

博士論文要約

令和4年3月修了 獣医学研究科 共同獣医学専攻

氏名 富田 啓介

論文題目 白血病ウイルス感染に対する黒毛和種子牛における初乳中抗体と乳汁感染防除に関する研究

牛白血病ウイルス (BLV) は、牛伝染性リンパ腫 (EBL) の原因ウイルスであり、感染牛の約 30%が持続性リンパ球増多症 (PL) となり、その 0.1~5%が BLV 感染後 3~4 年あるいはそれ以上経過して、EBL を発症する。我が国では、1927 年に岩手県で初めて発生が報告されて以来、全国で発生が認められている。牛リンパ腫 (BL) は 1997 年まで届出の義務が無かったため、全国的な発生状況をj知することは出来なかったが、1998 年の家畜伝染病予防法の改正により届出が義務づけられ、近年の急激な増加が明らかになっている。報告された BL の年間発生件数は 1998 年にはわずか 99 頭、2004 年度までは 500 頭以下で推移していたが、2008 年度に 1,040 頭、2012 年度に 2,090 頭、2020 年度は 4,197 頭と急速に増加している。BLV は、感染細胞を通じて水平および垂直感染する。水平感染は、牛同士の血液などの体液を介した接触感染、アブなどの吸血昆虫を介した自然感染、医療機器、除角器具などを介した人為感染、出生後の初乳と常乳を介した感染がある。垂直感染は、周産期の子宮内・産道感染がある。水平感染のなかでは、吸血昆虫対策、人為的な医原性感染については対策が取られているが、乳汁感染については未だ対策が十分とは言えない。また、垂直感染については実態が不明な部分が多く、実態把握が急務である。これらの背景を元に、本研究では乳汁感染を中心として乳汁中抗体が感染を防御する時期を推定することにより、黒毛和種子牛の典型的な飼養形態において安全な母子分離時期を提案すること、また、現在我が国で導入が進んでいる人工哺乳システムの乳汁前処理としての農場オンサイト型大型高温短時間加温 (HTST) 装置の有効性を検討した。

第一章では黒毛和種子牛飼養農場における母乳感染防除可能な母子分離時期推定のため、初乳と初乳製剤を給与された黒毛和種子牛の BLV 抗体とプロウイルス量の推移について調査した。BLV 感染状況を確認するため、母牛の血液サンプルを、分娩前後 2 週間以内に、子牛の血液サンプルを、1~14 日齢、15~29 日齢、30~59 日齢、60~79 日齢、80~105 日齢、および 165 日齢以上で頸静脈から採血した。BLV 遺伝子検査として定量 PCR (qPCR)、BLV 抗体検査として ELISA 法を用いた。その結果、子牛の初乳製剤由来の BLV 抗体は 1~3 ヶ月間持続したのに対し、BLV 感染母牛由来の移行抗体は 6 ヶ月間持続すること、BLV 感染母牛からの産子 5 頭のうち 2 頭 (40%) は子宮内で既に感染がみられ、1 頭 (20%) は乳汁または産道感染の可能性が示された。

第二章では、乳汁中の BLV 感染細胞の不活性化について農場オンサイト型大型高温短時間加温 (HTST) 装置の有効性を検討した。HTST 試験のために市販の牛乳 13 L に 6.7×10^7 BLV 感染末梢血単核細胞 (PBMC) を添加した。調整した乳汁は、通過型大型加温装置によ

り 72° C で 15 秒 (完全な HTST 処理), または 72° C 未満の状態 で 15 秒 (不完全な HTST 処理) の加温処理を行った。対照として, 1.75×10^8 PBMC を含む 13L の牛乳は, 加熱せずに大型加温装置を通過させた (HTST なし)。また, 現在, 小規模農場を中心に一般的に用いられている低温加温殺菌 (LTLT) 装置を使用した。LTLT 試験では, 各サンプルについて, プラスチック製管に 30 ml の乳汁を入れ, そこに 3.4×10^7 BLV 感染 PBMC を加え, LTLT 加温装置で 60° C で 30 分間 LTLT 処理したものと, 不活化されていない陽性対照 (LTLT なし; 室温で 30 分間保持) とした。乳汁試験サンプルを羊の腹腔内に接種し, 毎日の観察と, 17 週間まで週に 1 回頸静脈から採材し, qPCR および ELISA によって BLV プロウイルスおよび BLV 抗体を検査した。その結果, 農場オンサイト型の大型 HTST 装置は, 乳汁中の BLV 感染細胞を効果的に不活化できた。LTLT 装置についても同様に, BLV 感染細胞を効果的に不活化することが確認された。近年, 大規模牛飼養農場において省力化のために乳汁の自動給餌システムの導入が進められており, その前処理として農場において HTST 処理を実行することにより, 集団飼育する子牛を BLV 感染から保護するとともに, 細菌等の不活化も可能なことから大規模農場で飼養される子牛の健康増進が期待される。本研究成果は, 黒毛和種牛を飼養する農場において BLV 感染母牛から産出される子牛の母子分離時期の指標を示すとともに, 我が国においてこれから導入が進むことが推察される人工哺乳システムのための前処理として, 農場オンサイト HTST 装置の活用による衛生的な集団哺乳の実施により, 労働力の省力化とともに, BLV 清浄化対策に寄与するための有用な情報になることが期待できる。