

# 研究情報

## 牛伝染性鼻気管炎（IBR）の現行ワクチン株と野外株を識別できるPCR法の開発

MURAKAMI Kenji

ウイルス病研究チーム 上席研究員 村上 賢二

牛伝染性鼻気管炎（IBR）は牛ヘルペスウイルス1型（BHV-1）により引き起こされる呼吸器及び生殖器の疾病で、世界各国の畜産農家で大きな経済的損失を生んでおり、日本では届出伝染病に指定されています。ウイルスは症状が治まった後も体内で潜伏感染しており、輸送や妊娠といったストレスをきっかけに再活性化して他の牛に感染するようになります。日本では1975年に家畜衛生試験場（現動物衛生研究所）の稲葉博士らが開発した生ワクチン（稲葉右二ら：日獣会誌.1975;28:410-414）の接種によって病気の発症をおさえ感染拡大を防止しています。一方でごくまれに生ワクチン接種の失宜による発症事故例も報告されています。発症牛からウイルスが分離された場合、分離ウイルスがワクチン株か野外株であるかを識別することが、その後の防疫対策を左右するために重要になります。現在使用されている生ワクチンには、遺伝子学的に識別可能なマーカーは付与されておらず、7日間の細胞培養における通常より低い温度（30℃）での増殖性により野外株と区別されてきましたので、病性鑑定時に迅速な識別は出来ませんでした。そこで、本研究ではIBRワクチン株と野外株を迅速に識別可能なPCR法の開発を行いました。

日本で分離されているウイルスのDNA遺伝子は制限酵素*Hind* IIIと*Pst* I処理によっていくつかの遺伝子断片に切断されますが、生ワクチン株はそのうち一つ

の断片に欠損部位が存在することが分かりました。その遺伝子断片を標的として野外株とワクチン株についてPCR産物の分子量に明瞭な差異が認められるようなプライマーセットと反応条件について試験を重ね、両者を識別するPCR法を開発しました（図1）。

全国の家畜保健衛生所の協力を得て44株の国内分離株を収集し開発したプライマーセットを用いてPCR検査を行ったところ、全ての野外株はワクチン株のPCR産物の分子量と異なっていました。また、野外分離株を用いたPCR産物の塩基配列解析を行ったところ、1株を除き完全に一致していました（1株は一致率99.9%）。さらに、PCR法の特異性を調べるためにBHV-1以外の他のヘルペスウイルス属のウイルス（BHV-2、アルセラピンヘルペスウイルス1型（AHV-1（旧BHV-3）、BHV-4）DNAを用いてPCR検査を行ったところ、全く増幅産物は観察されませんでした（図2）。

本PCR法はIBRの病性鑑定を行う上で野外株とワクチン株の迅速な識別を可能としますので、多くの家畜保健衛生所で利用して頂ければ幸いです。

最後に、野外分離株収集に協力頂いた全国家畜保健衛生所の諸先生に深謝します。

掲載誌 Kamiyoshi T. et al. Vaccine.26(4),2008,477-485.  
この研究内容は農研機構ホームページでもご覧いただけます。  
<http://www.naro.affrc.go.jp/top/seika/2008/07niah/niah08-08.html>

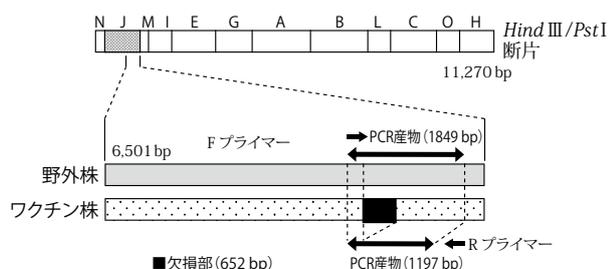


図1. BHV-1 ゲノム（132kb）

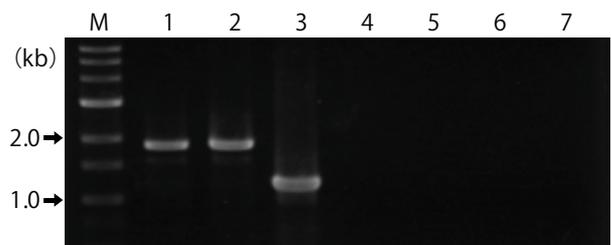


図2. PCRによる各種牛ヘルペスウイルスDNAの検出

M; 1kb ラダー、1; BHV-1 型（LA 株）、2; BHV-1 型ワクチン親株（758 株）、3; ワクチン株（758-43 株）、4; BHV-2 型（ミネソタ株）、5; AHV-1 型（WC11 株）、6; BHV-4 型（B11-41 株）、7; ウイルス非感染細胞培養上清