

# 山口獣医学雑誌

第 36 号

2009年12月

時重初熊博士生誕150年記念号

山口県獣医学会

---

## THE YAMAGUCHI JOURNAL OF VETERINARY MEDICINE

No. 36

December 2009

Special Number Issued in Commemoration of  
the 150th Birth Anniversary of Dr. H. TOKISHIGE

THE  
YAMAGUCHI PREFECTURAL ASSOCIATION  
OF  
VETERINARY MEDICINE

# 山 口 県 獣 医 学 会

## 編 集 委 員 会

網本 昭輝 富田 正章 富永 潔  
柳澤 郁成 山縣 宏\*

(ABC順：\*編集委員長)

寄 稿 者 へ

山口獣医学雑誌は、山口県獣医学会の機関誌として、毎年1回発刊される。雑誌は、獣医学、人医学、生物学、公衆衛生学およびこれらの関連領域のすべての問題について、原著、総説、短報、記録および資料、等々を掲載する。

原稿は、正確に書かれた日本文、英文、独文のいずれでも受理するが、この場合、英文と独文の原稿は、簡潔に要約した日本文抄録を添付すること。

原稿は、郵便番号 754-0002 山口県山口市小郡下郷東蔵敷1080-3, 山口県獣医師会館内, 山口県獣医学会事務局あてに送付すること。

## THE YAMAGUCHI PREFECTURAL ASSOCIATION OF VETERINARY MEDICINE

### EDITORIAL COMMITTEE

Akiteru AMIMOTO Masaaki TOMITA Kiyoshi TOMINAGA  
Fuminori YANAGISAWA Hiroshi YAMAGATA\*

(in alphabetical order : \*Editor in chief)

### NOTICE TO AUTHORS

*The Yamaguchi Journal of Veterinary Medicine* is an official publication of the Yamaguchi Prefectural Association of Veterinary Medicine. This journal is an official publication not for public sale.

The Journal is published annually. The Journal publishes original articles, reviews, notes, reports and materials, dealing with all aspects of veterinary medicine, human medicine, biology, public health and related fields.

*The Yamaguchi Journal of Veterinary Medicine* assumes no responsibility for statements made by authors or other contributors.

Manuscripts written in correct Japanese, English or German are accepted; those in English or German should be accompanied by Japanese summaries.

Manuscripts should be sent to the Editorial Office, *The Yamaguchi Journal of Veterinary Medicine*, The Yamaguchi Prefectural Association of Veterinary Medicine, 1080-3, Higashikurashiki, Shimogo, Ogori, Yamaguchi City, Yamaguchi Prefecture, 754-0002 Japan.

山口獣医学雑誌 第36号 2009年

時重初熊博士生誕150年記念号

The Yamaguchi Journal of Veterinary Medicine No.36 December 2009

Special Number Issued in Commemoration of  
the 150th Birth Anniversary of Dr. H. TOKISHIGE

目 次

生誕記念

時重初熊博士と不朽の業績〔英文〕

山縣 宏…………… 1～4

総 説

地方病性牛白血病の我が国における現状とその対策について

村上賢二…………… 5～30

美麗食道虫 (*Gongylonema pulchrum* Molin, 1857) とその伝播

——宿主特異性は本当に低いのか? ——

佐藤 宏…………… 31～54

原 著

特徴的な皮膚病変を呈した子牛の牛ウイルス下痢・粘膜病

中谷英嗣・大谷研文・中谷幸穂・柳澤郁成・木村久美子・播谷 亮…………… 55～60

山口県で過去6年間に分離された牛呼吸器病原菌の薬剤感受性調査

中谷幸穂・大谷研文・岡村真吾…………… 61～66

短 報

農場発生事例からみたトリアデノウイルスの検出状況と疫学考察

柳澤郁成・大谷研文・中谷幸穂・中谷英嗣…………… 67～72

附 録

投稿規程…………… 73

山口県獣医学会規程…………… 74

山口獣医学雑誌編集内規…………… 75

会関係事業・刊行物…………… (奥付掲載ページ)

*The table of contents in English may be found on the back cover.*



**Dr. H. TOKISHIGE and His Immortal Achievements.**  
**時重初熊博士と不朽の業績**



**Hatsukuma TOKISHIGE, 1859~1913**

*D.V.M., Professor of Veterinary Pathology and Microbiology, Faculty of  
Veterinary Medicine, Tokyo Imperial University, Japan.*

In commemoration of the 150th Birth Anniversary of Dr. Hatsukuma TOKISHIGE, the originator of veterinary medical science education in Japan, we hereby most sincerely extend our heartiest respect to him and to his immortal achievements.

November, 2009

The Yamaguchi Prefectural Association of Veterinary Medicine

日本獣医学教育の祖・時重初熊先生（東京大学教授・獣医学博士・安政6年11月28日生誕～大正2年4月19日逝去）の生誕150年に当り、先生並びにその不朽の業績に対し謹んで敬意を表します。

2009年11月  
山口県獣医学会

*Continued to the next page*

## Dr. Hatsukuma TOKISHIGE

(November 28, 1859 ~ April 19, 1913)

The year of 2009 is the 150th anniversary of the birth of Dr. Hatsukuma TOKISHIGE. He is one of the greatest veterinary patho-microbiologists in the field of Japanese veterinary medical science.

He was born at Heta Village, Tsuno County (present Shunan City), Yamaguchi Prefecture. He grew up in the turbulent years of Meiji Restoration, which transformed the feudal Japan into a modern nation.

In July 1885 he graduated first on the list from the Faculty of Veterinary Medicine, Tokyo Imperial University (present Tokyo University). In March 1899 he received D.V.M. degree from Tokyo Imperial University.

In Japan *Epizootic lymphangitis* (so-called *Pseudofarcy* or *Saccharomycosis equi*) was known for more than three hundred years. However, it was not until 1896 that the causative microorganism, *Zymonema farciminosum*, was discovered by Dr. TOKISHIGE. There is not a shadow of doubt that any other scientists could cultivate a microorganism. The first pure cultures were successfully acquired through Dr. TOKISHIGE's desperate endeavours. It was in July 1896 that he succeeded in the cultivation of the microorganism for the first time in the world. His investigation into *Epizootic lymphangitis* covered all the fields of this disease, which included not only mycology, but also ecology, clinical medicine, pathology, and epidemiology. His contribution deserves the first place in the history of veterinary medical science in Japan.

Even today, *Epizootic lymphangitis* is still an endemic in Europe, Africa, Asia, and Russia. In Japan, however, it was conquered by 1947. This remarkable success in Japan is derived from the basis of Dr. TOKISHIGE's prominent scientific theory.

He was sent to Germany for three and a half years, that is, from June 1898 to February 1902. He studied at Munich University (Ludwig Maximilians Universität zu München) for one and a half years, and then at Berlin University (Friedrich Wilhelms Universität zu Berlin) for two years. His study and research covered pathology, microbiology, parasitology, meat hygiene, and so forth. His teachers included Dr. Theodor Kitt, Dr. Otto Bollinger, and Dr. Robert Koch, all of whom were the greatest scholars of the world in those days.

In February 1902 Dr. TOKISHIGE became a professor of Tokyo Imperial University. In March 1910 he concurrently served as the director of the newly established National Institute of Veterinary Research (present National Institute of Animal Health, Ministry of Agriculture and Forestry). In 1903 he was elected to a member of Japan Central Public Health Committee. He rendered great contributions in the field of public health of this country. He was widely known as an outstanding scholar, and also a devoted educator. He sent a number of his disciples to schools and research centers in Japan, and there they rendered great services for the development of veterinary science of this country.

The following are a part of his principal achievements: *Epizootic lymphangitis* (so-called *Pseudofarcy*), *Equine infectious anaemia*, *Equine encephalitis* (so-called Borna's disease), *Strangles*, *Rinderpest*, *Tuberculosis*, *Swine pasteurellosis* (so-called *swine plague*), *Dermatitis pustulose contagiosa, canadensis* (so-called *Canadian horse-pox*), *Oesophagostomiasis* (due to *Oesophagostoma columbianum*), *Habronemiasis* (so-called *Dermatitis granulosa* or *Himushi disease*), *Bovine Babesiosis*, and their related subjects.

Of the above, the investigation into *Epizootic lymphangitis* is the most admirable achievement made by him.

Dr. TOKISHIGE died of chronic bronchial catarrhalis in Tokyo on April 19, 1913. Needless to say, his death was a great loss to the world of Japanese veterinary medical science. He himself, as well as his great contributions, has certainly left a permanent example to the future generations of veterinary medical science.

For further reading: see *The Yamaguchi Journal of Veterinary Medicine*, No. 6, 1979, pp. 39~48, as to a chronological record and other materials of Dr. TOKISHIGE written by Hiroshi KISHI, D.V.M., a veterinary historian.

Hiroshi YAMAGATA D.M., B.V.M.  
Editor in Chief

Ogori, Yamaguchi-shi  
November, 2009

### 時重初熊博士

(1859年11月28日～1913年4月19日)

2009年(平成22年)は、時重初熊博士の生誕150年記念の年である。彼は日本の獣医学界で最も偉大な獣医病理学、微生物学者である。

Dr.時重は、山口県都濃郡戸田村(現周南市)に出生、封建制度のこの国が、近代国家に移行する明治維新の騒乱期に成長した。1885年7月東京帝国大学獣医学科を首席で卒業した。更に、1899年3月東京帝国大学から獣医学博士の学位を授与された。

仮性皮疽(*Epizootic lymphangitis*流行性リンパ管炎)は300年以上も前から、日本でも知られた感染症であるが、その起因病原体 *Zymonema farciminosum* がDr.時重によって発見された。この病原体の培養は多くの研究者が成功しなかったが、彼は多大な努力に拠って、初めて純粋培養に成功した。世界初のこの成果は1896年7月のことであった。彼の仮性皮疽についての研究は、真菌学のみならず、生態、臨床医学、病理、疫学等々、この感染症の広汎、多岐にわたる分野も包含するものである。

仮性皮疽は、今なおヨーロッパ、アフリカ、アジア、ロシアで流行するが、日本では1947年に制圧された。日本に於けるこの偉大な成功はDr.時重の卓越した学説を基盤とするものである。

Dr.時重は、1898年6月～1902年2月まで3年半ドイツ留学を政府から命ぜられ、ミュンヘンのミュニッヒ大学で1年半、ベルリン大学で2年間研究に従事した。研究は病理学、微生物学、寄生虫病学、食肉衛生、等々、広汎な分野にわたるものであった。彼が師事したのは、当時の世界で最高の学者であったキット、ポリングル、コッホである。

Dr.時重は、1902年2月東京大学教授に任ぜられた。1910年3月には、新設された農林省獣疫調査所(農水省家畜衛生試験場、現(独)動物衛生研究所)所長併任となった。1903年大日本中央衛生会の委員に選れ、この国の公衆衛生の領域に多大な貢献をした。

因みにDr.時重は、研究者として著名なだけでなく、献身的な熱意を持った教育者でもあった。彼の弟子たちは、汎く教育機関、研究機関に送られ、この国の獣医学術の発展に多大の貢献をした。

Dr.時重の主要な研究業績：

仮性皮疽、馬の伝染性貧血、馬脳炎(いわゆるボルナ病)、腺疫、牛疫、結核、豚パスツレラ症(いわゆる豚ペスト)、伝染性膿皮症、カナダ馬痘、コロムビア腸結節虫症、ハプロネマ症(いわゆる顆粒性皮膚炎、ひむし病)、牛バベシア症等々。

上記の疾患の研究業績の中で、仮性皮疽 *Epizootic lymphangitis* の研究は、Dr.時重によってなされた特筆最大の見事な業績である。

Dr.時重は、1913年4月19日、慢性気管支カタルで逝去した。言うまでもなく、彼の死は日本獣医学界にとっての一大損失であった。彼の真摯な学問的態度と、遺した不朽の業績は、獣医学界後進者に永遠の模範として伝承されることは明らかである。

なお、Dr.時重について、年譜及び関連資料は、獣医学博士岸 浩先生(獣医学史研究者)執筆の文献：山口獣医学雑誌 第6号 39～48頁 1979年を一読されたい。

山縣 宏





## 総 説

# 地方病性牛白血病の我が国における現状とその対策について

村 上 賢 二\*

[ 受付 : 2009年12月20日 ]

## REVIEW

### ENZOOTIC BOVINE LEUKOSIS (EBL) AND RECENT PREVALATION AND CONTROL MEASUREMENT IN JAPAN

Kenji MURAKAMI

*National Institute of Animal Health, Tsukuba, Ibaraki 305-0856, Japan*

[ Received for publication : December 20, 2009 ]

Enzootic bovine leukosis (EBL) is a disease of adult cattle caused by infection with a retrovirus, namely bovine leukaemia virus (BLV). BLV is classified into the genus *Deltaretrovirus* in the family *Retroviridae*. It is closely related to human T cell leukemia virus types 1 and 2 (HTLV-1 and -2). Approximately 30% of cattle infected with BLV have persistent lymphocytosis, and 1~5% develop B-cell lymphosarcoma.

With a worldwide distribution, EBL is listed by the World Organization for Animal Health (OIE) as a disease of importance to international trade and is included in the national eradication program in Australia and some member states of the European Union (EU). EBL has been successfully eradicated from several EU countries: Belgium, Denmark, Germany, Spain, France, Ireland, Luxembourg etc. In contrast, 89% of dairy herds in the United States are reported to be infected with BLV, and the annual economic loss due to EBL is estimated at \$525 million in decreased milk yield. Although EBL causes serious economic damage in the dairy industry, thus far only regional voluntary control programs have been implemented in the United States.

In Japan, EBL is listed as a notifiable disease, but no nationwide control programs have been established yet. According to animal health statistics, EBL was reported in 159 cattle in 2000 and in 1,040 cattle in 2008. These data suggest that EBL is gradually spreading in Japan.

In this review, the present situation of EBL in Japan is outlined with specific attention on virology, epidemiology, diagnosis, pathology and immunology, transmission of BLV and control of EBL.

白血病は、白血球の腫瘍性増殖を示す病気の総称で、病理学的に大きく分類するとリンパ球系細胞、骨髄球系細胞、赤芽球系細胞などから構成されている。いずれも組織学的には造血組織が病理発生の舞台となるので、造血組織をはじめ、全身の臓器や組織に多中心性増殖により、あるいは転移性に発育した肉腫病巣が形成される。増殖細胞が末梢血中に出現するものをとくに白血性白血病、出現しないものを非白血性白血病と呼ぶことがあるが、両者の区別は実際上困難なことが多い。牛白血病 (Bovine Leukosis) は一部の例外はあるとしても、大部分がリンパ系細胞の腫瘍性増殖によるものである。したがって、病理学的にはリンパ肉腫 (lymphosarcoma) あるいは悪性リ

\* 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病研究チーム首席研究員

ンパ腫 (Malignant lymphoma) と呼ばれている。牛白血病という言葉はニワトリ白血病、ネコ白血病、マウス白血病、ヒト白血病などと対比して用いられる用語である。したがって、牛白血病の中には当然のこととして非白血性のもも含まれているし、また、ここで論じられる地方病性牛白血病 (EBL) のように独立した疾病学的性格を備えたものもあれば、理論的にはごく一般的リンパ肉腫ないし白血病も存在する。

牛白血病は、体表リンパ節および体腔内リンパ節の腫大などの異常を示す疾病で、疫学的に地方病性 (別名称では成牛型) (Enzootic Bovine Leukosis; EBL) と散発型 (Sporadic bovine leukosis; SBL) に分類される<sup>12)</sup>。EBLは、牛白血病ウイルス (Bovine Leukemia Virus; BLV) の感染によることが判明している腫瘍性疾病で、国際獣疫事務局 (OIE) のリスト疾病の対象となっている。我が国においても家畜伝染病予防法に基づく届出伝染病に指定されている疾病である。一方の散発型は発症年齢とリンパ肉腫の発生臓器の違いから子牛型、胸腺型、皮膚型に分類されるが、散発型の発生原因は未だ不明である。

牛白血病と総称されてきた牛の腫瘍性疾病の症例報告は古く、100年以上遡った20世紀初頭のことであり<sup>11)</sup>。しかし、世界中の研究者がきそって新発見を明らかにしはじめたのは1960年代に入ってからのものであり、特に70年代に入ってからEBLの病因論が確定した結果、医学および獣医学の双方からウイルス感染による発ガンの研究対象としても注目され、著しい研究の進展がみられた。

牛白血病の症例報告は、まず、ドイツ<sup>31,32,51)</sup>、デンマーク<sup>7,10)</sup>、スウェーデン<sup>107)</sup>、などのヨーロッパで始められ、第2次世界大戦後は、交易の活発化と畜産物流通の増大に伴い、牛白血病の発生は世界各地に認められるようになった。日本では、窪田<sup>170)</sup>により1927年に、岩手県内に輸入された種雄牛での発生報告がなされ、これが我が国における初発例となっている<sup>170)</sup>。

牛白血病の発生が頻繁になるに従い、その疫学的考察から牛白血病が伝染性疾病的様相を示していることが考えられるようになった<sup>7,9,28,144,164)</sup>。Gotzeらは発病に至る種々の要因を検討し<sup>51)</sup>、さらに血液、乳汁、組織懸濁液などを牛に接種することにより白血病牛の再現に成功<sup>52)</sup>、また、胎盤感染、乳汁を介しての母獣からの感染、および接触感染の可能性を示唆する症例を報告し<sup>53)</sup>、伝達性物質の存在が強く示唆された。一方、電子顕微鏡の発達に伴い、白血病発症牛材料から直接ウイルスを証明しようとする努力が続けられた。特に病牛の子牛にしばしば発生のあることから乳汁に対する検索がなされ、1964年Dutdherらは、乳汁中にウイルス様粒子を見出した<sup>38,39)</sup>。以来、リンパ節、脾臓、骨髄、乳腺などから次第に同様粒子を検出することに成功したことから<sup>100)</sup>、世界の研究者がこの病原体究明に努力を傾け、動物への接種実験も各地で行なわれるようになった<sup>165)</sup>。

アメリカWisconsin大学の獣医学研究室において、発症牛由来の白血球培養の研究を重ねていたMillerらはPHA刺激により、大量のウイルスが出現することを発見し、1969年に報告した<sup>89)</sup>。彼女らは、このウイルスを牛に接種し、持続性リンパ球増多症 (PL) を発現させることを確認し、かつ、このPL牛よりウイルスを回収した<sup>90,91)</sup>。また、Olsonらはこのウイルスを羊に接種することによりリンパ肉腫が発生することを示した<sup>105,106)</sup>。この一連の研究から本ウイルスは牛白血病に関連したウイルス (Bovine Leukemia associated Virus) として認められるようになった。以来、各国の研究者により<sup>61,130,136)</sup>、これらの事実は追記されるとともに、牛白血病牛のほぼ全例からウイルスを回収し得ることが明らかにされ、ここにEBLの病因論が確定した。

以上のように、牛白血病の研究は、1960年代の血液学的診断法の確立<sup>12)</sup>および臨床病理学的研究に始まり、60年代後半から70年代にかけてのウイルス分離<sup>89)</sup>による病因論の確定、それらの知見を集積した血清学的診断法の開発により急速に進展した。血清学的診断法によるBLV感染牛の摘発はヨーロッパにおいては防疫体制の確立を促し、その結果、牛白血病は急激に減少している。しかし、我が国を含めて多くの国においては、経済的損失も大きく未だ重要な疾病になっている。本総説では、牛白血病、特にBLVが関与するEBL (地方病性牛白血病) について、その病原体の性状、我が国における近年の発生状況、臨床・病理と免疫、診断法、対策について概説する。

## I. 牛白血病ウイルスの性状

### 1) 分類、形態と増殖

BLVはレトロウイルス科デルタレトロウイルス属のウイルスで、正20面体、粒子の大きさは直径100-120 nmでエンベロープを有し、ヒトTリンパ球向性ウイルス1型 (Human T-lymphotropic virus type 1; HTLV-1) やサルリンパ球向性ウイルス1型 (Simian T-lymphotropic virus type 1; STLV-1) に類似している (Fig. 1A,1B)<sup>12)</sup>。BLVは細胞膜から出芽し、細胞外

に放出されるが、出芽時にはすでに完全粒子に近い形態をとっている<sup>20)</sup>。BLVの産生は細胞の増殖周期に関係しており、ウイルスタンパク質の合成はS期 (DNA合成期) とG2期 (有糸分裂前の間期) に高まり、M期 (分裂期) とG1期 (細胞分裂後の間期) で減少し、ウイルス粒子の放出はM期に一致して高まる<sup>188)</sup>。

BLVは羊およびマウス赤血球を凝集する<sup>144,100)</sup>。外被の構造タンパク質gp51が赤血球凝集能を有すること

から外被の突起物が血球凝集に関与するものと考えられる。In vitroでは牛や羊をはじめヒト、コウモリ、犬および馬など多種の動物由来培養細胞で増殖するが、プラークは形成しない<sup>60)</sup>。BLVないしはBLV感染リンパ球を適当な指示細胞に接種すると多核巨細胞（シンシチウム）形成がみられる<sup>31)</sup>。シンシチウムの形態およびその出現数は用いる指示細胞によって異なる。一般には指示細胞としてマウス肉腫ウイルスで形質転換させたネコ細胞（CC81）が多用される<sup>15)</sup>。シンシチウム形成にはgp51が関与する<sup>113)</sup>。また、シンシチウム形成は接種ウイルス量に正比例することからBLVの定量に用いられるが<sup>13)</sup>、羊接種によるバイオアッセイ法の方が感度はよい<sup>83)</sup>。BLV持続感染細胞としては、羊胎仔腎（FLK）細胞が最も広く用いられている<sup>15)</sup>。

## 2) 遺伝子構造

BLVの遺伝子構造の模式図を（Fig. 1C）に示す。BLV粒子には30-40S RNAが二量体含まれており、ゲノムRNAは有核細胞のmRNAの特徴であるRNA分子の5'端でのキャップ構造と3'端でのpoly (A) 構造をとる。BLV遺伝子はウイルス増殖に必須な3種の遺伝子（gag, polおよびenv）を持つが、発ガン遺伝子は持たない<sup>67)</sup>。gag遺伝子はウイルス粒子を構成するコアタンパク質を、pol遺伝子は逆転写酵素を、またenv遺伝子はウイルス外被タンパク質をそれぞれコードする。また、BLV-RNAの両端には5'側および3'側に特徴的な塩基配列（それぞれU5およびU3と呼ぶ）と長い反復した塩基配列（R）がある。

BLVが細胞に感染すると逆転写酵素の作用でRNAからウイルスDNAが作られる。DNA合成はRNAの5'端近くに結合した転移RNA（tRNA）をプライマーとして開始され、まずマイナス鎖のDNAが合成され引き続きこのマイナス鎖DNAを鋳型としてプラス鎖DNAが合成され、結果として直鎖状の2本鎖DNAが作られる。新しく合成されたウイルスDNAの末端には末端反復配列Long Terminal Repeat（LTR）と呼ばれる塩基配列がある。直鎖状の2本鎖DNAは、環状構造を経て宿主DNAに組み込まれプロウイルスになる<sup>60)</sup>。

プロウイルスは両端にLTRをもつ。BLV-LTRの長さは530塩基対（bp）でU3およびU5はそれぞれ211 bpおよび91 bp、R領域は228 bpである。LTRの両端には6 bpの逆向き反復配列（IR）が、また宿主細胞DNAの挿入部位には6 bpの同方向反復配列（DR）がある。5'LTRに続きtRNAの結合部位があり、BLVではプロリンtRNA（tRNA<sup>Pro</sup>）がウイルスcDNAのプライマーとなっている。U3領域には転写のプロモーターであるCAT boxやTATA box様の配列が認められ、さらに、エンハンサー様配列も存在する。エンハンサーはSV40やポリオマウイルスの初期遺伝子のプロモーター領域に存在する繰り返し配列である。この繰り返し配

列は転写活性を増幅する作用があり、通常キャップサイトから100-250 bp上流に存在する<sup>77)</sup>。BLVでは、キャップサイトから111-156 bp上流（56-101番目）に繰り返し配列があるが、配列は他のレトロウイルスのそれに比べて短い。また、BLVでは、81番～101番（第3番目の繰り返し）にかけてG-T-G-G-C-T-A-Gという配列をみる。この配列は一般にウイルスのエンハンサーにみいだされるコア・エレメントであるG-T-G-G-A-A-A-GもしくはG-T-G-G-T-T-Gの配列に酷似する。LTRの長さはレトロウイルス間で異なる。一番長いものはマウス乳ガンウイルス（MMTV）の1,330 bpである。BLVのLTRのR領域は228 bpで、HTLVの229 bpと同様にきわめて長いという特徴がある<sup>110)</sup>。

Poly AをもつmRNAのほとんどはA-A-T-A-A-Aという配列（poly Aシグナルと呼ぶ）をpoly Aの結合部位（poly Aサイト）の上流10-30 bpに持つ<sup>110)</sup>。BLVの場合も同様のシグナルはpoly Aサイトの260 bp上流にある。R領域の部分にヘアピン様二次構造をとらせると、poly Aシグナルはpoly Aサイトの6 bp上流となる<sup>131)</sup>。また、HTLVも同様に長いR領域とpoly Aシグナルがpoly Aサイトから遠距離に存在し、ヘアピン様二次構造を形成するものと思われる<sup>110)</sup>。

BLVプロウイルスには地域間相違がみられ、ベルギーと日本の分離株の制限酵素地図の間には gag・pol領域に著しい変異をみるのに対して、envから3'LTR領域には変異は少なく、この領域には強い保存性がある<sup>69, 131)</sup>。HTLVは、BLV同様ガン遺伝子をもたないが<sup>130)</sup>、envと3'側LTRの間にpX遺伝子群がある。pXはヒト正常細胞DNAとは相同性を示さず、ヒト由来の典型的なガン遺伝子ではない。

## 3) 構造タンパク質

BLVの遺伝子とその遺伝子がコードするタンパク質を模式的に（Fig. 1C）に示す。

### gag領域

gag遺伝子産物としては、まず分子量70,000と45,000の前駆体タンパク質（Pr66<sup>gag</sup>およびPr44<sup>gag</sup>）が作られ、プロテアーゼの作用で切断されてp10、p12、p15およびp24ができる<sup>16, 49, 85, 171)</sup>。gag遺伝子タンパク質の転写順は、NH<sub>2</sub>-p15-p24-p12-COOHの順である<sup>131)</sup>。

p12: 69アミノ酸からなる等電点pH8.0の塩基性タンパク質である<sup>131)</sup>。p12は核酸結合タンパク質Nucleic acid Binding Protein（NBP）で、他のレトロウイルスにも分子量10,000～14,000のNBPがある<sup>21, 81)</sup>。BLV-p12は直鎖状タンパク質で、69個のアミノ酸から成り、推定分子量は7,558である。アミノ酸組成をみると、塩基性アミノ酸17個、またプロリンは69個のアミノ酸のうち18個（26%）と他のレトロウイルスと比べいずれも多い<sup>21)</sup>。他のレトロウイルスではリジンやグリシ

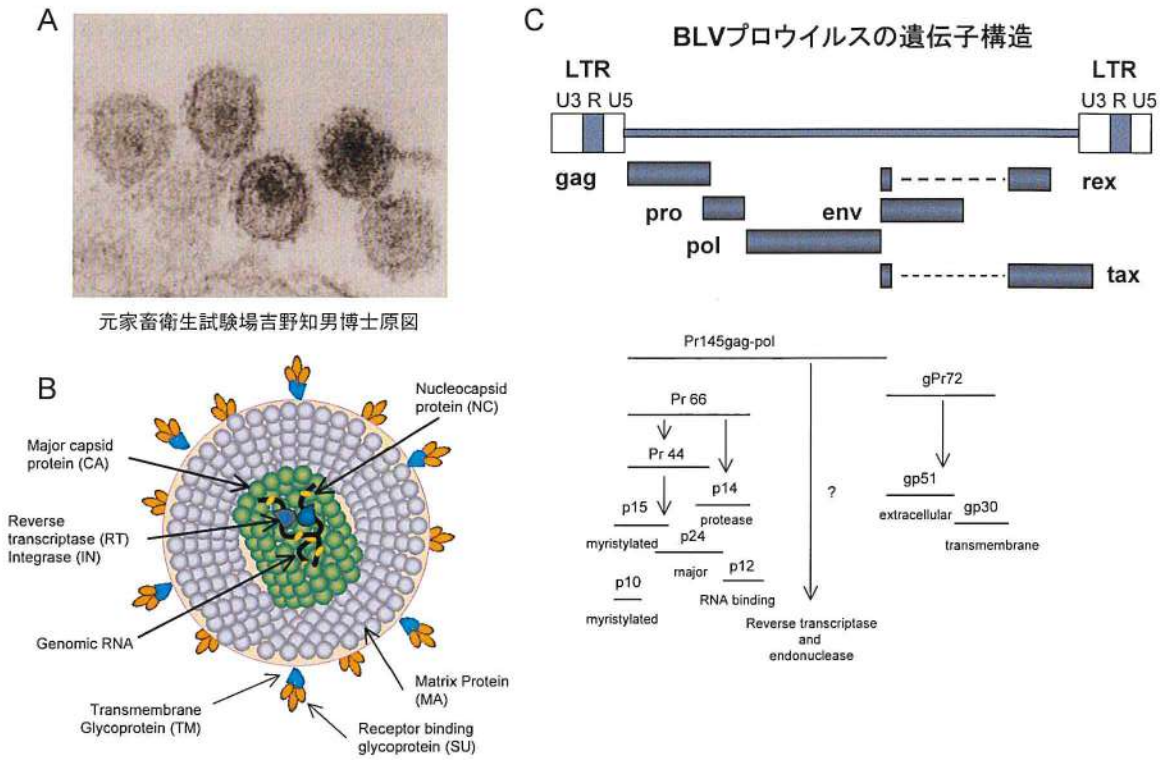


Fig. 1 牛白血病ウイルス (BLV) とその遺伝子構造  
 BLV粒子の電子顕微鏡写真(A), BLVの模式図(B), BLVプロウイルスの遺伝子構造とそれから転写されるウイルスのタンパク質(C)  
 (Kettman et al, 1994, Virus taxonomy2008から改変引用)

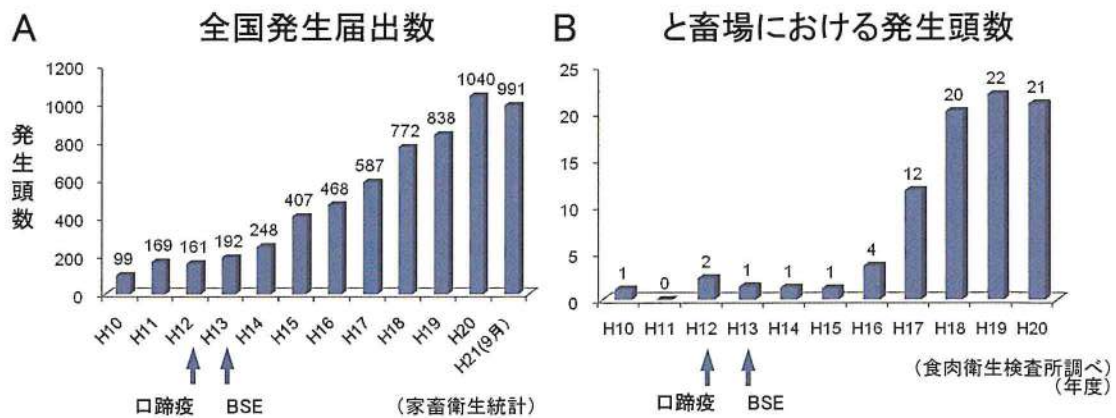


Fig. 2 我が国における近年の牛白血病の発生動向  
 全国の牛白血病発生頭数(家畜衛生統計)(A), 食肉衛生検査所における牛白血病による全廃棄頭数(東京都芝浦食肉衛生検査所調べ)(B)

ンの含量が多いが、BLVとHTLV（プロリン含量23.5%）は例外的にプロリン含量が高い。BLV-p12のアミノ酸配列の19-39番目と44-64番目の21個のアミノ酸のうち14個（66.7%）は、全く同じ繰り返し配列を有している。ニワトリ白血病ウイルス（ALV）のp12でも同様の繰り返し配列がある<sup>210</sup>。BLV-p12はHTLV-p15はもとよりネコ白血病ウイルス（FeLV）のp10とも抗原的に交差するが、マウス白血病ウイルス（MuLV）のp10とは交差しない<sup>93</sup>。BLV-p12とHTLV-p15はともにNH<sub>2</sub>末はバリン（Val）で始まり、HTLV-p15に3つのギャップを入れて並べるとBLV-p12の69個のアミノ酸のうち36個（52.5%）は同じアミノ酸でよく似ている<sup>251</sup>。

p15: 109アミノ酸からなる等電点pH6.5の酸性タンパク質で、外被の脂質層に結合している<sup>150</sup>。SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動では2本のバンド（p15<sub>1</sub>およびp15<sub>2</sub>）として検出される<sup>121</sup>。p15はリン酸化されたタンパク質（pp15）で、外被の脂質層および高分子RNA（60-70S）に結合して存在する<sup>150</sup>。

p24: 215アミノ酸からなりウイルスのコアに存在しエーテル耐性、等電点pH7.2の主要タンパク質である<sup>50,110</sup>。p24のアミノ酸配列はNH<sub>2</sub>末がプロリン（Pro）またCOOH末がロイシン（Leu）で、他のレトロウイルスのコアの主要タンパク質p30と全く同じである。このことは、gag遺伝子の前駆体タンパク質の切断箇所がよく保存されレトロウイルス間で共通することを示すものと思われる<sup>110</sup>。BLVのp24構成アミノ酸は他のレトロウイルスp30とほぼ同じ組成であり、グルタミン酸（Glu）やアラニン（Ala）が多い。またBLVおよびHTLVのp24はFeLVのp27やMuLVのp30に比べ非極性タンパク質が多い。BLVとHTLVのp24およびFeLVのp27のNH<sub>2</sub>末から35番目までのアミノ酸配列では、BLVとHTLV間では14/35（40%）、またFeLV間では10/35（28.5%）の共通性を認める。MuLVおよびヒト白血病ウイルス（BaLV）とBLV間ではそれぞれ20%および14.3%が共通する。BLVおよびHTLVのp24の全アミノ酸配列の共通性は68/214（31.8%）である<sup>117</sup>。還元処理されたウイルス抗原を競合ラジオイムノアッセイ（RIA）、競合ELISA、ウエスタンブロットを用いて調べるとBLV-p24とHTLV-p24との間でも抗原的に交差する<sup>86,111,115</sup>。また、非還元処理のウイルス抗原と感染宿主の血清とでは、BLV、HTLV-1, 2, STLV-1はお互いに交差する<sup>173</sup>。しかし、このような交差性は、p24に対する高力価の抗体を保持する感染宿主の血清にのみ認められる。

自然感染牛ではgagタンパク質のp12、p15およびp24のいずれのタンパク質に対する抗体も検出されているが、このうちp24に対する抗体が量的に最も多く、p24は感染牛に強い免疫原性を示す<sup>311</sup>。

#### pol領域

一般に逆転写酵素をコードするpol領域のタンパク質は、gag領域とともに読みとった大きな前駆体タンパク質から生じる。BLVの場合、Pr145<sup>gag-pol</sup>が作られた後、酵素切断されp70となると考えられている。逆転写酵素活性はMuLVやFeLVではMn<sup>2+</sup>存在下で強い活性を示すが、BLVやHTLVはMg<sup>2+</sup>存在下で強い活性を呈する<sup>50,72</sup>。一部の白血病牛では逆転写酵素に対する抗体が出現し、この抗体はBLVの酵素活性を阻止するが、他のレトロウイルスの酵素活性は抑制しない<sup>168</sup>。

#### env領域

env領域がコードするタンパク質についてはまず前駆体タンパク質gPr72が合成され、それが分断されてg p51とgp30になる。gPr72はpol領域の3'側で17アミノ酸がオーバーラップしており、gp51のカルボキシル基にあるArg-Val-Arg-Argの配列が認識されることにより、2つに開裂する。env領域の転写順はNH<sub>2</sub>-gp51-gp30-COOHである<sup>150</sup>。

gp51: 主要糖タンパク質であり、BLV感染牛で抗体陽性のものではp24抗体が検出されなくてもgp51抗体は検出される。gp51抗体は中和活性<sup>108,112</sup>および補体存在下での細胞障害活性を示す<sup>39</sup>。感染動物血清中のgp51抗体はgp51の糖鎖部分を認識するものと思われる<sup>122</sup>。gp51に対する単クローン性抗体を用いて、その抗原領域が明らかにされた<sup>151</sup>。

gp30: 214アミノ酸からなる糖タンパク質で、細胞膜貫通型タンパク質である<sup>137</sup>。gp30は他のレトロウイルスの細胞膜貫通型タンパク質（HTLV-p21<sup>env</sup>、MuLV-p15E、MMTV-gp36）のアミノ酸配列とよく共通する。特にBLV-gp30<sup>env</sup>とHTLV-p21<sup>env</sup>とではアミノ酸の相同性は36%で、両者の類似性は高い<sup>128</sup>。

#### pX領域

8,714 bpのBLVプロウイルスのEnv領域と3' LTR領域との間にX領域という1,817 bpの領域が存在する<sup>128,132</sup>。この領域は、HTLV-1および2のゲノム領域にも存在することが報告されている<sup>130,142</sup>。2つのORFを含んでいる2.1 kbのサブゲノムmRNAがあり、スプライシングによりEnv領域の5'側とX領域にORFのmRNAが作られ、このmRNAの翻訳により少なくとも2つのタンパク質が作られる<sup>81,127,133</sup>。大きいタンパク質は、分子量34-38 kDでp34<sup>tax</sup>と呼ばれ感染細胞の核内に認められる<sup>132</sup>。小さいタンパク質は核リン酸タンパク質として同定され、分子量18-19 kDでp18<sup>tax</sup>と呼ばれる<sup>127</sup>。両者ともに牛白血病発症牛および羊で免疫応答が認められ、抗体が血清中に検出される<sup>123,163,172</sup>。

BLVはゲノム構造、プロウイルスの塩基配列、アミノ酸の大きさと構造タンパク質、非構造タンパク質のアミノ酸の大きさと配列から、HTLV-1, 2, STLV-1

と近縁である。これらの4つのウイルスはLTRと細胞遺伝子のエンハンサー・プロモーター領域の転写活性により複製・増殖し、慢性のウイルス血症の欠如、長

い潜伏期、腫瘍における至適プロウイルス組込部位の欠如等、類似の病態を引き起こす<sup>101)</sup>。

## II. 近年の牛白血病の発生数と浸潤状況

日本では、1927年に岩手県においてその初発生が報告されて以来、全国においてその発生が認められる。牛白血病は平成9年まで届出の義務が無かったため、全国的な発生状況を知ることは出来なかったが、平成10年に行われた家畜伝染病予防法の改正に伴い、それ以降は届出が義務づけられたため、近年の急激な増加が明らかになっている。その発生数は、平成10年の99頭から平成13年までの間は200頭以下で推移していたが、平成16年には468頭と急増し、平成20年度にはついに1,040頭となり、平成21年度にはすでに9月時点において前年同時期の発生数を越える991頭の発生となっている (Fig. 2A)。また、食肉衛生検査所においても、牛白血病と診断され全廃棄にされる牛の頭数は平成16年以降に急増していることが報告されている<sup>181, 182)</sup> (Fig. 2B)。この摘発頭数の増加については、届出の義務化に加え、と畜場での病名分類と家畜伝染病予防法上の病名との統一や死亡牛のBSE検査の開始により散発型のものも含め発生実態が正確に把握されるようになったためとの見方もある。しかし、全国の家畜保健衛生所や食肉衛生検査所の報告から、その発生は確実に増加傾向にあると思われる。

海外では、牛白血病は当初北欧に局限していたが、牛の国際的な移動が活発に行われるに従い、特にEBLは世界各国で報告されるようになった。欧州の多発地帯では、1978-1980年の間にBLV抗体陽性率は10-20%に達していたが、その後、欧州のいくつかの国では1970年代の後半から血清反応を主軸とする組織的な防疫体制がとられ、発病牛はもとよりBLV感染牛も激減している。現在では、こうした清浄化対策がようやく実を結び、デンマーク (1991年)、フィンランド (1997年)、イギリス (1999年)、スウェーデン (2001年) がそれぞれEBLの清浄化宣言を行っている<sup>27, 101)</sup>。

一方アメリカでは、公式BLV監視プログラムがなかったため、ウイルス感染の国内流行を推定することが難しい状態であった。1996年に、全米家畜衛生モニタリングシステム (NAHMS) の調査で、国内の20州、79%の酪農場を対象範囲に1農場30頭以上のサンプル数でBLVの流行調査を行ったところ、実に89%の酪農場にBLV感染牛が存在することが明らかになった。その成績より、乳牛のBLV抗体陽性率は44%、さらに感染群のうち16.9%の農場は75%以上の陽性率、44%の農場は少なくとも50%の陽性率と推定された<sup>98)</sup>。1997年に、NAHMSは国内の23州で2,713の肉牛農場について類似の調査を行ったところ、38%の農場にBLV感染

牛が1頭以上存在し、検査動物の10%にウイルスの感染が認められている。検査農場の56%は抗体陽性率25%未満であった<sup>99)</sup>。また、1998~2002年のと畜場での白血病による廃棄率は2.11~2.77%であり、悪性リンパ腫は、廃棄の最も高い要因であったと報告されている (USDA: Food Safety Inspection Service, Animal disposition reporting system)。

我が国における調査では、1980年代に農林水産省家畜衛生試験場が中心となり初めてBLVの抗体調査が全国規模で行われた結果、抗体陽性率は1980年および1982年にそれぞれ、乳牛で3.7%および4.2%、肉牛では7.4%および6.0%であった<sup>170)</sup>。当時、東北地方は牛白血病の発生が多く報告されており、この調査でBLV抗体陽性率が60%を超える地区があるなど、高い抗体陽性率が確認され、BLVの感染と牛白血病発生の関連が強く示唆された。アメリカと異なり日本では乳用牛よりも肉用牛に高い陽性率を認めた理由は明らかではないが、その一つとして飼育形態の相違があげられる<sup>100)</sup>。肉用牛 (和牛) の場合、夏期に牛を集団で放牧し、冬期間は各農家で飼育するという、いわゆる夏山冬里方式をとることが多い。夏期に陽性牛との集団放牧を行う結果、陽転する個体が増えるものと思われる。事実、小沼らの調査では1回集団放牧する間に約半数が陽転していることが報告されている<sup>112)</sup>。

以上に述べた調査が行われて以来、全国的な調査はされていなかったことから、著者らは2007年に農林水産省委託事業により、東北、関東、中部、中国、九州の計7県、約200農場の協力を得て、6ヶ月齢以上の乳用牛約4,000頭、肉用牛約1,400頭を対象にBLVの抗体調査を行った。その結果は、平均抗体陽性率は28%、そのうち乳用牛は35%、肉用牛は12% (うち肉用繁殖

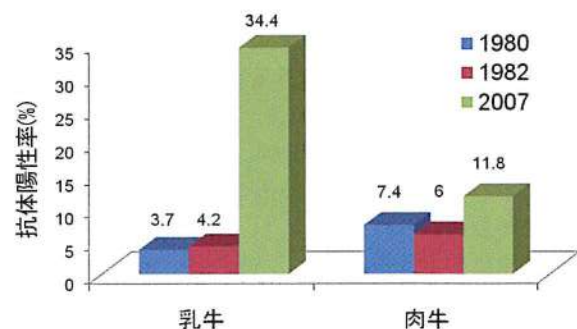


Fig. 3 用途別抗体陽性率

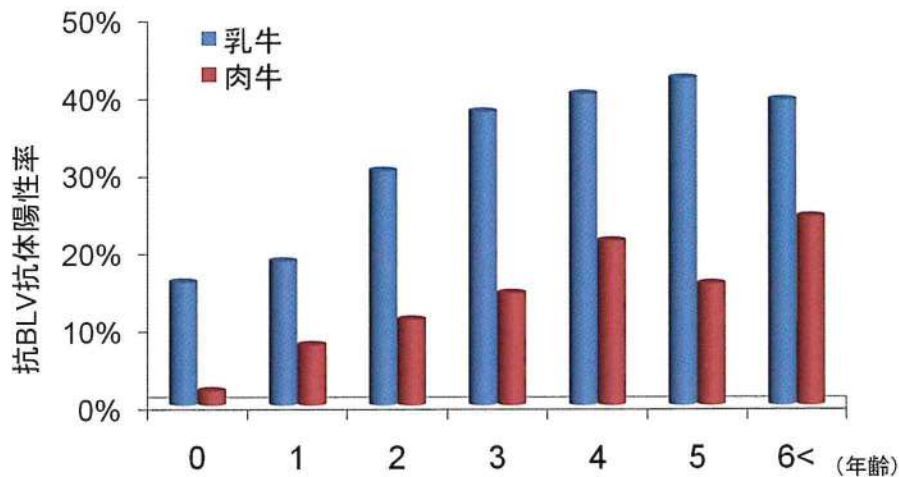


Fig. 4 年齢と抗体陽性率の推移

牛15%、肥育牛8%)であった。この結果は1982年に実施された全国調査の結果と比較して明らかに高い抗体陽性率であった (Fig. 3)。また、乳用牛、肉用牛ともに加齢による抗体陽性率の上昇が認められ (水平感染を示唆)、成牛のBLV群内伝播防止に関する適切な飼養管理を徹底する必要があると思われた (Fig. 4)。興味深いことに、1歳未満の抗体陽性率は肉牛で数%であるのに比して、乳牛では約16%と高く、若齢期の

乳牛におけるBLV伝播防止の重要性も改めて示唆される結果となった。乳牛と肉牛の間で1歳未満の抗体陽性率に違いがあることは両者の飼養管理方法の違いに由来すると思われる。すなわち、ほ乳による母子感染などの垂直感染が推測されるが、一方では、乳牛、肉牛ともに年齢とともに感染牛が増えている状況から、この調査は農場内に水平感染要因が絶えず存在することも示唆している。

### III. 臨床・病理と免疫

#### 1) 臨床と病理

EBLは、BLV感染後3-4年、あるいはそれ以上経過して発病する<sup>9)</sup>。主として成牛にみられることから、EBLは成牛型白血病とも呼ばれている。感染牛は抗BLV抗体を産生するが、感染牛が必ずしも発病する訳ではなく、生涯にわたって発病することなくウイルスを持ち続けるものも多い。発病するものは5%未満であるが、母集団によりまちまちで、胎児期を含めて早い時期に感染したもののほど発病に至る期間が短い。病理学的にはリンパ節をはじめ、脾臓、心臓、消化管、泌尿生殖器、筋肉など全身に肉腫病巣がみられ、多中心性を示すものが大部分である。腫瘍細胞はBリンパ球由来細胞と考えられている。BLV感染牛は抗体陽性牛となっても感染が持続するので、ウイルス伝播源としての役割を演じ、次第に感染の輪が広がられていくことになる。

一般に臨床的牛白血病として摘発される動物の多くは、すでに病勢の進行したものが多く、稟告としては乳量の減少、消瘦、元気消失、食欲不振、心機能障害、便秘、下痢、眼球突出、産後回復の遅延、起立不能などとして獣医師の診察をおおぐものが多い (Fig. 5A)。直接リンパ肉腫病巣を知る手段として、浅頸、腸骨下、乳房上、頭頸部などの各所体表リンパ節の触診により腫大の有無を知ることが必要である。個々の体表リン

パ節の腫大は発症牛の20~30%に認められるといわれている (Fig. 5C, D)。また、眼窩内脂肪織や動眼筋も好発部位として知られ、病牛の20%前後に眼球突出が見られ、二次的に角膜炎を併発するものもしばしばみられる (Fig. 6A, B)。このように体表に症状が見られ、消瘦し、被毛光沢を失し、元気の乏しいものでは、ほとんどが牛白血病と考えて間違いはない。

体表にとくに触知すべき病巣を欠くものでは、直腸検査により骨盤腔から腹腔にかけてリンパ肉腫の有無を検査する必要がある。腸骨リンパ節、腹腔内の腸間膜リンパ節は好発部位の一つとされる (Fig. 5B)。触診では腫瘍は大小不定形で比較的弾力性に富むが、かなり硬く他の腫瘍との区別は必ずしも容易でないので、必要に応じて組織の生検などによって診断を下す必要がある。しかし、直腸検査による本病の診断は非常に有効であり、病牛の60%前後は本法により診断出来るといわれている。触診上類症鑑別に最も留意しなければならない疾病に脂肪壊死がある<sup>10)</sup>。脂肪壊死は和牛に多く見られ、比較的体脂肪が豊富で、皮下脂肪は触診上皮下水腫のように触知され、しかも全体に被毛の光沢がよいのでEBLとの鑑別の指標となる。なお、脂肪壊死でも直腸検査により腸間膜、腸壁、腎周囲などに腫瘍をみるので鑑別診断に困難を来たすこともあるが、圧密の硬さが極端に硬い場合が多いので、注意す

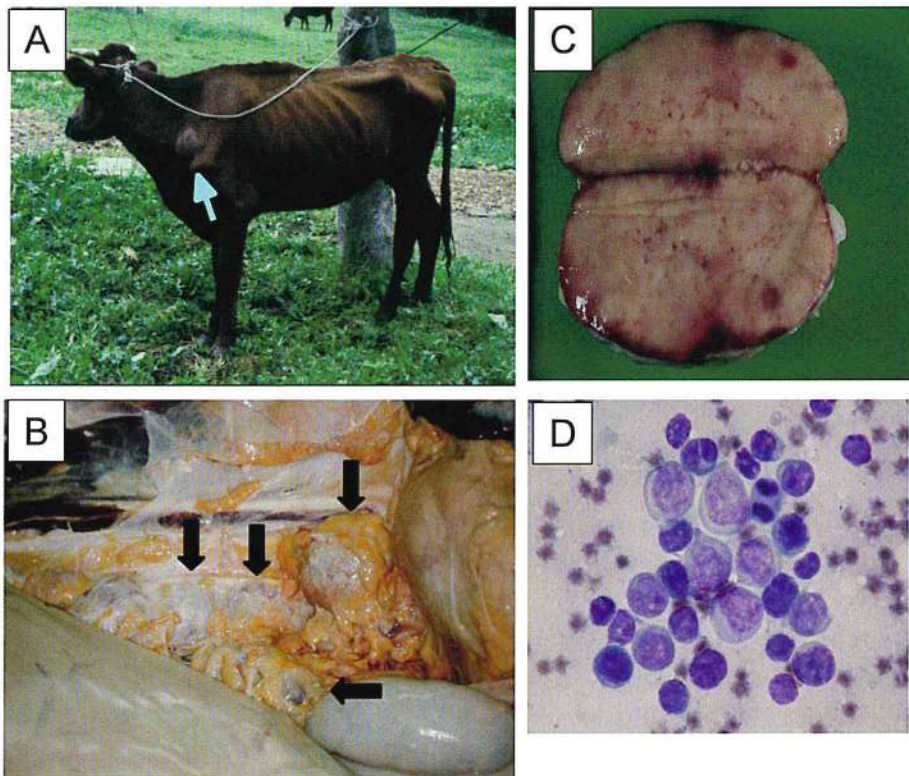


Fig. 5 地方病性牛白血病牛の特徴

発症牛の外見所見。高度の削瘦がみられる。(動物衛生研究所, 播谷 亮博士原図)(A), 腹腔内の腫瘍塊形成。小児頭大の腫瘍塊形成がみられる(動物衛生研究所, 播谷 亮博士原図)(B), 体表リンパ節の肉眼所見。浅頸リンパ節の腫瘍性腫大(東京都芝浦食肉衛生検査所, 宗村佳子氏原図)(C), 同浅頸リンパ節のスタンプ標本。核小体は明瞭な中型から大型の腫瘍細胞がみられ, 細胞分裂増も散見される(東京都芝浦食肉衛生検査所, 宗村佳子氏原図)(D)。

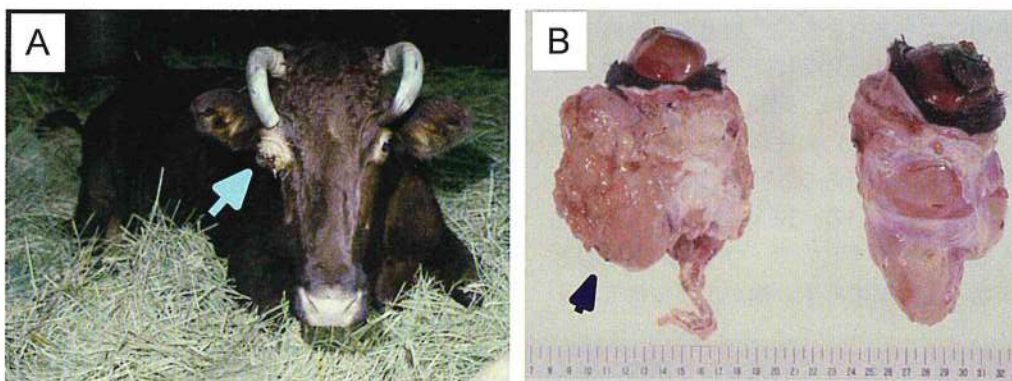


Fig. 6 牛白血病発症牛にみられる眼球の突出

眼球の突出(矢印)(A), 眼球周囲組織に腫瘍細胞が浸潤し, 腫瘤を形成している(B)(動物衛生研究所, 播谷 亮博士原図)。



ればEBLとの誤診を防ぐことができる。

BLVの感染を受けるといわゆる30%程度の感染牛にPLが認められる<sup>21, 22, 41, 83, 120)</sup>。また、EBLの原因がBLVであることが判明する以前から牛白血病とPLの間に臨床血液学的な関連性があることが知られて来た<sup>32)</sup>。これらのことから、末梢血液の検査によって本病を診断しようとする試みも古くからなされて来た<sup>23, 30)</sup>。とくに白血病多発地帯であるデンマークにおいて、多数の牛について検索した成績を基礎として作成された「Bendixenの鍵<sup>7, 11)</sup>」は広く用いられてきた血液診断指標のひとつである。これは末梢血液中に一定数以上のリンパ球およびリンパ球様細胞を持ったものを牛白血病と診断するもので、集団検診などに応用して実際に有効性が認められている。しかし、腫瘍病巣を持ちながら血液像にほとんど変化を示さないものがEBL全体の10-50%に存在すること、BLV感染によりPLを示すがこれは感染に対するリンパ組織の反応で白血病の病態そのものではないこと、やがては腫瘍化への道を進むものを含め、全てが体内に肉腫病巣を形成するとは限らないことなどの事実から、PLのみによって牛白血病と診断はできない事を念頭に置くことが必要であろう。牛白血病のもつこのような特徴とともに、PLの認定には牛品種間あるいは採血時の牛の状態などを考慮し、ヨーロッパでは「Bendixenの鍵」を若干緩和した「ヨーロッパ共同体 (EC) の鍵<sup>70)</sup>」を用いて、より現実に即した清浄化対策に活用している。

BLV感染の診断はBLV抗体の検出によるが、BLV抗体価の高い牛では全例にBLVが検出される<sup>110)</sup>。一方、移行抗体は約6か月程度子牛に存在するため、このような子牛では抗体陽性でありながら末梢血リンパ球からBLVは検出されない。

## 2) ウイルスの増殖と免疫応答

In vivoの実験感染ではBLVは牛、羊、山羊およびチンパンジーなどに感染し、羊では他の動物に比べ比較的容易にリンパ肉腫を形成する<sup>106, 125)</sup>。一方、山羊と牛ではリンパ肉腫は形成されにくく、リンパ肉腫が発現する場合でも長い年月を要する。チンパンジーでは発病しないが感染が成立し、5年もの間抗体が持続した<sup>153)</sup>。

BLVに一度感染した動物は生涯ウイルスを体内にもち続ける。BLV感染動物においては、腫瘍病変をはじめ各種臓器やリンパ球にはBLVはもとよりBLV抗原も検出されず、感染個体由来のリンパ球細胞をIn vitroで数時間培養して初めてBLV抗原が検出される。BLVは体内では逆転写酵素の働きでDNAの形をとり、細胞の染色体に組み込まれて存在し（この状態のウイルスをプロウイルスと呼ぶ）、リンパ球中では血漿由来阻止因子のような作用で、ウイルス抗原の産生が阻止されている。しかし、量的には少ないが体内のリンパ

球系細胞でウイルス抗原が絶えず産生されており、感染動物ではBLV抗体が持続的に検出される<sup>129, 160)</sup>。

BLVは体内のどこで持続的に増殖するかということについて、Van Der MaatenとMiller<sup>150)</sup>は、BLV感染牛リンパ球を子牛に皮内接種し、経日的に臓器からBLVの回収を試みたところ、脾で最も早く接種後8日から、次いで末梢血白血球で14日後から、リンパ節では32日後にBLVが検出されたと報告している。また、血清中にもフリーの形で少量のBLVが存在し、接種後55日に検出され、これらの子牛では接種後5~6週に抗体が初めて検出されている。BLVは感染動物のリンパ球や単球・マクロファージ系の細胞に広く感染しているが、多くはプロウイルスのまま存在し、そのmRNAの発現はBリンパ球のみに認められている<sup>36, 119, 138, 166)</sup>。

一般にBLV感染動物では、発病までにきわめて長い時間を要する。この理由のひとつにBLVにおけるガン遺伝子の欠損がある。すなわち、細胞側ガン遺伝子を活性化するために何回か感染を繰り返す必要があるものと思われる。もうひとつの理由として、腫瘍細胞を常に排除する機能をもつ宿主の免疫監視機構に打ち勝って発病するまでには長い時間を必要とするものと考えられている。

BLV感染後に出現するgp51抗体およびp24抗体は発病阻止にはあまり役立っておらず、細胞の腫瘍化に伴って新たに出現した抗原に対する抗体が発病阻止に役立つと考えられている<sup>145)</sup>。

Ressangらは白血病牛と非白血病牛に抗酸菌のひとつである*Mycobacterium microti*を皮下接種し遅延型反応を調べたところ、白血病牛ではこの反応が亢進することを報告している<sup>126)</sup>。著者らの研究でもBLVを実験的に接種して白血病を発症させた羊の血液や腫瘍組織中にNK活性をもつ $\gamma\delta$ T細胞が増数することを明らかにしている<sup>97)</sup>。これらは腫瘍細胞に対する宿主免疫の活性化を示すものと思われる。また、白血病の牛および羊の末梢血リンパ球の細胞障害活性は対照の非感染動物のそれに比べ有意に低下していたこと、発病前後におけるそれは死の直前には検出されなくなること<sup>169, 170)</sup>から、NK様細胞活性の低下により白血病細胞が増殖し発症に至るといった可能性もある。

## 3) BLVの宿主細胞への組込みと腫瘍化

BLVとHTLVの感染様式には、慢性のウイルス血症がないこと、長い潜伏期が存在すること、プロウイルスの宿主ゲノムへの組込に一定の部位がみられないことなどの共通点がみられる<sup>57, 68, 76)</sup>。一定の組込み部位がみられないにもかかわらず、腫瘍化すると腫瘍細胞の単クローン性増殖を示し、それらの細胞内ではBLVは、宿主ゲノムの特定の一方所への組込部位を持つようになる<sup>68)</sup> (Fig. 7)。しかし、特定の位置すなわち細胞のガン遺伝子であるc-oncの近傍に組み込まれると

いう事実は見いだされていない<sup>71)</sup>。BLVやHTLVのプロウイルスはRNA転写が抑制されていることから、ウイルスの複製活性は低く、こうしたウイルス発現の阻害はBLVがプロウイルスとして潜伏感染するためには重要なことであり、このためにBLV感染細胞は宿主免疫機構から逃れることが可能になっていると思われるが<sup>17, 58, 68, 70, 88, 146, 153)</sup>、その機構の詳細は解明されていない。

#### 4) 牛白血病発症とサイトカイン

BLVに感染した牛ではBLVがB細胞（特にB-1細胞と呼ばれ、自然免疫に関与する細胞）に感染し、抗体が陽転しても体内から排除されず、持続感染する<sup>167)</sup>。持続感染していても多くの牛は長期間、臨床的には健康である。BLV感染牛でも、ある牛は長期間にわたって臨床的異常を示さず健康キャリアーとなるが、個体によってはPLを呈したり、時にはEBLにまで進行する。このような病態進行の差異はウイルス側というよりは、主に宿主側の要因によって規定されるかもしれない。BLV感染牛および羊では各種サイトカインが誘導されるが、そのパターンによって現象として病態進行に違いがあることから、感染BLVに対する宿主免疫応答、特にサイトカインプロファイルの差が関係していると考えられる。

すなわち、BLV感染によって、Th1系サイトカインであるインターフェロン(IFN)  $\gamma$  やインターロイキン(IL)-12が誘導される個体では病態進行が遅れ、健康キャリアーのまま推移する。それが何らかの原因でTh2系のサイトカインであるIL-4やIL-10産生性が強くなり、サイトカイン産生がTh1系からTh2系にシフトすると病態が進行し、PLや、最終的にはEBLを発症するのではないかと考えられている。Th1系のサイトカインであるIFN  $\gamma$  は細胞性免疫を強く誘導することによりウイルス感染細胞に対して細胞傷害性T細胞(CTL)を発現してウイルス増殖を抑制する。一方、Th2系サイトカインは抗体産生を高める。BLV感染動物ではBLV-gp51抗体が出現し、血中に存在するフリーのBLVが新たな細胞に感染するのを阻止する。しかし、この抗体は細胞内で増殖するBLVに対しては有効ではない。BLV感染細胞の排除にはCTL等の細胞性免疫が中心となるが、その作用は限られており感染細胞を完全に排除することはできない。このため、Th1系サイトカインが主流の間は健康キャリアーのまま推移するが、Th2系サイトカインが優位になるとウイルス増殖が抑制されず発症するものと考えられる。同様の現象はレトロウイルス感染であるヒトT細胞性白血病や後天性免疫不全症候群(エイズ)の発症でも報告されている。このように、BLV感染動物ではBLVの完全な排除はできないものの、Th1系サイトカインの誘導などによりBLV感染後の腫瘍化への進行が抑えられ、

長い健康キャリアー期が存在する。一部の牛ではサイトカインプロファイルの変化によって健康キャリアーからPL期やEBL期へ移行すると考えられるが、その全容は依然明らかにされていない。

BLV感染によって誘発されたPLの牛とリンパ肉腫細胞に由来するBリンパ球には顆粒球・マクロファージ・コロニー刺激因子(GM-CSF)に対する受容体が発現している。GM-CSF受容体を発現する細胞は、その細胞表面抗原プロファイルは免疫グロブリン(Ig)陽性でCD5とCD11b陽性のB-1a細胞であった。これらの結果から、BLVによって誘発されたPLおよびリンパ肉腫細胞に由来するBリンパ球でのGM-CSF受容体の異常な発現がPLとリンパ球の増殖において重要な役割を果たしていることが示唆された<sup>168)</sup>。

腫瘍壊死因子(TNF- $\alpha$ )は、免疫または炎症反応を促進する多機能サイトカインで、感染因子を排除する重要な働きをもつが、一方では逆に病気の進行を促進する働きも持っている。TNF- $\alpha$ の活性は2つの機能の異なる細胞表面受容体TNF-R1型(1型受容体)とTNF-R2型(2型受容体)によって仲介され、TNFが1型受容体に結合した場合はアポトーシスを、2型受容体に結合した場合には細胞増殖を促すという相反する機能を有している。牛白血病の腫瘍細胞では1型受容体の発現はみられず、2型受容体のみを発現していた(Fig. 7)。このことから、TNFの作用により細胞増殖のみが促進され、発症に至る可能性が示唆されている<sup>169)</sup>。

#### 5) 牛白血病発症とp53ガン抑制遺伝子の点突然変異

p53ガン抑制遺伝子がコードする正常型タンパク質p53は転写調節タンパク質であり、染色体DNAに何らかの損傷が起こると本タンパク質の発現が誘導される。p53が誘導されると4種類のタンパク質が活性化され、そのうちのp21タンパク質は細胞周期がG1期からS期に進むのを抑制する。細胞はG1期で停止している間にDNAを修復し、正常な形に整える。一方、DNA損傷があまりにも重篤で修復できないときにはアポトーシスを起こさせ、その細胞を除去する。もしp53遺伝子に変異が生じると正常なDNA修復が起こらず、細胞の腫瘍化が進行すると考えられている。

In vitroにおいてBLV感染腫瘍細胞株を調べたところ、p53ガン抑制遺伝子の変異の存在が明らかとなった<sup>28-30, 75)</sup>。また、牛白血病牛由来の腫瘍組織では約半数でp53遺伝子の点変異が認められた<sup>30, 63, 174)</sup>。PL牛やBLV非感染の正常牛由来B細胞には、少数例にしか認められなかったことから、p53遺伝子突然変異は細胞増殖の活性・抑制といった本質的な機能を阻害することによって、発症に作用したものと思われる<sup>170)</sup>。一方で、羊ではp53遺伝子は全ての病気のステージで変異は認められなかったことから<sup>30)</sup>、p53遺伝子の変異は羊の

発症には必須のステップではないと考えられた。今後 p53 の機能性を調べる必要があるが、牛においては p53 遺伝子の変異は腫瘍化に向かう一つのきっかけになっていると思われる。

6) 牛白血病発症と主要組織適合抗原 (MHC) クラス II ハプロタイプ

BLV の感染にはじまり、リンパ球増多症から白血病発症へと一連の病態進行には主要組織適合抗原 (MHC) の特定の遺伝子構造が関与している可能性が指摘されている。この可能性を明らかにするために、牛白血球抗原 (BoLA) 遺伝子の多様性と BLV 誘発性リンパ肉腫に対する抵抗性や感受性との関連が研究されている。オーストラリアで、Illawarra 短角種の雄牛由来の産子を対象に BLV 感染と BoLA との関連を調べたところ、BoLA 群のうち、劣性遺伝する Eu28R 抗原

を持つ産子は、W10 抗原を持っている牛に比べて、より BLV 感受性になっていることを報告している<sup>110)</sup>。また、BoLA W8.1 抗原は BLV 感染に抵抗性に関係すると報告している研究もある<sup>11, 79, 80)</sup>。さらに、このことを支持する成績として、W8.11 抗原をもつ牛の抗体陰性率は、抗原を持たない牛に比較して有意に高いことも報告されている<sup>80)</sup>。Aida らは牛白血病牛の BoLA-DR B3 遺伝子エクソン 2 の多様性を報告しており、BLV 感染健康牛の約 56% が DR 分子の  $\beta 1$  ドメインの Arg<sup>71</sup> または Lys<sup>71</sup>, Glu<sup>71</sup>, Arg<sup>77</sup> および Val<sup>78</sup> をエンコードする BoLA-DRB3 対立遺伝子をひとつ以上持っており、それとは対照的に、発症牛の約 70% が Ala<sup>71</sup>, Thr<sup>77</sup> および Tyr<sup>78</sup> モチーフをエンコードする 2 つの対立遺伝子を持っていることから、それらが BLV に対する感受性と抵抗性を既定することに関与している可能性を指摘している<sup>3)</sup>。

IV. 診 断

血清学的診断法が確立する 1970 年代までの牛白血病診断は、末梢血単核球数の増加と異型リンパ球の検出であったことから、発症後でなければ診断ができなかった。しかし、現在はシンシチウム (多核巨細胞) 法を用いたウイルス分離、寒天ゲル内沈降試験 (AGID) や受身赤血球凝集反応 (PHA) による抗体検出により発症前に診断が可能になった。我が国で広く使われている AGID は、特異性は高いが検出感度はあまり高くないことが知られている。諸外国では既に高感度で多検体処理が可能な ELISA キットが普及されており、当該国の清浄化対策に貢献している。我が国でも、平成 21 年 4 月より診断用 ELISA キットが市販されるようになった。また、通常、感染母牛から生まれた子牛は母牛から初乳を通じて BLV 抗体を摂取するため、移行抗体が消失するまでの 6 ヶ月程度は感染の有無を判断できない。そのため、この時期の早期摘発・淘汰は困難であった。しかし、1990 年代に PCR 法が BLV 遺伝子の検出に応用されるようになり、感染初期においても感染リンパ球から BLV 遺伝子が検出出来るようになったことから、移行抗体の存在する時期においても感染牛の早期摘発が可能になった。また、近年、病原体の検出法としてリアルタイム PCR 法が使われるようになってきた。リアルタイム PCR 法は、PCR 法とほぼ同等の検出感度を有し、加えて病原体遺伝子量を測定することが可能な手法である。

地方病性牛白血病の診断法は、現在までに数多く開発されているので、(Table 1) にそれらを示す。

1) 血液学的診断法

① EC の鍵

本病の生前診断には、臨床症状のほかに血液所見、特にいわゆるリンパ球数の消長増減および白血球細胞 (または異型細胞) の出現は診断上重要な指標となる。

血液像の異常は、北欧では早くから注目され、リンパ球数 (絶対値) の正常値の幅を年齢別に定め、この基準を越えたものを異常とする臨床血液学的な診断基準が広く採用されている。その代表的なものは、前述したように、当初は「Bendixen の鍵<sup>12)</sup>」であったが、牛の品種間あるいは採血時の環境因子などによる差を考慮し、ヨーロッパでは「Bendixen の鍵」を若干緩和した「ヨーロッパ共同体 (EC) の鍵<sup>78)</sup>」(Table 2) が牛白血病の診断基準として用いられている。この診断基準は一定数以上のリンパ球数を示したものを牛白血病と診断するわけで、集団検診などの応用に効果がある。特に PL 牛は感染源として注意する必要があるの

で、その摘発は感染リスクを低減させるためにも重要なことである。しかし、牛白血病牛でリンパ球の増数がみられない症例がしばしば認められ、また、牛白血病とは無関係にリンパ球が増加することもあり、リンパ球数のみの臨床血液学的所見で決定的な診断を下すのは危険である。

Table 1 地方病性牛白血病 (EBL) の診断法

検査対象	検査法	感度	操作	特異性
血液	EC の鍵	低	容易	低
	異形細胞の観察	高	難	高
病原体	ウイルス分離	低	難	高
	シンシチウムアッセイ	中	中程度	中
	PCR	高	易	中
	動物接種試験	高	難	高
抗体	寒天ゲル内沈降試験	低	易	高
	ELISA	高	易	中
	受身赤血球凝集反応	高	易	中
	シンシチウム抑制試験	高	難	高
	ラジオイムノアッセイ	高	難	高
	蛍光抗体法	中	中程度	中

Table 2 ヨーロッパ共同体 (EC) の鍵\*

年齢	正常	擬陽性	陽性
0~1歳	< 11,000	11,000~13,000	> 13,000
1~2	< 10,000	10,000~12,000	> 12,000
2~3	< 8,500	8,500 ~ 10,500	> 10,500
3~4	< 7,500	7,500 ~ 9,500	> 9,500
4~5	< 6,500	6,500 ~ 8,500	> 8,500
5~6	< 6,000	6,000 ~ 8,000	> 8,000
> 6	< 5,500	5,500 ~ 7,500	> 7,500

\* Bendixenの鍵を動物品種間あるいは採血時の環境因子などによる差を考慮し、ヨーロッパ共同体 (EU) で若干緩和したもの。Bendixenは牛の末梢血中のリンパ球数を測定。年齢ごとにリンパ球数の正常範囲を設定し、その値を超えた個体を牛白血病の陽性牛と診断した (Bendixen, 1965)

## ②血液塗末法

牛白血病発症牛の末梢血中には、量的な差はあれ、常に異常細胞の出現がみられることから、牛白血病の血液学的診断にあたっては、リンパ球絶対数の算定のみならず塗抹標本による異常細胞の出現の有無についても検査する必要がある。血中に出現する異常細胞はギムザ染色で中型ないし大型の異型性の強いリンパ系細胞として観察される。

## 2) ウイルス学的診断法

牛の体内におけるBLVの存在様式には依然不明な点が多い。しかし、BLVの体内での存続様式として、少なくとも、感染性のウイルスが末梢血中に存在する場合と、感染性のウイルスは証明されないが、末梢血中のリンパ球遺伝子内にウイルスが組み込まれて存在する場合 (プロウイルス) のふたつをあげることができる。前者の多くは感染初期と発症期に観察されるが、通常、血清中には遊離のウイルスは検出されない。ウイルス学的診断では、初感染時期の末梢血または持続感染期の末梢血リンパ球からウイルスまたはその遺伝子あるいは抗原を検出する。

### ①ウイルス分離<sup>10)</sup>

シンシチウム法 (SIA) により感染性のあるBLVを検出する。感染性のあるBLVは近接する2個以上の細胞を融合させる能力をもっている。SIAは、原理としては、この細胞融合能力を利用して、試験管内に形成された多核巨細胞を計数し、その数をウイルス量として換算する (Fig. 8)。

### ②ポリメラーゼ連鎖反応法 (PCR)<sup>10)</sup>

BLV遺伝子の検出法として、末梢白血球から抽出したDNAを用いたPCR法と、さらに感度を高めたnested PCR法がある (Fig. 9)。PCRは腫瘍の原因調査、初乳

による移行抗体を保有した新生子牛や抗体上昇以前の感染初期におけるBLV感染牛を摘発する手法、ワクチン製造に用いる牛がBLV陰性であることの確認などに使用することを奨励している。しかし、病原体検出法は牛群全体を対象とした検査には不向きで、あくまでも血清学的診断法の補助的診断であることに留意すべきである。PCR法は高感度であるが、試料の混入等による非特異反応が出やすいので、非特異反応を検証するための対照検査試料の適切な設定などが必要である。

### ③リアルタイムPCR法

近年、PCRの増幅量をリアルタイムでモニターし解析する方法であるリアルタイムPCR法が開発された。この方法は電気泳動が不要で迅速性と定量性に優れており、2000年代に入りヒトおよび動物の疾病に関わる様々な病原体の検出方法に応用されるようになってきた。リアルタイムPCR法による定量の原理は、段階希釈した既知量のDNAを標準品としてPCRを行うことで、それをもとに検量線を作成し、未知濃度のサンプルについても、同じ条件下で反応を行い、検量線からサンプル中の目的のDNA量を測定するというものである。通常、リアルタイムPCRのモニターは蛍光試薬を用いて行う。蛍光モニター法には二本鎖DNAに特異的に挿入 (インターカレート) して蛍光を発する色素 (サイバークリーン) を用いる方法と、増幅するDNA配列に特異的なオリゴヌクレオチドに蛍光色素を結合させたプローブを用いる方法がある。著者らは農林水産省の委託を受けてBLV遺伝子を高感度に検出するプローブを用いたリアルタイムPCR法の実用化研究に取り組み、ウイルス遺伝子を約1コピーまで検出することが可能な手法を開発した (論文投稿中)。また、リアルタイムPCR法によるBLV遺伝子量を指標に既存のAGID、PHAおよびプロトタイプのELISAを比較したところ、AGIDはELISA値が高くウイルス量が多い個体を検出できること、また、AGID、PHAおよびELISAでウイルス感染を診断できない個体が存在することなどが判明し、リアルタイムPCRを指標とすることによって、あらためて後述の血清学的診断法の特性やその限界も明らかになってきている。

### 3) 血清学的診断法

BLVは、エンベロープ中に存在する2種類の糖タンパク質 (gp; gp30とgp51) と、ウイルス内部に存在する5種類の糖鎖の修飾がないタンパク質 (p; p10, p12, p14, p15およびp24) から構成されている。BLV感染後、牛の末梢血中には、まずエンベロープタンパク質であるgp51に対する抗体が、次に主要カプシドタンパク質であるp24に対する抗体が産生される。また、gp51抗体はほとんどの持続感染牛で産生され続けるが、p24抗体は感染牛の6~7割にしか現れないので、gp抗体はp抗体に比較し診断的価値が高い。血

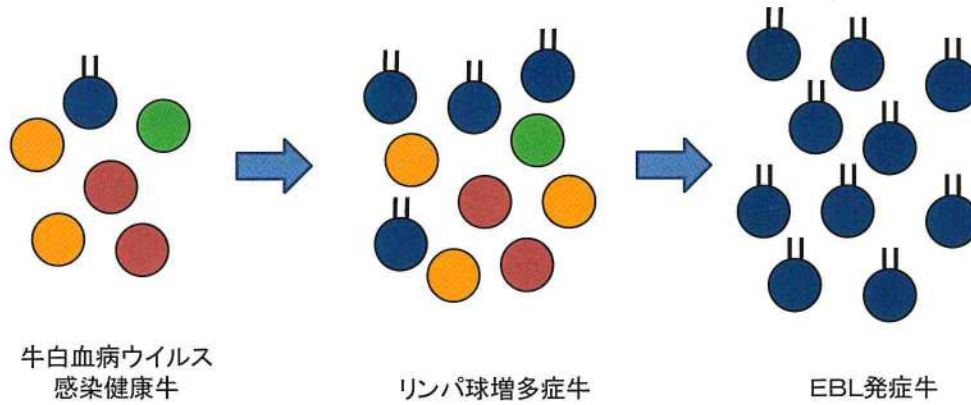


Fig. 7 牛白血病ウイルス感染牛の末梢血リンパ球の変化

感染健康牛の末梢血リンパ球にはランダムな位置にBLVプロウイルスが組み込まれているが、白血病になるとTNF- $\alpha$  2型受容体を持つ特定の細胞が単クローン性に増殖する(岡田幸助, 臨床獣医2008から改変引用)

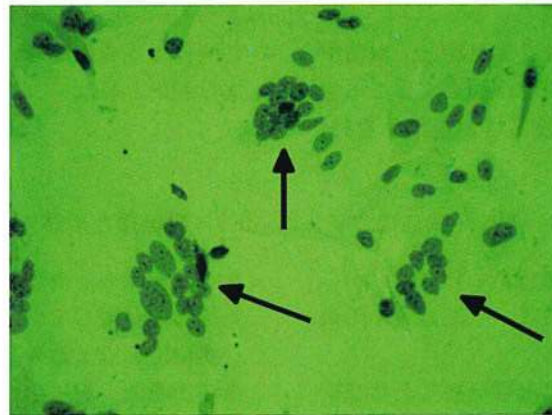


Fig. 8 シンシチウム法

矢印は形成されたシンシチウム(合胞体)を示す  
(元家畜衛生試験場(現日本大学) 泉對 博 博士原図)

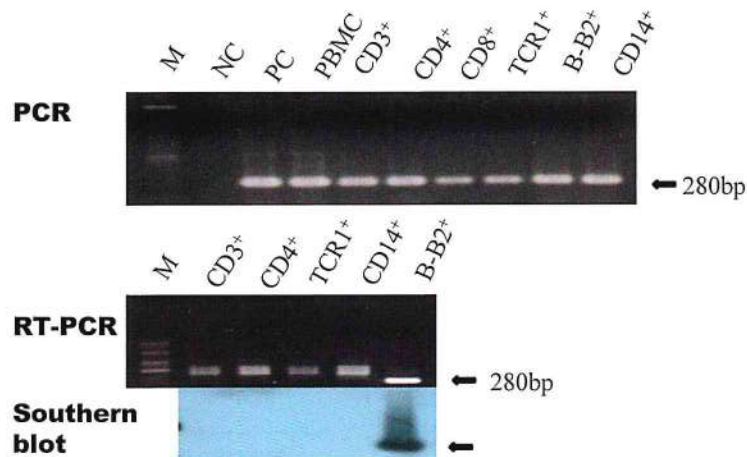


Fig. 9 PCR法による末梢血単核細胞からのBLV遺伝子の検出と確認

PCRによるプロウイルスDNAの検出(上), 逆転写PCRによるウイルスRNAの検出(中), サザンブロット法による正しいPCR産物の確認により, B-B2+細胞のみウイルスRNAを産出していることがわかる

血清学的検査を行う際には、分娩前後はBLV抗体価が減少し、感染牛が陰性となる可能性があることを考慮する必要がある。なお、OIEの診断マニュアルでは、血清学的診断法として、現在のところ、ELISAおよびAGIDが推奨されている。

#### ①寒天ゲル内沈降 (AGID) 試験<sup>100)</sup>

BLVのAGID反応による血清診断法にはgp抗体とp抗体を測定する2種類の方法がある。現在市販されている抗原にはgpとpの両方の抗原が含まれている。しかしgp抗体を測定するように調製されているので、p抗体の反応は出現する場合もあるが診断には使用できない。原理はゲル状の寒天を介して抗原と被検血清を反応させ、寒天内にできた反応物を肉眼的に確認し、抗体の有無を検査する方法である。血清中に抗体が存在する場合には、抗原との中間帯に白濁の沈降線が24～72時間以内に出現する。

#### ②受身赤血球凝集反応 (PHA)

表面にウイルス抗原を付着させた赤血球と、血清中ウイルス抗体を反応させると赤血球が凝集することを利用した検査法。本法によって測定された抗体をPH

A抗体とし、凝集を起こした最高希釈倍率をもって、その抗体価とする。

#### ③ELISA<sup>101)</sup>

多数の血清を検査するにはELISA法がすぐれており、通常AGIDよりも高感度である。検査材料としては血清を用いることが多いが、搾乳牛のバルク乳を用いることも可能である。擬陽性を呈した検体は1カ月後に再試験をすることが望ましい。

#### ④蛍光抗体法

BLV感染動物の血清γ-グロブリンに蛍光色素を結合させ、これを用いて細胞内あるいは遊離BLVと反応させることによりBLVを蛍光染色し検出する方法である。実際の応用に当っては非特異蛍光との区別に留意しなければならないと熟練を必要とする。

#### ⑤ラジオイムノアッセイ (RIA)

p24抗原を<sup>125</sup>Iでラベルし、これを用いて被検血清中の抗体と反応させ、沈降物の放射活性を測定し判定するもので、特異性と検出感度は高い。しかし、放射性同位元素を使わなくてはならないため、近年ではあまり利用されない。

### V. 牛白血病ウイルス (BLV) の伝播と予防

一般にBLVは感染牛の末梢血単核球 (PBMC) から検出される。それゆえBLVの伝播は、主に血液の汚染を介して起こると考えられている。

BLVの牛から牛への伝播は主に水平伝播により感染拡大するとみられているが、水平伝播の具体的方法については不明な点も残されている。しかし、自然状態、特に放牧場やパドックでは、重要な伝播の役割を持つと考えられるものに吸血アブによる機械的な伝播がある。夏期に山地放牧で陽転する牛が多いことも吸血昆虫による伝播を強く示唆する根拠のひとつになっている。BLVの伝播は約2,500個のリンパ球の移入により感染が成立するといわれており、これはわずか1μLの血液に相当する<sup>19,91,156)</sup>。吸血時のアブの口器には約2,000個のリンパ球が付着しており、これらが乾燥しないうちにアブが新しい宿主から再び吸血を始めると、そのうちの10～20%が新しい宿主に移行する。BLV抗体陽性牛を吸血中のアブが、新しい宿主に移って吸血する操作を10～20回繰り返すと抗体陰性牛の50%に感染が成立する<sup>6,103,180)</sup>。Ohshimaらは、実験的にBLV陽性牛から吸血途中のアブを羊に移して吸血を継続させることにより、38日後から羊にBLV抗体を証明し、アブによるBLVの感染を実証した<sup>103)</sup>。また、その後に行われた同様の実験において、わずか25頭のアブによってBLVの伝播が行なわれることを明らかにしている。FerrerはBLV陰性の子牛が55-78カ月間感染牛と一緒に育成された結果、90%以上が接触感染を示し

たことを認め、その感染経路については吸血昆虫による伝播を重視している<sup>13)</sup>。

感染牛のウイルス排出についても不明な点が多い。鼻汁、唾液、尿に少量のウイルスが存在することがあるが、これが感染源となるかについては否定的である<sup>35,48,82,91)</sup>。感染牛の初乳および常乳中にBLVおよびBLV感染細胞が含まれており、それら感染源となることは実験的に証明されている<sup>16,91)</sup>。しかし、初乳中には同時に中和抗体も存在しており、初乳を介しての感染は起こるとしてもまれであろう<sup>157)</sup>。胎内感染も成立することが知られているが、その割合はさほど高くなくBLV感染母牛が娩出した新生子牛の約3%程度と思われる<sup>158)</sup>。精液を介する伝播は不明な点が多いが、精液を直接検査した最近の報告では精液を介した伝播は否定的である<sup>23,37,65,91)</sup>。卵細胞に組み込まれた形での垂直伝播は否定されている<sup>32,33,100)</sup>。またBLV感染母牛の子宮内あるいは産道感染による垂直伝播も考えられる

Table 3 BLV感染牛から生まれる子牛でのBLV感染する割合

	感染率
精液・卵を介する感染	0%
子宮内・産道感染	～4%
初乳、常乳による感染	6～16%

が、通常では垂直伝播は起こりにくいと思われる<sup>87)</sup> (Table 3)。

自然感染以外に人為的な伝播も考えられる。ワクチン投与時あるいは採血時にBLV感染牛に使用した汚染注射器具を使用することの危険性は明白である。輸血、注射以外に出血を伴う外科処置、例えば除角、去勢、耳標の装着などの観血的な処置を同一器具を用いて実施することによる伝播の可能性は極めて高い。また、

直腸検査による妊娠鑑定の際、手袋や着衣を1頭毎に交換しない場合があり、これによる伝播も報告されていることから、注意が必要である<sup>66, 71, 102)</sup>。これらの血液を介する伝播は、BLV感染牛がPLを起こしている場合には特に伝播の確率が高くなる。これ以外の飲水等を介する伝播についても否定はされていないが、その割合は血液汚染に比べて低いと思われる。

## VI. 公衆衛生的観点からの牛白血病

BLVは、HTLVに近縁のウイルスであることから、ヒトへの感染の可能性という問題は公衆衛生上重要であることはもちろん、畜産の振興にとっても非常に重大な関心事である。この問題に関しては、BLVはヒトの胎児肺由来細胞において良く増殖することや、ヒト血清中にBLVのカプシドタンパク質に反応する抗体が検出されるという報告もあるが<sup>18, 178)</sup>、白血病発症牛と接触を持つ畜産農家、獣医師および食肉検査員などや、ガン患者、白血病患者などの血清中に主要な抗体であるBLV抗体は検出されておらず、乳汁中のウイルスも食品衛生法に基づく殺菌方法によって完全に不活化されるという報告や、牛白血病発生とヒト白血病患者の

発生相互間に疫学的関連は認められない等の報告も多数あり<sup>5, 179)</sup>、現在のところOIEや主要畜産国ではヒトへのBLV感染の可能性はないとする政府見解が示されている。

平成15年にと畜場法が改正されたが、本法の第14条では、家畜伝染病予防法上の届出伝染病に罹患している家畜についてと殺または解体を禁止している。食肉検査において、EBLを含め臨床的異常を伴う牛白血病は食肉検査において全廃棄とされるが、これは健康な家畜に由来するものを食肉に供するという一般的な考え方等によるものである。

## VII. 牛白血病の対策

### 1) 過去の牛白血病清浄化対策

EBLは世界中に分布しているが、ヨーロッパやオセアニアにおいては撲滅対象疾病に指定され、国家レベルのコントロールプログラムのもとに清浄化が進められている。すでに、ベルギー、デンマーク、ドイツ、スペイン、フランス、アイルランド、オランダ、オーストリア、スウェーデン、イギリス等でEBLは清浄化が達成されている<sup>91, 100)</sup>。一方アメリカにおいては、乳牛群の89%が汚染されているとされており<sup>152)</sup>、EBLによる酪農業界への経済損失は、乳量減少によるもので少なくとも年間525百万ドルにのぼると推定され<sup>153)</sup>、重要視されてはいるものの<sup>92, 121)</sup>、コントロールそのものは地域的な自発的プログラムが実施されているのみである<sup>17)</sup>。日本での牛白血病の清浄化のアプローチを考える際、その手本として国家レベルの組織的な清浄化が進んでいるヨーロッパ諸国の取り組みについて知る必要がある。以下いくつかの国の取り組みについて紹介する。

デンマークでは<sup>155)</sup>、1959年から臨床的に牛白血病を疑う例、ならびに食肉検査で腫瘍を認めた例については病理学検査を行い、発症牛を認めた牧場では全頭血液検査(白血球数と異型リンパ球を検査し「ECの鍵」により診断)を実施。血液検査で陽性牛が摘発された場合、その牛は食用に供する以外の転売を禁止、陽性

牛は国家補償により淘汰を実施することとした。1969年からは全国規模の血液検査を実施し、これにより全国レベルのEBLの摘発・淘汰が推進された。1979年からは血液検査に替わり、gp51抗原を用いたAGIDによる検査を導入。対象牛は移行抗体が消失する6カ月以上の子牛とし、主に2歳以上の成年について全国調査を実施した。1982年からは、AGIDによる全国調査の他、24カ月以上のと畜牛のうち1/6を検査し、これらの検査で陽性牛が検出されると、その牧場で飼育されている24カ月以上の牛を全頭検査することとしている。1986年からは一部の地域で12カ月以上を全頭BLV検査を実施、肉牛については24カ月以上の牛について半年ごとに検査、さらに、食肉検査場では引き続きと畜牛の1/6~1/12が検査されている。さらに、1989年からは、乳牛についてはバルク乳を用いた検査を実施し、これらの段階的な検査の拡大により、デンマークは1991年についてBLV清浄国であることを宣言した。

スウェーデンでは、1990年より清浄化対策が実施された<sup>27)</sup>。その内容は12カ月以上の牛は可能な限りEBL防疫プログラムに参加し、抗体検査を受け、BLV感染牛が摘発された場合は、牧場内での広がりを防ぐという目的で2カ月以内に殺処分するという徹底した防疫が行われている。さらに、殺処分の後もその牧場は引き続き4カ月ごとに全頭BLV検査を受け、2度続けて

全頭陰性の場合、BLV清浄化農場と認定される。この方法により、1990年以降全国6,000農場から約55,000頭の牛を殺処分し、2001年1月よりBLV清浄化を宣言している。

フィンランドでは<sup>100)</sup>、摘発・淘汰を基本とする清浄化対策がとられた。1970年から1977年の間は、食肉検査と血液像で発症牛がモニターされ、1978年からは血清学的検査も併せて行われた。1990年から2001年の間には、乳牛はパルク乳検査を、肉牛はと畜場で1頭ごとに血清を調べる方法で全国調査が行われた。この間の陽性率は最高でも0.03%で、フィンランド本島で1996年に、また離島地域では1999年以降陽性牛が摘発されていない。

これに対してアメリカでは、基本的にはBLVの清浄化は農家の自主的判断で行うこととされているが、ニューヨーク州のように畜産農家がBLV清浄化を宣言することを支援するプログラムが整備されている州もある。同州のプログラムは血清診断により陽性牛を摘発し、水平感染を制御することで清浄化していくもので、畜産農家が自発的に参加できるが、一方では農家側の判断で自由に中止してもよいことになっている。この支援プログラムでは検査経費は州政府が負担している<sup>17)</sup>。

我が国においても、過去1980年代に高度にBLVに汚染されていた牧場の清浄化に向けた取り組みがみられた。Ohshimaらは、約80%の牛がBLVに感染している高度に汚染された牧場（約500頭を飼育）について、経済的損失を最小限にした清浄化対策を実施し、この農場では5年後にBLV清浄化達成した<sup>102)</sup>。これは抗体検査を年2回から3回実施することと、陽性牛を分離飼育して陰性子牛を牛群に還元する方法を用いたものである。その結果、生産性の低下を抑えながらBLVの清浄化を進めることが可能となり、実際に泌乳量は検査前より増加したという。Wangらも通常の牧場経営をしながらのBLVの清浄化を試みた<sup>150)</sup>。このケースは300頭規模の乳牛牧場（陽性率30%）で、3から6ヶ月ごとにBLV抗体検査を実施している。陽性牛は経済的理由ですぐに淘汰できない場合が多かったが、その場合でも陽性牛からのBLV伝播が起きないように配慮して飼育を続け、2年半後には清浄化の達成に成功している。これらの例に見られるように通常の牧場経営をしながら経済損失を最小限に抑える形での清浄化は十分に可能であり、今後日本におけるEBL清浄化の参考になると思われる。

## 2) BLV群内伝播の危険要因

BLV伝播を防ぐためには、注射針の1頭1針使用の原則、手術器具等の消毒、直腸検査の手袋を1頭毎に交換するなど、観血的な処置での衛生管理を徹底することが基本となる。加えてBLV感染母牛からは子を取らないことも重要である。やむを得ず感染牛から子を取

取る場合は、2～3%程度の子宮内感染があることを念頭に置き、娩出後は必ず検査を行うなどBLV伝播がないことを確認することが重要である。授乳については、陰性牛の初乳を与えることが望ましいが、やむを得ず感染牛の初乳を与える際は、必ず初乳を非動化（56℃、30分間加熱）ないしは凍結・融解してBLV感染細胞を死滅させてから与えることが重要である。また、山地放牧の場合には、陽性牛と陰性牛を別々の放牧地で放牧し、吸血昆虫の駆除に努めることも大切であろう。

では、我が国においてBLVの群内伝播防止のためには具体的に何について注意を払うべきなのか？この点については、これまで国内外において数多くの危険要因、あるいはそれとなりうる飼養管理の失宜が明らかにされてきた。しかし、それぞれの要因がどの程度BLV伝播に関与しているのかについて、総合的に評価した事例は少ない。著者らの最近の研究では<sup>151)</sup>、前述の2007年に実施された調査データの一部を用いて、これらの要因が感染乳用牛群の群内抗体陽性率に与える影響の評価を行った。（Table 4）にその結果の概要を示したが、表内の3つのいずれかの危険要因のある農場では、より注意深く牛白血病対策に取り組む必要があると考えられる。BLV伝播と初乳給与の関係については、未だ議論がなされているところである。慎重な解釈が必要であるが、今回の調査では、初乳を給与しない場合と比較して、直接給与した方が新たな感染による抗体陽性率の上昇を低減するという結果が得られている。しかし、今後も引き続き、飼養形態などの詳細な解析を進め、BLV伝播と初乳給与の関係の結論を導く必要がある。

## 3) 経済的損失の少ない清浄化へのアプローチ

近年、全国的にEBLは増加傾向にある。現在までEBLの治療法はなく、一度感染を受けた牛は終生感染を持続し、農場内の重要な感染源となる。また、白血牛は食肉検査で全廃棄処分となるので、発症牛の経済的価値が大きく失われる。従って、BLV抗体陽性牛は可及的速やかに摘発・淘汰すべきものとの基本的な認識を持つことが重要である。しかし、現在推定される抗体浸潤状況を考慮すると、全ての抗体陽性牛の即

Table 4 群内抗体陽性率に関する飼養要因の多変量解析結果

要因	係数	P
つなぎ飼いでない	0.71	0.03
除角を実施する	1.11	0.0002
夏季のアブが非常に多い	0.82	0.01
初乳の直接給与	-1.11	0.03
定数項	-0.36	0.54

多変量混合ロジスティック回帰モデル：係数が正のものは危険要因、負のものは防御要因であり、それぞれの絶対値が大きいものほど寄与が大きい（Kobayashi et al, BMC Vet. Res. 6:1, 2010）



時摘発・淘汰は農場に大きな経済的負担をかけることから現実的な選択肢ではない。そのため、ある程度の時間をかけて計画的にBLV感染牛を更新していく必要がある。その際、他の牛に対する感染伝播リスクが高い個体（感染伝播高リスク牛）から優先的に更新していくことが効率的な清浄化対策につながると考えられる。我が国においても感染伝播リスクの様々な要因に優先度を付しながら、前述したヨーロッパ諸国の段階的な防疫プログラムなどの清浄化の成功事例も参考として、一刻も早く本格的な清浄化に取り組む段階にある。

ウイルスの伝播はPL牛のように末梢血リンパ球数の多いものが高率に感染伝播を起こすことは良く知られている。しかし、著者ら最近の研究で末梢血白血球数が正常範囲にある感染牛においてもプロウイルス量の多い個体が存在することが明らかになってきた。したがって、PL牛でなくとも感染伝播が容易な感染伝播に高いリスクを持つ牛の摘発も重要である。また、1990年代に入るまでは、抗体検査が主流であったため移行抗体が消失するまでの6ヶ月程度は感染の有無を判断できず、この時期の早期摘発・淘汰は困難であった。しかし、PCR法がBLV遺伝子検出に應用されるようになり、感染初期においても感染リンパ球からBLV遺伝子が検出出来るようになり、移行抗体の存在時期においても感染牛の早期摘発が可能になった。特に、

生後直後に感染がみられる子牛の多くはPLに進行する可能性が高いことから<sup>9)</sup>、将来的な牛群におけるBLV蔓延の機会増大の可能性を考慮すると、それらの子牛は早期に淘汰することが望ましい。BLVプロウイルス量の多い感染伝播高リスク牛の存在は、抗体陽性率の低い農場においても短時間で農場内陽性率を増加させる要因になり得るであろうことから、最重要視すべきである。

BLV感染の清浄化には高感度で簡易な診断方法が重要である。BLV感染の診断には、BLV-gp51を用いたAGIDが広く世界的に用いられているが、多数の血清を検査するためにはELISA法が優れている。ヨーロッパ諸国などではELISAを用いた搾乳牛のバルク乳検査で、清浄化を成し遂げている国があることから、我が国においても、今後はELISA検査を中心とした感染牛の摘発が清浄化対策に大いに力を発揮すると期待される。幸いなことに、平成21年度より病性鑑定指針が変更になりBLV感染の診断にELISAの利用が可能になった。また、最近、著者らが開発した定量リアルタイムPCR法を応用したBLV検出キットが製品化され、家畜保健衛生所等での応用が可能となったことから、この両者を組み合わせて感染伝播高リスク牛を早期に摘発し、優先的に分離飼育または更新することにより、感染率の高い農場においても経済的負担の少ない清浄化対策がなし得るものと思われる。

#### おわりに

本疾病に対する治療法はないことから、EBL対策については、発生地域での定期検査、吸血昆虫の駆除、抗体陽性牛の分離飼育、生産子牛の隔離、陽性牛の初乳の子牛への給与中止、抗体陽性牛の早期摘発・淘汰等が挙げられる。それらは疾病清浄化のための有効な方法となるが、現実には必ずしも実施されているとは言い難い。述べてきたように、諸外国、特に欧州連合加盟国では、国家レベルの組織的な清浄化を行っている国があり、その結果、デンマークでは1991年に、イギリスでは1999年に、スウェーデンでは2001年にそれぞれBLVの清浄化を達成している<sup>17)</sup>。一方、北米では国家レベルの牛白血病防疫プログラムは実施されていないが、州によっては防疫体制への支援策が採られているところもある<sup>17)</sup>。我が国においても過去にBLV汚染農場の清浄化に取り組み、高度に汚染された農場において清浄化対策を実施し、5年以内に清浄化を達成した事例があることから<sup>10), 15)</sup>、感染伝播に関わるリスク要因の特定や新しい種々の検査技術の開発も進展した現在、通常の農場運営を行いながら経済的損失を最小限に抑える形での清浄化は十分に可能であろう。

牛白血病は、原因、感染様式もほぼ明らかにされ、発生予防対策についても周知されてきたが、発生頭数の増加傾向は続いている。1982年以来全国レベルでの詳細なBLV浸潤状況調査は行われておらず、現在の感染実態状況は不明である。現在、著者らは農林水産省の委託を受けて全国調査を進めており、それらの成績を基にBLVの清浄化に活用できるように、国内における感染伝播リスク要因をさらに明らかにしたいと考えている。

今後、国家レベルの組織的な牛白血病防疫プログラムを確立し、清浄化に向けて必要な対策を確実に実施していくことが大切である。

#### 謝 辞

原稿作成に際し貴重なご助言を頂いた元（独）農業・食品産業技術総合研究機構・動物衛生研究所 村上洋介先生に深謝いたします。

## 文 献

- 1) Acaite, J. *et al.* 2007. The eradication experience of enzootic bovine leukosis from Lithuania. *Prev. Vet. Med.* 82 (1~2): 83~89.
- 2) Agresti, A. *et al.* 1993. Use of polymerase chain reaction to diagnose bovine leukemia virus infection in calves at birth. *Am. J. Vet. Res.* 54 (3): 373~378.
- 3) Aida, Y. *et al.*, presented at the International Veterinary Cytokine and Vaccine Conference., Tsukuba, 2000 (unpublished).
- 4) Anonymous 2004. Commission Decision of 31st March 2004 amending Decisions 93/52/EEC, 2001/618/EC and 2003/467/EC as regards the status of acceding countries with regard to brucellosis (*B. melitensis*), Aujeszky's disease, enzootic bovine leukosis, bovine brucellosis and tuberculosis and of France with regard to Aujeszky's disease (notified under document number C(2004) 1094) (text with EEA relevance, 2004/320/EC). *Official Journal of the European Communities* L 102: 75.
- 5) Baumgartener, L. *et al.* 1976. Effect of pasteurization and heat treatment on bovine leukemia virus. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 169 (11): 1189~1191.
- 6) Bech-Nielsen, S. *et al.* 1978. Natural mode of transmission of the bovine leukemia virus: role of bloodsucking insects. *Am. J. Vet. Res.* 39 (7): 1089~1092.
- 7) Bendixen, H. J. 1960. Untersuchungen ber die Rinderleukose in D nemark. II. Pathogenese und Enzoologie. *Dtsch. tier Arztl. Wschr* 67: 57~63.
- 8) Bendixen, H. J. 1960. Untersuchungen ber die Rinderleukose in D nemark. III. Die klinischen Erscheinungen der bertragbaren enzoptisch auftretenden und der sporadisch vorkommenden Krankheitsformen. *Dtsch. Tieraerztl. Wochenschr* 67: 169~173.
- 9) Bendixen, H. J. 1960. Untersuchungen uber die Rinderleukose in Danemark. I. Vorkommen und Verbreitungsweise. *Dtsch. tierarztl. Wachr* 67: 4~7.
- 10) Bendixen, H. J. 1960. Untersuchungen uber die Rinderleukose in Danemark. IV. Das derzeit angewandte Bekampfungsverfahren. *Dtsch. tierarztl. Wachr* 67: 257~262.
- 11) Bendixen, H. J. 1963. Preventive Measures in Cattle Leukemia: Leukosis Enzoetica Bovis. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 108: 1241~1267.
- 12) Bendixen, H. J. 1965. Bovine enzootic leukosis. *Adv. Vet. Sci.* 10: 129~204.
- 13) Benton, C. V. *et al.* 1978. Direct syncytial assay for the quantitation of bovine leukemia virus. *Infect. Immun.* 20 (1): 307~309.
- 14) Bernoco, D. and Lewin, H. A. 1989. Genetic aspects of bovine leukaemia virus infection and disease progression. *Anim. Genet.* 20 (3): 337~339.
- 15) Bruck, C. *et al.* 1982. Monoclonal antibodies define eight independent antigenic regions on the bovine leukemia virus (BLV) envelope glycoprotein gp51. *Virology* 122 (2): 342~352.
- 16) Bruck, C. *et al.* 1984. Biologically active epitopes of bovine leukemia virus glycoprotein gp51: their dependence on protein glycosylation and genetic variability. *Virology* 136 (1): 20~31.
- 17) Brunner, M. A. *et al.* 1997. Experiences with the New York State Bovine Leukosis Virus Eradication and Certification Program. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 13 (1): 143~150.
- 18) Buehring, G. C. *et al.* 2003. Humans have antibodies reactive with Bovine leukemia virus. *AIDS Res. Hum. Retroviruses* 19 (12): 1105~1113.
- 19) Buxton, B. A. and Schultz, R. D. 1984. Factors affecting the infectivity of lymphocytes from cattle with bovine leukosis virus. *Can. J. Comp. Med.* 48 (4): 365~369.
- 20) Calafat, J. and Ressang, A. A. 1977. Morphogenesis of bovine leukemia virus. *Virology* 80 (1): 42~53.
- 21) Chander, S. 1976. Comparison between serological and hematological diagnosis bovine leukosis. *Vet. Microbiol.* 1: 239~251.
- 22) Chevrier, L. 1975. Aspect h matologique de la leucose bovine. Application au d pistage h matologique. *Rec. M d. v t.* 151: 145~151.
- 23) Choi, K. Y. *et al.* 2002. Absence of bovine leukosis virus in semen of seropositive bulls. *J. Vet. Diagn. Invest.* 14 (5): 403~406.

- 24) Copeland, T. D. *et al.* 1983. Complete amino acid sequence of the nucleic acid-binding protein of bovine leukemia virus. *FEBS Lett.* 156 (1): 37~40.
- 25) Copeland, T. D. *et al.* 1983. Complete amino acid sequence of human T-cell leukemia virus structural protein p15. *FEBS Lett.* 162 (2): 390~395.
- 26) Croshaw, J. E. *et al.* 1963. Pedigree studies in bovine lymphosarcoma. *New York Academy Sciences Annals* 108: 1193~1202.
- 27) Danielsson, J. 2003. The Swedish eradication and supervision programmes for Enzootic Bovine Leukosis (EBL) and Infectious Bovine Rhinotracheitis (IBR-IPV). p26~27. *Farm animal reproduction: Reducing infectious diseases*, Jelgava, Latvia.
- 28) Dees, C. *et al.* 1994. Stabilization of the p53 gene product in two bovine leukemia virus infected cell lines. *Cancer Lett.* 86 (1): 33~40.
- 29) Dees, C. *et al.* 1996. Wild type p53 reduces the size of tumors caused by bovine leukemia virus-infected cells. *Cancer Lett.* 101 (1): 115~122.
- 30) Dequiedt, F. *et al.* 1995. Mutations in the p53 tumor-suppressor gene are frequently associated with bovine leukemia virus-induced leukemogenesis in cattle but not in sheep. *Virology* 209 (2): 676~683.
- 31) Deshayes, L. *et al.* 1980. Spontaneous immune response of bovine leukemia-virus-infected cattle against five different viral proteins. *Int. J. Cancer* 25 (4): 503~508.
- 32) DiGiacomo, R. F. *et al.* 1990. Failure of embryo transfer to transmit BLV in a dairy herd. *Vet. Rec.* 127 (18): 456.
- 33) DiGiacomo, R. F. *et al.* 1986. Embryo transfer and transmission of bovine leukosis virus in a dairy herd. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 188 (8): 827~828.
- 34) Diglio, C. A. and Ferrer, J. F. 1976. Induction of syncytia by the bovine C-type leukemia virus. *Cancer Res.* 36 (3): 1056~1067.
- 35) Dimmock, C. K. *et al.* 1991. Factors affecting the natural transmission of bovine leukaemia virus infection in Queensland dairy herds. *Aust. Vet. J.* 68 (7): 230~233.
- 36) Domenech, A. *et al.* 2000. In vitro infection of cells of the monocytic/macrophage lineage with bovine leukaemia virus. *J. Gen. Virol.* 81 (Pt 1): 109~118.
- 37) Dus Santos, M. J. *et al.* 2007. Development of a PCR to diagnose BLV genome in frozen semen samples. *Vet. Microbiol.* 119 (1): 10~18.
- 38) Dutcher, R. M. *et al.* 1967. Evidence in support of a virus etiology for bovine leukemia. *CA A Cancer Journal for Clinicians* 20 (5): 851~856.
- 39) Dutcher, R. M. *et al.* 1964. Virus-like Particles in Cows' Milk from a Herd with a High Incidence of Lymphosarcoma. *J. Natl. Cancer Inst* 33: 1055.
- 40) Eaglesome, M. D. *et al.* 1982. Transfer of embryos from bovine leukaemia virus-infected cattle to uninfected recipients: preliminary results. *Vet. Rec.* 111 (6): 122~123.
- 41) Eilmann, H. 1929. Leukamische Lymphadenose bei einem 3 Wochen alten Kalbe. *Dtsch. tierarztl. Wschr.* 37: 51~55.
- 42) Fauquet, C. M. *et al.* (2005). Family Retroviridae. p421~440, *Virus taxonomy; Classification and nomenclature of viruses.*, Elsevier Academic Press, San Diego, CA.
- 43) Ferrer, J. F. 1979. Bovine leukosis: natural transmission and principles of control. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 175 (12): 1281~1286.
- 44) Ferrer, J. F. *et al.* 1974. Studies on the relationship between infection with bovine C-type virus, leukemia, and persistent lymphocytosis in cattle. *Cancer Res.* 34 (4): 893.
- 45) Ferrer, J. F. *et al.* 1981. Use of a feline cell line in the syncytia infectivity assay for the detection of bovine leukemia virus infection in cattle. *Am. J. Vet. Res.* 42 (1): 9~14.
- 46) Ferrer, J. F. and Piper, C. E. 1978. An evaluation of the role of milk in the natural transmission of BLV. *Ann. Rech. Vet.* 9 (4): 803~807.
- 47) Franchini, G. *et al.* 1984. Human T-cell leukemia virus (HTLV-I) transcripts in fresh and cultured cells of patients with adult T-cell leukemia. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 81 (19): 6207~6211.
- 48) Gatei, M. H. *et al.* 1989. Experimental infection of sheep with bovine leukemia virus: infectivity of blood, nasal

- and saliva secretions. *J. Vet. Med.* B 36 (9): 652~660.
- 49) Ghysdael, J. *et al.* 1979. Translation of bovine leukemia virus virion RNAs in heterologous protein-synthesizing systems. *J. Virol.* 29 (3): 1087~1098.
  - 50) Gilden, R. V. *et al.* 1975. Characteristics of the major internal protein and RNA-dependent DNA polymerase of bovine leukaemia virus. *J. Gen. Virol.* 29 (3): 305~314.
  - 51) Gotze, R. *et al.* 1954. Die Leukose des Rindes. Ihre histopathologische und klinische Diagnose. *Mh. Veterinarmed.* 9: 517~526.
  - 52) Gotze, R. *et al.* 1955. Ueber Ursachen und Bekämpfung der Rinderleukose. II. Weitere Bemerkungen zur Diagnose und Erblichkeit. *Dtsch. tierarztl. Wschr.* 62: 353~357.
  - 53) Gotze, R. *et al.* 1956. Ueber Ursachen und Bekämpfung der Rinderleukose. V. Übertragungswege und Bekämpfungsvorschlag. *Dtsch. Tierarztl. Wschr.* 63: 121.
  - 54) Gotze, R. *et al.* 1956. Ueber Ursachen und Bekämpfung der Rinderleukose. III. Ernährung und Haltung, cancerogen Strahlen und Stoffe. *Dtsch. tierarztl. Wschr.* 63: 85~89.
  - 55) Gotze, R. *et al.* 1956. Über Ursachen und Bekämpfung der Rinderleukose. IV. Übertragbarkeit. *Deut. Tierarztl. Wochenschr.* 63: 105~108.
  - 56) Graves, D. C. and Ferrer, J. F. 1976. In vitro transmission and propagation of the bovine leukemia virus in monolayer cell cultures. *Cancer Res.* 36 (11 Pt 1): 4152~4159.
  - 57) Gregoire, D. *et al.* 1984. Different bovine leukemia virus-induced tumors harbor the provirus in different chromosomes. *J. Virol.* 50 (1): 275~279.
  - 58) Gupta, P. *et al.* 1984. Transcriptional control of the bovine leukemia virus genome: role and characterization of a non-immunoglobulin plasma protein from bovine leukemia virus-infected cattle. *J. Virol.* 50 (1): 267~270.
  - 59) Honma, T. *et al.* 1980. Cytotoxic antibody in cattle and sheep exposed to bovine leukemia virus. *Arch. Virol.* 66 (4): 293~299.
  - 60) Hopkins, S. G. *et al.* 1991. Rectal palpation and transmission of bovine leukemia virus in dairy cattle. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 199 (8): 1035~1038.
  - 61) Hoss, H. E. and Olson, C. 1974. Infectivity of bovine C-type (leukemia) virus for sheep and goats. *Am. J. Vet. Res.* 35 (5): 633.
  - 62) Ikeda, M. *et al.* 2005. Immunohistochemical analysis of expression patterns of tumor necrosis factor receptors on lymphoma cells in enzootic bovine leukosis. *J. Vet. Med. Sci.* 67 (4): 425~432.
  - 63) Ishiguro, N. *et al.* 1997. p53 mutation as a potential cellular factor for tumor development in enzootic bovine leukosis. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 55 (4): 351~358.
  - 64) Ito, T. *et al.* 1968. Pathological studies on fat necrosis (lipomatosis) in cattle. *Jpn. J. Vet. Res.* 30 (3): 141~150.
  - 65) Kaja, R. W. and Olson, C. 1982. Non-infectivity of semen from bulls infected with bovine leukosis virus. *Theriogenology* 18 (1): 107~112.
  - 66) Kashmiri, S. V. *et al.* 1983. Detection, purification, and characterization of two species of covalently closed circular proviral DNA molecules of bovine leukemia virus. *J. Virol.* 45 (3): 1172~1176.
  - 67) Kettmann, R. *et al.* (1994). Bovine leukemia virus. p39~81, *The Retroviridae* Vol. 3, Levy, J., Plenum Press, New York.
  - 68) Kettmann, R. *et al.* 1980. Genomic integration of bovine leukemia provirus: comparison of persistent lymphocytosis with lymph node tumor form of enzootic. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 77 (5): 2577~2581.
  - 69) Kettmann, R. *et al.* 1981. Restriction endonuclease mapping of linear unintegrated proviral DNA of bovine leukemia virus. *J. Virol.* 38 (1): 27~33.
  - 70) Kettmann, R. *et al.* 1982. Leukemogenesis by bovine leukemia virus: proviral DNA integration and lack of RNA expression of viral long terminal repeat and 3' proximate cellular sequences. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 79 (8): 2465~2469.
  - 71) Kettmann, R. *et al.* 1983. Chromosome integration domain for bovine leukemia provirus in tumors. *J. Virol.* 47 (1): 146~150.
  - 72) Kettmann, R. *et al.* 1976. Bovine leukemia virus: an exogenous RNA oncogenic virus. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 73 (4): 1014~1018.

- 73) Kobayashi, S. *et al.* 2010. Risk factors associated with within-herd transmission of bovine leukemia virus on dairy farms in Japan. *BMC Vet. Res.* 6: 1.
- 74) Kohara, J. *et al.* 2006. Experimental transmission of Bovine leukemia virus in cattle via rectal palpation. *Jpn. J. Vet. Res.* 54 (1): 25~30.
- 75) Komori, H. *et al.* 1996. Predominant p53 mutations in enzootic bovine leukemic cell lines. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 52 (1~2): 53~63.
- 76) Kono, Y. *et al.* 1989. Characteristics of lymphocytes appearing in persistent lymphocytosis induced experimentally in cattle by bovine leukemia virus infection. *Jpn. J. Vet. Res.* 51 (1): 70~78.
- 77) Levinson, B. *et al.* 1982. Activation of SV40 genome by 72-base pair tandem repeats of Moloney sarcoma virus. *Nature* 295 (5850): 568~572.
- 78) Levy, D. *et al.* 1977. Bovine leukemia virus specific antibodies among French cattle. I. Comparison of complement fixation and hematological tests. *Int. J. Cancer* 19 (6): 822~827.
- 79) Lewin, H. A. and Bernoco, D. 1986. Evidence for BoLA-linked resistance and susceptibility to subclinical progression of bovine leukaemia virus infection. *Anim. Genet.* 17 (3): 197~207.
- 80) Lewin, H. A. *et al.* 1988. Association between BoLA and subclinical bovine leukemia virus infection in a herd of Holstein-Friesian cows. *Immunogenetics* 27 (5): 338~344.
- 81) Long, C. W. *et al.* 1980. Isolation and characterization of low-molecular-weight DNA-binding proteins from retroviruses. *Virology* 104 (2): 491~496.
- 82) Lucas, M. H. *et al.* 1993. Shedding of bovine leukosis virus in nasal secretions of infected animals. *Vet. Rec.* 132 (11): 276~278.
- 83) Mammerickx, M. *et al.* 1976. Diagnostic tests of bovine leukemia: comparison between an hematological test and the serological diagnosis. *Eur. J. Cancer* 12 (6): 433~439.
- 84) Mamoun, R. Z. *et al.* 1985. The pX region of the bovine leukemia virus is transcribed as a 2.1-kilobase mRNA. *J. Virol.* 54 (2): 625~629.
- 85) Mamoun, R. Z. *et al.* 1983. Bovine lymphosarcoma: processing of bovine leukaemia virus-coded proteins. *J. Gen. Virol.* 64 (Pt 12): 2791~2795.
- 86) Maruyama, K. *et al.* 1989. Cross-reactive antibodies to BLV and HTLV in bovine and human hosts with retrovirus infection. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 22 (3): 265~273.
- 87) Meas, S. *et al.* 2002. Vertical transmission of bovine leukemia virus and bovine immunodeficiency virus in dairy cattle herds. *Vet. Microbiol.* 84 (3): 275~282.
- 88) Merezak, C. *et al.* 2001. Suboptimal enhancer sequences are required for efficient bovine leukemia virus propagation in vivo: implications for viral latency. *J. Virol.* 75 (15): 6977~6988.
- 89) Miller, J. M. *et al.* 1969. Virus-like particles in phytohemagglutinin-stimulated lymphocyte cultures with reference to bovine lymphosarcoma. *J. Natl. Cancer Inst.* 43 (6): 1297~1305.
- 90) Miller, J. M. and Olson, C. 1972. Precipitating antibody to an internal antigen of the C-type virus associated with bovine lymphosarcoma. *J. Natl. Cancer Inst.* 49 (5): 1459.
- 91) Miller, J. M. and Van der Maaten, M. J. 1979. Infectivity tests of secretions and excretions from cattle infected with bovine leukemia virus. *J. Natl. Cancer Inst.* 62 (2): 425~428.
- 92) Miller, J. M. and van der Maaten, M. J. 1982. Bovine leukosis--its importance to the dairy industry in the United States. *J. Dairy Sci.* 65 (11): 2194~2203.
- 93) Miller, J. M. *et al.* 1983. Vaccination of cattle with binary ethylenimine-treated bovine leukemia virus. *Am J Vet Res* 44 (1): 64~67.
- 94) Miller, L. D. *et al.* 1972. Inoculation of calves with particles resembling C-type virus from cultures of bovine lymphosarcoma. *J. Natl. Cancer Inst.* 48 (2): 423.
- 95) Morgan, M. A. *et al.* 1983. Structural and antigenic analysis of the nucleic acid-binding proteins of bovine and feline leukemia viruses. *J. Virol.* 46 (1): 177~186.
- 96) Murakami, K. *et al.* 1999. Expression of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) receptor on B-1a cell from persistent lymphocytosis (PL) cows and lymphoma cell induced by bovine leukemia virus. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 68 (1): 49~59.
- 97) Murakami, K. *et al.* 1994. The gamma delta T cell population in sheep experimentally infected with bovine

- leukemia virus. *Vet. Pathol.* 31 (1): 103~105.
- 98) National Animal Health Monitoring System. 1997. High prevalence of BLV in US dairy herds. p197, USDA: APHIS: VS: NAHMS, Ft Collins, CO.
- 99) National Animal Health Monitoring System. 1999. Bovine leukosis virus (BLV) in US beef cattle. p299, USDA: APHIS: VS: NAHMS, Ft Collins, CO.
- 100) Nazerian, K. *et al.* 1968. Electron microscopy of virus-like particles found in bovine leukemia. *Amer. J. Vet. Res.* 29: 387~395.
- 101) Nuotio, L. *et al.* 2003. Eradication of enzootic bovine leukosis from Finland. *Prev. Vet. Med.* 59 (1-2): 43~49.
- 102) Ohshima, K. *et al.* 1988. An eradication program without economic loss in a herd infected with bovine leukemia virus (BLV). *Jpn J Vet Sci* 50 (5): 1074~1078.
- 103) Ohshima, K. *et al.* 1981. Evidence on horizontal transmission of bovine leukemia virus due to blood-sucking tabanid flies. *Jpn. J. Vet. Res.* 43 (1): 79~81.
- 104) OIE (2008). Enzootic bovine leukosis. p729~738, Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals. Vol. 2, Office international des epizooties, Paris.
- 105) Olson, C. and Baumgartener, L. E. 1976. Pathology of lymphosarcoma in sheep induced with bovine leukemia virus. *Cancer Res.* 36 (7 PT 1): 2365~2373.
- 106) Olson, C. *et al.* 1972. Transmission of lymphosarcoma from cattle to sheep. *J. Natl. Cancer Inst.* 49 (5): 1463.
- 107) Olson, H. 1961. Studien iiber das Auftreten und die Verbreitung der Rinderleukose in Schweden. *Acta Vet. Scand* 2 (suppl 2): 11~46.
- 108) Onuma, M. *et al.* 1977. Location of antigens associated with bovine leukemia virus. *Arch. Virol.* 55 (1-2): 131~137.
- 109) Onuma, M. *et al.* 1979. Seroepizootiological survey on antibodies against bovine leukemia virus in Japanese Black cattle. *Jpn. J. Vet. Res.* 41 (6): 601~605.
- 110) Onuma, M. *et al.* 1976. Properties of two isolated antigens associated with bovine leukemia virus infection. *J. Natl. Cancer Inst.* 57 (3): 571~578.
- 111) Onuma, M. *et al.* 1987. Detection of cross-reactive antibody to BLV p24 in sera of human patients infected with HTLV. *Microbiol. Immunol.* 31 (2): 131~137.
- 112) Onuma, M. *et al.* 1980. Natural transmission of bovine leukemia virus among cattle. *Microbiol. Immunol.* 24 (11): 1121~1125.
- 113) Onuma, M. *et al.* 1980. Cell fusion activity of bovine leukaemia virus. *J. Gen. Virol.* 48 (Pt 2): 421~424.
- 114) Onuma, M. *et al.* 1980. Detection of bovine leukemia virus by syncytium assay. *Can. J. Comp. Med.* 44 (3): 289~293.
- 115) Oroszlan, S. (1984). Human T-cell Leukemia/lymphoma virus 99. , Gallo, R. C. *et al.* , Cold Spring Harbor Laboratory,
- 116) Oroszlan, S. *et al.* 1979. Amino-terminal sequence of bovine leukemia virus major internal protein: homology with mammalian type C virus p30 structural proteins. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 76 (6): 2996~3000.
- 117) Oroszlan, S. *et al.* 1982. Primary structure analysis of the major internal protein p24 of human type C T-cell leukemia virus. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 79 (4): 1291~1294.
- 118) Ott, S. L. *et al.* 2003. Association between bovine-leukosis virus seroprevalence and herd-level productivity on US dairy farms. *Prev. Vet. Med.* 61 (4): 249~262.
- 119) Paul, P. S. *et al.* 1977. Evidence for the replication of bovine leukemia virus in the B lymphocytes. *Am. J. Vet. Res.* 38 (6): 873~876.
- 120) Paulsen, J. *et al.* 1972. C-type virus particles in phytohemagglutinin-stimulated lymphocyte cultures with reference to enzootic lymphatic leukosis in sheep. *Med Microbiol Immunol* 158 (2): 105~112.
- 121) Pelzer, K. D. 1997. Economics of bovine leukemia virus infection. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 13 (1): 129~141.
- 122) Portetelle, D. *et al.* 1980. In animals infected by bovine leukemia virus (BLV) antibodies to envelope glycoprotein gp51 are directed against the carbohydrate moiety. *Virology* 105 (1): 223~233.
- 123) Powers, M. A. *et al.* 1991. Episodic occurrence of antibodies against the bovine leukemia virus Rex protein during the course of infection in sheep. *J. Virol.* 65 (9): 4959~4965.

- 124) Prachar, J. and Hlubinova, K. 1980. Glycoprotein and protein composition of bovine leukemia virus (BLV). *Neoplasma* 27 (6): 669~674.
- 125) Ressang, A. A. *et al.* 1976. Studies on bovine leukaemia. III. The haematological and serological response of sheep and goats to infection with whole blood from leukaemic cattle. *Zentralbl. Veterinarmed.* [B]. 23 (8): 662~668.
- 126) Ressang, A. A. *et al.* 1980. Studies on bovine leukosis. VIII. The serologic response on leucotic cattle to injections with Aujeszky's disease and Bordetella vaccines, tetanus toxoid and porcine erythrocytes. The cutaneous reaction following administration of Mycobacterium microti and the effect of pokeweed and phytohaemagglutinin stimulation on leucotic lymphocytes. *Zentralbl. Veterinarmed. B* 27 (7): 576~588.
- 127) Rice, N. R. *et al.* 1987. Expression of the bovine leukemia virus X region in virus-infected cells. *J. Virol.* 61 (5): 1577~1585.
- 128) Rice, N. R. *et al.* 1984. The nucleotide sequence of the env gene and post-env region of bovine leukemia virus. *Virology* 138 (1): 82~93.
- 129) Rovnak, J. and Casey, J. W. 1999. Assessment of bovine leukemia virus transcripts in vivo. *J. Virol.* 73 (10): 8890~8897.
- 130) Rutili, D. *et al.* 1978. Epidemiologic study on enzootic bovine leukemia in Italy. *Ann. Rech. Vet.* 9\_: 761~764.
- 131) Sagata, N. *et al.* 1983. Molecular cloning of bovine leukemia virus DNA integrated into the bovine tumor cell genome. *Gene* 26 (1): 1~10.
- 132) Sagata, N. *et al.* 1985. Identification and some biochemical properties of the major XBL gene product of bovine leukemia virus. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 82 (23): 7879~7883.
- 133) Sagata, N. *et al.* 1985. Two distinct polypeptides may be translated from a single spliced mRNA of the X genes of human T-cell leukemia and bovine leukemia viruses. *FEBS Lett.* 192 (1): 37~42.
- 134) Sagata, N. *et al.* 1984. Bovine leukemia virus: unique structural features of its long terminal repeats and its evolutionary relationship to human T-cell leukemia virus. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 81 (15): 4741~4745.
- 135) Salman, M. *et al.* , in *Enzootic bovine leukosis (Report on International EpiLab Project 5, Kobenhavn, 2003)*, pp. 41~43.
- 136) Schmidt, F. W. *et al.* 1976. Cultivation of bovine C-type leukemia virus, its transmission to calves and the development of leukemia as determined by hematological, electron microscopical and immunodiffusion test. *Vet. Microbiol.* 1 (231~237).
- 137) Schultz, A. M. *et al.* 1984. The envelope proteins of bovine leukemia virus: purification and sequence analysis. *Virology* 135 (2): 417~427.
- 138) Schwartz, I. *et al.* 1994. In vivo leukocyte tropism of bovine leukemia virus in sheep and cattle. *J. Virol.* 68 (7): 4589~4596.
- 139) Seiki, M. *et al.* 1983. Human adult T-cell leukemia virus: complete nucleotide sequence of the provirus genome integrated in leukemia cell DNA. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 80 (12): 3618~3622.
- 140) Seiki, M. *et al.* 1982. Human adult T-cell leukemia virus: molecular cloning of the provirus DNA and the unique terminal structure. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 79 (22): 6899~6902.
- 141) Sentsui, H. *et al.* 1982. Haemagglutination by bovine leukaemia virus. *J. Gen. Virol.* 59 (Pt 1): 83~89.
- 142) Shimotohno, K. *et al.* 1985. Complete nucleotide sequence of an infectious clone of human T-cell leukemia virus type II: an open reading frame for the protease gene. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 82 (10): 3101~3105.
- 143) Stear, M. J. *et al.* 1988. BoLA antigens are associated with increased frequency of persistent lymphocytosis in bovine leukaemia virus infected cattle and with increased incidence of antibodies to bovine leukaemia virus. *Anim. Genet.* 19 (2): 151~158.
- 144) Straub, O. C. 1971. Studies on horizontal transmission of bovine leukosis. *Arch. Gesamte Virusforsch.* 33 (1): 145~150.
- 145) Suneya, M. *et al.* 1984. Induction of lymphosarcoma in sheep inoculated with bovine leukaemia virus. *J. Comp. Pathol.* 94 (2): 301~309.
- 146) Tajima, S. and Aida, Y. 2000. The region between amino acids 245 and 265 of the bovine leukemia virus (BLV) tax protein restricts transactivation not only via the BLV enhancer but also via other retrovirus

- enhancers. *J. Virol.* 74 (23): 10939~10949.
- 147) Tajima, S. *et al.* 1998. Function and conformation of wild-type p53 protein are influenced by mutations in bovine leukemia virus-induced B-cell lymphosarcoma. *Virology* 243 (1): 735~746.
- 148) Takashima, I. and Olson, C. 1981. Relation of Bovine leukosis virus production on cell growth cycle. *Arch. Virol.* 69 (2): 141~148.
- 149) Temin, H. M. 1981. Structure, variation and synthesis of retrovirus long terminal repeat. *Cell* 27 (1 Pt 2): 1~3.
- 150) Uckert, W. *et al.* 1984. Translational order of bovine leukemia virus gag and env gene-coded proteins. *Virology* 135 (1): 288~292.
- 151) Uckert, W. *et al.* 1984. Bovine leukemia virus (BLV)--a structural model based on chemical crosslinking studies. *Virology* 133 (2): 386~392.
- 152) USDA-Veterinary Services, 1997. High prevalence of BLV in U.S. dairy herds.
- 153) van den Heuvel, M. J. *et al.* 2005. Purified bovine plasma blocking factor decreases Bovine leukemia virus p24 expression while increasing protein synthesis and transcriptional activity of peripheral blood mononuclear cells in short-term culture. *Can. J. Vet. Res.* 69 (3): 186~192.
- 154) Van Der Maaten, M. J. and Miller, J. M. 1976. Replication of bovine leukemia virus in monolayer cell cultures. *Bibl. Haematol.* 43: 360~362.
- 155) Van der Maaten, M. J. and Miller, J. M. 1976. Serological evidence of transmission of bovine leukemia virus to chimpanzees. *Vet. Microbiol* 1: 351~357.
- 156) Van Der Maaten, M. J. and Miller, J. M. 1978. Sites of in vivo replication of bovine leukemia virus in experimentally infected cattle. *Ann. Rech. Vet.* 9 (4): 831~835.
- 157) Van Der Maaten, M. J. *et al.* 1981. Effect of colostral antibody on bovine leukemia virus infection of neonatal calves. *Am. J. Vet. Res.* 42 (9): 1498~1500.
- 158) Van der Maaten, M. J. *et al.* 1981. In utero transmission of bovine leukemia virus. *Am. J. Vet. Res.* 42 (6): 1052~1054.
- 159) Wang, C. T. and Onuma, M. 1992. Attempt to eradicate bovine leukemia virus-infected cattle from herds. *Jpn. J. Vet. Res.* 40 (2-3): 105~111.
- 160) Weiland, F. *et al.* 1974. C-type particles in cultured lymphocytes from highly leukemic cattle. *Intervirology* 4 (3): 140~149.
- 161) Weiss, R. *et al.* 1984. RNA tumor viruses, vol. 1 and 2. New York: Cold Spring Harbor Laboratory 1985.
- 162) Wentink, G. H. *et al.* 1993. Experimental transmission of bovine leukosis virus by rectal palpation. *Vet. Rec.* 132 (6): 135~136.
- 163) Willems, L. *et al.* 1988. Expression in bacteria of beta-galactosidase fusion proteins carrying antigenic determinants of the two X gene products of bovine leukemia virus. *Leukemia* 2 (1): 1~5.
- 164) Wittmann, W. 1969. Untersuchungen zur Aetiologie der Rinderleukose 7. Studien zur natürlichen Uebertragungsweise und zur Epizootiologie der Erkrankung. *Arch Exp Vet. med.* 24 (687~699).
- 165) Wittmann, W. *et al.* 1971. Etiology of bovine leukosis. 10. Evaluation of the initial transmission experiments with blood from leukotic cattle injected into lambs, with special reference to clinical and hematological findings. *Archiv für experimentelle Veterinärmedizin* 25 (3): 587.
- 166) Wu, D. *et al.* 2003. In vivo transcription of bovine leukemia virus and bovine immunodeficiency-like virus. *Virus Res.* 97 (2): 81~87.
- 167) Wu, D. *et al.* 1996. B-1a, B-1b and conventional B cell lymphoma from enzootic bovine leukosis. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 55 (1-3): 63~72.
- 168) Wu, K. D. *et al.* 1977. Inhibition of the reverse transcriptase of bovine leukemia virus by antibody in sera from leukemic cattle and immunological characterization of the enzyme. *Cancer Res.* 37 (5): 1438~1442.
- 169) Yamamoto, S. *et al.* 1985. Existence of cytotoxic activity against BLV-transformed cells in lymphocytes from normal cattle and sheep. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 8 (1-2): 63~78.
- 170) Yamamoto, S. *et al.* 1984. Suppression of natural cytotoxic activity of lymphocytes from cattle and sheep during the progress of bovine leukosis. *Vet. Microbiol.* 9 (2): 105~111.
- 171) Yoshinaka, Y. *et al.* 1986. Bovine leukemia virus protease: purification, chemical analysis, and in vitro



- processing of gag precursor polyproteins. *J. Virol.* 57 (3): 826~832.
- 172) Yoshinaka, Y. and Oroszlan, S. 1985. Bovine leukemia virus post-envelope gene coded protein: evidence for expression in natural infection. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 131 (1): 347~354.
- 173) Zandomeni, R. O. *et al.* 1991. The trans-activating C-type retroviruses share a distinct epitope(s) that induces antibodies in certain infected hosts. *J. Gen. Virol.* 72 (Pt 9): 2113~2119.
- 174) Zhuang, W. *et al.* 1997. Point mutation of p53 tumor suppressor gene in bovine leukemia virus-induced lymphosarcoma. *Leukemia* 11 (Suppl 3): 344~346.
- 175) 伊藤 全 1987. 牛白血病ウイルス抗体保有状況全国調査. 家畜衛試研究報告 90: 35~60.
- 176) 窪田五郎 1927. 淋巴肉腫の一例. 中央獣医誌 40: 375~378.
- 177) 小沼 操 2004. BLV伝播とその清浄化. 臨床獣医 22 (3): 15~19.
- 178) 沼宮内 茂 *et al.* 1981. ウシ白血病に関する安全性の諸問題. 獣医畜産新報 715 (2): 77~80.
- 179) 泉對 博 2008. 諸外国で行われている牛白血病対策. 臨床獣医 26 (2): 23~27.
- 180) 大島寛一 *et al.* (1986). 牛白血病診断便覧. 日本獣医師会, 東京.
- 181) 東京都芝浦食肉衛生検査所. 2009. 第3章検査統計. p35~48, 東京.
- 182) 農林水産省消費・安全局畜水産安全管理課・動物衛生課 (2009). 届出伝染病の発生月報. p340~342, 家畜衛生週報, 農林水産省消費・安全局畜水産安全管理課・動物衛生課, 東京.



総 説

美麗食道虫 (*Gongylonema pulchrum* Molin, 1857) とその伝播  
——宿主特異性は本当に低いのか?——

佐 藤 宏\*

[ 受付 : 2009年10月25日 ]

REVIEW

BIOLOGY AND TRANSMISSION OF THE GULLET WORM  
(*GONGYLONEMA PULCHRUM* MOLIN, 1857)

Hiroshi SATO

Laboratory of Veterinary Parasitology, Faculty of Agriculture,  
Yamaguchi University, 1677-1 Yoshida,  
Yamaguchi 753-8515, Japan

[ Received for publication : October 25, 2009 ]

The gullet worm, *Gongylonema pulchrum* Molin, 1857, is distributed widely in the world. It takes a wide spectrum of mammals as a definitive host, such as cattle, zebu, buffaloes, sheep, goats, deer, camels, pigs, wild boars, horses, donkeys, bears, rodents, monkeys, and human beings. Since C. A. Rudolphi recorded the worm in the esophagus of a European bear as '*Spiroptera ursi*' in 1819, many species, junior synonyms of '*G. pulchrum*' at present, have been erected for the worms collected from different mammalian hosts in different localities. This is ascribed to wide variations in measurable morphological characters of the gullet worms grown in different hosts. In Japan, since the first notice of its distribution in 1987, the gullet worm has been reported in cattle, deer, Japanese macaques, squirrel monkeys in zoo facilities, and three human patients. Recent genetic analyses of the gullet worms, which were collected from cattle and deer in Japan, demonstrated that two distinct genotypes might be prevalent respectively in cattle and deer. The results suggested that domestic and wild ruminants, at least in Japan, might keep separate transmission cycles of each genotype. The present view of *G. pulchrum*, having a wide host range, could be challenged from the viewpoint of actual transmission, or phylogeography of the gullet worm in each host species.

はじめに

美麗食道虫 (*Gongylonema pulchrum* Molin, 1857) の歴史は、1819年にCarolo A. Rudolphiがヨーロッパヒグマから得た線虫を '*Spiroptera ursi*' として記載したことに始まる<sup>89)</sup>。同氏が、線虫をNematoidea として動物分類体系に

---

\* 山口大学農学部獣医寄生虫病学研究室・教授  
〒753-8515 山口市吉田1677-1  
E-mail : sato7 dp 4 @yamaguchi-u. ac. jp  
TEL / FAX : 083-933-5902

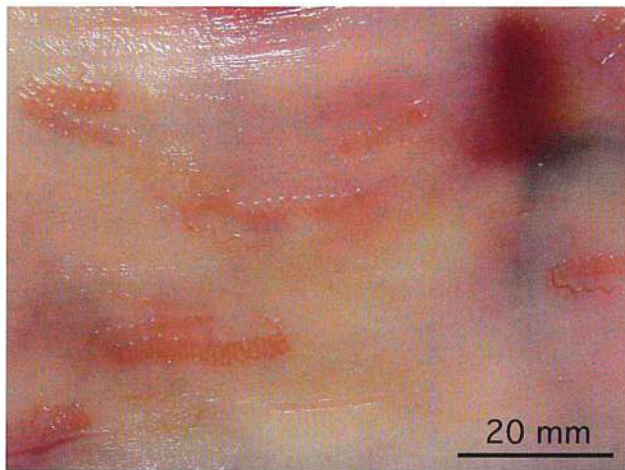


Fig. 1 国内産ウシ食道粘膜内に寄生する美麗食道虫の肉眼像。

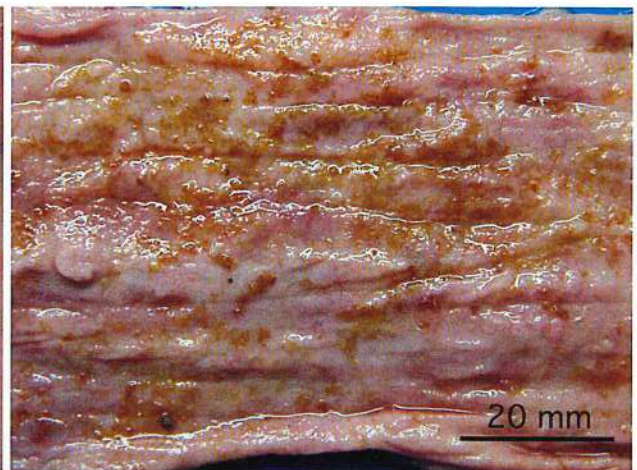


Fig. 2 美麗食道虫寄生のある淡路島産シカの食道粘膜の肉眼像。上皮表面の粗ざう化が顕著。

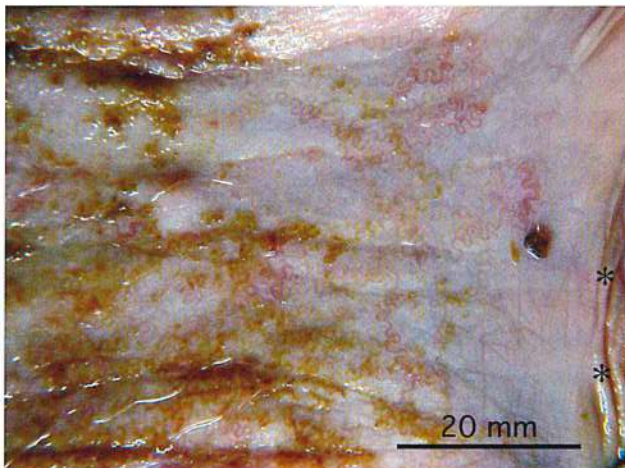


Fig. 3 淡路島産シカ食道粘膜に寄生する美麗食道虫の肉眼像。\*は食道・胃接合部を示す。

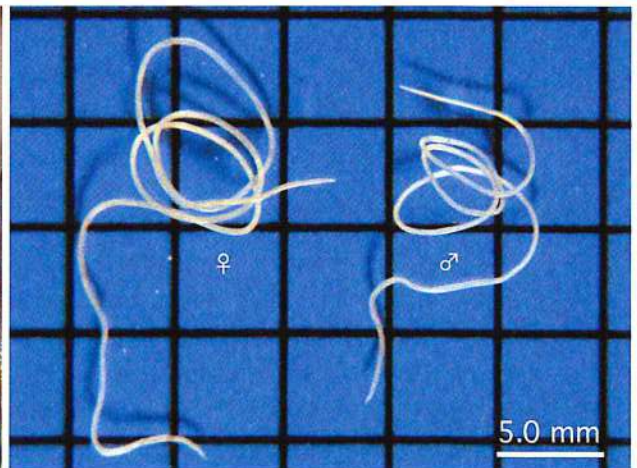


Fig. 4 イラン産ウシから採集した美麗食道虫の実体顕微鏡像。上方に頭端，下方に尾端が位置している。

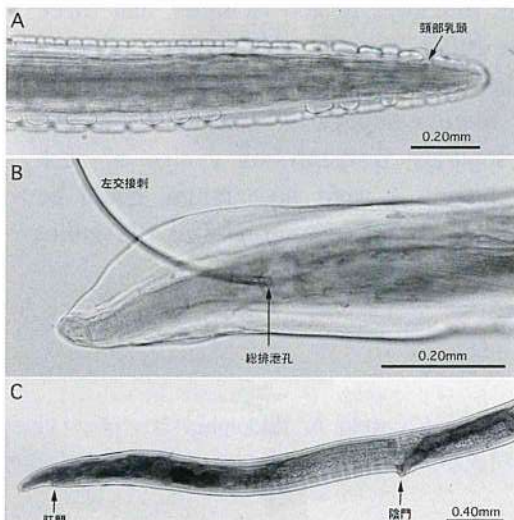


Fig. 5 イラン産ウシ由来の美麗食道虫の光学顕微鏡像。(A) 雌虫頭端。美麗食道虫の頭端クチクラには多数の疣状隆起が配列している。(B) 雄虫尾端。尾翼は左右非対称で、総排泄孔の前後にほぼ左右対称性に5-6対の乳頭がみられる。交接刺も左右非対称性が強く、本虫体では長い左交接刺が総排泄孔から外に突出している。(C) 雌虫尾端。

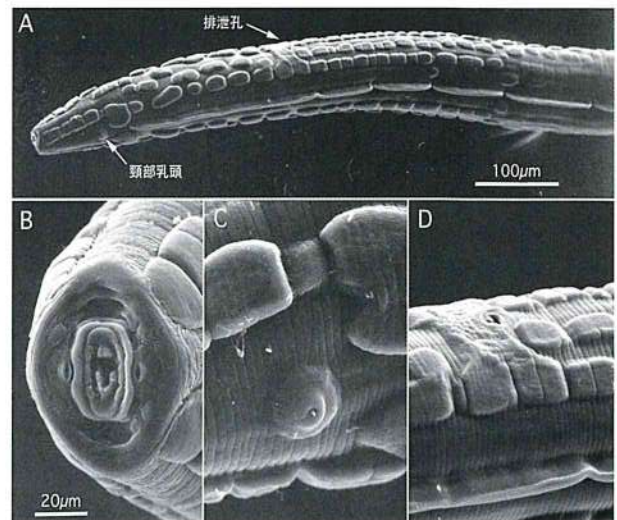


Fig. 6 淡路島産シカ由来の美麗食道虫雄虫の走査電子顕微鏡像。(A) 頭端のクチクラ構造を示す。頸部乳頭に近く、尾側に向かい頸翼が始まる。(B) 頭部正面像(en face view)。(C) 頸部乳頭の拡大像。(D) 排泄孔の拡大像

入れることを提唱した12年後である。そして、Raffaele Molinが1857年に*Gongylonema*属を創設し4種の記載を行った際に、ヨーロッパイノシシから得た種を*Gongylonema pulchrum*と名付けた<sup>10)</sup>。*Gongylo* [円い], *nema* [糸=線虫], *pulchr* [美しい], *-um* [中性名詞への形容詞語尾変化]という語意を含む学名である。同じ論文で、*G. minimum* (ハツカネズミ), *G. filiforme* (サル), *G. spirale* (シカ)の新種記載も行っていないが、イノシシからの種をなぜ「美麗」と名付けたのかは分からない。その後、ウシ、ヒツジやブタといった家畜から、そして人からも検出され、今日、広汎な宿主域をもつ(宿主特異性が非常に低い)種として、私たちは美麗食道虫を理解している。ヒト蛔虫(*Ascaris lumbricoides*)とブタ蛔虫(*Ascaris suum*)、あるいはヒト鞭虫(*Trichuris trichiura*)とブタ鞭虫(*Trichuris suum*)で広く知られるように、異なる動物種に形態学的な鑑別が難しい種が見られ、その種の異同を巡って論議が沸騰することも珍しいことではない。種名の特定は、その生物群に付随するさまざまな生物性状を代表させ、個体レベルでの治療や予防、動物や人での疫学や衛生対策を考える基盤となる。また、美麗食道虫の本邦での分布が明らかになってまだ20年余である。世界的な分布をもち、家畜をはじめとした様々な動物に寄生することが広く知られていたことを考えると、不思議な気持ちを抱かざるを得ない。人体症例も最近になって国内で散発している。近年になって国内に導入された寄生虫ではないかと疑いたくさえる。本稿では、美麗食道虫をめぐる研究の歴史と現在進む研究を紹介することで、寄生蠕虫の種同定、伝播(宿主特異性)と地理的分布の現状、そして今後の課題についても紹介できる機会となればと考える。

### 1. *Gongylonema*属食道虫の生物学的性状

線虫(phylum Nematoda)は多様で、26,000種以上が記載され、そのうちの12,000種が脊椎動物寄生性であると概算されている<sup>11,12)</sup>。実際には、まだ未記載種が多く残り、それらを含めると1,000,000種以上になるとさえ推測されている<sup>13)</sup>。この地上の至る所に分布し、淡水、海水、土壌、そして植物、動物の体内に棲息している。多様な線虫ではあるが、成虫の棲息環境(niche)を上皮内に求める種は限られている。*Gongylonema*属食道虫は、その大きな体サイズ(雄虫12-62mm, 雌虫37-145mm)<sup>9)</sup>にも関わらず、上部消化管の重層扁平上皮内で結節を形成せずに可動性を保ちながら寄生している点、頭端体表クチクラが特異な疣状隆起をもつ点で、他の線虫とは際立つ特徴をもつ(Fig. 1-6)。

*Gongylonema*属食道虫は1属1科でGongylonematidae科を構成し、Spiruridae科(3属)、Spirocercidae科(15属)、Hartertiidae科(2属)とともにSpiruroidea上科に分類される<sup>17)</sup>。この上科は鳥類や哺乳類の上部消化管に寄生する線虫がほとんどである。また、Spirocercidae科には、イヌ科動物の食道に結節をつくる血色食道虫(*Spirocerca lupi*)、サルの胃虫(*Streptopharagus pigmentatus*)、ブタの類円豚胃虫(*Ascarops strongylina*)や六翼豚胃虫(*Physocephalus sexalatus*)、ネズミの胃虫(*Mastophorus muris*)など、獣医領域で馴染み深い線虫が属している。

Spiruroidea上科に分類される線虫の虫卵は、發育した1期幼虫を入れ、厚い卵殻をもっており、また、その幼虫の頭端には小鉤と輪状に生えた微棘が数列観察できるのが特徴となる(Fig. 7)。食糞性甲虫やゴキブリなどが中間宿主となり、その消化管で虫卵が孵化し、血体腔(haemocoel)や組織で2度脱皮した後、感染性の3期幼虫となって被囊する。本分類群の線虫の伝播において、脊椎動物が待機宿主となることが稀では

ない。

さて、前述したように、*Gongylonema*属線虫の大きな形態学的特徴は、成虫の頭端体表クチクラの広汎な領域もしくは限られた領域が疣状の隆起となっている点である。ほとんどの種は広汎な領域に隆起をもつ*Gongylonema*亜属に分類され、有袋類寄生で、限られた隆起しかもたない2種が*Gongylonemoides*亜属に分類されている<sup>17)</sup>(Table 1)。両亜属の形態学的違いとしては、副交接刺の有無も鑑別点となっている。1857年にMolinによって創設された*Gongylonema*属の模式種は、1819年にRudolphiが最初に発見した*Filaria musculi*に相当するが、現在、*G. musculi* (Rudolphi, 1819) Nu mann, 1894とも、*G. minimum* Molin, 1857とも呼ばれ、分類学者により種名の優先権について見解が異なっている<sup>85,110)</sup>。両者は異名であり、どの種記載を十分とするかが意見の相違となっている。

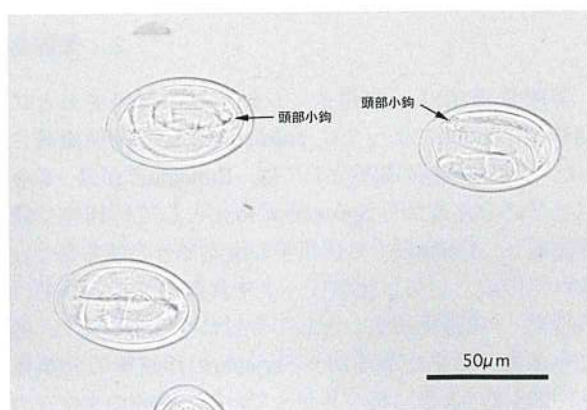


Fig. 7 美麗食道虫の子宮内虫卵の光学顕微鏡像。幼虫形成卵であり、1期幼虫の頭端には3本の鉤と微小棘からなる横線が複数確認できる。

Table 1 Gongylonema属の記載種\*

種	宿主	寄生臓器	地理的分布	備考
1) Gongylonema 亜属				
(1) 哺乳類寄生種				
<i>G. minima</i> Molin, 1857	マウス, ラット	胃壁	世界中	模式種
<i>G. aegypti</i> Ashour et Lewis, 1986	マウス, サハラアレチネズミ	胃壁	エジプト	文献6
<i>G. baylisi</i> Freitas et Lent, 1937	ヘソイノシシ ( <i>Tayassus tajacu</i> )	食道壁	ブラジル	
<i>G. brevispiculum</i> Seurat, 1914	チビオアレチネズミ ( <i>Dipodillus campestris</i> )	胃壁	北アフリカ	
<i>G. capucini</i> Maplestone, 1939	ノドジロオマキザル ( <i>Cebus capucinus</i> )	腸	インド?	
<i>G. dipodomys</i> Kruidenier et Peebles, 1958	カンガル-ネズミ類 ( <i>Dipodomys</i> spp.)	食道壁	北米	
<i>G. longispiculum longispiculum</i> Schulz, 1927	ジリス類 ( <i>Spermophilus</i> spp.)	食道壁	ロシア, 東欧	
<i>G. longispiculum spalacis</i> Schulz, 1927	ロシアメクラネズミ ( <i>Spalax microphthalmus</i> )	胃壁	ウクライナ	
<i>G. macrogubernaculum</i> Lubimov, 1931	アカゲザル, オマキザル ( <i>Cebus hypoleucus</i> ), タラポアン ( <i>Miopithecus talapoin</i> )	胃壁	(モスクワ動物園)	
<i>G. madeleinensis</i> Diouf et al., 1997	マストミス	食道壁	des Madeleines' 島 (セネガル)	文献30
<i>G. monnigi</i> Baylis, 1926	ヒツジ	第一胃壁	アフリカ	
<i>G. mucronatum</i> Seurat, 1916	アルジェリアハリネズミ ( <i>Atelerix algirus</i> )	舌根, 食道壁	北アフリカ	
<i>G. mysicphilia</i> Frandsen et Grundmann, 1961	シカシロアシマウス ( <i>Peromyscus maniculatus</i> )	盲腸壁	北米	
<i>G. neoplasticum</i> (Fibiger et Ditlevsen, 1914)	ラット	胃壁, 食道壁	世界的	
<i>G. nitsulescui</i> Metianu, 1953	ナミハリネズミ ( <i>Ermaceus europaeus</i> )	十二指腸壁	欧州	
<i>G. peromysci</i> Kruidenier et Peebles, 1958	シロアシマウス ( <i>Peromyscus</i> spp.)	心室?	北米	
<i>G. problematicum</i> Schulz, 1924	ネズミ科各種 ( <i>Mus</i> , <i>Cricetulus</i> , <i>Microtus</i> , <i>Apodemus</i> , <i>Mesoricetus</i> , <i>Evotomys</i> 属)	胃壁	欧州	
<i>G. pulchrum</i> Molin, 1857	ウシ, ヒツジ, ヤギ, ゼブ, スイギュウ, シカ, ブタ, イノシシ, クマ, ノウサギ, サル, ヒトなど	上部消化管壁	世界的	
<i>G. rodhaini</i> Fain, 1948	オカビ ( <i>Okapia johnstoni</i> )	食道壁	アフリカ	
<i>G. saimirisi</i> Artigas, 1933	コモンリスザル	食道壁	ブラジル	
<i>G. sciurei</i> Lubimov, 1935	キタリス	食道壁	(モスクワ動物園)	
<i>G. soricis</i> Fain, 1955	食虫類 (トガリネズミ, ジネズミ)	食道壁	アフリカ	
<i>G. verrucosum</i> (Giles, 1892)	ウシ, ヒツジ, ヤギ, ゼブ, オジロジカ	第一胃壁	インド, アフリカ, 北米	
(2) 鳥類寄生種				
<i>G. alecturae</i> Johnston et Mawson, 1942	ヤブツカツクリ ( <i>Alectura lathamii</i> )	不明	豪州	
<i>G. caucasica</i> Kuraschwili, 1941	ニワトリ	食道壁	コーカサス地方	
<i>G. congolense</i> Fain, 1955	ニワトリ, アヒル, ホロホロチョウ, シヤコなど	そ嚢壁	アフリカ	
<i>G. crami</i> Smit, 1927	ニワトリ, アヒル, ホロホロチョウ, シヤコなど	そ嚢壁	アフリカ	
<i>G. falconis</i> Oschmarin, 1963	チゴハヤブサ ( <i>Falco subbuteo</i> )	食道壁	ロシア (極東)	
<i>G. ingluvicola</i> Ransom, 1904	ニワトリ, ウズラなど	そ嚢・食道壁	ユーラシア, 北米, 豪州	
<i>G. mesasiatica</i> Sultanov, 1961	コウライキジ	食道壁	ウズベキスタン	
<i>G. phasianella</i> Wehr, 1938	ホソオライチョウ ( <i>Tympanuchus phasianellus</i> )	そ嚢壁	北米	
<i>G. sumani</i> Bhalerao, 1933	ニワトリ	そ嚢壁	インド	
2) Gongylonemoides 亜属				
<i>G. marsupialis</i> (Vaz et Pereira, 1934)	オポッサム ( <i>Metachirops opposum</i> )	食道壁	ブラジル	
<i>G. mexicanum</i> Caballero et Cercero, 1944	オポッサム ( <i>Didelphis mesoamericana</i> )	食道壁	メキシコ	

\* 主としてSkrjabin (1967)<sup>94)</sup>に従い, それ以降に新種記載された2種<sup>6, 30)</sup>を加えた。

## 2. 美麗食道虫の記載と異名

美麗食道虫は, 欧州イノシシからの材料をもとに1857年にMolinによって*G. pulchrum*として新種記載された<sup>71)</sup>。それ以前の観察としては, Rudolphi<sup>80)</sup>がヨーロッパバヒグマの食道から'*Spiroptera ursi*'として1819年に新種記載し, Dujardin<sup>31)</sup>も1845年の論文でその種名を受け入れている。しかしながら「クマ食道虫」という名は残らず, 「美麗食道虫」として今日に至っている<sup>19)</sup>。他にも多数の異名があるが, Skrijabinの1967年の分類体系<sup>95)</sup>では次のような種があがっている。欧州のダマジカからの*G. spirale* Molin, 1857, 欧州のウマ, ウシ, ヤギ, ヒツジからの*G. scutatus* (Mueller, 1869) Railliet, 1892, エジプトのウマからの*G. confusum* Sonsino, 1896, 欧州のクマからの*G. contortum* Molin, 1860, 欧米のブタ

からの*G. ransomi* Chapin, 1912, イタリア人からの*G. labiale* (Pane, 1864) および*G. subtile* Alessandrini, 1914, 米国人からの*G. hominis* Stiles, 1921, インドのアカゲザルからの*G. microgubernaculum* Gebauer, 1933 などである。

これほど多くの異名をもつ大きな理由は, それぞれの宿主から分離された虫体の計測値の不一致, 特に虫体長と左交接刺長の違いが顕著であったこと, 加えて, 食肉類のクマ, 奇蹄類のウマ, 多様な偶蹄類, そしてヒトを含めた霊長類と, あまりにも広い宿主域をもつことへの当惑があったと推測される<sup>9)</sup>。異なる宿主から分離された線虫の異同を考える上で採用された方法が, 交叉感染実験と収集された虫体のより詳細な形態比較

であった。欧米の反芻動物寄生種*G. scutatum*、ブタ寄生の*G. ransomi*、欧州イノシシ寄生の*G. pulchrum*が直接的な対象である。1915年にRansomとHallは、ウシやヒツジ寄生の*G. scutatum*虫卵を中間宿主（食糞性甲虫）に与えて得た幼虫を、ヒツジ、ブタ、マウス、ウサギ、モルモットに与え、ヒツジでのみ感染が成功したと報告した<sup>88)</sup>。1926年にBaylisらもウシ由来種のブタへの感染に失敗もしくは少数感染のみが得られたと報告した<sup>10,11)</sup>。1931年、SchwartzとLuckerは、ヒツジ由来の*G. scutatum*を1ヶ月齢の2頭のブタに感染させ、3ヶ月後に100%に高い回収率と虫卵形成を観察した<sup>99)</sup>。発育に関しては、ヒツジからの回収虫体に比べ、明らかに小型であるとしている。1頭では舌に、他方は、舌と食道にほぼ同数であった。翌年、Luckerは、反芻獣寄生種とブタ寄生種が同一種であること、反芻獣寄生種の実験宿主としてラット、モルモット、ウサギが有用であること、マウス、イヌ、ニワトリへの感染性は欠くと報告した<sup>99)</sup>。この報告以降、今日的な美麗食道虫の感染性もしくは伝播理解となっている。すなわち、本種は多宿主性であり、宿主特異性は低いと

考えるのである。

1971年、Lichtenfels<sup>100)</sup>は、ヒト、オジロジカ、ヒツジ、ウシ、ブタで自然感染している美麗食道虫、ヒツジ由来美麗食道虫のブタ、ラット、モルモット、ウサギでの実験感染虫体を詳細に観察し、従来の報告でも観察されてきた通り、線虫の通常の種鑑別で用いられる形態学的特徴の絶対値や相対値には変異が大きいことを再確認するとともに、1) 左交接刺長/虫体長、2) 右交接刺長/左交接刺長、3) 腺性食道長/虫体長、4) 頭端-排泄孔の距離/虫体長、以上4点については種鑑別上の意義が高いと結論した。同時に観察したマカク属サルに自然感染していた食道虫については、左交接刺長/虫体長が美麗食道虫の変異範囲から有意に外れることから、1933年にGebauer<sup>101)</sup>が新種記載した*G. microgubernaculum*と同定し、同種の独立性を再考するよう問題提起を行っている。実際に私たちが収集したウシとシカから得た虫体の計測値を (Table 2) に示す。寄生する宿主によって計測値が大きく異なっており、単純な計測値の比較だけでは種の断定が難しいことが理解できるであろう。

### 3. 美麗食道虫の国内分布

日本人研究者の*Gongylonema*属食道虫の研究としては、1925年に横川定が台湾のラットの胃から*G. orientale*を新種記載したのが最初であろう<sup>111)</sup>。この種は、1926年のノーベル生理・医学賞受賞者Johannes A. G. Fibiger (デンマーク) が実験的にラットに胃癌を創出する際に用いた*G. neoplasticum* (Fibiger et Ditlevsen, 1914) の異名となっている。余談となるが、この際に選考から洩れたのが、実験的にウサギの耳にコーラル塗布を反復し、癌の人工的生成に世界で初めて成功した山極勝三郎 (日本) である。今日に至っても、*G. neoplasticum*の腫瘍誘導性は追認されていないが、Fibigerはノーベル賞受賞講演で、宿主ラットの遺伝的背景により蠕虫による腫瘍誘導性は影響を受けることを率直に述べ、一方、タール塗布による腫瘍誘導性が完璧に近いことにも言及している<sup>37)</sup>。また、蠕虫による発癌において今日重要だと考えられているビルハルツ住血吸虫と膀胱癌、肝吸虫や日本住血吸虫と肝臓癌、マンソン住血吸虫と結腸癌との関係は決定的と述べている。選考を間違えたとしばしば例にとられる授賞ではあるが、その後の研究の方向性が的確に示されている点からも、感銘を覚える受賞講演内容である。*G. neoplasticum*は国内では、沖縄や奄美大島のドブネズミやクマネズミ<sup>102)</sup>、種子島のアカネズミ (*Apodemus speciosus*) からも知られている<sup>5)</sup>。

さて、美麗食道虫であるが、北東北・北海道での牛<sup>55,98)</sup>での寄生報告以降、サル<sup>102,103)</sup>、シカ<sup>52,112)</sup>、動物園リスザル<sup>92)</sup>、人<sup>14,15,108)</sup>などから報告がある。その概要

を以下に述べる。

#### 1) 牛 (*Bos taurus*)

工藤ら<sup>55)</sup>は、1986年12月-1987年6月に青森県 (436頭)、岩手県 (50頭)、秋田県 (16頭)、北海道 (69頭) を産地とするホルスタイン407頭、日本短角牛95頭、ヘレフォード種33頭、アバディン・アングス種23頭、黒毛和種13頭を調べ、北海道を除く3県の105頭 (18.4%) に美麗食道虫の寄生を確認した。調べた品種すべてに寄生を確認しているが、最も検査数の多いホルスタイン牛で年齢別感染率をみると、2歳以下で3.4% (8/237)、3歳で18.6% (16/86)、4-7歳で54.5% (18/33)-72.7% (8/11)、8歳以上で81.0% (17/21) であった。寄生数は1-318隻で、1-5隻の少数寄生が44.8%を占めた。この報告に先立つ1987年の口頭発表<sup>50)</sup>は、国内に美麗食道虫は分布しないと当時信じられていたことから、その後の調査研究に大きな刺激を与えた。

鈴木ら<sup>98)</sup>は、1989年7月-1990年7月に北海道産牛5,204頭 (乳用牛5,090頭、肉用牛114頭) を調べ、433頭 (8.3%) に美麗食道虫の寄生を確認した。陽性個体は1頭の肉用牛を除くと、すべて乳用牛であった。寄生数は1-180隻で、1-20隻の寄生が全体の83.1%を占め、100隻以上の寄生が5例であった。感染率は9月と2月に高く、12月と5月に低い結果であった。国内の美麗食道虫の中間宿主として最重要視される食糞性甲虫のマグソコガネ類は春 (4-7月) と秋 (10-

Table 2 シカならびにウシから収集した美麗食道虫の計測値の比較 (計測値はmmで表示)

宿主	シカ			ウシ			有意差検定 (t-test)			ウシ		
	日本(兵庫県) 本報	シカ 本報	ウシ 本報	シカ 本報	ウシ 本報	ウシ 本報	シカ vs. 国産ウシ	シカ vs. イラン産ウシ	シカ vs. イラン産ウシ	シカ vs. 国産ウシ	シカ vs. イラン産ウシ	ウシ 本報
採集地	日本(兵庫県)	シカ	ウシ	シカ	ウシ	ウシ						ウシ
参考文献	本報	本報	本報	本報	本報	本報						日本
計測虫体数	6	6	6	6	6	6						Kudo et al. <sup>5b)</sup>
虫体長	21.2-26.9 (24.0±2.8)	30.7-44.9 (36.76±5.8)	36.7-48.6 (41.9±4.8)	<0.002	<0.001	NS	20.0-41.9 (31.7±6.0)	NS	20.0-41.9 (31.7±6.0)	NS	24.1-52.4	60
最大体幅	0.146-0.192 (0.174±0.016)	0.26-0.30 (0.28±0.02)	0.22-0.26 (0.24±0.02)	NS	<0.001	NS	0.142-0.208 (0.177±0.020)	NS	0.142-0.208 (0.177±0.020)	NS	0.208-0.296	
咽頭長	0.050-0.055 (0.052±0.003)	0.048-0.056 (0.052±0.004)	0.045-0.056 (0.048±0.005)	NS	NS	NS	0.036-0.052 (0.044±0.004)	NS	0.036-0.052 (0.044±0.004)	NS	0.042-0.066	
食道長	5.01-6.37 (5.57±0.47)	4.50-6.64 (5.47±0.85)	4.96-6.08 (5.58±0.43)	<0.03	<0.005	NS	4.27-5.83 (5.07±0.45)	NS	4.27-5.83 (5.07±0.45)	NS	4.89-7.44	
筋性食道長	0.492-0.570 (0.527±0.028)	0.29-0.51 (0.43±0.08)	0.55-0.65 (0.61±0.04)	NS	<0.001	NS	0.403-0.619 (0.498±0.053)	<0.001	0.403-0.619 (0.498±0.053)	<0.001	0.478-0.697	
腺性食道長	4.47-5.86 (5.04±0.48)	4.02-6.21 (5.05±0.89)	4.40-5.47 (4.97±0.43)	NS	NS	NS	3.82-5.23 (4.57±0.42)	NS	3.82-5.23 (4.57±0.42)	NS	4.35-6.78	
頭部乳頭*	0.122-0.138 (0.130±0.008)	0.112-0.176 (0.143±0.024)	0.134-0.171 (0.150±0.013)	NS	<0.02	NS	0.083-0.142 (0.121±0.012)	NS	0.083-0.142 (0.121±0.012)	NS	0.116-0.186	
神経輪*	0.249-0.315 (0.282±0.024)	0.220-0.288 (0.259±0.031)	0.266-0.322 (0.298±0.020)	NS	NS	NS	0.233-0.288 (0.265±0.019)	<0.03	0.233-0.288 (0.265±0.019)	<0.03	0.264-0.352	
排泄孔*	0.409-0.492 (0.448±0.031)	0.352-0.496 (0.432±0.065)	0.495-0.599 (0.537±0.039)	NS	<0.001	NS	0.381-0.526 (0.433±0.037)	<0.01	0.381-0.526 (0.433±0.037)	<0.01	0.408-0.616	
左交接刺長	6.28-7.72 (6.78±0.57)	14.19-20.36 (17.60±2.20)	10.60-27.86 (18.87±6.46)	<0.001	<0.01	NS	6.48-13.27 (10.83±1.8)	<0.01	6.48-13.27 (10.83±1.8)	<0.01	11.1-22.7	
右交接刺長	0.097-0.163 (0.115±0.024)	0.096-0.160 (0.132±0.024)	0.137-0.168 (0.157±0.014)	NS	<0.01	NS	0.102-0.144 (0.115±0.013)	<0.01	0.102-0.144 (0.115±0.013)	<0.01	0.118-0.160	
副交接刺長	0.077-0.089 (0.083±0.005)	0.072-0.104 (0.083±0.011)	0.109-0.140 (0.130±0.018)	NS	<0.05	NS	0.083-0.114 (0.092±0.007)	<0.05	0.083-0.114 (0.092±0.007)	<0.05	0.106-0.142	
総排泄孔前方乳頭数	4-5	4-5	5-6	4-5	4-5	5-6	—	—	—	—	5-7	
総排泄孔後方乳頭数	5	5-6	5-6	5-6	5-6	5-6	—	—	—	—	5-6	
尾長	0.282-0.321 (0.300±0.018)	0.240-0.300 (0.270±0.028)	0.172-0.336 (0.275±0.062)	NS	NS	NS	0.282-0.321 (0.300±0.018)	NS	0.282-0.321 (0.300±0.018)	NS	0.240-0.376	

\* 頭端からの距離.  
† 尾端からの距離.

(1) 雄虫

(2) 雌虫



11月)に牧野に出現し、中間宿主体内での感染幼虫への発育に4週間、終宿主体内でのプレパテントピリオドが約2ヶ月であることから、感染率の季節変動が説明できると鈴木らは考察している。年齢別感染率は、感染牛は5歳齢以降に集中し、5-10%であった。

佐藤ら<sup>80)</sup>は、2009年2-3月に国内27道県から大阪府下の屠畜場に集まった和牛もしくはホルスタインとのF1牛(3歳齢以下)638頭の食道を調べ、関東-九州の12県38頭で寄生を確認している(Fig. 8)。単数寄生が17頭、2隻寄生が5例で、寄生状況は典型的な過分散であった。なお、最高寄生数は109隻(雄虫51隻、雌虫58隻)であった。工藤ら<sup>33)</sup>、鈴木ら<sup>80)</sup>が指摘しているように、ウシでの美麗食道虫感染には年齢集積性があり、3歳齢以下での寄生率は低い、このことを考慮すると、北海道から九州まで広く全国的にウシに美麗食道虫感染があることが示唆された。

## 2) シカ

YokohataとSuzuki<sup>112)</sup>は、1992年2-3月に兵庫県中部(現在の朝来市;当時の朝来町,和田山町,山東町)の3箇所では捕獲されたホンシュウジカ(*Cervus nippon nippon*)から美麗食道虫を検出し、捕獲地域により感染率が違う点に注目している。1つの可能性として、牧畜との関係を示唆した。佐藤ら<sup>80)</sup>は、同じく兵庫県下の淡路島(20頭)、宍粟市(3頭)、朝来市(4頭)で2008年3月に捕獲されたホンシュウジカを調べ、淡路島と宍粟市では100%の感染率であり、一方、朝来市では感染が見られなかったと報告した(Fig. 8)。宍粟市と朝来市での捕獲頭数が少ないが、これらの地域からの個体を調べたYokohataとSuzuki<sup>112)</sup>と合致する所見であり、また、淡路島は有数の酪農地域として知られることを考えると、一見、両宿主での感染には因果関係がありそうに思われる。高知県香美市で2009年2月に捕獲されたホンシュウジカ12頭では2頭から美麗食道虫が検出され、和歌山県田辺市周辺で捕獲されたホンシュウジカでは10頭余を調べて感染例が検出されていない<sup>80)</sup>。

Kitamuraら<sup>32)</sup>は、足寄管内で1991年3月に捕獲された35頭のエゾシカ(*Cervus nippon yezoensis*)の胸腔内食道を調べ、2頭(5.7%)で美麗食道虫を検出した。検出数は2頭とも1隻で、いずれも雌虫であった。この結果だけでは、エゾシカでの美麗食道虫寄生が偶発感染の可能性が残る。今後、北海道を含めた国内各地で調査が行われることで、なぜシカでの感染が地域性をもつのか明らかになることを期待したい。

## 3) ニホンザル (*Macaca fuscata*)

Uniらは、鹿児島県の1頭のホンダザル(*Macaca fuscata fuscata*)の舌、咽頭、食道から7隻の雄虫、2隻の雌虫を得て、美麗食道虫と同定した<sup>102)</sup>。これを

受け、彼らは、1961-1991年の間に日本モンキーセンター(犬山市)に搬入された国内22産地の110頭のホンダザルと71頭のヤクザル(*M. f. yakui*)のホルマリン固定標本(舌、咽頭、食道、気管)を調べ、5頭のホンダザルと13頭のヤクザルから*Gongylonema*属食道虫を検出した<sup>103)</sup>。ホンダザル5頭とヤクザル12頭に美麗食道虫の感染があり、更に、ヤクザル2頭に*G. macrogubernaculum*の感染も確認された(うち1頭は美麗食道虫との混合感染)。Uniら<sup>103)</sup>は、センター内で出生、成長した2頭のヤクザルに、それぞれ美麗食道虫と*G. macrogubernaculum*の感染があったことから、センター内でこれら2種の生活環が維持されていることを認めているが、一方で、ヤクザルでの感染が確認されたことから屋久島が*G. macrogubernaculum*の自然分布地である可能性を示唆している。*G. macrogubernaculum*はモスクワ動物園で飼育されていたアカゲザル(*Macaca mulatta*)、オマキザル(*Cebus hypoleucus*)、タラポアン(*Miopithecus talapoin*)から種記載された種であり<sup>61)</sup>、自然分布地が知られていない。Craigら<sup>21)</sup>は、1989-1995年に米国のバルチモア動物園で飼われ、食道炎、咽頭炎、口内炎、舌炎を呈し、臨床的には呼吸困難、衰弱、消瘦に陥ったウィントンキリス(*Funisciurus substriatus*)15頭とアカアシアラゲジリス(*Xerus erythropus*)20頭を解剖し、13頭に*G. macrogubernaculum*の寄生を確認した。これらのリス類はサル飼育舎で飼われており、少なくとも、3頭のシシオザル(*Macaca silenus*)、1頭のバツティコファーグエノン(*Cercopithecus petaurista buettikoferi*)、1頭のセマダラタマリン(*Saguinus fuscicollis*)が食道虫症と診断された診療記録があった。そのうち、ホルマリン保存標本が残っていたシシオザル1頭から*G. macrogubernaculum*が確認された<sup>21)</sup>。Uniら<sup>103)</sup>を含め、*G. macrogubernaculum*に関するすべての報告が動物園動物からの記録である。また、マカク属サルには、Lichtenfels<sup>60)</sup>が*G. microgubernaculum*の寄生を考慮する必要性を提言していることを上述した。

このような状況から、ニホンザル寄生種の検討は今後も慎重に進められるべき課題といえる。

## 4) 動物園リスザル

北九州の某動物園内においてオープンスペース方式で維持されている100頭規模のポリピアリスザル(*Saimiri boliviensis*)のコロニーにおいて、その斃死個体の舌粘膜に線虫断面が確認された。このことを受け、2003年および2004年の2月に美麗食道虫の感染調査が実施された<sup>92)</sup>。この調査では、プラスチック製スパテルで舌粘膜を擦過し、この擦過材料中の虫卵検出を行っている。1981年以来自然繁殖で維持されているリスザルコロニーでの美麗食道虫の高率な感染(25.5%=27/106)が明らかになった。導入母群が持ち込んだ可能性とともに、導入後の園内他種動物から

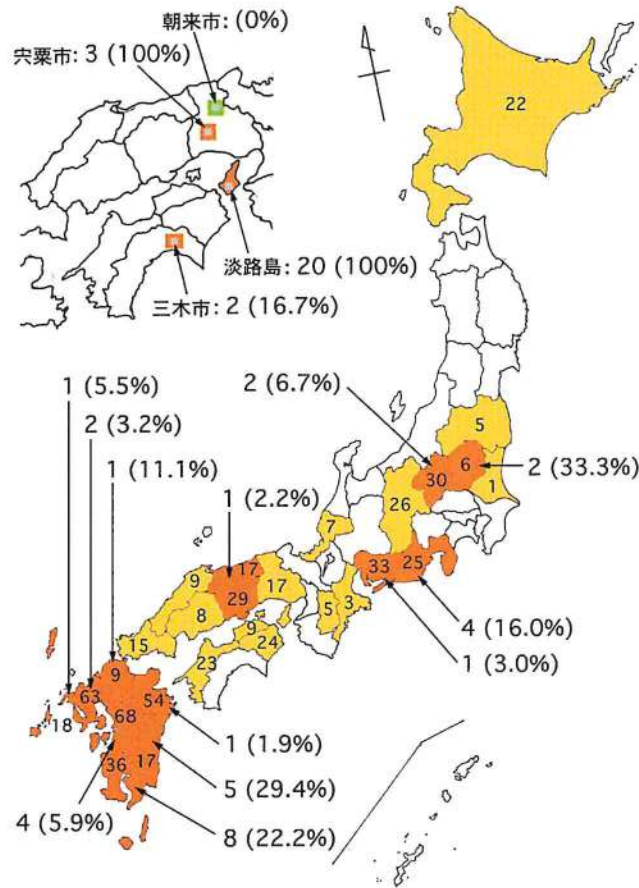


Fig. 8 美麗食道虫のウシ(本体図)およびシカ(左上挿入図)での検出状況<sup>29)</sup>。着色した県で生産されたウシを検査し、橙色で示した県で新たに寄生を確認した。県別に示した数字は検査頭数、矢印と結んだ数字で感染確認頭数(検出率)を示す。ここでは、生産地が特定できた結果のみを示す。

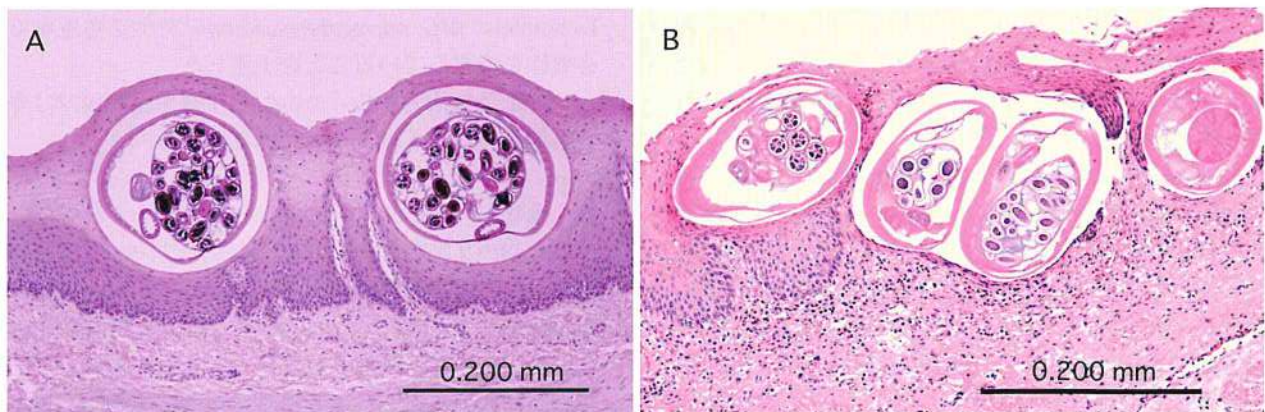


Fig. 9 美麗食道虫感染のある食道粘膜組織像。(A)国産ウシ。(B)淡路島産シカ。ウシでは重層扁平上皮内にあり、固有層への炎症細胞浸潤を欠いている。一方、シカでは、基底膜を破って虫体が固有層と直接的に接し、固有層への炎症細胞浸潤(形質細胞など単核細胞が主体)が顕著である。両例ともに雌虫断面がみられている。

の獲得の可能性がある。舌粘膜擦過による虫卵検出法は、麻酔下で行う点で制限があるが、口腔内感染が頻出するサル類での検査法としてきわめて有効である。舌上皮の擦過は、棘細胞層レベルに達するイメージで強く行うのがコツであり、実施者により検出率が変動する点に留意しなければならない。この動物園での2008年と2009年の調査では、陽性率は14.2% (16/113) もしくは12.5% (12/96) であった<sup>90)</sup>。同様の調査は、直線距離で90km以上離れた他の動物園のコモンリスザル (*Saimiri sciureus*) コロニーでも実施され、2008年に45.7% (21/46)、翌年に46.0% (23/50) と高い感染率が確認されている<sup>90)</sup>。

動物園間の動物交換や譲渡によって、美麗食道虫感染が見られなかったマーモセットコロニーに新たに感染が導入された海外事例が知られている<sup>10)</sup>。口腔内寄生が頻発するサル類では、食道を主たる寄生部位とする他種動物での感染とは異なり、寄生性の口内炎もしくは自傷性の口内炎を引き起こしやすく、*Pasteurella multocida*による敗血症死の原因となる可能性も指摘されている<sup>39)</sup>。オープンスペース飼育下では、食糞性甲虫やゴキブリといった中間宿主の排除は不可能であることから、プレパレントピリオド約60日を考慮した予防的投薬も考慮されるべき点である<sup>90)</sup>。

新世界ザル原産地での感染状況は不明である。ブラジルのコモンリスザルから記載された*G. saimirisi Artigas*, 1933と美麗食道虫との異同を含め、新世界ザルでの食道虫寄生については今後解明されるべき課題が残っている。

#### 5) ヒト (*Homo sapiens*)

1996年8月に左側下唇に搔痒感を感じた東京都下在住の34歳男性が近医を受診した事例が国内初の人体例として報告されている<sup>45)</sup>。口内炎治療薬を処方され、口内炎は治癒と再発を繰り返したが、同年12月に近医を受診した折りに口唇の潰瘍部から飛び出した糸状物が、専門家により美麗食道虫の未成熟雌虫と同定された。その後、九州在住者で美麗食道虫感染が2症例報告されている<sup>41,108)</sup>。25歳女性患者では雌虫2隻の寄生があり、口唇や歯肉に違和感を自覚して2ヶ月後に1隻を自己の爪にて摘出して大学病院を受診、その後2年半を経過して再度1隻を自家採取している<sup>108)</sup>。一方、心窩部痛と心窩部灼熱感を訴えた73歳男性患者では、上部消化管内視鏡検査で食道・胃接合部に近い食道粘膜内にジグザク走行する虫体が検出された。生検鉗子にて摘出後、患者の症状は改善しており、臨床症状の原因となった可能性もある<sup>40)</sup>。

#### 6) その他

Sato<sup>91)</sup>は、国内外来種として屋久島で自然繁殖するホンダヌキの寄生虫検査を進める中で、その食道粘膜上に多数の線虫幼虫を検出した。形態学的に美麗食道虫3期幼虫と酷似していた。屋久島ではヤクザル、ヤクシカと美麗食道虫の終宿主が生息することから、中間宿主も高い感染率であろう。そのような環境を反映した偽寄生の一種と理解されるべきだろう。

#### 7) 中間宿主

工藤<sup>92)</sup>は、1987年7月～1988年8月にかけて青森県六ヶ所村と十和田市の牧場で食糞性甲虫16,422匹 (5属13種) を収集した。美麗食道虫3期幼虫 (感染幼虫) は、マクソコガネ (*Aphodius rectus*)、ヨツボシマグソコガネ (*A. sordidus*)、オオフタホシマグソコガネ (*A. elegans*)、オオマグソコガネ (*A. haroldianus*)、フチケマグソコガネ (*A. urostigma*)、ウスイロマグソコガネ (*A. sublimbatus*)、ツノコガネ (*Liatongus phanaeoides*)、マエカドコエンマコガネ (*Caccobius jessoensis*)、シナノエンマコガネ (*Onthophagus bivertex minokuchianus*)、ダイコクコガネ (*Copris ochus*)、ゴホンダイコクコガネ (*C. acutidens*) から検出され、特にダイコクコガネ (感染率48.2%; 平均感染数3.79隻) とマクソコガネ (感染率26.5%; 平均感染数0.53隻) が中間宿主として注目された<sup>90)</sup>。食糞性甲虫としては後者マクソコガネがより一般的であることから、最も重要な中間宿主といえる。これら甲虫での感染の季節性であるが、10月以降に感染率が上がり翌年の春にピークに達した。また、感染した甲虫を水に落とすと、その4日目以降ほぼ2週間、最長34日目まで、甲虫から遊離した幼虫が水中にて生存していた<sup>50)</sup>。このことは、中間宿主の直接的な経口摂取だけでなく、水に遊離した幼虫の飲水による経口感染が疫学的に考慮されるべきことを指摘している<sup>15,50)</sup>。なお、1,630匹を調べたコマグソコガネ (*A. pusillus*)、326匹を調べたカドマルエンマコガネ (*Onthophagus lenzii*) には美麗食道虫の感染は確認できていない。中間宿主での美麗食道虫幼虫は、甲虫の腹部体腔内壁あるいはマルピーギ管に付着して宿主組織由来の膜で被覆している。Alicataは1935年の報告<sup>2)</sup>で、ゴキブリ (*Blattella germanica*) を用いて中間宿主での発育 (1期-3期幼虫) を詳細に観察している。2回目の脱皮を経て3期幼虫になるのは実験感染後29-32日目で、その後被覆幼虫として感染機会を伺っていることが明らかになっている<sup>2,60)</sup>。

### 4. 家畜と野生動物の美麗食道虫共有はあるのか?

反芻動物を宿主とする寄生虫であっても、寄生虫種

によりその宿主特異性はもちろん異なっている。ウシ、

Table 3 偶蹄類上部消化管の重層扁平上皮内寄生の主要なGongylonema種の比較 (計測値はmmで表示)\*

種	<i>G. pulchrum</i> Molin, 1857	<i>G. verrucosum</i> (Giles, 1892)	<i>G. monnigi</i> Baylis, 1926
終宿主	各種偶蹄類、奇蹄類、クマ、サル、ヒト	各種偶蹄類	ヒツジ
寄生部位	上部消化管壁	第1-3胃壁	第一胃壁
地理的分布	世界的	インド、アフリカ、北米	アフリカ
参考文献	Baylis <sup>9)</sup>	Skrjabin <sup>94)</sup>	Skrjabin <sup>94)</sup>
(1) 雄虫			
体長	12—62	32—41	39—44
最大体幅	0.14—0.36	0.28—0.30	0.21—0.26
頸翼	両側	左側のみ	左側のみ
頭部疣状隆起	全周	左側	左側
食道長	3.0—7.0	6.5—8.5	6.5—7.5
筋性食道長	0.40—0.78	0.46—0.60	0.46—0.52
頭端-神経輪	0.29—0.35	0.25—0.30	—
頭端-排泄孔	0.30—0.65	0.41—0.60	0.46—0.49
尾長	0.22—0.35	0.28—0.38	0.35
咽頭長	0.040—0.075	0.04	—
左交接刺長	4.0—23.0	9.5—10.5	11.0—15.7
右交接刺長	0.084—0.180	0.26—0.32	0.213—0.250
副交接刺長	0.085—0.120	0.13—0.16	0.11—0.13
(2) 雌虫			
体長	37—145	78—80	102—113
最大体幅	0.19—0.53	0.44—0.45	0.43—0.45
食道長	6.0—9.0	8.1—10.0	—
筋性食道長	0.48—0.95	—	—
頭端-神経輪	0.25—0.40	0.23—0.35	—
頭端-排泄孔	0.46—0.90	0.57	—
尾長	0.185—0.38	0.23—0.30	0.20—0.30
咽頭長	0.040—0.075	—	—
陰門-尾端	1.95—7.0	2.1—2.6	4—6
虫卵	0.050—0.070	0.055	0.060—0.063
	×0.025—0.037	×0.031—0.032	×0.035—0.037

\* □で囲った4つの形態学的特徴は、類種鑑別の上で重要と考えられる。頸翼と頭部疣状隆起については雌虫も同様だが、本表では省略している。

ヒツジ、ヤギといった家畜でさえ、それぞれに固有の寄生虫種があり、シカにはシカ固有の寄生虫種があることを知っている。しかし、動物種を越えて広い宿主域をもつ寄生虫種もいる。美麗食道虫の場合には、前述の交叉感染実験を踏まえ、動物種を越えて寄生虫の共有があると基本的には考えられている。この点を、生息自然環境の共有がある動物間で、その感染の共有状況という視点から報告を拾ってみたい。

Prestewoodら<sup>80)</sup>は、16—17世紀に起源する野生化ブタの分布地、米国ジョージア州の沖合いOssabaw島で、オジロジカ (*Odocoileus virginianus*)、野生ブタ、野生ウシに寄生する蠕虫を調べ、39種を検出した。ブタのもつ寄生虫のうち、他2種と共通していたのは美麗食道虫1種だけであった。また、米国アパラチア山脈南部の草原を共有するヒツジとオジロジカについても、その内部寄生虫相を比較している<sup>83)</sup>。検出された総計30種の寄生虫のうち、シカからは11種、ヒツジからは22種が記録され、次の3種の消化管寄生線虫が共通であった。すなわち、山羊腸結節虫 (*Oesophagostomum venulosum*)、点状毛様線虫 (*Cooperia punctata*)、美麗食道虫である。但し、両方の宿主で同様に高い感染

率がみられたわけではなく、シカをいずれかの寄生虫の保虫宿主とすることは結論できなかった。McKenzieとDavidson<sup>87)</sup>は、ハワイ諸島のMolokai島で同所分布するアクシスジカ (*Cervus axis*)、野生化ブタ、放牧ウシ、各10頭について寄生虫検査を実施し、24種(条虫2種、線虫22種)の蠕虫を検出した。アクシスジカとウシの間では、ウシ毛細線虫 (*Aonchotheca bovis*)、点状毛様線虫、捻転胃虫 (*Haemonchus contortus*)、*Trichostrongylus axei*が共通、アクシスジカと野生ブタの間では美麗食道虫のみが共通で、ウシと野生ブタの間に共有される寄生虫はなかったと報告している。アクシスジカは1869年に8頭が移入され、その後は自然繁殖しており、野生ブタは2世紀以降の数回の移入に起源がある。シカでの美麗食道虫感染が60% (平均寄生数78隻、最高寄生数143隻) に対して、野生ブタでは100%の感染率 (平均寄生数7隻、最高寄生数16隻) であった。彼らは、8頭から始まったアクシスジカは固有寄生虫相を失い、現存の寄生虫相は、共棲する他種動物に依存していると考察している。美麗食道虫がシカと野生ブタで高率な感染であった環境で、ウシでは感染が見られなかった点は興味深い。

米国ジョージア州の沖合いCumberland島で野生化したブタは、1970年代後半に少なくとも1,200頭が駆除され、1980-1986年にはさらに250-350頭が駆除された歴史がある。Penceら<sup>32)</sup>は、1984年10月-1986年6月に駆除された野生ブタ48頭を調べ、美麗食道虫を含めた9種の蠕虫を検出した。以前に行われた寄生虫調査結果<sup>30)</sup>と比較して、直接感染(土壤媒介線虫など)する寄生虫が少ないことを、動物駆除による生息密度の低下によると説明し、一方、ミミズや食糞性甲虫が中間宿主もしくは待機宿主となるブタ腎虫(*Stephanurus dentatus*)、ブタ肺虫など(*Metastrongylus elongates*, *M. pudendotectus*)、美麗食道虫は高い感染率であったとしている。美麗食道虫の感染率は77%(37/48)で1-29隻(平均7.4隻)の寄生であった<sup>32)</sup>。美麗食道虫については、他種動物が保虫宿主となっていることが、高い感染率を維持できている理由と考察している。

*G. verrucosum* (Giles, 1892) は、インド、アフリカ、北米のウシ、ヒツジ、ヤギ、ゼブ、オジロジカから報告のある種で、頸翼と頸部乳頭が左側のみであり、右

交接刺長と副交接刺長がより大きいことなどが美麗食道虫と形態学的に違い、また、寄生部位が第一胃、第二胃、時に第三胃である点も異なっている<sup>31)</sup>(Table 3)。合衆国南東部の13州で788頭のオジロジカを調べたPrestwoodら<sup>30)</sup>は、美麗食道虫を457頭(57.9%)から、*G. verrucosum*を131頭(16.6%)から検出し、後者は前者との同時感染が常にみられるとした。すなわち、*G. verrucosum*の単独感染はなかった。中間宿主、すなわち食糞性甲虫の分布する地域では美麗食道虫感染があまりにも一般的であるから、このような感染状況となっていると解釈される。

以上の報告の多くは、美麗食道虫の自然界での伝播が動物種を越えて起こっていることを一見示唆しているかのようである。自然界での感染状況から、美麗食道虫の伝播や特定の動物種の感染感受性について結論することは困難である。これらの調査に、後述する遺伝子解析を組み込むことが動物間の伝播動態を把握する上で有効であり、現在こそ挑戦できる研究テーマである。

## 5. その他動物での感染報告

美麗食道虫の終宿主として、ヒツジ、ヤギ、ウシ、ラクダ、シカ、スイギュウ、シマウマ、ブタ、イノシシ、ウマ、ロバ、クマ、サル、ヒト、実験動物としてラット、モルモット、ウサギなどが知られる<sup>2, 9)</sup>。これらの動物での感染について、以下に若干補足しておきたい。

### 1) クマ

美麗食道虫が当初、ヨーロッパヒグマから報告されていたことは前述した通りである<sup>31, 30)</sup>。アメリカクロクマ(*Ursus americanus*)での感染報告について、以下に紹介しておく。

Chandler<sup>10)</sup>は、1頭の削瘦衰弱したペンシルバニア州産アメリカクロクマ1頭の舌を調べる機会を得て、多数の虫体を検出し、美麗食道虫と同定した。クマでの寄生は稀であると認識し、また、寄生部位が舌であることから、偶発感染と彼は考えた。しかしながら、その後の報告で、アメリカクロクマでは高い感染率であることが明らかになっている。すなわち、Crumら<sup>20)</sup>は米国南東部の6州の50頭を調べ、27頭(54.0%)に平均4(1-25)隻の美麗食道虫の寄生を確認した。舌とともに食道を調べた個体では、食道での寄生数が優勢であったとしている。また、Kirkpatrickら<sup>31)</sup>は米国ペンシルバニア州で1982-1983年に捕獲された302頭中100頭(33.1%)の舌に肉眼的に美麗食道虫を確認している。平均寄生数は5.9隻(1-55隻)であった。クマでの雄虫の平均体長は29.1(23-37; n=10)mmで、雌虫の平均体長は58.7(40-75; n=10)mmと

発育は必ずしもよくない。Fosterら<sup>33)</sup>は、フロリダ州で1998-2003年の間に捕獲された12ヶ月齢以下のアメリカクロクマ17頭を調べ2頭からそれぞれ1隻と87隻の虫体を回収した。

ヨーロッパヒグマやアメリカクロクマでの感染報告から考え、他種のクマでの感染状況も興味深い点であるが、これまでのところ、まったく調べられていない。

### 2) ブタ、イノシシ (*Sus scrofa*)

美麗食道虫の種記載がヨーロッパイノシシであったことは前述の通りである<sup>7)</sup>。その後、アメリカ大陸のブタからChapin<sup>30, 21)</sup>が*G. ransomi*として美麗食道虫感染を1922年に報告した。ZinterとMigaki<sup>11)</sup>は、1,518頭の米国産ブタの舌を調べ、90頭(5.9%)に美麗食道虫の寄生があったこと、産地によりまったく感染が確認できないところもあれば、15.5%(34/220)や21.0%(28/133)といった高い感染率の産地もあったことを報告している。

米国テキサス州アランサス地域では1800年代末からブタの野生化が起こり、1930年には11頭の外来イノシシが移入されて交配が進んだ。1973年10月から1974年2月にかけて捕獲した10頭について検査すると、舌(6/9)および食道(1/10)に美麗食道虫が確認された<sup>23)</sup>。Smithら<sup>30)</sup>は、1979年1月-1980年11月に捕獲した米国南東部11州の野生化ブタ100頭を調べ、57頭に美麗食道虫を検出している。本土から離れた島での野生化ブタでの感染調査については、他種動物との寄生虫共有を論じた際に述べた通りである<sup>32)</sup>。

その他の地域からのブタもしくはイノシシからの感染例の報告はほとんどない。EslamiとFarsad-Hamdi<sup>65)</sup>は、イランの北部、北東部、南西部で捕獲された57頭のイノシシを調べ、35%の感染率(1-14隻、平均7隻)で美麗食道虫感染があったと報告している。イランからは、人体例の報告<sup>66)</sup>、イノシシでの感染状況だけでなく、ヒツジやウシでの感染状況報告<sup>4, 31, 36)</sup>、ラクダでの感染状況<sup>68)</sup>、ロバでの感染事例<sup>71)</sup>、中間宿主調査<sup>72)</sup>と、情報が中東地域では突出して多い。ウシでの感染状況は、1970年代にテヘランの屠畜場で555頭のウシを調べ、49.7%に美麗食道虫が検出されている<sup>4)</sup>。この際の寄生数は最高48隻で、1頭あたりの平均寄生数は2.7隻であった。

### 3) 齧歯類からの報告

米国バージニア州で1967-1970年に調べられた168頭中4頭のトウブハイイロリス (*Sciurus carolinensis*) に1-6隻の美麗食道虫寄生が報告されている<sup>80)</sup>。更に、同州からはビーバー (*Castor Canadensis*) 1頭からも雄虫5隻、雌虫4隻の偶発感染が報告されている<sup>79)</sup>。両報告とも、齧歯類での珍しい感染症例であることから詳しい計測値の記述がある。

種名は不明ながら、Duncanら<sup>32)</sup>は、新世界ザルを中心に12頭のサル類で口腔内食道虫症が見られた施設で、チビオスダリス (*Sundasciurus lowii*)、フロリダウッドラット (*Neotoma floridana*)、ハントゲネズミ (*Proechimys semispinosus*)、ルイジアナハタネズミ (*Microtus ochrogaster*)、ハツカネズミ (*Mus musculus*) での *Gongylonema* 属食道虫の舌寄生を確認した。

### 4) その他

Goldberg<sup>11)</sup>は、米国メリーランド州のシマスカンク (*Mephitis mephitis*) での感染例を報告した。テキサス州でも、シマスカンク23頭中2頭、テキサスブタバナスカンク (*Conepatus leuconotus*) 28頭中1頭の食道に1隻ずつの食道虫感染が報告されている<sup>78)</sup>。

Chakraborty<sup>18)</sup>は、インドのアッサム州立動物園で1985年から1989年に死亡した214頭の草食動物のうち11頭に美麗食道虫感染があったと報告した。それらは、アクシスジカ (*Cervus axis*) 2頭、サンバー (*Cervus unicolor*) 3頭、インドマメジカ (*Tragulus meminna*) 1頭、ニルガイ (*Boselaphus tragocamelus*) 2頭、スマトラカモシカ (*Capricornis sumatraensis*) 2頭、キリン (*Giraffa camelopardalis*) 1頭である。

## 6. 世界からの人体感染症例の発生報告

Harukiら<sup>16)</sup>による既報告一覧とその後の報告<sup>11, 70, 101, 108)</sup>をまとめると、1850年以降の人体症例の報告数は少なくとも51例を数える。国別では、合衆国(13例)、旧ソ連(6例)、中国(6例)、ブルガリア(4例)、イタリア(3例)、日本(3例)、ドイツ(3例)、モロッコ(2例)、モルドバ(2例)、ウクライナ(1例)、ニュージーランド(1例)、スリランカ(1例)、ジョージア(1例)、ウズベキスタン(1例)、旧チェコスロバキア(1例)、ハンガリー(1例)、スペイン(1例)、イラン(1例)となっている。患者は思春期から壮年期で、女性が多い傾向がある<sup>16)</sup>。また、単数寄生が多いものの、2隻以上6隻までの複数寄生例が少なくとも16症例はある。患者は外来を頻回訪れるも、その原因は不明とされ、なかには寄生虫症妄想として精神科が紹介されている例が散見される<sup>70, 101)</sup>。このような症例の1つとして、イランでの患者発生について紹介する。35歳女性が頸部と口腔内に何かか動めく感覚を訴えて近医を受診したが、寄生虫症妄想と診断され1年間が経過した。大学病院でalbendazole(400mg)を投与し、9時間後に、舌小帯に2隻(雌雄各1)の美麗食道虫が活発に粘膜内を移動するのが観察され摘出された<sup>70)</sup>。あるいは、患者自身が口腔内に異物感を感じて、手指で引き出して、医療機関に持ち込む例も散見される<sup>27, 33, 108)</sup>。38歳の米国人女性患者

は自己体験として、美麗食道虫の1日の口腔内粘膜での移動を2-3cmと語っている<sup>107)</sup>。不顕性感染が多いこと、確定診断に至らず放置される症例が多いことを考えると、報告数は実際の感染者のごく一部であろう。

Wildeら<sup>106)</sup>は、東南アジア(ラオス)で活動する日本人農業開発専門家について、食道虫感染症例として報告した。自覚症状のない不顕性感染であったが、糞便中に虫卵の排出があり、末梢血好酸球が42%であったことから、Albendazole(400mg/8時間)3連日の治療を行い、1ヶ月後には好酸球比は8%に低下、糞便中に虫卵も確認できなくなったと記している。東南アジア初症例とされたが、その後、次に述べるような事例の確認があつて、食道虫症寄生ではなかったと推測されている。すなわち、タイ住民3,342名の集団便検査で9検体から食道虫卵が検出されたが、連日検査では翌日には陰性となること、検出される虫卵は美麗食道虫卵の特徴をもつが、虫卵が幼虫形成卵とは限らないことが根拠となつて、食事に起因する偽寄生(他種動物に寄生する食道虫を食べ、便に虫卵を認める現象)とみなされた<sup>81)</sup>。アフリカ大陸でも、1,548検体のうち13検体に同様の糞便内虫卵を認め、偽寄生と判断された<sup>39)</sup>。

## 7. 実験終宿主を用いた体内発育の研究

Lucker<sup>62)</sup>は、反芻動物寄生種とブタ寄生種が同一種であること、反芻動物寄生種の実験宿主としてラット、モルモット、ウサギが有用であること、マウス、イヌ、ニワトリへの感染性は欠くとした。Alicata<sup>2)</sup>は、モルモットを用いて感染後の体内発育を詳細に観察した。感染後30分-1時間で、感染幼虫は胃壁もしくは食道・胃接合部に近い食道粘膜に侵入し、3日目には食道・胃接合部から3cm上方の食道粘膜から舌根部にかけて局在し、舌を含めた口腔内粘膜へと集まった。感染12日目でも3期幼虫は検出されるが、そのサイズは感染幼虫の2倍(2.8-7.8mm)に成長していた。感染9日目には3回目の脱皮が始まり、4期幼虫への発育がみられた。4期幼虫では生殖原基が出現し、感染27-31日目には雄虫で体長は11-12mm、雌虫で18-20mmに成長した。4期幼虫の前期では体表はスムーズであるが、後期になると頭側の体表に疣状隆起が見られるようになった。そして、最後(4回目)の脱皮が始まるが、感染37日目までは4期幼虫のクチクラを脱ぐことはない。成虫では、雌虫の陰門が開口し、雄虫では総排泄孔の前後に位置する乳頭が見られるようになる。感染70日目では、雄虫は体長32mm、最大体幅140 $\mu$ m、左右交接刺はそれぞれ8.5mmと121 $\mu$ mであり、雌虫は55-60mm、最大体幅235 $\mu$ mと成長し産卵が始まる。虫卵を外界環境(-6.6~37.7 $^{\circ}$ C)あるいは室内環境(22-24 $^{\circ}$ C)に4ヶ月放置しても、中間宿主への感染性が保持されることも示されている<sup>2)</sup>。Gupta<sup>10)</sup>は、3頭のウサギにウシ由来美麗食道虫3期幼虫を実験感染し、35、50、84日目での成虫の発育状況を詳細に報告し、美麗食道虫の感染実験におけるウサギの有用性を示唆している。

Kudoら<sup>57)</sup>は、牧野で採取した食糞性甲虫に寄生する美麗食道虫3期幼虫20-140隻をウサギ、Wistarラット、ddYマウス、Suffolk系ヒツジ、ネコに経口投与し、マウスとネコを除いて、感染が成立することを報告した。ウサギとヒツジでは高い感染率が見られ、また、

感染後の発育もほぼ同様であり、美麗食道虫の実験感染モデルとしてのウサギの有用性を示した。ラットでも感染19週目で3.3-25.0% (投与数は20もしくは30幼虫)であったが、発育が悪く、19週目虫体にもかかわらず子宮内虫卵はほとんどなかった。ごく短期間であれば、マウスからも虫体回収は可能である<sup>57)</sup>。感染5日目までは高い回収率が得られ、少なくとも10日目までは感染が確認されている。Kudoら<sup>58)</sup>は薬効評価のため、*in vitro*で各種駆虫薬に暴露した3期幼虫をマウスに経口投与し、24時間後に胃前庭部からの虫体回収率を比較している。この実験において、対照群では経口投与した20隻の幼虫のうち60-100%が回収されている。

Kudoら<sup>59)</sup>は、牧野で採取した食糞性甲虫に寄生する美麗食道虫3期幼虫50もしくは100隻を2-3ヶ月齢のウサギに経口投与し、感染52週までの感染を追跡した。虫体回収率は54-91% (平均67.5%)で、感染9週目には自然宿主であるウシから分離される虫体に近いサイズに発育していた。このように高い虫体回収率は、他の研究者も報告しているが<sup>63), 87)</sup>。Kudoら<sup>59)</sup>は下述のように詳細な体内移行と発育を記録している。すなわち、経口投与後2時間後には食道・胃接合部の粘膜に侵入し、その後上行して口腔(咽頭、舌、頬)粘膜で発育、11日目に4期幼虫となり、36日目に成虫となった。雄虫は7週目、雌虫は9週目に性成熟に至り、プレパレントピリオドは72-81日であった。30週以降では主として食道粘膜から検出されるようになる。工藤らは、ウサギでの実験感染後29ヶ月後にも15隻の成虫を回収しており(投与数は3期幼虫30隻)、感染期間も長いことを未発表データとして記している<sup>59)</sup>。Alicata<sup>2)</sup>によるモルモットでの実験感染でも、3期幼虫の経口投与後30分以内に食道・胃接合部に近い食道粘膜に侵入し、その後、食道を上行、3日目以内には口腔粘膜に局在するとされている。

## 8. 美麗食道虫の病害性とその治療

CebotarevとPoliscus<sup>10)</sup>は、ウクライナ地方で生産されるウシやヒツジでの美麗食道虫感染の病害性、致死例を報告している。この地域での牛での感染率は32-94%、ヒツジでは39-95%、ブタでは0-37%と報告している。Fig. 9に、国内のウシおよびシカでの美麗食道虫症食道の組織像を示す。寄生数の少ないウシでは、虫体断面は棘細胞層より上層にあり、粘膜固有層での炎症細胞応答もみられていない。一方、300隻以上の美麗食道虫寄生のあったシカでは、時に、基底細胞層をも破壊し、固有層と直に接する虫体断面もあり、

また、粘膜固有層での炎症細胞浸潤も顕著である。但し、炎症応答は形質細胞など単核細胞が主体で、顆粒球の浸潤は軽度である。Fig. 9に組織像で示したシカ症例の肉眼像をFig. 2とFig. 3に示す。家畜での美麗食道虫症は、一般には病害性が低いことから、寄生自体に対して駆虫は考えなくてよいだろう。シカでの感染については、国内でも地域によりかなりの重度感染があることから、病害性がないとは思えないが、生前観察が難しく臨床的意義を述べることができない。

さて、動物園動物、特に小型の新世界ザルでは臨床

症状を呈し、駆虫を考える価値は十分にある。口腔粘膜や舌、口唇寄生が頻発するサル類では、食道を主たる寄生部位とする他種動物での感染とは異なり、寄生性の口内炎もしくは自傷性の口内炎を引き起こしやすく、*Pasteurella multocida*による敗血症死の原因となる可能性は上述した<sup>32)</sup>。また、ゲルディマーモセツ (*Callimico goeldii*)、ゴールドンライオンタマリン (*Leontopithecus rosalia*)、ワタボウシタマリン (*Saguinus oedipus*)での顔面掻痒感や流涎症が報告されている<sup>1)</sup>。

ゲルディマーモセツでのmebendazole (70mg/kg p. o.) 3連日/月や, albendazole, levamisole, flubendazoleの有効性が報告されているが<sup>32, 33, 50, 53, 61)</sup>, ivermectinにつ

いては有効性の確認がない<sup>11, 21, 32)</sup>。Kudoら<sup>59)</sup>は, thiabendazole, mebendazole, levamisole, ivermectinの美麗食道虫駆虫効果を*in vitro*暴露後のマウスへの感染性評価, ウサギでの感染4ヶ月目に投薬を行う*in vivo*効果判定を行い, levamisole (8 mg/kg, 単回経口投与)で63.2%の寄生数減少があり, mebendazole (70mg/kg, 3連日経口投与)やivermectin (0.2mg/kg, 単回皮下投与)ではその効果はかなり低いとした。thiabendazole (100mg/kg, 3連日経口投与)は駆虫効果がまったくなかったが, 回収された雌虫の子宮内虫卵の約4割に幼虫形成異常が見られたと報告している<sup>59)</sup>。

## 9. 遺伝子解析からみた美麗食道虫

### 1) 18SリボソームRNA遺伝子 (18S rDNA)

動物界あるいは寄生虫に分類される動物群を網羅するかたちで遺伝子情報が集積しつつあることから, 18S rDNAを用いた分子系統樹が現在構築され, 従来の形態系統樹にはなかった新たな視点が私たちにもたらされている<sup>12, 13, 28, 29)</sup>。Blaxterら<sup>103)</sup>は, 寄生性および自由生活性の線虫59種について分子系統樹を構築し, 動物寄生性線虫の起源が少なくとも4回, 独立的にあった可能性を客観的に示して衝撃を与えた。この際に, 動物寄生性線虫が多く集まった‘clade III’ (Spirurina 亜目)には, 従来, 近縁性がそれほどには認識されていなかった旋尾線虫類 (Spiruromorpha 下目), 蛔虫類 (Ascaridomorpha 下目), 蟯虫類 (Oxyuridomorpha 下目)が含まれ<sup>25)</sup>, その近縁性をより詳しく, 分類体系の下位レベルで解析する試みが現在, 精力的に取り組まれている<sup>68, 75, 76, 105)</sup>。しかし, 未だサンプリングは一部の分類群に偏り<sup>12, 63)</sup>, 十分な解析が行われるためには更に広く, 精力的に寄生虫を集める必要がある (Table 4)。

美麗食道虫が分類される *Gongylonema* 属 (*Gongylonematidae* 科) と血色食道虫が分類される *Spirocercia* 属 (*Spirocercidae* 科) は, 同じ *Spiruroidea* 上科に分類されていることは前述した通りである<sup>17, 25)</sup>。ところが, 実際に美麗食道虫の18S rDNA塩基配列を決定し, 分子系統樹を構築すると, 必ずしも近縁とはいえないことが私たちの研究から判明した<sup>90)</sup> (Fig. 10)。この分子系統樹解析においては, 18S rDNA塩基配列の中でも保存性のよい領域のみが解析対象となる<sup>97)</sup>。このような領域は, 18S rDNA塩基配列の二次構造図を描いた場合, そのステム構造を作る部分に相当する (Fig. 11)。分子系統樹解析では除外される, Fig. 11にグレー背景で示したループ部分 (VR1-VR12) は高変異領域で, 「科」や「上科」, 「下目」レベルでさまざまな保存性がみられる。この領域を美麗食道虫と血色食道虫と比較しても, 両者の共通性は低く, むしろ, *Spiruromorpha* 下目の他の上科とそれぞれが高い類似

性をもっている。*Gongylonematidae* 科, *Spiruridae* 科, *Spirocercidae* 科, *Hartertiidae* 科が分類される *Spiruroidea* 上科には獣医寄生虫学でも馴染みの深い線虫が多いことから, 材料確保に有利な獣医学領域研究者により, この分類群が近い将来において整理されることを期待したい。

### 2) リボソームRNA遺伝子 internal transcribed spacer (ITS) 領域

rDNAの一連の遺伝子のうち, 18S, 5.8S, 28Sといったその構造に関わる塩基配列の保存性は高いが, 核遺伝子の段階でその間を繋ぎ, 最終産物リボソームRNAとは成らない部分がITS1 (18S rDNAと5.8S rDNAの間に介在)とITS2 (5.8S rDNAと28S rDNAの間に介在)である。この領域の塩基配列には, 種間や種内系統により塩基配列にしばしば変異が観察される。我々が現在までに国内から集めた美麗食道虫は, 主としてITS領域の塩基配列によりシカ型とウシ型に分かれることが判明した<sup>90)</sup> (Table 5)。動物園リスザル由来の美麗食道虫はウシ型であり, また, ウシ型には国内から集めたウシ由来の虫体だけでなく, イランの在来牛から収集した虫体も含まれていた。このことは, 国内美麗食道虫の起源や伝播を考える上で重要な意味をもっていると考えられた。しかし, 最近の寄生虫学分野での遺伝子解析においても, 核DNAだけでなく, ミトコンドリアDNA (mtDNA) の解析を行う必要性が認識されてきた<sup>3, 8, 22, 25, 100, 101)</sup>。より多角的な遺伝子解析を行うことで, 真の生物系統地理学的理解が得られることは, 他の生物と同様である<sup>7)</sup>。

### 3) mtDNAのcytochrome c oxidase遺伝子 (COI)

国内ウシやイラン産ウシに由来する美麗食道虫, 兵庫県や高知県で収集したシカに由来する美麗食道虫, ポリビアリスザルコロニーとコモンリスザルコロニーをもつ国内2ヶ所の動物園で収集した美麗食道虫につ



Table 4 Spiruromorpha下目の各科毎にみた18S rDNA塩基配列登録種数の現状

上科	科	登録のある種数*
Camallanoidea Railliet and Henry, 1915	Camallanidae Railliet and Henry, 1915	4
Physalopteroidea Railliet, 1893	Physalopteridae Railliet, 1893	5
Rictularoidea Hall, 1915	Rictulariidae Hall, 1915	-
Thelazoidea Skrjabin, 1915	Thelaziidae Skrjabin, 1915	-
	Rhabdochonidae Travassos, Artigas and Pereira, 1928	-
	Pneumospiruridae Wu and Hu, 1938	-
Spiruroidea Örley, 1885	Gongylonematoidea Hall, 1916	1
	Spiruridae Örley, 1885	-
	Spirocercidae Chitwood and Wehr, 1932	2
	Hartertiidae Quentin, 1970	-
Habronematoidea Chitwood and Wehr, 1932	Heedruridae Railliet, 1916	-
	Habronematidae Chitwood and Wehr, 1932	4
	Tetrameridae Travassos, 1914	-
	Cystidicolidae Skrjabin, 1946	1
Acuarioidea Railliet, Henry and Sisoff, 1912	Acuariidae Railliet, Henry and Sisoff, 1912	3
Filarioidea Weinland, 1858	Filariidae Weinland, 1858	-
	Onchocercidae Leiper, 1911	8
Aproctoidea Yorke and Maplestone, 1926	Aproctidae Yorke and Maplestone, 1926	-
	Desmidocercidae Cram, 1927	-
Diplotriaenidae Skrjabin, 1916	Diplotriaenidae Skrjabin, 1916	1
	Oswaldofilariidae Chabaud and Choquet, 1953	-
Dracunculoidea Stiles, 1907	Dracunculidae Stiles, 1907	3
	Philometridae Baylis and Daubney, 1926	7
	Phlyctainophoridae Roman, 1965	-
	Skrjabillanidae Schigin and Schigina, 1958	2
	Anguillicolidae Yamaguti, 1935	1
	Guyanemidae Petter, 1975	-
	Micropleuridae Baylis and Daubney, 1926	1

\* '-' は、科内のいかなる種にも塩基配列の登録が現在ないことを示す。

いて、mtDNAのCOI領域369塩基対について配列を決定した<sup>90)</sup>(Table 6)。このmtDNA解析においても、今回収集した美麗食道虫は、シカ型とウシ型に大別された。細かに見ていくと、シカ型、ウシ型両者ともに更に二分され、兵庫シカ型、高知シカ型、ウシ型タイプIとタイプIIになる。イラン産ウシや動物園リスザルに由来する美麗食道虫は一致し、国産牛がもつウシ型タイプIとは1塩基の違いである。アミノ酸レベルでいえば、これらの塩基配列の変異は同義置換の範囲内であり、わずかに高知シカ型で123アミノ酸のうち26番目がalanineからthreonineに置換していた。ヒト蛔虫とブタ蛔虫の遺伝子解析等で問題とされたrDNA解析とmtDNA解析結果の非相関性は<sup>3)</sup>、今回の美麗食道虫の遺伝子解析では見られていない。すなわち、異なる2つの遺伝子型、シカ型とウシ型において、その共通祖先段階での遺伝子プールの多様性、あるいは、その後のハイブリッド出現が現在までのところでは確認されていない。

#### 4) 美麗食道虫の国内起源と伝播

上記のように、現在国内に分布する美麗食道虫には、

少なくともシカあるいはウシといった宿主由来と合致して、異なる遺伝子型が確認できた。このことから、家畜であるウシと野生動物であるシカに、固有の遺伝子型をもつ美麗食道虫が共有されることなく感染し、現在までその生活環が維持されてきた可能性が示唆された<sup>90)</sup>。Fig. 12にまとめたように、従来、(A)で示すように、中間宿主の摂食により、生活の場を共有する動物間で美麗食道虫の伝播は起こると理解されてきたが、実際には、(B)で示すように、家畜間で維持される伝播と野生動物間で維持される伝播が独立的に存在する可能性が高い。野生動物であるシカとサルで、共通する遺伝子型をもつ美麗食道虫が伝播しているのか否か、この点は今後の確認が必要となる。

次に、国内のウシでみられる美麗食道虫に、異なる2つの遺伝子型、タイプIとタイプIIが確認され、全国的に混在するかたちで分布している事実は何を意味するのであろうか。我々は、この点を、次のように仮説を立て、今後の研究を通して検証したいと考えている。すなわち、ウシ型タイプIは、国内のウシとともにイラン産ウシから得た美麗食道虫の遺伝子型とも共通することから、世界的な分布をもつ、少なくともウ

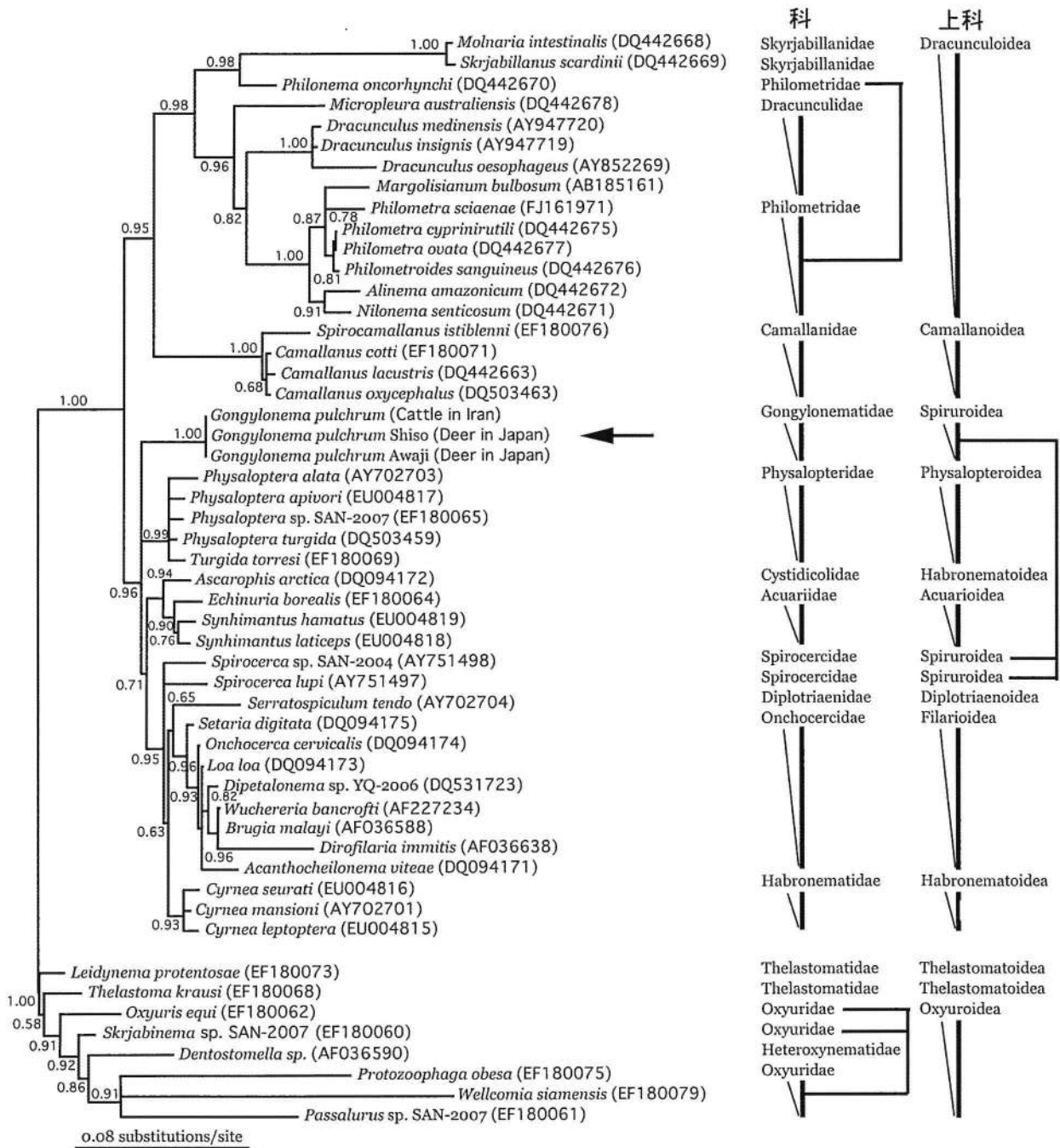


Fig. 10 18S rDNAに基づいて、ML法(Guindon & Gascuel<sup>42)</sup>によって構築した旋尾線虫類(Spiruromorpha下目)の分子系統樹を示す。蟻虫類(Oxyuridomorpha下目)を外群としている。矢印が美麗食道虫。信頼検定はaLRT(approximate likelihood-ratio test)による。

シを宿主とする美麗食道虫である。国内のウシは、役牛として、近年は肉用牛となっている和牛と、乳用牛を中心に輸入された欧米牛から構成されている。このことを考慮すると、美麗食道虫ウシ型タイプIは欧米牛とともに国内に分布を拡げたと推測され、一方のウシ型タイプIIは和牛との関わりが深いと推測される。和牛は近年の欧米牛との交配を経て今日的なかたちに確立されたのであるが、元を辿れば、稲作と共に中国北部から朝鮮半島を経由して渡来した在来牛に行き着

く<sup>65, 66, 91)</sup>。朝鮮半島や中国大陸での美麗食道虫の遺伝子型確認を進めることで、この推測の妥当性が検証できるだろう。

もう一方のシカ型であるが、現在までの研究では、兵庫県と高知県からの材料検索に終わっている。この2地域のシカに如何なる違いがあるのか、ここにシカ型美麗食道虫にみられた2つのCOIタイプを説明できる鍵がある。宿主となるシカについて、国内の地理学的分布域に応じた亜種の存在は昔から指摘のあるとこ

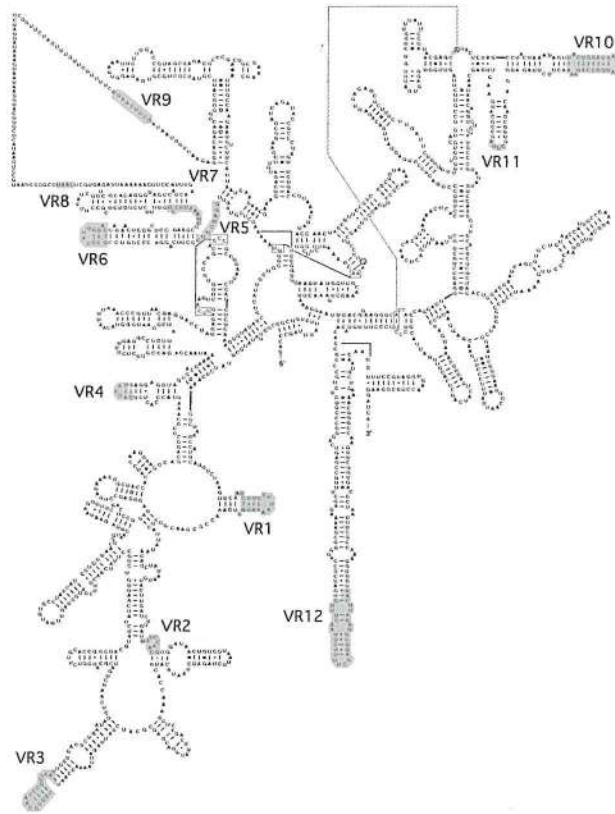


Fig. 11 美丽食道虫18S rDNAの推測2次構造図. Spirurina亜目(Spiruromorpha下目, Ascarifomorpha下目, Oxyuridomorpha下目)に属する種間で、塩基変異が高頻度にみられる領域をグレー背景で示した(VR1-VR12). これらの領域は、通常分子系統樹解析では、解析から除外されている<sup>30)</sup>.

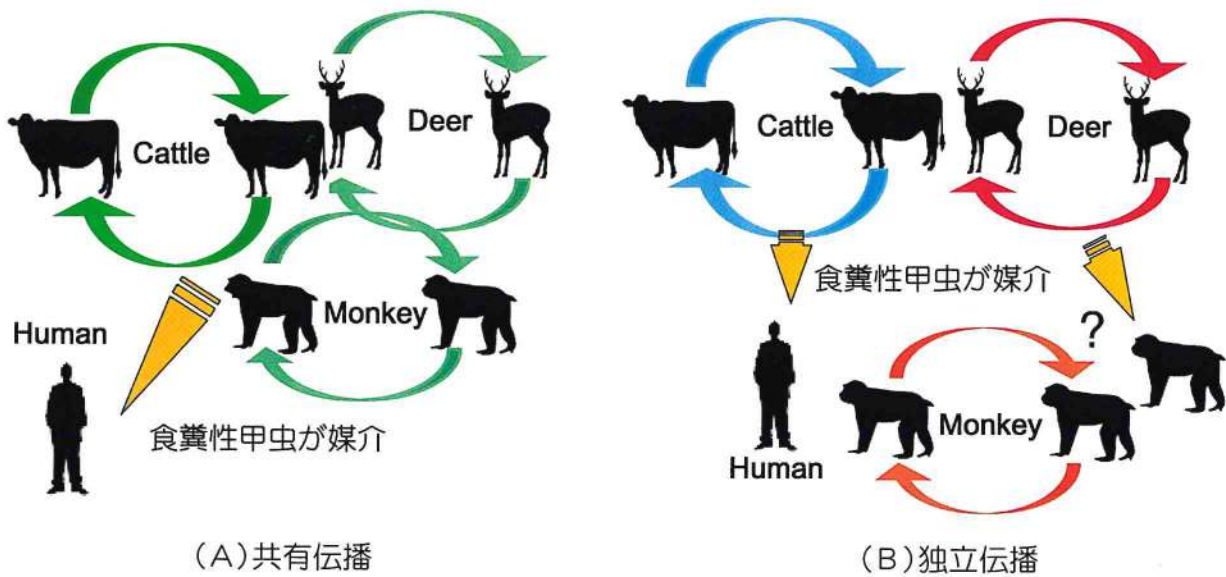


Fig. 12 美丽食道虫の伝播に関する模式図. (A) 共有伝播. 美丽食道虫は広い宿主域をもち、感染機会があれば感受性動物に感染が成立すると考える従来の考え. (B) 独立伝播. 自然界で実際にみられる伝播では、少なくとも国内の家畜(ウシ)と野生動物(シカ)では伝播が共有されていない. サルでの伝播が他種動物とどのような関係をもつかは今後の課題である.

Table 5 美麗食道虫の宿主由来により異なる rDNAの塩基配列

宿主	採集地	DDBJ/EMBL/ GenBank 登録番号	rDNA塩基配列において塩基に変化がみられた位置*				ITS2		28S	
			18S	ITS1	66-74	85	542	859		
シカ	兵庫県南あわじ市	AB495394 - AB495396	A	AG (A) x 12-19 (CA) x 5 (TA) x 1 (CA) x 4	(TA) x 1 (CA) x 4	TTGCTGCTG	T	C	C	
	兵庫県宍粟市	AB495397 - AB495400	A	AG (A) x 15-18 (CA) x 4-5 (TA) x 1-2 (CA) x 4	(TA) x 1 (CA) x 4	TTGCTGCTG	T	C	C	
ウシ	岡山県/鳥取県	AB513707 - AB513710	G	-- (A) x 14-15 (CA) x 3 (TA) x 1 (CA) x 7-9	(TA) x 1 (CA) x 7-9	-----	-----	G	A	
		AB513711 - AB513718	G	-- (A) x 13-17 (CA) x 3-4 (TA) x 1 (CA) x 4-10	(TA) x 1 (CA) x 4-10	-----	-----	G	A	
	大分県	AB513719 - AB513723	A	-- (A) x 12-14 (CA) x 3-4 (TA) x 1 (CA) x 6-8	(TA) x 1 (CA) x 6-8	-----	-----	G	Y	
	鹿児島県	AB495389 - AB495393	A	-- (A) x 12-14 (CA) x 3 (TA) x 1 (CA) x 3-8	(TA) x 1 (CA) x 3-8	-----	-----	G	A	
ウシ	国内動物園	AB495401 - AB495402	G	-- (A) x 12-13 (CA) x 3 (TA) x 1 (CA) x 7-8	(TA) x 1 (CA) x 7-8	-----	-----	G	A	

\* 兵庫県南あわじ市で捕獲されたシカに由来する美麗食道虫のrDNA登録塩基配列 (DDBJ/EMBL/GenBank登録番号AB495394)を基準にして位置を示す。また、'-'はギャップを示す。

Table 6 美麗食道虫ミトコンドリアDNA COI 領域にみられる塩基置換

宿主	採集地	頻度	DDBJ/EMBL/GenBank 登録番号	mtDNA COI領域における塩基置換があった位置*
シカ	兵庫県	5/5	AB513724	T G T T C G G T C G A
	高知県	1/1	AB513725	. A . . . . . T A .
ウシ	イラン (タイプ I)	1/1	AB513726	C . C C . T A A . T . .
	日本 (タイプ I)	11/17	AB513727	C . . C . T A A . T . .
	日本 (タイプ II)	6/17	AB513728	C . C C C T . A C T . G
動物園リスザル				
	ボリアリスザル	1/1	AB513729	C . C C . T A A . T . .
	コモンスリスザル	1/1	AB513730	C . C C . T A A . T . .

\* 兵庫県南あわじ市で捕獲されたシカに由来する美麗食道虫のrDNA登録塩基配列 (DDBJ/EMBL/GenBank 登録番号 AB513724)を基準にして位置を示す。ドット (.) は、基準塩基配列 (兵庫県産シカ由来美麗食道虫；最上段) と同一塩基であることを示す。

ろであるが、最近の遺伝子解析は、日本列島への渡来経路と関連させてニホンジカが北方系と南方系に分けられることを明らかにした<sup>74,77,90)</sup>。その境界は、本州では山口県と広島県にあるとされている。四国では、北方系と南方系ニホンジカが混在している<sup>109)</sup>。シカ由来美麗食道虫に関する遺伝子解析はまだ限られた地域

について実施した段階であり、今後の材料収集が待たれるが、兵庫シカ型と高知シカ型の美麗食道虫遺伝子型の違いは、宿主となるシカの日本列島での地理的分散過程を反映している可能性が高いと考えられる。この仮説を検証するためには、国内シカでの美麗食道虫採集地を増やすことが我々の仮説の検証に繋がる。

### さいごに

寄生虫学でも遺伝子解析が日常的に行われ、種鑑別や伝播、感染能、病害性の推測といった応用が行えつつある。しかしながら、まだ、利用できる種と応用分野には限界がある。形態系統分類学に基づいて記載されてきた種を分子系統分類学的視点から検証する努力は緒についたばかりである。最近勃興してきた「生物系統地理学」(phylogeography)<sup>7)</sup>の視点は、寄生虫学分野にも大きな影響を及ぼし、これまで実証的な理解が難しかったこと、時間をかけた知見の集積を待たないと何とも言えなかったことが、短時日のうちに一定の手がかりを得られる機会も増えつつある。美麗食道虫は決して病害性が高いわけでもなく、例え人体症例の発生があったとしても人獣共通寄生虫症の原因として大きく注目されることはあるまい。美麗食道虫について知ることは、実は、我々、寄生虫学の専門家にとって重要な意義がある。広い宿主域をもつと考えることは、周辺動物への感染可能性を意味し、対策の必要性を唱えることに繋がる。突然の寄生虫確認を、どのような経緯の下で起こったことなのか、その可能性を探り、社会的な意義を考えなくてはならない。もっと根元的には、寄生虫の地理的分布や伝播の機微に触れたいと思う興味である。寄生虫の分子分類学的手法を交えた同定技術は、今後、益々進展し、伝播の複雑さを明らかにするだろう。寄生虫学はまだまだ成育過程の学問であり、過去に記載された種の整理と新たな種の提唱、地理的な分布・分散の確認さえもが現在まさに進行している。応用科学としての獣医学にあつて、時に、太古の宿主動物の種分化や地球規模での地理学的分散を知り、多岐に亘る分類群に実際には分散する「寄生虫」<sup>39)</sup>という生物の進化を考えることもできる分野である。人と動物の関わり方の歴史を学び、時には古書を探って種の記載を見つけだして、先人の鋭い目に打ちのめされたり、そうでもなかったり、さまざまな出逢いがある。明日の寄生虫学は、地球の種の多様性を称え、ダイナミックな伝播と宿主との相互関係を語るだろう。好奇心に満ちた若いエネルギーの地道な標本収集と解析があつてこそ実現するが、果たして、寄生虫学の明日はいつ来るのだろうか。収集した寄生虫に「美麗」と名付けたR. Molinの感動は、まだまだ引き継がれるべきだろう。

### 謝 辞

我々の美麗食道虫に関する研究は、多数の協力者を得て実施できている。宇根有美、金城芳典、北川 梢、齋田 栄里奈、佐々木基樹、鈴木和男、説田 景、高田真理子、前田 健、西田勝利、西田和正、長谷川英男、藤田志歩、古岡秀文、横山真弓、Ali Halajian (順不同、敬称略)の諸氏には貴重な材料や情報のご提供と討議を通して、研究の進展を支えていただいている。この機会に厚くお礼を申し上げたい。美麗食道虫研究を積み上げられている同門先輩の工藤上博士(北里大学)、人体症例についてご教示いただいた原樹博士(久留米大学)、走査電子顕微鏡観察を助けていただいた田中秀博博士(山口大学)にも大変お世話になった。また、このような発表機会をいただいた(社)山口県獣医師会柴田 浩会長ならびに山口獣医学雑誌山縣 宏編集長にも深謝申し上げる。この研究の一部は、財団法人森永奉仕会の平成19年度総合研究奨励金、ならびに日本学術振興会科学研究補助金(19580355, 20570090, 22580349)の助成を受けた。

### 参考文献

- 1) Adkesson, M. J., Langan, J. N. and Paul, A.: Evaluation of control and treatment of *Gongylonema* spp. infections in callitrichids. *J. Zoo Wildl. Med.*, 38: 27~31. 2007.
- 2) Alicata, J. E.: Early developmental stages of nematodes occurring in swine. *US Depart. Agr. Tech. Bull.* 489: 1~96. 1935.
- 3) Anderson, T. J. C.: The dangers of using single locus markers in parasite epidemiology: *Ascaris* as a case study. *Trends Parasitol.*, 17: 183~188. 2001.
- 4) Anwar, M., Rak, H. and Gyorkos, T. W.: The incidence of *Gongylonema pulchrum* from cattle in Tehran, Iran.

- Vet. Parasitol.*, 5: 271~274. 1979.
- 5) Asakawa, M., Tomikura, T., Motokawa, M. and Harada, M.: The first report of parasitic nematodes of *Apodemus* spp. (Muridae: Rodentia) collected on Ohsumi Islands, Kaogoshima Pref., Japan. *Bull. Biogeogr. Soc. Japan*, 53: 29~33. 1996.
  - 6) Ashour, A. A. and Lewis, J. W.: *Gongylonema aegypti* n. sp. (Nematoda: Thelaziidae) from Egyptian rodents. *Syst. Parasitol.*, 8: 199~206. 1986.
  - 7) Avise, J. C. 著、西田睦・武藤文人監訳: 生物系統地理学——種の進化を探る(原題: Phylogeography; the history and formation of species. Harvard College. 2000). 東京大学出版会. 2008.
  - 8) Badaraco, J. L., Ayala, F. J., Bart, J.-M., Gottstein, B. and Haag, K. L.: Using mitochondrial and nuclear markers to evaluate the degree of genetic cohesion among *Echinococcus* populations. *Exp. Parasitol.*, 119: 453~459. 2008
  - 9) Baylis, H. A.: On the species of *Gongylonema* (Nematoda) parasitic in ruminants. *J. Comp. Path. Ther.*, 38: 46~55. 1925.
  - 10) Baylis, H. A., Sheather, L. A. and Andrews, W. H.: Further experiments with the *Gongylonema* of cattle. *J. Trop. Med. Hyg.*, 29: 194~196. 1926.
  - 11) Baylis, H. A., Sheather, L. A. and Andrews, W. H.: Further experiments with the *Gongylonema* of cattle-II. *J. Trop. Med. Hyg.*, 29: 346~349. 1926.
  - 12) Blaxter, M. L.: Nematoda; genes, genomes and the evolution of parasitism. *Adv. Parasitol.*, 54: 101~195. 2003.
  - 13) Blaxter, M. L., De Ley, P., Garey, J. R., Liu, L. X., Scheldeman, P., Vierstraete, A., Vanfleteren, J. R., Mackey, L. Y., Dorris, M., Frisse, L. M., Vida, J. T. and Thomas, W. K.: A molecular evolutionary framework for the phylum Nematoda. *Nature*, 392: 71~75. 1998.
  - 14) Brack, M.: Gongylonemiasis in the common marmoset (*Callithrix jacchus*). *Lab. Anim. Sci.*, 46: 266~270. 1996.
  - 15) Cappucci, D. T. Jr., Augsburg, J. K. and Klinck, P. C.: Gongylonemiasis. In *Handbook Series in Zoonoses Section C: Parasitic Zoonoses*, Vol. II, Steele, J. H. (ed.), CRC Press, Boca Raton, Florida, U. S. A., pp. 181~192. 1982.
  - 16) Cebotarev, R. S. and Poliscuk, V. P.: Gongylonemiasis of domestic animals under conditions of Ukrainian Polesie and forest-steppe areas. *Acta Parasitol. Pol.*, 7: 549~559. 1959.
  - 17) Chabaud, A. G.: Class Nematoda: Keys to Subclasses, Orders and Superfamilies. In *CIH keys to the nematode parasites of vertebrates*, No. 1, Anderson, R. C., Chabaud, A. G. and Willmott, S. (eds.), pp. 6~17. Commonwealth Agricultural Bureaux, Farnham Royal, Bucks, U. K. 1974.
  - 18) Chakraborty, A.: Occurrence and pathology of *Gongylonema* infection in captive wild herbivores. *Vet. Parasitol.*, 52: 163~167. 1994.
  - 19) Chandler, A. C.: *Gongylonema pulchrum* in the black bear, *Euarctos americanus*, and the probable synonymy of *G. pulchrum*. Molin, 1857, with *G. ursi*. (Rudolphi, 1819). *J. Parasitol.*, 36: 86~87. 1950.
  - 20) Chapin, E. A.: Preliminary note on a new species of *Gongylonema* from American. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 14: 68. 1922.
  - 21) Chapin, E. A.: A species of round worm (*Gongylonema*) from domestic swine in the United States. *Proc. U. S. Nat. Mus.*, 62: 1~3. 1922.
  - 22) Constantine, C. C.: Importance and pitfalls of molecular analysis to parasite epidemiology. *Trends Parasitol.*, 19: 346~348. 2003.
  - 23) Coombs, D. W. and Springer, M. D.: Parasites of feral pig X : European wild boar hybrids in southern Texas. *J. Wildl. Dis.*, 10: 436~441. 1974.
  - 24) Craig, I. E., Kinsella, J. M., Lodwick, L. J., Cranfield, M. R. and Strandberg, J. D.: *Gongylonema macrogubernaculum* in captive African squirrels (*Funisciurus substriatus* and *Xerus erythropus*) and lion-tailed macaques (*Macaca silenus*). *J. Zoo Wildl. Med.*, 29: 331~337. 1998.
  - 25) Criscione, C. D., Poulin, R. and Blouin, M. S.: Molecular ecology of parasites: elucidating ecological and microevolutionary processes. *Mol. Ecol.*, 14: 2247~2257. 2005.
  - 26) Crum, J. M., Nettles, V. F. and Davidson, W. R.: Studies on endoparasites of the black bear (*Ursus americanus*) in the southeastern United States. *J. Wildl. Dis.*, 14: 178~186. 1978.

- 27) Crusz, H. and Sivalingam, V.: A note on the occurrence of *Gongylonema pulchrum* Molin, 1857, in man in Ceylon. *J. Parasitol.*, 36, 25~26. 1950.
- 28) De Ley, P. and Blaxter, M.: Systematic position and phylogeny. In *The Biology of Nematodes*, Lee, D. L. (ed.), pp. 1~30. Taylor and Francis, London, U. K. 2002.
- 29) de Meeûs, T. and Renaud, F.: Parasites within the new phylogeny of eukaryotes. *Trends Parasitol.*, 18: 247~251. 2002.
- 30) Diouf, M., Bâ, C. T., Marchand, B. and Vassiliadès, G.: *Gongylonema madeleinensis* n. sp. (Nematoda: Spiruroidea), from *Mastomys erythroleucus* (Rodentia) from a Senegalese island. *J. Parasitol.*, 83: 706~708. 1997.
- 31) Dujardin, F.: Histoire naturelle des Helminthes ou vers intestinaux. Librairie encyclopedique de Rorit, Paris, pp. 1~669. 1845.
- 32) Duncan, M., Tell, L., Gardiner, C. H. and Montali, R. J.: Lingual gongylonemiasis and pasteurellosis in Goeldi's monkeys (*Callimico goeldii*). *J. Zoo Wildl. Med.*, 26: 102~108. 1995.
- 33) Eberhard, M. L. and Busillo, C.: Human *Gongylonema* infection in a resident of New York City. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 61: 51~52. 1999.
- 34) Eslami, A. H. and Fakhrzadegan, F.: Les Nematodes parasites du tube digestif des bovins en Iran. *Rev. Elev. Med. Vet. Pays. Trop.*, 25: 527~529. 1972.
- 35) Eslami, A. and Farsad-Hamdl, S.: Helminth parasites of wild boar, *Sus scrofa*, in Iran. *J. Wildl. Dis.*, 28: 316~318. 1992.
- 36) Eslami, A. H. and Nabavi, L.: Species of gastro-intestinal nematodes from sheep in Iran. *Bull. Soc. Pathol. exot.*, 69: 92~95. 1976.
- 37) Fibiger, J.: Investigations on *Spiroptera carcinoma* and the experimental induction of cancer. Nobel Lecture, December 12, 1927. [available at [http://nobelprize.org/nobel\\_prizes/medicine/laureates/1926/fibiger~lecture.pdf](http://nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/1926/fibiger~lecture.pdf)]. 1927.
- 38) Foster, G. W., Cunningham, M. W., Kinsella, J. M. and Forrester, D. J.: Parasitic helminthes of black bear cubs (*Ursus americanus*) from Florida. *J. Parasitol.*, 90: 173~175. 2004.
- 39) Garin, Y., Languillat, G., Beauvais, B., Tursz, A. and Lariviere, M.: Le parasitisme intestinal au Gabon oriental. *Bull. Soc. Pathol. exot.*, 71: 157~164. 1978.
- 40) Gebauer, O.: Beitrag zur Kenntnis von Nematoden aus Affenlungen. *Z. Parasitenk.*, 5: 724~734. 1933.
- 41) Goldberg, A.: Parasites of skunks in the Beltsville, Maryland, area. *Proc. Helminthol. Soc. Wash.*, 21:29~34. 1954.
- 42) Guindon, S. and Gascuel, O.: A simple, fast, and accurate algorithm to estimate large phylogenies by maximum likelihood. *Syst. Biol.*, 52, 696~704. 2003.
- 43) Gupta, V. P.: Experimental development of the oesophageal worm of cattle in rabbit. *Curr. Sci. India*, 39: 237~238. 1970.
- 44) 原樹・野崎良一・眞方紳一郎・山田一隆・米田豊・高尾善則: 内視鏡検査にて見出された美麗食道虫の人体感染例. 臨床寄生虫学会誌, 20: (印刷中). 2010.
- 45) 春木宏介・藤野隆志・横田夏紀・小林富美恵・松井利博・辻守康: 美麗食道虫 (*Gongylonema* spp.) の人体感染例. 臨床寄生虫学会誌, 8: 120~122, 1997.
- 46) Haruki, K., Furuya, H., Saito, S., Kamiya, S. and Kagei, N.: *Gongylonema* infection in man: a first case of gongylonemiasis in Japan. *Helminthologia*, 42, 63~66. 2005.
- 47) Hodda, M., Peters, L. and Traunspurger, W. (2009): Nematode diversity in terrestrial, freshwater aquatic and marine systems. In *Nematodes as Environmental Indicators*, Wilson, M. J. and Kakouli-Duarte, T. (eds.), 45~93pp., CABI, Wallingford, Oxfordshire, U. K. 2009.
- 48) Hugot, J. -P., Baujard, P. and Morand, S.: Biodiversity in helminthes and nematodes as a field of study: an overview. *Nematology*, 3: 199~208. 2001.
- 49) 神谷正男・鎮西弘・佐々学: 奄美南部におけるネズミとその寄生蠕虫について. 寄生虫学雑誌, 17: 436~444. 1968.
- 50) Karr, S. L., Henrickson, R. V. and Else, J. G.: A survey for intestinal helminthes in recently wild-caught *Macaca mulatta* and results of treatment with mebendazole and thiabendazole. *J. Med. Primatol.*, 9: 200~204.

- 1980.
- 51) Kirkpatrick, C. E., Leiby, D. A., Abraham, D. and Duffy III, C. H.: *Gongylonema pulchrum* Molin (Nematoda: Gongylonematidae) in black bears (*Ursus americanus* Pallas) from Pennsylvania. *J. Wildl. Dis.* 22: 119~121. 1986.
  - 52) Kitamura, E., Yokohata, Y., Suzuki, M. and Kamiya, M.: Metazoan parasites of sika deer from east Hokkaido, Japan and ecological analyses of their abomasal nematodes. *J. Wildl. Dis.*, 33: 278~284. 1997.
  - 53) Klaver, P. S. J., Hobbelink, M. E., Erken, A. H. M., Royen, H. I. F., Sluiters, J. F.: *Gongylonema pulchrum* infection and therapy in a pale-head saki (*Pithecia pithecia pithecia*): a case report. *Berh. ber Erkr. Zootiere*, 36: 409~414. 1994.
  - 54) 工藤上、伊藤和彦、小山田隆: 牛の食道より検出された*Gongylonema*属線虫について。第104回日本獣医学会学術集会講演要旨集、108頁。1987.
  - 55) 工藤上、小山田隆、伊藤和彦: 青森県において牛から見出された美麗食道虫 *Gongylonema pulchrum* Molin, 1857について。寄生虫学雑誌, 41: 266~273. 1992.
  - 56) 工藤上、小山田隆、奥津正巳、木下政健: 青森県における美麗食道虫 *Gongylonema pulchrum* Molin, 1857の中間宿主調査。寄生虫学雑誌, 45: 222~229. 1996.
  - 57) Kudo, N., Koreguchi, T., Ikadai, H. and Oyamada, T.: Experimental infection of laboratory animals and sheep with *Gongylonema pulchrum* in Japan. *J. Vet. Med. Sci.*, 65: 921~925. 2003.
  - 58) Kudo, N., Kubota, H., Gotoh, H., Ishida, H., Ikadai, H. and Oyamada, T.: Efficacy of thiabendazole, mebendazole, levamisole and ivermectin against gullet worm, *Gongylonema pulchrum*: in vitro and in vivo studies. *Vet. Parasitol.*, 151: 46~52. 2008.
  - 59) Kudo, N., Kuratomi, K., Hatada, N., Ikadai, H. and Oyamada, T.: Further observations on the development of *Gongylonema pulchrum* in rabbits. *J. Parasitol.*, 91: 750~755. 2005.
  - 60) Lichtenfels, J. R.: Morphological variation in the gullet nematode, *Gongylonema pulchrum* Molin, 1857, from eight species of definitive hosts with a consideration of *Gongylonema* from *Macaca* spp. *J. Parasitol.*, 57: 348~355. 1971.
  - 61) Lubimov, M. P.: *Gongylonema macrogubernaculum* n. sp. (Nematode) from monkeys. *Parasitology*, 23: 446~448. , 1931.
  - 62) Lucker, J. T.: Some cross transmission experiments with *Gongylonema* of ruminant origin. *J. Parasitol.*, 19: 134~141. 1932.
  - 63) Lukes, J., Horak, A. and Scholz, T.: Helminth genome projects: all or nothing. *Trends Parasitol.*, 21: 265~266. 2005.
  - 64) Lyons, E. T., Swerczek, T. W. and Tolliver, S. C.: Parasitologic examination of the eyes, esophagus, lungs, rumen, and feces of cattle and of the small intestine of horses at necropsy in central Kentucky, U. S. A., in 2000 and 2001. *Comp. Parasitol.*, 70: 55~59. 2003.
  - 65) Mannen, H., Kohno, M., Nagata, Y., Tsuji, S., Bradley, D. G., Yeo, J. S., Nyamsamba, D., Zagdsuren, Y., Yokohama, M., Nomura, K. and Amano, T.: Independent mitochondrial origin and historical genetic differentiation in North Eastern Asian cattle. *Mol. Phylogenet. Evol.*, 32, 539~544. 2004.
  - 66) Mannen, H., Tsuji, S., Loftus, R. T. and Bradley, D. G.: Mitochondrial DNA variation and evolution of Japanese black cattle (*Bos taurus*). *Genetics* 150: 1169~1175. 1998.
  - 67) McKenzie, M. E. and Davidson, W. R.: Helminth parasites of intermingling axis deer, wild swine and domestic cattle from the island of Molokai, Hawaii. *J. Wildl. Dis.* 25: 252~257. 1989.
  - 68) Meldal, B. H. M., Debenham, M. N. J., De Ley, P., De Ley, I. T., Vanfleteren, J. R., Vierstraete, A. R., Bert, W., Borgonie, G. Moens, T., Tyler, P. A., Austen, M. C., Blaxter, M. L., Rogers, A. D. and Lamshead, P. J. D.: An improved molecular phylogeny of the Nematoda with special emphasis on marine taxa. *Mol. Phylogenet. Evol.*, 42, 622~636. 2007.
  - 69) Mirzayans, A. and Halim, R.: Parasitic infection of *Camelus dromedaries* from Iran. *Bull. Soc. Pathol. exot.*, 73: 442~445. 1980.
  - 70) Molavi, G. H., Massoud, J. and Gutierrez, Y.: Human *Gongylonema* infection in Iran. *J. Helminthol.*, 80: 425~428. 2006.
  - 71) Molin, R.: Notizie Elmintologishe. Atti Dell'I. R. Istituto Veneto di Scienze, Lettere ed Arti, Venezia 2 :



- 216~223. 1857.
- 72) Movassaghi, A. R. and Razmi, G. R.: Oesophageal and gastric gongylonemiasis in a donkey. *Iran. J. Vet. Res.*, 9: 84~86. 2008.
- 73) Mowlavi, G., Mikaeili, E., Mobedi, I., Kia, E., Masoomi, L. and Vatandoost, H.: A survey of dung beetles infected with larval nematodes with particular note on *Copris lunaris* beetles as a vector for *Gongylonema* sp. in Iran. *Kor. J. Parasitol.*, 47: 13~17. 2009.
- 74) Nabata, D., Masuda, R. and Takahashi, O.: Bottleneck effects on the sika deer *Cervus nippon* population in Hokkaido, revealed by ancient DNA analysis. *Zool. Sci.* 21, 473~481. 2004.
- 75) Nadler, S. A. and Hudspeth, D. S. S.: Ribosomal DNA and phylogeny of the *Ascaridoidea* (Nemata: Secernentea): Implications for morphological evolution and classification. *Mol. Phylogenet. Evol.*, 10: 221~236. 1998.
- 76) Nadler, S. A., Carreno, R. A., Mejia-Madrid, H., Ullberg, J., Pagan, C., Houston, R. and Hugot, J.-P.: Molecular phylogeny of clade III nematodes reveals multiple origins of tissue parasitism. *Parasitology* 134, 1421~1442. 2007.
- 77) Nagata, J., Masuda, R., Tamate, H. B., Hamasaki, S., Ochiai, K., Asada, M., Tatsuzawa, S., Suda, K., Tado, H. and Yoshida, M. C.: Two genetically distinct lineages of the sika deer, *Cervus nippon*, in Japanese Islands: Comparison of mitochondrial D-loop region sequences. *Mol. Phylogenet. Evol.*, 13, 511~519. 1999.
- 78) Neiswenter, S. A., Pence, D. B. and Dowler, R. C.: Helminths of sympatric striped, hog-nosed, and spotted skunks in west-central Texas. *J. Wildl. Dis.* 42: 511~517.
- 79) Ogburn-Cahoon, H. and Nettles, V. F.: *Gongylonema pulchrum* Molin, 1857 (Nematoda: Spiruridae) in a beaver. *J. Parasitol.*, 64: 812. 1978.
- 80) Parker, J. C. and Holliman, R. B.: Notes on *Gongylonema pulchrum* Molin, 1857 (Nematoda: Spiruridae) in the gray squirrel in southwestern Virginia. *J. Parasitol.*, 57: 629.
- 81) Pasuralertsakul, S., Yaicharoen, R. and Sripochang, S.: Spurious human infection with *Gongylonema*: nine cases reported from Thailand. *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, 102: 455~457. 2008.
- 82) Pence, D. B., Warren, R. J. and Ford, C. R.: Visceral helminth communities of an insular population of feral swine. *J. Wildl. Dis.*, 24: 105~112. 1988.
- 83) Popova, Z. G.: A study of the biology of *Gongylonema pulchrum* Molin, 1857 from farm animals. Nauchnie Trudi. *Ukrainski Nauchno-Issledovatel'ski Institut Eksperimentalnoi Veterinari*, 25: 19~30 [in Russian]. 1959.
- 84) Prestwood, A. K., Kellogg, F. E., Pursglove, S. R. and Hayes, F. A.: Helminth parasitism among intermingling insular populations of white-tailed deer, feral cattle, and feral swine. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 166: 787~789, 1975.
- 85) Prestwood, A. K., Purslove, S. R., and Hates, F. A.: Parasitism among white-tailed deer and domestic sheep on common range. *J. Wildl. Dis.*, 12: 380~385. 1976.
- 86) Prestwood, A. K., Smith, J. F. and Mahan, W. E.: Geographic distribution of *Gongylonema pulchrum*, *Gongylonema verrucosum* and *Paramphistomum liorchis* in white-tailed deer of the southeastern United States. *J. Parasitol.*, 56: 123~127. 1970.
- 87) Ramishvili, N. D.: Study of distribution and life cycle of *Gongylonema pulchrum*. *Parazitologicheskii Sbornik*, Tbilisi, 3: 112~136 [in Russian with English summary]. 1973.
- 88) Ransom, B. H., and Hall, M. C.: The life history of *Gongylonema scutatum*. *J. Parasitol.*, 2: 80~86. 1915.
- 89) Rudolphi, C. A. (1819). *Entozoorum Synopsis cui Accedunt mantissa Duplex et Indices Locupletissimi*. Berolini, 811pp. 1819.
- 90) 佐藤宏、説田景、横山真弓、齋田栄里奈、金城芳典、鈴木和男、前田健、宇根有美、長谷川英男; 国内に分布する美麗食道虫 (*Gongylonema pulchrum*) にみられるウシ型とシカ型rDNA. 第148回日本獣医学会学術集会講演要旨集、178頁. 2009.
- 91) Sato, H., Suzuki, K., and Aoki, M. ; Nematodes from raccoon dogs (*Nyctereutes procyonoides viverrinus*) introduced recently on Yakushima Island, Japan. *J. Vet. Med. Sci.*, 68: 693~700. 2006.
- 92) Sato, H., Une, Y. and Takada, M.: High incidence of the gullet worm, *Gongylonema pulchrum*, in a squirrel monkey colony in a zoological garden in Japan. *Vet. Parasitol.*, 127: 131~137. 2005.
- 93) Schwartz, B. and Lucker, J. T.: Experimental transmission of *Gongylonema scutatum* to pigs. *J. Parasitol.*, 18:

46. 1931.
- 94) 師嘉、喬海生、細井榮嗣、小澤忍: ミトコンドリアDNA多型解析に基づく中国青海黄牛と黒色和種との系統関係. 日畜会報, 75, 513~519. 2004.
- 95) Skrjabin, K. I., Sobolev, A. A., and Ivashkin, V. M.: [Spirurata of Animals and Man and the Diseases caused by them. Part 4. Thelazioidea]. Akademiya Nauk SSSR, Gel'mintologicheskaya Laboratoriya Osnovy Nematodologii, Tom XVI, Skrjabin, K. I. (ed.), 1967. Translated from Russian to English by Israel Program for Scientific Translations, Jerusalem, 1971, pp. 610.
- 96) Smith, H. M., Davidson, W. R., Nettles, V. F. and Gerrish, R. R.: Parasitisms among wild swine in the southeastern United States. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 181: 1281~1284. 1982.
- 97) Smythe, A. B., Sanderson, M. J. and Nadler, S. A.: Nematode small subunit phylogeny correlates with alignment parameters. *Syst. Biol.*, 55, 972~992. 2006.
- 98) 鈴木敬子、中村佳苗、高橋晃一、関直樹: 北海道の牛から検出された美麗食道虫 *Gongylonema pulchrum* Molin, 1857. 日獣会誌, 45, 120~124. 1992.
- 99) Tamate, H. B., Tatsuzawa, S., Suda, K., Izawa, M., Doi, T., Sunagawa, K., Miyahira, F. and Tado, H.: Mitochondrial DNA variations in local populations of the Japanese sika deer, *Cervus nippon*. *J. Mammal.*, 79, 1396~1403. 1998.
- 100) Traub, R. J., Monis, P. T. and Robertson, I. E.: Molecular epidemiology: a multidisciplinary approach to understanding parasitic zoonoses. *Int. J. Parasitol.*, 35: 1295~1307. 2005.
- 101) Urch, T., Albrecht, B. C., Buttner, D. W. and Tannich, E.: Humane infektion mit *Gongylonema pulchrum* *Deutsche Medizinische Wochenschrift* 130: 2566~2568. 2005.
- 102) Uni, S., Abe, M., Harada, K., Kaneda, K., Kimata, I., Abdelmaksoud, N. M., Takahashi, K., Miyashita, M. and Iseki, M.: New record of *Gongylonema pulchrum* Molin, 1857 from a new host, *Macaca fuscata*, in Japan. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, 67, 221~223. 1992.
- 103) Uni, S., Kobayashi, S., Miyashita, M., Kimura, N., Kato, A., Aimi, M., Kimata, I., Iseki, M. and Shoho, C.: Geographic distribution of *Gongylonema pulchrum* and *Gongylonema macrogubernaculum* from *Macaca fuscata* in Japan. *Parasite*, 1: 127~130. 1994.
- 104) Walton, S. F., Dougall, A., Pizzutto, S., Holt, D., Taplin, D., Arlian, L. G., Morgan, M., Currie, B. J. and Kemp, D. J.: Genetic epidemiology of *Sarcoptes scabiei* (Acari: Sarcoptidae) in northern Australia. *Int. J. Parasitol.*, 34: 839~849. 2004.
- 105) Wijova, M., Moravec, F., Horak, A. and Lukes, J.: Evolutionary relationships of *Spirurina* (Nematoda: Chromadorea: Rhabditida) with special emphasis on dracunculoid nematodes inferred from SSU rRNA gene sequences. *Int. J. Parasitol.*, 36: 1067~1075. 2006.
- 106) Wilde, H., Suankratay, C., Thongkam, C., Chaiyabutr, N., Chusana, S., Chamnong, T. and Chaiyabutr, N.: Human *Gongylonema* infection in Southeast Asia. *J. Travel Med.*, 8: 204~206. 2001.
- 107) Wilson, M. E., Lorente, C. A., Allen, J. E. and Eberhard, M. L.: *Gongylonema* infection of the mouth in a resident of Cambridge, Massachusetts. *Clin. Inf. Dis.*, 32, 1378~1380. 2001.
- 108) 八田知之・太田和俊・牧正啓・池辺哲郎・篠原正徳: 口腔に発生した *Gongylonema pulchrum* の1例. 日本口腔外科学会雑誌, 51(総会特集号): 220. 2005.
- 109) Yamada, M., Hosoi, E., Tamate, H. B., Nagata, J., Tatsuzawa, S., Tado, H. and Ozawa, S.: Distribution of two distinct lineages of sika deer (*Cervus nippon*) on Shikoku Island revealed by mitochondrial DNA analysis. *Mamm. Stud.* 31, 23~28. 2006.
- 110) Yamaguti, S.: Systema Helminthum, Vol. III, The Nematodes of Vertebrates. Interscience Publishers, New York. U. S. A. 1961.
- 111) Yokogawa, S.: On a new species of nematode, *Gongylonema orientale*, found in Formosa. *J. Parasitol.*, 11: 195~200. 1925.
- 112) Yokohata, Y. and Suzuki, Y.: The gullet nematode, *Gongylonema pulchrum* from sika deer, *Cervus nippon* in Hyogo Prefecture, Japan. *Jpn. J. Parasitol.*, 42: 440~444. 1993.
- 113) Zinter, D. E. and Migaki, G.: *Gongylonema pulchrum* in tongues of slaughtered pigs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 157: 301~303. 1970.

原 著

特徴的な皮膚病変を呈した子牛の牛ウイルス性下痢・粘膜病

中谷英嗣<sup>1)</sup>・大谷研文<sup>2)</sup>・中谷幸穂<sup>2)</sup>・柳澤郁成<sup>2)</sup>・木村久美子<sup>3)</sup>・播谷 亮<sup>3)</sup>

〔受付：2009年12月25日〕

ORIGINAL ARTICLE

BOVINE VIRAL DIARRHEA-MUCOSAL DISEASE OF CALF WITH  
CHARACTERISTIC SKIN LESION

Hidetsugu NAKATANI<sup>1)</sup>, Akifumi OTANI<sup>2)</sup>, Sachiho NAKATANI<sup>2)</sup>, Fuminori YANAGISAWA<sup>2)</sup>,  
Kumiko KIMURA<sup>3)</sup>, and Makoto HARITANI<sup>3)</sup>

1) *Yamaguchi Prefectural Agriculture and Forestry General Engineering Center Livestock Technology  
Research Department, 1200 Kawara, Isa-machi, Mine-shi, Yamaguchi-ken 759-2221, Japan*

2) *Yamaguchi Prefectural Chubu Livestock Hygiene Service Center, 671-5 Kagawa,  
Yamaguchi-shi, Yamaguchi-ken 754-0897, Japan*

3) *National Institute of Animal Health*

〔Received for publication : December 25, 2009〕

\*Corresponding Author : Hidetsugu NAKATANI

*Address : Yamaguchi Prefectural Agriculture and Forestry General Engineering Center Livestock Technology  
Research Department, 1200 Kawara, Isa-machi, Mine-shi, Yamaguchi-ken 759-2221, Japan*

*Telephone and Fax : +81-8396-2-0224/0247 E-mail : nakatani.hidetsugu@pref.yamaguchi.lg.jp*

Abstract

In September 2008 one Japanese Black calf developed a systemic crusting, blistering to the tongue and the hard palate, and diarrhea. Pathologically, hyperkeratosis of the keratin layer of skin was deteriorated and keratinocyte was swollen and imbibitional. In granulosa layer, spinous layer, and germinative layer, component cells were reduced, and the hypoplasia of dermal appendage was noticed. As the Bovine viral diarrhea (BVD) virus was detected, this case was diagnosed as the Bovine viral diarrhea-mucosal disease (BVD-MD). There are reports which introduce the skin lesions of calf BVD virus infection which is confined to the skin around perineal region, vagina, the base of the horn and heel. This case may be considered uncommon, because the symptoms spread over the whole body.

要 約

2008年9月、黒毛和種子牛が全身の皮膚に多発性の痂皮、舌・硬口蓋に水疱様物および下痢を発症した。病理学的に、皮膚では、角化層の角化亢進が著しく、角化細胞は腫大、膨化していた。顆粒層、有棘層および胚芽層では、

1) 山口県農林総合技術センター、2) 山口県中部家畜保健衛生所、3) (独) 動物衛生研究所

構成細胞が減数していた。また、皮膚付属器官（毛包、皮脂腺および汗腺）の低形成が認められた。精査の結果、牛ウイルス性下痢ウイルスが検出されたことから、本症を牛ウイルス性下痢・粘膜病と診断した。これまで、牛ウイルス性下痢ウイルス感染例において、会陰部、膻、角根、蹄踵等の周辺皮膚に病変を形成した報告はあるが、本症のように全身の皮膚に病変が及んだ症例は極めて稀である。

## 緒 言

牛ウイルス性下痢・粘膜病（BVD・MD）は、牛ウイルス性下痢ウイルス（BVDV）感染によって起こる牛の消化器系疾患である<sup>1)</sup>。我が国でも多くの発生報告があるが、とくに近年、その発生は増加傾向にある。今回、下痢を呈してBVD・MDと診断された3か月齢の子牛で、全身皮膚に多発性の痂皮形成が認められ、ウイルス感染との関連が強く示唆されたので報告する。

## 概 要

### 1. 発生状況

乳用牛3頭、肉用牛8頭を飼養する乳肉複合経営農場において、3か月齢の黒毛和種雄子牛が、全身に及ぶ腫瘤や舌・硬口蓋に水疱様物を形成し、血液・粘膜の混じった下痢などを呈したため、治療を行ったが奏

効しなかったため、予後不良として病性鑑定を実施した。母子共に、牛5種混合生ワクチンは未接種であった。

### 2. 材料および方法

病理解剖学的検査により、主要臓器、中枢神経系、消化管、リンパ節、気管、皮膚および血清を採取し、

病理組織学的、ウイルス学的および細菌学的検査に供し、各種検査を定法に従い実施した。

### 3. 結 果

病理解剖学的検査では、当該牛は発育不良および下痢を呈しており、皮膚は全身性に腫瘤を形成、肥厚・硬結していた（Fig. 1, 2, 3）。また、気管粘膜に潰瘍が散見され、真菌コロニーの発育がみられた。肺では膿瘍が密発していた（Fig. 4）。硬口蓋では潰瘍が、第一胃粘膜では白斑が散見された。腸間膜リンパ節は腫脹していた。病理組織学的検査では、皮膚において表皮が波状に隆起し、角化層は細胞残渣を伴った角化亢進により著しく肥厚していた（Fig. 5）。また、顆粒層、有棘層および胚芽層を構成する細胞は通常充実しているのに対し、本症例ではそれらの細胞数に減数がみられた（Fig. 6, 7）。真皮では、脂腺が減数、消失し、残存した脂腺の細胞は萎縮していた。また、汗腺も小さく、皮膚付属器官に低形成がみられた。また、単核細胞も軽度に浸潤していた（Fig. 8）。皮膚の一部では壊死も認められ、壊死は真皮に及び潰瘍を形成していた。この他、舌では、出血を伴う粘膜上皮細胞の塊状の剥脱がみられた。硬口蓋は潰瘍を形成し、粘膜下織には重度の炎症細胞が浸潤していた（Fig. 9）。第一胃では、軽

度のカタル性炎がみられた。小腸では粘膜に潰瘍が認められた（Fig. 10）。粘膜の壊死部では線維素が析出し、炎症細胞の浸潤、粘膜下織の水腫がみられた（Fig. 11）。また、パイエル板部は、リンパ球の減数、脱落による萎縮、消失がみられ、細胞残渣を含む陰窩ヘルニアが観察された。一部の血管にはフィブリノイド壊死が散見された（Fig. 12, 13, 14）。胸腺では、著しいリンパ球の減数により、皮髄構造が不明瞭となっていた（Fig. 15）。気管では、真菌の増殖を伴う壊死性気管炎がみられ、頰廢物中に真菌の菌糸および管腔内に分生子頭や胞子が観察された（Fig. 16, 17）。肺では、壊死部に真菌の増殖を伴う膿性壊死性気管支肺炎がみられた（Fig. 18）。細菌学的検査では、気管、肺および第一胃の直接塗抹培養により *Aspergillus fumigatus* が分離され、空腸および盲腸内容の定量培養により *E. coli* や *Clostridium perfringens* が  $10^6 \sim 10^7$  cfu/g 分離された。ウイルス学的検査では、全ての材料からPCRによりBVDV特異遺伝子が検出され、気管、皮膚および血清を除く全ての材料からNCPおよびCP株が分離された。



Fig. 2



Fig. 3



Fig. 6



Fig. 7

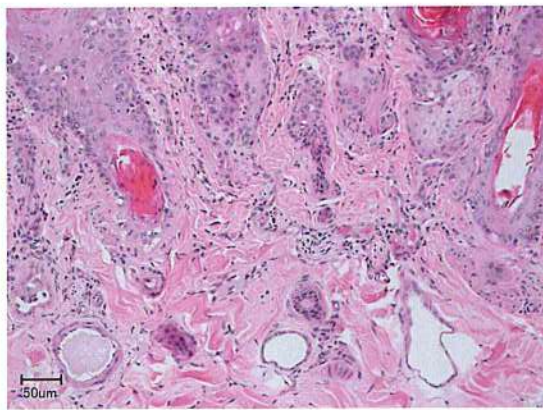


Fig. 8

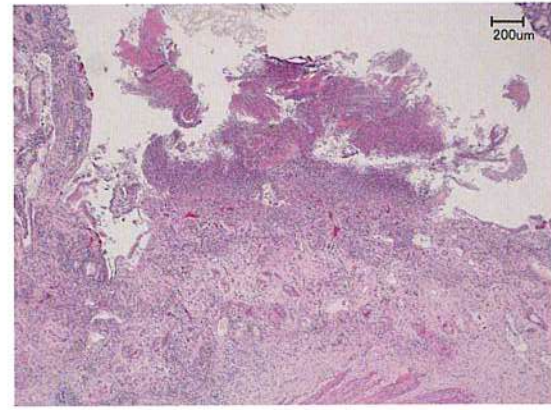


Fig. 14

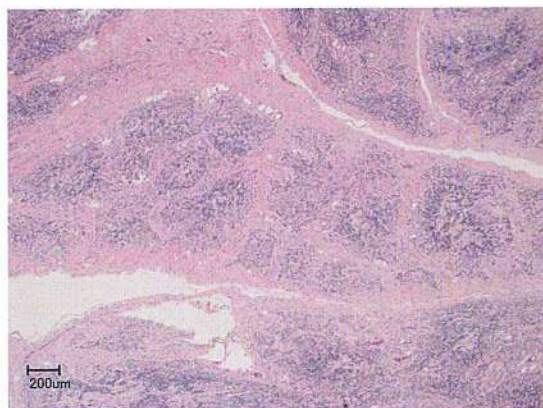


Fig. 15

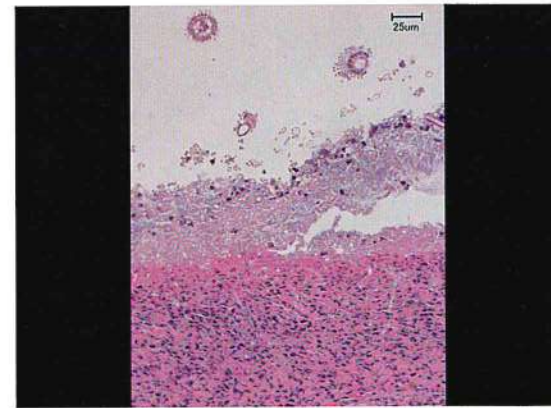


Fig. 17



Fig. 1

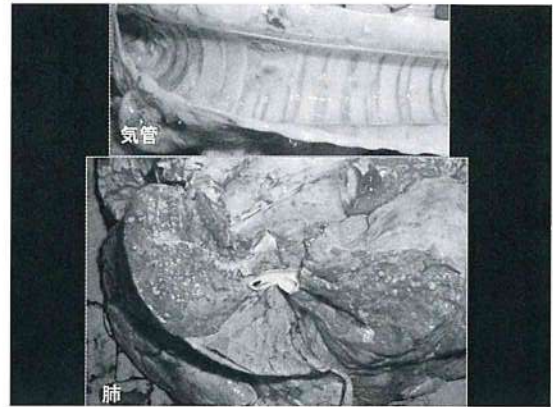


Fig. 4

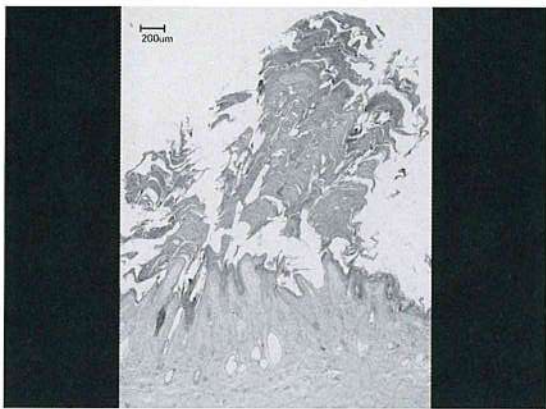


Fig. 5

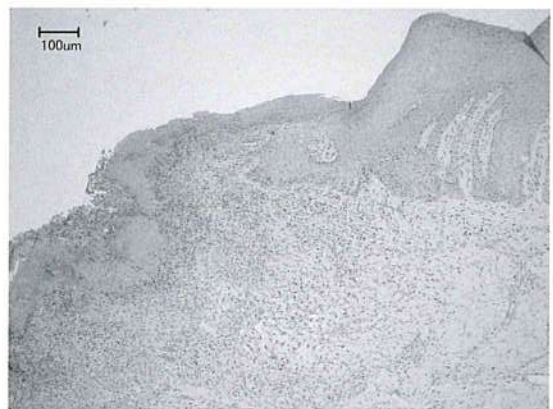


Fig. 9

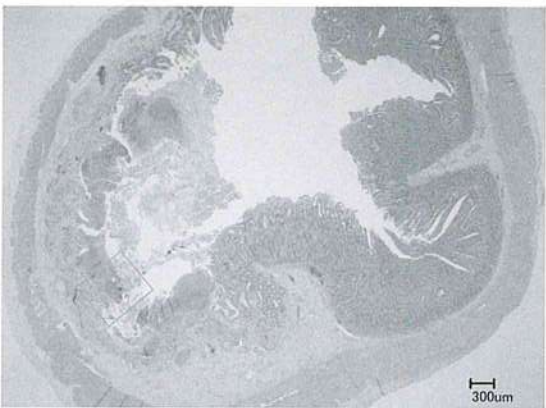


Fig. 10



Fig. 11

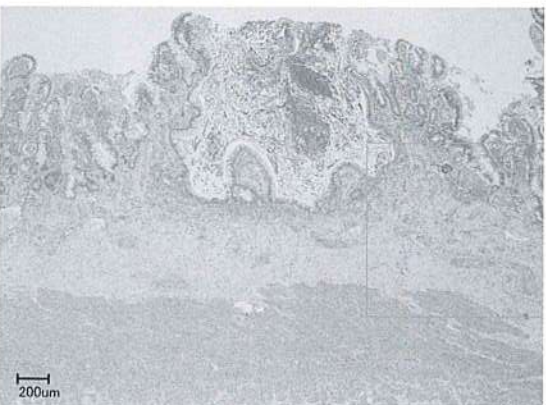


Fig. 12

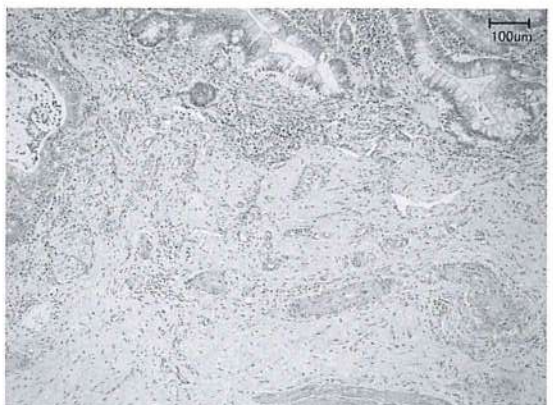


Fig. 13

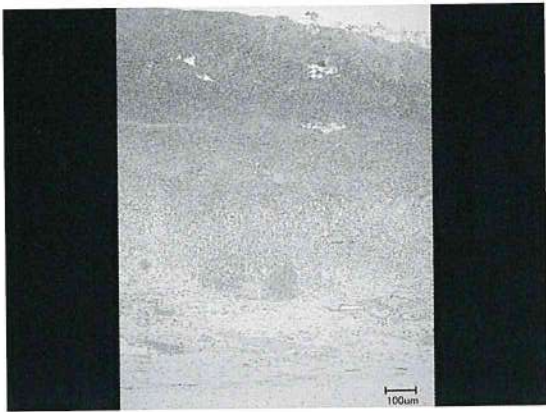


Fig. 16

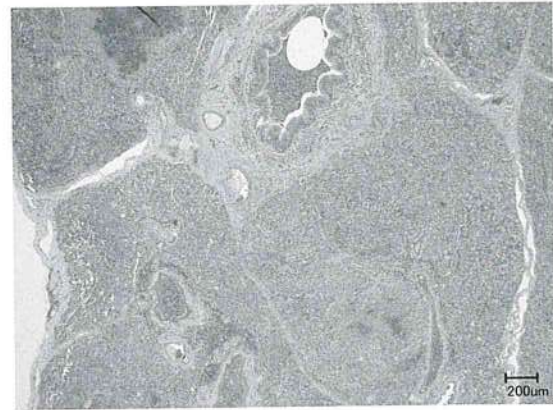


Fig. 18

#### 4. 考 察

以上から、牛ウイルス性下痢・粘膜病（粘膜病型）と診断した。本症例は、ウイルス学的に持続感染牛であったことが判明し、これに伴う持続的な免疫力低下により、易感染性となり粘膜病を発症した結果、真菌性肺炎や壊死性腸炎、大腸菌感染を併発したと推察した。

病理組織学的に、本症例では全身に及ぶ皮膚の角化亢進ならびに表皮および皮膚付属器官の低形成が特徴的であった。これまでに、BVDV感染例において、臨床的に皮膚病変の形成がみられた症例の発生報告はあるが<sup>(2,3,4)</sup>、皮膚病変は会陰部、臄、角根、蹄踵等の周辺皮膚に限られており、本症のように全身に皮膚病変が及ぶ症例は極めて稀である。現在、免疫組織化学的検査により皮膚および付属器官からのウイルス抗原の検出を実施中である。

#### 引用文献

- 1) 田中義夫：牛病学，清水高正編，第2版，201-203,近代出版，東京，1988.
- 2) 齊野 仁ら：牛ウイルス性下痢・粘膜病ウイルスの血清学的性状からみた病性，疫学及び早期診断の検討，第37回北海道家畜保健衛生業績発表会集録，38～47，1989.
- 3) 齊野 仁ら：北海道の石狩地区における牛ウイルス性下痢・粘膜病（BVD・MD）ウイルス持続感染牛の疫学調査と分離ウイルスの血清学的性状，日本獣医師会雑誌，42，324～328，1989.
- 4) 福田智大ら：酪農家で発生した牛ウイルス性下痢ウイルス（BVDV）I型感染症，中・四国ブロック日本獣医師会産業動物学会，2005.





原 著

## 山口県で過去6年間に分離された牛呼吸器病原菌の薬剤感受性調査

中谷幸穂<sup>1)</sup>・大谷研文<sup>1)</sup>・岡村真吾<sup>2)</sup>

[ 受付 : 2009年11月25日 ]

ORIGINAL ARTICLE

### ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY OF BOVINE RESPIRATORY BACTERIAL PATHOGEN, WHICH WAS ISOLATED IN YAMAGUCHI PREFECTURE IN THE PAST SIX YEARS

Sachiho NAKATANI<sup>1)\*</sup>, Akifumi OTANI<sup>1)</sup>, Shingo OKAMURA<sup>2)</sup>

1) Yamaguchi Prefectural Chubu Livestock Hygiene Service Center, 671-5 Kagawa, Yamaguchi-shi, Yamaguchi-ken 754-0897, Japan

2) West Veterinary Clinic, Yamaguchi Agricultural Mutual Aid Association

[ Received for publication : November 25, 2009 ]

\*Corresponding Author: Sachiho NAKATANI

Address: Yamaguchi Prefectural Chubu Livestock Hygiene Service Center, 671-5 Kagawa, Yamaguchi-shi, Yamaguchi-ken 754-0897, Japan

Telephone and Fax: +81-83-989-2517/2518 E-mail: nakatani.sachiho@pref.yamaguchi.lg.jp

#### Abstract

The antimicrobial susceptibility of bovine respiratory bacterial pathogen, which was isolated in Yamaguchi Prefecture from 2003 to 2008, was investigated.

The target bacterial strains were 4 strains of *Mycoplasma (M) bovis (Mbo)*, 10 strains of *M. dispar (Md)*, 21 strains of *M. bovirhinis (Mbr)*, 7 strains of *M. alkarezensis (Ma)*, 21 strains of *Mannheimia haemolytica (Mh)*, and 27 strains of *Pasteurella multocida (Pm)*.

It was suggested that in *Mycoplasma* species resistance strains were one of *Md* strains to enrofloxacin (ERFX), four of *Mbr* strains to kanamycin (KM), and three of *Mbr* strains to ERFX. *Mbo* strains tended to be less sensitive to macrolide (erythromycin and tylosin (TS)). The *Pm* strains have no resistant strains. It was suggested that two of *Mh* strains have resistance to five antibiotics, KM, TS, oxytetracycline (OTC), thiamphenicol and ERFX, and one to OTC.

In this study, the resistance of bovine respiratory bacterial pathogen was not such a serious issue in Yamaguchi Prefecture. However, it will be necessary to give attention to the presence of new quinolone resistance *Md* and *Mbr*, and multiple resistant *Mh*.

2003から2008年度に山口県内で分離された牛呼吸器病原菌 (*Mycoplasma (M.) bovis (Mbo)* 4株, *M. dispar (Md)* 10株 (含参考株3株), *M. bovirhinis (Mbr)* 21株, *M. alkarezensis (Ma)* 7株, *Pasteurella multocida (Pm)* 27株, *Mannheimia haemolytica (Mh)* 21株) の薬剤感受性を調べた。マイコプラズマはMdでエンロフロキサシン

1) 山口県中部家畜保健衛生所、2) 山口県農業共済組合西部家畜診療所

(ERFX), Mbrでカナマイシン (KM) とERFXにそれぞれ1株, 5株, 3株と耐性菌が存在することが示唆された。また, Mboはマクロライド系 (エリスロマイシン, タイロシン (TS)) に低感受性傾向だった。Pmには耐性と考えられる株は存在しなかった。MhはKM, TS, オキシテトラサイクリン (OTC), チアンフェニコール, ERFXの5剤耐性2株, OTC耐性1株の存在が示唆された。

今回の調査では, 耐性菌数が全体の10%程度にとどまったことから, 県内の呼吸器病原菌に対して, 抗生物質が奏功しない状況ではないことが考えられた。しかし, 5剤耐性のMhやフルオロキノロン耐性のMd, Mbrの存在が示唆され, 今後も注視していく必要があると考えられた。

## 緒 言

牛の呼吸器病は, ウイルスやマイコプラズマ, 細菌等の病原体が混合感染し, 複合感染症の様相を示すことが多く, 牛呼吸器病症候群 (BRDC) と呼ばれている。BRDCは輸送などのストレスを引き金に起こり, 導入など移動の多い肉用牛多頭飼育農家で多発し, 集団発生することも多いため食欲減退による発育遅延や時には死亡に至り, その治療のための費用など経済的にも大きな損失をもたらす。

今回, 過去6年間に分離されたBRDC原因菌の薬剤感受性を調査し, その耐性菌の発現状況について考察を加えた。

### 1. 牛呼吸器病発生状況

県内の牛呼吸器病に関する病性鑑定 (病鑑) の依頼状況は, 年間10~20件程度あり, 肉用牛でよく発生がみられた (Fig. 1)。これら病鑑依頼から検出された病原体は様々で, ウイルスは牛伝染性鼻気管炎 (IBR) ウイルスやRSウイルスといった単独で症状を引き起こすもの<sup>10)</sup>やパラインフルエンザウイルスやライノウイルスのような細菌などと混合感染して症状を引き起こすもの<sup>10)</sup>が検出された。マイコプラズマは単独感

染で肺炎病巣を形成する肺炎起因性の *Mycoplasma bovis* (Mbo) や *M. dispar* (Md), 混合感染により肺炎を悪化させる二次感染性の *M. bovirhinis* (Mbr) や *M. al karescens* (Ma)<sup>10)</sup> が検出され, 一般細菌では上部気道常在細菌でもある *Pasteurella multocida* (Pm) や *Mannheimia haemolytica* (Mh), *Histophilus somni* などが分離された (Fig. 2)。

### 2. 材料と方法

#### 1) マイコプラズマ

Mboを4株, Mdを10株 (対象期間外3株; 2001年1株, 2002年2株), Mbrを21株, Maを7株供試し, マイクロタイタープレートを用いた液体希釈培養法<sup>3)</sup>により, 8薬剤; カナマイシン (KM), エリスロマイシン (EM), タイロシン (TS), オキシテトラサイクリン (OTC), チアンフェニコール (TP), フロルフェニコール (FF), チアムリン (TML), エンフロロキサシン (ERFX) について最小発育阻止濃度 (MIC) を測定した。マイコプラズマの培地は, MdにはGS培地, その他にはChanock変法培地を用い, 糖 (グルコー

スまたはアルギニン) とフェノールレッドを用いてマイコプラズマの増殖を糖分解によるカラーチェンジにより判定した。培養は37°C好気条件で行い4日間観察した。

#### 2) 細菌

Pmを27株, Mhを21株供試し, 臨床・検査標準協会 (CLSI, 旧NCCLS) 法に準拠した寒天平板希釈法<sup>8)</sup>により9薬剤; アンピシリン (ABPC), KM, EM, TS, OTC, TP, FF, TML, ERFXについてMICを測定した。

### 3. 成 績

それぞれの薬剤感受性試験成績を表に示す (Table 1)。MIC<sub>50</sub>とMIC<sub>90</sub>の値の差及び, MICの範囲が開いている薬剤は耐性菌が存在することが予想される。すなわち, MICの菌株数分布によってグラフ化すると, この結果はMICが低濃度側と高濃度側で二峰性を示すことになり, MICが高濃度の群は耐性菌ということが示唆される。

マイコプラズマではMdで1株 (ERFX), Mbrで5株 (KM: 2株, KM, ERFX: 3株) がこれに値し, それぞれの薬剤に耐性があることが示唆された (Fig. 3)。一方Pmには耐性菌は確認されず, 各薬剤に対し高感受性を示した。Mhでは, 3株 (OTC: 1株, KM, TS, OTC, TP, ERFX: 2株) がそれぞれの薬剤に耐

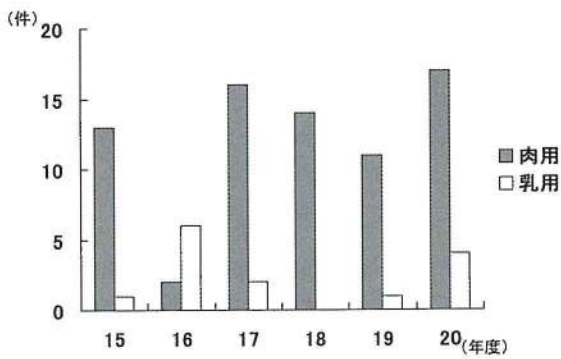


Fig. 1 県内の牛呼吸器病病鑑依頼状況

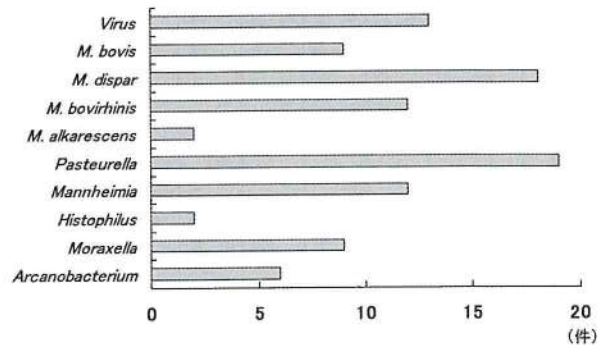


Fig. 2 検出された病原体の種類

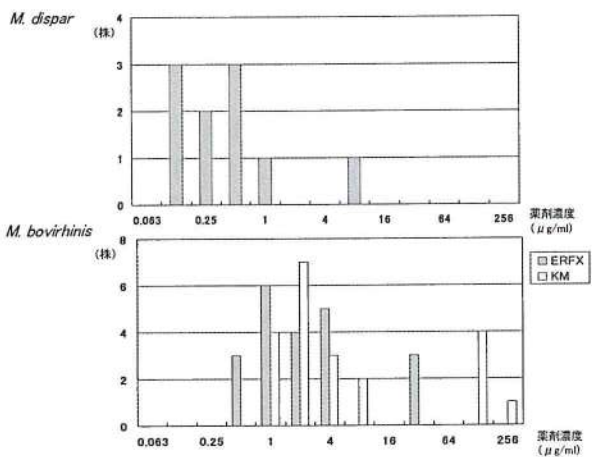


Fig. 3 Md (ERFX) とMbr (KM・ERFX) のMIC分布  
*M. dispar* : ERFX耐性株 1株  
*M. bovirhinis* : KM耐性株 2株  
 KMとERFX 2剤耐性株 3株

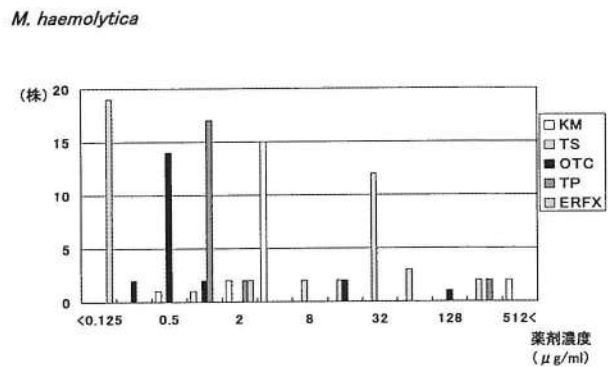


Fig. 4 MhのMIC分布  
 OTC耐性株 1株  
 KM, TS, OTC, TP, ERFX 5剤耐性株 2株

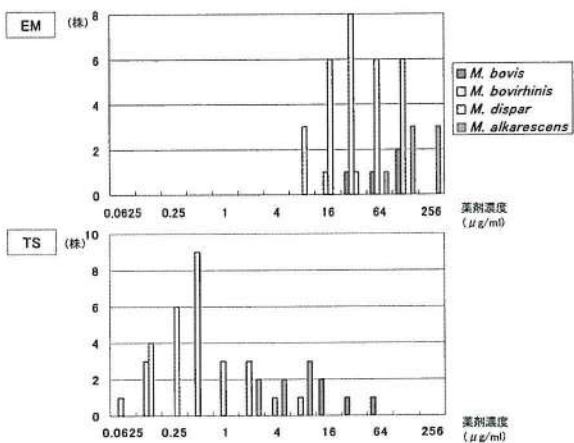


Fig. 5 マクロライド系に対するマイコプラズマのMIC分布  
 マクロライド (EM, TS) に対し低感受性傾向  
*M. bovis* はTSに対し他のマイコプラズマより低感受性

Table 1 薬剤感受性試験成績

菌種名	株数	薬剤名																
		ABPC*1	KM	EM	TS	OTC	TP	FF	ERFX	TML								
<i>M. bovis</i>	4	NT	16	32	64	128<	16	64	8	32	16	16	8	8	0.5	0.5	≤0.0625	0.5
			8-32	0.25	16	16	32-128<	16-64	8-32	8-16	8	8	0.5	0.5	≤0.0625-0.5			
<i>M. dispar</i>	10	NT	2	128	64	128	0.5	2	4	8	8	16	4	4	2	32	0.125	0.5
			≤0.0625-1	8-32	0.125-0.25	1-2	1-2	1-2	4-16	2-8	0.5-1	0.5-1	0.125-8	0.125-8	≤0.0625-0.25			
<i>M. bovirhinis</i>	21	NT	8	16	128	256<	4	8	0.25	0.5	8	8	4	8	0.5	0.5	≤0.0625	≤0.0625-0.5
			8-16	64-256<	2-8	0.25-0.5	2-8	2-8	2-8	2-8	2-8	0.25-0.5	0.25-0.5	≤0.0625	≤0.0625			
<i>M. alkareascens</i>	7	NT	8	16	128	256<	4	8	0.25	0.5	8	8	4	8	0.5	0.5	≤0.0625	≤0.0625
			8-16	64-256<	2-8	0.25-0.5	2-8	2-8	2-8	2-8	0.25-0.5	0.25-0.5	0.25-0.5	0.25-0.5	≤0.0625	≤0.0625		
<i>Pasteurella multocida</i>	27	NT	8	16	128	256<	4	8	0.25	0.5	8	8	4	8	0.5	0.5	≤0.0625	≤0.0625
			≤0.125*2	≤0.125	8	16	32	0.5	1	0.5	0.5	0.5	0.25	0.5	≤0.125	≤0.125	≤0.125	1
<i>Mannheimia haemolytica</i>	21	NT	8	16	128	256<	4	8	0.25	0.5	8	8	4	8	0.5	0.5	≤0.0625	≤0.0625
			≤0.125	≤0.125	4	4	4	32	64	0.5	16	1	2	1	1	≤0.125	≤0.125	2

NT:未検査  
 \*1 ABPC:アンピシリン, KM:カナマイシン, EM:エリスロマイシン, TS:タイロジシン, OTC:オキシテトラサイクリン, TP:チアンフェニコール, FF:フロルフェニコール  
 \*2 数字の上段はMIC<sub>90</sub>とMIC<sub>90</sub>(μg/ml)、下段はMIC(最小発育阻止濃度)の範囲

性があることが示唆された (Fig. 4).

また、マイコプラズマは第一選択薬となるマクロライド系に低感受性傾向であった (Fig. 5). 特に起病原性のあるMboは、TSにおいて他のマイコプラズマよりも低感受性であった.

4. 考 察

成績から耐性菌と推察される菌株が、Md, Mbr, Mhに確認されたが、それは調査した菌株中それぞれ10% (1/10), 23% (5/21), 14% (3/21)であり、県内に耐性菌が蔓延している状況ではないと考えられた。しかし、MdとMbr についての耐性菌に対する報告は少ないため<sup>4)</sup>出現頻度に関してこの結果は必ずしも軽視できる状況ではないと考えられた。さらにこれらはフルオロキノロン系に対する耐性のため、検出された農場では、抗生物質の使用について注意が必要と考えられた。

MboはMIC分布の二峰性を示すような耐性薬剤はなかったもののマクロライド系、特にTSに低感受性であった。この結果は近年の国内外の他の報告<sup>1,2,4,5,6,10)</sup>でも同様の傾向がみられており、MboのTSに対する過去の報告<sup>3,7)</sup>と今回のMIC<sub>90</sub>の値を比較すると、標準株Donnettaとでは512から1280倍、野外株との比較でも128倍となっており耐性化が進んでいることが推察された。(Table 2)

Table 2 MboのTSに対するMICまたはMIC<sub>90</sub>値の比較

報告(年)	株名(数)	MIC(μg/ml)
LAAK (1993)	標準株Donetta	0.125
Hannan (2000)	標準株Donetta	0.05
LAAK (1993)	野外株 (n=16)	0.5 (MIC <sub>90</sub> )
本報告	野外株 (n=4)	64 (MIC <sub>90</sub> )

\* MIC<sub>90</sub>: 供試株数の90%が発育を阻止されるMIC

Pmは今回調査した薬剤に対する耐性菌は確認されなかったが、Mhでは耐性菌が存在した。Mhは細胞外毒素(ロイコトキシン)を産生するため組織侵襲性が強く<sup>9)</sup>肺炎を患うと長期間の治療が必要になり、耐性菌ができやすい環境におかれることが多くなることが考えられる。そのためMh感染牛の治療は、同居牛への影響も考慮し、継続について薬剤感受性検査をもとに検討する必要がある事例になると考えられる。

今回検出された耐性菌の由来を病性鑑定調書からまとめると (Table 3), 地域・農家など限定されるものではなかったが、長期の治療・時間を経過して分離された菌株が多いことがわかった。中でもMdでは参考に用いた2001年の株ではあるが、ERFXの使用歴と耐性薬剤との関連が示唆された。しかし、他の菌株では

Table 3 耐性菌株の由来

菌名	耐性菌数	耐性薬剤	依頼年度	地域	農家	初診年齢	経過	使用薬剤
Mbr	2	KM*1	2006	西	A・一貫	20日齢	4か月	AMPC,KM,TS,TMS, FOM,TP,DNFX
Mbr	3	KM,ERFX	2008	西	A・一貫	3か月齢	5か月	DSM,CTF,TS,TMS, OTC,TP,FF
Mh	2	KM,TS,OTC ,TP,ERFX	2006	東	B・肥育	8か月齢	1日	なし
Mh	1	OTC	2007	中	C・一貫	8か月齢	2か月	導入時AMPC
Md	1	ERFX	2001	中	D・一貫	2か月齢	1か月	AMPC,ASPC,ERFX

## \*1 薬剤名略称

AMPC: アモキシシリン、ASPC: アスポキシシリン、CTF: セフトロフル、KM: カナマイシン、  
DSM: ジヒドロストレプトマイシン、TS: タイロシン、TMS: チルミコシン、FOM: ホスホマイシン、  
OTC: オキシテトラサイクリン、TP: チアンフェニコール、FF: フロルフェニコール、  
ERFX: エンロフロキサシン、DNFX: ダノフロキサシン

治療との関連性が全く認められなかった。このことからこれらの耐性菌は、一般的に考えられる耐性菌出現メカニズムである使用薬剤の選択圧により出現したというよりも薬剤耐性を持った菌が外部から侵入したということが考えられた。

今回県内のBRDC原因菌について薬剤感受性調査を行い、薬剤耐性菌の存在を確認した。この結果からは、治療との関連は考えられなかったが、耐性菌の出現は、少なからず治療に使用する抗生物質の影響を受けるものだと考えられる。今後もデータの蓄積および耐性菌への注意喚起も含め臨床現場の獣医師との連携を密にして調査を継続していきたいと考える。

## 参考文献

- 1) Cooper A.C., Fuller J.R., Fuller M.K., Whittlestone P, Wise D.R.: In vitro activity of danofloxacin, tylosin and oxytetracycline against mycoplasmas of veterinary importance. *Res. Vet. Sci.* 54(3): 329~334. 1993.
- 2) Francoz D., Fortin M., Fecteau G., Messier S.: Determination of *Mycoplasma bovis* susceptibilities against six antimicrobial agents using the E test method. *Vet. Microbiol.* 105(1): 57~64. 2005.
- 3) Hannan P. C. T.: Guidelines and recommendations for antimicrobial minimum inhibitory concentration (MIC) testing against veterinary mycoplasma species. *Vet. Res.* 31: 373~395. 2000.
- 4) Hirose K., Kobayashi H., Ito N., Kawasaki Y., Zako M., Kotani K., Ogawa H., Sato H.: Isolation of mycoplasmas from nasal swab of calves affected with respiratory disease and antimicrobial susceptibility of their isolates. *J. Vet. Med.* B50: 347~351. 2003.
- 5) 加藤敏英, 山本高根, 小形芳美, 漆山芳郎, 荻野祥樹, 齋藤博水: 薬剤感受性に基づいた牛呼吸器病感染症治療プログラムの臨床効果. *日本獣医師会雑誌* 61: 294~298. 2007.
- 6) 小池新平, 井上恭一, 米山州二, 市川優, 田島和彦: 栃木県で過去16年間に分離された牛呼吸器病原因菌の薬剤感受性調査. *日本獣医師会誌* 62: 533~537. 2009.
- 7) Laak E. A. T., Noordergraaf J. H., Verschure M. H.: Susceptibilities of *Mycoplasma bovis*, *Mycoplasma dispar*, and *Ureaplasma diversum* strains to antimicrobial agents in vitro. *Antimicrobial. Agents and Chemotherapy.* 37: 317~321. 1993.
- 8) National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2002. Performance Standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals, 2nd ed, Approved standard. NCCLS document M31-A2. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, PA
- 9) Narayanan S. K., Nagaraja T. G., Chengappa M. M., Stewart G.C. Leukotoxins of gram-negative bacteria. *Vet. Microbiol.* 84(4): 337~356. 2002.
- 10) 清水高正, 稲葉右二, 小沼 操, 金川弘司, 藤永 徹, 本好茂一編 牛病学〈第二版〉近代出版. 1998.
- 11) Thomas A., Nicolas C., Dizier I., Mainil J., Linden A. Antibiotic susceptibilities of recent isolates of *Mycoplasma bovis* in Belgium. *Vet. Rec.* 153(4): 428~431. 2003.



短 報

農場発生事例からみたトリアデノウイルスの検出状況と疫学考察

柳澤郁成<sup>1)</sup>・大谷研文<sup>1)</sup>・中谷幸穂<sup>1)</sup>・中谷英嗣<sup>2)</sup>

[ 受付 : 2009年12月20日 ]

SHORT COMMUNICATION

DETECTION AND EXAMINATION OF AVIAN ADENOVIRUS IN THE  
OUTBREAKS ON FARMS

Fuminori YANAGISAWA<sup>1)</sup>, Akifumi OTANI<sup>1)</sup>, Sachiho NAKATANI<sup>1)</sup>, and  
Hidetsugu NAKATANI<sup>2)</sup>

1) Yamaguchi Prefectural Chubu Livestock Hygiene Service Center, 671-5 Kagawa, Yamaguchi-shi, Yamaguchi-ken  
754-0897, Japan

2) Yamaguchi Prefectural Agriculture And Forestry General Engineering Center Livestock Technology  
Research Department, 1200 Kawara, Isa-machi, Mine-shi, Yamaguchi-ken 759-2221, Japan

[ Received for publication : December 20, 2009 ]

Epidemiological study of six cases was conducted between 2004 and 2008. In these cases the erosion of gizzard was confirmed and avian adenovirus (AAV) was detected.

A high rate of AAV was isolated from the chicken kidney cells inoculated with gizzard emulsion, when intranuclear inclusion bodies were seen in the gizzard erosion. Infection resistance was suggested, judging from the confirmation of high AAV neutralizing antibody titer.

All the farm outbreaks were caused by broiler chickens, and their raising forms were open windows and floor feeding.

In two cases no clinical signs were noticed, but AAV was disclosed by an inspection after their shipment. In four other cases, outbreaks occurred on farms where clinical signs were noticed. With one exception, all the outbreaks occurred on the farms which belonged to the same integrated company, and which bought the chicks from the affiliated breeding farm.

The outbreaks were found among 7~71 day old chickens. Especially 7~15 day old chickens showed some serious clinical signs, such as gizzard ulcer and blood vomiting. Even in this serious case, the condition improved with the passage of time.

The death rate was the minimum 0.72%/week and the maximum 1.00%/day. The death rate was lower in the cases in which only gizzard erosion was present. However, the rate reached strikingly higher in the cases in which complex infections, such as chicken anemia virus, bacteria, and coccidium, coexisted with management errors.

要 約

2004から2008年にかけて、筋胃びらん等の病変が確認され、トリアデノウイルス (AAV) が検出された6症例について、疫学考察を行った。AAVは発症日齢に関係なく、筋胃病変部組織の核内封入体の存在に一致して、筋

1) 山口県中部家畜保健衛生所, 2) 山口県農林総合技術センター畜産技術部

胃乳剤を接種した鶏腎臓細胞から高率に分離された。しかし、封入体の消失とともに分離率は低下し、AAV遺伝子のみ検出された。また、高いAAV中和抗体価が確認されたことから感染耐過が示唆された。

野外発生病例は全て肉用鶏で、飼養形態は開放平飼い鶏舎であった。2例は臨床症状が無く、出荷後の食鳥検査により摘発された。4例は、臨床症状を伴った農場内発生病例であった。1例を除き、発生農場は同一養鶏組合に属し、同組合の種鶏場から初生ヒナを導入していた。発生日齢は7～71日齢であり、特に7～15日齢の幼若鶏では、筋胃潰瘍や吐血等の重篤な症状を示した。このような重篤例においても、経過とともに病状は回復した。死亡率は、最小0.72%/週～最大1.00%/日を示し、筋胃びらんのみ呈した事例では低く、鶏貧血ウイルスや細菌、コクシジウム等の複合感染、飼養管理失宜が重なった症例では、顕著に高くなった。

## 緒 言

鶏のウイルス性筋胃びらんは、トリアデノウイルス (AAV) グループ1型によって起こることが知られている。1993年に国内の採卵鶏で初確認<sup>7)</sup>された後、肉用鶏を中心に日本各地で散発的な発生<sup>8),9)</sup>がみられ、山口県でも2004年に肉用鶏で初確認された<sup>2)</sup>。

しかし、本県初発例を含め、報告の大半が食鳥検査時の摘発例で、農場内での発生報告は数例に留まり、依然、病態については不明な点が多いのが現状である。

今回、2004年から2008年にかけて病性鑑定を行った6症例の野外AAV検出例について、疫学検討を行ったので報告する。

## 1. 材料と方法

材料は、2004年4月から2008年3月までに実施した鶏病性鑑定のうち、筋胃びらん等の病変が確認された6症例を用いた。ウイルス分離には、発育鶏卵並びに初生ヒナの鶏腎臓細胞 (CK) を用いた。ウイルス抗体検査は、山口県で2004年に筋胃びらんから分離されたAAV (YG/2004GE:血清型1) を用い、中和試

験により実施した。また、遺伝子増幅法 (PCR) によるAAV等特異遺伝子の検出を実施した<sup>2),4)</sup>。

病理組織学的検査はヘマトキシリン・エオジン (HE) 染色、細菌学的検査は臓器等の直接塗抹培養並びにサルモネラ増菌培養を実施した。

## 2. 野外症例

期間中に確認された野外症例を示した (Table 1)。発生地域は県西部 (症例1, 2, 3, 5, 6) 及び東部 (症例4) で、症例1, 2は県内初発例で食鳥検査時の摘発、他は農場内発生であった。全て肉用種の開放平飼い鶏舎での発生であった。発生日齢は7～71日齢と広範囲

であった。死亡率は0.72%/週～1.00%/日とかなりの差異がみられた。発生概要は、症例1, 2, 3及び5, 6が、種鶏場、ふ卵施設及び食鳥処理施設を有する養鶏組合傘下の育成農場での発生、症例4が初生ヒナを外部より導入し育成する企業の系列農場での発生だった (Fig. 1)。

## 3. AAV検出状況

発生日齢、筋胃病変、死亡率及びAAV検出状況を比較した (Table 2)。発生日齢に関係なく、筋胃病変に一致し、筋胃腺上皮細胞内に核内封入体が確認された検体からは、高率にAAVが分離された。しかし、封入体が確認できなかった症例からのAAV分離率は

低く、AAV遺伝子のみが検出された。また、筋胃びらんのみを呈した症例の死亡率が最大1.04%/週であるのに対し、筋胃潰瘍等重篤な病変を呈した症例では、死亡率が1.40%/週から最大1.00%/日と高かった。

## 4. 重症例と回復症例

### 1) 重症例 (症例4)

(1) 発生概況: 発生は、同一農場敷地内の異なる2鶏舎 (I号, II号) でみられた。飼養羽数は、I号が5,974羽、II号が8,262羽であった。初生ヒナは1月

に県外から導入され、発生日齢はI号30日齢、II号41日齢であった。最初にI号で発生、その1週間後にII号で続発した。両鶏舎とも、外気温が急激に低下したことによる寒冷感作を受けた直後から死亡



の増加が見られた (I号: 1.00%/日, II号: 0.53%/日). 加えて, II号においては, 保温用カーテンの閉め忘れ等の飼養管理失宜が重なった.

- (2) 臨床症状: I号では著変は無く, 体表の不潔感が感じられた程度であったが, II号では, 発育不良, 沈鬱, 羽毛逆立, 脚弱がみられた.
- (3) 剖検所見: I号では, 皮下出血や筋胃の出血及び潰瘍 (3/7羽), 趾球部の痂皮や脚部の腫脹 (4/7羽), その他, 肝臓の白斑, 気管上部の出血や肺の不潔感等がみられた. II号では, 皮下出血 (3/5羽) の他, 筋胃の充血や肝臓の白斑, 肺の不潔感等が散見された (Fig. 2).
- (4) 病理組織学的検査: I号では, 筋胃にびらんや潰瘍等の病変がみられた (5/7羽). そのうち, 核内封入体を伴ったものは3羽であった. 十二指腸や盲腸にコクシジウムの寄生 (5/7羽), 壊死性化膿性卵黄囊炎 (2/7羽) がみられた. II号では, 肝臓の巣状変性や壊死 (2/5羽), 脚部の皮下織炎や腱鞘炎 (2/5羽) がみられた.
- (5) 細菌学的検査: I号では, 主要臓器等から *Staphylococcus aureus* (4/6羽), *Escherichia coli* (4/6羽), *Pseudomonas aeruginosa* (2/6羽) が分離された. II号では, *Staphylococcus*属菌 (4/5羽) や腸内細菌群 (5/5羽) が分離された.

(6) ウイルス学的検査: I号では, 生存鶏と死亡鶏それぞれ5羽から採取した気管スワブをプールし, 発育鶏卵培養を実施した結果, 生存鶏よりニューカッスル病ウイルス (NDV) が分離された. 分離NDVは, ワクチン接種歴や鶏胚に対する病原性, RFLPによる遺伝子型別からワクチン株と推察された. AAVは, 肝臓 (3/6羽) 及び筋胃 (3/7羽) から特異遺伝子が検出され, 筋胃乳剤を接種したCKからも分離された (1/7羽). また, 肝臓から鶏貧血ウイルス (CAV) 遺伝子も検出された (6/6羽).

II号では, 発育鶏卵培養によりウイルスは分離されなかったが, 筋胃乳剤を接種したCKからAAVが分離 (1/5羽) された. また, 肝臓からAAV (2/5羽) 及びCAV (4/5羽) 遺伝子が検出された.

2) 回復症例 (症例5,6)

- (1) 発生概況: 同一系列の2農場でほぼ同時期に発生がみられた. 病性鑑定時の日齢は症例5が23日齢, 症例6が27日齢であった.
- (2) 臨床症状: 系列内の種鶏から生まれた初生ヒナを導入後, 15日齢ごろから吐血を示し, 死亡の増加がみられた (症例5: 不明, 症例6: 1.40%/週).
- (3) 剖検所見: 吐血を呈した15日齢のヒナを剖検した結果, 筋胃の重度出血や穿孔が確認された (Fig. 3上段). しかし, その10日後に発症鶏を病性鑑定し

Table 1 筋胃びらん症例

症例 No.	発生年月	発生地域	鶏種	鶏舎構造	発生日齢	筋胃病変	死亡率 (%)	発生場所
1	2004.6	西部	肉用種	開放平飼	71	びらん	0.72/週	食鳥検査
2	2004.6	"	"	"	49	"	1.04/週	"
3	2006.10	"	"	"	7~12	"	0.81/週	農場
4	2007.2	東部	"	"	I: 30 II: 41	びらん 潰瘍 充血	1.00/日 0.53/日	"
5	2007.10	西部	"	"	15~23	びらん 潰瘍	不明	"
6	2007.10	"	"	"	15~27	"	1.40/週	"

Table 2 AAV検出状況

症例 No.	発生年月	発生地域	発生日齢	筋胃病変	核内封入体	AAV分離 (羽)	AAV PCR (羽)	死亡率 (%)
1	2004.6	西部	71	びらん	+	3/3	2/3	0.72/週
2	2004.6	"	49	"	+	5/6	6/6	1.04/週
3	2006.10	"	7~12	"	+	NT	NT	0.81/週
4	2007.2	東部	I: 30 II: 41	びらん 潰瘍 充血	I + (3/7) II -	1/7 1/5	3/7 1/5	1.00/日 0.53/日
5	2007.10	西部	15~23	びらん 潰瘍	-	-	P+	不明
6	2007.10	"	15~27	"	-	-	P+	1.40/週

※ NT:実施せず, P:検体をプールして実施

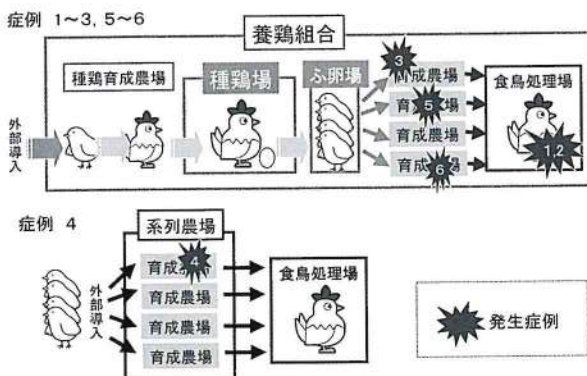


Fig. 1 発生の概要



Fig. 2 剖検時写真 (症例4)



Fig. 3 剖検時写真 (症例 5, 6)  
上段: 15日齢時, 下段25日齢時

たときの筋胃びらんは軽度で、肝臓にび慢性の白斑が確認された程度であった (Fig. 3下段)。筋胃びらんは症例 5 で 60% (3/5 羽)、症例 6 で 80% (5/6 羽) にみられた。

- (4) 病理組織学的検査: 筋胃では、びらん性胃炎や潰瘍が症例 5 で 80% (4/5 羽)、症例 6 で全羽 (6/6 羽) にみられた。肝臓病変は、症例 5 で多発性巣状壊死が全羽 (5/5 羽)、症例 6 で壊死の散在が 33% (2/6 羽)、肉芽腫性肝炎が 1 羽にみられた。その他、十二指腸にコクシジウムの寄生 (症例 5 : 2/5 羽、症例 6 : 3/6 羽) 及び盲腸の絨毛に短桿菌の接着像 (症例 5 : 1/5 羽、症例 6 : 1/6 羽) がみられた。

## 5. 疫学考察

発生症例は全て肉用種、開放平飼い鶏舎での発生であった。平飼い鶏舎での発生が多い理由として、AAVが消化器系で増殖し、糞中に排泄されることが影響していると考えられた。

筋胃腺上皮細胞に核内封入体が確認された症例からは、AAVが高率に分離された。このことは、AAV感染初期であることを示し、感染日齢は、導入後1週間～育成末期と幅があることが確認された。食鳥検査時に筋胃びらんを確認した症例は無症状で、死亡率も低かったが、7～15日齢の若齢鶏では、吐血や潰瘍といった重篤な症状を呈した。死亡率は、CAVや細菌、コクシジウム等の複合感染、寒冷感作に加え飼養管理失宜がみられた症例では、顕著に高くなる傾向にあった。

系列農場での発生が相次いだことから、種鶏場でのAAV感染が懸念され抗体検査を実施した結果、種鶏場におけるAAVの浸潤を確認した。しかし、育成農場での発生は散発的で、同一ロットのヒナを導入しても発生が見られない農場もあった。加えて、筋胃びらん発症鶏群は、種鶏群より陽性率、GM値ともに高い

Table 3 抗体検査成績 (種鶏場及び症例 4、5)

農場名 鶏舎No.	種鶏場				症例 No.4	症例 No.5
	A	B	C	D		
採血月日	10/9	10/11	10/9	10/9	10/15	10/15
週齢(日齢)	30	30	30	44	(23)	(27)
陽性率(%)※ (陽性/検体数)	22.2 (2/9)	55.6 (5/9)	80.0 (8/10)	80.0 (8/10)	80.0 (4/5)	100 (8/8)
GM値	37.3	40.3	90.5	84.4	147.0	152.2

※ AAV血清型1型(山口県分離株)による中和試験: 抗体価64倍以上を陽性とし、検出上限を256倍までとした。

- (5) 細菌学的検査: 両症例から共通して、主要臓器から大腸菌群や*Salmonella Infantis*が分離された。  
 (6) ウイルス学的検査: 気管及びクロアカスワブ、筋胃、肝臓、脾臓、ファブリキウス嚢の乳剤からは、ウイルスは分離されず、筋胃のプール乳剤からAAV遺伝子が検出された。  
 (7) 抗体調査成績: 両症例は、同一種鶏場で生産された初生ヒナを導入していたことから、当該種鶏場を含めたAAV中和抗体検査を行った (Table 3)。種鶏場の鶏舎A～Cは、発生農場に初生ヒナを供給した種鶏群 (採血時30週齢)、Dは比較対象に採血した他の種鶏群 (採血時44週齢) であった。種鶏群は、鶏舎によって22.2～80.0%の陽性率を示し、抗体価の幾何平均値 (GM値) もまちまちであった。発生農場では、ほぼ全羽に抗体陽性を確認し、GM値も種鶏群より高かった。

ことから、導入農場先での感染拡大が示唆された。

以上のことから、育成農場での筋胃びらんの発生は、種鶏場からの垂直感染よりも、導入先の育成農場でのAAVの再感染が原因と思われた。また、種鶏の抗体保有状況にばらつきがあることから、感染時期の違いは、初生ヒナが保有する移行抗体価の高低が影響する

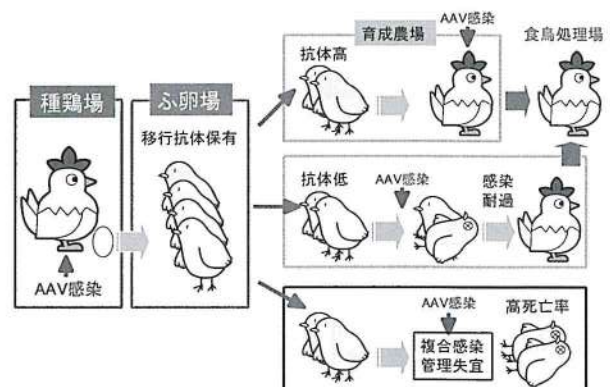


Fig. 4 AAV感染疫学 (仮説)

のではないかと推察した。さらに、発症には、個々の複合感染等の要因が影響すると考えられた (Fig. 4)。育成農場の飼養環境、AAVの浸潤度合い、感染日齢、

## 6. まとめ

近年、AAVによる筋胃びらんの発生報告例は全国的にみられ、抗体調査成績からもAAVは日本全国に常在していると思われた (伊藤ら2003~2004年調査)。同様に山口県全域においても抗体陽性鶏を確認している<sup>2)</sup>。

しかし、症例報告の大半は、食鳥検査時の摘発<sup>5),8)</sup>や農場の単発例<sup>1),9)</sup>であり、病性鑑定内容も病理組織学的検査やAAVの検出に留まり、疫学的な考察まで行っている事例は数例<sup>3)</sup>のみである。本報告は、県内初発となった食鳥検査時の摘発事例を契機に、AAVの検査体制を確立し、その後の発生症例について、詳細に病性鑑定と疫学調査を行ったものである。

本病は、感染後日数が経過すると個体は中和抗体を保有し、病変部は回復傾向を示した。これは、感染鶏が発生後の経過とともに感染耐過することを示し、過去に報告された実験室内感染による再現試験<sup>3),4),6),8)</sup>の内容を、野外症例でも確認したものとなった。しかし、発生農場での育成率は非発生農場と比較して大差のないことから、AAVに感染しても気づかないうちに耐過する可能性も示唆された。

AAVは広く不顕性感染し、発症には免疫状態や農場内の衛生管理状況が影響すると思われた。特に、伝染性ファブリキウス嚢病 (IBD) ウイルスやCAVを始めとするウイルス及び細菌等の病原体感染による免疫抑制状態は、本病の発生を助長する要因と考えられた。

今回、種鶏でのAAV感染を確認したことから、そこで生産されたヒナもAAVに対する移行抗体を保有していると思われた。感染時期の違いは、移行抗体消失時期の差によるものと思われたが、感染実験からAAV感染は移行抗体の影響を受けないとの報告<sup>3)</sup>もあり、さらなる検証が必要と思われた。

AAVには市販ワクチンが無いことから、感染予防には、飼養管理衛生対策の励行が唯一の手段である。また、本ウイルスは、複合感染症の原因にも挙げられることから、今後も感染動向や病原性について注視する必要がある。

## 参考文献

- 1) 藤原和隆・前原智：ブロイラー農場における筋胃びらんの発生。平成20年度島根県家畜保健衛生業績発表会集録：87~91。2008。
- 2) Fuminori Yanagisawa, Hidetsugu Nakatani, Daiki Oishi and Shuji Hidaka: Avian Adenovirus Isolated from Gizzard Erosion of Broiler Chickens: A Serological Survey in Yamaguchi Prefecture. *Yamaguchi J. Vet. Med.*, No. 34: 53~60. 2007.
- 3) Hiroko Itoh, Yukikazu Takae, Hideyuki Ohta, Satoshi Taharaguchi and Kozo Takase: Gizzard Erosion in Young Broiler Chicks by Fowl Adenovirus Serotype 1 Infection. *J. Jpn. Vet. Med. Assoc.*, 60: 639~644. 2007.
- 4) Kimiko Yamada, Kozo Takase, Satoshi Taharaguchi, Hideyuki Ohta, Kazuyo Taira and Yukikazu Takae: Fowl Adenovirus Isolated from Gizzard Erosion of Broiler: Serotype and Pathogenicity. *The Bulletin of The Faculty of Agriculture, Kagoshima University*, No. 55: 15~21. 2005.
- 5) Masaki Ono, Yo Okuda, Shigeto Yazawa, Isao Shibata, Nobuhiko Tanimura, Kumiko Kimura, Makoto Haritani, Masaji Mase, and Shizuo Sato: Epizootic Outbreaks of Gizzard Erosion Associated with Adenovirus Infection in Chickens. *Avian Dis.*, 45:268~275. 2001.
- 6) Masaki Ono, Yo Okuda, Isao Shibata, Shimizu Sato, and Kosuke Okada: Reproduction of Adenoviral Gizzard Erosion by the Horizontal Transmission of Fowl Adenovirus Serotype 1. *J. Vet. Med. Sci.*, 69(10): 1005~1008. 2007.
- 7) N. Tanimura, K. Namura, K. Nakamura, K. Imai, M. Maeda, T. Gobo, S. Nitta, T. Ishihara, and H. Amano: Necrotizing Pancreatitis and Gizzard Erosion Associated with Adenovirus Infection in Chickens. *Avian Dis.*, 37:606~611. 1993.
- 8) 島田善成・豊田勇夫：ブロイラー筋胃びらんのトリアデノウイルスの分離及び接種試験。平成16年度長崎県家畜保健衛生業績発表会集録：58~60。2004。
- 9) 飛梅三喜・東城孝良：ブロイラーひなにみられたアデノウイルス性筋胃炎。平成11年度徳島県家畜保健衛生業績発表会集録：42~46。1999。



## 山口獣医学雑誌 投稿規程

1. 山口獣医学雑誌（以下、雑誌という）に関する原稿の取り扱い、この規程に拠る。
2. 原稿は2部〔正本1部、コピー1部（ゼロックス、リコピー等々）〕を学会事務局あて送付する。
3. 原稿は、編集委員において審査し、原則として、受付順に登載する。
4. 審査の結果、採用と認められた原稿は、雑誌の印刷発刊後においても、原則として著者へ返却しない。
5. 審査の結果、不採用と認められた原稿は、原則として、受付3か月以内に返却する。但しこの場合、不採用の理由を明らかにする義務を負わない。
6. 原稿は、原則として、刷り上がり6ページ（1ページ約2,400字）以内とし、当学会所定の原稿用紙（24×25行）に記述する。ワープロ原稿は、1ページ24×25行とする。原稿用紙は、申し出があれば、無償で分与する。  
 なお、制限紙数には、論文表題、著者名、所属機関名、図表、文献、写真など一切を含む。抄録は和文・欧文のいずれにおいても、制限紙数に含まれる。制限紙数を超過した分およびカラー写真については、原則として、著者実費負担とする。
7. 和文原稿は、現代かなづかい、平仮名、横書き、楷書で記述し、欧文抄録は刷り上がり1ページ以内とする。欧文（英文または独文）原稿は、厚手のタイプライター用紙にダブルスペースでタイプライティングするとともに、別に簡潔に要約した日本文抄録（刷り上がり1ページ以内）を添付する。
8. 図表並びに写真は、まとめて原稿の最後につけ、論文中に、それらを置く位置を明確に指定する。写真は原則として「手札判」以上の大きさとし、番号をつける場合は直接写真に記入せず台紙に位置と番号を記入する。必要に応じて、天地左右を指定する。
9. カラー写真をトリミングする場合はコピー（ゼロックス等々、白黒で可）について記入指定する。
10. 凸版の原図（図版、体温表など）は、必ず、墨汁、黒インキなどで青色方眼紙または白紙に明記する。凸版原図および写真の送付にあたっては、折・汚損に留意し、台紙に仮付し、その表面を硫酸紙、セロファン紙などで覆う。
11. 引用文献は、直接、本文に引用したものに限り、著者名、論文表題、登載誌、巻（号）、始頁～終頁、西暦年を明記し、原則としてアルファベット順に配列し、番号をつけ、下記の様式で記載する。特に句読点に注意し、イタリック字体は赤線のアンダーラインで指定する。  
 例 雑誌  
 和文： 5) 松本正弘・中村一夫：人および動物血液中の日本脳炎ウイルス中和抗体の分布と推移について。熱帯医学, 15(6) : 272 ~ 285. 1975.  
 英文： 18) Lawrence J. E. and Clark, D. H. : The Lysis of Leptospire by Antiserum. Amer. J. Trop. Med. Hyg., 24(2) : 250 ~ 260. 1975.  
単行本  
 和文： 7) 山村雄一・石坂公成：免疫化学概論, 2版 : 15 ~ 18. 朝倉書店, 東京. 1973.  
 英文： 15) Smith, H. A., Jones, T. C. and Hunt, R. D. : Veterinary Pathology. 4th ed. Lea & Febiger Pub., Philadelphia. U.S.A. 1972.
12. 外国人名、地名などは、原語のまま記述し、数字は算用数字、度量衡はメートル法に拠る。
13. 印刷の校正は編集委員が行う。但し、初校は著者も行うものとし、この場合、原則として、内容の訂正は認めない。
14. 別刷は、100部まで無償で贈呈する。それ以上の部数については、著者実費負担とする。必要部数については、初校（著者校正）のとき、原稿の右上端に朱書すること。

## 山口県獣医学会規程

## (名称・事務局)

第1条 この学会は、山口県獣医学会（以下「学会」という。）と称し、事務局を（社）山口県獣医師会（以下「本会」という。）におく。

## (目的)

第2条 本学会は、産業動物・小動物・獣医公衆衛生（以下「三学会」という。）に関する獣医学術の研究と、その振興・普及をはかることにより、社会に貢献することを目的とする。

## (事業)

第3条 本学会は、前条の目的を達成するため、次の事業を行う。

- (1) 三学会の学術研究の発表に関する事項
- (2) 山口獣医学雑誌の発行に関する事項
- (3) その他、本学会の目的に必要なと認められる事項

## (学会の開催)

第4条 学会は、年1回以上開催するものとする。

## (会員)

第5条 本学会の会員は、第2条の目的に賛同する次の者をもって組織する。

- (1) 正会員 本会の会員である者。
- (2) 準会員 研究機関その他に属する者で、学会長の認める者。
- (3) 学生会員 学生であって学会長の認める者。

## (入会手続)

第6条 準会員及び学生会員（共同研究者を含む）は、学会発表申込み前に別紙様式による入会手続を経なければならぬ。

## (役員及び組織)

第7条 本学会に学会長及び副学会長をおき、本会会長及び副会長をもってこれにあてる。

第8条 学会長は学会を代表し、会務を総理する。

2 副学会長は学会長を補佐し、学会長事故あるときは、その職務を代行する。

第9条 学会の円滑公正な運営を期するため、学会運営委員会（以下「委員会」という。）及び学会事務局を設置する。

第10条 委員会は、学会運営に関する必要事項の審議を行うものとする。

第11条 委員会は、学会運営委員16名以内をもって組織し、会長が理事会に諮り委員の委嘱をする。

- 2 委員の任期は2年とし、再任を妨げない。
- 3 委員会は委員の互選により、正・副委員長を選出し学会運営を総括する。
- 4 委員会は、委員の出席人数2/3以上をもって成立する。

第12条 学会事務は、本会事務局が行うものとする。

## (学会発表)

第13条 学会発表は、第5条の会員でなければ発表することはできない。

第14条 学会の発表は、未発表のものでなければならない。

第15条 学会長は、発表された研究業績を委員会に諮り、中国地区学会に推薦することができる。

## (山口獣医学雑誌)

第16条 学会は、山口獣医学雑誌を年1回以上発刊する。

- 2 山口獣医学雑誌の編集は、別に定める「山口獣医学雑誌編集内規」による。

## (雑則)

第17条 この規程に定めるもののほか必要な事項は、委員会において決定する。

第18条 この規程の改廃は、委員会の議を経て理事会において決定する。

附 則

- 1 この規程は、平成4年4月1日から施行する。
- 2 昭和54年10月13日施行の山口県獣医学会規程は廃止する。
- 3 平成13年7月25日一部改正。

山口獣医学雑誌編集内規

第1条 雑誌は、原則として毎年8月に定期刊行する。

第2条 編集は獣医学、医学、生物学、公衆衛生学及び関連領域の総説、原著、短報、資料等で、会員の寄稿原稿及び学会の依頼原稿について行う。

第3条 学会長は、編集委員若干名を委嘱し、委員会を設置する。

第4条 学会長は、学会事務局に、発刊、配布、寄贈、交換、広告取得等の事務を担当させる。

第5条 委員の任期は2年とする。ただし再任を妨げない。

第6条 編集委員会

- (1) 委員会は、会長が必要に応じて招集する。
- (2) 委員長は、委員の互選による。
- (3) 委員会は、寄稿原稿の採否について審査する。
- (4) 委員会は、発行部数を決定する。

第7条 内規に定めない事項は、編集委員会において決定する。

第8条 内規の改廃については、編集委員会及び学会運営委員会において決定する。

付 則

この内規は、昭和54年（1979年）10月13日から実施する。





# 山口県獣医師会関係事業および刊行物

## 事業概要

獣医学術の発達普及と獣医業務の公正円滑な発展を図り、地域社会の畜産と公衆衛生の発達に寄与するとともに、獣医業医術倫理に基づく獣医師の学識、技術、教養、品性、等々の向上を図るための諸種の事業を行う。

## 学会・講習会・研修会

### 山口県獣医学会

1962年第1回開催、毎年1回開催、2009年現在第48回学会を終了。

### 講習会・研修会

臨床（大動物、小動物、鶏病）、公衆衛生等々の講習、研修会を県獣医師会、中国地区連合獣医師会、日本獣医師会、山口県、農林水産省、厚生労働省、等々の単独開催、共催、後援によって年5～6回実施。

## 刊行物

### 山口県獣医師会会報

1961年6月創刊、毎月1回発行、現在（2009年12月）第583号を発刊。会報、公文、広報、雑報、随筆、消息、等々を登載、県内会員および全国都道府県獣医師会へ配布。

### 山口獣医学雑誌 The Yamaguchi Journal of Veterinary Medicine

1974年1月創刊、毎年1回発行、現在（2009年12月）第36号を発刊。邦文、英文、独文の総説、原著、等々、論文を登載。山口県獣医学会の機関誌として内外の学術誌と交換。

## ACKNOWLEDGEMENT

The Yamaguchi Prefectural Association of Veterinary Medicine appreciates the services of Mr. & Mrs. Masaharu Ano for proofreading the manuscripts in English.

## 謝辞

山口獣医学雑誌に登載される英文論文は、阿野政晴並びに阿野メリアン両先生御夫妻の御校閲を賜りました。山口県獣医学会として深甚な謝意を呈上申し上げます。

山口獣医学雑誌

The Yamaguchi Journal of  
Veterinary Medicine

2009年12月25日印刷

第36号

No.36

2009年12月30日発行

2009年

2009

## 山口県獣医学会

学会事務局

山口県獣医師会館内

山口県山口市小郡下郷東蔵敷1080-3

郵便番号 754-0002 電話 小郡 (083) 972-1174番

FAX (083) 972-1554番 e-mail: yama-vet@abeam.ocn.ne.jp

印刷所

コロニー印刷

山口県防府市台道長沢522番地

電話 防府 (0835) 33-0100番

FAX (0835) 32-2514番

(毎年1回発行)

# THE YAMAGUCHI JOURNAL OF VETERINARY MEDICINE

No. 36                      DECEMBER                      2009

Special Number Issued in Commemoration of  
the 150th Birth Anniversary of Dr. H. TOKISHIGE

---

## CONTENTS

### BIRTH COMMEMORATION

Dr. H. TOKISHIGE and His Immortal Achievements.

Hiroshi YAMAGATA ..... 1 ~ 4

### REVIEWS

Enzootic Bovine Leukosis ( *EBL* ) and Recent Prevalation and Control measurement in Japan.

Kenji MURAKAMI ..... 5 ~ 30

Gullet Worm ( *Gongylonema Pulchrum* Molin, 1857 ) and the its

Transmission : Really a Low Host Specificity?

Hiroshi SATO .....31 ~ 54

### ORIGINAL ARTICLES

Bovine Viral Diarrhea - Mucosal Disease of Calf with Characteristic Skin Lesion.

Hidetsugu NAKATANI, Akifumi OTANI, Sachihō NAKATANI,

Fuminori YANAGISAWA, Kumiko KIMURA and Makoto HARITANI .....55 ~ 60

Antimicrobial Susceptibility of Bovine Respiratory Bacterial Pathogen,

which was Isolated in Yamaguchi Prefecture in the Past Six Years.

Sachihō NAKATANI, Akifumi OTANI, and Shingo OKAMURA .....61 ~ 66

### SHORT COMMUNICATION

Detection and Examination of Avian Adenovirus in the Outbreaks on Farms.

Fuminori YANAGISAWA, Akifumi OTANI, Sachihō NAKATANI

and Hidetsugu NAKATANI .....67 ~ 72

### ADDENDA

Rules of Contribution to the Official Journal. ....73

Rule of the Association .....74

Bylaw for the Arrangement of the Official Journal. ....75

Outline of the Enterprises and the Publications ( *colophon page* )