

# ハイリスク牛摘発と優先淘汰進め、 畜産被害軽減と生産性向上

## 牛リンパ腫早期診断技術用いた「がん検診」の可能性

北海道大学大学院獣医学研究院病原制御学分野教授 今内 覚

同招へい教員・㈱ファスマック事業開発部研究員 岡川 朋弘

牛のリンパ腫発症予測技術開発の背景とその概要に触れた上で、解析技術の改良と実験手技簡便化の狙いおよび試薬キットの特徴、さらには試薬キットを含む診断技術普及の意義などについて解説する。(編集部)

### 日本の牛の35%以上が感染、 全頭淘汰による清浄化は極めて困難

牛のリンパ腫(牛伝染性リンパ腫=enzootic bovine leukosis (EBL))の発症が急増している。EBL発症牛は、畜産業に大きな経済的損失をもたらしているが、予防可能なワクチンや治療法はいまだ存在しない。被害を未然に防ぐためには、EBL発症リスクを評価し、高リスク牛の管理・選択的淘汰をすることが求められていた。

北海道大学は原因ウイルスを網羅的に解析するライジング(RAISING)法を開発し、牛のリンパ腫を早期に診断することに成功した。本法は既に日本の14研究機関における多施設検証試験が実施され、実験間誤差の小ささと再現性の高さも確認済みである。今後、本開発技術を用いた「牛のがん検診」を広く普及させることで、農場でのEBL発症を未然に防ぎ、経済的な損失を軽減するとともに、牛肉の安定的な生産・供給に貢献することが期待される。

なお、今回紹介する「牛のがん検診」は㈱ファスマックで実施可能だ(アドレス: ngs@fasmac.co.jp、参考URL: [https://fasmac.co.jp/rais\\_method\\_case](https://fasmac.co.jp/rais_method_case))。

EBL(旧名:牛白血病、図1)は、日本では家畜伝染病予防法で家畜の重要疾病(監視伝染病)に指定されている。EBLの発症牛は届け出義務があり、その発症数は2024年には4,420頭に上り、牛の監視伝染病の中で最多である。1998年の発症数(99頭)と比べると、その数は44倍以上に増加している。有効なワクチンや治療法がない故、増加に歯止めがかかっていない(図2)。

リンパ腫を発症した牛は淘汰対象となり、牛乳や食肉の生産に用いることはできず全廃棄となる。仮に非常に高価な牛であってもリンパ腫が見つければ、全廃棄とな

り売却できないだけでなく、感染後から発症牛に投じた餌代、飼育費、人件費などのそれまでに投じた経費と費やした時間の全てが水の泡に消える。

地域によって

異なるが、食肉衛生検査所における牛の全廃棄の原因の約70%がEBLという報告もあり、A5ランクの牛など高価な牛に廃棄命令を出す担当獣医師からは、心情的にも非常につらいとの悲痛な声も多く聞かれる。EBLは短期間で日本の畜産業に甚大な被害をもたらす家畜衛生上の重大な課題となってしまった。早急な対策を求める声は多いものの、既に日本の牛の35%以上が原因ウイルスに感染しているとされ、感染牛の全頭淘汰による清浄化の実施は極めて困難な状況だ。

### EBL牛で上昇するクローナリティを基盤に評価

EBLは主に牛伝染性リンパ腫ウイルス(bovine leukemia virus: BLV)の感染により引き起こされ、地方病性牛伝染性リンパ腫(enzootic bovine leukosis: EBL)と呼ばれるリンパ腫を発症し、死に至る。BLV感染症の診断法は、主に感染有無の検査のみにとどまっており、EBLを発症する個体を予測することはできない。EBLを発症していても体表のリンパ節のみが腫脹(しゅちよう)するとは限らず、体内で発生したリンパ腫を診断するのは極めて困難である。

BLVをはじめとするレトロウイルスは、感染細胞のゲノムDNAにプロウイルスとして組み込まれ、持続感染する。プロウイルスが挿入されるゲノム位置はランダムで、感染細胞によって異なる。リンパ腫を発症していない感染牛ではさまざまな感染細胞が存在しているため、多様なプロウイルス挿入部位が認められ、感染細胞の単一性(クローナリティ)は低くなる(図3)。

図1 牛伝染性リンパ腫発症牛



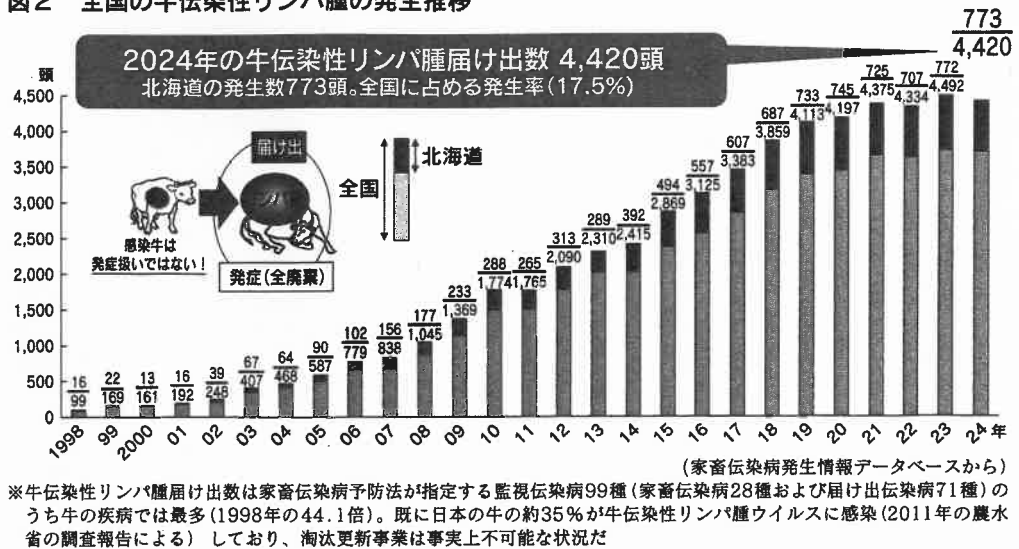
リンパ腫を発症したEBL牛では特定の感染細胞が異常増殖しているため、特定のプロウイルス挿入部位の占める割合が上昇し、感染細胞のクローナリティが高くなる(図3)。感染ウイルス量が多い牛でも、クローナリティが低い牛がいる一方、特定の感染細胞が異常増殖しているEBL牛ではクローナリティが高いことになる。そこで、クローナリティを基盤に評価するBLVのプロウイルス挿入部位の増幅技術を開発した。

**従来よりも迅速で簡便かつ低コストながら  
高感度・高精度に解析可能**

人の成人T細胞白血病/リンパ腫(ATL)の原因は、BLVに近縁なレトロウイルスであるヒトT細胞白血病ウイルス1型(Human T-cell leukemia virus type 1: HTLV-1)の感染である。HTLV-1の感染者のほとんどは無症状(キャリア)だが、リンパ腫を発症すると予後が不良なことから、がん細胞の早期の検出が極めて重要である。その早期診断法としてHTLV-1の遺伝子組み込み部位の同定や遺伝子組み込み細胞のクローナリティを測定することが考えられていた。

国立感染症研究所の齋藤益満主任研究員らは、HTLV-

図2 全国の牛伝染性リンパ腫の発生推移



1の遺伝子導入部位を検出することにより、クローナリティを評価するプロウイルス挿入部位の網羅的増幅ライジング(RAISING: Rapid Amplification of the Integration Site without Interference by Genomic DNA Contaminationの略)を開発した。

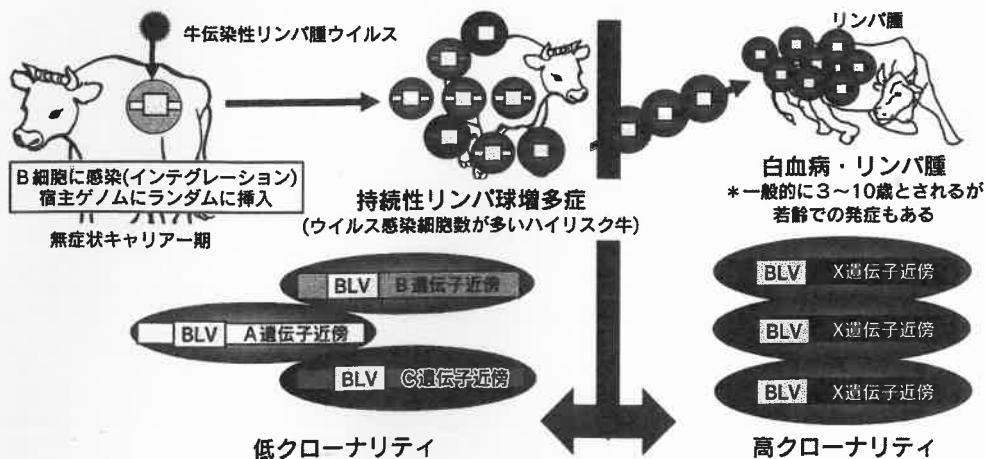
RAISINGは従来のクローナリティ解析技術よりも迅速で(3時間で増幅完了)、簡便かつ低コストな方法(特殊な試薬や高額な解析機器を必要としない)でありながら、高感度・高精度にクローナリティを解析可能な技術である。

さらに、齋藤主任研究員らはクローナリティの程度を正確に数値化することが可能な独自の解析ソフト(CLOVA)も開発し、HTLV-1に感染した688人のサンプルを用いてRAISINGの有用性を検証した。その結果、RAISINGはATL患者のクローナリティ値を感度100%、特異度94.8%で識別できることが確認され、ATLリスク評価として極めて有用な診断法であることを報告した(Wada et al., 2022)。

同時に齋藤主任研究員らは北海道大学との共同研究によってRAISINGを同じレトロウイルスを原因とするEBLにも応用した。

これによって、RAISINGは、ATL患者の解析結果同様に、EBL発症牛と未発症キャリアーをクローナリティ値によって識別可能であることが確認されたのである(Wada et al., 2022/28頁-図4)。

図3 BLV感染牛における感染細胞の単一性(クローナリティ)の違い



プロウイルスが挿入されるゲノム位置はランダムで感染細胞によって異なる。リンパ腫を発症したEBL牛では特定の感染細胞が異常増殖しているため、特定のプロウイルス挿入部位の占める割合が上昇し、感染細胞のクローナリティが高くなる



## 7年間の牧場実習を経て酪農団体へ

このたびご縁があり、本コーナーの執筆を担当することになった。しばらくの間、お付き合いいただければ幸いである。

社会人となってから、ひたすら前を向いて走り続けてきたが、気が付けば酪農の世界に身を置いて30年がたとうとしている。これまでの経験を通じて感じたことや、生産現場での気付き、日々の業務の中で考えたことを、肩の力を抜いてつづっていこうと思う。

初めてとなる今回は私自身の歩みについて少し紹介したい。

大学は工学部で化学を専攻していたが、体育会系のヨット部に入部したことで生活は一変した。平日はヨット部のためのアルバイト、週末はヨット合宿という生活を続けるうちに、次第に学業との両立が難しくなり、結局は大学2年で退学することになった。

退学後は、実家で働きながらお金をため、いずれ海外留学でもしようと考えていた。しかし、母はその考えをきっぱりと否定した。

「大学をやめたあなたは、もう立派な社会人です。来月からは家を出て自分で生活しなさい」。そう告げられた。

当時の私は貯金もなく、アパートを借りるための敷金・礼金を用意することすらできなかった。頼れるのは求人誌だけであり、住み込みで食事付きの仕事を探すしかなかった。そうして出会ったのが、それまで一度も関心を持ったことのなかった酪農の仕事だった。

20歳の春、北海道オホーツク管内訓子府町で酪農実習生としての生活が始まった。実習先の牧場はつなぎ牛舎で60頭、フリーストール牛舎に200頭、種雄牛15頭も飼養。当時としては大規模な牧場だった。

牧場での一日は、朝4時の起床から始まる。搾乳牛の追い込み、搾乳、除糞、給餌、発情チェック、授精、治療、牛洗い、そして夕方の搾乳と給餌を終えると夜9時だ。帰宅後は午後10時に就寝するという生活を繰り返した。通常作業の他にも、分娩、除角、削蹄、さらには牧草や麦稈の収穫作業もあり、まさに牛と共に生きる毎日であった。

北海道での3年間を経て、その後は地元・九州の牧場で4年間働いた。こうして計7年間、酪農の現場で汗を流した後、現在所属する酪農関連団体に入った。以来、気が付けば23年が過ぎたことになる。

振り返ってみると、偶然のように始まった酪農との関わりが、今では人生そのものを形づくっている。これまでの歩み、そしてその後の酪農界との関わりの中で感じることを来月号から提言していく。

【キューちゃん】

## クローナリティ値をマーカーとして診断、感度 87.1%と高精度で鑑別

BLV感染牛を対象にRAISINGの増幅感度や再現性を検証した。すなわち、国内の農場で発生したBLV感染牛

(AL、PL、EBL)287頭の血液ならびに169検体の腫瘍検体を用いて、RAISINGによりプロウイルス挿入部位を増幅し、CLOVAを用いてBLV感染細胞のクローナリティ値を解析した。さらに、クローナリティ値あるいはこれまでのEBL診断マーカーだったプロウイルス量を用いてEBLの鑑別診断を試み、感度と特異度を算出して、EBLの診断法としての有用性を検証した。その結果、BLVを標的としたRAISINGは高感度、高精度であることが示され、高い再現性で感染細胞のクローナリティを測定することはできなかった。

さらにBLV感染牛のクローナリティ解析を実施したところ、クローナリティ値は未発症牛(AL、PL)よりもEBLで高くなっていた(図5)。一方、従来の診断マーカーであったプロウイルス量はEBLとPLの血液検体で同程度であり、明確な差は認められなかった。実際にクローナリティ値をマーカーとしてEBL診断を試みたところ、感度87.1%、特異度93.0%と非常に高い精度でEBLを鑑別することができた(図5)。

プロウイルス量をEBL診断のマーカーにした場合は感度44.6%、特異度67.2

図4 RAISINGによるクローナリティ解析

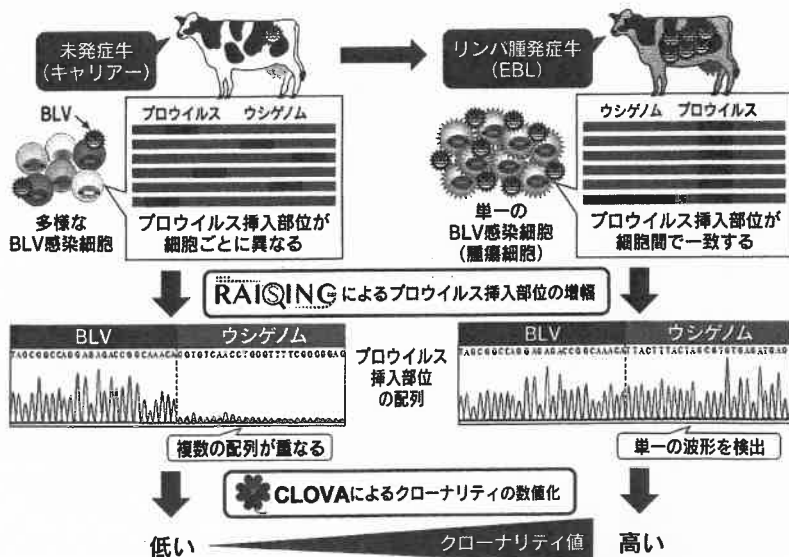
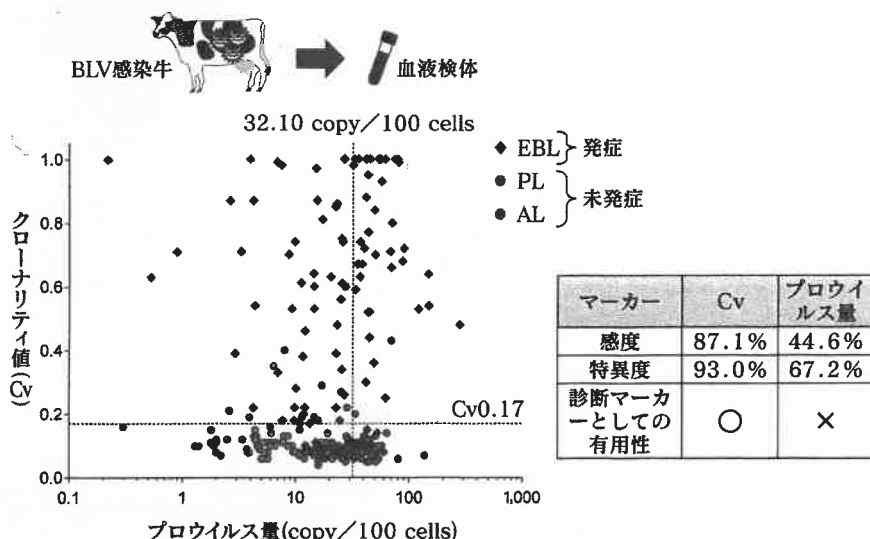


図5 診断マーカーとしてのクローナリティ値とプロウイルス量の比較



%となり、EBLと未発症牛を見分けることができなかった(図5)。興味深いことに、一部の未発症牛においてもクローナリティ値の高い個体が確認された。これらの症例については現在、追跡調査を実施しており、EBL発症の有無を検証している。

### 試薬キットを含む

#### 「牛のがん検診」の実用化を目指す

本研究により、RAISINGを用いたクローナリティ解析は、EBLの診断と発症予測に非常に有効な方法であることが示された。現在われわれは、RAISING試薬キットの市販化を目指して、研究コンソーシアムを形成し研究開発を進めている。

本開発技術を用いた「牛のがん検診」の実用化も目指しており、国内の大学や各検査所、臨床獣医師、農家とのネットワークを駆使して、本診断法の大規模な実証研究を進めている。

将来的に、牛のリンパ腫の発症を予測するがん検診が実用化されれば、発症ハイリスク牛の診断が可能となる(図6)。ハイリスク牛の摘発と優先淘汰を進めることによって、農場におけるEBLの発生を未然に防ぎ、畜産被

害の軽減ならびに生産性の向上に貢献することが期待される(図6)。



本技術開発は国立感染症研究所の齋藤益満主任研究員とファスマックの松平崇弘氏との共同研究により実現されました。本技術の畜産産業への応用に深謝いたします。

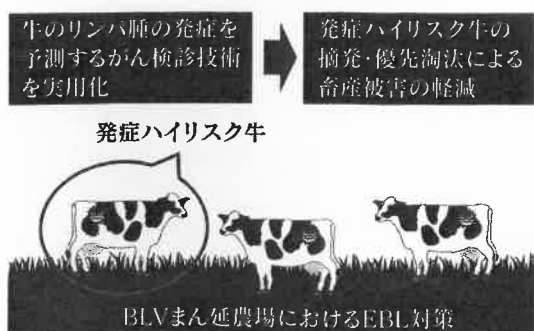
本研究は、(公財)伊藤記念財団大型研究プロジェクト事業、文部科学省科学研究費助成事業、農研機構生研支援センター・イノベーション創出強化研究推進

事業、ならびに革新的技術開発・緊急展開事業(うち地域戦略プロジェクト)、農林水産省「安全な畜産水産物安定供給のための包括的レギュラトリーサイエンス研究推進委託事業」および北海道大学大学院獣医学研究院臨床研究推進研究費の支援の下で実施されたもので、岩手大学(村上賢二氏、山田慎二氏)、北海道内の農業共済組合や食肉衛生検査所、北海道立総合研究機構農業研究本部畜産試験場、ゆうべつ牛群管理サービス、標茶町など牛伝染性リンパ腫対策に取り組む多数の機関との共同研究成果です。多くの共同研究者およびご協力いただきました皆さまに改めて深謝いたします。

#### 【参考文献】

- 1) Wada et al., *Commun Biol.* 2022 Jun 2;5(1):535.
- 2) Okagawa et al., *Microbiol Spectr.* 2022 Oct 13:e0259522.
- 3) 今内 寛ら (2022)「牛のリンパ腫発症を予測するがん検診技術を開発～発症予測法の実用化による畜産被害の軽減に期待～」プレスリリース(<https://www.hokudai.ac.jp/news/2022/10/post-1113.html>)
- 4) 今内 寛ら (2025)「牛リンパ腫発症予測診断技術RAISINGの精度の高さを証明～国内初の14研究機関による多施設検証試験を実施～」プレスリリース([https://www.hokudai.ac.jp/news/pdf/250328\\_pr.pdf](https://www.hokudai.ac.jp/news/pdf/250328_pr.pdf))

図6 牛伝染性リンパ腫の現状から考える将来像



#### プロフィール

##### こんないさとる

1971年生まれ、北海道斜里町出身。2003年北海道大学大学院獣医学研究科博士課程単位取得退学、04年同動物疾病制御学講座助手、07年同助教、08年同准教授、17年北海道大学大学院獣医学研究院病原制御学分野准教授、22年から現職。専門分野は感染免疫、臨床免疫、腫瘍免疫



制御学分野准教授、22年から現職。専門分野は感染免疫、臨床免疫、腫瘍免疫