

鳥取県内の1酪農場における牛伝染性リンパ腫対策と 効果検証

増田恒幸^{1)†} 朱 夏希¹⁾ 黒田萌黄¹⁾ 岡田綾子²⁾
大下雄三³⁾ 増田康充⁴⁾ 関口 敏⁵⁾

- 1) 鳥取県倉吉家畜保健衛生所 (〒 682-0017 倉吉市清谷町 2-132)
- 2) 鳥取県西部家畜保健衛生所 (〒 689-4213 西伯郡伯耆町金屋谷 1540-17)
- 3) 鳥取県農業大学校 (〒 682-0402 倉吉市関金町大鳥居 1238)
- 4) 鳥取県畜産試験場 (〒 689-2503 東伯郡琴浦町松谷 606)
- 5) 宮崎大学農学部 (〒 889-2192 宮崎市学園木花台西 1-1)

(2020年2月28日受付・2020年12月23日受理)

要 約

2017年から牛伝染性リンパ腫 (EBL) 対策を開始した農場では牛伝染性リンパ腫ウイルス (BLV) に対する抗体陽性率が3年間の間に11.8%から2.4%まで減少した。当該農場における EBL 発症抵抗性ウシ主要組織適合抗原クラス II *DRB3* 対立遺伝子である *DRB3*0902* 保有率は15.4%であり、調査した県内の乳用牛全体と比較して有意に高かった。2018年から実施した抗体陽性牛と陰性牛の配置換えに加え、高い *DRB3*0902* 保有率により農場内の BLV の水平感染を防止でき、陽性牛の優先的な更新により抗体陽性率の減少につながったと考えられた。

——キーワード：抗体陽性率、牛伝染性リンパ腫ウイルス、*DRB3*0902*、牛伝染性リンパ腫。

-----日獣会誌 74, 423~426 (2021)

牛伝染性リンパ腫 (EBL) は牛伝染性リンパ腫ウイルス (BLV) の感染によって引き起こされる牛のウイルス性疾患で、白血球数の増加や全身の悪性リンパ肉腫を主徴とする [1-3]。一度 EBL を発症すれば致命的な転機をたどるため、畜産経営に与える損害は甚大である。EBL は家畜伝染病予防法においては届出伝染病に指定されており、近年届出頭数は増加の一途をたどっている (農林水産省ホームページ：監視伝染病の発生状況 (https://www.maff.go.jp/j/syouan/douei/kansi_densen/kansi_densen.html), (参照 2020-02-01))。鳥取県内においても増加傾向は同様で、2007年の21頭から2018年は46頭の発生が確認されている。その内訳は、乳用牛での発生が主であったが、2013年以降は肉用牛においても発生が増加傾向にある。

BLV の感染経路は感染牛の血液等との接触であるため、これらを物理的に阻止することが感染防止には重要である [4-6]。このため感染牛と非感染牛の分離飼育は BLV 水平感染防止に効果があるとされている [7]。

また、近年の研究においてウシ主要組織適合抗原クラス II *DRB3* (*BoLA-DRB3*) 対立遺伝子が EBL の発症と血中プロウイルス量の制御に関与しており [8]、EBL 発症抵抗性対立遺伝子のうち *DRB3*0902* をホモ、ヘテロに関わらず保有する牛では発症が抑制され、血中のプロウイルス量が低く抑えられると報告されている [9]。このため *DRB3*0902* 保有牛が多い農場では EBL 対策の効果を得られやすいと考えられ、*BoLA-DRB3* 対立遺伝子に着目した EBL 対策も提唱されている [10,11]。

しかし、牛群における BLV に対する抗体陽性率を指標に、感染牛と非感染牛の分離飼育の効果を経時的に検証し、対策農場における飼養牛の *DRB3*0902* 保有状況についての考察を加えた報告はほとんどない。

今回、牛の分離飼育が可能な鳥取県内の農場1戸において、牛群の *DRB3*0902* の保有状況について調査し、約2年半にわたる EBL 対策の効果を検証したのでその概要を報告する。

† 連絡責任者：増田恒幸 (鳥取県倉吉家畜保健衛生所)

〒 682-0017 倉吉市清谷町 2-132 ☎ 0858-26-3341 FAX 0858-26-8164
E-mail : masudat@pref.tottori.lg.jp

材料及び方法

BLVまん延防止対策農場：タイストール形式で搾乳牛60頭を飼養する酪農場（A農場）で2017年からBLVまん延防止対策を実施した。

A農場では注射針の1頭1針の徹底、直腸検査時に用いる手袋の1頭ごとの交換、BLVを媒介するサシバエ対策として防虫ネットの設置などの対策は2017年以前から実施していた。また、2017年から牛の外部導入はなく、後継牛はすべて自家育成であった。

また、2017～2019年の間、抗体陰性の育成牛が搾乳牛群に編入されるごとに、高齢の抗体陽性牛から優先的に更新した。この期間内に抗体陽性牛から後継牛の生産はしなかった。さらに、2018年12月にはBLVの水平感染を防止するため、図に示す搾乳牛舎における牛の配置換えを実施した。

BLV浸潤状況の確認と対策の効果検証のため2017～2019年に合計5回、初回は12カ月齢以上、それ以降は6カ月齢以上の飼養牛を対象としてBLVに対する抗体

検査を実施した。初回は検査対象牛全頭とし、以降は前回の検査で陰性だった個体及び前回の検査時に未検査であった個体を対象とした。第1回目は2017年12月に76頭、第2回目は2018年8月に84頭、第3回目は2018年12月に80頭、第4回目は2019年6月に80頭、第5回目は2019年12月に80頭から採血し、血清を遠心分離後、抗BLV抗体検出キット（牛白血病エライザキット、JNC(株)、東京）による抗体検査に供した。本研究では初回は検査実施頭数に占める抗体陽性牛の割合、2回目以降は既知陽性牛と検査実施頭数に占める検査時点での既知陽性牛とその検査で新たに陽性となった牛（抗体陽転牛）の割合を農場内抗体陽性率と定義し、検査実施ごとに農場内抗体陽性率を算出した。

BoLA-DRB3対立遺伝子検索：2017年2～11月にA農場で飼養されている78頭を含む県内の乳用牛395頭から採血を行い、得られた血液サンプルからDNA抽出キット（NucleoSpin® Blood、タカラバイオ(株)、滋賀）を用いてDNAを抽出した。抽出したDNAは検査に供するまで-20℃で保存した。BoLA-DRB3対立遺伝子の検索については(国研)理化学研究所へ委託した。A農場と調査した県内の農場全体での飼養牛におけるDRB3*0902保有率については、統計解析ソフトウェアEZRを使用し、二項検定により比較した[12]。

成績

対策農場の検査成績と牛の更新状況：2017年12月の抗体陽性率は11.8%であったが、2018年8月には8.7%、同年12月には4.8%、2019年6月には4.8%と変動がなかったが、同年12月には2.4%にまで減少した(表)。2018年12月に牛の配置換えを行って以降、新たな抗体陽転は認められなかった。また観察当初農場で飼養されていた抗体陽性牛9頭のうち観察終了までに7頭を更新した。

BoLA-DRB3対立遺伝子保有状況：今回調査した乳用牛395頭のうち21頭(5.6%)がDRB3*0902を保有していた。このうちA農場では78頭中12頭(15.4%)がDRB3*0902を保有していた。A農場におけるDRB3*0902の保有率(15.4%)と乳用牛全体における保有率(5.6%)を比較した結果、A農場の保有率は全体に比べて有意に高かった(P<0.05)。また、A農場におけるDRB3*0902保有牛12頭のうち3頭が抗体陽性であった。しかし、2018年に抗体陽性牛と陰性牛の配置換えを実施した際には、これら3頭のうち2頭が更新されており1頭のみであった(図の左上の陽性牛(Pos))。

考察

2017年に実施した県内の酪農場におけるDRB3*0902

Pos [†]	通路	空房
Pos		Neg [†]
Pos		Neg
Pos		Neg
Neg		Neg
Neg		Neg
Neg		Neg
Neg		Neg
Neg		Neg
Neg		Neg
通路		Neg
Neg		Neg
～		
Neg	通路	Neg
Neg		Neg
空房		Neg
空房		Neg [†]
Neg		Neg
Neg		Neg [†]
Neg		Neg
Neg		Neg [†]
Neg		Neg [†]

入口

Pos：抗体陽性牛 Neg：抗体陰性牛
 †：DRB3*0902 保有牛

図 A農場における牛の配置換え状況

表 A 農場において実施した検査の概要と抗体陽性率の推移

検査時期	2017年12月	2018年8月	2018年12月	2019年6月	2019年12月
6カ月齢以上の飼養頭数 ¹⁾	76	92	84	84	82
既知陽性頭数	—	8	4	4	2
既知陰性頭数	—	66	62	74	70
前回検査からの更新頭数 (うち陽性頭数)	—	2 (1)	18 (4)	2 (0)	8 (2)
検査頭数 (うち陽性頭数) ²⁾	76 (9)	84 (0)	80 (0)	80 (0)	80 (0)
農場内の全陽性頭数	9	8	4	4	2
BLV抗体陽性率	11.8%	8.7%	4.8%	4.8%	2.4%

1) 2017年12月は12カ月齢以上の飼養頭数 2) 2018年8月以降は [抗体陽転頭数]

保有率5.6%であった。またDRB3*0902保有率は6.8%とかなり低いことが報告されている [9]。これらは限られた地域におけるデータであり、さらなる調査が必要であると考えられるが、A農場におけるDRB3*0902保有率は15.4%であり、比較的多くの牛がDRB3*0902を保有していたと考えられた。

また、本県で2010～2014年に実施した調査において、酪農場80戸のうち63戸で抗体陽性率が40%以上であった。一方、2017年の対策当初におけるA農場の抗体陽性率は11.8%であった。すなわち、A農場の抗体陽性率が低かった理由について、以前から積極的にEBL対策を実施してきたことに加えて、牛群におけるDRB3*0902保有率の高さも要因の一つと推察された。

血中のBLVプロウイルス量が高い牛はBLVを伝播するリスクが高いとされている [13-15]。A農場では2017年時点で陽性牛9頭のうち、DRB3*0902を保有している牛は3頭存在していた。これらの血中プロウイルス量の測定はできなかったが、DRB3*0902を保有していたことから、血中プロウイルス量が低く抑えられており、非保有感染牛より水平感染のリスクが低かった可能性が考えられた。

A農場では対策を実施した2017～2019年に、新たな抗体陽転が起こらず抗体陽性率が低下した。この最も大きな要因は、水平感染を防ぎつつ、陽性牛の優先的な更新を実施したためと推察された。陽性牛の更新は農場の早期清浄化に効果的であるが、同時に経済的負担も生じるため、早急に実施することは現実的に難しい。このため陽性牛を維持しつつも、新たな抗体陽転を可能な限り抑制しながら、時間をかけて陽性牛の更新を実施していく必要がある。この点において、2018年に実施した陽性牛と陰性牛の配置換えは水平感染リスクを減少させ、新たな抗体陽転を抑える効果があったと考えられた。

現在BLVの国内浸潤状況は高く [16]、感染牛が多く対策が実施できない農場も存在すると考えられる。しかし、早急なBLV清浄化は困難であっても、まずは農場

単位で実施できる対策を、できる範囲で継続して取り組み、農場内の感染状況を定期的に確認しながら、水平感染を防止し、陽性率を少しずつでも減少させることがEBL対策には重要である。本報告はDRB3*0902保有率が高いタイストール農場で、陽性牛の優先的な更新や配置換えによりEBL対策が成功した1事例である。牛群内のDRB3*0902保有状況調査に基づき、保有牛の保留や後継牛を残していくことは、BLV対策の一つのツールとなると考えられた。

引用文献

- [1] Miller JM, Miller LD, Olson C, Gillette KG : Virus-like particles in phytohemagglutinin-stimulated lymphocyte cultures with reference to bovine lymphosarcoma, J Natl Cancer I, 43, 1297-1305 (1969)
- [2] Mirsky ML, Olmstead CA, Da Y, Lewin HA : The prevalence of proviral bovine leukemia virus in peripheral blood mononuclear cells at two subclinical stages of infection, J Virol, 70, 2178-2183 (1996)
- [3] Schwartz I, Bensaid A, Polack B, Perrin B, Berthelemy M, Levy D : In vivo leukocyte tropism of bovine leukemia virus in sheep and cattle, J Virol, 68, 4589-4596 (1994)
- [4] Buxton BA, Hinkle, NC, Schultz RD : Role of insects in the transmission of bovine leukosis virus: potential for transmission by stable flies, horn flies, and tabanids, Am J Vet Res, 46, 123-126 (1985)
- [5] Ohshima K, Okada K, Numakunai S, Yoneyama Y, Sato S, Takahashi K : Evidence on horizontal transmission of bovine leukemia virus due to blood-sucking tabanid flies, Jpn J Vet Sci, 43, 79-81 (1981)
- [6] Kohara J, Konnai S, Onuma M : Experimental transmission of Bovine leukemia virus in cattle via rectal palpation, Jpn J Vet Res, 54, 25-30 (2006)
- [7] Kobayashi S, Tsutsui T, Yamamoto T, Hayama Y, Muroga N, Konishi M, Kameyama K, Murakami K : The role of neighboring infected cattle in bovine leukemia virus transmission risk, J Vet Med Sci, 77, 861-863 (2015)
- [8] Miyasaka T, Takeshima S, Jimba M, Matsumoto Y,

- Kobayashi N, Matsubashi T, Sentsui H, Aida Y : Identification of bovine leukocyte antigen class II haplotypes associated with variations in bovine leukemia virus proviral load in Japanese Black cattle, *Tissue Antigens*, 81, 72-82 (2013)
- [9] Hayashi T, Mekata H, Sekiguchi S, Kirino Y, Mitoma S, Honkawa K, Horii Y, Norimine J : Cattle with the BoLA class II *DRB3*0902* allele have significantly lower bovine leukemia proviral loads, *J Vet Med Sci*, 79, 1552-1555 (2017)
- [10] 間 陽子 : 革新的技術で牛白血病ウイルスから牛を守る. *家畜感染症学誌*, 5, 43-53 (2016)
- [11] Juliarena MA, Barrios CN, Ceriani MC, Esteban EN : *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)
- [12] Kanda Y : Investigation of the freely available easy-to-use software 'EZ' for medical statistics, *Bone Marrow Transpl*, 48, 452-458 (2013)
- [13] 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)
- [14] Ohno A, Takeshima S, Matsumoto Y, Aida Y : Risk factors associated with increased bovine leukemia virus proviral load in infected cattle in Japan from 2012 to 2014, *Virus Res*, 210, 283-290 (2015)
- [15] Yuan Y, Kitamura-Muramatsu, Y, Saito S, Ishizaki H, Nakano M, Haga S, Matoba K, Ohno A, Murakami H, Takeshima S, Aida Y : Detection of the BLV provirus from nasal secretion and saliva samples using BLV-CoCoMo-qPCR-2: Comparison with blood samples from same cattle, *Virus Res*, 210, 248-254 (2015)
- [16] Murakami K, Kobayashi S, Konishi M, Kameyama K, Tsutsui T : Nationwide survey of bovine leukemia virus infection among dairy and beef breeding cattle in Japan from 2009-2011, *J Vet Med Sci*, 75, 1123-1126 (2013)

Validating Prevention of the Spread of Enzootic Bovine Leukosis on a Farm in Tottori Prefecture

Tsuneyuki MASUDA^{1)†}, Natsuki AKASHI¹⁾, Moegi KURODA¹⁾, Ayako OKADA²⁾,
Yuzo OSHIMO³⁾, Yasumitsu MASUDA⁴⁾ and Satoshi SEKIGUCHI⁵⁾

1) *Kurayoshi Livestock Hygiene Service Center, 2-132 Seidani-cho, Kurayoshi, 682-0017, Japan*

2) *Seibu Livestock Hygiene Service Center, 1540-17 Kanayadani, Hoki-cho, Saihaku-gun, 689-4213, Japan*

3) *Tottori Prefectural College of Agriculture, 1238 Otorii, Sekigane-cho, Kurayoshi, 682-0402, Japan*

4) *Tottori Prefecture Livestock Research Center, 606 Matsudani, Kotoura-cho, Tohaku-gun, 689-2503, Japan*

5) *Faculty of Agriculture, University of Miyazaki, 1-1 Gakuen Kibanadai-nishi, Miyazaki, 889-2192, Japan*

SUMMARY

In 2017, one dairy farm initiated measures for preventing the spread of enzootic bovine leukosis (EBL). Subsequently, bovine leukosis virus (BLV) antibody prevalence on this farm decreased from 11.8% to 2.4% over 3 years. The prevalence of the *DRB3*0902* allele, one of the resistance-associated alleles, was 15.4% on the farm, significantly higher than that of the dairy cattle surveyed in this study. In addition, the segregation of seropositive cattle from the seronegatives was deemed to be an effective method for preventing horizontal transmission of BLV. Further, replacement of seropositives was predictably effective at decreasing antibody prevalence on the farm. — Key words : antibody prevalence, bovine leukosis virus, *DRB3*0902*, enzootic bovine leukosis.

† Correspondence to : Tsuneyuki MASUDA (*Kurayoshi Livestock Hygiene Service Center*)

2-132 Seidani-cho, Kurayoshi, 682-0017, Japan

TEL 0858-26-3341 FAX 0858-26-8164 E-mail : masudat@pref.tottori.lg.jp

J. Jpn. Vet. Med. Assoc., 74, 423 ~ 426 (2021)