

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 22 日現在

機関番号：11301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2016

課題番号：26660245

研究課題名(和文) ナノテクノロジーを用いた次世代型乳房炎予防技術の開発

研究課題名(英文) Development of novel technology for prevention of mastitis using nanotechnology

研究代表者

野地 智法 (Nochi, Tomonori)

東北大学・農学研究科・准教授

研究者番号：10708001

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：黄色ブドウ球菌が引き起こす乳牛の慢性化乳房炎の経済損失は甚大であり、その対策は急務とされている。本研究では、黄色ブドウ球菌を認識するウシポリクローナル抗体(anti-S. aureus)を作成し、anti-S. aureusが黄色ブドウ球菌の増殖を直接阻害可能であることを実証した。また、この黄色ブドウ球菌に対する増殖阻害効果は、黄色ブドウ球菌の病原性に深く関わる細胞壁結合タンパク質とは無関係であることが、その形成に関与するSortase Aを欠損株を用いた研究から明らかにされた。本研究成果は、ナノテクノロジーを活用した、抗体による慢性化乳房炎治療技術開発に向けた基盤に成り得るものであった。

研究成果の概要(英文)：Staphylococcus aureus is a major pathogen that occasionally causes subclinical mastitis associated with huge economic losses to the dairy industry. We generated S. aureus-specific bovine IgG antibodies (anti-S. aureus) that directly inhibited bacterial growth in vitro. Inhibition depended on specificity for anti-S. aureus. An in vitro culture study using S. aureus strain JE2 and its deletion mutant JE2 SrtA, which lacks the gene encoding sortase A, revealed that the effect of anti-S. aureus was sortase-A-independent. Sortase A is involved in the synthesis of cell-wall-associated proteins. Thus, other surface molecules, such as membrane proteins, cell surface polysaccharides, or both, may trigger the inhibition of bacterial growth by anti-S. aureus. Together, our findings contribute insights into developing new strategies to further improve the available mastitis vaccine by designing a novel antigen on the surface of S. aureus to induce inhibitory signals that inhibit bacterial growth.

研究分野：動物免疫学、動物微生物学

キーワード：黄色ブドウ球菌 乳房炎 抗体

1. 研究開始当初の背景

農林水産省が発表する最新の家畜共済統計表によると、乳用牛の病傷病類別事故件数は年間 1,411,671 件であり、その中でも乳房炎を代表とする泌乳器疾患は 437,472 件と発病頻度が最も高く、その割合は約 31%にもなる。乳房炎罹患牛の感染乳房由来の乳汁は、乳質が出荷に必要な水準を大きく下回り、市場に出回ることはない。乳房炎を発症すると、通常、抗生物質を用いた治療が行われるが、その効果が思わしくない場合は盲乳処置（罹患乳房からの搾乳停止）が施され、さらには、採算が合わなくなった乳用牛は廃用牛扱いとなり屠殺処分されている。酪農現場では仔牛を出産後の乳用牛に対し、通常分娩後 40 日を目安に種付け（人工授精）を行い、次の泌乳サイクルに向けた準備を行う。乳用牛の飼育・繁殖に必要な費用は非常に高額であることから、安定した畜産経営を望むためにも、1頭の乳用牛を多数繁殖させ、生涯乳量を向上させることは非常に重要な経営戦略であるが、**近年の乳用牛の平均産次(出産)数は3回に満たない**のが現状であり、産次数の低下を招いている最大の原因がこの乳房炎である。これらの事実は、**従来の治療型の乳房炎対策から、予防型の乳房炎対策へと方向転換することの重要性**を強く示唆している。

2. 研究の目的

乳用牛が罹患する疾病の中でも最も発病頻度の高い乳房炎は、乳腺房内に病原微生物が感染することで引き起こされる。一般的な乳房炎の治療法として、抗生物質の局所または全身投与が多用されているが、一度炎症が慢性化すると、治療を継続しても完治に至ることは殆ど無い。また抗生物質耐性菌問題は、世界レベルの課題である。酪農現場における乳房炎の経済損失は年間 800 億円であり、**新規感染を事前に防ぐための技術開発は、獣医畜産領域における最重要課題**である。本研究では、近年注目されている**“ナノテクノロジー”と“抗体療法”を融合**することで、乳房炎起因菌の乳腺上皮細胞への付着を阻止するための抗体を、乳腺房内に徐放投与するための技術開発に挑戦する。本研究は、安定した畜産経営に科学的に貢献するための**現場ニーズ対応型実用研究**であり、成功した暁の経済効果は計り知れない。

3. 研究の方法

(1) 本研究に用いた微生物

本研究では供試菌として *Staphylococcus aureus* (BM1006 株, SA003 株および JE2 株、JE2 由来のトランスポゾンミュータント JE2ΔSrtA 株)、*Staphylococcus epidermidis* (ATCC14990)、*Bacillus atrophaeus* (ATCC9372)、*Escherichia coli* (JM109 株) を用いた。

(2) ウシポリクローナル抗体の作製

ホルスタイン牛 (5 ヶ月齢、雄) に、ホルマリン処理で殺菌した黄色ブドウ球菌 (BM1006 株、 1.5×10^{10} CFU、以後、*S. aureus*) をアジュバントである TiterMax®Gold (TiterMax) とともに、2 週間間隔で 3 回免疫 (皮下接種) した。最終免疫から 1 週間後に抗血清を回収し、Protein G Sepharose 4 Fast Flow (GE healthcare) を用いて免疫グロブリン G (IgG) を精製した。

(3) 抗体価の評価

作製したウシポリクローナル抗体の含量および *S. aureus* に対する特異性を解析するために、精製 IgG を ELISA 解析に供した。抗 *S. aureus* 抗体の IgG 濃度を測定する試験では 96 ウェルプレート (Nunc) に、 $2 \mu\text{g}/\text{ml}$ の精製ヒツジ抗ウシ IgG 重鎖抗体 (Bethyl) を固相し、また、*S. aureus* に対する特異性を評価する試験では、ホルマリン処理した *S. aureus* (BM1006, SA003, JE2, JE2ΔSrtA)、*S. epidermidis* (ATCC14990)、*B. atrophaeus* (ATCC9372)、*E. coli* (JM109) を $5 \mu\text{g}/\text{ml}$ に調整し、一晩 4°C で固相した。翌日、トリス緩衝化生理食塩水で希釈した 0.05% (v/v) の Tween-20 を用い、室温で 1 時間ブロッキングした後、抗血清より精製したウシ IgG (抗 *S. aureus* 抗体) または市販のウシ IgG (Sigma、コントロール IgG と表記) を 2 倍毎に段階希釈し、室温で 2 時間反応させた。洗浄後、HRP 標識抗ウシ IgG 重鎖抗体 (Bethyl、 $1 : 10,000$ 希釈) を室温で 1 時間処理し、TMB microwell peroxidase substrate system (KPL) で発色させた。さらには、作製した抗 *S. aureus* 抗体とコントロール IgG をそれぞれ FITC (Sigma) で標識し、 $1000 \mu\text{g}/\text{ml}$ に調整し、供試菌と共に 4°C で 30 分間反応させた。洗浄後のサンプルは、BD Accuri C6 Flow Cytometer (BD Bioscience) を用いて測定し、得られたデータを FlowJo (Digital Biology) を用いて分析した。加えて、供試菌を SDS サンプルバッファ ($62.5 \mu\text{M}$ の Tris-HCl (pH 6.8)、 2% (w/v)

SDS、10% (v/v) グリセロール、5% (v/v) 2-メルカプトエタノール、0.02% (w/v) のプロモフェノールブルーを含む) で溶解し、タンパク質を抽出した。その後、抽出物を5-20%の ePAGEL ポリアクリルアミドゲル (ATTO) を用いた SDS-PAGE 解析に供した。電気泳動後、Immobilon-P membrane (Millipore) に転写し、Western-blot 解析に供した。転写後のメンブレンは、Tris 緩衝液で希釈した 0.05% (v/v) Tween-20 を用いて 4 °C で一晩ブロッキングした後、10µg/ml に調整した抗 *S. aureus* 抗体もしくはコントロール IgG を、それぞれ室温で 1 時間処理した。洗浄後のメンブレンは、10,000 倍希釈した HRP 標識ヒツジ抗ウシ IgG 重鎖抗体 (Bethyl) を用いて室温で 1 時間処理した後、EzWestLumi plus (ATTO) を用いて抗 *S. aureus* 抗体に特異的なバンドを検出した。

(4) 増殖阻害試験

4 株の *S. aureus* (BM1006 株、SA003 株、JE2 株および JE2ΔSrtA 株) および *E. coli* (JM109 株) を、Trypto-Soya (TS) 培地 (Nissui) で、一晩 37°C で前培養した。新しい TS 液体培地 (4ml) に前培養した菌液を 40µl 加え、作製した抗 *S. aureus* 抗体 (10,100 および 1000µg/ml) またはコントロール IgG (1000µg/ml) を添加した。培養開始 0.5、2、5 および 24 時間後の細菌数を、TS 寒天培地上の細菌コロニーの数を測定することで計測した。また、培養開始後 0.5, 2, 5 および 24 時間後に培地を回収し、0.45µm のシリンジフィルター (Advantec) を用いて濾過することで、素通り画分中に含まれる (培地中に残存する) ウシ IgG 含量と、*S. aureus* に対する特異性を ELISA 法で評価した。

(5) ナノゲル乳房炎ワクチン開発

ホルマリン処理した *S. aureus* (BM1006 株) をナノメートルサイズの微粒子 (ナノゲル) で被覆し、それをマウスに 2 週間に 1 回の頻度で、計 3 回経鼻投与した。最終免疫から 1 週間後に、供試マウスを交配させ出産させた後に、分娩 1 週間後に再度追加免疫を行い、その後の乳汁中の *S. aureus* 特異的抗体産生を評価した。

(6) 統計

統計分析は、Kruskal-Wallis 検定を用いた One-way ANOVA および Tukey 多重検定を用いた two-way ANOVA を行った。

4. 研究成果

(1) *S. aureus* 特異的ウシ IgG 抗体の作製

ホルスタイン牛に *S. aureus* (BM1006 株、死菌) を皮下接種し、その後に得られた抗血清より精製したウシ IgG の特異性を解析した。市販のコントロール IgG と比較し、免疫したホルスタイン牛から得られた IgG 抗体は、濃度依存的に BM1006 株に反応することが確認された。また、別株の黄色ブドウ球菌である SA003 に対しても、作製したウシ IgG は高い反応性を有していた。このことから、作製したウシ IgG 抗体は、*S. aureus* に共通する抗原に反応することが考えられた。*S. aureus* に対して反応することが確認されたため、以後、本研究で作製したウシ IgG を抗 *S. aureus* 抗体と表記する。興味深いことに、*S. aureus* と系統学的に近い *S. epidermidis* に対しても、抗 *S. aureus* 抗体による反応性が確認された。しかしながら、*S. aureus* と同じ Firmicutes 門に属し分類が科から異なる *B. atrophaeus*、また Proteobacteria 門に属する *E. coli* に対する抗 *S. aureus* 抗体の反応性は殆ど認められなかった。Flow cytometry の結果からも抗 *S. aureus* 抗体が、*S. aureus* に対して高い反応性を有し、また *S. epidermidis* に対してもわずかに反応すること、一方で、*B. atrophaeus* および *E. coli* には反応性を示さないことが確認された。これらの結果から、抗 *S. aureus* 抗体は、*S. aureus* 特有の、あるいは *S. aureus* と *S. epidermidis* が共通して有する抗原を認識していることが示唆された。また、Western-blot 解析では、抗 *S. aureus* 抗体およびコントロール IgG とともに反応する自然抗体由来の反応が認められたが、抗 *S. aureus* 抗体のみに反応する、*S. aureus* 特有の様々な分子量からなる特異的な反応が存在することが明らかになった。

(2) *in vitro* での増殖阻害試験

BM1006 および SA003 の培養液中に抗 *S. aureus* 抗体もしくはコントロール IgG を添加した結果、両株ともに、抗 *S. aureus* 抗体を添加することで、濃度依存的に増殖が阻害されることが確認された。また、このような増殖阻害効果は、コントロール IgG を添加した場合では全く認められなかった。一方で、抗 *S. aureus* 抗体が反応性を示さなかった *E. coli* の培養液中に抗 *S. aureus* 抗体を添加しても、*E. coli* の増殖阻害効果は全く認められなかった。これらの結果からは、抗 *S. aureus* 抗体の有する *S. aureus* に対する特異的な反応が、*in vitro* での増殖阻害に必

要不可欠であることを示すものであった。しかしながら、*S. aureus* の菌数は、抗 *S. aureus* 抗体の存在の有無に関わらず、一晚培養すると抗体を添加していない試験区と同程度にまで増加し、このことは、増殖阻害効果が培養中、持続されないことを意味していた。そのため、培養中の抗 *S. aureus* 抗体の濃度および特異性の変化を調べるための経時的な解析を行ったところ、培養液中に残存するウシ IgG 含量は培養時間を通して変化していないのに対し、*S. aureus* に特異的なウシ IgG の力価は、培養中試験を通して経時的に減少しており、培養開始 24 時間後には殆ど消失していることが明らかとなった。これらの結果から、抗 *S. aureus* 抗体は多様な抗原を認識するポリクローナル抗体であり、*S. aureus* の増殖を直接的に阻害する生理活性を有していること、また、*in vitro* 環境では、*S. aureus* に特異的に反応する抗体が枯渇することで、*S. aureus* は増殖を開始することが明らかになった。

(3) 増殖阻害効果に関与する抗原-抗体特異性

抗 *S. aureus* 抗体が *S. epidermidis* にもある程度の反応を示していたことから、*S. aureus* と *S. epidermidis* に共通して発現する分子を、あるいは *S. aureus* 特異的な分子を抗 *S. aureus* 抗体が認識することが増殖阻害に必須であるか否かを明らかにすべく、*S. epidermidis* と結合した抗 *S. aureus* 抗体を遠心分離によって除去した上で、増殖阻害試験を実施した。*In vitro* での増殖阻害試験の前に実施した ELISA 解析から、*S. epidermidis* による吸収処理を行った抗 *S. aureus* 抗体は、*S. epidermidis* に対する反応性をほとんど失っていること、また、黄色ブドウ球菌に対する反応性は、わずかに減少した程度であることが明らかになった。その後、*in vitro* での増殖阻害試験を行った結果、無処理の抗 *S. aureus* 抗体と比較し、吸収処理を行った抗 *S. aureus* 抗体は、その生理活性は若干低下するものの、黄色ブドウ球菌の増殖を阻害する傾向が確認された。これらの結果は、抗 *S. aureus* 抗体が認識する多数の抗原の中でも、特に増殖阻害に関わる *S. aureus* 特異的な抗原が存在していることを示していた。*S. epidermidis* は、*S. aureus* の増殖を抑制していることも報告されており、そのことは、*S. aureus* 特異的な抗原をワクチンとして用いることが、*S. aureus* が引き起こす感染症を予防するためには重要であることを示唆していた。

(4) SortaseA 依存的細胞壁結合タンパク質が有する病原性と増殖阻害との関連

S. aureus 表層のペプチドグリカンに連結する細胞壁結合タンパク質は、*S. aureus* の病原性に関与していることから、*S. aureus* ワクチンの候補分子とした研究がこれまで広く行われてきた。そこで細胞壁結合タンパク質が、抗 *S. aureus* 抗体による増殖阻害にも関与するか否かを調べることは、ワクチン開発を進める上で重要である。そこで、*S. aureus* の野生株である JE2 と、SortaseA 遺伝子を欠くトランスポゾンミュータントである JE2 Δ SrtA を利用し、ELISA と *in vitro* での増殖阻害試験を行った。ELISA の結果から、抗 *S. aureus* 抗体の反応性は JE2 と JE2 Δ SrtA でほぼ同程度であることが確認された。また、増殖阻害試験を行ったところ、多くの細胞壁結合タンパク質を欠損している JE2 Δ SrtA でも野生株の JE2 と同程度の増殖阻害効果が見られた。これらの結果から抗 *S. aureus* 抗体による増殖阻害効果は、細胞壁結合タンパク質が関与するのではなく、膜タンパク質などのその他の表層抗原が関与する可能性が示唆された。

(5) ナノゲルを用いた乳房炎予防

S. aureus (死菌) をナノゲルで被覆し、それを経鼻投与した結果、ナノゲルで被覆していない *S. aureus* を同様に接種した場合には全く認められなかった *S. aureus* 特異的 IgA 産生が乳汁中に認められた。さらには、この *S. aureus* 特異的 IgA は、乳汁に加え、鼻腔洗浄液、唾液、膣洗浄液中にも高値で認められた。このことから、ナノゲルは経鼻ワクチンのデリバリー分子として有用であること、また経鼻投与は、乳腺での免疫応答を効果的に増強可能であることが明らかとなった。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 16 件) 以下、全て査読あり

1. Nakajima-Adachi H, Shibahara K, Fujimura Y, Takeyama J, Hiraide E, Kikuchi A, Murakami H, Hosono A, **Nochi T**, Wakatsuki Y, Shimojo N, Kaminogawa S, Sato R, Kiyono H, Hachimura S. Critical role of intestinal interleukin-4 modulating regulatory T cells for desensitization, tolerance, and inflammation of food allergy. *PLoS One*, 12:e0172795, 2017. doi:

- 10.1371/journal.pone.0172795
2. Albarracin L, Kobayashi H, Iida H, Sato N, **Nochi T**, Aso H, Salva S, Alvarez S, Kitazawa H, Villena J. Transcriptomic Analysis of the Innate Antiviral Immune Response in Porcine Intestinal Epithelial Cells: Influence of Immunobiotic Lactobacilli. *Front Immunol.*, 8:57, 2017. doi: 10.3389/fimmu.2017.00057.
 3. Tsukida K, Takahashi T, Iida H, Kanmani P, Suda Y, **Nochi T**, Ohwada S, Aso H, Ohkawara S, Makino S, Kano H, Saito T, Villena J, Kitazawa H. Immunoregulatory effects triggered by immunobiotic Lactobacillus jensenii TL2937 strain involve efficient phagocytosis in porcine antigen presenting cells. *BMC Immunol.*, 17: 21, 2016. doi: 10.1186/s12865-016-0160-1.
 4. Li Y, Fuchimoto D, Sudo M, Haruta H, Lin QF, Takeyama T, Morita S, **Nochi T**, Suzuki S, Sembon S, Nakai M, Kojima M, Iwamoto M, Hashimoto M, Yoda S, Kunimoto S, Hiro T, Matsumoto T, Mitsumata M, Sugitani M, Saito S, Hirayama A, Onishi A. Development of human-like advanced coronary plaques in low-density lipoprotein receptor knockout pigs and justification for statin treatment before formation of atherosclerotic plaques. *J. Am. Heart Assoc.*, 5: e002779, 2016. doi: 10.1161/JAHA.115.002779.
 5. Ishizuka T, Kanmani P, Kobayashi H, Miyazaki A, Soma J, Suda Y, Aso H, **Nochi T**, Iwabuchi N, Xiao JZ, Saito T, Villena J, Kitazawa H. Immunobiotic Bifidobacteria Strains Modulate Rotavirus Immune Response in Porcine Intestinal Epitheliocytes via Pattern Recognition Receptor Signaling. *PLoS One*. 11: doi: 10.1371/journal.pone.0152416.e0152416, 2016
 6. Hondo T, Someya S, Nagasawa Y, Terada S, Watanabe H, Chen X, Watanabe K, Ohwada S, Kitazawa H, Rose MT, **Nochi T**, Aso H. Cyclophilin A is a new M cell marker of bovine intestinal epithelium. *Cell Tissue Res.*, 364: 585-597, 2016. doi: 10.1007/s00441-015-2342-1.
 7. Olesen R, Swanson MD, Kovarova M, **Nochi T**, Chateau M, Honeycutt JB, Long JM, Denton PW, Hudgens MG, Richardson A, Tolstrup M, Østergaard L, Wahl A, Garcia JV. ART influences HIV persistence in the female reproductive tract and cervicovaginal secretions. *J. Clin. Invest.*, **126**: 892-904, 2016. doi: 10.1172/JCI64212.
 8. Kovarova M, Council OD, Date AA, Long JM, **Nochi T**, Belshan M, Shibata A, Vincent H, Baker CE, Thayer WO, Kraus G, Lachaud-Durand S, Williams P, Destache CJ, Garcia JV. Nanoformulations of Rilpivirine for topical pericoital and systemic coitus-independent administration efficiently prevent HIV transmission. *PLoS Pathog.*, 11: e1005075, 2015. doi: 10.1371/journal.ppat.1005075.
 9. Takanashi S, **Nochi T***, Abe M, Itaya N, Urakawa M, Sato K, Zhuang T, Umemura S, Hayashi T, Kiku Y, Kitazawa H, Rose MT, Watanabe K, Aso H. Extracellular cyclophilin A possesses chemotactic activity in cattle. *Vet. Res.*, **46**: 80, 2015. doi: 10.1186/s13567-015-0212-1.
*Corresponding author
 10. Nagasawa Y, Takahashi Y, Itani W, Watanabe H, Hidaka Y, Morita S, Suzuki K, Watanabe K, Ohwada S, Kitazawa H, Imamura M, Yokoyama T, Horiuchi M, Sakaguchi S, Mohri S, Rise MT, **Nochi T**, Aso H. Prion protein binds to aldolase A produced by bovine intestinal M cells. *Scientific Res.*, **5**: 43-60, 2015. http://file.scirp.org/pdf/OJVM_2015031111105144.pdf
 11. Suzuki M, Tada A, Kanmani P, Watanabe H, Aso H, Suda Y, **Nochi T**, Miyazawa K, Yoda K, He F, Hosoda M, Saito T, Villena J, Kitazawa H. Advanced application of porcine intramuscular adipocytes for evaluating anti-adipogenic and anti-inflammatory activities of immunobiotics. *PLoS One*, **10**: e0119644, 2015. doi: 10.1371/journal.pone.0119644.
 12. Sato A, Suwanto A, Okabe M, Sato S, **Nochi T**, Imai T, Koyanagi N, Kunisawa J, Kawaguchi Y, Kiyono H. Vaginal memory T cells induced by intranasal vaccination are critical for protective T cell recruitment and prevention of genital HSV-2 disease. *J. Virol.*, **88**: 13699-13708, 2014. doi: 10.1128/JVI.02279-14.
 13. Martinez-Torres FJ, **Nochi T**, Angela W, Garcia JV, Denton PW. Hypogammaglobulinemia in BLT humanized mice – An animal model of primary antibody deficiency, *PLoS One*, **9**: e108663, 2014. doi: 10.1371/journal.pone.0108663.
 14. Nakajima-Adachi H, Kikuchi A, Fujimura Y, Shibahara K, Makino T, Goseki-Sone M,

- Kihara-Fujioka M, **Nochi T**, Kurashima Y, Igarashi O, Yamamoto M, Kunisawa J, Toda M, Kaminogawa S, Sato R, Kiyono H, Hachimura S. Peyer's patches and mesenteric lymph nodes cooperatively promote enteropathy in a mouse model of food allergy. *PLoS One*, 9: e107492, 2014. doi: 10.1371/journal.pone.0107492.
15. Tokuhara D, **Nochi T**, Matsumura A, Mejima M, Takahashi Y, Kurokawa S, Kiyono H, Yuki Y. Specific expression of apolipoprotein A-IV in the follicle associated epithelium of the small intestine. *Dig. Dis. Sci.*, 59: 2682-2692, 2014. doi: 10.1007/s10620-014-3203-6.
16. Kobayashi T, Steinbach EC, Russo SM, Matsuoka K, **Nochi T**, Maharshak N, Borst LB, Hostager B, Garcia JV, Rothman PB, Kashiwada M, Sheikh SZ, Murray PJ, Plevy SE. NFIL3-Deficient Mice Develop Microbiota-Dependent, IL-12/23-Driven Spontaneous Colitis. *J. Immunol.*, 192: 1918-1927, 2014. doi: 10.4049/jimmunol.1301819.

[学会発表] (計55件、以下代表的な発表)

1. 宇佐美克紀、新實香奈枝、古川睦実、佐々木志保、伊藤駿、渡邊康一、麻生久、**野地智法**、乳腺と大腸をつなぐ免疫ネットワークの解明、第122回日本畜産学会、2017年3月28日、神戸大学(兵庫)
2. 古川睦実、米山裕、秦英司、安藤太助、林智人、菊佳男、長澤裕哉、渡邊康一、麻生久、**野地智法**、黄色ブドウ球菌特異的IgG抗体はSortase A非依存的に細胞増殖を阻害する、第90回日本細菌学会、2017年3月20日、仙台国際センター(宮城)
3. 古川睦実、米山裕、秦英司、岩野英知、樋口豪紀、安藤太助、佐藤美佳、林智人、菊佳男、長澤裕哉、新實香奈枝、宇佐美克紀、佐々木志保、伊藤駿、渡邊康一、麻生久、**野地智法**、黄色ブドウ球菌(SA)の死菌接種によって産生されるポリクローナル抗体はSAに対する増殖阻害効果を有する、第6回家畜感染症学会、2016年12月3日、九州大学(福岡)
4. 宇佐美克紀、新實香奈枝、古川睦実、藤田勇氣、阿部未来、渡邊康一、麻生久、**野地智法**、フローサイトメトリーを用いた授乳期の乳腺に認められるIgA産生形質細胞の性状解析、第159回日本獣医学会、2016年9月7日、日本大学(神奈川)
5. 古川睦実、米山裕、秦英司、岩野英知、樋口豪紀、安藤太助、佐藤美佳、林智人、菊佳男、長澤裕哉、新實香奈枝、宇佐美

克紀、佐々木志保、伊藤駿、渡邊康一、麻生久、**野地智法**、黄色ブドウ球菌のin vitroでの増殖阻害を可能にするウシポリクローナル抗体の作製、第66回東北畜産学会、2016年9月7日、いわて県民情報交流センター(岩手)

6. 新實香奈枝、阿部未来、藤田勇氣、盛田彰太郎、古川睦実、宇佐美克紀、朴恩正、佐藤慎太郎、清野宏、渡邊康一、麻生久、**野地智法**、乳腺を標的としたIgA誘導型粘膜ワクチン開発を目指した学術基盤の形成、第121回日本畜産学会、2016年3月28日、日本獣医生命科学大学(東京)
7. 藤田勇氣、阿部未来、盛田彰太郎、立田睦実、渡邊康一、**野地智法**、麻生久、乳腺免疫の要となるIgA産生を促す分子メカニズムの解明、第119回日本畜産学会、2015年3月29日、宇都宮大学(栃木)
8. 藤田勇氣、阿部未来、秦英司、菊佳男、林智人、渡邊康一、**野地智法**、麻生久、乳腺組織に効果的な免疫応答を誘導するためのワクチネーションとは、第19回日本乳房炎研究会、2014年10月10日、国立博物館(東京)
9. 藤田勇氣、阿部未来、秦英司、菊佳男、林智人、渡邊康一、**野地智法**、麻生久、IgA産生細胞を効果的に乳腺組織に遊走させるための免疫戦略の確立、第157回日本獣医学会、2014年9月11日、北海道大学(北海道)

[図書] (計0件)

[産業財産権]

- 出願状況(計0件)
- 取得状況(計0件)

[その他]

ホームページ等:

<http://www.agri.tohoku.ac.jp/keitai/index-j.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

野地 智法 (NOCHI, TOMONORI)
 東北大学・大学院農学研究科・准教授
 研究者番号: 10708001

(2) 研究分担者

秋吉 一成 (AKIYOSHI, KAZUNARI)
 京都大学・大学院工学研究科・教授
 研究者番号: 90201285

(3) 研究分担者

澤田 晋一 (SAWADA, SHINICHI)
 京都大学・大学院工学研究科・助教
 研究者番号: 50444104