

氏名(本(国)籍)	小林 創太(東京都)
推薦教員氏名	岩手大学 教授 村上 賢二
学位の種類	博士(獣医)
学位記番号	獣医博乙第139号
学位授与年月日	平成27年9月24日
学位授与の要件	学位規則第3条第2項該当
研究科及び専攻	連合獣医学研究科 獣医学専攻
研究指導を受けた大学	岩手大学
学位論文題目	日本における牛白血病ウイルスの浸潤状況と伝播に関する疫学的研究
審査委員	主査 岩手大学 教授 村上 賢二 副査 帯広畜産大学 教授 猪熊 壽 副査 岩手大学 教授 佐藤 繁 副査 東京農工大学 教授 竹原 一明 副査 岐阜大学 准教授 猪島 康雄

学位論文の内容の要旨

牛白血病ウイルス(BLV)は、レトロウイルス科デルタレトロウイルスに属し、牛の体表および体腔内リンパ節の腫大、リンパ肉腫などを主徴とする地方病性牛白血病の原因ウイルスである。地方病性牛白血病と原因不明の散発性牛白血病を合わせた牛白血病の国内発生頭数は2012年に2,000頭を超え、日本の家畜衛生上大きな問題となっており、そのほとんどは地方病性牛白血病である。本研究では、近年の日本国内におけるBLV浸潤状況を把握するとともに、その感染伝播に関わるリスク要因を明らかにし、効率的なBLV感染伝播防止対策を提言するため、以下の研究を行った。

第一章では、近年の全国レベルでのBLV浸潤状況を把握することを目的として、疫学研究手法として横断研究を採用し、全国抗体調査を実施した。その結果、搾乳牛(587戸由来, 11,113頭)および肉用繁殖牛(558戸由来, 9,722頭)の有病率を、それぞれ40.9および28.7%と推定した。BLV浸潤状況に関する全国調査は1980年代前半に実施されて以来、約30年ぶりであった。過去の報告(それぞれ4~6%および6~11%)と比較すると、この間にBLVは国内において大幅にまん延したことを明らかにした。また、抗体陽性率は九州/沖縄が最も高く、北日本ほど低く、さらに高齢牛ほど抗体陽性率が高い傾向があることを示した。

第二章では、農場内伝播リスク要因を明らかにすることを目的として、7県のBLV感染酪農場から得られたBLV抗体検査成績と疫学情報を、混合ロジスティック回帰モデルによる多変量解析に供した。その結果、農場内有病率の高さと関連するリスク要因は、つなぎ飼いでないこと($P=0.03$)、除角を実施すること($P=0.0002$)、および夏季にアブを高頻度に認めること($P=0.01$)と判定した。一方、母牛由来のみの初乳を給与することは農場内有病率が低いことと有意に関連しており($P=0.03$)、防御要因と判定した。これらのことから、効率的なBLV汚染低減のための対策として、つなぎ飼いでない農場では感染牛の積極的な更新と分離飼育を行う、除角時には確実な止血や、器具の洗浄や消毒を行う、アブの

牛舎内侵入あるいは吸血阻止のための対策を実施する、そして加熱や凍結済みの初乳を給与することが重要であることを提言した。

第三章は、第二章を拡張し、全国の酪農場および肉用繁殖農場それぞれにおける BLV 感染伝播のリスク要因を明らかにすることを目的に、第一章で対象とした農場のうち、酪農場 563 戸、肉用繁殖農場 490 戸を再度対象として、抗体検査結果と農場の疫学情報を、ゼロ強調負の二項分布モデルによる多変量解析に供した。その結果、酪農場における農場内伝播のリスク要因を、つなぎ飼いでない牛舎 ($P=0.03$)、過去の発症牛の摘発の有無 ($P<0.0001$)、プール初乳の給与 ($P=0.05$)、および夏季の吸血昆虫の存在 ($P=0.0004$)、農場間伝播のリスク要因を牛の外部導入 ($P<0.0001$) および預託 ($P=0.003$) と判定した。また、肉用繁殖農場においては、農場内伝播のリスク要因は過去の発症牛の摘発の有無 ($P=0.0003$)、子牛と成牛の直接接触 ($P=0.03$) および夏季の吸血昆虫の存在 ($P=0.0002$)、農場間伝播のリスク要因は牛の外部導入 ($P=0.002$) と判定した。これらのことから、酪農場、肉用繁殖農場ともに全国レベルで BLV のまん延を効率的に防止するためには、発症牛が摘発された農場では分離飼育を励行する、吸血昆虫の牛舎内侵入および吸血防止策を講じる。また、導入牛に関しては導入前検査を実施し、感染牛は非感染牛と分離飼育することが重要であると提言した。さらに、酪農場、特につなぎ飼いでない農場においては、分離飼育を励行する、プール初乳の給与を中止する、預託実施農場では BLV 対策を実施している農場を預託先に選ぶこと。また、肉用繁殖農場においては、子牛は母牛以外に接触できないように牛舎内の施設を工夫することが重要であることを提言した。

以上、近年の搾乳牛および肉用繁殖牛における BLV まん延の実態を明らかにした。また、抗体調査成績を基に疫学的解析を行い BLV 感染伝播に関与する農場内および農場間のリスク要因を明らかにするとともに、日本における BLV 感染伝播を効率的に抑制するための飼養管理法を提言した。本研究で得られた成果は、全国的な BLV 対策を実施する上で有益な知見を提供するものである。

審 査 結 果 の 要 旨

申請者は、近年日本における牛の監視伝染病の中で最も発生数の多い牛白血病の中で、そのほとんどを占める地方病性牛白血病の原因である牛白血病ウイルス (BLV) の国内浸潤状況を明らかにするとともに、効率的な BLV 感染伝播対策に資するため、BLV 伝播に関するリスク要因を評価した。

まず、全国の都道府県から搾乳牛 (587 戸, 11,113 頭) および肉用繁殖牛 (558 戸, 9,722 頭) の血液材料の採取を行い、BLV 浸潤状況に関する全国調査を実施した。その結果、近年の抗体陽性率は、搾乳牛で 40.9%、肉用繁殖牛で 28.7%であることを明らかにした。また、抗体陽性率は牛の用途に関わらず九州／沖縄が最も高く、北日本ほど低いという地域性があること、さらに高齢牛ほど高いことを示し、リスク要因に基づく水平感染対策の必要性を示した。

次いで、BLV 感染牛が存在する酪農場 (7 県, 90 戸) より得られた抗体検査成績および疫学情報を混合ロジスティック回帰モデルによって解析したところ、農場内有病率の上昇に関与するリスク要因は、「つなぎ飼いでない牛舎」、「除角の実施」および「アブを高頻度に認める」ことであることを示した。一方、「母牛由来のみの初乳の給与」は農場内有病率の低下に関連していることを示した。

さらに、このリスク要因解析を拡張し、全国調査参加農場のうち酪農場 563 戸、肉用繁殖農場 490 戸を対象として、各農場の抗体検査成績と疫学情報をゼロ強調負の二項分布モ

デルによって解析した。その結果、酪農場における農場内伝播リスク要因は、「つなぎ飼いでない牛舎」、「過去の発症牛摘発の有無」、「プール初乳の給与」および「吸血昆虫の存在」であること、農場間伝播リスク要因は「牛の外部導入」および「預託」であること、また、肉用繁殖農場における農場内伝播リスク要因は「過去の発症牛摘発の有無」、「子牛と成牛との直接接触」および「吸血昆虫の存在」であること、農場間伝播リスク要因は「牛の外部導入」であることをそれぞれ示した。

申請者はBLVの全国浸潤調査を実施し、近年の流行状況を明らかにした。また、農場における有病率を基に、農場内および農場間におけるBLV伝播リスク要因を明らかにした。得られた成果は、日本におけるBLV伝播要因として重要な知見であるとともに、今後家畜衛生関係者が効率的にBLV伝播対策を推進していくために有用な情報となることが期待される。

以上について、審査委員全員一致で本論文が岐阜大学大学院連合獣医学研究科の学位論文として十分価値があると認めた。

基礎となる学術論文

- 1) 題 目 : Risk factors associated with within-herd transmission of bovine leukemia virus on dairy farms in Japan
著 者 名 : Kobayashi, S., Tsutsui, T., Yamamoto, T., Hayama, Y., Kameyama, K., Konishi, M. and Murakami, K.
学術雑誌名 : BMC Veterinary Research
巻・号・頁・発行年 : 6 : 1, 2010
- 2) 題 目 : Nationwide survey of bovine leukemia virus infection among dairy and beef breeding cattle in Japan from 2009–2011
著 者 名 : Murakami, K., Kobayashi, S., Konishi, M., Kameyama, K. and Tsutsui, T.
学術雑誌名 : The Journal of Veterinary Medical Science
巻・号・頁・発行年 : 75 (8) : 1123–1126, 2013
- 3) 題 目 : Analysis of risk factors associated with bovine leukemia virus seropositivity within dairy and beef breeding farms in Japan: a nationwide survey
著 者 名 : Kobayashi, S., Hidano, A., Tsutsui, T., Yamamoto, T., Hayama, Y., Nishida, T., Muroga, N., Konishi, M., Kameyama, K. and Murakami K.
学術雑誌名 : Research in Veterinary Science
巻・号・頁・発行年 : 96 (1) : 47–53, 2014
- 4) 題 目 : The role of neighboring infected cattle in bovine leukemia virus transmission risk
著 者 名 : Kobayashi, S., Tsutsui, T., Yamamoto, T., Hayama, Y., Muroga, N., Konishi, M., Kameyama, K. and Murakami, K.
学術雑誌名 : The Journal of Veterinary Medical Science
巻・号・頁・発行年 : In Press

既発表学術論文

- 1) 題 目 : Cross-sectional survey of ixodid tick species on grazing cattle in Japan
著 者 名 : Yamane, I., Nishiguchi, A., Kobayashi, S. and Zeniya, Y.
学術雑誌名 : Experimental and Applied Acarology
卷・号・頁・発行年 : 38(1) : 67-74, 2006
- 2) 題 目 : Evaluation of bovine spongiform encephalopathy (BSE) infection risk of cattle via sewage sludge from wastewater treatment facilities in slaughterhouses in Japan
著 者 名 : Yamamoto, T., Kobayashi, S., Nishiguchi, A., Nonaka, T. and Tsutsui, T.
学術雑誌名 : The Journal of Veterinary Medical Science
卷・号・頁・発行年 : 68 (2) : 137-142, 2006
- 3) 題 目 : A quantitative assessment of the risk of exposure to bovine spongiform encephalopathy via meat-and-bone meal in Japan
著 者 名 : Yamamoto, T., Tsutsui, T., Nonaka, T., Kobayashi, S., Nishiguchi, A. and Yamane, I.
学術雑誌名 : Preventive Veterinary Medicine
卷・号・頁・発行年 : 75 (3-4) : 221-238, 2006
- 4) 題 目 : Preliminary evaluation of diagnostic tests for avian influenza using the Markov chain Monte Carlo (MCMC) method in an emergency surveillance
著 者 名 : Yamamoto, T., Tsutsui, T., Nishiguchi, A., Kobayashi, S., Tsukamoto, K., Saito, T., Mase, M. and Okamatsu, M.
学術雑誌名 : The Journal of Veterinary Medical Science
卷・号・頁・発行年 : 69 (6) : 673-675, 2007
- 5) 題 目 : Epidemiologic indicators associated with within-farm spread of Johne's disease in dairy farms in Japan
著 者 名 : Kobayashi, S., Tsutsui, T., Yamamoto, T. and Nishiguchi, A.
学術雑誌名 : The Journal of Veterinary Medical Science
卷・号・頁・発行年 : 69 (12) : 1255-1258, 2007
- 6) 題 目 : Risk factors for the introduction of avian influenza virus into commercial layer chicken farms during the outbreaks caused by a low-pathogenic H5N2 virus in Japan in 2005
著 者 名 : Nishiguchi, A., Kobayashi, S., Yamamoto, T., Ouchi, Y., Sugizaki, T. and Tsutsui, T.
学術雑誌名 : Zoonoses and Public Health
卷・号・頁・発行年 : 54 (9-10) : 337-343, 2007
- 7) 題 目 : Simulation-based estimation of BSE infection in Japan
著 者 名 : Yamamoto, T., Tsutsui, T., Nishiguchi, A and Kobayashi, S.

学術雑誌名 : Preventive Veterinary Medicine
卷・号・頁・発行年 : 84 (1-2) : 135-151, 2008

- 8) 題 目 : Role of SraP in adherence of *Staphylococcus aureus* to the bovine mammary epithelia
著 者 名 : Takamatsu, D., Hata, E., Osaki, M., Aso, H., Kobayashi, S. and Sekizaki, T.
学術雑誌名 : The Journal of Veterinary Medical Science
卷・号・頁・発行年 : 70 (7) : 735-738, 2008
- 9) 題 目 : Evaluation of surveillance strategies for bovine brucellosis in Japan using a simulation model
著 者 名 : Yamamoto, T., Tsutsui, T., Nishiguchi, A. and Kobayashi, S.
学術雑誌名 : Preventive Veterinary Medicine
卷・号・頁・発行年 : 86 (1-2) : 57-74, 2008
- 10) 題 目 : Duration of maternally derived antibodies against Akabane virus in calves: survival analysis
著 者 名 : Tsutsui, T., Yamamoto, T., Hayama, Y., Akiba, Y., Nishiguchi, A., Kobayashi, S. and Yamakawa, M.
学術雑誌名 : The Journal of Veterinary Medical Science
卷・号・頁・発行年 : 71 (7) : 913-918, 2009
- 11) 題 目 : Spatial analysis of low pathogenic H5N2 avian influenza outbreaks in Japan in 2005
著 者 名 : Nishiguchi, A., Kobayashi, S., Ouchi, Y., Yamamoto, T., Hayama, Y. and Tsutsui, T.
学術雑誌名 : The Journal of Veterinary Medical Science
卷・号・頁・発行年 : 71 (7) : 979-982, 2009
- 12) 題 目 : Estimation of the within-herd transmission parameter of bovine leukemia virus
著 者 名 : Tsutsui, T., Kobayashi, S., Hayama, Y., Nishiguchi, A., Kameyama, K., Konishi, M. and Murakami, K.
学術雑誌名 : Preventive Veterinary Medicine
卷・号・頁・発行年 : 95 (1-2) : 158-162, 2010
- 13) 題 目 : Risk of equine infectious disease transmission by non-race horse movements in Japan
著 者 名 : Hayama, Y., Kobayashi, S., Nishida, T., Nishiguchi, A. and Tsutsui, T.
学術雑誌名 : The Journal of Veterinary Medical Science
卷・号・頁・発行年 : 72 (7) : 839-844, 2010
- 14) 題 目 : The recent prevalence of bovine leukemia virus (BLV) infection among Japanese cattle

著者名：Murakami, K., Kobayashi, S., Konishi, M., Kameyama, K., Yamamoto, T. and Tsutsui, T.

学術雑誌名：Veterinary Microbiology

巻・号・頁・発行年：148 (1) : 84-88, 2011

15) 題目：Network simulation modeling of equine infectious anemia in the non-racehorse population in Japan

著者名：Hayama, Y., Kobayashi, S., Nishida, T., Muroga, N. and Tsutsui, T.

学術雑誌名：Preventive Veterinary Medicine

巻・号・頁・発行年：103 (1) : 38-48, 2012

16) 題目：Risk factors for local spread of foot-and-mouth disease, 2010 epidemic in Japan

著者名：Hayama, Y., Muroga, N., Nishida, T., Kobayashi, S. and Tsutsui, T.

学術雑誌名：Research in Veterinary Science

巻・号・頁・発行年：93 (2) : 631-635, 2012

17) 題目：Cross-reactivity of chicken anti-Japanese encephalitis virus serum and anti-West Nile virus serum in serological diagnosis

著者名：Hirota, J., Shimizu, S., Shibahara, T. and Kobayashi, S.

学術雑誌名：The Journal of Veterinary Medical Science

巻・号・頁・発行年：74 (11) : 1497-1499, 2012

18) 題目：Risk factors for the transmission of foot-and-mouth disease during the 2010 outbreak in Japan: a case-control study

著者名：Muroga, N., Kobayashi, S., Nishida, T., Hayama, Y., Kawano, T., Yamamoto, T. and Tsutsui, T.

学術雑誌名：BMC Veterinary Research

巻・号・頁・発行年：9 : 150, 2013

19) 題目：Mathematical model of the 2010 foot-and-mouth disease epidemic in Japan and evaluation of control measures

著者名：Hayama, Y., Yamamoto, T., Kobayashi, S., Muroga, N. and Tsutsui, T.

学術雑誌名：Preventive Veterinary Medicine

巻・号・頁・発行年：112 (3-4) : 183-193, 2013

20) 題目：Sampling strategies in antimicrobial resistance monitoring: evaluating how precision and sensitivity vary with the number of animals sampled per farm

著者名：Yamamoto, T., Hayama, Y., Hidano, A., Kobayashi, S., Muroga, N., Ishikawa, K., Ogura, A. and Tsutsui, T.

学術雑誌名：PLoS One

巻・号・頁・発行年：9 (1) : e87147, 2014

- 21) 題 目 : Antimicrobial resistance among *Campylobacter* isolates obtained from retail chicken meat and offal products in Japan
著 者 名 : Hidano, A., Yamamoto, T., Hayama, Y., Muroga, N., Kobayashi, S., Nishida, T. and Tsutsui, T.
学術雑誌名 : Japanese Journal of Infectious Disease
卷・号・頁・発行年 : 67 (4) : 315-317, 2014
- 22) 題 目 : Injuries to staff engaged in foot-and-mouth disease eradication in Japan
著 者 名 : Muroga, N., Yamamoto, T., Hayama, Y., Kobayashi, S., Hidano, A. and Tsutsui, T.
学術雑誌名 : Occupational Medicine
卷・号・頁・発行年 : 65 (1) : 45-48, 2015
- 23) 題 目 : Unraveling antimicrobial resistance genes and phenotype patterns among *Enterococcus faecalis* isolated from retail chicken products in Japan
著 者 名 : Hidano, A., Yamamoto, T., Hayama, Y., Muroga, N., Kobayashi, S., Nishida, T. and Tsutsui, T.
学術雑誌名 : PLoS One
卷・号・頁・発行年 : 10 (3) : e121189, 2015