

6 2020年以降に県内で検出されたブルータングウイルスの分子系統樹解析

県中央家畜保健衛生所

安田奈絵、関野惣介

はじめに

ブルータングは、レオウイルス科オルビウイルス属のブルータングウイルス (BTV) の感染によって起こる、めん羊、山羊、牛、水牛及び鹿等の反芻動物の疾病である。我が国において届出伝染病、国際獣疫事務局 (WOAH) のリスト A 疾病に指定されており、アジア、オーストラリアを含む全世界で広く発生が確認されている。吸血昆虫であるヌカカの媒介により伝播するアルボウイルスであり、流行は温帯地域においてはヌカカの活動時期である春季から秋季にかけて起こる。症状は発熱、元気消失、流涎、嚥下障害及び流産等であり、特にめん羊は感受性が高く重篤となる。牛においては不顕性感染が多いとされているが、国内においても BTV の関与を疑う発症事例が報告されている^{1,2,3,4)}。

国内では、平成 19 (2007) 年まで実施されていた全国サーベイランスの牛流行熱等抗体調査において、九州から西日本及び北関東において抗体の陽転が確認され⁵⁾、平成 20 (2008) 年以降、九州、広島県や、北関東及び福島県において発生や遺伝子の検出が報告されている^{1,2,3,7,8)}。また、令和 3 (2021) 年から九州各県で開始された遺伝子サーベイランスにおいては、令和 5 (2023) 年まで毎年 BTV が検出され、令和 6 (2024) 年には熊本県で発生が報告されている^{7,8)}。

本県においては、令和元 (2019) 年のめん羊の発生事例及び翌年にかけての BTV の流行事例を受け、令和 3 (2021) 年から令和 6 (2024)

年まで地域サーベイランスとして BTV 調査を実施した。今回、令和 7 (2025) 年に追加調査を実施し、令和 2 (2020) 年以降に県内で検出された BTV について分子系統樹解析を実施したので、その概要を報告する。

材料及び方法

1 材料

令和 2 (2020) 年から令和 7 (2025) 年のアルボウイルス感染症サーベイランス (それぞれ 6 月下旬、8 月中旬、9 月下旬及び 11 月中旬を目安に採材) で得られた牛の洗浄血球を用いた。その他に、令和 2 (2020) 年 8 月及び令和 3 (2021) 年 11 月に実施した令和元 (2019) 年発生農場における清浄性確認検査で得られためん羊、山羊及び牛の洗浄血球を用いた。

2 方法

(1) 遺伝子検査

洗浄血球は検査まで -80°C で保存し、QIAamp Viral RNA Mini Kit (QIAGEN) を用いて核酸精製を行い、QuantiTect RT-PCR Kit (QIAGEN) を用いて Hofmann ら⁹⁾の方法により NS3 領域をターゲットとした血清型共通リアルタイム PCR により実施した。令和 2 (2020) 年のみ全頭で実施した寒天ゲル内沈降反応 (AGP) で抗体陽性が確認された農場の検体を抽出して実施し、令和 3 (2021) 年から令和 5 (2023) 年は過去に高率に検出された地域の検体を抽出

して実施した後、遺伝子が検出された場合は遡って県全域の検体で実施し、検出されなかった年は11月に全検体の陰性確認を実施した。

(2) 分子系統樹解析

リアルタイムPCR陽性の検体について、岩根らの方法¹⁰⁾により血清型21の分節2、McCol1らの方法¹¹⁾により分節3それぞれをターゲットとし遺伝子を増幅させ、明瞭なバンドが得られた産物を用い、ダイレクトシーケンス法で塩基配列を決定した。得られた塩基配列及び既報の配列を用いて近隣結合法により分子系統樹解析を実施した。

結果

1 遺伝子検査

令和2(2020)年、令和3(2021)年、令和6(2024)年、令和7(2025)年にBTVを検出した。令和2(2020)年は9月:6/9戸8/31頭→11月:8/9戸13/31頭、令和3(2021)年は9月:2/20戸2/63頭→11月:8/20戸11/47頭、令和6(2024)年は9月:1/20戸3/64頭→1/20戸3/62頭、令和7(2025)年は9月:4/17戸6/52頭→11月:4/15戸7/46頭が陽性であった(表1)。なお、令和6(2024)年の11月陽性牛はすべて9月陽性牛と同一個体であり、令和7(2025)年については9月陽性牛のうち1頭が11月に検査を実施せず、新規に9月に陰性の1農場の1頭及び9月に陽性の1農場の同居牛1頭が陽性となった。令和4(2022)年及び令和5(2023)年は全頭陰性であった。

表1 令和2(2020)～令和7(2025)年の遺伝子検査の結果

調査対象年	調査対象月				
	6月中旬	8月下旬	9月中旬	11月下旬	
令和2(2020)年	採材期間	—	8/16～26	9/16～30	11/10～20
	農場数(戸)	NT	0/3	6/9	8/9
	頭数(頭)	NT	0/12	8/31	13/31
令和3(2021)年	採材期間	6/17～30	8/10～25	9/15～30	10/29～11/17
	農場数(戸)	0/7	0/7	2/20	8/20
	頭数(頭)	0/22	0/22	2/63	11/47
令和4(2022)年	採材期間	6/2～28	—	—	11/8～18
	農場数(戸)	0/6	NT	NT	0/20
	頭数(頭)	0/19	NT	NT	0/64
令和5(2023)年	採材期間	6/26～29	8/7～22	9/25～28	11/10～20
	農場数(戸)	0/20	0/20	0/20	0/20
	頭数(頭)	0/60	0/60	0/60	0/60
令和6(2024)年	採材期間	6/24～28	8/6～29	9/24～27	11/12～20
	農場数(戸)	0/6	0/6	1/20	1/20
	頭数(頭)	0/18	0/18	3/64	3/62
令和7(2025)年	採材期間	6/23～27	8/9～20	9/16～30	11/7～19
	農場数(戸)	0/17	0/17	4/17	4/15
	頭数(頭)	0/52	0/52	6/52	7/46

NT:検査実施せず (陽性数/検査数)

いずれの年も9月から遺伝子陽性となり、令和6(2024)年を除き11月にかけて陽性農場及び陽性牛が増加した。

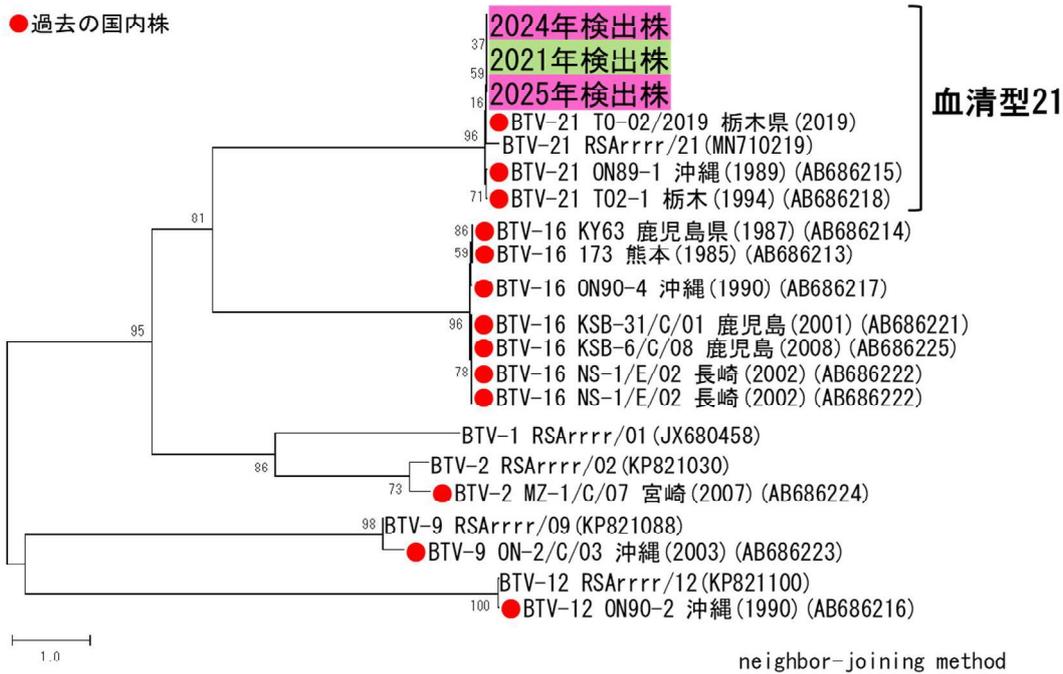


図1 分節2の系統樹解析

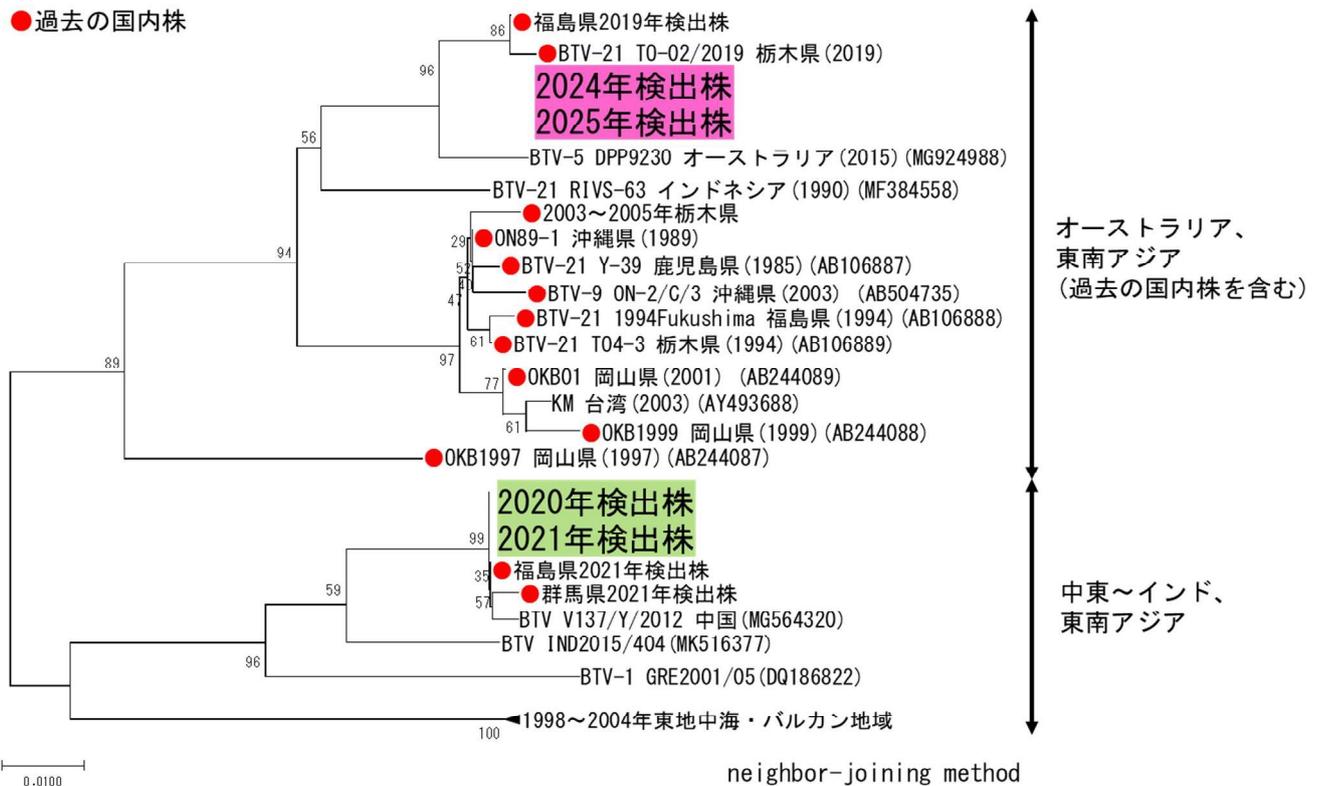


図2 分節3の系統樹解析

2 分子系統樹解析

(1) 分節 2

同じ年に検出された株同士の相同性は、令和 3 (2021) 年 99%、令和 6 (2024) 年 100%、令和 7 (2025) 年 90~100%でほとんど一致し、解析を行った計 10 株全てが血清型 21 に分類された (図 1)。

令和 2 (2020) 年については各血清型の参照株と著しく異なる配列が得られ、解析不能であった。

(2) 分節 3

各年に検出された株同士の相同性は、令和 2 (2020) 年 100%、令和 3 (2021) 年 99.3~99.9%、令和 6 (2024) 年 100%、令和 7 (2025) 年 96.8~99.6%で、ほとんど一致していた。令和 2 (2020) 年株及び令和 3 (2021) 年株は、いずれも福島県における令和元 (2019) 年及び令和 3 (2021) 年株、ならびに群馬県の令和 3 (2021) 年株と相同性 99.3~100%で極めて近縁であり、令和元 (2019) 年以前の国内発生株と明確に異なるクラスターに分類された。令和 6 (2024) 年株及び令和 7 (2025) 年株は過去の国内流行株を含むオーストラリア、東南アジア流行株のクラスターに分類され、栃木県及び福島県令和元 31 (2019) 年株と相同

性 96.8~100%で近縁であった (図 2)。

まとめ及び考察

今回、分節 3 の系統樹解析から、令和 6 (2024) 年から令和 7 (2025) 年株は栃木県令和元 (2019) 年株と、令和 2 (2020) 年株は令和 3 (2021) 年株と近縁であり、令和 6 (2024) 年には令和元 (2019) 年株と同一の由来を持つ株が 5 年ぶりに流行したことが判明した。

また、本県の令和 2 (2020) 年株及び令和 3 (2021) 年株は、福島県令和元 (2019) 年・令和 3 (2021) 年、ならびに群馬県の令和 3 (2021) 年株と近縁であり、同一由来の株が隣接する 3 県の間で 3 年連続して流行したことが示唆された。さらに、栃木県令和元 (2019) 年株と近縁の福島県令和元 (2019) 年株は、宮崎県平成 30 (2018) 年株と近縁であり⁴⁾、本県における令和 6 (2024) 年株及び令和 7 (2025) 年株と近縁の株が平成 30 年 (2018) 年から既に国内に侵入していたことが示唆された (図 3)。このように、同一の由来を持つ BTV が国内で冬を跨いで流行している可能性が示された。これまで、アルボウイルスは偏西風等に乗って東~東南アジア諸国等の海外からウイルスを保有した媒介昆虫が国内に侵

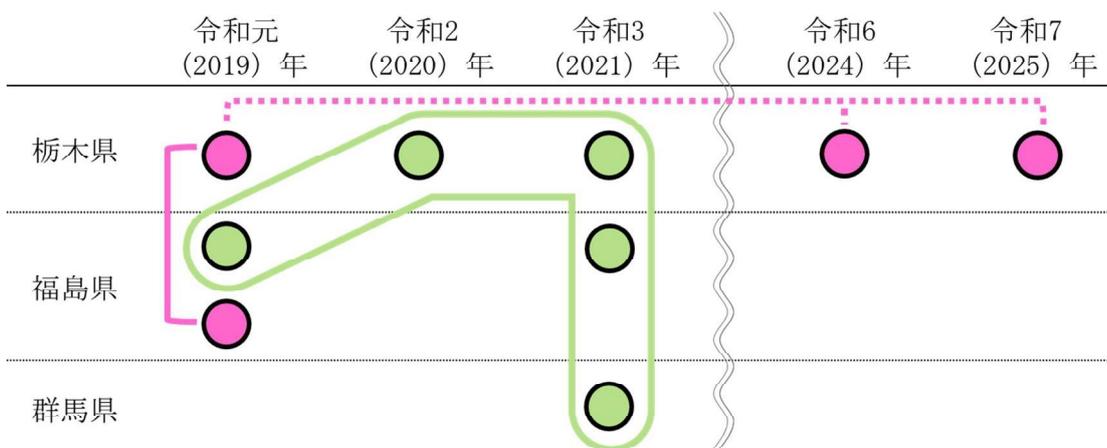


図 3 令和元 (2019) 年~令和 7 (2025) 年検出株の分節 3 による分類

入し、温暖で媒介昆虫の活動が活発な九州で牛に感染、国内に伝播するとされてきたが、BTVについては、平成17（2005）年には九州及び北関東で同時期に流行が始まるなど、北関東で常在化している可能性が指摘¹²⁾されており、県内や隣県でウイルスが長期的に維持され流行した可能性が考えられた。ただし、各株の詳細な疫学的関連については、他の分節や全ゲノムの解析を行って考察する必要がある。

流行時期については、感染牛において遺伝子検出期間は最大で5～7か月間^{13,14)}と長期間にわたるものの、感染性ウイルス保有期間は約60日間¹⁵⁾であることから、9月から11月の間に陽転した牛が9月陽性牛から伝播し感染したと仮定した場合、9月陽性牛の推定感染時期は7月から9月で、県内では11月までBTVの伝播があった可能性があり、ヌカカの活動時期と一致していた。いずれの年も12月以降に陰性牛の検査は実施しておらず、実際の県内の流行の終息時期の把握には、冬季以降の検査が求められる。

各年の侵入経路の推測について、令和2（2020）年は県北西部から流行が始まったが、令和3（2021）年は県北及び県央部のそれぞれ1農場で検出後、県全体に拡大した。令和2（2020）年から令和3（2021）年は隣県でも同一の由来を持つ株が検出されている状況から、県北へは福島県から、県南へは他の地域からなど、複数の経路から県内へ侵入があった可能性も考えられた。また、令和5（2024）年は1農場のみで検出されたのに対し、令和6（2025）年は市町を跨いだ流行を確認したことから、令和5（2024）年にも県内で広く流行していた可能性が考えられた（図4）。

流行伝播経路については、過去に県内のBTV流行があった平成6（1994）年、平成13（2001）年、平成15（2003）年及び平成17（2005）年では県北東部から始まっており、茨城県においては平成6（1994）年及び平成13（2001）年の流行は県北山間部にBTV浸潤農場が集中したことから、本県と茨城県との県境に位置する八溝地域、久慈川・那珂川流域の環境が吸血昆虫と感受性動物間の感染環

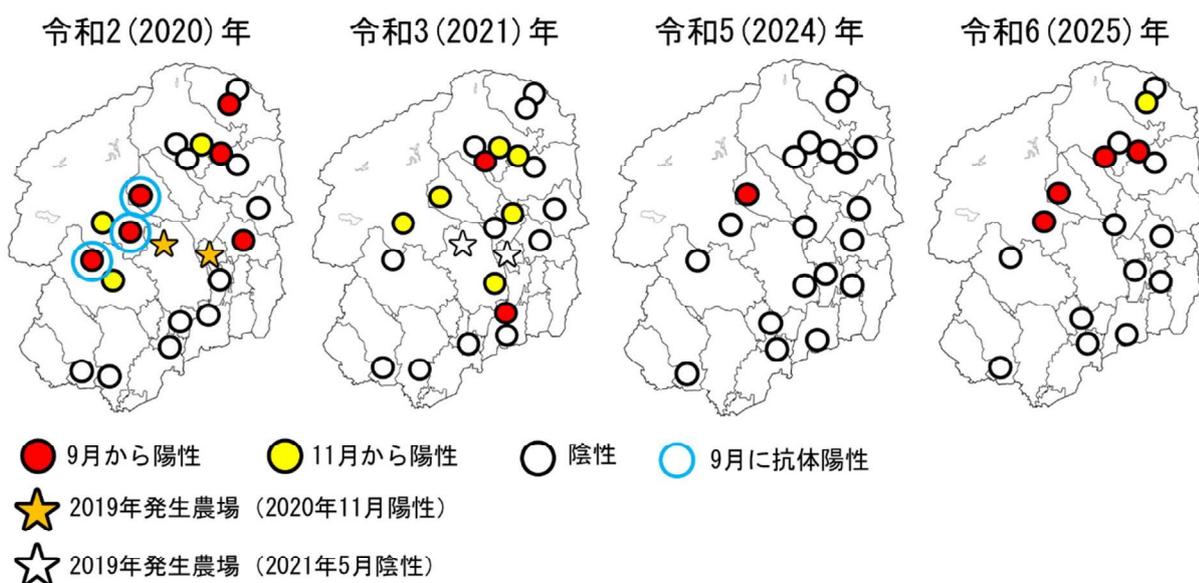


図4 遺伝子検出年の検査実施農場及び検査結果

成立に適しているとの指摘もされている^{10,16)}が、令和2(2020)年から令和7(2025)年の5年間については、異なる傾向を示した。

令和5(2024)年に遺伝子が検出された1農場は令和元(2019)年に抗体陽性、令和2(2020)年から令和3(2021)年は遺伝子を検出、令和4(2022)年は検査を実施しなかった。農場内で残存したウイルスが再び流行した可能性も考えられたが、今回の調査で令和3(2021)年株と令和6(2024)年株は分節3の解析から異なる由来を持つBTVであることが判明し、少なくとも令和6(2024)年には農場内へBTVの新たな侵入があったと考えられた。この農場はこれまでのサーベイランス検体でBTVが高率に検出されており、河川が通る山間部に位置し吸血昆虫と牛との感染環成立に適した立地であると考えられるが、農場の半径10km以内には牛農場34戸、めん羊3戸、山羊14戸が所在するものの牛農場密集地域ではなく、農場へのBTV侵入が繰り返される要因は不明である。農場主によると農場周辺では野生の鹿の出没が目撃されており、ヨーロッパにおいては無症状キャリアとして野生の鹿がBTVの維持や伝播に関連している可能性が指摘され^{17,18)}、我が国の野生及び家畜ニホンジカにおいてもBTVの抗体の保有が報告されている¹⁹⁾ことから、一つの仮説として、県内においても野生の鹿がBTVの越冬や伝播に関与している可能性が考えられた。

本県においては、小規模農場や展示・愛玩目的での飼養が多くを占めるものの、めん羊約30戸約600頭、山羊約170戸約700頭が飼養されており、肉用めん羊を約300頭飼養する中規模農場も所在している(令和7(2025)年2月時点)。国内においてめん山羊は飼養戸数・頭数ともに横ばいかやや増加傾向にあ

り、愛玩目的以外にも、生産物の食品としての利用も注目されている²⁰⁾。めん羊はBTVに対する感受性が高く、商用農場においてはBTV侵入による被害が大きいことから警戒が必要であり、牛以外の感受性動物における検査が、実際の流行状況の把握や侵入伝播経路の解明には必須であると考えられた。

今後は、BTVの侵入伝播経路及び北関東で散発している原因を究明し、反芻動物飼養者への啓発・指導に活用するため、幅広い地域や動物を対象にした抗体調査による流行状況の把握や、更なる遺伝子解析などの積極的なサーベイランスを継続する必要があると考えられる。

謝辞

分節3の塩基配列を提供いただいた福島県中央家畜保健衛生所及び群馬県中部農業事務所家畜保健衛生課に深謝致します。

参考文献

- 1) 菅野直子ら：福島県におけるブルータングウイルスの流行と黒毛和種子牛での発生，臨床獣医，25(1)，58-62(2007)
- 2) 石井圭子ら：牛流産胎子からのブルータングウイルス血清型1の分離事例，沖縄県家畜衛生試験場年報 第53号 2017年度(平成29年度)(2017)
- 3) 山本伸治ら：県内14年ぶりに発生したブルータング事例，第60回福島県家畜保健衛生業績発表会集録(2020)
- 4) 西郷智貴：県内初のめん羊飼養農場におけるブルータング発生事例と分子系統解析，令和4年度家畜衛生研修会(病性鑑定・ウイルス部門)事例報告抄録(2022)

- 5) 農研機構 動物衛生研究部門： おとり牛を用いたアカバネ病等の抗体調査
- 6) 丹羽毅ら： 2010 年度に認められた多様な牛アルボウイルスの流行状況， 沖縄県家畜衛生試験場年報 第 47 号 2011 年度（平成 23 年度）
- 7) 農林水産省： 監視伝染病の発生状況
- 8) 農林水産省： 家畜伝染性疾病サーベイランス
- 9) M Hofmann et al.: Bluetongue disease reaches Switzerland., Schweiz. Arch. Tierheilk., 150 (2) , 49-56 (2008)
- 10) 岩根浄子ら： 栃木県における BTV の流行と分子系統樹解析， 日獣会誌， 62, 451-456 (2009)
- 11) McColl KA et al.: Bluetongue virus infection in sheep : haematological changes and detection by polymerase chain reaction, Aust Vet J, 71, 97-101 (1994)
- 12) 社団法人全国家畜畜産物衛生指導協会： ブルータングウイルス (2008)
- 13) Di Gialleonardo L et al.: The length of BTV-8 viraemia in cattle according to infection doses and diagnostic techniques, Res Vet Sci, 91, 316-320 (2011)
- 14) Zanella G et al.: Clinical pattern characterization of cattle naturally infected by BTV-8, Transbound Emerg Dis, 60, 231-237 (2013)
- 15) Singer RS et al.: Maximal predicted duration of viremia in bluetongue virus-infected cattle, J Vet Diagn Invest, 13, 43-49 (2001)
- 16) 川上純子ら： ブルータング浸潤状況調査， 臨床獣医， 22 (1), 56-60 (2004)
- 17) Ruiz-Fons F et al.: The role of wildlife in bluetongue virus maintenance in Europe: Lessons learned after the natural infection in Spain, Virus Res, 182, 50-58 (2014)
- 18) Linden A et al.: Bluetongue virus in wild deer, Belgium, 2005-2008, Emerg Infect Dis, 16, 833-836 (2010)
- 19) Tadao I et al.: Serological Survey of 8 Bovine Viral Pathogens in Sika Deer (*Cervus nippon*) of Northern Japan, Jpn. J. Zoo Wild. Med., 1 (1) , 42-44 (1996)
- 20) 農林水産省： めん羊・山羊をめぐる情勢 (令和 7 年 11 月)