

栗田伸一 論文内容の要旨

主 論 文

Dynamics of dendritic cell migration and the subsequent induction of protective immunity in the lung after repeated airway challenges by nontypeable *Haemophilus influenzae* outer membrane protein

(莢膜非保有株インフルエンザ菌外膜蛋白の気道反復接種後の肺内樹状細胞の集積の動態と肺感染防御免疫誘導)

栗田伸一、小山 純、鬼塚正三郎、本村和嗣、渡辺浩、渡辺貴和雄、千馬正敬、Michael A. Apicella、Timothy F. Murphy、米山博之、松島綱治、永武 毅、大石和徳

(Vaccine・24 巻 7 号 5896—5903 2006 年)
[ページ数]

長崎大学大学院医学研究科内科系専攻
(指導教授：有吉紅也教授)

緒 言

慢性閉塞性肺疾患 (COPD) 患者では莢膜非保有株インフルエンザ菌 (NTHi) による繰返し感染がしばしば認められる。しかしながら、同菌の反復感染後の肺内の樹状細胞の動態と抗原特異的適応免疫誘導との関連性に関する研究はない。そこで、本研究では NTHi 外膜蛋白質 (OMP) を正常マウス気管内に反復接種し、その後の肺所属樹状細胞 (DC) の動態と P6 特異的抗体誘導、肺感染防御能との関連性について検討した。

対象と方法

- 1) COPD 患者から分離した病原性 NTHi93-151 株から外膜蛋白 (OMP) を精製し、BALB/c マウスに OMP 20 μ g/mouse を day 0, 7, 14 と 1 週間隔で経気道的に接種後、肺所属リンパ節中の成熟 DC 細胞数 (CD11c⁺/CD86⁺細胞数) を経時的にフローサイトメーターで解析した。
- 2) OMP 接種後の肺所属リンパ節細胞を用いた P6 特異的細胞増殖能を Premix WST-1 キットを用いて測定した。
- 3) OMP 接種前後の脾細胞を用い ELISPOT 法で P6 特異的抗体産生細胞数を定量し、また OMP 接種前後の血清中および BAL 液中の P6 特異的抗体価を ELISA 法にて測定した。
- 4) OMP 接種前後のマウス肺組織を用いて、HE 染色と IgA 産生細胞の免疫組織染色を行った。

5) OMP を 3 回経気管接種後のマウス、PBS を 3 回経気管接種後のマウス、無処理マウスを準備した。これらのマウスに対して NTHi 93-151 株の 1×10^8 cfu/head を経鼻的に投与後、経時的に肺組織中の菌数を定量し、肺内菌クリアランスを検討した。

結 果

- 1) OMP 接種後、肺所属リンパ節中の成熟 DC (CD11c⁺/CD86⁺) 細胞数は投与後 1 日目にピークを認め 7 日目までに減衰した (Fig. 1)。また、OMP の 2 回目、3 回目の気管内接種後に成熟 DC 数の軽度の増加が認められたが、初回接種後 1 日目のピークを上回らず、結果的に反復接種後の成熟 DC 細胞数は全体として減衰した。
- 2) OMP 反復接種後の肺所属リンパ節細胞は P6 濃度依存性に細胞増殖を認め、1 回接種後でも P6 依存的細胞増殖を認めた (Fig. 2A)。また、増殖細胞の T 細胞/B 細胞比から T 細胞主体の細胞増殖であることが確認された (Fig. 2B)。
- 3) OMP 接種後、脾組織中 P6 特異的 IgM 産生細胞は 7 日目には増加し、21 日目まで漸減したが、血清中 P6 特異的 IgM は 7 日目より見られ 21 日目まで検出された。脾組織中 P6 特異的 IgG 産生細胞は 7 日目に出現後 21 日目までに速やかに増加し、血清中 P6 特異的 IgG も同様な動態を示した。一方、BAL 液には OMP 接種後 14 日目、21 日目に P6 特異的 IgG が検出され、P6 特異的 IgA 産生は接種後 21 日目に検出された。
- 4) OMP 接種前に比較して、OMP 接種後 21 日目までに肺組織内気管周囲、血管周囲に著明な単核球細胞浸潤が認められた。また、OMP 接種後 14 日、21 日目には気道上皮粘膜下における IgA 産生細胞の増加が観察された。
- 5) OMP 接種後のマウス肺では、コントロールマウス (PBS 接種、無処理マウス) と比較し、NTHi 経鼻投与 1 時間後、4 時間後には肺内菌数は有意に減少した。投与 8 時間後にはコントロールマウスでは肺内に 10^6 cfu/g 程度の生菌が残存していたが、OMP 接種群では肺内生菌は検出限界以下であった。

考 察

本研究で、OMP 反復経気管接種により、肺所属リンパ節への成熟 DC の集積は初回接種時より減衰することが示された。反復 OMP 接種後の肺所属リンパ節への成熟 DC の集積の抑制にもかかわらず、肺所属リンパ節細胞における P6 特異的 T 細胞増殖は増加し、さらには全身および気道における P6 特異的抗体産生誘導が増強された。OMP 反復接種 21 日目の BAL 液中 P6 特異的 IgA の検出は、肺免疫組織学的検討における OMP 接種後 14 日、21 日後の気道上皮粘膜下の IgA 産生細胞増加の所見によって説明される。これらの OMP 反復接種後に誘導される気道局所の抗原特異的 IgA 産生は、結果的に NTHi 生菌の肺内菌クリアランスが促進することが示唆された。以上の結果より、NTHi の反復経気管接種後に肺所属リンパ節への成熟 DC の集積に引き続く、肺感染防御能誘導のプロセスの一端が明らかとなった。しかしながら、OMP 反復接種後の肺所属リンパ節への成熟 DC の遊走制御機構については、今後のさらなる検討が必要と考えられた。