

11 令和元年度に認められた多種アルボウイルスの流行と関連疾病の発生状況

中央家畜保健衛生所
酒井 芳子
県北家畜保健衛生所
鈴田 史子・重國由起子

アルボウイルスとは、蚊やヌカカなどの節足動物によって媒介され、脊椎動物に伝播されるウイルスの総称であり、牛では異常産や熱性疾患を引き起こすものが多く存在する¹⁾。

令和元年度、本県では複数のアルボウイルスの流行が確認され、ピートンウイルスの関与を疑う牛異常産が確認されたので、その概要を報告する。

1 アルボウイルス流行状況

図-1に、本県における平成18年以降のアルボウイルス流行状況を示す。対象ウイルスの中ではアカバネウイルスの流行頻度が最も高く、その他についても不定期にウイルスの流行と関連疾病の発生が確認されている。

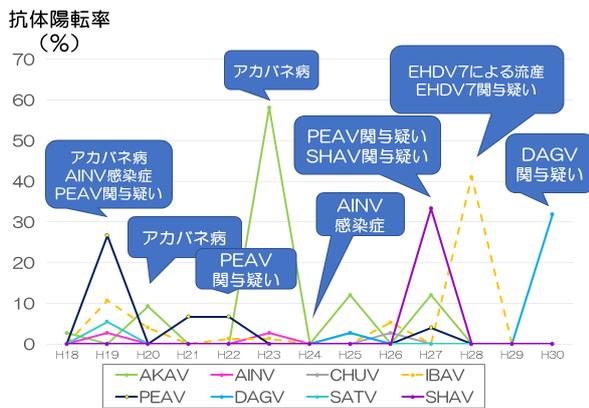


図-1 本県におけるアルボウイルス流行状況

2 材料及び方法

(1) アルボウイルス動態調査

調査対象は県内6地域22戸の未越夏牛75頭で、6月から11月にかけて、図-2に示す方法で牛流行熱 (BEF)、アカバネ (AKA)、アイノ (CHU)、イバラキ (IBA)、ピートン (PEA)、ディアギュラ (DAG)、シャモンダ (SHA)、サシュペリ (SAT)、流行性出血病ウイルス7型 (EHDV-7) の中和試験、並びにウイルス分離及

び遺伝子検査を実施した。さらに、2地域の分離株2株について、旧シンプ血清群ウイルスのS及びMゲノム分節の塩基配列決定及び分子系統樹解析を、また、10月に採取された黒毛和種由来血球からの抽出RNA1検体について、EHDV-7のゲノム分節2及び3の塩基配列決定及び分子系統樹解析を実施した (図-3)。

調査対象：県内6地域22戸の未越夏牛75頭
採材時期：6月下旬、8月中旬、9月下旬、11月中旬

■抗体検査

材料：血清
方法：BEF,AKA,AIN,CHU,IBA,PEA,DAG,SHA,SAT, 流行性出血病ウイルス7型 (EHDV-7) の中和試験

■分離および遺伝子検査

材料：血漿および洗浄血球 (8月以降)
方法：1. HmLu1細胞に接種後、37°C静置培養 (3~4代継代)
2. 牛異常産関連ウイルスのRT-PCR

図-2 アルボウイルス動態調査1

■遺伝子解析

	コード領域
Sゲノム分節	核酸蛋白
Mゲノム分節	中和抗原

1、材料：分離株 2株
方法：旧シンプ血清群ウイルスのSおよびMゲノム分節の塩基配列決定および分子系統樹解析

2、材料：黒毛和種由来血球 (10月採材) からの抽出RNA 1検体
方法：EHDV-7のゲノム分節2および3の塩基配列決定および分子系統樹解析

	コード領域
ゲノム分節2	中和抗原
ゲノム分節3	地理的由来を反映

図-3 アルボウイルス動態調査2

(2) 病性鑑定

発生状況：症例1の発生は令和2年2月、黒毛和種繁殖農場における死産で胎齢276日であった。また、母牛には2産目で異常産3種混合ワクチンが接種されていた。症例2の発生は令和2年3月、黒毛和種繁殖農場における死産で胎

齢 273 日であった。また、母牛は初産であり、牛異常産ワクチンは未接種であった（表－1）。

表－1 病性鑑定（発生状況）

	家保	品種	胎齢/ 日齢	発生状況	母牛産歴/ 異常産 ワクチン
症例 1	県北	黒毛 和種	胎齢 276日	・令和元年5月17日AI ・令和2年2月17日 死産（介助分娩）	2産目/ 3種混合
症例 2	県北	黒毛 和種	胎齢 273日	・令和元年6月4日AI ・令和2年3月3日 死産（介助分娩）	初産/ なし

検査項目：各異常産子の臓器・器官、体液、胎盤、母子及び同居牛血清を用いて、解剖、病理、細菌及びウイルス学検査を実施した。病理組織学的検査では定法に従いHE染色及びクリューバー・バレラ染色を実施した。細菌学的検査では定法に従って分離検査を実施した。ウイルス分離はHmLu-1及びBHK21細胞に接種後、37℃静置培養で3代継代を実施した。ウイルス遺伝子検査では、旧シンプ血清群、パリアムウイルス群、ブルータング、EHDV-7及び牛ウイルス性下痢（BVD）ウイルスの特異遺伝子を検出するRT-PCRを実施した。ウイルス抗体検査では、AKA、AIN、PEA、CHU、IBA、DAG、SHA、牛ヘルペスウイルス1型（BHV-1）及びBVDウイルスに対する中和試験を実施した。

3 検査成績

（1）アルボウイルス動態調査

抗体検査成績：6月から11月にかけて調査の結果、9月から11月にかけて県下の広範囲でAKA、PEA、SAT、EHDV-7及びIBAVに対する抗体陽転が確認された。また、このうち3戸7頭では同一個体における複数ウイルスの重複感染が確認された（表－2）。

表－2 抗体検査成績

	AKAV Iriki株 (genogroup1)		PEAV JaGAR39株 (genogroup2)	SATV NS/P/04株	EHDV-7 NS-1/P/19株	IBAV NS-1/E/16株 No.2株
陽転時期	いずれも9～11月					
陽転率 (GM)	10.8% (1.7)	9.5% (1.4)	23.0% (3.2)	17.6% (2.3)	9.5% (1.5)	8.1% (1.4)
流行地域	中央 県北 県南	中央 県北 県南	中央 県北 県南 五島 対馬	中央 県北 五島 対馬	中央 県北 県南	中央 県北 県南

※うち3戸7頭では複数ウイルスの重複感染を確認

さらに、AKAVについては主に起立不能や神経症状を起こす株であるIriki株と、主に流産や体型異常を示す株であるJaGAR39株に対する抗体価を比較した結果、Iriki株に対して、より高い抗体価を示すことが確認された（表－3）。

表－3 AKAV抗体価比較

牛No.	Iriki株 (genogroup1)		JaGAR39株 (genogroup2)	
	9月	11月	9月	11月
中-12	4	≥256	<2	32
北-5	64	≥256	32	64
北-8	8	≥256	<2	32
南-1	<2	128	<2	32

（2）遺伝子検査及びウイルス分離成績：9月採材の血漿2検体からSATV特異遺伝子が検出された。さらに、同材料を用いたウイルス分離の結果、HmLu-1細胞に細胞変性効果が確認され、その培養上清からSATV特異遺伝子が検出された。

また、11月採材の血球5検体からはEHDV-7特異遺伝子が検出された（表－4）。

表－4 遺伝子検査およびウイルス分離成績

地域	遺伝子検出			ウイルス分離		
	SATV	EHDV-7		8月	9月	11月
中央	0/15	1/15 (血漿)	3/15 (血球)	0/15	1/15 (血漿)	0/15
県北	0/15	1/15 (血漿)	1/15 (血球)	0/15	1/15 (血漿)	0/15
県南	0/15	0/15	1/15 (血球)	0/15	0/15	0/15
五島	0/15	0/15	0/15	0/15	0/15	0/15
吾岐	0/12	0/12	0/11	0/12	0/12	0/11
対馬	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3
県全体	0/75	2/75		0/75	2/75	

HmLu-1細胞2代目に細胞変性効果（CPE）を確認
培養上清からSATV特異遺伝子を検出

さらに、分離株について遺伝子解析を実施した結果、2地域の分離株の塩基配列は100%一致し、平成19年に大分県で分離されたSATV株とSゲノム分節で99.32%、Mゲノム分節で96.51%の相同性を示し、最も近縁であることが確認された(表-5、図-4)。

表-5 遺伝子解析結果: SATV

地域(牛No.)	株名
中央(中-8)	NS-1/P/19
県北(北-14)	NS-2/P/19

- 9月血漿からの分離株2株は100%一致
- 平成19年に大分県で分離されたSATV株と最も近縁
- 【相同性】Sゲノム分節: 99.32%
Mゲノム分節: 96.51%

➡ SATVと同定

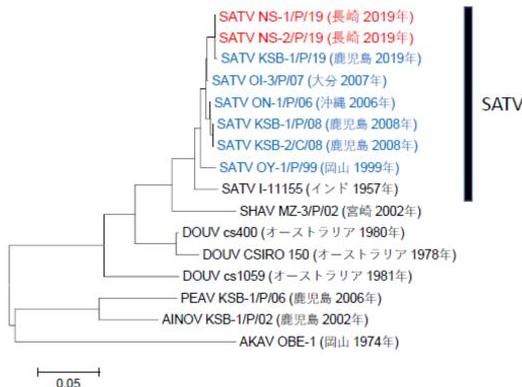


図-4 旧シンプ血清群のSゲノム分節部分配列(443塩基)に基づく分子系統樹

また、黒毛和種由来血球からの抽出RNAは平成18年に長崎県で分離されたEHDV-7株とゲノム分節2で99.39%、ゲノム分節3で99.53%の相同性を示し、最も近縁であることが確認された(表-6、図-5)。

表-6 遺伝子解析結果: EHDV-7

地域	株名
県北	NS-1/E/19

- 黒毛和種由来血球からの抽出RNAは平成18年に長崎県で分離されたEHDV-7株と最も近縁
- 【相同性】ゲノム分節2: 99.39%
ゲノム分節3: 99.53%

➡ EHDV-7と同定

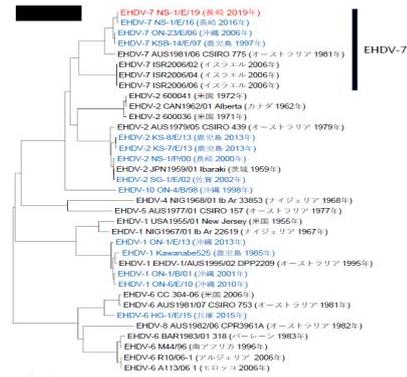


図-5 流行性出血病ウイルスのゲノム分節2部分配列(326塩基)に基づく分子系統樹

(3) 病性鑑定成績

解剖所見: 2症例に共通して、頸部から胸部にかけて激しい脊柱湾曲、四肢の関節拘縮及び小脳低形成が認められ、症例2では脳室拡張も認められた(表-7、図-6、7)。

表-7 病性鑑定(解剖所見)

	症例1	症例2
脊柱湾曲	○	○
四肢の関節拘縮	○	○
小脳低形成	○	○
脳室拡張	○	○



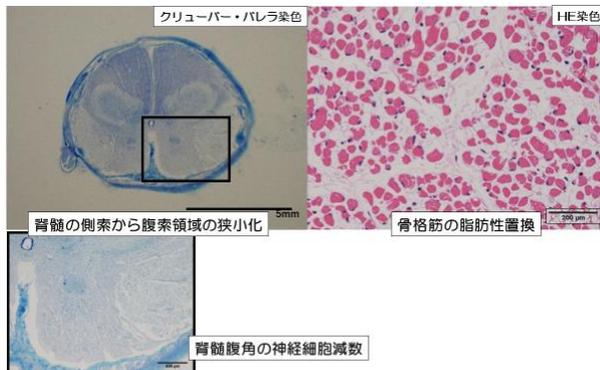
図-6 解剖所見(症例1)



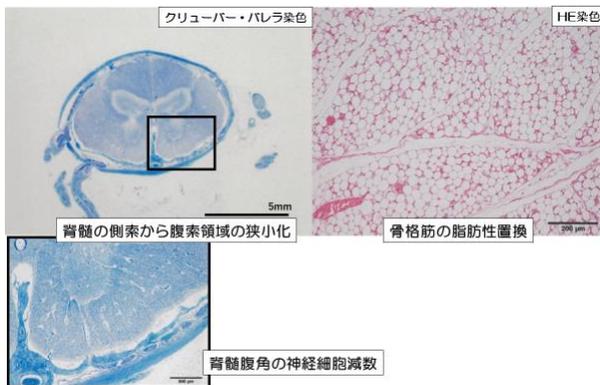
図-7 解剖所見(症例2)

組織所見: 症例1の脊髓において、側索から腹

索領域の狭小化と腹角神経細胞の著しい減数が認められたほか、骨格筋の脂肪性置換が認められた（図－8）。症例2でも、症例1と同様の所見が観察され、骨格筋の脂肪性置換についても明瞭な変化が確認された（図－9）。



図－8 病性鑑定（組織所見：症例1）



図－9 病性鑑定（組織所見：症例2）

細菌学的検査：2症例ともに菌分離陰性であった。ウイルス分離及び遺伝子検査：2症例ともにすべて陰性であった。抗体検査：2症例ともに母牛血清及び子牛体液からPEAVに対する抗体が検出された。以上の成績及び県内における当該ウイルスの流行状況から、2症例はPEAVの関与を疑う牛異常産と診断された（表－8）。

表－8 病性鑑定（抗体検査）

	検体	AKA (UsGA r39株)	AKA (Iris株)	AIN	PEA	CHV1	EA	EHDV7	DAG	SHA	SAT	BHV1	BVD1	BVD2
症例1	母牛血清	≥256	≥256	≤2	64	64	16	8	8	≤2	≤2	≤2	≥256	32
	子牛心臓水	≤2	≤2	≤2	32	≤2	≤2	≤2	≤2	≤2	≤2	≤2	≤2	≤2
	子牛胸水	≤2	≤2	≤2	32	≤2	≤2	≤2	≤2	≤2	≤2	≤2	≤2	≤2
	子牛脳脊髄液	NT	≤2	NT	32	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
症例2	母牛血清	≤2	≤2	≤2	128	≤2	≤2	≤2	≤2	≤2	≤2	≤2	≤2	≤2
	子牛心臓水	≤2	≤2	≤2	16	≤2	≤2	≤2	≤2	≤2	≤2	≤2	≤2	≤2
	子牛胸水	≤2	≤2	≤2	16	≤2	≤2	≤2	≤2	≤2	≤2	≤2	≤2	≤2
	子牛脳脊髄液	≤2	≤2	≤2	16	≤2	≤2	≤2	≤2	≤2	≤2	≤2	≤2	≤2

➡ 2症例をPEAVの関与を疑う牛異常産と診断

4 まとめ及び考察

おとり牛調査の結果、平成31年度は、県下の広範囲で多種多様なウイルスの流行が確認された。AKAVについては、Iriki株を含むgenogroup 1が流行した可能性が考えられた。EHDV-7に対する抗体陽転が確認された個体ではIBAVに対する抗体陽転も確認されたが、いずれもEHDV-7との交差反応によるものと判断された。SATV、EHDV-7ともに、令和元年長崎流行株は過去の国内流行株に非常に近縁であったが、流行頻度やおとり牛の移行抗体保有率（SATV：0.0%、EHDV-7：1.3%）を考慮すると常在の可能性は低く、国外からのウイルス侵入の可能性が高いと考えられた。

また今回、おとり牛調査におけるウイルスの流行状況は農場によってさまざまであり、同一農場の複数個体において、複数ウイルスの重複感染が認められるケースも確認された。さらに、いずれの抗体陽転農場も、ヌカカの生息場所となりうる水田や池に隣接していたり、あるいは放牧地や運動場を有していたことから、農場の環境条件が、ヌカカの生息やウイルス伝播率に影響している可能性も疑われた。このことから、農場内においても水場の衛生管理や糞便のこまめな除去を徹底し、ヌカカの生息域を排除することで、ウイルス伝播リスクを低減させうのではないかと考える。

また、今回、関連疾病の発生はPEAVの関与を疑う2症例にとどまったが、九州地方はAKAVやPEAVの流行頻度が高く、異常産の発生リスクが高いことから今後もワクチンによる感染防御が非常に重要であると考えられる。

最後になりましたが、今回、SATV及びEHDV-7の遺伝子解析を実施していただきました、国立研究開発法人 農研機構の白藤浩明先生に感謝いたします。

5 参考文献

- 1) 牛病学第三版、近代出版