

## 地方病性牛白血病を発症した牛における組織中の牛白血病ウイルス量の測定とウイルス量に基づいた診断法の検討

○野一色香織 山本直樹 亀田真吾  
島根県食肉衛生検査所

### はじめに

と畜場で腫瘍性病変が認められた場合、その病変の種類により、その後の対応は異なる。腫瘍が肉芽腫などの炎症性病変であった場合、または単発の腫瘍性病変であった場合は当該部位のみを廃棄する部分廃棄となり、同一の腫瘍性病変が複数箇所認められた場合は、多発性腫瘍としてと畜場法にもとづいて全部廃棄となる。また、腫瘍を形成する疾患の中でも、牛白血病は家畜伝染病予防法により届出伝染病に指定されており、牛白血病と診断された場合は、腫瘍病変の数に関わらず全部廃棄となる。

牛白血病は体表及び体腔内リンパ節の腫大、更に各種臓器における腫瘍形成等を呈す疾患である。そのほとんどはリンパ性白血病であり、以下のように分類される。すなわち、牛白血病ウイルス (bovine leukemia virus : 以下 BLV) の感染により引き起こされる地方病性牛白血病 (以下 EBL) と原因不明の散发型牛白血病である。近年、BLV の蔓延とそれに伴う EBL の増加により、と畜場における牛白血病の摘発数も年々増えつつある [1]。

牛白血病の診断にあたり、牛が複数の腫瘍性病変を有している場合は、診断は比較的容易である。しかし、腫瘍性病変が少ない場合、局所の炎症などとの鑑別が難しい場合もあり、慎重な判断が求められる。

近年、EBL 牛ではリンパ節中の BLV 遺伝子コピー数が高いことが報告されている[2]。これを受け今回、組織中の BLV 遺伝子コピー数が EBL 発症の指標になるのではないかと考え、EBL 診断における組織中の BLV 遺伝子コピー数の診断意義 (実験 1) 並びに実際の症例における活用法 (実験 2) を検討した。

### 実験 1

#### (1) 症例

平成 31 年 2 月～令和元年 12 月にと畜された牛 11 頭。病畜もしくは一般畜として搬入され、解体後検査にて牛白血病を疑い、精密検査の後 EBL と診断された 8 頭から得られた血液 7 検体、腫瘍部 8 検体、リンパ節 3 検体を EBL 牛の検体とした。リンパ節は腫脹が認められた物を採取し、内訳は腎門リンパ節、内腸骨リンパ節、乳房リンパ節がそれぞれ 1 検体であった。

また、比較対象 (非腫瘍形成牛) として牛白血病以外の理由で病畜として搬入された牛 3 頭から血液、脾臓、内腸骨リンパ節をそれぞれ 3 検体採取し、これも材料とした。

#### (2) 方法

血液は 200 $\mu$ l、腫瘍部およびリンパ節は 20mg を秤量し、DNA 精製キット (QIAamp DNA Mini Kit, キアゲン、東京) を用いて DNA を抽出し、リアルタイム PCR (CycleavePCR 牛白血病ウイルス (BLV) 検出キット、タカラバイオ、東京) により BLV を定量した。

#### (3) 結果および考察

EBL 牛 8 頭およびコントロール牛 3 頭の血液、組織から得られた BLV 遺伝子コピー数を表 1 に示した。

既報 [2] に従い、1000 コピーをカットオフ値とした場合、EBL 牛の内、血液と組織両方の BLV 遺伝子コピー数がカットオフ値を超えたものは、8 例中 2 例のみであり、血液中の BLV 遺伝子コ

ピー数と組織中の BLV 遺伝子コピー数は必ずしも関連しなかった。

血液中の BLV 遺伝子コピー数は EBL 牛の中でもばらつきが大きく、また、非腫瘍形成牛でも 1 例でカットオフ値以上の値が認められた。このことから、血液中の BLV 遺伝子コピー数は EBL 発症の確定診断にはならないと考えられる。

リンパ節並びに腫瘍組織では、すべての EBL 牛でカットオフ値以上のコピー数が認められ、非腫瘍形成牛ではリンパ節のコピー数はすべてカットオフ値以下であった。このことから、組織中の BLV 遺伝子コピー数ををはかることは、血液中の BLV 遺伝子コピー数ををはかるよりも EBL の診断において有用な可能性が示唆された。

表 1) 血液、各組織から得られた BLV 遺伝子コピー数

サンプル No.	コピー数		
	血液	リンパ節	腫瘍
EBL 1	173	-	5870
EBL 2	-	-	1060
EBL 3	466	-	4880
EBL 4	22	-	48700
EBL 5	31100	-	24800
EBL 6	20000	31600	1370
EBL 7	533	36300	2300
EBL 8	280	10600	14300
Control 1	0	0	-
Control 2	4110	706	-
Control 3	1.65	1.14	-

-: データなし

## 実験 2

### (1) 症例

牛 (交雑種)、雌、26 ヶ月齢。一般畜としてと畜場に搬入され、生体検査では肉眼的異常は認められなかった。解体後検査において左右の子宮角の肥厚が認められたため、腫瘍性病変または炎症を疑い、精密検査を実施した。なお、子宮以外の諸臓器やリンパ節には肉眼的異常は認められなかった。

### (2) 方法

定法に従い、採取した組織をホルマリン固定し、パラフィン包埋を行った後、ヘマトキシリン・エオジン (HE) 染色を実施した。また、実験 1 と同様の方法で血液、脾臓、内腸骨リンパ節、子宮から DNA を抽出し、リアルタイム PCR を実施した。

### (3) 結果および考察

病理組織学的検査では、子宮において独立円形のリンパ球様腫瘍細胞がびまん性に増殖してい

た。リンパ球様の細胞の浸潤は他臓器にも認められた。子宮はリンパ腫と考えられたが、他臓器におけるリンパ球浸潤は炎症性病変との鑑別が HE 組織像からは困難であった。

リアルタイム PCR では、BLV 遺伝子コピー数は血液で 280 コピー、脾臓で 588 コピー、内腸骨リンパ節で 10600 コピー、子宮組織で 14300 コピーであった。このことから子宮の腫瘍化には BLV が関与しており、リンパ節でも BLV が増殖していることが疑われたため、本症例を EBL と診断した。EBL においては末梢血リンパ球の増加が認められる白血型と、末梢血リンパ球の増加が認められない非白血型が存在し、非白血型では脾臓において腫瘍細胞の浸潤が認められないことが報告されている[3]。本症例も血液及び脾臓の BLV 遺伝子コピー数が低値であり、非白血型の可能性が考えられた。

## 結論

実験 1 及び実験 2 の結果から、組織中（腫瘍組織、リンパ節）の BLV 遺伝子コピー数は特に腫瘍数の少ない牛を診断する際は EBL 診断の指標として有用であると考えられた。

## 参考文献

- [1] 村上賢二ら：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] 宗村佳子ら：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
- [3] Oshima, K. *et al.*: Pathological Studies on Aleukemic Case of Bovine Leukosis, *Jpn. J. Vet. Sci.* 42, 297~309, 1980