

原著論文

牛白血病ウイルス感染牛に対するインターフェロン- α 製剤経口投与後の末梢血白血球ポピュレーションおよびサイトカイン遺伝子発現の変化

柿沼清市*¹⁾ 大塚浩通²⁾ 今内 覚³⁾ 及川正明²⁾

1) 柿沼獣医科医院

2) 北里大学獣医学部獣医学科

3) 北海道大学大学院獣医学研究科動物疾病制御学講座感染症学教室

*連絡担当者：柿沼清市

TEL 0495-72-0171 FAX 0495-72-8244

E-mail : fwid6390@mb.infoweb.ne.jp

[要 約]

乳牛の牛白血病ウイルス (BLV) の感染では液性免疫機能が亢進する一方、細胞性免疫機能が低下する。そこで BLV 感染乳牛に対して IFN 製剤の投与によって細胞性免疫機能を高めることで、地方病性白血病 (EBL) やその他の疾病予防効果があるのかどうかを明らかにするために、細胞性免疫の活性効果のある経口用インターフェロン (IFN)- α 製剤を BLV 抗体陽性牛に対して投与し、その後の免疫機能の変化を観察した。対象牛は BLV 抗体検査陽性の臨床的に健康なホルスタイン種経産牛 8 頭で、全ての牛に IFN 製剤 200IU を 5 日間連続経口投与した。採血は投与直前、0.5、1、2、および 4 週後の計 5 回実施し、末梢血液中の白血球ポピュレーションおよびサイトカイン遺伝子発現量を解析した。投与前に比べ MHCclass-II⁺CD14⁻B 細胞数は投与 4 週後、また CD4⁺T 細胞数は、投与 1、2、および 4 週後に有意に減少した。それに伴って CD4⁺/CD8⁺比が投与 2、および 4 週後に有意に減少した。また、CD3⁺TcR1-N12⁺ γ δ T 細胞数は、投与 1 週後に有意に減少した。また、TNF- α 遺伝子発現は、投与 1 週後に有意に増加し、IL-4 遺伝子発現量は、投与 4 週後に有意に増加した。これらのことから BLV 感染牛に対する IFN- α 製剤の経口投与は細胞性免疫機能に変動を与える可能性がある。

キーワード：乳牛、牛白血病ウイルス、サイトカイン、インターフェロン α 製剤、白血球ポピュレーション

[緒 論]

ヒト免疫不全ウイルス (HIV) と同じレトロウイルス科に属する牛白血病ウイルス (BLV) は、地方病性 (成牛型) 白血病 (EBL) の原因となることが知られており、我が国におけるその発症報告は年々増加傾向にあり [10]、牛群内の半数以上の牛が BLV に感染している農場も存在する。BLV 感染牛では、末梢血中の B 細胞数の増加を主体とした免疫異常状態が認められ、持続性リンパ球増多症 (PL) へと進行

すると、血清インターフェロン (IFN)- α 濃度の低下やインターロイキン (IL)-4 濃度の上昇の状態となり、細胞性免疫機能が低下するとされている [3]。乳房炎発症への BLV 感染の影響も指摘され、潜在性乳房炎の牛の乳腺組織内に BLV が検出されたとする報告 [21] や、BLV 感染牛において乳汁中の高体細胞数を指摘する報告もある [20]。また、BLV 感染牛では、細胞性免疫応答の低下に伴って、乳房炎、皮膚糸状菌症などの感染症の他、EBL 以外の疾病発生のリスクが高まる可能性が指摘され [4, 19]、免疫機能低下による疾病多発や経済的損失が危惧されている [8, 14, 15]。

受理：2014 年 4 月 2 日

IFN- α 製剤の経口投与による免疫応答には、Th1 細胞優勢の免疫反応促進、CD8⁺T 細胞やマクロファージの活性化、腫瘍壊死因子 (TNF)- α や IFN- γ の遺伝子発現の上昇といった細胞性免疫および抗ウイルス作用の活性効果がある [9, 18]。ヒトや動物のウイルス感染症に対して IFN- α 製剤の経口投与による効果が報告され [2, 9]、牛においてはヒト IFN- α 製剤の経口投与が子牛の末梢血単球数の増加や IL-12 産生促進効果などの細胞性免疫活性効果を持つことが明らかにされている [13]。これらより、BLV 感染牛に対する IFN- α 製剤の投与は、BLV 感染乳牛における細胞性免疫機能の活性効果が期待できる。

そこで本研究では、臨床的に健康な BLV 感染乳牛に対する IFN- α 製剤の投与が、末梢血液中の白血球ポピュレーションおよびサイトカイン遺伝子発現量等の細胞性免疫機能に与える影響について検討した。

[材料と方法]

1. 供試牛

寒天ゲル内拡散沈降反応 (AGID) にて BLV 抗体検査陽性と確認された臨床的に健康なホルスタイン種経産牛 8 頭に、経口用 IFN- α 製剤 (ビムロン、バイオベット社、東京) 200 国際単位を 5 日間連続経口投与した。投与から 6 ヶ月間の疾病発生は認められず、8 頭の調査開始時の平均年齢は、 5.0 ± 0.6 歳、分娩後日数は、 113.3 ± 24.5 日であった (Table 1)。

2. 血液検査

(1) 血液の採材と処理法：供試牛 8 頭の頸静脈より、投与直前、投与 0.5 (3 日)、1、2、4 週後の計 5 回採血し、血清分離剤入りの真空採血管 7 ml、EDTA-2Na 添加真空採血管 5 ml、ヘパリン添加真空採血管 10 ml に分注した。

(2) 白血球ポピュレーションの解析：白血球数 (WBC 値) は、自動血球計算装置 (PC607, ERMA, Germany) により測定した。白血球ポピュレーションの解析は、定法に従い実施し [16]、一次抗体には CD3 (MMIA, VMRD, Pullman, WA, U.S.A.)、CD4 (CACT183A, VMRD)、CD8 (BAT82A, VMRD)、TcR1-N12 (CACT61A, VMRD)、MHCclassII (CAT82A,

VMRD) および CD14 (MY-4, Coulter Immunology, Hialeash, Florida, U.S.A.) に対する抗体を、二次抗体には Goat Anti-Mouse IgG1 : RPE (AbD Serotec, Oxford, U.K.) および Goat Anti-Mouse IgM (μ chain) : FITC (Southern Biotech., CA, U.S.A.) を用いた。なお、各細胞数はフローサイトメーター (FACScan, Becton Dickinson, U.S.A.) により解析した比率と WBC 値から算出した。

(3) 末梢血中サイトカイン遺伝子の発現量の解析：末梢血単核球の培養は血液から分離し、 5×10^6 個/ml となるように調整した。これまでの方法と同様に、細胞には $5 \mu\text{g/ml}$ のフィトヘマグルチニン (PHA-P ; Sigma-Aldrich CO, St. Louis, U.S.A.) を加え、12 時間培養した [12]。培養した細胞から RNA を抽出し、サンプルの RNA 濃度を測定した。抽出した RNA から定法により、cDNA の合成 (逆転写反応) およびリアルタイム PCR を実施した [16]。また、TNF- α 、IFN- γ 、IL-4 の各種サイトカインおよび β -Actin の PCR プライマーデザインは Riollet らの報告に基づいて作製し [16]、各サイトカイン産生能は β -Actin を内部標準として、無刺激の培養細胞でのサイトカインの mRNA 発現量を 1 とした場合の PHA-P 刺激培養細胞におけるサイトカインの mRNA 発現量を比較する比較定量法 ($\Delta\Delta\text{Ct}$ 法) によって算出した。

3. 統計学的処理

白血球ポピュレーション、およびサイトカインの投与前と投与後各週の比較には、Wilcoxon の符号付き順位検定を用いた。各測定値は平均

Table 1 Age and Days from calving

No.	Age	Days from calving
Case-1	6.6	180
Case-2	6.4	114
Case-3	6.0	170
Case-4	5.8	11
Case-5	5.3	148
Case-6	4.6	19
Case-7	3.0	180
Case-8	2.1	84
Average	5.0 ± 0.6	113.3 ± 24.5

Data expressed as means \pm SEM.

値±標準誤差で表示した。

[結果]

1. 末梢白血球数、単核球数および顆粒球数

末梢白血球数、および顆粒球数は、投与前に比べて有意な変化は認められなかった。末梢単核球数は、投与前に比べて投与4週後に有意に減少した (Table 2)。

2. 白血球ポピュレーションの解析結果

MHCclassII⁺CD14⁻B細胞数 (10²/μl) は、投与前 (30.45±8.28) に比べて投与4週後 (19.76±4.91) 有意に減少した。CD3⁺T細胞数 (10²/μl) は、投与前 (11.58±1.76) に比べて投与4週後 (7.20±1.13) 有意に減少した。CD3⁺TcR1-N12⁺γδT細胞数 (10²/μl) は、投与前 (4.18±0.96) に比べて投与1週後 (2.83±0.49) 有意に減少した。CD4⁺T細胞数 (10²/μl) は、投与前 (3.52±0.52) に比べて投与1、2、および4週後 (1.96±0.30、2.29±0.35、および1.78±0.43) 有意に減少した。CD4⁺/CD8⁺比は、投与前 (2.36±0.47) に比べて投与2、および4週後 (1.43±0.25、および1.64±0.35) 有意に減少した。CD8⁺T細胞数は、投与前に比べて投与後に有意な変化は認められなかった。MHC-

classII⁺CD14⁺単球数は、有意差は認められなかったものの投与前に比べて投与0.5および1週後に減少したが、2および4週後に増加し、MHCclassII⁻CD14⁺単球数は、有意差は認められなかったものの投与前に比べて0.5、1、2、および4週後まで、徐々に減少した (Table 2)。

3. 末梢血中サイトカイン遺伝子の解析結果

TNF-α 遺伝子発現量は、投与前 (1.23±0.38) に比べて投与1週後 (7.74±3.80) 有意に増加した。IL-4 遺伝子発現量は、投与前 (6.15±3.07) に比べて投与4週後 (18.29±4.75) 有意に増加した。IFN-γ/IL-4比は、投与前 (2.64±1.09) に比べて投与4週後 (0.29±0.10) 有意に減少した。IFN-γ 遺伝子発現量は、有意な変化は認められなかったが、投与前に比べて投与1週後増加し、他の時期においては減少した (Table 2)。

[考察]

動物へのIFN-α製剤の経口投与による免疫応答には、Th1細胞優勢の免疫反応の促進、TNF-αやIFN-γの遺伝子発現の上昇とIL-4の発現の低下、CD8⁺T細胞の増殖反応、抗ウイルス作用、および抗腫瘍作用の活性化などがあ

Table 2 Leukocyte population and Cytokine mRNA expression levels in PBMC

	weeks				
	pre	0.5	1	2	4
WBC (10 ² /μl)	117.13±13.92	112.13±15.19	109.00±14.89	106.75±14.66	108.00±9.67
Granulocyte (10 ² /μl)	59.34±7.17	59.28±10.46	60.26±8.18	53.43±8.92	68.93±6.18
PBMC (10 ² /μl)	57.78±9.32	52.84±8.94	48.74±10.31	53.32±9.43	39.07±5.73 *
MHC class-II ⁺ CD14 ⁻ (10 ² /μl)	30.45±8.28	30.53±8.25	31.67±9.45	31.24±8.72	19.76±4.91 *
CD3 ⁺ (10 ² /μl)	11.58±1.76	9.43±1.24	8.28±1.00	8.94±1.27	7.20±1.13 *
CD4 ⁺ (10 ² /μl)	3.52±0.52	2.78±0.39	1.96±0.30 *	2.29±0.35 *	1.78±0.43 *
CD8 ⁺ (10 ² /μl)	1.70±0.30	1.56±0.28	1.52±0.38	1.70±0.27	1.24±0.24
CD3 ⁺ TcR1-N12 ⁺ (10 ² /μl)	4.18±0.96	3.69±0.69	2.83±0.49 *	3.38±0.62	3.17±0.62
MHC class-II ⁺ CD14 ⁺ (10 ² /μl)	4.42±0.71	3.59±0.56	2.95±0.47	5.65±0.85	5.14±0.87
MHC class-II ⁻ CD14 ⁺ (10 ² /μl)	5.34±0.74	4.95±0.64	3.03±0.70	3.81±0.40	3.07±0.70
CD4 ⁺ /CD8 ⁺	2.36±0.47	2.17±0.37	1.67±0.36	1.43±0.25 *	1.64±0.35 *
IFN-γ	4.63±2.87	0.89±0.33	15.14±8.30	0.47±0.22	2.51±0.67
IL-4	6.15±3.07	2.20±2.12	7.15±3.54	3.33±2.60	18.29±4.75 *
TNF-α	1.23±0.38	1.58±0.43	7.74±3.80 *	7.88±6.54	1.36±0.21
IFN-γ/IL-4	2.64±1.09	18.92±11.76	2.77±1.63	1.74±0.66	0.29±0.10 *

WBC : White blood cell.

PBMC : Peripheral blood mononuclear cell.

Values are expressed as means±SEM.

* : Denotes significant difference compared to pre administration ($p<0.05$).

る [9, 18]。

本研究の供試牛では、投与1週後のTNF- α 遺伝子発現は有意に増加し、有意差は認められなかったものの投与2週後のTNF- α 遺伝子発現も増加した。IFN- α の刺激により単球からのTNF- α 産生が促進することから [18]、BLVに感染した乳牛に対してIFN- α 製剤の経口投与により単球が活性化し、TNF- α の分泌が増加した可能性がある。

投与前のMHCclassII⁺CD14⁻B細胞数は、これまでに我々がBLV感染の確認された泌乳牛において観察した高いMHCclassII⁺CD14⁻B細胞数と近似していたものの、投与4週後に減少した [4]。TNF- α は、BLV感染細胞表面のレセプターのうちTNF receptor typeI (TNF-RI)に結合するとアポトーシスを誘導し、TNF receptor typeII (TNF-RII)に結合すると増殖を誘導する [3]。本実験においては、IFN- α 製剤の経口投与によって、TNF- α 発現増強とMHCclassII⁺CD14⁻B細胞数の減少が誘導されたことから、供試したBLV感染牛においてはTNF-RIを発現していた感染細胞が多く存在したことが推察された。

1型IFN (IFN- α , β , δ , ω , τ)は、細胞へのウイルス侵入によって産生され、ウイルスの増殖を抑制するのに対して、2型IFN (IFN- γ)は、抗原刺激されたT細胞およびNK細胞によって産生され、マクロファージやNK細胞を活性化し、ウイルス増殖を抑制する [17]。BLV感染牛では、BLV感染細胞が増多しPLへと進行することによって、液性免疫優位の状態を示してTh1細胞に比べてTh2細胞が優勢となる。その結果、IFN- γ の分泌が減少し、IL-4の分泌は増加する [3]。また、PLへと病態進行したBLV感染牛の $\gamma\delta$ T細胞は、抗ウイルス作用を発揮出来なくなるといわれている [6, 7]。これに対して、病態の進行したBLV感染牛に対するIFN- γ の腹腔内投与により、投与後の $\gamma\delta$ T細胞数が増加し、末梢血中のB細胞数およびウイルス量 (シンチシウム数) が減少することが明らかにされており [11]、またBLV感染牛に対するIFN- γ の皮下投与試験においても、投与後に末梢血中のシンチシウム数が減少したことが報告されている [5]。さらに、IFN- α 製剤の口腔内投与では、頬粘膜の

リンパ節において、IFN- γ の遺伝子発現の上昇とIL-4の発現の低下、CD8⁺T細胞の増殖反応といったTh1サイトカイン反応を引き起こすとされている [18]。しかしながら、本研究の供試牛の末梢血単核球には、Th1サイトカイン反応は観察されず、なかでもIL-4遺伝子発現が増加した理由については、測定値に個体差が大きく、明らかにすることは出来なかった。今後は、更なる供試牛の確保、ならびに供試牛の個体ごとのBLV感染経過や炎症性疾患履歴等の詳細な比較調査が必要と考えられた。

CD4⁺T細胞およびCD8⁺T細胞は、B細胞中のBLVの発育を抑制し、EBL発症牛のリンパ組織では、腫瘍免疫においてこれらのT細胞が役割を果たす可能性が示唆されている [1]。本研究では、投与1週後の末梢血のCD4⁺T細胞 (ヘルパーT細胞) 数、およびCD3⁺TcR1-N12⁺T細胞 ($\gamma\delta$ T細胞) 数が減少し、それに伴いCD4⁺/CD8⁺比も減少した。一方、これまで腫瘍を持ったマウスへのIFN- α の経口投与においても、IFN- α の刺激により活性化したNK細胞、B細胞およびT細胞が早期に末梢を循環し、脾臓や末梢リンパ節から腫瘍細胞複製の部位を攻撃し、腫瘍細胞を減少させるといわれている [2]。これらのことより、本研究においても、CD4⁺T細胞ならびに $\gamma\delta$ T細胞が減少していたことから、IFN- α 製剤投与と刺激によって、供試牛の末梢血およびリンパ組織に存在するBLV感染細胞にそれらの免疫細胞が移動したことが推察された。また、IFN- α 製剤投与4週間にはBLV感染細胞であるMHCclassII⁺CD14⁻B細胞が減少したことから、IFN- α によるBLV感染牛に対する治療効果の可能性が期待された。

以上より、BLV感染牛に対するIFN- α 経口投与は、末梢血単核球中のサイトカイン遺伝子発現ならびに白血球ポピュレーションに変動を与え、細胞性免疫機能に影響を与えることが示された。また、本研究においては、EBL治療効果に関して言及する結果は十分に得られていないが、BLV感染細胞を減少させる効果が示すことが出来たことから、IFN- α のEBL治療技術の可能性を示すことが出来た。しかしながら、供試牛において個体差の影響が考えられたことから、今後は供試牛の確保ならびに供試牛

の疾病歴等を均一化した更なる実験が必要となることが考えられた。

[謝 辞]

今研究にあたり、御協力いただいた大日本住友製薬の佐々木文夫氏、バイオベットの阿部健司氏、埼玉県熊谷家畜保健衛生所の先生方に深謝する。

[引用文献]

1. Chiba, T., Hiraga, M., Aida, Y., Asahina, M., Wu, D., Ohshima, K., Davis, W. C. and Okada, K. 1995. Immunohistologic studies on subpopulations of lymphocytes in cattle with enzootic bovine leukosis. *Vet. Pathol.* 32: 513-520.
2. Cummins, J. M., Krakowka, G. S. and Thompson, C. G. 2005. Systemic effects of interferons after oral administration in animals and humans. *Am. J. Vet. Res.* 66: 164-176.
3. Kabeya, H., Ohashi, K. and Omuma, M. 2001. Host immune responses in course of bovine leukemia virus infection. *J. Vet. Med. Sci.* 63: 703-708.
4. 柿沼清市, 大塚浩通, 大前佳穂里, 綾部杏子, 柿沼元治, 今内覚, 及川正明. 2011. 牛白血病ウイルス感染搾乳牛における末梢白血球ポピュレーション. *日獣会誌.* 64: 375-380.
5. Kohara, J. and Yokomizo, Y. 2007. *In vitro* and *in vivo* effects of recombinant bovine interferon- τ on bovine leukemia virus. *J. Vet. Med. Sci.* 69: 15-19.
6. 今内覚. 2013. 牛の感染免疫に関する最近の知見. *日獣会誌.* 66: 171-179.
7. Lundberg, P. and Splitter, G. A. 2000. Gamma-delta T-Lymphocyte cytotoxicity against envelope-expressing target cells is unique to the alymphocytic state of bovine leukemia virus infection in the natural host. *J. Virol.* 74: 8299-8306.
8. Małgorzata, S., Sławomir, Z. and Sylwia, K. 2012. Diagnosis of the bovine leukemia virus infection in Polish Holstein-Friesian cows and comparison of their milk productivity. *Acta. Vet. Brno.* 81: 353-358.
9. Moore, B. R. 1996. Clinical application of interferons in large animal medicine. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 208: 1711-1715.
10. Murakami, K., Kobayashi, S., Konishi, M., Kameyama, K., Yamamoto, T. and Tsutsui, T. 2011. The recent prevalence of bovine leukemia virus (BLV) infection among Japanese cattle. *Vet. Microbiol.* 148: 84-88.
11. Murakami, K., Sentsui, Y., Inoshima, Y. and Inumaru, S. 2004. Increase in $\gamma \delta$ T cells in blood of cattle persistently infected with bovine leukemia virus following administration of recombinant bovine IFN- γ . *Vet. Immunol. Immunopathol.* 101: 61-71.
12. Ohtsuka, H., Watanabe, C., Kohiruimaki, M., Ando, T., Watanabe, D., Masui, M., Hayashi, T., Abe, R., Koiwa, M., Sato, S. and Kawamura, S. 2006. Comparison of two different nutritive conditions against the changes in peripheral blood mononuclear cells of periparturient dairy cows. *J. Vet. Med. Sci.* 68: 1161-1166.
13. Ohtsuka, H., Tokita, M., Takahashi, K., Masui, M., Kohiruimaki, M., Hayashi, T., Ando, T., Watanabe, D. and Kawamura, S. 2006. Peripheral mononuclear cell response in Japanese black calves after oral administration of IFN-alpha. *J. Vet. Med. Sci.* 68: 1063-1067.
14. Ott, S. L., Johnson, R. and Wells, S. J. 2003. Association between bovine-leukosis virus seroprevalence and herd-level productivity on US dairy farms. *Prev. Vet. Med.* 61: 249-262.
15. Rhodes, J. K., Pelzer, K. D. and Johnson, Y. J. 2003. Economic implications of bovine leukemia virus infection in mid-Atlantic dairy herds. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 223: 346-352.
16. Riollet, C., Rainard, P. and Poutrel, B. 2001. Cell subpopulations and cytokine expression in cow milk in response to chronic *Staphylococcus aureus* infection. *J. Dairy Sci.* 84: 1077-1084.
17. Tizard, I. R. 2013. *Veterinary Immunology.* Ninth ed. Elsevier Inc., New York, pp296-310.
18. Tompkins, W. A. 1999. Immunomodulation and therapeutic effects of the oral use of interferon-alpha: mechanism of action. *J. Interferon Cytokine Res.* 19: 817-828.
19. Trainin, Z., Brenner, J., Meirum, R. and Ugar-Waron, H. 1996. Detrimental effect of bovine leukemia virus (BLV) on the immunological state of cattle. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 54: 293-302.
20. Wellenberg, G. J., van der Poel, W. H. M. and van Oirschot, J. T. 2002. Viral infections and bovine mastitis: a review. *Vet. Microbiol.* 88: 27-45.
21. Yoshikawa, H., Xie, B., Oyamada, T., Hiraga, A. and Yoshikawa, T. 1997. Detection of bovine leukemia viruses (BLV) in mammary tis-

sues of BLV antibody-positive cows affected 301-302.
by subclinical mastitis. J. Vet. Med. Sci. 59:

Changes in peripheral leukocyte population and cytokine expression in dairy cows infected with bovine leukemia virus after oral administration of interferon-alpha

Seiichi Kakinuma^{1)*}, Hiromichi Ohtsuka²⁾, Satoru Konnai³⁾ and Masaaki Oikawa²⁾

1) Kakinuma Veterinary Hospital.

2) School of Veterinary Medicine, Kitasato University

3) Department of Disease Control, Graduate School of Veterinary Medicine, Hokkaido University

*Correspondence to: Seiichi Kakinuma

[Abstract]

The immune status of bovine leukemia virus (BLV) infected dairy cows tend to skew toward humoral immunity with decreased cellular immunity. The objective of this study was to improve the cellular immunity in order to normalize the immune function, and to prevent against enzootic bovine leukemia (EBL) and other diseases of BLV infected dairy cows. We investigated effects of oral administration of interferon (IFN)- α on the immune function of BLV infected dairy cows. Eight BLV seropositive clinically healthy Holstein dairy cows in one herd were orally administrated with 200 IU/day of IFN- α five consecutive days. Blood samples were collected prior to administration and 0.5, 1, 2 and 4 week after administration. The leukocyte populations and cytokine mRNA expressions of the peripheral blood mononuclear cells were analyzed. The number of MHCclass-II⁺CD14⁻B cells was remarkably high prior to IFN- α administration, but it decreased significantly at 4 weeks after administration compared with pre administration. The number of CD4⁺ T cells became significantly lower at 1, 2 and 4 weeks after administration compared with pre administration. As a consequence CD4⁺/CD8⁺ ratio was significantly lower at 2 and 4 weeks after administration compared with pre administration. The number of CD3⁺TcR1-N12⁺ γ δ T cells decreased at 1 week after administration compared with pre administration. The levels of TNF- α showed significantly higher level at 1 week after administration compared to pre administration. The level of IL-4 increased at 4weeks after administration compared with pre administration. These results suggested that oral administration of IFN- α affected the cellular immunity in BLV infected dairy cows.

Key words: Bovine leukemia virus, Cytokine, Dairy cows, Interferon- α , Leukocyte population