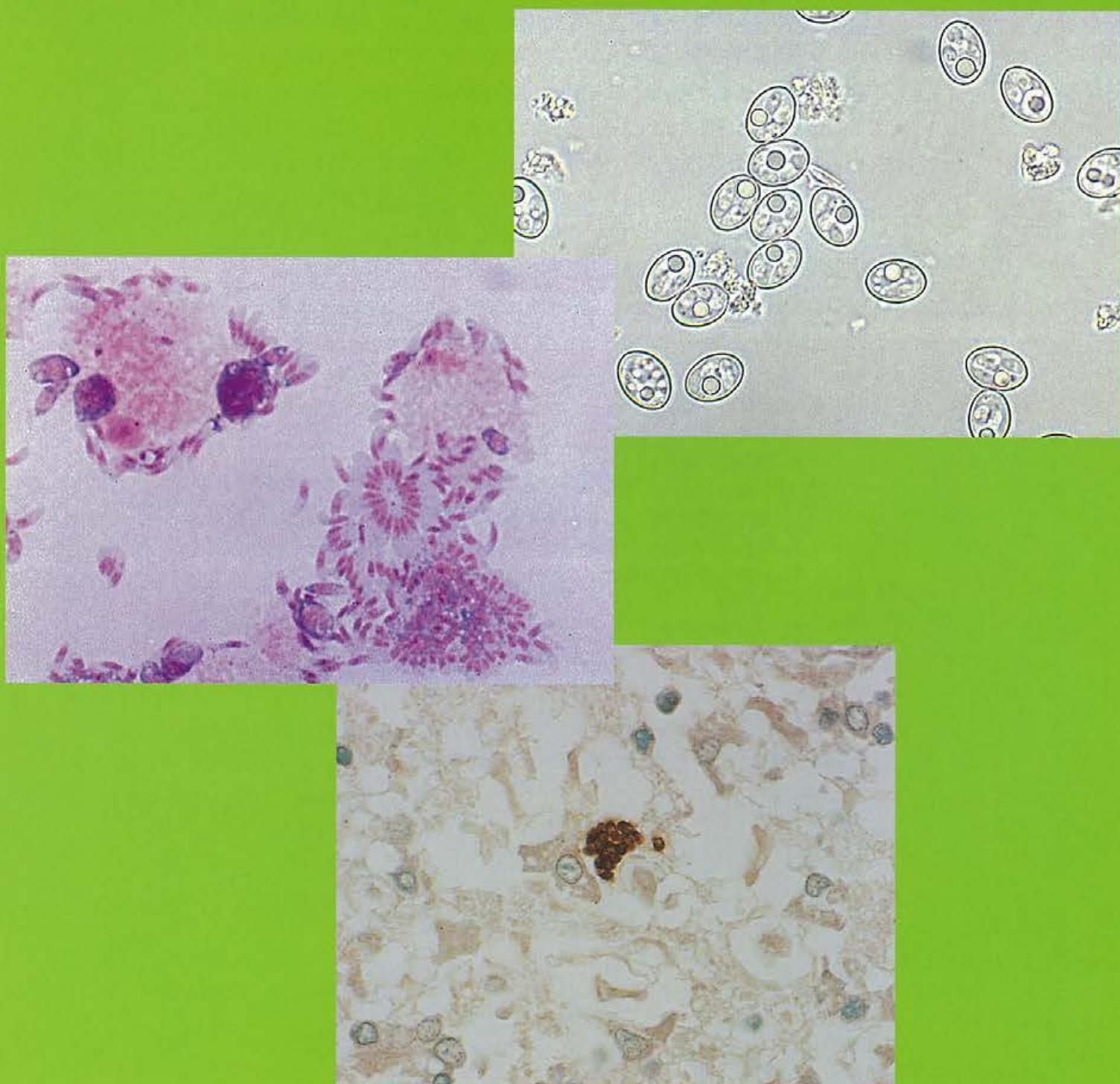


# 馬原虫性脊髄脳炎(EPM)

Equine Protozoal Myeloencephalitis

(第2版)

社団法人 全国家畜畜産物衛生指導協会



## 目 次

発刊にあたって	1
馬原虫性脊髄脳炎要約	2
馬原虫性脊髄脳炎について	3
I. 発生の歴史と疫学	3
1. 発生の歴史	
2. 疫学	
3. 分布	
II. 病原検索	5
1. 病原体	
2. 生活環	
3. 感染	
III. 臨床	8
1. 臨床症状	
2. 臨床生化学的検査	
IV. 病理学的所見	10
1. 肉眼所見	
2. 組織学的所見	
V. 診断	12
1. 臨床診断	
2. 免疫学的診断	
3. 病原体の分離培養	
4. PCR法	
5. 病理学的検索	
VI. 治療と予防	14
1. 治療	
2. 予防	
おわりに	16

## 発刊にあたって

馬の原虫性脊髄脳炎（Equine Protozoal Myeloencephalitis）は米国で多くの発生がみられ、一般的にEPMと呼ばれている疾患です。本病は住肉胞子虫の一種である*Sarcocystis neurona* (*S. neurona*) が馬に感染して脊髄や脳に侵入し、病変が形成されることにより運動麻痺を主徴とする中枢神経障害が引き起こされる病気です。*S. neurona*の生活環については完全には解明されていませんが、現時点では、終宿主としてオポッサムが、中間宿主としてはアルマジロ、アライグマ、スカンクなどが疑われています。馬は、原虫に感染したオポッサムの糞便に汚染された飼料を摂取することにより感染すると考えられています。本病の診断は、脊髄液中の抗体の免疫学的検出、病巣からの原虫の分離培養、PCR法による遺伝子の検出、そして病理組織標本における原虫の証明などによりなされます。本病の発生は世界的には北米を中心で、オポッサムの生息域と一致しています。わが国の自然界にはオポッサムは生息していませんので、本病の感染サイクルは存在していないと考えられています。しかし、近年海外からの馬の輸入増加や国際交流の活発化により、わが国に輸入された馬でのEPMの発生が危惧されていました。そこで、JRA競走馬総合研究所栃木支所では、米国からの本病の診断技術の導入に取り組み、確立することができました。そしてついに、2001年7月に、米国から輸入された競走馬におけるEPMが確認されました。今後さらに本病の発生する可能性があることから、その動向には充分注意する必要があるものと思われます。本小冊子が海外で問題となっている馬の感染症に対する情報源として、防疫の一助になれば幸いです。

社団法人 全国家畜畜産物衛生指導協会

# 馬原虫性脊髄脳炎要約

馬原虫性脊髄脳炎は、海外ではEquine Protozoal Myeloencephalitis (EPM) として知られている疾患である。本病は1960年代、米国で初めて報告されて以来、北米各地で発生が認められている。本病は住肉胞子虫の一種である*Sarcocystis neurona* (*S. neurona*) の感染によって起こる。

一般に、住肉胞子虫は動物の筋肉組織に寄生する原虫で、その病原性はあまり強くないとされているが、*S. neurona*が馬に感染し、脳・脊髄に病変を形成すると、運動麻痺を主徴とする中枢神経障害を引き起こす。*S. neurona*の生活環は現在まだ完全には明らかにされてはいないが、オポッサム（Opossum、和名：フクロネズミ）を終宿主とし、中間宿主としてアルマジロ、アライグマ、スカンクなどが最も疑われている。すなわち、オポッサムは*S. neurona*の寄生した中間宿主の死体を食べることによって感染し、糞便中に原虫を大量に排出する。そして、この糞便中の*S. neurona*にアルマジロ、アライグマ、スカンクなどが感染することで本原虫の生活環が成立している。馬は、原虫に感染したオポッサムの糞便で汚染された飼料を摂取することにより感染する異常な宿主と考えられている。本病

の発生地域は世界的には北米を中心で、なかでも米国では多数の州で発生報告がある。米国以外では中南米での発生報告や米国から英国へ輸入された馬での発生報告がある。本病の疫学調査では、軽種馬における発生が多く、潜伏期は4週間から1年以上と考えられている。症状は、主に進行性運動失調、痙攣および不全麻痺であるが、抑鬱、旋回運動、咬筋や腰殿筋の萎縮、腰痙などを伴うこともある。病原体が中枢神経系のどの部位に病変を形成するかにより、その程度や症状は異なる。米国では、本病の診断法として免疫学的および分子生物学的手法がほぼ確立されている。JRA競走馬総合研究所栃木支所においてもこれら技術を導入し、本病の診断体制の整備に取り組んできた。わが国では*S. neurona*の終宿主と考えられているオポッサムは、自然界に生息していないので、本病の感染サイクルは成立しないと考えられる。しかし、2001年7月には、米国からわが国に輸入された競走馬がJRA競走馬総合研究所栃木支所によって、本病と診断され、わが国で初めての発生が確認された。馬の国際交流が年々盛んになってきた現在、さらに多くのEPM症例がわが国でも発生する可能性がある。

# 馬原虫性脊髄脳炎について

## I 発生の歴史と疫学

### 1. 発生の歴史

馬原虫性脊髄脳炎(Equine Protozoal Myeloencephalitis; EPM)は、1964年に米国の獣医病理学者J. R. Rooneyによる馬の巢状脊髄炎の報告が最初と考えられている。この症例は北東部の競馬場からケンタッキー州に帰ってきたスタンダードブレッドであった。その後、この様な病変の症例は米国の多くの地域の馬で発生が確認された。1974年になって、この病変内にトキソプラズマに類似した原虫が病理組織学的に確認されたことから、本症はEPMとして認知されるようになった。1991年、J. P. DubeyとS. W. Davisは、これら病変の認められた馬の脊髄から原虫を分離・培養することに成功し、本病の原因が*Sarcocystis*属の原虫であることが明らかにされた。この原虫は神経系で成長することから彼らは、*Sarcocystis neurona* (*S. neurona*)と命名した。1993年、D. E. Granstromらは生前診断法として脳脊髄液中の原虫に対する抗体をウエスタンプロット法で検出する手法を開発した。そして1995年にC. K. Fengerらにより*S. neurona*の終宿主がオポッサム(Opossum、和名：フクロネズミ)であることが明らかにされた。このオポッサムはまた鳥類を中間宿主とする別の住肉胞子虫である*Sarcocystis falcatula* (*S. falcatula*) の終宿主でもあり、それが、*S. neurona*の遺伝子配列と類似していたことから、一時、鳥類が*S. neurona*の中間宿主と疑われた。しかし、その後の詳細な検索により、*S. falcatula*と*S. neurona*は異なる種であることが明らかになった。そしてアルマジロ、アライグマ、スカンクなどが*S. neurona*の中間宿主となる可能性の報告がなされるようになった。*S. neurona*の他に原虫によって起きる馬の脳脊髄炎としてはToxoplasma症やNeospora症が知られているが、通常、*S. neurona*によるものを馬原虫性脊髄脳炎と呼んでいる。

### 2. 疫学

最初に行われた大規模なEPMの疫学に関する調査は、1990年R. Fayerらにより報告されている。それは、北米の10カ所の異なる機関から病理組織学的に本症と診断された364例についての解析である。品種別の発生率はサラブレッド、スタンダードブレッド、クォーター ホースの順に高かったが、その他の品種やポニーにもいくらかの発生が認められている。通常、1馬群で1頭程度の発生であるが、まれには、牧場で数頭の馬が発症することもある。発症馬の年齢は2ヶ月齢から19歳までで、4歳以下の馬が61.8%を占めていた。発症馬に性別、地理的または季節的な偏りはないようであるが、アメリカ西部の乾燥した地域ではほとんど発生がない。血清中の*S. neurona*に対する抗体保有率については、オレゴン、オハイオ、コロラドおよびペンシルベニア州で1990年代に行われた大規模な調査があり、オレゴン州とペンシルベニア州では45%、オハイオ州では53.6%、コロラド州では33.6%が抗体を保有し、加齢とともにその保有率は上昇する傾向がみられた。またケンタッキー州では、各牧場において10~30%の抗体陽性率であった。米国以外ではブラジルおよびアルゼンチンの馬においてはいずれも約35%であったと報告されている。EPMの発症率についての報告は少ないが、ケンタッキー州立大学の家畜疾病診断センターの調べによれば、1988-1995年にかけて神経系疾患で受診した馬のうち、本症の罹患率は8~9%であった。またD. E. Granstromは全米の馬全体の0.5~1%が臨床的にEPMであると見積もっている。終宿主と考えられているオポッサムにおける*Sarcocystis*属の寄生率については、路上で死亡した44頭についてJ. P. Dubeyらの報告(2000)があり、*S. falcatula*は47.7%、*S. neurona*は18.1%、そして*S. speeri*は18.1%であった。

### 3. 分布

世界的にみた本病の発生地域は、北米を中心であり、なかでも米国では東部諸州（カリフォルニア、ケンタッキー、フロリダ、イリノイ、ニューヨーク、オハイオ、オクラホマ、オンタリオ、ペンシルベニア、オレゴン、テキサスなど）およびカナダの東部地方に多く発生が

みられ（図-1）、これは終宿主であるオポッサムの分布にほぼ一致している。この他、中南米（パナマ、ブラジル、アルゼンチンなど）でも発生報告がある。

わが国においてはこれまで本病の発生はみられなかつたが、2001年7月JRAのトレーニングセンターで米国からの輸入馬においてEPM発症馬が確認された。

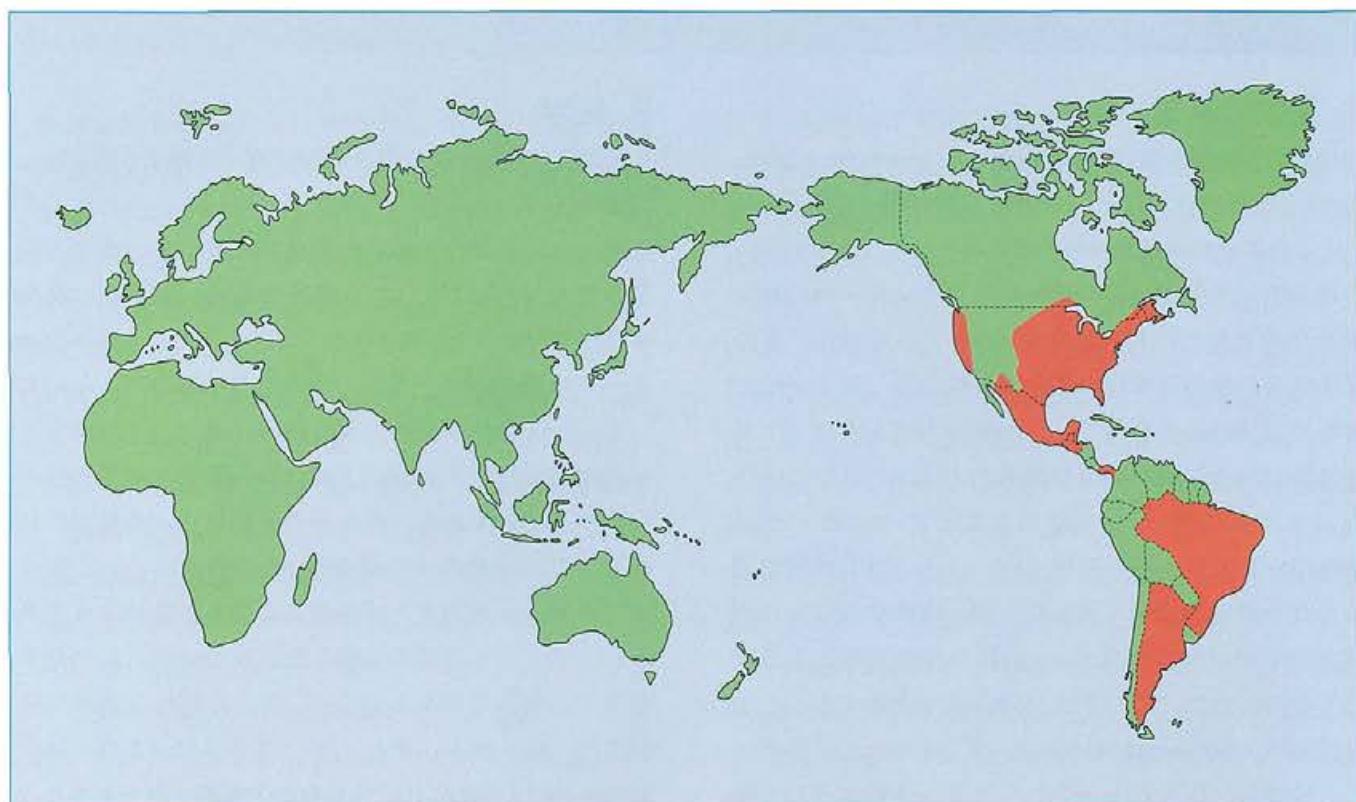


図-1 EPMの発生が確認された地域

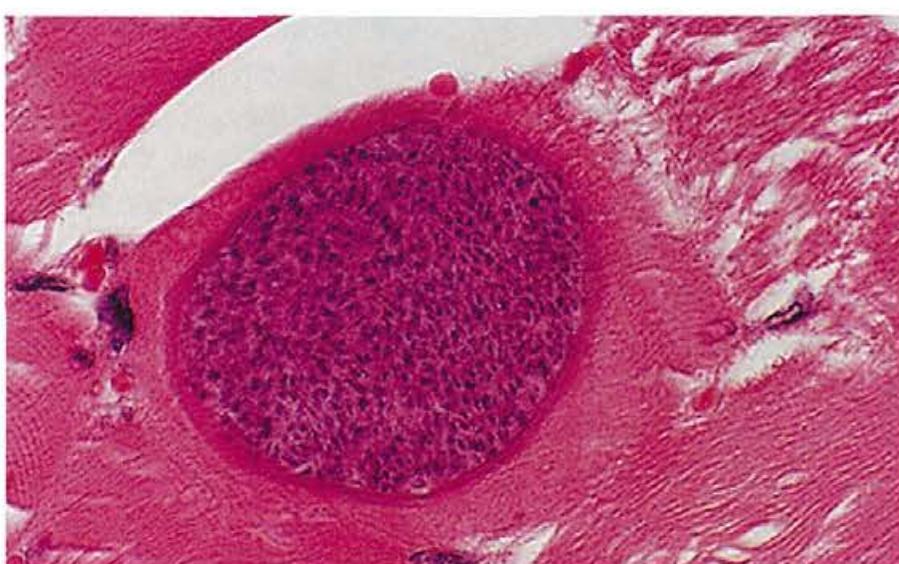


図-2 筋肉内にみられる住肉胞子虫のサルコシスト

：内部には多数のブラディゾイトが存在している。

## II 病原検索

### 1. 病原体

馬に寄生する *Sarcocystis* 属の原虫は、これまで *S. bertrami*、*S. fayeri*、*S. equicanis* および *S. asinus* が知られていた。これらはもっぱら筋肉内にサルコシスト（図-2）を形成するのみで、その病原性はほとんどないと考えられていた。ところが、1964年 J. R. Rooney により示された巣状脊髄炎病巣から、1974年に原虫様の病原体が確認され、1991年 J. P. Dubey らはこの原虫を *Sarcocystis neurona* と命名した。本原虫はアピコンプレックス門の *Sarcocystis* 属の住肉胞子虫の一種で、その特徴としてメロゾイドには極環（polar ring）、円錐体（conoid）、ミクロネーム（microneme）およびペクリ

ル下微小管（subpellicular microtubule）などを保有している。ロプトリー（rhoptry）は観察されないといわれている。本属は、*Toxoplasma* 属、*Besnoitia* 属、*Isospora* 属および *Eimeria* 属と近縁の原虫である。オポッサム（図-3、4）の糞便中に排出されるスプロロシストは  $9.7 \sim 11.4 \times 6.2 \sim 8.4 \mu\text{m}$  で内部にスプロロゾイドが観察される（図-5）。また典型的なメロゾイドは  $4.2 \sim 4.5 \times 1.2 \sim 1.8 \mu\text{m}$ 、シゾントは  $11 \sim 12 \times 5 \sim 7 \mu\text{m}$  である（D. D. Bowman ら 1992）。本原虫の分離培養はウシ単球株化細胞やウマ皮膚株化細胞などを用いて行われており、それら細胞の内外に紡錘形から三日月状のメロゾイドがロゼット状ないし単独で観察される（図-6）。



図-3 木に登っているオポッサム  
(Opossum Society of the United Statesホームページより)



図-4 育児嚢に仔を入れているオポッサム  
(Opossum Society of the United Statesホームページより)

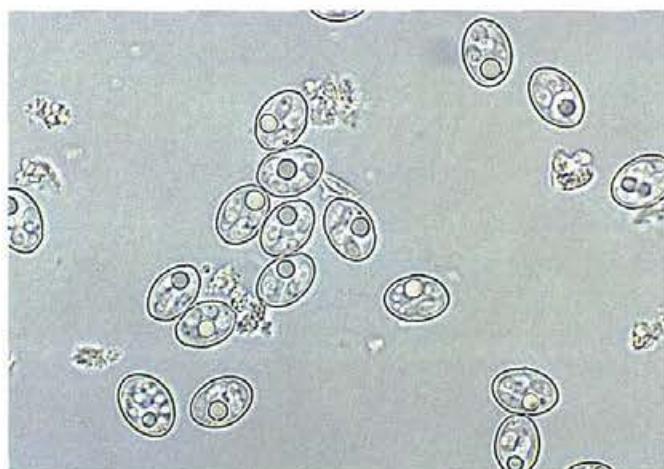


図-5 オポッサムの糞便中に見られた *S. neurona* のスプロロシスト

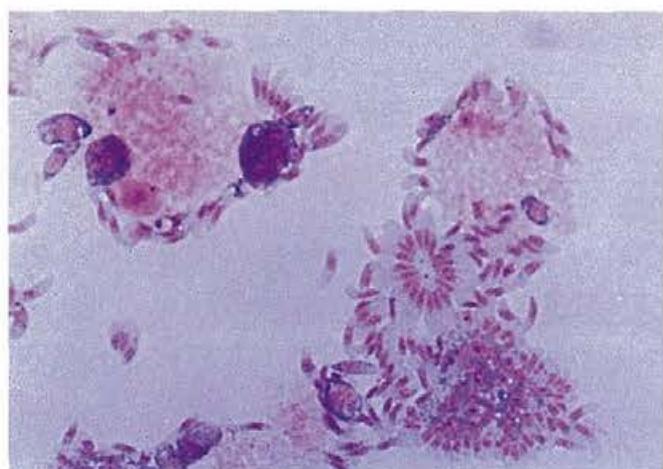


図-6 *S. neurona* のメロゾイド  
：M617細胞（ウシの単球株化細胞）による組織培養

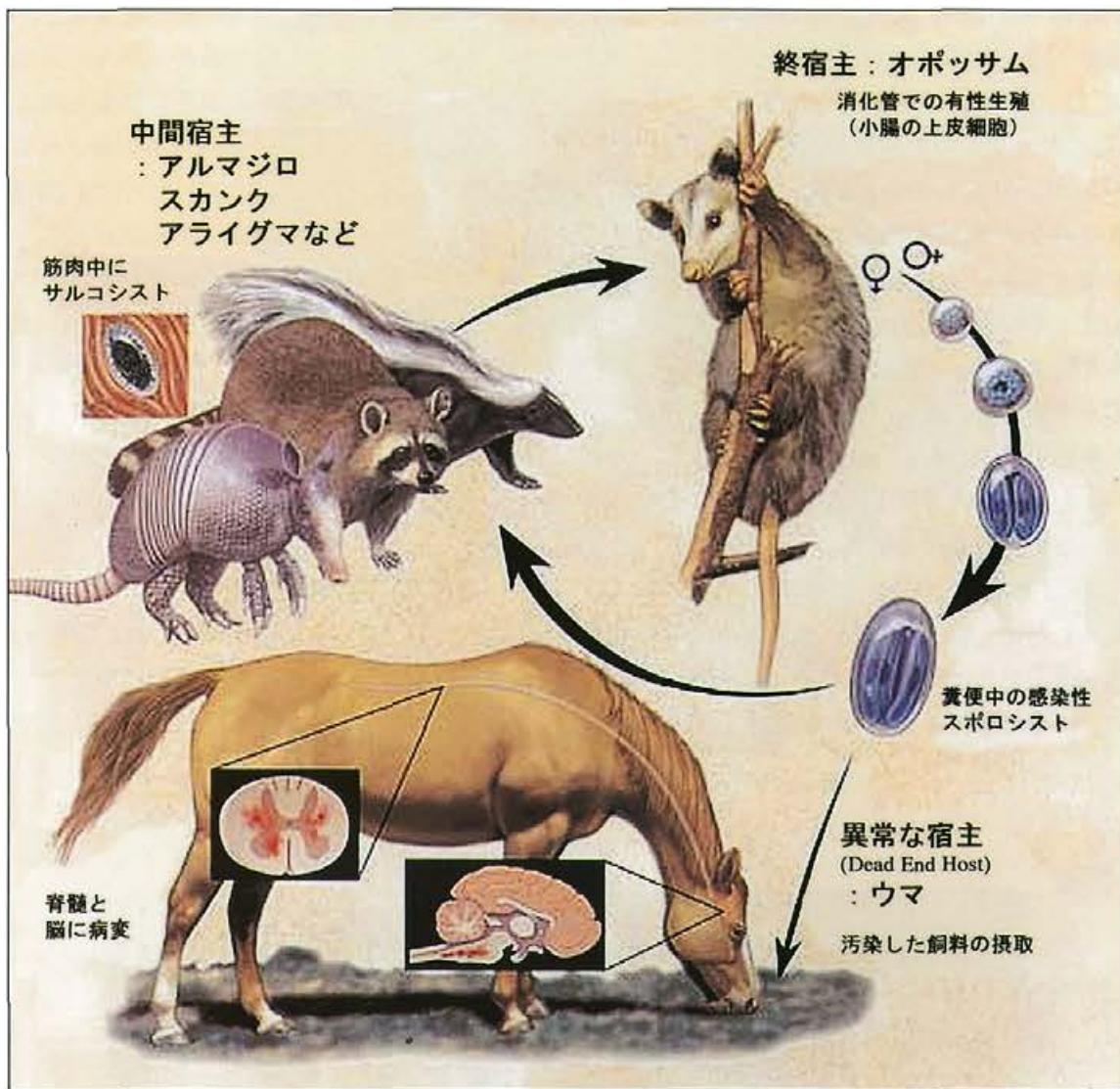
## 2. 生活環

住肉胞子虫の一般的な生活環は、中間宿主の体内で無性生殖を行い、終宿主の体内では有性生殖を営むことである。すなわち、オーシスト（胞子）の形成は、終宿主の体内で行われ、胞子形成オーシストは終宿主から排出される。このオーシスト（あるいはスポロシスト）は中間宿主だけに感染し、中間宿主に摂取されると、宿主の組織内の小血管内皮細胞でタキゾイトの分裂が行われる。その後、これらの虫体は筋肉組織内のサルコシスト（sarcocyst）内でプラディゾイトが増殖する。このサルコシストは終宿主である動物（肉食動物）だけに感染する。終宿主に食べられたサルコシスト内のプラディゾイトは宿主の腸の粘膜上皮細胞すぐにガメトサイトとなり、雌雄のガメートが生じ、これらが合体してザイゴート（接合子）となり、さらにオーシストに変わり、中にスポロシスト（胞子）を形成する。現時点では*S. neurona*の終宿主としてはオポッサム<sup>注)</sup>が、中間宿主としては、アルマジロ、アライグマ、スカンクが考えられている。すなわち、本原虫の感染により筋肉内にサルコシストが形成されたアルマジロ、アライグマ、スカンクなどの中間宿主の死骸を終宿主であるオポッサムが食べ、その糞便中にスポロシストを排泄することによる生活環が考えられている。馬は*S. neurona*に感染したオポッサムの糞便により汚染された飼料を摂取することにより感染するとされ、異常な宿主あるいはDead End Hostと考えられている（図-7）。したがって、本病は馬から馬へ直接感染することはないといわれている。また妊娠馬において胎仔へ垂直感染したとの報告も見当たらない。しかし、牧場で一頭でも発生があれば、同一環境下で飼育されている馬での感染率は高いと考えられる。

## 3. 感染

本病はサラブレッドおよび中半血種の若い成馬で多く発生がみられ、とくに競走馬で頻繁にみられる。重種馬や野生馬ではあまり発生がないようである。潜伏期は、4週間程度の短い期間から1.5年位の長期間にわたるかもしれないと考えられている。この病原体の自然界における終宿主はオポッサムであることが知られているが、自然界における中間宿主はアルマジロ、アライグマ、スカンクなどである。また、ネコも中間宿主になる可能性がある。馬はオポッサムの糞便とともに排泄されたスポロシストを経口的に摂取することにより感染し、EPMの発症は原虫が中枢神経系に侵入して病変を形成した場合に認められる。なお*S. neurona*に感染した馬が、EPMを発症する機序については全く不明である。しかし、γインターフェロンノックアウトマウスに*S. neurona*のスポロシストを投与するとEPMと類似の脳脊髄炎を再現できることが報告されていることから、何らかの感染防御機能の低下が関係しているのかもしれない。

注) オポッサム (Opossum、和名フクロネズミ、学名 *Didelphis virginiana*)：大きなドブネズミに似た有袋類で、フクロネズミ科に属する。米国で唯一の有袋類で体長45cm、尾37cmくらい、尾は裸出して鱗があり、物を巻くことができる。綿毛は白色で、密生し、上毛は長く、黒と白が混在する。足の第一指はよく発達して、他の指と向き合い、育児嚢は完全である。米国各地で普通にみられ、都会にも住み、夜出歩いて果実、根、鳥、卵、トカゲなどを捕食するが、ときにニワトリをもとる。尾を使ってたくみに木に登る。春に6~22仔産み、仔はハツカネズミ大になるまで袋の中で育つ。毛皮はビーバーやヌートリアの代用になる。なおオーストラリアでオポッサムと呼ばれるものは全く別種のフクロギツネ類である。



### III 臨床

#### 1. 臨床症状

通常、住肉胞子虫はヒトや動物の筋肉内に寄生し、顕著な障害はみられない。馬は*S. neurona*の本来の中間宿主ではなく、原虫は馬の中枢神経系に侵入するが、その理由や侵入経路については全く不明である。EPM罹患馬の多くは、中枢神経系の障害に起因した神経症状を示す。EPMの神経症状は、原虫による中枢神経の直接的な破壊に起因するものと、原虫に対する生体側の炎症反応によるものとがある。EPM罹患馬の臨床症状とその程度はさまざまである。これは、中枢神経系の障害の程度・領域・範囲が馬によって異なっているからである。最も一般的な症状は、後軀の非対称性の運動失調症である。運動失調の程度はよく観察しないとわからないような軽度な跛行から、蹄を引きずるような重度な跛行まで認められる（図-8）。運動失調がひどくなると、起立不能に陥る場合もある。また、体表の変化として、障害された脊髄領域から出る末梢神経が分布する体幹や四肢の筋肉で萎縮（神經原性筋萎縮）が認められる（図-9）。このような筋肉

の萎縮も非対称性に起こることが多い。この他の症状として、口唇の弛緩、耳介の麻痺、眼球の異常な動き、視覚異常、咀嚼・嚥下困難、部分的な発汗、斜頸、痙攣、挙動の変化、運動許容量の減退などが報告されている。頭部の神経麻痺は片側性に観察されることが多い（図-10）。EPM罹患馬の流産も報告されているが、直接EPMが原因となっているのか不明である。EPMと似たような症状を引き起こす病気として、中枢神経に影響を与えるような外傷、かびたトウモロコシによる中毒、脳脊髄線虫症、狂犬病、細菌・ウイルス性脳脊髄炎（特にウマヘルペスウイルス1型）、破傷風、ボツリヌス中毒、頸椎の先天異常（wobbler syndrome）、腫瘍、多発性筋炎などがあり、これらの病気との類症鑑別が必要である。

#### 2. 臨床生化学的検査

EPM感染馬の血液の血球成分および生化学検査値は正常範囲である。しかし、脊髄液中のアルブミン濃度およびIgG濃度は上昇することがある。



図-8 EPM発症馬にみられた跛行（後軀の運動失調）



図-9 EPM発症馬にみられた腰・臀筋の非対称性の萎縮  
(米国農務省研究所J. P. Dubey博士提供)



図-10 EPM発症馬にみられた咬筋の萎縮  
(米国農務省研究所J. P. Dubey博士提供)

## 1. 肉眼所見

本病に罹患し中枢神経障害を示す馬では、病変は脊髓および脳にみられる（図-11）。肉眼的に病変は、脳や脊髓の断面において、急性例では限局性の出血巣が散在性に認められ、慢性例では限局性の小さな帯黃褐色病巣が認められる。また、脳脊髄液はしばしば混濁し、増量している。肉眼的に萎縮した骨格筋は、ほとんど皮下の結合組織のみを残すだけの顕著な萎縮を示す場合があり、中枢神経系の障害に起因する神經原性筋萎縮である。

## 2. 細胞学的所見

中枢神経系にみられる病変は、通常の場合、散在性の非化膿性脊髄脳炎で、出血と巨細胞および好酸球を伴った肉芽腫性ないし壊死性脊髄脳炎である。様々なステージの原虫がマクロファージ、巨細胞、時には神絆細胞などの細胞質内あるいは細胞外に集合あるいは単独でみられる。また、細胞内でロゼットを形成することもある（図-12）。壊死巣周辺部では、単核球の囲管性細胞浸潤がみられる（図-13）。他の原虫性脳脊髄炎としては*Toxoplasma gondii*や*Neospora caninum*によるものとの類症鑑別が重要である。



図-11 EPM発症馬の頸髄にみられた出血

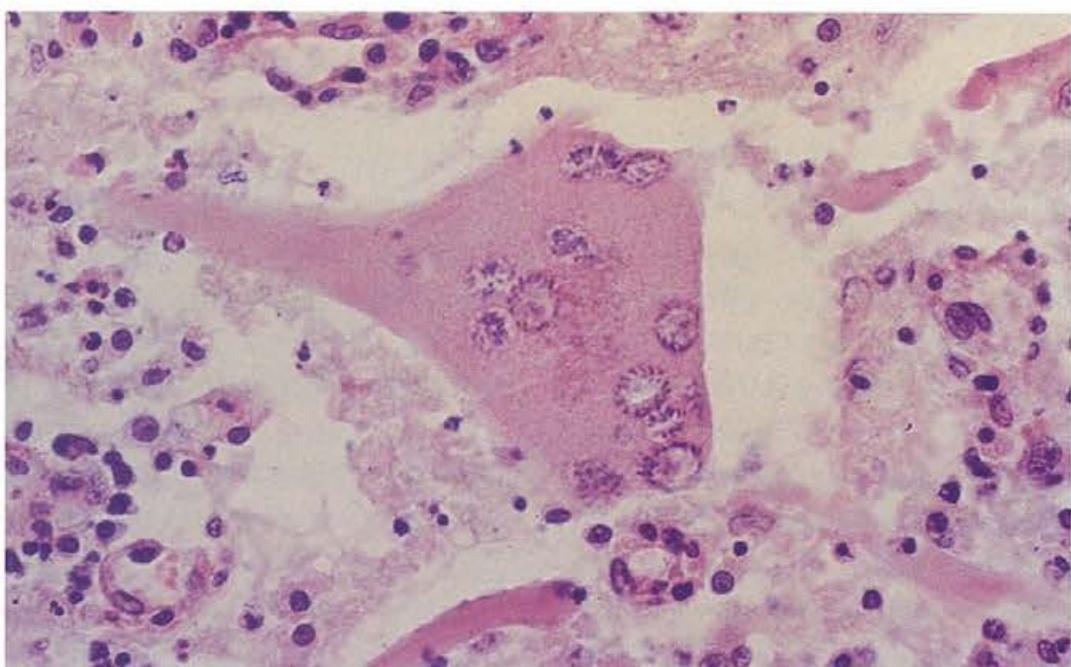


図-12 神経細胞内での*S. neurona*のメラゾイト

：ロゼットの形成がみられる（HE染色）

（米国農務省研究所J. P. Dubey博士提供）

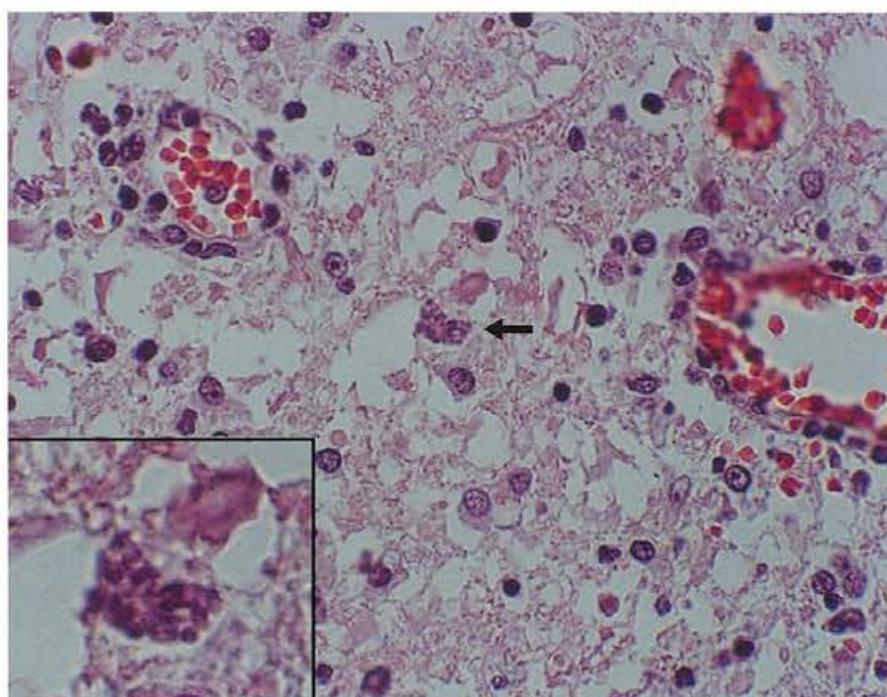


図-13 血管周囲への細胞浸潤とシゾント（矢印）

## 1. 臨床診断

臨床的には中枢神経系の障害を原因とするさまざまな神経症状を呈する。しかし、その程度は病原体による脳や脊髄の障害の部位や程度によりさまざまである。さらに、ウイルス性脳炎やウマヘルペスウイルス感染症、狂犬病、脳脊髄線虫症、その他細菌性の脳脊髄炎、破傷風、中枢神経系の腫瘍や膿瘍などでも類似の症状を示すことがある。また、感染しても症状を示さない（不顕性感染）例も存在するために、臨床症状のみからEPMと診断することは困難な場合が多い。

## 2. 免疫学的診断

血清および脳脊髄液中の、*S. neurona*に特異的な蛋白に対する抗体をウエスタンプロット法で検出する免疫学的診断法が一般的に用いられる。しかし、アメリカの中西部では約50%の馬がEPMに感染しており、血清中の抗体の存在はその馬が以前感染したことがあることを示す証拠にしかならない。一方、脳脊髄液中の抗体はEPMの症状と深い関係にあることが証明されている。したがって、ウエスタンプロット法を用いて脳脊髄液中の抗体を検出する方法は、EPMの診断法として必須である（図-14）。なお、通常では血清中の抗体は脳脊髄液中には存在しないが、血液—脳関門に何らかの障害がある場合は、脳脊髄液中に血清中の抗体が流入し、本病とは拘わりなく陽性の結果を示すことがある。

脳脊髄液の採取は、大きな危険を伴うと考えられがちであるが、実際には腰仙部からの脊髄液採取は手順を踏んで正しく実施すれば安全である。JRA競走馬総合研究所でこれまで実施してきたなかでは、脊髄損傷により運動機能障害を呈したものは全くない。以下に我々が行っている手法を記述する。

### 2-1 脊椎腰仙部からの脊髄液の採取方法

①馬を柵場に入れる。

②剃毛：左右の寛結節後端を結ぶ線と脊椎との交点、つまり最後位腰椎棘突起と仙骨棘突起の間を中心として、約15×10cmの領域。

③消毒：ヒビスクラブとヒビテンで充分洗浄し、イソジンとアルコールで3回消毒する。

④鎮静：500kgの馬でスタドール4mg、キシラジン160

mgの混合液を静注。

- ⑤局所麻酔：2%キシロカインを21Gカテーテル針で②の中心（最後位腰椎棘突起と仙骨棘突起の中間）の皮下1cmに1mlおよび深部に4ml注射。
- ⑥手術用手袋、18G注射針（切皮用）、脊髄穿刺針（18G、長さ18cm）、滅菌ガーゼ3枚、5mlシリジなどを無菌的に準備する。
- ⑦鼻ネジ保定し、②の中心に脊髄穿刺針の刺入部を18G注射針で切皮する。
- ⑧脊髄穿刺針の先端を深さ14cm位まで（皮膚の上部に穿刺針が4cm位残るまで）一気に刺入し、さらにゆっくりと1～2cm進めると硬膜を貫通し、脊髄腔内に針先が入る（硬膜貫通時に馬が動搖することがある）。
- ⑨内套を抜き、5mlシリジでゆっくり吸引。数本採取する（血液が全く混入していない脊髄液が必要）。
- ⑩穿刺針を抜いて終了。
- ⑪脊髄液中に血球が混在していないことを血球計算盤を用いて確認し、ウエスタンプロットに用いる。

### 2-2 ウエスタンプロット法

#### 1) 電気泳動

- ・SDSポリアクリルアミドゲルのサンプルウエルに、それぞれメロゾイト抗原<sup>往</sup>あるいはマーカーを入れる。
- ・電気泳動。

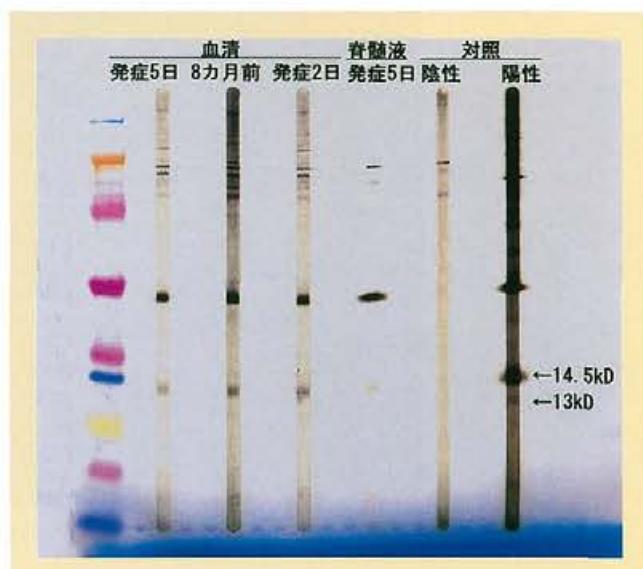


図-14 わが国で初めてのEPM発症馬のウエスタンプロット  
：血清および脳脊髄液に*S. neurona*に特異的なバンド（14.5kD）がみられる

## 2) 転写

- 電気泳動が終了したゲルをとりだして、ニトロセルロース膜に転写。

## 3) ブロッキング

- ニトロセルロース膜をブロックエースでブロッキング（1時間）。
- 洗浄（PBS-T；0.05%Tween20加PBS）5分×2。
- ミニプロッター装置（28SL型）にニトロセルロース膜をセット。

## 4) 抗体反応

- 10%ブロックエース加PBSで血清を10倍に希釈（脊髄液は2倍希釈）。
- ミニプロッター装置のサンプル注入穴に血清あるいは脊髄液80μl入れ、90分間反応。
- アスピレーターで各穴からサンプルを吸引・廃棄後、PBS-Tでフィルターを洗浄。
- ミニプロッター装置からフィルターを取り出し、PBS-Tで洗浄5分×3。
- 抗ウマIgG（2次抗体）と30分反応。
- PBS-Tで洗浄5分×3。
- ABC（ABCキット、Vecta stain Elite）を反応、30分。
- PBS-Tで洗浄5分×3。

## 5) 発色

- HRP発色基質（HRP Conjugate Substrateキット、BIO-RAD）を入れ発色。
- 蒸留水で発色停止。
- 特異バンド（14.5kDa、13kDa、7kDa）の確認

注) メロゾイト抗原の作製法は

Granstromら（1993）の文献参照：

J. Vet. Diagn. Invest. 5,88-90

## 3. 病原体の分離培養

- 病理解剖により脊髄あるいは脳組織を無菌的に採取し、少量のRPMI 1640中で細切。
- M617細胞（ウシの単球株化細胞）を事前にフルシートに培養し、培養液を除去した後に細切した組織液を均一に広げ、37℃で1時間静置する。

- 10%ウシ胎仔血清加RPMI 1640を静かに加え37℃、5%CO<sub>2</sub>で培養する。
- 2～3日おきに培養液を交換し、虫体の有無を倒立顕微鏡および塗抹標本のギムザ染色で観察する（図-6）。

## 4. PCR法

近年、PCR法も診断に利用されるようになっている。この方法は、脳脊髄液やその他の組織中に存在する病原体の持っている遺伝子を検出する方法である。症状が典型的ではない場合や、治療の効果を検討する場合に使われている。治療によって症状が回復した場合は、脳脊髄液中の抗体は消失し、PCR法によても病原体の遺伝子は検出されなくなる。

## 5. 病理学的検索

病理学的診断は、罹患馬の死後、病理解剖を行い、脳や脊髄など中枢神経系を組織学的に検索し、病原体そのもの、あるいはEPMに特徴的な所見を検索する。またこの脊髄あるいは脳組織の組織切片を用いて、他の病原体との区別をする目的で免疫組織化学染色を行う（図-15）。*S. neurona*のポリクローナル抗体を用いた場合は、他の住肉胞子虫との交差反応に注意する必要がある。

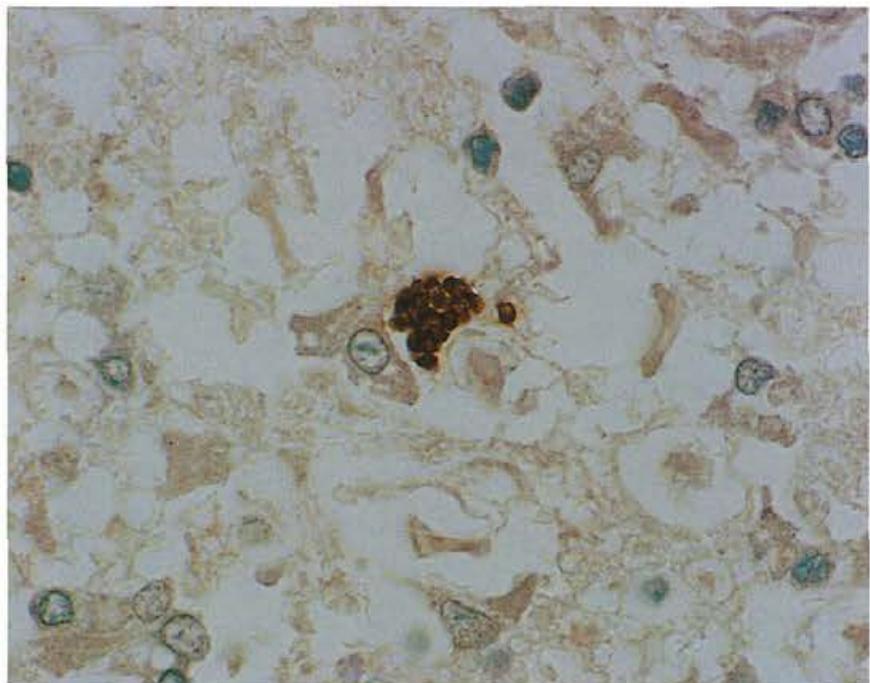


図-15 抗*S. neurona*抗体を用いた免疫組織化学染色  
：シジントが陽性

## VI 治療と予防

### 1. 治療

米国で行われている治療法を以下に記載する。原則的かつ安価な治療法として、SulfonamideとPyrimethamineが用いられる。治療プログラムは大学や診療所によって若干異なっているが、ミズーリー大学の治療プログラムは以下のようである。

- Trimethoprim-Sulfadiazine（またはSulfamethoxazole）の配合剤を15～25mg/kgBWで12時間おきに少なくとも12週間経口投与する。ジヒドロ葉酸還元酵素阻害剤とスルホンアミド系抗菌剤からなる配合剤は、微生物による葉酸の合成・利用における2つの連続的なステップを阻害する。Sulfamethoxazoleの方が、Sulfadiazineよりいくらか安価である。
- Pyrimethamineは葉酸拮抗薬で、有効な抗マラリア薬であるが、これを1.0mg/kgBWで24時間毎に12週間以上経口投与する。
- ビタミンE 5,000単位を12時間おきに経口投与する。症状によっては、DimethylsulfoxideやFlunixinme-gulmineなどの抗炎症例を用いてもよい。

特に急性期には抗炎症療法を行う。しかし、どうしても必要でない限りステロイドは用いてはならない。また、妊娠馬には葉酸（20～40mg/day）を併用してもよい。治療は少なくとも12週間は続けなくてはならない。理想的には、脳脊髄液中の抗体がウエスタンプロット法で陰性になるまで投与しなくてはならない。神経症状が消失しても、さらに4週間の治療が望まれる。約60%の馬が治療により良い反応を示すが、ほとんど正常な状態に回復することは無い。治療開始後4～6週間経っても効果が現れない時には、もはや回復は望めない。罹患馬に対しては休息やストレスの軽減をはかる必要がある。また、治療薬による副作用として貧血、白血球減少症、大腸炎などの発生が報告されている。

近年、他種動物のコクシジウム症に使用されてきたDiclazuril（Clinacox）やToltrazuril（Baycox）なども治療に用いられている。しかしこれらは米国において認可されてはいない。

- Diclazuril（Clinacox）：5～10mg/kgBW/dayを21日間から28日間混飼経口投与。
- Toltrazuril（Baycox）：10mg/kgBW/dayを28日間あ

るいは5mg/kgBW/dayを少なくとも45日間、経口投与。

米国食品医薬品局（FDA）に認可されているEPM治療薬としては、細菌、原虫および腸内蠕虫などに効果のあるNitazoxanide（NTZ）がある。25mg/kgBW/dayを5日間とその後50mg/kgBW/dayを23日間以上、経口投与する。

また最近になって、Toltrazurilを改良した、より安全で効果的なPonazuril（Marquis）がEPMの治療用としてFDAで承認され、使用され始めた。本薬剤はペースト状で専用のシリンジに充填され、正確な量を馬に経口投与できる。5mg/kgBW/dayを28日間投与する。

### 2. 予防

わが国には、*S. neurona*の終宿主であるオポッサムは生息しておらず、また馬から馬への感染も起らないことから、わが国でのEPMの発生は、もっぱら海外で感染した輸入馬である。米国では以下の予防策が推奨されている。第一の予防策は、EPMは、終宿主であるオポッサムの糞便内の*S. neurona*のオーシスト（スポロシスト）が馬に感染して起こることから、原虫に汚染された飼料や飲料水を馬に与えないことである。そのため、*S. neurona*の生活環に関連する野生動物は、牧場の厩舎や放牧地に近づけないことが重要である。オポッサムは、北米の山岳地帯や寒冷地帯を除いてほぼ全域に棲息し、牧場の周辺や牧場内に10～50エーカーの網張りを持っている。従って、多くの牧場で馬はオポッサムと接触する機会が頻繁にあることから馬の飼い葉桶や水桶を常に清潔に保ち、オポッサムの糞便が混入しないようにする。また、飼料置場の管理を厳重にして、オポッサムが飼料置場を荒らさないようにすることが重要である。さらに、オポッサムはヒトの食べ残したフルーツ類や残飯を餌にするため、牧場内で屋外に残飯を無造作に放置したり、食料となるような植物を牧場内に栽培してはならない。第二の予防策として、牧場からオポッサムを隔離することである。オポッサムはねずみ取りなどの生け捕り用の罠で簡単に捕まえることが出来る。さらに、放牧地のフェンスの外側に電気フェンスを設けることによってオポッサムを締め出すことが出来る。ただし、広大な牧場を

囲むフェンスを設けるためには、多額の資金が必要である。また、イヌやネコを飼うことで、オポッサムが牧場に侵入することもある程度は防止出来る。第三の予防策として、*S. neurona*に対するワクチンの接種が考えられ、現在、米国の一帯で使用されているようであ

あるが、その効果については疑問視されている。また、ワクチン抗体の上昇は診断や治療効果判定のよりどころとしている特異抗体との区別が困難となることから、その使用に際しては注意を要する。

## おわりに

馬原虫性脊髄脳炎（EPM）は、わが国には本来存在しない感染性疾患ですが、近年の競走馬の輸入増加に伴い、発生国からの輸入馬における発症が危惧され、一刻も早い本病の診断体制の確立が望まれていました。日本中央競馬会競走馬総合研究所では、本小冊子の作成に対しても多数の貴重な写真を提供していただいた米国農務省研究所のJ. P. Dubey博士やNeogen Co.のC. K. Fenger博士の協力により、ウエスタンプロット法の導入および免疫組織化学に必須の抗*S. neurona*抗体の作製に取り組み、米国と同等の診断技術の確立を図りました。そして、ついに2001年7月にわが国でも本症が最も疑われる症例が発生し、これら手法を用いてわが国で初めてEPM症例を確定診断しました。EPMは馬から馬へは伝染しないとされ、またわが国の自然界には終宿主であるオポッサムも生息していないことから、わが国では本病の感染環は形成されないものと考えられますですが、*S. neurona*の終宿主や中間宿主となりうる野生動物種については未だ研究途上にあり、本病の発生には細心の注意を払う必要があるものと思われます。

また、日本中央競馬会競走馬総合研究所栃木支所におけるEPMの診断体制の確立は、招聘研究としてJ. P. Dubey博士やC. K. Fenger博士の多大な協力のもとで行われました。両氏に心より御礼申し上げます。なお、この研究の遂行には馬事部関係諸氏に多大な配慮をいただき、栃木支所の多くの方々の協力のもとでなされたものです。

日本中央競馬会  
競走馬総合研究所  
片山 芳也  
和田 隆一  
吉原 豊彦

## 刊行の馬感染症シリーズ

1. 馬伝染性貧血診断のための 寒天ゲル内沈降反応の術式	昭和51年
2. 馬伝染性子宮炎	昭和55年
3. 馬ウイルス性動脈炎	昭和56年
4. 馬のサルモネラ症	昭和56年
5. ヴェネズエラ馬脳炎	昭和57年
6. アフリカ馬疫	昭和58年
7. 馬鼻肺炎	昭和58年
8. 馬鼻肺炎ウイルス感染症のための 寒天ゲル内沈降反応の術式と応用	昭和59年
9. 馬伝染性貧血診断のための 寒天ゲル内沈降反応の術式（第2版）	昭和59年
10. 馬のピロプラズマ病	昭和61年
11. 馬の水胞性口炎	昭和62年
12. 馬の寄生虫病	昭和63年
13. 馬ウイルス性動脈炎（第2版）	平成元年
14. 馬のボトマック熱	平成2年
15. 馬トリパノゾーマ病について	平成5年
16. 馬インフルエンザ	平成6年
17. 腺疫	平成8年
18. 子馬のロドコッカス感染症	平成8年
19. 馬鼻肺炎（第2版）	平成9年
20. 馬伝染性子宮炎（第2版）	平成9年
21. 馬原虫性脊髄脳炎	平成10年
22. 馬バラチフス	平成10年
23. 馬の日本脳炎	平成10年
24. 馬ピロプラズマ病（第2版）	平成11年
25. 馬のゲタウイルス感染症	平成11年
26. 馬ロタウイルス感染症	平成12年
27. 馬伝染性貧血の診断術式	平成13年
28. 馬の水胞性口炎（第2版）	平成13年
29. 馬の感染症	平成13年
30. 腺疫（第2版）	平成14年
31. 馬原虫性脊髄脳炎（第2版）	平成15年

日本中央競馬会助成事業

地方競馬益金補助事業

発行 平成15年3月

社団法人 全国家畜産物衛生指導協会

〒106-0041 東京都港区麻布台2-2-1 麻布台ビル  
TEL.03(5570)3561