

【第2部：家畜保健衛生所及び病性鑑定施設における家畜の保健衛生に関する試験・研究】

兎出血病ウイルス2型(RHDV2)による急性例及び不顕性感染例の病態比較

秋田県中央家畜保健衛生所 ○川畑海渡、中村南斗

県内兎飼養農場でRHDV2による兎出血病が2021年に発生し(1例目)、2024年12月(2例目)及び2025年5月(3例目)に再発生。2、3例目の病態を比較検討。2例目は突然死した6/6羽の肝臓からRT-PCRで特異的遺伝子を検出。病理組織学的に小葉辺縁～中間帯の肝細胞壊死や諸臓器の血栓形成等を6/6羽で認め、急性例と診断。3例目は無症状で糞便検査により摘発され、qRT-PCRで1/6羽の肺及び肝臓から特異的遺伝子を微量検出。病理組織学的にうっ血性肺水腫及びグリソン鞘へのリンパ球浸潤を6/6羽で認め、肝臓及び脾臓のin situ hybridization (ISH)でRHDV2のRNAを検出。寒天ゲル内沈降反応で抗体保有が示唆され、不顕性感染と診断。近年のRHDV2は変異により致死率が増加し不顕性感染は比較的少ないが、農場の汚染源となり得る。ウイルス量が微量でRT-PCRでの摘発が困難な場合があり、清浄化にはISHや抗体検査の併用が重要。

第71回秋田県獣医畜産技術研究発表会（令和8年1月30日）

兎出血病ウイルス2型(RHDV2)による
急性例及び不顕性感染例の病態比較



秋田県中央家畜保健衛生所 病性鑑定チーム
○川畑海渡、中村南斗

兎出血病（届出）

- **肝細胞壊死と播種性血管内凝固（DIC）を主徴とする兎の急性・高致死性感染症**
- 原因：カリシウイルス科ラゴウイルス属兎出血病ウイルス(RHDV)
遺伝子型：古典的株(GI.1)と新型株(GI.2/RHDV2)が存在

	古典的株（GI.1）	新型株（GI.2）
初報告	1984年 中国	2010年 フランス
宿主	アナウサギ属のみ	広範なウサギ科の種
感受性日齢	成体（8～10週齢以上）	全年齢

GI.1を置き換える形で世界的に流行
国内：2019年に初報告→2020年にかけて流行
2021年以降も散発的に発生

発生農場の概要

- 兎（日本白色種）1,675羽を飼養
- 第一農場と第二農場を有する
- 2021年7月に兎出血病が初発生（1例目）
- ◆ 2, 3例目の発生経緯

2024/12/11: 第一農場死亡兎で陽性 ← 2例目
12/25: 第二農場死亡兎で陽性

現地家保の指導のもと衛生対策を実施

2025/3: RHDVフリー兎舎を設立、繁殖候補兎の確保を開始
糞便検査陰性の個体をフリー舎へ移動し、1ヶ月後に再検査

2025/5/20: 第一農場RHDVフリー舎の兎6羽が
移動1ヶ月後の検査で陽性 3例目

RHDV2感染の臨床経過

経過	臨床症状	死亡までの期間	発生割合	
			初期の株	現在の株
甚急性	突然死 死亡直前の虚脱・悲鳴	12-36時間	約20-30%	約70-90%以上
急性	発熱(40℃以上)、元気消失、 食欲不振、神経症状、 呼吸困難、黄疸、出血	1-3日		
亜急性	(急性型より軽度)	(急性よりも長い)	(高い)	減少傾向
慢性	黄疸、進行性の衰弱、 食欲不振、嗜眠	1-2週間		
不顕性	なし	死亡しない	約70-80%	

2例目（急性例）と3例目（不顕性感染例）の病態を比較

材料と方法

	No.	性	齢	死殺の別	剖検日	備考
2例目	1	F	2歳	へい死	2024.12.11	●通報当日の死亡兔 ●<u>死亡前まで臨床症状なし</u>
	2	F	1歳			
	3	F	2歳			
	4	M	6か月			
	5	F	1歳			
	6	M	5か月			
3例目	7	F	200日	鑑定殺	2025.05.29	●5/20の糞便検査でRHDV2陽性 ●<u>鑑定殺時まで臨床症状なし</u>
	8	F	200日			
	9	F	153日			
	10	F	181日			
	11	M	200日			
	12	M	512日			

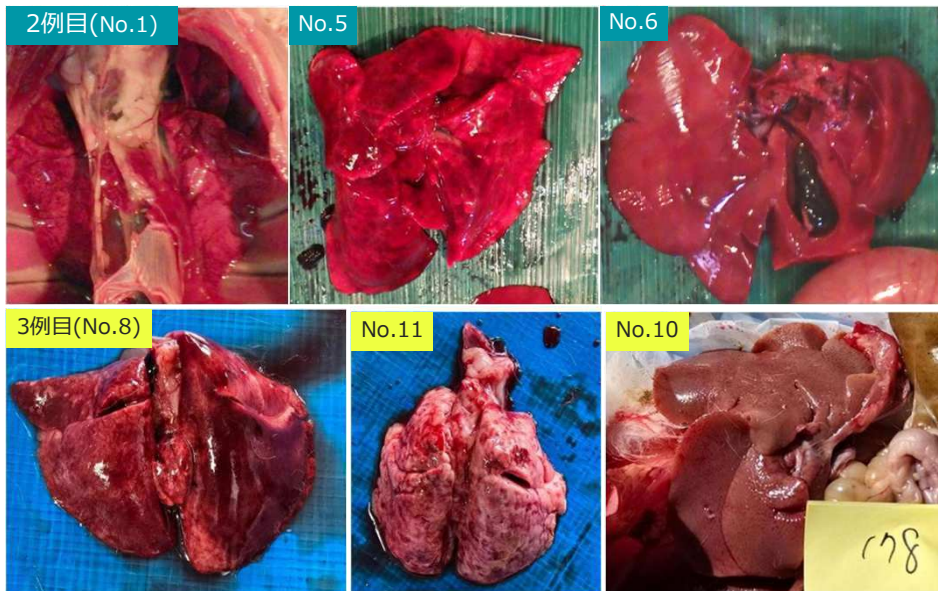
材料と方法

- 剖検
- 細菌検査
 - 臓器生材料を5%羊血液寒天培地(炭酸ガス、嫌気)、マッコンキー培地(好気)、ES II サルモネラ培地に接種し培養
 - 分離菌をキットにより同定
- ウイルス検査
 - 主要臓器等を用いたRHDV2のqRT-PCR
 - 2例目におけるVP60遺伝子（部分領域）のシークエンス解析及び分子系統解析（動衛研へ依頼）
- 病理検査
 - ヘマトキシリン・エオジン(HE)染色、Azan染色、リンタングステン酸ヘマトキシリン(PTAH)染色
 - RNAscope™(Advanced Cell Diagnosis社)を用いたRHDV2 VP60遺伝子の*in situ* hybridization(ISH)

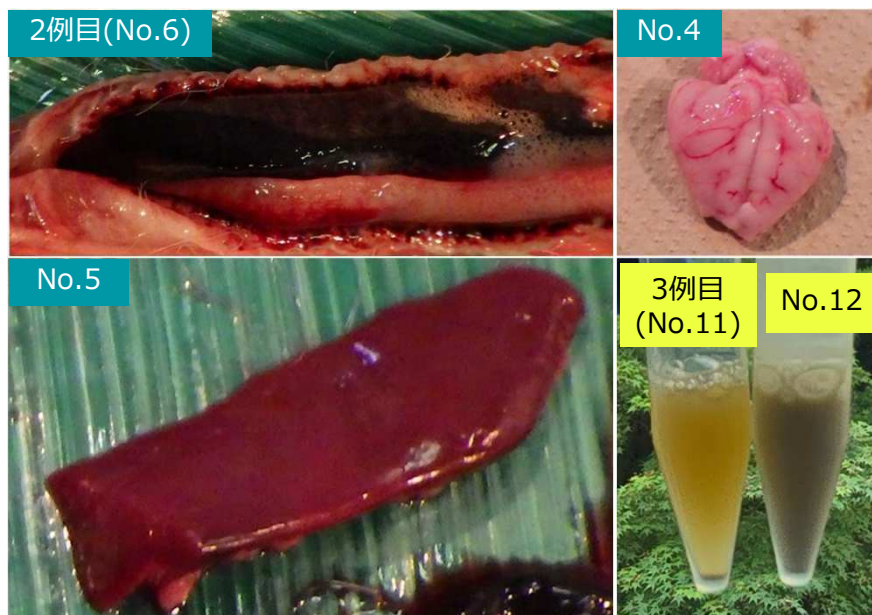
剖検（外貌）



剖検（肺・肝臓）



剖検（その他）



剖検所見まとめ（2例目）

No.	心臓	肺	肝臓	腎臓	脾臓	気管	脳	結膜
	赤色心嚢 水貯留	出血	脆弱化 暗赤色化	暗赤色化	暗赤色化	泡沫性粘液 粘膜充血	血管充血	充血
1	○	○	○	○	○	○	○	—
2	○	○	○	○	○	○	○	—
3	○	○	○	○	○	○	—	—
4	○	○	○	○	○	○	—	○
5	○	○	○	○	○	○	○	—
6	○	○	○	○	○	○	—	—

剖検所見まとめ（3例目）

No.	心臓	肺	肝臓	腎臓	脾臓	脳	その他
		出血	点状 出血				
7	—	—	—	—	—	NT	
8	—	○	—	—	—	NT	子宮内に胎子12羽
9	—	○	—	—	—	NT	
10	—	—	○	—	—	NT	
11	—	○	—	—	—	NT	膀胱尿: 黄色、混濁、沈殿少
12	—	○	—	—	—	NT	膀胱尿: 薄茶色、混濁、泥状、沈殿多

病原検査結果

- 細菌検査

No.2の腎臓・脾臓から *Paeniclostridium sordellii* を分離

- ウイルス検査

陽性対照(1例目検体)に対するRHDV2特異的遺伝子量の相対値

No.	1	2	3	4	5	6
肝臓	0.37	2.1	1.1	1.9	1.6	4.4
脾臓	NT	NT	NT	NT	NT	NT
肺	NT	NT	NT	NT	NT	NT
No.	7	8	9	10	11	12
肝臓	3.0×10^{-8}	—	5.8×10^{-6}	—	—	5.0×10^{-8}
脾臓	—	—	7.3×10^{-8}	—	—	—
肺	8.1×10^{-8}	9.9×10^{-8}	1.5×10^{-5}	—	—	—

□ …再検査で陽性

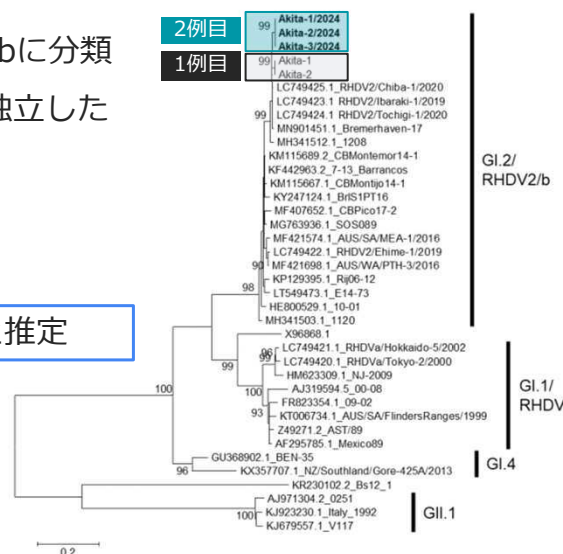
3例目の遺伝子量は2例目に比べ極めて微量

病原検査結果

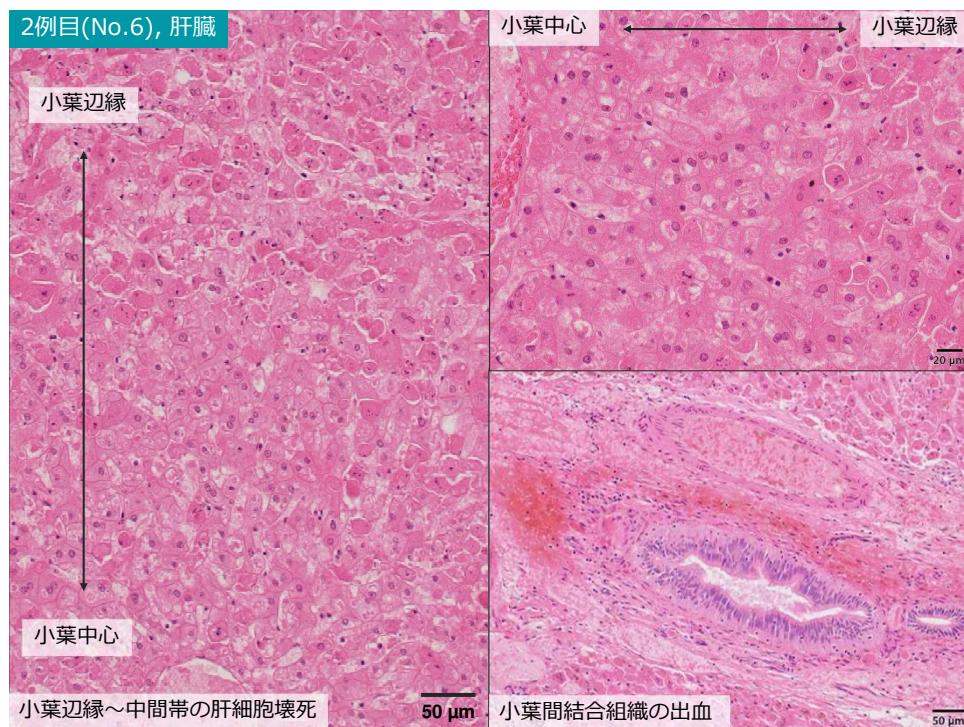
- 2例目におけるVP60遺伝子(部分配列)の分子系統解析

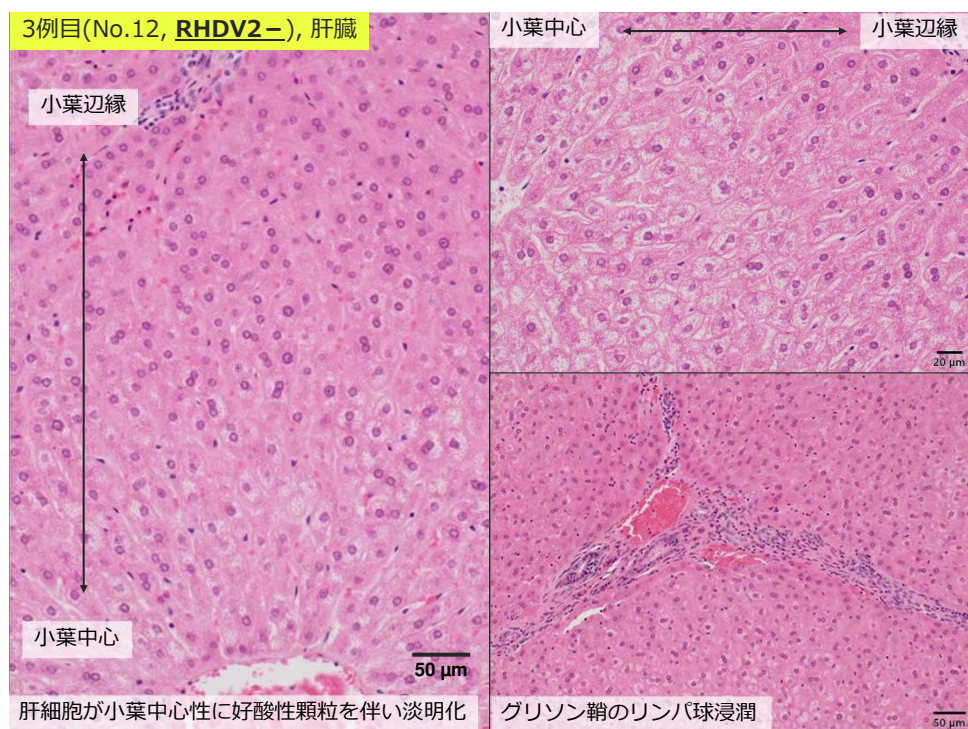
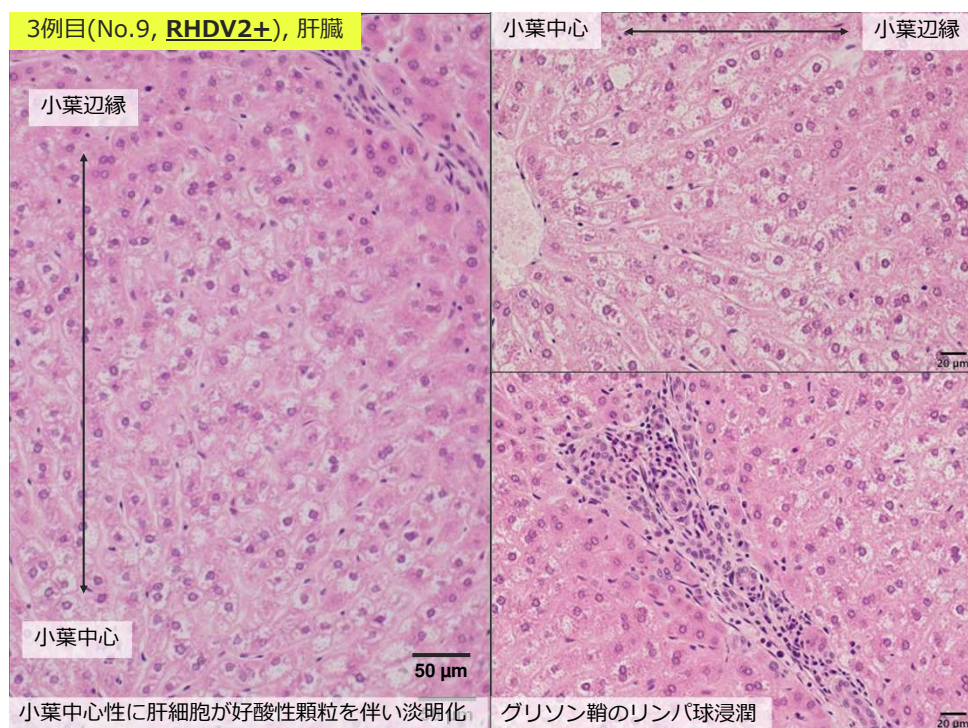
- 遺伝子型GI.2/RHDV2/bに分類されるクラスター内の独立したサブクラスターに分類
- 近縁な株は認められず

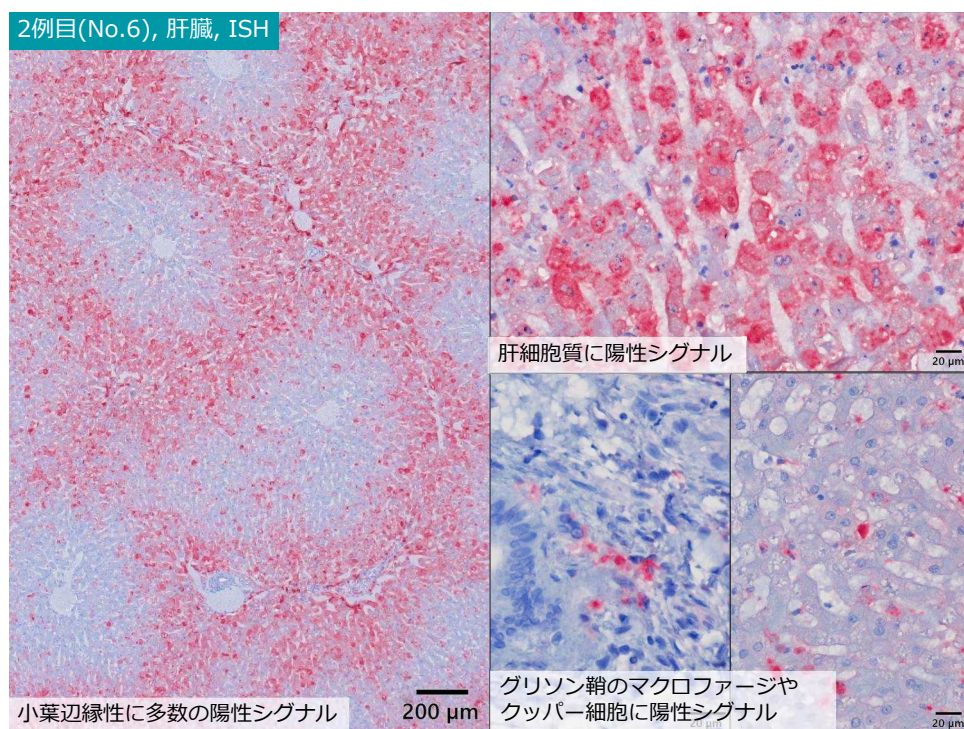
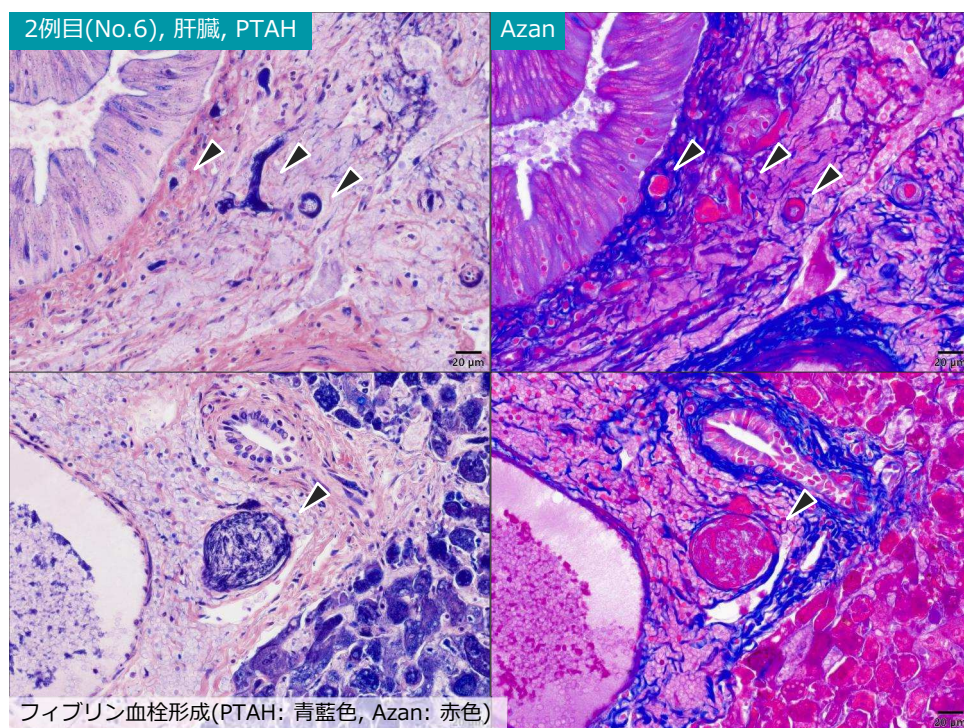
1例目とは異なる株と推定

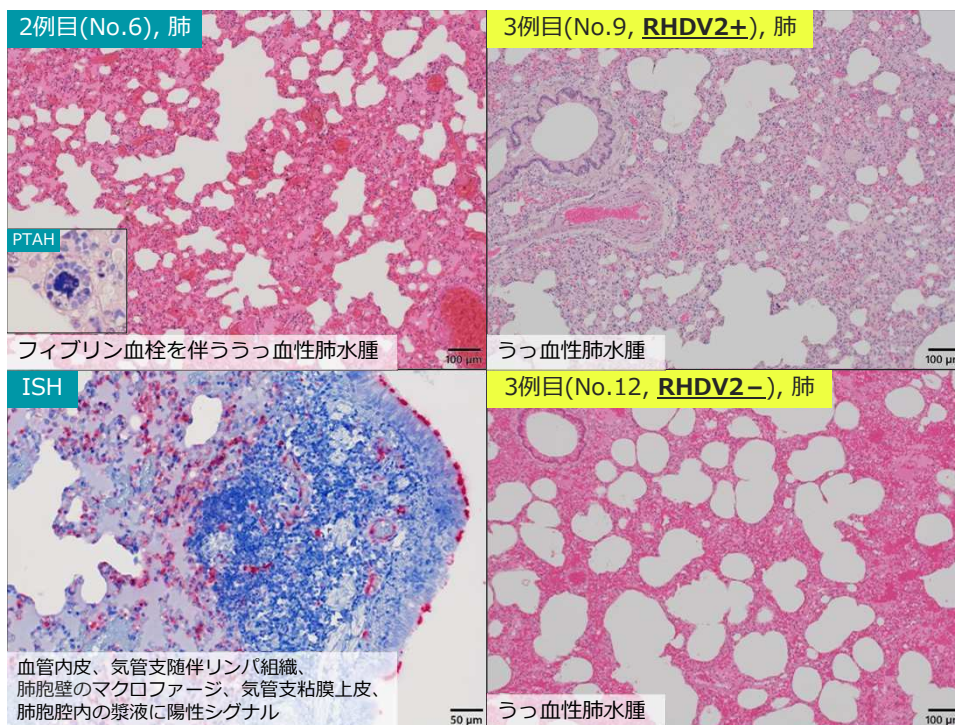
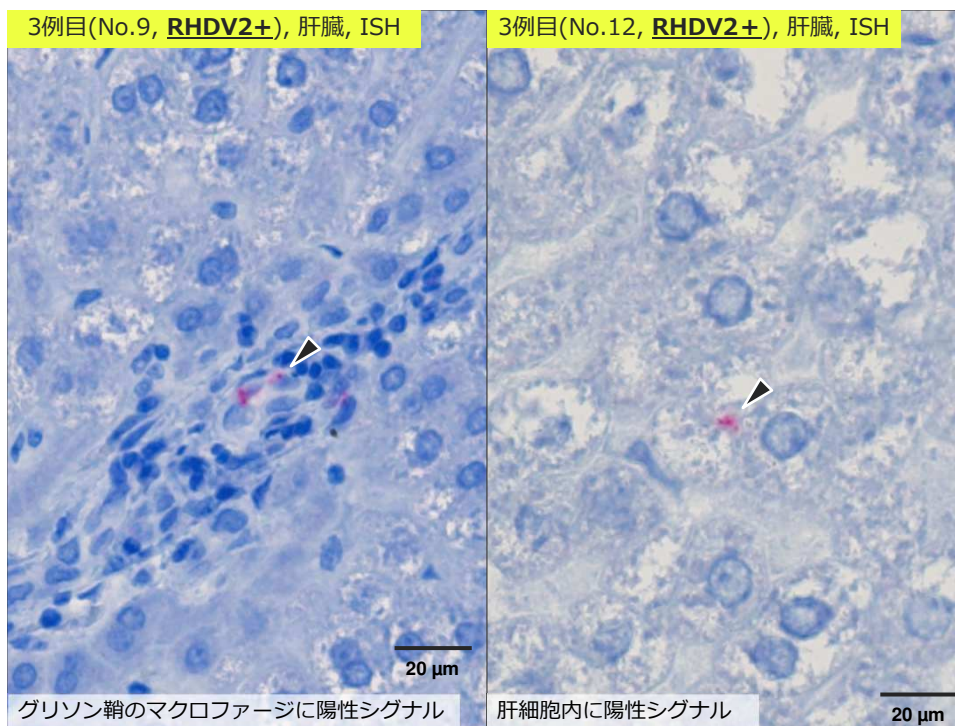


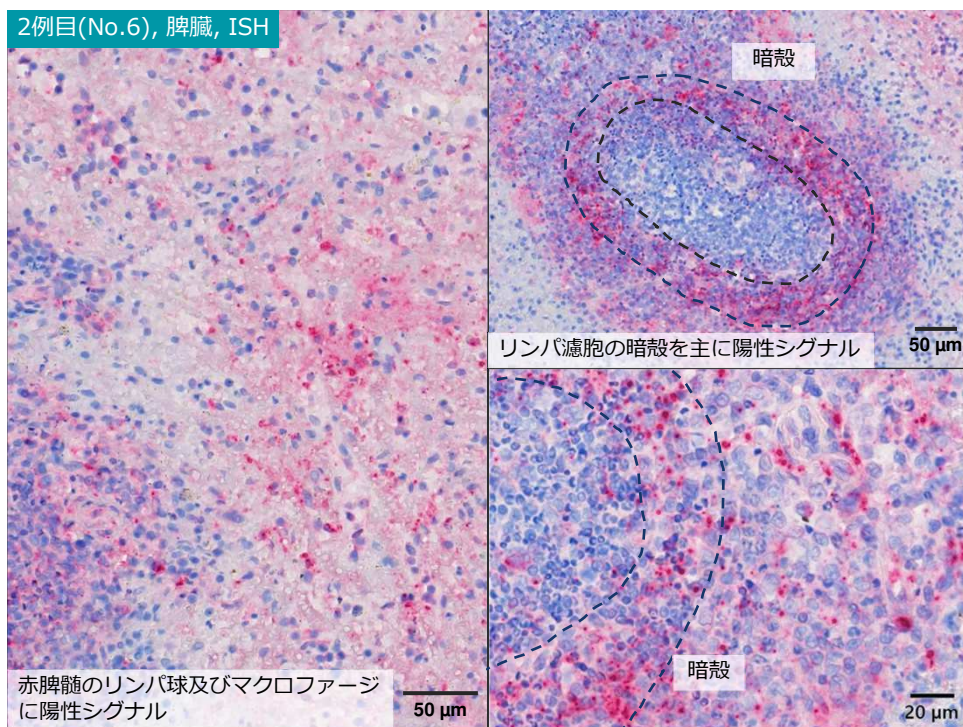
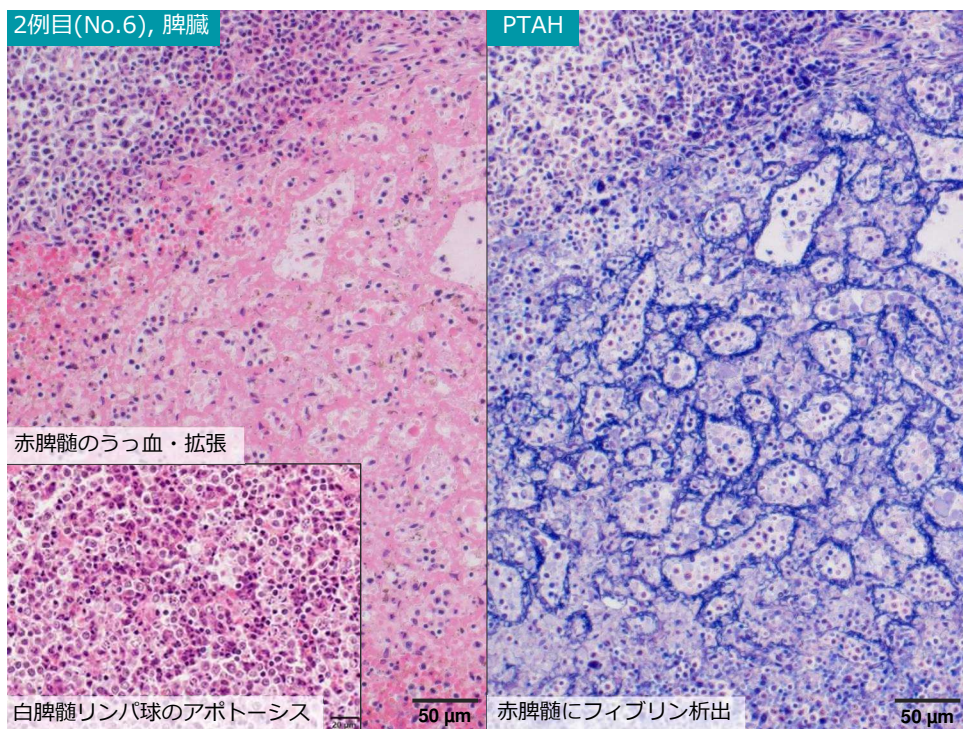
病理検査結果

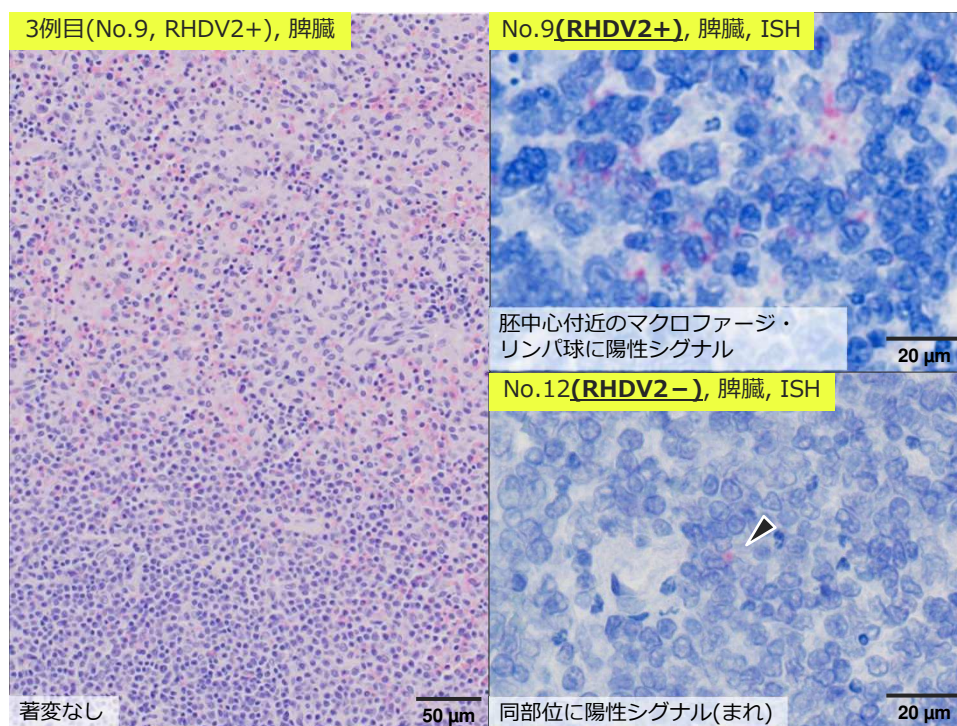












共通組織所見

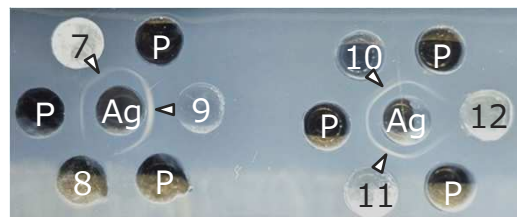
	2例目		3例目	
	病理検査(n=6)	ISH(n=1)	病理検査(n=6)	ISH(n=2)
肝臓	- 小葉辺縁～中間帯の肝細胞壊死 - 小葉間結合組織の出血及び小血管のフィブリン血栓	+	- グリソン鞘のリンパ球浸潤 - 小葉中心帯における肝細胞の好酸性顆粒を伴う淡明化	+
肺	- 間質のうっ血、肺胞腔の漿液滲出 - 間質の小血管にフィブリン血栓	+	間質のうっ血、肺胞腔の漿液滲出	-
脾臓	- 赤脾髄のうっ血、拡張 - 白脾髄リンパ球のアポトーシス - 赤脾髄にフィブリン析出	+	著変なし	+
腎臓	- 糸球体毛細血管及び間質の血管にフィブリン血栓 - 尿細管及び集合管に尿円柱	+	共通所見なし	NT
脳	- 巣状出血 - 小血管のフィブリン血栓	+	NT	NT

2例目: RHDV2による特徴病変を確認

3例目: 特徴病変に乏しいがISHは陽性→感染が示唆

3例目兎のRHDV2抗体検査

- 材料
3例目兎（No. 7 – 12）の血清（鑑定殺時に採材）
- 方法
 - 抗原の作製：感染兎肝臓からRHDV2を粗精製（Yan Li *et al.*, 2023を一部改変）
 - 陽性対照(鶏卵抗体)の作製
 - 不活化粗精製RHDV2を免疫した鶏の卵黄からIgY抗体を精製（A. M. Madera-Contreras *et al.*, 2022）
 - 定法により寒天ゲル内沈降反応を実施
- 結果



Ag: 粗精製RHDV2
P: 陽性対照(鶏卵抗体)
7-12: 血清

特異抗体の獲得が示唆

まとめと考察

◆ 2例目 RHDV2感染の急性例（典型例）

DIC→ 諸臓器のフィブリン血栓形成、出血→多臓器不全

RHDV2による肝細胞・血管内皮細胞・血管内マクロファージのアポトーシス

◆ 3例目 RHDV2の不顕性感染例（近年では比較的少ない）

- ・ 無症状で経過し、2例目より軽度な肉眼病変
- ・ 病理組織学的にリンパ球性肝炎及びうっ血性肺水腫を認めた（兎出血病に特徴的な肝細胞壊死・DICは認められず）
- ・ RT-PCR及びISHで微量のRHDV2特異的遺伝子を検出
- ・ 寒天ゲル内沈降反応で抗体獲得が示唆

両例とも兎出血病と診断

まとめと考察

- 慢性感染または回復個体は最長15週間にわたり血液及び糞便からウイルスRNAが検出(Gall *et al.*, 2007)
→不顕性感染個体がウイルス排泄による農場の汚染源となる可能性
→まん延農場では定期的な検査が不可欠

不顕性感染個体は遺伝子量が少なく、診断に苦慮

- 寒天ゲル内沈降反応による抗体検査
- RNAscope™によるISHはPCRと同等以上の感度
(No.12の脾臓：PCR陰性でもISH陽性)

清浄化に向けた不顕性感染個体の摘発には
qRT-PCR, 抗体検査及びISHの併用が重要

謝辞

- ◆ 2例目におけるRHDV2のVP60遺伝子解析
 - 農研機構動物衛生研究部門 動物感染症研究領域
ウイルスグループ上級研究員 谷川太一 様
- ◆ RHDV2の*in situ* hybridizationに関する技術研修
 - 茨城県県北家畜保健衛生所
病性鑑定第一課 竹澤詩穂 様

ご両名に心より感謝いたします

