

# Failure of aged rats to accumulate eosinophils in allergic inflammation of the airway

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-11-05 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 八木, 健 メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10271/1545">http://hdl.handle.net/10271/1545</a>

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 268号	学位授与年月日	平成10年 2月13日
氏名	八木 健		
論文題目	Failure of aged rats to accumulate eosinophils in allergic inflammation of the airway (老齢ラットにおけるアレルギー性気道炎症での好酸球浸潤の欠如)		

博士(医学) 八木 健

## 論文題目

Failure of aged rats to accumulate eosinophils in allergic inflammation of the airway

(老齡ラットにおけるアレルギー性気道炎症での好酸球浸潤の欠如)

## 論文内容の要旨

〔はじめに〕

加齢に伴い気管支喘息、鼻炎等のアレルギー性疾患の罹患率が減少し、その症状が軽度となることは知られている。

また、加齢に伴う総IgE、抗原特異的IgE抗体の減少、あるいは非特異的刺激によるTリンパ球由来のサイトカイン産生パターンの変化については多くの報告が認められる。

しかし、特異的抗原による感作後のアレルギー性炎症に及ぼす加齢の影響についての報告は認められない。

〔目的〕

ラット気管支喘息モデルを用いて、抗原刺激後のアレルギー性気道炎症に及ぼす加齢の影響を検討した。

〔方法〕

異なる年齢群（若年群 7～8週齢、老齡群100～120週齢）のBrown-Norway ratを卵白アルブミン(OA) 0.25mg/kg及び百日咳不活化ワクチン、水酸化アルミニウムゲルを用いて感作し以下の実験を行った。

1. 感作14日後に5%OAの吸入刺激を行い、吸入前後の肺抵抗の経時的変化を観察した。
2. ELISA法を用いて血清中OA特異的IgE抗体の測定を行った。
3. 吸入刺激後に経時的に気管支肺胞洗浄(BAL)を行い、気道に浸潤する炎症細胞の推移を検討した。組織学的にも検討を加えた。
4. 感作14日後の局所リンパ節細胞を48時間培養し、その上清中のラット好酸球遊走活性をBoyden chamber変法を用いて検討した。
5. OA吸入30分後に抗マウスIL5抗体を腹腔内に投与し、好酸球浸潤に及ぼす影響を検討した。
6. ELISA法により4と同様の培養上清中のIFN- $\gamma$ の測定を行った。

〔結果〕

- 1) 両群とも抗原吸入直後に肺抵抗の上昇を認め、その程度は若年群に強い傾向にあった。6～8時間後の遅延型反応は、両群ともに認められなかった。
- 2) 両群とも感作14日後にOA特異的IgE抗体価の上昇を認めたが、その程度は若年群で有意に高値であった。
- 3) 若年群ではOA吸入2日後のBAL液で著明な好酸球、好中球の増加を認めた。好酸球の増加は4日後まで続いたが、好中球は速やかに減少した。老齡群では、好酸球の増加は認められなかった。組織学的にも若年群では気道周囲に著明な好酸球の浸潤を認めたが、老齡群では認められなかった。

- 4) 若年群のリンパ節細胞の培養上清中にはラット好酸球遊走活性を認めたが、老齢群では認められなかった。
- 5) 若年の感作ラットに抗IL5抗体を投与すると、抗原吸入後のBAL液中の好酸球増加が用量依存性に抑制された。
- 6) 老齢群のリンパ節細胞培養上清中には、若年群より高濃度のIFN- $\gamma$ の産生が認められる傾向にあった。

#### 〔結論〕

ラット喘息モデルでの抗原刺激後の気道炎症反応において、老齢群では好酸球浸潤が認められなかった。

その機序として、抗原刺激後のTリンパ球が若年群ではTヘルパー2細胞が優位に、老齢群ではTヘルパー1細胞が優位に関与するためと考えられた。

### 論文審査の結果の要旨

加齢に伴い気管支喘息やアレルギー性鼻炎等のI型過敏症の罹患率が減少し、その症状が軽度となることが知られているが、その機序については不明な点が多い。そこで、申請者はラット気管支喘息モデルを用いて、抗原刺激後のI型アレルギー性気道炎症に及ぼす加齢の影響について検討した。

#### 〔対象及び方法〕

近交系 Brown-Norway ラットの若年群（7～8週齢）と老齢群（100～120週齢）を卵白アルブミン（OA）0.25mg/kgとアジュバント（百日咳不活化ワクチン、水酸化アルミニウムゲル）で感作し、以下の実験を行うことにより、若年群と老齢群を比較した。（1）感作14日後に5%OAで吸入刺激を行い、吸入前後の肺抵抗を経時的に測定した。（2）血清中のOA特異的IgE抗体をELISA法で測定した。（3）OA吸入刺激後に経時的に気管支肺胞洗浄（BAL）を行い、気道に浸潤する炎症細胞の推移を検討した。また、組織学的な検索も行った。（4）感作局所リンパ節細胞をOAで試験管内再刺激を行い、培養上清中の好酸球遊走因子活性を検討した。（5）抗IL-5抗体を腹腔内投与し、OA吸入刺激後のBAL液中の好酸球数に与える影響を検討した。（6）感作局所リンパ節細胞をOAで試験管内再刺激を行い、培養上清中のIFN- $\gamma$ 量をELISA法で測定した。

#### 〔結果〕

（1）若年群、老齢群とも、OA吸入直後に肺抵抗の上昇を認め、その程度は若年群で強い傾向にあった。なお、両群とも遅発反応は認めなかった。（2）血清中のOA特異的IgE抗体価は老齢群で有意に低値であった。（3）OA吸入刺激後のBAL液では若年群で認められた著明な好酸球の増加が老齢群では認められなかった。（4）好酸球走化性遊走因子の産生も老齢群リンパ節細胞では認められなかった。（5）若年ラットに抗IL-5抗体を投与することにより、OA吸入後のBAL液中の好酸球数の増加が用量依存的に抑制された。（6）試験管内再刺激により老齢群のリンパ節細胞は若年群よりも高値のIFN- $\gamma$ を産生した。

## 〔結論〕

ラット気管支喘息モデルでは、若年群に比し老齡群では肺抵抗の上昇が弱く、症状が軽度であると考えられた。また、気管支喘息の重要な成因の1つと考えられている気道周囲の好酸球の浸潤も老齡群では認めなかった。この理由として、好酸球の走化性遊走因子、特に IL-5が老齡群リンパ球で産生不全の状態にあることが関与すると考察している。このことと、老齡群リンパ球では IFN- $\gamma$ 産生能が亢進している事実から、申請者は老齡群では1型ヘルパーT(Th1)細胞が優位になっており、このため気管支喘息が軽度となると推察している。

本研究において、加齢により気管支喘息の症状が軽度になること、その原因の1つとして、気道周囲の好酸球の浸潤が認められなくなり、これは主に IL-5の産生低下によるものであることが明らかとなった。この結果は、今後の気管支喘息研究に資するところ大であると考えられ、本研究の意義は大きいものと高く評価された。

以上の研究に対し、審査委員会では以下の質疑を行った。

- 1) この気管支喘息の誘導（感作）法はヒトのモデルとして適切か
- 2) ラット気管支喘息モデルの成立に系統差があるか
- 3) 気管支喘息ではアセチルコリンに過敏状態となるか
- 4) 肺抵抗で遅発反応が認められなかった理由は
- 5) 遅発反応が認められなかったことと、これに関与すると考えられる好酸球の浸潤が若年群で顕著であることとの関係をどのように説明するか
- 6) OA吸入1日後のBAL液における炎症細胞の組成を検討したか
- 7) BAL液中の肺胞マクロファージについて検討したか
- 8) OA感作したラットの骨髓および末梢血中の好酸球の数は若年群と老齡群で差があるか
- 9) 好酸球の走化性因子はIL-5以外に何があるか
- 10) 肺の組織学的検索で浸潤細胞の免疫染色を行ったか
- 11) 若年群と老齡群における局所リンパ節のCD4/CD8 比の差は何を意味するのが
- 12) 老齡群でTh1優位になる理由は

これらの質問に対し申請者の解答は適切であり、問題点も十分理解しており、博士（医学）の学位論文にふさわしいと審査員全員一致で判定した。

論文審査担当者 主査 教授 小 出 幸 夫

副査 教授 山 下 昭 副査 教授 瀧 川 雅 浩