

若齢牛において地方病性牛白血病と診断した1例

若槻拓司^{1)†} 杉山 定¹⁾ 高岡亜沙子¹⁾ 橋田明彦²⁾ 水上智秋³⁾
 廣瀬友理³⁾ 門田耕一⁴⁾ 竹嶋伸之輔⁵⁾ 間 陽子⁵⁾

- 1) 岡山県農業共済組合北部基幹家畜診療所 (〒708-0843 津山市国分寺8-9)
- 2) 岡山県井笠家畜保健衛生所 (〒714-1225 小田郡矢掛町浅海345)
- 3) 岡山県岡山市家畜保健衛生所 (〒709-2123 岡山市北区御津河内2770-1)
- 4) 国研農業・食品産業技術総合研究機構 動物衛生研究部門 北海道研究拠点 (〒062-0045 札幌市豊平区羊ヶ丘4)
- 5) 国研理化学研究所 (〒351-0198 和光市広沢2-1)

(2018年2月26日受付・2019年5月30日受理)

要 約

地方病性牛白血病 (EBL) は好発年齢が4歳齢以上とされているが、約5カ月齢でEBLと診断した症例に遭遇した。当該牛は交雑種の去勢雄で、134日齢時に体表リンパ節の腫脹を認めた。168日齢では体表リンパ節の腫脹がさらに悪化し、血液検査では白血球数が104,000/ μ lで、異型リンパ球の割合は89%を呈した。剖検所見では腹腔内の各リンパ節の腫大があった。病理組織学的検査では、各臓器、各リンパ節において大型で異型性を示すリンパ球様細胞の浸潤、増殖を認めた。Real-time PCR法では、血液とリンパ節において牛白血病ウイルスのコピー数が著しく高値であった。B細胞クローナリティ検査では、腫瘍細胞のバクローナルな増殖を認めた。以上の結果から、症例牛をEBLと診断した。発症個体にはEBLの発症と相関するウシ主要組織 (BoLA) 遺伝子 *BoLA-DRB3*1101/*1601* を認めたが、癌化にはその他の要因の関与も考えられた。——キーワード: BLV, 子牛, EBL.

-----日獣会誌 72, 608~613 (2019)

牛白血病は、白血球 (WBC) 数の増加やリンパ節の腫大を主徴とする疾病で、牛白血病ウイルス (BLV) が関与する地方病性 (EBL) と、関与しない散発性 (子牛型、胸腺型、皮膚型) に分類される。EBLは通常、潜伏期間が長期にわたることから、好発年齢はおおむね4歳以上とされてきた [1, 2]。しかし近年、若齢牛におけるEBLの報告が散見される [3, 4]。若齢牛の牛白血病の発症は農家の経済的損失が非常に大きい。そのため、その病態の解明は、今後若齢牛の牛白血病の拡大を制御するのに有用であると考えられる。しかし、未だに若齢牛の牛白血病に関する報告数は少なく、このようなデータのさらなる蓄積は重要である。

そこで今回、体表リンパ節の腫大を呈し、約5カ月齢でEBLを発症したと考えられる症例に遭遇し、多角的な検索を実施したので、その概要を報告する。

材料及び方法

発症農場及び症例牛の概要: 症例牛は、関西地方の約500頭規模の酪農家で生産された交雑種 (黒毛和種雄×ホルスタイン種雌) の去勢雄である。双子で娩出され、17日齢時に岡山県内の和牛繁殖及び交雑種肥育複合経営農家に導入され、134日齢時に全身のリンパ節の腫脹を主訴として受診した。

生体検査及び血液検査: 第1病日、第34病日に生体検査及び血液検査を実施した。生体検査は臨床獣医師である著者が症例牛の体温等、外貌上の状態を検査した。静脈血はEDTA加真空採血管及び血清用真空採血管を用いて採血した。採血後、即座に冷蔵保存し、翌日に血液検査を行った。血液検査では血球成分を自動血球計数装置 (Celtac α , 日本光電工業(株), 東京) で、血液生化学検査は生化学自動分析装置 (7180形日立自動分析装置, (株)日立ハイテクノロジー, 東京) を用いて計測し

† 連絡責任者: 若槻拓司 (岡山県農業共済組合北部基幹家畜診療所)

〒708-0843 津山市国分寺8-9 ☎0868-26-1112 FAX 0868-26-6632 E-mail: takuji_w@ok-nosai.or.jp

た。なお、血清中LDHに関して、アインザイム検査は実施しなかった。リンパ球比は簡易迅速染色液ディフクイック染色液（シスメックス(株)、兵庫）で染色した血液塗抹を光学顕微鏡で観察し計測した。

病理組織学的検査：各臓器を10%中性緩衝ホルマリン液で固定し、門田ら [5] の手技に従いパラフィン切片を作製し、ヘマトキシリン・エオジン（HE）染色を施し、光学顕微鏡で観察した。

免疫組織化学的検査：Hagiwaraら [6] の手技に従い、CD3（T細胞マーカー）（Dako, Denmark）、CD20（B細胞マーカー）（Spring Bioscience, U.S.A.）、CD5（T細胞とB1細胞のマーカー）（Pierce Biotechnology, U.S.A.）に対する兎ポリクローナル抗体とCD79a（B細胞マーカー、クローン名：HM57）（Dako, Denmark）に対するマウスモノクローナル抗体を一次血清とした。以後の操作はヒストファインSAB-PO（MULTI）キット（(株)ニチレイバイオサイエンス、東京）を利用した。

ウイルス学的検査：BLVをターゲットとしたPCR法を実施した。症例牛の全血からQIAamp DNA Mini Kit（(株)キアゲン、東京）を用いてDNAを抽出し、ウシ白血球ウイルス検出用Probe/Primer/Positive control及びCycleave PCR Reaction Mix SP（タカラバイオ(株)、滋賀）を用い、DNA 50ng当たりのBLV遺伝子コピー数を測定した（以下、Cycleave PCR）。同じく、全血からのDNAを対象に、Taqman Probe法によるReal-time PCR（BLV-CoCoMo-qPCR、(株)理研ジェネシス、神奈川）[7-9]を用い、10万細胞当たりのBLVコピー数を測定した（以下、BLV-CoCoMo-qPCR）。

症例牛の腸骨下リンパ節、鼠径リンパ節においてはWIZARD Genome Purification kit（プロメガ(株)、東京）を用いてDNAを抽出し、BLV-CoCoMo-qPCRを実施し10万細胞当たりのBLVコピー数を測定した。

B細胞クローナリティ検査：腫瘍化B細胞の増殖性を調査するため、上記の全血のDNA抽出物を利用し、Nishimoriら [10] の報告に従ってnested PCR法を実施した。

BoLA-DRB3対立遺伝子のタイピング：EBL発症の感受性と抵抗性を規定するBoLA-DRB3対立遺伝子を検索するため、PCR-sequence based typing法 [11] を実施した。

母牛及び発生農場の聞き取り調査：症例牛へのBLV感染経路を把握するため、母牛の飼養場所やBLV抗体検査結果、発生農場のBLV浸潤状況を調査した。

健常な双子牛の調査：同一農場で飼養されていた健常な双子牛（去勢雄、12カ月齢時）に対し、症例牛と同様の血液検査を行った。また症例牛と同様に、全血を対象としたCycleave PCR及びBLV-CoCoMo-qPCRによ

表 血液検査所見（168日齢）

検査項目		検査項目	
WBC (/μl)	104,000	Glu (mg/dl)	35
RBC (10 ⁴ /μl)	563	T-Chol (mg/dl)	64
Hct (%)	19.8	TP (g/dl)	6.1
HGB (g/dl)	6.6	Glb (g/dl)	2.5
PLT (10 ⁴ /μl)	3.4	A/G比	1.5
MCV	35.2	AST (IU/l)	123
MCH	11.7	GGT (IU/l)	36
MCHC	33.3	Ca (mg/dl)	10.3
		iP (mg/dl)	9.5
		LDH (U/l)	4,792
		BUN (mg/dl)	18.2
		Cre (mg/l)	0.84

るウイルス学的検査、BoLA-DRB3対立遺伝子のタイピングを実施した。

成 績

生体検査及び血液検査：第1病日では、体温40.0℃、活力やや不振、気管支呼吸音粗励を呈し、浅耳下腺リンパ節、下顎リンパ節、浅頸リンパ節、腸骨下リンパ節が両側性に著しく腫脹していた。血液検査では白血球数（WBC）が15,400/μlで、白血球百分比は総白血球のうち、正常なリンパ球が53%、異型リンパ球が24%であった。ヘマトクリット（Hct）値は31.7%で、赤血球数（RBC）は911×10⁴/μl、血清中乳酸脱水素酵素値（LDH）は1,993U/lを呈した。以後、第1～2病日は抗生剤及びステロイド剤、第3～6病日まで抗生剤のみで加療し、以後は経過観察とした。

第34病日（168日齢）において、体温40.5℃で、リンパ節の腫脹がさらに顕著になり、浅鼠径リンパ節の腫脹も認められるようになった。血液検査ではWBCが104,000/μlと急上昇した。一方、Hct値は19.8%、RBCが563×10⁴/μlで、血小板数は34,000/μlを呈し、いずれも低下していた。血液生化学検査では血清中LDHが4,792U/lと高値を示した（表）。血液塗抹では異型リンパ球の著しい増加（総白血球のうち89%）が認められた（図1）。同日、家畜保健衛生所に搬入し、安楽殺後、病理解剖検査を実施した。

肉眼所見：各体表リンパ節（浅耳下腺、下顎、浅頸、腸骨下、浅鼠径など）が、両側性に著しく腫大していた。また、腹腔内の各リンパ節（前腸間膜、内側腸骨、腎など）も同様に腫大していた。脾臓の腫大も顕著で、断面は膨隆した（図2）。

病理組織学的検査：腫大したリンパ節は、腫瘍組織により置換され、固有構造が消失していた（図3）。肝のグリソン鞘や類洞内に、腫瘍細胞の浸潤を認め、脾、腎、心、肺などの主要臓器にも、腫瘍細胞の浸潤や増殖があった。腫瘍細胞は大小さまざま（図4）、場所によ

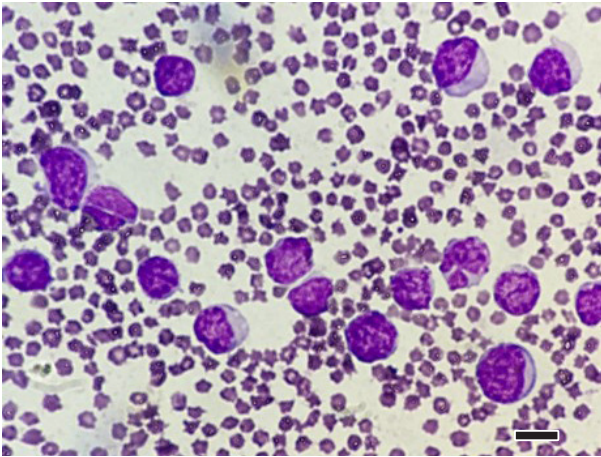


図1 第34病日の血液塗抹像
N/C比が高く、核及び細胞質辺縁が不整な異型リンパ球が多数みられる (Bar=20 μ m).

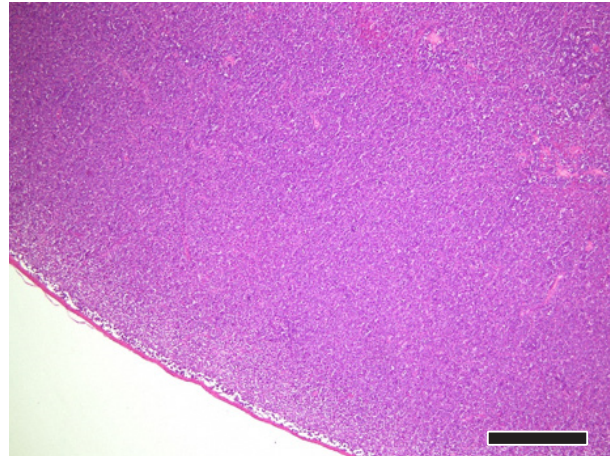


図3 腸骨下リンパ節におけるHE染色
リンパ球様細胞の腫瘍性増殖を認め、正常のリンパ節構造は消失している (Bar=500 μ m).

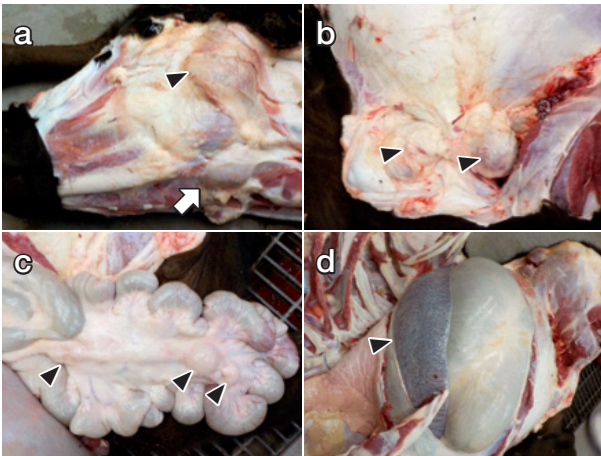


図2 剖検所見
a: 浅耳下腺リンパ節 (矢頭) 及び下顎リンパ節 (矢印) の腫脹
b: 浅鼠径リンパ節の腫脹 (矢頭)
c: 前腸間膜リンパ節 (矢頭) の腫脹
d: 脾臓の腫脹 (70cm×23cm)

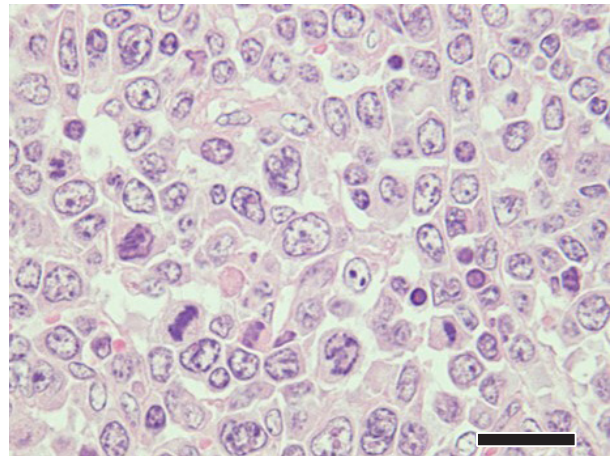


図4 腎リンパ節におけるHE染色
強い異型性を示す大型腫瘍細胞と小型腫瘍細胞の混在を認める (Bar=20 μ m)

て優位を占める細胞の大きさの異なることが確認された。核は円形～類円形が多いが、不整核がときどきみられた。クロマチンは軽度～中等度に凝集し、核小体は多くが小型～中型だが、核小体の目立つ大型異型細胞がまれに認められた。細胞質の広さはさまざまであった。核分裂像は頻繁に認められた。

免疫組織化学的検査: 腫瘍細胞は CD20, CD79a, CD5 が陽性で、CD3 が陰性であった。

ウイルス学的検査: 血液において Cycleave PCR では 3,491copies/50ng DNA を呈し、BLV-CoCoMo-qPCR では 98,462copies/10万細胞を呈した。また BLV-CoCoMo-qPCR において腸骨下リンパ節では 76,819copies/10万細胞、鼠経リンパ節では 73,545cop-

ies/10万細胞を呈した。

B細胞クローナリティ検査: nested PCR の結果、150bp 及び 230bp 付近に明瞭なバンドが認められた (図5)。

BoLA-DRB3 対立遺伝子のタイピング: 症例牛は BoLA-DRB3*1101/*1601 を有していることが判明した。

母牛及び発生農場の間き取り調査: 母牛は北海道から関西地方の酪農家への導入時 (21カ月齢時)、BLV抗体検査にて陽性であったことが判明した。一方、今回の双子牛を岡山県内の農家へ移動した同時期に、同農家の繁殖和牛雌牛の BLV抗体全頭検査が行われ、全42頭中、13頭が BLV抗体陽性であった。

健常な双子牛の調査: 生体検査、血液検査及び血液生化学検査では、特に異常を認めなかった。血液塗抹においても異型リンパ球を認めなかった。血液における

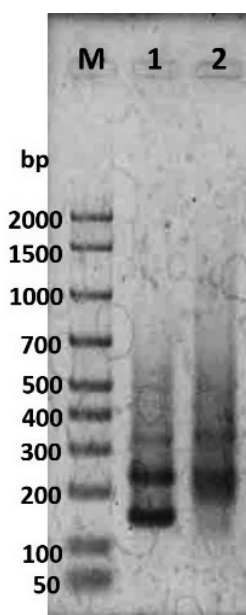


図5 B細胞クローナリティ検査
症例牛において150bp及び230bp
周辺に明瞭なバンドが認められた。
M：マーカー
1：症例牛
2：未発症の野外感染牛

Cycleave PCR では 1,110copies/50ng DNA, BLV-CoCoMo-qPCR では 24,476copies/10 万細胞を呈し。*BoLA-DRB3* 対立遺伝子のタイピングでは、*BoLA-DRB3**0101/*1601 の保有を認めた。

考 察

血液検査において、初診から約1カ月でWBCと異型リンパ球比が著しく上昇し、血清中LDHの上昇も認められた。これらはEBLにおける血液学的、血液生化学的所見と一致していた [1, 2]。一方、Hct値や血小板数は低下していた。このような低下は、組織や血中における急激な腫瘍細胞の増加に伴って、骨髄でも腫瘍細胞の浸潤と増殖が起こり、正常な造血を阻害したことが原因であると考えられた。

第34病日でWBCが104,000/ μ lまで増加し、リンパ球比も89%まで上昇していたが、第1～2病日でステロイドを使用したことによる影響が考えられた。しかし、ステロイドは、組織への好中球の移動の遅延や、骨髄からの好中球の放出の増加などを引き起こすため、リンパ球ではなく、好中球を主とした多型核白血球の増加を引き起こす [12]。また、人において経口プレドニゾロンを単回投与された個体において、WBC数の平均的な増加は4,000/ μ l程度であるという報告がある [13, 14]。以上から、症例牛での2回のステロイドの使用は、リンパ球数の増加に大きな影響を与えていないものと考

えられた。

BLVと原因学的に関係のあるリンパ腫のほとんどは多形型B細胞性リンパ腫で、高度の異型性を示す大型腫瘍細胞の出現や、腫瘍細胞の大きさと形態に極端な差の認められることが特徴で、臨床的には末期にWBCの急激な上昇をみることが多い [15, 16]。症例牛においても同様の特徴が観察され、さらに、免疫組織化学的にCD20, CD79a, CD5が陽性で、B1細胞由来であることが確認された。

症例牛におけるウイルス学的検査では、血液のCycleave PCR及びBLV-CoCoMo-qPCRともに未発症の健常な双子牛と比較し、著しく高いコピー数を呈した。特に、発症牛におけるBLV-CoCoMo-qPCRでは血中プロウイルス量が10万細胞当たり約10万コピーという値を示し、さらにリンパ節細胞においても70,000コピー以上という高値が示されたことから、1細胞に1プロウイルスのみが組み込まれていると仮定すると、血球及びリンパ節の大部分の細胞にBLVが感染していることが示唆された。

B細胞クローナリティ検査では、2本のバンドが認められた。本検査ではB細胞のクローナリティの高い場合、一般的に100～300bp付近にシングルバンドがみられる [10]。しかし、症例牛では2本のバンドが認められた。この結果が生じた要因には、2つの可能性が考えられた。一つは、本来、本検査で検出できるのは相同染色体の片側のみであるが、腫瘍化の影響で両方検出できるようになったパターン [17, 18]、二つ目は、由来の異なる2種類のB細胞が同時期に腫瘍化したパターン [17] が考えられた。いずれも珍しい現象であるが、腫瘍細胞のバイクローナルな増殖を示しているものと考えられた。また、症例牛はCycleave PCRで血液のBLVコピー数が2,000copies/50ng DNAを超えていたことから、B細胞クローナリティ検査結果とともにNishimoriら [10] の報告に当てはめると、Classic EBLに相当するものと考えられた。

以上から、臨床所見、病変分布、病理組織学的所見、ウイルス学的所見、B細胞クローナリティ検査結果から、症例牛をEBLと診断した。

症例牛へのBLV感染経路が子宮内感染 [19] であるのか、水平感染であるのかを把握するため、母牛のBLV抗体検査及び発生農場のBLV浸潤状況を調査した。しかし、母牛が飼養農場への導入時点でBLV抗体陽性であったこと、症例牛の飼養農場においてBLVがまん延していたことから、症例牛への感染経路の特定には至らなかった。

しかし、悪性腫瘍の発生と発達にはある程度の時間を要することと、健常な双子牛も若齢でありながら血中において一定のBLVコピー数を呈したことから、水平感

染よりも子宮内感染がBLVの感染経路である可能性が高い。しかも、きわめて若齢での発症は、環境因子よりも宿主因子が癌化に大きく関与したことを示唆している。宿主因子としては、癌抑制遺伝子 p53 の変異 [20, 21] や腫瘍壊死因子 (TNF) の多型 [22], 主要組織適合抗原 (MHC) の多型 [23] などがあげられる。中でも、MHC は高度な多型性を有し、免疫応答と疾患感受性に個体差が生じる原因となっており、牛では、BLV のほかに乳房炎やタイレリア症、ウイルス性下痢症の発症と相関があるとされている [24]。特に、MHC クラス 2 領域の *BoLA-DRB3* 遺伝子は、BLV の発症を規定していると考えられ、症例牛では感受性対立遺伝子 *BoLA-DRB3*1601* を保有していた。しかし、比較的抵抗性のある個体でもみられる *BoLA-DRB3*1101* をも保有していた。一方、健全な双子牛は症例牛と同様に感受性対立遺伝子 *BoLA-DRB3*1601* を保有していたが、BLV 感受性とは比較的相関しない *BoLA-DRB3*0101* を保有していた。

以上から、症例牛と健全な双子牛は、それぞれ異なる *BoLA* 遺伝子の保有を認めたが、この違いが BLV 発症の相違を規定していたとは言い切れない結果となった。したがって、症例牛の発症には MHC だけではなく、確率的に起こる p53 遺伝子の変異やその他の要因も関与している可能性が高いが、若齢牛の宿主因子に関するデータは非常に少ないため、今後さらなる研究の蓄積が必要であると考えられた。

最後に、本研究にご協力いただいた岡山家畜保健衛生所家畜病性鑑定課の別所理恵 専門研究員、(国研)農業・食品産業技術総合研究機構 動物衛生研究部門 ウイルス疫学研究領域 牛ウイルスユニットの西森朝美 研究員、津山家畜保健衛生所の皆さまに深謝する。

引用文献

- [1] 小沼 操：牛白血病，動物の感染症，小沼 操ら編，第2版，110，近代出版，東京（2006）
- [2] 田島誉士：牛の白血病，獣医内科学大動物編，日本獣医内科学アカデミー編，208-209，文永堂，東京（2005）
- [3] Kagawa Y, Tomita K, Nakatani H, Sato K, Wada Y, Ishikawa Y, Kadota K : Immunohistochemical characterization of five types of lymphoid neoplasms in calves, *Jpn Agric Res Quart*, 43, 239-245 (2009)
- [4] Murayama S, Sato K, Ikehata T, Wada Y, Ishikawa Y, Kadota K : Cytologic and immunophenotypic investigation of lymphohematopoietic neoplasms in cattle, *Jpn Agric Res Quart*, 45, 225-231 (2011)
- [5] 門田耕一，石川義春：牛リンパ造血系腫瘍の診断のための標本作製と見方，農研機構研報動物衛研，123, 47-57 (2017)
- [6] Hagiwara A, Saito M, Ishikawa Y, Kadota K : Mantle cell lymphoma with histological progression to pleomorphic lymphoma in two cattle, *Jpn Agric Res Quart*, 52, 49-54 (2018)
- [7] Jimba M, Takeshima S, Murakami H, Kohara J, Kobayashi N, Matsubashi T, Ohmori T, Nunoya T, Aida Y : BLV-CoCoMo-qPCR: a useful tool for evaluating bovine leukemia virus infection status, *BMC Vet Res*, 8, 167 (2012)
- [8] Jimba M, Takeshima S, Matoba K, Endoh D, Aida Y : BLV-CoCoMo-qPCR: Quantitation of bovine leukemia virus proviral load using the CoCoMo algorithm, *Retrovirology*, 7, 91 (2010)
- [9] Takeshima S, Kitamura-Muramatsu Y, Yuan Y, Polat M, Saito S, Aida Y : BLV-CoCoMo-qPCR-2: improvements to the BLV-CoCoMo-qPCR assay for bovine leukemia virus by reducing primer degeneracy and constructing an optimal standard curve, *Arch Virol*, 160, 1325-1332 (2015)
- [10] Nishimori A, Konnai S, Okagawa T, Maekawa N, Goto S, Ikebuchi R, Nakahara A, Chiba Y, Ikeda M, Murata S, Ohashi K : Identification of an atypical enzootic bovine leukosis in Japan by using a novel classification of bovine leukemia based on immunophenotypic analysis, *Clin Vaccine Immunol*, 24, e00067-17 (2017), (online), (<https://cvi.asm.org/content/cdli/24/9/e00067-17.full.pdf>), (accessed 2019-05-01)
- [11] Takeshima S, Ikegami M, Morita M, Nakai Y, Aida Y : Identification of new cattle *BoLA-DRB3* alleles by sequence-based typing, *Immunogenetics*, 53, 74-81 (2001)
- [12] Nakagawa M, Terashima T, D'yachkova Y, Bondy GP, Hogg JC, van Eeden SF : Glucocorticoid-induced granulocytosis: contribution of marrow release and demargination of intravascular granulocytes, *Circulation*, 98, 2307-2313 (1998)
- [13] Shoenfeld Y, Gurewich Y, Gallant LA, Pinkhas J : Prednisone-induced leukocytosis. Influence of dosage, method and duration of administration on the degree of leukocytosis, *Am J Med*, 71, 773-778 (1981)
- [14] Dale DC, Fauci AS, Guerry D IV, Wolff SM : Comparison of agents producing a neutrophilic leukocytosis in man. Hydrocortisone, prednisone, endotoxin, and etiocholanolone, *J Clin Invest*, 56, 808-813 (1975)
- [15] 萩原晶代，齊藤守弘，石川義春，門田耕一：牛白血病ウイルス感染牛におけるリンパ系腫瘍の組織学的検討，日獣会誌，67, 199-203 (2014)
- [16] Iwama Y, Inomata T, Ishikawa Y, Kadota K : Cytology of B cell lymphomas in cattle infected with bovine leukosis virus, *Jpn Agric Res Quart*, 47, 103-107 (2013)
- [17] 佐々木 悠：炎症性腸疾患 (IBD) の消化器型リンパ腫の診断を極める —臨床検査の進め方～遺伝子診断まで— リンパ系腫瘍のクローン性解析の役割と現状，動物臨床医学，21, 91-95 (2012)
- [18] Cerny J, Slavickova A, Krepelova A, Trneny M, Karban J, Klener P : Biallelic IgH rearrangements in patients with indolent lymphoproliferative disorders : molecular and practical implications, *J Cell Physiol*, 199, 217-226 (2004)
- [19] Mekata H, Sekiguchi S, Konnai S, Kirino Y, Honkawa

- K, Nonaka N, Horii Y, Norimine J : Evaluation of the natural perinatal transmission of bovine leukaemia virus, *Vet Rec*, 176, 254 (2015)
- [20] Ishiguro N, Furuoka H, Matsui T, Horiuchi M, Shinagawa M, Asahina M, Okada K : p53 mutation as a potential cellular factor for tumor development in enzootic bovine leukosis, *Vet Immunol Immunop*, 55, 351-358 (1997)
- [21] Tajima S, Zhuang WZ, Kato MV, Okada K, Ikawa Y, Aida Y : Function and conformation of wild-type p53 protein are influenced by mutations in bovine leukemia virus-induced B-cell lymphosarcoma, *Virology*, 243, 235-246 (1998)
- [22] Konnai S, Usui T, Ikeda M, Kohara J, Hirata T, Okada K, Ohashi K, Onuma M : Tumor necrosis factor-alpha genetic polymorphism may contribute to progression of bovine leukemia virus-infection, *Microbes Infect*, 8, 2163-2171 (2006)
- [23] Hughes AL, Nei M : Nucleotide substitution at major histocompatibility complex class II loci: evidence for overdominant selection, *P Natl Acad Sci USA*, 86, 958-962 (1989)
- [24] Takeshima S, Aida Y : Structure, function and disease susceptibility of the bovine major histocompatibility complex, *Anim Sci J*, 77, 138-150 (2006)

A Case of Enzootic Bovine Leukosis in a Five-month-old Calf

Takuji WAKATSUKI^{1)†}, Sadamu SUGIYAMA¹⁾, Asako TAKAOKA¹⁾, Akihiko HASHIDA²⁾,
Chiaki MIZUKAMI³⁾, Yuri HIROSE³⁾, Koichi KADOTA⁴⁾,
Shinnosuke TAKESHIMA⁵⁾ and Yoko AIDA⁵⁾

- 1) *Okayama Agricultural Mutual Relief Association, Hokubu Core Livestock Medical Office, 8-9 Kokubunji, Tsuyama, 708-0843, Japan*
- 2) *Okayama Prefectural Ikasa Livestock Hygiene Service Center, 345 Asumi, Yakage-cho, Odagun, 714-1225, Japan*
- 3) *Okayama Prefectural Okayama Livestock Hygiene Service Center, 2770-1 Mitsukochi, Kita-ku, Okayama 709-2123, Japan*
- 4) *Hokkaido Research Station, National Institute of Animal Health, 4 Hitsujigaoka, Toyohira, Sapporo 062-0045, Japan*
- 5) *RIKEN, 2-1 Hirosawa, Wako, 351-0198, Japan*

SUMMARY

Although enzootic bovine leukosis (EBL) usually occurs in cattle over 4 years of age, a diagnosis of EBL was able to be established in a 5-month-old crossbred steer. This animal showed marked swelling of the superficial lymph nodes at 134 days old. At 168 days old, swelling of the superficial lymph nodes deteriorated. A blood examination revealed the rapid elevation of the white blood cell count (104,000/ μ l) with 89% atypical lymphocytes. In the necropsy, the abdominal lymph nodes were greatly enlarged. Histologically, tumor cells characterized by pleomorphism and atypia showed proliferation or infiltration in lymph nodes and a variety of internal organs. Real-time PCR showed an extremely high number of copies of proviral bovine leukemia virus (BLV) in the peripheral blood and the lymph nodes examined. B cell clonality tests showed biclonality growth of tumor cells. A diagnosis of EBL was made based on these findings. Analysis of bovine leukocyte antigen (BoLA) genes, associated with the susceptibility to BLV, showed *BoLA-DRB3*1101* and **1601*; therefore, multiple factors are thought to have been implicated in the neoplastic transformation in the present case.

— Key words : BLV, Calf, EBL.

† Correspondence to : Takuji WAKATSUKI (*Okayama Agricultural Mutual Relief Association, Hokubu Core Livestock Medical Office*)

8-9 Kokubunji, Tsuyama, 708-0843, Japan

TEL 0868-26-1112 FAX 0868-26-6632 E-mail : takuji_w@ok-nosai.or.jp

J. Jpn. Vet. Med. Assoc., 72, 608 ~ 613 (2019)