



Interaction of polymorphonuclear leukocytes with immune complexes trapped in joint collagenous tissues

鵜飼, 和浩

(Degree)

博士 (医学)

(Date of Degree)

1979-03-31

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲0273

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1000273>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



氏名・（本籍）	う 鶉 飼 和 浩 （兵庫 県）
学 位 の 種 類	医 学 博 士
学 位 記 番 号	医博い第 266 号
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 1 項該当
学位授与の日付	昭和 5 4 年 3 月 3 1 日
学位論文題目	INTERACTION OF POLYMORPHONUCLEAR LEUKOCYTES WITH IMMUNE COMPLEXES TRAPPED IN JOINT COLLAGENOUS TISSUES 関節膠原組織内沈着免疫複合体と多核白血球の相互作用
審 査 委 員	主 査 教 授 杉 山 武 敏 教 授 広 畑 和 志 教 授 藤 田 拓 男

論 文 内 容 の 要 旨

はじめに

Antigen induced arthritisは可溶性抗原の感作家兎関節腔内への投与により作る事が出来る。それは慢性経過をとる事、免疫学的に誘発される事及び滑膜炎の組織像が人間の慢性関節リウマチ（RA）に類似する事等からRAの動物モデルとしてよく研究利用されている。又同時に関節膠原組織内には抗原と抗体が免疫複合体（IC）の形で沈着し、長期間存続する事が明らかにされている。多核白血球（好中球）は実験的にICによって起された病変及び人間のRA等の組織障害の重要なmediatorと考えられている。In vitroにおいて、溶液中のICは好中球と反応後貪食され、好中球より水解酵素の放出を促す事、又人工膜に付着したICは好中球との反応後貪食される事なしに好中球より水解酵素の放出を促す事（frustrated phagocytosis）が報告されている。本研究は以上の様な事実に基づきAntigen induced arthritisを起した家兎関節膠原組織内のICと好中球との相互作用を主としてin vitroで調べた。

実験方法

Bovine serum albumin（BSA）感作家兎11匹の右膝関節内にBSA（2.5mg）を投与BSA induced arthritisを作った。対照群としては左膝関節内に生理的食塩水（生食）又はMono-sodium urate（MSU, 15mg）を投与した。投与1～2週間後、関節内より軟骨、メニスクスを取り出し、細切後正常家兎の末梢血又はグリコーゲン投与による炎症性腹腔内より分離された好中球（ $5-10 \times 10^7/\text{ml}$ ）とRPMI 1640（10%新鮮家兎血清又は56℃30分間熱処理後家兎血清を含む）内で1時間、in vitroで反応、充分に洗滌、固定後光顕、電顕、電顕酵素抗体法による観察を行っ

た。

結 果

好中球と *in vitro* での反応後、軟骨及びメニスクス表面に付着した好中球を HE 染色にて数えた。その平均値は軟骨では BSA 投与群で 19.7 好中球 / 100 μm , MSU 群 4.2, 生食群 0.7 ; メニスクスでは BSA 群 20.9, MSU 群 3.2, 生食群 0.9 と軟骨, メニスクス共に BSA 群で著明な好中球の付着が観察された。なお培養液中の補体の有無は好中球の付着数に影響を及ぼさなかった。電顕的観察では軟骨, メニスクス共に好中球との *in vitro* の反応前には、まれに好中球が表面及び組織内に観察されるにすぎなかった。1 時間 *in vitro* で反応後、BSA 投与群では多数の突起を持つ好中球が軟骨, メニスクス表面に付着し、又組織内への浸潤像も見られた。好中球内には多くの脱顆粒像が見られ、特に浸潤した好中球で著明である。軟骨, メニスクス共にびらんが著明で、しばしば表面にフィブリン様物質の沈着が観察された。表層部基質内には電子濃染性無構造物質が多数見られ、これを組織内に浸潤した好中球が貪食せんとする像が観察された。なおこの無構造物質に家兎免疫グロブリンが含まれる事はペルオキシダーゼ標識抗家兎免疫グロブリン法により証明された。生食投与群では好中球はまれに組織表面に非特異的に付着しているにすぎず、組織内への浸潤及び好中球の脱顆粒像も観察されなかった。軟骨, メニスクス表面は平滑で膠原線維の乱れも見られなかった、又 BSA 投与群で見られた組織内無構造物質及び免疫グロブリン沈着も認められなかった。実験的痛風モデルとして用いた MSU 投与群では中等度の組織表面のびらんが認められ、又一部の症例で中等度の好中球の付着も観察されたが、好中球の浸潤像は見られず、組織内の無構造物質も認められなかった。

考察ならびに総括

本研究にて BSA induced arthritis を起した家兎の関節膠原組織 (軟骨, メニスクス) に *in vitro* で特異的に好中球が付着、浸潤する像が観察された。組織内における家兎免疫グロブリンの沈着はこの場合そこに IC が沈着している事を示唆するものであり、好中球との相互作用の要因として考えられる事は、関節組織内に沈着した IC が同組織内にやはり存在する補体を活性化し、それにより生じた chemotactic factor により、好中球が同組織に向って遊走を起し、付着浸潤後、組織表層部に沈着した IC と遭遇、脱顆粒として見られるごとく水解酵素の放出を行ったものと考えられる。培養液中に補体がなくともこの現象が見られる事は、*in vivo* で抗原投与群の関節内で生じた chemotactic factor が *in vitro* における好中球との反応時にもまだ組織中で活性を保っているものと考えられる。RA 軟骨及び antigen induced arthritis を起こした家兎の軟骨及びメニスクスの組織表面には *in vitro* で見られた様な著明な好中球の付着は認められなかった。その理由として考えられる事は炎症性滑液中に強い chemotactic factor が存在する事が報告されており、これが *in vivo* では好中球の軟骨又はメニスクスへの遊走を抑制するのではないかと考えられる。又炎症関節腔内の好中球の平均寿命が 4 時間と短いために *in vivo* で関節膠原組織への好中球の付着、浸潤像が捕えにくい可能性も無視出来ない。

RA 患者の関節組織中に IC が存在する事が報告されており、もしも frustrated phagocytosis 及びその後続く水解酵素の放出が *in vivo* でも起こるならば、この機序は RA 患者の関節組

織内で見られる破壊的病変の重要な役割を演ずるものと考えられる

論文審査の結果の要旨

近年関節リウマチの発生機序に関して抗原抗体複合体（免疫複合体）の役割が重要と考えられ、これを支持する種々の証拠が得られて居る。すなわち、可溶性抗原で感作した動物の関節腔内に抗原を注入することによって慢性関節リウマチと同様の慢性化する関節炎を人工的に誘発することが出来ること、免疫複合体の関節内への注入のみによっても関節炎を誘発することが出来ること等が示され、一方、関節内には免疫複合体を貪食した好中球が多数出現することが明らかにされ、これらの所見から免疫複合体が関節内に出現した場合には、好中球の遊走が刺激され、これを貪食し、その結果、二次的に好中球から種々の起炎物質が放出され、滑膜炎が誘発され、持続するというリウマチの新しい概念が確立されてきた。

本研究者は、このようなリウマチ研究の現況にあって、関節の結合組織成分である軟骨やメニスクス中に存在する免疫複合体に好中球がどのように反応するかを生体外で実験し、その結果を電子顕微鏡で詳細に観察した。

まず牛血清アルブミンで感作した家兎の関節中に同蛋白を注入して関節炎を誘発し、ついで関節内から軟骨とメニスクスをとり出し、培養液の中で好中球と接触させその動きを1時間後にとらえた。

その結果、免疫複合体の存在しない関節組織を用いた対照では好中球の動きは殆んどなかったが免疫複合体が組織内に存在する場合には、好中球はまず表層に付着したあと組織深部まで突起をのばし免疫複合体を貪食する姿を多数とらえることが出来た。また、このさい、貪食にきわめて積極的な好中球は一方で脱顆粒を来すことが示され、水解酵素を周囲に放出することが明らかになり、これが関節リウマチの新しい起炎因子にない炎症が持続する機構の一つであることが示された。

以上のように本研究は、関節組織中に免疫複合体が生じた場合、これに向かって好中球が活発に接近し、反応して炎症を変化させる機構について明快な電顕レベルでの証拠を提示したものであり、リウマチ研究史上新しい知見を加えたものであり、本研究者は十分に医学博士の学位を得るに値すると考えた。