

11 6 か月齢の黒毛和種子牛にみられた地方病性牛白血病の 1 症例

下北地域県民局地域農林水産部むつ家畜保健衛生所

○高橋 優 齋藤 香
堀口まなほ 今井 良
八重樫恵嗣 豊澤 直子
松本 敦 村井 孝生

1 はじめに

牛白血病は、表 1 に示すとおり、地方病性牛白血病（以下、EBL）と散発性牛白血病に大きく分けられる。EBL は牛白血病ウイルス（以下、BLV）が関与し、数年の潜伏期間を経て、数%の感染牛が B 細胞性のリンパ肉腫を発症する。そのため、EBL の好発年齢は 4～8 歳といわれている。一方、散発性牛白血病は子牛型、胸腺型、皮膚型に分類され、その発生原因は未だ不明である^{1,2,3)}。

表 1：牛白血病の分類

分類	BLV 関与	好発年齢	好発組織	腫瘍細胞	
地方病性 (成牛型)	あり	3才<	リンパ節、脾、心、腎、消化器、子宮	Bリンパ球	
散発性	子牛型	なし	<6か月齢	リンパ節	TorB リンパ球
	胸腺型	なし	6か月～2才	胸腺	Tリンパ球
	皮膚型	不明	2～3才	皮膚	Tリンパ球

牛白血病の発生頭数は、全国的に年々増加しており、県内においても BLV の関与が疑われた若齢牛の EBL 症例が報告されている⁴⁾。管内においては、届出が義務づけられた平成 10 年以降、1 歳未満での発生はなく、好発年齢である 4～8 歳で多く発生している（図 1）。今回、6 か月齢の黒毛和種子牛において、病性検査を実施

した結果、EBL と診断したので、その概要を報告する。

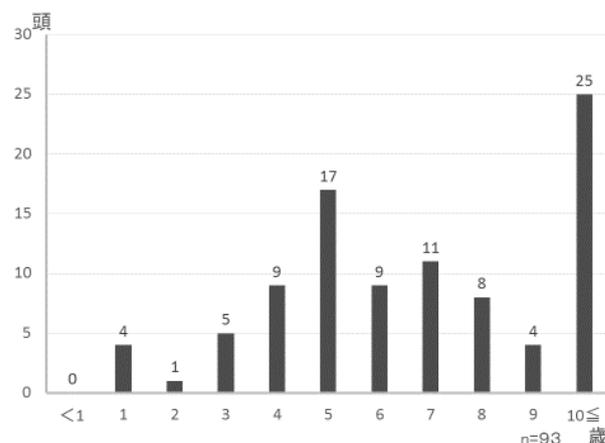


図 1：管内年齢別発生状況

2 発生概要

(1) 農場概要

発生農場は黒毛和種繁殖農場で、繁殖雌牛 11 頭を飼養しており、うち 3 頭は自家産、8 頭は県内外から平成 20～30 年に導入していた。これまでに EBL の発症はなかった。

(2) 発生状況

発症牛は黒毛和種の雌、平成 29 年 12 月 26 日に発生農場で生まれた 6 か月齢である。平成 30 年 7 月初め頃から目に異状が見られ、臨床獣医師による治療を受けていたが好転しなかったため、7 月 13 日、飼養者から家畜保健衛生所（以下、家保）に相談があり、7 月 17 日、家保が立入検査を実施した。発症牛は元気消失、

削瘦、両眼球が突出しており、食欲はあるものの、少量ずつ食べている状況であった。また、体表リンパ節の腫脹は認められなかったが、血液検査所見及び牛白血病抗体検査の結果から EBL を疑い、7 月 23 日、病理解剖を実施した。

3 材料及び方法

(1) 血液検査

ア 一般血液検査

立入時及び剖検時の血液について、赤血球数、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値、白血球数を自動血球計数装置で測定した。また、血液塗抹標本をギムザ染色後に鏡検し、白血球百分比を算出した。

イ 血液生化学検査

TP、ALB、TCHO、AST、GGT、LDH について生化学自動分析装置（富士ドライケム）で測定した。

(2) ウイルス学的検査

ア 牛白血病抗体検査

発症牛については、立入時の血清を用いて ELISA 法により実施した。

同居牛は、平成 30 年 11 月 22 日に採材した血清、母牛は平成 29 年 4 月 20 日に採材した保存血清を用いて、同法により抗体保有状況を調査した。

イ BLV 遺伝子定量検査

剖検時の EDTA 血液及び心耳、気管周囲、胆嚢及び眼球後部に形成された腫瘤についてそれぞれ 10% 乳剤を作成し、その乳剤 200 μ l から QIAamp DNA mini Kit (Qiagen) を用いて DNA を抽出した。抽出した DNA について、市販のウシ白血ウイルス検出キット (TAKARA CY415 及び CY510) を用いてリアルタイム PCR により遺伝子量を算出した。

(3) 病理学的検査

解剖時に採材した材料をホルマリン固定し、

常法により包埋切片を作成した。

ア 病理組織学的検査

ヘマトキシリンエオジン (HE) 染色を実施した。

イ 免疫組織学的検査

抗ヒト CD3 マウスモノクローナル抗体 (DAKO)、抗ヒト CD5 マウスモノクローナル抗体 (DAKO)、抗ヒト CD79 α マウスモノクローナル抗体 (DAKO)、抗ヒト TdT マウスモノクローナル抗体 (ニチレイ) を用いた免疫染色を施した。

4 検査成績

(1) 外貌所見

発症牛の立入時の外貌所見を図 2 に示した。立入時、元気消失、削瘦、両眼球の突出が認められ、特に左眼球で顕著であった。また、体表リンパ節の腫脹は認められなかった。



図 2 : 外貌所見

(2) 血液検査

ア 血液一般検査

白血球数は、立入検査時、65,000 個/ μ l と著しく増加し、リンパ球が 84% を占め、このうち 69% が異型リンパ球であった。リンパ球の形態は、正常のリンパ球より大型で、核形が不整であった (図 3)。さらに、剖検時には白血球数が 118,600 個/ μ l まで増加していた (表 2)。

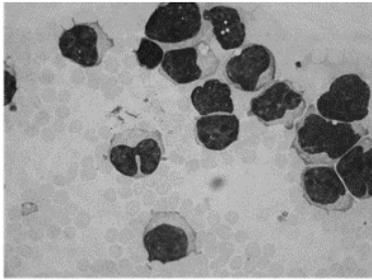


図3：血液塗抹標本（ギムザ染色）

表2：血液一般検査成績

項目		7月17日 立入検査時	7月23日 剖検時
RBC	($\times 10^4/\mu\text{l}$)	689	587
Hb量	(g/dl)	7.4	7.3
Ht値	(%)	24.9	21.0
WBC	($/\mu\text{l}$)	65,000	118,600
百分比	好中球	5	26
(%)	リンパ球	84	72
	うち異型	69	76
	単球	11	2

イ 血液生化学検査

立入時及び剖検時に TP が 5.3g/dl、5.5g/dl、TCHO が 66mg/dl、42mg/dl と低値を示していた。LDH は立入時 4,325U/l、剖検時 3,790U/l と著しく高値を示した（表3）。

表3：血液生化学検査成績

項目		7月17日 立入検査時	7月23日 剖検時
TP	(g/dl)	5.3	5.5
ALB	(g/dl)	3.0	3.1
TCHO	(mg/dl)	66	42
AST	(U/l)	121	127
GGT	(U/l)	25	23
LDH	(U/l)	4,325	3,790

(3) ウイルス学的検査

ア 牛白血病抗体検査

発症牛及び母牛は抗体陽性であった。

また、同居牛は11頭中9頭が抗体陽性、陽性率は81.8%であった。

イ BLV 遺伝子定量検査

遺伝子量を測定した結果、EDTA 血液 1,010.3copies/ng と多量の遺伝子が検出された。腫瘍からは、眼球後部 5.4copies/ng、気管周囲 34.1copies/ng、胆嚢内 1.6copies/ng 及び心耳 7.8copies/ng の遺伝子量であった（表4）。

表4：BLV 遺伝子定量検査成績

材料	BLV遺伝子量 (copies/ng)
EDTA血液	1,010.3
腫瘍 眼球	5.4
気管	34.1
胆嚢	1.6
心耳	7.8

(4) 解剖所見

心臓は拡大し、右心耳の腫大及び腫瘍形成が認められた。消化管では、第一胃漿膜面に $5 \times 7 \times 1.5\text{cm}$ の腫瘍が認められ、胆嚢壁は肥厚し、胆嚢内に小豆大の腫瘍が散在していた。膀胱壁及び子宮壁は肥厚し、子宮広間膜には大小様々な腫瘍が認められた。リンパ節では、頸部リンパ節及び腸間膜リンパ節の腫大が確認された。両眼球後部には、小豆大から母指頭大の腫瘍が多数認められた（図4）。



図 4：解剖所見

(5) 病理学的検査

ア 組織所見

第一胃ではクロマチン凝集した核を有するものや、大型の細胞質及び分葉・多形性を呈した核を有するもの、また有糸分裂中(400倍一視野あたり1~5個)のリンパ球様腫瘍細胞が浸潤・増殖が漿膜周囲組織から筋層にかけて高度に認められた(図5)。また、空腸リンパ節及び空回腸周囲漿膜から筋層において広範に、心臓の筋繊維間、肝臓の類洞及び中心静脈や肺の毛細血管内、両眼周囲の結合組織、舌の筋層、膀胱粘膜の固有層から筋層、第四胃の粘膜固有層から漿膜、子宮の筋層においても、同様の腫瘍細胞がみられた。

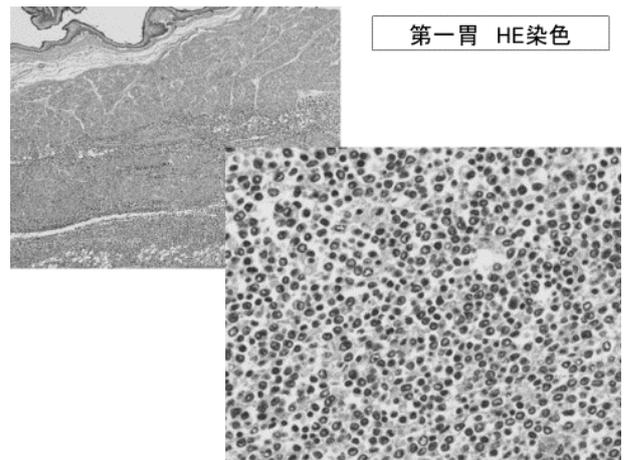


図 5：組織所見(第一胃 HE 染色)

イ 免疫染色

第一胃、空回腸、空腸リンパ節のリンパ球様腫瘍細胞を免疫染色した結果、CD79 α は陽性を示し、CD3及びTdTは陰性であった(図6)。

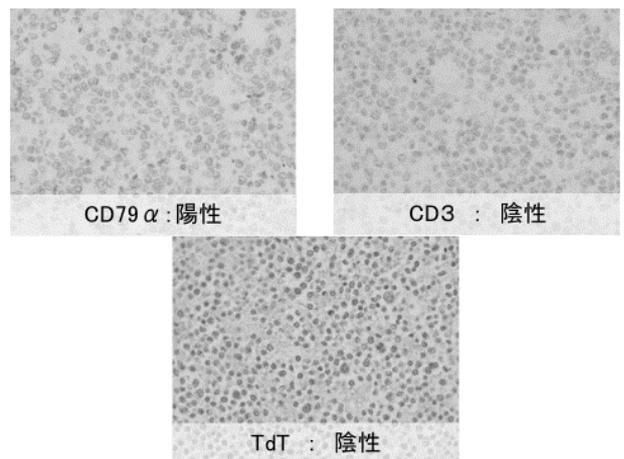


図 6：免疫組織化学所見(空腸)

5 まとめ及び考察

今回、6か月齢の黒毛和種に消瘦、元気消失、眼球突出がみられたことから、病性検査を行った。血液検査では、白血球数及び異型リンパ球数が高度に増加しており、血液塗抹像では正常リンパ球より大型で核形が不整の異型リンパ球を確認した。牛白血病抗体を保有し、EDTA血液からは多量のBLV遺伝子が検出された。剖検では右心耳腫大、第一胃漿膜面及び両眼球後部に腫瘍形成、頸部リンパ節及び腸間膜リンパ節

の腫大を確認した。また、病理学的検査では心臓、肝臓、肺、第一胃、眼球等において多形性を示すリンパ球様腫瘍細胞の浸潤・増殖が認められた。さらに、腫瘍細胞はCD79 α 陽性、CD3陰性、TdT陰性であったことから、B細胞由来であることが確認された。以上の結果から、総合的に判断し、本症例をEBLと診断した。

若齢での発症は、汚染度の高い農場や感染母牛の状況が影響するとの報告がある⁵⁾。このため、同居牛の抗体保有状況を併せて調査した結果、陽性率は81.8%で農場の汚染度は高い状況であった。さらに、母牛も抗体保有牛であったことから、これらが若齢発症の要因のひとつであったと考えられた。なお、母牛は発症牛を分娩後、元気消失、食欲減退を呈し、初乳が出ず、分娩1か月後に死亡していた。このため、飼養者は発症牛を人工哺乳により飼育しており、発症牛は初乳を接種していなかった。このことから、発症牛の感染経路は乳汁感染ではなく、胎盤又は産道感染であったことが強く示唆された。

今後は、飼養者に対し、高リスク牛の摘発と優先的更新指導を強化し、子牛及び抗体陰性牛への感染防止対策を推進していきたいと考える。

6 謝辞

稿を終えるにあたり、検査にご協力いただいた国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構動物衛生研究所の諸先生方及び青森家畜保健衛生所に深謝する。

参考文献

- 1) 明石博臣ら編：動物の感染症〈第三版〉, 98-99 (2011)
- 2) 村上賢二ら：日本獣医師会雑誌, 62, 499-502 (2009)
- 3) 宗村佳子：牛白血病ウイルス遺伝子量を指

標とした地方病性牛白血病の診断法に関する研究, 岐阜大学大学院連合獣医学研究科博士論文 (2015)

4) 方波見将人ら：牛白血病ウイルス遺伝子が検出された8か月齢子牛の牛白血病, 平成24年度青森県家畜保健衛生業績発表会集録, 49-54,

5) 平川素子ら：地方病性牛白血病の若齢発症に関する一考察, 平成25年度大分県家畜保健衛生並びに畜産関係業績発表会集録

6) 村山修吾ら：牛白血病腫瘍細胞のリンパ球マーカーを用いた免疫組織化学染色による検索, 新潟県中央家畜保健衛生所

