

令和 6 年 5 月 6 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2020～2023

課題番号：20H03142

研究課題名(和文)リンパ球クローナリティ解析を基礎とした牛白血病発症機序解明と早期診断法開発

研究課題名(英文)Elucidation of onset mechanism of bovine leukemia and development of an early diagnosis method based on lymphocyte clonality analysis

研究代表者

猪熊 壽 (Inokuma, Hisashi)

東京大学・大学院農学生命科学研究科(農学部)・教授

研究者番号：70263803

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 10,700,000円

研究成果の概要(和文)：牛伝染性リンパ腫診断精度向上を目的に免疫グロブリン軽鎖ラムダIgL- 遺伝子PCR (IgL-PCR)を開発した。IgL-PCRのリンパ球クローナリティ異常検出感度64.6%、特異性95.7%であり、IgH-PCRとの併用により感度は77.8%に向上した。本法を発症例に適用したところ、末梢血異常リンパ球検出法として有効であり、臨床診断上も有用と証明された。クローナリティ異常個体の経時的観察により、発症時には全く別クローンの突然の腫瘍化が明らかになった。また、BLV感染から発症までの病態進行には発がん抑制遺伝子不活性化および細胞分裂活性化を誘導するヒストン修飾異常の関与が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究成果の新知見として、発がん時のリンパ球クローンの動態異常や発がんにおけるヒストン修飾異常が明らかとなり、ウイルス発がんメカニズムの一端が明らかとなった。また、本研究の成果として牛のBリンパ球クローナリティ解析法の精度が向上し、ひいては、牛伝染性リンパ腫発症の診断精度が向上することとなった。獣医臨床現場での診断が難しい非典型的な牛伝染性リンパ腫を生前に摘発するために応用されることが期待される。

研究成果の概要(英文)：Immunoglobulin light chain- gene based PCR (IgL-PCR) has been developed to improve the diagnostic accuracy of enzootic bovine leukosis (EBL) by detecting clonal abnormalities. The sensitivity and specificity of IgL-PCR for diagnosis were 64.6% and 95.7%, respectively. Combination of IgL-PCR with IgH-PCR has improved diagnostic sensitivity up-to 77.8%. It was demonstrated that this new method was useful to detect abnormal peripheral blood lymphocytes and clinical diagnosis of EBL. A time-course observation of individuals with abnormal clonality revealed that a completely different clone suddenly turned into a tumor at the onset of EBL. In addition, it was suggested that histone modification abnormalities that induce inactivation of tumor suppressor genes and activation of cell division are involved in the progression of EBL from BLV infection to onset.

研究分野：獣医学

キーワード：牛伝染性リンパ腫 クローナリティ解析 リンパ球 発症機構 診断法

1. 研究開始当初の背景

我が国の牛のリンパ腫/白血病の大部分は、牛伝染性リンパ腫ウイルス（Bovine leukemia virus: BLV）感染により発症する牛伝染性リンパ腫（旧：牛白血病）である。BLV 感染牛の大部分は無症候キャリアのまま一生を過ごす、感染牛の30%はリンパ球増多症（persistent leukocytosis: PL）に進行し、さらにそのうち約10%がEBLを発症する。PL牛は腫瘍ではないとされており、家畜伝染病予防法上も何の規定もない。しかし、研究代表者らの先行研究により、PLを示す牛の一部の末梢血リンパ球はクローナリティ異常を呈していることが明らかとなっていた。つまり、モノクローナル増殖でないまでも、一部のリンパ球クローンが他より活発に増殖しているオリゴクローナルな状態を呈していることがわかってきた。しかし、BLV感染リンパ球のクローナリティ異常の動態には不明な点が多く、腫瘍化メカニズムも未知である。さらに、牛伝染性リンパ腫の臨床診断においては、現状、臨床症状発現後に末梢血塗抹あるいはリンパ節生検所見に基づいて確定診断が行われており、病態が既に相当進行した状態であることが多い。このためと畜場へ出荷された後にはじめて腫瘍であることが判明し、経済的損失を被る農家も多い。病態進行前のより早い段階での発症診断が課題となっている。

2. 研究の目的

本研究では牛のリンパ球クローナリティ解析法を確立し、それを利用した牛伝染性リンパ腫の早期診断法開発を目指す。また、非腫瘍であるポリクローナル、腫瘍化であるオリゴクローナル及びモノクローナルな状態における宿主の発がん関連及び免疫遺伝子の発現状態、エピジェネティック状態を解析することにより、ウイルス性発がんの発症機序の一端を解明することを目的とする。

3. 研究の方法

（1）牛Bリンパ球のクローナリティ解析法開発

新規Bリンパ球クローナリティ解析法として免疫グロブリン軽鎖（IgL）の遺伝子再構成に関する遺伝子情報からプライマーセットを設計し、診断上の感度と特異性を確認した。

（2）リンパ球増多症牛の末梢血Bリンパ球クローナリティ経時的観察

BLV感染持続性リンパ球増多症牛274頭のBリンパ球クローナリティを、既存のIgH-PCR（Maezawa et al. 2000）により解析し、クローナリティ異常を呈する牛について経時的に観察して牛伝染性リンパ腫発症との関係を考察した。

（3）クローナリティ解析法の牛伝染性リンパ腫臨床診断への応用

牛のBリンパ球クローナリティ解析法として既に確立されている①インバースPCR及び②IgH-PCRの牛伝染性リンパ腫臨床診断への応用を図るために、過去の発症例材料を用いて、感度と特異性を評価した。また、実際に牛伝染性リンパ腫発症を疑う牛の診断にクローナリティ解析を応用し、その臨床的意義を明らかにした。

(4) 発症機序の解明

3歳齢未満の発症牛（若齢 EBL）と3歳齢以上の EBL 発症牛（高齢 EBL）について、(a)BLV プロウイルス組込み部位、および(b) B 細胞の増殖、分化およびアポトーシスの調整に關与する骨形成タンパク質 6 (*bone morphogenetic protein 6: BMP-6*) 遺伝子プロモーター領域のメチル化状態を解析し、比較検討した。また、EBL の病態進行とヒストン修飾の関係を明らかにするため、EBL の各病態におけるヒストン修飾状況を比較した。BLV 感染健全牛 (AL 牛)、PL 牛および EBL 牛をそれぞれ 3、3 および 2 頭を用いた。

4. 研究成果

(1) 牛 B リンパ球のクローナリティ解析法開発

牛のリンパ腫診断におけるクローナリティ検査法感度向上を目的として IGL λ 遺伝子クローナリティ PCR を開発した。さらにより客観的なクローナリティ判定のための評価法を検討した。新たに開発した IGL λ 遺伝子クローナリティ PCR の感度は 64.6%、特異度は 95.7%であった。また、IGL λ 遺伝子クローナリティ PCR と IGH 遺伝子クローナリティ PCR を合わせて用いることにより、IG クローナリティ検査法の感度は 77.8%まで向上した。

(2) リンパ球増多症牛の末梢血 B リンパ球クローナリティ経時的観察

BLV 感染 PL 牛 274 頭の B リンパ球クローナリティを、申請者らが確立した方法 (Maetzawa et al. 2000) により解析したところ、モノクローナルを示したものはいなかったが、マイナークローナル 10 検体 (3.7%)、オリゴクローナル 31 検体 (11.3%) であり、PL 牛の 14.0% が腫瘍化した細胞を部分的に保有していることが示唆された。BLV 感染 PL 牛の B リンパ球クローナリティを経時的に観察したところ、ポリクローナル 233 検体のうち 1 年後に EBL を発症した個体は全くいなかったのに対し、オリゴクローナル 31 検体のうち 2 頭 (6.5%) で 1 年後に EBL 発症が確認された。オリゴクローナルは EBL 発症について高いリスクを有する可能性が考えられた。また、オリゴクローナルを呈 31 検体のうち、1 年後の継続検査を実施できた 14 検体を解析したところ、マイナークローナル 1 検体、オリゴクローナル 2 検体、ポリクローナル 11 検体であった。BLV 感染 PL 牛の B リンパ球のクローナリティが一方向性ではなく、可逆的に変化することがわかった。

(3) リンパ球クローナリティ解析法の牛伝染性リンパ腫臨床診断への応用

①インバース PCR の診断的価値の評価

インバース PCR の牛伝染性リンパ腫の診断的価値を評価した。感度、特異性、陽性予測値および陰性予測は、それぞれ、86.6%、100%、100%および 86.4% であり、本法が牛伝染性リンパ腫の確定診断に有効であることが示された。

② IGL λ 再構築 PCR の応用

B 細胞性リンパ腫症例において、IGL λ 遺伝子クローナリティ PCR を用いて B 細胞のモノクローナルな増殖を検出することができた。これにより、本研究で開発した方法が B 細胞性リンパ腫診断および病態考察の一助となることが確認された。また、このモノクローナル増殖は IGH 遺伝子クローナリティ PCR では検出できなかったものであり、クローナリティ検査における IGL λ 遺伝子クローナ

リティ PCR の有用性が示された。牛伝染性リンパ腫の発症を疑う症例において、異常リンパ球出現の有無を検出する方法として有用であることが示された。

③症例報告

牛伝染性リンパ腫発症例について地元の診療施設等に研究協力を得て、発症牛のクローナリティ検査を実施した。発症牛 4 頭中 2 頭で末梢血 B リンパ球のモノクローナル増殖が確認された。うち 1 頭は PL も体表リンパ節腫大もない症例であり、PCR によるクローナリティ解析が牛伝染性リンパ腫診断に有効であることが示された。また、他の 1 頭では経時的に採取保存されていた材料の解析により、臨床症状発現前から既にモノクローナルを呈していたこと、発症時には全く別の新しいクローンが増殖したことが明らかとなった。

(4) 発症機序の解明

①若齢発症に関与する要因の解析

BLV は転写活性領域に組み込まれた場合、ウイルス活性を高めることが報告されていることから、3 歳齢未満の発症牛（若齢 EBL）における BLV プロウイルス組込み部位の解析を行い、3 歳齢以上の EBL 発症牛（高齢 EBL）と比較した。解析・比較した結果、若齢 EBL 牛では高齢 EBL に比べ転写活性領域への BLV プロウイルス組込み割合が有意に高いことが明らかとなった。したがって、若齢牛における EBL 発症には BLV プロウイルス組込み部位が関係する可能性が示唆された。また、若齢肥育牛において EBL が多発していることより、肥育という特殊な飼養管理による DNA メチル化異常が早期に生じるのではないかと考え、若齢肥育 EBL 牛における B 細胞の増殖、分化およびアポトーシスの調整に関与する骨形成タンパク質 6 (*bone morphogenetic protein 6: BMP-6*) 遺伝子プロモーター領域のメチル化状態を解析し、若齢乳用 EBL 牛、高齢乳用 EBL 牛、若齢肥育健常牛、若齢乳用健常牛および高齢乳用健常牛と比較した。解析・比較した結果、若齢肥育 EBL 牛の *BMP-6* 遺伝子プロモーター領域のメチル化は、その他の牛に比べ亢進していることが明らかとなった。したがって、*BMP-6* 遺伝子プロモーター領域のメチル化異常が、若齢肥育牛における EBL 発症に関与する可能性があると考えられた。

②病態進行に関与するヒストン修飾異常

末梢血単核球を材料とし、活性化ヒストン修飾である H3K4me3 に対する全ゲノムクロマチン免疫沈降シーケンスを実施した。得られたヒストン修飾状況を基に二次元プロットおよびクラスタリングを行うとともに、各ステージでヒストン修飾状況に差異が認められた遺伝子の GO 解析を実施した。クラスターは確認されなかったが、AL 牛における H3K4me3 修飾は、PL 牛および EBL 牛に比べ、多様性があることが確認された。また、PL 牛では AL 牛に比べ発がん抑制遺伝子領域における H3K4me3 修飾が外れており、EBL 牛は PL 牛に比べて細胞代謝および細胞分裂関連遺伝子の H3K4me3 修飾が認められた。したがって、AL から PL、PL から EBL への病態進行には、それぞれ発がん抑制遺伝子の不活性化および細胞分裂の活性化を引き起こすヒストン修飾異常が関与している可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計32件（うち査読付論文 29件 / うち国際共著 1件 / うちオープンアクセス 23件）

1. 著者名 猪熊 壽, 大林 哲, 前澤誠希, 藤井沙希子, 吉田希央, 渡邊謙一, 堀内雅之, 古林与志安, チェンバース・ジェームズ, 内田和幸	4. 巻 68
2. 論文標題 末梢血リンパ球がモノクローナル増殖を示さなかった牛伝染性リンパ腫のホルスタイン種乳牛の1症例	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 北海道獣医師会雑誌	6. 最初と最後の頁 45-49
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 笠井 藍, 來原加奈, 小山憲司, 吉田希央, 渡邊謙一, 堀内雅之, 古林与志安, チェンバース・ジェームズ, 内田和幸, 前澤誠希, 猪熊 壽	4. 巻 67
2. 論文標題 後躯麻痺を呈した牛伝染性リンパ腫のホルスタイン種成乳成牛の1症例	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 北海道獣医師会雑誌	6. 最初と最後の頁 447-451
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 小川 幸, 佐伯陽平, 永田健樹, 前澤誠希, 山本貴恵, 吉田希央, チェンバース ジェームズ, 内田和幸, 猪熊 壽	4. 巻 70
2. 論文標題 ホルスタイン種子牛にみられたBLV陰性のB細胞性リンパ腫の1症例	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 家畜診療	6. 最初と最後の頁 655-662
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 MAEZAWA Masaki, TAKEZAWA Shiho, SAKAGUCHI-MAEZAWA Kana, TANAKA Yusuke, WATANABE Ken-ichi, KOBAYASHI Yoshiyasu, INOKUMA Hisashi	4. 巻 86
2. 論文標題 Monoclonal proliferation of B-cells with two integration sites of bovine leukemia virus proviral DNA in cattle with enzootic bovine leukosis	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Journal of Veterinary Medical Science	6. 最初と最後の頁 in press
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1292/jvms.24-0037	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Maezawa Masaki, Watanabe Ken-ichi, Kobayashi Yoshiyasu, Yoshida Kio, Chambers James K., Uchida Kazuyuki, Maruyama Reo, Inokuma Hisashi	4. 巻 48
2. 論文標題 Diffuse large B-cell lymphoma with DNA copy number changes in a Japanese black calf	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Veterinary Research Communications	6. 最初と最後の頁 in press
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s11259-024-10371-7	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 DAIJI Yusuke, MAEZAWA Masaki, ISHIKAWA Kento, CHAMBERS James K, UCHIDA Kazuyuki, INOKUMA Hisashi	4. 巻 85
2. 論文標題 Enzootic bovine leukosis caused by bovine leukemia virus classified as Group C based on viral whole genome sequencing in a 23-month-old Holstein-Friesian heifer	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of Veterinary Medical Science	6. 最初と最後の頁 1291 ~ 1295
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1292/jvms.23-0354	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Maezawa Masaki, Fujii Yuki, Akagami Masataka, Kawakami Junko, Inokuma Hisashi	4. 巻 284
2. 論文標題 BoLA-DRB3*15:01 allele is associated with susceptibility to early enzootic bovine leukosis onset in Holstein-Friesian and Japanese Black cattle	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Veterinary Microbiology	6. 最初と最後の頁 109829 ~ 109829
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.vetmic.2023.109829	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Maezawa, M., Sakaguchi, K., Tagaino, Y., Fujii, Y., Akagami, M., Kawakami, J., Watanabe, K., Kobayashi, Y., Ogawa, H., Inokuma, H.	4. 巻 34
2. 論文標題 Enzootic bovine leukosis in a 21-month-old Japanese Black cow with high susceptibility.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 J. Vet. Diag. Invest.	6. 最初と最後の頁 733-737
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1177/10406387221102123	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Maezawa, M., Oouchi, Y., Akagami, M., Uenyama, M., Chambers, J.K, Uchida, K., Inokuma, H.	4. 巻 84
2. 論文標題 Time course changes in peripheral B-cell clonality in a Japanese Black bull with enzootic bovine leukosis	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 J. Vet. Med. Sci.	6. 最初と最後の頁 1495-1498
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1292/jvms.22-0314	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Maezawa, M., Fujii, Y., Akagami, M., Kawakami, J., Inokuma, H.	4. 巻 18
2. 論文標題 hylogenetic analysis based on whole genome sequence of bovine leukemia virus in cattle under 3 years old with enzootic bovine leukosis	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 PloS one	6. 最初と最後の頁 e0279756
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0279756	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Inokuma, H., Nagata, T., Maezawa, M., Watanabe, K., Kobayashi, Y., Kojima, K., Chambers, JK., Uchida, K.	4. 巻 32
2. 論文標題 A clinical case of enzootic bovine leukosis diagnosed by clonal analysis of peripheral B-cell in a Japanese Black cow.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Comp. Clin. Pathol.	6. 最初と最後の頁 195-200
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00580-022-03432-3	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Le, D.T., Nguyen, S.V., Le, T.A.N., Nguyen, V.H., Le, P.D., Dinh, D.V., Duong, H.T., Vu, H.V., Fujimoto, Y., Kunieda, T., Haga, T.	4. 巻 85
2. 論文標題 Detection of bovine leukemia virus in beef cattle kept in the Central Coast Regions of Vietnam.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 J. Vet. Med. Sci.	6. 最初と最後の頁 111-116
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1292/jvms.22-0240	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 永田健樹, 佐伯陽平, 伊井辰仁, チェンバース ジェームズ, 内田和幸, 猪熊 壽	4. 巻 13
2. 論文標題 馬尾症候群を呈した黒毛和種繁殖牛にみられた牛伝染性リンパ腫の1症例	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 産業動物臨床医学雑誌	6. 最初と最後の頁 15-20
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 佐伯陽平, 永田健樹, 大内義尚, 伊藤宗磨, 藤原玲奈, チェンバース ジェームズ, 内田和幸, 猪熊 壽	4. 巻 13
2. 論文標題 後躯麻痺を呈した黒毛和種雄牛のT細胞性リンパ腫の1症例	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 産業動物臨床医学雑誌	6. 最初と最後の頁 55-60
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 猪熊 壽, 原田俊之, 永田健樹, 前澤誠希, チェンバース ジェームズ, 内田和幸	4. 巻 13
2. 論文標題 牛伝染性リンパ腫との鑑別に苦慮したホルスタイン種乳牛の脂肪壊死症の1症例	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 産業動物臨床医学雑誌	6. 最初と最後の頁 213-218
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 原田俊之, 瀧口朝陽, 永田健樹, 佐伯陽平, 前澤誠希, 高橋 圭, チェンバース ジェームズ, 内田和幸, 猪熊 壽	4. 巻 11
2. 論文標題 ホルスタイン種育成牛にみられた体表リンパ節腫大を伴わない牛伝染性リンパ腫の1症例	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 家畜感染症学会誌	6. 最初と最後の頁 77-84
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 坂口加奈, 前澤誠希, 轉馬 創, 渡邊謙一, 堀内雅之, 古林与志安, 永田健樹, 小島一優, チェンバース ジェームズ, 内田和幸, 猪熊 壽	4. 巻 66
2. 論文標題 B細胞モノクローナル増殖が証明された牛伝染性リンパ腫のホルスタイン種乳牛の1症例	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 北海道獣医師会雑誌	6. 最初と最後の頁 321-325
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また, その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 猪熊 壽	4. 巻 40(9):
2. 論文標題 牛伝染性リンパ腫の臨床診断	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 臨床獣医	6. 最初と最後の頁 26-31
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Maezawa, M., Akiyama, N., Tagawa, M., Watanabe, K., Matsumoto, K., Furuoka, H., Inokuma, H.	4. 巻 83
2. 論文標題 A clinical case of acute myelomonocytic leukemia in a Holstein cow.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J. Vet. Med. Sci.	6. 最初と最後の頁 819-823
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1292/jvms.20-0618	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また, その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Maezawa, M., Watanabe, K., Matsumoto, K., Kobayashi, Y., Ogawa, H., Inokuma, H.	4. 巻 83
2. 論文標題 Analysis of the bone morphogenetic protein 6 gene promoter region in young beef cattle affected by enzootic bovine leukosis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J. Vet. Med. Sci.	6. 最初と最後の頁 898-904
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1292/jvms.20-0663	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また, その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Maezawa, M., Sakaguchi, K., Tanaka, Y., Watanabe, K., Kobayashi, Y., Inokuma, H.	4. 巻 30
2. 論文標題 Detection of monoclonal or oligoclonal integration of bovine leukemia virus proviral DNA by inverse polymerase chain reaction for diagnosis of enzootic bovine leukosis.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Comp. Clin. Pathol.,	6. 最初と最後の頁 711-714
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00580-021-03265-6	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Maezawa, M., Nakamichi, A., Akiyama, N., Tagawa, M., Watanabe, K., Kobayashi, Y., Inokuma, H.	4. 巻 83
2. 論文標題 Acute myelomonocytic leukemia negative for alpha-naphthyl acetate esterase stain in a Holstein cow.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J. Vet. Med. Sci.	6. 最初と最後の頁 1643-1647
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1292/jvms.21-0304	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Takezawa, S., Maezawa, M., Tsuzuku, S., Kakakami, J., Oouchi, Y., Inokuma, H.	4. 巻 83
2. 論文標題 Abnormal clonalities of B-lymphocytes in bovine leukemia virus-infected cattle with persistent	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J. Vet. Med. Sci.	6. 最初と最後の頁 1928-1932
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1292/jvms.21-0357	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 猪熊 壽	4. 巻 6
2. 論文標題 異常リンパ球の検出による牛伝染性リンパ腫の臨床診断-鑑別のポイントとクローンリティ解析	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 家畜診療	6. 最初と最後の頁 71-81
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 MAEZAWA Masaki, WATANABE Ken-ichi, MATSUMOTO Kotaro, KOBAYASHI Yoshiyasu, OGAWA Haruko, INOKUMA Hisashi	4. 巻 83
2. 論文標題 Analysis of the bone morphogenetic protein 6 gene promoter region in young beef cattle affected by enzootic bovine leukosis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Veterinary Medical Science	6. 最初と最後の頁 in press
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1292/jvms.20-0663	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 MAEZAWA Masaki, AKIYAMA Nao, TAGAWA Michihito, WATANABE Ken-ichi, MATSUMOTO Kotaro, FURUOKA Hidefumi, INOKUMA Hisashi	4. 巻 83
2. 論文標題 A clinical case of acute myelomonocytic leukemia in a Holstein cow	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Veterinary Medical Science	6. 最初と最後の頁 in press
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1292/jvms.20-0618	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 LE Dung Thi, YAMASHITA-KAWANISHI Nanako, OKAMOTO Mari, NGUYEN Son Vu, NGUYEN Nam Huu, SUGIURA Katsuaki, MIURA Tomoyuki, HAGA Takeshi	4. 巻 82
2. 論文標題 Detection and genotyping of bovine leukemia virus (BLV) in Vietnamese cattle	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Veterinary Medical Science	6. 最初と最後の頁 1042 ~ 1050
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1292/jvms.20-0094	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Tagawa Michihito, Tambo Naomi, Maezawa Masaki, Tomihari Mizuki, Watanabe Ken-ichi, Inokuma Hisashi, Miyahara Kazuro	4. 巻 15
2. 論文標題 Quantitative analysis of the BRAF V595E mutation in plasma cell-free DNA from dogs with urothelial carcinoma	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 e0232365
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0232365	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Maezawa M., Kudo N., Temma S., Sekizuka J., Watanabe K., Horiuchi N., Matsumoto K., Kobayashi Y., Inokuma H.	4. 巻 11
2. 論文標題 A clinical case of T-cell lymphoma with co-expression of a B-cell marker in a Holstein cow	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Japanese Journal of Large Animal Clinics	6. 最初と最後の頁 17~21
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.4190/jllac.11.17	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Sakaguchi K., Maezawa M., Inokuma H.	4. 巻 11
2. 論文標題 B-cell clonality in cattle with persistent lymphocytosis caused by bovine leukemia virus infection	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Japanese Journal of Large Animal Clinics	6. 最初と最後の頁 1~4
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.4190/jllac.11.1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 前澤誠希, 川上侑記, 佐藤陽輔, 菅生樹春, 渡邊謙一, 堀内雅之, 松本高太郎, 古林与志安, 猪熊 壽	4. 巻 10
2. 論文標題 25ヵ月齢黒毛和種肥育牛のリンパ球増多症を伴わない地方病性牛白血病	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 家畜感染症学会誌	6. 最初と最後の頁 19-25
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 近藤 直, 西川晃豊, 秋山奈緒, 佐藤陽輔, 渡邊謙一, 堀内雅之, 古林与志安, 猪熊 壽	4. 巻 68
2. 論文標題 骨髓検査により診断した牛の非再生性免疫介在性貧血	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 家畜診療	6. 最初と最後の頁 in press
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計23件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 前澤誠希, 竹澤詩穂, 前澤加奈, 田中佑典, 渡邊謙一, 古林与志安, 猪熊 壽
2. 発表標題 牛伝染性リンパ腫ウイルスが異なる2か所に組込まれてB細胞が腫瘍化する事例がある
3. 学会等名 第13回家畜感染症学会学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 藤井勇紀, 前澤誠希, 赤上正貴, 川上純子, 猪熊 壽
2. 発表標題 牛伝染性リンパ腫ウイルス株および牛主要組織適合遺伝子複合体多型の若齢牛における牛伝染性リンパ腫発症への影響力に関する研究
3. 学会等名 令和5年度日本獣医師会獣医学術学会年次大会（神戸）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 菊澤美里, 前澤誠希, 瀧口朝陽, 斎藤 凌, チェンバース ジェームズ, 内田和幸, 猪熊 壽
2. 発表標題 リンパ球増多症および末梢血B細胞のモノクローナル増殖が認められなかった牛伝染性リンパ腫のホルスタイン種乳用牛の1症例
3. 学会等名 令和5年度日本家畜臨床学会, 第54回学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 前澤誠希, 丸山玲緒, 猪熊 壽
2. 発表標題 持続性リンパ球増多症牛におけるクローナリティ変化に関与するヒストン修飾異常
3. 学会等名 第166回日本獣医学会学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 猪熊 壽, 永田健樹, 前澤誠希, チェンバース ジェームズ, 内田和幸
2. 発表標題 腫瘍マーカーを活用した牛のリンパ腫発症診断法の精度検証
3. 学会等名 令和5年度 獣医学術関東・東京合同地区学会（産業動物）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 猪熊 壽, 原田俊之, 瀧口朝陽, 永田健樹, 佐伯陽平, 奥山一葉, 内山莉緒, 前澤誠希, チェンバース ジェームズ, 内田和幸
2. 発表標題 牛伝染性リンパ腫との鑑別に苦慮したホルスタイン種乳牛の脂肪壊死症の1症例
3. 学会等名 令和4年度 獣医学術関東・東京合同地区学会（産業動物）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 佐伯陽平, 小川 幸, 永田健樹, 前澤誠希, 吉田希央, チェンバース ジェームズ, 内田和幸, 猪熊 壽
2. 発表標題 末梢血単核球および腫大リンパ節細針吸引材料の免疫染色によりB細胞性リンパ腫を迅速診断できた子牛の1症例
3. 学会等名 令和4年度 獣医学術関東・東京合同地区学会（産業動物）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 永田健樹, 前澤誠希, 猪熊 壽
2. 発表標題 牛のB細胞性リンパ腫診断における免疫グロブリン軽鎖 鎖を標的としたクローナリティー検査の有用性の検討.
3. 学会等名 第165回日本獣医学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 前澤誠希, 丸山玲緒, 猪熊 壽
2. 発表標題 牛伝染性リンパ腫の病態進行に関するヒストン修飾異常
3. 学会等名 第165回日本獣医学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 前澤誠希, 藤井勇紀, 赤上正貴, 川上純子, 猪熊 壽
2. 発表標題 牛伝染性リンパ腫ウイルス株と腫瘍性病変分布の関係
3. 学会等名 日仏獣医学会第62回研究例会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Maezawa M, Fujii Y, Akagami M, Kawakami J, Inokuma H.
2. 発表標題 DRB3*15:01 allele is associated with susceptibility to early-onset enzootic bovine leukosis.
3. 学会等名 The 21th Federation of Asian Veterinary Association (FAVA) Congress. (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 永田健樹, 谷口太一, 大内義尚, 山本貴恵, 前澤誠希, チェンバース ジェームズ, 内田和幸, 猪熊 壽
2. 発表標題 脊柱管内にのみ腫瘤を形成した牛伝染性リンパ腫により後肢麻痺を呈した黒毛和種繁殖牛の1症例
3. 学会等名 日本家畜臨床学会 第53回学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 前澤誠希, 坂口加奈, 互野佑香, 藤井勇紀, 赤上正貴, 川上純子, 渡邊謙一, 古林与志安, 小川晴子, 猪熊 壽
2. 発表標題 DNAメチル化異常および発症感受性が認められた牛伝染性リンパ腫発症若齢牛の1症例
3. 学会等名 第12回家畜感染症学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 前澤誠希, 藤井勇紀, 赤上正貴, 川上純子, 猪熊 壽.
2. 発表標題 地方病性牛リンパ腫発症若齢牛における牛伝染性リンパ腫ウイルスの全ゲノム解析
3. 学会等名 第164日本獣医学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 前澤誠希, 赤上正貴, 川上純子, 大内義尚, 藤原玲奈, 畝山瑞穂, チェンバース・ジェームス, 内田和幸, 猪熊 壽
2. 発表標題 Bリンパ球コロナリティーを発症前から経時的に解析した地方病性牛リンパ腫の1症例
3. 学会等名 第164日本獣医学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 前澤誠希, 竹澤詩穂, 坂口加奈, 田中佑典, 渡邊謙一, 古林与志安, 猪熊 壽
2. 発表標題 EBL発症牛における腫瘍化B細胞あたりのBLVプロウイルス数に関する研究
3. 学会等名 日仏獣医学会第62回研究例会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 佐伯陽平, 永田健樹, 前澤誠希, 大内義尚, 赤上正貴, 川上純子, 伊藤宗磨, 藤原玲奈, チェンパース ジェームズ, 内田和幸, 猪熊 壽
2. 発表標題 後躯麻痺を呈した黒毛和種雄牛のT細胞性リンパ腫の1症例
3. 学会等名 令和3年度 関東・東京合同地区獣医師会 産業動物臨床学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 永田健樹, 佐伯陽平, 柳澤義人, 大内義尚, 伊井辰人, チェンパース ジェームズ, 内田和幸, 前澤誠希, 猪熊 壽.
2. 発表標題 馬尾症候群を呈した黒毛和種繁殖牛にみられた地方病性牛伝染性リンパ腫の1症例
3. 学会等名 令和3年度 関東・東京合同地区獣医師会 産業動物臨床学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 原田俊之, 瀧口朝陽, 前澤誠希, 高橋 圭, チェンパース・ジェームズ, 内田和幸, 猪熊 壽.
2. 発表標題 ホルスタイン種育成牛にみられた非典型的な地方病性牛伝染性リンパ腫の1症例
3. 学会等名 令和3年度 関東・東京合同地区獣医師会 産業動物臨床学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 岡本麻里, 杉浦勝明, 小熊圭祐, 猪熊 壽, 遠藤麻衣子, THI Le Dung, 山下(川西)奈那子, 芳賀 猛
2. 発表標題 牛伝染性リンパ腫ウイルスの母子感染における性状解析
3. 学会等名 第57回獣疫学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 前澤誠希, 中道 藍, 秋山奈緒, 田川道人, 渡邊謙一, 松本高太郎, 古林与志安, 猪熊 壽
2. 発表標題 牛白血病ウイルス感染乳用牛にみられた単球性白血病の1症例
3. 学会等名 第163日本獣医学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 竹澤詩穂, 前澤誠希, 都筑智子, 川上純子, 大内義尚, 松本高太郎, 猪熊 壽
2. 発表標題 オリゴクローナルな持続性リンパ球増多症を呈する牛白血病ウイルス感染牛の経時的解析
3. 学会等名 第163日本獣医学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 岡本麻里, 杉浦勝明, 小熊圭祐, 猪熊 壽, 遠藤麻衣子, Le Dung Thi, 山下(川西)奈々子, 芳賀 猛
2. 発表標題 牛伝染性リンパ腫ウイルスの母子感染における性状解析
3. 学会等名 第57回獣疫学会学術集会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 猪熊 壽	4. 発行年 2022年
2. 出版社 文永堂出版	5. 総ページ数 1
3. 書名 獣医内科学 第3版	

〔産業財産権〕

〔その他〕

東京大学大学院農学生命科学研究科動物医療センター 産業動物臨床学研究室
https://webpark2241.sakura.ne.jp/

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分 担 者	芳賀 猛 (Haga Takeshi) (20315360)	東京大学・大学院農学生命科学研究科(農学部)・教授 (12601)	

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 協 力 者	前澤 誠希 (Maezawa Masaki)	東京大学・大学院農学生命科学研究科(農学部)・特任助教 (12601)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------