

豚人工免疫による日本脳炎ウイルス保毒蚊の 増幅抑制に関する研究予報

高橋 克巳*・松尾 礼三*・熊 正 昭
馬場 純一・野口 英太郎

長崎県衛生研究所（所長：高橋克巳博士）

田 口 末 春・松 本 熙

長崎県島原種畜場（場長：松本 熙）

合 沢 龍 信・浜 里 徳 雄

長崎県南家畜保健衛生所（所長：堤 清）

(Received for Publication September 14, 1968)

Effects of Immunization of Swine upon the Ecological Cycle of Japanese Encephalitis Virus

I. Preliminary Report

**Katsumi TAKAHASHI, Reizo MATSUO, Masaaki KUMA,
Junichi BABA and Hidetaro NOGUCHI**

Nagasaki Prefectural Institute of Public Health

(Director: Dr. Katsumi TAKAHASHI)

Sueharu TAGUCHI and Hiroshi MATSUMOTO

Shimabara Livestock Breeding Farm

(Chief: Hiroshi MATSUMOTO)

Tatsunobu AIZAWA and Tokuo HAMASATO

South Prefecture Livestock Health Center

(Chief : Kiyoshi TSUTSUMI)

※長崎大学熱帯医学研究所研究員

Abstract

Though it has been demonstrated that swine are major natural source of amplification of mosquito infection with Japanese encephalitis (JE) virus particularly in early summer, there is no radical and practical countermeasure to control the epidemic of Japanese encephalitis. However, it should be worthy to examine that swine vaccination against JE virus before epidemic season might be effective for the control of vector mosquitoes which would be infected with JE virus. Following this conception, after swine vaccination in spring, mosquito infection with JE virus had been investigated in 1966 and 1967 at Karako hamlet located and separated from other villages in the south district of Nagasaki prefecture, comparing with that in neighbouring Aino village.

The results were obtained as follows: 1) In 1966, at Karako hamlet, the swine except over-summered ones had been immunized with inactivated vaccine with high potency at 2 or 3 times during from March to April. At the beginning of May, hemagglutination inhibition antibody had developed at the titer of 1:10 or more in the sera of 70 per cent of total tested. 2) In Karako hamlet, the isolation rate of JE virus from mosquitoes of *Culex tritaeniorhynchus* had remarkably lower than that in Aino village and no peak of the rate could be found throughout the epidemic season in 1966. On the contrary in Aino village, the pattern of virus isolation from mosquitoes in epidemic season had presented the typical hyperbolic curve as described in the previous paper. 3) In 1967, swine vaccination did not carried out in Karako hamlet and Aino village too. In this case, the essential differences of isolation pattern of JE virus from mosquitoes could not be found in both villages. 4) From the results above described, it seemed to be suggested that swine vaccination is to control the vector mosquitoes infected with JE virus. However, the examination should be made at strictly separated places such as island. Furthermore the higher potential vaccine for swine should be applied.

は し め に

我国における日本脳炎ウイルス(以下 JEV と略す) 流行の伝播様式として、近時、カーブターカーヒトのサイクル (Scherer et al., 1959, Buescher & Scherer, 1959, Konno et al., 1966) が推定されるに至っている。このサイクルの中で、豚は JEV の所謂、増幅動物 (amplifier) として重要な役割を果している。従って日本脳炎 (以下日脳と略す) 流行期前に予め豚にワクチン接種による人工免疫を与えておき、その JEV 感染を阻止してウイルス血症の発現が起らない様に措置すれば、媒介蚊の JEV 感染経路が遮断され、JEV 保毒蚊 (以下保毒蚊と略す) 絶対数の抑制が可能ではないかと考えられる。この着想は、既に 1959 年、Buescher & Scherer によって提起さ

れていたが、毎年、日脳の流行規模に大小の差はあっても、恒例的に多数の患者、死亡者を出しながら、有効、且つ、抜本的な予防対策を欠く我国の防疫施策の現状においては、將に検討に値する問題である。既に、増幅動物対策と称されるこの着想は、大谷 (1967)、兵庫県衛生研究所 (1965) によって、1964 年群馬県下、1965 年兵庫県下で、それぞれ野外実験が試みられたが、何れもその有効性については、不明確なまま結論は保留されている現況である。

著者等は、1966 年、長崎県南部地区に、相互に隣接して位置する森山村唐比 (からこ) 部落と、愛野町順手部落を実験地とし、日脳流行期前に前地の飼育豚にはワクチン接種を行い、後地のそれには全くワクチン

接種を行わず、日脳流行期間中、両地区における保毒蚊の出現消長を観察し、更に翌1967年は、両地区の飼育豚には全くワクチン接種を行わない自然的状態下で、各々その保毒蚊の出現消長を観察した。この両地区の両年における綜括的所見を比較検討した結果、増幅動物対策の有効性を示唆すると思われる興味ある所見

が得られ、併せて、この種野外実験の実施に要求される種々の実験条件について検討を行った。その後、本研究は、実験条件を改良し、壱岐島において現在反覆実施中であるが、こゝに、一連の研究の予報として、唐比、愛野地区野外実験の所見について報告する。

実験材料及び方法

1. 実験地の概要

実験地の設定に当っては、次の3条件を考慮した。

- 1) 隣接部落からの媒介蚊の飛来を、可及的に排除し得る様な、地理的、地形的条件を有する孤立した隔離部落である事。
- 2) 豚の飼育頭数が多い事。
- 3) 媒介蚊の発生源となる水田面積が多い事。

以上の条件を比較的、満足せしめる立地環境を備えている場所として、長崎県北高来郡森山村唐比部落が、実験地として選定された。唐比部落は、第1図に見られる様に島原半島の狹首部に位置し、南は橘湾に面しているが、東、北、西の3面は、総て山岳、丘陵で囲繞された盆地状の孤立部落で、隣接部落とは最短距離でも2km以上山林、畑等によって隔離されている。こ

の部落の中央平坦部は、かなり広い水田のみで占められており、部落人家は、山脚部に半円状に散存し、戸数126戸は総て農家で、そのうち54戸は養豚を行っている。豚の飼育状況は、第1表に示す様に、1966年6月10日現在で、全飼育豚数は366頭、同年9月27日現在全飼育豚総は386頭で、常時、約350頭位の豚が飼育されている。これらの豚のうち、繁殖豚は、約50頭で、その出産哺乳豚は100頭程度で仔豚の生産地としての傾向が強い。

1966年9月27日現在におけるこの部落内飼育家畜、及び愛玩動物の種数と数は、第2表に掲げる通りで、その飼育数として圧倒的に多いのは鶏と豚である。他の動物には特異なものは認められない。

Table 1. Population dynamic of swine kept in Karako hamlet in the season of 1966.

Date of survey	Vaccinated swine		Not vaccinated suckling piglet	Total
	Mother swine	Porker		
June 10, 1966.	40	194	102	336
Sept. 27, 1966.	45	256	85	386

Table 2. Animals kept in Karako hamlet on September 27, 1966.

Animals	First over-summered	Second over-summered or more	Total
Mother swine	17	28	45
Porkers	341	0	341
Bovines	22	17	39
Goats	5	5	10
Sheep	3	1	4
Dogs	9	13	22
Cats	31	35	66
Fowls	5, 171	562	5, 741
Pigeons	0	13	13
Rabbits	11	2	13
Pet birds	2	2	4

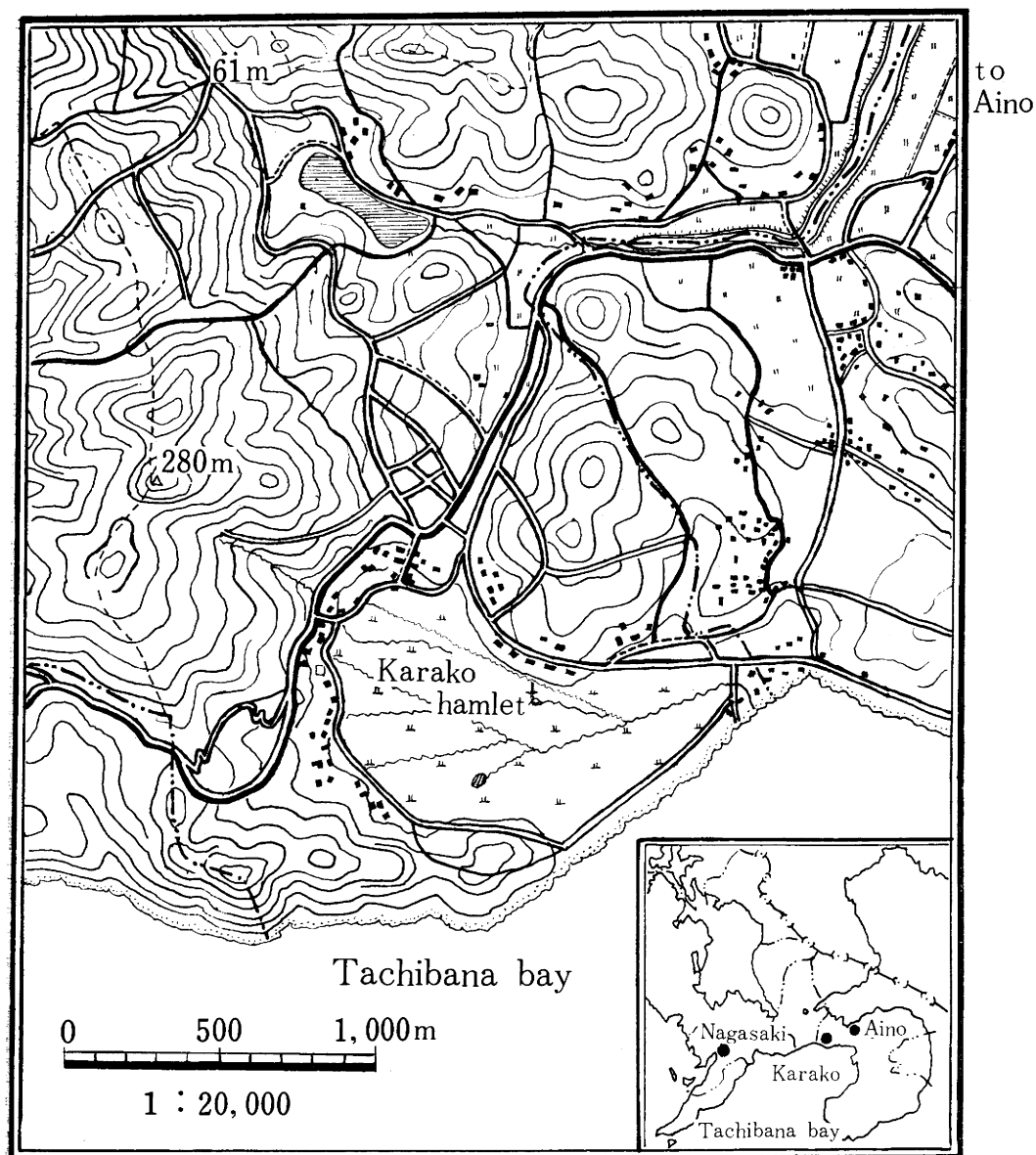


Fig. 1. Map of Karako hamlet.

以上の様な立地環境条件下にある唐比部落に対し、対照実験地として選定されたのは、1964年来、著者等がJ E V の生態学的研究を毎年、継続実施している長崎県南高来郡愛野町順手部落（以下愛野町と略す）である。此の地区は唐比部落の東北、約5 kmにあり、その立地環境条件については既に報告（Takahashi et al., 1965）している通りである。

2. ワクチン接種

豚の人工免疫に使用したワクチンは、熊本化学及血清療法研究所製の日脳動物用高力価不活化ワクチン（市販品）である。被接種対象豚には、唐比部落飼育豚中、後述のワクチン接種前の豚血清中J E V 赤血球凝集抑制（以下H I と略す）抗体調査によって、1965年の夏以前に、既にJ E V の自然感染を受け、総てJ E V.

H I 抗体の保有が確認された月令10カ月以上(1966年3月現在)の所謂、越夏繁殖豚と、当然、その母乳哺乳によって移行抗体を持っていると考えられる哺乳豚を除外した未越夏の離乳豚(生後約50日以上を経過したもの)を選んだ。これらのワクチン被接種対象豚は、その月令によって接種回数を加減した。即ち、離乳直後より、月令3ヶ月迄の幼豚は、第1回接種後1週間の間隔で第2回接種を行い、更にその後2週間経過後、第3回接種を行った。月令4ヶ月以上の中豚と成豚は、1週間間隔で、その前後に2回接種を行った。1回のワクチン接種量は3mlで、幼豚は下肢内側股皮下に、中豚、成豚は耳根部皮下に注射した。1966年3月28日の時点で一斉に第1回接種を行い、第2回接種は4月4日、更に、幼豚は4月18日に第3回接種を実施した。尚、その後、時日の経過と共に逐次離乳する幼若豚や、他の部落から購入された導入豚に対しては、毎週1回、全養豚農家を巡回監視し、当該豚の発見次第、臨時的に随時ワクチン接種を行い8月2日に作業を終えた。これらの作業実施に当っては、各養豚農家毎に飼育豚個体の記録を作製し、ワクチン接種の正確を期した。

3. 豚のJ E V・H I 抗体保有状況の調査法

唐比部落飼育豚のワクチン接種直前におけるJ E V・H I 抗体の保有状況を知る為、1966年3月18日の時点で各種月令豚(最小月令3ヶ月より最大月令72ヶ月)40頭を無作為に抽出して採血した。又、ワクチン接種完了豚の抗体保有状況を知るため、1966年5月6日、月

令2ヶ月より8ヶ月に亘る各月令豚54頭を無作為抽出により採血した。

採血は、一部、直接注射器で採取したほか、多くは耳朶から採血用濾紙(東洋濾紙株式会社製)で血液を吸着する方法で行った。J E V・H I 抗体の測定は、血清材料については、Clarke & Casals (1958)の変法に従いアセトン処理(大谷, 1966)を行い、濾紙に吸着した血液材料については、倉田・信藤法(信藤, 1965)によるカオリン処理を行なった。従って、前者の最小血清稀釈倍数は10倍であるが、後者のそれは20倍である。抗原には、JaGAR-6株のアセトン・エーテル抽出抗原(武田薬品製)を使用した。

4. コガタアカイエカよりのJ E V分離法

唐比部落においては、相互に近接する牛舎、豚舎、計3戸で、愛野町では近接する牛舎3戸で、何れも夜間、畜舎内において、コガタアカイエカ(*Culex tritaeniorhynchus*, 以下 *C. tritaen.* と略す)を吸血管によって採集し、その吸血蚊、及び未吸血蚊を混合し、約100匹、或は、約200匹を以って1プールとした。これらの *C. tritaen.* からのJ E V分離、及びその同定法の詳細は、既に報告(Takahashi et al., 1965)した通りである。*C. tritaen.* の採集期間は、1966年では、4月28日より9月27日迄の間で、略々、週1回の割で定期的に行った。1967年は、5月4日より8月22日迄の間、やはり、週1回の割で実施した。

実 験 成 績

1. ワクチン接種前の豚のJ E V・H I 抗体保有状況

唐比部落飼育豚の1966年3月18日の時点におけるJ E V・H I 抗体保有状況は、第3表に示す通りである。

即ち、採血時点で月令3～8ヶ月の未越夏豚12頭は、総て、H I 抗体価10倍以下、或は、20倍以下で、J E V未感染と考えられる。これに対して、月令10～18ヶ月の一夏越夏豚と考えられる16頭、及び月令24～72ヶ月の二夏以上の越夏豚と考えられる12頭は、すべてH I 抗体価は40倍以上を示しており、これらは1965年夏の流行期、又は、それ以前にJ E Vの自然感染を受けていた事は確実であり、唐比部落においては、その地理的特殊性に関係なく、1965年以前にJ E Vの散布があった事を示すものである。

2. ワクチン接種後の豚のJ E V・H I 抗体保有状況

唐比部落飼育豚に対する一斉ワクチン接種の第2回接種(4月4日)後、約1ヶ月間を経過した5月6日の時点で月令2～8ヶ月のワクチン被接種豚54頭(無作為抽出)の血清中J E V・H I 抗体保有状況は、第4表に見られる様に、54頭中38頭(70%)は、H I 抗体価20倍以上を示しており、残りの16頭(30%)は、H I 抗体価20倍以下であった。この16頭の月令構成は、8頭が月令2ヶ月未満、即ち、離乳直後の仔豚で、更に6頭は月令3ヶ月の幼豚であり、両者を合計すると、H I 抗体価20倍以下のもの16頭中14頭(87%)が、月令3ヶ月未満のもので占められている事になる。この

Table 3. Hemagglutination inhibition (HI) titer against Japanese encephalitis virus in the sera of swine bled on March 18, 1966, before vaccination, in Karako hamlet.

Not over-summered swine (3-8 months old)			Over-summered swine					
Swine No. Month HI titer			(10-18 months old)			(24-72 months old)		
			Swine No.	Month	HI titer	Swine No.	Month	HI titer
1	3	<20*	13	10	80*	29	24	160*
2	3	<20*	14	10	640*	30	24	40
3	5	<10	15	12	>640	31	24	640
4	5	<10	16	12	320*	32	24	640*
5	6	<20*	17	14	160	33	24	640*
6	6	<20*	18	18	640	34	36	40*
7	6	<10	19	18	>640	35	36	>1,280*
8	6	<20*	20	18	320	36	36	640*
9	7	<20*	21	18	>640	37	36	>1,280*
10	7	<20*	22	18	>640	38	36	>640
11	8	<20*	23	18	640*	39	36	>1,280*
12	8	<10	24	18	>1,280*	40	72	>640
			25	18	>1,280*			
			26	18	>1,280*			
			27	18	>1,280*			
			28	18	1,280			

*.....Titrated by Kurata-Nobuto modification of the original techniques described by Clarke & Casals.

事は、HI 抗体価20倍以下の仔豚、乃至、幼若豚が、ワクチン接種時に、離乳後、なお母乳からの移行抗体を持っていた為、ワクチン接種が無効に終わった事を示唆するものであろう。然し、月令4ヶ月以上の豚は、ワクチン接種によると思はれる免疫効果が確実に認められた。即ち、月令3ヶ月未満の幼豚32頭中、HI 抗体価20倍以上保有のものは18頭(56%)に過ぎないが、月令4ヶ月以上の中豚、成豚22頭では、その中、20頭(90%)がHI 抗体価20倍以上を保有していた。月令

Table 4. Hemagglutination inhibition antibody response in swine sera, in Karako hamlet, after one month from the last injection of Japanese encephalitis virus vaccine

HI anti-body titer	Months								Total
	2	3	4	5	6	7	8		
<20	8	6	1		1				16(30%)
20	3	5	8	1		1	1		19
40	1	7		2	1	1			12
80	1	1	1		1				4
160			2		1				3
Total	13	19	12	3	4	2	1		54(100%)

3ヶ月未満の離乳幼豚にみられたHI 抗体は離乳後の経過日数が短い為、母乳からの移行抗体である可能性が強いのに対して、月令4ヶ月以上の中豚、成豚ではその可能性が非常に少い事を考慮すれば、これら両者間のワクチン接種による免疫効果の差は、更に拡大されるであろう。

5月上旬の時点において、唐比部落の全飼育豚について行なったワクチン接種前のHI 抗体保有調査で明らかのように、前年夏以前、既にJEVの自然感染を受けて免疫抗体を保有している越夏繁殖豚約50頭と、その分娩した仔豚で、現にその母乳を哺乳中で、当然母乳移行抗体を保有していると考えられる哺乳豚約100頭、及びこれらを除いたワクチン被接種対象豚約200頭のうち、HI 抗体保有豚と推定されるその70%の約140頭を合計すると、少くとも唐比部落全豚350頭中、約290頭、即ち80%以上はJEV免疫抗体を保有していた状態にあったと考えてよい。

次に、ワクチン被接種豚のHI 抗体価の分布を見ると、38頭中、31頭(81%)は、20倍、乃至40倍に分布しており、その最も高いものでも160倍に過ぎず、明らかに第3表で見られたJEV自然感染経過豚のそれとは、HI 抗体価分布状況を異にしており、一般にその価は低い。

3. *C. tritaen.*よりの JEV 分離成績

1966年4月28日より、同9月27日までの間、週1回の割で、略々、定期的に唐比部落、及び愛野町の畜舎で、夜間、吸虫管によって採集された *C. tritaen.* よりの JEV 分離成績を、第5表、及び第2図に示す。

又、1967年、5月4日より、同8月22日までの間、同様に唐比部落、及び愛野町で採集された *C. tritaen.* よりの JEV 分離成績を、第6表、及び第3図に掲げる。

Table 5. Isolation of Japanese encephalitis virus from the mosquitoes of *Culex tritaeniorhynchus* collected in Aino village and Karako hamlet in 1966.

Date collected	Aino village				Karako hamlet			
	Number of mosq.	Number of pool	Virus positive	Isolation rate %	Number of mosq.	Number of pool	Virus positive	Isolation rate %
Apr. 28	96	1	0	0	84	1	0	0
May 6	23	1	0	0	55	1	0	0
19	294	3	0	0	1,153	12	0	0
26	206	2	0	0	290	3	0	0
Jun. 10	459	5	0	0	1,500	11	0	0
21	3,600	18	2	11.1	4,000	20	1	5.0
Jul. 3	2,000	10	6	60.0	2,000	10	1	10.0
12	2,000	10	2	20.0	2,000	10	1	10.0
19	2,000	10	1	10.0	1,600	8	2	25.0
25	2,400	12	1	8.3	2,400	12	1	8.3
Aug. 2	2,400	12	1	8.3	2,400	12	0	0
9	2,400	12	0	0	2,400	12	0	0
25	2,400	12	0	0	2,400	12	0	0
Sept. 6	1,200	6	0	0	1,210	6	0	0
19	177	1	0	0	2,400	12	0	0
27	857	4	0	0	2,400	12	0	0
Total	22,512	119	13		28,292	154	6	

Table 6. Isolation of Japanese encephalitis virus from the mosquitoes of *Culex tritaeniorhynchus* collected in Aino village and Karako hamlet in 1967.

Date collected	Aino village				Karako hamlet			
	Number of mosq.	Number of pool	Virus positive	Isolation rate %	Number of mosq.	Number of pool	Virus positive	Isolation rate %
May 4	17	1	0	0	57	1	0	0
11	40	1	0	0	310	2	0	0
18	115	1	0	0	464	2	0	0
25	1,082	5	0	0	591	3	0	0
Jun. 6	1,737	8	1	12.5	710	3	0	0
12	2,696	14	3	21.4	913	5	0	0
19	514	3	0	0	964	5	0	0
30	2,000	10	3	30.0	3,200	16	10	62.5
Jul. 7	2,000	10	5	50.0	2,000	10	10	100.0
14	2,000	10	8	80.0	2,000	10	1	10.0
19	1,226	6	0	0	2,000	10	0	0
26	2,600	13	0	0	2,800	13	2	15.4
Aug. 4	1,740	9	0	0	980	5	0	0
10	2,600	13	0	0	2,400	12	0	0
22	2,400	12	0	0	231	1	0	0
Total	22,767	116	20		19,620	98	23	

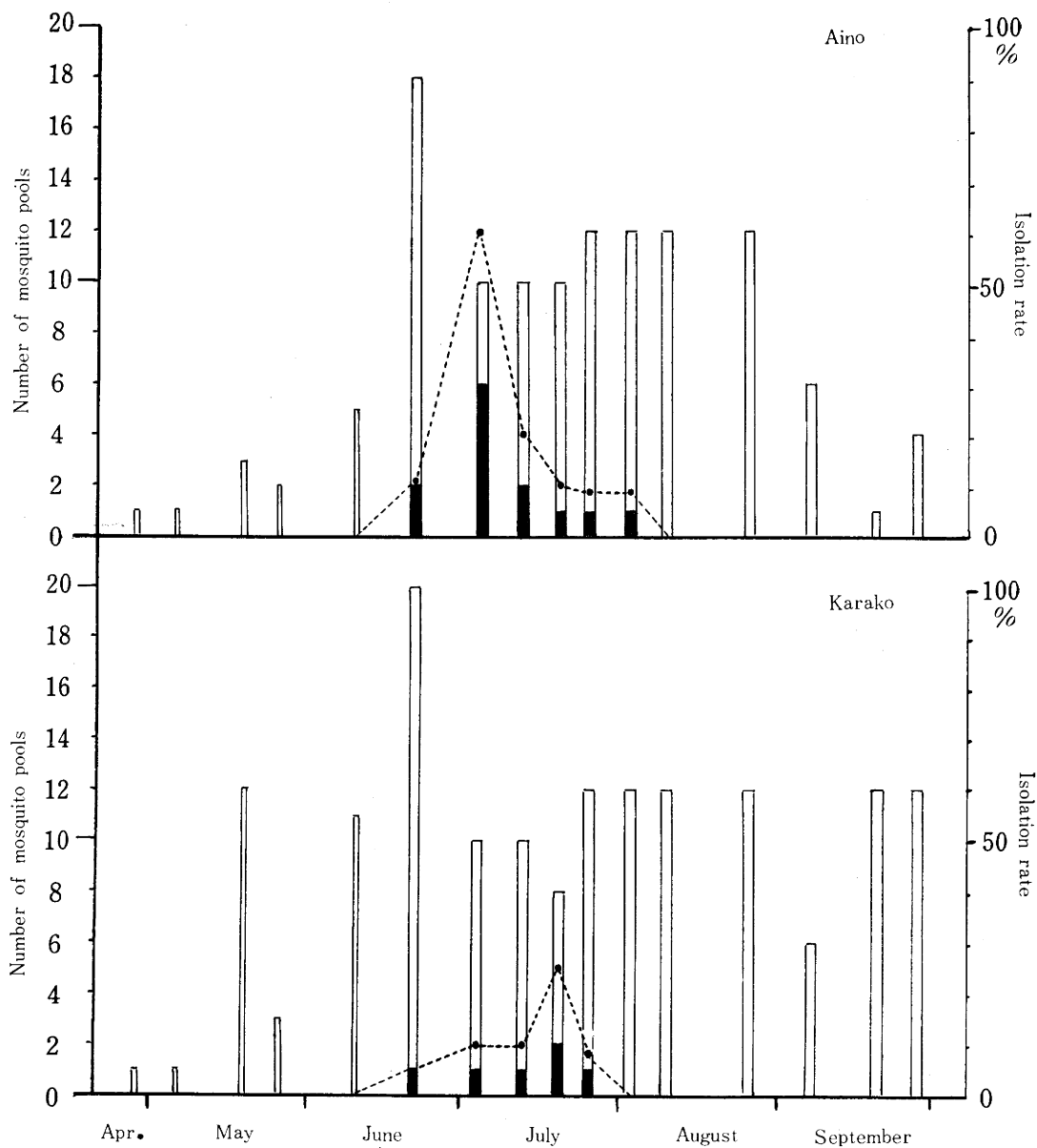




Fig. 2. Isolation of Japanese encephalitis virus from the mosquitoes of *Culex tritaeniorhynchus* collected in Karako hamlet and Aino village, in 1966.

The solid parts of columns show the number of the mosquito pools yielded Japanese encephalitis virus. The dotted lines show the isolation rate of the virus.

 Pools containing approximately 100 mosquitoes.
 Pools containing approximately 200 mosquitoes.

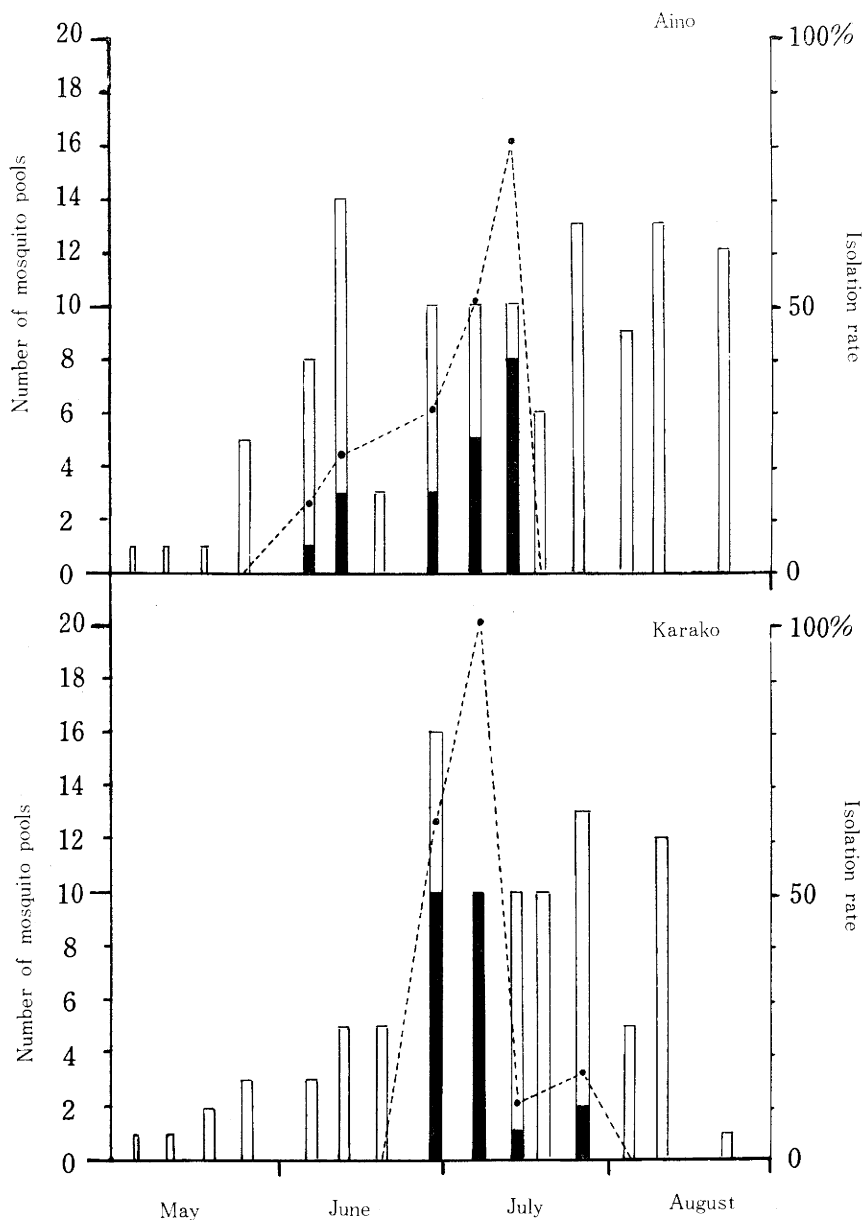


Fig. 3. Isolation of Japanese encephalitis virus from the mosquitoes of *Culex tritaeniorhynchus* collected in Karako hamlet and Aino village, in 1967.

The solid parts of columns show the number of the mosquito pools yielded Japanese encephalitis virus. The dotted lines show the isolation rate of the virus.

..... Pools containing approximately 100 mosquitoes.
 Pools containing approximately 200 mosquitoes.

まず、1966年の所見であるが、*C. tritaen.* から最初にJ E Vが分離されたのは、唐比、愛野両地区とも、6月21日で、全く同時期であった。然し、その最終分離は、唐比部落が7月25日であったのに対し、愛野町は、それより約1週間遅れた8月2日であった。この間の両地区の*C. tritaen.* からのJ E V分離率の経時的推移を見ると、愛野町ではその初回分離後急速に分離率は上昇を示し、7月3日の10プール中6プール陽性、即ちJ E V分離率60%をピークとし、それ以後、分離率は徐々に下降線を描き、双曲線状の分離率変化を呈している。

然し、唐比部落では、分離率は終始低率に推移し、その最大分離率は7月19日の8プール中2プールJ E V陽性の25%に過ぎず、他は総て分離率10%以下であった。従って、唐比部落のJ E V分離率は、愛野町のそれの様な定型的な双曲線を示さず、ピークも極めて不明瞭な状況にある。

又、両地区におけるJ E V保毒蚊出現直前の6月10日より、その消失直後の8月9日までの間、唐比部落でJ E V分離に供された*C. tritaen.* 数は、計18,300匹、95プール、愛野町のそれは、計17,259匹、89プールで、両者は略々等しい。然し、唐比部落のJ E V分離株数は6株、平均分離率、6.3%に対し、愛野町は、分離株数13株、平均分離率、14.6%で、何れも唐比部落の2倍以上を示していた。

1967年の所見では、両地区の採集蚊からJ E Vが最初に分離されたのは、愛野町の6月6日で、唐比部落の初回J E V分離日、6月30日に比べ、約3週間以上先行していた。然し、この3週間の間、唐比部落では、

C. tritaen. の発生消長が愛野町に比べると非常に低調で、その*C. tritaen.* 採集数は、愛野町の1,000匹～2,000匹台に対し、約半数以下の500匹～1,000匹未満で推移しており、この初回J E V分離期日の遅延が、このサンプル数の過少に起因する見かけのものか、或は、J E V保毒蚊出現の本質的な遅れかは不明である。両地区のJ E V最終分離月日を見ると、愛野町が7月14日であるのに対し、唐比部落のそれが、7月26日で、やはり2週間遅延している。この間の両地区採集蚊からのJ E V分離率の経時変化を見ると、愛野町では、初回の分離率、8プール中1プールJ E V陽性の12.5%より、分離率は徐々に上昇し、7月14日の10プール中、8プールJ E V陽性の80%をピークとして、その次の7月19日採集蚊以後は全くJ E Vは分離されなかった。唐比部落では、その初回分離率は、16プール中10プールJ E V陽性の62.5%を示し、当初より極めて高い分離率が見られ、更に、次の7月7日には、10プール中10プールJ E V陽性、即ち、分離率100%となったが、これをピークとして、以後、分離率は急激に下降し、概ね、10%台で推移した。

この両地区において、各々、その保毒蚊出現期間に前後1週間を加えた期間内に、愛野町では、J E V分離に供された*C. tritaen.* は、計13,255匹、66プールで、J E V分離株数は20株、その平均分離率は30%であり、唐比部落では、*C. tritaen.* 計13,944匹、69プールから、J E V23株が分離され、その平均分離率は33%で、両地区間のJ E V分離状況は、殆んど一致していた。

考

日脳流行期前、即ち、J E V媒介蚊の汚染、保毒蚊の増幅が開始される直前迄に、一定地区の飼育豚にワクチン接種による人工免疫を賦与し、豚のJ E V感染による保毒蚊の増幅を抑制しその地区における保毒蚊の出現消長を制禦しようとするこの種の野外実験は、豚の自然界における増幅動物としての役割を、決定的に知る一方、それは直に日脳流行の予防対策上、抜本的、且つ、効果的な方法論の確立へつながら重要な意義をもっているものと考えらる。

然しながら、現在迄実施されて来たこの種の増幅動物対策としての野外実験の成績は、予期に反して極めて悲観的な成績に終わっている。即ち、大谷(1967)の

察

報告によれば、ワクチン接種地区と、対照ワクチン非接種地区における*C. tritaen.* からのJ E V分離状況には、何等、基本的な差異は認められず、保毒蚊の増幅抑制を示唆する所見は得られていない。又、兵庫県衛生研究所(1966)の報告では、その効果判定の技術にも問題があり、全く不明確な状況のまま終わっている。大谷は、その野外実験成績を検討し、次の3点を問題点として指摘している。即ち、(1) 豚の免疫に使用したワクチンの性能不足。(2) 隣接地区よりの媒介蚊飛来の可能性。(3) ワクチン被接種動物以外の増幅動物存在の可能性。

これらの問題点は、この種の野外実験を実施するに

当り、基本的な実験条件として最も重視されねばならないし、又、その実験成績の解析、吟味、検討に不可避な問題を提起している。従って、著者等の今回の野外実験の計画において、この3点は特に配慮された所以である。

先ず、使用ワクチンの問題であるが、1966年の時点で、入手使用し得るワクチンは、市販の日脳高力価不活化ワクチン（動物用）に限定された。更に、その使用量は、コストの点で制約され、1回3mlの接種量の2～3回接種とした。然し、被接種豚の抗体産生状況はかなり良好で、離乳未越夏（月令、2～8ヶ月）豚の、2回接種後1ヶ月経過した5月上旬の時点では、その約70%はHI抗体を保有していたと推定される。従って、このワクチンは、接種量、接種回数さえ適当であれば、その免疫性能自体は、比較的に期待され得るものと思われる。この事は、佐沢等（1968）によって行はれた「日本脳炎ワクチンによる野外豚の流死産予防試験」において、普通ワクチン、1回10ml、3回接種のHI抗体陽転率62.1%、高力価ワクチン、1回10ml、3回接種のHI抗体陽転率83.7%にも見られる通りである。

然し、増幅動物対策を目的とした野外実験において、現行の不活化ワクチンを使用するに当って大きな障碍となるのは、そのコストの問題もさる事ながら、2～3回の接種を必要とし、更に、その間約1ヶ月半の日時を要する事にある。晩春から初夏にかけてワクチン接種を実施するこの時期には、春仔と称される母乳移行抗体を保有する幼若豚が次きつきに発生する為、このような幼若豚にワクチンを接種しても残存移行抗体によって、その効果は無効に終ることが明らかであるが、ワクチン接種開始より終了迄の1ヶ月半の間には、これらの幼若豚は逐次移行抗体を消失し、JEV感受性となることが当然予想される。又この間、ワクチン非接種地区からも随時、未接種導入豚の流入もあり、実験管理を困難にならしめる。従って、ワクチン接種後抗体陽転迄の期間を極く短時に圧縮し得る様なワクチン、即ち、理想的には唯1回のワクチン接種によって短期間内に確実に抗体陽転が可能な新ワクチンの開発が期待される。この様なワクチンであれば、その接種時期をJEV撒布開始時期の直前迄遅らせる事が可能であり、その時点までに、残存移行抗体の消失によってJEV感受性豚となったものや、他地区からの導入豚も含めて、一挙に人工免疫豚とする事が出来るであろう。従って、JEV撒布開始時期にはこれらの人工免

疫豚と、ワクチン接種無効の移行抗体保有豚、及びJEV自然感染経過の抗体保有越冬豚が全飼育豚の大部分を占める事になり、その時点におけるJEV感受性豚の数を最小限数に留める事が可能である。

次に、ワクチン接種地区への隣接地区からの媒介蚊の飛来の問題であるが、唐比部落は、地理的、地形的に隣接部落からは、比較的に孤立し隔離された立地環境にあり、大谷（1967）の野外実験地、群馬県板倉町（広大な北関東平野水田地帯に位置する）の地形に比べると、その立地条件は格段に優れていると考えられる。然し、最近、*C. tritaen.*の飛翔分散に関するその生態学的知見が明らかにされつつあり、特に唐比部落と、略々、同様な地形的条件下にある長崎市東長崎地区で行はれた和田等（1967）の*C. tritaen.*の飛翔分散実験によれば、*C. tritaen.*の分散能力は予想外に大きく、山岳、丘陵、海等の地理的障碍は、その飛翔を決定的には阻止しない事が示されている。又、1日の最大飛翔距離は5.1kmで7日間の最大は8.4km、平均1kmで、少くとも1kmは通常の行動範囲内に入るものと推定されている。唐比部落は、その周辺で豚の存在する部落からは、最短距離で約2km隔っている。従って、唐比部落の隣接地区から唐比部落へ*C. tritaen.*が飛来する可能性は全くないと云う事は出来ないが、*C. tritaen.*の飛翔分散が、中心より周辺へ向って同心円的に稀薄化する傾向がある事を考慮すると、隣接地区の保毒蚊の出現消長が、唐比部落固有の保毒蚊消長に及ぼす影響は、比較的に限定されたものになるであろうと考えられる。

唐比部落内の飼育家畜、愛玩動物は、かなり多種、多数であるが、このうち、豚を除けば、JEV増幅動物となり得るものは少い。各種哺乳動物、及び鳥類のJEVに対する感受性については、中村（1967）の綜説に詳しいが、少くともウイルス血症発現の問題に限定すると、唐比部落飼育動物では、鶏の存在がその飼育数の多い事で注目される。然し、敢て鶏については全くワクチン接種を行はず、豚のみに限って選択的にワクチン接種を行った所以は、既に高橋等（1966）、佐沢等（1966）によって報告されている様に、JEV流行期における鶏のHI抗体保有率は極めて低く、一部地区によって数%程度を示すもの以外は、殆んど0%であり、その感染率は非常に少いと考えられる事と、*C. tritaen.*の吸血対象として、鶏は牛、豚等の大型哺乳動物に比べ、その吸血嗜好性が著しく劣る為、實際的に増幅動物としての比重が無視され得ると思われ

るからである。又、牛については、*C. tritaen.* の極めて高い吸血嗜好性の点で注目されるが、既に、清水等（1951）の報告、及び最近著者等（未発表、1968）によって行われた牛の JEV 感染実験によって明にされた様に、牛は豚に比べ、その JEV に対する感受性は極めて劣り、感染してもウイルス血症を起さないと考えられるので、その存在は無視出来る。

飼育家畜、愛玩動物以外の野獣、野鳥の存在については、不明であるが、唐比部落周辺には深山幽谷はないので、その数量は少ないものであろう。

以上吟味した様な実験条件下で実施された今回の増幅動物対策に関する野外実験の成績を検討すると、1966年、ワクチン接種地区唐比部落で採集された *C. tritaen.* よりの JEV 分離所見が、同年のワクチン非接種対照地区愛野町のそれに比べ特異である事が注目される。又、この所見を、1967年の対照年の愛野町、唐比部落のそれに比較しても、やはり特異的である。即ち、1966年の唐比部落の *C. tritaen.* よりの JEV 分離状況は、終始、その JEV 分離率は低率に推移しており、その間、同年の愛野町、及び1967年の両地区のそれに見られた様な、明瞭な分離率のピークを認め難い。従来、我国各地で行はれている流行期間中の *C. tritaen.* よりの JEV 分離パターンは、毎年、基本的には恒常性があり、その分離率は必ず明確な双曲線を示している。

著者等も、1964年来現在迄5ケ年間、愛野町で実施して来たその *C. tritaen.* よりの JEV 分離パターンは全く例外なく双曲線を描いており、各年のパターンは共通して同一で、基本的には何等の差異も認められない。（Takahashi et al., 1965, 高橋等., 1966）この様に、*C. tritaen.* よりの JEV 分離パターンが常に基本的には同一の恒常性を示す理由としては、次の様な機序が推定される。即ち、*C. tritaen.* と JEV 増幅動物との間に、一度、JEV の循環が開始されると、両者の JEV 感染率は幾何級数的に増加促進され、比較的短時日内に *C. tritaen.* は多数保毒状態になり、同時に増幅動物の感染率も 100% に達し、それに追尾して増幅動物の抗体保有率も当然 100% になる。その後は、*C. tritaen.* に対する JEV 感染源の消滅によって、新に保毒蚊となるものではなく、既存の保毒蚊は、漸次、死滅減少を来し、同時に、新生未感染 *C. tritaen.* によって稀釈される為、相対数として急激な減少の一途を辿る。この間の各時点において、保毒 *C. tritaen.* の絶対数の増減に、その全 *C. tritaen.* に対して占める比率の

増減が相加され、両者の population dynamic が *C. tritaen.* よりの JEV 分離率をして、現象的には双曲線を描かしめる。

この様な観点から、1966年の唐比部落で観察された JEV 分離の特異なパターンを解析すると、同年の唐比、愛野両地区の保毒蚊出現期の前後を通じて、各々の供試蚊数は18,300匹：17,259匹、その供試プール数は95プール：89プールで、両者の比共に1.1：1で略々等しいが、この期間中に見られた最高分離率は25%：60%、分離効率 $\left(\frac{\text{陽性プール数}}{\text{供試蚊数}} \times 10,000\right)$ は32：75で、両者の比は共に0.4：1となり、唐比部落の *C. tritaen.* の JEV 感染率は、愛野町のその約40%と推定される。然るに1967年の唐比、愛野両地区の所見について、全く同様な解析を行なってみると、供試蚊数では13,944匹：13,255匹、供試プール数69プール：66プール、最高分離率100%：80%、分離効率49：50で、各比は、何れも略々1：1になっていて、両地区の *C. tritaen.* の感染率には、大きな差異はなかったと考えられる。従って、1966年の唐比部落が示した *C. tritaen.* よりの JEV 分離所見の特異性は、同年流行期前に、その部落内飼育豚に接種されたワクチン効果によって JEV 撤布期における同部落内の JEV 感受性豚数が、自然状態のそれより減少された状態にあり、*C. tritaen.* の感染率が抑制された為と考えざるを得ない。この事は、既述の様な今回の実験条件の吟味、即ち、唐比部落の家畜、愛玩動物の構成、ワクチン接種効果、地理的、地形的立地条件等を総合的に考慮する時、従来のこの種野外実験成績に比べて、より前進した段階に立って考察され得るであろう。

然しながら、卒直に云って、その抑制効果は、当初期待された理論的予想に比べると、明らかに、かなり低い結果に留った事是否定出来ない。その原因は、今回の実験条件に尚、不備、不完全なものがあり、改善、改良を要するものがある事を示唆していると思われる。危惧された唐比部落の地理的条件は、媒介蚊の外部から飛来については、可成り安全である事が、1967年の保毒蚊の出現消長を、愛野町のそれと比較することによって証明される。即ち、両地区の *C. tritaen.* の発生消長は、6月中旬迄の *C. tritaen.* 採集数に見られる様に、明らかに愛野町の方が先行して多く、且、唐比部落より早期に JEV が分離されているし、又、7月中旬、既に愛野町では、保毒蚊が証明されなかったにも拘らず、その後2週間以上、唐比部落では、依然保毒蚊が

証明されている。この様な現象は、近接して隣接する両地区の間に、*C. tritaen.* の分散飛翔による交流が顕著ではなかった事を示唆するものであろう。然し、実験地外からの *C. tritaen.* 飛来を完全に否定し得る立地条件は、この種野外実験では基本的に要求される実験条件であり、今後は、この点を考えると、本土を遠く距った離島が実験地としては最適であろう。又現行不活化ワクチンは今回の実験結果からみて、その性能の点で必ずしも期待出来なかったように、この種の実験には適当でないことを指摘したい。特にワクチン接種完了時期と、保毒蚊出現開始時期の時間的ずれが、4月4日より6月21日迄の間、約2ヶ月半もあり、この間に、移行抗体を保有する幼若豚がその抗体を失うと共に JEV 感受性豚へ転化して、媒介蚊の JEV 感染源となり、保毒蚊の増幅を行うのを阻止する事が出来ず、JEV 散布開始期には、ワクチンを接種しない状態におけるよりは遙かに少いにしても、相当数の JEV 感受性豚の存在を許さざるを得なかったと思われる。

す び

1966年、3月より9月迄の間、比較的、地理的、地形的に孤立隔離された立地環境下にある、長崎県北高来郡森山村唐比部落を実験地として、3～4月の候に、その飼育未越冬豚に動物用高力価日脳不活化ワクチンを、1回3ml、2～3回接種し、その後、同部落内畜舎で夜間採集した *C. tritaen.* よりの JEV 分離状況を、ワクチン非接種対象地としての、隣接、南高来郡愛野町順手部落のそれと比較した。更に、1967年、両部落の飼育豚に全くワクチン接種を行わず、自然状態で前年と同様に、*C. tritaen.* よりの JEV 分離状況を観察し、この両年の成績を総括して次のような所見を得た。

- 1) 1966年5月上旬、唐比部落飼育豚中、月令2～8ヶ月の豚の、ワクチン接種1ヶ月経過後のHI抗体保有率は、約70%であり、ワクチンの接種効果が見られた。
- 2) 1966年、唐比、愛野両地区における、*C. tritaen.* よりの JEV 分離状況は、愛野町では、例年恒常的に観察されるのと全く同様に、その JEV 分離率は双曲線状の典型的パターンが見られたのに対し、唐

比部落は、終始、JEV 分離率は低く推移し、その間、顕著なピークを認め難い、かなり特異なパターンが見られ、その JEV 分離効率は、愛野町の約40%に留った。1967年では、両地区とも、基本的には全く差異のない定型的な JEV 分離パターンが見られ、両地区の JEV 分離効率は同一であった。

以上、今回の増幅動物対策に関する野外実験成績について、吟味、検討を行ったが、その実験条件は、従来のこの種実験のそれに比べ、明らかに前進した条件下で行はれており、その実験成績も、従来の悲観の様相に対して、少くとも豚の人工免疫によって、JEV 保毒蚊の増幅が抑制され得ると思われる可能性が肯定、示唆されているものと考えられる。

本研究は、その後引き続き、より好適な自然的、人為的実験条件下において実施中であり、その間、方法論、技術の改善、改良を行い反覆してデーターの集積を行えば、必ずや、明確な結論へと導かれるものと信ずる。

比部落は、終始、JEV 分離率は低く推移し、その間、顕著なピークを認め難い、かなり特異なパターンが見られ、その JEV 分離効率は、愛野町の約40%に留った。1967年では、両地区とも、基本的には全く差異のない定型的な JEV 分離パターンが見られ、両地区の JEV 分離効率は同一であった。

3) これらの所見は、日脳流行期前に、予め豚を人工免疫する事によって、JEV 保毒蚊の増幅を抑制せんとする増幅動物対策の可能性を示唆するものがあると思われる。

4) この種の増幅動物対策に関する野外実験の必要な実験条件、問題点について検討した。

摺筆に当り、この研究実施に当り、懇篤、且つ、貴重な御助言と御教示を賜った長崎大学熱帯医学研究所長、福見秀雄博士、及び、国立予防衛生研究所、大谷明博士、並びに、終始、御力添えと御鞭達を賜った長崎県衛生部長、福田千代太博士、長崎県衛生部前環境衛生課長、浜江有明博士に深甚の謝意を表する。

文

1) Buescher, E. L. & Scherer, W. F. : Ecologic studies of Japanese encephalitis virus in Japan.

献

IX. Epidemiologic correlations and conclusions. Am. J. Trop. Med. & Hyg., 8(6); 719-722, 1959.

- 2) **Clarke, D. H. & Casals, J.** : Techniques for hemagglutination and hemagglutination inhibition with Arthropod-borne viruses. *Am. J. Trop. Med. & Hyg.*, **7**(5) : 561-573, 1958.
- 3) 兵庫県衛生研究所：昭和40年度兵庫県日本脳炎疫学調査中間報告書，昭和40年12月1日
- 4) **Konno, J., Endo, K., Agatsuma, H. & Ishida, N.** : Cyclic outbreaks of Japanese encephalitis among pigs and human. *Am. J. Epid.*, **84**(2) : 292-300, 1966.
- 5) 中村稔治：動物の日本脳炎。神経研究の進歩，**11**(2) : 223-233, 1967.
- 6) 信藤謙蔵：濾紙吸着乾燥血液（濾紙法）の応用について，I. 濾紙法の使い方と日本脳炎H Iテストへの応用。モダンメディア，**11**(9) : 363-374, 1965.
- 7) 大谷 明：日本脳炎。微生物検査必携。財団法人日本公衆衛生協会，458-465，東京，1966.
- 8) **Oya, A.** : The role of mammals as primary and supplementary hosts. *Jap. J. Med. Sci. & Biol.*, **22** (Supplement): 26-30, 1967.
- 9) 佐沢弘士，杉森正，渡辺守松，信藤謙蔵，河内清，山口盛久，佐藤久蔵，添川正夫，吉岡勇雄，中村稔治，川窪淳，佐々木文存，児玉和夫，市原鶴雄，渡辺幸雄：日本脳炎ワクチンによる野外ブタ流死産予防試験。第65回日本獣医学会講演抄録集，1968.
- 10) 佐沢弘士，三浦康男，杉森正，守本富昭，渡辺守松：ニワトリの日本脳炎ウイルス感染について。ウイルス，**16** (6) : 288, 1966.
- 11) **Scherer, W. F., Moyer, J. T., Izumi, T., Gresser, I. & McCown, J.** : Ecologic studies of Japanese encephalitis virus in Japan. VI. Swine infection. *Am. J. Trop. Med. & Hyg.*, **8**(6) : 698-706, 1959.
- 12) 清水武彦，須川章夫，望月圭二，原田熊幸，岡崎和夫，松本稔：牛の日本脳炎の研究。2. 日本脳炎ウイルスによる牛の実験的感染試験。家畜衛生試験場研究報告，**23** : 119-128, 1951.
- 13) **Takahashi, K., Matsuo, R., Kuma, M. & Noguchi, H.** : Studies on mosquito infection with Japanese encephalitis virus in 1964 in Nagasaki prefecture. *Endem. Dis. Bull. Nagasaki.*, **7**(3) : 165-177, 1965.
- 14) 高橋克巳，松尾礼三，熊正昭，野口英太郎，東房之：1965年，長崎県における日本脳炎流行の疫学的研究。I. コガタアカイエカよりの日本脳炎ウイルス分離状況。長崎大学風土病紀要，**8** (1) : 1-7, 1966.
- 15) 高橋克巳，松尾礼三，熊正昭，野口英太郎，馬場純一：鶏の日本脳炎ウイルス感染調査。日本細菌学雑誌，**22** (4) : 281, 1967.
- 16) 高橋克巳，松尾礼三，熊正昭，野口英太郎，馬場純一：牛の日本脳炎ウイルス感染実験，未公開資料。
- 17) 和田義人，高橋克巳，伊藤達也，大森南三郎：コガタアカイエカの分散実験，日本熱帯医学雑誌，**9** (1) : 37, 1968.