牛白血病ウイルス感染牛の末梢血プロウイルス量を減少させる DNA ワクチンの開発

岩手大学農学部共同獣医学科·准教授 彦野 弘一

■ 目的

わが国において牛白血病ウイルス (Bovine Leukemia Virus: BLV) の感染による牛白血病の発生が急増し、経済的被害が顕在化している。しかし、BLV の感染を阻止できるワクチンは、長年の研究にもかかわらず、未だ開発されていない。

近年、私たちは、BLV のプロウイルスを定量するリアルタイム PCR 系を開発し、BLV 感染牛から非感染牛へのウイルス伝播リスクが、感染牛の末梢血に含まれるプロウイルス量と密接に関連していることを明らかにした(未発表)。この知見は、何らかの手法を用いて BLV 感染牛の末梢血に含まれるプロウイルス量を減らすことができれば、BLV 感染牛から非感染牛へのウイルス伝播リスクを低減できることを示唆している。

本研究においては、牛白血病ウイルス感染牛の末梢血におけるプロウイルス量を減少させる DNA ワクチンの開発をめざし、BLV 由来抗原を発現する DNA ワクチンを作製するとともに、DNA ワクチンによって誘導される BLV 特異的細胞性免疫応答の評価系を検討した。

■ 方法

【DNA ワクチン】

BLV 由来抗原である Tax タンパク質をコードする cDNA を哺乳類細胞用発現プラスミド pUMVC4a にクローニングした。プラスミドを COS7 細胞にトランスフェクトし、Tax タンパク質に対するウサギ抗血清を用いてウエスタンブロット解析した。

【細胞性免疫応答】

BLV 感染牛の末梢血から単核細胞を単離し、試験管内で遺伝子組換え Tax タンパク質と共に培養し、上清に含まれるインターフェロンガンマ(IFN-γ)を ELISA にて定量した。

■ 結果および考察

【DNA ワクチンの作製】

複数の BLV 感染牛から Tax タンパク質をコードする cDNA をクローニングしたところ、アミノ酸の変異を伴うふたつの対立遺伝子が見つかった。ひとつはアミノ酸番号 233 がロイシン(L)、もうひとつはプロリン(P)をコードしていた。これら L233-Tax または P233-Tax をコードする cDNA を含む pUMVC4a プラスミドを構築し、培養細胞における Tax タンパク質の発現を比較したところ、L233-Tax の発現量の方が多いことが示された。このことから、L233-Tax をコードする cDNA を含む pUMVC4a プラスミドの免疫誘導能は、P233-Tax をコードする cDNA を含む pUMVC4a プラスミドよりも強い可能性が示唆された。現在、これらの DNA ワクチンをマウスに接種し、白血球からの IFN-ソの産生を指標にして、細胞性免疫応答を誘導する能力を比較しているところである。

【細胞性免疫応答の評価系の開発】

BLV 感染牛の末梢血単核細胞を遺伝子組換え Tax タンパク質と共に培養し、上清に含まれる IFN- γ を ELISA にて定量したところ、Tax タンパク質に反応して産生される IFN- γ を検出した。この実験系を用いて IFN- γ 量を比較することにより、DNA ワクチンにより誘導される BLV 特異的細胞性免疫応答の強弱を、容易に評価することができると考えられる。

■ 結 語

今後は、本研究において作製した DNA ワクチンを BLV 感染子牛に接種し、BLV 特異的細胞性免疫 応答を評価するとともに、末梢血に含まれるプロウイルスを減少させることができるか否かを検討する予定である。このような研究は、未だ BLV に感染していないウシではなく、既に BLV に感染しているウシに対してワクチンを適用することにより、BLV 感染牛から非感染牛へのウイルス伝播リスクを抑えるという、新しい牛白血病の制御手法の開発につながることが期待できる。