1. 気道免疫の立場から

*八 倉 隆 保

Symposium : Correlation between the Upper and Lower Respiratory Tracts

1. Immunological Aspects

Takayasu Yagura, M.D.

The Third Department of Internal Medicine,
Medical School, Osaka University, Osaka

For the purpose of elucidating relationship between the upper and lower respiratory tracts, the present work was performed from immunological point of view.

- 1) The immunological function of the tonsil was investigated on separated tonsillar cells by using *in-vitro* culture system. As a result, it was revealed that the tonsil was composed of three cellular components (T cell, B cell and macrophage) necessary for the immune response and cellular co-operation among them was required for the effective immune response to a hapten-carrier antigen.
- 2) To elucidate experimentally some characteristics of the immune response against inhaled antigens, guinea pigs were exposed to an aerosolized hapten-protein antigen. Specific anti-hapten antibody forming cells were determined by PFC (plaque-forming cell) assay.

When the antigen was given via respiratory tract by inhalation, the antibody production was much more predominant in the paratracheal and peribronchial lymphnodes than in the spleen—a distant lymphoid organ. On the contrary, when the antigen was given by subcutaneous injection, a reverse result was obtained.

This suggests a possibility that the immune response to air-borne antigens may be carried-out selectively and locally in the lymphoid tissues in the vicinity of the respiratory tract.

- 3) Our clinical studies on 700 patients with pollinosis revealed that 67.7 percent of the patients had nasal symptoms without any bronchial symptom, while only 11.6 percent had bronchial symptom without any nasal symptom.

This result suggests that allergic reactions in the respiratory tract initially takes place in the nose, i.e., the upper respiratory tract in general, which may protect the lower respiratory tract from external antigen.

I. 目的

上部気道と下部気道とは生理学的機能の面に

おいても、また病的反応の面においても、両者はきわめて密接な関係にある。

生理学的には、上部気道は下部気道をいろいろな意味で保護しているものと考えられるが、この機能を免疫学的立場から考えてみると、気

*大阪大学医学部第3内科

道分泌液中に含まれる液性抗体, なかんずく分泌型 IgA 抗体系, 気道粘膜下の肥満細胞-IgE 抗体系および肺胞マクロファージ系は気道より侵入する病原体や異物の中和, 排除に重要な役割を演ずるものと推定される。

一方, 疾病における両者のつながりは, アレルギー性鼻炎や鼻ポリープと気管支喘息, 慢性副鼻腔炎と慢性気管支炎や気管支拡張症, Wegener 肉芽腫症などの疾患における両者の相関などが有名であり, 慢性扁桃炎, 慢性副鼻腔炎, 気管支拡張症などの化膿性気道疾患は病巣感染の一次疾患として, 全身性疾患とのつながりが深い。

われわれは, 以上のような上部気道と下部気道の相関をめぐって, われわれの研究成績を基として, 免疫・アレルギー学的立場より検討・考察を加えてみた。

II. 方法と結果

1) 扁桃の免疫機能の解析:

扁桃は抗体産生臓器であるとともに, 異物の侵入から生体を守る第1関門として重要な役割を演じているものと考えられている。われわれは, 扁桃の免疫機能を詳しく検討するために, 扁桃細胞を分析するとともに, 免疫応答における扁桃細胞の機能を *in vitro* の実験系により検討した¹⁻²⁾。

治療目的で摘除された扁桃から, 図1に示した方法により扁桃細胞浮游液を作製した。本細胞を Marbrook の方法に従って培養し, 抗原にて刺激し, 抗 DNP 抗体産生細胞を Jerne の plaque-forming cell (PFC) assay 法に従って測定した。扁桃細胞による抗体産生の細胞性機構を解析するために, まず扁桃細胞を図2に示した方法により RFC (rosette-forming cell) depleted cell (=B cell-rich fraction) と RFC (=T cell-rich fraction) とに分け, これらの細胞のそれぞれ単独あるいは両者の適当な割合での reconstitution により, PFC response を検討した。

その結果, 図3に示すごとく, T cell-rich fraction や B cell-rich fraction のみではいずれも抗 DNP 抗体産生 PFC はほとんど出現しなかったが, T, B 両者の適当な混合培養により, 抗 DNP 抗体産生 PFC が著明に増加する

Preparation of human tonsil lymphocytes

fresh human tonsils in saline
↓
washed with MEM (Eagle) containing Pc (1,000 u/ml) & SM (1,000 µg/ml)
↓
made single cell suspensions in MEM(Eagle) with Pc, SM and heparin.
↓
washed with regular MEM (Eagle)
↓
layered cell suspensions over Ficoll-Conray mixture (s. g. 1, 078)
↓
centrifuged at 400xg for 25 min. at room temp.
↓
collected cells on the mixture
↓
washed 3 times with RPMI-1640 medium
↓
suspended in RPMI-1640+10%FCS

図1 扁桃細胞浮游液の作製法

Fractionation of RFC-depleted and RFC-rich cells

図2 扁桃細胞からの T-, B- 細胞の分画法

ことがわかった。すなわち, 扁桃細胞においても, hapten-carrier 抗原に対する免疫応答には, T-B co-operation の現象の存在することが証明された。

なお, 以上の実験系では macrophage-monocyte 系の細胞が含まれているので, これらの細胞の抗体産生における役割を検討する目的で, 扁桃細胞を glass-fiber column に通すことによりこれらの細胞を吸着せしめて除去したところ, 抗 DNP 抗体産生 PFC が著明に減少した。このことから, 扁桃細胞には macrophage-monocyte 系の細胞が含まれていて, この種の抗体産生に essential な役割を演じている可能性が推定された。また, 扁桃細胞を allogeneic

図3 抗原 DNP-KLH に対する免疫応答
——扁桃細胞における T-B cooperation——

cell (Burkitt lymphoma 由来の AL-1 細胞を用いた) を stimulating cell として混合培養すると, この allogeneic cell に対する cytotoxic (killer) T-lymphocyte の誘導されることが証明された。

以上のことから, 扁桃には液性抗体産生に必要な免疫細胞のみならず, 細胞性免疫応答 (cell-mediated immunity) に必要な免疫細胞も備わっていることが判明した。

2) 経気道侵入抗原に対する免疫応答の特殊性:

気道より侵入する抗原に対する免疫応答の特殊性を検討するために, モルモットで実験を行った。すなわち, われわれがモルモットに実験的アレルギー性喘息を作成した時の方法³⁻⁵⁾ に準じて, モルモットに抗原 (*B. subtilis* 由来の精製 bacterial α -amylase を picryl 化した抗原 Pic-BA) のエアゾルを吸入せしめて経気道的に感作し, 図4に示したごとく, 一定期間後にモルモットをと殺し, 気管および気管分岐部周辺のリンパ節, 肺胞滲出液および脾を取り出し, これらの細胞における抗 Pic (TNP) 抗体産生 PFC を測定した。

その結果, 図5上段に示すごとく

く, 経気道的に抗原が侵入した場合には, 侵入経路近傍のリンパ装置 (すなわち気管および気管分岐部周辺のリンパ節: 図の Ly) での抗体産生細胞数は遠隔のリンパ装置である脾 (図の Sp) におけるそれよりもはるかに多く, これに対して, 図5下段に示すごとく, Freund の incomplete adjuvant を用いて皮下に抗原を投与した時には, 以上の結果とは逆に, 抗体産生細胞数は脾細胞で多く, 気道周辺のリンパ節ではきわめて少ないことがわかった。このことは, 気道より抗原が侵入した場合には, 少なくとも初期には, 抗体は選択的局所的に気道周辺のリンパ装置で主として産生されることを示している。

3) アレルギー症状よりみた上部気道と下部気道の関係:

臨床的立場よりみた場合, すなわち疾病状態における上部気道と下部気道の相関を知るために, アレルギー症状よりみた両者の関係について検討した。これは2通りの方法により行った。すなわち第1の方法は, 花粉症患者における鼻症状と気管支症状との関係を調べる方法である。この方法は, 抗原が気道より侵入した場合に, 上部気道と下部気道がどのような経過でおかされるか, 果して上部気道が下部気道を守る役目をしているか否かなどを検討するのに有

図4 経気道侵入抗原に対する免疫応答の解析デザイン

用であると考えられる。われわれは⁶⁾、花粉症(ケンタッキー 31 フェスク花粉症)患者の大集団発生を見いだしたが、この患者 700 名について調査したところ、表 1 に示すごとく、鼻症状のみを有し気管支症状を有さない患者は 474 名(67.7%)であったのに対し、鼻症状を欠き気管支の症状だけを有する患者は 81 名(11.6%)に過ぎなかった。すなわち、鼻アレルギー症状のみを有する症例が圧倒的に多かった。

このことは、外来抗原の侵入に反応して発現する気道のアレルギー症状は、まず抗原の主侵入経路である鼻において発現し、やがて気管支にも及ぶというのが通常の順序であると考えられる。換言すれば、上気道はアレルギー学的機作によっても(異物を排除することにより)下気道を異物の侵入から守る役目を果していると推定される。

なお、以上の調査で、鼻症状を有する者の中で気管支症状をも併せ持つ者の割合は、表 1 に示したとおり、23.4%であった。

もう一つの方法は、気管支喘息の患者がどれぐらいの頻度で鼻症状を有するかを調べる方法である。すなわち、気管支喘息の患者を鼻症状に有効な治療法(抗ヒスタミン剤、インタールなどの抗アレルギー剤)を施すことなく 1 カ月観察し、この間に発現した鼻症状について、それぞれの出現頻度を

表 1 花粉症患者(700名)における鼻症状と気管支症状

症状の組み合わせ	例	%
鼻症状のみ	474	67.7
気管支症状のみ	81	11.6
両症状を併せ持つ	145	20.7
有「鼻症状」者が気管支症状をも併せ持つ頻度	145/619	23.4

Antibody Production in Lymphoid Organs of Guinea Pigs Sensitized by Inhalation

Antibody Production in Lymphoid Organs of Guinea Pigs Immunized by Subcutaneous Injection with ICFA

図 5 抗原の侵入経路と免疫応答の局在性

上段: 吸入による経気道感作

下段: 皮下注射による感作

点数表示して検討した。この場合、それぞれの症状が 1 日の朝、昼、夜のいずれかにあって、しかも 1 週間つづいた場合(7 点)以上を有意としてとりあげた。

その結果、鼻汁、鼻づまり、くしゃみのいずれの鼻症状でも、図 6 に示すごとく、気管支喘息患者の 30~40% にも合併することが判明した。

以上の結果より、上部気道は外からの異物が下部気道に侵入することを免疫・アレルギー学的な機序によっても防いでいるものと考えられるが、一面においては、構造上の類似性などのために、上下気道に共通して病変が発現しやすいことも具体的に判明した。上部気道と下部気道は、このような 2 面において、互いに密接な

関係にあることがこれらの臨床的事実によっても推定される。

4) 気道疾患の免疫遺伝学的研究:

アレルギー性鼻炎, 気管支喘息をはじめとして, 気道疾患には遺伝学的背景を有する疾患がきわめて多い。もちろん, この遺伝学的背景は, 気道の解剖学的, 生理学的, 生化学的, 免疫学的など諸因子に反映される結果, 疾患が遺伝学的つながりをもって子孫に伝わるものと考えられる。われわれは, この方面の研究の一つとして, アレルギー性喘息を対象として, その免疫遺伝学的背景を研究しているが, その概要は以下のとおりである。

広島県地方のかきの養殖業作業員の中には, かきの貝に付着しているホヤの体液により, アレルギー性鼻炎や気管支喘息を発症する人達がある。本疾患はホヤ喘息とよばれ⁷⁾, わが国における代表的な職業病的アレルギー性疾患である。われわれはこのホヤ喘息を対象として免疫遺伝学的研究を行った。すなわち, ほぼ様な条件下で抗原(ホヤ体液)に曝露されている人達について, 抗原による皮内反応, 血清中の抗ホヤ IgG 抗体および IgE 抗体の測定, 末梢血リンパ球の *in vitro* での抗原に対する反応性 (^3H -thymidine の DNA への取り込み) および末梢血リンパ球の HLA タイピングを行い, 抗原に曝露されているが発症もしないし特異抗体も有さず, リンパ球も抗原に反応しないグループ(いわゆる免疫学的な non-responder population)と, 免疫学的な反応を示し, 患者であるグループ(いわゆる免疫学的な good-responder population)とに分け, 両グループ間で HLA タイプを比較検討した。その結果, IgE 抗体や IgG 抗体を有する患者グループでは, non-responder グループに比し, HLA-Bw40 の保有率が有意に高かった。

以上の研究は, 気道疾患の免疫遺伝学的背景の解明に一つの方方向性を与えるものである。

III. まとめ

上部気道と下部気道の相関をめぐって, われわれが行った免疫・アレルギー学領域の研究, すなわち, 1)扁桃の免疫応答能の免疫細胞学的解析, 2)経気道感作時の免疫応答の特殊性, 3)臨床アレルギー学的にみた上部気道と下部気道

図 6 気管支喘息患者 (212 例) における鼻症状

の関連々係, 4) 気道アレルギー疾患を対象とした免疫遺伝学的研究, の4つについて, われわれの研究成績を報告するとともに, 若干の考察を加えた。

文 献

- 1) Watanabe, T., Yoshizaki, K., Yagura, T. and Yamamura, Y.: *In vitro* antibody formation by human tonsil lymphocytes, *J. Immunol.*, 113: 608, 1974.
- 2) 八倉隆保: ヒト免疫細胞による免疫応答——扁桃細胞による解析——, *Minophagen Medical Review*, 21: 197, 1975.
- 3) Yagura, T., Miyagawa, T. and Yamamura, Y.: Experimental allergic asthma in guinea-pigs, *New Concepts in Allergy and Clinical*

Immunology, Excerpta Medica, Amsterdam, p. 266, 1971.

- 4) 八倉隆保: 実験的喘息とヒトの喘息, *臨床免疫*, 6: 25, 1974.
- 5) Yamamura, Y., Yagura, T. and Miyake, T.: Experimental allergic asthma in guinea pigs, *Allergology, Excerpta Medica, Amsterdam*, p. 509, 1974.
- 6) 八倉隆保, 寺西 強, 山村雄一: ケンタッキー 31 フェスク花粉症の集団発生, 第27回日本アレルギー学会総会報告 (同総会抄録, p. 82), 東京, 1977.
- 7) 城 智彦: ホヤ喘息, *臨床科学*, 12: 421, 1976

(別刷請求: 〒553 大阪市福島区福島 1-1-50)
大阪大学医学部附属病院第三内科
八 倉 隆 保)