ジステンパーウイルスの哺乳マウス順化に関する研究

藤江 昇・倉田一明・貝塚一郎・沢田 実

農林省動物医薬品検査所

(昭和 39 年 6 月 8 日受付)

緒 言

GREEN⁶⁾ および GREEN & SWALE⁷⁾ は, CARRÉ が認めたジステンパーウイルスを, フェレットに順化させ, さらに HAIG⁹⁾ および CABASSO ら^{1,2)} は, フェレット順化ウイルスを鶏胎に順化させた. この事実, ジステンパーの研究に好適な宿主を提供したばかりでなく, 本ウイルスが, さらに他の宿主に順化する可能性を示唆した.

これを立証するかのように, WEST ら²²⁾ は, 本症に感染した狐の脾, リンパ節および肺の乳剤を 3 週令マウスに経鼻接種で継代し, MORSE ら¹³⁾, GUTIERREZ ら⁸⁾ および CABASSO ら³⁾ は, 鶏胎化ウイルスを哺乳マウスあるいは哺乳ハムスターに順化させた.

わが国においては, ジステンパーウイルスの哺乳マウスあるいは哺乳ハムスター順化に関する報告は僅少である. 佐々木²⁰⁾ は, 自然感染犬の脳および脾を成熟ハムスターに脳内接種し, ウイルスの分離および継代に成功した. 原¹⁰⁾ は, 鶏胎化ジステンパーウイルス Lederle 株による成熟ハムスターの免疫について実験し, 腹腔内接種後 7 日目に中和抗体の出現を認めた. また渋谷²¹⁾ は, かれらが分離, 鶏胎化したウイルスの同定のため, 鶏胎化ウイルス Lederle 株を哺乳マウスに順化させ, 哺乳マウスによる中和試験を行なった. 最近本橋¹⁵⁾ は, かれらが分離, 鶏胎化したウイルスを哺乳ハムスターに継代した後, さらに成熟ハムスターの脳内継代に成功し, ジステンパーウイルスに対するハムスターの感応の判定に, 本ウイルスを攻撃ウイルスとして利用できることを報告している.

わが国では, フェレットの入手は困難であり, 犬は本症に対する不顕性感染があり, かつ抗体の保有率も高いので, ワクチンや血清類の力価測定, あるいは感染防御実験などに用いることは, 容易ではな

い状況である.

著者らは, 入手が容易で, 多数例の使用ができ, 飼育管理および取り扱いが簡易な実験動物として, マウスに着目し, 鶏胎化ウイルスの離乳マウスへの順化を企図した. まず, 渋谷²¹⁾ がわが国の犬から分離し, 鶏胎化したジステンパーウイルスを用いて, 哺乳マウスに対する態度を検討し, 脳内接種により, これを継代することができたので, その成績について報告する.

材料および方法

1. ウイルス: 武田薬品工業株式会社光工場から分与を受けた H-15-E 株である. 当所で鶏胎に継代を重ねた. 哺乳マウスの 7 日継代系は 42 代, 5 日継代系は 44 代, 3 日継代系は 52 代の感染漿尿膜乳剤を出発材料としている. これらの出発材料のウイルス価 (EID₅₀/0.2 ml) は, それぞれ 3.4, 3.5 および 3.7 であった.

哺乳マウスへの接種には, 感染漿尿膜を普通ブイヨン (pH 7.2) で 50% 乳剤とし, 2,500 rpm 10 分間遠心の上清液を用いた.

鶏胎による中和抗体の測定には, 鶏胎化ウイルス Wisconsin-FXNO 株 (83 代) の漿尿膜乳剤を使用した.

フェレットの感染防御実験の攻撃ウイルスには, 渋谷²¹⁾ が分離した H-15-フェレット株を用いた. これは感染フェレットの脾乳剤を凍結乾燥したものである.

2. マウス: 埼玉県某飼育場より入手した dd 系成熟マウスを数群に分け, 厳重な飼育管理のもとで自家繁殖した, 主として生後 2 日の哺乳マウスである.

3. フェレット: 武田薬工光工場から分与を受けた生後約 6 カ月, 体重約 500 g の淡黒褐色の雄である. 個々のケージに入れ, 既報⁵⁾ のように飼育した.

4. タマゴ: 38°C で 7 日間孵卵した白色レグホン種のものを使用した。

5. 哺乳マウスの継代法: 感染哺乳マウスを放血致死させた後、脳を普通バイヨンで 20% 乳剤とし、2,500 rpm 10 分間遠心し、上清を 0.01~0.02 ml ずつ脳内接種した。採脳までの日数は、3 日、5 日および 7 日とし、それぞれについて継代した。接種後 2 日以内に死亡したものは、事故死として除外した。同一群中の採脳しなかったマウスは、14 日間観察した。

6. ウイルスの定量: プールした 5 個の感染脳を、バイヨンで 20% 乳剤とし、その遠心上清液を 10^{-0} として、10 倍階段希釈液を調製した。哺乳マウスによるウイルスの定量には、1 希釈に 4 頭を用い、0.01 ml ずつ脳内接種し、REED & MUENCH¹⁹⁾ の法で LD_{50} を算定した。また、鶏胎による場合は、既報⁵⁾ のように、 EID_{50} を算定した。

7. フェレットの感染防御実験: 5 日継代系の 23 代目の感染哺乳マウス脳 (EID_{50} 4.17) を、燐酸緩衝食塩液で 20% 乳剤とし、2,500 rpm 10 分間遠心し、その上清液を 1.0 ml ずつ、2 頭のフェレットに腹腔内接種した。14 日後に、H-15-フェレット株感染フェレットの脾の 10% 乳剤 1.0 ml をもって、無処置対照フェレットとともに、腹腔内攻撃を行なった。その後 3 週間にわたって臨床観察を続け、感染防御の成否を判定した。

また感染哺乳マウス脳乳剤の接種前、および攻撃時のフェレット血清について、中和抗体を測定し、抗体産生能の吟味と、抗体の同定を実施した。

8. 中和試験: 鶏胎による場合は、既報⁵⁾ のようにして行なった。哺乳マウスによる場合は、56°C に 30 分加温した血清を 10 倍階段希釈し、感染脳乳剤 (最終ウイルス量は 200~300 LD_{50}) の等量と混じ、一夜氷室に感作し、各希釈液につき 3 頭以上の哺乳マウスの脳内に 0.01 ml ずつ接種し、14 日間観察した後判定した。

9. 補体結合反応: 中村¹⁷⁾ の補体希釈法に準じて行なった。抗原には、感染哺乳マウス脳からの CASALS⁴⁾ の凍結融解抗原、または中村ら¹⁶⁾ の牛疫乾燥抗原に準じて作ったものを使用した。血清は、中和抗体陽性・陰性の由来が明確なものを、62°C に 30 分加温して用いた。判定は KÄRBER¹⁸⁾ の法により、50% FT を計算し、一応、大森¹⁸⁾ の方法に準拠して、50% FT が <0.8 を陰性、0.8~1.1 を

疑陽性、>1.1 を陽性とした。

実験成績

1. ウイルスの継代: 哺乳マウスにおいて、7 日、5 日および 3 日継代を行ない、Fig. 1 に示すような成績を得た。

a. 7 日継代系——鶏胎継代 42 代目の 50% 感染漿尿膜乳剤を、初代から哺乳マウスに脳内継代するか、哺乳ハムスター脳に 1 代継代した後、さらに哺乳マウスに脳内継代するか、哺乳ハムスター脳に 2 代継代した後、哺乳マウスに脳内継代する 3 つの方法を試みた。

しかし、いずれの方法でも、哺乳マウスに 1~4 代継代すると、鶏胎によるウイルスの証明が陰性となり、継代を中止した。

b. 5 日継代系——鶏胎継代 44 代目の 50% 感染漿尿膜乳剤を、哺乳マウスで脳内継代を試みた。継代初期には症状が認められなかったもので、鶏胎の漿尿膜上接種によるウイルス証明の成績を指標として継代した。

6 代目にいたり、接種後 3 日目に興奮状態を示し、この症状は継代が進むにつれて著明となった。すなわち、突然走り出したり、跳びはねたり、あるいは間歇的な痙攣様の発作を表わし、身体の小刻みな震戦、脊柱の後背部への彎曲、身体の平衡状態の喪失などを示した。この症状は、日時の経過につれて悪化し、やがて全身の麻痺を呈し、6~9 日の経過で死亡した。

この症状は顕著で、特徴的とも思われたから、以下の諸実験には、この系のウイルスを用いた。

c. 3 日継代系——鶏胎継代 52 代目の 50% 感染漿尿膜乳剤を、脳内接種により、哺乳マウスに継代した。この系も、鶏胎の漿尿膜上接種によるウイルス証明と平行して継代した。

13 代ごろより、採脳時に軽度の興奮状態がみられ、以後この程度の症状が各代に認められた。症状の全経過は、5 日継代系のものとはほぼ同様であった。

2. 症状と体重の関係: 接種後 3 日目に出現した症状は、次第に重篤となり、瀕死期には著明な瘦削がみられた。

症状の進行と体重の関係をみると、体重は、対照群では漸次増加するのに反し、同腹の感染マウスでは、症状の出現とともに減少し、症状の進行にともなって激減する傾向を示した。なお体重の減少を示

Fig. 1. Intracerebral Passages of 3 Lines of H-15 Avianized Distemper Virus in Suckling Mice

Fig. 2. Growth Curves of Passaged Virus in Some Organs of Suckling Mice

したマウスでは、胃内容に乳汁が認められなかった。

ウイルスを腹腔内に接種した哺乳マウスでは、発症が認められず、体重の増加も、対照の同腹無処置マウスと同じ傾向を示した。

また 20% 健康マウス脳乳剤、あるいは、ブイヨンの脳内接種では、いずれも、対照の同腹無処置マウスと同様、体重の増加を認めた。

3. 各継代数におけるウイルスの定量：哺乳マウスの脳内継代の初代, 11, 18, 23, 32, 40 および 48 代のものについて、鶏胎および哺乳マウスを用い、ウイルス量を測定した。

鶏胎による測定では、それぞれ 2.8, 2.2, 2.6, 4.2, 2.7, 3.5 および 3.7 の EID₅₀ を示し、哺乳マウスにおける LD₅₀ は、それぞ

れ <0, 3.0, 2.5, 4.2, 3.0, 3.5 および 3.9 であって、鶏胎と哺乳マウスによる各ウイルス量には、大差が認められない。哺乳マウス継代の初代のウイルス量は <0 であったが、その後はかなり高い価を示した (Table 1)。

4. 哺乳マウス体内におけるウイルスの分布と増殖：感染脳の 10⁻⁹ 希釈液を哺乳マウスの脳内に接種し、経日的に 5 頭ずつ殺処分した。プールしたこれらの脳、脾、肝、肺および腎について、鶏胎の漿尿膜上接種により、ウイルスの定量を行なった (Fig. 2)。

接種後 6 日間にわたり測定したが、脳のみにはウイルスの増殖がみられ、その他の臓器ではウイルスが証明されなかった。

脳におけるウイルスは、接種後 1 日目から増殖を示し、3 日目にはかなり高い価に達し、5 日目までほぼ同じ価であったが、6 日目に低下の傾向が認められ、7 日目に動物は死亡した。

5. 接種経路別の発症状態：哺乳マウスの各接種経路による発症状態を知るため、3~7 日令の 5 群の同腹マウスを用い、各群をさらに 2~4 群に分けた。20% 感染脳のそれぞれの量を、異なった経路で各群に接種し、14 日間観察した (Table 2)。

Table 1. Virus Titration in Chick Embryos and Suckling Mice

Passage level	Infective titer	
	Chick embryo (log EID ₅₀ /0.2 ml)	Suckling mouse (log LD ₅₀ /0.01 ml)
1	2.8	<0
11	2.2	3.0
18	2.6	2.5
23	4.2	4.2
32	2.7	3.0
40	3.5	3.5
48	3.7	3.9

接種量は、脳内接種では 0.01~0.02 ml, 腹腔内接種では 0.03~0.10 ml, 皮下接種では 0.03~0.05 ml, 経鼻接種では約 0.01~0.02 ml である。感染の判定は、脳内接種マウスを対照として行なった。

その結果、脳内接種では全例感染死した。その他の接種経路では、発症も死亡も認められなかった。ただし腹腔内に接種された 1 頭で、疑症状を表わしたものがあったが快復した。

6. マウスの日令による感染状態: マウスの日令が感染におよぼす影響を知るため、生後 1 日から 20 日にわたる 9 群の同腹マウスに、それぞれ 20% 感

染脳乳剤を脳内接種し、14 日間観察した。また M 群以外の各群で、1~2 頭から接種後 4~5 日目に採脳し、ウイルスの証明も行なった (Table 3)。

その結果、幼若なマウスほど症状は顕著で、短期間に死亡したが、日令が進むにつれて症状は不明確となり、13 日令以上では被毛逆立、軽度の興奮を示すのみで、生き残るものが認められた。

途中で殺処分した各群マウスのウイルス証明において、哺乳マウスに接種した場合には、9 日令までの脳乳剤では全例、10 日令では 4 頭中 3 頭、13 日令では 4 頭中 1 頭が、それぞれ感染死したが、15 日令以上では、全例が疑症状程度を示して生存した。

また鶏胎に接種した場合には、10 日令の脳乳剤では、漿尿膜上にジステンパーウイルスの変状が示されたが、13 日令以上では、なんの変状も現われなかった。

ウイルス証明に用いた各日令のマウス脳は、すべて 20% 乳剤とした。

7. 離乳マウスによる継代: 継代ウイルスには、ある程度の哺乳マウス順化が推測されたので、本研究の最終目的である離乳マウスによる継代の可能性について実験した。

哺乳マウス継代 14 代の 20% 感染脳乳剤を脳内

Table 2. Susceptibility of Suckling Mice by Various Routes of Inoculation

Suckling mice			Inoc. dose (ml)	Route of inoculation**			
Litter No.	Age (days)	Weight (g, average)		i.c.	i.p.	s.c.	i.n.
H	3	2.0	0.01*	+++			
		2.0	0.03		---		
		2.0	0.03			--	
G	3	2.2	0.01	++			
		2.1	about 0.02				-----
J	5	3.1	0.01	+++			
		3.3	0.05			-----	
F	6	4.0	0.02	++			
		3.1	0.10		+---		
		3.2	0.05			--	
		3.2	about 0.01				--
I	7	3.8	0.01	+++			
		3.7	0.10		-----		

* 20% infected suckling mouse brain suspension.

** i.c.: intracerebral, i.p.: intraperitoneal, s.c.: subcutaneous, i.n.: intranasal.

—, +, and ++: Degrees of symptoms.

Table 3. Susceptibility of Suckling Mice at Various Days after Birth

Suckling mice			Symptoms after inoculation														Virus demonstration*	
Litter No.	Age (days)	Weight (g)	1 (days)	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	Suckling mice	Chick embryos
M	1	1.8	—	—	+	++	D										—	—
		1.8	—	—	+	++	+++	D										
		2.0	—	—	+	++	D											
B	3	2.3	—	—	+	+	D										4/4	—
		2.3	—	—	+	++	D											
		2.5	—	—	+	++	D											
		2.8	—	—	+	++	+++	D										
		2.8	—	—	+	++	+++											
		2.9	—	—	+	++	+++											
D	5	3.0	—	—	+	++	+++	D									3/3	—
		3.0	—	—	+	++	+++	+++	D									
		3.3	—	—	++	+++	+++											
S	6	3.8	—	—	+	+	++										5/5	—
		3.8	—	—	+	+	++	+++	+++	D								
		3.8	—	—	++	++	+++											
N	9	4.0	—	—	+	++	D										4/4	—
		4.3	—	—	+	+	+	D										
		4.3	—	—	—	+												
		4.5	—	—	+	D												
		4.5	—	—	+	+	+	+	++	D								
W	10	4.6	—	—	+	+	+	++	D								3/4	3/3
		4.6	—	—	—	+	++	++	+++	D								
		4.8	—	—	+	+	+++	+++	+++	D								
		4.9	—	—	+	+												
		4.9	—	—	++	++												
		4.9	—	—	+	+	++	++	D									
P	13	4.3	—	—	+	+	D										1/4	0/2
		4.5	—	—	+	+	+	+	D									
		5.5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		
		5.5	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
		5.5	—	—	+	+												
		5.8	—	—	+	+												
		6.2	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
L	15	6.0	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0/4	0/3
		6.0	—	—	+	+												
		6.0	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	D					
		6.0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		
Q	20	7.6	—	—	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0/5	0/3
		7.8	—	—	+	+												
		7.8	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		

— ~ +++ : Degrees of symptoms, D: Death.

| : Sacrificed and brains were harvested for virus demonstration.

* (Number of animals infected with distemper virus)/(Number of animals tested)

Fig. 3. Response to Immunization and Immunity in Ferrets Inoculated with Suckling-Mouse Passaged Virus

に接種すると、離乳マウスは、軽度の興奮と被毛逆立を示した。そこで3日目に採脳し、20%脳乳剤として離乳マウスに継代した。2代目までの離乳マウスには、軽度の症状ないし疑症状が認められたが、3代目以後では無症状であった。

初代の離乳マウスの脳乳剤は、鶏胎の漿尿膜上に軽度の変状を示した。2代目の離乳マウス脳では、哺乳マウス脳内接種により、ウイルスが証明された。しかし3代目以後の離乳マウス脳乳剤は、哺乳マウスにおいて、なんら症状を示さなかった。

60代の感染哺乳マウス脳乳剤の離乳マウスによる継代では、初代の離乳マウス脳は、鶏胎の漿尿膜上に軽微な変状を示した。2代目の離乳マウス脳は、鶏胎および哺乳マウスによるウイルス証明において、ともに微弱な疑症状程度の感染であった。3代目以後は陰性であった。

その他二、三の継代数の感染哺乳マウス脳乳剤についても、同様の実験を試みたが、離乳マウスによる脳内継代には、現在までのところ、成功していない。

8. 継代ウイルスに対するフェレットの感染防御能と中和抗体の産生能：継代ウイルス同定のため、まずフェレットによる感染防御実験を行なった

(Fig. 3).

すなわち、23代目の感染哺乳マウスの20%脳乳剤1.0 mlを腹腔内に接種すると、2頭のフェレット (No. 35 および 36) は、その後14日目の攻撃に対し、無症状で耐過生存した。無処置対照フェレット (No. 41) は、攻撃後8日目から著明な特徴的の症状を呈し、16日目に死亡した。

つぎに、これらフェレットの中和抗体産生能を測定し、抗体を同定するため、脳乳剤接種前および攻撃時の血清について、发育鶏卵を用い、中和抗体を測定した (Table 4)。

その結果、すべてのフェレットで、接種前の抗体は陰性であった。感染哺乳マウス脳乳剤を接種した No. 35 および 36 は、攻撃時にそれぞれ 425 および 559 の抗体価 ($ED_{50}/0.05$ ml) を示し、ジステンパー中和抗体の著明な産生が認められた。

9. 哺乳マウスによる中和試験：前述の諸実験の成績から、日令が若い哺乳マウスは、感染脳乳剤の脳内接種によって感染、発症、死亡の転帰をたどることが明瞭となった。そこで、このシステムを用い、継代ウイルスと二、三の血清との中和試験を行なった。なお使用血清については、发育鶏卵による中和試験も合わせて行なった。

使用血清は、鶏胎化ワクチンを接種した子犬 (No. 60-67) およびフェレット (No. 60-49) から、ワクチン接種前・後に採取したもの、鶏胎化ワクチン接種後のフェレット血清、抗体陰性の子犬 (No. 60-5 および 60-51) 血清、および Wisconsin-FXNO 株免疫モルモット血清である。なお Theiler ウイルス GDVII 株免疫モルモット血清、日本脳炎および狂犬病免疫モルモット血清についても実験した (Table 5)。

その結果、いずれの血清でも、哺乳マウス継代ウイルスを用いて哺乳マウスで行なった成績と、鶏胎化ウイルスを用いて发育鶏卵で行なった成績とは一致した。そこで、前述のシステムで中和抗体の測定が可能であるとともに、ジステンパーウイルスの哺乳マウス継代の可能性があることが実証された。

10. 感染哺乳マウス脳による補体結合反応：無処置および感染哺乳マウス脳の、CASALS⁴⁾の方法による凍結融解抗原、または中村ら¹⁶⁾の牛疫乾燥抗原に準じた抗原を用い、補体希釈法¹⁷⁾による補体結合反応を行なった。

ワクチン接種後の子犬血清は、凍結融解抗原に対

Table 4. Neutralizing Antibody against Egg-Adapted Virus

Inoculum	Ferret No.	Serum	Serum dilution					ED ₅₀ titer	Result of challenge
			1:2	:10	:50	:250	:1250		
Suckling-mouse passaged virus (23rd passage)	35	Pre-inoculation	2/2*					<2	Survived
		14 days post-inoc.		0/4	0/4	1/4	3/3	425	
	36	Pre-inoculation	3/3					<2	Survived
		14 days post-inoc.		0/4	0/4	1/4	3/4	559	
—	41	Pre-challenge	3/3					<2	Died

* See Table 3.

Egg-adapted distemper virus used: 235 EID₅₀ doses of Wisconsin FXNO strain.

Table 5. Virus Neutralization Test between Suckling-Mouse Virus and Some Sera

Serum No.		Suckling mouse			Chick embryo
		Serum dilution			Serum dilution
		1:2	1:100	1:200	1:2
Puppy 60-67	Pre-vaccination	4/4*	4/4		4/4*
	Post-vaccination	0/5	0/5	0/5	0/4
Ferret 60-49	Pre-vaccination	4/4			4/4
	Post-vaccination	0/4	0/5	0/3	0/4
Ferret 59-4	Post-vaccination	0/4			0/4
Puppy 60-5	Pre-vaccination	5/5			4/4
Puppy 60-51	Pre-vaccination	5/5			4/4
Guinea pig	Anti-distemper FXNO strain	1/5			0/4
Guinea pig	Anti-Theiler GDVII strain	5/5			4/4
Guinea pig	Anti-Japanese Encephalitis virus	5/5			4/4
Guinea pig	Anti-rabies virus	5/5			4/4

* See Table 3.

Virus used: 200–300 LD₅₀ of suckling-mouse passaged virus and 200–300 EID₅₀ of Wisconsin FXNO virus.

して、2.50 および 2.75, 乾燥抗原に対して 2.35 および 3.40 の 50% FT を示した. ワクチン接種後のフェレット血清では、凍結融解抗原に対して 2.35 および 1.75 であった. ワクチン接種前の中和抗体陰性の子犬血清は、凍結融解抗原に対して 0.30 および 0.50, 乾燥抗原に対して 0.25 および 0.10, 中和抗体陰性のフェレット血清は、凍結融解抗原に対して 0.20 および 0.30, 乾燥抗原に対して 0.10 の 50% FT を示した. また Theiler ウイルス GD VII 株, 日本脳炎および狂犬病免疫血清は、両抗原に対して 0.32~0.10 の 50% FT を示した.

考 察

鶏胎, フェレット, 哺乳ハムスターおよび哺乳マウスの感応態度からも, 本ウイルスの感染は, 概して広範囲のスペクトルを有するものと考えられる

が, 本実験では, これを肯定するような成績を得た.

MORSE ら¹³⁾ は継代の初代の, GUITIERREZ ら⁸⁾ は 2 代目の哺乳マウスに, CABASSO ら⁹⁾ は初代の哺乳ハムスターに, いずれも神経症状を観察している. 著者らは, 6 代または 13 代目から神経症状を認め, やや遅れた感があるが, 出現した症状と経過は, これらの記載とほぼ同様である. また症状が進むにつれて, 体重が激減するが, 胃内容が認められないことから, 哺乳していないものと思われた. 他のウイルス性疾患と同様, ジステンパーにおいても, 哺乳マウスを用いて実験した場合, 胃内の乳汁の存否は, 感染を示す一指標となることを知った.

ジステンパーの実験動物として, その鋭敏な感受性のために, フェレットが推奨されることは当然であるが, わが国の現状では入手困難である. イタチ¹¹⁾またはミンク¹⁴⁾が用いられたこともあるが, こ

れらは飼育管理が困難で、またきわめて高価なために、実験動物として一般的ではない。犬は入手が容易であるが、常に不顕性感染の脅威にさらされている。また鶏胎も優秀な実験動物ではあるが、これとても鶏胎化ウイルスのみに制約され、宿主自身の免疫ができない悩みが常に随伴している。

現行の鶏胎化生毒ワクチンの力価検査は、ワクチンが含有するウイルス量から感染防御能を間接的に求める方式によっている。もし直接に感染防御能が測定できれば、検定は、さらに完全となることと思う。この目的のため、宿主自身を免疫でき、また多数の頭数が使用できる点で、離乳マウス馴化を終極の目標とし、まず哺乳マウスを用いて実験した。今後さらに実験を続け、徐々に高日令のマウスへの馴化を進める予定である。

著者らが哺乳マウス継代に成功したウイルスは、前述の諸成績から、ジステンパーウイルスと同定された。Theiler ウイルスや、当室で取り扱っている日本脳炎および狂犬病ウイルスの迷入は、否定された。

ジステンパーウイルスの哺乳マウスあるいは哺乳ハムスター馴化に関する従来^{3,8,13,22)}の報告をみると、ウイルスの増殖部位、増殖曲線あるいは感受性のある日令、また動物側の吟味についても、詳細な記載に乏しいようである。この意味から、本報告は、このウイルスの性状をさらに詳細に解明したものといえる。

なお、感染哺乳マウス脳を抗原としたジステンパー補体結合反応の詳細は、別に報告する予定である。

結 論

鶏胎化ジステンパーウイルス H-15 株を用い、3 日および 5 日継代系で、哺乳マウスの脳内継代に成功し、次の結果を得た。

1) 症状は、6~13 代目ごろに現われ、症状の進行とともに、体重の減少が著明であった。

2) 鶏胎と哺乳マウスとによるウイルスの定量において、継代数 48 代までは大差がなかったが、哺乳マウスでは、初代に比較して著しく高い価を示した。

3) 哺乳マウスは、脳内接種以外の経路では、発症も死亡も示さなかった。生後約 10 日令までの哺乳マウスが、感受性があるようである。

4) 離乳マウスへの継代は、現在までのところ不

成功である。2 代目まではウイルスの存在が認められたが、3 代以降は陰性であった。

5) 感染哺乳マウス脳乳剤は、フェレットに対し、感染防御能を賦与し、中和抗体の顕著な産生が認められた。

6) 継代ウイルスを用いて、哺乳マウスによる中和試験が可能であった。感染哺乳マウス脳由来の抗原は、ジステンパー免疫血清と、特異的な補体結合反応を示した。

7) 継代ウイルスは、フェレットの感染防御実験、特異的中和抗体の産生、中和試験および補体結合反応の成績から、ジステンパーウイルスと同定された。

終わりに、指導と校閲を賜った川島秀雄所長、信藤謙蔵部長に謝意を表す。また助言を下された武田薬品工業株式会社光工場渡木実博士、およびウイルスを分与された Dr. J. R. GORHAM に感謝する。

本論文の要旨は、第 51 回日本獣医学会に報告した。

文 献

- 1) CABASSO, V. J. and COX, H. R. (1949): *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, **71**, 246~250.
- 2) CABASSO, V. J. (1952): *Vet. Med.*, **47**, 417~423.
- 3) CABASSO, V. J., DOUGLAS, J. M., STEBBINS, M. R. and COX, H. R. (1955): *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, **88**, 199~202.
- 4) CASALS, J. and PALACIOS, R. (1941): *Science*, **93**, 162~163.
- 5) 藤江, 倉田, 沢田, 信藤 (1961): *日獣会誌*, **14**, 196~201.
- 6) GREEN, R. G. (1939): *J. Amer. Vet. Med. Ass.*, **95**, 465~466.
- 7) GREEN, R. G. and SWALE, F. S. (1939): *J. Amer. Vet. Med. Ass.*, **95**, 469~470.
- 8) GUTIERREZ, J. C. and GORHAM, J. R. (1955): *Amer. J. Vet. Res.*, **16**, 325~330.
- 9) HAIG, D. G. (1948): *Onderstepoort J. Vet. Sci.*, **23**, 149~155.
- 10) HARA, T. (1957): *NIBS Bull. Biol. Res.*, **2**, 58~66.
- 11) 市原(鶴), 市原(強), 渡辺, 宮原, 北原(1958): 日本細菌学会九州支部第 11 回総会講演.

- 12) KÄRBER, G. (1931): *Arch. Exp. Pathol. u. Pharmacol.*, **162**, 480~498.
- 13) MORSE, H. G., CHOW, T. L. and BRANDLY, C. A. (1953): *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, **84**, 10~12.
- 14) 本橋, 原, 岸, 田島, 中村(稔), 水野 (1960): 第 49 回日本獣医学会講演.
- 15) 本橋, 岸, 中村(稔) (1961): 第 52 回日本獣医学会講演.
- 16) NAKAMURA, J. and ISHII, S. (1953): *Jap. J. Vet. Sci.*, **15**, 239~250.
- 17) NAKAMURA, J. (1958): CF Reaction in Rinderpest Study, pp. 23~28, Paris, Office International des Épizooties.
- 18) 大森 (1960): 家畜衛生検査法, 上巻, 234~239 頁, 東京, 農業技術協会.
- 19) REED, L. J. and MUENCH, H. (1938): *Amer. J. Hyg.*, **27**, 493~497.
- 20) 佐々木(文) (1951): 第 30 回日本獣医学会講演.
- 21) 渋谷, 金子 (1958): 日獣会誌, **11**, 273~277.
- 22) WEST, J. L. and BRANDLY, C. A. (1955): *Cornell Vet.*, **45**, 560~569.

STUDIES ON ADAPTATION OF AVIANIZED DISTEMPER VIRUS TO SUCKLING MICE

Noboru FUJIE, Kazuaki KURATA, Ichiro KAIZUKA and Minoru SAWADA

National Veterinary Assay Laboratory, Ministry of Agriculture and Forestry, Tokyo

(Received for Publication June 8, 1964)

Many attempts have been made to adapt avianized distemper virus to experimental animals. The present experiments were conducted to adapt the avianized H-15 strain of distemper virus, isolated in Japan, to suckling mice. The following results were obtained.

1) The H-15 strain was transferred successfully to suckling-mouse brains of a 3-day and a 5-day passage line, where typical symptoms appeared at the 6th and 12th transfer, as reported by other workers. A marked decrease in body weight was also observed. The relationship of age to susceptibility and the appearance of symptoms was only evident in suckling mice under approximately 10 days old. A successful transfer was achieved only by the intracerebral route.

2) In virus titration, no difference was observed in virus titer between chick-embryo and suckling-mouse transferred virus. A gradual elevation in titer, however, was noted by consecutive transfer.

3) In the passage of suckling-mouse transferred virus through adult mice, a drop in titer was evident at the 2nd transfer, and no virus was detected at the 3rd transfer and later.

4) A suspension of suckling-mouse brain displayed a protective effect against distemper virus when injected into ferrets intraperitoneally. High titers of neutralizing antibodies were produced in the blood serum of these ferrets.

5) Neutralization tests were performed on suckling mice with suckling-mouse-brain transferred virus. A specific complement-fixation reaction occurred between distemper anti-serum and antigen prepared from the brains of infected suckling mice.

6) From the results of protection test, neutralization test, and complement-fixation test, suckling-mouse adapted virus was identified as distemper virus.