

新型牛パピローマウイルス感染症の病態解明と防除法の開発

畠間 真一（(独) 農業・食品産業技術総合研究機構 動物衛生研究所）

hatama@affrc.go.jp

2000年以降、原因不明の牛の乳頭疾患が北日本の放牧施設で多発し、酪農業にとって大きな問題となっていた。罹患牛は、乳頭皮膚に形成された慢性の腫瘍性病変によって乳頭が変形し、搾乳が困難あるいは不可能な状態となり、重度の症例では廃用となって処分された。そこで本症の病態の特徴を解析して原因究明を行い、牛パピローマウイルス（BPV: bovine papillomavirus）による牛乳頭腫症がわが国で流行していることを明らかにした。病変組織から病原性の強い新型BPVを発見し、これが原因となることで従来から知られていた牛乳頭腫症よりも激しい症状を現し、生乳の生産性低下の要因となっていることを明らかにした。さらに本研究では、新型BPVによる牛乳頭腫症の流行調査と防疫対策、治療および診断法の開発、BPV関連疾病の多様性の解明を行ったので、その概要を紹介する。

はじめに

BPVは癌遺伝子を持つ小型のDNAウイルスで、牛の体表皮膚や粘膜に感染すると、感染部位に乳頭腫とよばれる腫瘍性病変を形成する。本ウイルスは、遺伝子型によって8型に分類され、この内BPV-1～6に腫瘍形成能があることが証明されている。人へは感染しないが、牛から牛への伝播は感染牛と非感染牛の間で直接接触したり、汚染した器具や飼育環境を介して間接触したりすることで起こる。一般的に牛乳頭腫症は良性疾患であり、地域や季節に偏りがなく散発的に発生し、腫瘍形成後数ヶ月から数年程度経過すれば自然治癒すると考えられてきた。ところが、2004～2005年に北海道や東北地方で発生した事例では、悪性転換しないものの同一農場内の90%以上の牛に集団発生し、発生に地域性や季節性が見られ、また自然治癒が殆ど見込めず、重症化し、治療困難であるなど、従来型の牛乳頭腫症とは異なる特徴を有していた（図1）。

新型BPVの発見

罹患牛から病変を切除し、病理組織学およびウイルス学的検査を実施することで、本症を牛乳頭腫症と診断した。また同時に、これまでに報告されているBPVとは異なる遺伝子型のBPV遺伝子断片を2種類検出した。両ウイルスのゲノム塩基配列を全て特定し、遺伝子構造の比較解析を行った結果、これらはいずれもグザイパピローマウイルス（Xi-PV）属に属する新型BPVであることが明らかとなり、発見の順にBPV-9、BPV-10と命名した（図2）。より広



図 1.牛乳頭腫症によって変形した牛の乳頭
（引用文献 1）

範囲な調査を行った結果、さらにBPV-11とBPV-12が乳頭および乳頭以外の体表皮膚の乳頭腫から見つかり、いずれもXi-PV属の新型BPVであることが確認された(図2)。また未同定ではあるが、新型ウイルスの可能性が示唆されるBPV遺伝子断片が、さらに2種類見つかっている(BPV/JPN-NIAH2、BPV/JPN-NIAH3)(図2)。

これら新型あるいは新型の可能性が示唆されるウイルスの内、BPV-9に関しては牛を使った感染試験によって腫瘍形成能を証明し、上述の牛乳頭腫症集団発生の原因となり得ることを確認した。BPV-10～12に関しては、今後感染試験等による腫瘍形成能の証明を行う予定である。

BPV-9による牛乳頭腫症は、新たに見つかった生乳生産の阻害要因として国内外で注目されている。

牛乳頭腫症の流行調査と防除対策

次に全国的なBPV浸潤状況の調査を行い、新型ウイルスを含む全ての遺伝子型のBPV(BPV-1～12)が、わが国の牛から検出されることを確認した。

また牛乳頭腫症の流行調査によって、BPV-9による牛乳頭腫症は①南日本より北日本、②舎飼牛より放牧牛、③放牧地の中でも特に川に隣接した場所で発生しやすいこと、さらに④昆虫の吸血痕と一致した乳頭の部位から乳頭腫が発生すること、⑤春に放牧を開始した育成牛群において夏以降一斉に発病が認められ、晩秋から初冬にかけて次第に重症化することなどが確認された。

これらの調査結果から、昆虫による乳頭皮膚の吸血と乳頭腫症発生との関連性が疑われた。そこで、牛乳頭腫症多発農場における昆虫駆除対策を実施したところ、新たに発病や重症化する個体数が激減した。ただし、昆虫がBPV-9等を媒介することを証明できていないため、現時点では接触によって体表皮膚に付着したウイルスが刺咬傷から皮膚の奥へと侵入して感染し、その後数ヶ月の潜伏期間を経て発症するという感染および発病のメカニズムを想定している。いずれにしても昆虫駆除による防除対策は、現在BPV-9による牛乳頭腫症に対して最も効果的な防除法であり、疾病多発農場において施行されている。

新たな治療および予防法の開発

従来から知られている牛乳頭腫症に対して、①用手、凍結、結紮等による除去法や、②ヨクイニン末など薬物投与方法、③自家ワクチンの接種による免疫付与方法などが治療法として行われてきた。しかしこれらの方法は、BPV-9による牛乳頭腫症に対しては効果的でなかったた

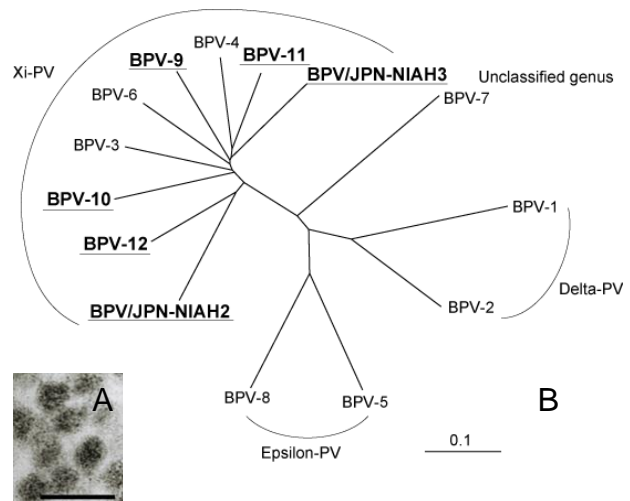


図 2. (A)感染細胞の核内に多数認められるウイルス粒子。スケールバーの長さは100nmを表す。(引用文献9) (B) BPV ゲノム(主要外殻蛋白領域)の塩基配列を用いて作成した分子系統樹。線の長さは各ウイルス間の遺伝学的な差を、下線表記されたものは本研究で見つかったウイルスを表す。

め、新たな治療法の開発に取り組んだ。様々な方法を試行した中で、インターフェロン α 製剤の経口投与やヒノキチオール製剤の患部への塗布によってある程度の腫瘍退縮効果が認められることを見出した。しかし、これらの治療法を用いたとしても牛乳頭腫症を根治させることは困難なため、上述した昆虫駆除対策を併用することが望ましい。

診断法の開発

牛乳頭腫症の類似疾病は多く、防除対策の実施に際して正確な診断が必要とされる。そこで、牛乳頭腫症の原因となるBPVの遺伝子型を特定するための方法として、遺伝子型別診断法の確立を試みた。まずBPVに特異的なPCRプライマーを構築し、これを用いたPCR法の有用性を確認した。さらにPCR増幅産物を遺伝子解析することで、BPVの遺伝子型を正確に特定できることがわかった。この方法は、従来行われてきたPCR法よりも効率的にBPVを検出できるため、新たな診断法として全国の家畜保健衛生所で利用されている。

また、迅速で簡便なリバーシブル・ラインプロット・ハイブリダイゼーション法や、リアルタイムPCR法による遺伝子型別法を開発した。ただし現時点では、前述のPCRおよび遺伝子解析を組み合わせた方法の方がより正確に診断可能なため、今後さらなる改良を行う必要がある。

一方、実験室内での診断ができない場合等を想定し、腫瘍の肉眼像と臨床症状の観察だけで診断できる簡易類症鑑別法を提案した。本法は、臨床獣医師が現場で診断するための基準として広く利用されている。

BPV関連疾病の多様性の解明

BPVの遺伝子型別診断を行うために開発したプライマーを使って、様々な牛の腫瘍性病変からBPVの検出を試みた。その結果、筋血管周皮腫や筋線維芽細胞腫、乳頭状趾皮膚炎から特定の遺伝子型のBPVを検出した。現在、ウイルス感染と腫瘍形成との因果関係の解明を行っている。BPVは牛乳頭腫症だけでなく、様々な上皮系および間葉系細胞由来の腫瘍を形成する可能性があるため、BPV関連疾病の家畜生産性低下要因としての重要性は、今後益々大きくなっていくと考えられる。

今後の展開

新型BPVによる牛乳頭腫症は、前述した対策等によって2004～2005年の大流行以降、徐々に沈静化する傾向にある。しかし本疾病は農場に常在化しやすく、根絶が困難であることから、断続的に流行が繰り返されることが予測される。今後も継続的な流行調査や、診断法の高度化、ワクチン開発等の研究を行い、より確実な防疫対策を確立していくことが重要である。

謝辞

本研究は、農研機構・動物衛生研究所において行ったものであり、同研究所の門田耕一博士、菅野徹博士をはじめ多くの方々のご指導、ご助言に厚く御礼申し上げます。また北海道

日高家畜保健衛生所の信本聖子先生、元宮城県登米家畜保健衛生所の長内利佳先生をはじめ、乳頭腫症流行調査にご協力下さった全国の家畜保健衛生所の皆さまにも心より御礼申し上げます。さらに、本賞にご推薦を頂きました動物衛生研究所の濱岡隆文所長はじめ関係各位の皆さまに深く感謝いたします。

引用文献

1. Shinichi Hatama (2011) Bovine papillomatosis, Journal of Disaster Research, in press.
2. Shinichi Hatama, Ryoko Ishihara, Yasuko Ueda, Toru Kanno, Ikuo Uchida (2011) Detection of a novel bovine papillomavirus type 11 (BPV-11) using Xipapillomavirus consensus polymerase chain reaction primers, Archives of Virology 156(7), 1281-1285.
3. Shinichi Hatama (2011) Xipapillomavirus Papillomaviridae, The Springer Index of Viruses-second edition, Tidna C. A., Darai, G eds., part 58, 1089-1092.
4. Shinichi Hatama (2011) Epsilonpapillomavirus Papillomaviridae, The Springer Index of Viruses-second edition, Tidna C. A., Darai, G eds., part 58, 1057-1060.
5. Wei Zhu, Jianbao Dong, Erika Shimizu, Shinichi Hatama, Koichi Kadota, Yoshitaka Goto, Takeshi Haga (2011) Characterization of novel bovine papillomavirus type 12 (BPV-12) causing epithelial papilloma, Archives of Virology, in press.
6. 島間真一 (2010) きちんと知っておきたい牛の感染症 牛乳頭腫症, Dairy Japan 55(15), 64-65.
7. 島間真一 (2010) 新型牛パピローマウイルスとその関連疾患に関する最新の知見, 動物衛生研究所研究報告 116, 21-28.
8. Shinichi Hatama, Tomoko Nishida, Koichi Kadota, Ikuo Uchida, Toru Kanno (2009) Bovine papillomavirus type 9 induces epithelial papillomas on the teat skin of heifers, Veterinary Microbiology 136(3-4), 347-351.
9. 島間真一 (2009) 新型牛パピローマウイルスによる難治性牛乳頭腫症の集団発生, 動衛研ニュース 33, 4.
10. Shinichi Hatama, Kiyoko Nobumoto, Toru Kanno (2008) Genomic and phylogenetic analysis of two novel bovine papillomaviruses, BPV-9 and BPV-10, Journal of General Virology 89, 158-163.
11. 島間真一 (2008) 牛乳頭腫症, 病性鑑定マニュアル第3版, 124-125.
12. 信本聖子, 和田好洋, 島間真一 (2008) 公共牧場入牧牛に流行した牛パピローマウイルスによる乳頭の乳頭腫症, 北海道獣医師会雑誌 52(1), 7-10.
13. Yukiko Maeda, Tomoyuki Shibahara, Yoshihiro Wada, Koichi Kadota, Toru Kanno, Ikuo Uchida, Shinichi Hatama (2007) An outbreak of teat papillomatosis in cattle caused by bovine papillomavirus (BPV) type 6 and unclassified BPVs, Veterinary Microbiology 121(3-4), 242-248.
14. 島間真一, 菅野徹, 信本聖子, 長内利佳 (2007) 流行が拡大する牛乳頭腫症, 臨床獣医 25(1), 29-33.
15. 島間真一, 信本聖子, 前田友起子, 菅野徹 (2007) 新型牛パピローマウイルスによる牛乳頭腫症の集団発生事例, 畜産技術 623, 30-33.
16. 島間真一 (2007) 牛の乳頭皮膚に発生するウイルス性疾病, 宮城県獣医師会雑誌 60(4), 134-138.
17. 島間真一 (2007) 牛乳頭腫症と上手につき合う, Dairy Japan 52(15), 30-32.

Studies on prevention of novel bovine papillomaviruses causing severe epithelial papillomatosis in cattle

Shinichi Hatama (National Institute of Animal Health, National Agriculture and Food Research Organization)
hatama@affrc.go.jp