

博士学位論文

学位論文内容の要旨および審査結果の要旨

氏 名 乙丸 孝之介

学位の種類 博士（獣医学）

学位授与の条件 酪農学園大学学位規程第3条第3項に該当

学位論文の題目 黒毛和種子牛における呼吸器病の血液学的病態および予防対策に関する研究

審査委員

主査教授 小岩 政照（生産動物内科学Ⅱ）

副査教授 菊池 直哉（獣医細菌学）

副査教授 永幡 肇（獣医衛生学）

学位論文要旨

酪農学園大学大学院獣医学研究科
獣医学専攻博士課程
乙丸孝之介

題目：黒毛和種子牛における呼吸器病の血液学的病態および予防対策に関する研究

呼吸器病は子牛の主要な疾病であり、その損害は甚大である。近年、多頭化の飼養に伴って子牛は群飼形態で飼育され、過密な飼育環境下におけるストレスや病原微生物保有牛との接触機会が増加することによって呼吸器病の発症のリスクが従来に比べてさらに増大している。特に、病原性の高い *Mannheimia haemolytica* (*M.haemolytica*) 感染による呼吸器病を発病した重症例の子牛は死亡あるいは廃用になる例が多く、治癒例においても増体量が減少するなど、マンヘミア呼吸器病は子牛における重要な生産性の阻害要因になっており、特に、牛肉生産の目的で飼養されている黒毛和種子牛にとっては重要な疾病である。したがって、現在、*M.haemolytica* 感染による子牛の呼吸器病に対しては治療よりも予防に重点を置いた対策が強く望まれており、その予防対策として最も期待されているのがワクチン接種である。しかし、子牛に対するワクチン接種の方法は実験モデル子牛の成績に基づいたものであり、野外の子牛、特に黒毛和種子牛に対する効果的なワクチン接種の方法はまだ確立されていない。

本研究では、野外における子牛の呼吸器病、特に病原性の最も高い *M.haemolytica* 感染によるマンヘミア呼吸器病の予防対策を目的としたワクチン接種の有効な方法を確立するために、まず、マンヘミア呼吸器病に罹患した臨床例の子牛における血液学的病態を解明すると同時に、黒毛和種子牛の出生後からの *M.haemolytica* 抗体価の推移、*M.haemolytica* 不活化ワクチンによる抗体産生ならびに *M.haemolytica* を含む混合ワクチンによる呼吸器病の低減効果についての検討を行った。さらに、黒毛和種子牛の血液中のビタミン E 濃度とワクチン接種後の抗体産生との関連性についての検討を行うと共に、臨床試験を行ってビタミン E 添加とワクチン接種後の抗体産生との関連性についての検討を行った。

1. 呼吸器病子牛における臨床および血液学的病態

病原性の高い *M.haemolytica* が鼻腔スワブから分離された呼吸器病子牛の臨床例における臨床および血液学的病態を明らかにする目的で、臨床検査ならびに一般血液、動脈血ガス分圧、末梢血白血球ポピュレーションおよび腫瘍性壊死因子 (TNF) 活性の血液学的病態の解析を行った。その結果、*M.haemolytica* に罹患した呼吸器病子牛の臨床例は心拍数と呼吸数の増数、動脈血ガス分圧の酸素分圧 (pO₂) と酸素飽和度 (O₂SAT) の低下、好中球の増数に伴う白血球数の増数、末梢血白血球ポピュレーションの CD3+T 細胞数、CD4+T 細胞数および CD8+T 細胞数の低下、ならびに血清 TNF 活性が高値を示すことが

確認され、*M.haemolytica* に罹患した呼吸器病の子牛は高度な肺組織の炎症病変に起因する肺機能の著しい低下、炎症性の血液変化およびサイトカインの産生を伴う重篤な臨床症状を示す難治性の呼吸器病であることが確認された。

2. 黒毛和種子牛における *M.haemolytica* 抗体の推移と不活化ワクチンの有効性の検討
子牛におけるワクチネーションを行う適正時期を特定する目的で、黒毛和種子牛における出生時からの *M.haemolytica* に対する抗体価の推移を測定し、さらに、市販されている *M.haemolytica* 不活化ワクチンと *Pasteurella multocida* (*P. multocida*)、*M.haemolytica* および *Histophilus somni* (*H.somni*) 混合不活化ワクチンによる黒毛和種子牛の呼吸器病の低減効果について検討する目的で、ワクチン接種群とワクチンを接種しなかった対照群におけるロイコトキシン (Lkt) 中和抗体価と呼吸器病の発病率を比較検討した。その結果、黒毛和種子牛における *M.haemolytica* 抗体は生後 8 週齢に最低値であったことから黒毛和種子牛に対する *M.haemolytica* ワクチン接種の時期は生後 8 週齢前後に行うことが有益であることが確認された。また、*M.haemolytica* 不活化ワクチンの接種は子牛に早期かつ確実な抗体賦与が可能であり、*P.multocida*、*M.haemolytica* および *H.somni* 混合不活化ワクチンの接種によって呼吸器病が低減することが確認された。

3. 黒毛和種子牛における血清ビタミン E 濃度と呼吸器病ワクチン接種による抗体産生との関連性

黒毛和種子牛における血清ビタミン E とワクチン接種による抗体産生との関連性を明らかにする目的で、*M.haemolytica* 不活化ワクチン接種時に血清ビタミン E 濃度が 100 μ g/dl 未満の低ビタミン E 群、100 μ g/dl 以上の高ビタミン群、ワクチン未接種の未接種群の 3 群に分類して、ワクチン接種時の血清ビタミン E 濃度とワクチン接種後の抗体産生との関連性を検討すると同時に、代用乳に日量 300IU のビタミン E 添加によるワクチン接種後の抗体産生への効果について検討した。

その結果、高ビタミン群の Lkt 中和抗体価の推移は低ビタミン E 群および未接種群に比べて高値で推移したことから、ワクチン接種時に血清ビタミン E 濃度が低下している子牛はワクチン接種に対する抗体産生能が低いことが示唆された。また、代用乳にビタミン E 添加することによって、ワクチン抗体価が高値で推移することが確認されたことから、子牛に対してワクチン抗体を斉一かつ安定的に獲得させるためには、ビタミン E 添加による血清ビタミン E 濃度の増加が有益な対策の一つであることが示唆された。

以上の本研究における成績から、病原性の高い *M.haemolytica* に罹患した呼吸器病の子牛における臨床および血液学的病態が明らかになり、その有効な予防対策であるワクチンの適正時期を立証し、野外における臨床試験によって子牛の呼吸器病に対するワクチンの効果を証明した。さらに、子牛にとって重要な栄養素であるビタミン E を添加することによって、子牛の呼吸器病に対するワクチンの効果がさらに増加することを確認した。したがって、本研究は野外におけるワクチン接種による黒毛和種子牛の呼吸器病の予防対策の礎となるとともに、子牛の呼吸器病による経済的損失の軽減に貢献しうるものである。

論文審査の要旨および結果

審査は、1)体裁を整え、新規性があり、明確に十分な根拠があるか、2)科学および獣医学の発展に寄与する内容であるかの2点を重点に行われた。

論文の概要について

研究の背景と目的

呼吸器病は子牛の主要な疾病であり、その損害は甚大である。近年、多頭化の飼養に伴って子牛は群飼形態で飼育され、過密な飼育環境下におけるストレスや病原微生物保有牛との接触機会が増加することによって呼吸器病の発症のリスクが従来に比べてさらに増大している。特に、病原性の高い *Mannheimia haemolytica* (*M.haemolytica*) 感染による呼吸器病を発病した重症例の子牛は死亡あるいは廃用になる例が多く、治癒例においても増体量が減少するなど、本症は牛肉生産の目的で飼養されている黒毛和種子牛にとっては重要な疾病である。現在、黒毛和種子牛の呼吸器病に対しては主に抗生物質療法が行われているが、抗生物質療法には限界があり、また薬剤耐性菌も増加傾向にあることから、ワクチン接種による予防対策の確立が切望されている。しかし、子牛に対するワクチン接種の方法は実験モデル子牛の成績に基づいたものであり、野外の黒毛和種子牛に対する効果的なワクチン接種の方法はまだ確立されていない。

本研究では、野外における黒毛和種子牛の呼吸器病の予防対策を目的としたワクチン接種の有効な方法を確立するために、高病原性の *M.haemolytica* 感染による呼吸器病子牛における臨床例の血液学的病態を解明すると同時に、黒毛和種子牛の出生後からの *M.haemolytica* の抗体価の推移、*M.haemolytica* 不活化ワクチンによる抗体産生と *Pasteurella multocida* (*P. multocida*)、*M.haemolytica* および *Histophilus somni* (*H. somni*) 不活化ワクチンによる抗体産生ならびに予防効果について検討した。さらに、子牛の栄養素の一つであるビタミン E とワクチン抗体産生との関連性を明らかにする目的で、黒毛和種子牛における血清ビタミン E 濃度とワクチン抗体産生との関連性について検討すると共に、ビタミン E 添加とワクチン抗体産生との関連性について検討した。

研究の成果

1. *M.haemolytica* に罹患した呼吸器病子牛の臨床例は心拍数と呼吸数の増数、動脈血ガス分圧の酸素分圧 (pO₂) と酸素飽和度 (O₂SAT) の低下、好中球の増数に伴う白血球数の増数、末梢血白血球ポピュレーションの CD3⁺T 細胞数、CD4⁺T 細胞数および CD8⁺T 細胞数の低下、ならびに血清 TNF 活性が高値を示すことが確認され、*M.haemolytica* に罹患した呼吸器病の子牛は高度な肺組織の炎症病変に起因する肺機能の著しい低下、炎症性の血液変化および TNF の産生を伴う重篤な臨床症状を示す難治性の呼吸器病であることが確認された。

2. 黒毛和種子牛における *M.haemolytica* 抗体価は生後 8 週齢に最低値であったことから黒毛和種子牛に対する *M.haemolytica* 不活化ワクチン接種の時期は能動免疫が始動する生後 8 週齢前後に行うことが適切な時期であることが確認された。また、*M.haemolytica* 不活化ワクチンの接種は子牛に早期に抗体賦与が可能であり、*P.multocida*、*M.haemolytica* および *H.somni* 混合不活化ワクチンの接種によって抗体価の増加と共に呼吸器病の低下に寄与していることが確認された。

3. 高ビタミン E 群 (血清 100 μ g/dl 以上) のロイコトキシン (Lkt) 中和抗体価の推移は低ビタミン E 群 (血清 100 μ g/dl 未満) および未接種群に比べて高値で推移したことから、ワクチン接種時に血清ビタミン E 濃度が高値の子牛はワクチン接種に対する抗体産生能が高いことが確認された。また、代用乳に日量 300IU のビタミン E を添加したビタミン E 添加群は対照群に比べて Bovine herpesvirus-1 (BHV-1) 生ワクチンに対する抗体産生の有意な増加が認められたことから、ワクチン抗体の産生にとってビタミン E が子牛の重要な栄養素の一つであることが確認された。したがって、黒毛和種子牛に対する呼吸器病の予防対策を目的にした効果的な呼吸器病ワクチン接種を行う際には、ビタミン E 添加による血清ビタミン E 濃度が重要であると考えられた。

本研究の成績から、高病原性の *M.haemolytica* に罹患した呼吸器病の子牛における臨床および血液学的病態が極めて重篤であることが明らかになり、その予防対策であるワクチン接種の適正な時期が立証され、野外における黒毛和種子牛の呼吸器病に対するワクチン効果が証明された。さらに、黒毛和種子牛に呼吸器病ワクチン接種を行う際には、血清ビタミン E が重要であることが確認された。

研究の評価

本研究は、高病原性の *M.haemolytica* に罹患した呼吸器病の子牛における臨床および血液学的病態が極めて重篤であることを明らかにすると共に、黒毛和種子牛の呼吸器病ワクチンの接種時期は能動免疫が始動する生後 8 週齢前後に行うことの有用性を立証し、野外の黒毛和種子牛の呼吸器病に対するワクチン効果を証明した。さらに、子牛の重要な栄養素の一つである血清ビタミン E 濃度がワクチン抗体の産生に関連していることを明らかにし、ビタミン E 添加によって血清ビタミン濃度が正常に維持されワクチン抗体が増加することを確認した。

本論文の構成は黒毛和種子牛の呼吸器病に対するワクチン接種による予防対策を確立する上で適切であり、内容が明確で十分な根拠を備えたものであると判断した。また、本研究の成果は野外におけるワクチン接種による黒毛和種子牛の呼吸器病の予防対策の新知見であり、黒毛和種子牛の呼吸器病による経済的損失の軽減に大きく寄与することが期待される。

2014年2月19日

審査員

主査	教授	小岩	政照
副査	教授	菊池	直哉
副査	教授	永幡	肇