

---

---

**会長指名講演****上気道感染症と粘膜免疫**

黒野 祐一

鹿児島大学医学部耳鼻咽喉科

鈴木 正志 茂木 五郎

大分医科大学耳鼻咽喉科

**Upper Respiratory Tract Infection and Mucosal Immunity**

Yuichi KURONO

Department of Otolaryngology, Faculty of Medicine, Kagoshima University

Masashi SUZUKI, Goro MOGI

Department of Otolaryngology, Oita Medical University

The mucosa lining the entry of the upper respiratory tract is always contact with a variety of inhaled microbial antigens, such as *Streptococcus pneumoniae* and *Haemophilus influenzae*. Those bacteria colonize in the nasopharynx and cause otitis media by ascending into the middle ear through the eustachian tube. Our previous study demonstrated that the adherence of *H. influenzae* and *S. pneumoniae* to nasopharyngeal epithelial cells was significantly greater in children with otitis media with effusion than in control children. Further, nasopharyngeal secretion having secretory IgA against *H. influenzae* or *S. pneumoniae* decreased the adherence of those bacteria to nasopharyngeal epithelial cells. Those results suggest that nasopharyngeal colonization plays an important role in the pathogenesis of otitis media and that secretory IgA is associated with bacterial colonization in the nasopharynx. Since secretory IgA is the chief agent of mucosal immune system and induced by mucosal immunization, nasopharyngeal colonization might be inhibited by developing mucosal vaccine. In order to investigate the mechanism for inducing mucosal immune responses in the nasopharynx, mice were immunized with outer membrane protein (OMP) purified from nontypeable *H. influenzae* intranasally, orally, and intraperitoneally and the IgA responses were compared. OMP-specific IgA antibody titers in nasal washes and the numbers of antigen-specific IgA-producing cells in nasal passages were significantly increased in intranasally immunized mice when compared with the other groups. Further, nasopharyngeal clearance of *H. influenzae* was significantly enhanced by intranasal immunization. Those findings suggest that intranasal immunization might be a useful route for mucosal vaccination to reduce nasopharyngeal colonization and to protect middle ear infection.

## はじめに

中耳炎の発症頻度は今日でもなお高く、3歳までに過半数の小児が少なくとも一度は急性中耳炎に罹患するといわれ、滲出性中耳炎も4~6歳の小児に好発する<sup>1)</sup>。しかも近年多くの耐性菌が検出されるようになり、ワクチン療法の開発など予防法の確立が望まれている。

そこで、上気道感染症に対する免疫応答、とくに粘膜免疫応答に関するこれまでの我々の研究成績をまとめ、中耳炎に対する粘膜ワクチン療法の展望について検討した。

### I. 中耳炎の起炎菌

急性中耳炎の主な起炎菌として、肺炎球菌、インフルエンザ菌、モラキセラ・カタラーリスが知られている。滲出性中耳炎においても、その検出頻度は低いながらも、中耳貯留液から急性中耳炎の起炎菌とほぼ同一の細菌が検出される<sup>2)</sup>。また、中耳貯留液と鼻咽腔の細菌学的検査成績を比較してみると、両者から同時に同一の細菌が検出されることが多い<sup>3)</sup>。さらに、PCR法を用いてインフルエンザ菌外膜蛋白 P6 の DNA の鼻咽腔からの検出率を比較してみると、滲出性中耳炎群では健常者群よりも高値を示す<sup>3)</sup>。

したがって、中耳炎の発症に鼻咽腔における細菌叢の動態が重要な役割を演じていると考えられる。

### II. 細菌定着性と中耳炎

鼻咽腔上皮細胞へのインフルエンザ菌および肺炎球菌それぞれの定着性を検討した<sup>4)</sup>。その結果、インフルエンザ菌、肺炎球菌ともに成人より小児の鼻咽腔上皮細胞への定着性が有意に高く、さらに小児では健常者より滲出性中耳炎患者で両細菌の定着性が高かった<sup>4)</sup>。また、この実験系において、特異的分泌型 IgA 抗体活性を持つ鼻咽腔分泌液を加えることにより、インフルエンザ菌および肺炎球菌ともにその定着性が抑制された<sup>5)</sup>。

以上の結果から、鼻咽腔粘膜上皮における細

菌定着性の亢進が小児滲出性中耳炎の病態に関与していること、さらに鼻咽腔分泌液中の分泌型 IgA が細菌の定着を特異的に抑制することが示唆された。

### III. 経粘膜免疫と鼻咽腔細菌定着

鼻咽腔粘膜免疫の誘導に最も効果的な免疫ルートを確認することを目的として、インフルエンザ菌から精製された外膜蛋白 (OMP) を用いてマウスを様々な方法で免疫し、その免疫応答の特異性を比較した<sup>6)</sup>。さらに、鼻咽腔からのインフルエンザ菌排除に対する粘膜免疫の有用性について検討した。

Specific pathogen-free BALB/c マウスを使用し、OMP およびコレラトキシンを溶解したものを抗原として1週ごとに計3回、経鼻、経口、経気管、そして腹腔内全身投与した。各免疫ごとに唾液、血液を採取し、最終免疫1週間には鼻腔および気管支・肺胞の洗浄液も採取し、これら検体中に含まれる OMP 特異的抗体価を間接 ELISA 法を用いて測定した。また、鼻粘膜、腸管粘膜固有層、肺、そして脾臓それぞれの臓器から単核細胞を分離し、OMP 特異的免疫グロブリン産生細胞数を ELISPOT 法により測定した。さらに、それぞれのマウスの脾臓単核細胞から CD4<sup>+</sup>T 細胞を磁気細胞分離システムを用いて分離し、抗原提示細胞の存在下に OMP およびリコンビナント IL-2 とともに4日間培養し、その培養上清中のサイトカイン濃度を測定した。

その結果、鼻腔洗浄液中の特異的抗体価は経粘膜免疫群で IgA 抗体価のみが上昇し、経鼻免疫群で最も高値を示した (Fig.1)。鼻粘膜中の OMP 特異的 IgA 産生細胞数は、経鼻免疫群でもっとも高値を示した。腸管粘膜固有層の IgA 産生細胞数は経口免疫群で、また肺の IgA 産生細胞数は経気管免疫でもっとも多かった。腹腔内全身免疫では、いずれの臓器にも OMP 特異的 IgA 産生細胞はほとんど認められなかった。経鼻および経気管免疫群の CD4<sup>+</sup>T 細胞が

らは IFN- $\gamma$  や IL-5, IL-6, IL-10 が産生され, OMP に対する粘膜免疫応答の誘導には Th2 型に加えて Th1 型細胞も関与することが示された. 腹腔内全身免疫群では, IL-4 の産生が著しく上昇した.

さらに免疫終了後, 鼻咽腔ヘインフルエンザ生菌を注入し, 12 時間後に鼻咽腔洗浄液を採取した. 洗浄液中のインフルエンザ菌数を定量し鼻咽腔からの細菌クリアランスを観察したところ, 経粘膜免疫群では対照群と比較して鼻咽腔洗浄液中の細菌数が有意に少なく, 経鼻免疫群でもっとも低値を示した (Fig.2). 一方, 腹腔内全身免疫群では対照群と有意な差は認められなかった.

以上の結果から, 鼻咽腔 IgA 応答の誘導には経鼻免疫がもっとも優れ, さらに鼻咽腔からの細菌排除を促すにはワクチンの経口投与よりも経鼻投与のほうが有効なことが示唆された.

ま と め

中耳炎の発症には鼻咽腔における細菌定着性とそれに対する IgA 応答が重要な因子であることが明らかにされた. また, 経鼻ワクチンの投与によって鼻咽腔の粘膜免疫が賦活され, これと相関して鼻咽腔からの病原菌排除が促されることから, 経鼻ワクチンが中耳炎予防に有効なことが示唆された.

経鼻免疫は現在もっとも注目されている免疫ルートであり, インフルエンザウイルスに対する経鼻ワクチンの優れた有効性が臨床研究ですでに証明されている<sup>7)</sup>. 今後, 中耳炎さらには

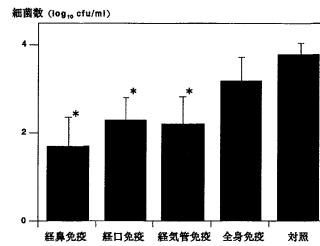


Fig.2 : Nasopharyngeal clearance of *H. influenzae* after mucosal or systemic immunization. ※P<0.01

上気道感染予防粘膜ワクチンの開発に向けて, 上気道感染症とその粘膜免疫応答の詳細について解明して行くことが必要と考える.

参 考 文 献

- 1) 茂木五郎: 滲出性中耳炎と細菌. 中耳炎と免疫. 佐伯印刷, 43-60, 1989.
- 2) Kurono Y, Tomonaga K, Mogi G : Staphylococcus epidermidis and Staphylococcus aureus in otitis media with effusion. Arch Otolaryngol Head Neck Surg 114 : 1262-1265, 1988.
- 3) Ueyama T, Kurono Y, Shirabe K, et al.: High incidence of Haemophilus influenzae in nasopharyngeal secretions and middle ear effusions as detected by PCR. J Clin Microbiol 33 : 1835-1838, 1995.
- 4) Shimamura K, Shigemi H, Kurono Y, et al.: The role of bacterial adherence in otitis media with effusion. Arch Otolaryngol Head Neck Surg 116 : 1143-1146, 1990.
- 5) Kurono Y, Shimamura K, Shigemi H, et al.: Inhibition of bacterial adherence by nasopharyngeal secretions. Ann Otol Rhinol Laryngol 100 : 455-458, 1991.
- 6) 黒野祐一, 肖 艶靈, 児玉 悟, 他: マウス経鼻免疫による鼻腔 IgA 応答の誘導. 日本鼻科学会誌 36 : 117-121, 1997.
- 7) Belshe RB, Mendelman PM, Treanor J,

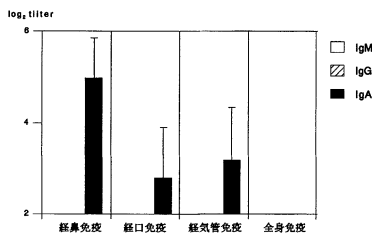


Fig.1 : OMP-specific antibodies in nasopharyngeal washes.

et al.: The efficacy of live attenuated, cold-adapted, trivalent, intranasal influenza virus vaccine in children. N Engl J Med 338 : 1459-1461, 1998.

連絡先：黒野祐一

〒890-8520 鹿児島市桜ヶ丘8丁目35番1号

鹿児島大学医学部耳鼻咽喉科学教室

TEL 099-275-5407 FAX 099-264-8296