

総説

腸管免疫系の制御機構と疾病予防への応用 — 寄生虫感染をツールとして —

森本素子

宮城大学食産業学部ファームビジネス学科
〒982-0215 宮城県仙台市太白区旗立2丁目2-1
TEL: 022-245-1282 FAX: 022-245-1534
E-mail: morimoto@myu.ac.jp

【要約】

動物は、免疫系による巧みな生体防御機構を持ち、病原体や異物の侵入や増殖を防ぐ。近年、げっ歯類をモデルにして免疫応答のメカニズムが詳細に明らかにされ、その知見が、感染症の予防治療に応用されるようになってきた。しかし、病原体に対する応答は、種や系統によって大きく異なる場合もあり、家畜についての研究をさらに進める必要がある。にもかかわらず、げっ歯類以外の動物においては、基本的な免疫学的データの蓄積や解析系ツールが十分整っていないのが大きな問題となっている。免疫系の理解が進めば、疾病コントロールに貢献でき、家畜の健康増進や生産性の向上にもつながるため、今後、動物免疫学領域の研究がますます推進されることが望まれる。

消化管は生体防御に重要な器官で、さまざまな免疫系・非免疫系細胞が密接に連携して病原体排除に働いている。消化管内寄生線虫が感染すると、消化管上皮・自然リンパ球の活性化に始まり、獲得免疫系の誘導が起こって虫を排除するため、粘膜の複合的な生体防御の機序を解析するのに適したモデルである。また、消化管は食餌成分や腸内細菌が免疫系の制御に関与することが知られ、その詳細を明らかにすれば、生体の恒常性の維持・疾病の予防・治療にも資するものであると考える。宿主免疫系の人為的制御が可能になれば、感染症コントロールに大きな意義がある。

キーワード: サイトカイン、線虫、腸管免疫、粘膜バリア

【はじめに】

疾病の発生原因は「病因・環境・宿主」に規定される。同じ飼育環境で同じ病原体の暴露を受けても感染する個体と感染しない個体が現れるが、それは宿主の健康状態や免疫系の活性に依存する。したがって、宿主の免疫機構を人為的に制御できれば、さまざまな疾病が予防できる可能性がある。そのため、これまでに数々の研究を通してヒトやマウスの免疫機構の解明が進められてきた。一方、愛玩動物や家畜の免疫機

構については、いまだ不明な部分が多く残されている。免疫の機序を明らかにするためには感染というツールが欠かせないが、獣医療の分野では疾病コントロールの戦略において予防に重点が置かれ、感染体での研究が十分に進められていないことが一因であろう。しかし、免疫機構の理解が進めば、予防戦略にも大いに貢献することが期待できる。感染症に取り組む臨床獣医師と基礎研究分野の研究者が連携して研究を進めることにより、動物の免疫機構をより詳細に解明できれば、家畜生産の現場での感染症コントロールに新しい戦略を提案できる可能性もある。

受理: 2016年4月19日

本稿では、免疫系の中でもユニークな機能を持ち、最近大きな注目を集めている消化管粘膜免疫系に着目する。特に、寄生虫感染をツールとして、生体防御はもちろん、恒常性維持に多様な機能を発揮する免疫系の役割について整理し、今後獣医療分野において研究の進展が望まれる諸問題について考察したい。

【消化管における生体防御】

消化管は外部からの異物・病原体の攻撃を直接受ける臓器であり、生体防御の最前線かつ最後の防衛線である。したがって、腸間膜リンパ節、消化管粘膜の孤立リンパ小節、小腸パイエル板、腸上皮細胞の結合によるバリア機構、腸陰窩のパネート細胞、と様々な戦隊を備える。これらの局所応答は、全身性の免疫機構とは独立に、消化管内でネットワークを形成し、独自に機能して生体防御にあたる。

1. 消化管上皮

消化管上皮は単層円柱上皮であり、隣接する細胞とタイトジャンクションで強固に結ばれ、物理的バリアを形成して外部からの異物・病原体の侵入を防ぐ。また、抗菌ペプチドを分泌するほか、病原体の攻撃を感知して免疫系細胞を誘導するためのサイトカインも産生する。タイトジャンクションの不具合があれば、消化管内の異物・病原体・未消化のタンパク質（抗原となりうる）が粘膜下に流れ込み、生体は大きなダメージを受ける。したがって、細胞間接着に関わる物質の制御は生体の恒常性維持に大きな影響をもつと考えられる。また、消化管上皮にはM細胞という特殊に分化した細胞があり[8]、積極的な病原体の取り込みを行っている。M細胞の基底には樹状細胞が待機し、M細胞を通して取り込まれた抗原を貪食してT細胞に抗原提示を行い、活性化したT細胞からのシグナルを受け、B細胞はIgAを産生して腸環境を守っている。腸管免疫系におけるM細胞の役割については数多くの総説がまとめられており[4, 11, 14]、M細胞が病原体を捕捉するときに重要な働きをなす glycoprotein (GP) 2 というたんぱく質は、経口ワクチンの開発に有用なターゲットとして注目されている[3]。そのほか、消化管上皮に散在する杯細胞は粘液を産生して

厚いムチン層を形成し、病原体の侵入を阻む物理的障壁となる。消化管内寄生線虫の場合、そのバリアを超えて侵入すると、宿主側では小腸上皮がインターロイキン(IL)-33やIL-25を産生して自然リンパ球や2型ヘルパーT細胞(Th2)によるIL-13の発現を誘導し(後述)、その結果杯細胞の過形成が起こり、粘液産生が増大して虫を排除しようとする[5, 13]。さらに、小腸陰窩に存在するパネート細胞は α ディフェンシンという毒素を産生し、腸陰窩まで侵入した病原体を殺滅する[7]。

このように、消化管上皮細胞は消化管の恒常性を維持し、感染時には生体防御応答のもっとも早いステージで働いて、病原体排除のカギをにぎる極めて重要な細胞である。

2. 消化管粘膜下に存在する免疫系細胞

前述の消化管上皮からのシグナルにこたえ、エフェクター機能を発揮する免疫系細胞は消化管粘膜下に集積する。消化管粘膜下には、循環中に存在するT細胞と異なるタイプのレセプターを持つ $\gamma\delta$ T細胞が多い。また、非炎症性マクロファージ(タイプ2マクロファージ=M2)や、免疫系を抑制方向に制御する制御性T細胞(Treg)も多数存在する。消化管には腸管細菌が共生しており、これらの細菌を排除しないための免疫寛容システムが必要であり、その主役を担うのは、Tregと考えられている。また、最近自然リンパ球(ILC)が発見され、消化管生体防御の初期ステージに働く細胞として注目を集めている。また、自然リンパ球は、免疫系のみならず、代謝系のさまざまな疾患にもその関与が指摘されている。現在、自然リンパ球は3つのタイプに分類されており、ILC1はTh1、ILC2はTh2、ILC3はTh17と同様のサイトカインを産生する。しかしこれらの細胞はT細胞よりずっと早く病原体に反応し、感染直後から活性化して大量のサイトカインを産生し、獲得免疫系の活性化を誘導する。特にILC2は消化管寄生線虫によって容易に強力な誘導が起こるため、寄生虫感染をツールとして世界中で研究が進められている。

【粘膜バリア機構を制御する因子】

粘膜バリアは様々な因子により修飾されるこ

とが報告されている。たとえば、腸内細菌由来分子は粘膜バリア機能維持に必須と考えられており、その機序にはパターン認識受容体のトールライクレセプター (TLR) が深く関与する [10]。TLRは粘膜下組織に集積するIgA産生細胞からのIgA産生に寄与しており、TLRの活性化が粘膜バリアの重要な役割を担う [12]。腸内細菌による代謝物もバリア機構に関与することが知られ、特に短鎖脂肪酸はタイトジャンクションの透過性に関与しバリア機能を高める [6]。短鎖脂肪酸のうち、最近特に注目を集めているのは「酪酸」であり、酪酸産生菌による粘膜バリアへの関与 [9, 15] およびTregの誘導について研究が進められている [1, 2]。短鎖脂肪酸は畜産分野では重要な栄養成分であり、発酵消化を主とする動物では、消化管内で日常的に大量に代謝されている。したがって、家畜の生体防御機構を考えると、もっとも注目すべき物質であると考えられるが、免疫学的視点で検討された報告はほとんど存在しない。

【寄生虫感染と免疫応答】

すでに述べたように、消化管には様々な機能をもつ細胞が集積し、複合的に生体防御にあたっており、その全体像をつかむのは簡単なことではない。そこで、筆者は、マウスを用い、寄生虫(線虫)感染をモデルにしてこれらの細胞のネットワークについて理解を深めようと試みている。

宿主に2型免疫応答を誘導するツールとして用いている *Nippostrongylus brasiliensis* (Nb) は、げっ歯類の消化管内寄生線虫であり、3期幼虫が経皮的に感染すると肺に移動し、咳と共に飲み込まれて消化管に達する。その際、宿主側では強力な2型免疫応答が起こり、IL-4やIL-13などの産生が増大し、杯細胞からの粘液産生・平滑筋の運動性が強化されて、感染後約2週間で虫は排除される(図1)。最近、この応答に、ILC2が大きな役割を果たしていることが明らかになった。消化管上皮は線虫の攻撃を受けてIL-33やIL-25などのサイトカインを産生し、ILC2の活性化を誘導する。ILC2は感染直

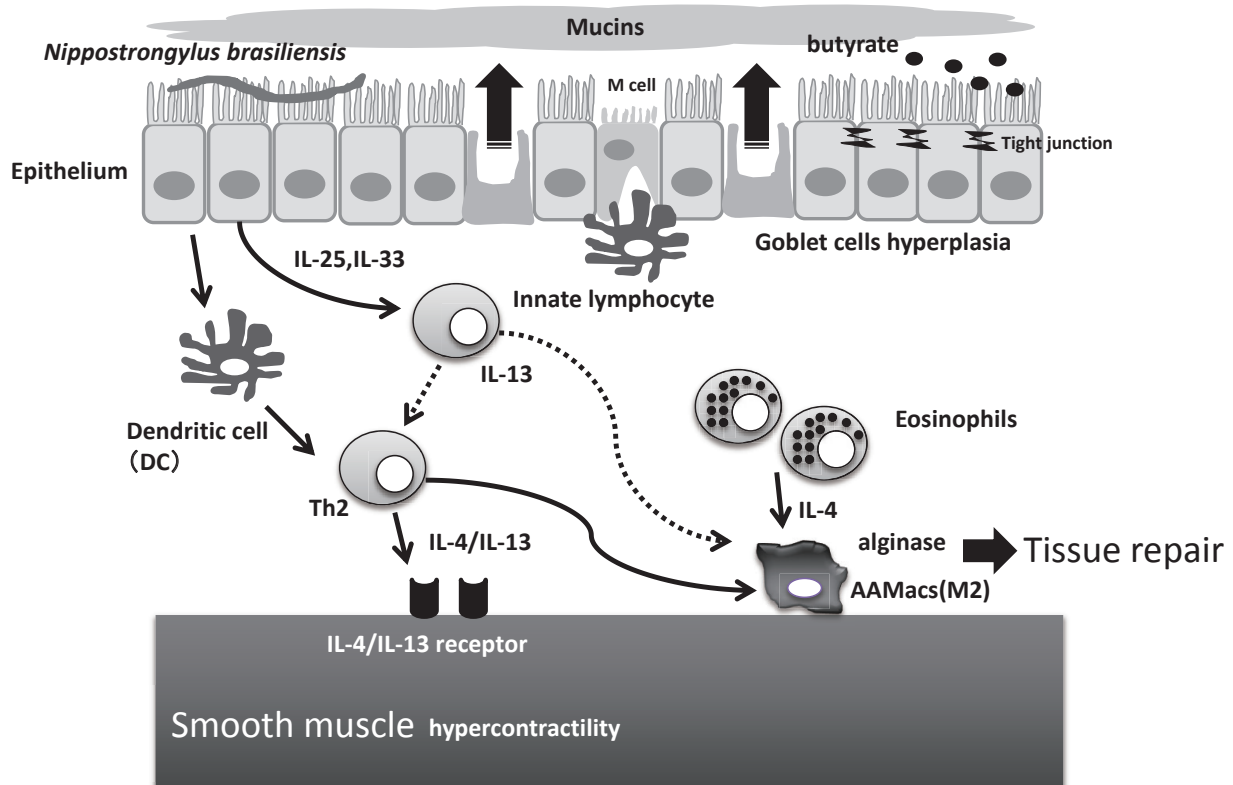


図1 線虫感染時における小腸粘膜下の免疫応答

後から大量のIL-13を産生するが、ILCを欠損するマウスでは虫の排除が遅れる。ILCの存在が明らかになる以前は、感染後9-10日後にサイトカイン産生がピークになり、消化管の生理活性も連動して増大すること、この時期にCD4に対する抗体を投与すると虫が排除されなかったり、遅れたりすることが知られ、CD4陽性のT細胞が虫の排除に関わる免疫応答のメインの役割を果たしていると考えられていた。しかし、今では、感染の初期ステージ (ILC主体) が非常に重要であり、後期ステージ (T細胞主体) の誘導に不可欠と考えられている。線虫の感染に対する宿主の免疫防御機構としては、他に、好酸球やマクロファージの関与も重要である。細胞の中に感染する小さな病原体と異なり、線虫類は大きいので貪食や細胞障害性T細胞のはたらきで排除することはできない。したがって、好酸球の顆粒に含まれるたんぱく質の作用により虫を弱らせ、粘液・平滑筋運動増大により物理的に排除されやすくすることも駆虫に重要なポイントである。

寄生虫感染のしくみをよく知ることで、虫の排除や感染予防に有用な製剤の開発などが進むと考えられるが、実はそれだけではない。虫の感染によって宿主に誘導される免疫状態は、他の疾患の予防に働く可能性が指摘されている。一般に、「免疫系の活性化により感染から身を守る」と考えられているが、免疫系は活性化すればするほどよいというものではなく、バランスが重要である。適切な時期に適切な活性化が起こり、適切な時期に収束する、という仕組みが働かないと、慢性炎症病態が引き起こされ、その結果代謝系や神経系の異常が誘導されることがある。たとえば、炎症性腸疾患のモデルであるDSS誘導性大腸炎マウスに上記の線虫を感染させると、粘膜下への炎症性細胞の浸潤が抑制され、炎症が改善する。あるいは、慢性炎症から生じるとされる2型糖尿病は、炎症性マクロファージが病態悪化に働くが、線虫感染により誘導されるTregや非炎症性マクロファージがその活性をコントロールし、病態を改善する可能性がある。

寄生虫に感染する際に誘導される免疫応答が適切に起こって適切に収束しない場合、どうなるか？たとえば、マウスでは、18か月齢まで飼

育すると2型サイトカインの増大が十分に起こらず、粘液の産生も増大せず、虫の排除は阻害される。逆にTregの数は増大して免疫系に抑制がかかった状態になる。加齢による免疫系の変化の機序の全貌はいまだ明らかではないが、一つの要因として酸化ストレスが挙げられる。したがって、抗酸化物質の投与や環境エンリッチメントの導入により、免疫系の活性をある程度は回復させることができる。抗酸化というキーワードは多くの分野で取り上げられ、家畜の飼料にも応用しようという試みがある。しかし、これまでの多くの報告では、免疫系の評価を十分行っているとはいいがたい。血清中の炎症性サイトカインの量や、自然免疫細胞の活性を調べた結果等が報告されているが、免疫系の適切な活性化は、ひとつの分子・ひとつの細胞の活性化を見ただけではとらえられない。食餌に含まれるある物質は消化管を通過したり吸収されたりして機能性を発揮し、生体防御に有効であるかもしれない。しかし、その評価には消化管の生理機能を含めた複合的な理解が不可欠である。

【感染時の宿主応答の機序と疾病コントロール】

動物の分野で免疫機構の解明が進まない、あるいは免疫系に寄与する物質の評価がきちんに行われない理由の一つに、実験的に感染状態を作ることがむずかしいということがある。食餌に添加する成分になにか効力があつたとしても、正常な生体でサイトカインやある種の免疫細胞の活性化に差が現れるのはまれだし、逆に差があつても、そのことの生理学的な意味は定かではない。つまり、生体に対してなんのアタックもないのに炎症性サイトカインが増大すれば、慢性炎症性疾患を誘導する下地になる可能性があり、免疫系の恒常性が崩れているという解釈も成り立つ。生体に有効な成分を評価するには、異常な状態＝病態が必要である。今後、有効な動物の疾病コントロールを考える上で、獣医学領域の臨床と基礎の強力な連携が欠かせないということを真剣に考えるべきだろう。

引用文献

- [1] Atarashi, K., Tanoue, T., Shima, T., Imaoka, A., Kuwahara, T., Momose, Y., Cheng, G., Yamasaki,

- S., Saito, T., Ohba, Y., Taniguchi, T., Takeda, K., Hori, S., Ivanov, II, Umesaki, Y., Itoh, K. and Honda, K. 2011. Induction of colonic regulatory T cells by indigenous *Clostridium* species. *Science* 331: 337-341.
- [2] Atarashi, K., Tanoue, T., Oshima, K., Suda, W., Nagano, Y., Nishikawa, H., Fukuda, S., Saito, T., Narushima, S., Hase, K., Kim, S., Fritz, J. V., Wilmes, P., Ueha, S., Matsushima, K., Ohno, H., Olle, B., Sakaguchi, S., Taniguchi, T., Morita, H., Hattori, M. and Honda, K. 2013. Treg induction by a rationally selected mixture of *Clostridia* strains from the human microbiota. *Nature* 500: 232-236.
- [3] Hase, K., Kawano, K., Nochi, T., Pontes, G. S., Fukuda, S., Ebisawa, M., Kadokura, K., Tobe, T., Fujimura, Y., Kawano, S., Yabashi, A., Waguri, S., Nakato, G., Kimura, S., Murakami, T., Iimura, M., Hamura, K., Fukuoka, S., Lowe, A. W., Itoh, K., Kiyono, H. and Ohno, H. 2009. Uptake through glycoprotein 2 of FimH(+) bacteria by M cells initiates mucosal immune response. *Nature* 462: 226-230.
- [4] Jepson, M. A. and Clark, M. A. 1998. Studying M cells and their role in infection. *Trends Microbiol.* 6: 359-365.
- [5] Madden, K. B., Yeung, K. A., Zhao, A., Gause, W. C., Finkelman, F. D., Katona, I. M., Urban, J. F., Jr. and Shea-Donohue, T. 2004. Enteric nematodes induce stereotypic STAT6-dependent alterations in intestinal epithelial cell function. *J. Immunol.* 172: 5616-5621.
- [6] Ohata, A., Usami, M. and Miyoshi, M. 2005. Short-chain fatty acids alter tight junction permeability in intestinal monolayer cells via lipoxygenase activation. *Nutrition* 21: 838-847.
- [7] Ouellette, A. J. 2010. Paneth cells and innate mucosal immunity. *Curr Opin Gastroenterol* 26: 547-553.
- [8] Owen, R. L. and Jones, A. L. 1974. Epithelial cell specialization within human Peyer's patches: an ultrastructural study of intestinal lymphoid follicles. *Gastroenterology* 66: 189-203.
- [9] Peng, L., Li, Z. R., Green, R. S., Holzman, I. R. and Lin, J. 2009. Butyrate enhances the intestinal barrier by facilitating tight junction assembly via activation of AMP-activated protein kinase in Caco-2 cell monolayers. *J. Nutr.* 139: 1619-1625.
- [10] Rakoff-Nahoum, S., Paglino, J., Eslami-Varzaneh, F., Edberg, S. and Medzhitov, R. 2004. Recognition of commensal microflora by toll-like receptors is required for intestinal homeostasis. *Cell* 118: 229-241.
- [11] Sansonetti, P. J. and Phalipon, A. 1999. M cells as ports of entry for enteroinvasive pathogens: mechanisms of interaction, consequences for the disease process. *Semin. Immunol.* 11: 193-203.
- [12] Shang, L., Fukata, M., Thirunarayanan, N., Martin, A. P., Arnaboldi, P., Maussang, D., Berin, C., Unkeless, J. C., Mayer, L., Abreu, M. T. and Lira, S. A. 2008. Toll-like receptor signaling in small intestinal epithelium promotes B-cell recruitment and IgA production in lamina propria. *Gastroenterology* 135: 529-538.
- [13] Shea-Donohue, T., Sullivan, C., Finkelman, F. D., Madden, K. B., Morris, S. C., Goldhill, J., Pineiro-Carrero, V. and Urban, J. F., Jr. 2001. The role of IL-4 in *Heligmosomoides polygyrus*-induced alterations in murine intestinal epithelial cell function. *J. Immunol.* 167: 2234-2239.
- [14] Siebers, A. and Finlay, B. B. 1996. M cells and the pathogenesis of mucosal and systemic infections. *Trends Microbiol.* 4: 22-29.
- [15] Wang, H. B., Wang, P. Y., Wang, X., Wan, Y. L. and Liu, Y. C. 2012. Butyrate enhances intestinal epithelial barrier function via up-regulation of tight junction protein Claudin-1 transcription. *Dig. Dis. Sci.* 57: 3126-3135.

Host defense mechanisms in the gastrointestinal tract and approach for disease control with nematode parasite infection model

Motoko Morimoto

School of Food, Agricultural, and Environmental Sciences, Miyagi University,
Sendai City, Miyagi, Japan
TEL : +81-22-245-1282 Fax : +81-22-245-1534
E-mail : morimoto@myu.ac.jp

Abstract

The host defense mechanisms against pathogens are mediated by the immune system. Thus, knowledge of the immune system is essential for disease prevention. Most of what is known about the immune response to infectious agents has been derived from murine models. However, the immune responses in large animals are not the same in minute detail as those in rodents. It is therefore vital to carry on further research on the large animals, but this has been hampered by the relative lack of defined immunological reagents, technical tools and basic data for livestock. Collaboration between clinical veterinarians and basic researchers is necessary to strengthen veterinary immunological research to improve animal health and livestock productivity.

The gastrointestinal tract is a unique organ in the host defense mechanism. There the immune and nonimmune cells work together to expel pathogens. When the host is infected by gastrointestinal nematodes, the intestinal epithelium and innate lymph cells are activated to induce Th2 immune responses. This provides us with a suitable model for understanding the complex immune system in the gut. The gastrointestinal tract is also exposed to nutrient compounds and microbiota which can regulate the immune system. In this report, the barrier system in the gut is discussed based on a nematode infection model. The author believes that this approach can contribute to developing strategies against infectious agents.

Key words: cytokine, epithelial barrier, gastrointestinal immune system, nematode