

ニワトリ腸管免疫の機能成熟を促す腸内微生物の同定

東北大学農学研究科機能形態学分野・教授 野地 智法

■ 目的

申請者らは、鶏を対象とした免疫学研究を通じて、鶏の腸管では、既存のパイエル板(回腸週末部)や盲腸扁桃(盲腸基部)に加えて、広大な表面積を有する盲腸にも成熟したB細胞が多数集積する濾胞構造が広範囲に発達していることを見出し、腸管に発達する新たな免疫臓器(Cecal patches : CP)の存在を明らかにしてきた。また、CPでは、腸内環境の健全構築に欠かせない抗体(主にIgA)を産生する形質細胞へのB細胞からの最終分化が、他の免疫臓器と比較して盛んであるという驚くべき事実を見出し、既存の教科書には記載されていない、孵化後の鶏腸管内で発達するCPを中心とした粘膜免疫システムの存在を提唱してきた。このCPは、孵化前には全く発達しておらず、孵化後に急激に形態形成および機能成熟することも申請者の研究で明らかにされている。つまり、鶏CPのIgA産生誘導機能の確立は、家畜以上に、孵化後に加わる外来刺激(例：微生物)に強く依存している可能性が高いと推察された。本研究では、鶏CPの機能成熟時期を特定し、同時期に盲腸に定着している微生物を検討することで、CPのIgA産生誘導に関わる候補微生物の同定を目指した。

■ 方法

孵化直後、孵化1, 2, 3, 5, 7週間後の肉用鶏(Ross308系)より、盲腸を採材・固定し、薄切した。その後、組織切片をIgM, IgA, IgYをマーカーとした免疫組織化学染色に供することで、IgA, IgM, IgY産生細胞の局在変化を比較した。また、CPにおける各分化段階のB細胞の数の変化をフローサイトメトリー解析によって定量的に評価した。加えて、盲腸内容物中のIgA量をELISA解析で評価することで、CPでIgA産生誘導機能が確立される時期を同定した。

続いて、CPの機能成熟に伴う、盲腸内微生物叢の変化、および微生物に対するIgAの特異性を明らかにするために、フローサイトメトリー解析によってIgA結合細菌の割合を算出した。また、各日齢の盲腸内容物中の微生物、およびIgA結合微生物の構成を次世代シーケンサーを用いたメタゲノム解析によって調べた。

■ 結果および考察

本研究により、CPの形態形成は盲腸扁桃にやや遅れて進行し、2週齢以降に開始することが明らかになった。このことは、盲腸扁桃とCPの形態形成に関わる微生物刺激が異なる可能性を示唆していた。また、CPで濾胞構造が発達する時期は3週齢前後であり、同時期に濾胞内でB細胞からIgA産生細胞への最終分化が起きていることが明らかになった。これらの結果に矛盾なく、盲腸内容物中のIgA量、およびIgA結合細菌の割合は3週齢以降に急激に上昇することが確認された。一方で、孵化直後の腸管ではIgA産生細胞が存在しないにも関わらず、管腔内では多量のIgAが検出された。この孵化直後に検出されたIgAは母(卵白)由来の移行抗体であると推察された。

■ 結語

本研究より、2-3週齢前後に盲腸内で定着を開始する、あるいは急激に増加する微生物がCPの機能成熟に深く関わっていると推察された。現在、2-3週齢の盲腸内容物中の微生物、およびIgA結合微生物の構成をそれより早い時期(1週齢)と比較するための検証を実施中である。加えて、孵化直後の盲腸内容物中には、多量の母子移行型(卵白由来)のIgAが存在しており、それらは何らかの微生物を認識していることが示された。今後、この母子移行型IgAが有する、盲腸扁桃やCPの形態形成における役割についても精査していく予定である。