

## —日本における競走馬医療の現状 (X)—

## 馬 ウ イ ル ス 性 動 脈 炎

近藤高志<sup>†</sup> (特)日本中央競馬会競走馬総合研究所企画調整室室長)

## 1 はじめに

馬ウイルス性動脈炎 (Equine viral arteritis) は、馬動脈炎ウイルス (Equine arteritis virus : EAV) の感染による馬科の動物に特有の伝染病である。わが国では、家畜伝染病予防法により届出伝染病に指定されている。本病は世界的に分布しているが、わが国は清浄国である。ウイルスは呼吸器あるいは生殖器を介して感染する。感染馬は、発熱、元気消失、鼻汁漏出、結膜炎、おもに頸部から肩部の発疹、四肢の浮腫などさまざまな症状を呈するが、不顕性感染も多い。妊娠馬が感染すると妊娠月齢に関係なく高率に流産を起こす。雄馬では、生殖器に持続感染し精液中に排出されたウイルスが種付けによって雌馬に感染する。持続感染馬は臨床的には健康で、ウイルスの排泄が長期間に及ぶことから、馬の生産地では特に嚴重な警戒を要する疾病である。

## 2 病原体と感染様式

本病の病原体である EAV は、1 本鎖+鎖の RNA ウィルスであり、以前はトガウイルス科アルテリウイルス属に分類されていたが、現在はニドウイルス目のアルテリウイルス科に分類される [1]。ウイルス粒子は直径約 60nm の球形で、細胞膜由来のエンベロップを有する。自然界における感受性動物は馬、ロバなど馬科の動物種のみが知られている。実験小動物による感染モデルは確立されていない。

ウイルスの血清型は 1 種類であるが、ウイルス粒子表面の主要糖タンパク質である GP5 タンパク質遺伝子の系統樹解析により北米 (NA) 型、ヨーロッパ 1 (EU-1) 型及び 2 (EU-2) 型の 3 群に区分される [2]。

EAV は、1953 年にアメリカのオハイオ州のスタンダードブレッドの生産牧場で流産と急性の呼吸器症状を示す伝染性の疾病が流行した際に、流産胎子から初めて分離された [3]。1964 年にはスイスの馬群で流行し EAV が分離されヨーロッパでも本病の存在が確認された。現在までにヨーロッパ諸国、オーストラリア、ニュージーラ

ンド、アメリカ、カナダ、アルゼンチン、南アフリカなどで発生報告があり、世界各地に分布している。

2006～2007 年にはアメリカでニューメキシコ州とユタ州をおもな発生州として 10 州に及ぶ本病の発生が報告されている。この発生は汚染した精液による人工授精と感染馬の移動によるものであった。フランスでも 2007 年にはノルマンディー地方でおよそ 200 頭の感染が報告されている。

わが国は、発生報告がなく清浄国と考えられている。

おもな感染経路は呼吸器及び生殖器である [4-6]。呼吸器感染では、発症馬の鼻汁中に排泄されたウイルスが飛沫によって周囲の馬に感染し馬群内に伝播する。生殖器感染では、感染種雄馬の精液に含まれるウイルスが交配あるいは人工授精によって雌馬に伝播する。雄馬が感染した場合には、臨床症状が認められなくなり回復しても 30～70% の馬が生殖腺にウイルスが持続感染し、長期間ときには生涯にわたって継続的にウイルスを精液中に排泄する。性的に未成熟な子馬や去勢馬、雌馬は持続感染が認められず、キャリア状態の維持にテストステロンの関与が示唆されている。

感染馬の鼻汁、尿、精液、流産胎子及びそれらで汚染された敷料、人や物なども感染源となり得る。

最近の発生報告では、種付け前の種雄馬の検査で単独あるいは少数頭で感染が発見される例が多く、臨床症状を認めない症例が多い。

## 3 臨床症状と病理

潜伏期は、経鼻接種による感染実験では 1～6 日であり、野外の自然感染例では 3～14 日である。交配により生殖器を介して感染する場合は 6～8 日程度である。感染馬の臨床症状はさまざまで、発熱、鼻汁漏出、流涙、結膜炎、眼瞼浮腫、下顎リンパ節の腫脹、おもに頸部から肩部にかけての発疹 (図 1)、四肢の浮腫 (図 2)、陰囊の腫大 (図 3) や包皮の浮腫などが認められる。発熱に伴いおもにリンパ球の減少に伴う白血球減少が認められる。臨床症状は一般に軽度であり、不顕性感染も多い。

<sup>†</sup> 連絡責任者：近藤高志 (特)日本中央競馬会競走馬総合研究所企画調整室)

〒 329-0412 下野市柴 1400-4 ☎ 0285-44-0090 FAX 0285-44-5676 E-mail : kondo@equinst.go.jp



図1 頸部から肩部の発疹



図3 陰囊の腫大

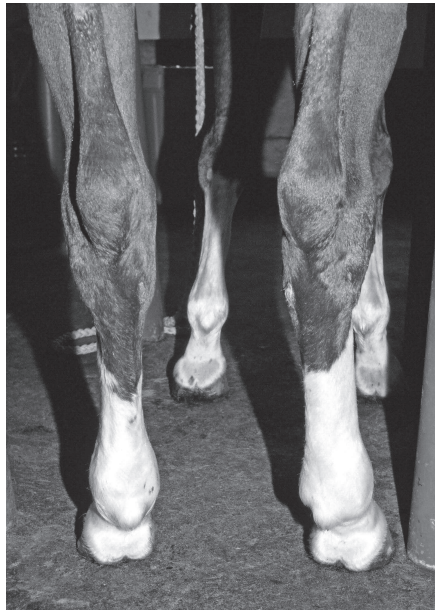


図2 後肢の下肢部の浮腫

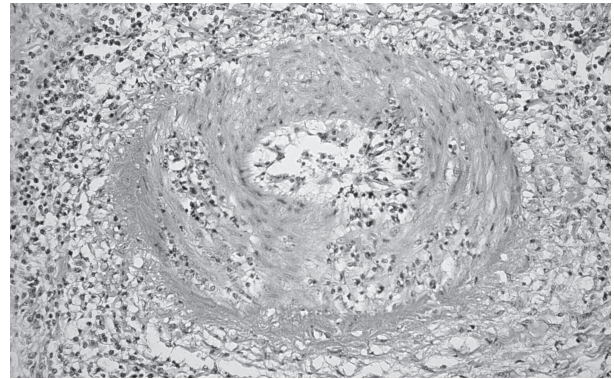


図4 小動脈中膜の変性壊死

しかし若齢馬や老齢馬では症状が重篤となり、まれではあるが肺炎により死亡した新生子馬の症例が報告されている。その他の症状としては、下痢、黄疸、疝痛なども報告がある[4, 5]。

妊娠馬では妊娠月齢に関係なく高率（40～60%）に流産が認められる [7, 8]。実験感染では、流産は解熱後2～4日目、ウイルス接種後1～2週間で認められる。

急性症状を呈した馬の一般的な解剖所見は、皮下織、腹腔内諸臓器にみられる膠様浸潤、充血、出血である。流産胎子は、通常胎膜を伴っており、胎子組織が自己融解を起こしていることはほとんどない。

病名の由来となっている特徴的な組織病理学的所見は、良く発達した筋層に囲まれる小動脈の中膜に認められる変性壊死である（図4）。小動脈病変は全身組織に認められる [9]。

実験感染例では、ウイルスはまず肺のマクロファージと内皮細胞で増殖し、ついで肺のリンパ節で増殖したウイルスが循環系を経て全身に分布する。ウイルスは種々

の臓器で増殖するが、特に脾臓やその他のリンパ系組織で多量のウイルスが検出される。

#### 4 診 断

感染馬の多くは不顕性感染であり、発症した場合の症状もさまざまであり、臨床症状のみで本病を診断することは困難である。そのためウイルス分離や遺伝子検出、抗体検出などの実験室内診断が必要である。

##### (1) 病原学的診断法

ウイルス分離には、鼻咽頭スワブや血液（白血球）、種雄馬では精液が通常用いられる。EVAの野外流行時における感染馬からのウイルス分離は必ずしも容易ではないが、流産胎子からの分離率は高い。剖検例では主要臓器及び付属リンパ節を採取する。ウイルス分離に最もよく用いられる株化細胞はRK-13細胞であるが、LLC-MK<sub>2</sub>細胞、Vero細胞、馬あるいはウサギ腎の初代細胞なども用いることができる [10]。精液では非特異的な細胞障害活性が認められる場合があり、ポリエチレングリコール #6000で精液を前処理することにより有意なウイルス力価の低下を認めずにウイルス分離が可能となる場合がある [11]。

遺伝子検出法としてウイルスのさまざまな遺伝子領域を用いたRT-PCR法、nested RT-PCR法、リアル

タイム RT-PCR 法などが報告されているが [12-14], ウイルス株間で比較的良く保存されている N タンパク質遺伝子を検出するリアルタイム RT-PCR 法が, 検出感度が高い方法として用いられている [12].

## (2) 血清学的診断

補体結合 (CF) 試験及び中和試験が報告されているが, CF 試験で検出される抗体は中和試験と比較して抗体価が低く持続期間も短い. 中和試験が血清学的診断法として最も特異性の高い診断法であり, EVA の確定診断法として国際的に用いられている [10]. 感染馬の血清中の中和抗体は数年にわたって検出される. モルモット補体を添加したマイクロタイター法による中和試験法が標準法として用いられている. しかし時に, 細胞障害活性を有し中和試験の判定を阻害する血清が認められる. この細胞障害活性の原因についてはすべてが明らかになっているわけではないが, 特定の外国製のワクチンを接種した馬血清で認められるとの報告がある. [13]. このような場合には, 被検血清を RK-13 細胞であらかじめ吸収処理をする, あるいは血清とウイルスの混合液をあらかじめシートさせた RK-13 細胞に接種する, といった方法を試みる必要がある.

血清のスクリーニング法として ELISA 法も用いられる.

多検体処理に適しており, 検査当日の判定が可能である. しかし非特異反応が出現するために, 陽性を示した検体は中和試験で確認する必要がある. 使用抗原として精製ウイルス, 組換えウイルスタンパク質を用いた方法などさまざまな報告がある [10, 14, 15]. 安定した結果を得るためには組換えウイルスタンパク質を抗原として用いるのが望ましいと考えられるが, 国際的に統一された方法はまだない. 感染馬血清が反応する主要なウイルス抗原は, ウイルス表面に存在しウイルスに対する免疫応答に重要な GP5 タンパク質, GP5 タンパク質とともに複合体を形成している M タンパク質, ウイルス粒子内部のカプシドを構成している N タンパク質が知られており, これらのタンパク質を抗原とした ELISA が報告されている.

わが国では現在, JRA 競走馬総合研究所と日生研が共同で開発した ELISA 法が用いられている. 本法では N タンパク質と GP5 タンパク質の一部領域を発現させた組換えタンパク質を抗原として用いている [16].

中和試験, ELISA あるいは CF 試験, いずれの血清学的診断法もワクチン抗体と感染抗体を区別することはできない.

## 5 予 防 法

ウイルスが持続感染したキャリア種雄馬は臨床症状を示さないため, このような種雄馬と種付けした場合には

感染した雌馬が発症し, さらに感染雌馬の鼻汁中に排泄されたウイルスが周囲の馬に伝播し発生が拡大する可能性が高い. 発生した場合には, 速やかに種付けを中止し, キャリア種雄馬及び感染馬を隔離する. 流産胎子もビニール袋等に密封する. 馬房, 流産胎子や作業者の衣服, 靴等の消毒を徹底して行うことが水平感染を防ぐ上で重要である. アメリカやヨーロッパなどの本病の発生国では, 抗体検査やウイルス遺伝子の検出によりキャリア種雄馬の摘発を行い, 陽性馬を繁殖に供しないような対策がとられている. 本病の清浄地であるわが国では, 輸入の条件として, ワクチン接種歴のある種牡馬を除き抗体陰性であることが必要である.

ワクチンはおもにキャリアとなることを防ぐ目的で種雄馬に用いられる. 弱毒生ワクチンがおもにアメリカとカナダで, 不活化ワクチンがイギリス, アイルランドなどヨーロッパで使用されている [10].

わが国でも不活化ワクチンが開発されているが [17], 市販はされておらず備蓄しているのみであり, ワクチンの使用を検討するような事態が生じたことはない.

## 6 終 わ り に

わが国は馬ウイルス性動脈炎の清浄国とみなされている. 動物検疫所では, 輸入されるすべての馬について, 血清学的検査を実施しており, ワクチン接種証明のある種雄馬を除き, 抗体陽性馬は輸入が認められていない. ウイルスがいったん生産地に侵入した場合には, 馬産業に多大な損害を与えることから, 今後も海外における本病の発生状況などの情報収集に努め, 本病の防疫対策を継続して実施していくことが非常に重要である.

## 参 考 文 献

- [1] Cavanagh D : Nidoviridales: a new order comprising Coronaviridae and Arteriviridae, Arch Virol, 142, 629-633 (1997)
- [2] Barasuriya UB, Timoney PJ, McCollum WH, MacLachlan NJ : Phylogenetic analysis of open reading frame 5 of field isolates of equine arteritis virus and identification of conserved and nonconserved regions in the G<sub>L</sub> envelope glycoprotein, Virology, 214, 690-697 (1995)
- [3] Doll ER, Bryans JT, McCollum WH, Crowe ME : Isolation of a filtrable agent causing arteritis of horses and abortion by mares; its differentiation from the equine abortion (influenza) virus, Cornell Vet, 47, 3-41 (1957)
- [4] Timoney PJ, McCollum WH : Equine viral arteritis, Vet Clin N Am-Equine, 9, 295-309 (1993)
- [5] Fukunaga Y : Equine viral arteritis: diagnostic and control measures, J Equine Sci, 5, 101-114 (1994)
- [6] Cole JR, Hall RF, Gosser HS, Hendricks JB, Pursell AR, Senne DA, Pearson JE, Gipson, CA : Transmissi-

- bility and abortogenic effect of equine viral arteritis in mares, *J Am Vet Med Assoc*, 189, 769-771 (1986)
- [7] Doll ER, Knappenberger RE, Bryans JT : An outbreak of abortion caused by the equine arteritis virus, *Cornell Vet*, 47, 69-75 (1957)
- [8] Clayton H : 1986 outbreak of EVA in Alberta, Canada, *J Equine Vet Sci*, 7, 101 (1987)
- [9] Del Piero F : Equine viral arteritis, *Vet Pathol*, 37, 287-296 (2000)
- [10] Timoney PJ : Equine viral arteritis (Infection with equine arteritis virus), *Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals 2017*, OIE, (online), ([http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health\\_standards/tahm/2.05.10\\_EVA.pdf](http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/2.05.10_EVA.pdf)), (accessed 2017-08-03)
- [11] Fukunaga Y, Wada R, Sugita S, Fujita Y, Nambo Y, Imagawa H, Kanemaru T, Kamada M, Komatsu N, Akashi H : *In vitro* detection of equine arteritis virus from seminal plasma for identification of carrier stallions, *J Vet Med Sci*, 62, 643-646 (2000)
- [12] Lu Z, Branscum A, Shuck KM, Zhang J, Dubovi E, Timoney PJ, Balasuriya UBR : Comparison of two real-time reverse transcription polymerase chain reaction assays for the detection of equine arteritis virus nucleic acid in equine semen and tissue culture fluid, *J Vet Diagn Invest*, 20, 147-155 (2008)
- [13] Newton JR, Geraghty RJ, Castillo-Olivares J, Cardwell JM, Mumford JA : Evidence that use of an inactivated equine herpesvirus vaccine induces serum cytotoxicity affecting the equine arteritis virus neutralization test, *Vaccine*, 22, 4117-4123 (2004)
- [14] Kondo T, Fukunaga Y, Sekiguchi K, Sugiura T, Imagawa H : Enzyme-linked immunosorbent assay for serological survey of equine arteritis virus in racehorses, *J Vet Med Sci*, 60, 1043-1045 (1998)
- [15] Cung C, Wilson C, Timoney PJ, Barasuriya UBR, Adams E, Adams DS, Evermann JF, Clavijo A, Shuck K, Rodgers S, Lee SS, McGuire TC : Validation of an improved enzyme-linked immunosorbent assays to detect *equine arteritis virus* antibody, *J Vet Diagn Invest*, 25, 727-735 (2013)
- [16] Turan N, Ekici H, Yilmaz H, Kondo T, Hasoksuz M, Sato I, Tuchiya K, Fukunaga Y : Detection of antibodies to equine arteritis virus in horse sera using recombinant chimeric N/G<sub>L</sub> protein, *Vet Rec*, 161, 352-353 (2007)
- [17] Fukunaga Y, Wada R, Kanemaru T, Imagawa H, Kamada M, Samejima T : Immune potency of lyophilized, killed vaccine for equine viral arteritis and its protection against abortion in pregnant mares, *J Equine Vet Sci*, 16, 217-221 (1996)