咽頭・扁桃の感染に対する粘膜免疫応答

黒野 祐一, 坂本 菜穂子
蟻川内 英臣, 茂木 五郎

Mucosal Immune Responses of the Nasopharynx and Tonsils in Response to Bacterial Infection

Yuichi Kurono, M.D., Naoko Sakamoto, M.D.,
Hideomi Kerakawauchi, M.D., and Goro Mogi, M.D.
Department of Otolaryngology, Oita Medical University, Oita

Adenoids and palatine tonsils are known to function as nasopharyngeal-associated lymphoreticular tissue for mucosal immune responses in the upper aerodigestive tract. In the present study, we investigated the immune responses of tonsillar lymphocytes in response to nontypeable *Haemophilus influenzae* (NTHi). Adenoids, palatine tonsils and nasopharyngeal secretions were obtained from patients who had undergone adenoidectomy or palatine tonsillectomy, and the numbers of NTHi in the samples were quantitated. The antibody activities against P6, one of the outer membrane proteins of NTHi, were determined by ELISA and the numbers of P6-specific antibody-producing cells were determined by ELISPOT. Production of cytokines from CD4⁺ T cells incubated with P6 was determined by ELISA and RT-PCR. The results showed an increase of P6-specific IgA antibody activity and a decrease of NTHi in nasopharyngeal secretions with older age. The numbers of NTHi in the adenoids and the palatine tonsils decreased in samples having a large number of P6-specific IgA antibody-producing cells. CD4⁺ T cells more frequently produced Th2 type cytokines than Th1 type cytokines. The findings suggest that the adenoids and the palatine tonsils play an important role in regulating mucosal immune responses and the colonization of NTHi in the nasopharynx.

Key words : アデノイド, 口蓋扁桃, 鼻咽腔, インフルエンザ菌, 粘膜免疫

I. はじめに

咽頭は, 気道ならびに消化管への病原微生物やアレルゲンの侵入門戸であり, ここには第一次防禦機構として, 分泌型 IgA を主役とする粘

膜局所免疫が備わっている。咽頭扁桃や口蓋扁桃は鼻咽腔関連リンパ組織 (nasopharyngeal-associated lymphoreticular tissue) と呼ばれ, 咽頭の粘膜免疫応答において重要な役割を担っていることが知られている。しかし, その様々な細菌感染症における免疫応答の制御機構については, いまだ不明な点が多く残されている。そこで, 上気道感染症の起炎菌の一つであるイ

大分医科大学耳鼻咽喉科学教室
別刷請求: 〒879-55 大分県大分郡狭間町医大ヶ丘1-1
大分医科大学耳鼻咽喉科 黒野祐一

図1 鼻咽腔液中のインフルエンザ菌と P6 特異的抗体価

インフルエンザ菌に対する咽頭扁桃ならびに口蓋扁桃の IgA 応答, さらにはその鼻咽腔粘膜免疫応答との関連性について検討した。

II. 対象と方法

アデノイド, 慢性扁桃炎あるいは扁桃肥大の診断で, 当科ならびに関連施設で手術を行った患者38例 (うち11例はアデノイド切除術と口蓋扁桃摘出術の両者を施行) を対象とした。アデノイド切除術を行った10症例はすべて10歳以下の小児であり, 口蓋扁桃摘出術症例は10歳以下の小児が17例, 成人を含む11歳以上の症例が11例であった。

術前に鼻咽腔液を吸引採取し, その一部を取り定量的細菌学的検査を行った。残りの検体は PBS で希釈, 遠心ののち上清を回収し, 間接 ELISA 法によりインフルエンザ菌外膜蛋白 P6 に対する抗体価の測定を行った。P6 は, Murphy ら¹⁾の方法に準じて当科で精製したものを使用した。摘出された扁桃組織は, PBS で洗浄後その一部を取り細胞浮遊液とし, 定量的細菌学的検査を行った。残りの組織は細切し金属メッシュを通したのち, 比重遠心法により単核球を分離した。これを抗 IgM, IgG, IgA 抗体 (Southern Biotechnology Association, Inc.) あるいは P6 でコーティングした96穴ニトロセルロース膜プレート (Millipore) 上に分注し, ELISPOT 法によって, ポリクローナルならびに P6 特異的免疫グロブリン産生細胞数を測定した。さらに, 磁気分離システム (Miltenyi

図2 鼻咽腔液中インフルエンザ菌の有無と P6 特異的抗体価

Biotec)を用いて CD4⁺ T細胞を分離し, これに同システムにより T細胞を除去し3000 rad の放射線照射を行ったものを抗原提示細胞として加え, リコンビナント IL-2 (Genzyme) とともに5日間培養し, 培養上清中のサイトカイン (IFN- γ , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6)濃度を ELISA キット (Immunotech) を用いて測定した。また, CD4⁺ T細胞を再度回収しこれらサイトカイン遺伝子の発現を RT-PCR 法により観察した。

III. 結 果

1. 鼻咽腔インフルエンザ菌と抗体活性

鼻咽腔からのインフルエンザ菌の検出頻度, 鼻咽腔液中の P6 特異的抗体価を, 1～5歳, 6～10歳, 11歳以上の3群で比較すると, 年齢が高い群ほど鼻咽腔からのインフルエンザ菌検出率が低下した。これに対して, P6 特異的 IgA 抗体価は逆に年齢が高い群ほど高値を示した (図

図3 アデノイドの抗体産生細胞

図4 口蓋扁桃の抗体産生細胞

1)。

鼻咽腔からインフルエンザ菌が検出された症例と検出されなかった症例とで鼻咽腔液中のP6 特異的抗体価を比較すると、インフルエンザ菌が検出されなかった群ではIgA 抗体価が有意に上昇していた(図2)。

2. アデノイドのP6 に対する免疫応答

アデノイドからのインフルエンザ菌検出率は、1~5歳が58%、6~10歳が22%であり、年齢が高い群のほうが検出率が低値であった。一方、アデノイド中の抗体産生細胞数は、鼻咽腔のIgA 応答とは逆に、年齢が高い群のほうがIgG 抗体産生細胞そしてすべてのアイソタイプ

においてP6 特異的抗体産生細胞数が低値であった(図3)。

アデノイドからのインフルエンザ菌検出の有無とアデノイド中のP6 特異抗体産生細胞数を比較してみると、インフルエンザ菌が検出されなかった群ではP6 特異的IgA 抗体産生細胞数が有意に高値であった($p < 0.05$)。

さらに、アデノイドのP6 特異的IgA 産生細胞数と鼻咽腔液中のIgA 抗体価を各年齢群で比較してみると、5歳以下の症例ではアデノイドのIgA 抗体産生細胞数と鼻咽腔液のIgA 抗体価が有意の正の相関を示した($r = 0.68$, $p < 0.05$)。しかし、6歳以上の症例では有意の相関

図5 RT-PCR法によるCD4⁺T細胞からのサイトカイン遺伝子検出率

は得られなかった。

3. 口蓋扁桃のP6に対する免疫応答

口蓋扁桃のIgM, IgG抗体産生細胞, P6特異的IgM抗体産生細胞数はともに5歳以下の小児でもっとも高値を示し, 年齢とともに低下した。しかし, P6特異的IgG, IgA抗体産生細胞は, 11歳以上の症例で増加の傾向を示した(図4)。

口蓋扁桃からのインフルエンザ菌の検出頻度, そして細菌検出の有無によるP6特異的抗体産生細胞数を比較すると, 年齢とともにインフルエンザ菌検出頻度が低下し, インフルエンザ菌が検出されなかった症例では, P6特異的IgA抗体産生細胞数が有意に高値を示した($p < 0.05$)。

4. CD4⁺T細胞からのサイトカイン産生

CD4⁺T細胞培養上清中のサイトカイン濃度は, アデノイド, 口蓋扁桃ともにIL-4, IL-6を中心とするTh2型のサイトカインが高値であった。さらに, RT-PCR法によりCD4⁺T細胞のサイトカイン遺伝子の発現をみると, アデノイドではIL-6, IL-5, IL-4の順に発現率が高値であり, IFN- γ , IL-2サイトカイン遺伝子の発現は認められなかった。口蓋扁桃でも, IL-4およびIL-6の検出率が高く, IFN- γ は1例に認められたのみで, IL-2は全くその発現が認められなかった(図5)。

IV. 考 察

アデノイド, 口蓋扁桃には組織学的に多くの免疫グロブリン産生細胞が認められ²⁾, マイト

ジェンの非存在下でこれを培養しても, 培養上清中には各種の免疫グロブリンや細菌・ウイルスに対する抗体が検出される³⁻⁵⁾。したがって, 咽頭および口蓋扁桃リンパ球は, 様々な細菌やウイルス抗原にすでに感作され, 活性化状態にあると考えられる。今回の研究においても, アデノイドそして口蓋扁桃に多くのP6特異的抗体産生細胞が認められた。さらに, 扁桃組織内にインフルエンザ菌が検出されなかった症例では, P6特異的IgA抗体産生細胞数が増加しており, これらの抗体産生細胞が局所防禦に関与していることが示された。

さらに, 低年齢の小児ではアデノイドのP6特異的IgA抗体産生細胞数と鼻咽腔液中のIgA抗体価が相関したことから, 扁桃が鼻咽腔粘膜免疫応答の実効組織となることが示唆された。しかし, 口蓋扁桃のIgA抗体産生細胞は年齢とともに増加する傾向がみられたものの, 鼻咽腔液中IgA抗体価との有意の相関が得られず, 鼻咽腔粘膜免疫応答には他のワルダイエル咽頭輪に含まれる扁桃やリンパ組織が総合的に関与すると推察された。

口蓋扁桃にコレラトキシンを局所投与すると扁桃や鼻咽腔に抗原特異的抗体産生細胞が誘導されることから, 扁桃が咽頭粘膜免疫応答の誘導組織であると考えられている⁶⁾。

今回の研究でも, 咽頭扁桃, 口蓋扁桃のヘルパーT細胞がインフルエンザ菌の抗原刺激に対して, IgA応答に必要なTh2型優位の反応を示したことから, これらの扁桃が鼻咽腔粘膜免疫応答の誘導組織としても重要な役割を担っていると考えられた。

文 献

- 1) Murphy, T.F., Bartos, L.C., Campagnari, A. A., et al.: Antigenic characterization of the P6 protein of nontypeable *Haemophilus influenzae*. Infect. Immun., 54: 774-779, 1986.
- 2) Yamanaka, N., Matsuyama, H., Harabuchi, Y., et al.: Distribution of lymphoid cells in tonsillar compartment in relation to infection and age. A quantitative study using image analysis. Acta Otolaryngol. (Stockh), 112: 128-137, 1992.
- 3) Rynnel-Dagöö, B.: Polyclonal activation to immunoglobulin secretion in human adenoidal lymphocytes induced by bacteria

- from nasopharynx in vitro. Clin. Exp. Immunol., 34 : 402-410, 1978.
- 4) Harabuchi, Y., Hamamoto, M., Shirasaki, H., et al. : Specific immune response of the adenoids to a respiratory antigen. Am. J. Otolaryngol., 10 : 138-142, 1989.
- 5) Soh, N., Nadal, D., Schläpfer, E., et al. : Immunologic response of adenoidal lymphocytes to respiratory syncytial virus. Ann. Otol. Rhinol. Laryngol., 101 : 848-853, 1992.
- 6) Quiding-Järbrink, M., Granström, G., Nordström, I., et al. : Induction of compartmentalized B-cell responses in human tonsils. Infect. Immun., 63 : 853-857, 1995.