

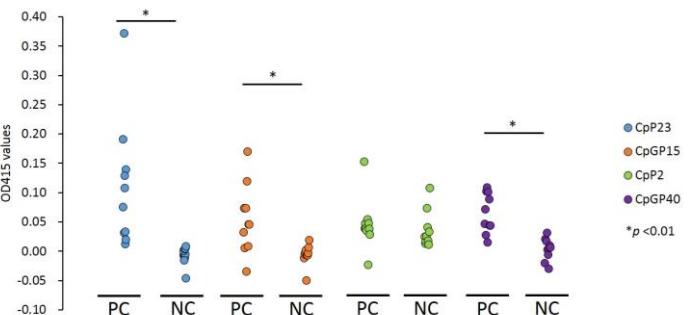
受理年月日	受理番号

帯広畜産大学原虫病研究センター共同研究報告書

平成 28 年 5 月 30 日

採択番号	27 共同-2		
研究部門	感染免疫研究部門	原虫病研究センター内共同研究担当教員	西川 義文
研究課題名	クリプトスピロジウム症に対する初乳中の抗体による予防効果の検討		
研究代表者	(ふりがな) 氏名 (せき まどか) 関 まどか	所属部局等・職名 岩手大学・農学部共同獣医学科・助教 研究材料の入手および糞便検査	
研究分担者	(いたがき ただし) 板垣 国	岩手大学・農学部共同獣医学科・教授 研究の推進・アドバイス	
	(にしかわ よしふみ) 西川 義文	帶広畜産大学原虫病研究センター・准教授 <i>C. parvum</i> 抗体価の測定	
研究期間	平成 27 年 4 月 1 日 ~ 平成 28 年 3 月 31 日		
目的・趣旨	<i>Cryptosporidium parvum</i> は新生子牛の下痢症の原因として最も重要であり、畜産業に甚大な経済被害を与えていた。獣医臨床現場では、十分な初乳の給与が発症の予防に有効であることが経験的に知られてきたが、それを支持する科学的根拠は明確でない。そこで本研究では、初乳中の <i>C. parvum</i> 抗体価とクリプトスピロジウム症の発症率および症状との相関を解析することで、初乳中の抗体による予防効果の有無を明らかにする。		
研究経過の概要	<p>初乳中の抗体によるクリプトスピロジウム症の予防効果を検討するために、H27 年度は予備試験として、(1)ウシ血中および初乳中の抗体価の測定法と(2)クリプトスピロジウム症の症状を評価する方法、すなわち信頼性の高い糞便中オーシストの定量法を確立することに取組んだ。</p> <p>(1) ウシ血中および初乳中の抗体価の測定法の確立</p> <p>これまでに共同研究チームはクリプトスピロジウム症の症例数が非常に多い大規模農場と協力関係を築くことに成功し、血漿および初乳の提供を受けた。これらを用いて、リコンビナント抗原 (CpP23-GST, CpP2-GST, CpGP15-GST, CpGP40-GST) を用いた ELISA 法を検討した。血漿を用いた ELISA 法では陽性コントロールと陰性コントロールの測定値に十分な差が認められた CpP23-GST, CpGP15-GST を抗原として選択した (図 1)。一方、初乳中の抗体価の測定については、適切なコントロールが設定できず、ELISA</p>		

受理年月日	受理番号

研究成果の概要	<p>法の有効性を十分に検討できなかつたため、今後、適切なコントロールサンプルを確保して検討を続ける必要がある。</p>  <p>図 1. リコンビナント抗原を用いた ELISA 法の確立（血漿） PC:陽性コントロール NC:陰性コントロール</p> <p>(2) 粪便中オーシストの定量法の確立</p> <p>クリプトスピロジウム症の症状の指標として、糞便 1g あたりのオーシスト数 (oocyst per gram: OPG) が用いられる。しかしながら、一般的なショ糖遠心浮遊法では、糞便性状や手技のバラつきにより算出される OPG が変化することが知られているため、本研究では qPCR 法を用いた信頼性が高い定量法の確立を目指した。当該農場から提供を受けた子牛の下痢便から DNA を抽出し、プライマーのターゲット領域を組み込んだ pUC118 をスタンダードとする絶対定量法を検討した（図 2）。</p> <p>H28 年度に実施する実際の症例サンプルを用いた解析では、子牛が摂取した初乳中の抗体価、子牛の血中の抗体価と qPCR で定量したオーシスト数、および下痢持続期間について相関を検討し、初乳中に含まれる抗クリプトスピロジウム抗体がクリプトスピロジウム症の症状に与える影響を明らかにする予定である。</p>
研究成果の発表	<p>現時点では研究成果の発表は行っていないが、上述の血漿中の抗クリプトスピロジウム抗体価の測定方法に関して学会発表および論文投稿の準備を進めている。</p>