5) 分離 *S. typhimurium* の薬剤感受性はクロラムフェニコール、カナマイシンが高く、フラゾリドンは低く、テトラサイクリンは耐性であった。

6) *S. typhimurium* を排菌中のヒナにクロラムフェニコールの飲水投与による治療試験の結果、2クール投薬により主要臓器、消化管、糞便からは除菌できたが、10例中2例では遺残卵黄に残存していた。

終わりに検疫中の育雛成績等資料の提供を賜った農林省動物検疫所神戸支所に深謝します。

文 献

- 1) 青木貞治：畜産の研究 22, 1074~1078 (1968),
- 2) 石谷類造, 清水武彦：家畜伝染病の診断 (農林省家畜衛生試験場技術者集談会編) 235, 文永堂, 東京(1967).
- 3) WILLIAM, J.E.: *Diseases of poultry Fifth edition*, 261~314, *The Iowa state Univ. Press, Ames*, (1965). 4)

- EVANCE, BY. W.M.: *Cornell Veterinarian* 45, 239~247, *New Yorke, Ames*, (1955). 5) 緒方 有, 松村梅太郎, 伊東正己, 清水 健：日獣学誌 (学会号) 31, 6 (1969).
- 6) 金子史郎, 山本竜二：日獣学誌 (学会号) 30, 132 (1968). 7) 金子史郎, 川中 剛, 大橋修造：日獣学誌 (学会号) 31, 1 (1969). 8) 金子史郎：鶏病の友, 105号, 18, 日本畜産振興会, 東京 (1970). 9) 坂崎利一：Nissan media No. 31, 日本製菓, 東京 (1967). 10) 清水 健：家畜衛生試験場年報, 43年度, 75~87 (1970).
- 11) 長谷川英樹, 沼田 宏, 川島 寛, 彦坂 治, 清水 健：日獣学誌 (学会号) 31, 6 (1969). 12) 久葉 昇, 井上 睦, 板倉智敏, 川合是彰：日獣学誌 (学会号) 30, 132 (1968). 13) 久葉 昇, 橋本芳信, 西村元喜, 近藤正彦, 松原弘道：日獣会誌, 23, 291~298 (1970). 14) 久葉 昇, 松原弘道：日獣会誌, 23, 385~391 (1970). 15) 松村梅太郎, 緒方 有, 伊東正己：栃木県家畜衛生研究所年報. No. 4 (1969).

ミドリザルを用いての日本脳炎弱毒ウイルスの神経毒性試験

山岸郭郎* 牧野 慧* 井上和子* 吉岡勇雄* 藤崎優次郎**

(昭和 46 年 4 月 27 日受付)

An Experiment on Neurotropic Toxicity of Low Virulent Japanese Encephalitis Virus with Green Monkeys

Hiroo Yamagishi, S. Makino, K. Inoue, I. Yoshioka and *Y. Fujisaki
(Kitasato Institute, Tokyo 108, and *National Institute of Animal Health)

SUMMARY

Four green monkeys were inoculated intracerebrally with $10^{5.0} \sim 10^{6.0}$ TCD₅₀ of the low virulent Japanese encephalitis virus, the T37-(S-) strain, but manifested no clinical symptoms. They were held under observation for 14 days and sacrificed for histopathological examination of the central nervous system. As a result, mild changes were noticed in one of two

animals inoculated with $10^{6.0}$ TCD₅₀. The other three animals were perfectly free from pathological changes. When sacrificed, all the inoculated monkeys were found to have neutralizing antibody in the blood. It was concluded that the virus tested was much attenuated Japanese encephalitis virus.

日本脳炎ウイルスがヒトあるいはウマに脳炎をおこさせ脅威となっているが、妊娠ブタがその感染によって死産をおこしていることも、産業上ゆるがせにできない。

日本脳炎不活化ワクチン注射により、この死産を防止しようとする幾多の試みがなされ、一応所期の目的が達せられている。しかしながら、経済動物であるブタを免疫する際には、経費と労力のことを念頭におく必要がある。ここに不活化ワクチンよりは上記2点よりみても弱毒生ウイルスワクチンについて考慮する余地がある。豚の死産予防のための弱毒生ウイルスは、妊娠豚に対する安全・豚におけるウイルス血症の否定・弱毒の安

定・蚊体内での増殖能の否定等々の安全性を備えたものでなければならないのはもちろんのこと、その生ワクチンの接種業務にたづさわるヒトに対しても安全なものでなければならない。この目的のために、サルを用いての神経毒性試験を行なって、ヒトに対する安全性も確かめておく必要がある。われわれはサルの神経毒性試験以外の安全性確認試験においては、すべて満足すべき結果の得られている1弱毒ウイルス T37-(S-) 株(家畜衛生試験場において作り出されたもの)¹⁾をミドリザル脳内に接種の小実験を実施したので、それについて報告したい。

材料および方法

* 北里研究所 (東京都港区芝白金 5-9-1) ** 農林省家畜衛生試験場 (東京都小平市上水本町 1500)

1) 試験用サル：すべて外見上健康とみなされたアフリカミドリザル (*Cercopithecus aethiops*) を使用した。いづ

れも日本脳炎ウイルス中山一予研株に対する中和抗体 1:10 以下のものである。

2) 試験ウイルス：相良 T 37⁻(S⁻) BK 23-C35 Lot 2 の凍結乾燥材料を、接種直前に滅菌蒸留水にて溶解したものをさらに M-199 液で希釈し接種材料とした。

3) ウイルス接種：1 群 2 頭宛のミドリザルを用い、1 頭につき片側視床内に 0.5 ml のウイルス液を接種した。1 群のサルには $10^{6.0}$ TCD₅₀/0.5 ml、別の 1 群には $10^{5.0}$ TCD₅₀/0.5 ml を接種した。ウイルス価の測定は接種後の残液について、ESK 細胞を用いて実施した。

4) 臨床観察：接種後 14 日間、全身状態を観察するとともに運動機能の観察を行なった。

5) 病理組織学的検査：規定観察日数後屠殺し、中枢神経系のホルマリン固定、パラフィン包埋による組織標本を作成した。染色はヘマトキシリン・エオジン染色およびガロニアン染色によった。脊髄の切り出しは頸・胸・腰の各部において 1 mm 間隔で行ない、それぞれ 8~9 片、23~24 片、17~18 片の標本を作成した。

6) 接種サルの抗体産生状況：接種後 14 日目に得られた血清を 56℃ 30分非働化後、ニワトリ胎児センイ芽細胞での 50% ブラック減少法により中抗体価を測定した。

実験成績

1) 全身状態および運動機能：すべてのサルに異常が認められなかった。すなわち、食欲・生活状態などは良好であり、跳躍力・握力等は接種前と全く変わらなかった。

2) 病理組織学的所見：成績を一括して示すと別表のごとくになる。

$10^{5.0}$ TCD₅₀ のウイルス量を接種された 2 頭のサル (No. 5, No. 13) には全く何ら病変を認め得なかった。

$10^{6.0}$ TCD₅₀ のウイルス量を接種された 2 頭のサル (No. 1, No. 2) の大脳皮質から延髄にいたる上部中枢神経系の神経核および灰白質には全く異常所見を認めなかったが、No. 1 のサルの橋・小脳・延髄の白質にきわめて軽微の細胞浸潤または血管周囲細胞浸潤が見られた (写真 A)。これら浸潤の細胞はリンパ球・グリア細胞その他の円形細胞であった。このような白質の病像は脊髄にひろがり、その程度もやや強まる傾向がみられた (写真 B)。No. 2 のサルの上部中枢神経系には何ら病変が認められず、頸髄の白質に軽微ながら同様の細胞浸潤像がみられたのみであった (写真 C)。灰白質の病変は No. 1 のサルでは腰髄に、No. 2 のサルでは頸髄に、いずれも前角を中心に認められ、その病像は弱毒生ポリオワクチンウイルス (Sabin) によって惹起されてくるものにきわめて

写真 A No. 1 のサルの延髄白質におけるきわめて軽微な細胞浸潤像 (×412)

サル 番号	接種 ウイルス 量 (TCD ₅₀)	接種 痕	中 枢 神 経 系 病 変											接種14日 後の中和 抗体価	
			大脳皮質				中 橋 小 脳	延 髄		脊 髄					
			前頭	頭頂	側頭	後頭		上部	下部	頸 髄	胸 髄	腰 髄			
1	10 ^{6.0}	アリ	—	—	—	—	—	—	灰白質—*	—	—	— (0/9)**	— (0/24)	+ (6/18) ± (2/18)	10×
									白 質±	—	±	+ (1/9)	± (1/24) ± (5/24)	+ (3/18) ± (1/18)	
2	10 ^{6.0}	ナシ	—	—	—	—	—	—	灰白質—	—	—	± (1/8) ± (2/8)	— (0/23) — (0/23)	— (0/18) — (0/18)	70×
									白 質—	—	—	± (2/8)	— (0/23)	— (0/18)	
5	10 ^{5.0}	アリ	—	—	—	—	—	—	灰白質—	—	—	— (0/9) — (0/9)	— (0/23) — (0/23)	— (0/18) — (0/18)	15×
									白 質—	—	—	— (0/9)	— (0/23)	— (0/18)	
13	10 ^{5.0}	アリ	—	—	—	—	—	—	灰白質—	—	—	— (0/9) — (0/9)	— (0/24) — (0/24)	— (0/17) — (0/17)	240×
									白 質—	—	—	— (0/9)	— (0/24)	— (0/17)	

* - : 病変全くなし, ± : 2~3コ以下の極めて小さと病変, + : 軽度の病変, ± : 中等度の病変, ± : 明らかに強い病変

** 調べられた標本数を分母に示し, 各病変のあった標本数を分子に表わした。

弱毒生ポリオウイルスワクチン研究協議会の判定基準による²⁾。

写真B No. 1 のサルの胸髄白質における中等度の病変像—細胞浸潤 (×14)

写真D No. 1 のサルの腰髄灰白質における軽度の病変で、その主体は細胞浸潤および血管周囲細胞浸潤である。(×14)

写真C No. 2 のサルの頸髄白質におけるきわめて軽微な血管周囲細胞浸潤像 (×412)

類似しており、Chromatolysis や Neuronophagia 等の神経細胞の障害よりも、細胞浸潤や血管周囲細胞浸潤が病変の主体となっていた(写真D)。その浸潤細胞の種類は白質に認められたものと同じであった。

3) 血中中和抗体：表に見られるごとく、接種をうけたすべてのサルに中和抗体の産生が認められた。しかしながら、その中和抗体価は接種ウイルス量あるいは病理組織学的所見とは何ら関係がみられなかった。

考 察

今回の実験では T37⁻(S⁻) 株の親株ウイルス(強毒)を対照として実施していないため、本弱毒ウイルスの親株にくらべての弱毒化の移度を知ることができない。し

かし、カニクイザルアカゲザルに強毒株である中山一子研株, Ja TH 160 株ウイルスを接種した山下らの神経毒性試験成績³⁾とくらべてみると、T37⁻(S⁻) 株ウイルス接種によって惹起された中枢神経系の病変は、接種ウイルス量が多いにもかかわらず非常に軽微であった。山下らの成績によれば、中山一子研株ウイルスでは $10^{2.9}$ LD₅₀ 量の接種で、Ja TH 160 株ウイルスでは $10^{3.6}$ LD₅₀ 量の接種ですべてのサルは不完全麻痺あるいは完全麻痺を示していた。そしてこれらのサルのサルの病理組織像は、大脳皮質より脊髄下部にいたるまで白質・灰白質をとわず全般的に強い炎症像が見られ、これにあわせて灰白質には多数の Neuronophagia があり神経細胞障害も強い。

氏らの所見に比し、今回われわれの実験でみられた病理組織学的所見は、接種ウイルス量をはるかに多かったにもかかわらず軽微であり、しかも白質にみられた所見は時折正常サルの剖検時にも認められることをわれわれは経験しているので、これがサル迷入因子によるものか、あるいは本ウイルスによるものかについては今後精細な実験にまつより他はない。

井上も日本脳炎弱毒ウイルスを作製し、その神経毒性試験をアカゲザルを用いて行なっているが、ほぼ等しいウイルス量の接種をうけたサルにおいてはわれわれと同様の結果が得られている⁴⁾。ただ病理組織学所見について詳細な記載がないので、厳密な比較を試みるべきはない。

今回の実験では、ウイルス血症の証明、ウイルス再分離試験を欠いていたために、試験ウイルスがミドリザルの中枢神経系および体内各臓器中でどのような増殖をし

たかについては不明であるが、中和抗体が産出されたことは、体内のどこかで一旦増殖して抗体産生刺激となっていると考えられる。とすれば、中枢神経系の病変の軽度であったこととあわせて、試験ウイルスが神経毒性のとくに低い特殊なウイルスであるといえよう。このことは生ポリオワクチンウイルス (Sabin) の脳内接種をうけたサルの中枢神経系に病変は認められないが、中和抗体の産生がみとめられることと類似して興味深く思われる。

ま と め

日本脳炎弱毒ウイルス T37⁻ (S⁻) 株をミドリザルの視丘内に接種し、サル神経毒性試験を行ない次の成績を得た。

- 1) $10^{5.0} \sim 10^{6.0}$ TCD₅₀ 量のウイルス接種をうけた 4

頭のサルのいずれにも神経症状の発現をみとめなかった。

- 2) $10^{5.0}$ TCD₅₀ 量のウイルス接種をうけた 2 頭のサルの中枢神経系には、病理組織学的に全く何ら病変をみとめなかった。 $10^{6.0}$ TCD₅₀ 量のウイルス接種をうけた 2 頭のサルのうち 1 頭のみ中枢神経系に、軽微な病理組織学的病変をみとめた。

- 3) すべてのサルにおいて、接種後 14 日目の血液中に中和抗体が産生されていたのをみとめた。

文 献

- 1) 守本富昭, 杉森 正, 三浦康男, 藤崎優次郎, 佐沢弘士, 渡辺守松: ウイルス, 18, 434 (1968).
- 2) 弱毒生ポリオウイルスワクチン研究協議会: ポリオ生ワクチン研究報告, 3, 22 (1963).
- 3) 山下真司, 松山繁夫, 大谷 明, 青山友三: ウイルス, 17, 182 (1967).
- 4) Y.KANDA, INOUE: Bull. Wed. Hlth. Org., 30, 181 (1964).

鶏 カ ン ジ ダ 症 (驚 口 瘡) の 野 外 発 生 例

井上 勇* 荒川平治** 野本貞夫* 渡辺文男* 東 量三***

(昭和 46 年 5 月 17 日受付)

鶏カンジダ症の最初の報告は、1933 年 JUNGHER⁸⁾によって行なわれている。この報告をみると、60日齢未満の雛 50,000 羽中 10,000 羽が死亡した症例が記載されている。いっぽうわが国での鶏病の発生傾向についてみると、最近真菌性疾病が多発の傾向にあり、すでに岩崎ら⁶⁾、雨宮ら⁷⁾によってアスペルギルス症の野外発生例が報告されている。しかし、真菌性疾病のなかでアスペルギルス症とならんで重要な、鶏カンジダ症についての発生報告はまだみあたらない。著者は昭和 45 年 2 月に、県内の一養鶏場から雛の病性鑑定の依頼をうけ、この症例について臨床学的、病理学および細菌学的検査を行なったところ本病の野外発生を確認したのでその概要について報告する。

I. 発生状況と臨床症状

発生養鶏場は成鶏約 3,000 羽を飼育している採卵養鶏場で、発生群は昭和 44 年 11 月に入雛した外国鶏コーナーシャル 1,000 羽群であった。育雛は G 型グランドブルーダーで行ない、24 日齢で 1,000 羽中 500 羽だけに鶏痘の穿刺を実施し青空中雛舎に移動を行なった。残りの 500 羽は、仕事の都合でそのまま育雛器内にとどめて飼

育を行なっていた。ところが、30日齢頃より移動させなかった育雛器内の雛は食欲が減退し、活力の低下と肉様便の排泄がみられるようになった。畜主はそのために 35 日齢で鶏痘の穿刺を行ない、青空中雛舎に移動を行なった。しかし、移動後もなんとなく元気食欲が悪く一般症状の悪化とともに 61 日齢より死亡し始めた。そして、78 日齢までに 114 羽が死亡してしまった。なお、発病と死亡は移動のおそかった 500 羽群に局限していた。ニューカッスル病の予防は、1 日齢、24 日齢で生ワクチンの飲水投与が行なわれていた。85 日齢で病性鑑定を実施した。臨床症状についてみると、元気、食欲の消失、ケージの一隅にたたずんで閉眼しているもの、顔面の貧血、瘦削が主な所見で、一部には開口呼吸が認められ、あたかも呼吸器性マイコプラズマ病の症状と似ている雛も観察された。なお、飼料は市販の完全配合飼料を用い、特定の抗生物質等の使用はしていなかった。

II. 病理解剖学的所見

発症鶏 8 羽を放血殺して剖検を実施した。全例の舌根部、舌の裏面、硬口蓋に粟粒ないし米粒大の帯黄灰白色の結節が認められ、その結節は隆起しており中心部は凹状で開口していた。以上の病巣は個体によっては咽喉頭部にも認められた。また、2 例の筋胃キチン質下に小豆大の灰白巣が散在していた。なお、食道・嗦嚢および他

* 埼玉県家畜衛生試験場 (大宮市別所町 520)

** 前埼玉県家畜衛生試験場 (現埼玉県越谷市 開業)

*** 農林省家畜衛生試験場 (東京都小平市上水本町 1500)