

総説

## ニワトリ雌生殖器の自然免疫による感染防御機能

吉村幸則

広島大学大学院統合生命科学研究科  
〒739-8528 東広島市鏡山1-4-4  
Tel/Fax: 082-424-7958  
e-mail: yyosimu@hiroshima-u.ac.jp

### 【要約】

ニワトリの自然免疫による感染防御機能は適応免疫とともに重要である。ここではニワトリの生殖器と消化管における抗菌ペプチドを中心とした自然免疫機能を概説する。産卵鶏の卵巣と卵管には自然免疫応答を開始させる微生物パターン認識受容体の Toll 様受容体 (TLRs) が発現する。そのリガンドである細菌やウイルスの成分で刺激すると、炎症性サイトカインや抗菌ペプチドのトリβ-ディフェンシン (AvBDs) の発現が高まり、さらに炎症性サイトカインも AvBDs 発現を高める。これらの AvBDs と炎症性サイトカインは白血球だけでなく、卵巣と卵管組織の固有の細胞によっても産生される。AvBDs の抗菌スペクトルは広いので、卵巣や卵管組織に感染する広範な細菌とウイルスがこれにより抑制されるものと思われる。卵管で分泌されたディフェンシンは卵白や卵殻に検出され、精子も AvBDs を発現するので、抗菌ペプチドは卵と精子の感染防御にも寄与すると考えられる。感染リスクが高い消化管でも TLRs や AvBDs が発現する。これらにより消化管で病原微生物が抑制されると、生殖器への移行も防がれると思われる。ワクチンは卵巣の TLRs と AvBDs の発現に影響し、プロバイオティクスは消化管の AvBDs 発現に影響することが認められた。有効なワクチンやプロバイオティクスの開発により生殖器や消化管の自然免疫機能を向上させることが期待できる。

**キーワード:** ニワトリ生殖器、自然免疫、抗菌ペプチド、ワクチン、プロバイオティクス

### はじめに

ニワトリが鶏肉・鶏卵を生産する能力を最大限に発揮するには健康状態の維持が大切である。様々な臓器の感染症は、健康状態を害して成長や生産機能に影響するだけでなく、生産物の病原微生物汚染をもたらすことがある。鶏卵や鶏肉へのサルモネラ菌やカンピロバクターの混入は食中毒の原因となり、受精卵を汚染する病原微生物は胚やヒナに垂直感染する。卵巣や卵管への感染は産卵率の低下や、卵殻を始めと

する卵質の低下をもたらす。感染を防ぐために、飼育現場の衛生管理の徹底やワクチン接種が行われている。

生体の感染防御には免疫機能が重要な役割を果たし、免疫機能は適応免疫と自然免疫に大別される。病原微生物に対するこれらの免疫機能を強化するためにワクチンの開発が行われている。また、抗生物質の使用が制限されているので、それに代わって腸内細菌叢を制御したり、腸管粘膜の免疫機能を強化したりするために、プロバイオティクスの有効性も検討されている。適応免疫系の機能を強化するために、ワクチン開発を始めとして、育種、栄養、内分泌な

受理：2019年4月6日

どの側面からも多くの研究がなされている。一方、自然免疫機構では液性因子としてサイトカインや抗菌ペプチドが重要な働きをするが、これらが産生される機構には明らかにされていないことも多く、またこの機能を強化するための有効な方策も確立されていない。自然免疫機能を強化できれば、感染防御機能を高めるための新たな方策を構築できる可能性がある。消化管は感染リスクが高く、消化管から侵入した微生物が生殖器に移行して感染する可能性もある [10]。ここでは、ニワトリの生殖器と消化管における抗菌ペプチドの産生を中心とした自然免疫機能を概説し、この機能を強化するためのワクチンやプロバイオティクスの展望を述べる。

### 鳥類の免疫系

免疫系は感染初期から作動する自然免疫系とそれより遅れて作動する適応免疫系に大別される。自然免疫系ではマクロファージやナチュラルキラー (NK) 細胞、多型核白血球、炎症性サイトカインや抗菌ペプチド等の細胞性および液性因子が働く。白血球や特定の細胞に発現する Toll 様受容体 (TLRs) や Nod 様受容体 (NLRs) 等の微生物関連分子認識受容体は微生物成分のパターンを認識して、自然免疫系の応答を開始させる [5, 20]。ニワトリで同定されている TLRs のうち、TLR2 はグラム陽性菌のペプチドグリカンやリポタイコ酸、TLR3 はウイルスの dsRNA、TLR4 はグラム陰性菌のリポ多糖 (LPS)、TLR5 は細菌の鞭毛フラジェリン、そして TLR7 はウイルスの ssRNA を認識する。TLR15 は鳥類に見られるユニークな受容体で、細菌が分泌する蛋白分解酵素や熱耐性分子を認識する。TLR21 は哺乳類の TLR9 と同様の機能を持ち、微生物の非メチル化 CpG-DNA を認識する。これらの TLRs が微生物パターン分子を認識すると、細胞内の応答が活性化して最終的には NF  $\kappa$  B や活性化タンパク質 1 (AP-1) といった転写因子が活性化する [14]。これらの転写因子により、炎症性サイトカインやケモカイン、抗菌ペプチドの産生が誘導される。

抗菌ペプチドは植物や下等動物、鳥類、哺乳類といった広範な生物種で産生されて感染防御に働く。鳥類では主要な抗菌ペプチドとしてト

リ  $\beta$ -ディフェンシン (avian  $\beta$ -defensin; AvBDs) やカテリシジン等が知られている [8]。これらは広い抗菌スペクトルをもち、グラム陽性菌と陰性菌、エンベロープを持つウイルス、真菌、原虫に作用する。抗菌ペプチドは微生物の細胞膜に付着すると、細胞膜に細孔を形成して死滅させると考えられている。

適応免疫系では抗原提示細胞とリンパ球が機能する。樹状細胞等の抗原提示細胞による抗原の提示を受けて、Th1 リンパ球と Th2 リンパ球が活性化する。Th2 リンパ球は B リンパ球を刺激して抗体を産生させて抗原の除去に働く。細胞が感染すると、細胞傷害性 T リンパ球が抗原の提示と Th1 リンパ球の刺激により活性化されて感染細胞の除去に働く。これらの免疫応答で活動するリンパ球は抗原に対して特異的に応答する集団で、エフェクターリンパ球として働き、その一部は記憶リンパ球としてリンパ組織に残って、その後の抗原の侵入に対してより発達した免疫応答を起こす。このため、適応免疫応答は抗原特異的に起こり、また免疫記憶が形成される。ワクチン接種の効果の 1 つには免疫記憶の形成が挙げられる。

ニワトリのリンパ器官が発達して機能するには孵化後数週間を要する。この間の感染防御には、卵黄から吸収された母鳥の移行抗体と、ヒナ自体の自然免疫機能が働く。自然免疫系は先天的な特性を持って形成されるので、胚子の時期から発現し、孵化後の当初からでも機能する。消化管を始めとする外界と接する組織の感染防御のために自然免疫は重要であろう。自然免疫系を強化するための方策は未だ確立されていないが、遺伝的な特性の解析や飼料添加物の工夫がなされてきている。プロバイオティクスが腸管を始めとする臓器の自然免疫を強化したり、ワクチンが主要臓器の自然免疫を高めたりすれば、適応免疫系に加えて新しい感染防御機能の強化策につながる。

### 生殖器の自然免疫による感染防御

卵巣と卵管は細菌やウイルスに感染すると、産卵率の低下や卵形成の異常、産卵の停止、卵の汚染が起こる [32]。卵の汚染は垂直感染による胚やヒナの斃死をもたらすほか、ヒトが摂取した時の食中毒の原因にもなる。生殖器に感

染する微生物には *Salmonella enteritidis* (SE)、*Salmonella typhimurium*、大腸菌といった細菌や [9, 27]、伝染性気管支炎ウイルス等のウイルスが知られている [19]。これらの微生物は、主に腸管から侵入し、マクロファージに取り込まれ、血流を介して生殖器に達したり [10]、クロアカから卵管を上行して卵管に定着したりするものと思われる。実験的に SE を腹腔内投与すると、産卵は継続されるが、SE が卵胞の卵胞壁や卵管の粘膜に検出される [24]。卵巣や卵管で卵が形成される間に、卵黄や卵白、卵殻膜といった卵内に混入するとイン-エッグ感染となる。また、完成卵が放卵される時や放卵後に、クロアカの微生物や床面の微生物が卵表面に付着するとオン-エッグ感染となる。

精巣や精巣上体も伝染性気管支炎ウイルスや細菌による感染で精巣炎や精巣上体炎が起こる [6, 18, 26]。これらの組織では抗体を産生する B 細胞が少ない傾向が見られるので、自然免疫系が感染防御に重要な役割を果たすかもしれない。

## 卵巣

産卵鶏の卵巣には卵巣皮質から突出した小型の白色卵胞と、それより大きく発育の序列を示す黄色卵胞が見られる。卵胞では卵子が、顆粒層と卵胞膜から成る卵胞壁に包まれている。墨汁を静脈内に投与すると、カーボン粒子が脾臓と肝臓に加えて、黄色卵胞の卵胞膜の細胞に取り込まれるので、卵胞膜には異物を貪食する機能が発達していると考えられる [30]。

卵巣の皮質と、黄色卵胞の顆粒層と卵胞膜には、TLRs、炎症性サイトカイン、AvBDs が発現する。多様な TLRs が発現することから [16, 23, 29]、卵巣では TLRs によっていろいろな微生物のパターン分子が認識されると考えられる。卵胞膜をグラム陽性菌や陰性菌、RNA および DNA ウイルスのパターン分子で刺激すると炎症性サイトカインのインターロイキン (IL) -1B や IL-6、ケモカイン、インターフェロンの発現が高まるので、微生物感染は局所的な炎症をもたらすと考えられる。このとき、多くの微生物パターン分子は AvBDs の発現には影響しないが、グラム陰性菌の LPS は AvBDs 発現を高める。一方、卵胞膜を IL-1B で刺激すると

AvBDs 発現が高まる [3]。これらのことから TLR による微生物の認識に伴い、炎症性サイトカインの発現と AvBDs 産生が続くという感染防御系のネットワークが形成されていると思われる。

## 卵管

産卵期の卵管は雌性ホルモンの作用で発達しており、卵巣側からクロアカ側に向かって、漏斗部、膨大部、峡部、子宮部と膣部に分けられる。このうち、漏斗部と膣部には他の部位と比べてマクロファージやリンパ球が多く検出される。各部位には多様な TLRs と AvBDs やカテリシジンの発現が検出される。膣部ではクロアカからの微生物の侵入を阻止するためこれらの発現が発達している。

AvBDs は卵管各部の表面上皮に検出されるので [1]、これらは組織に侵入する微生物や管腔内の微生物の増殖を阻止するために働くと思われる。膣部の細胞を SE 菌や LPS で刺激すると、AvBDs 発現が高まる。一方、多くの微生物パターン分子は炎症性サイトカインの発現を促すが、AvBDs 発現に及ぼす影響は少なく、IL-1B が AvBDs 発現を高める。このことから、卵巣と同じように、TLRs による微生物パターン認識 - 炎症性サイトカイン産生 - AvBDs 産生の局所的な感染防御のネットワークが形成されていると思われる [2, 11, 22, 31]。

一方、休産期には卵巣は退縮して卵形成も行われぬ。強制換羽後に産卵を再開したニワトリの卵では微生物汚染の頻度が高まる傾向があるという報告がある。休産期では卵管の AvBDs 発現が低下する。このことから休産期の退縮した卵管では感染防御系が低下して微生物が生存しやすく、産卵が再開された初期の卵にはこれらが混入しやすい可能性が考えられる [33]。

卵管で産生された抗菌ペプチドは組織の感染防御だけでなく、卵へ分泌されて卵内での微生物の増殖を抑制することも考えられる。卵白にはリゾチームだけでなく、オボディフェンシンという抗菌ペプチドが検出されている [28]。卵殻膜や卵殻には AvBDs が検出されている。これらの抗菌因子は卵管で産生されて卵形成の過程で卵内へ移行するものと考えられている [1]。



### 雄生殖器と精子の AvBDs

精巣では精細管の精上皮や精子で AvBDs が検出される。精巣上体の精巣輸出管上皮にも AvBDs が検出される。これらの AvBDs は精巣や精巣上体の感染防御に働くと思われる。一方、精子の AvBDs は精細管での精子形成過程で獲得されると思われるが、射出精子を人工授精すると、卵管の精子細管に入った精子にも検出されるので、卵管で長期間にわたって貯蔵される精子の感染防御に機能するかもしれない [21]。

### 消化管の自然免疫機能とプロバイオティクス

消化管は飼料、飲水、環境中のいろいろな物質が入るので、呼吸器や泌尿器などとともに感染のリスクが高い。鳥類の消化管は口腔と食道に続いて、腺胃と筋胃、十二指腸・空腸・回腸、2本の盲腸と短い結腸・直腸から成り、クローアカに開口する。消化管には AvBDs の発現が検出され、AvBDs 蛋白が腺胃、回腸と盲腸の上皮と白血球に検出される。回腸と盲腸では多くの AvBDs 発現は孵化時に高く、その後低下する傾向がある [7, 25]。しかし、SE に感染させると AvBDs 発現は増加するので、感染防御に働くものと思われる [4]。

プロバイオティクスは回腸の絨毛丈を増加させ、またそ嚢と十二指腸でタイト結合分子の1つである JAM2 発現を増加させるので、粘膜組織の発達を促す可能性がある。プロバイオティクスを給与すると、腺胃の AvBDs 遺伝子発現は変化しないが、表面上皮の蛋白の分布が減少する。このことから、プロバイオティクスは腺胃において AvBDs の分泌を促進させるかもしれない。一方、プロバイオティクスにより腸管の SE 菌の減少が見られるが、この時に AvBDs 発現は低下する [4]。この AvBDs 発現の低下が、プロバイオティクスの作用を受けてのものか、SE の減少によるものかは不明であるが、AvBDs 発現を強化するプロバイオティクスの開発は消化管の感染防御機能を向上させる方策の1つとして期待される。

### 卵巣の自然免疫機能とワクチン接種

生体の免疫記憶は主として記憶リンパ球により形成される。一方、近年、自然免疫系もワク

チン接種により強化されるという報告がある (trained immunity)。ヒトでは BCG ワクチンを接種すると、結核菌に対する免疫が強化されるが、それだけではなくワクチンに含まれていない微生物に対する応答も強化されるという報告がある [14]。この過程では、単球や NK 細胞、好中球において、ヒストン修飾によるエピジェネティックなリプログラミングで、TLRs や炎症性サイトカイン発現性が高まるものと考えられている [17]。

私達は育雛期のワクチン接種が、卵巣の自然免疫関連分子発現と、ヒストン修飾に及ぼす影響を解析した [12]。初生から 14 日齢までに、マレック病、伝染性気管支炎、ニューカッスル病、伝染性ファブリキウス嚢炎のワクチンを接種して 21 日齢時に自然免疫関連分子とヒストン修飾を解析した。その結果、育雛時のワクチン接種は、ヒナの卵巣において、一部の TLRs 発現を増強または低下させ、AvBDs 発現を低下させるので、自然免疫機能に影響するものと考えられた。この時、卵巣のヒストン H3K9ac (転写の促進) と H3K9me2 (転写の抑制) が増加することも認め、自然免疫因子との直接的な関連は不明であるが、ワクチン接種は卵巣内で遺伝子発現に影響するものと考えられた。影響を受ける遺伝子が自然免疫関連分子であれば、ワクチン接種により卵巣の感染防御のための自然免疫記憶が形成される可能性があり、自然免疫分子の発現を強化するワクチンや、低下を防ぐワクチンプログラムが開発されることが期待される。ここで示した結果は、ワクチンがヒナの卵巣における自然免疫機能に及ぼす影響であるが、哺乳類ではワクチンによる自然免疫系の強化作用は数週間から数か月続くと考えられているので [17]、有効なワクチンが開発されれば未成熟期のワクチン接種が産卵開始後の感染防御にも効果を発揮するかもしれない。

次に、卵巣が発達した産卵鶏へのサルモネラ菌 (SE) ワクチン接種が、卵胞の自然免疫関連分子の発現と、ヒストン修飾に及ぼす影響を検証した [13]。SE 不活化ワクチン接種は卵胞膜で、細菌パターン認識受容体の TLRs と、抗菌ペプチド AvBDs の発現を増強すること、ヒストン H3K9me2 量を増加させることが認められた。このことから、SE ワクチン接種により、

卵胞膜の自然免疫機能が高まると思われ、ヒストン修飾の制御により自然免疫記憶が形成されることも可能かもしれない。この作用を効果的に発揮する有効なワクチンが開発されれば、産卵鶏の生産寿命を改善する新しい感染防御機能の強化策になるかもしれない。

### まとめ

ニワトリが健康で生産機能を十分に発揮し、生産物の安全性を守るために重要な感染防御機能について述べた。これまでの多くの研究は適応免疫系の強化について注目してきたが、局所的な自然免疫機能を強化できれば、新しい感染防御機能強化策を開発できると期待される。卵形成や受精に関わる生殖器と病原微生物の感染リスクが高い消化管で、微生物パターンに対してTLRや炎症性サイトカイン、抗菌ペプチドが発現するので、これらは感染防御に働く因子に位置づけられる。これらの発現は、プロバイオティクスやワクチンの影響を受けるので、今後、効果的な製剤を開発することにより新たな感染防御機能の強化戦略を構築することが期待される。

### 参考文献

- [1] Abdel Mageed, A.M., Isobe, N., Yoshimura, Y. 2009. Immunolocalization of avian  $\beta$ -defensins in the hen oviduct and their changes in the uterus during eggshell formation. *Reproduction* 138:971-978.
- [2] Abdel-Mageed, A.M., Isobe, N., Yoshimura, Y. 2014. Effects of different TLR ligands on the expression of proinflammatory cytokines and avian  $\beta$ -defensins in the uterine and vaginal tissues of laying hens. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 162:132-141.
- [3] Abdelsalam, M., Isobe, N., Yoshimura, Y. 2012. Effects of lipopolysaccharide and interleukins on the expression of avian  $\beta$ -defensins in hen ovarian follicular tissue. *Poult. Sci.* 91:2877-2884.
- [4] Akbari, M.R., Haghighi, H.R., Chambers, J.R., Brisbin, J., Read, L.R., Sharif, S. 2008. Expression of antimicrobial peptides in cecal tonsils of chickens treated with probiotics and infected with *Salmonella enterica* serovar typhimurium. *Clin. Vaccine Immunol.* 15:1689-1693.
- [5] Brownlie, R., Allan, B. 2011. Avian toll-like receptors. *Cell Tissue Res.* 343:121-130.
- [6] Boltz, D.A., Nakai, M., Bahr, J.M. 2004. Avian infectious bronchitis virus: a possible cause of reduced fertility in the rooster. *Avian Dis.* 48:909-915.
- [7] Crhanova, M., Hradecka, H., Faldynova, M., Matulova, M., Havlickova, H., Sisak, F., Rychlik, I. 2011. Immune response of chicken gut to natural colonization by gut microflora and to *Salmonella enterica* serovar enteritidis infection. *Infect. Immun.* 79:2755-2763.
- [8] Cuperus, T., Coorens, M., van Dijk, A., Haagsman, H.P. 2013. Avian host defense peptides. *Dev. Comp. Immunol.* 41:352-369.
- [9] De Buck, J., Van Immerseel, F., Haesebrouck, F., Ducatelle, R. 2004. Colonization of the chicken reproductive tract and egg contamination by *Salmonella*. *J. Appl. Microbiol.* 97:233-245.
- [10] Gantois, I., Ducatelle, R., Pasmans, F., Haesebrouck, F., Gast, R., Humphrey, T.J., Van Immerseel, F. 2009. Mechanisms of egg contamination by *Salmonella Enteritidis*. *FEMS Microbiol. Rev.* 33:718-738.
- [11] Kamimura, T., Isobe, N., Yoshimura, Y., 2017. Effects of inhibitors of transcription factors, nuclear factor- $\kappa$ B and activator protein 1, on the expression of proinflammatory cytokines and chemokines induced by stimulation with Toll-like receptor ligands in hen vaginal cells. *Poult. Sci.* 96:723-730.
- [12] Kang, Y., Nii, T., Isobe, N., Yoshimura, Y. 2019. Effects of the routine multiple vaccinations on the expression of innate immune molecules and induction of histone modification in ovarian cells of layer chicks. *Poult. Sci.* in press.
- [13] Kang, Y., Nii, T., Isobe, N., Yoshimura, Y. 2019. Effects of *Salmonella enteritidis* vaccination on the expression of innate immune molecules and histone modifications in the follicular theca of laying hens. *J. Poult. Sci.* in press.
- [14] Keestra, A.M., de Zoete, M.R., Bouwman, L.I., Vaezirad, M.M., van Putten, J.P. 2013. Unique features of chicken Toll-like receptors. *Dev. Comp. Immunol.* 41:316-323.
- [15] Kleinnijenhuis, J., Quintin, J., Preijers, F., Joosten, L.A., Jacobs, C., Xavier, R.J., van der Meer, J.W., van Crevel, R., Netea, M.G. 2014. BCG-induced trained immunity in NK cells: Role for non-specific protection to infection. *Clin. Immunol.* 155:213-219.
- [16] Michailidis, G., Theodoridis, A., Avdi, M. 2010. Transcriptional profiling of Toll-like receptors in chicken embryos and in the ovary during sexual maturation and in response to *Salmonella enteritidis* infection. *Anim. Reprod. Sci.* 122:294-302.
- [17] Netea, M.G., Joosten, L.A., Latz, E., Mills, K.H., Natoli, G., Stunnenberg, H.G., O'Neill, L.A., Xavier,

- R.J. 2016. Trained immunity: A program of innate immune memory in health and disease. *Science* 352: aaf1098.
- [18] Monleon, R., Martin, M.P., Barnes, J.H. 2008. Bacterial orchitis and epididymo-orchitis in broiler breeders. *Avian Pathol.* 37:613-617.
- [19] Nii, T., Isobe, N., Yoshimura, Y. 2014. Effects of avian infectious bronchitis virus antigen on eggshell formation and immunoreaction in hen oviduct. *Theriogenology*, 81, 1129-1138.
- [20] Qiu, L.L., Xu, L., Guo, X.M., Li, Z.T., Wan, F., Liu, X.P., Chen, G.H., Chang, G.B. 2016. Gene expression changes in chicken NLRC5 signal pathway associated with in vitro avian leukosis virus subgroup J infection. *Genet. Mol. Res.* 15: gmr7640.
- [21] Shimizu, M., Watanabe, Y., Isobe, N., Yoshimura, Y. 2008. Expression of avian beta-defensin 3, an antimicrobial peptide, by sperm in the male reproductive organs and oviduct in chickens: an immunohistochemical study. *Poult. Sci.* 87:2653-2659.
- [22] Sonoda, Y., Abdel Mageed, A.M., Isobe, N., Yoshimura, Y. 2013. Induction of avian  $\beta$ -defensins by CpG oligodeoxynucleotides and proinflammatory cytokines in hen vaginal cells in vitro. *Reproduction*. 145:621-631.
- [23] Subedi, K., Isobe, N., Nishibori, M., Yoshimura, Y. 2007. Changes in the expression of toll-like receptor mRNAs during follicular growth and in response to lipopolysaccharide in the ovarian follicles of laying hens. *J. Reprod. Dev.* 53:1227-1235.
- [24] Takata, T., Liang, J., Nakano, H., Yoshimura, Y. 2003. Invasion of *Salmonella enteritidis* in the tissues of reproductive organs in laying Japanese quail: an immunocytochemical study. *Poult. Sci.* 82:1170-1173.
- [25] Terada, T., Nii, T., Isobe, N., Yoshimura, Y. 2018. Changes in the expression of avian  $\beta$ -defensin (AvBDs) and proinflammatory cytokines and localization of AvBD2 in the intestine of broiler embryos and chicks during their growth. *J. Poult. Sci.* 55: 280-287.
- [26] Villarreal, L.Y., Brandão, P.E., Chacón, J.L., Assayag, M.S., Maiorka, P.C., Raffi, P., Saldenberg, A.B., Jones, R.C., Ferreira, A.J. 2007. Orchitis in roosters with reduced fertility associated with avian infectious bronchitis virus and avian metapneumovirus infections. *Avian Dis.* 51:900-904.
- [27] Wales, A.D., DAVIES, R.H. 2011. A critical review of *Salmonella Typhimurium* infection in laying hens. *Avian Pathol.* 40:429-436.
- [28] Whenham, N., Lu, T.C., Maidin, M.B., Wilson, P.W., Bain, M.M., Stevenson, M.L., Stevens, M.P., Bedford, M.R., Dunn, I.C. 2015. Ovidefensins, an Oviduct-Specific Antimicrobial Gene Family, Have Evolved in Birds and Reptiles to Protect the Egg by Both Sequence and Intra-Six-Cysteine Sequence Motif Spacing. *Biol. Reprod.* 92:154.
- [29] Woods, D.C., Schorey, J.S., Johnson, A.L. 2009. Toll-like receptor signaling in hen ovarian granulosa cells is dependent on stage of follicle maturation. *Reproduction* 137: 987-996.
- [30] Yoshimura, Y., Okamoto, T. 1998. Phagocytosis of carbon particles by theca interna fibroblasts in hen ovary. *Jpn. Poult. Sci.* 35:314-318.
- [31] Yoshimura, Y. 2015 Avian  $\beta$ -defensins expression for the innate immune system in hen reproductive organs. *Poult. Sci.* 94:804-809.
- [32] Yoshimura, Y., Barua, A. 2017. Female reproductive system and immunology. *Adv. Exp. Med. Biol.* 1001:33-57.
- [33] Yoshimura, Y., Ohashi, H., Subedi, K., Nishibori, M., Isobe, N. 2006. Effects of age, egg-laying activity, and *Salmonella*-inoculation on the expressions of gallinacin mRNA in the vagina of the hen oviduct. *J. Reprod. Dev.* 52:211-218.

## Innate immunodefense system in the chicken female reproductive organs

Yukinori Yoshimura

Graduate School of Integrated Sciences for Life, Hiroshima University  
Higashi-Hiroshima 739-8528, Japan

### **[Abstract]**

The innate immunity plays important roles in the defense system as the adaptive immunity. This paper describes the innate immune functions in the chicken reproductive and digestive systems mediated by antimicrobial peptides. Toll-like receptors (TLRs), which recognize the molecular patterns of microbes, are expressed in the ovary and oviduct in chickens. Recognition of bacterial and viral patterns by TLRs regulates the expression of avian  $\beta$ -defensins (AvBDs; a member of antimicrobial peptides) and proinflammatory cytokines; and the proinflammatory cytokines further upregulate the expression of AvBDs in the ovary and oviduct. These AvBDs and inflammatory cytokines are produced by not only the leukocytes but also the specific cells in the ovary and oviduct. Since AvBDs exert a wide spectrum antimicrobial activity, they could suppress the infection by a variety of bacteria and viruses in the ovary and oviduct. Because AvBDs secreted from the oviduct could be detected in the egg albumen and eggshell, and the sperm express AvBDs, it is assumed that they contribute to the defense against infection of an egg and the sperm. TLRs and AvBDs are expressed also in the gut which is high in an infection risk. Reducing the pathogenic microbes by AvBDs in the gut may result in the suppression of infection in the reproductive organs. The vaccination modulated the expression of TLRs and AvBDs in the ovary, and the probiotics affected the AvBDs expressions. Future studies are expected to develop the effective vaccines and probiotics to enhance the innate immune functions.

**Keywords:** Chicken reproductive organs, Innate immune system, Antimicrobial peptides, Vaccines, Probiotics