

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

令和元年 5月 31日

採択番号	30 共同-5		
研究部門	国際連携研究部門	原虫病研究センター 内共同研究担当教員	加藤健太郎
研究課題名	ロタウイルスの感染がもたらす 仔牛のクリプトスポリジウム原虫への抵抗性と免疫応答の関係		
研究代表者	(ふりがな) 氏名	所属部局等・職名	
	むらこし ふみ 村越 ふみ	京都府立医科大学・大学院医学研究科・感染病態学・助教	
研究分担者	いとう めぐみ 伊藤 めぐみ	帯広畜産大学・助教	
	(原虫研共同研究担当教員名) 加藤 健太郎	帯広畜産大学原虫病研究センター・准教授	
研究期間	平成 30年 4月 1日 ~ 平成 32年 3月 31日		
目的・趣旨	<p>畜産農家における仔牛下痢症の原因として、<i>Cryptosporidium parvum</i> およびウシロタウイルス (BRV) の腸管感染が挙げられる。BRV には産前母牛に投与するワクチンが存在するが、<i>C. parvum</i> に対するワクチン・治療薬は存在せず、激しい下痢症によって仔牛の生育不良や斃死を引き起こす。畜産現場において、両病原体の共感染は頻繁に報告される。そのため、本研究では BRV との共感染が <i>C. parvum</i> に与える影響に着目した。本研究において、仔牛へのウシロタウイルス(BRV)の顕性/不顕性感染は、その後に感染する <i>C. parvum</i> による水様性下痢の日数を有意に減少させた。そこで、細胞株を用いた試験において二種の病原体のせめぎあいを詳細に調べた。</p>		

受理年月日	受理番号

<p>研究経過の概要</p>	<p>本研究実験手順</p> <ul style="list-style-type: none"> ・農場における調査 複数の畜産農家の仔牛から毎日直腸便を採取し、糞便性状、ウシロタウイルスを含めた各種病原体の検出およびクリプトスポリジウムの OPG (oocyst per gram) の計測を行った。 ・細胞株を用いた調査 BIE (ウシ腸管上皮) 細胞に BRV および <i>C. parvum</i> を感染させ、<i>C. parvum</i> の細胞への侵入率が変化するか調べた。 BIE 細胞に poly(I:C) をトランスフェクションし、IFNβ の発現を RTPCR にて調査した。
<p>研究成果の概要</p>	<p><i>C. parvum</i> 単独感染仔牛 8 頭、BRV と <i>C. parvum</i> の共感染仔牛 4 頭の検体を得た。両群の結果を比較すると、BRV と <i>C. parvum</i> 共感染仔牛は、初期の OPG および下痢を呈する日数が有意に減少した。また、オーシスト排出期間は有意に長期化した。細胞での共感染実験においては、共感染区において <i>C. parvum</i> の侵入数が有意に低下した。また、poly(I:C) によって抗ウイルス応答を誘導した区においても、同様に原虫感染数が有意に低下した。</p> <p>これらから、ロタウイルスと共感染した仔牛は、<i>C. parvum</i> による下痢の症状が軽減することが明らかとなった。また、ウシ腸管上皮細胞が BRV と <i>C. parvum</i> の共感染実験に用いることができることを明らかにした。細胞株を用いた BRV と <i>C. parvum</i> の共感染実験において、BRV の感染は <i>C. parvum</i> の細胞侵入に影響を与えられた。そのため、共感染仔牛において、初期の OPG が減少していたと考えられる。</p> <p>poly(I:C) を用いた細胞株における共感染実験において、dsRNA の刺激によってウシ由来細胞から IFN が発現した。このことから、dsRNA ウイルスである BRV がウシに感染すると宿主側の抗ウイルス応答が起こり、それが仔牛の下痢の日数の減少に繋がっている可能性があると考えられた。また、poly(I:C) のトランスフェクションによって <i>C. parvum</i> の侵入数も減少したため、dsRNA の刺激は <i>C. parvum</i> の細胞侵入にも影響を与えている可能性があり、今後詳しく調べる予定である。</p>
<p>研究成果の発表</p>	<p>さらに研究を進めた上で、学会発表、論文投稿を計画している。</p>