

馬のゲタウイルス感染症

Getah Virus Infection in Horses

社団法人 中央畜産会



目 次

発刊にあたって	1
馬のゲタウイルス感染症の要約	2
馬のゲタウイルス感染症について	3
 I. 病原体	3
1. 形態と性状	
2. 病原性	
 II. 発生と疫学	5
1. 過去の発生状況	
2. 疫学	
 III. ウィルスの生態と伝播様式	9
1. ウィルスの生態	
2. ベクターと伝播様式	
 IV. 臨床	12
1. 臨床症状	
2. 血液所見	
3. 抗体応答	
 V. 病理と発症機序	16
1. 病理組織所見	
2. 発症機序	
 VI. 診断	18
1. 病原学的診断	
2. 血清学的診断	
3. 類症鑑別	
 VII. 予防と治療	20
1. 予防	
2. 治療	
 VIII. 検査手技	21
1. CPEを利用したマイクロプレート法による中和試験	
2. 赤血球凝集抑制（HI）反応	
 おわりに	24
参考資料	24

発刊にあたって

馬のゲタウイルス感染症は、ゲタウイルスの感染によって起こる馬の発疹性の熱性疾患として知られるウイルス病です。この感染症は、1978年の秋、関東地方の競走馬のトレーニング施設で集団的に発生した原因不明の熱性疾患によってはじめて明らかにされたものです。ゲタウイルスは、これまで日本脳炎ウイルスの流行調査の中で偶発的に蚊から分離されていましたが、このウイルスの病原性はこれまで長い間不明のまま見過ごされてきたものです。

わが国における本症の発生は、関東、関西の競馬場や競走馬トレーニング施設および九州の競馬場で確認されています。また、蚊の生態および疫学調査によって、ゲタウイルスは沖縄から北海道まで広く分布しており、毎年初夏から晩秋にかけて各地でウイルスの伝播が観察されています。

このウイルスは、通常、野外においては日本脳炎ウイルスの自然生態とほぼ同様に、キンイロヤブカやコガタアカイエカをベクターに、ブタを增幅動物としてブタ-蚊-ブタの感染サイクルを営んでいます。馬はブタと同様、このウイルスに対して高い感受性を持つので、保毒蚊の吸血によってこの感染サイクルに巻き込まれて発症するものと考えられます。

ゲタウイルスの自然感染馬の臨床経過とその予後を見る限り、ゲタウイルスの病原性はそれほど強いものではありません。しかし、この感染馬に認められる発熱、発疹および浮腫の所見は全身反応を示すもので、コンディション調整が大切な競走馬にとっては大きな負担となります。本症については、すでにワクチンによる予防法が確立されており、これによって完全に予防できることが示されています。したがって、今後とも、継続的なワクチン接種の励行が大切です。

この小冊子は、本病の原因究明から病気の成り立ち、ウイルスの生態や感染経路、さらにはワクチンによる予防法の確立まで、一環して本病の解明にあたられた日本中央競馬会競走馬総合研究所栃木支所の諸先生方の膨大な研究業績をもとにとりまとめさせていただいたものです。ご執筆者には心から感謝申し上げるとともに、この冊子が本症の理解とその防あつの一助になれば幸いです。

社団法人 中央畜産会



馬のゲタウイルス感染症の要約

馬のゲタウイルス感染症はゲタウイルス（トガウイルス科、アルファウイルス属）の感染によって起こる発疹を伴なう熱性疾患である。これまで自然界においてゲタウイルスは、オーストラリア、マレーシア、日本および極東ロシア（サハリン）の蚊から多く分離されている。したがって、このウイルスはこれらの地域の経線沿いに分布するものとして古くから知られていたが、ほ乳動物の病気との関係については長く不明のままであった。この病気は1978年の茨城県霞ヶ浦東の丘陵地にある競走馬のトレーニング施設（美浦トレーニング・センター）において集団的に発生した発疹性の熱性疾患の流行の際、病馬から分離されたウイルスがゲタウイルスと同定されるとともに、このウイルスの馬に対する病原性がはじめて明らかにされた。このことにより、馬の新しいウイルス病として確立されたものである。

馬のゲタウイルス感染症のこれまでの発生例は、1978年秋、茨城県稲敷郡の美浦トレーニング・センターをはじめとして関東地方における数ヶ所の競走馬飼養施設で確認されている。その後年1979年には滋賀県栗東トレーニング・センターおよび、栃木県下の競走馬生産牧場で発生が確認された。その後、1983年および1985年にも散発的な発生が報告されているが、最近ではワクチン接種の励行に伴なう本症の発生は報告されていない。

馬以外のほ乳動物に対するこのウイルスの病原性は、野外においては免疫の無い初生豚の生後直死、また、実験的には妊娠したブタ、マウス（齧歯類）などに流産を起こすことが報告されている。

わが国において、このウイルスはほぼ全国的に分布することが明らかにされている。通常は、日本脳炎ウイルスとほぼ同様に夏から晩秋にかけて各地で伝播が見られる。蚊の生態調査ならびにウイルス分離や疫学調査によると、自然界におけるゲタウイルスの伝播には、コガタアカイエカ、キンイロヤブカならびにヤマトヤブカなど数種の蚊がベクターとして関与することが明らかにされている。これらのベクターの中でも、関東地方において初秋から晩秋にかけて集中的に発生するキンイロヤブカは、この地域における主要なベクターとして重要な役割を果たしているものと考えられる。また、ブタはこのウイルスに対して高い感受性を示すが、成豚は感染しても軽度な発熱以外に顕著な臨床症状を示さない。しかし、抗体を持たない幼豚は高い値のウイルス血症を示すことから、日本脳炎ウイルスと同様に增幅動物の役割りを担

うものと考えられる。

このウイルスに感染した馬は、感染後1日から3日以内に39°C前後の発熱を示す。多くの感染馬には、解熱後、あるいは感染後およそ1週間前後に発疹あるいは球節部付近に浮腫が見られる。発疹は、通常、粟粒大から米粒大的もので、時に融合した状態で頸部、体躯部、臀部に対側性に見られる。発疹の重症例では全身性に見られるものもある。浮腫は非炎症性の冷性浮腫を特徴とする。これらの症状は、概ね1週間から10日間で消失し、その後徐々に回復する。予後はこれらの症状が完全に消失するまで安静に加療すれば比較的良好で、後遺症の報告はない。

病理所見では、一般臓器組織には肉眼的に認められる出血や壞死などの特徴的所見はない。本症の組織学的变化の特徴は全身リンパ組織の活性化像で、これは活発な生体防禦反応と考えられる。また、中には軽微な閉管性細胞浸潤を特徴とする非化膿性脳炎像が見られるという報告がある。しかし、その臨床的意義、すなわち、ゲタウイルスの中枢神経組織に対する病原性についてはまだ不明な点が多く、今後の課題として残されている。

病原学的診断はウイルス分離によって行われる。分離材料としては、ウイルス血症の見られる発熱初期の血漿（白血球成分）が最も適している。呼吸器症状を示す症例では鼻汁からもウイルスが回収される。感染馬の臓器組織におけるウイルスは主にリンパ系組織に集中して分布し、特に、腋窩、鼠径リンパ節から高率にウイルスが分離される。しかし、発疹部の皮膚組織からウイルスは分離されない。

血清学的診断は急性期ならびに回復期のペア血清を用いて、有意な抗体（中和、補体結合抗体、血球凝集抑制抗体）の上昇を確認することで行われる。これらの抗体のうち、中和ならびに赤血球凝集抑制抗体は補体結合抗体より早く検出される。

予防は、自然感染馬の血漿から分離されたウイルスをワクチン株として、組織培養による不活性化ワクチンが開発されている。このワクチンによる基礎免疫は、約1カ月間隔で2回、計2ドーズの接種によって完了する。以後、毎年1回、1ドーズの補強接種を行う。このワクチンは、ゲタウイルスの流行期を迎える初夏から晩秋にかけて馬の免疫レベルを高めておく必要から、毎年5月～6月に基礎免疫ならびに補強接種を完了するよう奨められている。現在では本症と日本脳炎予防用の不活性2価ワクチンとして市販され広く用いられている。

馬のゲタウイルス感染症について

I 病原体

1. 形態と性状

馬のゲタウイルス感染症の病原体であるゲタウイルスは、トガウイルス科、アルファウイルスに属し、一本鎖RNAの核酸をもつ大きさ60～70nmの球形ウイルスで、エンベロープの周囲に多数の突起（プロジェクション）をもつ。同じアルファウイルスに属するウ

イルスには、東部馬脳炎、西部馬脳炎、およびベネズエラ馬脳炎ウイルスなどの脳炎ウイルスやヒトの重篤な発疹性の熱性疾患あるいは関節炎の原因として知られるチクングニアウイルスやロスリバーウイルスなどがある。

表1. ゲタウイルス（トガウイルス科アルファウイルス属）の仲間・その病気と分布

ウイルス（亜型）	病 气	分 布
西部馬脳炎	馬・ヒトの脳炎	アメリカ合衆国、中央アメリカ、南アメリカ
東部馬脳炎	馬・ヒトの脳炎	アメリカ合衆国、中央アメリカ、南アメリカ
ベネズエラ馬脳炎	馬・ヒトの脳炎	アメリカ合衆国（南部）、中央アメリカ、南アメリカ
シンドビス	ヒトの発疹性・多発性関節炎	アフリカ、中近東、インド、東南アジア
セムリキ森林	ヒトの脳炎	アフリカ大陸（サハラ周辺）、ウガンダ、セネガル
ゲタ（サギヤマ）	馬の発疹性・発熱性疾患	オーストラリア、東南アジア、極東ロシア
ロスリバー	ヒトの発疹性・多発性関節炎	マレーシア、オーストラリア東部、太平洋諸島
チクングニア	ヒトの発疹性・多発性関節炎	アフリカ、中近東、インド、東南アジア、トリニダート、ブラジル
マヤロ（ウナ）	馬・ヒトの発疹性・関節炎	中米（トリニダード）、南アメリカ（ブラジル、ボリビアその他）
その他、ミッデルバーグ、ヌドウマ、ベバル、オニヨンニヨン、バルマー森林ウイルスなどがある。		

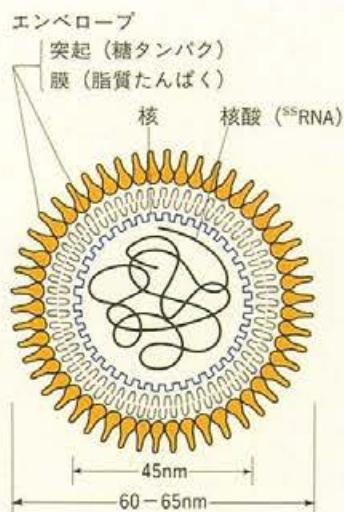


表2. ゲタウイルスの性状

核酸	ssRNA
粒子の大きさ	60-70nm (直径)
粒子の形状	球形
外被と突起	あり
脂質溶媒に対する感受性	エーテル・クロロホルムに感受性
浮上密度	1.24-1.25g/cm ³
トリブシンおよびデオキシコール酸に対する感受性	あり
硫酸プロタミンの影響	感染価は低下しない
赤血球凝集活性	あり
酸に対する抵抗性	pH3.0に感受性

図1. ゲタウイルス粒子モデル

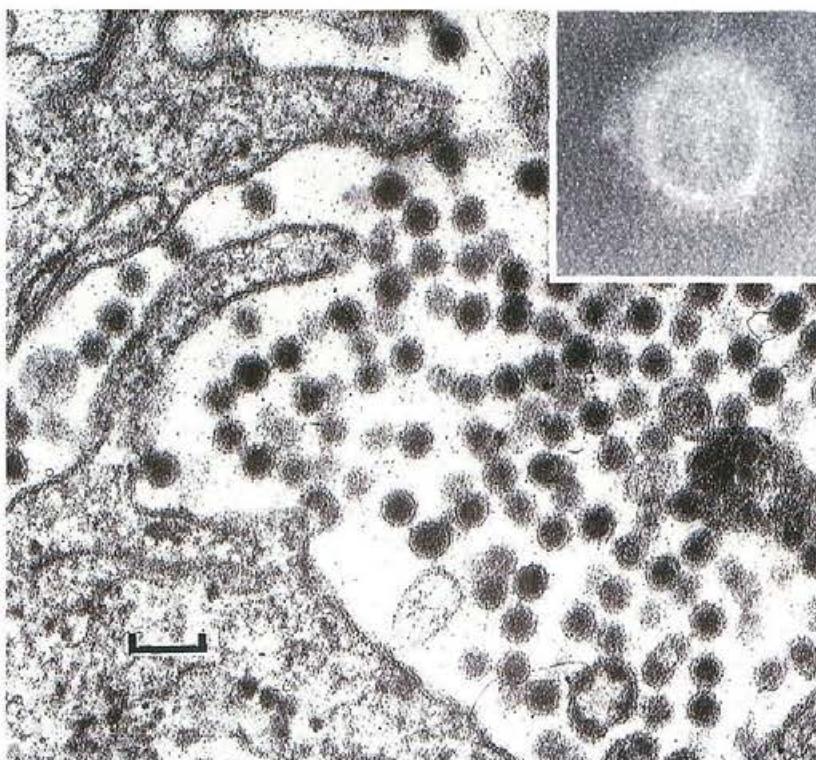


図2. 感染培養細胞間隙中のウイルス粒子（囲みは精製ウイルス）約60nmの粒子の他に大型の粒子、棒状粒子および数個集まつたものが認められる。これらの形状はアルファウイルスの特徴である。

ゲタウイルスはアルファウイルス属のセムリキ森林ウイルス群に分類されている。ゲタの名称は、このウイルスが初めて分離された地域であるマレーシアのゴムのプランテーションの現地語で、ここから採集された蚊から分離されたAMM2021株がゲタウイルスのプロトタイプ（原株）である。ゲタウイルスはこれまで野外で採集された蚊から多く分離してきた。一方、ほ乳動物からは1967年群馬県榛名町で分離されたハルナ株と1978年美浦トレーニング・センターおよび境トレーニングセンターで分離されたそれぞれミホ株およびサカイ株が報告されている。これらの分離株のうち、ハルナ株は健康なブタの血漿から分離されたもので、病馬から分離されたものはミホ株（代表株MI-110）およびサカイ株が初めてである。血清学的にこれら4株は同一な抗原性状を有している。一方、マレーシアで初めて分離された翌年の1956年に日本で初めて埼玉県鶴山村で採集された蚊からサギヤマウ

表3. ゲタウイルスの抗原関係（補体結合試験）

ウイルス株	MI-110株抗血清	
	ウマ	モルモット
ミホ	64	64
ゲタ	64	64
ハルナ	64	64
サギヤマ	64	ND
ロスリバー	16	<4
チクングニア	16	<4

ND：実施せず

イルスが分離されている。このウイルスは、プロトタイプのAMM2021株とは血清学的にやや異なることから、ゲタウイルスの亜型に分類されている。

ゲタウイルスはアルファウイルスに共通の生物物理学的性状をもち、通常、至適pH6.4からpH6.6でガチョウ、ニワトリ、馬およびヒトO型血球を凝集する。しかし、野

表4. ゲタウイルスと関連ウイルスの共通抗原関係（交差中和試験）

ウイルス株	モルモット抗血清						
	ミホ	サカイ	ゲタ	ハルナ	サギヤマ	ロスリバー	チクングニア
ミホ	1,280	1,280	640	1,280	40	20	<10
サカイ	1,280	1,280	1,280	1,280	40	20	<10
ゲタ	1,280	1,280	1,280	1,280	40	10	<10
ハルナ	1,280	1,280	640	1,280	40	20	<10
サギヤマ	1,280	1,280	640	1,280	640	<10	<10
ロスリバー	10	10	<10	10	<10	640	<10
チクングニア	<10	<10	<10	<10	<10	<10	1,280

外の蚊から分離されたゲタウイルスの血球凝集活性はハルナ株を例外として一般的に低いことが知られている。また、ゲタウイルスは同じアルファウイルスのチクングニアウイルスおよびロスリバーウィルスと補体結合反応で低いながら部分交差を示すが、中和反応では交差しない。

2. 病原性

ゲタウイルスの病原性は馬の他、まれに新生豚の生後直死に関与していることが報告されている。実験例では妊娠したブタ、マウスおよびハムスターなどが感染すると流産を起こすことが報告されている。また、野外から分離されるゲタウイルスは、大小さまざまなサイズのブラックを形成することが知られており、異なるブラック

サイズのマウスに対する病原性にはやや差があることが実験的に示唆されている。小さいブラック形成株であるサギヤマウイルスの分離原株の馬に対する病原性を調べたところ、1978年の自然感染例ならびにその分離株であるMI-110株による実験感染例と同様、発熱や発疹の症状が見られ、発熱の程度はMI-110株よりやや強い傾向が見られた。これによってゲタウイルスは、1956年の分離以前からわが国に常在しているもので、当時から馬の発疹性の熱性疾患の原因となっていたことが推測される。しかし、ゲタウイルスの病原性については、まだすべてが解明された訳ではなく、特に、馬の中枢神経に対する病原性あるいは早期流産への関与の有無、さらには、このウイルスの持つ広い宿主域から、ヒトの疾患との関わりなどについては今後改めて検討される必要がある。

II 発生と疫学

1. 過去の発生状況

1978年9月下旬から11月上旬のおよそ1カ月半の間に、茨城県美浦村に新設されたばかりの美浦トレーニング・センターで飼養されていた競走馬の37.9%にあたる722頭に発疹ならびに浮腫を伴う熱性疾患の集団発生があった(図3)。その原因検索によって、病馬の血漿から分離されたウイルスがこれまで病原性の不明であったゲタウイルスと同定された。この分離ウイルスは馬に自然症例と

類似の発疹を伴う、熱性疾患を引き起こすことが実験的にも確認され、馬の新しい感染症として確立された。美浦トレーニング・センターにおける本症の集団発生と同年の秋に、関東地方の数カ所の競走馬の飼養施設においても臨床的に本症を疑う発疹性の熱性疾患が多数報告され、血清学的およびウイルス学的検査によって同じゲタウイルスの感染によるものであることが確認された。この年、関東地方においては、美浦トレーニング・センター

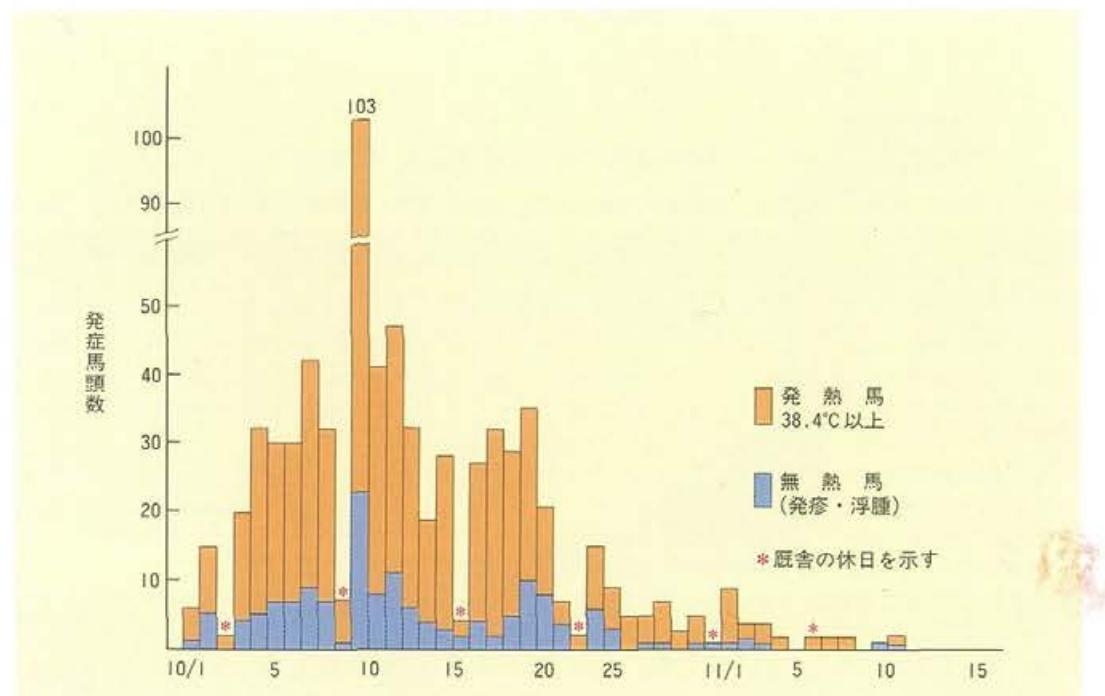


図3. 美浦トレーニング・センターにおける発疹・発熱性疾患の発生状況（1978年）

をはじめ、群馬県境町の境トレーニングセンターでは586頭中104頭(17.7%)、千葉県下の2カ所の競走馬の育成牧場などではおよそ60頭が罹患した(表5)。その後、1979年にも美浦トレーニング・センターで散発的発生が、また、滋賀県栗東トレーニング・センターでは夏期から初秋にかけての発熱馬136頭のうち50頭がゲタウイルス感染症と

診断された(図5、6)。さらに、宇都宮育成牧場および栃木県那須の競走馬生産牧場でも発生が報告されている。以後、図7に示すように1983年には栃木県の競走馬生産牧場で小規模の発生が、さらに、1985年8月には大分県中津競馬場でのべ77頭の競走馬に発生が報告されている。

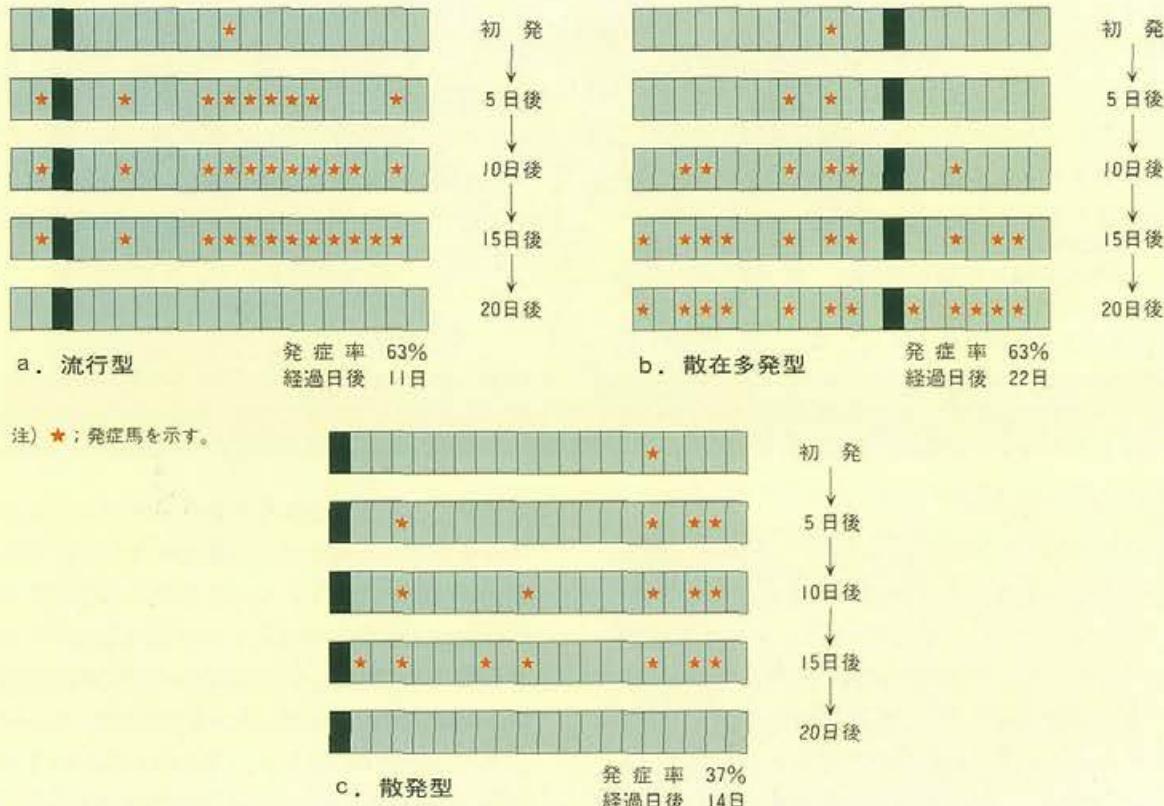


図4. 厥舎内伝播状況と発生経過

表5. その他の施設における発生状況 (1978年)

小林分厩(発症数42頭/在厩数67頭、発症率62.7%)、育成牧場(発症数16頭/在厩数105頭、発症率15.2%) 流行期間10月5日~10月22日

1978年10月(日)		10/3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22
東京都特別区小林分厩 (千葉県)	新患頭数			1	1	0	0	3	2	6	8	3	5	2	2	3	2	0	1	2	1
	累計頭数			1	2	2	2	5	7	13	21	24	29	31	33	36	38	38	39	41	42
	発症率(%)							10	27	31	36	43	46	49	54	57	57	58	61	63	
東京都特別区育成牧場 (千葉県)	新患頭数	1	0	1	1	2	1	0	0	0	2	1	2	1	2	2	0	0	0	0	0
	累計頭数	1	1	2	3	5	6	6	6	6	8	9	11	12	14	16	16	16	16	16	16
	発症率(%)							5	6	6	6	8	9	10	11	13	15	15	15	15	15

群馬県境トレーニングセンター(発症数104頭/在厩数586頭、発症率17.8%) 流行期間9月13日~10月19日

1978年 月 日		9/13	15	28	10/1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
境トレーニングセンター (群馬県境町)	新患頭数	1	1	4	3	6	3	1	8	6	10	13	8	15	5	8	3	2	2	1	0	1	
	累計頭数		2	6	9	15	18	19	27	33	43	56	64	79	84	93	96	98	100	102	103	103	104
	発症率(%)							3	5	6	8	9.5	11	13	14	16	16	17	17	17	18	18	18



図5. 血清疫学調査による馬の
ゲタウイルス感染症の発生と発
生時期 (1978年および1979年)

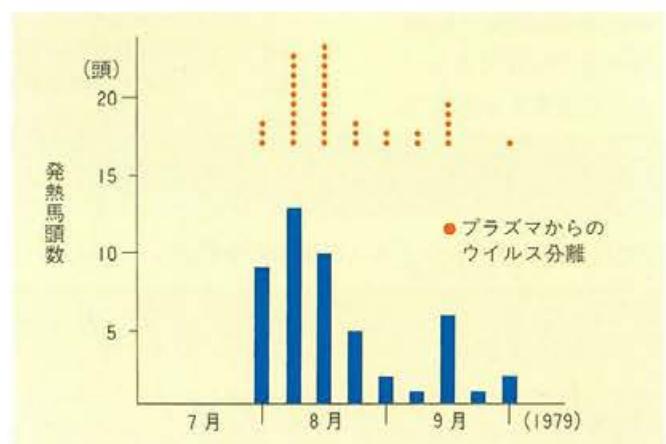


図6. 栗東トレーニング・センター
における馬のゲタウイルス感染症
の発生と発生時期 (1979年)



図7. 血清疫学調査による馬
のゲタウイルス感染症の発
生と発生時期 (1983年)

2. 痘学

表6に示すように、ゲタウイルスは1955年にマレーシアのゴムのプランテーションで採集された蚊から分離されたのをはじめとして、日本、オーストラリア北東部、ロシア極東地域（サハリン）などで採集された蚊から分離されている。また、血清学的にはこれらの地域のヒト、ウシ、馬、ブタ、ヤギ、ニワトリおよびカンガルーなどに特異抗体が証明されている。また、表7に示すように、わが国では九州、本州ならびに北海道に飼養される競走馬や乗馬に抗体陽性馬の存在が確認されており、これらの地域から採集された蚊からも多数のウイルスが分離されている。したがって、ゲタウイルスは九州から北海道まで日本各地にわたって広く分布しているものと考えられる。さらに、最近では血清学的にインドでも陽性馬の存在が報告されている。

また、図8に示すように中山競馬場における過去の血清疫学調査による抗体保有状況の年次別推移によると、1975年のように比較的高い陽性率とその抗体保有状況からこの年にゲタウイルス感染症の流行があったことが推測される。この分場では1968年9月下旬から10月上旬にかけて競走馬に発熱とじん麻疹様症状を主徴とする疾患が17頭（約30%）に報告されている。さらに、過去の資

表6. ゲタウイルスの分離と疫学の歴史

1955年	マレーシアで蚊から初めて分離 (AMM2021株)
1956	日本で初めて蚊から分離 (サギヤマ株)
1959	埼玉県下の蚊から分離 (イタクラ株)
1961	オーストラリアで蚊から分離 (N544株)
1965	群馬県下のブタの血液から初めて分離 (ハルナ株)
1966	オーストラリア・クインズランドで抗体陽性
1974	旧ソ連サハリン地域でヒトの抗体陽性
1975	マレーシア・サラワクの蚊から分離
1978	茨城県美浦トレーニング・センターで集団発生した発疹・発熱性疾患馬から分離 (MI-110、MI-237株他)
1978	境トレーニングセンターの発症馬から分離 (サカイ株)
1979	滋賀県栗東トレーニング・センターの発症馬から分離
1979	美浦トレーニング・センターの蚊から分離
1979	美浦周辺のおとりブタから分離 (MIP-99株)
1980	栗東トレーニング・センターおよび宮崎競馬場の蚊から分離
1983	栃木県の牧場の発症馬から分離
1985	大分県中津競馬場で流行
1998	インドで馬の抗体陽性

表7. わが国の軽種馬におけるゲタウイルスに対する中和抗体保有状況 (1978年調査)

採材地	採材月日	育成馬 (明け3才未満) 陽性数 / 検査数 (陽性率%)	成馬 (明け3才以上) 陽性数 / 検査数 (陽性率%)
北海道日高			
浦川町	1978.10	0 / 56 (0)	0 / 1 (0)
静内町	1978.11	0 / 54 (0)	12 / 22 (54.5)
青森県	1978.7	0 / 148 (0)	0 / 0 (0)
福島県福島市	1978.10	0 / 0 (0)	38 / 261 (14.6)
いわき市	1978.10	0 / 0 (0)	1 / 15 (6.7)
栃木県宇都宮市	1978.11	0 / 63 (0)	10 / 16 (62.5)
茨城県美浦村			
トレーニング・センター	1978.8.30 ~ 9.30		16 / 232 ^a (6.9)
トレーニング・センター	1978.10.5 ~ 11.7		180 / 287 ^b (62.7)
トレーニング・センター	1978.11.7		52 / 152 ^c (34.2)
周辺牧場	1979.2	29 / 58 (49.1)	27 / 34 (79.4)
千葉県成田市	1978.6	0 / 35 (0)	0 / 0 (0)
東京都世田谷区	1978.10	0 / 0 (0)	26 / 176 (14.8)
静岡県静岡市	1978.10	0 / 0 (0)	3 / 4 (75.0)
愛知県(名古屋市、豊橋市)	1978.4	0 / 0 (0)	49 / 94 (52.1)
岐阜県岐阜市	1978.4	0 / 0 (0)	3 / 3 (100.0)
滋賀県栗東町	1978.9	0 / 0 (0)	5 / 140 (3.6)
宮崎県宮崎市	1978.9	10 / 40 (25.0)	18 / 25 (72.0)
延岡市	1978.5	3 / 33 (9.1)	0 / 0 (0)

a: 流行前入厩馬群、b: 流行時発熱馬群、c: 流行時非発熱馬群

料によると1955年の8月上旬をピークに、東京競馬場で63頭(25.2%)、中山競馬場で43頭(32.6%)、その他中京(名古屋)および京都競馬場などで計176頭の競走馬に原因不明の浮腫を主徴とする熱性疾患の発生が記録されており、かなり古くからこれら夏から秋に発生する競走馬の発熱性疾患の原因のひとつにゲタウイルスが関与していた可能性が推測される。

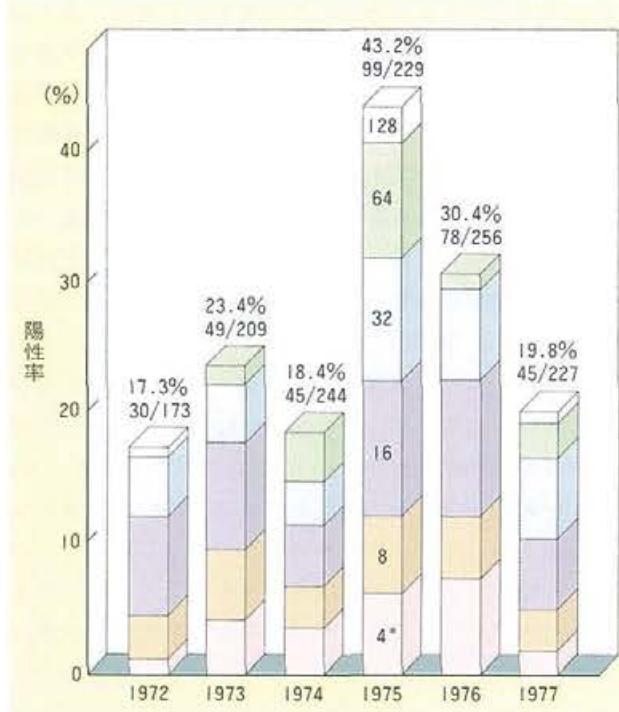


図8. 中山競馬場(旧白井分場)における抗体保有状況
※数字と同一の色はそれぞれ保有する中和抗体価を示す。

III ウィルスの生態と伝播様式

1. ウィルスの生態

自然界におけるゲタウイルスの媒介には、キンイロヤブカ、コガタアカイエカあるいはヤマトヤブカなど数種の蚊がベクターとして関与していると考えられる。これら3種の蚊は体内でゲタウイルスをよく増殖させると共に

媒介能を備えていることから、いずれもベクターとしての能力を持つ。しかし、これらの蚊の分布は地域によって差があることから、それぞれの地域に分布するこれらの蚊種のいずれかがベクターとしてゲタウイルスの伝播に関与すると考えるのが妥当である。自然界におけるウ

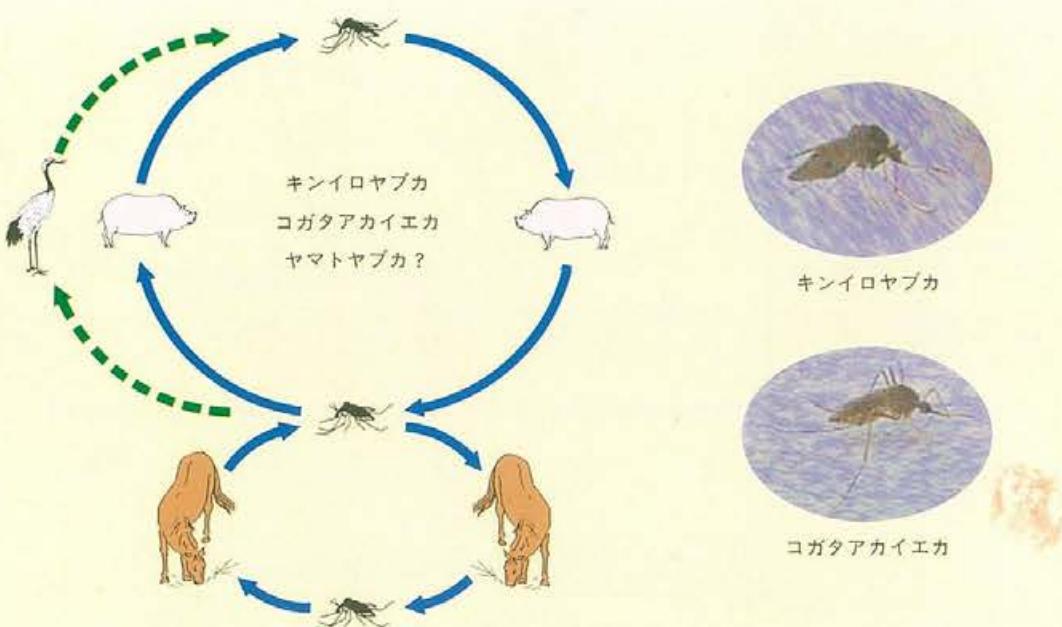


図9. ゲタウイルスの感染サイクル

イルスの伝播は、これらの蚊をベクターとして、日本脳炎ウイルスとほぼ同様、毎年初夏から秋にかけて抗体を持たない仔ブタの間で蚊-ブタ-蚊の感染サイクルを営んでいると考えられる(図9)。また、馬はゲタウイルスに対して高い感受性をもち、感染初期の馬は極めて短期間ながら高い値のウイルス血症を示す。そのため集団発生の際には、抗体を持たない馬は自然宿主であると同時にブタと共に増幅動物としてこのウイルスの伝播に関与するものと考えられる。

ゲタウイルスはこれまで、蚊の他、健康なブタの血液からも分離されている。また、ブタは高率に抗体を保有していることが知られている。そこで、美浦トレーニング・センター周辺の養豚場で春先に生まれた11頭の肥育用仔ブタをおとりとして、初夏から秋までの1シーズン、ウイルス分離と抗体調査を行った。それによるとゲタウイルスは日本脳炎ウイルスにやや遅れた時期におとりブタの血漿から分離された。最初のウイルスが分離された1カ月後には調査した大半のおとりブタにゲタウイルスに対する抗体が証明された(図10)。このことによって、通常、成豚は感染しても発熱以外の症状を示さないが、ゲタウイルスに対して高い感受性をもつことから、増幅動物として主要な役割を果たしているものと考えられる。また、これまでの血清疫学調査によるとゲタウイルスは比較的広い宿主域をもち、馬およびブタ以外にも鳥類が高い感受性を示す。そのため、自然界においてはサギやその他の野鳥(わたり鳥)がこのウイルスの伝播に関わっている可能性が示唆されるが、その疫学的意義は十分解明されていない。

2. ベクターと伝播様式

馬のゲタウイルス感染症の流行は、地域によってやや違はあるが、関西以西では7月下旬の初夏から盛夏に、また、関東地方では8月下旬から10月上旬または下旬の早秋から晩秋において見られる。馬の感染症の流行疫学調査に併せて行われたこれらの地域の蚊の生態学的調査とウイルス分離成績によると、野外のゲタウイルスは馬の感染症の発生とほぼ同時期に野外の蚊から分離されている。それによると、図11および図12に示すとおり、九州(宮崎県)では8月初旬、滋賀県の栗東トレーニング・センターでは8月中旬、茨城県美浦トレーニング・センターおよび栃木県下では9月中旬以降に多数のゲタウイルスが分離されており、これらの地域では日本脳炎ウイルスとほぼ同時期に流行期を迎えるものと考えられる。また、ゲタウイルスは、宮崎県および滋賀県においてはコガタアカイエカの発生のピークに一致して分離されている。一方、茨城県や栃木県では、ゲタウイルスは高率にキンイロヤブカから分離されている。関東一帯にはキンイロヤブカが高い密度で生息し、例年、春(5月)と秋(10月)の2回の周期をもって発生することが知られている。この調査によても、秋のキンイロヤブカの発生周期に併せて多数のゲタウイルスが分離されている。これらコガタアカイエカ、キンイロヤブカあるいは北海道に生息するヤマトヤブカは、いずれもゲタウイルスの媒介能を備えていることから、ベクターとなり得る。中でも、関東地方においてはキンイロヤブカが馬のゲタウイルス感染症の有力なベクターと推測される。特に、キンイロヤブカはコガタアカイエカの約2倍の吸血量をも

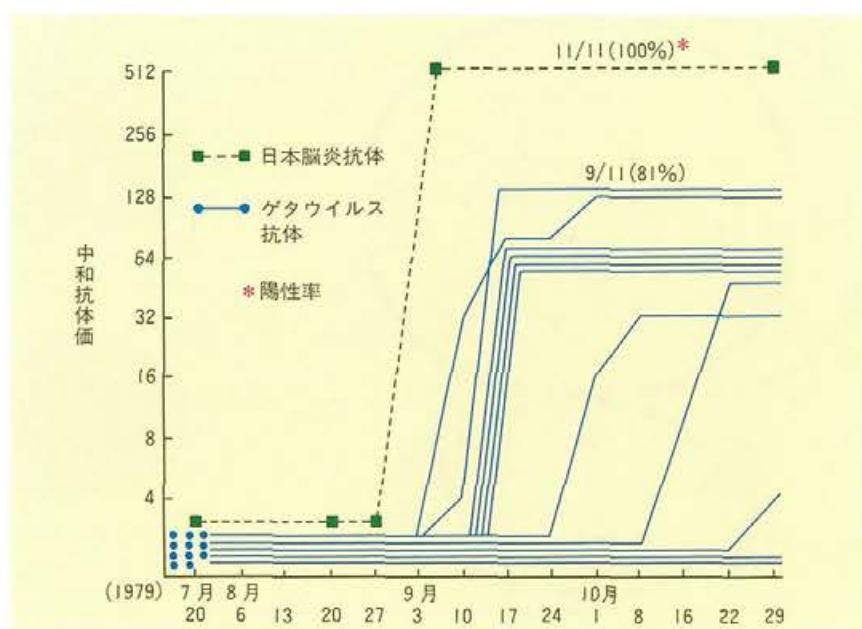


図10. 美浦トレーニング・センター周辺のおとりブタの抗体応答

つ比較的大型のイエカで、ウイルスの保毒と伝播に極めて有利な条件を備えている。通常これらの保毒蚊は1匹で1万個以上のウイルスを持っており、吸血量(20~40ul)と同じ量が馬に伝達されるとすれば1匹の保毒蚊は200個~400個のウイルスを吸血時に放出させることができる。このウイルス量は馬を発症させるために十分な量である。

また、表9に示すとおり、ゲタウイルス感染馬に見られるウイルス血症は、短期間ながら高いウイルス値(最高 $10^{5.2}$ TCID₅₀/ml)を示す。これは、吸血によって蚊を保毒させるには十分な量であり、集団発生の際には馬-蚊-馬の感染を成立させることを示すものである。

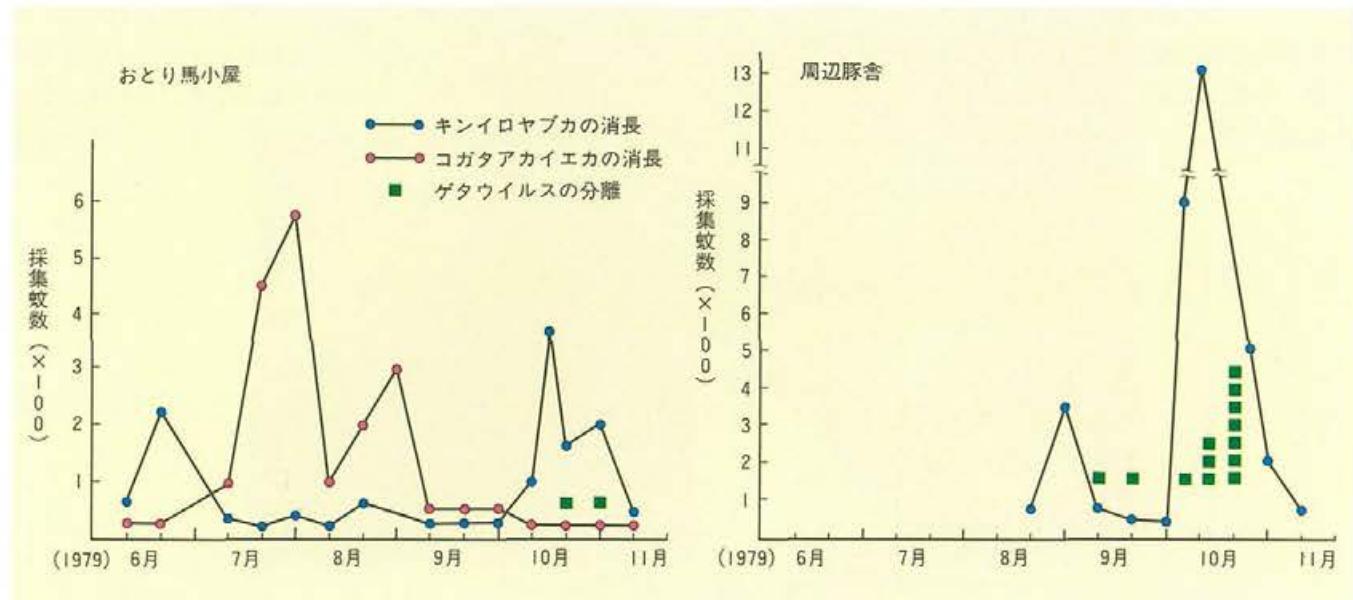


図11. 美浦トレーニング・センターで採取された蚊の発生消長とウイルス分離

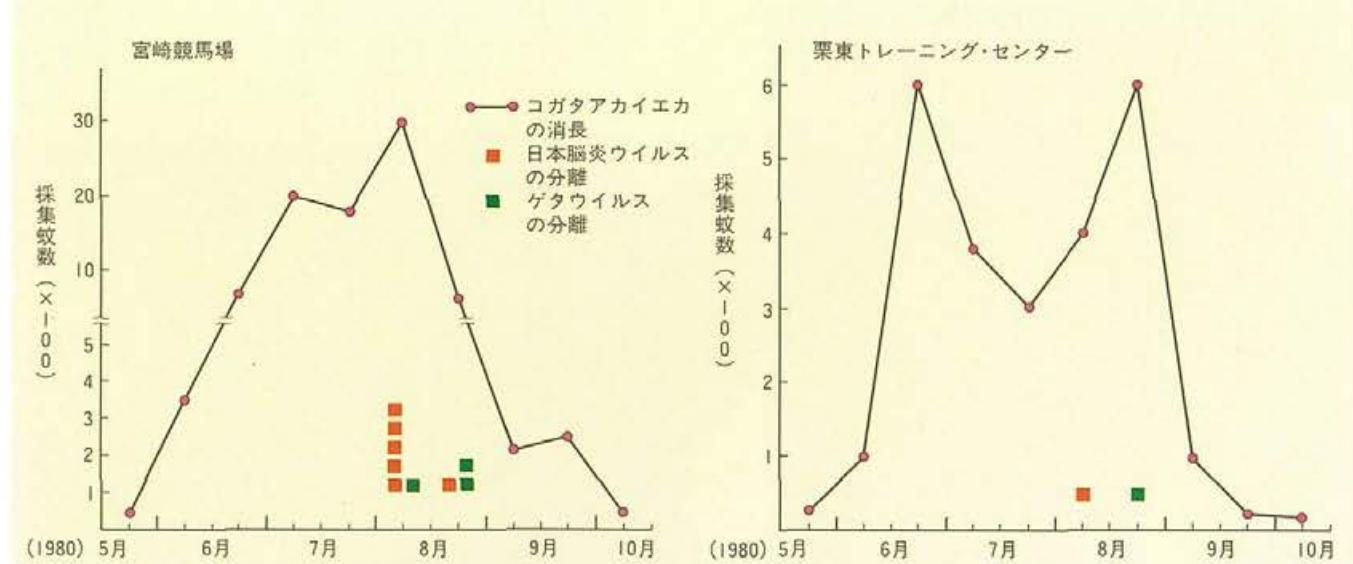


図12. 宮崎競馬場および栗東トレーニング・センターで採取された蚊の発生消長とウイルス分離

IV 臨床

1. 臨床症状

主な症状は発熱、発疹ならびに浮腫である。実験感染例に見られる潜伏期は1ないし3日で、発熱は38.5°C～39.0°Cの中等度のものである。発疹は、感染馬の約半数に発熱後1週間から10日目に米粒大から大豆大の丘疹状に見られる。この丘疹は一部に融合したものもある。また、この丘疹は概ね頸部、肋部、臀部にかけて対側性に現れるが、一部に限局して見られるものもある。また、発疹の発現に前後して下肢部に浮腫を呈するものがある。特

にこの浮腫は後肢球節部に多発し、熱分離後も残存することがある。いずれの症状も概ね1週間以内で消失し、予後は二次感染がなければ比較的良好で、死亡あるいは後遺症は見られない。

1978年に美浦トレーニング・センター競走馬診療所の取りまとめた流行例における臨床症状の発現は図18に示すとおりである。すなわち、発熱を示すものが全体の約80%でもっとも多い。発疹や浮腫は発熱にやや遅れて出現するが、発疹は約半数の感染馬に、また、浮腫は全体

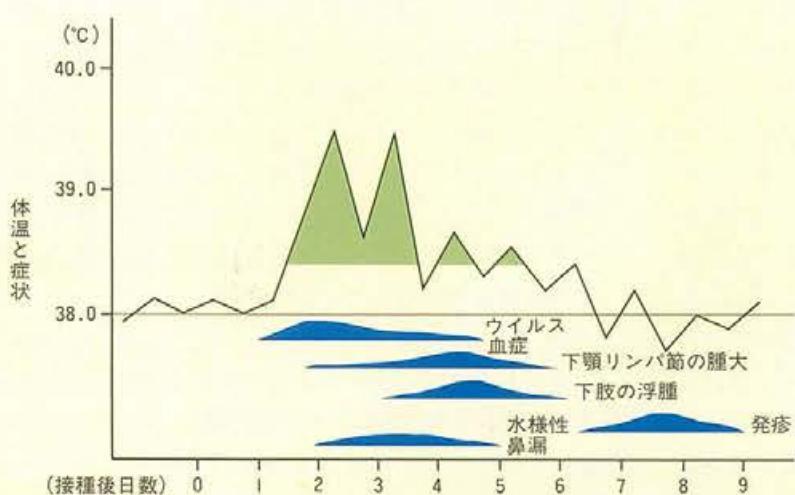


図 13. 臨床症状の発現経過



図 14. 全身性に現れた発疹

の40%程度に報告されている。感染馬の約20%は発熱を伴わなかった症例であり、発疹あるいは浮腫が単独所見として見られたものである。これらの臨床症状はいずれもおよそ1週間から10日で消失し暫時回復する。回復までの所要日数は、これらの症状がどのように組み合わさって発現されるかによりやや異なり、発熱、発疹あるいは浮腫が単独で発現したものでは平均2日、発熱後浮腫あ

るいは発疹を併発するものではおよそ4日、発熱、発疹および浮腫のすべての症状を伴うものでは平均5.4日という数値が得られている。また、流行時の伝播形態は図4に示すように厩舎内で流行多発形態をとるものから散発的な発生まで様々である。蚊の活動期にこれらいずれかの症状を示す馬のうち、過去にワクチンが接種されていない馬では本症が疑われる。



図15. 頸部に現れた発疹



図16. 臀部から下肢部に現れた発疹、一部融合して見られる。



図17. 後肢球節部に現れた浮腫

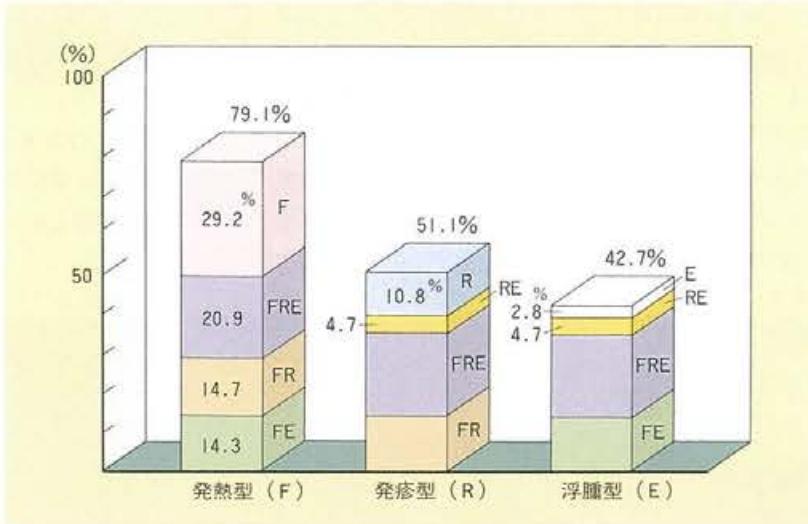


図 18. 臨床症状の発現

表 8. 接種ルート・接種ウイルス量と臨床症状の発現

馬番号	接種ルートと ウイルス量 (TCID ₅₀ /ml)	臨床症状ならびに血液所見の発現						
		発熱 (最高体温°C)	発疹	浮腫	リンパ節の腫大	鼻漏	リンパ球減少症	単球增多症
1	筋肉内 6.3	2-5* (39.4)	—	3-4	3-6	2-5	2-3	6
2	筋肉内 5.3	2-4 (39.1)	6-7	4-6	4-7	3-6	3	—
3	筋肉内 4.3	2-4 (39.2)	7-8	4-5	—	2-5	—	—
4	筋肉内 3.3	2-6 (39.5)	7-8	4-5	—	3-5	2-3	—
5	筋肉内 2.3	—** (38.3)	9-11	3-6	—	—	—	—
6	鼻腔内 7.0	— (38.0)	8-10	—	—	2-6	4-9	6-10
7	鼻腔内 7.0	3 (38.5)	8-9	—	—	2-7	5-8	6-9
8	鼻腔内 6.0	3-4 (38.9)	7-11	—	—	3-7	5-8	6-11
9	鼻腔内 6.0	3-4 (39.7)	7-8	9-11	—	3-5	3-4	—
10	鼻腔内 5.0	3-4 (39.1)	9-10	—	—	3-6	—	—
11	鼻腔内 4.0	— (38.4)	9-11	—	—	—	—	—

*: 接種後日数、**: 発熱 (38.4°C以下) あるいは所見なしを示す。

これらの症状の発現は感染したウイルス量とある程度の相関があることが実験的に明らかにされている。この関係を知るために種々の量のゲタウイルスを実験的に接種し、症状の発現の差異を検討した。その結果、表8に示すように筋肉内ルートで多量のウイルスを接種された馬ではリンパ節の腫大が、逆に、少量のウイルスの感染を受けた馬ではリンパ節の腫大が無く、また、発疹の発現に遅延が見られる。さらに、接種ルートとウイルス量の差異によって発現する症状に違いがあるかについて調べたところ、筋肉内ルートでは少量のウイルスでも発症し感染が成立するのに対し、鼻腔内ルートでは、10^{4.0}TCID₅₀程度以上の比較的高濃度のウイルスが感染の成立に必要であることが分かった。また、発疹は、筋肉内ルートで少量のウイルスが接種されたもの、および、高濃度のウイルスを鼻腔内ルートで接種されたものによく見られている。一方、自然感染例では鼻汁からウイルスが分離されること、

および、実験感染例で見られる呼吸器症状から、流行時の感染経路として接触感染を疑う報告もある。しかし、これを支持する疫学的証拠や鼻汁中に証明されるウイルスの力値から考え合わせると、接触感染は本症の主要な感染ルートではなく、自然発生例に見られる多様な症状は、保毒蚊の吸血によって馬に取り込まれたウイルス量の差異によるものと考えられる。

2. 血液所見

実験感染例による血液所見は、図19に示すとおりである。発熱に伴って、軽度な赤血球減少と白血球減少(ロイコペニー)が見られる。また、リンパ球の減少を示すN/L比の増加が認められる。また、発病後2週目ないし3週目の回復期になると軽度の単球增多症が観察される。血液生化学的所見では自然感染例のすべての症状に共通して総ビリルビン(T-Bil)値とアルカリリフォスファターゼ(AI-P)値の高値が見られる。

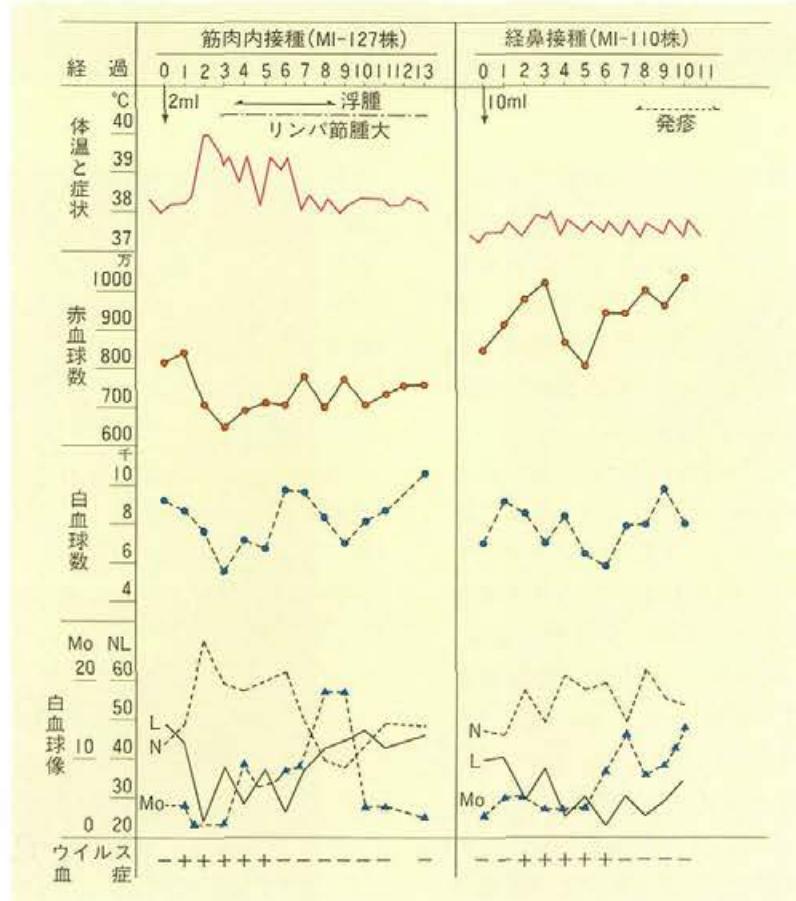


図 19. 実験感染馬の臨床血液所見

T-Bil値の高値は赤血球の破壊に、また、AIP値の高値はアレルギー性反応にそれぞれ起因するものと考えられる。

3. 抗体応答

実験感染馬に見られる各種抗体応答は図20に示すとおりである。ウイルス感染後、中和抗体が最も早期に出現

し、約1カ月でピークとなる。血球凝集抑制(HI)抗体は中和抗体に続いて出現し、感染馬においては、いずれの抗体も比較的長期にわたって観察される。日本脳炎ウイルスと同様に感染の指標とされる2-メルカプトエタノール(2-ME)感受性抗体は感染1週目から3週目にかけて認められる。

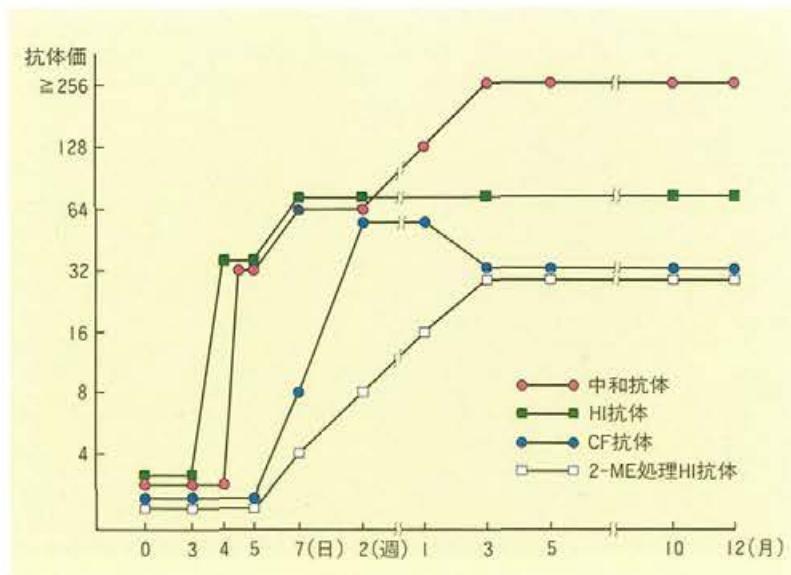


図 20. ゲタウイルス実験感染馬における各種抗体応答

V 病理と発症機序

1. 病理組織所見

感染馬の主要臓器には特に注目すべき病変は見られないが、全身に分布するリンパ節は軽度に水腫性に腫大し、リンパ液のうっ滞が認められる。また、発疹部の皮下真皮の粗性結合組織には淡黄色透明なリンパ管の怒張が見られる。冷性浮腫を示した下肢部の皮下組織には、顕著な水腫性変化が見られるが、出血や漿液の貯溜、膠様浸潤などの所見はない。

組織所見では、脾臓とリンパ節に限局して変化が見られる。すなわち、脾臓では、急性期においてはろ胞の壊死（図21）が見られ、一方、回復期では中型リンパ球の集簇から構成されるろ胞の増数、ならびに中心動脈周囲およびろ胞辺縁帯（白脾髄と赤脾髄の境界）の中型リンパ球の集簇とおびただしい好酸球の集簇が見られる。亜急性期のリンパ節ではろ胞の増数（図22）、傍皮質における中型ないし小型リンパ球の充满、リンパ洞内における大型の塩基好性細胞やプラズマ細胞の集積が見られる。皮膚発疹部では真皮上層において急性炎症像が見られ、浮腫とリンパ球および組織球からなる細胞浸潤像が共通して見られる（図23）。また、一部には好酸球の浸潤や出血も認められる。一方、中枢神経系では終脳皮質（灰白質）に軽微な団管性細胞浸潤を伴う小出血巣（図24）、大脳軟膜のうっ血が認められるものや、脊髄の胸髄後部から腰髄にかけて灰白部にうっ血あるいは出血が見られるものがある。これらの中中枢神経系の変化は日本脳炎ウイルスの感染馬にも見られるが、これと比較すると軽微である。

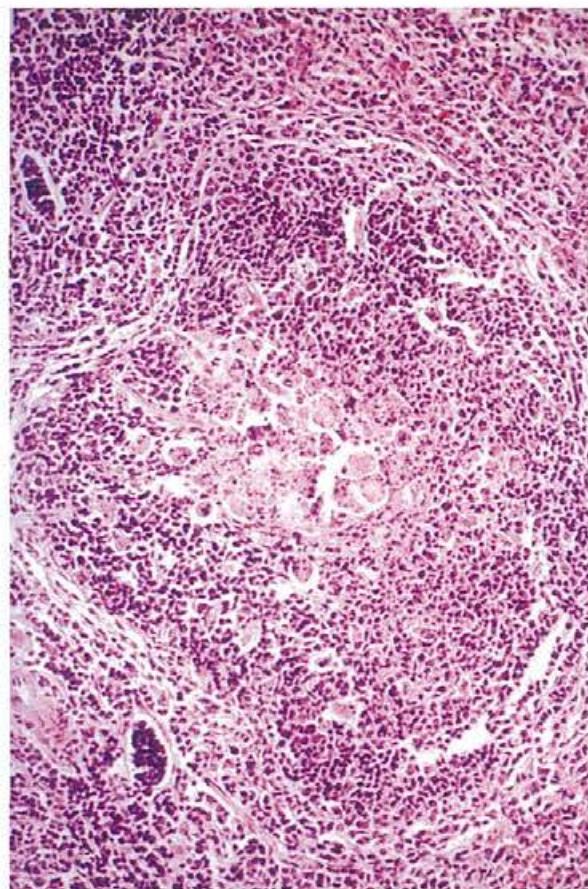


図 21. 脾臓。濾胞のリンパ球は崩壊し、活性化したマクロファージがそれらを貧食している。

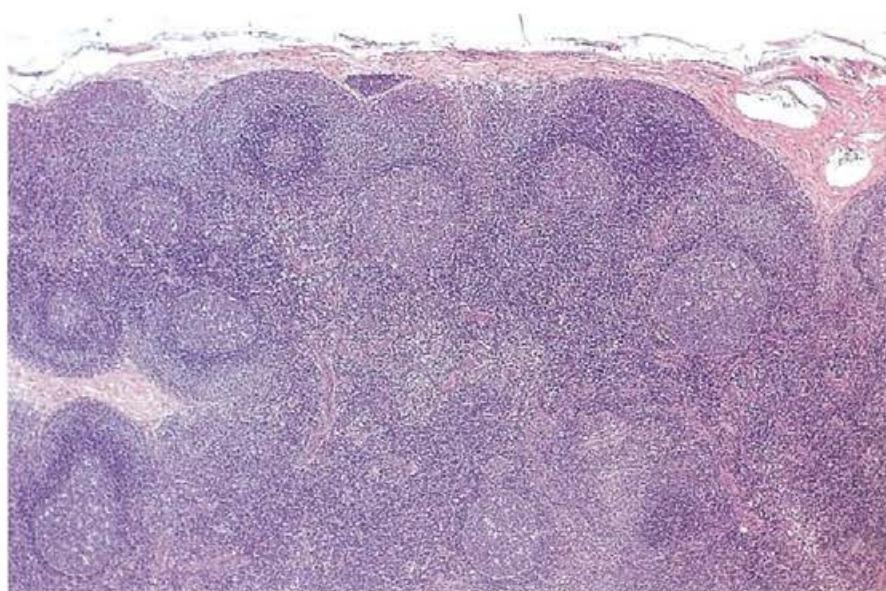


図 22. リンパ節。亜急性期にはろ胞の過形成が見られる。

2. 発症機序

この病気の発症機序は、保毒蚊の吸血時に蚊の吻門を介してウイルスが馬の血流に取り込まれ、リンパ系組織に運ばれる。そこで一次増殖したウイルスは再び血流を介して全身の親和性組織に運ばれ、そこで病原性を発揮すると考えられる。自然感染例ならびに実験感染例で見られる発疹は、ウイルス感染後およそ1週間から10日目前後によく発現する。この時期は丁度リンパ系組織で活発な抗体産生が見られる時期と一致する。そのため、この皮膚病変に見られるリンパ系細胞や好酸球の出現から、本症の発疹の成因には抗原・抗体複合体の関与が推測されるが、まだその証明はされていない。

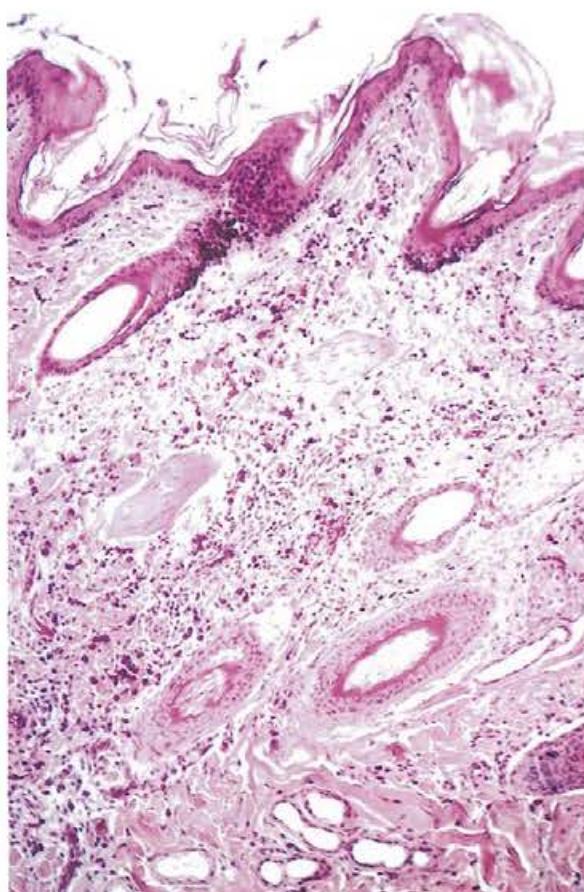


図 23. 皮膚発疹部。真皮において主としてリンパ球からなる炎症性細胞浸潤像が認められる。好酸球も浸潤も特徴的であり、病変の発生機序としてアレルギーの関与が疑われる。

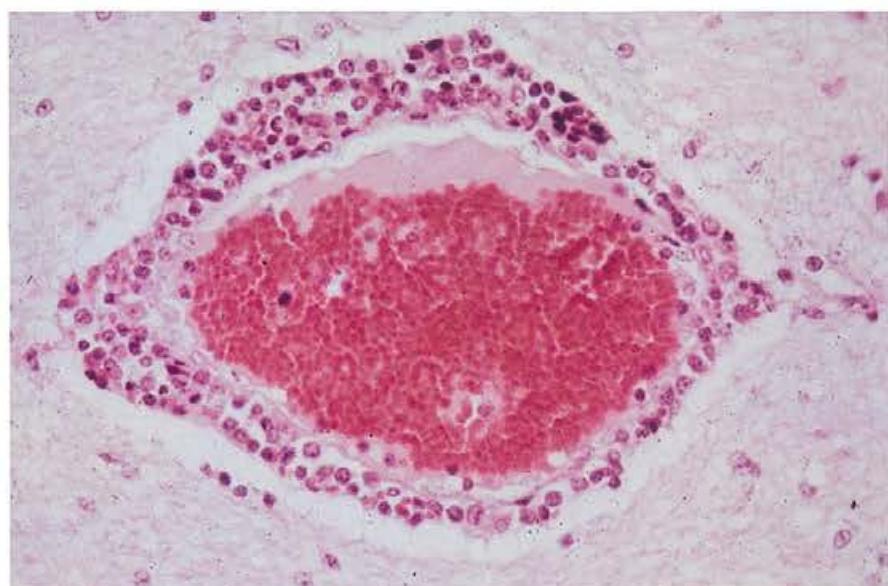


図 24. 大脳。海馬付近に見られた血管周囲性の単核細胞浸潤。血管はうっ血し、周囲の実質は軽度の水腫性である。

VI 診断

1. 病原学的診断

ウイルスは感染初期の馬の血漿中から多く分離されるので、病原ウイルスの検査は血漿を材料とするのが最も確実で迅速な診断法である。実験感染例によるとウイルスは発熱前後の発病初期の血漿から高率に回収される。本症に見られるウイルス血症は感染初期に一過性に出現し、多くは5日以内に消失する。種々のウイルス量を接種された実験感染例に見られるウイルス血症は、感染後短期間ながら高いウイルス価（最高10

5.2TCID₅₀ / ml）を示す（表9）。このウイルス量は吸血によって蚊を保毒させることができ十分な量であり、集団発生時には馬-蚊-馬の伝播を成立させることを示す。通常、発疹あるいは浮腫は、この発熱に若干遅れて見られることが多く、発疹が発現する時期には、すでに血漿中のウイルスは消失している。さらに、発熱と同時に軽度な水様性鼻汁を伴う呼吸器症状を示すものがあり、これらの症例では、鼻汁からもウイルスが回収されるが、その分離率は血漿に比べて低

表9. 実験感染馬におけるウイルス血症とその出現

馬	接種ルートと ウイルス量	接種後日数						
		0	1	2	3	4	5	6
1*	筋肉内 6.3**	-	3.2	4.7	5.2	3.7	1.7	-
2	5.3	-	-	2.7	3.7	2.7	1.7	-
3	4.3	-	3.2	5.2	5.2	3.7	2.2	-
4	3.3	-	-	3.2	3.2	2.2	2.2	-
5	2.3	-	-	-	-	-	-	-
6	鼻腔内 7.0	-	-	3.2	3.7	3.2	3.2	-
7	7.0	-	-	3.7	4.2	2.7	2.2	-
8	6.0	-	-	-	2.2	3.2	2.7	2.2
9	6.0	-	-	-	3.2	4.2	3.2	3.2
10	5.0	-	-	-	2.2	2.2	1.7	-
11	4.0	-	-	-	-	-	-	-

* ; 馬はいづれも臨床所見を示す。 ** ; TCID₅₀ / ml. - ; ≤1.5TCID₅₀ / ml

表10. 実験感染馬における組織内のウイルス分布

組織	接種後日数		
	1日	4日	10日
血液	+	+	-
鼻粘膜	+	-	-
肺	+	+	-
脾臓	+	+	-
肝臓	+	-	-
脊髄	+	-	-
骨髄	+	+	-
リンパ節			
下頸	+	-	-
浅頸	-	+	-
腋窩	+ (3.5)*	+ (5.5)	-
脾門	+	+	-
腎門	+	+	-
腸間膜	+	+	-
鼠径	+ (4.5)	+ (6.5)	-

* TCID₅₀ / ml



図25. ゲタウイルス感染発症マウスに見られる後軸麻痺

い。実験感染例による感染初期の臓器組織中のウイルスは、表10に示すとおりで、肺、肝臓、脾臓、脊髄、嗅球および各所の主要リンパ系組織から検出される。実験例によれば、発症早期の馬の下顎、腋窩、鼠径などのリンパ節からウイルスが回収されている。中でも、腋窩リンパ節および鼠径リンパ節からは高い力値のウイルスが検出される。このことから、このウイルスはリンパ系組織に強い親和性をもつと考えられる。

このウイルスは種々の培養細胞に感受性を示すが、中でも、Vero細胞、RK-13細胞あるいはHmLu-1細胞で良く増殖する。感染細胞はウイルス接種後3日目ないし4日目に細胞の円形化を特徴とする細胞変性効果(CPE)を示す。また、このウイルスは日本脳炎ウイルスと同様、乳飲みマウスに対しても高い感染性を示すことから、生後2日ないし3日の乳飲みマウスに脳内接種にすることによっても容易にウイルス分離ができる。ゲタウイルス感染によって発症した乳飲みマウスは、日本脳炎ウイルス感染マウスに見られるような脳炎症状を示さず、特徴的な後軀麻痺を示す。この後軀の麻痺は通常ウイルス接種5日目程前後に観察されるので、発現した症状によってもある程度日本脳炎ウイルスとの識別が推測できる(図25)。

培養細胞あるいは乳飲みマウスでウイルスが分離されたら、その確認のために継代を行う一方、免疫組織的検査の他、間接蛍光抗体法、HI試験あるいは中和試験などの血清学的試験によってウイルスの同定を行う。

2. 血清学的診断

血清学的診断は急性期ならびに回復期のペアーア血清を用いて、特異抗体の有意な上昇をもって行われる。一般的に用いられる血清反応は補体結合(CF)反応、HI反応、エライザ法およびCPEやブラック減少を利用した中和試験法が利用できる。CF抗体はチクングニアウイルスやロスリバーウィルス、東部あるいは西部馬脳炎ウイルスなど同属のアルファウイルスと低いながら交差があるので、診断の対象によっては適切でない場合がある。さらに、わが国では最近、競走馬にワクチンが広く用いられているため、ワクチン抗体と感染抗体の識別あるいは他の馬感染症との類症鑑別には、日本脳炎ウイルスのHI反応の際に用いられる感染抗体の簡便な識別法として利用される血清中の2-ME感受性抗体の測定や、特異的感染抗体(IgM)を検出することが必要となる。

HI反応

HI反応はアセトン処理あるいはカオリン処理血清を用いて、日本脳炎ウイルスの検査法に準じて実施する。ゲタウイルスのHA活性の至適pHは通常pH6.4であるが、ハルナ株を例外として、野外から分離されたゲタウイルスのHA活性は一般に低いことが知られている。この場合、日本脳炎ウイルスのHA活性の測定に用いられる塩濃度を通常の0.15Mから0.35Mに上げることでその活性の増強が期待できる(検査手技の項参照)。

中和試験

マイクロプレートを用いたCPEならびにブラック減少法による中和試験が利用できる(検査手技の項参照)。

3. 類症鑑別

本症の特徴的な臨床症状は発疹であるため、食飴性あるいは薬物性の原因によるアレルギー性のじん麻痺と混同されやすい。馬は皮膚の弱い動物で、日常の診療でしばしば発疹の症例に遭遇する機会が多いが、その内因性および外因性の要因は多岐に及ぶことから、原因学的に詳しく究明されることはあまりない。実際、このウイルスが野外で分離されて以来、ほ乳動物に対する病原性が長い間不明であったのは、臨床の場で遭遇する多くの発疹の症例に対して対症療法で対応してきたのがその一因と推測される。また、このウイルスの病原性は比較的弱いため、発熱などの症状が一過性なこともその背景にある。本症の類症鑑別上注意することは、発熱、発疹、あるいは浮腫のすべてあるいはいづれかの症状を組み合わせた症例において、その発生時期が蚊の活動期にあたるか否か、また、過去のワクチン接種の履歴についても考慮することが大切である。しかし、臨床的に発疹や浮腫を示して本症が疑われても、発疹や浮腫が発現する時期にはすでに体内のウイルスは消失しているため、ウイルス学的な診断は困難である。その場合、感染抗体の検出など血清学的検査によって診断する必要がある。その他、日本脳炎、脳脊髄炎状虫症(セタリア症)による腰ふらがゲタウイルス感染と同様、蚊の活動期に合わせて発生する。さらに、外国馬では原虫性脊髄脳炎などの感染症も今後注意する必要がある。

1. 予防

馬のゲタウイルス感染症の予防ワクチンは1978年の流行後直ちに開発され、その翌年春には野外試験として実用化された。当時のワクチンは、馬由来のウイルス(MI-110株)を豚腎細胞に順化した組織培養ウイルスの单味のホルマリン不活性ワクチン(日生研株式会社、東京)で、これまで長く使用されてきた。このワクチンの2mlを頸部筋肉内に初回接種し、その4週(約1カ月)後に同量を接種し、この2ドーズをもって基礎免疫とする。このプログラムに基づくワクチン接種馬の抗体応答は図26に示すとおりである。このワクチンの免疫効果を調べた成績によると、1:4~1:8程度の中和抗体を保有していればウイルス感染があつても発熱等の症状を伴わずに耐過することから、この不活性ワクチンによる本症の予防効果は極めて高いものと判断される。現在では馬のゲタウイルス感染症と日本脳炎の予防用として組織培養による不活性2価ワクチンが開発され広く用いられている。

本症の予防は、不活性ワクチンによって產生された特異抗体が流血中のウイルスに直接作用し、ウイルスを中和することによって得られる。ゲタウイルスは、蚊によって媒介されるため、蚊の生息に適当な気温や雨量などの気候条件や地域によってもやや違いはあるが、通常では初夏から晩秋にかけて流行期を迎える。したがって、日本脳炎の予防とほぼ同様に、蚊の活動期を迎える前に馬に十分な免疫を与えるため、ワクチンは日本脳炎の予防接種とあわせて行うことが最も効果的で、かつ、効率的である。現在、軽種馬防疫協議

会の定めるワクチン接種プログラムによれば、初めてこのワクチンを接種する馬には、基礎免疫として5月に初回の接種をし、その1カ月後の6月に補強接種することを、また、前年度に2ドーズ(2回)の基礎免疫を完了した馬においては5月から6月までに1ドーズ(1回)の補強接種を完了するよう指導されている。

ゲタウイルスの流行性や病原性は他の馬のウイルス病と比べて必ずしも強いものではない。しかし、競走用馬、繁殖用馬など特殊な用途の馬では、ウイルス感染によって一時的に健康やコンディション調整が阻害されることは、本来の目的に添えないばかりか、免疫のない馬群では特に集団発生の原因ともなる。このウイルスは、北海道から九州までほぼ全国的に分布している。そのため、特に、馬の飼養環境の周辺あるいは蚊の飛来距離内にアタの飼養施設があるような地域では、時期によっては一匹でも十分に馬を発症させることのできる高い濃度のウイルスを保毒した蚊が飛来している。したがって、本病の予防にはワクチン接種が最も安全でかつ、効果的である。

このウイルスの感染経路は、馬から馬への接触感染を支持する報告もあるが、通常は蚊の媒介によって起こる。したがって、厩舎周囲の排水溝あるいは水田などの蚊の発生源の消毒等周辺環境の浄化も必要であるが、その経済的効果あるいは環境汚染などの対策も同時に配慮する必要がある。その他の対策としては、厩舎の扉や窓の防虫網の設置および電撃殺虫機の設置などの施設改善によって物理的に蚊の侵入を防止することは、本症の予防だけでなく、馬にとって快適な飼養

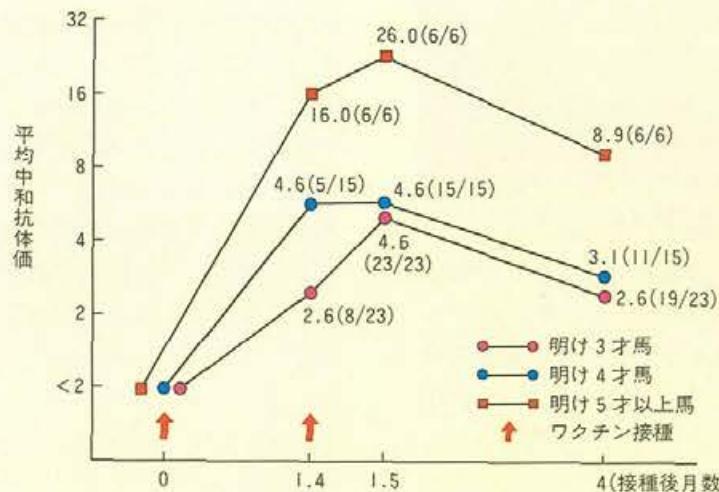


図 26. 不活性ワクチン接種馬における抗体応答

環境を作る上でも極めて大切である。

2. 治療

現在のところ、本症に特異的な治療法はないので症状に応じた対症療法が中心となる。元気食欲が正常で

あれば、とくに治療する必要はなく、一般的には安静に保てば1週間前後で自然に症状の改善が期待できる。症状によっては解熱剤、および二次感染予防としての抗生素、あるいは抗アレルギー剤や肝機能促進剤ならびに利尿剤などの投与が必要な場合がある。

VIII

検査手技

1. CPEを利用したマイクロプレート法による中和試験

- (1) 原血清(0.2ml)をウイルス希釈液、すなわちVERO細胞を使用する場合はVERO細胞維持液、また、RK-13細胞を使用する場合は2%牛胎児血清加イーグルMEM培地によって2倍希釈し、56℃30分間非効化する。
- (2) 96穴平底マイクロプレートの1列目を除く全穴に1滴、0.05ml量の上記ウイルス維持液を加える。
- (3) 上記(1)の2倍希釈された可検血清をマイクロプレートの1列目に2滴、0.1ml量を加え、2倍から128倍までの血清希釈列を作製する。
- (4) 0.05mlあたりのウイルス価が 10^2 TCID₅₀に調整されたウイルス液を対照列を除くすべての穴に加え、良く震とうする。

血清希釈倍数

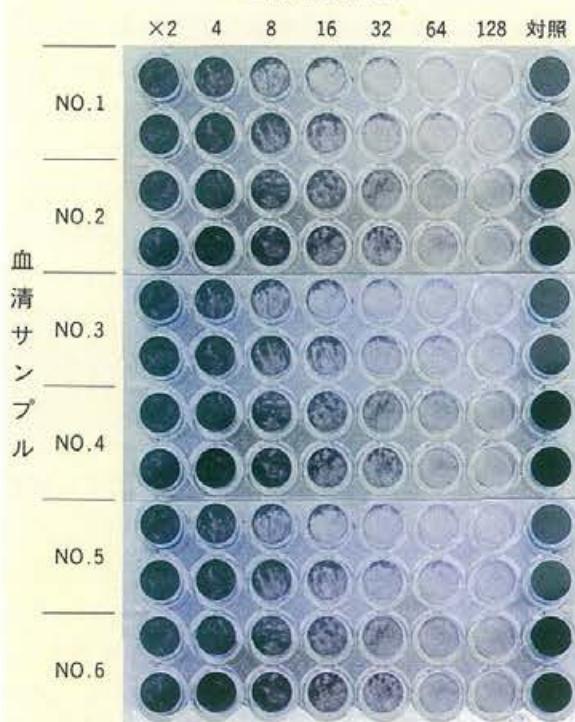


図27. CPEを利用した中和試験

- (5) 5%炭酸ガスふらん器内で37℃、60分間感作する。
- (6) それぞれの使用細胞の増殖液、すなわちVERO細胞を使用する場合はVERO細胞増殖液、また、RK-13細胞を使用する場合は10%牛胎児血清加イーグルMEM培地にそれぞれ使用する細胞を 2×10^5 /mlに調整した細胞浮遊液0.1mlづつマイクロプレートの全穴に滴下し、セロファンでシールしたのち、混和する。
- (7) 5%炭酸ガスふらん器内で37℃で4日間培養する。
- (8) 培養液を捨て、0.1%ゲンチアナバイオレット加10%ホルマリン液中に1~2時間浸漬し、固定と染色を同時にを行う。
- (9) 細胞が剥がれないよう静かに水洗し、プレートを乾燥する。
- (10) 抗体価はウイルスを完全に中和した最高の血清希釈倍数の逆数をもって表わす。

2. 赤血球凝集抑制(HI)反応

(1) 抗原の調整

HI反応に用いる赤血球凝集(HA)抗原の作製は、通常、ゲタウイルスに感染した乳飲みマウスの脳あるいは筋肉をブールし、8.5%ショ糖液で25%感染乳剤を作製する。この乳剤を出発材料とし、常法に従い20倍量の冷アセトン中に滴下攪拌し、遠心した上清を吸引除去する。沈殿に同量の冷アセトンを加え、氷冷中で1~2時間放置し、組織塊をガラス棒で顆粒状にする。冷却遠心機で遠心後、上清を吸引除去し、デシケーターに入れ、ロータリーポンプ(飛散防止のためトラップをもうける)で乾燥する。この抽出された乾燥抗原に対し、元の乳剤量の2/5量になるよう冷生理食塩水を加えて良く溶解し、3,000rpm10分遠心した上清をアセトン抽出(SA)抗原とする。HA像が不明瞭な場合は、このSA抗原に50mg/mlの硫酸プロタミンを抗原量に対して1/10量加えて、氷冷中で30分感作したのち、2,500rpm15分遠心した上清を硫酸プロ

タミン処理SA抗原とする。この硫酸プロタミン処理抗原ではHAのpH依存性は消失するのでpH6.2～6.8までいずれの緩衝液（VAD）を用いてもそのHA価は変わらない。ただし、この硫酸プロタミン処理SA抗原はCF抗原には適さない。また、感染脳乳剤にかわって、ウイルス感染細胞のペレットを超音波処理し、高速遠心した上清をHA抗原の原材料として用いることもできる。ゲタウイルスのHA活性は株によって差があり、これまで知られるところではハルナ株以外のウイルス株では一般に低い。そのため、市販HA抗原を用いるか、実験室で作製するにはハルナ株の感染乳飲みマウス脳乳剤を用いるのが効率的である。緩衝液の作製は日本脳炎ウイルスのHI反応に用いられるものと同じである。

(2) 血清の処理

- 1) 被検血清0.2mlを試験管にとり、血清の20倍量すなわち4mlの冷アセトンを一気に加える。
- 2) ゴム栓で密封し、5分間良く震とうしたのち、1,500rpm5分遠心し、上清をピペットで捨てる。
- 3) 前回と同様、4mlの冷アセトンを加え、沈査をガラスないし樹脂棒で良く溶解し、5分間震とうする。
- 4) 再び遠心したのち、上清をピペットで捨て、デシケーターに入れ、ロータリーポンプで約1時間乾燥させ、アセトンを完全に蒸発させる。
- 5) 血清希釈液であるpH9.0ホウ酸緩衝液（BS9.0）2.0mlを加え、乾燥物を十分に良く解かし、1夜冷蔵庫内に放置する。
- 6) 十分に溶解したら、ガチョウ赤血球パックを0.05ml（2滴）加え、良く混和し、室温で15分間感作する。
- 7) 冷却遠心機で3,000rpm分遠心し、その上清を試験管に分注し、56℃ 30分恒温槽中で非動化する。
- 8) この上清は10倍希釈血清として以下の反応に使用する。血清中のインヒビター（リボタンパク）の除去にはアセトン処理の他、カオリンによる吸着除去法が利用できる。ただし、カオリンは製造ロットによってはインヒビターが完全に除去されず不規則な結果が生じる場合があるため、使用にあたっては注意する必要がある。また、感染初期に出現する抗体（Ig M抗体を含む）とワクチン抗体（IgG）を識別する簡便な方法として2-ME処理法がある。その場合の血清処理法は被検血清を等量の0.01M PBSで希釈し、新たに調整した0.2Mの2-MEと等量の希釈血清と混合する。対照として2-MEの代わりに0.01M PBSを用いたものを用意する。37℃ 1時間放置したものを処理原血清として、

上記2. で示すアセトン処理を行う。2-ME処理血清と対照の示す抗体価に8倍以上の差があるとき2-ME感受性と判定される。2-MEの代わりに0.01Mディチオスレイトール（DDT）を用いることもできる。

(3) 血球液の調整と使用する緩衝液

1) 血球保存液（ACD）

特級クエン酸ソーダ	$\text{Na}_2\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	11.26g
特級クエン酸	$\text{H}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$	4.0g
特級デキストローズ		11.0g

全量を500mlとし、高圧滅菌して4℃保存する。

2) 血球希釈液（DGV）

局方バルビタール	0.58g
ゼラチン	0.6g
局方バルビタールソーダ	0.38g
特級CaCl ₂	0.02g
特級MgSO ₄ · 7H ₂ O	0.12g
特級NaCl	8.5g
特級デキストローズ	10.0g

全量を1000mlとし、高圧滅菌して4℃保存する。

3) 8%ガチョウ赤血球浮遊液

上記赤血球保存液（ACD）でガチョウ赤血球を採血し、血球洗浄液（DGV）で1,000rpm、15分、4回洗浄し、最後の血球沈査の3倍量のDGVに浮遊する。この全体量をAとする。この浮遊液0.2mlに7.8mlの食塩水を加え、濁度を比色計（490nm）で測定する。初めの量（A）にOD490の値を0.45で割った数値を乗じた値が8%ガチョウ赤血球浮遊液の最終量となる。式で示すと、最終量 = A × OD値 / 0.45となる。使用にあたってはこの8%ガチョウ赤血球浮遊液をDGV液で1:24に希釈した（およそ0.33%）ものを使用する。

4) 抗原-血清希釈液（ホウ酸緩衝食塩水BS9.0）

a. ホウ酸緩衝食塩水BS9.0

ストック1.5 M NaCl	80.0ml
ストック0.5 M H ₃ BO ₄	100.0ml
ストック1.0 M NaOH	(24.0 + factor)ml

pHを測定（pH9.0 ± 0.03）し、高圧滅菌して4℃保存する。

b. 0.4%アルブミン加BS9.0

ストック4%アルブミン液は牛アルブミン分画V20gを上記BS9.0液500mlに溶解し、ろ過滅菌する。使用にあたっては1MNaClでpH9.0に調整する。試験には9倍量のホウ酸緩衝食塩水BS9.0に1容のストック4%アルブミン液を加えた0.4%アルブミン加BS9.0

として用いる。

5) 血球希釈液 (VAD)

ストック液

pH	6.0	6.2	6.4	6.6	6.8	7.0
1.5Mあるいは 3.5M NaCl	100	100	100	100	100	100
0.5M Na ₂ HPO ₄	32	62	112	160	192	240
1.0M NaH ₂ PO ₄	184	169	144	120	104	80

それぞれ再蒸留水を加え、1,000mlとする。

これと等量のBS9.0液と混合し、pHを測定し、4℃に保存する。

ゲタウイルスはハルナ株を除き、HA活性が低い。そのため、ブニヤウイルスのHA反応に用いられるVADの塩濃度を1.5M NaClに代え3.5M NaClを用いるとそのHA値の上昇が期待できる。

6) HI反応術式

- (1) 96穴のU字型マイクロプレートの1列目を除くすべての穴に上記(3)の4)b.で作製した0.4%アルブミン加BS9.0を0.025ml（1滴）入れる。最終列は血清対照として0.05ml（2滴）入れる。
- (2) 上記(2)で処理した1:10希釈被検血清をマイクロプレートの1列目にそれぞれ0.05ml（2滴）、血清対照として、最終列の穴に0.025ml（1滴）入れ、10倍から640倍までの2倍階段希釈列を作る。高い抗体値が予想できる場合は20倍以上から希釈列を作製する。
- (3) HA値が1:8を示すように希釈調整したHA抗原（最終4単位）を血清対照をのぞく全穴に0.025ml（1滴）入れ、震とう混和する。
- (4) 4℃冷蔵庫内で一晩放置する。
- (5) 上記(3)の3)で作製した、8%ガチョウ赤血球浮遊液1容に対し、予備試験で最も高いHA値を示すVAD液(pH6.4～6.6)24容の割合で希釈したガチョウ赤血球液（およそ0.33%）0.05ml（2滴）を全穴に入れ、良く混和し、室温で1時間放置する。
- (6) 判定は赤血球凝集を完全に抑制した最高血清希釈倍数の逆数をもって表す。

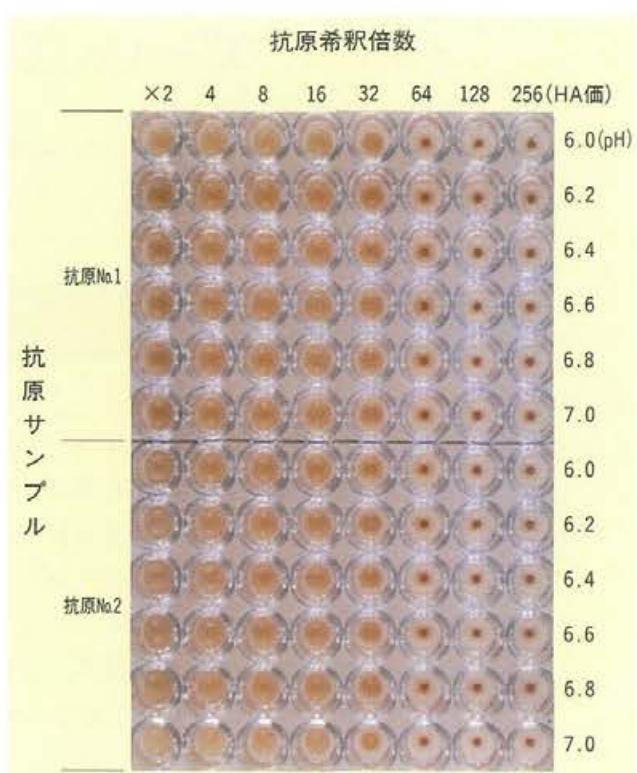


図 28. 感染マウス脳乳剤のショ糖・アセトン抽出抗原（硫酸プロタミン処理）による HA 活性

おわりに

馬のゲタウイルス感染症は1978年秋に茨城県下にある日本中央競馬会の美浦トレーニング・センターで発生した発疹を伴う熱性疾患の集団発生を契機に、同センター競走馬診療所ならびに競走馬総合研究所栃木支所が中心となって原因究明にあたりました。これによって、これまで疾病との関係が明らかにされていなかったゲタウイルスが馬の感染症の病原体であることを初めて突き止めると同時に、流行後極めて短期間に疫学、病原体の性状と病原性、診断、ワクチンの開発さらには生態と伝播形態に及ぶ膨大なデータを積み重ねて本病の解明に至ったものです。

馬のゲタウイルス感染症については、栃木支所におけるこれらの研究業績をもとに、既刊の会内誌や講習会を通じて適宜、関係者に啓発と普及がなされてきたところですが、この度、感染症シリーズに加えられるべきものとして改めてこれまでの成果をとりまとめたものです。

最近では、本症の発生はワクチン接種の励行に伴ってあまり見掛けられなくなりました。しかし、日本脳炎ウイルスと同様に、ゲタウイルスはわが国に広く分布し、地域や場所によっては毎年高濃度のウイルスがブタと蚊の間で伝播しています。そのため、これまでどおり、計画的なワクチン接種によって個体はもとより、集団的な免疫を高めておくことが大切です。

この冊子は、本症の臨床に遭遇する機会もなくなった若い臨床獣医師、牧場管理者ならびに衛生指導に携わる方々を対象にまとめたもので、本病の理解と日常の診療の参考になれば幸いです。

競走馬総合研究所
熊埜御堂 毅
和田 隆一

参考資料

1. 新しい馬の熱性疾患について—ゲタウイルス感染症—、日本中央競馬会競走馬総合研究所発行、獣医技術（特集号）、16巻、No.7、1979年
2. 美浦トレーニングセンターで流行した馬の伝染病について—ゲタウイルス感染症—、日本中央競馬会競走馬診療所発行、雑誌「競走馬」、特集号、1979年
3. 馬のゲタウイルス感染症、秋山 輝、日獣会誌、33、567～581、1980
4. Getah Virus as an Equine Pathogen.Y.Fukunaga,et al.The Veterinary Clinics of North America,W.B.Saunders Co. Vol.16(3),p605-617,2000
5. Getah virus.T.Kumanomido,Encyclopedia of Arthropod-transmitted Diseases,CABI Pub,194-197,2001

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. ベネズエラ馬脳炎	昭和57年
6. アフリカ馬疫	昭和58年
7. 馬鼻肺炎	昭和59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. 馬ビロプラズマ病	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. 消毒法Q&A	平成3年
16. 馬トリバノゾーマ病	平成5年
17. 馬インフルエンザ	平成6年
18. 馬の感染症	平成6年
19. 腺疫	平成8年
20. 子馬のロドコツカス感染症	平成8年
21. 馬鼻肺炎（第2版）	平成9年
22. 馬伝染性子宮炎（第2版）	平成9年
23. 馬原虫性脊髄脳炎	平成10年
24. 馬パラチフス	平成10年
25. 馬の日本脳炎	平成10年
26. 馬ビロプラズマ病（第2版）	平成11年
27. 馬のゲタウイルス感染症	平成11年
28. 馬口タウイルス感染症	平成12年
29. 馬ウイルス性動脈炎（第2版・補訂版）	平成12年
30. 馬伝染性貧血の診断術式（第3版）	平成13年
31. 馬の水胞性口炎（第2版）	平成13年
32. 馬の感染症（第2版）	平成13年
33. 腺疫（第2版）	平成14年
34. 馬原虫性脊髄脳炎（第2版）	平成15年
35. 馬のウエストナイルウイルス感染症	平成15年
36. 馬の真菌症	平成16年
37. 馬の感染症（第3版）	平成17年
38. 馬インフルエンザ（第2版）	平成17年
39. 馬鼻肺炎（第3版）	平成19年
40. 馬パラチフス（第2版）	平成20年
41. 消毒法Q&A（第1版・補訂版）	平成20年
42. 馬ウイルス性動脈炎（第3版）	平成21年
43. 馬伝染性貧血の診断術式（第3版・補訂版）	平成22年
44. 馬の寄生虫病（第1版・補訂版）	平成22年
45. アフリカ馬疫（第2版）	平成23年
46. 馬のゲタウイルス感染症（第1版・補訂版）	平成23年
47. 腺疫（第3版）	平成23年

日本中央競馬会助成事業

地方競馬益金補助事業

平成14年2月 第1版第1刷発行

平成23年11月 第1版第2刷発行

社団法人 中央畜産会

〒101-0021 東京都千代田区外神田2-16-2

第2ディーアイシービル9F

TEL. 03-6206-0832

