

豚ウイルス病の免疫

清水実嗣

(農林水産省家畜衛生試験場：〒305-0856 つくば市観音台3-1-1)

Shimizu, M. (1999). Immunity to swine viral diseases. *Proc. Jpn. Pig Vet. Soc.*, 35: 17-23.

家畜衛生試験場に奉職して31年、第7回日本豚病研究会藤崎賞授賞という栄誉を賜り心から喜んでいる。特に今までの仕事の大半が豚のウイルス病を対象としていただけに、喜びもひとしおである。これも幾多の先輩のご指導とご支援、また同僚および後進の協力によるものと深く感謝する。

なお、本文は「豚ウイルス病の免疫」と仰々しいタイトルを掲げているが、内容は主として筆者らの仕事と個人的な思いで等を記したものであり、当該分野の総説でないことをお断りする。豚の免疫研究の現状については、*Vet. Immunol. Immunopathol.*, Vol.43, No.1-3(1994) および Vol.60, No.3-4(1998)、豚病学第4版(近代出版、1999年)を参照されたい。また、豚の感染症に対する細胞性免疫については、A. Saalmüllerによる総説「Antigen-specific immune response of porcine T lymphocytes to various pathogens」が *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.*, Vol.17, pp71-83(1998)に掲載されている。

筆者が家畜衛生試験場に奉職した1968年頃までは免疫化学の全盛期であり、免疫グロブリンの構造と機能が活発に研究されていた。一方、1960年代の後半になって、鳥類の免疫応答は性状と機能を異にする2種類の細胞の共同作用で成立することが示され、T細胞(thymus-derived)とB細胞(bursa-derived)の概念が確立した。このような状況の下で、当時の上司であった家畜衛生試験場製剤研究部豚コレラ研究室長の熊谷哲夫先生(元東京農工大学教授)より「アフリカ豚コレラの免疫」を勉強してくるようにと命じられ、1973年に米国プラムアイランド動物疾病研究所(現同センター)へ留学することになった。翌1974年には豚コレラ研究室長が清水悠紀臣先生(元北海道大学教授、現微生物化学研究所長)に代われ、新室長からは豚の免疫細胞と細胞性免疫を勉強するようとの指示が届いた。そこで、アフリカ豚コレラを研究対象として、豚免疫細胞の識別と定量、細胞性免疫の評価等に関する仕事を行うようになった。このような経緯で、1975年に帰国した後も、北海道支場勤務の6年間を除き、中途半端ながらも主として免疫の観点から豚のウイルス病を研究して現在に至っている。

豚免疫細胞の識別と定量、細胞性免疫の評価

1 豚免疫細胞の識別と定量

筆者が仕事を始めた1970年代初頭、哺乳動物のT細胞とB細胞に関する仕事はマウスを除きほとんど行われていなかった。そこで、マウスの成績を参考に、比重遠心法による豚リンパ球の分離法の確立を手始めに、豚T細胞とB細胞の識別と定量法について検討を進めた。T細胞については羊赤血球に対するレセプターの有無(Eロゼット法)と抗豚胸腺細胞抗体を用いた血清学的方法、またB細胞については補体のC3に対するレセプター(EACロゼット法)と免疫グロブリンの有無(EAロゼット法、蛍光抗体法)を調べ、豚リンパ球にも細胞表面マーカーによって識別される細胞集団が存在すること、T、Bいずれのマーカーも持たない細胞があることなどを明らかにした。これらの方法は顕微鏡と細胞カウンターを用いた力仕事であり、現在はほとんど用いられていない。しかし、哺乳動物では世界的にも早い時期の仕事であり、来る日も来る日も顕微鏡下で細胞を数えていたことを懐かしく思い出す。また、有用な結果は得られなかったものの、豚の脳に対する抗体を作製し、マウスの θ 抗原に相同な抗原の探索に夢中になったことも昨日のように思い出すことができる。

1980年代の中頃になると、単クローン抗体技術の進展にともない、免疫細胞の識別にも単クローン抗体が応用されるようになった。単クローン抗体の利用はフローサイトメーターの開発と相まって、細胞マーカーの検出ばかりでなく、特定細胞の分取など免疫細胞学の発展に著しい進歩をもたらした。筆者らも豚白血球に対する単クローン抗体の作製を試み、豚の免疫研究に有用な多数の単クローン抗体を得ることに成功した。それらの中には、T細胞あるいはB細胞を特異的に識別する抗体のほか、N細胞や顆粒白血球、マクロファージと反応する抗体が含まれる。T細胞と反応する抗体にはCD4あるいはCD8分子と反応する抗体があり、ヘルパーT細胞とサプレッサーT細胞、細胞傷害性T細胞の識別が可能となっている。

単クローン抗体を豚免疫学の研究に活用するために

表1 豚白血球 CD 抗原に対する単クローン性抗体

細胞サブセット	CD抗原	抗体数	プロトタイプ抗体	細胞サブセット	CD抗原	抗体数	プロトタイプ抗体
T細胞	CD2a	7	MSA4 (Lu/Ha)	B細胞	wCD1	1	76-7-4 (Pe/Lu/Ss)
	CD3a	2	BB23-8E6 (Pe)		wCD21	3	IAH-CC51 (Ho)
	CD3b	2	EY2C1 (Ya)	SWC7	2	IAH-CC51 (Ho)	
	CD3c	1	FY1H2 (Ya)	マクロ	SWC3a	3	74-22-15 (Pe/Lu/Ss)
	wCD3	1	STH164 (Sh)	ファージ	CD14	4	My4 (Co)
	CD4a	5	74-12-4 (Pe/Lu/Ss)	N細胞	SWC9	2	PM18-7 (Ki)
	CD5a	8	b53b7 (Sa)		SWC4	3	MAC319 (Bi)
	wCD6	3	a38b2 (Sa)	リンパ球様細胞	SWC5	2	b37c10 (Sa)
	wCD8a	4	76-2-11 (Pe/Lu/Ss)		SWC6	1	MAC320 (Bi)
	wCD8b	3	11/295/33 (Sa)		CD16	1	G7 (Ki)
	wCD8c	1	PG164A (Da)		CD18a	4	PNK-1 (Ki)
	wCD8	1	UPIH122 (Zu)		wCD29	2	
	SWC1a	5	11/8/1 (Sa)		SWC8	2	
	SWC1	5			wCD44a	3	Z063 (Zy)
	SWC2	2	b30c7 (Sa)		wCD44	4	MAC325 (Bi)
	活性化T細胞	wCD25	2		K231.3B2 (St)	CD45	5
					CD45RA	3	STH267 (Sh)
				CD45RC	3	3a56 (Sa)	

第1回および第2回豚CD抗原に関する国際ワークショップで認定された抗体 (Saalmuller, 1996)。
 ()内はプロトタイプ抗体の提供者。Bi:Binns, Co:Coulter, Da:Davis, Ha:Hammerberg, Ho:Howard,
 Ki:Kim, Lu:Lunney, Pe:Pescovitz, Sa:Saalmuller, Sh:清水, Ss:Sachs, St:Stokes, Ya:Yang,
 Zu:Zuckermann, Zy:Zymed.

は、その性状や反応特異性等について世界的な共通認識が必要となる。そこで、筆者らが作製した抗体のうち代表的な抗体を「第2回豚のCD抗原に関する国際ワークショップ」に提出し、世界の多くの機関から評価を受けた。その結果、5種 (wCD3, CD4a, wCD8a, wCD8c, CD45RA) は世界の標準品と認められ、特にT細胞レセプターと関連するwCD3と接着分子CD45RAと反応する抗体はプロトタイプ抗体に指定されている (表1)。14種の抗体は「第3回豚のCD抗原に関する国際ワークショップ」で引き続き評価が行われ、現在取りまとめが行われている。

最近、豚は実験動物あるいは臓器の異種移植のドナーとして関心を集めており、豚の免疫研究が広範に行われるようになってきている。豚免疫細胞に対する単クローン抗体は、豚のウイルス病に対する免疫研究ばかりでなく、免疫の基礎研究にも役立つことが期待されることから、上記抗体は国内はもとよりアメリカ、イギリス、西ドイツ等の研究機関に配布され、さまざまな研究に活用されている。

2 細胞性免疫の評価

筆者が豚のウイルス病の研究を始めた頃は、中和試

験や補体結合反応、赤血球凝集抑制反応などによって抗体の測定が容易に行われることから、ウイルス病の免疫学的研究は主として疫性免疫の観点から行われていた。しかし、後述するように、ウイルス病によっては血清中和抗体のみでは説明できない免疫現象も多く、ウイルス病に対する免疫を細胞性免疫の観点から検討する必要性が高まっていた。そこで、当時細胞性免疫評価法の主流であったマクロファージおよび白血球遊走阻止因子、リンホトキシン等の検出法を豚に応用する試みを行った。現在はこれらのメディエーターはサイトカインと呼ばれ、様々な検出系が確立している。しかし、当時はバイオアッセイが唯一の検出系であり、キャピラリーあるいはアガロースの小滴に封入したマクロファージや白血球の遊走距離を測定したことが懐かしく思い出される。ついで、豚におけるリンパ球幼若化反応や標的細胞傷害反応の実験条件を検討し、ウイルス病に対する免疫研究に応用した。これらの方法は、現在も細胞性免疫の評価あるいは試験管内モデルとして多用されている。

豚ウイルス病に対する免疫

1 ウイルス感染に対する免疫

ウイルス病の免疫では、抗体によるウイルスの中和と細胞性免疫による感染細胞の破壊が重要である。特にウイルス感染細胞の破壊はウイルス増殖の中断を意味し、抗体による中和とともにウイルス病の免疫の中で大きな役割を果たす。ウイルスの中和は抗体単独によるほか、補体との共同作用により中和効率の上昇するウイルスもある。エンベロープウイルスの中和に関する抗原は、エンベロープを構成する糖蛋白質であることが多い。ウイルス感染細胞の破壊で中心的役割を担うのは CD8 分子陽性の細胞傷害性 T (T_C) 細胞で、感染細胞に提示された抗原分子と主要組織適合抗原複合体 (major histocompatibility complex : MHC) クラス I 抗原を認識し、抗原特異的に破壊する。標的細胞の傷害は抗原特異的 T_C 細胞のほか、キラー細胞やマクロファージによる抗体依存性細胞傷害反応 (ADCC)、抗体と補体の共同作用、ナチュラル・キラー細胞によっても起こる。ADCC および抗体と補体の共同作用による細胞傷害作用の特異性は、抗体によって決定される。

2 ウイルスの感染様式と免疫

ウイルスの感染様式を細胞レベルでみると、感染細胞を破壊し放出されたウイルスが新たな細胞に感染するもの、オーエスキュー病ウイルスのように細胞外に放出されたウイルスによるほか隣接する細胞へ感染を拡大するもの、白血病ウイルスのように細胞分裂により娘細胞へ伝播するものに大別される。前者のウイルスでは細胞外へ放出されたウイルスが新しい感染源となるので、感染細胞の破壊とともに抗体による中和が感染防御に効果的に働く。後二者は細胞内ウイルスによっても感染が拡大することから、感染の防御には感染細胞の破壊がより重要となる。後者のウイルスでも細胞外に放出されたウイルスには中和抗体が有効に作用する。

一方、ウイルス病の発病様式を個体レベルでみると、日本脳炎による異常産や豚コレラのように病態発生にウイルス血症が必須な疾病、豚伝染性胃腸炎やインフルエンザのように感染が消化器や呼吸器に局限する疾病に分けられる。前者ではウイルス血症の防止が発病阻止と関連することから、血液中の抗体、特に IgG 抗体が有効に作用する。しかし、後者では感染が粘膜局所に局限することから、血液中の抗体よりも分泌型 IgA 抗体と細胞性免疫に依存した局所免疫が重要な役割を果たす。

以上のように、ウイルス病に対する免疫は、液性免

疫と細胞性免疫の共同あるいは相補作用によって成立すると考えられる。しかし、いずれの免疫が重要かはウイルス病によって異なる。それらの代表的な例として、著者が関係したウイルス病のうち豚コレラと豚伝染性胃腸炎の免疫について述べる。

3 豚コレラに対する免疫

豚コレラは豚コレラウイルスの感染に起因する熱性、敗血症性の疾病で、その強い伝染力と高い致死率から世界で最も恐れられている伝染病である。わが国では、1969年に現行の GPE ワクチンが実用化されると、豚コレラの発生は激減した。同ワクチンは笹原二郎、熊谷哲夫、清水悠紀臣先生をリーダーとした研究チームの多大な努力によって開発され、効力および安全性ともきわめて優れている。本ワクチンが広く用いられると、豚コレラの発生は激減し、1992年の熊本県下での発生を最後にその後の発生はない。現在は本病の清浄化を目指した撲滅事業が実施されている。感染ウイルスの病原性や豚側の要因によって、豚コレラには急性型から慢性型まで多様性が認められるが、いずれも高い致死率を示す。豚コレラウイルスは主として口あるいは鼻から豚体内に侵入し、扁桃に初感染巣を形成する。扁桃で増殖したウイルスは血管およびリンパ管を介して全身に播種され、非化膿性脳炎や全身性の血管病変、リンパ組織の壊死を引き起こす。このように、豚コレラの病態発生にはウイルス血症が必須となっている。

1) ワクチン接種豚の抗体応答と感染防御試験

表2に示した実験では、様々な移行抗体を保有する約40日齢の子豚10頭に GPE ワクチンを接種した。ワクチン接種後血清中和抗体の産生を調べるとともに、11週後に実験豚を 10⁵ MLD (最小致死量) の強毒ウイルスの経鼻接種によって攻撃した。その結果、ワクチン接種後の血清中和抗体の産生はワクチン接種時の移行抗体価と逆比例し、強毒ウイルスの攻撃後の反応は攻撃時の中和抗体価と比例していた(表2)。移行抗体価128倍以上の子豚3頭の攻撃時の血清中和抗体価は4

表2 豚コレラワクチンの免疫効果

豚頭数	血清中和抗体価		攻撃後の反応	
	ワクチン接種時	攻撃時	発熱	予後
3	> 128	4 ~ 32	4 ~ 12	2
3	16 ~ 64	64 ~ 512	1 ~ 2	0
4	< 8	256 ~ 1024	0	0

発熱：40℃以上を示した日数、予後：死亡頭数

～32倍と低下し、攻撃後はいずれも4～12日間発熱を示した。そのうち2頭が死亡している。一方、移行抗体価16～64倍の子豚は、ワクチン接種によって64～512倍の中和抗体価を産生した。これらの子豚は強毒ウイルスの攻撃後1～2日間発熱を示したものの全頭が生残した。移行抗体価8倍以下の子豚4頭の攻撃時の中和抗体価は256～1,024倍に達し、いずれも臨床症状を示すことなく攻撃接種に耐過した。これらの成績は、豚コレラのような病態発生にウイルス血症が必須なウイルス病では、血清中の中和抗体が感染防御に重要な役割を果たし、中和抗体価が免疫状態を示すパラメーターになることを示している。

4 豚伝染性胃腸炎に対する免疫

豚伝染性胃腸炎 (transmissible gastroenteritis of pigs: TGE) はコロナウイルス科に属するウイルスによる典型的な局所感染症で、全身感染を特徴とする豚コレラとは対極をなす。TGEウイルスは口あるいは鼻から豚の体内に侵入し、小腸の粘膜上皮細胞に感染する。その結果、小腸絨毛の著しい短縮が誘起され、感染豚は激しい水様下痢と嘔吐を主徴とする急性胃腸炎を起こす。TGEウイルスの伝染力はきわめて強く、日齢に関係なくすべての豚に感染する。しかし、症状は幼齢豚ほど重く、致死率も高い。本病の免疫で経験的に知られていたことは、一度感染発病した豚は強固な免疫を獲得し、再感染に強く抵抗することである。また、

表3 豚伝染胃腸炎の能動免疫

初回免疫	追加免疫	中和抗体価	攻撃後の反応
強毒ウイルス 経口接種	—	8～128	0/14
不活化ウイルス 筋肉内接種	弱毒ウイルス 鼻腔内接種	1024～4096	10/12
不活化ウイルス 筋肉内接種	弱毒ウイルス 筋肉内接種	256～2048	5/5
非免疫対照	—	<1	8/8

攻撃後の反応：下痢・軟便頭数/実験頭数

感染に耐過した母豚の乳汁を不断に飲んでいる子豚では受動免疫が成立し、乳汁免疫と呼ばれている。

1) TGE 免疫豚の感染防御試験

感染防御試験の実施には、疾病を確実に再現しうる実験条件を確立することが必要となる。ところが、肥育豚以上の豚の TGE 感染では、しばしば不顕性感染の起こることが報告されている。一方、TGE の発生には季節性が認められ、冬季に多発する。しかも、冬季の発生は夏季に比べ重症化することが経験的に知られている。そこで、発病誘発因子の一つとして環境温度を想定し、環境温度 (高温 30℃、低温 4℃) の TGE 感染におよぼす影響を調べた。その結果、低温と環境温度の変化が重要な発病誘発因子であることが明らかになり、環境温度を制御することにより感染実験を効率的に行えるようになった。

表3に示した一連の実験は、2～3ヶ月齢の子豚31頭を様々な方法で免疫し、血清中和抗体の産生を調べ

表4 強毒ウイルス経口免疫豚の感染防御試験

豚番号	初感染後の反応 ¹⁾	攻撃時期 (感染後日数)	攻撃時の 血清中和抗体価	攻撃時の 環境条件	攻撃後の 反応 ¹⁾	感染 防御能
1	D	25	16	4℃	N	+
2	D	30	128	4℃	N	+
3	D	30	64	4℃	N	+
4	D	45	128	11月	N	+
5	D	65	128	11月	N	+
6	D	80	8	3月	N	+
7	D	80	16	3月	N	+
8	D	121	64	4℃	N	+
9	D	121	64	4℃	N	+
10	D	130	16	4℃	N	+
11	D	145	8	4℃	N	+
12	D	180	16	11月	N	+
13	D	180	16	11月	N	+
14	D	180	8	11月	N	+
32 (対照) ²⁾	·	·	<1	4℃	D	-
33 (対照)	·	·	<1	4℃	D	-
34 (対照)	·	·	<1	4℃	D	-
35 (対照)	·	·	<1	11月	D	-
36 (対照)	·	·	<1	3月	D	-

1) D: 下痢便 N: 正常便

2) 非免疫対照豚

るとともに、強毒ウイルスをによる攻撃試験の結果を示したものである。

強毒ウイルスの経口接種で免疫した14頭はいずれも激しい症状を示したが、約1週間の経過で感染に耐過した。血清中和抗体はウイルス接種1週後から検出され、20~40日後に最高値64~256倍に達した。中和抗体価はしばらくプラトー状態を維持し、その後少しずつ低下した。ウイルス接種180日後に調べた3頭の抗体価は、それぞれ16、16、8倍であった。これらの豚を免疫25~180日後に強毒ウイルスの経口接種によって攻撃し、感染防御能の有無を検討した(表3、4)。なお、上述したように、2~3ヶ月齢豚の感染実験を夏季に行うと発病しないことがあることから、これらの攻撃試験は寒冷期あるいは低温環境下で行った。攻撃時の血清中和抗体価は8~128倍であった。非免疫対照豚は強毒ウイルスの攻撃接種によってすべて発病し、定型的なTGE症状を示した。これに対し、免疫豚で発病した豚はなく、すべて無症状で攻撃接種に耐過した。初回接種180日後に攻撃した3頭にも異常は認められず、一度TGEウイルスに感染し耐過した豚は、強固な免疫を獲得し長期間免疫状態を維持することが明らかとなった。

一方、弱毒ウイルスや不活化ウイルスの筋肉内接種(アジュバントとしてDEAE-デキストランやベントナイトを併用)と鼻腔内噴霧接種を組み合わせることによって、血清中和抗体価を強毒ウイルス経口接種豚よりも著しく高めることが可能である。表3に示した実験では、実験豚の最高血清中和抗体価は4,096倍に達している。このような豚を強毒ウイルスで攻撃すると、全頭がTGEの症状を示し、17頭中15頭が死亡した(表3)。

以上の結果は、TGEのような腸管感染症に対する免疫では、血清中和抗体の果たす役割は小さく、腸管局所の免疫が重要となることを示している。また、それらはウイルスが腸管で増殖することによって誘導されることが示唆される。

2) TGE 免疫豚における細胞性免疫と局所免疫

感染防御試験の結果、TGEの免疫では血清中和抗体よりも腸管局所の免疫が重要と考えられたことから、TGEウイルス免疫豚における腸管局所と全身性の細胞性免疫をリンパ球の幼若化反応と標的細胞傷害反応によって検討した。その結果、強毒ウイルス経口接種豚では、ウイルス抗原によって幼若化するリンパ球が接種後7日目からバイエル板と腸間膜リンパ節、脾、末梢血液中に出現し、その反応性は14日目に最高と

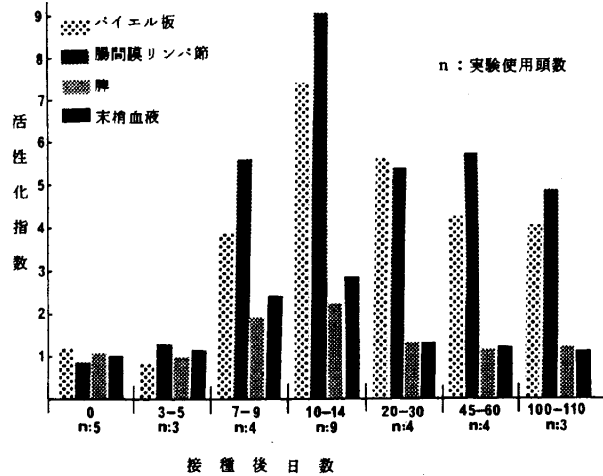


図1 強毒TGEウイルス経口接種豚リンパ球のウイルス抗原に対する反応

なった。その後、バイエル板と腸間膜リンパ節では、ウイルス抗原と反応するリンパ球が長期間継続的に認められた(図1)。一方、弱毒ウイルス筋肉内接種豚では、脾と末梢血リンパ球がウイルス抗原により多少活性化される傾向を示したが、バイエル板と腸間膜リンパ節にはウイルス抗原と反応するリンパ球は認められなかった。さらに、強毒ウイルス経口接種豚では、バイエル板と腸間膜リンパ節、脾、末梢血液中にウイルス感染細胞を破壊するリンパ球が誘導され、細胞傷害活性は感染3週後に最高となった(図2)。しかし、弱

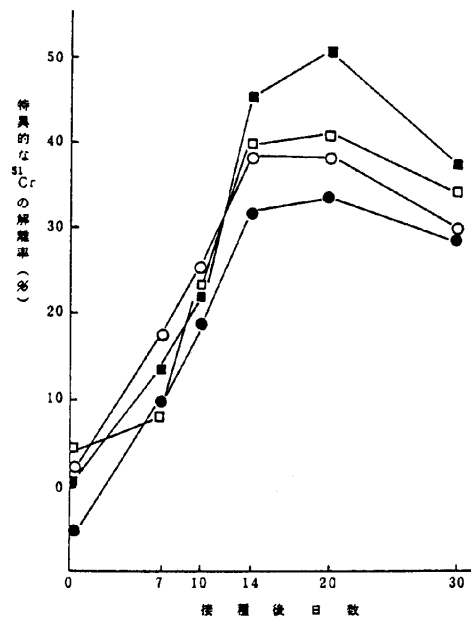


図2 強毒TGEウイルス経口接種豚由来リンパ球によるウイルス感染標的細胞の障害

バイエル板 ●——● 腸間膜リンパ節 ○——○
脾 □——□ 末梢血液 ■——■

毒ウイルスを非経口的に免疫した豚の腸管には、標的細胞傷害活性を有するリンパ球は誘導されなかった。

一方、共同研究者の児玉義勝君(現ゲン・コーポレーション免疫研究所長)は腸管局所の免疫を液性免疫の側面から検討し、免疫を有する豚(強毒ウイルス経口接種豚)の腸管のみに TGE ウイルスに特異な分泌型 IgA 抗体が認められ、弱毒ウイルス非経口免疫豚では検出されないことを明らかにした。これらのことから、TGE の免疫はウイルス抗原の腸管刺激によって誘導された腸管局所の分泌型 IgA 抗体と細胞性免疫の共同あるいは相補作用によって成立するものと結論した(表5)。

表5 豚伝染性胃腸炎の能動免疫(まとめ)

免疫方法	血清抗体	細胞性免疫		腸管局所 分泌型 IgA 抗体	感染防御
		全身性	腸管局所		
強毒ウイルス 経口接種	+	+	+	+	+++
弱毒ウイルス 筋肉内接種	+++	+	-	-	-
不活化ウイルス 筋肉内接種	+++	+	-	-	-

3) 局所免疫

以上のように、消化器や呼吸器の局所感染症の免疫では、血液中の中和抗体よりも局所の免疫が重要な役割を果たす。局所免疫は分泌型 IgA 抗体に依存した液性免疫と局所の細胞性免疫からなり、特に分泌型 IgA 抗体が重要な役割を担うと考えられる。IgA 抗体には構成基本単位の単量体、2分子の単量体がJ鎖で結合した二量体、二量体に分泌片が結合した分泌型 IgA 抗体がある。IgA 抗体の産生組織は全身性と消化管、乳腺など局所の免疫系に大別される。単量体の IgA 抗体は全身性の免疫系で産生され、血液中を循環する。一方、二量体の IgA 抗体は局所の免疫系で産生され、血液中を循環するほか粘膜上皮細胞で分泌片を結合し、分泌型 IgA 抗体となる。

分泌型 IgA 抗体の前駆体である二量体産生細胞は、腸管のリンパ組織に抗原刺激があった時に誘導される。腸管の粘膜固有層にはパイエル板を代表とするリンパ組織が広範に発達しており、消化管関連リンパ装置(gut-associated lymphoreticular tissue: GALT)と呼ばれる。GALT は腸管ばかりでなく全身の局所免疫の成立にも関連する重要な器官である。パイエル板のドームを被う非円柱上皮細胞はM細胞と呼ばれ、腸管内の抗原を取り込み、抗原情報を GALT へ提示する重要な機能を担っている。GALT への抗原刺激が消化管を含め

た全身の粘膜と腺組織における IgA 抗体産生に必要であることが明らかにされ、パイエル板のM細胞を起点とした IgA 抗体の産生システムは共通粘膜免疫系(common mucosal immunologic system; CMIS)と呼ばれる。M細胞から抗原情報を受け取った GALT では、抗原特異な IgA 抗体産生前駆細胞が誘導される。IgA 抗体産生前駆細胞は腸間膜リンパ節に移動し、分化・増殖する。さらに、これらの細胞は分化しながら胸管を介して体内循環に入り、消化管、泌尿生殖器、呼吸器など全身の粘膜組織と乳腺、唾液腺、涙腺などの間質組織に選択的に移動する。乳腺や生殖器への移動には、催乳ホルモンや性ホルモンが関与することが報告されている。粘膜および腺組織に移動した細胞は成熟して IgA 抗体産生プラズマ細胞に分化し、J鎖を結合した二量体 IgA 抗体を産生する。局所で産生された二量体 IgA 抗体は上皮細胞を通じて管腔に分泌されるが、この時に分泌片を結合して分泌型 IgA 抗体となる。

このように、腸管や乳腺における分泌型 IgA 抗体の産生は腸管における抗原刺激が出発点となることから、TGE の免疫が強毒ウイルス経口接種豚のみで成立することがよく理解される。また、TGE の母子免疫で重要な役割を果たす乳汁免疫は、乳汁中に不断に分泌される IgA 抗体に依存していることから、同じ理由で強毒ウイルス感染耐過豚で成立する。

一方、管腔に分泌されなかった抗体は腸管由来の血清 IgA 抗体となる。したがって、病原体特異な血清中の二量体 IgA 抗体を測定することによって、当該病原体に対する腸管内の免疫状態を推定することが可能となる。

以上のように、局所免疫の成立には GALT への抗原刺激が必要であり、GALT への抗原刺激は病原体の腸管内における増殖、換言すれば病原性と密接に関係する。このことが局所感染症に対するワクチン開発を困難にする最大の原因となっている。最近では CMIS の解析とともに、抗原デリバリー法など経口ワクチンの開発に向けた研究が進められており、その成果が期待される。

4) 雑談

筆者が清水悠紀臣室長のご指導の下で、TGE の免疫学的研究に携わったのは1975年から1980の5年間である。当時は今では想像もできないほど多数の実験豚の使用が可能で、筆者の学位論文となった「豚伝染性胃腸炎の能動免疫に関する研究」では延べ120頭以上の豚が使用されている。もっとも同じ豚を複数の実験に

使用したことも多いことから、実数はその半数ぐらいと思われる。それでも60頭以上の豚を用いたことになる。その苦勞もあつたが、様々な工夫をするなど楽しみも多く、今ではすべてが懐かしい思いでとなっている。

上述したように、肥育豚のTGE感染は環境温度の影響を受けることから、TGEに対する免疫研究には最初に実験感染豚の確実な発病条件を確立することが必要であった。そのため、実験豚を様々な環境温度下で飼育し、感染実験を行った。今とちがって、当時の家畜衛生試験場にはブートロンの設備などない時代であったから、実験棟内の恒温室と冷蔵室をにわか誂えのブートロンとし、大型の飼育箱を持ち込み多数の豚を実験室内で飼育することとなった。実験の中には1日ごとに飼育環境温度を高温(30℃)と低温(4℃)に変化させる実験があり、その時は毎朝実験豚を恒温室から冷蔵室へ、あるいは冷蔵室から恒温室へ移動することになり大変であった。また冷蔵室はともかく、恒温室内の臭気は凄まじく、多くの室員の迷惑はいかばかりかと思うのだが、清水室長はじめ誰からも苦情がでず、本当に有り難いことであった。しかし、本当は皆が我慢に我慢を重ねていたにちがいない。

一連の研究の中で、TGEに対する細胞性免疫を評価するため、ウイルス感染細胞を標的とした細胞傷害試験を実施することとなった。しかし、当時は豚の標的細胞傷害試験は世界ではほとんど行われておらず、まったくの手探りと試行錯誤の連続であった。1974年にZinkernagelとDohertyは、マウスの系で免疫T細胞による標的細胞の傷害はエフェクター細胞と標的細胞のMHCクラスI抗原に拘束されることを明らかにした。しかし、豚ではエフェクター細胞と標的細胞のMHCクラスI抗原が一致した実験系の確立はまったく不可能であり、まずは標的細胞をどうするかという難問を解決しなければならなかった。そこで、標的細胞に自己の精巣細胞を用いたオートの実験系を確立するなど、実験に工夫を凝らしたことを覚えている。精巣細胞は幼齢期に採取した精巣を培養し、実験豚の免疫が完了して標的細胞傷害試験を実施するまで凍結保存したものである。したがって、標的細胞傷害試験に用いた実験豚はすべて雄であった。また、今から思えばまったく幼稚かつ無謀な試みであったが、豚MHCの血清学的タイピングを行うため、同種免疫による抗白血球抗体の作製を行ったことなど懐かしく思い出される。ちなみに、アメリカの衛生研究所(NIH)では、豚の免疫

研究の重要性から1976年にはすでにMHCが純系のミニプタ3系統を確立しており(これは後年知ったことである)、先見の明に驚かされる。

5 その他のウイルス病における細胞性免疫

著者が豚ウイルス病に対する免疫の仕事を行うきっかけとなったのはアフリカ豚コレラで、もう25年も前のことである。しかし、今でも当時の実験の様子をはっきりと思い出すことができる。アフリカ豚コレラはきわめて悪質な海外伝染病で、急性型から慢性型まで多彩な病態を示す。本病の免疫で特徴的なことは感染耐過豚あるいは免疫豚に中和抗体が検出されないことで、免疫機構には不明な点が多々残されている。そこで、感染にともなう免疫細胞の動態を解析するとともに、細胞性免疫の関与をマクロファージおよび白血球遊走阻止試験とリンパ球幼若化反応で検討した。その結果、感染耐過豚では本ウイルスに特異なT細胞が誘導され、ウイルス抗原との接触によりマクロファージおよび白血球遊走阻止因子を産生すること、また自己の白血球の遊走が阻止されることが示され、本病の免疫に細胞性免疫が関与するなど、不明な問題の多かった免疫機構の一部を明らかにすることができた。また、慢性型アフリカ豚コレラに見られる壊死性間質性肺炎は、結核病巣と同様に活性化T細胞に依存した遅延型過敏反応に起因する可能性が示唆された。実験に用いた手法はいずれも陳腐になっているが、当時は豚ウイルス病の免疫研究では新しい試みであり、古典的な方法による免疫細胞の同定も、またマクロファージの遊走面積の測定もわくわくして行ったことを覚えている。

そのほか、オーエスキー病や豚繁殖・呼吸障害症候群についてもいくつかの実験を行ったが、いずれも中途半端で取りまとめも不十分なままに終わっている。恥ずかしい限りである。

今まで楽しく仕事を続けることができたのは、多くの方々のご指導と支援、ご協力のおかげであり、以下にお名前を記して(敬称略)深く感謝する。

熊谷哲夫、清水悠紀臣、古内進(元家畜衛生試験場)、山田俊治、清水眞也、内村昭彦(家畜衛生試験場)、児玉義勝(ゲン・コーポレーション免疫研究所)、I. C. Pan, W. R. Hess, R. Trautman(米国プラムアイランド動物病センター)、S. Denham(英国パーブライト研究所)