

図1 粘膜での感染症と粘膜免疫を担当するリンパ組織

はじめに

平成4年(1992年)インドで従来のコレラワクチンが効かない新型コレラ菌(血清型O139)が出現,第8次コレラパンデミーの出現かと専門家を緊張させた。

平成9年(1997年)にはA型インフルエンザウイルスH3N2(香港)が流行したが,この流行は香港でのニワトリからヒトへの感染に端を発したもので,わが国では平成11年11月に「インフルエンザワクチンが足りない」騒動が発生している。

平成13年(2001年)10月,米国で炭疽菌テロが発生した。手紙で送りつけられた炭疽菌芽胞を吸入あるいは接触して発症したもので,18名が肺炭疽あるいは皮膚炭疽となり,5名が死亡している。その時,わが国を含む世界中の市民は手紙パニックに陥った。致死率は86%。細菌兵器となった炭疽菌芽胞を防御する市民用ワクチンは開発されていない。

コレラは小腸粘膜で発生する感染症であり,インフルエンザと肺炭疽は呼吸器粘膜を標的とする感染症である。粘膜表面は広大で,例えばヒトの消化管粘膜は300m²を越える面積がある。この粘膜での感染を制御する生体防御機構が粘膜免疫で,呼吸器,消化器,泌尿生殖器に分布している。要となるリンパ組織は,呼吸器の場合には鼻咽頭関連リンパ組織(nasal-pharyngeal-associated lym-

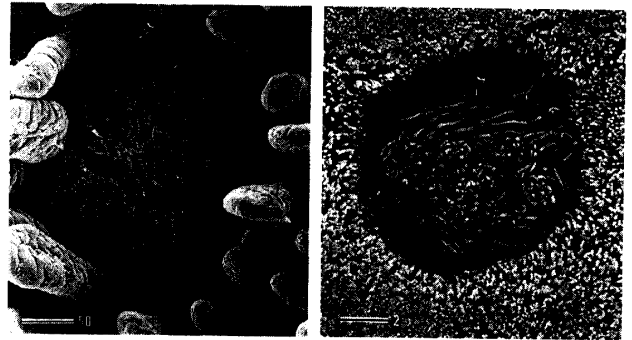


図2 成人のPeyer板とM細胞

(左)ドーム型のリンパ小節。周辺部にはcryptを中心に渦状に分布したM細胞群(矢印)が存在する。まわりは絨毛。(右)M細胞。腸管腔側に微小ひだ(矢印)をもつ。まわりは,吸収細胞がもつ微絨毛(冊子縁)。(数字,μm)

phoid tissue, NALT)と呼ばれ,腸管の場合には消化管関連リンパ組織(gut-associated lymphoid tissue, GALT)と呼ばれている(図1)。この他に,慢性緑膿菌感染時にみられる気管支関連リンパ組織(bronchus-associated lymphoreticular tissue, BALT)や泌尿生殖器と直腸のリンパ組織も注目されている。

GALTの場合,主要なリンパ組織は実際にはPeyer板(集合リンパ小節)と呼ばれている。このPeyer板は粘膜を攻撃する各種の有害な抗原に対峙する生体防御の場であるが,一部の病原細菌にとっては侵入門戸でもある。本稿では,Peyer板の機能に焦点をあて内外の知見を紹介する。

1. Peyer板の形態と成熟

経口的に摂取され小腸に到達した抗原(病原体)は,Peyer板のM細胞(抗原摂取細胞)によって取り込まれ,抗原提示細胞(APCs)へと伝達される。Peyer板とM細胞の形成は微生物の感染によって誘導される。

1) 成人のPeyer板

Peyer板は長さ数cmから10cm以上に亘る細長い帯状の集合リンパ小節で,腸間膜の反対側に小腸の長軸に沿って分布する。帯状構造のうち,斑点のようにみえるのがリンパ小節で,一つ一つのリンパ小節は中央部分がもり上がっていてドーム状(あるいは卵形)を呈す(図2左)。ドーム上

皮の中央部分は吸収細胞が占め、粘液を産生するゴブレット細胞が散在する。上皮周辺部は様相が著しく異なる。M細胞がクラスターをなし、cryptを中心にして渦を巻くようにして分布している。この渦構造にはゴブレット細胞が殆どなく、従って粘液に被われることなくM細胞が管腔側に露出している。M細胞は管腔側に微小ひだ microfolds (図2左)をもつので、粘膜を被う主要な上皮細胞である冊子縁をもった吸収細胞とは容易に区別がつく。

リンパ小節一個当たりの渦構造の数は平均3.3個で、M細胞の数は平均542個である。渦構造は、cryptから作られたM細胞が周辺のPeyer板上皮へと広まっていく構造である。

ヒトの場合、空腸から回腸にわたって実はもう一つのリンパ組織が存在する。孤立リンパ小節である。孤立リンパ小節も管腔側からみるとドーム型で、周辺部に渦構造を有しているが、リンパ小節一個当たりの渦構造の数は平均0.6個、M細胞の数は平均20.3個と、Peyer板のリンパ小節に比べると著しく少ない。

2) 小児のPeyer板

小児の場合、Peyer板を構成するリンパ小節は陥没型である。M細胞の渦構造は陥没した中央部に多く分布している。小児のM細胞の微小ひだ形成は、成人のM細胞ほど顕著ではない。

生後3日の小児回腸に存在するPeyer板は上記のいずれの構造にも該当しない。Peyer板領域が絨毛から長いひだ構造で明確に区別されており、ドームや陥没構造がなく、横に長く伸びた絨毛状構造が存在していて、その絨毛状構造にM細胞が見いだされる。渦構造は確認されない。このようにヒトの場合、Peyer板形成は誘導型でそこには明らかな成熟過程があり、生後3日、2カ月、成人でその構造を大きく変化させていく。

2. Peyer板の機能

Peyer板では、M細胞による抗原摂取、マクロファージや樹状細胞(DCs)などによる抗原提示、CD4⁺T細胞とサイトカインによる免疫発現の制御、IgM⁺細胞からIgA⁺細胞へのクラススイッチが行われる。

1) M細胞

M細胞は管腔側に微小ひだをもった円柱上皮細胞で、微小ひだをを活発に伸縮させて腸管を流れる一定の大きさの粒子を選別して捕獲する。直径0.6 μ m前後あるいは1~10 μ mのpoly(DL-lactide-co-glycolide)製の小球やpolystyrene製の小球を使ったとりこみ実験が行われてきた。とりこみは投与後45~60分で観察される。

M細胞の反対側の底部にある膜も特徴的である。その膜は細胞質に複雑に入り込んで“ポケット”を形成している。抗原提示細胞であるマクロファージやリンパ細胞(M cell infiltrating lymphocytes, MCILs)はその“ポケット”にはまりこんでいて、2 μ m/minの速度でM細胞から抗原伝達を受ける。コレラ菌のM細胞内輸送も確認されている。

M細胞の形成は微生物の感染によって誘導される。サルモネラを経口投与した場合、投与後12時間でM細胞の数が2倍に増加し、7日間に亘って持続する。ヒトの場合でも、健康人の場合M細胞がリンパ小節上皮細胞の0~6%を占めるのに対して、炎症を呈する患者の場合にはM細胞がリンパ小節上皮細胞の12~24%を占めている。

M細胞は既存のenterocytesから生成するもので、その過程は微生物とのコンタクトを含んだ免疫誘導によるトランスフォーメーションであるとの考え方がある。この説は感染後短時間でM細胞が増加する現象を説明しやすい。

一方、M細胞形成がcryptのstem cellに由来し、分化を遂げて成熟するとの説がある。しかし、この組織での細胞のrenewalには約60時間が必要であることから、stem cell説で感染後短時間で増加するM細胞を説明するのは難しいとの指摘もある。

ヒトPeyer板の電子顕微鏡解析はcryptを中心としたM細胞の渦構造を明確に示していて、後者の説と一致する。

2) 抗原提示とTh1/Th2分化

M細胞に摂取された腸管腔内の抗原は、次にMHCクラスII分子を表面にもつマクロファージや樹状細胞(DCs)などに伝達されて抗原提示が

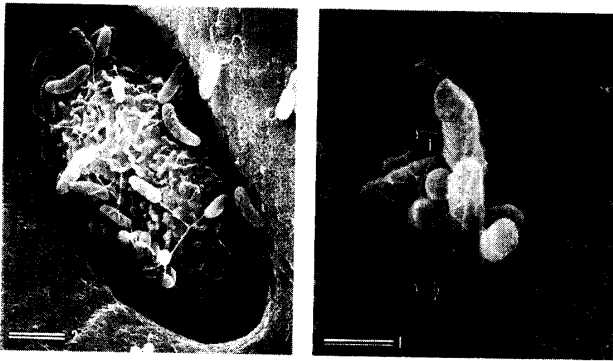


図3 M細胞への病原細菌の粘着
(左) コレラ菌が粘着したM細胞 (右) チフス菌が粘着したM細胞. 矢印1はチフス菌を, 矢印2は微小ひだを示す.(数字, μm)

なされる.

Peyer板の円蓋域から上皮領域には多数の $\text{CD4}^+\text{T}$ 細胞が存在している。 $\text{CD8}\alpha^+$ 樹状細胞やマクロファージが産生するサイトカイン(IL-12や $\text{IFN-}\gamma$)はこの $\text{CD4}^+\text{T}$ 細胞をTh1タイプに分化させる。分化したTh1タイプのTヘルパー細胞は $\text{IFN-}\gamma$ やIL-2を産生してマクロファージを活性化させて抗原提示能を高め、血清IgG2aを増加させる。また、Th2タイプを制御する。

一方、 $\text{CD8}\alpha^-$ 樹状細胞が産生するサイトカイン(IL-4)は $\text{CD4}^+\text{T}$ 細胞をTh2タイプに分化させる。Th2タイプのTヘルパー細胞はIL-4、IL-5、IL-9、IL-13を大量に産生してIgM \rightarrow IgAクラススイッチとIgA産生能を高め、血清IgG1を増加させる。

3. クラススイッチと分泌型IgA産生

Peyer板内の胚中心から濾胞域にはスイッチT細胞(Tsw)が存在していて、表面免疫グロブリン(sIg)を有する幼若なB細胞がIgM $^+$ 細胞からIgA $^+$ 細胞へとクラススイッチを受ける。腸間膜リンパ節でもクラススイッチが行われる。このB細胞系IgA免疫芽細胞($\text{B220}^+\text{IgA}^+$)は、胸管リンパを経て静脈中に入り全身を巡る。血流中のIgA $^+$ 細胞は、粘膜の血管内皮細胞に表面ホーミングレセプター(糖蛋白; マウスではLPAM-1など)を使って結合し、通過して粘膜固有層へと移動して定着する。なお、 $\text{B220}^+\text{IgM}^+$ 細胞から

$\text{B220}^+\text{IgA}^+$ 細胞へのクラススイッチとIgA形質細胞への分化は粘膜固有層でも行われる現象である。

粘膜固有層に定着したIgA形質細胞はIgA鎖とJ鎖を産生し、これに粘膜上皮細胞が作る分泌糖蛋白(SC1~SC5)が添加されて分泌型IgA(sIgA, 二量体)が構築される。この分泌型IgAは粘膜上皮細胞から細胞外排出作用によって粘膜上に分泌される。SCはまた分泌型IgAの管腔内プロテアーゼに対する抵抗性を増大させている。なお、腸管内のIgA2/IgA1サブクラス比は血中の場合より高い。

粘膜上に分泌される分泌型IgA量は成人で一日当たり3~4gで、血清中に分泌されるIgA量(大部分がmonomeric IgA)の2倍以上である。分泌型IgAの役割は、毒素の中和、病原体の定着阻止、先天性体液性防御因子(ラクトフェリン、リゾチーム、補体様殺菌活性等)の増強である。

4. 粘膜IgG産生

腸管粘膜にはIgG抗体も分泌される。この腸管IgGはIgA抗体とは異なって補体の存在下で殺菌活性を示す。細菌感染症を制御する上で特に重要な抗体である。

5. Peyer板と細菌感染

ある種の腸管病原細菌にとってPeyer板のM細胞は感染の標的であり、侵入門戸である。

コレラ菌や腸炎ビブリオは腸管粘膜の表面に感染、定着する粘着性細菌である。腸管粘膜上では、まず粘液層に粘着しそこで増殖する。増殖した細菌は下方の上皮細胞に到達し、上皮への粘着を果たす。この際に、細菌は絨毛上皮(吸収細胞)よりもPeyer板のM細胞により強く粘着している(図3左)。

定着したコレラ菌はコレラ毒素を上皮細胞に作用させ、激しい下痢を惹起して体外へと逃れる。このコレラ毒素はPeyer板に作用する強力な免疫調節物質でもある。Th1細胞をアポトーシスに追いやり、結果としてTh2細胞を活性化する。また免疫副刺激分子の発現を誘導することで、免疫応答を亢進させる。

赤痢菌は、type III分泌機構と呼ぶ巧妙な感染

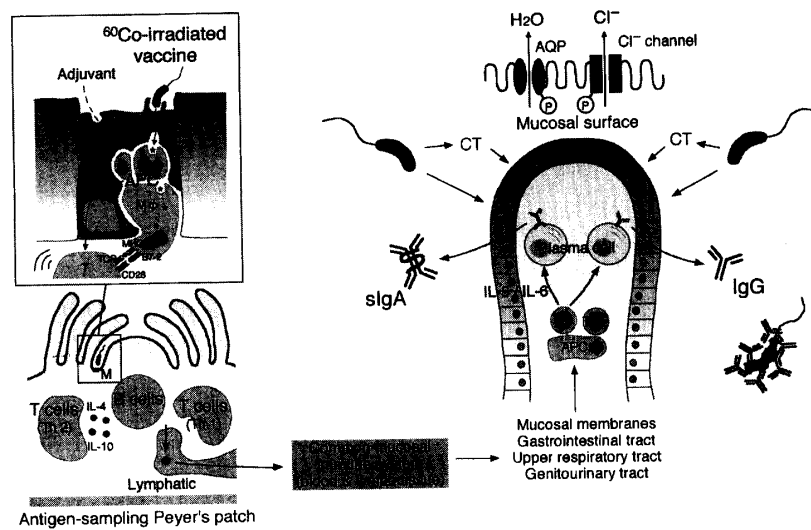


図4 腸管粘膜免疫のまとめ

経口感染し、小腸粘膜に到達した抗原(病原体)はパイエル板の抗原摂取細胞(M細胞)に取り込まれ、下方のマクロファージや樹状細胞へと伝達されて、抗原提示される(図左上)。この後一連の免疫反応(図下部)を経て、粘膜に分泌型IgAと腸管IgGが分泌され、粘液層に蓄積されて、腸管に侵入・定着しようとする病原体や毒素の働きを阻止する(図右)。

メカニズムを使ってPeyer板のM細胞に侵入、さらに下方に位置するマクロファージへと垂直方向に感染していく。侵入後マクロファージをアポトーシスへと追いやり、破壊して細胞外にでる。細胞外にでた赤痢菌は今度は、細胞の底部から腸管上皮細胞内に侵入し、さらに隣接した腸管上皮細胞へと水平方向の感染(細胞侵入)を繰り返して粘膜に潰瘍を惹起する。

チフス菌もtype III分泌機構をもちPeyer板のM細胞から侵入する(図3右)。M細胞からマクロファージに輸送された後、マクロファージをアポトーシスによって死滅させる。細胞外にでたチフス菌はB細胞系免疫芽細胞と同じ経路をたどって、腸間膜リンパ節、胸管リンパを経て静脈中に侵入し菌血症を惹起する。

6. Peyer板を標的としたワクチン開発研究

ワクチンを経口投与することによって粘膜に抗原特異的な免疫を強く誘導することができる。そしてこのような局所免疫を確立させて、病原菌の感染の初発段階つまり腸管粘膜への定着段階をブ

ロックすることが、腸管感染症に対する最も合理的な防御の手段といえる。

いくつかの細菌性ワクチンが既に実用化されている。弱毒生ワクチンではTy21a腸チフスワクチンとCVD 103-HgRコレラワクチンがある。課題もあって、例えばCVD 103-HgRコレラワクチンの場合には、流行地にワクチンに対する予期しない“バリアー”が存在した。

不活化ワクチンとしては、WC/rBSコレラワクチンが実用型である。高い安全性をメリットとしている。また、コレラ毒素と大腸菌毒素(LT)から、ホロ毒素型の無毒化アジュバントが開発された。不活化ワクチンとの併用が研究されている(図4)。

^{60}Co 照射によって、鞭毛を回転させて動きまわり、粘着因子を使ってM細胞に粘着する“機能をもった死菌体”を作製し、新世代の不活化ワクチンとする研究も進んでいる(図4)。この予防ワクチンは、生ワクチンの性質と不活化ワクチンの性質を兼ね備えた新しいタイプのワクチンで、従来

の不活化ワクチンに比べて分泌型 IgA 誘導能が高く、しかも殺菌性の腸管 IgG も誘導する。

おわりに

細菌と Peyer 板あるいは毒素と Peyer 板の相互作用が解明されつつあり、知見が新型ワクチンの開発に応用されつつある。

いくつかの病原菌は共通の感染機構 (type III 分泌機構) によって粘膜への侵入を果たす。ただし、呼吸器系の結核菌やレジオネラは肺胞マクロファージに直接侵入するが、腸管系の細菌は M 細胞に取り込まれることでマクロファージに到達する。いずれにしても、この共通感染機構を阻止する新しいカテゴリーの抗菌剤の開発が期待されている。

文 献

- 1) Owen RL and Jones AL: Epithelial cell specialization within human Peyer's patches: and ultrastructural study of intestinal lymphoid follicles. *Gastroenterology* 66: 189-203 1974.
- 2) Kerneis S, Bogdanova A, Kraehenbuhl J-P and Pringault E: Conversion by Peyer's patch lymphocytes of human enterocytes into M cells that transport bacteria. *Science* 277: 949-952 1997.
- 3) Nicoletti C: Unsolved mysteries of intestinal M cells. *Gut* 47: 735-739 2000.
- 4) Yamamoto T: Current status of cholera and rise of novel mucosal vaccine. *Jpn J Infect Dis* 53: 181-188 2000.
- 5) Brandtzaeg P, Baekkevold ES and Morton HC: From B to A the mucosal way. *Nature Immunology* 2: 1093-1094 2001.
- 6) Neurath MF, Finotto S and Glimcher LH: The role of Th1/Th2 polarization in mucosal immunity. *Nature Medicine* 8: 567-573 2002.

司会 (伊藤 (雅)) ご質問ご意見ございませんでしょうか。

質問 トリアックレセプターを M 細胞が発現しているのではないかと、写真を見て漠然と印象を受けたんですけどそういうデータはあるのでしょうか？

山本 M 細胞のレセプターについては今最もホットな領域で、いくつかのレセプターに近いものがクローニングされたという情報がありますが、まだはっきりとした成績はありません。また、ほとんどの細菌が M 細胞につくのと、炭素粒子ですら取り込まれるという事で非特異的な取り込みも M 細胞の特徴であると思います。

鈴木 第三内科の鈴木です。先生にお示しいただきました腸管免疫における抗原の侵入部位と考えられるパイエル板というのは小腸、回腸に存在していると思うのですが、大腸にパイエル板に相当するような組織というのはあるのでしょうか？

山本 大腸にも M 細胞があることを示す報告がいくつかあります。ただ細菌学の立場からすると大きな矛盾点があります。と言うのは、小腸特に十二指腸や空腸はほとんど無菌の状態、病原体はそこにくっついて病気を起こします。また、パイエル板は病原体を取り込んで免疫を誘導します。従って、小腸の場合には非常にわかりやすいのですが、大腸というのは無数の菌がいるところで病原菌を取り込むといっても、常在菌とどう区別しているのかという非常に難しい問題があります。

鈴木 後程発表致しますように潰瘍性大腸炎のモデルを使った研究を私たちは行っているのですが、潰瘍性大腸炎などの動物実験モデルをやる時に必ず言われる事は、腸内細菌がその発症過程に必ず悪さをしているだろうということです。炎症を生じた大腸に、最初にどうやって細菌が取り込まれて生体に抗原として認識されてくるのかという問題になってくるので、先のような質問をさせて頂きました。

山本 パイエル板の Th1 細胞が炎症惹起に関係します。

司会 (伊藤 (雅)) 形質細胞は消化管で感作されるということですが、皮膚ではどうなるのでしょうか。

山本 僕には答えられないのですが、皮膚からアジュバントなり抗原なりを投与して、皮膚から粘膜免疫を刺激することも研究されています。

司会 (伊藤 (雅)) どうもありがとうございました。ここで座長を交代いたします。

司会 (伊藤 (薫)) 引き続きましてお話を聞きしたいと思います。次は皮膚科の河井一浩先生から上皮内 $\gamma\delta$ T 細胞の分化とサイトカインについてお聞きしたいと思います。