

総説

ウシの粘膜ワクチン開発を考える上での M 細胞の重要性

長澤 裕哉、林 智人*

国立研究開発法人 農業・食品産業総合研究機構
動物衛生研究部門 病態研究領域 寒地酪農衛生ユニット

【要約】

M 細胞は、パイエル板などの粘膜関連リンパ組織を覆う上皮幹細胞が分化した上皮層に存在する抗原を取り込む細胞であり、隣接する上皮細胞と比較して微絨毛が疎で短く、また基底膜側にポケットを形成させている構造的な特徴を持つ。そのポケット内には樹状細胞などの免疫担当細胞が入り込むことから、粘膜層から M 細胞を介して取込まれた外来抗原に対する情報の受け渡しに重要な役割を果たしている。ヒトやマウスでは、M 細胞に対する特異的マーカー分子や上皮細胞を M 細胞に分化誘導させる因子などが多く発見され、それをツールとし M 細胞の機能あるいはそれを用いて効率よく抗原提示細胞にワクチン抗原を送達させる研究が進んでいる。このように M 細胞は、粘膜免疫機構における抗体産生を惹起させる「受入れ」口として機能している。しかし、ウシの M 細胞に関する研究は、ヒトやマウスに比較して遅れているのが現状である。ウシには多くの粘膜感染症があり、それらの発症は家畜の生産性ひいては農家の経営に大きく影響する。これらの感染症を予防するワクチンは粘膜免疫誘導型が有望であると考えられていることから、今後はウシにおいても粘膜ワクチン抗原の「受入れ」口として機能することが期待される M 細胞の研究を進める必要があると考えている。

キーワード：ウシ、M 細胞、粘膜ワクチン

はじめに

粘膜上皮細胞は、生体が外界と接触する粘膜面で組織の最上部で粘膜層を形成する一層の細胞であり、細胞同士が互いに強固なタイトジャンクションを形成してウイルスや病原菌などの外敵の侵入を防ぐ物理的および化学的なバリア機能を有している [1, 15, 30]。この粘膜層は主

に腸管や呼吸器などにあり、最近の研究からそれらの粘膜上皮の直下には部位固有の粘膜関連リンパ組織 (Mucosal-associated lymphoid tissue: MALT) が存在していることが明らかにされている。MALT は濾胞を形成しており、その内部は B 細胞の集結する B 細胞領域とマクロファージや樹状細胞などの抗原提示細胞や T 細胞が分布する T 細胞領域に区分され、粘膜免疫における免疫応答を誘導する機能をもつ組織として知られている。

一方、粘膜上皮層にはところどころに粘膜上皮細胞とは形態的にも機能的にも明らかに異なる Microfold (M) 細胞と呼ばれるウイルスや病原菌などの外来抗原取り込みに特化した特徴的な細胞が散在している [6, 26]。M 細胞は粘膜免疫機構において抗体産生を誘導させる起点

受理：2017年1月29日

*連絡担当者 林 智人

〒062-0045 札幌市豊平区羊ヶ丘4

電話番号：011-851-5229

Fax 番号：011-851-0767

E-mail：hayatomo@affrc.go.jp

となる細胞、管腔側から抗原を「受入れ」る細胞と言われ、最近ではウイルスや病原菌による感染症を予防する粘膜ワクチンのワクチン抗原取り込み口としても注目が集まっている。しかしながら、MALTやM細胞に関する研究は始まったばかりであり、起源となる細胞あるいは形態や機能については未だ不明な点が多い。特にウシにおいては、既にヒトやマウスでMALTの存在が明らかにされている粘膜組織であっても、そこでの存在が未だ不明な箇所もある。本稿では、M細胞の形態および機能をヒトやマウスの研究から得られた知見を中心に概説すると共に、その知見を基にして粘膜ワクチンの効率を高めるM細胞の重要性とウシのM細胞研究の今後の方向性について考えたい。

全身免疫と一線を画す粘膜免疫の存在意義

ワクチン接種は、免疫の原理を応用した最も医学が健康に貢献した例であり、ヒトや家畜を様々な感染症から守る上でなくてはならない手段となっている。効果的なワクチンを開発するには、安全で適切な免疫応答を誘発し、長期にわたる免疫記憶が誘導できるものでなくてはならない。現在最も多く使われている筋肉注射あるいは皮下注射によるワクチン投与は、全身性の抗原特異的なIgG抗体産生を誘導し、外部から侵入した病原体を排除あるいは無毒化させるという視点で開発がなされている。一方で、注射によって誘導される全身免疫の機構とは一線を画し、経口あるいは経鼻といった経粘膜経路で抗原を投与することにより、粘膜免疫を活性化させる粘膜ワクチンに最近注目が集まっている[3]。粘膜免疫は、細菌の定着あるいは増殖を阻止する作用が期待できる分泌型IgA抗体を粘膜面に誘導することが出来る特徴を持っている[10]。さらに各粘膜組織間は、ある粘膜組織で誘導されたIgA産生細胞を他の遠隔の粘膜組織に帰巢（ホーミング）させることのできる共通粘膜免疫機構（Common Mucosal Immune System; CMIS）を持っている（図1）。すなわちCMISにおいては、初めに感作刺激を受け抗原特異的免疫応答を開始する組織を誘導組織と呼び、実際に粘膜免疫が機能する組織を実効組織と呼び、基本的にはMALTが誘導組織としての役割を担うことが知られている。

誘導組織で抗原刺激を受けたB細胞は、分泌型IgA抗体を産生する形質細胞に分化し、CMISを利用することで、抗原投与の粘膜面のみならず、実効組織である腸管粘膜固有層、呼吸器粘膜固有層、乳腺、涙腺、唾液腺、泌尿生殖器など、遠隔の粘膜面に抗原特異的な免疫応答を発揮させることが出来る[21]。したがって粘膜免疫機構に立脚した粘膜ワクチンを開発するには、CMISの存在を考慮する必要がある。

次に、粘膜上皮層における粘膜免疫の外来抗原排除機構について、粘膜免疫で最も研究が進んでいる腸管免疫に焦点を当てた説明をする。腸管粘膜面では、常に食物と共に様々な病原性細菌およびウイルスと接触しており、病原体侵入の防御に特化した機構が備わっている（図2）。腸管の粘膜組織を構成する細胞は、吸収上皮や杯細胞あるいはパネート細胞などのいくつかの種類から構成されていることが既に明らかにされている。吸収上皮細胞は主に栄養素を生体内に取り込み、個々の細胞同士が強固なタイトジャンクションを形成することで栄養素以外の分子を通過することを防いでいる。杯細胞は、ムチンと水を主成分とする粘液を分泌して微生物の上皮細胞への定着を物理的に阻害し、排出を促す役割を果たしている[30]。腸管上皮の幹細胞が存在する小腸粘膜絨毛間の窪んだ部分のクリプト底部には、パネート細胞が幹細胞と隣接して存在し、抗菌ペプチドやリゾチームなどの抗菌作用を有する分子を分泌することで粘膜表面まで侵入してきた有害な微生物を除菌している。上皮細胞による外来抗原排除機構に加えて、さらに、腸管免疫系により誘導される分泌型IgAも、細菌やウイルス自体および病原菌が分泌する毒素と結合することで、その上皮への結合や体内への侵入を阻害し、糞便中へ菌や毒素の排出を促進している。このように粘膜上皮層は、物理的および化学的バリア（粘膜バリア）が存在し、生体内から外来抗原やその毒素などの病原因子を排除している[15, 1]。腸管粘膜免疫にはこうした数種の細胞により粘膜バリアを持つが、その周辺には前述したMALTに外来抗原を「受入れ」るM細胞が存在している。

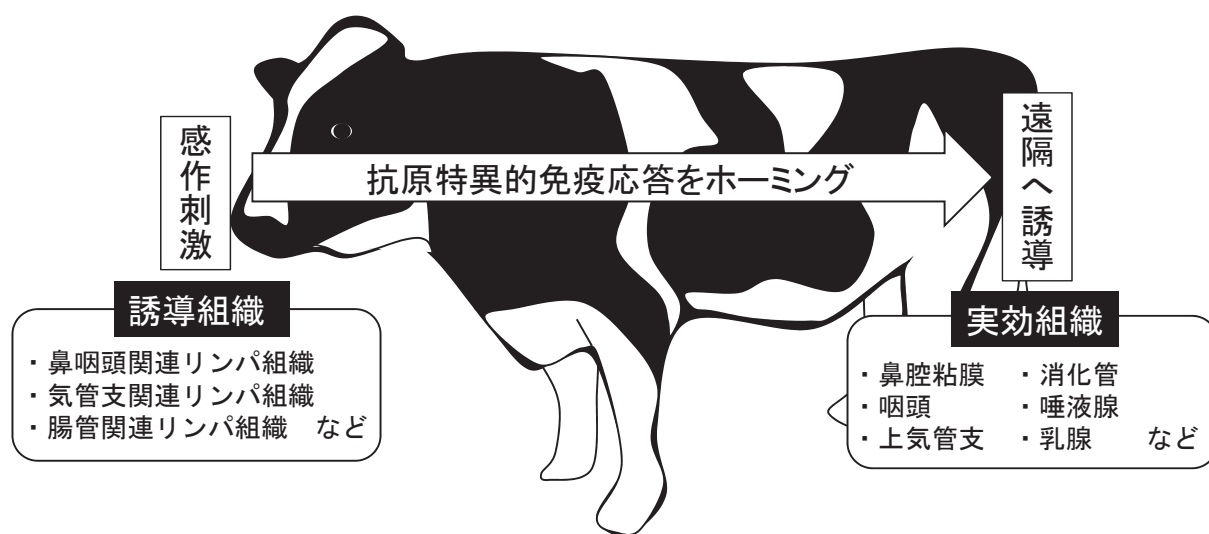


図1 共通粘膜免疫機構 (CIMS) による遠隔粘膜部位への抗原特異的免疫応答の移動

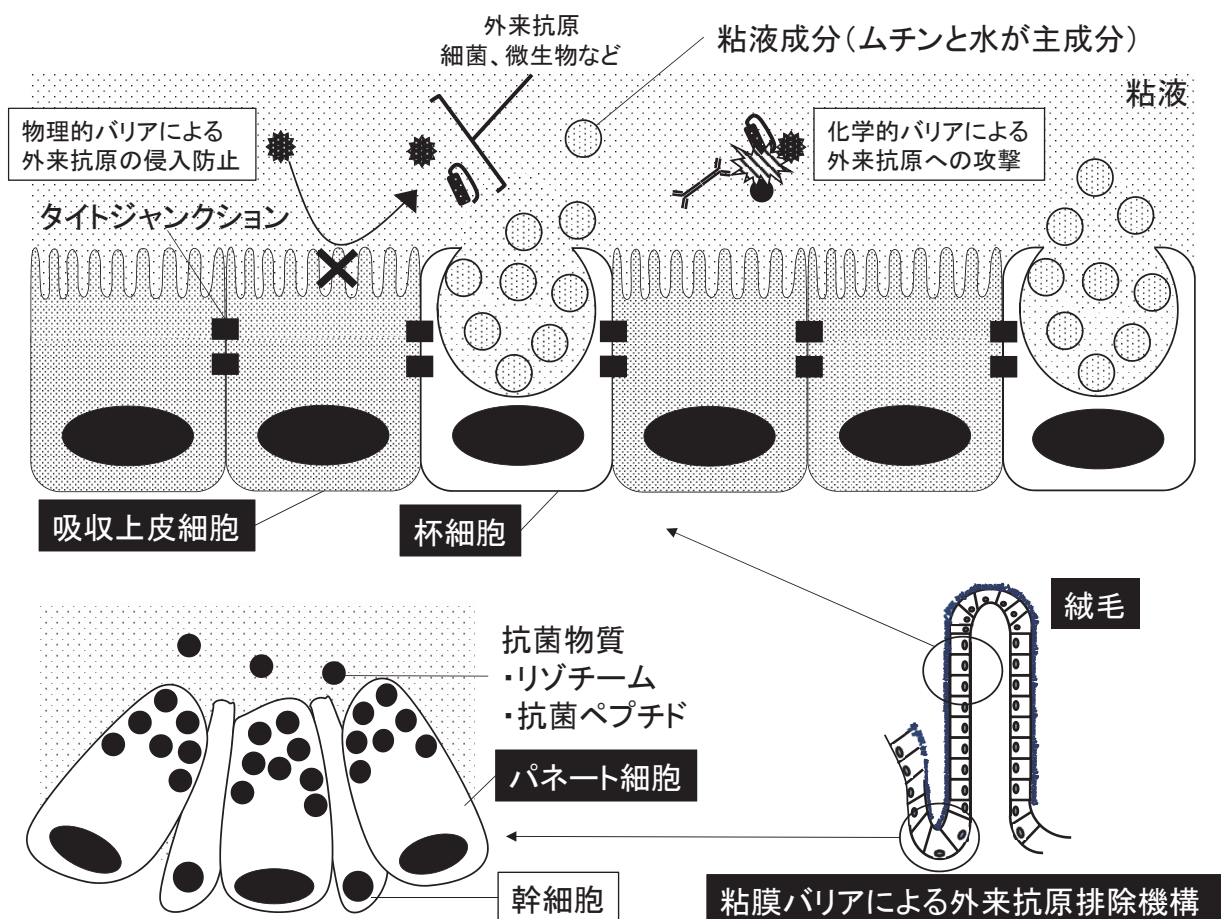


図2 腸管粘膜上皮の各種細胞による外来抗原に対する物理的および化学的バリア機能

粘膜免疫の誘導起点となるM細胞の重要性

MALTにおける粘膜免疫を誘導する起点として働くM細胞の役割を、腸管関連リンパ組織の中で代表的な組織であるパイエル板を例にして、図3を用いて説明する。パイエル板にはそれを覆う濾胞関連上皮 (follicle-associated epithelium: FAE) が存在している [8]。FAEには、図2において示した杯細胞や腸管内分泌細胞などの粘膜バリアを構成する物質を分泌する機能を持つ細胞はほとんど見られず、粘膜バリアとしての機能が脆弱であることが知られている [29, 17]。このことは、FAEにおいて、病原体が上皮細胞の表面に到達しやすくなる可能性があることを示している。この性質を有しているFAEには、杯細胞や腸管内分泌細胞が少ない代わりにM細胞が存在している。M細胞は、蛋白質、細菌あるいはウイルスなどの外来抗原を細胞内に取り込み、下部リンパ組織にそれらを伝達する機能 (トランスサイトーシス能) を持つ (図3) [2]。つまり、M細胞は前述の粘膜上皮細胞により構成される粘膜バリアによって外来抗原を排除する機能とは逆の、外来抗原の生体への「受入れ」という機能を持つ。

次にこのM細胞の外来抗原の取り込みが粘膜免疫とどのように関わるかについて説明する。まずM細胞を介してMALT内に移動した外来抗原は、上皮下に存在する樹状細胞などの抗原提示細胞に貪食され、リソソーム内の蛋白分解酵素によるプロセッシングを経て未成熟なB細胞へ抗原の情報を提示する (図4)。抗原提示されたB細胞は、分化・成熟し、抗原特異的分泌型IgA抗体を産生する形質細胞になり、管腔側へ抗原特異的な免疫応答を誘導させると考えられている。形質細胞から分泌された分泌型IgAは、細菌やウイルス自体および病原菌が分泌する毒素と結合することで、上皮への結合や体内への侵入を阻害し、糞便中への排出を促進させることが出来る (図4) [19]。すなわち、抗原特異的分泌型IgA抗体を誘導する免疫応答は、外来抗原の取り込みとなるM細胞が起点となるため、粘膜免疫を惹起させる「受入れ」口としてM細胞が重要であるといえる。こうしたM細胞が存在するMALTは、腸管関連リンパ組織の他にヒトやマウスで

は鼻咽頭関連リンパ組織、気道支関連リンパ組織ならびに扁桃といった組織でその存在が確認されている。またM細胞は、ウシの難治性疾患における病原因子の「受入れ」口としても研究されている。ウシのM細胞が最も注目されたのは、牛海面状脳症 (Bovine Spongiform Encephalopathy; BSE) の異常型プリオン蛋白の生体への取り込みの研究においてである。BSEは、生体内への異常型プリオン蛋白の侵入によって神経に異常が引き起こされる疾患であり、侵入した異常型プリオン蛋白が脳内で凝集して、密集した β シート構造を持つアミロイドが形成され、組織損傷や細胞死を引き起こすことによって発症される [20]。研究の結果、腸管のM細胞がBSEの病原因子である異常プリオン蛋白を取り込んでトランスサイトーシスを行うことが報告され、M細胞を介した異常型プリオン蛋白の「受入れ」が明らかとなった [5, 18, 33]。実際にBSE感染牛では、異常プリオン蛋白が脳、脊髄、脊髄背側神経節、眼球といった中枢や末端の神経系以外にも扁桃や回腸パイエル板といったMALTで検出されたことから [12]、経口摂取した異常型プリオン蛋白がM細胞を介してMALTから生体内へ取り込まれるということが明らかにされている。

M細胞の形態と機能

次に、粘膜免疫を惹起させる「受入れ」口として重要な役割を担うM細胞の形態と機能について説明をする。M細胞の基底膜は深く陥入したポケット構造を形成し、そこにリンパ球あるいは樹状細胞を抱え込み、下部の抗原提示細胞へ効率良く外来抗原を伝える役割を担っている (図3) [2]。さらにM細胞の細胞表面は、吸収上皮で見られるような密に発達した微絨毛が形成されておらず、微絨毛の代わりに管腔側の表面の細胞膜がひだ状構造になっている (図3) [1]。M細胞の管腔側の表面がひだ状になったのは、外来抗原を取り込み、かつその取込んだ抗原を下部の抗原提示細胞に受け渡すためのトランスサイトーシス機能に特化したため、微絨毛が発達しなかったという説がある [10]。M細胞のトランスサイトーシス能に関しては、未だ不明な点が多い。取り込む大きさについては、蛋白抗原や細菌の他に、細菌とほぼ同じ大

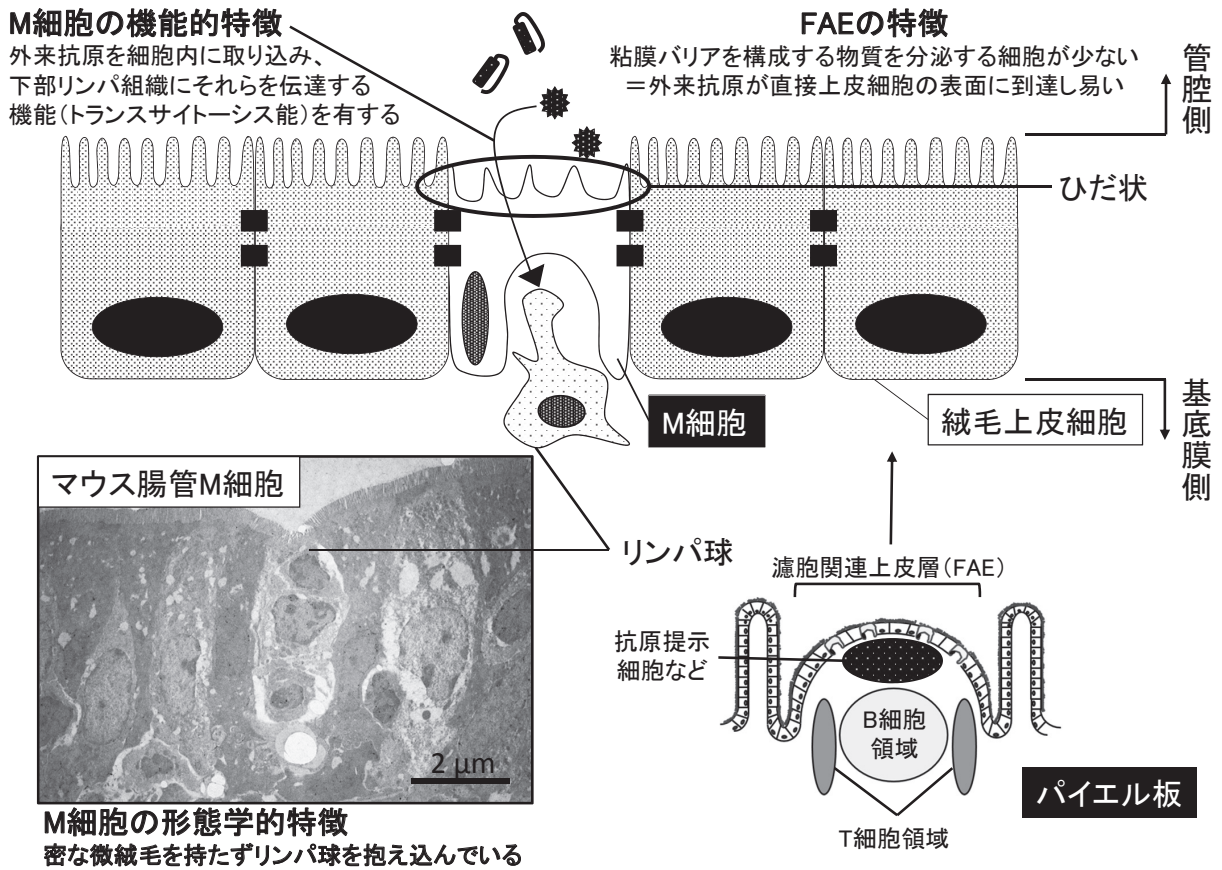


図3 外来抗原を「受け入れ」るM細胞の形態および機能的特徴

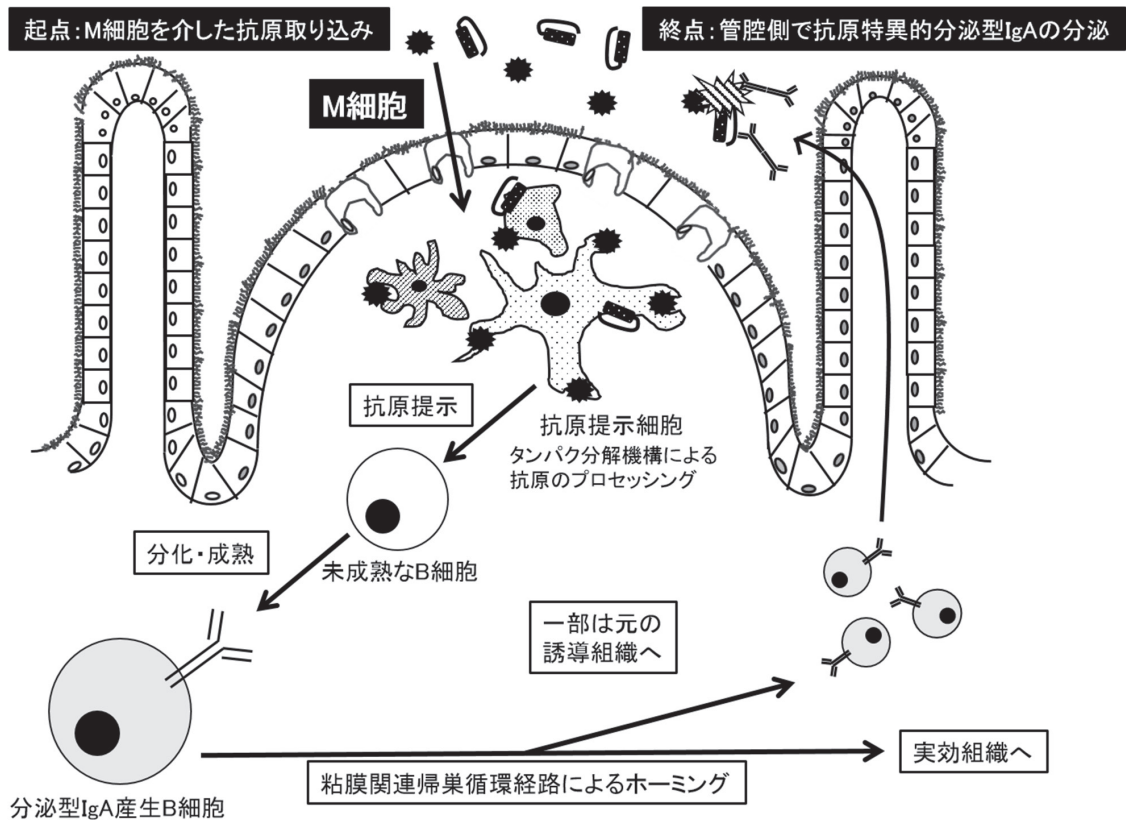


図4 M細胞を起点とする抗原特異的分泌型IgA抗体の産生機序

サイズのラテックス製のビーズなども取り込むことから、非特異的にある程度の大きさを持つものを無差別に貪食するともいわれている。最近の研究からは、生のコレラ菌はM細胞から積極的に取り込まれるが、死菌処理をすると取り込まれなくなる、あるいは同じ大腸菌でも株の違いによって取込まれやすい株と取込まれにくい株があることが明らかになり、大きさではなく何らかの特異的な取り込み機構が存在していることが示唆されている [29]。さらにM細胞特異的なマーカーとして知られるGlycoprotein-2は、大腸菌やサルモネラ菌の持つ免疫応答増強と関連のある線毛蛋白質FimH依存的に結合することにより、FimHをもつ細菌を選択的に取り込んでいることが明らかとなっている [7]。加えて、著者らはM細胞に分化したウシ腸管上皮細胞株に抗Aldolase A抗体処理を行うことで、プリオン蛋白を結合させたラテックスビーズのみトランスサイトーシスが抑制されることを明らかにし、Aldolase Aがトランスサイトーシスの機能に特異性を持たせていることを明らかとした [24]。また、正常型プリオン蛋白の機能は未だ詳細には知られていないが、興味深いことに、Glycoprotein-2やAldolase Aと同じように、M細胞におけるトランスサイトーシスの特異性に関わる蛋白質であることが示唆されている [25]。このように、M細胞には、細胞内輸送に関わる特異的なレセプターや制御因子が存在する可能性があることから、最近ではM細胞のトランスサイトーシスは非特異的でなく特異的に外来異物の取り込みをしていることが推察されている。このことは、M細胞のトランスサイトーシス機能を使って抗原の選択的な取り込みを制御出来る可能性があり、特定の感染症をターゲットにした粘膜ワクチンの開発につながられる可能性があることを示唆している。

ワクチン抗原をM細胞に 効率よく送達させる方法

粘膜免疫は抗原に対する寛容や粘膜バリア機能が発達しているため、粘膜ワクチンの実用化では、ワクチン抗原を投与しても抗原特異的免疫応答を誘導することが難しいといった問題が存在している (図5の上)。この問題を克服す

るためには、粘膜面に存在するMALTに抗原を効率的に送達させる技術の開発が重要である。これまで粘膜アジュバントとして、コレラ毒素や大腸菌易熱性毒素が見出され、それが粘膜免疫を活性化させる一定のアジュバント効果があることが示されたが、しかしこれらの細菌毒素由来のアジュバントを使用することで神経麻痺や腸重積症などの副作用が出る可能性があり、まして食糧となる家畜への応用は不向きである [12, 23, 31]。現在では、それらにかわり効率的かつ安全に抗原を伝達する技術として、サイトカインによる免疫を活性化する方法やカチオン性のナノゲルでワクチン抗原を被膜することで上皮細胞との接触を高めるといった技術が開発されている [12, 28, 32]。これらに加え、M細胞をうまく活用できれば、効果的なワクチンを作製することが出来る可能性もある (図5の下)。近年、ラットで開発されたM細胞が持つUEA-1を抗原に特異的なモノクローナル抗体NKM 16-24を作製し、これをワクチン抗原にあらかじめ結合させることにより、マウスでワクチン抗原を効率よくM細胞に運搬させる技術が報告されている [27]。この報告では、ボツリヌストキソイドを経口投与することで致死にいたるマウスが、このNKM16-24抗体にボツリヌストキソイドを結合させたデリバリー抗体の投与することで100%生存可能なワクチン効果が実証されている [27]。マウスでは、UEA-1分子の他にも、Glycoprotein-2などがM細胞特異的な分子であることが知られていることから、これらをM細胞特異的な抗原とする抗体として応用することにより、M細胞誘導型ワクチンをサポートするデリバリー抗体を開発出来る可能性もある。加えて、M細胞の分化誘導因子としての機能があるreceptor activator of NF- κ Bligand (RANKL)が [16]、鼻腔関連リンパ組織においても発現することが報告されている [22]。このことから鼻腔関連リンパ組織も腸管関連リンパ組織と同様のM細胞への分化誘導機構がある可能性が高く、鼻腔関連リンパ組織の管腔側に存在するGlycoprotein-2などのM細胞特異的な分子を標的として経鼻でもM細胞誘導型ワクチンの効率を高めるデリバリー抗体が開発出来る可能性がある。ウシにおいては、腸管パイエル板にお

ける M 細胞マーカーとして Cytokeratin 18、Aldolase A および Cyclophilin A などの分子も報告されており、M 細胞を標的とした粘膜ワ

クチンの開発が出来る可能性も今後期待できる (図 6) [13, 14, 24]。

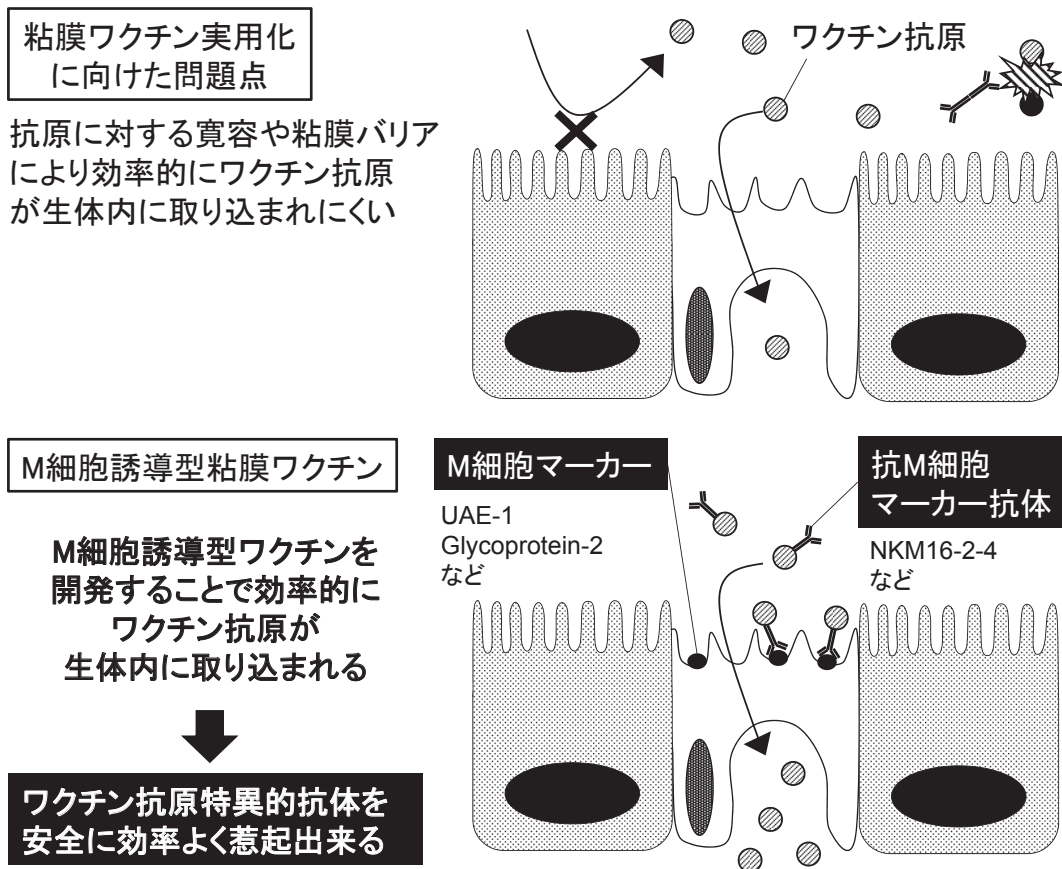


図5 粘膜ワクチン実用化に向けた問題点とM細胞をターゲットとするデリバリー技術を用いた粘膜ワクチン

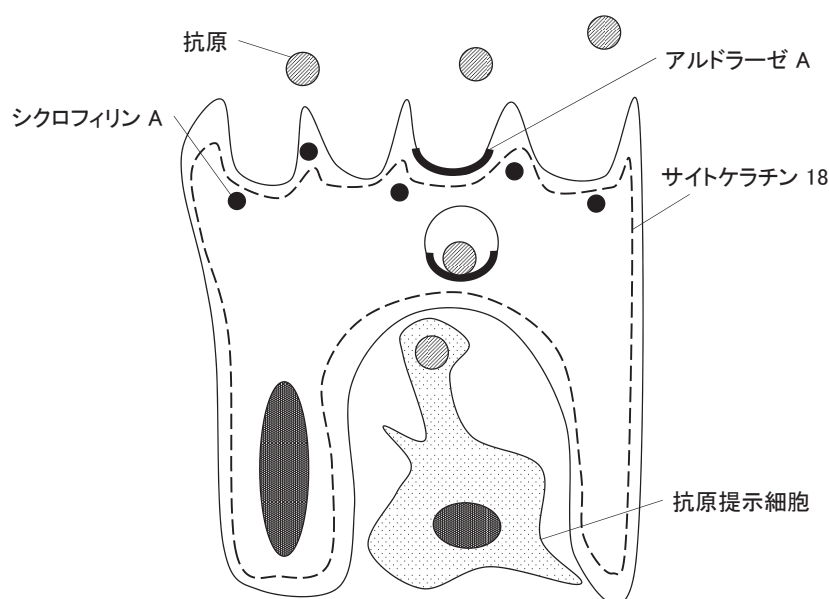


図6 これまでに報告されているウシ腸管M細胞が特異的に持つ分子

ウシの感染症を防除する粘膜ワクチンの可能性

ウシは、乳房炎や牛ウイルス性下痢・粘膜病など多くの難治性の粘膜感染症が存在することから、感染の場である粘膜局所での防除効果がある粘膜ワクチンに対する期待は大きい。粘膜ワクチンの開発は、現在ヒトの医療分野で進んでおり、経口からの生ポリオワクチンやコレラワクチンなどが開発されている。しかしこれら広く用いられている経口ワクチンの標的は腸管関連リンパ組織を誘導組織とするものである。一方で、ウシを対象とした粘膜ワクチンを開発するに当たり留意しなければならない問題点は投与ルートである。ウシを含む反芻動物は、第一胃で多くの蛋白質を発酵、分解してしまうため、投与したワクチン抗原が腸管免疫のパイエル版に届く前にペプチド化して抗原性を失ってしまう可能性がある。そのため、腸管関連リンパ組織以外、鼻腔など他のMALTを誘導組織としてワクチン投与に用いることが考えられているが、マウスやヒトのように鼻腔内にMALTが

存在しているという報告はウシでは未だない。ヒト、マウスおよびウシにおけるこれまでM細胞の存在が明らかな組織を図7に示すが、ウシではヒトやマウスに比べて各粘膜部位のMALTあるいはその近傍に存在する可能性があるM細胞の有無も明らかにされていないところが多い[4]。近年著者らは、CMISを利用して鼻腔からのウシ粘膜ワクチン開発のための研究を行っている。その研究成果として鼻腔から連なる扁桃においてワクチン抗原の「受入れ」口となりうるM細胞の存在を示唆した[未発表]。ウシでは多くの粘膜感染症があり、それらの予防のための粘膜ワクチンが注目されている現状から、ウシにおいても粘膜ワクチン抗原の「受入れ」口として機能するM細胞の細胞生物学的あるいは免疫学的研究をさらに進める必要があると考えている。

おわりに

M細胞は粘膜免疫における抗体産生を惹起させる「受入れ」口として機能するユニークな

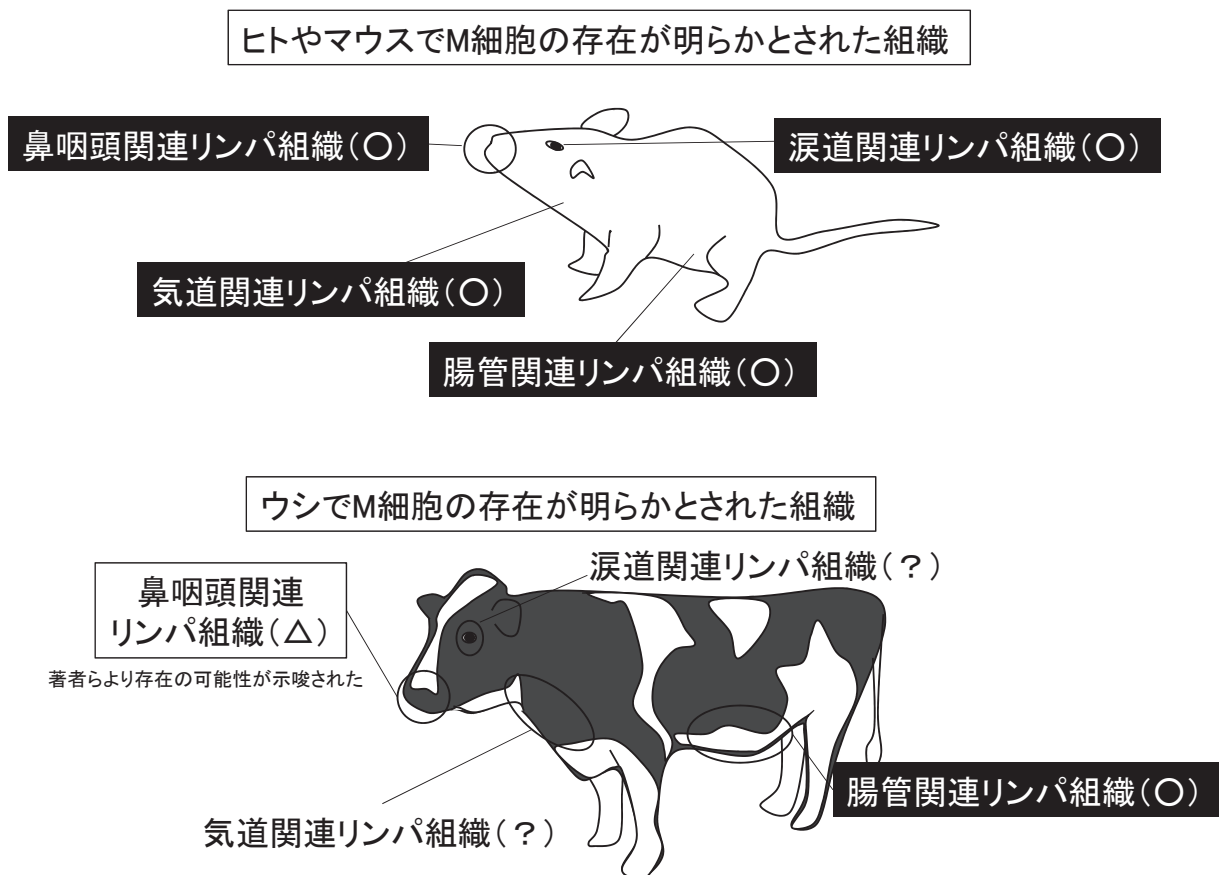


図7 ヒト、マウスおよびウシにおけるM細胞の存在が明らかにされている粘膜組織

細胞であり、粘膜ワクチンの開発においてもワクチン抗原の感作起点になる細胞として注目されている。M細胞の研究は、M細胞特異的マーカーや分化誘導因子の発見といった基礎的な知見が近年集まりつつあり、粘膜感染症のメカニズム研究や粘膜ワクチン開発への応用が進んでいる。ウシにおいては、牛ウイルス性下痢・粘膜病、牛伝染性鼻気管炎さらには乳房炎といった多くの粘膜感染症があり、その発症機序を鑑みると粘膜免疫機構に立脚した免疫誘導が有利であると考えられる。今後の家畜感染症を予防するワクチンを考える上では、粘膜免疫における抗体産生を惹起させる「受入れ」口としての重要性があるM細胞の研究を更に進める必要がある。

謝辞

この総説で紹介した知見の一部は、平成24年度～28年度農林水産省委託プロジェクト研究「生産システム革新のための研究開発（うち「優れたワクチン開発のための技術開発」）、笹川科学研究助成（28-409）およびJSPS特別研究員奨励費（25-2872）の助成により遂行された。

引用文献

- [1] Bals, R. 2000. Epithelial antimicrobial peptides in host defense against infection. *Respiratory research*. 1: 141-150.
- [2] Beier, R. and Gebert, A. 1998 Kinetics of particle uptake in the domes of Peyer's patches. *The American journal of physiology*. 75: 130-137.
- [3] Borges, O., Lebre, F., Bento, D., Borchard, G and Junginger, H. E. 2010. Mucosal Vaccines: Recent Progress in Understanding the Natural Barriers. *Pharmaceutical Research*. 27: 211-223.
- [4] Casteleyn, C., Van den Broeck, W., Gebert, A., Tambuyzer, B. R., Van Cruchten, S. and Van Ginneken, C. 2013. M cell specific markers in man and domestic animals: Valuable tools in vaccine development. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*. 36: 353-364.
- [5] Donaldson, D. S., Kobayashi, A., Ohno, H, Yagita, H., Williams, I. R. and Mabbott, N. A. 2012, M cell-depletion blocks oral prion disease pathogenesis. *Mucosal Immunol*. 5: 216-225.
- [6] Gebert, A. 1997, The role of M cells in the protection of mucosal membranes. *Histochemistry and Cell Biology*. 108: 455-470.
- [7] 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-I., 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.
- [8] 長谷 耕二, 大野 博司. 2006. 粘膜免疫系の最前線における上皮細胞の生体防御機構. *日本免疫臨床学会誌 = Japanese journal of clinical immunology*. 29: 16-26.
- [9] 長谷 耕二, 大野 博司. 2006. 特殊な腸管上皮細胞, M細胞の生物学. *生化学*. 83: 13-22.
- [10] 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: 105-109.
- [11] Hoffmann, C., Ziegler, U., Buschmann, A., Weber, A., Kupfer, L., Oelschlegel, A., Hammerschmidt, B. and Groschup, M. H. 2007. Prions spread via the autonomic nervous system from the gut to the central nervous system in cattle incubating bovine spongiform encephalopathy. *Journal of General Virology* 88: 1048-1055.
- [12] Holmgren, J., Czerkinsky, C., Eriksson, K. and Mharandi, A. 2003. Mucosal immunisation and adjuvants: A brief overview of recent advances and challenges. *Vaccine*. vol. 21: 89-95.
- [13] Hondo, T., Kanaya, T., Takakura, I., Watanabe, H., Takahashi, Y., Nagasawa, Y., Terada, S., Ohwada, S., Watanabe, K., Kitazawa, H., Rose, M. T., Yamaguchi, T. and Aso, H. 2011. Cytokeratin 18 is a specific marker of bovine intestinal M cell', *American journal of physiology. Gastrointestinal and liver physiology*. 300: 442-53.
- [14] Hondo, T., Someya, S., Nagasawa, Y., Terada, S., Watanabe, H., Chen, X., Watanabe, K., Ohwada, S., Kitazawa, H., Rose, M. T., Nochi, T. and Aso, H. 2016. Cyclophilin A is a new M cell marker of bovine intestinal epithelium. *Cell and Tissue Research*. 364: 585-97.
- [15] Kindon, H., Pothoulakis, C., Thim, L., Lynch-Devaney, K. and Podolsky, D. K. 1995. Trefoil peptide protection of intestinal epithelial barrier function: cooperative interaction with mucin glycoprotein. *Gastroenterology* 109: 516-523.
- [16] Knoop, K. A., Kumar, N., Butler, B. R., Sakthivel, S. K., Taylor, R. T., Nochi, T., Akiba, H., Yagita, H., Kiyono, H. and Williams, I. R. 2009. RANKL is necessary and sufficient to initiate development of antigen-sampling M cells in the intestinal

- epithelium.’, *The Journal of Immunology*. 183: 5738-5747.
- [17] Kraehenbuhl, J. P. and Neutra, M. R. 2000. Epithelial M cells: differentiation and function. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*. 6: 301-332.
- [18] Lawson, V. A., Furness, J.B., Klemm, H.M., Pontell, L., Chan, E., Hill, A. F. and Chiocchetti, R. 2010. The brain to gut pathway: a possible route of prion transmission. *Gut*. 59: 1643-51.
- [19] Lycke, N.Y. and Bemark, M. 2012. The role of Peyer’s patches in synchronizing gut iga responses. *Frontiers in Immunology*. 3: 1-9.
- [20] Mabbott, N. A. and Bruce, M. E. 2001. The immunobiology of TSE diseases. *The Journal of general virology*. 82: 2307-18.
- [21] McDermott, M. R. and Bienenstock, J. 1979. Evidence for a common mucosal immunologic system. I. Migration of B immunoblasts into intestinal, respiratory, and genital tissues. *Journal of immunology*. 122: 1892-8.
- [22] Mutoh, M., Kimura, S., Takahashi-Iwanaga, H., Hisamoto, M., Iwanaga, T. and Iida, J. 2015. RANKL regulates differentiation of microfold cells in mouse nasopharynx-associated lymphoid tissue (NALT). *Cell and Tissue Research*. 364: 175-84.
- [23] Mutsch, M., Zhou, W., Rhodes, P., Bopp, M., Chen, R. T., Linder, T., Sypyr, C. and Steffen, R. 2004. Use of the inactivated intranasal influenza vaccine and the risk of Bell’s palsy in Switzerland. *The New England journal of medicine*. 350: 896-903.
- [24] Nagasawa, Y., Takahashi, Y., Itani, W., Watanabe, H., Hidaka, Y., Imamura, M., Yokoyama, T., Horiuchi, M. Sakaguchi, S., Mohri, S., Michael T. R., Nochi, T. and Aso H. 2015. Prion Protein Binds to Aldolase A Produced by Bovine Intestinal M Cells. *Open Journal of Veterinary Medicine*. 5: 43-60.
- [25] Nakato, G., Hase, K., Suzuki, M., Kimura, M., Ato, M., Hanazato, M., Tobiume, M., Horiuchi, M., Atarashi, R., Nishida, N., Watarai, M., Imaoka, K. and Ohno, H. 2012. Cutting Edge: Brucella abortus exploits a cellular prion protein on intestinal M cells as an invasive receptor. *Journal of immunology*. 189: 1540-4.
- [26] Neutra, M. R. Frey, A. and Kraehenbuhl, J. P. 1996. Epithelial M cells: Gateways for mucosal infection and immunization. *Cell* 86: 345-348.
- [27] Nochi, T., Yuki, Y., Matsumura, A., Mejima, M., Terahara, K., Kim, D. Y., Fukuyama, S., Iwatsuki-Horimoto, K., Kawaoka, Y., Kohda, T., Kozaki, S., Igarashi, O. and Kiyono, H. 2007. A novel M cell specific carbohydrate-targeted mucosal vaccine effectively induces antigen-specific immune responses. *Journal of Experimental Medicine* 204: 2789-2796.
- [28] Nochi, T., Yuki, Y., Takahashi, H., Sawada, S., Mejima, M., Kohda, T., Harada, N., Kong, I. G., Sato, A., Kataoka, N., Tokuhara, D., Kurokawa, S., Takahashi, Y., Tsukada, H., Kozaki, S., Akiyoshi, K. and Kiyono, H. 2010. Nanogel antigenic protein-delivery system for adjuvant-free intranasal vaccines. *Nature materials* 9: 572-578.
- [29] Owen, R. L. 1999. Uptake and transport of intestinal macromolecules and microorganisms by M cells in Peyer’s patches--a personal and historical perspective. *Seminars in immunology*, 11: 157-163.
- [30] Pelaseyed, T., Bergström, J. H., Gustafsson, J.K., Ermund, A., Birchenough, G. M. H., Schütte, A., van der Post, S., Svensson, F., Rodríguez-Piñeiro, A. M., Nyström, E. E. L., Wising, C., Johansson, M. E. V. and Hansson, G. C. 2014. The mucus and mucins of the goblet cells and enterocytes provide the first defense line of the gastrointestinal tract and interact with the immune system. *Immunological Reviews* 260: 8-20.
- [31] Program, N. I., Murphy, T. V., Gargiullo, P. M., Massoudi, M. S., Nelson, D. B., Jumaan, A. O., Okoro, C. A., Zanardi, L. R., Setia, S., Fair, E., LeBaron, C. W., Wharton, M., Livengood, J. R. and Livingood, J. R. 2001. Correction: intussusception among infants given an oral Rotavirus vaccine. *The New England journal of medicine*. 344: 1564.
- [32] Rhee, J. H., Lee, S. E. and Kim, S. Y. 2012. Mucosal vaccine adjuvants update. *Clinical and experimental vaccine research*, 1: 50-63.
- [33] Takakura, I., Miyazawa, K., Kanaya, T., Itani, W., Watanabe, K., Ohwada, S., Watanabe, H., Hondo, T., Rose, M. T., Mori, T., Sakaguchi, S., Nishida, N., Katamine, S., Yamaguchi, T. and Aso, H. 2011. Orally administered prion protein is incorporated by m cells and spreads into lymphoid tissues with macrophages in prion protein knockout mice. *The American journal of pathology*, 179: 1301-9.

Approach from M cells as "antigen gateway" for development of the bovine mucosal vaccine.

Yuya Nagasawa and Tomohito Hayashi *

Dairy Hygiene Unit, Division of Pathology and Pathophysiology,
Hokkaido Research Station, National Institute of Animal Health, NARO,
4 Hitsujigaoka, Toyohira, Sapporo, Hokkaido, 062-0045, Japan

[Abstract]

Microfold (M) cell is a kind of mucosal epithelial cells in mucosal-associated lymphoid tissues (e.g., Peyer's patches). In general, the M cells have a unique characteristic morphology different from the other epithelial cells. Typical M cells are characterized by a lack of almost microvilli on the cell surface and the basement membrane have a pocket structure that is deeply recessed and closely connected with the dendritic cells and/or lymphocytes. Besides being as entry sites of various pathogens, M cells has important role of "antigen gateway" to induce the mucosal immunity. Studies on the structure and function of the M cells has remarkably preceded due to the discovery of many M cell specific markers in human and mouse. In the future, findings obtained from these studies might be employed for the development of mucosal vaccines. However, compared with human and mouse, limited information is available regarding the structure and function researches for the bovine M cells. In cattle, there are so many mucosal infectious diseases that economically affects to farm management. Since it considered that mucosal vaccine is desirable in the defense against mucosal infections, we must be try more research for M cell as "antigen gateway" to induce the bovine mucosal immunity.

Keywords: Cattle, Microfold cells, Mucosal vaccines

* Corresponding author : Tomohito Hayashi

Address: Hokkaido Research Station, National Institute of Animal Health,
National Agriculture and Food Research Organization, 4 Hitsujigaoka,
Toyohira, Sapporo 062-0045, Japan
Phone number: +81-11-851-5229
Fax number: +81-11-8953-0767
E-mail: hayatomo@affrc.go.jp