

総説

自然免疫を活用した畜産現場における感染症予防の未来

石川真悟

大阪公立大学 獣医学研究科・獣医学部
〒598-8531 大阪府泉佐野市りんくう往来北1-58
電話番号：072-463-5916
E-mail：s-ishikawa@omu.ac.jp

【要約】

家畜の感染症予防のために「免疫力を上げて強い家畜を作る」という考え方が古くから提唱されてきた。家畜感染症における「免疫力」とは抗病性と言い換えることができ、「免疫力を上げる」は、免疫を調節して抗病性を高める、という考え方であると言える。家畜ではそのための手段として、獲得免疫の記憶機構を利用して、特異的抗原に対する免疫応答を調整するワクチンが広く用いられてきた。そのため、新規ワクチンの開発やワクチンの効果を高めるための飼養管理方法の検討等、免疫による感染症予防の焦点は獲得免疫応答にあてられ研究が進められてきた。近年、記憶が存在しないと考えられていた自然免疫においても、病原体が有する特有の分子パターン（病原体関連分子パターン：PAMPs）等を自然免疫受容体（パターン認識受容体）が認識することで記憶のような状態が発達する場合があります、抗原の種類にとらわれずに自然免疫の反応性が高まる「自然免疫記憶」という概念が提唱され、自然免疫の調整が「免疫力を上げる」ための手段として注目を集めている。「自然免疫記憶」に関する多くの知見はヒトやげっ歯類でもたらされているものであるが、家畜においてもこの概念が提唱される前から、現在はPAMPsとして認識されている物質を活用した感染症予防対策が検討されており、近年では自然免疫をターゲットとした予防法の開発も進んでいる。本稿では、ヒトやげっ歯類の知見から得られている「自然免疫記憶」の概念および家畜における自然免疫と感染症に関する研究について紹介し、自然免疫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たい。

キーワード：自然免疫、自然免疫記憶、病原体関連分子パターン(PAMPs)、パターン認識受容体(PRRs)

【はじめに】

感染症は宿主の免疫機構と病原体によるせめぎ合いの結果、免疫機構による排除が追い付かず、病原体が増殖してしまったことにより発症する疾病である。感染症を制御する方法としては、病原体を減らすための抗菌薬、抗ウイルス薬があるが、病原体は巧みな機構で耐性を獲得することもあり、特に家畜における抗菌薬使用

とそれにかかわる薬剤耐性（AMR）は社会的な問題となっている。そこで、免疫の調節に立脚した感染症予防対策が重要視されている。畜産現場で問題となっている病原体の多くは、強い感染力・毒性を有しているわけではなく、家畜特有の飼育形態のストレスがトリガーとなって感染・増殖し発症するものである。そのため、「免疫力が強い」個体は発症しない一方で「免疫力が弱い、低下した」個体で発症することから、家畜の感染症予防のために「免疫力を上げて強い家畜を作る」という考え方が古くから提唱されてきた。そのため、家畜感染症における

受付：2023年5月2日
受理：2023年5月2日

「免疫力」とは抗病性と言い換えることができ、「免疫力を上げる」は、免疫を調節して抗病性を高める、という考え方であると言える。

免疫機構は獲得免疫と自然免疫に大別され、家畜では獲得免疫の記憶機構を利用した、特異的抗原に対する免疫応答を調整するワクチンが広く用いられてきた。そのため、新規ワクチンの開発やワクチンの効果を高めるための飼養管理方法の検討等、免疫による感染症予防の焦点は獲得免疫応答にあてられ研究が進められてきた。一方で自然免疫に関しては、著者が学生だった頃（15 年ほど前）は獣医学の教科書においてほとんど記載がなかったように、その応答・調節機構が明らかにされておらず、家畜の感染症予防における自然免疫への関心は低かった。

近年、記憶が存在しないと考えられていた自然免疫においても、病原体が有する特有の分子パターン（病原体関連分子パターン：PAMPs）を自然免疫受容体（パターン認識受容体：PRRs）が認識することで記憶のような状態が発達する場合があります。抗原の種類にとらわれずに自然免疫の反応性が高まる「自然免疫記憶」という概念が提唱され、自然免疫の調整が「免疫力を上げる」ための手段として注目を集めている。本稿では、ヒトやげっ歯類の知見から得られている「自然免疫記憶」の概念および家畜における自然免疫と感染症に関する研究について紹介する。

自然免疫記憶（Trained Immunity）

新型コロナウイルス感染症（COVID-19）がパンデミックとなった当初、日本を含めた BCG ワクチン接種率が高い国では、欧米と比べてはるかに少ない死亡者数で済んでいたことから、死亡率に関わる何らかの原因（ファクター X）として BCG ワクチンの影響が仮説として提唱された [1]。その背景として、パンデミック以前に報告されていた乳幼児に対する BCG 接種が非特異的（すなわち BCG とは関係ない）防御と関連しているという疫学研究や [2]、自然免疫が過去に受けた障害の後にその機能を適応させることを示す報告の増加がある [3]。この、自然免疫による抗原非特異的な防御機構を Netea らは「Trained Immunity」と提唱した。日本語に直訳すると「訓練免疫」となるが、概

念から「自然免疫記憶」とも呼称されており、本稿では「自然免疫記憶」と記載する。自然免疫記憶は、自然免疫系の細胞が持つパターン認識受容体（PRRs）をはじめとした受容体が、病原体が有する特有の分子パターン（病原体関連分子パターン：PAMPs）や内因性の危険信号（ダメージ関連分子パターン：DAMPs）などを認識することにより惹起される。自然免疫記憶の機構は、細胞内代謝とエピジェネティクス制御のクロストークによって調整される。最初の分子パターンの感作により、PRRs が作動し、解糖、TCA サイクル、脂肪酸代謝などの代謝経路のアップレギュレーションを引き起こし、その産物が自然免疫応答に重要な遺伝子領域におけるクロマチンのエピジェネティクス変化を起こし、細胞がエフェクター機能の反応性が向上した「プライミング」状態となる。この状態は 6 カ月～5 年続程度持続するとされているが、さらに世代を超えて続く可能性も示唆されている [4]。この自然免疫記憶の代謝－エピジェネティクス制御は、子牛で研究が進んでいる DOHaD 仮説をもとにした代謝インプリンティングに近いものがあるのではないかと著者は考えている [5]。

また、自然免疫記憶による「プライミング」は獲得免疫応答と相乗して働くことが報告されており、より有効なワクチネーション戦略を検討する上でも重要であると考えられる [6]。

家畜における自然免疫を活用した感染症予防

家畜の免疫系は、ヒトやげっ歯類の免疫系と大まかには似ているが、特に代謝機構における違いから、種固有の特徴がある。よって、自然免疫を活用した感染予防を実現するためには、個々の種における自然免疫機構を解明し、ヒトやげっ歯類の自然免疫記憶機構と比較しながら、誘導法と効果を評価することが重要であると考えられる。本総説では、ニワトリ、ブタ、ウシに分けて紹介する。

ニワトリ

鳥類の自然免疫系について、鳥類特有の PRRs 発現と転写因子の活性化機構について解明されており、それを応用したプロバイオティクスによる自然免疫調節による感染症予防が検

討されている [7]。特に、現在では有用な PAMPs として認識されている、 β -グルカンを含んだ酵母を免疫賦活剤として経口投与することが古くから行われており多くの知見が存在するが、栄養状態や飼養環境によって効果に違いが認められることが報告されている [8]。

また、ワクチンや PRRs アゴニストを卵内に *in ovo* 投与することにより孵化前に免疫系を変化させる興味深い方法が検討されており、CpG DNA の *in ovo* 投与により感染実験における死亡率が減少することが報告されている [9]。

ブタ

ブタでは、ゲノム解析研究から PRRs をコードする遺伝子の多型について研究が進められており、個体レベルでの有用性が明らかにされ、抗病性改良マーカーとして活用されている [10]。

ニワトリと同様、 β -グルカン免疫賦活剤として経口投与されており、様々な知見が存在するが、すべての試験で成績の改善が認められているわけではない [11]。

ブタは結核研究のモデル動物としても使用されており、BCG 接種試験も数多く行われているが、自然免疫に与える影響について言及した報告はほとんどない。

ウシ

ウシでは、ヒトやげっ歯類で明らかとなっている細胞内代謝とエピジェネティクス制御のような詳細な機構は明らかとなっていないが、自然免疫の調整の結果であると考察されている感染症制御に関する報告が近年増加しており、総説としてまとめられている [12]。BCG 接種や、サルモネラ生ワクチン投与により非特異的な感染予防が認められたとの報告があり、自然免疫記憶を誘導した可能性について言及されている。また、欧米においては PAMPs 成分を調整した製剤が免疫賦活剤として販売されており、非特異的な感染予防効果が認められたという報告があるが、詳細な作用機序は明らかとなっていない。

我が国では、市販されている鼻腔粘膜ワクチン (TSV-2、ゾエティス・ジャパン株式会社) を投与することにより、臨床現場において、抗

原としては含まれていない病原体に対する予防効果についても誘導される可能性が報告されている [13]。

著者らは、呼吸器における非特異的な感染予防機構について検討するために、実際に呼吸器感染の最前線で働いていると考えられる、気管支肺胞洗浄液 (BALF) 中に含まれる免疫細胞の特性およびそれに鼻腔粘膜ワクチンが与える影響について検討した。BALF 中の免疫細胞は健常牛では自然免疫細胞である肺胞マクロファージがほぼ 100% を占めており、抗原提示に関わる MHC Class II をほぼ発現しない一方で、B 細胞抗原受容体の補助受容体である補体受容体 2 (CD21) が高発現するという、ヒトやげっ歯類とは異なるウシ特有の表面抗原発現パターンを示していた。そして、この表面抗原発現は、*in vitro* において IFN- γ で刺激培養することにより大きく変化し、MHC Class II を強発現する一方で CD21 発現が消失した。遺伝子発現量解析の結果から、この変化は mRNA レベルで制御されていることがわかり、転写制御の結果であることが考察された。表面抗原発現が異なる肺胞マクロファージ群は病原体感染時等において、生体でも実際に認められる。また、刺激培養を行うと貪食能も低下することから、呼吸器粘膜において感染免疫の主体をなしている肺胞マクロファージによる自然免疫応答は、肺胞マクロファージ自身の機能を制御することにより調節されていることが示唆された [14]。続いて、ウシ肺胞マクロファージを *in vitro* において鼻腔粘膜ワクチン (TSV-3、ゾエティスジャパン) で刺激培養し、自然免疫調節に与える影響を検討した。炎症性サイトカインである TNF- α 、抗ウイルス作用を有する I 型インターフェロンである IFN- β および細胞内消化に関わる iNOS の遺伝子発現量を解析したところ、ワクチン濃度依存的に増加した。この作用は、ワクチンを紫外線照射により不活化させた場合にも同様に認められたことから、ワクチン自身が有している PAMPs が肺胞マクロファージを刺激した結果であることが考察された [15]。使用したワクチンは温度感受性株を用いた改変生ワクチンであり、鼻腔内で増殖し気管支肺胞領域に到達することが確認されており、生体においても肺胞マクロファージの自然

免疫応答がワクチン刺激により調節されることが想定される。

このように、非特異的に「免疫力を上げて」感染症を予防することは家畜において古くから検討されてきた課題であり、現場レベルで様々な免疫賦活剤に関する検討がなされ、近年その効果が自然免疫調節に由来するというエビデンスが報告され始めている。しかし、自然免疫の調節不全はしばしば病原体そのものよりも宿主に大きなダメージを与える場合もあることや、活性化のためには大きな代謝的負荷がかかり産肉性や産乳性等何らかの異化作用の犠牲を伴う可能性があることから、家畜における自然免疫の調節についてさらなる研究が必要である。

おわりに

本稿では自然免疫の調節機構について、ヒトやげっ歯類における知見と家畜における萌芽的な研究について紹介してきた。自然免疫による非特異的な防御機構を活性化し「免疫力を上げる」戦略は、AMR や新興感染症対策だけでなく、農家の生産性や動物のウェルフェア向上にもつながる、畜産現場における感染症予防の未来として有望な方法の一つであると考えられる。同時に自然免疫は、これまで家畜感染症予防において重要視されてきた獲得免疫や、栄養をはじめとした飼養管理にも大きくかわるものであり、家畜の自然免疫研究の進展が、多分野融合で進んでいくことを期待したい。

引用文献

- [1] O'Neill, L. A. J., Netea, M., G. 2020. BCG-induced trained immunity: can it offer protection against COVID-19? *Nature reviews. Immunology*. 20: 335-337.
- [2] Aaby P., Roth A., Ravn H., Napirna B. M., Rodrigues A., Lisse I. M., et al. 2011. Randomized trial of BCG vaccination at birth to low-birth-weight children: beneficial nonspecific effects in the neonatal period? *J. Infect. Dis.* 204: 245-52.
- [3] Netea M. G., Quintin J., van der Meer J. W. 2011. Trained immunity: a memory for innate host defense. *Cell Host Microbe*. 9: 355.
- [4] Netea M.G., Domínguez-Andrés J., Barreiro L.B., Chavakis T., Divangahi M., Fuchs E., Joosten L., van der Meer J., Mhlanga M.M., Mulder W., et al. 2020. Defining trained immunity and its role in health and disease. *Nat. Rev. Immunol.* 20: 375-388.
- [5] 後藤貴文. 2014. 代謝インプリンティングを基盤とした子牛の成長と産肉性. 家畜感染症学会誌. 3 : 129-138.
- [6] Tarke A., Coelho C.H., Zhang Z., Dan J.M., Yu E.D., Methot N., Bloom N.I., Goodwin B., Phillips E., Mallal S., et al. 2022. SARS-CoV-2 vaccination induces immunological T cell memory able to cross-recognize variants from Alpha to Omicron. *Cell*. 185: 847-859.
- [7] 吉村幸則. 2019. ニワトリ雌生殖器の自然免疫による感染防御機能. 家畜感染症学会誌. 8 : 65-71.
- [8] Jacob J. P., Pescatore A. J. 2014. Barley beta-glucan in poultry diets. *Ann. Transl. Med.* 2: 20.
- [9] Allan B., Wheler C., Koster W., Sarfraz M., Potter A., Gerds V., et al. 2018. In ovo administration of innate immune stimulants and protection from early chick mortalities due to yolk sac infection. *Avian Dis.* 62: 316-21.
- [10] 上西博英. 2019. 豚の遺伝的な抗病性の改良に向けての取り組み. 家畜感染症学会誌. 8 : 57-64.
- [11] Vetrica V., Vannucci L., Sima P. 2014 The effects of β -glucan on pig growth and immunity. *Open Biochem. J.* 8: 89-93.
- [12] Kristen A. B., Crystal L. L., Jodi L. M., 2020. Innate Immunomodulation in Food Animals: Evidence for Trained Immunity? *Front. Immunol.* 11: 1099.
- [13] 叶有斗. 2018. 臨床獣医師が考える子牛における牛 RS ウイルス病対策. 家畜感染症学会誌. 7: 37-41.
- [14] Ishikawa S., Miyazawa M., Zibiki Y., Kamikakimoto R., Hobo S. 2022. Flow cytometric analysis of bronchoalveolar lavage fluid immune dynamics in calves. *J. Vet. Med. Sci.* 84: 548-557.
- [15] Ishikawa S., Miyazawa M., Tanaka C., Uesawa R., Nishizawa J., Uemura R., Kobayashi I., Hobo S. 2022. Interferon gamma, lipopolysaccharide, and modified-live viral vaccines stimulation alter the mRNA expression of tumor necrosis factor α , inducible nitric oxide synthase, and interferon β in bovine alveolar macrophages. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 244: 110378.

The future of infectious disease prevention of Livestock Production Using Innate Immunity

Shingo Ishikawa

Division of Clinical Veterinary Sciences
Graduate School of Veterinary Sciences
Osaka Metropolitan University
Address: 1-58 Rinku-orai-kita, izumisano, Osaka 598-8531 Japan
Phone number: +81-72-463-5916
E-mail: s-ishikawa@omu.ac.jp

[Abstract]

The concept of “boosting immune strength to create stronger livestock” has long been advocated for the prevention of infectious diseases in livestock. In the context of livestock infectious diseases, “immune strength” can be translated as antipathogenicity, and “boosting immune strength” refers to the concept of enhancing antipathogenicity by regulating immunity. In livestock, vaccines that use the memory mechanism of adaptive immunity to regulate immune responses to specific antigens have been widely used. Therefore, research on the prevention of infectious diseases through immunity has focused on the adaptive immune response, including the development of new vaccines and the study of feeding management methods to enhance the effectiveness of vaccines. In recent years, the concept of “innate immune memory” has been proposed, in which a memory-like state develops when innate immune receptors (pattern recognition receptors) recognize unique molecular patterns of pathogens (pathogen-associated molecular patterns: PAMPs), etc., which were thought to have no memory, thereby enhancing the responsiveness of innate immunity regardless of the type of antigen. The concept of “innate immune memory” has been proposed and has attracted attention as a means to “boost immunity” by regulating innate immunity. Many findings on “innate immune memory” have been made in humans and rodents, but even before this concept was proposed, in domestic animals, measures to prevent infectious diseases utilizing substances now recognized as PAMPs have been studied, and in recent years, the development of preventive methods targeting innate immunity has been progressing. In recent years, prophylactic methods targeting innate immunity have also been developed. In this paper, we introduce the concept of “innate immune memory”, which have been obtained from findings in humans and rodents, and research on innate immunity and infectious diseases in livestock, and consider the future of infectious disease prevention in the livestock industry by utilizing innate immunity.

Keywords: Innate immunity, Innate immune memory, Pathogen-associated molecular patterns (PAMPs), Pattern recognition receptors (PRRs)