

論文の内容の要旨

論文題目 腸管免疫を修飾する因子に関する研究

氏名 小林 敏也

人間は古来より微生物を利用あるいは微生物と共生する一方で、歴史が物語る疫病の流行が示すように微生物と数々の壮絶な戦いを繰り返してきた。その壮絶な戦いを通して、人間は様々な医療技術を発展させてきた。その甲斐あって、今日では短期間で多くの人間の命を奪う伝染病の流行はほとんど見られなくなり、天然痘のようにこの世の中から撲滅されたものもある。そして先進国では平均寿命が年々延長し、日本人の平均寿命は男女とも世界のトップにまでなっている。しかしながら、高度医療の発展の結果、高齢化が進み、また放射線照射、抗癌剤投与等の医療技術の副作用により、免疫機能の低下した集団が新たに創生され、そのような集団においては、通常、免疫機能が正常に働いているときには無害であった細菌やウイルスが体内に侵入して感染症を引き起こす、日和見感染という新たな問題が生じている。この日和見感染は近年、人間を恐怖に陥れた後天性免疫不全症候群（AIDS）において直接の死因となることから問題となっている。一方、発展途上国においては、予防接種率の低さ、衛生環境整備の遅れ等から依然として、毎年何万人にも及ぶ命、特に乳幼児の命が細菌やウイルスなどの微生物

物による感染症で奪われている。この日和見感染症を含む感染症の原因となる細菌やウイルスの侵入門戸は、ほとんどが気管や消化管表面の粘膜である。この侵入門戸である粘膜での侵入阻止が、これら感染症の防止には重要である。もちろん侵入後の外来微生物の殺傷、除去も重要であり、今までの医療はこの侵入後の対策、すなわち感染症発症後の治療が中心であった。ところが昨今の人々の健康に対する意識の高揚は、人々の関心を治療よりは予防に向けさせることになり、感染症の対策についても侵入後よりは侵入前の粘膜面での侵入の阻止、つまりは粘膜面での防御能の維持、亢進に注目が集まっている。そこで本論文では粘膜面、特に腸管での防御能を修飾、上昇させる因子をいくつか選択し、その効果について検討した。

はじめに、感染防御効果の評価モデルの確立を目的に、マウスに骨髄障害量の X 線を照射し、その時の全身および腸管局所の免疫系への影響、腸内細菌の全身への移行について検討した。その結果、骨髄障害致死領域の X 線照射は、全身免疫機能の低下と同様に、腸管免疫機能の低下も引き起こすこと、そして腸管免疫機能の低下により、侵入を阻止されていた腸内細菌が全身へ移行し、感染症を引き起こすことが示唆された。骨髄障害致死領域の X 線を照射することにより、腸管免疫機能の低下による内因性感染モデルを確立できたことから、本モデルを感染防御効果の評価系の一つとして以下の実験に使用した。

まず、ウシに 26 種類の細菌の死菌体を抗原として免疫して得られた高度免疫化ミルク（免疫ミルク）の感染防御効果について検討した。その結果、免疫ミルクは内因性感染のモデルである X 線照射マウスにおいて、生存率を有意に改善した。また、有意差は認められなかったが、腸内菌叢に対する影響として、乳酸菌群の増殖促進および X 線照射後における大腸菌の増殖抑制、パイエル板細胞による IgA 産生の増強、さらには肝の抗菌活性の増強傾向を示した。免疫ミルクにはマウス大腸菌と反応する抗体が含まれていることから、本抗体が X 線照射後の大腸菌の増殖、移行を阻止あるいは遅延させ、X 線照射後の延命効果につながったと考えられた。

次に、抗体の変性を低く抑えるために殺菌工程の条件を 61℃で 20 分にして、

通常の免疫していないウシから得た乳より調整した低温処理脱脂粉乳（低温処理脱粉）について感染防御効果を検討した。その結果，低温処理脱粉の投与は免疫ミルク同様，X線照射マウスの生存率を有意に改善した。さらに，経口的に感染させたリステリアの全身への移行を阻止する傾向を示した。一方，免疫ミルク同様，腸内細菌叢やIgA産生に対する効果については有意な差は認められなかった。通常，免疫していないウシの乳中にも自然感作による抗体が含まれていることは知られており，低温処理脱粉中にもマウス由来の大腸菌やリステリアと反応する抗体の存在が認められたことから，免疫ミルク同様，低温処理脱粉の感染防御効果も，自然感作により乳中に存在する抗体によるものと考えられた。免疫ミルク，低温処理脱粉の摂取は，いずれも腸管からの感染に対する防御に有用と考えられた。

免疫ミルク，低温処理脱粉による腸管免疫に対する効果は主にそこに含まれる抗体の受動免疫によるものであり，腸管免疫機構の修飾という観点からは間接的なものであった。そこで，今度は腸管免疫機構を直接的に修飾する例として免疫増強作用があると報告されているアルギニンの腸管免疫系に対する効果について検討した。

まず，アルギニン非含有の培地にアルギニンを添加し，パイエル板T細胞の増殖能に対する効果について *in vitro* の試験で検討した。その結果，パイエル板T細胞の増殖能はアルギニン濃度依存的に上昇した。また，パイエル板T細胞によるサイトカインの産生に関してもアルギニンの添加により，産生量，産生細胞数，さらにはサイトカイン特異的 mRNA の発現量が有意に増加した。次にマウスにアルギニン無添加の栄養剤およびアルギニン添加の栄養剤を摂取させ，破傷風菌弱毒素を経口免疫したときの抗原特異的応答について検討した。その結果，糞中の抗原特異的 IgA 抗体価がアルギニン添加栄養剤投与群で有意に高い値を示した。アルギニンの *in vitro* の試験結果と併せて考えると，アルギニンはパイエル板T細胞の増殖能およびサイトカイン産生能を亢進し，経口的に投与された抗原に対する免疫応答を増強したと考えられた。アルギニンは腸管の免疫機能の維持または増強に有用な物質であることが示唆された。

腸管免疫機構を修飾する因子としては、上記のような生理活性物質の投与以外に、手術後の栄養管理における静脈栄養のように腸管に何も物が通過しないなどの栄養投与経路の影響が挙げられる。実際、手術後あるいは寝たきり患者において長期間静脈栄養を施行した場合、腸管が萎縮し、腸内細菌が全身に移行し、日和見感染を起こす場合のあることが報告されている。そこで、腸管免疫機構に対する中心静脈栄養と経腸栄養の影響について比較検討した。その結果、経腸栄養を施行したラットでは、中心静脈を施行したラットで認められた腸管重量の減少や脾の肥大、さらには血中 IgG 量の増大は認められず、また、コレラ菌毒素を経口免疫したときの抗原特異的応答も、特に腸管局所の抗原特異的 IgA 抗体価が経腸栄養群で有意に高い値を示した。これより腸管の物理的バリアの維持はもちろん免疫応答能の維持にも、経腸栄養が有用であることが示された。

以上、腸管免疫機構を修飾する因子として、免疫ミルク、低温処理脱粉、アルギニン、そして経腸栄養をとりあげ、その効果を明らかにした。今後、先進国ではますます高齢化が進み、日和見感染の問題に対する関心が高まるものと考えられる。今回取り上げた因子のうち、免疫ミルク、低温処理脱粉、アルギニンは、いずれも食品あるいはそれに近いものであり、医薬品のような副作用の問題はない。予防医療に対する意識高揚もあり、広く人々に受け入れられ、人々の健康増進の一助になるものと期待される。また、高齢化社会においては骨折や脳疾患等で寝たきりになってしまう場合も増えてくると考えられる。このような場合、患者の栄養管理、そして患者を介護する周りの人間への負担が問題となってくる。点滴といった静脈栄養に代わりに経腸栄養を施行することで患者の QOL の向上が期待され、また介護する側の金銭的、精神的負担も軽減されることが考えられる。一方、発展途上国では依然としてワクチン接種率の低さ、栄養状態の不良などの問題から、感染症が蔓延している。これらの解決策の一つとして経口ワクチンの開発が望まれている。今回の取り上げた因子のうちアルギニンには経口ワクチン時の賦活剤として、また、免疫ミルク等は乳幼児期の栄養状態の改善に加えて感染症発症を低減させる効果を併せ持つ粉ミルクとして貢献が期待される。