

# 14 繁殖和牛農家における牛白血病清浄化への新しい取り組み

倉吉家畜保健衛生所 ○水野恵 郡司美緒 小林朋子 増田恒幸  
中村耕太郎 山里比呂志

## 1 はじめに

牛白血病ウイルス（BLV）によって引き起こされる地方病性牛白血病（EBL）は家畜伝染病予防法における届出伝染病に指定され、全国的にその摘発頭数は年々増加している。県内でも乳用、肉用種とも発生は増加傾向である。EBLの発症率は低いが、ひとたび発症すれば死の転帰をたどり、と畜場出荷牛が摘発されれば全廃棄となるため、畜産への被害は甚大であり、特に肥育農場では近年危機感をつのらせている。平成27年4月に国からEBLに関する衛生対策ガイドラインを公表された。しかし、それらの清浄化対策の中には現実的に実施が困難なものもあり、未だ本病の予防法は確立されていない(図1)。

そのような中、現在注目されている、(独)理化学研究所(以下、理研)を中心に進められている新たな清浄化対策に注目した。これは遺伝子レベルで牛白血病の発症抵抗性の牛を選抜し、発症しにくい牛群を造成するという育種戦略である。

今回、EBLの発症があった管内の1和牛繁殖農家において、衛生対策ガイドラインに基づく清浄化対策に取り組みつつ、上述の育種戦略を併せて行うという試みを始めたので、その概要を報告する。

**図1 白血球蔓延防止に関わる衛生対策**

**H27年度 国ガイドライン**

- 蔓延防止に関わる対策
  1. 注射針の確実な交換
  2. 直検手袋の確実な交換
  3. 除角、去勢etc 出血を伴う処置への対応
- 浸潤農場における対策
  1. 分娩・哺乳時等の作業による感染ルートの遮断  
→ 河本ら(H22), 小谷ら(H23)
  2. 吸血昆虫対策  
→ 県内でもサシバエネットが普及
  3. 牛の配置、作業順序など
- 農場への侵入防止対策
  1. BLV陽性牛の外部導入

取り組み中 (黄緑色枠)  
限界がある (赤色枠)

## 2 材料および方法

### (1) 育種戦略

この育種戦略の核を担っているのが、主要組織適合遺伝子(MHC)といわれるものである。MHCは脊椎動物が持つ、免疫反応に関する遺伝子情報を含む大きな遺伝子領域で、中でも牛のMHCはBoLAと呼ばれ、第23染色体のMHCクラスIIという領域に存在している。

この中のDRB3対立遺伝子が牛白血病の発症に関与することが分かっている。

このDRB3遺伝子座には119種類の、アリルと呼ばれる対立遺伝子が存在し、その中の1601遺伝子が発症感受性の対立遺伝子であり、また0101遺伝子、2703遺伝子など7つの対立遺伝子が発症抵抗性として知られ

**図2 【BLV発症と相関する対立遺伝子型】**

DRB3 対立遺伝子	未発症健康牛 N=53	%	白血球発症牛 N=69	%	
0201	1001	1	1.89	2	2.90
0201	1601	1	1.89	2	2.90
0502	1601	1	1.89	6	8.70
0902	1001	2	3.77	1	1.45
1001	1001	2	3.77	1	1.45
1001	1501	1	1.89	1	1.45
1001	1601	4	7.55	6	8.70
1101	1201	1	1.89	1	1.45
1201	1501	2	3.77	1	1.45
1201	1601	2	3.77	1	1.45
1501	1601	2	3.77	6	8.70
1601	1601	1	1.89	17	24.64
1601	2001Z	1	1.89	3	4.35

発症感受性対立遺伝子1601を持つ牛は発症頻度が高い  
ホモで持つ牛は特に高い

感受性対立遺伝子1601保有牛53頭中  
発症牛41頭! (77.4%) > 未発症牛12頭 (22.6%)

図1, 臨床獣医 2011.Jul. Vol. 7: 23-29

ている。

理研の行った研究によると、発症感受性対立遺伝子1601を持つ牛は、発症頻度が高い傾向があり、1601保有牛53頭のうち、牛白血病の発症牛であった割合は77.4%であった。そして、中でも1601をホモで有する個体の発症頻度は特に高いといわれる。(図2)

従来のECの鍵やBLV遺伝子量などの更新牛の選定基準に、この1601遺伝子の保有という新たな基準を加えることにより、さらに選定範囲を絞ることができると考えられる。

そこで県内モデル農場について、牛のMHCのタイピングを行い、1601遺伝子保有牛を選定することを試みた。また併せて理研が開発したCoCoMo-qPCR（以下C-qPCR）の検証を試みた。

## (2) 方法

平成26年度より育種戦略のモデル農場を選定し、牛白血病対策とその検証をスタートした。モデル農場は、繁殖和牛40頭規模の肉用牛一貫経営農場である。この農場は、過去に2回、牛白血病が発生しており、それらの牛は親子関係だった。

まず、BLVの浸潤状況を把握するため、平成26年6月に繁殖和牛の血液30検体を用いて、抗体検査とBLV抗原検査を行った。抗体検査は市販のELISA、抗原検査は市販リアルタイムPCRキット（以下、市販qPCR）を用いて実施した。

次のステップとして5ヵ月後の11月に、状況確認検査と対立遺伝子のタイピングを実施した。材料は前回採材した15頭を含む繁殖和牛の血液とした。BLV抗体検査は同様に実施し、抗原検査はC-qPCRを実施した。対立遺伝子のタイピングは理化学研究所で実施した。

## 3 結果及び考察

抗体検査では6月は4頭が陽性、11月は5頭が陽性だった。11月に新たに陽性だった1頭は、6月の検査は未実施だった。抗体検査結果を比較すると、それほど大きなウイルスの動きが無く、このモデル農場の浸潤状況はそれほど高くないものと考えられた。(表1)

しかし、リアルタイムPCRの結果では、6月に実施した市販qPCRでは、全て陰性であったのに対し、11月に実施したC-qPCRで

**表1 【検査結果】**

No.	H26.6.23		H26.11.26		
	qPCR	ELISA	CqPCR	ELISA	ELISA-DPB3アレル
1	-	0.05	-	0.02	1101 1201
2	-	0.01	-	0.02	1601 20012
3	-	2.18	7173.67	2.59	0503 1601
4	-	0.04	7.92	0.01	1301 1601
5	-	0.01	0.05	0.01	1301 1601
6	-	0.05	2.07	0.03	1201 1601
7	-	0.02	6.81	0.01	0503 1601
8	-	0.03	-	0.01	1001 1601
9	NT	NT	140.10	2.58	0503 0701
10	-	2.22	86617.7	2.53	0502 0503
11	-	0.02	-	0.01	0503 1601
12	-	0.04	-	0.02	1201 1501
13	-	2.22	52.64	2.50	1201 1201
14	-	2.25	13101.5	2.53	0701 1601
15	NT	NT	-	0.01	0503 1101

H26.6→11月で特に抗体の変動無し

は9頭で陽性となった。抗体の変動があまりなかったことを考慮するとC-qPCRはより高感度にBLV遺伝子を検出すると思われた。(表2)

また、C-qPCR陽性牛のうち、4頭の牛がELISA陰性でした。これはC-qPCRはBLV抗体が陽転する前からBLV遺伝子を検出できるということこれまでの報告と一致している。(表3)

感受性対立遺伝子1601については、ホモで保有する牛はいなかったが、9頭の牛がヘテロで保有していた。保有牛9頭中、6頭がC-qPCR陽性であった。(表4)

**表2 【検査結果】**

No.	H26623		H261126		
	qPCR	ELISA	CqPCR	ELISA	BsLA-DFB3アレル
1	-	0.05	-	0.02	1101 1201
2	-	0.01	-	0.02	1601 20012
3	-	2.18	7173.67	2.59	0503 1601
4	-	0.04	7.92	0.01	1501 1601
5	-	0.01	0.05	0.01	1501 1601
6	-	0.05	2.07	0.03	1201 1601
7	-	0.02	6.81	0.01	0503 1601
8	-	0.03	-	0.01	1001 1601
9	NT	NT	140.10	2.58	0503 0701
10	-	2.22	86617.7	2.53	0502 0503
11	-	0.02	-	0.01	0503 1601
12	-	0.04	-	0.02	1201 1501
13	-	2.22	52.64	2.50	1201 1201
14	-	2.25	13101.5	2.53	0701 1601
15	NT	NT	-	0.01	0503 1101

CqPCR (理研)の方が市販qPCRより高感度

**表3 【検査結果】**

No.	H26623		H261126		
	qPCR	ELISA	CqPCR	ELISA	BsLA-DFB3アレル
1	-	0.05	-	0.02	1101 1201
2	-	0.01	-	0.02	1601 20012
3	-	2.18	7173.67	2.59	0503 1601
4	-	0.04	7.92	0.01	1501 1601
5	-	0.01	0.05	0.01	1501 1601
6	-	0.05	2.07	0.03	1201 1601
7	-	0.02	6.81	0.01	0503 1601
8	-	0.03	-	0.01	1001 1601
9	NT	NT	140.10	2.58	0503 0701
10	-	2.22	86617.7	2.53	0502 0503
11	-	0.02	-	0.01	0503 1601
12	-	0.04	-	0.02	1201 1501
13	-	2.22	52.64	2.50	1201 1201
14	-	2.25	13101.5	2.53	0701 1601
15	NT	NT	-	0.01	0503 1101

・抗体陰性牛からもBLV遺伝子検出  
抗体陽転前からBLV検出可能? (大野ら,2014)

**表4 【検査結果】**

No.	H26623		H261126		
	qPCR	ELISA	CqPCR	ELISA	BsLA-DFB3アレル
1	-	0.05	-	0.02	1101 1201
2	-	0.01	-	0.02	1601 20012
3	-	2.18	7173.67	2.59	0503 1601
4	-	0.04	7.92	0.01	1501 1601
5	-	0.01	0.05	0.01	1501 1601
6	-	0.05	2.07	0.03	1201 1601
7	-	0.02	6.81	0.01	0503 1601
8	-	0.03	-	0.01	1001 1601
9	NT	NT	140.10	2.58	0503 0701
10	-	2.22	86617.7	2.53	0502 0503
11	-	0.02	-	0.01	0503 1601
12	-	0.04	-	0.02	1201 1501
13	-	2.22	52.64	2.50	1201 1201
14	-	2.25	13101.5	2.53	0701 1601
15	NT	NT	-	0.01	0503 1101

・感受性対立遺伝子をホモで保有する牛はいないが、9頭保有  
・保有牛9頭中、6頭がCqPCR陽性!

#### 4 まとめ

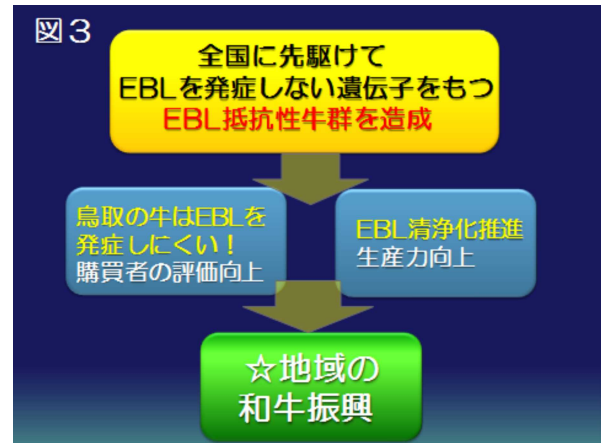
以上の結果をまとめると、11月のC-qPCR陽性9頭のうち4頭がBLV抗体陰性であったことから、C-qPCRはELISAよりも感度が高いことが示唆された。また6月の市販qPCRが全て陰性だったにもかかわらず、11月のC-qPCRで9頭が陽性だったことから、C-qPCRは市販PCRよりも感度が高いことが示唆された。また、感受性対立遺伝子1601をホモで保有する個体なく、ヘテロで保有する個体は9頭であった。抵抗性対立遺伝子は4頭が保有していた。

今後は、残りの繁殖和牛について、対立遺伝子のタイピングを実施し、BLV遺伝子量や抗体価を定期的に検査することで、感受性対立遺伝子を保有し、BLV遺伝子量の多い牛から早期に更新していく予定である。これにより、発症を早期に予知し、経済被害を低減させる事が出来ると考える。そして将来的には発症しにくい牛群の造成に繋げたい。

実施にあたっては、採血とウイルス量や抗体価の測定など、感染状況調査を家保で実施し、対立遺伝子検査によるEBL抵抗牛の選抜は理化学研究所が行うという連携によって、

繁殖和牛農場において、EBLを発症しにくい牛群の造成を試験的に進めていきたい。

このように、全国に先駆けてEBLを発症しない遺伝子をもつ抵抗性牛群の造成を進めることにより、鳥取県の牛はEBLを発症しにくい、という購買者への評価向上、またEBL清浄化が進むことによる生産性の向上によって、地域の和牛振興につながることを目標としている。まだ試み始めたばかりの段階であるが、今後も積極的に取り組んでいく予定である。(図3)



## 6 謝辞

最後に、対立遺伝子検査の実施のご協力、並びにご指導、ご助言をいただいております(独)理化学研究所の間先生に深謝いたします。