

免疫関連製剤による哺乳期下痢症の予防

児 玉 義 勝*

最近、グラム陰性桿菌の野外分離株が種々の抗生物質に対して薬剤耐性を獲得し、しかも多剤耐性を示すことが内外で報告されている。このような耐性株は家畜の腸内はもとより、汚染畜舎、その周辺の土壌、汚水、ハエの体内にまで幅広く分布していることも知られている。耐性株による環境汚染は抗生物質による畜産物への残留性の問題とともにヒトの健康維持との関係で公衆衛生分野の面からも危惧されるようになった。このような局面に到達した最大の原因は家畜、家禽等の発育促進及び各種感染症に対する予防効果を期待して比較的低濃度の抗生物質を長期間飼料に添加して投与し続けた結果である。

農水省の統計によると昭和60年度の水畜産分野で使用された全抗生物質の純末総量は1,176tで、これは昭和56年の約1.4倍に相当する。それを用途別にみると、昭和60年度実績で飼料に添加して使用された抗生物質の検定合格数量は約1,000tで、これは全抗生物質数量の約85%を占める。これに動物用医薬品に区分される経口投与剤116tを加えると、全抗生物質数量の実に約95%が経口ルートで使用されている。残りの5%は各種感染症の緊急治療目的によるものである。これを成分別にみると、最も多用される抗生物質は各種下痢対策に用いられるテトラサイクリン系抗生物質で全体の47%であった。次は鶏のコクシジウム対策に用いられるポリエーテル系抗生物質で19%、各種呼吸器病対策に用いられるマクロライド系抗生物質が12.6%であった。

抗生物質の誤用、乱用は色々な問題をひき起こしたり、また、そのような可能性をはらんでいる。予防獣医学の最終目標が安全な食肉を消費者に供給することであることを考えると、抗生物質に強く依存した現在の衛生管理技術は根本的に考え直さなければならない。そのためには、安全性が保証され、かつ抗生物質と同等もしくはそれ以上の効果を期待できる新しい製剤に関する基礎

的研究の集積が不可欠である。

本項では、哺乳期下痢症の中で最も経済的被害の大きい毒素原性大腸菌症と伝染性胃腸炎に対する免疫関連製剤について述べる。

1. 腸管毒素原性大腸菌症

1) ワクチン

わが国でも哺乳期下痢症に色々な型の線毛抗原を保有する腸管毒素原性大腸菌(ETEC)が関与していることが明確になったことから乳汁免疫によるワクチン開発がにわかに進められるようになった。哺乳期下痢症の予防はすべて乳汁免疫方式によるが、それには二つの考え方がある。その一つは定着に直接関係する線毛を保有する全菌体不活化ワクチン、または線毛を菌体から適当な処理法によって分離したサブユニットワクチンを適当なアジュバントと混和して妊娠豚に注射する。乳汁に分泌された高力価の抗線毛 IgG 抗体を新生豚が摂取している間、腸内に侵入した ETEC は腸内に滞留している抗体と結合して排泄される。ETEC の腸内増殖が抑制されるため、発症に至るだけのエンテロトキシン (LT 及び ST) 産生は認められない。

ワクチン用菌株には、発病豚から高頻度に分離される K88, K99 及び 987P 線毛を保有する株が選定されている。各線毛抗原には交叉感染防御能が認められないためワクチンを製造する時には3種の線毛保有株、または菌体から分離した各々の線毛抗原を混合する。しかしながら、菌体表面の線毛産生能は分離菌株によって異なるばかりでなく、培地の組成や培養条件等によって著しい相異がある。つまり、菌数と線毛抗原量は必ずしも相関しないため、総菌数で調整した全菌体ワクチンでは予防効果にロットの差が反映される可能性がある。菌体から分離した線毛サブユニットワクチンは製造時に線毛抗原量を正確にモニターするため、その可能性はない。

一方、培養菌液そのものを用いた ETEC 全菌体ワクチンは、多量のエンドトキシンが混入しているため、副

* Yoshikatsu KODAMA: (株)ゲン・コーポレイション・岐阜ラボラトリ(〒501-11 岐阜市佐野字外野)

表 1 987⁺ETEC 攻撃後の子豚の発病率 (%)

| 群 別 | 分 娩 後 日 数 | | | | | |
|------------|-------------|----------------|---------------|------------|------------|------------|
| | 分娩時 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| ワクチン 接種 | 0/9 (0) | 3/9 (33.3) | 1/9 (11.1) | 0/9 (0) | 0/9 (0) | 0/9 (0) |
| 対 照 | 0/12 (0) | 12/12 (100) | | | | |

表 2 攻撃豚直腸便からの 987P⁺ETEC の検出率 (%)

| 群 別 | 分 娩 後 日 数 | | | | | |
|------------|-------------|----------------|--------------|-------------|------------|------------|
| | 分娩時 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| ワクチン 接種 | 0/9 (0) | 9/9 (100) | 9/9 (100) | 1/9 (11) | 0/9 (0) | 0/9 (0) |
| 対 照 | 0/12 (0) | 12/12 (100) | | | | |

作用の直接的な原因となる。具体的には、Hussaini ら (1986) はエンドトキシン感作の回数が増加するに従って、流産の比率が増加することを報告している。線毛サブユニットワクチンにはそのような副作用は認められない。

第二の考えはエンテロトキシンによるトキソイドワクチンを妊娠豚に免疫することによって、初乳中に高力価の抗エンテロトキシン抗体を誘導することである。子豚がこの抗体を摂取している間はたとえ ETEC が腸内に侵入して増殖しても産生されたエンテロトキシンは腸内に滞留している抗体によって中和される。

LT と ST は線毛抗原の場合と異なり ETEC の各菌株に共通して産生されること及びこれらのトキシンには抗原性があることからトキソイドワクチンの研究も進められている。特に、ST は分子量が4,000~5,000のペプチドであるため、もともと抗原性が弱く、キャリアと結合させた後、色々なアジュバントと混和し、十分な抗体価を誘導するようなシステムの開発が重要視されている。これらの研究から、将来、LT と ST の混合トキソイドワクチンが開発される可能性がある。

次に私どもが行っている K88, K99 及び987P 線毛サブユニット試作ワクチンの試験の一部を紹介する。

妊娠豚には分娩の5週前と2週前に2回、筋肉内にワクチンを接種し、分娩から12時間後、生まれた子豚を10¹⁰個の987P⁺ETEC で攻撃した。表1は攻撃後の発病率を示している。下痢の指標は、糞の形状を認めない軟便及び水様便を下痢とみなした。ワクチン接種群では攻撃後一過性の下痢が一部の豚で認められたが2日後に全頭

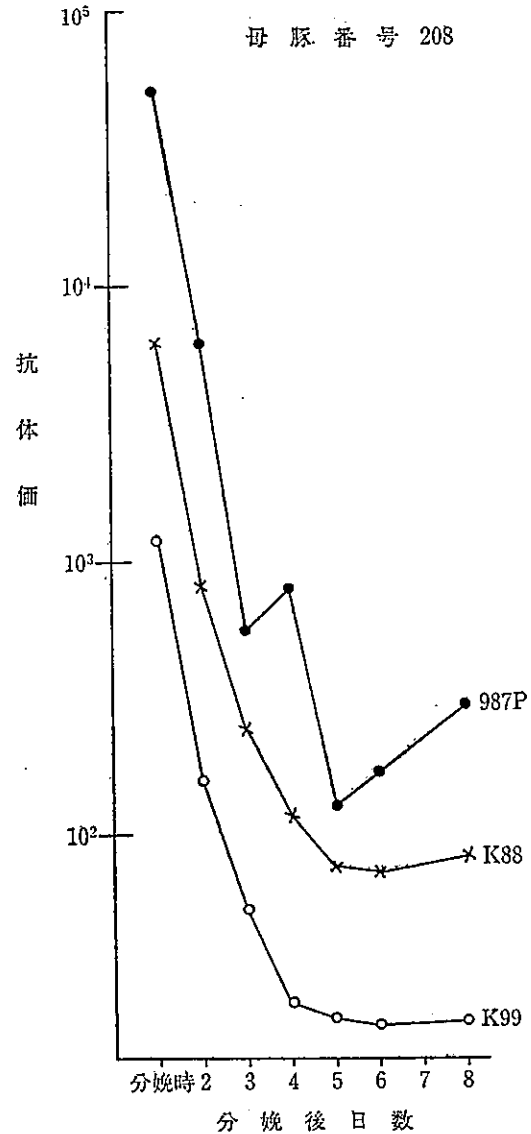


図 1 ワクチン接種豚における乳汁抗体価の推移

回復した。これに対し対照群では全頭発病し、翌日には全頭死亡した。直腸便から攻撃菌の分離を試みたところ、ワクチン接種群では2日目まで全頭から菌が検出されたが3日目には検出率は極端に減少し、4日以降は検出されなくなった(表2)。対照群では攻撃後全頭から菌が検出された。剖検時に小腸各部位から攻撃菌の検出を試みた。対照群では小腸全域から菌が検出されたのに対し、ワクチン群では全く菌は検出されなかった。

図1はELISAによって測定したワクチン接種母豚の各線毛抗原に対する抗体価を示している。分娩時の抗体価は高いが、その後急激に低下し、5日後にはほとんど検出されなくなった。

ETEC による初生期の下痢症は、データに示したように乳汁免疫によって確実に予防することが可能であっ

表 3 実験デザイン

| 頭数 | サンプルの 凝集抗体価 | 分娩後日数 | | | | |
|----|----------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| | | 0*10*20* | 2 | 3 | 4 | 5 |
| 11 | 1:1,000 | ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ | ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ | ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ | ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ | ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ |
| 15 | 1:10 \geq | ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ | ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ | ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ | ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ | ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ |

*; 分娩後の時間。↓; サンプル 5 ml を経口投与。↑; 987P⁺ETEC (2.0×10¹⁰/豚) で攻撃。†; 脱水で死亡直前の豚及び攻撃後 4 日目で生存している豚はそれぞれ材料採取のため解剖。

実験豚 26 頭は生後 10 時間まで初乳を飲ませた後、アイソレータに収容し 1 日 3 回 (朝, 昼, 夕方) 滅菌人工乳 (SPF-LAC) を給与。

表 4 987P⁺ETEC 攻撃後の子豚の発病率 (%)

| 群 別 | 分娩後日数 | | | | |
|----------------|-------------|----------------|----------------|----------------|---------------|
| | 分娩時 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 抗体投与 (n=11) | 0/11 (0) | 11/11 (100) | 3/11 (27.3) | 3/11 (27.3) | 1/11 (9.1) |
| 対 照 (n=15) | 0/15 (0) | 15/15 (100) | 13/13 (100) | 9/9 (100) | 7/8 (87.5) |

表 5 攻撃豚直腸便からの 987⁺ETEC 検出率 (%)

| 群 別 | 分娩後日数 | | | | |
|----------------|-------------|----------------|----------------|--------------|--------------|
| | 分娩時 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 抗体投与 (n=11) | 0/11 (0) | 11/11 (100) | 6/11 (54.5) | 0/11 (0) | 0/11 (0) |
| 対 照 (n=15) | 0/15 (0) | 15/15 (100) | 13/13 (100) | 9/9 (100) | 8/8 (100) |

表 6 剖検時における小腸各部位からの 987P⁺ETEC の検出率 (%)

| 群 別 | 攻撃菌の検出率 | | |
|----------------|----------------|--------------|----------------|
| | 十二指腸部 | 空腸部 | 回腸部 |
| 抗体投与 (n=11) | 0/11 (0) | 0/11 (0) | 1/11 (9.1) |
| 対 照 (n=15) | 5/15 (33.3) | 9/15 (60) | 15/15 (100) |

た。

2) 特異免疫グロブリン (Ig)

線毛保有株からなる全菌体, または線毛, あるいはトキソイドワクチンを妊娠豚に接種し, 初乳中に高濃度の抗体をもたせ, 子豚がその抗体を摂取している間は ETEC の腸管感染を防御できる。しかしながら, これらの抗体価は図 1 にも示した通り分娩後急激に低下することから, 1 週齢以降に発生する下痢症にも効果を期待する

ことは困難と思われる。Ig 製剤ではそれが可能となり, またワクチン未接種の母豚から生まれた新生豚が ETEC の感染に直面した時にもその緊急対応が可能となる。具体的に ETEC による実験的発病が ETEC の定着に関与する線毛抗原に対応した Ig 製剤を経口投与することによって予防及び治療が可能であることを示す (特願 昭和 61-218859 号)。

① Ig による予防効果

表 3 は, 予防効果を検証するために行った試験計画である。実験豚は合計 26 頭を使用し, 生後約 10 時間初乳を与えた後, それぞれアイソレータに移した。Ig は攻撃前に 2 回経口投与し, その 1 時間後に 2×10¹⁰ 個の 987P⁺ETEC で攻撃し, その後 1 日 3 回 Ig を経口投与した。攻撃後脱水で死亡直前の豚及び攻撃後 4 日目に生存しているブタは材料採取のため屠殺した。観察は下痢の程度, 生死, 増体重, 直腸便及び小腸各部位からの攻撃菌の検出を試みた。

表 4 は, 攻撃後の発病率を示している。攻撃したところ, 両群とも全頭が下痢を呈したが, 抗体投与群では 2 日後から発病率が著しく減少したのに対し, 対照群では全頭水様性下痢便が認められた。また, Ig 投与群では脱水による死亡豚は全く認められなかったが, 対照群では 15 頭中 7 頭が死亡した (死亡率 47%)。

表 5 は, 直腸便からの攻撃菌の検出率を示している。攻撃後 1 日目では両群の全頭から攻撃菌が検出されたが, 2 日目の抗体投与群では検出率は半分に減少し, 3 日目から攻撃菌は検出されなくなった。対照群では屠殺時まで全頭の豚から攻撃菌が検出された。一方, 屠殺時における攻撃菌の検出率は表 6 に示した。抗体投与群では, 十二指腸及び空腸部から攻撃菌は検出されなかったが, 11 頭中 1 頭の回腸部からのみ菌が検出された。しか

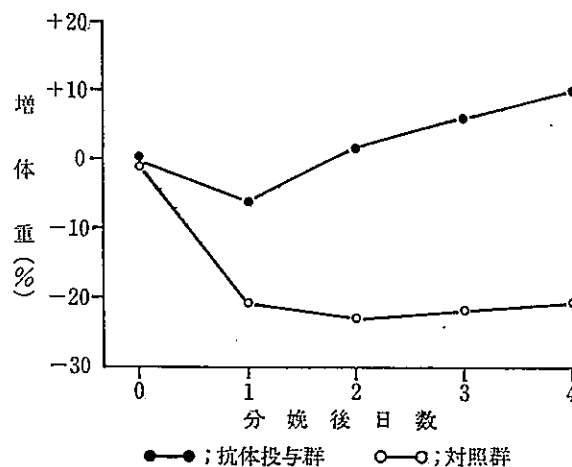
図 2 987P⁺ETEC 攻撃後の増体重

表 7 実験デザイン

| 頭数 | サンプルの凝集抗体価 | 分娩後日数 | | | | | | |
|----|------------|-------|----------|-----|-----|-----|-----|---|
| | | 0* | 20* | 2 | 3 | 4 | 5 | |
| 4 | 1:4,000 | | ↑ ↓↓↓ | ↓↓↓ | ↓↓↓ | ↓↓↓ | ↓↓↓ | ↑ |
| 4 | 1:1,000 | | ↑ ↓↓↓ | ↓↓↓ | ↓↓↓ | ↓↓↓ | ↓↓↓ | ↑ |
| 4 | 1:250 | | ↑ ↓↓↓ | ↓↓↓ | ↓↓↓ | ↓↓↓ | ↓↓↓ | ↑ |
| 4 | 1:≤10 | | ↑ ↓↓↓ | ↓↓↓ | ↓↓↓ | ↓↓↓ | ↓↓↓ | ↑ |

*; 分娩後の時間。↑; 987P+ETEC (2.0×10^{10} /豚) で攻撃, ↓; サンプル 5 ml を経口投与, †; 脱水で死亡直前の豚及び攻撃後 4 日目で生存している豚はそれぞれ材料採取のため解剖。

実験豚 16 頭は生後 20 時間まで初乳を飲ませた後、アイソレータに收容し 1 日 3 回 (朝, 昼, 夕方) 滅菌人工乳 (SPF-LAC) を給与。

表 8 987P+ETEC の攻撃後の子豚の発病率 (%)

| 群 別 | 抗体力価 | 分娩後日数 | | | | |
|------|------------------|------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| | | 分娩時 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 抗体投与 | 1:4,000 (n=4) | 0/4 (0) | 3/4 (75) | 2/4 (50) | 0/4 (0) | 0/4 (0) |
| | 1:1,000 (n=4) | 0/4 (0) | 4/4 (100) | 4/4 (100) | 0/3 (0) | 0/3 (0) |
| | 1:250 (n=4) | 0/4 (0) | 4/4 (100) | 3/3 (100) | 2/2 (100) | 2/2 (100) |
| 対 照 | 1:≤10 (n=4) | 0/4 (0) | 3/3 (100) | 2/2 (100) | 2/2 (100) | 2/2 (100) |

表 9 攻撃豚直腸便からの 987P+ETEC の検出率 (%)

| 群 別 | 抗体力価 | 分娩後日数 | | | | |
|------|------------------|------------|--------------|--------------|---------------|---------------|
| | | 分娩時 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 抗体投与 | 1:4,000 (n=4) | 0/4 (0) | 4/4 (100) | 2/4 (50) | 1/4 (25) | 0/4 (0) |
| | 1:1,000 (n=4) | 0/4 (0) | 4/4 (100) | 4/4 (100) | 2/3 (66.7) | 2/3 (66.7) |
| | 1:250 (n=4) | 0/4 (0) | 4/4 (100) | 3/3 (100) | 2/2 (100) | 2/2 (100) |
| 対 照 | 1:≤10 (n=4) | 0/4 (0) | 3/3 (100) | 2/2 (100) | 2/2 (100) | 2/2 (100) |

表 10 剖検時における小腸各部位からの 987+ETEC の検出率 (%)

| 群 別 | 抗体力価 | 十二指腸部 | 空腸部 | 回腸部 |
|------|------------------|-------------|--------------|--------------|
| 抗体投与 | 1:4,000 (n=4) | 0/4 (0) | 0/4 (0) | 0/4 (0) |
| | 1:1,000 (n=4) | 1/4 (25) | 1/4 (25) | 3/4 (75) |
| | 1:250 (n=4) | 2/4 (50) | 4/4 (100) | 4/4 (100) |
| 対 照 | 1:≤10 (n=4) | 2/4 (50) | 3/4 (75) | 4/4 (100) |

しながら、対照群ではいずれの部位からも攻撃菌は検出され、特に回腸部では全頭の豚から菌が検出され、菌量も多かった。

攻撃後の増体重は図 2 に示した。対照群では激しい水様性下痢のため顕著な体重減少が認められたのに対し、Ig 投与群では一過性の体重減少が認められたものの 2 日後には回復した。

②Ig による治療効果

表 7 は治療効果を検証するために行った試験計画である。実験豚は合計 16 頭を使用し、生後約 20 時間初乳を摂取させた後、各々 4 頭ずつ 4 群に分けアイソレータに收容した。I 群は 4,000 倍の凝集抗体価、II 群は 1,000 倍、III 群は 250 倍、IV 群は対照とした。次に、 2×10^{10} 個の 987P+ETEC を全頭の豚に経口接種して、3~4 時間後に水様便になった段階で各々の力価の Ig を経口投与した。観察は①で行ったそれと同じである。

表 8 は攻撃後の発病 (下痢) 率を示している。4,000 倍及び 1,000 倍投与群ではいずれも 3 日目には回復した。これに反し、250 倍投与群及び対照群では屠殺時まで下痢が持続した。死亡率では、4,000 倍投与群では全頭生残し、1,000 倍投与群で 1 頭、250 倍及び対照群では各々 2 頭死亡した。

表 9 は直腸便からの攻撃菌の検出率を示している。4,000 倍投与群では 2 日目から検出率が漸次減少し、4 日目には検出されなくなった。1,000 倍投与群では 3 日目から検出率がやや低下したが、250 倍投与群及び対照群では、屠殺時まで全頭から菌が検出された。

表 10 は小腸各部位における攻撃菌の検出率を示している。4,000 倍投与群ではいずれの小腸部位からも攻撃菌は検出されなかった。

1,000 倍投与群における検出率は 250 倍投与群及び対照群のそれよりも低かった。

図 3 は攻撃後の増体重を示している。全群共に 1 日目に体重減少が認められたが、4,000 倍投与群では 2 日後から、1,000 倍投与群では 3 日後から体重増加が認められるようになった。250 倍投与群では対照群と同様に屠殺時まで体重減少が持続した。

K88 及び K99 に対応する Ig を用いても同様の成績が得られている。この Ig 療法は ETEC ワクチンとともに抗生物質の使用頻度を軽減するのに役立つと考えられる。

表11 TGE ワクチンの乳汁免疫試験

| ワクチン | 免疫方法 | 攻撃時の抗体価 | | 防御効果 | |
|----------|---|---------|-----|---------|------------|
| | | 血清 | 乳汁 | 発病率 (%) | 死亡率 (%) |
| 家畜試験ワクチン | m5*(271), m5.0 (234), m6.0 (17) | 1,024 | 8 | 100 | 100(11/11) |
| | M7.0 (53), M7.0 (4) | 256 | 16 | 100 | 100(9/9) |
| | M8.0 (50), M8.0 (32), M8.0 (18), M8.0 (7) | 128 | 4 | 100 | 75(6/8) |
| | IMM4.0 (25), IMM4.0 (15) | 128 | 8 | 100 | 78(7/9) |
| | IMM6.0 (35), IMM6.0 (13) | 256 | 32 | 100 | 78(7/9) |
| | IMM6.0 (49), IMM6.0 (13) | 512 | 32 | 100 | 80(4/5) |
| | M7.0 (81), N7.0 (36) | 128 | 8 | 100 | 50(4/8) |
| | M8.0 (60), N9.3 (14) | 2,048 | 128 | 100 | 0(0/4) |
| | M9.3 (60), N9.3 (14) | 2,048 | 512 | 11 | 0(0/9) |
| A社経口ワクチン | O5.9(35), O5.9(21), O5.9(7) | 128 | 32 | 100 | 100(0/6) |

() 内は分娩前日数, 小文字は不活化ウイルス, 大文字は生ウイルス, *はウイルスの感染価 (TCID₅₀), m 及び Mは筋肉内接種, IMM は乳房内接種, N は鼻腔内接種, Oは経口接種を示す。

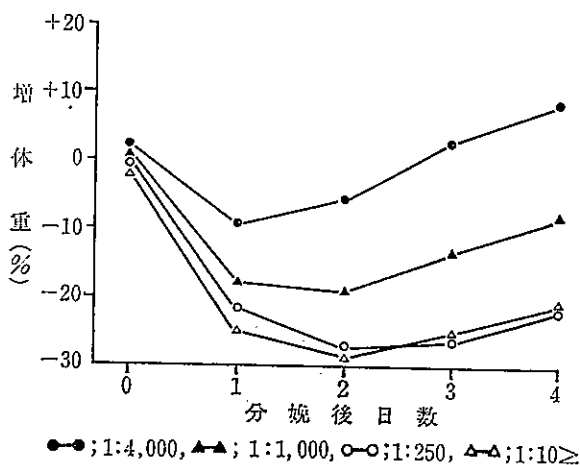


図3 987P+ETEC 攻撃後の増体重に及ぼす抗体濃度の影響

2. 伝染性胃腸炎 (TGE)

ETEC の場合とほぼ同様, 1週齢以内の新生豚が TGE ウイルスに感染するとほとんど 100% 発病死することから, ワクチンによる乳汁免疫方式が最も重要な予防策となる。ここではワクチンと最近 USDA が認可した Amtron 社の Immunity inducer である Transfer Factor について述べる。

1) ワクチン

TGE ワクチンの試験研究は古くから家畜衛生試験場を中心として行われてきた。表11に示した乳汁免疫試験の結果をまとめると次の様である。

(1) 不活化ウイルスあるいは弱毒性ウイルスを筋肉内に接種した場合には乳汁に十分な中和抗体価を誘導できず, 攻撃後100%近くの豚が発病死する。

(2) 弱毒生ウイルスを乳房内に接種した場合には(1)

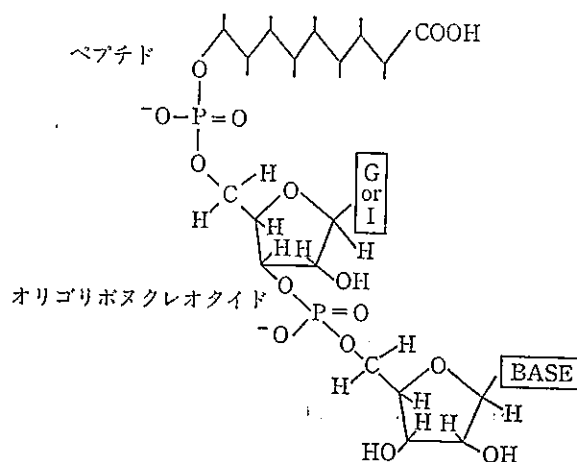


図4 ウシ Tf の構造モデル (G. V., Paddock ら 1983)

に比較して乳汁中の中和抗体価はやや上昇し, 攻撃後の死亡率もやや低下する。

(3) 弱毒生ウイルスを筋肉内注射し, プスターを鼻腔内接種した場合には (2) に比べ攻撃後の死亡率はやや低下するが, 10^{9.3}TCID₅₀ のウイルス量で免疫すると攻撃時の乳汁抗体価は (1) 及び (2) に比べ最も高く, ほぼ完全な防御効果が得られる。

一方, 代表的な米国の生ワクチンを用いた攻撃試験では防御効果は全く得られなかった。海外からの色々な情報でも100%近く発病死を防ぐワクチンはないといわれている。今のところ, 最も期待できそうな生ワクチンは (3) の方式によるものであるが, 最も大きな問題は, 10^{9.0}TCID₅₀/ml の弱毒ウイルスをコンスタントに製造することが難しいことである。

私どもは, 筋肉内接種ルートによって乳汁中に IgA

表12 フットパットテストによって示された Balb/c マウスにおける *M. bovis* 抗原に対する遅延型過敏症反応 (G.V. Paddock, 1986)

| | 注 射 材 料 | フットパット反応 |
|-------|--------------------------------|----------|
| 1 (a) | <i>M. bovis</i> 抗原免疫ウシ初乳ホエー | 30.00* |
| (b) | <i>M. bovis</i> 抗原非免疫ウシ初乳ホエー | 8.00 |
| (c) | 食塩水対照 | 3.00 |
| 2 (a) | 1 (a) から得た Tf 含有透析物 | 32.00* |
| (b) | 1 (b) から得た透析物 | 7.00 |
| (c) | 食塩水対照 | 3.00 |
| 3 (a) | 2 (a) から得たフェノール及びエーテル抽出分画 | 50.00* |
| (b) | 2 (b) から得たフェノール及びエーテル抽出分画 | 5.00 |
| (c) | 食塩水対照 | 3.00 |
| 4 (a) | 3 (a) からエタノール沈澱後の薄層セルロースクロマト分画 | 42.00* |
| (b) | 3 (b) からエタノール沈澱後の薄層セルロースクロマト分画 | 4.00 |
| (c) | 食塩水対照 | 3.00 |

a : *M. bovis* 抗原 10 μ g を注射して24時間後のフットパットの厚さ 0.01mm 単位の増加。* : p < 0.01

抗体が誘導できるような免疫原の研究を行っている。攻撃試験の成績によると80%以上の防御効果が得られている。その詳細については別の機会に譲りたい。いずれにしても、確実な乳汁免疫を誘導できるワクチンの開発が待たれる。

2) Transfer factor (Tf)

Tf は、遅延型過敏症反応陽性のヒト白血球から抽出した分子量2,000~4,000のオリゴリボヌクレオペプチドからなり、反応陰性の個体に陽性反応を移入することが

表13 初乳ホエー及び透析初乳ホエーにおける PPD-B に対する LHI 活性 (G. V. Paddock, 1986)

| 被 検 材 料 | 試料 (μ l) | LHI 活性 (%D _B)* |
|--------------------|---------------|----------------------------|
| PPD-B 免疫ウシ初乳ホエー | 30 | +32.0 |
| PPD-B 非免疫ウシの初乳ホエー | 30 | -10.0 |
| PPD-B 免疫ウシから得た非透析物 | 40 | - 5.0 |
| PPD-B 免疫ウシから得た透析物 | 30 | +21.0 |

* %D_B = (1 - MI_A/MI_B) × 100。% D_B 値が +15% 以上の時は有意差 (p < 0.01) があり、被検材料の存在下で抗原特異的な LHI 活性が誘導されたことを示す。

MI_B は培地中に被検材料と抗原を加えて培養した細胞と抗原のみを培地に加えたものを比較したときの migration index。MI_A は培地中に被検材料を加えて培養した細胞と培地のみを比較したときの migration index。

できる。ヒト白血球由来 Tf の一般的な特徴を列挙すると、①抗原特異的であること、②免疫原性がないこと、③移入後数時間で反応が陽転化すること、④移入された陽性反応は長期間維持されること、⑤56°C、30分の加熱で活性を失うが、トリプシン、DNase 及び RNase で失活しないこと、⑥T細胞機能不全を伴う免疫不全患者に投与すると遅延型過敏反応のみならず細胞性免疫による獲得抵抗性が誘導されることなどである。

(1) Immunity inducer としての Tf

初乳及び常乳は液性免疫に直接関係する Ig のほか、T細胞及びマクロファージなどの細胞性免疫に関与する細胞を含有している。細胞性免疫が初乳を介して母から子へリンパ球によって産生される Tf の受け渡しによって伝達される可能性が指摘されている。事実、Paddock らは Tf が単に感作リンパ球内あるいはリンパ球表面に存在するばかりでなく、初乳中に遊離の形で高濃度に存在していることを明らかにしている。

図4は、彼らが解析した Tf の構造モデルである。Tf の示す抗原特異性はペプチド部分にあると推定されている。

次に、感作抗原として *Mycobacterium bovis* から得られる精製タンパク誘導体 PPD-B を妊娠牛に免疫することによって得られた遊離型 Tf の性状について述べる。

表12は、マウスを用いたフットパット試験の成績である。PPD-B に対する遅延型過敏 (DTH) 反応は免疫ホエーに検出されるが、非免疫ホエーには全く検出されない。この反応は免疫ホエーの透析外液にのみ検出され

表14 免疫初乳ホエーの透析材料における Tf の抗原特異性 (G.V. Paddock, 1986)

| 試験抗原 (100 μ g/ml) | LMI 活性 | |
|-----------------------|----------------------------------|-----------------|
| | MI _A /MI _B | %D _B |
| PPD-B | 0.94/0.79 | +16 |
| PPD-M | 0.94/0.92 | + 2 |
| PPD-F | 0.94/0.95 | - 1 |
| PPD-I | 0.94/0.99 | - 5 |

* PPD-B 免疫初乳の透析材料 16 μ l を使用。%D_B については表13を参照。PPD-B, PPD-M, PPD-F 及び PPD-I はそれぞれ *M. bovis*, *M. marinum*, *M. fortuitum* 及び *M. intracellulare* の精製蛋白誘導体。

表15 TGE-Tf の防御効果 (G.B. Wilson, 1988)

| 処 置 | 死 亡 率 |
|----------------|------------|
| TGE-Tf (Lot 1) | |
| 270 単位 | 0% (0/4) |
| 90 単位 | 25% (1/4) |
| 30 単位 | 67% (2/3) |
| TGE-Tf (Lot 2) | |
| 270 単位 | 20% (1/5) |
| 90 単位 | 0% (0/4) |
| 30 単位 | 50% (2/4) |
| 対 照 | 70% (7/10) |

る。また、フェノール、エーテルなどの有機溶媒によって免疫ホエーから抽出することができ、さらにエタノール沈澱材料から薄層セルロースクロマトグラフィーによって Tf を精製することもできる。

表13は Leukocyte Migration Inhibition (LMH) によって Tf 活性を測定したものである。フットパットテストの結果と良く一致している。

表14は PPD-B に対する Tf が抗原特異性をもつことを LMH によって示したものである。つまり、PPD-B の Tf はホモの PPD-B 抗原とのみ反応し、他の抗原とは反応しない。

以上のことから免疫初乳中の遊離型 Tf が透析膜を簡単に通過し、強い抗原特異性を持つことは明らかである。

(2) Tf による TGE の予防効果

表15は、生後4日齢の新生豚に TGE ウイルスを牛に免疫して得た遊離型 Tf を色々な力価で皮下注射し、その2日後に強毒株 (5×10^4 PFU/ブタ) で攻撃した時の防御効果である。Tf の予防効果は投与した Tf の力価と相関していることがわかる。

表16は TGE あるいは *Streptococcus equi* に対応した Tf を生後24時間以内の新生豚に皮下注射し、その2日後に TGE ウイルス強毒株で攻撃した成績であるが、TGE-Tf のみに防御効果が認められている。

このように防御効果にも抗原特異性が認められ、このことは表14に示した LMI の試験結果と一致する。なお、TGE-Tf を注射した豚は中和抗体の産生が認められていないが、Tf の防御効果がどのようなメカニズムで発現されるのか今後の解明が待たれる。

(3) 予防薬としての Tf の特徴

Tf は図4に示した分子構造を有する分子量2,000~4,000のオリゴリボヌクレオペプチドで抗原性がペプチド部分に認められることから、次のような特徴が考えら

表16 TGE-Tf の予防効果と抗原特異性 (G.B. Wilson, 1988)

| 処 置 | 死 亡 率 |
|--|-------------|
| TGE-Tf (100単位) | 14% (3/21) |
| <i>Streptococcus equi</i> -Tf (120単位) | 56% (5/9) |
| 対 照 | 52% (11/21) |

れている。①接種ルートを選ばない。②低分子で抗原性がないため、注射してもアナフィラキシーショックは認められない。③吸収が速やかであるため、効果が早く発現する。④Ig に比べ効果の持続期間が長い。⑤予防のみならず、治療目的で使用することも可能。⑥低温で保存する限り、長期間 Tf 活性は安定している。⑦毒性がない。⑧移行抗体の作用と競合しないため、ワクチンによる移行抗体の影響を直接受ける様な時期でも使用できる。

3. ま と め

哺乳期下痢症の中で被害が最も甚大である ETEC と TGE の予防法のあり方を述べた。これらの感染症はいずれも局所感染によるものであり、豚コレラあるいは豚丹毒のような全身感染症のワクチンと防御効果を同一視できない面がある。その部分をカバーする意味で Ig 及び Tf 製剤は将来非常に重要な対応策になると考えられる。

一方、冒頭にも述べた通り、全抗生物質総量の約半分は下痢対策に用いられている。その理由は、ワクチンが開発されていないか、開発されていても十分な効力を発現しないためその対策をすべて抗生物質に依存する結果、腸内菌による薬剤耐性、食肉への残留、正常腸内菌叢の攪乱等の問題をひき起こしたり、また、そのような可能性をはらんでいる。抗生物質本来の効力を正しく発現させるためにも、免疫関連製剤に関する試験、研究が今後一層推進されなければならない。

参考文献

- 1) 児玉義勝 (1985) : 豚における腸管感染症の免疫, 日本獣医学の進展, 228-237.
- 2) 児玉義勝 (1987) : 畜産の研究 41(1), 135-143.
- 3) Wilson, G. B. et al. (1982) : *Thymus*. 4, 335-350.
- 4) Wilson, G. B. & Paddock, G. V. (1983) : U. S. Patent Publication 554921.