

NIBS LETTER 2008 JANUARY
No. 548

日生研たより

2008年(平成20年)1月号 第54巻第1号(通巻548号)

挨拶・巻頭言

年頭のご挨拶

.....上田 進 (2)

獣医病理学研修会

第47回 No.937 マウスの腹腔内腫瘍

.....東京農工大学 (3)

第47回 No.940 イヌの脳(小脳, 延髄,
脊髄)

.....宮崎大学 (4)

レビュー

粘膜免疫～最先端予防医療としてのワクチン
開発に向けて～

.....清野 宏 (5)

学会参加記

第56回米国西部家禽病学会 (The 56th
Western Poultry Disease Conference)

.....永野哲司・平井卓哉 (13)

お知らせ

新人紹介..... (15)

学会発表演題..... (16)



NIBS

財団法人 日本生物科学研究所

NIPPON INSTITUTE FOR BIOLOGICAL SCIENCE

<http://nibs.lin.go.jp/>

年頭のご挨拶

上田 進

謹んで新年のご挨拶を申し上げます。旧年中は一方ならぬご支援、ご鞭撻を賜り衷心よりお礼申し上げます。

昨年は当財団が創立 60 周年を迎え記念シンポジウムと記念式典を開催いたしましたところ、農林水産省と文部科学省をはじめとして、日本獣医師会、日本獣医学会、日本実験動物学会などからの多数のご来賓と、平素お世話になっております大学、研究機関等の方々のご臨席を賜り、お祝辞を頂戴いたしまして厚くお礼申し上げます。創立以来 60 年の間、斯学や斯界に貢献できましたのは諸先輩ならびに所員の尽力の賜物であり、同時に当財団の事業に深い関心を寄せていただいた関係各位のご指導ご援助の賜物であり、衷心より感謝申し上げる次第です。

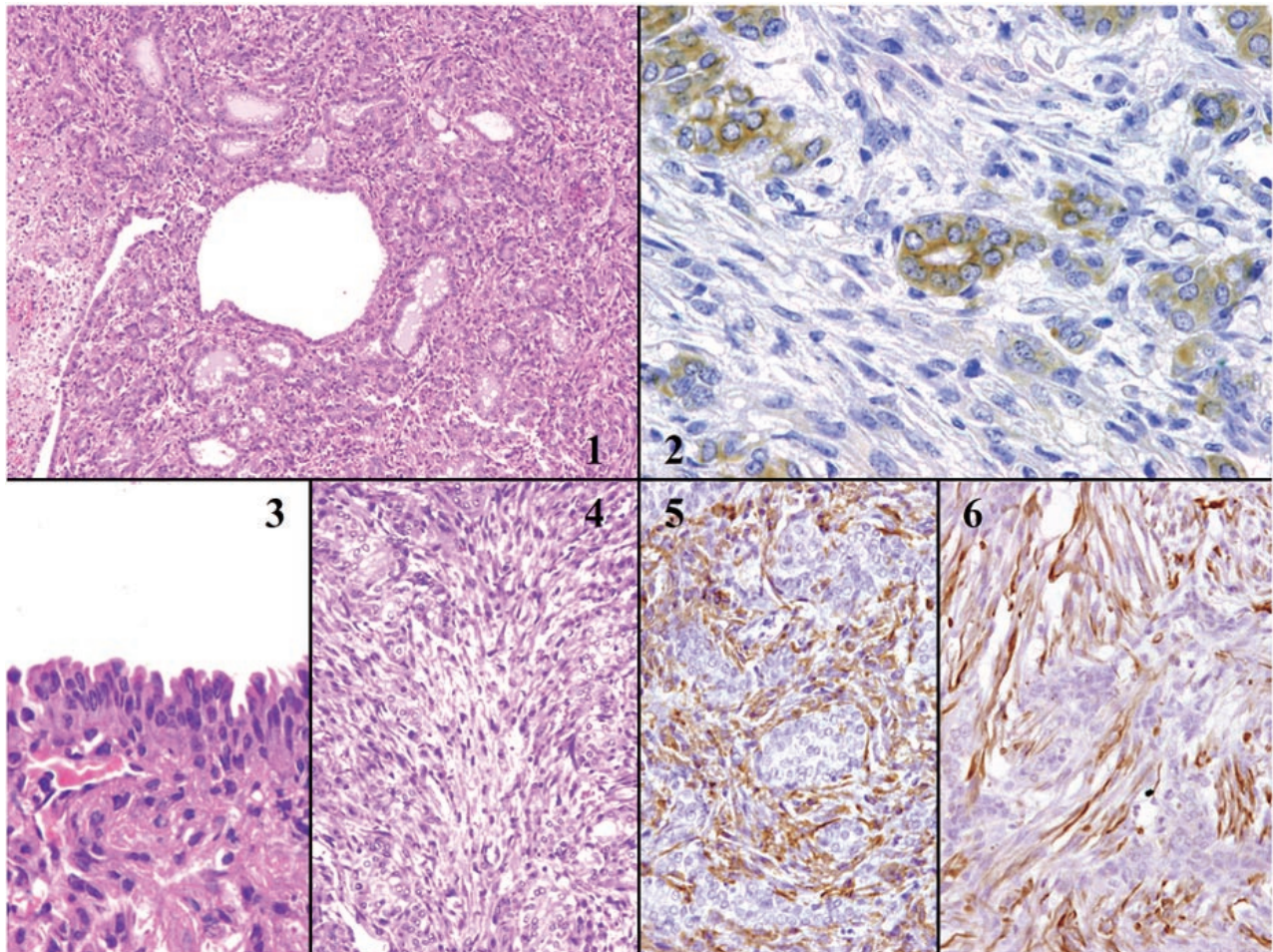
創立以来主要な研究分野であった家畜や伴侶動物の感染症予防については、狂犬病ワクチンの研究開発、ニューカッスル病ワクチンの LK 法の研究開発、日本脳炎ワクチンの研究開発、インフルエンザワクチンの研究開発をはじめとして、多数のワクチンと診断薬を研究開発することによって、家畜や伴侶動物の防疫に貢献できたことはこの上ない喜びです。日本国内には狂犬病をはじめとして馬伝染性貧血、豚コレラが姿を消し、清浄化が達成されています。しかしながら、今なお多くの感染症が存在し、かつ外国から新たな感染症も侵入してきています。このような現状を踏まえて、防疫に果たすワクチンの重要性は今後も変わらないと思われます。しかしながら、これまでのワクチンの研究開発をみますと、遺伝子組換え技術をはじめとした新たな技術の応用、そしてアジュバントの改良による技術の進展はみられますが、科学としての発展は未だに乏しいように思われます。動物用のワクチンは未だに抗体応答の高いワクチンが優れていると認識されていますが、本当でしょうか。動物の免疫機構を考慮すると、接種されたワクチンは樹状細胞に取り込まれ、T 細胞や B 細胞へと複雑なネットワークで橋渡しされ、サイトカイン類も関わってそれぞれが複雑な相互作用を経て、結果として高い抗体応答が、あるいは低い抗体応答が誘導されることとなります。このような複雑なネットワークを例えてみれば、池の中に石を投げ入れたとき水面に生じる波紋と似ています。大きな石を投げ入れれば波紋は大きく、収まるまでには長い時間を要するでしょうし、小さい石であれば波紋は小さく、収まる時間も短いものとなります。いってみればワクチンは動物の免疫ネットワークに石と同様にゆらぎを与えて、それによって生ずる結果が免疫効果として感染防御に繋がるものと思われます。あまりに大きな石を投入すると、たしかに得られる抗体応答は高いものかもしれませんが、動物に与える生理学的なダメージは大きなものである可能性は否定できないのではないのでしょうか。理想的なワクチンは動物に大きな揺らぎを与えないで、感染に際して瞬時に応答できるメモリー細胞を十分に誘導できるものではないのでしょうか。今後我々もこのような理想的なワクチン開発をめざして、研究を進めることが出来ればと願っております。

最後に皆様方のご健勝とご発展をお祈りするとともに、重ねてご指導ご鞭撻賜りますようお願い申し上げます。

(理事長)

マウスの腹腔内腫瘍

東京農工大学 第 47 回獣医病理学研修会標本 No. 937



動物：C57BL/6N 系 S1P2 ヘテロ欠損マウス，雌，32 週齢。

臨床事項：本個体は，血管内皮の増殖，アポトーシス抑制や血管新生等に関与する S1P2 遺伝子をヘテロ欠損させた遺伝子改変マウスであり，生後 6 週で N-ethyl-N-nitrosourea (ENU) を 120 mg/kg 腹腔内投与後 26 週間無処置で飼育し，殺処分したものである。

剖検所見：本腫瘍は，腹腔内左背側に 15×10×10 mm の白色充実性腫瘍として認められた。腫瘍剖面は白色充実性であり，一部に出血巣が見られた。なお，左側腎臓は認識できなかった。

組織所見：本腫瘍は，腎臓全体を置換しており，有糸分裂の少ない異型性の低い上皮成分および間質細胞成分から構成されていた (図 1)。前者は，弱好酸性液を貯留した尿管類似管状構造物や円柱～立方状または hobnail 様上皮 (図 3) に内張りされた嚢胞を形成しながら増殖しており，免疫染色では cytokeratin (図 2) にのみ陽性であった。PAS 染色は陰性であり，刷子縁や基底膜等近位尿管を示唆する固有構造は認められなかった。一方，後者は，好酸性細胞質とクロマチンに富む小型核を有する平滑筋に類似した紡錘形細胞より成り，上皮成分の周囲を縫う様に増殖し，一部では束状配列も示した。(図 4) 免疫染色では α -smooth muscle actin (図 5) および vimentin (図 6) に陽性であり，WT-1, desmin, estrogen receptor には陰性であった。

診断：腎複合上皮間質腫瘍 (Renal Mixed Epithelial and Stromal Tumor)

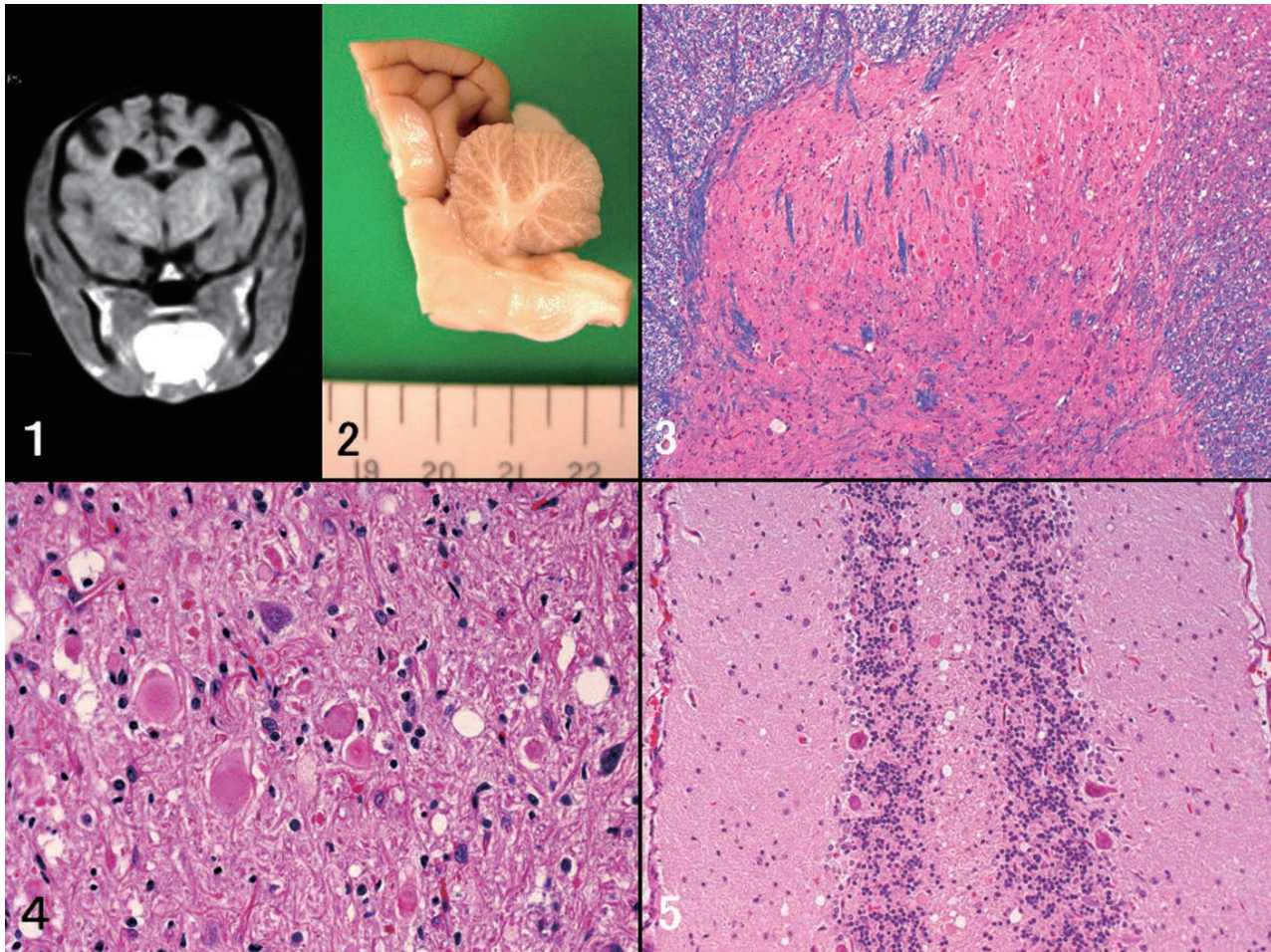
考察：ヒトの腎腫瘍の WHO 分類では，Mixed Epithelial and Stromal Tumor (MEST) と分類される腫瘍がある。MEST は，1998 年に初めて報告された充実性の間質成分と嚢胞形成を伴う上皮成分からなる二相性腫瘍である。一部の腫瘍細胞は抗エストロゲン受容体や抗プロジェステロン受容体に陽性を示し，腫瘍発生に性ホルモンが関係すると考えられている。動物においては，現在までにワオキツネザルにおいて一例の報告がある。今回の組織所見や免疫染色結果がヒトの MEST と類似していることから，現時点では本症例を MEST と診断するのがもっとも適切であると考えられる。ただし，本症例は，腎臓全体を置換しており，ヒトの報告と異なるが，これは，遺伝子改変されたマウスの胎児期に発生し，生後に遺伝子障害性のある ENU の投与を受けていることから，これらの外的因子によって腫瘍の増殖がさらに修飾されたものと推察される。(高島正義・三森国敏)

参考文献：

1. Lopez-Beltran, A. *et al.*, *Eur Urol.* 49:798-805 (2006).
2. Michal, M. *et al.*, *Virchows Arch.* 445:359-367 (2004).
3. Murphy, W. M. *et al.* AFIP ATLAS OF TUMOR PATHOLOGY Series 4. TUMORS OF THE KIDNEY, 185-187 (2004).
4. Muller, S. *et al.*, *Vet. Pathol.* 44:243-246 (2007).

イヌの脳（小脳，延髄，脊髄）

宮崎大学 第 47 回獣医病理学研修会標本 No. 940



動物：イヌ，パピヨン，雌，6ヶ月齢。

臨床事項：生後2ヶ月齢時に起立困難と頭部振戦を主訴に某動物病院を受診。神経学的検査では四肢の伸展傾向、姿勢反応低下および威嚇反射消失が認められた。頭部MRI検査ではT2強調像で視床に高信号病変が認められた。6ヶ月齢時には意識レベル低下、後肢の完全な伸展、膝蓋腱反射消失、舌麻痺が認められた。頭部MRI検査ではT2強調像で視床の病変に加え、脳溝の明瞭化と側脳室拡大（図1）、視床間橋、小脳および脳幹の萎縮が認められた。また剖検後の肉眼観察でも小脳萎縮が認められた（図2）。

組織所見：中枢神経系の広範囲に軸索変性（スフェロイド形成）およびグリア細胞増殖を特徴とした病変を認め、特に脊髄背角（図3）、延髄楔状束核、薄束核、内側毛帯、オリブ核および三叉神経脊髄路で高頻度に観察された。スフェロイドは均質、顆粒状、同心円状等、様々な性状を示し（図4）、これらの部位では反応性星状膠細胞や小膠細胞の増殖が中程度に観察された。小脳皮質では中程度から重度のプルキンエ細胞の脱落と軽度の顆粒細胞の脱落が認められた（図5）。免疫組織学的にスフェロイドはcalretinin, parvalbmin, synaptophysin, neurofilament, ubiquitin, およびHsp70に陽性を示した。診断：感覚神経路に主座したグリア細胞の増殖を伴う軸

索変性（神経軸索ジストロフィー Neuroaxonal dystrophy）

考察：本疾患は若齢時に発症する原因不明の変性性疾患であり、イヌではロットワイラー種で多く報告され、同犬種における研究より常染色体劣性遺伝疾患と考えられている。臨床的には急速に進行する小脳症状などの神経異常を特徴とし、MRIなどの画像診断では特に小脳萎縮が認められる。病理組織学的にはスフェロイド形成を伴う軸索変性が中枢神経広範囲で観察され、特に後索-毛帯路、三叉神経脊髄路、オリブ小脳路などの感覚神経路および関連領域に顕著である。類似疾患の小脳皮質 abiotrophy とは小脳皮質細胞の脱落程度と軸索変性の有無が主な鑑別点と考えられる。詳細については、J. Vet. Med. Sci. 69 (10) に掲載予定の論文に記載した。（二瓶和美）

参考文献：

1. Chrisman, C. L. *et al. J. Am. Vet. Med. Assoc.* **184**:464-467 (1984).
2. Franklin, R. J. M. *et al. J Small. Anim. Pract.* **36**:441-444 (1995).
3. Siso, S. *et al., Acta. Neuropathol. (Berl)*. **102**:501-504 (2001)

粘膜免疫 ～最先端予防医療としてのワクチン開発に向けて～

清野 宏 (東京大学医科学研究所教授)

題項

口腔からはじまる消化管，殊に腸管は生体にとって最大の免疫臓器である。その粘膜は体内にあるにも関わらず，外界とも接しており，常に異種抗原に曝されている。腸管の代表的リンパ組織であるパイエル板上皮にはM細胞と呼ばれる病原微生物を含む抗原を積極的に取り込む細胞が存在し，各種免疫担当細胞，例えば樹状細胞に抗原を受け渡すことで，その後の免疫応答が惹起される。そのため，M細胞は腸管における抗原取り込みの門戸として知られ，そこから様々な感染症・アレルギーも引き起こされると考えられている。

一方，予防という観点でみると，腸管免疫システムを標的とした経口ワクチンは既存の注射型ワクチンでは獲得できない粘膜での免疫を誘導し，第一線バリアを構築する。さらに注射型ワクチンと同様に全身免疫も惹起する。つまり，生体が有する全身免疫と粘膜免疫の両方を効率よく誘導できる点から非常に有用であり，次世代ワクチンとして期待されている。

この粘膜を利用した経口ワクチンにおいて，抗原取り込みの門戸であるM細胞を標的にすれば，効率のよいワクチンとして期待できる。しかしながらこのM細胞には未知の部分が多く，他の免疫担当細胞などと比べその機能やその特異的マーカーは長い間不明であった。しかしながら最近我々の研究室では，M細胞特異的な抗体作成に成功し，今まで形態学的特徴や杯細胞にも反応するレクチン(UEA-1)を用いていたM細胞の同定がより正確なものになった。このM細胞特異的抗体の確立により腸管のみならず，もう一つの大きな粘膜系である呼吸器にも腸管と同じく抗原を取り込み，粘膜免疫を誘導するM細胞の存在が明らかとなり，現在，経鼻ワクチンに応用して効率よく免疫を誘導する研究も行っている。

経口免疫ワクチンにおいて，経口投与したワクチン抗原を胃酸などで変性させることなく腸管粘膜へ届けるか？——すなわちワクチンデリバリーシステムも重要な問題である。そこで我々の研究室では“米(コメ)”に遺伝子組み換えで抗原を入れ込み，この米型ワクチンを経口投与することで変性させずに腸管まで抗原を到達させ，粘膜免疫さらには全身性の免疫を誘導させることに成功した。この米(コメ)を利用した非常に有用な経口ワクチンデリバリーシステムと，前述のM細胞特異的な抗体を組み合わせることで，更に効率のよい，言い換えれば副作用の少ないM細胞標的-米(コメ)型経口ワクチンの開発にむけて，現在研究を展開している。

粘膜免疫は抗原を排除するための免疫反応を誘導するばかりでなく，抗原に対して不応答な状態をつくる，すなわち免疫寛容と呼ばれる状態にも深く関わっている。この経口免疫寛容(oral tolerance)は，制御性T細胞やインターロイキン10(IL-10)，TGF- β など，細胞や分子レベルでの解析が近年盛んに研究されている。我々は，毎年多くの国民を悩ますアレルギーである“花粉症”に焦点を当て，より臨床応用に近い形での研究を行っている。すなわち，経口免疫寛容により免疫不応答な状態を誘導することで症状の緩和を図ろうというものである。

このように粘膜免疫は，生体における正と負の免疫反応を司っており，また粘膜のみにとどまらず全身性の免疫も誘導することから，粘膜は免疫の司令塔の役割を果たしていると言えよう。今回，この魅力ある粘膜免疫の世界を最近の知見も踏まえ御紹介する。

1. 粘膜免疫とは

ヒトをはじめとする生命体は、広大な環境の中で生命活動を営んでいる。そのめまぐるしい環境因子の変化のなかで、恒常性を維持するため外来の生物種や分子・物質の排除を担うために発達したのが、免疫システムである。一般に免疫システムは細菌・ウイルスなどの病原微生物、アレルゲンなどの外来異物の侵入をもって非自己と認識して作動し、リンパ球や単球、顆粒球などの免疫担当細胞が病原体や異物の排除を行う。その際、多くの病原微生物やアレルゲンは口腔・鼻腔から始まる消化管や上気道の粘膜を介して侵入することから、そこに存在するダイナミックな免疫応答機構、すなわち粘膜免疫は生体防御において非常に重要であり、かつ全身性の免疫応答を左右すると言っても過言ではない。

ヒトの体は筒に例えることができ、その内側を覆う粘膜の広さはテニスコート1.5面分に相当する(図1)。この粘膜は「内なる外」と呼ばれ、常に病原微生物やアレルゲンに曝されている。その防御機構としては粘膜上皮における物理的な防御に加え、これら上皮細胞を介して分泌される分泌型IgAやリゾチームなどの抗体・抗菌物質を含む粘液、そしてその上皮の下層にはマクロファージ、樹状細胞、T細胞、B細胞といった免疫担当細胞が存在し、複雑にかつ巧妙に自然・獲得免疫ネットワークを形成することで第一線のバリアを形成し生体を守っている¹。

ヒトの体の内側を覆う粘膜の広さはテニスコート1.5面分もあります

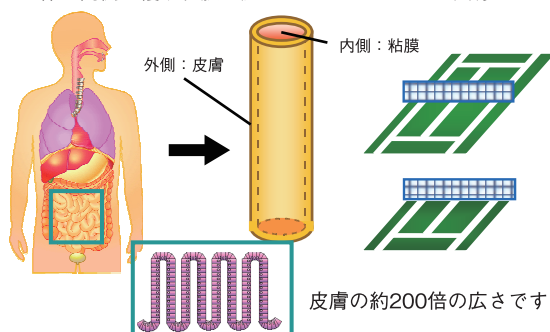


図1 皮膚と粘膜からなる体表面バリア

では次に、この大変ユニークな粘膜免疫のメカニズムについて御紹介しよう。

2. 腸管における抗原取り込みの入り口 — M細胞 —

腸管にはその免疫機構を司るリンパ球が集積したリンパ組織が存在し、腸管関連リンパ組織 (gut-associated lymphoid tissue: GALT) と呼ばれている。GALTの一つにパイエル板 (Peyer's patches) というドーム状の組織が存在し、粘膜免疫機構の主要な誘導装置として知られている(図2)。パイエル板は初め1673年にスイスの医師パイエル (Joseph Conrad Hans Peyer) によって腸管にパッチワーク状に点在する粘膜隆起として発見されていたが、その後300年を経て1971年に Cebra と Craig によってIgA産生細胞の前駆細胞の集合体として報告され、粘膜免疫機構における免疫学的意義が明らかになった²。すなわち、腸管管腔内における抗原に反応し、抗原特異的なIgA抗体を産生する形質細胞の前駆細胞であるB細胞の分化成熟を司るリンパ装置であり、粘膜免疫機構における誘導組織としての役割を果たしている。

その管腔側には、密度そして背丈の高い微絨毛で被われた円柱上皮細胞からなる上皮層が形成されている。その中に微絨毛の高さが低く、なおかつ不連続な微絨毛を持つ細胞が散在しており、M細胞 (Microfold cell) と呼ばれている^{3,4} (図2)。このM細胞は基底側に種々の免疫担当細胞を抱え込むようにポケット状の窪みを形成しているのが特徴で、パイエル板ドームにおける上皮の約10%の割合で存在している。病原微生物やアレルゲンなどの異種抗原は、このM細胞から侵入・取り込まれることから、腸管粘膜における抗原取り込みの門戸と考えられている(図2, 3)。M細胞は、パイエル板に最も近接する絨毛に連続する腺窩 (crypt) から分化・成熟する上皮細胞であるが、大食細胞 (macrophage) と同様に抗原を積極的に取り込む機

能も有し、それ自身も主要組織適合遺伝子複合体 (MHC) クラス II 抗原を表出している。一方で、リソソームの発達が悪く、取り込んだ腸内抗原をほとんど修飾することなく、ポケット内や直下に存在する大食細胞や樹状細胞といった抗原提示細胞 (antigen presenting cell: APC) に受け渡すことを主な機能としていると考えられている。この抗原取り込み細胞の直下に免疫担当細胞が存在していることは、その後の免疫応答を惹起することを考えると、非常に効率的である。M 細胞表層の粘液層は周囲の絨毛上皮細胞と比較して極めて薄く、そこには抗原物質やウイルス、細菌表面に存在するレクチンやレクチン様タンパク質を認識する糖鎖構造を有している。そのため、ウイルスや細菌などの病原微生物の感染経路にもなっている。

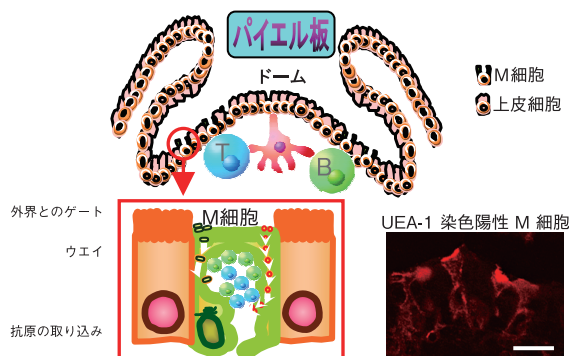


図2 パイエル板と M 細胞

この M 細胞における抗原取り込み機構を解明することは、治療のみならず予防の観点からも非常に有意義なことである。そのため我々は、この M 細胞のマーカーとされるレクチンのひとつ、UEA-1 更には最近我々の研究室で精製に成功した M 細胞特異的モノクローナル抗体 (NKM16-2-4)⁵ を用いて M 細胞を集め、このユニークな細胞が特異的に発現している遺伝子を解析し、その機能解明を行っている。今後この抗体のワクチンへの応用、すなわち M 細胞を標的とした効率の良い粘膜ワクチン開発のための研究がおおいに期待されることである。

また一方で、近年我々はパイエル板のみならず、絨毛先端部において抗原取り込みを行う絨毛 M 細胞

(villous M cell) を発見し、腸管にはダイナミックな抗原取り込み機構が存在している可能性を報告した^{6,7}。

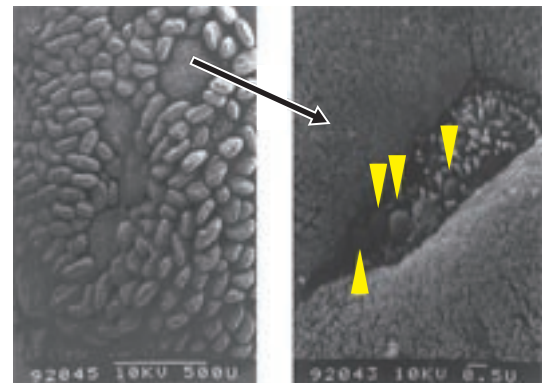


図3 M 細胞における粒子状抗原の取り込み

3. 外界と接するもう一つの粘膜免疫系器官 —呼吸器系—

消化器系と並んで外界と接している粘膜として、鼻腔からはじまる呼吸器系がある。中でも気道は吸入性抗原の侵入を阻止するため、腸管同様、抗原に対して非特異的かつ迅速に応答する自然免疫系と、後天的に獲得される抗原特異的な獲得免疫系からなる幾重もの防御機構を備えている。呼吸器系においては、鼻咽頭関連リンパ組織 (nasopharynx-associated lymphoid tissue: NALT) や気管支関連リンパ組織 (bronchus-associated lymphoid tissue: BALT) が粘膜免疫誘導組織として知られている⁸。ヒトの気道における粘膜免疫機構として、上気道の粘膜免疫の誘導および実効組織としてワルダイエル扁桃輪が重要な役割を担っている他、下気道においては BALT が誘導組織の一部として機能していると考えられている。発生学的に扁桃を持たないマウスをはじめとするげっ歯類における NALT は、ヒトのワルダイエル扁桃輪に相当する組織として考えられている。NALT は鼻咽頭管に沿って両側鼻腔の下側壁に伸びるリンパ球の集簇として観察される二次リンパ組織である (図4)。この NALT においても、その濾胞関連上皮 (follicle associated epithelium: FAE) と呼ばれる上皮層に、抗原取り込

みに特化した上皮細胞である M 細胞が高頻度で存在し、その下層では樹状細胞などの抗原提示細胞が M 細胞で取り込まれた抗原を T 細胞やリンパ濾胞域の B 細胞に提示することで、免疫応答を誘導している。

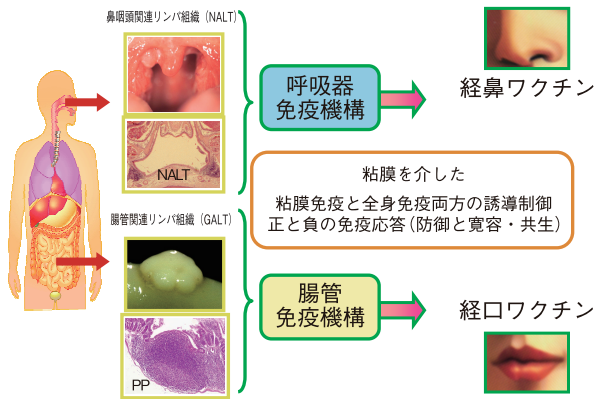


図4 呼吸器系と消化器系における粘膜関連リンパ組織

4. 粘膜免疫の誘導

パイエル板、NALT などの誘導組織で取り込まれた抗原の情報は、抗原提示細胞によって処理・提示され、その後、抗原感作を受けた各種免疫担当細胞は胸管・血管を経て、実効組織である各種粘膜免疫担当組織（例. 唾液腺、腸管粘膜固有層）に送り出される（ホーミング）。そして最終的に B 細胞から分化した形質細胞が抗体である IgA を産生する。この粘膜免疫誘導のための循環帰巢経路、すなわち汎粘膜免疫機構（common mucosal immune system: CMIS）を効率よく誘導・制御する事が、殊に感染症やアレルギーといった病態の克服につながると思

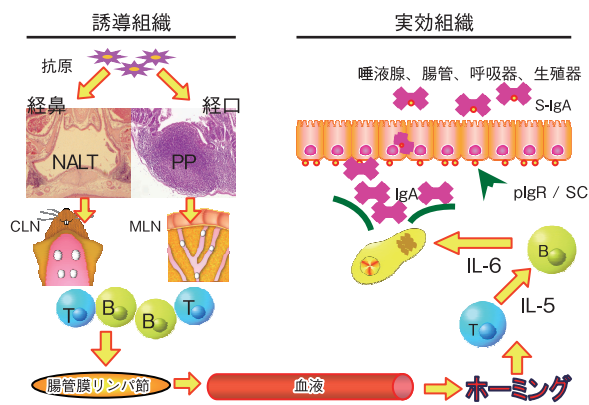


図5 粘膜免疫誘導のための循環帰巢経路 (CMIS)

われる (図5)。

5. 世界に於ける感染症の脅威とワクチン開発

殊に医療が発展した先進国では主要成人病として、癌・心疾患・脳疾患が、更には近年メタボリックシンドロームに代表される代謝性疾患が脚光を浴びている。しかしながら、発展途上の国々を含む地球規模での死亡原因としては、まだまだ感染症が大きな割合を占めており、C 型肝炎ウイルス (hepatitis C virus:HCV) による肝臓癌、ヘリコバクター・ピロリ菌による胃炎・胃潰瘍から発展した胃癌まで含めると、循環器疾患と並び、死亡原因のトップクラスに挙げられる (図6)。そして、それら感染症による死亡者の多くが、医療を満足に受けられない発展途上国の人々であり、こうした人々には、治療はもとより、疾患になる前に予防することも重要なことである。

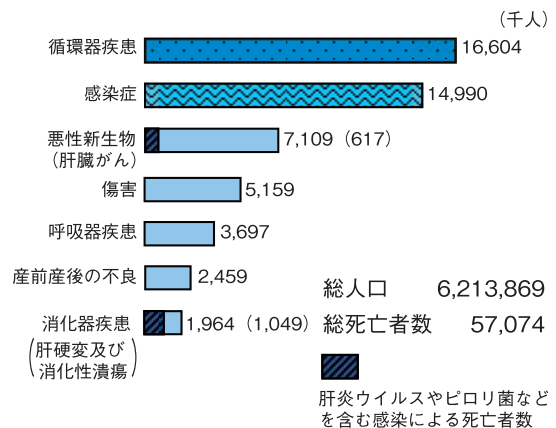


図6 主要疾患別推定死亡者数 (WHO: 2002 年統計)

Jenner の種痘にはじまる 1979 年の天然痘撲滅宣言は、現代医学における最大の偉業と言われる。この免疫学の原点ともいえるべき「一度罹れば二度なし」という生体が有する免疫システムにのっとった生命基盤は、現在でもワクチンとして広く利用されている。そしてこのワクチンを用いた病気の予防は世界、特に上述の医療を満足に受けられない発展途上国の人々にも貢献できる。

6. 粘膜免疫と経口ワクチン開発に向けた新展開

感染症の多くは消化管や呼吸器などの粘膜から病原微生物が入ることに起因することから、粘膜における侵入阻止効果のある免疫を誘導することが重要である。この粘膜免疫誘導には抗原特異的 IgA の産生が必要であるが、これは従来の注射型ワクチンでは誘導されにくいという欠点がある。しかしながら経口ワクチンの場合、抗原特異的 IgA の産生が誘導され、なおかつ全身の IgG を中心とした抗原特異的抗体も同時に誘導できるという利点がある⁹。

また、発展途上国の医療現場で既存のワクチンが抱える問題として、ワクチンは熱に弱いため、低温輸送・保存のためのシステム、いわゆるコールド・チェーンが必要なこと、更に注射型ワクチンは投与器具が必要であり、医源性の感染を予防するため、その廃棄を徹底するような教育、そして廃棄に伴う環境への考慮が必要になってくる。しかしながら多くの発展途上国はコストそして社会インフラの面から、こうしたワクチン供給・投与・廃棄までの問題を克服できないのが現状である。

そこで我々の研究室ではイノベーション的発想から、日本が世界に誇るコメを、ワクチンを含めた新しい医薬製剤生産系、そして自然型医薬送達法開発に応用する研究を開始している。つまり安全性を第一条件に遺伝子改変した“ワクチン発現コメ（米）”を経口投与し、効率よく粘膜免疫を誘導するシステムを開発・研究しており MucRiceTM システム呼んでいる（図7）。このコメ型ワクチンの利点は、室温で長期保存が可能な事、また抗原が特殊なタンパク構造体（protein body I, II:PB I, II）に包まれており胃における酸性条件に対して抵抗性を示すので経口投与が可能な事、安価に大量生産できること等があげられる。

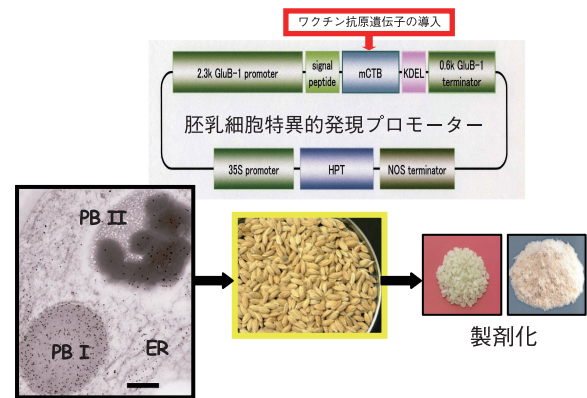


図7 コメ型ワクチン MucRiceTM の基本コンセプト

このコメ型経口ワクチンの概念・技術による研究成果として、コレラ菌由来毒素コレラトキシン（CT）の無毒化部位である B サブユニット（CT-B）を発現する米型経口ワクチン（MucRice-CTB）の開発に成功した¹⁰。コレラはコレラ菌の感染によっておこる激しい下痢を主症状とする感染症で、感染後、数時間～5日ほど（通常一日内外）の潜伏期を経ていわゆるコレラ症状をとるものである¹¹。症状のほとんどは下痢、脱水症とそれにとまなう代謝性アシドーシスに基づくものである。下痢は“米のとぎ汁様下痢”とよばれる白濁した水様性、かつ連続的に噴出する激しいもので、しばしば脱水により昏睡状態に陥ることもある。このコレラの原因になるものはすべてコレラ毒素（コレラトキシン、コレラエンテロトキシン、CT）と呼ばれる毒素で、コレラ毒素は、毒素産生型コレラ菌が産生して菌体外に分泌するタンパク質性の外毒素である。この外毒素は、毒素としての活性を持つ A サブユニット（Active サブユニット）1個と、細胞との結合活性を持つ B サブユニット（Binding サブユニット）5個から構成された A1B5 型と呼ばれるタンパク質である¹²。

治療としては、下痢によって喪失された水と電解質を輸液によって補充する対症療法が行われる。また、Azythromysin などの抗生物質の投与も効果が期待できるとの報告もある¹³。しかし、コレラ常在地では患者に免疫を付けさせるため、および、耐性菌の蔓延を防ぐために使用を控える場合が多い。感

染による宿主側の反応として、菌体が組織内や血中に侵入することではなく、脱水による体力の消耗を輸液などで管理しながら、菌体の排出を待てばよい。感染すると回復後、血中および糞便中にコレラ菌に対する抗体が産生され、一度感染するとかなり強い免疫抵抗性を生じる¹⁴。一方、コレラ予防用に死菌コレラ菌筋肉注射用ワクチンが古くからあるがあまり効果が期待できないといわれている。これに代わり、最近ではコレラ毒素遺伝子を遺伝子工学的に欠失させたコレラ毒素非産生性の変異コレラ菌を用い、直接腸管を免疫刺激し、分泌型抗体の分泌を促進させる経口生菌ワクチンが開発されている¹⁵。しかしながら、この方法では、胃酸でかなり多くの生菌が死んでしまう上、抗生剤のときと同様、のちに人類がコントロールするのが非常に難しい遺伝子変異を起こした細菌を排出することで、新たに有害な細菌を創出する危険性も考えられる。

そこで我々の研究室では、コメを媒体にしてコレラ毒素に対する免疫を誘導する方法を提案し、その成果を報告した¹⁰。すなわち、前述したようにコレラ菌の遺伝子の一部で、実際に毒素活性を持たない部分である CT-B (cholera toxin subunit B) をイネのタンパク貯蔵体遺伝子に発現させ、生育したコメを粉末状にしてマウスに飲ませ、免疫するというものである。この免疫したマウスにコレラ毒素を投与させたところ、中和抗体が誘導され下痢などの症状は出ず、コレラ毒素に対する免疫が確認された (図 8)。この際、組み込んでできたコレラ菌のタンパク質 (CT-B) は胃腸で消化されず、腸管のパイエル板に代表される粘膜上皮に存在する M 細胞から効果的に取り込まれる大きさで、注射をすることなく、また使用済み投与器具の廃棄や 2 次感染の心配もないことから、このコメ型経口ワクチンに世界の注目が集まっている。今後、組み込む遺伝子を変えればインフルエンザなど他の感染症にも応用可能で、ヒトに対する安全性を確認することを踏まえ、今後の研究の進展が大いに期待されている。

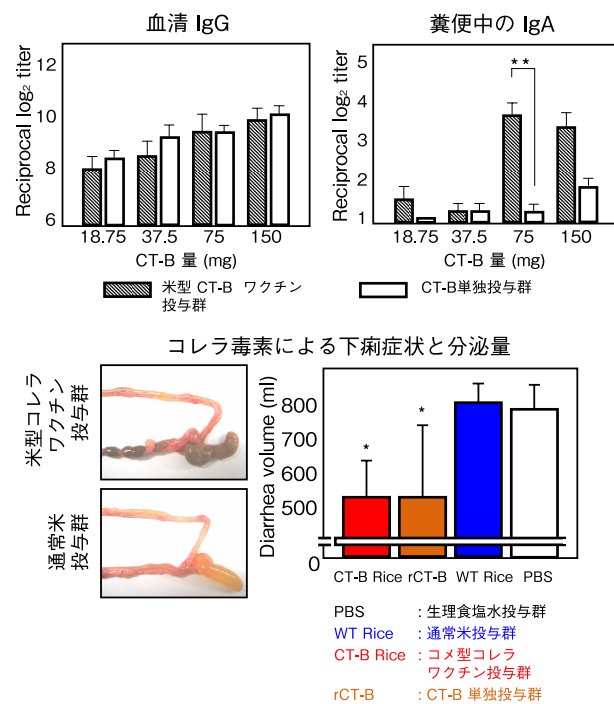


図 8 米型ワクチンによるコレラ毒素に対する免疫の獲得

7. 経口免疫寛容と食物アレルギー

ヒトをはじめとする生命体はその活動のためのエネルギーとして外界から食物という形で多種多様な異種タンパクを大量に消化管から摂取している。先に述べた免疫の理論的な概念からすれば、食物タンパクもいわば異物とみなされても不思議ではない。しかしながら、生体は粘膜免疫機構を巧みに駆使することで、食物による粘膜免疫の誘導を“免疫寛容”という形で抑えている可能性が示唆されている。“免疫寛容”とはある抗原を少量ずつ長期間経口投与または多量に短期間経口摂取すると、抗原特異的免疫応答が抑制されるというものである (図 9)。この免疫寛容の破綻がもたらすと考えられている病態の一つに、近年その発症率が増加傾向にある“食物アレルギー (food allergy)”がある¹⁶。

現在までのところ、免疫寛容に関与する免疫機構としては i) 免疫不応答 (anergy): 抗原特異的な T 細胞クローンが消失することなく免疫応答しなくなるというもの、ii) 調節性 T 細胞による抑制 (active suppression): T 細胞が抑制性のサイトカイン (TGF- β や IL-10 など) を放出することにより、免疫応

答を抑制するというもの、iii) 細胞の除去 (clonal deletion): 経口的に抗原が投与された場合、腸管やその他の場でアポトーシスが誘導され抗原特異的細胞が死滅除去されるというもの、といった機構が考えられているが、まだ多くの謎が残っており、今後更なる解析が待たれるところである。

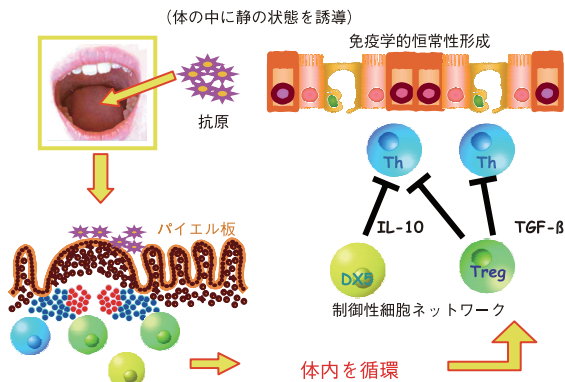


図9 経口免疫寛容：経口免疫により誘導される消極的免疫応答 (体の中に静の状態を誘導)

8. 経口免疫寛容とワクチン

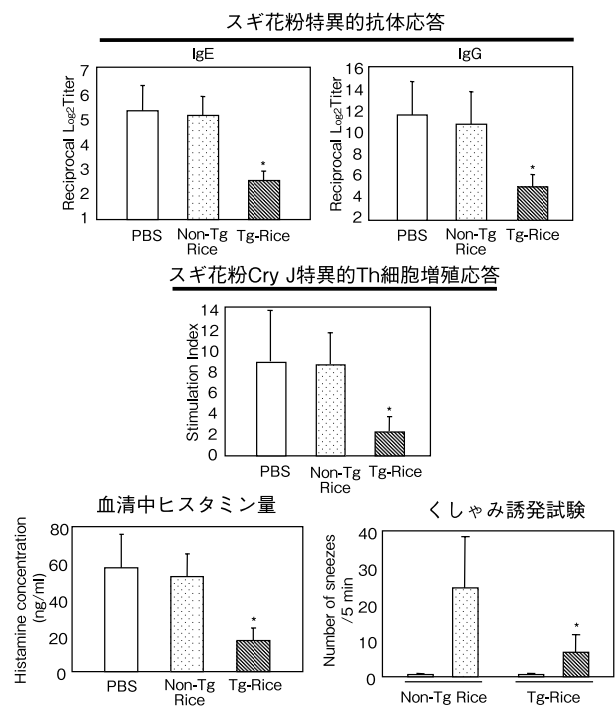
～米発現システムを応用した取り組み～

前述のコメ型経口ワクチンを経口免疫寛容の視点から応用した研究成果として、花粉症緩和米を紹介する。

花粉症は今や日本国民の20%が花粉症に悩まされているとの報告もあり、医療費をはじめ花粉症に付随する経済損失も増加の一途を辿っており、新たな国民病としての位置を確立しつつある¹⁷。その発症メカニズムとしては、患者が空中に飛散している植物由来の花粉と接触した結果、後天的に免疫を獲得し、その後再び花粉に接触することで過剰な免疫反応、すなわちアレルギー反応を起こすものである。アレルギーの中でも、IgEや、そのIgEによって活性化される肥満細胞 (mast cell) によるメカニズムが大きく関与する、即時型I型アレルギーの代表的なものである。そのメカニズムとしては目や鼻などの粘膜に花粉が付着すると、花粉内からアレルゲンとなるタンパク質が溶け出し、樹状細胞 (DC) や大食細胞 (macrophage) に取り込まれ、非自己 (異

物) であると認識される。この情報は胸腺由来のリンパ球であるヘルパーT細胞 (Th1とTh2) のうちのTh2を介し、骨髄由来のリンパ球であるB細胞に伝えられる。そしてB細胞から分化した形質細胞が、その花粉アレルゲンと特異的に反応する抗体を作り出す。抗体は本来、体内に侵入した病原細菌や毒素などの異物を排除・無害化するためのものであり、ヒトにはIgG, IgA, IgM, IgD, IgEの5つのタイプが存在するが、花粉症の患者で最も重要なのがIgEである。このIgEは、血液や粘膜中に存在する肥満細胞や好塩基球に結合し、再び花粉アレルゲンが侵入してIgEに結合すると、ケミカルメディエーターと呼ばれる様々な化学伝質が遊離して症状を引き起こすことになる¹⁸。

この花粉症をワクチンで予防・軽減させることを目的に、スギ花粉T細胞エピトープのペプチドをコメに発現させ、マウスに連続的に投与したところ、経口投与により経口免疫寛容を誘導し、花粉症様応答が軽減される結果を得ている¹⁹。すなわち、花粉症緩和米を投与したマウスは、血中のIgE・スギ花粉特異的Th細胞増殖・ヒスタミン遊離の減少、くしゃみなどの症状緩和を示した (図10)。今後、



PBS: 生理食塩水 Tg-Rice: スギ花粉症緩和米 Non-Tg Rice: 通常米

図10 スギ花粉症緩和米による経口免疫寛容の誘導

安全性や投与量の検討，そして既にスギ花粉に感作されている状態での効果の検討など，さらにヒトに於ける応用を視野に入れた課題を解決する研究を進めていかなければならない。

9. まとめ

粘膜免疫の研究と，それを基盤に応用を目指した経口ワクチンは，従来の注射型ワクチンにあった疼痛から解放されるばかりでなく，安全性が高いうえ効果もより高く，さらには投与器具による環境汚染防止まで視野に入れた次世代型ワクチンである。この感染防御・免疫寛容が誘導できる身体に優しいワクチンの開発は，ライフサイエンスに裏打ちされるイノベーション，すなわち「食」・「薬」・「医」を融合する新たな技術体系「食薬医学」(food based pharmacology and Medicine)の創出につながる。このように免疫学のニューワールドー粘膜免疫ーは，多くの魅力と難病克服の可能性を秘めた“宝の山”と呼ぶことができよう²⁰。

参考文献

- 1) 倉島洋介, 國澤 純, 清野 宏
腸内感染防御システムとしての粘膜免疫
最新医学 3月増刊号 115-123, 2005.
- 2) Cebra, JJ., *et al.* 1971. *J. Exp. Med.* 134:188-200.
- 3) Mach, J., *et al.* 2005. *Immunol Rev.* 206:177-89.Review.
- 4) 寺原和孝, 清野 宏
粘膜 M 細胞の新機能
Annual Review 免疫 2006, VIII. 免疫組織, 142-150.
- 5) Nochi, T., *et al.* 2007. *J. Exp. Med.* 204:2789-2796.
- 6) Jang, M. H., *et al.* 2004. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 101 : 6110-6115.
- 7) 吉田理人, 五十嵐脩, 寺原和孝, 清野 宏
絨毛 M 細胞の形態と機能
臨床免疫, 45 (2) :236-242, 2006.
- 8) 高村 薫, 福山 聡, 清野 宏
気道の粘膜免疫 : 小児の気道感染症ー基礎と臨床小児内科 vol. 39, No. 1, 2007-1
- 9) 國澤 純
粘膜免疫の特徴と粘膜ワクチンの開発
生物工学会誌 83 (5), 246, 2005.
- 10) Nochi, T., *et al.* 2007. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 104:10986-10991.
- 11) 森山良一 他
微生物学 第6版
医学書院
- 12) Gill, DM. *Biochemistry.* 1976. 23:1242-8.
- 13) D.Saha, *et al.* 2006. *The New England Journal of Medicine.* 345:2452-2462.
- 14) Brandtzaeg, P.2006. *Vaccine.* Corrected Proof, Available online 15.
- 15) Talavera, A., *et al.* 2006. *Vaccine.* 24:3381-7.
- 16) 高山尚子, 清野 宏
総合臨床 特集アレルギー疾患へのアプローチ
「粘膜免疫とアレルギー」, 永井書店 56:1821-1826.
- 17) 北村 美遵
なぜ花粉症は激増するのかーアレルギー爆発の時代ー扶桑社
- 18) Okuda, M., *et al.* 1998. *Allergology Int* 47:1-8.
- 19) Takagi, H., *et al.* 2005. *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 102:17525-17530.
- 20) 清野 宏, 石川博通, 名倉 宏
粘膜免疫 ー腸は免疫の司令塔ー
中山書店, 東京 (2001)

学会参加記

第 56 回米国西部家禽病学会 (The 56th Western Poultry Disease Conference)

永野 哲司・平井 卓哉 (研究員)

2007年3月27日～29日の三日間、米国ネバダ州ラスベガスの RIVIERA HOTEL & CASINO において第 56 回米国西部家禽病学会 (The 56th Western Poultry Disease Conference: WPDC) が開催された。当研究所からは平井卓哉研究員および永野哲司研究員の 2 名が出席し、それぞれ発表を行った。開催地となったラスベガスの街の中心には南北に走るストリップと呼ばれる大通りがあり、通り沿いにはカジノや遊園地が併設された巨大なテーマホテルやショッピングセンターが軒を連ねていた。学会会場である RIVIERA HOTEL & CASINO (写真 1) もこの大通り沿いにあり、映画「カジノ」の撮影が行われたことで有名な、古き良きアメリカを象徴するホテルであった。



写真 1 学会会場 (RIVIERA HOTEL & CASINO)

学会の参加人数は約 240 名で、アメリカ以外ではメキシコ、オーストラリア、カナダ、オランダ、ドイツ、イタリア、ホンコン、イスラエル、ナイジェリア、および日本等の多くの国からの参加者があった。また、大学、研究機関並びにワクチンメーカーの研究者だけではなく、学生や診療獣医師等も参加していた。会議の前日には、鳥インフルエンザをテーマとしたワークショップも開催され、米国の鶏病専門臨床獣医師を対象とした教育講演がなされ、終了後には修了証書が配布されていた。その他に、ウ

エルカム・レセプション、アワード・ランチョン等も催され、それらの席では、各国の鶏病専門家の間で最新情報の交換が行われお互いの親交が深められていた。

二日半の期間に発表された演題数は、口頭発表が 65 題およびポスター発表が 27 題 (写真 2 及び 3) であり、朝 8 時から夕方 4 時頃まで、熱心な討議が行われた。テーマは鳥インフルエンザ、伝染性ファブリキウス嚢病、メタニューモウイルス感染症、マイコプラズマ症、サルモネラ感染症、鶏大腸菌症、コクシジウム症などの他に伝染性ウイルス性腺胃炎 (Transmissible viral proventriculitis) に関する報告もあった。その中には、ワクチンに関連した話題もいくつか発表されていた。また、アラバマ州やカナ



写真 2 口演発表会場



写真 3 ポスター会場風景

ダ等の地域で発見された、興味深い症例や病性鑑定等が多数発表された。

以下に、いくつかの演題について簡単に紹介する。

1. 米国養鶏獣医師会ワークショップ

鳥インフルエンザをテーマとしたワークショップであり、スコットランドやヨーロッパでの発生状況、鶏へのワクチネーションや診断・検査に関する話題、発症鶏の淘汰とそれに従事するヒトの健康被害に関する問題、鶏肉の世界的な貿易に対する影響などについて紹介された。

2. 第56回米国西部家禽学会

(1) ウイルス性疾病について

鳥インフルエンザに関してはセッションが設けられ多くの発表がなされた。その中にはワクチンに関連した演題も多く、鳥インフルエンザワクチン株の選別、弱毒生ワクチンの開発、不活化 H5N2 メキシコ株の H5N1 アジア株に対する有効性、ニューカッスルと鳥インフルエンザの混合ワクチン、鳥インフルエンザワクチンの効果に影響を与える因子などがあった。その他には 1997 年～2007 年にかけての香港での鳥インフルエンザに関する疫学調査、ナイジェリアにおける疫学情報、モンゴル分離株の人工感染した時の鶏体内におけるウイルスの分布について発表があった。

インフルエンザ以外では、伝染性ファブリキウス嚢病ウイルスのアミノ酸シーケンスによるクラスター解析、そして、我が国での発生報告は無いが、ブロイラーの腺胃が障害されたため発育不良を引き起こす伝染性ウイルス性腺胃炎：Transmissible viral proventriculitis について、アデノウイルス様ウイルス (AdLV, R11/3) がその原因因子ではないかと示唆する発表があった。これは、今後わが国においても注意が必要な疾病であると考えられる。

七面鳥の疾病に関しては、アストロウイルスの病原性及びポックスウイルスの分子生物学的解析が報告された。

(2) 細菌性疾病について

鶏大腸菌症に関する演題が多く、ワクチンに関連するものもあった。また、イタリアの七面鳥における大腸菌症に関する疫学情報も紹介された。

サルモネラやカンピロバクター、壊死性腸炎に関

しても、興味深い演題がみられた。

(3) マイコプラズマ症について

鶏よりもむしろ七面鳥の本症について研究対象としており、マイコプラズマ・シノビエによる肺炎、大腸菌が混合感染した腹膜炎、マイコプラズマ・ガリセプティカムに関する疫学調査成績等が報告された。

(4) コクシジウム症について

イノボ用のコクシジウム生ワクチン及びアイメリア・メリアグライデスの弱毒化等に関する演題があった。

(5) 症例報告について

様々な症例が報告されたが、中でもクロストリジウム属菌による壊疽性皮膚炎の発症例に鶏貧血症ウイルスが関与した症例、殺鼠剤を原因としたリン化亜鉛中毒疑いの症例に興味を持たれた。

(6) その他

抗コクシジウム剤の紹介、イオノフォアとビタミン E の相互作用に関する話題、ヒストモナスや蠕虫への有効性を示す薬剤に関して等、抗原虫および寄生虫薬剤に関する演題がいくつか発表された。

(7) 当研究所発表演題

当所からは、T. Nagano, R. Kitahara, and S. Nagai による A rational attenuated mutant of an avian pathogenic *Escherichia coli* serovar O78: a possible candidate live vaccine strain for the prevention of avian colibacillosis の演題が口頭にて、T. Hirai, T. Nunoya, and T. Nagano による Experimental induction of amyloidosis in chickens の演題がポスターにて、それぞれ発表された。

米国西部家禽病学会では、これまでの鶏病の防疫研究に尽力した功績を称え、毎年一名に対し特別賞を授与している。本年度は既にご存じの方も多しと



写真 4

思われるが、松本正和先生（元オレゴン州立大学教授）が受賞された。残念なことに先生は欠席されていたため、直接お祝いの言葉をお伝えすることはできなかったが、ここに先生のご受賞について謹んでお慶びを申し述べさせていただきます。学会発表については、最も優秀なポスター発表に対してはベストポスター賞を授与した。本年度はフォートダッジ・アニマルヘルス社の V. Flamenco 博士らによる

「Situation of infectious bursal disease virus in central America」という発表に対して授与された（写真4）。IBD ウイルスの分子疫学的解析に関して、詳細な研究の成果をにきれいにまとめた優れたポスター発表として報告された。

次回の第57回本学会は2008年4月9日～13日の期間、メキシコの Sheraton Buganviliias ホテルにおいて開催される予定である。

新人紹介

個人情報保護のため、新人紹介欄は削除させていただきました（2010年9月）。

学会発表演題

●第 80 回日本細菌学会総会

期 日：2007 年 3 月 26 日～3 月 28 日

開 催 地：大阪府大阪市（アジア太平洋トレードセンター）

発表演題：新奇的な偏性細胞内寄生細菌 *Lawsonia intracellularis* の増殖性腸症罹患豚からの分離培養と部分的な性状解析

○小山智洋, 平井卓哉, 長井伸也（日生研）

●56th Western Poultry Disease Conference

期 日：2007 年 3 月 27 日～2007 年 3 月 29 日

開 催 地：Las Vegas, Nevada, USA

発表演題：A rational attenuated mutant of an avian pathogenic *Escherichia coli* serovar O78 : a possible candidate live vaccine strain for the prevention of avian colibacillosis.

○Tetsuji Nagano, Rie Kitahara, Shinya Nagai (Nippon Institute for Biological Science)

発表演題：Experimental induction of amyloidosis in chickens

○Takuya Hirai, Tetsuo Nunoya, Tetsuji Nagano (Nippon Institute for Biological Science)

●日本家禽学会 2007 年度春季大会

期 日：2007 年 3 月 28 日

開 催 地：神奈川県相模原市（麻布大学）

発表演題：生殖細胞キメラを介した筋ジストロフィー発症ニワトリの再生

○藤原 哲^{1,2}, 小野珠乙², 鏡味 裕² (¹日生研, ²信州大)

●第 143 回日本獣医学会学術集会

期 日：2007 年 4 月 3 日～4 月 5 日

開 催 地：茨城県つくば市（つくば国際会議場）

発表演題：国内飼養豚から分離された *Actinobacillus pleuropneumoniae* 血清型 15 の性状

○小山智洋, トーホー, 長井伸也（日生研）

発表演題：抗犬 IgE 特異的モノクローナル抗体の作出および性状解析

○金 芝環, 細川朋子, 佐合 健, 佐藤一郎, 土屋耕太郎（日生研）

発表演題：ブタの脊髄（第 47 回獣医病理学研修会）

○平井卓哉（日生研）

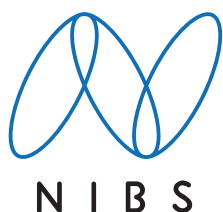
●3rd Asian Pig Veterinary Society Congress

期 日：2007 年 4 月 22 日～4 月 25 日

開 催 地：Wuhan, China

発表演題：Antigenic and genetic diversity of the surface protective antigen (SPA) of *Erysipelothrix rhusiopathiae*

○Ho To, Syuichi Someno, Shinya Nagai (Nippon Institute for Biological Science)



—— テーマは「生命の連鎖」——
 生命の「共生・調和」を理念とし、生命体の豊かな明日と、研究の永続性を願う気持ちを心よいリズムに整え、視覚化したものです。カラーは生命の源、水を表す「青」としています。

表紙題字は故中村稔治博士の揮毫

日生研たより 昭和 30 年 9 月 1 日創刊(隔月 1 回発行)
 (通巻 548 号) 平成 19 年 12 月 25 日印刷 平成 20 年 1 月 1 日発行(第 54 巻第 1 号)
 発行所 財団法人 日本生物科学研究所
 〒198-0024 東京都青梅市新町 9 丁目 2221 番地の 1
 TEL : 0428(33)1056(企画学術部) FAX : 0428(31)6166
 発行人 長井伸也

編集室 委 員/小山智洋(委員長), 中村圭吾, 川原史也
 事 務/企画学術部

印刷所 株式会社 精興社
 (無断転載を禁ず)