

## 動物用ワクチンの概要とその正しい使い方 (19)

誌名	日本獣医師会雑誌 = Journal of the Japan Veterinary Medical Association
ISSN	04466454
著者	倉田, 一明
巻/号	34巻8号
掲載ページ	p. 387-390
発行年月	1981年8月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター  
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council  
Secretariat



る。いっぽう、線維芽細胞型の髄膜腫の特徴は、網状線維や膠原線維の中に線維芽細胞様の線維が混入し、紡錘形をした髄膜上皮細胞がこれらの線維と一体化し、一見して神経線維腫に類似の組織像を示すといわれている。

これらの分類から考えて、本症例は腫瘍塊の中心部が広範囲にわたり硝子化を起し、著明な石灰沈着がみられたが、いわゆる渦紋状構造の中心部が硝子化を示すものの石灰化まで進んだ組織像は認められなかったことから判断して、髄膜上皮型の髄膜腫と診断された。

さて、この症例の発生原因については、不明なところが多く、推測の域を出ないが一応その経歴や解剖所見などを考慮して、次のように推察される。この患犬は、生後4才の時繁殖犬として米国から輸入されたもので、飼主の話によると、2才の頃米国において狩猟訓練中に散弾銃のタマを数発後頭部にうけ、その摘出手術をうけた経歴をもち、しかも散弾をうけた部位と腫瘍発生部位が一致している。しかし解剖の結果も頭蓋骨の内外側とも全く異常がなく、かつ脳実質や脳膜にも異常がなかったことなどから考えて、後頭部にうけた散弾のいずれかが頭蓋骨に陥入し、貫通一歩前の欠損孔を形成し、その後脳圧によってついに貫通孔が形成され、その部位から頭蓋外の頭部皮下に脳硬膜の一部が突出したのち、治癒閉鎖し、頭部皮下にとり残された脳硬膜が、時間の経過と

ともに腫瘍化が進行し、ついには小児頭大にまで増大したものと考えられる。

〔本論文の概要は、昭和54年度日本臨床獣医学会（東京）において発表した。〕

文 献

- 1) ANDREWS, E. J.: *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 163, 151~157 (1973).
- 2) GEIB, L. W.: *Pathol. Vet.*, 3, 247~254 (1966).
- 3) LANGHAM, R. F., et al.: *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 159, 175~176 (1971).
- 4) LAWRENCE, A. N.: *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 174, 1224~1227 (1979).
- 5) LUGINBUHL, H.: *Am. J. Vet. Res.*, 22, 1030~1040 (1969).
- 6) 菅野晴夫, 小林 博: 腫瘍病理学, 初版, 824~870, 東京, 朝倉書店 (1970).
- 7) MAGRANE, W. G.: *J. Small Anim. Pract.*, 6, 165~169 (1965).
- 8) MOULTON, J. E.: *Tumors in Domestic Animals*, 208~210 (1961).
- 9) 鈴江 懐, 小林忠義: 病理学各論, 初版, 1277~1279, 東京, 医学書院 (1967).
- 10) 田中延吉, ほか: 日獣会誌, 21 (臨), 582 (1968).
- 11) 富村 保, ほか: 日獣会誌, 21 (臨), 583 (1968).

## 動物用ワクチンの概要とその正しい使い方 (XIX)

### 21. 馬 鼻 肺 炎 ワ ク チ ン

倉 田 一 明\*

#### 1. 馬 鼻 肺 炎 の 現 状 と 予 防 注 射

馬鼻肺炎はウイルス性の疾病で、子馬の初感染では発熱、鼻漏を主徴とする鼻肺炎、妊娠中期以降の感染馬では、胎子感染の結果、死流産や、生後間もなく死亡するものが認められる。

同一のウイルスでありながら、馬に発現する症状が異なることから、一時、それぞれの症状は、別個のウイルスによるものと考えられた。しかし、研究の結果、これらの原因ウイルスは、病原性や抗原性などの点で区別できないことが判明した。

当初、本病の原因ウイルスは馬流産ウイルスの名称で

呼ばれたが、馬の流産は他のウイルスによっても起きるため、この名称が不適当となり、ウイルス固有の親和性臓器にもとずいて、馬鼻肺炎ウイルスの名称が提唱され、使用されている。

このウイルスは、Herpes 科の馬 Herpes ウイルス 1 型に属し、2つの亜型がある。1つはアメリカで初めて検出され、死流産を主徴とする亜型 1 (アメリカ型) で、亜型 2 (日本在来型) は、わが国の馬の間に流行しており、主として呼吸器症状を起こすが、時には死流産もみられる。両者の間には一部共通抗原が認められ、中和反応で区別できるが、CF反応では区別できない。また、アメリカ型は馬赤血球を凝集するが、日本在来型には認められない。

馬 Herpes ウイルスには、他に、2型として馬サイト

\* 農林水産省動物医薬品検査所 (東京都国分寺市戸倉 1-15-1)

メガウイルス、3型として馬鼻肺炎ウイルスがあり、わが国の馬の間にも存在しているといわれているが、馬鼻肺炎ウイルスとの間には、中和試験で抗原的關係は認められていない。

ウイルス粒子は直径 100~130 nm の球型で、構成核酸はDNAである。血清を含むメジウムで-70℃以下に保存すれば、感染性は安定であり、紫外線、熱、脂質溶剤やホルマリンで不活化される。

本ウイルスは、ハムスターに馴化されたものもあるが、馬以外の動物の感染は認められていない。培養細胞では、馬、牛、山羊、豚、家兎などの腎でよく増殖し、それぞれCPEを示す。このほか、各種哺乳動物の細胞系でもよく殖える。

本症には初感染と再感染があり、子馬は離乳後、日本在来型またはアメリカ型の初感染を受けて鼻肺炎を示し、その後、再感染した場合、妊娠中期以降の馬では死産が起きる。

潜伏期は 13~30 日位で、前駆症状はなく、突然発症する。鼻肺炎を主徴とする感染は、生産地で離乳直後の子馬や、集団飼育に入った馬に集団的に発生する。結膜炎、発咳、39.0~41.5℃の一過性の発熱、水様または膿様の鼻漏、顎下リンパ節の腫大、元気、食欲の減退等がみられる。しかし、細菌の二次感染を起こすと経過が長びく。妊娠中期以降の馬が感染すると、なんら前兆なく死産を起こしたり、生後間もなく死亡するものも認められ、死産は、妊娠 8~11 カ月の感染馬に高率に出現する。

診断には、ウイルス学的あるいは血清学的試験が行なわれるが、ウイルス学的試験による方が迅速、確実である。

鼻肺炎の症例については、発症時の鼻汁を採取し、流産の場合には、胎子の肺、腎、肝、脾等の乳剤について、ウイルスの分離を行なう。その際、使用する培養細胞としては、馬腎細胞が最も感受性が高く、2~3日後にCPEが出現する。また、試料を接種した培養細胞や、流産胎子の臓器塗抹について、蛍光抗体法を実施すると、細胞核内に特異蛍光が認められる。感染細胞をHE染色すると、核内封入体を検出できる。

血清学的試験では、発病時と回復時の血清について、CF、HIあるいは中和反応を行ない、抗体価を比較して有意の上昇があったか否かにより診断される。死産を呈した場合には、感染後、少なくとも 10 日以上を経過していることから、母馬には高い抗体価が認められる。

子馬は、ほとんど 9 月末から 11 月にかけて離乳し、集団飼育されるが、晩秋から初冬にかけて鼻肺炎の初感染を受ける。この時、鼻汁中には約 2 週間以上にわたって多量のウイルスを含有しており、直接鼻汁を介したり、人や汚染した器物、飼料を介して間接的にも伝播する。

この時期に、妊娠中期以降の馬が感染すると、12 月末頃から死産が発生し、2~3 月頃に多発する。流産胎子には多量のウイルスが含まれ、これが伝播源となって、4~6 月頃には前年感染を受けなかった馬に鼻肺炎がみられる。

1933年に、アメリカで初めて報告された本症は、今では、ほぼ全世界に蔓延している。わが国では、1957年に、馬流産胎子の肺、あるいは鼻肺炎を呈した馬の鼻汁から本ウイルス（日本在来型）が分離され、初めて本症の存在が確認された。1966年頃から輸入馬が増加する傾向がみられ、1967年春、北海道および千葉県で輸入馬を中心に死産が多発し、流産胎子から、わが国ではかつてみられなかった抗原型のウイルス（アメリカ型）が分離され、大きな被害と恐怖を与えた。その後も、この型のウイルスによる死産が北海道の一地方を中心に散発的に発生し、その後も毎年発生が続き、現在では、日本在来型とともに、この型のウイルスもほぼ定着した状態である。

死産を予防するため、当初、アメリカ製の生ワクチンについても、妊娠馬を用いて実験的な検討が行なわれたが、ウイルスの病原性がなお強く、ワクチンによる危険性が考えられ、実用に至らなかった。安全、有効なワクチンの開発を目指し、家畜衛生試験場を中心に研究が続けられた結果、濃縮不活化ワクチンの量産に成功し、すでに 1979 年から使用されている。

## 2. 馬鼻肺炎ワクチンの概要

わが国のほとんどの馬は、すでに日本在来型ウイルスの感染を経験していることから、死産の予防を主目的に、アメリカ型ウイルスによる不活化ワクチンの開発が進められてきた。

このワクチンの製造用ウイルスには、1967年、わが国の感染馬の流産胎子から分離されたHH-1株が用いられている。分離後、馬腎と牛腎培養細胞で継代、馴化後、子牛腎株化CKTC 6-1細胞によるウイルス培養法を確立し、大量培養への準備が整えられた。CKTC 6-1細胞は浮遊培養法で増殖するので、大型タンクを用いてウイルスの量産が可能となり、ワクチン製造に成功した。わが国で、動物用ワクチンの製造に、浮遊培養法が用いられたのは、本ワクチンが最初である。

ワクチンは、ウイルス培養後約 30 時間目に培養液を集め、遠心により上清を採取し、マクロゴールの添加と超音波処理により、ウイルスの濃縮と部分精製を行ない、ホルマリンを 0.2% の割合に添加して不活化後、リン酸アルミニウムゲルを加えたものである。

ワクチンは、製造所における自家検査が終了後、都道府県の薬事監視員により、規定量が無作為にサンプリングされ、国家検定を受けるため、当所に提出される。

国家検定は基準に従って、①特性、②純粋、③無菌、④防腐剤定量、⑤蛋白窒素含有量、⑥不活化、⑦安全および⑧力価試験が行なわれる。

①～⑤については、他のワクチンの場合と同様に実施されるが、⑤では、試験品の蛋白窒素含有量は0.5mg/ml以下に規定されている。⑥は、製造の過程で、ウイルス不活化の処理が終了し、アジュバントを添加する前に試料を採取することが定められており、その試料5ml以上を100倍量以上のリン酸緩衝食塩液(pH7.4)を用いて、4℃で1夜透析し、不活化剤を除去したものを試験材料とする。その全量を、1mlにつき3cm<sup>2</sup>以上の培養牛腎株化MDBK細胞に接種し、37℃で7日間培養、観察し、CPEを認めてはならない。⑦は、約4週齢のマウス5匹と、体重約300gのモルモット2匹を用い、試験品をマウスには0.5mlずつ腹側皮下に、モルモットには2mlを両臀部の筋肉内に注射して14日間観察し、注射部位に軽度の腫脹、硬結を認めることがあっても、試験終了時には全く異常を認めてはならない。⑧は、約6週齢のハムスター20匹を用い、試験品をリン酸緩衝食塩液で250倍から2,000倍まで2倍階段希釈し、各希釈について4匹のハムスターに、希釈した試験品1mlずつを腹腔内に注射する。その後3週目に、対照のハムスター4匹とともに、ハムスターに病原性を示すKyD株ウイルスを腹腔内注射し、7日間観察する。その結果、試験品を注射した群の50%感染防御価は500倍以上で、対照群はすべて死亡しなければならない。

試験品は、以上の8種類のすべての試験に合格したとき、国家検定合格と判定され、合格証紙を貼布されて市販される。

ワクチンは、5ml容量のバイアルに5mlずつ分注、密栓されており、2～5℃の冷暗所に保存すれば、国家検定合格の翌日から1年間有効である。

### 3. 使 用 法

使用に先立って、ワクチンに添付されている使用説明

書を熟読し、指示されている以外の方法で使用することは適当でない。

ワクチンは乳白色の不透明な液体で、沈殿状をしており、十分に振盪し、内容を均一にしてから使用することが大切である。

用法、用量は、妊娠6～7カ月の馬の筋肉内に、5mlを4週間隔で2回注射するよう定められている。

本ワクチンの安全性と有効性については、実験小動物以外に、馬を用いた実験室内試験や野外試験で確認されている。時として、ワクチン0.5mlを腹側皮下に注射されたマウスや、ワクチン10ml(2倍量)を2回筋肉注射された馬の僅少例に、注射部位に軽度の腫脹が認められることもあるが、数日以内に消失する。

ワクチンが宿主にもたらす免疫を増強するために、色々な種類のアジュバントが研究されており、本ワクチンには、アジュバントとしてリン酸アルミニウムゲルが添加されている。上述の注射部位にみられる反応は、アジュバントに起因するものと考えられる。

日本在来型とアメリカ型ウイルスの間に、一部共通抗原性の認められること、本ワクチン製造用ウイルスとして、アメリカ型のウイルスが使用されていたことは、すでに述べた。日本在来型の感染を経験した馬では、アメリカ型の感染を完全に阻止できないが、日本在来型の抗体を保有する馬に、アメリカ型の不活化ワクチンを注射すると、両方の免疫が得られることが知られており、本ワクチンの効果が期待される。

現在、わが国ではこの不活化ワクチンだけが使用されているが、国によっては生ワクチンも使用されており、完全に本病から馬を守るためには、今後、安全な生ワクチンの開発も望まれる。本症の原因ウイルスがHerpes科のウイルスであることから、このウイルス特有の感染形態、持続性潜伏感染と再発の問題についても、さらに研究を進める必要があろう。

## 22. 馬ゲタウイルス感染症ワクチン

### 1. 馬ゲタウイルス感染症の現状と予防注射

1978年9月末から11月初旬にかけて、関東地方の競走馬トレーニングセンターや育成牧場の馬に、発熱、発疹および下肢の浮腫を主徴とする疾病が流行した。その流行はあまり激しくなく、除々に厩舎に蔓延し、初発後約2カ月で終息した。

このような馬の疾病はわが国では経験がなく、色々な角度から研究された結果、ゲタ(Getah)ウイルスによ

る疾病であることが判明した。

ゲタウイルスは、Togavirus科のAlphavirus属(従来のarbovirusのうち、A群ウイルスの大部分が包含されている)に所属し、蚊によって人、家畜、野性の温血動物に伝播されることが知られている。本ウイルスは直径約70nmの球型で、構成核酸はRNAである。脂質溶剤で失活し、硫酸プロタミン処理で沈降せず、デゾキシコール酸処理で感染価が失われ、トリプシンには低抗性で、ガ鳥赤血球を凝集(至適pH6.0～6.4)する。

また、かなり広範囲の動物（猿、馬、豚、ハムスター、人等）由来の培養細胞でCPEを伴って増殖し、乳飲みマウスに強い病原性を示す。1978年の流行時におけるウイルス分離は、発症馬からの血液や鼻腔ぬぐい液を、Vero細胞や乳飲みマウスに接種して行なわれた。また、HI、CFおよび中和反応が血清学的試験に用いられるが、中和反応は本ウイルスの同定に役立つ。

ソ連、マレーシア、オーストラリア、わが国等で、馬、牛、豚、鳥類、山羊等に、HIあるいは中和抗体が検出されている。わが国では、1956年にサギヤマウイルス、1959年にイタクラウイルス、1965年にハルナウイルスの株名で、ゲタウイルスが蚊あるいは豚から分離され、1965年には大阪府下の蚊からも分離されている。しかし、これらウイルスによる動物側の症状は明らかにされていない。

馬の症状は一般に軽く、38.5～41.0℃の発熱が数日続き、一部には、米粒大～小豆大の発疹がほぼ全身に発現したり、下肢に浮腫を呈する例もみられる。発咳や鼻漏は認められず、元気、食欲に著変なく、回復には約1週間を要する。

ゲタウイルスの自然界における伝播は、従来から、日本脳炎の場合と近似し、ウイルス保有動物を吸血して感染した蚊（節足動物）は、体内でウイルスを増殖させ、他の動物を吸血する際に、その動物にウイルスを伝播すると考えられている。しかし、馬の場合、ウイルス伝播の方法は明らかでない。

本病の予防対策として、ワクチンの開発が望まれていたが、1981年、不活化ワクチンの製造が許可された。

## 2. ゲタウイルス感染症ワクチンの概要

1978年の流行時に、発症馬から分離されたMI-110株が、ワクチン製造用ウイルスとして使用されている。

ワクチンは、ウイルスを馬胎子由来の皮膚株細胞で培養し、ウイルス増殖の極期に培養液を採り、マクロゴールを添加してウイルスの濃縮、部分精製を行ない、ホルマリンで不活化したものである。

製造されたワクチンは自家検査終了後、薬事監視員によりサンプリングされ、当所に提出されて国家検定を受ける。

国家検定は基準に従い、①特性、②純粋、③無菌、④防腐剤定量、⑤蛋白窒素含量、⑥不活化、⑦安全および力価試験が行なわれる。

①～⑤については、他のワクチンの場合と同様に実施されるが、⑤では、試験品の蛋白窒素含有量が0.2 mg/ml以下に規定されている。⑥は、試験品を透析して不活化剤を除き、その2 ml以上を、1 mlにつき3 cm<sup>2</sup>以上の培養Vero細胞に接種する。37℃で10日間培養、観察し、CPEの出現を認めず、10日目の培養液は

が鳥赤血球を凝集してはならない。⑦は、約4週齢のマウス5匹と、体重約300 gのモルモット2匹を用い、試験品をマウスには0.5 mlずつ皮下に、モルモットには5 mlずつ腹腔内に注射して10日間観察し、異常を認めてはならない。⑧は、約6週齢のハムスター12匹を用い、試験品を1 mlずつ10匹の皮下に注射し、2匹を対照とする。注射後21日目にすべてのハムスターから採血し、ワクチン注射群と対照群の、それぞれ2匹ずつ等量混和した血清を試料とする。各試料を2倍階段希釈し、約200 TCID<sub>50</sub>のウイルスと混和し、培養Vero細胞に接種して7日間培養、観察し、中和抗体価を測定する。中和抗体価2倍以上を陽性とし、注射群の80%以上が陽性であり、対照群は陰性でなければならない。

試験品は、以上の8種類のすべての試験に合格したとき、国家検定合格と判定される。

ワクチンは、5 ml容量のバイアルに4 mlずつ、または、10 ml容量のバイアルに10 mlずつ分注されている。2～5℃の冷暗所に保存すれば、国家検定合格の翌日から1年間有効である。

## 3. 使用法

このワクチンの用法、用量は、初回免疫の場合、2 mlを4週間隔で2回、補強免疫には2 mlを年1回、馬の頸側部筋肉内に注射するように定められている。

わが国において、ゲタウイルスはすでに蚊または豚から検出され、今回、馬から分離されたが、自然界におけるウイルス伝播のパターンはそれ程明らかにされていない。1978年と1979年の馬における流行の結果、流行のピークは関西では7月下旬から8月上旬、関東では9月中旬から11月下旬にみられ、流行に地域差があることが窺われる。したがって、予防注射の時期は、現状では、過去の経験と最近の情報に基づいて計画をたてるのが良策であろう。

本ワクチンの注射により、抗体陰性の馬では、2回目の注射後約1週目から中和抗体の上昇が認められ、約4カ月間持続することが報告されている。

ゲタウイルスの伝播に関する今までの報告や、感染馬に認められたウイルス血症等から、本ウイルスは蚊（節足動物）によって馬から馬へ伝播することが考えられ、他の家畜からも抗体が検出されていることから、今後、馬はもちろん、他の家畜の感染についても、十分注意を払う必要がある。

また、わが国における馬の流行で、蚊の活動時期と無関係のような流行があったり、感染馬の鼻腔ぬぐい液にかなり多量のウイルスが含有されていること等から、蚊（節足動物）以外のウイルス伝播様式についての検討も、今後の課題であろう。