

総 説

プロウイルス量に基づいた牛白血病対策ノススメ

目堅博久^{1,2}

¹ 宮崎大学テニユアトラック推進機構

² 宮崎大学産業動物防疫リサーチセンター

連絡責任者：目堅 博久

連絡先住所：889-2192 宮崎県宮崎市学園木花台西 1-1

電話 / FAX 番号：0985-58-7881

Email: mekata@cc.miyazaki-u.ac.jp

【要 約】

牛白血病ウイルス (bovine leukemia virus: BLV) の感染を原因とする牛白血病は、近年、行政機関への報告数が最も多い牛の監視伝染病である。BLV 感染牛の約 5% が牛白血病を発症し、死亡もしくは全廃棄処分となる。BLV の感染および牛白血病の発症を防ぐワクチンはない。そのため、感染牛を減らす以外に牛白血病の被害を減らす方法はない。従来の牛白血病対策は、全ての感染牛の摘発淘汰もしくは摘発隔離であった。これらの対策法は効果的であるが、感染率が高いほど、淘汰による経済的負担や隔離による作業負担が重くなる。そのため、BLV 感染牛が多くいる高感染農場では、牛白血病対策の実施が困難となる。日本では、BLV 感染率が 35% に達した。多くの農場で従来の牛白血病対策ができないために、異なるアプローチによる牛白血病対策が求められている。非感染牛へ BLV を伝播する感染源リスクは、BLV 感染牛の体内ウイルス量であるプロウイルス量に比例する。筆者は、日本の飼養環境下において、500 copies/50 ng 以下のプロウイルス量の牛が、他の牛に BLV を水平および垂直伝播するリスクが低い「低リスク牛」であることを明らかにした。すなわち、感染源となるのは、500 copies/50 ng 以上の「高リスク牛」である。この基準を用いて、高リスク牛に対してのみ隔離や淘汰を行うことで、効率的な牛白血病対策が可能となる。

キーワード：BLV、牛白血病、高リスク牛、低リスク牛、プロウイルス量

はじめに

地方病性牛白血病（以下、牛白血病）は、レトロウイルス科デルタレトロウイルス属に分類される牛白血病ウイルス (bovine leukemia virus: BLV) の感染を原因とする。感染牛の約 5% が、感染から数年後に牛白血病を発症し、死亡もしくは全廃棄処分となる。牛白血病は、行政への報告が義務付けられている家畜の監視伝染病のうち、牛で最も報告件数が多い疾病で

ある（農林水産省「家畜伝染病発生状況」より）。また、2009-11 年に行われた全国規模の調査で、約 35% の牛が BLV に感染していることが明らかとなった[1]。BLV は生涯持続感染するうえ、感染を防ぐワクチンはない。また、牛白血病の発症を防ぐワクチンや治療薬もない。つまり、牛白血病による被害を減らすためには、牛白血病対策を実施して BLV 感染牛を減らす以外に方法はない。筆者は、BLV 感染牛の体内ウイルス量であるプロウイルス量を利用した牛白血病対策を提案、実践してきた。プロウイルス量に基づいた牛白血病対策は、全ての感染牛の淘

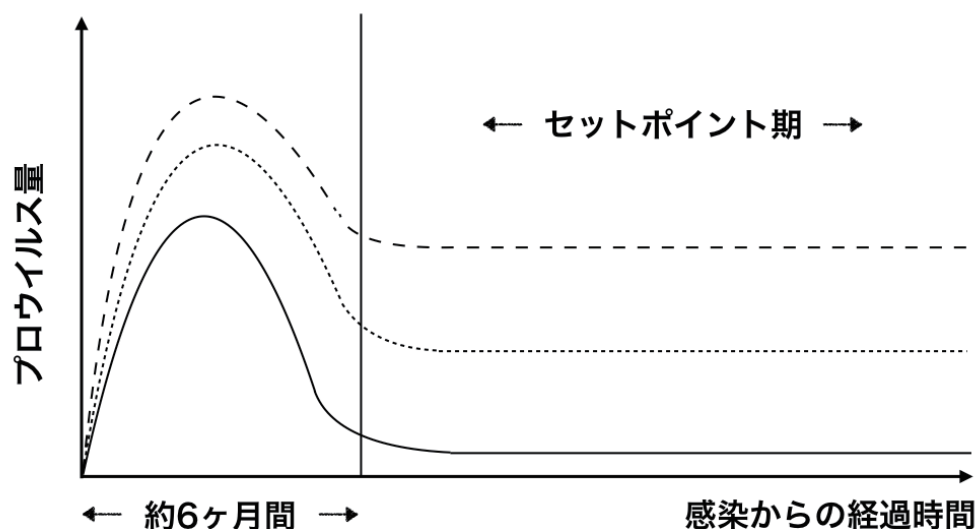
受理：2018年11月6日

汰もしくは隔離を必要とする従来の牛白血病対策と比べて、経済的負担および作業負担が少ない。本稿では、プロウイルス量に関する基礎的知見と農場での事例を交えて、プロウイルス量に基づいた牛白血病対策を紹介する。

1. プロウイルス量に基づいた牛白血病対策とは

従来の牛白血病対策は、全てのBLV感染牛の摘発淘汰もしくは農場内隔離であった。感染牛の摘発淘汰は、オーストラリアや西ヨーロッパなどのBLV清浄国で実施された方法である。抗BLV抗体陽性の牛もしくはBLV感染によってリンパ球数が増加している牛を摘発し、殺処分する。非常に効果的な方法であるが、BLV感染率が7%以下であったために実施できた[2, 3]。いっぽう、感染率が35%の日本では、あまりに経済的損失が大きく実施不可能である。そこで日本では、BLV感染牛の農場内隔離が行われてきた。農場内隔離では、対策中も感染牛による繁殖や搾乳、肥育が可能のため、理論上は経済的損失がない。しかし、感染牛と非感染牛を分けて飼養するために、農家の作業負担が倍増する。また、農場内隔離では、非感染牛と感染牛の間に十分な距離をとったり、物理的な障壁を用意したりしても、吸血昆虫によるBLV伝播を完全に防ぐことが難しい。そのう

え、18%の確率で子宮内もしくは分娩時感染によりBLVに垂直感染した子牛が生まれる[4]。BLVに垂直感染した雌子牛が生まれた場合、農場での牛白血病対策はさらに長期化する。そのため、十分な成果が得られないことや対策の長期化が原因で牛白血病対策を諦める農家や獣医師が多い。そこで、異なるアプローチによる新しい牛白血病対策が求められている。プロウイルス量に基づいた牛白血病対策は、非感染牛にBLVを伝播する可能性が高い「高リスク牛」のみを対策の対象としたものである。筆者は、宮崎県川南・都農町にて、117農場1,823頭の肉用繁殖牛のBLV検査を実施した。その結果、BLV感染牛を約3年間に渡って非感染牛と混飼したにも関わらず、全く新規感染がない農場が6個あった。これらの農場の共通点として、BLV感染牛のプロウイルス量が著しく少なかった[5]。この結果から、「プロウイルス量が一定量以下のBLV感染牛は、日本（南九州）の飼養環境下では、BLVを他の牛に伝播しない低リスク牛である」という仮説がたてられた。そこで、非感染牛にBLVを伝播する「感染源リスク」とプロウイルス量との関係を明確にすることが重要と考え、実証研究を重ねてきた。



(Gillet et al, PLoS Pathog, 2013および筆者が実施した定量結果より作成)

図1 BLV感染牛におけるプロウイルス量の動態
BLVに感染直後、プロウイルス量は大きく上昇する。その後、減少し、感染から6ヶ月ほど経過すると、プロウイルス量は安定した値をとる。

2. プロウイルス量の基礎と感染源リスクとの関係

BLV に感染した牛は、図1のような体内ウイルス動態をとる [6]。感染から約6ヶ月間はプロウイルス量が増加するが、それ以降はプロウイルス量が安定するセットポイント期となる。筆者らは、外部機関の依頼に応じてBLVの定量検査を実施している。2016-18年のプロウイルス量の定量結果を度数分布にまとめたのが図2である。5,000copies (/50ng) を超える牛から、500copies に満たない牛まで幅広く存在することがわかる。

BLV の垂直感染は子宮内感染である分娩前感染 [7]、産道での感染や悪露を介した分娩時感染、そして初乳や常乳を介した分娩後感染に分けられる。分娩後感染は、初乳の凍結加温処理や代用乳の利用で防ぐことができる [8, 9]。いっぽうで、分娩前や分娩時感染を防ぐことは難しい。そこで、分娩前および分娩時感染の確率とそれに関わるリスク因子の探索を行った。その結果、BLV 感染牛から生まれた子牛のうち、18.6% で分娩前もしくは分娩時のBLV 感染が確認された [4]。プロウイルス量が2,000copies を超える母牛から生まれた子牛では、48.2% が分娩前および分娩時にBLV に感

染したのに対し、2,000copies 以下の子牛では9.4%であった。また、論文発表後の追跡調査で、500-2,000copies の母牛から生まれた子牛では、500copies 以下より感染率が高いことがわかった。すなわち、BLV の垂直感染を防ぐためには、500copies 以上、特に2000copies 以上の感染牛による繁殖を控えること、いっぽうで500copies 以下であれば、BLV 感染牛であっても新生子牛がBLV に垂直感染する危険性が10分の1以下であることがわかった。

複数の牛白血病対策実施農場で行った事前調査の結果から、2,000copies を超える牛は水平感染の主要な感染源となること、100copies 以下の牛は感染源とならないことを確認した。そこで、水平感染における感染源リスクを明確にするため、以下の実証試験を行った。100copies 以下と100-500copies のプロウイルス量を持つ計4頭のBLV 感染牛を用意し、非感染牛57-92頭と12もしくは22ヶ月間、感染牛と非感染牛の自由接触が可能な同居試験を計7回行った。その結果、100copies 以下の感染牛を使った2回の試験では、全くBLV を他の牛に伝播しなかった [10]。100-500copies の感染牛では、5回の試験中3回では全くBLV を伝播しなかった。いっぽうで、2回の試験で計3

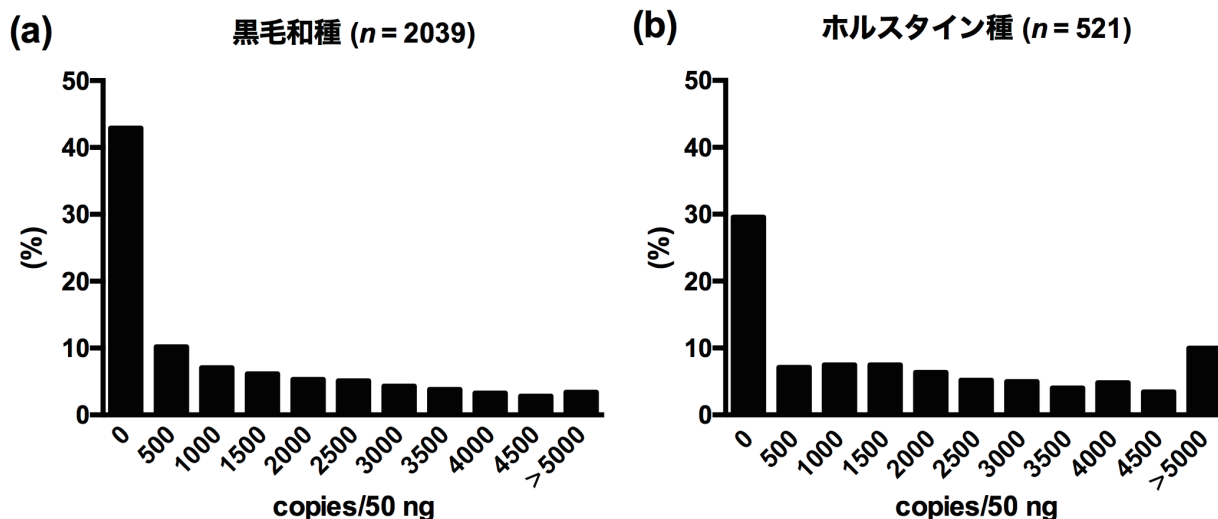


図2 黒毛和種およびホルスタイン種のBLVプロウイルス量の度数分布
2016年4月から2018年10月に当研究室で実施したBLV感染牛、計2,560頭のプロウイルス量の定量検査結果を度数分布にまとめた。移行抗体による影響を避けるため、ELISA陽性かつ9ヶ月齢以上を対象とした。黒毛和種 (a) では、25パーセンタイル値、中央値、75パーセンタイル値がそれぞれ15.0、572.0、2535.0copies/50 ngであり、ホルスタイン種 (b) では、88.8、1679.0、4088.0copies/50 ngであった。

表1 プロウイルス量による感染源リスクの分類

プロウイルス量 (/50ng of genomic DNA)	感染源リスク (伝播リスク)		リスク分類
	水平感染 [10]	垂直感染 [4]	
>2,000	高	高	超高リスク
500-2,000	中	中	高リスク
100-500	低	低	低リスク
<100	なし	低	超低リスク

頭に新規の BLV 感染が認められた。計 5 回の試験中、最も感染頻度が多かった試験の陽転率を計算すると、1.75 頭 /100 頭・年（1 年間で 100 頭の子牛のうち、1.75 頭が BLV に新規感染する）であったことから、水平感染の危険性があるものの、その感染リスクは非常に低いことがわかった。

以上の垂直、水平感染の感染源リスクをまとめたのが表 1 である。BLV 感染牛のプロウイルス量に基づいて 2,000copies 以上を超高リスク、500-2,000copies を高リスク、100-500copies を低リスク、100copies 以下を超低リスクと分類した。

3. プロウイルス量に基づいた牛白血病対策の実例

A 農場は繁殖母牛（黒毛和種）約 50 頭を飼養する宮崎県内では典型的な和牛繁殖農家である。同農場では、ELISA 法による抗体検査の結果、2014 年 11 月時点で繁殖母牛 9 頭（18.3%）が BLV に感染していた。農場は図 3 に示すような構造であり、牛は区画内を自由に移動できる。感染牛の農場内隔離が難しい構造のため、プロウイルス量に基づいた牛白血病対策を実施

することにした。BLV 感染牛のプロウイルス量を定量した結果、3 頭が高リスク牛であり、6 頭が低リスク牛であった。そこで、高リスク牛 3 頭を農場外の施設で飼養（肥育）し、低リスク牛 6 頭は、これまでと同様に非感染牛と混飼することにした。つまり、同農場では、高リスク牛 3 頭の移動以外に、対策に伴う作業負担は一切発生していない。プロウイルス量に基づいた対策以降、同農場では BLV の新規感染が全くなく、3 年後の 2017 年 12 月に牛白血病清浄化農場となった。従来の牛白血病対策を適用した場合、感染牛 9 頭を全て隔離する必要があった。しかし、プロウイルス量を測定することで、高リスク牛 3 頭のみを隔離とすることができた。また、6 頭の低リスク牛から BLV に感染していない新生子牛の生産ができた。和牛繁殖農家にとって、約 20% もの母牛の繁殖を控えるのは、経営面から非常に難しい。いっぽうで、全ての感染牛による繁殖を続けた場合、母乳対策を実施したとしても 18.6% の確率で BLV 感染子牛が生まれてしまう [4]。そのため、数年間におよぶ牛白血病対策中に新たな BLV 感染雌子牛が生まれる可能性は非常に高い。そ



図3 A農場の概要図

プロウイルス量に基づいた牛白血病対策を実施したA農場。繁殖母牛（黒毛和種）を約50頭飼養しており、肥育は行っていない。分娩舎は1つずつ仕切られているが、育成牛と繁殖母牛がいる牛房内に仕切りはなく、感染牛と非感染牛が自由に接触できる。

の結果、牛白血病対策はさらに長期化する。プロウイルス量に基づいた牛白血病対策は垂直感染を防ぐことで、対策期間をより短くすることができる。

さいごに

プロウイルス量に基づいた牛白血病対策は、従来の牛白血病対策と比べて非常に効率的かつ効果的である。いっぽうで、肉用繁殖牛以外を対象とした場合に、いくつかの課題も明らかになってきた。今後、これらの課題を解決することで、プロウイルス量に基づいた牛白血病対策をさらに改善し、全国で適用可能な方法へと発展させる必要がある。飼養形態や更新までの期間、放牧の有無など、牛の飼養環境は地域や農場の規模によって大きく異なる。そのため、画一的な牛白血病対策では、効率的・効果的といえず、地域の事情や感染率、予算をふまえたオーダーメイドの牛白血病対策が必要である。宮崎大学産業動物防疫リサーチセンター (Center for Animal Disease Control: CADIC) では、牛白血病対策に積極的に取り組んでいる。本学と共同研究契約を結び、地域全体やメガファームを対象に診断、定量だけでなく、コンサルタントまでを一括して引き受けている。詳細を知りたい方は筆者まで問い合わせていただきたい。

引用文献

- [1] Murakami, K., Kobayashi, S., Konishi, M., Kameyama, K. and 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).
- [2] Acaite, J., Tamosiunas, V., Lukauskas, K., Milius, J. and Pieskus, J. The eradication experience of enzootic bovine leukosis from Lithuania. *Prev. Vet. Med.* 82, 83–89 (2007).
- [3] Nuotio, L., Rusanen, H., Sihvonen, L. and Neuvonen, E. Eradication of enzootic bovine leukosis from Finland. *Prev. Vet. Med.* 59, 43–49 (2003).
- [4] Mekata, H. *et al.* Evaluation of the natural perinatal transmission of bovine leukaemia virus. *Vet. Rec.* 176, 254 (2015).
- [5] Mekata, H. *et al.* Horizontal transmission and phylogenetic analysis of bovine leukemia virus in two districts of Miyazaki, Japan. *J. Vet. Med. Sci.* 77, 1115–1120 (2015).
- [6] Gillet, N. A. *et al.* Massive depletion of bovine leukemia virus proviral clones located in genomic transcriptionally active sites during primary infection. *PLoS Pathog.* 9, e1003687 (2013).
- [7] Sajiki, Y. *et al.* Intrauterine infection with bovine leukemia virus in pregnant dam with high viral load. *J. Vet. Med. Sci.* 79, 2036–2039 (2017).
- [8] Kanno, T. *et al.* Effect of freezing treatment on colostrum to prevent the transmission of bovine leukemia virus. *J. Vet. Med. Sci.* 76, 255–257 (2014).
- [9] Baumgartener, L., Olson, C. and Onuma, M. Effect of pasteurization and heat treatment on bovine leukemia virus. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 169, 1189–1191 (1976).
- [10] Mekata, H. *et al.* Cattle with a low bovine leukemia virus proviral load are rarely an infectious source. *Jpn. J. Vet. Res.* 66, 157–163 (2018).

Encouragement of bovine leukemia control measure based on bovine leukemia virus proviral load

Hirohisa Mekata^{1,2)}

¹⁾ Organization for Promotion of Tenure Track, University of Miyazaki, 1-1 Gakuen-Kibanadai-Nishi, Miyazaki 8892192, Japan

²⁾ Center for Animal Disease Control, University of Miyazaki, 1-1 Gakuen-Kibanadai-Nishi, Miyazaki 8892192, Japan

TEL&FAX: +81-985-58-7881

E-mail: mekata@cc.miyazaki-u.ac.jp

[Abstract]

Bovine leukemia virus (BLV) is an etiological agent of fatal B-cell leukemia and malignant lymphoma in cattle. Cattle with higher BLV proviral loads represent a higher risk of both horizontal and vertical transmission. Therefore, quantifying the proviral load of BLV is important in identifying major infectious sources and protecting BLV-free cattle from exposure to infected cattle. We reported that BLV-infected cattle with “very low proviral loads” do not transmit the virus under conventional conditions, while cattle with “low proviral loads” can transmit the virus, although at low rates. We believe that the results of our study will promote the construction of effective measures to prevent BLV infection and control the spread of BLV.

Keywords: BLV, EBL, proviral loads, high risk, low risk