

牛ウイルス性下痢・粘膜病生ワクチンの乳牛における抗体応答と胎子感染

誌名	日本獣医師会雑誌 = Journal of the Japan Veterinary Medical Association
ISSN	04466454
著者	横田, 修 渡辺, 卓俊 斎野, 仁
巻/号	43巻4号
掲載ページ	p. 239-243
発行年月	1990年4月

牛ウイルス性下痢・粘膜病生ワクチンの
乳牛における抗体応答と胎子感染横田 修¹⁾ 渡辺卓俊¹⁾ 斎野 仁¹⁾青木仁久²⁾ 三上祐二³⁾

(平成2年2月23日受理)

Antibody Response to and Fetal Infection with Bovine Viral
Diarrhea-Mucosal Disease Live Virus Vaccine in Cows
OSAMU YOKOTA*, TAKATOSI WATANABE, HITOSI SAINO,
TOSHIIHISA AOKI and YUJI MIKAMI (* Hokkaido Ishikari
Livestock Hygiene Service Center, Toyohira-ku, Sapporo 004)

SUMMARY

The antibody response and possibility of fetal infection were assessed in cows that had been vaccinated with a bovine viral diarrhea-mucosal disease live virus vaccine (No. 12-43 strain). The seroconversion rate was examined in 92 vaccinated cows. In those cows which had antibody titer of 4 or lower at the time of vaccination, the seroconversion rate reached almost 100%, while in those with antibody titer of 8 or higher, the rate tended to be lower in the cows which showed higher antibody levels against the No. 12 and Nose strains. Twenty-six antibody-negative cows were vaccinated and their antibody titers were determined two months later. The mean antibody titers (n=26) against the No. 12, Nose, and KS86-1 strains were 4806.5, 1170.0, and 121.4, respectively. Rises in antibody titer were also recognized against field-isolated virus strains obtained from cattle in Hokkaido, and the mean antibody titers against three isolates were 460.2, 135.0, and 131.5. The mean antibody titer (n=6) determined one year after the vaccination was 512 against the No. 12 and Nose strains, and 64 against the K(+) strain. In some cases, however, in spite of a high antibody level against the KS86-1 strain, a significant rise in antibody titer was recognized when antibody levels against the No. 12 and Nose strains were low. This suggested that some field strains may greatly be different serologically from vaccine strains.

Eight antibody-negative pregnant cows were vaccinated, and all of them showed a significant rise in antibody titer after vaccination. Furthermore, antibody to the No. 12 strain was detected in 5 pre-colostrol calves born to these 8 cows, suggesting fetal infection.

The present findings indicated that the live virus vaccine used in this study induced an antibody response effective enough for prevention of bovine viral diarrhea-mucosal disease, although the use for pregnant cows should be avoided.

J. Jpn. Vet. Med. Assoc., 43, 239~243 (1990)

要 約

牛ウイルス性下痢・粘膜病ウイルスに対する生ワクチン (No. 12-43 株) の抗体応答と胎子感染を検討した。

ワクチン接種牛 92 頭による抗体応答率は、どの株でも接種時抗体が 4 倍以下ではほぼ 100%、8 倍以上では No. 12 株、Nose 株の抗体レベルの高いものほど低下した。抗体陰性の牛 26 頭では接種後 2 カ月目の平均抗体価 (n=26) は No. 12 株 4806.5 倍、Nose 株 1170.0 倍、KS 86-1 株 121.4 倍、北海道の野外分離 3 株 460.2、135.0、131.5 倍で、ワクチン株以外でも抗体の上昇を確認した。1 年後の平均抗体価 (n=6) は No.12 株、Nose 株で 512 倍、K (+)

¹⁾ 北海道石狩家畜保健衛生所 (札幌市豊平区羊ヶ丘 3)

²⁾ 北海道上川家畜保健衛生所 (旭川市東鷹栖 4 線 15 号)

³⁾ 北海道十勝家畜保健衛生所 (帯広市川西町基線 59-6)

Key Words : BVD • MD, Vaccine.

株で64倍を示した。しかし、KS 86-1株の抗体価が高いにもかかわらずNo. 12株、Nose株に対して低ければワクチン接種により有意な抗体上昇を示したものもあり、野外流行株の中には、ワクチン株と血清学的に大きく異なるものが存在していることも示唆された。

妊娠牛では、ワクチン接種時抗体陰性の8頭が接種後全頭有意な抗体上昇を示し、これらの初乳摂取前子牛5頭からNo. 12株に対する抗体を検出し、胎子感染が示唆された。

以上のことから、今回用いたワクチンは十分な抗体応答を示し有効と思われるが、妊娠牛への接種は避けるべきと考える。

牛ウイルス性下痢・粘膜病（以下「BVD・MD」と略す。）は、従来、呼吸器症状や下痢を主体とする疾病と考えられ、このためのワクチンが開発され、主として育成牛を対象に普及が図られてきた。しかし、BVD・MDウイルスによる北海道の異常産の発生は60年以降急激に増加し、62年まで毎年100頭以上が確認され、この間、持続感染牛も北海道の14支庁の内7支庁（石狩、渡島、後志、空知、網走、釧路および胆振）で確認された¹⁸⁾。これらの症例などにより、本症における持続感染牛の役割^{5, 14, 15, 16)}と異常産の病性^{2, 7, 14, 19)}が次第に明らかにされつつある。

いっぽう、最近の異常産や持続感染に関係しているウイルス株の多くが、従来のもの（No. 12株、Nose株、十勝株など）と血清学的に異なる¹⁴⁾ことが明らかにされてきている中で、異常産や持続感染に対して現行のNo. 12株ワクチンが実際に有効か否かの検討は十分なされていない。

そこで、今回われわれは野外におけるワクチン接種牛と初乳摂取前の新生子牛を対象とし、抗体測定とウイルス分離により現行ワクチンの有効性と持続性、さらに胎子感染を指標とした安全性について検討を加えたので報告する。

1. 材料および方法

1) ワクチン接種牛

北海道石狩家畜保健衛生所管内で飼養されているホルスタイン種乳用牛で、育成牛68頭（14ヵ月齢以降）、妊娠牛24頭のほかに、これらから生まれた分娩直後の初乳摂取前の新生子牛を用いた。

2) ワクチン

市販のBVD・MD生ワクチン（No. 12-4.3株、ウイルス含有量 $10^{3.0}$ TCID₅₀/dose以上）で、他にIBRとPI₃を含む3種混合ワクチンを使用し、説明書に従い、ワクチン2mlを筋肉内注射した。

3) 抗体価の測定

牛胎子筋肉細胞を用いたマイクロプレート同時接種法により実施した。なお、非細胞病原性株（以下「NCP」と略す。）については、Nose株による干渉法を用いた。使用株はワクチン株のNo. 12のほかに、Nose株、既知株とは血清学的に異なることが確認されている細胞病原性株（以下「CP」と略す。）のKS 86-1株¹⁰⁾および野外株として管内の粘膜病、持続感染牛から分離されたCP株、NCP株である。

4) ウイルス分離

表1 保有抗体レベル別ワクチン効果

ワクチン 接種後 抗体価	No. 12株			Nose株			KS86-1株		
	調査数	応答数(抗体価*)	応答率** (%)	調査数	応答数(抗体価)	応答率 (%)	調査数	応答数(抗体価)	応答率 (%)
<2	32	32(64~≥4096)	100	32	32(64~≥4096)	100	32	31(16~1024)	97
2	1	1(1024)	100	0	0	0	1	1(512)	100
4	4	4(128~2048)	100	3	3(32~128)	100	0	0	0
8	8	5(32~2048)	63	11	5(32~512)	45	1	1(64)	100
16	10	4(64~512)	40	8	4(64~128)	50	0	0	0
32	11	5(128~1024)	46	12	4(128~512)	33	1	0	0
64	4	2(256~512)	50	2	1(512)	50	0	0	0
128	5	1(512)	20	6	3(512~2048)	50	3	2(512~≥4096)	67
256	1	0	0	2	0	0	4	1(2048)	25
512	3	0	0	2	0	0	11	2(2048)	18
1024	3	0	0	2	0	0	9	2(≥4096)	22
2048	4	0	0	6	0	0	16	0	0
≥4096	6	0	0	5	0	0	14	0	0
計	92	54	59	92	52	57	92	39	43

*: 接種後1~2ヵ月目の抗体価

** : 応答数 ÷ 調査数 × 100

牛胎子筋肉細胞を用い、回転培養法および Nose 株による干渉法により実施した。

2. 成 績

1) ワクチン接種による抗体応答

ワクチン接種牛 92 頭について、接種時の No. 12 株、Nose 株、KS 86-1 株それぞれに対する抗体価と比較して、接種後 1 または 2 ヶ月目に 4 倍以上の上昇を示したものをワクチン効果が認められたものと判定し、抗体応答率として示した (表 1)。

No. 12 株では、ワクチン接種時の抗体価が 2 倍未満から 4096 倍以上まで幅広く分布し、保有抗体が 4 倍以下であれば 100% 応答し、128 倍まで有意な上昇が認め

られた。

Nose 株についても、No. 12 株とほぼ同様の傾向を示した。

KS 86-1 株は、接種時の抗体価は No. 12 株や Nose 株と異なり 2 倍未満と 128 倍以上にわかれた。8 倍以下であればほぼ 100% の応答を示したが、1024 倍においても 29 (22%) 例に上昇が認められた。

2) ワクチン接種による抗体の推移と持続性

ワクチン接種牛 51 頭を用い、接種前 2 ヶ月、接種時、接種後 2, 4, 8 および 12 ヶ月の採血 6 回により抗体の推移と持続性を個体別に検討した。

試験牛はワクチン接種時の No. 12 株、Nose 株、KS 86-1 株それぞれに対する抗体レベルにより、ABC の 3 つのグループに大別された (図 1)。

グループ A は 3 株とも高い例 (n=20)、グループ B は KS 86-1 株のみ高い例 (n=22)、グループ C は 3 株とも低い例 (n=9) である。No. 12 株、Nose 株が高く、KS 86-1 株が低い例はなかった。

グループ A は、ワクチンの接種に関係なく、接種前からの高い抗体レベルを保持し、1 年間ほぼ同一のレベルで推移した。

グループ B は、接種後、No. 12 株、Nose 株に対して抗体価が有意に上昇した例と接種前からの低い抗体価を持続した例の 2 つに区分されたが、KS 86-1 株に対しては高い抗体価を持続していた。

グループ C では、ワクチン接種により 3 株とも抗体価の上昇を認めた。接種時に BVD・MD ウイルスに対する抗体が陰性であった 6 頭についての成績である。最高抗体価は接種後 4 ヶ月で No. 12 株、Nose 株ではほぼ同程度の 1024 倍、KS 86-1 株では 256 倍を示し、その後、漸減し 1 年後の抗体価は No. 12 株、Nose 株で 512 倍、KS 86-1 株で 64 倍を示した。

3) ワクチン抗体の有効性

ワクチンにより獲得した抗体の野外株に対する有効性について、同一牛舎内の BVD・MD ウイルス抗体陰性

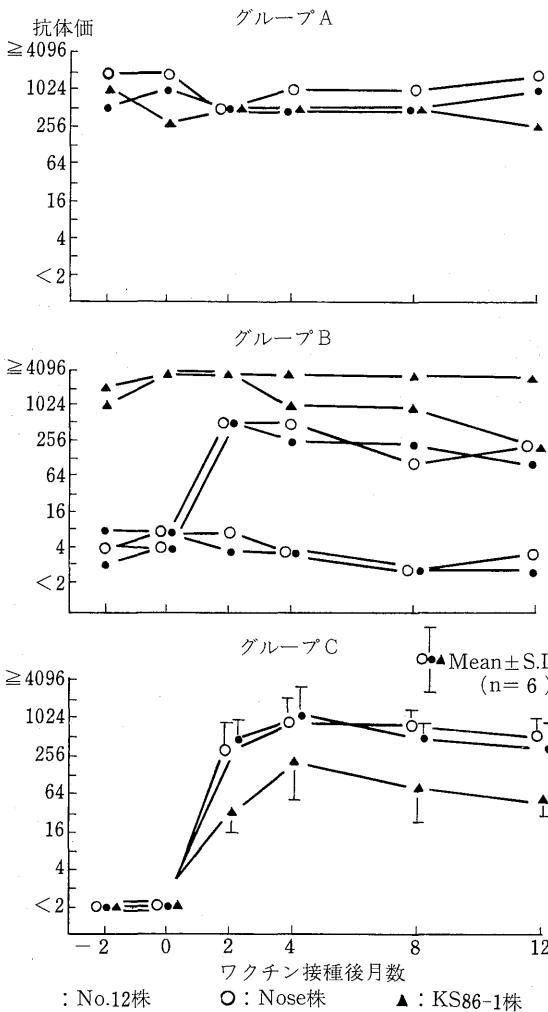


図 1 ワクチン接種による抗体価の推移

グループ A は、接種時に No.12、Nose、KS86-1 の 3 株に対し抗体価の高い群、B は、KS 86-1 株に対してのみ抗体価の高い群、C は、3 株に対し抗体価の低い群。

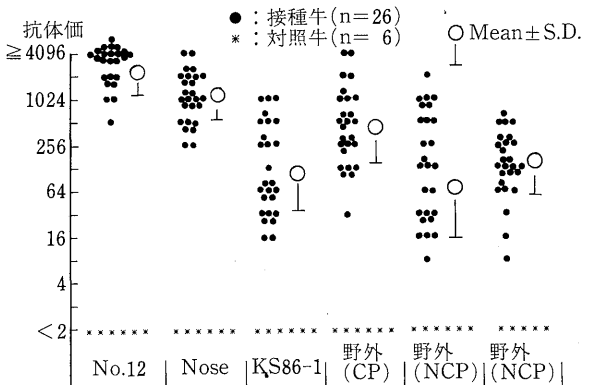


図 2 ワクチン抗体の株別比較

表2 ワクチン換種牛の抗体応答と胎子感染

接種時の抗体	検体 No.	株	抗体価			接種から分娩までの日数
			接種時の母牛	接種後の母牛*	初乳摂取前の子牛	
陽性群	1	No. 12	128	128	4	13
		Nose	128	256	4	
		KS86-1	2048	2048	≥4096	
	2	No. 12	32	32	8	5
		Nose	16	32	16	
		KS86-1	2048	2048	≥4096	
	3	No. 12	8	64	<2	53
		Nose	32	128	8	
		KS86-1	≥4096	2048	≥4096	
	4	No. 12	16	512	<2	20
		Nose	32	512	<2	
		KS86-1	2048	1024	<2	
5	No. 12	64	512	<2	36	
	Nose	64	256	<2		
	KS86-1	2048	2048	<2		
陰性群	6	No. 12	<2	≥4096	<2	34
		Nose	<2	≥4096	<2	
		KS86-1	<2	1024	<2	
	7	No. 12	<2	1024	8	43
		Nose	<2	1024	4	
		KS86-1	<2	32	<2	
	8	No. 12	<2	1024	<2	45
		Nose	<2	256	<2	
		KS86-1	<2	64	<2	
	9	No. 12	<2	2048	≥4096	53
		Nose	<2	1024	2048	
		KS86-1	<2	64	512	
10	No. 12	<2	2048	<2	58	
	Nose	<2	1024	<2		
	KS86-1	<2	8	<2		
11	No. 12	<2	1024	≥4096	62	
	Nose	<2	1024	2048		
	KS86-1	<2	32	128		
12	No. 12	<2	≥4096	≥4096	74	
	Nose	<2	≥4096	≥4096		
	KS86-1	<2	128	32		
13	No. 12	<2	1024	2048	84	
	Nose	<2	1024	1024		
	KS86-1	<2	32	128		

対照牛6頭(ワクチン未接種同居妊娠牛)は抗体陰性のままで推移

* 検体 No. 1～5 はワクチン接種から1～2カ月後
検体 No. 6～13 は分娩時

牛をワクチン接種牛26頭と未接種の対照牛6頭に区分し、ワクチン接種後の抗体価を株別に比較した(図2)。2カ月後のワクチン接種牛の平均抗体価は、N. 12株4806.5倍、Nose株1170.0倍、KS86-1株121.4倍、野外CP株460.2倍、野外NCP株135.0と131.5倍であっ

た。なお、対照牛からは調査期間中どの株に対する抗体も検出されなかった。

4) ワクチン株の胎子感染の可能性

妊娠牛にワクチンを接種し、ワクチン株の胎子感染の可能性について、初乳摂取前の新生子牛から抗体の確認とウイルス分離により検討した(表2)。ワクチン接種時期の推定胎齢は200～280日の妊娠後期で、実際の分娩までの日数は3～84日であった。

(1) ワクチン接種時抗体陽性妊娠牛：抗体を保有していた16頭の妊娠牛のうち、反応のあった5例について示した。検体 No. 1, 2 および 3 の初乳摂取前の子牛からKS86-1株に対し特に高い抗体が確認された。また、検体 No. 3, 4 および 5 の母牛がNo. 12株に対して抗体応答を示したが、これらの初乳摂取前の新生子牛のNo. 12株に対する抗体価は2倍未満であった。

(2) ワクチン接種時抗体陰性妊娠牛：抗体陰性であった妊娠牛8頭の成績を示した。母牛はワクチン接種により全頭No. 12株に対して1024～4096倍以上と有意な抗体上昇を示した。これらの母牛から生まれた初乳摂取前の新生子牛5頭から、No. 12株に対して8倍(n=1)、2048倍(n=1)、4096倍以上(n=3)の抗体が確認された。なお、これらの子牛はいずれも正常分娩であり、その後の発育も良好で血液からウイルスは分離されなかった。また、対照としてのワクチン未接種同居妊娠牛(n=6)は抗体陰性で推移し、それらから生まれた子牛にも異常は認められなかった。

4. 考 察

ワクチン接種による抗体応答は、接種時に抗体が陰性の場合どの株でもほぼ100%認められた。しかし、抗体を保有していた場合には、抗体価の高いものほど応答率の低下が認められNo. 12株、Nose株と同様の傾向にあった。このことは、使用ワクチン株が抗体測定に使用したものと同一No. 12株であり、さらに本株とNose株が、従来の報告と同様^{6,8)}に血清学的に近似な抗原性を示すことによるものと思われる。

いっぽう既知の株とは血清学的に異なるKS86-1株では、ワクチン接種時の抗体価が他の2株より高い1024倍で抗体応答を示し、今回の供試牛の野外での感染株が、KS86-1株と同一ではないにしろ、近いことを示唆している。

ワクチン株(No. 12株)によって産生される抗体が他の株に対して有効か否かは、Nose株以外の血清学的に異なる株や野外株に対しても、レベルは若干低いが最低でも平均121.4倍を示しある程度有効と考えられた。しかし、ワクチン接種することにより、グループBの中にNo. 12株、Nose株の抗体価が有意に上昇した例もあり、ワクチン株と血清学的に大きく異なる野外株が存

在することが示唆され、今回とは逆に、ワクチン抗体を保有している牛が自然感染を受けた場合、株によっては予防できない可能性も残されていると思われる。

ワクチンの持続性については、従来の報告同様⁴⁾、1回のワクチン接種により獲得した抗体は、少なくとも1年間は有効なレベルで持続することが確認された。

ワクチンの妊娠牛への安全性について、胎子感染を指標として検討した。妊娠牛へのワクチン接種は、感染を受けても胎子の抗体産生が可能^{11,12)}で中枢神経系が完成し³⁾、胎子への影響が少ないと思われる妊娠後期に実施した。ワクチン接種時に抗体陽性であった妊娠牛のうち、3例の初乳摂取前の子牛から抗体が確認され、これらが接種時の母牛の抗体価と同様にKS 86-1株が特に高いという傾向を示したことから、ワクチン接種以前に血清学的にKS 86-1株と類似した野外株が母牛をつうじ、胎子へ移行したものと思われる。しかし、本牛群においては、ワクチン株の胎子感染は確認されなかった。

抗体陰性妊娠牛へのワクチン接種により有意な抗体上昇を示した母牛から生まれた初乳摂取前の子牛5頭から、No. 12株に対する高い抗体が確認され、ワクチン株による胎子感染が推察された。しかし、これらの子牛はいずれも正常分娩で、その後の発育も良好で、体内からウイルスは分離されず、異常産や持続感染は確認されなかった。ワクチン開発に伴う野外試験では、ワクチン接種による抗体陽転がみられた妊娠牛で分娩が正常⁴⁾で、胎子感染も確認されなかった⁹⁾との報告もあるが、今回のワクチン接種が妊娠後期であり、胎子の免疫機能がある程度完成した時期であったために抗体産生だけの正常分娩であったものと思われる。しかし、異常産および持続感染牛発生酪農家において、推定感染時期とワクチン接種時期が一致し、ワクチン株が感染源と推定された症例も経験しており、妊娠時期によっては、ワクチン株の胎子への影響も考えられる。

今回の成績から、異常産や持続感染予防に現行のNo. 12株ワクチンを使用する場合は、抗体持続期間と初産牛における高い異常産発生率¹⁸⁾から考え、種付け予定1年以内の育成牛に対しての接種が有効かつ必要と考えられる。また、妊娠牛に対しては、同居感染がなかったものの胎子感染が多く¹³⁾の外国ワクチン株と同様に成立し得ると考えられるため、安全性の面から基本的には避けるべきと思われる。

免疫寛容になっている持続感染牛でも、ほかの株の感染に対しては抗体を産生する¹⁷⁾など、BVD・MDウイルスは自然感染においても血清学的性状や病原性の異なる多くの株が存在すると思われる、異常産そのものの原因ウイルスの解明と血清学的に異なるいずれのウイルスに対してもより有効で、しかも胎子感染のない安全なワクチンの開発が必要と思われる。

引用文献

- 1) CASSARO, A. P. E., KENDRICK, J. W., KENNEDY, P. C.: *Am. J. Vet. Res.*, 32, 1543~1561 (1971).
- 2) 土肥 彰, 小山 満, 藤森則男, ほか: 第35回家畜衛生業績発表会集録(北海道), 50~56 (1987).
- 3) DUFFELL, S. J., HARKNESS, J. W.: *Vet. Rec.*, 177, 240~245 (1985).
- 4) 稲葉右二, 黒木 洋, 高橋英二, ほか: 日獣会誌, 28, 307~310 (1975).
- 5) 石山敏郎, 大沼孝宣, 溝井 茂, ほか: 第35回家畜衛生業績発表会集録(北海道), 65~70 (1987).
- 6) 伊藤 治: 動生協会報, 16, 24~28 (1983).
- 7) 加藤昌克, 田口雅持, 清原博光, ほか: 第35回家畜衛生業績発表会集録(北海道), 57~64 (1987).
- 8) KODAMA, K.: *Nippon Vet. Zootech. Coll.*, 23, 51~60 (1974).
- 9) LOBMANN, M., CHARIER, P., KLAASSEN, C. L., et al.: *Am. J. Vet. Res.*, 47, 557~560 (1986).
- 10) MITSUGU, S., SHIN-ICHI, M., KUNIO, S.: *Jpn. J. Vet. Sci.*, 51 (1), 157~162 (1989).
- 11) MOSCOPLAT, C. C., JOHNOSON, D. W., TEUSCHER, E.: *Am. J. Vet. Res.*, 34, 1101~1104 (1973).
- 12) OHMANN, H. B., JENSEN, M. H., SORENSEN, K. J., et al.: *Can. J. Comp. Med.*, 46, 357~362 (1982).
- 13) ORBAR, S., LIESS, B., JENSEN, M. H., SORENSEN, K. J., et al.: *Zentralbl. Vete. rinarmed. [B]*, 30, 619~681 (1984).
- 14) 斎野 仁, 渡辺卓俊, 青木仁久, ほか: 日獣会誌, 42, 324~328 (1989).
- 15) 佐藤国雄, 清水実嗣, 西岡信義: 日本獣医学会講演要旨集, 104, 129 (1987).
- 16) 清水実嗣, 佐藤国雄, 西岡信義: 日本獣医学会講演要旨集, 104, 130 (1987).
- 17) STEVEN, R. B.: *Am. J. Vet. Res.*, 49, 1040~1044 (1987).
- 18) 田口雅持: 家畜衛生技術協議会(北海道), 10, 37~44 (1988).
- 19) 田辺利信, 三沢友坂, 野上良邦, ほか: 第35回家畜衛生業績発表会集録(北海道), 71~77 (1987).