

馬鼻肺炎

Equine rhinopneumonitis

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
I. 疾病の概要および歴史的背景	2
II. 病原ウイルス	3
III. 感染様式	3
IV. 疫学	4
1. 呼吸器疾患	5
2. 流産	8
3. 神経疾患	10
V. 臨床症状	10
1. 呼吸器疾患	10
2. 流産	10
3. 神経疾患	10
VI. 病理	12
1. 流産胎子	12
2. 神経病変（髄膜脊髄脳症）	15
VII. 診断	16
1. ウィルス学的診断法	16
1) ウィルス分離	16
2) ウィルスDNAの検出	16
2. 血清学的診断法	16
VIII. 予防	17
おわりに	19

発刊にあたって

馬鼻肺炎は、わが国の馬群内で最も頻繁に発生しているウイルス感染症で、その病原体は、若齢馬に呼吸器疾患を起こします。特に、クラシックレースを目標にしている3歳馬群で冬季に発生し、調教あるいは出走スケジュールに大きな影響を与えていています。さらに、妊娠馬の流産の原因にもなり、馬生産農家に大きな経済的打撃を与えています。また、予後不良の神経症状を引き起こすこともあります。

このように、馬鼻肺炎は、ウマの一生についてまわる疾病ですが、現在までのところ完璧な予防法は開発されておりません。このことから、馬鼻肺炎による被害を最小限に抑えるためには、馬鼻肺炎という病気の特徴をよく理解した上で、可能な予防対策と感染の拡大防止策を講じることが重要です。

この小冊子は、当協会が行っています馬飼養衛生管理特別対策の一環として、日本中央競馬会競走馬総合研究所柄木支所松村富夫、近藤高志両氏に執筆をお願いし、先に当協会（1997年出版）で作成した冊子をもとに、新たな研究成果・情報を加えて分かりやすく刷新していただいている。ご執筆者には心から感謝申し上げるとともに、この冊子が馬鼻肺炎の理解と防疫対応のための一助となれば幸甚です。

平成19年3月

社団法人全国家畜産物衛生指導協会

I

疾病の概要および歴史的背景

馬鼻肺炎 (equine rhinopneumonitis) は、ウマヘルペスウイルス 1型 (EHV-1 : equine herpesvirus type 1) あるいは 4型 (EHV-4) の感染によって引き起こされる伝染性疾病の総称であり、発熱性呼吸器疾患、流産および神経疾患が含まれる。馬鼻肺炎を起こす EHV-1 と EHV-4 の両ヘルペスウイルスは、従来馬鼻肺炎ウイルス (ERV: equine rhinopneumonitis virus) と称され(後述)、 EHV-1 は ERV の亜型 1、あるいは流産に関与することから流産型、 EHV-4 は ERV の亜型 2、あるいは呼吸器疾患に関与することから呼吸器型と呼ばれていた。以下の各章では、 EHV-1 か EHV-4 か型別されない場合、あるいは両ウイルスを総称する場合には ERV と記載する。

本病による流産は、1932年米国ケンタッキー大学の農業試験場で最初に確認され、1951年に流産胎子から分離されたケンタッキーB 株 (EHV-1) を用

いた詳細な研究から、このウイルスがウマに呼吸器疾患を引き起こし、感染馬あるいは流産胎子の病巣が呼吸器に集中することが明らかとなり、本病は馬鼻肺炎、病原因子は馬鼻肺炎ウイルスと命名された。一方、わが国では1957年に初めて流産胎子から H45 株 (EHV-4) が分離された。H45株は、米国で分離された株と共に抗原性を有するものの、抗原性に差異のあることが確認され、ERV には 2種類あることが明らかとなった。そして、米国型のウイルス (EHV-1) は亜型 1、日本型のウイルス (EHV-4) は亜型 2 と呼ばれるようになった。また、1966 年にはノルウェーで亜型 1 (EHV-1) による流産発生時、神経症状を呈した種牡馬の脳および脊髄から本ウイルスが分離され、ERV の亜型 1 (EHV-1) が神経疾患をも引き起こすことが明らかとなった。1980年代に入り、分子生物学的研究の進展に伴い、ウイルスDNAの制限酵素切断パターンが亜型 1 と

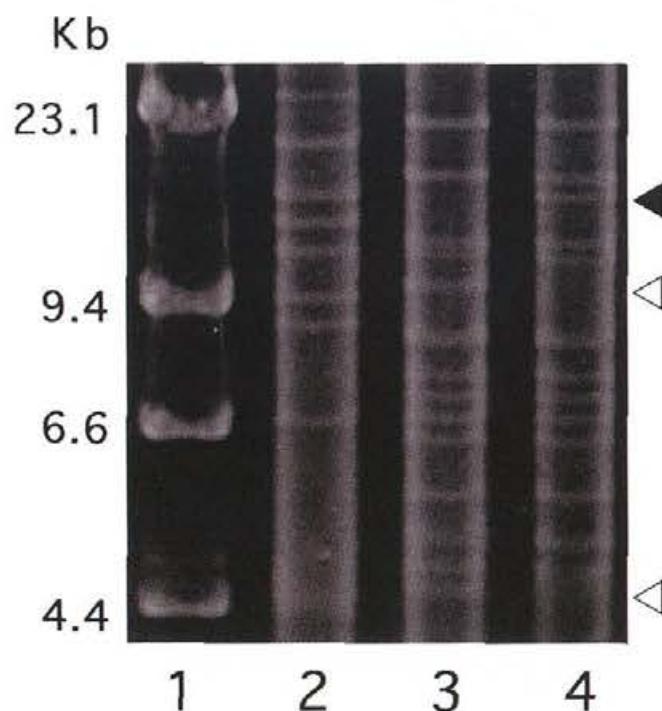


写真 1. EHV-1 と EHV-4 DNA の制限酵素 *Bam* HI 切断像 : 0.7%アガロースゲルで 20V、18時間泳動後エチジウムプロマイド染色。レーン 1 DNA サイズマーカー(サイズはキロ塩基対)、レーン 2 EHV-4、レーン 3 EHV-1 電気泳動型 1P、レーン 4 EHV-1 電気泳動型 1B。△ 1P に認められ、1B に認められない切断片の位置。▲ 1B に認められる変異切断片。EHV-1 と EHV-4 DNA の制限酵素切断像は明らかに異なる。

亜型2で明らかに異なることから（写真1）、それぞれ異なる種のウイルスとして分類すべきと提唱され、現在では、亜型1はEHV-1、亜型2はEHV-4と分類されている。なお、ウマのサイトメガロウイルス（slow growing virusとも称される）は、従来 EHV-2と分類されていたが、DNA解析の結果から現在では EHV-2と EHV-5の2種類に分類されている。いずれのウイルスもウマに対する病原性がないと推察され、馬群内に常在する。また、EHV-3は馬媾疹ウイルス（equine coital exanthema virus）で、ウマの生殖器感染症（外部生殖器に水疱・潰瘍を形成）の原因となる。

わが国では、1957年のH45株の分離に引き続き、

1959年には呼吸器疾患を発症した当（0）歳馬からTH20株（EHV-4）が分離された。さらに、血清疫学的に EHV-1伝播の証拠が認められなかつたことから、当時のわが国の馬群内には EHV-4しか伝播していなかつたと考えられる。ところが、1967年米国からの輸入妊娠馬の流産に端を発し、北海道と千葉県で計96頭が続々と流産を起こし、いわゆる「流産の嵐」と称される流行が起つた。この際に分離されたHH-1株は、EHV-1と同定され、これがわが国における初めての EHV-1による流産の発生となつた。この発生以降、EHV-1と EHV-4の両ウイルスが、わが国の馬群内に伝播することになった。

II 病原ウイルス

EHV-1および EHV-4はともにエンベロープを有する2本鎖DNAウイルスであり、アルファヘルペスウイルスに属する。1992年に EHV-1（150,223塩基対）の、1998年には EHV-4（145,597塩基対）の全塩基配列が決定され、その塩基配列の解析から、ウイルスゲノム上に、EHV-1では80、EHV-4では79の遺伝子の存在が推定されている。なお、倒置反復配列中の重複する遺伝子が EHV-1では4個、EHV-4では3個あるため、実質的な遺伝子の数は両ウイルスとともに76と考えられる。両ウイルスは、ヒトや他の動物のヘルペスウイルス同様、初感染後、体内に潜伏し、体力の低下時やストレスにより再活性化すると考えられている。潜伏部位は、EHV-1では三叉神経節あるいはリンパ系組織、EHV-4ではリンパ系組織と

推察されている。

培養細胞における両ウイルスの増殖性には差異が認められる。EHV-1は、ウマ胎子腎（FKH）、ウシ腎（MDBK）、ウサギ腎（RK13）、アフリカミドリザル腎（Vero）、ハムスター腎（BHK）細胞等、多くの培養細胞で容易に増殖し、その宿主域は広い。一方、EHV-4はウマ以外の細胞では容易には増殖せず、その宿主域は極めて狭い。ただし、EHV-4を大量にMDBK細胞に接種すると、細胞変性（CPE）が出現する。従つて、ウイルス力値の高い流産胎子の肺や胸腺材料を MDBK細胞に接種した場合、EHV-4でも分離できことがある。しかしながら、CPEの進行よりも正常細胞の増殖が勝り、CPEは広がらず修復されてしまうことが多い。

III 感染様式

両ウイルスともに飛沫感染と人や物を介した接触感染により馬群内に伝播する。ウイルスは鼻腔から感染し、上部気道で増殖する。ERVの感染既往のない初感染馬では、どちらのウイルスが感染しても、感染後約1週間連続的に鼻腔からウイルスが排出される。

しかしながら、再感染時にはウイルスの排出期間は短縮される。潜伏期間は、両ウイルスとともに約36~48時間（初感染時）であることから、この期間中感染馬は一見健康であるがウイルスの排出源となる。特に競走馬では、このようなウマが調教を受け、激しい呼吸

とともにウイルス飛沫を鼻腔から排出することにより、調教場に集結している他馬への感染源となる。また、感染馬の鼻に触れた人の衣服や手指、あるいは鼻捻子等が接触感染の原因となる。

鼻腔から排出されるウイルス以外に、生産地では、流産に伴う排出物が感染源となる。ウイルス量は流産胎子の臓器内に最も多いが、胎子体内のウイルスは胸腔や腹腔を開かなければ飛散しない。感染源として重要なのは、破水時に飛散する羊水中のウイルスと考えられる。

ウイルスは感染後、上部気道およびその付属リンパ節で増殖し、血液中（主として単核球内）に移行し、ウイルス血症を起こす。ウイルス血症の発現は両ウイルス間で大きく異なり、ERV の感染既往のない初感染馬では、EHV-1 が感染した場合には、感染後 3 日目頃から約 1～3 週間認められるのに対し、EHV-4 が感染した場合には、感染後 5 日目頃に一過性に認められるだけである。また、ウイルス血症は、EHV-4 感染既往馬の EHV-1 初感染時、および EHV-1 の再感染時には、中和抗体存在下でも感染後 6 日目頃を中心に数日間認められるが、EHV-4 の再感染時には認められない。

1967年以降の EHV-1 の浸潤により、わが国の繁殖牝馬の多くは、EHV-1 の感染既往があると推察される。EHV-1 の感染既往のある妊娠馬では、妊娠によるストレスあるいはホルモンバランスの変化の影響からか、潜伏感染していた EHV-1 が再活性化しウイルス血症を起こすことがある。血流中のウイルスは正常な胎盤は通過できないが、何らかの原因で血中ウイルスが胎盤を通過した場合に、流産が起きる。EHV-1 による流産は、妊娠後期の胎齢 9～11 か月時に好発する。EHV-1 が胎子に到達すると、胎子は 3～5 日

で死亡する。EHV-1 の感染により死亡した胎子は比較的早期に体外に排出される（排出された胎子は新鮮で、腐敗を認めるとはない）。ウイルスの胎盤通過の原因として、子宫胎盤の血管内皮で増殖したウイルスに抗体が結合し、抗原抗体複合体が組織障害を誘起し、胎子胎盤側にウイルスが侵入することが報告されている。また、妊娠後期に好発することから、胎盤内で成長した胎子の動きによる胎盤の機械的損傷に伴う出血も一因ではないかと推察される。さらに、牧場内で EHV-1 による流産が発生した際、他の妊娠馬が同居感染し、流産の続発が 2～4 週後に認められる場合がある。

神経疾患は、ウイルス血症により中枢神経に運ばれた EHV-1 が、子宫胎盤におけると同様に血管内皮で増殖し、それに抗体が結合し、抗原抗体複合体の組織障害によって形成される血栓等が血流を阻害することによって起こる。実験的にウマに EHV-1 を感染させ、神経疾患（流産も）を起こさせることは難しいが、離乳前の子ウマ 6 頭を用いて EHV-1 の接種試験を実施した際に、同居する母ウマ 6 頭中 4 頭が、子ウマへの EHV-1 鼻腔接種約 1 週後に発熱し、熱分利直後に起立不能となった事例に遭遇した。剖検材料の検査の結果、4 頭とも EHV-1 による神経疾患と診断された。その 1 例を図 1 に示した。いずれの母ウマも、子ウマへのウイルス接種時点で、1:5～1:40 の EHV-1 に対する中和抗体を保有していたが、同居する子ウマの鼻から四六時中排出される大量のウイルスに 1 週間暴露され続けた後に発症していた。この事実は、EHV-1 による神経疾患の発症には、EHV-1 に対する抗体保有状況の他に、暴露されるウイルス量と期間が重要となることを示唆しているのかもしれない。

IV 疫 学

一般に、EHV-1 の感染は主に流産と神経疾患の原因に、EHV-4 の感染は若齢馬の流行性呼吸器疾患の原因とされている。最近欧米でも EHV-1 による呼吸器疾患の発生が報告されるようになったが、わが国では以前から、EHV-1 は流産の他に競走馬（特に 3 歳馬）の冬季の流行性呼吸器疾患の原因となっている。一方、欧米で報告の多い EHV-1 の感染による神経疾患の発生はわが国では稀であり、最初に確認されたの

は1989年で、競走馬群で EHV-1 による呼吸器疾患の流行が発生した際に、流行に巻き込まれたウマの数頭が解熱後に神経症状を呈した。その後は、競走馬での発生は認められていないが、EHV-1 による流産の発生時に同居馬群内で神経疾患の発生が散発的に報告されているのみである。また、EHV-1 による呼吸器疾患の発生は、子馬あるいは育成馬群内では報告がない。しかしながら、血清学的に感染したウイルスの型別が

可能な gG-ELISA 法（後述）の開発により、子馬や育成馬群内でも EHV-1 の感染が起きていることがわかつてきている。EHV-4 の起こす疾病は、諸外国におけると同様、主に 2 歳以下の若齢馬の呼吸器疾患であり、 EHV-4 の感染では、ウイルス血症を起こしにくいことから、このウイルスに起因する流産は極めて稀である。

1 呼吸器疾患

JRA のトレーニングセンターの競走馬群内では、様々な理由で発熱するウマが 1 年を通して認められるが、特に冬季（1 ～ 2 月）にその数は多くなる（図 2）。発熱したウマから発症時と回復期に採取したペア血清を用い、ERV に対する補体結合抗体価（両ウイルスの共有する共通抗原を検出しているため、感染ウイルスの型別は不能）の上昇を調査した結果、発熱馬頭数の多い時期に一致して、ERV 感染馬の多いこと、また、その他の時期にも散発的に EHV の感染馬が認められることが明らかとなった（図 2）。さらに、抗体価の上昇した発熱馬から分離されたウイルスの同定結果から、冬季に流行性に発生している呼吸器疾患の原因是、 EHV-1 の感染によることが、また、他の時期には EHV-4 の感染による呼吸器疾患が散発的に発生していることが、明らかとなった（図 3）。図 2、3 の調査期間以降、競走馬における EHV-1 感染症の流行時期がやや遅れ、3 月に認められることも多くなっている。トレーニングセンターにおける冬季の EHV-1 の感染に特徴的なのは、流行に巻き込まれるウマのほとんどが、トレーニングセンターで初めての冬を経験する 3 歳馬という点である。しかしながら、ある年の血清学的調査では、約 1000 頭の 3 歳馬のほとんどが、冬季に EHV を感染していたが、発症したウマはそのうちの約 30 頭であり、多くの感染馬は不顕性感染に終わるものと推察される。毎年の EHV-1 の感染の始まりは、前年以前に感染既往のある 4 歳以上馬に潜伏感染していたウイルスが再活性化して排出されることにより発生するものと推察される。一方、 EHV-4 に感染し発症する競走馬のほとんどは、トレーニングセンターでの冬（ EHV-1 の流行期）を経験してい

ない 2 歳馬である。gG-ELISA 法の導入により、ウイルス分離成績に一致した EHV-1 と EHV-4 の疫学状況が裏付けられるとともに、新たに EHV-1 の感染が流行期以外にも、散発的ではあるが、起きていることが明らかとなった。

生産地においては、季節に関係なく牧場単位で、当歳あるいは 1 歳馬群に、 EHV-4 の感染による呼吸器疾患の流行が認められる（図 4）。 EHV-4 の初感染は、母ウマからの移行抗体の低下する生後 3 か月頃から認められる。初感染後の中和抗体応答は弱く、容易に再感染を受ける（図 5）。実際、 1 歳時春の疫学調査結果は、 90% 以上の 1 歳馬がすでに EHV-4 に対する抗体を保有することを示しており、生後 1 年足らずの間にほとんどの 1 歳馬が EHV-4 に感染している（表 1）。通常、当歳馬群で EHV-4 感染症が流行した場合、 1 歳馬群も EHV-4 の再感染を受けるが、不顕性感染に終わることが多い。また、環境変化によるストレスからか、 EHV-4 感染症は、育成牧場に各生産牧場から 1 ～ 2 歳馬が導入された際にも起こりやすい。一方、 EHV-1 を実験的に子ウマに感染させると、 EHV-4 感染時と同様の呼吸器症状を引き起こすが、野外の生産牧場あるいは育成期の若齢馬から EHV-1 が分離されたことはない。しかしながら、 1 歳春の時点で 10% 弱が EHV-1 に対する抗体を保有しており、生産地の若齢馬群内においても EHV-1 の感染が散発的に起きていることが、 gG-ELISA 法の導入により明らかとなった（表 1）。若齢馬群における EHV-1 感染については、臨床症状との関係等、今後の検討課題となっている。

このように、生まれてから競走馬としてトレーニングセンターへ導入されるまでに、ウマは EHV-4 の感染を繰り返し受けているものと推察される。 EHV-4 の繰り返しの感染により、 EHV-4 に対する免疫が徐々に増強され、それに伴い EHV-1 に対する交差免疫を獲得すると考えられる。競走馬の多くが 3 歳時に初めて EHV-1 に感染しても、不顕性感染に終わることが多いのには、この交差免疫が関与しているものと推察される。

表 1. 流産非発生牧場における 1 歳時春の EHV-1/4 に対する gG-ELISA 抗体陽性率（ 2001 ～ 2005 年）

調査頭数	抗体陽性頭数（陽性率）	
	EHV-1	EHV-4
794	75 (9.4%)	731 (92.1%)

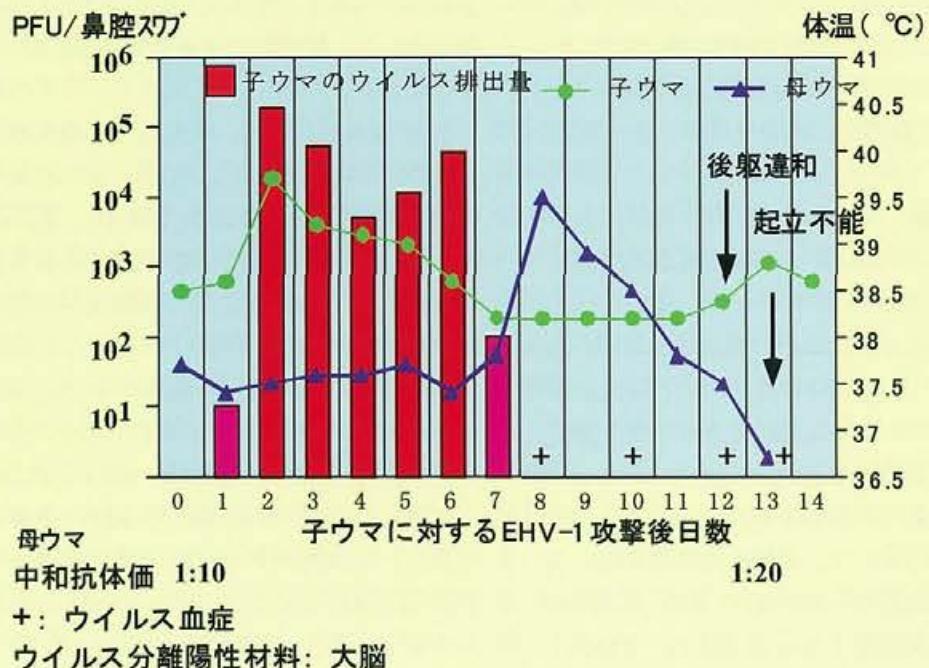


図 1. EHV-1接種子ウマの体温と鼻からのウイルス排出量および母ウマの臨床症状
母ウマは、8日に発熱し、熱分利後に神経症状を呈し、予後不良となった。
体温を折れ線グラフで示した。

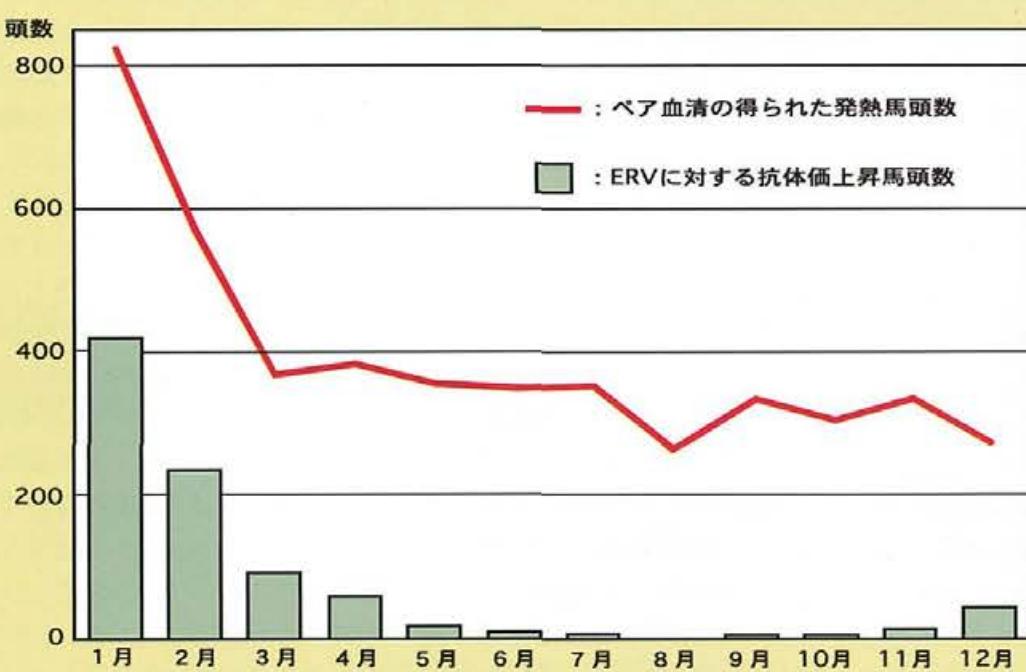


図 2. トレーニングセンターの競走馬におけるペア血清の得られた発熱馬と ERV に対する抗体価上昇馬の月別累積頭数 (1980~1990 年)：
発熱馬の多い時期に一致して ERV の感染馬が多く、ERV の感染が冬季の発熱馬の増加の原因となっている。

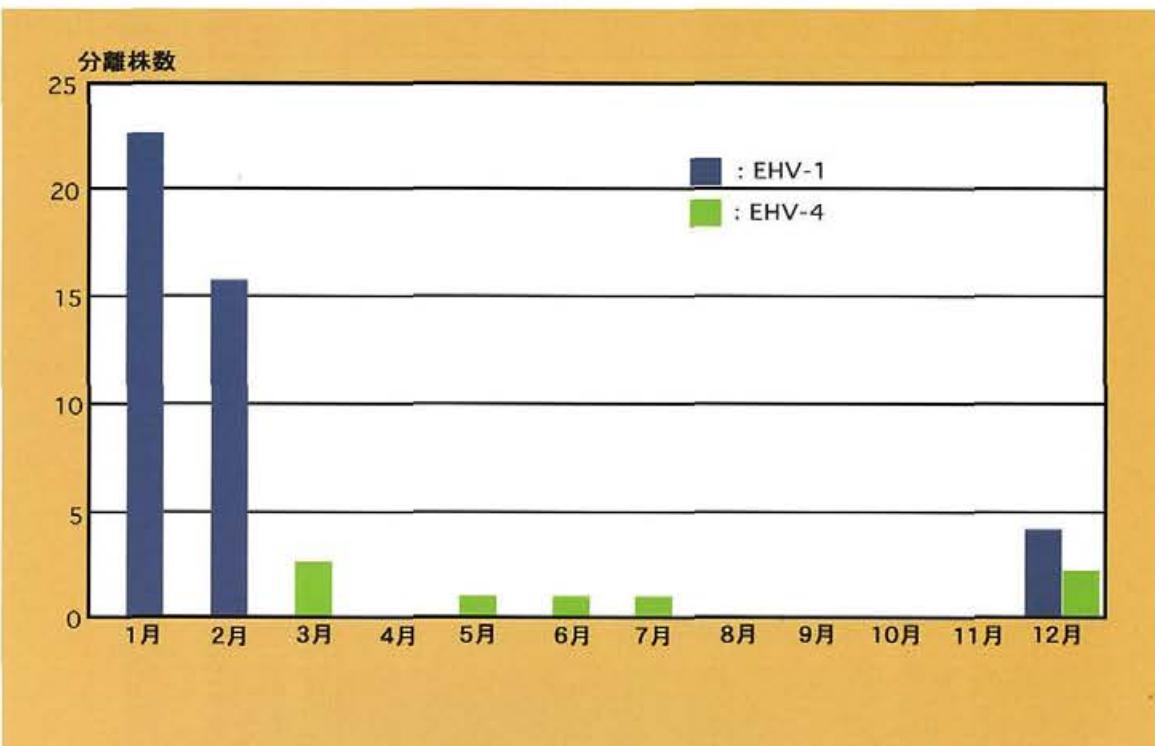


図3. トレーニングセンターの競走馬群において発熱馬から分離された EHV-1 と EHV-4 の月別分離株数 (1980~1990年) :
EHV-1 は冬季にしか分離されず、冬季の発熱馬の増加の原因となっている馬鼻肺炎は、EHV-1 の感染により発生していることがわかる。

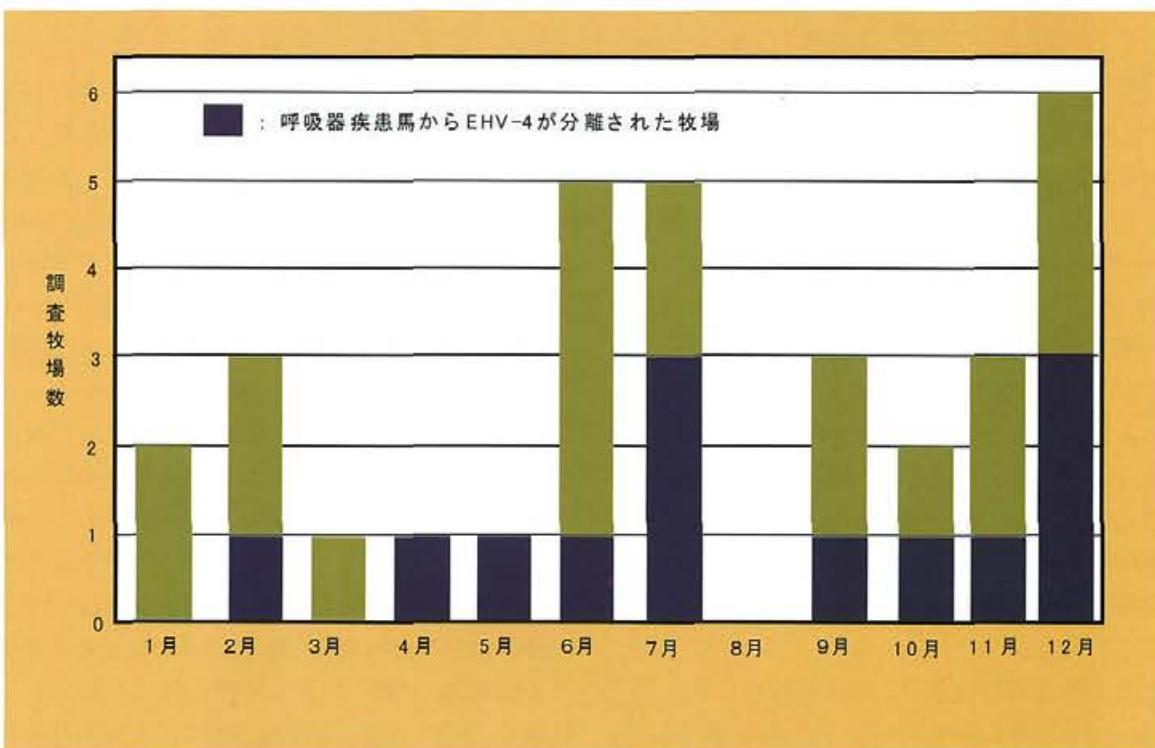


図4. 調査した呼吸器疾患発生牧場における EHV-4 の伝播状況 :
生産地においては、1年を通して若齢馬群内に EHV-4 が伝播している。
〔調査地および期間：北海道日高および胆振支庁。1987年6月、7月、1988年7月～1989年5月〕

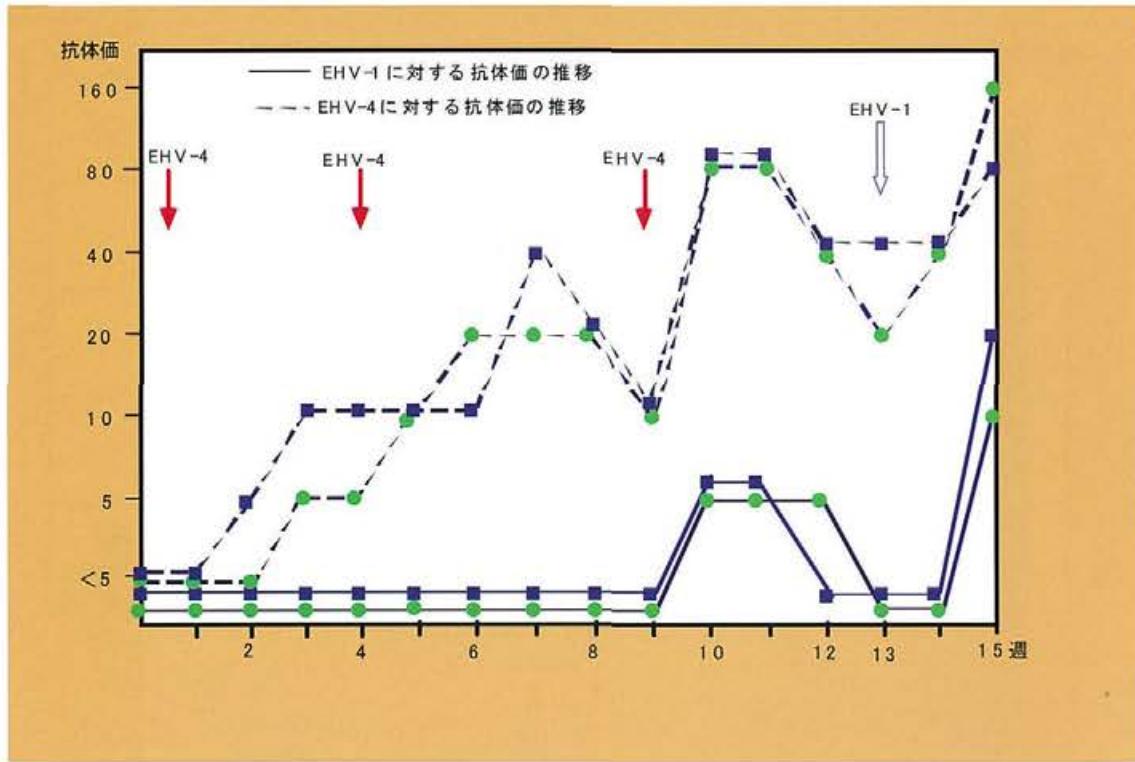


図5. 2頭の実験馬に EHV-4 および EHV-1 を4回接種した際の両ウイルスに対する中和抗体価の推移：

矢印は各ウイルスを馬に接種した時点を示す。3回目の EHV-4 接種後およびその後の EHV-1 接種後には両ウイルスに対する中和抗体応答を認め、どちらのウイルスに感染したのかは血清学的には判別できない。

2. 流産

生産地で認められる ERV による流産と診断された胎子から1982年以降に分離されたウイルスは、すべて EHV-1 と同定されている。EHV-1 は1967年に初めてわが国へ侵入して以来、毎年のように約 10~40 例の流産を引き起こしている（図6）。それ以前は、 EHV-4 の感染が散発的流産の原因となっており、また、1991年に九州の重種の繁殖牧場で、輸入妊娠馬が EHV-4 により流産した例があり、 EHV-4 も流産の原因にはなるが、世界的にも EHV-4 による流産の発生報告は少ない。従って、生産地の牧場において、子ウマに EHV-4 による呼吸器疾患の流行が発生しても、その流行が妊娠馬の流産に結びつくことはほとんどない。

EHV-1 による流産の発生は、同居妊娠馬への水平感染の源となり、流産の続発例が 2 ~ 4 週間後に認められることがある。流産の発生に伴って、同居馬が EHV-1 に感染し、神経症状を発症する例はわが国では少ないが、欧米では数多く報告されている。これまで、呼吸器疾患を呈した若齢馬からは EHV-4 しか分

離されていなかったことから、若齢馬の存在が EHV-1 による流産に関与する可能性は低いと考えられていた。しかしながら、gG-ELISA 法を用いた流産発生牧場における同居 1 歳馬の血清疫学調査結果は、流産が多発する牧場では、1 歳馬が牧場内での EHV-1 の増幅・伝播に関与している可能性を示唆している。すなわち、流産発生牧場の 1 歳馬の EHV-1 抗体陽性率 (26.1%) は、流産非発生牧場のそれ (9.4%、表 1) よりも明らかに高かった (表 2)。さらに、流産発生頭数により牧場を区分したところ、1 頭のみの牧場では、陽性率が 10.8% と流産非発生牧場における陽性率とあまり変わらなかったが、2 頭以上発生した牧場の陽性率は 41.5% と極めて高いことが明らかとなった。流産の多発した牧場を個別にみると、流産の初発後に 1 歳馬群の EHV-1 に対する抗体が陽転している牧場と、流産の初発時点ですでに 1 歳馬群が最近の感染を示唆する高い EHV-1 抗体価を示している牧場のあることがわかった。前者の牧場では、流産初発後に 1 歳馬群にも EHV-1 の水平感染が起こり、後者の牧場では、流産発生前に 1 歳馬群内に EHV-1 が

伝播していたと推察される。これら1歳馬群における EHV-1 の伝播・増幅は、同居妊娠馬への感染機会を増加させ、それが流産の多発に結びついているのかもしれない。しかしながら、これらの1歳馬群では臨床上の異常は記録されておらず、妊娠馬も EHV-1 に感染しても流産以外の臨床症状を示さないことから、事前に牧場内での EHV-1 の伝播を発見することは困難である。

米国における分子疫学調査では、EHV-1 には少なくとも16種類の異なる電気泳動型が存在することが報告されている。さらに、ケンタッキー州で発生した EHV-1 による流産は、ほとんど電気泳動型 1 P

(プロトタイプ) ウィルスによるものであったが、1980年以降電気泳動型 1 B ウィルスによる流産が増加し、現在では、この2種類の電気泳動型ウィルスが流産に関与している。一方、わが国で競走馬あるいは妊娠馬に伝播している EHV-1 は、1 Pのみであったが、1994年にケンタッキー州からの輸入妊娠馬が流産した際に分離された EHV-1 が 1 B と同定され、わが国へ EHV-1 の電気泳動型 1 B が侵入したことが明らかとなった(写真1)。その後、生産地では 1 B による流産が認められるようになったが、散発的であり、競走馬群への伝播はこれまでのところ認められていない。

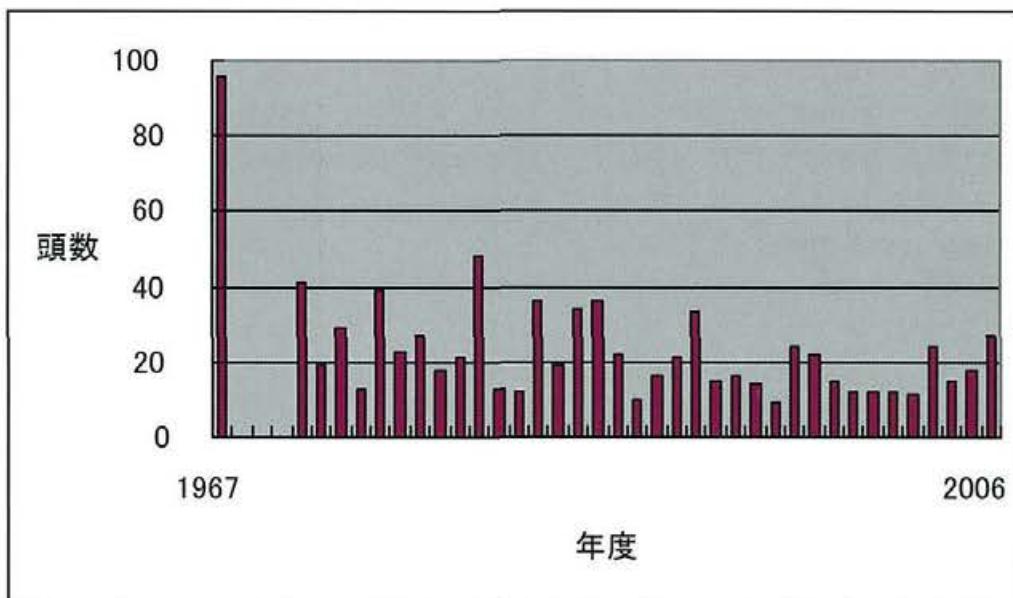


図6. わが国の軽種馬におけるERVによる年度別流産発生頭数
(日本軽種馬協会の資料より)

表2. 流産発生牧場における同居1歳馬の EHV-1に対する gG-ELISA 抗体陽性率 (2001~2005年)

流産発生牧場 (数)	調査頭数	陽性頭数	陽性率
全体 (27)	165	43	26.1%
[内訳]			
1頭のみ流産 (13)	83	9	10.8%
複数頭流産 (14)	82	34	41.5%

1歳馬が同居していた27牧場の調査結果。

3. 神経疾患

近年、EHV-1によるウマの神経疾患の実験動物モデルとしてハムスターが有用であることが明らかとなり、わが国で分離された EHV-1には、ハムスターに対し、神経病原性を示す株と示さない株のあることが報告されている。電気泳動型 1 P にはどちらの株も存在するが、1 B には神経病原性を示す株は認められていない。われわれが EHV-1 の生ワクチン候補株として作製した gE 遺伝子欠損株は、親株がハムスターに神経病原性を示すのに対し、神経病原性を消失して

いる。電気泳動型 1 B の変異は、EHV-1 の転写調節遺伝子である前初期遺伝子の 1 部が EHV-4 の相同部位と組換ったものであることが報告されていることから、gE 遺伝子とともに前初期遺伝子も、EHV-1 の神経病原性に関与する遺伝子と考えられている。また、EHV-1 の DNA ポリメラーゼ遺伝子上の点変異も EHV-1 の神経病原性に関与することが報告されている。ただし、神経病原性を有する株が感染したとしても、感染馬が必ずしも神経疾患を発症するわけではなく、わが国ではその発生頻度は低い。

V

臨床症状

1. 呼吸器疾患

ERV の感染既往のない子ウマでは、EHV-1 あるいは EHV-4 の感染後の症状はほぼ同じである（図 7, 8）。すなわち、感染後概ね 2 日で体温の上昇を認め、39.0～40.7°C の発熱が約 5 日間続く。発熱とほぼ同時にやや遅れて水様性の鼻汁が認められ、翌日から約 3 日間粘性の強い多量の膿性鼻汁が認められる。その後膿性鼻汁の量は徐々に減少し、水様性鼻汁が認められてから 10 日位で鼻汁は消失する。また、下頸リンパ節の腫脹は、発熱 2～3 日後から認められるが、EHV-1 に感染したウマの方が EHV-4 に感染したウマに比べ、腫脹の認められる期間は長引く傾向にある。食欲の減退は発熱初期および高熱時に認められることがある。これらの症状およびその発現期間は、治療を施さなかった場合のものであるが、患馬を良好な衛生環境下で安静に保てば、肺炎症状に移行することはない。野外でこのような典型的な臨床症状が認められるのは、主に当歳馬が EHV-4 の初感染を受けた場合である。初感染後の抗体応答は弱く、容易に EHV-4 の再感染を受けるが、その場合には症状は初感染時に比べ軽減するか、不顕性感染に終わる。

競走馬のほとんどは牧場時代に EHV-4 の感染既往があり、トレーニングセンターで EHV-1 に初めて感染しても、EHV-4 による交差免疫により、EHV-4 の再感染時同様、その症状は軽減される。また、不顕性感染に終わるウマも多い。症状は通常、一過性の発熱（1～2 日間、38.2～40.0°C）のみで終わることが多く、鼻漏や下頸リンパ節の腫脅を認めるることは少

ない。インフルエンザ感染時のような自発性咳嗽はみられない。EHV-4 に感染し、発症する競走馬（主に 2 歳）の症状も同様である。

2. 流産

EHV-1 による流産は突発性であり、繁殖牝馬には何の前兆も認めないことが多い。この流産は、繁殖牝馬のその後の受胎率には影響しないと考えられている。

3. 神経疾患

わが国での EHV-1 の感染による神経疾患の初発生は、1989年に競走馬群内で EHV-1 による呼吸器疾患の流行があった際に認められた。呼吸器疾患を発症したウマの数頭において、解熱直後から後軀麻痺による歩様異常が認められ、重症馬では起立不能、尿失禁、あるいは顔面神経麻痺の症状を示した（写真 2）。起立不能に至らなかった軽症馬は約 1～2 週間で回復し、その後競走馬に復帰可能であった。起立不能に陥った重症馬 2 頭も、人為的に寝返りさせる等の適切な介護により、約 24～48 時間後には自力で起立できるまでには回復したが、後遺症が残り、競走能力は喪失した。この際には、2 頭とも起立できるまでは回復したが、起立不能に陥った場合には予後不良となることが多い。その後、EHV-1 による神経疾患は、生産地の流産発生牧場で数例報告されているのみであるが、いずれも予後不良となっている。

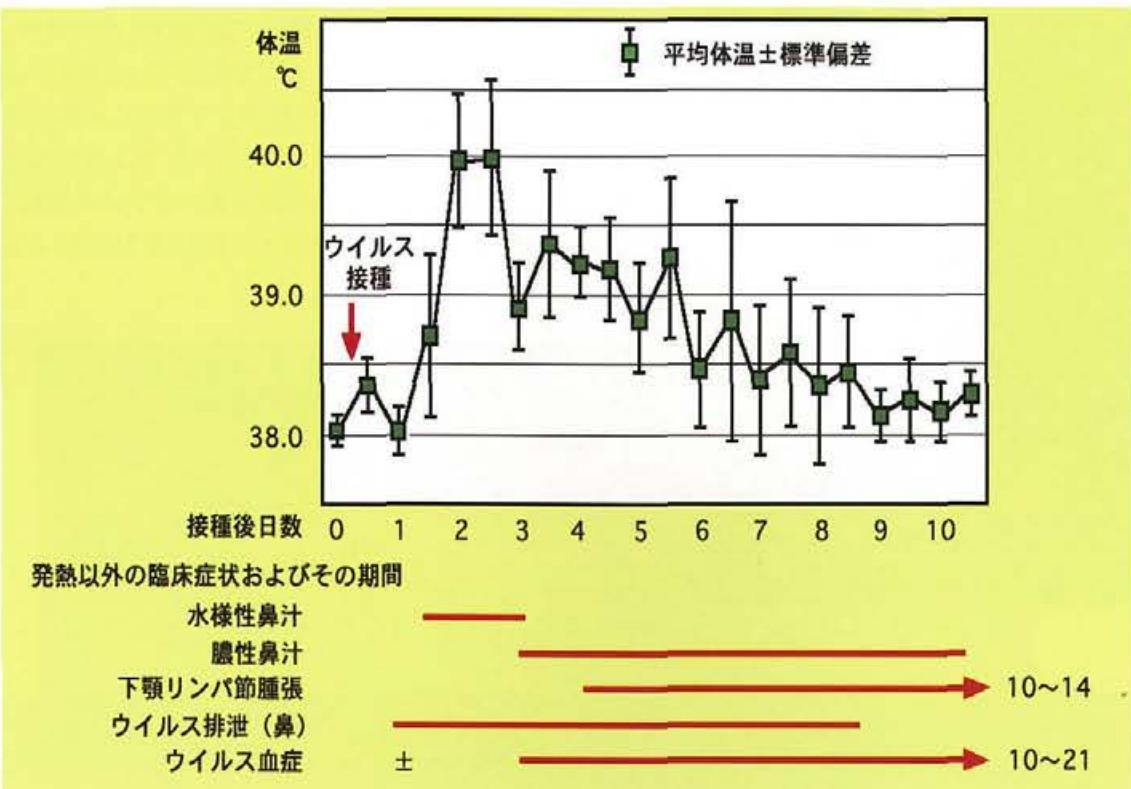


図 7 EHV-1 実験感染馬 5頭の臨床症状

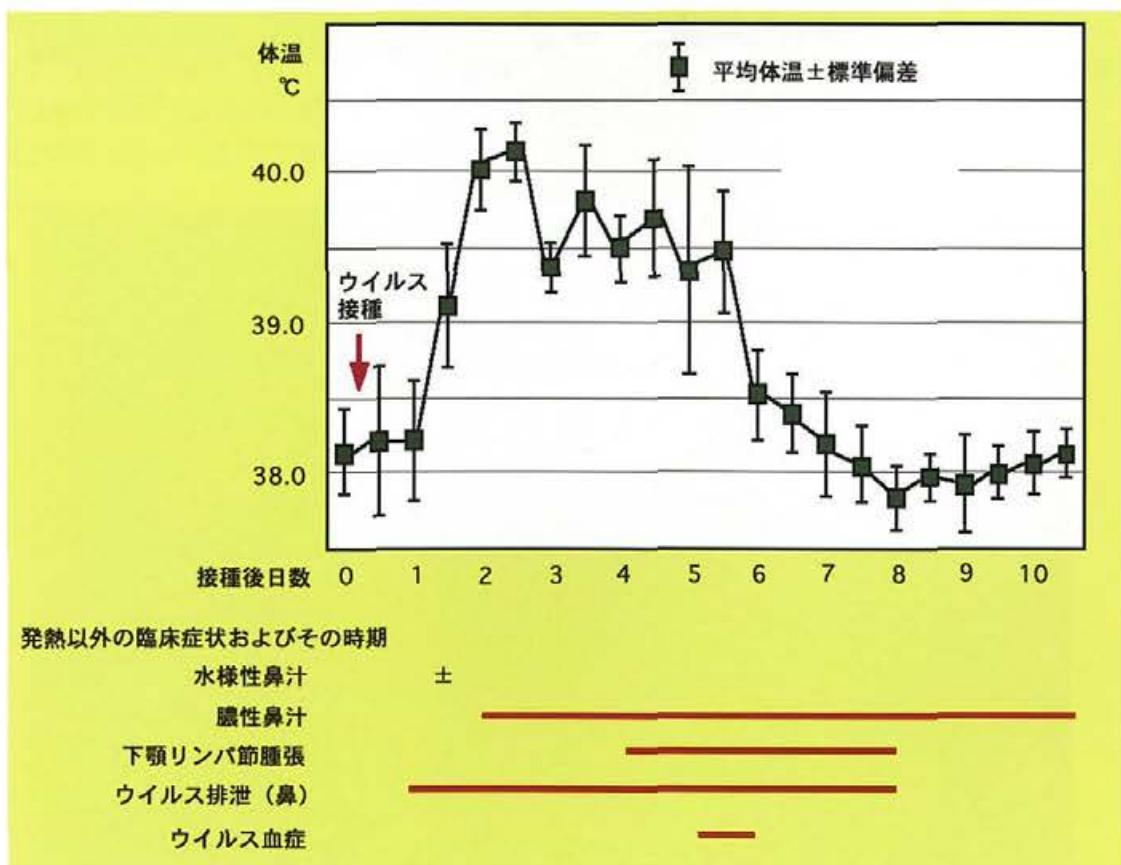


図 8 EHV-4 実験感染馬 4頭の臨床症状

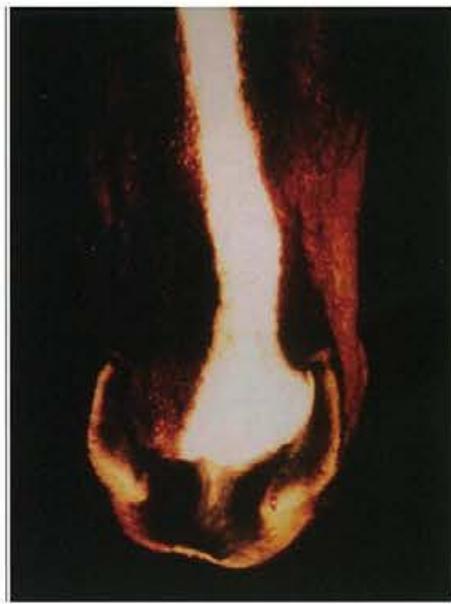


写真2. EHV-1感染による顔面神経マヒ

VI 病理

1. 流産胎子

流産胎子にはほとんどの症例で特徴的な病変が認められる。診断的価値のある肉眼所見は胸水の增量貯留、肺の水腫および肝臓の多発性微小壞死巣形成である。

胸水は全く增量が認められないことがあるが、通常

は貯留している例が多い（写真3）。その量は、多い場合には2リットルにおよぶことがある。胸水の性状は、軽度混濁し、血清様である。肺の水腫は胸膜下と間質に著明で、特に間質は水腫性に解離している（写真4）。肺は水腫によって重量と硬度を増し、指圧痕が残る。肺および胸腔に病変がみられる率はおよそ85%

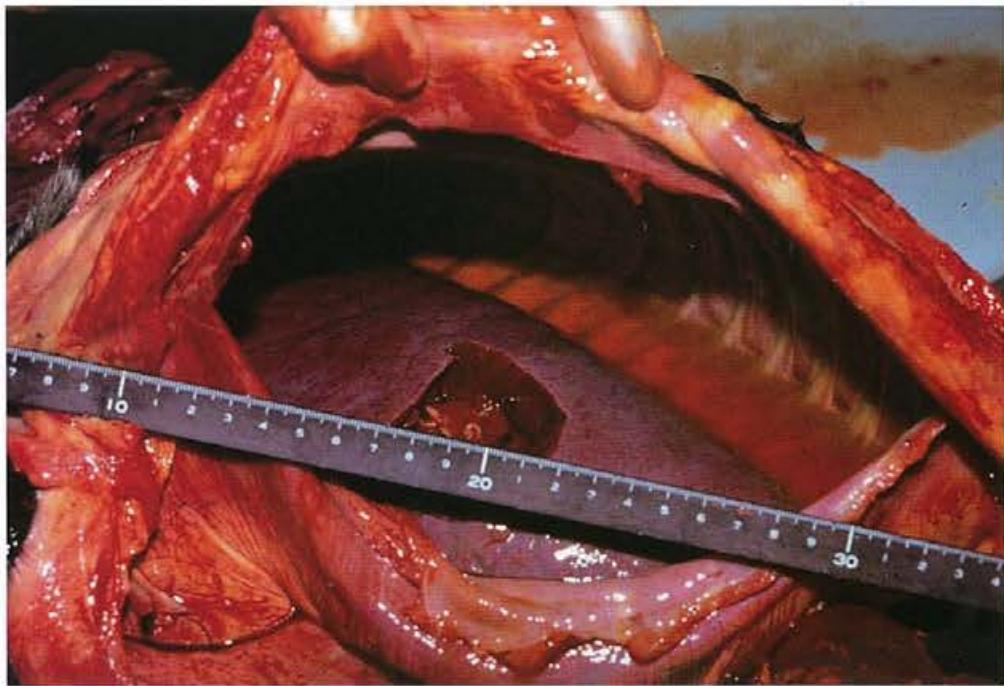


写真3. 流産胎子：胸腔には透明で血清様の胸水が貯留している。

%である。肝臓の病変は被膜下に針先大から粟粒大の白色壞死巣（写真5）が多発する。その数は数個程度のものから百個以上に達する症例もある。肝臓に病変がみられる率はおよそ75%である。他の部位では、上部気道、口腔または消化管の粘膜に出血が認められることがある。出血の程度はごく軽度の点状ないし斑

状出血からびまん性出血まで様々である。咽喉頭粘膜は水腫性である。全身リンパ節は概して充血しており、水腫性である。胎盤は特に病変はみられないが、やはり水腫性である。羊膜と胎子の蹄臍（フットパッド）は胎便によって黄色を帯びていることがある。

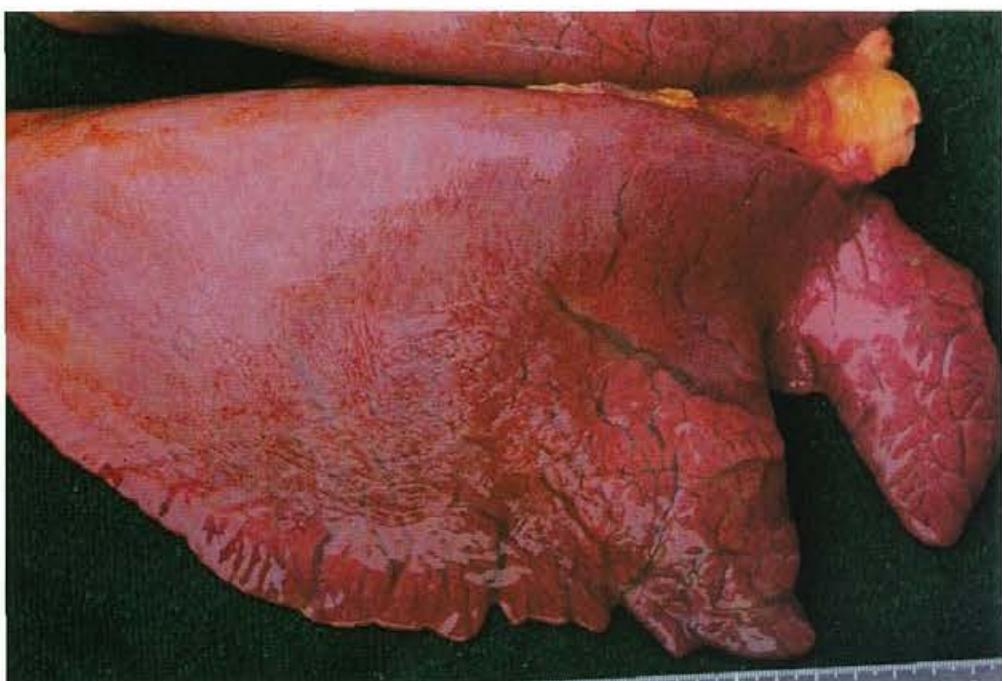


写真4. 流産胎子の肺：無気肺で著しく水腫性。間質は水腫性に解離。

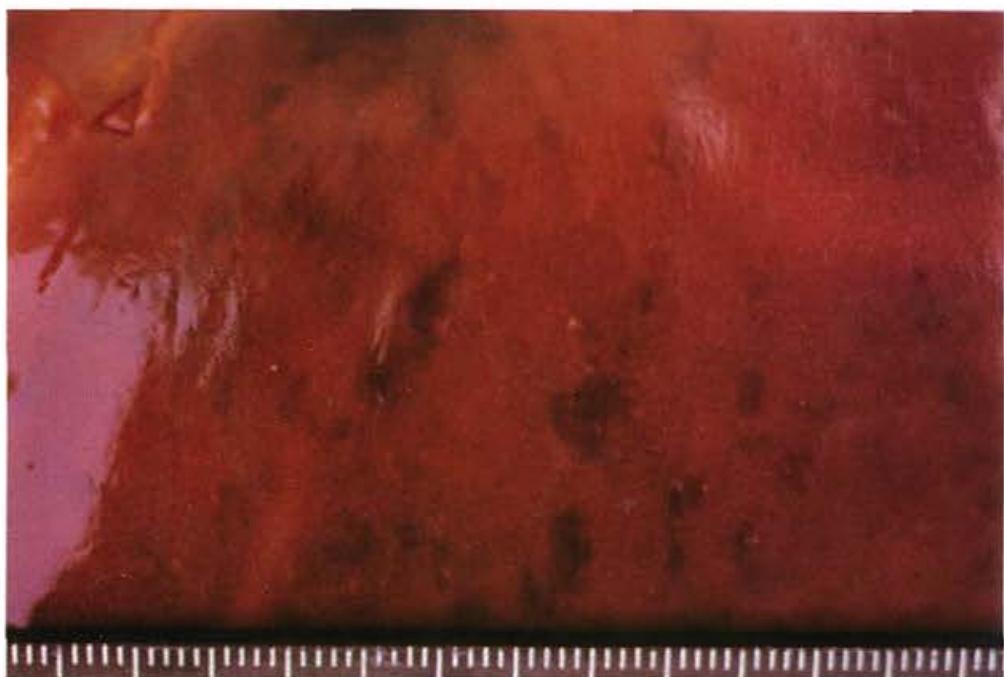


写真5. 流産胎子の肝臓：被膜下に微小な白色壞死巣が認められる。

病理組織学的には、肺はしばしば著しく水腫性で、肺胞上皮や細気管支粘膜上皮には広範な壞死が認められる（写真6）。また、肝臓では壞死巣が門脈周囲に多く認められる。ほとんどの症例で核内封入体が肺および肝臓を中心に見いだされ、胸腺、リンパ節などにもみられる。この核内封入体は肺では細気管支粘膜上皮細胞（写真7）や肺胞上皮細胞に、また肝臓では

壞死巣周辺の肝細胞に多くみられ、封入体形成の初期には両染性で、後期には好酸性を示す。

蛍光抗体法や酵素抗体法などの免疫組織化学的検査により、肺では細気管支粘膜上皮細胞や肺胞上皮細胞、肝臓では壞死巣周辺の肝細胞、胸腺などに特異抗原が検出される。

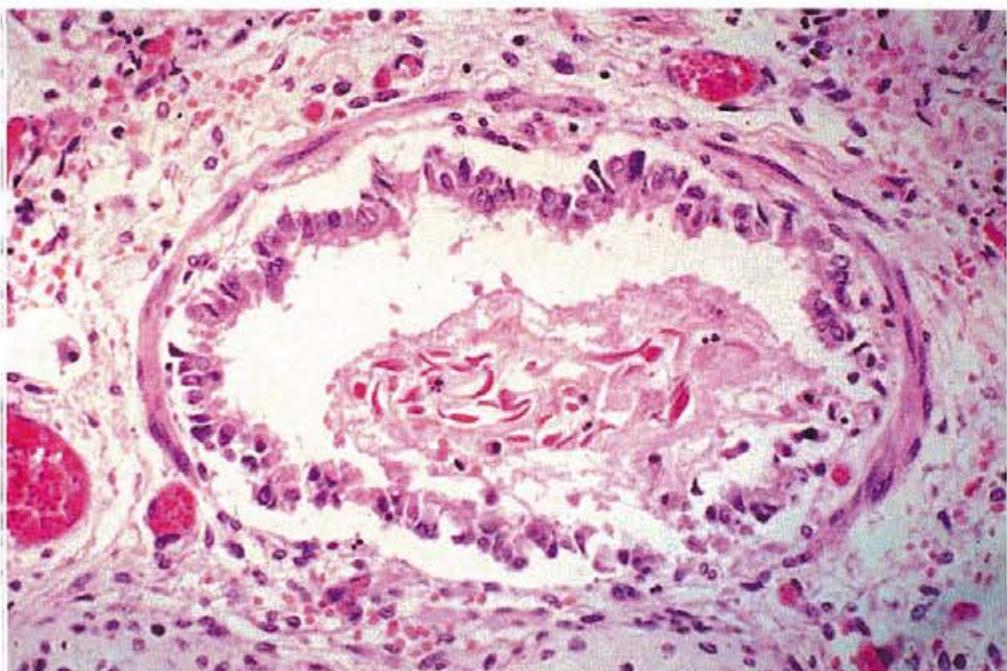


写真6. 流産胎子の肺：細気管支の粘膜上皮は変性、剥離し、腔内には羊水成分の吸入が認められる。



写真7. 流産胎子の肺：細気管支の粘膜上皮細胞にみられる核内封入体。

2. 神経病変（髄膜脊髄炎症）

起立不能や腰痙を示した症例では、剖検において脳あるいは脊髄に出血巣や微小軟化巣が認められることがある（写真8）。病理組織学的検査により、大脳では微小な軟化巣形成、脊髄では軸索膨化などの白質変性が特徴病変である。脳脊髄および髄膜の細・小径

の動・静脈には内皮細胞の変性・壊死、血栓形成などの血管炎（写真9）が散見される。なお、免疫組織化学的検査では、神経細胞に EHV-1 の抗原は検出されない。脳脊髄の病変は梗塞による乏血性変化であると考えられている。

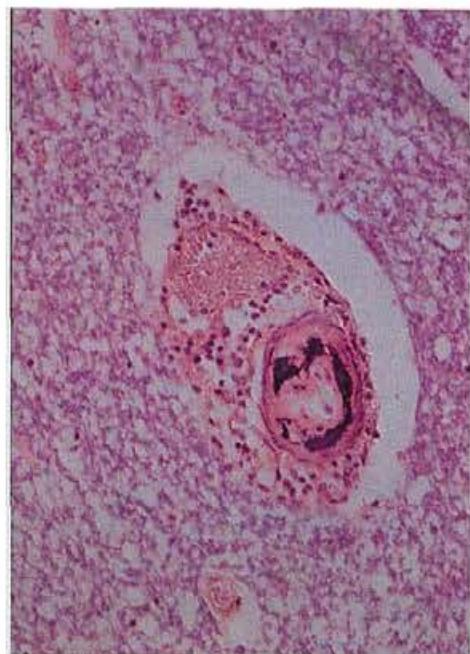
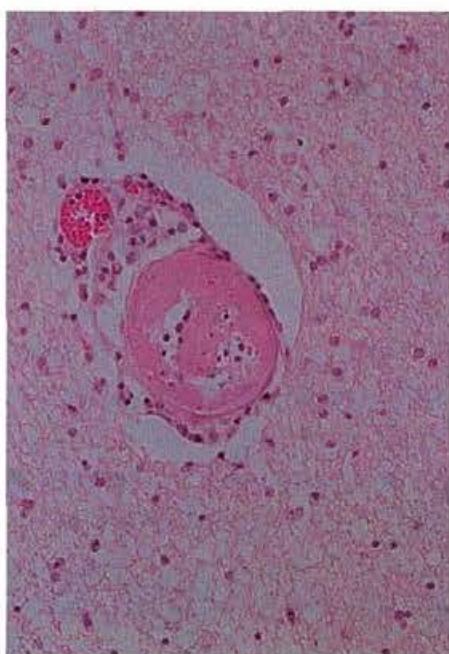
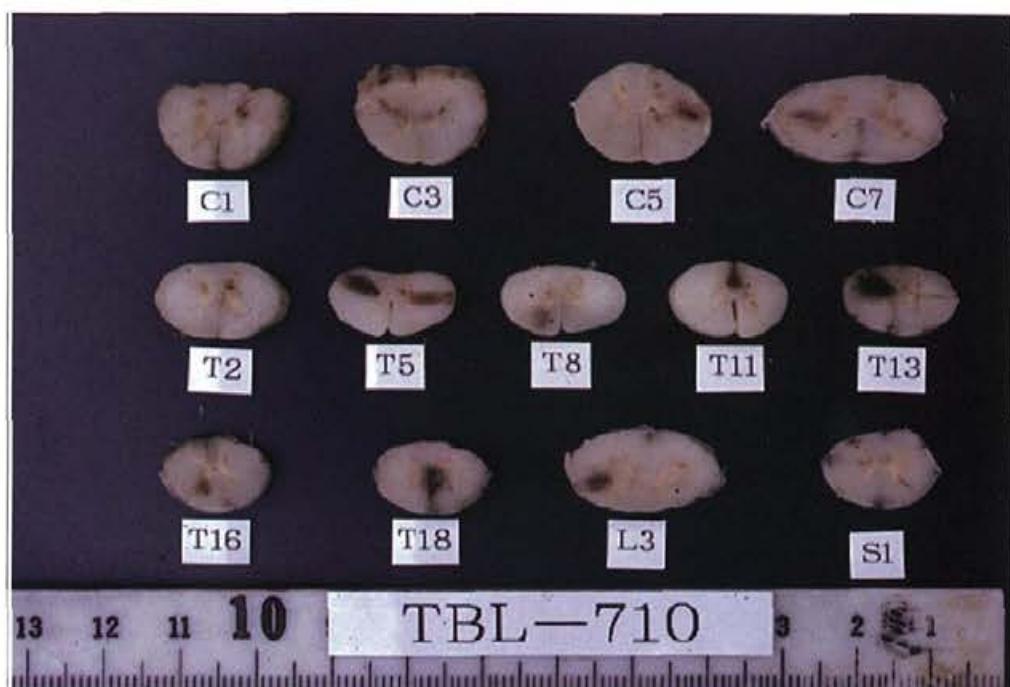


写真9. 大脳嗅球付近に認められたフィブリノイド血栓：左は H-E 染色、右は PATH 染色

VII 診 斷

1. ウィルス学的診断法

1) ウィルス分離

a. 採材法

呼吸器疾患の場合は、鼻漏の有無にかかわらず鼻腔スワブを採取する。鼻腔スワブは、滅菌綿棒で鼻腔粘膜面をこすり、細胞維持用培養液約3mlに浸し（綿棒は容器内に収まる長さで折り、綿棒の先端を培養液内に残す）、直ちに4℃で検査室に送付する。すぐに送付できない場合は、-80℃に凍結保存し、ドライアイスとともに送付する。また、末梢血単核球も分離材料として重要である。ヘパリン等抗凝固剤入り採血管で血液を10~30ml採取し、そのまま直ちに4℃で検査室に送付する（凍結不可）。

流産の場合は、流産胎子を所轄の家畜保健衛生所に搬入する。ウィルス分離には、胎子の主要臓器乳剤を用いるが、肺と胸腺が最も適している。

b. 処理法

鼻腔スワブは、よく攪拌後濾過し、濾液を分離材料とする。血液材料は、低速遠心後、バフィーコートを採取し、リンフォプレップ（Nycomed社）等を用いて比重遠心法により単核球を分画する。冷PBS緩衝液で2回洗浄した単核球を培養液に浮遊し、分離材料とする。通常、EHV-1の分離には、FHK、MDBK、あるいはRK13細胞を、EHV-4の分離にはFHKあるいは感受性はかなり劣るがVero細胞も利用できる。細胞への材料の接種は、鼻腔材料の場合は通常の単層を形成した細胞への接種で問題はないが、単核球からの分離の場合は、単核球浮遊液と培養細胞浮遊液を混合して共培養する。凍結融解した単核球材料では、分離効率が低下する。共培養の場合、翌日培養細胞の単層形成確認後、細胞維持用培養液に交換する。1週間観察後、CPEの出現が認められない場合には盲継代を行なうが、通常、初代でCPEが出現しない場合は、ウィルスが分離されない場合が多い。

c. 同定法

分離ウィルスの同定は、現在では EHV-1 あるいは EHV-4 に特異的なプライマーセットを用いた PCR 法により実施している。また、電気泳動型別が必要な場合は、感染細胞から DNA を抽出し、約 3 マイクログラム量の DNA を制限酵素 *Bam*HI で消化後、15×

15cm の 0.7% アガロースゲルを用い、20V で 18 時間泳動する。その泳動パターンを、標準の EHV-1 あるいは EHV-4 の切断パターン（写真 1）と比較する。その他、EHV-1 あるいは EHV-4 特異的单クローニング抗体との反応性による同定も可能である。

2) ウィルスDNAの検出

DNA の抽出は、濾過前の細胞成分を含んだ鼻腔スワブ材料、単核球分画浮遊培養液、あるいは剖検材料乳剤から、市販の抽出キット等を用いて実施する。抽出材料について、EHV-1 あるいは EHV-4 遺伝子を特異的に増幅するプライマーセットを用いて、PCR を実施し、増幅遺伝子断片の有無および大きさから診断する。

2. 血清学的診断法

一般的な血清学的診断法として、補体結合（CF）試験、ブラック減少ウイルス中和試験、不活化ウイルス抗原を用いた ELISA 法などが用いられている。しかし EHV-1 と EHV-4 には共通抗原性があるために、CF 試験および ELISA 法ではどちらのウイルスに感染したのかは識別できない。ウイルス中和試験を用いた場合、初感染時には感染ウイルスに対する抗体のみが上昇し、他方のウイルスに対する抗体は上昇しないために、感染ウイルスの識別が可能である。しかし EHV-1、EHV-4 ともに容易に再感染するために、感染が繰り返されると感染ウイルスの型別は困難になる。II章で述べたように、EHV-1 は多くの培養細胞で容易に増殖するために、中和試験にはさまざまな哺乳動物由来の培養細胞が使用可能であるが、EHV-4 は馬由来の培養細胞を用いる。柄木支所では EHV-1 には MDBK 細胞を、EHV-4 には FHK 細胞を用いて中和試験を実施している。

上記のいずれの方法も感染とワクチン接種による抗体をともに検出する。また繰り返し感染が成立するために、診断には、ワクチン接種履歴の確認とペア血清を用いた抗体価の上昇を確認することが必要である。

近年、EHV-1 と EHV-4 の感染抗体を識別する方法として、gG-ELISA 法が用いられるようになった。この方法は EHV-1 と EHV-4 の感染の識別が可能

であり、またワクチン抗体を検出しないという利点を有する。

EHV-1とEHV-4の主要糖タンパク質の一つであるgGタンパク質のC末端付近には、EHV-1とEHV-4で抗原性の異なる型特異的領域が存在する。gG-ELISA法では EHV-1と EHV-4それぞれの gG 遺伝子の型特異的領域とグルタチオン-S-トランスフェラーゼ (GST) 遺伝子を融合させ、大腸菌を用いて発現させた gG-GST 融合タンパク質を抗原として用いている。いずれか一方の型のウイルスに感染した場合

には、そのウイルス型の gG-GST 融合タンパク質を抗原として用いた gG-ELISA 法のみで抗体が上昇する。両方のウイルス感染を受けた場合には、両方のウイルス型の抗原を用いた gG-ELISA 法でともに抗体値の上昇が認められる。ただし、gG-ELISA 法では、感染したウマのすべてが抗体応答を示すとは限らないこと、および抗体の上昇が CF 抗体よりも遅い傾向にあることから、診断時には他の血清反応法との併用が望ましい。

VIII 予 防

現在のところ、馬鼻肺炎に対する確立した治療法はない。米国では、ヒトで使用されている抗ヘルペス薬であるアシクロビルを、馬鼻肺炎に用いる（1 L中に 10mg/kg 濃度の補液を 60 分かけて静注、または 20mg/kg を経口投与）こともあるようだが、EHV-1 ではウイルス株によりアシクロビルに対する感受性が異なることが報告されており、その効果については定かではない。したがって、馬鼻肺炎発症馬に対しては、必要に応じ、2 次感染の予防処置や対症療法を実施する。ERV の呼吸器感染それ自体で、肺炎にまで症状が悪化することはなく、毎朝、夕の検温の励行により早期発見することが、2 次感染予防上重要である。特に子ウマでは、発熱に気づかず放牧すれば、体力の消耗は著しく、容易に 2 次感染を受ける結果となる。競走馬においても、発熱に気づかず調教すれば、症状の悪化を招くだけでなく、感染の拡大につながる。また、呼吸器疾患発生時あるいは EHV-1 の流行時期には、接触感染予防のため、取り扱うウマ 1 頭ごとに手指の消毒あるいは使い捨て手袋の着用・交換および鼻捻子使用後の消毒等を励行する。

EHV-1 感染症（呼吸器疾患および流産）の予防のために、EHV-1 をホルマリンで不活化したワクチンが市販されている。不活化ワクチンの接種によって得られる抗体の持続期間は比較的短く、基礎接種（約 4 週間隔で 2 回）完了後も 1 ~ 2 か月間隔で補強接種を行なうことが予防上望ましい。すなわち、EHV-1 感染症の発生時期は、呼吸器疾患では 1 ~ 3 月、流産では胎齢 9 ~ 11 か月と概ね限定されることから、発生開

始時期の約 2 週間前までに基礎接種を完了するようワクチン接種プログラムを組み、さらにその 1 ~ 2 か月後に補強接種を実施することが望ましい。また、ワクチンによって獲得した抗体は、呼吸器からの EHV-1 感染に対しては効果が期待できるが、潜伏感染しているウイルスに対しては効力はないと考えられる。しかしながら、高い水準の血中抗体は、潜伏ウイルスが活性化した際には、活性化ウイルスの増殖・拡散に対して抑制的に作用すると推察される。

胎齢 9 か月以降の妊娠馬が流産した場合には、直ちに当該馬房（できれば、胎子を馬房外に出す前）、作業者の衣服等、ウイルス（破水時に飛散した羊水）に汚染されたと考えられるすべてについて消毒を徹底することが、同居妊娠馬への水平感染を予防する上で重要である。馬鼻肺炎による流産と診断されてから、消毒作業をしたのでは遅く、同居感染による流産の続発につながることから、消毒作業完了後に胎子をビニール袋等に入れ、ウイルスを拡散させないよう注意して、所轄の家畜保健衛生所に搬入する。胎子の体表に直接消毒液をかけても、診断には影響しない（胸腔・腹腔に達するような外傷のない場合）。また、感染様式の項でも述べたように、若齢馬が EHV-1 の牧場内伝播を増大させる可能性が示唆されることから、若齢馬と妊娠馬は同居させないことが望ましい。隔離飼養が不可能な場合は、妊娠馬同様に若齢馬にもワクチン接種することも考慮すべきであろう。

ヘルペスウイルス感染症の発症防御には、液性免疫だけでなく、細胞性免疫が重要であることが指摘され

ている。現行の不活化ワクチンには細胞性免疫誘導能が期待できないため、われわれは細胞性免疫の誘導が期待できる EHV-1 生ワクチンの開発を進めている。人為的に病原性に関与する遺伝子を欠損させた生ワクチン候補株である gE 遺伝子欠損株は、EHV-1 による呼吸器症状を軽減することが実験的に示され、さらに、EHV-4 の自然感染が起きた際に、無処置馬が発症したのに対し、欠損株接種馬は全く発症せず、

EHV-1 だけでなく EHV-4 感染に対しても有効であることがわかっている。現在、呼吸器病予防用生ワクチンとしての実用化を目指し、ワクチンの製造承認に必要な安全性等の試験を実施している。承認後には、妊娠馬への安全性と効果を検討し、EHV-1 生ワクチンが流産予防用として妊娠馬にも使用できるよう努力する。

おわりに

ここに紹介した、わが国における EHV-1 と EHV-4 の疫学情報は主に、日高家畜保健衛生所、NOSAI 日高、日高軽種馬農業協同組合、美浦および栗東トレーニングセンター競走馬診療所の獣医師各位の採材協力により、神経病原性に関する成績の多くは岐阜大学福士秀人博士との、また gG-ELISA 法に関する成績の多くは山口大学前田健博士との共同研究により得られた賜物です。この場を借りて、関係各位に厚く御礼申し上げます。なお、病理に関する記載（担当：和田隆一〔現競走馬総合研究所〕）は、今回は改定しておりません。 EHV-1 および EHV-4 感染症についてはまだ不明な点も多く、さらに研究を推し進めていく必要があることから、今後とも御協力をお願いします。

競走馬総合研究所栃木支所

松村富夫

近藤高志（血清学的診断法）

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 19 年 3 月

社団法人 全国家畜畜産物衛生指導協会

〒113-0034 東京都文京区湯島 3-20-9 緬羊会館内
TEL. 03-3833-3861