

# 実験的過敏性肺臓炎

— 病理組織学的ならびに免疫学的研究 —

川崎医科大学 人体病理学教室

(指導: 中川定明教授, 山下貢司教授)

大学院生 日 浦 研 哉

(昭和58年10月19日受付)

## Experimental Hypersensitivity Pneumonitis

— Histopathological and Immunological study —

Kenya Hiura

Department of Human Pathology  
Kawasaki Medical School

(Accepted on Oct. 19, 1983)

過敏性肺臓炎は、肺胞壁に単核細胞、類上皮細胞を伴い壊死を示さない肉芽腫形成を認める、いわゆる間質性肉芽腫性胞隔炎である。発生機序に関して、免疫学的機序の関与が考えられており、体液性および細胞性免疫が発生および経過にどのような役割を示すかが議論され、まだ不明な点が多い。

今回著者は、過敏性肺臓炎の成立過程における免疫学的機序を明らかにする目的で、いくつかの実験を行うことにした。まず実験動物モデルの作製を試み(実験1)、次に実験モデルでの肺の経時的組織変化を観察した(実験2)。また組織変化での好銀線維の動態(実験3)と免疫組織学的検索、血清抗体価の変動を観察した(実験4)。さらに細胞性免疫の関与を検討する一環として、各時期での出現リンパ球の変動をT, B-cellの面から検索した(実験5)。

以上の結果をふまえた上で、実験的過敏性肺臓炎の発生メカニズムを考察した。

過敏性肺臓炎の発生には体液性および細胞性免疫の連続的かつ同時発現による組織学的、血清学的変化として現われてくるものと考えられた。すなわち、繰り返し行った経皮的感作により、体液性、細胞性免疫系の両方が、肺を含め全身のリンパ網内系で発動され、吸入気道抗原刺激時までには、肺内のB-, T-cellも増加傾向にあった。同時に血清中には、BaAに対する抗体が存在していた。抗原吸入6時間後からみられた急性期は、吸入に対する非特異的反応の可能性が強く、肺胞壁に沿って起こった抗原抗体反応はimmune complexとして存在し、この沈着は24時間目から強くなり始め、胞隔炎形成期には最強となり、肉芽腫形成期まで至る。この胞隔炎は、immune complexの関与があり、III型アレルギーと考えられた。一方、マクロファージの抗原処理を介しての近位リンパ網内系でのT-cellの賦活化が行なわれていたと想定すると、胞隔炎がおさまりかけた2週間目頃に、IV型アレルギー反応の結果として肉芽腫が形成されたと考えることができた。

Hypersensitivity pneumonitis is pathologically characterized by noncaseating granulomas. For its pathogenesis, it seems to be a general agreement that both humoral and cellular immunities are at work in the process. Much remains to be clarified, however, as to exactly how these immune mechanisms give rise to granuloma formation in the lung.

In an effort to investigate this problem further, the author performed several experiments using guinea pigs and mouse. First, the model for the study was produced by getting guinea pigs through a series of procedures (Experiment 1). Then, the lung was taken out at intervals and examined microscopically (Experiment 2). In the process, emphasis of the study was placed on the behavior of the reticulin fibers (Experiment 3), immune complex deposits as related to the serum antibody levels (Experiment 4), and T and B lymphocytes (Experiment 5) within the lesions. By the time bronchial provocation was induced, both humoral and cellular immune systems had been stimulated through repeated percutaneous sensitization. This was reflected in the increasing B and T lymphocytes within the lung and elevated anti-B $\alpha$ A antibody in the serum. Nonspecific acute reaction began at about 6 hours after the provocation and the immune complex deposits became recognizable along the alveolar septa at about 24 hours after the provocation. The latter reached its maximal point at the stage of alveolitis and continued to be present until the granulomatous stage set in. In view of the presence of immune complex deposits, the involvement of Type III allergy in the development of alveolitis seemed likely. Granuloma formation appeared about 2 weeks after the provocation, when alveolitis had already been in the process of healing. This time lag presumably represented the processing of the antigen by macrophage and the activation of T-lymphocytes in the lung.

Key Words ① Hypersensitivity ② Histopathology ③ Immunological study pneumonitis

## 目 次

### 緒 言

- 実験1 過敏性肺臓炎の実験モデルの作製
- 実験2 モルモットにおける過敏性肺臓炎—その肺組織の経時的变化
- 実験3 過敏性肺臓炎における好銀線維の動態
- 実験4 過敏性肺臓炎における血清抗体価の変動ならびに免疫組織学的検索
- 実験5 過敏性肺臓炎における肺内リンパ球の種類およびその変動
- 6 全編の総括ならびに考按

## 緒 言

過敏性肺臓炎は、外因性アレルギー性胞隔炎

とも言われ、種々の有機塵埃抗原の吸入感作によって自然感作状態になっている場合に、同じ抗原性のあるものに再度曝露した時に生ずる肺のアレルギー性炎症性疾患である<sup>1),2)</sup>。現在この範ちゅうに入れられる疾患は、古くから有機塵埃の吸入による職業性呼吸器疾患と言われたものを含んで、約20種ほど検索され、その中で、micropolyspora faeniを抗原とする農夫肺<sup>3)</sup>や鳩飼病<sup>4)</sup>がよく知られている。人体例での病理組織学的検索の報告もされており<sup>5),6)</sup>、急性期と言われる病変は、肺胞壁の肥厚を伴ないリンパ球、形質細胞、マクロファージと時に好中球の浸潤がみられ、肺胞腔内にはマクロファージの遊出を認める。抗原のくりかえし曝露をうけた慢性期においては、肺胞壁に、リンパ

球、形質細胞を主体とする単核細胞浸潤と類上皮細胞からなる肉芽腫形成を認める。ただし壊死の形成はみられない。この急性期および慢性期は、独立したものではなく移行を示す一連の病変とされ、一般に、過敏性肺臓炎の組織学的特徴は、間質性肉芽腫性胞隔炎の像と理解されている<sup>7)</sup>。

発生機序に関しては、免疫学的機序の関与が考えられている。農夫肺などで *micropolyspora faeni* などに対する特異沈降抗体 (IgG) の増加があり、Arthus 型皮膚反応の併発がみられ、また、発症の時間的経過が immune complex の形成とその補体結合型の一連の反応に一致すること等から III 型アレルギーの関与が考えられている。一方、病理組織所見上、単核細胞浸潤を主体とする炎症、肉芽腫の存在、他方、マクロファージ遊走阻止因子の証明、特異抗原によるリンパ球芽球化およびリンフォカイン産生などにより IV 型アレルギー反応の関与も指摘されている。これらについては、Schaltz<sup>8)</sup>、Robert and Moore<sup>9)</sup> や Lopez and Salvaggio<sup>10)</sup> により詳しい報告があるが、体液性および細胞性免疫の単独での説明は困難であり、両免疫の作用が、発生および経過中にどのような役割およびからみあいを演じているかが議論されている現状でまだ不明な点が多い。

そこで、過敏性肺臓炎の成立を実験的に免疫学的機序を明らかにする目的で種々の実験を行なうことにした。そのためには、まず適切な実験動物モデルを作製する必要がある。すなわち過敏性肺臓炎としての胞隔炎ならびに慢性的病変と考えられる肉芽腫形成に至る過程をうまく把握できるものでなければならない。次にその実験モデルを基に各過程における体液性および細胞性免疫がどのような関与や役割をしているかについて検討を加えなければならないと考える。

以下、ステップごとに各実験の材料および方法、結果と考察を記述していくこととする。

## 実験 1 過敏性肺臓炎の実験モデルの作製<sup>11)~</sup>

13)

動物を用いた過敏性肺臓炎の発生病理に関す

る報告は少なくない。過敏性肺臓炎に使用された動物には、マウス<sup>14)</sup>、ラット<sup>15), 16)</sup>、モルモット<sup>17), 18)</sup>、家兎<sup>19)~23)</sup>、イヌ<sup>24)</sup>、サル<sup>25)</sup>、ウシ<sup>26)</sup>、等がある。動物種の選択には、それぞれ一長一短がある。人体例との比較の上で行なわれる動物実験で重要なことは、その反応様式が人間のそれに類似していなければならない点である。しかし、サルなどの霊長類が必ずしも人間のそれに近似しているとはかぎらず、動物選択には、他の条件をも加味して考えなければならない。一般にマウスは、肺病変を発生しにくいと言われている。ラットでは、実験中に肺内二次感染を起こすものが多く、組織像の修飾が大きい可能性がある。その他、同じ実験系に多数の動物を使用できること、動物の取り扱いが容易であること、病変発生の時間的経過などを考慮して選択する必要がある。

抗原としては、すでに過敏性肺臓炎の起因抗原として知られている thermophilic actinomycetes を用いたもの<sup>16)</sup>をはじめ *micropolyspora faeni*, *candida albicans*, *T. vulgaris*, *Asp. fumigatum*, *penicillium casei*, 等の真菌抗原<sup>27)~29)</sup>、かびのはえた枯草<sup>30)</sup>、砂糖きびの溶離かすおよびこれらの抽出物<sup>31)</sup>、ハト血清、ハト排泄物、ウシ血清アルブミン、ウシ  $\gamma$ -グロブリン、ヒト血清アルブミン等の異種蛋白<sup>32)~34)</sup>、その他に horseradish peroxidase<sup>35)</sup> が用いられている。

感作方法や抗原曝露方法は、経気道的、経静脈的および経皮的など種々の方法による報告がなされている<sup>16), 36)~38)</sup>。

そこで、疾患モデルを実験的に作製するにあたり、(1) 多数の、しかも取り扱いの容易な動物を選ぶこと。(2) 過敏性肺臓炎を起こし難いとされる動物と起こしやすくとされている動物の二種でその違いをみること。(3) 抗原には定量が可能なものを用いること。(4) 最終曝露は経気道的に行なうことなどを条件として、動物種、免疫方法、抗原曝露時間などを変えた組合せで、病的に胞隔炎から肉芽腫形成像までの変化が形成されるまでを追跡できる実験方法を検討してみた。

## 1) 材料および方法についての検討

## a) 使用動物の選定

マウス (C<sub>3</sub>H/He, DS, BALB/C), 雌雄 (3~8週齢) 200匹, モルモット (Hartley系), 体重120~300g雄46匹を用いた。マウスを用いた理由は, 比較的肺病変を起こしにくいとされているが, 動物を多量に処理して使えること, 肺病変を発生しにくいことから, もし起こるとすれば純粋な反応としてとらえることができる考えたからである。モルモットを用いた理由は, 前述のマウスとの病理学的変化における違いをみることに, 気道および肺における過敏性をよく反映すること, 慢性的経過をとりやすいことなどによる<sup>84)</sup>。

## b) 抗原について

抗原には, *Bacillus subtilis* から抽出された bacterial  $\alpha$  amylase (以下 BaA と記す; 1-4- $\alpha$ -D Glucan gluconohydase, Bacterial, type II-A, Crystallized, lyophilized powder, Sigma社) を用いた。BaA を用いた理由は, 抗原として定量できるものであることにほかならない。

滅菌生理的食塩水に BaA をマウスには 1mg/ml, モルモットには 25mg/ml の濃度に溶解したものを使用した。

## c) 噴霧吸入装置の作製

動物に抗原を噴霧吸入する場合, 自作の吸入装置を使用した。アクリル樹脂箱の一端に日商式ネブライザーをとりつけ, 他端に水圧吸引チューブを装置した。ネブライザーはコンプレッサーによって噴霧できるように工夫して噴霧吸入装置を作製した<sup>11)</sup>。

## d) 実験方法の検討

実験結果の詳細は実験2に述べることとし, ここでは, 感作方法, 誘発方法と誘発曝露期間について, 種々の方法を行ない検討した結果について略述する。

## d-i) マウスでの実験

d-i-イ) 感作方法, 誘発方法を共に気道から行なった実験—その1

方法: 噴霧吸入装置を使用して, 感作を BaA 溶液 1.5ml を 1日 10分間ずつ 7日間

噴霧吸入させた。1週間放置して, 2週間連続して BaA 溶液 1.5ml を 1日 10分間曝露した。

結果: 初回曝露後, および曝露終了後の肺組織では, 肺胞壁が浮腫状を示し, 毛細血管の拡張だけがみられ, 肺胞壁での単核細胞浸潤はみられなかった。

d-i-ロ) 感作方法, 誘発方法を共に気道から行なった実験—その2

方法: 感作を BaA 溶液 1.5ml を 1回だけ 10分間の噴霧吸入とした。1週間放置後, 2週間連続して BaA 溶液 1.5ml を 1日 10分間曝露した。

結果: 組織学的には, 全く著変をみなかった。

d-i-ハ) 感作方法を経皮的, 経静脈的に行ない誘発を気道から行なった実験—その1

方法: BaA 溶液 (1mg/ml) と complete Freund's adjuvant (以下 CFA と記す) の等量混合液 0.2ml を 1回だけ筋肉内に投与し, 2週間放置後, 同濃度の BaA 溶液 0.5ml を booster として腹腔内へ投与した。2週間後 BaA 溶液 1.5ml の 10分間噴霧吸入を 1回だけ行なった。

結果: 肺胞壁の浮腫, 毛細血管の拡張だけがみられた。胞隔炎, 肉芽腫形成は全くみられなかった。

d-i-ニ) 感作方法を経皮的, 経静脈的に行ない誘発を気道から行なった実験—その2

方法: 感作を尾静脈から行ない, 投与は BaA 溶液 0.1ml を 1回だけとした。2週間後 BaA 溶液 1.5ml の 10分間噴霧吸入を 1回だけ行なった。

結果: 肺には著変がみられなかった。

d-i-ホ) 感作方法を経皮的, 経静脈的に行ない誘発を気道から行なった実験—その3

方法: 感作は BaA 溶液と CFA の等量混合液 0.2ml を左右大腿部, 背部の筋肉内に 5回投与し, 以後 4週間放置し, 噴霧吸入装置で, BaA 溶液 1.5ml を 1日 10分間ずつ 2週間連続噴霧吸入

させた。

結果：最終曝露後6時間目に、終末細気管支と近傍の肺胞壁にリンパ球、マクロファージの浸潤がみられ、5日目になると肺胞壁に形質細胞、リンパ球、組織球と epithelioid cell からなる肉芽腫様変化がみられた。9日目には消失していた。

#### d-i-へ) マウスでの実験についてのまとめおよび考察

マウスについては、感作方法が経皮的で、誘発を2週間連続噴霧吸入曝露を行なったものだけに、組織学的に肉芽腫様変化がみられた。この場合、2週間連続曝露吸入誘発のためか、その間、好中球などの急性炎症像を把握することができなかった。しかし、可逆的ではあったが、一部肉芽腫様変化が形成されているのが観察された。本実験の場合、全経過が9日で終わっており、急性期の変化をよりよくとらえ、急性期から慢性期への変化をより詳しく観察していくためには、症状の発現、進行を遷延化してやる必要がある。このためには、さらに、種々の感作方法を試みるか、あるいは動物種をかえて同様の実験を繰り返すかの二者の道が残されていると考えた。

そこで、マウスでの組織変化が得られた方法で、モルモットを用い、誘発初期から慢性への変化をみる実験を行なうこととした。

#### d-ii-イ) モルモットでの実験

方法：BaA 溶液 (25 mg/ml) と CFA の等量混合液 0.5 ml を左右大腿部、背部の筋肉内に5回投与した。以後3週間放置し、boosterとして腹腔内へBaA 溶液 0.5 ml を投与した。さらに1週間後、噴霧吸入装置で、誘発曝露をBaA 溶液 (10mg/ml) 5 ml で1日20分間ずつ2週間連続吸入させた。

結果：初回曝露後、6時間目、24時間目に終末細気管支を中心とする好中球の浸潤がみられ、6日目から18日目には肺胞壁に単核細胞浸潤を伴う胞隔炎と、21日目には肉芽腫様変化がみられた。この変化は、2～3週間続いた。

#### d-ii-ロ) モルモットでの実験についての考察

これらの経時的变化は、マウスを用いた結果とはほぼ同様であったが、反応がより強く、経過も長く、肉芽腫様変化の遷延化も認められた。この点で、急性期の像から肉芽腫形成あるいは、慢性的病変への移行を調べるにはモルモットの方が適していると考えられた。

### 2) 実験1のまとめおよび考察

過敏性肺臓炎の病理発生に関しては、すでに多数の報告があるが、抗原の性状、その量、感作および曝露方法など、それぞれの実験系で差がみられる。人の過敏性肺臓炎の発生には、抗原の経気道的感作、曝露が重要な要因である<sup>22)</sup>。動物実験では、動物種の特異性が同じように影響してくる。経気道的に抗原を投与する実験報告をみても、ただ抗原を気道に反復投与するよりも、全身感作をした上で経気道的抗原投与をした方が明瞭な病変がみられ、免疫学的変化も著明にみられるとしている<sup>36)</sup>。本実験結果もこれを裏づけるところがあって、経皮的感作を行ない、経気道的抗原曝露を行なった場合だけに、組織球、リンパ球からなる肉芽腫様変化が、急性期、胞隔炎形成期という経時的变化を経てとらえることができた。人の過敏性肺臓炎の発生に経気道的感作が重要な役割を果していることはすでに述べた通りである。経皮的感作による免疫状態下で、経気道的刺激が行なわれた本実験の場合に、人の過敏性肺臓炎によく似た肉芽腫様病変ができたことは、動物種の差によるものなのか、実験方法によるものなのか、あるいは逆に人体例においても知らぬ間に経皮的感作が行なわれその条件下での最終的経気道誘発が発症につながるのか、いろいろの条件を示唆してくれる。

今後、さらに抗原の種類、量および動物種についても検討を加える必要があると思うが、いづれにせよ、本実験結果から、経皮的感作による免疫状態下のモルモットで経気道的誘発により人の過敏性肺臓炎に似た疾患を作りだすことができたことに違いはない。

## 実験2 モルモットにおける過敏性肺臓炎 —その肺組織の経時的変化<sup>12),13)</sup>—

実験1で述べたように、マウス、モルモット共に同様の所見を得ている。そこで、初期の変化から観察可能なモルモットの経時的組織変化について述べることにする。

1) 実験方法: すでに実験1で述べた。

### 2) 結果

初回曝露後6時間目の肺は、肉眼的には、左右共にややうっ血調がある他は著変をみない。組織学的には、特に両肺の上葉と肺門部に細気管支、終末細気管支壁に散在性、限局性の好中球の浸潤がみられた。また、これらの近傍の肺胞壁と肺胞腔内には、好中球、マクロファージの浸潤がみられ、出血を伴い、cell debrisを含むフィブリン塊を認めることもあった。その他の部位では、肺胞腔の含気性は充分で、肺胞壁はやや浮腫状で、毛細血管の充盈が著明であった。

24時間目には、両肺のうっ血の中に点状の灰白色調の病巣が散見された。組織学的には、全般に炎症像が6時間目よりも著明となり、細気管支、終末細気管支内に好中球とcell debrisを含む細胞集塊がみられ、これらは、気管支内にも存在した。また、これら領域の肺胞腔内にも好中球と腫大したマクロファージの遊出や出

血などの変化が、さらに強くなり、各病巣の融合化がみられ、肉眼的にみられた灰白色調の病巣部と一致する所見であった。肺胞壁にも好中球の浸潤が強くみられた (Fig. 1-A)。

6日目には、細気管支と終末細気管支、肺胞腔にみられた好中球の浸潤は少なくなり、マクロファージが目立つようになった。その部の肺胞壁には、肺胞上皮細胞の腫大があり、リンパ球、マクロファージと少数の好中球の浸潤がみられ、一部にリンパ球と形質細胞の浸潤が肺胞壁に目立つ所もあった (Fig. 1-B)。

2週間の曝露終了後である14日目と15日目では、肉眼的には、肺にうっ血、出血などの強い変化はみられなかったが、灰白色調を示して、やや硬く触れた。組織学的には、肺胞腔内にはおもにマクロファージがみられた。これらの部の肺胞壁では、肺胞上皮細胞の腫大、増生がみられ、リンパ球、形質細胞の浸潤によって肥厚を示していた。この病変は、細気管支に限局してみられるのではなく、肺全体にわたって胞隔炎像としてみられた (Fig. 1-C)。

18日目になると、肉眼的には、肺は灰白色調でやや硬く触れる所見は同じであった。組織学的には、細気管支、肺胞腔内への好中球の浸潤はなく、マクロファージが集合性にみられた。肺胞壁では、左右肺、上葉下葉などによる違いはなく、肺胞上皮細胞の腫大とリンパ球、組織

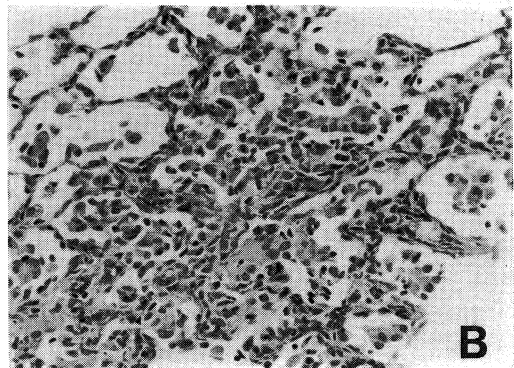
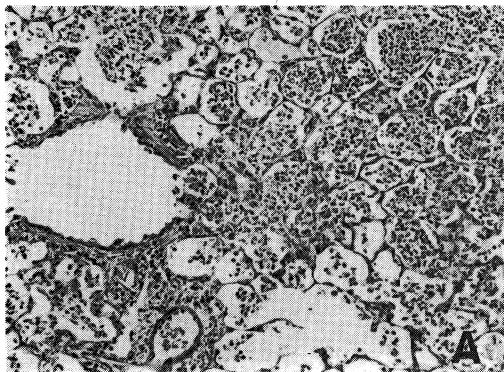
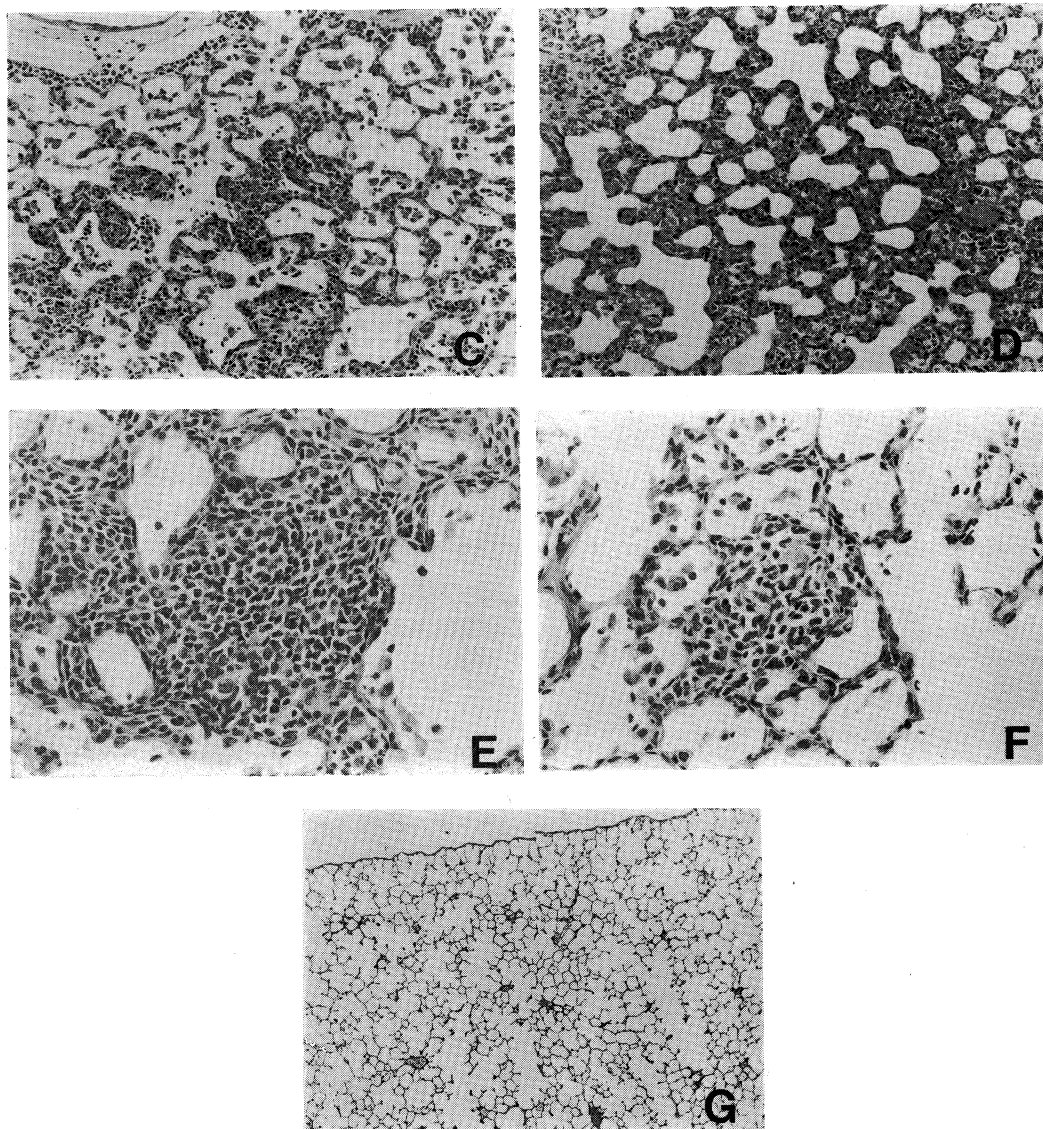


Fig. 1-A: The lung at 24 hours after the first provocation. Peribronchiolar infiltration of neutrophils and macrophage are seen. (H. E. stain, original  $\times 100$ )  
B: The lung at the 6th day. Macrophages are conspicuous in the alveoli. (H. E. stain, original  $\times 400$ )



**Fig. 1-C:** The lung at the 14th day.  
Alveolar septa are infiltrated by lymphocytes and plasma cells. (H. E. stain, original  $\times 200$ )

**D:** The lung at the 18th day.  
The alveolar septa are diffusely thickened with dense lymphocytic and plasma cell infiltrates. (H. E. stain, original  $\times 200$ )

**E:** The lung at the 21th day.  
Granuloma-like area is formed consisting of lymphocytes, histiocytes and plasma cells. The remaining lung shows alveolitis. (H. E. stain, original  $\times 400$ )

**F:** The lung at the 28th day.  
The granulomatous area has become smaller and the alveolitis in the surrounding area has subsided. (H. E. stain, original  $\times 400$ )

**G:** The lung at the 56th day.  
No granuloma or alveolitis is recognizable. (H. E. stain, original  $\times 50$ )

球, 形質細胞の浸潤による肺胞壁の肥厚を示し, 胞隔炎像が著明となった. 一部, リンパ球, 組織球, 形質細胞の浸潤が強く, 集合性を示している部位もみられた (Fig. 1-D).

21日目になると, 肉芽腫様病巣が大きさ, 数ともに最も強くみられた. 肉芽腫様病巣内には, 壊死巣はなく, ラングハンス型巨細胞はみられず, 泡沫状の胞体を持つマクロファージやリンパ球, 組織球, 形質細胞で構成されていた. 胞隔炎像も持続してみられた (Fig. 1-E).

25日目になると, 肉眼的には, 特に著変がみられなかった. 胞隔炎の拡大はなく, 肉芽腫様病巣の数も減少してきた.

28日目では, 肉芽腫様病巣を構成する細胞成分が減少し, 大きさも小さくなっていった (Fig. 1-F).

56日目では, 肉眼的には, ほぼ正常の肺の状態を示し, 組織学的には, ほぼ正常で, 一部気腫様変化がみられたが, 肉芽腫様細胞反応は消失していた (Fig. 1-G).

### 3) 実験2のまとめおよび考察

本実験での経時的な肺の組織変化を次の四期にまとめることができる.

i) 急性期 (6時間目~6日目, 気管支肺炎様期): 細気管支を中心として, 肺胞腔内に好中球, マクロファージの浸潤と出血がみられる.

ii) 胞隔炎形成期 (6日目~18日目): 好中球の浸潤は減少し, 炎症の主座は肺胞壁に移り, リンパ球, 形質細胞を伴う胞隔炎がみられる.

iii) 肉芽腫形成期 (18日目~25日目): 胞隔炎像が持続して, リンパ球, 形質細胞, 組織球を伴う肉芽腫様変化がみられる.

iv) 肉芽腫吸収期 (25日以降): 肉芽腫様変化は, 経過とともにみられなくなる.

本実験の観察結果は, 諸家の報告と矛盾しない. Salvaggio<sup>22)</sup>らは, 著者と違った経気道の感作での結果で時間的な差はあるものの, 病変部位と炎症の推移については, よく似た結果を報告している. その他の報告にみる急性

期, 慢性期の変化ともほとんど差が認められない<sup>36), 39)</sup>. また, 本実験での経時的組織変化はある程度, 人にみる過敏性肺臓炎の経過と類似性があると考えられた.

### 実験3 過敏性肺臓炎における好銀線維の動態<sup>40)</sup>

過敏性肺臓炎の肉芽腫は, 抗原曝露から時間的経過を経て消失することも少なくないことが知られており, 著者のマウス, モルモットでの実験モデルで, いったん形成された肉芽腫が時間的経過とともに瘢痕を残さずに消失していくのを観察している<sup>11)~13)</sup>. なぜ肉芽腫形成が線維化をきたさないかを明らかにするために, 実験1の実験に用いたモルモット肺を用いて, 胞隔炎形成ならびに肉芽腫形成から吸収期にかけて好銀線維 (細網線維) の形成, 消失の動態を観察した.

その動態を出現細胞反応とのからみあいの上から考察すると, 細網線維化から膠原線維化へ到らない過程に, 好中球とマクロファージの関与が強く示唆され, またリンパ球の関与の可能性も推測された.

#### 1) 材料および方法

モルモットを用いた実験方法は, 実験1に述べた通りである. 肺組織は, 金子の鍍銀法変法. masson-trichrome 染色を施行し, 観察した.

#### 2) 結果

炎症の経時的組織変化を四期に分けることができることは, すでに実験2に記載した. 好銀線維の動態もほぼこれに一致して分けることができるので, 各時期に応じて記述する.

i) 急性期: 肺胞壁には, やや太い好銀線維と細い好銀線維が交叉して樹枝状を示し, 本質的には, 正常毛細血管周囲に存在するものにはかならず, 肺胞の基本構造をなすものと考えられた. これら線維は一本ではなく, 樹枝状線維のからみあったものである. 細い好銀線維は, 太い好銀線維から放射状に枝分かれし, 網目状構造を形成してみえた (Fig. 2-A).



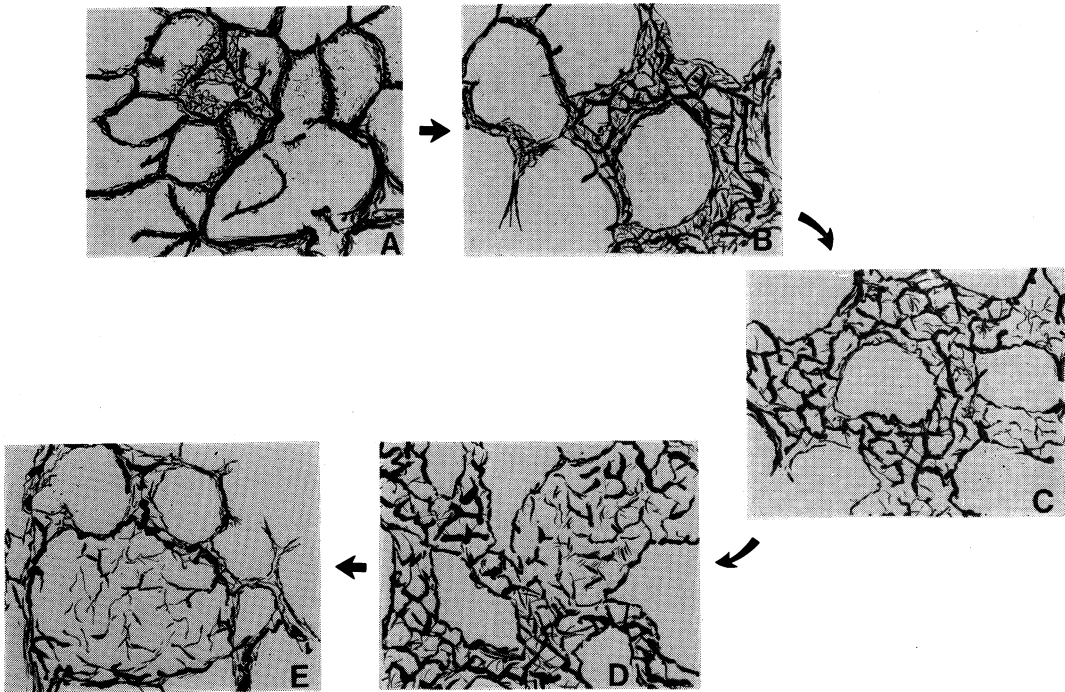


Fig. 2. Schematic presentation of the changes in reticulin fiber arrangement at various stage.

ii) 胞隔炎形成期

胞隔炎形成前期：太い好銀線維束はさらに、数本が集まったように太くなってみられ、樹枝状を示す線維の交叉も急性期よりも密にみられた。細い好銀線維の網目状構造も著しくなり、網目内に数個の浸潤細胞がみられた。

胞隔炎形成後期：肺胞壁は著しく肥厚しているものの好銀線維は、急性期、胞隔炎形成前期に比べて増加の傾向は認められなかった。太い好銀線維は樹枝状を示し、浸潤細胞を数個ずつに分け、細い好銀線維が網目状を示してさらに2～3個の浸潤細胞をとりかこむようにみられた(Fig. 2-C)。

単核細胞浸潤が著明で、特に集合性にみられる部位では、好銀線維の増加はなく、太い好銀線維は長さも短かく、棒状またはサンゴ状を示し、浸潤細胞巣をふちどるように、また数個を不規則ながら分けるようにみられた。細い好銀線維は、数個の浸潤細胞をとりかこむようにみられ、長さも短かく、時には、波状のものが散

見された(Fig. 2-D)。

iii) 肉芽腫形成期：肉芽腫内の好銀線維は、胞隔炎の部よりもその量は少なく、太い好銀線維は短かくサンゴ状を示した。肉芽腫周囲のものはひきのばされて円弧状を示していた。肉芽腫内の細い好銀線維は、十数個の細胞を粗にとりかこむようにみられた(Fig. 2-E)。

以上までの好銀線維の略図化を Fig. 2 に示した。

iv) 肉芽腫吸収期：肉芽腫の大きさが小さくなると、肉芽腫内の太い好銀線維の太さも細く、短くなり、一部肉芽腫周囲を弧状にとりかこみ、細い好銀線維の数も減少し、波状を示すようにみられた。肉芽腫がみられなくなる時期では、組織学的にはほぼ正常の所見を呈しており、好銀線維も増加なく、著変が認められない。

なお、全経過を通じて、膠原線維の増加は、認められなかった。

### 3) 実験3のまとめおよび考察

好銀線維は、本来 膠原線維の一亜型であって、細い膠原線維束の間をうめる間質物質の性状によって、その好銀性が与えられるという。炎症の中後期には、まず、これら好銀線維が増加し、炎症が遷延化した場合には、次第に膠原線維化が起ってくる。炎症反応が強くなく、遷延化もしない場合には好銀線維の吸収もありうる。いわゆる好銀線維から膠原線維への移行のメカニズムは、現在のところ明らかにされていない<sup>41)</sup>。しかし、間質性肺炎における膠原線維化に関しては、まず好中球、マクロファージを伴う胞隔炎があり、肺胞壁膠原線維の障害、破壊を伴った場合、過剰修復反応としての膠原線維化がみられるようになってくると考えられている<sup>42), 43)</sup>。本実験における急性期、胞隔炎形成前期の好銀線維の増加は、非特異的な炎症に随伴する変化で、肉芽腫にみられる好銀線維の配列は胞隔炎形成前期で形成された好銀線維網の肉芽腫形成による修飾像と考えられた。好銀線維の増加がみられなくなった胞隔炎形成後期には、好中球の浸潤がみられなくなっている事実は、好中球の減少こそが線維化をきたさなかつた一因であることを示唆している。肉芽腫が線維化をきたさないことに関して、Bowers<sup>44)</sup>らは、新しく合成されていく膠原線維の破壊が著明なのか、出現したマクロファージの寿命が長くなったため崩壊による酵素の放出がなかった可能性を考えている。本実験でも肉芽腫内の線維は断裂し、ちぎれたような所見が得られており、線維の増加よりも破壊、吸収が進んでいるものと考えられる。

過敏性肺臓炎の気管支肺洗浄液におけるリンパ球の subpopulation の検索で suppressor T-cell の増加が特徴的であるとする報告がある<sup>45)</sup>。本実験でも胞隔炎形成後期は好中球に代ってリンパ球が主体となってきた。このリンパ球が、suppressor T-cell とすれば、B-cell に対する抑制的な働きと共に好中球の減少になんらかの役割を果し、さらには線維化に到らない理由を説明することもできる。今後さらに検

討、確認を要すると考える。

### 実験4 過敏性肺臓炎における血清抗体価の変動ならびに免疫組織学的検索<sup>11)~13)</sup>

過敏性肺臓炎は、種々の有機塵埃抗原の吸入によって感作され、抗原に再度曝露した際に生ずる肺のアレルギー性炎症性疾患である。この発生機序としては、体液性および細胞性免疫の関与が推測されているが、現在のところ、まだ確定的とは言えず、また両者がどの様に関与しているかについても不明な点が多い。

本実験の目的は、急性期から慢性病変といわれる肉芽腫形成に到る過程に体液性免疫がどのように関与しているかを、血清抗体価の変動と peroxidase-antiperoxidase (PAP) 法を用いた組織内抗体分布の検索などの面から考察することにした。

#### 1) 材料および方法

マウスおよびモルモットの血清は、実験1で述べた実験での肺組織採取時に右心室から採血し血清を集めた。塩化クロム法<sup>46)</sup>による赤血球凝集反応で抗体価を求めた。

PAP 法での肺組織は、実験1で行なった実験でのマウス、モルモットの肺組織のパラフィン切片を用いた。PAP 法は、Sternberger<sup>47)</sup>や Talyer<sup>48)</sup>らの方法で型のように行なった。マウスの一次抗体として、Anti-mouse IgG (rabbit, antimouse IgG, heavy & light chain, Lot, # 160523, Cappel 社) を用い、モルモットの一次抗体は、anti-guinea pig IgG (rabbit, anti-guinea pig IgG, code No. 403 MBL 社), anti-guinea pig IgM (anti-guinea pig IgM, serum, Lyo., code No. 64-322, Lot. No. 10, control No. R043, Miles 社), anti-guinea pig IgA (anti-guinea pig IgA, serum, Lyo, code No. 64-323, Lot, No. 10, control No. R015, Miles 社), anti-guinea pig C<sub>3</sub> (rabbit, anti guinea pig C<sub>3</sub>, code No. 405, MBL 社) を用いた。発色には、3, 3'-diamino benzidine (Sigma 社) を用いた。

2) 結果

モルモット、マウス共に血清抗体価の変動は全経過 640~10,240 倍前後の値を示した。Fig. 3 にモルモットの血清抗体価の変動を示した。

モルモット、マウス共に肺組織における抗体分布も同様の所見を示した。以下、モルモット

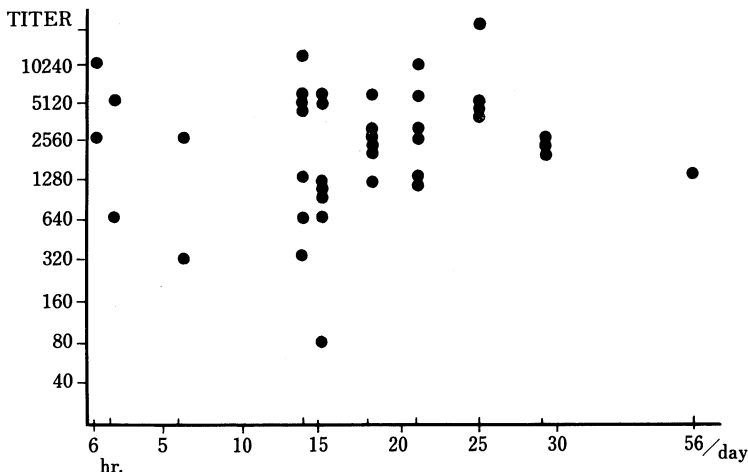


Fig. 3. Serum antibody levels at varying days after the bronchial provocation.

についての結果を記述することとする。

Fig. 4 に示すように、IgG, IgM, IgA, C<sub>3</sub> の沈着を、肺胞腔、肺胞壁、血管周囲、マクロファージ内、肉芽腫様病巣内、肉芽腫様病巣周囲および形質細胞に分けて観察した。それぞれの沈着の程度を diffuse, severe (+++), diffuse, moderate (++) , focal, slight (+), negative (-), と表現した。初回曝露後 6 時間目には、肺胞壁、マクロファージ内に IgG の沈着がみられ、これらは focal に存在し、急性炎症部に一致してみられた。24 時間目、6 日目になると IgG の沈着は、炎症の拡大と共に拡がり、その沈着の程度は、肺胞壁、マクロファージ内により強く存在してみられた。14 日目、18 日目になると胞隔炎像を示

Time deposit	6hours				24hours				6days				14days				15days				21days				28days			
	IgG	IgM	IgA	C <sub>3</sub>	IgG	IgM	IgA	C <sub>3</sub>	IgG	IgM	IgA	C <sub>3</sub>	IgG	IgM	IgA	C <sub>3</sub>	IgG	IgM	IgA	C <sub>3</sub>	IgG	IgM	IgA	C <sub>3</sub>	IgG	IgM	IgA	C <sub>3</sub>
Intra-alveolar space	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
alveolar wall	+	-	-	-	++	-	-	-	++	-	-	-	+++	-	-	-	+++	-	-	-	+++	-	-	-	++	-	-	-
Peri-vessel	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Intra-alveolar macrophage	+	-	-	-	++	-	-	-	++	-	-	-	+++	-	-	-	+++	-	-	-	+++	-	-	-	++	-	-	-
Intra-granuloma	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Peri granuloma	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
Plasma cell	+	-	-	/	+	-	-	-	++	-	-	-	+++	-	-	/	+++	-	-	-	+++	-	-	+	++	-	-	-

diffuse, severe (+++), diffuse, moderate (++) , focal, slight (+), negative (-)

Fig. 4. Distribution of antibodies within the lung by PAP method.

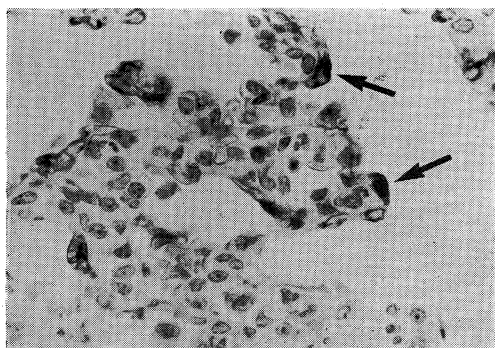


Fig. 5. IgG deposits are remarkable along the alveolar wall (arrow).  
(PAP method, original  $\times 800$ )

す肺胞壁に沿って線状および顆粒状のIgGの沈着が著明となった(Fig. 5)。しかし、肺胞壁内には沈着はみられなかった。21日目の肉芽腫様病巣では、ごくわずかに散在性に肉芽腫周囲に沿ってIgGの沈着がみられたが、肉芽腫内には、沈着はなかった。これらの沈着態度は以後の観察でも同様であった。

IgAとIgMの沈着は、全経過を通じて肺胞壁および肉芽腫内には沈着はみられず、わずかにIgAが形質細胞にみられただけであった。C<sub>3</sub>の沈着は、6時間目と14日目について観察したが陰性であった。

### 3) 実験4のまとめおよび考察

実験2で得られた組織学的変化の結果と、PAP法を用いたIgGの沈着分布を比較してみると、急性期と胞隔炎形成期では沈着は持続してみられ、リンパ球を主体とする胞隔炎像を示した部を中心として、マクロファージ内と肺胞壁に沿って沈着は著明に認められた。このことは、急性期から胞隔炎形成期に到る反応が、抗原抗体反応によってひきおこされたもので、反応の場が肺胞壁辺縁、つまり上皮細胞周囲あるいは基底膜にあると考えられる。超微形態学的には、subendothelialおよびsubepithelialにelectrondense depositを証明したとする報告があるが<sup>35)</sup>、それらと一致する所見と考えられる。血清抗体価の変動をみても、曝露後6時間目にはすでに増加しており、ごく軽度増加傾向

を示して3~4週間まで持続している。このことから、最終的な気道感作時には、すでに形成されていた抗体と曝露により肺内へ導入された抗原との間でimmune complex形成が行なわれ、炎症反応がひきおこされたと解釈される。しかし、胞隔炎を示す部に沈着が著明であるにもかかわらず、肉芽腫様変化を示す部では、IgGの沈着がみられず、周囲組織にわずかに、しかも散在性にみられる事実は、沈着部位と肉芽腫形成部位との間には病理発生的に、直接の関係がないことを示唆している。従って、肉芽腫形成の過程には、Ⅲ型アレルギー以外の機序を考えざるを得ない。一般に肉芽腫形成には、多くの場合、Ⅲ型アレルギーよりもⅣ型アレルギーが関与していると考えられており、この場合も可能性として、体液性免疫による反応とともに細胞性免疫も発動されやがてはそれが主体となってくることを推測させる。

C<sub>3</sub>の沈着はいずれの時期も陰性で、この場合、組織変化を検索する時期が問題になると考えられた。すなわち、C<sub>3</sub>がすでにimmune complexに付着し、好中球によって運び去られた後であろうと解釈することもできるからである。事実、このような報告<sup>49)</sup>も存在する。

以上のことから、次に肉芽腫様変化にT-cellがどのようにかかわっているかを検索する必要があると考えられた。

### 実験5 過敏性肺臓炎における肺内リスパ球の種類およびその変動<sup>50)</sup>

過敏性肺臓炎の発生には、免疫学的反応の関与が考えられており、急性病変にはimmune complexの沈着による体液性免疫の関与を、慢性病変には肉芽腫形成を伴うことなどから細胞性免疫の関与が推測されている。著者は、実験1、実験2で過敏性肺臓炎実験モデル作製、急性期の好中球を伴う胞隔炎形成から慢性期の肉芽腫形成に到る時間的経過における病像の変移について述べ、実験3で、急性期から慢性期に到る経過に好中球が重要な役割を果たしており、そ

の早期消退, 肉芽腫形成にリンパ球が何らかの関与をしている可能性を指摘した. さらに実験 4 では, 急性期の変化が, 吸入曝露により肺内に導入された抗原と, すでに形成されていた抗体とが肺胞壁を中心として immune complex を形成し, 胞隔炎像を呈してくることを明らかにした.

そこで, 細胞性免疫の関与を検討する一環として, 各時期における出現リンパ球の変動を, T, B-cell の面から検索することとした.

### 1) 材料および方法

Hartley 系のモルモット, 体重 200~300g 雄 6 匹を使用した.

実験方法は, 実験 1 で述べた方法によった.

肺内リンパ球の単離抽出方法, T, B-cell の検出方法は下記の通りである.

#### i) 肺組織からのリンパ球の単離抽出

体重 100g あたりペントバルビタール 0.3ml (50 mg/ml) を腹腔内注射し麻酔を行なった.

麻酔後, 胸腔を開き, 右心室からカニューレを通しヘパリン加生理食塩水で肺の灌流を行なった後, 肺を胸腔から取り出した. 肺組織はシャーレの中で, 気管支, 肺門リンパ節をはずし, PBS 液 2 ml を加えハサミで細切した. 組織浮

遊液はガーゼ, ナイロンメッシュ (メッシュ 150, 270) でろ過し, ろ液は 2000rpm 10 分間遠沈を 3 回行ない沈査を取り, PBS 液 5 ml で再浮遊させた. 再浮遊液に 1%, 硫酸バリウム液 1 ml を加え, 37°C, 30 分間放置した. 混和液からの単核球分離は, Separate L (比重  $1.077 \pm 0.001$ , 武藤化学) を用いて細胞比重法で行なった.

#### ii) T および B-Cell の検出

矢田らの方法<sup>51)</sup>を一部改変し, E および EAC ロゼット形成を行なった. 結果判定として, ロゼット形成をしたもののうち赤血球 4 個以上附着するものを陽性とし, 肺から得られた細胞総数は, 全単核数を数えたが, すべて単球による補正值と比較し, 差が大きくないことを確認した.

### 2) 結果

経時的組織変化は実験 2 に述べた通りである. 実験群の肺内リンパ球の変動は Fig. 6, 7 に示した.

正常モルモット肺から  $16 \times 10^6$  個の単核球が得られ, そのうち  $30 \pm 5\%$  がリンパ球で, T-cell は  $52.6 \pm 6\%$ , B-cell は  $9.5 \pm 2\%$  であった.

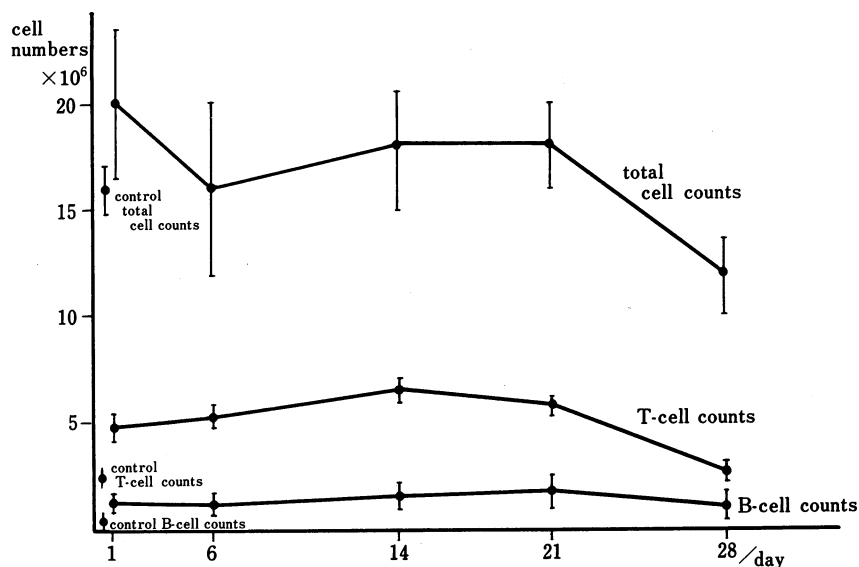


Fig. 6. Lymphocytes harvested at each stage.

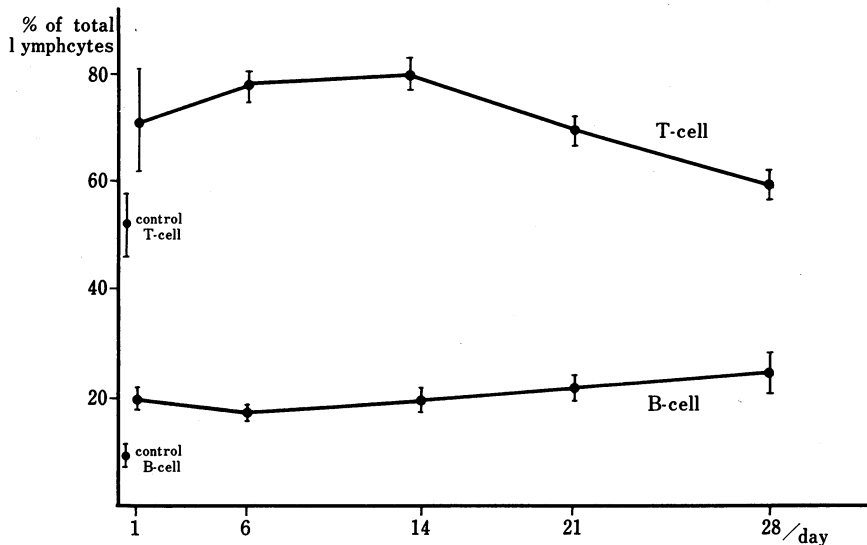


Fig. 7. Percentage of T and B-cells at each stage.

24時間目は、単核球は  $20 \times 10^6$  個で、そのうちリンパ球は 35% を占め、T-cell が  $71.4 \pm 10\%$ 、B-cell が  $19.8 \pm 3\%$  であった。

6日目は、単核球は  $16 \times 10^6$  個で、そのうちリンパ球は 41% あり、T-cell が  $78.6 \pm 4.5\%$ 、B-cell が  $18.4 \pm 2\%$  であった。

14日目は、単核球は  $18 \times 10^6$  個で、そのうちリンパ球は 45% あり、T-cell が  $80 \pm 6\%$ 、B-cell が  $19.5 \pm 4\%$  であった。

21日目は、単核球は  $18 \times 10^6$  個で、そのうちリンパ球は 47% あり、T-cell が  $70.4 \pm 5\%$ 、B-cell が  $22.2 \pm 4.6\%$  であった。

28日目は、単核球は  $12 \times 10^6$  個で、そのうちリンパ球は 40% あり、T-cell が  $60.4 \pm 4\%$ 、B-cell が  $24.8 \pm 8\%$  であった。

### 3) 実験5のまとめおよび考察

過敏性肺臓炎をはじめ、炎症性肺疾患における肺実質内でのリンパ球の動態を調べる研究は多くない。しかも人体材料、動物実験のいずれも、気質支肺洗浄液内のリンパ球の動態を調べるにとどまっており、本実験のように肺実質から直接リンパ球を単離して検索した例は少ない。

リンパ球の機能的検索の困難さの一つは、その検索に特異的な、しかも検出力の高いものが

ない点である。今回、検討した E, EAC ロゼット形成細胞数も、必ずしも T-cell, B-cell を正しくとらえているとはいえないが、それを各病期における細胞数を比較した場合、少なくともそれらの増減は、T, B-cell の動的状態を反映する1つの指標としてみることはできる。以下、T-cell B-cell とだけ記載するが、それは、理解をある程度よりよくするための手段であって、結果では、それはEおよびEACロゼット形成細胞の面から推測したにすぎない。

今回得た実験結果は、Bernardo<sup>17)</sup>らの結果とほぼ同様であった。実験モルモット肺では、いずれの時期でも正常肺に比べてリンパ球は増加しており、それは T-cell, B-cell (Eロゼット, EACロゼット形成細胞)の両方の増加による ( $p < 0.05$ , Fig. 6, 7)。しかし、B-cellの増加はいずれの時期でも一定しており、各時期における有意差を認めなかった ( $p > 0.05$ )。T-cellの増加は1~2週間でピークに達し、3週間では初回曝露時、4週間では未感作のモルモット肺内リンパ球数のレベルまで減少している。いいかえれば、B-cellは最終感作(booster)直後にはすでに増加し、肺内病巣の強弱に無関係に一定している。一方 T-cell は最終感作後すでに増加状態にあるが、さらに増加し2週間でピークに達する。

肺内 B-cell の出現状態と、実験 4 での血清の免疫グロブリン(Ig)の変動、肺内の Ig の沈着状態とを比較検討してみると、B-cell 系統への刺激は肺を含めて全身的であり、曝露時にはすでに完成されて、最終的気道感作では、その体液性免疫への刺激は強くなく、すでに形成されていた抗体と、曝露によって導入された抗原との間で immune complex 形成が惹き起こされたと考えられる。

これに反して、T-cell 系統への刺激、肺内 T-cell の増加は、最終気道曝露後もさらに続き、T-cell の反応は肺内で次第に増強されてきたと考えられる。実験 3 で、気管支肺炎様期、胞隔炎形成期における好中球の出現が肉芽腫形成期では消失し、リンパ球、マクロファージにとって代わられることを指摘し、この間に出現するリンパ球がなんらかの関与をしている可能性を考えた。今回の研究で、出現リンパ球の多くは T-cell であろうことを明らかにしたが、これが可能性としてあげた肉芽腫形成に関与する遅延型アレルギー T-cell なのか、B-cell の増殖を抑える T-cell なのかを明らかにするまでに至っていない。ただ実験 4 の結果と比較してみるとヘルパー T-cell の関与の可能性は否定的である。

以上の様に、過敏性肺臓炎の発生については、体液性および細胞性免疫の連続的あるいは、同時発現や、むしろ非独立的な T-cell と B-cell の相互作用による結果として組織学的、血清学的変化が発現してくるものと考えられた。

### 6. 全編の総括ならびに考按

過敏性肺臓炎の発生機序を明らかにするための動物実験の報告は少なくない。感作方法、抗原曝露期間については各研究者で差がみられ、また動物種や抗原の性状や量についても色々検討されている。Olenckock<sup>52)</sup> の言う様に、動物実験で抗原投与法、曝露法あるいは感作抗原が違えば出現する病変像が違ってくるのは当然である。人の過敏性肺臓炎の発生には、抗原の経気道的吸入が重要な役割を演じている。動物実験の場合も、経気道的吸入による抗原曝露は少なくとも発症のための抗原刺激時には必要である。実験方法としては、感作を経気道的に行なうものや、確実に感作できる方法として経皮的、経静脈的感作を行なった後、発症のための抗原曝露を経気道的に行なうものもある。また、抗原曝露にしても急性期の病態をみる目的で、1 回だけの吸入を行なう場合と、慢性的病態をみる目的で反復吸入を行なうものがある。

本報告では、より確実な感作状態を得るために経皮的感作を行ない、過敏性肺臓炎の慢性的な病変である肉芽腫の形成を観察する目的で、最終抗原曝露は反復吸入によるものを実験系として用いた。

この実験によって形成された病変は、確かに今まで人体例で報告されている過敏性肺臓炎の像に類似はしている。先に述べたように、人の過敏性肺臓炎の発生に抗原の経気道的吸入という経路が重要であるが、それは発生時の抗原刺激についてだけ必須といえるのであって、必ず

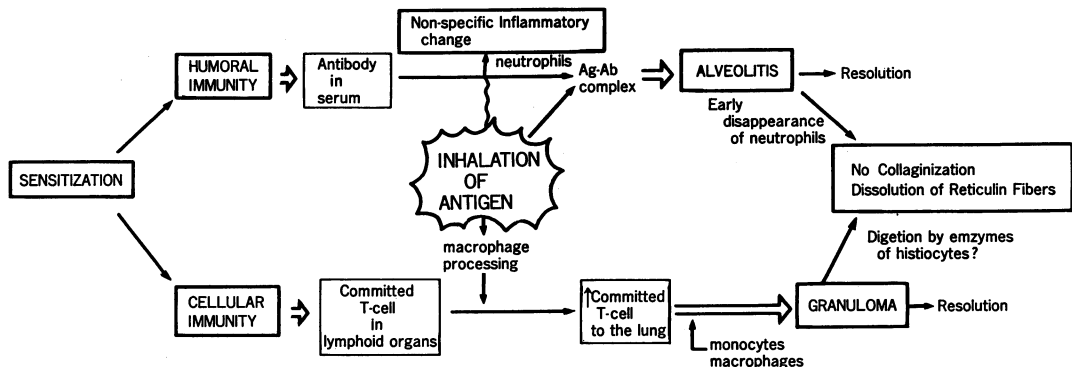


Fig. 8. Speculated pathogenesis of hypersensitivity pneumonitis.

しも、感作時に必要なものであるか否かについては明らかでない。今回得た実験系が人体例にそのままあてはめられるものであるとすれば、それは人体における感作が経皮的であるという確証が得られた場合だけであるかもしれない。いずれにせよ、今回の実験結果から推定される結論は、経皮的感作状態時における経気道的発症による過敏性肺臓炎に関してだけいえるものであることを強調しておかなければならない。

実験2から実験5までの実験によって得られた結果から、過敏性肺臓炎の発生病理を次の様に推考することができよう (Fig. 8)。

繰り返し行なった経皮的感作により、体液性免疫系、細胞性免疫系の両方が肺を含め、全身のリンパ網内系組織で発動され、吸入気道抗原刺激時までには、肺内の B-cell, T-cell も増加傾向にあった (実験5)。同時に、肺血管内を含めて、血清中には  $B\alpha A$  に対する抗体 (抗  $B\alpha A$  抗体) が存在していた (実験4)。抗原吸入6時間後からみられた急性期 (気管支肺炎様期) は、抗原抗体反応により惹起されたものというより、吸入に対する非特異的炎症反応の可能性が強い。肺胞壁に沿って起った抗原抗体反応は、immune complex として存在し、この沈着は24時間目から強くなり始め、胞隔炎形成期には最強となり、肉芽腫形成期にまでいたる。この胞隔炎は immune complex の関与があることから、Ⅲ型アレルギーと考えてよいであろう。胞隔炎形成前期にまでみられた好中球は、リンパ球、形質細胞で置き換えられる像になり、やがて肉芽腫形成期には、組織球がとってかわる (実験2および実験3)。この過程には、一方でマクロファージの抗原処理を介しての近位リンパ網内系での T-cell の賦活化が行なわれていたことを想定すると、肺内リンパ球増加、肉芽腫形成までの2週間程度の時間的経過 (実験2) をうまく説明することができる (実験5)。胞隔炎がおさまりかけた2週間目頃に、細胞性免疫系を介してのⅣ型アレルギー反応が起こったものと考えられるわけであ

る。

非特異的炎症反応、胞隔炎で誘発された少量の好銀線維の増加は、好中球の早期消退により持続せず、また膠原線維化をひきおこさなかった (実験4)。一方、形成されていた好銀線維も肉芽腫形成によって引きちぎられ、集合したマクロファージ、組織球によって消化されたことが推測される。

しかし、現在までの本研究では、増加した T-cell が肉芽腫形成に関する遅延型アレルギー T-cell ( $T_D$ -cell) なのか、Ig の産生、つまり B-cell の増殖を抑えるサプレッサー T-cell ( $T_S$ -cell) なのかを明らかにするまでに至っていない。Maish<sup>18)</sup> らのモルモットでの実験で migration inhibitor factor 活性の上昇がみられたこと、人体例でリンフォカインや chemotactic factor の分泌がさかんであるという Hunninghake<sup>43)</sup>, Schuyler<sup>53)</sup> の報告を考慮に入れると  $T_D$ -cell の関与した可能性は大きい。肺内 B-cell の動態、血清 Ig の変動、Ig の肺内沈着の状態を比較して考えると Moore<sup>23)</sup> らのようなヘルパー T-cell ( $T_H$ -cell) の関与の可能性は否定的であろう。

以上の様に、現在までの各実験結果を総合して考えると、過敏性肺臓炎の発症は、体液性免疫および細胞性免疫の連続的かつ同時発現による組織学的、血清学的変化として現われてくるものと考えられることができる。しかし、T-cell と B-cell の間の非独立的な相互作用については、まだ検討できていない。今日、リンパ球の検索は、モノクロナール抗体による検索、機能的検索など、多くの手段を利用することができる様になっている。今後、T- および B-cell の相互作用、特に、T-cell について subset である  $T_D$ -cell, 細胞障害性 T-cell がどの程度関与しているか、また  $T_H$ -cell,  $T_S$ -cell がどの様に B-cell に関与しているかを検索していく必要があると考える。

本論文の要旨は、昭和57年7月、第17回日本胸部疾患学会中国四国地方会、昭和58年10月、第33回日本アレルギー学会総会で発表した。



稿を終るにあたり、御指導、御校閲を頂いた川崎医科大学人体病理学教室、中川定明教授、山下貢司教授

ならびに真鍋俊明助教授に謹んで深謝致します。研究に御協力いただいた山成憲子氏に感謝いたします。

## 文 献

- 1) Nicholson, D. P.: Extrinsic allergic pneumonia. *Am. J. Med.* 53: 131—136, 1974
- 2) Schlueter, D. P.: Response of the lung to inhaled antigens. *Am. J. Med.* 57: 476—492, 1974
- 3) Pepys, J., Jenkins, P. A., Festenstein, H. N., Gregory, P. H. and Skinner, F. A.: Farmer's lung. Thermophilic actinomycetes as a source of "farmer's lung hay" antigen. *Lancet* 2: 607, 1968
- 4) Fink, J. N., Sosman, A. J., Barboriak, J. J., Schlueter, D. P. and Holmes, R. A.: Pigeon breeder's disease. A clinical study of a hypersensitivity pneumonitis. *Ann. intern. Med.* 68: 1205—1219, 1968
- 5) Reyes, C. N., Wenzel, F. J., Lawton, B. R. and Emanuel, D. A.: The pulmonary pathology of farmer's lung disease. *Chest* 81: 142—146, 1982
- 6) Ghose, T., Landrigan, P., Kileen, R. and Dill, J.: Immunopathological studies in patients with farmer's lung. *Clinical allergy* 4: 119—129, 1974
- 7) 小林節雄: 過敏性肺炎, 村尾 誠, 小林節雄監修, 泉考 英, 河合 健, 中沢次夫編集. 東京, 医学書院, 1982, pp. 1~2
- 8) Schatz, M., Patterson, R. and Fink, J.: Immunopathogenesis of hypersensitivity pneumonitis. *J. Allergy clin. Immunol.* 60: 27—37, 1977
- 9) Robert, R. C. and Moore, V. L.: Immunopathogenesis of hypersensitivity pneumonitis. *Am. Rev. respir. Dis.* 116: 1075—1090, 1977
- 10) Lopez, M. and Salvaggio, J.: Hypersensitivity pneumonitis: Current concepts of etiology and pathogenesis. *Ann. Rev. Med.* 27: 453—463, 1976
- 11) 日浦研哉: 過敏性肺臓炎の実験病理学的検討. *川崎医学会誌* 8: 322—331, 1982
- 12) 日浦研哉: 実験的過敏性肺臓炎の免疫組織学的研究. *アレルギー* 投稿中
- 13) 日浦研哉: 実験的過敏性肺臓炎の免疫組織学的研究—肉芽腫形成期における体液性免疫の関与—. *アレルギー* 32: 546, 1983
- 14) 小西一樹: マウス肺 granulomatous response における免疫担当細胞の動態. *日本胸部疾患学会雑誌* 16: 566—573, 1978
- 15) Nagaya, H., Schauble, M. K. and Sieker, H. O.: Experimental hypersensitivity pneumonitis. *Am. Rev. respir. Dis.* 91: 375—382, 1965
- 16) Kawai, T., Salvaggio, J., Lake, W. and Harris, J. O.: Experimental production of hypersensitivity pneumonitis with bagasse and thermophilic actinomycete antigen. *J. clin. Inves.* 50: 276—288, 1972
- 17) Bernardo, J., Hunninghake, G. W., Gadek, J. E., Ferrans, V. L. and Crystal, R. G.: Acute hypersensitivity pneumonitis: Serial changes in the lung lymphocytes subpopulation after exposure to antigen. *Am. Rev. respir. Dis.* 120: 985—994, 1979
- 18) Maish, N., Majeska, J. and Yoshida, T.: Studies on experimental pulmonary granuloma. 1. Detection of lymphokins in granulomatous lesion. *Am. J. Pathol.* 95: 391—406, 1979
- 19) 大久保隆男: 過敏性肺炎 実験モデル家免肺の組織学的検討. 厚生省特定疾患, 間質性肺疾患調査研究班 昭和57年度研究報告書: 206—210, 1983
- 20) Joubert, J. R., Ascah, K., Moroz, L. A. and Hogg, J. C.: Acute hypersensitivity pneumonitis in the rabbit. 1. An animal model with horseradish peroxidase as antigen. *Am. Rev. respir. Dis.* 113: 503—513, 1976

- 21) Richerson, H. B., Seidenfeld, J. J., Ratajczak, H. V. and Richard, D. W.: Chronic experimental interstitial pneumonitis in the rabbit. *Am. Rev. respir. Dis.* 117 : 5—13, 1978
- 22) Salvaggio, J., Phanuphak, P., Stanford, R., Bice, D. and claman, H.: Experimental production of granulomatous pneumonitis. Comparison of immunological and morphological sequelae with particulate and soluble antigen administered via the respiratory route. *J. Allergy clin. Immunol.* 56 : 364—380, 1975
- 23) Moore, V. L., Hensley, G. T. and Fink, J. N.: An animal model of hypersensitivity pneumonitis in the rabbit. *J. clin. Inves.* 56 : 937—944, 1975
- 24) Kaltreider, H. B., Turner, F. N. and salmon, S. E.: A canine model for comparative study of respiratory and systemic immunologic reactions. *Am. Rev. respir. Dis.* 111 : 257, 1975
- 25) Hensley, G. T., Fink, J. N. and Barboriak, J. J.: Hypersensitivity pneumonitis in the monkey. *Arch. Pathol.* 97 : 33—38, 1974
- 26) Wilkie, B. N.: Experimental hypersensitivity pneumonitis. Humoral and cell-mediated immune response of cattle to micropolyspora faeni and clinical response to aerosol challenge. *Int. Arch. Allerg. & Appl. Immunol.* 50 : 359, 1976
- 27) 木村郁郎, 谷崎勝朗, 上田暢男, 細川正雄, 中村之信, 佐々木良英, 原田 寛, 赤木克己, 竹山博泰: Candida によると思われる Hypersensitivity pneumonitis の臨床的検討. *アレルギー* 28 : 640—646, 1979
- 28) Sakula, A.: Mushroom-worker's lung. *Brit. Med. J.* 3 : 708—710, 1967
- 29) Channell, S., Blyth, N., Lloyd, M., Weir, D. M., Amos, W. M. G., Littlewood, A. P., Riddle, H. F. V. and Grant, I. W. B.: Allergic alveolitis in maltworkers. A clinical, mycological, and immunological study. *Quart. J. Med.* 38 : 351—376, 1969
- 30) Parish, W. E.: The response of normal and sensitized experimental animals to products of mold hay. *Acta. Allergol.* 16 : 78, 1961
- 31) 安保純郎: バガス症に関する実験的研究. *大阪大学医学雑誌* 21 : 401, 1969
- 32) Reed, C. E., Sosman, A. J., and Barbee, R. A.: Pigeon breeder's lung—a newly observed interstitial pulmonary disease. *J. A. M. A.* 193 : 261—265, 1965
- 33) Warren, C. P. W., Cherniack, R. M. and Tse, K. S.: Extrinsic allergic alveolitis from bird exposure. *Clin. Allergy*, 7 : 303—314, 1977
- 34) Yoshizawa, Y., Nakazawa, T., Ripani, L. and Moore, V. L.: Development of chronic pulmonary inflammation in immunized guinea pig by aerosol challenge with antigen: relationship of immune complex disease and cell-mediated hypersensitivity *J. Allergy clin. Immunol.* 70 : 114—119, 1982
- 35) Bellon, B., Bernaudin, J-F., Mandet, C., Chamak, B., Kuhn, J. and Druet, P.: Immune complex-mediated lung injury produced by horseradish peroxidase (HRP) and anti-HRP antibodies in rats. *Am. J. Pathol.* 107 : 16—24, 1982
- 36) Peterson, L. B., Thrall, R. S., Moore, V. L., Stevens, J. O. and Abramoff, P.: An animal model of hypersensitivity pneumonitis in the rabbit. Induction of cellular hypersensitivity to inhaled antigens using carrageenan and BCG. *Am. Rev. respir. Dis.* 116—1012, 1977
- 37) Brentjens, J. R., O'connel, D. W., Pawlowski, I. B., Hsu, K. C. and Andres, G. A.: Experimental immune complex disease of the lung. The pathogenesis of laboratory model resembling certain human interstitial lung disease. *J. exp. Med.* 140 : 105—125, 1974
- 38) Peterson, L. B., Braley, J. F. and Moore V. L.: Experimental hypersensitivity lung disease. Chronic pulmonary inflammation and cell-mediated hypersensitivity by exposure to aerosolized antigen in the rabbit. *Chest* 75 : 274—275, 1979

- 39) Roska, A. K. B., Moore, V. L. and Abramoff, P.: Immune complex disease in guinea pig lungs: Elicitation with pigeon serum. *Am. Rev. respir. Dis* 120: 129—136, 1979
- 40) 日浦研哉: 過敏性肺臓炎における好銀線維の動態. *川崎医学会誌* 9(4) 掲載予定
- 41) 石井敏広: リンパ節細網線維の光学顕微鏡的微細構造(細網線維の本態について). *日本網内系学会誌* 6: 18—32, 1966
- 42) Crystal, R. G., Gadek, J. E., Ferrans, V. J., Fulmer, J. D., Line, B. R., Hunninghake, G. W.: Interstitial lung disease: Current concepts of pathogenesis, staging and therapy. *Am. J. Med.* 70: 542—568, 1982
- 43) Hunninghake, G. W., Gadek, J. E., Kawanami, O., Ferrans, V. J. and Crystal, R. G.: Inflammatory and immune processes in the human lung in health and disease. Evaluation by bronchoalveolar lavage. *Am. J. Pathol.* 97: 149—206, 1979
- 44) Bowers, R. R., Clinton, H. R., Lewis, M. and Ballard, R.: A histological study of the carageenan induced granuloma in the rat lung. *J. Pathol.* 132: 243—253, 1980
- 45) 泉 考英, 長井苑子, 荏原順一, 藤村直樹, 平田健雄: 細胞免疫と肺疾患. *免疫と疾患* 4: 313—319, 1982
- 46) 右田俊介編: 免疫化学, 東京, 中山書店, 1972, pp. 176—177
- 47) Sternberger, L. A., Harday, P. H. and Cuculis, J. J.: The unlabeled antibody enzyme method of immunohistochemistry: Preparation and properties of soluble antigen-antibody complex (horseradish peroxidase-anti-horseradish peroxidase) and its use in identification of spirochetes. *J. Histochem. Cystochem.* 79: 226—231, 1971
- 48) Tayler, C. R.: Immunoperoxidase technique. Practical and theoretical aspects. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 102: 113—121, 1978
- 49) Johnson, K. J., and Ward, P. A.: Acute immunologic pulmonary alveolitis. *J. clin. Inves.* 54: 349—357, 1974
- 50) 日浦研哉: 過敏性肺臓炎における肺内リンパ球の種類およびその変動. *川崎医学会誌* 9(4) 掲載予定
- 51) 矢田純一, 橋 武彦: 免疫実験操作法Ⅱ, 473—475, A, 451—454, 1972
- 52) Olenchock, S. A.: Animal models of hypersensitivity pneumonitis: A review. *Ann. Allergy* 38: 119—126, 1977
- 53) Schuyler, M. R., Thigpen, T. P. and Salvaggio, J. E.: Local pulmonary immunity in pigeon breeder's disease. A case study. *Ann. Int. Med.* 88: 355—358, 1978