

13. 牛伝染性リンパ腫清浄化への道

農林水産研究指導センター畜産研究部
○園川竜征・(病鑑) 矢崎竜

【背景】

牛伝染性リンパ腫は、レトロウイルス科に属する牛伝染性リンパ腫ウイルス (BLV) により引き起こされる体表・体腔内リンパ節の腫大等の異常を示す腫瘍性疾患である。牛伝染性リンパ腫の国内届出数は全国的に上昇の一途をたどり、届出義務開始となった H10 年は 99 頭の届出数であったが、R4 年の届出頭数は 4334 頭で H10 年度から 43 倍以上の届出数となっており、被害が拡大する一方である (図 1)。大分県でも R2~R4 年度で 617 頭発生している (NOSAI 認定数等)。また、牛伝染性リンパ腫に対する有効なワクチンや治療法が存在しない点も被害拡大の一因である [1]。大分県では本疾病への対策として、牛伝染性リンパ腫重点指導農場での指導、新規清浄化要望農場への対応、牛伝染性リンパ腫の啓発活動等を実施している。R4 年度には、年間約 1,500 頭の採血・検査を実施し、結果を元に感染高リスク牛の摘発や分離飼育等の牛群整備に活用されている (図 2)。しかし、清浄化達成まで長期間 (数年単位) 対策の継続が必要となるため、検査費用・農場全頭採血に伴う人員の確保・牛へのストレス・高リスク牛に係る廃用コストといった課題も継続してしまうというデメリットが存在し、多大な労力を要している (図 3)。



図1 牛伝染性リンパ腫発生状況

特定疾病リスク低減対策事業(H25年度~)
事業内容
・牛伝染性リンパ腫重点指導農場での指導
・新規清浄化要望農場への対応
・牛伝染性リンパ腫の啓発

各家保管内指定農場 採血(2回/年)
R4年度 約1,500件の検査

**感染高リスク牛の摘発・廃用
牛群整備(分離飼育)**

図2 大分県における対策

課題を解決するため当研究部では、ウシ主要組織適合遺伝子クラス II DRB3 (BoLA-DRB3) 対立遺伝子のうち、DRB3*009:02 (以下 009:02) を有する牛は 009:02 を有さない牛と比較して黒毛和種・ホルスタイン種ともにプロウイルス量が有意に低い [3] (図 4) との報告に着目した。主要組織適合抗原 (MHC:牛では BoLA) とは、高度な多型を有し、違いが免疫応答と疾患感受性に個体差を及ぼす [2] ことが報告されており、「009:02」に着目した種雄牛側の改良による牛伝染性リンパ腫清浄化に向けた取り組み

みを実施しているなのでその概要について報告する。

大分県における対策

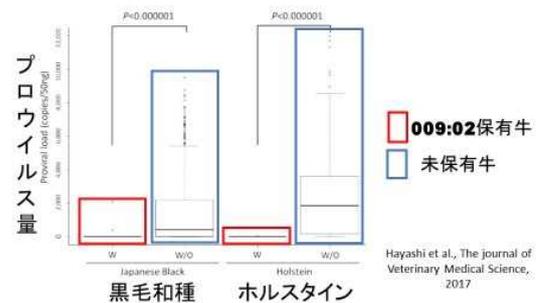
課題

清浄化達成まで長期間対策の継続が必要
 費用(100万円以上/年)
 労力(農場全頭採血)
 高リスク牛廃用コスト
 牛へのストレス

新たな牛伝染性リンパ腫対策

ウシMHCクラスII DRB3(BoLA-DRB3)
 対立遺伝子 **DRB3*009:02**

図3 種雄牛改良による牛伝染性リンパ腫清浄化へ



ウシMHCクラスII DRB3*009:02保有牛は
プロウイルス量圧倒的に低い

図4 DRB3*009:02とプロウイルス量の関係

【取組内容】

1、保有状況調査

当研究部では、H20年から現在までに908頭分009:02の保有状況を調査し、県内15頭(雄3頭・雌12頭)がヘテロ(異なる対立遺伝子)で保有していることを確認した(図5)。雄3頭については、候補種雄牛として研究部へ導入した。候補種雄牛は、大分県高能力種雄牛「加代白清」・「葵白清」、県外「吉重75」の後継牛で、いずれもゲノム育種価が高く、特に「加代清国」については、ロース芯面積・歩留基準値の2項目で県有種雄牛および候補種雄牛中歴代1位、枝肉重量・バラ厚が3位と009:02に加え産肉能力面においても高能力な候補種雄牛が造成されている(図6)。また、ヘテロ保有雌12頭の内現存する雌4頭についても繁殖雌牛(供卵牛)として導入した。

H20~ 調査開始
 H25 種雄牛A(1代祖-2代祖-種雄牛C)
 R4 種雄牛B(1代祖-種雄牛C-2代祖)
 共通祖先 種雄牛Cに着目

種雄牛A・B・C調査結果(1代祖~4代祖)

	総頭数	保有頭数	陽性率
種雄牛A	24	7	0.29
種雄牛B	11	4	0.36
種雄牛C	25	1	0.04

ヘテロ保有牛15頭(雄3頭・雌12頭)確認

図5 DRB3*009:02 保有状況調査

番号	生年月日	血統			ゲノム育種価順位(R6.11月時点)					
		父	祖父	祖母父	枝肉重量	ロース芯面積	バラ厚	皮下脂肪厚	歩留基準値	脂肪交雑
松吉重	R4.12.21	吉重75	葵白清	加代	52	81	17	23	18	44
葵清国	R4.10.8	葵白清	加代	加代清国	15	37	6	74	39	6
加代清国	R4.10.24	加代白清	加代清国	加代	3	1	3	65	1	8

※ゲノム育種価は大分県有種雄牛および候補種雄牛132頭中の順位



松吉重 葵清国 加代清国

高能力ヘテロ保有候補種雄牛が造成されている

図6 DRB3*009:02 ヘテロ保有候補種雄牛

2、DRB3*009:02 BLV に対する効果検証

R4年4月およびR5年9月、研究部で飼養している繁殖雌牛73頭およびヘテロ保有雌牛4頭のBLV検査を実施した。009:02未保有の繁殖雌牛73頭についてはELISA陽性率が86%、リアルタイムPCRではウイルス遺伝子が67%で検出された。一方で、ヘテロ保有供卵牛4頭の検査結果は、ELISAでは1頭陰性、3頭陽性だったものの、リアルタイムPCRでは全頭非検出という結果が得られた。この結果から009:02保有牛については、感染後BLVの体内増殖を抑制することが示唆される(図7)。また、1

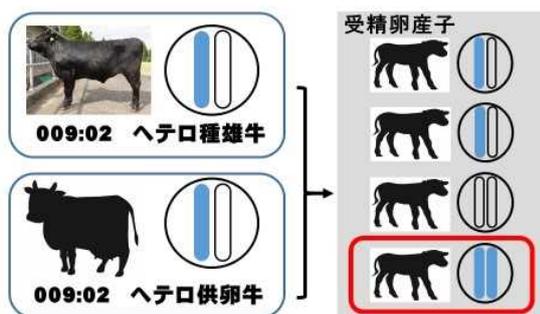
頭については、R4年4月の検査でもBLVウイルス量を抑制しており、少なくとも18ヶ月間（R4年4月～R5年9月）はウイルス量を低値で維持することが示唆される。今回の結果から009:02保有牛についてはBLVに感染した場合であっても体内増殖を抑制することが示唆される。

【今後の肉用牛改良】

当研究部では、これまでの産肉能力面での改良のみならず、009:02保有という付加価値と付けた種雄牛造成を実施したいと考えている。今後の方針として、現在飼養している雄3頭、雌4頭は全てヘテロ保有であるため、これらの交配により作成する受精卵を活用し、ホモ（同一の対立遺伝子）保有種雄牛を造成する計画である（図8）。ホモ保有種雄牛産子については009:02をヘテロで保有するため、種雄牛を活用するだけで牛伝染性リンパ腫発症抵抗性牛の生産が可能となり、BLVウイルス量を極めて押え込んだ牛群を整備することが可能になると考える。一方で、ウシ主要組織適合遺伝子クラスIIという免疫に関わる重要な遺伝子に着目した新たな取組であるため、ホモ保有産子誕生の有無、誕生した場合の免疫応答の正常性、発育、精液採取可能性、精液性状等クリアすべき課題は多いものの、解決策を模索しながら取組んでいきたいと考える。今後も継続して009:02保有牛のウイルス検査を行い、009:02の長期的な効果等についても確認し同時に他の抵抗性遺伝子にも着目した取組を実施することで、選択肢を確保し牛伝染性リンパ腫清浄化へ向けた取組を実施していきたい（図9）。

BLV検査結果		
	研究部 繁殖雌牛	009:02 ヘテロ保有牛
ELISA	63/73 (86.3%)	3/4 (75.0%)
PCR	49/73 (67.1%)	0/4 (0%)

図7 DRB3*009:02 BLVに対する効果検証



DRB3*009:02 ホモ保有種雄牛選抜

図8 DRB3*009:02 受精卵を使った種雄牛造成

【参考文献】

1. Lanlan Bai, Satoshi Wada, Yoko Aida. Identification of bovine leukemia virus epitopes as epitope-driven vaccine candidates that can overcome individual differences in bovine leucosis. The Journal of Animal Genetics. 2021, 49, 49-58
2. 間陽子. 革新的技術で牛白血病ウイルスから牛を守る. The Journal of Farm

世界初 新たな取組
MHCクラスII…免疫の重要部分
 ①ホモ保有牛誕生の有無（胚死滅etc..）
 ②免疫応答の正常性
 ③発育・精液採取・性状等…

**他の抵抗性遺伝子にも着目し、
 選択肢を確保しながら、牛伝染性リンパ腫
 清浄化へ向けた取組を実施したい**

図9 課題・今後の方針

Animal in Infectious Disease.2016.5.43-53

3. Takumi HAYASHI, Hirohisa MEKATA, Satoshi SEKIGUCHI, Yumi KIRINO, Shuya MITOMA, Kazuyuki HONKAWA, Yoichiro HORII, Junzo NORIMINE. Cattle with the BoLA class II DRB3*0902 allele have significantly lower bovine leukemia proviral loads. The Journal of Veterinary Medical Science. 2017. 79. 1552-1555