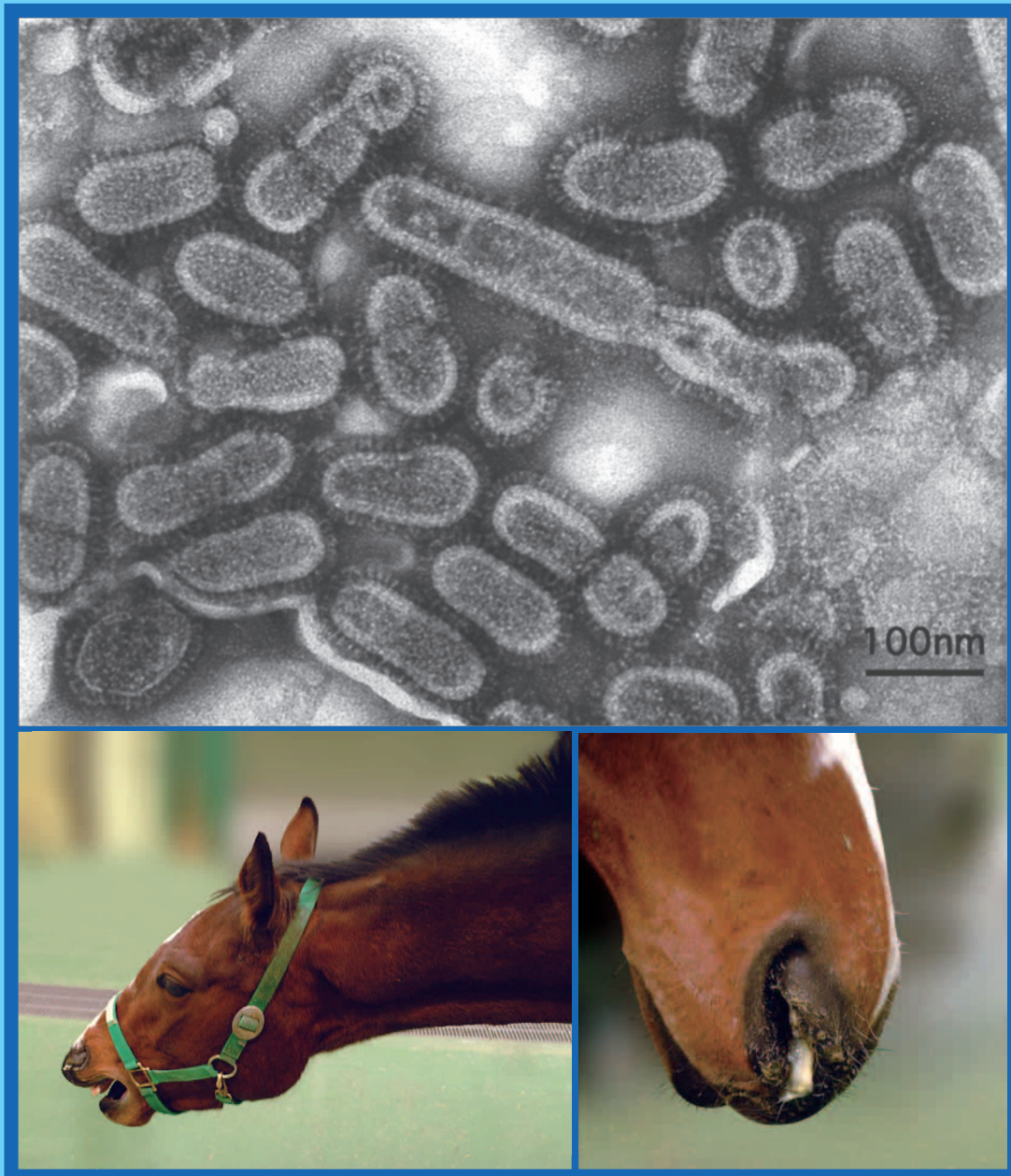


馬インフルエンザ

第4版

Equine Influenza



公益社団法人 中央畜産会

目次

発刊にあたって	1
要約	2
I. 病原体	3
1. 形態	
2. インフルエンザウイルスの分類	
1) 科・属・種	
2) 亜型および株	
3. 馬インフルエンザウイルスの分類	
1) H7N7	
2) H3N8	
II. 疫学	4
1. 世界での流行	
2. 日本での流行	
1) 1971年～1972年の流行	
2) 2007年～2008年の流行	
(1) 発生概況	
(2) 防疫対応	
(3) 疫学	
(4) 分離ウイルスの性状	
(5) 馬インフルエンザワクチンの効果	
III. ウイルスの変異とワクチン株の変更	11
IV. 発症病理	12
V. 臨床	13
1. 症状	
2. 治療	
VI. 診断	14
1. 臨床診断	
2. 病原学的診断	
1) ウイルス分離	
2) RT-PCR法	
3) 簡易検査キット	
3. 血清学的診断	
主な参考文献	20
おわりに	20

発刊にあたって

馬インフルエンザは、インフルエンザウイルス感染によって起こる著しく伝染性の強い急性呼吸器感染症です。我が国では、輸入馬が感染源となり、1971年に大きな流行が発生した後、36年間本病の発生は認められませんでした。2007年に競走馬で突発的な大流行が起こり、競馬開催中止を余儀なくされました。その後の調査で、2007年の流行極期(8月15日～9月3日)における発生率(12.8%)は、1971年の流行極期の発生率(97.0%)と比較すると極めて低く、ワクチン接種が感染防御に有効であり、改めてその重要性が認識されました。また、2007年の大流行においては、予防接種の徹底、馬の移動前及び到着地の検査等の徹底等により、発生から最終確認までにわずか3か月で発生が見られなくなり、2009年7月1日付けで国内清浄化宣言がされました。しかしながら、1971年の流行より発生割合が低かったとはいえ、全国的に短時間で、発生が拡大したことから、馬インフルエンザウイルスの急速で強力な伝染力には、十分な注意と対応が必要であり、馬飼育関係者全体が一丸となって本病の防疫対策を構築し、維持していくことが不可欠です。

今後、さらに競走馬の国際交流等、国際化が進展していく中で、ヨーロッパ諸国と米国では本病が地方病として常在化している状況の下では、これらの国から輸出された馬が感染源となり、本病が常在していないアジアやアフリカ諸国でも、これまで一部で見られたような大きな流行を起こすことも懸念されます。特に、我が国のような本病の清浄国においては、輸入検疫により感染馬の侵入を未然に防ぐことに加え、これまでの発生・防疫経験を踏まえながら、本病の早期発見、馬の移動禁止を含む迅速な防疫措置を講じることが重要です。特に、防疫上の観点から馬に対しては、これまでと同様にワクチン接種を実施することにより免疫力を付与させておくことが最も大切です。

本冊子は、2012年の改訂版(第3版)を基に、新しい知見を加えた内容となっております。本冊子を積極的に御活用いただき、馬インフルエンザの更なる理解と防疫のための一助となれば幸甚です。

令和元年12月

公益社団法人 中央畜産会

要約

馬インフルエンザは、A型インフルエンザウイルスに分類される馬インフルエンザウイルス (EIV) の感染によって起こる馬の急性呼吸器疾患の総称である。その感染様式は、飛沫およびエアロゾル感染であり、著しく伝染力が強く、短時間の内に多数の馬が感染する。そのため、集約的に飼養管理されている競走馬のような群れに、ウイルスが侵入した場合には、競馬開催の中止をも含む極めて大きな被害が発生する。

A型インフルエンザウイルスは、エンベロープ表面のスパイク蛋白質であるヘマグルチニン (HA) およびノイラミニダーゼ (NA) の抗原性状により、2019年8月現在HAは18亜型、NAは11亜型に分類される。これまでのところ、馬から分離されたA型インフルエンザウイルス (すなわち、EIV) の亜型は、H7N7あるいはH3N8に分類されている。H7N7は、1956年にチェコスロバキアで初めてウイルスが分離され、以降、世界各地で流行を引き起こした。しかしながら、最後のウイルス分離の記録は1978年であり、現在では世界の馬群から消失したと考えられている。一方、H3N8は、1963年に米国で分離されたのが最初であり、わずかな例外 (アイスランドおよびニュージーランドなど) を除き、世界中の馬群の間で流行を引き起こし、現在も流行し続けている。臨床症状は、両亜型ともに、発熱を伴う咳嗽および鼻漏などであるが、H3N8の方がH7N7よりも重篤とされている。

馬インフルエンザの臨床症状は、他の馬の呼吸器疾病 (馬鼻肺炎や馬ウイルス性動脈炎など) と類似している。したがって、確定診断のためには、ウイルス学的、または分子生物学的手法によって、鼻腔スワブや鼻咽頭スワブからEIV

を検出する、あるいは急性期および回復期の組血清間におけるEIVに対する特異抗体の増加を血清学的に確認する必要がある。しかし、EIVの著しく速い伝染性を考慮すると、後者の血清学的試験による方法は、EIVの拡散防止を目的とした隔離などの防疫対応には間に合わない。したがって、前者の鼻腔スワブまたは鼻咽頭スワブ中のEIVの検出を迅速に行うことが、防疫上求められる。現在では、臨床現場で迅速に実施可能な簡易検査キットが市販されている。また、ある程度の時間や特殊機器が必要であるが、検出感度に優れる遺伝子診断法も有用であり、発育鶏卵などによるウイルス分離と併用することにより、流行ウイルス株の詳細な情報が得られる。

馬インフルエンザの予防の柱は、不活化ワクチンの接種による抗体の賦与である。1歳時の1月から3月に4週間以上の間隔を空けて2回の基礎接種免疫後、5月から6月に初回補強接種、その後半年間隔の補強接種が推奨される。不活化ワクチンの予防効果は、含まれているワクチン株と流行ウイルス株との抗原性の差異により影響を受ける。そこで、毎年、主に国際獣疫事務局 (OIE) のリファレンスラボラトリーで構成されるExpert Surveillance Panel on Equine Influenzaにおいて最新の流行ウイルスの抗原性状を解析し、推奨ワクチン株を公表している。日本からも著者らのグループが参加し、最新の疫学情報を収集し、そのあとに行われる農林水産省動物医薬品検査所の「動物用インフルエンザワクチン国内製造用株選定委員会」において、日本製不活化ワクチン株選定の議論に参加している。

I 病原体

1. 形態

A型インフルエンザウイルスの粒子は、概ね球形で直径が約80～120nmであり、宿主となる細胞から獲得したエンベロープを有する(図1)。しかし、分離後の継代数が少ない新鮮な株の場合は、糸状を呈することもある。エンベロープの表面には、約10nmの2種類のスパイク蛋白質が存在し、それぞれヘマグルチニン(HA)およびノイラミニダーゼ(NA)と呼ば

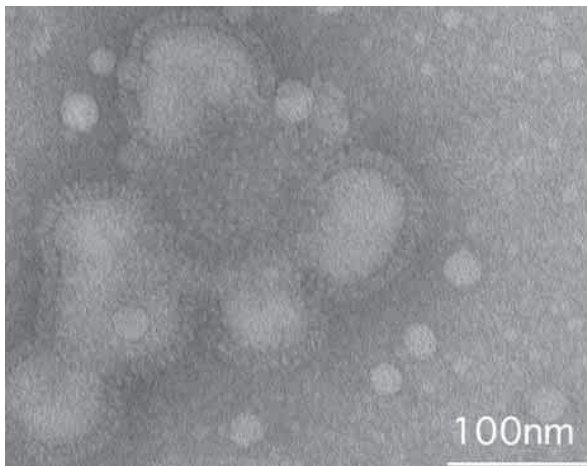


図1 馬インフルエンザウイルスの粒子

れる。また、少数ではあるが、マトリクス(M)2と呼ばれる蛋白質もエンベロープ表面に存在する。エンベロープの内部は、M1蛋白質で裏打ちされている。ウイルスの遺伝子は、マイナス鎖の一本鎖RNAであり、8つの分節に分かれている(図2)。

2. インフルエンザウイルスの分類

1) 科・属・種

一般にインフルエンザウイルスとは、オルソミクソウイルス科のA型、B型、C型およびD型のことを指す。現在のところ、B型は人とアザラシ、C型は人と豚に感染するとされる。D型は2011年に米国において、呼吸器症状を示した豚から初めて検出された新しいウイルスであり、牛の呼吸器病症状候群を引き起こす原因であることも明らかとなってきている。一方、A型インフルエンザウイルスは人、馬、犬、豚、海獣および鳥類などの様々な動物から分離されており、医学および獣医学共通の病原体として扱われている。

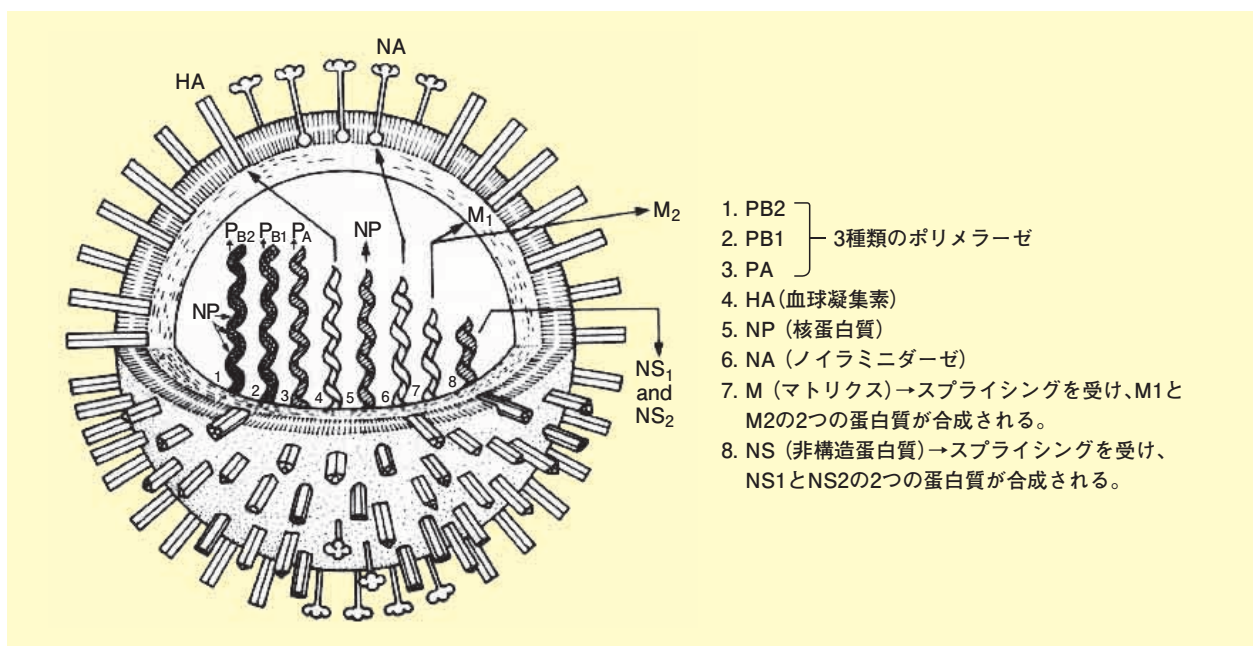


図2 A型インフルエンザウイルス粒子の模式図

Webster et al. (1992) Evolution and ecology of influenza A viruses. Microbiol. Rev. から引用した。

2) 亜型および株

A型インフルエンザウイルス種は、さらにエンベロープ表面のスパイク蛋白質の抗原性により、2019年8月現在HAは18亜型、NAは11亜型に分類される。HAおよびNAの全ての亜型は、野生水禽の腸管内に保存されていると考えられており、あるとき、家禽類や哺乳動物に伝播し、それ以降、それぞれの動物種内で流行すると考えられている。

また、A型インフルエンザウイルス種の場合、同一の亜型であっても変異が生じていることが多いので、分離されたウイルス株は、A/equine/Ibaraki/1/2007 (H3N8) のように型、分離元の動物、分離場所、分離された順番、分離年(亜型)のように表記される。

3. 馬インフルエンザウイルスの分類

馬インフルエンザウイルス(EIV)とは、馬から分離されたインフルエンザウイルスという意味である。これまでのところ、馬からは、A型インフルエンザウイルス種のうち、H7N7とH3N8の2つの亜型が分離されている。これら2つの亜型は、古くは馬1型および馬2型と呼ばれていたが、「型」という表現が「A型」の型と混同しやすいことから、現在はあまり使用されない表現になっている。

1) H7N7

H7N7は1956年にチェコスロバキアの馬群

で呼吸器病が流行した際に、馬から分離されたもの(A/equine/Prague/1/1956)が最初の分離株である。それ以降、世界中の様々な地域(国)で分離されているが、1960年代後半から1970年代にかけて、H7N7の流行は減り、ウイルス分離の最終報告は1978年となっている。このことから、現在では、H7N7は馬から消滅したのであろうと考えられている。

2) H3N8

H3N8は、1963年に米国で初めて分離された(A/equine/Miami/1/1963)。それ以降、H3N8は瞬く間に北米大陸や欧州の馬の間に伝播し、わずかな例外(アイスランドおよびニュージーランド)を除いて、世界中の馬群の間で流行を引き起こし、現在も流行し続けている。

また、1989年に中国において、約30,000頭の馬がH3N8に感染し、それらの内、数百頭が死亡したことが報告されている。その流行分離株(A/equine/Jilin/1/1989)の抗原性状および遺伝子学的性状の解析によると、先に示したA/equine/Miami/1/1963由来の株ではなく、流行の直前に鳥類から馬に伝播したH3N8であることが明らかとなっている。さらに興味深いことに、この鳥類由来のA/equine/Jilin/1/1989の馬での流行時には、呼吸器症状のほかに腸炎を示した馬が報告されている。幸い、本ウイルス株の流行は、1989年以後報告されておらず、馬からは消滅したと考えられる。

II 疫学

1. 世界での流行

前述のとおり、現時点(2019年)において、馬の防疫上注目すべきは、A/equine/Miami/1/1963由来のH3N8ウイルスの流行である。このことから、本章では同ウイルス株

由来のH3N8の歴史および疫学について記述する。図3にEIV H3N8亜型のHA遺伝子の塩基配列に基づく系統樹解析の結果を記す。本章を読む際には、図3の系統樹を参照しながら読むと理解しやすいと思われる。

米国フロリダ州において初めて分離された

A/equine/Miami/1/1963 は、アルゼンチンから移動してきた馬により米国に持ち込まれたと考えられている。1964年および1965年には、南北アメリカ大陸だけでなく欧州においても、その流行が報告され、パンデミック（世界規模の汎発的な流行）ともいえる流行の拡大がみられた。1960年代後半に入ると、不活化ワクチンが普及したことにより、流行の頻度は減少し、1978年頃までは散発的なものにとどまった。この時期に、ワクチン効果についての監視体制が整備されなかったことが、1979年以降の抗原変異ウイルスの出現と、その後の北米および欧州での流行の定着を引き起こしたともいわれている。A/equine/Fontainebleau/1979やA/equine/Kentucky/1981が、その当時の抗原変異株の代表的なものとして有名である。

1982年以降はH3N8ウイルスの流行が、北米および欧州の馬群で、風土病的に発生するようになった。

1987年頃になると、北米あるいは欧州で分離されるウイルス株の遺伝子および抗原性状が、変化してきていることが明らかとなってきた。前者はアメリカ系統株、後者はヨーロッパ系統株（あるいはユーラシア系統株）と呼ばれている。これら両系統は、当初は名前の通り、地理的な住み分けがなされてきた。しかし、国際的な馬の移動が盛んになるに伴い、アメリカ系統株が欧州でも分離されるようになり、欧州では両方の系統が混在して流行する時期が続いた。一方、ヨーロッパ系統株は南北アメリカ大陸ではほとんど分離されていない。その後、ヨーロッパ系統株は、2000年頃より分離されるこ

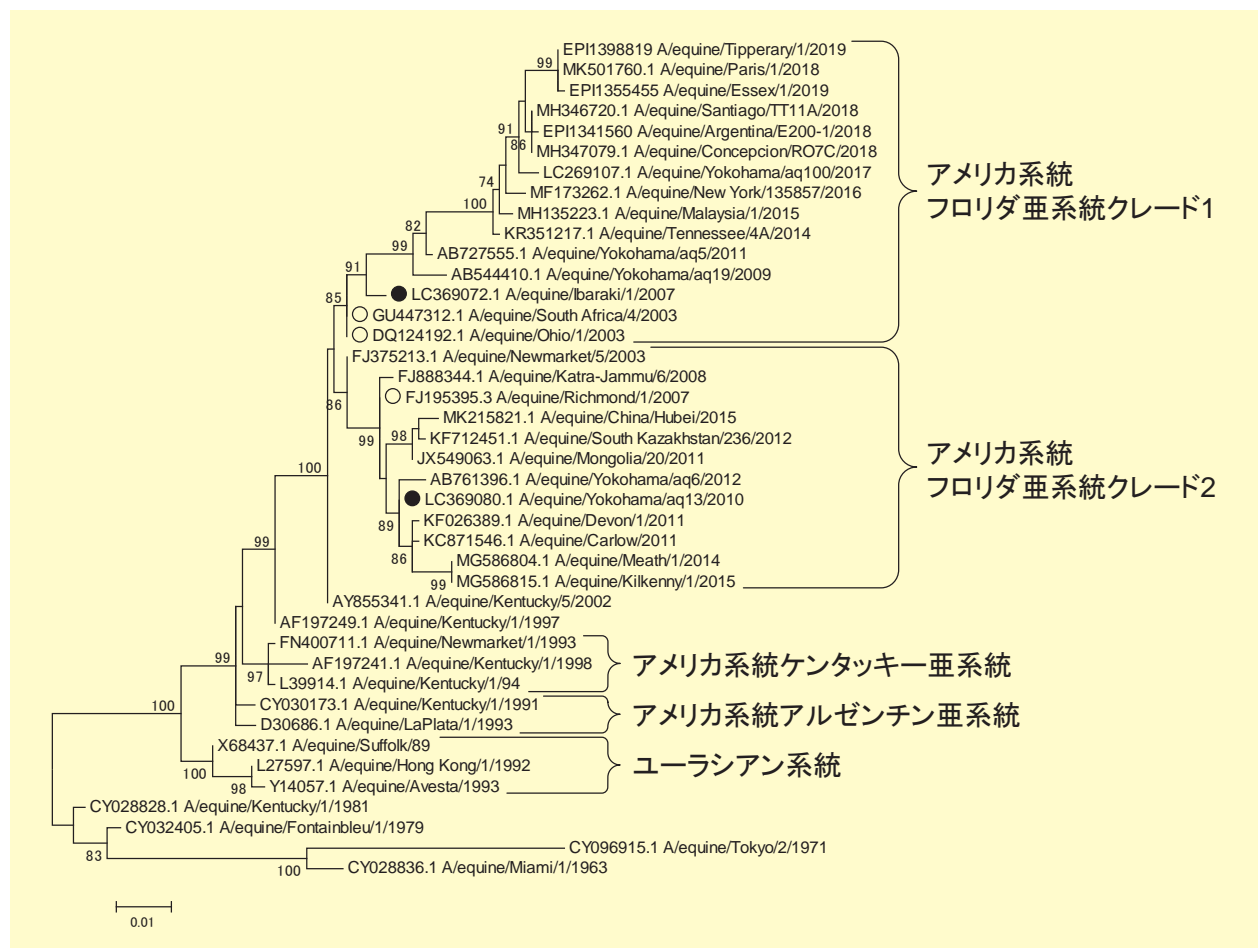


図3 馬インフルエンザウイルス H3N8 の HA 遺伝子の系統樹

最尤法にて作成し、ブートストラップ 1000 回を行ったものである。

●は 2019 年現在の日本のワクチン株（クレード 1 の A/equine/Ibaraki/1/2007 とクレード 2 の A/equine/Yokohama/aq13/2010）。○は 2019 年の OIE 推奨株（クレード 1 の A/equine/South Africa/4/2003 もしくは A/equine/Ohio/1/2003 と、クレード 2 の A/equine/Richmond/1/2007）。

A/equine/Tipperary/1/2019 (EPI1398819) , A/equine/Essex/1/2019 (EPI1355455) および A/equine/Argentina/E200-1/2018 (EPI1341560) は GISAID (<https://www.gisaid.org/>) から、他のウイルス株については NCBI Nucleotide (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/>) から遺伝子情報を取得した。

とが少なくなり、2007年のスイスでの分離が最後の記録となっている。

一方、アメリカ系統株は1990年代後半から、さらに3つの亜系統（ケンタッキー、アルゼンチンおよびフロリダ）へ分岐・進化していることが報告されるようになった。この中でも特に、フロリダ亜系統の分布拡大の勢いは強く、数株を除き、2000年頃からは北米では主にこの亜系統のみが分離されるようになった。

2003年3月から5月にかけて、英国のニューマーケットで、大規模な流行が発生した。分離ウイルス株（A/equine/Newmarket/5/2003）の遺伝子解析から、前年（2002年）に米国で分離されたフロリダ亜系統株であるA/equine/Kentucky/5/2002と非常に近縁であることが判明し、米国から移動してきた馬によってウイルスが侵入したと考えられた。この流行が、欧州における最初のフロリダ亜系統株によるものであるとされている。これ以降、A/equine/Newmarket/5/2003由来のウイルス株は、すぐさま欧州大陸に渡り、その後、イタリアやクロアチアなどでの流行を経て、約5年後には中国やインドにまで達した。一方、2003年以降の北米大陸においても、フロリダ亜系統株は分離され続け、2007年には、日本（詳細は後述）や豪州にも伝播・流行した。この主に北米大陸で流行しているフロリダ亜系統株はクレード1と呼ばれている。一方、欧州からユーラシア大陸で流行しているフロリダ亜系統株はクレード2と呼ばれている。

しかし2019年、クレード1が欧州各地で大流行（A/equine/Essex/1/2019等）し、クレード2が検出されなくなった。イギリスではEIVの流行によって、2019年2月、6日間競馬開催が中止された。欧州で検出されたウイルスと近縁なクレード1は、南米チリ（A/equine/Concepcion/RO7C/2018）やアルゼンチン（A/equine/Argentina/E200-1/2018）でも流行しており、クレード1が世界的に流行している。今後の流行状況を引き続き注視していく必要がある。

2. 日本での流行

1) 1971年～1972年の流行

1971年11月19日、ニュージーランドから乗用馬4頭と重種馬1頭が輸入され、動物検疫所（横浜）での14日間の輸入検疫終了後、12月3日に東京都（2頭）、青森県（2頭）、福島県（1頭）にそれぞれ導入された。これら5頭はそれぞれの導入先で、導入直後から発熱、激しい咳、鼻汁漏出を伴う感冒様症状を呈しており、これらが感染源と推察されている。しかし、当時ニュージーランドは馬インフルエンザの清浄国とみなされていたことや、検疫期間中に他国から輸入された22頭の馬が同一施設内に係留されていたことから、ウイルスはニュージーランド以外の国から侵入した可能性が指摘されている。

その後、感染馬の移動により、初発の12月4日から僅か39日の間に、青森県、福島県、新潟県、埼玉県、千葉県、東京都、神奈川県、大阪府、広島県の1都1府7県26ヶ所の競馬場あるいは乗馬クラブにおいて、合計6,782頭が感染し、そのほとんどが発症した（[図4](#)）。最終発生は翌年1月11日であった。この流行により、中央競馬では1971年12月の6回中山競馬第7・8日から1972年の1・2回東京競馬の全日程の延べ9週にわたり、関東地方での開催中止という事態に陥った。

[図5](#)に馬事公苑、東京競馬場、中山競馬場における発生状況を示した。馬事公苑の初発は12月15日であり、12月20日までの6日間に171頭中168頭が発症した。東京競馬場の初発は12月17日であり、12月21日～22日をピークとして、12月26日までの10日間に963頭中957頭が発症した。中山競馬場の初発は12月21日であり、12月24日をピークとして、翌年1月1日までの12日間に721頭中671頭が発症した。当時はワクチン接種が行われていなかったため、いずれの馬群においてもほとんどの馬が感染し、発症した。

競馬場間あるいは競馬場と生産地間などの人

馬の移動禁止措置、徹底した消毒、非発生地域における緊急のワクチン接種などを主体とした防疫対策により、栗東トレーニング・センター、

関西地区の競馬場、生産地の牧場などへの感染拡大は阻止された。

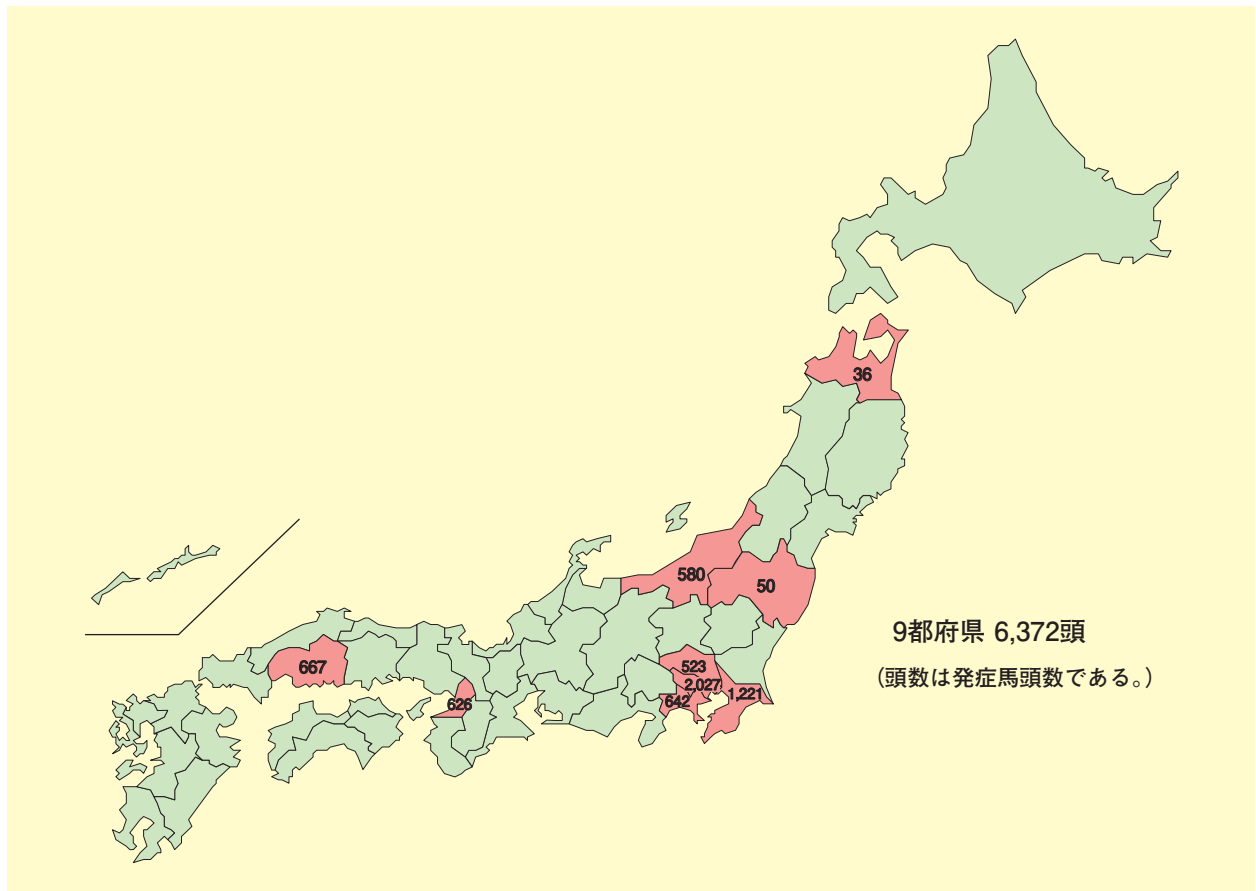


図4 1971年～1972年における馬インフルエンザの発生状況

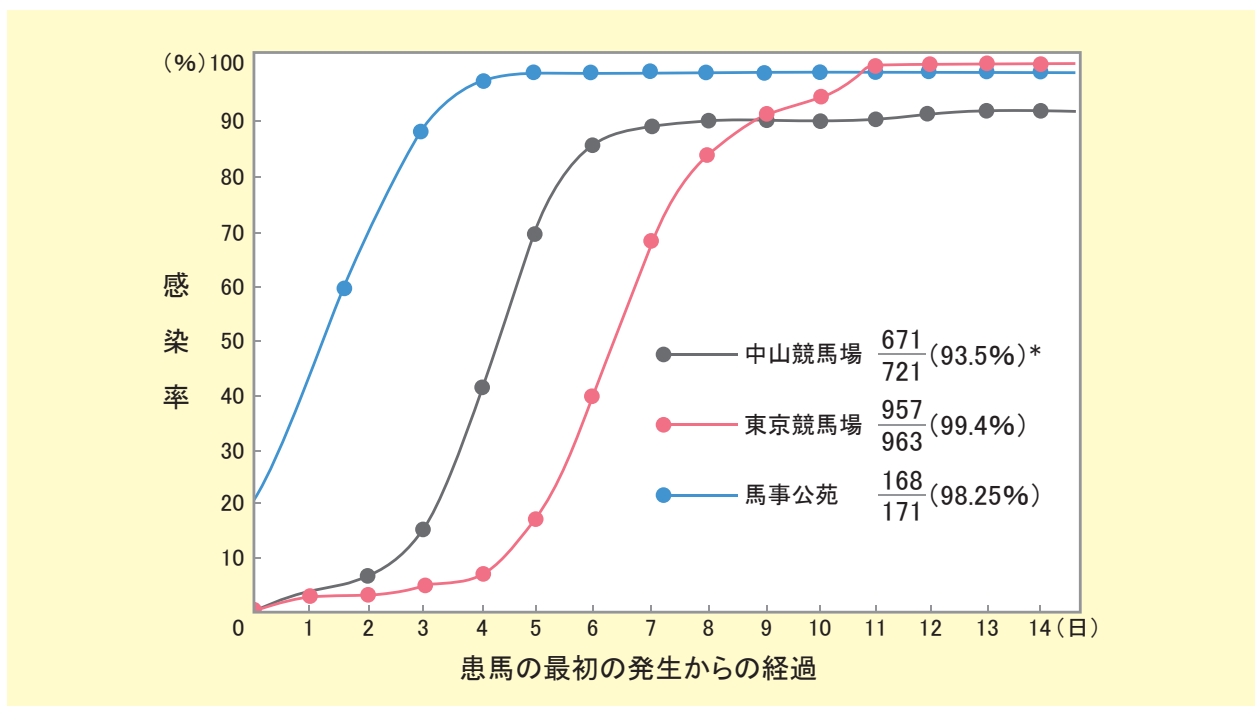


図5 1971年12月に発生した中山競馬場、東京競馬場および馬事公苑における馬インフルエンザの流行

* : 分母は在厩馬頭数、分子は発症馬頭数、() は感染率を示す。
(秋山ら 日本中央競馬会競走馬保健研究所報告 1972, 9:10-28 より引用し、改変した。)

2) 2007年～2008年の流行

(1) 発生概況

2007年8月1日～15日の間、JRA美浦トレーニング・センター在厩馬1,700頭のうち、例年より多い36頭に発熱・発咳・鼻漏の症状が認められた。このため、8月15日に発熱した競走馬1頭に対し、後述する人用インフルエンザウイルス診断キット（エスプライン® インフルエンザA&B-N、富士レビオ）による簡易検査を試みたところ、陽性反応を示した。また、この材料を用いて、JRA競走馬総合研究所栃木支所（当時）において実施した遺伝子検査でも陽性が確認された。同日中に栗東トレーニング・センターでも陽性馬が確認され、翌日（8月16日）には両トレーニング・センター、札幌・函館・新潟および小倉競馬場において、計68頭の競走馬が発熱し、そのうち37頭が簡易検査で陽性となった。発熱馬頭数は17日には75頭に増加し、18日に96頭のピークに達したが、その後は急速に減少し、9月以降は例年と同程度に落ち着いた。発熱馬のうち簡易検査で陽性となった頭数も、18日の38頭をピークに、その後は急速に減少し、8月27日には一旦沈静化した（図6）。この流行により8月18日・19

日の中央競馬（札幌・新潟・小倉）は開催中止となった。

全国の地方競馬場においては、8月16日の旭川競馬場における発生の確認から11月26日の佐賀競馬場における最終確認まで、およそ3ヶ月にわたり発生が継続した。最終的に15主催者中11主催者で陽性馬が確認され、このうち7主催者において延べ25日間の開催中止を余儀なくされた。発生が認められなかったのは、帯広（ばんえい）、福山、高知および荒尾の4競馬場のみであった。

10月5日～9日の日程で秋田県仙北市において開催予定であった「秋田わか杉国体」の馬術競技会では、移動前および到着後の簡易検査で全ての参加馬の陰性を確認していた。しかし、10月5日に2頭で陽性が確認されたため、改めて参加馬全頭に対して簡易検査を実施したところ、さらに4頭で陽性が確認された。その後も発生が継続したため、10月8日以降の競技は全て中止された。最終的には参加馬170頭中37頭で陽性が確認された。

その後も、生産地、JRA、地方競馬、乗馬関連施設において散発的な発生を繰り返しながら徐々に沈静化し、2008年7月1日の北海道で

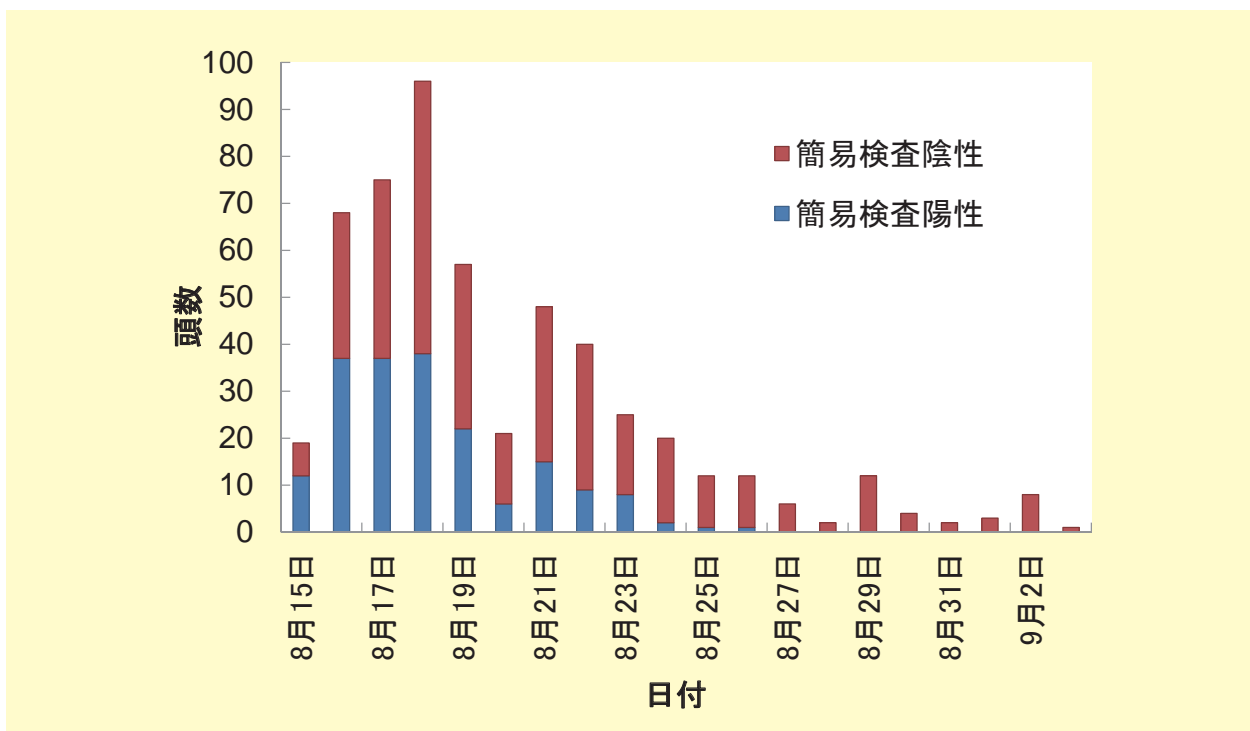


図6 2007年8月における新規発熱馬頭数の推移および簡易検査結果の内訳

の発生が国内における最終発生となった。最終的に、農林水産省消費・安全局動物衛生課には、33都道府県 2,512頭（疑症も含む）の発生が届け出られた（図7）。1971年～1972年の流行当時と比較すると、輸送競馬が主体となるなど馬の輸送頻度が激増しており、このような移動形態によって短期間に国内全域に感染が拡大したものと考えられた。最終発生後も全国規模の疫学調査を継続した結果、最終発生から1年間にわたり発生が確認されなかったことから、農林水産省はOIEに対し、2009年7月1日付で国内清浄化を宣言した。

(2) 防疫対応

JRAでは発生確認直後の8月16日より、JRA施設外へのまん延防止のため、施設外への馬の移動を全面的に禁止した。また、施設内における消毒作業を強化すると同時に、入退場門における車両などの消毒を徹底した。発生直後は、厩舎地区全域で同時多発的に感染馬が摘発され、隔離施設の収容能力を超過したため、一時的に隔離措置が困難な状況となった。しかし、

その後は陽性馬を隔離厩舎に収容し、調教時間を分けるなどの防疫措置を講じたことで、流行は徐々に沈静化した。

9月4日よりJRA施設内外への入退厩を限定的に再開し、全ての入退厩馬に対して簡易検査を実施した。しかし、トレーニング・センターでは、その後も2007年11月、2008年1月および3月に小流行が確認された。感染馬の完全な摘発が困難であった理由としては、①感染直後の潜伏期には感染馬からウイルスが排泄されないこと、②感染初期などのウイルス排泄量が少ない場合には、簡易検査のウイルス検出感度に限界があることなどが挙げられる。このような限界があるものの、2007年の流行では、簡易検査の導入により、現場における迅速な診断が可能となった。この結果、早い段階で適切な防疫措置を講じることが可能となり、競馬開催への影響を最小限に留めることができた。

(3) 疫学

流行極期（8月15日～9月3日）におけるJRA施設内での発症率（在厩馬頭数4,142頭

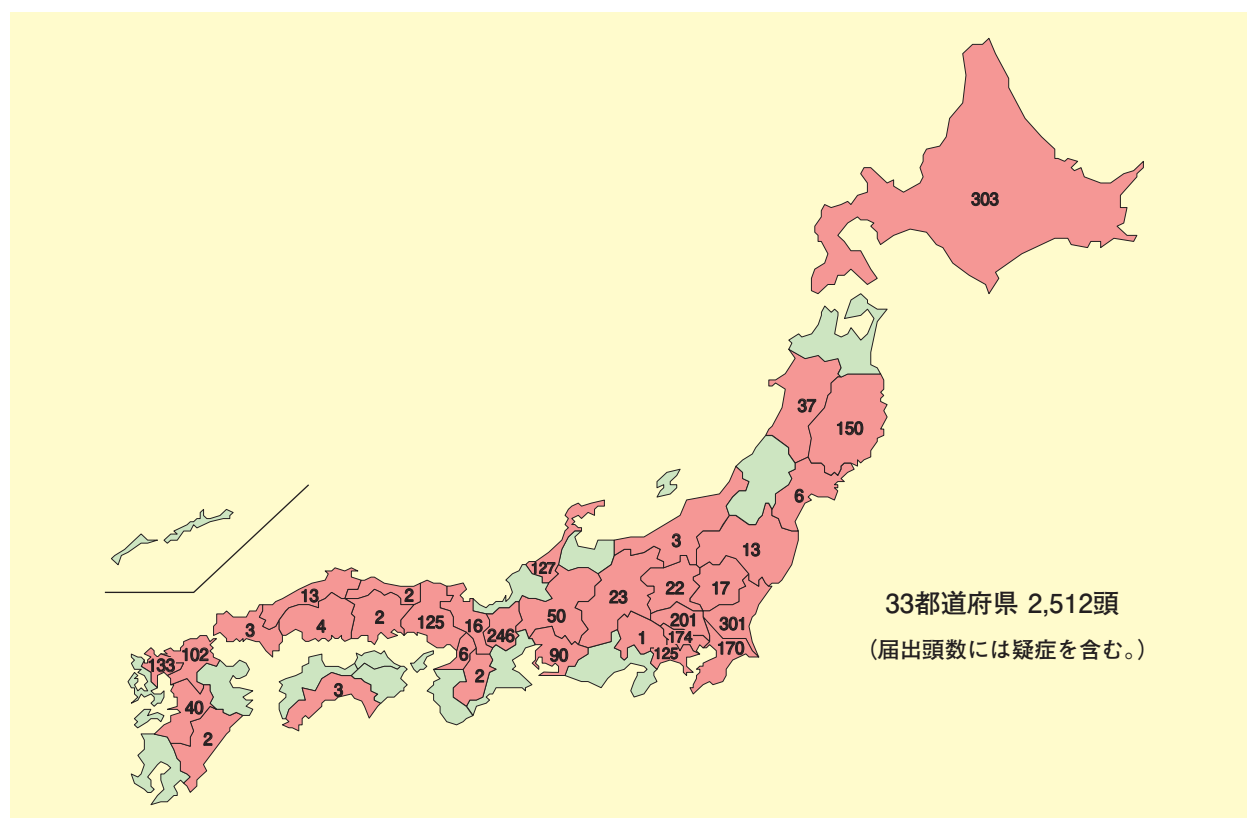


図7 2007年～2008年における馬インフルエンザの発生届出状況

に対する発熱馬頭数 531 頭の割合) は、12.8%であった。この発症率は、1971 年の流行極期の発症率 (97.0%) と比較すると極めて低く、不活化ワクチンが感染防御に有効であることが改めて示された。また、発症馬の治癒までの平均期間も 1.6 ± 0.9 日と、1971 年の流行時の平均 5 日から大幅に短縮され、症状の軽減にも効果的であった。

一方、JRA 施設内の流行状況を把握するための疫学調査として、8 月 16 日・17 日に臨床的に健康な馬に対して実施した簡易検査では、967 頭中 188 頭 (19.4%) が陽性であった。この疫学調査から、すでにこの時点で施設全体にウイルスがまん延していることが明らかとなった。ワクチン接種馬群では、このように感染しても典型的な症状を示さない不顕性感染馬が存在することから、感染を制御するには簡易検査などのウイルス検査が必須となる。今回の流行の感染源は特定されていないが、不顕性感染馬が検疫網をくぐり抜けた可能性も指摘されている。

(4) 分離ウイルスの性状

2007 年 8 月および 9 月に採取された競走馬の鼻腔スワブから、4 株 (A/equine/Ibaraki/1/2007, A/equine/Ibaraki/2/2007, A/equine/Shiga/1/2007, A/equine/Kitakyushu/1/2007) が分離された。分離された 4 株の HA 遺伝子は、フロリダ亜系統クレード 1 に分類される A/equine/Wisconsin/1/2003 (H3N8) と最も高い相同性 (99.3%) を示した。また、NA 遺伝子の塩基配列も、A/equine/Wisconsin/1/2003 の配列と最も高い相同性 (99.0%) を示した。さらに、HA1 遺伝子の塩基配列について系統樹解析を実施したところ、分離された 4 株は全てフロリダ亜系統クレード 1 に分類されている株と同じクラスターに含まれていた。これらのことから、2007 年に日本で流行を引き起こしたウイルスは、フロリダ亜系統クレード 1 株であることが明らかとなった。2007 年～2008 年

に国内で分離された 12 株については、HA 遺伝子の塩基配列は全て一致しており、A/equine/Ibaraki/1/2007 株から変異した兆候は認められなかった。

(5) 馬インフルエンザワクチンの効果

2007 年～2008 年の流行前に国内で流通していた馬インフルエンザ不活化ワクチンには、アメリカ系統株 (A/equine/La Plata/1993) とヨーロッパ系統株 (A/equine/Avesta/1993) が含まれていたが、今回の流行の原因となったフロリダ亜系統株は含まれていなかった。流行前に接種していたワクチンの流行ウイルスに対する効果を評価するため、年 2 回定期的にワクチンを接種している 4 歳馬の 2006 年秋の保存血清を用い、ワクチン株 (A/equine/La Plata/1993) と今回分離された株 (A/equine/Ibaraki/1/2007) に対する血球凝集抑制 (HI) 抗体価を測定した。この結果、A/equine/La Plata/1993 株に対する抗体価は 1:93.2 であったのに対し、A/equine/Ibaraki/1/07 に対しても 1:63.5 と高い交差性が認められた。このことから、流行前に接種していたワクチンでも、今回流行したフロリダ亜系統ウイルスに対して、一定の防御効果が発揮され、このことが低い発症率 (12.8%) に留まった要因と推察された。

1992 年に香港のシャティン競馬場においても、ワクチン接種馬群での大規模な流行があった。しかし、当時の香港で接種されていたワクチンに含まれていた株 (A/equine/Miami/1963・A/equine/Kentucky/1981) は、実際の流行ウイルス株 (A/equine/Hong Kong/1992) との交差性が低く、結果として在厩馬の 37% が発症した。当時の調査では、流行株に対する HI 抗体価が < 1:20 であれば 66.7%、1:20～1:40 であれば 38.5%、> 1:40～1:80 であれば 10.7% がそれぞれ発症し、> 1:80 では発症馬はいなかったと報告されている。2007 年の日本における流行でも、概ね同様の傾向がみられた。

III ウイルスの変異とワクチン株の変更

ワクチン接種による予防は、EIV の防疫対応の中心である。日本製ワクチンは、ホルマリンにより不活化した全粒子ワクチンである。この不活化されたウイルス粒子を皮下（筋肉内）に注射することにより、馬体内でウイルスに対する中和抗体を産生させる。1歳時の1月から3月に4週間以上の間隔を空けて2回の基礎接種免疫後、5月から6月に初回補強接種、その後半年間隔の補強接種が推奨される（表1）。中和抗体の多くを占めるものは、ウイルスの血球凝集（HA）反応を阻害する抗体でありHI抗体と呼ばれる。欧米では、全粒子だけでなくウイルスのHAとNAのみを抽出精製して含んでいる馬インフルエンザワクチンも存在する。EIVの感染防御や症状の程度は、ウイルスへの暴露時に保有している中和抗体の有無により変化する。したがって、あらかじめワクチン接種で中和抗体を賦与させておくことにより、EIVの暴露を受けた際の馬体への影響を減少させることが可能となる。

インフルエンザウイルスの遺伝子（RNA）の複製に必要なRNAポリメラーゼは、RNAの塩基配列の複製エラーの頻度が高いことで知られ、通常DNAポリメラーゼが 10^9 塩基に1塩基であるのに対し、インフルエンザウイルスのRNAポリメラーゼは 10^4 塩基に1塩基の割合でエラーを起こすとされている。このことにより、同じH3N8の亜型のEIVの中でも、遺伝子が少しずつ変化し、そのことが積み重なった結果、抗原性の変化が生じる。このことを抗原変異という。したがって、欧米のようなEIVが風土病的に発生している国・地域では、常に遺伝子が増変したEIV株が出現している。そこに、ワクチンが使用されることによって、馬体内で産生される抗体の圧力から逃れる変異株が選択されて、流行の中心に置き換わる。

以上のことから、ワクチンの効果を維持するためには、常に流行株とワクチン株との抗原性

について調査し、必要に応じてワクチンに含めるウイルス株を変更する必要がある。日本では、1972年の使用開始からこれまでに5回、株の組成が変更されてきた（表2）。日本の場合、1971年～1972年および2007年～2008年の2回、EIVの流行を経験してきたが、現在は清浄国の一つである（2019年時点）。清浄国の中には、豪州やニュージーランドのように、ワクチンを接種しない国も存在する。しかしながら、日本は、毎年3,000～5,000頭もの馬を、EIVが毎年流行している欧州や北米大陸より輸入している。事実、2007～2008年の日本での流行以降にも、毎年のように欧州および北米からの輸入馬からEIVが検疫中に動物検疫所により摘発されており、日本の馬群へのEIVの侵入リスクは常に存在していると考えざるを得ない。したがって、常に日本のワクチンの抗原性が、欧州や北米大陸などの最新の流行株に対応しているか否かをチェックし、EIVが日本の馬群に侵入した場合に備える必要がある。

海外では、毎年、国際獣疫事務局（OIE）のリファレンスラボラトリーが中心となってデータを持ち寄って、その年のワクチン推奨株の選定について議論している（Expert Surveillance Panel on Equine Influenza: ESP）。筆者らもこのESPに参加し、帰国後、ESPで議論された内容や独自のデータをもとに、農林水産省動物医薬品検査所の「動物用インフルエンザワクチン国内製造用株選定委員会」において、日本製不活化ワクチン株の選定の議論に参加している。2003年に変更されたワクチンまで、馬用を含む動物用インフルエンザワクチンは、動物用生物学的製剤基準に基づく煩雑かつ長期間にわたる試験および手続きを要することから、迅速な株変更が困難であった。しかし、迅速にワクチン株を変更できるシステムの確立は、EIVの特性を鑑みると極めて重要であることから、その仕組みづくりが進められてきた。その結果、

2011年には「動物用インフルエンザワクチン国内製造用株選定委員会」（事務局：動物医薬品検査所）が正式に立ち上げられたことで、開

発から供給までの期間が大幅に短縮され、迅速なワクチン供給体制が整備された。

表 1. 軽種馬防疫協議会が推奨するワクチンプログラム

1 歳			2 歳		3 歳以降	
1-3 月		5-6 月	5-6 月	11 月頃	5-6 月	11 月頃
基礎	基礎	補強	補強	補強	補強	補強

*基礎免疫（2回接種）：4週間以上の間隔を空けて2回接種する。

表 2 日本の不活化ワクチン株の変遷

年	株	亜型	(亜) 系統
1972	A/equine/Prague/1956	H7N7	系統分岐前 系統分岐前
	A/equine/Miami/1963	H3N8	
	A/equine/Tokyo/2/1971	H3N8	
1985	A/equine/Newmarket/1977	H7N7	系統分岐前 系統分岐前
	A/equine/Tokyo/2/1971	H3N8	
	A/equine/Kentucky/1/1981	H3N8	
1996	A/equine/Newmarket/1977	H7N7	系統分岐前 アメリカ
	A/equine/Kentucky/1/1981	H3N8	
	A/equine/La Plata/1993	H3N8	
2003	A/equine/Newmarket/1977	H7N7	アメリカ ユーラシア
	A/equine/La Plata/1993	H3N8	
	A/equine/Avesta/1993	H3N8	
2009	A/equine/La Plata/1993	H3N8	アメリカ ユーラシア フロリダ亜系統クレード 1
	A/equine/Avesta/1993	H3N8	
	A/equine/Ibaraki/1/2007	H3N8	
2016	A/equine/Ibaraki/1/2007	H3N8	フロリダ亜系統クレード 1 フロリダ亜系統クレード 2
	A/equine/Yokohama/aq13/2010	H3N8	

IV 発症病理

感染馬が咳嗽などにより、EIV をエアロゾル状に空気中へ排泄し、それを他の馬が吸い込む。この際、馬の痰に含まれるムコ多糖類や糖蛋白質に、EIV の HA が結合した場合は、その EIV は痰とともに再び外部に排出される。このことに対して、EIV は自身の NA により痰中のムコ多糖類や糖蛋白質を分解し、痰から逃れることが可能である。逃れられた EIV は、HA を上皮細胞膜上に存在する糖鎖（シアル酸）からなる

レセプターに結合させ、その後、宿主細胞側のエンドサイトーシスによって受動的に細胞質内に取り込まれる。その後、エンドソーム膜とエンベロープは融合し、ウイルスの遺伝子が細胞質内に放出され、宿主細胞の核内に移動し、ウイルスの蛋白質合成に必要な遺伝子（mRNA）およびウイルス自身の RNA が合成される。合成された蛋白質およびウイルスの RNA は宿主の細胞膜の近傍へ移動し、ウイルスの構造を組

み立てて、細胞膜をエンベロープとして出芽し、他の感染可能な宿主細胞へと向かうか、咳嗽により外気中へ排泄される。この際、ウイルスのNAは、子ウイルスと細胞膜上のシアル酸レセプターとの結合を外すことによって、出芽を容易にする働きを担う。ウイルスの複製・出芽サイクルは感染後1～3日以内に行われるとされ、鼻腔スワブからウイルスが分離されるのは、感染2～3日後からである。

以上に示したウイルスの感染・増殖を受けた

呼吸器上皮細胞は、変性壊死を起こし、気道や肺胞における蛋白質に富む滲出液が増えるとともに線毛の凝集が見られるようになる。このような線毛構造の破壊は、気道表面のクリアランス能を減じさせ、上部気道の日和見常在菌の下部気道への侵入を引き起こす。下部気道に侵入した細菌は、気管炎から肺炎などへ症状を増悪させる。多くの場合、*Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus*や*Actinobacillus*属が原因である。

V 臨床

1. 症状

本症の最も顕著な特徴として、急速な有症状馬の増加が挙げられる。迅速な病原検出法が開発される以前は、この急速な有症状馬の増加が、暫定的な診断の根拠とされてきた。典型的症状は、急な発熱（39～40℃）を伴う鼻漏や咳嗽などの呼吸器症状である（図8）。重篤度や有症状期間は、ウイルスの暴露量、飼養管理およびワクチンや感染による中和抗体の有無により大きく影響される。最初に認められる症状は、通常、発熱であり、本症の潜伏期間（EIVに感染

してから、症状が顕在化するまでの期間）は、2～3日間とされている。鼻汁へのウイルス排泄を認め始める時期も、症状の顕在時期と概ね一致している。発熱が4日間以上継続した場合や、粘ちょう性を帯びた鼻汁を認めた場合には、二次的な細菌感染を疑う必要がある。また、発熱中には食欲低下や元気消失がみられる。食欲低下の原因には、発熱以外にも咽喉頭部の疼痛も関与している。下顎リンパ節の腫脹は稀である。咳嗽は、特に摂食中に発作的に認められることが多く、また、咽頭部を刺激することによっても容易に誘発できる。

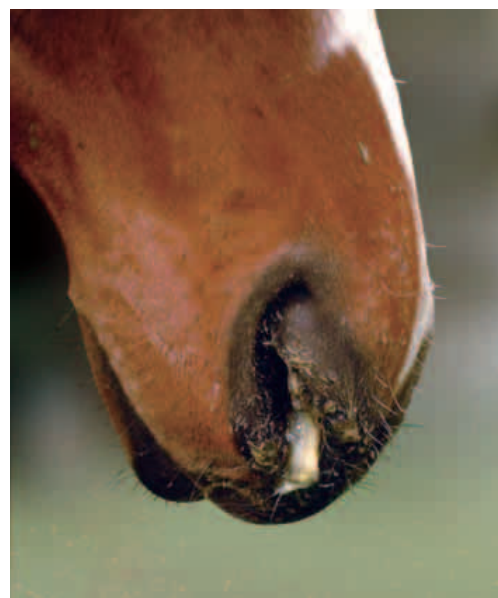


図8 馬インフルエンザ発症時における咳嗽（写真左）および粘ちょう性鼻漏（写真右）

中和抗体を保有している馬が感染した場合は、症状が軽減するか、あるいは無症状に耐過する。しかし、無症状の馬でも鼻汁中にウイルスを排泄する可能性があることに注意が必要である。

2. 治療

専ら、対症療法が中心に行われる。長期間の発熱や粘ちょう性を帯びた鼻汁を認めた場合は、細菌感染を疑って抗生物質を投与すべきである。鎮咳薬の投与は、滲出液の気道からのクリアランスを低下させるおそれがあるので、避けるべきである。

また、休養させることが非常に重要であり、

よく換気された塵埃の少ない環境が望ましい。乾草などは、埃を減らすために水で湿らせてから与えるのがよい。

NA 阻害薬であるオセルタミビル（タミフル、中外）やペラミビル（ラピアクタ、塩野義製薬）、およびキャップ依存性エンドヌクレアーゼ阻害薬であるマルボキシル・バロキサビル（ゾフルーザ、塩野義製薬）の投与による治療効果が報告されている。オセルタミビルおよびマルボキシル・バロキサビルは経口投与、ペラミビルは静脈内投与される。両薬物ともに、現在のところ人体用としてのみ認可されている薬物である。しかし、症状の有意な軽減およびウイルス排泄期間の短縮が認められることから、今後、治療の選択肢として一考に値すると思われる。

VI 診断

1. 臨床診断

上述したとおり、発熱、鼻漏および咳嗽などの症状を示す馬が、急速に増加することが本症の大きな特徴である。しかし、伝染性の強さでは劣るものの、馬ウイルス性動脈炎や馬鼻肺炎などのウイルス性呼吸器疾患の典型的症状と類似する症状も多いので、確定診断のためには、以下に示す病原学的あるいは血清学的診断が必須である。

2. 病原学的診断

1) ウイルス分離

他の感染症の診断同様、ウイルス分離がゴールドスタンダードである。特殊な施設や技術が必要であり、一般に数日から数週間を要するが、分離されたウイルスの性状を解析することは、その後のワクチン株の選定などに重要なデータを提供することに繋がる。以下には、筆者らが行っている方法を示す。

EIV の場合、鼻腔スワブまたは鼻咽頭スワブから抽出した鼻汁を 9～11 日齢の発育鶏卵の尿膜腔中に接種して分離する。また、MDCK 細胞に接種しても、ウイルス分離は可能であるが、発育鶏卵に比較して EIV の増殖性は低い。

発育鶏卵および MDCK 細胞のいずれを使用する場合でも、鼻腔スワブまたは鼻咽頭スワブの採材とその後の処理が、結果に大きな影響を与える。

鼻腔スワブを採取する際は（[図 9](#)）、大き目の綿棒（JMS 綿棒, JI-APL1, ジェイ・エム・エス, [図 10](#)）を用いて、鼻粘膜に数十秒間押し当てて鼻汁を採取する。鼻咽頭スワブの場合は、鼻腔スワブ採取用綿棒よりも長い綿棒（全長 504 mm/ 綿球径 12 mm/ 綿球長 23 mm/ 軸の直径 3.2 mm, 日本綿棒, [図 10](#)）を用いて喉の奥から採取する。EIV は、乾燥により迅速に不活化してしまうことから、直ちに輸送用培地に浸す。輸送用培地の例として、JRA 競走馬総合研究所で使用しているものの組成を下表に示す。



図9 鼻腔スワブ採取の様子

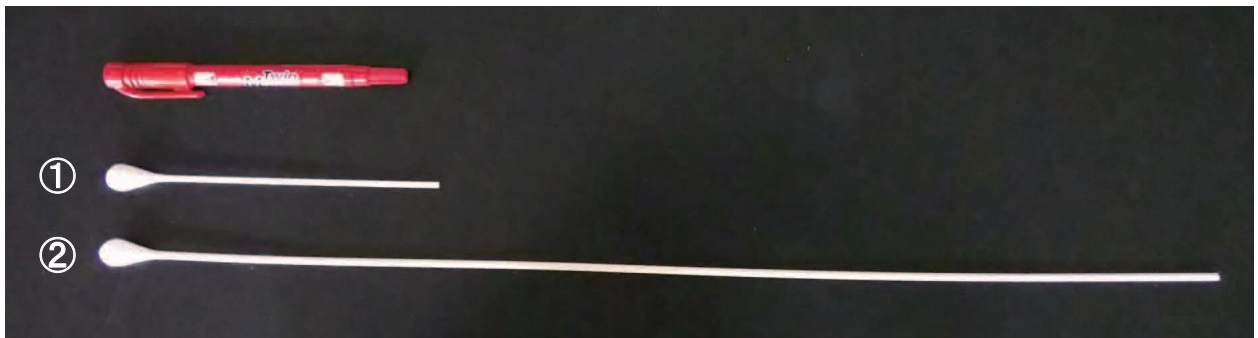


図10 鼻腔スワブ (①) および鼻咽頭スワブ (②) 採服用綿棒

■ 輸送用培地の組成

PBS (pH 7.2 ~ 7.4)	100 ml
トリプトースリン酸ブロス (29.5g/L, シグマ)	2 ml
Antibiotic-Antimycotic, 100 × (サーモフィッシャー)	5 ml

使用した綿棒のサイズにより、浸漬する輸送用培地の量は、適宜増減する必要があるが、筆

者らは鼻腔スワブの場合には輸送用培地 2.5ml、鼻咽頭スワブの場合は 5ml 入ったねじ込み型のチューブに軸棒を折って浸漬している (図 11)。また、馬の鼻腔内は非常に細菌や真菌に富んだ環境であることから、いかに細菌などの生育を防ぐかが、分離結果の成否に直結する。したがって、通常の細胞培養時に使用する場合よりも、輸送培地中の抗生物質-抗真菌薬濃度

を高く設定することが必要である。ちなみに、セルロースアセテート膜からなるフィルターでのろ過滅菌は、EIVをも除去してしまうので行わない。さらに、輸送用培地に浸した後は、ただちに氷冷することも重要である。EIVは人の季節性インフルエンザウイルスとは異なり、季節を問わず流行する。特に夏場の採材時には、クラッシュアイスが必需品である。



図 11 鼻腔スワブまたは鼻咽頭スワブを採取後、綿棒の柄を折って、輸送培地に浸漬したもの。

綿棒の入ったチューブは、十分に攪拌することによって、鼻汁を輸送用培地側に抽出し、ツベルクリン用注射器を使用して、発育鶏卵の尿膜腔中に接種する。具体的には、サンプル抽出液を輸送用培地で 1:10 および 1:100 に希釈する。各希釈濃度につき 4 個の 10 日齢の発育鶏卵に 200 μ l ずつ接種し、34°C で 3 晩程度静置する。鶏卵培養において重要なことは、適切な換気と湿度下で行うことである。通常の密閉型インキュベーターでは、発育鶏卵が窒息・死滅する。また、湿度が低いと尿膜腔液が著しく減少する。JRA 競走馬総合研究所では、孵卵器内の相対湿度を 60 ~ 70% に保っている。培養後は尿膜腔液を採取して、0.5% 鶏血球液を使用した HA 反応によりウイルス増殖の有無を判定する。盲継代を 4 回繰り返しても、ウイルスが分離されない場合は、ウイルス分離陰性とする。多くの細菌は HA 反応を示すので、コンタミネー

ションによるものか、真に EIV が分離されたのかは慎重に判断しなければならない。したがって、HA 反応陽性を示す尿膜腔液が得られた場合には、後述の RT-PCR 法や陽性血清による HI 試験により同定する必要がある。

2) RT-PCR 法

ウイルス分離は数日から数週間もの時間を要するため、適切な防疫対応をとるためには、さらに迅速な診断法が求められてきた。分子生物学の発達により、EIV の特異遺伝子を検出する RT-PCR (Reverse transcription polymerase chain reaction) 法が、近年では頻繁に行われるようになってきている。実験系により異なるが、最短で検体採取から約半日で結果が得られる。JRA 競走馬総合研究所では、下記のプライマーを用いて RT-PCR 法を実施している。

プライマー	配列
Forward	AGCAAAAGCAGGGGATAT TTCTG
Reverse	GCTATTGCTCCAAAGATTC

Newton et al., Vet Rec. 2006. 158:185-92.

陽性であれば、電気泳動によって約 1040bp のバンドが確認される。本反応系のプライマーセットは、HA タンパクをコードしている遺伝子配列に基づいている。陽性と思われるサイズのバンドが確認された場合には、増幅産物を精製し、塩基配列を決定することが望ましい。このことにより、DDBJ や GenBank などの公的データベース上に公開されている EIV の塩基配列との間で、相同性解析や系統樹解析などが可能となり示唆に富むデータを得ることが出来る。

近年の分子生物学的診断法の進歩は著しく、RT-PCR 法のほかにも、real time RT-PCR 法や RT-LAMP (Loop-mediated isothermal amplification) 法などの新しい方法も開発されている。いずれの方法においても、平常時に、個々の診断施設において、技術に習熟しておくことが重要である。

3) 簡易検査キット

現在、人のインフルエンザ診断用として多くの簡易検査キットが認可・市販されている。これらのキットのほとんどは、ウイルスの内部蛋白質である Nucleoprotein を検出するものであり、A 型と B 型を区別して判定できるものである。EIV は A 型インフルエンザウイルスの 1 つであるので、原則としてそれらのキットで検出できるはずである。しかしながら、使用している抗体の認識部位によっては、著しく EIV に対する感度が低い、あるいはないといった製品もあることから、注意が必要である。本稿執筆時点(2019年)において、JRA ではクイックチェイサー Flu A, B (図 12)、またはクイックチェイサー Auto Flu A, B (ともにミズホメディー) を用いている。2007 年流行時にはエスプライン[®] インフルエンザ A&B-N (富士レビオ) が用いられていたが、検出感度はクイックチェイサーの方がよいことが明らかとなっている。簡易検査キットは RT-PCR 法に比較して検出感度がやや劣るものの、その一方、操作が非常に簡単であり、最短で鼻腔スワブ採取 20 分後には結果が得られるという利点がある。しかし、得られる結果が単に陽性か陰性のみであることから、陽性結果が得られた場合には、速やかに該当馬の隔離などの防疫措置を講じるとも

に、検体をウイルス分離や RT-PCR 法が実施可能な検査施設に送付すべきである。

3. 血清学的診断

血清学的診断とは、患馬の急性期と回復期における組血清を採取し、血清中の抗体価の上昇をもって感染の証拠とするものである。また、上述した分離ウイルスの同定にも応用される。本診断による組血清間での抗体価の上昇は、感染の強い証拠となるものであるが、最短でも 2 週間空けて組血清を採取する必要があるので、EIV の流行拡大に間に合わないことが欠点である。EIV の血清学的診断法としては、赤血球凝集抑制試験 (HI) 試験、一元放射溶血 (SRH) 試験、または中和試験が知られている。HI 試験および SRH 試験ともに、中和抗体との相関性が知られている。

HI 試験は、最も普及している方法である。通常、96 ウェルの V 底プレートを用いて、2 倍階段希釈した血清 (25 μ l) に、4 単位 / 25 μ l に調整した HA 抗原 (25 μ l) を加え、30 分間室温でインキュベーションする (抗原抗体反応)。次に、0.5% 鶏血球液 (50 μ l) を加えて、1 時間室温でインキュベーションする。もし、抗体が存在すれば、EIV の HA に結合し、

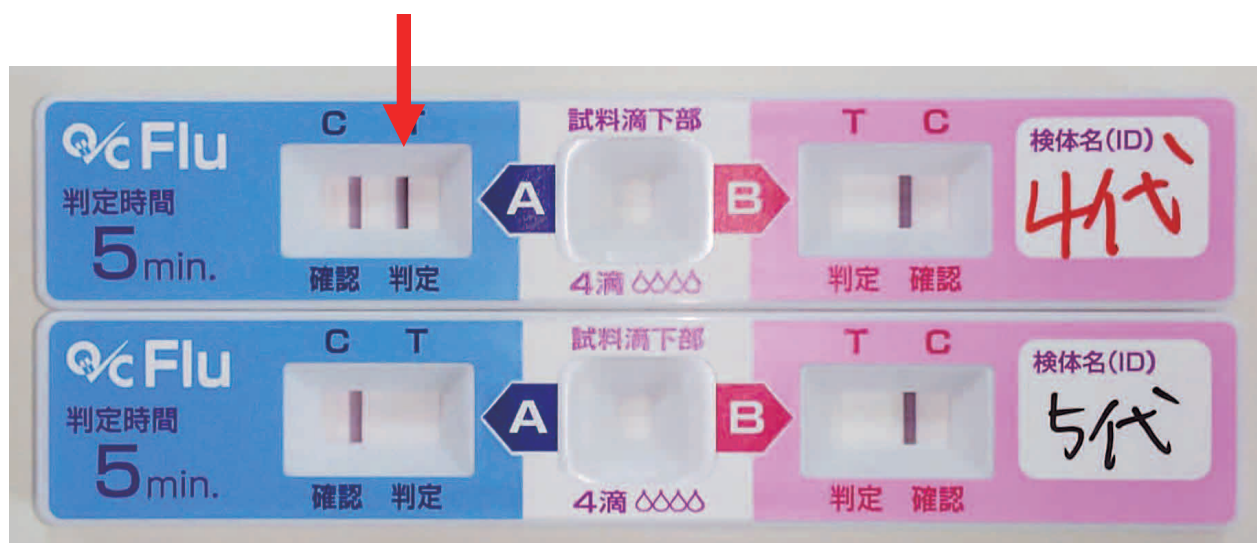


図 12 クイック チェイサー[®] Flu A,B (ミズホメディー) による馬インフルエンザの診断。赤矢印で示すように、A 型インフルエンザウイルス診断の判定部に線を認めた場合、陽性と診断する。本写真では、上の検体は陽性、下の検体は陰性と判定される。

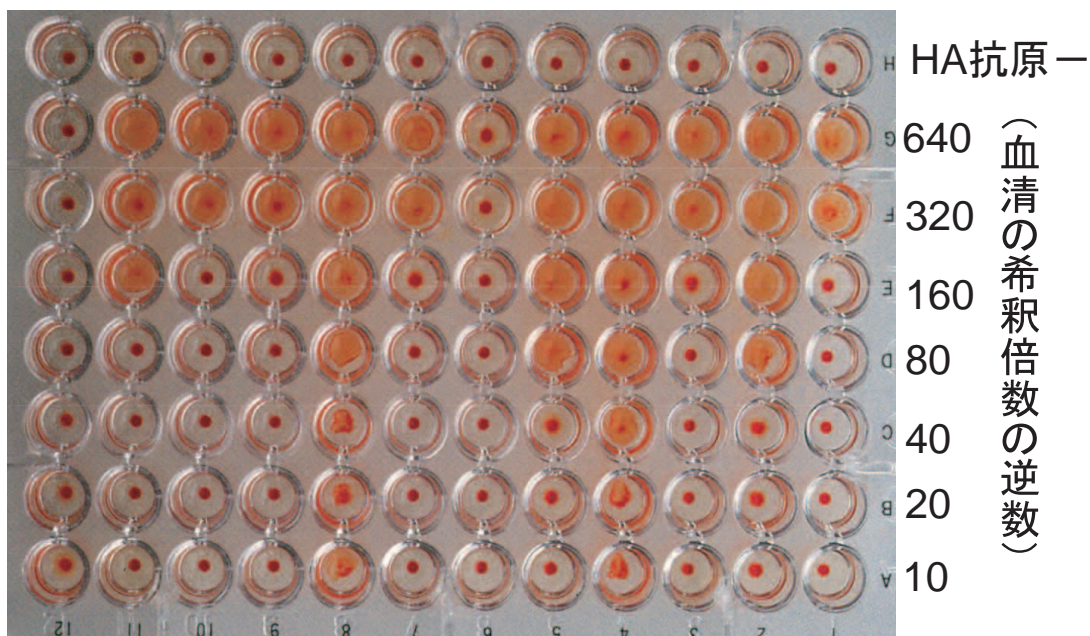
HA は鶏血球上の糖鎖に結合できなくなり、結果として、血球はウェルの底に沈む。抗体がなければ、血球はウイルスの HA により架橋され、ウェルの底に均一に張り付く（これを血球凝集という）。判定は、プレートを傾け、ウェルの底に沈んだ血球が涙目状に垂れてくるか否かで血球凝集の有無を判定する。HI 抗体価は、通常、血球凝集を阻害した血清の最高希釈倍率の逆数で表す（HI 試験の 1 例，[図 13](#)）。

SRH 試験は、EIV を感作させた血球（羊あるいは鶏）と補体（モルモット血清）とを含んだアガロースゲルを作製し、3mm 程度の穴を空けた寒天プレートを用いて行う。空けた穴に、適当量（5 ~ 10 μ l）の被検血清を入れ、34 ~ 37°C で 1 晩インキュベーションする（変法として、4°C で一晩の間、抗原抗体反応をさせてから、37°C で 2 時間溶血反応させる方法もある）。血清中に抗体が存在していれば、穴の周りに溶血輪が出現し、その直径をノギスで測定する。抗体価は、溶血輪の直径あるいは面積で評価する（SRH の 1 例，[図 14](#)）。

筆者らは中和試験法を、発育鶏卵を用いて実施している。人インフルエンザウイルス等の中

和試験では MDCK 細胞を用いて中和試験を実施しているが、EIV は一般的に MDCK 細胞で増殖しにくいいため用いていない。2 倍階段希釈した血清に、 $10^{4.0 \pm 0.5}$ EID₅₀/200 μ l に調整したウイルス液を血清と等量加え、60 分間 34°C でインキュベーションする（中和反応）。そして血清希釈列ごとに、5 個の 10 日齢の発育鶏卵のしょう尿膜腔に 200 μ l ずつ血清・ウイルス混合液を接種する。その後 34°C で 3 日間インキュベートする。インキュベート後、鶏卵を 4°C で冷やしてから、しょう尿液を回収し、赤血球凝集能を確認する。5 個中 3 個以上の発育鶏卵で、ウイルス増殖を抑制した血清の最高希釈倍率を中和抗体価とする。

HI 試験は、馬血清の場合、非特異的なインヒビターの干渉を非常に受けやすいことから、試験前にトリプシン-熱-過ヨウ素酸カリウム処理を行わなければならない。人血清で汎用されている RDE（ビブリオ菌由来の NA）は、馬血清特有の γ インヒビターを除去できないので使用しない。著者らは、中和試験で用いる血清も HI 試験と同様のトリプシン-熱-過ヨウ素酸カリウム処理を実施している。以下に JRA 競走馬



[図 13](#) HI 試験の 1 例（12 検体）。実際には、このプレートを約 70° に傾けて、HA 反応が阻害されて底に沈んだ血球が涙目状に垂れてくるウェルの血清の最高希釈倍数の逆数を HI 抗体価とする。例えば、1 番の HI 抗体価は 160 で、4 番や 8 番は <10 である。

総合研究所で行っている血清処理方法を示す。

血清 1 容に 0.5 容の 0.8% トリプシン液を加えて、10 分間室温で反応させたのち、熱処理 (56℃ 30 分間) を行う。次に 0.011M 過ヨウ素酸カリウム液 3 容を加えて、60 分間室温で反応させたのち、3 容の 1% グリセリン液を加えて過ヨウ素酸カリウムの作用を中和させる。処理は以上であるが、この時点で血清は 7.5 倍に希釈されている。通常は、さらに 0.5 容あるいは 2.5 容の PBS (pH 7.2 ~ 7.4) を加えて、血清の初希釈を 1:8 あるいは 1:10 とし、2 倍階段希釈列を作製する。また馬血清によっては、非特異的な血球凝集性を示す場合があるので、このような血清に対しては、インヒビター除去後の処理血清の 1/20 容の鶏血球 (HA, HI 試験に使用するもの) を加えて転倒混和し、室温で 1 時間吸収する。途中、適宜、転倒混和し、血球が沈殿しないように保つ。その後、2,000rpm 10 分程度遠心し、上清を分離し、HI 試験または中和試験に使用する。HI 試験時には、必ず HA 抗原フリーのウェルを設定し、血清中の凝集物質が完全に吸収されているかを確認する。

一方、SRH 試験は、非特異的なインヒビターの干渉を受けないこと、および血清の階段希釈列の作製が不要なことなどが利点である。しかし、使用する抗原の力価が、最低でも 512 ~ 1,024HA 単位 /50 μ l はないと、鮮明な溶血輪を得られないことから、新鮮分離株のような力価の低い抗原の場合には、超遠心処理などによりウイルスを濃縮させる必要がある。また、抗原性の差異に対する感受性は低く、抗体の交差反応性の比較には不向きである。主に欧州で、ワクチン接種馬の血清中抗体を定量し、ワクチンの免疫原性の評価に使用されることが多い。

HI 試験は HA に対する抗体 (HI 抗体) だけを測定する方法であるが、中和試験では HI 抗体を含むウイルス全体の増殖を抑制 (中和) する抗体を検出する方法であることから、中和試験では感染を抑制する抗体を直接的に測定している。さらに、中和試験はウイルスの抗原の変化を HI 試験よりも鋭敏に検出できることから、手間や時間はかかるものの、ワクチンの評価のためには中和試験を実施することが望ましい。



図 14 SRH 試験の 1 例 1 と 6 番の血清は、SRH 抗体陰性。2, 3, 4 および 5 番の血清では溶血輪が認められるため、それぞれノギスを用いて直径を測定し、面積を求めて SRH 抗体価とする。

主な参考文献

1. 秋山 紳, 熊埜御堂 毅, 平沢 澄, 奥田 慶熙, 田淵 英一 1972. 1971 年末日本で流行したウマインフルエンザについて—発生概況と HI 抗体調査成績—. 日本中央競馬会競走馬保健研究所報告 9: 10-28.
2. Heine, H. G., Trinidad, L., Selleck, P. and Lowther, S. 2007. Rapid detection of highly pathogenic avian influenza H5N1 virus by TaqMan reverse transcriptase-polymerase chain reaction. Avian Dis 51: 370-372.
3. Nemoto, M., Yamanaka, T., Bannai, H., Tsujimura, K., Kondo, T. and Matsumura, T. 2011. Development and evaluation of a reverse transcription loop-mediated isothermal amplification assay for H3N8 equine influenza virus. J Virol Methods 178: 239-242.
4. Newton, J. R., Daly, J. M., Spencer, L. and Mumford, J. A. 2006. Description of the outbreak of equine influenza (H3N8) in the United Kingdom in 2003, during which recently vaccinated horses in Newmarket developed respiratory disease. Vet Rec 158: 185-192.
5. Powell, D. G., Watkins, K. L., Li, P. H. and Shortridge, K. F. 1995. Outbreak of equine influenza among horses in Hong Kong during 1992. Vet Rec 136: 531-536.
6. Singh, R. K., Dhama, K., Karthik, K., Khandia, R., Munjal, A., Khurana, S. K., Chakraborty, S., Malik, Y. S., Virmani, N., Singh, R., Tripathi, B. N., Munir, M. and van der Kolk, J. H. 2018. A Comprehensive Review on Equine Influenza Virus: Etiology, Epidemiology, Pathobiology, Advances in Developing Diagnostics, Vaccines, and Control Strategies. Front Microbiol 9: 1941.
7. Webster, R. G., Bean, W. J., Gorman, O. T., Chambers, T. M. and Kawaoka, Y. 1992. Evolution and ecology of influenza A viruses. Microbiol Rev 56: 152-179.
8. Yamanaka, T., Tsujimura, K., Kondo, T., Hobo, S. and Matsumura, T. 2006. Efficacy of oseltamivir phosphate to horses inoculated with equine influenza A virus. J Vet Med Sci 68: 923-928.
9. Yamanaka, T., Niwa, H., Tsujimura, K., Kondo, T. and Matsumura, T. 2008. Epidemic of equine influenza among vaccinated racehorses in Japan in 2007. J Vet Med Sci 70: 623-625.
10. Yamanaka, T., Cullinane, A., Gildea, S., Bannai, H., Nemoto, M., Tsujimura, K., Kondo, T. and Matsumura, T. 2015. The potential impact of a single amino-acid substitution on the efficacy of equine influenza vaccines. Equine Vet J 47: 456-462.
11. Yamanaka, T., Nemoto, M., Bannai, H., Tsujimura, K., Kondo, T., Matsumura, T., Gildea, S. and Cullinane, A. 2016. Assessment of antigenic difference of equine influenza virus strains by challenge study in horses. Influenza Other Respir Viruses 10: 536-539.
12. Yamanaka, T., Nemoto, M., Bannai, H., Tsujimura, K., Kondo, T., Matsumura, T., Gildea, S. and Cullinane, A. 2016. Evaluation of twenty-two rapid antigen detection tests in the diagnosis of Equine Influenza caused by viruses of H3N8 subtype. Influenza Other Respir Viruses 10: 127-133.
13. Yamanaka, T., Bannai, H., Nemoto, M., Tsujimura, K., Kondo, T., Muranaka, M., Hobo, S., Minamijima, Y. H., Yamada, M. and Matsumura, T. 2012. Efficacy of a single intravenous dose of the neuraminidase inhibitor peramivir in the treatment of equine influenza. Vet J 193: 358-362.
14. Yamanaka, T., Nemoto, M., Bannai, H., Tsujimura, K., Kondo, T., Matsumura, T., Fu, T. Q. H., Fernandez, C. J., Gildea, S. and Cullinane, A. 2017. Rapid diagnosis of equine influenza by highly sensitive silver amplification immunochromatography system. J Vet Med Sci 79: 1061-1063.

おわりに

日本において、2007 年から 2008 年の流行以来、馬インフルエンザウイルスは検出されていませんが、海外では常に流行しており、侵入のリスクは常にあります。その証拠に、動物検疫所においては毎年のように海外からの輸入馬から馬インフルエンザウイルスが検出されています。馬インフルエンザの最も重要な防疫対策は、動物検疫等の水際防疫に加えて、ワクチン接種です。しかし、馬インフルエンザウイルスは他の動物同様に変異が激しいため、ワクチン効果を得るためには必要に応じてワクチンに使用するウイルス株を変更する必要があります。実際に、2012 年の第 3 版から本改訂版までの間に、2016 年にワクチン株が 1 回変更されています。今後も馬インフルエンザウイルスは変

異を続けていきますので、我々はそれに合わせてワクチン株を変更する必要が出てくることでしょう。

今回の第 4 版では、山中隆史博士および太田稔博士が執筆した第 3 版発行後の新知見、特に疫学、診断法、そしてワクチンの項目を中心に改訂しました。さらに詳しく馬インフルエンザウイルスについて知りたい方は、参考文献をご覧ください。

最後に、本冊子を読んでいた方の馬インフルエンザに対する理解が深まりましたら、著者としてこれ以上の喜びはありません。

日本中央競馬会 競走馬総合研究所
根本 学

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. 馬のピロプラズマ病 …… 昭和61年
11. 馬の水胞性口炎 …… 昭和62年
12. 馬の寄生虫病 …… 昭和63年
13. 馬ウイルス性動脈炎(第2版) …… 平成元年
14. 馬のポトマック熱 …… 平成2年
15. 消毒法Q & A …… 平成3年
16. 馬トリパノゾーマ病 …… 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. 子馬のロドコッカス感染症 …… 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. 馬ピロプラズマ病(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
48. 馬ピロプラズマ病(第3版) …… 平成24年
49. 馬インフルエンザ(第3版) …… 平成24年
50. 消毒法Q&A …… 平成24年
51. 馬原虫性脊髄脳炎(第2版・補訂版) …… 平成24年
52. 馬伝染性子宮炎(第3版) …… 平成25年
53. 馬の感染症(第4版) …… 平成25年
54. 馬のゲタウイルス感染症
(第1版・補訂版) …… 平成26年
55. ウマロタウイルス病(第2版) …… 平成26年
56. 馬の寄生虫病(第1版・補訂版) …… 平成26年
57. 馬の日本脳炎(第2版) …… 平成26年
58. 馬パラチフス(第3版) …… 平成27年
59. 子馬のロドコッカス感染症(第2版) …… 平成28年
60. 馬脳炎(東部馬脳炎・西部馬脳炎・ベネズエラ馬脳炎)
(第1版) …… 平成28年
61. 馬の真菌症(第2版) …… 平成28年
62. 馬のウエストナイルウイルス感染症
(第2版) …… 平成29年
63. 馬パラチフス(第3版・補訂版) …… 平成29年
64. 馬のゲタウイルス感染症(第2版) …… 平成29年
65. 馬伝染性子宮炎(第3版・補訂版) …… 平成29年
66. 馬パラチフス(第3版・補訂版第2刷) …… 平成30年
67. 馬鼻肺炎(第4版) …… 平成31年
68. 馬ピロプラズマ病(第4版) …… 令和元年
69. 馬インフルエンザ(第4版) …… 令和元年

日本中央競馬会助成事業

地方競馬益金補助事業

平成 6 年 3 月 第 1 版第 1 刷発行
平成 17 年 3 月 第 2 版第 1 刷発行
平成 20 年 3 月 第 2 版第 2 刷発行
平成 24 年 11 月 第 3 版第 1 刷発行
令和 元年 12 月 第 4 版第 1 刷発行

公益社団法人 中央畜産会

〒101-0021 東京都千代田区外神田2丁目16番2号
第2ディーアイシービル9階
TEL. 03 (6206) 0832