

原 著

肺の遅延型アレルギー反応における
気管支随伴リンパ組織 (BALT) の研究

——気管支肺胞洗浄液の免疫学的意義——

千 田 金 吾・早 川 啓 史・佐 藤 篤 彦

浜松医科大学第二内科

受付 昭和 59 年 10 月 4 日

A STUDY OF BRONCHUS-ASSOCIATED LYMPHOID
TISSUE (BALT) IN PULMONARY DELAYED TYPE HYPERSENSITIVITY

——Immunological Significance of Bronchoalveolar Lavage (BAL) Fluid in Rabbits——

Kingo CHIDA*, Hiroshi HAYAKAWA, Atsuhiko SATO

(Received for publication October 4, 1984)

Lymphoid tissues in bronchus and intestines (bronchus-associated lymphoid tissue : BALT, and gut-associated lymphoid tissue : GALT) seem to be important adjuncts which accomplish the recognition of antigens and the subsequent local immunity. But the function of BALT remains to be clarified despite its morphologic resemblance to GALT. This study was carried out to elucidate the function of BALT in pulmonary delayed hypersensitivity by analyzing BAL fluid.

Primary and secondary response groups to heat-killed BCG in rabbits were arranged and sacrificed at various intervals up to 28 days in order to compare the findings of BAL fluid (cellular components : total cell counts, cell population and Con-A reactive T cells/humoral components : lymphokines, immunoglobulin levels, circulating immune complex and angiotensin converting enzyme activity) with histological findings of the lung and BALT.

These results lead to the conclusions listed below :

1. These comparative studies strongly suggest that total cell counts in BAL fluid are extremely high in proportion to intra-pulmonary reactions as shown by the ratio of lung weight(g)/body weight (kg), and cell population in BAL fluid corresponds closely to cell components which are responsible for alveolitis.

Furthermore, the appearance of multinucleated alveolar macrophages in BAL fluid suggests the pulmonary granulomatous lesions.

2. The secondary response groups developed pulmonary granulomatous reactions which were not only elicited by cell-mediated immunity as revealed by the detection of lymphokines and Con-A reactive T cells, but closely associated with humoral immunity as shown by high immunoglobulin levels and circulating immune complexes.

3. There were found considerably more fluctuations of immunoglobulin levels in BAL fluid than in serum, and the reconstructions of BALT were accompanied with such

* From the 2nd division, Department of Internal Medicine, Hamamatsu University School of Medicine, 3600 Handa-cho, Hamamatsu, Shizuoka 431-31 Japan.

fluctuations. These data suggest that immunoglobulins are produced by numerous numbers of lymphocytes and plasma cells observed in the lung and BAL fluid, some of which are derived from BALT, and BALT controls the local immunoglobulin production in such manner.

Keywords : Bronchus - associated lymphoid tissue(BALT), Delayed - type hypersensitivity (DTH), Bronchoalveolar lavage(BAL), Local immunity, Humoral immunity, Multinucleated macrophage

キーワードズ : 気管支随伴リンパ組織, 遅延型アレルギー反応, 気管支肺胞洗浄, 局所免疫, 液性免疫, 多核マクロファージ

1. 緒 言

気道粘膜系に付属するリンパ組織は, 消化器系と同様, 粘膜を介して外来性抗原にさらされるという特殊な状態にあり, 生体防御の上で重要な役割を果たしていることから注目されている。各種臓器において, 粘膜下リンパ装置を, 局所免疫防御機構の関与する一つの機能単位として捉えようとする考え方は, まず消化管に付属するリンパ組織として“gut associated lymphoid tissue”(GALT)の概念¹⁾の提唱にはじまる。次いで1973年Bienenstock²⁾³⁾により, 気道系において, 気管支随伴リンパ組織(bronchus associated lymphoid tissue;BALT)が提唱された。また最近では, 皮膚組織において, “skin associated lymphoid tissue”(SALT)が, Streilein (1978年)により命名⁴⁾されている。

気道系に随伴してリンパ組織が存在することは, 古くから指摘されており, 1867年Burdon-Sanderson⁵⁾は, モルモットの気管支壁に内在するリンパ系細胞の集簇を記載し, Klein⁶⁾はこれがパイエル板に類似の構造を呈することを見出している。以後, ヒトを含めた種々の動物で同様の報告^{7)~11)}がなされ, BALTの概念が確立された。しかし, 形態学的にはGALTと多くの類似点を有するにもかかわらず, GALTほどにBALTの機能的側面^{3)12)~14)}, 特に遅延型アレルギー反応における局所免疫応答において, いかなる役割を担っているか¹⁵⁾は, 十分な検討がなされておらず, 不明な点が少なくない。一方, 呼吸器疾患の中で, 肉芽腫性病変を来すものは, 数多く惹起されてくる。しかし, 過敏性肺炎や原因不明のサルコイドーシスの肉芽腫発症機序において, 液性免疫応答がいかに関連するかは, 明らかでなく, 追求すべき問題が多く残されている。最近では, これらの疾患での肺局所病態を把握するため, 臨床上気管支ファイバースコープの使用によって, 気管支肺胞洗浄(bronchoalveolar lavage;BAL)が行なわれるようになり¹⁶⁾, 肺胞一気管支領域の細胞を末梢血と同様, 浮遊細胞として採取できるようになった。その結果,

肺疾患において末梢血レベルの所見が, 必ずしも呼吸器疾患の病態を適確に反映しない場合があることが判明¹⁷⁾し, 反面BALの有用性が指摘されるようになった。しかし, BAL中に見出される細胞や液性因子が, 果して肺組織内での病態や反応を, どの程度反映しているかは明確ではなく, 残された課題である。

以上のような観点から, 我々は, 家兎に対してBCG死菌を投与することにより, 実験的肺肉芽腫を作製し, この動物実験モデルを用い, BALTの意義ならびにBAL中の細胞成分や液性成分を中心に, 肺局所免疫動態を解析し, 遅延型アレルギー反応におけるBALTの免疫学的役割について, 検索したので報告する。

2. 実験材料ならびに方法

1) 実験動物

本実験系には, 体重1.8~2.2kgの成熟雌ニュージールランド白色家兎62羽を使用した。

2) 抗原感作および実験群

抗原としてBacille Calmette-Guérin(BCG)の加熱死菌(120℃, 20分)を用い, 投与方法の相違により, 実験群を次の5群に分けた。即ち, 対照としての正常群(N群), BCG乾燥重量5mg/生食水1mlの懸濁液を, 耳外縁静脈より静注した一次応答群(IV群), 他の3群は投与方法の異なる二次応答群であった。バイオールF液0.1mlにwater in oilエマルジョンとしたBCG死菌100 μ gを, 両耳介基始部に皮下注射し, 初回感作を行ない, 3週間後にBCG死菌5mg/1ml生食水を, 静脈投与したもの(皮下注→静注群; SC→IV群), BCG死菌100 μ g/0.1mlバイオールF液を静脈注射し初回感作を行ない, 3週間後にBCG死菌5mg/1ml生食水を静脈注射したもの(静注→静注群; IV→IV群), IV→IV群と同様に静脈感作を行ない, 3週間後BCG死菌5mg/1mlリン酸緩衝生食水懸濁液を, 注射針(21G)を用いて気管内へ投与したもの(静注→経気管注群; IV→IT群)を準備した。

抗原の最終注射後, 1, 2, 4, 7, 14, 21, 28日

目ごとに、空気塞栓により各群の動物を屠殺した後、速やかに肺を摘出した。

3) 気管支肺胞洗浄 (bronchoalveolar lavage ; BAL) による細胞成分と液性成分の回収

摘出された肺に対し、Myrvik¹⁹⁾らの方法により、1回60mlの生食水を気管より注入し、計2回の洗浄を行ない、洗浄液を採取した。回収洗浄液を4℃、10分間、200gにて遠心し、1回目の気管支肺胞洗浄液上清 (bronchoalveolar lavage fluid ; BALF) を-20℃にて保存し、後述する各液性因子を測定した。一方、得られた細胞成分は、Eagle's MEMに再浮遊させ、トリパンブルー染色法で生存率を調べ、総細胞数を算定したのち、細胞遠沈法で細胞塗抹標本を作り、メイ・グリーンワルド・ギムザ染色あるいはニュートラルレッド染色を施し、細胞分画を観察した。一部の試料は、プラスチックシャーレ付着法およびG-10カラム通過法により、肺胞マクロファージ (alveolar macrophage ; A-Mφ) と気管支肺胞リンパ球 (bronchoalveolar lavage lymphocyte ; BAL-Ly) に分離した。

4) 末梢血リンパ球の分離

ヘパリン加注射器により採血後、PBSで2~3倍に稀釈し、比重遠心法により得られたリンパ球層から、プラスチックシャーレ法で付着細胞を除去した。このようにして得られた末梢血リンパ球 (peripheral blood lymphocyte ; PB-Ly) 分画の純度は、83~94%であった。

5) マクロファージ遊走阻止試験

BALF内に含まれるMIF (migration inhibitory factor) 活性を、アガロース滴を用いるHarringtonの方法¹⁹⁾により測定した。

① A-Mφの採取；正常家兎から、前述と同様の方法により得た。

② 腹腔細胞の採取；正常家兎の腹腔にパラフィンオイル50mlを注入3日後に、ヘパリン加 HANKS' balanced salt solution 総量150mlで洗浄して回収した。

以上、①、②で得られた細胞を 3×10^7 /m/MEMとし、0.2%アガロース液と、各々1容量：2容量に混合し、Lab-Tek chamber内に分注した。試料として各病期のBALFを、chamber内のアガロース滴が満たされる程度 (ほぼ0.25ml) 注入し、対照としてN群の試料を用いた。37℃、5%CO₂の条件下で、24時間培養した後、マイクロメーター付倒立顕微鏡にて観察し、対照の遊走面積に対する百分率でMIF活性を求めた。

6) リンパ球芽球化反応

BAL-Ly, PB-Lyのレクチンに対する反応性の測定は、基礎的検討の結果、PhytohemagglutininよりもConcanavalin A (Con-A) において、反応性が良好なためCon-Aを使用した。

リンパ球 5×10^6 /ml/RPMI-1640に調整したもの100μl、正常家兎血清100μl、Con-A (DIFCO laboratories, 125μg/ml) 100μl、RPMI-1640 (ペニシリンG 10u/ml, ストレプトマイシン100μg/ml) 700μl、を混合し、この200μlをマイクロプレート (96穴、平底、Nunc) に移し triplicate にて、5%炭酸ガス培養器内で3日間培養した。培養終了6時間前に³H-thymidine (5 μCi/ml) を添加し、セルハーベスターを用いて回収し、その放射活性を液体シンチレーションカウンター (ラボサイエンス, CM101) で測定した。対照としてCon-A無添加のものを用いた。

7) 免疫グロブリンの測定

BALFおよび血清中の免疫グロブリン値の測定は、抗ウサギ-IgG (γ鎖特異的), -IgA (α鎖特異的), -IgM (μ鎖特異的) (Cappel Laboratories) Laboratories を使用し、一元平板免疫拡散法²⁰⁾によった。検体の前処理としては、血清IgG測定の場合は血清を10倍稀釈し、他の場合は原液を用いた。抗IgG抗体は10倍稀釈、抗IgAおよび抗IgM抗体は2倍稀釈のものを用いた。well内は5μlとした場合、各々の沈降輪は最も明瞭であった。なお、検体はセルロースアセテート電気泳動により、M成分のないことを確認した。

8) 可溶性免疫複合体の測定

BALFおよび血清中に含まれる可溶性免疫複合体 (circulating immune complex ; CIC) の測定は、Creighton らの polyethylene glycol (PEG, M.W.6000) 法²¹⁾²²⁾によった。

① 標準溶液：ウサギIgG (Cappel) を63℃、20分間で処理し、熱処理凝集型IgG (heat-aggregated IgG) を準備し、0℃に冷却したのち、15,000 g、4℃、10分間遠心しその上清を準備した。更に、これをゲルクロマトグラフィー (Sephadex G200, カラム0.9×80cm) により分画化し、OD280nmのI peakを濃縮分離し、標準溶液とした。

② PEG濃度の決定：使用するPEG最終濃度を定めるため、native IgGおよびaggregated IgGについて、PEG濃度を3.5、7.0、10.0%として沈澱蛋白量を測定した結果、3.5%でその差が最も顕著であったため、PEG濃度3.5%のものを用いた。

③ 正常値の設定：Lowry法とOD (280nm) の比較では、OD0.1単位が0.075mg/mlに相当し、両者は相関係数 $r = 0.978$ であったため、CICの測定値はODで記載した。なお、N群におけるM+2SDを正常範囲とした。

9) アンギオテンシン変換酵素の測定

アンギオテンシン変換酵素測定試薬 (富士臓器、笠原法²³⁾) を用い、BALFについて、アンギオテンシン変換酵素 (Angiotensin converting enzyme : ACE) 活性を測定した。

10) Macrophage agglutination assay

血清, BALF および BAL リンパ球培養上清のそれぞれに含まれる macrophage agglutinating 活性を, Galindo²⁴⁾らの方法により測定した。前述と同様の方法で, 標的細胞として, 正常家兎より A-M ϕ を採取した。これを 1.0×10^7 マクロファージ/ml (neutral red: MEM = 1:9) に調整後, この細胞浮遊液 0.1ml と試料 0.1ml を混合し, 一部を ceramic ring slide の上に載せ, 室温にて 100/分, 3 分間振動させた。これをピペティング後, 顕微鏡下で agglutination を観察した。BAL リンパ球培養上清は, BAL-Ly を 1×10^5 に調整後, Con-A で刺激し 37°C, 5% CO₂ の条件下で, 3 日間培養した。対照として, 血清および BALF では N 群のものを, BAL リンパ球培養上清では RPMI-1640 を使用した。

11) 検定

有意差検定は, Student t test によった。

3. 実験成績

1) 気管支肺胞洗浄液内細胞の形態学および定量的検索

① 回収総細胞数

各実験群での総細胞数の変動を図 1 に示す。N 群では 6.9×10^7 個であった。一次応答群である IV 群では, 抗原感作後次第に増加し, 21 日目に N 群の約 30 倍 (2.3×10^9) 個となった。

二次応答群では, いずれの実験群においても回収総細胞数の増加は, 一次応答群に比し急峻かつ高値を示した。この傾向は IV \rightarrow IV 群において最も顕著で, 4 日目で既に 2.2×10^9 個 ($P < 0.005$) と N 群の約 30 倍に達し, 以後高値を示した。SC \rightarrow IV 群では, IV \rightarrow IV 群と比べやや遅れてプラトーに達した。IV \rightarrow IT 群でも IV 群と

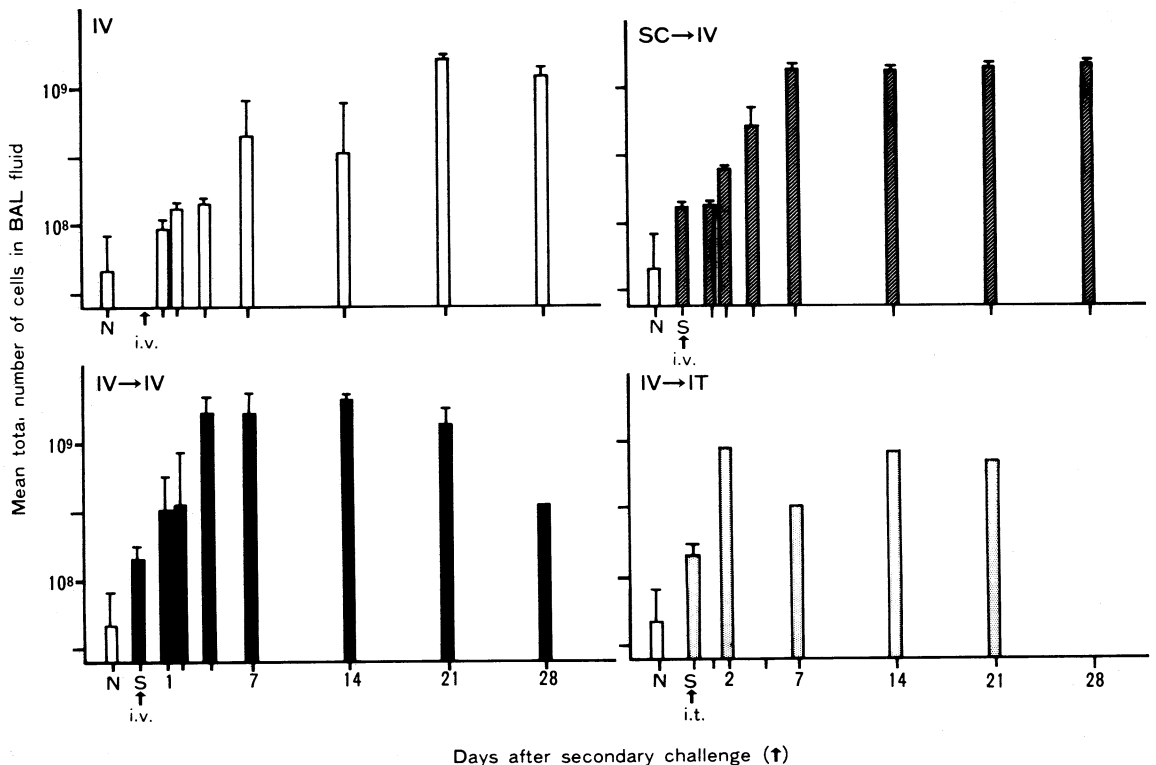


Fig. 1. Total number of cells recovered in BAL fluid of the primary or secondary BCG-sensitized rabbits.

Each column is given in mean number of cells and SE from 2-6 experiments for each group.

N; Non-sensitized control group.

S; Primary sensitization was carried out by injecting intravenously (IV, IV-IV and IV-IT group) or subcutaneously (SC-IV group). Three weeks after sensitization, total number of cells was determined.

Secondary challenge was carried out 3 weeks after the primary sensitization by injecting intravenously (SC-IV and IV-IV group) or intratracheally (IV-IT group).

比べ早期にプラトーに達したが、その程度は前二者に比して低い傾向がみられた。

これらの回収総細胞数の動向は、肺内組織反応の指標として測定された「肺重量-体重比」の値²⁵⁾と殆んど同様の傾向がみられ、回収総細胞数は、肺内組織反応による細胞浸潤の程度を、よく反映していると考えられた。

②回収細胞の形状

BALF中の細胞を光顕で観察したところ、N群では形態学的にほぼ均一なA-M ϕ で占められているのに対し、BCG死菌二次感作後には、多形核白血球、リンパ球、多核A-M ϕ 、形質細胞など、種々の細胞が認められた(図2)。これら各種細胞の出現の経時的推移は、図3の示すとおりであった。

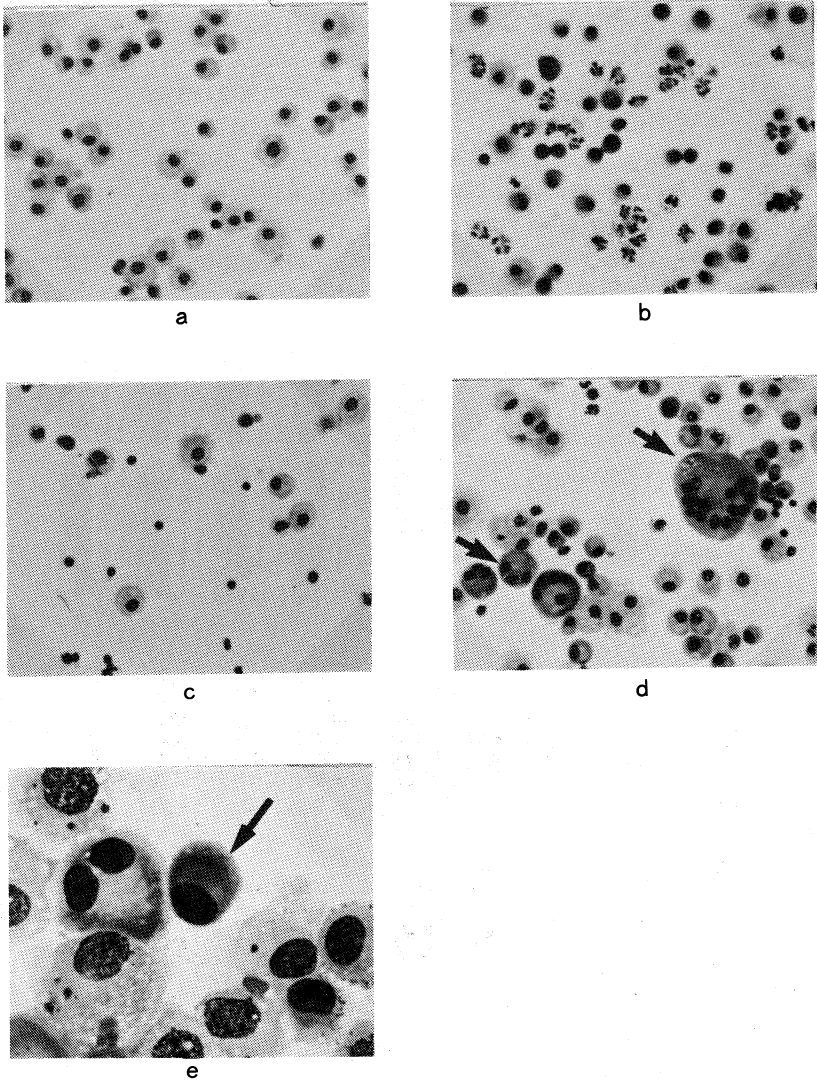


Fig. 2. Light microscopic findings of cells obtained by BAL in various stages of IV-IV group. (a) ; BAL-cells from non-sensitized control group. Note the high homogeneity of cells, which consist predominantly of macrophages. (b) ; BAL-cells obtained from the early stage (Day 1-2) after BCG sensitization. This smear shows large number of macrophages and polymorphonuclear leucocytes, and a few lymphocytes. (c) ; BAL-cells recovered from the following stage (Day 4-14) consist mainly of lymphocytes. (d) ; Multinucleated giant cells (arrow) among the mixed cell population seen in (c). (e) ; Higher magnification of BAL-cells observed in (c). A typical plasma cell (arrow), macrophages and lymphocytes can be seen. May-Grünwalds Giemsa, (a), (b), (c), (d) ; $\times 100$, (e) ; $\times 400$.

i) A-M ϕ の変動

回収細胞分画のうち、A-M ϕ の占める割合は、N群で96.9%でその総数は 6.6×10^7 個であった。BCG死菌投与後、相対的に比率は一次減少したが、回収細胞数は増加し、一次応答群では21日、二次応答群では14日をピークとして増加した。BCG感作により、肺局所にA-M ϕ が集積し組織反応を起こした結果、BALFに反映されたことが示唆される。

ii) 多核 A-M ϕ の出現

2核以上を呈する多核 A-M ϕ (図2, d)がいずれのBCG感作群でも出現し、早川²⁵⁾らの報告した肺類上皮細胞肉芽腫形成の経時的变化と、密接な相関関係を示した。

iii) 多形核白血球の変動

各群とも1~7日までの病初期に比較的多く回収され、それ以後は次第に減少した。これは非特異的な炎症反応を反映していると考えられる。

iv) リンパ球の変動

N群では全体の2.5%で、総数は 2.2×10^6 個であった。BCG死菌投与後は、いずれの実験群でもその比率は、最高約12%であったが、回収総数は一定の経時的变化を示した。即ち、一次応答群では21日目、二次応答群では14日目をピークとして増加し、以後わずかず減少した。このリンパ球の出現推移は、一次応答群よりも二次応答群において、細胞数が多く、また早期より出現する傾向がみられ、肺内での病態の程度および本反応系におけるリンパ球の関与を反映していると考えられる。

v) 形質細胞の変動

形質細胞は、N群では認められなかったが、実験群ではいずれも出現し、一次応答群21日目、二次応答群では14日目をピークとして、その後漸減した。なかでもIV \rightarrow IV群が最も多く観察され、比率は14日目1.9%で、その総細胞数は 6.1×10^7 個であった。

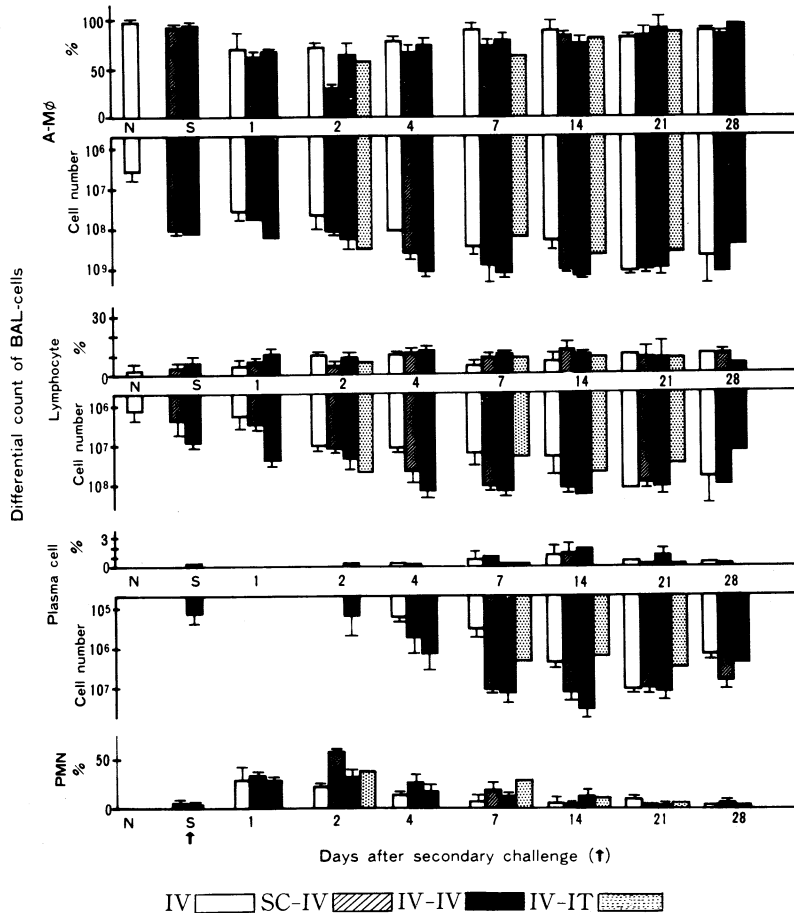


Fig. 3. Differential cell counts of BAL cells in each experimental group. Each column represents the mean value and SE from 2-6 experiments for each group. See explanations of Fig. 1 for groups, N, S and challenges.

Table 1. Con-A reactivity of lymphocytes from BAL fluid and peripheral blood in each experimental group

Groups	Days after sensitization	BAL-lymphocytes		peripheral blood lymphocytes	
		mean cpm * Con-A (+) (Con-A (-))	Stimulation ** Index	mean cpm * Con-A (+) (Con-A (-))	Stimulation ** Index
Non-sensitized controls		N. D. (N. D.)	N. D.	21,869 ± 3,262 (1,273 ± 341)	17.2
Primary sensitization		36,174 ± 8,441 (1,603 ± 431)	22.5	32,512 ± 4,493 (1,345 ± 273)	24.1
Secondary sensitization IV-IV	1	53,001 ± 6,039 (1,659 ± 102)	31.9	44,262 ± 1,857 (1,458 ± 204)	30.3
	2	86,174 ± 15,930 (1,653 ± 594)	52.1	91,437 ± 16,536 (1,271 ± 516)	71.9
	4	284,990 ± 58,278 (2,450 ± 845)	116.3	32,780 ± 1,761 (1,138 ± 567)	28.8
	7	220,452 ± 13,689 (2,525 ± 303)	87.3	45,721 ± 23,131 (1,441 ± 827)	31.7
	14	106,417 ± 18,167 (1,843 ± 696)	57.7	52,877 ± 10,796 (1,251 ± 707)	42.7
	21	81,420 ± 7,219 (1,728 ± 89)	47.1	92,134 ± 20,680 (2,667 ± 308)	34.5
	28	72,351 ± 3,347 (1,420 ± 1,002)	50.9	53,660 ± 7,211 (1,631 ± 1,252)	32.9

* Each value represents the mean cpm of triplicates and SE from two experiments.

** Stimulation index = $\frac{\text{mean cpm in lymphocyte cultured with Con-A}}{\text{mean cpm in lymphocyte cultured without Con-A}}$

Table 2. Migration inhibitory activity of BAL fluid obtained from each experimental group

Experimental group	Days after sensitization	Migration Index		Experimental group	Days after sensitization	Migration Index		
		A-M ϕ	P-M ϕ			A-M ϕ	P-M ϕ	
IV				SC-IV	S	94.0 ± 7.8	97.0 ± 5.0	
	1	104.0 ± 4.9	108.5 ± 2.9		1	82.8 ± 4.9*	87.2 ± 7.8	
	2	101.3 ± 5.0	98.8 ± 3.8		2	71.5 ± 11.4	84.0 ± 1.8*	
	4	92.3 ± 4.3	90.0 ± 2.4		4	78.5 ± 9.0	82.7 ± 5.2*	
	7	100.0 ± 3.2	97.0 ± 6.8		7	58.0 ± 12.3**	60.7 ± 3.8**	
	14	88.0 ± 4.2*	93.3 ± 5.3		14	64.0 ± 8.7**	69.5 ± 7.2*	
	21	74.7 ± 4.0**	68.0 ± 9.6**		21	68.1 ± 8.8**	77.3 ± 7.8*	
28	88.3 ± 7.4	93.3 ± 9.7		28	77.3 ± 5.1**	79.9 ± 1.4**		
IV-IV	S	85.3 ± 7.6	90.0 ± 4.3	IV-IT	S	85.3 ± 7.6	90.0 ± 4.3	
	1	82.5 ± 7.6	82.8 ± 5.9*					
	2	76.7 ± 3.2**	78.0 ± 7.1**			2	79.5 ± 3.5	74.5 ± 0.7
	4	67.8 ± 7.6**	67.0 ± 6.2**					
	7	50.5 ± 8.6**	53.7 ± 5.5**			7	74.0 ± 5.7	80.0 ± 7.1
	14	48.3 ± 7.5**	58.9 ± 6.5**			14	64.5 ± 7.8*	76.5 ± 3.5
	21	73.5 ± 3.7**	68.8 ± 7.8**			21	73.0 ± 5.7	72.2 ± 8.5
	28	75.5 ± 3.5**	77.0 ± 2.8**					

Migration Index = $\frac{\text{mean migration area with BAL fluid from each experimental group}}{\text{mean migration area with BAL fluid from non-sensitized controls}} \times 100$

Each value expresses mean ± SE from 4-8 experiments.

* P < 0.01 ** P < 0.005

2) 気管支肺胞洗浄液に回収された細胞と液性因子の免疫学的検索

① リンパ球幼若化反応

BAL-Lyの免疫学的細胞性免疫能を検索するため、IV → IV群におけるBAL-LyとPB-Lyのレクチン(Con-A)に対する幼若化反応を比較検討した(table 1)。BAL-LyとPB-Lyはともに、Con-Aに対し幼若化現象を起こした。前者のStimulation Index (S.I.)は、4日目で極めて高い値(116.3)を示し、PB-Lyは2日目で71.9であった。二次応答群はBAL-Lyの方がPB-Lyよりも高い反応性を示し、肉芽腫形成反応におけるCon-A反応性BAL-Lyの関与が示唆された。

② BALF内MIF活性

BALF内MIF活性を検索するため、標的細胞として、

正常家兎A-M ϕ およびパラフィンオイル誘導腹腔滲出細胞の両者を用いた。両者のMigration Index (MI)を比較すると、A-M ϕ の方が低い傾向がみられたが、有意差は認められなかった(table 2)。リンパ球を主体とする胞隔炎の継続時期およびBAL中のリンパ球の増加に一致して、各実験群ともMIは低値であった。即ち、一次応答群では21日目、二次応答群ではそれより早期から、MIの低下が認められ、この時期のBALF中に、マクロファージ遊走阻止をもたらす因子(MIF)が存在することが示唆された。

③ macrophage agglutinating factor (MAgF) 活性

正常家兎A-M ϕ を用い、IV → IV群における血清、BALF、BALリンパ球培養上清に含まれるMAgF活

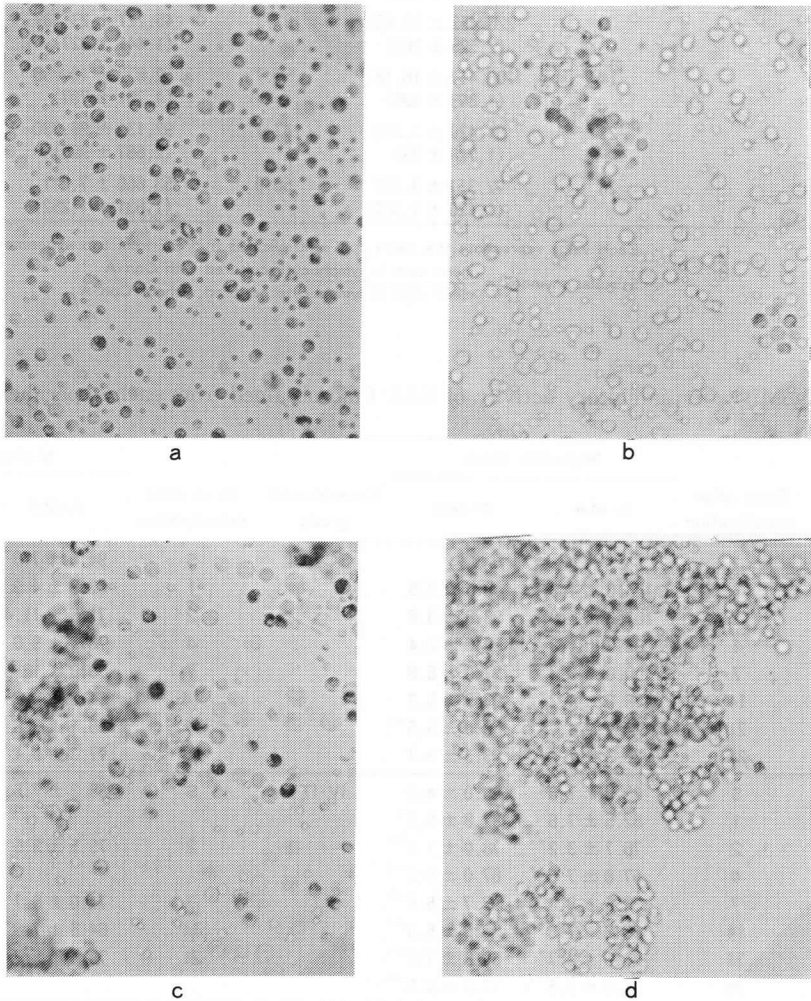


Fig. 4-1. Macrophage agglutinating activities were classified as follows: negative = (-); (a), mild = (+); (b), moderate = (++) ; (c), severe = (+++) ; (d).

性を検討した。判定は図4-1のごとく、agglutinationのみられなかったもの(-)、僅かに認められたもの(+), 強く認められたもの(++), その中間のもの(++), の4段階に分け評価した。

いずれの試料においても、この現象は観察された。強いagglutination現象を示す時期は、BALFでは7~14日であったが、BALリンパ球培養上清では、比較的早期より認められた(図4-2)。

④免疫グロブリン値の変動

本実験系での液性免疫の動態およびBALTの役割を検討するため、BALFと血清中の免疫グロブリン値を測定した。図5はBALF中の各グロブリン分画の相対的変動をまとめたものである。IgG, IgAについては、N群の直径の自乗平均を1として、以後の変化をプロットした。IgMはN群で測定感度以下であったため、IV→IV群の14日目の値を同様に1とした。

i) IgM

一次応答群では2日目に一旦検出され、その後14日以降に認められている。

二次応答群では、いずれの実験群でもIgMは、IgG, IgAに先行して初期病日に出現し、早期(7日前後)にピークを示した。

ii) IgA

一次応答群においては、IgAはIgGがピークを示す21日目に先立って上昇し、以後IgGとほぼ並行して推移した。

二次応答群では、各群とも一次応答群よりも早期に上昇し、しかも高値を示し、全経過を通してIgGとともに推移した。

iii) IgG

IgGはIgAと類似の変動を示したが、特にIV→IV群では14日目で高い値を示し、IgAを凌駕した。

一般的傾向として、IV→IT群は二次応答型の免疫グロブリン分画の出現パターンを示したが、IV→IV群やSC→IV群と比べ、その程度は低値を示した。

iv) 血清免疫グロブリン値の変動

各群における血清中での免疫グロブリンの各分画の値は、BALFと比べて著しく低値を示し(図5)、経時的変動も殆んど認められなかった。N群とIV→IV群14日目におけるIgAの実測値を比べると、血清ではそれぞれ平均5.5mm, 平均6.1mmであったが、BALFにおいては、それぞれ平均3.4mm, 平均8.4mmで、絶対値でもBALF中のIgAが高値を示した。

⑤ Circulating immune complex (CIC) の検出

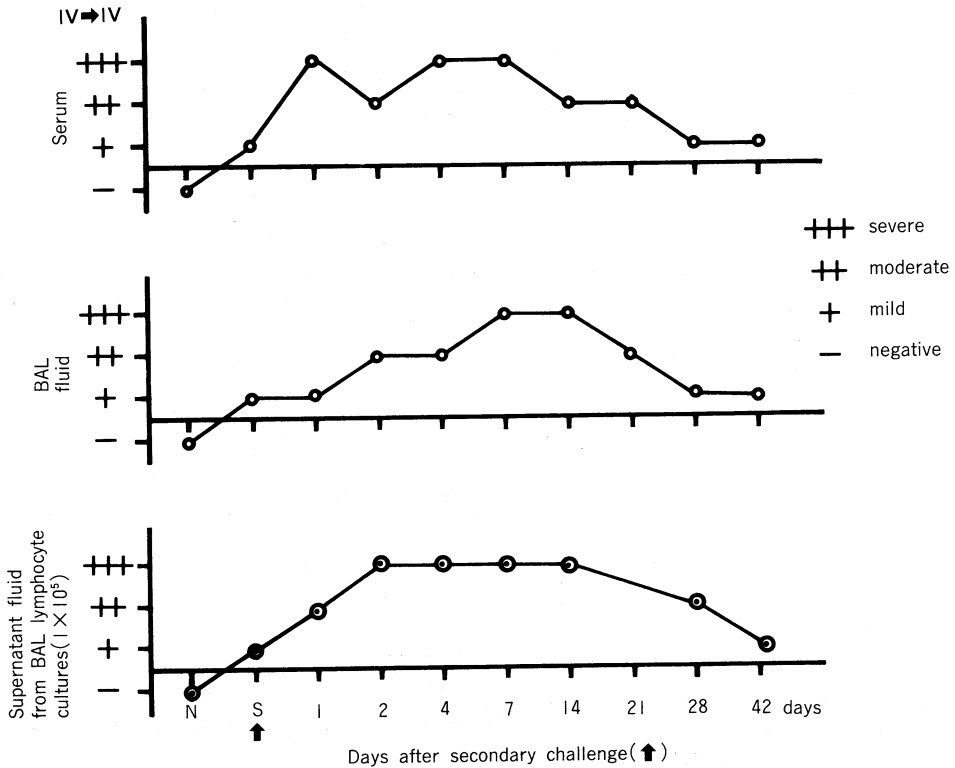


Fig. 4-2. Macrophage agglutinating activities in serum, BAL fluid and supernatant fluid from BAL-lymphocyte cultures, which were obtained from various stages of IV-IV group.

CICを媒介とするアレルギー反応の関与を検討するため、BALFおよび血清について、PEG法により測定した結果を図6に示す。N群の測定結果から、BALF0.21、血清0.41を正常域とした。

すべての実験群において、BALFには有意のCICは

検出されなかった。一方血清では、一次応答群で14日以降に検出され、28日目まで高値を示した。これに対し二次応答群では、二次感作後、初期に上昇傾向を認めた。

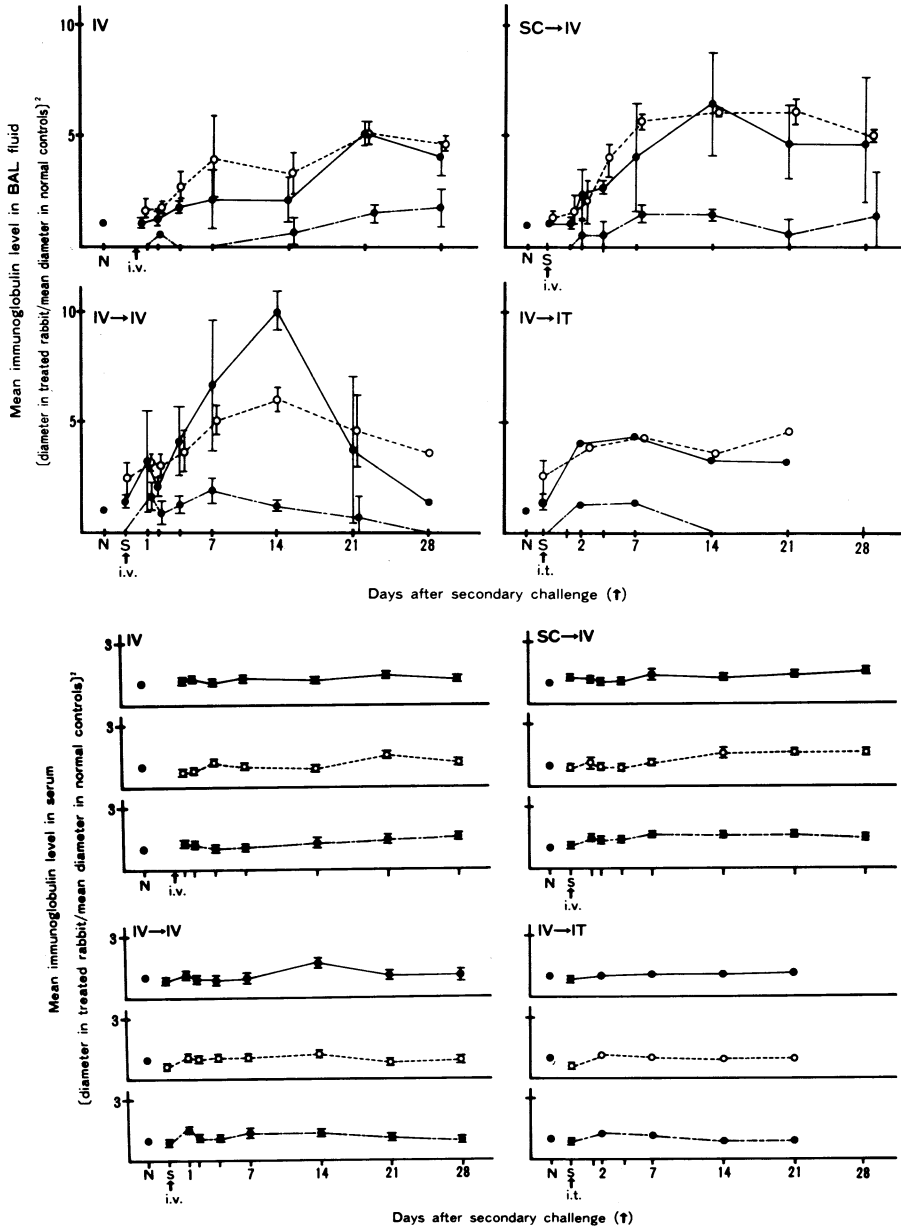


Fig. 5. Quantitative analysis of immunoglobulin levels in BAL fluid and serum by single radial immunodiffusion (SRID). Immunoglobulin level is expressed as a ratio calculated by formula ; $\left(\frac{\text{mean diameter of SRID in each experimental group}}{\text{mean diameter of SRID in non-sensitized controls}} \right)^2$ See explanations of Fig. 1 for groups, N, S and challenges. IgG ●—●, IgA ○----○, IgM ⊙----⊙

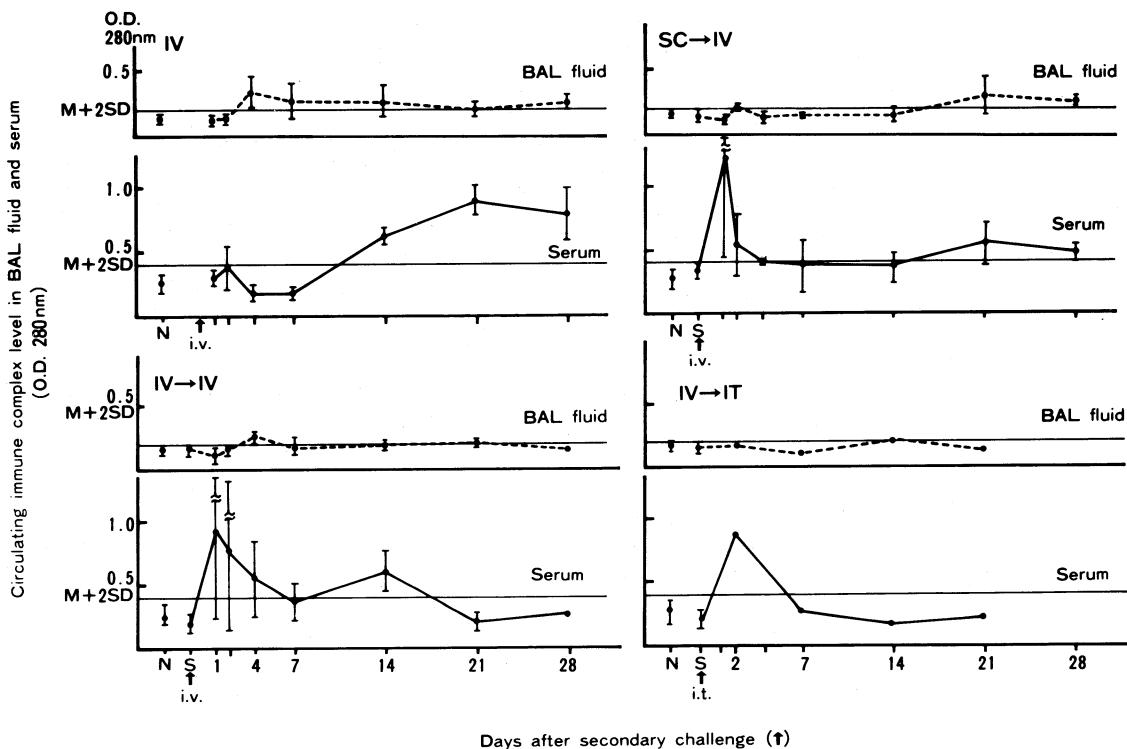


Fig. 6. Circulating immune complex levels in BAL fluid and serum. See explanations of Fig. 1 for groups, N, S and challenges.

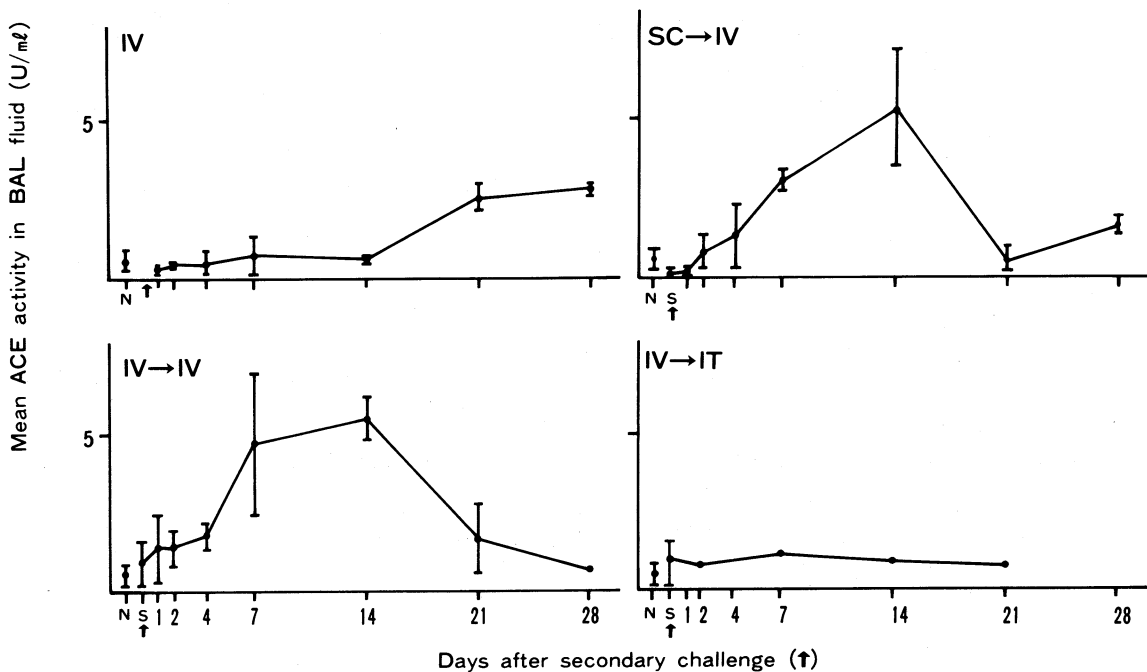


Fig. 7. ACE activity in BAL fluid. Each value represents the mean activity and SE from 2-6 experiments in each group. See explanations of Fig. 1 for groups, N, S and challenges.

⑥ ACE 活性

N群におけるBALF中のACE活性は、 $0.73 \pm 0.2U/ml$ であった。図7にみるごとく、一次応答群では、ACEは21日目より上昇を認め、二次応答群では、IV → IV群において活性が4日目より急峻に上昇し、14日目でピークに達し、以後漸減した。SC → IV群もほぼ同様の経過を示したが、IV → IT群では、殆んど有意の活性上昇は認められなかった。

4. 考 察

呼吸器疾患領域での診断および病態解析に、BALの果たす役割は大きい。BALにより下気道や肺胞の細胞成分が採取できるようになったが、BALにて回収される細胞成分が、病変部位の構成細胞あるいは組織変化を、どの程度反映しているかを、明らかにすることは重要な問題である²⁶⁾²⁷⁾。また従来、BALの診断的意義は、リンパ球および好中球を中心とした、胞隔炎の評価に集中しており²⁸⁾、胞隔炎以外の病変でのBALの有用性に関する解析は、充分ではない²⁹⁾³⁰⁾。

本研究と同様の実験系において、摘出肺を組織学的に検討した早川らの研究²⁵⁾によれば、①各群とも初期(2日目まで)は、好中球を主体とする胞隔炎が先行する、②一次応答群では、21日目よりリンパ球浸潤が出現し、二次応答群(特にSC → IV群とIV → IV群)では、4日～7日目頃より好中球が減少し、次第にリンパ球と形質細胞浸潤が主体となった、③類上皮細胞肉芽腫形成は、一次応答群では4日目より認められたが、二次応答群では早期(1～2日目)から出現する、などの所見を見出している。以上の組織所見とBAL細胞所見の推移との比較、即ち「BALF中回収総細胞数と肺重量-体重比」および「回収細胞分画と肺内組織所見」とを、それぞれ比較検討したところ、総細胞数は、肺内組織反応の程度とほぼ相関し、また回収細胞分画の変化は、肺内のneutrophil alveolitisとlymphocyte alveolitisを反映していた。更に、類上皮細胞肉芽腫の出現時期に一致して、多核巨大肺胞マクロファージ²⁹⁾³¹⁾が推移したことは、肺肉芽腫性病変の進行を示唆するものであろう。

以上の所見から、BALF中に見出される細胞は、肺内における細胞-組織反応特に胞隔炎の病態の程度や肺肉芽腫性病変の進展を、反映していることが示唆され、BALの診断的有用性が明らかになった。

本研究で用いたBCG死菌感作による肉芽腫形成実験モデルは、皮下初回感作3週間後、静注による二次感作により惹起された肺肉芽腫形成反応の報告³²⁾(Oshima & Myrvik)に始まる。その後Galindo & Myrvikら³¹⁾³³⁾により、リンフォカインの解析からこの反応は、細胞性免疫応答の機構が主体をなして惹起されると推定された。本研究において、二次応答群のBALF

中にMIF活性やMAGF活性が検出され、今回更にCon-A反応性T細胞の動員が見出されたことから考えても、T細胞の関与する細胞性免疫応答機構(cell mediated immunity: CMI)が存在することが、強く示唆される。

本実験系の組織学的所見で、類上皮細胞肉芽腫形成反応が認められた。一般に類上皮細胞肉芽腫形成は、結核症、サルコイドーシス、過敏性肺炎、慢性ペリリウム肺、Wegener肉芽腫など、多くの肺疾患の際にみられる現象で、CMIの関与が推定されている。一方、肺結核症を中心にその形成機序が解析されてきた報告³⁴⁾では、Ellouzらの結核菌体のアジュバント活性の研究で示されたように³⁵⁾、アジュバント効果を示す最小の分子単位であるMuramyl dipeptide (MDP)は、抗原性がなく、MDP自体により、類上皮細胞肉芽腫が惹起されうるといわれる³⁶⁾。早川らの報告²⁵⁾で、一次応答群の初期から、幼若な類上皮細胞肉芽腫が認められたのは、この非免疫学的機序のためと考えられる。

これに対して、一次応答群21日目および二次応答群における類上皮細胞肉芽腫形成は、CMIを基盤とするもので、この所見に対応して、BALF中のACE活性上昇が認められた。1974年Liebermanがサルコイドーシス患者の血清ACEの上昇を報告³⁷⁾して以来、多くの追試がなされ、本症のみに認められる所見ではないことが明らかとなったが、補助診断としての意義は、確固たるものとなっており、またサルコイドーシスの病因との関連から注目されている。肺肉芽腫形成実験から、非免疫学的肉芽腫では上昇が認められず、アジュバント誘導が重要という報告³⁸⁾、BCGにより惹起される肺肉芽腫病変は、ACEにより影響される可能性³⁹⁾などが指摘されてはいるが、肺結核症あるいは本実験系の二次応答群のうちIV → IT群など、同じように類上皮細胞肉芽腫が形成されるにもかかわらず、ACE活性が上昇しない点は、今後に残された課題であろう。

BCGに対する生体反応として、細胞性免疫応答が主体をなすことは、明らかであろうが、それに対して液性免疫応答が、どのような関与をするか明らかでない⁴⁰⁾⁴¹⁾。本研究において、BALF中に免疫グロブリンが検出され、興味ある変動を示した。BALFと血清中の免疫グロブリン値の比較から、BALFの免疫グロブリンは血清由来ではなく、局所の肺およびBALTに由来することが示唆された。即ち、BALF中のIgAとIgGを主体とする免疫グロブリンの変動は、肺組織およびBALに、多数のリンパ球と形質細胞が認められたこととよく対応した。更に、本実験系におけるBALTを経時的に観察した早川らの報告²⁵⁾によれば、各群とも初期にリンパ濾胞の消退傾向を示し濾胞構造が不明瞭となり、その後感作リンパ球によると思われるBALTの濾胞再形成が認められたとしており、BALF中免疫グロブリンの増加は、BALT濾胞再形成とも相関していた。これら

のことから、感作リンパ球と形質細胞のうちあるものは、BALTを経由して、肺組織内あるいはBALF中へ遊出し、このためBALF中の免疫グロブリンが高値となったと思われる。Bienenstock⁴²⁾⁴³⁾は、BALTにはIgA産生前駆細胞が豊富であるとし、同様の構造をもつGALTでは、パイエル板にB細胞の前駆細胞が濾胞状に集簇しており、抗原刺激により分化しつつ血流に入り、その後大部分はGALTにhomingしてくると考えられている⁴³⁾。BALTにおける詳細な細胞動態は、今後の研究に待たねばならないが、BALTの役割として、肺局所における免疫グロブリン産生の調節、制御が指摘される。

BALTにより調節されたと考えられるこの免疫グロブリンの変動、即ち液性免疫応答とCICおよびCMIの関連性の有無は、重要な問題である。Gell & Coombsのアレルギー反応の4型分類のうち、I型、II型反応によっては、肉芽腫形成は惹起されないとされている。一方、III型が関与するという報告⁴⁴⁾⁴⁵⁾が散見され、動物実験において抗体過剰では、壊死の少ない肉芽腫が形成されること⁴⁶⁾、IV型反応に先行してIII型反応が存在する場合があること⁴⁷⁾⁴⁸⁾、臨床的にもサルコイドーシスにおける沈降抗体⁴⁹⁾やCIC⁵⁰⁾の検出、などが報告されている。

本実験系で示されたように、血清中において、CICは肉芽腫形成に先行して検出され、この時期（病初期）に好中球浸潤による胞隔炎をみている。更にIV→IV群で、血管内膜肥厚像が散見され、病因との関連性を思わせる。好中球および好中球由来のライソゾームと免疫複合体の関連は、従来から報告^{51)~53)}されており、免疫複合体により好中球が活性化されると同時に、好中球の存在により免疫複合体の組織沈着が促進されるという。本実験系におけるCICの病因的意義を説明するには、免疫組織化学的に免疫複合体の証明がなされていないこと、CICの検出は血清が主体であったことなど、問題が残る。後者については、経静脈的に抗原を投与しているためと考えられ、またIV→IT群にてBALF中に検出できなかったのは、抗原過剰による免疫複合体の解離が関係しているかもしれない。今回のCIC値の検索からは、CICが関与するかどうかはその可能性を指摘するにとどまった。

本実験系において見出された免疫学的因子の動態は、末梢血とBALFの間で、種々の点において不一致点が認められた。即ち、Con-A反応性リンパ球ならびに免疫グロブリン値は、いずれもBALFに高値を示し、CIC値は血清で高値を示した。以上の所見から、肺局所でのアレルギー反応の病態は、BALFを採取して解析することにより、一層的確に把握されうることが示唆される。

BALTは、肺局所における免疫グロブリン産生を調

節していると推定されたが、BALTとCMIの直接的な関係は、見出せなかった。しかしながら、BALF中に出現したCon-A反応性T細胞は、CMIを裏付けるとともに、IgA産生に関与していた可能性が考えられる。パイエル板における実験では、Con-Aに誘導されたT細胞は、IgA産生を増大させるという⁵⁴⁾⁵⁵⁾。更に、本実験系でBALF中の高いIgGレベルと強い肉芽腫形成反応が対応していたが、IgG成分はマクロファージの遊走あるいは活性化をもたらすといわれている⁵⁶⁾⁵⁷⁾。また、Ráczら¹⁵⁾は、BALTの濾胞領域の形態学的検討から、CMIがB細胞の反応を刺激している可能性を指摘している。これらの点から、BALTとCMIの関連は、Con-A反応性T細胞、免疫グロブリン、CICを介して、相互に影響しているものと推定されるが、今後BALTの胸腺依存域(TDA)の動態を中心に、検討されるべき問題であろう。

5. ま と め

家兎に対してBCG死菌を投与することにより、実験的肺肉芽腫症の作製を試み、肺の遅延型アレルギー反応におけるBALTの役割について、気管支肺胞洗浄液の検討に焦点を置き、その免疫学的意義を検索した。

本実験系では、BCGに対する一次および二次免疫応答群を準備し、経時的にBALF中の細胞成分・液性成分を採取し、免疫学的ならびに形態学的解析を行なった。

肺組織学的所見と気管支肺胞洗浄液細胞成分との相関について検索した結果、BAL回収総細胞数は、肺内組織反応による細胞浸潤の程度を反映しており、またBAL回収細胞成分は、胞隔炎構成細胞とほぼ一致した。更に、多核肺胞マクロファージを検出することにより、肺内での肉芽腫形成の推移を知ることができた。

一次応答群において初期より認められた幼若な類上皮細胞肉芽腫は、非免疫学的肉芽腫と考えられたが、二次応答群では、リンフォカイン(MIF, MAgF)の存在とCon-A反応性T細胞の動員から示唆される細胞性免疫応答のみならず、免疫グロブリン値の上昇、CICの検出から、液性免疫が関与すると推定された。

この免疫グロブリンが、血清に比してBALF中で大きく変動したことは、BALTの濾胞再形成の時期に免疫グロブリンの上昇をみたこととあわせて、免疫グロブリンは肺局所およびBALTに由来し、更にBALTは肺局所における免疫グロブリン産生を調節していると思われた。

また、BALTとCMIの直接的な関連は、今後の検討課題であるが、両者はCon-A反応性T細胞および免疫グロブリンを介して、密接に関係しているものと考えられた。

謝 辞

稿を終るに望み、御指導、御校閲を賜りました吉見輝也教授、山下昭教授に厚くお礼申し上げます。また研究面で、終始、御指導をいただきました福本哲夫博士、本田和徳先生に深謝いたします。

本論文の要旨は、第44回胸部疾患学会東海地方会、特別報告（浜松、1983年）および第59回日本結核病学会総会（東京、1984年）で発表した。

なお、本研究の一部は、文部省科学研究費補助金（昭和55年度一般研究C557193、57年度一般研究C57570302、59年度一般研究C59570323）によることを記し、謝意を表します。

文 献

- 1) Faulk, W.P. et al. : Peyer's Patches : Morphologic Studies, *Cell Immunol*, 1 : 500, 1971.
- 2) Bienenstock, J. et al. : Bronchial Lymphoid Tissue, I, Morphologic Characteristics, *Lab Invest*, 28 : 686, 1973.
- 3) Bienenstock, J. et al. : Bronchial Lymphoid Tissue, II, Functional Characteristics, *Lab Invest*, 28 : 693, 1973.
- 4) Streilein, J.W. et al. : Lymphocyte Traffic, T-Cell Malignancies and the Skin, *J Invest Dermatol*, 71 : 167, 1978.
- 5) Burdon-Sanderson in Eleventh Report of the Medical Officer of the Privy Council, 1868. Quoted in the *Lung*. Edited by W.S.Miller. Springfield, III, Charles C.Thomas, p101, 1937.
- 6) Klein, K : The Anatomy of the Lymphatic System, II, The Lung, London, Smith, Elder, and Co., 1875.
- 7) Emery, J.L. et al. : The Postnatal Development of Lymphoreticular Aggregates and Lymph Nodes in Infants' Lungs, *J Clin Path*, 26 : 539, 1973.
- 8) Meuwissen, H.J. et al. : Bronchus-Associated Lymphoid Tissue in Human Lung : Correlation of Hyperplasia with Chronic Pulmonary Disease, *Clin Immunol Immunopath*, 23 : 548, 1982.
- 9) Milne, R.W. et al. : The Influence of Antigenic Stimulation on the Ontogeny of Lymphoid Aggregates and Immunoglobulin Containing Cells in Mouse Bronchial and Intestinal Mucosa, *J Reticuloendothel Soc*, 17 : 361, 1975.
- 10) Gregson, R.L. et al. : Bronchus-Associated Lymphoid Tissue (BALT) in the Laboratory-bred and Wild Rat, *Rattus norvegicus*, *Lab Invest*, 13 : 239, 1979.
- 11) Benita, E.C. et al. : Development of Bronchus Associated Lymphoid Tissue (BALT) in the Rat, with Special Reference to T- and B- Cells, *Dev Comp Immunol*, 7 : 179, 1983.
- 12) Rudzik, O. et al. : The Distribution of a Rabbit Thymic Antigen and Membrane Immunoglobulins in Lymphoid Tissue, with Special Reference to Mucosal Lymphocytes, *J Immunol*, 114 : 1, 1975.
- 13) Tenner-Rácz, K. et al. : Uptake and Transport of Horseradish Peroxidase by Lymphoepithelium of the Bronchus-Associated Lymphoid Tissue in Normal and Bacillus Calmette-Guérin Immunized and Challenged Rabbits, *Lab Invest*, 41 : 106, 1979.
- 14) Gregson, R.L. et al. : The Response of Rat Bronchus Associated Lymphoid Tissue to Local Antigenic Challenge, *Br J Exp Path*, 60 : 471, 1979.
- 15) Rácz, P. et al. : Functional Architecture of Bronchial Associated Lymphoid Tissue and Lymphoepithelium in Pulmonary Cell-Mediated Reactions in the Rabbit, *J Reticuloendothel Soc*, 22 : 59, 1977.
- 16) Reynolds, H.Y. et al. : Analysis of Proteins and Respiratory Cells Obtained from Human Lungs by Bronchial Lavage, *J Lab Clin Med*, 84 : 559, 1974.
- 17) Schuyler, M.R. et al. : Local Pulmonary Immunity in Pigeon Breeder's Disease, A Case Study, *Ann Intern Med*, 88 : 355, 1978.
- 18) Myrvik, Q.N. et al. : Studies on Pulmonary Alveolar Macrophages from the Normal Rabbit : A Technique to Procure Them in High State of Purity, *J Immunol*, 86 : 128, 1961.
- 19) Harrington, J.T. et al. : Macrophage Migration from Agarose Droplet : A New MIF Assay, *Fed Proc*, 31 : 780, 1972.
- 20) Mancini, G. et al. : Immunochemical Quantitation of Antigens by Single Radial Immunodiffusion, *Immunochem*, 2 : 235, 1965.
- 21) Creighton, W.D. et al. : Detection of Antibodies and Soluble Antigen-Antibody Complexes by Precipitation with Polyethylene Glycol, *J Immunol*, 111 : 1219, 1973.
- 22) Digeon, M. et al. : Detection of Circulating Immune Complexes in Human Sera by Simplified Assays with Polyethylene Glycol, *J Im-*

- munol Methods, 16 : 165, 1977.
- 23) Kasahara, Y. et al. : Colorimetry of Angiotensin-I Converting Enzyme Activity in Serum, Clin Chem, 27 : 1922, 1981.
 - 24) Galindo, B. et al. : A Macrophage Agglutinating Factor Produced During a Pulmonary Delayed Hypersensitivity Reaction, J Reticuloendothel Soc, 18 : 295, 1975.
 - 25) 早川啓史他 : 結核, 投稿中.
 - 26) Haslam, P.L. et al. : Bronchoalveolar Lavage in Pulmonary Fibrosis : Comparison of Cells Obtained with Lung Biopsy and Clinical Features, Thorax, 35 : 9, 1980.
 - 27) Hunninghake, G.W. et al. : Characterization of the Inflammatory and Immune Effector Cells in the Lung Parenchyma of Patients with Interstitial Lung Disease, Am Res Respir Dis, 123 : 407, 1981.
 - 28) 泉孝英他 : T-lymphocyte alveolitis, B-lymphocyte alveolitis における肺胞マクロファージ, 呼吸, 3 : 110, 1984.
 - 29) Myrvik, Q.N. et al. : A study of Macrophages and Epithelioidlike Cells from Granulomatous (BCG-Induced) Lungs of Rabbits, J Immunol, 89 : 745, 1962.
 - 30) 原田進他 : びまん性間質性肺疾患 (過敏性肺臓炎, サルコイドーシス, 特発性肺線維症) における気管支肺胞洗浄液の臨床的検討, 日胸疾会誌, 19 : 549, 1981.
 - 31) Galindo, B. et al. : Fusion of Normal Rabbit Alveolar Macrophages Induced by Supernatant Fluids from BCG-sensitized Lymph Node Cells after Elicitation by Antigen, Infect Immunity, 9 : 212, 1974.
 - 32) Oshima, S. et al. : The Demonstration of Lysozyme as a Dominant Tuberculostatic Factor in Extracts of Granulomatous Lungs, Br J Exp Path, 42 : 138, 1961.
 - 33) Galindo, B. et al. : Migratory Response of Granulomatous Alveolar Cells from BCG-sensitized Rabbits, J Immunol, 105 : 227, 1970.
 - 34) 岩井和郎 : 類上皮細胞肉芽腫の形成をめぐって—他の肉芽腫性疾患との関連の下に—, 結核, 51 : 293, 1976.
 - 35) Ellouz, F. et al. : Minimal Structural Requirements for Adjuvant Activity of Bacterial Peptidoglycan Derivatives, Biochem Biophys Res Commun, 59 : 1317, 1974.
 - 36) 田中渥 : 細菌細胞壁成分による炎症, 類上皮細胞肉芽腫を中心に, 結核, 57 : 671, 1982.
 - 37) Lieberman, J. : A New Confirmatory Test for Sarcoidosis. Serum Angiotensin Converting Enzyme : Effect of Steroids and Chronic Lung Disease, Am Rev Respir Dis, 109 : 743, 1974.
 - 38) Horowitz, J. et al. : Angiotensin Converting Enzyme Concentrations in Rabbits with Talc-Induced Pulmonary Granulomas, Am Rev Respir Dis, 124 : 306, 1981.
 - 39) Schrier, D.J. et al. : Role of Angiotensin-converting Enzyme in Bacille Calmette-Guérin-induced Granulomatous Inflammation. INCREASED ANGIOTENSIN-CONVERTING ENZYME LEVELS IN LUNG LAVAGE AND SUPPRESSION OF INFLAMMATION WITH CAPTOPRIL, J Clin Invest, 69 : 651, 1982.
 - 40) 岡部實裕他 : 類上皮細胞肉芽腫, 結核, 55 : 435, 1980.
 - 41) 池田俊他 : 結核症における液性免疫の関与, 結核, 52 : 141, 1977.
 - 42) Bienenstock, J. et al. : Immunological and Infectious Reactions in the Lung, Marcel Dekker, Inc, New York, p29, 1976.
 - 43) Lamm, M.E. : Cellular Aspects of Immunoglobulin A, Adv J Immunol, 22 : 223, 1976.
 - 44) Spector, W.G. et al. : The Production of Granulomata by Antigen-Antibody Complexes, J Path, 98 : 31, 1969.
 - 45) Spector, W.G. et al. : The role of Antibody in Primary and Reinfection BCG Granulomas of Rat Skin, J Path, 135 : 41, 1982.
 - 46) Ridley, M.J. et al. : Experimental Granulomas Induced by Mycobacterial Immune Complexes in Rats, J Path, 136 : 59, 1982.
 - 47) Slauson, D.O. et al. : The Pulmonary Inflammatory Response. Cellular Events in Experimental Pulmonary Arterial Hypersensitivity Disease, Am J Pathol, 79 : 119, 1975.
 - 48) Bernardo, J. et al. : Acute Hypersensitivity Pneumonitis : Serial Changes in Lung Lymphocyte Subpopulations after Exposure to Antigen, Am Rev Respir Dis, 120 : 985, 1979.
 - 49) 中森祥隆他 : サルコイドーシス患者における沈降抗体について, 日胸疾会誌, 20 : 1163, 1982.
 - 50) Jean-Marie, R. et al. : Variation in Immunoglobulin Levels and Circulating Immune Complexes in Sarcoidosis, Am Rev Respir Dis, 127 : 23, 1983.
 - 51) Kniker, W.T. et al. : Pathogenic Factors in

- Vascular Lesions of Experimental Serum Sickness, *J Exp Med*, 122 : 83, 1965.
- 52) Henson, P.M. et al. : Interaction of Cells with Immune Complexes : Adherence, Release of Constituents, and Tissue Injury, *J Exp Med*, 134 : 114s, 1971.
- 53) Weissman, G. et al. : Mechanisms of Lysosomal Enzyme Release from Leukocytes Exposed to Immune Complexes and Other Particles, *J Exp Med*, 134 : 149s, 1971.
- 54) Elson, C.O. et al. : T-Cell Regulation of Murine IgA Synthesis, *J Exp Med*, 149 : 632, 1979.
- 55) Kawanishi, H. et al. : Mechanisms Regulating IgA Class-Specific Immunoglobulin Production in Murine Gut-Associated Lymphoid Tissues. I. T-Cells Derived from Peyer's Patches that Switch sIgM B Cells to sIgA B Cells In Vitro, *J Exp Med*, 157 : 433, 1983.
- 56) Ando, M. et al. : Activation of Alveolar Macrophages Exposed to Lavage-Produced Immunoglobulin G Obtained from Normal Rabbit Lungs, *Infect Immunity*, 20 : 476, 1978.
- 57) 山下昭他 : 炎症の化学伝達(2), 細胞性因子, MRC メディカルリサーチセンター, 東京, p19, 1984.