

令和元年6月17日現在

機関番号：17601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K15380

研究課題名(和文)市町村単位での牛白血病対策プログラムの確立に向けた実証研究

研究課題名(英文) Establishment of control program of bovine leukemia in a local area

研究代表者

目堅 博久 (Mekata, Hirohisa)

宮崎大学・テニユアトラック推進機構・助教

研究者番号：90633264

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、日本の飼養環境下において、牛白血病ウイルス(BLV)の感染源となる牛のプロウイルス量を明確にした。500 copies/50 ng of genomic DNA以下の牛は、BLVの感染源とならない低リスク牛であり、500 copies/50 ng以上の牛が、感染源となる高リスク牛であることが明らかとなった。そこで、宮崎県のA地域において、500 copies/50 ng以上の牛のみを農場から移動する牛白血病対策法をとったところ、この地域の感染率を4.9%から0.48%にまで低減することに成功した。本研究の結果、プロウイルス量に基づいた牛白血病対策の有効性が実証された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

牛白血病は2017年に最も報告数が多かった家畜の監視伝染病である。国内の牛の35%が感染しており、対策法の確立が求められている。従来の牛白血病対策は、全ての感染牛を隔離や淘汰する方法だった。これでは、経済的負担や労働負担が大きい。本研究の結果、感染牛であってもプロウイルス量が少ない低リスク牛は、感染源とならないことが明らかとなった。つまり、全ての感染牛ではなく、高リスク牛のみを対象とした対策で十分である。今後はこの知見を応用し、地域や県単位での牛白血病対策を進めていく。

研究成果の概要(英文)：In this study, we confirmed that cattle with very low BLV proviral loads did not transmit the virus to virus-free cattle under conventional conditions. A BLV-infected bull with a "very low proviral load" (i.e., fewer than 100 proviral copies/50 ng of genomic DNA) did not transmit the virus to any virus-free cattle. However, a BLV-infected bull with a "low proviral load" (i.e., 100 to 500 copies/50 ng) transmitted the virus to a total of 3 virus-free cattle in 2 out of 5 tests. These results suggest 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 this study will promote the construction of effective measures to prevent BLV infection and control the spread of BLV.

研究分野：獣医感染症学

キーワード：牛白血病ウイルス BLV 水平感染 感染対策 高リスク

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

監視伝染病である牛白血病の報告件数は年々増加し、17年間で28倍となった。感染率の増加も顕著であり、1980年代には5%前後であったが、2009-11年に行われた全国調査で約35%にまで増加した。BLVの感染や牛白血病の発症を防ぐワクチンはない。そのため、新たな感染を防ぎ、役目を終えた感染牛を徐々に非感染牛に更新していく以外に、牛白血病の被害を減らす方法はない。平成27年に農林水産省が「牛白血病に関する衛生対策ガイドライン」を発表し、農場における感染対策の指針が示された。しかし、対策を実施する農家の作業負担は大きく、より負担の軽い方法を開発する必要がある。また、BLV感染率を下げるためには、農家単位の対策では不十分であり、市町村単位での牛白血病対策が求められている。

2. 研究の目的

BLVの感染ウイルス量は感染直後に急増後、安定した値となる。安定後のウイルス量は多い牛と少ない牛で約10,000倍の違いがあるが、ウイルス量が多い牛だけがBLVを伝播するのは不明であった。筆者が行ったBLV遺伝子タイピングの結果から、ウイルス量が少ない牛は3年間に渡って通常の飼養環境下でBLVを伝播しなかった。また、吸血昆虫などによってBLVは隣接する農場に伝播しないことも明らかになった。これらの研究成果から、ウイルス量の多い牛だけを農場外の1施設(共同農場)に集める方法が牛白血病対策として有効な可能性が示された。そこで本研究では、はじめに他の牛にBLVを伝播しないウイルス量を明確にすることを目的とした。次いで、その結果を応用し、共同農場を利用した市長村単位での牛白血病対策プログラムを確立することを目指した。また、リアルタイムPCRを利用しない簡便かつ安価なウイルス量の推定法として、リンパ球を使った検査法の提案とその実用性を検討した。

3. 研究の方法

(1) 感染リスクの明確化

それまでの知見から、500 copies/50 ng以下の牛が感染源となりにくいことが示唆されたことから、100-500 copiesの牛を3頭、100 copies以下の感染牛を1頭用いた。50-100頭の非感染牛群に上記の感染牛を混ぜ、12ヶ月および22ヶ月後の新規感染数を調べた。また、感染経路を明確にするため、感染したBLVの遺伝子タイピングを行い、新規感染牛と一致するかを調べた。

(2) 市町村単位での牛白血病対策

宮崎県のA地区にて実施した。フィールドで蓄積した知見および前述の実験結果から、感染牛のうち、500 copies/50 ng以上の繁殖牛はすべて肥育後にと畜することにした。

(3) リンパ球数に基づいたウイルス量の推定

黒毛和種の白血球数およびリンパ球数を測定し、ウイルス量との相関を解析した。

4. 研究成果

(1) 感染リスクの明確化

本研究では、セットポイント期におけるプロウイルス量が500 copies/50 ng of genomic DNA以下の牛は、長期間に渡って農場内で飼養したとしても、水平および垂直感染の感染源とならないことを明らかにした。

(2) 市町村単位での牛白血病対策

そこで、500 copies/50 ngを超える牛を、地域が管理する共同農場に移動する戦略を実施したところ、宮崎県内のA地区では、2013年に4.9%であった感染率を0.47%にまで低減することに成功した。

(3) リンパ球数に基づいたウイルス量の推定

黒毛和種においても、リンパ球数とウイルス量に明確な相関が認められた。ただ、感度が80%程度であるため、20%程度の見逃しが発生してしまうことも明らかとなった。

本研究の結果、プロウイルス量に基づいた地域単位で取り組む牛白血病対策が有効なことが示された。この方法は、農家の経済的負担、作業負担も軽減できるうえ、成功率が高い。今後は、プロウイルス量の定量をより簡易化し、誰でも簡単に感染源となる牛を摘発できるようにすることが重要と考える。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計6件)

1. Nagao K, Makino R, Apego FV, Mekata H, Yamazaki W. Development of a fluorescent loop-mediated isothermal amplification assay for rapid and simple diagnosis of bovine leukemia virus infection. The Journal of veterinary medical science. 査読有, in press

2. Mekata H, Yamamoto M, Hayashi T, Kirino Y, Sekiguchi S, Konnai S, Horii Y, Norimine J. Cattle with a low bovine leukemia virus proviral load are rarely an infectious source. Japanese Journal of Veterinary Research. 査読有, 66, 157-163, 2018.
3. Mekata H, Yamamoto M, Kirino Y, Sekiguchi S, Konnai S, Horii Y, Norimine J. New hematological key for bovine leukemia virus-infected Japanese Black cattle. The Journal of veterinary medical science. 査読有, 80, 316-319, 2018.
4. Sajiki Y, Konnai S, Nishimori A, Okagawa T, Maekawa N, Goto S, Nagano M, Kohara J, Kitano N, Takahashi T, Tajima M, Mekata H, Horii Y, Murata S, Ohashi K. Intrauterine infection with bovine leukemia virus in pregnant dam with high viral load. The Journal of veterinary medical science. 査読有, 79, 2036-2039, 2017.
5. 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. The Journal of veterinary medical science. 査読有, 79, 1552-1555, 2017.
6. Marawan MA, Mekata H, Hayashi T, Sekiguchi S, Kirino Y, Horii Y, Moustafa AM, Arnaout FK, Galila ES, Norimine J. Phylogenetic analysis of env gene of bovine leukemia virus strains spread in Miyazaki prefecture, Japan. The Journal of veterinary medical science. 査読有, 79, 912-916, 2017.

〔学会発表〕(計 17 件)

1. Hirohisa MEKATA, Bovine leukemia virus infection in Japan and the control strategy based on the proviral load. The 2nd Joint Symposium between CADIC in UoM and FACTRC in SNU. 2019 年 3 月 26 日, Seoul, Korea
2. 目堅博久, 牛白血病の基礎とウイルス量に基づいた感染対策, 曾於地区獣医師会・曾於農業共済組合講習会, 2019 年 3 月 14 日, 曾於市
3. 目堅博久, 牛白血病の基礎と農場での感染対策について, 天草地域 EBL 対策協議会講習会, 2019 年 3 月 6 日, 天草市
4. 目堅博久, 牛白血病の基礎とプロウイルス量に基づいた対策, 長崎県獣医師会諫早支部家畜衛生講習会, 2019 年 2 月 7 日, 諫早市
5. 目堅博久, 牛白血病の基礎とプロウイルス量に基づいた対策, 三重県畜産協会 牛白血病に関する講習会, 2019 年 1 月 30 日, 津市
6. 目堅博久, 牛白血病の基礎とプロウイルス量を使った対策, NOSAI 都城家畜診療研究会, 2018 年 12 月 13 日, 都城市
7. 目堅博久, プロウイルス量に基づいた牛白血病対策ノススメ, 第 8 回 家畜感染症学会, 2018 年 12 月 8 日, 福岡市
8. 目堅博久, 牛白血病の基礎とウイルス量に基づいた感染対策, 平成 30 年度熊本県獣医師会農林水産部支部研修会, 2018 年 6 月 30 日, 熊本市
9. 目堅博久, 牛白血病の基礎とプロウイルス量に基づいた対策, 第 59 回茨城県家畜保健衛生業績発表会特別講演, 2018 年 3 月 23 日, 水戸市
10. 目堅博久, 牛白血病の基礎と農場や地域における対策例, 平成 29 年度大分県畜産協会牛白血病対策講習会, 2018 年 3 月 13 日, 大分市
11. 目堅博久, プロウイルス量に基づいた農場・地域における牛白血病対策, 平成 29 年度日本獣医師会獣医学術年次大会, 2018 年 2 月 11 日, 別府市
12. 目堅博久, 牛白血病の基礎と農場での対策例, 平成 29 年度家畜生産農場清浄化支援対策事業, 2018 年 1 月 16 日, 津市
13. 目堅博久, 牛白血病の基礎と宮崎県における対策の現状, JASV 第 6 回口蹄疫終息記念セミナー, 2017 年 12 月 1 日, 川南町

14. 目堅博久, 牛白血病の現状及び予防対策について, 牛飼養衛生に係る研修会, 2017年11月24日, 佐賀市

15. 目堅博久, プロウイルス量に基づいた牛白血病対策, 2017年度第1回宮崎県獣医師会産業動物講習会, 2017年10月24日, 宮崎市

16. 目堅博久, BLV の現状と清浄農場への取組み, 尾鈴肉用繁殖牛部会全体研修会(都農), 2017年6月22日, 都農町

17. 目堅博久, BLV の現状と清浄農場への取組み, 尾鈴肉用繁殖牛部会全体研修会(川南), 2017年6月21日, 川南町

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

○出願状況(計1件)

名称: 蛍光 LAMP 法を用いた牛白血病ウイルスの迅速検出法

発明者: 山崎渉、目堅博久

権利者: 国立大学法人宮崎大学

番号: 2018-78153

出願年: 2018年

国内外の別: 国内

6. 研究組織

(2)研究協力者

研究協力者氏名: 乗峰潤三、堀井洋一郎

ローマ字氏名: Junzo Norimine, Yoichiro Horii

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。