

# マイコプラズマに対する牛の免疫学的応答性とその特徴

樋口豪紀 (酪農学園大学 獣医学群 獣医学類 獣医衛生学ユニット)



## はじめに

マイコプラズマは親牛で乳房炎および膣炎、子牛で肺炎(図2)、関節炎および中耳炎を引き起こす病原性微生物である。感染してから明確な症状を発現するまでに一定の時間を要するため、発見が遅れ難治性に移行する症例も多い。マイコプラズマのサイズは一般細菌の1/3程度であり、さらに細胞壁を持たないなどの特徴から脆弱であるかのような印象を受けがちである。しかし、生体内および環境においてその生存戦略は非常に巧みであり、疾病制御をきわめて困難なものとしている。本稿では、マイコプラズマの巧みな生存戦略についてその一端を紹介したい。



## マイコプラズマの病原因子

牛マイコプラズマ感染症の主要な原因菌種である *Mycoplasma bovis* について、その病原因子を下記に示す。いずれも直接的に生体を侵襲するものではなく、細胞への付着を促したり、免疫応答を阻害することによって病態の形成に関与する。

人におけるマイコプラズマ性肺炎では、その病態において過剰な免疫応答が確認されることから、マイコプラズマの持つ「免疫毒性」がその主因と考えられている。免疫毒性とは外来物質によって引き起こされる免疫抑制、免疫亢進、アレルギー、自己免疫疾患、炎症などを示すものであり、免疫機能の破綻を意味する。つまり、マイコプラズマは生体の免疫機構を攪乱することで、そこから巧みに逃れ生体内での長期生存を可能にしている。*M. bovis* についても、近年になり全ゲノム解析やプロテオミクス(タンパク質の網羅的解析)やリピドミクス(脂質の網羅的解析)が精力的に進められており、直接的な病原因子や免疫攪乱に関与する分子なども同定されつつある。

### 付着因子

可変表面タンパク (Variable surface lipoproteins : Vsps) と言われる付着因子である。以前から主要な付

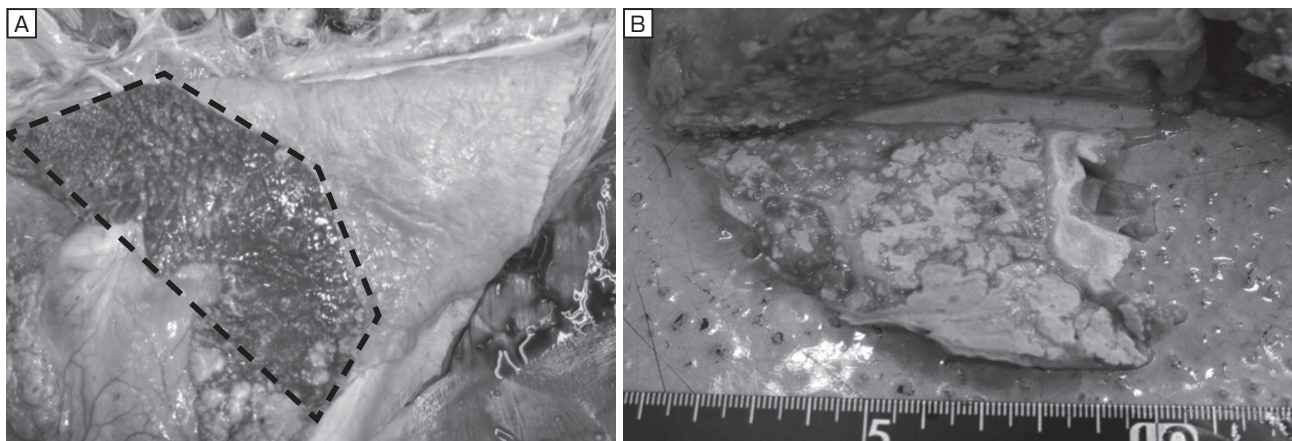
着因子として知られているもので、その後、新たな付着因子として Variable surface lipoprotein A (VpmaX) も報告された。これらは *M. bovis* が生体組織に付着するために不可欠な因子であるが、一方でその名が示す通り、「可変」であることが病原性に関与する。つまり、マイコプラズマが牛に感染すると、可変表面タンパクに対する抗体が誘導されるものの、直ちに遺伝的な組換えが起こり、新たな表面タンパクが表出する。これらは抗体の影響を受けないため、液性免疫を逃れ、容易に生体への定着と増殖を繰り返すことになる。ワクチン抗原としても注目されているが、実用化には未だ至っていない。その後も付着因子の研究は進み、解糖系に関わる酵素 (Fructose-1,6-Bisphosphate Aldolase : FBA)、tRNA の修飾に関わる酵素 methylenetetrahydrofolate-tRNA-(uracil-5-)methyltransferase (TrmFO)、酸化酵素である NADH oxidase、解糖酵素である  $\alpha$ -Enolase などが報告されている。

### 活性酸素

上述の通り、*M. bovis* は付着因子として NADH oxidase を有する。一方で、この酵素は  $O_2 \rightarrow O_2^-$  を誘導するものであり、組織損傷を引き起こす。さらに、血管内皮細胞同士の結合を阻害し、マイコプラズマの血液移行を容易にするものと考えられている。牛では重度の肺炎、関節炎および中耳炎において末梢血からマイコプラズマが分離されることもあり、これらのメカニズムによるものと考えられる。また、NADH oxidase を持つ生物の多くは、自らつくり出した  $O_2^-$  の毒性を回避するため、活性酸素消去酵素を有する。好中球やマクロファージなど、活性酸素を使って異物処理を行う細胞にとって、活性酸素消去酵素を持ったマイコプラズマの処理はより難しいものとなる。

### DNAase (NETs の阻害)

Neutrophils Extracellular Traps (NETs) とは、好中球が自身の DNA や酵素顆粒をあたかも「投網」のように細胞外に放出して微生物を処理するという、いわば捨身の異物処理を行う(図3)。トラップされた微生



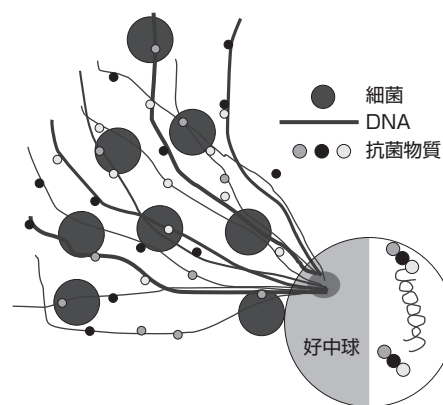
A：肺の一部に形成された乾酪壊死病変，B：病変の剖面。

図2 肺の乾酪壊死病変

物はDNAとともに放出された多くの酵素によって処理されて死滅する。好中球もNETsの生成によって細胞死(ネットオーシス)を起こす。一般細菌はNETsによる殺菌処理を受けるが、マイコプラズマは興味深いことに、これを容易に回避する。それは、マイコプラズマ自身がDNAase(DNA分解酵素)を有するからである。好中球から放出されたNETsはマイコプラズマをトラップしようとするものの、DNAaseによってNETsは容易に分解され、免疫から免れることとなる。このように、せっかく感染部位に集簇した好中球はその機能を十分に発現することができず、マイコプラズマの定着や増殖を許容することとなる。

### バイオフィルム

マイコプラズマはバイオフィルムを形成することが報告されている。一般的に多糖類などを主成分とするものであり、環境での長期生存や抗菌薬からの物理的な回避を可能とする。特に汚染農場では適切な消毒を行わない場合、搾乳施設、ベッド、敷料、ウォーターカップ、飼槽などから数カ月にわたって分離されることもある。環境への定着においてバイオフィルムは、重要な役割を果たすことが明らかになっている。バイオフィルムの形成能は各菌株で異なることが*in vitro*で明らかにされている。生体内におけるバイオフィルムの生成能やその病原性については十分に解明されていないが、バイオフィルムに内在する微生物への免疫応答性は一般的に低いことが知られており、生体の免疫から回避するための1つの手段になり得るものと考えられる。

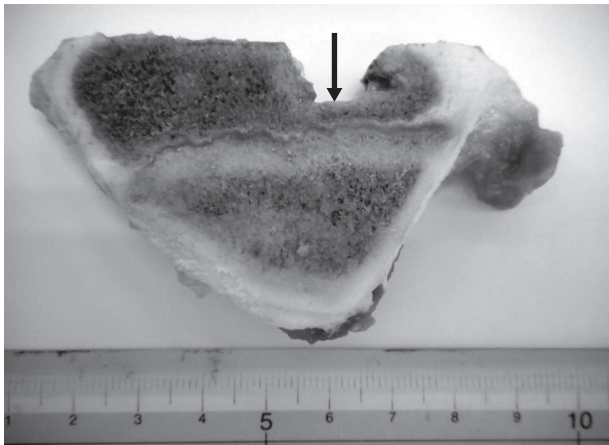


マイコプラズマはDNAを分解してNETsから逃れる。

図3 NETsを形成する好中球のイメージ

### どのように細胞に侵入するのか？

牛に感染するマイコプラズマの多くは運動性を持たず、能動的に細胞に近付いたり、侵入することはできない。それではマイコプラズマはどのように細胞内に侵入するのだろうか？ 肺(肺上皮細胞)、乳腺(乳腺上皮細胞)および関節(滑膜細胞)は好中球やマクロファージなどの免疫担当細胞と異なり、異物の処理を目的とした貪食能を持ち合わせていない。外部の栄養を取り込むために、エンドサイトーシスやピノサイトーシスなどといった基本機能を有するのみである。近年の研究において、マイコプラズマはこれらの機能を巧みに制御し、牛の細胞に「自分を食べさせるように仕向ける」のではないかということが示されている。細胞に取り込んでもらうことは、マイコプラズマにとっては長期生存戦略の1つであり、それによって免疫を回避することが可能となる。また、興味深いこ



矢印は骨融解により欠損した部位。

図4 マイコプラズマ性関節炎の骨融解像

とに、マイコプラズマは感染した細胞のアポトーシスを巧みに調整する。白血球系の細胞に感染することにより、細胞の種類によってアポトーシスを大幅に延長したり(寿命を伸ばす)、短縮させることも明らかになっている。マイコプラズマは細胞に侵入することによってその機能を制御するとともに、自身の増殖を加速させる。マイコプラズマ感染牛は自分の体を自分で攻撃する。

病原因子の項でも説明した通り、マイコプラズマは活性酸素以外、生体を直接攻撃するような病原因子をほとんど持ち合わせていない。その多くは生体に付着したり、生体の免疫応答を阻害するなどの働きにとどまる。それではなぜ、本病態に特徴的な激しい免疫応答が起きるのか、関節炎をモデルに考えてみたい。

子牛のマイコプラズマ性関節炎は複数の関節において激しい腫脹を呈し、重症例では骨融解(図4)も認められる。関節組織は滑膜細胞から構成されているが、*in vitro*において滑膜細胞にマイコプラズマを感染させても、サイトカインなどの動きはわずかであり、細胞傷害性も低い。ところが、関節液から分離培養したリンパ球にマイコプラズマを感染させ、その上清を滑膜細胞に添加すると、滑膜細胞は特定の炎症性サイトカインと Matrix Metalloproteinase(MMP)-1 および 6 などの基質分解酵素を大量に誘導することが明らかになった。MMP は骨組織を容易に破壊する機能を持ち、その誘導は骨融解を引き起こすことが明らかに

なっている。マイコプラズマは自身の毒性物質で骨融解を引き起こすのではなく、まずリンパ球に特定のサイトカインを誘導させ、それに曝露された滑膜細胞が MMP を誘導する。結果として、マイコプラズマは生体の細胞を制御することで MMP を誘導し、骨融解を引き起こしたことになる。骨融解の病変深部には、乾酪壊死病変が形成されていることも多く、マイコプラズマは骨髄での定着が可能となる。

このようにマイコプラズマは「免疫機能を攪乱」することで、各臓器に特徴的な病変を形成する。病態形成の主体は生体の免疫機能であるため、特に肺や関節などでは微生物が排除された後も、激しい炎症応答が継続することも多い。

## おわりに

マイコプラズマは人で肺炎を引き起こすことが知られているが、多くの症例では抗菌薬などにより完治する。また、伴侶動物でも呼吸器、運動器および生殖器での感染が報告されているものの、大きな問題にはなっていない。一方、家畜のマイコプラズマ感染症は難治性に移行しやすく、微生物および生体の両側面から研究が進められている。生体におけるマイコプラズマの長期生存戦略はきわめて巧みであり、「敵を敵として認識させない環境」をつくりながら、自身の増殖を可能にしている。特に関節炎は、その病態が人の自己免疫疾患である関節リウマチにきわめて類似していることから、病態における免疫機能の深い関与が示唆される。さらなる病態解明は、今後の治療および予防技術の構築に必須であるものと考えられる。

### 謝辞

貴重な機会をいただきました BRDC Frontiers 座長の石川真悟先生に心よりお礼申し上げます。本稿の執筆にあたり情報提供をいただいたゾエティス・ジャパン(株)に深謝いたします。また、研究データの構築に支援いただいた本学獣医衛生学ユニット講師 権平 智先生ならびに同研究生 西 航司博士に謝意を表します。