

豚における腸管感染症の免疫

児玉 義勝

豚コレラや豚丹毒のような全身感染症は優れたワクチンの開発によって激減してきた反面、粘膜表面が感染の標的となるいわゆる局所感染症は内外を問わず増加の一途を辿りその経済的損失は莫大なものとなっている。

それにもかかわらず、局所感染症に対する有効な予防法はまだ確立されるに至っていない。その理由は全身感染症と豚伝染性胃腸炎 (transmissible gastroenteritis: TGE) や大腸菌症のような局所感染症とは本質的に異なり、本病に関与する因子が複雑であるばかりでなく、局所に防御免疫を誘導しなければならない特殊性があることと、そのために必要な粘膜系の免疫機構が十分に解明されていなかったことによると考えられる。このような観点から、本論文では豚の腸管免疫全般を解説しながら局所感染症に対する予防法についての考えを述べてみたい。なお、乳汁による受動免疫機構については比較免疫学の立場から述べた清水[76]の総説があるので参照されたい。

乳汁抗体による腸管の受動免疫機構

1. 乳汁 IgA の性状

図1に示すように豚の IgA は4種類に分けられる[62]。初乳中 IgA は 6.4S モノマーと 9.3S ダイマーが主体であるが、常乳ではそのほとんどが 10.6S の分泌性 IgA (SIgA) である[67]。その基本構造は4本の H 鎖と4本の L 鎖からなりそれに J 鎖と分泌片 (secretory component: SC) が1個ずつ結合した重合体である。最初、J 鎖はウサギとヒトの SIgA 分子中に発見された[22]。分子量は約 23,000 で H 鎖に disulphide 結合している。J 鎖はヒト IgA ミエローマのダイマーに存在しモノマーには存在しない。さらに、J 鎖はヒト血清 IgM から分離された[46]。J

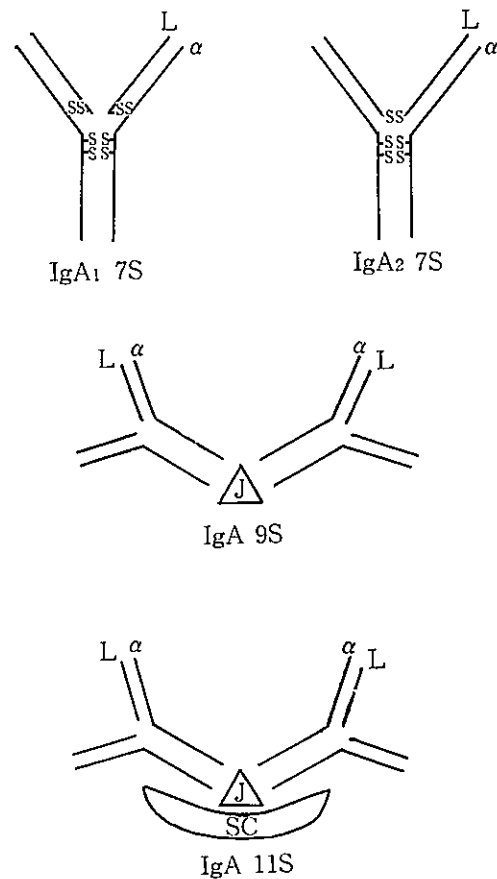


図1. 豚の IgA の種類[62]

鎖が IgM 分子からも分離されたことから免疫グロブリン (Ig) 分子が重合するときの共通の joint であることが明らかとなった。ヒト J 鎖は 7.6% の糖を含む糖たんぱくでそのアミノ酸組成は他の Ig 構成鎖のそれと比較してアスパラギン酸などの酸性アミノ酸とシステインの含量比が高い[75]。ブタでも初乳 IgA および血清 IgM 分子中に J 鎖が存在することが明らかにされている[88]。抗ヒト J 鎖抗体は還元アルキル化したイヌ、ネコ、ウシ、ヤギ、ヒツジ、ブタ、ウマ、ハリネズミ、モルモット、ラット、マウス、ならびにニワトリのポリマー Ig と反応する[84]。このことは

バイオ製薬株式会社岐阜ラボラトリ
〒501-11 岐阜市佐野字外野

表1. ヒト乳汁における特異抗体の反応性[59]

細菌	ウイルス	真菌	その他
<i>E. coli</i> (O+K antigens および enterotoxin)	Rotavirus	<i>Gandida albicans</i>	牛乳たんぱく 食餌性抗原 その他の高分子物質
<i>Salmonella</i>	Poliovirus 1, 2, 3		
<i>Shigella</i>	Echovirus 6, 9		
<i>Vibrio cholera</i>	Coxsackievirus A9, B3		
<i>Bacteroides fragilis</i>	Respiratory syncytial virus		
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Cytomegalovirus		
<i>Bordetella pertussis</i>	Influenza A virus		
<i>Clostridium diphtheriae</i>	Herpes simplex virus		
<i>Clostridium tetani</i>	Arboviruses		
<i>Streptococcus mutans</i>	Semlike Forest Ross River Japanese B Dengue		

J鎖が遺伝学的に安定していることを示している。

ヒト初乳 IgA (分子量 385,000, 沈降係数 115 S) を還元アルキル化すると分子量 159,000 のダイマー IgA 2分子と 75,500 の SC 1分子が解離する [33]。一方、ヒトの初乳中には IgA 分子と結合していない遊離 SC も存在しているが、SIgA の SC と同じで約15%の糖を含むポリペプチドである [33]。ヒトあるいはウシ乳汁中から単離した SC は *in vitro* でヒトやマウスのミエローマ IgA と結合するばかりでなくウシ、ヒツジ、ヤギ、ブタ、イヌ、ウマ、モルモットの血清ダイマー IgA と結合する。又、遊離 SC はヒト、ウシ、ヒツジ、ヤギ、イヌ、ウマの IgM とも結合する [41]。このように SC はポリマー型 Ig と特異的に結合する性質がある。最近、ウサギの SC 前駆体をコードしている mRNA の cDNA の塩基配列が調べられ、SC に相当する部分に Ig ドメインの K 鎖可変領域、H 鎖 V 領域、ラットの Thy-1 抗原と相同性の高い構造が見い出されている [51]。遊離 SC はトリプシンあるいはキモトリプシン処理によって分解されるが、SIgA 分子に結合している SC はこのような酵素処理に抵抗することから、SC は SIgA の分子構造を強固にするため必要と考えられている [35]。SC は IgA とは独立して粘膜上皮細胞で産生されるので出生時は勿論のこと80日齢胎児でも検出される [2]。

ブタの初乳中 IgG と IgM の90%は血清に由来し、IgA もその40%は血清から移行する [9]。常乳では

IgA と IgM の90%、IgG の70%は乳腺局所で合成分泌される。分娩時におけるブタの乳清たんぱくの60%以上は1gから成り、その約80%は IgG で哺乳によって新生豚に移行する [65]。IgG ならびに IgM 濃度は分娩後2-3日以内に急激に低下し、約1/10となる [65]。これに反し、IgA 濃度は1/2~1/3に低下するに止まり母乳の主要な Ig となって新生豚の腸管感染防御に働くことになる [65]。

2. 腸管上皮細胞による乳汁免疫グロブリンの吸収

新生豚の小腸上皮細胞による母豚由来の初乳 Ig の吸収は分娩後の限定された期間内に起こる [54]。すなわち、endocytosis により上皮細胞に取り込まれる Ig は十二指腸で分娩後2時間、空腸で24時間、回腸で48時間目まで検出される。Ig の吸収停止は分娩72時間後に小腸の上部から下部にかけて進行する。しかし、Ig より巨大分子である *E. coli* (078) を分娩直後の新生豚に経口投与すると小腸粘膜上皮細胞の endocytosis 活性は高まり、結果的に敗血症に至るという報告もある [55]。小腸上皮細胞の endocytosis に高度に依存している抗体分子の透過性が一方で早発生大腸菌症の素因ともなり得ることを示唆している。

3. 乳汁免疫グロブリンの由来

乳汁中への特異 IgA 抗体の分泌は乳腺局所よりはむしろ腸管あるいは気道粘膜の抗原感作によって誘導される (表1)。例えば、ブタ乳汁中には腸管に存在する *E. coli* (O141 と O8 抗原) に対する SIgA 抗

体が検出される[64]。ヒトの初乳中でも *E. coli* (O 抗原) に対する IgA 抗体を産生するリンパ球が検出されている[1]。又、乳汁中への IgA 抗体の産生は菌体抗原ばかりでなく *E. coli* ならびに *Vibrio cholerae* によって産生されるエンテロトキシン[79]あるいは *E. coli* の吸着因子[13]についても明らかにされている。妊婦に高濃度の *E. coli* 非病原株 (083) を経口投与すると初乳中に O 抗原に対する IgA 抗体産生細胞が選択的に出現するという報告もある[19]。実際に、腸管感染症を引き起こす TGE ウイルスでは自然感染あるいは実験感染した場合に産生される乳汁抗体は SIgA である[73]。強毒ウイルスを妊娠豚に注射すると腸管感染が成立する場合としない場合があり、乳汁への SIgA 抗体は腸管感染が成立したときのみ産生される[7]。これらのデータは経口ルートによる腸管粘膜への抗原感作が乳汁中への抗原特異的 SIgA の出現に大きな役割を果していることを示している。

一方、消化管関連リンパ組織 (gut-associated lymphoreticular tissue: GALT) と乳腺の連鎖が IgA 産生細胞で結ばれていることを示す報告もある。たとえば、K 88⁺腸管毒素原性大腸菌 (enterotoxigenic *E. coli*: ETEC) を妊娠豚に経口投与すると抗 K88 抗体をコードしている mRNA を含むリンパ球が泌乳汁に検出される[38]。又、K 88 抗原と反応するリンパ球が泌乳中の乳腺リンパ節から選択的に検出されるが、泌乳の停止に伴って検出されなくなる[39]。このようにブタの場合も GALT 感作リンパ球の乳腺への選択的移動機構がある。

一方、非妊娠マウスにプロゲステロン、エストロゲンおよびプロラクチンを混合投与すると妊娠末期のそれと同じように乳腺が発達し、上皮細胞内の IgA 濃度および IgA プラズマ細胞数は増加する[85]。これに反し、泌乳マウスにテストステロンを投与すると乳腺の発達は抑制され、乳腺粘膜の IgA プラズマ細胞数ならびに上皮細胞内 IgA 濃度は減少する[85]。腸間膜リンパ節 (MN) のリンパ芽球を妊娠末期のマウスあるいは泌乳マウスに移入すると乳腺に移動するが、非妊娠マウスの場合には移動しない[85]。乳腺に移動する MN 細胞は膜表面に IgA を保有し移入後 24 時間以内に IgA プラズマ芽細胞として乳腺組織に検出される[85]。非妊娠マウスでも上記のホルモン処理によって移入した MN リンパ芽球は乳腺組織に移動し、IgA プラズマ芽細胞として検出される。これに反し、テストステロンで処理した泌乳マウスでは MN リンパ芽球の乳腺への移動は抑制される。

このように GALT が抗原刺激を受けると IgA 前駆細胞が MN を経て乳腺に移動して新生動物の感染防御に必要な SIgA 抗体を乳汁中に分泌する[69]。泌乳していない時は小腸粘膜固有層に移動して管腔内に SIgA 抗体を産生する[69]。IgA 前駆細胞の乳腺への移動はホルモンによって調節されている。

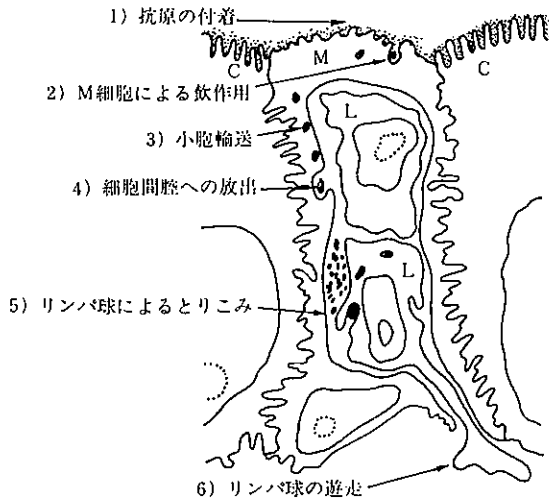
4. 乳汁による新生豚の腸管感染防御

TGE: 強毒ウイルスによる自然感染あるいは実験感染後回復した母豚の乳汁抗体は SIgA で分娩後そのレベルは余り低下しない[5, 7, 73]。これに反し、弱毒ウイルスを筋肉内又は乳腺内接種した場合には乳汁中の抗体は IgG であり分娩後 2-3 日以内に急激に低下する[5, 7]。有効な乳汁免疫は高濃度の SIgA 抗体により成立し、腸管感染に付随して誘導される[5-8]。しかし、IgG 抗体の産生を誘導する筋肉内あるいは乳腺内接種では確実な乳汁免疫は成立しない。

弱毒ウイルス (TO-163 株) による乳汁免疫の形成は接種ウイルス量と接種方法に大きく依存し、母豚に多量のウイルス ($10^{9.3}$ TCID₅₀) が筋肉-鼻腔の組合せで接種された時、新生豚に十分な防御免疫が得られ、同時に母豚自身にも免疫が成立するため、攻撃しても発病しない[31]。この場合、初乳の抗体価は極めて高かったが分娩後急速に低下した。抗体は IgG が主体であったが SIgA も含まれていた。この SIgA 抗体の産生は本ウイルスが腸粘膜でほとんど増殖せず、呼吸器粘膜でよく増殖する特性を有する[16]ことから鼻腔内に接種したウイルスが増殖して直接気管関連リンパ組織 (bronchial-associated lymphoreticular tissue: BALT) を刺激したことが考えられる。しかしながら、オーエスキー病ウイルスを経鼻接種した母豚の乳汁抗体は IgG のみである[74]。従って、TGE 弱毒ウイルスの鼻腔内大量接種による SIgA 抗体の誘導は BALT よりむしろ GALT に対する抗原刺激を反映していると考えられる。これは BALT と GALT の抗原刺激に対する反応性の差を示すものであろうか。

最近、TGE ウイルスのサブユニットを用いて強毒株に匹敵する効果を上げようとする試みがなされている。Gough ら[20]は、子豚継代イリノイ株を用い、ウイルス粒子からサブユニット (糖たんぱく) を分離しその乳汁免疫能を検討している。このサブユニットをアジュバントと混合し、1mg を分娩 6 週と 4 週前に筋肉内注射し分娩 2-7 日後、子豚を強毒株 ($10^{2.5}$ PID₅₀) で攻撃したところ、免疫母豚 24 頭から生まれた子豚 165 頭の内 4% は死亡し、28% は攻撃後 3-6 日目に

豚における腸管感染症の免疫



M=M細胞、C=円柱上皮細胞、L=リンパ球

図 2. M細胞による抗原の吸収標式[61]

軽度な下痢を示したが2日以内に回復した。残りは無症状で耐過した。母豚は発病しなかった。これに反し、対照群の母豚13頭から生まれた107頭の子豚では攻撃後24~36時間目に全頭が激しい下痢を示し、その内73%が3~6日以内に死亡した。母豚は全頭食欲不振となり、4頭は一時的に泌乳不能、3頭は激しい下痢を示し、そのうち1頭は死亡した。これまで一般に完全ウイルス粒子から成るワクチンを筋肉内注射した場合、IgG抗体だけが産生され、乳汁免疫ならびに能動免疫共に成立しないと考えられてきた。この実験では抗体のアイソタイプは検討されていないが、サブユニットの筋肉内注射で有効な乳汁免疫ばかりでなく能動免疫も成立し得ることが示されたことは注目すべきである。サブユニットによって誘導される防御免疫機構の解明と防御物質の同定が今後の重要な課題となる。

大腸菌症：ETECは細胞表面にたんぱくからなる付着因子を保有し、抗原的にK 88, K 99, 987 Pの3種が知られている[30, 87]。K 88はab, acおよびadのサブクラスに分けられる[21]。これらの付着因子はETECが子豚の小腸粘膜上皮の刷子縁に付着し病原性を発現するのに重要な役割を果している。従って、付着因子に対応する抗体はETECによる上皮細胞への付着を特異的に阻止することになる。例えば、K 88, 987 PあるいはK 99精製抗原をそれぞれ筋肉内注射した母豚から生まれた子ブタをホモ又はヘテロの菌株で経口攻撃するとホモの組合せでのみ有効な乳汁免疫が成立する[51, 56, 72]。しかしながら、乳汁抗体がほとんどIgGであるため分娩後における抗体価の低下は著しく1週齢以内で発生する早発性大腸菌症に応用できてもそれ以降に発生する白痢には期待し得ない。

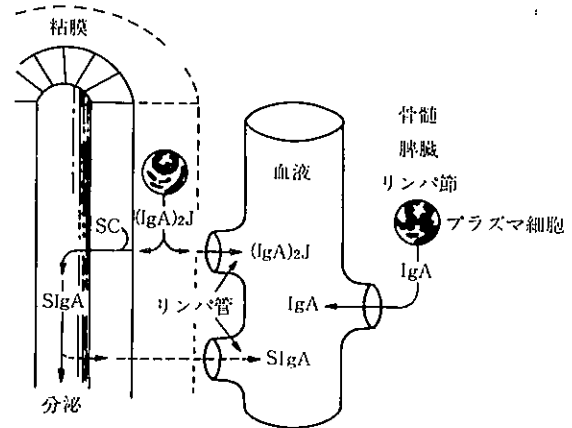


図 3. IgA の産生と分泌[25]

一方、易熱性毒素(LT)のトキソイドワクチンを母豚に筋肉内注射し、生まれた子ブタをホモ又はヘテロの菌株で攻撃すると、抗原型を越えて乳汁免疫が成立する[12]。これはLTの抗原性が各種の菌株に共通しているためである。K 88⁺ETECあるいはその加熱死菌を色々な方法で免疫し乳汁抗体と防御能との関係を検討したところ、最も有効な乳汁免疫は経口-筋肉の組合せで成立し、乳汁抗体の89%がIgMであった[68]。Evansら[14]は、上記と同じ抗原を泌乳豚に経口投与したところ、乳汁中にSIgAの抗K 88抗体が検出され、*in vitro*でその抗体はK 88⁺ETECの小腸粘膜上皮細胞への付着を阻止した。このようにETECの場合、防御活性の高いIgAあるいはIgM抗体産生の誘導は経口的に投与された抗原がGALTを刺激することによって起こる。

腸管の能動免疫機構

1. M細胞による抗原物質の吸収

パイエル氏板(PP)のドームを被う上皮細胞は形態学的に円柱状ではなく微絨毛・糖衣物質および端網層を欠き、多くの小胞をもつ微皺壁(microfolds)から成っている[60, 61]。PPのリンパ小胞を被う非円柱上皮細胞域に存在しているこれらの細胞はM細胞とよばれている。この特異上皮細胞はマウスやヒトばかりでなくブタにも存在している[10]。horseradish peroxidase (HRP)をマウスに経口投与すると1分後にHRPは円柱上皮細胞やM細胞の表面に付着し、次に細胞の小窩表面に移行する。5分後にはM細胞の小胞に検出され、1時間後にM細胞とそれを取り囲んでいるリンパ球の細胞間腔ならびにリンパ球小胞に検出される[61]。M細胞による抗原の吸収は図2に示した様式によって進行する。M細胞の細胞質は薄く細胞質外膜と内膜は接近しているためGALTは腸管腔内に抗

表 2. TGE ウイルス接種豚の小腸粘膜および脾臓リンパ球の MIF 活性[15]

豚番号	ウイルス	接種経路	接種後日数	MIF 活性(%)	
				小腸	脾臓
10—5	強毒	経口	14	79.4	68.6
402	〃	〃	22	84.1	72.6
102	〃	〃	30	68.8	51.3
2—200	弱毒	〃	6	43.9	10.3
3—200	〃	〃	7	47.7	24.3
4—491	〃	〃	7	87.3	65.9
4—200	〃	〃	8	24.6	8.9
5—491	〃	〃	8	53.4	35.6
18—6	〃	〃	12	74.7	64.0
2—1	弱毒	皮下	7	1.4	30.2
2—1	〃	〃	7	2.7	64.6
2—3	〃	〃	8	-0.9	47.9
3—4	〃	〃	8	-0.5	68.2
3—5	〃	〃	10	0.6	54.3
3—6	〃	〃	10	1.1	56.5
3—7	〃	〃	14	6.4	47.2
104	〃	〃	14	1.3	68.7
106	〃	〃	21	-0.2	71.4
109	〃	〃	21	1.9	54.6

原物質と接触しやすく抗原刺激に容易に反応する。一方、BALT が存在している気管粘膜にも M 細胞の存在が確認されているが、気道内抗原物質の吸収に関与しているのかどうか明らかではない[3]。

2. SIgA の産生と分泌

豚腸分泌液中の主要な Ig は常乳と同様 SIgA である[8, 66]。SIgA が粘膜組織で生成され管腔へ分泌される過程を図 3 に示した[25, 40]。すなわち、粘膜固有層のプラズマ細胞で産生された IgA は同時に同じ細胞で産生される J 鎖と結合してダイマー IgA となって細胞外に分泌される。一方、上皮細胞で生成された SC 前駆体はまず基底膜側の細胞膜表面に出現してダイマー IgA と結合することによってリンガンダーレセプター複合体を形成する。細胞膜上のこの複合体は endocytosis により細胞内に取り込まれ、複合体を含む小胞は上皮細胞内から管腔側へ輸送される。そして SC 前駆体は酵素処理を受け SC は膜部分から切断される。この小胞は管腔側の細胞膜で exocytosis を起こし SIgA となって管腔へ放出される。

他方、一部のダイマー IgA は胸管リンパ道を紹介

て血液に流入して血清ダイマー IgA となる。血清中のモノマー IgA はこれらの機構とは別に末梢リンパ節にある全身のプラズマ細胞によって産生される。

IgA 前駆細胞の分化は以下のデータが示すようにすべて GALT への抗原刺激に基づいて作動する。たとえば、PP は末梢リンパ節 (PN) と異なり IgA 産生細胞に分化し得る IgA 前駆細胞を豊富に含み、その細胞を X 線照射したウサギに移入すると腸管粘膜固有層に効率よく帰巢して IgA 産生細胞に分化する[11]。ラットの場合にもコレラ菌エンテロトキシンに対する IgA 産生細胞が PP に由来していることが確認されている[29]。一方、MN リンパ芽球は腸管と MN に選択的に帰巢する[44]。しかし、抗 α 鎖抗体と補体で破壊した MN リンパ芽球を X 線照射ウサギに移入するとこれらの細胞はもはや腸管に帰巢しない。このことから腸管に帰巢して IgA を産生する細胞はすでに MN の段階で膜表面に IgA を発現していると考えられる[45]。

以上のことに基づいて、TGE ウイルス感染豚の能動免疫機構について考えてみたい。TGE ウイルスに感染し耐過した豚は強固な腸管免疫を獲得し再感染に抵抗するが、弱毒ウイルスあるいは不活化ウイルスを筋肉内注射した豚は強毒ウイルス感染豚より高い血清中和抗体を産生するにもかかわらず感染防御は成立し難い。

ウイルス感染に付随する腸管局所の防御免疫機構は体液性ばかりでなく細胞性免疫についても検討されている。TGE 強毒又は弱毒ウイルスを経口接種した豚ではマクロファージ遊走阻止因子 (MIF) 活性が小腸粘膜固有層と脾臓リンパ球の両方に検出され、その程度は固有層のリンパ球で高い(表 2)[15]。これに反し、弱毒ウイルスを皮下注射した場合の MIF 活性は脾臓リンパ球にだけ検出される。一方、DNP-BGG をブタに 2 日間経口投与した場合にも MIF 活性は最初に小腸粘膜固有層のリンパ球に検出され、7 日間の経口投与で MN と脾臓のリンパ球にも検出される[28]。この場合、非増殖性抗原による短期間の経口プライミングによって腸管局所のリンパ球に MIF 活性が誘導される。

Shimizu & Shimizu[78]は、TGE ウイルス強毒株感染豚の PP, MN, 脾臓及び末梢血リンパ球のウイルス抗原に対する反応性をリンパ球幼若化試験によって検討した。その結果、ウイルス抗原と最も強く反応するリンパ球は PP と MN 由来であった(図 4)。これらリンパ球の反応性は抗豚胸腺抗体と補体で処理することによって減少し、その反応性の主体は E ロゼット

表 3. TGE ウイルス接種豚の小腸分泌液および血清の IgA 抗体応答[36]

豚番号	ウイルス	経路	接種後数	抗豚α鎖抗体による32Pラベルウイルスの沈降	
				小腸分泌液(%)	血清(%)
1	強毒	経口	7	22.5	21.0
2	〃	〃	14	46.8	59.4
3	〃	〃	21	33.9	57.2
4	〃	〃	28	38.0	63.4
5	〃	〃	35	58.2	56.7
6	〃	〃	56	46.0	38.4
7	弱毒	筋肉	7	0	0
8	〃	〃	14	0	6.7
9	〃	〃	21	0	0
10	〃	〃	28	0	6.4
11	〃	〃	35	0	0
12	〃	〃	56	0	6.3

形成細胞分画に認められた。さらに、細胞障害性リンパ球を調べたところ、PP, MN, 脾臓及び末梢血から検出された[77]。このリンパ球の細胞障害活性は抗豚胸腺抗体と補体で処理することによって減少したが、なお標的細胞に対して細胞障害活性を示した。このことは細胞障害性Tリンパ球による直接的作用の他に抗体依存性細胞障害作用のような別な機構が存在している可能性も示している。一方、Kodama ら[36]は、TGE ウイルス経口接種豚の小腸分泌液に検出される抗体のアイソタイプを調べたところ、SIgA の抗体応答だけが腸管感染に付随して認められた(表3)。TGE ウイルスによる GALT への抗原刺激は腸管局所の防御免疫形成に重要であり、その主導的役割は腸管に分泌される SIgA 抗体ばかりでなく細胞性免疫の関与も考えられる。

Furuuchi ら[17]は、弱毒ウイルス、TO-163 株が腸管で増殖しないにもかかわらず、その経口接種によって新生豚の腸管局所に防御免疫が成立することを明らかにしている。この免疫は飼育環境温度に依存し常温(+18~22°C)で飼育した時はウイルス接種3~4日後に免疫が成立するが、高温(+31~34°C)の場合には全く成立していない。前者では接種ウイルスが常にMNから検出されるが、後者では検出されないことからMNでのウイルス増殖が新生豚の防御免疫発現に重要であると考えているがその免疫機構は明らかではない。

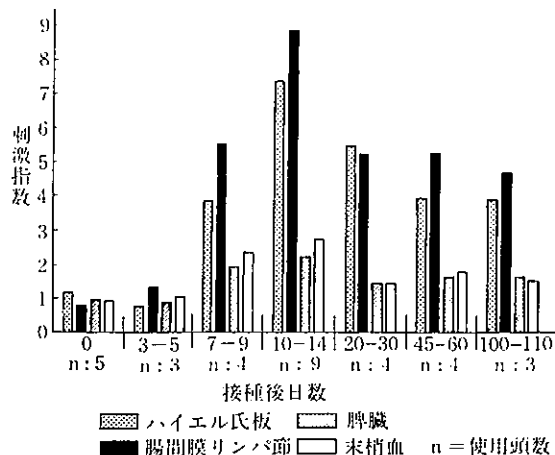


図 4. TGE ウイルス感染豚におけるリンパ球の幼若化[78]

3. 消化管関連リンパ組織への抗原刺激と血清 IgA Kodama ら[36]は、TGE ウイルスを経口接種した豚では小腸分泌液ばかりでなく血清にも IgA 抗体が検出される。ショ糖密度勾配超遠心によって得られた血清 IgA 抗体の分子サイズは 7S と 10.9S の間でそのほとんどがポリマーであることから GALT に由来していると考えている。攻撃試験の結果は血清中和抗体価と防御能とは全く相関しないが、血清 IgA 抗体価とは強く相関することを示した[37] (表4)。

一方、Svennerholm ら[80]は、精製コレラトキシンをマウスに経口又は静脈内に投与し、血中及び腸管分泌液に産生される抗体のアイソタイプと防御能との関係を検討している。その結果、腸管分泌液及び血清 IgA の抗体価と防御能とは相関したが、IgM あるいは IgG 抗体価とは相関しなかった。

さらに、腸管粘膜に強い親和性を有する膜結合たんぱく、コレラトキシンBをマウスの十二指腸内に投与すると最も強い血清 IgA 応答が誘導された[23]。しかしながら、膜糖たんぱくと中程度に結合する DNP-peanut agglutinin ではその応答は弱く、それとほとんど結合しない DNP-ovalbumin ではその応答は認められなかった。GALT への抗原刺激によって誘導される血清 IgA はこのように腸管粘膜局所の防御能を反映しているため、ワクチンの効果を血清 IgA 抗体によって評価することができる。

消化管関連リンパ組織と共通粘膜免疫系の連鎖

1. 共通粘膜免疫系の概念

近年、GALT への抗原刺激が色々な粘膜部位に SIgA 抗体の産生と分泌を誘導することを示すデータが蓄積されつつある。そして、これらのデータは共通粘膜免疫系 (common mucosal immunologic system)

表 4. TGE ウイルス接種豚の血清中和抗体価あるいは IgA 抗体価と感染防御能との関係[37]

豚番号	ウイルス	接種経路	接種後数	感染防御	攻撃時の血清	
					中和抗体価	IgA 抗体価
40	強毒	経口	18	+	128	64
41	"	"	18	+	256	32
42	"	"	18	+	64	32
43	"	"	18	+	64	8
44	"	"	21	+	128	512
45	"	"	21	+	128	32
46	"	"	21	+	128	128
47	"	"	21	+	128	64
48	"	"	80	+	32	16
49	"	"	80	+	2	16
50	"	"	80	+	2	16
51	"	"	120	+	64	32
52	"	"	120	+	64	16
53	弱毒	筋肉鼻腔	80	-	512	<2
54	"	"	80	-	512	<2
55	"	"	80	-	256	<2
56	"	"	80	-	512	<2
57	"	"	140	-	512	<2
58	"	"	140	-	256	<2
59	"	"	140	-	256	<2
60	"	"	140	-	512	<2
61	"	"	200	-	128	<2
62	"	"	200	-	512	<2
63	"	"	200	-	64	<2
64	"	"	200	-	256	<2

の概念を確立した。以下にその具体的な実験例を紹介する。

ウサギに DNP-BGG あるいは DNP-Pn 抗原を胃内に投与すると血清抗体は全く検出されないが、SIgA 抗体は小腸分泌ばかりでなく乳汁・唾液及び気管に検出される[49]。マウスにインフルエンザウイルス(A/PR/8/34)を経口接種するとその後、気管粘液に特異抗体が産生され気管粘膜に防御免疫が成立する[84]。

さらに、HA 成分のみを含有するカプセルワクテンをヒトに経口投与すると血清抗体の産生を伴わずに気管粘液に特異抗体の産生が誘導される[84]。ラットに *Streptococcus mutans* 死菌抗原を経口投与すると唾液及び乳汁に SIgA 抗体が検出される[48]。攻撃試験

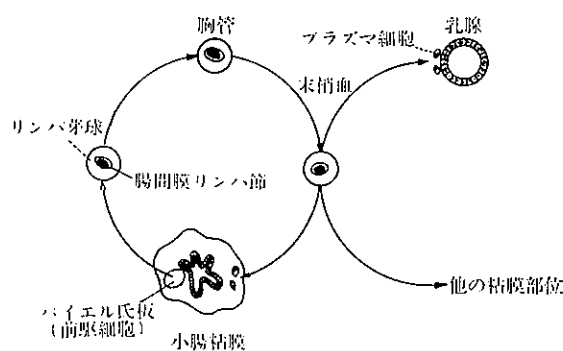


図 5. IgA 産生細胞の移動サイクル[69]

の結果は唾液中の SIgA 抗体価が高い例では虫歯形成が防御される。実際に、ヒトにゼラチンコーティングした死菌を経口投与すると唾液ばかりでなく涙にも SIgA 抗体が検出される[47]。しかし、いずれの場合にも血清抗体の応答は認められていない。

GALT の IgA 前駆細胞は抗原刺激を受けた後、MN を経て末梢血に移行し、そして小腸粘膜に帰巢する。また小腸粘膜ばかりでなく乳腺、生殖器粘膜、気管あるいは唾液腺などの粘膜組織全体に移動して IgA 産生細胞となる。たとえば、DNP-Pn 抗原をラットの胃内に投与すると MN リンパ芽球は小腸のみならず唾液腺、涙腺などにも移動して IgA 産生細胞となる[50]。同様に、フェリチン抗原を経口投与したマウスの MN あるいは末梢リンパ節 (PN) 細胞を非免疫マウスにそれぞれ移入すると、MN に由来する IgA 抗体産生細胞は小腸粘膜ばかりでなく乳腺、唾液腺あるいは気管粘膜にも検出される[86]。しかし、PN に由来する IgA 産生細胞は検出されない。さらに、MN 細胞は X線照射マウスの腸管や乳腺以外に腔や子宮粘膜にも移動して IgA を産生する[42]。とくに、MN 細胞の生殖粘膜への移動は次に示すように性周期に強く依存している。発情期のマウスに MN 細胞を移入すると大多数の細胞は子宮や腔粘膜にも移動して IgA を産生する[43]。一方、発情を停止したマウスにそれを移入した場合にはこれらの生殖粘膜には移動しないが、腸管には移動して IgA を産生する。

以上の実験データを要約すると図 5 のようになる[69]。すなわち、(1) IgA 前駆細胞は PP で抗原と接触する。(2) この前駆細胞は MN を離れる前 (多分 PP で) IgA 産生を委任される。(3) これらの細胞は MN に移動してそこで分化する。(4) 胸管から末梢血を経てこれらの細胞は小腸粘膜固有層に到達して IgA プラズマ細胞に分化する。(5) 妊娠後期から泌乳

中の場合にはこれらの細胞は乳腺組織にも移動してプラズマ細胞に分化する。(6)発情期の場合には腔や子宮粘膜組織にも移動して IgA を産生する。(7) GALT は唾液腺、涙腺あるいは気管粘膜などにも IgA-B リンパ球を供給する。

ブタの代表的腸管感染症である TGE の能動免疫機構も PP を起点とした IgA 産生細胞の腸管及び乳腺への移動によって説明することができる。

2. SIgA の 2 次免疫応答

コレラ菌精製毒素をラットの十二指腸内に投与すると空腸粘膜固有層に IgA 抗体産生細胞が出現し、経ロブスターによりその細胞数は顕著に増加する[63]。Streptococcus mutans 抗原をヒトに経口投与すると血清抗体の産生を伴わず選択的に唾液と涙に SIgA 抗体が産生され、経ロブスターによりそのレベルは急激に上昇する[47]。又、Shigella flexneri 生菌をウサギの回腸ループに接種すると特異 IgA 抗体が産生され、同一部位への再接種によりその抗体価は著しく上昇する[32]。一方、コレラ菌あるいはその O 抗原で経ロプライミングしたマウスにブスター注射すると腸管局所に強い防御免疫が誘導される[4, 26]。コレラ菌 B サブユニットの場合でも同様な結果が得られる[83]。ラットに E. coli (O6:K13:H1) 生菌あるいは死菌で経ロプライミングした後ブスター注射すると唾液中に高濃度の IgA 抗体が検出される[24]。ポリオウイルスに自然感染して乳汁に SIgA 抗体が検出される婦人に不活化ワクチンを注射すると乳汁の SIgA 抗体価は急激に上昇する[82]。コレラ菌の場合も自然感染して乳汁に SIgA 抗体が検出される婦人にワクチン注射すると乳汁ばかりでなく唾液中の SIgA 抗体価は急激に上昇する[81]。

このように経ロプライミングはブスターが経口であろうと筋肉ルートであろうと腸管局所ばかりではなく乳汁、唾液あるいは涙などのいわゆる共通粘膜免疫系にも 2 次免疫応答が誘導される。これは粘膜感染症に対するワクチン接種の場合に経ロプライミングの重要性を示している。

3. 経ロアジュバントによる SIgA 応答の増強

リポソームは極端な pH、胆汁酸塩あるいはリパーゼに抵抗するため経腸薬のキャリアとして適当である[70]。リポソームでコーティングした Streptococcus mutans 全菌体あるいはその細胞壁をラットの胃内又は十二指腸内に投与すると唾液中の SIgA 抗体応答は抗原単独投与のそれに比較して著しく増強される[52, 71]、BSA でも同様なことが報告されている[18]。

このように経ロアジュバントは血清抗体の応答を伴わずほぼ選択的に共通粘膜免疫系に SIgA 抗体の産生を誘導する。経ロアジュバントによって局所免疫応答が増強される機構は不明であるが、リポソームでコーティングされた抗原が PP の M 細胞に固着することによって Mφ による抗原の取り込み→処理→抗原提示が効率よく進行すると考えられている[18]。

おわりに

欧米ではすでに遺伝子組換え技術によって作出されたブタ大腸菌症のワクチンが実用化されている。最近、TGE ウイルスのスパイクたんぱく、gp 195 をコードしている遺伝子のクローニングが成功したことから TGE-vaccinia recombinant ウイルスの作出が試みられるようになった[27]。わが国でも、遺伝子操作によるワクチンの研究は飛躍的に進歩すると考えられるが、一方ではワクチンの投与方法が局所免疫機構を基盤にして検討されなければならない。筆者はこの小論文の中でその考えを整理したつもりである。とくに、共通粘膜免疫系の概念は局所感染症のワクチン開発に大きなインパクトを与えるのであろう。

最後に非特異的免疫の発現に腸内菌叢が関与していることを述べておきたい。Bifidobacterium thermophilum のペプチドグリカンを生豚に経口投与すると小腸粘膜の IgA 保有細胞が増加し、下痢の発生頻度は著しく低下する[58]。一方、正常腸内菌叢を保有するモルモットに溶菌酵素を経口投与すると体液性免疫ばかりでなく細胞性免疫も増強される[57]。このことから小腸のリーベルキューン腺に分布している Paneth 細胞によって分泌された溶菌酵素が腸内の細菌叢に作用して多様なペプチドグリカンが日常的に生成され、それらが抗原刺激となって生体の非特異的免疫機能を調節している可能性が考えられている[57]。

しかしながら、腸管の非特異的免疫の研究は緒についたばかりであるが、この分野の研究を通して近い将来哺乳期に被害の大きい局所感染症の対策として免疫強化剤の開発も期待されている。

論文の御校閲を賜った農林水産省家畜衛生試験場清水悠紀臣博士に深甚の謝意を表します。又、論文作成にあたり御協力をいただいた当所石井博士に謝意を表します。

文 献

1. Ahlstedt, S., Carlsson, B., Hanson, L. A., and Goldblum, R. M. 1975. *Scand. J. Immunol.* 4: 535-539.
2. Allen, W. D., and Porter, P. 1973. *Immunol.* 24:

豚における腸管感染症の免疫

- 493-501.
3. Bienenstock, J., Johnston, N., and Perey, D. Y. E. 1973. *Lab. Invest.* 28: 686-692.
 4. Bloom, L., and Rowley, D. 1979. *Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci.* 57: 313-323.
 5. Bohl, E. H., Gupta, R. K. P., Olquin, M. V. F., and Saif, L. J. 1972. *Infect. Immun.* 6: 289-301.
 6. Bohl, E. H., Frederick, G. T., and Saif, L. J. 1975. *Am. J. Vet. Res.* 36: 267-271.
 7. Bohl, E. H., and Saif, L. J. 1975. *Infect. Immun.* 11: 23-32.
 8. Bourne, F. J., Pickup, J. and Honour, J. W. 1971. *Biochim. Biophys. Acta.* 229: 18-25.
 9. Bourne, F. J., and Curtis, J. 1973. *Immunol.* 24: 157-162.
 10. Chu, R. M., Glock, R. D., and Ross, R. F. 1979. *Am. J. Vet. Res.* 40: 1720-1728.
 11. Craig, S. W., and Cebra, J. J. 1971. *J. Exp. Med.* 134: 188-200.
 12. Dorner, F., Mayer, P., and Leskova, R. 1980. *Zbl. Vet. Med. B.* 27: 207-221.
 13. Edén, C. S., Carlsson, B., Hanson, L. A., Jann, B., Jann, K., Korhonen, T., and Wadström, T. 1979. *Lanket.* 2: 1235-1236.
 14. Evans, P. A., Newby, T. J., Stokes, C. R., Patel, D., and Bourne, F. J. 1980. *Scand. J. Immunol.* 11: 419-429.
 15. Frederick, G. T., and Bohl, E. H. 1976. *J. Immunol.* 116: 1000-1004.
 16. Furuuchi, S., and Shimizu, Y. 1976. *Infect. Immun.* 13: 990-992.
 17. Furuuchi, S., Shimizu, Y., and Kumagai, T. 1976. *Am. J. Vet. Res.* 37: 1401-1404.
 18. Genco, R. J., Linzer, R., and Evans, R. T. 1983. pp. 650-668. *In: The secretory immune system.* (McGhee and Mestecky, eds.). Annals New York Academy of Sciences, vol 409.
 19. Goldblum, R. M., Ahlstedt, S., Carlsson, B., Hanson, L. A., Jodal, K., Lidin-Janson, G., and Sohl-Ackerlund, A. 1975. *Nature* 257: 797-799.
 20. Gough, P. M., Frank, C. J., Moore, D. G., Sagona, M. A., and Johnson, C. J. 1983. *Vaccine* 1: 37-41.
 21. Guinée, P. A. M., and Jansen, W. H. 1979. *Infect. Immun.* 23: 700-705.
 22. Halpern, M. S., and Koshland, M. E. 1970. *Nature* 228: 1276-1282.
 23. Halsey, M. F., Mitchell, C. S., and McKenzie, S. J. 1983. pp. 452-460. *In: The secretory immune system.* (McGhee Mestecky, eds.). Annals New York Academy of Sciences, vol 409.
 24. Hanson, L. A., Shistedt, S., Andersson, B., Carlsson, B., Cole, M. F., Cruz, J. R., Dahlgren, U., Ericsson, T. H., Jalil, F., Khan, S. R., Mellander, L., Schneerson, R., Edén, C. S., Söderström, T., and Wadsworth, C. 1983. pp. 1-21. *In: The secretory immune svstem.* (McGhee and Mestecky, eds.). Annals New York Academy of sciences. vol 409.
 25. Heremans, J. F. 1974. pp. 452. *In: The antigens.* (Michael, eds.). Academic Press. New York. vol 2.
 26. Horsfall, D. J., and Rowley, D. 1979. *Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci.* 57: 75-85.
 27. Hu, S., Bruszewski, J., Smalling, R., Boone, T., and Browne, J. K. 1984. Sixth. Int. Cong. Virol. 263.
 28. Huntley, I. Newby, T. J., and Bourne, F. J. 1979. *Immunol.* 37: 225-230.
 29. Husband, A. M., and Gowans, J. L. 1978. *J. Exp. Med.* 148: 1146-1160.
 30. Isaacson, R. E., Fusco, P. C., Brinton, C. C. and Moon, H. W. 1978. *Infect. Immun.* 21: 392-397.
 31. Kaji, T., and Shimizu, Y. 1978. *Natl. Inst. Anim. Health (Q).* (Jpn.) 18: 43-52.
 32. Keren, D. F., Collins, H. H., Gemski, P., Holt, P. S., and Formal, S. B. 1981. *Infect. Immun.* 31: 1193-1202.
 33. Kobayashi, K. 1971. *Immunochemistry.* 8: 785-800.
 34. Kobayashi, K., Vaerman, J. P., Bazin, H., Lebacq-Verheyden, A. M., and Heremans, J. F., 1973. *J. Immunol.* 111: 1590-1594.
 35. Kobayashi, K., Vaerman, J. P., and Heremans, J. F. 1973. *Immunochemistry* 10: 73-80.
 36. Kodama, Y., Ogata, M., and shimizu, Y. 1980. *Am. J. Vet. Res.* 41: 740-745.
 37. Kodama, Y., Ogata, M., and Shimizu, Y. 1981. *Am. J. Vet. Res.* 42: 437-442.
 38. Kortbeek-Jacobs, N., and van der Donk, H. 1981. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 2: 441-451.
 39. Kortbeek-Jacobs, J. M. C., van Kooten, P. J. S., van der Donk, J. A., van Dijk, J. E., and Rutten, V. P. 1984. *Vet. Microbiol.* 9: 287-299.
 40. Kühn, L. S., and Kraehenbuhl, J. P. 1982. *Trends Biochem. Sci.* 7: 299-302.
 41. Mach, J. P. 1970. *Nature.* 228: 1278-1282.
 42. McDermott, M. R., and Bienenstock, J. 1979. *J. Immunol.* 122: 1892-1898.
 43. McDermott, M. G., Clark, D. A., and Bienenstock, J. 1980. *J. Immunol.* 124: 2536-2539.
 44. McWilliams, M., Phillips-Quagliata, I. M., and Lamm, M. E. 1975. *I. Immunol.* 115: 54-58.
 45. McWilliams, M., Phillips-Quagliata, J. M., and Lamm, M. E. 1977. *J. Exp. Med.* 145: 866-875.
 46. Mestecky, J., Zikan, J., and Butler, W. T. 1971. *Science* 1171: 1163-1165.
 47. Mestecky, J., McGhee, J. R., Arnold, R. R., Michalek, S. M., Prince, S. J., and Babb, J. L. 1978. *J. Clin. Invest.* 61: 731-737.

48. Michalek, S. M., McGhee, J. R., and Babb, J. L., 1978. *Infect. Immun.* 19: 217-224.
49. Montgomery, P. C., Connelly, K. M., Cohen, C., and Skandera, C. A. 1978. *Adv. Exp. Med. Biol.* 107: 113-122.
50. Montgomery, P. C., Ayyildiz, A., Lemaitre-Coelho, I. M., and Vaerman, J. P. 1983. pp. 428-440. *In: The secretory immune svstem. (McGhee and Mestecky. eds.). Annals New York Academy of Sciences.* vol 409.
51. Morgan, R. L., Isaacson, R. E., Moon, H. W., Brinton, C.C., and To, C.C. 1978. *Infect. Immun.* 22: 771-777.
52. Morisaki, I., Torii, M., Hamada, S., McGhee, J. R. and Michalek, S. M. 1983. pp. 851-852. *In: The secretory immune system. (McGhee and Mestecky. eds.). Annals New York Academy of Sciences.* vol 409.
53. Mostov, K., Friedlander, M., and Blobel, G. 1984. *Nature* 308: 37-43.
54. Murata, H., and Namioka, S. 1977. *J. Comp. Pathol.* 87: 431-439.
55. Murata, H., Yaguchi, H., and Namioka, S. 1979. *Infect. Immun.* 26: 339-347.
56. Nagy, B., Moom, H. W., Isaacson, R. E., To, C. C., and Brinton, C. C. 1978. *Infect. Immun.* 21: 269-274.
57. Namba, Y., Hidaka, Y., Taki, K., and Morimoto, T. 1981. *Infect. Immun.* 31: 580-583.
58. Namioka, S., Kumeda, Y., Kawano, T., Wang, C. T., Naha, Y., and Murakami, K. 1982. *Br. Vet. J.* 138: 155-157.
59. Ogra, P. L., Losonsky, G. A., and Fishaut, M. 1983. on. pp. 82-95. *In: The secretory immune svstem. (McGhee and Mestecky. eds.). Annals New York Academy of Sciences.* vol 409.
60. Owen, R. L., and Jones, A. L. 1974. *Gastroenterol.* 66: 189-190.
61. Owen, R. L., 1977. *Gastroenterol.* 72: 440-451.
62. Pery, P. 1976. *Recl. Med. Vet. Ec. Alfort.* 152: 149-155.
63. Pierce, N.F. 1978. *J. Exp. Med.* 148: 195-206.
64. Porter, P. 1969. *Immunol.* 17: 617-626.
65. Porter, P., Noakes, D. E., and Allen, W. D. 1970. *Immunol.* 18: 245-257.
66. Porter, P., Noakes, D. E., and Allen, W. D. 1970. *Immunol.* 18: 909-920.
67. Porter, P. 1973. *Immunol.* 24: 163-176.
68. Porter, P., and Linggood, M. 1983. *J. Infect.* 6: 111-121.
69. Roux, M. E., McWilliams, M., Phillips-Quagliata, J. M., Weisz-Carrington, P., and Lamm, M. E., 1977. *J. Exp. Med.* 146: 1311-1322.
70. Rowland, R, N., and Woodley, J. F. 1980. *Biochim. Biophys. Acat.* 620: 400-409.
71. Rubin, D. H., Anderson, A. O., and Lucis, D. 1983. pp. 866-870. *In: The secretory immune svstem. (McGhee and Mestecky. eds.). Annals New York Academy of Sciences.* vol 409.
72. Rutter, J. M., Jones, G. W., Brown, G. T. H., Burrows, R. M., and Luther, P. D. 1976. *Infect. Immun.* 13: 667-676.
73. Saif, L. J., Bohl, E.H., and Gupta, R. K. P. 1972. *Infect. Immun.* 6: 600-609.
74. Saif, L.I., and Bohl, E.H. 1977. *Infect. Immun.* 16: 961-966.
75. Schrohenloher, R. E., Mesteckey, J., and Stanton, T. H. 1973. *Biochim. Biophys. Acta.* 295: 576-581.
76. 清水悠紀臣. 1976. 代謝. 13: 57-65.
77. Shimizu, M., and Shimizu, Y. 1979. *Am. J. Vet. Res.* 40: 208-213.
78. Shimizu, M., and Shimizu, Y. 1979. *Infect. Immun.* 23: 239-243.
79. Stoliar, O. A., Kaniecki-Green, E., Pelley, R. P., Klaus, M. H., and Carpenter, C. C. J. 1976. *Lancet* 1: 1258-1261.
80. Svennerholm, A. M., Lange, S., and Holmgren, J. 1978. *Infect. Immun.* 21: 1-6.
81. Svennerholm, A. M., Honson, L. A., Holmgren, J., Lindblad, B. S., Nilsson, B., and Quereshi, F. 1980. *Infect. Immun.* 30: 427-430.
82. Svennerholm, A. M., Hanson, L. A., Holmgren, J., Jalil, F., Lindblad, B. S., Khan, S. R., Nilsson, A., and Svennerholm, B. 1981 *J. Infect. Dis.* 143: 707-711.
83. Svennerholm, A. M., Molmgren, J., Sack, D. A., and Bardhan, P. K. 1982. *Lancet* 1: 305-307.
84. Waldman, R. H., Stone, J., Lazzell, V., Bergmann, K. C., Khakoo, R., Jacknowitz, A., Howard, S., and Rose, C. 1983. pp. 510-516. *In: The secretory immune svstem. (McGhee and Mestecky. eds.). Annals New York Academy of Sciences.* vol 409.
85. Weisz-Carrington, P., Roux, M. E., McWilliams, M., Phillips-Ouagliata, J. M., and Lamm, M. E. 1978. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 75: 2928-2932.
86. Weisz-Carrington, P., Roux, M., McWilliams, M., Phillips-Quagliata, J., M., and Lamm, M. E. 1979. *J. Immunol.* 123: 1705-1708.
87. Wilson, M. R., and Hohmann, A. W. 1974. *Infect. Immun.* 10: 776-782.
88. Zikan, J. 1973. *Immunochemistry.* 10: 351-354.