

氏名(本籍)	いたがくにあき 板垣国昭 (山口)
学位の種類	獣医学博士
学位記番号	乙第207号
学位授与の要件	学位規則第3条第2項該当
学位論文題名	日本脳炎の疫学的研究
論文審査委員	(主査) 教授 斎藤保二 (副査) 教授 清水武彦 教授 田淵清

論文内容の要旨

I 緒論

日本脳炎ウイルス(以下:JEV)が、コガタアカイエカ(以下:蚊)によって媒介伝播されることは、三田村(1933)により報告され、JEV分離では、林(1934)、笠原ら(1936)の報告が最初のものである。以来、arthropod-borne virusの日本における代表的ウイルスとなった。

JEVの宿主は、哺乳類、鳥類および変温動物等極めて広く、高い感受性を示すブタと蚊の間にpig-mosquito cycleが提唱されているが、その他の宿主動物と蚊およびJEV間の相互の生態については、未解明の点が多い。

近年、ヒトの患者は激減と地方病的傾向がみられるが、1978年以降患者は再び増加する様相を呈している。著者は、現今の自然界におけるJEVのecologyの一端を把握する目的で、病原体(JEV)、媒介者(蚊)および宿主(感受性動物)の生態について、獣医学的領域における調査を行い、過去の流行当時の成績と比較検討した。

II 材料および方法

1) 実験動物によるJEV感染実験

人工培地に増進しないウイルスでは、感受性動物を用いた実験病理は不可欠である。あらゆる疾病において健康群の生態と疾病群の病態生理が、感染の本質を知る意味で最も重要であると考え、イヌ、ウサギ、1週令マウス、7週令マウスを用いた感染実験を行い、体重変動、臨床症状、血液像、組織像および赤血球凝集抑制抗体(以下:HI抗体)の変動について、1981年7月5日から同17日の13日間観察を行った。

2) 家畜と野生鳥獣の日本脳炎HI抗体の保有状況調査

自然界において、いかなる動物がJEVのamplifier 或いはreservoirとして、どのような役割を果しているか究明すべき点も多い。

著者は、1980年と1981年の7月から9月の期間、山口県内のと畜場のブタ(438個体)、同一畜舎内に飼育した動物(ウシ、ブタ、イヌ、ウサギ、ニワトリ、ハトおよびマウス)、两年間に狩猟等で捕獲された野生鳥獣(カラス、ハト、スズメ、カモ、キジ、ヤマドリ、ゴイサギ、ヒヨドリ、イノシシ、タヌキ、ノウサギ、イタチ、クマネズミ、ヘビなど288個体)、1981年の6月から同9月の間に保健所に集められた生後7ヶ月未満の幼犬(178個体)および生後2週間以内の哺乳犬(32個体)、1982年7月には出生直

後の初乳授乳前後の子イヌ（5個体）、1981年6月から1982年7月の期間に保健所に集められたネコ（33個体）および1982年7月には自然動物園のアメリカクロクマ（7個体）のHI抗体を測定し、JEVの侵淫度について解析を行い、新鮮感染度を把握するため2ME感受性抗体も併せて測定した。

3) コガタアカイエカの消長と周辺動物の感染状況の調査

JEVの伝播に蚊の存在は欠くことはできない。蚊の生態は気象や環境に大きく影響され、これらを考慮した調査が必要である。

著者は、1980年と1981年の7月から同9月の期間に、前述した畜舎内および1981年は犬舎内で捕集した吸血蚊（畜舎1760個体、犬舎160個体）の吸血源動物を知る目的で、動物血球に対する家兔免疫抗血清を作成し、蚊の吸血液を抗原として沈降素法による血清学的検索を行った。なお、山口県における日本脳炎に関する調査地域の概要等について末尾のFig. 1に示した。

III 実験結果および調査成績

1) 実験動物による JEV 感染実験の結果

供試動物のうち、体重の病的変動、臨床症状の発現、血液の病的変化は、マウスの接種群にみられ、1週令マウス接種群では、体重減少、運動異常、痙攣、麻痺、授乳不能、リンパ球と好中球の増多が3日目よりみられ、5日目にリンパ球、好中球の減少を呈して全て死亡した。7週令マウスでは、死亡個体はみられなかったが、立毛、旋回運動が一部に観察され、白血球の軽い増減がみられた。

病理組織学的変化は、全ての種類の供試動物の脳に主座し、小円形細胞浸潤、グリア細胞増殖、皮質の浮腫、血管周囲細胞浸潤、神経細胞変性像を呈し、これらはマウスで著明で、イヌ、ウサギで散見された。

HI抗体の変動は、5日に死亡した1週令マウス以外は有意の上昇を示し、抗体価はイヌの320倍が最高値であった。

2) 家畜と野生鳥獣の日本脳炎HI抗体の調査成績

1980年と1981年のと畜場のブタは、JEVに対する高い感受性を示し、2ME感受性抗体の上昇は前年が7月下旬、後年は8月下旬で1カ月の差がみられた。畜舎内供試動物はイヌ、ブタが両年とも抗体の早期上昇を示し、他の供試動物より抗体価も高く、と畜場のブタ同様両年の抗体上昇時期は、前年が早く約1カ月の差がみられた。1981年の保健所に集められたイヌの成績は、7月下旬より2ME感受性抗体が出現し、同年のと畜場のブタより早期に抗体上昇がみられ、保有率はブタ同様高率であった。また、生後2週間以内の子イヌの抗体価はいずれも10倍以下であり、親の抗体価が80倍の子イヌの初乳授乳前（出産直後）、授乳10日後の抗体価はいずれも10倍以下であった。ネコの抗体保有率は9.1%と低く、保有抗体価は10倍～20倍であった。野生鳥獣のHI抗体の保有状況は、イノシシ、ゴイサギ、ヤマドリ、キジおよびカモが高い保有率を示し、カラス、ハト、スズメ、ヘビ、クマネズミなどに保有率が低い傾向がみられ、保有抗体価は鳥類ではゴイサギの160倍、哺乳類ではイノシシの640倍が最高値であった。また、自然動物園のアメリカクロクマ7個体はいずれも抗体を保有しており、その抗体価は20～40倍で低い値を示した。野生鳥獣のうち、JEV活動期に捕獲されたスズメ（1個体）、ゴイサギ（1個体）、イノシシ（2個体）は2ME感受性抗体を保有し新鮮感染を示した。

3) コガタアカイエカの消長と周辺動物の感染状況の調査成績

1980年と1981年の野外捕集蚊数は前年に多く、捕集蚊数と気象の関係は、気温、降雨量以外はあまり有

意でなかった。兩年の畜舎内捕集蚊数は前年に多く、捕集蚊数のピークは前年が早く現われ、吸血率も約10%高値を示した。1981年の犬舎内捕集蚊数は気温によく相関し、吸血率は各月とも50%前後で一定していた。畜舎内捕集蚊からのJEV初分離は、1980年は7月10日、1981年は8月16日で約1カ月の差がみられ、兩年の畜舎内供試動物の抗体上昇時期によるJEV出現推定日と、蚊からのJEV分離成績はよく一致した。つぎに、1980年の畜舎内と1981年の犬舎内で捕集した吸血蚊の吸血源の調査成績は、畜舎ではウシを吸血したものが約70%、ブタを吸血したものが約30%で、ほとんどがウシとブタで、犬舎内では96.9%がイヌを吸血していた。

IV 考 察

JEV感染実験では、マウスのみ臨床症状が発現し、病理組織像はいずれの供試動物も非化膿性脳炎像を呈し、不顕性に経過したイヌやウサギは、ヒトの不顕性感染像にも似て注目される。また、抗体価の最高値はイヌの320倍であり、JEVに対する高い免疫応答が視われた。

動物の日本脳炎HI抗体の保有状況調査では、と畜場のブタがJEVに対する高い感受性を示し、1980年と1981年では前年が抗体保有率が高く、2ME感受性抗体の出現も早く、JEVの発現が早期であったことが判明した。

1980年と1981年の畜舎内供試動物の抗体変動は、同種の動物では陽転時期や抗体価の成績がほぼ同じで個体差があまりみられず、動物種類別では差があり各供試動物の感受性差が明確となり、イヌがブタ同様に早期感染型でありブタについて高い免疫応答を示し注目される。1981年に保健所に集められたイヌの成績では、7月下旬に新鮮感染が出現し、と畜場のブタより早期の感染像と高い抗体保有率を示し、夏期におけるイヌのJEV感染がブタに劣らず高率であることが立証され、ブタ血液が入手困難な山口県においては、イヌの抗体調査によってJEVの流行予測を行うことも、充分可能であることが判明した。また、出生後2週間以内の哺乳犬は、いずれも抗体を保有せず、親の抗体価がhigh levelでないと初乳を介して抗体の移行は起らないものと思われ、生後間もなく感染の機会があることが明らかになった。ネコは抗体保有率、抗体価共に低く、JEV伝播にはあまり重要な動物ではないと思われた。野生鳥獣の成績では、イノシシ、ゴイサギ、キジ、ヤマドリ、カモ、タヌキ、イタチ等比較的大型或いは地表棲息性の鳥獣は保有率が高く、スズメ、カラス、ハト、等小型或いは樹上棲息性の鳥類は保有率が低く、地上或は地下棲息性のヘビ、クマネズミは抗体を保有せず、棲息環境別に考察すると、蚊の咬刺吸血の機会に差があることが示唆された。また、輸入動物のアメリカクロクマは日本に在住している過去5年間にJEVに感染したものと思われ、自然界におけるこのウイルスの広い宿主域が再確認された。

媒介蚊の調査では、1980年と1981年の野外捕集蚊数は前年に多く、その要因は降雨量が多く産卵場所が拡大したためと思われる。畜舎内捕集蚊数は前年は早期発生型を示し、後年は遅延型を示し、前述した兩年の畜舎内動物の抗体陽転時期、JEV分離時期とよく一致し、前年は蚊の交尾繁殖が早期且活発であったことが明らかになった。ちなみに、県内のヒトの患者発生は前年3名、後年はみられなかった。1981年の犬舎内捕集蚊数は気温によく相関し、吸血率は各月とも約50%と一定しており、犬舎においてかなりの蚊がイヌを吸血し、イヌのJEV感染が高率であることが裏付けされた。畜舎内の吸血源調査では、ウシ、ブタの大動物を吸血した蚊がほとんどであり、体表面積を考慮すべきではあるが、蚊の吸血に嗜好性があることが再確認された。犬舎内の吸血源は、やはりイヌが最も多く96.9%であり、1畜舎1畜種の場合は、蚊の吸血嗜好性は無

視され、その動物に吸血が集中することが明らかになった。

このように今回の日本脳炎に関する調査成績では、ヒトの患者の減少した現在も流行時に変らぬ自然界におけるJ EVの旺盛な活動が確認された。供試した殆どの宿主動物が高率に感染しているにも係わらず、J EV伝播サイクルは pig-mosquito cycle が主体に提唱され、他のJ EV感受性動物に対するamplifier 或いはreservoirとしての役割の有無について知見に乏しい。ヒトの患者の多発した流行時に比較して、ブタとニワトリの飼育頭数は現在は約2倍に増加しており、他の動物は激減している。前述したように、と畜場に搬入されるブタは毎年高率にJ EVに汚染されており、大規模飼育化されている現在においても、豚舎周囲で保毒蚊の数的密度が高く、飛来可能な地域では、ヒトの患者の発生例があつて然りであるが、このような報告はみられない。

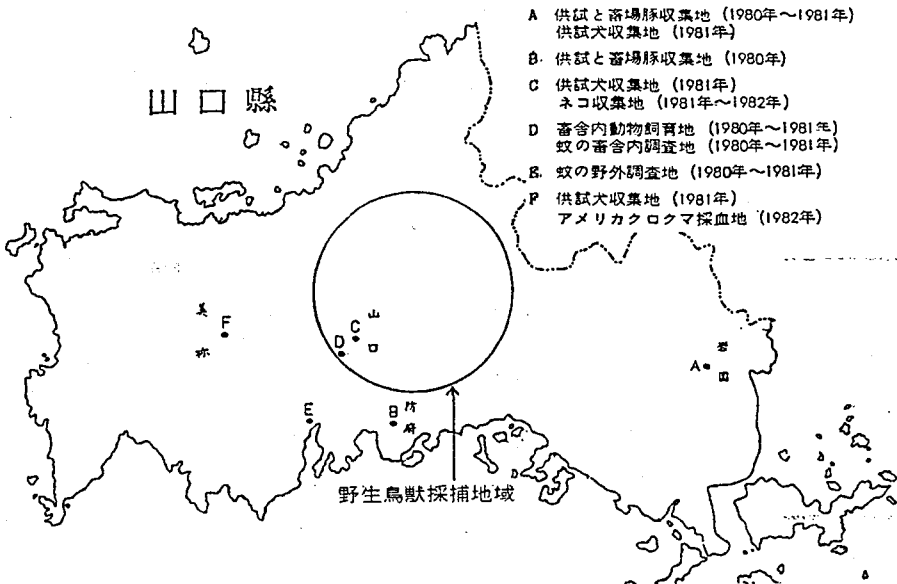
著者の行った調査の範囲内で、ヒトの患者の減少要因を考察するならば、ブタ、ニワトリ以外の感受性動物の絶対数の減少と媒介蚊の数的密度の低下が第一義的に挙げられるが、調査対象外の宿主、すなわちヒト側の要因が最も大きいのかもしれない。

V 総括

現今、自然界におけるJ EV伝播サイクルの究明は、最も困難な研究として残されている。高い感受性を示すブタは勿論であるが、高い抗体保有率と抗体価を示すイヌやイノシシをはじめ他の家畜および野生鳥獣等についても、ヒトの患者発生との関連において、X-mosquito cycleの可能性を究明すべき点が多い。

特に、今回実施した感染実験、抗体調査、媒介蚊調査のいずれにおいても dog-mosquito cycle の存在が示唆されるイヌについては、ヒトに身近な動物であり注目すべきである。自然界におけるこのウイルスの活動状況から思考すれば、ヒトのJ EV免疫力が低下した場合は大流行することも考えられ、患者が減少した現今においてこそ、獣医学的領域における基礎的研究を蓄積し、J EVに対するさらに詳細な疫学的観察が必要である。

FIG. 1 日本脳炎に関する調査地域



論文審査の結果の要旨

日本脳炎は夏季にヒトやウマに脳炎を起こすウイルスによる人畜共通感染症で、これらが蚊により媒介されることは1933年、三田村らの報告以来、衆知の事実である。本ウイルスはその感染環が成立するためには蚊の媒介が絶対に必要であり、自然界では鳥禽類を含めて、野生、あるいは飼育された動物の間に感染環を作り、終末感染としてヒトやウマが有毒蚊に刺されて脳炎を発病するものである。

わが国に於て、本病の流行に先立ち、仔豚の抗体価の上昇することから、特に仔豚と蚊との間に感染環を形成し、ウイルスの感染継続、有毒化が行われるものと考えられている。

近年、ヒトの本病患者は、ワクチンの普及、環境の整理、改善などに伴い漸減しつつあるが、1978年以降、再び少々増加の傾向にある。著者は1981年と1982年の2ケ年に亘り、自己の勤務する山口県下に於ける本病の発生について、野生動物、鳥禽類と家畜、家禽などについての実験的、疫学的研究、調査を行った結果、前記2年に於ける流行の差異の原因と従来の子豚と蚊の感染環以外に、犬の役割も軽視出来ないことなどの知見を得、疫学的に一連の成果を取纏めたものが本論文である。以下その内容の概略を示す。

I 実験動物に対する感染実験

本病ウイルスの感受性動物に対する感染実験を行い、本病の実態を調査した。即ち、実験動物はイヌ、ウサギ、1週令マウス、7週令マウスを用い、ウイルスを皮下に接種した後、体重の変化、臨床症状、血液像、病理組織像および、HI抗体価につき観察した。

その結果、体重の変化、臨床症状の発現、血液の変化はマウスに見られ、特に1週令では体重減少、運動異常、痙攣、麻痺、授乳不能、リンパ球および好中球の減少が見られ、全て5日目に死亡した。7週令は全数死亡がなく、立毛、旋廻運動、軽度の白血球増減が一部に見られた。

病理組織学的変化は、全ての供試動物に見られ、主に大脳に於ける小円形細胞浸潤、グリア細胞増殖、皮質の浮腫、血管性細胞浸潤、神経細胞の変性像などで、これらは特にマウスに著明で、イヌ、ウサギにも散見された。

HI抗体は5日目に死亡した1週令マウス以外は全て有意の上昇を示し、抗体価はイヌの320倍が最高であった。

II 家畜および野生鳥獣のHI抗体の調査成績

1980年と1981年の2ケ年の7月より9月の期間に山口県下のと畜場で得た438個体のブタ、同一畜舎内に飼育した動物(ウシ、ブタ、イヌ、ウサギ、ニワトリ、ハトおよびマウス)と2年間に狩猟などにより捕獲された野生鳥獣(カラス、ハト、スズメ、カモ、キジ、ヤマドリ、ゴイサギ、ヒヨドリ、イノシシ、タヌキ、ノウサギ、イタチ、クマネズミ、ヘビなど288個体)、1981年6月から9月の間に保健所に集められた生後7ヶ月未満の幼犬178個体、および、生後2週間以内の哺乳犬32個体、1982年7月出生直後の初乳授乳前後の仔イヌ5個体、1981年6月より1ケ年間に保健所に集められたネコ33個体、および1982年7月自然動物園飼育のアメリカクロクマ7個体など、各種の多数の材料について、HI抗体の調査を行い、本病の浸透度と共に2ME感受性抗体も併せて測定し、早期感染の調査をも実施した。

その結果、と畜場のブタは1980年、1981年共に高い抗体価を示すと共に、2ME感受性抗体は前年は7月下旬、後年は8月下旬に上昇し、即ち感染に1ヶ月の差が見られた。

畜舎内供試動物はイヌ、ブタが2年共に抗体価が早期に上昇し、且他の動物よりも高く、と畜場のブタ同様、

兩年の間に1ヶ月の差が見られた。1981年の保健所に集められたイヌの2ME感受性抗体は、同年のブタのそれよりも更に早期に上昇が見られ、保有率はブタ同様高率であった。生後2週間以内の仔イヌと親の抗体価が80倍の仔イヌの初乳授乳前(出産直後)、授乳10日後のいずれも10倍以下であった。ネコの抗体保有率は9.1%で低く、抗体価は10~20倍であった。

野生鳥獣のHI抗体保有率は、イノシシ、ゴイサギ、ヤマドリ、キジおよびカモが高く、カラス、ハト、スズメ、ヘビ、クマネズミなどは低く、抗体価は鳥類ではゴイサギの160倍、哺乳類ではイノシシの640倍が最高であった。自然動物園飼育のアメリカクロクマはいずれも抗体を保有していたが、20~40倍で低かった。本病ウイルスの活動期に捕獲されたスズメ、ゴイサギ、イノシシの一部に早期感染抗体を保有するものがあった。

Ⅲ コガタアカイエカの消長と周辺動物の感染状況

前述のように本病の伝播には蚊の存在を欠くことが出来ないで、本病の流行には蚊の消長とこれに影響を与える気象や環境の変化が重要視される。

著者は1980年と1981年の7月より9月の間に畜舎内、および畜舎から200m離れた犬舎内の蚊の消長と気象要因、農薬散布状況を調査すると共に、畜舎および犬舎内捕集、未吸血蚊からのウイルス分離を行った。また、畜舎、犬舎内の蚊の吸血源を知る目的で動物血球に対する家兔免疫血清を作り、沈降反応を行った。

その結果、1980年と1981年を比較すると、野外の捕集蚊数は前年に多く、気象との関係は気温、降雨量以外はあまり有意でなかった。

畜舎内の捕集蚊数は野外同様、前年に多く、ピークは前年に早く、吸血率も約10%高かった。1981年の犬舎内の捕集蚊数は気温によく相関し、吸血率は各月共に50%前後で一定していた。

畜舎内捕集蚊からのウイルスの初分離は、1980年は7月10日、1981年は8月16日で約1ヶ月の差があり、兩年の畜舎内繫畜動物の抗体上昇時期によるウイルス出現推定日がウイルスの分離成績とよく一致した。次に、1980年の畜舎内の蚊の吸血源はウシ約70%、ブタ約30%、1981年の犬舎内のそれは96.9%で、イヌも単独繫養では高い吸血源率を示した。

著者は以上の成績を考察して、結論として家畜の本病に対するHI抗体の上昇についてイヌがブタ同様に早期感染型で、高い感受性を示し、抗体価も高いことを証明し得たのでブタ血液の入手困難な山口県に於いてはイヌの抗体調査により、本病の流行を予測することも可能であると判断している。また、仔犬は親の抗体価が低いときは初乳を介しての抗体の移行が行われず、生後間もない仔イヌの感染が容易であると考えている。また、ネコは抗体保有率も抗体価も低く、本病伝播にはあまり重要でなく、野生鳥獣ではイノシシ、ゴイサギ、キジなど比較的大型、あるいは地表棲息性の鳥獣は抗体保有率が高いこと、スズメ、ハトなど小型、または樹上棲息性の鳥類は保有率が低く、地下棲息性のクマネズミ、ヘビなどは抗体を保有せず、これらは蚊の刺咬、吸血の機会の差によるものではないかと考えている。また輸入動物のアメリカクロクマに低いながら抗体が証明されたことは興味深い。

蚊については1980年と1981年では有毒蚊の発生に1ヶ月の差のあったこと、吸血に嗜好性があること、被吸血動物の体表面積と吸血率に関連性を認め、ウシ、ブタ以外、イヌも常に吸血源となり得ることを証明している。著者は上記の調査成績より、ヒトの患者の減少している現在でも、自然界では毎年、本病ウイルスの旺盛に活動しつつあることを確認し、ウイルスの伝播サイクルとしての仔豚と蚊の関係以外に、新たに日常ヒト

と密接な関係をもつウイルスを amplifier あるいは reservoir として著目すべきことを提言しており、これらのことは今後、本病の疫学上、特に注目に値する業績であり、獣医学博士の学位を授与するにふさわしい論文であることを認める。