

1992. 9. 30 - 10. 2

第114回 学術医学会 氏

W-17-9

腸管粘膜における下痢原性大腸菌の感染機序

○中澤宗生、大宅辰夫、末吉益雄、播谷 亮¹、久保正法¹、(家畜衛試・九州、¹家畜衛試)

下痢の原因となる大腸菌は下痢原性大腸菌と総称される。その腸管感染の様式は①付着因子を介して微絨毛に定着しエンテロトキシンを産生する、②菌体が直接上皮細胞に密着し微絨毛を破壊する、③上皮細胞内に侵入しそれを破壊する、に大別される。このうち、ウシ、ブタの下痢に関与する主なものは様式①の毒素原性大腸菌(ETEC)と②のベロ毒素産生性大腸菌(VTEC)および動物の腸管病原性大腸菌(animal EPEC)である。両者の感染像は実験感染の結果を中心に要約すると以下のとおりである。

付着因子保有ETEC(O147:F4⁺,LT⁺)を新生ブタに経口投与すると、約6時間後から水様性下痢がみられ、投与菌は主に空腸から回腸にかけて定着し、腸管10cmの粘膜から10⁹個分離される。電顕観察では、菌は微絨毛上に遊離して位置し、線毛が微絨毛の先端に接触する像がみられる。また、菌の上皮細胞内侵入や微絨毛の破壊はない。これに対し、付着因子欠損ETEC(O147:F4⁻,LT⁻)を新生ブタに投与した場合、小腸内定着像および下痢は認められない。このように、ETECの感染では線毛性付着因子の存

在が特に重要である。しかし、線毛は宿主特異性を有し、感染の成立には宿主側の要因(例えばレセプターの存否、日齢など)が大きく関わっている。

一方、VTECおよびEPECの感染でみられる粘膜の変化はattaching-effacing (AE)病変と呼ばれ、このような大腸菌はAEECとも称される。付着因子はこれまでのところ不明であるがVTEC(O5,VT1)を子ヤギに経口投与すると、約56時間後から粘液性下痢がみられ、投与菌は主に盲腸から結腸にかけて定着し、腸管5cmの粘膜から10⁶個分離される。電顕観察では、菌付着上皮の微絨毛は萎縮、消滅し、細胞膜は凹凸が顕著で台座様形態がみられる。菌の密着部位直下の細胞質にはアクチン線維の集積がおこる。また、菌の定着部位に一致して、好中球の浸潤、上皮細胞の変性がみられ、軽度の大腸炎が観察される。

元来、AE病変はヒトEPECに特有の感染像と考えられていたが、AE病変を伴う下痢がウシやブタで散見されることから、今後の研究により本菌の定着機序を解明する必要がある。

W-17-10

新生牛の腸管感染症に対する卵黄特異抗体の防御効果

○池森 豊、黒木 雅彦、横山 英明、ロバート・ベラルタ、兒玉 義勝(岐阜免疫研)

鳥類の卵黄中には移行抗体として、多量のIgGが含まれていることは周知の事実であるが、卵黄からの抗体の抽出方法などについて未解決の問題が多く、まだ実用化されるに至っていない。我々は腸溶性ポリマーであるメタアクリル酸コポリマーやヒドロキシプロピルメチルセルロースフタレート(HPMCP)を卵黄液に添加することによって、卵黄中の水溶性蛋白質(IgG)を高率に回収できることを見出し、毒素原性大腸菌(ETEC)の線毛抗原に対する卵黄由来抗体が仔豚の下痢症に有効であることを報告してきた(Infect. Immun. 1992)。今回は牛の大腸菌下痢症を中心とし、ロタウイルスについても若干の試験成績を紹介したい。

ETEC 431株の熱抽出K99線毛抗原を産卵鶏に免疫し抗体含有卵を得た。この卵黄にHPMCPを0.5%添加し、その上清を0.45μmのフィルターで濾過後、スプレードライヤーにより抗体原末とした。本抗体のETECに対する予防効果を新生牛を用いた感染実験により評価した。ETEC B44株10¹¹CFU/頭の経口接種に対し、凝集抗体価800倍以上の抗体投与群の仔

牛は全頭生存し、対照群では全頭死亡した。抗体投与群では増体率も良好であった。このように本抗体の最少有効量が800倍と低いことから、その原因について検討を行った。精製K99線毛、又は市販大腸菌ワクチン免疫牛の血清、又は初乳と本抗体を用いて、ELISAにより各抗体の線毛抗原への結合力の差を調べたところ、卵黄由来抗体が抗原と有意に強く結合することが判った。これは、鶏に多量の抗原を頻回免疫したために、抗原への結合力が増加したことによると思われる。又、哺乳類、鳥類を問わずIgG抗体は低いpH域で容易に失活し、経口投与における問題点となっているが、本抗体原末は人工胃液(pH 1.29)中でも安定していた。抗体の抽出に用いた腸溶性ポリマーにより抗体がある程度コーティングされ、酸から保護されたものと考えられる。

これらのことから、感染防御に関係する特定の抗原を産卵鶏に免疫して得られた鶏卵抗体を新生牛に経口投与することによって、下痢症の経済的損耗を防止する可能性が示唆された。

W-17-11

粘膜感染症に対する経口ワクチンの開発

兒玉 義勝(岐阜免疫研)

抗生物質及び合成抗菌剤は、下痢症並びに肺炎対策として生産量の約80%以上が経口ルートで使用されていると言われている。そのため、生産者は多剤耐性菌、残留性等の問題で悩まされ、消費者はより安全な畜産物を求める傾向にある。

これらの抗菌剤に代わる呼吸器感染症及び腸管感染症に対応するワクチンは既に開発されているが、これらのワクチン接種によって誘導される抗体の主体がIgGであるため、その効力発現には限界が感じられる。

近年、GALT(gut-associated lymphoreticular tissue)への抗原刺激によって腸管、呼吸器、泌尿生殖器などの粘膜組織並びに乳腺、唾液腺、涙腺などの分泌腺にポリマー-IgA抗体の産生と分泌を誘導する機構(common mucosal immunologic system)の存在が明確となった。この機構を基盤として、粘膜感染症に対する経口ワクチンの研究開発が各国で行われるようになった。特に、GALTへの抗原刺激には経口

的に投与された抗原が胃液によって抗原性を失うことなく小腸粘膜に分布しているパイエル氏板のドームを破る細胞から徐々に吸収されることが前提となる。そのため、抗原性物質に使用可能なDDS(Drug-Delivery-System)の開発が急務とされている。

一方では、ポリマー-IgA抗体の産生を選択的に誘導可能なコレラトキシンBサブユニット等の経口アジュバントの素材研究も重要な研究課題である。

経口ワクチンの実用化技術の確立によって

- ①ポリマー-IgA抗体の産生が誘導できる、
 - ②注射と異なりストレスが軽減できる、
 - ③ワクチン接種の手間が省力化できる、
 - ④副作用が軽減できる、
- などの利点が期待できる。

「肺炎及び下痢症」のワークショップの中で、経口ワクチン開発に係るこれらの問題点を整理してみたいと思う。