

氏 名 (本籍)	山 谷 睦 雄 やま や むつ お
学 位 の 種 類	医 学 博 士
学 位 記 番 号	医 第 2183 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 2 年 2 月 28 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 57 年 3 月 東 北 大 学 医 学 部 医 学 科 卒 業

学 位 論 文 題 目      Mechanisms of decrease in cytoplasmic moti-  
lity of alveolar macrophages during immedi-  
ate asthmatic response in dogs.  
(抗原吸入時の肺胞マクロファージ細胞質運動能  
の変化と機序の解析)

(主 査)  
論文審査委員      教授 滝 島      任      教授 本 宮 雅 吉  
  
教授 京 極 方 久

# 論文内容要旨

## 【目 的】

気管支喘息における肺病変は気管支平滑筋の収縮や気道内分泌, 細胞浸潤など気管支の病変の他に肺胞における炎症細胞浸潤も認められることがある。また, 肺胞マクロファージ (以下AM) はマスト細胞と同様にIgE Fc受容体が存在するため, IgEを介した気管支喘息においても重要な役割を果たしていると考えられている。IgE免疫複合体はAMを刺激して化学伝達物質, ライソゾーム酵素や活性酸素の放出を促進するなどのin vitroの報告はあるが, in vivoで気管支喘息におけるAMの機能変化は詳しく調べられていない。一方, AMの細胞質運動は貧食や分泌などAMの機能と関連しているが, この運動をAMにとり込ませた鉄粉の回転運動としてin vivoで測定する方法が最近, 報告されている。このような背景から, 本論文では成犬を用いてin vivoでAMの細胞質運動能を測定し, 抗原吸入時の変化とその機序を解析した。

## 【方 法】

体重9~11kgの成犬をチオペンタールおよびジアゼパムで麻酔し, 気管支ファイバースコープを気管内に挿入して, 生理食塩液に懸濁した鉄粉粒子 (四三酸化鉄,  $Fe_3O_4$ , 3 mg/kg) を注入した。鉄粉粒子 (直径 $0.5 \mu m$ 以下) をAMに貧食させ, 気道から排泄させるために4日後実験を行なった。成犬をチオペンタールおよびジアゼパムで麻酔し, パンクロニウムブロマイドで筋弛緩して人工換気を行なった。胸部を80mT (ミリテスラ), 10秒間磁化して磁化終了直後から残留磁気を約2分間測定する。残留磁気は時間とともに指数関数的に減衰し, これはレラキゼーションと呼ばれ, AMの細胞質運動能を反映する。減衰の程度は減衰定数 $\lambda_0$  ( $min^{-1}$ )で計算された。従って細胞質運動能は $\lambda_0$ の大きさを表わされる。本研究においても鉄粉注入4日後に肺組織を観察すると, 大多数の鉄粉がAMに貧食され気道にほとんど認められないため, 他の報告と同様に残留磁気の減衰はAMの細胞質運動能を反映するとみなされた。成犬の皮内に*Ascaris suum*抽出液を注射し, 皮内テスト陽性の成犬を感作群 ( $n=10$ ), 陰性の成犬を非感作群 ( $n=5$ ) に分類した。実験中の呼吸抵抗 ( $cmH_2O/L/S$ ) は3 Hzオシレーション法で測定した。吸入抗原は*Ascaris suum*抽出液を生理食塩液で100倍に希釈して5分間ネブライザーで吸入させた。

## 【結 果】

感作群では抗原吸入後に呼吸抵抗が2倍以上に上昇し, 60分以内に吸入前の値に戻った。非感作群では呼吸抵抗が抗原吸入前後で変化しなかった。減衰定数 $\lambda_0$ は感作群では抗原吸入後15分

から低下し、 $\lambda_0$ の低下は60分後まで続いた。非感作群では $\lambda_0$ は抗原吸入前後で変化しなかった。in vitroの実験で肺組織に抗原を加えた場合あるいはAMにIgE免疫複合体を加えた場合にプロスタグランジン（以下PG）、ロイコトリエン（以下LT）などの化学伝達物質が放出される報告があるため、抗原吸入後の $\lambda_0$ の低下にこれらの化学伝達物質が関与するかどうかを検討した。Ascaris suum感作群の成犬にシクロオキシゲナーゼ阻害剤であるインドメタシン（5 mg/kg）あるいはジクロフェナクナトリウム（5 mg/kg）を静脈内投与して30分後に抗原を吸入させた。いずれの阻害剤を投与した後も抗原吸入によって呼吸抵抗が2倍以上に上昇し、60分後に吸入前の値に戻ったため、これら阻害剤の呼吸抵抗の変化に及ぼす影響は認められなかった。しかし、いずれの阻害剤の投与後も抗原吸入前後では $\lambda_0$ は低下しなかったため、抗原吸入に伴う $\lambda_0$ の低下を完全に抑制した。このように、抗原吸入に伴う細胞質運動抑制効果にシクロオキシゲナーゼ系代謝物の関与が示唆されたため、関与するPGをin vitroで同定した。鉄粉を気管支に注入して4日後に気管支肺胞洗浄で鉄粉を貧食したAMを回収した。AMをプラスチックシャーレに培養してシャーレの底に固着させた。磁気測定はin vivoと同様に80mT、10秒間磁化し、直後から測定した。プロスタグランジン $E_1$ (PGE<sub>1</sub>)と $E_2$ (PGE<sub>2</sub>)は濃度依存性に $\lambda_0$ を低下した。PGD<sub>2</sub>、PGF<sub>2 $\alpha$</sub> 、PGI<sub>2</sub>、トロンボキサンA<sub>2</sub>は $\lambda_0$ を変化させなかった。ロイコトリエンB<sub>4</sub>、C<sub>4</sub>、D<sub>4</sub>も $\lambda_0$ を変化させなかった。また、ヒスタミンと血小板活性化因子は $\lambda_0$ を上昇させた。Ascaris抗原をin vitroで培養液に加えた場合、 $\lambda_0$ は変化しなかった。PGE<sub>2</sub>の効果をin vivoで確かめるために成犬にPGE<sub>2</sub>のエアゾルを吸入させたところ、濃度依存性に $\lambda_0$ が低下した。

## 【結 論】

これらの結果から、抗原吸入時にAMの細胞質運動能が低下し、この変化にはシクロオキシゲナーゼ代謝物、とくにPGE系の関与が示唆された。肺組織において、マスト細胞や肺胞マクロファージ、気管上皮、平滑筋など種々の細胞からプロスタグランジンが合成されうるが、in vitroで抗原刺激によって $\lambda_0$ が変化しなかったことより、PGEの放出がAM以外から生じた可能性が示唆された。

## 審査結果の要旨

本論文は気管支喘息の動物モデルにおいて抗原吸入時の肺胞マクロファージ（以下AM）の機能変化をin vivoで観察している。AMは細胞膜表面にIgE Fc受容体が存在するため、IgE免疫複合体で刺激すると化学伝達物質、ライソゾーム酵素や活性酸素の放出が促される。また、気管支喘息における肺病変は気管支平滑筋の収縮や気道内分泌、細胞浸潤など気管支病変の他に、肺胞における炎症細胞浸潤が認められることがある。しかし、AMが気管支喘息においていかなる機能変化を示すかはin vivoにおいて詳しく調べられていない。本論文では成犬の喘息モデルを用いて、in vivoでAMの機能変化を測定しており、従来の研究と異なり画期的である。本論文において検討したAMの機能はAMの細胞質運動能である。これはAMの貪食機能や遊走・分泌などの機能と深い関連がある。本研究において、麻酔した成犬の気管支に鉄粉を注入してAMに貪食させる。貪食された鉄粉は直流磁場で同一方向に磁化されるが、細胞質運動に伴って回転運動を生ずるために同一方向で測定すると磁力が減衰する。そして、細胞質運動が活発なほど減衰定数 $\lambda_0$ が増大する。これらの残留磁気測定法はJ. Appl. Physiol. 55 : 1196-1202, 1983や論文提出者自身の論文J. Appl. Physiol. 66 : 1172-1178, 1989に発表されており方法論的には確立されている。抗原の皮内反応が陽性の成犬にアスカリス抗原を吸入させると呼吸抵抗が2倍以上に上昇して60分以内に元に戻る。 $\lambda_0$ はやや遅れて抗原吸入15分後より低下し、この低下は60分以上持続する。この結果は抗原吸入後にAMの細胞質運動が抑制され、しかも気道反応とは異なった機序で生ずることを示している。シクロオキシゲナーゼ阻害剤であるインドメタシンやジクロフェクナトリウムを前投与すると、抗原吸入後に呼吸抵抗は上昇したが $\lambda_0$ は低下しなかった。さらに、in vitroでプロスタグランジン（PG）、トロンボキサンの $\lambda_0$ に対する効果を調べたところ、PGE系のみが $\lambda_0$ を低下させた。in vivoでのPGE吸入でも $\lambda_0$ が低下した。これらの結果から、抗原吸入がAMの細胞質運動を抑制し、この機序にシクロオキシゲナーゼ代謝産物、とくにPGEの関与が示唆された。これは、抗原刺激で放出される化学伝達物質が肺胞レベルで作用する現象を示しており、新たな知見を与えるものである。プロスタグランジンE（PGE）は炎症細胞の走化性やライソゾーム酵素の放出を抑制する作用があるが、AMの貪食能と関連する $\lambda_0$ を低下させたことは喘息反応においてもPGEが抗炎症作用を生ずることを示唆する。本論文は、in vivoで肺胞マクロファージの機能変化を測定する新しい手法を用いており、実験の組み立て方、考察も慎重に行なわれている。よって、この論文は学位論文に値すると考える。