

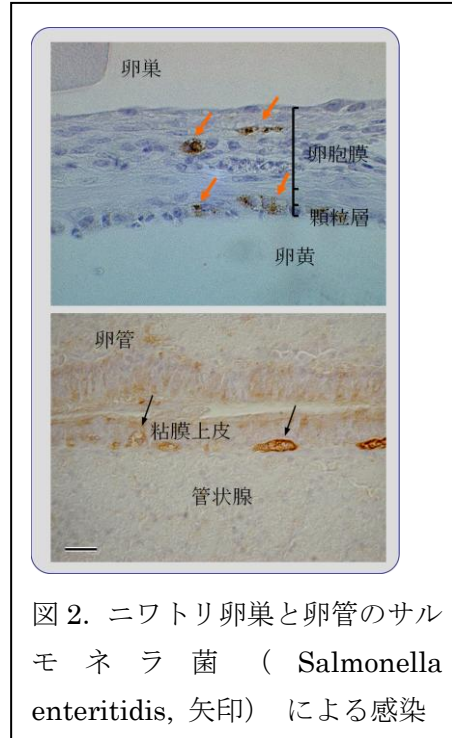
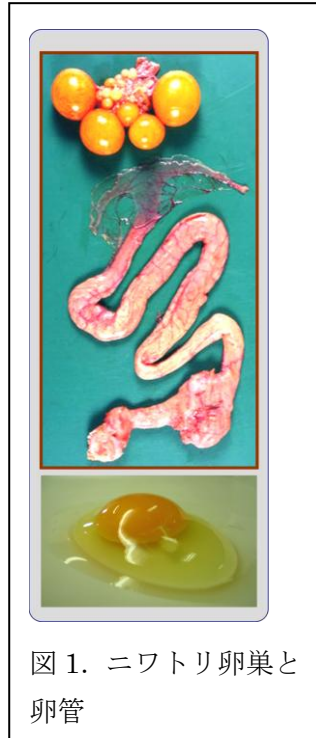
「健康な家畜から安全な生産物を」

安全な家畜生産物を生産するためには家畜を衛生的に飼育し健康を保つことが必要です。そのためには、病原体が侵入してきても感染・発症しないような強靱な免疫機能を有していることが大事です。このような家畜を生産するためには動物の免疫機能の詳細なメカニズムを理解することが重要となります。我々の研究室では、ニワトリが生産する卵およびウシ・ヤギが生産する乳を安全に生産するために、家禽・家畜の免疫・繁殖機構の解明を目標に研究に取り組んでいます。

ニワトリの生殖器における自然免疫機能

【卵の形成と細菌汚染】

鶏卵の卵黄は卵巣で形成され、卵白や卵殻は卵管で形成されます(図 1)。卵巣や卵管が病原微生物に感染すると、体の健康を損なうだけでなく、卵を形成する機能が低下したり、卵に菌が混入したりします。食中毒の原因菌の1つであるサルモネラ菌は卵巣や卵管に潜伏して卵へ移行することがあります(図 2)。このような感染を防御するために免疫機能が重要な役割を果たします。



【卵管の自然免疫による感染防御機能】

To11 様受容体 (TLR) は微生物成分を認識して、サイトカインを発現させて自然免疫応答を誘導し、また適応免疫応答にも寄与すると考えられています。ニワトリでは、TLR-1 (type1 と 2)、-2 (type1 と 2)、-3~-5、-7、-15、-21 の 10 種の TLR が同定されています。トリ β ディフェンシン (avBD) は抗菌ペプチドで細菌の細胞膜を傷害して菌を死滅させると考えられています。私達は、卵管の自然免疫機能を明らかにすることを目的として、卵管粘膜に発現する TLR、TLR 刺激による炎症性サイトカインやケモカインの発現と白血球の誘導性、TLR 刺激に伴う avBD 発現の誘導性とその調節機構を追究しています。

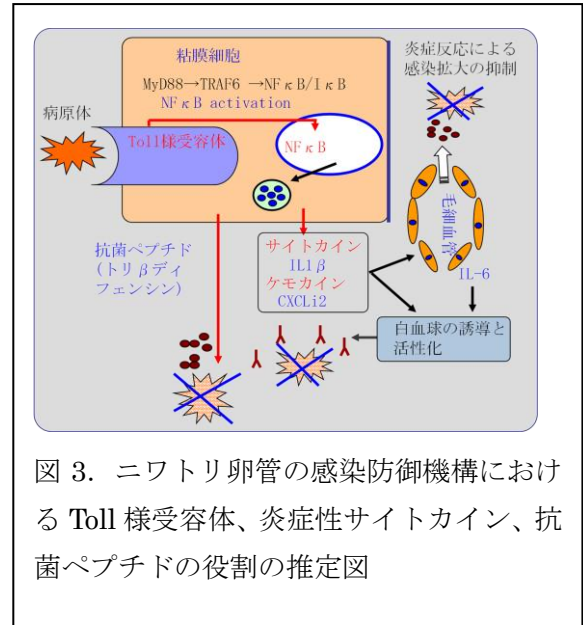


図 3. ニワトリ卵管の感染防御機構における Toll 様受容体、炎症性サイトカイン、抗菌ペプチドの役割の推定図

[1] 卵管粘膜に多様な TLR が発現する

ニワトリの卵管各部の粘膜では、サルモネラ菌や大腸菌といったグラム陰性菌のリポ多糖 (LPS) を認識する TLR4 を含めて、現在までに知られているすべての種類の TLR が発現することが明らかになりました (図 4)。このことは、粘膜で多様な微生物の成分が認識されることを示しています。

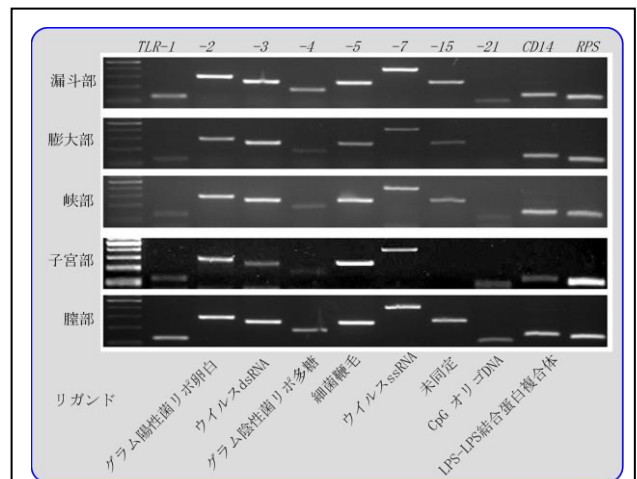


図 4. ニワトリ卵管の Toll 様受容体の発現
ニワトリでは、TLR2 はグラム陽性菌のリポ蛋白、TLR3 はウイルス dsRNA、TLR4 はグラム陰性菌のリポ多糖、TLR5 は細菌の鞭毛、TLR7 は ssRNA、TLR21 は CpG オリゴ DNA を認識する。TLR15 のリガンドは同定されていない。

[2] リポ多糖刺激により卵管のサイトカイン発現が高まる

ニワトリに LPS を投与すると、産卵鶏でも、休産鶏でも、卵管粘膜においてインターロイキン 1 β (IL1 β) や IL6 といった炎症性サイトカイン、CXCL12 ケモカインの発現が高まることが明らかになりました (図 5)。また、これと連動して粘膜で CD4 ヘルパー T 細胞と CD8 キラー T 細胞が増加することも認められました (図 6)。この LPS の作用は TLR4 による認識を受けることから始まり、その下流の応答として卵管粘膜でのサイトカインの発現や T 細胞の遊走が増加したものと思われます。サイトカインやケモカインは T 細胞の遊走を導いたり、これらを活性化して、免疫応答を誘導したりすることが推定されます。サルモネラ菌等のグラム陰性菌を TLR4 が認識しても同様の現象が起こって、感染防御に働くものと推定されます。

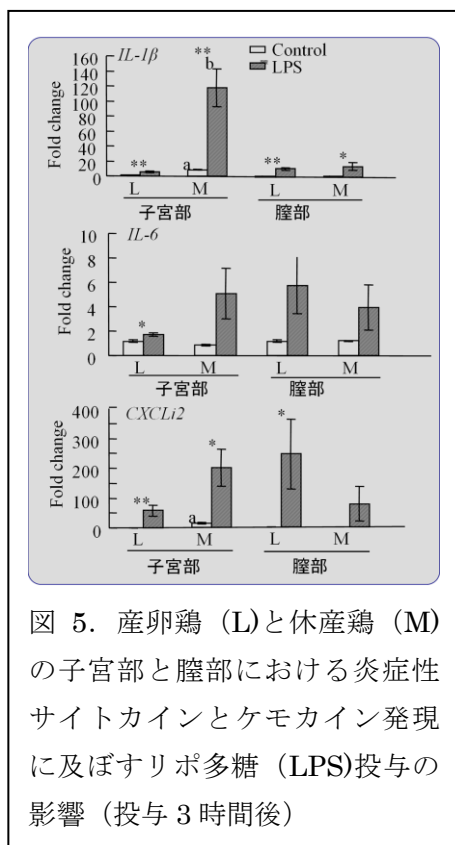


図 5. 産卵鶏 (L) と休産鶏 (M) の子宮部と臍部における炎症性サイトカインとケモカイン発現に及ぼすリポ多糖 (LPS) 投与の影響 (投与 3 時間後)

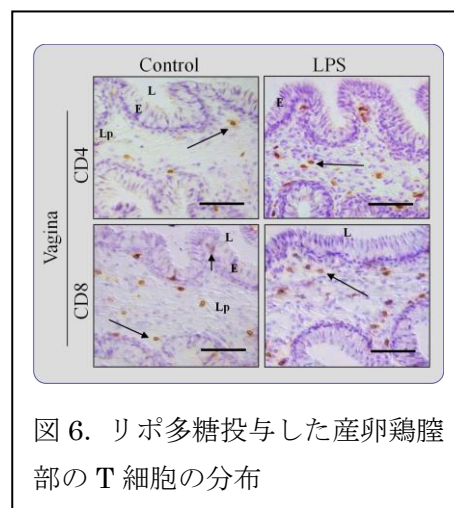
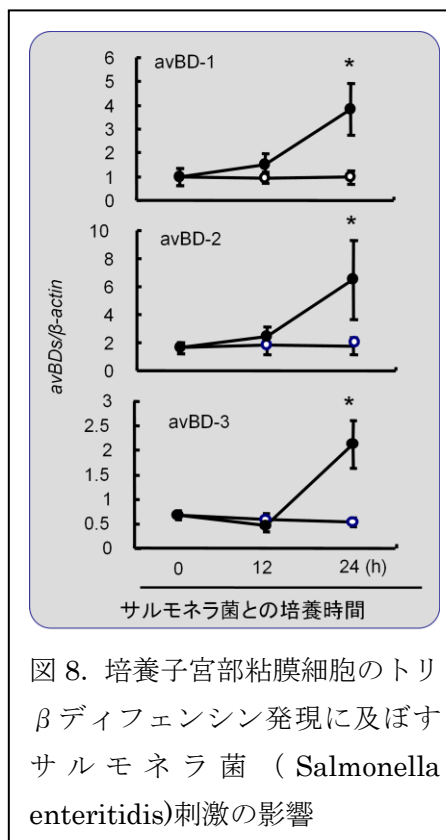
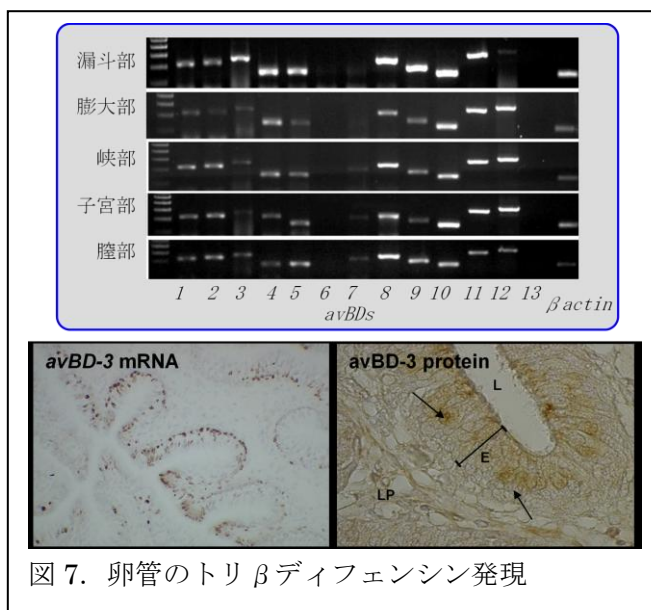


図 6. リポ多糖投与した産卵鶏臍部の T 細胞の分布

[3] 卵管のトリβディフェンシン発現は微生物成分に応答して高まる

トリβディフェンシン(avBD)には現在までに14種が同定されています。このうち、卵管粘膜には10種が発現すること、そしていくつかのavBDは粘膜上皮細胞で発現することが明らかにされました(図7)。avBDごとの抗菌スペクトラムは明らかにされていませんが、多様なavBDが発現することは、おそらく多様な細菌を攻撃して生体防御に働くものと推定されます。また、子宮部粘膜細胞のavBDの発現がサルモネラ菌の刺激により高まること(図8)、LPS刺激によっても同様に高まることが認められました。このavBD産生へのサルモネラ菌やLPSの影響は上述のTLR4を介するものと推定しています。産生されたavBDはその抗菌作用により感染防御に働くものと推定されます。

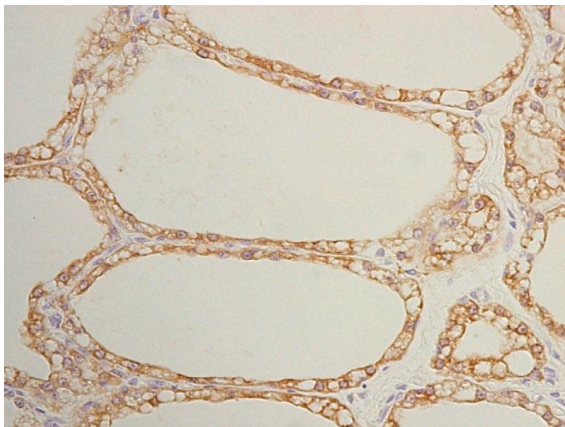


[4] 卵管の感染防御機能強化への期待

上述したように、卵管の感染防御機能は卵の汚染を防止することにつながります。体内の他の臓器とは異なって、ストレス等により産卵を停止すると組織は退行しますし、この時に感染リスクが高いと言われています。卵管の機能は性ホルモンの依存性が高いので、ここでの免疫機能もホルモン依存性が高いかもしれません。私達は、先に女性ホルモンが卵管のマクロファージや、T細胞、B細胞を増加させることを明らかにしています。卵管のTLRやサイトカイン、抗菌ペプチドの発現調節機構が明らかになれば、自然免疫機能を視野に入れた、新たな感染防御機能の強化法の開発に貢献できると期待しています。

ウシの泌乳器官における免疫機能

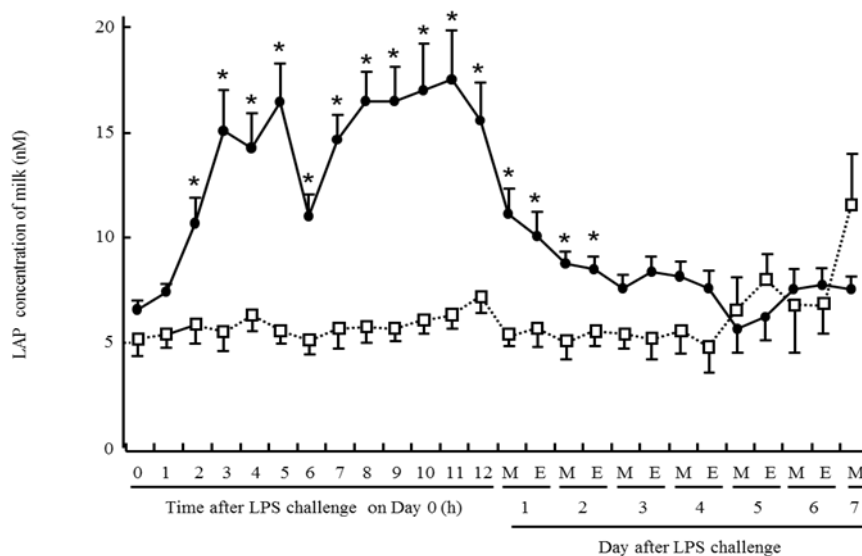
牛乳を生産する器官である乳腺（乳房）内にある乳腺上皮細胞で牛乳が生産・分泌されています。乳腺へ細菌が侵入し増殖・感染すると炎症が起き、**乳房炎**となります。すると、乳腺上皮細胞の機能が衰え牛乳生産能力が低下し低品質の牛乳しか生産できなくなり、牛乳の値段も激減してしまいます。したがって、酪農経営において乳房炎を予防することが非常に重要です。乳腺に細菌が侵入するとまず自然免疫が働き多くの抗菌物質が合成・分泌されます。その中の一つが β -defensin familyの一つである **Lingual antimicrobial peptide (LAP)**です。我々は LAP が乳腺上皮細胞で合成されていることおよび牛乳中に分泌されていることを明らかにしました。また、グラム陰性菌の構成成分である **lipopolysaccharide (LPS)**を乳腺に注入すると数時間以内に牛乳中 LAP 濃度が増加することを見出しました。これらのことから、細菌が侵入した直後に合成・分泌される LAP が細菌感染防御に重要な役割を担っていることが分かりました。また、LAP は細菌感染がない状態でも常に分泌されており、この濃度が高いほど乳房炎にかかりにくいことを報告してきました。今後は LAP



と獲得免疫との関係や生殖機能と免疫機能とのリンクについて検討するつもりです。

←図9 乳腺上皮細胞における LAP の免疫組織学的局在（赤が LAP タンパクを示す）

↓図10 乳腺に LPS を投与すると 2 時間後から乳汁中 LAP 濃度が激増した（黒：LPS 投与区、白：対照区）



近年発生した口蹄疫や鳥インフルエンザなどにより消費者の家畜生産物に対する安全性の意識は急激に高まっています。これらの意識に答えられるような動物生産技術の開発に貢献することを目標に研究を進めています。

＜この研究に関するお問い合わせ先＞

大学院生物圏科学研究科 家畜生体機構学研究室

教授 吉村 幸則 / 准教授 磯部 直樹

TEL: 082-424-7958 (吉村)

082-424-7993 (磯部)

E-mail: yyosimu@hiroshima-u.ac.jp (吉村)

niso@hiroshima-u.ac.jp (磯部)

(@は半角に変換してください)

研究室 HP: <http://home.hiroshima-u.ac.jp/anat>