シンポジウム 感染とその生体反応

特別発言 実験的リステリア菌感染症における腹腔細胞の動態および
その殺菌能について：細胞免疫の発現過程についての考察

慶応義塾大学医学部内科

小川 哲平

SYMPOSIUM ON MICROBIAL INFECTION AND HOST RESPONSE SUPPLEMENTARY: KINETICS AND KILLING ACTIVITY OF PERITONEAL CELLS IN EXPERIMENTAL LISTERIOSIS; CELLULAR MECHANISMS IN PROTECTION AGAINST INFECTION

Tetsuhei OGAWA, MD

Department of Internal Medicine, School of Medicine, Keio University

リステリア菌 (*Listeria monocytogenes*) は細胞内寄生細胞で、感作Tリンパ球による活性化マクロファージの細胞性免疫の発動により、菌の排除が行なわれる。この細胞性免疫は非特異的で他種の細菌や腫瘍に対しても抵抗性を持つことが知られている¹⁾²⁾。しかしこの細胞性免疫発現に至る腹腔細胞の役割については不明確な点が多い。さらに腹腔マクロファージの機能的なsubsetについては最近報告されるようになって来たが³⁾、それらのsubsetの細胞性免疫発現に至る過程、性格については不明確な点が多い。そこでリステリア菌に対する感染防御機能をマクロファージのサブセットの役割を中心として述べてみたい。

材料および方法

Listeria monocytogenes (serotype 4b, スイスマウスに対するLD₅₀ 2×10^4) を使用した。動物は体重約20gの雌スーマウスを用いた。

リステリア菌の生菌 2×10^4 腹腔内投与群、生菌 10^7 腹腔投与群、 2×10^4 投与後7日目に 10^7 の再感染おこさせた3群について、腹腔細胞を経時的に採取し、腹腔細胞を浮遊の状態および培養ガラス板附着細胞について、ペルオキシダーゼ、カタラーゼの細胞化学および過酸化水素、superoxideの発

生を検討した。

腹腔細胞の超微細構造を観察し、腹腔細胞の同定、分類を行ない、ペルオキシダーゼ、カタラーゼの局在および食胞膜との膜融合の状態、活性化酸素の発生状況、細胞内のリステリア菌の傷害を比較検討した。

結 果

1) 腹腔細胞のpopulationについて

正常マウスでは腹腔細胞はresident macrophage, 単球, リンパ球, 好中球, 好酸球, mast cell よりなり、腹腔マクロファージの大部分はresident macrophageで占められている。このresident macrophageはperoxidase (PO) 活性が核周および粗面小胞体に限局し、Golgi装置は弱陽性ないし陰性であり、PO陽性のライソゾームが全くみられない。単球ないし単球に由来するマクロファージはPO活性は顆粒にのみみられ、核周および粗面小胞体は陰性である。したがって非刺激状態の腹腔マクロファージは、このPO活性の局在によりresident macrophageとexdate monocyteに分類される。生理的食塩水とその他の非免疫学的刺激によつて得られたマクロファージのsubpopulationでもこの2種のみがみられ

る^{4)~7)}。

リステリア感染マウス腹腔マクロファージでは、この2種のほかに、PO陽性のライソゾームのほかに特有のmacrophage granuleを有するimmature macrophage, PO陽性のライソゾームを持たずmacrophage granuleのみを有するmature macrophage, さらにしばしば脂肪滴を含み、epitheloid granuleを持つ大型のepitheloid cellが存在する。したがってリステリア菌免疫マウス腹腔マクロファージは、5のsubsetsによつてなりたっている。

2) リステリア感染後の腹腔細胞, マクロファージsubsetの変動について

Resident macrophageは感染直後より減少し、4日目には正常値に復する。exudate monocyteは感染直後好中球の著増につづき増加し16時間でピークに達する。その後次第に減少する。42時間より4日目頃にかけてimmature macrophageが腹腔マクロファージの殆どを占めるようになる。つづいて72時間頃よりmature macrophageが次第に増加し、7日目には殆どmature macrophageで占められている。epitheloid cellは42時間後より僅か認められ、7日目にはしばしば認められ目立つた様になり、時には多核巨細胞もみられる。

3) マクロファージ・サブセットの食菌能、殺菌能について

これらのmacrophage subsetsのそれぞれに対する食菌能、殺菌能を比較し検討してみると、immature macrophage, exudate monocyteは共に食菌能、殺菌能は著しく、その殺菌の機序はPO陽性のライソゾームと貪食空胞の融合、これにつづくライソゾームの流入および活性化酸素によるものである。mature macrophage, epitheloid cell resident macrophageの食菌能、殺菌能はimmature macrophage, exudate monocyteに比しいずれも有意に低く、また活性化酸素は認められても著しくなく、さらにライソゾームと貪食空胞との融合も殆ど認められず、細胞内の菌の大部分が傷害されず、これらマクロファージ内で生存増殖していることが明らかである。

考 案

マクロファージのsubsetsは近年、その機能的な面より注目され検討されている³⁾。しかし菌とマクロファージの関係は、ある菌は生存し、ある菌は死滅するという菌-マクロファージの関係は全く解明されていない。またマクロファージの活性化、いわゆる活性化マクロファージは、活性酸素など好中球の貪食時のrespiratory burstと同様の機序が考えられているが、明確な機序の解明はなされていない。さらにこれらの研究の多くは培養系においてなされるために生体内での各細胞の変動、相互作用についても不明の点が多い。

今回の検討では、リステリア菌に対する生体の防御機構は、まずresident macrophageによる菌の捕捉が行なわれ、この第一次の防御を越えると好中球、単球による非特異的炎症反応による殺菌が行なわれる。ついでT-リンパ球の感作、これより放出されるリンホカインにより、骨髄より炎症局所への単球動員が増加し、成熟という過程をとる。

最も強力な殺菌活性を持つのはimmature macrophageであり、その菌を含む貪食空胞とライソゾーム膜の膜融合がおこり、PO陰性のmacrophage granuleの菌体との反応、これによる空胞内のpH低下、PO陽性の一次顆粒の融合・流入による殺菌・消化および活性酸素によるものと思われる。これはリステリア菌による細胞性免疫は非特異的で他種の細菌にもその免疫能を発揮する。その殺菌効果と抗菌スペクトルを考えると、ペルオキシダーゼ依存系の最も効果的な殺菌機構を持つimmature macrophageが細胞性免疫の担い手と考えられる。

また菌とマクロファージの関係において、細胞内で増殖し、あるいは死滅するかいずれの運命をとるかについては、マクロファージのいずれのsubsetsに菌が貪食されるかによつて決定されると考えれば説明可能と考えられる。

マクロファージの殺菌能や抗腫瘍効果は、プラスミンアクチベーターその他の酵素の分泌能とは必ずしも相関しないことが明らかにされて来た

が、これらの酵素分泌能の旺盛なマクロファージはmature macrophage, epitheloid cellであるとすれば、この点についても位相のずれと解釈される。

結 論

正常マウス、非免疫的刺激では腹腔マクロファージはresident macrophageとexudate monocyteの2のsubsetがみられるにすぎないが、リステリア菌免疫時にはresident macrophage, exudate monocyte, immature macrophage, mature macrophage, epitheloid cellの5のsubsetsがみられる。

リステリア菌による細胞性免疫は、好中球、単球による非特異的炎症反応の早期反応を経てTリンパ球を介する単球の動員、immature macrophageへの成熟に至る過程により表現される。

文 献

- 2) Mackaness GB: Cellular resistance to infection. J Exp Med 116: 381, 1962.
- 2) Mackaness GB: The influence of im-

munologically committed lymphoid cells on macrophage activity in vivo. J Exp Med 129: 973, 1969.

- 3) Thomas MA and Macsween RNM: Heterogeneity of rat peritoneal and alveolar macrophage populations: Characterization of their surface antigens by antisera. Brit J Exp Path 62: 65, 1981.
- 4) Daems W Th and Brederoo P: Electronmicroscopical studies on the structure, phagocytic properties and peroxidatic activity of resident and exudate peritoneal macrophages in the guinea pig. Z Zellforsch 144: 247, 1973.
- 5) Daems WTh and Koerten HK: The effect of various stimuli on the cellular composition of peritoneal exudates in the mouse. Cell Tiss Res 190: 47, 1978.
- 6) Ogawa T, et al: Peroxidatic activity in monocytes and tissue macrophages of mice. Cell Tiss Res 188: 361, 1978.
- 7) Ogawa T: Peroxidatic activity of macrophages, promonocytes and monocytes in bone marrow and antibacterial properties of peritoneal macrophages of mice. Rec Adv RES Res 18: 55, 1978.