

# 第47回生産地における軽種馬の 疾病に関するシンポジウム

( 令和 元 年 度 )

## 講 演 抄 録

日時 令和 元年 7月 11日 (木)

会場 静内エクリップスホテル  
2F エクリップスホール

 日本中央競馬会  
馬事部 防疫課

# 第47回 生産地における軽種馬の疾病に関するシンポジウム

## タイムテーブル

10:00～	開会式
10:10～	シンポジウム1 H28-30年度 生産地疾病等調査研究 「競走期に影響を及ぼす若馬の発育期整形外科疾患に関する調査(2期)」 ・演題 1) ～ 4) 座長:前田 昌也
11:05～	休憩
11:15～	シンポジウム2 H28-30年度 生産地疾病等調査研究 「馬感染症のサーベイランスおよび疫学調査」 ・演題 1) ～ 3) 座長:近藤 高志
12:00～	昼食
13:00～	一般講演 遺伝学・臨床 ・演題 1) ～ 4) 座長:川崎 和巳
14:00～	一般講演 感染症・繁殖 ・演題 1) ～ 3) 座長:山中 隆史
14:45～	閉会式
	終了・解散

# 第 47 回 生産地における軽種馬の疾病に関するシンポジウム

## プログラムおよび抄録目次

主催：日本中央競馬会（JRA）

開催日時：令和 元年 7 月 11 日（木） 10 時 00 分～15 時 00 分

開催場所：静内エクリップスホテル 2F エクリップスホール（日高郡新ひだか町静内吉野町 3-1-1）

<開 会> 10 : 00

<開会の辞> 山中 隆史（JRA 馬事部防疫課）

<開会挨拶> 横田 貞夫（JRA 馬事担当理事）

<演 題>

● シンポジウム 1 H28-30 年度 生産地疾病等調査研究 10 : 10～

「競走期に影響を及ぼす若馬の発育期整形外科疾患に関する調査（2 期）」

座長：前田 昌也（日高軽種馬農業協同組合）

- 1) 若馬に発生する骨軟骨症----- 2  
○佐藤 文夫（JRA 日高育成牧場）
- 2) 大腿骨遠位内側顆の軟骨下嚢胞性病変（Subchondral Cystic Lesions）に関する調査----- 8  
○安藤 邦英（軽種馬育成調教センター）
- 3) 大腿骨遠位内側顆 SCLs に対する螺子挿入術の有用性----- 14  
○宮越 大輔（NOSAI みなみ）
- 4) ウォブラー症候群に関する調査----- 18  
○池田 寛樹（日高軽種馬農業協同組合）

-----休憩（11 時 05 分～11 時 15 分）-----

● シンポジウム 2 H28-30 年度 生産地疾病等調査研究 11 : 15～

「馬感染症のサーベイランスおよび疫学調査」

座長：近藤 高志（JRA 競走馬総合研究所）

- 1) ウイルス感染症のサーベイランス----- 24  
○辻村 行司（JRA 競走馬総合研究所）
- 2) 細菌感染症のサーベイランス----- 30  
○丹羽 秀和（JRA 競走馬総合研究所）
- 3) Broad-range PCR 法を用いた子馬敗血症および感染性関節炎起因菌の同定----- 36  
○上野 孝範（JRA 競走馬総合研究所）

-----昼食（12時00分～13時00分）-----

● 一般講演 各15分（質疑応答含む）

「遺伝学・臨床」

13:00～

座長：川崎 和巳（JRA馬事部獣医課）

- 1) 競馬サークルにおける‘遺伝子ドーピング’の危機とその対応策----- 40  
○草野 寛一（JRA 栗東 TC）
- 2) サラブレッド大腿骨遠位内側顆軟骨下嚢胞様病変の家系別発症傾向に関する調査----- 46  
○前田 昌也（日高軽種馬農業協同組合）
- 3) 競走馬における遺伝子検査の現状と将来性について----- 50  
○永田 俊一（競走馬理化学研究所）
- 4) 尿管結石症のサラブレッドの一治験例----- 57  
○鈴木 吏（社台ホースクリニック）

「感染症・繁殖」

14:00～

座長：山中 隆史（JRA馬事部防疫課）

- 1) 繁殖牝馬における *Lawsonia intracellularis* の抗体の保有と子馬への抗体の移行-----60  
○荒川 雄季（NOSAI みなみ）
- 2) 過去5年間の馬の流産の発生状況----- 63  
○武智 茉里（北海道日高家畜保健衛生所）
- 3) JRAトレーニング・センターへの馬鼻肺炎生ワクチン導入の効果----- 69  
○坂内 天（JRA競走馬総合研究所）

<閉会の辞> 平賀 敦（JRA競走馬総合研究所）

<閉 会>

15:00



第 47 回生産地における軽種馬の疾病に関するシンポジウム

シンポジウム 1

H28-30 年度 生産地疾病等調査研究

「競走期に影響を及ぼす若馬の  
発育期整形外科疾患に関する調査（2期）」

## 若馬に発生する骨軟骨症

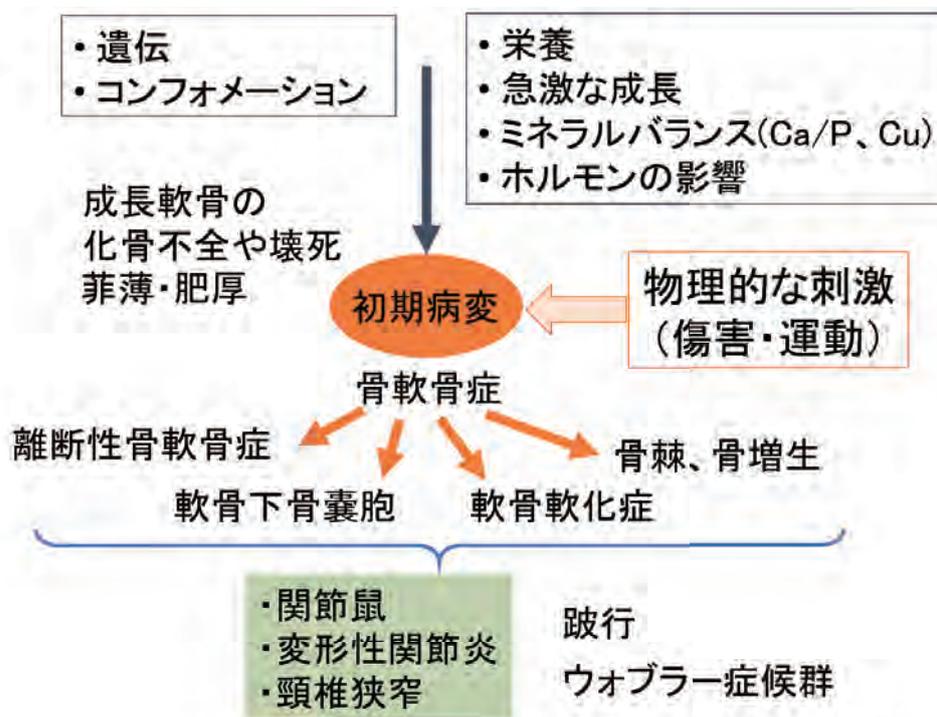
佐藤 文夫

(JRA 日高育成牧場 生産育成研究室)

### はじめに

サラブレッドは三百年以上に渡る歴史の中で、より速く走るために進化してきた動物である。体は大きく、頸や肢を長く細く変化させただけでなく、その成長のスピードまでも早く変化させてきた。そのため健康な子馬の出生体重は50~60kgであるが、一般に離乳が行われる6ヶ月齢には、約250~300kgにも達する。1日あたりの体重増加量は、生後2週齢までは1.5kg以上、その後4ヶ月齢までは約1kgずつ増加していくこととなる。このような急成長を遂げるサラブレッドの子馬には、骨や腱などに発育バランスが崩れることで発生する成長期に特有な運動器疾患が多く認められ、その様な疾患を発育期整形外科的疾患 (Developmental Orthopaedic Disease : DOD) と総称している。

DODの中で、離断性骨軟骨症 (Osteochondritis Dissecans : OCD) や軟骨下骨嚢胞 (Subchondral Bone Cyst : SBC) は、関節内の骨軟骨組織に発生する病変 (骨軟骨症) である。成長過程にある若馬の関節内の骨軟骨組織は、まだ幼弱で、物理的な損傷などが発端となり、脆弱軟骨の生成、軟骨細胞の分化不全、血液供給不全、軟骨下骨壊死などが段階的に起こることでDODやSBCが発生すると考えられる。このような病変は、若馬の体中どの関節にも発症する可能性があり、もし頸椎関節に発生すれば、その病変が脊髄を圧迫することで神経変性を引き起こし、ウォブラー症候群が発症する要因となる訳である (図1)。



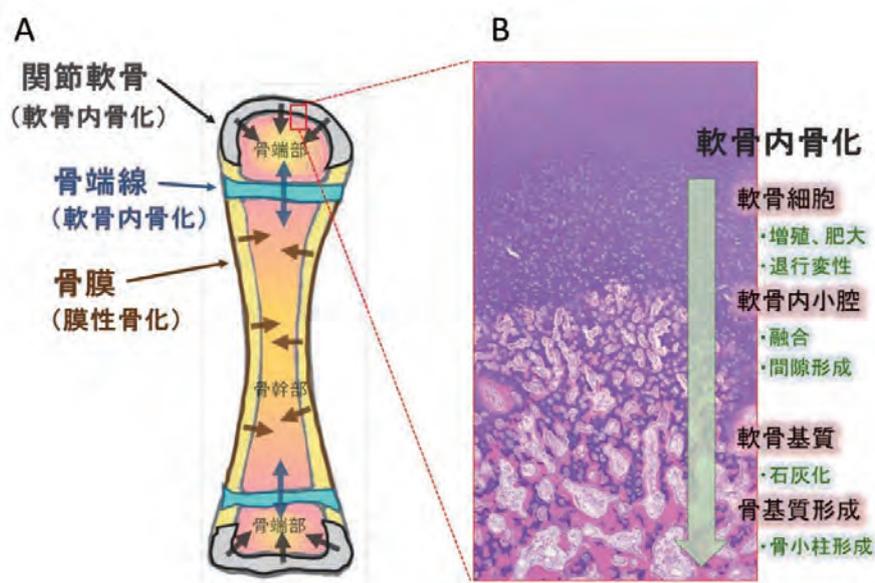
(図1) 骨病変に関わるDODの発生メカニズム

これまでの生産地疾病等調査研究において「未勝利、未出走および未登録に関わる DOD の回顧的調査」を実施し、サラブレッドに認められる多くの発育期整形外科的疾患 (DOD) は、適切に対処することで育成期および競走期に大きな影響を与えないことが示唆された。しかし、幾つかの DOD については、予後が悪いと考えられ、その中で、「大腿骨内側顆軟骨下骨嚢胞」および「ウォブラー症候群」については、育成期および競走期に影響を及ぼす可能性が高い疾患であることが明らかになった。

本講演では、OCD や SBC の発生要因となる骨軟骨症について解説し、特に「大腿骨内側顆軟骨下骨嚢胞」および「ウォブラー症候群」に関して、これまで生産地疾病等調査研究の中で明らかになってきたことを交えて解説することとしたい。

## 若馬の骨成長

DOD や SBC の発生について理解する上で、若馬の骨成長について理解する必要がある。四肢を構成する長管骨の成長は、骨端部と骨幹部の間にある骨端線の軟骨細胞が増殖し骨化することで長軸方向に長さを増すと同時に、骨端部の関節軟骨の軟骨細胞と骨幹部の骨膜の骨芽細胞も増殖し骨化することで横軸方向にも大きく太さを増していく (図 2-A)。骨端線や関節軟骨の軟骨細胞が増殖し、次第に骨小柱を形成していく過程は、「軟骨内骨化」と呼ばれている (図 2-B)。離乳が行われる 6 ヶ月齢ぐらいまでの時期は、骨端線と関節軟骨で軟骨内骨化が最も盛んに行われている時期となる。サラブレッドの場合、中手骨 (管骨) 遠位の骨端線は、7 ヶ月齢ごろ、橈骨および脛骨遠位 (腕節および飛節の上部) の骨端線は 25 ヶ月齢ごろに閉鎖しその役割を終える。このことから、四肢の骨の成長は、生後間もない幼駒の頃から 2 歳になる頃まで続いていることが分かる。



(図 2) 若馬の骨の成長

A: 長管骨における骨の成長の模式図、 B: 関節軟骨における軟骨内骨化の様子

若馬の骨の成長は、骨端線だけでなく軟骨内化骨によって、その大きさを増すこととなる。

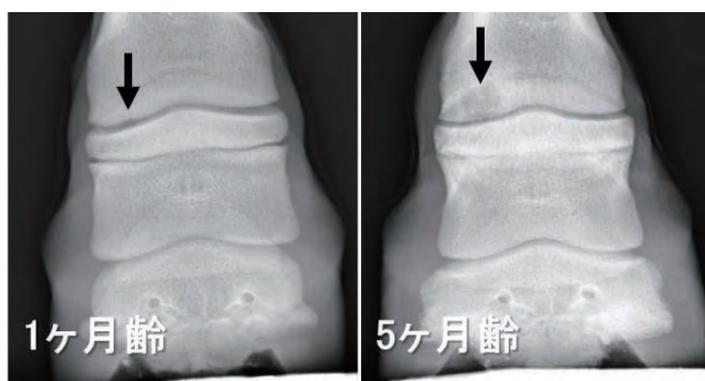
## 骨軟骨症

骨軟骨症とは、成長期の骨において、軟骨層が骨に変わって行く段階である「軟骨内骨化」の非炎症性、非感染性の障害のことである。成長期の若馬の骨の成長に重要な役割を果たしている骨端軟骨や関節軟骨の軟骨組織は骨組織と比較して非常に柔らかく、外部からの刺激に非常に弱い。軟骨組織が骨組織へと移行する境目の部位は、軟骨基質の石灰化が起き、骨基質へと移り変わる部位で、特に外部からの物理的な刺激に弱い部位となる。例えば、種子骨先端部や球節、指節関節の関節面など物理的刺激が加わる部位では、骨軟骨症の発生が頻繁に認められる（図3、4）。このようにして発生した骨軟骨症の多くは、臨床症状を示すことは少なく、自然治癒してしまうケースが殆どであるが、その程度により、あるいは引き続き刺激が加わり続けることで治癒することが出来ずに OCD や SBC へと進展し、跛行や重大な運動障害などの臨床症状を呈することとなる（図4、5）。このような所見の初期病変は、6ヵ月齢以前、離乳前の幼駒の時期に既に発生が認められており、発生の予防には、この時期の飼養管理を改めて見直すことが重要であると考えられる。



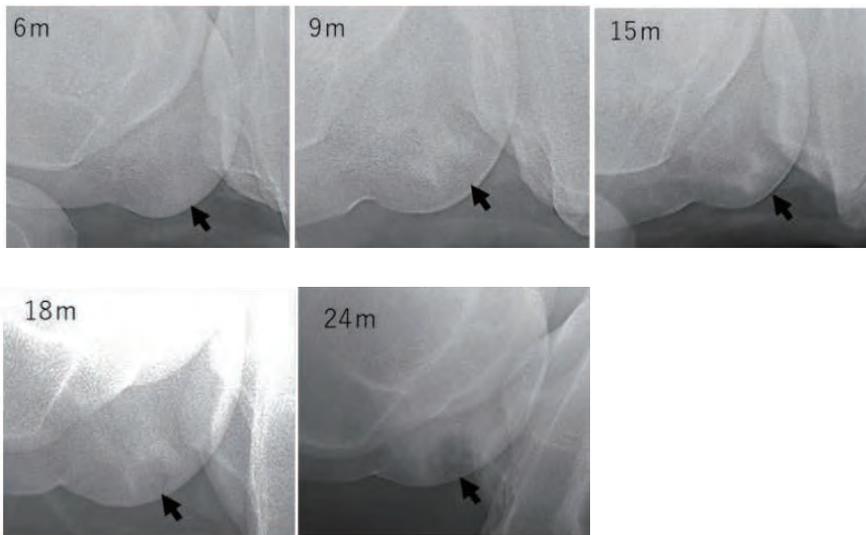
(図3) 生後2週齢の種子骨先端部に発生した骨軟骨症

X線検査で認められた骨透亮像（左図矢印）の部位を組織学的に観察すると、軟骨基質と骨基質の間で離開損傷していることが確認された（右図矢印・破線部）。成長中の軟骨と石灰化した骨基質との間の軟骨基質の部分は、物理的な刺激に最も弱い部分となる。



(図4) 第1指骨遠位関節面に発生した骨軟骨症病変のSBCへの変化

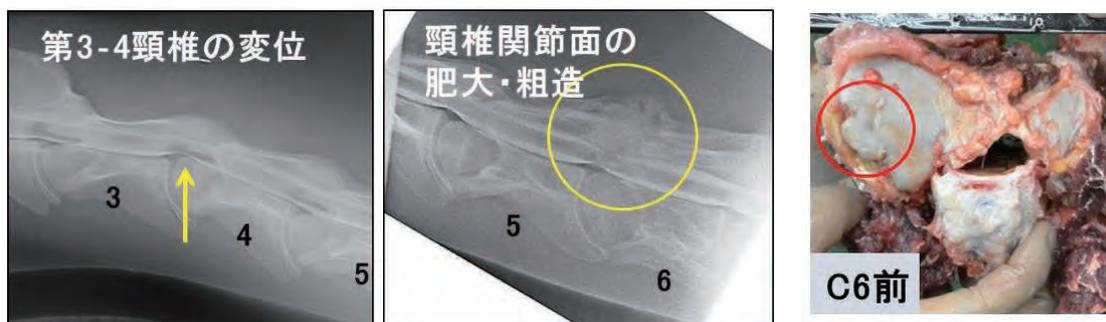
生後1ヶ月齢で発生した骨透亮像（左図矢印）は次第にSBCへと進展し跛行を呈した。



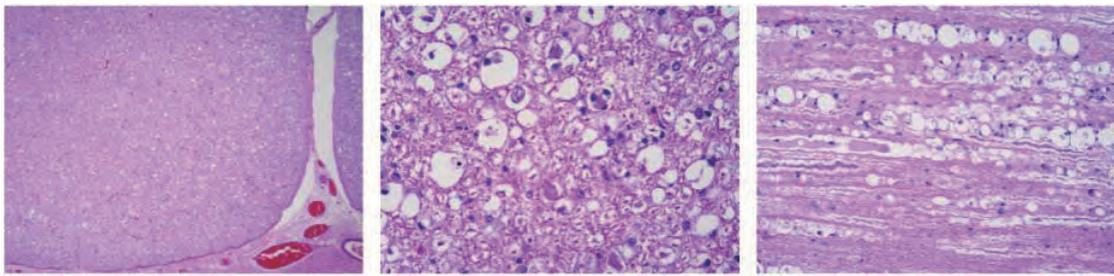
(図5) 左大腿骨内側顆の関節面に発生した骨軟骨症病変のSBCへの変化  
 生後6ヵ月齢で発生した骨軟骨病変(左図矢印)は、次第にSBCへと発展し跛行を呈した。

### 頸骨関節突起のOCD

腰痠など、主に後肢の不全麻痺を呈するウォブラー症候群の発症原因としては、主に第3-4頸椎配列の腹側からの変位による脊髄狭窄が良く知られているが、それに加えて、頸椎突起関節面に発生する骨軟骨症によるOCDや肥大・粗造化が脊柱管を狭窄し、脊髄神経を圧迫変性するために起こることが発症例のX線検査や剖検、病理組織学的検査により明らかになってきた(図6、7)。この頸椎突起の関節面のOCDは、頭部の動きの基部となり物理的ストレスの掛かり易い第4-5-6頸椎間が好発部位となる。育成調教前の1歳馬の頸椎をX線スクリーニング検査すると、腰痠症状は認められないものの、頸椎突起関節のOCDや肥大・粗造化像などが頻繁に見られることが明らかになった(表1)。さらに、このよう頸椎X線所見の発生時期についても調査したところ、離乳が行われる6ヵ月齢までの幼駒に初期病変が確認されることも明らかになった(表2、図8)。



(図6) ウォブラー症候群発症馬に認められる頸椎X線所見および剖検所見  
 X線検査にて頸椎関節面の肥大・粗造が確認された症例では、関節面のOCDが癒合・治癒しきれずに関節面が肥大化している様子が確認される。



(図7) 狭窄部位における脊髄組織の病理診断結果例

左：運動神経領域（全皮質脊髄路～視蓋脊髄路）において観察された病変。空胞状に観察される部位に軸索障害が見られる。

中：脊髄横断像。中央やや下に腫大した軸索、空胞の中に髓鞘を貪食しているマクロファージが散見される。

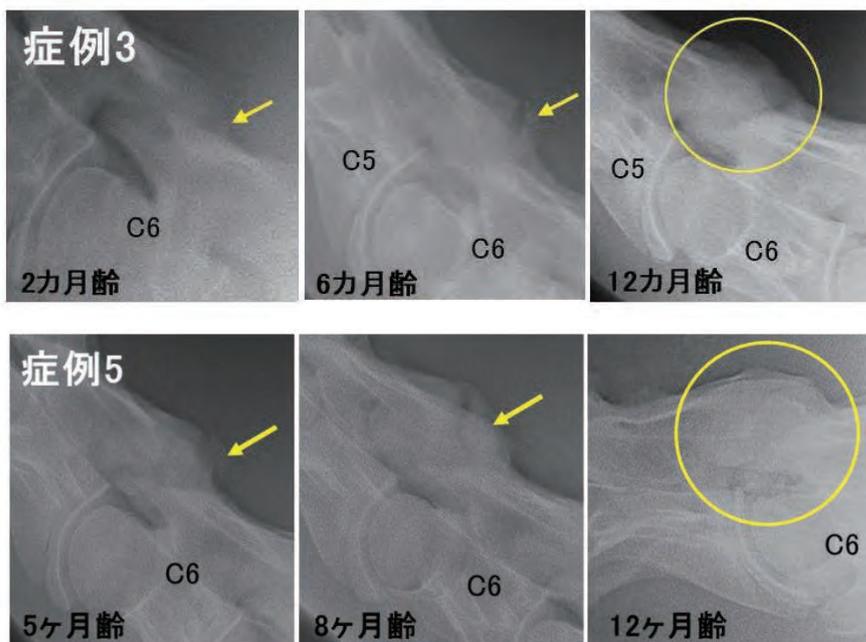
右：脊髄縦断像。中央から左にかけて腫大した軸索、中央から右にかけて空胞状病変が認められ、この部位を境に変化が確認される。

(表1) 1歳馬246頭における頸椎X線有所見状況

	配列の変位	離断骨片	関節面の肥大
有所見頭数	10 (♂9、♀1)	41 (♂27、♀14)	13 (♂8、♀5)
有所見発生率	4.2 %	17.1 %	9.1 %
発生部位	C3-4	C5-6-7	C5-6-7

(表2) 頸椎のX線検査により認められた所見の変化

NO.	性別	発生部位	発生時期 (月齢)	治癒 (月齢)	所見の変化
1	♂	C5-6	2m	9m	C5-6 粗造感残る
2	♀	C5-6	2m	6m	治癒
3	♂	C5-60CD	5m	10m	C5-6 肥大化
4	♂	C5-6-7	3m	8m	C5-6-7 やや粗造
5	♂	C5-60CD	5m	12m	C5-6 肥大化
6	♂	C5-60CD	6m	15m	C5-6 肥大化



(図8) 第5-6頸椎間関節突起に認められた骨軟骨症X線所見の変化  
 2ヶ月齢(上段)および5か月齢(下段)で認められた所見は、OCD所見となり次第に関節面に癒合したが、肥大化所見として残存した。

### 最後に

これまでOCDやSBCの発生原因として、軟骨下骨自体の剥離や栄養血管の壊死、軟骨の隙間からの関節液の浸潤などが考えられてきた。しかし、その本当の原因は、まだ成長過程にある幼弱な軟骨基質の物理的な刺激による損傷であることが明らかになってきている。我々の調査においても、多くの所見は生後6ヶ月齢未満の子馬の時期に骨軟骨症の初期病変の発生が認められている。その殆どの所見は自然に治癒し消失するが、いくつかの所見はOCDやSBCとなり跛行を発症させたり、さらに重症化したりすることもあり、競走馬としてデビューすることを諦めざるを得ないこともあることから経済的損失の大きな疾患ともいえる。予防には、骨軟骨症の発生を減らす飼養管理の改善が必須であり、発症馬の飼養管理状況について今後も検証していくことが重要である。

## 大腿骨遠位内側顆の軟骨下嚢胞性病変 (Subchondral Cystic Lesions) に関する調査

安藤 邦英 (軽種馬育成調教センター 軽種馬診療所)

### 【はじめに】

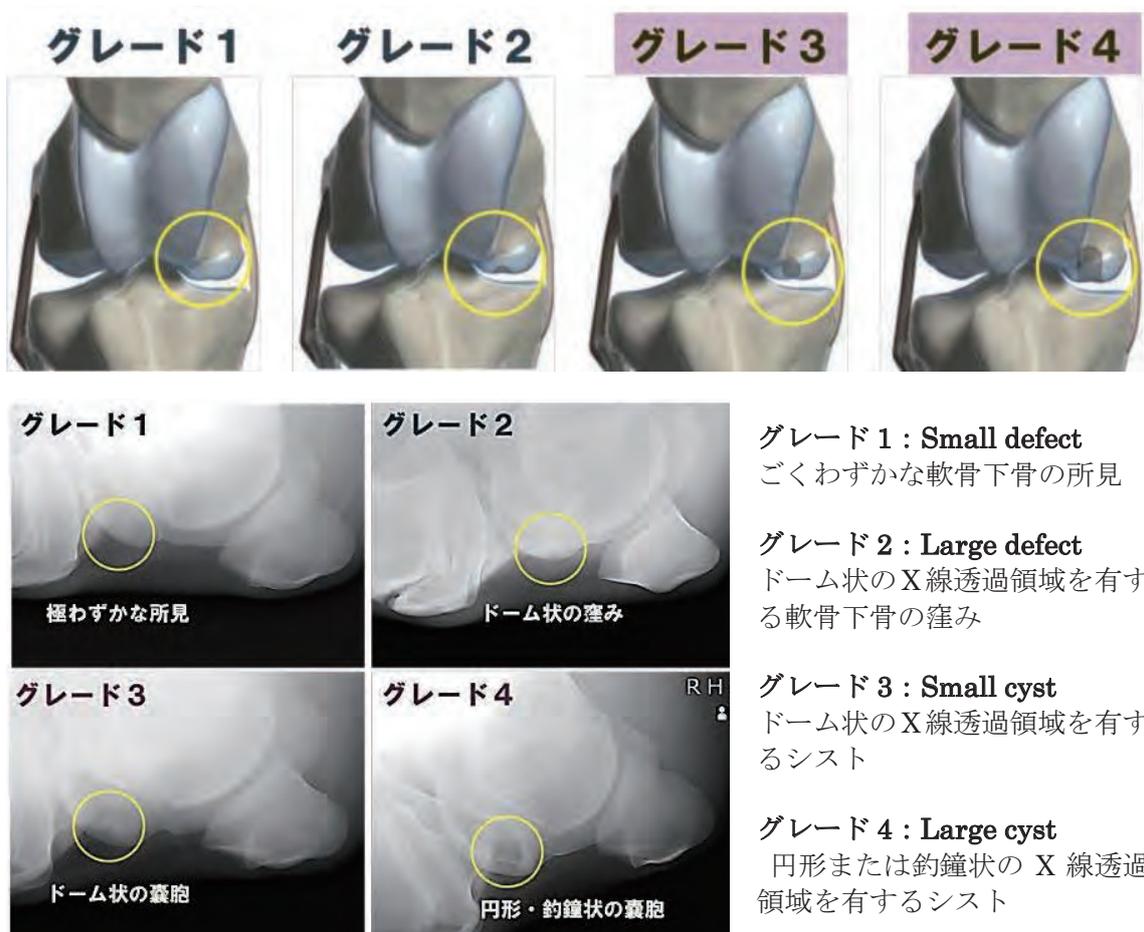
大腿骨遠位内側顆の軟骨下嚢胞は、中等度から重度の跛行が主な症状で、関節の腫脹は認められないことが多い。診断には X 線検査が用いられ、嚢胞の大きさや形状、嚢胞周囲の骨硬化像、関節腔への連絡が評価される。治療法として、馬房内休養による保存療法、嚢胞内へのステロイド注入、関節鏡下での嚢胞の搔爬術、嚢胞への螺子挿入術があり、一定の効果は期待されるが、発症すると長期休養を余儀なくされることから、生産育成に携わる関係者を悩ませる経済的損失の大きな疾患である。

本疾患は、病変の大きさ、位置、関節軟骨の損傷の程度により臨床症状や予後は異なると考えられるが、従来の X 線検査所見におけるグレーディングでは、尾頭側像を主に評価しており、周囲を厚い組織に覆われた同部位を鮮明に描出することは困難であった。また、尾頭側像に尾外-頭内側像、外内側像を加えた 3 方向のレポジトリ画像を解析した報告では、市場成績や後の競走成績に大きな差は認められていない。

近年、診断精度の高い検査が可能となるデジタルラジオグラフィ (DR) が広く普及されたことでより正確な診断が可能となる環境が整ってきた。さらに、2015 年度から北海道市場のレポジトリにおいて、膝関節 X 線画像の任意提出が開始され、国内外の他市場では提出がない屈曲位外内像による大腿骨遠位内側顆の詳細な観察が可能となった。そこで、屈曲位外内像を評価に加えて大腿骨遠位内側顆の軟骨下嚢胞性病変 (Subchondral Cystic Lesions : SCL) のグレーディングを行い、北海道市場のサラブレッド 1 歳セールに提出された膝関節 X 線画像を解析することで、大腿骨遠位内側顆 SCL 有所見馬の市場成績および競走成績を明らかにすることを目的とし調査を行った。

### 【材料と方法】

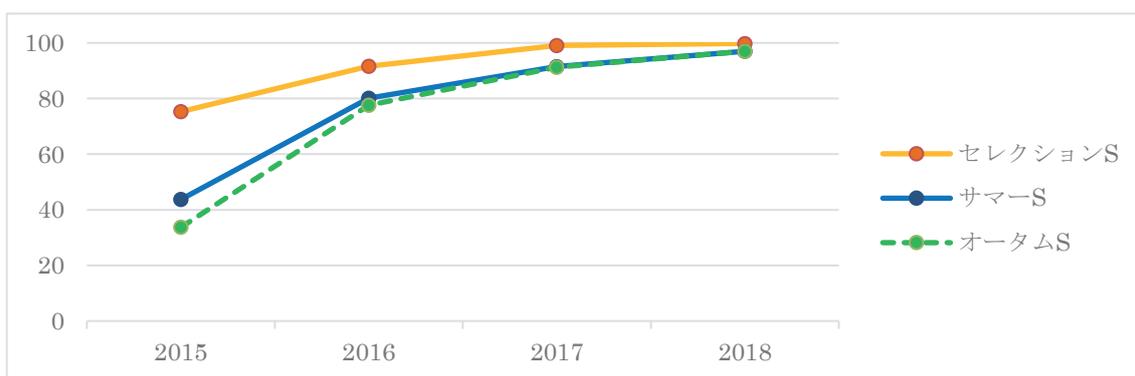
2015 から 2018 年度の北海道市場サラブレッド 1 歳セール (セレクションセール、サマープレミアムセール、サマーセール、オータムセール) の計 13 市場で膝関節 X 線画像の提出があった馬を調査の対象とした。解析に用いたのは、両膝関節の尾頭側像、尾外-頭内側像、外内側像、屈曲位外内側像の計 8 画像で、大腿骨遠位内側顆における X 線所見を 4 段階にグレーディングし (図 1、G1 : ごくわずかな軟骨下骨の所見、G2 : ドーム状の軟骨下骨の窪み、G3 : ドーム状の X 線透過領域を有するシスト、G4 : 円形または釣鐘状の X 線透過領域を有するシスト)、SCL の位置を記録し、有所見率、雌雄差、左右差、市場成績 (売却率および売却価格) について統計解析を行った。また、競走年齢に達した 2015 および 2016 年度の有所見馬における競走成績 (出走率および初出走時期) を調査し、SCL のグレーディングや位置との関連性について検討した。統計解析は、有所見率、雌雄差、左右差、売却率および出走率については Fisher' s exact test、売却平均価格については t 検定、売却中央価格および初出走時期についてはカイ 2 乗検定を用いた。



(図 1) 大腿骨遠位内側顆 SCL グレード

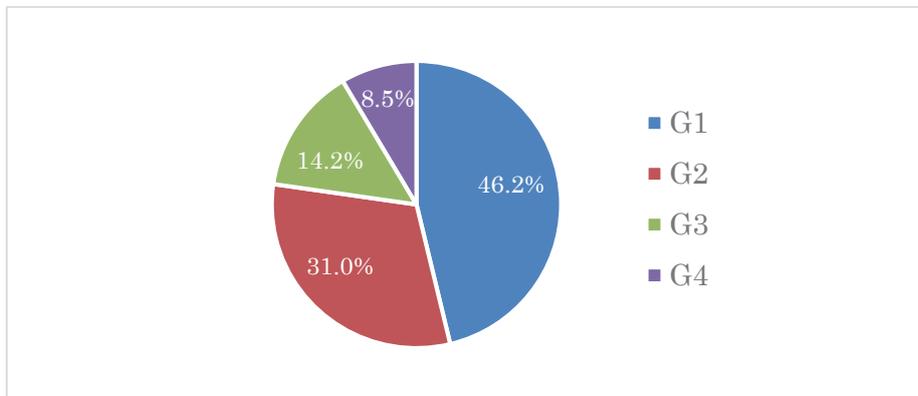
**【結果】**

上場された延べ 8,705 頭中 6,873 頭 (79.0%) で膝関節 X 線画像の提出があり、提出率は年々上昇した (図 2)。



(図 2) 2015~2018 年度北海道市場の各市場における膝関節 X 線画像の提出率の推移 (2018 年度のセレクトジョン S はサマープレミアム S と合算)

大腿骨遠位内側顆の SCL 所見は、997 頭（14.5%）で認められ、各グレードの内訳は G1 が 461 頭（46.2%）、G2 が 309 頭（31.0%）、G3 が 142 頭（14.2%）、G4 が 85 頭（8.5%）であった（図 3）。



（図 3）2015～2018 年度北海道市場における大腿骨遠位内側顆 SCL のグレード別有所見率

SCL 所見は、雄 3,658 頭中 493 頭（13.5%）、雌 3,215 頭中 504 頭（15.7%）で認められ、雌で有所見率が有意に高かった。また、左後肢 572 関節（8.3%）、右後肢 777 関節（11.3%）で SCL 所見を認め、右後肢で有意に多かった（表 1）。

（表 1）2015～2018 年度北海道市場における大腿骨遠位内側顆 SCL グレード別所見数

雌雄	左後肢					右後肢					合計 (頭数)
	G 1	G 2	G 3	G 4	計	G 1	G 2	G 3	G 4	計	
♂ (n=3,658)	142	76	41	16	275	185	134	51	17	387	493 <sup>a</sup>
♀ (n=3,215)	159	79	40	19	297	186	120	46	38	390	504 <sup>a</sup>
合計 (n=6,873)	301	155	81	35	572 <sup>b</sup>	371	254	97	55	777 <sup>b</sup>	997

※ 同記号間で有意差有り (P<0.05)

市場成績において、期間を通して膝関節 X 線画像提出馬の売却率は高く推移し、有意差が認められた（表 2）。SCL 所見の有無における売却率は 2017 年度から差が認められ、合計でも有意差が認められたが（表 3）、各グレード間における差はなかった（表 4）。また、売却金額の平均価格および中央価格について、無所見、有所見、G1～G4 の各グレード間で統計解析を行ったが、有意差は認められなかった。

(表 2) 2015～2018 年度北海道市場における膝関節 X 線画像の提出状況と売却率

	上場頭数	提出あり	提出率 (%)	提出馬 売却率 (%)	未提出馬 売却率 (%)
2015 年	2,126	936	44.0	69.6	63.8
2016 年	2,165	1,745	80.6	67.6	65.5
2017 年	2,115	1,951	92.3	<b>78.7*</b>	<b>64.6*</b>
2018 年	2,299	2,241	97.5	71.8	69.0
合計	8,705	6,873	79.0	<b>72.3*</b>	<b>64.4*</b>

\* 各群間で有意差有り (P&lt;0.05)

(表 3) 2015～2018 年度北海道市場における大腿骨内側顆 SCL 有所見率と売却率

	有所見馬 (頭数)	有所見率 (%)	有所見馬 売却率 (%)	無所見馬 売却率 (%)
2015 年	113	12.1	76.1	68.7
2016 年	231	13.2	66.2	67.8
2017 年	271	13.9	<b>73.4*</b>	<b>79.5*</b>
2018 年	382	17.1	<b>66.5*</b>	<b>72.8*</b>
合計	997	14.5	<b>69.4*</b>	<b>72.8*</b>

\* 各群間で有意差有り (P&lt;0.05)

(表 4) 2015～2018 年度北海道市場における大腿骨遠位内側顆 SCL 所見と市場成績の関係

	総数 (6,873)	無所見 (5,876)	有所見				
			合計 (997)	G1 (461)	G2 (309)	G3 (142)	G4 (85)
頭数		5,876	997	461	309	142	85
売却頭数		4,279	692	324	208	105	55
売却率 (%)		<b>72.8*</b>	<b>69.4*</b>	70.3	67.3	73.9	64.7
平均価格 (万円)		576	556	524	610	599	457
中央価格 (万円)		400	400	400	450	400	320

\* 各群間で有意差有り (P&lt;0.05)

競走成績は、G1 と G4 間、G2 と G4 間で出走率において有意差が認められ、G4 所見を有する群で出走率が低かったが、初出走時期については差が認められなかった（表 5）。

（表 5）2015 および 2016 年度北海道市場における SCL 有所見馬と競走成績の関係

総数 (319)	有所見			
	G1 (140)	G2 (106)	G3 (51)	G4 (22)
頭数	140	106	51	22
出走数	134	104	48	18
出走率 (%)	95.7 <sup>a</sup>	98.1 <sup>b</sup>	94.1	81.8 <sup>a,b</sup>
初出走時期 (中央値)	2 歳 9 月	2 歳 10 月	2 歳 9 月	2 歳 10 月

※ 同記号間で有意差有り (P<0.05)

2015 および 2016 年度北海道市場における SCL 有所見馬において、大腿骨遠位内側顆の SBC が通常認められる部位と異なり、脛骨の顆間隆起寄りに SCL が観察された馬（図 4）は、G3 が 13 頭、G4 が 4 頭の計 17 頭おり、そのすべてが出走に至った。これらの 17 頭を除外して出走率について再検討したが、除外しない場合と同様の結果であった（表 6）。



（図 4）顆間隆起寄りの大腿骨内側顆に認められた SCL 所見

（表 6）2015 および 2016 年度北海道市場における SCL 有所見馬と競走成績の関係（位置による補正後）

総数 (302)	有所見			
	G1 (140)	G2 (106)	G3 (38)	G4 (18)
頭数	140	106	38	18
出走数	134	104	35	14
出走率 (%)	95.7 <sup>a</sup>	98.1 <sup>b</sup>	92.1	77.8 <sup>a,b</sup>
初出走時期 (中央値)	2 歳 9 月	2 歳 10 月	2 歳 9 月	2 歳 10 月

※ 同記号間で有意差有り (P<0.05)

## 【考察】

本調査における大腿骨遠位内側顆の SCL 有所見率(14.5%)は、本調査と同様にレポジトリ画像を解析した Cohen ら (2006) の報告の 5.2%、Jackson ら (2009) の報告の 5.6%と比較して高い値であった。これは、過去の報告は屈曲位外内像以外の 3 方向での評価を行っていたためであり、屈曲位外内像が大腿骨内側顆の SCL の認識性に優れているからであると考えられる。大腿骨遠位内側顆の SBC の X 線スクリーニング検査に屈曲位外内像を用いた妙中ら (2017) の報告でも 9.7%と同様に高い値を示していることから、その他の 3 方向を加えて総合的に判断することで、より正確な評価が可能になることが明らかになった。

北海道市場における膝関節 X 線画像の提出率は年々上昇しており、近年では 100%に近い数字となっている。また、市場成績においては、SCL 所見の有無により売却率が低下することが明らかになった。膝関節 X 線画像の提出が開始された 2015 年度および翌 2016 年度では差がなかったことから、本疾患に対する関心が年々高まってきていることが窺われる。

競走成績において、G4 馬の出走率は有意に低かったことから、運動開始後に問題が起こり、競走馬としての予後に影響する可能性が示唆されたものの、初出走時期に差が認められなかったことから、G4 所見を有していても無症状のまま出走へ至った馬が多数いたことが推察される。また、荷重がかかる関節面ではなく顆間隆起寄りに G3 以上の SCL が位置する 17 頭ではすべての馬が後に出走に至ったことから、大きなシストを有する馬でも、その位置によっては良好な予後が期待されることが示唆された。

## 大腿骨遠位内側顆 SCLs に対する螺子挿入術の有用性

○宮越大輔<sup>1</sup> 樋口徹<sup>1</sup> 井上哲<sup>1</sup> 佐藤正人<sup>1</sup> 加治原彩子<sup>1</sup> 安藤邦英<sup>2</sup> 佐藤文夫<sup>3</sup>

(1. NOSAI みなみ 家畜高度医療センター 2. BTC 3. JRA 日高育成牧場)

### 【はじめに】

ウマの大腿骨内側顆 Subchondral Cystic Lesions (以下 SCLs) は 1-2 歳馬の跛行の主要な原因の 1 つである。これまでに治療方法として保存療法、ステロイドの嚢胞内投与、関節鏡下での病巣のデブライドメント、さらにオプションとして海綿骨移植や幹細胞などをデブライドメント後の陥凹に投与する方法が報告されている (図 1)。いずれの治療方法も一定の成果が報告されているが治療後の予後は良好とは言い切れない。近年、新たな治療方法として骨嚢胞への螺子挿入術が開発され、高い治癒率が報告された。我々は螺子挿入術の発表後、同法による SCLs への治療を実施している。

今回、大腿骨内側顆の SCLs に対する螺子固定術の有用性を検証することを目的とし、大腿骨内側顆の SCLs に対する螺子挿入術の手術成績について調査し、さらに他の治療方法の成績との比較、検討を実施した。

### 【材料と方法】

2014-2018 年に大腿骨内側顆に骨嚢胞が認められ、螺子挿入術を実施した 25 頭を調査対象とした。主な螺子挿入術対象馬は骨嚢胞が大きく、ステロイド注入では効果が期待できない症例、もしくは関節鏡手術でのデブライドメントでは搔爬する範囲が広く治療が難しい症例であった。症例馬の月齢は 11-30 ヶ月齢であった。患肢は大腿骨内側顆では両側性 5 例、右 12 例、左 3 例であった。大腿骨内側顆の骨嚢胞に対しては、内側側副靭帯の頭側/尾側、関節包のわずかに近位から遠位方向に骨嚢胞を貫通するように 4.5mm 皮質骨螺子をラグスクリューもしくはポジションスクリューとして挿入した (図 2)。

調査項目は SCLs の情報 (片側/両側)、出走有無、初出走時期とした。

比較対象として日高管内にて 2008 年以降に大腿骨骨嚢胞と診断された 174 頭の情報を利用した。174 頭については治療方法 (保存療法、関節鏡手術、病巣内ステロイド注入)、出走有無、初出走時期について調査を実施し、得られた結果を螺子固定術実施症例と比較した。

### 【結果】

螺子挿入術を実施した 26 例中手術から 6 ヶ月以上が経過、かつ出走年齢に達した症例 12 例中 7 例が出走し 1 例は順調に調教中であった。不出走となった 4 例中 2 例では骨嚢胞による跛行が継続し、1 例では脛骨近位に新たに骨嚢胞が形成され跛行を示し、1 例は他の原因により不出走となった。このため、螺子挿入術実施症例 12 例での出走率は 58.3% (7/12) であった (表 1)。出走した 7 例の初出走時期は 2 歳 9 月から 4 歳 5 月であり、中央値は 3 歳 4 月であった。ステロイドの嚢胞内投与を実施したが、効果が認められず、螺子挿入術を

実施した 4 例中 2 例は無事に出走した。大腿骨内側顆における左右ともに螺子挿入術を実施した症例では 5 例中 3 例が不出走であり、左右いずれかの手術を実施した症例では 6 例中 1 例のみが不出走であった。

保存療法を選択した 58 例では出走率 56.9%、初出走時期の中央値は 3 歳 1 月、関節鏡手術による病巣のデブライドメントを選択した 54 例では出走率 74.5%、初出走時期は 3 歳 2 月、そして、病巣内ステロイド注入を実施した 70 例では出走率 85.7%、初出走時期は 3 歳 4 月であった。

#### 【考察】

今回の調査の結果からウマの大腿骨内側顆骨嚢胞に対して螺子挿入術を実施した症例では約 6 割のウマが競走馬として出走し、螺子挿入術は大腿骨内側顆骨嚢胞に対して有用な治療方法であった。特に今回の報告した螺子挿入術を選択した症例では骨嚢胞が大きく、他の治療方法では治癒が困難な症例に対して実施しているため、治療後に約 6 割が出走できたことは大きな成果であった。螺子挿入術は、既存の治療方法では治癒が困難であった大型の骨嚢胞に対して有用な治療オプションとなり、さらに他の治療方法で良化が認められなかった際の治療オプションとしても有用であった。不出走の 4 頭中 2 頭は手術後も骨嚢胞による跛行が 3-4 ヶ月継続し、馬主の希望により廃用となった。1 頭は手術を実施した関節の脛骨近位関節面に骨嚢胞が形成され、跛行がみとめられ不出走となった。1 頭は他の要因で不出走となった。

今回の調査結果から、螺子挿入術の成績は保存療法とほぼ同等の出走率を示し、関節鏡での搔把術もしくはステロイドの病巣内投与と比較し、低い値を示した。この原因としては、螺子固定術が骨嚢胞の大きな症例で行われることが多い点、また、他の治療方法で良好な結果が得られず跛行期間が長期間におよぶ症例に対して螺子挿入術が実施されているためだと考えている。

今後、より良好な手術成績を得るために技術の向上および適応症例の検討を実施していきたい。

図 1



図 2



表 1

	保存59頭	注入68頭	搔爬50頭	螺子12頭	全体
出走（頭）	33	56	37	7	133
不出走（頭）	25	10	12	5	52
成績不明（頭）	1	2	1	0	4
2歳出走（頭）	14	18	3	2	36
3歳出走（頭）	33	55	36	6	128
出走率（%）	56.9	84.8	75.5	58.3	72.0
2歳出走率（%）	24.1	27.3	6.1	16.7	19.8
3歳出走率（%）	56.9	83.3	73.5	50.0	70.3
初出走時期	3歳2月	3歳3月	3歳4月	3歳4月	3歳3月

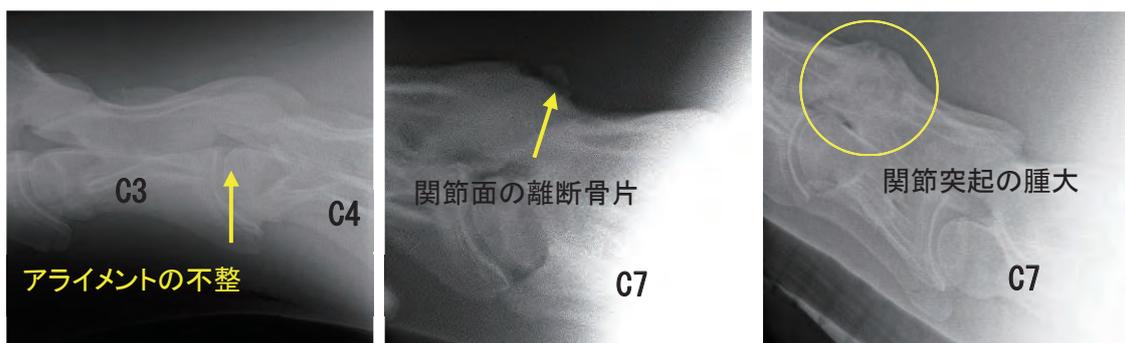
**【はじめに】**

ウォブラー症候群とは、いわゆる「腰フラ」や「腰痠（ようい）」と呼ばれる後肢を主とした運動失調あるいは不全麻痺などの臨床症状を呈する病態のことである。原因は、頸椎の亜脱臼によるアライメントの不整や椎間靭帯の肥大・肥厚（Type I）、あるいは頸椎突起関節面の離断骨片・骨棘・肥大（Type II）による脊柱管の静的あるいは動的な狭小化であり（図1）、脊髄神経の圧迫変性により求心性（感覚）および遠心性（運動）神経麻痺が歩様に現れるとされている。

サラブレッドのウォブラー症候群の発症率は1.3～2.0%との報告があり、現在、国内でのサラブレッド生産頭数が約7,000頭余りであることから、年間100頭近くの発症馬がいると推測される。発症時期は生後間もない幼駒から高齢馬まで様々であるが、特に6～24ヶ月齢の発症が多く、その発症要因は遺伝的な素因に加えて栄養バランスや物理的損傷などが考えられる。

診断方法は、臨床症状と併せて頸椎のレントゲン検査による脊柱管の狭窄を確認することであるが、狭窄は上下方向からとは限らず、単純レントゲン検査では狭窄部位を特定するのが困難な場合もある。発症馬の競走馬としての予後は悪く、病状の進行により安楽死処分されるケースが多い疾患である。一方で、症状が軽度な場合には、温存療法により約30%の馬がレースに出走したとの報告もあり、実際に無事に競走馬になる例もしばしば認めることから、予後判断に苦慮することも多く、更なる客観的な診断法の開発が望まれている。

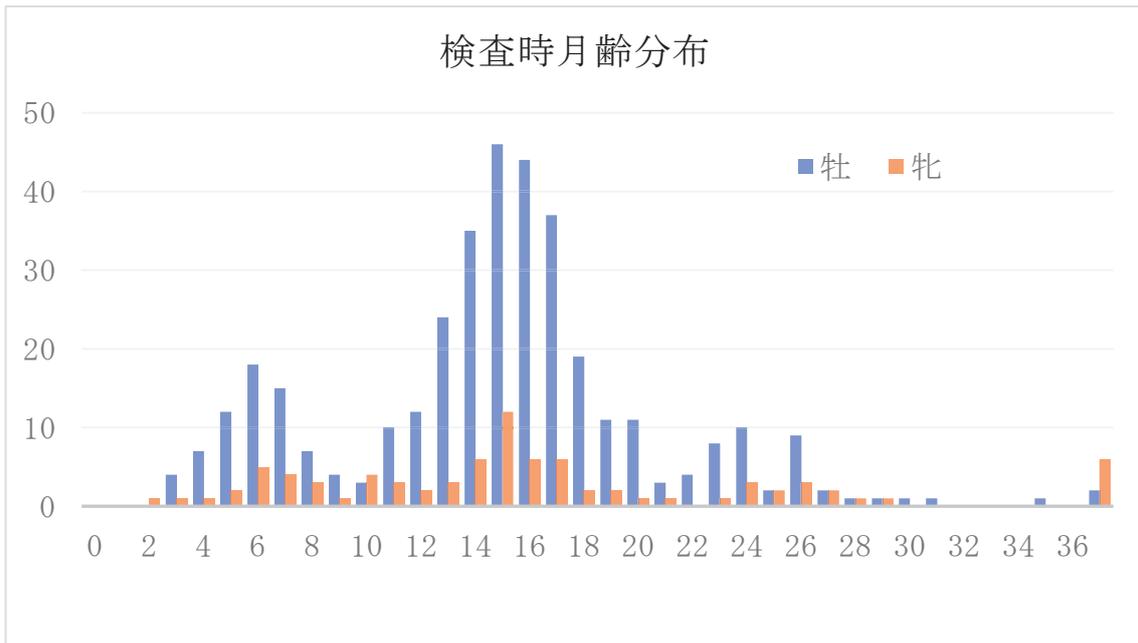
そこで今回は、日高地方におけるウォブラー症候群の発生状況、ならびに新たな診断手技としての、立位での第1-2頸椎間穿刺による脊髄造影検査法について報告する。



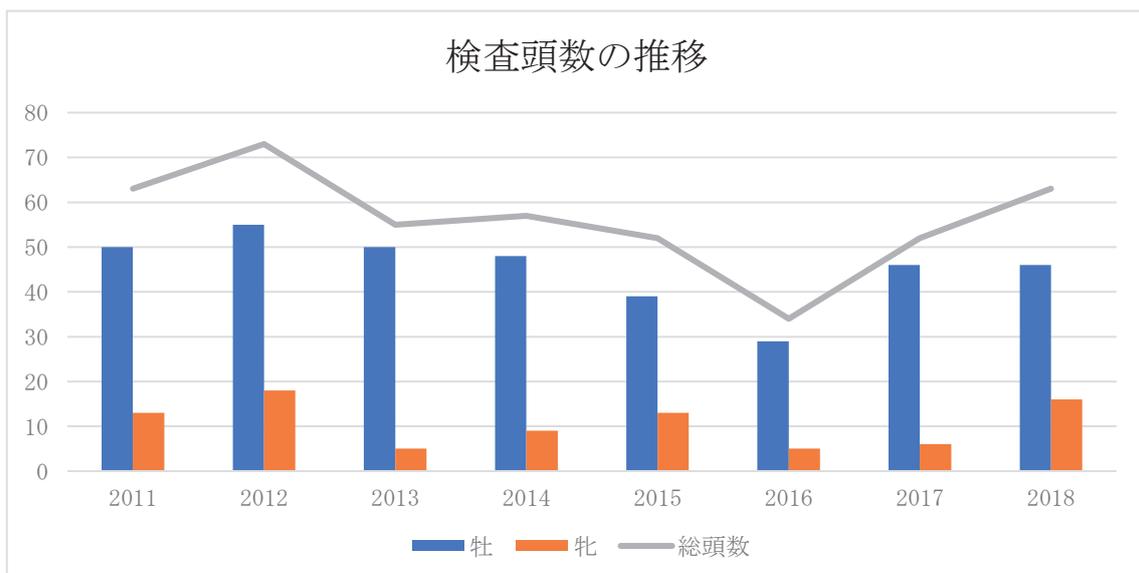
(図1) ウォブラー症候群発症馬に認められる頸椎のレントゲン所見

### 【ウォブラー症候群の発生状況】

過去8年（2011年～2018年）において、NOSAI みなみ家畜高度医療センターならびにHBA 静内にて、ウォブラー症候群を疑い検査を実施した449頭を解析した。性別においては、牝が364頭（81%）と多く、年齢別では1歳が302頭（67%）と多い結果となった。検査時月齢分布においては、6ヶ月齢と15ヶ月齢を中心とした2峰性の分布を示した（表1）。生産地におけるウォブラー症候群の症例頭数は、1歳馬で最も多く、牝よりも牡に多く認められるという特徴が認められ、これらは既報の結果と相違なかった。また年毎の検査頭数に関しては、2016年が34頭と少なかったが、概ね年間50～70頭で推移していた（表2）。



(表1) ウォブラー症候群発症馬の月齢別検査頭数



(表2) 過去8年間のウォブラー症候群発症馬の検査頭数推移

### 【立位での第1-2頸椎間穿刺による脊髄造影検査法】

脊髄造影は、ウォブラー症候群における脊髄圧迫部位の特定に有用であるとされている。従来、馬の脊髄造影は、全身麻酔下での後頭骨 - 環椎間の大槽穿刺による方法が実施されてきたが、神経症状や運動失調を伴う症例では、麻酔覚醒時のリスクが高いこと、検査にかかる費用が大きいこと、時間がかかるなどの問題があった。一方、立位での検査方法として腰椎仙椎間穿刺による報告もあるが、穿刺距離が長く手技が難しいことに加え、腰部から実施するため造影剤が頸部にまで届きにくく安定しないなどの問題点があり、あまり普及していないのが現状である。

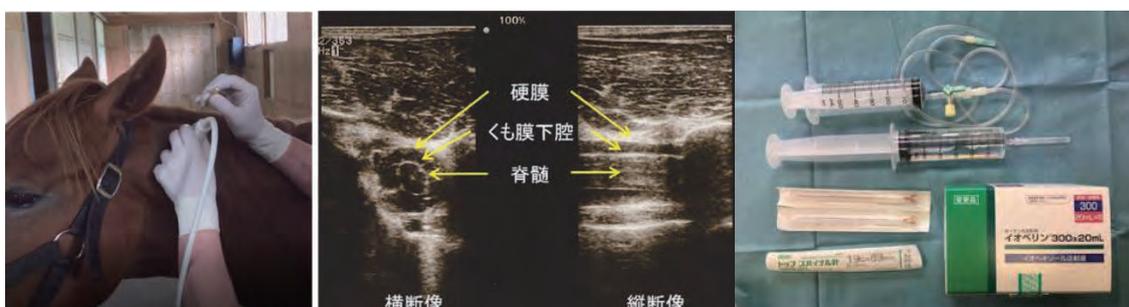
近年、立位での第1-2頸椎間穿刺による脳脊髄液採取の報告があり、我々はこの方法を応用した新たな脊髄造影法について検討した。

鎮静剤は、デトミジン (0.01 mg/kg iv)、ブトルファノール (0.005 mg/kg iv)、アセプロマジン (0.01 mg/kg iv) を混合使用し、穿刺時には鼻捻子保定を行った。必要に応じてデトミジン (0.005-0.01mg/kg iv) の追加投与を行った。

リニアプローブによる超音波診断装置のガイド下においてスパイナル針 (19G または 20G, 3.5 inch) を用いてクモ膜下腔への穿刺を行った (図2)。穿刺部位には2%リドカインによる局所麻酔を実施した。

脳脊髄液を 0.08ml/kg 以上採取し、同量のイオヘキソール造影剤 (イオベリン 300) を投与した (図3)。

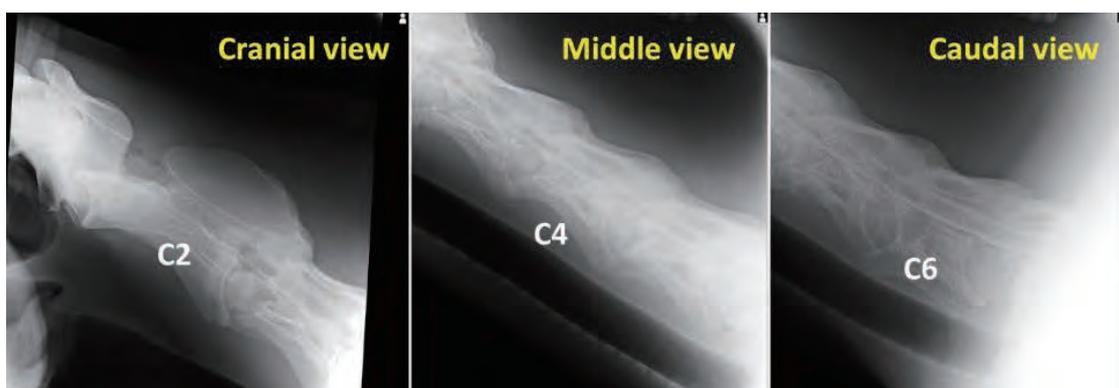
造影剤投与前後にC2を中心としたCranial view、C4を中心としたMiddle view、C6を中心としたCaudal viewのレントゲン撮影を行った (図4)。また、関節の評価ならびに関節突起の脊柱管背側への影響の評価を目的として左側ならびに右側からの45° -55°の打ち上げ像の追加撮影を行った (図5)。



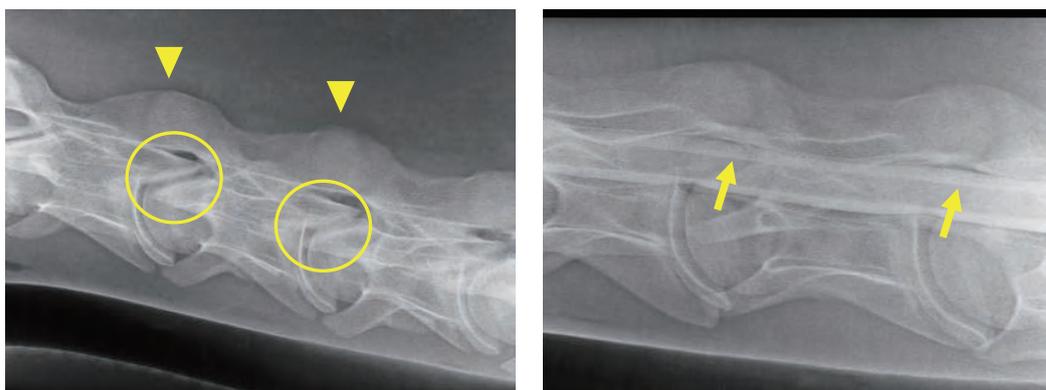
(図2) 立位での超音波ガイド下による第1-2間頸椎間穿刺の様子と造影剤1式



(図3) 造影剤投与の様子



(図4) 脊髓造影後の左-右水平方向での頸部レントゲン撮影画像

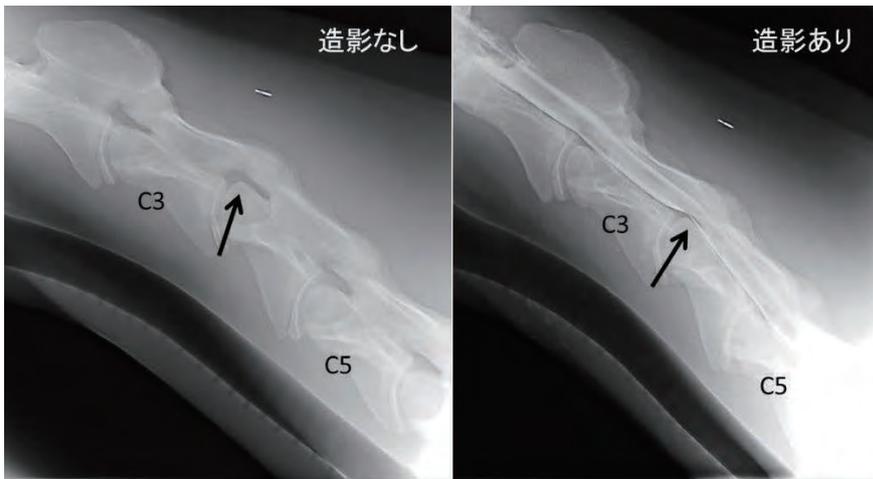


(図5) 左-右 45-55° 斜位打ち上げによる頸部レントゲン撮影画像

単純レントゲン画像（左）では、左側関節突起全体（矢頭）と右側関節面（丸印）の観察が可能となる。造影レントゲン画像（右）では関節突起による背横側からの脊柱管狭窄を評価（矢印）できる（画像はいずれも健常馬）。

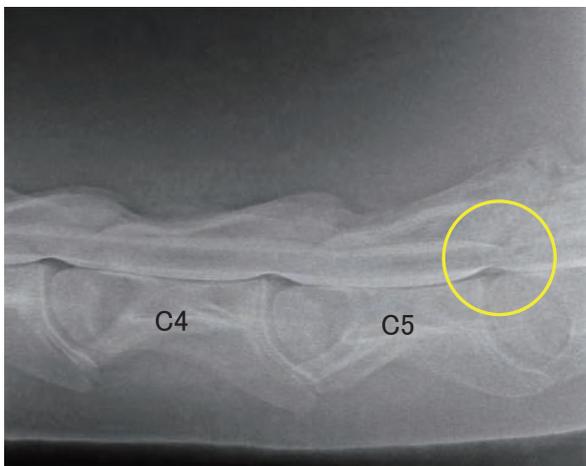
立位において脊髓造影を実施することにより、臨床現場での脊髓の圧迫状態の把握が容易となり、クモ膜下腔の造影幅を用いた脊柱管狭窄の評価が可能となった（図6,7）。また、比較的下部の頸椎に発生が多く認められる関節面の離断性骨片や肥大による Type2 の脊柱管狭窄は、立位での脊髓造影下において、45-55° 斜位打ち上げによる撮像を組み合わせることで、水平像だけでは評価しづらい脊柱管の狭窄状態をより詳細に確認することが可能となった（図8）。

ほとんどの症例で診断可能な造影結果を得られたことから、単純レントゲン検査では判断しづらい脊柱管の狭窄状態を診断する上で、迅速で正確な診断法の一つとして、立位での第1-2頸椎間穿刺による脊髓造影検査法は非常に有用であると考えられた。さらに、Type2に関しては、斜位打ち上げによる撮像を組み合わせることで、より正確な病態把握ができると考えられた。一方、立位での脊髓造影は、手技に熟練を要するとともに、造影剤の硬膜外への漏出やクモ膜下腔への出血が認められることもあり、数例で造影中の転倒や発汗、さらには起立不能などの重篤な副作用も認められたため、臨床応用に向けては、今後の更なる手技の確立と安全性に関する検討も必要だと考えられた。



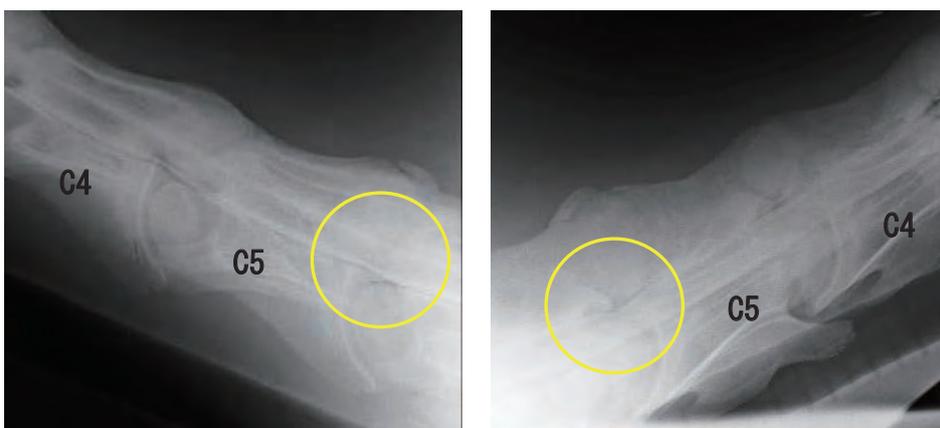
(図6) 脊髓造影前後の頸部レントゲン画像

造影により第3-4頸椎のアライメントの不整による腹側方向からの脊柱管狭窄が鮮明に判定できる。



(図7) 脊髓造影後の頸部レントゲン画像

第5-6頸椎間における関節突起腫大による背側方向からの脊柱管狭窄が鮮明に判定できる。



(図8) 同一症例における脊髓造影後の左-右水平像(右)と右-左45°斜位取り上げ像  
水平像では背側方向からの脊柱管狭窄が不明瞭であったが、取り上げ像によって第5-6頸椎間における腫大した右側関節突起による右背側方向からの脊柱管狭窄が明瞭となった。

第 47 回生産地における軽種馬の疾病に関するシンポジウム

シンポジウム 2

H28-30 年度 生産地疾病等調査研究

「馬感染症のサーベイランスおよび疫学調査」

## ウイルス感染症のサーベイランス

○辻村行司<sup>1</sup>、坂内 天<sup>1</sup>、根本 学<sup>1</sup>、太田 稔<sup>1</sup>、山中隆史<sup>2</sup>

(1 JRA 総研、2 JRA 馬事部防疫課)

### 1. 馬ウイルス性動脈炎のサーベイランス

本症は馬動脈炎ウイルスが原因の流産と呼吸器症状を主徴とする海外ウイルス感染症で、米国や欧州では散発的に発生が認められている。わが国は世界的にもまれな清浄国であり、一旦国内に侵入すると大きな被害が予測されることから、継続したサーベイランスが必要である。そこで、本症の監視対象として重要な種牡馬および繁殖牝馬について血清抗体検査を実施した。

#### 材料と方法

3年間で、新種牡馬78頭（平成28年：40頭、平成29年：30頭、平成30年：8頭）、ワクチン接種歴のある新種牡馬と交配した牝馬から抽出した25頭（平成28年：10頭、平成29年：10頭、平成30年：5頭）および原因不明の流産馬133頭（平成28年：36頭、平成29年：49頭、平成30年：48頭）を検査した。全血清を対象にELISAによるスクリーニング検査を実施し、ELISAで陽性を示した血清のうちワクチン接種馬の血清を除いて中和試験による確認検査を行った。

#### 成績

ワクチン接種歴のある4頭中3頭が抗体陽性を示した（表1）。一方、ワクチン未接種の検査馬232頭は全て陰性であった。以上の成績から、検査を行った範囲において、馬ウイルス性動脈炎が国内に侵入した形跡は認められず、わが国は依然として、馬ウイルス性動脈炎清浄国であると考えられた。

表1. 馬ウイルス性動脈炎抗体検査成績

	ワクチン接種歴	血清抗体の測定結果		
		検査頭数	陽性頭数	陽性率 (%)
新種牡馬	有	4	3	75
	無	74	0	0
交配牝馬	無	25	0	0
流産馬	無	133	0	0

## 2. ウマロタウイルス病のサーベイランス

本病は当歳馬の下痢を主徴とし、生産地では G3 型と G14 型の 2 種類の血清型のウマロタウイルスが流行している。したがって、的確な診断・予防のためには、継続的なサーベイランスによる流行株の把握と新たな血清型のウイルスの侵入監視が必要である。そこで、ウマロタウイルス病が疑われた当歳馬のウイルス学的検査を実施した。

### 材料と方法

平成 28 年から 30 年に下痢を発症した当歳馬の直腸スワブ 315 検体について、イムノクロマト法によってロタウイルス抗原の検出を行った (NOSAI みなみ日高支所家畜高度医療センターで実施)。イムノクロマト法陽性であった検体からウイルス核酸を抽出し、G 遺伝子領域を PCR 増幅した。ダイレクト・シーケンス法を用いて得られた PCR 産物の塩基配列を決定し、遺伝子配列情報をもとに血清型別を行った。

### 成績

315 検体中 173 検体がイムノクロマト法で陽性であった。そのうち PCR 法で遺伝子増幅が確認された 172 検体についてシーケンス解析を実施したところ、G3 型 69 検体、G14 型 102 検体および両陽性 1 検体と型別され、他の G 血清型は検出されなかった (表 2)。平成 28 年の調査では陽性検体の 87.0% (54 検体中 47 検体) を G3 型単独陽性が占めたが、29 年 (74.6%、67 検体中 50 検体) および 30 年 (88.2%、51 検体中 45 検体) は G14 型単独陽性が優勢であった。これまでのサーベイランスにおいても流行する G 血清型が定期的に入れ替わる現象が観察されており、またアルゼンチンにおいても同様の現象が報告されているが、その明確な理由は明らかとなっていない。本サーベイランスにおいて、引き続き G3 型および G14 型が流行し、それ以外の血清型の流行がないことが明らかとなった。

表 2. 各年の検体数およびイムノクロマト法と G 血清型別成績

年度	平成 28 年	平成 29 年	平成 30 年	合計
検体数	102	107	106	315
イムノクロマト法陽性数	54	68	51	173
血清型：				
G3	47	16	6	69
G14	7	50	45	102
G3・G14	0	1	0	1

### 3. ウマヘルペスウイルス 1 型感染症のサーベイランス

近年欧米では、ウマヘルペスウイルス 1 型 (EHV-1) 感染による脊髄脳症 (Equine herpesvirus myeloencephalopathy : EHM) の発生が増加傾向にある。本症からの分離株の大半は、DNA ポリメラーゼ遺伝子 (ORF30) に 1 塩基置換 (神経病原性遺伝子マーカー) を持つ変異株である。これまでのところ、日本国内での変異株の分離はまれであるが、同株が生産地に広く伝播した場合、大きな被害を生じる可能性が考えられる。また、EHV-1 は 68 番遺伝子 (ORF68) の多型により 6 グループに分類され、同分類とウイルスの地理的分布が関係していることが示されている。グループ 3 はヨーロッパ、グループ 5 は北米で主に分離されるが、グループ 1 の海外での分離率は 10%以下と報告されている。そこで、生産地における EHV-1 の疫学状況を明らかにするために、EHM 発症馬および流産胎子等から分離された EHV-1 について、神経病原性遺伝子マーカーの有無の検索と ORF68 の多型を指標としたグループ分けを実施した。

#### 材料と方法

平成 27 年 11 月から平成 30 年 5 月にかけて、日高家畜保健衛生所において馬鼻肺炎と診断された 54 牧場由来の流産胎子 102 検体を検査した。これらの肺、胸腺あるいは肝臓乳剤からウイルス核酸を抽出し、ORF30 の解析はダイレクト・シーケンス法あるいはリアルタイム PCR 法、ORF68 の解析はダイレクト・シーケンス法で行った。

#### 成績

各年度の成績を表 3～5 に示した。今回の調査では神経病原性変異株は分離されなかった。グループ分けについては、平成 28 年度の G および J 牧場を除いて、同一牧場での複数頭の流産は、いずれも同一グループの EHV-1 によるものであったことから、発生牧場数で成績を集計した。グループ 1、2、3、5 および 6 の分離が認められ、これらのうちグループ 5 が 69.6%を占めた (表 6)。

#### 考察

前々回 (平成 22～24 年度) と前回 (平成 25～27 年度) の調査でそれぞれ 1 株確認された神経病原性変異株は今回の調査では分離されず、依然として同株は日高地方で広がっていないと考えられた。一方、グループ 5 株の分布拡大は、さらに進行している可能性が示された (平成 22～24 年度 : 55.8%、平成 25～27 年度 : 55.1%)。北米から侵入したと推測される同株は、平成 15 年に初めて確認されてから短期間で、それまでの優勢株であったグループ 1 と入れ替わった。このような海外からの新たな株の侵入は今後も起こりうると思われることから、引き続き生産地における EHV-1 の疫学状況の監視が必要と考えられる。

表 3. 平成 28 年度日高管内における馬鼻肺炎流産・生後直死発生状況

牧場	地区	検体番号	発生 月日	胎齢 (日齢)	ワクチン接種状況	遺伝子マーカー		備考 <sup>3)</sup>
						ORF30 <sup>1)</sup>	ORF68 <sup>2)</sup>	
A	新ひだか	1	11/5	170	10/22	N	5	
B	新ひだか	2	12/16	230	11/17	N	5	T/C <sub>626</sub>
		33	2/13	271		N	5	
		43	3/1	289		N	5	
		48	3/17	313		N	5	
C	新ひだか	3	12/16	302	11/17, 12/10	N	5	A/G <sub>326</sub>
		5	1/6	322	11/17, 12/10	N	5	
D	むかわ	4	11/20	188	10/16	N	6	
E	新ひだか	6	1/11	320	11月, 12月	N	5	
		9	1/19	284	11月, 12月, 1月	N	5	
F	浦河	7	1/17	289	10/7, 10/30, 12/5, 1/13	N	5	
		16	1/29	322	10/7, 10/30, 12/5, 1/13	N	5	
		17	2/1	319	10/7, 10/30, 12/5, 1/13	N	5	
		23	2/4	314	10/7, 10/30, 12/5, 1/13	N	5	
		25	2/6	302	10/7, 10/30, 12/5, 1/13	N	5	
		28	2/9	280	10/7, 10/30, 12/5, 1/13	N	5	
		34	2/12	279	10/7, 10/30, 12/5, 1/13	N	5	
		36	2/13	271	10/7, 10/30, 12/5, 1/13	N	5	
		39	2/17	258	10/7, 10/30, 12/5, 1/13	N	5	
		40	2/16	361	10/7, 10/30, 12/5, 1/13	N	5	
		51	4/11	320	10/7, 10/30, 12/5, 1/13	N	5	
G	日高	8	1/18	312	11月, 12月, 1月	N	5	
		10	1/21	315	11月, 12月, 1月	N	5	
		13	1/26	311	10月, 11月, 12月	N	5	
		14	1/26	330	10月, 11月, 12月	N	5	
		18	2/1	324	10月, 11月, 12月	N	5	
		19	2/1	322	10月, 11月, 12月	N	5	
		21	2/4	325	10月, 11月, 12月	N	3	
		24	2/5	322	10月, 11月, 12月	N	5	
		27	2/9	327	10月, 11月, 12月	N	5	
		31	2/11	340	10月, 11月, 12月	N	5	
		32	2/10	300	10月, 11月, 12月	N	5	
		35	2/13	325	10月, 11月, 12月	N	5	
		37	2/14	338	10月, 11月, 12月	N	5	
H	新ひだか	11	1/21	251	11/8, 12/10	N	5	T/C <sub>626</sub>
I	新冠	12	1/25	289	11月中旬	N	5	
J	新冠	15	1/27	299	10/21, 11/23, 12/29	N	3	
		22	2/3	322	11/23, 12/29, 1/30	N	5	
		26	2/8	283	11/23, 12/29, 1/30	N	3	
		29	2/11	274	11/23, 12/29, 1/30	N	3	
K	新ひだか	20	2/1	309		N	1	
		49	3/19	314	2月, 3月	N	1	
L	浦河	30	2/11	286	12/12, 1/13	N	5	T/C <sub>626</sub> , C/T <sub>856</sub>
M	日高	38	2/16	272	10/15, 12/1, 1/15	N	1	
N	新ひだか	41	2/19	253	10月後半, 12月, 2月	N	5	T/C <sub>626</sub>
O	日高	42	2/24	300	10月, 11月, 12月, 1月, 2月	N	5	T/C <sub>626</sub>
		44	3/1	272	10月, 11月, 12月, 1月, 2月	N	5	T/C <sub>626</sub>
		45	3/1	304	10月, 11月, 12月, 1月, 2月	N	5	T/C <sub>626</sub>
		47	3/6	309	10月, 11月, 12月, 1月, 2月	N	5	T/C <sub>626</sub>
P	日高	46	3/4	283	1月, 2月	N	5	T/C <sub>626</sub>
Q	新ひだか	50	3/19	294		N	2	
R	浦河	52	4/12	330	11/7, 12/7, 1/7	N	5	T/C <sub>626</sub>
S	新ひだか	53	5/25	363	1/23, 2/23, 3/20	N	5	T/C <sub>626</sub>

1) ORF30: 神経病原性遺伝子マーカー (D: 神経病原性変異株, N: 標準株)  
2) ORF68: グループ分けマーカー (グループ1~6)  
3) グループ分けの指標となる多型以外でORF68に認められた遺伝子変異 (T/C<sub>626</sub>: 626番塩基がTからCに変異)

表 4. 平成 29 年度日高管内における馬鼻肺炎流産・生後直死発生状況

牧場	地区	検体 番号	発生 月日	胎齢 (日齢)	ワクチン接種状況	遺伝子マーカー		備考
						ORF30	ORF68	
A	新冠	1	11/20	195		N	3	
B	浦河	2	12/19	216	12/11	N	5	T/C <sub>626</sub>
C	日高	3	12/20	217		N	5	T/C <sub>626</sub>
		13	1/26	255	12/28	N	5	T/C <sub>626</sub>
D	浦河	4	12/26	237	11/24, 12/24	N	5	T/C <sub>626</sub>
E	新ひだか	5	12/30	210		N	5	T/C <sub>626</sub>
F	新ひだか	6	1/2	282		N	5	T/C <sub>626</sub>
		10	1/24	269	1/4	N	5	T/C <sub>626</sub>
		11	1/24	284	1/4	N	5	T/C <sub>626</sub>
G	新ひだか	7	1/8	306	10/31, 11/30, 12/31	N	5	
H	新冠	8	1/8	299	10月末, 11月末, 12月末	N	5	T/C <sub>626</sub>
		9	1/14	261	10月末, 11月末, 12月末	N	5	T/C <sub>626</sub>
I	浦河	12	1/26	255	1回接種(月日不明)	N	5	T/C <sub>626</sub>
		17	4/17	306	12/30, 1/26	N	5	T/C <sub>626</sub>
J	平取	14	2/7	327	10/28, 11/30, 1/10	N	1	
		15	2/13	296	10/28, 11/30, 1/10, 2/9	N	1	
K	日高	16	3/27	276	2回接種(月日不明)	N	5	T/C <sub>626</sub>
L	新冠	18	4/17	330	10/15, 11/15, 1/28	N	5	T/C <sub>626</sub>
		19	4/18	326	10/15, 11/15, 1/28	N	5	T/C <sub>626</sub>
		20	4/18	294	10/15, 11/15, 1/28	N	5	T/C <sub>626</sub>
		21	4/20	292	10/15, 11/15, 1/28	N	5	T/C <sub>626</sub>
M	浦河	22	4/26	323	1月, 2月	N	3	
		25	4/28	332	1月, 2月	N	3	
		26	5/19	323	1月, 2月	N	3	
N	浦河	23	4/26	295		N	3	
O	新ひだか	24	4/27	334	1月, 2月	N	5	

表 5. 平成 30 年度日高管内における馬鼻肺炎流産・生後直死発生状況

牧場	地区	検体 番号	発生 月日	胎齢 (日齢)	ワクチン接種状況		遺伝子マーカー		備考
					種類	接種日	ORF30	ORF68	
A	新ひだか	1	10/2	225			N	5	T/C <sub>626</sub>
B	平取	2	11/21	218	生	10/20	N	5	
C	新ひだか	3	11/22	183	不活化	11/14	N	1	
D	新冠	4	12/4	262	生	10/18,11/19	N	5	
E	日高	5	1/1	234			N	1	
F	新冠	6	1/18	335	生	10月末,11月末	N	5	T/C <sub>626</sub>
G	浦河	7	1/17	232			N	5	T/C <sub>626</sub>
		10	1/28	295	生	1/19	N	5	T/C <sub>626</sub>
H	日高	8	1/23	326			N	5	T/C <sub>626</sub>
I	浦河	11	1/30	268	生	10/7,11/25,1/10	N	5	T/C <sub>626</sub>
J	日高	12	2/10	248			N	5	T/C <sub>626</sub>
		18	3/30	318	生	2/10	N	5	T/C <sub>626</sub>
K	新冠	13	2/12	316	生	10/20,12/5	N	5	T/C <sub>626</sub>
L	新冠	14	2/21	329	不活化	11月,12月,1月末	N	3	
M	新ひだか	15	3/16	337	不活化	11月,12月	N	1	
N	浦河	16	3/18	335	生	10/23,1/14	N	5	
O	新ひだか	17	3/28	288			N	5	
P	新ひだか	19	4/3	313	不活化	11/28,12/30,2/27	N	5	T/C <sub>626</sub>
Q	日高	24	4/4	306	生	10月,12月	N	5	
R	浦河	20	4/21	336			N	1	
		22	5/7	348			N	1	
S	日高	21	4/26	313	生	11月,12月	N	1	
T	新ひだか	23	5/22	342	不活化	3/3,不明	N	3	

表 6. ORF68 を指標としたグループ分け成績 (牧場毎に集計\*)

	1	2	3	4	5	6	合計
平成 28 年度	2	1	2	0	15	1	21
平成 29 年度	1	0	3	0	11	0	15
平成 30 年度	5	0	2	0	13	0	20
合計	8	1	7	0	39	1	56

※平成 28 年度の G および J 牧場はグループ 3 と 5 いずれにも計上した。

## 細菌感染症のサーベイランス

○丹羽 秀和<sup>1</sup>、木下 優太<sup>1</sup>、内田 英里<sup>1</sup>、上野 孝範<sup>1</sup>、越智 章仁<sup>1</sup>、片山 芳也<sup>2</sup>  
(1 JRA 総研、2 JRA 栗東トレーニングセンター)

### 1. 腺疫のサーベイランス

本病は腺疫菌の感染によって引き起こされ、頭部のリンパ節の化膿を主徴とする。国内は一時清浄状態にあったが、1992年に再侵入して以降は北海道の重種を中心にまん延しており、2000年には軽種馬生産地への侵入も確認されている。これまでの調査から、2001年以降は本病の日高管内の軽種馬群への侵入のいないことが確認されているが、継続したサーベイランスが必要と考えられる。そこで、本病の特徴である頭部リンパ節の腫脹が認められた馬を対象とした病原ならびに血清学的検査を実施する。

#### 材料と方法

腺疫を疑う症状が認められた馬および同居馬（腺疫防あつ指針に基づく検査対象馬）の鼻腔スワブおよび2点血清を採材し、病原検索（菌分離、PCR法）および抗体検査（腺疫特異的ELISA法）を実施する。

#### 結果

平成28～30年は、腺疫が疑われる馬は認められなかった。

## 2. ローソニア感染症の疫学調査

ローソニア感染症は、平成 25～27 年（平成 24 年 10 月～27 年 3 月）の調査によって日高管内の広範囲にわたって浸潤していることが明らかとなった。そこで、本調査では、ローソニア感染症が疑われる馬およびその同居子馬について *Lawsonia intracellularis* (Li) の病原および抗体調査を実施する。また、本症は Li の牧場内への侵入により発生が起これると考えられることから、新たに野生動物としてエゾシカや牧場内のネズミなどにおける保菌状況を調査する。

### 材料と方法

#### 1) 発症馬および同居馬の調査

平成 27 年 4 月～30 年 4 月にローソニア感染症が疑われた馬（発症馬）およびその同居馬の血清と糞便を採取し、病原学的検査（リアルタイム PCR）と抗体検査を行った。Li 特異抗体または特異遺伝子が検出された個体を感染馬とした。

#### 2) 死亡例の解析

ローソニア感染症が疑われた死亡馬の各種検体を採材し、病原学的解析および病理組織学的解析を実施した。

#### 3) 野生ネズミの回腸における Li の保菌状況の調査

ローソニア感染症発生牧場において捕獲された野生ネズミの回腸について病原学的検査（リアルタイム PCR）を実施した。

#### 4) その他野生動物における Li 保菌状況の調査

日高管内で収集されたアライグマおよびタヌキの消化管の各部位および直腸便、エゾシカの空腸および回腸粘膜、牧場内で採取した馬以外の動物の糞便について病原学的検査（リアルタイム PCR）を実施した。

#### 5) 検出された Li の遺伝子型別

Multiple-locus variable-number of tandem repeat analysis (MLVA) による遺伝子型別を実施した。

### 結果

#### 1) 発症馬および同居馬の調査結果

##### a) 発症馬の概要（表 1）

疑い馬が認められた牧場およびその頭数は、延べ 131 牧場 182 頭であり、その内、ローソニア感染症と診断された個体は、103 牧場 151 頭であった。これらの牧場で過去にローソニア感染症の発生が確認された牧場はわずか 7 牧場であり、ほとんどが新規の発生牧場であった。地区別では新冠町での発生が最も多く（33 牧場）、浦河町（30 牧場）、新ひだか町（22 牧場）、日高町（16 牧場）、様似町（1 牧場）、えりも町（1 牧場）での発生も確認された。感染馬の平均血清総蛋白質量（TP）は、3.6 g/dl であり、ほとんどの馬が低蛋白血症（<5.0g/dl）を示した。一方、本病を疑い検査を実施したが、特異遺伝子および特異抗体のいずれも認められなかった（感染していないと考えられる）個体では TP の低下が認められないものが多かった。

表 1. ローソニア感染症疑い馬の概要

項目	H27-28	H28-29	H29-30	合計
牧場数	38	33	60	131
頭数 (延べ)	48	44	90	182
rPCR 陽性数	21/48 (43.8%)	26/41 (63.4%)	48/85 (56.5%)	95/174 (54.6%)
抗体陽性	40/48 (83.3%)	37/40 (92.5%)	62/79 (78.5%)	139/167 (83.2%)
感染馬	39	40	73	152

## b) 同居馬における浸潤状況の調査

37 牧場において同居馬の調査を行ったところ、13.4% (32/238) の糞便中から Li 特異遺伝子が、54.0%(129/239)の血清中から特異抗体が検出された。ローソニア感染症発生牧場では同居馬の多くが不顕性感染を受けており、その一部は糞便中に排菌していたことから、新たな感染源となる危険性が示された。また、同居馬の一部は低蛋白血症を起こしている個体も含まれており、臨床症状に異常は認められなくとも、病態が進行していた可能性が考えられた。

## 2) 死亡馬の解析 (表 2)

病理解剖によって消化管粘膜上皮に多数の Li が検出された 8 頭の症例について概要を示す。死亡馬の多くに小腸や大腸粘膜上皮の大部分の脱落または壊死が認められた。一方、わずかに残存していた小腸粘膜上皮は腺腫様に増殖し、粘膜上皮細胞内に多数の Li の存在が認められた。本病の特徴は小腸粘膜上皮の過形成であるが、死亡例では粘膜上皮の壊死や脱落が主体であったことは、病態の進行によって上皮の過形成から壊死へ進むことが死亡と関連する要因であると考えられた。一方、腸間膜リンパ節や回腸粘膜のみに少数の Li が検出された個体やサルモネラとの混合感染を起こしていた症例では本病と死亡原因との直接的な関連性は不明であった。豚のローソニア感染症では、不顕性感染であっても増体量に影響することが知られている。Li の感染が直接的な死因とならなくとも他の疾病の増悪因子となっている可能性が考えられた。

表 2. 病理解剖実施馬の概要

症例	月齢	発症月	主な症状	TP 値(g/dl)	Li 検出部位
1	5	8 月	疝痛, 小腸の肥厚 (超音波)	不明	空腸粘膜および内容, 直腸内容
2	6	9 月	元気消失, 発熱, 下痢	2.6	空腸粘膜 (近位) ~直腸粘膜, 腸間膜リンパ節
3	5	9 月	下痢, 発熱	不明	回腸粘膜および内容
4	16	10 月	発熱, 下痢, 重度の低 TP 血症	2.2	回盲口粘膜, 腸間膜リンパ節 (検出された Li は少数)
5	5	10 月	水様性下痢, 重度の低 TP 血症	1.8	空腸粘膜 (遠位) ~直腸粘膜, 腸間膜リンパ節
6	8	1 月	発熱, 食欲低下, 疝痛, 低 TP 血症	2.1	空腸粘膜~回腸粘膜
7	4	10 月	発熱,	不明	空腸粘膜~直腸粘膜
8	7	11 月	発熱, 疝痛, 低 TP 血症	4.6	空腸粘膜~直腸粘膜

表 2 の続き

症例	腸管の所見	備考
1	盲腸に約 5 c m の裂開が存在。	腹膜炎（腸穿孔）
2	空腸および回腸が暗赤色を呈す。	サルモネラとの混合感染
3	腸管全体が暗赤色化，回腸の遠位が肥厚，盲腸や結腸は粘膜面に出血。粘膜上皮は広範囲で脱落。	サルモネラとの混合感染
4	小腸～結腸にかけて水腫性の肥厚。	肺，肝，腎に小化膿巣が散在
5	回腸壁の肥厚（死後変化が著しい）。	胸部挫傷による胸腔内への大量出血（Li の菌数は多数）
6	小腸全体の肥厚、大腸粘膜の壊死。小腸粘膜上皮は脱落し、陰窩は腺腫様の増生。	全腸間膜動脈の寄生性動脈瘤，葉状条虫の多数寄生
7	小腸の肥厚および赤色化が著しい。絨毛構造は不明瞭化し、表層の粘膜上皮は広範囲で脱落。腸陰窩の粘膜上皮が増生（図 1）。	胃および十二指腸では回虫が確認
8	小腸の肥厚。絨毛構造は不明瞭化。腸陰窩の粘膜上皮が増生。粘膜固有層に多数の炎症細胞。上皮細胞およびマクロファージ内に多数の Li を確認（図 2）。	全腸間膜動脈の寄生性動脈瘤

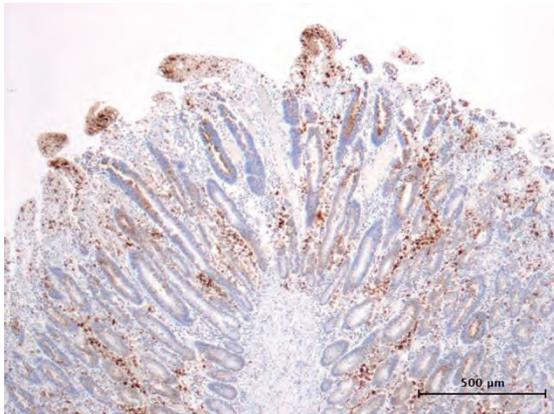


図 1

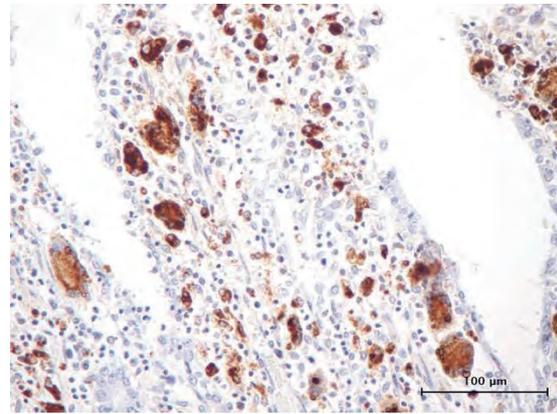


図 2

### 3) 野生動物における Li の保菌状況（表 3）

牧場内で捕獲されたネズミ 2 匹の回腸、日高管内で捕獲されたアライグマ 1 頭の回腸、日高管内で捕獲されたタヌキ 2 頭の空腸または回腸からそれぞれ Li 特異遺伝子が検出された。日高管内で捕獲されたエゾジカの空・回腸粘膜、牧場内のネズミ、キツネ、ネコの糞便からは Li 特異遺伝子は検出されなかった。

表 3. 野生動物における Li の保菌状況

動物種	頭数	材料	調べ検査数	陽性検体数
エゾシカ	61	空腸および回腸粘膜	122	0
	(7 牧場)	牧場内の糞便	30	0
ネズミ	36	回腸（一部空腸も含む）	40	2
	(1 牧場)	牧場内の糞便	1	0
アライグマ	20	消化管各部位（5 箇所）	100	1
タヌキ	5	消化管各部位（4 箇所）	20	2
キツネ	(1 牧場)	牧場内の糞便	1	0
ネコ	3 牧場	牧場内の糞便	4	0
合計			318	5

#### 4) 検出された Li の遺伝子型別

平成 25～29 年に馬から検出された Li 91 検体、国内の豚から検出された Li 7 検体、豚ワクチン株、発生牧場で捕獲されたネズミから検出された Li 2 検体、日高管内で捕獲されたアライグマから検出された Li 1 検体、網走管内のウサギから検出された Li 5 検体を用いて MLVA（反復配列多型解析法）による遺伝子型別を実施し、既報の海外の豚由来 Li 106 検体、馬由来 Li 20 検体、その他の動物由来 Li 7 検体、豚参照株 2 株の遺伝子型と比較した。国内の馬由来 Li の遺伝子型は、国内外を問わず豚で認められる Li の遺伝子型と異なっていたが、海外の馬や野生動物から検出される Li と区別が困難な型と国内の馬のみでクラスターを形成する型が認められた（図 3）。国内の馬由来 Li の遺伝子型について地区別にみると日高町と浦河町、新冠町と新ひだか町で検出された検体が比較的近い集団を形成していたが、それぞれの集団から離れ、他の集団と近縁な Li も認められた（図 4）。また、赤で囲まれたクラスターは、いずれも新冠（図 4）で同一年度（図 5）に検出された Li であり、複数の牧場の馬が含まれていた。このことから、このクラスターに含まれる Li は牧場内だけでなく、局地的に小規模な流行を起こしていた可能性が考えられた。

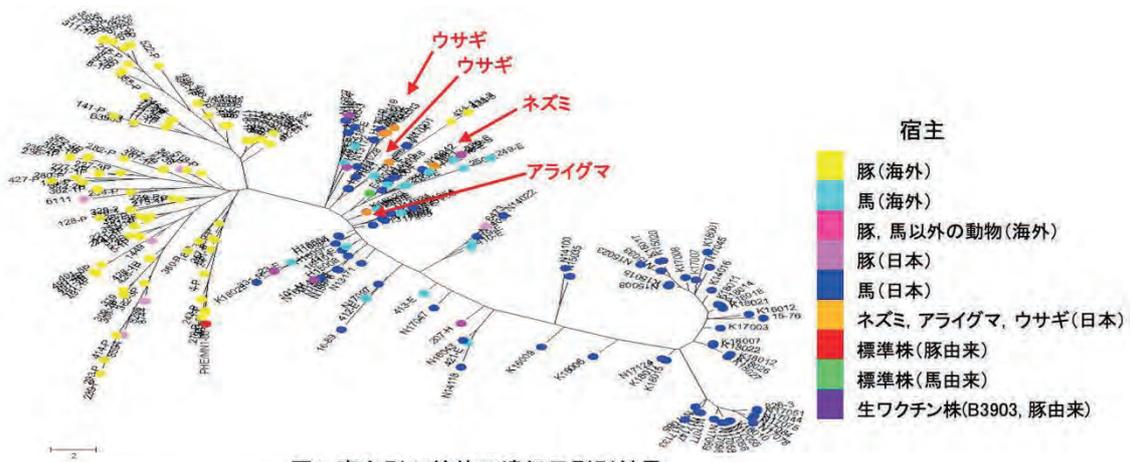


図3. 宿主別 Li検体の遺伝子型別結果

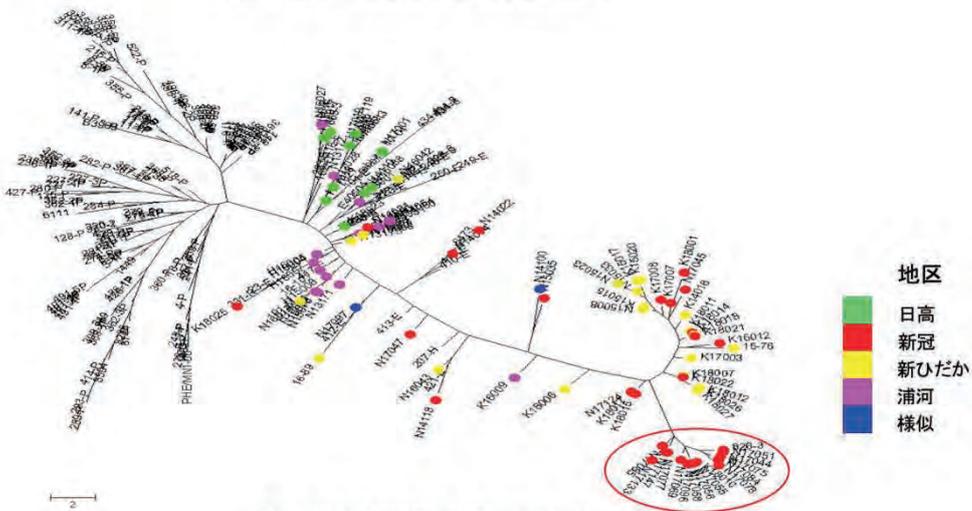


図4. 地区別 Li検体の遺伝子型別結果

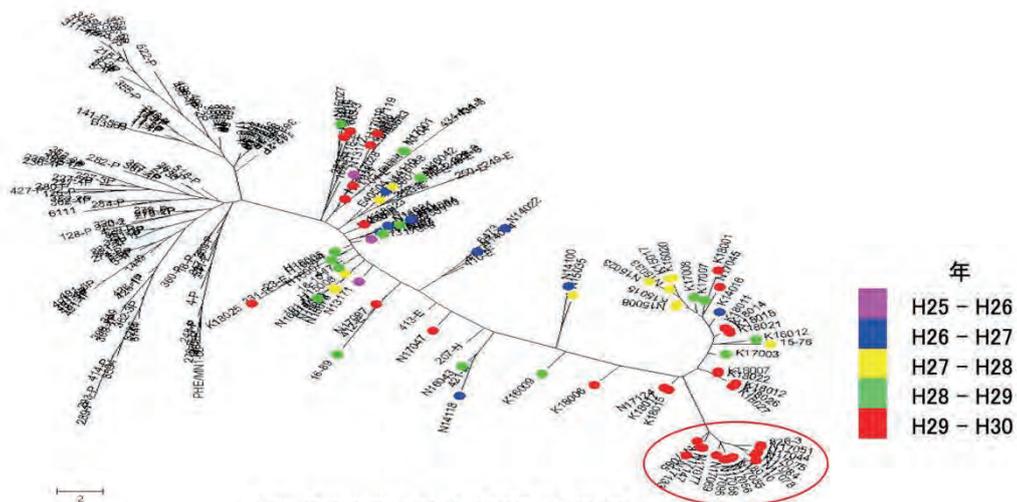


図5. 検出年別 Li検体の遺伝子型別結果

## Broad-range PCR 法を用いた子馬敗血症および感染性関節炎起因菌の同定

○上野 孝範<sup>1</sup>、越智 章仁<sup>1</sup>、丹羽 秀和<sup>1</sup>、木下 優太<sup>1</sup>、内田 英里<sup>1</sup>、片山 芳也<sup>2</sup>  
(1 JRA 総研、2 JRA 栗東トレーニングセンター)

生後直後の子馬に見られる敗血症ならびにこれに起因すると推測される関節炎は、現在も生産地において問題となっている疾患である。標準的な診断手法は血液・関節液の培養であるが、血液の場合、正確な診断を行うためには1頭あたり時間を変えて複数検体を採取せねばならず、培養結果が得られるまでに数日を要す。速やかな診断・治療ならびに適切な抗菌薬の選択を可能にするため、臨床医学的に敗血症および感染性関節炎が疑われる子馬の血液および関節液を用い、broad-range PCR 法 (16S rRNA 領域の増幅) による細菌遺伝子の検出ならびに同定を実施し、補助診断法としての有用性について検討を行った。また、敗血症を伴うと推測される細菌感染症により死亡した子馬の組織標本を用い、病理サンプルからの起因細菌遺伝子の検出ならびに同定を試みた。

### 材料と方法

#### 1) 敗血症罹患子馬における血液および関節液中細菌遺伝子の検出ならびに同定

NOSAI 日高家畜診療センターを受診し、敗血症あるいは感染性関節炎が疑われた当歳馬 39 症例の血液および関節液を用いて以下の調査を行った。

##### ① 細菌分離培養法と細菌遺伝子検出法の比較

23 例について、血液 (21 例) および関節液 (22 例) を血液培養ボトルに採取し培養を行った。増菌が認められた場合は分離培養を行い、質量分析法 (MALDI-TOF MS) もしくは broad-range PCR 法 (16S rRNA V7-V9 領域の増幅ならびにシークエンス解析) により菌種を同定した。また、同一症例の血液および関節液から抽出した DNA を用いて broad-range PCR 法による細菌遺伝子の検出・同定も実施し、分離培養法と比較した。

##### ② 増菌が認められなかった培養ボトルからの細菌遺伝子検出

調査過程において培養ボトル内容のグラム染色で細菌が確認されるものの、分離培養 (平板および液体培養) で増菌しない検体を数例経験した。このことから、培養結果が陰性であった培養ボトル中の細菌遺伝子の存在を確認するため、検査後の培養液から DNA を抽出し broad-range PCR 法を実施した。

#### 2) 敗血症を伴うと推測される細菌感染症により死亡した子馬における組織中細菌遺伝子の検出ならびに同定

敗血症を伴うと推測される細菌感染症 (臍帯炎など) により死亡し、日高家畜保健衛生所において病理解剖ならびに微生物学的検査が実施された子馬 11 例の肝臓、脾臓および腎臓

から病理組織標本を作製し、同標本から抽出した DNA を用いた broad-range PCR 法による細菌遺伝子の検索ならびに同定を実施した。

## 成績

### 1) 敗血症罹患子馬における血液および関節液中細菌遺伝子の検出ならびに同定

#### ①細菌分離培養法と細菌遺伝子検出法の比較

血液 21 例のうち培養法で 2 例、broad-range PCR 法で 1 例から、関節液 22 例のうち培養法で 5 例、broad-range PCR 法で 5 検体から細菌が検出・同定された (表 1、2)。このうち、培養で細菌増殖が見られなかったものの PCR 法で細菌遺伝子の増幅を認めたものは 2 例 (関節液 2 例) あった。一方、培養で細菌が分離されたものの、PCR 法で細菌遺伝子の増幅が認められなかったものも 3 例あり (血液 1 例、関節液 2 例)、設定した検査条件では細菌培養法に対する broad-range PCR 法の優位性を確認できなかった。細菌遺伝子の検出率が低かった要因として、PCR テンプレートに含まれる馬由来の DNA (炎症細胞等) や PCR 阻害物質の影響が疑われた。

#### ② 増菌が認められなかった培養ボトルからの細菌遺伝子抽出

血液を培養した 31 例では 7 例において細菌遺伝子と推測される遺伝子増幅が確認された。しかし、検出されたシーケンス波形はいずれも重複し、個々の塩基配列の区別が困難であったため、遺伝学的同定には至らなかった (図 1)。また、関節液を培養した 27 例のうち 11 例において細菌遺伝子の増幅を認め、このうち 10 例で菌種・属が同定された (図 2)。本手法により多数の細菌が同定されたが (表 3、4)、関節液では *Streptococcus* 属 (7 例) と *Actinobacillus equuli* (6 例) が大半を占め、特に後者は生後 18 日目までの子馬からのみ検出された。

### 2) 敗血症を伴うと推測される細菌感染症により死亡した子馬における組織中細菌遺伝子の検出ならびに同定

肝臓、脾臓、腎臓のホルマリン固定・パラフィン包埋を作製し、細菌遺伝子の検索ならびに同定を実施したが、いずれのサンプルにおいても細菌遺伝子の増幅は認められなかった。

## 考察

本調査の結果から、敗血症および感染性関節炎罹患子馬の微生物学的検査における血液培養ボトルの使用は、細菌分離だけでなく培養液中の細菌遺伝子の検出にも有効であることが明らかとなった。また、同一サンプルで培養検査ならびに遺伝学的検査を一括して実施できることから、血液・関節液採取量の削減 (患畜の負担軽減) に資するものであると考えられた。

組織標本を用いて細菌遺伝子の検索を行った症例の大半は、顕微鏡観察下において組織中に菌体が確認されていたことから、PCR による細菌遺伝子の増幅に標本作製処理が影響を与えていたものと推測された。今後ホルマリン固定・パラフィン包埋組織を用いた broad-

range PCR 法を行う場合は、標本作製条件（固定液、固定時間など）に留意する必要があると考えられた。

表 1. 血液検体からの細菌検出（PCR法および培養法）

血液		PCR		
		+	-	合計
培養	+	1	1	2
	-	0	19	19
	合計	1	20	21

表 2. 関節液検体からの細菌検出（PCR法および培養法）

関節液		PCR		
		+	-	合計
培養	+	3	2	5
	-	2	15	17
	合計	5	17	22

図 1. 血液培養ボトルからの細菌検出

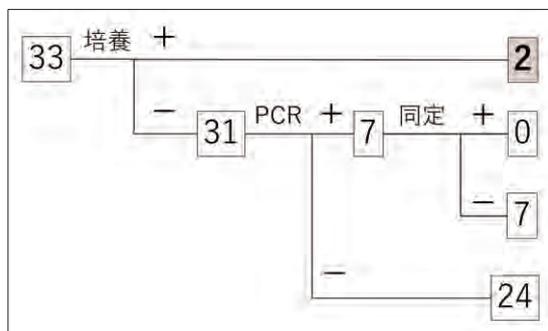


図 2. 関節液培養ボトルからの細菌検出

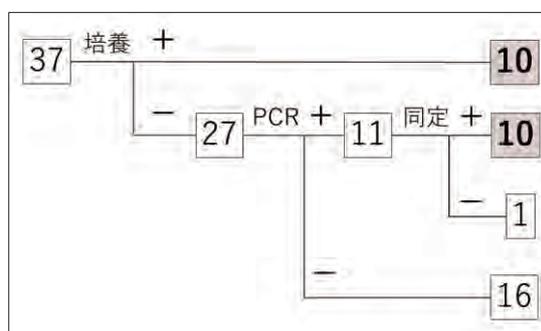


表 3. 血液培養ボトルからの同定菌

菌種	例数	菌分離	PCR
<i>Actinobacillus equuli</i>	1	1	
<i>Bacteroides fragilis</i>	1	1	
<i>Enterococcus faecium</i>	1	1	

表 4. 関節液培養ボトルからの同定菌

菌種	例数	菌分離	PCR
<i>Actinobacillus equuli</i>	5	1	5
<i>Streptococcus</i> 属	7		
<i>Str. zooepidemicus</i>	2	2	
<i>Str. orisasini</i>	1	1	
<i>Str. dysgalactiae</i>	1		1
<i>Str. macedonics</i>	1	1	
<i>Str. sp.</i>	1		1
<i>Str. agalactiae</i>	1		1
<i>Clostridium</i> 属	2		
<i>C. perfringens</i>	1	1	
<i>C. septicum</i>	1	1	
<i>Escherichia coli</i>	1	1	
<i>Rhodococcus equi</i>	1	1	
<i>Propionibacterium</i> 属	1		1
<i>Paenibacillus</i> 属	1		1
<i>Kingella kinge, Neisseria sp.</i>	1		1

第 47 回生産地における軽種馬の疾病に関するシンポジウム

一 般 講 演

## はじめに

遺伝子治療の研究が進むにつれ、その技術を悪用した遺伝子ドーピングが、ヒトやウマのスポーツ分野に広がることが懸念されています。国際競馬統括機関連盟(International Federation of Horseracing Authorities: IFHA)は、この問題に対応するため、2014年に専門委員会を立ち上げ、競馬サークルにおける遺伝子ドーピングに関するルール作りや対策法を検討しています。JRAもこの活動の初期から参画しており、ルール作りや検出方法の開発に積極的に携わっています。2018年5月のアジア競馬会議(ソウル)および10月のIFHA年次総会(パリ会議)では、遺伝子ドーピングがなぜ競馬にとって脅威なのかについて重要なメッセージが国際的に発信されました。その内容を日本の競馬関係者にも是非知っていただきたいと考え、解説させていただきます。

## 遺伝子ドーピングとは?

スポーツ競技で成績を良くする(あるいは悪くする)ために薬物を使用することがドーピングです。近年の分子生物学や遺伝子工学技術の急速な進展に伴い、従来の薬物療法や外科的治療では治せなかった病気への選択肢として、遺伝子治療が注目されています(図1)。

遺伝子治療とは、生物の設計情報である遺伝子を患者に投与したり(遺伝子導入)、患者から一旦取り出した細胞を改変してから体内に戻したり(遺伝子改変)することで病気を治す方法です。この遺伝子治療技術を悪用し、筋肉増強や持久力強化など、競技能力を高める可能性がある行為を行うことが遺伝子ドーピングです。

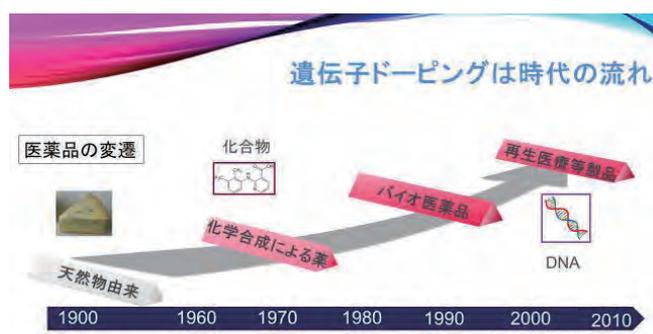


図1 治療薬の変遷

## 遺伝子ドーピングが競馬にもたらす脅威とは?

ドーピングが公正確保上問題であること(スポーツとしてフェアでない、ファン離れにつながる)や、馬の福祉に反すること(薬の服用による健康被害)は、皆様すでにご存知のことと思います。しかし、遺伝子ドーピングには、競馬の根幹を揺るがす深刻な危険が潜んでいるのです。

遺伝子ドーピングが、骨格筋、骨および内臓など(体細胞)を対象としたものであれば、その処置を受けたウマのみが影響を受けるに留まります。しかし、卵子や精子など(生殖系列細胞)が対

象となった場合、効果は遺伝継承されるため、処置を受けたウマだけでなく、そのウマから生まれる子にも影響をおよぼします。

また、遺伝子改変技術が受精卵や胚に悪用された場合（生産ステージでの遺伝子ドーピング）、生まれてくるウマは遺伝子改変動物となり、「サラブレッド」ではなくなります。さらに、そのウマが摘発されずに親（種牡馬や繁殖牝馬）になると、以降に生まれて来るウマも遺伝子改変サラブレッドとなり、遺伝子改変サラブレッドが量産されるという、競馬史上最悪のシナリオを招くことになります（図2）。

厳格な血統管理が200年以上もなされている「サラブレッド」を用いることが競馬の原点であり、魅力の一つです。競馬ルールのバイブルであるパリ協約第12条には、「サラブレッド」の定義（別紙）に関する項目が細かく書かれており、血統がいかに関与しているかが競馬にとって重要かが伺われます。

遺伝子ドーピングはサラブレッド種の存続を脅かす危険性があるため、競馬にとって大変な脅威なのです。



図2 遺伝子ドーピングによる最悪のシナリオ

### 遺伝子ドーピングはもはや噂ではない！

その存在がささやかれ始めた15年前、遺伝子ドーピングはまだ‘SFかおとぎ話’的な存在でした。しかし近年、DNAを精密にカット&ペーストする革命的な遺伝子編集技術が開発されたことにより、状況は一変しています。ネットでは遺伝子編集DIYキットが2万円弱で販売されているのをご存知ですか？南米ではクローン技術によって誕生したポロポニーが活躍しているそうです。また、2018年11月の中国人研究者が受精卵にゲノム編集を行い、双子を誕生させたニュースにより、生まれつき運動能力の高い子どもを作り出すことへの懸念が一気に広がりました。科学の発展により、遺伝子を簡単かつ安価に操作できるようになった今日、遺伝子ドーピングの危機は以前にも増して高まっていると言えます。今活躍している競走馬の中に、遺伝子改変されたウマがいてもおかしくない時代になっていることは、考えるだけでもゾッとします。

### 遺伝子ドーピングの検出は難しい

遺伝子ドーピングを検出するのは極めて難しいのが現状です。例えば、筋肉を増強するためにアナボリックステロイドを使用した場合、現在の検査技術でこれを検出するのは可能ですが、体内で筋肉の合成を促す遺伝子を注入した場合、ドーピングとして検知することは難しいのです。遺伝子ド

ーピングの検出法の開発には高額な設備投資や新たな専門家が必要なことから、取り組める検査ラポは限られており、オーストラリアと日本がこの分野でリードしています。

JRA では、(公財) 競走馬理化学研究所と共同で正確かつ多検体に対応できる検出方法の開発を行っています。



図3 国際的に議論されている遺伝子ドーピング検査のタイミング

### 遺伝子ドーピングへの対応

遺伝子ドーピングの検査はまだ実務的なレベルにないことは先に述べた通りですが、この問題にいち早く反応したのがヨーロッパです。イギリスやフランスは、血統登録を行う際に実施する親子判定用の血液サンプルの一部から抽出した DNA を保存し、必要が生じた時に検査に用いる‘バイオサンプルバンキング’の準備を進めています。生後なるべく早い時期に血液サンプルを取って保存しておけば、競走馬になる過程で遺伝子ドーピングを受けた、あるいは受けた疑いがあった場合、その時点の血液から抽出した DNA と過去の DNA を比較することで不正があったかを確認することができるという仕組みです。大きな抑止効果が期待できるため、日本でも検討すべきと考えます。

現在 JRA では、遺伝子ドーピングへの対応として、遺伝子治療の不正使用を規制するルールを整備や検査法の開発を手がけているところです。しかし、現在最も恐れられている脅威は、生産地における遺伝子ドーピングの結果、生まれつき運動能力の高い遺伝子改変サラブレッドが作製されることです。これを防止するためには、競馬主催者の権限が届かない、生産地での対策や血統登録時のチェックが最も重要となります。まず、関係者の方々に、遺伝子ドーピングについて興味を持っていただき、理解を深めていただくことが重要な一歩と考えています。

<b>第 12 条(生産)</b>	<b>サラブレッドの定義</b>
-------------------	------------------

サラブレッドとは、公式登録時に当該サラブレッドの生産国のサラブレッド血統書に登録された馬のことである。その生産国のサラブレッド血統書は、国際血統書委員会(附則 8)によって承認されたものでなければならない。

#### A. 資格

馬が公認のサラブレッド血統書に登録される資格を得るには、以下の要件のすべてを満たさなければならない：

##### 1. 種牡馬および繁殖牝馬の地位

1.1 当該馬が種牡馬と繁殖牝馬との交配による産駒でなければならぬ。父母の両馬が公認のサラブレッド血統書に登録されているか、または第 13 条 4.1 項に規定された条件に基づき、いずれか一方もしくは両方の馬が非サラブレッド登録馬名簿から昇格していなければならない。

1.2 母馬が、恒久的にであれ、9 カ月以下の一時的にであれ、産駒が生まれた国に輸入されてきたのである場合は、事前に輸出証明書または BCN（いずれか適切な方）が提出されていなければならない。

##### 2. 有資格の産駒を生産するための交配

2.1 サラブレッドは種牡馬と牝馬との交配の産物でなければならない。この場合の交配とは、ペニスの挿入および精液の生殖管への射出を伴い、実際に種牡馬が繁殖牝馬に乗りかかる生殖行動をいう。交配の補強として、サラブレッドを認定する国の血統登録機関により認められた場合、前記の交配中に種牡馬が射出した精液の一部を直ちに種付けされている牝馬の生殖管に挿入することができる。

##### 3. 有資格の産駒を生産するための妊娠期間

3.1 自然な妊娠期間が経過しなければならない。出産は産駒を受胎した母馬と同じ母体によるものでなければならない。人工授精、胚移植、移植、クローン、またはここに明記されていない形態のその他の遺伝子操作による処置の結果生まれた産駒は、国際血統書委員会によって承認されたサラブレッド血統書に登録する資格がないものとする。

##### 4. 交配とその結果の記録

4.1 交配の詳細は、種牡馬の馬主または公認の代理人が、サラブレッドとして認定する血統登録機関により提供または承認された正式の書式または電子システムに記録しなければならない。記録には、次の内容を含めるものとする：

4.1.1 種牡馬の馬名

4.1.2 繁殖牝馬の馬名

4.1.3 種牡馬に対する交配の初日及び最終日

4.1.4 交配は自然交配であって、人工授精、胚移植、移植、クローンまたはその他の形態

の遺伝子操作の過程を含んでおらず、また、種付前に繁殖牝馬の個体の同一性がパ  
ースポートにより確認された旨の種牡馬の馬主または公認の代理人が署名した陳述書  
(3.1 を参照)

4.2 出生時の産駒の詳細は、牝馬の馬主または公認の代理人が、サラブレッドとして認定する血  
統登録機関により提供または承認された正式の書式または電子システムに記録しなければ  
ならない。記録には、次の内容を含めるものとする：

4.2.1 種牡馬の馬名

4.2.2 繁殖牝馬の馬名

4.2.3 正確な出生日

4.2.4 産駒の毛色

4.2.5 産駒の性別

4.2.6 出生時に繁殖牝馬の馬主だった産駒生産者の名前

4.2.7 出生した国

4.2.8 産駒は人工授精、胚移植、移植、クローンまたはその他の形態の遺伝子操作の産物で  
はない旨の繁殖牝馬の馬主または公認の代理人が署名した陳述書 (3.1 を参照)

4.3 如何なる疑義も避けるため、産駒が登録されるために種付の詳細 (上記 4.1 に定める  
もの) および出産の詳細 (上記 4.2 に定めるもの) が血統登録機関に提供されなけれ  
ばならない。

## 5. 個体の識別と記述

5.1 産駒個体の記述は、血統登録機関により承認された者によって、サラブレッドを認定する  
機関により提供または承認された正式の書式または電子システムに記録されなければなら  
ない。記述には次の内容を含める：

5.1.1 種牡馬の馬名

5.1.2 繁殖牝馬の馬名

5.1.3 正確な出生日

5.1.4 産駒の毛色

5.1.5 産駒の性別

5.1.6 生産者の名前 (4.2.6 を参照)

5.1.7 出生した国

5.1.8 産駒の先天的および後天的な個体識別指標の詳細な記述。これには、四肢の特徴 (白  
斑)、顔の特徴 (白斑)、旋毛、癍痕、入墨、烙印、マイクロチップ番号 (埋め込  
まれている場合) を含むものとする。これらの特徴は、カラー写真または実査によ  
り裏付けられなければならない。

## 6. 親子鑑定

6.1 サラブレッドを認定する血統登録機関は、血液、毛および/またはその他の生体サンプルに  
存在する遺伝子の型判定に基づく親子鑑定のさらなる証拠を要求しなければならず、かつ、  
それに伴って以下のことを確保しなければならない：

6.1.1 遺伝子型の型判定が、その目的で血統登録機関により承認された試験所によってのみ

行われること

- 6.1.2 遺伝子型の型判定を行う試験所が、国際動物遺伝学会（*ISAG*）の会員であり、国際血統書委員会の納得のいくよう比較試験に参加していること
- 6.1.3 遺伝子型の型判定のすべての結果及び詳細が、極秘に管理され、国際血統書委員会により公認資格を付与された他の血統登録機関に対してのみ開示されること
- 6.1.4 血統登録機関は、血統書への登録を申請しているいずれの馬についても所定の遺伝子型の型判定および親子鑑定を実施した後でなければ、登録を行わないこと

## B. 資格喪失

受胎、妊娠中またはその後の生涯のいかなる段階においてにせよ、登録が見込まれるまたは現に登録されているサラブレッドの遺伝可能なゲノムを改変された馬は、サラブレッドとしての資格を永久に喪失し、適宜、血統書から抹消する。

# サラブレッド大腿骨遠位内側顆軟骨下嚢胞様病変の家系別発症傾向に関する調査

○前田昌也 1) 菊地賢一 2) 安藤邦英 3) 佐藤文夫 4)

1) 日高軽種馬農業協同組合 2) 東邦大学理学部情報科学科 3) 軽種馬育成調教センター

4) JRA 日高育成牧場

## 【はじめに】

ウマの軟骨下嚢胞様病変（SCL）は、発育期整形外科疾患（DOD）の1つであり、大腿骨遠位内側顆はその代表的な発症部位である。DODの発症には後天的な飼養環境要因に加えて、性別や血統などの先天的な遺伝的要因が疑われており、骨軟骨症などに関しては既に遺伝子解析も多数報告されている一方、SCLについては遺伝的要因に関連する報告がない。SCLに関する遺伝学的解析を実施する根拠として、性別や血統における偏りを統計学的に検証することは意義がある。そこで本調査では、サラブレッドにおける大腿骨遠位内側顆 SCL が家系別で所見の有無に偏りがあるか否かを明らかにするため、北海道市場レポジトリ資料を用いて統計学的に解析した。

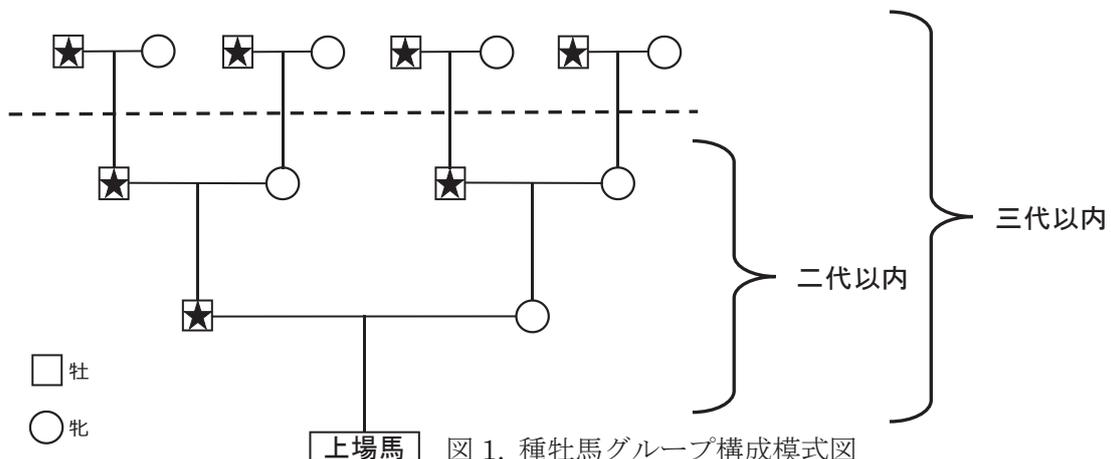
## 【材料と方法】

2015～2018年の北海道市場レポジトリ上場馬の中から膝関節 X 線検査画像が提出された 6,479 頭において、大腿骨遠位内側顆 SCL 集計時のグレードや左右の区別を排除し、有無のみを評価した。

家系については種牡馬別に群を構成した。まず二代以内のいずれか（父・父の父・母の父）に共通の種牡馬を有する個体同士で群を構成し、100 頭以上で構成される群について、残りの集団との間で、大腿骨遠位内側顆 SCL の有所見率についてカイ二乗検定を実施した。次に三代以内のいずれか（父・父の父・父の父の父・父の母の父・母の父・母の父の父・母の母の父）に共通の種牡馬を有する個体で構成された群についても、100 頭以上の群と残りの集団との間で有所見率についてカイ二乗検定を実施した（図 1）。

さらに「軽度の病変は有無の判定が困難な例も含まれ統計結果に影響する可能性がある」という仮定の下、三代以内に共通種牡馬を有する群については、グレーディングされた中から「グレード 1」の群を除外した上で同様の統計解析を実施した。

有意差検定については  $P < 0.05$  を有意水準としたが、 $P < 0.05$  と  $P < 0.01$  を区別した。



【成績】

大腿骨遠位内側顆 SCL が少なくとも一つ確認された個体は 1006 頭 / 6479 頭で、全体の 15.53%であった。

二代以内に通種牡馬を有する群は 32 群が 100 頭以上（106～688 頭）で構成されており、各群の有所見率には 6.84～25.49%の幅が見られた。うち 4 群は  $P < 0.01$  で、1 群は  $P < 0.05$  で有意に高い所見率を示す一方、1 群が  $P < 0.01$  で、3 群が  $P < 0.05$  で有意に低い所見率を示した（図 2）。

三代以内に通種牡馬を有する群は 33 群が 100 頭以上（101～4,784 頭）で構成されており、各群の有所見率には 10.85～23.66%の幅が見られた。うち 2 群が  $P < 0.01$  で有意に高い所見率を示す一方、3 群が  $P < 0.01$  で、1 群が  $P < 0.05$  で有意に低い所見率を示した（図 3）。

二代以内構成群において所見率上位 2 群の構成要素となる 2 頭の種牡馬は、三代以内構成群で最も高い所見率を示す種牡馬を父親とする家系であり、二代以内構成群において所見率 3 位を示した種牡馬は同 4 位の構成要素となる種牡馬の父親に相当し、三代以内構成群においても二番目に高い所見率を示す種牡馬であることが明らかになった。

有所見馬 1006 頭中「グレード 1」と判定された馬は 510 頭であり、これらを除外しての有所見率は 8.31%（496 頭 / 5969 頭）であった。この母集団を、同様に三代以内に通種牡馬を有する群で分けると上記 33 群中 1 群は 100 頭未満で除外、32 群が 100 頭以上（107～4,395 頭）となり、種牡馬別有所見率の順位、有意差、有意水準にも変動が見られた。しかしながら  $P < 0.01$  で有意に高い所見率を示す 2 頭の種牡馬はこれまでと同様の馬であった。

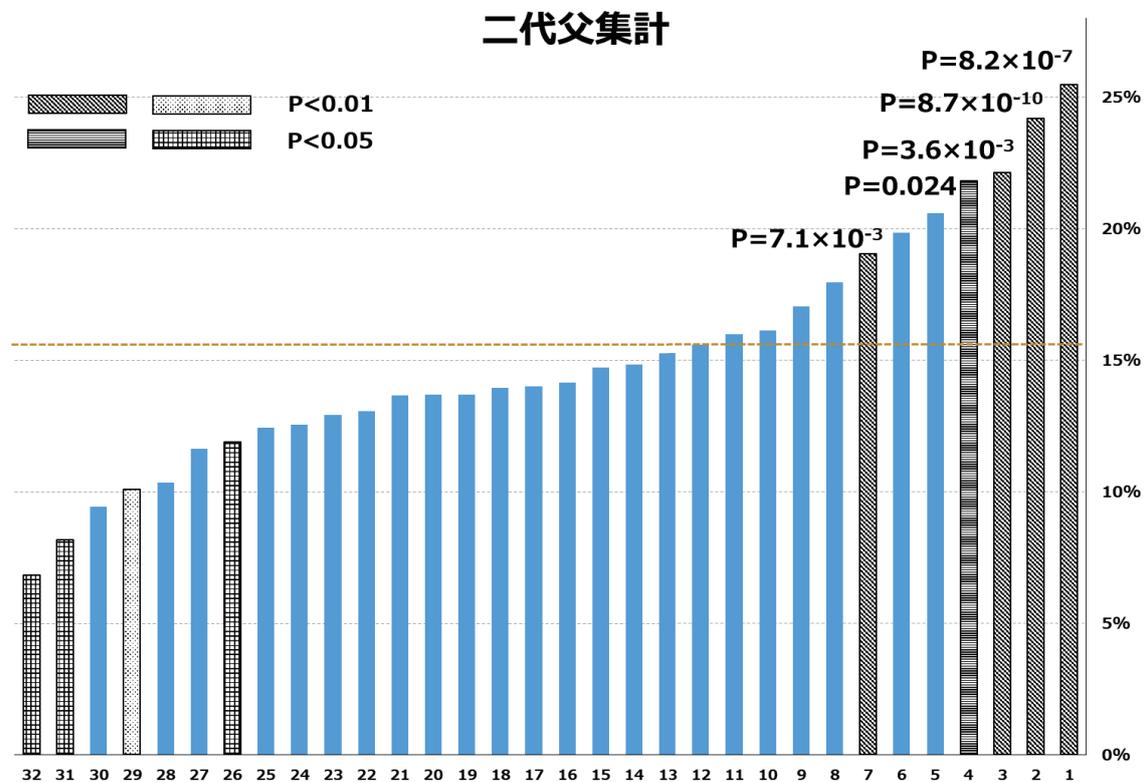


図 2. 二代以内共通種牡馬構成群の有所見率

### 三代父集計

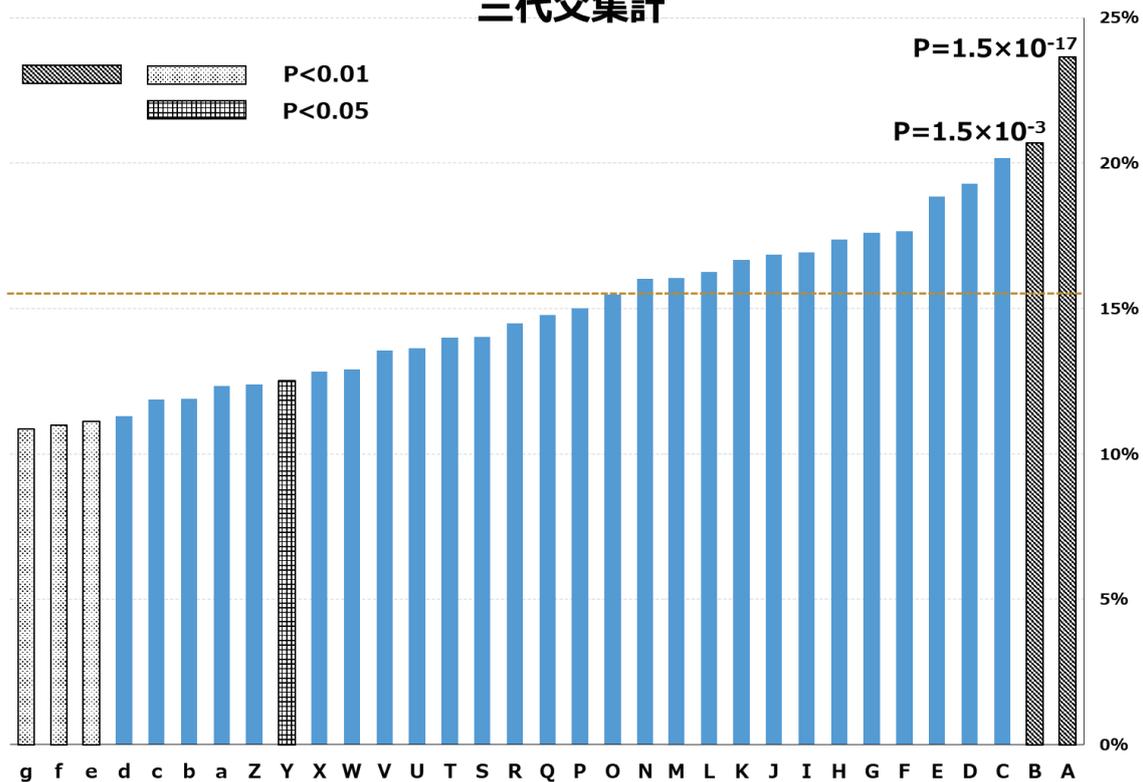


図3. 三代以内共通種牡馬構成群の有所見率

#### 【考察】

「特定の疾患が特定種牡馬の産駒に多い」という印象は何らかの疾患で感じることはあるかもしれないがあくまで主観であり、その先を調査されることは殆どない。これは大きな母集団から有病率を正確に集積するという作業が困難であることによる。今回北海道市場のレポジトリ資料という大きな母集団から大腿骨遠位内側顆 SCL という疾患に照準を絞って網羅的に集計することで、種牡馬による有所見率の差異を客観的に明らかにすることが出来た。

共通種牡馬による群構成を二代以内と三代以内の2パターンで集計することにより有所見率が高い2つの家系については両パターンで傾向が一致しており、特にそのうち1家系に関してはカイ二乗検定のP値が非常に低値である（二代： $8.2 \times 10^{-7}$ 、 $8.7 \times 10^{-10}$ 、三代： $1.5 \times 10^{-17}$ ）ことより、この家系で大腿骨遠位内側顆 SCL の所見が多いという現象に偶然性はほぼ考えられない。一方で有所見率の低い群については各パターンで有意差が大きく変化するものが多く、統計的有意差が得られても家系に見られる統一性が乏しいため、明らかに有所見率の低い家系という断定は困難であった。

今回の調査における大腿骨遠位内側顆 SCL の有所見率が過去の報告と比較して非常に高いのは、屈曲位外内側方向でのX線撮影が軽微な所見も漏らさず確認できたことや検査装置の精度向上が要因として考えられるが、所見が確実に存在する条件のため、最も低いグレードを排除して統計解析を再検討したところ、順位が変わっても統計的有意差が得られる家系にはこれまでと同じものが含まれていた。SCL は経時的にグレードが悪化する症例があり、グレードが低くても将来的に臨床症状を示すことが否定できないため、病変を見

落とさずに存在を把握することが重要である。

SCLに家系で発症に偏りがあることは遺伝性因子の存在を示唆するものであり、このような因子をサラブレッド育種の過程で淘汰の対象とする意見もあるかもしれない。しかしながら元来競走能力を優先したサラブレッド育種の中で淘汰されなかったあらゆる遺伝性因子は、たとえ疾患に関連していても残っていることに意味があるとも考えられ、短絡的に淘汰の対象とするべきではないと演者は考えている。

今後 SCL の関連遺伝性因子を検索しつつ各因子の機能を解明すれば、発症の機序を明らかにする一助となることが期待され、発症の予防や治療の方法を開発することに貢献することが望まれる。今回高い有病率を示した家系に絞って連鎖解析をすることで特有の因子を検索することも一手法として検討できるかもしれない。

○永田俊一、戸崎晃明、廣田桂一、菊地美緒、梶 裕永  
(公益財団法人競走馬理化学研究所 遺伝子分析部)

【はじめに】

競走馬が先天的に有する距離適性を調べる「プラスビタール・スピード遺伝子検査（スピード遺伝子検査）」は、アイルランドダブリン大学のエメリン・ヒル博士によって開発され[1]、同博士が立ち上げたエクイノム社（現プラスビタール社）より2010年から検査が開始された。日本では、公益財団法人競走馬理化学研究所（競理研）がエクイノム社と本検査の独占ライセンス契約を締結し、国内の競走馬を対象に検査を提供している。

また、2017年より、競理研では競走馬が成長した際の大きさ（体高）を調べる「体高遺伝子検査」をスピード遺伝子検査のオプション検査として無料で提供している。

本発表では、これらの遺伝子検査の概要と現状及び利活用例を紹介すると共に、その将来性について言及したい。

【スピード遺伝子検査について】

ミオスタチンは動物の筋肉量を調節する蛋白質で、ミオスタチンを発現する遺伝子のDNA型（ミオスタチン遺伝子型）により筋肉の発達に違いが生じることが知られている[2]。スピード遺伝子検査は、ウマのミオスタチン遺伝子型を調べる検査で、C:C型、C:T型、T:T型の3種類が知られており、C:C型は筋肉質で速筋線維の割合が高く、T:T型は筋肉量が少なく遅筋線維の割合が高いことが報告されている[3, 4]。そして、各遺伝子型と競走馬の距離適性との関連性が統計学的に明らかにされている。競走距離別に勝馬のミオスタチン遺伝子型が占める割合を図1に示す[1]。

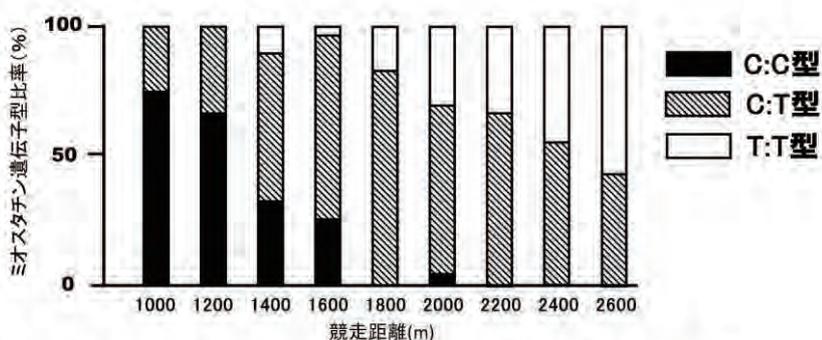


図1. 競走距離別に勝馬が占めるミオスタチン遺伝子型の比率

以上のことより、各遺伝子型の距離適性として、C:C型は短距離適性（1000～1600m）、

C:T型は中距離適性（1400～2400m）、T:T型は中～長距離適性（2000m～）と分類されている。

また、各遺伝子型と馬の初出走及び初勝利の関係も調べられており、図2に示すように、初出走及び初勝利をする時期は、C:C型が最も早い傾向にあることが報告されている（プラスビタール社調べ）。

ただし、この結果は、若馬のレースに短い距離が多いことが関係していると思われる。

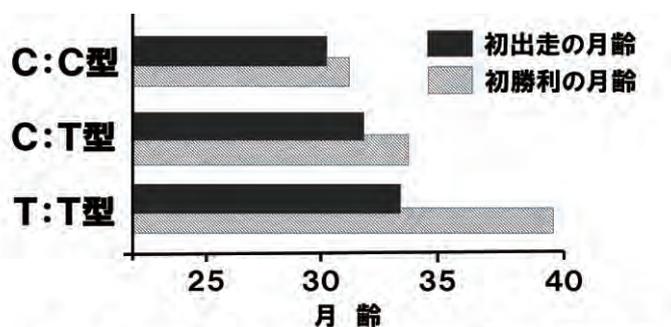


図2. 各遺伝子型における初出走及び初勝利の平均月齢

ミオスタチン遺伝子はメンデルの法則に従って両親から子に遺伝するため、両親の遺伝子型を調べることにより、生まれる子馬の遺伝子型の確率を知ることができる。図3は父馬と母馬における遺伝子型の配合図で、子馬における遺伝子型の確率を示しており、父母の両方がC:C型あるいはT:T型である場合は、生まれる子馬は100%C:C型あるいはT:T型であり、両親の片方がC:C型で他方がT:T型の場合は、子馬は100%C:T型となる。

		父馬の遺伝子型		
		C:C	C:T	T:T
母馬の遺伝子型	C:C	100% C:C	50% C:C 50% C:T	100% C:T
	C:T	50% C:C 50% C:T	25% C:C 50% C:T 25% T:T	50% C:T 50% T:T
	T:T	100% C:T	50% C:T 50% T:T	100% T:T

図3. 各遺伝子型の配合による子馬の遺伝子型

このスピード遺伝子検査は、ヨーロッパ、オセアニア、米国、日本など世界各地の競馬開催国及び競走馬の生産国で実施されており、日本以外ではプラスビタール社（アイルランド）が検査を提供している。日本では2013年から競理研において検査を開始しており、2018年までに約1000頭の検査を実施した。検査開始から各年における検査頭数及び検査対象馬の内訳を表1に示す。

表1. プラスビタール・スピード遺伝子検査の検査頭数及び検査馬の内訳

検査年	検査頭数	検査馬の内訳				
		現役馬	育成馬	繁殖牝馬	種牡馬	不明*
2013	222	32	1	35	3	151
2014	284	76	162	19	20	7
2015	204	11	183	8	2	0
2016	54	8	37	1	0	8
2017	147	58	27	60	2	0
2018	98	55	37	0	0	6
総数	1009	240	447	123	27	172

\*不明は申込書に検査馬の情報が記載されていない検体

年間の検査頭数は、検査開始（2013年）から2015年まで200頭を超え、その内訳は育成馬や繁殖馬など生産地で飼育されているウマの検査依頼が多かった。その理由として、2014年から開始した「生産地特別割引制度」（検査馬の情報公開を条件として、通常検査料81,000円（税込み）を育成馬と繁殖雌馬は半額、種牡馬は無料とする制度）のためだと考えられる。検査頭数は2016年に大きく減少して50頭程度となり、これまで積極的に検査を実施してきた馬主や法人（牧場等）が、所有するウマを一通り検査したことが推測される。2017年以降は、検査頭数が回復して100頭前後で推移しており、現役馬の割合が増えている。その理由として、2017年から通常検査料を40,500円（税込み）と大幅に引き下げたため（生産地特別割引制度は廃止）、これまで検査料が高額で検査をためらっていた馬主や調教師等が検査を行うようになったためだと思われる。

競理研でスピード遺伝子検査を行った検体について、ミオスタチン遺伝子型の割合における経年推移を表2に示す。

表2. ミオスタチン遺伝子型の割合における経年推移

検査年	ミオスタチン遺伝子型の割合（％）		
	C:C型	C:T型	T:T型
2013	26	56	18
2014	26	52	22
2015	23	51	26
2016	20	61	19
2017	23	59	18
2018	30	44	26
平均	25	54	22

検査検体に占めるミオスタチン遺伝子型の割合は、C:T型の割合が最も高く2018年を除く全ての年において50%以上を占めており、2015年を除いてC:C型の割合がT:T型より高いが、両型に大きな差は見られない。

検査馬の内訳と各ミオスタチン遺伝子型の割合について表3に示す。

**表3. 検査馬の内訳とミオスタチン遺伝子型の割合**

検査馬	ミオスタチン遺伝子型の割合 (%)		
	C:C 型	C:T 型	T:T 型
現役馬	26	49	25
育成馬	25	52	23
繁殖牝馬	28	59	13
種牡馬	22	52	26

現役馬と育成馬でミオスタチン遺伝子型の割合に大きな差は見られず、C:T型が全体の50%程度でC:C型とT:T型の割合は同レベルである。繁殖牝馬はT:T型の割合がC:C型の1/2程度の低い割合で、逆に種牡馬ではT:T型の割合はC:C型より高くなっている。

競理研及びプラスビタル社の調べによる、世界の各地域におけるミオスタチン遺伝子型の割合を表4に示す。

**表4. 世界の各地域におけるミオスタチン遺伝子型の割合**

検査年	ミオスタチン遺伝子型の割合 (%)		
	C:C 型	C:T 型	T:T 型
日本	25	54	22
北アメリカ	33	53	14
ヨーロッパ	35	51	14
オセアニア	48	45	7

北アメリカとヨーロッパは日本と同様にC:T型の割合が50%以上であるが、C:C型はT:T型の2倍以上の割合を占めており、オセアニアはC:C型とC:T型の割合が同程度で、T:T型は7%と非常に少ない。遺伝子型の割合は各地域における競馬の環境が関係していると考えられ、特に短距離のレースが多いオセアニアでは、C:C型のウマが求められ、T:T型は排除される傾向がある。一方、日本においてT:T型の割合が他の地域より高いことは、表3で示した様に日本の種牡馬はT:T型を有するウマが多いことに起因することが考えられ、長距離適性のウマが活躍する環境が他の地域より多く存在していると思われる。

#### 【体高遺伝子検査について】

成長後の大きさを決定するのは、環境的な要因と共に遺伝的な要因が重要であり、人では体高に影響を及ぼす様々な遺伝子の存在が知られている[5]。その中の一つであるLCORL (ligand-dependent nuclear receptor compressor-like protein)遺伝子は、ウマにおいても体高に関わっていることが判明しており[6, 7]、体高遺伝子検査はLCORL遺伝子領域の塩基配列（体高遺伝子型）を調べ、競走馬の体高を推測する検査である。体高遺伝子型には

G:G、G:A 及び A:A と 3 種類の型があり、競走馬の体高との関連性（G:G=高い・G:A=中間・A:A=低い）が統計学的に明らかにされている[6, 7]。体高遺伝子検査による各体高遺伝子型の平均体高を表 5 に示す[7]。

**表5. 体高遺伝子検査による遺伝子型と体高の平均値**

遺伝子型	体高の平均値 (cm)	
	牡馬	牝馬
G:G 型	170.6	169.8
G:A 型	168.0	164.5
A:A 型	164.7	160.7

以上の結果より、各遺伝子型の体高は「G:G 型は高い、G:A 型は中間、A:A 型は低い」と分類され、成長した際の体高を推測するための目安となる。なお、LCORL 遺伝子は、ミオスタチン遺伝子とは異なる染色体上に存在しており、両遺伝子間に関連はない。

競走馬（サラブレッド）集団における各体高遺伝子型の割合は大きく偏っている。日本[6]と北アメリカ[7]の競走馬における体高遺伝子型の割合を表 6 に示す。

**表6. 日本と北アメリカにおける体高遺伝子型の割合**

地域	体高遺伝子型の割合 (%)		
	G:G 型	G:A 型	A:A 型
日本	1	16	83
北アメリカ	4	30	66

両地域で G:G 型の割合が低く A:A 型の割合が高いが、北アメリカは日本より G:G 型の割合が多く A:A 型が少ないため、日本より体高が高いウマが多いことが推察される。

体高遺伝子は、ミオスタチン遺伝子と同様にメンデルの法則に従って遺伝するため、両親の遺伝子型の組み合わせで、生まれる子馬の遺伝子型を推測することが可能となる。

競理研では、本検査を主にスピード遺伝子検査のオプション検査として行っているため、検査頭数及び検査馬の内訳は、2017 年以降のスピード遺伝子検査とほぼ同様である。

#### 【遺伝子検査の利用例】

遺伝子検査により得られた情報は、競走馬の生涯にわたって利用することが可能で、スピード遺伝子検査は距離適性に応じた育成・調教、レース選択、配合計画等、体高遺伝子検査は新生馬の成長予測、配合計画等に有用である。

欧州で馬主や調教師がスピード遺伝子検査の結果により出走するレース選択を行った例が報告されている。オーストラリアでは種馬場が種牡馬のミオスタチン遺伝子型を公開し

ており、生産者が目的とする距離適性の子馬の生産に利用されている。日本では、一部の法人一口馬主クラブが会員募集のため、所有馬のミオスタチン遺伝子型を公開している。

#### 【スピード遺伝子検査の新しい利用方法】

育成馬で筋肉量（体重／体高）の変化を、トレーニングの開始前から開始後4ヶ月にわたり調べた結果、開始前の筋肉量はミオスタチン遺伝子型がC:C型で多く、T:T型は少ない傾向があり、開始後の筋肉量でも同様な差が認められた[3]。特に雄馬のC:C型は、トレーニングによる筋肉の増加量が、他の型に比べて有意に高いことが判明した[3]。

筋肉を構成する筋線維タイプ（Type I：遅筋型、Type II A：中間型、Type II X：速筋型）について、トレーニングの影響を調べた結果、C:C型のウマでは、トレーニングによりType II Xの面積が有意に増加することが報告されている[4]。一方、T:T型のウマでは、トレーニングにより持久力に関係するミトコンドリアや毛細血管などを合成する遺伝子の筋肉内での発現が、他の遺伝子型より有意に高くなることが報告されている[4]。

T:T型のウマは、抗酸化作用のある補酵素（コエンザイム Q10）の体内産生量が少ないことが明らかにされており、コエンザイム Q10を含むサプリメントを投与することで、エネルギー代謝の効率化による運動能力改善や疲労回復等の効果が、他の遺伝子型のウマより高く得られる可能性が報告されている[8]

以上の報告は、ミオスタチン遺伝子型によりトレーニングの効果やエネルギー代謝に関連する補酵素の体内産生量が異なるため、各遺伝子型に適したトレーニングや飼養管理の方法を検討する価値があることを示唆している。これらの研究を更に進めることにより、将来的にはミオスタチン遺伝子型別の調教や給餌方法など、スピード遺伝子検査の新しい利用方法につながることを期待される。

#### 【おわりに】

エクイノム社により最初に競走馬の遺伝子検査が提供された際に、海外の競馬関係者は、検査の意義や必要性に大きな物議を醸し、日本でも競理研に検査開始から多くの意見や質問が寄せられた。現在は、遺伝子検査に関する説明会や広報活動を通じて、多くの競馬関係者に遺伝子検査の理解が得られ、検査結果は育成、調教、レース選択、飼養管理及び交配計画の際に、参考となる情報の一つとして利用されていることと思われる。

遺伝子検査はウマが先天的に有する能力や特徴を調べるツールとして、他の方法では入手できない情報が得られる。海外では、スピード遺伝子検査や体高遺伝子検査以外に、競走馬を対象とした様々な遺伝子検査が行われているが、我々は検査の手法や結果の評価に科学的な裏付けがあり、競馬関係者の理解が得られ、競馬の発展に寄与できる遺伝子検査を選択的に取り入れていく必要があるだろう。

【参考文献】

1. Hill EW, Gu J, Eivers SS, Fonseca RG, McGivney BA, Govindarajan P, Orr N, Katz LM, MacHugh DE., A Sequence Polymorphism in MSTN Predicts Sprinting Ability and Racing Stamina in Thoroughbred Horses, PLoS One. 2010, 20;5(1):e8645.
2. McPherron AC, Lawler AM, Lee SJ., Regulation of skeletal muscle mass in mice by a new TGF-beta superfamily member. Nature. 1997, 1;387(6628):83-90.
3. Tozaki T, Kikuchi M, Kakoi H, Hirota KI, Nagata SI., A genome-wide association study for body weight in Japanese Thoroughbred racehorses clarifies candidate regions on chromosomes 3, 9, 15, and 18. J Equine Sci. 2017;28(4):127-134..
4. Miyata H, Itoh R, Sato F, Takebe N, Hada T, Tozaki T. Effect of Myostatin SNP on muscle fiber properties in male Thoroughbred horses during training period. J Physiol Sci. 2018 ;68(5):639-646.
5. Soranzo N., et al. Meta-analysis of genome-wide scans for human adult stature identifies novel Loci and associations with measures of skeletal frame size. PLoS Genet. 2009, 5(4):e1000445.
6. Tozaki T, Sato F, Ishimaru M, Kikuchi M, Kakoi H, Hirota KI, Nagata SI., Sequence variants of BIEC2-808543 near LCORL are associated with body composition in Thoroughbreds under training. J Equine Sci. 2016; 27(3): 107–114.
7. Boyko AR, Brooks SA, Behan-Braman A, Castelhana M, Corey E, Oliveira KC, Swinburne JE, Todhunter RJ, Zhang Z, Ainsworth DM, Robinson NE., Genomic analysis establishes correlation between growth and laryngeal neuropathy in Thoroughbreds. BMC Genomics. 2014, 3;15:259.
8. Rooney MF, Porter RK, Katz LM, Hill EW. Skeletal muscle mitochondrial bioenergetics and associations with myostatin genotypes in the Thoroughbred horse. PLoS One. 2017, 30;12(11):e0186247.

## 尿管結石症のサラブレッドの一治験例

○鈴木 吏 加藤史樹 山家崇史 田上正幸 田上正明  
(社台ホースクリニック)

### 【背景】

尿路閉塞の原因として、結石、外傷、新生物などがあげられるが、馬においては尿路結石症が最も一般的な疾患である。尿路閉塞の症状は、排尿障害・失禁・軽度から重度の疝痛など、閉塞部位と程度によってさまざまであるとされている。尿路結石は、膀胱で認められることが最も多く(60%)、次いで尿道(24%)、腎臓(12%)、尿管(4%)と報告されている。今回我々は、尿管結石症に罹患した雄のサラブレッド競走馬を治療する貴重な機会を得たので、ここに報告する。

### 【症例と経過】

サラブレッド種、雄、5歳、来院時体重508Kg。左前肢繋部における浅指屈腱炎のため、ウォーキングマシン程度の運動制限をしていた。発症の1カ月後から、39度台の発熱が繰り返し認められたため、セファロチン/ゲンタマイシン/経口のST合剤等で治療されていた。1カ月ほどで発熱が無くなったため運動を再開した。運動再開から約1カ月を経過したところに、軽度の疝痛症状がみられた。フルニキシンの投与で疼痛は消失したが、翌日に38.5度の微熱を呈し、食欲の低下が認められた。さらに5日後、再び軽度の疝痛症状を呈した。腹部超音波検査にて消化管に明らかな異常は認められなかったが、左腎の腎盂拡張が疑われた。翌日には疝痛症状が消失したが、精密検査を目的に社台ホースクリニックに搬送された。搬送前に、セフトオフルとフルニキシンの1日2回の投与が3日間なされていた。なお、経過中に数回の血液検査が行われており、低アルブミン血症(3.3~3.6g/dl)と高 $\gamma$ グロブリン血症(28.9~35.8%)に起因するA/G比の低下(0.61~0.92)と高蛋白質血症(8.6~8.7g/dl)、赤血球数増加( $\sim 1024 \times 10^4/\mu\text{l}$ )、血清アミロイドA蛋白値上昇(45.7~1,704  $\mu\text{g/ml}$ )が認められていた。

### 【検査所見】

経皮的腹部超音波検査にて、左腎における腎盂の軽度拡張および、明瞭な音響陰影を有する高輝度の小構造物が認められた。直腸検査では、拡張した左側尿管と尿管遠位側における硬結な球形の構造物が触知され、周囲には触診痛が認められた。経直腸超音波検査では、左側尿管内において、腎盂内に認められた構造と同様の音響陰影を有する高輝度の構造物が認められ、同尿管壁の肥厚と近位尿管の拡張も併せて認められた。なお、右腎には経皮的超音波検査にて異常はみられなかった。

以上の経過および検査所見より、左腎および左側尿管における尿路結石症と診断し、36日後に手術を実施した。

## 【手術】

立位鎮静下で枡場保定にて手術を実施した。手術には先端外径 5.4mm-有効長 1100mm-鉗子チャンネル径 2.2mm の内視鏡（OLYMPUS 社、GIF-XP290N）を用いた。左側尿管開口部から内視鏡を挿入したが、尿管を拡張させることが難しく、尿管の観察および尿管結石の観察が容易でなかった。数回繰り返すうちに尿管への挿入が次第に難しくなったことに加えて、尿管拡張の際の空気による膀胱の拡張で馬が苦しがつたため、倒馬して手術を継続した。

全身麻酔は、酸素イソフルラン吸入麻酔下、右側横臥位にて実施した。膀胱内の適度な排気と排尿を目的に、内視鏡をシリコンチューブに通して膀胱へ挿入した。生検鉗子で誘導し、内視鏡を左側尿管に挿入した。尿管結石を明瞭に視認することは容易でなかったが、操作中に尿管結石より近位に内視鏡を進めることができたため、内視鏡鉗子チャンネルからバルーンカテーテル（デイスコ<sup>®</sup> サフール<sup>®</sup> バルーンカテーテル A：B5-2Q：バルーン膨張径Φ 11.0mm・有効長 1950mm）を挿入し、結石の腎臓側に位置したバルーンを牽引することによって、尿管結石を少しずつ膀胱側に移動させ、膀胱内へと引っ張ることを試みた。同時に、一連の操作の補助を目的に、助手が直腸から用手でサポートし、正確な位置確認のために経直腸超音波を行った。直腸越しに用手にて結石を確認しながら、バルーンで結石を膀胱側へと牽引することを繰り返し、最終的に結石を膀胱に誘導することができた。直後に、停留していた尿管近位のムチン状の液体が膀胱内に流入した。これらを吸引した後、膀胱内で崩れてばらばらになった結石を確認し、内視鏡鉗子チャンネルを通した回収ネット（開き幅 15～28 mm、有効長 1600 mm）を挿入し、数回に分けて結石を摘除した。最後に、尿管内に内視鏡を再度挿入し、結石が消失したことを確認して手術を終了した。

麻酔時間は 87 分で、良好に起立した。

回収した尿管結石の主成分は、赤外線吸収スペクトロフォトメトリー法により、98%炭酸カルシウムであることが確認された。

## 【術後経過】

術後に疝痛症状などの尿管由来の痛みを疑う症状はみられなかった。術後 7・24・82 日に検査を実施した。経直腸超音波検査において尿管結石は消失し、左側尿管の拡張は改善されていたが、尿管壁の肥厚は変わらなかった。また、腎盂内の結石も変わらず認められた。

手術翌日から軽い運動を再開し、現在（術後 82 日）において問題となる臨床症状は認められていない。

## 【考察】

馬における尿路結石症の平均発症年齢は約 10 歳であり、本症例は比較的若齢での発生であった。結石の形成には核生成と結晶の成長の 2 つのステップが存在するが、一般に、腎盂においてみられるような尿路上皮と結晶の長期接触や尿路の損傷が核生成の誘発になると考えられている。尿路における損傷が、局所的炎症や血栓形成を引き起こし、結晶の局

所的沈着を促す。加えて、落屑した上皮細胞・白血球・壊死組織が更なる結晶成長へとつながる。尿道カテーテル・内視鏡挿入などによって損傷された尿道上皮は、結晶性物質で覆われるが、これらの結晶性物質は、感染の進行などがなければ通常自浄的に排除される。フェニルブタゾンなどの非ステロイド性抗炎症薬の長期投与も、腎実質組織に損傷を引き起こし、腎結石形成を引き起こすと考えられているが、本症例に尿路内損傷を引き起こす可能性のある経過は存在しなかった。

馬の尿管結石に対する治療として、腹部正中切開や臍部切開による尿管結石摘出術や電気水圧碎石法 (EHL:Electrohydraulic lithotripsy) などの方法が報告されている。本症例は、結石が98%炭酸カルシウムであったため比較的崩れやすく、バルーンで膀胱内へと牽引して閉塞を解除することが可能であった。一方で、経直腸による強い操作や、尿管内の操作は、尿管の損傷や処置中の尿管破綻の危険性もあるとされている。故に、仮に今回の手術方法で結石を摘除できなかった場合には、立位臍部切開による尿管切開術が次の選択肢となると考える。

本症例における明確な原因は不明であるが、間歇的な発熱がみられた時期があったことから、上部尿路系における感染があった可能性がある。手術では、閉塞を起こしていた左側尿管結石を摘出することに成功したが、依然として左腎には結石が残ったままである。すなわち、尿路の再閉塞の可能性が残存している状態といえる。成書には、腎結石あるいは尿結石を有するすべての馬において、併発性の尿路感染の可能性を評価する目的で、定量的な尿培養検査の実施が推奨されている。一般に、片側性の尿路閉塞症例の場合には血液検査にて高窒素血症を認めることは少ない。したがって、尿管閉塞と症状発現にタイムラグが生じる可能性が高く、罹患する危険性の高い症例に対する注意深い経過観察が重要といえる。本症例においても、今後定期的に検査を実施することが望ましい。しかしながら、尿検査等をどの程度の間隔で実施すればよいか、今のところ明確な指針は提示されていないため、検討の余地があると思われる。

#### 【参考資料】

- 1) Laverty S, Pascoe JR, Ling GV, et al: Urolithiasis in 68 horses.  
Vet Surg 21:56, 1992
- 2) MacHarg MA, Foerner JJ, Phillips TN, et al. Two methods for the treatment of ureterolithiasis in a mare.  
Vet Surg 13:95-98, 1984
- 3) Resolution of a left ureteral stone using electrohydraulic lithotripsy in a Thoroughbred colt.  
J Vet Intern Med. 9: 280-282: 1995
- 4) Fiederic J, Frman DE, MacKay RJ, Matyiaszek S, et al.: Removal of ureteral calculi in two geldings via a standing flank approach.  
J Am Vet Med Assoc. 2012 241(9):1214-20

## 繁殖牝馬における *Lawsonia intracellularis* の抗体の保有と子馬への抗体の移行

○荒川雄季 清水裕仁

(みなみ北海道農業共済組合 日高支所)

### 【はじめに】

馬増殖性腸炎 (Equine proliferative enteropathy : EPE ) は、*Lawsonia intracellularis* ( LI ) の経口感染により主に 3~8 か月齢の子馬が発症するたんぱく喪失性腸炎である。主な臨床徴候は、活力低下、食欲不振、発熱、下痢、疝痛、体表の浮腫、体重減少、発育遅延など様々である。その診断は、血清生化学検査では、血清総蛋白質量 (<5 mg/dl)、血清アルブミン値 (<3 mg/dl) が低下する。腹部超音波検査では、小腸腸壁の肥厚 (厚さ 4 mm以上) が確認される。EPE は、地方流行性疾患と言われ、日高管内でも毎年特定の地域で流行する。LI の抗体保有に関する報告は少なく、今回、繁殖牝馬と子馬の LI の抗体価の測定を行い、抗体保有に関わる考察を行った。

【材料および方法】対象は、2017 年から 2018 年の 2 年間で、日高管内新ひだか町のサラブレッド種生産牧場 9 牧場の繁殖牝馬と子馬で、分娩後 24 時間を経過した繁殖牝馬 108 頭 (平均年齢 11.14 歳、繁殖牝馬としての平均供用年数 5.68 年、平均産次数 4.78 産) 及び、出生後 24 時間を経過した子馬 109 頭から採血を行った。検査は血清中の LI 抗体価を測定した。一部の子馬 99 頭では、母乳からの移行免疫のひとつである血清 Ig-G 値を測定した。繁殖牝馬では、年齢、繁殖歴、新ひだか町静内での繁殖歴、産次数に分類し、LI 抗体保有の状況を調べた。さらに EPE 発症予防のために、2 牧場の子馬 46 頭 (投与時の日齢 48~186 日) では、豚ローソニアイントラセルラリス感染症経口ワクチン (エンテリゾール™ イリアイティス、ベーリンガーインゲルハイム アニマルヘルス ジャパン株式会社) を一頭当たり 30ml として経直腸投与を行った。ワクチン投与前には血清 LI 抗体価の測定と糞便中の LI 遺伝子検査 (リアルタイム PCR 法) を行った。LI 関連の検査は、日本中央競馬会競走馬総合研究所に依頼した。

### 【結果および考察】

#### ① 繁殖牝馬の LI 抗体保有

繁殖牝馬全体の LI 抗体価保有割合は 80.6% (87/108 頭) で、抗体非保有割合は 19.4% (21/108 頭) であった (表 1)。要因別の非保有割合において、年齢別では、10 歳以下で 34.6% (18/35 頭) であった。繁殖歴、新ひだか町での繁殖歴、産次数では繁殖歴が短く、産次数の少ない繁殖牝馬で抗体非保有割合が高い傾向にあり、特に新ひだか町での繁殖歴が 3 年以下で 31.9% (15/47 頭) であった (図 1,2,3)。これらのことから、LI が

表1. 牧場毎の繁殖牝馬のLI抗体保有率

牧場	A	B	C	D	E	F	G	H	I	計
検査頭数	6	5	35	1	16	3	5	11	26	108
抗体陽性頭数	6	4	27	1	12	2	4	11	20	87
抗体陽性率(%)	100.0%	80.0%	77.1%	100.0%	75.0%	67.0%	80.0%	10.0%	77.0%	80.6%

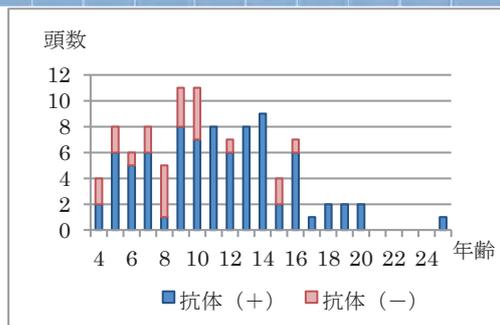


図 1. 年齢別の抗体保有

各牧場内に浸透し、飼養期間が長くなり、LIの感作を受けることで抗体を保有する繁殖牝馬の割合が高くなるものと考えられた。

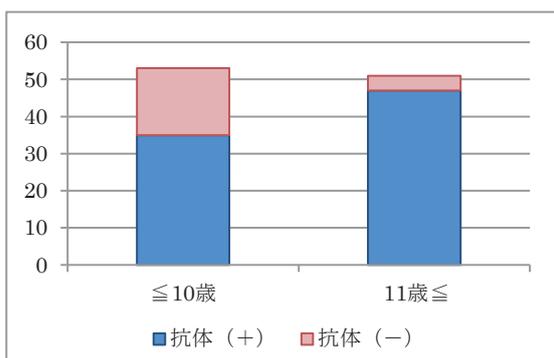


図 2.年齢別の抗体保有

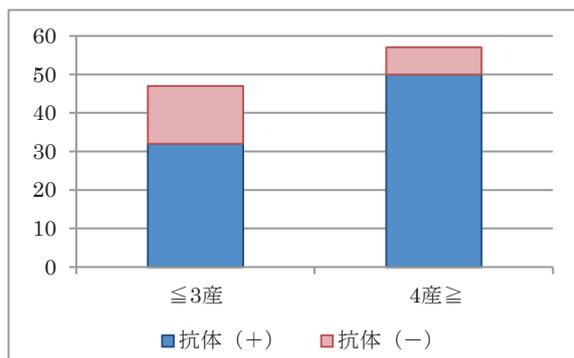


図 3.新ひだか町での繁殖歴

② 子馬のLI抗体保有

出生後の子馬の抗体保有割合は、74.3% (81/109頭)であった。Ig-G値を測定した子馬は99頭で、Ig-G値が800mg/dl以上をA群、400～800mg/dlをB群、400mg未満をC群と分類した。A群は86.9% (86頭/99頭)、B群は10.1% (10頭/99頭)、C群は3.0% (3頭/99頭)であった (図4)。そのうち抗体非保有割合は、それぞれA群：25.9% (22/85頭)、B群：20.0% (2/10頭)、C群：100.0% (3/3頭)であった。

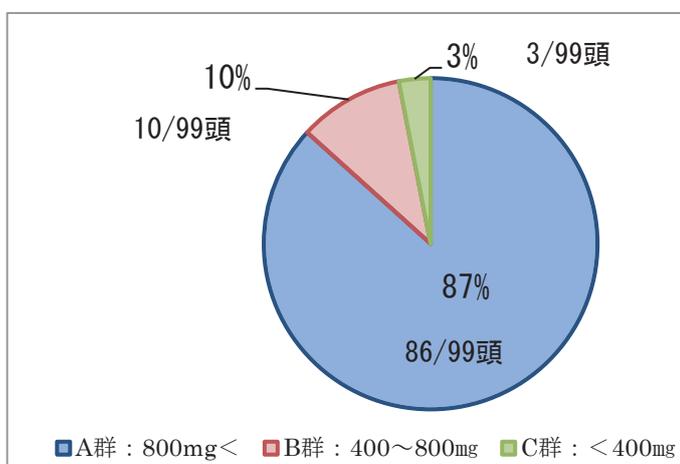


図 4.出生後のIg-G値

そのうち抗体非保有割合は、それぞれA群：25.9% (22/85頭)、B群：20.0% (2/10頭)、C群：100.0% (3/3頭)であった。A群のLI抗体非保有の22頭のうち16頭、B群では2頭のうち2頭、C群では3頭のうち1頭の母馬が、抗体を保有していなかった (表2)。繁殖牝馬におけるLI抗体の保有の有無は、初乳による

表2.出生後Ig-G値を測定した子馬のうち、LI抗体非保有であった割合とその母馬のLI抗体非保有率

	子馬のLI抗体非保有	母馬のLI抗体非保有
A群 86頭(87%)	22頭/86頭 25.60%	16頭/22頭
B群 10頭(10%)	2頭/10頭 20%	2頭/2頭
C群 3頭(3%)	3頭/3頭 100%	1頭/3頭

移行抗体を介して、子馬がLI抗体を獲得するための一因であるものと考えられた

(Fisherの正確検定：P<0.001) (図5)。

③ 子馬へのワクチン投与前のLI抗体保有

A牧場 (19頭) は、日齢が48日から162日 (平均99.4日齢) で7月初旬にワクチン投与を行った。ワクチン投与前にLI抗体保有子馬が42.1% (8頭/19頭)、糞便のPCR検査で22.2% (4頭/18頭)が陽性であった。

		新生子馬		
		抗体保有		計
繁殖牝馬	抗体保有	陽性	陰性	
		陽性	88	8
	陰性	1	20	21
計		89	28	117

図 5.繁殖牝馬と出生子馬の抗体保有の関係 (Fisherの正確検定 P<0.001)

馬	初乳摂取時		ワクチン投与前			
	Ig-G (mg/dl)	抗体価	抗体価	PCR	日齢 (日)	発症
a	1043	+	-	-	162	
b	1451		-	-	126	◎
c	928		-	-	126	
d	1843		+w	-	120	
e			-	-	119	
f	2069		+w	+	114	
g	1768	+	+w	-	105	
h	1662	+	-	-	105	
i	1662	+	+	-	100	
j	1345	-	-	-	99	
k	1240	+	-	+	99	
l	1187	+	-	-	95	
m	2145	+	-	-	95	
n	1081	-	+w	-	95	
o	1843	+	+w	+	91	
p	1187	+	-	-	72	◎
q	1715	+	+	-	62	
r	1843	-	-	+	55	
s	1715		+		48	
	平均値	抗体(+)	抗体(+)	PCR(+)	平均値	
	1540	10頭/13頭	8頭/19頭	4頭/18頭	99.4日	
	中央値	76.9%	42.1%	22.2%	中央値	
	1662				99日	
					(+W:弱陽性)	

72日齢と126日齢の子馬2頭がEPEを発症していた(表4)。B牧場(27頭)では、日齢が95日から187日(平均132日齢)で7月下旬と8月中旬に2群に分けてワクチン投与を行った。ワクチン投与前にLI抗体保有子馬が18.5%(5頭/27頭)、糞便のPCR検査では、全頭が陰性であった(表5)。子馬は、ワクチン投与前には概ね抗体が消失していた。一方A牧場では、牧場内でEPEの発生があった時点で、LIの感染が拡大していたものと考えられた。

初乳摂取時		ワクチン投与前			
Ig-G (mg/dl)	抗体保有	抗体保有	PCR	日齢 (日)	発症
1514	13頭/18頭 72.2%	5頭/27頭 18.5%	0頭/27頭	132.4日	なし

### 【まとめ】

新ひだか町のサラブレッド生産牧場では、約80%の繁殖牝馬がLI抗体を保有し、牧場内にはLIが広く浸潤しているものと考えられた。繁殖牝馬がLI抗体を保有していれば、出生子馬は初乳を介しLI抗体を獲得する。成書には、子馬が初乳により獲得した免疫は、約2か月で消失するとある。EPEの発症時期は、生後3~8か月と報告されている。当地でのEPEが多く発生する時期は、季節では秋から冬で、飼養管理の上では、離乳時期と重なる傾向にある。そのためワクチンの投与時期は、それらを見越して夏から秋に実施されることが多い。今回の調査で、2ヵ月齢と早期にEPEを発症した子馬がいた。牧場内では、LIの抗体を保有している子馬、LIを保菌していると思われる子馬がいたことから、この時点でLIの感染が拡大していたものと考えられた。今後は子馬の移行抗体の消失とEPEの発症時期を考慮し、ワクチン投与の時期を検討する必要があると考える。

## 過去 5 年間の馬の流産の発生状況

武智 茉莉  
(北海道日高家畜保健衛生所)

### はじめに

馬の流産は、生産牧場に大きな経済的損失をもたらす。発生後の対策や継続発生を予防するためには、原因特定が重要である。当所では年間約 200 件の流産原因検索を実施するとともに、その結果を分析している[1,2]。今回、過去 5 年間の馬の流産の発生状況について検討を行った。

### I 流産の病性鑑定の流れ

日高管内では、馬鼻肺炎による流産が毎年発生しており、大きな損失をもたらしている。地域のまん延防止を図るため、各町の家畜自衛防疫組合、畜産・軽種馬関係機関、獣医師団体が構成する日高家畜衛生防疫推進協議会が「馬鼻肺炎ウイルス流産防疫要領」を定め、対策を講じている。

流産発生時には、担当獣医師の指導に従い、病性鑑定を受けることを定め、診断に要する検査手数料は日高軽種馬農業協同組合が助成している。

病性鑑定では、剖検後、馬鼻肺炎の検査として馬ヘルペスウイルス 1 型 (EHV-1) の遺伝子検査 (LAMP 法) 及び細菌培養を実施し、必要に応じて真菌培養、病理組織検査等を実施している。

### II 調査方法

#### 1 調査対象

病性鑑定のため平成 26 年度から 30 年度に当所に搬入された馬の流産胎子 985 検体を調査対象とした。

#### 2 集計及び過去の調査との比較

集計は当所の過去の調査[2]と同様に実施した。原因の判明した検体については、原因を感染性流産と非感染性流産に分類、感染性流産は、ウイルス性、細菌性、真菌性に分類し、過去の調査[2]と比較した。非感染性流産は、臍帯の捻転による循環障害 (循環障害)、多胎、奇形、その他に細分化した。

### III 成績

#### 1 流産の原因別内訳

##### (1) 全体の結果

感染性流産は 19.4% (191 検体)、非感染性流産は 33.6% (331 検体)、原因不明は 47.0% (463 検体)であり、全体の 53.0%で流産原因が特定された (図 1)。

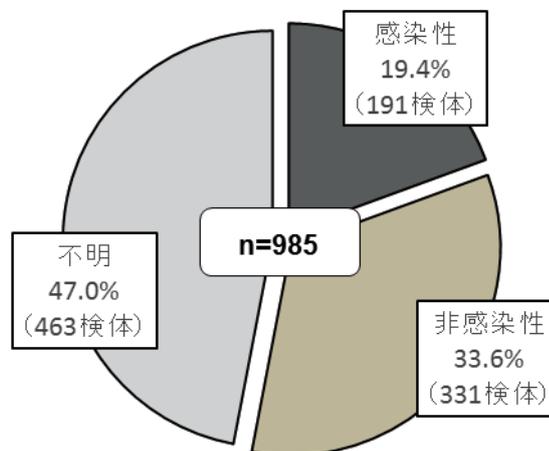


図 1 全体の結果

## (2) 感染性流産の内訳

感染性流産の内訳は、ウイルス性 61.8% (118 検体)、細菌性 30.9% (59 検体)、真菌性 7.3% (14 検体)であった (図2)。

## (3) 非感染性流産の内訳

非感染性流産の内訳は、循環障害 90.9% (301 検体)、多胎 5.1% (17 検体)、奇形 3.0% (10 検体)、その他 1.0% (3 検体)であった (図3)。

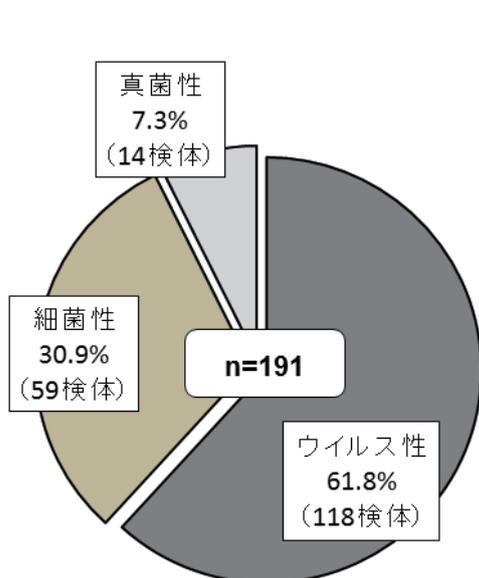


図2 感染性流産の内訳

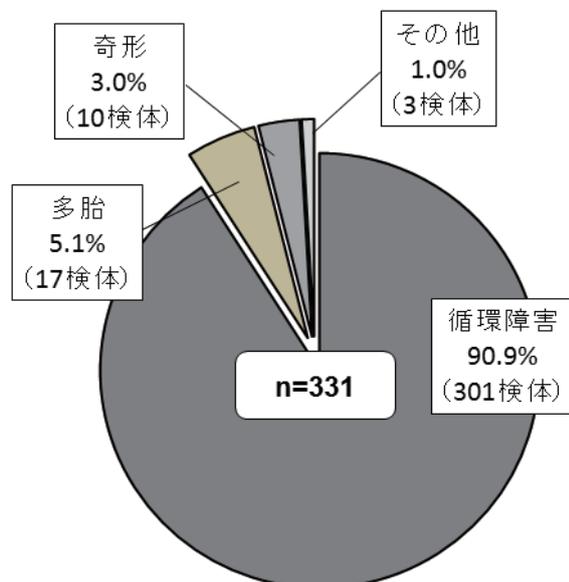


図3 非感染性流産の内訳

## 2 感染性流産の詳細

### (1) ウイルス性

ウイルス性の原因は、全て EHV-1 による馬鼻肺炎であった。

また、流産馬の血清 191 検体について、生産地疾病等調査研究の事業として馬ウイルス性動脈炎ウイルスの抗体検査を実施し、全検体で陰性を確認した。

### (2) 細菌性

細菌性の原因は、*Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus* (*S. zooepidemicus*) が最も多く、次いで *Escherichia coli* (大腸菌)、*Mycobacterium* 属菌であった (図4)。

また、馬パラチフスによる流産の発生はみられなかった。

### (3) 真菌性

真菌性の原因は、アスペルギルス属菌、接合菌が多かった (図5)。

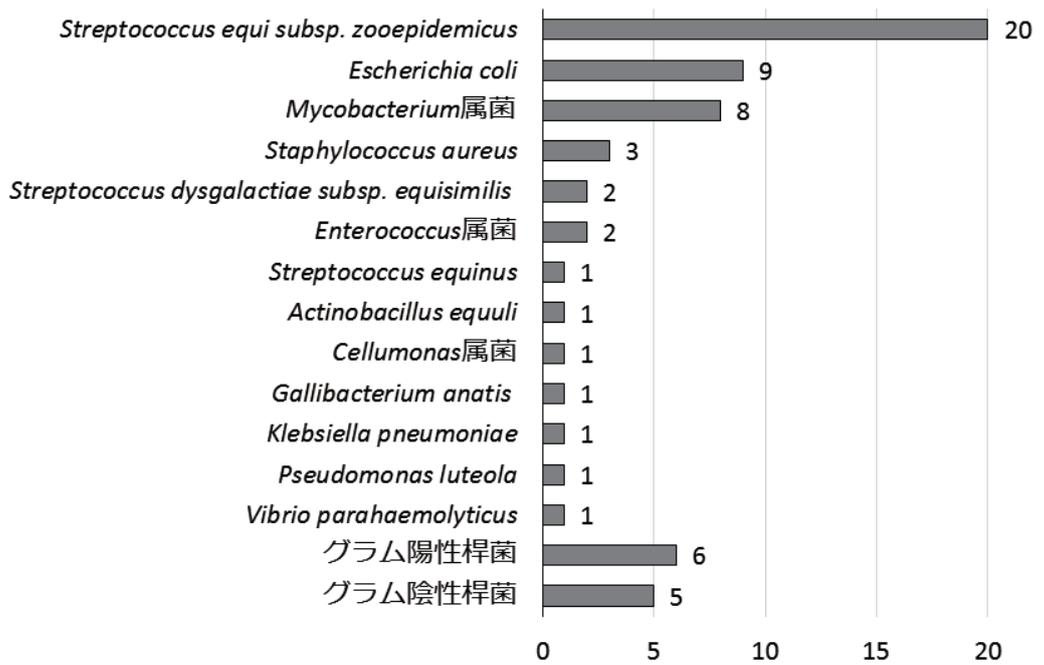


図4 細菌性の原因菌 (検体数)

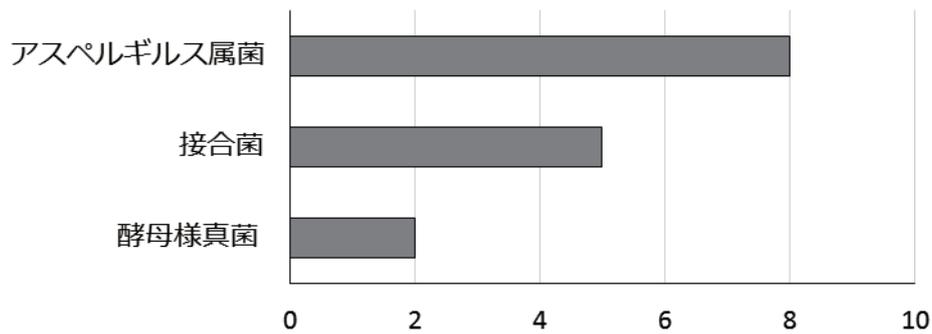


図5 真菌性の原因菌 (検体数)

### 3 過去の調査との比較

今回の調査では、全体に占める感染性流産の割合が過去の調査 17.8% から 19.4% に増加していた。その中でもウイルス性の割合が 9.5% から 12% と増加していた。一方で、細菌性は 7.2% から 6.0%、真菌性は 1.1% から 1.4% に推移した (図6)。

なお、過去の調査においても、ウイルス性の原因は全て EHV-1 による馬鼻肺炎であった。

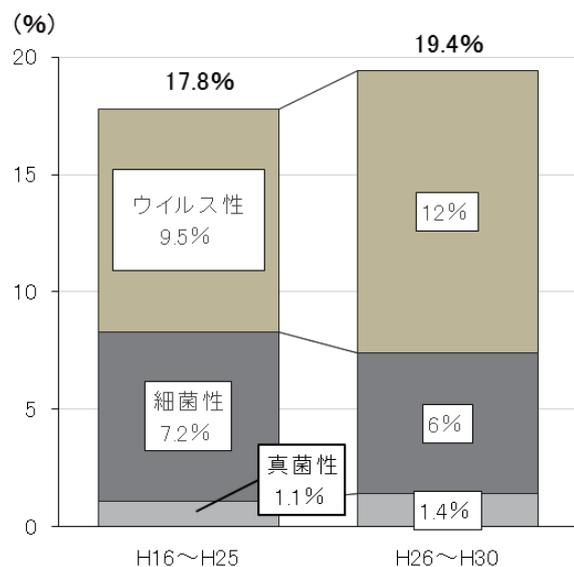


図6 過去の調査との比較

#### IV 考察

##### 1 ウイルス性流産：馬鼻肺炎

馬鼻肺炎による流産は、過去の調査よりも感染性流産に占める割合が増加していた。その要因として、継続発生の増加が挙げられる。特に平成 26 から 29 年のシーズンは、継続発生戸数・頭数が多く（図 7、8）、発生牧場の妊娠馬のほとんどが流産するという事例もみられ、当所ではその要因の調査を行い、対策を検討した[3]。妊娠後期には妊娠馬の観察を徹底し早期に流産を発見すること、毎日の消毒を徹底しウイルスのまん延を防止すること、流産発生時は馬鼻肺炎の発生を前提とした対応を行うことが重要であると考えられたことから、流産時の対応について牧場内でのルール作りを推進するために、「流産発生時の対応マニュアル」を作成し、啓発を行っている。

平成 30 年シーズンからは、継続発生の戸数・頭数共に減少しており、平成 31 年シーズンでは、継続発生は 1 戸のみであった。

また、予防対策のひとつであるワクチン接種については、平成 28 年 11 月以降、生ワクチンに流産予防に対する効能が追加され、平成 30 年シーズンから繁殖馬への生ワクチン接種が助成の対象となり、接種頭数が増加した。そこで、馬鼻肺炎発生牧場における初発生時のワクチン接種状況を調査したところ、生ワクチン接種牧場では、継続発生はみられなかった（図 9）。今後も継続した調査を関係団体等と連携、協力して行っていく。

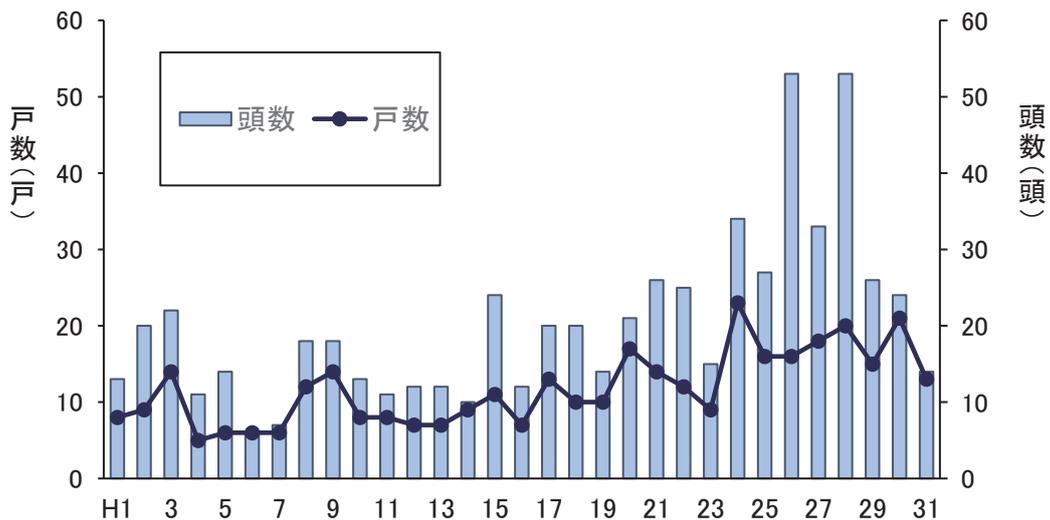


図 7 馬鼻肺炎の発生状況（シーズン集計）

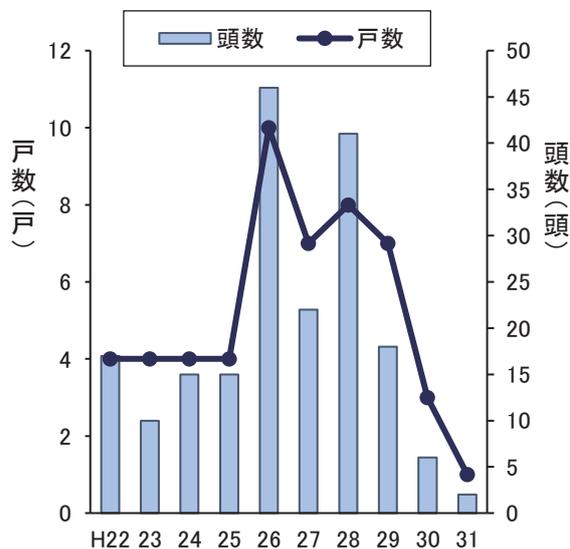


図 8 継続発生戸数・頭数の推移

	単発	継続
生ワクチン	18 (100%)	0 (0%)
不活化ワクチン	63 (62.4%)	38 (37.6%)
未接種	35 (73.0%)	13 (27.0%)

図 9 初発生時のワクチン接種別の単発及び継続発生戸数（割合）（H22～31 年シーズン）

## 2 細菌及び真菌性流産

今回の調査では、*S. zooepidemicus*、大腸菌、*Mycobacterium* 属菌が多く検出された。

*S. zooepidemicus* や大腸菌は過去の調査においても細菌性流産で多く分離されており、海外の報告[4]においても同様の傾向がみられている。

*Mycobacterium* 属菌による馬の流産については、報告は少ないが[5, 6, 7, 8, 9]、平成 29、30 年度に管内で初めて発生した。滲出物を伴う胎盤炎、病理組織検査で胎子に肉芽腫形成がみられることが特徴であった。

真菌においては、アスペルギルス属菌や接合菌が多くを占めており、過去の調査と同様の結果であった。

細菌は主に子宮頸管から上行性に感染するため、子宮頸管に相接する胎盤（破膜部）に炎症がみられることが多く、胎盤から胎子に感染が波及した敗血症死や胎盤炎に基づく胎盤機能障害によって流産が起こる。また、真菌も上行性に胎盤炎を起こすことが知られている [10]。

今回の調査においても、細菌性及び真菌性流産では、多くの症例で胎盤炎を呈しており、*S. zooepidemicus* や大腸菌等による細菌性胎盤炎では、病変が破膜部に限局していた。真菌性胎盤炎は、細菌胎盤炎に比べ病変が広範囲で肥厚が強い傾向がみられた。*Mycobacterium* 属菌による胎盤炎では、病変はより広範囲にわたり滲出物が顕著であった（図 10）。

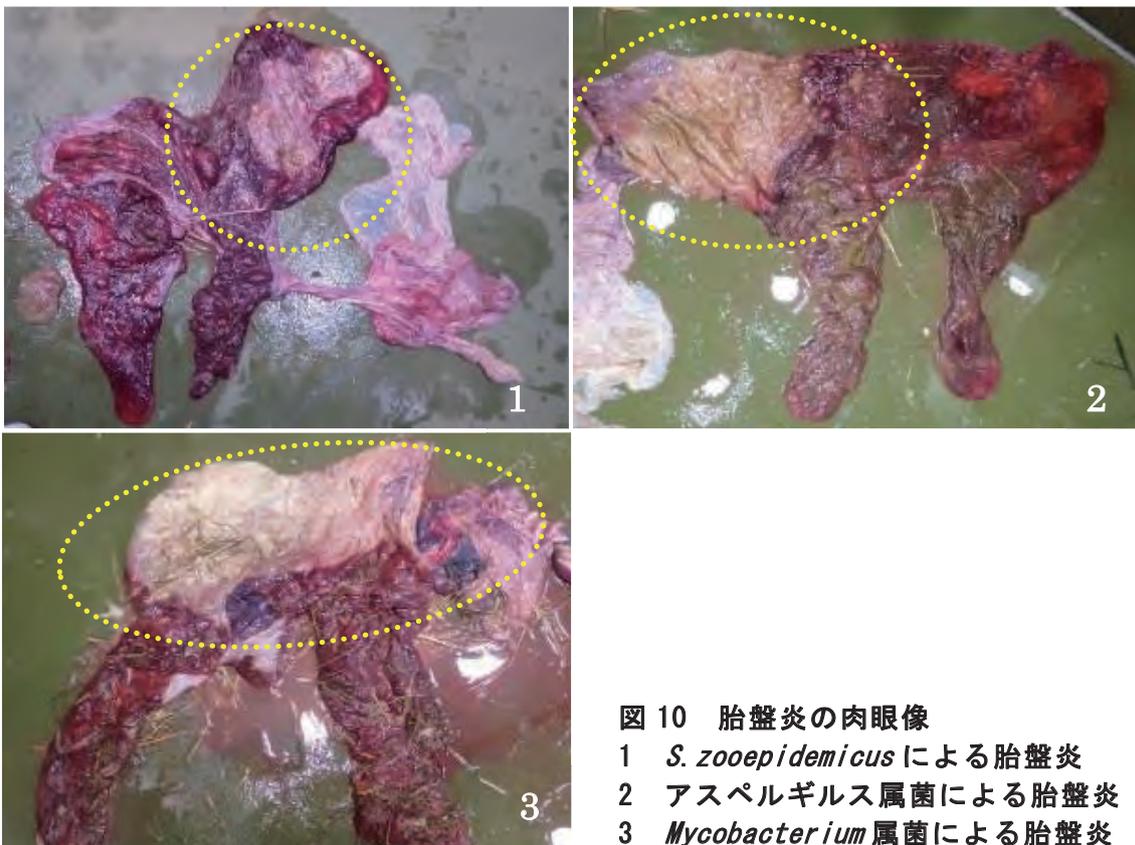


図 10 胎盤炎の肉眼像

- 1 *S. zooepidemicus*による胎盤炎
- 2 アスペルギルス属菌による胎盤炎
- 3 *Mycobacterium*属菌による胎盤炎

### 3 非感染性流産

今回の調査では、臍帯捻転による循環障害（図 11）が多くを占めており、過去の調査においても非感染性流産の主要な原因であった。

臍帯の捻転を招く誘因として臍帯が長いこと（過長臍帯）が重要視されており[10]、臍帯長と臍帯捻転の関連性について、発生群と非発生群について臍帯長の評価を実施した。発生群（267 検体）と非発生群（465 検体）の臍帯長の平均値（中央値）は、84.3cm（82.0cm）、67.6cm（65.0cm）であり、マン・ホイットニーの U 検定を用いて臍帯長を評価した結果、臍帯捻転発生群は非発生群に比べて有意に臍帯長が長いと評価された（ $p < 0.05$ ）（図 12）。



図 11 臍帯捻転による流産胎子

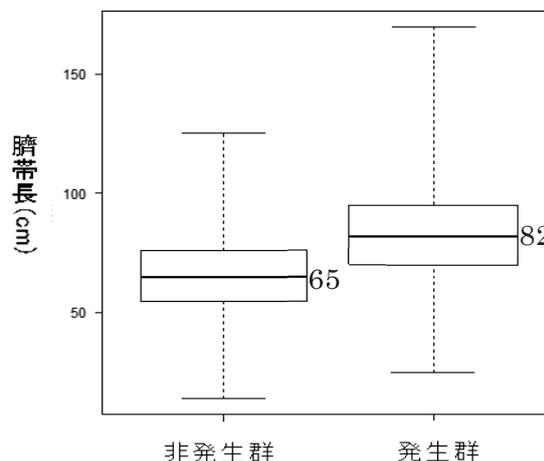


図 12 循環障害非発生群及び発生群の臍帯長 (cm)

### V まとめ

今回の調査では、53.0%で流産原因が特定された。過去の調査では 43.0%であり、原因が特定された割合は増加した。また、管内の流産原因では、依然として馬鼻肺炎が多くの割合を占めており、対策が重要であることが再認識された。

流産時には、馬鼻肺炎を想定し、以下のような対応が重要である。

- ・胎子は消毒後、ビニール袋などで梱包し、速やかに病性鑑定を受検する
- ・流産馬は、馬体を消毒し、隔離する
- ・羊水等で汚染された器具、衣類、場所を消毒する
- ・発生馬房の寝ワラは、消毒後、堆肥化または焼却処分する

今後も関係機関・団体等と連携し、継続的に流産原因調査を行い、感染性流産の発生子防及びまん延防止を推進していく。

### 引用文献

- [1] 秋葉利文、竹内未来他：第 49 回家畜保健衛生業績発表会集録（2001）
- [2] 宮澤和貴、齊藤真理子他：第 62 回家畜保健衛生業績発表会集録（2014）
- [3] 原田健弘、千葉裕代他：第 64 回家畜保健衛生業績発表会集録（2016）
- [4] Igor Canisso, Barry A. Ball, Edward L. Squires, et al : AAEP PROCEEDINGS, vol.61, 490-509(2015)
- [5] Tasler GR, Hartley WJ : Vet Pathol, 18, 122-5(1981)
- [6] Cline JM, Schlafer DW, Callihan DR, et al : Vet Pathol, 28, 89-91(1991)
- [7] Hélie P, Higgins R : J Vet Diagn Invest, 8, 257-258(1996)
- [8] Johnson AK, Roberts JF, Hagan A, et al : J Vet Diagn Invest, 24, 785-90(2012)
- [9] Sano Y, Matsuda K, Osaki K, et al : J Vet Med Sci, 76, 1617-21(2014)
- [10] 日本中央競馬会競走馬総合研究所：新馬の医学書(2012)

## JRA トレーニング・センターへの馬鼻肺炎生ワクチン導入の効果

○坂内 天<sup>1</sup>、辻村行司<sup>1</sup>、根本 学<sup>1</sup>、太田 稔<sup>1</sup>、山中隆史<sup>2</sup>  
(1 JRA 総研、2 JRA 馬事部防疫課)

### 【背景と目的】

ウマヘルペスウイルス 1 型 (EHV-1) 感染によって起きる呼吸器型の馬鼻肺炎は、長きにわたり JRA 栗東および美浦トレセンの競走馬における冬期の発熱の主要な原因であった。1994-1995 年の流行期から 3 歳馬の一部を対象とした馬鼻肺炎不活化ワクチン (日生研) の接種を開始したが、効果は限定的であった。そこで 2009-2010 年から同ワクチンの 3 歳馬全頭接種に切り替えたところ、集団免疫効果によって罹患馬の頭数が大きく減少した (坂内ら、第 42 回本シンポジウム)。その後 2014-2015 年からは生ワクチン (エクエヌテクト ERP、日生研) が導入された。生ワクチンは、感染実験において発熱や鼻汁排出の抑制といった臨床症状の低減効果が認められているものの、野外における流行抑制効果については検証されていない。本研究ではトレセンへの生ワクチン導入の効果を検証するため、JRA 栗東トレセンにおいて、ワクチン切替え前後の流行期について馬鼻肺炎の疫学調査を行うとともに、ワクチン接種馬における抗体応答調査を行った。

### 【材料と方法】

#### 調査期間

疫学調査は、不活化ワクチンを使用した 2010-2011 年から 2013-2014 年までの 4 期、および生ワクチンを使用した 2014-2015 年から 2016-2017 年までの 3 期を対象として行った。ワクチン接種馬の抗体応答調査は、不活化ワクチンを使用した 2013-2014 年、および生ワクチンを使用した 2014-2015 年に行った。

#### トレセンのワクチン接種体制と接種率

2010-2011 年～2013-2014 年は、12 月から翌年 4 月までの期間、トレセンに在厩する 3 歳馬に対して不活化ワクチンを約 1 か月間隔で最大 3 回接種した。2014-2015 年以降は同様に 3 歳馬に対して生ワクチンを約 1 か月間隔で最大 2 回接種した。ワクチン接種率は、各流行期の 1 月 1 日時点でトレセンに在厩する全年齢層の馬について、1 回以上のワクチン接種歴がある馬の割合として求めた。

#### トレセンの冬期発熱馬における馬鼻肺炎疫学調査

各流行期の 12 月から翌年 4 月までに 38.5°C 以上の発熱を呈した馬のうち、初診時と回復期 (21～35 日後) にペア血清が採取できたものについて、馬鼻肺炎の血清学的検査を行った。EHV-1 抗原を用いた補体結合 (CF) 反応は、EHV-1 と EHV-4 の感染抗体およびワクチン抗体を検出する。ELISA 法は EHV-1 と EHV-4 の感染抗体を識別し、ワクチン抗体は検出しない。ペア血清間で CF 抗体価に 4 倍以上の上昇を認めたものについて ELISA を行い、EHV-1-ELISA 抗体価または EHV-4-ELISA 抗体価に 4 倍以上の上昇を認めたものを馬鼻肺炎罹患馬とした。また、これらの ELISA 抗体価に上昇を認めない場合であっても、ワクチン接種に起因しない CF 抗体価の上昇を認めたものは、ウイルス型別が不明ではあるが罹患馬に含めた。各流行期の馬鼻肺炎罹患馬の推定頭数は、上記の検査馬頭数に占める罹患馬頭数

の割合を、未検査馬を含めた発熱馬頭数に乗じて求め、95%信頼区間 (CI) と共に表記した。

### 冬期のトレセン滞在馬における EHV-1 感染率

各流行期の 11 月から翌年 5 月までトレセンに継続して滞在した 3 歳馬を無作為に抽出した (最大 50 頭)。11 月と 5 月に採取されたペア血清について、EHV-1-ELISA 抗体価を測定し、4 倍以上の抗体価上昇を認めた個体の割合を求めた。

### ワクチン接種を受けた 3 歳馬の中和抗体応答

2013-2014 年に不活化ワクチンを接種された 3 歳馬、および 2014-2015 年に生ワクチンを接種された 3 歳馬から 1 か月ごとに経過血清を採取した。上記の ELISA 法により EHV-1 または EHV-4 の自然感染を受けなかったことが確認された馬から 50 頭を無作為に選び、EHV-1 中和抗体価を測定して幾何平均 (GM) 値を求めた。また、1 回目のワクチン接種を行った 12 月時点と比べて 1 月～3 月のいずれかの時点で 4 倍以上の抗体価上昇が見られた馬の頭数を求めた。

### 各流行期前の 4 歳馬が保有する中和抗体価の測定

各流行期前の 11 月に 4 歳馬から採取された血清について、EHV-1 中和抗体価を測定した。対象馬は前の流行期 (3 歳当時) に規定通りに不活化または生ワクチン接種を受けており、11 月から翌年 5 月までの期間のうち 180 日間以上トレセンに滞在したことが確認されたものに限定し、無作為に 100 頭を抽出した。

## 【結果】

### ワクチン接種率の推移

トレセンの全年齢層におけるワクチン接種率は、不活化ワクチンを使用していた時期に段階的に上昇し、2010-2011 年には 85.3%であったが 2013-2014 年には 95.6%に達した (図 1)。生ワクチンに切り替わった 2014-2015 年以降接種率はピークに達し、97.1%~97.5%の高値を維持した (図 1)。

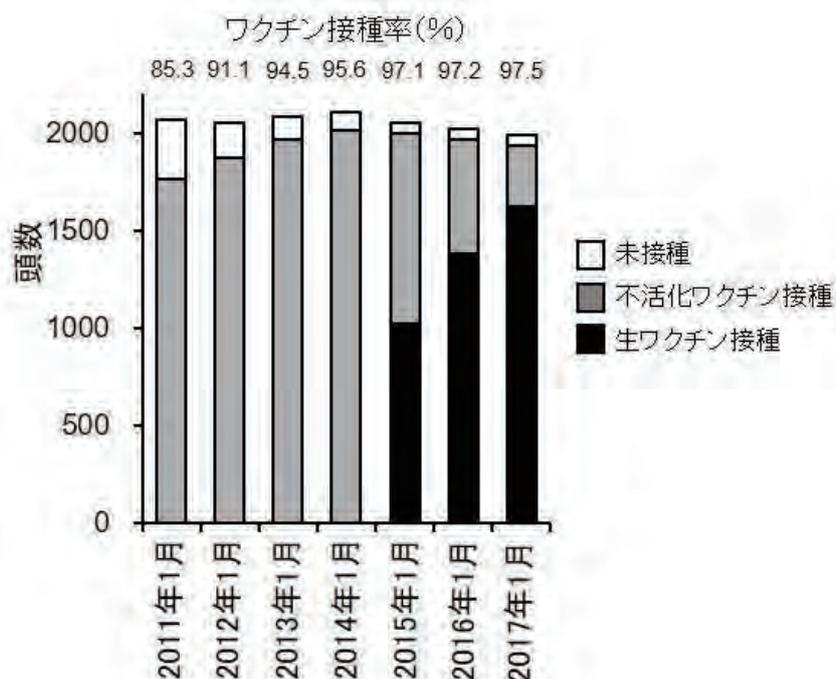


図 1 栗東トレセン在厩馬および馬鼻肺炎ワクチン接種馬の頭数 (各年 1 月 1 日時点)

## トレセンの冬期発熱馬頭数および馬鼻肺炎罹患馬の推定頭数

各流行期について12月～翌年4月の月間発熱馬頭数を図2に示す。不活化ワクチンを接種していた4期の中で、月間発熱馬頭数が30頭を超えた月は2010-2011年の12月(44頭)、2011-2012年の12月(32頭)、2月(33頭)、3月(38頭)、2012-2013年の3月(37頭)、2013-2014年の3月(39頭)であった(図2A～2D)。一方、生ワクチン導入後の3期については、月間発熱馬頭数はすべて30頭以下であった(図2E～2G)。ペア血清を用いた抗体検査の結果EHV-1またはEHV-4感染と判定された馬、すなわち馬鼻肺炎に罹患した馬の頭数は、2011-2012年の2月と3月にそれぞれ10頭と6頭、2013-2014年3月に9頭であり、その他の月と比べて多かった(図2B、2D)。

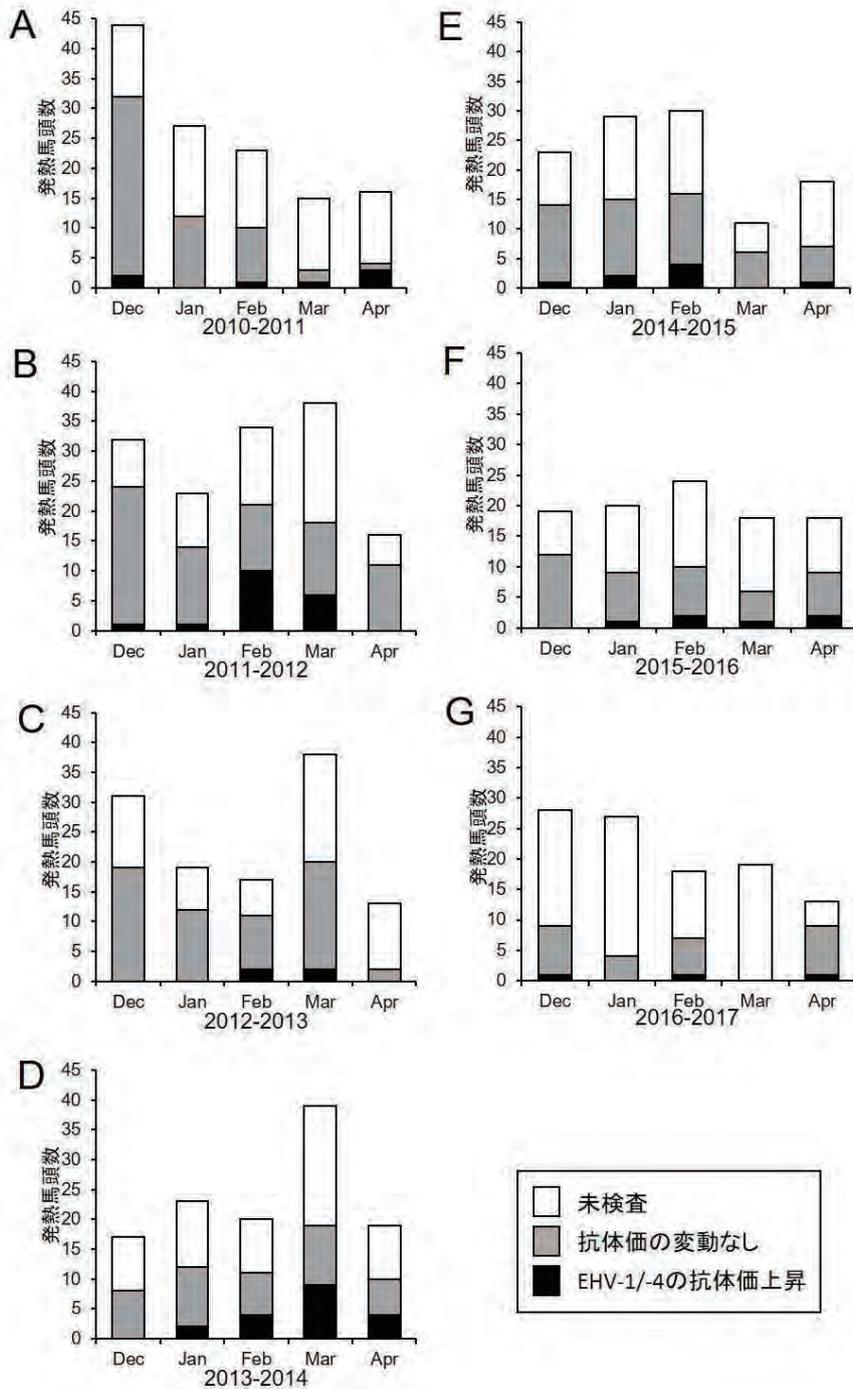


図2 栗東トレセンにおける冬期の月間発熱馬頭数および馬鼻肺炎抗体検査の結果

各流行期の馬鼻肺炎罹患馬の推定頭数を図 3 に示す。不活化ワクチンを接種していた期間のうち、2011-2012 年と 2013-2014 年の罹患馬の推定頭数はそれぞれ 29 頭(95%CI: 21-37) および 37 頭 (95%CI: 27-47) であり、他の 2 期 (7 頭[95%CI: 2-12]および 14 頭[95%CI: 7-21]) と比べて顕著に多かった (図 3)。一方、生ワクチン導入後の 3 期については罹患馬推定頭数の変動は少なく、11 頭 (95%CI: 1-21) ~16 頭 (95%CI: 9-23) の範囲だった (図 3)。

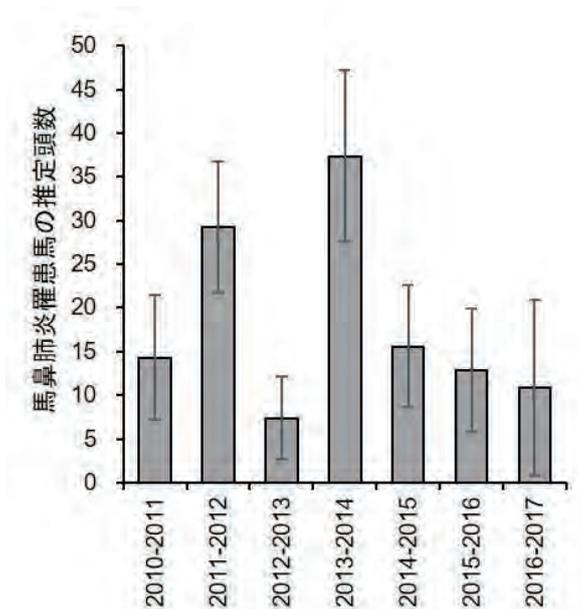


図 3 栗東トレセンにおける馬鼻肺炎罹患馬の推定頭数

#### 冬期のトレセン滞在馬における EHV-1 感染率

11 月から翌年 5 月まで栗東トレセンに滞在した 3 歳馬における EHV-1 感染率を図 4 に示す。不活化ワクチンを接種していた期間のうち、2011-2012 年と 2013-2014 年の EHV-1 感染率は 66.0%と 52.0%であり、他の 2 期 (12.0%~24.0%) と比べて有意に高かった ( $P < 0.05$ )。一方、生ワクチン導入後の 3 期については感染率の変動は少なく、25.0%~28.6%の範囲だった (図 4)。

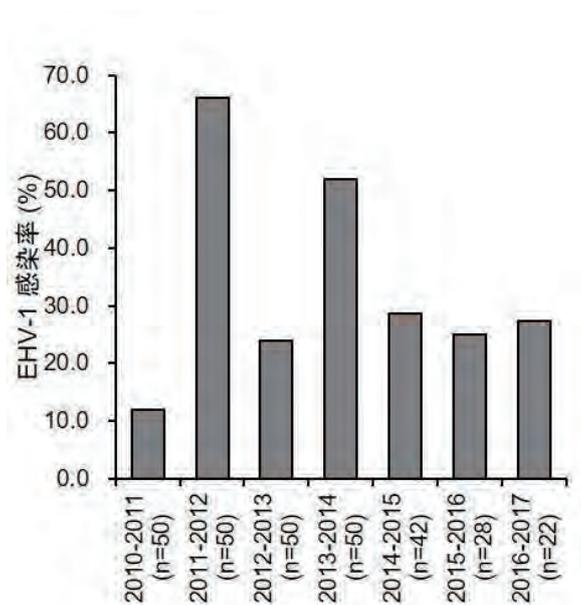


図 4 栗東トレセン冬期滞在馬における EHV-1 感染率

### ワクチン接種を受けた3歳馬の中和抗体応答

ワクチン接種馬の中和抗体価 GM 値を図 5A に示す。不活化ワクチン接種馬では、1 回目の接種後に中和抗体価 GM 値は 42 から 83 へと有意に上昇した ( $P < 0.05$ ) が、2 回目と 3 回目の接種後 (2 月と 3 月) には抗体価の顕著な上昇は認められず、3 月時点の GM 値は 91 だった (図 5A)。一方、生ワクチン接種馬の中和抗体応答は不活化ワクチン接種馬より有意に高く、抗体価 GM 値は接種前の 30 から 205 へと上昇した ( $P < 0.05$ ) (図 5)。2 回目の接種後 (2 月) には顕著な上昇を認めず、その後 3 月時点の抗体価 GM 値は 162 まで低下したが、それでもなお不活化ワクチン接種馬より有意に高い値を維持していた ( $P < 0.05$ ) (図 5A)。ワクチン接種後 1 月～3 月のいずれかの時点で 4 倍以上の抗体価上昇を認めた頭数は、生ワクチン接種馬では 50 頭中 45 頭 (90%) で、不活化ワクチン接種馬の 50 頭中 21 頭 (42%) と比べて有意に多かった ( $P < 0.05$ ) (図 5B)。特に 12 月時点で 80 以上の高い抗体価を有する個体においても、生ワクチン接種後にはその半数以上で抗体応答が認められた (図 5B)。

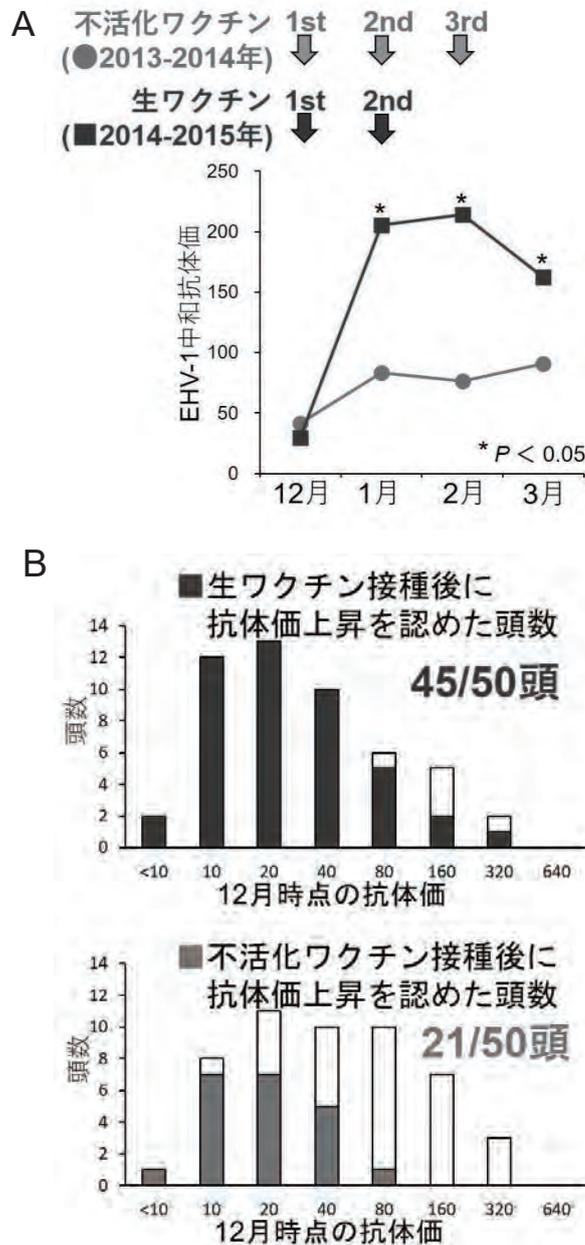


図 5 ワクチン接種馬の EHV-1 中和抗体価 GM 値と 4 倍以上の抗体価上昇を認めた頭数

### 流行期前の4歳馬が保有する中和抗体価

前年に不活化ワクチン接種を受けた2011年から2014年の4歳馬は、各年流行期前の11月時点で139～164の中和抗体価GM値を保有していた。一方、生ワクチン接種を受けた2015年から2017年の4歳馬における抗体価GM値は205～246の範囲であり、不活化ワクチン接種を受けた世代と比べて有意に高かった ( $P < 0.05$ ) (図6)。

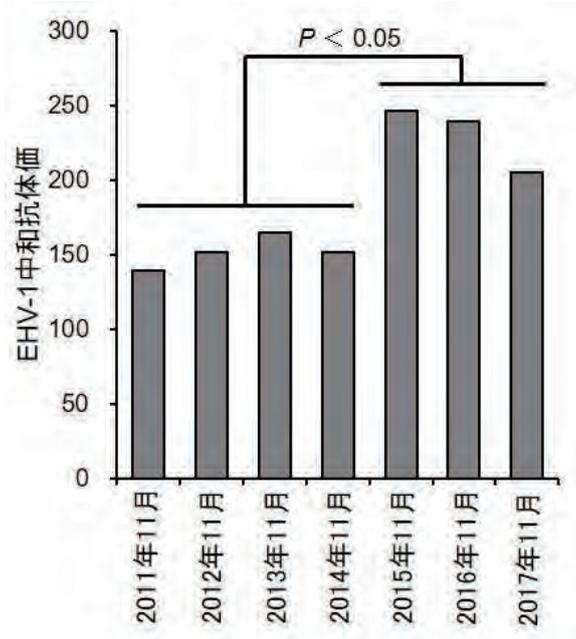


図6 流行期前の11月時点で4歳馬が保有する EHV-1 中和抗体価 GM 値

### 【考察】

過去に報告したように、3歳馬に対する不活化ワクチン全頭接種が開始された2009-2010年以降、トレセンの全年齢におけるワクチン接種率が段階的に上昇し、馬鼻肺炎の流行は2期目の2010-2011年から大きく抑制された(坂内ら、第42回本シンポジウム)。しかし本研究において月間発熱馬頭数、罹患馬の推定頭数、感染率のデータが示すように、不活化ワクチン接種をしていた期間のうち、2011-2012年と2013-2014年には明らかに EHV-1 の流行があったと考えられた。一方、生ワクチン導入後は3年連続して EHV-1 の流行が認められず、不顕性感染を含む滞在馬の感染率も継続して低かったことから、これまでより安定的に流行が抑えられたと考えられた。

生ワクチン導入後のワクチン接種率は、不活化ワクチンの時からさらに上昇して、97%台のプラトーに達した。このような高い接種率が達成されたことで、集団免疫がさらに強化されて流行抑制につながったものと考えられる。

3歳馬での抗体応答調査の結果、生ワクチンは不活化ワクチンよりも中和抗体誘導能が高く、生ワクチン接種馬のうち9割の個体で有意な抗体応答が見られた。従って、4割程度の個体にしか抗体応答が見られなかった不活化ワクチンに代えて、生ワクチンを導入したことは感染防御に有益であったと考えられる。そしてワクチンを接種された3歳世代の抗体価は翌年の4歳世代の抗体価にも反映されており、生ワクチン導入後の世代は不活化ワクチンを受けた世代と比べて4歳秋の時点で高い抗体価を保有していた。馬鼻肺炎罹患馬の大部分は3歳馬ではあるが、過去の研究から流行には4歳以上の世代も関与することが示

されている。また、流行の初端が過去に感染を受けた馬の持つ潜伏感染ウイルスの再活性化であることを考えると、生ワクチンの導入で4歳以上の馬の抗体価が上昇したことは、流行を抑制する一因になったと考えられる。

#### **【結論】**

JRA トレセンでの馬鼻肺炎の流行は、生ワクチンの導入によってこれまでより安定的に抑制できていると考えられる。



第 47 回「生産地における軽種馬の疾病に関するシンポジウム」講演抄録

編集 〒106-8401 東京都港区六本木 6-11-1

**日本中央競馬会 馬事部防疫課**

TEL 03-5785-7518 FAX 03-5785-7526