

—最近における動物衛生研究情報(Ⅱ)—

アカバネウイルスによる牛の脳脊髄炎とその診断法

山川 睦[†] (動物衛生研究所環境・常在疾病研究チーム上席研究員)



1 はじめに

2006年8月末から12月中旬にかけて、九州地方を中心に起立不能を特徴とした若齢牛の不明疾病が続発し、その数は180頭に達した。発症牛に非化膿性脳脊髄炎が認められたことと、本疾病が季節性を持って広範囲に流行している

ことから、神経親和性を示すアルボウイルスの関与が疑われるようになり、やがて発症牛の脳および脊髄からアカバネウイルス(ブニヤウイルス科オルソブニヤウイルス属に属する)が分離された。

アカバネウイルスは、ヌカカという体長1~3mmの微小な吸血性節足動物によって媒介され、妊娠牛に感染すると流早産や水無脳症・関節彎曲症候群を伴った先天異常子牛の出産を引き起こす。しかし、生後の牛が感染して神経症状を示す例はこれまでほとんど知られていなかった。本研究では、アカバネ病の新たな病態を明らかにし、診断法を確立する目的で疫学的、病理学的及びウイルス学的に調査・検討した。

2 アカバネウイルスの神経病原性

アカバネウイルスによる異常産と起立不能は、一見何の関係もないようであるが、ともに感染によって生じた中枢神経系の病変(非化膿性脳脊髄炎)に起因するという点で一致する。過去に子牛を用いた感染実験が実施されており、アカバネウイルスの生後感染による脳脊髄炎を理解する上で興味深いデータが得られていた。このデータでは、由来の異なるJaGAR39株(1959年に群馬県で分離されたプロトタイプ)、B7949株(1968年にオーストラリアで分離された株)およびOBE-1株(1974年に岡山県で分離された現行ワクチンの原株)の3株を、接種経路を替えてアカバネウイルス抗体陰性の10日齢~24カ月齢の子牛に接種したところ、脳内接種では、いずれの株でもほとんどの子牛が元気・食欲減退、発熱および白血球減少症を示し、さらにJaGAR39株およびB7949株を接種したそれぞれ1頭では、これらの症状に

やや遅れて旋回運動や跛行などの神経症状も観察された(接種後8~9日)。これに対し、静脈内および皮下接種牛のほとんどは臨床的異常を示さなかった。接種ウイルス株や接種経路に関係なく、若齢の子牛ほど臨床症状、白血球減少症やウイルス血症が強く現れ、アカバネウイルスに対する感受性が高い傾向にあった。

この実験が実施された1970年代後半には牛の自然感染例において神経症状は全く認められていなかったが、1984年になって初めて振戦、運動失調、起立不能などを示す野外症例10例が報告された。発症牛から分離されたIriki株を用いた子牛脳内接種試験の結果、自然感染例と類似の致死的な神経症状が接種後9~11日に現れ、脳病変(非化膿性脳炎)が再現された。Iriki株は以前に分離された株に比べて神経侵襲性・病原性が強く、生後感染においても比較的症を引き起こし易いと推察される。しかしながら、その後Iriki株と同系統のウイルスが繰り返し流行しているのにも関わらず、神経症状を示す症例の報告がほとんどないことを考慮に入れると、胎子期以外の感染において、アカバネウイルスが中枢神経系に到達し、脳脊髄炎を引き起こす確率は元々非常に低いと考えられる。アカバネウイルスによる脳脊髄炎は、1984年の初発以降、国内だけでなく隣国台湾(1992年)や韓国(2000年)でも発生が確認されているが、2006年を迎えるまではいずれも低頻度・散発的で症例数も少なかった。

3 アカバネウイルスによる脳脊髄炎の大規模発生

2006年8月末、熊本県内の肉用牛繁殖農家で、8カ月齢の褐毛和種が後駆麻痺による起立不能を示したのを皮切りに、同年12月中旬までに5つの県をまたいで牛の脳脊髄炎が多発した。発症頭数180例のうち、124例(68.9%)が熊本県で、41例(22.8%)が鹿児島県で認められた。発症は品種や性別に関係なく、主に24カ月齢未満の若齢牛(77.8%)に見られた。発症牛は運動障害、振戦、眼球振盪、後弓反張および異常興奮などの神経症状を示したが、ほとんどの症例で後肢あるいは前肢の麻痺を伴う起立不能が観察された(図1)。前駆症状と

[†] 連絡責任者：山川 睦 (動物衛生研究所 環境・常在疾病研究チーム)

〒891-0105 鹿児島市中山町2702 ☎099-268-2078 FAX 099-268-3088 E-mail : yamato@affrc.go.jp



図1 アカバネウイルスによる育成牛の脳脊髄炎（起立不能例）熊本県中央家畜保健衛生所原因

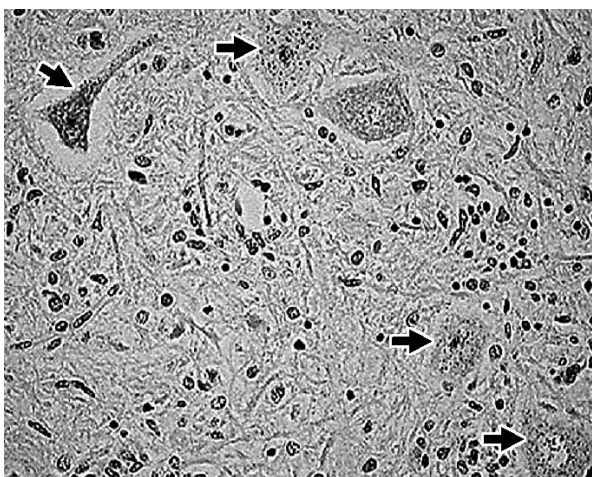


図2 発症牛中脳の免疫組織化学染色像
矢印は抗アカバネウイルス血清によって染色された神経細胞内のウイルス抗原を示す。

しての発熱や食欲不振は、運動失調などの明らかな神経症状を示した牛以外ではあまり認められず、突然起立不能に陥る例が多かった。

発症牛の脳や脊髄、骨格筋を含めて諸臓器には肉眼的著変が見られなかったが、病理組織学的検査で中枢神経系に囲管性細胞浸潤やグリア結節などウイルス感染を疑う病変が観察された。中脳、橋および延髄の病変が最も強く、脊髄では頸部から腰部にかけてほぼ全域で病変が見られ、腹角神経細胞に神経食現象が観察されることもあった。さらに末梢神経系（座骨神経など）にも細胞浸潤や空胞形成などの病変が認められた。

疫学的解析と病理組織学的検査を端緒に詳細な検査が進められた結果、最終的に本疾病の原因がアカバネウイルスであることが判明した。すなわち、発症牛の中脳神経組織から、抗アカバネウイルス家兔免疫血清を用いた免疫組織化学染色によってアカバネウイルス抗原を検出

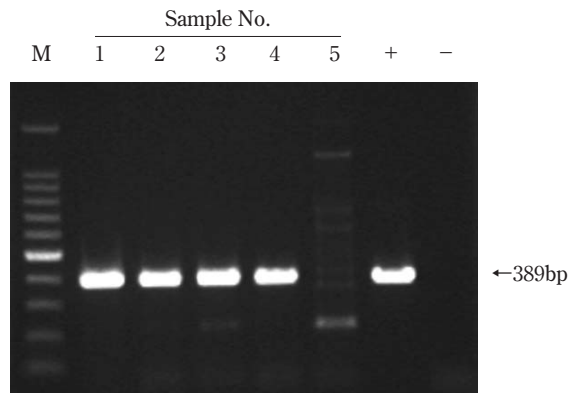


図3 発症牛脳からのアカバネウイルス遺伝子の検出

1～4：陽性例，5：陰性例，
+および-：陽性および陰性対照
使用したプライマー：

AKAI172F 5'-CAGAAGAAGGCCAAGATGGT-3'
AKAI560R 5'-AAGTTGACATCCATTCCATC-3'

表1 交差中和試験によるアカバネウイルス株間の抗原性の比較

ウイルス株	免疫血清の中和抗体価		
	OBE-1	Iriki	KM-1/Br/06
OBE-1	512	2048	2048
Iriki	64	2048	1024
KM-1/Br/06	64	2048	2048

KM-1/Br/06株は2006年分離株の一つである。

すること（図2）、あるいはRT-PCR法によってウイルス遺伝子を検出すること（図3）、さらにはウイルスを分離することで診断が可能であった。検査材料としては、とくに中脳、橋および延髄を用いるのが望ましいことが示された。また、発症牛だけでなく、同居牛やおとり牛血液からのウイルス分離も診断に有用であった。

中和試験によって抗体調査を行った結果、熊本・鹿児島両県の発症牛の98.3%（119頭中117頭）ならびに発症牛と同じ農場に同居していた未発症牛74.3%（152頭中113頭）にアカバネウイルス抗体が検出された。毎年実施されているアルボウイルス動態調査でも、9～11月にかけて両県のおとり牛の45.5%にアカバネウイルスに対する抗体の陽転が認められた。この年には他の牛アルボウイルスの抗体陽転は確認されなかった。

発症時には既にほぼ全頭がアカバネウイルスに対する抗体を保有していることが確認された。今回血液からウイルスが分離された牛の中には、採血時無症状で2週間後に起立不能を呈したものが存在した。つまり、ウイルス血症から発症に至るまで2週間を要したことになる。アカバネウイルス感染ではウイルス血症が感染後1週間以内に終息することや、前述の脳内接種感染実験で神経症状が見られるまで10日前後かかったことと合わせると、ヌカカの吸血による感染から神経症状発症までに

は、少なくとも2週間以上かかると推測された。感染後40日以上経過して発症したと見られる例もあり、個体によって発症までの期間にばらつきがあることが示された。したがって、一見正常に産まれた子牛が短期間のうちに発症した場合には、生後に感染したのではなく、母胎内で感染したと考えられる。

4 脳脊髄炎発症牛から分離されたアカバネウイルスの性状

アカバネウイルス2006年分離株の抗原性は、1984年に脳炎を起こした子牛から分離されたIriki株と同等であり、現行ワクチンの原株であるOBE-1株とは若干の差が認められた(表1)。すなわち、交差中和試験を実施したところ、Iriki株および2006年分離株に対する抗血清は、それぞれ自身と同程度にOBE-1株の増殖を抑えたが、OBE-1株に対する抗血清は、自身に比べてIriki株および2006年分離株の増殖を抑える能力が低かった。

アカバネウイルスのゲノムを構成する3つの遺伝子(L, MおよびS RNA分節)のうち、MおよびS RNA分節の塩基配列を決定し、相同性解析および分子系統樹解析を行った。アカバネウイルス国内分離株は、Iriki株を含むグループとプロトタイプであるJaGAR39株およびOBE-1株を含むグループの2つに大別されるが、2006年分離株は、抗原性状を反映して前者に属することが判明した。

これまでに得られたデータをまとめると、生後感染において神経症状を引き起こしやすいのは、やはりIriki株系統のウイルスであると言えるであろう。しかし、一方でOBE-1株と同等の株が神経症状を引き起こした例も少数ながら報告されていることに留意すべきである。2008年夏から秋にかけて、10年ぶりにOBE-1株系統のウイルスの広域にわたる流行があったが、この際にも、明らかに生後感染によって神経症状を示した若齢牛が確認されている。

5 おわりに

全国規模で毎年実施されているアルボウイルスの血清疫学調査や、動物衛生研究所九州支所を中心とした長年の調査研究の結果から、現在では我が国で問題となる牛のアルボウイルスは、国内に常在して流行を繰り返して

いるのではなく、ヌカカとともに初夏に発生する季節風(下層ジェット気流)によって海外の熱帯・亜熱帯地域から頻繁に侵入していると考えられている。そして、国内の環境に適応したウイルス株の一部が一過性に広がっていくというパターンを繰り返していると考えられている。我が国ではウシヌカカ(*Culicoides oxystoma*)がアカバネウイルスを含む家畜アルボウイルスの主要な媒介種とされている。2006年のアカバネウイルスも感染ヌカカとともに夏期に九州中部に侵入し、晩秋にかけて広がり、抗体を持たない若齢牛を中心に脳脊髄炎を引き起こしたと考えられる。ウイルスの正確な流行動態を把握するには、近隣アジア地域をも含めた広範囲における継続的なヌカカの生態調査が必要であろう。

牛脳脊髄炎の大規模な発生によって、アカバネウイルスは胎子期も含めた全発育ステージにおいて問題を引き起こす病原体であることが示され、届出伝染病であるアカバネ病の発生区分も「胎児感染」と「生後感染」の2種に変更された。今後は異常産だけでなく、若齢牛や成牛の神経症状発生例に遭遇した場合には、アカバネウイルスの関与を考慮に入れて対応していく必要がある。しかしながら、アカバネ病対策の基本は異常産防止のためのワクチン接種にあることを忘れてはならない。2006年のような事例に遭遇すると、どうしても神経症状発生例に関心が向きがちになるが、まずは従来どおりにきちんとワクチン接種を行い、妊娠牛の抗体保有率を上げることによって異常産の予防に努めることが肝要である。子牛や肥育牛へのワクチン接種は、現段階では脳脊髄炎の発生頻度や労力、時間、経費などの費用対効果を考えるとあまり得策ではないが、今後検討が必要であろう。

上記のように、Iriki株系統のウイルスは、ワクチンの親株であるOBE-1株と抗原性が異なるが、両者間に極端なずれがあるわけではなく、現行ワクチンは今回のような株に対してもある程度効果を発揮すると思われる。動物衛生研究所では、より効果的予防のため、現在民間企業と共同で2006年分離株を用いたアカバネ病ワクチンの改良に取り組んでいるところである。

本研究成果の一部は、オープンアクセスオンラインジャーナルであるBMC Veterinary Research 4, 20(2008)ならびに本誌第61巻第10号771~776(2008)に公表されているので、詳しくはそちらを参考にされたい。