

学 位 論 文 題 名

家兎過敏性肺炎の抗体産生に及ぼす喫煙の抑制効果

学位論文内容の要旨

I. 研究目的

過敏性肺炎は、病因抗原の頻回の吸入により経気道的に感作されて発症する外因性アレルギー性肉芽腫性肺炎である。

そのうち農夫肺症は、好熱放線菌である *Micropolyspora faeni*（以下 Mf と略）などを主要な抗原とし、牧草を扱う酪農家に発生する。

これら酪農従事者の Mf 血清沈降抗体陽性率には、喫煙習慣の有無によって著しい差があり、喫煙者では非喫煙者の約 $1/8 \sim 1/2$ 程度と低い頻度であることが古くから報告されている。同様の現象は、鳩飼病、加湿器肺といった他の過敏性肺炎でも観察されている。

しかし、これらの喫煙による抗体産生に及ぼす抑制効果の機序に関して、これまで十分な検討はなされていなかった。

そこで、喫煙が過敏性肺炎の抗体産生能にどのような影響を与え、その現象はいかなる機序によって生じるのかについて、従来我々が作製してきた家兎過敏性肺炎モデルを用い、1) 短期（5週）及び、長期（20週）間のタバコ煙曝露による肺、脾臓における抗体産生能の変化、2) リンパ球幼弱化反応における肺胞マクロファージ（以下 AM と略）の補助細胞機能に及ぼす30週間のタバコ煙曝露の影響について検討した。

II. 研究方法

1. 実験材料

1) 動物；成熟家兎（日本白色種）雌を使用した。

2) 抗原；農夫肺症が発生した畜舎より腐敗牧草を採取し、分離培養して得られた Mf 菌体を、一定期間培養、破碎し凍結乾燥させ、菌体抗原として皮下、気道内感作に、可溶性抗原として抗

体産生細胞（AFC と略）の検出及び、Enzyme-linked immunosolvent assay（ELISA）に使用した。

2. 実験方法

1) 皮下感作；Mf 菌体抗原10mgを使用し、家兎背部に皮下注射した。

2) 気道内感作；Mf 菌体抗原 1 mgを家兎気道内に注入した。

3) タバコ煙曝露；アクリル製の喫煙箱を作製し、タバコ煙を空気と一定の割合に混合し容器内に充満させ、家兎に受動喫煙させた。喫煙は15分で2本を1クールとし、1日2クール、1週間に6日間計12クール施行した。

4) 実験プロトコール；

実験(1)；タバコ煙の短期（5週）、長期（20週）曝露による抗体産生への影響：喫煙曝露の有無、長短により以下の3群に分けた。

① 非喫煙群（Unsmoked：US と略）：N = 6，2週間隔で皮下感作を2度、その後、1週間隔で気道内感作を2度行い7日目に各種の検討を行い、この間喫煙曝露を行わなかった群。

② 短期喫煙群（Short-term smoke exposure：SS と略）：N = 7，US と同様の条件下に5週間喫煙曝露を行った群。

③ 長期喫煙群（Long-term smoke exposure：LS と略）：N = 7，20週間、タバコ煙曝露を行い、最後の5週間はSSと同様に抗原感作を行った群。

実験(2)；肺泡マクロファージの補助細胞機能に対する喫煙の影響：喫煙曝露の有無のみから、2群に分けた。

① 対照群（非喫煙群）：N = 6，実験(1) のUS群と同様。

② 喫煙群：N = 6，30週間タバコ煙曝露を行い、最後の5週間は対照群と同様に抗原感作を行った。

5) 気管支肺胞洗浄（BAL）；Myrvik らの方法に準じ、摘出肺を生食で洗浄し細胞成分と上清に分離した。

6) 抗体産生細胞（AFC）；Cunningham chamber を用いた直接法で行い、抗原特異性を得るため、Gronowicz らの方法に従った。

7) Mf 特異的 Ig G 抗体、及び、Ig M 抗体の測定；可溶性抗原を用いた ELISA 法（固相法）によった。

8) 脾臓リンパ球幼若化反応；Tリンパ球をナイロンウールを用いて、脾細胞より分離し³H-thymidine の取り込みを測定した。

9) AMの補助細胞機能; AMをパーコールを用いて分離, これらを種々の割合で, 先に得られた脾リンパ球に添加し³H-thymidineの取り込みを測定した。

10) 病理組織学的検索; 摘出肺をホルマリン固定後, H-E染色後検鏡し, ①胞隔炎, ②好中球主体の急性肺炎巣, ③類上皮細胞肉芽腫の各々につき, スコア化し比較検討した。

III. 結 果

実験(1); タバコ煙の短期(5週), 長期(20週)曝露による抗体産生への影響:

①BAL 所見: 総細胞数, 回収率, 生細胞数において3群間に差を認めなかった。②血清 Mf 特異的 Ig G, Ig M 抗体価: Ig G について, LS 群 0.42 ± 0.24 , SS 群 1.06 ± 0.42 , US 群 0.68 ± 0.14 (Mean $\pm$ S. D.) であり, LS 群は他の2群に比較して有意に低下していた。一方, SS 群では US 群に比較し増加傾向を認めた。また, Ig M について, LS 群 0.18 ± 0.09 , SS 群 1.27 ± 0.54 , US 群 0.46 ± 0.13 であり同様の結果であった。③BALF 中 Mf 特異的 Ig G, Ig M 抗体価: OD を Alb で除した値でみても, Ig G について, LS 群 0.20 ± 0.09 , SS 群 0.45 ± 0.24 , US 群 0.43 ± 0.17 で, Ig M について, LS 群 0.19 ± 0.11 , SS 群 0.47 ± 0.22 , US 群 0.49 ± 0.16 で血清の場合と同様であった。④BALF, 脾細胞中 AFC 数: BALF では 1×10^6 個中 LS 群 18 ± 10 , SS 群 52 ± 20 , US 群 37 ± 13 個, また, 脾細胞 1×10^6 個中, LS 群 205 ± 101 , SS 群 794 ± 277 , US 群 1004 ± 510 個であり, LS 群は他の2群に比較して有意に低下していた。⑤病理スコア: 胞隔炎, 急性肺炎巣, 類上皮細胞肉芽腫のいずれも3群間に有意差を認めなかった。

実験(2): 肺泡マクロファージの補助細胞機能に対する喫煙の影響:

①BAL 所見: いずれも2群間に差を認めなかったが, 細胞分画で喫煙群で対照群に比較しリンパ球の有意な低下を認めた。②脾臓リンパ球幼若化反応: 可溶性 Mf 抗原を種々の濃度で刺激しても, 2群間に有意差を認めなかった。③AM 補助細胞機能: 対照群では, 脾臓リンパ球に対し AM を 0, 5, 10, 20, 40, 80%の割合で添加しても, リンパ球増殖反応に変動は見られず, 喫煙群では, 実際の BAL 細胞分画により近似した, AM の比率が40~80%の時点で著大な抑制作用が認められた。④病理スコア: いずれも2群間に有意差を認めなかった。

IV. 考 察

1. タバコ煙の短期(5週), 長期(20週)曝露による抗体産生への影響; 喫煙曝露が肺, 脾, リンパ説における抗体産生を抑制することはこれまで知られているが, 家兔過敏性肺炎においても同様の結果がえられた。しかし, 喫煙曝露期間の長短によって, 多様な影響を与えている可能

性を示唆した。喫煙は、リンパ球サブセットに影響すること、AM から産生される IL-1 など
を低下させることなどが指摘されており、今回の結果は、肺内リンパ球及び、AM の相互関係
によって生じたものと考えられる。一方、病理所見に差を認めなかったことから、抗体産生の機
序と、過敏性肺炎の病変形成機序には密接な関連がないことが考えられた。

2. 肺胞マクロファージの補助細胞機能に対する喫煙の影響；今回の検討で、脾臓リンパ球に
おいては、リンパ球増殖反応でみるかぎり、喫煙の影響は現れていないことが示された。一方、
AM の補助細胞機能は、BAL 細胞分画により近似した値で喫煙により抑制的に作用しているこ
とが確認された。以上より、サイトカインネットワークの初期段階での障害が、以後の抗体産生
に抑制的に作用している可能性が考えられた。

V. 結 語

1. 家兎過敏性肺炎においては、タバコ煙曝露期間の長期化は、肺や脾臓における抗体産生能に
対して抑制的に作用していた。

また、短期曝露ではむしろ促進傾向がみられ、喫煙はその曝露期間によって多様な影響を与え
るものと考えられた。

2. 喫煙はリンパ球-肺胞マクロファージの相互の機能に関与し、曝露期間の長期化にともなっ
て肺胞マクロファージの補助細胞機能を変化させ、その結果、抗体産生能を抑制する可能性が示
唆された。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 川 上 義 和

副 査 教 授 皆 川 知 紀

副 査 教 授 小 林 邦 彦

農夫肺症など過敏性肺炎の発現頻度は、喫煙者では非喫煙者よりも低いことが疫学的に知られ
ている。

本研究は家兎過敏性肺炎モデルを用いて、この機序を解明しようとした。

方法：対照、短期（5 週）及び長期（20 週）受動喫煙の家兎に、*Micropolyspora faeni* (Mf)

で経気道的、皮下感作を行ない、肺及び脾における抗体産生の変化、リンパ球幼若化反応における肺胞マクロファージの補助機能に及ぼす影響を検討した。

結果：血清 Mf 特異的 Ig G, Ig M は、長期喫煙群で短期喫煙群、非喫煙群に比べて低下していた。気管支肺胞洗浄液中の Ig G, Ig M も血清と同様の变化であった。

洗浄液：脾細胞中の抗体産生細胞数は、長期喫煙群では他の2群に比較して低下していた。洗浄液中総細胞数、回収率、生細胞数には、非喫煙群と喫煙群に差をみなかったが、リンパ球数は喫煙群で低下、脾リンパ球幼若化反応では両群に差なし、補助細胞機能では喫煙群で肺胞マクロファージ比率が40～80%の時点で著明な抑制がみられた。

以上の結果から、家兎過敏性肺炎においては、タバコ煙曝露期間の長期化は肺や脾の抗体産生能に抑制的に働くこと、喫煙はリンパ球－肺胞マクロファージの相互の機能に関与し、補助細胞機能を変化させ、その結果抗体産生能を抑制することが示された。

口答発表に際し、皆川教授より抗体価と臨床像の関係、気道内感作と静脈内感作の比較の有無、モデルの妥当性などにつき、また小林教授からは皮下感作を加えることの是非などにつき質問があったが、申請者はほぼ妥当に答えたように思われる。

以上、本研究は家兎過敏性肺炎において喫煙とくに長期喫煙が肺や脾の抗体産生能に抑制的に働くこと、リンパ球－肺胞マクロファージの補助細胞機能を変化させて抗体産生能を抑制することを明らかにしたもので、博士（医学）に相当するものと認める。