

3. 地方病性牛白血病清浄化対策と発症抵抗性遺伝子型保有牛に関する宮崎大学との共同研究の取組

豊後大野家畜保健衛生所 共同研究：宮崎大学¹⁾
 ○林拓己 乗峰潤三¹⁾ 関口敏¹⁾ 三苦修也¹⁾

【はじめに】

国内における牛白血病発生報告数は年々増加し、大分県内でも問題となっている。牛白血病ウイルス（BLV）感染を原因とする地方病性牛白血病（EBL）清浄化にむけた豊後大野家保の取組と、2017年より実施している宮崎大学との共同研究について報告する。

【EBL清浄化対策取組内容】

2015年以降、当家保管内では13戸の黒毛和種繁殖農場でELISAによる抗体検査とNested PCRによるBLV遺伝子検査を併用した全頭検査を実施。現在の取組状況は、7戸の農場で対策の継続、5戸は分離飼育困難等の理由により対策未実施、1戸の農場では2017年度中に県の補助事業により分離飼育用牛舎建設後、実施予定である（図1）。

清浄化に向けた主な対策として、(1) 遺伝子検査陽性となった個体群を感染リスクのある陽性群とし、陽性群の分離飼育及び優先的な淘汰・更新の指導と陰性群の定期的な清浄性確認検査、(2) 新規導入牛・自家保留牛の随時検査、(3) 陽性牛から生まれた子牛の早期離乳や初乳製剤使用の推奨、(4) アブ・サシバエ等吸血昆虫対策、(5) 対策方法確認資料の配布等を行っている（図2）。

図1 豊後大野家畜保健衛生所の地方病性牛白血病(EBL)清浄化対策の取組

2015年以降全頭検査を実施した13戸の農場について

● 現在の対策実施状況

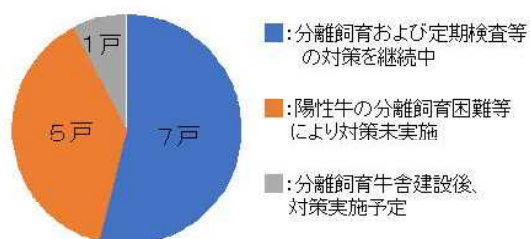


図2 EBL清浄化対策

- 全頭検査による陽性群の分離と陰性群の定期的な清浄性確認検査

	抗体検査 (ELISA)	遺伝子検査 (Nested PCR)	対策・指導
陰性群	—	—	定期検査
	+	—	定期検査・要経過観察
陽性群	+・—	+	優先的な淘汰・更新

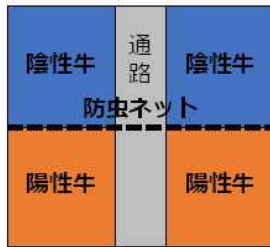
- 新規導入牛・自家保留牛の随時検査
- 陽性牛産子の早期離乳・初乳製剤の使用を推奨
- アブ・サシバエなどの防虫対策の実施

陽性群の分離飼育方法については、牛舎構造、農場内陽性率により各農場ごとに検討を行った。陽性群と陰性群の牛舎を分けられる際には、牛舎ごとの分離を実施した。牛舎が分けられない場合には、牛房を分け、牛房間に防虫ネットを設置した事例や（図3）、1区画だった牛房内に柵を設置し区切ることによって約3m間隔の空きスペースを設け分離した事例もある（図4）。

図3 陽性群の分離飼育

・牛舎が分けられない場合
牛房間に防虫ネットを設置した例

牛舎内構造



設置された防虫ネット



図4 陽性群の分離飼育

・牛舎が分けられない場合
柵を設置し空き区画を設定した例

牛舎内構造



【清浄化対策による成果】

2015年に取組を開始した2農場のうち、A農場では陰性率が27%から52%と25ポイント上昇し、B農場では22%から37%へと15ポイント上昇したことから、継続的な取組が陰性率の上昇につながっていると考えられた(図5)。またA、B農場以外の5農場においても陰性率の上昇が認められており、すでに陰性率が9割近い農場も存在する(図6)。

図5 平成27年度に取組を開始した2農場の現況

	A農場	B農場
	陰性率(陰性/全頭数)	陰性率(陰性/全頭数)
平成27年度	27%(15/55)	22%(9/41)
平成29年度	52%(32/61)	37%(17/46)
	↑25ポイント	↑15ポイント

継続的な取組による陰性率の上昇

図6 清浄化対策取組農場の現況

農場	戸数 頭数	陰性 頭数	陰性率 (%)	開始 年度	対策(分離飼育の可否)
A農場	61	32	52	H27	牛舎・牛房での分離が可能 牛房間に3mの通路有
B農場	46	17	37	H27	牛舎・牛房での分離が可能 牛房間では防虫ネットを設置
C農場	9	8	89	H28	牛房での分離が可能 牛房間には10mの距離
D農場	77	18	23	H28	牛舎・牛房での分離が可能
E農場	26	9	35	H29	牛房内に柵を設置、 空き牛房を設け分離飼育対応
F農場	23	18	78	H29	牛舎での分離が可能
G農場	11	4	36	H29	牛房での分離が可能、不完全

【EBL清浄化対策の課題と共同研究実施に至った経緯】

清浄化対策に取り組む上で分離飼育後の陰性群における遺伝子検査結果の陽転が問題としてあげられた。分離後1~2ヶ月後に陽転が起こることが多いが、中には数ヶ月~1年後に陽転した事例もある。原因として、採血後から分離開始前に感染が起こった可能性や、検出限界値以下であった血中のウイルス量が増加し、陽性となった可能性などが推察された。対策として、分離飼育実施後も陰性群の定期的な清浄性確認検査を継続していく必要があると考えられる。

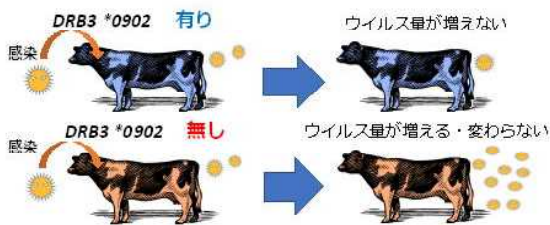
BLVの清浄化には、BLV感染牛と非感染牛の分離飼育が効果的である。しかしながら、全頭検査の結果によっては、現状の牛舎構造では分離飼育が困難となってしまう場合もあり、清浄化対策の課題の1つとしてあげられた。そこで、BLV伝播リスクの低いEBL発症抵抗性遺伝子型保有牛を活用した対策ができないかと考え、宮崎大学との共同研究を実施することとなった。

【宮崎大学との共同研究の取組】

BLV感染後、EBLを発症する個体と無症状のままで経過する個体がいるという、個体によって症状が異なる原因については様々な要因が挙げられている。宿主である牛の遺伝学的な個体差がその要因の1つとして考えられており、MHCクラスIIのDRB3遺伝子型がEBL発症抵抗性に関与すると示唆されている¹⁾。中でもDRB3*0902を保有する牛は発症抵抗性を示し、またBLVに感染してもウイルス量が増えにくく、感染源となりにくいことが示唆されている^{2) 3)} (図7)。このDRB3*0902保有牛を判別し、陽性群と陰性群の分離飼育用スペースを設けられない農場において、生物学的な障壁として活用することで、スペースを有効利用した、BLV伝播防止対策が可能になると考える³⁾ (図8)。

図7 牛の遺伝子型とEBL発症抵抗性

- 牛MHCクラスIIのDRB3遺伝子型がPL発症抵抗性と関与していると示唆されている
- DRB3*0902はPL発症に非常に強い抵抗性を示し、BLVに感染してもウイルス量が少いため、感染源となりにくい



これまでの取組の中で、BLV抗体陽性・遺伝子検査陰性の状態で長期間経過する個体が複数認められ、2017年3月に、宮崎大学に遺伝子型判定を依頼したところ8頭中2頭が、DRB3*0902を保有していることが判明した。このような個体ではEBL発症抵抗性を保有している可能性が高いのではないかと推察され、本年度の共同研究では(2017年10月時点)管内7農場の抗体陽性・遺伝子検査陰性の牛21頭から採材を実施し、PCR-RFLP法による遺伝子型決定、シーケンス解析を行った(図9)。

【結果と考察】

遺伝子型判定をおこなった21頭中、2頭がDRB3*0902保有牛であることが確認された。今後、さらに多くの農場で遺伝子型判定を実施すれば、DRB3*0902保有牛が確認される可能性は十分にあり、陽性牛分離困難農場における対策へ活用することができると考える。

今後も宮崎大学との共同研究を継続することによって、DRB3*0902保有牛の活用方法の検討や最新の知見を取り入れた新しい対策の提案等、EBL清浄化対策の進展につながり、また、現場材料の提供によってEBLやその原因となるBLVに関する研究に貢献することも可能であると考えられた。

図8 EBL発症抵抗性遺伝子型保有牛のBLV伝播防止への有効活用(一例)

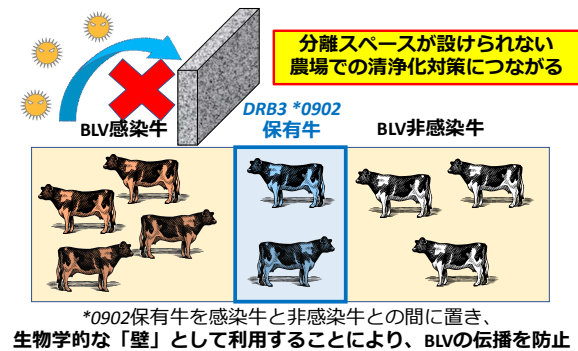
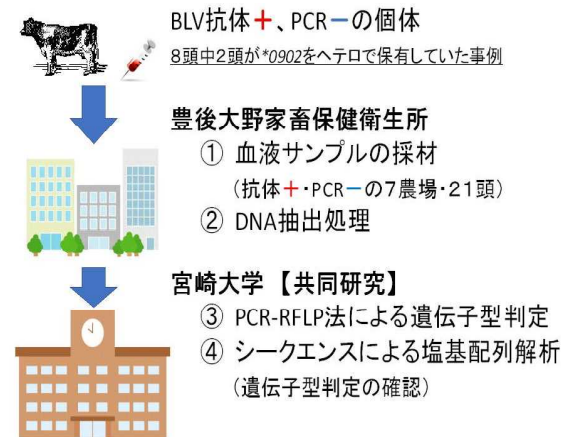


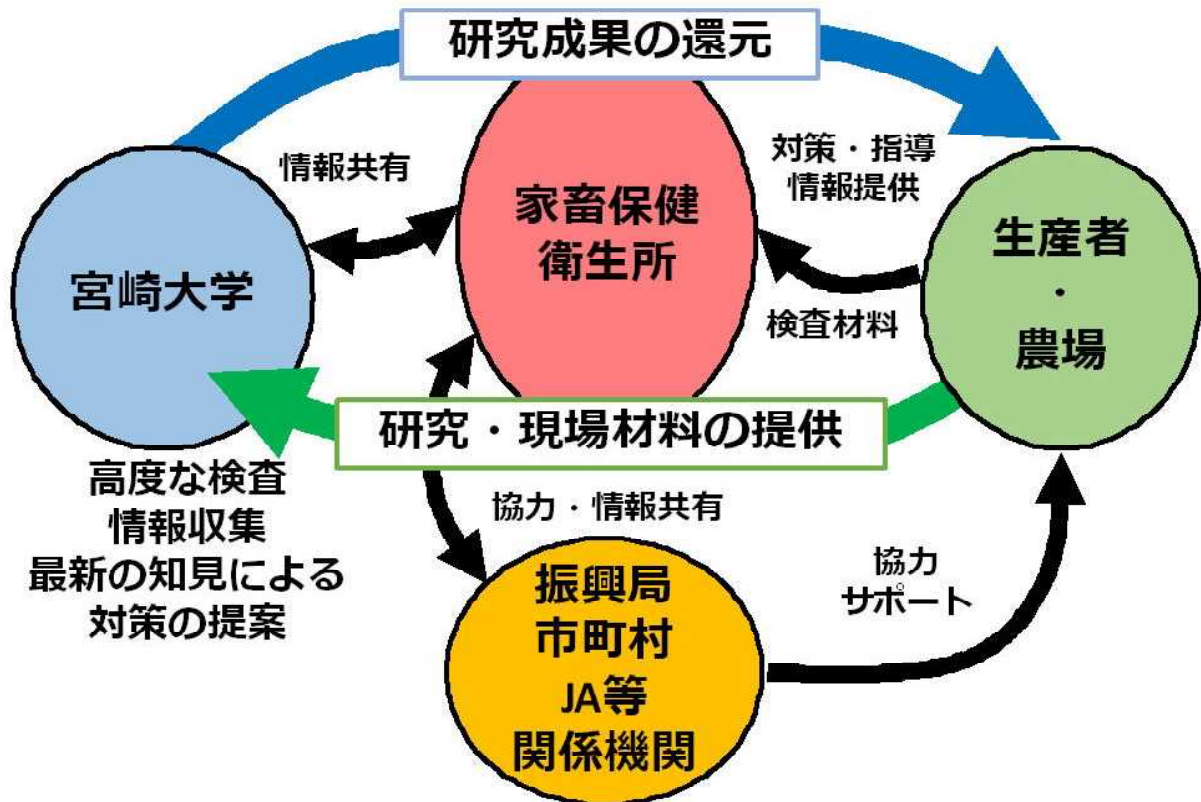
図9 BoLA-DRB3遺伝子型決定



【まとめ】

EBL清浄化達成には、生産者のみならず、各機関の協力・連携が不可欠である。家畜保健衛生所が生産者と研究機関である大学の間に仲立ちし協力することで、大学へのより多くの現場材料の提供が可能となり研究の発展につなげることができる。それとともに、大学による最新の知見・対策法を取り入れ、得られたデータ・研究成果を生産者に還元することで、より効率的なEBL清浄化対策を実施し、経済的な損失の減少につなげていくという産学官連携による発展が可能になると考える（図10）。

図10 産学官連携によるEBL清浄化対策



参考文献：

- 1) Xu, A., van Eijk, M. J. T., Park, C. and Lewin, H. A. Polymorphism in BoLA-D RB3 exon 2 correlates with resistance to persistent lymphocytosis caused by bovine leukemia virus. *J. Immunol.* 151: 6977-6985 (1993)
- 2) Juliarena, M. A., Barrios, C. N., Ceriani, M. C. and Esteban, E. N. Hot topic : Bovine leukemia virus (BLV)-infected cows with low proviral load are not a source of infection for BLV-free cattle. *J. Dairy Sci.* 99: 4586-4589 (2016)
- 3) Takumi Hayashi, Hirohisa Mekata, Satoshi Sekiguchi, Yumi Kirino, Shuya Mitoma, Kazuyuki Honkawa, Yoichiro Horii and Junzo Norimine Cattle with the BoLA class II *DRB3*0902* allele have significantly lower bovine leukemia proviral loads *J. Vet. Med. Sci.* 79(9): 1552-1555 (2017)