〔原 著〕

家鶏における母鶏より雛への日本脳炎血球凝集抑制抗体の移行に関する研究

(日本脳炎の疫学的研究 一第12報一)*

緒 方 正 名** 長 尾 寛**
北 村 直 次*** 菊 井 立 子***

Summary

We could obtain the chicken by artificial fertilization from the hen (White Leghorn) having hemagglutination-inhibition antibody induced by natural infection of Japanese encephalitis. And the rates of disappearance of maternal antibody in chickens were examined.

The results obtained were as follows.

- 1) Linearity of the semilogarithmic plots of antibody titer in the chicken against the time was proved.
- 2) Hemagglutination-inhibition titer of maternal antibody at the time of hatch as obtained by extrapolation was about 1:600. The value was the same as that of maternal hen.
- 3) A half life of hemagglutination-inhibition antibody in the chicken was proved to be 4 days.
- 4) Hemagglutination-inhibition antibody in the chicken was proved to exist mainly in γ -globulin fraction by starch block electrophoresis.
- 5) From the above results we must take chicken into consideration as an amplifier of Japanese encephalitis virus.

緒 言

母鶏の抗体が卵を経て雛に移行することは S. Pullorum 等¹⁾を始めとして一般に知られている。そして日本脳炎の抗体が母鳥から卵を経て雛鳥に移行することについては、Buescher, Scherer 等²⁾の、ごいさぎ、白さぎにおいて中和抗体が鶏鳥へ移行する現象を調べた研究がある。

然しながら自然感染をした家鶏の母体免疫がどのように、雛鳥に移り、どのような運命を経るかという点についての研究は未だ行なわれていない。私達は前報³⁾において、家鶏に自然感染によって 2-ME 感受性抗体が産出され、2-ME 耐性抗体に移行することを述べた。今回は自然感染によって日脳血球凝集反応抑制抗体価 (HI 抗体価) 1:1280 を有する雌鶏を選び、これに人工授精を行ない、孵化後の雛について日数を追って日本脳炎 HI 抗体の減少度を測定したのでここに発表する。

実験材料並びに実験方法

実験材料：岡山県内の流行地において HI 抗体価が 1:2560 の母鶏を得、人工授精を行ない、4~5 月に孵化した雛について頸静脉及び翼下静脉より採血を行なった。

実験方法：1) 家鶏及び雛血清の日脳 HI 抗体価の測定：すべて国立予防衛生研究所法⁴⁾に従った。抗原は Jagar #01 株を用い、血清はアセトン処理法により血清中の非特異凝集抑制体を除去したものをを用い、血球としては 1 日雛血球を用いた。

2) 血清の 2-ME 処理⁵⁾：血清 0.2 ml を取り、これに等量の 0.2 M の 2-ME 溶液を加え、37°C 1 時間処理した後、上記予研法に従い、アセトン処理を行なった後、日脳 HI 抗体価の測定を行なった。

3) 殿粉ブロック電気泳動⁶⁾：日本脳炎 HI 抗体を保有する雛血清 0.3 ml を、Holt の veronal-酢酸ソーダ-

* Maternal hemagglutination-inhibition antibodies to Japanese encephalitis virus in domestic chickens. (Part XII of "The epidemiological study of Japanese encephalitis in Japan")

** Masana Ogata and Yutaka Nagao, 岡山大学医学部公衆衛生学教室, Department of Public Health, Okayama University Medical School.

*** Naoji Kitamura and Ritsuko Kikui, 岡山県衛生研究所, Institute of Hygiene, Okayama Prefecture.

酢酸緩衝液, $\mu=0.045$ を用いて, 深さ 1.0 cm, 幅 1.5 cm, 長さ 35.0 cm のブロック中で澱粉を支持体として $2\text{mA}/\text{cm}^2$ で冷凍室中 4°C で 27 時間電気泳動を行なった。泳動後, ブロックを電流の方向に直角に 1.0 cm 毎に切断し, 生理的食塩水 1.0 ml を 2 回加えて抽出を行なった。抽出液の一部は Sutherland⁷⁾ の方法に従って蛋白濃度の測定に, 他の一部は日本脳炎 HI 反応に使用した。

実験成績

1) 日脳 HI 抗体価の推移: [図 1] は孵化後の日数における HI 抗体価を示したものである。本図より外挿法で算出すれば HI 抗体価は孵化直後には $1:600$ と推定され, 又それは孵化後 38 日で消失する。そして孵化

後の日数を横軸に, 抗体価の対数を縦軸にとり, 孵化後各日の雛の抗体価を plot すれば, 抗体価の対数値は日数に対し直線関係を示しながら減少する。これは一般の血清蛋白の減衰直線とほぼ等しい。しかしながら本図より測定した雛の HI 抗体の半減期は 4 日であり, gly-N¹⁵ で測定した人血清 γ -glob の半減期 19 日⁸⁾ に比べれば極めて早く, L-methionine S³⁵ で測定した γ -glob の半減期, 3.2 日⁹⁾ に近いと考えられる。なお本図には 4 月 11 日, 4 月 21 日, 5 月 2 日, 6 月 1 日に孵化した雛の HI 抗体価を併せて記入しているが, 母鶏の HI 抗体価は後述の如く, 4 月 20 は $1:640$, 7 月 10 日は $1:640$ であって, その間の母鶏の HI 抗体価の変動は認められていない。

2) 家鶏の母鶏及び雛血清中の HI 抗体に対する

図1. 雛の日本脳炎 HI抗体の消長
雛の孵化日 ● 4月11日, △ 4月21日, ○ 5月2日,
× 6月1日

Fig 1. Rate of disappearance of maternal Japanese encephalitis virus hemagglutination inhibition antibody from the chickens. Chicken hatched on 1st April →●, 21st April→△, 2nd May→○, 1st June →×.

表 1. 2-ME 処理前後の HI 抗体価
Table 1. HI titer in the treatment with 2-ME.

A. HI titer of hen			B. HI titer of chicken	
Date of exam.	HI titer		No change by treatment with 2-ME*	4
	Original serum	With 2-ME treatment	50% decrease by treatment with 2-ME	
28 / XI / 1966	1 : 2560	—	18	
12 / XII / 1966	1 : 1280	1 : 640		
25 / I / 1967	1 : 640	1 : 320	22	
20 / IV / 1967	1 : 640	1 : 320		
10 / VII / 1967	1 : 640	1 : 320		

* antibody titer was 1:320, 1:160, 1:40, 1:20 respectively.

図 2 鶏血清の澱粉ブロック電気泳動における HI 抗体存在，黒線は蛋白量，黒柱は HI 値を示す。

Fig. 2. Distribution of HI antibody of Japanese encephalitis in chicken serum by starch block electrophoresis. Black line indicates protein concentration, and black column, HI titer.

2-ME 処理の影響：〔表 1〕に示す如く原血清の HI 抗体価は 1:2560 以上であったが、その後漸次減少し、12 月 1:1280, 1 月 1:640, 4 月 1:640, 7 月 1:640 を示した。なお 2-ME 処理後の HI 抗体価は約 2 分の 1 に減少した。雛では、2-ME 処理後の抗体価は、2 分の 1 に減少を示すか又はほぼ等しい抗体価を示していた。この点の詳細については現在研究中である。

3) 鶏血清の HI 抗体の局在：〔図 2〕は鶏血清の澱

粉ブロック電気泳動の成績を示す。使用血清は HI 抗体価 1:320 のものであった。HI 抗体の分布は、家鶏血清の澱粉ブロック電気泳動の例⁹⁾に比べてやや巾が広いが主として γ -glob に位置していた。なお血清分画中の γ -glob 量については、孵化後、2 日の雛に比べて 3 週間の雛において、それが抗体と同様にやや減少することについては、Heim 等¹⁰⁾の実験がある。また鶏血清の電気泳動像において、 β -glob と γ -glob の分離が完全でなく、日

令に従って $\beta + \gamma$ -glob 分画の成分比が増加することは田中¹¹⁾ が報告を行なっている。

考 按

既報³⁾の研究によって家鶏が日本脳炎に自然感染をうけて血中に HI 抗体を産生し、それが 2-ME 感受性抗体より 2-ME 耐性抗体に移行することが明らかとなったが、今回更にその抗体が卵を経て雛に移行し、母体免疫として雛が日本脳炎の感染から守られていることが明らかとなった。そして家鶏の雛は日脳感染マウスの脳を接種後に、2～5 日の間 virus 血症を起すこと¹²⁾ が知られているので、家鶏は日本脳炎の増幅動物として無視できないものと考えられる。一方において、母鶏に抗体が保有されている場合、雛自身が日本脳炎の母体免疫を受けることによって自然感染から守られていると考えることが出来る。なお家鶏において、母鶏より Salmonella 抗体が主として卵黄を通して、胚、従って雛に母体免疫抗体として移行する可能性については渡辺等¹⁾ の成績がある。

結 論

私共は日本脳炎の自然感染をうけ、高い抗体価を持っている家鶏の母鶏を人工授精法によって孵化した雛血清中の日本脳炎母体免疫による日本脳炎 HI 抗体価の減少度を調べた。その成績は以下に示す如くである。

1) 雛の生後日数に従って血中 HI 抗体価の対数は直線関係を保ちながら減少する。

2) 母体免疫による日本脳炎 HI 抗体価の半減期は 4 日であった。

3) 雛血清の HI 抗体は主として γ -glob 分画に存在した。

4) 上述の成績は家鶏に日本脳炎 HI 抗体の生成、従って家鶏の日本脳炎の感染を確認させるものである。そして雛に virus 血症を生ずる Buescher 等¹²⁾ の成績と併せ考えて、家鶏は日本脳炎の増幅動物として無視出来ないものと認める。

文 献

- 1) 渡辺正太他：孵化鶏卵の Salmonella 感染に関する研究、特に S. Pullorum と S. Senftenberg に対する感染態度の差異、VII. S. Pullorum 感染鶏から卵への凝集素と免疫的抵抗性の移行、Studies on Salmonella Infection in Hen's Eggs during Incubation with Special Reference to the Mode of Infection with S. Pullorum and S. Senftenberg; Bull. N. I. A. H., **39**, 37 (1960)
- 2) E. L. Buescher, W. F. Scherer, M. Z. Rosenberg, L.

- J. Kutner and H. E. McClure: Immunologic Studies of Japanese encephalitis Virus in Japan, J. Immunol., IV, Maternal antibody in birds, **83** (6), 614 (1959)
- 3) 緒方正名, 長尾寛, 北村直次: 鳥類及び日本脳炎患者の日本脳炎血球凝集抑制反応における 2-Mercaptoethanol 感受性抗体、特にその存在及び局在について、生物物理化学, **12** (3), 187 (1967)
- 4) 国立予防衛生研究所, ウィルス第 4 室編: 日本脳炎ウィルスの血球凝集反応及び血清診断の為の血球凝集抑制反応の新しい方法について、国立予防衛生研究所, 東京 (昭和 37 年)
- 5) 今野二郎他: ブタ及びヒトにおける日本脳炎抗体の季節変動, 医学のあゆみ, **58** (11), 703 (昭和 41 年)
- 6) 緒方正名: 沔紙電気泳動シンポジウム, 第 1 集, 宮本璋, 杉本良一編, 185, 東京, 文光堂, (昭和 33 年)
- 7) E. W. Sutherland et al: Purification of the hyperglycemic-glycogenolytic factor from insulin and from gastric mucosa, J. Biol. Chem., **180**, 825 (1949)
- 8) I. M. London, in Youmans, Symposium on Nutrition, II. Plasma proteins, p. 72, C. C. Thomas Publ. Co, Springfield (1950)
- 9) A. Nikls, W. Maurer: Über die Neubildung einzelner, getrennter Serum-Eiweiß-Fraktion nach oraler Gabe von S³⁵-l-Methionin an Ratten, Biochem. Z. **323** 89-103 (1952)
- 10) W. G. Heim and A. M. Schechtman: Electrophoretic analysis of the serum of the chicken during development, J. Biol. Chem., **209**, 241 (1954)
- 11) 田中享一: ニワトリ血清における電気泳動像と日令との関係, 生物物理化学, **8**, (4), 155 (1962)
- 12) E. L. Buescher, W. F. Scherer, M. Z. Rosenberg and H. E. McClure: Immunologic Studies of Japanese Encephalitis virus in Japan, III, Infection and antibody responses of birds **83**, (6), 605 (1959)