

氏 名（本籍） しん どう ゆ り こ
進 藤 百 合 子

学 位 の 種 類 医 学 博 士

学 位 記 番 号 医 第 1 8 2 4 号

学 位 授 与 年 月 日 昭 和 6 1 年 9 月 1 0 日

学 位 授 与 の 要 件 学 位 規 則 第 5 条 第 2 項 該 当

最 終 学 歴 昭 和 5 3 年 3 月
福 島 県 立 医 科 大 学 医 学 部 医 学 科 卒 業

学 位 論 文 題 目 Morphological and Functional Characterization
of Basophilic Cells in Bronchoalveolar
Lavage Fluids from Patients with Bronchial
Asthma.

（気管支喘息患者の気管支腔内好塩基性細胞の形
態的，機能的特徴）

（主 査）

論 文 審 査 委 員 教 授 滝 島 任 教 授 今 野 淳

教 授 仲 田 祐

論 文 内 容 要 旨

I 目 的

気管支肺胞洗浄（以下 Bronchoalveolar lavage, BAL）を行うとその回収液中には少数の好塩基性細胞（以下 Basophilic cell, BC）が含まれている。BCは気管支喘息，特発性肺線維症（以下 Idiopathic pulmonary fibrosis, IPF）及びサルコイドーシスでその数が増加していることが知られている。今回は気管支喘息患者のBAL中に出現するBCに形態的，機能的検討を加え，同様にBAL中にBCが増加しているが，気道過敏性は認められないIPF患者のBCと比較した。

II 方 法

対象は気管支喘息14名，IPF11名，対照15名で，平均年齢はそれぞれ 31.4 ± 14.9 才， 56.0 ± 12.0 才， 39.1 ± 14.6 才（mean \pm SD）であった。

BALは喉頭部を局麻後，気管支鏡を挿入し，右中葉あるいは左舌葉で行った。滅菌生理的食塩水50mlで3～4回洗浄した。喘息患者については発作のない時期にBALを施行したが，気管支鏡下に気管支収縮が観察されたものが4例あった。副腎皮質ホルモン剤を投与されている患者はおらず，服用している薬剤は12時間前に中止した。

回収したBAL液は pipes A 緩衝液で洗浄後 pipes ACMに再浮遊させた。細胞分画は Wright-Giemsa染色にて求めたが，BCの数は Cyto centrifugation 標本をカルノア液で30分間固定後，1% alcian blue，0.5% safranin Oで染色し求めた Dextran sedimentationにより得た末梢静脈血の白血球層を pipes A で洗浄し，pipes ACMに再浮遊させ，BAL細胞とともにヒスタミン遊離試験に供した。各細胞に段階希釈の anti-IgEを加え，37°Cで45分間インキュベートした結果，上清中に遊離されたヒスタミンを測定し，6%過塩素酸を加えて求めた総ヒスタミン量に対する遊離率として表現した。anti-IgEのかわりに pipes ACMのみを加えた時に，上清中に遊離されたヒスタミンを spontaneous release とした。ヒスタミン量は automated fluorometric techniqueにより求めた。

III 結 果

BAL液中のBCの数は気管支喘息 0.22 ± 0.04 %，IPF 0.64 ± 0.26 %，対照 0.07 ± 0.01 %（以下 mean \pm SE）となり，前2者は対照より多かったが気管支喘息のみ有意であった（ $P < 0.05$ ）。一方，BAL細胞10個当りのヒスタミン量は気管支喘息 9.1 ± 2.1 ng，IPF $17.1 \pm$

6.2 ng , 対照 2.5 ± 0.5 ng となり, 気管支喘息及び I P F で有意に高かった。

B A L 液中 B C の形態を各グループで検討した。ホルマリンに対する感受性を調べるため, カルノア液のかわりに10%ホルマリンで固定し, alcian blue , safranin O 染色を施した。カルノア液固定では気管支喘息 0.32 ± 0.07 % , I P F 0.91 ± 0.44 % , 対照 0.07 ± 0.01 % であったがホルマリン固定後はそれぞれ, 0.09 ± 0.03 % , 0.64 ± 0.64 % , 0.01 ± 0.01 % に減少し, I P F を除いて, B A L 中に存在する B C の大部分はホルマリンに対する感受性を有することがわかった。一方, 対照及び I P F の B C の大部分は単核であるのに対し, 気管支喘息では約42%の B C が多核で, それらは好塩基球であると考えられた。I P F でみられたホルマリン感受性のない B C の大部分は alcian blue にのみ染まったが, 中には safranin O に染まる顆粒を有するものがみられた。このような B C は対照及び気管支喘息ではほとんどみられなかった。

anti-Ig E により遊離するヒスタミンの最大遊離率は, 末梢白血球について, 対照では 22.3 ± 5.5 % , 気管支喘息で 45.0 ± 5.4 % となり, B A L 細胞については対照 12.9 ± 2.7 % , 気管支喘息 24.5 ± 2.0 % となり, それぞれ気管支喘息では有意に対照より高かった (各々 $P < 0.01$)。I P F と対照間には有意の差がなかった。spontaneous release は, 末梢白血球については各グループとも差がなかったが B A L 細胞では, 対照 8.2 ± 1.4 % , 気管支喘息 20.6 ± 2.1 % , I P F 9.3 ± 2.6 % となり, 気管支喘息のみ他のグループより有意に高かった。

IV 考 察

ヒトの B A L 中の B C は超微形態的に肥満細胞であり, 組織化学的にいわゆる mucosal mast cell といわれてきた。しかし, 疾患により出現する B C が異なることは考えられることである。今回の実験で, 気管支喘息では対照や I P F と異なり好塩基球が増えていることを示した。又, I P F で認められた, ホルマリンに対する感受性のない B C は, safranin O に染まる顆粒を有しているものもみられ, connective tissue mast cell に近いものと考えられた。機能的にも, 気管支喘息の B C は抗原や, 非特異的な刺激に対してヒスタミンを遊離しやすい状態にあったが, I P F ではヒスタミン遊離は亢進していなかった。

気管支喘息の B A L 中の B C の特徴は, 気道過敏性を反映していると考えられ, 気管支喘息の病態を明らかにする上で重要な所見であると考えられた。

審 査 結 果 の 要 旨

気管支腔内に存在する好塩基性細胞 (Basophilic cell) が、気管支喘息の病態を理解する上に重要であることが一般に認められている。本論文は、まず最初に、喘息患者の気管支肺胞洗滌 (Bronchoalveolar Lavage, BAL) より得られた好塩基性細胞を組織化学的方法を用いて、その形態的特徴を明らかにした。好塩基性細胞に関しては、最近その heterogeneity が問題になっており、当然 BAL 細胞でも形態的な違いが議論されていた。しかし、喘息患者における BAL には種々の問題があり、従って、BAL 細胞を対象に行われた研究は限定されている。本論文では、殊更、喘息患者における BAL 細胞に焦点を当て、本疾患で多く出現する好塩基性細胞は対照患者のそれが肥満細胞 (mucosal mast cell) であるのと異なって、好塩基球であるという結論を出した。

又本論文は、喘息患者の BAL より得られた好塩基性細胞の機能の研究に向けられ、好塩基性細胞の一つの大きな機能である chemical mediator の遊離に関して、喘息患者の場合にはその遊離能が亢進しているかもしれないという考えのもとに実験が進められた。著者らの以前の報告では、喘息患者の好塩基性細胞は個々の細胞当りのヒスタミン含量が減少していることが指摘されており、このことから喘息患者における好塩基性細胞の histamine releasability が問題になっていた。結局、BAL 細胞のみならず、末梢血好塩基球においても *in vitro* におけるヒスタミン遊離能が亢進しているという結論を得た。

本論文の価値は、まず第一に喘息患者の気管支肺胞洗滌液中に回収される細胞中に増加している好塩基性細胞は大部分好塩基球であるという事実を組織化学的手段を用いて証明したことと、次いで、かかる喘息患者の好塩基球ではヒスタミン遊離能が亢進していることを示した点にある。これは、気管支喘息患者における気道過敏性亢進の問題を論ずる場合、一つの大きな知見になり得るであろう。

以上により、本研究は学位論文に値すると考えられる。