

学 位 論 文 要 旨

氏名 大谷 研文

題 目 : Studies on the infectious diseases of cattle in Yamaguchi
(山口県における牛の感染症に関する研究)

論文要旨 :

牛の感染症は様々な病原体の感染によって引き起こされ、下痢や呼吸器症状による体重減少や泌乳量低下、死亡等を引き起こすため、農場に大きな経済的損失を与える。農場では消毒、ワクチンを使用した予防等、様々な感染症対策の取り組みがなされているが、感染症発生を十分に抑えられていない現状にある。

本研究は牛感染症の診断技術向上や疫学調査実施を目的とし全4章から構成される。

第1章 2006年から2016年の山口県における牛の感染症発生状況

2006年から2016年までに山口県内の牛で発生した感染症について、山口県中部家畜保健衛生所に感染症の原因究明を依頼され、何らかの病原体の関与が確認された462症例を対象に、発生状況、病原体の検出状況等をまとめた。監視伝染病のような病原性が強い感染症の発生は比較的少ないが、発生した5種類の届出伝染病、アカバネ病(14頭)、牛ウイルス性下痢・粘膜病(17頭)、牛伝染性鼻気管炎(11頭)、牛白血病(176頭)、破傷風(2頭)については、発生した年の年間発生率が他の都道府県と比べて高い傾向にあった。全体的には、日和見感染症の発生が非常に多いことが判明した。用途別では子牛59.3%(肉用子牛51.7%、乳用子牛7.6%)、乳用牛23.2%、肥育牛10.8%、繁殖牛6.7%の順に発生が多かった。症状別では呼吸器症状27.6%、死亡19.8%、下痢17.1%、乳房炎12.6%の順に多く、これらが全体の77%を占めた。病原体は細菌72.1%、ウイルス21.9%、原虫2.8%、真菌1.9%、寄生虫0.3%の順に多く検出され、細菌とウイルスが全体の94%を占めた。

以下の章では、第1章で確認されたアカバネウイルス、*Chlamydia pecorum*及び偽牛痘ウイルスについて詳細に解析した。

第2章 アカバネ病診断におけるリアルタイムRT-PCRの応用

アカバネ病の診断において、体形異常を示す子牛や神経症状を示す牛からのウイルス分離、ウイルス遺伝子検出及び抗原検出が困難なことが多い。2011年9月から2012年1月に山口県において本病が10例発生し、これらの検体を用いてリアルタイムRT-PCRの有用性を検討した。神経症状を呈した牛や死産子牛の中樞神経系(CNS)からアカバネウイルス(AKAV)遺伝子を検出できた。特にウイルス分離が困難で、初乳未摂取子牛の血清中から抗体を検出する以外に診断法がない体形異常死産子牛からAKAV遺伝子を検出できたことの意義は大きい。CNSのAKAV遺伝子量と非化膿性脳脊髄炎の程度及び免疫組織化学染色(IHC)の強度、非化膿性脳脊髄炎の程度とIHCの強度間に正の相関がみられた。CNSを材料としたリアルタイムRT-PCRは従来の検査法より感度が高く、得られた成績

はアカバネ病の診断精度の向上に貢献することが期待される。

第3章 下痢を呈した子牛から分離された *Chlamydia pecorum* の遺伝子解析と抗原解析

2010年、山口県の1農場において下痢を呈し死亡した子牛の空腸から *C. pecorum* (22-58株) が分離され、抗 *C. pecorum* 家兎血清を用いたIHCによって空腸絨毛に陽性反応が認められた。2012年には、別の農場で下痢を呈した子牛の糞便から *C. pecorum* (24-100株) が分離され、ペア血清において分離株に対する中和抗体の有意上昇が確認された。山口県において下痢を呈した牛からの *C. pecorum* 分離症例の報告はなく、2株について遺伝子解析と抗原解析を実施した。 *omp1* 遺伝子の部分配列の解析から、2株の塩基配列は一致し、国内で肺炎の牛から分離された株や米国で多発性関節炎のめん羊から分離された株とは相同性が低く、国内で腸炎の牛から分離されたBo/Yokohama株と最も相同性が高かった。イムノブロット解析により22-58株は抗Bo/Yokohama株家兎血清と強く反応した。22-58株と24-100株の分離年は異なり、疫学的関連も確認されていない。本章ではBo/Yokohama株に類似した *C. pecorum* 株が山口県において流行し、牛に腸疾患を引き起こすことが確認された。

第4章 日本の牛から初めての偽牛痘ウイルスの分離とその遺伝的特性

偽牛痘ウイルス(PCPV)は偽牛痘を引き起こし、多くの国で報告されているが、日本の牛におけるPCPV感染の疫学状況は明らかにされていない。2016年5月、山口県内の1農場の牛の舌表面粘膜下に白色水疱と充血がみられた。乳頭や蹄冠に異状は認められなかった。口腔内病変部の拭い液から回転培養法によってPCPVが分離された。分離ウイルスはB2L遺伝子の全長配列の解析から、米国やフィンランドの牛から分離されたPCPVに遺伝的に近縁であった。今後、分離ウイルスの特徴や日本における拡がりについて、さらなるウイルス学的、疫学的研究が必要と考えている。本症例は、日本でPCPVが分離された最初の報告である。

以上の「アカバネ病診断精度の向上」、「*C. pecorum* の牛下痢症への関与の証明」、「国内における初めての牛からのPCPVの分離」により、牛感染症の理解が深まり牛感染症対策への応用展開が期待される。

学位論文審査の結果の要旨

氏名	大谷 研文
審査委員	主査：山口大学 教授 前田 健
	副査：山口大学 教授 岩田 祐之
	副査：農業・食品産業技術総合研究機構 動物衛生研究部門 海外病研究調整監 山川 睦
	副査：山口大学 准教授 下田 宙
	副査：鹿児島大学 准教授 安藤 匡子
題目	Studies on the infectious diseases of cattle in Yamaguchi (山口県における牛の感染症に関する研究)
<p>審査結果の要旨：</p> <p>牛の感染症は様々な病原体の感染によって引き起こされ、下痢や呼吸器症状による体重減少や泌乳量低下、死亡等を引き起こすため、農場に大きな経済的損失を与える。農場では消毒、ワクチンを使用した予防等、様々な感染症対策の取り組みがなされているが、感染症発生を十分に抑えられていない現状にある。</p> <p>本研究は牛感染症の診断技術向上や疫学調査実施を目的とし全 4 章から構成される。</p> <p>第 1 章 2006 年から 2016 年の山口県における牛の感染症発生状況</p> <p>2006 年から 2016 年までに山口県内の牛で発生した感染症について、山口県中部家畜保健衛生所に感染症の原因究明を依頼され、何らかの病原体の関与が確認された 462 症例を対象に、発生状況、病原体の検出状況等をまとめた。監視伝染病のような病原性が強い感染症の発生は比較的少ないが、発生した 5 種類の届出伝染病、アカバネ病(14 頭)、牛ウイルス性下痢・粘膜病(17 頭)、牛伝染性鼻気管炎(11 頭)、牛白血病(176 頭)、破傷風(2 頭)については、発生した年の年間発生率が他の都道府県と比べて高い傾向にあった。全体的には、日和見感染症の発生が非常に多いことが判明した。用途別では子牛 59.3% (肉用子牛 51.7%、乳用子牛 7.6%)、乳用牛 23.2%、肥育牛 10.8%、繁殖牛 6.7%の順に発生が多かった。症状別では呼吸器症状 27.6%、死亡 19.8%、下痢 17.1%、乳房炎 12.6%の順に多く、これらが全体の 77%を占めた。病原体は細菌 72.1%、ウイルス 21.9%、原虫 2.8%、真菌 1.9%、寄生虫 0.3%の順に多く検出され、細菌とウイルスが全体の 94%を占めた。</p> <p>以下の章では、第 1 章で確認されたアカバネウイルス、<i>Chlamydia pecorum</i> 及び偽牛痘ウイルスについて詳細に解析した。</p>	

第 2 章 アカバネ病診断におけるリアルタイム RT-PCR の応用

アカバネ病の診断において、体形異常を示す子牛や神経症状を示す牛からのウイルス分離、ウイルス遺伝子検出及び抗原検出が困難なことが多い。2011年9月から2012年1月に山口県において本病が10例発生し、これらの検体を用いてリアルタイムRT-PCRの有用性を検討した。神経症状を呈した牛や死産子牛の中樞神経系(CNS)からアカバネウイルス(AKAV)遺伝子を検出できた。特にウイルス分離が困難で、初乳未摂取子牛の血清中から抗体を検出する以外に診断法がない体形異常死産子牛からAKAV遺伝子を検出できたことの意義は大きい。CNSのAKAV遺伝子量と非化膿性脳脊髄炎の程度及び免疫組織化学染色(IHC)の強度、非化膿性脳脊髄炎の程度とIHCの強度間に正の相関がみられた。CNSを材料としたリアルタイムRT-PCRは従来の検査法より感度が高く、得られた成績はアカバネ病の診断精度の向上に貢献することが期待される。

第3章 下痢を呈した子牛から分離された *Chlamydia pecorum* の遺伝子解析と抗原解析

2010年、山口県の1農場において下痢を呈し死亡した子牛の空腸から *C. pecorum* (22-58株) が分離され、抗 *C. pecorum* 家兎血清を用いたIHCによって空腸絨毛に陽性反応が認められた。2012年には、別の農場で下痢を呈した子牛の糞便から *C. pecorum* (24-100株) が分離され、ペア血清において分離株に対する中和抗体の有意上昇が確認された。山口県において下痢を呈した牛からの *C. pecorum* 分離症例の報告はなく、2株について遺伝子解析と抗原解析を実施した。 *omp1* 遺伝子の部分配列の解析から、2株の塩基配列は一致し、国内で肺炎の牛から分離された株や米国で多発性関節炎のめん羊から分離された株とは相同性が低く、国内で腸炎の牛から分離されたBo/Yokohama株と最も相同性が高かった。イムノブロット解析により22-58株は抗Bo/Yokohama株家兎血清と強く反応した。22-58株と24-100株の分離年は異なり、疫学的関連も確認されていない。本章ではBo/Yokohama株に類似した *C. pecorum* 株が山口県において流行し、牛に腸疾患を引き起こすことが確認された。

第4章 日本の牛から初めての偽牛痘ウイルスの分離とその遺伝的特性

偽牛痘ウイルス(PCPV)は偽牛痘を引き起こし、多くの国で報告されているが、日本の牛におけるPCPV感染の疫学状況は明らかにされていない。2016年5月、山口県内の1農場の牛の舌表面粘膜下に白色水疱と充血がみられた。乳頭や蹄冠には異状は認められなかった。口腔内病変部の拭い液から回転培養法によってPCPVが分離された。分離ウイルスはB2L遺伝子の全長配列の解析から、米国やフィンランドの牛から分離されたPCPVに遺伝的に近縁であった。今後、分離ウイルスの特徴や日本における拡がりについて、さらなるウイルス学的、疫学的研究が必要と考えている。本症例は、日本でPCPVが分離された最初の報告である。

以上の「アカバネ病診断精度の向上」、「*C. pecorum* の牛下痢症への関与の証明」、「国内における初めての牛からの PCPV の分離」により、牛感染症の理解が深まり牛感染症対策への応用展開が期待される。また、得られた偽牛痘ウイルス、クラミジア菌は基礎研究のみならずワクチン開発、診断法の開発に応用されると期待される。以上により、本論文は博士(獣医学)の論文として、妥当なものであると判断された。