

氏 名 (本籍) い じま ひで や
飯 島 秀 弥

学 位 の 種 類 医 学 博 士

学 位 記 番 号 医 博 第 9 8 9 号

学 位 授 与 年 月 日 昭 和 63 年 3 月 25 日

学 位 授 与 の 要 件 学 位 規 則 第 5 条 第 1 項 該 当

研 究 科 専 攻 東 北 大 学 大 学 院 医 学 研 究 科
(博 士 課 程) 内 科 学 系 専 攻

学 位 論 文 題 目 Bronchoalveolar Lavage and Histologic
Characterization of Late Asthmatic Res-
ponse in Guinea Pigs.
(モルモットにおける遅発型喘息反応時の気管支
肺胞洗浄および組織学的検討)

(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

緒言

喘息患者に原因抗原の吸入誘発試験を施行すると、殆どの症例で吸入直後より気道狭窄症状（immediate asthmatic response：IAR）が生じる。IARは1時間以内に自然消失するが、患者の中には、その数時間後に再び気道狭窄症状（late asthmatic response：LAR）の出現する症例が時々認められる。LARは経過が長く、 β -刺激剤が奏効しにくく、その緩解にしばしばステロイド剤を要することから、特に難治性喘息との関連が注目されている。今回、私共は、モルモットのLARモデルを作成し、これを用いて、LARにおける肺の病理学的所見を検討した。

方法および結果

50匹のHartley系雄モルモットをAscaris suum抗原とアルミゲルの腹腔内および皮下注射にて感作した後、同抗原による吸入チャレンジを施行した。対照群として無処置モルモット10匹を用意した。気道狭窄症状は、呼吸抵抗（Rrs）にて評価した。Rrsの測定には、私共の開発した装置を用いた。この装置により、小動物の気道抵抗を、長時間にわたり、無麻酔下、非侵襲的に測定することが可能となった。Rrsが、抗原吸入前に測定した値の2倍以上に上昇した時、これを有意な気道狭窄と評価した。

チャレンジの結果、20匹にIARとLARが（LAR群）、18匹にIARのみが（IAR群）認められ、残り12匹にはIARもLARも認められなかった（NR群）。IARは吸入直後より急速に始まり、1時間以内にほぼ消失したが、LARは吸入3～6時間後より始まり徐々に進行した。

吸入7時間後、LAR群中14匹、IAR群中10匹を麻酔し、人工換気下に開胸した。頸動脈より5ml採血した後、各群とも、半数のモルモットには気管支肺胞洗浄（Bronchoalveolar lavage：BAL）を、残りの半数には肺組織固定を施行した。対照群10匹にも同様の処置を施した。モルモットの肺には、死後数分以内に著明な気管支収縮を開始するという特徴がある。よって、組織固定には、液体窒素による急速凍結法を用いた。凍結した肺は、 -20°C のもと、2ヶ月間、順次高濃度のセロイジン溶液（溶媒：アルコール・アセトン）に浸して固定した。またLAR群の別の2匹について、吸入7時間後、電顕用に組織を固定した。

このモデルにおけるLARの時間経過を見る目的で、LAR群の残りの4匹について、Rrsの測定を抗原吸入後12時間まで続けたが、Rrsは、12時間後もなお、吸入前の値まで復さなかった。また、IAR群中8匹とNR群12匹については、Rrs測定を抗原吸入10時間後まで続けたが、やはりLARは生じなかった。

血中抗体価は、同種PCA反応にて評価した。1週間PCAを特異IgE抗体価として評価したところ、LAR群、IAR群、NR群の順に有意に高かった。また、4時間PCAを特異IgG抗体価として評価したところ、3群とも陽性を示したが、値としては群間に有意な差は認められなかった。尚、対照群には特異抗体は検出されなかった。

BALの結果、LAR群では、対照群に比し、好中球が有意に増加していたが、IAR群との間に有意差は認められなかった。好酸球は、LAR群で、他の群より多い傾向にあったが、有意ではなかった。

組織学的検討では、LAR群では気道平滑筋の収縮、粘膜下浮腫、気道内分泌物貯留、気道壁内への炎症細胞の浸潤が認められ、気道狭窄状態を呈していた。IAR群でも気道壁内への細胞浸潤は軽度認められたが、気道狭窄の所見は全く認められなかった。対照群では気道狭窄所見も細胞浸潤も認められなかった。次に、気道壁内への浸潤細胞について、更に詳しく検討した。即ち、各細胞種毎に、その数を各気管支断面の全周にわたって積算し、その気管支断面の基底膜の全長で除し、細胞浸潤程度の指標とした。この指標を、各肺につき10個の気管支断面について求め、これを平均して比較した。この結果、LAR群では、IAR群に比し、好酸球の浸潤が有意に多いことが判明した。単核球浸潤も著明であったが、IAR群との間に有意な差はなかった。尚、好中球浸潤は少なく、IAR群との間に有意差はなかった。更に、電顕にて浸潤好酸球の形態を詳細に検討したところ、明らかな脱顆粒像は認められなかった。

考 察

LARの組織学的所見として、気道平滑筋の収縮、粘膜下浮腫、気道内分泌物貯留、気道壁内への炎症細胞の浸潤と、それらによる気道狭窄が認められた。そして、LARの発症には、炎症細胞、特に好酸球の浸潤が関わっていることが示唆された。LARの発現時期には、浸潤好酸球に明らかな脱顆粒像が認められなかったことから、好酸球は、特殊顆粒に含まれる物質とは異なる化学伝達物質（leukotriene, prostaglandin, 血小板活性化因子など）を介して働いている可能性が高いと考えられた。

このモデルは今後のLARの研究にとって大変有用なものと考えられた。

審査結果の要旨

アトピー性喘息患者に抗原吸入誘発試験を施行すると、即時型喘息反応（IAR）にひき続き、しばしば遅発型喘息反応（LAR）が認められる。この論文は、動物モデルとして感作モルモットを用い、その気道収縮反応をひき起す病態を組織学的に明らかにし、それにより気道収縮機序を推定することを目的としたものである。結果として、用いた動物モデルにも二相性の気道収縮反応が生じた。それは、その出現時期、持続からみるかぎり、喘息患者の反応にきわめて類似したものであった。さらに、LAR 時期の気道壁中には総じて好酸球の浸潤が主体であり、同時期の気管支肺胞洗浄（BAL）では好中球の増加が主体であったとしている。

方法論として特に優れた点は、一つには、呼吸抵抗の測定に、Mead らのオッシレーション法を改良した装置を独自に開発し、無麻酔下、非侵襲的に、小動物の呼吸抵抗を長時間測定する方法を確立したことである。さらにもう一点として、液体窒素を用いて、開胸下に肺組織を急速凍結固定し、気道内分泌物、浸潤細胞をはじめとする気道周囲の状況を、あるがままに近い姿で観察することを可能にした点である。

モルモットは、免疫反応上の特殊性より、卵白アルブミン感作では、IgE の誘導は困難で、これまで LAR モデルは報告されていない。しかし、著者らは、感作抗原に *Ascaris* を用い、感作方法、時期を工夫することにより、LAR モデルとして完成させるに至った。この努力は賞讃に値する。LAR の動物モデルをモルモットを用いて作成し得たこと自身、その意義は大きい。つまり、モルモットは、取扱いの手軽さと、これまでに蓄積された、アレルギーおよび気道過敏性に関する数多くのデータを利用できるという利点があるからである。

本研究は、モルモットの LAR における肺組織を初めて検討したものである。これまで、LAR は、IAR と比較して、持続時間や治療薬に対する反応の違いから、その呼吸抵抗上昇は、気道平滑筋の収縮よりも、むしろ、気道の炎症性変化を主体とした、粘膜浮腫や気道内分泌物の貯留によると推察されていた。しかし、今回、気管支平滑筋の収縮も多分に関与していることが、組織学的に明らかにされた。この事実を組織学的に証明した報告は、ヒトのみならず動物でも、見当たらない。つまり、呼吸抵抗上昇が、確かに気道平滑筋の収縮、気道粘膜浮腫、気道内分泌物の貯留、の三者によることを明らかにした。さらに、LAR の際、BAL 液中には好中球が増加しており、気道壁中には好酸球の著大な浸潤が認められたが、前者は LAR の生じなかった動物にも見られたことから、LAR を特徴づけるのはむしろ後者である可能性が示唆された。

以上より、本研究は学位論文に値すると考えられる。