

魚類 IgT 抗体が鰓の常在細菌叢のバランスや病原体の感染防御を制御することを発見

【研究の背景】

免疫系は、感染症を引き起こす細菌やウイルスなどを排除し、生体を病原体から防御する機構です。一方、粘膜組織である鼻腔、口腔、気道、消化管などに存在している膨大な数の常在微生物叢には攻撃しないように寛容状態にあります。この常在細菌叢は、宿主と共生関係を保ち、栄養素の供給や免疫系の活性化などにより宿主の健康維持に貢献しています。一方、粘膜組織は、病原体の主な侵入経路であるとともに、常在細菌叢の中にも潜在的な病原体も存在しているため、常に病原体の感染リスクに晒されています。

ヒトでは IgA という抗体が、粘液中に多量に分泌され、粘膜組織における常在細菌叢の制御を行う一方で、病原体の排除にも関わることが知られています。魚類は全身が粘膜に覆われているにも関わらず IgA がいないことから、粘膜組織では魚類独自の抗体である IgT が重要であることが予測されていましたが、どのような役割を担っているか不明でした。そこで本研究グループは、どのように IgT が常在細菌叢の維持や病原体に対する抵抗性に関与しているか検討するために、ニジマスを用いて、IgT 抗体を産生する B 細胞と IgT 抗体を一時的に枯渇させる方法を開発しました。この IgT 枯渇ニジマスに対して感染実験を行い、IgT の感染症に対する役割を検討するとともに、IgT が結合している鰓の常在細菌の種類や、IgT 枯渇ニジマスにおける IgT と常在細菌叢との関係を詳細に調べました。

【研究手法と成果】

①. IgT 枯渇ニジマスでは IgT⁺ B 細胞と IgT の枯渇が数週間持続

ニジマス IgT⁺ B 細胞を枯渇させるために、ニジマス IgT に対するモノクローナル抗体 (mAb) をニジマス腹腔内に投与したところ、ニジマス体内の IgT⁺ B 細胞を消失させることに成功しました。この IgT⁺ B 細胞枯渇処理の効果は、ニジマス IgT に対する mAb を投与した翌日から約 4 週間まで持続され、その後、組織における IgT⁺ B 細胞は増加し始め、8 週間には投与前の状態にまで回復することが分かりました。また、血中や鰓の粘液中における IgT 濃度を調べたところ、mAb 投与 3~4 週間には大幅に IgT 濃度が減少していることが確認でき、さらに IgT⁺ B 細胞の回復と同様に、8 週間には IgT 濃度も回復することが分かりました。以上より、IgT 枯渇処理を行うことで、数週間に渡り IgT⁺ B 細胞および IgT の一時的な枯渇をもたらすことが可能になりました。

②. IgT は粘膜面における寄生虫に対する感染防御に重要

IgT が病原体感染に対する抵抗性に重要か調べるために、白点病感染を耐過したニジマスを用意しました。この白点病耐過ニジマスに対して、前節で確立した IgT 枯渇処理を行った後、再度白点

病を感染させたところ、鰓や皮膚において白点病の感染が認められました。以上から、IgT は、鰓および皮膚の病原体に対する抵抗性における重要な因子であることが分かりました。

③. IgT 枯渇は、細菌の組織移行を誘発し、組織の損傷や炎症応答を誘導

ヒトの IgA 抗体は常在細菌叢のバランスを保ち、粘膜組織の恒常性の維持に役立っていることが知られています。一方、IgT は、腸管や鰓の粘膜組織における常在細菌叢に結合している主要な抗体であることが分かっていたましたが、詳しい役割は不明でした。そこで、IgT 枯渇ニジマスの鰓における常在細菌叢に結合している IgT の割合や組織の形態などについて調べました。その結果、鰓の粘液中の IgT が大幅に減少したのと同様に、常在細菌に結合している IgT はほぼ認められませんでした。IgT や IgT+ B 細胞が存在しないエラ組織を調べたところ、細菌の組織中への移行が認められました。さらには、血中に細菌由来の成分であるエンドトキシンが検出される個体も認められました。また、浮腫や炎症反応などの形態異常が確認され、炎症性サイトカインの発現が誘導されていることが分かりました。このように、IgT の枯渇により組織の恒常性が乱されることが分かり、IgT には、粘膜組織において細菌を組織中に侵入させないようにする粘膜バリアの役割もあることを示しています。

④. IgT は、常在細菌叢の特定の有害菌と有益菌などに結合し、細菌叢のバランス維持に関与

IgT が結合している常在細菌叢の構成について調べたところ、鰓に存在する細菌種のうち～25%の細菌種が含まれており、その中には、Enterobacteriales 目や Pseudomonadales 目などの潜在的な有害菌や、Propionibacteriales 目や Clostridiales 目などの短鎖脂肪酸を産生する有益菌が豊富に含まれていることが分かりました。さらに IgT 枯渇ニジマスの鰓における常在細菌叢の構成を調べたところ、常在細菌叢の構成が変化し、有益菌が減少する一方で、有害菌が増加することを発見しました。また、IgT が回復したニジマスの鰓では、常在細菌叢の多様性も回復していることが分かりました。このことから IgT は、有益菌を維持する一方で有害菌の拡大を抑制している可能性が考えられ、粘膜組織における常在細菌叢のバランスの維持に重要であることが分かりました（図1）。

【今後の期待】

本研究は、水産養殖業において世界で広く養殖されているニジマスを用いて、IgT という粘膜免疫に特化した抗体の役割を明らかにしたものです。魚類は、全身が粘膜に覆われているため、IgT 抗体を効果的に誘導することが、水産養殖において求められている粘膜ワクチンの開発に重要だと考えられます。また、養殖現場の問題となっている寄生虫病対策としても注目すべき感染防御機構となる研究であり、今後の更なる発展が期待されます。

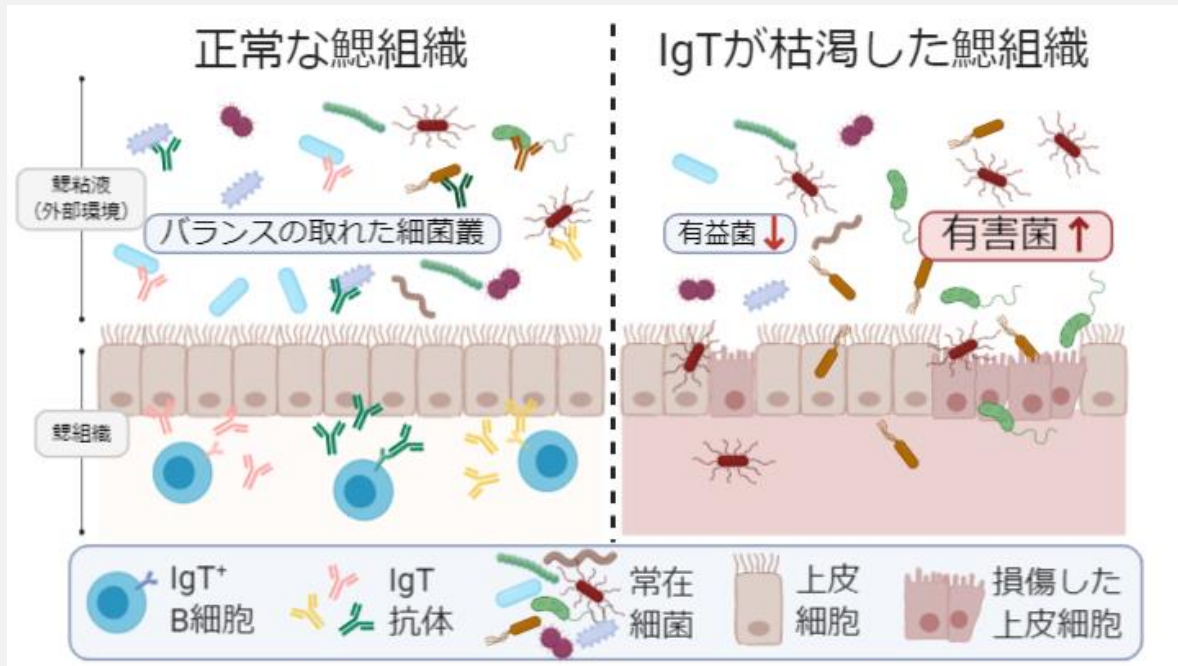


図1 ニジマスの鰓における IgT による常在細菌叢維持

IgT は、鰓の特定の有益菌や有害菌に結合し、常在細菌叢のバランスを保っている。IgT⁺ B 細胞および IgT を枯渇させると、細菌の組織移行、鰓組織の損傷および炎症応答が誘導される。また、IgT が結合していた有益菌が減少する一方で有害菌が増加することで、常在細菌叢の構成の乱れが生じる。

【用語説明】

1. 常在細菌叢：ヒトをはじめとする動物において腸内や他の粘膜組織には膨大な数の細菌群が生息し、食物の消化を助けるなど、宿主との共生関係にある。健康な状態では病原性はなく、これらの細菌群を総称して常在細菌叢と呼ばれる。
2. IgA：哺乳類の抗体（免疫グロブリン）には、その構造的特徴から大きく分けて IgM、IgD、IgG、IgE、IgA の 5 種類が存在し、それぞれ異なった機能を持つ。IgA は、腸管などの粘膜組織に存在する B 細胞から作られ、粘膜上皮細胞を通過して体外へ分泌される。粘液中の微生物やなどに結合し、体内への異物の侵入を防いでいる。
3. IgT：魚類の抗体は、哺乳類と同様に IgM と IgD に加えて魚類独自の IgT の 3 種類が存在する。IgM が血中に多く存在するのに対して、IgT は粘液中に比較的多く分泌されている。
4. モノクローナル抗体：目的のタンパク質を免疫した動物から得られた単一の抗体産生細胞に由来する抗体。本研究では、ニジマス IgT をマウスに免疫し、そのマウスから調整した抗体産生細胞が産生する抗体（抗ニジマス IgT 抗体）を使用している。
5. 白点病：繊毛虫の一種であるウオノカイセンチュウ (*Ichthyophthirius multifiliis*) が感染することにより発症する病気。多くの淡水魚に寄生し、成虫が体表や鰓に白い点として観察できる。

【論文情報】

Specialization of mucosal immunoglobulins in pathogen control and microbiota homeostasis occurred early in vertebrate evolution

Zhen Xu^{1,2,*}, Fumio Takizawa^{1,3,*}, Elisa Casadei⁴, Yasuhiro Shibasaki¹, Yang Ding¹, Thomas J. C. Sauters⁴, Yongyao Yu¹, Irene Salinas^{4,†} and J. Oriol Sunyer^{1,†}

¹ペンシルベニア大学, ²華中農業大学, ³福井県立大学, ⁴ニューメキシコ大学

*These authors contributed equally to this work.

Science Immunology 07 Feb 2020:

Vol. 5, Issue 44, eaay3254

DOI: 10.1126/sciimmunol.aay3254

【研究助成】

当該研究は2018年度から始まった日本学術振興会科学研究費助成事業 研究課題 19K21158 の支援のもと行われたものです。

【発表者・お問い合わせ先】

福井県立大学 海洋生物資源学部 准教授 瀧澤 文雄
電 話 0770-52-6300 (代表) (内線 1405)
E-mail takizawa@fpu.ac.jp