

9. 黒毛和種子牛の生後直後への鼻腔粘膜ワクチンと不活化

ワクチンによるプライムブースト効果の検討

玖珠家畜保健衛生所 1) 大分家畜保健衛生所
○後藤政樹・池堂智信・病鑑 林拓巳¹⁾

【はじめに】

牛呼吸器症候群(BRDC)とは飼育下でのストレスによる免疫状態の変調とウイルス・細菌等の病原体が、複雑に絡み合って発生し大きな経済的損失をもたらす疾患である。当管内では、例年呼吸器病疾患が頻発する農場があるものの、飼養頭数増加により呼吸器病症状の発見遅延や臨床獣医師数の減少と高齢化による獣医師一人当たりの診療業務増加等により診療依頼の遅れが課題となっている。各農場に応じた呼吸器病予防ワクチンプログラムの検討が必要と考え、簡易で効果的なワクチンプログラムとして、1回目の投与(プライミング)、2回目以降のワクチン投与(ブースティング)を組み合わせた異種抗原によるプライムブースト効果¹⁾に着目した。鼻腔粘膜型ワクチン(以降 INV)の生後投与および注射型ワクチンの投与によるプライムブースト効果²⁾や IN ワクチンおよび生・不活化ワクチン接種投与を比較すると IN ワクチンおよび不活化ワクチン接種群では生ワクチン接種群と比較して、人工感染後の免疫応答が向上すると報告されている³⁾。そこで今回我々は、管内呼吸器病頻発農場に対し、上記ワクチンプログラムの効果を検討した。

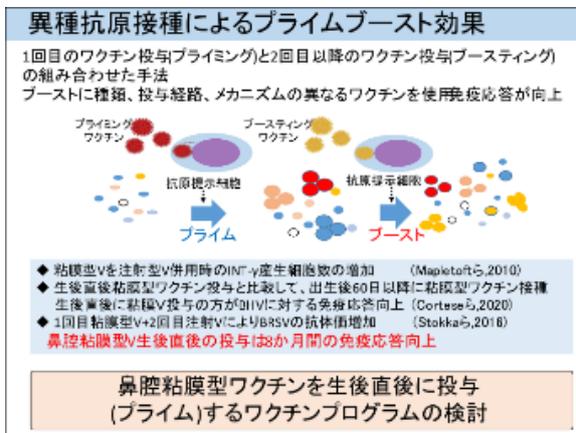


図1 異種抗原接種によるプライムブースト効果

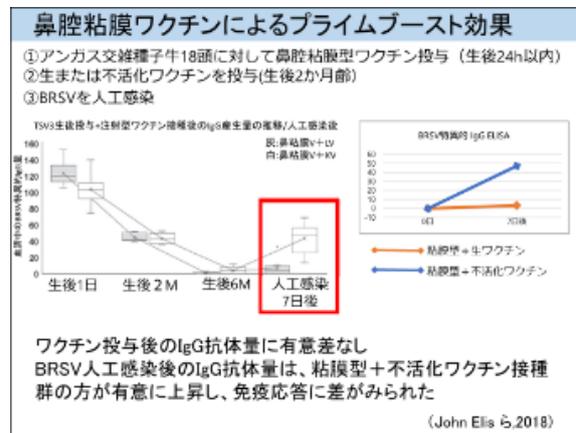


図2 鼻粘膜ワクチンによるプライムブースト効果

【材料および方法】

試験期間は2022年4月～10月に実施し、試験農場は過去にBRDCが頻発した黒毛和種繁殖農家4農場を対象とした。供試牛は2022年4月出生牛30頭を用い、生後一日以内にINVを投与した群をINV群とし、生後にINV非投与群を対照群とした。生後2か月齢時に不活化ワクチンを接種し、抗体価の測定用として生後1か月齢から5か月齢まで採血を実施した(図3)。母子分離はA農場で生後4か月齢、BおよびC農場で生後7日以内、D農場で生後3か月齢時に実施。各農場ワクチン接種状況および供試牛頭数を図4に示した。

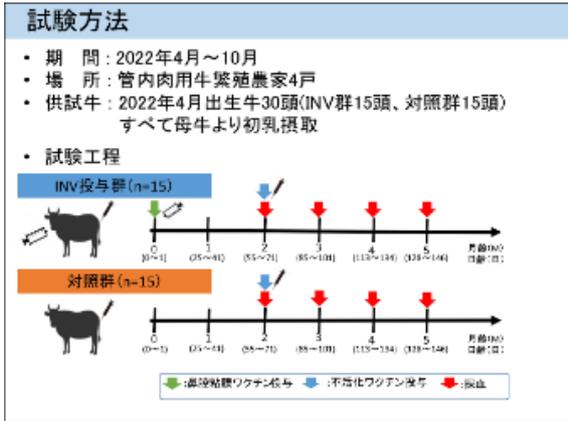


図3 試験方法

ウイルス学的検査は血清希釈法による中和試験により、牛伝染性鼻気管炎ウイルス(以降 BHV-1)、牛パラインフルエンザウイルス(以降 BPIV-3)、牛RSウイルス(以降 BRSV)、牛ウイルス性下痢1型・2型(以降 BVDV-1、BVDV-2)牛コロナウイルス(以降 BCV)、牛アデノウイルス(以降 BAdV-7)の7種の呼吸器病原因ウイルスについて実施した。試験期間内で供試牛に肺炎発症が認められた牛群には、鼻腔スワブを用いた細菌学的検査およびウイルス学的検査を実施し、野外感染による抗体価上昇の評価を実施した(図5)。

【結果】

供試牛の抗体価推移に INV 群(n=14)と対照群(n=15)間に BHV、BPIV-3、BRSV の3ウイルスで有意な差は認められず、INV および不活化ワクチン投与による抗体価上昇は認められなかった。しかし、INV 群では BHV のみ不活化ワクチン投与後に軽度な抗体価上昇を示した(図6)。7種のウイルスについて農場、個体ごとの抗体価の推移を比較した。A農場では生後2、5か月齢前後で呼吸器症状の蔓延が発生した。各農場の BHV の抗体価推移では A、C農場で試験期間内抗体価の上昇は認められず、B農場、D農場 INV 群は不活化ワクチン接種後1か月で抗体価の上昇を認めた(図7)。各農場の BPIV-3 の抗体価推移は INV 群の中では B農場2頭、D農場1頭で不活化ワクチン投与による抗体価上昇が推測された。また、呼吸器症状を示した個体はないものの、D農場牛群では生後4か月から5か月にかけて PI3 の抗体価上昇を認めた(図8)。

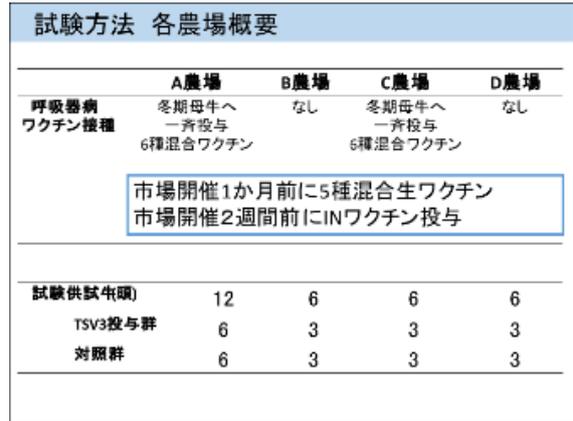


図4 試験方法 各農場概要

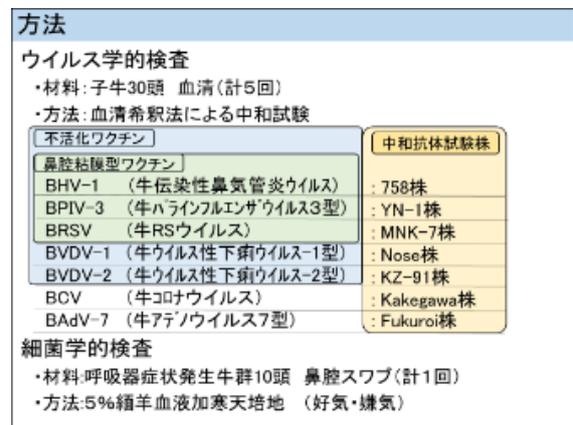


図5 ウイルス・細菌学的検査方法

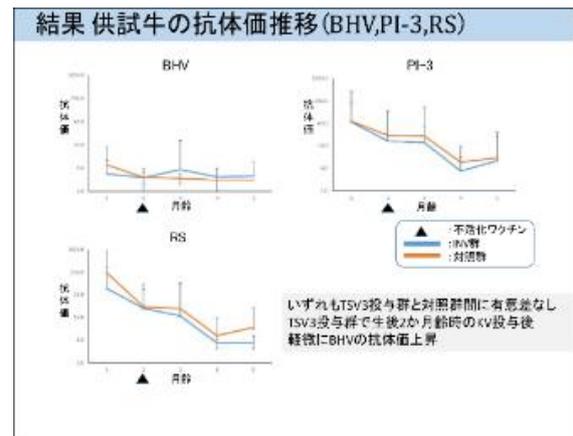


図6 供試牛の抗体価推移 (BHV, PI-3, RS)

供試牛の抗体価推移に INV 群(n=14)と対照群(n=15)間に BHV、BPIV-3、BRSV の3ウイルスで有意な差は認められず、INV および不活化ワクチン投与による抗体価上昇は認められなかった。しかし、INV 群では BHV のみ不活化ワクチン投与後に軽度な抗体価上昇を示した(図6)。7種のウイルスについて農場、個体ごとの抗体価の推移を比較した。A農場では生後2、5か月齢前後で呼吸器症状の蔓延が発生した。各農場の BHV の抗体価推移では A、C農場で試験期間内抗体価の上昇は認められず、B農場、D農場 INV 群は不活化ワクチン接種後1か月で抗体価の上昇を認めた(図7)。各農場の BPIV-3 の抗体価推移は INV 群の中では B農場2頭、D農場1頭で不活化ワクチン投与による抗体価上昇が推測された。また、呼吸器症状を示した個体はないものの、D農場牛群では生後4か月から5か月にかけて PI3 の抗体価上昇を認めた(図8)。

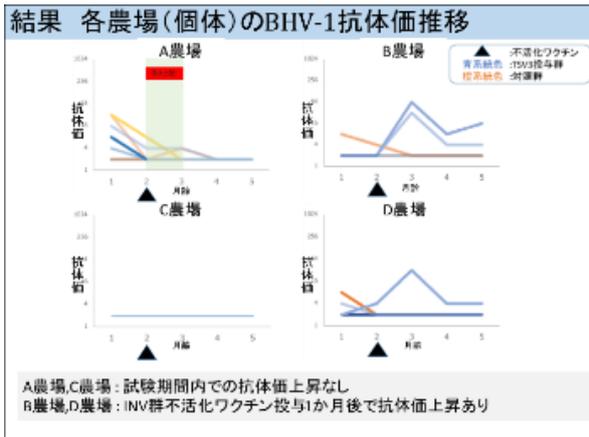


図7 各農場(個体)のBHV-1抗体価推移

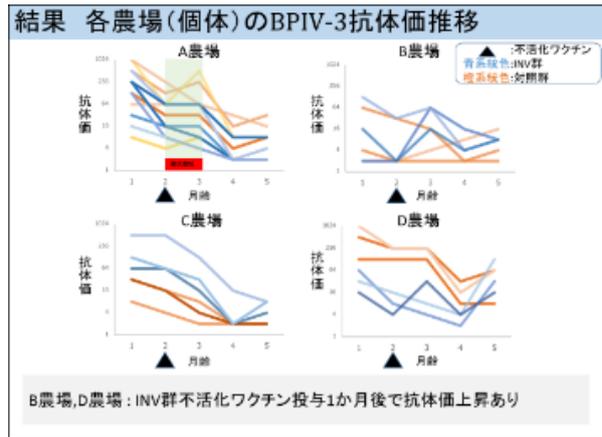


図8 各農場(個体)のBPIV-3抗体価推移

各農場のBRSVの抗体価推移は、A農場、D農場では生後2から3か月の間で抗体価の上昇が認められ、B農場、C農場では同時期に抗体価の上昇はなかった(図9)。各農場のBVDV-1の抗体価推移は、A農場で8倍以上の抗体価上昇を示す個体が認められ、BVDV-1の農場内での急性感染が疑われた(図10)。

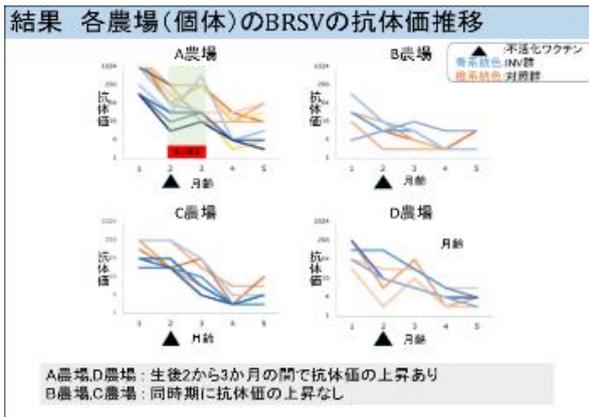


図9 各農場(個体)のBRSVの抗体価推移

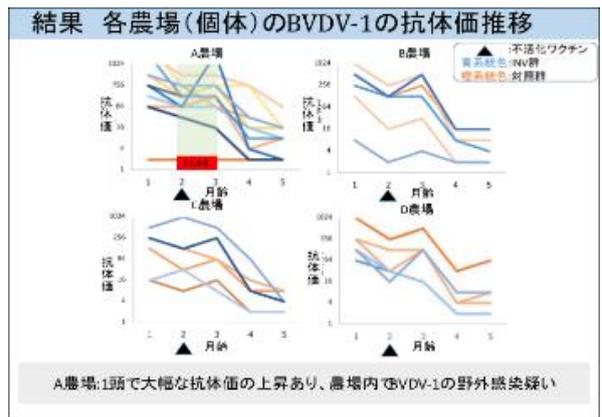


図10 各農場(個体)のBVDV-1の抗体価推移

各農場のBVDV-2の抗体価推移は、全ての農場で不活化ワクチン投与後に抗体価の変動は認められなかった(図11)。各農場のBCVの抗体価推移は、A農場は肺炎流行時期での抗体価上昇および再発を疑う抗体価上昇を認め、C農場は1頭で抗体価の上昇を認めた(図12)。

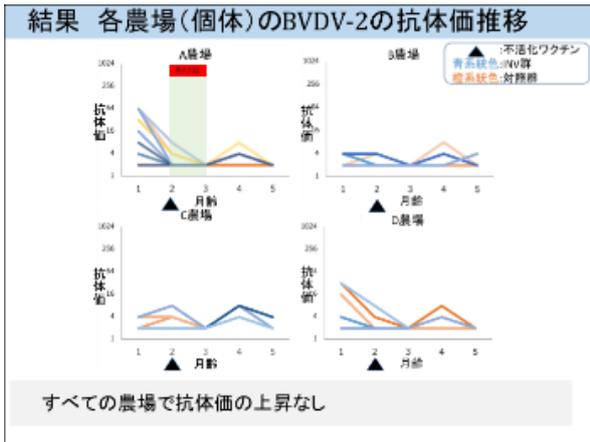


図 1 1 各農場（個体）の BVDV-2 の抗体価推移

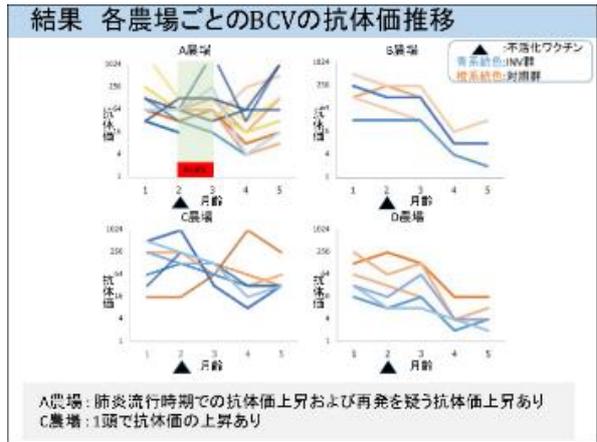


図 1 2 各農場の BCV の抗体価推移

各農場の BAdV-7 の抗体価推移は、野外感染を疑う抗体価の上昇を複数認めた。B、C、D 農場では抗体価上昇に伴う呼吸病症状の発生は認められなかった(図 13)。試験期間内の疾病発生状況を表 1 に示した。供試牛で呼吸器病が発生した農場は A および B の 2 農場であり、B 農場治療牛に TSV3 投与群および対照群に差は認められなかった。INV 群と対照群の治療頭数、回数、終診までの日数を比較すると治療頭数は少ないが、INV 群は診療回数、診療日数が多い結果となった。A 農場 INV 群の内 2 頭が難治性の肺炎症状を示した。そのため A 農場で病性鑑定を実施し、呼吸器症状の原因を調査した。A 農場肺炎発症牛および同居牛の採血、鼻腔スワブによるウイルス遺伝子検査、細菌学的検査を実施した結果、2 頭で BCV の検出、また 7 頭で *Pasteurella multocida* A 型を検出した。試験期間内の抗体検査結果と比較すると、BRSV、PIV-3、BVDV-1、BCV、BAdV-7 の抗体価上昇が確認された。A 農場で BRDC が多発する要因として、飼養頭数による幼弱期の牛舎移動回数、分娩舎の換気不良で、牛床の不衛生によるアンモニアの増加、また牛舎 2 では、移行抗体消失時期による免疫力の低下とともに多頭群飼によるウイルス暴露リスクが多いことが課題として推察され、複数要因の中で生後長期間にわたるストレスおよび気管支粘膜の損傷により、A 農場子牛は免疫力の低下が激しく BRDC の多発が継続していると考えられた(図 14)。

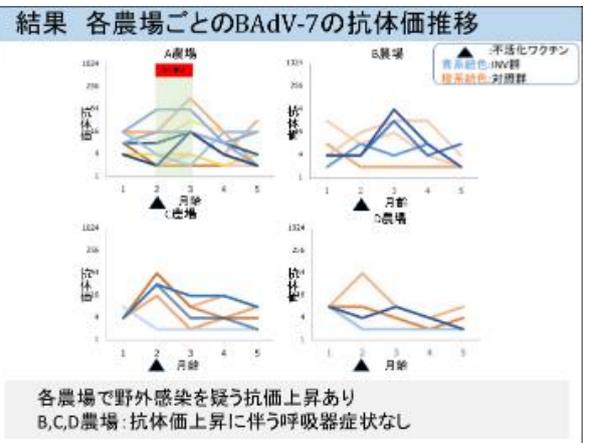


図 1 3 各農場の BAdV-7 の抗体価推移

表 1 試験期間内の供試牛治療状況

結果				
供試牛で呼吸器病発生：2農場(A農場、B農場) 他2農場では試験期間内に治療歴なし				
● 試験期間内の供試牛の呼吸器病による治療状況				
	INV群(n=14)		対照群(n=15)	
	A農場	B農場	A農場	B農場
治療頭数	4頭	1頭	6頭	1頭
診療回数	30回	1回	26回	1回
初診から終診までの日数	3.75日±1.39	1日	2.86日±0.99	1日
(家畜共済病害事故診断書)				
A農場：INV群のうち2頭で難治性の肺炎症状 → 病性鑑定を実施し、呼吸器症状原因を調査				

各農場で野外感染を疑う抗体価上昇あり
B,C,D農場：抗体価上昇に伴う呼吸器症状なし

【まとめおよび考察】

引用文献と同様に TSV3 投与群と対照群間の抗体価推移に変化は認められなかった。原因として生後 2 か月齢での不活化ワクチン投与は母牛移行抗体や農場内野外感染による抗体産生の影響でブースティングワクチンとして十分にワクチンテイクしなかった可能性が考えられた^{3) 4)}。た免疫応答向上の評価として BRDC 発生が多い秋期～冬期出生牛に対して試験を継続して行う必要がある。本試験では中和抗体法により抗体価を測定したが、IgG による抗体量測定法による結果の差異が生じている可能性があり、細胞性免疫の評価を加えて検討する必要がある。一方で B 農場 INV 群では不活化ワクチン接種後 BHV、BPIV-3 で抗体価の上昇を認めた要因としてカウハッチでの単独飼育により肺炎ウイルスの暴露リスクが少ないことや、早期離乳時以降にストレスを受ける機会が少なくワクチンテイクが十分に行えた可能性が推察された。また過去の報告では、BRSV の抗体価上昇が報告されていた⁴⁾が、本試験では他 2 ウイルスと比較して移行抗体量が大きくワクチンブレイクの可能性がある。不活化ワクチンは液性免疫作用だけでなくアジュバンドにより TLR 受容体の免疫活性化によりプライムブースト効果があると推察されている⁴⁾が、不活化ワクチンでの免疫付与は複数回接種を基本としており、生ワクチンを用いた TSV3 の生後投与によるプライムブースター効果の検討を継続する(図 15)。

【試験結果をうけて】

BRDC の多発した A 農場肺炎発症牛群は 2 頭から牛コロナウイルスおよび 7 頭からパストレラマルトシダ A 型が検出され、A 農場では環境衛生対策の見直し、および呼吸器病ワクチンプログラムの変更を行った。INV 生後直後の投与による不活化ワクチンのプライムブースト効果は、本試験期間内では十分な結果が得られなかったため、供試牛の継続的な疾病発生状況調査を実施。今回の試験結果を農場、臨床獣医師にフィードバックしたところ、自農場移行抗体消失時期の推測、農場内の肺炎ウイルス



図 14 A 農場における BRDC の発生原因

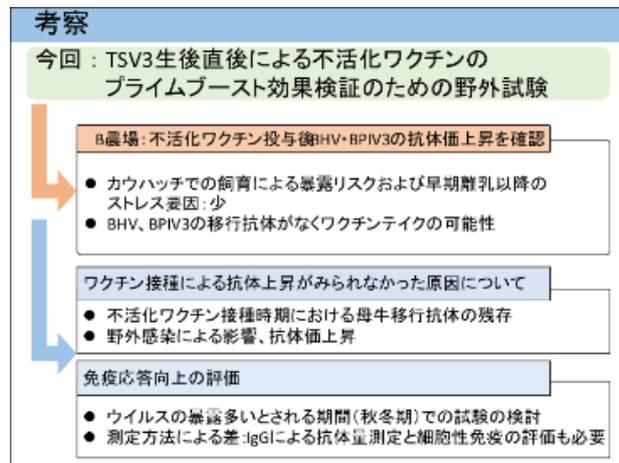


図 15 考察

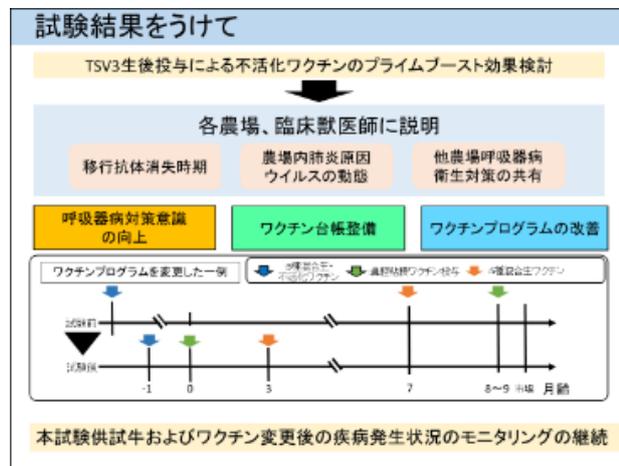


図 16 ワクチンプログラムの変更内容

スの動態確認 他農場呼吸器病衛生対策を把握することができ、各農家の呼吸器病対策意識が向上、以前は臨床獣医師主動によるワクチン接種であったが、より効果的なワクチンプログラムを実施するため、各農場が個体ごとのワクチン投与台帳を整備することにより、獣医師と連携した呼吸器病対策の推進につながった。今後もワクチンプログラムによる抗体価推移や疾病発生状況の聞き取りを継続し、より効果的な呼吸器病対策を模索していく。

参考文献：

- 1) Woodtana , Jump-starting the immune system; prime-boosting comes of age , Trends Immunoi, 2004 Feb; 25(2):98-104,)
- 2) Mapletof. et al, Intranasal immunization of mice with a bovine respiratory syncytial virus vaccine induces superior immunity and protection compared to those by subcutaneous delivery or combinations and subcutaneous prime-boost strategies; Clin Vaccine , 2010. Jan; 17) 3-35
- 3) Elis, et al, Comparative efficacy of modified live vaccines in boosting response to bovine respiratory syncytial virus following neonatal mucosal priming of beef calves, Cav Vet 3 2018, 59; 1311-1319
- 4) Ericson et al, Evaluation of bovine respiratory syncytial virus and bovine herpesvirus specific antibody responses between heterologous and homologous prime-boost vaccinated western Canadian beef calves, Cav Vet 3, 2021 Jan; 62; 37-44