日脳感染による雄豚の造精機能障害と 精液中よりのウイルス分離について

羽生 章·中島勇三·島田直吉·杉藤和夫·宮下光男 杉森 正*·藤崎優次郎*·小笠 晃*·横木勇造*

まえがき

夏季に発生する雄豚の造精機能障害は経験的に 知られており、日射病、熱射病などが原因と考え られているが、日脳流行期と合致しているので、 日脳の感染との関連を調べるため、実験的にウイ ルスを接種した後、臨床症状および精液性状など を調べるとともに、試験豚の血液および精液から ウイルス分離を試みたので、その成積の概要を述 べる。

試験材料および方法

生後7か月齢の無抗体の雄豚2頭を、防蚊設備を完備した豚房で飼育し、野外株(AS-6)の106.5(TCID50)を皮下接種した後、7日間毎日採血して、ウイルス血症発現の有無を、哺乳マウスの脳内接種により調べるとともに、週1回採血して、血清アセトン処理(予研法)¹⁾により、日脳に対するHI抗体を調べた。また体温は、午前、午後の2回測定した。精液は原則として、週1回採取して 精液性状^{2)・3)}を調べるとともに、精液を3,000回転、10分間遠心して、精漿を分離し、その0.03mlを、哺乳マウスに脳内接種⁴⁾して、ウイルス分離を試みた。発症マウスについては、PBSで10倍脳乳剤をつくり、哺乳マウスおよび組織培養により継代証明を行なった。

試験結果および考察

- 1. 試験豚の臨床症状: 試験豚の臨床症状を, 食 欲、体温の変化、陰嚢の充血などについて調べた。
- (1) 食欲:試験豚の食欲は感染により、No.1の試
 - * 曲 ほかかたかなによる場合は

- 験豚では変化なく、Na 2の試験豚はいくぶん落ち たが、大きな変化はみとめられなかった。
- (2) 体温の変化:試験豚の体温の変化を示すと図 1のとおりである. 2頭とも, 3日目, 4日目に 上昇の傾向がみとめられたが, 40℃以上にはな らなかった.
- (3) その他の臨床症状: № 1の試験豚では,7日目から、陰嚢に充血がみとめられ,17日目から触診により,精巣上体頭端に硬結がみとめられた.なお,その時期においても、とくに体温の上昇はみとめられなかった.
- 2. 試験豚のウイルス血症:試験豚のウイルス血症発現の有無を示すと表1のとおりである. すなわち3日間までは、2頭ともウイルス血症がみとめられた. 下の数字は接種した哺乳マウスと発症マウス数を示してある.
- 3. 試験豚の日脳に対する血清中のHI抗体の推移:試験豚の日脳に対する血清中のHI抗体の推移を示すと、図2のとおりである。すなわち、感染1週間後には、いずれの試験豚も、HI抗体は640倍以上に上昇し、その後約3か月間、ほぼ同じ値を持続した。
- 4. 試験豚の精液性状: 試験豚の精液性状については採取直後,精液量,膠様物量,PH,活力,精子数,畸形率などについて調べた.
- (1) 精液量, 膠様物量, PH:精液量, 膠様物量 について示すと図3のとおりであって, いずれの 試験豚もいくぶんのばらつきはみとめられたが, とくに大きな変化はみとめられなかった.
- (2) 精子数、総精子数:試験豚の1cm³中の精子数および総精子数について示すと図4のとおりで

^{*} 農林省家畜衛生試験場

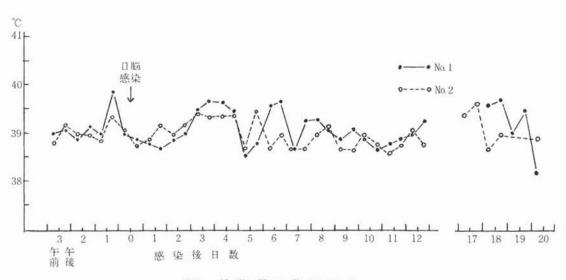


図1. 試験豚の体温変化

表1. 試験豚のウイルス血症

lik Nα.	日脳ウイルス		13	5 集	後	B	数	
		1	2	3	4	5	6	7
1	A S - 6 株	10/10	+ 10/10	+ 9/9	0/8	0/9	0/9	0/10
2	1065TCID 50	+ 9/9	9/9	9/9	0/9	0/10	0/10	0/10

*哺乳マウスの脳内接種

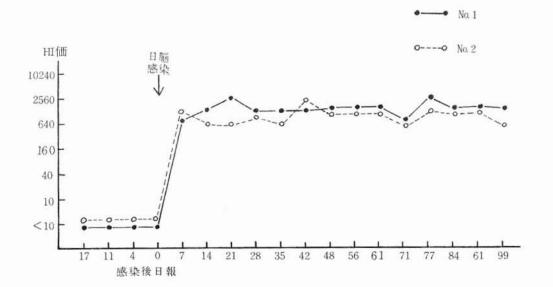


図2. 日脳に対する血中HI抗体の推移

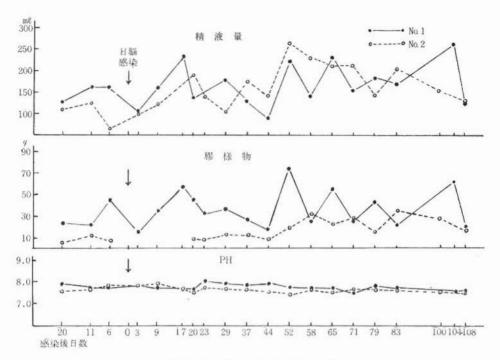


図3. 精液性状の変化(1)

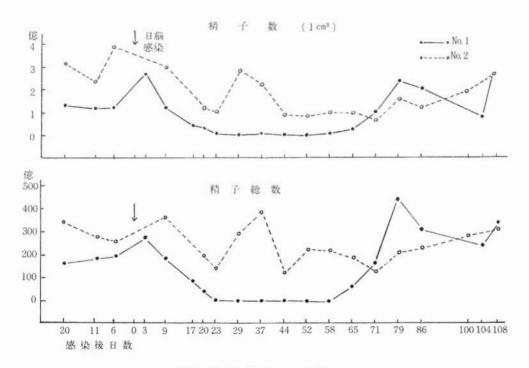


図4. 精液性状の変化(2)

ある. 精子数では、Na1の試験豚では、17日目から減少を示し始め、29日目では無精子状態となり、以後 58日目まで続き、65日目ごろより精子が出現し始め、79日目にはほぼ感染前の状態に恢復した、Na2の豚では、20日目ごろより

減少の傾向がみとめられたが100日目ごろより、 一応恢復した総精子数についてもほぼ同じ傾向が みとめられた。

(3) 精子の生存指数および畸形率: 試験豚の精子の生存指数および畸形率について示すと図5のと

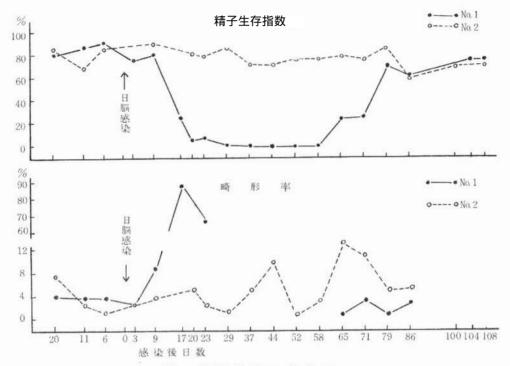


図 5. 精液性状の変化(3)

おりである。すなわち精子の生存指数は、Na10 豚では、感染17日目ごろより、急激に落ち始めた。65日目から恢復し始め、79日目にはほぼ 感染前の状態に恢復した。Na2では試験期間中ほぼ70~80%を示していた。畸形率はNa10の豚では、9日目から約8%に上昇し始め、17日目には約90%と最高を示したが、29~58日目までは、無精子状態のため畸形率を調べることができなかった、精子が出現し始めた65日目以降

は4%以下に恢復した. Na 2の豚では感染直後の 影響は少く、44,65,71日目に,それぞれ, やや高い畸形率を示していた.従って以上の成績 から,Na 1の豚では精液性状に著しい変化がみと められたが、Na 2の豚では精子数の減少のほかは 大きな変化はみとめられなかった.

5. 精液からのウイルス分離:精液からのウイルス分離成績を示すと表2のとおりである。Na1の 豚では、3日目と17日目の精漿からウイルスを

表 2. 精液からのウイルス分離

		感 染 後 日 数						
IIK No.	Va 日脳ウイルス		9	1.7	2 0		2 3	
		- 2			1 [0]	2 回	1 [0]	2 [13]
		+ *	-	i E	-	-		-
.1	A S — fi 株	4/10	0/9	6 10	0/7	0/7	0 12	0/5
2	1065 TCID50	N. D	0/10	N. D	0.29	0.714	0/9	0/10

*哺乳マウスの脳内接種

分離することができたが、9日目、20日目、23 23日目の精漿から、ウイルスは分離されなかっ なかった。またNa2の豚は、9日目、20日目、

日目の精漿からはウイルスを分離することはでき た、また精液からウイルスが分離できた分離成績 を示すと図6および図7のとおりである. Na1の

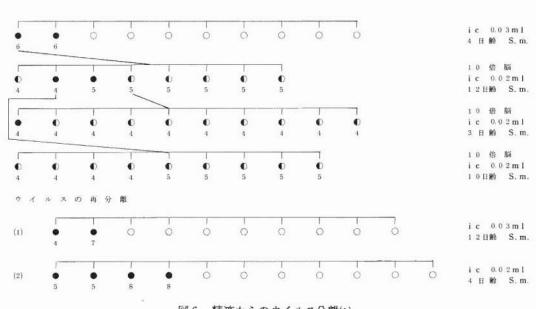


図 6. 精液からのウイルス分離(1) (豚 1 の 3 日 目精漿)

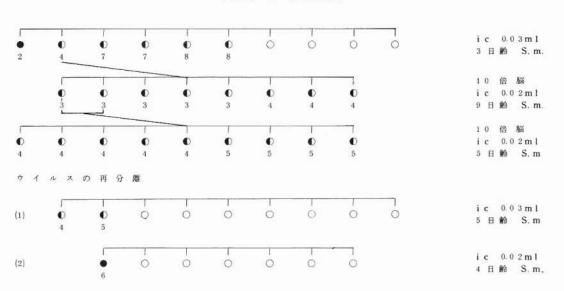


図7. 精液からのウイルス分離(2) (豚Na1の17日目精漿)

豚の3日目精漿を4日齢の哺乳マウス10匹に脳 内接種したところ(図6), 2匹が発症し、6日 目に死亡した。その1匹のマウス脳をPBSで10 倍乳剤として、哺乳マウスに継代すると、4.5 日目に発症するか死亡した。 さらに同じ精漿を用 いて、再分離試験を行ったところ、12日齢の哺 乳マウス10匹中2匹が発症し、(2)では、4日齢 の哺乳マウス11匹中4匹が発症した。17日目 の精漿からのウイルス分離成績では(図7),3 日齢の哺乳マウスに脳内接種したところ、2日目、 4日目、7日目に発症するか死亡した、4日目に 発症したマウス脳をPBSで10倍乳剤として, 哺乳マウスに継代すると、接種した8匹全部が3, 4日目に重度の発症症状を示した. その3日目発 症の2匹のマウス脳をブールして、哺乳マウスに 継代したところ, 9匹全部が、4日目、5日目に 重度の発症症状を示した. さらに同じ精漿を用い て、5日齢の哺乳マウスに脳内接種して、ウイル スの再分離試験を行ったところ、9匹中2匹が発 症し、4日齢の哺乳マウスを用いた(2)の試験では、 7匹中1匹が発症した。ウイルスの再分離試験は、 時と場所とを変えて行ったが、いずれも陽性の結 果がえられた. なお発症または死亡マウスから分 離されたウイルスは、血清学的に日脳ウイルスと 同定された。また20日目以後の精漿からウイル スが分離されなかったので、精漿を25%カオリ ンBBSで処理して、予研法1)に準じて、日脳H I 抗体を調べたところ、H I 抗体はみとめられな かった.

要 約

夏季に発生する雄豚の造精機能障害と日脳感染 との関係を調べるために、生後7か月齢の無抗体 の豚2頭を防蚊設備を完備した豚房で飼育し、野 外株を皮下接種した後、ウイルス血症発現の有無、血清中の日脳に対するHI抗体および臨床症状を調べた。また原則として週1回精液採取して精液性状を調べるとともに、精液を遠心分離した精漿から哺乳マウスの脳内接種によりウイルス分離を試みた。えられた結果はつぎのとおりである。

- 1. 試験豚の体温は、感染後やや上昇の傾向がみとめられたが、40 \circ 以上にはならなかった。食欲は、 N_{2} \circ の豚ではいくぶん減退の傾向がみとめられたが、 N_{2} \circ では変化はみとめられなかった。また N_{2} \circ の豚では 7 日目ごろより、陰囊に充血がみとめられ、1 \circ 日目ごろより触診により、精巣上体頭端に硬結がみとめられた。
- 2. ウイルス感染後3日間ウイルス血症がみとめられた。
- 3. 日脳に対するHI抗体は、感染後1週間目から、640倍以上に上昇し、以後3か月間ほぼ同じ値を持続した. なお、精漿中には日脳に対するHI抗体はみとめられなかった。
- 試験豚2頭のうち1頭から3日目と17日目目の精漿から日脳ウイルスを分離することができた。
- 5. 試験豚のうち1頭に精子数減少,活力減退, 畸形率増加などの精液性状に著変がみとめられ, かつウイルスが分離されたが、他の1頭は精液性 状に大きな変化はなく,ウイルスも分離されなかった.

以上の成績から、雄豚は日脳の感染により、造精障害が誘起され、かつ精液を介してウイルスが散布される疑いのあることがわかったので、今後 種雄豚に対しても、感染予防の対策を考える必要があると思われた。

実験に際して,血清保存などに種々御便宜を頂いた日生研,宮本猛,竹原孝一両先生に深謝する.

引 用 文 献

- 1) 大谷明・奥野剛: ウイルス実験学各論, 国立予防衛生研究所学友会編, 丸善, 東京, 132~146, (1967)
- 2) 伊藤祐之・枡田精一・西川義正・吉岡善三郎・丹羽太左衛門:家畜の人工授精の技術,産業図書, 東京,295~303,(1961)
- 3) 西川義正:家畜人工授精法、養賢堂、東京、87~109、(1951)

4) 大谷明・奥野剛: ウイルス実験学総論,予研学友会編,丸善,東京,63,(1967)

大谷明・奥野剛:ウイルス実験学各論,予研学友会編,丸善,東京,103,(1967)