

# 馬伝染性貧血



Equine Infectious Anemia



公益社団法人 中央畜産会

# 目 次

はじめに .....	1
I. 疾病の概要 .....	2
II. 病原体 .....	3
1. ウィルスの性状	
2. ウィルスの構造とタンパク質	
3. ウィルスの遺伝子	
III. ウィルスの感染様式 .....	5
1. ウィルスの伝播	
2. 細胞への感染	
3. ウィルスの抗原変異	
IV. 疫学 .....	7
1. 海外での発生状況	
2. 日本での発生状況	
(1) 岩手県の農用馬での発生事例	
(2) 宮崎県の御崎馬での発生事例	
V. 臨床症状 .....	10
VI. 病理 .....	11
1. 病理解剖所見	
2. 病理組織所見	
VII. 診断法 .....	12
1. 診断法の歴史	
2. 現行の診断法	
(1) ウィルス分離	
(2) 遺伝子診断法	
(3) 血清学的診断法	
VIII. 予防と治療 .....	14
IX. 我が国の防疫対策 .....	14
1. 家畜伝染病予防法の規定	
2. 軽種馬防疫協議会の規定	
3. 馬防疫検討会専門会議	
(1) 会議設置の経緯	
(2) 馬の飼養状況	
(3) 従来の検査体制	
軽種馬の検査状況	
乗用、農用、肥育用、愛玩用馬の検査状況	
在来馬の検査状況	
(4) 馬伝染性貧血の清浄度評価と今後の検査体制	
(参考) 寒天ゲル内沈降反応の術式と判定 .....	18
おわりに .....	22
参考文献 .....	23

## はじめに

馬伝染性貧血は、古くから知られている馬属に特有の伝染病で現在でも世界各国で発生が報告されています。我が国でも過去には年間1万頭近い摘発・淘汰があり、馬産業に重大な影響を与える疾病として、その防圧に多大の努力が払われてきました。こうした中、1978年に家畜伝染病予防法の診断基準が担鉄細胞の検出から寒天ゲル内沈降反応に改正され、その精度が向上し、感染馬の的確な摘発・淘汰が行われた結果、1984年には摘発頭数ゼロとなり、その後、本病は、1993年の岩手県の一農家における農用馬2頭のみの発生であったことから清浄化がされてきていました。しかし、2011年3月に在来馬において国内では18年ぶりとなる摘発があり、野外の馬群においてなお本病ウイルスが存在していることが明らかとなりました。

このため、馬防疫検討会では、国内の馬群の清浄度の評価と今後の監視体制に関する提言を行っており、馬伝染性貧血の清浄性確保のためには、未検査個体の検査及び必要に応じた馬群の全頭検査の実施等が喫緊の課題とされております。

今般、このような状況を踏まえ、馬伝染性貧血の清浄化に資すること目的として、公益財団法人全国競馬・畜産振興会の助成を受けて実施している馬インフルエンザ等防疫強化特別対策事業での在来馬等馬伝染性貧血清浄化技術検討専門部会(中島英男座長、委員12人)において、馬伝染性貧血についての普及啓発のための冊子を作成することとなりました。本冊子は馬伝染性貧血の概要、病原体、ウイルスの感染様式、疫学、臨床症状、病理、診断法等を含み総合的な手引きとなるよう作成しております。本冊子のご校閲をいただいた中島座長、ご執筆を担当していただいた方々並びにこの冊子の作成にご協力をいただきました皆様に深謝いたしますとともに、この冊子が馬伝染性貧血の理解と今後の防疫対応のための一助となれば幸甚です。

平成27年3月

公益社団法人中央畜産会  
会長 小里貞利

# 馬伝染性貧血

## I 疾病の概要

馬伝染性貧血(equine infectious anemia、EIA)は、古くから知られている馬属の動物種に特有の疾病で、馬伝染性貧血ウイルス(equine infectious anemia virus、EIAV)を原因とするウイルス感染症である。獣医師や馬関係者の間では、<sup>でんびん</sup>伝貧および伝貧ウイルスという呼び名もよく使われている。

病状の経過は急性、亜急性、慢性とさまざまであり、回帰熱と貧血を主徴とする。急性例では、回帰性の発熱、血小板減少、貧血、体重の減少、四肢および前胸部から下腹部の浮腫、元気や食欲の減退あるいは消失などの症状を示し、重症例では死亡する場合がある。通常認められる症例では慢性に経過し、臨床的に健康馬との区別が困難であるが、徐々に衰弱していく場合もある。一旦感染するとウイルスは体内から完全に排除されることはなく、感染馬はウイルスを体内に生涯保有する。

主要な感染経路は、主にアブ科の吸血昆虫による機械的伝播であるが、創傷などからの接触感染や子宮内感染による垂直感染、注射針などの使い回しによる医原性の感染事例も報告されている。ワクチンはなく、有効な治療法もない。そのため馬産業に大きな損害を与える疾病として、家畜伝染病予防法により家畜伝染病(法定伝染病)に指定されており、本ウイルスの感染馬は法に基づき殺処分される。

本ウイルスの馬伝染性貧血と考えられる記述は1843年のフランスの文献に認められる。本病の原因がウイルスであることは、すでに1904年に

明らかにされていたが、馬属以外の実験動物モデルが見つからなかったこと、試験管内での病原体の培養系の確立ができなかったことから、本病のウイルス学的研究は長い間ほとんど進展しなかった。しかし、1961年に小林らが、本ウイルスが馬の末梢血白血球培養によって増殖できることを発見し、ウイルスの増殖法、定量法を確立したことにより大きな転換期を迎えた。甲野らによる補体結合反応法、更には中島らによる寒天ゲル内沈降反応による血清学的診断法の確立は、本疾病の防疫に大きく貢献した。寒天ゲル内沈降反応は、現在でも血清学的診断法の標準法として国際的に広く用いられている。また甲野らによる、本ウイルスが馬の体内で連続的に抗原変異をおこして宿主の免疫応答から逃れる持続感染機構の発見は、本ウイルスのウイルス学的研究の進展に大きな役割を果たした。

馬伝染性貧血は世界中に存在すると考えられており、現在でも世界各国で発生が報告されている。我が国でも、過去には年間一万頭近い発生があったが、摘発・淘汰と馬の飼養頭数の減少があいまって、摘発頭数は漸次減少していった。1978年以降、診断基準が担鉄細胞の検出などから寒天ゲル内沈降反応による検査に変更された。この結果、診断精度と感度の向上による感染馬の確実な摘発が可能となり、摘発頭数は更に着実に減少し、1983年を最後に摘発馬は認められなくなった。

しかし、1994年に岩手県遠野市の農用馬2頭が感染馬として摘発された。その後、再び摘発

馬が認められない時期が続いていたが、2011年宮崎県の御崎馬で馬伝染性貧血が摘発され、陽性馬を淘汰した。この事例により、競走馬などの家畜伝染病予防法に基づく検査や各種自衛

検査などを受けて清浄性が確認されている馬とは別に、必ずしも本病の清浄性が確認されていない馬群が存在していることが明らかとなった。

## II 病原体

### 1. ウィルスの性状

馬伝染性貧血ウイルス(図1)は、レトロウイルス科(*Retroviridae*) オルトレトロウイルス亜科(*Orthoretrovirinae*) のレンチウイルス属(*Lentivirus*)に属し、馬属の動物種にのみ感

染する。同じ属のウイルスにはヒト免疫不全ウイルス(HIV)、サル免疫不全ウイルス(SIV)、猫免疫不全ウイルス(FIV)、牛免疫不全ウイルス、マエディ・ビスナウイルス、山羊関節炎・脳脊髄炎ウイルスなどが含まれる。いずれのウイルスもその自然宿主域が、馬伝染性貧血ウイルスと同様に非常に狭いことが特徴である。

馬伝染性貧血ウイルスの発見は早く1904年には素焼きの陶磁器を通り抜けることができるいわゆる濾過性病原体としてフランスで報告されている。これは、同じくレトロウイルス科に属する鶏白血病ウイルスなど古くから研究が進んでいるウイルスの発見よりも早く、動物ウイルスの中でも最も初期に発見されたウイルスのひとつである。更に論文の著者らは、罹患馬の血液をロバに接種することにより症状の再現にも成功している。

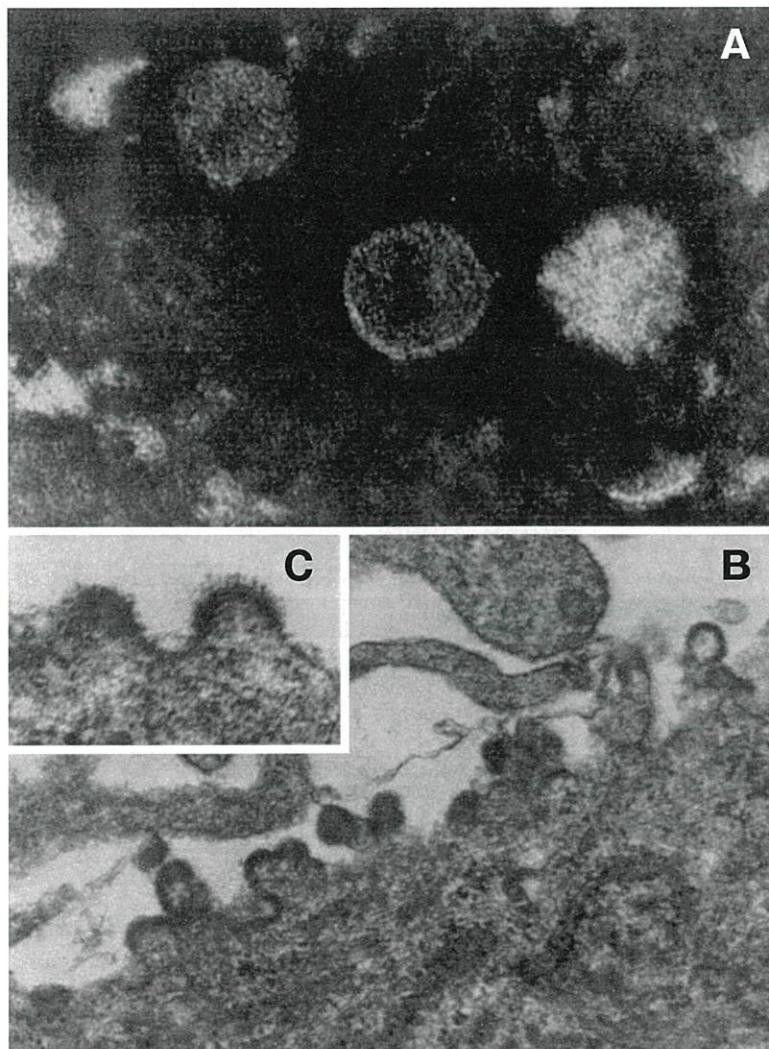


図1. 馬伝染性貧血ウイルスの電子顕微鏡写真

- (A)精製したウイルス粒子(ネガティブ染色)
- (B)感染培養細菌におけるウイルス増殖像
- (C)感染細胞の細胞膜を破り、細胞外へ出芽するウイルス

## 2. ウィルスの構造とタンパク質

成熟ウイルス粒子(ビリオン)は、おおよそ球形で直径は90～140 nm(平均115 nm)、細胞膜に由来するエンベロープで被われており、表面には長さ8 nm程度の突起(スパイク)が存在する(図2A)。この突起はウイルスに由来する表面タンパク(gp90、SU)と膜貫通タンパク(gp45、TM)の2種類の糖タンパク質から成る。gp90に対する抗体はウイルス中和活性を有する。

ウイルス粒子内部の構造タンパク質として、マトリックスタンパク(p15、MA)、カプシドタンパク(p26、CA)、ヌクレオカプシドタンパク(p11、NC)およびp9の4種類が知られている。p11はウイルスのRNAゲノムと結合し、その周囲をp26およびp9が囲んでカプシドを形成する。p15はエンベロープの内側に存在する。p15とp26

はウイルス粒子の形成に必須のタンパク質であり、p9は細胞内で増殖したウイルス粒子が細胞から放出される際に役割を担っている。

その他、Tat、S2、Revというタンパク質が同定されている。これらはウイルス遺伝子の合成や転写などに関与する機能タンパク質であり、ウイルスの病原性の発現にも役割を有していると考えられている。TatとRevは他のレンチウイルスにも存在するが、S2は本ウイルスに特有である。S2の機能については不明な点が多いが、人為的にS2を欠損させたウイルスは、実験感染させた馬の体内での増殖性が大きく低下し、病原性も減弱したという報告がある。その他、TM(gp45)のC末端側領域のみからなるTtmというタンパク質も報告されているが、その機能はよくわかつていない。

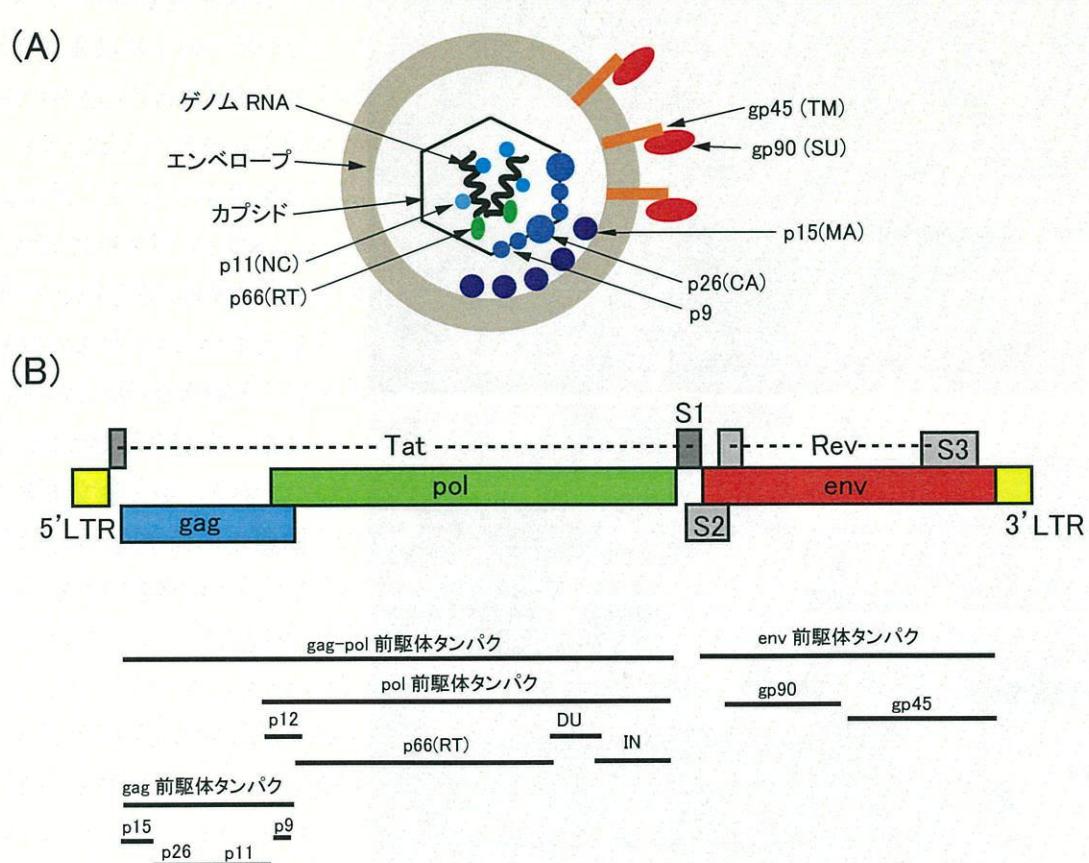


図2. 馬伝染性貧血ウイルス粒子とプロウイルスゲノム構造の模式図

(A) ウイルス粒子の模式図  
 (B) プロウイルスゲノム構造と各遺伝子がコードするタンパクの模式図  
 (R. F. Cook et al. (2009)を一部改変)

### 3. ウィルスの遺伝子

馬伝染性貧血ウィルスのゲノムは長さが約8.2 kb（キロベース）の1本鎖の+鎖RNAで、RNAの5'末端同士で結合した2分子のゲノムRNA（二量体）が、1個のウィルス粒子に含まれている。レトロウィルス科の大きな特徴として、ウィルスが感染した宿主細胞内で、ウィルスRNAを錆型として合成された2本鎖DNAが核内の宿主細胞DNAに組み込まれ、プロウィルスという状態になることが挙げられる。この機能を担っているのが、ウィルスRNAを錆型として相補的なDNAを合成する逆転写酵素である。逆転写酵素は、この相補的なDNAを合成するRNA依存性DNAポリメラーゼ活性（逆転写）と、DNAのハイブリッド二本鎖から錆型となったRNAを分解するRNase H活性を有する。レトロウィルスのretroはラテン語で「逆」を意味し、このウィルスに特有な逆転写酵素の存在に由来する。

ウィルスゲノムの基本的構成はすべてのレンチウィルスで共通で、5'側からgag、pol、envの順に主要遺伝子が配置されているが、馬伝染性貧血ウィルスのゲノム構造はHIVなど他のレンチウィルスと比べると単純である。レンチウィルスのプロウィルスDNAには、両端にウィルス遺伝子に由来する長い末端反復配列（long terminal repeat、LTR）が存在する（図2B）。LTRは、宿主細胞DNAへのウィルスゲノムの取り込みや遺伝子の転写調節に重要な役割を有している。

プロウィルスDNAからは、LTR領域に存在する転写シグナルを介して宿主細胞由来のRNAポリメラーゼにより、ウィルスゲノムRNAと、ウィルスの各タンパク質を合成するためのmRNAが転写される。ゲノムと同一サイズのmRNAからは、gagおよびpol遺伝子産物が合成され、種々のサイズに短く切断（スプライシング）されたmRNAからは、env遺伝子産物および機能タンパク質が合成される。gagおよびpol遺伝子産物からは、まずgag-pol前駆体タンパク（PR180<sup>gag/pol</sup>）が合成され、ウィルス由来のプロテアーゼによってgag前駆体タンパク（PR55<sup>gag</sup>）とpol前駆体タンパクに開裂する。gag前駆体タンパクは更に開裂し、p15、p26、p11およびp9の4種類の構造タンパク質が生成される。pol前駆体タンパクからはプロテアーゼ（p12）、逆転写酵素（p66、RT）、dUTPアーゼ（DU）およびインテグラーゼ（IN）という酵素群が生成される。逆転写酵素は分子量66,000 kDa（キロダルトン）のp66のホモ2量体、あるいはp66からRNase H活性部位が除かれたp51とのヘテロ2量体としてウィルス粒子内に存在する。env遺伝子からはenv前駆タンパクが合成され、宿主細胞由来プロテアーゼによって、スペイクを構成するgp90とgp45の2種類の糖タンパク質が生成される。また、それぞれ別の部位がスプライシングされて生じた短いmRNAからTat、S2、Revの3種類の機能タンパク質が合成される。

## III ウィルスの感染様式

### 1. ウィルスの伝播

馬伝染性貧血ウィルスは、アブやサシバエなどの吸血昆虫（主にアブ科）により媒介される。ウィルス感染馬を吸血したアブが非感染馬を吸血する際に、口器に付着したウィルスが体内に注入されることによる機械的伝播によって感染が成立す

る。同じく吸血昆虫（主に蚊）によって馬に感染する日本脳炎ウィルスやウエストナイルウィルス（以上、フラビウィルス科）やゲタウィルスや西部、東部およびベネズエラ馬脳炎ウィルス（以上、トガウィルス科）など、アルボウィルス（節足動物媒介性ウィルス）と呼ばれるウィルスは蚊等の体内で増

殖するが、馬伝染性貧血ウイルスは媒介昆虫の体内では増殖しない。

感染馬に使用して汚染された注射針の使い回しなど、医原性の感染も過去には多く認められた。その他の感染経路として、垂直感染、経乳感染や創傷感染が報告されている。垂直感染に関する過去の研究では、感染馬833頭のうち148頭(17.8%)に血縁関係を認めたという疫学報告や、感染母馬20頭の子馬のうち生後6か月から1年以内に8頭が陽性であったという報告がある。海外でも同様に、感染母馬の子馬の陽性例の報告がある。これらの事例では、垂直感染以外の感染例が含まれている可能性を完全には否定できないが、ウイルス接種妊娠馬の胎子の血液からウイルスを検出したという研究もある。ウイルスが胎子に感染する詳細な機構は不明であるが、御崎馬のように限局した区域に生息する集団では、垂直感染も集団内でのウイルスの維持に一定の関与をしていることが推察される。

アブによるウイルスの伝播は、主に近接している馬の間でおこる。アブの口器のウイルスの残存期間は最大で4時間程度であり、吸血後1時間でウイルス量は1%にまで減少する。一方、感染血液が残存している皮下用注射器内のウイルスの残存期間は96時間に及ぶという報告もある。この相違は注射器内の残存血液量がアブの口器に付着している血液量に比べ圧倒的に多いことによる。

急性型の症状を示している馬では、無症状馬よりも血中ウイルス量が1,000～100,000倍多く、1匹のアブによってウイルス伝播が生じることが示されている。一方、無症状馬では発熱した馬に比較してウイルスを伝播する可能性は低いが、25匹の中型アブの集団によって伝播したという報告もある。確実なウイルスの伝播には、アブが感染馬を吸血し、一旦吸血が中断された後に非感染馬に移動して吸血を再開する必要がある。アブに刺された馬は疼痛や不快感によりアブを追い払おうとするが、アブはできるだけ速やかに吸血

を完了しようと元の馬あるいは近くの馬で吸血を再開しようとする。ある報告では、アブは4マイル(約6.4 km)以上飛行可能であるが、99%のアブは、他の馬が160フィート(約48 m)以内に存在しない場合には元の馬に戻ろうとする。これらの知見に基づき、米国農務省の馬伝染性貧血のマニュアルでは、感染馬の隔離時には、非感染馬から200ヤード(約180 m)以上離すことが規定されている。

## 2. 細胞への感染

馬伝染性貧血ウイルスが感染するのは単球／マクロファージ系の細胞に限局される。馴化したいくつかのウイルス株は、馬腎臓由来細胞や馬皮膚由来株化細胞で増殖することができる。特定のウイルス株が持続感染している馬皮膚由来細胞も確立されている。馬以外の動物由来細胞では、イヌ胸腺由来株化細胞で増殖できるという報告がある。

ウイルス表面のスパイクを形成しているgp90が細胞表面のウイルス受容体(レセプター)に結合して感染が成立する。近年、この受容体が腫瘍壞死因子レセプターファミリーに分類されるタンパク質であることが同定され、馬レンチウイルスレセプター1(equine lentivirus receptor-1, ELR1)と名付けられた。他のレンチウイルスもマクロファージに感染するが、HIVやSIVは主にヘルパーTリンパ球表面に存在するCD4を、FIVは活性化Tリンパ球に存在するCD134を介してリンパ球にも感染する。これらのウイルスは、ケモカイン受容体もウイルスの受容体として利用しており、それぞれのウイルスが2種類のウイルス受容体を利用することが知られている。リンパ球上の受容体が馬伝染性貧血ウイルスには存在しないことが、本ウイルスによる病態として免疫不全を引き起こさない理由の一つと推察されている。

## 3. ウィルスの抗原変異

単球の中でウイルスはプロウイルスの状態で宿

主の免疫機構から逃れて持続感染しており、感染馬はウイルスを生涯にわたり保有し続ける。ウイルスが増殖するのは成熟した組織中のマクロファージや樹状細胞内と考えられる。血中のウイルス力価は発熱の時期に一致して高くなり、また薬物やストレスなどによる免疫抑制時にも高くなることが報告されている。

感染馬の発熱期には、それまでのウイルスとは抗原性の異なる変異ウイルスが出現する。変異ウイルスは、以前に出現したウイルスに対して産

生された中和抗体によっては中和されない。再び既存の中和抗体によって中和されない変異ウイルスが出現すると、次の発熱期にはまた異なる抗原性のウイルスが検出される。この抗原性の変異は、表面タンパクgp90のアミノ酸の変異が原因である。gp90のアミノ酸配列にはいくつかの可変領域が知られており、特にV3と呼ばれる部位が、中和抗体からのエスケープに関与する主要な領域と考えられている。

## IV 疫 学

### 1. 海外での発生状況

馬伝染性貧血は、世界的に分布していると考えられている。国際獣疫事務局(OIE)の資料によるとロシア、中南米諸国では、継続して発生報告がなされている。米国、カナダ、フランス、ドイツ、イタリア、フランス、オーストラリアなど、わが国が馬を輸入している国、あるいは国際競走による競走馬の交流を行っている国でも、毎年のように陽性馬が摘発されている。

米国の全国規模の調査では、1972年の陽性率はおよそ4%（検査頭数は数万頭程度）であった。2000年以降では150～200万頭／年が検査を受けているが、陽性率は0.01%以下である。2012年には1,443,959頭が検査され、陽性は36頭（0.002%、11州27施設）であった。米国の馬の頭数はおよそ920万頭と推計されており、全頭数の20%を毎年検査している計算になる。しかし検査が実施されていない馬がかなりの頭数存在することが指摘されており、未検査の陽性馬がどの程度存在しているのかは不明である。

ドイツでは、2006年以降継続してその発生が報告されている。2010年にはルーマニアからの輸入馬の散発的な摘発例が報告されている。2012年には、競馬場において陽性馬1頭が摘発・

殺処分され、在厩馬の移動禁止措置がとられたことから、2日間競馬開催が中止された。

アイルランドでは、2006年5月から12月に38頭が摘発された。これは同国での初めての発生報告であった。初発は動物病院に入院していた子馬であり、原因は肺炎治療に使用されたイタリアから非合法に導入した血漿製剤であった。また同一病院にいた12頭の馬に感染が確認された。当該子馬は多量の鼻出血を呈しており、努力性呼吸の継続あるいは汚染された床を水で清掃しようとした際に発生したエアロゾルにより、同一の空調エリアという限定された場所にいた馬が感染したと推測されている。

イギリスの北アイルランドで、2006年9月に子馬1頭で陽性が確認され、アイルランドから戻った馬が感染源であることが示唆されている。イギリスでは1976年以来の事例であった。2010年1月には、前年ルーマニアからベルギー経由で輸入された2頭が陽性と診断された。この結果を受けベルギーでも調査が実施され、2007年～2009年にルーマニアから輸入された馬計7頭が陽性と診断された。

フランスでは、2005年以降散発的に陽性馬が確認され2009年に16頭、2010年に11頭が摘発

されているが、一部はルーマニアから輸入されたハイリスク馬の追跡調査によって明らかとなつたものである。

イタリアは、ヨーロッパではルーマニアとともに馬伝染性貧血の常在地であると見なされている。毎年20万頭以上の馬を対象に調査が実施され、十数頭ときに100頭以上が摘発されている。2010年にリグーリア州(イタリア北西部)の競技馬および競走馬を除く馬属の動物を対象にした調査では、馬150,733頭中133頭(0.09%)、ロバ7,433頭中12頭(0.16%)、ラバ861頭中92頭(10.7%)がそれぞれ陽性であった。

## 2. 日本での発生状況

日本では、1889年(明治22年)に米国カリフォルニア州から輸入した馬で初めて発生が認められた。1952年にはおよそ100万頭の馬が飼養されており、9,029頭の馬が摘発、淘汰された。その後は馬の頭数の減少とともに、徐々に感染馬の数は減少していった(表1)。1973年および1975年には、数カ所の地方競馬場での集団発生により、摘発頭数が増加したが、1977年には年間の摘発頭数は29頭にまで減少した。しかし、家畜伝染病予防法の改正(1978年5月)により、診断基準が担鉄細胞の検出を中心としたものから、寒天ゲル内沈降反応に変更された。そのため診断の精度と感度が大きく向上したことにより、1978年と1979年は摘発頭数が増加した。それ以降の摘発頭数は確実に減少し、1983年の摘発以降認められなくなっていた。しかし、1993年に岩手県の農用馬が摘発され、2011年には宮崎県の御崎馬で陽性馬が摘発された。

### (1) 岩手県の農用馬での発生事例

1993年(平成5年)4月、岩手県遠野市の馬繁殖農家で、農用(肥育)の7歳と9歳(現在の年齢表記法による)の中半血種の雌馬2頭が、寒天ゲル内沈降反応で陽性と判定され感染馬として淘汰された。両馬とも移動歴は無く、同居馬(4

頭)はいずれも陰性であった。臨床症状ではなく、剖検所見でも両馬とも脾臓のリンパ濾胞の軽度の腫大を認めた以外には著変はなかった。家畜衛生試験場(現動物衛生研究所)で実施された病性鑑定ではウイルス分離は陰性であった。なお同月に実施されていた同市内の飼養馬の検査は全て陰性であった。当該農家では、13年前にも陽性馬の摘発事例があった。

### (2) 宮崎県の御崎馬での発生事例

2011年(平成23年)3月、宮崎県が実施した定期検査において、JRA宮崎育成牧場に導入された御崎馬由来の乗用馬1頭が、寒天ゲル内沈降反応で疑陽性と判定された。当該馬は3月11日に自衛殺処分された。動物衛生研究所において病性鑑定を実施したところ、陽性と確認されたため、3月16日に宮崎県は当該馬を患畜と決定した。当該馬は2008年5月生まれで、毛色が御崎馬の基準を満たさないために活用馬として県内の研究機関を経て育成牧場に導入された。その後4月7日に、福岡県の観光牧場で飼育されていた御崎馬由来の乗用馬1頭が陽性馬として摘発され、4月11日に殺処分された。これら2頭に疫学的に関連していた馬の追跡調査が実施され、当該馬が施設に在厩していた期間中に施設に同居していた馬、ならびに施設を一時利用した馬すべての馬を対象として検査を実施し、全頭の陰性が確認された。御崎馬由来の馬で馬伝染性貧血が摘発されたことから、都井岬に生息する野生の御崎馬について、柵内に追い込み捕獲した96頭の採血が実施された。その検査の結果陽性が確認された12頭について7月22日に淘汰が実施された。

育成牧場の陽性馬の剖検所見では、脾臓では多量のヘモジデリン沈着と多数のヘモジデリン貪食マクロファージが認められた。肝臓のグリソン鞘でも少数のヘモジデリン貪食マクロファージがみられた。

宮崎育成牧場および福岡の観光牧場の陽性

表1. 国内の馬伝染性貧血の発生状況と輸入検疫中の摘発頭数

年	馬の飼養頭数	摘発頭数	輸入検疫頭数	輸入検疫中の摘発頭数
1952		9,029		
1953		8,286		
1954		6,009		
1955		5,441		
1956		5,531		
1957		4,038		
1958		3,369		
1959		2,804		
1960		2,364		
1961		2,038		
1962		1,686		
1963		1,359	110	0
1964		763	385	9 (7)*
1965		560	513	6 (5)
1966		485	806	0
1967		466	240	0
1968		347	112	6
1969		239	202	6
1970		194	141	0
1971		175	504	1
1972		139	1,286	0
1973		270	1,552	1
1974		89	629	1
1975		232	435	2 (1)
1976		54	223	0
1977		29	536	7 (5)
1978		104	1,005	0
1979		198	1,641	1
1980		43	1,592	1
1981		15	1,449	0
1982		5	678	0
1983		4	274	0
1984		0	238	0
1985		0	170	0
1986		0	574	1
1987		0	741	0
1988		0	1,587	7
1989	104,476	0	2,129	1
1990	109,153	0	2,647	0
1991	115,779	0	3,269	0
1992	119,273	0	3,245	0
1993	121,093	2	2,435	0
1994	122,410	0	2,432	0
1995	122,234	0	3,444	0
1996	118,155	0	2,753	0
1997	115,314	0	1,814	0
1998	111,330	0	2,667	0
1999	106,830	0	4,373	0
2000	103,977	0	4,873	0
2001	104,561	0	4,962	0
2002	106,018	0	4,676	0
2003	101,947	0	4,200	1
2004	96,607	0	5,478	0
2005	92,906	0	5,493	0
2006	86,997	0	6,423	0
2007	84,359	0	5,996	0
2008	83,151	0	4,688	0
2009	80,757	0	4,484	0
2010	81,376	0	5,294	0
2011	74,610	2 **	3,710	0
2012	75,199	0	2,954	0
2013	75,302	0	3,683	0

\* ( ) 内は再検査後、解放となった疑似患畜数

\*\* 2011 年は、その他に御崎馬 12 頭が摘発、淘汰された。

「動物検疫年報」(農林水産省動物検疫所)

「平成 25 年度馬関係資料」(1989 年～ 2012 年の飼養頭数) (農林水産省生産局畜産部畜産振興課)

「家畜の飼養に係る衛生管理状況等」(2013 年の飼養頭数) (農林水産省消費・安全局動物衛生課) による

馬から分離されたウイルスの gag領域の一部の遺伝子解析から、御崎馬群に感染していたウイルスは、米国や中国で分離されたウイルスとは系統が異なり、我が国で1940年代(豪俊株)および1960年代(東京株)に分離されたウイルスと類縁であったことから、これらの株と遺伝学的に近いウイルスが御崎馬群で保存されていたものと考えられた(図3)。

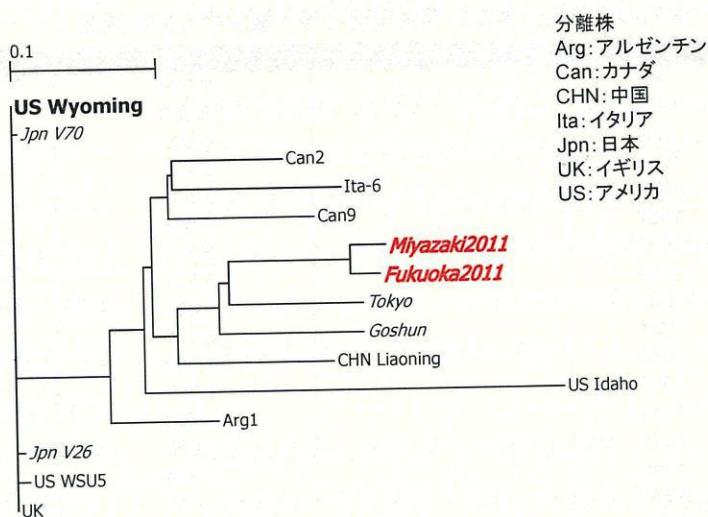


図3. 御崎馬由来馬の馬伝染性貧血ウイルスgag遺伝子領域を用いた系統樹解析  
斜体文字は日本分離株(ただしJpn 70およびV26は、標準株であるUS Wyoming 株由来と考えられている)(家畜衛生週報のデータを改変)

## V 臨床症状

ウイルスの実験感染では、潜伏期間は10～20日であるが、接種ウイルス量を極めて少量とした場合に2ヶ月以上に及んだ例が報告されている。感染馬の臨床症状は、一般的に急性型、亜急性型および慢性型に区分される。

急性型では、感染後7～20日で、40～42℃の発熱と貧血が起こる(図4)。その他、血小板の減少、元気や食欲の減退や消失が認められ、体重が減少し、解熱しないまま10～14日で死亡する。胸部、腹部や四肢の下部の浮腫、黄疸や下痢などが認められる場合もある。解熱後に、虚脱状態で死亡する場合もある。亜急性型は、1回目の発熱を耐過した馬に認められる。解熱後、2週間から1か月程度の間隔の発熱が繰り返される(回帰熱)。1回の

発熱あるいは数回の発熱の繰り返しの後に衰弱して死亡する。慢性型では、発熱間隔が長く、また軽度となり、やがて発熱が認められなくなる。このような馬は、外見上健康馬と区別が困難であり、摘発されずに飼養され続けた場合には感

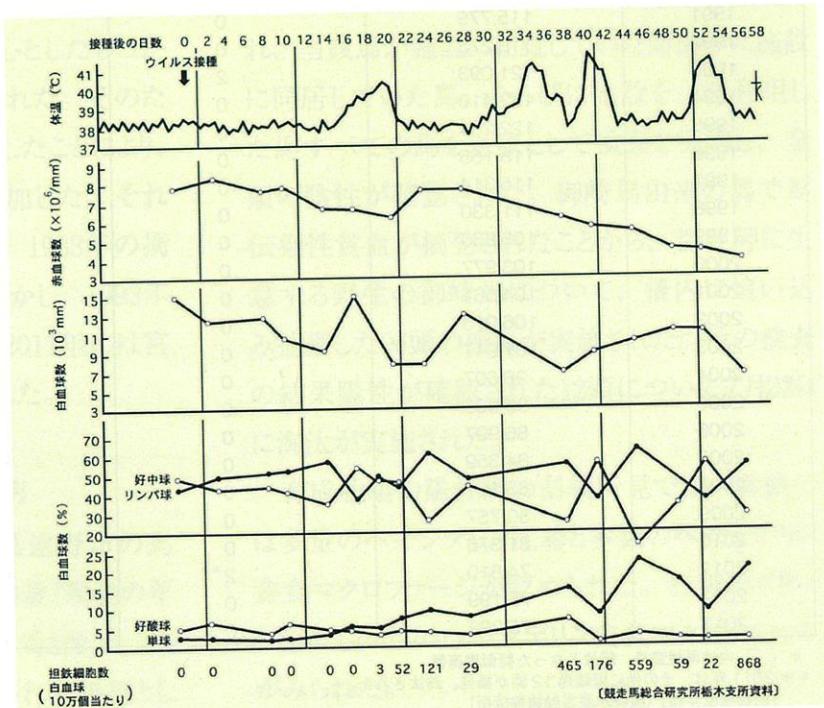


図4. 馬伝染性貧血ウイルス実験感染馬の体温と血球数の推移

染源となり得る。しかし、長期間の無熱期を経過した後に発熱し、徐々に衰弱して死亡する場合もあり、かつては再発型と呼ばれたこともあった。

発熱期から熱分離期にかけ、感染馬の末梢血白血球の塗抹標本の鉄染色により、ヘモジデリンを含有したマクロファージ(担鉄細胞)が認められる(図5)。

感染馬がどのような転帰をとるかは、感染ウイルスの量や病原性のほか、馬の年齢や一般状態など、ウイルス側と宿主側両者の要因によりさまざまである。

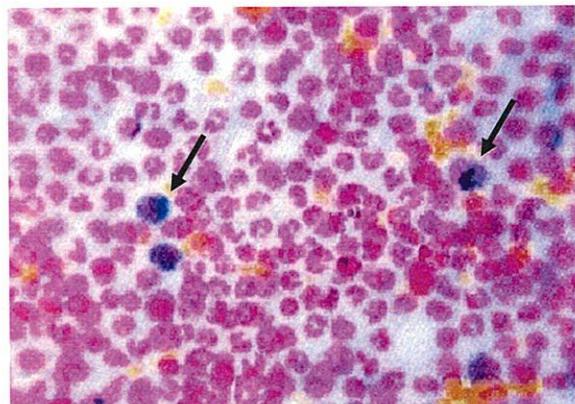


図5. 感染馬の末梢血中の担鉄細胞

## VI 病理

### 1. 病理解剖所見

急性型では、全身性の脂肪組織の膠様化、肝臓や脾臓の腫大、体腔や諸臓器漿膜下の浮腫や出血、実質臓器やリンパ節の水腫性肥大や実質内出血などが認められる。亜急性型の所見は、急性型に類似するが出血病変は軽度である。貧血が著しい場合には実質臓器の退色が認められる。慢性型では、肝臓は慢性うつ血のために腫大する。うつ血により小葉中心部が暗赤色となり周辺部の小葉像が脂肪変性により明瞭となった肝臓には、剖面に大理石様紋理形成が認められ肉荳蔻(ニクズク)肝と呼ばれる(図6)。脾臓も腫大し、リンパ濾胞が明瞭となる(図7)。



図6. 感染馬(慢性)の肝臓(ホルマリン固定)  
大理石様紋理が認められる(ニクズク肝)

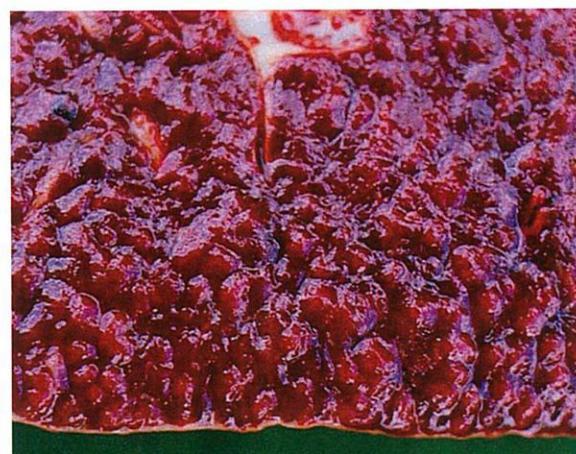


図7. 感染馬(慢性)の脾臓  
濾胞の腫大と増数

### 2. 病理組織所見

急性型では、肝臓の巣状壊死や脂肪変性が認められる。肝臓の類洞内皮細胞やクッパー細胞の増殖やヘモジデリンの著しい沈着が認められる。脾臓やリンパ節などリンパ組織の病変が顕著で、脾臓ではリンパ濾胞の壊死やその周囲組織におけるリンパ球・形質細胞の増数・集簇が観察される(図8)。骨髄でも造血系細胞のび漫性変性が認められる。亜急性型でも変性病変と増殖性変化が認められる。実質、リンパ組織、細網内皮系の変性は軽度である。ヘモジデリン

沈着は、急性や亜急性例では、リンパ節、骨髓、肺や腎臓などでも認められる。慢性型では、脾臓ではリンパ濾胞の腫大、増数が認められる。肝臓では、肝小葉の中心静脈のうっ血、肝細胞索間の類洞におけるヘモジデリンを貪食したクッ

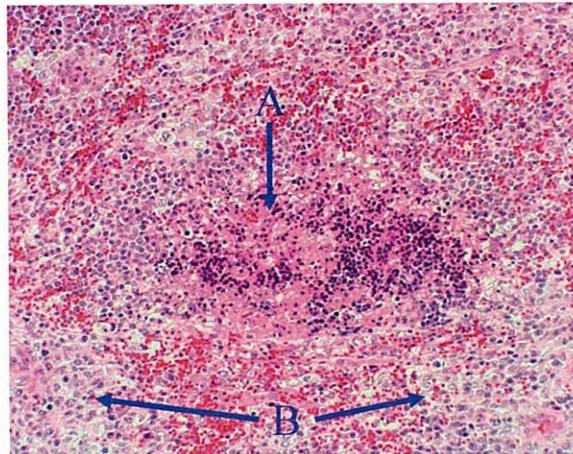


図8. 感染馬(亜急性)の脾臓

- (A) リンパ濾胞の壊死
- (B) リンパ球、形質細胞の増数

パー細胞の腫大増数およびリンパ球の浸潤増殖が観察される(図9)。また肝小葉周囲のグリソン鞘には、ヘモジデリンを貪食したマクロファージやリンパ球の浸潤増殖が観察される。

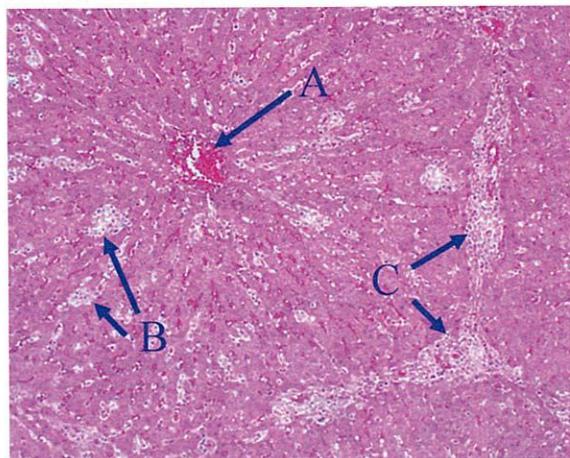


図9. 感染馬(慢性)の肝臓

- (A) 中心静脈のうっ血
- (B) 類洞におけるクッパー細胞の腫大・増数とヘモジデリンの貪食およびリンパ球の浸潤増殖
- (C) グリソン鞘におけるリンパ球・マクロファージの浸潤増殖

## VII 診断法

### 1. 診断法の歴史

診断には、臨床症状や血液所見が用いられていたが、特に慢性例では健康馬と区別がつかず、これらの所見のみから本疾患を診断することは困難である。過去には血液塗抹により担鉄細胞を検出する臨床血液学的検査による診断が行われていた。しかし、担鉄細胞の出現は必ずしも本疾患に特異的ではなく、また検査時期によっては陰性となる場合があり、現在では診断法としては用いられない。

馬伝染性貧血の最初の血清学的診断法は、甲野ら(1966)による補体結合(CF)反応である。CF抗体は感染後14～40日で検出されるが、陽転後、3～60日で陰性となるため現在では用いられていない。この現象は、補体結合活性を持たないIgGサブクラスであるIgG(T)抗体が上昇

し、補体結合活性を持つIgG抗体と、ウイルス抗原への結合が競合するためと説明される。中和試験は多くのウイルス感染症において標準診断法として用いられているが、馬伝染性貧血ウイルスに対する中和抗体はウイルスの型特異的であり、抗原変異によって生じた異なる型のウイルスには反応しないために、診断法としては用いられない。特定のウイルス株(Wyoming株)が、モルモット赤血球に対する凝集活性を有することが知られているが、すべての野外株が赤血球凝集能を持つわけではないため、やはり診断法としては用いられていない。

### 2. 現行の診断法

家畜伝染病予防法では、血清学的診断法として寒天ゲル内沈降反応検査と固相酵素免疫

測定法(ELISA)、およびそれ以外の検査(疫学的検査、赤血球の計算等による臨床検査)が規定されている。OIEの診断マニュアルでも寒天ゲル内沈降反応とELISAが信頼できる診断法として記載されている。ELISAでは偽陽性反応があることがあるため、陽性の場合は寒天ゲル内沈降反応による確認検査を実施する。わが国では、2002年からELISAキットが市販されていたが現在は市販されておらず、寒天ゲル内沈降反応のみが用いられている。遺伝子診断法およびウイルス分離は、血清学的診断法の結果を補強するために研究機関で実施され、通常の検査やサーベイランスには用いられない。

### (1) ウィルス分離

ウィルス分離は、検査馬の血液を非感染馬から分離した末梢白血球に接種することによって実施する。白血球培養によるウイルス分離は小林ら(1961)によって初めて報告された方法であり、野外ウイルス分離に適した株化細胞が見つかっていないために、現在でも用いられている。検査馬の血液あるいは洗浄白血球を、非感染馬に接種して感染の成立を確認する方法も用いられる。いずれの方法でも、蛍光抗体法や遺伝子診断法によりウイルスの存在を確認する必要がある。白血球培養、馬体接種試験ともに検査機関では実施が困難であるため、通常の疫学調査では用いられない。

### (2) 遺伝子診断法

OIEの診断マニュアルには、感染馬の末梢血中のプロウイルスDNAを検出するために、gag遺伝子領域を増幅するPCR法およびnested-PCR法が紹介されている。nested-PCR法の検出限界のゲノム数はおよそ10コピーである。最近では感度の高いリアルタイムPCR法も報告されている。

### (3) 血清学的診断法

寒天ゲル内沈降反応は、1970年代初頭に、

Cogginsらと中島らによってほぼ同時期に報告され、現在まで馬伝染性貧血の血清学的診断法の標準法として世界的に用いられている方法である。原著では、Cogginsらは感染馬の脾臓乳剤を抗原として、中島らは白血球培養法により増殖させたウイルスを抗原として用いている。判定までに要する反応時間は24～96時間である。現在わが国の診断用抗原は、馬胎子皮膚(EFD)細胞で増殖したP-337株を精製濃縮したものを使用している。特異性が高く、反応に関与する主要抗原はp26である。判定基準等の詳細は後述する。

ELISAは、現在わが国では用いられていないが、世界各国ではいくつかのキットが用いられている。ほとんどのキットでは主要抗原はp26であるが、gp45を用いているキットもある。判定までに要する時間は数時間程度である。

寒天ゲル内沈降反応では、通常感染後2～3週間で陽性を示す。ほとんどの馬は感染後45日までに陽性となるが、極めてまれな例として感染60日後まで抗体が検出されなかった例もある。ELISAは、寒天ゲル内沈降反応よりやや早期により低い抗体レベルで検出可能である。

イムノプロット法(ウエスタンプロット法)はp26、gp45およびgp90に対する抗体を検出する特異性と感度の高い診断法である。通常の検査では実施されないが、ELISAと寒天ゲル内沈降反応の結果が一致しない場合の確認検査として用いられる。ELISAおよびイムノプロット法による抗体は、寒天ゲル内沈降反応にやや先行して検出される。

イタリアで実施された大規模な血清疫学調査では、第一段階としてELISAを実施し、次いでELISA陽性検体を寒天ゲル内沈降反応で確認し、両者の判定結果が一致しない場合にイムノプロット法で確認する三段階方式が実施された。イタリアの調査ではELISA陽性で寒天ゲル内沈降反応陰性例が報告されているが、このような結果が生じる例はほとんどラバであり、馬では極めてまれである。

## VIII 予防と治療

馬伝染性貧血に対する治療法は存在せず、治療は行わない。予防法に関しては、実験室レベルではさまざまな様態のワクチンの研究が実施されているが、世界的にみても、現在使用されているワクチンはない。中国では、1970年代に弱毒生ワクチンが開発され、1990年頃まで野外で用いられていたが、現在では用いられていない。

本ウイルスを媒介する吸血昆虫の駆除は、節足動物媒介性の他の感染症に対する対策として

も効果を有するが、完全に昆虫を駆除することは不可能である。最も確実で有効な対策は、対象馬群の全頭検査による摘発と淘汰である。すでに本疾病の清浄性が確認されている馬群における定期的なサーベイランスの実施、清浄性が確認されていないあるいは十分ではないと考えられる馬群からの馬の導入の制限、やむを得ず導入する場合には事前の検査の実施や隔離措置などが求められる。

## IX 我が国の防疫対策

### 1. 家畜伝染病予防法の規定

1997年(平成9年)まで家畜伝染病予防法(以下、法)第31条の規定に基づき実施されていた毎年1回の定期検査は、清浄化の進行を背景に廃止され、1998年に、新たに法第5条および施行規則第9条に基づいて、少なくとも5年に1回の検査が実施されるようになった。その対象は繁殖牝馬・種牡馬およびその同居馬、競走馬の全頭、その他農林水産大臣または都道府県知事の指定する馬と定められている。

### 2. 軽種馬防疫協議会の規定

軽種馬防疫協議会は、国内の馬関係団体が軽種馬の自衛防疫について一元的に協議して具体的な対策を講じることを目的として1972年に設立された。同協議会では馬伝染性貧血検査について自主的な取り決めをしている。すなわち、競馬場などの入厩条件では、「入厩日の前年1月1日以降の検査証明書あるいは入厩時の検査の実施」を、交流競走出走馬では、「前年1月1日以降の検査証明書」を求めてきた。

しかし、次項で詳述する「馬防疫検討会・馬伝染性貧血清浄度評価専門会議」による馬伝染

性貧血の清浄度評価の議論を受け、衛生管理に関する指針として「定期的な検査を実施すること、および検査状況が明らかでない馬群や清浄性が確認されていない馬群からの馬の導入は可能な限り避けること、やむを得ず導入する場合は適切な検査を実施し陰性を確認すること」と変更され、2014年7月1日より適用されている。

中央競馬においては、この変更を受け2015年1月1日より、「入厩日の5年前の日の属する年度開始の1月1日以降の馬伝染性貧血検査証明書の提出」を入厩要件とした。また各地方競馬の主催者においても、変更が予定されている。

### 3. 馬防疫検討会専門会議

#### (1) 会議設置の経緯

今まで述べてきたように、わが国でも古くから多数の馬伝染性貧血馬が摘発されてきたが、寒天ゲル内沈降反応による血清診断法の確立以降は、確実な摘発・淘汰が可能となり、摘発頭数は急速に減少し、1984年(昭和59年)以降の発生は1993年(平成5年)の岩手県の2頭のみであった。このような状況を背景に、2007年の第10回馬防疫検討会本会議において、本病のわが国

における清浄度を評価し、今後の防疫施策に資することを目的とした「馬伝染性貧血清浄度評価専門会議」の設置が承認された。しかし、高病原性鳥インフルエンザや口蹄疫の発生により、その開催が繰り延べとなっていたところ、2011年に、宮崎県の御崎馬において本病が摘発されたことにより、本病の清浄化が確認されていない馬群が未だ国内に存在していることが明らかとなった。

そこで、2013年1月および11月に2回の専門会議が開催された。会議では、わが国の馬群の飼養の実態や検査の実施状況などに基づき馬伝染性貧血の清浄度が評価され、それぞれの馬群の清浄度に応じた検査体制のあり方が検討された。その結果、会議においてまとめられた清浄度の評価と今後の検査体制案は、第12回馬防疫検討会本会議(2014年2月)において承認された。以下に、専門会議で議論された概要を記す。

## (2) 馬の飼養状況

「馬関係資料」(農林水産省生産局畜産部畜産振興課監修)による分類では、日本の馬は軽種馬、乗用馬、農用馬、小格馬、肥育馬、在来馬に区分される。総頭数はおよそ8万頭で、緩やかな減少傾向にある。軽種馬が約半数を占め、乗用馬が20%程度、農用馬と肥育馬がそれぞれ10%程度、小格馬と在来馬がそれぞれ2%程度である。

軽種馬は競走を目的する馬で、サラブレッド種の競走用および繁殖用馬や育成中の馬などが含まれる。乗用馬は、馬術競技、一般あるいは観光乗馬などに用いられる馬であり、サラブレッド種などの軽種や中半血種などを含む。

農用馬のほとんどは、ばんえい競馬の競走用および繁殖用馬ならびに育成中の馬などであり、輶系馬とも称され、ブルトンやペルシュロンなどの重種が主である。その他、イベント用あるいは農耕運搬用のものも少数存在する。小格馬は、ポニー、ハーフリンガー、ミニチュアホースなど愛玩用の小型の馬を含んでいる。肥育馬には、主としてカナダからの輸入馬および、農用(輶系)馬

から肥育用へと用途が変わった馬が含まれる。

在来馬は、北海道和種(北海道)、木曽馬(主に長野県)、野間馬(愛媛県)、対州馬(長崎県)、御崎馬(宮崎県)、トカラ馬(鹿児島県)、宮古馬および与那国馬(ともに沖縄県)の8種類に区分されている(表2)。

## (3) 従来の検査状況

### 軽種馬の検査状況

中央競馬では、入厩検疫を受けるすべての馬と、毎年、春と秋の定期検査において、施設に在厩する全馬の検査を実施していた。2009年に入厩検疫時の検査が全頭検査から抽出検査となり、2011年には、秋の定期検査時に、その年の法第5条に基づく検査をすでに受けている馬の自衛検査を廃止したが、自衛防疫の観点から、各在厩馬に少なくとも年1回の検査を実施する体制を継続してきた。

地方競馬においても、ばんえい競走用馬を含め、家畜保健衛生所が実施する法に基づく検査に加えて、自衛検査として入厩検査などが実施されてきた。家畜保健衛生所による検査は、多くの地方競馬団体では年1回実施されてきた。また、より頻度の低い自治体においても、自衛検査を行なうことにより、ほぼ全ての在厩馬に年1回の検査が実施される体制がとられてきた。

繁殖馬や育成馬などについても、法に基づく検査が5年に1回に変更された後には、都道府県によって検査頻度に違いが認められるが、すべての馬が法に基づく検査を受けてきたと考えられる。

### 乗用、農用、肥育用、愛玩用馬の検査状況

乗用馬、農用馬、肥育馬などの法5条に基づく検査は、都道府県によって取り扱いが異なり、用途によっては検査頻度が異なる県も多い。乗馬クラブの馬を中心に、競技などのために移動する乗馬については、軽種馬防疫協議会の取り決めに従い、少なくとも年1回の自衛検査が実施されてきた。

表2. 日本在来馬の飼養状況と馬伝染性貧血の検査状況

	北海道和種馬 (北海道)	木曾馬 (長野・岐阜・山梨)	野間馬 (愛媛)	对州馬 (長崎)	御崎馬 (宮崎)	トカラ馬 (鹿児島)	宮古馬 (沖縄)	与那国馬 (沖縄)
文化財指定	北海道文化遺産	県の天然記念物	市の天然記念物		国の天然記念物	県の天然記念物	県の天然記念物	町の天然記念物
絶滅危惧種				対象			対象	対象
飼養頭数	検査頭数	飼養頭数	検査頭数	飼養頭数	検査頭数	飼養頭数	検査頭数	飼養頭数
2009年	1,223	155	24	74	29	3	113	0
2010年	1,198	159	26	80	32	3	111	0
2011年	1,085	162	32	66	29	3	80	96 (陽性12)
2012年	1,148	164	29	60	63	28	3	87
主な 飼養場所	北街道大、農家 等	木曽馬の里、高校、農 家等	野間馬ハイランド 馬事公苑、農家など	都井岬放牧場 鹿児島大学、開聞山 麓公園など	鹿児島大学、開聞山 麓公園など	農家、農林高校 ゆうゆう広場、ふれ あい広場		
飼養戸数 (2011年)	180	68	7	8	1	3	5	16
飼養形態	放牧、舍飼	放牧、舍飼	放牧、舍飼	放牧	放牧	舍飼	放牧、舍飼	

馬防疫検討会事務局まとめ(平成25年6月)

飼養頭数は、馬事協会調査値

検査頭数は、家畜保健衛生所実績および各保存協会報告値

調査時期が異なるため、一部で飼養頭数と検査頭数に逆転がみられる

農用馬の中でもばんえい競馬用馬では、上記のとおり検査が実施されてきた。しかし、少數ではあるがその他の農耕運搬用の農用馬や愛玩用馬の多くは個人飼育であり、検査状況は必ずしも明らかではない。肥育用馬の検査実施状況も明らかでないが、大部分を占めるカナダからの輸入馬は輸入検疫において検査が実施されている。

### 在来馬の検査状況

在来馬は、北海道和種(5年に一度)や宮古馬(4年に一度)のように定期的に検査が実施されていた馬群もあれば、木曽馬のように移動時や繁殖時のみに検査を実施していた馬群、トカラ馬のように従来は検査が全く実施されていない馬群など、検査状況は様々であった。御崎馬での本病の摘発以降、新たに検査が実施された馬も存在するが、予算、捕獲が困難などの理由により、すべての馬の検査が実施されたわけではない。

#### (4) 馬伝染性貧血の清浄度評価と今後の検査体制

専門会議では、上記のように、区別した馬群ごとの飼養状況や従来の検査状況に基づいて、馬伝染性貧血に関する清浄度を評価し、今後の検査および防疫体制について以下のような提言をまとめ、馬防疫検討会本会議において承認された。

##### ①法に基づく検査が全国的・一律的に実施されるとともに自衛検査が継続されてきた馬群について(例:競走用、繁殖用、乗用などの軽種馬群およびばんえい競走用馬群)

これらの馬群に、感染馬が存在する可能性は非常に低い。したがって、これらの馬群では、従来の個体レベルの検査から、法に基づく検査による群単位でのサーベイランス体制に移行しても感染拡大リスクは低い。ただし、同レベルの清浄性が確認されていない馬群からの馬の導入は制限し、やむを得ない場合は、導入時の検査および隔離検疫措置をとることが望ましい。

##### ②感染馬の存在する可能性は低いが、法に基づく検査が全国的・一律的には実施されていない馬群(例:ばんえい競走用以外の農用、肥育用、愛玩用馬群)

これらの馬群に感染馬が存在する可能性は低いと考えられるが、検査実施状況が必ずしも明らかでなく、感染馬が存在する場合あるいは導入された場合には摘発は困難である。したがって、検査の実施状況の把握を図り、未検査の個体については可能な限り検査を実施する。また、馬の移動の際には、検査により陰性を確認すべきである。

##### ③法に基づく検査の実施が群の一部に限定されており、清浄性の確認に至っていない馬群(例:一部の日本在来馬)

一部の馬群では、検査が未実施の個体が存在し陽性馬が存在している可能性を否定できない。しかし、頭数が少なく、飼養施設が限定され、他の馬群から隔離された状況で生息しているため、他の馬群の清浄性には影響しないと考えられる。しかし、可能な限り全頭を検査して清浄性の確認に努める必要がある。清浄性が確認されていない馬群からの馬の移動は、可能な限り回避し、やむを得ず移動させる場合は、確実に陰性を確認する。

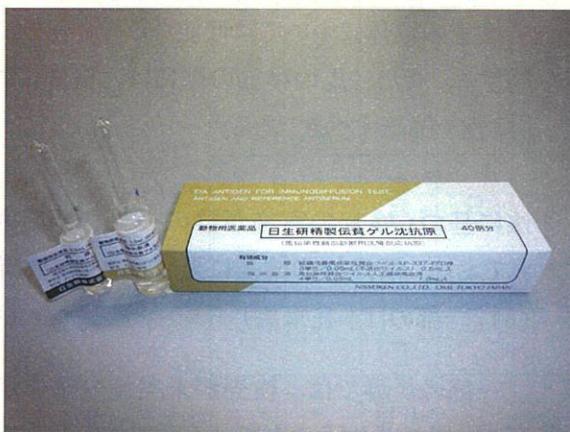
##### ④海外からの輸入馬群

現在も、海外では多くの国で発生が報告されている。しかし、輸入検疫期間中の検査に加え、衛生条件により仕出国における輸出前検査も義務付けていることから、海外からの侵入リスクは低い。1990年以降の摘発頭数は2003年の1頭のみであり、輸入馬を原因とする国内での発生もない。しかし、発生国からの馬の輸入も多く、今後も侵入防止に万全の措置を実施する必要がある。

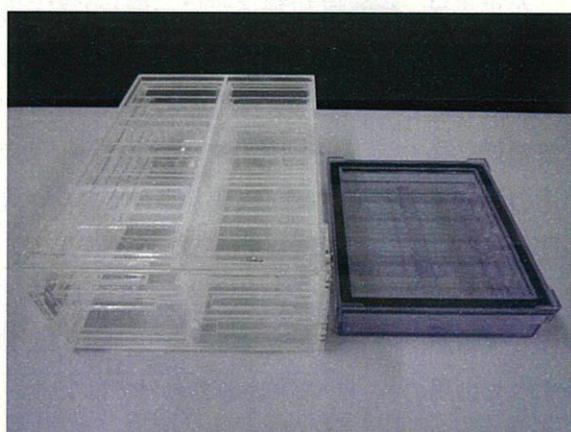
## (参考) 寒天ゲル内沈降反応の術式と判定

寒天ゲル内沈降反応の術式および判定法は、家畜伝染病予防法施行規則別表第一に記述されている。施行規則に記載された方法で反応用プレート(寒天平板)を自作することも可能であるが、ここでは市販プレートと市販抗原(標準血清がセットで付属している)を用いた方法と判定例を記載する。

### 機材の準備



1) 抗原および標準血清(図10)：  
1箱で40検体の検査が可能である。冷蔵保存。



4) 反応箱(図12)：  
プレートを入れ、密閉できる容器。スライドグラス用の湿潤箱(モイストチャンバー)などを利用する。プレート数が少ない場合には乾燥を防ぐため、水を含ませた脱脂綿等を入れる。



2) 反応用プレート(図11)：  
プレート1枚で12検体の検査が可能。冷蔵保存。  
使用時は室温に戻してから使用する。反応穴に液体が残存している場合は、吸引除去する。

3) 分注用マイクロピペットあるいは毛細管：  
50 µlを吸引・分注できるもの。



5) イムノビューアー(図13)：  
沈降線の観察を容易にするために、プレートに下方から光を当てる装置。

## 検査の実施

プレート番号	材 料											
	1	2		5	6		9	10				
	PS	AG	PS	PS	AG	PS	PS	AG	PS			
	4	3		8	7		12	11				
1				5				9				
2				6				10				
3				7				11				
4				8				12				
術者				判定者				ロット番号				
反応日 年 月 日 時				判定日 月 日 時				診断キット				
								ゲル沈プレート				

図14. 判定用紙

- 1) 判定用紙の番号が示す位置に被検血清を  $50\mu\text{l}$  ずつ分注する。4つの穴すべてに被検血清を入れ、空の反応穴を作らないようにする。
- 2) 標準陽性血清(PS)および抗原(AG)を  $50\mu\text{l}$  ずつ分注する。
- 3) プレートを反応箱にいれ、室温で静置する。

## 判 定

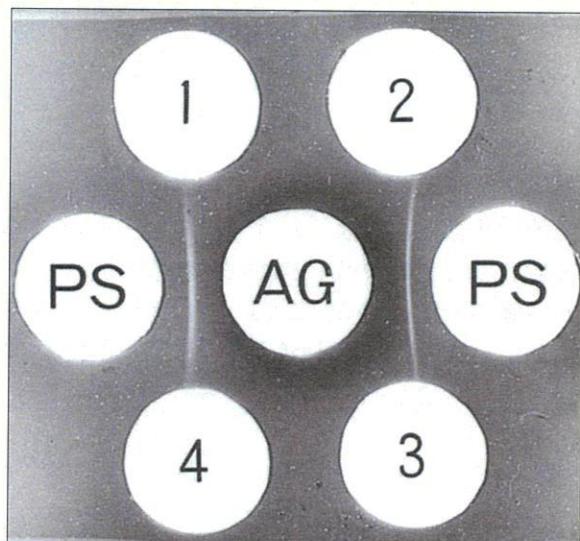


図15. 典型的な陰性例

24時間から96時間反応させて判定する。

反応が成立するためには、抗原と標準陽性血清と間に標準沈降線が形成されなければならない。標準沈降線を確認した後、抗原と被検血清との間に形成された沈降線の有無、沈降線の状態により、陽性あるいは陰性の判定を行う。以下に判定基準となるいくつかの例を紹介する。

### 1) 陰性

#### A. 典型的な陰性例(図15)

標準陽性血清と抗原との中間部に標準沈降線が生じ、その両端はやや外反あるいは直進する。被検血清が陰性の場合、1、2、3、4の穴と抗原の間に沈降線は形成されない。

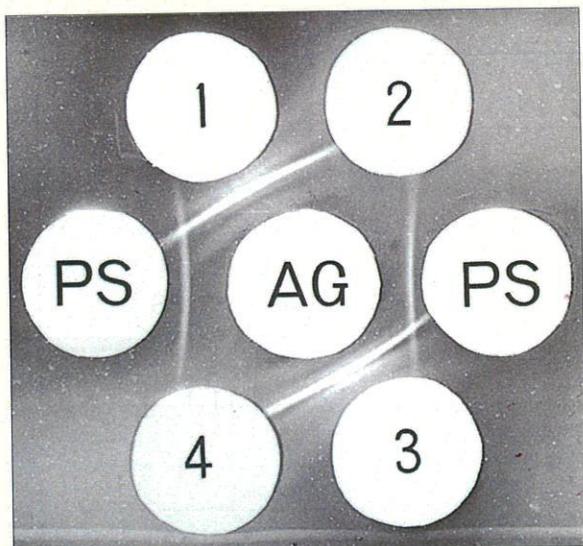


図16. 陰性例(非特異反応)

#### B. 陰性例(非特異反応) (図16)

まれに被検血清が、抗原に含まれるウイルス抗原以外の成分に対する抗体を保有している場合に生じる。血清1および3と抗原との間の沈降線は、標準沈降線と末端が融合せず交差しており、ウイルス抗原との反応ではなく陰性と判定できる。

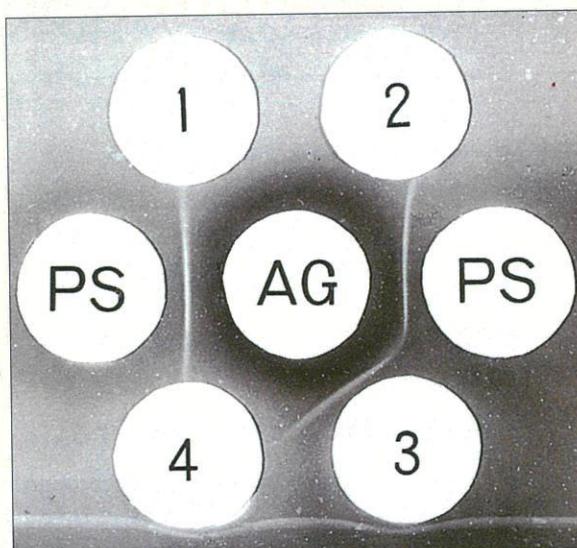


図17. 典型的な陽性例

#### 2) 陽性

##### A. 典型的な陽性例(図17)

血清3が陽性である。血清3と抗原の間に明瞭な沈降線が生じる。沈降線の末端は標準沈降線の末端と交差せず、融合する。

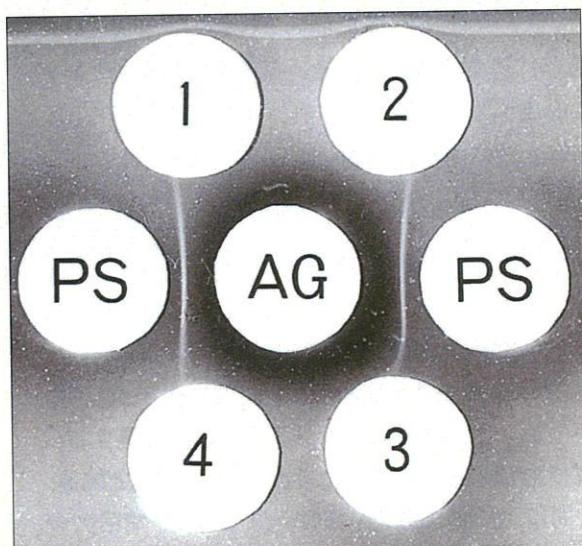


図18. 弱陽性例

##### B. 弱陽性例(図18)

血清3が弱陽性である。血清3と抗原との間に明瞭な沈降線は形成されないが、標準沈降線の血清3側の末端が内側に曲がっている。このような沈降線は、血清中の抗体価が低い場合に認められる。施行規則では「疑反応」とされ、15日～25日の間に再検査を実施する。

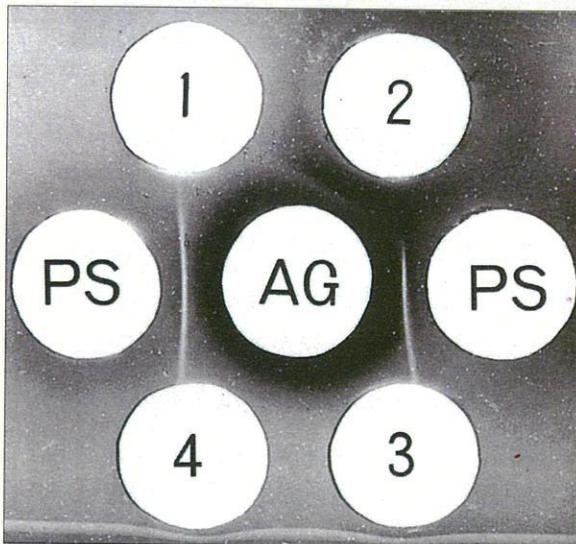


図19. 強陽性例

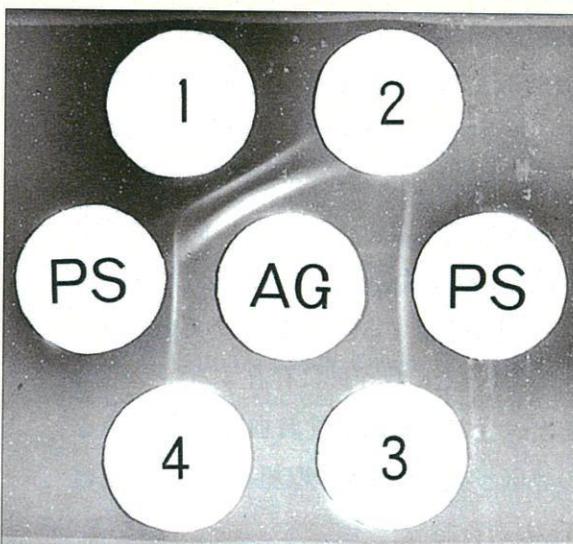


図20. 判定可能な例(陽性)

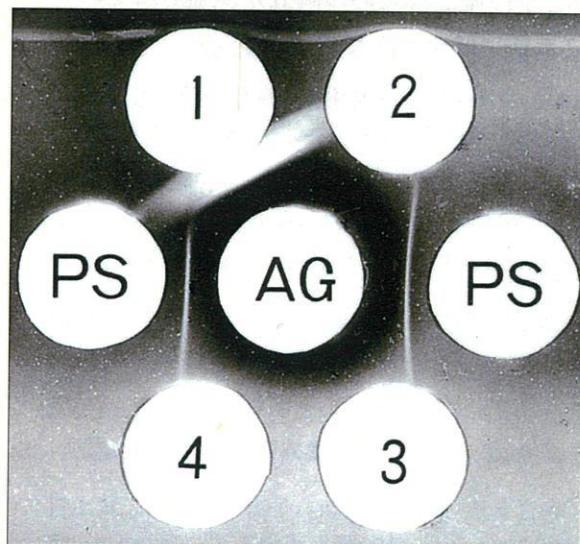


図21. 明確に判定できない例

### C. 強陽性例(図19)

血清2が強陽性である。血清2と抗原との間で、抗原より幅が広い不鮮明な沈降線が形成され、末端は標準沈降線の末端と交差せず、融合する。この場合も再検査を実施する。原血清および生理食塩水で2倍希釈、4倍希釈、8倍希釈した血清で反応を実施すると、いずれかの血清希釈で明瞭な沈降線が認められる。

### 3) 非特異反応との共存例

#### A. 判定可能な例(陽性)(図20)

血清1と抗原との間で、沈降線が複数生じ、そのうち1本は標準沈降線と末端が交差せず融合しており、陽性と判定される。標準沈降線と交差している沈降線は、抗原中のウイルス抗原以外の成分と反応して形成されたものである。

#### B. 明確に判定できない例(図21)

血清1と抗原の間で沈降線が複数生じているが、非特異反応の沈降線と陽性の沈降線が重なり、判定が困難である。正確な判定を期すために再検査を実施する。強陽性例と同様に血清を希釈して反応させると、適切な希釈で明瞭な沈降線が認められる場合がある。ただし抗体価が低い場合には、判定が困難となる場合がある。

非特異反応の原因の大部分は、抗原に含まれる牛血清成分であることから、被検血清に1/10量の牛血清を加え、37°C 30分間反応させた後に、反応を実施すると非特異沈降線が形成されなくなる例が多い。

## おわりに

馬伝染性貧血は、古くから我が国の馬産業に非常に大きな被害を与えてきた疾病です。当初は小動物を用いた実験感染モデルや培養細胞によるウイルス増殖系が見つからなかつたために、長年にわたり本病の原因である馬伝染性貧血ウイルスに関する研究に大きな進展はありませんでした。しかし、農林水産省家畜衛生試験場(現農研機構動物衛生研究所)に設置された馬伝染性貧血研究部を中心として精力的に調査研究が進められたことにより、1960年～70年代に我が国から本ウイルスに関する多くの先駆的な研究成果が発表され、防疫の推進にも大きく貢献しました。

特に、本ウイルスが培養した馬の末梢白血球で増殖することの発見は、ウイルスの定量法の確立や性状解析に大きな進展をもたらしました。また、本ウイルスが感染馬の体内で連続的に抗原変異を起こし、宿主の免疫防御機構から逃れて持続感染するという機構の発見も注目を集めました。一方、試験管内で培養したウイルスを抗原として、さまざまな血清学的診断法が開発されました。寒天ゲル内沈降反応は、確立から40年以上経った現在でも、本病の血清学的診断法の標準法として、世界的に広く使用されています。

海外では発生が続いている馬伝染性貧血ですが、我が国では、この寒天ゲル内沈降反応を用いた感染馬の確実な摘発・淘汰による防疫対策の取組により、長い間その発生が見られない状況となりました。このような状況のもと本病は清浄化されたものとして考えられるようになり、法に基づいた検査も陰性を確認する性格を呈するものとなっていました。しかし、2011年に在来馬において本病が摘発され、いまだに我が国に存在することが明らかとなりました。そのような事態を受け、馬防疫検討会では馬伝染性貧血清浄度評価専門会議を開催し、国内の様々な馬群の清浄度の評価と今後の検査の取組みについて提言しました。

このような段階を踏まえ、現在、在来馬等馬伝染性貧血清浄化技術検討専門部会(中央畜産会)において、在来馬等における本病の清浄性確認のための調査が実施されています。本小冊子の作成にあたっては、最近では本病に関する日本語の総説等がほとんどないことから、本病の現状や防疫対策のみならず、ウイルス学・免疫学的知見をはじめとしやや専門的な項目も加えた総説とするように企画しました。

本小冊子が、本病の防疫に携わる馬関係者の方々に利用され、本病の理解と防疫対策のための一助となれば幸いです。

## 参考文献

### 日本の主要な研究、総説、書籍など

農林省畜産局衛生課、農林省家畜衛生試験場共同監修:「馬伝染性貧血—疾病のなりたちと新しい診断法—」、日本獣医師会、1977.

小林和夫 馬伝染性貧血ウイルスの培養に関する研究 III. ウマ白血球培養に於けるウイルスの増殖、ウイルス、11, 249-256、1961。

Kono, Y. Recurrence of equine infectious anemia. Approaches to an understanding of the mechanisms. Proc. 3rd Int. Conf. Equine Infect. Dis. 175-186, 1972.

Nakajima, H. Immunodiffusion studies in equine infectious anemia and their evaluation for diagnosis. Proc. 3rd Int. Conf. Equine Infect. Dis. 199-214, 1972.

Nakajima, H. and Sugiura, T. Review: Equine infectious anemia - Research in Japan on the virology, immunology, pathogenesis and control. J. Equine Sci. 5, 1-19, 1994.

杉浦健夫、中島英男 馬伝染性貧血—病原体、病理発生、免疫、診断および予防に関する日本の主要研究成果、馬の科学、32、247-265、1995。（前記の総説の日本語訳）

### 海外の総説・書籍など

Cook, R. F., Cook, S. J. and Issel, C. J. Equine infectious anemia. In: Infectious Diseases of the Horse. (Eds. Mair, T. S. and Hutchinson, R. E.), Equine Veterinary Journal Ltd., 56-71, 2009.

Cook, R. F., Issel, C. J. and Montelaro, R. C. Equine infectious anemia. In: Virus Infections of Equines. (Ed. Studdert, M. J.), Elsevier, 297-323, 1996.

Cook, R. F., Leroux, C. and Issel, C. J. Equine infectious anemia and equine infectious anemia virus in 2013: Review. Vet. Microbiol. 167, 181-204, 2013.

Issel, C. J., Cook, R. F., Mealey, R. H. and Horohov, D. W. Equine infectious anemia in 2014: live with it or eradicate it? In: Veterinary Clinics of North America: Equine Practice (Ed. Mealey R. H.), 30 (3), 561-577, 2014.

Mealey, R. H. Equine infectious anemia. In: Equine Infectious Diseases, 2nd Ed. (Eds. Sellon, D. C. and Long, M. T.), Elsevier, 232-238, 2014.

### 発生に関する情報など

United States Department of Agriculture,

[http://www.aphis.usda.gov/wps/portal/aphis/ourfocus/animalhealth/sa\\_animal\\_disease\\_information/sa\\_equine\\_health/sa\\_equine\\_infectious\\_anemia/](http://www.aphis.usda.gov/wps/portal/aphis/ourfocus/animalhealth/sa_animal_disease_information/sa_equine_health/sa_equine_infectious_anemia/) (米国の馬伝染性貧血の発生情報)

World Organization for Animal Health (OIE), Disease Information,

[http://www.oie.int/wahis\\_2/public/wahid.php/Diseaseinformation/diseasehome](http://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Diseaseinformation/diseasehome) (OIEの疾病情報)

農林水産省、監視伝染病の発生状況、[http://www.maff.go.jp/j/syouan/douei/kansi\\_densen/kansi\\_densen.html](http://www.maff.go.jp/j/syouan/douei/kansi_densen/kansi_densen.html)

伝染病発生状況、軽種馬防疫協議会、<http://keibokyo.com/infomation/situation>  
(軽種馬防疫協議会が収集した海外の馬伝染病発生情報)

村上賢二、小西美佐子、亀山健一郎、芝原友幸、川篠健司：我が国で発生した馬伝染性貧血の対応と病性鑑定について、家畜衛生週報、No. 3183、396-398、2011。

(御崎馬における発生報告)

### 診断法、病理に関する資料、文献など

OIE Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals 2013, Chapter 2.5.6 Equine infectious anaemia (Version adopted in May 2013)

[http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health\\_standards/tahm/2.05.06\\_EIA.pdf](http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/2.05.06_EIA.pdf)

杉浦健夫「馬伝染性貧血の診断術式 第3版・補訂版」(中央畜産会 馬の感染症シリーズ)、2010

<http://keibokyo.com/wp-content/themes/keibokyo/images/learning/pdf/43.pdf>

泉対博：馬伝染性貧血、動物病理学各論第2版(日本獣医病理学会編)，文永堂出版、71、2010.

Scicluna, M. T., Issel, C. J., Cook, F. R., Manna, G., Cersini, A., Rosone, F., Frontoso, R., Caprioli, A., Antonetti, V. and Autorino, G. L. Is a diagnostic system based exclusively on agar gel immunodiffusion adequate for controlling the spread of equine infectious anaemia? Vet. Microbiol. 165, 123-134, 2013

図1：中島英男氏(元家畜衛生試験場場長)提供

図15～21：「馬伝染性貧血診断のための寒天ゲル内沈降反応の術式」(中島英男著)

(軽種馬防疫協議会、1976年)より転載

### 執筆者（五十音順）

近藤高志(日本中央競馬会競走馬総合研究所 栃木支所 分子生物研究室長)

村上賢二(岩手大学農学部共同獣医学科 獣医微生物学研究室 教授)

山川 瞳(農業・食品産業技術総合研究機構 動物衛生研究所 ウイルス・疫学研究領域長補佐)

公益社団法人 中央畜産会

〒101-0021 東京都千代田区外神田 2-16-2

第2ディーアイシービル9F

TEL.03-6206-0840