総　説

粘膜免疫機構に立脚した家畜感染症予防を考える
＝乳房炎の粘膜ワクチンを例にして＝

林　智人

（独）農業・食品産業総合研究機構　動物衛生研究所　寒地酪農衛生研究領域
（〒 062-0045　北海道札幌市豊平区羊ヶ丘 4）

［はじめに］

動物の生命は高度で複雑なシステムで維持されている。そのシステムの中でも生体を多種多様な抗原やアレルゲンあるいは病原性微生物などの「異物」から守る中心的な役割を果たしているのが免疫である。免疫を担当するリンパ関連組織は、個体の各所の組織・臓器に分布して存在し、それぞれの部位においてそれら異物と常に遭遇し、その異物が生体にとって必要ないと判断した場合、まず各所の自然免疫を発動させて積極的な排除をおこなっている。

従来の免疫学の研究には、骨髄や胸腺などの中枢性の一次リンパ組織の機能に関するものや、免疫担当細胞の特異性や多様性を生み出すしくみに関するものなど、いわゆる「全身免疫系」における研究が多くみられた。しかし実際には、異物、特に病原性微生物と遭遇する場となるところは、呼吸器、消化器に代表される外界と直接接触する生体表層部の「粘膜」面であることが多く、そこで働く免疫応答の重要性が近年になり理解されつつある。ヒトやマウスにおいて、全身性に働く全身免疫系とは異なった粘膜部位固有の「粘膜免疫系」が存在することが次々と明らかにされてきている。

各粘膜部位では、その部位により異なった抗原や微生物と接触することから、その部位に特化した感染防御機能が獲得されている。その固有の粘膜免疫機構の解明と理解は、既にヒトの医療において「その部位を感染から守る粘膜ワクチン」の開発に応用されはじめている。今後、家畜でも各所の粘膜免疫機構が理解されてくれば、粘膜免疫に立脚した家畜それぞれの感染症予防法の開発にもつながるものと期待される。

本稿では、主にヒトで明らかにされてきた「粘膜免疫機構」を特徴づける概念を解説するとともに、粘膜免疫から見た「ウシの乳腺を守る乳房炎ワクチン」の考え方についても若干述べたい。なお本稿は、2008 年 12 月本学会誌（当時は研究会誌）の著者による「粘膜免疫の基礎＝全身性免疫と粘膜免疫＝」の記述に、ここ 5 年余りで得られた知見を新たに加えて解説したものである。

［粘膜免疫による監視と防御］

動物の体の基本構造は、口腔・鼻腔にはじまり肛門まで筒状をなしており、粘膜はその「内なる外」を形成している（図 1）。粘膜免疫機構は、呼吸器、消化器、泌尿生殖器などの粘膜において成立している。さらに、涙腺、唾液線、乳腺などの外分泌系もその守備範囲に含んでいる（図 2）。このように内なる外を形成している粘膜組織は、広大な表面積をもち、恒常的に直接外界に露出している。例えばヒトの消化器の粘膜は、皮膚の 200 倍に相当する表面積を持つ。ウシは、反芻動物であることからヒトより遥かに膨大な比率で粘膜表面を有している。

粘膜表面は、粘液層と上皮細胞層で構成され、常時膨大な量の外来の異物（食餌成分を含め、様々な病原体微生物やアレルゲンなど）に暴露されている。したがって粘膜の上皮細胞層は、第一線の監視・防御機構として重要である。例

受理：2014 年 7 月 14 日

えば、腸管上皮細胞層を覆う粘液は、まずその粘着性や腸管蠕動運動による異物の機会的排出などの物理的バリアーとして働き、さらにその構成性成分に含まれる多種多様な抗菌ペプチド群による病原微生物の分解などでは、化学的バリアーとして大きな役割を果たしている(図3)。

粘膜面での監視・防御機能を免疫生物学的に考える上で次に重要な点は、粘膜面が病原性や有害性を持たない生体にとって有益な異物の取り込み口にもなっていることである。たとえば腸管の場合は膨大な量の食餌性蛋白質を吸収しそれを分解している。それら多種多様な蛋白質、脂質、ビタミンなどから成る食餌由来物質は、生体への栄養供給およびエネルギー供給になるという観点だけでなく、異物であるということで当然腸管粘膜免疫系の制御対象になっている。腸管には、ヒトでは少なくとも300種類以上とも言われている宿主との共生関係にある共生細菌叢が形成されている。普通に考えれば、共生細菌叢は生体にとって異物ではある。したがって腸管の免疫学的な監視・防御機能では、これら有益な共生細菌と病原性細菌を見分ける仕組みが必要になる。

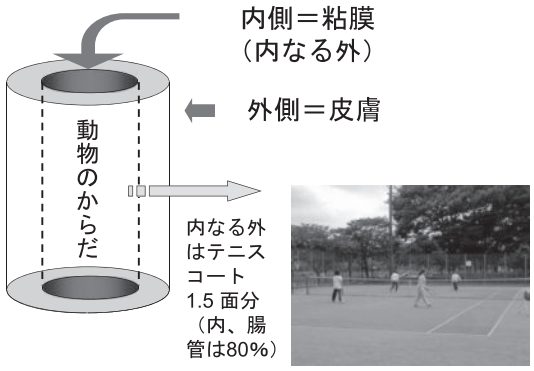
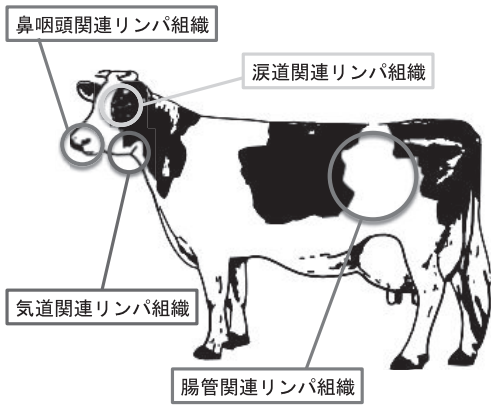


図1　内なる外を形成する粘膜



※ここでは人で明らかにされた組織として示す

図2　粘膜部位固有の粘膜リンパ組織

生体はこのような無害またはプロバイオティクスとして有益な共生細菌や物質に対して積極的に排除を促すような防御反応はとらない。それらの有益な抗原に対して、過剰な反応をしないように無視・無応答にする消極的応答、いわゆる「寛容」状態をつくりだす抑制系制御機能を粘膜免疫のシステムに組入れてきた（図4)。特に経口抗原に対するその代表的な現象を経口免疫寛容、呼吸抗原によって誘導される寛容は経鼻免疫寛容と呼ばれている。

ヒトの消化器でこれらの無害な外来性の抗原に対して「寛容」が起こらず、不適切な免疫応答が起こってしまうと、食物アレルギー、セリアック病（小麦に含まれているグルテン蛋白に対する免疫応答)や、炎症性腸疾患であるクローン病（腸内細菌に対する免疫応答）などに代表される共生細菌叢の崩壊で生じる疾患の原因に

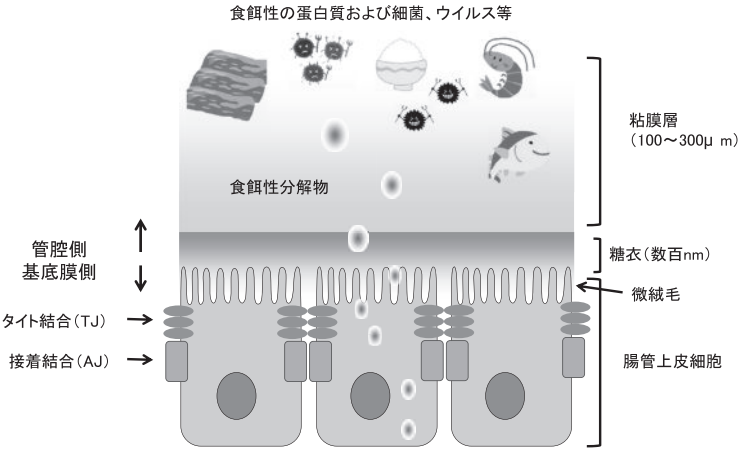


図3　腸管上皮層の防御機構

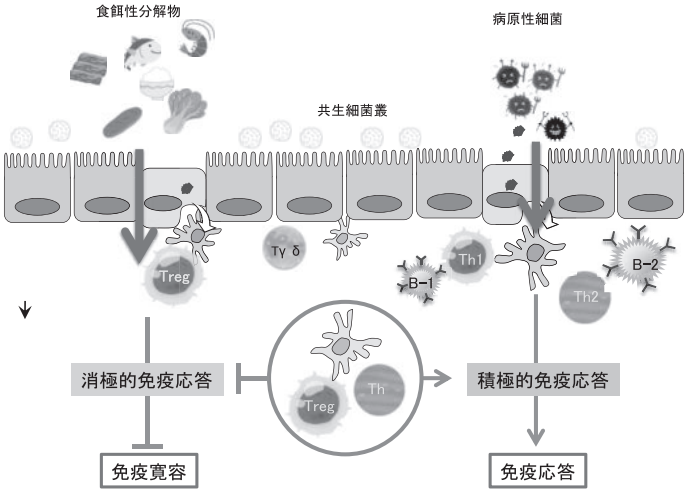


図 4　粘膜面における寛容と免疫応答

なるとも考えられている。

［粘膜関連リンパ組織］

粘膜免疫システムを司る各組織・臓器の免疫担当細胞と組織は、一部の特殊性を除いて共通性が認められる。その共通性を支える細胞群には、リンパ球、マクロファージ、樹状細胞といった全身免疫系でも活躍する免疫担当細胞であり、解剖学的にそれらが集積して組織化された場所を粘膜関連リンパ組織（mucosa-associated lymphoid tissue：MALT）と総称している。腸管の場合は腸管関連リンパ組織（gut-associated lymphoid tissue：GALT）と呼ばれ（図 5）、特に解析が進んでいる粘膜関連リンパ組織であるが、ヒトではパイエル板、クリプトパッチ、孤立リンパ濾胞、虫垂などが知られている。

腸管壁に観察される GALT の二次リンパ濾胞群の中で、最も解析が進んでいるものがパイエル板であり、経口投与された抗原に対する腸管での免疫応答の誘導相において重要な役割を担っている。パイエル板は組織学的にリンパ球をはじめとする免疫担当細胞群の集合体であり、腸管管腔に隆起したドーム様の特殊な形態をしている。ドーム状に被覆している上皮細胞層は濾胞関連上皮層（follicle-associated epithelium：FAE）と呼ばれ、この中には通常の微絨毛で覆われている円柱上皮細胞（または吸収上皮細胞）とは異なる微絨毛の発達が未発達な微小襞細胞（microfold（M））細胞が存在している（図 6）。M 細胞は他の上皮細胞群が持っている厚い糖衣をもたず、かつ消化酵素や粘液

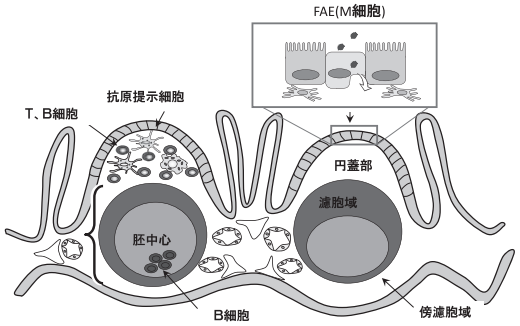


図 5　腸管関連リンパ組織

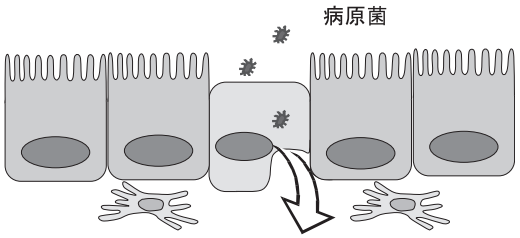


図 6　微小襞細胞（microfold（M））細胞

を分泌しない。そのため M 細胞の先端部は、腸管管腔内の微生物や粒子状抗原と直接的に遭遇でき、それらをパイエル板内に取り込むいわゆる管腔側からの抗原を取り込み専門の細胞としての役割をもつ。M 細胞が存在している上皮下ドーム領域（subepithelial dome：SED）には、高頻度で樹状細胞が存在し、取り込まれた抗原を捕捉し、抗原を処理してパイエル板内の T 細胞あるいは B 細胞にその抗原の情報を提示する。パイエル板の胚中心内には多くの B 細胞濾胞が形成されており、その周囲には T 細胞領域が存在し、抗原特異的な IgA^{+}B 細胞が

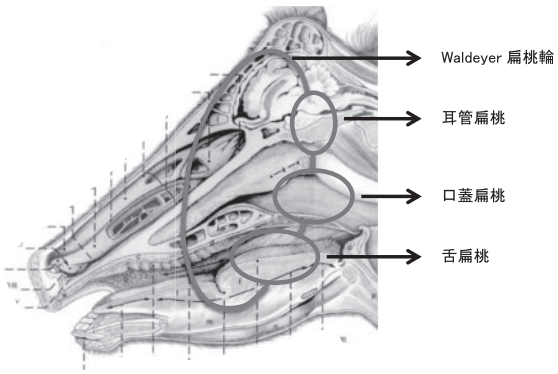
や各種T細胞サブセットを誘導できる免疫学的な微小組織構造をとっている（図5）。

呼吸器系の場合は、鼻腔底に鼻咽頭関連リンパ組織（nasopharynx-associated lymphoid tissue：NALT）と呼ばれる存在が明らかになっている。ヒトの場合、口蓋扁桃、アデノイド、舌扁桃は、重層上皮に覆われている巨大な二次リンパ濾胞の集合体からに成り立っており、これらは気道や腸管の入り口である口腔に最奥部から咽頭が始まる部位に存在し、Waldeyer扁桃輪として知られる輪状のリンパ組織群を形成している（図7）。興味深いことに口蓋扁桃やアデノイドは、ヒト幼児期の場合に感染を繰り返すと巨大化することから、以前は外科的な摘出が行われていたが、最近になりそれらを摘出した人のなかでしばしば経口ポリオワクチンに対するワクチン抗原特異的IgA抗体の低下が観察された。このことから、この部位におけるNALTまたはWaldeyer扁桃輪を介した粘膜免疫の重要性が改めて明らかにされた。

GALTが消化器系、NALTが呼吸器系の粘膜免疫システムにおけるそれぞれの特徴的な免疫誘導組織として知られてきたが、最近では眼窩と鼻腔を結んでいる涙腺（または涙管）にも粘膜免疫を司る二次リンパ組織が存在していることが明らかにされた（図2）。この組織は涙道関連リンパ組織と（tear duct- associated lymphoid tissue：TALT）と呼ばれており、眼領域から侵入した抗原に対しての免疫誘導の場として重要な役割を果たしている。

［粘膜部位固有の抗原認識機構の独自性］

経口・経鼻投与による粘膜面での抗原提示を介した粘膜免疫システムの活性化には、まず抗原が上皮細胞層を通過することが重要である。パイエル板やNALTの濾胞関連上皮層に存在しているM細胞は、抗原にとって生体内に入る玄関のような役割をしており、管腔側から来た抗原をエンドサイトーシスなどにより積極的に細胞内取り込み、反対側の基底膜側から細胞外に輸送する。M細胞はポケット様の形態を有しており、その中に樹状細胞などの免疫細胞が入り込んでいる。そのためM細胞から運搬されてきた抗原は、そのポケット直下に存在する樹状細胞によって、捕捉・処理・提示される



※ここでは人で明らかにされた組織の部位として示す

図7　Waldeyer扁桃輪と扁桃組織

（図6）。

腸管上皮細胞層下部を構成している粘膜固有層には、抗原提示細胞である樹状細胞が多く存在しており、この中にはM細胞を介して樹状細胞に抗原を提示する機構や上細胞間隙から上皮細胞の間に入り込む機構、さらには上細胞間隙に樹状突起を伸ばして抗原を認識する機構が存在していることも明らかにされている（図8）。上細胞間隙に樹状突起を伸ばして抗原を直接認識できる機構は、M細胞に依存的しないで抗原が取り込まれるルートがあることを示しており、パイエル板非依存的に抗原特異的粘膜免疫の誘導ができる粘膜免疫システムがあることが明らかになってきている。

［粘膜免疫を担当する細胞］

パイエル板やNALTに代表される抗原刺激を受ける組織としてのMALTに加えて、粘膜表面には数多くのリンパ球や白血球が存在する部位があり、これらの部位は実際に抗原特異的な液性免疫や細胞性免疫を発動させる場ということで「実行組織」とも呼ばれている（図9）。これらのリンパ球は粘膜を介して恒常的に多様な外来抗原に暴露されているが、病原微生物や有害物質または過度な抗原刺激に遭遇しない限り過剰な応答をすることがない、いわゆる「寛容」状態を保つことができる。これらは無菌状態に等しい全身免疫システムとは大きく異なる環境におかれている粘膜システムならではの独自性を反映しているものと考えられている。

上皮細胞層と粘膜固有層は、薄い基底膜で隔てられているだけであるが、この2つの領域は解剖学的に異なる特徴を有している。上皮層に

図 8　粘膜における抗原取り込みの方法

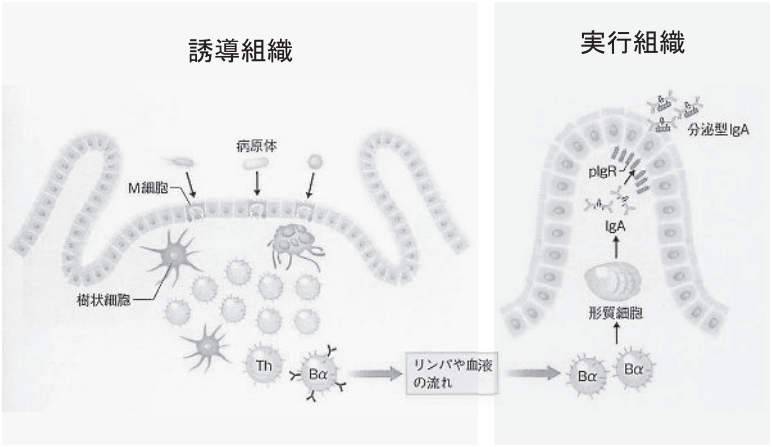


図 9　粘膜免疫における誘導組織と実行組織

は主として $CD8^+$T 細胞が多く存在しており、その中でも自然免疫に強く関与しているとされるγδ鎖の T 細胞受容体（T cell receptor；TCR）を発現しているγδT 細胞の頻度が高いという特徴がある。それに対して粘膜固有層にはαβ鎖を発現している $CD4^+$ と $CD8^+$T 細胞、形質細胞、マクロファージ、樹状細胞、好酸球、肥満（マスト）細胞が混在している。中でも、抗体産生細胞である形質細胞のほとんどは IgA 抗体を産生している。粘膜関連リンパ組織にこの細胞が多く存在することも粘膜免疫システムの大きな特徴である。ヘルパー T 細胞（helper T cell：Th）に関しても、Th1 型、Th2 型にはじまり、抑制性 T 細胞（regulatory T cell：Treg）、Th17 型など多彩な T 細胞サブセットが存在して積極的あるいは消極的の両方の免疫応答を誘導・制御している（図 10）。

口腔免疫により投与された抗原（例えばワクチン）は、腸管のパイエル板に存在する M 細胞により取り込まれ、パイエル板樹状細胞により捕捉・処理・提示され、それにより抗原に特異的に分化したリンパ球は腸管指向性（腸管リンパ節で働くことを指示され、腸管に向う特性）を獲得する。これらのリンパ球は、リンパ管、腸管膜リンパ節を通って胸管へと移行し、さらに血遊を介して全身を循環した後に腸管免疫固有層の小静脈を介して腸管の粘膜免疫の実行組織へと帰巣（ホーミング）する。しかし、腸管指向性を獲得したパイエル板由来の抗原特異的リンパ球が帰巣する部位は必ずしも腸管の血管内皮細胞に限られるものではなく、ほかの粘膜表面に帰巣することができる。そのため、GALT で感作を受けたリンパ球の一部は、呼吸器、泌尿器、乳腺といった他の粘膜免疫担当組織へも遊走することができる。これは他の免疫システムでは見られない、粘膜免疫システムがもつ統制のとれたリンパ球循環経路であり、共通粘膜免疫システム（common mucosal immune system：CMIS）と称される（図 11）。これはヒトにおける経口ワクチンに代表される粘膜ワクチン開発の重要な理論的背景になっている。これは将来の家畜における粘膜ワクチンを想定した場合においても、ワクチン抗原をどの粘膜を介して投与するか、あるいはワクチンを投与する際の保定のしやすさなどと直結させて考えることができ、実際的な面においても粘膜免疫の作用機序は感染防御上有利に働く可能性がある。

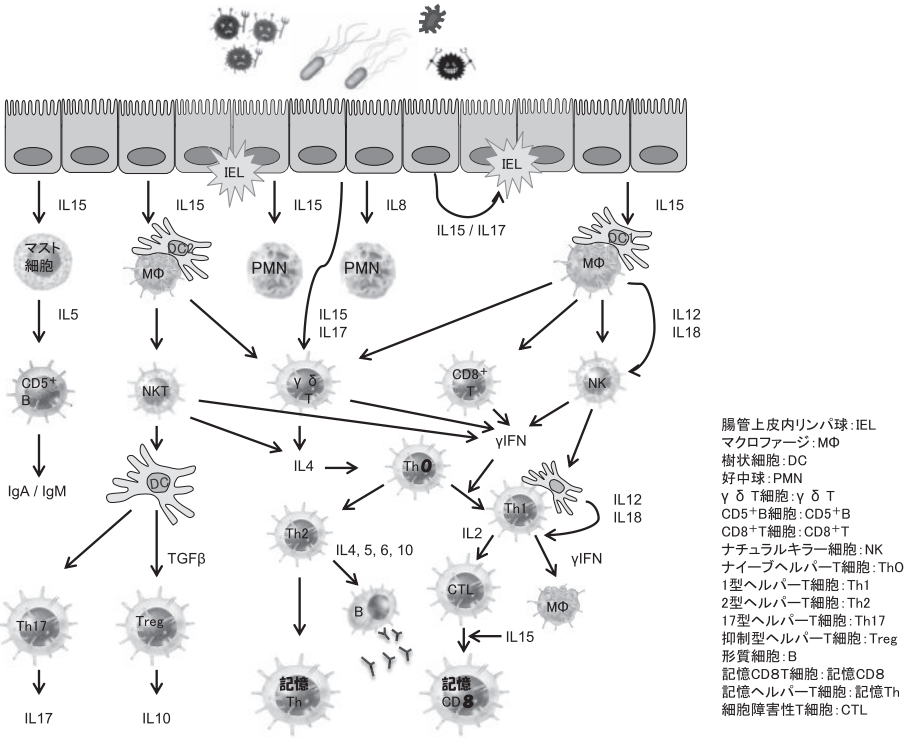


図 10　粘膜免疫を担当する細胞

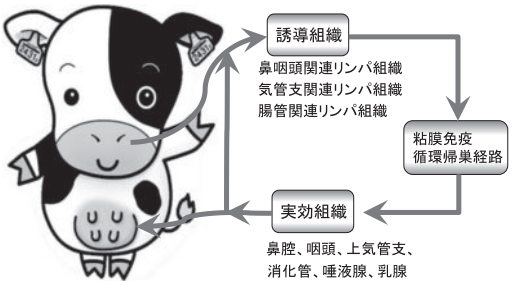


図 11　共通粘膜免疫システムとリンパ球循環帰巣経路

［粘膜免疫機構からみた感染症予防の考え方］
＝特に乳房炎の粘膜ワクチンを例にして＝

生体は、基本的に外来の異物が入り込みやすい部位から免疫応答機能を強化させてきと思われる。これまで述べてきたようにその最たる部位は、異物が常に粘膜面に存在している消化器であり呼吸器である。一方乳房（乳腺）は、感染防御のための免疫応答機能の発達レベルはどうであろうか。これについては、同じ粘膜であっても常時に異物が存在している消化器や呼吸器などの粘膜と、基本的に異物がない状態の外分泌型の膀胱粘膜や乳腺粘膜とは、分けて考える必要がある。つまり進化の過程において乳腺がどれほどの危険（特に乳房炎原因菌の感染）に遭遇してきたかで乳腺粘膜の感染防御における免疫応答機能の発達レベルは異なってきたものと思われる。本来の泌乳の目的である子牛への授乳における乳房内の環境では、産生された乳は“乳腺内→乳頭口外”への一方通行の流れである。したがって、免疫応答機能を強力にするために乳腺に固有のリンパ組織を発達させる必要はあまりなかったものと考えられる。事実、ヒトやマウスの乳腺においても誘導組織として機能は、今のところ明らかにはされていない。

しかし近代の酪農産業の発展にともない、搾乳牛の乳房のおかれる環境は大きく変化する。すなわち搾乳作業が機械の時代になってきている。この機械搾乳の動作の中で乳房は、子牛への自然授乳では起きなかったドロップレッツ現象を経験する。ドロップレッツ現象とは、ミルカーのライナースリップにより一旦搾られた乳の一部が、乳頭口から乳房の中に逆流する現象のことである。この現象により、乳房内の乳の流が“乳腺内→乳頭口外”に加え、“乳頭口外→乳腺内”にも起こることになった。このミルカーによる乳の逆流現象によって、他の牛からの菌の持込みを人為的に起こしてしまう結果になったことは否めない。

乳房炎原因菌に対するワクチン開発は、これまでの多大な努力とは裏腹に、概して成功して

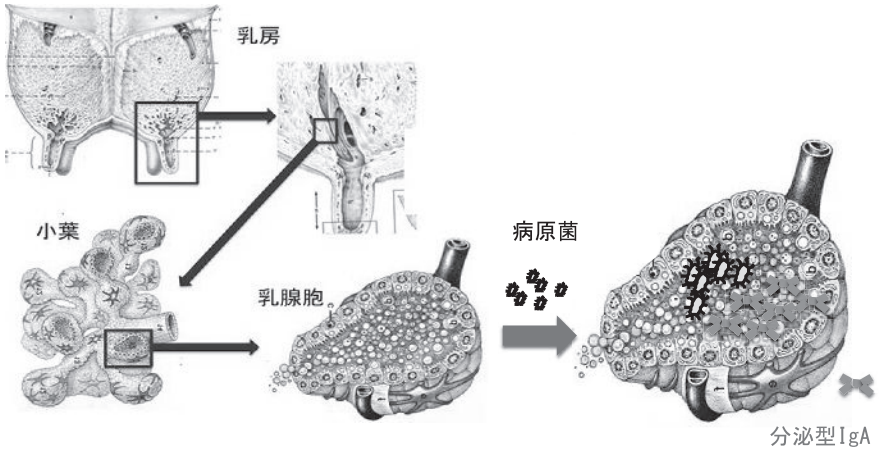


図 12　乳房炎原因菌の定着部位と分泌型 IgA 効果部位

いない。日本においては、これまでに乳房炎ワクチン製剤の開発の事例はなく、かつ諸外国のワクチン製剤の国内販売の承認例もない。しかし乳房炎がもたらす経済的な損害が依然としてある以上、引き続き乳房炎ワクチンの開発がいそがれている。

粘膜免疫のユニークな特性は、第一に全身免疫系では産生することができない初期感染の防御を担う抗原特異的分泌型 IgA 抗体を粘膜面に分泌できることである。第二に粘膜免疫の機構は、抗原感作を受けた部位（誘導組織）から離れた部位で免疫応答を惹起することのできる CMIS の機能を持つことである（図 11）。乳房炎を対象としたワクチンで考えると、本来感染局所となる乳房以外の部位、例えば鼻腔でワクチンを投与することで IgA^+ メモリ B 細胞を乳腺へホーミングさせられる可能性が CMIS の存在があることによって示唆できる。現在のところ乳腺には誘導組織としての機能があることは明らかにはされていないが、この CMIS の機能の理論がウシでもあてはまるなら、乳房炎原因菌の定着や増殖を阻止する IgA 抗体を乳腺に誘導するワクチンはできる可能性がある。また、正常な乳の中にも自然免疫系の主役となる貪食能をもつ好中球やマクロファージ、さらには獲得免疫系につながる T 細胞や B 細胞が実際含まれている。乳房炎の発症があるとさらにそれらの細胞の割合は増加する。少なくとも、乳（＝乳腺）に免疫を担当する細胞や組織が存在することは、その場において異物を排除しようとする抗原特異的な抗体産生の可能性を含め、乳腺での免疫応答を人為的に制御できる可能性が見いだせるものと考えている。

乳房炎の場合、感染する原因菌の多くが乳頭口を介し乳房内に侵入した後、乳腺粘膜に定着し増殖することから、その局所で防除効果が発揮されるワクチンの開発が有効であると考えられる。今後は、乳房炎原因菌が感染初期に乳腺組織の粘膜面での定着・増殖に関与する細胞菌表層蛋白や毒素分泌を制御する蛋白などをターゲットとしたワクチンの候補抗原を探索し、それらの働きを阻止する抗体を乳腺粘膜上に分泌させることを想定した粘膜免疫誘導型のワクチン開発が必要になると考えている（図 12）。現在筆者が所属している（独）農研機構、動物衛生研究所においても、粘膜免疫の機構の存在を想定し乳房炎ワクチン開発に着手している。粘膜免疫機構に立脚した家畜感染症予防の考え方が「乳房炎粘膜ワクチン」として実を結ぶことを信じている。

［参考文献］

粘膜免疫についてさらに知りたい場合は、以下の書籍、文献を参考にされたい。

1. 林　智人．2008．粘膜免疫の基礎　―全身性免疫と粘膜性免疫―．日本家畜臨床感染症研究会誌．3（3）：105-109
2. 林　智人（編）．2010．大切な乳牛を守る免疫のお話　第 1 版．デーリィ・ジャパン社．東京
3. 林　智人．2013．乳房炎ワクチンの現状と今後の展望．家畜診療．60（4）：201-208
4. 林　智人．2013．粘膜免疫機構とそれを応用した乳房炎ワクチンの開発の試み．臨床獣医．365：32-36

5. 清野　宏（編）. 2010. 臨床粘膜免疫学　第1版. シナジー. 東京
6. 清野　宏（監修）. 2011. 特集粘膜免疫システム. 細胞工学. 30：342-412
7. 吉開泰信（編）. 20102. 粘膜免疫学の最前線　第1版. 医学ジャーナル社. 大阪

Thinking about the prevention of animal infectious diseases from mucosal immune system
= An example of mucosal vaccine for the bovine mastitis =

Tomohito Hayashi
Dairy Hygiene Research Division, National Institute of Animal Health,
National Agriculture and Food Research Organization
(Sapporo, Hokkaido 062-0045, Japan)