

我が国で発生した馬伝染性貧血の対応と病性鑑定について

村上賢二¹⁾、小西美佐子¹⁾、亀山健一郎¹⁾、芝原友幸²⁾、川島健司²⁾
独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構 動物衛生研究所
¹⁾ウイルス・疫学研究領域、²⁾病態研究領域

本年3月、我が国で18年ぶりに馬伝染性貧血の発生が報告されました。本記事では、当該事例の病性鑑定結果とともに、併せて本事例の疫学調査から派生した関係馬群の対応等について御紹介します。

I 発生の経緯

平成23年3月、宮崎県が実施した定期検査において、JRA宮崎育成牧場で飼養する馬1頭が、血清学的検査（寒天ゲル内沈降試験、以下「AGID」）により陽性疑いと判定された。当該検体について詳細な検査を実施するため、宮崎県から独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構動物衛生研究所（以下「動衛研」）に検体を送付し病性鑑定を依頼したところ、改めてAGIDで陽性と確認されたことから、3月16日、宮崎県は当該馬を馬伝染性貧血の患者と決定した。

II 動衛研による病性鑑定

1 患者の概要

患者は2008年5月5日生まれで、毛色（栗色）が在来種である御崎馬の基準を満たさないため御崎馬から除外された後、宮崎県内の研究機関を経てJRA宮崎育成牧場へ導入された。

2 鑑定材料

当該馬から3月11日に採取した血清およびEDTA血液と、病理解剖された患者のホルマリン臓器（脾臓、肝臓、腎臓、骨髄）を検査材料とした。

3 検査方法

馬伝染性貧血ウイルス（以下「EIAV」）感染抗体検査、EIAV遺伝子検査および病理組織学的検査を実施した。

(1) 抗体検査

EIAV持続感染細胞培養液より作製したAGID用抗原（OIEマニュアルに準拠）および市販の診断用キットを用いて、AGIDにより血清中の抗体検出を行った。

(2) 遺伝子検査

EDTA血液に0.83%塩化アンモニウム溶液を加え赤血球を溶解し、PBSで洗浄した白血球から抽出したDNAを用いて、OIEマニュアルに掲載されているEIAVgag領域を標的としたPCR検査を行った。

(3) 病理組織学的検査

HE染色およびベルリン青染色（鉄染色）を実施した。

4 検査結果

- (1) 市販キットおよび動衛研にて作製した抗原を用いた AGID において、明瞭な沈降線を形成した (図 1)。
- (2) 1st PCR では遺伝子は増幅されなかったが、ネステッド PCR により特異的な遺伝子断片が増幅され、増幅された PCR 産物のシーケンス解析を行い、系統樹を作成した (図 2)。
- (3) 病理組織学的検査
 - 1) 脾臓では多量のヘモジデリン沈着がみられ、ヘモジデリンを貪食したマクロファージも多数認められた (図 3)。
 - 2) 肝臓のグリソン鞘においてもヘモジデリン貪食マクロファージがみられたものの、その数は少なかった。
 - 3) 腎臓、骨髄ではヘモジデリンの沈着は認められなかった。

5 考察

AGID で明瞭な沈降線を形成し、PCR による遺伝子検査で特異遺伝子を検出したこと、脾臓において馬伝染性貧血に特徴的なヘモジデリン沈着および貪食細胞 (胆鉄細胞) の多数出現が認められたことから、当該馬は EIAV に感染しているものと考えられた。また、遺伝子解析の結果、我が国で 1940 年代 (豪俊株)、1960 年代 (東京株) に分離されたウイルスに類縁であったことから、それらのウイルスに遺伝学的に近い株が御崎馬に保存されていたものと考えられた。

III 発生後の対応

1 JRA 宮崎育成牧場における対応

馬伝染性貧血の患畜摘発を受けて、施設内の消毒・害虫駆除作業を行うとともに、患畜が施設に在厩していた期間中 (2010 年 3 月 26 日～2011 年 3 月 11 日) に施設に在厩していた馬および施設を一時利用した競走馬についても追跡調査を行い、3 月 28 日までに全頭の AGID 陰性を確認した。

2 福岡県における抗体陽性馬の摘発

観光牧場である油山牧場で飼養されていた馬 4 頭のうち、平成 21 年 2 月に宮崎県から導入した馬 1 頭が御崎馬由来の活用馬 (毛色など御崎馬の基準を満たさず、御崎馬群から外に出された馬) であったことから、4 月 6 日に AGID を行い当該馬 1 頭の陽性を確認し、4 月 11 日に殺処分を行った。病理組織学的には、宮崎県の検体と同様、脾臓において馬伝染性貧血に特徴的なヘモジデリン沈着および貪食細胞 (胆鉄細胞) の多数出現が認められ、遺伝子解析の結果、宮崎県の検体に近いものであった (図 2)。

なお、当該馬の飼養期間において、同居馬 3 頭以外との接触はなかった。

3 その他の御崎馬由来活用馬の検査結果

4 県で飼養されていたその他の活用馬 15 頭のうち、飼養が確認できた 13 頭の AGID を行い 5 月 19 日までに全頭の陰性を確認した。また、飼養が確認できない等、検査が実施できなかった 2 頭については、遡って確認できる時点の検査結果として AGID 陰性を確認した。

4 御崎馬群の検査対応

平成 23 年 5 月に野生の御崎馬 96 頭の採血を行い AGID を実施し、12 頭の陽性を確認した。当該陽性馬 12 頭については、7 月 22 日に全頭をとう汰した。

5 ウイルスの遺伝学的性状

2 および 4 で確認された感染馬について、遺伝子学的検査を実施したところ JRA 宮崎牧場で確認された感染馬から検出されたウイルス遺伝子に極めて近縁であった。

IV 感染実験

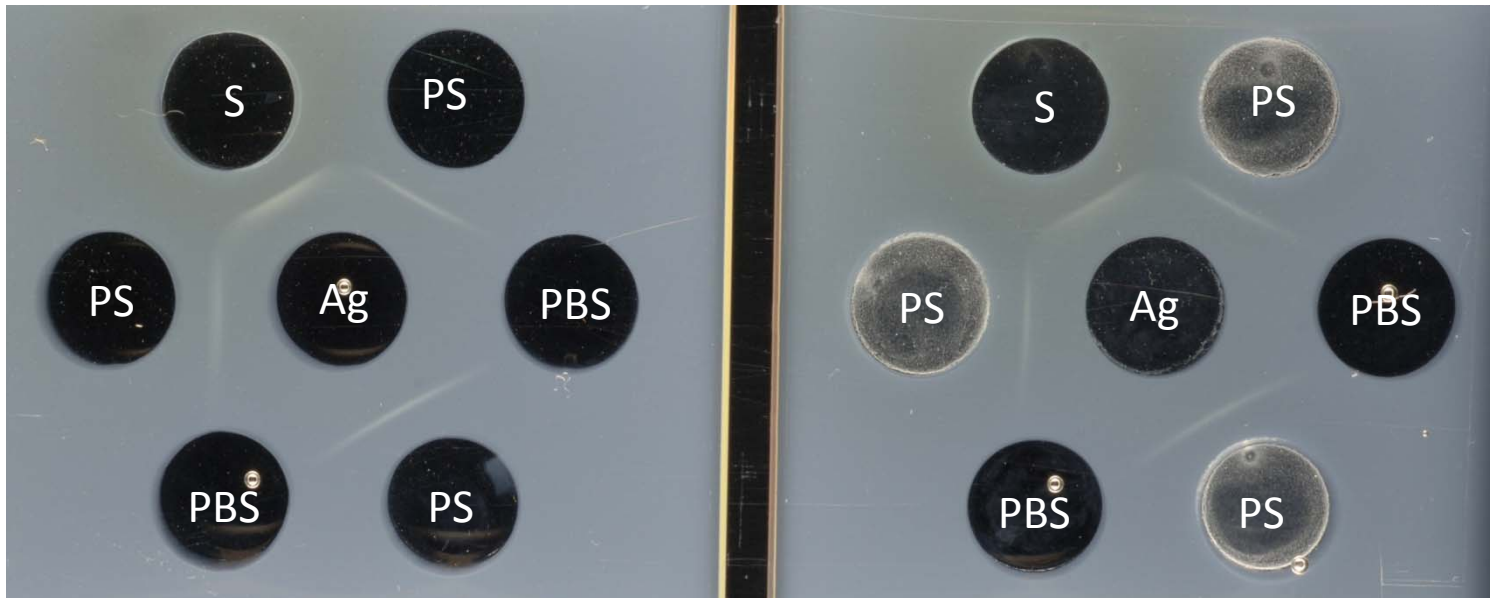
とう汰した御崎馬 1 頭より血液(100 mL)を採取し、赤血球溶血後末梢血白血球をEIA V非感染馬に接種し経過観察を行ったところ、接種後13日目に約40度の発熱がみられ、2日間続いた後、回復した(図4)。また、発熱極期(接種13日)に採材した血液からはEIAV遺伝子は検出されなかったが、接種14日以降は遺伝子が検出された。感染抗体は接種27日より検出された(図5)。これらのことより、被検御崎馬には健康馬に感染可能なウイルスが存在していたことが示された。

V おわりに

今回の検出された EIAV は、我が国で過去に分離されたウイルスと類縁であり、1940 年から 1960 年代のウイルスが御崎馬群で保存されていた可能性が示唆された。5 月に実施された当該馬群の検査で確認された 12 頭の感染馬は、全てとう汰されたところであるが、本病から天然記念物である御崎馬群および国内の飼養馬を守るためには、感染のみられた御崎馬群について定期的な検査を行い、感染馬が摘発された場合にはとう汰するということを確実に実施することが重要である。また、家畜伝染病予防法に基づく検査の対象とならない野生馬については、伝染病の清浄化が不明であることから、当該馬群からの導入は極力避けるとともに、やむを得ず導入する場合には、導入前の検査の実施や一定期間の隔離を徹底する必要がある。

本稿をまとめるにあたり、宮崎県の関係各位ならびに JRA・美浦トレーニングセンター 競走馬診療所および競走馬総合研究所栃木支所の関係各位に深謝する。

(動物衛生研究所ウイルス・疫学研究領域、病態研究領域)



市販キット(日生研)

動衛研抗原と陽性指示血清

図1 寒天ゲル内沈降試験(AGID)

S: 被検血清、PS: 陽性指示血清、Ag: 抗原、PBS: 陰性対象

AGID用ゲル: 日本バイオテスト馬伝染性貧血用 (試験2日目)

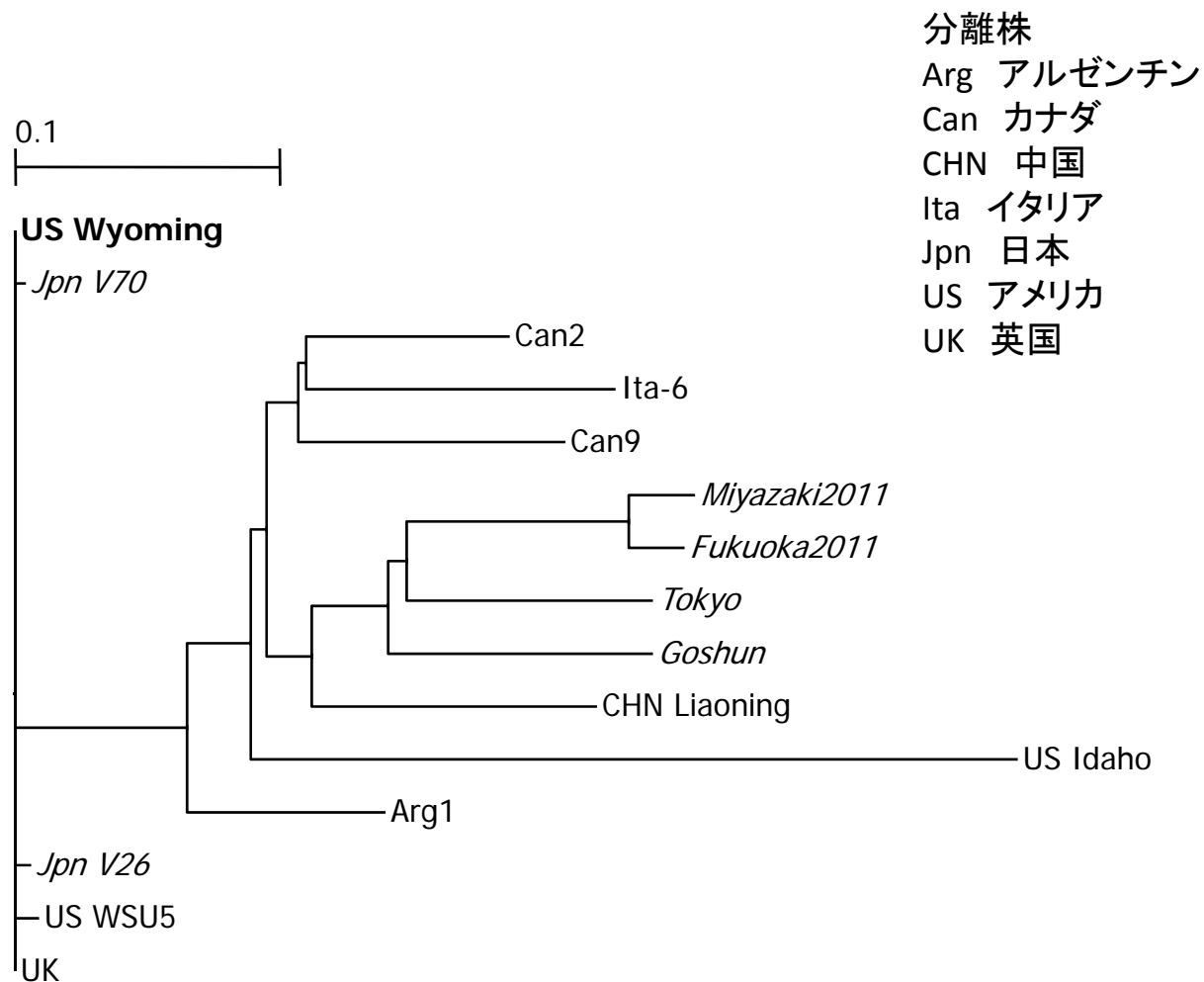


図2 馬伝染性貧血ウイルス(EIAV) gag遺伝子領域を用いた系統樹解析
 黒太字は標準株。斜体文字は日本分離株。Jpn V70、V26はWyoming株の派生株とされる。

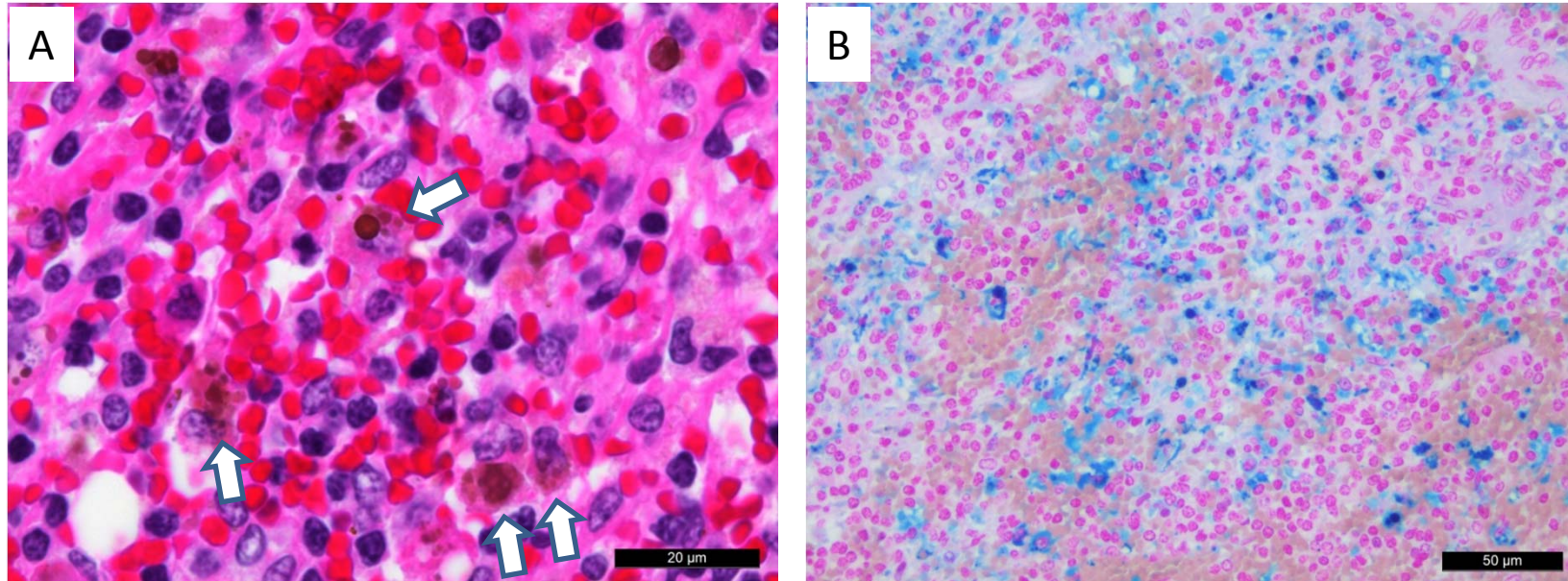


図3 病理組織学的検査

A:脾臓組織中に出血とともに鉄色素を貪食した単球(胆鉄細胞)が認められる(矢印)(脾臓、HE染色、x600)。B:脾臓組織中の鉄色素は青色を呈している(脾臓、ベルリン青染色(鉄染色)、x200)

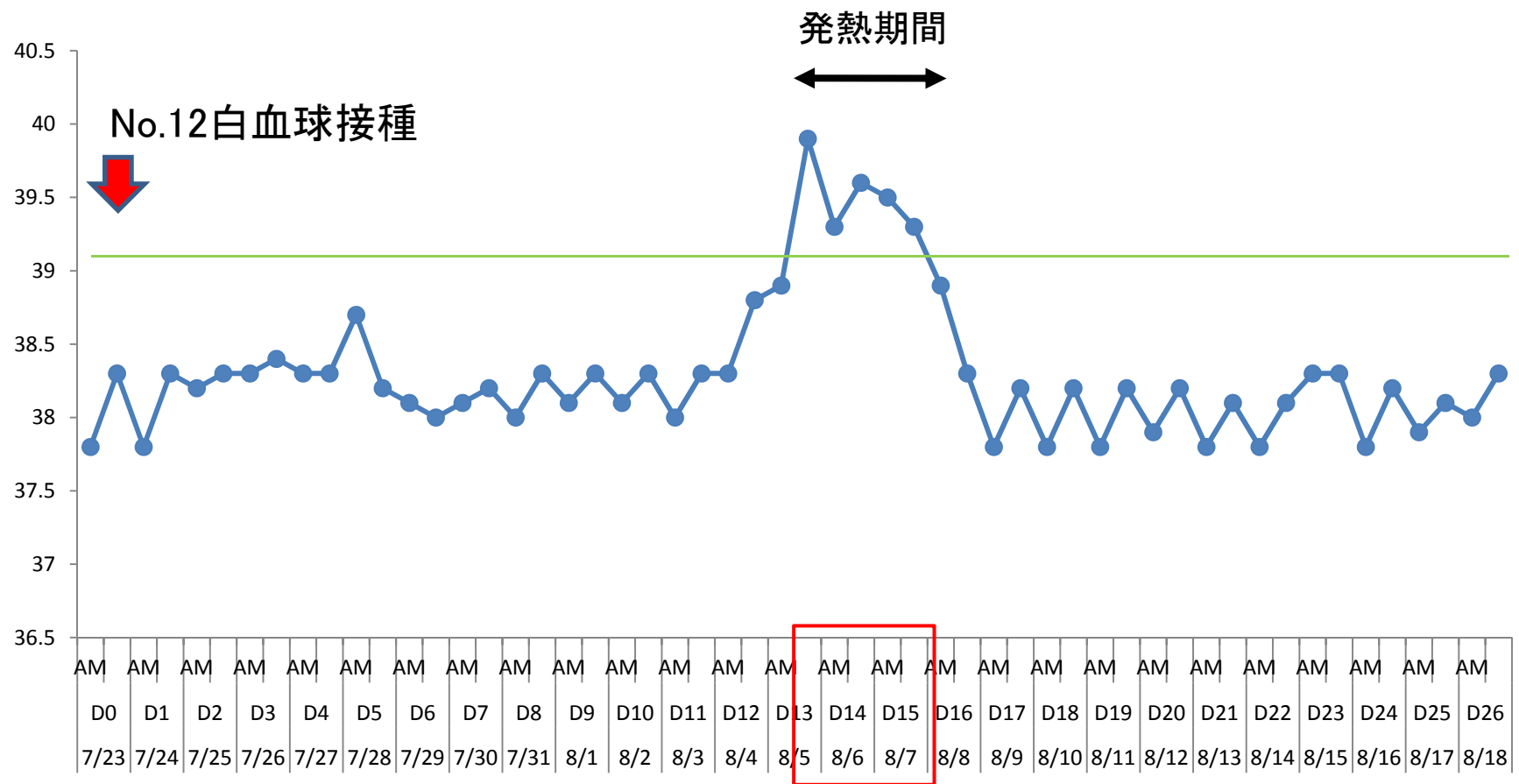
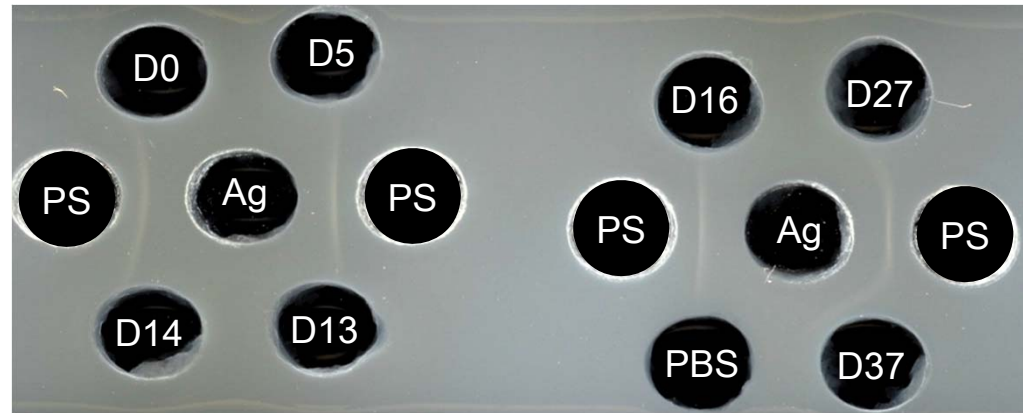
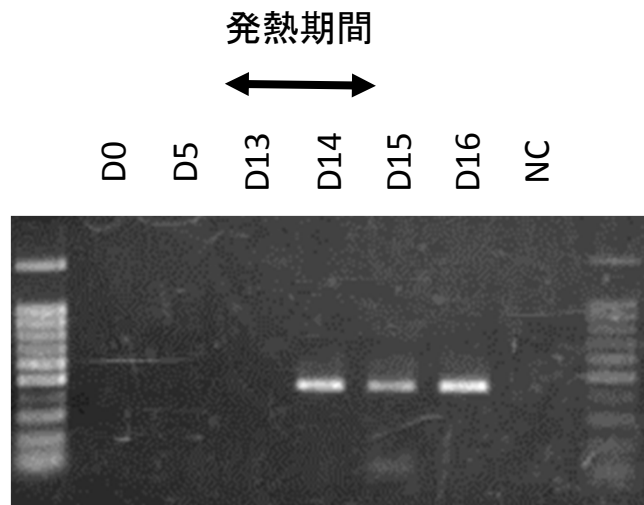


図4 御崎馬末梢血白血球を接種した実験感染馬の体温の推移



寒天ゲル内沈降試験						
D0	D5	D13	D14	D16	D27	D37
-	-	-	-	-	+	++

図5 実験感染馬白血球-DNAからのPCRによる馬伝染性貧血ウイルス遺伝子の検出および感染抗体の検出