

総説

## 抗菌因子、腸内細菌等を活用した畜産現場における感染症予防の未来

鈴木直樹

広島大学大学院統合生命科学研究科  
〒739-8528 広島県東広島市鏡山1-4-4

### 【要約】

畜産において、感染症は生産物（食品）の安定供給と安全確保の双方に関わる重要な問題であるが、薬剤耐性問題の顕在化を背景に、抗菌薬に頼らない感染症制御が長らく求められてきた。抗菌タンパク質や抗菌ペプチドなどの抗微生物活性をもつ物質である抗菌因子は、抗菌薬の代替として注目されているが、本来これらは家畜自身が産生し、感染症から身を守るための自然免疫機構の一端を担っている。一方、病原体も自身の増殖戦略を巧みに利用し、感染症を成立させようとしている。畜産現場において抗菌因子による感染制御を達成するためには、病原体の病原性と宿主の免疫機能との相互作用の理解が必要である。本稿では、乳房炎を例に挙げながら、抗菌因子やその調節因子としての腸内細菌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える。

**キーワード：**抗菌因子、病原因子、乳房炎

### 【はじめに】

畜産は、動物を集約して飼養するという特徴から、感染症との闘いから逃れることは困難である。ウシ（酪農および肉牛生産）を例に考えると、子牛においては、生後1か月以内の死亡原因の多くは肺炎または腸炎であり、成牛においては、搾乳牛に発生する疾病で最も多いものは乳房炎である。言うまでもなく、これらの疾病の原因の多くは感染症である。家畜の飼養管理方法が高度化した現在においても、畜産現場では感染症との闘いが続いている。

この感染症をコントロールすること、すなわち感染制御を達成するには、複合的な視点が必要となる。すなわち、感染症は病原体と宿主との相互関係の上に成立する疾病であるため、それぞれの視点に立った知見と、双方を組み合わせた統合的な知見が必要となる。一般的に、病

原体側の因子は virulence factors (VFs: 病原因子)、宿主側の因子は免疫機能として捉えられるが、感染症ごとに双方の因子を構成する「登場人物」は異なる。したがって、病原体と宿主との関係を十把一絡げに議論することはできないが、本稿では、筆者が研究する乳房内感染症（乳房炎）を例に挙げながら、その中でも特に、抗菌因子がもつ役割とその感染制御への可能性を中心に、現場応用を見据えた考察を試みる。

### 【抗菌因子】

抗菌因子は、抗菌タンパク質や抗菌ペプチドなどの抗微生物活性をもつ物質の総称である [8]。これらの多くは直接病原体に作用して殺菌的作用を有するものが多く、この作用による感染防御機構は自然免疫系の一部である [13]。上皮などによる物理的な防御能を第1防衛線として捉えたとき、抗菌因子はその次に働く第2防衛線と言える [4]。乳房炎を考えると、乳頭により構成される物理的バリアを突破したあとに待ち受ける自然免疫機能が抗菌因子によるも

受付：2023年4月13日

受理：2023年4月13日

のであり、病原体が乳房内感染を成立させるには、この第2防衛線を突破しなければならない。抗菌因子に関する総説は、磯部と鈴木が家畜感染症学会誌第9巻2・3号合併号 [9] に詳述しているが、本稿にも一部の抗菌因子を例示し、概略を示す。

#### ・抗菌ペプチド

$\beta$ -defensin や cathelicidin などの抗菌ペプチド (antimicrobial peptides: AMPs) は、正味の正電荷を有しており、負に電荷している微生物細胞膜に結合し、細胞膜の構造を変化させることで殺菌的に働く [2, 13]。この作用機序から、AMPs の抗菌活性スペクトルは広く、細菌、真菌、エンベロープをもつウイルスおよび原虫にまで及ぶ [4]。AMPs は、当初 1990 年代にキロシヨウジョウバエにおける抗真菌活性をもつペプチドとして発見された [12]。この時発見されたキロシヨウジョウバエの defensin の 3次元構造は、ヒトの  $\beta$ -defensin と似ていることから、defensin による抗菌システムは両者で起源を同じくする良く保存された自然免疫機構であると考えられる [13]。反芻動物の乳中にも AMPs が含まれている。磯部は、ウシの  $\beta$ -defensin である lingual antimicrobial peptide (LAP) は乳腺上皮細胞から分泌されている一方、ヤギにおける研究では、cathelicidin-2 は好中球から、cathelicidin-7 は乳腺上皮細胞から乳中に分泌されることを報告している [8]。

#### ・S100 タンパク質

S100タンパク質はカルシウム結合タンパク質であり、なかでもS100A7やS100A8/S100A9複合体が抗菌活性を有している。反芻動物の乳房では、乳頭付近でS100タンパク質が高発現しており、微生物の侵入口となる乳頭においてその役割を担っていることから、乳房炎制御に重要な抗菌因子だと考えられる [18, 22]。一方で、*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans* に対するS100A7の抗菌活性を調べたところ、*E. coli* のみ抗菌活性を認めたと報告されている [15]。

#### ・Lactoferrin

Lactoferrin は強力な鉄結合能により環境中から鉄を奪う。細菌の増殖には鉄が必要であることから、この作用によって静菌的な抗菌活性を示す [6]。このほか、AMPs のように微生物の細胞膜に作用し、非解離性膜脱分極を起こすことで殺菌的に働く [13]。Lactoferrin は乳中に特に豊富に含まれており、乳中で重要な役割を担う抗菌因子であると考えられる。

#### 【抗菌因子と乳房炎の制御】

乳房炎を引き起こす病原体は多岐にわたる。病原体はミルカーなどの搾乳設備を介して伝染する伝染性の病原体 (*S. aureus*, *Streptococcus agalactiae* など) と環境性の病原体 (non-aureus Staphylococci, 腸内細菌科細菌などのグラム陰性菌、酵母様真菌など) に分けられる [16]。本稿では、なかでも *E. coli* や *Klebsiella pneumoniae* などの腸内細菌科細菌に焦点をあて、その病原性と抗菌因子による免疫機構に着目し、抗菌因子による乳房炎制御の可能性を考える。

大腸菌による感染症は、一般的にはターゲットの上皮細胞への接着から始まるため、線毛抗原やインチミンなどによる接着および定着因子が重要な VFs となる。加えて、上皮細胞への接着を強固にしたり、上皮細胞内に侵入したりするために用いられる分泌装置 (Ⅲ型分泌装置等) や、外毒素の産生性も VFs である。大腸菌は、保有する VFs により分類され、腸管病原性大腸菌 (EPEC)、腸管出血性大腸菌 (EHEC) などと称される [10]。一方、大腸菌は腸管外にも病原性を示すことがあり、それらを腸管外病原性大腸菌 (ExPEC) と呼称する。ExPEC には尿路病原性大腸菌 (UPEC)、新生児髄膜炎に関連する NMEC、敗血症関連大腸菌 (SEPEC) などヒトへの病原性を有するものの他に、鶏大腸菌症を引き起こす鶏病原性大腸菌 (APEC) などを含む。ExPEC 関連 VFs として、外毒素、接着因子、鉄獲得能、血清抵抗性など様々な病原性が議論されている [17]。近年、ウシ乳房炎を引き起こす大腸菌の病原性が着目され、mammary pathogenic *E. coli* (MPEC) や mastitis-associated *E. coli* (MAEC) などと称され、その存在が議論されている。

従来、*E. coli* を含む腸内細菌科細菌による乳房炎は、特定の VFs が寄与するものではなく、偶発的な乳房内侵入と乳中での増殖に起因するリポ多糖 (LPS) 依存性炎症と理解されてきた。したがって、これらによる乳房炎は、専ら宿主 (ウシ) の免疫機能の破綻に起因すると考えられてきた [5, 11]。一方で、近年、*E. coli* [1, 14] および *K. pneumoniae* [21] において、クエン酸鉄取り込み能と MPEC の関連を示唆する報告が相次いで発表された。クエン酸鉄取り込み能は *fec* 遺伝子によりコードされ、レギュレーターである *fecIR*、膜表面タンパク質である *fecA* およびその下流の輸送システムからなるオペロンを構成している (*fecIRABCDE*) [3, 7]。MPEC 規定因子にクエン酸鉄取り込み能が関与しているとするれば、それは乳中に豊富に存在する鉄結合タンパク質である lactoferrin に打ち勝つために必要な能力かもしれない。しかし、優れた鉄獲得能は速やかな増殖と関連するが、MPEC に関連する接着因子などに関する報告は乏しく、依然として乳中での増殖能が乳房病原性の鍵を握っていると考えられる。

では、乳中 lactoferrin 濃度は実際に乳房炎制御に関わっているのだろうか。筆者らは、腸内細菌科細菌による乳房炎が多発する夏季暑熱環境下において、乳中 lactoferrin や LAP 濃度が低下することを報告した [19]。また、乳房炎の新規発生の大半は分娩前後と乾乳直後に発生するため、乾乳開始時の抗菌因子濃度に着目した研究は多く実施されている。Vilar らは総説において、乾乳時の lactoferrin 濃度や総 IgG 濃度が高ければ、分娩後の乳房炎発生を抑制できる可能性を示している [20]。筆者らも、より広範な抗菌因子に着目し解析を行った結果、乾乳時における特定の AMPs 濃度が高いほど分娩後の体細胞数が少なくなることを見出し (投稿中)、現在その抗菌活性や VFs との関連を含めた詳細なメカニズムについて解析を試みている。前述の通り、もし lactoferrin (宿主免疫機構) に対する耐性メカニズムとしてクエン酸鉄取り込み能 (病原体の VFs) があるのであれば、AMPs など他の抗菌因子への耐性機構が MPEC を規定する VFs として存在するかもしれない。実際、AMPs に対する細菌の耐性も確認されており、AMPs の分解、膜表面

修飾によるターゲット変化、莢膜による細胞膜の遮蔽、宿主免疫の調節による AMPs 発現低下などによる耐性機構が報告されている [13]。

このように、腸内細菌科細菌による乳房内感染は、他臓器でみられる上皮細胞への接着から始まる感染メカニズムとは異なる特徴的なメカニズムにより感染が成立すると考えられている。また、酪農現場で求められる乳房炎の制御は、体細胞数の上昇、すなわち好中球の感染部位 (乳房内) への遊走が起きた時点で、乳質の変敗を招き未達成となる。本来、好中球の感染部位への遊走は、侵入してきた病原体を貪食し排除するための現象であり、正常な免疫応答であるはずである。しかし、乳を生産物としている酪農現場では、感染を「体細胞数の上昇=好中球の遊走」の前で食い止めなければならない。これは感染制御にとって極めてシビアな要求であり、だからこそ、乳中に存在し、物理的バリアを突破してきた病原体を最前線で排除している抗菌因子は、腸内細菌科細菌などの環境性乳房炎の予防上、特に重要だと考えられる。

#### 【おわりに】

薬剤耐性問題が深刻化している現在、速やかな殺菌機構をもつ AMPs は抗菌薬の代替候補として注目されている [13]。しかし、経済的な面に加え、将来食品となる生産物を提供する畜産現場では、利用できる薬が限定される状態は続くと考えられる。したがって、家畜の感染制御に対する内因性の抗菌因子を最大限活用した戦略構築は、今後も重要となるであろう。上述したように、特定の抗菌因子を活用した乾乳管理は、現在主流である抗菌薬の予防的な乳房内注入による乾乳管理の代替になる可能性を有しており、抗菌因子を活用した感染症予防の実現に近づいている例の一つと言える。

また、抗菌因子は腸内細菌や栄養との密接な関わりが指摘されており、今後、家畜においても飼料やサプリメントによって感染症をある程度制御できる技術が開発される日がくるかもしれない。一方で、本稿で詳説したように、感染症の成立は家畜の免疫機能の強弱のみが決定するわけではない。病原体も自身の増殖のための巧みな戦略をもっており、その特徴から組織指向性や宿主特異性が決定される。家畜の感染症

を制御できる未来に向けて、病原体と宿主の相互作用の解明に立脚した制御戦略が必要になるであろう。

### 謝辞

本稿を執筆するにあたり、磯部直樹教授（広島大学大学院統合生命科学研究科）に多大なるご助言を頂いた。紙面をお借りして、深甚の謝意を申し上げる。

### 【引用文献】

- [1] Blum, S. E., Goldstone, R. J., Connolly, J. P. R., Répérant-Ferter, M., Germon, P., Inglis, N. F., Krifucks, O., Mathur, S., Manson, E., Mclean, K., Rainard, P., Roe, A. J., Leitner, G. and Smith, D. G. E. 2018. Postgenomics Characterization of an Essential Genetic Determinant of Mammary Pathogenic. *mBio* 9.
- [2] Brogden, K. A. 2005. Antimicrobial peptides: pore formers or metabolic inhibitors in bacteria? *Nat Rev Microbiol* 3: 238-250.
- [3] Frick-Cheng, A. E., Sintsova, A., Smith, S. N., Pirani, A., Snitkin, E. S. and Mobley, H. L. T. 2022. Ferric Citrate Uptake Is a Virulence Factor in Uropathogenic *Escherichia coli*. *mBio* 13: e0103522.
- [4] Gurao, A., Kashyap, S. K. and Singh, R. 2017.  $\beta$ -defensins: An innate defense for bovine mastitis. *Vet World* 10: 990-998.
- [5] Hogan, J. and Larry Smith, K. 2003. Coliform mastitis. *Vet Res* 34: 507-519.
- [6] Hurley, W. L. and Rejman, J. J. 1993. Bovine lactoferrin in involuting mammary tissue. *Cell Biol Int* 17: 283-289.
- [7] Hussein, S., Hantke, K. and Braun, V. 1981. Citrate-dependent iron transport system in *Escherichia coli* K-12. *Eur J Biochem* 117: 431-437.
- [8] Isobe, N. 2017. Control mechanisms for producing antimicrobial factors in ruminant mammary gland. *Animal Science Journal* 88: 937-943.
- [9] 磯部直樹、鈴木直樹. 2020. 抗菌因子を利用した乳房管理. 家畜感染症学会誌 9: 49-59.
- [10] Kaper, J. B., Nataro, J. P. and Mobley, H. L. 2004. Pathogenic *Escherichia coli*. *Nat Rev Microbiol* 2: 123-140.
- [11] Leimbach, A., Poehlein, A., Vollmers, J., Görlich, D., Daniel, R. and Dobrindt, U. 2017. No evidence for a bovine mastitis *Escherichia coli* pathotype. *BMC Genomics* 18: 359.
- [12] Lemaitre, B., Nicolas, E., Michaut, L., Reichhart, J. M. and Hoffmann, J. A. 1996. The dorsoventral regulatory gene cassette *spätzle/Toll/cactus* controls the potent antifungal response in *Drosophila* adults. *Cell* 86: 973-983.
- [13] Magana, M., Pushpanathan, M., Santos, A. L., Leanse, L., Fernandez, M., Ioannidis, A., Giulianotti, M. A., Apidianakis, Y., Bradfute, S., Ferguson, A. L., Cherkasov, A., Seleem, M. N., Pinilla, C., de la Fuente-Nunez, C., Lazaridis, T., Dai, T., Houghten, R. A., Hancock, R. E. W. and Tegos, G. P. 2020. The value of antimicrobial peptides in the age of resistance. *Lancet Infect Dis* 20: e216-e230.
- [14] Olson, M. A., Siebach, T. W., Griffiths, J. S., Wilson, E. and Erickson, D. L. 2018. Genome-Wide Identification of Fitness Factors in Mastitis-Associated *Escherichia coli*. *Appl Environ Microbiol* 84.
- [15] Regenhard, P., Leippe, M., Schubert, S., Podschun, R., Kalm, E., Grötzinger, J. and Looft, C. 2009. Antimicrobial activity of bovine psoriasin. *Vet Microbiol* 136: 335-340.
- [16] Ruegg, P. L. 2017. A 100-Year Review: Mastitis detection, management, and prevention. *J Dairy Sci* 100: 10381-10397.
- [17] Sarowska, J., Futoma-Koloch, B., Jama-Kmiecik, A., Frej-Madrzak, M., Ksiazczyk, M., Bugla-Ploskonska, G. and Choroszy-Krol, I. 2019. Virulence factors, prevalence and potential transmission of extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* isolated from different sources: recent reports. *Gut Pathog* 11: 10.
- [18] Smolenski, G. A., Cursons, R. T., Hine, B. C. and Wheeler, T. T. 2015. Keratin and S100 calcium-binding proteins are major constituents of the bovine teat canal lining. *Vet Res* 46: 113.
- [19] Suzuki, N., Yuliza Purba, F., Hayashi, Y., Nii, T., Yoshimura, Y. and Isobe, N. 2020. Seasonal variations in the concentration of antimicrobial components in milk of dairy cows. *Anim Sci J* 91: e13427.
- [20] Vilar, M. J. and Rajala-Schultz, P. J. 2020. Dry-off and dairy cow udder health and welfare: Effects of different milk cessation methods. *Vet J* 262: 105503.
- [21] Yang, Y., Higgins, C. H., Rehman, I., Galvao, K. N., Brito, I. L., Bicalho, M. L., Song, J., Wang, H. and Bicalho, R. C. 2019. Genomic Diversity, Virulence, and Antimicrobial Resistance of *Klebsiella pneumoniae* Strains from Cows and Humans. *Appl Environ Microbiol* 85.
- [22] Zhang, G. W., Lai, S. J., Yoshimura, Y. and Isobe, N. 2014. Messenger RNA expression and immunolocalization of psoriasin in the goat mammary gland and its milk concentration after an intramammary infusion of lipopolysaccharide. *Vet J* 202: 89-93.

## The future of infectious disease prevention in livestock production using antimicrobial factors and microbiome

Naoki Suzuki

Graduate school of Integrated Sciences for Life, Hiroshima University  
1-4-4, Kagamiyama, Higashi-Hiroshima, Hiroshima 739-8528, Japan.

### **[Abstract]**

In livestock production, infectious diseases are important problems that affect both the stable supply and safety of products. In the livestock industry, which provides food products, control of infectious diseases without relying on antimicrobial agents has long been required because of the emergence of antimicrobial resistance. Antimicrobial factors, such as antimicrobial proteins and peptides, have been attracting attention as alternatives to antimicrobial agents, but they are originally produced by livestock themselves and play a role in the innate immune system to protect against infection. On the other hand, pathogens also try to establish infectious diseases by skillfully utilizing their own growth strategies. To achieve infection control using antimicrobial factors in livestock production, it is necessary to understand the interaction between pathogen virulence and host immune function. In this paper, using mastitis as an example, we considered the future of infection control in livestock production using antimicrobial factors and microbiome as modulators of antimicrobial factors.

**Keywords:** Antimicrobial factors, Virulence factors, Mastitis