

ウシ生体内におけるウシ白血病ウイルス感染初期応答の解析

(国研) 農業・食品産業技術総合研究機構動物衛生研究部門動物感染症研究領域・研究員 西森 朝美

■ 目的

ウシ白血病ウイルス(BLV)は現在国内で広く蔓延しているレトロウイルスであり、ウシのB細胞に感染してプロウイルスとして宿主のゲノム内に組み込まれる。BLVは感染後、複雑なウイルス動態を示し、感染初期にはBLV感染B細胞が盛んにウイルスゲノムRNAを合成してウイルス粒子を放出する一方、慢性期になるとウイルス由来RNAや蛋白質をほとんど発現しない潜伏状態になると想定されている。しかし、令和2年度に本研究助成で実施した感染実験において、BLV実験感染牛を作出したにも関わらず、感染初期にウイルスゲノムRNAをほとんど検出できなかった。この現象は、BLVの初期のウイルス動態に自然免疫・細胞性免疫などの宿主免疫応答が深く関与することを示唆しているかもしれない。そこで、BLV実験感染牛(昨年度実施済み)の血液由来材料を用いて宿主免疫応答の詳細な解析を行い、BLVの感染動態をさらに詳しく理解することを本研究の目的とする。

■ 方法

BLV実験感染牛(令和2年度実施済み)から経時的に採取した血清、末梢白血球由来RNA、凍結保存された末梢血単核球(PBMC)を実験に用いた。白血球由来RNAから、インターフェロン刺激遺伝子である*ISG-15*、*MXI*、*OAS-1*、*PKR*のmRNA発現量をリアルタイムPCR法により測定した。血清中に含まれるサイトカイン量の評価として、I型インターフェロン(IFN- α)、II型インターフェロン(IFN- γ)および腫瘍壊死因子(TNF- α)の産生量をELISA法により測定した。凍結保存PBMCは、細胞増殖能の評価のため蛍光物質で染色した後、ConAおよびBLV抗原で刺激して6日間培養を行った。培養終了後、上清中のIFN- γ 産生量をELISA法により測定するとともに、培養後のPBMCについては、フローサイトメトリー法を用いてCD3陽性T細胞の割合、および各刺激条件下における細胞増殖能を評価した。

■ 結果および考察

末梢白血球において、インターフェロン刺激遺伝子の発現動態を解析すると、3頭中1頭のみであるが接種後7日目以降に*MXI*および*OAS-1*発現量の有意な上昇が認められた。血清中サイトカイン量の評価では、前述の個体と一致して1頭でIFN- γ 産生が一過性に増加していた。凍結保存PBMCの刺激培養試験では、BLV抗原刺激に対する応答は個体ごとのばらつきが大きく、IFN- γ 産生量および細胞増殖能ともに特定の傾向は認められなかった。一方、刺激物質を添加しない無刺激条件下の定常状態では、接種後3日目においてIFN- γ 産生量の増加が認められ、このときPBMC中のCD3陽性T細胞の存在比も接種前と比較して上昇していた。これらの結果から、接種後ごく早期にBLV抗原に依存しないIFN経路の誘導があったことが示唆された。しかしながら、本研究期間内ではBLV非特異的な免疫応答を誘発した直接的原因を特定することはできなかったため、今後は試験牛の免疫学的背景、接種材料の特性、T細胞以外の免疫担当細胞の応答などの解析を進めたいと考えている。

■ 結語

令和2年度に実施したBLV感染実験において、感染後早期にBLV抗原に依存しないIFN経路の誘導があり、これが感染初期の牛におけるウイルス複製の抑制に関わった可能性が示唆された。