

総説

## 粘膜免疫、ワクチン等を活用した畜産現場における感染症予防の未来

長澤裕哉

国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構  
動物衛生研究部門 衛生管理研究領域 病理・生産病グループ  
〒062-0045 札幌市豊平区羊ヶ丘4  
電話番号：011-851-2175  
Fax 番号：011-851-0767  
E-mail：ynagasawa@affrc.go.jp

### 【要約】

これまで、家畜に対する急性感染症において多くのワクチンが開発されてきたが、慢性かつ難治性の感染症に対するワクチンの開発が望まれている。特に家畜の疾病として大きな割合を占める粘膜感染症は慢性かつ難治性であり、それらの制御は酪農経営および獣医療において重要な課題である。そのため、粘膜感染症に対応するため動物分野においても、経鼻腔や経口の粘膜投与による粘膜免疫誘導型ワクチンや遺伝子組換え技術を用いたワクチンの研究開発が活発に行われている。こうした背景の中で、著者は、酪農産業に対して甚大な経済的被害をもたらす粘膜感染症の牛乳房炎に対するワクチン開発の研究を行ってきた。本稿では、著者が取り組んでいる鼻腔投与型および遺伝子組換え型の牛乳房炎に対する新たな乳房炎ワクチン開発を中心に紹介し、粘膜免疫、ワクチン等を活用した畜産現場における感染症予防の未来について考察する。

**キーワード：**粘膜免疫、乳房炎、生ワクチン、遺伝子組換え

### はじめに

ワクチン接種は、免疫の原理を応用した技術であり、ヒトや産業動物の感染防除に広く活用されている。家畜においては、牛疫や鶏のニューカッスル病など多くの急性感染症の予防にワクチンが効果を発揮している。一方で、家畜の生産病として大きな割合を占めているのは、粘膜組織の呼吸器病、消化器病、泌尿器病および生殖器病である。これら粘膜組織は常に外来性異物に暴露されているため多くの病原体の暴露を受けている。ヒトにおいてもこれらの粘膜面はCOVID-19やインフルエンザをはじめとした多

くの病原体の主要感染経路であることから、この粘膜における免疫機構が近年、注目を集めている。現在最も多く使われている筋肉注射あるいは皮下注射によるワクチン投与は、全身免疫系の原理に立脚しており、全身性の抗原特異的なIgG抗体産生が誘導可能である。一方で、IgG抗体は粘膜組織という病原体が侵入する部位での局所的な防御は十分でない。さらに、これからのワクチンは使用株の強毒復帰の危険性回避や野外感染と識別できることが望ましい。このため、経鼻腔や経口の粘膜投与による粘膜免疫誘導型ワクチンや遺伝子組換え技術を用いたワクチンの研究開発が動物分野においても活発に行われている。本稿では、著者が取り組んでいる牛乳房炎に対する新たな乳房炎ワクチン開発を中心に粘膜免疫、ワクチン等を活用した

受付：2023年4月11日  
受理：2023年4月11日

研究内容に関し紹介する。

### 粘膜免疫を利用した乳房炎ワクチン

牛の乳房炎は、病原微生物の乳房内感染によって引き起こされ、乳質ならびに泌乳量の低下により、酪農産業に対して甚大な経済的被害をもたらす疾病である。乳房炎の場合、病原微生物が生体に侵入して定着・増殖する場合は、生体外と生体内との接点となる粘膜面である。前述の IgG 抗体は粘膜上皮細胞を効率良く通過出来ないため、粘膜面において病原微生物に直接作用することは困難である。一方で、経粘膜で抗原を投与することにより産生される二量体 IgA 抗体は、上皮細胞の基底膜に存在するポリ Ig レセプターを介して管腔側に効率良く放出されるため、粘膜面において病原微生物に直接作用できる可能性が考えられる [1]。したがって、粘膜ワクチンによる IgA 抗体産生は、病原微生物感染の第一ステップである粘膜への定着を防止することに特に有効な防御作用になると予想される。

以上の背景より、著者らは乳房炎歴のない初産牛を用い黄色ブドウ球菌の死菌を鼻腔経由で投与し、その後、乳房内へ黄色ブドウ球菌の生菌を注入した感染牛で乳房炎防除効果を検証した。その結果、鼻腔投与ありの牛で黄色ブドウ球菌感染後に黄色ブドウ球菌特異的 IgA 抗体の速やかな上昇が乳汁中で確認された。さらに鼻腔投与ありの牛では、黄色ブドウ球菌を注入した分房の黄色ブドウ球菌の増加を抑制することも明らかとなった [5]。

これらの結果より、鼻腔からの免疫誘導により牛乳房炎に対する新たなワクチン開発の可能性が示された。しかしながら、黄色ブドウ球菌の乳房内感染の完全な防除ができるまでには至っていない。そのため、今後ワクチネーションプログラムの見直し、死菌以外のワクチン抗原の選定、鼻腔以外の粘膜感作部位（点眼や経肛門など）の検証などを行い、より優れたワクチン開発に向けて改良する必要がある。

### 遺伝子組換えワクチンの展望

ワクチンは投与方法の他にワクチン抗原の観点からみても、従来の不活化ワクチンや弱毒生ワクチン、ウイルスベクターワクチン、サブユ

ニットワクチンに加え、ウイルス様粒子ワクチンやナノ粒子ワクチン、DNA/RNA ワクチン、合理的なワクチン設計などの新しいワクチン技術の開発が進展している。弱毒生ワクチンは古くから用いられ、現在においても有力なワクチンのひとつである。その理由は、ほとんどの生ワクチンは、体液性と細胞性免疫の両方のより広い範囲の免疫反応を誘発することによって自然の感染を模倣するので、不活化ワクチンよりも高い免疫原性を示すからである。[6]しかし、生きた病原体を用いるため、生ワクチンの開発には弱毒化が不十分であれば、病原性が高く、安全性が損なわれる。一方、弱毒化しすぎれば、十分な免疫原性が得られない。このため、免疫原性と安全性のバランスがとれた生ワクチン株を得るのは、困難な課題である。

そのため著者らは、プラスミド導入のみによって条件的な病原体の弱毒化を行い、迅速、かつ免疫原性と安全性を保つ生ワクチン候補株を作出する方法を検証した。この方法は、農研機構生物機能利用研究部門の加藤らが開発した、病原体が生存するために自然界に存在していない非天然アミノ酸を要求する技術の応用である [3]。具体的には、毒素-抗毒素遺伝子をプラスミドにより病原体に導入し、非天然アミノ酸を与えなければ抗毒素はタンパク質に翻訳さず、病原体内で恒常的に発現する毒素によって死滅するように設計する [7]。対照的に、非天然アミノ酸が与えられれば、抗毒素が産生され毒素の作用は中和されるため、病原体は生存し増殖する。したがって、これらのプラスミドを導入するだけで、病原体は非天然アミノ酸の存在下のみで生存できる条件的弱毒化株に転換できる。これを生ワクチンとして用いるためには、生体外にて非天然アミノ酸存在下で病原体を培養した後、ヒトや動物に接種するのみで良い。接種された生体内では非天然アミノ酸の供給が遮断されるが、病原体内に蓄積した非天然アミノ酸により病原体はしばらく生存することができ、親株の病原体に近い免疫原性が期待できる。その後は経時的に死滅するので、病気を引き起こすことはない、という原理の新しいワクチン技術である。この方法は、病原性が恒常的に変化しない一般の弱毒株とは異なり、条件的に接種した菌を死滅させることにより、安全

性を担保する「自殺ワクチン」である [2, 4]。

この技術により大腸菌性乳房炎由来の大腸菌 (N61 株) から非天然アミノ酸である Z- リジンを要求する株 (N61 (Zk-do)) を作製し、マウスへ皮下投与を行った。その結果、野生型 N61 株を投与されたマウスは全頭死亡したのに対し、N61 (Zk-do) 株では、全頭のマウスが生存した。また N61 (Zk-do) 株を投与されたマウスは、ホルマリン不活化した N61 (Zk-do) 株より、有意に血清中の抗体価が高くなった。このことは、作製した N61 (Zk-do) 株は想定した条件的弱毒化を達成し、不活化ワクチンより高い免疫原性を持つことを示している。その後、免疫したマウスに対して野生型の N61 株を腹腔内投与した結果、ホルマリン不活化した N61 (Zk-do) 株で皮下投与したマウスの生存率は 40% だったのに対して、N61 (Zk-do) 株の生菌で皮下投与したマウスは 100% の生存率を示した。以上より、作製した Z- リジン要求型の大腸菌性乳房炎由来の大腸菌はワクチンとして高い防除効果を持つことが示唆された。

このように、遺伝子組換え技術によるワクチン技術の活用は、未開発のワクチンの実用化や現行ワクチン改良への応用といった新たな展開が期待される。一方で、家畜は最終的にヒトの口に入る食品になるため、消費者意識の観点から家畜への遺伝子組換え技術を応用したワクチンが日本国内で実用化された例は少ない。開発側は、出荷される時期や遺伝子組換え技術により作製されたワクチン抗原が食品となる肉や乳汁等に含まれないこと、環境へ排出されないこと等、認可までにはより一層の安全性確認が必要である。

### おわりに

本稿では、著者の研究内容である牛乳房炎を中心に新しいワクチン開発について紹介してきた。粘膜感染症である牛の乳房炎に対しては、粘膜免疫誘導型や遺伝子組換え型によるワクチンが有効な効果を発揮することが示唆されるため、実用化に向けて研究を推進していきたいと考えている。しかし、ワクチンは感染症の症状を完全に制御できる優れたものがある一方で、症状の緩和など疾病の一部を制御するに留まるものもあることを留意して使用する必要があ

る。特に家畜の場合、飼養衛生管理を遵守することが感染症の予防対策の基本であることに変わりはない、と著者は考えている。飼養衛生管理を適切に行った上で、ワクチンをそれぞれの感染症に対する有効なツールとして使用し、難治性・慢性の粘膜感染症を制御する形が将来の畜産現場の在り方として期待したい。

### 謝辞

この総説で紹介した知見の一部は、農林水産省委託プロジェクト研究「生産システム革新のための研究開発」(うち「優れたワクチン開発のための技術開発」、革新的技術開発・緊急展開事業(うち経営体強化プロジェクト)、国際競争力強化技術開発プロジェクト(課題番号: 輪4 畜1、課題名: 安全で高品質な牛乳の生産量を確保するための乳房炎ワクチンの開発)、JSPS 科研費(20H03158)の助成により遂行された。

### 引用文献

- [1] Borges, O., Lebre, F., Bento, D., Borchard, G and Junginger, H. E. 2010. Mucosal Vaccines: Recent Progress in Understanding the Natural Barriers. *Pharmaceutical Research*. 27: 211-223.
- [2] Dietrich, G., Bubert, A., Gentschev, I., Sokolovic, Z., Simm, A., Catic, A., Kaufmann, SH., Hess, J., Szalay, AA., Goebel, W. 1998. Delivery of antigen-encoding plasmid DNA into the cytosol of macrophages by attenuated suicide *Listeria monocytogenes*. *Nat Biotechnol* 16:181-185.
- [3] Kato, Y. 2015. An engineered bacterium auxotrophic for an unnatural amino acid: a novel biological containment system. *PeerJ* 3:e1247.
- [4] Kong, W., Wanda, S-Y., Zhang, X., Bollen, W., Tinge, SA., Roland, KL., Curtiss, III R. 2008. Regulated programmed lysis of recombinant *Salmonella* in host tissues to release protective antigens and confer biological containment. *PNAS* 105:9361-9366.
- [5] Nagasawa, Y., Kiku, Y., Sugawara, K., Hirose, A., Kai, C., Kitano, N., Takahashi, T., Nochi, T., Aso, H., Sawada, S., Akiyoshi, K., Hayashi, T. 2019. *Staphylococcus aureus*-specific IgA antibody in milk suppresses the multiplication of *S. aureus* in infected bovine udder. *BMC Veterinary Research*, 15: 286.
- [6] Rendi-Wagner, P., Kollaritsch, H. Chapter 9 - Principles of immunization. In: JS Keystone, PE Kozarsky, DO Freedman, HD Nothdurft, BA Connor

- eds. Travel Medicine. 2nd ed. Edinburgh: Mosby, 2008: 75-84.
- [7] Shuster, CF., Bertram, R. 2013. Toxin–antitoxin

systems are ubiquitous and versatile modulators of prokaryotic cell fate. FEMS Microbiology Letters. 340:73-85.

## The future of infectious disease prevention of livestock production by mucosal immunity, vaccines, etc.

Yuya Nagasawa

Pathology and Production Disease Group, Division of Hygiene Management,  
Hokkaido Research Station, National Institute of Animal Health,  
National Agriculture and Food Research Organization,  
4 Hitsujigaoka, Toyohira, Sapporo, Hokkaido 062-0045, Japan

Corresponding author

Yuya Nagasawa

Address: Hokkaido Research Station, National Institute of Animal Health,  
National Agriculture and Food Research Organization,  
4 Hitsujigaoka, Toyohira, Sapporo 062-0045, Japan

Phone number: +81-11-851-2175

Fax number: +81-11-853-0767

E-mail: ynagasawa@affrc.go.jp

### [Abstract]

Many vaccines have been developed for acute infectious diseases of livestock, but there is a need to develop vaccines for chronic and intractable infectious diseases. In particular, mucosal infections, which account for a large proportion of livestock diseases, are chronic and intractable, and their control is an important issue in dairy management and veterinary medicine. Therefore, research and development of vaccines that induce mucosal immunity through nasal or oral mucosal administration and vaccines using genetic engineering are actively conducted in the veterinary field to deal with mucosal infectious diseases. In this background, the author has been conducting research on vaccine development against bovine mastitis that is a mucosal infections that causes huge economic damage to the dairy industry. This manuscript focuses on the author's efforts to develop new nasal and genetic engineering mastitis vaccines and discusses the future of prevention of infectious diseases in the livestock industry using mucosal immunity and vaccines.

**Keywords:** Mucosal immunity, Bovine mastitis, Live vaccine, Genetic engineering