

7. 大分県で初めて確認されたディアギュラウイルスの関与を 疑う異常産 2 症例および浸潤状況調査

大分家畜保健衛生所、¹⁾ 豊後大野家畜保健衛生所
○病鑑 林拓己・病鑑 大木万由子・病鑑 梅田麻美
児玉彬・¹⁾菅正和

ディアギュラウイルス (DAGV) は、レオウイルス科オルビウイルス属に分類される節足動物媒介性のウイルスの一種で、チュウザンウイルス (CHUV) 同様、パリアムウイルス種の血清型の一つとされている¹⁾。感染牛の特徴的な症状として、先天異常子牛の出産があげられる。先天異常子牛は、佇立呆然、起立不能、哺乳困難、視力障害、後弓反張、遊泳運動、旋回運動といった神経症状を示し、水無脳症や小脳形成不全に伴う神経症状といったチュウザン病に類似した症状を呈すことから、牛異常産への関与が疑われている。2001 年以降、九州～沖縄地方で主に発生が報告されており、2017、2018 年には京都でも分離・検出されたという報告がある^{2),3),4),5),6)}。

2022 年度牛のアルボウイルス感染症サーベイランスの結果、9～11 月に山陽・四国・九州地方でチュウザン病の抗体陽転が認められ、長崎県の抗体陽転牛から DAGV の遺伝子が検出された。このことから、同地域において DAGV の感染が疑われており、2023 年 4 月に初めて大分県内で DAGV の関与を疑う牛異常産を 2 例確認した。当県では過去に DAGV の関与を疑う異常産はみられていなかったが、これに伴って保存血清を用い、過去 5 年間の DAGV の浸潤状況調査を実施したので、その結果を報告する。

1 発生概要

【症例 1】

発生農場は、肉用牛繁殖農場、繁殖雌牛 26 頭を飼養。当該牛は、2023 年 3 月 18 日生の黒毛和種子牛で初乳未摂取。分娩後から旋回運動、頭部振盪を呈し、視力低下が認められたため、2023 年 4 月 12 日 25 日齢で鑑定殺。当該子牛の母牛は 6 歳齢で牛異常産 4 種混合ワクチン接種済であった (図 1, 2)。



図 1 外貌 (症例 1)



図 2 外貌 (症例 1)

【症例 2】

発生農場は、肉用牛繁殖農場、繁殖雌牛 30 頭を飼養。当該牛は 2023 年 4 月 2 日生の黒毛和種子牛。分娩 2 日後に母乳摂取不良に気づき、初乳製剤を給与。加療したものの 2023 年 4 月 14 日 12 日齢で死亡したため、剖検及び病性鑑定を実施。当該子牛の母牛には牛異常産 3 種混合ワクチンを接種済であった（図 3）。



図 3 外貌（症例 2）

2 病性鑑定

定法に基づいて剖検し、主要臓器、脳、脊髄、骨格筋（症例①のみ）、下垂体、胸腺、臍帯（症例②のみ）の病理組織学的検査、主要臓器、脳生材料を用いた細菌学的検査を実施。ウイルス学的検査として、母子材料から DAGV を含む異常産関連ウイルスの遺伝子検索、中和反応による抗体検査、および HmLu-1 細胞及びおよび BHK-21 細胞を用いたウイルス培養試験を実施（図 4）。

検査	材料	方法
病理	主要臓器、脳、脊髄、下垂体、胸腺、骨格筋(※1) 臍帯(※2)	HE染色
		※1 症例1のみ ※2 症例2のみ
細菌	主要臓器、脳	定法通り
ウイルス	母子血清 全血 初乳製剤(※1)	遺伝子検査 (RT-PCR) : BVDV、アルボウイルス ウイルス培養試験 : HmLu-1、BHK-21細胞 3 代盲継代 抗体検査 (中和反応) ・ AKAV (アカバ [®] 初乳 : OBE-1株) ・ AINOV (アイノウ : JaNAr-28株) ・ CHUV (チウザンウイルス : C-31株) ・ IBAV (イバ [®] 初乳 : No.2株) ・ PEAV (ピー [®] 初乳 : CSIRO110株) ・ SATV (サシ [®] リウイルス : OI-2/P/07分離株) ・ SHAV (シャモン [®] ウイルス : OI-1/P/15分離株) ・ DAGV (デアギ [®] 初乳 : KY115株) ・ BVDV-1 (牛ウイルス性下痢ウイルス : Nose株) ・ BVDV-2 (牛ウイルス性下痢ウイルス : KZ-91株)
	子牛 : 主要臓器 脳、 脳脊髄液、 心嚢水	

図 4 病性鑑定材料と方法

【症例 1】

1) 剖検所見

特徴的な所見として、水無脳症、脳脊髄液の増量を認めた。その他、胸腺低形成、肺前葉の充出血が認められた。体型異常は認められなかった（図 5）。

2) 病理組織学的検査

大脳線条体にグリア結節または石灰様沈着物が軽度に認められた（図 6）。

3) 細菌学的検査

主要臓器、脳の生材料を用いた一般細菌検査では、有意菌は分離されなかった。

4) ウイルス学的検査

母子の血液、血清、子牛の脳、脳脊髄液、心嚢水から牛異常産関連ウイルス特異遺伝子は検出されなかった。また、ウイルス培養試験も陰性であった。母牛血清、子牛血清、心嚢水、初乳製剤について中和反応による抗体検査を実施した結果、母子ともに DAGV 及び CHUV に対する抗体が確認された。CHUV に対する抗体価は DAGV に対する抗体価より明らかに低いことから、DAGV 感染による交差反応と考えられた (図 7)。



図 5 水無脳症

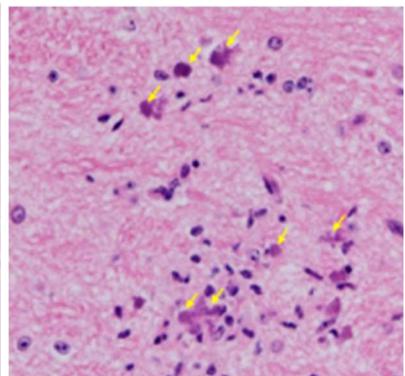
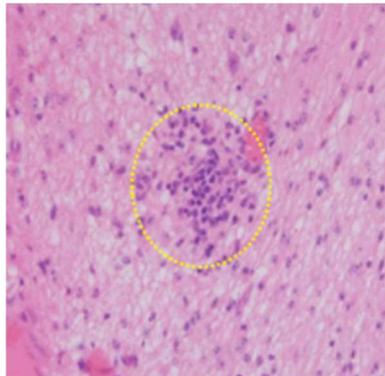


図 6 大脳病理組織図 (グリア結節 (左)、石灰沈着 (右))

材料	AKAV	AINO	CHUV	IBAV	PEAV	SATV	SHAV	DAGV	BVDV-1	BVDV-2
母牛血清	128	≥256	128	<2	32	64	128	≥256	≥256	8
子牛血清	<2	2	8	<2	4	<2	<2	128	32	16
子牛心嚢水	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2	32	2	<2
初乳製剤	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2	≥256	≥256

図 7 抗体検査結果 (症例 1)

【症例 2】

1) 剖検所見

特徴的な所見として、水無脳症、脳脊髄液の増量を認めた。その他、脳溝に膿の貯留、左右肺前葉の出血、肝臓の退色、脾臓表面にフィブリン様物の付着、空腸下部の軽度赤色化が認められた。体型異常は認められなかった (図 8)。

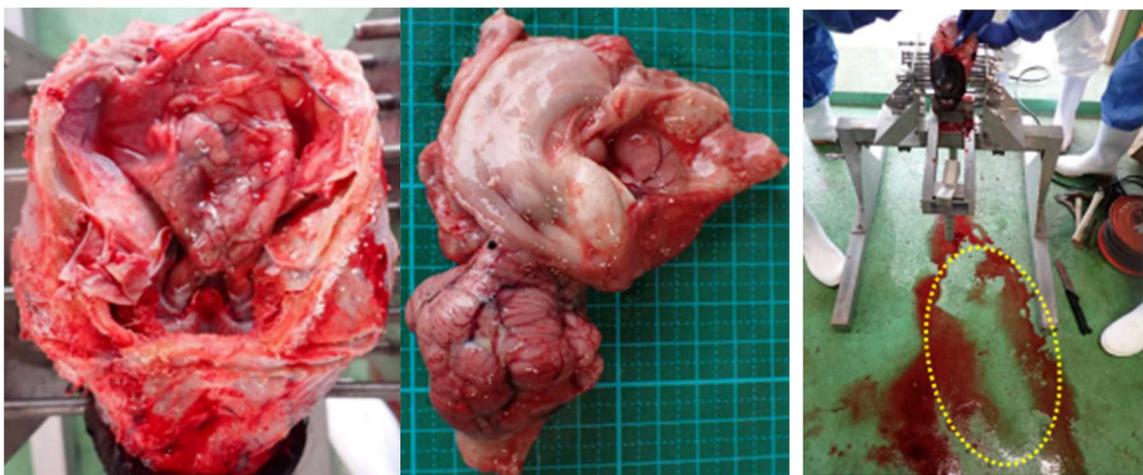


図 8 水無脳症 (左、中央)、脳脊髄液の増量 (左 (黄色棒))

2) 病理組織学的検査

中枢神経系（脳・脊髄）に化膿性髄膜炎、臍帯で化膿性臍帯炎が認められた。肺では壊死性化膿性気管支肺炎がみられ、異物や複数の形態の菌も観察されたことから、誤嚥もあったと考えられた。また、大脳線条体に石灰様沈着物が軽度に認められた（図9）。

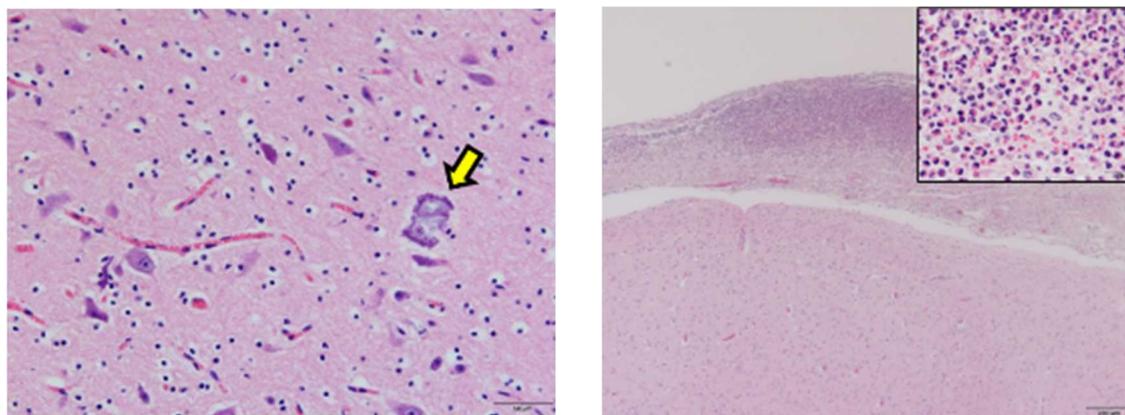


図9 大脳病理組織図（石灰沈着（左、黄矢印）、化膿性髄膜炎（右））

3) 細菌学的検査

肝臓、脳、脊髄から大腸菌、肺から大腸菌及び *Streptococcus gallolyticus* が分離。小腸内容において大腸菌群（ 8.0×10^7 CFU/g）、クロストリジウム属菌（ 3.0×10^5 CFU/g）の増数が認められた。肝臓、脳、脊髄由来の大腸菌3株から、子牛の腸管外病原性大腸菌（EXPEC）感染症で高率に検出される、*iutA*（鉄取込能因子）、*cnf2* および *cdtIII*（毒素因子）、F17（定着因子）の遺伝子が検出されたため、腸管外病原性大腸菌（EXPEC）感染症と診断。

4) ウイルス学的検査

母子の血液、血清、子牛の脳、脳脊髄液、心嚢水から牛異常産関連ウイルス特異遺伝子は検出されなかった。また、ウイルス培養試験も陰性。母牛血清、子牛の血清及び脳脊髄液について中和反応による抗体検査の結果、母子ともに DAGV 及び CHUV に対する抗体が確認された。畜主によると初乳を摂取したとのことだったが、子牛において、DAGV 及び CHUV 以外に高い抗体価を示すものはみとめられなかった。また、CHUV に対する抗体価は DAGV に対する抗体価より低いことから、DAGV 感染による交差反応と考えられた（図10）。

材料	AKAV	AINO	CHUV	IBAV	PEAV	SATV	SHAV	DAGV	BVDV-1	BVDV-2
母牛血清	128	128	≥256	<2	128	<2	16	128	<2	2
子牛血清	<2	<2	128	<2	<2	<2	<2	≥256	2	4
子牛脳脊髄液	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2	32	<2	<2

図10 抗体検査結果（症例2）

3 DAGV 浸潤状況調査

2018～2022年の5年間に於ける6月～11月にかけて採材した、おとり牛（前年11月から当年4月生の未越夏牛）318頭の保存血清1261検体を使用し、中和反応によるDAGV及びチュウザン病の抗体検査を実施した。得られた結果について、採材時期ごとに幾何平均値（GM値）を算出した。

調査の結果、DAGVの中和抗体価上昇が確認されていた2022年9月～11月以外に、チュウザン病の抗体上昇が確認されていなかった2018年9月から11月にかけても複数頭においてDAGV中和抗体価の上昇が確認された（図11）。

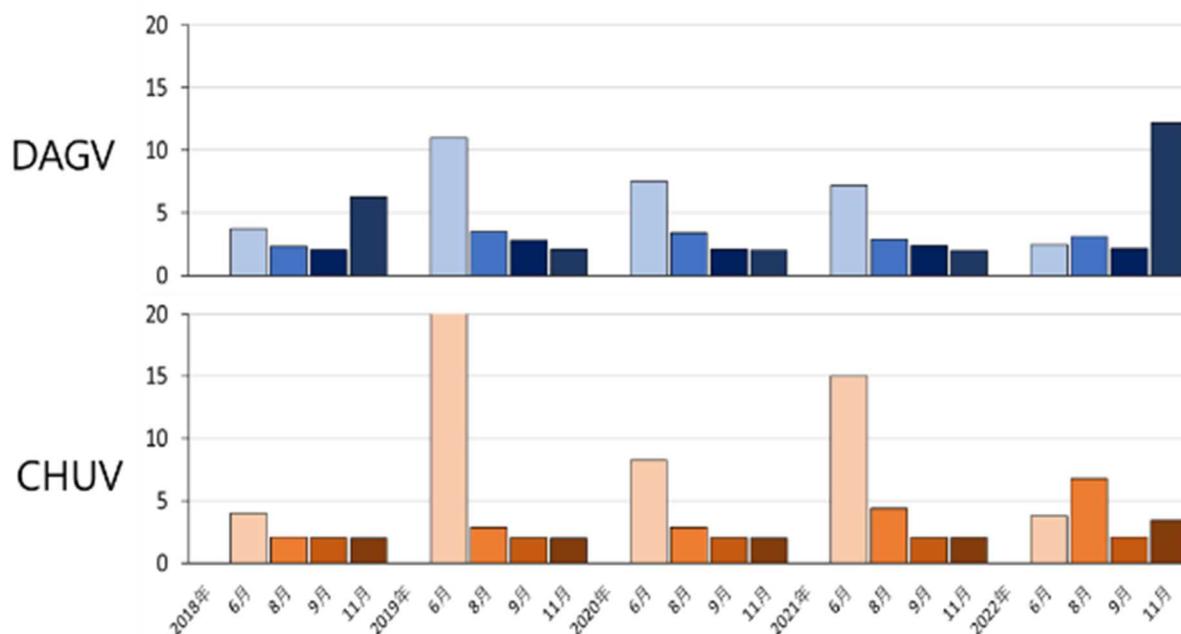


図 11 DAGV（上）及び CHUV（下）中和抗体価の幾何平均値（2018-2022年）

4 まとめ及び考察

2022年度の牛のアルボウイルス感染症サーベイランスの結果及び病性鑑定の結果から、2023年4月に発生した牛異常産2例をDAGVの関与を疑う症例と診断した。

2018年シーズンには長崎県において、DAGVの分離と牛異常産の発生が報告されていたが、県内において同時期にDAGVの関与を疑う牛異常産事例はなかった。しかしながら、今回の浸潤状況調査の結果、2018年シーズンに大分県内においてもDAGV感染が起こっていた可能性が示唆された。本ウイルスについては、牛異常産への影響はいまだ不明な点も多いため、今後も本ウイルスの動態について注視し、異常産への病態解明に努めていくことが必要と考えられる。

【参考】

- 1) Ohashi S, Matsumori Y, Yanase T, Yamakawa M, Kato T, Tsuda T: Evidence of an Antigenic Shift among Palyam Serogroup Orbiviruses. *J Clin Microbiol*, 42(10), 4610-4614 (2004)
- 2) 松森洋一：長崎県で流行したチュウザン病のウイルス性状と浸潤状況. *臨床獣医*, Vol.21, No.4, 23-26 (2003)
- 3) 松森洋一, 島田善成：長崎県における D' Aguilar ウイルスの浸潤状況. 平成 14 年度家畜保健業績発表会
- 4) 東條悦子、牧内浩幸、福永哲也、赤崎正武、鬼塚剛、中嶋久仁子：臨床獣医, Vol.21, No.8, 48-52 (2003)
- 5) 大橋誠一：オルビウイルス流行株の変異に関する分子遺伝学的研究. *動衛研研究報告*, 第 113 号, 47-49
- 6) 久保田直樹、吉良卓宏、梁瀬 徹：牛異常産への関与が疑われるディアギュラウウイルスの京都府における浸潤状況調査、*日獣会誌* 74, 631～635 (2021)