

【研究紹介】

北海道で流行する牛ウイルス性下痢ウイルスの遺伝子解析

安部 優里* 田村 友和* 峯 淳貴*
鳥居 志保* 藤本 悠理* 迫田 義博*

*北海道大学大学院獣医学研究科微生物学教室
(〒060-0818 札幌市北区北18条西9丁目)

はじめに

牛ウイルス性下痢症 (Bovine Viral Diarrhea ; BVD) は特に妊娠牛での感染が問題となることから、国内の半数以上の乳牛が飼育されている北海道において特に対策すべき疾病の一つである。北海道大学大学院獣医学研究科の微生物学教室では、北海道の家畜保健衛生所から分離された牛ウイルス性下痢ウイルス (BVD ウイルス) の遺伝子解析を2001年より継続している。本研究の意義についてご紹介させて頂きたい。

BVDとは

BVDとは牛に下痢、呼吸器症状、発育不良、泌乳量低下、繁殖障害など様々な症状を引き起こす疾病であり、それによる牛の生産性低下から畜産経済に被害を与えている^[1]。そのため、本疾病は国際獣疫事務局 (OIE) の定める「家畜の重要疾病リスト」に加えられており、日本でも届出伝染病に指定されている。本疾病は清浄化が成し遂げられた北欧諸国を除く世界各地で発生している。国内での発生は全国各地で認められ、発生に季節性はない。

BVDの原因はBVDウイルスであり、ウイルスは感染牛の鼻汁、唾液、尿、糞便などに排出される。これらが他の牛の鼻、口、およびその他の粘膜に触れることで新たな感染が成立する。ウイルスが妊娠牛に感染すると胎盤感染し、流産や異常産を引き起こす。免疫応答が確立していない胎齢40~120日の胎仔にウイルスが感染すると、胎仔は持続感染牛として産まれる^[1]。BVDにおいてこの持続感染牛が最も問題となる。なぜなら、多くの持続感染牛は一見健康な牛と区別がつかないが、あらゆる体液からウイルスを多量に排出しており、周りへの感染源となるためである。持続感染牛に対する治療法はなく、放っておくと致死率100%の粘膜病を発症する。

したがって、確定診断後には持続感染牛を淘汰する必要がある。

BVDウイルスはその遺伝子により大きく1型、2型および3型 (HoBi 株様ウイルス) に分けられ、さらに1型は1a~1tの20種類、2型は2a~2cの3種類の亜型に分類される^[2]。なお、2型はこれまで2aおよび2b亜型が報告されていたが、2a亜型は2aおよび2c亜型に細分化された。ウイルスの抗原性は1型、2型および3型で顕著に異なり、一種類のウイルス抗原を含むワクチンでは異なる遺伝子型のウイルスによる発症を完全には予防できない^[3,4]。さらに、遺伝子亜型間でも抗原性に差があることが報告されている^[5,6]。よって、野外で分離されたBVDウイルスの遺伝子型別は、本疾病のコントロールにおいて重要な知見となる。

BVDの遺伝子診断にはRT-PCRあるいはリアルタイムPCRが用いられる。リアルタイムPCRではBVDウイルスの遺伝子型1、2および3を区別でき^[7,8]、RT-PCRでも遺伝子増幅産物の制限酵素切断パターンにより、遺伝子型を簡易的に区別できる^[9]。さらなる遺伝子亜型の解析には、ウイルス遺伝子の塩基配列を読んで系統樹解析を行う必要がある。

BVDウイルスの遺伝子解析

2001年より道内14か所の家畜保健衛生所から北海道の農場で分離された約1200株のBVDウイルスおよびそのRT-PCR産物の提供を受けた。これらのウイルスの5'非翻訳領域の塩基配列を決定し、系統樹解析にて遺伝子型別を行った。遺伝子型別により、分離ウイルスの約7割が遺伝子型1に区分され、さらに1a、1b、1cおよび1j亜型へ細分されることが分かった (図1)。残り3割の分離ウイルスは遺伝子型2に区分された。全ての遺伝子型2の分離ウイルスは2a亜型に区分された。近年では特に1bおよび2c亜型のウイルスの分離数が多かった。

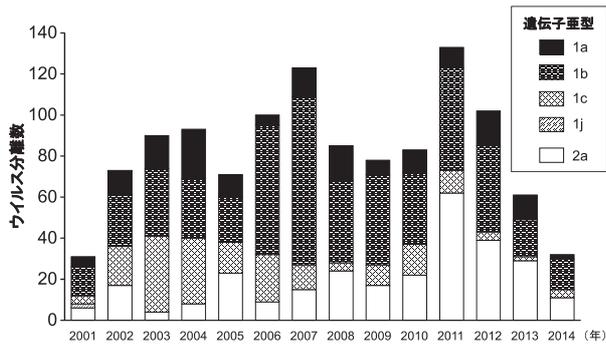


図1. 北海道で分離された牛ウイルス性下痢ウイルスの遺伝子亜型

本州でも同様に2000年代後半には1b亜型のウイルス、2011年以降には2c亜型のウイルスが多数報告されている(亀山ら、日本獣医師会獣医学術学会年次大会、2014)。

また、ウイルスが分離された牛の病態とウイルスの遺伝子亜型に相関は認められなかった(表1)。1990年代初めの北米や近年のオランダ、ドイツでは重症急性感染を引き起こす高病原性株2型ウイルスが分離されているが[10,11]、これまでに国内で高病原性2型ウイルスの分離報告はない。表1の通り持続感染牛はその多くが症状を示さないが、症状を示す個体も認められる。よって、同農場内で1頭でも摘発することができれば、引き続き行われる全頭検査で農場内全ての持続感染牛を摘発できる。

さらに、ウイルス遺伝子解析の成績を踏まえて本疾病の疫学的分析を行っている。遺伝的に近縁なウイルスがいかに広まったかを、持続感染牛の出生歴、母牛の移動歴などの情報を踏まえて分析する。例えば、同一ウイルスが同農場で流行し、持続感染牛が多発したことを幾度か突き止めた(図2)。この疫学的分析によって適切な防疫対策を提示することができる。

以上の遺伝子解析から得られた成績は、北海道大学から家畜保健衛生所にフィードバックされる(図3)。大

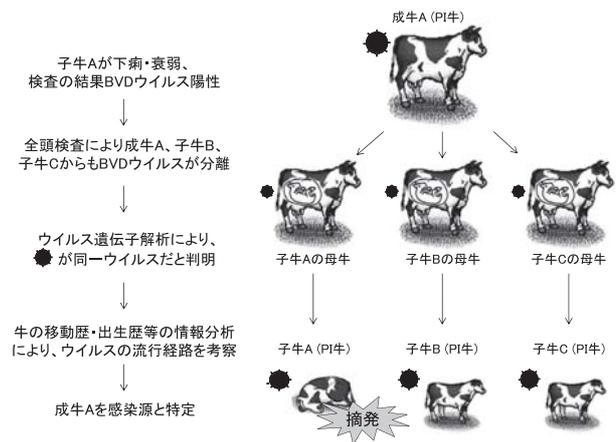


図2. 疫学的分析によるウイルス流行経路の考察

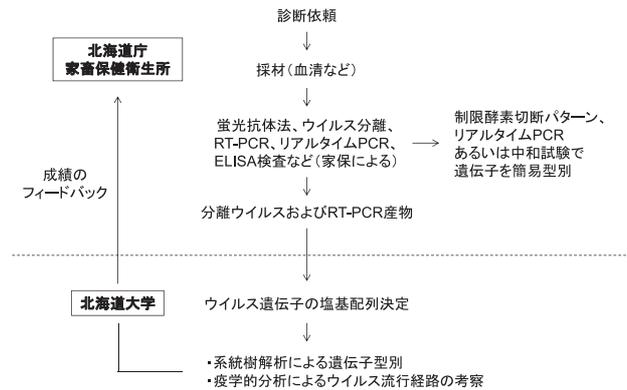


図3. 家畜保健衛生所と協力したBVDの疫学調査

学と現場の連携により、今後もBVDの積極的な対策が継続されることを期待する。

おわりに

BVDをコントロールするためには持続感染牛の摘発淘汰が鍵である。また、持続感染牛の出生数を減らすためのワクチン接種も重要である。ウイルスの抗原性は遺伝子型および遺伝子亜型と相関することが多いため、疫学調査を踏まえて野外で流行するウイルスに効果的なの

表1. BVDウイルスの遺伝子亜型と持続感染牛の病態

遺伝子型	遺伝子亜型	症状あり ^{a)}	症状なし	不明	合計
1型	1a	100	63	0	163
	1b	177	318	17	512
	1c	75	117	0	192
	1j	0	1	1	2
1型合計		352	499	18	869
2型	2a	138	130	18	286

a) 下痢、発育不良、呼吸器症状、発熱、出血性症候群、異常産、粘膜病、致死、神経症状および口内炎

クチンが用いられることが望まれる。BVDによる被害を最小限にするためにも、今後も疫学調査を継続し、適切な防疫対策を提示していきたい。

謝 辞

道内14か所の家畜保健衛生所から BVD ウイルスを提供頂きました。この場を借りて感謝申し上げます。また、各年のウイルス遺伝子解析にご参加頂きました家畜保健衛生所職員の皆様には重ねてお礼申し上げます。

引用文献

- [1] 明石博臣他 編：動物の感染症、第三版、95-96、近代出版、東京（2011）
- [2] Peterhans E, Bachofen C, Stalder H, Schweizer M : Cytopathic bovine viral diarrhoea viruses (BVDV) : emerging pestiviruses doomed to extinction, *Vet Res*, 41, 44 (2010)
- [3] Ridpath JF : Practical significance of heterogeneity among BVDV strains : impact of biotype and genotype on U.S. control programs, *Prev Vet Med*, 72, 17-30 (2005)
- [4] Bauermann FV, Flores EF, Ridpath JF : Antigenic relationships between bovine viral diarrhoea virus 1 and 2 and HoBi virus : possible impacts on diagnosis and control, *J Vet Diagn Invest*, 24, 253-261 (2012)
- [5] Nagai M, Hayashi M, Ito M, Fukutomi T, Akashi H, Kida H, Sakoda Y : Identification of new genetic subtypes of bovine viral diarrhoea virus genotype 1 isolated in Japan, *Virus Genes*, 36, 135-139 (2008)
- [6] Ridpath JF, Fulton RW, Kirkland PD, Neill JD : Prevalence and antigenic differences observed between bovine viral diarrhoea virus subgenotypes isolated from cattle in Australia and feedlots in the southwestern United States, *J Vet Diagn Invest*, 22, 184-191 (2010)
- [7] Letellier C, Kerkhofs P : Real-time PCR for simultaneous detection and genotyping of bovine viral diarrhoea virus, *J Virol Methods*, 114, 21-27 (2003)
- [8] Liu L, Xia H, Belák S, Baule C : A TaqMan real-time RT-PCR assay for selective detection of atypical bovine pestiviruses in clinical samples and biological products, *J Virol Methods*, 154, 82-85 (2008)
- [9] 山口修、迫田義博、佐藤満雄、中村成幸、福所秋雄 : RT-PCRによるペスチウイルスの検出と制限酵素切断パターンによる識別、*日獣会誌*、50、639-644（1997）
- [10] Bolin SR, Ridpath JF : Differences in virulence between two noncytopathic bovine viral diarrhoea viruses in calves, *Am J Vet Res*, 53, 2157-2163 (1992)
- [11] Gripshover EM, Givens MD, Ridpath JF, Brock KV, Whitley EM, Sartin EA : Mixed triple : allied viruses in unique recent isolates of highly virulent type 2 bovine viral diarrhoea virus detected by deep sequencing, *J Virol*, 88, 6983-6992 (2014)