

ウシ白血病発症抵抗性遺伝子型を指標とした発症牛及び育種集団の実態調査 及び育種改良への利用方法の検討

藤田達男 渡邊直人 佐藤文明 井上一之 赤峰正雄
*竹嶋伸之輔 *松本有生 *間 陽子 * : (独)理化学研究所

要 旨

牛白血病は家畜伝染病予防法に定める届出伝染病のひとつであり、本県ではここ数年、年間 50 頭前後が屠場で摘発されている。本病の発生は、生産者に経済的損失を与えるばかりでなく、安全・安心な「豊後牛」ブランドに負のイメージを与えかねない。(独)理化学研究所 Aida ら¹⁾の研究グループは、牛白血病発症抵抗性遺伝子が、主要組織適合複合体(MHC)にあることを突き止め、MHC のクラスⅡ 遺伝子群にある DRB3 遺伝子のアリルタイプによって発症抵抗性に差があることを報告している。そこで、(独)理化学研究所との共同研究により、大分県内の発症牛及び育種集団の実態調査、および遺伝子型と経済形質との関連性の解明に着手した。本県が所有する主な種雄牛 50 頭の遺伝子型を調べた結果、発症抵抗性遺伝子型は 8 %、感受性遺伝子型が 48 %、その他が 44 %であった。屠場で摘発された黒毛和種発症牛 14 頭のうち 10 頭が感受性型であり、これら発症牛の父 4 頭は感受性アリルホモ型であった。これらのことから本県の育種集団内では、感受性遺伝子が広く浸潤し、牛白血病発症と深く関わっていることが示唆された。肥育牛 345 頭のアリル型と遺伝子型を調べ、肉質などの経済形質との関係を調べた結果、BMS ナンバー、枝肉重量等 6 形質への影響はみられなかった。

(キーワード：ウシ白血病、発症抵抗性遺伝子、経済形質)

背景及び目的

牛白血病は家畜伝染病予防法に定める届出伝染病のひとつであり、本県では平成 15 年 54 頭、16 年 53 頭、17 年 49 頭の発生報告がある。ウシ白血病ウイルス(BLV)に感染したリンパ球がアブ、サシバエなどの吸血昆虫等により媒介される水平感染と、母から子に感染する垂直感染とがある。感染牛の多くは不顕性感染であり、病態が進むと 30 %がリンパ球増多症、2 ~ 3 %が 1 ~ 8 年以内に発症する²⁾。治療法が確立されていないため、発症すると農家の経済的損失は大きい。これまでに抗体陽性牛と陰性牛の隔離飼育によって水平感染を抑え、清浄化に成功した事例などが報告されているが、十分なスペースや施設などを要するため、効果的な防疫ができないことが課題である。

理化学研究所 Aida ら¹⁾は、ウシ白血病発症に対

する抵抗性遺伝子が、主要組織適合複合体(MHC)にあることを突き止めた。MHC のクラスⅡ 遺伝子群にある DRB3 遺伝子の 78 位アミノ酸がバリンである対立遺伝子をホモまたはヘテロで有するウシは発症抵抗性が高く、78 位アミノ酸がチロシンのホモ型接合体であるウシは発症の可能性が非常に高くなることを報告している。そこで、MHC 遺伝子型を指標として県内の発症牛及び育種集団の実態調査を行うとともに、遺伝子型と枝肉関係経済形質との関連性を明らかにし、肉用牛育種改良への利用方法について検討した。

試験方法

(1) 種雄牛の遺伝子型調査

主な種雄牛 50 頭の遺伝子型を調べ、発症と血統との関連性を調べた。

(2) 発症と遺伝子型との関連性調査

発症牛及び抗体陽性高齢未発症牛併せて 90 頭の遺伝子型を調べ、発症と遺伝子型の関係を調べた。

(3) 遺伝子型と経済形質との関連性調査

ヘテロ型種雄牛の後代去勢肥育牛 350 頭の遺伝子型を調べて、遺伝子型が肉質等の経済形質に及ぼす影響を調べた。

以上の遺伝子型検査は、独立行政法人理化学研究所に委託して行った。一方、発症抵抗性遺伝子型と経済形質との関連性の解析は、GLM プロシジャー (SAS institute Japan) を用いた最小二乗分散分析により行った。取り上げた経済形質として、目的とする BMS ナンバー (BMS.No) 以外に、枝肉重量 (CW)、日増体量 (DG)、ロース芯面積 (REA)、バラの厚さ (RT)、皮下脂肪の厚さ (SFT) について解析を行った。

とに、本県主要種雄牛 50 頭にみられたアレルを抵抗性 (R) 型、感受性 (S) 型、その他 (O) 型に分類し、それぞれのアレル頻度を表 1 に示した。

確認された抵抗性アレルは「0701」、「0101」の 2 種類で、その頻度は 0.04 と極めて少なかった。一方、感受性アレル「1601」の頻度は 0.29、その他は「0502」他 9 種類でアレル頻度は 0.67 であった。

表 1. 本県主要種雄牛50頭にみられたアレルタイプおよびアレル頻度

分類	アレルタイプ	アレル頻度
抵抗性 (R)	0701,0101	0.04
感受性 (S)	1601	0.29
その他 (O)	0502,0801,1101,他6種	0.67

結果および考察

(1) 種雄牛の遺伝子型調査

竹嶋ら³⁾は、ウシ MHC のクラス II 遺伝子群にある DRB3 遺伝子のアレルタイプとウシ白血病発症抵抗性の関連性について報告している。この報告をも

表 2. 本県主要種雄牛50頭の遺伝子型分類

遺伝子型	頭数	合計	頻度
抵抗性型	RS RO	2 2	4 0.08
感受性型	SS SO	3 21	24 0.48
中間型	OO	22	22 0.44

表 3. 屠場で摘発された (2007年4~12月) 黒毛和種牛白血病牛の遺伝子型および検査所見

No.	品種	性別	月齢	遺伝子型			父遺伝子型	BLV抗体価 (受身HI)	BLVプロウイルス	診断名
1	黒毛和種	去勢	21	1501/1601	SO	感受性型	?	1024	+	牛白血病
2	黒毛和種	♀	57	1501/1601	SO	感受性型	00	512	+	牛白血病
3	黒毛和種	♀	63	0201/1501	00	中間型	?	2048	+	牛白血病
4	黒毛和種	♀	73	1001/1501	00	中間型	?	512	+	牛白血病
5	黒毛和種	♀	99	1601/1601	SS	感受性型	SS	2048	+	牛白血病
6	黒毛和種	♀	126	1501/1601	SO	感受性型	?	512	+	牛白血病
7	黒毛和種	♀	128	1601/1601	SS	感受性型	SS	512	+	牛白血病
8	黒毛和種	♀	132	0801/1601	SO	感受性型	?	512	+	牛白血病
9	黒毛和種	♀	133	1201/1501	00	中間型	00	1024	+	牛白血病
10	黒毛和種	♀	138	1101/1201	00	中間型	00	1024	+	牛白血病
11	黒毛和種	♀	155	1501/1601	SO	感受性型	SS	2048	+	牛白血病
12	黒毛和種	♀	165	1601/1601	SS	感受性型	SS	4096	+	牛白血病
13	黒毛和種	♀	166	1101/1601	SO	感受性型	?	4096	+	牛白血病
14	黒毛和種	♀	179	1501/1601	SO	感受性型	SO	4096	+	牛白血病

Takeshima ら^{4), 5)} は、遺伝子型と発症抵抗性との相関解析から、SS 型、SO 型を感受性型、RO 型、RS 型を抵抗性型、OO 型を中間型と分類している。これに従うと、本県の種雄牛 50 頭は、抵抗性型 4 頭 (8%)、感受性型 24 頭 (48%)、中間型 22 頭 (44%) であり、感受性型が約半数を占める一方で、抵抗性型が極めて少ないことが判明した (表 2)。

(2) 発症牛の遺伝子型調査

大分県食肉衛生検査所において、2007 年 4 ~ 12 月に牛白血病患畜として摘発された 31 頭 (ホルスタイン種：15 頭、黒毛和種：14 頭、交雑種：2 頭) の遺伝子型を調査した。検出された遺伝子型は、ホルスタイン種と黒毛和種とでは大きく異なり、アレルタイプの構成比に顕著な差があった。黒毛和種発症牛 14 頭の遺伝子型と検査所見等を表 3 に示した。発症牛 14 頭中 10 頭 (71.4%) が、感受性 (S 型)

表 4. 1 年 1 産 10 産以上連産牛 38 頭の遺伝子型および臨床検査所見及び臨床検査所見

No.	品種	年齢	初産月齢	分娩間隔 (日)	産子数	遺 伝 子 型			父遺伝子型	WBC ($\times 10^2$)	RBC ($\times 10^4$)	BLV抗体価 (受身HI)
1	黒毛和種	17.7	22	360	11	1501/1601	SO	感受性型	SO	52	600	1,024
2	黒毛和種	17.7	25	361	13	0101/1501	RO	抵抗性型	00	57	519	1,024
3	黒毛和種	16.9	23	365	13	0201/1001	00	中間型	00	56	663	64
4	黒毛和種	16.8	25	358	11	0201/1302	00	中間型	SO	70	626	1,024
5	黒毛和種	16.7	24	355	11	1101/1501	00	中間型	00	55	728	512
6	黒毛和種	16.7	22	338	11	1302/new	00	中間型	SO	72	759	1,024
7	黒毛和種	15.9	23	360	10	0101/1501	RO	抵抗性型	SO	74	706	256
8	黒毛和種	15.9	23	341	10	1001/1601	SO	感受性型	?	88	700	256
9	黒毛和種	15.8	23	344	10	1101/1201	00	中間型	00	92	542	1,024
10	黒毛和種	15.7	23	349	11	1001/1101	00	中間型	00	54	650	16
11	黒毛和種	15.7	22	364	11	1001/1501	00	中間型	SO	105	769	1,024
12	黒毛和種	15.5	21	357	10	1101/1601	SO	感受性型	00	62	567	1,024
13	黒毛和種	15.5	24	355	11	1001/1501	00	中間型	00	81	501	1,024
14	黒毛和種	15.0	23	349	13	0201/0601	00	中間型	00	76	650	128
15	黒毛和種	14.9	27	357	12	1302/1601	SO	感受性型	00	60	655	256
16	黒毛和種	14.9	24	345	11	1601/1601	SS	感受性型	?	114	578	1,024
17	黒毛和種	14.6	22	360	13	1302/1501	00	中間型	00	86	519	256
18	黒毛和種	14.5	23	350	10	1501/20012	00	中間型	00	68	571	128
19	黒毛和種	13.8	25	333	10	1001/1601	SO	感受性型	?	118	784	1,024
20	黒毛和種	13.8	24	346	12	1101/1601	SO	感受性型	?	49	701	512
21	黒毛和種	13.7	22	360	10	0201/1101	00	中間型	00	62	611	1,024
22	黒毛和種	13.6	23	340	11	0902/1501	RO	抵抗性型	00	66	719	64
23	黒毛和種	13.6	23	362	10	0101/1201	RO	抵抗性型	00	81	639	1,024
24	黒毛和種	13.3	24	356	11	0201/1201	00	中間型	00	93	871	512
25	黒毛和種	13.2	25	358	11	1101/1501	00	中間型	00	72	688	1,024
26	黒毛和種	13.0	24	361	10	0201/1001	00	中間型	00	61	917	1,024
27	黒毛和種	12.9	25	358	11	1601/1601	SS	感受性型	SO	57	670	1,024
28	黒毛和種	12.7	23	361	10	0801/1501	00	中間型	00	76	602	1,024
29	黒毛和種	12.7	22	361	11	1101/1501	00	中間型	00	81	588	1,024
30	黒毛和種	12.7	26	356	10	1302/1501	00	中間型	00	70	630	1,024
31	黒毛和種	12.6	24	361	10	1501/1501	00	中間型	00	91	692	1,024
32	黒毛和種	12.5	24	364	10	0201/1101	00	中間型	00	82	624	1,024
33	黒毛和種	12.5	21	365	10	1101/1501	00	中間型	00	57	431	1,024
34	黒毛和種	12.0	22	355	10	1101/1601	SO	感受性型	00	109	739	1,024
35	黒毛和種	12.0	23	359	10	1501/1601	SO	感受性型	00	83	469	1,024
36	黒毛和種	11.9	23	360	10	1001/1101	00	中間型	00	73	595	256
37	黒毛和種	11.8	22	350	10	1101/1302	00	中間型	00	94	730	512
38	黒毛和種	11.4	23	337	10	1501/1601	SO	感受性型	00	118	609	1,024

アリル「1601」を保持しており、そのうち3頭(No.5、7、12)は「1601」アリルーホモ(SS)型であった。この3頭の父の遺伝子型はすべてSS型であり、No.11の父を含めて、発症牛14頭中4頭(28.6%)の父がSS型種雄牛であったことは、後述する抗体陽性高齢健康繁殖牛(表4)の父にSS型種雄牛が全くみられなかったことと比較して特徴的であった。

(3)抗体陽性高齢健康繁殖牛の遺伝子型調査

1年1産を10産以上繰り返した健康な黒毛和種雌牛38頭(全てBLV抗体陽性)の遺伝子型および臨床検査結果を表4に示した。と場摘発発症牛をまとめた表3と比較すると、抗体陽性高齢健康繁殖牛の遺伝子型では、感受性型が少なく、中間型が多いことと、発症牛では認められなかった抵抗性型が4頭確認されたことに大きな違いがみられた。ただ、ここで注目すべき点は、今後発症する可能性はあるものの、No.16、27は「1601」アリルーホモ型でありながら、約13歳以上まで正常に繁殖を繰り返し、健康に生存している事実である。本研究で取り上げている発症抵抗性遺伝子、感受性遺伝子は、あくまでも、発症しにくい、あるいは発症しやすい遺伝子であり、本遺伝子型により発症が全て決定される訳ではないことに注意しなければならない。

(4)と場摘発発症牛と抗体陽性高齢健康繁殖牛の遺伝子型

表3で示したと場摘発発症牛、表4で示したBLV抗体陽性高齢健康繁殖牛の遺伝子型分布を表5にまとめた。発症牛群では感受性型が約7割、中間型が3割、抵抗性型が皆無であったのに対して、抗体陽性高齢健康繁殖牛群では中間型が約6割、感受性型が3割、抵抗性型が1割となり、両群の遺伝子型構成に明らかに差が見られた。一方、表6に示したアリルの構成においても、発症牛群における感受性アリルの頻度は、抗体陽性高齢健康繁殖牛群におけるそれより明らかに高値であった。

表5. と場摘発発症牛とBLV抗体陽性高齢健康繁殖牛の遺伝子型分布

遺伝子型	発症牛(14頭)		抗体陽性健康牛(38頭)	
	頭数	(%)	頭数	(%)
抵抗性型	0	0.0	4	10.5
感受性型	10	71.4	11	28.9
中間型	4	28.6	23	60.6

表6. と場摘発発症牛とBLV抗体陽性高齢健康繁殖牛のアリル構成

アリル型	発症牛(14頭)		抗体陽性健康牛(38頭)	
	度数	頻度	度数	頻度
R型	0	0.000	4	0.053
S型	13	0.464	13	0.171
O型	15	0.536	59	0.776

※アリル=相同遺伝子、遺伝子型は一对のアリルの組み合わせ

(5)遺伝子型と枝肉関係経済形質との関連性解析

本県の育種集団内には高い頻度で「1601」アリルが存在し、発症に大きく関与していることが推察されたため、今後、「1601」アリルを育種集団から排除していくことが適当と考えられる。そこで、「1601」アリルを育種集団から排除したとき、肉質等の経済形質に及ぼす影響が無いかどうかを調べておく必要がある。小林ら⁶⁾は、黒毛和種にみられる遺伝性疾患であるクローディン16欠損症遺伝子型と産肉成績との間のアソシエーション解析を行っている。いっぽう、藤田ら⁷⁾は、ウシモリブデン補酵素欠損症の遺伝子型と産肉成績との関連性について、複数のヘテロ型種雄牛後代の枝肉記録の補正值(育種価)と生データを用いた解析を行っている。

本研究では、「1601」アリルの相同遺伝子が多数存在し、多くの遺伝子型があるため、アリル型または遺伝子型の2通りのアプローチから、経済形質に及ぼす効果について解析を行った。当场が保有する肉用牛経済形質解析用データベース及びDNAサンプルの中から、「1601」アリルーヘテロ型種雄牛6頭を選抜し、表7に示したようにBMSナンバー上位および下位、各々10～32%の後代去勢肥育牛合

表 7. 「1601」アリルヘテロ種雄牛 6 頭と各後代肥育牛のBMSナンバーを指標としたサンプル構成

種雄牛名	遺伝子型	後代サンプル数	BMSNo.育種価による抽出		検査頭数
			下位頭数	上位頭数	
FD	0201/1601	116	30	30	60
TN	0502/1601	414	41	40	81
IH	1302/1601	107	27	27	54
S4	1001/1601	82	26	26	52
IK	1101/1601	73	23	23	46
TS	1501/1601	81	26	26	52
合計	—	873	173	172	345

計 345 頭を抽出し、調査対象牛とした。

解析項目は、目的とする BMS ナンバー以外に、枝肉重量 (CW)、日増体量 (DG)、ロース芯面積 (REA)、バラの厚さ (RT)、皮下脂肪の厚さ (SFT) についても同様に解析を行った。

調査対象牛 345 頭の遺伝子型は、「1101/1601」(52 頭)、「1501/1601」(39 頭)、「1601/1601」(35 頭)、

「0201/1601」(18 頭)、「1302/1601」(18 頭)、「1201/1601」(17 頭)、「0201/1101」(14 頭)、「1101/1501」(12 頭)、その他合計 54 種類。アリル型(度数)は、「1601」(243)、「1101」(104)、「1501」(101)、「0201」(69)、「1302」(48)、「0502」(35)、「1001」(31)、「1201」(23)、「0701」(14)、「1103」(5)、「0902」(5)、「0801」(2)、「14011」(2)、その他合計 22 種類であった。

遺伝子型と経済形質との関連性の解析には、2通りの手法を試みた。1つは、肥育牛サンプル 345 頭の遺伝子型の中で少なくとも 2 頭以上にみられた遺伝子型 (30 種) を要因として、1つは、肥育牛 345 頭にみられたアリルの中で、頻度の高かったアリル上位 9 種 (「0201」、「0502」、「0701」、「1001」、「1101」、「1201」、「1302」、「1501」および「1601」) を要因として解析を行った。

表 8. アリル型と経済形質との関連性の解析結果

要因	自由度	不偏分散					
		BMS	CW	DG	REA	RT	SFT
種雄牛	5	4.31 **	3.29 **	21.86 **	36.95 **	56.58 **	59.7 **
アリル型	8	0.39	0.04	0.38	2.39	1.54	3.44
残差	645	—	—	—	—	—	—

**P<0.0001

表 9. 遺伝子型と経済形質との関連性の解析結果

要因	自由度	不偏分散					
		BMS	CW	DG	REA	RT	SFT
種雄牛	5	2.00 **	1.23 **	8.67 **	18.28 **	19.92 **	18.3 **
遺伝子型	29	0.26	0.08	0.43	1.95	1.84	3.22
残差	320	—	—	—	—	—	—

**P<0.0001

表 8 にアリル型を要因とした解析結果、表 9 に遺伝子型を要因とした解析結果を示した。いずれの解析方法においても、全ての項目で種雄牛を要因とする効果は有意 (P<0.0001) であったが、アリル型または遺伝子型を要因とする有意な効果は認められなかった。これらの結果から、「1601」アリルおよび

「1601」アリルを含む遺伝子型は、肉質等の経済形質に影響を及ぼさないことが示唆された。このことから、本県の肉用牛育種集団から感受性アリル「1601」を排除しても育種改良上の問題は無いと推察された。

本県の主要種雄牛 50 頭における R (抵抗) 型ア

リルの頻度は 4 % であり、また今回、遺伝子型を調査した発症牛、抗体陽性高齢健康繁殖牛、肥育牛の総数に占める R 型アリルの頻度からも、本県では、R 型アリルが極めて少ないことが推察された。本県の牛白血病発症頭数を減少させる施策のひとつとして、肉用牛育種集団内の R 型アリル頻度を高めて、発症しにくい牛群を造成することは有効な防疫対策と考える。そのためには、R 型アリルーホモ (RR) 型の種雄牛造成が最も有効と考える。

発症抵抗性と産肉能力を兼備した RR 型種雄牛を効率的に造成するには、育種素材牛の活用がポイントとなる。本県では、県内繁殖雌牛群の産肉能力、肉質等に関するデータ解析から、BMS ナンバー育種価上位 1,000 番以内で種雄牛造成に必要と考えられる系統の雌牛を育種素材牛として選抜している。これらの選抜された雌牛について、遺伝子型を調査し、R 型アリルを保有する雌牛を選定する。こうして選抜された産肉能力の高い R 型雌牛に現存する、或いは今後造成される R ヘテロ型種雄牛を交配し、産子の中から RR 型の雄牛を選抜する。従来どおり現場後代検定で産肉能力を確認した上で種雄牛とすれば、発症抵抗性と産肉能力を兼備した RR 型種雄牛の誕生となる。RR 型の種雄牛造成に成功すれば、交配相手の雌牛がいずれの遺伝子型であっても、全ての産子に R 型アリルが賦与され、発症抵抗性が期待できることから、「豊後牛」のイメージアップ、ブランド化に大きく貢献すると考えられる。

本研究の成果を得て、当畜産試験場では RR 型種雄牛造成に向けた取り組みを開始した。RR 型種雄牛の造成までには数年を要すると思われるが、今後は、生産者、人工授精師、診療獣医師、関係機関等が一体となって、長期的視野に立った組織的な取り組みが必要である。また、RR 型種雄牛の造成に成功し、精液が供用されるようになった後も、R 型アリルを賦与することが真に牛白血病発生の抑制に効果があるかどうか、さらに牛群として感染率（抗体陽性率）の抑制に効果があるかどうかなど、新たに生じてくると思われる課題について、継続して検証していく必要がある。

謝 辞

本研究において、牛白血病発症抵抗性遺伝子型が経済形質に及ぼす効果の検定について、ご指導ご助言いただいた京都大学大学院農学研究科比較農業論講座 三宅 武 博士に深謝します。また、牛白血病発症牛のサンプルを快く提供して頂いた大分県食肉衛生検査所および職員の方々に深謝します。

引用文献

1. Aida Y, Takeshima S, Nagaoka Y, et al. The relationship between polymorphism of MHC class II DR gene and resistance and susceptibility to bovine leukemia virus-induced lymphosarcoma. Proceedings of the International Veterinary Cytokine and Vaccine Conference, Japan. (2000) pp159-162.
2. 小沼操 : 牛白血病ウイルスの伝播、家畜診療 (2003)
3. 竹嶋伸之輔、間 陽子.ウシ主要組織適合遺伝子複合体 (BoLA) 領域の多様性と抗病性.動物遺伝育種研究 (2007) 35:51-64.
4. Takeshima S, Ikegami M, Morita M, Nagai Y, Aida Y. Identification of new cattle BoLA-DRB3 alleles by sequence-based typing. Immunogenetics. (2001) 53:74-81.
5. Takeshima S, Saitou N, Morita M, Inoko H, Aida Y. The diversity of bovine MHC class II DRB3 gene in Japanese Black, Japanese Shorthorn, Jersey and Holstein cattle in Japan. Gene. (2003) 316:111-118.
6. 小林直彦、平野 貴、揖斐隆之、大谷 健、杉本喜憲. 黒毛和種における Claudin-16 (CL-16) 欠損症遺伝子型と産肉成績との間のアソシエーション解析. (2002) 日畜会報. 73:19-23.
7. 藤田達男、伊藤雅之、佐藤 亘、倉原貴美、志賀一穂、佐々木義之. 黒毛和種におけるウシモリブデン補酵素 (MCSU) 欠損症遺伝子型と産肉成績との関連性の解析. (2004) 動物遺伝育種研究. 32:11-16.

