

冬眠シリアンハムスターにおける免疫機構

生命科学院 細胞高次機能科学分野 消化管生理学研究室
渡部 沙織

【背景と目的】

中心静脈栄養施行時のように、経口的な栄養摂取を長期間行わないと腸粘膜バリア機能が低下し、腸内細菌の侵入による全身感染の危険が増大する。ところが冬眠は自発的な長期絶食状態であるにもかかわらず、冬眠個体において全身感染を生じる証拠はない。これらのことから我々は、冬眠動物において特異的な腸管粘膜バリアおよび免疫機構が存在すると考えた。本研究では、まず、冬眠シリアンハムスターにおける消化管からの腸内細菌の侵入の有無を明らかにし、次に腸内細菌の侵入を防ぐバリアとして分泌型免疫グロブリン A(SIgA)に着目して活動個体と量的比較を行い、さらにリンパ球プロファイルの比較も行った。

【方法】

10 週齢のシリアンハムスターを、24 時間暗期、室温 4°C の環境下で飼育し冬眠を誘導した。覚醒期自由摂食個体、覚醒期絶食個体、および冬眠個体の腸間膜リンパ節から DNA を抽出し、細菌由来の 16S rRNA 遺伝子の有無を PCR により調べた。また回腸断片を反転させ、両端を閉じて作成した腸管サックを Horseradish peroxidase を含む溶液中で培養し、小腸粘膜の透過性を調べた。ELISA サンドイッチ法を用いて小腸内容物中の SIgA 量を測定した。小腸粘膜固有層の IgA⁺形質細胞およびパイエル板の IgA⁺B 細胞数を調べるため、細胞を蛍光免疫染色後にフローサイトメトリー (FCM) を用いて解析した。小腸の組織切片でも蛍光免疫染色を行い、IgA⁺細胞を蛍光顕微鏡で観察した。小腸粘膜固有層、結腸粘膜固有層、肝臓、脾臓、腸間膜リンパ節、頸部リンパ節からリンパ球を分離し、B220⁺細胞、NK1.1⁺細胞、CD4⁺Foxp3⁺Treg 細胞、IL-10 産生細胞、および CD4⁺ROR γ t⁺Th17 細胞の割合をそれぞれ FCM で解析した。

【結果】

冬眠誘導の結果、4～5 日間の冬眠期と、1～2 日間の中途覚醒期を繰り返す冬眠行動がみられた。覚醒期自由摂食個体、覚醒期絶食個体、および冬眠個体のいずれの腸間膜リンパ節からも 16S rRNA 遺伝子は検出されなかった。小腸内容物中の SIgA 量は冬眠個体で高い傾向を示した。腸粘膜の透過性、小腸粘膜固有層中の IgA⁺形質細胞の割合、分布において個体間で大差はなかった。一方パイエル板の IgA⁺B 細胞数は冬眠個体が絶食個体と比較して高い傾向を示した。B220⁺細胞、NK1.1⁺細胞の肝臓および脾臓における割合は、冬眠個体が摂食個体に比較して高値を示した。小腸粘膜固有層における CD4⁺ROR γ t⁺細胞および CD4⁺Foxp3⁺細胞の割合は冬眠個体と活動個体の間で大差はなかった。

【考察及び結論】

細菌侵入が起こらず、CD4⁺ROR γ t⁺細胞および CD4⁺Foxp3⁺細胞の割合が変化しなかったことから、冬眠期においても消化管粘膜における感染防御機能および免疫制御機能が維持されていることを反映するものと推察した。しかしながら、本研究では解析に十分な数の冬眠個体を得ることができなかつたため、今後さらに例数を増やして解析することが必要である。