

# 馬鼻肺炎

Equine rhinopneumonitis

# 目次

発刊にあたって

馬鼻肺炎の要約

馬鼻肺炎について

<b>I 病原体</b> .....	<b>3</b>
<b>II 感染様式</b> .....	<b>4</b>
<b>III 疫学</b> .....	<b>5</b>
1. 呼吸器疾患 .....	5
2. 流産 .....	5
3. 神経疾患 .....	5
<b>IV 発症機序と臨床症状</b> .....	<b>6</b>
1. 呼吸器疾患 .....	6
2. 流産 .....	8
3. 神経疾患 .....	9
<b>V 病理</b> .....	<b>10</b>
1. 流産胎子 .....	10
2. 神経病変（髄膜脊髄脳症） .....	12
<b>VI 診断</b> .....	<b>13</b>
1. 病原学的診断法 .....	13
1) ウイルス分離 .....	13
2) PCR 法 .....	13
3) LAMP 法 .....	13
2. 血清学的診断法 .....	14
<b>VII 治療</b> .....	<b>15</b>
<b>VIII 予防</b> .....	<b>16</b>
1. ワクチン接種 .....	16
2. 飼養衛生管理 .....	16
3. まん延防止措置 .....	17

主な参考資料

おわりに

## 発刊にあたって

馬鼻肺炎は、わが国の馬群内で最も頻繁に発生しているウイルス感染症で、競走馬群では冬季発熱の主要な原因となり、発症馬の調教あるいは出走スケジュールに影響を与えます。また、馬鼻肺炎による流産は依然として生産地で毎年認められ、非常に大きい経済的損失をもたらしています。さらに、近年欧米では、神経型の馬鼻肺炎の流行が増加傾向にあり、競馬開催や馬術競技会が中止に追い込まれる事例が報告されています。

馬鼻肺炎の原因となるウマヘルペスウイルス1型と4型は、ウマの体内で潜伏感染・再活性化するため、感染既往馬は持続的なレゼルボアとなります。したがって、馬群に定着した両ウイルスを撲滅することは極めて困難です。また、これらのウイルスは伝染性が強く、さらにワクチンによる防御が難しい病原体であることが知られています。このことから、馬鼻肺炎による被害を最小限に抑えるためには、本疾病の特徴をよく理解した上で、可能な予防対策と感染の拡大防止策を講じることが重要です。

本パンフレットは2007年に発行された第3版をもとに、2014年から市販された生ワクチンや簡易遺伝子検査法であるLAMP法に関する情報など、新たな内容を加えて全面的に改訂したものです。本パンフレットが馬鼻肺炎の理解と防疫の一助となれば幸いです。

平成31年3月

公益社団法人 中央畜産会

## 馬鼻肺炎の要約

馬鼻肺炎は、ウマヘルペスウイルス1型（EHV-1）あるいは4型（EHV-4）感染によって引き起こされる伝染性疾患の総称で、呼吸器疾患、流産、神経疾患が含まれる。EHV-1とEHV-4の間で、抗原性にかかわるウイルス膜糖タンパク質の多くが高いアミノ酸配列の相同性を持つため、かつては両ウイルスの血清学的な型別が困難であった。しかしながら、現在では、膜糖タンパク質の型特異領域を標的にした血清診断法を用いることで、感染型別が容易に可能である。

感染馬の鼻汁および感染による流産の胎子臓器・胎盤・羊水には大量のウイルスが含まれ感染源となる。ウイルスの侵入門戸は鼻腔で、感染源への直接的な接触や生じた飛沫の吸引が主な伝播ルートと考えられる。また、ウイルスに汚染されたヒトの手や馬具などを介した間接的な接触による伝播も可能性がある。上気道粘膜で増殖したウイルスは、末梢血単核球に感染して細胞随伴性ウイルス血症として全身を循環し、数週間後にリンパ節等で潜伏感染状態となる。潜伏感染ウイルスの再活性化は、輸送、トレーニング、寒冷暴露、放牧馬群の入替えなどのストレスがウマに加わることで起こる。再活性化したウイルスは上気道粘膜に達すると鼻腔から外部に排出されるが、その際に多くの場合は無症状のため、気づかれずに周囲にウイルスが伝播する。

馬鼻肺炎の呼吸器疾患は、EHV-4に感染した若齢馬で季節を問わず発生する。一方、EHV-1感染による呼吸器疾患は、日本国内の競走馬の冬季発熱の主要な原因となっている。主な臨床症状は発熱、水様性から膿性の鼻汁排出、下顎リンパ節の腫脹であるが、典型的な症状が観察されるのは初感染時のみで、再感染時は症状が軽減する。

馬鼻肺炎の流産から分離されるウイルスは、ほとんど全てがEHV-1で、EHV-4感染による流産は極めてまれである。ウイルス血症で妊娠馬の子宮に運ばれたウイルスが、胎盤を越えて胎子に感染すると流産が起こる。野外の馬鼻肺炎の流産は、母馬の前駆症状なしに発生することが特徴で、好発時期は胎齢9か月以降である。流産胎子には、ほとんどの症例で特徴的な病変が認められ、診断的価値のある肉眼所見は胸水の増量貯留、肺の水腫および肝臓の多発性微小壊死巣形成である。

EHV-1感染による神経疾患の発生は日本国内では

まれであるが、近年欧米では発生が増加傾向にある。ウイルス血症で中枢神経系に運ばれたウイルスは、血管内皮細胞に感染して血管炎を引き起こす場合がある。馬鼻肺炎の神経疾患は、この血管炎に起因する脳脊髄梗塞によって引き起こされる。症状は主に後駆に現れ、軽度の歩行異常から重症の場合は後駆麻痺に進行して起立不能に陥る。このような症例では、剖検において脳あるいは脊髄に出血巣や微小軟化巣が認められることがある。なお、流産と同様に、EHV-4感染による神経疾患は、世界的にもこれまでほとんど報告がない。

馬鼻肺炎の病原学的診断法には、ウイルス分離、PCR法、LAMP法がある。呼吸器疾患や神経疾患では鼻腔スワブと末梢血単核球が材料に適している。流産の場合は胎子の肺、胸腺、肝臓などの主要臓器を用いる。一般的な血清学的診断法として、補体結合反応、ウイルス中和試験があるが、EHV-1とEHV-4の感染を型別する際には型特異領域を標的にしたELISA法を用いる。また、感染抗体とワクチン抗体を識別するELISA法も開発されている。

馬鼻肺炎の呼吸器疾患は特別な治療を必要としないが、ウマの状態に応じて補液等の対症療法を行う。一方、神経疾患が重症化して起立不能に陥ったウマを救命するためには集中的な看護が必要となる。なお、神経疾患に対する薬物療法については、現時点でその効果は科学的に十分検証されていない。

EHV-1感染による馬鼻肺炎は、伝染性が強く発生時の経済的損失も大きいことから、ワクチン接種、飼養衛生管理、発生時のまん延防止措置による積極的な予防対策を行う。馬鼻肺炎のような伝染性の強い感染症では、馬群のワクチン接種率を高めて、集団内での感染拡大リスクを低下させることが重要である。飼養衛生管理の要点としては、飼養環境の清浄性の維持、新規導入馬の一定期間の隔離、妊娠馬群と他の馬群の分離、ストレスを軽減する飼養管理等が挙げられる。まん延防止措置が特に重要となるのは流産発生時で、わずかでも馬鼻肺炎を疑う場合はその想定で対応を行う。所轄家畜保健衛生所への連絡等の初期対応、消毒、流産母馬の隔離、流産胎子の保管・搬出など、一連の対応を事前に整理して行動計画を作成しておくことは、迅速な対応のために有用である。

# 馬鼻肺炎について

## I

## 病原体

馬鼻肺炎は、ウマヘルペスウイルス1型 (EHV-1) あるいは4型 (EHV-4) 感染によって引き起こされる伝染性疾患の総称で、呼吸器疾患、流産、神経疾患が含まれる。両ウイルスは、ヘルペスウイルス科アルファヘルペスウイルス亜科バリセロウイルス属に分類される。ウイルスの粒子構造は、ゲノムを容れる正20面体のヌcleoカプシド (図1) と、その周囲のテグメント、最外層の脂質エンベロープから成り、脂質エンベロープに埋め込まれた膜糖タンパク質は、ウイルスの宿主細胞への吸着と侵入、細胞間伝播などに関与する。なお、血清抗体の標的はこれら膜糖タンパク質である。ウイルスゲノムは直鎖状の2本鎖DNAで、

1992年に EHV-1 (150,224 塩基対)、1998年に EHV-4 (145,597 塩基対) の全塩基配列が決定され、それらの塩基配列の解析から、両ウイルスともにゲノム上に76種類の遺伝子の存在が推定されている。両ウイルス間の各遺伝子の相同性はアミノ酸配列で55～96%で、遺伝子によって大きな相違が認められる。ただし、抗原性にかかわる膜糖タンパク質の多くが80%以上の高いアミノ酸配列の相同性を持つため、かつては両ウイルスの血清学的な型別が困難であった。しかしながら、現在では、膜糖タンパク質の型特異領域を標的にした血清診断法を用いることで、感染型別が容易に可能である。

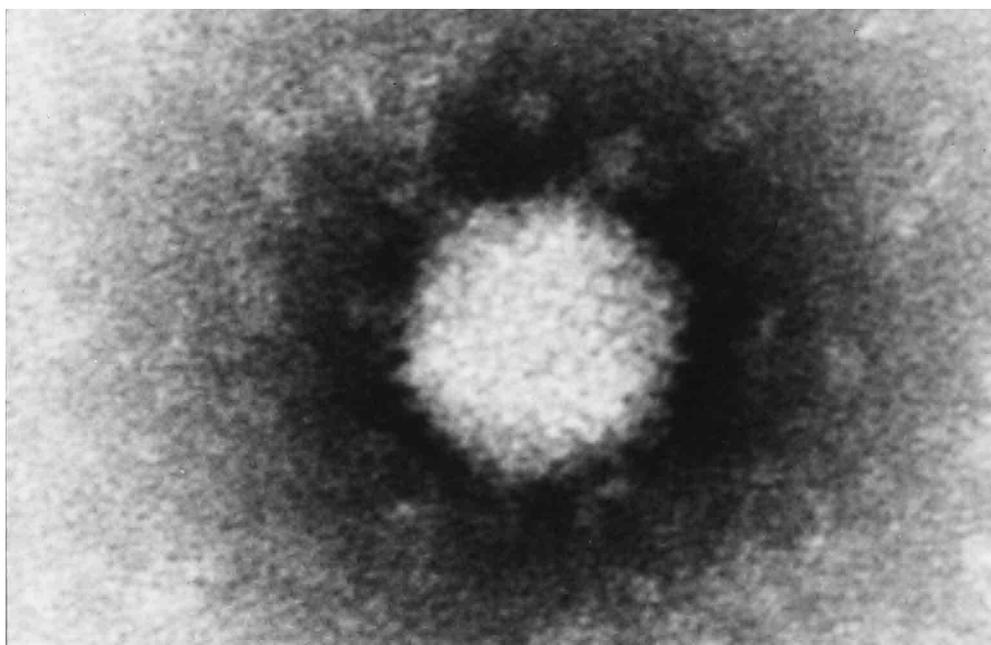


図3. EHV-1のヌcleoカプシド(電子顕微鏡写真)

感染馬の鼻汁および感染による流産の胎子臓器・胎盤・羊水には大量のウイルスが含まれ感染源となる。ウイルスの侵入門戸は鼻腔で、感染源への直接的な接触や生じた飛沫の吸引が主な伝播ルートと考えられる。また、ウイルスに汚染されたヒトの手や馬具などを介した間接的な接触による伝播も可能性がある。ウイルスは上気道で増殖し、感染既往のないウマでは、感染後2週間以上にわたって鼻腔からウイルスを排出する可能性がある。一方、再感染時にはウイルスの排出期間は短縮する。上気道粘膜で増殖したウイルスは、粘膜固有層に分布する末梢血単核球（PBMC）に感染する。感染PBMCによって所属リンパ節に運ばれたウイルスは同部位で増殖し、細胞随伴性ウイルス血症として全身を循環する。ただし、ウイルス血症の発現はEHV-1とEHV-4で大きく異なり、EHV-1では感染後7日目頃をウイルス量のピークとして2週間を過ぎても認めら

れるのに対し、EHV-4では初感染であってもウイルス血症は一過性の僅かな期間のみで、再感染馬では認められないことが多い。PBMC内のウイルスは、数週間後にリンパ節等で潜伏感染状態となる。また、三叉神経節もウイルスの潜伏感染部位と考えられている。潜伏感染状態のウイルスは、タンパク質の発現を制限することで宿主の免疫細胞の認識から逃れるため、体内から排除されることはない。潜伏感染ウイルスの再活性化は、輸送、トレーニング、寒冷暴露、放牧馬群の入替えなどのストレスがウマに加わることで起こる。再活性化したウイルスは上気道粘膜に達すると鼻腔から外部に排出されるが、その際に多くの場合は無症状のため気づかれないまま周囲にウイルスが伝播する。また、妊娠馬での再活性化は流産を引き起こす可能性があり、馬群内でのウイルスの流行を伴わない単発の流産の多くは、このことが原因と推測される。

### 1. 呼吸器疾患

馬鼻肺炎の呼吸器疾患は、EHV-4に感染した若齢馬で季節を問わず発生する。一方、EHV-1感染による呼吸器疾患は、日本国内の競走馬の冬季発熱の主要な原因となっている。競走馬は0から1歳の育成期に牧場や調教施設でEHV-4に感染する。これらの馬群で、しばしば発生する呼吸器疾患の流行は、同ウイルスが原因であることが多い。その後、2歳となって競走生活が始まると、そのシーズンの冬季（12月から翌年4月）に多くのウマがEHV-1の感染を受ける。このことが冬季に競走馬の発熱が増加する主要な原因であるが、育成期のEHV-4感染で得た交差免疫によって感染馬の多くは不顕性で、発症馬も一過性の発熱を示すだけのことが多い。ただし、軽症であっても休養のため競馬に出走できなくなるなど、関係者に与える経済的損失は大きい。

### 2. 流産

馬鼻肺炎による流産から分離されるウイルスは、ほとんど全てがEHV-1で、EHV-4感染による流産は極めてまれである。EHV-1が日本国内に侵入したのは1967年で、その後はEHV-1感染による流産が毎年発生し、近年でも1シーズンに50例を超える発生が認められることがある（図2）。同一牧場で続発例が2～4週間後に認められた場合は、初発の流産からの水平感染が疑われる。一方で、短期間に流産が続発した場

合は、初発流産前に牧場内でウイルスの活発な伝播があり、同時期に感染を受けた複数の妊娠馬が流産したと考えられる。また、これまでの調査で、同居する若齢の育成馬が牧場内でのウイルスの増幅・伝播に関与して、流産の多発を引き起こす可能性が示されている。

### 3. 神経疾患

EHV-1感染による神経疾患の発生は、日本国内ではまれである。最初に確認されたのは1989年で、競走馬群でEHV-1による呼吸器疾患の流行が発生した際に、流行に巻き込まれたウマの数頭が解熱後に神経症状を呈した。その後、競走馬群での大きな流行は認められず、生産地で牧場規模の発生が数回報告されているのみである。一方、近年欧米では、EHV-1感染による神経疾患の発生が増加傾向にあり、その際の分離株の大半がDNAポリメラーゼ遺伝子（ORF30）に1塩基置換を持つ変異株であることが報告されている。同株の感染では、ウイルス血症の期間が長く、かつ血中のウイルス量が多くなることが分かっており、このことが高い神経病原性に関係すると考えられている。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、同株が国内に広く伝播した場合に大きな被害を生じると想定されることから、その動向に注意が必要である。なお、流産と同様に、EHV-4感染による神経疾患は、世界的にもこれまでほとんど報告がない。

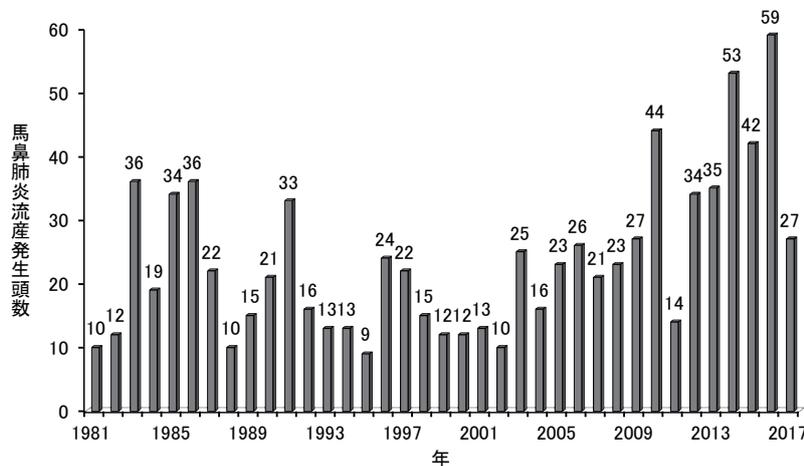


図2. 1981年から2017年までの日本における馬鼻肺炎流産の発生状況（軽種馬防疫協議会資料）

馬鼻肺炎の呼吸器疾患がウイルスの上気道での局所感染によるものであるのに対し、流産と神経疾患はウイルス血症を介して、子宮胎盤や中枢神経系まで感染が全身性に広がることによって引き起こされる。したがって、呼吸器疾患は EHV-1 と EHV-4 のいずれのウイルスの感染でも発症するが、ウイルス血症が EHV-1 と比較して軽度な EHV-4 感染では、流産や神経疾患を発症することはほとんどない。

### 1. 呼吸器疾患

馬鼻肺炎の呼吸器疾患はウイルスによる上気道粘膜の傷害によって引き起こされ（図3）、EHV-1 と EHV-4 の間で臨床症状に大きな差は認められない（図

4、5）。初感染のウマでは、感染後約2日で体温が上昇し、39～40°C を超える発熱が5日程度続く。発熱とほぼ同時あるいはやや遅れて認められる鼻汁は、初期は水様性で、その後、粘性の強い膿性へと変化して10日程度持続する（図6）。下顎リンパ節の腫脹は、発熱2～3日後から認められるが、EHV-1 に感染したウマの方が EHV-4 に感染したウマに比べ、腫脹の期間が長引く傾向にある。食欲の減退は発熱初期および高熱時に認められることがある。なお、野外でこのような典型的な臨床症状が認められるのは、移行抗体が消失した時期の当歳馬が初感染を受けた場合等で、再感染時は EHV-1 と EHV-4 のいずれの感染であっても症状は軽減する。

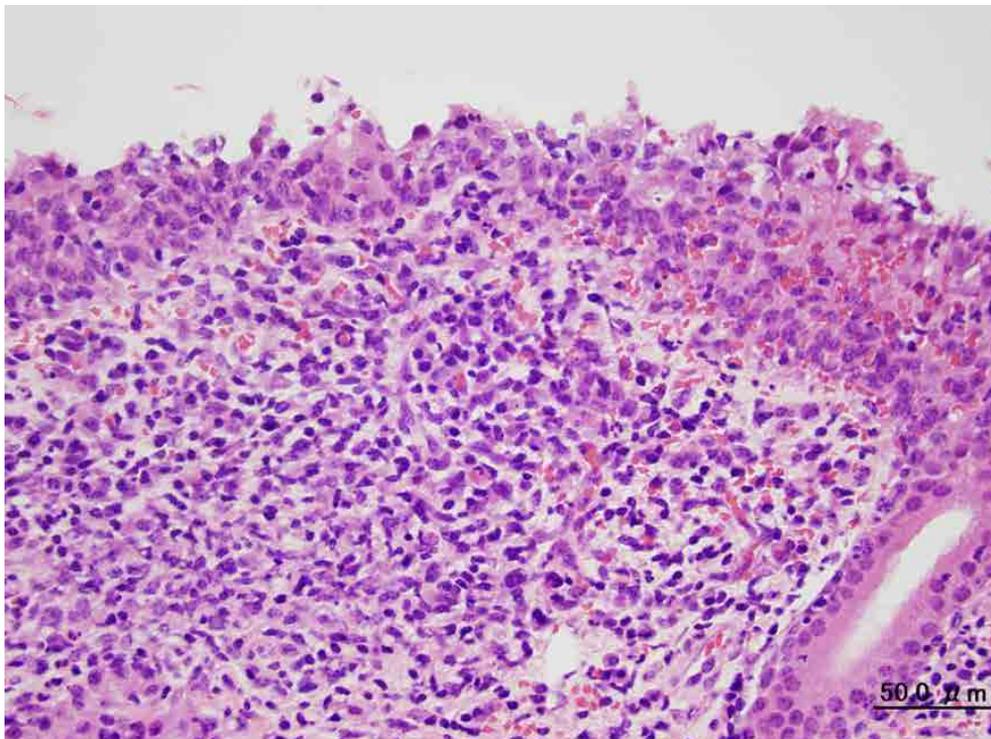


図3. EHV-1 実験感染馬の鼻粘膜（HE 染色）：  
粘膜上皮の壊死と粘膜下組織の炎症細胞浸潤

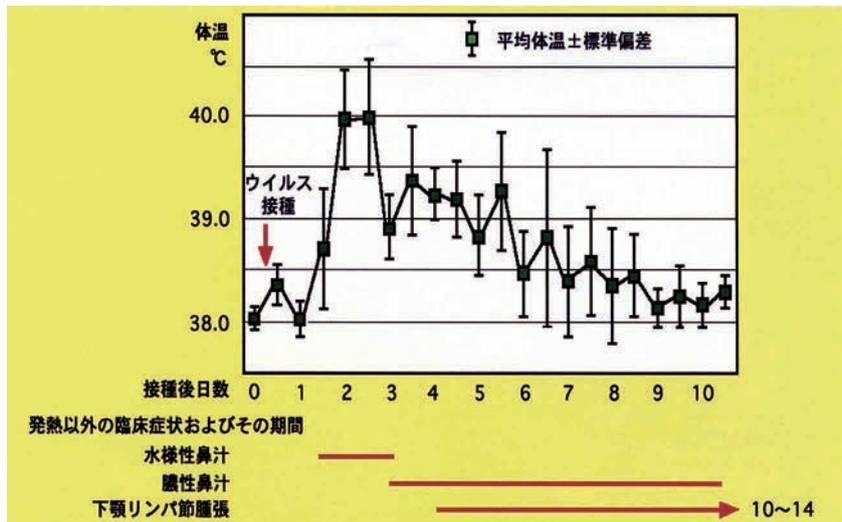


図 4. EHV-1 実験感染馬 5 頭の臨床症状

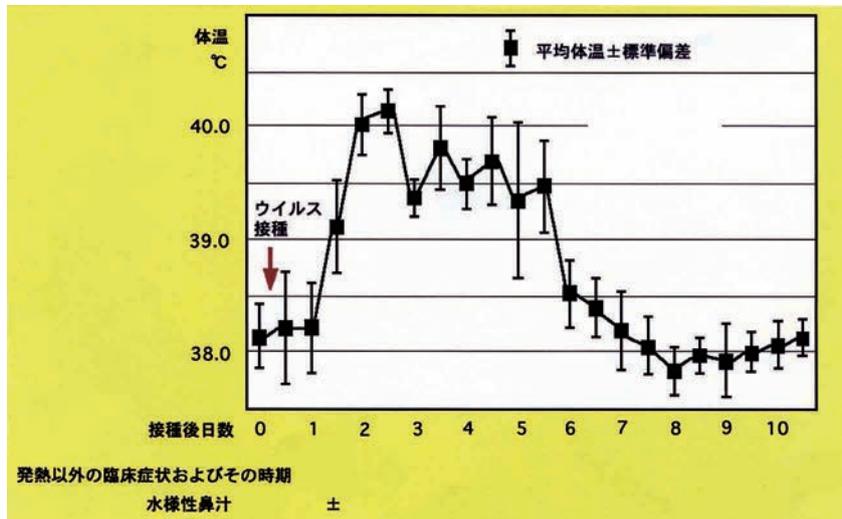


図 5. EHV-4 実験感染馬 4 頭の臨床症状



図 6. EHV-1 実験感染馬で認められた膿性鼻汁の排出

## 2. 流産

ウイルス血症によって妊娠馬の子宮に到達したウイルスは、子宮内膜の血管内皮細胞に感染する。妊娠馬への EHV-1 の実験感染では、ウイルス血症の発症後 1 週間程度で子宮内膜の血管炎が認められ、同部位の血管内皮細胞や浸潤マクロファージに EHV-1 抗原が観察される (図 7)。ウイルスの胎子への移行はこの血管病変を介して起こると推測されるが、その詳細な

機序は今のところ明らかではない。実験感染の場合、鼻腔内接種から流産発症までには 2 週間以上の長い期間を要することが多い。野外での馬鼻肺炎による流産は、母馬の前駆症状なしに発生することが特徴で、好発時期は胎齢 9 か月以降である。多くの症例において流産胎子は新鮮で、胎膜に包まれたまま娩出されることもある (図 8)。

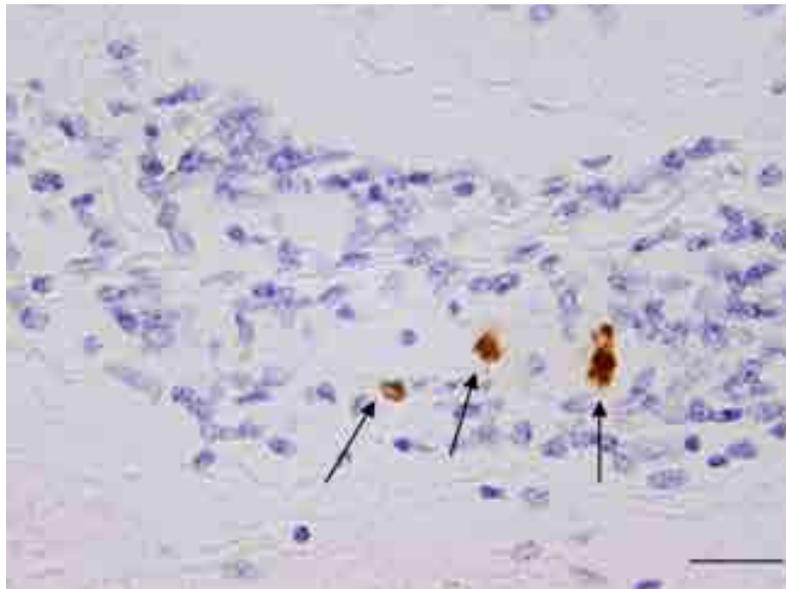


図 7. EHV-1 実験感染妊娠馬の子宮内膜 (EHV-1 免疫染色)：血管内皮細胞および浸潤マクロファージに認められた EHV-1 抗原 (矢印)



図 8. EHV-1 感染による流産胎子：左は胎膜に包まれたまま娩出された流産胎子、右は胎膜内に認められた胎子

### 3. 神経疾患

子宮と同様に中枢神経系でも、ウイルスが血管内皮細胞に感染して血管炎を引き起こす場合がある。その結果、病変部位に血栓を生じると（図9）、血管の栓塞による神経組織の虚血性壊死（梗塞）が起こる。すなわち、馬鼻肺炎の神経疾患は、ウイルスによる直接的な神経細胞傷害ではなく、血管炎に起因する脳脊髄梗

塞によって引き起こされる。なお、症状は主に後躯に現れ、軽度の歩行異常から重症の場合は後躯麻痺に進行して起立不能に陥る（図10）。また、起立不能馬では膀胱麻痺が認められることが多い（図11）。なお、神経症状の発症前には発熱が通常認められ、前駆症状として重要である。

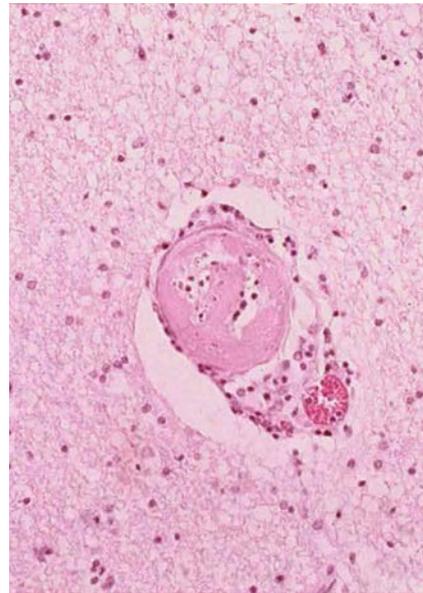
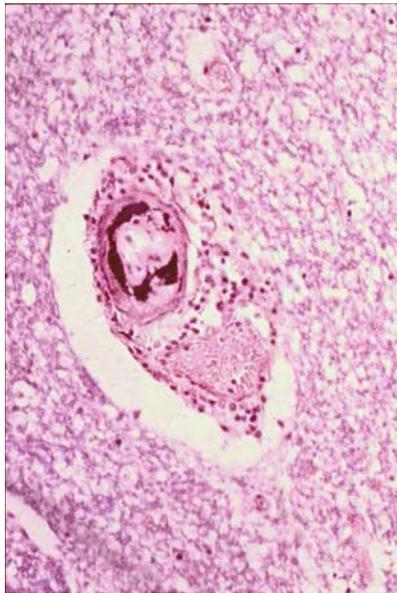


図9. EHV-1 感染馬の脊髄  
(右：HE 染色、左：PTAH 染色)：本例は神経疾患を発症、小血管内にフィブリノイド血栓を認める



図10. EHV-1 感染による神経疾患：後躯麻痺で起立不能となったウマ



図11. EHV-1 感染による神経疾患：膀胱麻痺に起因する尿失禁

## 1. 流産胎子

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

胸水の性状は、軽度混濁し、血清様である（図12）。肺の水腫は肺胸膜下と肺小葉間質に著明で、特に間質は水腫性に肥厚している（図13）。肺は水腫によって重量と硬度を増し、指圧痕が残る。肝臓の病変は被膜下に針先大から粟粒大の白色壊死巣が多発する（図14）。その数は数個程度のものから100個以上に達する症例もある。脾臓やリンパ節では充出血と腫大および濾胞の活性化が認められる（図15）。他の部位では、上気道、口腔または消化管の粘膜に出血が認められることがある。出血の程度はごく軽度の点状ない

し斑状出血からびまん性出血まで様々である。咽喉頭粘膜は水腫性である。胎盤は水腫性で壊死病巣が認められる場合がある。羊膜と胎子の蹄は胎便によって黄色を帯びていることがある。

日高家畜保健衛生所が実施した、昭和45年から平成15年までの575頭の馬鼻肺炎流産胎子を対象とした調査では、胎齢300日までの流産胎子の80～90%で胸水の増量が認められたが、それ以降の胎齢では割合が減少し、生後直死例では46.7%であった。肺の間質性水腫および脾臓の濾胞活性化は全胎齢を通じてほぼ70～90%の頻度で認められた。肝臓の白色壊死巣は、胎齢180～209日までは80.0%で確認されたが、それ以降の胎齢では30～50%程度の発現頻度であった。

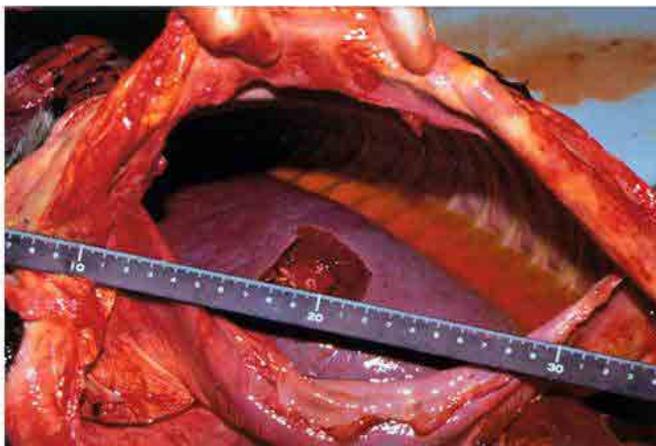


図12. 流産胎子の胸腔：やや混濁した血清様の胸水が貯留

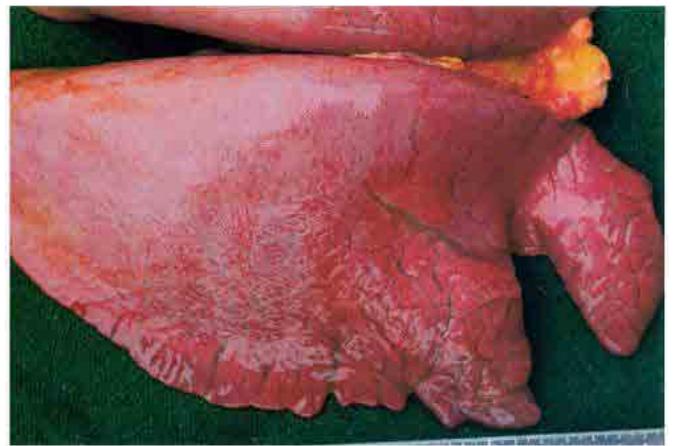


図13. 流産胎子の肺：無気肺で著しく水腫性、間質は水腫性に肥厚



図14. 流産胎子の肝臓：被膜下の微小な白色壊死巣

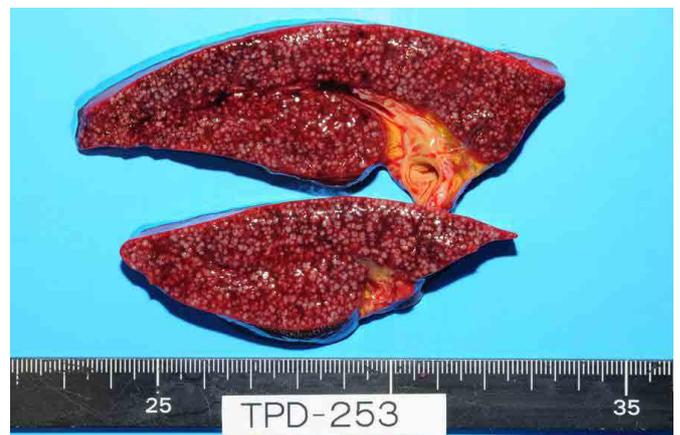


図15. 流産胎子の脾臓：濾胞の活性化

病理組織学的には、肺はしばしば著しく水腫性で、肺胞上皮や細気管支粘膜上皮には広範な壊死が認められる。また、肝臓では壊死巣が門脈周囲に多く認められる。ほとんどの症例で核内封入体が肺および肝臓を中心に見いだされ、胸腺、リンパ節などにもみられる。この核内封入体は肺では細気管支粘膜上皮細胞（図16）や肺胞上皮細胞に、また肝臓では壊死巣周囲の肝

細胞に多くみられ（図17）、封入体形成の初期には両染色性で、後期には好酸性を示す。蛍光抗体法や酵素抗体法などの免疫組織化学的検査により、肺では細気管支粘膜上皮細胞（図18）や肺胞上皮細胞、肝臓では壊死巣周囲の肝細胞（図19）、胸腺などに特異抗原が検出される。

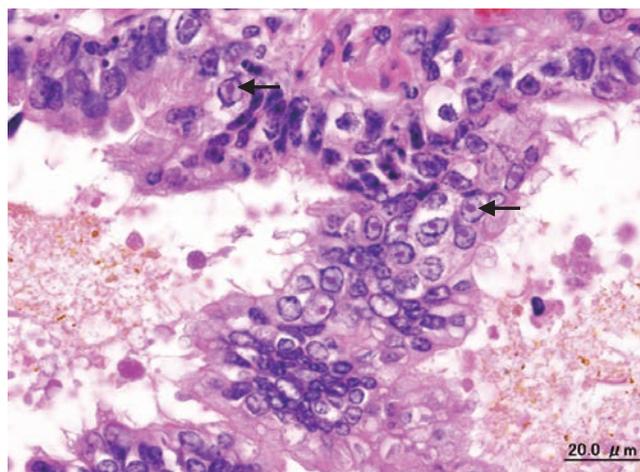


図 16. 流産胎子の肺（HE 染色）：細気管支粘膜上皮細胞に見られる核内封入体（矢印）

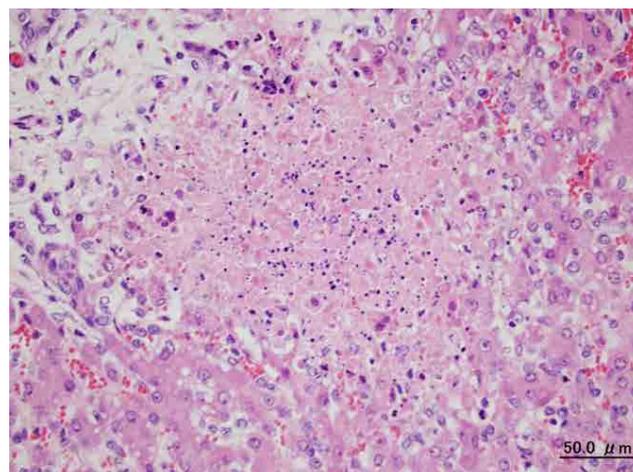


図 17. 流産胎子の肝臓（HE 染色）：肝細胞の巣状壊死、壊死巣周囲の肝細胞には核内封入体を認める

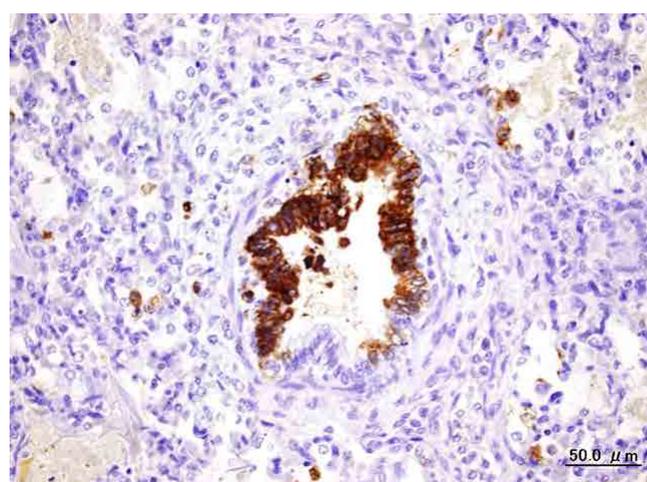


図 18. 流産胎子の肺（抗 EHV-1 免疫染色）：細気管支粘膜上皮細胞に見られる EHV-1 抗原

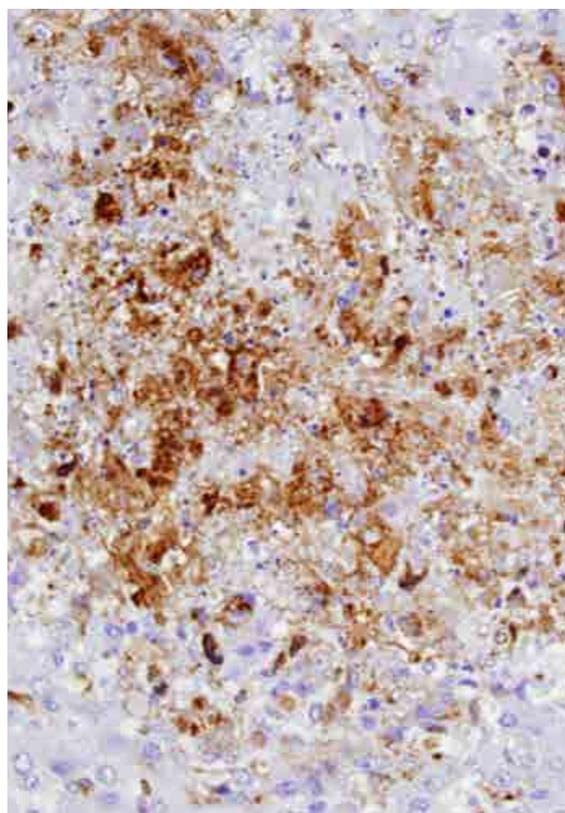


図 19. 流産胎子の肝臓（抗 EHV-1 免疫染色）：壊死巣に認められた EHV-1 抗原

## 2. 神経病変（髄膜脊髄脳症）

起立不能や腰痠を示した症例では、剖検において脳あるいは脊髄に出血巣や微小軟化巣が認められることがある（図 20）。病理組織学的検査により、大脳では微小な軟化巣形成（図 21）、脊髄では軸索膨化（図 22）などの白質変性が特徴病変である。脳脊髄および

髄膜の細・小径の動・静脈には内皮細胞の変性・壊死、血栓形成などを伴う血管炎が散見され（図 9、23）、免疫組織化学的検査では血管内皮細胞に特異抗原が検出される（図 24）。なお、神経細胞では同抗原は検出されない。



図 20. 後躯麻痺で起立不能となったウマの脊髄：第 5 胸髄（T 5）、第 13 胸髄（T 13）に認められた明瞭な出血巣

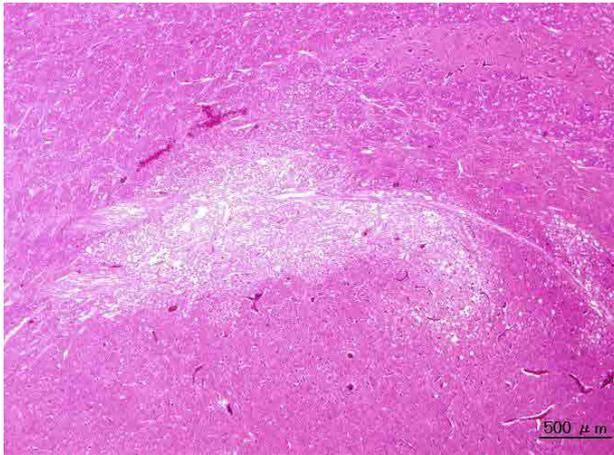


図 21. 神経疾患を発症したウマの大脳（HE 染色）：軟化病巣

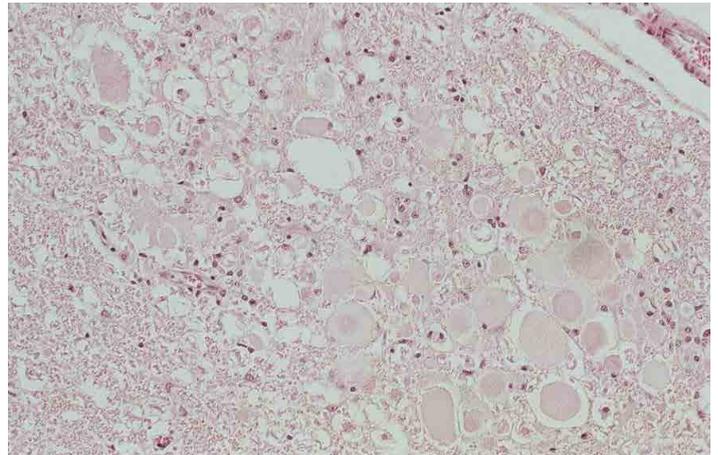


図 22. 神経疾患を発症したウマの脊髄（HE 染色）：神経軸索の膨化

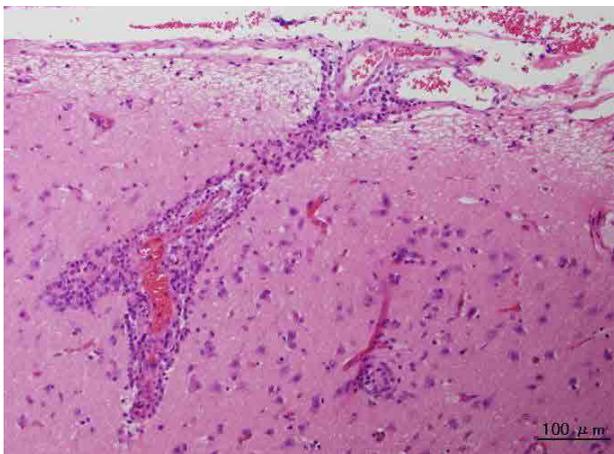


図 23. 神経疾患を発症したウマの大脳（HE 染色）：血管周囲への炎症細胞浸潤

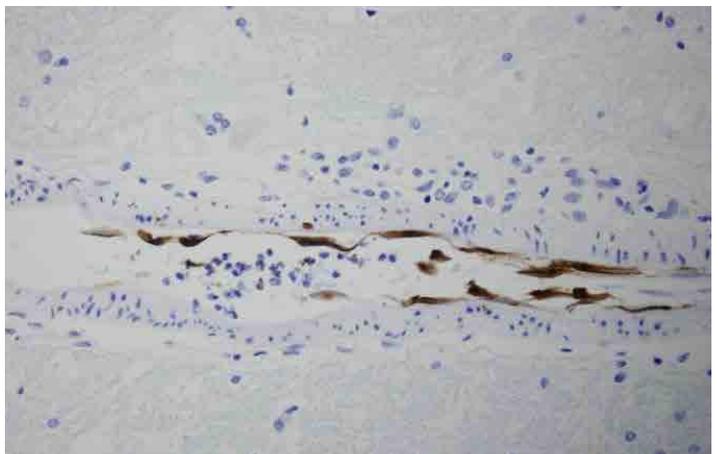


図 24. 神経疾患を発症したウマの大脳（抗 EHV-1 免疫染色）：血管内皮細胞に認められた EHV-1 抗原

馬鼻肺炎の臨床症状は必ずしも同疾病に特異的なものではない。したがって、呼吸器疾患では馬インフルエンザやライノウイルス感染症、流産では馬ウイルス性動脈炎、神経疾患では日本脳炎や脳脊髄糸状虫症など、症状に応じて類症鑑別が必要となり、以下に示す病原学的診断法や血清学的診断法によって確定診断する。

### 1. 病原学的診断法

ウイルス分離、PCR法、LAMP (Loop-mediated isothermal amplification) 法により診断する。呼吸器疾患や神経疾患では鼻腔スワブとPBMCが材料として適している。流産の場合は胎子の肺、胸腺、肝臓などの主要臓器を用いる。

#### 1) ウイルス分離

鼻腔スワブをよく攪拌後にろ過し、ろ液を分離材料とする。PBMCは、EDTA加血から比重遠心法により分離する。流産胎子臓器は、細切片あるいは乳剤にして分離に用いる。EHV-1の分離には、馬胎子腎(FHK)、MDBK、RK-13細胞を、EHV-4の分離にはFHK細胞を用いる。分離材料を培養細胞浮遊液と共培養し、翌日に培養細胞の単層形成を確認後、培養液を細胞維持用のものに交換する。1週間の観察後、細胞変性効果

(CPE) が認められない場合は盲継代を行うが、通常は初代でCPEが出現することが多い。分離ウイルスの同定は、次項で記述するPCR法により行う。

#### 2) PCR法

市販のキット等を用いて、ろ過前の細胞成分を含んだ鼻腔スワブ、PBMC、流産胎子臓器から核酸を抽出して鋳型とする。様々なPCR法が報告されており、Lawrenceらが開発した膜糖タンパク質gC遺伝子を標的とした方法では、増幅産物の鎖長の違いで、EHV-1とEHV-4を型別する。また、III章で記述した神経病原性に関与するEHV-1のORF30の型別には、Smithらが開発したリアルタイムPCR法を用いる。

#### 3) LAMP法

臨床現場でも実施可能な遺伝子診断法として、根本らが開発したEHV-1とEHV-4のそれぞれに特異的なLAMP法がある。同法は等温で反応を行うことから、特別な装置を必要とせず、ウォーターバスで実施可能である。また、遺伝子増幅は、濁度や蛍光の上昇として目視で判定可能で(図25)、電気泳動を必要としない。鼻腔スワブを検体とする場合、核酸抽出の代わりに96°C、5分間の熱処理を行うことにより、作業が簡便になるだけでなく、検出感度が向上する。



図25. LAMP法による検査結果：左3検体（緑色）が陽性、右2検体（茶色）が陰性

## 2. 血清学的診断法

一般的な血清学的診断法として、補体結合 (CF) 反応、ウイルス中和試験などがある。ウイルス中和試験にはマイクロタイター法やブラック減少法を用いるが、判定までに3～4日の培養時間を要する。一方、坂内らが近年開発したフォーカス減少法によるEHV-1中和試験は、培養時間が36時間と短いことから、短期間で多検体を検査するのに適している。なお、EHV-1とEHV-4には共通抗原性があるため、CF反応およびウイルス中和試験では、どちらのウイルスに感染したのか識別できない。また、CF抗体と中和抗体は、ワクチン接種でも上昇する。

上記の診断法を補うものとして、Crabbらが開発したgG-ELISA法(安永らが改変)があり、抗原としてEHV-1とEHV-4それぞれの膜糖タンパク質gGのC末端領域の組換えタンパク質を用いる。同法は、EHV-1とEHV-4の感染抗体を識別可能で、不活化ワクチン接種による抗体を検出しないため、疫学調査や

病性鑑定に有用である。一方、2014年以降、膜糖タンパク質gE遺伝子欠損生ワクチンの導入に伴って新たな検査法が必要となり、安藤らによってEHV-1感染抗体を特異的に検出するgE1-ELISA法が開発された。同法では抗原として、gEのエピトープに相当する合成ペプチドを用いており、生ワクチン接種による抗体上昇を検出しない。また、EHV-4感染抗体を特異的に検出する合成ペプチドを用いたgG4-ELISA法も前田らによって開発され(坂内らが改変)、gE1-ELISA法と共に生ワクチン接種馬での血清学的診断法として用いられている。

上記のように、馬鼻肺炎の血清学的診断においては、ワクチン接種の有無や種類によって選択すべき診断法が異なるため、注意が必要である。また野外では、持続感染ウイルスの再活性化や繰り返し感染を受ける例が多いことから、診断にはペア血清を用いた抗体価の上昇を確認する必要がある。

馬鼻肺炎の呼吸器疾患は特別な治療を必要としないが、ウマの状態に応じて補液等の対症療法を行う。流産は母馬の前駆症状なしに発生し、流産後の母馬にも異常が認められないことが多いため、通常は治療対象とならない。一方、神経疾患の発症馬に対しては、以下に紹介する様々な治療が試みられる。

神経麻痺が重症化して起立不能に陥ったウマを救命するためには、集中的な看護が必要となる。補助で起立可能な場合は吊起帯などを使用するが、完全に立てないウマについては褥瘡予防の目的で2～4時間ごとの体位変換を行う。また、重症馬は膀胱麻痺を起こしていることが多いため、カテーテル挿入による導尿が必要となる。起立不能馬は褥瘡からの感染、横臥位での異物吸引による肺炎、膀胱炎など様々な細菌感染のリスクにさらされるため、広域スペクトル抗菌薬の投与を行う。なお、完全に起立不能に陥ったウマは救命できたとしても後遺症が残る場合が多い。

薬物療法は血管炎および血栓形成の抑制、ウイルスの増殖阻害を目的として実施される。以下に実際に使用される薬剤を紹介するが、いずれも有効性の検証が十分でなく、治療法として確立されたものではない。

抗炎症薬としては、デキサメサゾン、プレドニゾロンなどのステロイド、非ステロイド系のフルニキシメグルミンなどが用いられる。血栓形成の抑制のため、ペントキシフィリン、アセチルサリチル酸、未分画ヘパリン、低分子ヘパリンなどが使用されることがある。このうち未分画ヘパリンについては、神経疾患の流行中の発熱馬に使用したところ、使用前と比較して神経疾患の発症率が低下したとの報告がある(25,000 IU/head、1日2回、皮下、3日間)。本例は流行中に緊急的に実施した際の成績であるため、更に検証が必要であるが、有望な治療法の1つとなるかもしれない。抗ヘルペスウイルス薬として、以前はアシクロビルがよく用いられたが、経口投与の場合にウマの腸管からほとんど吸収されず、血中濃度が上昇しないことが分かっている。そこで現在は、アシクロビルの経口プロドラッグのバラシクロビル(VCV)が使用されている。なお、VCVの治療効果はウマを用いた感染実験で検証が進められているが、実験によって異なる成績が報告されている。今後は本薬剤の使用に関して、野外での治療成績も含めた総合的な評価が必要と考えられる。

EHV-4 感染による馬鼻肺炎は、重篤な臨床症状を引き起こすことがまれであるため、ワクチン接種など積極的な予防対策を行う対象と考えられていない。一方、EHV-1 感染による馬鼻肺炎は、伝染性が強く発生時の経済的損失も大きいことから、ウマの飼養施設で本疾病の発生を予防することは非常に重要である。具体的な対策としては、ワクチン接種、飼養衛生管理、発生時のまん延防止措置が挙げられる。

### 1. ワクチン接種

EHV-1 は宿主の免疫を回避する機構を多く備えているため、ワクチン接種馬であっても感染および発症を完全に抑えることは難しい。しかし、ワクチン接種によって、臨床症状の軽減や体内でのウイルス増殖の抑制が期待できる。また、馬鼻肺炎のような伝染性の強い感染症では、馬群のワクチン接種率を高めて、集団内での感染拡大リスクを低下させることが重要であり、この考え方を集団免疫と呼ぶ。その成功例としては、競走馬群でワクチン接種率を 50% 台から 90% 近くまで上昇させた結果、馬鼻肺炎による冬季の発熱馬頭数が約 80% 減少したことが挙げられる。本例が示すように、集団免疫の考え方にもとづいたワクチンの使用により、馬鼻肺炎の効果的な予防が期待できる。なお、日本国内では長く不活化ワクチンが使用されてきたが、2014 年 7 月から生ワクチンが市販されている（2016 年 11 月に妊娠馬用法の承認）。このワクチンは、膜糖タンパク質 gE 遺伝子の欠損によりウマに対する病原性を消失した EHV-1 株を含む。生ワクチンの中和抗体誘導能は、不活化ワクチンより優れていることが分かっている。JRA のトレーニング・センターでは、2014 年 12 月から生ワクチンを導入し、期間中に 2 回接種のプログラムで使用しているが、3 回接種のプログラムを採用していた不活化ワクチンと同程度の呼吸器疾患の予防効果が認められている。なお、生ワクチン接種後 24 時間以内に発熱が認められる場合があるが、症状は軽度で速やかに平熱に戻る。

### 2. 飼養衛生管理

ヒトの手や衣服、馬具などを介したウイルスの伝播を防ぐため、これらを常に清潔に保つことは重要である。その際、EHV-1 は洗剤などに含まれる界面活性剤で十分不活化されることから、石鹸を用いた手洗い、洗剤による衣服や馬具の洗浄が有効である。また、厩舎の定期的な消毒や出入口への踏込薬消毒槽の設置が推奨されるが、消毒薬の効果が低温や糞尿などの有機物の混入で低下することに注意が必要である。例えば、冬季の踏込薬消毒槽には、低温でも比較的效果を発揮する塩素系消毒薬が適しており、温水での薬液の調整も効果的である。また、糞尿などで汚れた薬液は速やかに交換することが望ましい。

新規導入馬は輸送、飼養環境の変化など高ストレス状態にあることから、潜伏ウイルスを再活性化させやすい。したがって、再活性化ウイルスの施設内での伝播を防ぐために新規導入馬を少なくとも 3 週間程度は隔離する必要がある。また、生産牧場では、妊娠馬群とその他の馬群を分離して飼養することが重要である。特に、免疫が未熟でウイルスに感染すると体内で大量に増幅する若齢馬群と妊娠馬群は可能な限り分離する。なお、胎齢に合わせて妊娠馬群をさらに小規模な群に細分化して飼養する方法も推奨される。これにより、馬鼻肺炎による流産が発生した場合でも、細分化した馬群内での発生を抑えることが期待できる。

潜伏感染した EHV-1 はストレスによって再活性化する。したがって、可能な限りストレスを軽減した飼養管理を行う。特に、馬鼻肺炎による流産の好発時期である妊娠後期は注意が必要で、この時期の放牧馬群の入替え、飼料・厩舎・放牧地の変更、長距離輸送、極度な寒冷環境への暴露などは避けるべきである。

### 3. まん延防止措置

ここでは、まん延防止が特に重要となる流産発生時の対応について説明する。ウマの流産には様々な要因があるが、僅かでも馬鼻肺炎を疑う場合はその想定で対応を行う。牧場の初期対応としては、所轄家畜保健衛生所あるいは担当獣医師への連絡、作業の役割分担、流産処理に必要な資材の準備、流産馬の隔離方法の確認などが挙げられる。なお、事前に行動計画を作成するなどして、一連の措置を整理しておくことが迅速な対応につながる。

初期対応後、流産胎子・胎盤・羊水などで汚染された敷料を中心に、流産馬も含めて馬房内の全てを消毒する。その際の消毒薬は、刺激性が比較的低いため生体に適用可能で、有機物の混入にも強い逆性せっけんの使用が推奨される。ただし、冬季の低温環境は逆性せっけんの効果を低下させることから、温水で薬液を調整する。薬液の馬房内への散布にはジョウロなどを利用し、流産馬は薬液を浸したタオルなどで清拭する。また、使用した器材や衣類などの消毒も実施する。

消毒作業が完了してから、流産馬を隔離場所へ移動させる。単独隔離が望ましいが、それが難しい場合でもウイルスを増幅する可能性がある若齢馬との同居は

避ける。流産胎子の検査結果の判明前から隔離を開始して陽性の場合は継続する。隔離の解除時期は所轄家畜保健衛生所の判断に従う。また、可能であれば全頭の出産終了まで隔離馬を妊娠馬群に入れないことが望ましい。

以上のまん延防止措置の実施後、流産胎子を所轄家畜保健衛生所に運ぶ。ウイルスの拡散を防ぐために梱包は流産馬の馬房内などで行い、体液が漏れないようビニール袋などで密封して梱包表面も消毒する。直ちに搬出できない場合は、野生動物が侵入できない場所に保管する。

なお、EHV-1が流産発生前に流行していた場合、同居馬は既に感染して無症状のままウイルスを鼻腔から排出している可能性がある。したがって、これらのウマを発生厩舎から移動して、別の馬群に合流させることは避けなければならない。また、流行中に発生する難産や虚弱子馬はウイルス感染を受けている可能性が高く、その場合の難産の整備処置や子馬の治療はウイルスを厩舎内に拡散させる恐れがある。したがって、馬鼻肺炎による流産の流行が明らかな際は、これらの措置の実施について慎重に判断する必要がある。

- 1.Allen GP, Kydd JH, Slater JD, Smith KC: Equid herpesvirus 1 and equid herpesvirus 4 infections, *Infectious Diseases of Livestock*, Coetzer JAW, Tustin RC, eds, 829–859, Oxford University Press, Cape Town (2004)
- 2.Andoh K, Takasugi M, Mahmoud HY, Hattori S, Terada Y, Noguchi K, Shimoda H, Bannai H, Tsujimura K, Matsumura T, Kondo T, Maeda K: Identification of a major immunogenic region of equine herpesvirus-1 glycoprotein E and its application to enzyme-linked immunosorbent assay, *Vet Microbiol*, 164, 18–26 (2013)
- 3.Bannai H, Mae N, Ode H, Nemoto M, Tsujimura K, Yamanaka T, Kondo T, Matsumura T: Successful control of winter pyrexias caused by equine herpesvirus type 1 in Japanese training centers by achieving high vaccination coverage, *Clin Vaccine Immunol*, 21, 1070–1076 (2014)
- 4.Bannai H, Nemoto M, Tsujimura K, Yamanaka T, Kondo T, Matsumura T: Development of a focus-reduction neutralizing test for detecting equine herpesvirus type-1-neutralizing antibodies, *J Vet Med Sci*, 75, 1209–1212 (2013)
- 5.Bannai H, Nemoto M, Tsujimura K, Yamanaka T, Maeda K, Kondo T: Improvement of an enzyme-linked immunosorbent assay for equine herpesvirus type 4 by using a synthetic-peptide 24-mer repeat sequence of glycoprotein G as an antigen, *J Vet Med Sci* 78, 309–311 (2016)
- 6.Crabb BS, MacPherson CM, Reubel GH, Browning GF, Studdert MJ, Drummer HE: A type-specific serological test to distinguish antibodies to equine herpesviruses 4 and 1, *Arch Virol*, 140, 245–258 (1995)
- 7.Garré B, Gryspeerdt A, Croubels S, De Backer P, Nauwynck H: Evaluation of orally administered valacyclovir in experimentally EHV1-infected ponies, *Vet Microbiol*, 135, 214–221 (2009)
- 8.Lawrence GL, Gilkerson J, Love DN, Sabine M, Whalley JM: Rapid, single-step differentiation of equid herpesviruses 1 and 4 from clinical material using the polymerase chain reaction and virus-specific primers, *J Virol Methods*, 47, 59–72 (1994)
- 9.Maeda K, Mizukoshi F, Hamano M, Kai K, Iwata H, Kondo T, Matsumura T: Development of an equine herpesvirus type 4-specific enzyme-linked immunosorbent assay using a B-cell epitope as an antigen, *J Clin Microbiol*, 42, 1095–1098 (2004)
- 10.Matsumura T, Sugiura T, Imagawa H, Fukunaga Y, Kamada M: Epizootiological aspects of type 1 and type 4 equine herpesvirus infections among horse populations, *J Vet Med Sci*, 54, 207–211 (1992)
- 11.Matsumura T, Yokota S, Imagawa H, Sugiura T, Wada R, Kanemaru T, Nanbu M, Kirisawa R, Kamada M: Sero-and Molecular-epizootiological studies on equine herpesvirus type 1 (EHV-1) infection among race horses: an occurrence of respiratory disease with nervous disorders, *J Equine Sci*, 5, 59–67 (1994)

12. Maxwell LK, Bentz BG, Gilliam LL, Ritchey JW, Pusterla N, Eberle R, Holbrook TC, McFarlane D, Rezabek GB, Meinkoth J, Whitfield C, Goad CL, Allen GP: Efficacy of the early administration of valacyclovir hydrochloride for the treatment of neuropathogenic equine herpesvirus type-1 infection in horses, *Am J Vet Res*, 78, 1126-1139 (2017)
13. 物部朋子, 西 英機: 軽種馬生産地における疾病防除対策について—馬鼻肺炎による流産・生後直死の実態と防除対策—, 第31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 (2003)
14. Nemoto M, Ohta M, Tsujimura K, Bannai H, Yamanaka T, Kondo T, Matsumura T: Direct detection of equine herpesvirus type 1 DNA in nasal swabs by loop-mediated isothermal amplification (LAMP), *J Vet Med Sci*, 73, 1225-1227 (2011)
15. Nemoto M, Tsujimura K, Yamanaka T, Kondo T, Matsumura T: Loop-mediated isothermal amplification assays for detection of equid herpesvirus 1 and 4 and differentiating a gene-deleted candidate vaccine strain from wild-type equid herpesvirus 1 strains, *J Vet Diagn Invest*, 22, 30-36 (2010)
16. Nugent J, Birch-Machin I, Smith KC, Mumford JA, Swann Z, Newton JR, Bowden RJ, Allen GP, Davis-Poynter N: Analysis of equid herpesvirus 1 strain variation reveals a point mutation of the DNA polymerase strongly associated with neuropathogenic versus nonneuropathogenic disease outbreaks, *J Virol*, 80, 4047-4060 (2006)
17. Paillot R, Case R, Ross J, Newton R, Nugent J: Equine Herpes Virus-1: Virus, Immunity and Vaccines, *The Open Vet Sci J*, 2, 68-91 (2008)
18. Pusterla N, Hussey GS: Equine herpesvirus 1 myeloencephalopathy, *Vet Clin North Am Equine Pract*, 30, 489-506 (2014)
19. 下田知美, 西 英機: 過去3年間の馬鼻肺炎流産・生後直死発生牧場における疫学的考察, 第34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 (2006)
20. Smith KL, Li Y, Breheny P, Cook RF, Henney PJ, Sells S, Pronost S, Lu Z, Crossley BM, Timoney PJ, Balasuriya UB: New real-time PCR assay using allelic discrimination for detection and differentiation of equine herpesvirus-1 strains with A2254 and G2254 polymorphisms, *J Clin Microbiol*, 50, 1981-1988 (2012)
21. 辻村行司, 坂内 天, 根本 学, 山中隆史, 近藤高志: 馬鼻肺炎生ワクチン導入の評価に関する調査, 平成28年度馬防疫検討会「馬感染症研究会・研究部会」講演抄録 (2016)
22. Tsujimura K, Murase H, Bannai H, Nemoto M, Yamanaka T, Kondo T: Efficacy of five commercial disinfectants and one anionic surfactant against equine herpesvirus type 1, *J Vet Med Sci*, 77, 1545-1548 (2015)

23. Tsujimura K, Oyama T, Katayama Y, Muranaka M, Bannai H, Nemoto M, Yamanaka T, Kondo T, Kato M, Matsumura T: Prevalence of equine herpesvirus type 1 strains of neuropathogenic genotype in a major breeding area of Japan, *J Vet Med Sci*, 73, 1663-1667 (2011)
24. Tsujimura K, Shiose T, Yamanaka T, Nemoto M, Kondo T, Matsumura T: Equine herpesvirus type 1 mutant defective in glycoprotein E gene as candidate vaccine strain, *J Vet Med Sci*, 71, 1439-48 (2009)
25. Tsujimura K, Yamanaka T, Kondo T, Fukushi H, Matsumura T: Pathogenicity and immunogenicity of equine herpesvirus type 1 mutants defective in either gI or gE gene in murine and hamster models, *J Vet Med Sci*, 68, 1029-1038 (2006)
26. Yasunaga S, Maeda K, Matsumura T, Kai K, Iwata H, Inoue T: Diagnosis and sero-epizootiology of equine herpesvirus type 1 and type 4 infections in Japan using a type-specific ELISA, *J Vet Med Sci*, 60, 1133-1137 (1998)
27. Yasunaga S, Maeda K, Matsumura T, Kondo T, Kai K: Application of a type-specific enzyme-linked immunosorbent assay for equine herpesvirus types 1 and 4 (EHV-1 and -4) to horse populations inoculated with inactivated EHV-1 vaccine, *J Vet Med Sci*, 62, 687-691. (2000)
28. 和田隆一, 兼丸卓美, 横田貞夫, 南部 実, 松村富夫: ウマヘルペスウイルス 1 型感染による脊髄脳症の病理学的所見, *馬の科学*, 28, 298-303 (1991)
29. Walter J, Seeh C, Fey K, Bleul U, Osterrieder N: Prevention of equine herpesvirus myeloencephalopathy - Is heparin a novel option? A case report, *Tierarztl Prax Ausg G Grosstiere Nutztiere*, 44, 313-317 (2016)

## おわりに

ここに紹介した日本国内の馬鼻肺炎の疫学情報は、日高家畜保健衛生所、NOSAI みなみ日高支所、日高軽種馬農業協同組合、開業獣医師、JRA 日高育成牧場、栗東および美浦トレーニング・センター競走馬診療所など、様々な機関と競走馬総合研究所が協力して実施した調査の成果です。また、生ワクチンおよび新規血清診断法の開発は、岐阜大学の福士秀人博士、山口大学の前田健博士と競走馬総合研究所の共同研究で進められました。1967年の馬鼻肺炎による「流産の嵐」以降、このような様々な関係者の努力があって、本疾病の防疫対策の大幅な向上が図られてきました。しかしながら、馬鼻肺炎は、原因ウイルスの特性から予防が非常に難しい疾病であり、世界的に見ても依然として、馬産業にとって大きな問題となっています。したがって、馬鼻肺炎による被害をさらに軽減するためには、今後も関係各機関が連携して、本疾病に対する調査・研究を進めていく必要があると考えられます。本パンフレットが、このような馬鼻肺炎に対する理解を深める一助になりましたら幸いです。

最後に、この場をお借りして、本パンフレットを作成するにあたってご協力をいただいた、JRA 競走馬総合研究所の片山芳也氏、上野孝範氏（病理に関する写真の提供・記述の確認）、根本学氏（LAMP法に関する写真の提供）、松村富夫氏、近藤高志氏（前版の作成を担当）、古角博氏（全体の構成の確認）に深謝いたします。

日本中央競馬会  
競走馬総合研究所  
坂内 天  
辻村行司

日本中央競馬会助成事業

地方競馬益金補助事業



日本中央競馬会  
特別振興資金助成事業

平成30年3月 第1版発行

## 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