PCR 法を用いた乳汁中細菌性毒素の微量検出による
早期乳房炎診断法の確立

1　中核機関・研究総括者

東京理科大学　安部　良

2　研究期間

2002～2004 年度（3 年間）

3　研究目的

乳用家畜牛で多発する黄色ブドウ球菌性乳房炎は、乳質低下、出荷停止ひいては淘汰処分などが余儀なくされることから、酪農経営に最も深刻な損害を与える疾患として位置づけられている。しかしその発症機序に不明な点が多く、有効な予防法および治療法の確立がなされていない現状にある。最近我々は、黄色ブドウ球菌が宿主内で産生する外毒素が本疾患においても重要な病因誘導因子であることを明らかにしてきた。すなわち外毒素は宿主の免疫 T 細胞を強力に活性化し炎症誘導因子を大量に産生させるスーパー抗原活性を有していること、また外毒素を直接乳房内に投与すると、乳腺 T 細胞が活性化され、乳房炎が誘導されることも実験的に示してきた。これらの研究から、細菌性外毒素の検出は乳房炎の早期診断に極めて有効であると考え、PCR 法を用いた微量毒素遺伝子の検出法の確立を目指すこととした。

4　研究内容及び実施体制

① 細菌性毒素遺伝子解析技術の確立と検査試薬の試験的開発

（東京理科大学、北里大学）

牛の搾乳汁中に微量に放出された感染菌ゲノム DNA から外毒素遺伝子の同定および定量を行なう技術の確立を行なう。またその技術を臨床現場で迅速に応用出来る検査試薬キットを開発する。

② 臨床所見と遺伝子解析結果の対比検討

（東京理科大学、動物衛生研究所、北里大学）

臨床所見と外毒素遺伝子の検出（同定および定量）結果を検討し、乳房炎発症における細菌性毒素の産生状態と罹患牛の乳腺免疫機能の解析を行ない、毒素と乳房炎発症の因果関係を明らかにする。また特定地域における毒素産生菌の存在を調査し、乳房炎の集団発生の原因となる潜在的感染状況を把握する。

5　目標とする成果

本研究で、再現性、迅速性を持つ乳房炎発症要因早期発見の技術が確立出来れば、有効な治療が施せる早期治療が可能となり、安定した酪農経営に結びつく。また、乳房炎に対する免疫反応の測定およびその有効性の判定は、乳房炎の発症機序の理解にも結びつき、予後の判断に重要であるとともに、今後の新しい治療法の開発にも大きく貢献する。本実験で開発する高感度 PCR の技術は、地域における毒素マップの作製を可能にし、乳房炎予防や流行予測という側面から新たな成果が得られる。さらに乳製品の衛生管理は消費者の大きな関心事である。毒素産生細菌の微量検出法の開発は生産、加工段階での衛生管理の強化に寄与でき、安全な牛乳製品の消費者への安定供給においても重要となる。