

Studies for domestic distribution of Bovine viral diarrhea virus and rapid diagnosis of Bovine viral diarrhea-mucosal disease in Japan

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2019-03-22 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 亀山, 健一郎, 小西, 美佐子, 播谷, 亮, 木村, 久美子, 坪井, 孝益, 村上, 賢二 メールアドレス: 所属:
URL	https://doi.org/10.24514/00002191

牛ウイルス性下痢ウイルスの国内分布および牛ウイルス性下痢・粘膜病の迅速診断に関する研究

亀山健一郎¹⁾, 小西美佐子¹⁾, 播谷 亮²⁾, 木村久美子²⁾, 坪井孝益³⁾, 村上賢二¹⁾

(平成 23 年 8 月 8 日 受付)

Studies for domestic distribution of *Bovine viral diarrhea virus* and rapid diagnosis of *Bovine viral diarrhea-mucosal disease* in Japan

Ken-ichiro KAMEYAMA¹⁾, Misako KONISHI¹⁾, Makoto HARITANI²⁾,
Kumiko KIMURA²⁾, Takamitsu TSUBOI³⁾ & Kenji MURAKAMI¹⁾

本研究では、国内における牛ウイルス性下痢ウイルス (BVDV) 分離株の収集および亜型分布の解析を行うと共に、牛ウイルス性下痢・粘膜病の迅速診断法の開発を目指して抗 BVDV 抗体の作出を行った。収集した分離株の解析では、非細胞病原性株が大部分であること、国内における発生は 1a, 1b, 1c および 2a の 4 亜型でほぼ 100% を占めることが明らかとなった。一方、本研究で作出した抗体は抗原との結合力が不十分であり、診断系の開発には至らなかった。今後も国内分離株の収集と解析を継続すると共に、解析結果を活用して有用な診断系の開発を目指す。

背景および目的

牛ウイルス性下痢・粘膜病 (BVD-MD) はウイルス性下痢ウイルス (BVDV) を病原体とする疾病である。世界各地で発生がみられ、下痢、発育不良、泌乳量の減少、繁殖障害などによる生産性の低下が問題となっている。慢性的に BVDV に感染した牛は「持続感染牛」と呼ばれ、多量のウイルスを生生涯にわたり排出し続ける。しかしながら、明確な症状を示さない場合が多く、長期間にわたる飼養や売買に伴う移動などによって牛群内および農場間の感染を広げる主要因となる。

BVD-MD の対策においてはこれら持続感染牛を中心とした感染個体の早期摘発が重要である。BVD-MD の診断はウイルス学的検査および補助診断法である遺伝子検査によって行われている。BVDV には培養細胞に細胞変性効果 (CPE) を起こす細胞病原性 (CP) 株と起こさない非細胞病原性 (NCP) 株が存在するため、特殊な細胞を用いる、干渉法や免疫染色法などの特殊手法を行うなど

-
- 1) 農研機構 動物衛生研究所 ウイルス・疫学研究領域
 - 2) 農研機構 動物衛生研究所 病態研究領域
 - 3) 農研機構 動物衛生研究所 ウイルス・疫学研究領域 (東北)

連絡担当著者：村上賢二

〒 305-0856 茨城県つくば市観音台 3-1-5

* Corresponding author: Kenji MURAKAMI
Research Team for Viral Diseases,
National Institute of Animal Health,
Kannondai 3-1-5, Tsukuba, Ibaraki, JAPAN
Tel: +81-29-838-7841
Fax: +81-29-838-7844
E-mail: muraken@affrc.go.jp

抗 BVDV 抗体の作製

抗原抗体反応を用いた抗原診断法で重要となる抗 BVDV 抗体の標的には E^{ms} 蛋白を選択した。E^{ms} 蛋白は BVDV に存在する 3 種類のエンベロープ蛋白の中で最も保存性が高いとされる蛋白であり、これに対する抗体は多様な BVDV に反応することが示されている⁴⁾。

現在までに BVDV 1 型標準株である Nose 株の E^{ms} 遺伝子を用いて大腸菌およびバキュロウイルス発現系を用いて組換え E^{ms} 蛋白を作出し、マウスおよびウサギに免疫することでモノクローナル抗体およびポリクローナル抗体を得た。しかし、いずれも組換え抗原およびウイルス粒子との結合力が不十分であり、BVDV 迅速診断法を構築するには至らなかった。

今後の発展

本研究における国内分離株の解析から、国内分離されるウイルスはその 85% 超が NCP 株であること、我が国に浸潤する BVDV は 1a, 1b, 1c および 2a の 4 亜型が大勢を占めていることが明らかとなった。

分離株に占める NCP 株の割合が高かったことから、CPE を指標としない検査法の重要性が示されたと言える。診断法の開発に関しては E^{ms} を標的とし、多様な BVDV に反応する抗体の作出を目指したが十分な結合力を持つ抗体は得られなかった。国内の主要な BVDV 流行株が 4 亜型と比較的少なかったことから、今後はウイルス

全粒子を用いるなどにより強く反応する抗体を複数作出し、それらを組み合わせることで迅速診断系の確立を目指したい。

謝 辞

本研究は平成 20-21 年度動物衛生研究所重点強化研究の助成を受けて行った。検体の収集にご協力頂いた家畜保健衛生所の皆様に深謝する。

参考文献

- 1) Nagai, M., Ito, T., Sugita, S., et al.: Genomic and serological diversity of bovine viral diarrhea virus in Japan. Arch. Virol. 146, 685-696 (2001).
- 2) Shimizu, M., Satou, K., Nishioka, N., et al.: Serological characterization of viruses isolated from experimental mucosal disease. Vet. Microbiol. 19, 13-21 (1989).
- 3) Matsuno, K., Sakoda, Y., Kameyama, K., et al.: Genetic and pathobiological characterization of bovine viral diarrhea viruses recently isolated from cattle in Japan. J. Vet. Med. Sci. 69, 515-520 (2007).
- 4) Xue, W., Blecha, F. & Minocha, H.C.: Antigenic variations in bovine viral diarrhea viruses detected by monoclonal anti-bodies. J. Clin. Microbiol. 28, 1688-1693 (1990).

Summary

Studies for domestic distribution of *Bovine viral diarrhea virus* and rapid diagnosis of Bovine viral diarrhea-mucosal disease in Japan.

Ken-ichiro KAMEYAMA ¹⁾, Misako KONISHI ¹⁾, Makoto HARITANI ²⁾,
Kumiko KIMURA ²⁾, Takamitsu Tsuboi ³⁾ & Kenji MURAKAMI ¹⁾

The present study was aimed to develop rapid diagnostic systems of Bovine viral diarrhea-mucosal disease (BVD-MD). This study was composed of three works: collection of *Japanese Bovine viral diarrhea virus* (BVDV) isolates, analysis of domestic distribution of BVDV subgenotypes, and development of anti-BVDV antibodies. Because of the affinities of the antibodies produced were too low, any diagnostic system did not developed. However, it was revealed that most of the Japanese isolates were non-cytopathogenic and almost 100% of domestic outbreaks were caused by the viruses classified in 4 subgenotypes of 1a, 1b, 1c, and 2a. We are planning to continue these investigations and hope the results contribute to control of BVD-MD.