

# 山羊関節炎・脳脊髄炎の診断法について

感染症研究部 ウイルス病研究室

小西 美佐子

Konishi, Misko

山羊関節炎・脳脊髄炎（CAE）は、レトロウイルス属レンチウイルス科に属するCAEウイルス（CAEV）が山羊に感染して引き起こされる進行性消耗性疾患である。主な症状は成獣における慢性持続性関節炎及び乳房炎、幼獣における急性進行性脳炎及び脊髄炎であり、稀に成獣に肺炎及び脳炎がみられることもある。感染経路は母乳を介した垂直感染が主とされる。発症率は成獣で10～20%であるが、世界中で広く発生が見られ、山羊で最も重要視されている疾病の一つであり、国際獣疫事務局（OIE）のリストB疾病に指定されている。我が国は長年CAE清浄国と考えられてきたが、2002年に初めてその発症例が確認された。CAEV感染山羊の多くは症状を示さず、終生ウイルスを保持するため臨床症状を指標として摘発淘汰することは困難である。そのため、日本におけるCAEの浸潤状況や伝播様式を調べ、さらには海外から輸入される山羊の正確な検疫に資する診断法の開発が急務であった。我々は、CAEの国内浸潤状況の把握及び早期撲滅を目的として本疾病のウイルス学的・血清学的診断法の確立を試みた。

1．寒天ゲル内沈降試験（AGID）：CAEVと高い抗原共通性を有する羊のマエディウイルスを羊胎児肺（FLL）細胞に持続感染させ、その培養上清を濃縮・精製してAGID用抗原を作製した。これを用いて血清の抗体検査を行ったところ、陽性

を示す明瞭な沈降線が認められた（図1）。

2．PCR法：CAEV感染細胞からDNAを抽出し、CAEVgag遺伝子に特異的なプライマーを用いてnested PCRを行ったところ、予測されたサイズ（first PCRで296bp、nested PCRで184bp）のバンドが検出された（図2）。また、このPCR産物の塩基配列は、既知の欧米のCAEV及びマエディ・ビスナウイルスの塩基配列とそれぞれ95.1%、83.6%の相同性を示した。

3．シンシチウムアッセイ法：ウイルス分離のために初発例の関節液等をFLL細胞に接種し、三代継代した後、ギムザ染色をしたところ、CAEVの属するレトロウイルスに特徴的な多核巨細胞（シンシチウム）が観察された（図3左）。

4．間接蛍光抗体法（IFA）：分離ウイルスを感染させたFLL細胞を用いてCAEV陽性血清を一次抗体、FITC標識ウサギ抗ヤギIgG抗体を二次抗体としてIFAを行なったところ、感染細胞の細胞質に特異蛍が観察された（図3右）。

確立したAGID法を用いて、2002年8月～2005年3月までに各県の家畜保健衛生所の協力により採材した山羊血清3,255検体について、抗体調査を行った結果、全国におけるCAEV抗体陽性率は18.9%（614/3,255）であり、そのうち初発生農場関連個体における陽性率は58.2%（259/445）と高いことが判明した。また、2002年8月～2004年11月までに研究



材料として送付された山羊720検体の末梢血白血球からDNAを抽出してPCR検査に供したところ、41.4% (298/720) が陽性となった。

本AGID法は現在、農林水産省消費・安全局動物衛生課のCAEサーベイランスに用いられており、また、希望する県にはAGID用抗原を配布し、各県での抗体検査に活用されている。

本研究で確立されたAGID法、PCR法を現場で広く用いてCAEV感染山羊を早期摘発し、また新生子山羊への乳汁感染を防ぐための出産直後の親子分離、代用乳または凍結融解した初乳による飼育を行うことでCAEの早期撲滅が図られることを期待する。



図1 AGID結果の一例  
PS：陽性指示血清  
AG：抗原  
1～3：サンプル血清  
(順に強陽性、弱陽性、陰性)

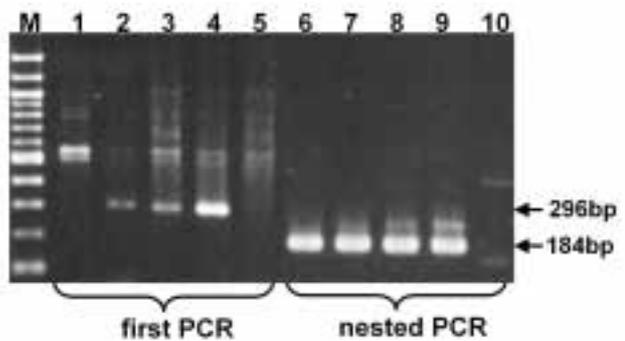


図2 PCR結果の一例  
M：分子量マーカー  
1,6：初発例WBC (白血球)  
2,7：初発例WBC接種FLL細胞  
3,8：マエディウイルス接種FLL細胞  
4,9：ピスナウイルス接種FLL細胞  
5,10：FLL cell

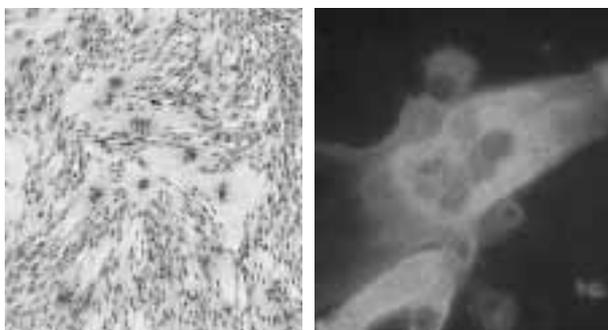


図3 FLL細胞を用いて分離されたウイルスの同定  
(左) 分離ウイルス感染細胞の多核巨細胞形成。  
(右) IFAにより感染細胞の細胞質にCAEV特異蛍光が確認された。