

11. 地方病性牛白血病の若齢発症に関する一考察

玖珠家畜保健衛生所 大分家畜保健衛生所¹⁾
 ○平川素子、里秀樹、(病鑑) 佐藤亘、近藤信彦
 病鑑 武石秀一¹⁾、病鑑 長岡健朗¹⁾

【はじめに】

牛白血病は、牛白血病ウイルス (BLV) による地方病型と、原因不明の因子によって起こる散発型の子牛型、胸腺型、皮膚型に分類される。地方病型では数年の潜伏期間を経て、数%の感染牛はB細胞性の白血病、リンパ肉腫を発症する。

地方病型の発症時期については、一般的にはその潜伏期間の長さから子牛の発症例は少ないとされている。

しかし、近年では発症牛の若齢化が問題となっており、その原因として、胎盤、産道及び経乳などの垂直感染や、感染するウイルス量などが疑われている。

今回、体表リンパ節の腫大を呈する4ヶ月齢の黒毛和種子牛を地方病型牛白血病と診断し、胎盤感染の実態を調査・検討したので報告する。

【症例概要】

4ヶ月齢の黒毛和種子牛が、これまで発育良好だったが、急に発熱し発汗した。抗生剤を用いて治療するが解熱せず、体表リンパ節の腫大を呈した。その後、当該子牛は1週間経たないうちに急激に衰弱したため予後不良と診断、玖珠家畜保健衛生所にて鑑定殺により病理解剖を実施した(図-1)。

材料及び方法は図-2に示すとおり実施した。臨床検査として、血液検査、血液生化学検査、白血球分画、BLV抗体価の測定を行



図1 症例概要

- 臨床検査
 - 血液検査、血液生化学検査、白血球分画
 - BLV抗体価の測定:受身赤血球凝集反応(PHA)
- 病理組織学的検査
 - 主要臓器、脳、全身リンパ節
 - HE染色
 - 免疫組織化学染色
 - 一次抗体: 抗ヒトCD79 α cyマウスモノクローナル抗体
 - 抗ヒトCD20マウスモノクローナル抗体
 - 抗ヒトCD5ウサギポリクローナル抗体
 - 抗ヒトCD3ウサギポリクローナル抗体
- 細菌学的検査
 - 主要臓器および脳:5%羊血液寒天培地(嫌気、好気培養)
 - DHL寒天培地(好気培養)
- ウイルス学的検査
 - :BLV遺伝子定量検査
 - 全身リンパ節、血球リアルタイムPCR

図2 材料および方法

表1 血液検査成績

【血液検査、血液生化学検査】			【白血球分画(%)】	
WBC	$\times 10^3/\mu l$	324 ↑	好中球	10
RBC	$\times 10^9/\mu l$	675	リンパ球	12
Hb	g/dl	9.0 ↓	異形リンパ球	78
Ht	%	27.3	リンパ球率90%のうち異型率87% (78/90)	
GOT	U/L	114 ↑	リンパ球数:29,160 / μl	
GGT	U/L	66		
BUN	mg/dl	34.3 ↑		
CRE	mg/dl	1.4		
T-CHO	mg/dl	74		
CPK	U/L	142		
LDH	WL-U	12,130 ↑		
			【BLV抗体価】	
			PHA 陽性(32倍)	

った。白血球分画は、血液塗抹標本をディフクイック染色し、鏡検により血球百分比を測定、リンパ球数は白血球数にそのリンパ球割合を乗じて算出した。病理組織学的検査では、通常の HE 染色の他にリンパ球マーカーを用いた免疫組織化学染色を行った。細菌学的検査は、主要臓器および脳について、5 % 羊血液寒天培地（嫌気、好気培養）、DHL 寒天培地（好気培養）を用い、37 °C 24 ~ 48 時間培養を行った。ウイルス学的検査は、全身のリンパ節および血球を用いてリアルタイム PCR を実施した。

また、表-1 に鑑定殺前日に実施した血液検査成績を示した。その結果、白血球数 32,400/ μ l、白血球分画では、リンパ球率 90%のうち異型率 87%、リンパ球数は、29,160/ μ l。BLV 抗体価は受身赤血球凝集反応（PHA）32 倍、陽性であったことから牛白血病を疑った。

剖検所見では浅頸リンパ節、腸間膜リンパ節、肝門リンパ節の腫大の他、体表及び体腔内の各リンパ節が腫大、脾臓や肝臓の腫大も見られた（図-3）。



図3 剖検所見

病理組織学的検査では、肺の結合組織・細気管支周囲、肝臓のグリソン鞘周辺域、腎臓の間質領域、浅頸リンパ節や腸骨下リンパ節など各リンパ節に、未分化、低分化型の大型リンパ様細胞の腫瘍性増殖、核分裂像が散見された。

また、リンパ球マーカーを用いた免疫組織化学染色を実施し、腫瘍由来細胞の分類を試みた（図-4）。大型の異型性を示す細胞が腫瘍化した部分で、B 細胞表面マーカーである CD20 に対する抗体が陽性。同じ部分で T 細胞表面マーカーである CD3 に対する抗体は陰性だった。一方、B 細胞性白血病やリンパ腫で陽性となる抗 CD5 抗体では、形態学的に明らかに腫瘍細胞といえる大型細胞で陽性が確認できた。

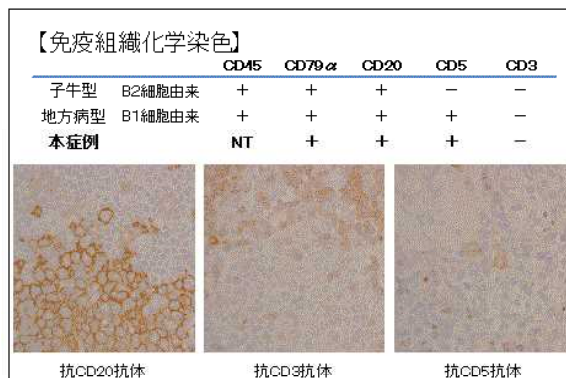


図4 病理組織学的検査成績

腫瘍細胞は他にも、B 細胞の分化段階全般にわたって反応する CD79 α に対する抗体で陽性を示した。

B2 細胞由来の子牛型と B1 細胞由来の地方病型、本症例の染色結果を比較すると、本症例は典型的な B1 細胞由来の地方病型と染色パターンが一致した。

なお、細菌学的検査では、主要臓器および脳から有意菌は分離されなかった。

また、ウイルス学的検査では、リアルタイム PCR により、血球及び各リンパ節から、27.83 ~ 1,139.07copy/10ng の BLV 遺伝子が検

表2 BLV遺伝子定量検査
リアルタイムPCR

材料	コピー数 (/10ngDNA)
血球	1,139.07
耳下腺リンパ節	181.27
下顎リンパ節	624.97
右浅頸リンパ節	27.83
左浅頸リンパ節	130.50
肝門リンパ節	495.38
腸間膜リンパ節	60.82
右腸骨下リンパ節	534.58
左腸骨下リンパ節	145.51

出された（表-2）。

以上の結果から、本症例は地方病性牛白血病と診断した。

【胎盤感染の実態調査】

4ヶ月齢という若齢での地方病性牛白血病の発生をうけ、胎盤感染の実態を調査、検討した。

2007年から現在までの県内保存血清のうち、牛白血病抗体陽性母牛とその初乳未摂取産子13組26頭の血清を供し、BLV抗体価を測定した。抗体価測定にはPHAにより最終希釈倍率4096倍まで測定、抗体価16倍以上を陽性と判定した。

母子抗体価は図-5のとおりで、13組中3組の子牛が抗体価16倍以上の抗体陽性を示した。

それぞれの抗体価は①母牛64倍に対し子牛32倍②母牛256倍に対し子牛256倍③母牛128倍に対し子牛512倍を示した。図-5右のグラフは、縦軸に子牛の抗体価（log₂）、横軸に母牛の抗体価（log₂）とった。その結果、母牛と子牛の抗体価に関連は認められなかった。

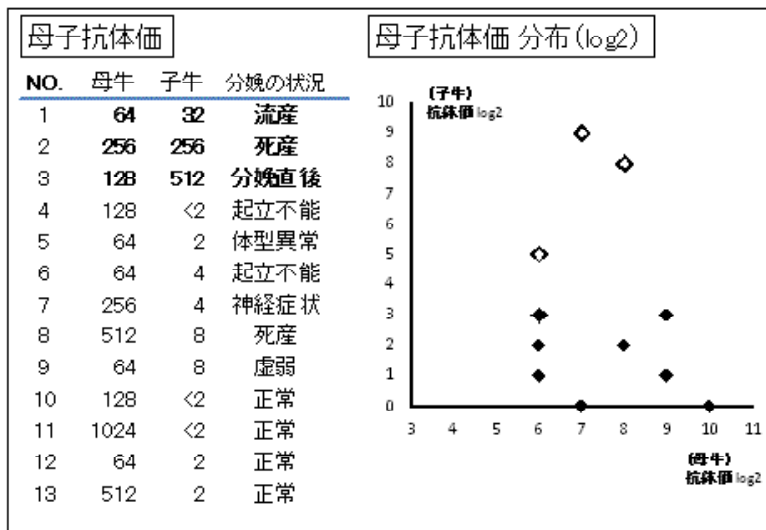


図5 胎盤感染の実態調査成績

【まとめおよび考察】

体表リンパ節の腫大を呈する生後4ヶ月齢の黒毛和種子牛の病性鑑定を実施した。臨床所見、血液所見、BLV抗体陽性、剖検所見、病理組織学的検査、ウイルス学的検査等を実施した。

免疫組織化学的染色では、抗CD79α抗体（B細胞）陽性、抗CD20抗体（B細胞）陽性、抗CD5抗体（B1細胞）陽性、抗CD3抗体（T細胞）陰性であった。

これらの結果から、本症例は4ヶ月齢という若齢牛ではあったが、地方病性牛白血病と診断した。

今回、通常のHE染色だけでなく免疫組織化学的検査等を加えることで、詳細な病理組織学的診断ができ、分類をすることができた。

また、胎盤感染の実態調査として、BLV抗体陽性母牛とその子牛血清を用いた抗体検査では、抗体陽性は3頭、感染率はおよそ23%（3/13）だった。

3頭は、県内の異常産病性鑑定実施保存血清を検体として使用したもので、分娩状況は流産、死産、分娩直後の検体であり、初乳未摂取であることは明らかで、産道感染の可能性も考えられない。これまで、母子感染については、子宮内（胎盤）・産道感染は4%未満といった報告があるが、今回の調査では比較的高率に胎盤感染が成立していると考えられた。

胎盤感染は、感染細胞が胎盤を通じて胎子に感染すると考えられており、胎子は細胞分

裂が活発であり細胞性免疫も未熟であることから、その発症が早まるものと思われた。

近年、地方病型牛白血病は全国的に増加傾向にある。その要因として、多頭飼育やフリーストールでの飼育、放牧などによりウイルスの感染機会が増加、抗体陽性牛、持続性リンパ球増多症の牛が増えてきていることがなどが挙げられる。

これらが、結果的に、胎盤感染により抗体陽性で出生する子牛が増加している要因の一つではないかと思われた。

すなわち、今回の調査における高い胎盤感染率が、若齢発症牛の増加に関与しているのではないかと推察した。

最後に、免疫組織化学染色においてご指導、ご協力いただいた独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構 動物衛生研究所北海道支所 寒地酪農衛生研究領域 門田耕一先生に深謝します。