

総説

マンヘミア・ヘモリチカに関する最近の知見 および 海外における牛ワクチネーション

田中伸一 岩隈昭裕

ファイザー株式会社 アニマルヘルス事業部
(〒151-8589 東京都渋谷区代々木3丁目22番7号)I. マンヘミア・ヘモリチカ (*Mannheimia haemolytica* : Mh) に関する最近の知見

[はじめに]

牛の呼吸器病症候群(BRDC: Bovine Respiratory Disease Complex) は、ウイルスおよび細菌等の病原微生物と、生理的及び環境的ストレス等が複雑に絡み合って発生し、一般に牛の産業界で最も経済的損失の大きな疾病として知られている。Cravens (2004) によると、BRDCは輸送などによる牛へのストレス感作が気道における免疫力を低下させ、IBR、RS、PI3、BVD、Ad7などの呼吸器系ウイルス感染症を引き起こすことが最初のステップだと言われている [3]。その後、鼻腔内に存在していたMhが肺に移行、増殖することにより、ロイコトキシン (LKT) が産生され、集簇してきた好中球を破壊し、肺炎病巣を形成する。さらに、*Pasteurella multocida* (Pm)、*Histophilus somni* (Hs)、*Arcanobacterium pyogenes* (Ap) などの二次的、三次的細菌感染により、最終的に複雑な混合感染による重度の肺炎が成立すると言われている。また、その形成過程において、マイコプラズマも大きく影響していると述べている (図1) [3]。また、BRDCにおける致死要因から見た場合、斃死牛の肺病変より高率にMhが分離されるため (図2)、その関与の高さが注目されている。子牛の輸送後に見られる輸送熱 (shipping fever)、あるいは子牛の線維索性肺炎としてのマンヘミア性肺炎 (旧名 パスツレラ性肺炎) はBRDCの中でも特に最近、重要視されつつあり、本稿では、マン

ヘミア性肺炎およびMhより産生される外毒素LKTを中心としたBRDCとその対策について述べる。



図1. 牛呼吸器病症候群 (BRDC)

(Ronald L. Cravens, 2004)

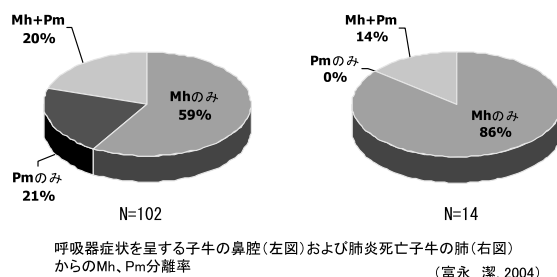


図2. ヘモリチカ (Mh) とマルトシダ (Pm) — 国内における子牛からの分離率 —

【マンヘミア性肺炎】

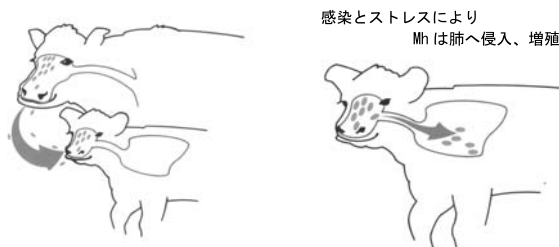
1. 原因菌

マンヘミア性肺炎の原因菌は主にMh血清型1型 (旧名 *Pasteurella haemolytica* A1型) であり、非病原性の血清型2型とは区別され、通例、呼吸器病発症牛の約50~60%で検出される。米国では、血清型6型も病原性菌として約25%の割合で分離されているが、近年、日本でも分離されるようになり、その分離率は上昇傾向にあり [6]、今後の動向が気になるところである。BRDCの原因となる病原体は本菌だけでなく、様々なウイルスおよび細菌が関与し

ており、その発生機序は複雑であるが、一般的に、呼吸器病関連ウイルス（IBR、RS、BVD、PI3、AD7等）、あるいはマイコプラズマの感染を引き金に始まると言われている。Mhはストレスのない健康状態では、牛の鼻腔内、あるいは扁桃に常在的に存在し、ストレスの感作およびウイルスやマイコプラズマの感染によって気道の抗病性が低下すると、鼻腔内で病原性Mhが急速に増殖すると言われている。その後、Mhは吸気によって肺に移動し、保有する英膜により容易に肺胞内に定着し、盛んに増殖してコロニーを形成する。

コロニー形成および急激な増殖と同時に、菌体外毒素LKTを産生するようになり、産生されたLKTは肺組織内の白血球（特に、好中球）の細胞膜表面に付着する。LKT付着により、白血球は形態変化を生じ、最終的には溶解するが、その際放出される酵素や化学物質（後述）により、肺組織に炎症を引き起こすと言われている（図3-1、2、3）。

Mhは生後まもなく母牛より子牛へ伝播され、上部気道において通常細菌叢の一部として存在



Mhは水平感染によっても同居牛へ伝播

図 3-1. マンヘミア性肺炎 感染様式 (Cravens, 2004)

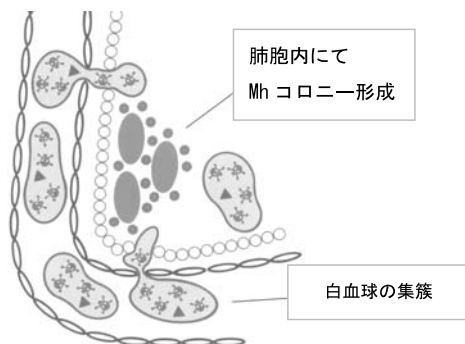


図 3-2. マンヘミア性肺炎 感染様式 (Cravens, 2004)

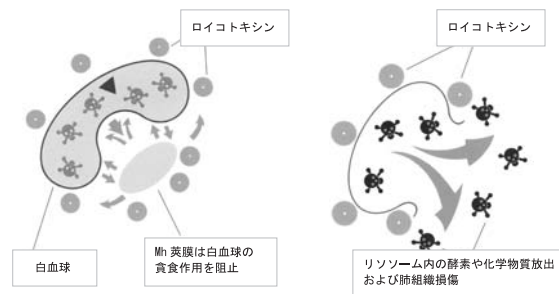


図 3-3. マンヘミア性肺炎 感染様式 (Cravens, 2004)

2. マンヘミア性肺炎とLKT

マンヘミア性肺炎は、病理学的に線維索性肺炎、線維索性化膿性肺炎、あるいは胸膜肺炎を呈し、特に、肺病変部における組織の壊死と好中球の集簇を特徴としている。よって、Mhにより壊死した組織は回復困難であり、いわゆる抗菌剤による治療は後手に回ることになる。マンヘミア性肺炎の病変形成過程は、様々な研究者によって研究されており、Mhより産生されるLKTが大きな役割をなすことが解っている。LKTはグラム陰性菌より産生される外毒素の一種で、遺伝学上、大腸菌の溶血毒素ヘモリシンに近いと言われており、Mhばかりでなく、*Actinobacillus actinomycetemcomitans*、*Fusobacterium necrophorum*などよりも産生される [10]。

LKTは特異的な性格を有しており、その特性は下記の通りである [4, 5, 10]。

- ・ LKTは多形核白血球（好中球）の細胞膜表面に付着する傾向がある。
- ・ 好中球の細胞膜に付着したLKTは好中球細胞質内の Ca^{2+} チャネルを刺激し、結果として、好中球の細胞膜リン脂質よりロイコトリエンB4の産生を促す。
- ・ 産生されたロイコトリエンB4は、Mhコロニー周囲への好中球の集簇を促す。
- ・ 集簇した好中球にLKTがさらに付着し、好中球の集簇が加速される。
- ・ 集簇した好中球は、LKTの作用により、細

胞膜に変化が生じ、小孔（約100nm）が形成され、最終的には溶解し、リソソーム内の加水分解酵素や化学物質（ H_2O_2 、活性酸素等）が肺組織内に放出される。

- ・好中球より放出された酵素や化学物質は肺組織に損傷を与え、線維索性肺炎形成を促す。

LKTの好中球に対する影響は、LKTの濃度に比例しており、濃度の変化と共に好中球の細胞骨格変性、脱顆粒、核濃縮、核溶解、核崩壊、アポトーシス、細胞膜小孔形成等の様々な形態的变化が認められる。また、LKTの好中球に対する作用は副腎皮質刺激ホルモンの感作によっても影響を受けることが知られており [7]、ストレスがマンヘミア性肺炎において重要な要素であることも推察される。

このように好中球の溶解によって、損傷を受けた肺組織にPm、Hs、Ap等の二次的、三次的細菌感染が加わると、さらに病勢が進行し、治療はさらに困難を極めるのである。

3. LKTとIBRの相乗作用

ここで生じる疑問は、「なぜ、LKTが好中球の細胞膜表面に付着する傾向があるのか？」である。この課題については、ウィスコンシン州立大学のLeiteら（2005）によるLKTとIBRの間の相乗作用に関する報告より推察が可能となる [8]。すなわち、IBRの病因ウイルスである牛ヘルペスウイルス1（BHV-1）が末梢血液中の単核球へ感染すると、BHV-1 感染単球より炎症性サイトカインであるIL-1 β 、TNF- α 、INF- γ が産生される。特に、IL-1 β が多形核白血球に感作すると、多形核白血球の細胞膜表面にLFA-1（lymphocyte function-associated antigen-1）である β_2 -integrin CD11a/CD18が産生され、このタンパク質がレセプターとなってLKTが容易に付着し、好中球に対する細

胞毒性が高まることが証明されている。このことから、なぜ、LKTが好中球細胞膜表面に好んで付着するのかという疑問に対する説明が可能となる。また、Naritaら（2000）の報告では、BHV-1あるいはMhをそれぞれ単独感染させた場合よりも、BHV-1を感染させ、4日後にMhを感染させた場合、牛の気管支肺泡洗浄液中のエンドトキシン量が単独感染と比較し、10～1530倍に著しく増加しており、BRDCにおけるMhとIBRの相乗作用も無視できない要素となっている [11]。

4. 日本におけるMhの認識

BRDCにおけるMhに対する認識は、海外、特に、肉牛の多頭飼育が盛んな米国では10年以上も前より高く、現在でもBRDC発生の重要な病原体として注目を浴びている。しかしながら、日本では本病原体が問題にされてきたのは最近のことである。それでは、今までなぜ、Mhが問題視されてこなかったのか、要因を推察してみると、次の事項が揚げられる。

- ・ウイルス感染症、PmやHs感染症に対する関心の方が高かった。
- ・今までは、農場におけるMh罹患率が低かった。
- ・健康状態では、Mhが鼻腔奥深くに存在し、且つ菌量も少ないため、菌分離が困難であった。
- ・Mhが鼻腔内増殖しても、吸気により速やかに肺へ吸引され、菌分離タイミングを逸していた。
- ・鼻腔からのサンプリングには綿棒を用いるが、鼻腔入口周囲に存在するPm等その他細菌も同時に採取し、純粋な分離が困難であった。
- ・MhとPmを同じ培地で培養した場合、Pmの方が速く、明瞭なコロニーを形成する

が、Mhはコロニーも不明瞭で、慣れていないと判定が困難であった。

このような背景により、日本では今まで注目度が低かったと推測されるMhであるが、肉牛、乳牛の多頭飼育化と共に、米国同様、BRDCにおける大きな問題因子としてMhは無視できない存在となってきた。

【BRDC対策とワクチン】

BRDC対策には、①ストレスの軽減、②ウイルス疾病の予防（ワクチン投与）、③ワクチンによるMhの増殖抑制およびLKT中和、④二次的、三次的細菌感染の防除が重要となり、特に、ワクチンによってLKTを中和し、肺組織損傷を最小限に留めることは、Mh病変の特徴でもある壊死性病変ゆえの治療の困難さや、その後の生産性への影響を考慮すると、二次的、三次的細菌感染被害を最小にし、治療回数を削減する上でも有効な方法である。

1. ワクチン

2004年に発売開始されたMh（1型）感染症不活化単体ワクチンは、LKTをトキソイド化したロイコトキソイドおよび莢膜抗原を主要抗原とする日本で初めてのMhバクテリン トキソイドワクチンであり、1回の投与で少なくとも4ヶ月間有効性が確保でき、含まれている2種類の抗原（ロイコトキソイド、莢膜多糖体抗原）により、Mhの肺における増殖抑制およびLKTの中和が可能となるため、BRDC対策の画期的な武器として期待に込められている。

2. 牛Mhワクチンの課題

米国におけるMh血清型別分離状況は、血清型1型が約60%、血清型6型が約25%、その他の血清型が約15%を占めているが（図4）、近年、日本でも野外において血清型6型が分離されて

きており、近い将来は米国と同様な分離比率になることも予測される。ところで、現在市販されている牛Mhワクチンに含有されている抗原（ロイコトキソイドおよび莢膜多糖体抗原）は血清型1型由来のものであるため、今後、血清型6型が増加した場合、その効果はどうなるのかという疑問は容易に生じる。含有されている莢膜多糖体抗原については、血清型により構造が異なるため、その効果は期待できないが、ロイコトキソイドについては、血清型に関係なく、LKTを中和することが事実上可能であり、米国においても、血清型6型しか分離できなかった症例において、Mh（1型）感染症不活化ワクチンの有効性が認められている。

一方、最近、オクラホマ州立大学のConferら（2005）はMhの外膜リポタンパク（PlpE）に強い免疫原性が存在することに注目しており、特に、血清型1型のPlpEの単独投与によって、病原性血清型6型のMh人工感染に対し、高い防御能を確認している [2]。

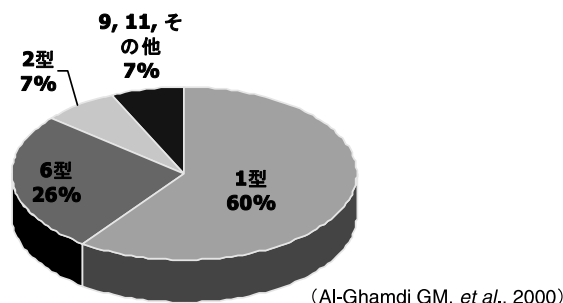


図4. 米国中西部における Mh 血清型別分離率

II. 海外における牛ワクチネーション

【牛の群管理（Herd Health Management）とワクチネーション】

海外、特に米国では、数十年前よりフィードロットの大規模化に伴うBRDCのような複雑な呼吸器疾病の蔓延に対応して、従来、養鶏を管理するために用いられていた群管理（Herd Health Management）を牛へ積極的に応用し

てきたと同時に、研究者による群管理に対する検討が盛んに行われてきた。数千、数万頭という多頭飼育においては、群管理なくして到底対応できるものではない。

「Mhに関する最近の知見」の冒頭において、BRDCにおけるMhの重要性を述べたが、Cravensは、BRDCが本来、複雑な要因により引き起こされ、大別すると下記の3要素から構成されることも述べている（図5）。

- ・動物個体による要因（年齢、栄養状態、免疫状態など）
- ・環境による要因（飼育施設、飼育密度、衛生、温度、湿度、換気など）
- ・病原体による要因（ウイルス、細菌、寄生虫など）

多頭飼育におけるBRDC対策では、これら3要素および群管理を念頭において対応することが大切であり、特に、病原体対策では治療から予防に移すことが重要となる。すなわち、今まで抗菌剤中心に行っていた治療的対応策からワクチンを中心とする予防的対応策に移行するということにある。この様な背景は、牛向けワクチンの開発に拍車をかけ、現在では多種多様のワクチンが多くのメーカーより販売されている。



図5. 牛呼吸器病症候群(BRDC)発生要因 (Cravens, 2005)

米国においては、弊社だけでも、呼吸器病関連12種、消化器病関連7種、繁殖障害関連4種、合計23種のワクチンが下記の通り、牛向けに販売されている。さらに、ヨーロッパにおいては下記以外にも特徴的なワクチン（マーカー、コンビネーション）が流通している。

呼吸器病4種生ワクチン（生BVD I・II、生IBR、生PI3、生RS）

呼吸器病4種生/レプトスピラ（5血清型）ワクチン

呼吸器病4種生/レプトスピラ（5血清型）/キャンピロバクター（*C.fetus*）ワクチン

呼吸器病4種生/Hsワクチン

呼吸器病2種生経鼻ワクチン（IBR、PI3）

呼吸器病4種ワクチン（不活化BVD I・II、生IBR、生PI3、生RS）

呼吸器病4種/レプトスピラ（5血清型）ワクチン

呼吸器病4種/レプトスピラ（5血清型）/キャンピロバクター（*C.fetus*）ワクチン

BVD I・II不活化ワクチン

Mh不活化ワクチン

Mh不活化/クロストリジウム（6血清型）ワクチン

Mh不活化/クロストリジウム（7血清型）ワクチン

クロストリジウム不活化ワクチン（6血清型）

クロストリジウム不活化ワクチン（7血清型）

クロストリジウム不活化ワクチン（2血清型）

クロストリジウム不活化（6血清型）/Hsワクチン

ロタウイルス生/コロナウイルス生ワクチン

大腸菌K99不活化/ロタウイルス生/コロナウイルス生ワクチン

大腸菌K99不活化/ロタウイルス生/コロナウイルス生/クロストリジウム（1血清型）ワクチン

レプトスピラ不活化ワクチン（5血清型）

レプトスピラ不活化ワクチン（*L.hardjo*
bovis）

レプトスピラ不活化ワクチン（5血清型）

/キャンピロバクター（*C.fetus*）ワクチン

キャンピロバクター不活化ワクチン（*C.fetus*）

多くのワクチンが流通する中で、BRDC対策においては要因が複雑であるため、一定のワクチンプログラムは存在せず、農場毎に原因や好発ステージ等を分析した後に、牛群の状態に合わせ、ワクチンプログラムを設定することとなる。

【哺乳期におけるワクチネーション】

従来、哺乳期のワクチネーションは、移行抗体による干渉作用が予測されるため、投与しても効果が低いとされていた。したがって、若齢子牛へのワクチネーションは、移行抗体が全般的に消失したと推測される3ヶ月齢以降に行うことが常識とされてきた。しかしながら、このことは、液性免疫の面からは正しいと言えるかもしれないが、細胞性免疫の側から見た場合、何も裏づけされておらず、実際の臨床面で本当に移行抗体が存在する中でワクチン投与を行った場合、すべてのワクチンが有効性を消失するということが証明されているわけでもない。

最近、海外では初乳中に含まれるTリンパ球の働きについて注目している。ミネソタ州立大学のBandricら（2008）は、豚の初乳中に約200万個/mLのリンパ球（主に、Tリンパ球）が存在し、これらのリンパ球が初乳中のIgGと同様に、腸管のパイノサイトーシス（飲作用）を介して、子豚の循環血液中に移行、活性化することを遅延型過敏反応（DTH）を用いて証明している[1]。同時に、彼らは初乳中のIgG同様に、生後12時間以降になるとこれらリンパ球に対する飲作用が低下することも確認してい

る。また、初乳中のIgGの場合には、親が異なっても、異なる種（例えば牛）のものであっても、生後12時間以内であれば、効率よく子豚の腸管より移行するが、初乳中のリンパ球の場合、生みの母親のリンパ球でないと移行されないことも明らかにしている。さらに、循環血液中に移行したリンパ球は、早い段階で抗原刺激を賦与することにより、その活性がさらに持続するだろうことも推察している。このことは、豚の初乳において確認されているだけで、牛でまだ証明されているわけではないが、牛においても同様の生理活性が推測されると同時に、現在、欧州中心に盛んに試みられている豚マイコプラズマワクチンの哺乳期子豚早期投与のように、哺乳期子牛においても、ワクチンの種類によっては、移行抗体存在下における早期ワクチン投与が有効な可能性を示唆していると思われる[9]。

【呼吸器病粘膜ワクチン】

ワクチンの薬理作用において、細胞性免疫の働きが注目される中、米国では牛向けに呼吸器病粘膜ワクチンが臨床現場で活用されている。

この呼吸器病粘膜ワクチンは、IBRウイルスおよびPI3ウイルスを含有する生ワクチンで、経鼻投与により、上部気道粘膜局所のインターフェロン産生を高め、局所および全身の抗体産生を誘導することがわかっている。

（特徴）

- ・経鼻投与であるため、ストレスが少ない。
- ・投与後24時間で、気道局所粘膜におけるインターフェロン産生を促し、有効性を発揮する。
- ・ワクチン含有ウイルスは温度感受性であり、通常体温以上になると増殖が抑制される。
- ・上部気道では急速に増殖し、免疫応答を引き起こすが、下部気道においては増殖が抑制される。
- ・胎児への影響もないため、母牛への投与が可

能である。

一般的に、通常のワクチンでは投与して十分な有効性が誘導されるまでに、早くても2週間にかかるため、導入牛の場合、ワクチン投与効果が発揮される前に呼吸器病が発生し、実用的でないことが多い。しかしながら、本呼吸器病粘膜ワクチンは、導入した牛や初生牛への早期免疫応答賦与が可能で、ワクチン投与後1～3日には有効性が期待できるため、実用的である。日本では、まだこの様なタイプのワクチンは市販されていないが、近い将来、流通されるようになれば、既存のワクチンとの併用により、幅広いワクチネーションプログラムの組み立てが可能になるであろう。

【おわりに】

日本における牛の管理は、養鶏や養豚と異なり、その飼育規模から、個々の個体を管理、診療する個体管理が基本であった。ところが、最近では、多頭化に伴い、個体管理では対応できなくなり、特に、疾病面ではストレスによる群単位のBRDC発生により、従来の個体診療だけの対応では、診療の有効性、経済性の面から限界にきている場面も多い。米国では数十年前より、フィードロットに対応して、養鶏や養豚の飼育管理で用いられている群管理（Herd Health Management）の牛への研究が進んできた。BRDCの重要な要素であるマンヘミア性肺炎に対する研究が盛んなのもこのような背景によるものであり、日本でも抗菌剤による個体診療中心だけではなく、飼育管理やワクチンによる予防を主体とする群管理（Herd Health Management）へ早期に移行する必要がある。

【引用文献】

1. Bandrick, M., Pieters, M., Pijoan, C. and Molitor, T. W. 2008. Passive Transfer of

Maternal *Mycoplasma hyopneumoniae*-specific Cellular Immunity to Piglets. *Clinical and Vaccine Immunology* 15 (3) : 540-543.

2. Confer, A. W., Ayalew, S., Panciera, R. J., Montelongo, M. and Wray, J. H. 2005. Recombinant *Mannheimia haemolytica* serotype 1 outer membrane protein PlpE enhances commercial *M. haemolytica* vaccine-induced resistance against serotype 6 challenge. *Vaccine* Article in Press (Uncorrected Proof).
3. Cravens, R. L. 2004. アメリカにおける呼吸器病症候群の現状と対策. *臨床獣医*. 22 (6): 15-19.
4. Cudd, L., Clarke, C. and Clinkenbeard, K. 2003. Contribution of intracellular calcium stores to an increase in cytosolic calcium concentration induced by *Mannheimia haemolytica* leukotoxin. *FEMS Microbiology Letters* 225: 23-27.
5. Cudd, L., Clarke, C. and Clinkenbeard, K. 2003. *Mannheimia haemolytica* leukotoxin-induced increase in leukotriene B4 production by bovine neutrophils is mediated by a sustained and excessive increase in intracellular calcium concentration. *FEMS Microbiology Letters* 224: 85-90.
6. 勝田 賢, 河本麻理子, 川島健司. 2006. 牛呼吸器病病原菌 *Mannheimia haemolytica* の血清型動向. *動物衛生研究成果情報* 6: 23-24.
7. Krabbel, B. J. and Miller, M. W. 1997. Effect of simulated stress on susceptibility of bighorn sheep neutrophils to *Pasteurella haemolytica* leukotoxin. *J. Wild. Dis.* 33: 558-566.

8. Leite, F., Atapattu, D., Kuckleburg, C., Schultz, R. and Czuprynsk, C. J. 2005. Incubation of bovine PMNs with conditioned medium from BHV-1 infected peripheral blood mononuclear cells increases their susceptibility to Mannheimia haemolytica leukotoxin. Vet. Immunol. Immunopathol. 103:187-193.
9. Martelli, P., Terreni, M., Guazzett, S. and Cavirani, S. 2006. Antibody Response to Mycoplasma hyopneumoniae Infection in Vaccinated Pigs with or without Maternal Antibodies induced by Sow vaccination. J. Vet. Med. B. 53: 229-223.
10. Narayanan, S. K., Nagaraja, T. G., Chengappa, M. M. and Stewart, G. C. 2002. Leukotoxins of gram-negative bacteria. Veterinary Microbiology 84: 337-356.
11. Narita, M., Kimura, K., Tanimura, N., Arai, S., Tsuboi, T. and Katsuda, K.. 2000. Immunohistochemical Characterization of Calf Pneumonia Produced by the Combined Endobronchial Administration of Bovine Herpesvirus 1 and Pasteurella haemolytica. J. Comp. Pathol. 123: 126-134.

Current findings on Mannheimia haemolytica infection and some topics on vaccination in cattle in overseas.

Shinichi Tanaka and Akihiro Iwakuma

Pfizer Animal Health Japan

(3-22-7 Yoyogi, Shibuya-Ku, Tokyo, 151-8589, Japan)