

Morphological and Immunohistochemical Studies of the Lung and Bronchus-Associated Lymphoid Tissue (BALT) in a Rat Model of Chronic Pulmonary Infection with *Pseudomonas aeruginosa*

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: 岩田, 政敏 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/946

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 93号	学位授与年月日	平成 2年 3月26日
氏名	岩田政敏		
論文題目	<p>Morphological and Immunohistochemical Studies of the Lung and Bronchus-Associated Lymphoid Tissue (BALT) in a Rat Model of Chronic Pulmonary Infection with <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (緑膿菌によるラット慢性気道感染症モデルにおける肺および気管支随伴リンパ組織の形態学的、免疫組織学的研究)</p>		

Morphological and Immunohistochemical Studies of the Lung and Bronchus-Associated Lymphoid Tissue (BALT) in a Rat Model of Chronic Pulmonary Infection with *Pseudomonas aeruginosa*

(緑膿菌によるラット慢性気道感染症モデルにおける肺および気管支随伴リンパ組織の形態学的、免疫組織学的研究)

論文の内容の要旨

(目的) びまん性汎細気管支炎(DPB)などの慢性気道感染症では、経過中に種々の細菌感染をうけて難治性の緑膿菌感染へ菌交代し、徐々に呼吸不全が進行して予後不良の転帰をとる。この慢性気道感染症の成因や進展の詳細は不明であり、そのモデルを使っての解析が望まれている。今回、慢性気道感染症の病態、難治化要因を探るため、緑膿菌を用いてそのモデルを作成し、気道における免疫応答の面から気管支随伴リンパ組織(BALT)の形態学的、免疫組織学的検討を行った。

(方法) serum-sensitiveなムコイド型の緑膿菌(臨床分離株)を使用した。菌量は分光光度計(640nm)を使って菌量-吸光度直線で決定した後、Cashらの方法にほぼ準じ、菌液をtryptic soy agarに混じ、heavy mineral oil中で攪拌冷却後、0.5%、0.25%デオキシコール酸ナトリウムPBSで洗浄して、緑膿菌混入寒天ビーズ液を作製した。同液を雄SDラット(SPF、150-200g、6-8週)の気管内に注入し、経時的に屠殺した。右肺は肺内生菌数の測定に、左肺の一部は組織学的検索に、残りを免疫組織学的検索に使用した。免疫酵素抗体法の一次抗体として、抗ラットIgGのポリクローナル抗体、抗ラットIgM、IgA、W3/25(ヘルパーT:T_H)、OX8(ノンヘルパーT:T_{NH})、OX6(Ia抗原)のモノクローナル抗体を使用し、ABC法で検討した。

(結果) 1. 4.7×10^6 colony forming unit (cfu)の菌液混入寒天ビーズ液を気管内注入すると、肺内緑膿菌量は1日目に 10^8 cfuに増加し、4日目より漸減したが、28日目にも 10^4 cfu認められた。

2. 組織学的には、7日目頃までは寒天ビーズにより狭窄した末梢気道周囲に著しい好中球浸潤がみられ、急性肺炎像を呈していたが、以後リンパ球や泡沫細胞浸潤が主体となり、また肉芽組織も観察され、いわゆるDPBの組織像と類似していた。BALTでは、高内皮性細静脈へのリンパ球流入像やリンパ管でのリンパ球集簇像がみられた。また、胚中心は7日目より観察され、BALT過形成による気道狭窄像も認められた。

3. 免疫組織学的には、末梢気道周囲に4日目頃よりsIgM⁺細胞、sIgA⁺細胞、T_H細胞がみられ、14日目頃よりsIgG⁺細胞、T_{NH}細胞も出現した。BALTでは、胚中心の出現と共にsIgM⁺細胞、sIgA⁺細胞、T_H細胞が出現し、その後T_{NH}細胞が増加した。Ia⁺細胞は28日目でもBALT全体に観察された。BALT内における各免疫細胞の増加は、末梢気道壁における各細胞の出現とほぼ一致していた。

(考案) 従来の気道感染症モデルは急性肺炎モデルが主体で、慢性気道感染症モデルの報告は極めて少なく、その作成にあたり種々の因子の関与が挙げられる。一つは緑膿菌で、通常の緑膿菌感染は免疫不全患者にみられ、広範な感染巣や敗血症をきたすのに対し、慢性気道感染症では持続感染がみられるにも関わらず、敗血症化することが少ないのは、serum sensitiveである点と、ムコイド物質が一つの要因と考えられる。次に寒天ビーズの使用により、長期間末梢気道の狭窄状態を作り出し、緑膿菌による持続感染を可能にした点である。一方、宿主側の免疫機構も重要で、この肺局所免疫機構の主体をなすものにBALTがあり、DPBなどの慢性あるいは反復性肺感染症に認められる。今回のモデルでもBALT過形成による気道狭窄像がみられたことは、緑膿菌による持続感染が惹起したものと考えられた。また、初期にBALT内T_H細胞が優位でsIgM⁺細胞やsIgA⁺細胞が増加し、後期にはT_{NH}細胞が優位となり、さらに初期よ

り Ia^+ 細胞の増加がみられたことは、B細胞と共に活性化T細胞や活性化Mφの増加が示唆された。これらの反応は肺末梢組織反応の推移とほぼ一致しており、BALTが慢性気道感染症における肺局所免疫応答の調節の場として関与していると考えられた。

論文審査の結果の要旨

解剖・生理学的にみて気道は外来抗原の刺激を受けやすい部位である。代表的な慢性気道感染症の一つであるびまん性汎細気管支炎(diffuse panbronchiolitis; DPB)は、細菌性遷延感染をうけると予後不良の重篤な帰転をとるといわれている。その際、気道の局所免疫応答の場である気管支随伴リンパ組織(bronchus-associated lymphoid tissue; BALT)が反応し、この過形成や同部の炎症などをおこして気道狭窄や呼吸困難などを生ずることがDPBの病像であり、その病態変化の程度や予後にBALTの反応が密接に関連すると考えられている。しかし、その詳細は明らかでなく、モデル動物を用いた実験系での基礎的研究が待たれているところである。

そこで、申請者は緑膿菌をラットに感染させ、DPB様所見を呈するモデル動物を作成し、慢性気道感染症の病態変化と難治化の要因並びにBALTの関与について形態学的・免疫学的手法で明らかにしようとした。

本研究の特徴、および明らかにされた主な点は以下の如くである。

1. 一定量のムコイド型緑膿菌(血清感受性の臨床分離株)を含んだ寒天ビーズ混液を雄SDラットに経気道的に投与し、肺内緑膿菌量を検索したところ、1日後にピークに達した後漸減し、4日より28日までほぼ同レベルが持続した。すなわち、血清感受性でムコイド型の緑膿菌を寒天ビーズを担体として投与すると、肺に慢性感染症様病変が惹起されることを示した。
2. 組織学的検索では、菌投与7日以降に末梢気道周辺にDPB様病理像が認められ、同時にBALTにおいて著明なリンパ球の集積像、リンパ濾胞域の増殖・拡大像、胚中心の形成、気道狭窄像などが認められた。
3. 免疫組織化学的検索では、感染後期に末梢気道壁において各リンパ球亜群、膜免疫グロブリン陽性細胞、 Ia^+ 細胞などの増加が認められ、その消長はBALT内の細胞の消長とほぼ一致していた。

以上の所見から、本論文は特殊な緑膿菌を投与することにより、DPB様病態をラットで惹起させ、慢性気道感染症モデルを実験的に確立することに成功し、それを利用して気道の遷延感染時におけるBALT過形成と気道狭窄の関連を実証することによって、DPBの病態と難治化の要因解明に示唆に富む所見を提示した。この点に対し高い評価が与えられるとともに、今後の発展が期待された。

なお、審査の過程において

1. 緑膿菌の血清感受性の機序の解明
2. 血中及び気管支洗浄液中の抗原特異的抗体の検出と定量の必要性
3. 緑膿菌感作リンパ球の生体内動態と受身移入の効果
4. 慢性気道感染症モデルの概念と本実験系の適格性
5. 肺局所とBALTの反応と、末梢性リンパ組織の反応との相関の有無
6. 免疫低反応性動物を用いた検索
7. BALTの過形成による気道狭窄を抑制する方法

などの質疑がなされたが、これに対し申請者はほぼ適切な応答をおこない、また今後の課題として研究継続中のものが有ることを示した。

以上によって本審査委員会は、本論文が医学博士の学位授与に値するものと全員一致で判定した。

論文審査担当者	主査	教授	山下	昭			
	副査	教授	白澤	春之	副査	教授	吉田孝人
	副査	助教授	馬場	正三	副査	助教授	森田豊彦