

滲出性中耳炎患者の鼻咽腔インフルエンザ菌に対する アデノイドの免疫応答

坂本 菜穂子 黒野 祐一 虻川内 英臣
重見 英男 茂木 五郎
大分医科大学耳鼻咽喉科

Immune Responses in Adenoids for Nasopharyngeal Colonization by Nontypeable *Haemophilus influenzae* in the patients of Otitis Media with Effusion

Naoko SAKAMOTO, Yuichi KURONO, Hideomi KERAKAWAUCHI, Hideo SHIGEMI,
Goro MOGI
Dept. of Otolaryngology, Oita Medical University

Immune responses in the adenoids against nontypeable *Haemophilus influenzae* (NTHi) in the nasopharynx were investigated in 21 patients with otitis media with effusion (OME) who underwent adenoidectomy. The concentration of NTHi in nasopharyngeal secretions (NS) was significantly correlated with that in the adenoids. P6, one of the outer membranes of NTHi was used to determine the immune response against NTHi. Polyclonal IgG producing cells and P6-specific IgM producing cells were the dominant in the adenoids. The number of P6-specific IgA producing cells in the adenoids was increased in the cases having high anti-P6 IgA antibody titers in NS. Anti-P6 IgA titers in NS was lower in the cases having NTHi in NS, though there was no significant difference. A significant negative correlation was observed between the number of P6-specific IgA producing cells and the number of NTHi in the adenoids. These results suggest that adenoids play an important role in the colonization of NTHi and immune responses in the nasopharynx in the patients with OME.

緒 言

小児滲出性中耳炎 (OME) の主たる起炎菌のひとつである nontypeable *Haemophilus influenzae* (NTHi) は、急性炎症が消退した中耳貯留液でも約 20% と高率に検出される¹⁾。一方、アデノイドは、その組織中から中耳炎の起炎菌が検出されると同時に、様々な免疫担当細

胞が集簇していることが知られている。我々は、OME 患者における鼻咽腔の NTHi に対するアデノイドの役割について、外膜蛋白 P6 を用いて検討を行った。

実験材料および方法

対象：OME を合併したアデノイド肥大に対しアデノイド切除を行った、2 歳から 13 歳 (平均

4.4歳)の男児16例, 女児5例の計21例を対象とした。

材料:

1) アデノイド組織: 組織の一部を取り, 細切し, 定量的細菌学的検査を行った。残りの組織は細切しメッシュにて濾過後, Percoll密度勾配法により単核球を分離し, RPMI 1640培地中に 10^7 個/mlに調整した。

2) 鼻咽腔液: Jun-Tym Tapにて鼻咽腔液を採取し重量を計測した後, PBSにて10倍希釈した。

実験方法:

1) 細菌培養法: PBSに懸濁したアデノイド組織および鼻咽腔液は, チョコレート寒天培地に播種し24時間培養後, NTHiを同定し, そのコロニー数を算定した。

2) 外膜蛋白P6の精製: Murphyら²⁾の方法に準じて, NTHi strain 76よりP6を精製した。

3) 抗P6特異的抗体活性測定: ELISA法を用いて鼻咽腔液ならびに血清中の抗P6特異的IgM, IgGおよびIgA抗体価を測定した。

4) 抗体産生細胞数の測定: ELISPOT法を用いてアデノイド単核細胞群の全およびP6特異的抗体産生細胞数(SFC/ 10^6 Cells)を算定した。

結 果

アデノイドおよび鼻咽腔液中からNTHiを検出した症例では, アデノイドおよび鼻咽腔液中のNTHi菌数は有意な相関を示した($r=0.446$, $p=0.042$)。

アデノイドにおける全抗体産生細胞数は, IgG産生細胞数が, IgM, IgA産生細胞数の約4倍と最も多く認められた。P6特異的抗体産生細胞数では, IgM産生細胞数が最も多かった(Table 1)。

アデノイドのIgA産生細胞数が増加すると, 鼻咽腔液中のP6特異的IgA活性が上昇する傾向が認められたが, 有意な相関ではなかった。P6特異的IgG産生細胞数は, P6特異的IgG活性と有意な相関を示した($r=0.019$, $p=$

0.0013)。アデノイドのNTHi菌数とアデノイドのP6特異的IgA産生細胞数は有意な逆相関を示した($r=-0.45$, $p=0.048$)。P6特異的IgG抗体産生細胞数が増加するとNTHi菌数が低下する傾向が認められた(Fig. 1)。

鼻咽腔液中の抗P6特異抗体活性を鼻咽腔液中のNTHi陽性例と陰性例を比較すると, 陰性例では陽性例よりも抗P6活性が高い傾向を示した。

考 察

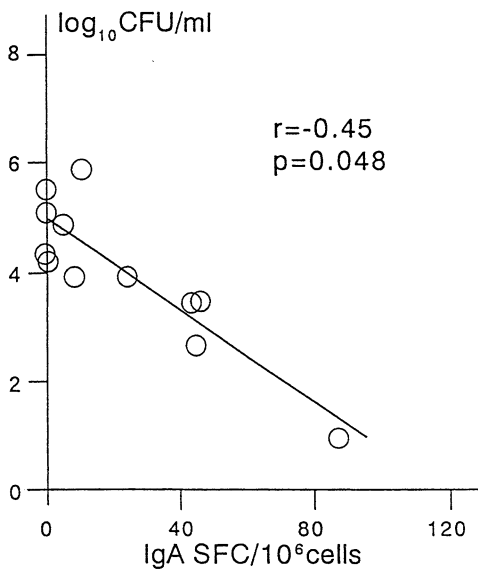
中耳腔の細菌感染が, 急性炎症のみならず, 長期にわたり貯留液をもたらすOMEを引き起こすメカニズムとして, 鼻咽腔におけるNTHiに対する免疫応答の誘導に鼻咽腔へのNTHiの定着が関わっていること^{3,4)}, さらに鼻咽腔上皮へのNTHi付着がOMEの発症に関与し, それが鼻咽腔液中の分泌型IgAにより制御されていることが示されている。NTHiは反復性中耳炎患者のみならず, 中耳炎の既往のない健康な小児の鼻咽腔やアデノイド組織内からも高率に検出され^{3,5)}, 一方, アデノイドは, 上気道における免疫担当組織であり, 上咽頭の常在菌と考えられるNTHiがその病原性を発現し, 局所の炎症を引き起こすには, アデノイドを中心とした上気道粘膜における免疫応答の制御が何らかの関わりを持つと考えられる。また, P6は, NTHiの外膜蛋白のうち, 分子量16,000 daltonで, 最も抗原性が安定しかつ全てのstrainで共通に維持されているものであり, 現在P6のNTHiに対するワクチンとしての可能性が重視されている^{4,6)}。

本研究では, OME患者の鼻咽腔液中およびアデノイドのNTHi数は, 正の相関を示し, 鼻咽腔とアデノイドへのNTHiの定着が相互に関係することが示された。さらに, 有為な相関はなかったが, IgA産生細胞数が増加すると, 鼻咽腔液中の抗P6特異抗体活性は増加する傾向を認めた。また, 鼻咽腔液中の抗P6特異抗体活性は, 鼻咽腔液中のNTHi陰性例では陽性

Table 1 The numbers of P6-specific and polyclonal immunoglobulin producing cells in the adenoids ; SFC : spot forming cells.

	SFC/10 ⁶ cells mean ± S.E. (N=21)		
	IgM	IgG	IgA
P6-specific	184 ± 97	20.3 ± 6.8	13.7 ± 3.9
Polyclonal	2737 ± 920	11879 ± 3376	2685 ± 862

NTHi in Adenoids



NTHi in Adenoids

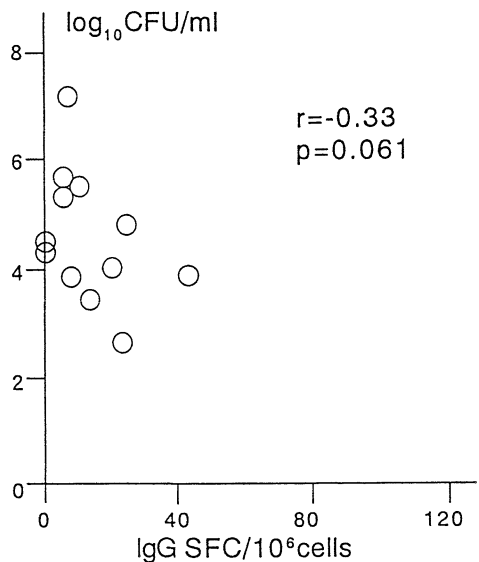


Fig.1 The numbers of P6-specific immunoglobulon producing cells in the adenoids and the concentration of NTHi in the adenoids ; CFU : colony forming unit. SFC : spot forming cells.

例に比べ高い傾向を示した。一方、アデノイド組織内の NTHi 数は、IgA 産生細胞数と負の相関を示し、アデノイド組織内の NTHi は、アデノイドにおける IgA 抗体産生と何らかの関係があることが示唆された。従って、アデノイドの IgA 産生はアデノイドへの NTHi の定着を調節し、同時に鼻咽腔液中の抗 P6 抗体活性に何らかの影響を与えていると推察される。

ま と め

OME 患者において、アデノイドにおける IgA 免疫応答が、鼻咽腔の NTHi の定着に関与していることが示唆された。年齢的な要因を含め、さらに症例を重ね検討する必要があると考える。

文 献

- 1) Kurono Y, Tomonaga K, and Mogi G. : *Staphy-*

- lococcus epidermis* and *Staphylococcus aureus* in otitis media with effusion, Arch Otolaryngol Head and Neck Surg, 114 : 1262-1265, 1988.
- 2) Murphy TF, Bartos LC, Campagnari AM, Nelson MB, Dudas KC and Apicccella MA. : Antigenic characterization of the P6 protein of nontypeable *Haemophilus influenzae*, Infect Immun, 54 : 774-779, 1986.
- 3) Harabuchi Y, Faden H, Yamanaka N, Duffy L, Wolf J and Krystofik D. : Nasopharyngeal colonization with Nontypeable *Haemophilus influenzae* and Recurrent Otitis Media, J Infect Dis, 170 : 862-866, 1994.
- 4) Kurono Y, Shigemi H, Kodama S and Mogi G. : The role of Adenoids in Nasopharyngeal colonization with Nontypeable *Haemophilus influenzae*, Acta Otolaryngol (Stockh) Suppl, 523 : 147-149, 1995.
- 5) Forsgren J, Samuelson A, Lindberg A and Rynnel-Dagoo B. : Quantitative Bacterial Culture from Adenoid Lymphatic Tissue with Special Reference to *Haemophilus influenzae* Age-associated Changes, Acta Otolaryngol (Stockh), 113 : 668-672, 1993.
- 6) Yamanaka N and Faden H. Antibody response to outer membrane protein of nontypeable *Haemophilus influenzae* in Otitis-prone children, J Pediatr, 122 : 212-218, 1993.

（連絡先：坂本菜穂子
〒879-55 大分県大分郡挾間町医大ヶ丘 1-1
大分医科大学耳鼻咽喉科）