

牛白血病蔓延農場における牛免疫不全ウイルスの浸潤状況

高橋俊彦¹⁾・北野菜奈¹⁾・田島誉士²⁾

Invasion status of bovine immunodeficiency virus on a bovine leukemia-infested farm

Toshihiko TAKAHASHI¹⁾, Nana KITANO¹⁾, Motoshi TAJIMA²⁾
(Accepted 29 November 2018)

はじめに

牛白血病は平成10年の家畜伝染病予防法の改正に伴い、新たに届出伝染病に指定された。平成10年では100頭にも満たなかった牛白血病発症牛が、平成23年には17倍以上にも急増している。北海道を含めて全国的に、発症数および牛白血病発症に伴う廃用数も増加しており、平成26年の北海道での発症数は392頭で、全国で発症した牛白血病の16.2%を占める^[5]。

牛白血病は、体表リンパ節や体腔内リンパ節が腫れるなどの腫瘍性疾病で「地方病性(成牛型)」と「散発型」に分類される。散発型は、発症年齢とリンパ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、その発生原因についてはいまだ不明である。また、地方病性牛白血病の原因となる牛白血病ウイルス(*Bovine leucosis virus*: BLV)はレトロウイルス科デルタレトロウイルス属に属しており、ヒト成人型T細胞白血病ウイルスと近縁である。感染牛の70%は臨床的には健康な無症状キャリアとなり、残りの30%は血液中のリンパ球が増加する持続性リンパ球増多症を発症するが、外貌上異常を示すことはない。ウイルス感染後、数ヶ月~数年の無症状期を経て、数%の牛はBリンパ球性の白血病またはリンパ腫を発症する^[6]。典型的な牛白血病では、削瘦、元気消失、眼球突出、下痢、便秘、体表のリンパ節や骨盤腔内に腫瘤がみられる^[4]。主に3歳以上の牛に発生するといわれているが、近年、3歳以下の若齢牛の発症例が多数報告されている。本研究の試験農場(A農場)でも2014年に2歳齢の個体の牛白血病発症を確認した(Fig. 1)。

牛白血病発症の若齢化に何らかの関与が疑われているのが、牛免疫不全ウイルス(*Bovine Immunodeficiency Virus*: BIV)である。レトロウイルス科レンチウイルス属に属するBIVは1972年にVan Der Maatenら^[10]によってリンパ球増多症を示した牛の末梢血リンパ球より分離された。BIVは他のレンチウイルス、とりわけヒト免疫不全ウイルス(*Human Immunodeficiency Virus*: HIV)と抗原性も形態学的にも共通する部分があると報告^{[1][2]}され、BIVがHIVの病原論のために、役立つ動物モデルとして注目されるようになった。

血清学的調査では、世界中にBIV感染が様々な罹患率(1.4~80%)で広がっているといわれており、アメリカで約4%^[11]、オランダでは1.4%^[3]が抗体陽性であったと報告されている。日本では2003年に北海道10地区の牛を対象に血清疫学調査を行ったところ、11.0%がBIV陽性であったと報告している^[9]。

BIV感染牛において、単球の機能障害、脳症、リンパ節症、免疫不全など、病理学的変化が報告されているが、病原性の詳細については未解明の部分がある。また、BIVと同じレンチウイルスで、近年獣医学的領域において問題になっているネコ免疫不全ウイルス(*Feline Immunodeficiency Virus*: FIV)が、レトロウイルスであるネコ白血病ウイルス(*Feline leucosis virus*: FeLV)と混合感染することによりFIVの臨床症状が高い確率で出現するとの報告^[8]もある。

そこで本研究では、各試験農場のBLV感染牛、BIV感染牛、BLV・BIV感染牛の割合を遺伝子検査(PCR法)にて調査し、BLV蔓延農場におけるBIV

¹⁾ 酪農学園大学大学院酪農学研究科

Graduate School of Dairy Science, Rakuno Gakuen University Graduate School, 582 Midorimachi, Bunkyo-dai, Ebetsu, Hokkaido 069-8501, Japan

²⁾ 酪農学園大学獣医学群獣医学類

School of Veterinary Medicine, Rakuno Gakuen University, 582 Midorimachi, Bunkyo-dai, Ebetsu, Hokkaido 069-8501, Japan



Fig. 1 Leukemia onset cattle

の浸潤状況について検討した。

材料および方法

調査期間は2015年4月から8月の4ヶ月間で、北海道A農場(A農場)284頭、B農場(B農場)31頭、京都府1農場(C農場)92頭、合計407頭のホルスタイン種乳牛(子牛から成乳牛)を供試牛とした。

各農場のBLV陽性率は、A農場36.3%(284頭中103頭)、B農場0%(31頭中0頭)、C農場67.3%(92頭中62頭)であった(Table 1)。

尾静脈および頸静脈より、EDTA入り採血管にて採血後、genomic DNA purification kit(プロメガ)を用いDNA抽出処理を行い、BIV特異的プライマーを用いてnested PCRを実施した。PCRには既報のプライマーペアを用いBIVを分離した。

結果

BLV陽性牛はA農場36.3%、B農場0%、C農場67.3%でBLVフリーの農場と濃厚汚染農場、平均的汚染農場であった。

A農場では、284頭中1頭からBIVが分離された。A農場のBIV陽性率は0.35%であった。B農場では、31頭中1頭からBIVが分離された。B農場のBIV陽性率は3.23%であった。C農場ではBIVは分離されなかった。全体では407頭中2頭からBIVが分離され、陽性率は0.49%であった。

陽性であった2個体のうち、A農場の個体はBLV陽性、B農場の個体はBLV陰性であった(Table 2)。

考察

BIV陽性の個体は全体で2頭(0.49%)であったことから、3農場でのBIVの流行は認められなかった。また、牛白血病の発生率の高い農場のBIV陽

Table 1 Positive rate of BLV

	陽性 (陽性率)	陰性
A農場 (n = 284)	103 (36.3%)	181
B農場 (n = 31)	0 (0%)	31
C農場 (n = 92)	62 (67.3%)	30

Table 2 Positive rate of BIV

	陽性	陰性
A農場 (n = 284)	1 (BLV陽性)	283
B農場 (n = 31)	1 (BLV陰性)	30
C農場 (n = 92)	0	92

性率が高いとの報告^[7]もあるが、BLV陽性率36.3%であるA農場、全頭BLV陰性であったB農場からそれぞれBIVが分離されたことや、BLV陽性牛・陰性牛ともにBIVの感染が認められたことから、今回の調査ではBIVとBLVの関係性は認められなかった。また、陽性対照としての検体入手が困難であったことから、今回検出感度を検討することは不可能であった。

BIVと同じレンチウイルスであるFIVが、レトロウイルスであるFeLVと混合感染することによりFIVの臨床症状が高い確率で出現するとの報告^[8]があることや、BIVの伝搬様式はウイルスの性質上BLVと同じであると考えられBIVがHIV同様長い潜伏期間を経ることも考えられることから、長期間の観察も必要であると思われた。

本研究では、BIV陽性率は低値であったが、BLV陽性牛・陰性牛ともにBIVの感染が認められたことや、BIV陽性牛は2頭ともに自家生産牛であり、感染経路が不明であることから、今後注意をすべき疾病のひとつであると考えられた。ここ十数年BIV感染症の発生報告もなく、今回の大規模な検査結果からも、BIVの存在自体を検討すべきであると考えられた。また、今回はウイルスの分離のみであったが、今後抗体価の検査を含め研究を進めていく必要があると考えられた。

要 約

- 1) 本研究では、牛白血病ウイルス蔓延農場における牛免疫不全ウイルスの浸潤状況について検討した。
- 2) 調査期間は2015年4月から8月の4ヶ月間で、北海道A農場(A農場)284頭、B農場(B農場)31頭、京都府1農場(C農場)92頭、合計407頭を供試牛とした。各農場のBLV陽性率はA農場36.3%、B農場0%、C農場67.3%であった。
- 3) 尾静脈および頸静脈よりEDTA入り採血管に

て採血後、genomic DNA purification kit (プロメガ)を用いDNA抽出処理を行い、PCR法にてBIVを分離した。

- 4) BIV陽性牛は、A農場1頭(0.35%)、B農場1頭(3.23%)、C農場0頭(0%)、全体で2頭(0.49%)であった。陽性であった2個体のうち、A農場の個体はBLV陽性、B農場の個体はBLV陰性であった。
- 5) 以上の結果から、3農場でのBIVの流行は認められなかった。また、BLVとの関係性も認められなかった。本研究ではBIVの陽性率は低値であったが、BLV陽性牛・陰性牛ともにBIVの感染が認められたことや、BIV陽性牛2頭はともに自家生産牛であり感染経路が不明であることから、今後注意をすべき疾病のひとつであると考えられた。

謝 辞

本研究を遂行するにあたり、採材にご協力を頂きました各獣医師の皆様、農場の皆様にお礼申し上げます。

また、本研究にご協力頂きました酪農学園大学畜産衛生学と獣医生産動物内科Iの皆さんに感謝申し上げます。

本研究は、2015年度酪農学園大学学内共同研究によって実施された。

引用文献

- [1] Braun, M. J., Lahn, S., Boyd, A. L., Kost, T. K., Nagasima, K. and Gonda, M. A. (1988) Molecular cloning of biologically active proviruses of bovine immunodeficiency-like virus. *Virology*. 169, 515-523.
- [2] Gonda, M. A., Braun, M. A., Carter, S. G., Kost, T. A., Bess Jr, J. W. (1987) Characterization and

- molecular cloning of a bovine lentivirus related to human immunodeficiency virus. *Nature*. 330, 385-391.
- [3] Horzinek, M., Keldermans, L., Stuurman, T., Black, J., Herrewegh, A., Sillekens, P. and Kolen, M. (1991) Bovine immunodeficiency virus. immunochemical characterization and serological survey. *J. Gen.* 72, 2923-2928.
- [4] Ketmann, R., Burny, A., Callebaut, I. et al. (1994) *The Retroviridae*. ed JA Levy. 39-81.
- [5] 農林水産省 監視伝染病発生年報 平成 26 年次 http://www.maff.go.jp/j/syouan/douei/kansi_densen/pdf/h26_nenpo.pdf.
- [6] 大島寛一・高桑一雄・水野善夫ら (1986) 牛白血病診断便覧. 日本獣医師会.
- [7] 佐藤尚人・田島誉士・桐沢力雄・黒沢隆・高橋清志 (1994) ウシ免疫不全ウイルス (BIV) およびウシ白血病ウイルス (BLV) 混合感染牛の臨床症状の観察および PCR 法による BIV の診断法. 獣医界. 第 137 号, 29-36.
- [8] Shelton, G. H., Walter, R. M., Connor, S. C. and Grant, C. K. (1989) Prevalence of feline immunodeficiency virus feline leukemia virus infection in pet cats. *J. Am. Ani. Hos. Ass.* 25, 7-12.
- [9] 笛吹達史・メアス ソティー・今内覚・大橋和彦・小沼操 (2003) 北海道の乳牛および肉牛における牛免疫不全ウイルスの血清疫学調査. *The journal of veterinary medical science.* 65(2), 287-289.
- [10] Van Der Maaten, M. J., Boothe, A. D. and Seger, C. L. (1972) Isolation of a virus from cattle with persistent lymphocytosis. *J. Nat. Cancer Inst.* 49, 1649-1656.
- [11] Whetstone, C. A., Van Der Maaten, M. J. and Black, J. W. (1990) Humoral immune response to the bovine immunodeficiency-like virus in experimentally and naturally infect cattle. *J. Virol.* 64, 3557-3561.

Summary

We examined the invasion status of bovine immunodeficiency virus on a bovine leukemia virus-infested farm. The survey was conducted over 4 months during the period from April 2015 to August 2015, with a total of 407 head of cattle consisting of 284 on Hokkaido farm A, 31 on Hokkaido farm B, and 92 on one farm in Kyoto prefecture (farm C). The cows were tested and the BLV prevalence rates on the farms were found to be 36.3% for farm A, 0% for farm B, and 67.3% for farm C.

The numbers of BIV-positive cattle were 1 on farm A (0.35%), 1 on farm B (3.23%), and 0 on farm C (0%), giving a total of 2 (0.49%) altogether. The one on farm A was positive for BLV antibodies, whereas the one on farm B was negative for them.

Based on the above results, no epidemic of BIV was observed on the 3 farms. Nor was there was any relationship with BLV. In this study, although the positive rate for BIV was low, BIV infection was observed in both BLV-positive and -negative cattle. Both BIV-positive cattle were home-produced cows, and the infection route is unknown. Therefore, BIV is considered to be one of the diseases to watch for in the future.