

13 シャモンダウイルスの関与を疑う牛の異常産の病態に関する一考察

中央家畜保健衛生所

早島 彬美・井上 大輔

シャモンダウイルス (SHAV) は、節足動物によって媒介されるアルボウイルスの 1 種で、オルソブニヤウイルス属シンプ血清群に属する。本ウイルスは、平成 14 年に南九州のヌカカや牛から国内で初分離され、翌年宮崎県および鹿児島県で発生した牛の異常産計 6 例への関与が疑われている^{1~3)} が、その病原性は不明な部分が多い。その後、全国的に SHAV の関与を疑う疾病の発生は認められていなかったが、平成 27 年 12 月から翌年 2 月にかけて本県で発生した牛異常産 6 例で、本ウイルスの関与が疑われた。

そこで、各症例の発生状況および各種検査成績から、本病の病態について分析するとともに、過去における SHAV の浸潤状況を調査し、本病の発生要因について検討を行った。

1 材料および方法

(1) SHAV の浸潤状況調査

平成 21 年～平成 26 年の各 11 月に採取された未越夏牛 450 頭の血清 450 検体と、平成 27 年 6 月、8 月、9 月、および 11 月に未越夏牛 75 頭から経時的に採取された血清 300 検体を用いて、SHAV(KSB-6/c/02 株)の中和試験による抗体検査を実施した。

(2) 異常産症例の病性鑑定

1) ウイルス学的検査

異常産子 6 頭の中樞神経系、2 頭の脳脊髄液および、胎盤および母牛血液各 2 検体を用いて、オルソブニヤウイルス属、オルビウイルス属(パリアム血清群、流行性出血病血清群およびブルータング血清群)およびペスチウイルス属の遺伝子検査 (RT-PCR) を実施した。

オルソブニヤウイルス属の遺伝子が検出された検体については、ダイレクトシーケンス法に

より S RNA 分節の部分配列 (443 塩基) を解析するとともに、HmLu-1 細胞および BHK-21 細胞に接種後、37℃環境下で回転培養(3 代目まで盲継代)を実施した。

また、胎子体液および母牛血清各 4 検体について、アカバネウイルス (AKAV、iriki 株)、アインウイルス (AINOV、JaNAr28 株)、ピートンウイルス (PEAV、NS/P/04 株)、チュウザンウイルス (C31 株)、イバラキウイルス (No. 2 株)、ディアグラウイルス (KY115 株)、SHAV (KSB-6/c/02 株)、牛ヘルペスウイルス 1 型 (Los Angeles 株)、牛ウイルス性下痢ウイルス 1 型 (nose 株) および 2 型 (KZ-91 株) の中和試験による抗体検査を実施した。

2) 病理組織学的検査

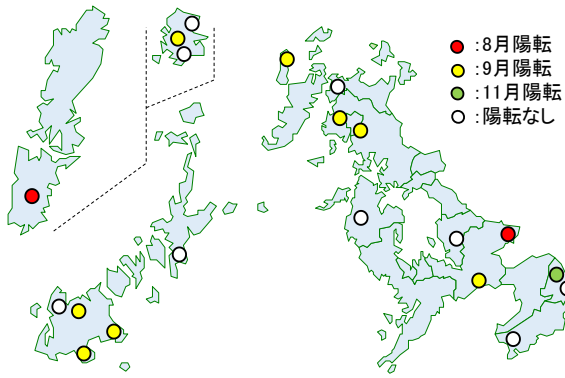
ホルマリン固定した異常産子 6 頭の主要臓器および胎盤を用い、常法に従ってヘマトキシリン・エオジン (HE) 染色を実施した。また、特殊染色として、クリューバー・バレラ (KB) 染色、リントングステン酸・ヘマトキシリン (PTAH) 染色、コッサ反応を実施した。

免疫組織化学的染色は、抗 AKAV 家兔血清および抗 SHAV 家兔血清を用いて、SAB 法またはポリマー法で実施した。

3 結果

(1) SHAV の浸潤状況調査

平成 21 年～平成 26 年はすべて抗体陰性であった。平成 27 年は、8 月中旬に県央および対馬地域の 4 頭で抗体が陽転し、9 月下旬には県内の広範囲で陽転が確認された。その後、11 月中旬までに 25 頭 (33%) で抗体の陽転が認められた (図-1)。



図－1 平成27年度のSHAV抗体検査成績

(2) 異常産の発生状況

平成 27 年から平成 28 年に確認された SHAV の関与を疑う異常産の発生状況は表－1 のとおりで、県南および老岐地域の黒毛和種繁殖農場で6例発生した。平成 27 年 12 月に流産 1 例（胎齢 223 日）、翌年 1 月および 2 月に体形異常を伴う異常産 5 例（死産および鑑定殺、胎齢 273～294 日）で、症例 1 と症例 4 は同一農場であった。

表－1 異常産の発生状況

	症例1	症例2	症例3	症例4	症例5	症例6
発生地域	県南	県南	県南	県南	県南	老岐
飼養形態	繁殖	繁殖	繁殖	繁殖	繁殖	繁殖
発生日	12/17	1/15	2/2	2/14	2/15	2/18
胎齢	223日 流産	283日 生	273日 死産	288日 死産	294日 死産	284日 生
母牛 (産歴)	8歳 (8産)	1歳 (初産)	10歳 (8産)	3歳 (3産)	2歳 (初産)	12歳 (10産)

(3) 異常産症例の病性鑑定成績

1) ウイルス学的検査

症例 1 の流産胎子的大脑と、症例 3 の死産胎子の脳幹部、脳室内貯留液および胎盤から、オルソブニヤウイルス属の遺伝子が検出された。これらの塩基配列を解析した結果、平成 27 年に鹿児島県で分離された SHAV 株の遺伝子と 99.6～100%一致した。体形異常の 4 例（症例 2、4、5 および 6）では、胎子体液から 4～64 倍、母牛血清からいずれも 256 倍以上の SHAV 抗体が検出された。なお、その他牛異常産関連ウイルスについては、遺伝子、抗体ともに胎子からは

検出されなかった。

2) 病理解剖学的検査

12 月に発生した流産胎子に著変は認められなかったが、1 月以降に発生した 5 例に斜頸及び四肢の屈曲や伸展（5/5）、脊柱 S 字彎曲（4/5）、側脳室拡張（3/5）、頭部の変形（2/5）、大脳前頭葉から頭頂葉の脳内空洞（1/5）、小脳萎縮（1/5）が認められた（写真－1、2）。これらの所見は、2 月の症例で高率に認められた（表－2）。



写真－1 病理解剖学的検査



写真－2 病理解剖学的検査

表－2 発生時期と病理解剖学的検査成績

	症例1	症例2	症例3	症例4	症例5	症例6
胎齢	223日 流産	283日 生	273日 死産	288日 死産	294日 死産	284日 生
発生日	12/17	1/15	2/2	2/14	2/15	2/18
斜頸		●	●	●	●	●
前肢屈曲			●	●		●
後肢伸展		●	●	●	●	●
脊柱彎曲			●	●	●	●
頭部変形					●	●
側脳室拡張			●	●	●	
脳内空洞			●			
小脳萎縮			●			

3) 病理組織学的検査

脊髄腹角の大型神経細胞の減数または消失

(5/6) が認められ、このうち重度の症例では、腹索髄鞘が著しく減少し、皮質と灰白質の境界不明瞭であった(写真-3、4)。その他、脳の石灰沈着(4/6)、骨格筋や舌筋の大小不同、配列不整、筋萎縮が認められ(3/6)、筋周膜を残して筋線維が消失し、脂肪細胞によって置換された像も認められた(写真-5、6)。萎縮した筋線維では、横紋が明瞭に観察され、退行性の変化や細胞反応は認められなかった。また、単核細胞性の囲管性細胞浸潤やグリア細胞の集簇を伴う非化膿性脳炎(3/6、うち1例は髄膜脳脊髄炎)が認められた(写真-7)。

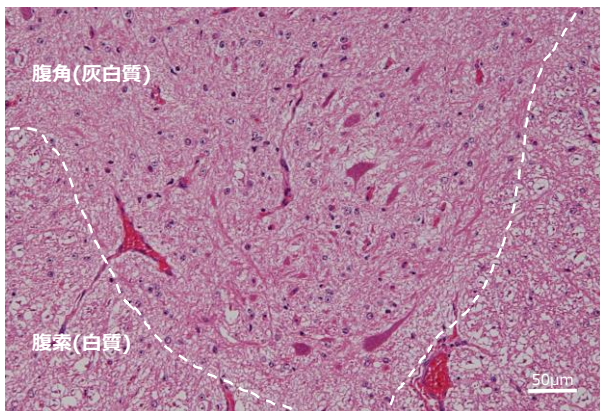


写真-3 頸髄(HE) 腹角の大型神経細胞の減少

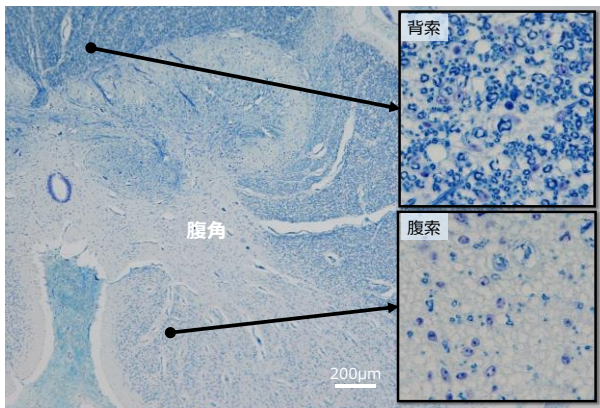


写真-4 胸髄(KB) 腹索の髄鞘減少

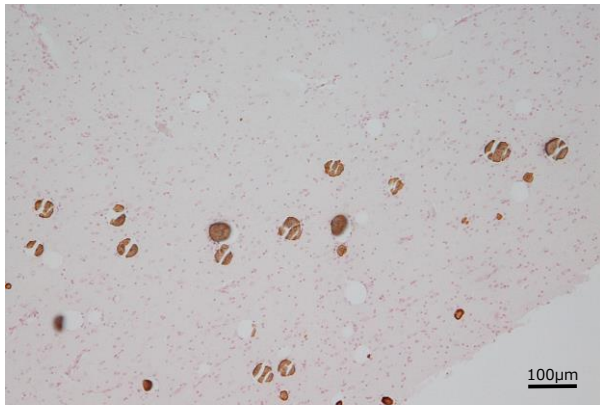


写真-5 線条体(コッサ反応) 多数の石灰沈着

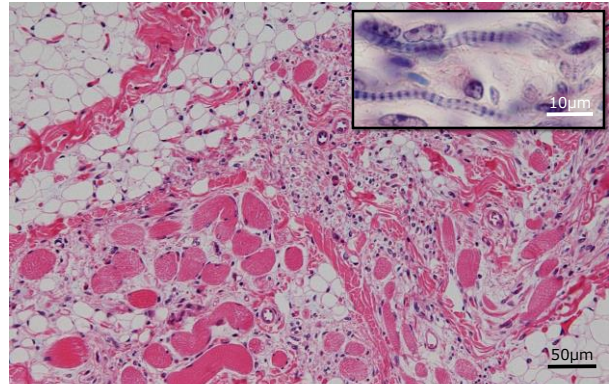


写真-6 骨格筋(HE、PTAH)
筋線維の大小不同、配列不整、萎縮、脂肪性置換

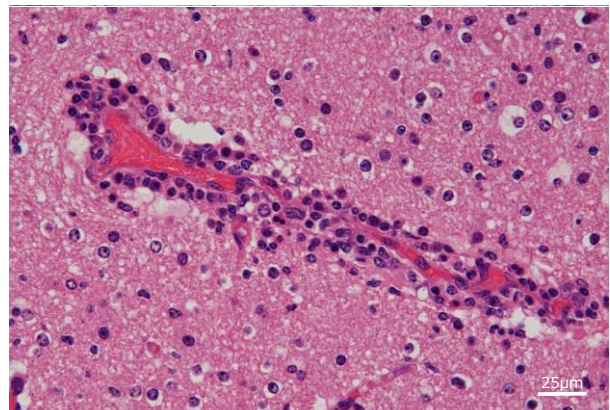


写真-7 大脳(HE) 単核細胞性の囲管性細胞浸潤

なお、脳炎が認められ、かつ SHAV の遺伝子が検出された症例1および症例3の中樞神経系について、AKAV および SHAV の免疫組織化学的染色を実施したが、いずれも明瞭な陽性反応は認められなかった。

発生時期別にみると、脳炎は流産例だけでなく、体型異常の症例でも認められた。脊髄病変は体型異常の症例すべてに認められ、筋病変も高率に認められた(表-3)。

表-3 発生時期と病理組織学的検査成績

	症例1	症例2	症例3	症例4	症例5	症例6
胎齢	223日 流産	283日 生	273日 死産	288日 死産	294日 死産	284日 生
発生日	12/17	1/15	2/2	2/14	2/15	2/18
非化膿性脳炎	●		●			●
脳の石灰沈着	●	●			●	●
脊髄腹角の神経細胞減数		●	●	●	●	●
筋萎縮/脂肪性置換		●	●		●	

3 まとめおよび考察

病性鑑定成績から、平成 27 年 12 月～平成 28 年 2 月に発生した 6 例の異常産で、SHAV の関与が疑われた。中島ら⁴⁾は、県内の平成 11 年～平成 20 年における SHAV の浸潤状況調査を行い、平成 14 年に 39/73 頭 (53.4%)、平成 19 年に 2/72 頭 (2.8%) で抗体の陽転が認められたことを報告している。これに今回行った浸潤状況調査結果を併せると、県内では、南九州で SHAV の関与を疑う異常産が確認された平成 14 年に本ウイルスが流行したものの、それ以降の 13 年間大きなウイルスの動きはなかったことが分かった。このことにより、平成 27 年には多くの牛が抗体を保有しておらず、広い地域でのウイルスの流行と異常産の発生につながった可能性が考えられた。

オルソブニヤウイルス属シンプ血清群が引き起こす牛の異常産のうち、先天異常子牛は関節彎曲症、水無脳症、または小脳形成不全症に特徴づけられる異常を示し、ウイルス感染時の胎齢によって様々な病変が認められる⁵⁾。代表的なもののひとつであるアカバネ病では、AKAV 流行後にまず非化膿性脳脊髄炎が認められ、その後、矮小筋症や水無脳症といった先天性奇形が発生する^{5～9)}。報告によって差があるが、AKAV は概ね胎齢 2～9 か月の胎子に病原性を示すと考えられている^{6、7)}。アイノウイルス感染症では、矮小筋症や水無脳症がほぼ同時期に認められ、AINOV は胎齢 3～6 か月の胎子に病原性を示すと考えられている^{6、7)}。PEAV やサシュペリウイルスの関与が疑われた異常産症例では、剖検で四肢拘縮、内水頭症または小脳形成不全が認められ、組織学的検査では脊髄腹角の神経細胞減数および骨格筋の脂肪性置換が顕著である^{10～12)}。本症例で認められた病理解剖学および組織学的所見は、これらシンプ血清群ウイルスが引き起こす異常産症例と類似しており(表 4)、SHAV が同様の病態を辿ることが示唆された。

その中で、水無脳症が認められなかった点、脳の石灰沈着が高率に認められた点、脊髄腹角の病変や骨格筋の脂肪性置換が重度であった点

表-4 他のシンプ血清群ウイルスとの比較

病変	シャモンダ	アカバネ	アイノ	ビートン
解剖				
関節や脊柱彎曲	○	○	○	○
水頭無脳症	×	○	○	×
内水頭症	○	○	○	○
小脳低形成	○	×	○	○
組織				
非化膿性脳脊髄炎	○	○	○	△
脊髄腹角細胞減数	○	○	○	○
筋萎縮/脂肪性置換	○	○	○	○
脳の石灰沈着	○	×	○	○

は、比較的特徴的な所見と考えられた。シンプ血清群ウイルスにより引き起こされる水無脳症は、胎齢早期に起こる非化膿性脳炎の代償性変化と考えられている⁵⁾。今回、水無脳症を伴う異常産の発生が認められなかったことに加えて、県内の抗体陽転状況と発生時胎齢から、県内で発生した 6 症例の胎子感染時期はすべて胎齢 4～6 か月の胎齢中期と推測されることから、SHAV が胎子に病原性を及ぼす期間は比較的短い可能性が考えられた。脳の石灰沈着は、変性した神経細胞に対する異栄養性のもので、病変部の修復像と考えられており、アイノウイルス感染症や PEAV の関与が疑われる異常産のように、脳炎が比較的軽度な疾病で認められる^{7、11)}。一方、今回認められた脊髄腹角の病変は重度であり、SHAV は脳よりも脊髄への傷害性が強い可能性が考えられた。また、骨格筋の脂肪性置換はアカバネ病でも認められる所見ではあるが、筋周膜内部がすべて置換されるほど重度な病変は一般的ではない^{8、9)}。これについては、今回の症例では脊髄腹角にある下位運動神経が強く障害されていたことから、支配下の筋線維への神経刺激が断たれたために筋線維の発達が阻害され、萎縮、消失した病変であることが示唆され、SHAV の脊髄障害性が強い可能性を支持する成績と考えられた。今回、本県で発生した限られた症例における所見をまとめたが、今後、本ウイルスの病態をより正確に理解するために、症例数を積み重ねる必要がある。

平成 27 年から 28 年にかけて、本県以外の九州各県において、SHAV の関与が疑われる異常産

が同時期に複数発生したが^{3, 13, 14)}、いまだ本疾病の明確な診断基準はない。本ウイルスの病態を解明して診断精度を向上させることは、畜産業への被害の程度を正しく評価することにつながり、ワクチン開発の必要性を検討する一助になると思われる。

最後に、SHAV の遺伝子解析および免疫組織化学的染色を実施していただいた、国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構動物衛生研究部門の梁瀬徹先生および田中省吾先生に感謝する。

4 参考文献

- 1) Yanase T, et al.:The resurgence of Shamonda virus, an African Simbu group virus of the genus Orthobunyavirus, in Japan, Arch Virol, 150, 361-369 (2005)
- 2) 前田浩二ら:Shamonda ウイルスの分離と宮崎県内の浸潤状況, 宮崎県家畜保健衛生所事業成績並びに業績発表会集録, 102-105 (2003)
- 3) 平島宜昌ら:シャモンダウイルスの関与を疑う牛異常産の発生とウイルス浸潤状況の遡り調査, 平成 28 年度獣医学術九州地区学会抄録集, 63 (2016)
- 4) 中島大ら:長崎県下におけるサシュペリ及びシャモンダウイルスの浸潤状況調査, 平成 20 年度長崎県家畜保健衛生業績発表会集録, 42-44 (2008)
- 5) 浜名克己ら:カラーアトラス 牛の先天異常, 株式会社学窓社 (2006)
- 6) 福富豊子ら:岡山県におけるアカバネおよびアイノウイルスの流行と異常産発生, 日獣会誌, 53, 377-382 (2000)
- 7) 有田章一ら:アイノウイルスとアカバネウイルス野外感染牛における異常産の病理学的比較, 家畜診療, 48(10), 669-676 (2001)
- 8) 富田啓介ら:兵庫県中部におけるアカバネウイルスによる子牛の非化膿性脳脊髄炎と先天性奇形を伴う異常産の発生, 日獣会誌, 64, 781-786 (2011)
- 9) 高森広典ら:宮城県で発生したアカバネ病の発生時期による病理学的特徴とウイルス遺伝子検出部位の推移, 日獣会誌, 66, 39-44 (2013)
- 10) 酒井芳子ら:長崎県におけるピートンウイルスの関与を疑う牛異常産の発生について, 平成 20 年度長崎県家畜保健衛生業績発表会集録, 29-32 (2008)
- 11) 津波修ら:ピートンウイルスによる牛異常産の病理学的特徴, 沖縄県家畜衛生試験場年報, 第 44 号 (2008)
- 12) 首藤洋三ら:サシュペリウイルスの関与を疑う牛異常産の発生事例, 平成 20 年度大分県家畜保健衛生並びに畜産関係業績発表会集録, 47-50 (2009)
- 13) 森将臣ら:熊本県で発生したシャモンダウイルスの関与を疑う牛異常産, 平成 28 年度獣医学術九州地区学会抄録集, 62 (2016)
- 14) 福田美津紀ら:宮崎県内でのシャモンダウイルスの関与を疑う牛異常産事例, 第 58 回九州・沖縄ブロック家畜保健衛生業績発表会抄録, 22 (2017)