牛ウイルス性下痢・粘膜病ウイルスによる牛先天異常の集団発生

田口雅持¹⁾ 加藤昌克¹⁾ 木村正徳²⁾石川 守²⁾ 平井 孝¹⁾

(平成2年3月30日受理)

A Mass Outbreak of Congenital Anomalies Caused
by Bovine Viral Diarrhea・Mucosal Disease VirusMASAJI TAGUCHI*, MASAKATSU KATO, MASANORI KIMURA, MAMORU ISHIKAWA and TAKASHI
HIRAI (* Abashiri Livestock Hygiene Service Center, Kitami, Hokkaido 090)

SUMMARY

Various congenital anomalies caused by bovine viral diarrhea-mucosal disease (BVD・MD) virus occurred from December 1986 to July 1987 on a dairy farm rearing 370 Holstein-Friesian cattle in Abashiri, Hokkaido. During this period, congenital anomalies occurred in 25 (24.5%) out of 102 pregnant dams. They included 5 aborted fetuses, 4 persistently infected cattle, and 16 calves with malformations of the central nervous system. The virus was epidemiologically presumed to spread among cattle on the farm at the end of October 1986. The relationship between gestational days when infected and fetal outcomes was of great interest, indicating variation of sequelae with fetal maturation. Infections before 90 gestational days induced mostly abortion and persistently infected cattle, while those between days 90 and 150 caused congenital neurological defects. Infections after 150 gestational days had no adverse effects on fetuses. It appears that BVD・MD virus caused a considerably great loss to cattle production upon invading a farm with a low population of immune cattle, and congenital anomalies induced by the virus varied depending on the gestational day on infected. — **Key Words** : BVD・MD, congenital anomaly, amass outbreak, gestational day.

— *J. Jpn. Vet. Med. Assoc.*, 43, 413~416 (1990)

要 約

北海道網走支庁管内のホルスタイン種の牛370頭を飼養する大規模酪農専業農場で、1986年12月～1987年7月に牛ウイルス性下痢・粘膜病(BVD・MD)ウイルスの感染による先天異常の集団発生があった。異常はこの間に分娩した102頭のうち25頭(24.5%)に認められ、その内容は流産5頭、脳奇形牛16頭、持続感染牛4頭であった。疫学調査によりウイルスの流行時期は1986年10月下旬と推定され、流行時期の推定胎齢と先天異常の間には興味深い関係が認められた。すなわち、流産と持続感染牛は推定胎齢90日以下の牛にのみ発生し、脳奇形牛は90日齢以下2頭、90～150日齢14頭と90日齢以上の牛に多く認められ、推定胎齢150日以上の子牛に異常は認められなかった。

以上のことから、BVD・MDウイルスが非免疫牛の占める割合が多い大規模農場でひとたび流行すると先天異常が多発し、さらにその内容は感染時の胎齢に依存することが明かとなった。

牛ウイルス性下痢・粘膜病(以下「BVD・MD」と略す。)ウイルスは下痢、呼吸器病、発熱、白血球減少症、繁殖障害、免疫抑制、先天異常そして粘膜病など多彩な病態を引き起こすことが知られている。しかし、先天異常と粘膜病以外の症状は一般に軽く、不顕性感染で終わ

る牛が多い。いっぽう、妊娠牛が感染すると胎子感染が高頻度に関わり、胎子の運命は感染時の胎齢に依存する。一般に、胎齢90日から100日以下の感染では流産やミイラ化胎子、免疫寛容に基づく持続感染牛が発生し、100日から150日の感染では内水頭症と小脳の形成不全に特徴づけられる先天異常が誘導される^{2,5,6,7)}。BVD・MDウイルスによる先天異常の発生は、わが国を含め世界各国で報告されている^{2,4,8,9,10)}。北海道内における最初の発生は1974年に福永らにより報告されたが³⁾、1985年以降は道内各地で発生が報告され全道的に増加

¹⁾ 北海道網走家畜保健衛生所(北見市新生町54-2)²⁾ 北海道遠軽地区農業共済組合(紋別郡遠軽町福路2)

Key Words : 牛ウイルス性下痢・粘膜病, 先天異常, 集団発生, 胎齢.

傾向を示している。しかし、本ウイルスによる先天異常は単発的あるいは散発的であることが多く、集団発生例はほとんど知られていない。

今回、北海道網走支庁白滝村の大規模酪農専業農場で集団的に発生した先天異常を調査し、BVD・MDウイルスが原因であることが明かとなったのでその概要を報告する。

1. 材料および方法

1) 発生農場

先天異常の集団発生した農場は北海道網走支庁白滝村の法人経営による大規模酪農専業農場で、搾乳牛199頭、育成牛162頭、哺乳牛9頭の計370頭が飼養されていた。同農場で1987年3月15日～5月27日に生まれた43頭中16頭に盲目、起立困難、前頭部の膨隆などの先天異常が認められた。これらの異常子牛について病性鑑定を実施するとともに、同居牛とそれ以降に生まれた子牛より血清とパッフィーコート細胞を採取しBVD・MDウイルスの分離と抗体検査を行った。また、疫学的検討とともに同農場の過去の分娩状況も調査した。

2) 臨床的検査

異常子牛について、体型異常の有無、中枢神経および運動機能異常、一般臨床異常を観察した。

3) 病理学的検査

異常子牛の主要臓器を10%中性緩衝ホルマリンで固定し、パラフィン切片を作製した。切片はHE染色を施し、組織学的検査を行った。

4) ウイルス分離

BVD・MDウイルスの分離は牛胎子筋肉細胞培養(以下「BFM」と略す。)を用い、非細胞病原性ウイルスの検出は細胞病原性BVD・MDウイルスNose株を攻撃ウイルスとした干渉法で行った¹¹⁾。試験管に培養したBFM細胞に10%臓器薬剤、血清およびパッフィーコート細胞を接種し、37°Cで5日間培養した。細胞変性効果(以下「CPE」と略す。)の発現の有無を観察後、すべての細胞を $10^{3.0}$ TCID₅₀のNose株で攻撃した。攻撃3日後にCPEの有無を観察し、Nose株のCPEを抑制した試料を非細胞病原性のBVD・MDウイルス陽性とした。

5) 抗体検査

BVD・MDウイルスに対する抗体検査はBFM細胞を用いた中和試験で行い、ウイルスにはNose株と実験的粘膜病から分離された細胞病原性のKS 86-1(+)株を用いた。後者の抗原性状はNose株と異なり、わが国で最初に発見された持続感染牛から分離されたKS 86-1株と一致する^{11,12,13)}。

牛伝染性鼻気管炎ウイルスに対する抗体検査はMDBK細胞を用いた中和試験、アカバネウイルスとバ

ラインフルエンザウイルス3型、牛アデノウイルス7型に対する抗体検査は赤血球凝集抑制試験により行い、ウイルスにはそれぞれLos Angeles株、JaGAr-39株、BN1株、袋井株を使用した。

2. 成績

1) 発生状況

1987年3月15日に最初の脳奇形牛が生まれ、以後5月27日まで断続的に同様の子牛が分娩された。発生頭数は同期間に生まれた子牛43頭のうち16頭に達した。5月27日から7月7日までに生まれた14頭の中には脳奇形牛は認められなかったが、以下に述べるように4頭の持続感染牛が含まれていた。いっぽう、聴き取り調査により同農場の過去の繁殖状況を調べたところ、1986年12月16日～1987年3月4日の間に5頭が流産していたことが明かとなった。流産胎子の病性鑑定は行わなかったが、状況証拠により脳奇形牛や持続感染牛と同様にBVD・MDウイルスが原因と考えられた。以上のように、今回の集団発生例における先天異常牛は、1986年12月16日から1987年7月7日の間に生まれた102頭のうち25頭(24.5%)に達した。

本農場におけるBVD・MDウイルスの流行時期は明かではないが、脳奇形の発生は胎齢100日から150日の感染で発生するという事実から、脳奇形の認められた16頭の感染時期を最終授精日より逆算した。その結果、大部分の牛の推定感染時期は1986年10月に集中した。疫学調査により10月30日には牛伝染性鼻気管炎ワクチンの一斉注射のため、外部から多数の人が出入りしていた事実が明らかとなった。これらのことからウイルスの感染時期を10月30日と仮定し、同日の各母牛の妊娠日齢を求めた。その結果、感染時胎齢と先天異常の間には明瞭な関係が認められた。胎齢90日以前の感染では流産(5例)と持続感染牛(4例)が多く、脳奇形牛は2例に過ぎなかった。いっぽう、90日以降の感染で発生した異常はすべて脳奇形で、流産や持続感染牛は認められなかった。

2) 臨床症状

脳奇形の認められた子牛の主な臨床症状は、哺乳力の低下、起立困難、盲目、瞳孔散大、眼球振盪、眼球反転、後弓反張、前頭部膨隆、斜頸、下痢などであった。しかし、四肢関節、脊椎および骨格の異常などアカバネ病に特徴的な体形異常は認められなかった。持続感染牛は外見上健康で特に異常はみられなかった。

3) 病理学的所見

異常牛の主要肉眼病変は脳に限局していた。大脳は前頭葉および側頭葉が菲薄となり、後頭葉は消失し、中脳蓋が露出していた。側脳室は脳脊髄液が貯留し、拡張していた。小脳は左右の小脳脚部に痕跡的に残存したのみ

表1 脳奇形を示した牛の臨床症状

発生 No.	体形異常		神 経 系 異 常					一 般 症 状		
	前頭部 膨 隆	斜頸	瞳孔 散大	眼球 振盪	眼球 反転	盲目	後弓 反転	哺乳力 低下	下痢	起立
1		○				○				不能
2	○	○								"
3	○	○								"
4		○				○				"
5		○				○				困難
6	○	○					○			不能
7		○				○				困難
8		○	○	○		○	○	○		不能
9		○				○				困難
10	◎	○	○	○		○	○	○	○	不能
11	○	○		○			○	○	◎	"
12		○						○	◎	"
13		○	○	○	○	○	○	○	◎	"
14	◎	○	○			○	○	不能	◎	"
15		○				○	○	○		"
16	○	○						○		"

○：軽度

◎：重度

で、形成不全が著明であった。脊椎、四肢関節および筋肉に異常は認められなかった。

病理組織学的には、大脳の皮質および髄質が菲薄化し、脳室上衣細胞は広範囲に剝離・脱落し、上衣下組織に水腫性変化が認められた。また、大脳皮質に神経細胞の萎縮・変性、小円形細胞の小集簇が散見されたが、囲管性細胞浸潤は認められなかった。小脳残存部の固有構造は失われ、プルキンエ細胞と顆粒細胞の減数および島嶼状集塊が観察された。その他の臓器および骨格筋に著変は認められなかった。

4) ウイルス分離

脳奇形子牛の主要臓器および血清をBFM細胞で2代培養したが、いずれのウイルスも分離されなかった。いっぽう、脳奇形牛発生後7月7日までに生まれた子牛14頭中4頭のバフフィーコート細胞より非細胞病原性のBVD・MDウイルスが分離された。これらの牛は持続感染牛とみなされた。

5) ウイルス抗体検査

脳奇形子牛および母牛のBVD・MDウイルスに対する中和試験の結果を表2に示す。初乳未摂取子牛2頭を含めすべて中和抗体陽性であり、抗体価はNose株に対するよりもKS86-1(+)株に対し高い値を示した。初乳未摂取子牛の血清はいずれもアカバネウイルス、牛伝染性鼻気管炎ウイルス、パラインフルエンザウイルス3型、牛アデノウイルス7型に対する抗体は陰性であった。

農場全体の牛370頭のBVD・MDウイルスに対する抗体検査では、Nose株とKS86-1(+)株いずれに

表2 異常子牛および母牛のBVD・MDウイルス抗体検査成績

No.	子 牛		母 牛	
	Nose	KS86-1(+)	Nose	KS86-1(+)
4	1: 64	1: 4096 ≤	1: 32	1: 2048
6	512	1024	8	256
8	64	4096 ≤	64	1024
10*	16	1024	128	1024
11	128	2048	32	128
12	512	4096 ≤	64	1024
13*	512	1024	256	1024
14	16	1024	32	1024

* 初乳未摂取

対しても陽性率は83%と高い値を示した。しかし、平均抗体価はそれぞれ33倍、323倍とKS86-1(+)株に対する抗体価が約10倍高かった。

3. 考 察

1987年3月から5月にかけて、北海道網走支庁管内の大規模酪農専業農場で脳奇形牛が多発した。さらに、同農場の疫学調査により、前年の12月から3月の間に5頭の流産が発生していたことが明かとなった。脳奇形牛の病性鑑定では、初乳未摂取子牛の血清中にBVD・MDウイルス抗体が検出され、臨床および病理学的所見は既に報告されているBVD・MDウイルスによる先天異常と概ね一致した^{2,7,8,9,10)}。また、脳奇形発生後に生まれた子牛の中に4頭のBVD・MDウイルス持続感染牛が発見された。これらのことから1986年12月の流産に端を発した一連の先天異常はBVD・MDウイルスの

感染に起因するものと考えられ、被害頭数は流産、脳奇形、持続感染牛あわせて 25 頭に達した。このように BVD・MD ウイルスによる先天異常が集団発生した理由は明かではないが、本農場の牛飼養頭数が多くかつ本ウイルスに対する免疫率が低かったことが原因の一つとして考えられる。BVD・MD ウイルスによる先天異常は感染時の胎齢によって大きく異なり、胎齢 90 日から 100 日以下の感染では流産やミラ化胎子、免疫寛容に基づく持続感染牛が発生し、100 日から 150 日の感染では内水頭症と小脳の形成不全に特徴づけられる先天異常が誘導される^{1,2,5,6,7)}。本農場におけるウイルスの流行時期は明かではないが、脳奇形の発生日時からの逆算および疫学調査から 1986 年 10 月下旬と推定された。ウイルスの感染時期を 10 月 30 日と仮定した場合、感染時の胎齢とその後の異常の間には密接な関係が認められた。胎齢 90 日以下の感染では流産と持続感染牛の発生が多く、脳奇形牛は胎齢 90 日から 150 日の間に感染した牛に多く認められた。胎齢 150 日以後の感染で異常の認められた牛はいなかった。これらの結果は、一般にいわれている BVD・MD ウイルスによる先天異常と感染時胎齢との関係におおむね一致する。

BVD・MD ウイルスによる先天異常は単発あるいは散発することが多く、今回のように集団的に発生する例は少ない。本ウイルスの媒介に吸血昆虫が介在しないこと、また全体的には牛集団の本ウイルスに対する免疫率の高いことがその理由と考えられる。このようにウイルスの伝播方法において、本病は吸血昆虫の媒介により流行的に発生するアカバネ病やチューザンウイルス病と大きく異なる。しかし、免疫率の低い大規模農場に BVD・MD ウイルスが侵入した場合、今回の例のように大きな被害が出るものと考えられる。免疫率が低いことからウイルスの感染が牛群の間に容易に拡大し、胎子の胎齢に応じてまず流産および持続感染牛、ついで脳奇形へと一連の先天異常が発生したものと思われる。今回と同じような BVD・MD ウイルス感染による先天異常の集団発生は、ROEDER らによりイギリスにおいても報告されている⁶⁾。彼らの報告はある農場に先天異常が多発し、原因は BVD・MD ウイルスで感染源は数か月前に導入した 1 頭の持続感染牛と判明した例である。持続感染牛の導入後 41 頭が分娩し、そのうち 19 頭に胎齢に応じ流産や持続感染牛、発育不全などの異常が認められている。

今回の例では農場内の既存の牛に持続感染牛はおらず、また導入牛もなかったことから、ウイルスの侵入経路は不明であった。しかし、10 月 30 日牛伝染性鼻気管炎ワ

クチンの一斉注射のために多くの人が出入りしており、この時期になんらかの方法でウイルスが侵入したものと推定された。いずれにしても、免疫牛の少ない牛群に BVD・MD ウイルスが侵入すると先天異常が多発することが予想されるので、その対策には万全を期すべきであろう。

今回持続感染牛から分離された BVD・MD ウイルスの血清学的性状は検査しなかったが、中和試験においていずれの血清も Nose 株よりも KS 86-1 (+) 株に強く反応した。最近北海道内で発生する脳奇形牛や持続感染牛に関与しているウイルスの多くは抗原的に KS 86-1 (+) 株に類似しており^{11,13)}、今回の先天異常も抗原的に Nose 株よりも KS 86-1 (+) 株に近いウイルスにより発生したものと考えられよう。また、Nose 株と KS 86-1 (+) 株の抗原性状は大きく異っていることが報告されており^{11,13)}、BVD・MD ウイルス感染症の血清学的診断には双方のウイルスを用いることが望ましいと思われる。

終わりに、ご校閲をいただいた農林水産省家畜衛生試験場研究第 2 部、清水実嗣博士に深謝いたします。

引用文献

- 1) BAKER, J. C.: *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 190, 1449~1458 (1987).
- 2) BARBER, D. M. L., NETTOLETON, P. F., HERRING, J. A.: *Vet. Rec.*, 117, 459~464 (1985).
- 3) 福永 伸, 建部淑人, 加藤祐三ほか: 北獣会誌, 20, 201~205 (1976).
- 4) 浜名克巳: 日獣会誌, 42, 29~38 (1988).
- 5) McCLUKIN, A. W., LITTLEDIKE, E. T., CUTLIP, R. C. et al.: *Can. J. Comp. Med.*, 48, 156~161 (1984).
- 6) ROEDER, P. L., JEFFREY, M., CRANWELL, M., P.: *Vet. Rec.*, 118, 44~48 (1986).
- 7) SCOTT, F. W., KAHRS, R. F., DE LAHUNTA, A. et al.: *Conell Vet.*, 63, 536~560 (1973).
- 8) 清宮幸男, 伊藤 博, 及川 団ほか: 日獣会誌, 41, 725~730 (1988).
- 9) 清宮幸男, 高橋賢聖, 吉田欣哉: 日獣会誌, 37, 236~239 (1984).
- 10) 清宮幸男, 田中修一, 佐藤健一: 日獣会誌, 35, 170~173 (1982).
- 11) SHIMIZU, M., SATOU, K.: *Jpn. J. Vet. Sci.*, 49, 1045~1051 (1987).
- 12) SHIMIZU, M., SATOU, K., NISHIOKA, N., et al.: *Vet. Microbiol.*, 19, 13~21 (1989).
- 13) SHIMIZU, M., WATANABE, H., SATOU, K.: *Jpn. J. Vet. Sci.*, 51, 1115~1122 (1989).