

呼吸器アレルギーにおける肺の組織学的研究

第 2 編

実験的感作における肺の組織学的検討

岡山大学医学部第2内科学教室

原 田 寛

(昭和55年3月29日受稿)

Key words : BCG, カンジダ, アスペルギルス,
肉芽腫, 実験的過敏性肺臓炎

緒 言

著者は第1編において過敏性肺臓炎および気管支喘息患者の生検肺につき組織学的検討をおこない、過敏性肺臓炎はもとより、気管支喘息症例の中にも肺胞領域に単核細胞浸潤がみられることを明らかにした。

過敏性肺臓炎の発症機序に関しては第1編で述べたごとく諸論^{(1)-(5), (21)-(24)}が多いが、動物モデルにおける肺組織像についても報告者によりかなりの差がみられる。

動物モデルの肺の病理像は基本的には interstitial pneumonitis を示しても、人の過敏性肺臓炎に特徴的とされる肉芽腫の形成^{(6), (7)}は必ずしもすべての実験で認められているわけではない。例えば、卵白アルブミンと CFA を用いた過敏性肺臓炎の動物モデルでは、肺胞炎、細気管支炎、肉芽腫性変化などの所見がみられるが、このさいの肉芽腫性病変は adjuvant にもとづくものと解釈されている^{(8), (17)}

一方、adjuvant を使用せず、micropolyspora faeni や pigeon dropping extract による感作では、肉芽腫形成のみられたという報告⁽⁹⁾、^{(10), (11)}とみられなかったという報告⁽¹²⁾がある。

一般に、adjuvant 使用感作動物では肉芽腫形成の傾向が強くなるが、この場合、感作にもとずいた本来の病変と、BCG や CFA によって形成される、いわゆる "adjuvant granuloma"^{(8), (17)} との鑑別が問題となってくる。これらの各実験系における肺組織の反応は、用いられた感作抗原の種類や濃度、adjuvant 使用

の有無、感作経路、感作期間などにより影響されるものと考えられるが、その詳細は不明である。

本編では、カンジダおよびアスペルギルスを抗原として用い、これら抗原に対する肺組織の反応様式について、抗原の種類による差、濃度による影響、adjuvant の影響などについて検討を加えた。同時に気管支喘息の動物モデルを作成し、組織学的検討をおこなったので、その概略を報告する。

実験方法

1. 実験動物

250g 前後の Hartley 系の雌モルモットを用いた。これらは動物舎において、感作開始前1~5週間、水、キャベツ、固形飼料(オリエンタル酵母工業製)により飼育された。

2. 実験装置

過敏性肺臓炎の動物モデルについては、上部がふたで取りはずしのできるプラスチック製の吸入箱(40×28×21cm)を用いた。箱の一方の側面へ直径2.0cmの円形窓をつけ、そこからネブライザーを挿入して箱内に抗原を噴霧できるようにし、他方の側面へは4.0×5.0cmの排出口をつけて、噴霧された抗原の排出および箱内の動物の換気をはかった。

気管支喘息の動物モデルについては、その表面に直径数mmの多数の換気口をあけた、ふたのついたプラスチック製の円筒の吸入箱(直径15.0cm、長さ28.0cm)を用いた。円筒の内部に1~2匹のモルモットを入れて、一端よりネブライ

ザーを挿入して吸入感作をおこない、他端の透明なふたより内部の動物の観察をおこなった。

全実験を通じ、吸入箱とネブライザーはそれぞれの抗原に対して専用のものを用い、抗原の噴霧は日商式吸入用ネブライザー（日本商事製）にコンプレッサー（日本共立医科工業製）を接続しておこなった。

3. 抗原および adjuvant

過敏性肺臓炎の抗原としては、カンジダおよびアスペルギルス乾燥凍結粉末（トリキ薬品）を生理的食塩水で溶解し、 $300\mu\text{g}/\text{ml}$ あるいは $600\mu\text{g}/\text{ml}$ に調製して使用した。

実験喘息の抗原としては、5回結晶卵白アルブミン（生化学工業，Lot No.9301）を用いた。この卵白アルブミンを蒸留水にて1.0%溶液とし、可部ら⁽¹³⁾の方法に準じて、等量のCFAを加えて0.5%卵白アルブミン液（OA in CFA）を作成し使用した。

BCGは日本ビーシー製造社製のもの（菌量1管40mg）を用い、またcomplete Freund's adjuvant（CFA）はヤトロン社製のものを使用した。

4. 感作方法

1) 過敏性肺臓炎

adjuvantとしてBCGを使用しない群と使用する群に分けて検討した。

(1) BCG 非使用群

カンジダおよびアスペルギルス抗原液は $300\mu\text{g}/\text{ml}$ と $600\mu\text{g}/\text{ml}$ の2種類を使用した。それぞれ2.0ml/日のネブライザー吸入を連日3週間おこなうことにより感作した。なお、すべての実験において、同じ動物舎で無処置のまま飼育したモルモットおよび抗原の代わりに生食水を噴霧吸入させたモルモットを対照とした。

(2) BCG 使用群

BCGの影響を検討するため、BCG $1000\mu\text{g}$ を大腿内側部に皮下注射し、その24時間後に吸入感作を開始する群と、3週間後に感作を開始する群の2群に分けて検討した。BCG注射24時間後に吸入感作をおこなった群では、いずれの抗原も $300\mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度で使用した。また、BCG注射3週間後に吸入感作した群では、各抗原は $600\mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度で使用した。感作は、

BCG非使用群と同様、抗原液2.0mlを連日3週間吸入することによりおこなった。この際の対照群はBCG注射後無処置のまま飼育した無処置群、および抗原液の代わりに生食水を吸入した群の2群とした（図1）。

2) 実験喘息

0.5%卵白アルブミン液（OA in CFA）1.0mlを毎週1回モルモットの背部皮下に分注し、これを3週くりかえすことにより感作をおこなった。

5. 抗原再曝露および組織学的検索

1) 過敏性肺臓炎

すべての実験において、感作終了1週間後に、生食水あるいは各抗原液を再吸入させ、吸入24時間後に $50\text{mg}/\text{ml}$ のsodium pentobarbitalを $0.5\text{ml}/\text{kg}$ ずつ腹腔内に注射して麻酔し、開胸下に心臓より脱血して死亡せしめ、右中葉の先端より約1.0cmの部位で肺組織を採取、組織片をただちに10% formalin液にて固定した。次いでパラフィン包埋をおこない、hematoxylin・eosin染色をほどこして検鏡に供した。

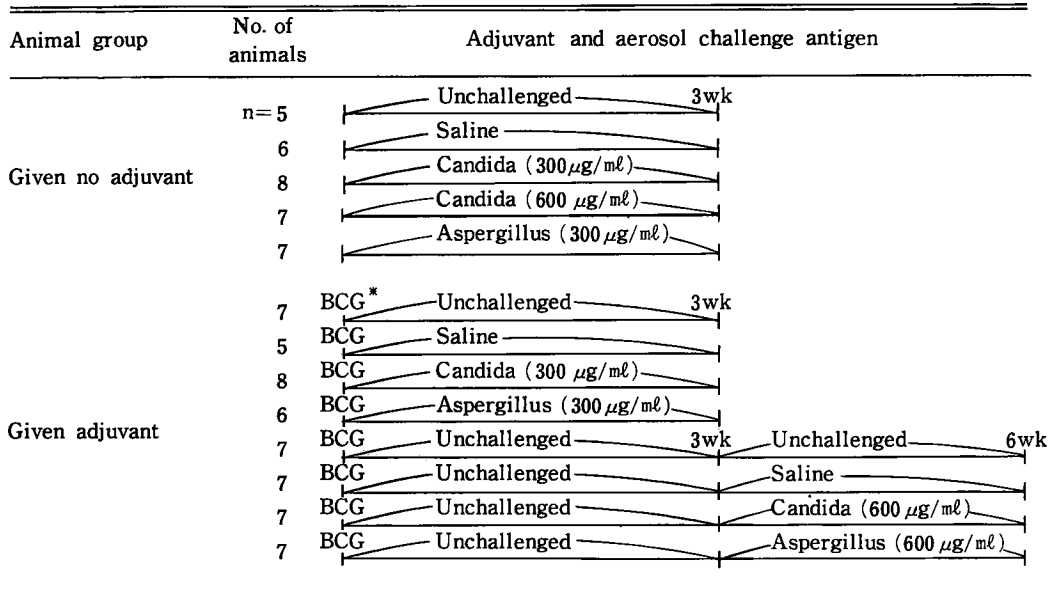
肺の組織学的検索については、以下のごとき項目について検討した。

(1)granulomatous response-----granuloma形成の有無について検討した。

(2)small clusters of mononuclear cell accumulation⁽¹⁴⁾ -----限局性の境界やや不明瞭な単核球の集簇がみられるかどうかの検討をおこなった。

(3)pulmonary interstitial mononuclear cell infiltration and septal thickening-----胞隔を中心とした単核球の浸潤の有無および程度、および胞隔の厚さについて検討した。細胞浸潤をともなう胞隔の厚さが無処置モルモットの胞隔の厚さの2倍以上あり、それが1組織切片上、 $\frac{1}{4}$ 以上の広さにわたって認められた場合を陽性所見とした。

(4)marked mononuclear cell infiltration in and around the vascular walls-----血管壁および血管周囲への単核球浸潤について検討した。単核球が血管壁の厚さの2倍以上の幅で、血管断面全周の $\frac{1}{4}$ 以上の長さにわたって壁あるいは周囲へ浸潤巣を形成している場合を陽性所



* 1000 μg of BCG subcutaneously injected in each animals

図1. 実験的過敏性肺臓炎の感作方法

見とした。

(5) marked mononuclear cell infiltration in and around the bronchial & bronchiolar walls-----気管支壁、細気管支壁およびその周囲の単核球浸潤について検討した。単核球が気管支、細気管支壁の厚さの2倍以上の幅で、それぞれの気管支、細気管支断面全周の $\frac{1}{3}$ 以上の長さにわたって壁あるいは周囲へ浸潤巣を形成している場合を陽性所見とした。

(6) emphysematous change-----気腫化傾向の有無について検討した。

なおモルモットでは、比較的境界明瞭で密な単核球の浸潤像がなかば生理的に認められる⁽¹⁵⁾が (focal mononuclear cell infiltration, 図2), かかる単核球の浸潤像は、今回の組織学的検討からは除外した。

2) 実験喘息

最終感作の1週間後に5.0%の卵白アルブミン液(OA)をネブライザーにて噴霧吸入させ、モルモットに喘息誘発を試みた。対照としては、同様の方法で生食水を皮下注射して生食水を噴霧吸入させる群、生食水を注射して5.0%卵白アルブミン液を噴霧吸入させる群、0.5%卵白アルブミン液を皮下注射して生食水を噴霧吸入

させる群の3群を用いた(図3)。

実験喘息においては、吸入誘発開始後、チアノーゼをとまなう呼吸困難発作が出現した時点で、あるいは突如転倒した時点で抗原の噴霧を中止し、20分間の観察の後に上述の方法で麻醉し、肺組織を採取した。呼吸困難やチアノーゼが強く、呼吸数も著明に低下して、放置すればちっ息死が予想された動物では、ただちに無麻醉で開胸、脱血死せしめ、肺組織を採取した。

実験成績

第1節 adjuvant 非使用感作動物における肺の組織学的検討

第1項 カンジダ吸入感作における検討

1. 対照群の肺組織所見

granuloma 形成は無処置群で5匹中1匹、生食水吸入群で6匹中1匹に認められた。このさいの granuloma は1標本上に1個位の少数であり、その周囲には単核球の浸潤はなく正常組織に囲まれていた。また単核球の small cluster は無処置群では認められず、生食水吸入群で6匹中1匹に認められたのみであった。その他、胞隔への単核球の軽度ないし中等度の浸潤 (pulmonary interstitial mononuclear

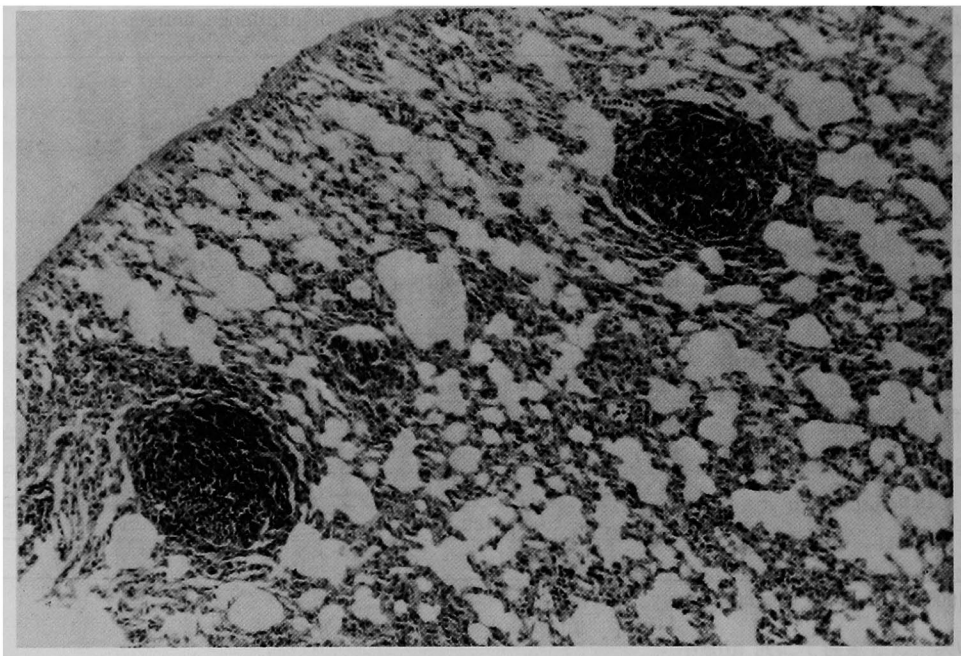


図2. 生理的にも認められる単核球の浸潤像。細胞は密に集まり、周辺との境界は明瞭である。

(HE stain×100)

No. of animals	Sensitizing antigen	Aerosol challenge antigen
n = 5	Saline	Saline
5	Saline	OA
4	OA in CFA	Saline
6	OA in CFA	OA

OA : Ovalbumin
CFA : Complete Freund's adjuvant

図3. 実験喘息の感作方法

cell infiltration) は、無処置群で5匹中3匹、生食水吸入群で6匹中2匹に認められたが、胞隔の厚さの著明なものは少なかった。又、血管、気管支、細気管支周囲への単核球浸潤はほとんど認められなかった(図4)。

2. カンジダ抗原300 $\mu\text{g}/\text{ml}$ による吸入感作群 granuloma 形成は8匹中1匹にのみ数個認められたが、このさいの granuloma はいずれもその周辺に広範囲の単核球浸潤をとまっており、1部に多形核白血球もみられた。すなわち granuloma 形成については、対照群とほとんど差は認められなかった。単核球からなる small cluster は8匹中5匹(図5)、また胞隔への単核球の浸潤および胞隔の肥厚は8匹中

6匹に認められ、いずれも対照群と比べ有意に高い出現率を示した。しかし、血管、気管支、細気管支周囲への単核球の浸潤は軽度であり、対照群との間にほとんど差は認められなかった。

3. カンジダ抗原600 $\mu\text{g}/\text{ml}$ による吸入感作群 granuloma 形成は7匹中3匹と対照に比べ有意に高率であった(図6)。単核球の small cluster や胞隔への浸潤、胞隔の肥厚は対照群に比べ高率にみられ、300 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 吸入群よりやや高度であった。その他血管、気管支、細気管支周囲への単核球の浸潤は、生理的および300 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 吸入群と比べ、より高度であった。すなわち、600 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 吸入群では、300 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 吸入群に比べ、granuloma 形成がやや高率にみられ、また胞隔、血管、気管支、細気管支周囲への単核球の浸潤、胞隔の肥厚もより高度であった(表1)。

第2項 アスペルギルス吸入感作における検

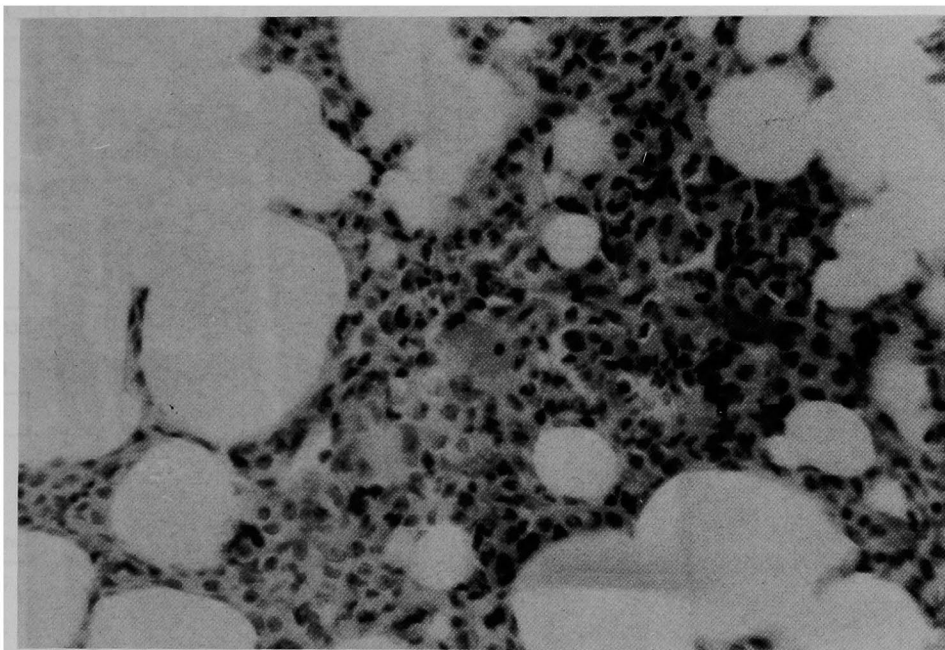


図4. 無処置モルモットにみられた granuloma. (HE stain ×400)

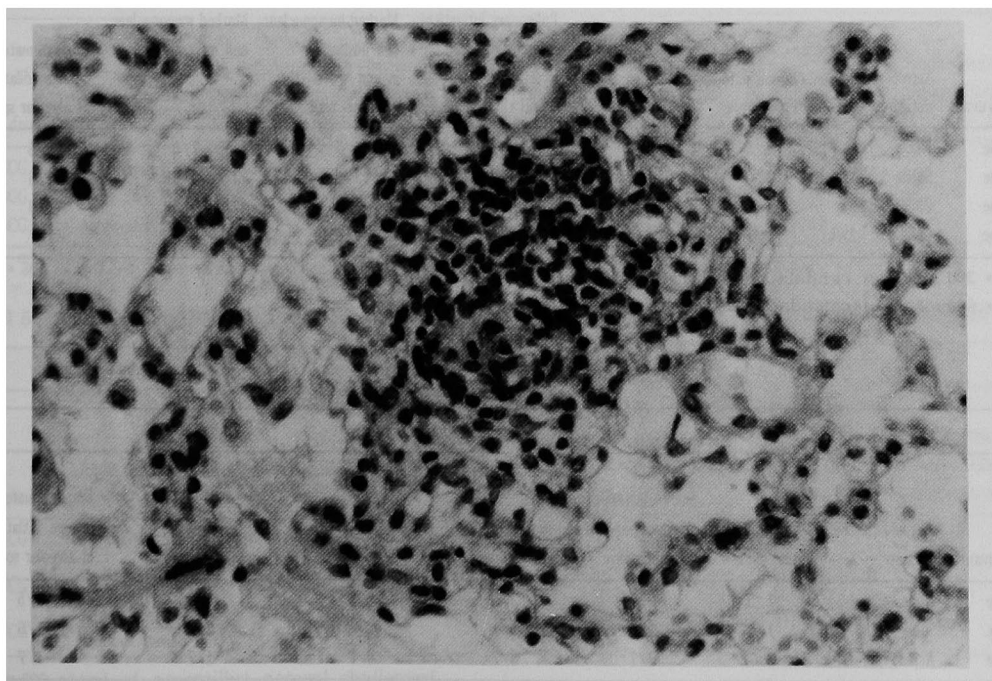


図5. 単核球が疎に集簇した像。周囲との境界は明瞭ではない。(HE stain ×400)

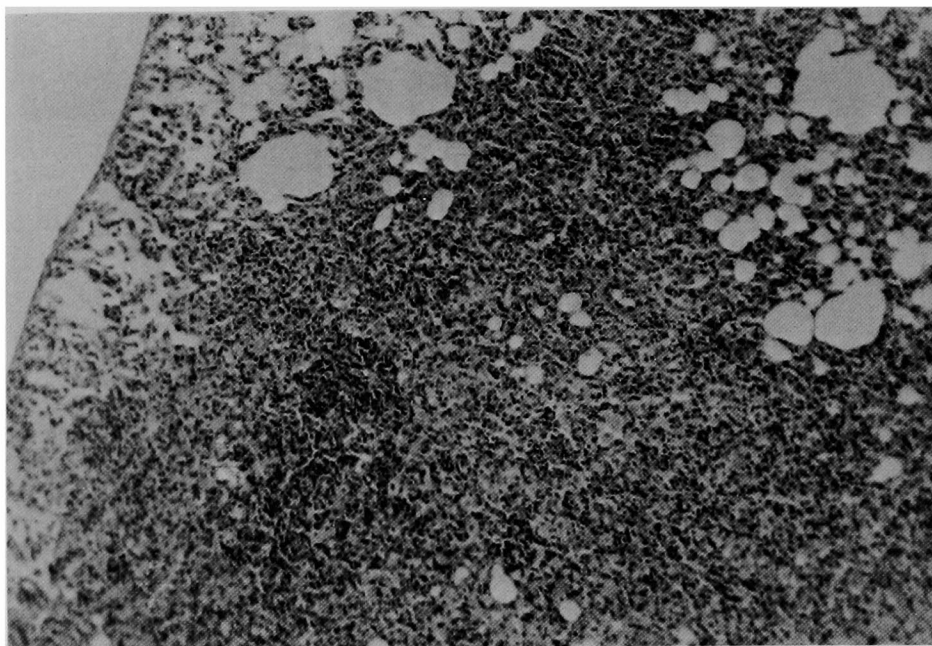


図6. granulomatous change. 周辺への単核球浸潤が著明かつ広範囲である。(HE stain ×100)

表1. カンジダ (300 μ g/ml, 600 μ g/ml) の吸入感作を3週間おこなったモルモットの肺組織所見

Sensitization		Pathological findings					
Adjuvant	Aerosol challenge antigen	Granulomatous response	Small clusters of mononuclear cell accumulation	Pulmonary interstitial mononuclear cell infiltration and septal thickening	Marked mononuclear cell infiltration in and around the vascular walls	Marked mononuclear cell infiltration in and around the bronchial & bronchiolar walls	Emphysematous change (dilatation of alveolar spaces)
None	None	1/5	0/5	3/5	0/5	1/5	1/5
None	Saline 3wk	1/6	1/6	2/6	2/6	2/6	1/6
None	Candida* 3wk	1/8	5/8	6/8	3/8	0/8	1/8
None	Candida** 3wk	3/7	5/7	7/7	4/7	3/7	1/7

* 300 μ g/ml of candida aerosol challenged

** 600 μ g/ml of candida aerosol challenged

表2. アスペルギルス (300 μ g/ml) の吸入感作を3週間おこなったモルモットの肺組織所見

Sensitization		Pathological findings					
Adjuvant	Aerosol challenge antigen	Granulomatous response	Small clusters of mononuclear cell accumulation	Pulmonary interstitial mononuclear cell infiltration and septal thickening	Marked mononuclear cell infiltration in and around the vascular walls	Marked mononuclear cell infiltration in and around the bronchial & bronchiolar walls	Emphysematous change (Dilatation of alveolar spaces)
None	None	1/5	0/5	3/5	0/5	1/5	1/5
None	Saline 3wk	1/6	1/6	2/6	2/6	2/6	1/6
None	Aspergillus* 3wk	3/7	3/7	6/7	4/7	1/7	1/7

* 300 μ g/ml of aspergillus aerosol challenged

表 3. BCG 注射24時間後よりカンジダ (300 µg/ml) の吸入感作を3週間おこなったモルモットの肺組織所見

Sensitization		Pathological findings					
Adjuvant	Aerosol challenge antigen	Granulomatous response	Small clusters of mononuclear cell accumulation	Pulmonary interstitial mononuclear cell infiltration and septal thickening	Marked mononuclear cell infiltration in and around the vascular walls	Marked mononuclear cell infiltration in and around the bronchial & bronchiolar walls	Emphysematous change (Dilatation of alveolar spaces)
BCG	Unchallenged 3wk	3/7	4/7	7/7	3/7	2/7	1/7
BCG	Saline 3wk	2/5	3/5	4/5	3/5	0/5	2/5
BCG	Canida* 3wk	5/8	6/8	8/8	2/8	2/8	3/8

* 300 µg/ml of candida aerosol challenged

表 4. BCG 注射3週間後よりカンジダ (600 µg/ml) の吸入感作を3週間おこなったモルモットの肺組織所見

Sensitization		Pathological findings					
Adjuvant	Aerosol challenge antigen	Granulomatous response	Small clusters of mononuclear cell accumulation	Pulmonary interstitial mononuclear cell infiltration and septal thickening	Marked mononuclear cell infiltration in and around the vascular walls	Marked mononuclear cell infiltration in and around the bronchial & bronchiolar walls	Emphysematous change (Dilatation of alveolar spaces)
BCG	Unchallenged 6wk	2/7	4/7	6/7	2/7	1/7	1/7
BCG	Unchallenged 3wk and saline 3wk	3/7	3/7	6/7	3/7	2/7	2/5
BCG	Unchallenged 3wk and candida* 3wk	5/7	6/7	7/7	5/7	3/7	3/8

* 600 µg/ml of candida aerosol challenged

表 5. BCG 注射24時間後よりアスペルギルス (300 µg/ml) の吸入感作を3週間おこなったモルモットの肺組織所見

Sensitization		Pathological findings					
Adjuvant	Aerosol challenge antigen	Granulomatous response	Small clusters of mononuclear cell accumulation	Pulmonary interstitial mononuclear cell infiltration and septal thickening	Marked mononuclear cell infiltration in and around the vascular walls	Marked mononuclear cell infiltration in and around the bronchial & bronchiolar walls	Emphysematous change (Dilatation of alveolar spaces)
BCG	Unchallenged 3wk	3/7	4/7	7/7	3/7	2/7	1/7
BCG	Saline 3wk	2/5	3/5	4/5	3/5	0/5	2/5
BCG	Aspergillus* 3wk	6/6	6/6	6/6	6/6	2/6	0/6

* 300 µg/ml of aspergillus aerosol challenged

表 6. BCG 注射3週間後よりアスペルギルス (600 µg/ml) の吸入感作を3週間おこなったモルモットの肺組織所見

Sensitization		Pathological findings					
Adjuvant	Aerosol challenge antigen	Granulomatous response	Small clusters of mononuclear cell accumulation	Pulmonary interstitial mononuclear cell infiltration and septal thickening	Marked mononuclear cell infiltration in and around the vascular walls	Marked mononuclear cell infiltration in and around the bronchial & bronchiolar walls	Emphysematous change (Dilatation of alveolar spaces)
BCG	Unchallenged 6wk	2/7	4/7	6/7	2/7	1/7	2/7
BCG	Unchallenged 3wk and saline 3wk	3/7	3/7	6/7	3/7	2/7	1/7
BCG	Unchallenged 3wk and aspergillus* 3wk	5/7	7/7	6/7	2/7	4/7	1/7

* 600 µg/ml of aspergillus aerosol challenged

討

アスペルギルス抗原 300 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 吸入群では、granuloma 形成は 7 匹中 3 匹に認められ、いずれも granuloma 周辺には広範な単核球の浸潤が観察された。しかし、単核球の small cluster はカンジダ吸入群と比べ出現率はやや低く、その程度も高度ではなかった。また胞隔への単核球の浸潤、胞隔の肥厚もカンジダ吸入群同様、高率に観察されたが、浸潤の程度はそれほど高度ではなかった。一方、血管周囲への細胞浸潤は、カンジダ 600 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 吸入群と同様、著明かつ高率に観察されたが、気管支や細気管支周囲への単核球の浸潤は軽度であった。すなわち、アスペルギルス 300 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 吸入群では、カンジダ 600 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 吸入群に類似し、granuloma 形成、血管周囲への単核球の浸潤はやや高率に認められたが、その他の部位では、単核球の浸潤は比較的軽度であった (表 2)。なお、BCG 非使用群では、カンジダ、アスペルギルスいずれの抗原による吸入感作においても、気腫化傾向はほとんど認められなかった。

第 2 節 adjuvant 使用感作動物における肺の組織学的検討

第 1 項 カンジダ吸入感作における検討

1. BCG 注射 24 時間後の吸入感作群

この感作群では、カンジダ抗原濃度 300 $\mu\text{g}/\text{ml}$ で感作をおこなった。

1) 対照群の肺組織所見

granuloma 形成は、無処置群では 7 匹中 3 匹、また生理的食塩水吸入群では 5 匹中 2 匹にみられた。このさいの granuloma はむしろ単核球は少なく、類上皮細胞を主体としたものであった。単核球の small cluster は無処置群では 7 匹中 4 匹、生食水吸入群では 5 匹中 3 匹にみられたが、いずれも 1 標本上の病変は数ヶ所にすぎなかった。胞隔への細胞浸潤や胞隔の肥厚は、無処置群では 7 匹中 7 匹、生食水吸入群では 5 匹中 4 匹と高率に観察されたが、いずれも浸潤の程度は軽度であった。血管周囲への単核球の浸潤像は、無処置群では 7 匹中 3 匹、生食水吸入群では 5 匹中 3 匹にみられ、その程度はいずれも比較的高度であった。しかし、気管支、細気管支周囲への単核球の浸潤は軽度であ

った。なお、肺胞の拡張像は少数にみられたが、いずれも限局性のものであった。

2) カンジダ吸入感作群の肺組織所見

カンジダ抗原吸入群では、granuloma 形成は 8 匹中 5 匹と高率にみられた。このさいの granuloma は、類上皮細胞を主体としたものはむしろ少なく、周辺に出血性の炎症像をとまうものが多く認められた。炎症細胞は大小の単核球を主体とし、1 部に多形核白血球もみられた。単核球の small cluster は 8 匹中 6 匹にみられ、その数も 1 標本上 1 ~ 8ヶ所と比較的多数認められた。胞隔への単核球の浸潤は 8 匹中全例にみられた。また胞隔の肥厚も高度で、肺胞構造が広い範囲にわたって失なわれているものが多く観察された。しかし、血管、気管支周囲への単核球の浸潤像はそれほど高度ではなかった。限局した肺胞の拡張像は 8 匹中 3 匹にみられ、対照群と比べ、その程度はやや高度であった (表 3)。すなわち、この群では、BCG 非使用でカンジダ 600 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の吸入群の肺組織所見に比較的類似していた。

2. BCG 注射 3 週間後の吸入感作群

この感作群ではカンジダ抗原濃度 600 $\mu\text{g}/\text{ml}$ で感作をおこなった。

1) 対照群の肺組織所見

granuloma 形成は無処置群では 7 匹中 2 匹、生食水吸入群では 7 匹中 3 匹にみられた。周辺に広範な単核球浸潤をとまうものはむしろ少なく、類上皮細胞を主体としたものが多くみられた。単核球の small cluster は、無処置で 7 匹中 4 匹、生食水吸入群では 7 匹中 3 匹にみられた。胞隔への細胞浸潤や胞隔の肥厚は、無処置群では 7 匹中 6 匹、生食水吸入群でも 7 匹中 6 匹と高率にみられたが、それほど高度ではなく、肺胞構造が失なわれているものはほとんど観察されなかった。血管周囲への単核球の浸潤は、無処置群では 7 匹中 2 匹、また生食水吸入群では 7 匹中 3 匹にみられ、比較的高度であった。しかし、気管支、細気管支周囲への細胞浸潤は軽度であった。これらの所見は、前項で述べた BCG 注射 24 時間後よりの生食水吸入群あるいは無処置群に類似しており、BCG 注射 3 週間後より感作を開始した場合でも、BCG の

影響は十分残っているものと考えられた。

2) カンジダ吸入感作群の肺組織所見

granuloma は7匹中5匹と、対照群に比べ高率にみられた。また、多くの granuloma の周辺には出血をとまう単核球の浸潤がみられた。単核球の small cluster は7匹中6匹にみられた。全例に胞隔への単核球の浸潤像が認められ、そのほとんどで胞隔の肥厚が著明であった。この胞隔への単核球浸潤の程度は、600 μ g/mlのカンジダ抗原液を単独で吸入させた群および BCG 注射24時間後 300 μ g/mlのカンジダ抗原液を吸入させた群のいずれよりも著明であった。この群では、血管、気管支、細気管支周囲への著明な細胞浸潤も比較的高率に認められた。すなわち、BCG 注射24時間後と3週間後に感作を開始した2群では、BCG の影響はほとんど差がなく、むしろ吸入抗原濃度の差により組織反応に強弱ができる傾向が示された(表4)。

第2項 アスペルギルス吸入感作における検討

1. BCG 注射24時間後の吸入感作群

この感作群ではアスペルギルス抗原濃度 300 μ g/mlで感作をおこなった。

1) 対照群の肺組織所見

カンジダ感作群と同じ対照群を用いた。

2) アスペルギルス吸入感作群の肺組織所見

granuloma 形成は6匹中6匹に認められ、しかも1標本上の数も5~10ヶ所と比較的多数みられた。しかしこの群では、granuloma 周辺の単核球浸潤像は比較的軽度であった。単核球の small cluster も6匹中6匹にみられた。胞隔への単核球の浸潤像も同様に6匹中すべてに認められたが、胞隔の肥厚が著明で広範囲におよぶものは比較的少なかった。血管周囲への著明な単核球の浸潤像もすべてのモルモットに認められた。しかし、気管支周囲への細胞浸潤は軽度であった。また肺胞には気腫性的変化はみられなかった(表5)。

2. BCG 注射3週間後の吸入感作群

この感作群ではアスペルギルス抗原濃度 600 μ g/mlで感作した。

1) 対照群の肺組織所見

カンジダ感作群と同じ対照群を用いた。

2) アスペルギルス吸入感作群の肺組織所見

granuloma 形成は7匹中5匹にみられた。出血性の炎症像をとまう granuloma は1例に認められたが、多くのものは類上皮細胞を中心として小円形細胞にとり囲まれた sarcoid like の小さい granuloma であった。単核球の small cluster は7匹中7匹にみられた。また胞隔への細胞浸潤は7匹中6匹にみられたが、比較的軽度であり、胞隔の肥厚、肺胞構造の破壊もそれほど高度ではなかった。この群においては、他のアスペルギルス吸入群と比べて、血管周囲への細胞浸潤は7匹中2匹にみられたのみで、その程度も比較的軽度であった。むしろ気管支、細気管支周囲への浸潤像を呈するものが多い傾向にあった。すなわち BCG 注射3週間後の吸入感作群では、カンジダによる感作では、adjuvant の使用により全般的に単核球の浸潤が著明に増強されたが、一方アスペルギルスによる感作群では、adjuvant の使用による単核球の浸潤の増強傾向はカンジダほど高度ではなかった(表6)。

第3項 卵白アルブミン皮下注射感作における検討

1. 対照群の肺組織所見

無処置群は、カンジダおよびアスペルギルス吸入感作群におけるものと同じ群を対照とした。

生食水注射後生食水吸入群では、炎症細胞の浸潤をとまわらない granuloma 形成が5匹中1匹にのみ認められた。胞隔の肥厚はみられたがいずれも軽度であった。また、血管、気管支、細気管支周囲への単核球浸潤も軽度であった。中等度の肺胞の拡張を2例に認めたが、いずれも狭い範囲に限局したものであった。

生食水注射後 OA 吸入群では、小さい肉芽腫性的変化が5匹中1匹に、単核球の small cluster が1匹に認められた以外は、胞隔への細胞浸潤、胞隔の肥厚はいずれも軽度であった。また気腫性的変化は認められなかった。

OA 注射後生食水吸入群では、類上皮細胞を主体とする小さい肉芽腫の形成が4匹中3匹にみられたが、1標本上におのおの1ヶ所程度と少数であった。単核球の small cluster は4匹中2匹にみられた。また、すべてのモルモット

において胞隔への細胞浸潤がみられたが、軽度であり、胞隔の肥厚も軽度であった。気腫性の変化は認められなかった。

2. OA 注射後 OA 吸入群の肺組織所見

granuloma 形成は6匹中4匹でみられたが、いずれも類上皮細胞を主体とした小さなものであった。本群では単核球の small cluster も6匹中2匹とあまり高率ではなく、また程度も軽度であった。胞隔への細胞浸潤も弱くまた胞隔の肥厚も軽度であった。血管周囲への細胞浸潤は6匹中4匹にみられたが、いずれも軽度であった。気管支周囲への浸潤細胞は小型の単核球が主であり、好酸球は壁周囲にも粘膜下にもまれに認められるのみであった。しかし対照群に比べ、特に太い気管支周囲への細胞浸潤が著明であり、気管支周囲の浮腫性の粗鬆化、粘膜上皮細胞の分泌亢進像、気管支粘膜の皺壁形成なども認められた。すべてのモルモットに広範囲の著明な気腫性の変化があり、その部では胞隔は菲薄化し、細胞浸潤は認められなかった。すなわち、過敏性肺臓炎の実験系に比べ、太い気管支の変化および気腫化傾向が強いことが特徴的であった。また granuloma 形成は、対照に比べ、OA 注射により増加する傾向がみられたが、いずれも類上皮細胞よりなる小型のもので、BCG 単独注射群に類似し、カンジダ、アスペルギルスによる感作群とは明らかに異なっていた。

総括ならびに考案

吸入抗原による過敏性肺臓炎モデルが報告され始めたのは比較的新しく、Parrish⁽¹⁶⁾がウサギとモルモットを用いて、Finkら⁽¹⁰⁾がラットを用いて、また Richerson ら⁽⁸⁾、Salvaggio ら^{(11),(15)}がそれぞれウサギを用いて実験的過敏性肺臓炎の作成を試みている。

Richerson ら⁽⁸⁾はウサギを OA in CFA の1回筋肉注射で感作し、OA を噴霧吸入させることによって実験的過敏性肺臓炎を作成している。この報告では、肺炎、細気管支炎、血管炎が実験的過敏性肺臓炎の最も特徴的な肺組織所見であるとして、肉芽腫性の変化はすべて adjuvant にもとづくものであると報告している。以

後、OA in CFA で感作することによって本症の動物モデルを作成した報告は Richerson ら^{(17),(20)}、Bernardo ら⁽¹⁸⁾ のものがあるが、その肺組織所見は、基本的には先に述べた所見を肯定するものである。これらの実験系は、むしろ本編の実験喘息に用いられた感作方法に類似している。著者の OA in CFA による感作系においても、granuloma 形成はみられたが、類上皮細胞を主体とした小さい granuloma であり、しかも granuloma 周辺への細胞浸潤がみられないことから、このさいの granuloma は Richerson ら^{(8),(17)} の報告のごとく、むしろ CFA による影響である可能性が強い。すなわち、adjuvant として CFA あるいは BCG を用いた場合には、いずれの adjuvant でも granuloma の形成は認められたが、抗原の種類および感作方法のちがいに、granuloma の性状および組織反応がかなり異なっており、一方では気腫化傾向を、また一方では胞隔炎としての所見を主として呈したことは興味深い。BCG 単独投与のさいにも、granuloma 形成、単核球の small cluster、胞隔への単核球の浸潤および胞隔の肥厚などの所見が観察された。これらの組織所見は、抗原のみの吸入により作成された過敏性肺臓炎の組織像と比較的類似した所見である。しかしこの両者の間にはかなり異なった点があることが、今回の実験により明らかにされた。すなわち、抗原吸入により出現する granuloma は類上皮細胞および単核球より形成され、周囲にも単核球の広範な浸潤がみられたのに対し、BCG により作成される granuloma はほとんど類上皮細胞でしめられ、また周囲の細胞浸潤はごく軽度であった。胞隔、気管支、細気管支周囲への細胞浸潤は、抗原吸入群でより高度であった。

一方、adjuvant を使用することなく動物モデルを作成した報告例もみられる。Fink ら⁽¹⁰⁾ が、pigeon dropping extract を100日間ラットに噴霧吸入させることによって granuloma の形成を証明した報告を初めとして、Wilkie⁽¹⁹⁾ が micropolyspora faeni を子牛に噴霧吸入させることによって、また、Peterson ら⁽⁹⁾ が pigeon dropping extract をウサギに噴霧吸入さ

せることにより、Salvaggioら⁽¹¹⁾は micropo-lyspora faeni のウサギ気管内への接種により過敏性肺臓炎の実験をおこなっている。特に Finkら⁽⁹⁾、Petersonら⁽¹⁰⁾の実験においては granuloma の形成が観察されている。しかし、Mooreら⁽¹²⁾は adjuvant を使用することなく pigeon dropping extract をウサギに週5回3ヶ月間(約60日間)吸入させても、肺病変は認められなかったと報告している。抗原としてカンジダおよびアスペルギルスを用いた著者の実験では、adjuvant を使用しない場合はカンジダと比べ、アスペルギルス吸入感作の方が granuloma を形成しやすく、またカンジダ吸入感作の場合は濃度が高いほど granuloma 形成は高率であった。すなわち、adjuvant を使用しない場合の granuloma 形成においても、抗原の濃度と種類に影響されることが示唆された。

抗原の濃度差による granuloma 形成への影響では、濃度が高いときに granuloma 形成が高率になるとともに、単核球浸潤も高度となる傾向が示された。すなわち、過敏性肺臓炎発症の一要因として抗原の濃度が問題となることが明らかとなった。このことは、Salvaggioら⁽¹⁰⁾の過敏性肺臓炎の実験系において、感作期間が100日間と長期間であるのに対して、同じ抗原を使った Mooreら⁽¹²⁾の実験系の感作期間が60日間と比較的短期間であったことが、granuloma 形成の有無に影響をおよぼした可能性を示唆している。

使用する抗原の種類により、granuloma 形成のみならず、他の組織反応にもかなりの差がみられた。カンジダでは granuloma 形成は低率であるが、胞隔や血管、気管支、細気管支周囲への単核球の浸潤はより高度であり、また形成される granuloma 周辺の細胞浸潤も高度であった。一方、アスペルギルスではむしろ granuloma 形成はカンジダと比べ高率であるが、granuloma そのものはやや小型で、しかも granuloma 周囲への細胞浸潤はカンジダほど高度ではなかった。また胞隔や気管支、細気管支への細胞浸潤はそれほど高度ではなかったが、血管周囲への細胞浸潤はかなり高度であった。

この granuloma 形成と細胞浸潤の程度との関連、granuloma 形成と単核球の small cluster との関連は、過敏性肺臓炎の発症機序を考えるとき、きわめて興味あることではあるが、本実験では十分解明しえなかった。今後の検討を要する重要な問題であると考えられる。

BCG と抗原を併用した場合には、それぞれの単独投与と比較して、granuloma 形成その他の組織反応はより高度であった。このことは BCG により惹起される組織反応と抗原により惹起される組織反応とが単に加算されたものであるのか、あるいは BCG と抗原との体内における相互作用によりそれぞれの単独投与とは異なった発症機序を反影しているのか、そのいずれかを示しているものと考えられるが、今回の実験からは、そのいずれであるかは明らかにしえなかった。しかしヒトの過敏性肺臓炎の発症機序に、何らかの adjuvant をもった因子が必要であるかどうかの解明のためには、なお今後 adjuvant の量、投与後生体におよぼす期間などを含めて検討されなければならないと考えられる。

結 語

カンジダおよびアスペルギルス抗原を用いた実験的過敏性肺臓炎の動物モデル、および卵白アルブミン抗原による実験喘息モデルを作成し、adjuvant の有無、抗原の種類および濃度による影響等を中心に組織学的検討をおこない、以下の結果を得た。

1. adjuvant として BCG を単独投与した場合は、granuloma 形成、単核球の small cluster、胞隔への単核球の浸潤および胞隔の肥厚などの所見が得られた。しかしこのさいの granuloma は類上皮細胞よりなり、小型で、周囲への細胞浸潤はみられなかった。また、他の部位への細胞浸潤も軽度であった。

2. adjuvant 非使用群では、抗原の種類および濃度により、granuloma 形成や細胞浸潤の程度にかなりの差がみられた。すなわち、抗原の種類では、一般にカンジダでは胞隔や気管支、細気管支周囲への細胞浸潤がより高度であり、一方アスペルギルスでは granuloma 形成およ

び血管壁、血管周囲への細胞浸潤がより高度であった。また抗原の濃度については、濃度が高いほど granuloma 形成および細胞浸潤がより高度となる傾向が示された。

3. BCG と抗原を併用した場合には、それぞれの単独投与と比較して、granuloma 形成その他の組織反応の程度は増強傾向を示した。この増強傾向は、カンジダと BCG を併用した場合により著明であった。

稿を終るにあたり、ご指導、ご校閲を賜りました木村郁郎教授に深謝いたします。さらに直接ご指導、ご教示をいただいた谷崎勝朗講師に深謝いたします。

なお本論文の要旨は第14回日本胸部疾患学会中国四国地方会（昭和54年9月8日）において発表した。

文 献

1. Wenzel, J.F., Emanuel, D.A. and Gray, R.L.: Immunofluorescent studies in patients with farmer's lung. *J. Allergy Clin. Immunol.* **48**, 224—229, 1971.
2. Fink, J.N., Barboriak, J.J., Sosman, A.J., Bukosky, R.J. and Arkins, A.J.: Antibodies against pigeon serum proteins in pigeon breeders. *J. Lab. Clin. Med.* **71**, 20—24, 1968.
3. Kawai, T., Salvaggio, J., Lake, W. and Harris, J.O.: Experimental production of hypersensitivity pneumonitis with bagasse and thermophilic actinomycete antigen. *J. Allergy Clin. Immunol.* **50**, 276—288, 1972.
4. Caldwell, J.R., Pearee, D.E., Spencer, C., Leder, R. and Waldman, R.H.: Immunologic mechanisms in hypersensitivity pneumonitis. 1. Evidence for cell mediated immunity and complement fixation in pigeon breeders disease. *J. Allergy Clin. Immunol.* **52**, 225—230, 1973.
5. Roberts, R.C., and Moore, V.L.: Immunopathogenesis of hypersensitivity pneumonitis. *Am. Rev. Respir. Dis.* **116**, 1075—1090, 1977.
6. Emanuel, D.A., Wenzel, F.J., Bowerman, C.I. and Lawton, B.R.: Farmer's lung. Clinical pathological and immunologic study of twentyfour patients. *Am. J. Med.* **37**, 392—401, 1964.
7. Seal, R.M.E., Hapke, E.J., Thomas, G.O., Meak, J.C. and Hayes, M.: The pathology of the acute and chronic stages of farmer's lung. *Thorax* **23**, 469—489, 1968.
8. Richerson, H.B., Cheng, F.H.F. and Bauserman, S.C.: Acute experimental hypersensitivity pneumonitis in rabbits. *Am. Rev. Respir. Dis.* **104**, 568—575, 1971.
9. Peterson, L.B., Braley, J.F., Calvanico, N.J. and Moore, V.L.: An animal model of hypersensitivity pneumonitis in rabbits. *Am. Rev. Respir. Dis.* **119**, 991—999, 1979.
10. Fink, J.N., Hensley, G.T. and Barboriak, J.J.: An animal model of a hypersensitivity pneumonitis. *J. Allergy* **46**, 156—161, 1970.
11. Salvaggio, J., Phanuphak, P., Stanford, R., Bice, D. and Claman, H.: Experimental production of granulomatous pneumonitis. *J. Allergy Clin. Immunol.* **56**, 364—380, 1975.
12. Moore, V.L., Hensley, G.T. and Fink, J.N.: An animal model of hypersensitivity pneumonitis in the rabbit. *J. Clin. Invest.* **56**, 937—944, 1975.
13. 可部順三郎, 宮本昭正: 即時型および遅延型アレルギー反応がモルモットの気道収縮に及ぼす影響について. *アレルギー*, **18**, 16—25, 1969.
14. Myrvic, Q.N., Leake, E.S. and Oshima, S.: A study of macrophages and epithelioid-like cells from granulomatous (BCG-induced) lungs of rabbits. *J. Immunol.* **89**, 745—751, 1962.

15. Salvaggio, J., Kawai, T. and Hanis, J.: Cell mediated (Type IV) hypersensitivity in experimental hypersensitivity pneumonitis. *Chest* 63, 51S—55S, 1973.
16. Parrish, E.W.: The response of normal and sensitized experimental animals to products of moldy hay. *Acta Allerg* 16, 78—87, 1961.
17. Richerson, H.B.: Acute experimental hypersensitivity pneumonitis in the guinea pig. *J. Lab. Clin. Med.* 79, 745—757, 1972.
18. Bernardo, J., Hunninghake, G.W., Gadek, J.E., Ferrans, V.J. and Crystal, R.G.: Acute hypersensitivity pneumonitis: Serial Changes in lung lymphocyte subpopulations after exposure to antigen. *Am. Rev. Respir. Dis.* 120, 985—994, 1979.
19. 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. Allergy Appl. Immunol.* 50, 359—373, 1976.
20. Richerson, H.B., Seidenfeld, J.J., Ratajezak, H.V. and Richards, D.W.: Chronic experimental interstitial pneumonitis in the rabbit. *Am. Rev. Respir. Dis.* 117, 5—13, 1978.
21. 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.
22. 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 antigens in rabbits. *Chest* 75, 274—276, 1979.
23. 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, 1007—1012, 1977.
24. 小西一樹, 荒井澄夫, 丹野恭夫, 照喜名重一, 本田一陽, 飛田涉, 滝島任: Bird breeder's diseaseにおける細胞性免疫の関与. 日胸疾会誌, 16, 898—905, 1978.

Histological studies of the lung in allergic respiratory responses
Part II. Histological investigations of the lung
in experimentally sensitized animals

Hiroshi HARADA

Second Department of Internal Medicine, Okayama University Medical School

(Director : Prof. I. Kimura)

Hypersensitivity pneumonitis and bronchial asthma were experimentally developed with adjuvant and aerosolized antigens used together and separately. Histological investigations of the lung were performed in several conditions depending on the use of adjuvant or antigens. The results were as follows.

- 1) In animals treated with BCG only, pulmonary histological findings such as granulomatous changes, small clusters of mononuclear cell accumulation, interstitial mononuclear cell infiltration and septal thickening were observed. Granulomatous changes in the condition consisted of predominant epithelioid cells.
- 2) In animals sensitized by aerosolized antigens only, marked histological changes such as cell infiltration around the alveolar septum and bronchiolar wall were observed in the use of *Candida* antigen. On the other hand, granuloma formation and cell infiltration around vascular wall were predominantly found in the use of *Aspergillus* antigens.
- 3) The incidence of granuloma formation and the degree of mononuclear cell infiltration tended to increase with the use of high concentration of antigen.
- 4) Histological findings such as granulomatous changes and cell infiltration were marked in the animals sensitized by both adjuvant and antigens.