今田 忠男ら

□ウイルス学□ 原 著

ニホンジカの牛用ウイルスワクチンに対する反応性

今田 忠男¹⁾, 坪井 孝益¹⁾, 高橋 伸和²⁾, 浜岡 隆文¹⁾

八橋 克智¹⁾, 庄司智太郎¹⁾, 播谷 亮¹⁾, 村田 英雄¹⁾

1) 農林水産省家畜衛生試験場東北支場 〒039-25 青森県上北郡七戸町字海内 31

2) 宮城県仙台家畜保健衛生所 〒983 仙台市宮城野区安養寺 3-11-22

(1995.10.25 受付, 1995.12.26 受理)

Antibody Response of Sika Deer (*Cervus nippon*) against 4 Kinds of Bovine Vaccine Viruses

Tadao IMADA¹⁾, Takamitsu TSUBOI¹⁾, Nobukazu TAKAHASHI²⁾, Takafumi HAMAOKA¹⁾

Katsutomo YATSUHASHI, Tomotaro SYOUJI¹⁾, Makoto HARITANI¹⁾ and Hideo MURATA¹⁾

1) Tohoku Branch Laboratory, National Institute of Animal Health,
Uminai-31, Shichinohe, Kamikita-gun, Aomori 039-25, Japan

2) Sendai Livestock Hygiene Service Center, Anyouji 3-11-22, Miyaginoku, Sendai, Miyagi 983, Japan

ABSTRACT. Adult sika deer (*Cervus nippon*) were inoculated with bovine viral vaccines (infectious bovine rhinotracheitis (IBR), Akabane disease (AD), bovine virus diarrhea-mucosal disease (BVD-MD) and parainfluenza type 3 (PI-3)) to observe clinical signs and serological response. No animal exhibited clinical signs of respiratory and intestinal diseases. Serologic response was monitored using serum neutralization test for IBR, AD and BVD-MD, and hemagglutination inhibition test for PI-3. Except IBR, the antibodies for each virus were detected as early as 2 weeks post-inoculation and in almost all animals remained seropositive for >12 weeks. IBR antibody was not detected consistently by one-time vaccination but after second-time vaccination it was detected and persisted >10 weeks with low titers.

Key words: bovine viral vaccine, sika deer

Jpn. J. Zoo Wild. Med. 1(1) : 38-41, 1996

序 論

近年, 日本でも中山間地において養鹿が試みられはじめている¹⁾。また一方では, 東北や北海道で増加している野生動物としてのシカの存在が注目されつつあり²⁾, 中山間地域においては放牧牛との接触の頻度も増加していると考えられる。このような状況でヒトおよび家畜と, シカが接触する機会が増えることにより, 新たな疾病の伝播経路となりうる危険性が考えられる^{3,4)}。そこで著者らは東北地方に

生息するニホンジカの血清中に牛ウイルスに対する抗体を調査した。その結果, ニホンジカにおいても多くの牛ウイルスに対する抗体が証明された⁵⁾。ニホンジカに対する各種牛ウイルスの病原性については不明な点が多く残されているが, 東北地方のシカは牛ウイルスのレゼルボア (保毒動物) となっている可能性が示唆された。

今回, 養鹿における主要な損耗要因の一つになるであろう伝染病の予防策の一つとして, 既存の牛用ウイルスワクチンが同じ反芻獣のニホンジカに感染し, 免疫応答が起こ

シカの牛ワクチンに対する反応性

るか否かについて、その血清中の抗体価の測定で判定したので報告する。

材料と方法

ニホンジカ

宮城および岩手県の鹿牧場から購入した成獣（40～62 kg、2～3 歳）雄 2 頭、去勢雄 2 頭および雌 4 頭の計 8 頭を使用した。導入時にそれぞれの個体から採血し、血液検査と結核検査を行った。

牛用ワクチン

牛伝染性鼻気管炎（IBR）生ウイルスワクチン〔化血研〕、アカバネ病（AD）生ウイルスワクチン〔化血研〕および IBR・牛ウイルス性下痢-粘膜病（BVD-MD）・牛パラインフルエンザ 3 型（PI-3）混合生ウイルスワクチン〔共立商事〕の三種類のワクチンを使用した。

接種試験 1

5 頭中 3 頭のシカに IBR ワクチン（Nos.1, 2 および 4）と AD ワクチン（Nos.1, 2 および 5）をそれぞれの使用方法に従い、1 用量を筋肉内と皮下に接種し、5 頭同居で飼育観察した。採血は 2 週間毎にワクチン接種後 12 週まで行った。ワクチン接種および採血は、吹き矢式の注射器でキシラジン（1.0 mg/kg 体重）を筋肉内に投与し、採血後は拮抗薬であるヨヒンピン（1.0 mg/kg 体重）を静注し、ただちに覚醒させた⁶⁾。

接種試験 2

試験 1 終了後 4 ヶ月後に IBR・BVD-MD・PI-3 三種混合ワクチンを 5 頭のシカ（Nos.1, 2, 6, 7 および 8）に使用方法に従い、その 1 用量を筋肉内に接種し経過を観察した。採血は試験 1 と同様に行った。

抗体価の測定

IBR ウイルス、AD ウイルスおよび BVD-MD ウイルスの三種類のウイルスに対する抗体価はマイクロプレートを用いた中和試験⁷⁾により、また、PI-3 ウイルスに対する抗体価は赤血球凝集抑制（HI）試験⁸⁾により測定した。血清はすべて 56°C30 分の非動化処理を行い、HI 試験用の血清はさらに、ニワトリ赤血球による吸収とカオリン処理を行った。

結 果

いずれのワクチン接種においても下痢や呼吸器症状などの臨床的な異常は認められなかった。

IBR ウイルスに対する抗体は第 1 回目の接種では 2 週間目と 12 週間目に 4 倍の抗体が 1 頭（No.1）に検出されたのみで、1 回接種では 3 頭に確実に抗体を維持させることはできなかった。同居の 2 頭にも抗体反応は認められなかった（表 1）。三種混合ワクチンにも IBR ウイルスが含まれており、Nos.1 および 2 のシカでは 2 回接種になった。これらの個体では、2 週間目から 4～8 倍の抗体の上昇と持続が認められたが、他の 3 頭では全く検出されなかった（表 2）。

AD ウイルスに対する抗体は、ワクチン接種後 2～4 週間目に 3 頭のに 8～32 倍の抗体が検出され、最高 64 倍を示

表 1 牛伝染性鼻気管炎ワクチン接種後の中和抗体価の推移

個体 (No.)	ワクチン	接種後週数						
		0	2	4	6	8	10	12
1	接種	— ¹⁾	4 ²⁾	—	—	—	—	4
2	接種	—	—	—	—	—	—	—
3	接種	—	—	—	—	—	—	—
4	未接種	—	—	—	—	—	—	—
5	未接種	—	—	—	—	—	—	—

¹⁾血清希釈 2 倍で陰性、²⁾50%中和能を示した血清希釈倍数

表 2 牛伝染性鼻気管炎ワクチン 1 回および 2 回接種後の中和抗体価の推移

個体 (No.)	ワクチン	接種後週数						
		0	2	4	6	8	10	12
1 ¹⁾	接種	— ³⁾	4 ⁴⁾	4	4	4	—	—
2 ¹⁾	接種	—	4	8	8	8	4	4
6 ²⁾	接種	—	—	—	—	—	—	—
7 ²⁾	接種	—	—	—	—	—	—	—
8 ²⁾	接種	—	—	—	—	—	—	—

¹⁾2 回接種、²⁾1 回接種、³⁾血清希釈 2 倍で陰性、⁴⁾50%中和能を示した血清希釈倍数

表 3 アカバネ病ワクチン接種後の中和抗体価の推移

個体 (No.)	ワクチン	接種後週数						
		0	2	4	6	8	10	12
2	接種	—	8 ²⁾	32	32	32	16	16
3	接種	—	16	8	16	16	8	8
5	接種	—	—	32	32	64	64	64
1	未接種	— ¹⁾	—	—	—	—	—	—
4	未接種	4	—	—	—	—	—	—

¹⁾血清希釈 4 倍で陰性、²⁾50%中和能を示した血清希釈倍数

表4 牛伝染性下痢-粘膜病ワクチン接種後の中和抗体価の推移

個体 (No.)	ワクチン	接種後週数						
		0	2	4	6	8	10	12
1	接種	— ¹⁾	—	8	32	256	128	256
2	接種	—	—	8	32	64	32	32
6	接種	—	—	32	256	256	256	256
7	接種	—	4 ²⁾	32	32	64	64	64
8	接種	—	—	64	128	128	32	16

¹⁾血清希釈4倍で陰性, ²⁾50%中和能を示した血清希釈倍数

した。また、抗体は12週間以上持続した。同居の2頭には抗体反応は認められなかった(表3)。

BVD-MD ウイルスに対する抗体は、2週間目に1頭、4週間目からは全頭に抗体価の上昇が認められ、8週間目にそのピークが認められた。その後も全てのシカが16~256倍の抗体価を12週間以上維持した(表4)。

BPI ウイルスに対する抗体は、その反応性に個体差が認められたものの、いずれも2週間目より20倍以上の抗体価が検出され、5頭中3頭で12週間以上抗体が持続した(表5)。

考 察

世界のシカの血清中に各種牛ウイルスに対する抗体が存在することは既に報告されている⁹⁻¹¹⁾。しかし、実際にシカに牛ウイルスを接種し、その経過を観察した報告は少ない¹²⁾。今回、著者らは、ニホンジカに牛用に開発された弱毒生ウイルスワクチンを接種し、その免疫応答を経過血清中の抗体を測定することによって判定した。その結果、いずれのワクチンウイルスもシカに感染し、抗体応答があることが確認された。ニホンジカに対する各種牛ウイルスの病原性については不明ではあるが、既存の牛用ワクチン(弱毒生ウイルス)がシカの疾病予防に使用できる可能性が示されたものと考えられる。

AD ウイルス、BVD-MD ウイルスおよびPI-3 ウイルスワクチン接種では、確実に抗体価が上昇するのみならず、特にADおよびBVD-MD ウイルスに対する抗体は12週間以上持続することが確認でき、ニホンジカがこれらのウイ

表5 牛パラインフルエンザワクチン接種後のHI抗体価の推移

個体 (No.)	ワクチン	接種後週数						
		0	2	4	6	8	10	12
1	接種	— ¹⁾	320 ²⁾	320	320	160	80	80
2	接種	—	80	80	80	80	80	80
6	接種	—	320	160	80	80	40	40
7	接種	—	20	20	20	10	—	—
8	接種	—	80	—	—	—	—	—

¹⁾血清希釈10倍で陰性, ²⁾血球凝集抑制能を示した血清希釈倍数

ルスに対してウシと同等の感受性を有するものと考えられた。ワクチン接種の効果については当然、攻撃試験によって判定すべきものではあるが、いずれのワクチン接種においても抗体反応のみで、臨床的な異常は認められなかったことから、これらの疾病がニホンジカに発生する場合にはその予防効果が期待できるものと考えられる。IBR ワクチンは2回接種を行った場合、検出可能な抗体が上昇し、10週間以上持続したが、1回接種のみではシカの抗体反応は十分ではなかった。この理由については、ウシの本ウイルスワクチンに対する抗体応答も低力価で推移することから、このワクチンの特性上の問題であると考えられるが、本ウイルスに対してシカの感受性が低い可能性もある。

著者らが行った東北地方に生息するニホンジカにおける8種類の牛ウイルスに対する抗体調査では、牛コロナウイルス(95%)、牛ロタウイルス(45%)、ADウイルス(38%)、ブルータングウイルス(25%)、PI-3ウイルス(18%)、BVD-MDウイルス(3%)、IBRウイルス(1%)および牛白血病ウイルス(0%)という結果であった⁵⁾。これらのうち、4種については今回ウイルスをニホンジカに接種し、その感受性が確認できたので、野外における抗体調査成績の信頼性が高まったと考えられる。また、抗体調査においては、BVD-MDウイルスに感染したと思われる個体は少なかったが、ワクチンウイルスに対するニホンジカの反応性から考えると、十分に感受性はあると思われる。したがって、野外における陽性率の高いADウイルス、牛コロナウイルス、牛ロタウイルスなどのウイルスのみならずBVD-MDウイルスも含め、ニホンジカは牛ウイルスのレゼルボアと

シカの牛ワクチンに対する反応性

なる可能性があると考えられる。

今後、野生動物のこれらウイルスに対する感受性および自然界における役割について、さらに詳しく検討する必要がある。

謝 辞

この研究は、農林水産技術会議事務局の新需要創出計画(バイオルネッサンス計画)の一環として行ったものである(BRP 95-IV-A-3)。

要 約

ニホンジカ(2~4歳)に対し、市販されている牛用のウイルスワクチン(牛伝染性鼻気管炎生ウイルスワクチン,アカバネ病生ウイルスワクチンおよび牛伝染性鼻気管炎・牛ウイルス性下痢-粘膜病・牛パラインフルエンザ混合生ワクチン)をそれぞれ1用量接種し、臨床症状を観察しながら、経時的に採血して、抗体価の測定を行った。その結果、いずれのワクチン接種においても、臨床的な異常は認められなかった。また、牛伝染性鼻気管炎ウイルス以外の抗体は1回の接種で有意に上昇し、12週間以上持続することが確認されたが、牛伝染性鼻気管炎ウイルスに対しては、2回接種によって抗体の上昇と持続を認めた。

キーワード: ニホンジカ, アカバネ病ウイルス, 牛伝染性鼻気管炎ウイルス, 牛ウイルス性下痢-粘膜病ウイルス, 牛パラインフルエンザウイルス

引用文献

1. 石田光晴. 1993. 養鹿の飼養管理技術の現状と諸問題について. **東北家畜**

衛生協議会集録 21:24-29.

2. 大井 徹, 鈴木一生, 堀野真一, 三浦慎悟. 1993. ニホンジカの空中カウントと地上追い出しカウントの比較. **哺乳類科学** 33:1-8.
3. Isogai E, Isogai H, Masuzawa T, Yanagihara Y, Sato N, Hayashi S, Maki T, Mori M. 1991. Serological survey for Lyme disease in sika deer. *Microbiol Immunol* 35:695-703.
4. Boromisa PD, Grimstad PR. 1987. Seroconversion rates to Jamestown canyon virus among six populations of white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*) in Indiana. *J Wildl Dis* 23:23-33.
5. Imada T, Tsuboi T, Takahashi N, Hmaoka T, Haritani M, Miyamoto T, Murata H. 1996. Serological survey for 8 bovine viral pathogens in sika deer (*Cervus nippon*) in Northern Japan. *Jpn J Zoo Wildl Med* 1:46-48.
6. 宮本 亨. 1993. ニホンシカの血清学的, 生化学的成分に対するキシラジン投与の影響. **東北家畜衛生協議会集録** 21:45-49.
7. Shimizu M, Sato K, Nishioka N, Yoshino T, Momotani E, Ishikawa Y. 1989. Serological characterization of viruses isolated from experimental mucosal disease. *Vet Microbiol* 19:13-21.
8. Sato K, Inaba Y, Kurogi H, Takahashi E, Satoda K, Omari T, Matumoto M. 1976. Hemagglutination by calf diarrhea coronavirus. *Vet Microbiol* 2:83-87.
9. Aguirre AA, Hansen DE, Staeky EE, Mclean RG. 1995. Serological survey of wild cervids for potential disease agents in selected national parks in the United States. *Preven Vet Med* 21:313-322.
10. Froelich K. 1995. Bovine virus diarrhea and mucosal disease in free-ranging and captive deer (*Cervidae*) in Germany. *J Wildl Dis* 31:247-250.
11. Lamontagne L, Sadi L, Joyal R. 1989. Serological evidence of bovine herpesvirus 1-related virus infection in the white-tailed deer population on Anticosti island, Quebec. *J Wildl Dis* 25:202-205.
12. Work TM, Jessup DA, Sawyer MM. 1992. Experimental bluetongue and epizootic hemorrhagic disease virus infection in California black-tailed deer. *J Wildl Dis* 28:623-628