実験的肺肉芽腫症における肺組織および気管支随伴リンパ組織 (BALT)
に対する糖質コルチコイド剤の影響

メタデータ	言語: jpn
	出版者: 浜松医科大学
	公開日: 2014-10-24
	キーワード (Ja):
	キーワード (En):
	作成者: 源馬, 均
	メールアドレス:
	所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/930

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	医博第　７７号	学位授与年月日	平成　元年　３月２７日
氏　名	源　馬　　均		
論文題目	実験的肺肉芽腫症における肺組織および気管支随伴リンパ組織(BALT)に対する糖質コルチコイド剤の影響		

医学博士　源馬　均

論文題目

実験的肺肉芽腫症における肺組織および気管支随伴リンパ組織（BALT）に対する糖質コルチコイド剤の影響

論文の内容の要旨

〔目的〕サルコイドーシスなどの肉芽腫性肺疾患に対する治療法はいまだ満足すべきものは確立されていない。本疾患が遅延型アレルギー（Delayed type hypersensitivity：DTH）反応の病態的変化を示すことから、免疫抑制剤による治療が試みられているが、その作用機序や至適な投与法に関しては不明な点が多い。

そこで今回、免疫抑制剤のうち臨床上しばしば用いられている糖質コルチコイド剤に着目し、肺肉芽腫動物モデル・ラットに投与して、肺組織、気管支随伴リンパ組織（Bronchus-assosiated lymphoid tissue：BALT）、気管支肺胞洗浄液（Bronchoalveolar lavage fluid：BALF）中の細胞、末梢血リンパ球などに対する影響を免疫担当細胞・各組織変化の観点から検索した。

〔方法〕近交系雄DAラット（体重180～220g）にBCG死菌250μg/50μl Bayol Fを1回静注し、肺肉芽腫症モデルを作製した。感作後第21日から第42日にかけて、このようなラットの肺内には多数の成熟した類上皮細胞肉芽腫巣が認められ、またBALTもよく発達し、その内部に肉芽腫巣と発達した胚中心がみられた。この肺肉芽腫症ラットに対し、糖質コルチコイドとしてmethylprednisolone（MPSL）を40mg/kg体重の投与量で第21日と第22日の計2回筋注し、1日、4日、8日、15日後に経時的に脱血死させ、各組織の変化をBCG単独群と比較検討した。

BALF細胞および末梢血リンパ球の検討は、細胞遠沈塗抹標本を作製して、Ia抗原、ヘルパーT細胞（T_H）、ノンヘルパーT細胞（T_{NH}）に対する3種の単クローン抗体（OX6、W3/25、OX8）を一次抗体とする免疫ペルオキシダーゼ染色法により行った。肺組織とBALTは、HE染色等による組織学的方法と、前記の3種の抗体ならびに抗IgA、G、Mの3種のポリクローナル抗体を用いた免疫組織化学的方法により検討した。

〔成績〕MPSL投与に伴う変化として、下記の所見が認められた。

(1)肺肉芽腫反応の程度は、周囲に浸潤していたIa抗原陽性マクロファージ（$Ia^+M\phi$）やT細胞の著減とほぼ平行して、投与後早期（1日後と4日後）に減弱し、後期（8日後と15日後）に再燃傾向を示した。同時期のBALF細胞の変化としては、肺胞マクロファージの減少とそのIa抗原陽性率の低下、T_H/T_{NH}比の低下を伴うT細胞の減少、Ia抗原陽性リンパ球（Ia^+Ly）の減少が認められた。

(2)末梢血では、リンパ球の減少とT_H/T_{NH}比の低下がみられた。

(3)胸腺では皮質の萎縮像が、脾臓では白脾髄の萎縮が認められた。

(4)肺肉芽腫反応の推移とほぼ連動して、BALTは縮小し、その傍濾胞領域内の肉芽腫の減少、$Ia^+M\phi$とT細胞の減少が認められた。同じく濾胞領域では、胚中心の消失とIa^+Lyの減少がみられた。

〔考察およびまとめ〕ラット肺肉芽腫症モデルにおける糖質コルチコイド剤短期大量療法は、肺肉芽腫反応の抑制をもたらした。その機序として、本剤は肺局所でのMφの分化機構に影響を及ぼして$Ia^+M\phi$の分化や集積を抑制し、さらに肺局所のみならず中枢性リンパ組織と末梢性リンパ組織におけるT細胞の増殖と分化に抑制的に作用し、その結果T_HとMφの相互作用によって増幅されると考えられる肺DTH反応の消退現象が惹起されると推察された。さらに、BALTは肺領域の局所リンパ組織として、肺内の免疫学的病態変化をよく反映し、その消退に密接に関与することが示された。

以上の結果は、肺肉芽腫反応制御に対する糖質コルチコイド剤の有効性とその作用機序の一部を明らかにするとともに、臨床における肉芽腫性肺疾患患者に対する至適な投与法を確立する上で有力な情報を提供す

るものであると考えられる。

論文審査の結果の要旨

サルコイドーシスなど肺肉芽腫性疾患には病因が不明なものがあり、臨床上有効な治療法がまだ確立されていない。ところで、本疾患が遅延型アレルギー反応の病態変化を示すところから、免疫抑制剤の一つである糖質コルチコイド剤による薬物治療が臨床において試みられている。しかし、その作用機序、投与法、副作用、併用療法の必要性などに関しては不明の点が多い。

そこで、申請者は、BCG死菌誘発肺肉芽腫症ラットを用い、糖質コルチコイド剤の短期大量投与実験を行い、肺組織、気管支随伴リンパ組織（bronchus-associated lymphoid tissue；BALT）、気管支肺胞洗浄液（bronchoalveolar lavage fluid；BALF）、中枢性～末梢性リンパ組織、血液細胞などに対する影響を検索した。

申請者は、BCG死菌の1回静注感作後3週目の肺肉芽腫症DA雄ラットを用い、糖質コルチコイド（methylprednisolone；MPSL 40mg/kg体重）を投与（第21日目と第22日目に2回筋注）し、経時的に上記各組織の変化を主に免疫組織化学的方法を用い解析し、BCG単独群と比較検討した。

この実験系において、MPSL投与に伴う変化として明らかになった点は、以下の通りである。

1）MPSL投与早期（1日後と4日後）では肺肉芽腫組織は、Ia抗原陽性マクロファージ（Ia^+Mø）とT細胞の浸潤の著減とほぼ平行して有意に減弱した。しかし、その後次第に再燃する傾向がみられた。また、このような変化と連動して、BALTにも組織学的変化が認められた。すなわち、傍沪胞域内の肉芽腫巣の減少、Ia^+MøとT細胞の減少、沪胞域内の胚中心の消失と、Ia^+リンパ球の減少などがみられた。

2）BALF内細胞も肺局所の病態変化をよく反映しており、MPSL投与の効果をモニターする上で有用である。

3）肺局所やBALT以外の組織に対するMPSLの投与の効果としては、投与早期に胸腺皮質と脾の白脾髄の萎縮像と、末梢血リンパ球数の減少と、CD4/CD8比の低下がみられた。

また、申請者は、MPSLの短期大量投与により早期に一時的に肺肉芽腫症の有意の軽減効果がみられるが、投与を中止すると次第に再燃する傾向がみられることから、再燃の機序の解明とその抑制法の必要性を主張した。

これらの結果に対して、審査委員から次のような質疑がなされた。

1）BCGの菌種、生菌と死菌、投与量などの違いによる誘発肺肉芽腫症の変化、及び他臓器（リンパ節、肝、脾など）の変化、

2）間接型ペルオキシダーゼ染色法における第2抗体の特異性、

3）BCG誘発肉芽腫症ラットと、ヒトの肺サルコイドーシスの対応点と相違点、

4）動物とヒトのBALTの発達の相違、

5）糖質コルチコイド剤と化学療法剤との併用法、その有効性と限界、

6）肉芽腫巣内の類上皮細胞の膜表面におけるIa抗原の発現、

7）糖質コルチコイド剤の短期大量投与法のヒト肺サルコイドーシスへの治療適用の可否、

8）統計学的検定法、

これらの質問に対し、申請者はおおむね適切な回答をおこなった。

審議の結果、本論文は、肺肉芽腫症に対する糖質コルチコイド剤の抑制機序として、肺局所におけるIa^+MøとT細胞の集積抑制作用や、BALTやリンパ組織におけるT細胞とMøの分化・増殖抑制作用、などが密接に関与することを明らかにするとともに、臨床における肉芽腫症疾患患者に対する至適な治療法を確立する上で示唆に富む基礎的情報を提供するものであるとして、高い評価が与えられた。

以上の審査の結果、本論文は学位授与に値する充分な内容をそなえているものと全員一致で判定された。

論文審査担当者　主査　教授　山下　昭
副査　教授　河邊香月　副査　教授　白澤春之
副査　助教授　馬場正三　副査　助教授　森田豊彦