

氏名(本籍)	浅井鉄夫(愛知県)
学位の種類	博士(獣医学)
学位記番号	獣医博乙第16号
学位授与年月日	平成9年9月26日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位論文題目	Studies on Local Immune Response in Airway of Pigs Infected with <i>Mycoplasma hyopneumoniae</i>
審査委員	主査 岐阜大学教授 源 宣之 副査 帯広畜産大学教授 白 幡 敏 一 副査 岩手大学教授 岡 田 幸 助 副査 東京農工大学教授 小 川 益 男 副査 岐阜大学教授 平 井 克 哉

#### 論文の内容の要旨

豚マイコプラズマ肺炎(MPS)は、肺の気管支および血管周囲へのリンパ球をはじめとする単核細胞の浸潤とリンパ濾胞の過形成を特徴とする豚の慢性肺炎である。このようなマイコプラズマ感染による慢性炎症反応の過程には、さまざまな炎症性サイトカインやプロスタグランジン(PG)などのメディエーター(免疫情報伝達物質)が産生され、病態形成に関与していると考えられている。著者は、*Mycoplasma (M) hyopneumoniae* 実験感染豚から気管支肺胞洗浄液(BALF)を回収し、BALF中のこれらのメディエーターを測定することにより、MPSにおける気道内の免疫応答の解析を目的として本研究を実施した。

MPSにおける炎症性サイトカインと肺病変の関係は、いまだ明らかにされていない。そこで、*M. hyopneumoniae* 実験感染豚から回収したBALF中の腫瘍壊死因子(TNF- $\alpha$ )、インターロイキン(IL)-1およびIL-6の測定を実施した。8週齢のプライマリ-SPF豚に *M. hyopneumoniae* を実験感染後、4週目に剖検しBALFを回収した。TNF- $\alpha$ 、IL-1およびIL-6の測定は、それぞれ、WEHI164、D10.G4.1および7TD1細胞を用いたバイオアッセイにより行った。病理組織学的には、すべての実験感染豚で細気管支周囲および血管周囲結合織へのリンパ球の浸潤が認められた。TNF- $\alpha$ 、IL-1およびIL-6は、肉眼病変、気管内への好中球の浸潤およびリンパ濾胞の過形成が認められた群において、それぞれ有意に上昇した。BALF中のTNF- $\alpha$ 、IL-1およびIL-6の上昇は、MPSの病変形成の程度とほぼ平行しており、これらのメディエーターは病変形成およびその拡大に関与していると考えられた。

次に、慢性呼吸器病の一つであるMPSにおける気道内のサイトカインの動態を調べる目的で、*M. hyopneumoniae* 実験感染豚から経時的にBALFを回収し、TNF- $\alpha$ 、IL-1およびIL-6の測定を行った。8週齢のプライマリ-SPF豚に *M. hyopneumoniae* を実験感染さ

せ、接種前と接種後1週間隔で気管支ファイバースコープを用いてBALFを回収した。BALF中の細胞は、接種前と接種後1週目では大部分が肺胞マクロファージで構成されていたが、2週目からは好中球とリンパ球の割合が増加した。感染豚のBALF中のTNF- $\alpha$ 、IL-1およびIL-6の産生は、2週目から認められ、4週目まで持続的し、それらが肺胞内への好中球やリンパ球の浸潤に関与していた。持続的に気道内に存在するこれらの炎症性サイトカインは、すべてマクロファージおよびリンパ球活性化作用を有しており、活性化マクロファージおよびリンパ球の浸潤を主徴とする本病の病変形成に関与していることが示唆された。

好中球のケミルミネッセンス(CL)活性は、殺菌作用を反映し、PGE2は好中球のCL活性を抑制することが知られている。そこで、感染後に気道内に浸潤する好中球のCL活性とPGE2濃度との関連を調べる目的で、*M. hyopneumoniae* 実験感染豚のBALFによる好中球のCL活性とBALF中のPGE2濃度を測定した。*M. hyopneumoniae* 感染4週目の豚から採取したBALFは、非感染豚からのBALFで感作した場合に比べて有意に好中球のCL活性を低下させた。BALF中のPGE2濃度とCL活性について比較したところ、PGE2の上昇に伴いCL活性の低下が認められ、両者の間に強い負の相関が認められた。また、BALF中のPGE2は、病変の程度に関係なく、すべての実験感染豚で上昇していた。このことから、気道内に放出されるPGE2の上昇にともなう好中球のCL活性の抑制が、*M. hyopneumoniae* 感染における易感染化の一因ではないかと推察された。

以上、MPSにおける気道内の炎症性メディエーターの病原性との関わりについて検討した。気道内のTNF- $\alpha$ 、IL-1およびIL-6は、*M. hyopneumoniae* 感染における肺炎病変が形成される時期に一致して上昇し、肺病変を保有する豚で高レベルであったことから、持続的に産生されるサイトカインの上昇がマイコプラズマの病原性に関与していることが示唆された。このことから、BALF中のTNF- $\alpha$ 、IL-1およびIL-6を測定することにより、MPSによる病態の生前診断に利用できると考えられた。一方、気道内のPGE2の上昇は、病変部位に浸潤する好中球の殺菌能を低下させ、他の細菌性肺炎との混合感染した場合の病態を悪化させる一因として考えられた。したがって、感染豚に対するPG合成阻害剤の投与は、気道内の好中球の機能低下の一部を改善し、二次感染を軽減する効果が期待できると推察された。

## 審 査 結 果 の 要 旨

申請者 浅井鉄夫君の学位論文は、*Mycoplasma (M) hyopneumoniae* 実験感染豚の気管支肺胞洗浄液(BALF)中の炎症性サイトカインやプロスタグランジン(PG)などのメディエーター(免疫情報伝達物質)を測定することにより、豚マイコプラズマ肺炎(MPS)における気道内の免疫応答を解析した結果をまとめたものである。

氏はまず*M. hyopneumoniae* 実験感染豚におけるBALF中の種々の炎症性サイトカインの検出方法を確立し、それらの経時的変化を調べた。次いで、実験感染豚におけるBALF中の好中球ケミルミネッセンス活性抑制作用物質とプロスタグランジンE2濃度との関連性を追求し、MPSにおける混合感染による病態悪化の一因として気道内に放出されるPGE2の関与を推定している。得られた成績は次の3つに大別することが出来る。

### 1、*M. hyopneumoniae* 実験感染豚におけるBALF中の炎症性サイトカインの検出

*M. hyopneumoniae* 実験感染豚から回収したBALF中の腫瘍壊死因子(TNF- $\alpha$ )、インターロイキン1(IL-1)およびIL-6の測定を実施した。8週齢のプライマリ-SPF豚に*M. hyopneumoniae*を実験感染後、4週目に剖検しBALFを回収した。TNF- $\alpha$ 、IL-1およびIL-6の測定は、それぞれ、WEHI164、D10.G4.1および7TD1細胞を用いたバイオアッセイにより行った。病理組織学的には、すべての実験感染豚で細気管支周囲および血管周囲結合織へのリンパ球の浸潤が認められた。TNF- $\alpha$ 、IL-1およびIL-6は、肉眼病変、気管内への好中球の浸潤、リンパ瀝胞の過形成が認められた群において、それぞれ有意に上昇した。BALF中のTNF- $\alpha$ 、IL-1およびIL-6の上昇は、MPSの病変形成の程度とほぼ平行しており、これらのメディエーターは病変形成およびその拡大に関与していると考えられた。

### 2、*M. hyopneumoniae* 実験感染豚におけるBALF中の炎症性サイトカインの経時的推移

8週齢のプライマリ-SPF豚に*M. hyopneumoniae*を実験感染させ、接種前と接種後1週間隔で気管支ファイバースコープを用いてBALFを回収した。BALF中の細胞は、接種前と接種後1週目では大部分が肺胞マクロファージで構成されていたが、2週目からは好中球とリンパ球の割合が増加した。感染豚のBALF中のTNF- $\alpha$ 、IL-1およびIL-6の産生は、2週目から認められ、4週目まで持続的し、それらが肺胞内への好中球やリンパ球の浸潤に関与していた。持続的に気道内に存在するこれらの炎症性サイトカインは、すべてマクロファージおよびリンパ球活性化作用を有しており、活性化マクロファージおよびリンパ球の浸潤を主徴とする本病の病変形成に関与していることが示唆された。

### 3、*M. hyopneumoniae* 実験感染豚におけるBALF中の好中球ケミルミネセンス活性抑制作用物質とプロスタグランジンE2濃度との関連

好中球のケミルミネセンス(CL)活性は、殺菌作用を反映し、PGE2は好中球のCL活性を抑制することが知られている。そこで、感染後に気道内に浸潤する好中球のCL活性とPGE2濃度との関連を調べる目的で、*M. hyopneumoniae* 実験感染豚のBALFによる好中球のCL活性とBALF中のPGE2濃度を測定した。*M. hyopneumoniae* 感染4週目の豚から採取したBALFは、非感染豚からのBALFで感作した場合に比べて有意に好中球のCL活性を低下させた。BALF中のPGE2濃度とCL活性について比較したところ、PGE2の上昇に伴いCL活性の低下が認められ、両者の間に強い負の相関が認められた。また、BALF中のPGE2は、病変の程度に関係なく、すべての実験感染豚で上昇していた。このことから、気道内に放出されるPGE2の上昇にともなう好中球のCL活性の抑制が、*M. hyopneumoniae* 感染における易感染化の一因ではないかと推察された。

これらの研究をとおして、申請者はMPSにおける気道内の炎症性メディエーターの病原性との関わりについて検討した。これらの情報は、今後MPSはもとより種々のマイ

コプラズマ感染症の予防治療を研究する上で極めて有用な知見を提供しているものと考えられる。

以上について、審査委員全員一致で本論分が岐阜大学大学院連合獣医学研究科の学位論文として十分価値有るものと認めた。