

研究テーマ名：牛受精卵移植技術を利用した牛白血病ウイルス伝播防止に関する研究

受精卵移植時の牛白血病ウイルス感染リスクの低減

研究期間：平成 24 年度～27 年度，県費

1 背景と目的

牛白血病は我が国の牛の監視伝染病のうち発生数が最も多い疾病です。牛白血病のうち牛白血病ウイルス (BLV) により引き起こされる地方病性白血病は、血液を介して伝播することがわかっています。近年、BLV 感染ホルスタイン種へ受精卵移植を行うことで、BLV に感染した黒毛和種が生産される可能性が指摘されています。当研究室で行う受精卵移植時にも、BLV の感染防除策の確立が求められています。

本研究では BLV 感染牛で使用した採卵関連資材と子宮灌流液の遺伝子量を調査するとともに、垂直感染防除実験によって受精卵移植技術における BLV 感染リスクを明らかにし、総合的な感染防除策を検討しました。

2 研究成果の概要

BLV 感染牛で使用した採卵関連資材（頸管拡張棒、粘液除去棒、バルーンカテーテル、直検手袋）の拭き取り検体と採卵時に得られる子宮灌流液および受精卵から DNA を抽出し、BLV のプロウイルスをターゲットにリアルタイム PCR を実施しました。また、BLV 感染牛産子を分娩後すぐに親子分離し、人工初乳および代用乳で哺育した場合の垂直感染の有無を調査しました。

- 採卵関連資材では頸管拡張棒及び直検手袋の拭き取り検体から BLV 遺伝子が検出されました。(表 2)
- 子宮灌流液では DNA の増幅が認められましたが、希釈すると検出されませんでした。(表 3)
- 受精卵からは BLV 遺伝子は検出されませんでした。(表 4)
- BLV 感染牛の産子を分娩後即親子分離し、人工初乳および代用乳で哺育した場合、垂直感染は認められませんでした。(表 5)
- 血清中の遺伝子量が多かった黒 B (表 1) では、各種検体から BLV 遺伝子が検出されました。

3 実用化に向けた対応

- 使い捨ての採卵関連資材は使い回ししないこと、頸管拡張棒等の繰り返し使用する器具は、必ず洗浄・滅菌を行うことが重要です。
- BLV 感染牛から採取した受精卵を十分に洗浄することで、受卵牛に BLV を注入するリスクを低減できます。
- BLV 感染牛の産子は、即時親子分離し人工哺育することで、垂直感染のリスクを低減できます。

表 1. 感染牛血清の遺伝子量 (copies/ μ l)

感染牛	血清
黒A	2.359
黒B	1160.9
黒C	18.485
黒D	3.970

表 2. 採卵関連資材の拭き取り検体 (copies/ μ l)

検体	牛	遺伝子量
拡張棒	黒A	—
	黒B	0.0858
	黒C	—
粘液除去棒	黒A	—
	黒B	—
	黒C	—
バルーンカテーテル	黒A	—
	黒B	—
	黒C	—
直検手袋	黒A	0.2441
	黒B	0.6369
	黒C	—
	黒D	0.1235

表 3. 子宮灌流液の遺伝子量 (copies/ μ l)

牛	白血球増多症	出血	希釈倍率							
			10 ⁰	10 ¹	10 ²	10 ³	10 ⁴	10 ⁵	10 ⁶	
ホル1	あり	少	3.831	—	—	—	—	—	—	—
ホル2	あり	少	13.24	—	—	—	—	—	—	—
ホル3	あり	少	0.664	0.331	—	—	—	—	—	—
黒A	なし	少	—	—	—	—	—	—	—	—
黒B	なし	無	0.145	—	—	—	—	—	—	—
黒C	なし	無	—	—	—	—	—	—	—	—

表 4. 受精卵の遺伝子量 (copies/ μ l)

検体	牛	遺伝子量
受精卵 × 1	黒A	—
受精卵 × 2		—

表 5. 母子の血清遺伝子量 (copies/ μ l)

牛	分娩後期間					
	0日	7日	1か月	2か月	6か月	9か月
黒A	—	—	—	—	NT	NT
黒Aの子	—	—	—	—	NT	—
黒B	579.79	1007.08	596.56	738.83	NT	NT
黒Bの子	—	—	—	—	—	NT