

原著論文

5種混合生ワクチンを追加接種した肥育牛における 牛RSウイルス自然感染時の免疫応答と発症予防効果

渡辺大作^{1)*} 田口桃子¹⁾ 安藤貴朗²⁾ 大塚浩通¹⁾
佐々木英知³⁾ 中里雅臣³⁾ 及川正明¹⁾

- 1) 北里大学獣医学部 (〒034-8628 青森県十和田市東23番町35-1)
2) 酪農学園大学獣医学部 (〒069-8501 北海道江別市文京台緑町582)
3) 青森県十和田家畜保健所 (青森県十和田市西12番町19-23)

*連絡担当者：渡辺大作

TEL：0176-24-9360

FAX：0176-24-9372

e-mail：dwatanab@vmas.kitasato-u.ac.jp

【要約】

導入牛に対して牛RSウイルス (BRSV) を含む5種混合生ワクチン接種後の免疫応答を調査していた農場 (肉用肥育牛130頭を飼養) で、BRSV感染症に遭遇した。2008年1月21日から2008年2月10日にかけて、10-17ヶ月齢の68頭中38頭が発熱、発咳、食欲不振などを呈し、2008年1月21日に比較して2008年2月5日と2月18日において有意なBRSV抗体価の上昇がみられた。調査牛のすべては4-7ヶ月齢に5種混合生ワクチンの接種を1回受けていた。ワクチンの追加接種の時期と予防効果を判定するために接種時期から3群に分けて解析した。BRSV感染症の発生前にワクチン接種を行っていたI、II群 (2007年11月23日、2007年12月22日にそれぞれワクチン接種) はIII群 (2008年1月21日にワクチン接種) と比較して、2008年2月18日の血清で有意に高いBRSV抗体価を示し ($p < 0.05$)、発症頭数はI、II群が11頭中1頭、III群が5頭中4頭であり有意に少なかった ($p < 0.01$)。2008年1月21日の検査ではすべての群において好中球数が減少し、 $CD3^+CD45R^+T$ 細胞 (ナイーブT細胞)、 $CD4^+T$ 細胞 (ヘルパーT細胞)、 $CD8^+T$ 細胞 (細胞障害性T細胞)、 $CD21^+$ 細胞 (成熟B細胞)、 $MHCclassII^+CD14^+$ 細胞 (活性化単球) 数の有意な増加がみられた。これらの免疫細胞の変動は疫学的調査から牛RS感染症に感染による変化と考えられ、また導入牛に対する追加の5種混合ワクチンの有効性が示唆された。

【キーワード：抗体価、牛RS感染症、牛、免疫細胞、ワクチン接種】

【はじめに】

肥育牛では、子牛市場から導入後に呼吸器病などに罹患し発育障害や死亡につながる個体が少なくなく、肥育農家に経済的に大きな損失を与えている [3, 4, 6]。牛RSウイルス (BRSV) を原因とするものは発生頭数が多く、最も被害

の大きい疾病ではないかと考えられている [8]。また、乳用子牛の集団飼育施設でもBRSVが原因とみられる呼吸器病の集団発生が報告されている [7]。対策の一つとして、国内ではBRSVを含む生ワクチンが市販されており、子牛や育成牛のワクチン接種プログラムが提案されてい

る [8]。これまで、ワクチン接種後のBRSV感染実験における臨床症状の軽減については多数報告されており [2, 5, 11-13, 16, 18]、このときの免疫細胞動態についても、いくつか報告がある [1, 2, 13, 14, 17] が、自然発症牛において発症前後の免疫細胞動態を経時的に観察した報告はみられない。

今回、呼吸器病が多発し2007年11月から追加の5種混合生ワクチン接種を依頼され接種後の免疫応答を調査していた北里大学近郊の1肥育農場で、2008年1月下旬から2月上旬にかけてBRSV感染症の集団発症に遭遇し、その感染期から発症期にかけて免疫応答と発症状況を調査したので報告する。

【材料と方法】

供試牛：供試牛は、青森県十和田市の黒毛和種肥育牛130頭を飼養している農場において、2007年11月から1月にかけて、5種混合生ワクチンを追加接種した黒毛和種去勢牛の中から各月5～6頭ずつ無作為に選んだ16頭であり、ワクチンの接種時期によりⅠ群（11月23日にワクチン接種：5頭）、Ⅱ群（12月22日にワクチン接種：6頭）、Ⅲ群（1月21日にワクチン接種：5頭）に区分した。

いずれの牛も生後4～7ヶ月齢において5種混合生ワクチンを接種されていたが、導入牛では導入2週間後に、また自家産牛では9～10ヶ月齢時に5種混合生ワクチンを追加接種した。5種混合生ワクチンは、BRSVの弱毒生ウイルスを含有する牛伝染性鼻気管炎（BHV-1）・牛ウイルス性下痢-粘膜病（BVDV）・牛パラインフルエンザ3型（PI-3）・牛RSウイルス感染症・牛アデノウイルス7型（Ad-7）感染症混合生ワクチン（ポビエヌテクト5，日生研（株），東京）（以下「ワクチン」とする）を使用した。

採材：ワクチン接種前（0週）、接種後2週、

4週、8週、12週に聴診、検温、採血し、一般血液検査、抗体価（5種）の測定および末梢血白血球サブpopulation解析を行った。

発症状況と臨床症状：2008年1月21日から39.8～40.0℃の発熱、発咳、食欲不振を示す牛が散発的に発生し、開業獣医師による治療を受けていたが、我々には知らされていなかった。

1月21日の採材時にはⅢ群に臨床的異常がみられなかったため、ワクチンを接種した。1月28日から30日にかけて、同じ牛舎内で呼吸器病の症状を示す牛が増加し開業獣医師により治療された。肺気腫など重篤な症状を呈する牛はなく、カナマイシン、ストレプトマイシン・ペニシリン合剤、ダノフロキサシン、チアンフェニコール等の抗生剤による2～4回の治療で症状は改善した。2月5日の採材時に呼吸器病の流行を知らされ、Ⅲ群では1月28日ころから残餌がみられ、咳をする牛がみられたが試験中のため治療はしていないとのことであった。Ⅲ群の5頭中4頭で39.4～40.5℃の発熱、湿性発咳、水様または白濁膿性鼻汁の漏出がみられ、これらにペニシリンとカナマイシンの筋肉内注射を2日間行ない治癒した。2月10日に流行は終息した。この間に10～17ヶ月齢の追加ワクチン未接種牛44頭中37頭（84%）が治療を受けたが、2007年11月と12月に追加ワクチン接種を受けた牛群（Ⅰ、Ⅱ群を含む）20頭では1頭（5%）のみが治療を受けた。18ヶ月齢以上の牛では発症がみられなかった。この農場では、2007年3月から4月にかけて今回と同様の呼吸器病の流行があった。

BVDVに対する中和抗体価の測定：細胞培養用96穴プレートを用いて非働化済みの血清50μlを2倍階段希釈した後、200TCID₅₀の指示ウイルス液50μlと混合した。37℃で1時間反応後、牛腎由来株化細胞（MDBK細胞）のトリプシン消化浮遊液を100μl添加し、37℃で7日間培養した。指示ウイルスの細胞変異効果を指

標とし、中和を示した血清の最大希釈の逆数を中和抗体価とした。指示ウイルスには BVDV-1 の Nose 株を用いた。

BHV-1 に対する中和抗体価の測定：細胞培養用96穴プレートを用いて非働化済みの血清50 μ l を2倍階段希釈した後、200TCID₅₀の指示ウイルス液50 μ l と混合した。37°Cで20時間反応後、牛腎由来株化細胞 (MDBK 細胞) のトリプシン消化浮遊液を100 μ l 添加し、37°Cで4日間培養した。指示ウイルスの細胞変異効果を指標とし、中和を示した血清の最大希釈の逆数を中和抗体価とした。指示ウイルスには Los Angeles 株を用いた。

RS ウイルスに対する中和抗体価の測定：細胞培養用96穴プレートを用いて非働化済みの血清50 μ l を2倍階段希釈した後、200TCID₅₀の指示ウイルス液50 μ l と混合した。37°Cで20時間反応後、アフリカミドリザル腎由来細胞 (Vero 細胞) のトリプシン消化浮遊液を100 μ l 添加し、37°Cで4日間培養した。指示ウイルスの細胞変異効果を指標とし、中和を示した血清の最大希釈の逆数を中和抗体価とした。指示ウイルスには52-163-13株を用いた。

Ad-7 ウイルスに対する中和抗体価の測定：細胞培養用96穴プレートを用いて非働化済みの血清50 μ l を2倍階段希釈した後、200 TCID₅₀の指示ウイルス液50 μ l と混合した。37°Cで20時間反応後、牛胎児筋肉初代培養細胞 (BFM 細胞) のトリプシン消化浮遊液を100 μ l 添加し、37°Cで4日間培養した。指示ウイルスの細胞変異効果を指標とし、中和を示した血清の最大希釈の逆数を中和抗体価とした。指示ウイルスには袋井株を用いた。

PI-3 ウイルスに対する中和抗体価の測定：細胞培養用96穴プレートを用いて非働化済みの血清50 μ l を2倍階段希釈した後、200TCID₅₀の指示ウイルス液50 μ l と混合した。37°Cで20時間反応後、アフリカミドリザル腎由来細胞

(Vero 細胞) のトリプシン消化浮遊液を100 μ l 添加し、37°Cで4日間培養した。指示ウイルスの細胞変異効果を指標とし、中和を示した血清の最大希釈の逆数を中和抗体価とした。指示ウイルスには山梨株を用いた。

一般血液検査：赤血球数 (RBC)、ヘマトクリット (Ht)、白血球数 (WBC) は自動血球計算装置 (CELLTAC α , NIHON KOHDEN,) により測定した。

末梢血白血球のフローサイトメトリー法：白血球の表面抗原の解析は間接蛍光抗体法で染色し、フローサイトメーター (FACScan, Becton Dickinson 社, U.S.A.) で測定した。その概要は次の通りであった。EDTA-2 Na 添加血液 2 ml をスピッツ管に移し、0.83%塩化アンモニウム溶液を血液の2倍量加え、赤血球を溶血させた。さらに、1500rpm で3分間遠心し、沈渣にリン酸緩衝液 (PBS) を加えて数回洗浄した後、PBS で適宜希釈し、白血球浮遊液を作製した。白血球浮遊液に一次抗体を加え、4°Cで60分間反応させた。今回用いた一次抗体は VMRD (Pullman, U.S.A.) 製の MM1 A (抗 CD3 抗体；T細胞)、CACT83B (抗 CD4 抗体；ヘルパー T細胞)、9ACT80C (抗 CD8 抗体；サブレッサー・キラー T細胞)、CAT82A (抗 MHCclassII 抗体；単球、B細胞)、GB25A (抗 CD21 抗体；成熟 B細胞)、CACTB32A (抗 WC1-N3 抗体； $\gamma\delta$ T細胞)、GC6A (抗 CD45R 抗体；ナイーブ T細胞) および Coulter Immunology (Florida, U.S.A.) 製の MY4 (抗 CD14 抗体；単球) であった。反応後 PBS で洗浄し、2,000倍希釈の二次抗体を加え、4°Cで30分間反応させた。二次抗体として抗マウス IgM-FITC 標識ヤギ抗体 (ICN Biomedicals, Inc., U.S.A.) および抗マウス IgG1-PE 標識ヤギ抗体 (コスモバイオ(株), 東京、日本)を用いた。反応後 PBS で洗浄し、PBS で適宜希釈した後に Falcon 2052 tube

に移して測定した。検出時には陰性コントロールを設置し、非特異的反応がないことを確認した。測定データはFlowjo (TreeStar, Inc., U.S.A.) を用いて解析した。サイトグラムの結果から、側方散乱光が低い単球・リンパ球と高い顆粒球に分類し、単球とリンパ球は単核球とした。各表面抗原陽性細胞は、表面抗原の陽性率と計測した実数より算出した。

統計学的解析：成績は実測値または平均と標準誤差により示した。2群間の比較は Student の t 検定により解析した。分散分布が正しくないものについては Welch 検定を行い、2群間の比較を行い解析した。また、BRSV 感染症の流行前に追加ワクチンの接種を受けていた I、II 群を既ワクチン接種群、BRSV 感染症の流行時期をまたいでワクチン接種された III 群を流行時ワクチン接種群として、発症の有無について χ^2 検定を行った。いずれも $p < 0.05$ 以下を有意な差とした。

【結果】

中和抗体検査成績：III 群におけるワクチン接種時（1月21日）の中和抗体価は、ほとんどの個体がどのウイルスに対しても低値であった（Table 1）。ペア血清の BRSV に対する中和抗体価は、1月21日と比較して2月18日では3群共に有意な上昇が認められた（ $p < 0.001$, Fig. 1）。また、2月18日の抗 BRSV 抗体価は I、II 群が III 群と比較して有意な高値を示した（ $p < 0.05$, Fig. 1）。II 群のこの時期のペア血清において、その他のウイルスに対する中和抗体価に有意な変化はみられなかった（Table 1）。

ワクチン接種後の抗 BRSV 抗体価の推移を観察したところ、I、II 群はワクチン接種4週後にわずかな上昇がみられたが、有意差は認められなかった（Fig. 2）。一方、III 群ではワクチン接種2週間後（2月5日）に I、II 群のワクチ

ン接種2週間後と比較して顕著な上昇がみられ、その差は有意であった（ $p < 0.01$, Fig. 2）。

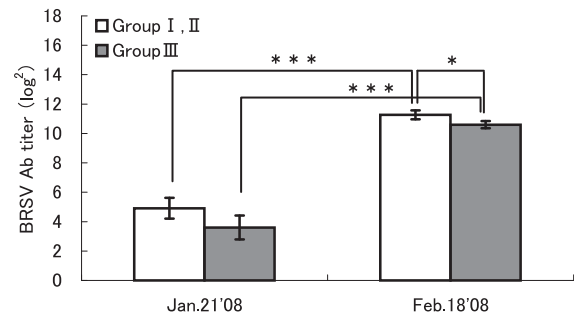


Fig.1. Changes in the neutralizing antibody titer to BRSV in Group I + II and Group III at the outbreak of BRS. *: $p < 0.05$ ***: $p < 0.001$

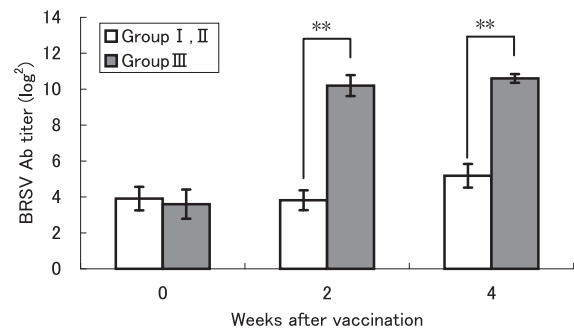


Fig.2. Changes in the neutralizing antibody titer to BRSV in Group I + II and Group III at the 0 (on the day of vaccination), 2 and 4 weeks after inoculation with 5-way mixed live vaccine. **: $p < 0.01$

末梢血白血球サブpopulation：白血球サブセットの変化はすでに1月21日において認められ、I、II 群では、BRSV 感染症の流行前（12月22日）の値と比較して顆粒球数が減少する傾向がみられた（Fig. 3）。また $CD3^+T$ 細胞数、 $CD4^+T$ 細胞数、 $CD8^+T$ 細胞数、 $WC1^+T$ 細胞数、 $CD21^+$ 細胞数および $MHCclassII^+CD14^+$ 細胞数の有意増加がみられた（ $p < 0.05$, Fig. 3）。III 群においては、流行終息後（2月18日）の値と比較して1月21日に顆粒球数の有意な減少（ $p < 0.05$, Fig. 3）がみられた。また単核球数の増加がみられたが、有意な増加を示したのは $CD3^+CD45R^+T$ 細胞数、 $CD4^+T$ 細胞数および $CD21^+$ 細胞数の

みであった (Fig. 3)。I、II群、III群ともに、2週後 (2月5日) および4週後 (2月18日) に顆粒球数は増加、単核球数は減少し流行前に近い値となった (Fig. 3)。I、II群とIII群間で比較すると、1月21日のCD8⁺T細胞数およびMHCclassII⁺CD14⁺細胞数はI、II群がIII群より増加する傾向がみられたが、有意差はみられなかった (Fig. 3)。一方、1月21日の顆粒球数はIII群がI、II群より有意な低値を示し

($p < 0.05$, Fig. 3)、WC1⁺T細胞数はIII群がI、II群より有意な高値を示した ($p < 0.01$, Fig. 3)。

追加ワクチン接種の効果：既ワクチン接種群 (I、II群) と流行時ワクチン接種群 (III群) の発症頭数の χ^2 検定の結果、既ワクチン接種群ではBRSV感染後の発症が有意に抑制された ($p < 0.01$, Table 2)。

Table 1. Neutralizing antibody titers in serum (n=16 in total)

	No.	BRSV			BHV-1		PIV-3		BAdV-7		BVD-MDV	
		Jan.21'08	Feb.5'08	Feb.18'08	Jan.21'08	Feb.18'08	Jan.21'08	Feb.18'08	Jan.21'08	Feb.18'08	Jan.21'08	Feb.18'08
Group I	1	128	-	≥4096	<2	-	2	-	64	-	256	-
	2	4	-	2048	<2	-	8	-	1024	-	128	-
	3	32	-	2048	<2	-	4	-	8	-	512	-
	4	26	-	≥4096	2	-	32	-	≥4096	-	256	-
	5	128	-	≥4096	2	-	64	-	≥4096	-	256	-
Group II	1*	4	-	512	<2	<2	4	4	32	16	64	512
	2*	256	-	≥4096	<2	<2	8	4	128	64	32	128
	3*	4	-	1024	<2	<2	4	4	4	8	512	1024
	4	32	-	≥4096	<2	<2	8	4	1024	256	128	512
	5*	16	-	≥4096	<2	<2	8	4	≥4096	≥4096	512	512
	6*	256	-	2048	2	<2	16	32	256	128	256	512
Group III	1	8	2048	2048	<2	2	16	128	≥4096	≥4096	512	1024
	2	16	≥4096	2048	<2	2	<2	8	4	4	16	1024
	3	64	1024	2048	<2	4	<2	4	8	≥4096	8	512
	4	16	512	1024	<2	4	<2	2	<2	512	<2	128
	5	<2	512	1024	<2	2	<2	64	<2	128	256	256

* : home grown cattle

All cattle were inoculated with 5-way mixed live vaccine against BHV-1, BVD-MD, PI-3, BRS, and Ad-7 at 4-7 months old. Additional vaccination with the same vaccine was given two weeks after cattle arrived at the farm or at 9-10 months old for the home grown cattle.

Date of additional vaccination: Group I; Nov.23'07, 2007 Group II; Dec.22'07 Group III; Jan.21'08

Table 2. The number of cattle treated for respiratory diseases during the experimental period

	Treated	Non-treated	Total
Group I, II	1	10	11
Group III	4	1	5

χ^2 test: The proportion of cattle treated in Group I + II showed significantly lower compared with Group III ($p < 0.01$).

Group I + II: Additional vaccination with 5-way modified live vaccine was given prior to the outbreak of BRS.

Group III: Additional vaccination with 5-way modified live vaccine was given during the outbreak of BRS.

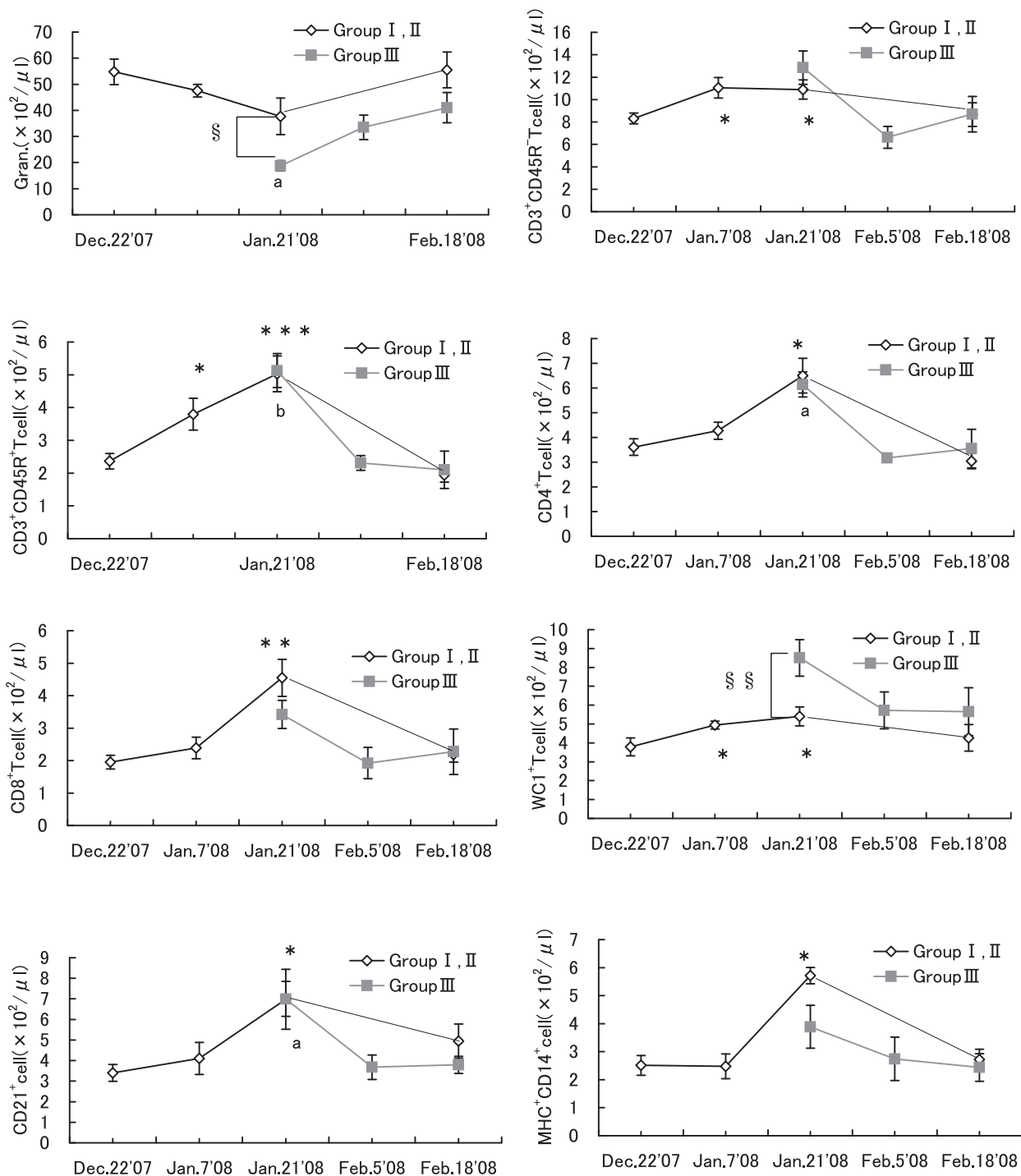


Fig.3. Changes in the peripheral blood mononuclear cell populations in pre and during the outbreak of BRS in Group I + II, and Group III .

Significant difference within Group I+II compared to the data of Dec.22'07 : *: p<0.05, **: p<0.01, ***: p<0.001

Significant difference between Group I + II and Group III on Feb.18'08 : a: p<0.05, b: p<0.01

Significant difference between Group I + II and Group III on Jan. 21'08: §: p<0.05, §§: p<0.01

The outbreak of BRS continued from Jan.21'08 to Feb. 10'08. Five cattle in Group III were inoculated with 5-way mixed live vaccine on Jan. 21'08. Four out of five cattle in Group III were treated with antibiotics on Feb. 5'08.

【考察】

BRSV 感染症は潜伏期が2～8日、抗体価の上昇は感染後2～3週間であり、感染初期に軽度の白血球減少症がみられる [5, 9, 16]。発病時には発熱、鼻漏、流涎および咳を呈し、39.5～41.5℃の不整稽留熱または一過性の発熱、湿性発咳が特徴的な症状とされる [7, 9, 16]。今回鼻汁からのウイルス分離・同定は実施しなかったが、臨床症状が過去の報告と類似していたこと、ペア血清において BRSV に対する中和抗体価の有意な上昇が全頭に認められたことから、一連の呼吸器症状の一次的病原は BRSV の感染によるものであると推察された。

今回の BRSV 感染症の流行時において、BRSV に対する中和抗体価はⅢ群のワクチン接種2週後である2月5日に512～4096倍まで上昇した。通常、BRSV のワクチン接種においても2～3週後に中和抗体価の上昇がみられるが [2, 13, 14]、2048倍以上に上昇した例はみられない。本研究でもⅠ、Ⅱ群の BRSV に対する中和抗体価はワクチン接種後4～256倍で推移しており、2月18日の採材時に512～4096倍と有意な上昇がみられたことから、自然感染による上昇と考えられた。

Antonius ら [1, 2] は、ワクチンまたはリン酸緩衝液 (PBS) の接種後に BRSV を実験感染させた牛群において、ワクチン接種群は PBS 接種群より CD4⁺T 細胞数および CD8⁺T 細胞数が早期に増加すること、感染後10日で中和抗体価の大幅な上昇がみられることを報告している。今回、1月21日に採材したⅠ、Ⅱ、Ⅲ群において、末梢血中の顆粒球数の減少、CD4⁺T 細胞や CD8⁺T 細胞などの各種 T 細胞数、CD21⁺細胞 (成熟 B 細胞) 数および MHCclassII⁺CD14⁺細胞 (活性化単球) 数の増加が共通して認められたことは Antonius らの実験結果と一致していた。Ⅲ群では2月5日の BRSV の中和抗体価が生ワクチン接種では起こらないし

ベルに増加していたことから、少なくともその10日以前に感染があったと考えられ、また1月21日から流行がみられ1月28日には同じ牛舎の多数の牛が呼吸器病により治療を受けていたこと、Ⅲ群では1月28日ころから食欲低下と咳がみられていたことを考え合わせると、Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ群は1月21日にはすでに BRSV に感染しており、そのことが免疫細胞の大きな変動として表れたと推察された。

Platt ら [13] は BRSV ワクチン接種群ではすべての単核球において活性化単核球を表す CD25⁺細胞数が未接種群より有意な高値を示したと報告している。さらにまた Peters ら [12] も同様の実験を行い、ワクチン接種群において未接種群より抗体価が有意に上昇し、ウイルス排出期間が短縮したと報告しており、ワクチンの効果による免疫反応の持続は、感染後の抗体反応の向上とウイルス排出の抑制のどちらか、または両方によると述べている。今回、BRSV 感染症の流行前に追加のワクチン接種を受けていたⅠ、Ⅱ群では、1月21日の CD8⁺T 細胞数および MHCclassII⁺CD14⁺細胞数が同日にワクチン接種を行ったⅢ群と比較して高値を示す傾向にあり、2月18日の抗体価がⅢ群より有意に高値であったことから、Ⅰ、Ⅱ群では BRSV の感染に対して迅速かつ強力な細胞性および液性免疫が誘導されていたと考えられた。

WC1⁺T 細胞 ($\gamma\delta$ T 細胞) は消化管、生殖器および皮膚などリンパ系組織以外の組織に広く分布しており、障害を受けた上皮の除去や修復を促すなど局所の免疫に重要な役割を果たしている [18]。Thomas ら [15] は、BRSV 感染症を発症した牛の気管支粘膜固有層で好酸球、CD4⁺T 細胞、CD8⁺T 細胞および WC1⁺T 細胞の増加を観察している。Ⅲ群ではⅠ、Ⅱ群より顆粒球数が有意に減少しており、WC1⁺T 細胞数が有意な高値を示したことから、

Ⅲ群はBRSVの感染による末梢血白血球数の減少作用や粘膜の侵襲作用をより強く受けていたことが考えられた。

Ellisら [5]、Patelら [11] は、BRSV実験感染においてワクチン接種群と未接種群を比較し、ワクチン接種群の罹患率低下や症状軽減を報告している。供試牛はいずれも追加ワクチン接種前の4-7ヶ月齢に1回5種混合生ワクチン接種を受けていたが、Ⅰ、Ⅱ群の発症頭数が流行時にワクチン接種したⅢ群と比較して有意に少なく、RS感染症流行以前の追加ワクチン接種がBRSVの自然感染における発症を有意に抑制したと推察された。また、17ヶ月齢まで追加のワクチン接種を受けていなかった牛では84%が発症したが、重篤な症状を示したものはなく、2-4回の治療で治癒したことからワクチン接種による症状軽減効果があったと考えられた。また、18ヶ月齢以上で発症した牛はいなかったが、BRSVの自然感染によって免疫ができていた可能性が考えられた。

以上の成績から、導入前の5種混合生ワクチン1回接種では導入時のそれらウイルスの抗体価がかなり低下しておりBRSV感染症を完全に予防することは難しいこと、導入牛に対する5種混合ワクチンの追加接種は抗体価の上昇と細胞性免疫を高めることでBRSV感染症の予防に対して有効であることが示唆された。

【引用文献】

1. Antonis, A. F., Claassen, E. A., Hensen, E. J., De Groot, R. J., De Groot-Mijnes, J. D., Schrijver, R. S. and Van der Most, R. G. 2006. Kinetics of antiviral CD8 T cell responses during primary and post-vaccination secondary bovine respiratory syncytial virus infection. *Vaccine* 24 : 1551-1561.
2. Antonis, A. F., Schrijver, R. S., Daus, F., Stockhofe, N., Hensen, E. J., Lanqedijk, J. P. and Van der Most, R. G. 2003. Vaccine-induced immunopathology during bovine respiratory syncytial virus infection: exploring the parameters of pathogenesis. *J. Virol.* 77 : 12067-12073.
3. Babcock, A., Jones, R. and Langemeier, M. 2006. Examining death loss in Kansas feedlots. *Beef Cattle Research-2006, Report of Prog.* 959. pp. 46-52, Kansas State Univ., Manhattan.
4. Duff, G. C. and Galyean, M. L. 2007. BOARD - INVITED REVIEW : Recent advances in management of highly stressed, newly received feedlot cattle. *J. Anim. Sci.* 85 : 823-840.
5. Ellis, J., West, K., Konoby, C., Leard, T., Gallo, G., Conlon, J. and Fitzgerald, N. 2001. Efficacy of an inactivated respiratory syncytial virus vaccine in calves. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 218 : 1973-1980.
6. Fulton, R. W., Cook, B. J., Step, D. L., Confer, A. W., Saliki, J. T., Payton, M. E., Burge, L. J., Welsh, R. D. and Blood, K. S. 2002. Evaluation of health status of calves and the impact on feedlot performance: Assessment of a retained ownership program for postweaning calves. *Can. J. Vet. Res.* 66 : 173-180.
7. 藤井満貴, 富永 潔, 平田浩一郎, 松田普二, 河村和俊. 1990. 乳用子牛に集団発生した牛RSウイルス感染症. *日獣会誌* 43 : 494-498.
8. 福山新一. 2008. 子牛の感染症予防ワクチンプログラム. *日本家畜臨床感染症研究会誌* 3 : 79-84.
9. 桐澤力雄. 2002. ウシRSウイルス感染症.

- 新版 主要症状を基礎にした牛の臨床 (前出吉光, 小岩政照監修), デーリーマン, 北海道, pp.146-148.
10. 小沼 操, 小野寺 節, 山内一也. 2003. T細胞の分化と機能. 動物の免疫学, 第2版, 文永堂出版, 東京, pp.91-103.
 11. Patel, J. R. and Didlick, S. A. 2004. Evaluation of efficacy of an inactivated vaccine against bovine respiratory syncytial virus in calves with maternal antibodies. *Am. J. Vet. Res.* 65 : 417-421.
 12. Peters, A. R., Thevasagayam, S. J., Wiseman, A. and Salt, J. S. 2004. Duration of immunity of a quadrivalent vaccine against respiratory diseases caused by BHV-1, PI3V, BVDV, and BRSV in experimentally infected calves. *Prev. Vet. Med.* 66 : 63-77.
 13. Platt, R., Burdett, W. and Roth, J. A. 2006. Induction of antigen-specific T-cell subset activation to bovine respiratory disease viruses by a modified-live virus vaccine. *Am. J. Vet. Res.* 67 : 1179-1184.
 14. Sandbulte, M. R. and Roth, J. A. 2003. Priming of multiple T cell subsets by modified-live and inactivated respiratory syncytial virus vaccines. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 95 : 123-133.
 15. Thomas, L. H., Cook, R. S., Howard, C. J., Gaddum, R. M. and Taylor, G. 1996. Influence of selective T-lymphocyte depletion on the lung pathology of gnotobiotic calves and the distribution of different T-lymphocyte subsets following challenge with bovine respiratory syncytial virus. *Res. Vet. Sci.* 61 : 38-44.
 16. Verhoeff, J., Van der Ban, M. and Van Nieuwstadt, A. P. 1984. Bovine respiratory syncytial virus infections in young dairy cattle: Clinical and haematological findings. *Vet. Rec.* 114 : 9-12.
 17. Werling, D., Collins, R. A., Taylor, G. and Howard, C. J. 2002. Cytokine responses of bovine dendritic cells and T cells following exposure to live or inactivated bovine respiratory syncytial virus. *J. Leukoc. Biol.* 72 : 297-304.
 18. Woolms, A. R., Loneragan, G. H., Hawkins, L. L. and Williams, S. M. 2005. Baseline management Practices and animal health data reported by US feedlots responding to a survey regarding acute interstitial pneumonia. *Bovine Pract.* 39 : 116-124.

Protective efficacy and immune responses to natural infection
of bovine respiratory syncytial virus (BRSV) in beef cattle
with additional inoculation of five-way modified live vaccine

Daisaku Watanabe¹⁾, Momoko Taguchi¹⁾, Takaaki Ando²⁾,
Hiromichi Ohtsuka¹⁾, Hidetomo Sasaki³⁾,
Masaomi Nakasato³⁾, Masaaki Oikawa¹⁾

1) School of Veterinary Medicine, Kitasato University

2) School of Veterinary Medicine, Rakuno Gakuen University

3) Towada livestock Hygiene Service Center

ABSTRACT

We had been investigating the immune response to a five-way mixed modified live vaccines, which contains bovine respiratory syncytial virus (BRSV). During this investigation a natural infection of BRSV occurred at a beef farm, which raises 130 Japanese Black cattle. From January 21 to February 10, 2008, 38 out of 68 investigated cattle (10–17 months of age) showed fever, cough and anorexia with marked increase in antibody titer to BRSV. All investigated cattle received the first vaccination with 5-way mixed modified live virus at 4 to 7 months of age. In order to examine the effect of the timing of additional vaccination on protection of BRSV infection, these cattle were divided into three groups according to the date of vaccination; Groups I and II received vaccination prior to the outbreak of BRSV infection, either on November 23 or December 22, 2007, respectively, and Group III was vaccinated on January 21, 2008, during the outbreak. Significantly lower incidence of treatment and higher serum neutralization antibody titers in the post vaccination serum (February 18, 2008) were observed in Groups I and II compared with Group III. In all groups, the number of granulocytes decreased, and the number of CD3⁺CD45R⁺T (naive T) cells, CD4⁺T (helper T) cells, CD8⁺T (cytotoxic T) cells, CD21⁺ (mature B) cells and MHC classII⁺CD14⁺ cells (activated monocytes) increased significantly on January 21, 2008. These results suggest that changes of immunocytes were caused by BRSV infection. An additional inoculation of 5-way mixed modified live vaccines might be useful for prevention of BRSV infection.

【Key Word: antibody titer, BRSV, cattle, immunocyte, vaccination】