

サルコイドーシスの肺肉芽腫形成に対する Propionibacterium acnes の関与に関する研究

第 2 編

Propionibacterium acnes による実験的肺肉芽腫症における肺胞リンパ球の Interleukin-2 産生および Interleukin-2 受容体発現について

岡山大学医学部第二内科学教室 (指導: 木村郁郎教授)

森 由 弘

(平成 3 年 11 月 12 日受稿)

Key words : experimental pulmonary granulomatosis, guinea pig, Propionibacterium acnes, Interleukin-2, Interleukin-2 receptor

緒 言

サルコイドーシス (サ症) は, 原因不明の全身性肉芽腫疾患であり, その原因究明のため種々の試みがなされている。本間ら¹⁾が, サ症リンパ節より Propionibacterium acnes (P. acnes) が高率, 高濃度に検出されることを報告して以来, サ症の原因として P. acnes による感染論が展開されてきた。P. acnes による実験的肉芽腫モデルとして, 伊藤ら²⁾や本間ら¹⁾は局所での肉芽腫の作製を行っている。著者はサ症の臓器罹患率からみると肺が最も高率であることから, 病原物質の経気道的侵入に病因を求めて追求してきた。サ症患者の肺胞リンパ球は, P. acnes 刺激にて幼若化率³⁾, Interleukin-2 (IL-2) 産生⁴⁾, IL-2 受容体発現⁴⁾が亢進することより P. acnes に特異的に感作されていることを報告した。即ち, 経気道的に侵入してきた P. acnes に感作肺胞リンパ球が接触することで, IL-2 産生が亢進され helper T リンパ球の増殖⁵⁾が起こり肺胞隔炎の病態を形成する。一方では, 活性化リンパ球の分泌する monocyte chemotactic factor は末梢血単球を病巣に集積し⁶⁾, さらに macrophage migration inhibitory factor (MIF) などにより単球, マクロファージから類上皮細胞へと成熟分化させ⁷⁾, サルコイド肉芽腫を形成す

るのではないかと考えられた。

江尻ら⁸⁾はモルモットに P. acnes を経気道的に投与し肺肉芽腫を作製することに成功し, この肺胞リンパ球は, サ症患者の肺胞リンパ球と全く同様に P. acnes に特異的に反応することを証明した。今回著者は一歩進めて同様の肺肉芽腫モデルでの, 活性化肺胞リンパ球と IL-2 の関係を検討した。

方 法

1. 感作方法⁸⁾ (Fig. 1)

体重 400 g 前後の Hartley 系, 雌モルモット 39 匹を用いた。全く無処置モルモットを I 群 (7 匹) とした。モルモットに 2.0 mg/ml の P. acnes (Merieux 社, IM1585 株) と incomplete Freund's adjuvant (IFA) の等量混合液を週 1 回, 合計 3 回の皮内注射による前感作を行った後, 以下の II から IV 群の 3 群に分けた。II 群 (6 匹) は生食水 0.2 ml, III 群 (15 匹) は P. acnes 2.0 mg/ml と IFA 等量混合液 0.2 ml, IV 群 (11 匹) には P. acnes の菌体壁成分である pyridine extract residue (P. acnes-PER) (Strain 4182, RIBI Immuno Chem Research INC) 1.0 mg/ml と IFA 等量混合液 0.2 ml をいずれの群にも気管内へ 3 日間連続注入した。即ち III, IV 群が肺肉芽腫症モルモットであり, I, II 群が対照群で

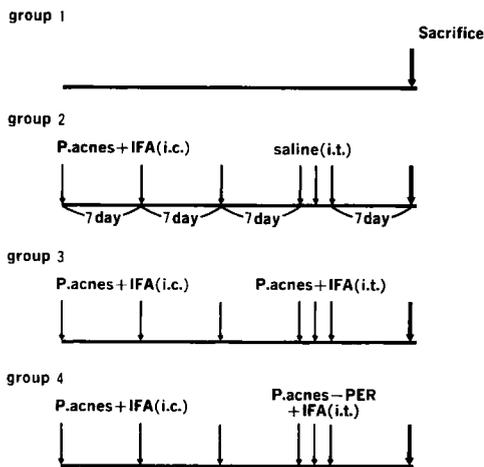


Fig. 1 An animal model of experimental pulmonary granulomatosis (Experimental procedures)

ある。注入後7日目に生食50mlにて気管支肺胞洗浄(BAL)を施行し、有核細胞を採取した。

さらにBAL液中の有核細胞数を算定し、塗沫標本を作製しMay-Giemsa染色にて有核細胞の分類を行い、リンパ球百分率を求めた。又、ヘパリン加静脈血を採取し、Ficoll比重遠沈法により末梢血リンパ球を分離採取した。

2. IL-2産生及びIL-2反応能の測定

肺胞及び末梢血リンパ球を1%胎児牛血清(FCS)加RPMI培地に浮遊させ 1×10^6 /mlに調整した後、24穴組織プレート(Costar社)に分注した。P.acnes-PER最終濃度 $5 \mu\text{g}/\text{ml}$ の存在下あるいは非存在下に48時間 37°C にて培養した後、上清を遠沈にて採取した。培養上清中のIL-2活性は、IL-2依存性細胞株(CTLL-2)を指示細胞として用いるGillisの方法⁹⁾に準じて測定した。IL-2活性は、標準IL-2 $100\text{u}/\text{ml}$ (味の素中央研究所, Jurkat IL-2 Lot No. J-012)をもとにprobit analysis法により算出した。

P.acnes刺激リンパ球のIL-2に対する反応能の測定は、P.acnes-PER添加培養後、細胞を洗浄し、リンパ球 1×10^6 /mlに調整浮遊した。浮遊液とrecombinant IL-2 $0.5\text{u}/\text{ml}$ (武田薬品, TGP-3 Lot No. H-609-504)を各wellに $100\mu\text{l}$ ずつ添加し48時間培養後、 $0.25\mu\text{Ci}$ の ^3H -Thymi-

dine(^3H -TdR)を添加し、18時間後の ^3H -TdRの摂取(dpm)を測定した。

成 績

1. 気管支肺胞洗浄液(BALF)所見

BALFの回収量はI~III群で差はなかったが、IV群ではI群に比し有意に増加していた($P < 0.02$)。総細胞数はI~IV群で差がみられなかった。リンパ球総数はI群からIV群に向かって増加傾向がみられたが有意差はなかった。リンパ球百分率は、IV群のみ、I, III群に比して有意な増加がみられた($P < 0.05$, $P < 0.02$)(Table 1)。

2. 肺胞リンパ球のP.acnes刺激によるIL-2産生

肺胞リンパ球のP.acnes刺激による培養液中のIL-2活性測定の1例をFig. 2に示した。肺肉芽腫症群の肺胞リンパ球はP.acnes刺激にてIL-2を産生することが示された。尚、本法によるIL-2の測定限界は、 $0.1\text{u}/\text{ml}$ であった。

各群のIL-2産生は、I群 0.6 ± 1.1 (平均値 \pm 標準偏差)u/ml($N=7$)、II群 $0.7 \pm 1.1\text{u}/\text{ml}$ ($N=6$)、III群 $21.2 \pm 27.9\text{u}/\text{ml}$ ($N=15$)、IV群 $329.4 \pm 294.1\text{u}/\text{ml}$ ($N=11$)であり(Fig. 3)、肺肉芽腫症群のIII及びIV群では、対照群であるI, II群に比し有意にIL-2産生の亢進がみられた($P < 0.02$, $P < 0.01$)。

3. 末梢血リンパ球のP.acnes刺激IL-2産生

末梢血リンパ球のP.acnes添加培養上清中のIL-2活性は、I群 $0\text{u}/\text{ml}$ 、II群 $7.4 \pm 10.3\text{u}/\text{ml}$ 、III群 $8.6 \pm 15.7\text{u}/\text{ml}$ 、IV群 $9.3 \pm 8.9\text{u}/\text{ml}$ であった(Fig. 4)。前感作群であるII, III, IV群において、無感作のI群に比して亢進がみられた。しかし、その産生量は肺胞リンパ球に比較して $1/10$ 以下と低値であった。

4. 肺胞リンパ球のIL-2反応能

P.acnes刺激後の肺胞リンパ球のIL-2反応能は、III群で $12,513 \pm 12,766\text{dpm}$ 、IV群 $12,362 \pm 9,414\text{dpm}$ であり、P.acnes無刺激時の $6,611 \pm 7,066\text{dpm}$ 、 $5,818 \pm 5,494\text{dpm}$ に比し亢進がみられた(Fig. 5)。一方、対照群であるI群ではIL-2反応能が全例低下し、II群では一定傾向が認められなかった。

Table 1 Cellular finding of bronchoalveolar lavage fluids in guinea pig experimental pulmonary granulomatosis

	Recovery (ml)	Total cell counts ($\times 10^4$)	Total lymphocytes ($\times 10^4$)	Lymphocytes proportion (%)
Group 1 N=7 (normal guinea pigs)	42.6 \pm 3.5	598.6 \pm 191.7	128.9 \pm 50.5	22.5 \pm 7.1
Group 2 N=6 (presensitized and intratracheally challenged by saline)	46.0 \pm 4.2	494.4 \pm 195.2	146.2 \pm 62.7	30.0 \pm 4.5
Group 3 N=15 (presensitized and intratracheally challenged by P. acnes)	44.7 \pm 4.0	693.2 \pm 522.6	166.3 \pm 132.9	23.8 \pm 6.5
Group 4 N=11 (presensitized and intratracheally challenged by P. acnes-PER)	46.8 \pm 2.8 ^a	666.5 \pm 144.6	225.8 \pm 144.6	32.8 \pm 11.1 ^{bc}

a : P<0.02 in comparison with group 1 b : P<0.05 in comparison with group 1
c : P<0.02 in comparison with group 3 (Mean \pm SD)

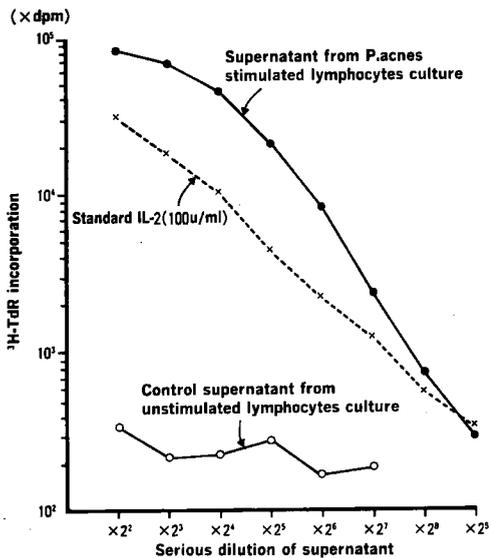


Fig. 2 Interleukin-2 activity of supernatant from alveolar lymphocytes culture in guinea pig experimental pulmonary granulomatosis

5. 末梢血リンパ球の IL-2 反応能

P. acnes 刺激後の末梢血リンパ球の IL-2 反応能は、I 群200 \pm 82dpm, II 群3,591 \pm 3,665 dpm, III 群1,958 \pm 1,448dpm, IV 群2,939 \pm 2,170 dpmであり、無刺激時のそれぞれ131 \pm 96dpm, 206 \pm 233dpm, 150 \pm 138dpm, 307 \pm 158dpmに

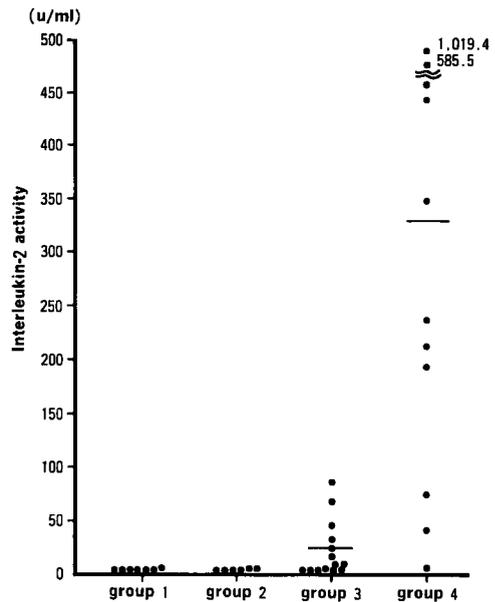


Fig. 3 Interleukin-2 activity of alveolar lymphocytes stimulated by P. acnes-PER 5 μ g/ml *in vitro* at 7th day after intratracheal challenge in guinea pig experimental pulmonary granulomatosis.

比して各群ともに刺激にて亢進していた (Fig. 6), しかし、刺激による IL-2 反応能の亢進の程度は、II, III, IV 群では I 群に比し大きかった。

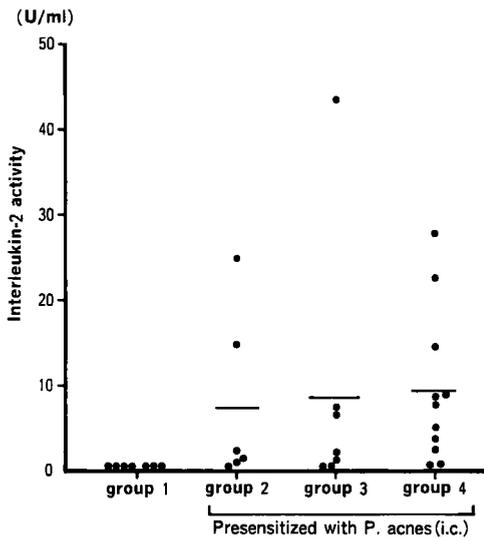


Fig. 4 Interleukin-2 activity of peripheral lymphocytes stimulated by *P. acnes*-PER 5 μ g/ml *in vitro* at 7th day after intratracheal challenge in guinea pig experimental pulmonary granulomatosis.

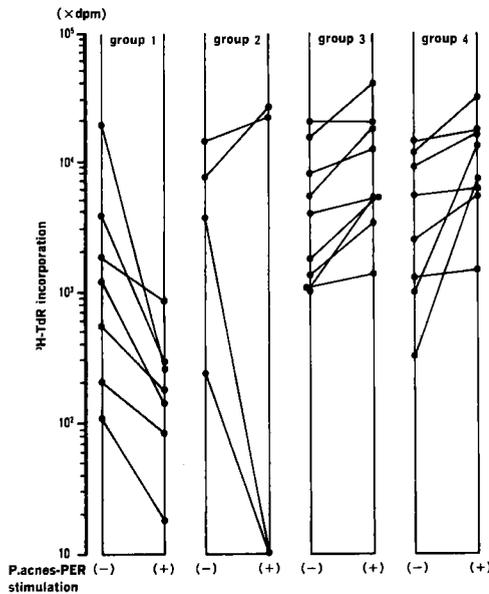


Fig. 5 The responsiveness of alveolar lymphocytes to IL-2 was evaluated by ^3H -TdR incorporation in the presence and absence of *P. acnes*-PER 5 μ g/ml in guinea pig experimental pulmonary granulomatosis.

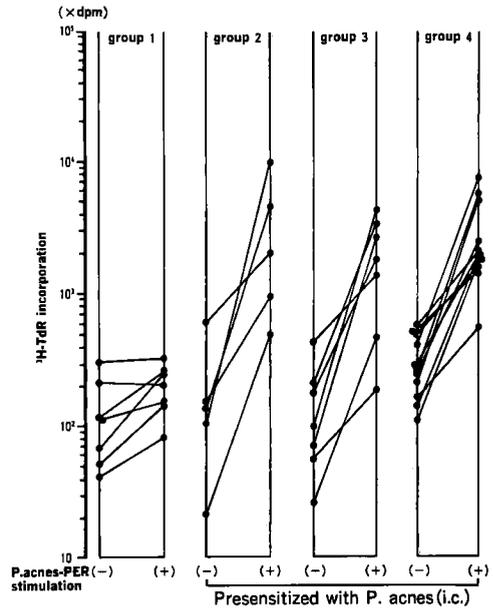


Fig. 6 The responsiveness of peripheral lymphocytes was evaluated by ^3H -TdR incorporation in the presence and absence of *P. acnes*-PER 5 μ g/ml in guinea pig experimental pulmonary granulomatosis.

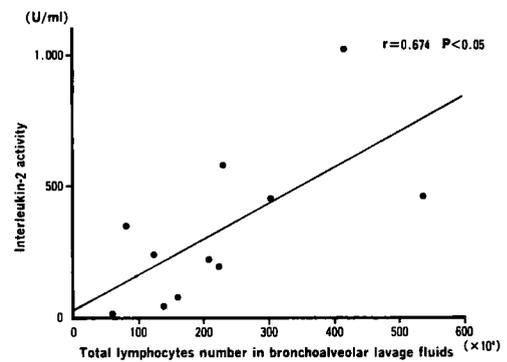


Fig. 7 Correlation between total pulmonary lymphocytes number and IL-2 activity of pulmonary lymphocytes stimulated by *P. acnes*-PER 5 μ g/ml for 48 hours.

6. 肺泡リンパ球の *P. acnes* 刺激による IL-2 産生と各種データとの相関

P. acnes 刺激により IL-2 産生の最も亢進がみられたIV群11匹について以下の検討を行った。
P. acnes 刺激肺泡リンパ球の IL-2 産生と BALF

中総細胞数及び BALF 中リンパ球総数との間にはそれぞれ $r=0.693$ ($P<0.02$), $r=0.674$ ($P<0.05$) と有意な正の相関がみられた (Fig. 7). 肺胞リンパ球と末梢血リンパ球の IL-2 産生との間には $r=-0.344$ と有意な相関を認めなかった.

考 察

本間ら⁹⁾は, *P. acnes* をサ症生検リンパ節より 70~78% の高率に, しかも高濃度に分離している. 又, サ症の剖検時の罹患臓器では肺が最も高率であることから経気道的に何等かの病原体の侵入を疑わせる. 一方, 近年 BAL の発達によりサ症肺局所における病態は著しく解明された. Crystal RG 一派^{5,7)}の研究により, サ症 BALF 中には, リンパ球特に T リンパ球が増加し, 活性化リンパ球からは, MIF や IL-2 の分泌が増加し, さらに活性化マクロファージからは Interleukin-1 (IL-1) の分泌¹⁰⁾が示されている. 又, これら lymphokine や monokine は肺胞隔炎, 類上皮肉芽腫の形成や維持に重要な役割を果たしていると考えられる.

著者は, サ症の病因に *P. acnes* の関与を想定し, 本菌の経気道的侵入により, 肺胞リンパ球が活性化されている可能性を検討してきた. その結果, サ症肺局所のリンパ球は, *P. acnes* により特異的に感作されており, *P. acnes* 刺激により幼若化の亢進³⁾, IL-2 産生⁴⁾および IL-2 受容体の発現が亢進することを報告した.

小林¹¹⁾は, muramyl dipeptide (MDP) を気管内投与することにより実験的肺肉芽腫症モルモットを作製し, 肺及び肺門リンパ節に肉芽腫が形成され, さらに肺における肉芽腫形成と同時期に, 肺胞リンパ球が増加することを示した. 次いで, 江尻ら⁸⁾は, *P. acnes* を経気道的に投与し, 同様な肺肉芽腫症を作製し肺胞リンパ球の動態を検討した. その結果, *P. acnes* 気管内感作後, 7~14日目に肺胞リンパ球が増加し, これらリンパ球は, *P. acnes* 刺激にて幼若化反応の亢進がみられ, 肺胞内の活性化リンパ球の存在を示した.

マウス, ラット, ヒトにおいては, IL-2 の存在は確認されているが, モルモットでは明確な存在は示されていない. しかし, Iribe ら¹²⁾はモ

ルモットで mitogenic factor とされていた MW 25,000~35,000 の物質は IL-2 に相当すると報告している. さらに Weinblatt ら¹³⁾も MW に若干の相違はあるがモルモットで T-cell stimulatory factor は IL-2 に一致することを示唆している. 江尻らの方法に従い作製した肺肉芽腫症モルモットの肺胞及び末梢血リンパ球の *P. acnes* 刺激 IL-2 産生及び反応能を検討した. 肺肉芽腫症モルモットの肺胞リンパ球は, IL-2 産生及び IL-2 反応能が亢進しており, 肺胞リンパ球は, lymphokine 分泌のレベルにおいても活性化されていることが示された. 一方, 末梢血リンパ球は, 肺肉芽腫症以外に生食注入群でも, IL-2 産生及び反応能の亢進が認められた. このことは, *P. acnes* の皮内への前感作により末梢血リンパ球が感作されたことを示している. さらに気管内感作により, 肺肉芽腫症を発症したモルモットでは肺胞リンパ球の IL-2 産生及び反応能は末梢血リンパ球に比して約10倍と高値であり, 活性化は肺局所にて著明であった. 無処置群である I 群では, 肺胞, 末梢血リンパ球ともに *P. acnes* 刺激による IL-2 産生は全く認められなかった. しかし, IL-2 反応能に関しては肺胞リンパ球では低下が, 末梢血リンパ球では増加がみられた. 一方, 肺肉芽腫症モルモットの肺胞リンパ球の IL-2 反応能の低下は, BALF においては共存するマクロファージの比率が高いこと, 抑制性マクロファージの存在ないしは, 抑制因子の非特異的産生などが原因として考えられる.

BALF 中総細胞数及びリンパ球数と肺胞リンパ球の *P. acnes* 刺激 IL-2 産生が正の相関を示すことは, IL-2 産生が肺局所における胞隔炎の程度を反映する指標として有用であろう.

Crystal RG ら⁵⁾によるとサ症リンパ球は, IL-2 を自然放出すると報告している. 本実験モデルにおいては, *P. acnes* 非刺激下では最近の成績によれば各実験群ともに IL-2 分泌は認めないけれども, このことは *P. acnes* 感作だけでなく宿主側の免疫応答の差を積極的に示唆するものである.

類上皮細胞肉芽腫の形成には, 免疫学的機序の関与があり, その有無によって大別される. サ症の類上皮細胞肉芽腫は, 異物肉芽腫と異な

り各種 lymphokine や monokine が分泌され、複雑な細胞間相互作用を経て形成される免疫学的機序の関与した肉芽腫である。MDP は細菌の細胞壁を構成するアジュバンド活性を有する最少単位である¹⁴⁾。田中ら¹⁵⁾は、モルモットを使用し MDP による肉芽腫形成能について調べ、W/O emulsion の形で足蹠に接種して得られる所属リンパ節の肉芽腫形成には、MDP によるマクロファージの活性化が重要な役割を演じており、アレルギーの関与を必要としないと述べている。P. acnes はマクロファージを非特異的に活性化し、本間ら¹¹⁾も、P. acnes は量依存的に肉芽腫を形成するが、前感作することにより、より一層サ症に近い非融合性肉芽腫を作ると述べている。著者らの実験モデルにおいても感作により、肺胞リンパ球から IL-2 産生の亢進が起り、IL-2 反応能即ち IL-2 受容体発現亢進を介して肺肉芽腫形成に至る過程が示された。吉田ら^{16,17)}は、抗原を付着したアガロース粒子を用いたモルモット実験的肉芽腫を作製し、その形成に lymphokine が重要な役割を果たすことを述べている。この根拠として、肉芽腫炎症の発現初期に肉芽腫抽出液中に各種 lymphokine を認め、抗 lymphokine 抗体の投与で肉芽腫形成が抑制されること、さらにアガロース粒子に lymphokine を付着させて投与すると、非常に早くかつ強い肉芽腫が惹起されることを挙げている。

本実験では、気管内に P. acnes を感作し、1 週間後の肺胞リンパ球を用いた、小林らの MDP による実験的肉芽腫症においては、肺肉芽腫は気管内感作後 2～3 週間後に最も成熟し 4 週まで存在すると報告している。又、江尻らによる

と肺胞リンパ球の P. acnes 刺激幼若化能は、気管内感作後 1～2 週間後にピークとなると報告している。以上の成績を考慮すると、感作肺胞リンパ球は IL-2 を含めた lymphokine を産生し、さらに分裂増殖し肉芽腫形成に至ると考えられる。今回、マクロファージの活性化所見について検討していないが、IL-1 産生の亢進している可能性があり、今後マクロファージについても検討が必要である。

以上、P. acnes が肺肉芽腫を発症させる原因となり得ること、そして肉芽腫の形成には、本菌にて感作されたリンパ球の肺内への集積と肺内での増殖が、重要な役割を果たしていることを示した。さらに、この実験動物モデルにおける成績は、ヒトにおけるサ症の肺胞リンパ球異常と全く同様の所見であることから、サ症における肺肉芽腫形成への P. acnes の関与を強く示唆するものである。

結 論

P. acnes により実験的肺肉芽腫を作製した。感作肺胞リンパ球は、P. acnes 刺激により IL-2 産生及び IL-2 反応能の亢進がみられた。これは、サ症患者における肺胞リンパ球の異常と全く同様の所見である。サ症の病態に P. acnes の関与が示唆された。

稿を終えるに臨み御指導ならびに御校閲いただきました恩師木村郁郎教授に謝意を捧げますと共に、研究に際して御指導いただきました医療技術短期大学部、中田安成教授に深謝致します。

文 献

- 1) 本間日臣：サルコイドーシスの発症機構に関する研究——感染論の立場からの基礎的研究——，“難病の発症機構”文部省特定研究「難病」班編，東大出版会，東京（1981）pp 245—303.
- 2) Ito Y, Toyama J, Morikawa S, Hirano T, Hirasawa Y: The production of granulomas in animals and men by a propionibacterium suspension and Yersinia. In Eighth International Conference on Sarcoidosis and Other Granulomatous Disease, William WJ and Davies BH eds, Alpha Omega Publishing Limited. New York (1978) pp 142—149.
- 3) 中田安成，江尻東伍，岸 俊行，小林洋三，藤田道雄，大槌泰亮，木村郁郎：サルコイドーシス肺胞リンパ球の Propionibacterium acnes に対する反応性の検討。日脚疾会誌（1985）23，413—419.

- 4) 森 由弘, 飛岡 徹, 江尻東伍, 岸 俊行, 片岡幹男, 中田安成, 木村郁郎: サルコイドーシス患者肺胞リンパ球の異常: Propionibacterium acnes 刺激による IL-2 産生とその反応性について. サルコイドーシス研究会誌 (1986) 6, 27—28.
- 5) Pinkston P, Bitterman PB and Crystal RG: Spontaneous release of Interleukin-2 by lung T-lymphocytes in active pulmonary sarcoidosis. N Engl J Med (1983) 308, 793—800.
- 6) Hunninghake GW, Gadek JE, Young RC, Kawanami O, Ferrans VJ and Crystal RG: Maintenance of granuloma formation in pulmonary sarcoidosis by T-lymphocytes within the lung. N Engl J Med (1980) 302, 594—598.
- 7) Kataria YP, LoBuglio AF, Bromberg PA: Sarcoid lymphocytes: Spontaneous transformation and release of macrophage migration inhibition activity. Am Rev Respir Dis (1978) 113, 315—323.
- 8) 江尻東伍, 森 由弘, 岸 俊行, 小林洋三, 片岡幹男, 中田安成, 大熨泰亮, 木村郁郎: Propionibacterium acnes 感作肺肉芽腫モデルの肺リンパ球の動態. サルコイドーシス研究会誌 (1985) 5, 39—40.
- 9) Gillis S, Ferm MM, Ou W and Smith KA: T cell growth factor: Parameters of production and a quantitative microassay for activity. J Immunol (1978) 120, 2027—2032.
- 10) Hunninghake GW: Release of Interleukin-1 by alveolar macrophages of patients with active pulmonary sarcoidosis. Am Rev Respir Dis (1984) 129, 569—572.
- 11) 小林洋三: サルコイドーシスの成因に関する研究 第2編 Corynebacterium parvum と Muramyl dipeptide による実験的肺肉芽腫症作製の試み. 岡山医誌 (1984) 96, 1163—1174.
- 12) Hideaki Iribe and Toshitaka Koga: Biological activity of guinea pig mitogenic factor from immune lymphocytes stimulated with antigen. Microbiol Immunol (1983) 27, 65—74.
- 13) Weinblatt AC, Oppenheim JJ and Rosenstreich DL: Signal requirements for lymphocyte activation: Role of a T-cell growth factor produced by guinea pig peritoneal exudate lymphocytes. Cell Immunol (1982) 68, 332—342.
- 14) Ellouz F, Adam A, Ciorbaru R and Lederer E: Minimal structural requirements for adjuvant activity of bacterial peptidoglycan derivatives. Biochem Biophys Res Commun 59, 1317—1325.
- 15) 田中 渥: リンパ球が関与しないマクロファージ活性化, 類上皮細胞肉芽腫形成および生体防御. 続生体制御の機構, 水野伝一, 武谷健二, 石田名香雄編, 東大出版会, 東京 (1981) pp 115—133.
- 16) Masih NJ, Majeska and Yoshida T: Studies on experimental pulmonary granulomas 1. Detection of lymphokines in granulomatous lesion. Am J Pathol (1979) 95, 391—406.
- 17) Yoshida T: In Basic and Clinical Aspects of Granulomatous Diseases, Boros DL and Yoshida T eds, Ellisevier/North-Holland, NY (1980) p 81.

Studies on pulmonary granuloma formation by *Propionibacterium acnes* in sarcoidosis

Part 2. Interleukin-2 production and responsiveness to Interleukin-2 of alveolar lymphocytes in experimental pulmonary granulomatosis produced by *Propionibacterium acnes*

Yoshihiro MORI

Second Department of Internal Medicine,

Okayama University Medical School,

Okayama 700, Japan

(Director : Prof. I. Kimura)

The role of *Propionibacterium acnes* (*P. acnes*) isolated from a high percentage of patients with sarcoidosis by Dr. Honma, as a cause of sarcoidosis was examined.

Interleukin-2 (IL-2) production and the responsiveness to IL-2 of alveolar lymphocytes stimulated by *P. acnes* were examined in vitro in a guinea pig model.

The animals were divided into 4 groups, normal guinea pigs (group 1), guinea pigs intracutaneously presensitized with *P. acnes* and intratracheally challenged by saline (group 2), guinea pigs presensitized as above and intratracheally challenged with *P. acnes* (group 3), and guinea pigs presensitized as above and intratracheally challenged by *P. acnes*-pyridine extract residue (*P. acnes*-PER) (group 4). The production of IL-2 by alveolar lymphocytes stimulated by *P. acnes*-PER for 48 hours was determined using the method described by Gillis et al. The responsiveness of alveolar lymphocytes to IL-2 was evaluated by ³H-TdR uptake in the presence and absence of *P. acnes*-PER.

The amount of IL-2 produced by alveolar lymphocytes was 0.6 ± 1.1 , 0.7 ± 1.1 , 21.2 ± 27.9 and 329.4 ± 294.1 u/ml (M \pm SD), respectively, in groups 1, 2, 3 and 4. The value of IL-2 production in groups 3 and 4, the intratracheally challenged groups, was significantly higher than that in groups 1 and 2, the control groups ($p < 0.02$, $p < 0.01$). By contrast, the IL-2 production of peripheral lymphocytes in groups 1, 2, 3 and 4 was 0, 7.4 ± 10.3 , 8.6 ± 15.7 and 9.3 ± 8.9 u/ml, respectively. The amount of IL-2 produced was about one-tenth that of alveolar lymphocytes.

In the intratracheally challenged groups, the responsiveness to IL-2 of alveolar lymphocytes in the presence and absence of *P. acnes*-PER was 12, 514 ± 12 , 766 and 6, 611 ± 7 , 066 for group 3, and 12, 362 ± 9 , 414 and 5, 818 ± 5 , 494 dpm, respectively, for group 4. The responsiveness to IL-2 of alveolar lymphocytes in group 4 was significantly increased by stimulation with *P. acnes*-PER ($p < 0.05$), but that in groups 1 and 2, control groups, was not different.

Our findings indicate that *P. acnes*-PER stimulated IL-2 production from alveolar lymphocytes and induced a functionally active state of alveolar lymphocytes to IL-2 in this guinea pig model.

In conclusion, the role of alveolar lymphocytes in an animal model stimulated by *P. acnes* appears to be consistent with that obtained on the sarcoidosis patients we previously reported.