

2018～2022 年に沖縄県で流行が確認された多様なアルボウイルス

家畜衛生試験場

○銘苅 裕二 友知 久幸

【背景と目的】

アルボウイルスとは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る。国内で発生したアルボウイルス関連の監視伝染病には、ヌカカによる媒介で牛に異常産を起こすアカバネ病やアイノウイルス感染症、チュウザン病、牛に熱性疾患や流産を起こすイバラキ病や牛流行熱、ブルータンク、蚊による媒介で豚に異常産を起こす日本脳炎があげられ、これら疾病の流行は畜産物の生産性を低下させ、畜産農家の経済的損失を招く原因となる。本県はアルボウイルスの常在地であるアジア・オセアニアの熱帯・亜熱帯地域に近接し、また亜熱帯地域にも属するため吸血昆虫の活動が活発であり、ウイルスの侵入リスクや伝播リスクは非常に高い。過去にはアカバネ病や牛流行熱などの発生が確認され、近年ではブニップクリークウイルスや流行性出血病ウイルス血清型5(EHDV-5)など、これまで国内で確認されていないウイルスが本県で初めて分離確認されている。

今回、2018 年から 2022 年のおとり牛調査や病性鑑定において多様なアルボウイルスの流行が確認されたのでその概要を報告する(図 1)。

アルボウイルス(Arthropod-borne virus)

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

国内で発生した監視伝染病

(ヌカカ)アカバネ病;異常産,脳脊髄炎
アイノウイルス感染症/チュウザン病;異常産
イバラキ病/牛流行熱/ブルータンク;熱性疾患,流産
(蚊) 日本脳炎;異常産,精巣炎,脳炎

- ・本県はアルボウイルス常在地に近接し、また亜熱帯地域に属するため侵入リスクや伝播リスクが非常に高い
- ・ブニップクリークウイルスや流行性出血病ウイルス血清型5(EHDV-5)などを本県で初めて分離確認

アカバネ病

牛流行熱

チュウザン病

図 1 アルボウイルスについて

【材料と方法】

1.おとり牛調査:2018～2022 年の 5、7、9、11 月に沖縄本島や宮古・八重山地域で牛 1,666 頭から採取した洗浄血球と血漿を用いてウイルス分離を実施。また、浸潤状況やウイルス流行時期を推定するために同年同月に未越夏

牛を追跡採取した血清 1,626 検体を用いて各種アルボウイルス(牛流行熱(BEFV)、アカバネ(AKAV)、アイノ(AINV)、チュウザン(CHUV)、イバラキ(IBAV)、流行性出血病ウイルス血清型 5(EHDV-5)、ピートン(PEAV)、シャモンダ(SHAV))の中和試験を実施。

2.病性鑑定:2018～2022 年度に 113 件(牛異常産や新生子牛の神経症状 99 件、発熱や起立不能、流涎等の症状 14 件)のアルボウイルス関連検査を実施。遺伝子検査は、胎子臓器や母牛・同居牛の EDTA 血を用い、複数のアルボウイルスを検出するアルボウイルス Multiplex RT-PCR 法や流行熱ウイルスを検出する BEFV RT-PCR 法を実施。ウイルス分離は、胎子臓器や母牛・同居牛の洗浄血球と血漿を用いて実施。抗体検査は、胎子体液や母牛・同居牛の前後血清を用い、各種アルボウイルスの中和試験を実施(図 2)。

3.遺伝子解析:近年、兵庫県や鹿児島県でイバラキ病様の嚥下障害を呈した牛から EHDV 分離事例があり、本県においてもおとり牛や病鑑材料から分離されたため EHDV について実施。分離株 3 株のゲノム分節 3 およびゲノム分節 2 の部分塩基配列決定後、分子系統樹解析を実施(図 3)。

材料および方法

【材料】

- おとり牛調査(2018～2022年の5、7、9、11月下旬)
 - ・沖縄本島、宮古・八重山地域の牛(1,666頭)の洗浄血球と血漿
 - ・未越夏牛を追跡採材した血清1,626検体
- 病性鑑定(2018～2022年)
 - 牛異常産および新生子牛の神経症状:99件
 - 発熱や起立不能、流涎等の症状:14件
 - ・胎子や新生子牛の10%臓器乳剤(脳、5臓器7°-ll等)、体液(脳脊髄液等)
 - ・母牛・同居牛のEDTA加血液、ヘパリン加血液、前後血清

【方法】

- 1.遺伝子検査/アルボウイルス Multiplex RT-PCR法、BEFV RT-PCR法
- 2.ウイルス分離/HmLu-1,BHK-21細胞に接種
- 3.中和試験/BEFV:牛流行熱ウイルス AKAV:アカバネウイルス
AINV:アイノウイルス CHUV:チュウザンウイルス
IBAV:イバラキウイルス PEAV:ピートンウイルス
SHAV:シャモンダウイルス EHDV-5

図 2 おとり牛調査、病性鑑定:材料および方法

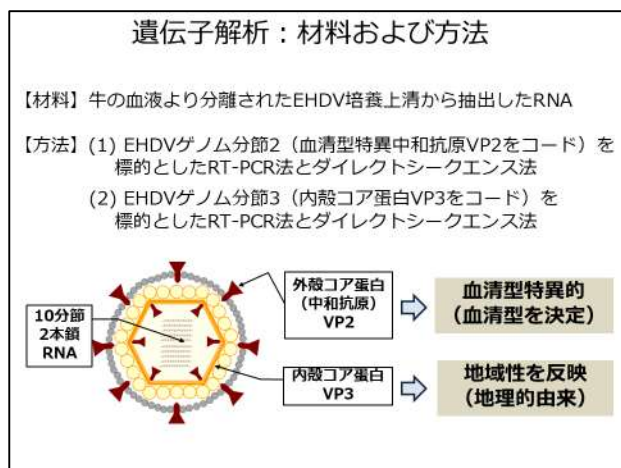


図3 遺伝子解析:材料および方法

【結果】

1.おとり牛調査:6 種(AKAV、CHUV、デアギュラ(DAGV)、PEAV、EHDV、サシユペリ (SATV))21 株のウイルスを分離(図4)。浸潤状況調査で2018 年は3 種(AKAV、AINV、IBAV)、2019 年は5 種(AKAV、CHUV、IBAV、SHAV、BEFV)、2020 年は4 種(AKAV、CHUV、IBAV、PEAV)、2021 年は3 種(AKAV、CHUV、EHDV-5)、2022 年は5 種(AKAV、AINV、CHUV、PEAV、EHDV-5)のウイルスにおける流行があり、八重山地域の11 月下旬採材時血清で抗体陽転が多かった(図5、6)。

遺伝子検査およびウイルス分離成績

採材年	採材月	地域	畜種	材料	ウイルス名	採材年	採材月	地域	畜種	材料	ウイルス名
2018	7	うるま市	おとり牛	血清	DAGV	2020	1	石垣市	鹿	血清	SHAV
2018	9	竹富町(西表島)	おとり牛	血清	DAGV	2020	9	南城市	おとり牛	血清	PEAV
2018	10	石垣市	おとり牛	血清	DAGV	2020	9	石垣市	おとり牛	血清	DAGV
2019	6	与那国町	鹿	血清	BEFV	2020	9	石垣市	おとり牛	血清	DAGV
2019	7	与那国町	鹿	パフィーコート	BEFV	2020	9	石垣市	おとり牛	血清	CHUV
2019	7	与那国町	鹿	パフィーコート	BEFV	2020	9	石垣市	おとり牛	血清	CHUV
2019	7	与那国町	鹿	パフィーコート	BEFV	2020	11	石垣市	おとり牛	血清	CHUV
2019	7	竹富町(西表島)	おとり牛	血清	EHDV-6	2020	11	石垣市	おとり牛	血清	EHDV-6
2019	9	与那国町	鹿	パフィーコート	BEFV	2020	11	石垣市	おとり牛	血清	DAGV
2019	9	石垣市	おとり牛	血清	AKAV	2020	11	石垣市	おとり牛	血清	CHUV
2019	9	竹富町(小浜島)	おとり牛	血清	DAGV	2021	11	石垣市	おとり牛	血清	CHUV
2019	9	竹富町(小浜島)	おとり牛	血清	DAGV	2021	7	与那国町	おとり牛	EDTA血液	SHAV
2019	9	石垣市	鹿	血清	SHAV	2021	7	与那国町	おとり牛	血清	SATV
						2021	7	名護市	おとり牛	血清	AKAV
						2021	9	うるま市	おとり牛	血清	AKAV
						2021	11	伊平屋村	鹿(母牛、周産牛)	EDTA血液	EHDV-5
						2021	11	宜野座村	鹿(母牛、周産牛)	EDTA血液	EHDV-5
						2021	11	久米島町	おとり牛	血清	CHUV

黒字:遺伝子検査陽性、ウイルス分離陰性
赤字:遺伝子検査陽性、ウイルス分離陽性

おとり牛調査
・6種21株を分離
病性鑑定
・与那国島で発熱を呈した牛からBEFV遺伝子検出、ウイルス分離→牛流行熱
・牛異常産の病態材料よりSHAV及びEHDV遺伝子検出→確定診断には至らず

図4 遺伝子検査およびウイルス分離成績

2.病性鑑定:2019 年の4 件(発熱・起立不能)は、発症牛血液から BEFV 遺伝子の検出および BEFV 抗体価の有意上昇があり、牛流行熱と診断。牛異常産における胎子材料から SHAV 遺伝子を検出した事例や母牛・同居牛血液から EHDV 遺伝子を検出した事例はあるが、確定診断には至っていない(図4)。その他の病性鑑定でアルボウイルスの関与は無かった。



図5 アルボウイルス浸潤状況

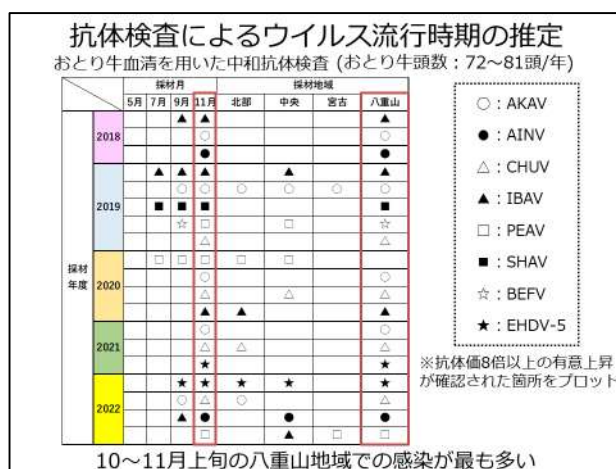


図6 ウイルス流行時期の推定

3.遺伝子解析:分離株は東アジア・オーストラリア地域由来のクレードに属し、2019、2020 年の分離株は EHDV-6、2022 年の分離株は EHDV-5 と同定された。また、分離された EHDV-6 および EHDV-5 はそれぞれ 2015 年兵庫分離株、2022 年鹿児島分離株と近縁だった(図7、8)。

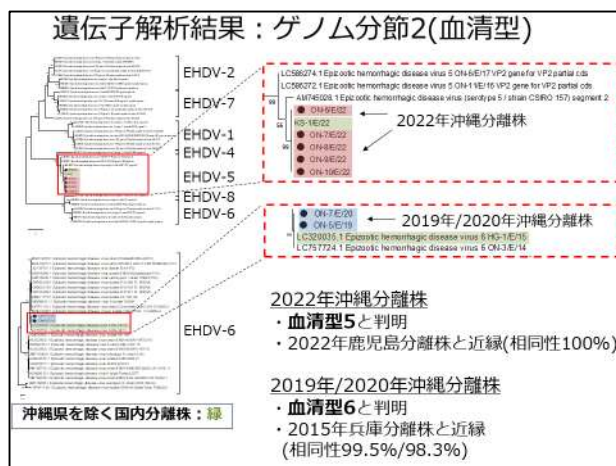


図7 遺伝子解析結果:ゲノム分節2(血清型)

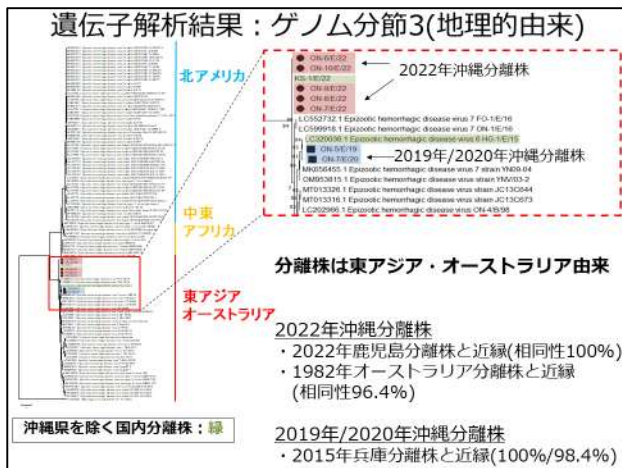


図8 遺伝子解析結果:ゲノム分節(地理的要因)

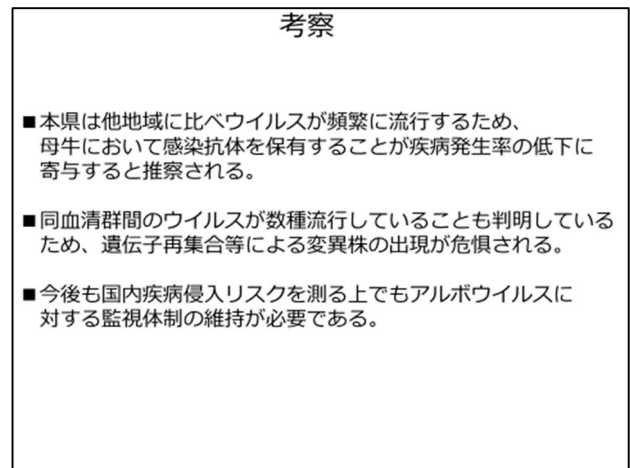


図10 考察

【まとめと考察】

2018～2022年度のおとり牛から6種21株のアルボウイルスが分離されたがいずれも不顕性感染であり、浸潤状況調査より毎年多様なウイルスが流行し、10月から11月上旬に八重山地域で感染が多い傾向にあった。また、病性鑑定でアルボウイルス感染症と診断したのはBEFVが関与した牛流行熱のみだった。今回、おとり牛や病性鑑定材料よりEHDVが分離され、遺伝子解析の結果、他県においてイバラキ病様の症状を呈した牛から分離された株と近縁だったが、感染牛は無症状であった。

本県は他地域に比べウイルスが頻繁に流行するため、母牛において抗体を保有することが疾病発生率の低下に寄与すると推察される。また、SHAVやSATVのような同血清群間のウイルスが数種流行しているため、遺伝子再集合による変異株の出現が危惧される。今後も国内疾病侵入リスクを測る上でもアルボウイルスに対する監視体制の維持が必要であると考えられる。

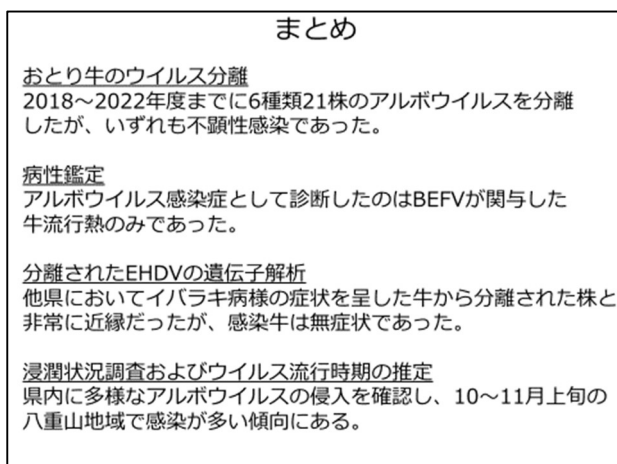


図9 まとめ