



Title	Inhibitory Role of Neutrophils on Influenza Virus Multiplication in the Lungs of Mice
Author(s)	藤澤, 治男
Citation	大阪大学, 2002, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/43134
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏 名	ふじ 藤 さわ 澤 はる 治 お 男
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 6 6 7 2 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 14 年 3 月 8 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 2 項該当
学 位 論 文 名	Inhibitory Role of Neutrophils on Influenza Virus Multiplication in the Lungs of Mice (マウスのインフルエンザウイルス肺内感染に対する生体防御機構における好中球の役割)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 生 田 和 良 (副査) 教 授 松 浦 善 治 教 授 塩 田 達 雄

論 文 内 容 の 要 旨

【目的】

感染に対する生体防御機構の中で細胞性の effector 機構が重要な役割を演じるためには、1) effector 細胞数の増加、2) effector 細胞の感染部位への集積、3) effector 細胞の機能的活性化、という免疫応答プロセスが必要と考えられる。しかし、これらの考えに基づいて、ウイルス感染に対する好中球の防御的役割を動物モデルを用いて直接明らかにした成績はほとんどない。そこで、本研究では、インフルエンザウイルスをモデルとしてこの点を明らかにするために、担癌マウスにしばしば認められる好中球増多状態と chemotactic peptide の一つであり、好中球機能の強力な activator でもある fMLP を用い、感染局所への好中球の集積と機能的活性化をもたらす事で、好中球のウイルス感染に対する effector 細胞としての重要性について検討した。また、その作用機構の一つとして、好中球が産生し、抗菌活性や抗腫瘍活性が知られている蛋白質の一つである calprotectin の関与についても検討を加えた。

【方法】

ICR、BALB/c 及び C57BL/6 マウスに各々 S-180、Meth A 及び LLC 細胞を皮下接種し各担癌マウスを作製した。経時的に末梢血中有核細胞数、白血球分類を計測した。腫瘍接種後 3 週目に、インフルエンザウイルス (IF) A/PR/8/34 (H1N1) を経鼻感染し、経時的に肺ホモジネート中のウイルス感染価を MDCK 細胞を用いた plaque assay により測定した。In vitro における好中球のウイルス増殖阻害効果を調べるために、単層培養した MDCK 細胞に IF を感染し 4 から 6 時間培養後、好中球浮遊液を加えさらに培養を 1 から 2 日間続けた。fMLP 及び ZnSO₄ は、好中球の添加後直ちに加えた。培養後、culture plate ごと凍結し融解後、細胞及び培養液中のウイルス感染価を plaque assay により測定した。好中球の遊走能の測定は、Casein-AM でラベルした好中球を 24-well culture plate に装着した HTS FluoroBlok Inserts 内に加え、RPMI1640 (10% FBS)、正常及び担癌マウスの血清を各々 Insert と well の両方に添加し、最後に fMLP を chemoattractant として各 well に加え 90 分間培養後、Insert membrane を遊走通過した細胞の蛍光を Fluoroscanner II を用いて検出する事により行った。

【成績】

- 1) 腫瘍接種後 3 週目には、3 系統全ての担癌マウスに約 30 から 100 倍の好中球増多状態が観察された。
- 2) 肺におけるウイルス増殖は、担癌 ICR 及び BALB/c マウスでは、感染初期ならびに後期で有意に抑制されていたが、担癌 C57BL/6 マウスでは、この抑制は認められなかった。

- 3) 組織学的観察から、担癌 C57BL/6 マウスでは肺への好中球浸潤の低下が認められたが、ウイルス感染後 fMLP の鼻腔内投与により、肺浸潤が著しく増強される事が確認された。
- 4) 正常及び担癌 C57BL/6 マウスに、ウイルス感染後 fMLP を鼻腔内投与し、翌日の肺内ウイルス量を比較したところ明らかな低下が見られた。正常 C57BL/6 マウスではこのウイルス量の低下はその後とも維持されていたが、担癌 C57BL/6 マウスでは逆にウイルス量の増加が見られた。
- 5) 担癌 C57BL/6 マウス好中球の fMLP により誘導される遊走能は、他の 2 系統の担癌マウスの遊走能に比べ低下していた。
- 6) 正常及び担癌マウス好中球の *in vitro* における IF 増殖阻害効果は、同程度を示し fMLP の培養系への添加により増強された。また、正常 ICR マウスの好中球による *in vitro* IF 増殖阻害効果は、ZnSO₄ の添加によりほぼ完全に消失した。
- 7) 担癌マウスでは、中和抗体の産生及び肺泡マクロファージの貪食能は何れも低下しており、IF に対する血清中の nonspecific inhibitor も正常マウスに比べ同程度か、又は低値を示した。

【総括】

IF 感染に対する防御機構の一つとして、好中球が effector 細胞の役割を有し、そのウイルス感染部位における集積と機能的活性化が、ウイルスの排除に効果的に働いている事が明らかになった。また、好中球による IF 増殖阻害効果の機序の一つとして、好中球の産生する calprotectin が関与している可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

ウイルス感染防御における特異的免疫機構については詳細な検討が行われているが、非特異的免疫機構、特に好中球が果たす effector 細胞としての役割については不明の点が多い。

本研究では、インフルエンザウイルス感染防御機構における好中球の役割について、マウスをモデルに解析を行った。インフルエンザウイルス感染マウスにおいて、好中球が effector 機能を発揮するためには、1) effector 細胞数の増加、2) effector 細胞の感染部位への集積、3) effector 細胞の機能的活性化、の 3 つの免疫応答プロセスが重要と考えられる。そこで、この条件を充すために好中球増多状態にある 3 系統の担癌マウスを用いて検討した。その結果、2 系統のマウスにおいて有意な肺内ウイルス感染価の抑制が認められた。この抑制には、好中球の肺への遊走能との相関性が認められた。肺内ウイルス感染価の抑制が認められなかった 1 系統のマウスでは、この好中球の肺への遊走能が低い事が原因と考えられた。そこで、好中球機能の activator であり chemotactic peptide でもある fMLP を投与したところ、肺内ウイルス感染価の明らかな抑制が認められた。

本研究の成果は、ウイルス血症を伴うようなウイルス感染に対する効果的な防御機構としての好中球の役割を明らかにしたものであり、今後の急性ウイルス感染症への対応において重要な知見を提供するものと思われ、博士（医学）の学位授与に値すると思われる。