

ホルスタイン牛群における  
ボルナ病ウイルスの浸潤状況と感染様式  
ならびに清浄化対策に関する研究

酪農学園大学大学院  
獣医学研究科

安藤達哉

指導教員 教授 小岩政照

2017 年度

## 略語・注釈

### AI (Artificial Insemination) : 人工授精

自然交配によって受胎を成立させる代わりに、雄から精液を採取し、希釈および凍結などの処理を行った後、人工的に雌の生殖器に注入を実施すること。わが国においては、1960年代にその実用化が始まった。現在、ほぼ100%に近く実施されている。

### ET (Embryo Transfer) : 受精卵移植 (胚移植)

受精卵 (胚) を人為的に別の雌の生殖道内に注入すること。現在は、体内受精卵および体外受精卵によって実施されている。人工授精に遅れ、1980年代に実用段階に入った。雌雄同時に改良を進めるメリットがある。

### 牛群検定 (Dairy Herd Recording) : 乳用牛群能力検定事業

農家の飼養する乳用牛について、個体ごとに泌乳量、乳成分率、体細胞数、濃厚飼料給与量、繁殖成績および体重などを測定・記録し、その結果を低能力牛の淘汰や飼養管理の改善などに活用することにより、酪農経営における生産性の向上を図ることを目的として昭和49年度に開始された。「飼養 (健康) 管理」、「繁殖管理」、「乳質、衛生の管理」、「遺伝的改良」の4つの役割を掲げ、「牛群検定データは牛からのメッセージ」を合言葉に、酪農経営における経済的損失を未然に防ぎ、高品質、低コスト生産といった経営改善の成果国際競争に耐えうる高品質で安全な生乳生産と生産コストの低減化を図る。

**空胎日数 (Open Periods) :**

分娩後、受胎が成立した最終授精日までの分娩からの期間。この空胎日数によって次回分娩への分娩間隔が決定する為、乳牛の繁殖を管理する上で最も重要な指標となる。

**初回授精 (First Artificial Insemination in Postpartum) :**

分娩後、初めて実施された授精を初回授精と言い、その実施した日を初回授精開始月日ならびに分娩月日から初回授精開始月日までの期間を初回授精開始日数と言う。

**TMR (Total Mixed Ration) :** 完全混合飼料

飼料分析に基づいて栄養計算された、粗飼料、濃厚飼料および補助飼料などを、ミキサーを使用して均一に混ぜた飼料。一般的には混ぜ餌と呼ばれる。

**FC (Fresh Check ) :** フレッシュチェック

分娩後、設定した期間で主に生殖器の生理的な回復状況を確認する為に実施する手技。2011年に実施された日本家畜臨床感染症研究会の調査によると、その実施は分娩後40日目に実施されるものが最も多く(38.3%)、ついで30日(24.9%)、60日(12.4%)である。

**定期繁殖検診 (Periodic Breeding Examination) :**

分娩後の生殖機能回復状態および妊娠の有無等を判断する目的の集団的検診。定期的な実施(概ね2週間から1ヶ月)によって、酪農家および獣医師共に効率的な繁殖管理を実現する。近年、超音波

診断装置等を活用する事により、より迅速かつ正確に、生産動物の生殖機能検査および妊娠鑑定の実施が可能となっている。

**ハードヘルス (Herd Health) :**

herd=群れ・集団の health=健康。生産動物の集団単位での健康を管理する考え方。一定の集団で飼養される中大型酪農牛群単位での生産を安定させる事を目的とする。

**VWP (Voluntary Waiting Period) :** 生理的空胎日数

任意に決定する授精までの待機日数。目標とする分娩間隔を実現する為の目標とする初回授精開始日数を言う。

**フリーストール (Free Stall) : FS**

乳牛の管理法の一種。牛を繋ぎ留めることなく、牛の歩行・採食・飲水および休息などを原則自由とし、乳牛の安楽性を向上させる事によって、生産性および繁殖性の向上そして酪農家の労役軽減を目的とする。他の管理法に繋ぎ飼い法などがある。

**分娩間隔 (Calving Interval) : CI**

「空胎日数+妊娠期間」である。既に経過した分娩による経過分娩間隔と現在の妊娠から成立する次期分娩間隔の二通りの捉え方が存在するが、一般的には次期分娩間隔を指す事が多い。

**BoDV-1 (Borna Disease Virus 1 : BoDV-1 ) : ボルナウイルス**

モノネガウイルス目ボルナウイルス科ボルナウイルス属に属する一本鎖マイナス鎖の RNA をゲノムに持つウイルス。近年様々な動物種から関連ウイルスが分類され、主に哺乳類に感染するボルナウイルスについては、**Borna Disease Virus 1 : BoDV-1** と分類上の記載名としている。また鳥類に感染するボルナウイルスを **Avian borna virus : ABV** と呼び、少なくとも 15 種類が確認されている。

## 目 次

略 語・注 釈

緒 言 … 1

第 I 章 ホルスタイン牛群におけるボルナ病ウイルス感染と  
繁殖成績との関連

1. はじめに … 5
2. 材料および方法 … 6
3. 結 果 … 9
4. 考 察 … 14
5. 小 括 … 16

第 II 章 ホルスタイン牛群におけるボルナ病ウイルス感染の  
垂直伝播相対リスクの血清疫学的分析

1. はじめに … 17
2. 材料および方法 … 18
3. 結 果 … 19
4. 考 察 … 24
5. 小 括 … 26

第 III 章 ボルナ病ウイルス感染牛群に対する清浄化対策の検討

1. はじめに … 27
2. 材料および方法 … 28

3.	結 果	… 31
4.	考 察	… 49
5.	小 括	… 51
	総 括	… 52
	謝 辞	… 55
	引用文献	… 56

## 緒 言

近年、家畜と畜産物の貿易の拡大に伴って海外からの悪性伝染病が侵入するリスクが高まり、緊急時を想定した組織的な家畜防疫体制の確立が求められている。また、酪農収益を増加させるためには疾病の軽減と繁殖成績の向上による長命連産が不可欠であるが、育種改良による一頭当たりの乳生産量の飛躍的な増加と飼養規模の拡大に伴って、牛白血病(BL)、牛ウイルス性下痢ウイルス感染症(BVD)および牛のヨーネ病(JD)等の慢性疾病の顕在化[19,20,30,39]や、個体の生産機能に密接な関連を有する疾病の増加が、生産性の向上を図る上での大きな阻害要因となっている。臨床現場においては、それらの疾病の慢性感染牛として診断されている個体は氷山の一角であり、現在、牛群内に広く慢性・持続性感染牛を飼養している酪農家が散見され、そのコントロールは難しく、多くは原因不明の病気として死亡や淘汰されているものと推察される。

さらに、乳牛における繁殖性は年々低下しており、乳生産と後継牛の確保にとって大きな問題となっている[35]。2014年度の経産乳牛における分娩後初回人工授精(First Artificial Insemination in Postpartum)の開始は都府県が分娩後 100 日、北海道が分娩後 90 日、初回 AI 受胎率は都府県 40%、北海道 42%であり、初回 AI 開始日数の延長と初回 AI 受胎率の低下によって空胎日数と分娩間隔が年々延長し、産次数も 1985 年 3.2 産から 2014 年 2.7 産に低下している。

ホルスタイン種成乳牛における廃用の原発疾病として、乳熱やダウンー症候群、消化器病、乳房炎の他に、ボルナ病(Borna Disease :



BD)による廃用も報告されている[16]。

BD は、馬の伝染性の進行性脳髄膜炎を引き起こすウイルス性疾患であり、1813年にドイツ南東サクソニー地方ボルナの馬で自然発生が初めて報告[16,17,46]された。本病の原因であるボルナ病ウイルス(Borna Disease Virus : BDV)は、エンベロープに被われた非分節型マイナス鎖、1本鎖のRNAをゲノムに持つ向神経性のモノネガウイルス目(*Mononegavirales*)に属するウイルスであり[5,11,16,46,48-50]、哺乳類に感染するBDVをBorna Disease Virus 1(BoDV-1)と分類標記[22,50]している。

自然感染例におけるウイルスの侵入門戸は、嗅球の神経上皮と考えられている[46]。BoDV-1の自然感染宿主は多様であり、ウマ科の動物、ウシ、ヒツジ、ウサギ、ダチョウ、シカをはじめ、マカクサル、ナマケモノ、ラマ、アルパカ、コビトカバといった動物園動物、伴侶動物ではイヌ、ネコに感染し、進行性の非化膿性脳脊髄炎を引き起こす[8,16,17,23,27,36,46,47,50,51]。実験的にはげっ歯類から霊長類まで多くの動物種に感染が可能であることが明らかになっており[46,48,50]、その感染宿主域はかなり広いものと考えられている。牛における発生報告は、1994年のスイスでの報告[16,46,50]が初発であり、我が国では2001年の病理診断例[46]が最初である。我が国の牛におけるBoDV-1感染率は、ホルスタイン種雌牛が7.5～17.6%、黒毛和種が11～21%と報告[16,17,54]されている。

さらに、1985年に初めて人の精神分裂病患者においてBDV特異抗体が検出[38]されて以来、このBoDV-1が人に対しても病原性を持つ可能性が示唆され、人の精神疾患を引き起こす人獣共通伝染病として注目されている。近年の報告では中枢神経系疾患患者(精神障

害、統合失調症、情動障害、慢性疲労症候群、パーキンソン氏病等)との関連の可能性が論議され[6,25,42]、その社会的影響は重大であると推察される。

BD の生前診断は、ウエスタンブロッド法や ELISA 法による BoDV-1 抗体の検出や RT nested-PCR による末梢血単核球中の BoDV-1 RNA の検出により行われている[3,11,16,17,32,46]。また、現在、有効な治療法は確立されていない。

ウマの BD は、臨床的に健康な個体の血液ならびに脳脊髄液中に抗 BoDV-1 抗体が存在する慢性型(不顕性型)と臨床症状を示す急性型に分けられる[48]。急性型の初期には採食の困難または停止、回帰熱がみられ、興奮、不安、さらに運動機能の低下と異常姿勢、感覚反射の低下が現れる。中期には脊椎反射の低下、頭位傾斜、知覚過敏、固有受容感覚障害が特徴的で、運動失調と外因性刺激に対する反応異常がみられるようになる。また、咽頭麻痺による嚥下困難や流涎、顔面神経麻痺、眼振、斜視、縮瞳がみられる。末期には斜頸が進み、強制旋回運動が起こる。脳脊髄液圧の亢進の結果として頭部領域の振戦、痙攣が起こり、昏睡、採食停止となる。ウマでは全身麻痺がよくみられ、発症から 1~4 週間で 80%が死亡する[46,48,49]。

臨床型の BoDV-1 感染は中央ヨーロッパでウマやヒツジにみられるのみであり、我が国では、谷山ら[46]の研究において急性型のボルナ病に近い BoDV-1 陽性症状のウマの存在が明らかになっている。また、2001 年、生前に血清 BoDV-1 抗体陽性であり意識障害と進行性の運動失調を呈した成牛ホルスタイン種一例が、病理解剖により BD と診断されている[46]。

ウシの BD は、BoDV-1 の持続感染による起立不能や運動器障害を伴う脳神経障害を主症状とする疾患であるが[16,17,46]、未だ発病要因の全貌は解明されていない。Bode ら[4]は食欲の減退、不安、運動失調、不全麻痺、強制旋回運動が認められ、1~6 週間で死亡したと報告している。また、Caplazi ら[5]は後肢を中心にした旋回運動、振戦、斜頸、測定過大、軽度固有感覚欠損などを示したと報じており、乳牛においても BoDV-1 感染の伝染性進行性非化膿性脳髄膜炎に起因する運動器障害が確認されている[16,17]。

近年、ウシの BD 臨床例が確認され、抗体陽性率の疫学調査も行われている[16,17,54]。Hagiwara ら[7]、Takino ら[45]および Ludwig[24]は、BoDV-1 感染と乳牛における繁殖性との関連性について調査を行い、BoDV-1 抗体陽性牛で受胎率が低下すると報告しているが、その要因についてはまだ解明されていない。また、ホルスタイン牛群における BoDV-1 の感染と繁殖性との関連性、感染相対リスク、感染コントロール対策について総合的に行った調査と研究が見当たらない。

本研究では、ホルスタイン牛群における BoDV-1 感染の浸潤状況と生産性との関係ならびに BoDV-1 の感染様式を明らかにすると同時に、清浄化対策を確立する目的で、第 I 章では、ホルスタイン牛群における BoDV-1 の感染状況と繁殖成績との関連性、第 II 章では、ホルスタイン牛群における BoDV-1 の垂直伝播相対リスクの血清疫学的分析、第 III 章では、BoDV-1 陽性牛群に対する感染コントロール対策による清浄効果についての研究を行った。

## 第 I 章 ホルスタイン牛群におけるボルナ病ウイルス感染と 繁殖成績との関連

### 1. はじめに

近年、乳牛において、様々な要因が引き金となった非計画的かつ早期の淘汰更新が問題視されている。早期における淘汰更新の理由は、繁殖障害、乳器と乳質の異常、肢蹄疾患の順であり、繁殖成績の低下が最も大きな問題となっており、その要因と誘因の解明ならびに対策の確立が求められている[14]。また、近年、牛群の大規模化におけるフリーストール飼養形態の中で、起立不能を呈する運動器疾患の増加も問題になっている。

ボルナ病(Borna Disease : BD)は、向神経性のボルナ病ウイルス(BDV)感染により伝染性の進行性非化膿性脳髄膜炎を引き起こすウイルス性疾患であり、その主な兆候は運動障害である。初発は 1813 年、ドイツのウマの報告で[16,17,46]、その後、ヒツジ、ウサギ、ラット、ダチョウ、イヌ、ネコにおける自然発生例が報告[16,17,46]されており、自然感染宿主は多様である。ウシにおける発生報告は、1994 年のスイスでの報告が初発で、我が国では 2001 年の病理診断例 [46] が最初である。Hagiwara ら [7]、Takino ら [45] および Ludwig[24]は、BoDV-1 感染と繁殖性との関連性を報告している。

本章では、ホルスタイン牛群における BoDV-1 感染状況および BoDV-1 感染と繁殖成績との関連性を明らかにする目的で、繁殖障害と起立不能を伴う運動器疾患による淘汰更新が多いホルスタイン牛群における BoDV-1 感染の調査を行って、BoDV-1 ウイルス感染群と非感染群における繁殖成績を比較検討した。また、牛群における

死廃および自家更新と BoDV-1 感染との関連についても調査を行った。

## 2. 材料及び方法

### 1) 供試牛群

供試牛群は、北海道石狩管内においてフリーストール(FS)飼養管理しているホルスタイン牛群であり(表 1)、2009 年 7 月の牛群検定成績においては、成乳牛 104 頭、平均年間乳量 10,500kg、乳脂率 3.99%、乳蛋白率 3.35%、無脂固形率 8.96%であった。

繁殖成績は、平均産次数 2.1 産、平均 AI 回数 3.0 回、平均初回 AI 開始日数 66 日、平均空胎日数 136.3 日および平均分娩間隔 412 日であった。また、平均初回 AI 受胎率は 17.0%、2 回目 AI 受胎率は 32.5%、2 回目までの累計 AI 受胎率が 41.5%であり、供試牛群は全国および北海道平均と比べて低受胎の牛群であった。

表1. 牛群の概要（2009年7月）

	供試牛群	全国平均*	北海道平均*
経産牛頭数(頭)	104	42.6	63.6
乳量(kg)	10,500	9,217	9,134
乳脂率(%)	3.99	3.94	4.01
乳蛋白率(%)	3.35	3.24	3.25
無脂固形率(%)	8.96	8.72	8.75
平均産次数(産)	2.1	2.7	2.7
授精回数(回)	3.0	2.3	2.3
初回授精開始日数(日)	65.7	94.0	91.0
空胎日数(日)	136.3	161.0	151.0
分娩間隔(日)	412.1	433.0	428.0
人工授精回数時受胎率(%)	1回	17.0	42.0
	2回	32.5	43.0
	2回まで	41.5	

\*全国平均および北海道平均は、2009年7月牛群検定より

## 2) 供試牛群の飼養および繁殖管理

牛群の栄養管理は、開業コンサルタントによる定期的な飼料分析と飼養管理指導によって継続的に行われており、牛群の正確な繁殖成績を把握する目的で毎週一回の定期繁殖検診を実施した。

定期繁殖検診は、VWP(Voluntary Waiting Period: 生理的空胎日数)期間における生殖器評価(フレッシュチェック: FC)および AI 適期を過ぎた自然発情未確認牛の確認を行うと同時に、空胎日数が延長する未 AI 牛への積極的な治療を実施した。AI および受精卵移植(Embryo Transfer: ET)を行った乳牛に対する妊娠鑑定は、胎齢 30 日を基準に超音波画像診断を実施し、非妊娠牛に対して卵巣所見に基づいた治療を行った。

また、2009 年度の疾病状況を評価する目的で、前年 2008 年度における牛群の共済対象の死亡と廃用事故(以下、死廃事故)および自家更新牛の状況を調査した。

## 3) 持続性感染症調査

牛群における持続性感染牛の疫学調査を行う目的で、2009 年 7 月、飼養している全成乳牛 104 頭に対して検査を実施した。血清 BoDV-1 抗体は、組換え BoDV-1 核タンパク質(BDV-N)抗原を用いたウエスタンブロット法[2,10,16,42]により行った。また、同時に牛白血病、牛ウイルス性下痢ウイルス感染症ならびにヨーネ病の検査も併せて実施した。牛白血病検査は、BLV プロウイルス遺伝子を標的に増幅する PCR 法によって実施し[44]、牛ウイルス性下痢ウイルス感染症検査は、RT-PCR 法を用いウイルス遺伝子を検出した[21]。ヨーネ病は、家畜伝染病法に基づく定期検査時に PCR 法で確認した

[18,29]。

#### 4) 統計処理

得られた成績の統計処理は、統計ソフト「R」(バージョン 3.0.2)による統計解析を実施した。

### 3. 結果

#### 1) 持続性感染症感染状況

牛群において、牛白血病、牛ウイルス性下痢ウイルス感染症およびヨーネ病は認められなかった。BoDV-1 感染牛は、成乳牛 104 頭中の 30 頭であり、感染率は 28.8%であった(表 2)。

**表2. BoDV-1 感染調査成績 (2009年7月)**

	内 訳	頭数	(%)	感染牛内訳 (%)
	自家産牛	19		63.3
BoDV-1感染牛	導入牛	11		36.7
	計	30	28.8	100.0
BoDV-1非感染牛		74	71.2	
合計		104	100.0	



また、BoDV-1 感染牛の出生別の比較では、自家産牛が 19 頭(63.3%)、導入牛が 11 頭(36.7%)であり、導入牛に比べて自家産牛の BoDV-1 感染率が高かった。自家産牛の出生時期は 2003 年 3 月から 2007 年 2 月の 5 年間であり、陽性牛の内訳は 2004 年 7 頭、2005 年 5 頭および 2006 年 4 頭で、合計 16 頭(84.2%)がこの 3 年間に出生していた。

## 2) BoDV-1 感染と繁殖成績

BoDV-1 感染の有無と繁殖成績(2009 年 12 月)との関連性を表 3 に示す。産次数は感染群が  $2.3 \pm 1.0$  産、非感染群が  $1.9 \pm 1.2$  産であった。AI 回数は感染群が  $4.3 \pm 2.4$  回、非感染群が  $2.8 \pm 1.7$  回で、感染群が有意( $P < 0.01$ )に多かった。初回 AI 開始日数は、感染群が  $64.5 \pm 10.2$  日、非感染群が  $64.7 \pm 14.8$  日であり、両群に差は認められなかった。空胎日数は、感染群が  $156.2 \pm 53.9$  日、非感染群が  $116.0 \pm 50.6$  日であり、非感染群に比べて感染群が 40 日延長しており、有意差( $P < 0.01$ )が認められた。初回 AI 受胎率は、感染群が 8.3%、非感染群が 29.4%、2 回目 AI 受胎率は、感染群が 18.2%、非感染が 45.8%、3 回目 AI 受胎率は、感染群が 22.2%、非感染群が 38.5%であった。3 回目までの累計受胎率は、感染群が 41.7%、非感染群が 76.5%であり、感染群が非感染群に比べて 34.8 ポイント低く、有意差( $P < 0.05$ )が認められた。

表3. BoDV-1感染の有無と繁殖成績 (2009年12月)

	牛 群	BoDV-1	
		感染群	非感染群
	n=104	n=30	n=74
産 次 (産)	2.1 ± 1.1	2.3 ± 1.0	1.9 ± 1.2
授精回数	3.2 ± 2.2	4.3 ± 2.4*	2.8 ± 1.7*
初回授精日 (日)	64.6 ± 13.5	64.5 ± 10.2	64.7 ± 14.6
空胎日数	125.9 ± 54.4	156.2 ± 53.9 <sup>†</sup>	116.0 ± 50.6 <sup>†</sup>
受胎率 (%)	1回	23.9	8.3
	2回	37.1	18.2
	3回	31.8	22.2
	3回まで	67.4	41.7 <sup>‡</sup>

\* , <sup>†</sup> P<0.01    <sup>‡</sup> P<0.05

### 3) 死産と更新の状況

牛群の 2008 年度における死産と更新の状況を表 4 に示す。2008 年度における死産事故は 12 例であり、その内訳は股関節脱臼 4 例、多発性関節炎 1 例、低カルシウム血症 1 例、第四胃変位 1 例、脂肪肝 3 例、産後心不全 1 例およびその他 1 例であった。死産例の中で起立不能を呈した症例は 6 例(50.0%)であり、発病は最終分娩日から平均 271 日(3~570 日)経過していた。また、自家更新は 25 頭であり、23 頭(92.0%)が長期不受胎、2 頭(8.0%)が乳質異常により淘汰された。

表4. 牛群の死廃ならびに更新の状況（2008年度）

	内 訳	頭 数	%
	起立不能症	6	50.0
	┌ 股 関 節 脱 臼	(4)	(33.3)
	└ 多 発 性 関 節 炎	(1)	(8.3)
	└ 低カルシウム血症	(1)	(8.3)
共済死廃	第四胃変位	1	8.3
	脂 肪 肝	3	25.0
	産後心不全	1	8.3
	そ の 他	1	8.3
	計	12	100.0
	繁 殖 障 害	23	92.0
自家更新	乳 質 異 常	2	8.0
	計	25	100.0
	合 計	37	

#### 4. 考 察

本研究では、ホルスタイン牛群における BoDV-1 感染状況および BoDV-1 感染と繁殖成績との関連性を明らかにする目的で、繁殖障害と起立不能を伴う運動器疾患による淘汰更新が多いホルスタイン牛群における BoDV-1 感染の調査を行って、ウイルス感染群と非感染群における繁殖成績を比較検討した。また、牛群における死廃および自家更新と BoDV-1 感染との関連についても調査を行った。

現在、我が国の BoDV-1 感染率は、ホルスタイン種雌牛が 7.5～17.6%、黒毛和種が 11～21%と報告されている[16,17,54]。今回、調査を行ったホルスタイン牛群における BoDV-1 感染率は 28.8%であり、これまでの報告に比べて感染率が高い牛群であった。また、出生別における BoDV-1 感染率を比較したところ、自家産牛が 19頭(63.3%)、導入牛が 11頭(36.7%)で、導入牛に比べて自家生産牛の感染率が高かったことから、BoDV-1 感染は牛群内の自家生産牛で拡大していると推察された。

Hagiwara ら[7]、Takino ら[45]および Ludwig[24]は、BoDV-1 感染と繁殖性との関連性について調査を行って、BoDV-1 抗体陽性牛は受胎率が低下すると報告しているが、その要因についてはまだ解明されていない。今回、BoDV-1 感染と繁殖性との関連を明らかにする目的で、BoDV-1 感染群と非感染群との繁殖成績を比較検討した。

その結果、BoDV-1 感染群は非感染群に比べて、AI 回数(感染群：4.3回、非感染群：2.8回)の増加、空胎日数(感染群：156日、非感染：116日)の延長、初回 AI 受胎率(感染群：8.3%、非感染群：29.4%)の低下、3回まで AI 累計受胎率(感染群：14.7%、非感染群：76.5%)

の低下が認められ、BoDV-1 感染によって繁殖成績が低下することが確認されたことから、繁殖成績に対する BoDV-1 感染による潜在的影響は大きいと考える。BoDV-1 感染による繁殖成績低下の要因解明は今後の課題であるが、受胎時の免疫系への影響も一因と成り得る可能性が考えられる。

BoDV-1 は、多種動物に感染して伝染性非化膿性脳炎を引き起こし、主に起立不能の運動器障害を呈するウイルス病 [16,17,23,27,36,46,48,50,51] であり、競走馬において廃用馬の多くが BoDV-1 の持続感染馬であり運動器障害により処分されていたことが報告されている [12]。また、乳牛においても BoDV-1 感染による運動器障害(主に起立不能症)の廃用例が確認されている [16,17]。

乳牛における起立不能を主徴とする運動器障害の多くは、分娩前後の産褥期に発生する乳熱や起立不能症に継発する例である [16]。今回の牛群における死廃と自家更新の状況を調査したところ、死廃の 50%(6 例)が起立不能症であり、1 例を除く 5 例は産褥期以外の時期であったことから、BoDV-1 感染の関与が示唆された。また、BoDV-1 感染率の高い牛群では、繁殖障害が原因で早期に更新されると報告 [16,17] されており、今回の牛群における自家更新の原因の 92%(23 例)が繁殖障害であったことから、BoDV-1 感染の関与が推察された。

以上の研究結果から、今回のホルスタイン牛群は、BoDV-1 感染率の高い牛群であり、同居牛の BoDV-1 感染を比較したところ、導入牛に比べて自家産牛における BoDV-1 感染率が高かったことから、牛群内の自家産牛で BoDV-1 感染が拡大していることが示唆された。また、BoDV-1 感染群は非感染群に比べて繁殖成績が低下しており、

BoDV-1 感染が繁殖成績の低下に關与していることが確認された。さらに、BoDV-1 感染が牛群における死廃と自家更新のリスク要因の一つになることが推察された。今後、ホルスタイン牛群の繁殖成績の向上と疾病軽減に基づく酪農生産の収益を増加させるためには、潜在性感染症である BoDV-1 の感染の把握とコントロール対策が重要であると考えられた。

## 5. 小 括

今回、ホルスタイン牛群における BoDV-1 感染状況および BoDV-1 感染と繁殖成績との関連性を明らかにする目的で、繁殖障害と起立不能を伴う運動器疾患による淘汰更新が高いホルスタイン牛群における BoDV-1 感染の調査を行ってウイルス抗体の陽性群と陰性群における繁殖成績の比較検討、牛群における死廃および自家更新と BoDV-1 感染との関連についても調査を行った。

その結果、今回調査したホルスタイン牛群は、BoDV-1 感染率の高い牛群であり、導入牛に比べて自家産牛における BoDV-1 感染率が高かったことから、牛群内の自家産牛で BoDV-1 感染が拡大していることが示唆された。また、BoDV-1 感染群は非感染群に比べて繁殖成績が低下しており、BoDV-1 感染が繁殖成績の低下に關与していることが確認された。さらに、BoDV-1 感染が牛群における死廃と自家更新のリスク要因の一つになることが推察された。

## 第Ⅱ章．ホルスタイン牛群におけるボルナ病ウイルス感染の 垂直伝播相対リスクの血清疫学的分析

### 1. はじめに

ボルナ病(BD)は、ボルナ病ウイルス(BoDV-1)の感染によって非化膿性脳炎[23,27,36,51]を伴う神経系疾患を引き起こす疾病であり、ドイツ南部ボルナの町で 1813 年に馬の神経症状を伴う病気の流行地にちなんで命名された。BD は、我が国を含め世界中の多くの動物種で発生している[8,16,17,23,27,36,46,48,50,51]が、乳牛における神経症状の発現は稀であり、繁殖障害や起立不能を呈する症例の中に BoDV-1 抗体陽性例が確認されている[7]。

我が国における BD は、家畜と伴侶動物で報告[9-11,13,15,31,33,34,54]されているが、乳牛での疫学的研究は十分ではない。また、BoDV-1 の伝播様式については、いくつかの研究知見が報告[12,37,43]され、水平感染と垂直感染の可能性が示唆されているが、その詳細については不明な点が多い。また、第 I 章の研究において、導入牛群に比べて自家産牛における BoDV-1 の感染率が高かったことから、BoDV-1 を持続感染する母牛から子へと垂直伝播した BoDV-1 ウイルスが、出生後に同環境で他の新生子牛に水平伝播している可能性も推察された。

近年、我が国、特に北海道における多くのホルスタイン牛群は、飼養規模拡大に伴って市場から未經産育成牛を導入している[40]。一方、外部から導入せず、自家産の後継牛によって牛群の飼養規模を拡大している牛群も存在し、この様な牛群では、同じ母系起源を有する比較的少ない系統によって牛群を構成している。



本章では、牛群内の BoDV-1 抗体陽性率および同一母系内における乳牛間のウイルス伝播様式を解明する目的で、その伝播における垂直感染の可能性を調査すると共に、BoDV-1 抗体陽性母牛から算出された娘牛に対するウイルス伝播について統計的疫学リスクを調査した。

## 2. 材料および方法

供試牛群は、多様な飼養形態を呈する北海道内の 24 戸のホルスタイン牛群である。供試牛は、本研究の実施に同意した日常の診療業務時に訪れるフィールドから選択された合計 1,122 頭のホルスタイン種雌乳牛であり、供試牛に対して血清学的 BoDV-1 抗体検査を行った。

この 1,122 頭の供試牛は、約 20 年間、外部からの導入を実施せず自家産牛によって繁殖育成を継続する閉鎖繁殖牛群 3 農場 624 頭と、外部の農場から育成牛を導入し牛群構成を維持する非閉鎖繁殖牛群 21 農場 498 頭に分類された。

血清サンプルは、10%ブロッカーエース(大日本製薬株式会社、大阪、日本)および 0.05%の Tween 20 を含有するリン酸緩衝生理食塩水で 100 分の 1 に希釈した。サンプルは、組換え BoDV-1 核タンパク質 (BDV-N) 抗原を用いた ELISA 法によりスクリーニング試験を実施した [8]。抗原結合ウシ抗体を検出するために、ペルオキシダーゼ結合ヤギ抗ウシ IgG (Bethyl Laboratories, Inc., Montgomery, TX, U.S.A.) を使用した。測定は、マイクロプレートイメージングシステム (Ultramark, Bio-Rad, Hercules, CA, U.S.A.) を用いて 405nm で測定した。ELISA のカットオフ値は、5 頭の非感染牛における平均

±2SDとして計算しカットオフ値(OD値0.4)を決定した。ELISA陽性サンプルは、さらにBDV-N抗原への特異性を確認するためにウエスタンブロット法で確認した。

母子関係におけるウイルスの垂直伝播の可能性を分析する目的で、統計ソフトウェアR(バージョン3.0.2)を使用して、BoDV-1抗体陽性であった母牛から生まれた娘牛におけるBoDV-1抗体陽性の相対リスクを算出した。相対リスクとは、コホート研究において、要因への曝露と疾患発生との関連の強さを評価する指標であり、特定の因子による曝露群と非曝露群の罹患率の比として計算される。すなわち、本研究においては、BoDV-1抗体陽性である母牛を特定の要因とし、これから出生した娘牛を曝露群、またBoDV抗体陰性母牛から出生した子牛を非曝露群と位置づけ、子牛の母牛BoDV-1への曝露とその後の子牛自体のBoDV-抗体陽性との関連性の強さを相対リスクによって算出した。

### 3. 結 果

BoDV-1の抗体陽性反応は供試牛群(調査戸数)の全てで認められ、供試牛群全体におけるBoDV-1感染率は24.1%(270/1,122)であった。また、調査の期間中、全ての牛群においてBD発症は認められず、臨床的な異常所見は確認されなかった(表5)。

閉鎖繁殖牛群におけるBoDV-1感染率が39.7%(248/624)であったのに対して、非閉鎖繁殖牛群におけるBoDV-1感染率は4.4%(22/498)であり、閉鎖繁殖牛群の感染率が有意に高かった( $P<0.01$ )。

閉鎖繁殖3牛群における成乳牛のBoDV-1感染率は

42.2%(205/486)であり、育成牛の 31.2%(43/138)と比べて高かった。

非閉鎖繁殖牛群 21 牛群においては、それぞれ成乳牛が 7.6%(9/119)、育成牛が 4.4%(13/379)であり、成乳牛と育成牛とに大きな差は認められず、閉鎖繁殖牛群の BoDV-1 感染率は非閉鎖繁殖牛群に比べて約 6 倍高かった。

閉鎖繁殖 3 牛群における成乳牛の BoDV-1 感染率は、A 牛群 36.6%(70/193)、B 牛群 37.6%(74/193)および C 牛群 63.5%(61/96)であり、3 牛群の成乳牛の BoDV-1 感染率は、非閉鎖繁殖牛群に比べて有意に高かった。

表5. 繁殖牛群の概要とBoDV-1感染率の比較

	非閉鎖的繁殖牛群		閉鎖的繁殖牛群					
	育成牛	成乳牛	育成牛			成乳牛		
			A	B	C	A	B	C
BoDV-1感染	13	9	4	24	15	70	74	61
BoDV-1非感染	366	110	16	70	9	123	123	35
	3.4 <sup>*</sup>	7.6 <sup>†</sup>	20	25.5	62.5	36.3	37.6	63.5
	(13/379)	(9/119)	(4/20)	(24/94)	(15/24)	(70/193)	(74/193)	(61/96)
感染率	4.4 <sup>‡</sup>	(22/498)	31.2 <sup>* §</sup> (43/138)			42.2 <sup>† §</sup> (205/486)		
			39.7 <sup>‡</sup> (248/624)					
			24.1 (270/1122)					

\* P<0.01, 95%CI:6.37~26.74, OR: 12.65

† P<0.01, 95%CI:4.37~20.43, OR: 8.89

‡ P<0.01, 95%CI:8.97~23.61, OR: 14.24

§ P<0.05, 95%CI:1.06~ 2.47, OR: 1.61

次に、BoDV-1 抗体陽性母牛から算出された娘牛に対するウイルス伝播について統計的疫学リスクを知る目的で行った血清疫学的解析を用いた抗体陽性母牛からの娘牛への BoDV-1 抗体陽性の相対リスクの成績を表 6 に示す。検討した母子組み合わせ 251 組(表 6)のうち、BoDV-1 感染母牛は 95 頭(95/251 37.8%)であった。この 95 組中 54 頭(56.8%)の娘牛が BoDV-1 抗体陽性であった。

表6. 閉鎖繁殖牛群における垂直伝播に関するコホート研究

		母 牛 (組)		
		BoDV-1感染	BoDV-1非感染	合計
娘 牛 (組)	BoDV-1感染	54	50	104
	BoDV-1非感染	41	106	147
合計		95	156	251

表 6 で得られた情報から算出された母子伝播相対リスクは、A 牛群 1.01、B 牛群 1.94 および C 牛群 1.67 であった(表 7)。また、閉鎖 3 牛群全体における母子伝播相対リスクは 1.86(1.54~2.56:95%信頼区間)であり、B 牛群とともに 95%信頼においてその相対リスクが立証された。

表7. 閉鎖繁殖牛群における BoDV-1 垂直伝播の相対危険度

	A	B	C	全体
母子伝播相対危険度	1.01	1.94 <sup>*</sup>	1.67	1.86 <sup>*</sup>
95%CI (下限~上限)	0.56~1.82	1.27~2.98	0.99~2.82	1.54~2.56

\* 95%信頼区間で有意性あり

#### 4. 考 察

本研究において、乳牛における BoDV-1 感染伝播に関する統計学的な知見を示すことができた。これまで、牛群内で母子伝播する BoDV-1 感染に対する相対リスクについては検討されていなかったが、今回の研究で、非閉鎖繁殖牛群における娘牛の血清 BoDV-1 感染率が 3.4%、閉鎖繁殖牛群が 31.2%であり、閉鎖繁殖牛群が非閉鎖繁殖牛群に比べて感染率が高いことが確認された。

牛群内における BoDV-1 の伝播において水平感染が主要経路であった場合、その感染率は牛群の導入管理が異なっても同様の結果となるはずであるが、非閉鎖繁殖牛群においては成乳牛においても同様の感染率を示した。したがって、母子ともに高い感染率を示した閉鎖繁殖牛群では、水平感染以外の伝播経路が存在することが示唆された。今回、二つの牛群管理の異なる繁殖育成方式によって、BoDV-1 感染率に差があったことから、統計的手法に基づく疫学的リスク解析による BoDV-1 抗体陽性母牛と娘牛との垂直伝播相対リスクを分析した。

この相対リスクは、原因と考えられる暴露因子と疾病発生との関係性の強さを現すために使用される疫学的統計手法であり、ヒトにおいては C 型肝炎ウイルスの血中濃度と肝癌発症との関係や、受動喫煙と肺癌発生との関係などを算出するために使用されている [41,52]。また、BSE 発症の原因物質の検証にも使用されている [55]。

今回の研究では、統計ソフトウェア R を使用し、BoDV-1 感染母牛から娘牛への BoDV-1 の垂直伝播相対リスク (RR) を調査した。その結果、抗体陽性母牛からその娘牛への BoDV-1 垂直伝播相対リスクが、3 閉鎖繁殖牛群において 1.01~1.94 の間であったことを見出

し、結果としてその閉鎖繁殖牛群全ての平均は 1.86(1.54~2.56 : 95%CI)であった。この結果は、閉鎖繁殖牛群において、垂直伝播に有意な相対リスクがあることを示すものである。

母子に関する垂直感染には 3 つの異なる経路がある。第 1 の経路は、胎盤を介して感染が成立する胎盤感染と、子宮内で羊水等を介して感染が成立する上行性感染を含む子宮内感染であり、第 2 の経路としては、分娩時に産道内において血液などを介して伝播が成立する分娩時感染が挙げられる。第 3 の経路としては、初乳中にウイルスあるいはウイルス感染細胞が含まれる事によって感染が成立する経母乳感染がある[28,47,52]。BoDV-1 感染においては、ウマと齧歯類胎子における母子感染がこれまでに報告されている[12,26,37,43]。

今回、本研究で、ホルスタイン牛群内における BoDV-1 垂直感染の伝播の可能性を調査すると共に、BoDV-1 抗体陽性母牛から算出された娘牛に対するウイルス伝播について統計的疫学リスクを調査する目的で、牛群内における BoDV-1 垂直伝播の RR を算出した。

その結果、閉鎖繁殖牛群の母子伝播相対リスクは、非閉鎖繁殖牛群に比べて有意に高いことが明らかになった。この疫学的統計指標は、乳牛における BoDV-1 垂直伝播の高い可能性を示唆するものであり、閉鎖繁殖牛群の管理経営においては、垂直伝播による持続感染母牛から娘牛への BoDV-1 感染を増加させるリスクが存在することを示している。したがって、BoDV-1 抗体陽性母牛は、その娘牛へ BoDV-1 ウイルスを伝播する高いリスクを有しており、これが閉鎖繁殖牛群における高い BoDV-1 抗体陽性率を構成した一要因であり、BoDV-1 感染の清浄化対策を検討する上で重要な要因であると



考える。

## 5. 小 括

BoDV-1 の伝播様式については、水平感染と垂直感染の可能性を示唆する報告[12,37,43]はあるが、その詳細については不明である。

本研究では、ホルスタイン牛群内における BoDV-1 垂直感染の伝播の可能性を明らかにすると共に、BoDV-1 抗体陽性母牛から算出された娘牛に対するウイルス伝播について統計的疫学リスクを調査する目的で、同一母系起源を有する閉鎖繁殖牛群を対象とした BoDV-1 抗体調査を実施し、牛群内における BoDV-1 感染率および同一母系内における乳牛間のウイルス伝播について統計的疫学リスクを評価した。

その結果、非閉鎖繁殖牛群における娘牛の BoDV-1 感染率が 3.4% であるのに対して、閉鎖繁殖牛群の感染率は 31.2% であり、閉鎖繁殖牛群は非閉鎖繁殖牛群に比べて垂直伝播相対リスクが有意に高いことが確認され、閉鎖繁殖牛群では、持続感染母牛から娘牛へ BoDV-1 が垂直伝播する可能性が存在することが示唆された。

### Ⅲ章．ボルナ病ウイルス感染牛群に対する清浄化対策の検討

#### 1. はじめに

ボルナウイルス(BoDV-1)感染牛群に対して清浄化対策を行うためには、BoDV-1 の汚染状況と繁殖成績や死廃との関連性を明らかにすると同時に、BoDV-1 の伝播様式を理解しておくことが重要である。

本論文の第Ⅰ章では、ホルスタイン牛群における BoDV-1 感染の状況と繁殖成績との関連性について調査を行ったところ、牛群内の自家生産牛において BoDV-1 感染が拡大しており、BoDV-1 感染が繁殖成績の低下に関与していることが確認された[1]。また、第Ⅱ章では、同一母系起源を有する閉鎖繁殖牛群を対象とした BoDV-1 抗体調査を実施して、牛群内における BoDV-1 感染率および同一母系内における乳牛間のウイルス伝播について統計的疫学リスクを評価した結果、閉鎖繁殖牛群は非閉鎖繁殖牛群に比べて垂直伝播相対リスクが有意に高いことが確認され、閉鎖繁殖牛群では、持続感染母牛から娘牛へ BoDV-1 が垂直伝播する可能性があることが示唆された[2]。

第Ⅱ章において、ホルスタイン牛群内における BoDV-1 の伝播に母子伝播の可能性が示唆されたことから[2]、BoDV-1 感染を清浄化するためには母子間の垂直伝播 RR を限りなく遮断することが必須であると考察した。

本研究では、BoDV-1 感染牛群における清浄化対策を検討する目的で、高い BoDV-1 感染率を呈したホルスタイン牛群に対して BoDV-1 の清浄化の検討を行った。

## 2. 材料および方法

### 1) 供試牛群

供試牛群は、北海道石狩管内でホルスタイン乳牛を飼養するフリーストール牛群であり、営農を開始して以来、外部導入をせずに牛群を規模拡大してきた閉鎖的繁殖牛群である。

供試験牛群の概要を表 8 に示す。

2012 年 1 月の牛群検定時では、成乳牛 210 頭、平均年間個体乳量 10,000kg、乳脂率 4.39%、乳蛋白率 3.24%、無脂固形率 8.82%、平均産次 2.3 産、平均 AI 回数 2.0 回、初回 AI 開始日数 86 日、空胎日数 149 日および分娩間隔は 413 日であり、初回 AI 受胎率は 41.7%であった。

牛群における 2012 年 12 月の BoDV-1 感染率は 34.7%と高く、繁殖成績の悪化に伴う成乳牛の淘汰更新率の増加、産次数の低下、日乳量の低下および飼養管理費の増加のために収益率は低値であった。

表8. 牛群の概要 (2012年2月)

---

経産牛頭数(頭)	210
乳 量(kg)	10,000
乳 脂 率(%)	4.39
乳蛋白率(%)	3.24
無脂固形率(%)	8.82
平均産次数(産)	2.3
授 精 回 数(回)	2.0
初回授精日(日)	86
空胎日数(日)	149
分娩間隔(日)	413
人工授精 初回受胎率(%)	41.7

---

## 2) 対策方法

BoDV-1(持続性慢性感染症)の感染状況に基づいて、牛群からの感染要因の低減を進めて清浄化を目標にした対策を決定した。

### (1) 初乳給与

BoDV-1 感染が確認された母牛の初乳は完全に把握および隔離し、母牛の感染履歴に関わらず、すべての新生子牛に対して感染母牛由来の初乳摂取を停止した。BoDV-1 感染母牛からの出生子牛に対しては、BoDV-1 非感染母牛からの保存初乳ならびに人工初乳の完全給与を行った。

### (2) 淘汰更新

牛群の生産頭数を維持拡大することを前提としながら、感染牛の絶対数の減少に向けた選択的な淘汰更新を進めた。具体的には、産次数、生産性、母系血統等を総合的に考慮した上で、感染牛への次期繁殖処置の停止および疾病罹患時の積極的治療の非選択を農場関係者における共通の認識とした。

## 3) 検査

血清サンプルには、BoDV-1 検出のため組換え BoDV-1 核タンパク質(BDV-N)抗原を用いた ELISA 法によりスクリーニング試験を実施した[3]。ELISA 陽性サンプルは、さらに BDV-N 抗原への特異性を確認するためにウエスタンブロット法で調べた。合わせて、牛白血病検査は、BLV プロウイルス遺伝子を標的に増幅する PCR 法によって実施し[44]、牛ウイルス性下痢ウイルス感染症検査は、

RT-PCR 法を用い、ウイルス遺伝子を検出した[21]。ヨーネ病は、家畜伝染病法に基づく定期検査時に PCR 法で確認した[18,29]。

#### 4) 調査および評価

供試牛群における持続性慢性感染症の調査は、2012年12月および2015年12月の2回実施し、それぞれ牛白血病[44]、牛ウイルス性下痢ウイルス感染症およびボルナ病の疫学調査を行った。また、2010年および2015年に実施された、家畜伝染病予防法に基づくヨーネ病検査[18,29]結果も合わせて活用した。

牛群における BoDV-1 感染の清浄化対策を有機的に実行するために、BoDV-1 母子伝播の阻止と BoDV-1 感染牛の淘汰更新の推進を目標に定め、牛群の淘汰更新状況、牛群の繁殖性ならびに生産性の推移、BoDV-1(慢性持続性感染症)感染状況、BoDV-1 感染の有無と繁殖成績との関連性、BoDV-1 感染牛の淘汰更新状況、BoDV-1 母子感染リスクの算出、の6項目によって清浄化対策の効果を評価した。

母子関係におけるウイルスの垂直伝播の可能性を分析するために、供試牛群の母系血統図の作成を行うとともに、第II章と同様に統計ソフトウェア R(バージョン 3.0.2)を使用して、BoDV-1 感染母牛から生まれた娘牛における BoDV-1 母子伝播の RR を算出するとともに、 $\chi^2$ 検定および t 検定を用い、各成績の有意性を検討した。

### 3. 結果

#### 1) 牛群の淘汰更新状況の調査結果

供試牛群における淘汰更新状況を牛群検定情報北海道平均と比較して表 9 に示す。調査を開始する 2011 年までの淘汰更新状況にお

いては、50%を超える高い淘汰更新率を継続し、2009年には、66.9%(113/169)淘汰されていた。また、2007年を境に分娩頭数が減少する中、2009年の年間淘汰更新牛113頭中、原因が定まらない「その他」淘汰更新個体が35/113(31.0%)と最も多く、繁殖障害が25/113(22.1%)であり、淘汰更新牛の半数以上をこの二つの要因が占めていた。2004年から2011年までの8年間では、繁殖障害22.3%(171/766)と乳用売却18.7%(143/766)が高く、乳器障害7.6%(58/766)、低能力0.9%(7/766)および死亡9.1%(70/766)の要因による淘汰更新が低いことから、供試牛群が、多くの乳用売却を継続し、繁殖障害を主要因とする淘汰更新を積極的に実施した状況であったことが明らかになった。牛群の調査を実施した2012年以降では、分娩頭数は180頭前後で推移し、淘汰更新率は40%前半を推移していた。主要な淘汰更新要因であった繁殖障害は27.3%(123/451)に増加したが、乳用売却は9.1%(41/451)と半減し、その他を要因とする淘汰更新が126/451(27.9%)と著しく増加した。乳器障害4.0%(18/451)、低能力0.2%(1/451)および死亡3.3%(15/451)による淘汰更新率は低下した。

表. 9 牛群における淘汰・更新状況の推移（頭）

年度	除 籍 理 由											合計
	分娩 頭数	乳器 障害	繁殖 障害	疾 病			低 計	乳用 死亡	乳用 売却	その他		
				蹄	消化 器	起立 不能						
2004	207	8	18	5	0	3	8	0	16	46	2	105
2005	208	7	20	3	0	7	10	0	15	16	9	84
2006	205	10	15	14	4	3	21	3	9	32	14	120
2007	188	3	31	9	2	0	11	3	8	23	10	97
2008	195	12	21	11	2	3	16	0	9	9	28	105
2009	169	7	25	11	4	1	16	1	6	10	35	113
2010	186	7	18	7	3	1	11	0	4	5	13	70
2011	184	4	23	12	3	0	15	0	3	2	11	72
合計	1542	58	171	72	18	18	108	7	70	143	122	766
平均	192.8	7.3	21.4	9.0	2.3	2.3	13.5	0.9	8.8	17.9	15.3	95.8
%		7.6	22.3	9.4	2.3	2.3	14.1	0.9	9.1	18.7	15.9	100.0
2012	184	4	31	15	0	0	15	0	0	22	20	105
2013	201	2	26	10	4	1	15	0	7	8	55	116
2014	188	8	24	13	3	1	17	0	2	5	15	79
2015	189	2	17	8	4	0	12	0	3	6	15	77
2016	175	2	25	11	5	0	16	1	3	0	21	74
合計	937	18	123	57	16	2	75	1	15	41	126	451
平均	187.4	3.6	24.6	11.4	3.2	0.4	15.0	0.2	3.0	8.2	25.2	90.2
%		4.0	27.3	12.6	3.5	0.4	16.6	0.2	3.3	9.1	27.9	100.0
北海道 (%)		19.0	13.0	10.0	2.0	4.0	16.0	4.0	18.0	6.0	24.0	100.0

北海道 (%) : 公益社団法人北海道酪農検定検査協会 検定成績表 (牛群成績平均) 平成29年1月分 全道



## 2) 牛群における繁殖性と生産性の調査成績

供試牛群の牛群検定成績における繁殖成績の推移を表 10 に示す。

1 回目の持続性慢性感染症の検査を行った 2012 年 12 月の牛群検定成績では、人工授精(AI)回数 1.6 回、初回 AI 開始日数 89 日および初回 AI 受胎率 46.0%であり、良好な繁殖成績を示していたが、2 回目の持続性慢性感染症の検査を行った 2015 年 12 月の牛群検定成績では、初回 AI 開始日数 88 日、初回 AI 受胎率 32.0%、空胎日数 150 日および分娩間隔は 432 日であり、2012 年 12 月に比べて繁殖成績の低下が認められた。

表10. 牛群の牛群検定成績における繁殖成績の推移

検定実施日 年. 月	経産牛頭数 (頭)	産次数 (産)	検定日成績		
			乳脂率	乳蛋白率 (%)	無脂固形率
2010.04	188.2	2.2	4.11	3.34	8.91
2012.12	203.0	2.3	4.13	3.20	8.78
2015.12	202.0	2.2	4.02	3.21	8.76
2016.12	204.0	2.3	3.97	3.26	8.77

  

検定実施日 年. 月	授精回数 (回)	繁殖成績			経産牛 1頭当たり 年間乳量 (kg)	
		初回授精 受胎率 (%)	開始日数 (日)	空胎日数 (日)		
2010.04	2.2	30.0	56.0	155.0	443.0	10,020
2012.12	1.6	46.0	89.0	133.0	414.0	9,776
2015.12	2.0	32.0	88.0	150.0	432.0	9,896
2016.12	1.9	29.0	86.0	135.0	419.0	9,891

供試牛群における生産成績の推移を表 11 に示す。

2007 年以前の年間出荷乳量は 2,000t を超えていたが、2007 年から搾乳頭数に伴う年間出荷乳量の減少がみられ、特に、2015 年には搾乳頭数が 150 頭を下回り、1 日出荷乳量が 5,000kg 以下に減少して乳生産の低下が認められた。

表11. 牛群の牛群検定成績による年度別平均搾乳頭数ならびに生産性の推移

年度	牛 群 平 均			
	搾乳頭数	1日当たり		年間 出荷乳量(t)
		乳量(kg)	出荷乳量(kg)	
2002	169.0	30.5	5,100	1,862
2003	170.0	31.5	5,350	1,953
2004	171.9	32.5	5,587	2,039
2005	166.2	33.1	5,508	2,011
2006	159.8	34.6	5,531	2,019
2007	161.2	33.2	5,348	1,952
2008	157.8	33.4	5,273	1,924
2009	159.5	33.0	5,262	1,921
2010	147.7	33.8	4,987	1,820
2011	158.5	32.3	5,123	1,870
2012	157.8	33.6	5,300	1,935
2013	156.3	32.7	5,102	1,862
2014	157.5	33.4	5,260	1,920
2015	147.2	34.0	4,998	1,824
2016	156.3	32.9	5,140	1,876

### 3) 牛群慢性持続性感染症調査結果

供試牛群における、慢性持続性感染症調査結果を表 12 に示す。

供試牛群における、慢性持続性感染症調査は、2012年12月と2015年12月の2回実施した。その結果、2012年12月における BoDV-1 感染率が 34.7%(74/213)であり、BoDV-1 の高汚染牛群と判断して清浄化対策を行った結果、2015年12月における BoDV-1 感染率は 9.5%(25/262)となり、BoDV-1 感染率の著しい有意な低下( $\chi^2=43.707, df=1, P<0.01$ )が確認された。調査期間中、臨床型のボルナ病ウイルス感染症を発症した症例は認められなかった。牛白血病(BL)、牛ウイルス性下痢ウイルス感染症(BVD)およびヨーネ病(JD)は全頭陰性であった。

表12. 牛群における慢性持続性感染症調査結果

実施日	牛白血病	牛ウイルス性下痢ウイルス感染症	ボルナ病	ヨーネ病*
2012.12	—	—	74 / 213 34.7%*	—
2015.12	—	—	25 / 262 9.5%*	—

\*：牛ヨーネ病は家畜法定伝染病予防法に則り、2011年および2016年実施  
\* P<0.01

#### 4) BoDV-1 感染と繁殖成績との関連性(2012.12)

表 13 に、2012 年 12 月に行った慢性持続性感染症検査時における BoDV-1 感染と非感染牛群の繁殖成績を示す。

2012 年 12 月に 192 頭の経産乳牛に対して行った検査の結果、BoDV-1 感染牛が 70 頭(36.5%)、非感染牛が 122 頭(63.5%)であった。産次数および分娩後の経過日数はそれぞれ非感染群 2.19 産、273.7 日および感染牛群 2.36 産、267.5 日、ならびに平均 AI 回数は非感染牛群 2.15 回、感染牛群 2.11 回であり、両群間に有意な差がなかった。平均初回 AI 開始日数は、非感染牛群 82.8 日、感染牛群 90.2 日であり、非感染牛群に比べて感染牛群がやや延長する傾向がみられた。

初回 AI 受胎率は非感染牛群 38.7%、感染牛群 22.6%であり、受胎頭数は、非感染牛群 41 頭(106 頭中)、感染牛群 14 頭(62 頭中)であった。感染牛群の授精実施頭数中の初回 AI 受胎数は非感染牛群に比べて有意な減少( $\chi^2=3.902, df=1, P=0.04823$ )が認められ、初回から 3 回目 AI までの受胎率も非感染牛群 71.6%、感染牛群 54.8%であり、授精実施頭数に対する受胎数において感染牛群は非感染牛群に比べて有意な減少( $\chi^2=3.913, df=1, P=0.04791$ )が認められた。

空胎日数は、非感染牛群 121.4 日、感染牛群 132.3 日で、感染牛群が非感染牛群に比べて 10 日延長していたが両群間に有意な差はなかった。

表13. BoDV-1感染状況による繁殖成績の比較 -2012年12月-

	頭数 (頭)	産次数 (産)	経過日数 (日)	平均 授精回数 (回)	各回授精								空胎日数 (頭)
					1回目		2回目		3回目		3回目まで		
					日数	受胎 %	受胎 %	受胎 %	受胎 %				
					(日)	(頭)	(頭)	(頭)	(頭)				
非 感 染	122	2.19	273.7	2.15	82.8	41 * 38.7	17	30.9	10	30.3	68 † 71.6	121.4	
感 染	70	2.36	267.5	2.11	90.2	14 * 22.6	15	39.5	5	29.4	34 † 54.8	132.3	
合 計	192	2.25	271.4	2.14	85.5	55 32.7	32	34.4	15	30.0	102 65.0	125.4	

\* P<0.05 95%CI(0.209-0.988)

† P<0.05 95%CI(0.233-0.995)

#### 5) BoDV-1 感染牛の淘汰更新状況

2012 年に検査を行った 213 頭の供試牛における淘汰更新状況を表 14 に示す。

213 頭中における BoDV-1 感染牛は 74 頭(34.7%)であったが、74 頭の感染牛のうち 2015 年の検査時に牛群内で繫留されていた成乳牛は 11 頭(14.9%)であり、63 頭(85.1%)は淘汰更新されていた。一方、213 頭の中で非感染牛は 139 頭(65.3%)であり、このうち 2015 年の検査時に繫留されていた成乳牛は 35 頭(25.2%)で、104 頭(74.8%)が淘汰更新されていた。

2012 年から 2015 年の 3 年間に、213 頭中の 167 頭(78.4%)が淘汰更新されており、その淘汰の多くは感染牛の積極的な淘汰更新であった。



表14. 牛群におけるBoDV-1感染状況別淘汰更新状況

検査頭数	2012検査結果	2015検査実施時			
		繫留牛		淘汰更新牛	
		頭数 (頭)	%	頭数 (頭)	%
	陰性 139	35	25.2	104	74.8
213	BoDV-1感染	21.6		78.4	
	陽性 74	11	14.9	63	85.1

#### 6) BoDV-1 感染と繁殖成績との関連性(2015.12)

表 15 に、2015 年 12 月に行った慢性持続性感染症検査時における BoDV-1 感染と非感染牛群の繁殖成績を示す。

2015 年 12 月に 204 頭の経産乳牛に対して行った 2 回目の検査では、BoDV-1 感染牛は 21 頭(10.3%)および非感染牛は 183 頭(89.7%)であり、BoDV-1 感染率は 2012 年 12 月の 1 回目の検査時に比べ著しく低下していた。

産次数と分娩後の経過日数は、それぞれ非感染群 2.15 産、217.3 日および感染牛群 2.71 産、284.6 日であり、産次数において感染牛群の産次数は非感染牛群に比べて有意に増加( $t=-2.004, df=201, P=0.04641$ )していた。平均初回 AI 開始日数は、非感染牛群 89.7 日および感染牛群 82.6 日であり、有意差は認められなかった。初回 AI 受胎率は非感染牛群 26.1%、感染牛群 26.7%、初回から 3 回目 AI までの受胎率は非感染牛群 53.8%、感染牛群 53.3%、空胎日数は非感染牛群 144.7 日、感染牛群 134.7 日であり、両群間に有意な差がなかった。

表15. BoDV-1感染状況による繁殖成績の比較 -2015年12月-

頭数 (頭)	産次数 (産)	経過日数 (日)	平均 授精回数 (回)	各回授精								空胎日数 (頭)		
				1回目		2回目		3回目		3回目まで				
				日数	受胎 %	受胎 %	受胎 %	受胎 %						
				(日)	(頭)	(頭)	(頭)	(頭)						
非 感 染	183	2.15 *	217.3	2.30	89.7	31	26.1	23	31.9	10	25.6	64	53.8	144.7
感 染	21	2.71 *	284.6	2.11	82.6	4	26.7	1	9.1	3	33.3	8	53.3	134.7
合 計	204	2.21	224.2	2.28	88.9	35	26.1	24	28.9	13	27.1	72	53.7	143.7

\* P<0.05

## 7) BoDV-1 母子垂直感染相対リスク

BoDV-1 母子垂直伝播相対リスクの算出結果を表 16 に示す。

供試牛群の母子関係におけるウイルスの垂直伝播の可能性を分析するために、統計ソフトウェア R(バージョン 3.0.2)を用いて BoDV-1 感染が確認された母牛から生まれた娘牛における BoDV-1 母子伝播の相対リスクを算出した。2012 年 12 月に実施した調査において確認できた母子組み合わせは 58 組であった。

58 組のうち BoDV-1 感染母牛は 21 頭(21/58, 36.2%)であり、この 21 頭中 8 頭(8/21, 38.1%)の娘牛が BoDV-1 感染牛であった。また、58 組中 37 頭(37/58, 63.8%)の母牛は非感染であり、この 37 頭中 23 頭(23/37 62.2%)の娘牛に BoVD-1 感染は確認されなかった。

表16. 牛群における垂直伝播に関するコホート研究 2012.12

2012.12		母 牛 (組)		
		BoDV-1感染	BoDV-1非感染	合計
娘牛 (組)	BoDV-1感染	8	14	22
	BoDV-1非感染	13	23	36
合計		21	37	58

2015年12月に行った調査においては、表17に示す242組の母子組み合わせが確認できた。

このうち BoDV-1 感染母牛は 80 頭(80/242, 33.1%)であり、この 80 頭中 11 頭(11/80, 13.8%)の娘牛に BoDV-1 感染が確認された。また、242 組のうち 162 頭(162/242, 66.9%)の母牛は非感染であり、162 頭中 139 頭(139/162, 85.8%)の娘牛は BoDV-1 感染陰性であった。

表17. 牛群における垂直伝播に関するコホート研究 2015.12

2015.12		母牛 (組)		
		BoDV-1感染	BoDV-1非感染	合計
娘牛 (組)	BoDV-1感染	11	23	34
	BoDV-1非感染	69	139	208
合計		80	162	242

2012年12月と2015年12月から得られた情報から算出された母子伝播相対リスクを表18に示す。

2012年12月における母子感染RRは1.01であり、その95%CIは0.56~1.82となった。また、2015年12月における供試牛群の母子伝播相対リスクは、0.98であり、その95%CIは0.58~1.65となった。本研究では、両相対リスクの信頼区間の重複から、相対リスクの変化は観察されなかった。

表18. 牛群における検査実施時のBoDV-1垂直伝播の相対危険度

	母子伝播RR	95%CI (下限~上限)
2012.12	1.01	0.56~1.82
2015.12	0.98	0.58~1.65

#### 4. 考 察

ボルナ病(Borna Disease : BD)は、向神経性のボルナ病ウイルス(BoDV-1)感染により伝染性の進行性非化膿性脳髄膜炎を引き起こすウイルス性疾患であり、その主な兆候は運動障害である。初発は1813年、ドイツのウマの報告で[16,17,46]、その後、ヒツジ、ウサギ、ラット、ダチョウ、イヌ、ネコにおける自然発生例が報告[16,17,46]され、自然感染宿主は多様である。我が国の BoDV-1 感染率は、ホルスタイン種雌牛が 7.5~17.6%、黒毛和種が 11~21%と報告されている[16,17,54]。Hagiwara ら[7]、Takino ら[45]および Ludwig[24]は、BoDV-1 感染と繁殖性との関連性について調査を行って、BoDV-1 抗体陽性牛は受胎率が低下すると報告しているが、その要因についてはまだ解明されていない。

本論文の第 I 章で、ホルスタイン牛群における BoDV-1 感染の状況と繁殖成績との関連性について調査を行ったところ、牛群内の自家生産牛において BoDV-1 感染が拡大し、繁殖成績の低下に関与していることが明らかとなり[1]、第 II 章で、牛群内における BoDV-1 感染率および同一母系内における乳牛間のウイルス伝播について統計的疫学リスクを評価した結果、閉鎖繁殖牛群は非閉鎖繁殖牛群に比べて垂直伝播相対リスクが有意に高いことが確認され、閉鎖繁殖牛群では、持続感染母牛から娘牛へ BoDV-1 が垂直伝播する可能性が存在することが示唆された[2]。

第 III 章では、第 I 章と第 II 章の研究結果に基づいて、BoDV-1 感染の割合の高いホルスタイン牛群に対しての清浄化対策について検討した。

BoDV-1 感染の清浄化対策には、BoDV-1 の伝播に母子感染(垂直



伝搬)の可能性が示唆されたことから、BoDV-1 感染を清浄化するためには母子間の垂直伝播相対リスクを限りなく遮断することが必須であると考察した。その考察に基づいて、BoDV-1 感染が確認されている母牛の初乳を把握することによって新生子牛に対する感染母牛由来の初乳摂取を停止し、BoDV-1 感染母牛の出生子牛に対しては、BoDV-1 非感染母牛からの保存初乳と人工初乳の給与を徹底した。また、産次数、生産性および母系血統等を総合的に考慮し、感染牛への次期繁殖処置の停止と疾病罹患時の積極的治療の非選択を農場関係者における共通の認識として、感染牛の絶対数の減少に向けた選択的な淘汰更新を積極的に推進した。

その結果、BoDV-1 感染の清浄化対策を行った 3 年間の推移を検討したところ、牛群における BoDV-1 感染率は 34.7%から 9.5%に著しく減少し、清浄化対策の有効性が確認された。これは、BoDV-1 の母子間の垂直伝播の遮断を目的にした新生子牛に対する感染母牛由来の初乳摂取の停止による成果であると推察された。一方、牛群内における BoDV-1 の感染群と非感染群間の比較では、3 年間における繁殖成績の改善と乳生産の増加は認められなかった。これは清浄化対策として行った BoDV-1 感染成乳牛の積極的な淘汰更新の影響であると推察された。また、気象状況の影響を大きく受ける収穫飼料調整の変化の存在もあり、単純な年度間成績の比較は難しく、BoDV-1 の清浄化対策の効果を評価するためには、さらに長期間の観察が必要であると考えられた。

本研究の結果から、BoDV-1 に感染しているホルスタイン牛群を清浄化するためには、BoDV-1 の母子垂直伝播の遮断を目的とした BoDV-1 感染母牛からの初乳給与の停止と BoDV-1 感染成乳牛の選

択的な淘汰更新の積極的な推進が有効な対策であることが明らかになった。

## 5. 小 括

本研究では、BoDV-1 感染のホルスタイン牛群に対する清浄化対策として、BoDV-1 の母子垂直伝播の遮断を目的とした BoDV-1 感染母牛からの初乳給与の停止を行うと同時に BoDV-1 感染成乳牛の選択的な淘汰更新の積極的な推進を行った。

その結果、成乳牛における BoDV-1 感染率の著しい低下が確認され、BoDV-1 感染母牛からの初乳給与の停止と BoDV-1 感染成乳牛の選択的な淘汰更新による清浄化対策の有効性が確認された。繁殖成績と乳生産には清浄化対策の有効性は認められなかったが、清浄化による繁殖成績と乳生産の改善効果を評価するためには長期間の観察が必要であると考えられた。

## 総 括

近年、家畜と畜産物の貿易の拡大に伴って海外からの悪性伝染病が侵入するリスクが高まり、緊急時を想定した組織的な家畜防疫体制の確立が求められている。また、酪農収益を増加させるためには疾病の軽減と繁殖成績の向上による長命連産が不可欠であるが、育種改良による一頭当たりの乳生産量の飛躍的な増加と飼養規模の拡大に伴って慢性疾病の顕在化や個体の生産機能に密接な関連を有する疾病の発生の増加が、生産性の向上を図る上での大きな阻害要因になっている。

ボルナ病(Borna Disease : BD)は、ウマの伝染性の進行性脳髄膜炎を引き起こすウイルス性疾患であり、1813年にドイツ南東サクソニー地方のボルナのウマでの自然発生が初めての報告である。本病の原因であるボルナ病ウイルス(Borna Disease Virus : BDV)は、向神経性のモノネガウイルス目(Mononegavirales)に属するウイルスであり、哺乳類に感染するBDVをBorna Disease Virus 1(BoDV-1)と分類標記されている。

ウイルスの侵入門戸は嗅球の神経上皮であり、BoDV-1の自然感染宿主は多様である。牛における発生報告は、1994年のスイスでの報告が初発であり、我が国のBoDV-1感染率は、ホルスタイン種雌牛が7.5~17.6%、黒毛和種が11~21%と報告されている。

本研究では、ホルスタイン牛群におけるBoDV-1感染の感染状況と繁殖成績との関連性ならびにBoDV-1の感染様式を明らかにすると同時にBoDV-1感染の清浄化対策を検討する目的で、第I章では、ホルスタイン牛群におけるBoDV-1の感染状況と繁殖成績との関連

性、第Ⅱ章では、ホルスタイン牛群における BoDV-1 の垂直伝播相対リスクの血清疫学的分析、第Ⅲ章では、BoDV-1 感染牛群に対する清浄対策の効果についての研究を行った。

1. ホルスタイン牛群における BoDV-1 感染状況および BoDV-1 感染と繁殖成績との関連性を明らかにする目的で、ウイルス抗体の陽性群と陰性群における繁殖成績の比較、牛群における死廃および自家更新と BoDV-1 感染との関連について調査を行った。

その結果、BoDV-1 感染牛群内では導入牛に比べて自家産牛で BoDV-1 感染が拡大していることが明らかになった。また、BoDV-1 感染が繁殖成績の低下に関与していることが確認され、BoDV-1 感染が牛群における死廃と自家更新のリスク要因の一つになることが推察された。

2. ホルスタイン牛群内における BoDV-1 垂直伝播の可能性を明らかにすると共に、BoDV-1 抗体陽性母牛から算出された娘牛に対するウイルス伝播について統計的疫学リスクを調査の目的で、同一母系起源を有する閉鎖繁殖牛群を対象とした BoDV-1 抗体調査を実施し、牛群内における BoDV-1 感染率および同一母系内における乳牛間のウイルス伝播について統計的疫学リスクを評価した。

その結果、閉鎖繁殖牛群は非閉鎖繁殖牛群に比べて垂直伝播相対リスクが有意に高いことが確認され、閉鎖繁殖牛群では、持続感染母牛から娘牛へ BoDV-1 が垂直伝播する可能性が存在することが示唆された。

3. BoDV-1 感染のホルスタイン牛群に対する清浄化対策として、BoDV-1 の母子垂直伝播の遮断を目的とした BoDV-1 感染母牛からの初乳給与の停止を行うと同時に BoDV-1 感染成乳牛の選択的な淘汰更新の積極的な推進を行った。

その結果、成乳牛における BoDV-1 感染率の著しい低下が認められ、BoDV-1 感染母牛からの初乳給与の停止と BoDV-1 感染成乳牛の選択的な淘汰更新による清浄化対策の有効性が確認された。また、BoDV-1 感染の清浄化による繁殖成績と乳生産の改善効果を評価するためには長期間の観察が必要であると考えられた。

本研究は、ホルスタイン牛群における慢性持続性感染症の一つである BoDV-1 の感染状況、繁殖成績との関連性および牛群内における伝播様式を解明すると同時に BoDV-1 感染牛群に対する有効な清浄化対策を立証したものであり、ホルスタイン牛群における感染症の防疫対策に基づく繁殖成績の改善と乳生産の向上による健全な酪農経営の発展に大きく貢献するものである。

## 謝 辞

本研究をまとめるにあたり、終始御指導と御校閲を賜りました、酪農学園大学獣医学群獣医学類生産動物内科学Ⅱ小岩政照教授および獣医ウイルス学萩原克郎教授に深謝致します。また、生産動物内科学Ⅰ田島誉士教授ならびに獣医疫学蒔田浩平准教授に万謝致します。

本研究を振り返ると、大動物臨床獣医師として初めの一步を踏み出した石狩地区農業共済組合江別家畜診療センターでの日々を思い出さずにはられません。ただ目の前の命と向き合う事で精一杯の私に、「志を高く持ち、日々前を見て進もう。私達は臨床獣医師であると同時に臨床科学者なのだ」と励まし続けて頂いた小岩政照所長から、「基本を大切に、努力を積み重ね、博士号を目指そう」と薫陶頂いたからこそであり、深甚なる謝意を表さずにはられません。

また、本研究ならびに私の獣医師活動に快く賛同をいただき、研究材料ならびに農場情報等の提供、材料採材時への直接的な協力はもちろん、臨床現場に隠された様々な研究の芽を共に発掘して頂いた、多くの酪農家の皆さんに対する感謝の念も忘れることはできません。そして、なにより沢山の貴重な知見を与えてくれた清らかな乳牛達と、日々激務をこなす同志獣医師に心から感謝しています。

最後に、ボルナ病ウイルスの感染経路を断ち、牛群感染率の低下に向い、共に模索した継続的な防疫策を不断に継続する供試牛群管理者の皆さんに対し、心から敬意を現します。

## 引用文献

1. Ando, T., Oota, H., Kooriyama, Y., Suzuki, T., Yamamoto, Y., Shimizu, T., Kawai, R., Someya, Y., Koike, N. and Fujimoto, K. 2010. A Relationship between breeding performance and infection with Borna disease virus in holstein dairy farms with high incidence of breeding disorder. *J. Livestock Med.* 57 : 725-729.
2. Ando, T., Takino, T., Makita, K., Tajima, M., Koiwa, M. and Hagiwara, K. 2016. Sero-epidemiological analysis of vertical transmission relative risk of Borna disease virus infection in dairy herds. *J. Vet. Med. Sci.* 78: 1669-1672.
3. Bode, L. 2008. Human Borna virus infection – towards a valid diagnostic system. *Acta Pathol. Microbial. Immunol. Scand.* 116. suppl. 21-39.
4. Bode, L., Durrwald, R. and Ludwig, H. 1994. Borna virus infections in cattle associated with fatal neurological disease. *Vet. Rec.* 135 : 283–284.
5. Caplazi, P., Waldvogel A., Stitz L. and Ehrensperger, F. 1994. Borna disease in naturally infected cattle. *J. Comp. Pathol.* 111 : 65~72.
6. Donfrancesco, R., Gregori, P., Vulcano, A., Candelori, E., Ronchetti, R., Miano, S., Pagani, J., Villa, M. and Patti, M.A. 2008. Borna Disease Virus infection in children with psychiatric disorders. *Acta Pathol. Microbial. Immunol.*

- Scand.* 116. suppl. 80-82.
7. Hagiwara, K., Ando, T. and Koiwa, M. 2012. The influence of Borna disease viral infection on dairy cow reproduction. *J. Vet. Med. Sci.* 74 : 419–421.
  8. Hagiwara, K., Asakawa, M., Liao, L., Jiang, W., Yan, S., Chai, J., Oku, Y., Ikuta, K. and Ito, M. 2001. Seroprevalence of Borna disease virus in domestic animals in Xinjiang, China. *Vet. Microbiol.* 80 : 383–389.
  9. Hagiwara, K., Kawamoto, S., Takahashi, H., Nakamura, Y., Nakaya, T., Hiramune, T., Ishihara, C. and Ikuta, K. 1997. High prevalence of Borna disease virus infection in healthy sheep in Japan. *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 4 : 339–344.
  10. Hagiwara, K., Matoba, Y. and Asakawa, M. 2009. Borna disease virus in Raccoons (*Procyon lotor*) in Japan. *J. Vet. Med. Sci.* 71: 1009–1015.
  11. Hagiwara, K., Nakaya, T., Nakamura, Y., Asahi, S., Takahashi, H., Ishihara, C. and Ikuta, K. 1996. Borna disease virus RNA in peripheral blood mononuclear cells obtained from healthy dairy cattle. *Med. Microbiol. Immunol. (Berl.)* 185: 145–151.
  12. Hagiwara, K., Okamoto, M., Kamitani, W., Takamura, S., Taniyama, H., Tsunoda, N., Tanaka, H., Iwai, H. and Ikuta, K. 2002. Nosological study of Borna disease virus infection in race horses. *Vet. Microbiol.* 84: 367–374.



13. Hagiwara, K., Tsuge, Y., Asakawa, M., Kabaya, H., Okamoto, M., Miyasho, T., Taniyama, H., Ishihara, C., de la Torre, J. C. and Ikuta, K. 2008. Borna disease virus RNA detected in Japanese macaques (*Macaca fuscata*). *Primates* 49: 57–64.
14. 浜名克己 2006. 獣医繁殖学. 第3版 : 340-345.
15. Hirano, N., Kao, M. and Ludwig, H. 1983. Persistent, tolerant or subacute infection in Borna disease virus-infected rats. *J. Gen. Virol.* 64: 1521–1530.
16. 小岩政照 2006. 牛のボルナ病. 臨床獣医. 24(8). 27-33.
17. 小岩政照 2008,.牛の内科学 「黒毛和種牛のボルナ病」. 臨床獣医. 26(10). 46-50.
18. 国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構 動物衛生研究部門. 2016. ヨーネ病検査マニュアル. 1-13.
19. 今内覚 2015. 牛白血病 最近の知見と対策について. 動薬研究. 71 : 1-11.
20. 今内覚、田島誉士、小沼操、村田史朗、大橋和彦 2010. 増加傾向にある牛白血病の現状と対策～診療現場からの声に対して～. 産業動物臨床医学雑誌. 1 : 110-114.
21. Kozasa, T., Tajima, M., Yasutomi, I., Sano, K., Ohashi, K. and Onuma, M. 2005. Relationship of bovine viral diarrhoea virus persistent infection to incidence of diseases on dairy farms based on bulk tank milk test by RT-PCR. *Vet. Microbiol.* 106 : 41-47.

22. Kuhn, J.H., Durrwald, R., Bào, Y., Briese, T., Carbone, K., Clawson, AN., deRisi, JL., Garten, W., Jahrling, PB., Kolodziejek, J., Rubbenstroth, D., Schwemmle, M., Stenglein, M., Tomonaga, K., Weissenbock, H. and Nowotny, N. 2015. Taxonomic reorganization of the family Bornaviridae. *Arch. Virol.* 160 : 621–632.
23. Lancaster, K., Dietz, D. M., Moran, T. H. and Pletnikov, M. V. 2007. Abnormal social behaviors in young and adult rats neonatally infected with Borna disease virus. *Behav. Brain Res.* 176: 141–148.
24. Ludwig, H. 2008. The Biology of Borna virus. *Acta Pathol. Microbial. Immunol. Scand.* 116. suppl. 14-20.
25. 斑目広郎、西野桂以、井上真紀 2005. Behavioral analysis of Borna disease virus (BDV) infected rats : an animal model of human neurological and psychiatric diseases. 麻布大学雑誌. 11(12) : 196-198.
26. 斑目広郎、西野桂以、井上真紀 2007, Borna disease virus transmission : From the virus-inoculated rat pups to the nursing mother. 麻布大学雑誌. 15(16) : 214-218.
27. Matsumoto, Y., Hayashi, Y., Omori, H., Honda, T., Daito, T., Horie, M., Ikuta, K., Fujino, K., Nakamura, S., Schneider, U., Chase, G., Yoshimori, T., Schwemmle, M. and Tomonaga, K. 2012. Bornavirus closely associates and segregates with host chromosomes to ensure persistent intranuclear infection. *Cell Host Microbe.* 11: 492–503.

28. Mims, C. A. 1981. Vertical transmission of viruses. *Microbiol. Rev.* 45: 267–286.
29. Mita, A., Mori, Y., Nakagawa, T., Tasaki, T., Utiyama, K. and Mori, H. 2016. Comparison of fecal pooling methods and DNA extraction kits for the detection of *Mycobacterium avium* subspecies paratuberculosis. *Microbiology Open.* 5 : 134-142.
30. 永田礼子 2016. -最新の家畜疾病情報(Ⅷ)-ヨネ病. 日獣会誌. 69 : 66-68.
31. Nishino, Y., Funaba, M., Fukushima, R., Mizutani, T., Kimura, T., Iizuka, R., Hirami, H. and Hara, M. 1999. Borna disease virus infection in domestic cats: evaluation by RNA and antibody detection. *J. Vet. Med. Sci.* 61: 1167–1170.
32. Nishino, Y., Ooishi, R., Kurokawa, S., Fujino, K., Murakami, M., Madarame, H., Hashimoto, O., Sugiyama, K. and Funaba, M. 2009. Gene expression of the YGF- $\beta$  family in rat brain infected with Borna disease virus. *Microbes Infect.* 11 : 737-743.
33. Okamoto, M., Furuoka, H., Hagiwara, K., Kamitani, W., Kirisawa, R., Ikuta, K. and Taniyama, H. 2002. Borna disease in a heifer in Japan. *Vet. Rec.* 150: 16–18.
34. Okamoto, M., Kagawa, Y., Kamitani, W., Hagiwara, K., Kirisawa, R., Iwai, H., Ikuta, K. and Taniyama, H. 2002. Borna disease in a dog in Japan. *J. Comp. Pathol.* 126: 312–317.

35. 小野 斉 2001. なぜ、ここまで落ちた乳牛の受胎率. *J. Soc. Ani. Rep.* 47 : 5-9.
36. Ovanesov, M. V., Vogel, M. W., Moran, T. H. and Pletnikov, M. V. 2007. Neonatal Borna disease virus infection in rats is associated with increased extracellular levels of glutamate and neurodegeneration in the striatum. *J. Neurovirol.* 13: 185–194.
37. Rott, R. and Becht, H. 1995. Natural and experimental Borna disease in animals. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 190: 17–30.
38. Rott,R., Herzog,S., Fleischer,B., Winokur,A., Amsterdam,J., Dyson,W. and Koprowski,H. 1985. Detection of serum antibodies to Borna disease virus in patients with psychiatric disorders. *Science* 228 : 755-756.
39. Saino, H., Kawauchi, K., Usui, A., Ohno, H., Sakoda, Y. and Tajima, M. 2013. Implementation and verification of the effectiveness of a regional control program for bovine viral diarrhoea virus infection in Hokkaido, Japan. *J. Jpn. Vet. Med. Assoc.*, 66 : 791-796.
40. Sakurai, M. 1974. Future of Japanese animal husbandry. *Jpn. J. Zootech. Sci.* 45: 627–637.
41. Sanada, M., Naitou, H., Murakami, J., Tanioka, Y., Kioka, H., Fujii, T., Tamura, I. and Kouda, T. 1993. Clinical evaluation of mother to infant transmission of hepatitis C virus infection. *Iryo* 47: 449–453.

42. Scholbach, T. and Bode, L. 2008. Borna disease virus infection in young children. *Acta Pathol. Microbial. Immunol. Scand.* 116. suppl. 83-88.
43. Staeheli, P., Sauder, C., Hausmann, J., Ehrensperger, F. and Schwemmler, M. 2000. Epidemiology of Borna disease virus. *J. Gen. Virol.* 81: 2123-2135.
44. Tajima, S., Ikawa, Y. and Aida, Y. 1998. Complete bovine leukemia virus (BLV) provirus is conserved in BLV-infected cattle throughout the course of B-cell lymphosarcoma development. *J. Virol.* 72:7569-7576.
45. Takino, T., Okamura, T., Ando, T. and Hagiwara, K. 2016. Change in the responsiveness of interferon-stimulated genes during early pregnancy in cows with Borna virus-1 infection. *BMC. Vet. Res.* 12 : 253-256.
46. 谷山弘行 2001 . わが国における動物のボルナ病. 日獣会誌. 54 : 1-6.
47. The American College of Obstetricians and Gynecologists 1999. Scheduled cesarean delivery and the prevention of vertical transmission of HIV infection. *ACOG.* 234 : 1-3.
48. 朝長啓造 2002. ボルナ病ウイルスー多様な自然宿主と中枢神経病態ー. ウイルス. 52(1) : 41-46
49. 朝長啓造 2003. ボルナ病ウイルスの持続感染と病態機序に関する研究. ウイルス. 53(1) : 103-112.
50. 朝長啓造 2012. ボルナウイルス. ウイルス. 62(2) : 209-218

51. Tomonaga, K., Kobayashi, T. and Ikuta, K. 2002. Molecular and cellular biology of Borna disease virus infection. *Microbes Infect.* 4: 491–500.
52. Toth, F. D., Bacsi, A., Beck, Z. and Szabo, J. 2001. Vertical transmission of human immunodeficiency virus. *Acta Microbiol. Immunol. Hung.* 48: 413–427.
53. Tsugane, S. 2010. Risk and prevention of breast cancer, from an epidemiologic standpoint. *J. Jpn. Assoc. Breast Cancer Screen.* 19: 4–15.
54. Watanabe, Y., Yanai, H., Ohtaki, N., Ikuta, K. and Tomonaga, K. 2006. Prevalence of Borna disease virus antibodies in healthy Japanese black cattle in Kyushu. *J. Vet. Med. Sci.* 68 : 171-174.
55. Wilesmith, J. W., Wells, G. A. H., Ryan, J. B. M., Gavier-Widen, D. and Simmons, M. M. 1997. A cohort study to examine maternally-associated risk factors for bovine spongiform encephalopathy. *Vet. Rec.* 141: 239–243.