

# 不活化ワクチンによる難治性 *Prototheca* 乳房炎の治療戦略

酪農学園大学獣医学群獣医学類・教授 鈴木 一由

## ■ 目的

治療方法が確立されていない *Prototheca* 乳房炎のワクチン開発とその実用化に向けて臨床試験を行う。*Prototheca* 属は葉緑素不含藻類であり、牛舎環境周辺に腐生性に存在する *Prototheca zopfii* は、牛乳房炎の原因藻類である。これに感染した乳牛では乳量の減少、白色の凝固物を含んだ希薄な乳汁の分泌、体細胞数増加による乳廃棄および全身・局所の著しい炎症を引き起こす。本藻類は少なくとも2つの遺伝子型(*P. zopfii* genotype 1 および genotype 2)に分類され、後者は牛の乳房炎から分離される。藻類である *Prototheca* に対して特異的に作用する薬剤は人体および動物薬のいずれにも存在せず、決定的な治療法が無いため、乳汁中に *Prototheca* を排出している感染牛を隔離・淘汰するしか対策が無い。そのため、一度牛舎内で発生すると、酪農家にとって経済的損失が大きく、強い炎症を伴うために動物福祉でも大きな問題である。そこで新たな防除法の確立を目的として、我々はこれまでに genotype 2 から作成した粗抗原を作成し、非感染実験牛への接種試験を実施した。その結果、2回接種により高い抗体価が維持されること、本ワクチンを接種しても有害事象が見られなかった。従って、本課題の目的は、*Prototheca* 粗抗原ワクチンを同一飼育環境下の *Prototheca* 乳房炎感染牛へ投与し、抗体価の上昇、乳中 *Prototheca* 数の減少、炎症の軽減を指標に有効性を評価することを目的とした。

## ■ 方法

同一飼育下の *Prototheca* 乳房炎牛をそれぞれ不活化 *Prototheca* 投与群(試験群 n=30)および対照群(n=30)の2群に分け、初回接種前および接種後30日間隔で身体一般検査、採血および採乳を行い、ワクチンの有効性および有害事象の有無を確認した。なお、北海道東農業共済組合(道東 NOSAI) 標茶診療所の臨床獣医師および *Prototheca* 乳房炎が多発している試験実施農場(北海道川上郡標茶町阿歴内「M 牧場」)の農場主と治験について調整および了承済みである。試作 *Prototheca* ワクチンは「*P. zopfii* SAG2021T 株を 0.05%ホルムアミド加 PBS に懸濁不活化し、遠心洗浄後、 $1.0 \times 10^8$  cells/mL に調整した菌体液」とし、陽性対象薬として「0.05%ホルムアミド加 PBS の溶解液」を用いた。試験または対照薬を左頸部に 1mL 皮下投与し、初回接種後約 30 日目に同量の不活化 *Prototheca* を右頸部に皮下接種する。動物試験は、酪農学園大学および道東 NOSAI の臨床獣医師が担当し、血清中 *Prototheca* 抗体価(ELISA)、および *Prototheca zopfii* の分離培養は日本大学において実施した(担当：加納)。ワクチン接種は 2016 年 6 月(初回)および 7 月(追加)に実施した。

## ■ 結果および考察

不活化抗原投与での、投与濃度は  $1.0 \times 10^8$  cells/mL を適量とし、2回以上の投与でカットオフ値を上回る抗体価の上昇および維持を確認した。以上の結果から、不活化 *Prototheca* ワクチンの接種は血清中抗 *Prototheca* 抗体を有意に増加させるため本症の新しい治療法として有望と考える。しかし、臨床試験では、ワクチン接種後 4ヶ月間までの観察期間において感染乳房からの *Prototheca* 排菌が持続したこと、また有効と考えられた 43.4EU のカットオフ値を越えた個体が 7 頭中 1 頭であったことから不活化ワクチンに問題があったと考えた。本課題では、臨床試験において満足のいく抗体価の上昇が得られなかったことから、今後は同様に不活化ワクチンを作成したのち免疫原性を高めるために、ワクチン液と等量の Freund's Incomplete adjuvant, IFA(パラフィンとアラセルの混合物)を混合したものを作成して難治性 *Prototheca* 乳房炎の治療戦略の検証を継続する予定である。

## ■ 結語

現行のワクチンでは効果並びに抗体価の上昇が期待できなかった。よって、不活化ワクチンを作成したのち免疫原性を高めるために、ワクチン液と等量の Freund's Incomplete adjuvant, IFA(パラフィンとアラセルの混合物)を混合し、牛へ皮下投与を行い、不活化ワクチンによる難治性 *Prototheca* 乳房炎の治療戦略の検証を継続する。