



The influence of ovarian hormones on the granulomatous inflammatory process in the rat lung

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-11-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 白井, 正浩 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/1506

学位論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨

学位記番号	医博論第 229号	学位授与年月日	平成 8年 2月 9日
氏 名	白 井 正 浩		
論文題目	The influence of ovarian hormones on the granulomatous inflammatory process in the rat lung (性ホルモンがラット肺肉芽腫形成におよぼす影響について)		

博士(医学) 白井正浩

論文題目

The influence of ovarian hormones on the granulomatous inflammatory process in the rat lung

(性ホルモンがラット肺肉芽腫形成におよぼす影響について)

論文の内容の要旨

サルコイドーシス(以下サ症)の予後はさまざまな要因によって影響を受けるが、性ホルモン環境との関連についての報告はほとんどない。我々は女性サ症が20-30歳台および40歳台以降に多く分布していることを確認した。さらに閉経以降に発症した女性サ症に難治例が高頻度に認められ、出産後病勢悪化することを明らかにし、性ホルモンとの関係が示唆された。今回我々は卵巣摘出ラットを作成し、肺肉芽腫形成反応にどのような影響を及ぼすか検討を加えた。同時に卵巣機能不全ラットにホルモン補充を行い、これらのホルモンの影響を検討した。

対象として10週令の雌 DA ラットを使用した。両側の卵巣を摘出し、4週後 heat killed・BCG を 50 μ g 静注したラットを OV_x+BCG 群とした。BCG 静注2週後より estradiol (E2) 0.1mg/body を連日皮下投与した群、progesterone (Pr) 0.5mg/body を連日皮下投与した群、さらに両ホルモンを連日皮下投与した群を準備した。sham operation を施行し BCG を静注したラットを SHAM+BCG 群とした。BCG 静注3週後に肺を摘出し、肺体重比、気管支肺胞洗浄(BALF)所見、組織像について検討した。BAL は 5 ml の生食を3回気管より注入し洗浄した。洗浄後、総細胞数・細胞分画を検討した。

BAL の T リンパ球の表面マーカーはモノクローナル抗体(W3/25, OX8)を用い間接法にて評価した。活性化Tリンパ球をW3/13, OX6の抗体を用い、二重染色にて測定した。フローサイトメトリによる検索は、EPICS-PROFILE を用いた。BALF 中の Interferon gamma (IFN- γ) を enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) を用いて測定した。

肺体重比においては、OV_x+BCG 群が SHAM+BCG 群に比較して有意に高値であった。一方 E2 あるいは Pr 投与群においては SHAM+BCG 群と同様の値であった。BAL の総細胞数は OV_x+BCG 群が最も高値であった。BAL の細胞分画の比較では、OV_x+BCG 群においてリンパ球分画は他の群に比較して有意に高く、反対にマクロファージ分画は有意に低かった。BAL の T リンパ球の表面マーカーに関しては、W3/25陽性細胞数は OV_x+BCG 群が SHAM+BCG 群や OV_x+BCG+E2 群と比較して高い傾向を示した。一方、OV_x+BCG 群・SHAM+BCG 群・OV_x+BCG+E2 群において、W3/25陽性細胞数は OX8 陽性細胞数に比較して高値を示した。活性化Tリンパ球数は OV_x+BCG 群において有意に高値であった。BALF 中の IFN- γ の検討では OV_x+BCG 群において有意に上昇していた。組織学的検討においては、OV_x+BCG 群で類上皮細胞肉芽腫が SHAM+BCG 群と比較して顕著に認められ、E2 あるいは Pr 投与群では肉芽腫形成が抑制されていた。

今回我々は、卵巣機能の低下が肺肉芽腫形成を促進し、E2 あるいは Pr の投与で抑制されることを示した。以上の所見より閉経以降に発症した女性サ症が若年発症のサ症よりも難治性である要因として、性ホルモンが重要な因子であることが示唆された。

論文審査の結果の要旨

サルコイドーシス（サ症）は肺を中心として起こる原因不明の難治性疾患の一つである。その年齢別発症のピークは、女性では20～30才台と40才以降にみられる。閉経後の女性（45～65才）に発症した場合のサ症はとくに難治性で、その病因が内分泌機能の変化と関連すると考えられているが、その実証は乏しい。そこで、申請者はサ症の発症と増悪に卵巣機能不全が密接に関係する可能性を動物実験で実証するため、卵巣摘出術を施した卵巣機能不全ラットを用い、bacillus Calmette-Guerin (BCG) 投与によって誘発した肺肉芽腫症の進展に対する影響を、免疫学的並びに免疫組織化学的手法で検索した。

申請者の口頭発表と論文内容に関し審査委員会において評価された点は次のとおりである。

1. 実験の目的は焦点が明確にしぼられており、実験方法はその目的を実証するために適切であると判断された。すなわち、両側卵巣摘出術 (OV_x) を施した雌 DA ラットに対し、heat killed BCG を静注して肺肉芽腫症を誘発させ、estradiol (E 2)、あるいは progesterone (Pr) の皮下投与群と非投与群を比較することによりサ症の進展に対する卵巣ホルモンの関与の有無を検索した。
肺肉芽腫症の判定については肺の組織像、肺体重比測定、気管支肺胞洗浄液 (BALF) 所見、フローサイトメトリーによるリンパ球 (T細胞、活性化T細胞) の解析、enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) による BALF 中 interferon γ (IFN- γ) の測定等によって行っており、精度や再現性に問題はないと評価された。
2. 肺肉芽腫症の進展の程度を肺体重比でみると、OV_x+BCG 群は対照 (SHAM群) と比べ有意に高値を示した。OV_x 群に E 2、あるいは Pr を投与すると、いずれも対照とほぼ同程度になったことから、卵巣ホルモン不全が肺肉芽腫症を増悪させることを明らかにした。また、肺の病理組織学的検索によっても確認している。
3. 肺肉芽腫症の病態変化を適切に反映する BALF 中の細胞やサイトカインに関する検索によっても、同様の傾向が見られることを明らかにした。すなわち、BALF 中の細胞解析により、OV_x+BCG 群では総細胞数、リンパ球分画、W 3/25陽性 (CD 4) T細胞亜群、活性化T細胞がいずれも対照群や E 2 投与群と比べ高値を示すことを明らかにし、さらに BALF 中の IFN- γ 値も OV_x+BCG 群で有意に上昇していた。これらの所見から、卵巣ホルモン不全による肺肉芽腫病変の増悪が BALF 中因子の変化として反映されることを明らかにすると共に、BALF の診断的有用性を示すことを主張した。

これまで、肺肉芽腫形成に対し卵巣機能の低下が促進的に作用することを実証する報告は見られず、閉経以降に発症する女性サ症の難治性を卵巣機能低下の面から検索し、女性ホルモンが重要な発症・増悪要因の一つであることを提唱するものとして、本論文に対し高い評価が与えられた。

審査の過程において、申請者に対し次のような質疑がなされた。

1. 肺肉芽腫症誘発に用いた BCG株の種類と、heat killed BCG を用いた理由
2. 肺肉芽腫症判定法として用いた肺/体重比測定の精度と適格性
3. 肺肉芽腫症病変の組織学的所見について
4. E 2、および Pr の投与方法、投与量、投与期間の基礎的検索を行ったか
5. OV_x+BCG 群に対する E 2 +Pr 投与の効果が顕著でない理由
6. E 2、および Pr の肉芽腫形成と免疫組織に対する作用機序
7. 副腎皮質ホルモンや男性ホルモン (テストステロン) の投与効果

8. CD 4 /CD 8 比の測定と、活性化T細胞の同定法

9. BALF 中の IFN- γ の低下の原因

以上の質疑に対し、申請者はほぼ適切な解答をおこなったので、本論文が博士（医学）の学位授与に値する内容を備えているものと審査委員全員で判定した。

論文審査担当者 主査 教授 山 下 昭

副査 教授 寺 尾 俊 彦 副査 教授 吉 見 輝 也

副査 助教授 小 出 幸 夫 副査 助教授 三 浦 克 敏