

## 4 か月齢の乳用子牛における地方病性牛白血病の発生事例

○松澤直樹、中沢宏明、青木一郎、市川憲一  
(長野県飯田家畜保健衛生所)

### 要約

4 か月齢の乳用雌子牛（ホルスタイン種）において、全身の体表リンパ節の腫脹、白血球数 24 万個/ $\mu$ l、リンパ球割合 94%、異型リンパ球の出現を確認したため、2018 年 5 月に病性鑑定を実施。各リンパ節と脾臓が腫大。B 細胞の腫瘍性増殖を確認するとともに血液、脾臓、リンパ節及び心臓から牛白血病ウイルス（BLV）特異的遺伝子を検出。これらのことから地方病性牛白血病と診断。本症例は、近年の県内での最若齢発生であった。若齢発生の要因分析のため、当該農場牛の血清抗体検査及び持続性リンパ球増多症（PL）判定、BLV 遺伝子型別検査を実施。抗体陽性率は全体で 70%（60 頭/86 頭）、6 か月齢以上の育成牛で 25%（3 頭/12 頭）。抗体陽性牛の内 PL 牛の割合は 49%（27 頭/55 頭）。BLV 遺伝子型別では本牛、母牛及び抗体陽性牛は I 型が 100%（8 頭/8 頭）。当該農場では本症例も含め 8 年間で 4 頭 EBL 発生。BLV 抗体陽性率、PL 牛の割合から、早期のウイルス暴露等が若齢発生の一要因と考えられた。

### 1 はじめに

地方病性牛白血病（以下「EBL」という）は、牛白血病ウイルス（以下「BLV」という）を原因とし、主に 3 歳齢以上の牛で好発するとされている<sup>[1],[2]</sup>。しかしながら、近年、生後数か月の若齢牛での発生事例が報告されている<sup>[3],[4]</sup>。

今回、管内酪農場においても、4 か月齢の乳用子牛を EBL と診断し、若齢発生の要因分析を実施したので報告する。

### 2 発生農場の概要

発生農場は約 80 頭を飼養する酪農場であり、うち約 50 頭が経産牛、約 30 頭が未経産牛である。飼養形態はフリーストールであり、牛舎は搾乳牛舎と育成・乾乳牛舎の 2 棟である。後継牛は、自家育成で確保している。

当該農場では、2010 年以降で、EBL が 3 例発生していた（2010 年 4 歳齢、2011 年 7 歳齢、2014 年 9 歳齢）。また、2017 年 12 月時点で、全飼養牛における BLV 抗体陽性率が 78.8%であった。このため、BLV まん延防止対策として、初乳の加熱及び凍結融解処理、サシバエ

ネットの設置、殺虫剤及び昆虫成長制御剤の散布等を実施していた。

### 3 当該牛の概要及び経過

当該牛は 2018 年 1 月 29 日生まれの乳用牛（ホルスタイン種）の雌であった。

同年 5 月 19 日に、飼養者が頸部等の体表リンパ節が腫脹しているのを発見し、担当獣医師が診療した。21 日に当所へ血液生化学検査の依頼があり、牛白血病を疑う結果が得られたため、24 日に病性鑑定を行った。病性鑑定時点で約 4 か月齢であった。

### 4 病性鑑定項目及び方法

#### (1) 血液生化学検査

##### ア 血球数測定

全自動血球計数器（日本光電 MEK-6450）により実施した。

##### イ 血球形態観察

血液をスライドガラスへ塗抹後、ギムザ染色を実施し、光学顕微鏡下で観察した。

##### ウ 血清生化学検査

生化学自動分析装置（富士ドライケム 4000V）を用いて TP、Alb、GOT、

GGT、CPK、BUN、T-Cho、Ca、iP の値を測定した。

(2) 解剖学検査

常法により実施した。

(3) 病理組織学検査

解剖時に採材した材料を 10%中性ホルマリン液で固定し、常法によりパラフィン包埋切片を作成した。

ア 組織学検査

ヘマトキシリンエオジン (HE) 染色を実施し、光学顕微鏡下で観察した。

イ 免疫組織化学検査

B 細胞のマーカーである抗 79 $\alpha$  抗体を用いた免疫染色を実施し、光学顕微鏡下で観察した。

(4) 遺伝子検査

牛白血病ウイルス検出キット (TaKaRa) によるリアルタイム PCR を実施した。

(5) 細菌学検査

解剖時に無菌的に採材した主要臓器及び鼠径リンパ節の生材料を用いて、常法により細菌分離培養を実施した。

5 病性鑑定成績

(1) 血液生化学検査

ア 血球数測定

白血球数は 241,000 個/ $\mu$ l と高値を示した。赤血球は  $808 \times 10^4 / \mu$ l、ヘマトクリット値は 26.3%、ヘモグロビンは 8.6g/dl と低値を示した。

イ 血球形態観察

白血球百分比はリンパ球が 94% と高値を示した。また、大型で、不規則な核の形態を示した異型リンパ球を多数確認した (図 1)。

ウ 血清生化学検査

血清生化学検査結果は表 1 のとおりである。T-Cho が低値、GOT、CPK、iP が高値を示した。

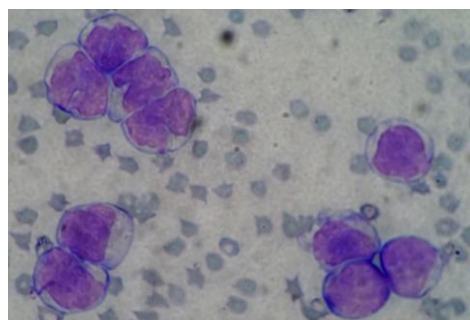


図 1 血液塗抹像 (ギムザ染色、1,000 倍)

表 1 血清生化学検査結果

検査項目	値	単位
TP	7.2	g/dl
Alb	3.6	g/dl
A/G比	1.0	
GOT	190	U/l
GGT	53	U/l
CPK	169	U/l
BUN	19.8	mg/dl
T-Cho	72	mg/dl
Ca	10.3	mg/dl
i P	14.9	mg/dl

(2) 解剖学検査

外貌では、耳下腺、浅頸、腸骨下、浅鼠径、膝窩リンパ節の腫脹を認めた (図 2)。

剖検所見では、肺門、腸間膜リンパ節の腫大を認めた。脾臓は長さ 90cm 大に腫大していた。また、断面は膨隆していた (図 3)。



図 2 体表リンパ節の腫脹

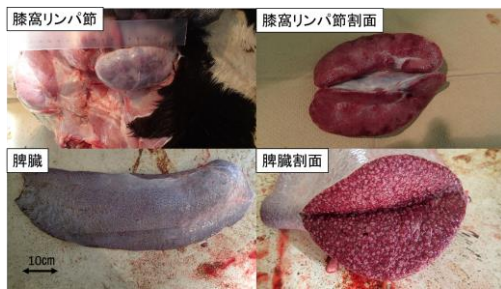


図 3 腫大した膝窩リンパ節及び脾臓とその剖面

### (3) 病理組織学検査

#### ア 組織学検査

肺、肝臓、腎臓、脾臓及び頸部、下顎、耳下腺、腸骨下、気管気管支及び鼠径等のリンパ節に、リンパ球様腫瘍細胞が高度に浸潤し、リンパ濾胞およびリンパ洞が消失していた。また、実質内に出血が認められた(図4)。

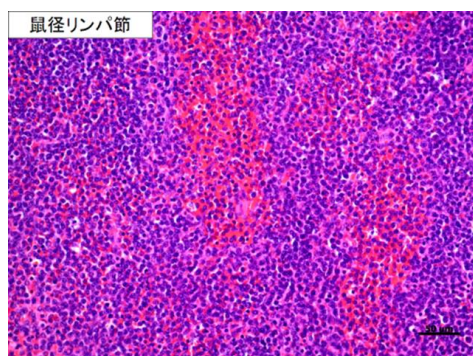


図 4 鼠径リンパ節の組織像 (HE 染色、200 倍)

#### イ 免疫組織化学検査

腫瘍細胞は、CD79 $\alpha$  陽性を示した(図5)。

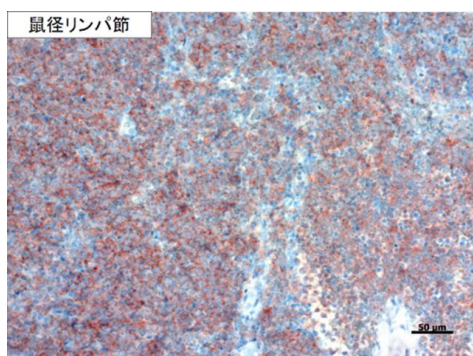


図 5 鼠径リンパ節の組織像 (CD79 $\alpha$  免疫染色、200 倍)

#### (4) 遺伝子検査

検査した全ての材料(血液、耳下腺リンパ節、脾臓及び心臓)から BLV に特異的な遺伝子が検出された。遺伝子量は血液 15,660、耳下腺リンパ節 637、心臓 59.3、脾臓 469.2 であった(単位:copies/100ngDNA)。

#### (5) 細菌検査

有意な菌は分離されなかった。

#### (6) 診断

病性鑑定成績を総合的に判断し、EBL と診断した。

### 6 発生要因分析調査項目及び方法

当該農場における若齢での EBL 発生の要因を分析するため、以下の追加調査を実施した。

#### (1) 血清抗体検査

2017 年 12 月の検査で抗体陽性が確認されている牛以外の 6 か月齢以上の牛を対象として、ELISA 法を用いて、2018 年 7 月及び 12 月に実施した。

#### (2) 持続性リンパ球増多症(以下「PL」という)判定

抗体陽性牛 55 頭を対象に、血液検査でリンパ球数を測定して、EC の鍵を用いて判定した。

#### (3) BLV 遺伝子検査

当該牛、母牛及び母牛と 1 年前後に生まれた牛から無作為抽出した 6 頭の計 8 頭を対象とし、血液を用いて検査した。

##### ア 遺伝子型別検査

PCR-RFLP 法により実施した。

##### イ 遺伝子定量

リアルタイム PCR 法により測定した。

#### (4) 牛の配置及び動線調査

当該農場における牛の配置及び動線について、飼養者に聞き取り調査を実施した。

### 7 発生要因分析調査成績

#### (1) 血清抗体検査

抗体陽性率及び陽転率は表2のとおりである。

農場の全飼養牛における抗体陽性率は、2017年12月から2018年12月にかけて78.8%から74.4%と減少傾向がみられた。しかし、1歳未満においても、抗体陽性牛が認められた。

抗体陽転率は、冬季では2017年12月から2018年7月で18.8%、夏季では2017年5月から12月で36.0%、2018年5月から12月で31.3%の値であり、冬季に比べ夏季で高い値を示す傾向がみられた。

表2 血清抗体検査結果

	2017.5	2017.12	2018.7	2018.12
<b>陽性率※</b>				
全体	79.8 (67/84)	78.8 (63/80)	69.7 (60/86)	74.4 (64/86)
1歳未満	0 (0/5)	33.3 (2/6)	25.0 (3/12)	22.2 (2/9)
<b>陽転率※</b>	36.0 (9/25)	18.8 (6/32)	31.3 (10/32)	

※単位：％(陽性頭数/対象頭数)

## (2) PL 判定

抗体陽性牛 55 頭中、PL 陽性は 49.0% (27 頭)、擬陽性は 16.0% (9 頭)、陰性は 35.0% (19 頭) であった。

## (3) BLV 遺伝子検査

遺伝子検査結果及び該当牛の PL 判定結果は表3のとおりである。

遺伝子型別検査は、全ての牛で I 型であった。

遺伝子量は、PL 陽性牛は 4,000 copies /100ngDNA を上回る値を示す傾向がみられた。

表3 BLV 遺伝子検査結果

検体	月齢	遺伝子型	遺伝子量※	PL判定
当該牛	4	I型	15,660.0	陽性
母牛	53	I型	5,980.0	陽性
抗体陽性牛1	31	I型	14,110.0	陽性
抗体陽性牛2	46	I型	13,970.0	陽性
抗体陽性牛3	40	I型	2,996.0	擬陽性
抗体陽性牛4	54	I型	195.0	擬陽性
抗体陽性牛5	53	I型	9.4	陰性
抗体陽性牛6	58	I型	6.0	陰性

※単位：copies/100ngDNA

## (4) 牛の配置及び動線調査

当該農場における牛の配置及び動線について、図6に示した。

当該牛は図6中の②で示した区画で飼養されており、乾乳牛が飼養されている区画⑤と柵で隔てられているものの、柵越しに直接接触が可能であった。

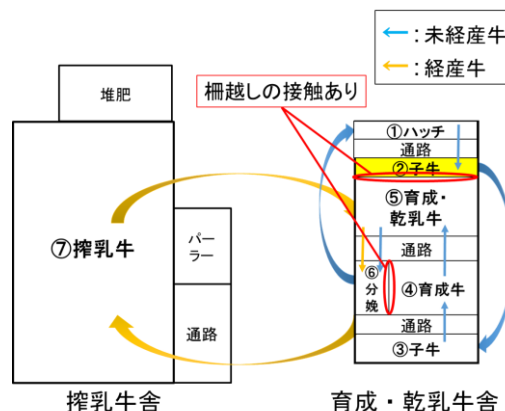


図6 牛の配置図及び動線

## 8 考察

発生要因分析調査の結果、当該農場の BLV 抗体陽性率は、69.7%以上であり、農林水産省の全国調査における6か月齢以上の乳用牛の抗体陽性率 40.9%<sup>[5]</sup>と比べ、高い値を示した。PL 陽性率は 49.0%であり、BLV に感染した牛のうち PL 陽性となる割合とされる 30%に対し<sup>[3]</sup>、高い値を示した。また、BLV の遺伝子型は、当該牛とその母牛を含めた抽出検査で全て同一型であり、農場全体が同一のウイルスの高度浸潤状態であったことが示唆された。さらに、当該農場の牛の配置は、乾乳牛と子牛が接触可能であり、BLV 感染牛から子牛への水平感染が早期に成立する可能性が考えられた。一方で、当該牛の母牛を含め、PL 陽性牛の血液中 BLV 遺伝子量は、垂直感染のリスクが高まるとされる 4,000 copies/100ng DNA<sup>[6]</sup>を上回る傾向がみられ、当該農場は、胎児期又は新生子期において垂直感染が成立するリスクが高い状態である可能性が考えられた。これらのことから、早期からウイルスに暴露する機会が非常に多く存在する環境が、若齢発生要因となった可能性が示唆された。

EBL 若齢発生による農家への影響をみるため、経済損失を試算した。試算は、農林水産省の調査による平均 305 日乳量<sup>[7]</sup>及び家畜改良事業団の調査による搾乳牛 1 頭当たりの年間生産費<sup>[8]</sup>を基に、当該牛が将来的に 3 産し、その間の平均乳価が 110 円として仮定した。その結果、約 895 千円が損失したことになり、若齢での EBL 発生は酪農家にとって非常に大きな経済的損失になると考えられた。

従って、農場の経済損失を軽減するためには、EBL 若齢発生リスクを低減する必要がある、そのためには、BLV 汚染状況の改善が必要であると考えられ、感染牛と非感染牛が接触しない動線管理や、ウイルス伝播リスクの高い PL 陽性牛を優先的に淘汰の対象にする等の対策が必要であると考えられた。

(参考文献)

[1] 村上賢二 我が国の地方病性牛白血

病の発生動向と対策：その現状と課題  
日獣会誌 62 499 ~502 (2009)

[2] 今内覚 増加している牛白血病 北海道での現状と対策について 北獣会誌 56 (2012)

[3] 小西美佐子 最新の家畜疾病情報 (VI) 地方病性牛白血病 日獣会誌 68 352~ 354 (2015)

[4] 金森健太 若齢牛における地方病性牛白血病発症事例 臨床獣医 August (2018)

[5] Murakami K, 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)

[6] 目堅博久 牛白血病ウイルスの垂直伝播と発症リスクに関する研究 (2016)

[7] 家畜改良事業団 平成 29 年度 乳用牛群能力検定成績

[8] 農林水産省 農業経営統計調査 平成 29 年度 牛乳生産費