

# 管内 1 酪農場における牛伝染性リンパ腫抵抗性遺伝子の保因と感染状況

○ 坂本英優、中島純子  
(飯田家畜保健衛生所)

## 要約

平成 30 年～令和 5 年にかけて管内 1 酪農場のホルスタイン種 161 頭の牛伝染性リンパ腫 BoLA-DRB3 (遺伝子型) を解析。抵抗性 40 頭、感受性 51 頭、非抵抗性・非感受性 70 頭で、抵抗性は 3 種、感受性は 2 種の遺伝子を確認。EC の鍵判定による持続性リンパ球増多症 (PL) 牛は抵抗性 9 頭、感受性 21 頭。血中プロウイルス遺伝子量(ウイルス量)が 10000copies/100ngDNA 以上を示した高リスク牛は抵抗性 6 頭、感受性 32 頭。PL 及び高リスク牛は感受性牛に多い一方、抵抗性牛にも存在。また、令和 4 年度 8 カ月齢以下子牛 28 頭中陰性 27 頭、うち 16 頭の母親が高リスク牛だったが垂直感染は確認されず、初乳加温の有効性も示唆。防虫ネット設置や超高リスク牛の優先淘汰等を実施すると、令和元年 12 月から令和 5 年 10 月にかけて農場陽性率は 82%から 62%、陽性牛における高リスク牛割合は 26%から 13%に減少。当該農場はフリーストール、夏季育成牛預託で水平感染対策が困難だが、ウイルス量等の継続調査による高リスク牛把握は清浄化対策の一助として有効と推察。

### 1 はじめに

牛伝染性リンパ腫は牛伝染性リンパ腫ウイルス (以下、BLV という) が原因の届出伝染病で、発症するのは数%と多くの牛は感染しても無症状なもの、一度感染したら生涯ウイルスを保有して感染源となる。そのため、農場の清浄化には感染を拡大させない対策が必要となる。

対策としては、吸血昆虫対策や初乳の加温殺菌等の物理的伝播予防と合わせ、感染源となるリスク牛の摘発や隔離等が重要であり、そのために陽性牛および陰性牛の把握、リンパ球数やウイルス量の測定に加え、最近では抵抗性または感受性遺伝子保因牛の調査が注目されている [1~5]。

今回、当管内の 1 酪農場で、抵抗性・感受性遺伝子の保因と BLV 感染状況を調査したので、その内容を報告する。

### 2 調査方法

#### (1) 農場の概要及び調査頭数

調査農場はホルスタイン種乳用牛を約 100 頭 (うち搾乳牛 約 60 頭、後継牛自家育成) 飼養しており、飼養形態はフリーストールである。

調査は平成 30 年から令和 5 年の 6 年間に飼育されていた計 161 頭について行い、毎年夏前と越夏後の 2 回一斉採血を実施した。

各回の採血頭数は表 1 のとおりで、1 頭あたりの採血回数は 1 回~12 回(平均 5.5 回)であった。

表 1 採血頭数

年 月	H30		R1		R2		R3		R4		R5	
	7	12	5	12	7	11	6	10	6	10	6	10
採血 頭数	45	30	65	89	78	81	69	64	111	78	104	97

#### (2) 検査項目

##### (ア) 遺伝子型

調査牛全頭を対象に、BoLA-DRB3 遺伝子タイプピング法により実施した。なお、検査はジェノダイブファーマ(株)に委託した。

ウシゲノムの BoLA-DRB3 遺伝子座に、抵抗

性の対立遺伝子（以下、アレルという）を保有する牛は BLV に感染しても低いプロウイルス量を維持し、感受性のアレルを保有する牛はウイルス量が高値を示すといわれている[1]。今回の調査ではアレルの保因状況により飼育牛を抵抗性、感受性、非抵抗・非感受性の3つの遺伝子型に振り分けた（表2）。

表2 アレルとプロウイルス量、遺伝子型の関係

ホルスタイン種 対立遺伝子 (アレル)	BLV プロウイルス量	遺伝子型
抵抗性アレル 009:02 002:01 014:01:01	低値を維持	抵抗性
感受性アレル 012:01 015:01	高値	感受性
その他アレル 上記以外	(関与なし)	非抵抗・非感受性

\* 抵抗性アレルと感受性アレルの両方を保有する場合は抵抗性扱い

#### (イ) 感染状況

年2回の調査時における感染状況（陽性率）を把握するため、農場の既知抗体陰性牛及び未検査牛について約7カ月齢以上の牛は ELISA 法による血清抗体検査を、約7カ月齢未満の若齢牛はネステッド PCR 法による BLV 特異的遺伝子検査を実施し、陰性牛頭数を調査し陽性牛の摘発を行った。

#### (ウ) 持続性リンパ球増多症 (PL) 判定

採血牛全頭を対象として、リンパ球数から EC の鍵（表3）を用い、陽性、擬陽性、正常を判断した。6年間の調査で牛により採血回数が異なるため、判定基準は、複数回実施した検査における陽性または擬陽性の発生率が50%以上であったものを PL と判定した（表4）。

表3 EC の鍵

ECの鍵 年齢(歳)	リンパ球数(/μl)		
	正常	擬陽性	陽性
~1	<10000	10000~12000	>12000
1~2	<9000	9000~11000	>11000
2~3	<7500	7500~9500	>9500
3~4	<6500	6500~8500	>8500
4~	<5000	5000~7000	>7000

表4 PL 判定基準

陽性または擬陽性の発生率※	PL判定
50%以上	PL
50%未満	正常

※ H30-R5の間に複数回実施した検査における

#### (エ) 血中プロウイルス遺伝子量測定

抗体陽性牛を対象に、リアルタイム PCR 法 (TaKaRa (RC201A/202A)) により検査を実施した。

血中プロウイルス遺伝子量（以下、ウイルス量という）については、文献や報告により判定基準が異なる[2, 6, 7]ため、本調査では複数回実施した検査における最大値をもとにリスク判定を行った。ウイルス量が100 ngDNA あたり1万コピー以上を高リスク牛とした（表5）。

表5 感染源リスク判定基準

ウイルス量※ (copies/100ngDNA)	感染源リスク判定
10000~	高リスク
4000~10000	中リスク
~4000	低リスク

※ H30-R5の間に複数回実施した検査における最大値

### 3 調査結果

#### (ア) 遺伝子型

飼育牛161頭の内訳は抵抗性40頭、感受性51頭、非抵抗・非感受性70頭であった。

抵抗性アレルは3種4パターン、感受性アレルは2種4パターンの組合せが確認された（図1）。

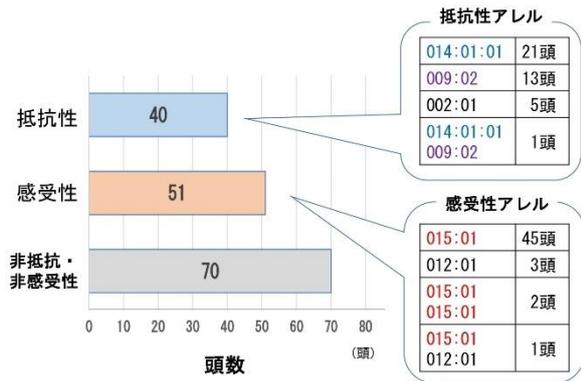


図1 遺伝子型調査結果

(イ) 感染状況

血清抗体検査、BLV 特異的遺伝子検査の各回の検査頭数及び陰性頭数は表6のとおりであった。

表6 感染状況調査結果

年月	H30		R1		R2		R3		R4		R5	
	7	12	5	12	7	11	6	10	6	10	6	10
採血頭数	45	30	65	89	78	81	69	64	111	78	104	97
検査頭数	27	21	32	55	20	46	53	50	62	59	58	49
陰性頭数	21	13	22	35	19	30	46	46	52	50	50	38

(ウ) PL判定

抵抗力では PL 4 頭、非抵抗・非感受性では PL 6 頭と、それぞれの 10%程だったのに比べ、感受性では PL21 頭、41%と多い傾向であった(図2)。

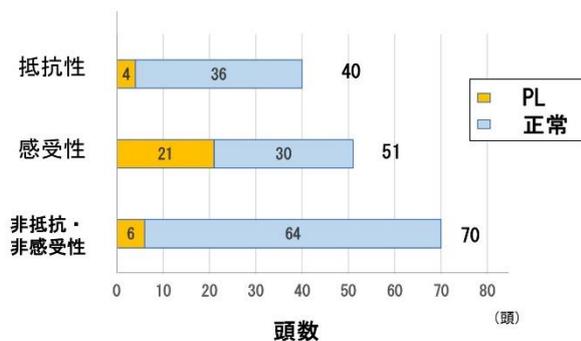


図2 PL判定調査結果

(エ) ウイルス量測定によるリスク判定

高リスク牛は陽性牛 113 頭中 46 頭おり、遺伝子型別では感受性が 32 頭と、抵抗力 6 頭、非抵抗・非感受性 8 頭に比べ特に多い傾向であった(図3)。

また、抵抗力牛の内訳は、低リスクに 30 頭中 19 頭と、半数以上の牛が該当したものの、高リスク牛が 6 頭 20%存在し、そのウイルス量は最大で約 1 万 5 千以上から 6 万と極めて高い値を示した牛もいた(表7)。

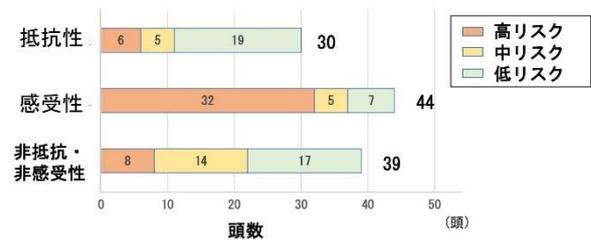


図3 ウイルス量測定によるリスク判定調査結果

表7 抵抗力牛の内訳

抵抗力牛の内訳(ウイルス量)		(copies/100ngDNA)	
頭数	測定回数/頭	測定値	最大値
高リスク	6	1 ~ 5	2650 ~ 59950
中リスク	5	2 ~ 7	6 ~ 9830
低リスク	19	2 ~ 5	0 ~ 3710

4 子牛の感染と母牛の感染源リスク

水平感染による子牛の感染と母牛の感染源リスクについて調査を行った。令和4年度に、8カ月齢以下の子牛 28 頭について感染状況を調べたところ、陽性は 1 頭のみで、27 頭が陰性であった。陰性子牛の母牛については子牛の遺伝子型に関わらず、計 16 頭の子牛の母牛が高リスク牛であった(図4)。

このことは、当該農場では高リスク母牛であっても胎盤感染や分娩時の感染など子牛への垂直感染の発生がほぼなかったことを示している。



子牛：R4.6月,10月に採血を実施した8カ月齢以下 28頭  
図4 子牛の感染と母牛の感染源リスク

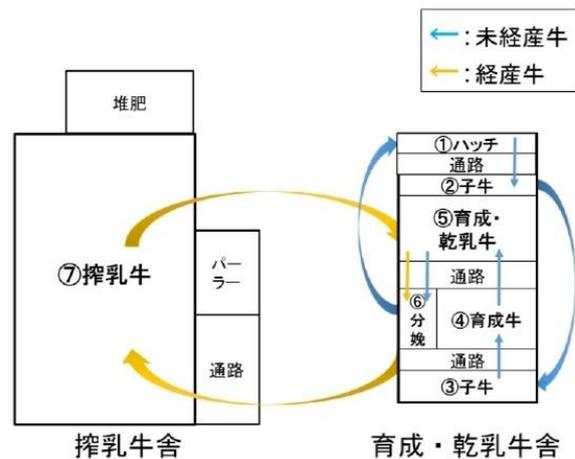


図6 牛舎の配置と牛の移動の動線

### 5 農場での BLV 感染予防対策

当該農場での BLV 感染予防対策は、初乳の加熱・凍結処理や器具の消毒、サシバエネットの設置、殺虫剤等の散布、耳標型防虫殺虫剤の装着などを実施している (図5)。これらは水平感染、また子牛への初乳からの感染予防対策であり、高リスク母牛の子牛が陰性であったことから、一定の効果ができていると考える。



図5 農場での BLV 感染予防対策

一方、当該農場は、フリーストール牛舎で、複雑な牛の移動がある、夏季の育成牛外部預託、育成牛と乾乳牛、長期不受胎牛の同居など、群分けや高リスク牛との飼育場所の隔離などの対策が困難である (図6)。

そのため、高リスク牛、特にウイルス量が2万以上の超高リスク牛の計画的淘汰、また遺伝子型調査の結果から、感受性牛を減らすことなどで、牛群内のウイルス濃度を下げようとする対策を実施している。

### 6 出生年と遺伝子型

飼養牛の出生年毎の遺伝子型をみると、令和2年頃から抵抗性と非抵抗・非感受性の頭数はほぼ横ばいなのに対し、感受性は令和4年以降減少している (図7)。

高リスク牛や感受性牛の優先淘汰は、調査を本格的に開始した令和元年頃から意識的に行ってきており、このことが、生まれてくる牛の抵抗性の増加、感受性の減少につながっているのではないかと考える。

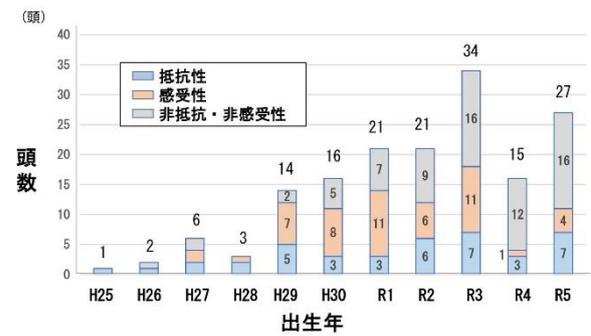


図7 出生年と遺伝子型

### 7 農場の陽性率

農場の抗体陽性率及び陽性牛頭数における高リスク牛割合は、令和元年度に比べ令和5年度で減少しており (表8)、対策の取りにくいフリーストール農場とはいえ、実施している BLV 感染予防対策の効果がでていないかと考える。

表8 農場陽性率及び陽性牛頭数における高リスク牛割合

	( )内:(陽性頭数/対象頭数)	
	R1年12月*	R5年10月
抗体陽性率 (1才以上)	82% (70/85)	62% (60/97)
陽性牛頭数における 高リスク牛割合	26% (18/70)	13% (8/60)

\* R1は遺伝子型検査未実施牛16頭を含む

## 8 まとめと考察

管内1酪農場で、6年間に渡り抵抗性・感受性遺伝子の保因とBLV感染状況の調査を実施した。

遺伝子型検査から農場内には複数のパターンの抵抗性型及び感受性型アレル保因牛がいることが判明した。ECの鍵によるPL判定及びウイルス量測定から高リスク牛の判定を行った結果、感受性牛に高リスク牛が多い傾向であった。しかしながら抵抗性牛の中にもウイルス量が高い高リスク牛が確認できたため、ウイルス検査は複数回実施し、個体のウイルス量の動向を把握して判断することも必要と考えられた。

今回の調査では高リスク母牛を含め感染母牛からの胎盤感染や分娩時の垂直感染がほとんど見られなかった。高リスク牛から子牛への垂直感染は高率で発生するとの報告[7]もあるが、当該農場でほぼ発生がなかった要因は不明である。他方初乳を介した感染も発生しておらず、現在実施している初乳対策は効果があると考えられた。

遺伝子型検査の活用の一つとして、抵抗性牛を感受性牛群と陰性牛群の間に配置し感染防御に利用することが言われている[1]が、フリーストール牛舎では複数の群分けに十分なスペースが確保できず実施困難な場合が多い。しかしながら群内の抵抗性、感受性を把握し、加えてウイルス量を定期的に継続調査することで感受性かつ高リスク牛を把握・早期淘汰し、

農場の抵抗性牛の割合を増やしBLV濃度を下げるというアプローチは有効であると思われた。

また吸血昆虫対策、消毒などの物理的伝播予防も継続的に実施していることで、農場陽性率及び陽性牛における高リスク牛割合は減少し、これらの対策についても改めて有効と考えられた。

今回つなぎ牛舎に比べ対策が取りにくいフリーストール牛舎で有効な結果が得られたことで、実施可能なBLV対策として牛群全体の清浄化へ近づけることができると期待される。

なお、本発表の調査・試験は、家畜防疫・衛生指導対策事業 地域疾病対策に係る牛伝染性リンパ腫対策事業を活用し実施した。

## (参考文献)

- [1] 間陽子：革新的技術で牛白血病ウイルスから牛を守る,家畜感染症学会誌,5,43-53(2016)
- [2] 米山州二ら：栃木県の牛伝染性リンパ腫ウイルス高度感染酪農場における清浄化事例,日獣会誌,75,114-121(2022)
- [3] 増田恒幸ら：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,日獣会誌,74,423-426(2021)
- [4] 福成和博ら：岩手県内飼養牛における牛伝染性リンパ腫抵抗性遺伝子の保因状況,岩獣会報,48,70-74(2022)
- [5] 福成和博ら：岩手県内飼養牛における牛伝染性リンパ腫抵抗性遺伝子の保因状況,岩獣会報,48,70-74(2022)
- [6] 加藤惇郎ら：感染子牛育成センターを利用した牛伝染性リンパ腫清浄化対策の事例,臨床獣医師,8,38-41(2022)
- [7] 楠田絵梨子ら：黒毛和種牛における牛伝染性リンパ腫ウイルスの垂直感染の発生状況とリスク要因,家畜診療,69巻9号,527-532(2022)