

担鉄肺胞マクロファージの機能 に関する研究

第 2 編

溶接フェーム吸入モルモットにおける 肺胞マクロファージの検討

岡山大学医学部第 2 内科学教室 (主任: 木村郁郎教授)

入 江 誠 治

(昭和58年3月28日受稿)

Key words: 担鉄肺胞マクロファージ,
溶接フェーム吸入モルモット

緒 言

肺胞マクロファージ (以下 $M\phi$) は、肺の “resident” $M\phi$ であり、骨髄の前駆細胞から発生し、肺胞局所においても増殖能力をもつとされており¹⁻⁴⁾、その作用は単に異物の貪食にとどまらず、種々の生物活性物質を分泌することにより非常に多岐にわたっている⁵⁻⁹⁾。またその持異な存在環境ゆえに、外界からの異物の侵入に直接さらされる運命にあり、その代謝は aerobic な環境に順応したものになっている^{1,10)}。

各種病態における肺胞 $M\phi$ の関与については多くの研究がなされているが、種々の呼吸器疾患あるいは血液疾患¹¹⁾で、その喀痰中あるいは気管支肺胞洗浄液中に種々の頻度で出現する担鉄肺胞 $M\phi$ ¹²⁾ の機能については十分な解析がなされているとは言い難い。特に溶接工肺のように外界から経気道的に侵入した酸化鉄粒子を貪食した担鉄肺胞 $M\phi$ と、その他の呼吸器疾患あるいは血液疾患のように肺内微出血により血管外に漏出した赤血球を貪食した担鉄肺胞 $M\phi$ の機能上の異同については未だ報告はない。また酸化鉄粉塵の肺組織障害性に関する報告も、silica, asbestos に比べて極めて少ない¹³⁾。

著者は第 1 編において溶接工肺の肺胞 $M\phi$ の機能異常を指摘したが、これは慢性期の状態を把えたものであり、肺線維化につながる炎症反応

や肺胞 $M\phi$ の機能上の変化は見出せなかった。そこで溶接工肺における急性期の肺胞 $M\phi$ を中心とする細胞反応を実験的に明らかにする目的で、本編ではモルモットを用いた溶接工肺の動物モデルを作成し、急性～慢性期にわたって検討を行ない、肺組織障害性および肺における鉄代謝という観点から考察を加えた。

対象および方法

1) 対象

Hartley 系雌モルモット (体重300~500g) を1週間観察し健康と思われるものを実験に用いた。

2) 実験方法

健康モルモットに次の如く溶接により発生するフェームを吸入させた。すなわち溶接棒 (神戸製鋼所製) 1.5本を溶接により消費し、それにより発生したフェームを90分間、密閉した飼育箱 (90cm×90cm×120cm) の中で吸入させ、これを4日間繰り返した。そして吸入開始より1週後 (第8日)、4週後 (第29日)、8週後 (第57日) および未処置群、計4群の両側肺の洗浄を行ない洗浄液を回収した (図1)。

肺洗浄の方法は、5%ペントバルビタールナトリウム1.5ml/kg 体重を腹腔内投与した後、プラスチックチューブを気管内に挿入し無菌生

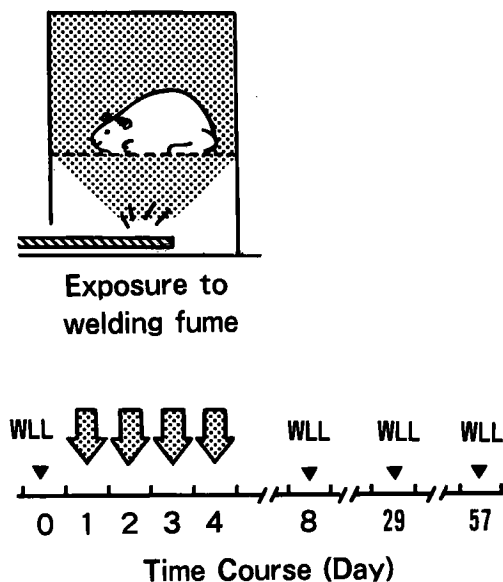


図1. Experimental design
WLL=whole lung lavage

理食塩水10mlを注入、それを静かに吸引し同じ操作を5回行なった。回収した洗浄液を二重のガーゼで濾過して粘液を除き、得られた細胞浮遊液を、化学走性、食食能、 β -galactosidase 活性、superoxide (以下 O_2^-) 産生能測定のための各検査用に分割した。また一部を沈渣と上清に分離し、沈渣中の細胞成分について細胞数と同時に May-Giemsa 染色、Prussian blue 染色を行ない、出現細胞の分類と担鉄肺胞 $M\phi$ の出現率について検討した。得られた肺胞 $M\phi$ の各種機能の検討は以下の如く行なった。

① 肺胞 $M\phi$ の走性の検討

細胞浮遊液は第1編と同様に作成した。また agarose plate の作成は、agarose (Behring institute) 0.06g に 3ml の蒸留水を加え、約15分間煮沸浴槽につけて agarose を溶解させた後、48°C浴槽に移し、別に準備した medium(RPMI 1640 培養液 2ml, 非働化馬血清 1ml, $NaHCO_3$ 2.5mg, penicillin G 100unit/ml, streptomycin 100 μ g/ml) を48°Cに加熱した後、上記 agarose とよく混和し、組織培養用プラスチック dish (Falcon 3002, 60 \times 15mm) に注入して agarose plate を作成した。

遊走因子の作成は、健康人新鮮血清の代わりに健康モルモットの新鮮血清を用いた他は第1編と同様にした。測定方法は、内側の well に control として M-199 の代わりに RPMI 1640 を注入し、計測は第1編と同様に chemotaxis, random migration, chemotactic differential, chemotactic index を算出した。

② 肺胞 $M\phi$ 食食能の検討

食食能検査に用いる zymosan 液の作り方は、zymosan (Sigma) 20mg に生理食塩水 5~10ml を加え約30分間煮沸浴槽につけた後 700 G, 5分間遠心し、沈渣を 0.01Mリン酸緩衝液(pH 7.4) 10ml で洗浄遠心して上清を除き、その沈渣にモルモット乾燥補体10mlを加え37°C, 45分間、続いて56°C, 30分間 incubate した。遠心により得られた沈渣に 0.01Mリン酸緩衝液 (pH 7.4) 5ml で洗浄遠心を3回繰り返す。沈渣を RPMI 1640 40ml に浮遊させ、最終的に 0.5mg/ml の濃度に調整し、試験管に 2ml ずつ分注し -20°C で検査まで保存した。他の操作は第1編と同様にした。

③ 肺胞 $M\phi$ の β -galactosidase 活性の検討

第1編と同様の染色液を用い、陽性細胞の出現率を観察した。

④ 肺胞 $M\phi$ の O_2^- 産生能の検討

第1編と同様に、産生される O_2^- による cytochrome C の還元を吸光度変化として測定した。

成 績

1) 未処置群および溶接フェーム吸入後の肺洗浄所見

① 総細胞数

回収総細胞数は、未処置群 (19例) の $13.5 \pm 5.3 \times 10^6$ 個から吸入1週後 (12例) には $11.1 \pm 4.1 \times 10^6$ 個と減少する傾向 ($p < 0.20$) がみられ、吸入4週後 (28例) には $16.0 \pm 4.9 \times 10^6$ 個、吸入8週後 (10例) には $16.1 \pm 8.6 \times 10^6$ 個と未処置群のレベル以上に ($p < 0.20$) 回復した (表1)。

② 出現細胞

洗浄液中に出現する細胞の百分率は表1の如くであった。すなわち $M\phi$ の比率は、未処置群の $78.6 \pm 7.6\%$ に比し吸入1週後で $69.9 \pm 18.3\%$

表1. Cellular Contents of Bronchoalveolar Lavage Fluid in Guinea Pigs Exposed to Welding Fume

	Unexposed(n=14)	Weeks after exposure		
		1W (n=15)	4W (n=18)	8W (n=18)
Total cell count (X10 ⁷)	1.35±0.53	1.11±0.41	1.60±0.49	1.61±0.86
Differential cell count (%)				
Macrophage	78.6±7.6	69.9±18.3	84.9±8.4	72.4±15.6
Lymphocyte	9.1±5.0	8.1±5.4	7.1±4.0	4.5±3.7
P M N*	12.4±7.8	22.0±21.0	8.0±6.8	23.1±16.8†

*polymorphonuclear leukocyte

†Mean ± SD

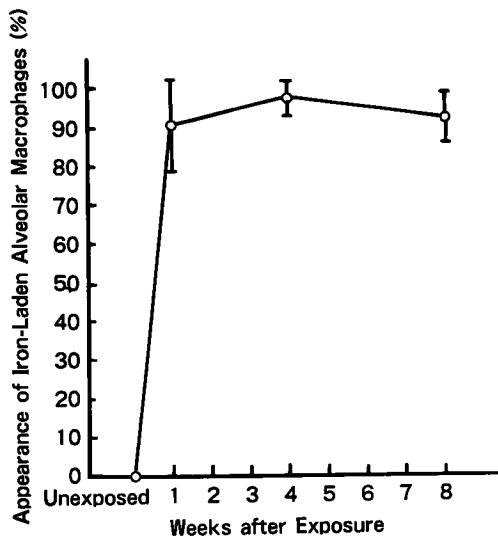


図2 Iron-laden alveolar macrophage composition compared with whole alveolar macrophages in guinea pigs exposed to welding fume.

と低下 ($p < 0.20$) し, 4 週後には $84.9 \pm 8.4\%$ と 1 週後 ($p < 0.01$), あるいは未処置群と比べて ($p < 0.05$) 有意に上昇した。多形核白血球の比率は, 未処置群の $12.4 \pm 7.8\%$ に比し 1 週後には $22.0 \pm 21.0\%$ に上昇し ($p < 0.20$), 4 週後には $8.0 \pm 6.8\%$ と 1 週後に比べて有意 ($p < 0.05$) に低下し, 未処置群に比べても低値をとる傾向 ($p < 0.20$) であった。また 8 週後には $23.1 \pm 16.8\%$ と 4 週後に比べて有意 ($p < 0.01$) に上昇し, 未処置群よりも高値をとった ($p < 0.05$)。一方リンパ球の比率には著明な変化はみられなかった。

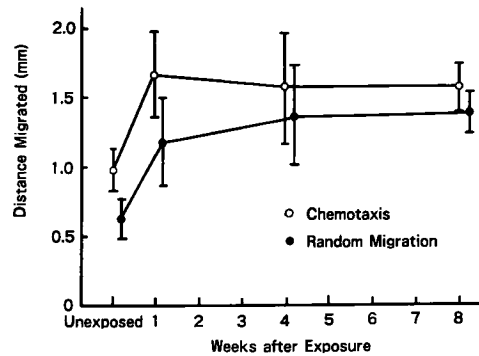


図3. Chemotaxis of alveolar macrophages from guinea pigs exposed to welding fume.

③ 担鉄肺胞 Mφ の出現率

担鉄肺胞 Mφ の全肺胞 Mφ に対する百分率は, 未処置群 (7 例) では全例が 0% と担鉄肺胞 Mφ は認められなかったが, 吸入 1 週後 (25 例) には $90.4 \pm 12.3\%$ と急激に上昇 ($p < 0.001$) し, 4 週後 (30 例) には $97.1 \pm 4.8\%$ と 1 週後に比べてさらに上昇した ($p < 0.02$). しかし 8 週後 (18 例) には $92.8 \pm 6.7\%$ と 4 週後に比べて低下する傾向 ($p < 0.05$) がみられた (図 2).

2) 肺胞 Mφ の走性の検討

未処置群 13 例, 吸入後 1 週群 15 例, 吸入後 4 週群 16 例, 吸入後 8 週群 6 例において chemotaxis (CT), random migration (RM), chemotactic differential (CD), chemotactic index (CI) について検討を行なった. CT は未処置群の $0.97 \pm 0.15\text{mm}$ に比べて 1 週後には $1.65 \pm 0.33\text{mm}$ と有意 ($p < 0.001$) に亢進し, 4 週後, 8 週後でもそれぞれ $1.59 \pm 0.38\text{mm}$, $1.59 \pm 0.16\text{mm}$ となおその傾向が持続した. RM も CT と同様

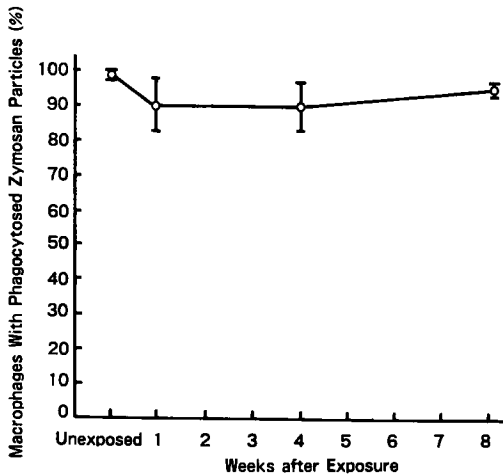


図4. Phagocytosis of opsonized zymosan particles by alveolar macrophages from guinea pigs exposed to welding fume.

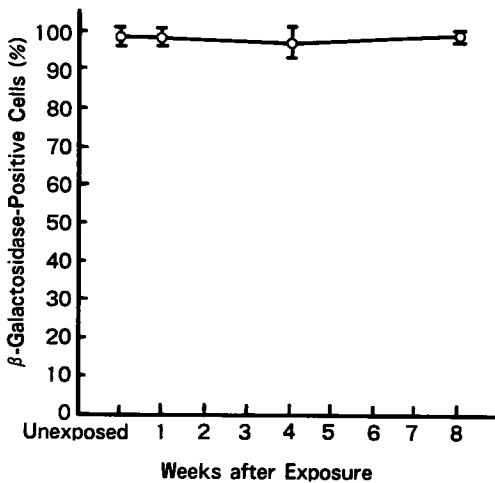


図5. beta-Galactosidase activity of alveolar macrophages from guinea pigs exposed to welding fume.

に未処置群の 0.57 ± 0.13 mm に比べて1週後には 1.18 ± 0.33 mm と有意 ($p < 0.001$) に亢進し、その後4週後には 1.35 ± 0.37 mm、8週後には 1.39 ± 0.13 mm とさらに亢進する傾向 ($p < 0.20$) がみられた。CD は、未処置群と1週後ではそれぞれ 0.40 ± 0.10 mm、 0.46 ± 0.23 mm と有意差はみられなかったが、4週後では 0.23 ± 0.10 mm、8週後では 0.21 ± 0.11 mm と、未処置群に比べても ($p < 0.05$)、1週後に比べても ($p <$

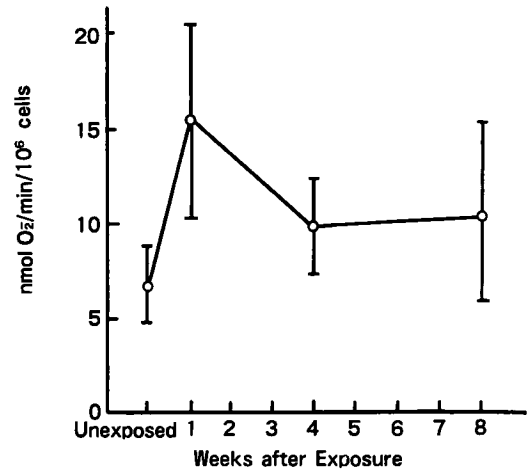


図6. Superoxide production by alveolar macrophages from guinea pigs exposed to welding fume.

0.001) 有意に減少した。CI は、未処置群と1週後ではそれぞれ 1.87 ± 0.45 、 1.65 ± 0.53 と有意差はみられなかったが、4週後では 1.24 ± 0.12 、8週後では 1.17 ± 0.10 であり、未処置群に比べても ($p < 0.001$)、1週後に比べても ($p < 0.02$) 有意に減少した (図3)。

3) 肺胞 Mφ の貪食能の検討

未処置群20例、吸入後1週群13例、吸入後4週群14例、吸入後8週群11例において、opsonizeした zymosan 粒子の貪食能について検討した。貪食肺胞 Mφ の百分率は未処置群 $98.6 \pm 1.3\%$ 、吸入後1週群 $89.8 \pm 7.3\%$ 、4週群 $88.6 \pm 6.3\%$ 、8週群 $94.3 \pm 1.7\%$ であり、未処置群に比べて1週後 ($p < 0.01$)、4週後 ($p < 0.001$) で有意に低下し、8週後には上昇する傾向がみられたが、未処置群よりは有意 ($p < 0.001$) に低値であった (図4)。

4) 肺胞 Mφ の beta-galactosidase 活性の検討

未処置群23例、吸入後1週群13例、吸入後4週群14例、吸入後8週群11例において、beta-galactosidase 活性について検討した。beta-galactosidase 陽性肺胞 Mφ の百分率は、未処置群 $98.7 \pm 2.8\%$ 、吸入後1週群 $98.4 \pm 1.9\%$ 、4週群 $97.6 \pm 3.4\%$ 、8週群 $99.2 \pm 1.3\%$ で各群の間に有意差はみられなかった (図5)。

5) 肺胞 Mφ の O₂⁻ 産生能の検討

未処置群15例, 吸入後1週群12例, 吸入後4週群14例, 吸入後8週群10例において, O_2^- 産生能 (nmol/min/ 10^6 cells) について検討した。その結果は, 未処置群 6.30 ± 2.05 , 吸入後1週群 15.36 ± 5.20 , 4週群 9.44 ± 2.21 , 8週群 10.37 ± 4.96 であり, O_2^- 産生能は1週後に上昇し ($p < 0.001$), 4週後には1週後に比べて有意に低下 ($p < 0.01$) したが, 依然として未処置群に比べて高値 ($p < 0.001$) をとり, この傾向は8週後も変わらなかった (図6)。

総括並びに考案

溶接工肺患者の病態を解明する研究の一環として, 本疾患では外界から経気道的に酸化鉄粒子を吸入することから肺胞 $M\phi$ の機能に着目し研究をすすめているが, 本編ではモルモットにフュームを吸入させたモデル動物を作製し, 肺洗浄によって得られた肺胞 $M\phi$ を用いてその機能的検討を行なった。その結果, 吸入後著明に鉄を貪食した肺胞 $M\phi$ は貪食能が低下し, random migration は亢進していたことより, 多量に貪食した鉄を他の部位に移送する機序が想定された。また急性期には多形核白血球が一過性に出現し, かつ全経過を通じ superoxide 産生能が亢進するなど炎症反応が介在し, 肺の組織障害の一因を成していることが推察された。

総細胞数が吸入1週後に減少したが, これは恐らく炎症を起こした終末細気管支が, 細胞崩壊産物や多形核白血球などによって閉塞されたためであろう。なお4週以降の増加は, 急性期の浮腫などの炎症が消退し, 遊走因子を介して $M\phi$ が動員されたためと思われる。細胞分類で, 1週後に多形核白血球が増加しているが, これは $M\phi$ 由来の, あるいはその他の遊走因子によって肺胞腔へ動員されたためであろう。そしてそれにやや遅れて $M\phi$ の動員が起こったと思われる。また8週後に多形核白血球が再び増加しているが, これは溶接のフューム吸入のために, $M\phi$ の貪食能の低下など肺の免疫機構に何らかの異常をきたし, 呼吸器感染の機会が増したためかもしれない。Luganoら¹⁴⁾ はモルモットの気管内に silica を注入し, 著者と同様の細胞数と細胞分類の経時的変化を認めている。ま

た組織レベルの変化については, silica の気管内注入に引き続き1日以内に, 終末細気管支周囲に好中球主体の炎症が出現し, 4日目には好中球は単核球にとって代われ, 7日目までには間質に肉芽腫の形成とコラーゲンの沈着が見え始めたと報告している。従って silica と酸化鉄粒子という違いはあるが, 実験的溶接工肺の急性期には, 実験的珪肺と類似の組織レベルでの変化が起きている可能性があると思われる。Bowdenら¹⁵⁾ や Grossら¹⁶⁾ は類似の実験モデルを作成し, carbon などの異物粒子吸入後, 急速に多形核白血球が肺胞腔に出現し, 数日のうちに消失していくことを観察している。また, Bowdenら¹⁵⁾ や Adamsonら¹⁷⁾ は, 同じく動物実験で carbon を吸入させた後に $M\phi$ の2相性の増加を認めており, 第1相は血中の単球の動員によるものであり, 第2相は肺間質細胞 ($M\phi$ 前駆細胞) の分裂増殖と肺胞腔への遊走によるものと推察している。また Adamsonら¹⁸⁾ はマウスに carbon や latex 粒子を吸入させる実験で, 初期の多形核白血球増加時の肺洗浄液上清中に, 多形核白血球, 単球の遊走と肺間質細胞の分裂を促進する因子の存在を認めたが, 細胞分裂が盛んな時期の肺洗浄液上清中にはそのような作用をもつ因子は認められなかったとする。従って, 肺胞 $M\phi$ は, 異物の種類によりある程度の差はあるとしても吸入した粒子との相互作用 (貪食を含む) により前述の如き因子を産生, 放出するものと思われる。

担鉄肺胞 $M\phi$ の出現率は, 未処置群では0%であったものが, 吸入後1週で90%以上に上昇したが, これは他の異物と同様に吸入後急速に肺胞 $M\phi$ に貪食されたため^{19,20)} と思われる。4週後では1週後に比べてさらに有意 ($p < 0.02$) に上昇しているが, その理由としては, ① $M\phi$ 間で鉄の受け渡しがあった, ② 鉄を貪食した $M\phi$ が死滅して放出された細胞内の鉄が複数の未貪食肺胞 $M\phi$ に貪食された, ③ 貪食を免れていた酸化鉄粒子があらたに肺胞 $M\phi$ に貪食された, などの可能性が考えられる。8週後には4週後に比べて有意 ($p < 0.05$) に担鉄肺胞 $M\phi$ の出現率が低下しているが, これは担鉄肺胞 $M\phi$ が喀痰中に混じって喀出されたか, リンパあるい

は血流中に入って肺胞腔から他の部位に移動したため^{19,21)}と思われる。

走性の観察では chemotaxis, random migration とともに吸入後 1 週で亢進がみられ 8 週後までその傾向が引き続きみられた。一般に好中球では、食食後に遊走能は低下すると言われており^{22,23)}、その原因として遊走因子の不活化²⁴⁻²⁶⁾食食に際して産生された活性酸素^{27,28)}や顆粒内容物^{26,29)}による“autotoxicity”, 代謝活性や膜構造の変化^{26,30,31,32)}、食食物質を胞体内に含有することによる機械的因子などが推察されている。今回担鉄肺胞 M ϕ を対象とした実験では、遊走能はむしろ亢進していたが、その原因として、肺胞 M ϕ と好中球の差、酸化鉄粒子の特殊性、食食が in vivo で行なわれたこと、肺胞 M ϕ と混入した多形核白血球、リンパ球などの相互作用の影響などが考えられる。また Territo ら³³⁾が報告したように未熟な肺胞 M ϕ の方が成熟した肺胞 M ϕ より遊走能が亢進しているとすれば、今回の遊走能の亢進は、急激な M ϕ の動員に伴い未熟な肺胞 M ϕ の比率が増大したことによるのかもしれない。いずれにせよこのような遊走能の亢進は、担鉄肺胞 M ϕ の肺胞腔から喀痰中への、あるいはリンパ、血流中への移動を促進し、さらには肉芽腫の形成に関与する可能性もあると考えられる。

opsonize された zymosan の食食能は、吸入後 1 週 ($p < 0.01$)、4 週 ($p < 0.001$)、8 週 ($p < 0.01$)とも未処置群に比べて有意に低下し、第 1 編の溶接工肺と同じ結果であり、その機序も同じであると考えられた。すなわち第 1 編で述べた Stossel³⁴⁾のいう食食の 7 つの過程のいずれかまたは複数の過程の障害によると思われる。また Fischer ら³⁵⁾が肺胞 M ϕ の機能に及ぼす、喫煙の影響に関する研究で考察しているように、フェームの刺激により機能的に未熟な M ϕ 前駆細胞が肺胞腔に動員された可能性も考えられる。8 週後には食食能が再び亢進する傾向がみられたが、これは担鉄肺胞 M ϕ の比率の低下とともに、未熟な肺胞 M ϕ の機能的成熟も関与していることが想定された。

β -galactosidase 活性には、吸入前後で有意差はみられなかった。しかし今回は未だ成績を示

していないが、 β -galactosidase 活性を陽性、陰性でなく胞体の染色性 (blue green の色調の程度)により score 分類すると、吸入後 β -galactosidase 活性が低下する傾向が観察されており、従って食食に伴い M ϕ から lysosomal enzyme の放出機転が働いていたことが窺われ、鉄粉吸入による炎症反応の介在が示唆された。

O₂ 産生能は吸入後 1 週で急激に亢進し、以後 8 週後まで有意に亢進していた。但しこの結果は肺胞 M ϕ のみによる O₂ 産生亢進を反映するものではないと思われる。なぜならば肺胞 M ϕ はその“aerobic”な環境ゆえに、多形核白血球や腹腔 M ϕ が食食に際して hexose monophosphate-shunt activity に依存するのに比べて、oxidative metabolism に依存する度合いが大きいので、食食時の“respiratory burst”はむしろ小さく^{1,10)}、従って吸入 1 週後の O₂ 産生能の亢進には多形核白血球がいくらか関与していることが想定されるためである。なお今回観察した O₂ 産生能は、酸化鉄粒子食食時のものではなく、酸化鉄粒子を食食した肺胞 M ϕ の、食作用類似の代謝誘導物質である Concanavalin A と cytochalasin E に対する O₂ 産生能であることを考慮しなければならないが、M ϕ が活性化され、O₂ を産生し易い状態にあることは確かであると思われる。細胞外に放出された O₂ は抗菌作用とともに自己の組織を障害する作用をもつ^{36,37)}ため、恐らくは同時に放出される前述の lysosomal enzyme, prostaglandin E₂ など³⁸⁻⁴¹⁾と相俟って肺組織障害、さらには肺線維化の原因となりうるということが推察された。

結 論

溶接工肺における肺胞マクロファージ (M ϕ) の機能とその病態に及ぼす影響を解明する目的でモルモットを用いた実験モデルを作製し、未処置群およびフェーム吸入後 1 週から 8 週までの肺洗浄により得られた細胞について、担鉄肺胞 M ϕ を中心に各種の機能的検討を行ない以下の結果を得た。

1. 総回収細胞数は吸入 1 週後の群でやや少なく、4 週以降は未処置群より多かった。
2. 出現細胞の分類では、吸入 1 週後に多形核

白血球が、4週後にはMφが、8週後には再び多形核白血球が増加した。

3. 担鉄肺胞Mφの出現率は、未処置群では0%であったが、1週以後90%以上の高率な出現を示した ($p < 0.001$)。

4. 走性の観察では、chemotaxis及びrandom migrationは1週以降有意 ($p < 0.001$) に亢進した。chemotactic differentialは4週以後には有意 ($p < 0.05$) に減少し、chemotactic indexも4週以後有意 ($p < 0.001$) に減少した。

5. 食食能の観察では、未処置群に比べて1週後 ($p < 0.01$)、4週後 ($p < 0.001$) では有意に低下し、8週後にはやや上昇したが、未処置群に比べると有意 ($p < 0.001$) に低値のままであ

った。

6. β -galactosidase活性の観察では、各群間で有意差はなかった。

7. superoxide産生能は1週後に上昇し ($p < 0.001$)、4週後、8週後では1週後に比べて有意に低下したが ($p < 0.01$, $p < 0.05$)、未処置群に比べると依然として高値をとった ($p < 0.001$, $p < 0.05$)。

稿を終るにあたり、御指導御校閲を賜った恩師木村郁郎教授に深甚の謝意を表するとともに、終始御懇篤なる御指導を賜った高橋清助手に深謝します。

なお本論文の要旨は第24回日本臨床血液学会総会(昭和57年出雲)において発表した。

文 献

1. Hocking, W.G. and Golde, D.W.: The pulmonary-alveolar macrophage (first of two parts). *N. Engl. J. Med.* 301, 580—587, 1979.
2. Bowden, D.H., Adamson, I.Y.R. and Grantham, W.G., Origin of the lung macrophage: evidence derived from radiation injury. *Arch. Pathol.* 88, 540—546, 1969.
3. Bowden, D.H., Adamson, I.Y.R.: The pulmonary interstitial cell as immediate precursor of the alveolar macrophage. *Am. J. Pathol.* 68, 521—528, 1972.
4. Daems, W.T. and DeBakker, J.M.: Do resident macrophage proliferate? *Immunobiology* 161, 204—211, 1982.
5. Hocking, W.G. and Golde, D.W.: The pulmonary-alveolar macrophage (second of two parts). *N. Engl. J. Med.* 301, 639—645, 1979.
6. Cohen, A.B., Chenoweth, D.E. and Hugli, T.E.: The release of elastase, myeloperoxidase, and lysozyme from human alveolar macrophages. *Am. Rev. Respir. Dis.* 126, 241—247, 1982.
7. Baggiolini, M., Schnyder, J., Dewald, B., Bretz, U. and Payne, T.G.: Phagocytosis-stimulated macrophages. production of prostaglandins and SRS-A, and prostaglandin effects on macrophage activation. *Immunobiology* 161, 369—375, 1982.
8. Kaltreider, H.B.: Alveolar macrophages: enhancers or suppressors of pulmonary immune reactivity? *Chest* 82, 261—262, 1982.
9. Pierce, J.A. and Senior, R.M.: Alveolar macrophage secrets. *J. Lab. Clin. Med.* 97, 463—466, 1981.
10. Oren, R., Farnham, A.E., Saito, K., et al: Metabolic patterns in three types of phagocytizing cells. *J. Cell. Biol.* 17, 487—501, 1963.
11. Golde, D.W.: Kinetics and function of the human alveolar macrophage. *J. Reticuloendothel. Soc.* 22, 223—230, 1977.
12. 松坂 宏人, 藤原寛太, 宮田 明, 竹山博泰, 高橋 清, 才野 進, 木村郁郎: 肺における鉄代謝に関する研究. 日本血液学会雑誌, 43, 311, 1980.
13. White, L.R., Hunt, J., Tetley, T.D. and Richards, R.J.: Biochemical and cellular effects of welding fume particles in the rat lung. *Ann. Occup. Hyg.* 24, 93—101, 1981.

14. Lugano, E.M., Dauber, J.H. and Daniele, R.P.: Acute experimental silicosis: lung morphology, histology, and macrophage chemotaxin secretion. *Am. J. Pathol.* **109**, 27—36, 1982.
15. Bowden, D.H., Adamson, I.Y.R.: Adaptive responses of the pulmonary macrophagic system to carbon: I. Kinetic studies. *Lab. Invest.* **38**, 422—429, 1978.
16. Gross, P., DeTreville, R.T.P., Tolker, E.B., Kaschak, M., Babyak, M.A.: The pulmonary macrophage response to irritants: an attempt at quantitation. *Arch. Environ. Health* **18**, 174—185, 1969.
17. Adamson, I.Y.R. and Bowden, D.H.: Role of monocytes and interstitial cells in the generation of alveolar macrophages: II. kinetic studies after carbon loading. *Lab. Invest.* **42**, 518—524, 1980.
18. Adamson, I.Y.R. and Bowden, D.H.: Chemotactic and mitogenic components of the alveolar macrophage response to particles and neutrophil chemoattractant. *Am. J. Pathol.* **109**, 71—77, 1982.
19. Bertalanffy, F.D.: Respiratory tissue: structure, histopathology, cytodynamics. I. review and basic cytomorphology. *Int. Rev. Cytol.* **16**, 233—328, 1964.
20. Nissim, J.A.: Experimental siderosis: a study of the distribution, delayed effects and metabolism of massive amounts of various iron preparations. *J. Pathol. Bacteriol.* **66**, 185—204, 1953.
21. Yam, L.T., Finkel, H.E. and Weintraub, L.R.: Circulating iron-containing macrophages in hemochromatosis. *N. Engl. J. Med.* **279**, 512—514, 1968.
22. Allgower, M. and Block, H.: The effect of tubercle bacilli on the migration of leukocytes in vitro. *Am. Tuberc. Rev.* **59**, 562—566, 1949.
23. Bryant, R.E., DesPrez, R.M., VanWay, M.H. and Rogers, D.E.: Studies on human leukocyte motility. I. effects of alterations in pH, electrolyte concentration, and phagocytosis on leukocyte migration, adhesiveness, and aggregation. *J. Exp. Med.* **124**, 483—499, 1966.
24. Clark, R.A., Szot, S., Venkatasubramanian, K. and Schiffman, E.: Chemotactic factor inactivation by myeloperoxidase-mediated oxidation of methionine. *J. Immunol.* **124**, 2020—2026, 1980.
25. Clark, R.A. and Klebanoff, S.J.: Chemotactic factor inactivation by the myeloperoxidase hydrogen peroxide system. *J. Clin. Invest.* **64**, 913—920, 1979.
26. Gallin, J.I., Wright, D.G. and Schiffman, E.: Role of secretory events in modulating human neutrophil chemotaxis. *J. Clin. Invest.* **62**, 1364—1374, 1978.
27. Kay, N.E., Douglas, S.D. and Nelson, R.D.: Human neutrophil migratory function: modulatory effect of interactions with opsonized particles. *Infect. Immun.* **26**, 12—14, 1979.
28. Baehner, R.L., Boxer, L.A., Allen, J.M. and Davis, J.: Autooxidation as a basis for altered function by polymorphonuclear leukocytes. *Blood* **50**, 327—335, 1977.
29. Gordon, L.I., Douglas, S.D., Kay, N.E., Yamada, O. and Osserman, E.F.: Modulation of neutrophil function by lysozyme. *J. Clin. Invest.* **64**, 226—232, 1979.
30. Berlin, R.D. and Oliver, J.M.: Analogous ultrastructure and surface properties during capping and phagocytosis in leukocytes. *J. Cell. Biol.* **77**, 789—804, 1977.
31. Kay, N.E., Bumol, T.F. and Douglas, S.D.: Effect of phagocytosis and Fc receptor occupancy on complement-dependent neutrophil chemotaxis. *J. Lab. Clin. Med.* **91**, 850—856, 1978.
32. Lane, T.A., Lamkin, G.C. and Windle, B.E.: Phagocytosis-induced modulation of human neutrophil chemotaxis receptors. *Blood* **58**, 228—236, 1981.
33. Territo, M.C. and Golde, D.W.: The function of human alveolar macrophages. *J. Reticuloendothel. Soc.* **25**, 111—120, 1979.
34. Stossel, T.P.: The mechanism of phagocytosis. *J. Reticuloendothel. Soc.* **19**, 237—245, 1976.
35. Fischer, G.L., McNeill, K.L., Finch, G.L., Wilson, F.D. and Golde, D.W.: Functional evaluation of

- lung macrophages from cigarette smokers and nonsmokers. *J. Reticuloendothel. Soc.* **32**, 311—321, 1982.
36. Gee, J.B.L. and Khandwala, A.S.: Oxygen metabolism in the alveolar macrophage: friend and foe? *J. Reticuloendothel. Soc.* **19**, 229—236, 1976.
37. Simon, R., Scoggin, C. and Pterson, D.: Hydrogen peroxide mediates the toxic effect of oxygen radicals on human fibroblasts. *Chest* **80**, 45s, 1981.
38. Werb, Z., Banda, M.J. and Jones, P.A.: Degradation of connective tissue matrices by macrophages. *J. Exp. Med.* **152**, 1340—1357, 1980.
39. Tsukamoto, Y., Hesel, W.E. and Wahl, S.M.: Macrophage production of fibronectin, a chemoattractant for fibroblasts. *J. Immunol.* **127**, 673—678, 1981.
40. Rennard, S.I., Hunninghake, G.W., Bitterman, P.B. and Crystal, R.G.: Production of fibronectin by the human alveolar macrophage: mechanism for the recruitment of fibroblasts to sites of tissue injury in interstitial lung diseases. *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)* **78**, 7147—7151, 1981.
41. Rutherford, B., Steffin, K. and Sexton, J.: Activated human mononuclear phagocytes release a substance(s) that induces replication of quiescent human fibroblasts. *J. Reticuloendothel. Soc.* **31**, 281—293, 1982.

Functional studies on iron-laden alveolar macrophages
Part II. Functional changes observed in alveolar macrophages
from guinea pigs after exposure to welding fume

Seiji IRIE

Second Department of Internal Medicine, Okayama

University Medical School, Okayama 700, Japan

(Director: Prof. I. Kimura)

In order to clarify the relation of iron-laden alveolar macrophages to the pathogenesis of arc welder's lung, kinetics and functions of guinea pig alveolar macrophages were assessed by whole-lung lavage 1, 4 and 8 weeks after the exposure to welding fume. Whole-lung lavage was performed also in unexposed guinea pigs as controls.

The number of lavaged cells was low 1 week after exposure, but exceeded control levels 4 weeks after exposure and remained elevated thereafter. The percentage of polymorphonuclear leukocytes was high 1 and 8 weeks after exposure, and that of macrophages was high 4 weeks after exposure. The iron-loading rate of alveolar macrophages was 0% in controls. It was elevated above 90% 1 week after exposure and remained elevated thereafter. Chemotaxis to zymosan activated serum and random migration of alveolar macrophages were maximal 1 week after exposure and were significantly greater ($p < 0.001$) than with controls at all times. The chemotactic differential and chemotactic index were significantly low 4 and 8 weeks after exposure ($p < 0.05$, $p < 0.001$), compared with those of controls. The phagocytosis of opsonized zymosan particles by alveolar macrophages were significantly lower ($p < 0.01$), than controls at all times. There was no significant difference in β -galactosidase activity of alveolar macrophages between controls and welding fume-exposed guinea pigs at any time. Superoxide production by alveolar macrophages was maximal 1 week after exposure and remained significantly high thereafter ($p < 0.05$), compared with that for controls.

Thus, exposure to welding fumes in vivo appears to induce acute and chronic inflammatory reactions and iron transport which are probably mediated by alveolar macrophages.

Key words: iron-laden alveolar macrophage, guinea pig, welding fume exposure