

学 位 論 文 題 名

Studies on Getah virus infection in horses

(馬のゲタウイルス感染症に関する研究)

学位論文内容の要旨

ゲタウイルスはトガウイルス科アルファウイルス属のメンバーで、日本、マレーシアおよびオーストラリアにおいて主に蚊から分離され、ウイルスの伝播には節足動物による媒介性が推測される。血清学的には人、馬、牛、豚、カンガルー、並びに鳥類などがこのウイルスに感受性をもつことが明らかにされており、豚は野外におけるウイルスの伝播の増幅動物として考えられている。

1955年に、Elisberg と Buescher がマレーシアの蚊から初めてゲタウイルス AMM 2021株を分離して以来、多くの生態学的研究がなされたが、野外における人や動物の病気としてのゲタウイルス感染症の実態は明らかでない。

本研究では、1978年秋に茨城県の日本中央競馬会美浦トレーニングセンターの競走馬群で初めて発生した馬のゲタウイルス感染症の流行に際し、自然感染発症馬の臨床および血液像の観察、ウイルスの分離同定、血清学的調査などを実施し、本症の流行を臨床ウイルス学的に検討した。また、馬から分離されたゲタウイルスの生物学的、物理化学的および血清学的性状について検討した。さらに、これらのウイルスの馬に対する病原性を調べるため、実験馬の接種試験を実施し、臨床ウイルス学的に検討した。

1. 馬のゲタウイルス感染症の疫学的検討

1) 1978年9月から11月にかけて美浦トレーニングセンターの競走馬群で発生した馬の熱性疾患の原因を臨床ウイルス学的に検討したところ、発熱馬209頭中62頭からウイルスが分離された。これらはエンベロープを有する直径66 nm の RNA ウイルスで、エーテル、クロロホルム、pH 3.0、50℃、ディゾキシコール酸に感受性を示し、硫酸プロタミンに抵抗性であった。また、セシウムクロライド平衡遠心による密度は1.25 g/cm³で、ガチョウの赤血球を凝集した。さらに、これらはゲタウイルスの AMM 2021株、ハルナ株、並びにサギヤマウイルスと共通の抗原性を有していたことから、ゲタウイルスと同定された。一方、129頭の発熱馬の組血清を用いて血清

学的に検討したところ、108頭の馬でゲタウイルスに対する有意な中和抗体価の上昇が認められ、この発生が馬のゲタウイルス感染症の流行であることが確認された。

2) ゲタウイルス自然感染発症馬の臨床および血液像について検討したところ、1,903頭中722頭が38.5–40.0℃の発熱、全身性の発疹、四肢の浮腫などの臨床症状を示した。発熱は発症馬の79.1%、発疹は51.1%、浮腫は42.7%でそれぞれ認められ、これらの症状が馬のゲタウイルス感染症の主要臨床所見であることが示唆された。

2. ゲタウイルス MI-110株の性状に関する検討

ゲタウイルス MI-110株の諸性状を生物学的、物理化学的および血清学的に検討したところ、11種類の初代馬胎児培養細胞を含む多くの細胞で増殖し、広範な宿主域を示した。また、ガチョウ、ニワトリ、ウマ、ヒト（O型）の赤血球を凝集し、トリプシンに感受性で、pH 5.0以下及び pH 10.0以上、1 M MgCl₂、50℃の条件下で失活した。さらに、MI-110、AMM 2021、ハルナおよびサカイの4株は酷似した抗原性を示したことから、同一の抗原性を有するウイルス群であることが明らかになった。

3. ゲタウイルスの馬に対する病原性の検討

1) 異なる細胞継代歴の比較的高いウイルス量のゲタウイルス分離株を実験馬の筋肉内に接種し、臨床ウイルス学的に検討したところ、3代目までのウイルスを接種された6頭の馬はいずれも発熱、下顎リンパ節の腫脹、四肢の浮腫、リンパ球減少症、ウイルス血症および中和抗体の上昇を示し、ゲタウイルスの馬に対する病原性が実験的に確認された。一方、10代目のウイルスを接種された4頭の実験馬ではいずれも中和抗体は上昇したが、発疹以外の臨床所見およびウイルス血症は認められなかったことから、ゲタウイルスの馬に対する病原性は細胞継代によって弱毒化されることが示唆された。

2) 異なるウイルス量の MI-110株を6頭の実験馬の筋肉内に接種し、臨床ウイルス学的に検討したところ、馬の感染および発症に必要な最小ウイルス量はそれぞれ約 $10^{1.0}$ TCID₅₀ と $10^{3.0}$ TCID₅₀ であった。発熱、浮腫、リンパ球減少は $10^{3.3}$ TCID₅₀ 以上のウイルス量を接種されたすべての馬で見られ、下顎リンパ節の腫脹と典型的な発疹は比較的高濃度および低濃度のウイルス量を接種された馬でのみそれぞれ認められたことから、本症の臨床症状の発現は接種されたウイルス量に依存することが示唆された。

3) 異なるウイルス量の MI-110株を7頭の実験馬の鼻腔内に接種し、臨床ウイルス学的に検討したところ、馬の発症に必要な最小ウイルス量は約 $10^{4.0}$ TCID₅₀ であった。発症馬は自然感染発症馬で認められた臨床および血液所見、ウイルス血症、中和抗体の上昇などを示したが、

鼻腔からのウイルス分離は $10^{7.0}$ TCID₅₀ のウイルス量を接種された馬でしか認められなかったことから、ゲタウイルスが野外において馬から馬へ空気伝播することはまれであると推測された。

以上の如く、世界で初めて馬のゲタウイルス感染症の流行が確認され、ゲタウイルスが野外で脊椎動物に対して病気を起こすことが明らかにされた。また、馬のゲタウイルス感染症の主要臨床症状は、発熱、発疹、四肢の浮腫、下顎リンパ節の腫脹で、その発現は接種されたウイルス量に依存することが実証された。さらに、馬群におけるゲタウイルスの空気伝播はまれであり、節足動物媒介性であることが示唆された。一方、患馬から分離されたウイルスはアルファウイルス属の生物・物理化学的性状を有し、血清学的にはプロトタイプである AMM 2021株およびハルナ株と同一の抗原性を有するウイルス群に属することが明らかになった。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 清 水 悠紀臣

副 査 教 授 橋 本 信 夫

副 査 教 授 小 沼 操

副 査 助教授 喜 田 宏

ゲタウイルスはトガウイルス科のアルファウイルス属に属するウイルスで、日本、マレーシア、オーストラリアにおいて主に蚊から分離されている。血清学的調査から、人、馬、牛、豚、カンガルー並びに鳥類がこのウイルスに対して感受性を有すると考えられているが、人や動物の病因としてのゲタウイルスの意義は明らかでなかった。申請者は1978年の秋に茨城県の競走馬群に発生した疾病について原因学的調査研究を行い、これがゲタウイルス感染症であることを明らかにした。本論文はその成績を述べたもので、英文87頁から成り、参考論文12編を付している。

申請者は1978年9月から11月にかけて日本中央競馬会美浦トレーニングセンターの競走馬群に発生した馬の熱性疾患について臨床観察を行うとともに、その原因の究明を試みた。この疾病は発熱、全身性発疹、四肢の浮腫を特徴としていた。まず病馬からのウイルス分離を試み、209頭中62頭から同一性状のウイルスを得た。このウイルスは既知のゲタウイルスと中和試験で交差したことから、ゲタウイルスと同定した。129頭の病馬の組血清のゲタウイルスに対する中和抗体価を測定した結果、108頭に有意な上昇を認めた。以上の成績から、この疾病の原因がゲタウイ

ルスであることが判明した。

次に分離ウイルスの性状を調べ、馬胎児培養細胞をはじめ、多種類の細胞で増殖すること、ガチョウ、鶏、馬および人(O型)赤血球を凝集すること、トリプシン、pH 5.0以下またはpH 10.0以上、1 M MgCl_2 および50℃で失活すること並びに既知のゲタウイルスであるハルナ株およびサカイ株と同一の抗原性を示すことを明らかにした。

申請者はまた分離ウイルスの馬に対する病原性を調べ、次の成績を得た。

細胞継代3代目までのゲタウイルス分離株を接種した6頭の馬はいずれも発熱、下顎リンパ節の腫脹、四肢の浮腫、リンパ球減少症、ウイルス血症および血清中和抗体価の上昇を示した。一方、10代目のウイルスを接種した4頭の馬では発疹および血清中和抗体価の上昇を認めたのみであった。これらの成績からゲタウイルスの馬に対する病原性は細胞継代によって弱毒化されることを示した。

筋肉内接種で馬の感染に必要な最小ウイルス量は $10^{1.0} \text{TCID}_{50}$ であった。 $10^{3.3} \text{TCID}_{50}$ 以上のウイルスを接種した馬は全て発熱、浮腫およびリンパ球減少症を示した。さらに高濃度のウイルス接種で下顎リンパ節の腫脹が見られ、また低濃度のウイルス接種で典型的な発疹が認められた。ゲタウイルス感染症の臨床症状はこのような接種ウイルス量に依存していた。

鼻腔内接種で馬の発症に必要な最小ウイルス量は $10^{4.0} \text{TCID}_{50}$ であった。鼻腔からは $10^{7.0} \text{TCID}_{50}$ のウイルスを接種した馬でのみウイルスが回収された。この成績から、ゲタウイルスが馬の間を空気伝播することは稀であると推定した。

以上の成績によって申請者は、従来、動物に対する病原性が全く不明であったゲタウイルスの馬に対する病原性を明らかにすると共に、馬のゲタウイルス感染症について極めて重要な知見を数多く提供した。よって審査員一同は鎌田正信氏が博士(獣医学)の学位を受けるに十分な資格を有するものと認めた。