

—知っておきたい感染症 (Ⅲ)—

結 核

永田礼子[†] (国研農業・食品産業技術総合研究機構 動物衛生
研究部門 疾病対策部 生物学的製剤製造室 製造
科科长 (兼) 動物感染症研究領域 細菌グループ)



1 はじめに

結核は、ウシ型結核菌 (*Mycobacterium bovis*) の経気道感染による反芻動物の慢性呼吸器感染症である。家畜伝染病 (法定伝染病) の対象動物は、牛、ヤギ、シカ、スイギュウである。特に牛とシカはウシ型結核菌に対する感受

性が高く、過去に集団発生例が報告されている。本菌は、宿主域が広く、罹患牛との接触や汚染された乳製品の摂取を介して人にも感染するため、人獣共通感染症の病原体としても重要である。また、ヒト型結核菌 (*M. tuberculosis*) などとともに結核菌群に分類される。本病は、主に肺及び胸腔内リンパ節の結節性病変を特徴とした疾病である。世界各国で *M. bovis* に感染した家畜や野生動物が多くみられ、特に、英国やニュージーランドでは、野生動物が家畜の感染源となっている。結核の生前診断は、結核菌の抗原タンパク質であるツベルクリンを皮内に注射して接種部位における反応 (遅延型アレルギー反応) の程度を測定するツベルクリン検査が主体である。わが国では、1901年から主として乳用牛を対象に5年ごとにツベルクリン検査を行い、陽性牛の摘発及び殺処分が義務化されており、当初4%を超える高い割合で陽性牛が摘発されていた。しかし、1世紀にわたる継続的な検査により、年間数十万頭の検査で1頭が陽性になるレベルまで清浄化が進んだ。

ツベルクリン検査陽性牛から *M. bovis* が分離されたのは、1999年の肉牛集団発生事例が最後であり、それ以降の陽性牛は非特異的な免疫応答による無病巣反応牛と考えられる。このことから、牛結核はほぼ制圧されたといえる状況であった。そこで、従来の全頭検査を終了し、2018年から「清浄性確認サーベイランス」を実

施し、輸入牛等を対象に本病の発生を監視した。その結果を経て、2021年に国際的に清浄化を宣言した。その後現在まで、「清浄性維持サーベイランス」を実施している。本稿では、わが国で清浄化を宣言した結核の特性、診断及び防疫体制について解説する。

2 発生状況

M. bovis は1989年に発見され、ドイツの細菌学者 R. Koch は、1890年に結核菌の培養ろ液からツベルクリンを製造した [1]。日本でも輸入したツベルクリンを初めて野外牛の結核診断に使用した記録がある。1900年には牛乳の滅菌が義務付けられ、1901年に畜牛結核予防法が公布され、牛に臨床的な診察とツベルクリン検査を行い、結核と診断された患者は殺処分することになった。ツベルクリン検査は主として乳用牛を対象に5年ごとに実施されてきた。畜牛結核予防法は、1951年に家畜伝染病予防法に統合され、現在にいたっている。検査を始めた当時は4%を超える高い割合で患者が検出され、その後徐々に減少したが、第二次世界大戦終了までは1%前後の高い値が続いていた。その後検査を継続した結果、1970年頃までには順調に減少して0.01%まで低下し、肉牛で集団感染があった1999年を除くと最近では数十万頭の検査で1頭が陽性となるレベルまで清浄化が進み、2014年に1頭が陽性となった以降の患者摘発はない。さらに、ツベルクリン検査陽性牛から *M. bovis* が分離されたのは、1999年の肉牛集団発生事例が最後であり、近年のツベルクリン検査陽性牛は、ツベルクリンに対する反応はあっても剖検では病巣のないもの、いわゆる無病巣反応牛であることから、牛結核はほぼ制圧されたといってよい状態である。シカにおける発生は、1988年に養鹿牧場、2010年に動物園でそれぞれ集団発生の報告がある。

[†] 連絡責任者：永田礼子 (国研農業・食品産業技術総合研究機構動物衛生研究部門 疾病対策部 生物学的製剤製造室 製造科 科長 (兼) 動物感染症研究領域 細菌グループ)

〒305-0856 つくば市観音台3-1-5 ☎ 029-838-7798 (製造科), 029-838-7857 (細菌グループ)

E-mail : nagata.reiko058@naro.go.jp

一方で、世界的に5,000万頭以上の牛が感染し、年間30億ドルの損失が生じていると推定され、結核は畜産業に大きな経済的負担となっている[2]。多くの国々で牛の検査と殺処分政策に基づく根絶プログラムが策定されており、ある程度は効果を奏しているが根絶にはいたっていない。原因としては、現行診断法の限界、家畜の移動の規模拡大、野生動物が保有宿主となっていることなどがあげられる。世界では、野生動物が主な感染源であり、英国及びアイルランドのユーラシアアナグマ、ニュージーランドのボッサム、スペインのイノシシ、米国のオジロジカ、スペインのニホンジカなどが含まれる。感染がアナグマの群内で持続し、アナグマから牛、牛からアナグマへと感染が伝播されるという遺伝学的な証拠もあることから[3]、野生動物の駆除やワクチン接種による対策が感染拡大阻止に貢献した報告がある一方、ワクチンの使用を中止すると再び感染が拡大する。

3 結核の特性

結核の原因菌である *M. bovis* は、*M. tuberculosis* や *M. africanum*、ほかに *M. microti*、*M. pinnipedii* などとともに結核菌群に分類される。まれに遺伝的に近縁な *M. caprae* やアフリカの一部地域では *M. africanum* が分離されることがあり、*M. caprae* はヤギの結核原因菌でもある。本菌の人に対する病原性は、牛に対する病原性よりも低いとされるが、人への感染は主に汚染された牛乳、乳製品等を介して起こり、開発途上国を中心として人での発生が続いている。さらに、牛型結核菌が感染する宿主域はきわめて広く、反芻獣のほか、アナグマ、オボッサム、野ウサギ、霊長類、ゾウ、馬、豚、ラクダ、犬、猫等多くの動物にも感染する。本菌は抗酸菌の一種であり、細胞壁は脂質に富み、通常の染色法では染まりにくい。ため、チール・ネルゼン法等の抗酸性染色法で染める。結核菌群に属する菌種は、病原性、宿主特異性及び表現形質においてそれぞれ異なった特徴を示すものにもかかわらず、塩基配列の類似性が99.9%ときわめて高い。これは、結核菌群菌が一つの共通祖先から宿主に適応した生態型として進化したことを示すものである[4]。また、人工培地における増殖速度が遅い遅発育性抗酸菌であり、寒天培地上にコロニーを確認するのに2～3週間以上の培養期間を必要とする。

主要な感染経路は気道を介した飛沫感染であり、病巣から排出されたエアロゾルを吸入することにより感染する。牛における病変は、主に呼吸器系とそれに関連したリンパ節に認められ、汚染された餌、水、牧草等を介した経口感染は主要なものではなく、腸管に病巣を形成する腸結核となる。胎盤感染はまれである。体内へ侵入したウシ型結核菌は、マクロファージにより貪食されるが、殺菌能に対して強い抵抗性を示す。マクロファージ

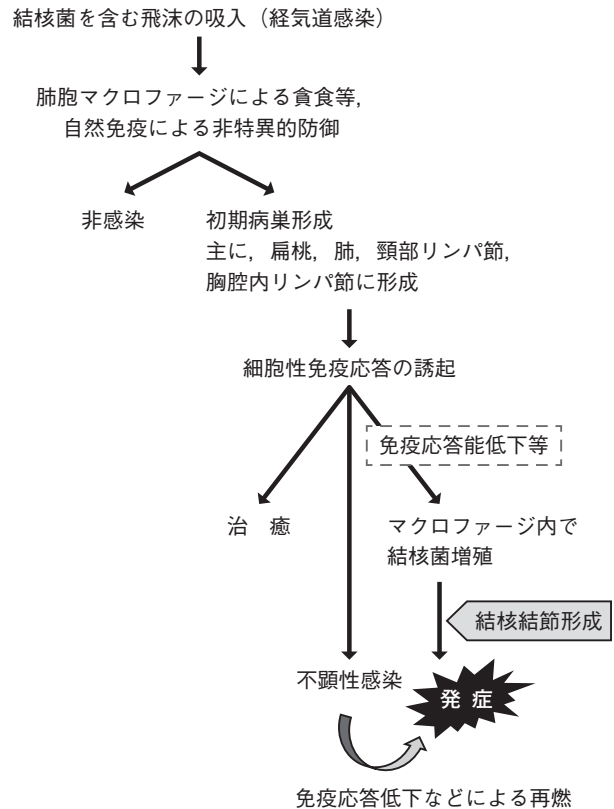


図1 結核の発症機序

が類上皮細胞やランゲハンス巨細胞に分化することで慢性肉芽腫性炎が生じる。肺や周辺リンパ節に初期病巣が形成され、感染が成立する。感染個体は、抗原による感作が起こり、感染後4～8週で細胞性免疫応答が誘導される。潜伏期間は数カ月から数年である。病巣は免疫の成立に伴って治癒するが、マクロファージ内で結核菌が増殖した場合、リンパ行性や血行性に体内で病巣が拡大することで発症にいたる。あるいは、病巣内に結核菌を抑え込むことに成功した不顕性感染の個体は、ストレス等の免疫機能低下により再燃して発症することもある（図1）。

感染動物の多くは臨床症状に乏しく、病理解剖で結核様病巣が検出されることが多い。経気道感染後、初期病巣形成は、肺及び胸腔内リンパ節に形成されるが、病巣が全身に広がると発咳、呼吸困難などの呼吸器症状や消瘦、被毛失沢などの全身状態の悪化を認めることがある。進行例では、鼻汁や唾液または糞便中、さらに乳牛では乳汁中に排菌し、感染源となる。体内で感染持続が促進されるメカニズムの一つに、PD-1などの免疫チェックポイント因子と呼ばれる免疫抑制性因子がT細胞表面に発現することが報告されている[5]。ストレスや妊娠等の免疫応答の低下した個体では、本菌がリンパ行性及び血行性に広がり、全身性粟粒結核となる（図2）。

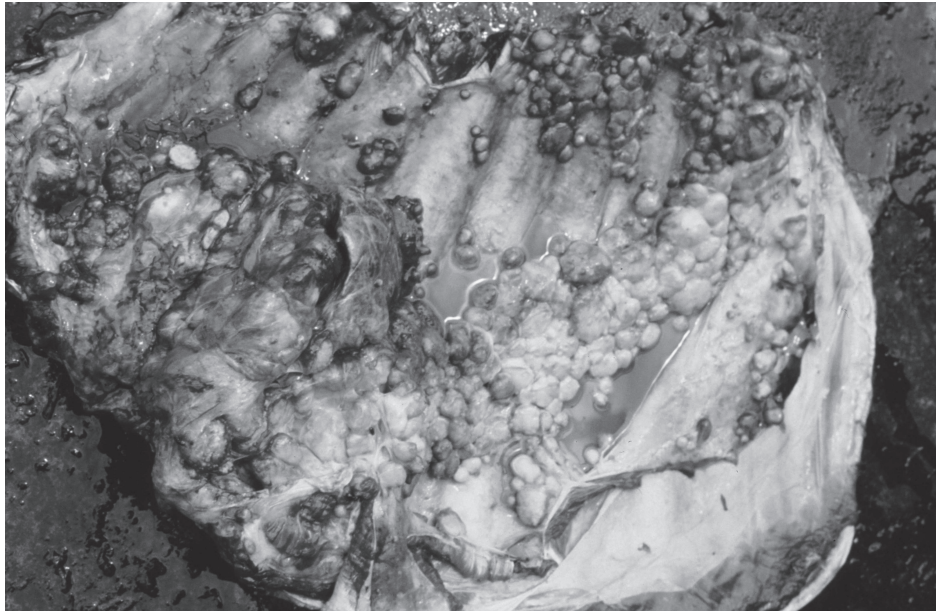
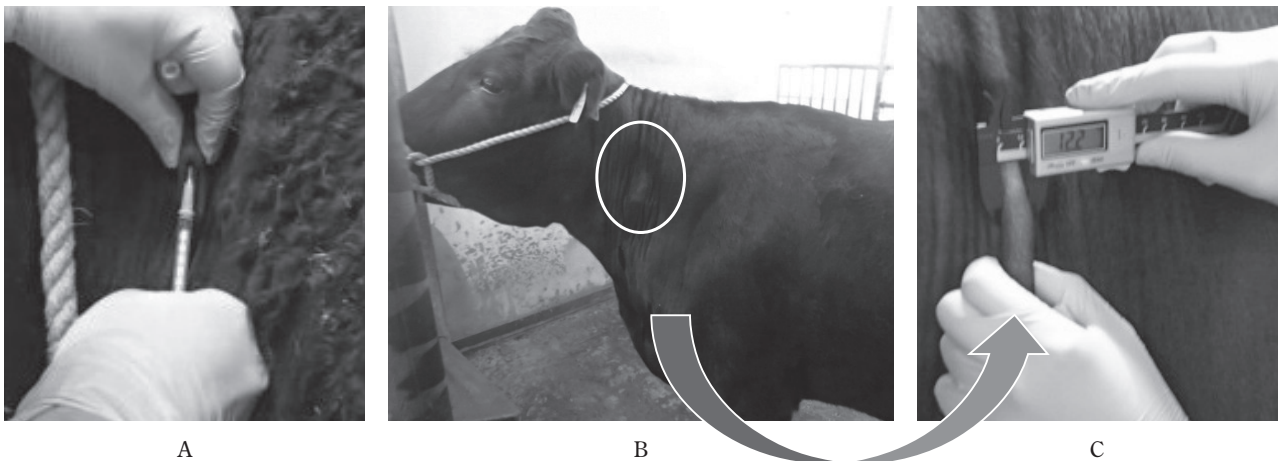


図2 全身性粟粒結核による胸腔の真珠結節（画像提供：農研機構動物衛生研究部門）



A：頸部接種部位を剃毛，接種前の皮膚の厚さを測定し，ツベルクリン PPD 原液を皮内接種
B：注射後 72 時間（±4 時間）経過後
C：腫脹部位の皮膚の厚さを測定し判定（2 mm 以下で陰性）

図3 ツベルクリン検査（画像提供：農研機構動物衛生研究部門）

4 診 断

牛結核の診断におけるゴールドスタンダードは培養であるが，時間がかかり，バイオセーフティレベル3の施設が必要であり，感度も限られている．現在，診断はツベルクリン検査が主体であり，結核菌から抽出した粗精製タンパク質を皮内に接種して遅延型アレルギー反応を評価する．感染早期の検査法であるが，亜種含め190種以上にのぼる抗酸菌群は多くの共通抗原物質を保有しているため，*M. bovis* 以外の非結核性抗酸菌との交差反応が懸念されている．1968年に承認された動物用ツベルクリンは加熱滅菌後の培養ろ液を濃縮したものであるのに対し，さらに精製過程の追加されたツベルクリン purified protein derivative (PPD) が世界中で使用さ

れ，国際獣疫事務局（WOAH）が定めるマニュアルに記載されている [6]．日本のツベルクリン力価は，世界保健機構（WHO）の国際標準品に対する相対力価として，感作モルモットを用いた検定法により厳密に調整されている．2020年まで牛では動物用ツベルクリン原液を尾根部すう壁の皮内に注射し，注射後72時間後の腫脹差及び硬結の有無により判定していた．現在はツベルクリン PPD を頸部皮内に注射し，判定を行っている（図3）．また，ツベルクリンに代わるインターフェロン・ガンマ検査があり，採血した血液に各種抗原を添加，免疫細胞を刺激し，抗原特異的に産生されるインターフェロン・ガンマをELISAにて測定する（図4）．両検査とも生前検査として細胞性免疫応答を評価する

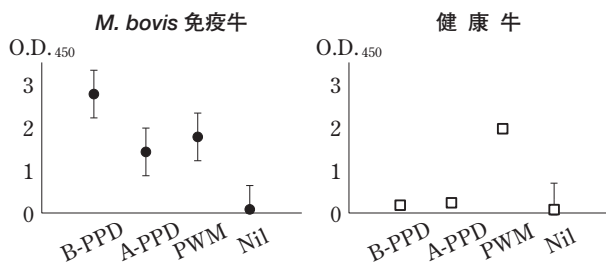
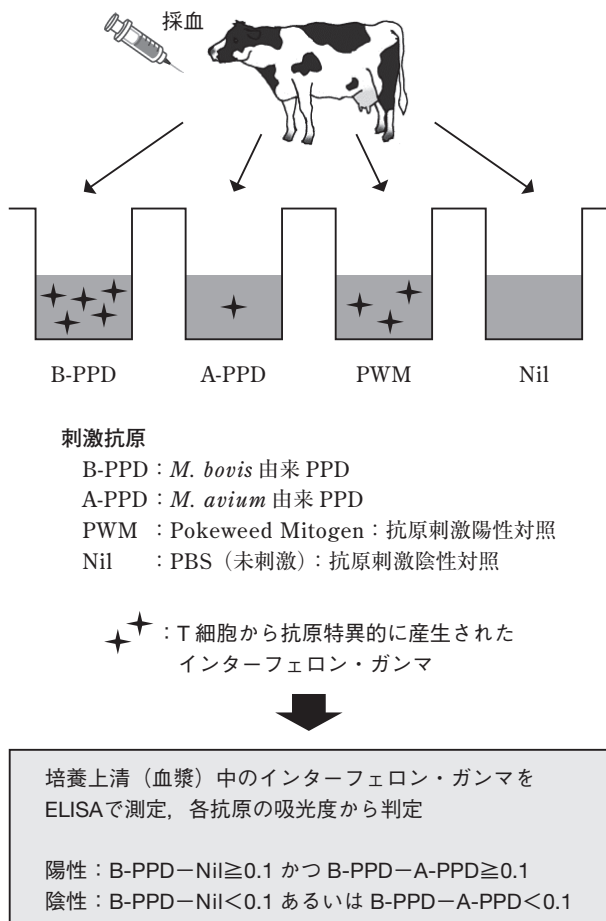


図4 インターフェロン・ガンマ検査

が、ツベルクリン検査は判定のため農場を再度訪れる必要があるのに対し、インターフェロン・ガンマ検査は侵襲なく一度の採血で検査可能である。さらに、インターフェロン・ガンマ検査は刺激抗原にウシ型と非結核性抗酸菌のトリ型結核菌 (*M. avium*) 由来ツベルクリン PPD (それぞれ B-PPD 及び A-PPD) を用いて、B-PPD 及び A-PPD の吸光度差を利用することで判定するため、B-PPD のみ使用するツベルクリン検査よりも交差反応を考慮した特異性の高い試験となる。*M. bovis* 感染牛は、B-PPD 刺激によりリンパ球 T 細胞から産生されたインターフェロン・ガンマを検出することができ、A-PPD より B-PPD の吸光度が高いため、*M. avium* 等の非結核性抗酸菌の感染による非特異的応答を区別することが可能である (図4は、実験的に *M. bovis* 死菌を

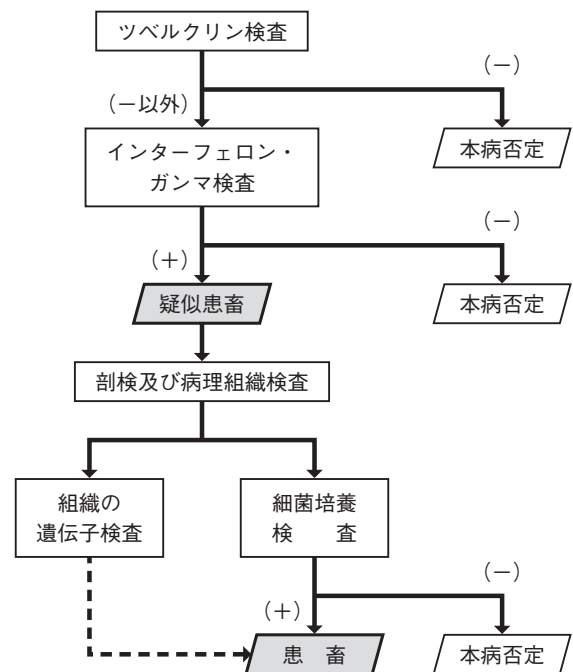


図5 牛結核検査体制

筋肉内に投与して作製した免疫牛のインターフェロン・ガンマ検査の結果を示す)。米国のように、B-PPD のみでツベルクリン検査を行った後、陽性または疑反応の結果の場合、再試験として B-PPD 及び A-PPD を頸部皮内へ接種して両者の腫脹差を比較する方法 (Comparative Cervical Tuberculin: CCT) も選択肢として存在する。ただし、皮内反応検査を繰り返す場合は 42 日以上 of 十分な間隔が必要となる。

わが国では図5に示す検査体制の下、2021 年度より牛結核「清浄性維持サーベイランス」を継続している。ツベルクリン検査は各都道府県で、インターフェロン・ガンマ検査及び組織を用いる細菌培養試験等は、(国研)農業・食品産業技術総合研究機構 動物衛生研究部門で実施している。ツベルクリン検査陽性または疑反応の場合に、より特異性の高いインターフェロン・ガンマ検査を行い、陽性牛は疑似患者として病性鑑定殺の後、細菌検査 (遺伝子検査及び培養検査) を実施している。細菌検査陽性牛は患者と判定される。

病理解剖における特徴的な所見は、淡黄色から白色の境界明瞭な肉芽腫、しばしば乾酪壊死及び石灰化を伴う結核結節である。大型の結節では中心部が融解しているため、膿瘍との鑑別が必要である。好発部位は咽頭後リンパ節、気管支リンパ節及び縦隔リンパ節である。結核結節は肺、胸膜、腸間膜リンパ節を始め全身諸臓器に観察されることがある。結節等の塗抹標本における菌を抗酸菌染色あるいは蛍光法により検出する。

分離培養には、小川培地などの寒天培地、MGIT 等の液体培地を用いるが、ウシ型結核菌の初代分離には、

グリセリンの代わりにTween80を添加した培地の方が適している。初代培養では、寒天培養では通常3～8週間、液体培養では1～4週間の培養期間を必要とする。培養検査には時間を要するため、迅速な診断に病巣部組織の抽出DNAを用いた遺伝子検査は有用である。遺伝子検査結果と疫学情報を基に総合的に診断することは感染拡大防止の観点から重要である。分離菌の同定にも用いる遺伝子検査は、リアルタイムPCRのインターカレーション法における融解曲線解析で、Tm値の違いにより、結核菌群、鳥型結核菌群、及びその他の抗酸菌を鑑別可能なマルチプレックスの方法がある[7]。さらに、結核菌特異的遺伝子IS6110、IS1561、devR等を増幅する方法により同定する。さらに、分離菌の生化学的性状分析から、牛型結核菌はトリ型結核菌と比べて、硝酸塩還元、ナイアシン試験等が陰性である[8]。

5 防疫体制

本病には有効な予防法や治療法はなく、ツベルクリン検査による感染牛の早期発見と淘汰が防疫対策に重要である。発生農場においては、まん延防止のため、定期的な全頭検査を実施し、陽性牛の摘発、淘汰を繰り返す。また、結核菌に対し効果のある消毒薬の使用は、畜舎環境の菌を減らすために衛生対策上重要である。消毒薬として、塩素剤、フェノール剤、オルソ剤や石灰の適正な濃度での使用が有効である。長期間残存する汚染畜舎の結核菌対策には、消石灰乳の反復散布等により消毒効果が期待できる。

WOAHが定める清浄国の要件を満たす「清浄性確認サーベイランス」を3年間行い、2021年に清浄性宣言をしてから、「清浄性維持サーベイランス」による輸入牛等の監視体制を継続している。2023年度までの3年間の検査実績は、検査頭数約5,000頭に対してツベルクリン検査陽性25頭、インターフェロン・ガンマ検査陽性(疑似患者)10頭、細菌培養検査陽性(患者)0頭である。国内清浄化されたことや疾病の特性上、2024年度から検査対象牛は輸入牛に限定されることになった。

細菌培養検査において最終的に結核が否定されているものの、インターフェロン・ガンマ検査における特異性の限界については、*M. bovis*と類似抗原を有する非結核性抗酸菌が環境中に存在し、牛が暴露されることが非特異応答の主な原因の一つと考えられている[9]。過去にツベルクリン陽性牛の臓器から非結核性抗酸菌が分離された事例があるが、非特異応答との因果関係は不明である。

6 おわりに

わが国における牛の結核は、これまでの繰り返しツベルクリン検査、陽性牛の摘発、淘汰によって1世紀かけて清浄化を成し遂げることができた。清浄化を維持することも重要で、現在「清浄性維持サーベイランス」に移行してから4年が経過するが、摘発牛は認められていない。しかし、依然として海外では野生動物含め*M. bovis*による感染が継続している地域もあるため、再び国内で発生があった場合に備え、サーベイランスが機能する体制を常に準備する必要がある。畜産業に携わる方々においても、結核を過去の疾病とせず、今なお対策を講じていることをご承知おきいただきたい。さらに、現行検査法の感度及び特異性が牛結核における診断の限界といわれていることから、今後ヒト結核の診断で利用されているような結核菌に特異的な抗原を用いた検査法の導入など、信頼性の高いサーベイランス体制が望まれる。

参考文献

- [1] 鳥尾忠男：牛の結核対策について、結核，85，661-666 (2010)
- [2] Waters WR, Palmer MV, Buddle BM, Vordermeier HM : Bovine tuberculosis vaccine research: historical perspectives and recent advances, Vaccine, 30, 2611-2622 (2012)
- [3] Powell SM, Dessi N, Bennett M, Wang B, Robertson A, Waller E, Smith GC, Delahay RJ : Tuberculosis in found dead badgers at the edge of the expanding bovine tuberculosis epidemic, www.nature.com/scientificreports, 15, 10547 (2025)
- [4] 鈴木定彦, 松葉隆司, 中島千絵：人獣共通感染症としての結核，結核，85，79-86 (2010)
- [5] Sakai S, Kawamura I, Okazaki T, Tsuchiya K, Uchiyama R, Mitsuyama M : PD-1-PD-L1 pathway impairs T_H1 immune response in the late stage of infection with *Mycobacterium bovis* bacillus Calmette-Guérin, Int Immunol, 22, 915-925 (2010)
- [6] 国際獣疫事務局：WOAH Terrestrial manual, Mammalian Tuberculosis (Infection with *Mycobacterium tuberculosis* complex), https://www.woah.org/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/202406_Chapter_3.01.13_MAMMALIAN%20TB.pdf (2022), (参照 2025-4-11)
- [7] Ricardson ET, Samson D, Banaei N : Rapid Identification of *Mycobacterium tuberculosis* and Nontuberculous *Mycobacteria* by Multiplex, Real-Time PCR, J Clin Microbiol, 47, 1497-1502 (2009)
- [8] 日本結核・非結核性抗酸菌症学会：抗酸菌検査ガイド 2020, 南江堂 (2020)
- [9] Jenkins AO, Gormley E, Gcebe N, Fosgate GT, Conan A, Aagaard C, Michel AL, Rutten VPMG : Cross reactive immune responses in cattle arising from exposure to *Mycobacterium bovis* and non-tuberculous mycobacteria, Prev Vet Med, 152, 16-22 (2018)