtiter による予研法 (ウイルス実験学総論, p. 212) に従った。抗体価は2単位の補体と4単位の抗原を用いて測定し、血清の Initial dilution で1:4以上を陽性とした。

成 績

1. 香港型に対する HA-Inhibitor の除去法について
予備実験で馬血清の香港型に対する HA-Inhibitor はすでに報告されている KIO₄ 処理のみでは必ずしも完全には除去できないことがわかった。そこで香港型がまだ出現していなかった時期に採血した在来馬血清10例について種々の処理を行ない、その除去法を検討した。表1は各処理後、HI 価によつてその効果を比較した成績である。加熱処理(B)法では(A)法の場合より HI 価が高い。RDE 処理では(C)法でかなりの Inhibitor が除去され、また血清を希釈しすぎないように試みた(D)法

表 1 香港型イ・ウに対する馬血清 HA-Inhibitor 除去法の効果

除 去 法*1	馬 血 清										
	No. 1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11*2
A	256	256	256	512	128	128	256	256	128	128	320
B	1024	1024	2048	1024	512	2048	2048	2048	512	1024	320
C	8	—*3	512	8	8	512	8	512	8	512	320
D	256	—	1024	512	32	256	1024	256	256	128	320
E	—	32	64	16	32	16	64	—	32	8	320
F	8	—	—	16	—	—	—	—	32	—	320
G	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	320

*1/A. 56°C , 30分加熱

B. 60°C , 20分加熱

C. 血清1容+RDE 3容, 37°C 一夜放置後 56°C , 30分加熱

D. 血清1容+2倍濃度のRDE 1容, 37°C 一夜放置後 56°C , 30分加熱

E. 血清1容+M/90KIO₄液2容, 4°C 一夜放置後0.4% Glycerol Saline 5容添加

F. 血清1容+M/60 KIO₄液2容, 室温15分後3% Glycerol Saline 1容添加

G. Fの処理後さらにD処理

ただし、C~G では 60°C 20分加熱後に処理した

*2 日本脳炎馬抗血清：本文参照

*3 $<1:8$ を示す

表 2 在来馬および輸入馬の各型イ・ウに対する HI 抗体保有状況

	例 数	抗 原	血 清 希 釈								陽 性	
			<8	8	16	32	64	128	256	≥512	No.	(%)
在来馬	168	A/Equi-1/Prague/56	168								0	(0)
		A/Equi-2/Miami/63	168								0	(0)
		A/熊本/1/67	168								0	(0)
		A/愛知/2/68	168								0	(0)
輸入馬	80	A/Equi-1/Prague/56	32	7	12	6	6	8	5	4	48	(60.0)
		A/Equi-2/Miami/63	57	5	4	3	7	2	2		23	(28.8)
	66	A/熊本/1/67	66								0	(0)
		A/愛知/2/68	52	5	6	1	1	1			14	(21.2)

表 3 在来馬および輸入馬の各型ウイルスに対する CF 抗体保有状況

	例数	抗 原	血 清 希 釈								陽 性	
			<4	4	8	16	32	64	128	≥256	No.	(%)
在来馬	129	CF-S(A/熊本/1/67)	129								0	(0)
		CF-V(A/Equi-1/Prague/56)	129								0	(0)
		CF-V(A/Equi-2/Miami/63)	129								0	(0)
		CF-V(A/愛知/2/68)	129								0	(0)
輸入馬	63	CF-S(A/熊本/1/67)	63								0	(0)
	61	CF-V(A/Equi-1/Prague/56)	35	1	8	2	15*	..	..	..	26	(42.6)
	63	CF-V(A/Equi-2/Miami/63)	36	4	4	10	4	4	1		27	(42.9)
	61	CF-V(A/愛知/2/68)	55	2	4						6	(9.8)

* ≥32

ではあまり除去できない。KIO₄ 処理で(F)法は(E)法よりすぐれているが、なお1:8ないし1:32の活性が残存するものがある。ところが、M/60 KIO₄ 処理後さらに RDE 処理をする(G)法によれば、これを完全に除去することができる。表中 No. 11は抗日本脳炎馬血清を用い、各処理法の HI 抗体への影響を調べたものである。あらかじめアセトン処理、血球吸収を施した馬抗血清に上記の各処理を行ない、ガチウ血球による日脳 JaGA株の HI 抗体価を測定した。その結果いずれの方法によつても HI 価は変動しなかつた。そこで本実験での香港型 HI 抗体の測定は(G)法処理の後に行なつた。

2. HI 抗体保有状況

供試血清の各型ウイルスに対する HI 抗体保有状況を表 2 に示す。在来馬168頭はいずれの抗原に対してもすべて陰性である。これに対し、輸入馬では1:8以上の抗体が80頭中馬1型で48頭(60.0%)、馬2型で23頭(28.8%)、また66頭中香港型で14頭(21.2%)に認められる。A/熊本株に対する陽性例はない。抗体レベルは馬1型、

2型ついで香港型の順に高く、1:128以上の陽性例はそれぞれ17頭(35.4%)、4頭(17.3%)、1頭(7.1%)である。

3. CF 抗体保有状況

HI 試験終了後残つた血清について CF 試験を行なつた。CF-V 抗体は馬イおよび香港型について測定した。表 3 はその成績で、在来馬129頭はすべて、Sおよび各型V抗体ともいずれも陰性である。輸入馬でもS抗体を保有するものはまったくないが、しかしV抗体を保有するものはあり、馬1型で61頭中26頭(42.6%)、2型で63頭中27頭(42.9%)、香港型で61頭中6頭(9.8%)に検出されている。馬イ抗体に比し香港型抗体の陽性率、レベルはともに著しく低かつた。

4. 輸入馬の経歴と HI 抗体の関係

図 1 は輸入馬の輸入年次ならびに輸出国との関係で HI 抗体保有状況を示したものである。馬1型抗体は1952年から1969年の全輸入年次にわたつて検出され、1955年以前に米国から輸入された4頭にも高い抗体が認められる。1965年の前後で抗体レベルに差があり、輸入年次の新しいものほど抗体価の高いものが増加する。いつ

図 1 輸入経歴と HI 抗体価の関係

× = 米 国 から 輸 入
● = イギリス //
○ = フランス //
↓ = ウイルス初分離年

ぼう馬 2 型および香港型抗体はいずれも 1966 年以後に輸入された馬にのみ検出されている。

表 4 に馬イの輸出国別の HI 抗体陽性率と平均抗体価を示す。いずれも米国からの馬が最も高い傾向がうかがわれ、輸出国滞在年数がほぼ同じであるイギリスの馬に比べ、在日年数の長いものが多いにもかかわらず高く思われた。しかし米国产の例数が少ないので今後さらに検討されなければならない。フランスからは比較的若いうちに輸出されたものが多い。

つぎに感染可能期間ならびに在日期間と HI 抗体保有状況の関係を調べた。ここでいう感染可能期間とは輸出国滞在中に馬イの感染を受ける可能性のある期間の意で、馬 1 型は輸出国滞在期間を、馬 2 型は 1963 年から輸出されるまでの期間を示している。また馬 2 型の在日期間別の成績は陽性例のあらわれる 1966 年以後輸入の馬に限った。表 5 に馬 1 型の成績を示す。感染可能期間が長くなるにつれて陽性率と抗体レベルがともに上昇し、また在日期間が長くなると陽性率はあまり変わらずに抗体レベルの下降することが明らかである。輸入後、抗体の平均レベルは約 5 年内外で大きく減少するが、その後低い平均レベルの抗体が持続している。このいずれの傾向も在日

表 4 輸出国別馬イ HI 抗体陽性率と平均抗体価

輸 出 国		米 国	イギリス	フランス
平均輸出国滞在期間 (年)		6(4)*1	7(4)	3(2)
平均在日期間		8(3)	3(2)	8(3)
馬 1 型	陽性数/総数	10/11	31/45	7/24
	陽性率 (%)	90.9	68.9	29.2
	平均抗体価	89	47	19
馬*2 2 型	陽性数/総数	4/6	14/35	4/12
	陽性率 (%)	66.7	40.0	33.3
	平均抗体価	42	32	45

* 1, 2 () 内および馬 2 型の成績は 1963 年以後輸入の馬について

表 5

i) 感染可能期間と馬 1 型 HI 陽性例の関係

感染可能期間 (年)	例 数	陽 性 率 (%)	平 均 抗体 価
1—3	19	36.8	26
4—6	37	62.2	31
7—9	10	80.0	75
≥10	14	71.4	128

ii) 在日期間と馬 1 型 HI 陽性例の関係

在 日 期 間 (年)	例 数	陽 性 率 (%)	平 均 抗体 価
0—1	30	70.0	77
2—4	13	53.8	47
5—7	11	45.5	18
8—11	14	50.0	14
≥12	11	63.6	32

期間を限定した感染可能期間別および感染可能期間を限定した在日期間別のいかんにかかわらず変わらない。馬 2 型抗体は感染可能期間が 6 年以内に限定されてしまうがその期間に比例して陽性率は 0 から 61.9%、抗体レベルは <1:8 から 1:35 と上昇した。いつぼう馬 2 型の在日年数は 4 年以内に限られてしまうため 1 型と同様の観察はできなかった。この間の陽性率は 53%、平均抗体価は 1:35 であった。

5. 馬イ抗体と香港型抗体間の相関性

輸入馬にみられた香港型抗体陽性例が馬イ・ウの共通抗原性にもとづくものかどうかを調べるため各 HI 抗体測定成績をもとに出現率の上で相互の相関性を χ^2 試験法により検定した。その結果を表 6 に示す。馬 2 型と香港型の間には 0.01% 以下の危険率で有意な相関が認められたが、馬 1 型と 2 型、馬 1 型と香港型の間には有意な相関は認められない。

表 6 香港型および馬イ・ウ HI 陽性例の相関性

		A/Equi-1/Prague/56	
		< 8	≥ 8
A/Equi-2/Miami/63	< 8	26	32
	≥ 8	6	16

P > 0.05

		A/Equi-1/Prague/56	
		< 8	≥ 8
A/愛知/2/68	< 8	20	32
	≥ 8	3	11

P > 0.05

		A/Equi-2/Miami/63	
		< 8	≥ 8
A/愛知/2/68	< 8	46	6
	≥ 8	0	14

P < 0.01

P = Probability

考 察

1. 馬イ抗体の成績について

馬1型イ・ウは1956年チェコスロバキアで初めて分離されたが (Sovinova ら, 1958), それ以前から北米および欧州各地に広く蔓延していた (Bryans, 1964; Beveridge ら, 1965; McQueen ら, 1965 b), 馬2型イ・ウは1963年アメリカで初めて分離されたが (Waddelle ら, 1963), このウイルスが1962年以前に南北米大陸および欧州に存在した形跡はない (Beveridge ら, 1965; McQueen ら, 1968). わが国の輸入馬の主産地は米国, イギリス, フランスで, これらの国々ではどちらの型の馬イ流行も報告されており (Bryans, 1964; Scholtens ら, 1964; Beveridge ら, 1965; Bryans ら, 1967), 馬イ・ウの常在地となつている. 輸入馬によつてこれら常在地から病原ウイルスが持ち込まれるのを極力防ぐため, わが国では輸入の際の検疫が義務づけられ, その他の予防措置が講じられている (“輸入馬の検疫関係資料集”, 動物検疫所, 昭和43年). しかし最近輸入馬に起因すると考えられる2型馬イが福島県に発生し, すみやかに関東および関西にも拡大した (家畜衛生週報, No. 1178, 昭47. 1. 10; 同, No. 1179, 昭47. 1. 17).

この流行の直前に行なつた今回の調査で, わが国で出生した馬 (在来馬) はいずれの型の馬イ抗体も全く保有

せず, 北海道にこれまで馬イ様疾患の発生報告がなかつた事実と一致した. これに対し, 輸入馬には抗体を保有するものが, かなり高率に検出された. 輸入馬は地域的にそれぞれ異なる牧場や環境で在来馬とともに飼育されており, それにもかかわらず輸入馬にのみ感染が起こつたとは考え難いことである. また HI および CF-V 抗体陽性の馬も比較的新しい感染の指標となる CF-S 抗体はすべて陰性であることから, これらの抗体はかなり以前の抗原刺激によつて獲得されたものと推定される.

HI 抗体陽性率を輸入馬の輸入年次別に比較すると, 馬2型では1966年 (ウイルス初分離年から3年後) 以後に輸入された馬には2型抗体を保有するものが多数存在するにもかかわらず, それ以前の輸入馬にはまったく認められない (図1の②). わが国に2型の流行があつた場合にはこのような成績はあり得ない. すなわちこの成績はこれらの2型抗体が輸出国で獲得されたものであることを示すと同時に, これらに欧米における2型馬イの疫学的状態が反映されていることを明瞭に示している. また1型についても抗体保有率および平均抗体価は感染可能期間が長くなるにつれて上昇し, かつ輸入後の在日年数が長いほど減少し (表5) 2型同様, 欧米の流行を反映していると考えることができる. したがつて, 1955年以前に米国から輸入した4頭に1型抗体が検出されたのはこれらの馬がウイルス発見以前にすでに自然感染していたことを意味し, 北米には早くから1型ウイルスが存在したという McQueen ら (1965 b) の説を支持するものと考えられる.

ところで欧米では初期には人型イ・ワクチンの応用による馬イの人工免疫も試みられたが (Sovinova ら, 1958; Fleming, 1963; Doudle ら, 1964; McQueen ら, 1965 a; Rose, 1966), 馬イ独自のワクチンが開発され自然感染と同等またはそれ以上の抗体が産生されるようになったのは1965年以後のことである (Lief & Cohen, 1965; Bryans, 1966; Bryans ら, 1966; Gerber, 1970). 最近では投与11ヶ月後なおきわめて高い抗体の持続する polyvalent ワクチンも開発されている (Cottureau & Petermann, 1969). したがつて, 図1の①において1965年前後で抗体レベルに差が認められるが, これはこの年以後の抗体には自然感染に基づくもののほかに, さらにワクチンの影響が加わっているためと推測される.

輸出国別に抗体の分布をみると米国からの馬はイギリスの馬よりいずれの型のウイルスに対しても陽性率と平均抗体価がともに高い傾向があるが, これは米国のほうがイギリスより馬イの汚染状態, あるいはワクチンの普及が進んでいることを示すと考えられる. またフランス

からの馬の成績はいずれも低い、この国では今なお1型、2型のウイルスのいずれの流行も頻発しており (Fontaine & Petermann, 1970)、これはむしろ多くの馬が比較的若いうちに輸出されたためと考えられる。

ところでこれまで馬イ抗体の消長については1年内外の短期間についてしか観察されていない。今回の成績によれば馬1型抗体のレベルは輸入後約5年で大きく減少するが、その後10年以上にわたって陽性率はあまり変動せず、低いながら抗体の持続することがわかる。前述の米国で自然感染したと考えられる4頭はいずれも15年以上経た後になおかなり高い抗体を保有し、そのうちの1頭は18年後なお1:64の抗体価を示している。

2. 香港型抗体について

動物イ・ウには人イ・ウと共通抗原をもつものがあり (Pereira ら, 1967; Webster & Pereira, 1968; Schild ら, 1969; Tumova & Easterday, 1969; Schild & Newman, 1969)、また動物イ・ウおよび人イ・ウはそれぞれの宿主を変えて相互に人工感染させることができる (Shope & Francis, 1936; Kasel ら, 1965; Kasel & Couch, 1969)。さらに最近 *In vitro* でA型イ・ウ間の遺伝学的組み換え型を容易に作り得ることから動物イ・ウと人A型イ・ウは宿主域や抗原性の相違にかかわらず、遺伝学的に類縁関係にあることが明らかとなつて (Kilbourne ら, 1968; Webster, 1970)。しかし、自然界において実際に異種宿主間でイ・ウが伝達しあうか否かについてはまったく不明である。

香港型イ・ウは馬へ人工的に感染し、抗体を産生する (Blaskovic ら, 1969 a, b; Todd ら, 1970)。したがって、もしこのウイルスが馬へ自然感染するならば、香港型イ流行後に馬の間にもその抗体が検出される可能性があり、しかもそれは共通抗原をもつ馬2型イ・ウの未感染馬で最も明確に証明できるはずである。北海道では1968年末から香港型イの流行が始まり、日高、十勝地区住民もこの流行に冒されており (野呂ら, 1970)、今回使用した馬血清はこの流行直後に集中して両地区を中心とする馬から採取されている。

在来馬では HI, CF 試験のいずれにおいても香港型抗体は検出されず、香港型イ・ウ自然感染の証明は得られなかった。いつぼう、輸入馬では香港型抗体が HI 試験で21.2%、CF-V 試験で9.8%に認められた。しかし、1) 陽性例はすべて馬2型にも陽性である、2) 輸入年次別抗体保有状況は馬2型の場合にほぼ一致している、3) 馬2型陽性例との間に強い相関が確認される、ことからこれらは馬2型ウイルスの感染、またはワクチン接種に基づく交差反応によるものと判断される。

ところで、馬血清は香港型イ・ウに高い HA-Inhibitor

を有し、これは KIO₄ 処理で除去し得ると報告されている (Coleman & Doudle, 1969; Antoniadis & Woytek, 1970)、著者の場合それだけでは完全に除去し得ず、M/60 KIO₄ と RDE 処理の組み合わせによつてはじめて完全に除去できた。正常動物における血清 HA-Inhibitor の役割に関して、マウスへのイ・ウ感染の際に非病原性イ・ウが病原性を獲得すると同時に β -Inhibitor 感受性が失われること (Briody ら, 1955; Meddill-Brown & Briody, 1955; Smorodintzev, 1957)、さらに電気泳動的に β -Inhibitor の HI 活性分画と中和活性分画とは一致する (Choppin & Tamm, 1960) ことから少なくとも β -Inhibitor は自然抵抗性の一因であると推測されている。馬血清の香港型に対する HA-Inhibitor は加熱によつて活性が強まり γ -Inhibitor が主であることがわかるが、これは β -Inhibitor と同じくイ・ウ中和能を有することが知られ (Shimojo ら, 1958)、またこの Inhibitor は人にはほとんど、あるいはまったく存在していない (Cohen, 1965)。人工感染の成立によつて馬は香港型ウイルスに感受性をもつと考えられるにもかかわらず、今回このウイルスの馬への自然感染を実証できなかったが、その理由のひとつにはこの γ -Inhibitor の役割が考えられる。すなわちマウスにおける β -Inhibitor と同じく γ -Inhibitor が馬における自然抵抗の一因として香港型イ・ウの感染を妨げている可能性が推測される。

謝 辞

終わりに多大の御協力をいただいた帯広畜大の後藤仁博士、北海道衛生研究所の野呂新一氏、農林省家衛北海道支場の清水悠紀臣博士ならびに論文作成の御指導をたまわつた金光正次教授、橋本信夫講師他教職員各位に深く感謝致します。

Summary

Serum samples were collected from a total of 248 horses in Hokkaido during a period of 1965-1971 and examined for hemagglutination-inhibiting (HI) and/or complement-fixing (CF) V and S antibodies against 4 strains of equine and human influenza virus; that is A/Equi-1/Prague/56, A/Equi-2/Miami/63, A/Aichi/2/68 (Hong Kong type), and A/Kumamoto/1/67 (A2 type). The serum samples from 168 horses native to Hokkaido were all negative ($<1:8$) for each of the virus strains in HI tests. Of them, 129 samples were also proved to be negative ($<1:4$) for the CF test with equine and Hong Kong virus.

It was confirmed that there had been no epizootic of influenza among horses in Hokkaido

before 1970. In contrast, of 80 horses imported before 1970, 48 (60.0%) had HI antibody against Equi-1, 23 (28.7%) against Equi-2, 14 (21.2%) against Hong Kong virus, and none against A2 virus. When examined by the CF-V test, 42.6% of the horses had antibody against Equi-1, 42.9% against Equi-2, and 9.8% against Hong Kong virus. Besides, 63 sera were all negative for the CF-S test. The presence of antibody against Hong Kong virus in the imported horses suggested that this antibody might have been produced by infection (including vaccination) with antigenically related Equi-2 virus. Epizootiological analyses were carried out to clarify the relationship between the history and the presence of serum antibody against equine influenza in the individual imported horses.

文 献

- 1) Antoniadis, G. & Woytek, M. (1970) : On strain-specificity of serum inhibitors ; Comparative serological investigations on the influenza virus strains A2/Berlin/2/68 and A2/Hong Kong/1/68. *Zbl. Bakt.*, **214**, 186-197.
- 2) Beveridge, W. I. B., Mahaffey, L. W. & Rose, M. A. (1965) : Influenza in horses. *Vet. Rec.*, **77**, 57-59.
- 3) Blaskovic, D., Savo, A., Kapitanick, B., Styk, B., Vrtiak, O. & Kaplan, M. (1969 a) : Experimental infection of horses with A-Equi 2/Miami/1/63 and human A2/Hong Kong/1/68 Influenza viruses I. The course of infection and virus recovery. *Acta virol.*, **13**, 499-506.
- 4) Blaskovic, D., Kapitanick, B., Savo, B., Styk, B., Vrtiak, O. & Kaplan, M. (1969 b) : Experimental infection of horses with A-Equi 2/Miami/1/63 and human A2/Hong Kong/1/68 influenza viruses. II. Antibody response to the infection. *ibid.*, **13**, 507-514.
- 5) Briody, B. A., Cassel, W. A. & Medill, M. A. (1955) : Adaptation of influenza virus to mice. III. Development of resistance to β inhibitor. *J. immunol.*, **74**, 41-45.
- 6) Bryans, J. T. (1964) : Viral respiratory diseases of horses. *Sci. Proc. 101st. Ann. Meet. of Am. Vet. Ass.*, p. 112-120.
- 7) Bryans, J. T. (1966) : Control of equine infectious disease by immunization. *Cornell vet.*, **56**, 278-287.
- 8) Bryans, J. T., Doll, E. R., Wilson, M. S. & McCollum, W. H. (1966) : Immunization for equine influenza. *J. Am. Med. Ass.*, **148**, 413-417.
- 9) Bryans, J. T., Doll, E. R., Wilson, J. C. & Zent, W. W. (1967) : Epizootiological features of disease caused by Myxovirus influenzae A equine. *Am. J. Vet. Res.*, **28**, 9-17.
- 10) Choppin, P. W. & Tamm, I. (1960) : Studies of two kinds of virus particles which comprise influenza A2 virus strains. II. Reactivity with virus inhibitors in normal sera. *J. Exp. Med.*, **112**, 921-944.
- 11) Cohen, A. & Dorman, J. (1965) : Non-specific inhibitors of A2 influenza virus in human sera. *Acta virol.*, **9**, 519-525.
- 12) Coleman, M. T. & Doudle, W. R. (1969) : Properties of Hong Kong influenza virus. *Bull. W. H. O.*, **41**, 415-418.
- 13) Cottureau, Ph. et Petermann, H. G. (1969) : Vaccination du cheval contre la grippe equine a l'aide d'un vaccin inactif polyvalent. *Revue Med. Vet.*, **120**, 17-29.
- 14) Doudle, W. R., Yarbrough, W. B. & Robinson, R. Q. (1964) : US epizootic of equine influenza, 1963. etiology. *Publ. Hlth. Rep.*, **79**, 398-402.
- 15) Fleming, R. D. (1963) : Human virus vaccine effective against equine influenza. *Vet. Med.*, **58**, 893.
- 16) Fontaine, M. P., Fontaine, M. & Petermann, H. G. (1970) : The serology of equine influenza. *Proc. 2nd. int. Conf. Equine Infectious Diseases, Paris 1969*, p. 99-104. (Karger, Basel/München/New York 1970)
- 17) Gerber, H. (1970) : Clinical features, sequelae and epidemiology of equine influenza. *ibid.* p. 63-80.
- 18) Kasel, J. A., Alford, R. H., Knight, V., Waddelle, G. H. & Sigel, M. M. (1969) : Experimental infection of human volunteers with equine influenza virus. *Nature (London)*, **206**, 41-43.
- 19) Kasel, J. A. & Couch, R. B. (1969) : Experimental infection in man and horses with influenza A viruses. *Bull. W. H. O.*, **41**, 447-452.
- 20) Kilbourne, E. D., Lief, F. S., Schuleman, J. L. & Webster, R. G. (1968) : Recombination of influenza A viruses of human and animal origin. *Science*, **160**, 74-76.
- 21) Lief, F. S. & Cohen, D. (1965) : Equine influenza. Studies of the virus and antibody pattern in convalescent, interepidemic and post vaccination. *Am. J. Epidemiol.* **82**, 225-246.
- 22) Medill-Brown, M. & Briody, B. A. (1955) : Mutation and selection pressure during adaptation of influenza virus to mice. *virology*, **1**, 301-312.
- 23) McQueen, J. L., Davenport, F. M. & Minuse, E. (1965 a) : Studies of equine influenza in Michigan, 1963, I. etiology. *Am. J. Epidemiol.*, **83**, 271-279.

- 24) McQueen, J. L., Davenport, F. M., Keeran, R. J. & Dawson, H. A. (1965b) : Studies of equine influenza in Michigan, 1963, II. epizootiology. *Am. J. Epidem.*, **83**, 280-286.
- 25) McQueen, J. L., Steele, J. H. & Robinson, R. Q. (1968) : Animal influenza, *Adv. vet. Sci.*, **12**, 285-336.
- 26) 野呂, 桜田, 奥原, 佐藤(1970) : 1969年春に北海道で流行したインフルエンザについて, 北海道衛生研究所報, 第20集, 昭和45, 札幌.
- 27) Pereira, H. G., Tumova, B. & Webster, R. G. (1967) : Antigenic relationship between influenza A viruses of human and avian origins. *Nature (London)*, **215**, 982-983.
- 28) Rose, M. A. (1966) : Serological studies with equine influenza viruses. *Brit. Vet. J.*, **122**, 435-442.
- 29) Schild, G. C. & Newman, R. W. (1969) : Immunological relationships between the neuraminidase of human and animal influenza viruses. *Bull. W. H. O.*, **41**, 437-445.
- 30) Schild, G. C., Pereira, H. G. & Schettler, C. H. (1969) : Neuraminidase in avian influenza A virus antigenically related to that of human A0 and A1 subtypes. *Nature(London)*, **222**, 1299-1301.
- 31) Shimojo, H., Sugiura, A., Akao, J. & Enomoto, Ch. (1958) : Studies of a non-specific hemagglutination inhibitor of influenza A (Asian) 57 virus. *Bull. Inst. Publ. Hlth.*, **7**, 219-224.
- 32) Scholtens, R. G. & Steele, J. H. (1964) : US epizootic of equine influenza 1963, epizootiology. *Publ. Hlth. Rep.*, **79**, 393-402.
- 33) Shope, R. E. & Francis, T. Jr. (1936) : The susceptibility of swine to the virus of human influenza. *J. Exp. Med.*, **64**, 791-801.
- 34) Smorodintzev, A. A. (1957) : Factors of natural resistance and specific immunity to viruses. *Virology*, **3**, 299-321.
- 35) Sovinova, O., Tumova, B., Pouska, F. & Nemec, J. (1958) : Isolation of virus causing respiratory disease in horses. *Acta virol.*, **2**, 52-61.
- 36) Todd, J. D., Lief, S. & Cohen, D. (1970) : Experimental infection of ponies with the Hong Kong variant of human influenza virus. *J. Epidem.*, **92**, 330-336.
- 37) Tumova, B. & Easterday, B. C. (1969) : Relationship of envelope antigens of animal influenza viruses to human influenza strains isolated in the years of 1957-68. *Bul. W. H. O.*, **41**, 429-435.
- 38) Waddelle, G. H., Teighland, M. B. & Sigel, M. M. (1963) : A new influenza virus associated with equine respiratory disease. *J. Am. Vet. Med. Ass.*, **143**, 587-590.
- 39) Webster, R. G. (1970) : Antigenic hybrids of influenza A viruses with surface antigen to order. *Virology*, **42**, 633-642.
- 40) Webster, R. G. & Pereira, H. G. (1968) : A common surface antigen in influenza viruses from human and avian sources. *J. Gen. Virol.*, **3**, 201-208.