

## 第92回麻布獣医学会 一般学術演題 14

## 鼻粘膜ワクチン接種後の黒毛和種における サイトカイン動態の評価

○小中 一成<sup>1</sup>, 富田 大祐<sup>2</sup>, 田島 誉士<sup>3</sup>, 大塚 浩通<sup>3</sup>

<sup>1</sup>(株)KMクリニック, <sup>2</sup>酪農学園大学, <sup>3</sup>北海道獣医師会所属

### 【はじめに】

日本で初めて承認・販売された鼻腔投与型ワクチン「TSV2」は、牛伝染性鼻気管炎 (IBR) および牛パラインフルエンザウイルス 3 型 (PI-3) を含む温度感作性の弱毒生ワクチンである。発売後、臨床現場でも呼吸器疾患対策や投与試験が多数行われ報告されているが、元来その臨床試験は、米国においてホルスタイン種 (一部、肉牛) で実施されたものである。今回、TSV2 を投与した黒毛和種のサイトカイン動態を調べる機会を得たので、それにより得られた知見を報告する。

### 【材料と方法】

栃木県那須塩原市において、健康的に問題のない 2 ヶ月令の黒毛和種 15 頭を対象とした。すべての対象牛に TSV2 を接種した 35 日後、IBR 生ワクチン接種群 8 頭 (IBR 群) と牛 RS ウイルス生ワクチン接種群 7 頭 (RS 群) の 2 群に分類した。採血は全ての供試牛において TSV2 接種前 (t0)、接種後 3 (t3) 日目、IBR 群および RS 群それぞれにおいて生ワクチン接種前 (d0)、接種後 3 (d3)、7 (d7)、35 (d35) 日目の計 6 回行った。EDTA-2K 添加血液から末梢単核球を分離、RNA を回収して cDNA を合成、リアルタイム PCR により免疫関連遺伝子 (IL-4, IL-6, IL-17A, IL-21, IFN- $\gamma$ , MX-1, MX-2, パーフォリン (PF), グランザイム (Gym), グラニューライジン (GI)) の発現量を評価した。Housekeeping 遺伝子として  $\beta$ -actin を用い、

免疫因子の Ct 値を測定して相対定量法をもとに比較、Mann-Whitney 法にて解析した。

### 【成績】

RS 群の IL-4 および IL-6 の値が d3 に有意に上昇した。IL-17A, IL-21 および IFN- $\gamma$  の値は、両群において大きな差はなかった。RS 群では MX-1, MX-2, PF, Gym および GI の値が d3 において下降した (MX-1 および PF で有意差あり)。両群の BVD および RS の抗体価に差が認められなかったが、IBR 群では IBR 抗体価が有意に上昇した。

### 【考察】

IL-4 および IL-6 は抗体の産生に関わるサイトカインである。両群ともにこれらのサイトカイン遺伝子が増加したことに加え、IBR 群ではワクチン接種後に IBR 抗体価が有意に上昇したことから、「TSV2」は黒毛和種においても元来の臨床試験と同様な結果を得ることが出来るものと思われた。一方で RS 群では、IFN- $\gamma$  によって発現誘導を受ける MX (ウイルス抵抗性遺伝子) や、NK 細胞などが産生する PF, Gym および GI が RS 群の d3 で有意に減少していることなどから、RS 群では生ワクチン接種による自然免疫系が主流に動いた抗ウイルス反応の可能性があったことが示唆された。また、TSV2 接種 3 日後にサイトカインの値が全体的に上昇していることから、TSV2 の接種が免疫賦活効果のあることが示唆された。