



Title	アスペルギルス症の免疫病理学的研究 : 4. 免疫と食菌作用
Author(s)	河内, 薫; KAWACHI, Kaoru
Citation	結核の研究, 25-26, 33-36
Issue Date	1967-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/26774
Type	departmental bulletin paper
File Information	25_26_P33-36.pdf



アスペルギルス症の免疫病理学的研究

4. 免疫と食菌作用

河 内 薫

(北海道大学結核研究所病理部 主任 森川和雄)

(昭和41年8月15日受付)

前報¹⁾の実験でアスペルギス(以下、アスペと省略)死菌感作家兎にアスペ死菌をチャレンジすると、肺に著しいアレルギー性病変を生じることがわかった。しかし生菌をチャレンジした場合は、肺に速やかに結節性繁殖炎が形成され、非感作動物より早く治癒軽快するという結果を得た²⁾。

ところが一般には肺アスペ症の発生要因の1つとして、宿主がアスペに対して過敏状態にあるのではないかと推測されている^{3)~5)}。果たして肺内に引きおこされたアレルギー性変化が孢子の感染を容易にしているのだろうか。そこで今回は感作処置による宿主の食菌能に対する影響を細胞性因子及び血清因子の面から検討し、チャレンジ実験における感作動物と非感作動物の間の病変の差について考察を加えた。

1. in vivo での食菌実験

材料及び方法

使用動物：成熟健康家兎4匹

感作方法：A. fumigatus 加熱死菌40mgにAdjuvantを加えて上記家兎2匹の臀部筋肉内に1週間隔で7回注射した。(前報¹⁾参照)

腹腔細胞の採集方法：最終感作後1週目に、対照の正常家兎2匹と共に、各動物の腹腔に1%グリコーゲン生食溶液を50ml宛注入し、4日後にアスペ生孢子浮遊液2mlを腹腔内に感染させた。この孢子液はサブロー寒天培地37℃で2週間培養したものから孢子をかき集め、0.01% Tween 80加生食水で 4×10^8 /mlに調整した。

食菌能の検査法：生孢子を腹腔内に注入後、10, 20, 40, 60, 90分, 2, 3, 5, 7, 9, 24, 48, 72時間目に毛細管ピペットで腹腔内容を吸引して塗抹標本を作り、May-Giemsa染色を行ない、食菌状態を観察した。

成 績

図1に感作兎及び非感作兎における腹腔細胞の食菌率を示した。中央は感染後の経過時間を示す。棒グラフは

腹腔細胞200個を数えた中で菌を食食している細胞数を百分率で表わしたもので、これを食菌率と呼ぶ。

明らかに感作家兎の方が食菌率は高く、特に感染後1時間目あたりまで非感作家兎との間に著しい差が認められた。更に非感作家兎では24時間後まで菌は浄化されずに細胞内に残っていることがわかった。48時間以降は両群共、孢子は全く浄化され食菌率は認められなかった。また孢子の発芽率は両群共、終始みられなかった。線グラフは食細胞100個に対する多核白血球の滲出量である。両群共2~3時間目に最大の滲出量を示しているが非感作群で特に強いのが特徴的である。しかし多核白血球による菌の食菌率は両群共わずかに認められるにすぎなかった。

図2の棒グラフは食食されていない遊離孢子数を表わした。図1の食菌率とは逆に感染後1時間まで非感作群で遙かに多く、ここでも感作動物の食細胞はより早く食菌能を発揮していることが明らかである。しかも、感作群では3時間以降は遊離孢子数は消失してしまうのに、非感作群では24時間まで残っていた。これは図1において非感作群の方が遅くまで食菌率を示した結果と相応して、非感作群では腹腔内の菌の浄化能力が劣っていることがわかる。線グラフは食細胞に食食されている菌の総数を示した。

2. in vitro での食菌実験

材料及び方法

使用動物：成熟家兎4匹

感作方法：家兎2匹を実験1と同じように感作した。

腹腔細胞の採集方法：最終感作後1週間に新たに加えた対照家兎2匹と共に腹腔内に1%グリコーゲン生食溶液50ml宛注入し、4日後に屠殺してヘパリン加Earle氏液でそれぞれ腹腔内を洗滌して、遊離細胞を集めた。

培養条件：

a 感作細胞 3.2×10^7 +抗血清1ml(アスペ加熱死菌感作家兎より得たもので、沈降抗体価は血清稀釈で64倍

陽性)

b 感作細胞 3.2×10^7 + 正常血清 1 ml (成熟健康家兎より得たもの)

c 正常細胞 3.2×10^7 + 抗血清 1 ml

d 正常細胞 3.2×10^7 + 正常血清 1 ml

以上の操作はいずれも無菌的に行なった。これらの試験管にアスペルギウス浮遊液 7.3×10^8 /ml 生食水を 0.2 ml 宛加え、37°C に置き、時々軽く振盪した。10, 30分, 1, 2, 3, 4, 5, 7, 8, 24時間目に塗抹標本を作り、食菌状態を観察した。食菌率については実験1と同じように測定した。

成績

図3は感作細胞に抗血清又は正常血清を加えた場合(a, b)の食菌率を示した。菌の添加後30分から食食

作用が認められたが、抗血清添加による食菌率への影響は殆んどみられなかった。両群共、4~5時間目に食菌率は最高となるが、in vivoの実験の場合と比べて食菌作用の発現はかなり遅れていた。

図4の棒グラフは食食されていない遊離孢子数を示したが、両群の間には殆んど差は認められなかった。線グラフは食細胞に食食されている孢子の総数を示した。24時間目に抗血清添加群では孢子数が著明に減少していた。

図5は正常細胞に抗血清又は正常血清を加えた時の食菌率である。図3の感作細胞群の食菌率と比較すると、食菌率の最高時間は7~24時間目で、かなり遅れる傾向がみられた。抗血清添加による食菌率への影響は認められなかった。

図1 腹腔細胞の食菌能

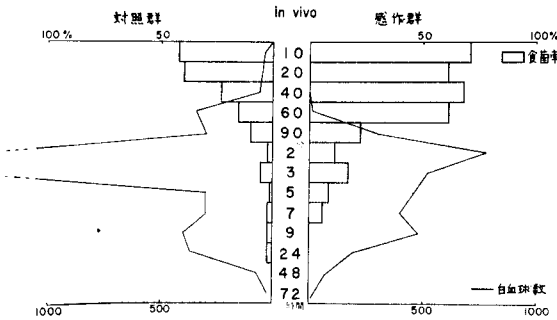


図2 腹腔細胞の食菌能

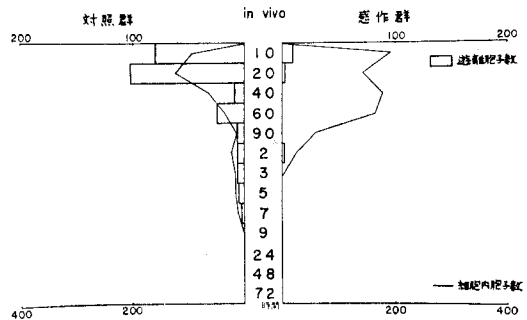


図3 腹腔細胞の食菌能

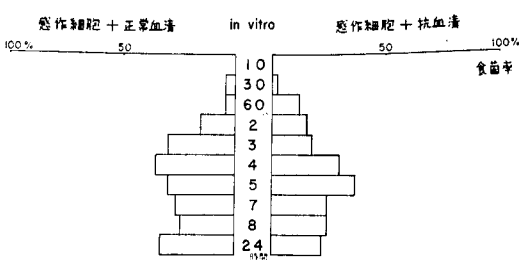


図4 腹腔細胞の食菌能

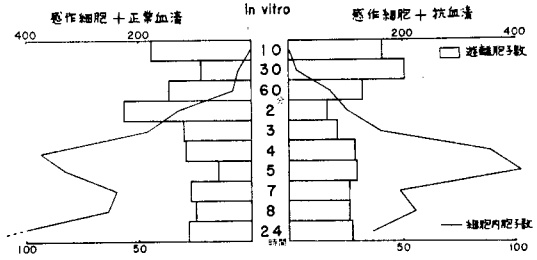


図5 腹腔細胞の食菌能

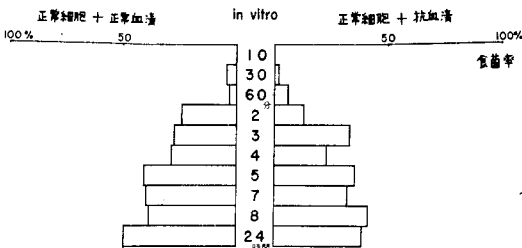


図6 腹腔細胞の食菌能

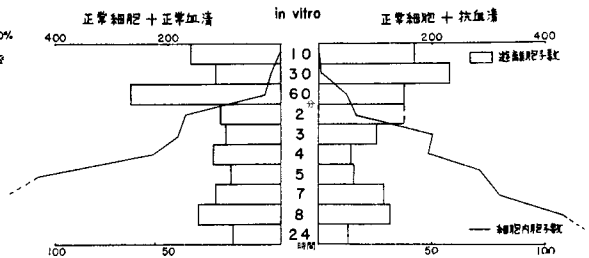


図6の棒グラフは貪食されていない遊離胞子数、また線グラフは食細胞に貪食されている胞子の総数を示した。共に両群の間には差は認められないが、24時間目には細胞内の胞子数は共に非常に増加していた。

考 按

アスペルギルス自体は本来、人に対して病原性は低いと考えられている。従って、その感染成立にあたっては寄生体側の宿主内での発育条件及び宿主側の感受性が大きく作用すると思われる。しかしその後続く発病、病変形成には産生される抗体が少なからず関与するにちがいない。

感染症における食菌作用及び抗体産生は生体の防禦機転の重要な因子と考えられるが、動物は感作処置を受けると、特異的又は非特異的に食細胞の貪食能が亢進する⁶⁾。

今回の *in vivo* での実験で、家兎の腹腔内にアスペルギス胞子を感染させると、感作動物の食細胞は無処置動物の食細胞と比べ、より早く食菌作用を表わし、しかも高い食菌率を示し、菌は速やかに浄化されることがわかった。しかし、この感作による食菌作用は果してアスペルギスに特異的なものか否かは今回の実験では言及出来ない。次に、このように感作による食菌能の亢進に体液成分である血清がどのような役割を果しているかをみるために、アスペルギス感作家兎の腹腔細胞に抗アスペルギス血清又は正常血清を添加して、*in vitro* で食菌状態を観察した。対照として無処置家兎の腹腔細胞についても同じ条件下で観察した。感作細胞、正常細胞共に *in vivo* におけるよりも遅れて食菌作用は発揮されるが、食菌率の最高時間は感作細胞でより速やかに達することがわかった。一方、抗血清の食菌率に及ぼす効果は殆んどなく、細胞自身の食菌能が大きな役割を果していることを物語っている。螺良ら⁷⁾は *in vitro* でアスペルギス抗血清と正常血清についてアスペルギスの発育阻止作用を観察しているが、この間に差を認めていない。更に中野⁸⁾は *in vitro* で末梢白血球の真菌に対する食菌能を観察し、アスペルギスの貪食には抗血清は必ずしも必要ではなく、一方 *Candida albicans* に対して抗血清を加えないと貪食作用はみられないと報告している。このようにアスペルギスに対する抗血清の添加如何にかかわらず白血球に貪食される結果から、アスペルギス感染に対する宿主側の防禦因子の1つとして、正常血清にも静菌的な抗アスペルギス因子が存在するのではないかと考えられ、追求されている^{9)~11)}。その後の研究で、螺良ら⁷⁾は抗アスペルギス血清にアスペルギス加熱死菌を作用させると、アスペルギス発育抑制因子を特異的に吸取出れたので、この血清中に存在する抗ア

スペルギス因子は生体が常在するアスペルギスに対して生じた比較的特異的な自然抗体の1種であると指摘している。更にこの抗アスペルギス因子は耐熱性で、 β -及び γ -グロブリンに存在すると報告されている¹²⁾。

図4において、24時間に貪食されている胞子の総数は感作細胞に抗血清を添加した条件下で著しく少ない。これはあらかじめ抗血清の作用を受けた胞子が食細胞に捕られた場合、より速やかに崩壊消化され易い状態になっているのではないか。しかも感作細胞においてはすでにアスペルギス胞子を分解する酵素が準備されているものと考えられる。このように抗血清の効果は食菌作用に対するよりも、むしろ胞子の表面の状態を変えることで、食細胞による分解消化を促がしていると思われる。

なお *in vivo* の実験で、感作動物、対照動物共に感染後2~3時間目に多核白血球が大量に滲出するが、対照動物で特に著しい。これも感染動物では食細胞の食菌能及び消化能が亢進していることを一面で示していると考えられる。図1、2からわかるように感染動物では菌は速やかに貪食消化されるのに対して、対照動物では菌の貪食浄化が遅れているために非特異的に多核白血球が大量滲出してきたものと考えられる。この事実は生菌チャレンジ実験⁹⁾で、対照動物ではチャレンジ後5日目頃より多核白血球が大量浸潤したことと同じ意味を持つと思われる。食菌能の亢進している感作動物では、菌は速やかに貪食消化され、結節性繁殖炎を形成したのに対して、対照動物では貪食が遅れ、組織中に遊離している菌は増殖し、そのために多核白血球の浸潤が促がされたのである。しかし多核白血球の胞子に対する貪食力は弱く、そのために容易に肺炎が引き起こされたと考える。

実験的に副腎皮質ホルモンの投与によりアスペルギス発症が促進されることが知られているが^{13)~16)}、*in vitro* でも副腎皮質ホルモンの投与でアスペルギスや *C. albicans* に対する白血球の食菌能力及び消化能力が低下する事実も報告されている^{17)~19)}。したがって副腎皮質ホルモンの投与は抗体産生の抑制と共に食細胞の貪食能及び消化能を低下させ、アスペルギス感染を促がしているものと思われる。

以上、アスペルギスに対する *in vivo* 及び *in vitro* の食菌実験で、感作処置により食細胞の食菌能が亢進し、より速やかに活発化し浄化される事実は前報の生菌チャレンジ実験で、感作動物ではより早く繁殖炎の形をとり、治療軽快する結果を一面で支持しているものと考えられる。

結 論

アスペルギス感染症における感作の影響を解明する1方法として、感作処置による宿主の食細胞の食菌能及

び消化能に及ぼす効果を血清因子及び細胞性因子の面から検討した。

1. アスペルギルス感作家兎及び非感作家兎の腹腔内に生孢子を感染させ、時間を追って腹腔内細胞の貪食能を比較した。

2. アスペルギルス感作家兎及び対照家兎の腹腔細胞を試験管内で抗アスペルギルス血清又は正常血清添加の下に培養して経時的に食菌能を観察した。

3. *in vivo*, *in vitro* の実験共に感作により、食菌能は亢進し、*in vivo* では感作動物はより速やかに菌を浄化した。しかし *in vitro* での抗血清の食菌能に対する効果は余り明らかではなかった。感作処置により食細胞の機能が增强された事実は、前報の生菌チャレンジ実験の成績に符合するものである。

文 献

- 1) 河内 薫：結核の研究，**20**, 33, 1964.
- 2) 河内 薫：結核の研究，**23**, **24**, 23, 1965-1966.
- 3) Pepys, J. et al. : Am. Rev. Resp. Dis., **80**, 167, 1959.
- 4) Clayton, Y. M. : Proc. Royal. Soc. Med., **51**, 501, 1958.
- 5) Argabrite, J. W. : Ann. of Allergy, **21**, 583, 1963.
- 6) 中野正義：慈恵医大誌，**74**, 331, 1959.
- 7) 螺良英郎：真菌と真菌症，**5**, 7, 1964.
- 8) 中野安二：真菌と真菌症，**1**, 34, 1960.
- 9) Memmesheimer, A. R., McNall, E. G. et al. : Sabouraudia, **2**, 1, 1, 1962.
- 10) 螺良英郎 他：真菌と真菌症，**3**, 185, 1962.
- 11) 螺良英郎：医学のあゆみ，**55**, 35, 1964.
- 12) 杉岡秀信，螺良英郎：真菌と真菌症，**6**, 281, 1965.
- 13) 平賀洋明：結核の研究，**21**, **22**, 37, 1964-1965.
- 14) Sideransky, H. et al. : Amer. J. Patho., **35**, 169, 1959.
- 15) Kass, E. H. and Finland, M. : Ann. Rev. Microbiol., **7**, 361, 1953.
- 16) Sagi, J. and Lapis, K. : Acta Microb. Hung., **3**, 337, 1956.
- 17) 岩田和夫 他：日細菌誌，**16**, 21, 210, 1961.
- 18) 下村重雄：日病会誌，**48**, 514, 1959.
- 19) 西野入尚一 他：Chemotherapy, **7**, 277, 1959.