

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)の病態組織学的研究

早 川 啓 史・千 田 金 吾・佐 藤 篤 彦

浜松医科大学第2内科

受付 昭和59年10月4日

A HISTOPATHOLOGIC STUDY OF BRONCHUS-ASSOCIATED LYMPHOID TISSUE (BALT) IN DELAYED-TYPE HYPERSENSITIVE REACTION OF THE LUNG

Hiroshi HAYAKAWA*, Kingo CHIDA and Atsuhiko SATO

(Received for publication October 4, 1984)

To investigate the role of bronchus-associated lymphoid tissue (BALT) in delayed-type hypersensitive reaction of the lung, we examined light microscopic findings of the lung and BALT in both normal rabbits and rabbits sensitized intravenously (IV), subcutaneously (SC), and intratracheally (IT) with heat-killed bacillus Calmette-Guérin (BCG).

The rabbits were divided into 5 groups according to the route of sensitization as follows: nonsensitized control group, primary immune response group (IV group), and secondary immune response groups (SC → IV, IV → IV, IV → IT group).

The following results were obtained.

- 1) BALT in normal rabbits was seen along the air way from main bronchus to bronchioles. BALT was divisible into 4 different areas: lymphoepithelial layer (LE), dome area (DA), follicular area (FA), and parafollicular area (PFA). LE was nonciliated epithelia, and devoid of mucous goblet cells. Massive infiltration of small lymphocytes could be seen, and there was also a slight degree of infiltration of macrophages and plasma cells in LE. FA had characteristics of B cell zone, and postcapillary venules with high endothelium could be found in PFA.
- 2) Alveolitis and epithelioid cell granulomas were seen in the lungs of all BCG-sensitized groups. The rabbits of IV → IV group developed most extensive granulomatous response in the lungs. There was marked accumulation of pyroninophilic lymphocytes and plasma cells around the granulomas and within the alveolar septa.
- 3) In the BALT of the secondarily IT sensitized group (IV → IT group), 2 days after secondary sensitization an acid fast organism could be found within a large sized mononuclear cell of LE. In the BALT of the IV sensitized groups (IV, SC → IV, IV → IV group), acid fast organisms could not be seen, but epithelioid cell granulomas could be found.
- 4) In the course of granulomatous response in the lungs induced by the BCG-sensitization, the number of BALT with FA decreased 2-4 days after secondary IV or IT sensitization in the secondary immune response groups and after primary IV sensitization in the primary immune response group, and then recovered gradually. In LE and DA the number of pyroninophilic lymphocytes and plasma cells increased.

The above results suggest that BALT may induce the local immune response in the lung

* From the Second Department of Internal Medicine, Hamamatsu University School of Medicine, 3600 Handa-cho, Hamamatsu 431-Japan.

by uptake of antigen and control the production of immunoglobulins in FA, which may modify the delayed-type hypersensitive reaction in the lung.

Keywords : Bronchus-associated lymphoid tissue (BALT), Delayed-type hypersensitive reaction, Local immunity, Pulmonary granuloma, BCG, Histopathology

キーワード : 気管支随伴リンパ組織, 遅延型アレルギー反応(過敏反応), 局所免疫, 肺肉芽腫, BCG, 病態組織学

緒 言

肺はある程度までの量の抗原の侵入に対しては, 全身から独立した局所免疫応答を行なう場であることが知られており^{1)~3)}, 気道粘液膜および肺胞を中心として局所的免疫制御機構が作動し, 呼吸器系における生体防御の第一線として重要な役割を果たしていると考えられている。

この気道系の局所免疫応答を支える装置に関して, 1973年, Bienenstock⁴⁾⁵⁾により, 消化管リンパ組織(gut-associated lymphoid tissue=GALT)との形態的並びに機能的類似性の観点から, 気道周囲に分布するリンパ組織, 即ち気道随伴リンパ組織(bronchus-associated lymphoid tissue=BALT)の概念が提唱された。以来, 気道および肺の局所における免疫応答機構としてのBALTの役割が論じられるようになってきたが^{6)~16)}, まだその機能についての十分な知見は得られておらず, 各種アレルギー性肺疾患においてBALTの関与を調査した報告¹⁵⁾は少ない。

今回, 我々は家兎においてBCG死菌感作により実験的肺肉芽腫症を惹起することで, 肺局所における遅延型アレルギーの実験モデルを誘導し, その際のBALTと肺の病態組織学的変化の経時的推移を未感作時のBALTの所見と比較検討することによって, 肺肉芽腫症の発現機構におけるBALTの役割を明らかにすることを試みた。

材料と方法

1. 動物

本実験では成熟雌性ニュージーランド白色家兎(体重1.8~2.2kg)を使用した。実験期間中は飼料(RM3, 船橋農場)と水を自由に与えて飼育した。

2. 実験的肺肉芽腫症の作製

加熱死菌 *Bacillus Calmette-Guérin* (BCG) を抗原として用い, 静脈初回感作による一次反応群と感作法を違えた3種類の二次反応群, および正常対照群の計5群を準備した。

i) 静注, 一次反応群 (IV 群)

BCG 5 mg/生食 1 ml を耳静脈より1回注射し, 一

次反応群として次の二次反応群と比較検討した。

ii) 皮下注→静注, 二次反応群 (SC→IV 群)

初回感作方法としてBCG100 μ g/Bayol F0.1mlを両耳介基始部に皮下注射し, 3週後にBCG 5 mg/生食 1 ml を耳静脈より注射し, 2次感作した。

iii) 静注→静注, 二次反応群 (IV→IV 群)

初回感作として, BCG100 μ g/Bayol F0.1mlを耳静脈から注射し, 3週後にBCG 5 mg/生食 1 ml を静注することにより2次感作した。

iv) 静注→気道注, 二次反応群 (IV→IT 群)

初回感作として, BCG100 μ g/Bayol F0.1mlを耳静脈から投与し, 3週後にBCG 5 mg/PBS 1 ml を21 Gの注射針にて気管内に注入することにより, 局所的2次感作を行なった。

V) 正常対照群 (N 群)

無処置の家兎を正常群として使用した。

IV 群, SC→IV 群およびIV→IV 群は初回感作後3週目と2次感作(IV 群においては初回感作)後1日, 2日, 4日, 1週, 2週, 3週, 4週で各2羽を, また, IV→IT 群は初回感作後3週目と2次感作後2日, 4日, 1週, 2週, 3週目に各1羽を空気塞栓により屠殺した。その後, 肺, 肝, 腎, 胸腺, 脾および膝窩リンパ節を摘出し, 組織学的検討を行なった。

3. 組織学的検索法

Carlensら⁴⁾の方法に準じて2%酢酸を気道粘膜表面に浸透させ, 白色小斑点として出現したBALTを肉眼的に観察した。

各実験群より摘出した肺は, 気管から60mlの生理食塩水を注入後, その洗浄液を回収し, この操作を2度繰り返した。その後, 10%中性ホルマリン60mlを気管より注入し固定した。右側肺は気管支に沿って縦切し, 左側肺は横切した。パラフィン包埋した後, 切片標本(3 μ)を作製し, ヘマトキシリン・エオジン(Hematoxylin & Eosin: HE)染色を行ない, 必要に応じてエラストイカ・ワン・ギーソン(Elastica Van Gieson: EVG), アルシアン青・PAS, メチルグリーン・ピロニン(Methyl green-Pyronin: MGP), チール・ネルゼン(Ziehl-Neelsen: ZN)および鍍銀染色を行なった。

前述の他臓器についても肺と同様にして切片標本を

作製し、HE 染色を施して光顕で観察した。

結 果

I. 正常家兎における BALT の形態学的所見

肉眼的な観察において、BALT は白色小斑点として識別され、左右主気管支以下で、特に 3 次気管支より末梢部の各分岐部に密集してみられた。しかし、気管では肉眼的に BALT を確認することができなかった。

光顕の観察では、BALT は主気管支から細気管支に至る気道の各分岐部でみられ、BALT の気道粘膜面は気道面に向かって不整形に膨隆していた。

BALT は組織学的にみてリンパ性上皮 (layer of lymphoepithelia: LE), 円蓋域 (dome area: DA), 濾胞領域 (follicular area: FA), 傍濾胞領域 (parafollicular area: PFA) の 4 部分から構成される (Fig.1-a)。各部分の組織学的特徴を次に略記する。

i) LE BALT の気道粘膜面を形成する上皮は通常の円柱線毛上皮と異なり線毛がみられず、また、アルシアン青・PAS 染色で粘液細胞 (杯細胞) の欠如することが確認された (Fig.1-b)。LE の細胞間隙には多数の小リンパ球がみられ、その他、中リンパ球や形質細胞、組織球などがわずかに浸潤しており、上皮細胞の間隙には数個のリンパ球集簇が認められた (Fig.1-c)。

ii) DA DA は LE に接してその下部に層状に分布する小リンパ球を主体とした細胞集団であり、その他に、少数の中～大型リンパ球、形質細胞および組織球などが観察された。EVG 染色で弾性線維の走行をみると、DA と LE の細胞集団の境界部の一部は弾性線維が途絶しており、DA と LE は立体的に連続した細胞構築であることが示唆された (Fig.1-d)。

iii) FA BALT の中心部を構成する領域で、ピロニン好性の中～大型リンパ球、死滅変性細胞やそれを食食したマクロファージなどからなる胚中心が中央にみられ、その上部周辺は DA によって囲まれていた (Fig.1-a, 5-b)。また、FA は深部より表層に向かって暗帯、明帯に分かれ、粘膜上皮面に向かう極性が認められた。

iv) PFA ここは FA の周辺にみられる小リンパ球を主体とした細胞集団の領域であり、中～大型リンパ球やリンパ芽球も観察された。高内皮性の毛細血管後静脈が認められ、リンパ球の再循環経路であることが示唆された (Fig.1-e)。

以上のように、BALT は気道に随伴してみられる特異な構造を呈するリンパ組織であり、そのほかに少数ながら血管周囲にもそれに類似するリンパ球浸潤が認められた。BALT で観察されるような組織構造区分はできないが、肺静脈に随伴するリンパ組織の一部には血管壁の中膜にまで小リンパ球が浸潤している所見がみられた。

II. BCG 投与家兎における肺および BALT の病態組

組織学的変化

① 肺組織反応の変化

本実験では肺組織学的変化の程度を示す指標として肺組織反応 (pulmonary reaction: PR) と肉芽腫形成 (granuloma formation: GF) を用いた。PR は体重 (kg) 当りの肺重量 (g) 比であらわした。GF は、左側肺のほぼ同レベルの横断切片上において肉芽腫性変化を起こした各部分の面積をマイクロメーターで計測し、その総和を表わしたもので、肉芽腫形成の程度を PR よりも更に正確に反映するものである。肺肉芽腫反応の良好な群では、PR は GF の推移とほぼ一致し、GF を概ね反映することから、PR は簡便で有用な指標であった (Fig.2)。

次に、類上皮細胞肉芽腫の形態的推移を解析するため、中心部壊死や融合傾向の程度を勘案するとともに、細胞反応の程度によってその成熟度を次の 4 段階に分類し、経時的な検討を加えた。

G₁ (幼弱型) : 肉芽腫を構成する細胞は、大きさから考えるとマクロファージ様細胞であるが、明瞭な核小体を有する楕円形～腎形の核は類上皮細胞への分化過程を示すものであり、各細胞間の境界は不明瞭である。

G₂ (成熟型) : 核は楕円形で好酸性の大きな胞体を持つ成熟型の類上皮細胞により構成される。各細胞間の境界は不明瞭である。

G₃ (成熟型) : 肉芽腫を構成する細胞の核は卵円形で、胞体の好酸性は若干弱くなっている。肉芽腫の周囲にはリンパ球の強い浸潤がみられる。

G₄ (萎縮型) : 肉芽腫の中心部を構成する類上皮細胞の間隙は疎となっており、周囲には著しいリンパ球浸潤を認める。この後、肉芽腫はしだいに消失する。

以上の各指標に基づいて各実験群における肺組織変化に検討を加えた。各群に共通してみられる組織学的所見は Fig.3-a, b に示すような胞隔炎と類上皮細胞肉芽腫の形成であり、各実験群の間でその程度と推移に相違が認められた。Fig.2 と Table 1-①, ②は各群の組織反応とその推移をまとめたものである。

次いで各群の特徴をあげる。

i) IV 群 : 静注初回感作による一次反応群は 4 群の中で最も軽度な肺組織反応を呈し、肉芽腫反応の出現時期およびそのピークに達する時期も遅延していた。本群では、胞隔炎が感作後 1 週以内の初期と 3 週目ごろに二相性で出現するのが特徴で、また、浸潤細胞は初期では好中球を主体とするものであるのに対して、3 週目ではリンパ球が主体を占めていた。

ii) SC → IV 群 : この群では肉芽腫形成の程度が著しく、かつ、長期間遷延する傾向がみられるのが特徴であった。即ち、類上皮細胞肉芽腫は 2 次感作後 2 日目ごろから観察されはじめ、急速に発達し 14 日目に最高となり、28 日以降までかなり長期間かかってしだい

Table 1-①. Histologic Changes of the Rabbit Lungs in the Group Primarily Intravenously Sensitized with Heat Killed BCG

Histologic changes ^{a)}		Days after IV sensitization						
		1	2	4	7	14	21	28
Neutrophilic infiltration		+	+	+	±	-	-	-
Alveolitis		+	+	+	±	-	+	+
Epithelioid cell granuloma	Degree of central necrosis	NG ^{b)}	NG	±	±	±	±	±
	Degree of fusion	NG	NG	-	+	+	+	+
	Degree of maturity ^{c)}	NG	NG	G ₁	G ₂	G ₂	G ₃	G ₄

Table 1-②. Histologic Changes of the Rabbit Lungs in the Groups Primarily and Secondarily Sensitized with Heat Killed BCG

Histologic changes ^{a)}		Group	3 weeks after primary sensitization	Days after secondary sensitization						
				1	2	4	7	14	21	28
Neutrophilic infiltration		SC→IV	-	#+	#+	+	+	+	±	-
		IV→IV	±	+	+	+	+	+	±	-
		IV→IT	±	ND ^{d)}	+	ND	+	+	±	ND
Alveolitis		SC→IV	-	+	+	+	+	+	±	±
		IV→IV	±	+	+	+	+	+	±	±
		IV→IT	±	ND	+	ND	+	+	+	ND
Epithelioid cell granuloma	Degree of central necrosis	SC→IV	NG ^{b)}	NG	+	+	+	+	+	+
		IV→IV	-	+	+	+	+	+	±	-
		IV→IT	-	ND	-	ND	±	±	-	ND
	Degree of fusion	SC→IV	NG	NG	-	+	+	+	+	+
		IV→IV	-	-	-	-	+	+	+	-
		IV→IT	-	ND	±	ND	+	+	±	ND
	Degree of maturity ^{c)}	SC→IV	NG	NG	G ₁	G ₂	G ₂	G ₃	G ₃	G ₃
		IV→IV	G ₃	G ₂	G ₂	G ₂	G ₃	G ₃	G ₃	G ₄
		IV→IT	G ₃	ND	G ₂	ND	G ₂	G ₃	G ₃	ND

a) Histologic changes were graded as follows : -, not detected ; +, mild changes ; ++, moderate changes ; +++, severe changes. b) NG : No granuloma. c) Degree of maturity of the epithelioid cell granuloma was as follows : G₁, immature ; G₂ and G₃, mature ; G₄, atrophic. d) ND : Not done.

に消退した。この肉芽腫反応の遷延所見と相俟って、肉芽腫の中心部での壊死像と融合傾向が顕著に認められた。

iii) IV → IV 群：著しい肉芽腫反応を認め、その反応の進行は極めて速やかで、2 次感作後 1 日目には成熟型の類上皮細胞肉芽腫が多数出現していた。初期にみられる好中球の浸潤は二次反応群の中で最も軽度で、

4～7 日目にはリンパ球と形質細胞の浸潤が主体となっていた。類上皮細胞肉芽腫の増殖のみならず、その消退もまた速やかであり、肉芽腫反応が急速に経過することが本群の特徴であった。

本群において静注初回感作後 3 週目の時期に、既に少数の小型成熟類上皮細胞肉芽腫が認められた。一方、SC → IV 群での皮下注射による初回感作法では肉芽腫

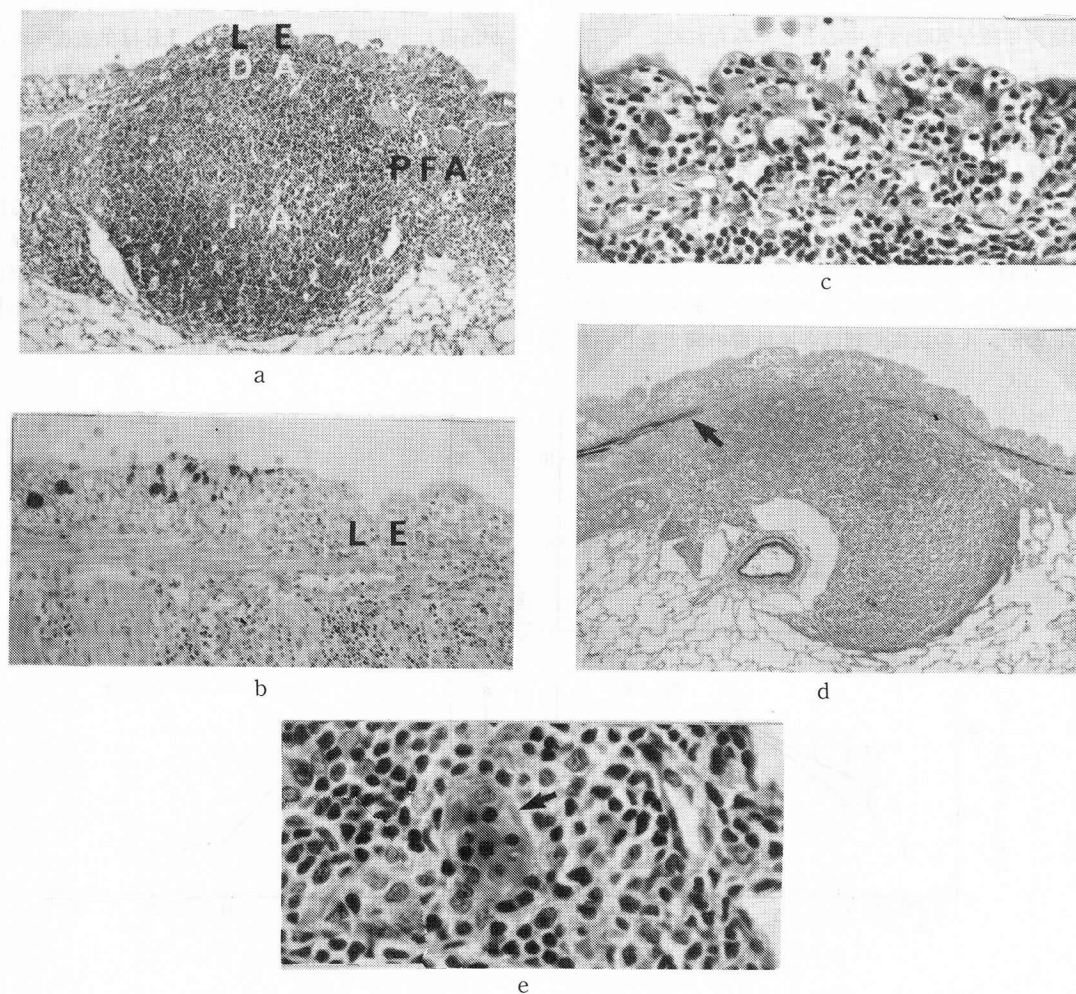


Fig. 1. Light microscopic characteristics of the BALT in a normal rabbit. a : Low magnification view of the BALT. BALT shows histologically a typical structure of secondary nodule with germinal center. LE : layer of lymphoepithelia, DA : dome area, FA : follicular area, PFA : parafollicular area. HE, $\times 50$. b : Note the absence of mucous goblet cells in LE. Periodic acid Schiff and Alcian Blue, $\times 100$. c : High magnification view of LE and DA. Massive infiltration of small lymphocytes can be seen in LE. There is also a slight degree of infiltration of macrophages and plasma cells. HE, $\times 100$. d : Bundles of elastic fiber (arrow) which are separating LE and DA, are almost interrupted around the upper pole of lymph follicle. Elastica Van Gieson, $\times 50$. e : Note the presence of postcapillary venule (arrow) with high endothelium in PFA. HE, $\times 200$.

の形成はみられず、肺肉芽腫反応を誘導するにあたり、静注法は皮下注法に比し、より効果的であることが示唆された。

iv) IV → IT 群：この群の肉芽腫反応は既述の二次反応群に比べ軽度であり、且つ、好中球浸潤の強い傾向がみられることが特徴であった。経気道的に局所へ行なった2次感作後、早期から成熟型の類上皮細胞肉芽腫の形成が一部に観察されたが、同時期の主体はむしろ浸出性反応であり、その後に比較的多数の類上皮細胞肉芽腫が気腔内を中心としてみられた。

以上、各実験群の組織変化を示した。その主体は肉芽腫反応であり、この反応には著しいピロニン好性大型リンパ球および形質細胞の浸潤を伴っており、Tリンパ球による細胞性免疫応答のみならず、Bリンパ球や形質細胞による液性免疫応答も同時進行的に関与していることが示唆された (Fig.3-b)。

② BALT の病態組織学的変化

BALT は BCG 投与により速やかに組織学的変化を示したが、その反応形態は各実験群の間で著しい相違

は認められなかった。

Fig.4 は各群における右側肺の一縦断面にみられた全 BALT 数のうち、FA を有する BALT の出現率を経時的に示したものである。2次感作 (IV 群では初回感作) 後、2～4日頃にいずれの実験群でも FA を持った BALT は減少し、7～14日にかけて再び出現する傾向がみられた。この FA の消退時期に一致して LE, DA, PFA および BALT 周辺組織などにピロニン好性大型リンパ球と形質細胞の増加が認められた (Fig.5-a)。FA が消退し不明瞭となるのに反し、LE は気道面への隆起を増し、LE の細胞間ではリンパ球や形質細胞の浸潤が高度となった。また、気道腔内へ単核細胞が LE より脱落しているような所見も認められた。FA は2次感作後1～2週で再形成され (Fig.5-b)、この時期は二次反応群において類上皮細胞肉芽腫が発達、増大する時期と一致していた。FA の再形成後も BALT およびその周辺部の単核細胞浸潤は持続し、組織反応の消退に伴い徐々に減少した。この間、PFA では若干の単核細胞の増加が観察されたのみであった。

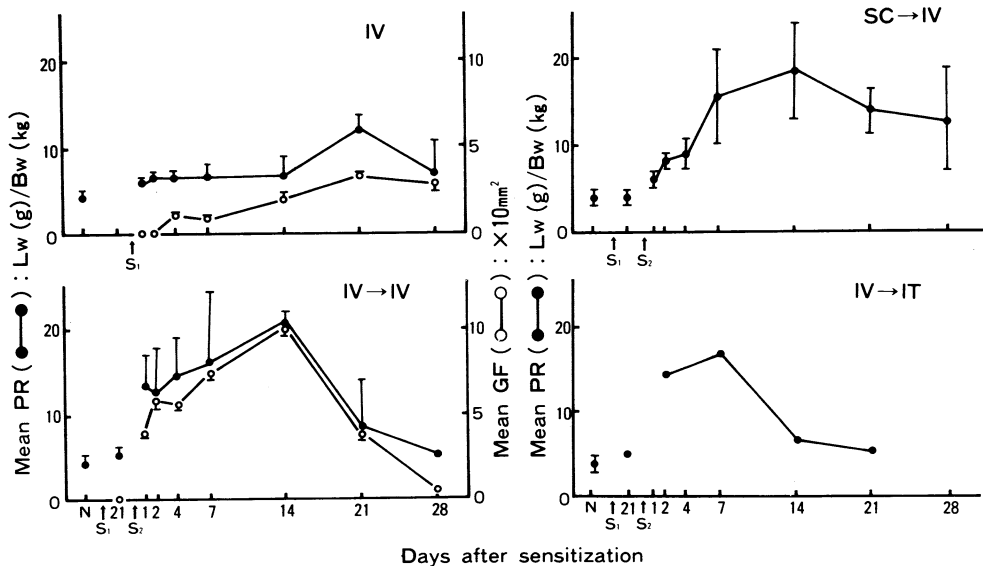


Fig. 2. Changes of the degree of pulmonary reaction (PR) and granuloma formation (GF) in the BCG-sensitized rabbits. Primary sensitization was carried out by injection intravenously (IV, IV → IV, IV → IT group), or subcutaneously (SC → IV group). Secondary sensitization was carried out 3 weeks after the primary sensitization by injection intravenously (SC → IV, IV → IV group), or intratracheally (IV → IT group). The degree of PR is expressed as a ratio of lung weight (LW ; g) to body weight (BW ; Kg) in all groups. GF is expressed as total area occupied by granulomatous changes which are seen in a certain level transversal section of each of the left lungs of IV and IV → IV group.

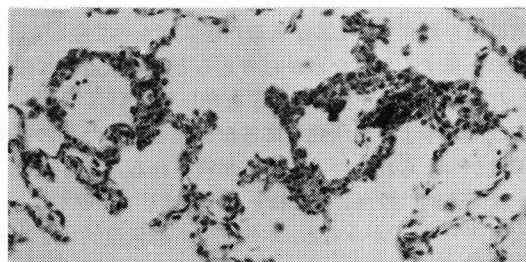
N=nonsensitized control group, S₁=primary sensitization, S₂=secondary sensitization.

経気道的に2次感作したIV→IT群では、感作後2日目でLEの細胞集団を構成する比較的大型の単核細胞の細胞質内と思われる部位に抗酸菌が認められ(Fig. 5-c), LE内に存在する食細胞を介してBALT内へ感作抗原として用いた抗酸菌が取り込まれたことが示唆された。経静脈的にBCGを投与した実験群においては、BALT内には抗酸菌を証明することができなかったが、

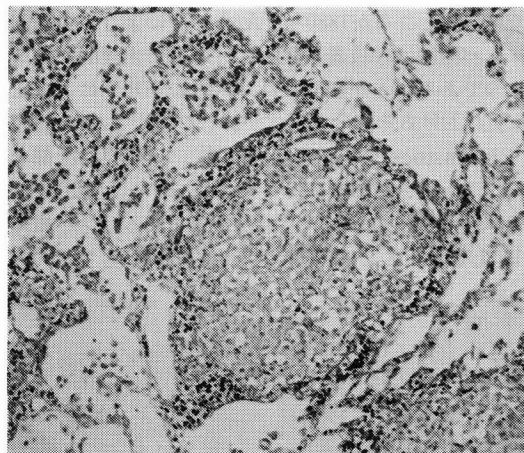
類上皮細胞肉芽腫が散見されたことから、静注感作群でもおそらく血行性にBCGがBALT内の細胞に取り込まれ、肉芽腫形成を惹起すると考えられた。

III. BCG投与家兎における他臓器の変化

組織学的検索により肝、腎、胸腺、脾および膝窩リンパ節には類上皮細胞肉芽腫の形成は認められなかった。従って、BCG投与による肺およびBALTでの肉



a



b

Fig. 3. A representative finding of alveolitis and epithelioid cell granuloma in the lung of BCG-sensitized rabbits.

a : Neutrophilic alveolitis seen in the rabbit lung 1 day after primary IV sensitization (IV group). HE, $\times 100$. b : Epithelioid cell granulomas seen in the rabbit lung 2 weeks after secondary sensitization (IV $\rightarrow$ IV group). There is marked accumulation of pyroninophilic lymphocytes and plasma cells around the granulomas and within the alveolar septa. Methyl green pyronin, $\times 100$.

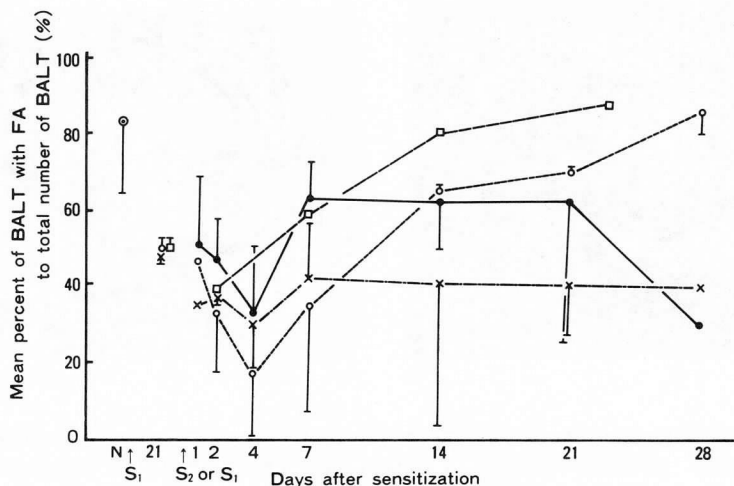


Fig. 4. Changes of the BALT with FA in the BCG-sensitized groups. After sensitization, number of BALT with FA decreased in early phase, and then recovered gradually. ●—● : IV group, ○- - -○ : SC $\rightarrow$ IV group, ×- · -× : IV $\rightarrow$ IV group, □- - -□ : IV $\rightarrow$ IT group. See explanation of Fig. 2. for N, S₁, and S₂.

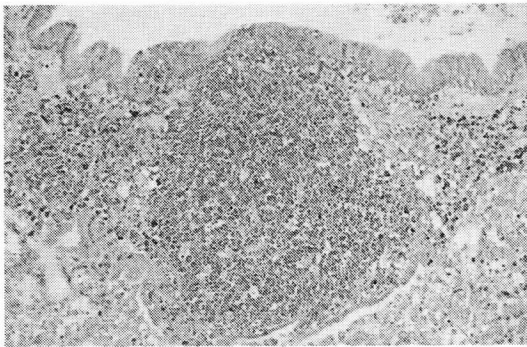
芽腫形成は、かなり高い臓器特異性を示すことが示唆された。

考 案

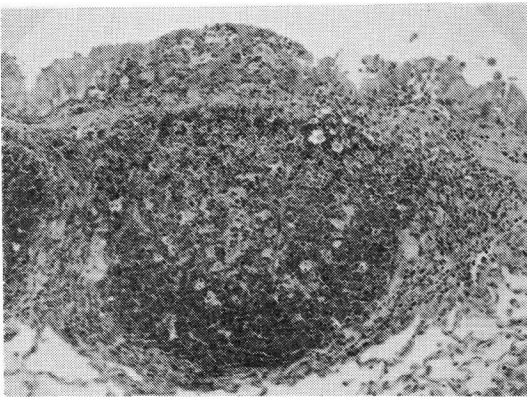
気道周囲に分布するリンパ組織は1867年、Burdon-Sanderson¹¹⁾がモルモットで報告したのが最初である。当時は、これらのリンパ組織が存在することは生理的なものではなく、病的な生体反応を意味すると考えられていた。ところが1880年、Arnold¹⁷⁾により気道周囲のリンパ組織は呼吸器系臓器に付属した生理的な構造の一つであることが指摘され、その後、西川¹⁸⁾により正常家兎におけるその分布様式が詳しく報告された。1973年、Bienenstock⁴⁾は腸管粘膜に接して存在し、上部をリンパ性上皮で覆われるリンパ濾胞、即ち GALT との形態学的類似性から、気道周囲に分布するリンパ組織を BALT と命名し、肺局所免疫応答機構としてその概

念を提唱した。以来、肺局所免疫反応における BALT の機能と意義に関する研究^{6)~16)19)20)}がなされるようになってきた。

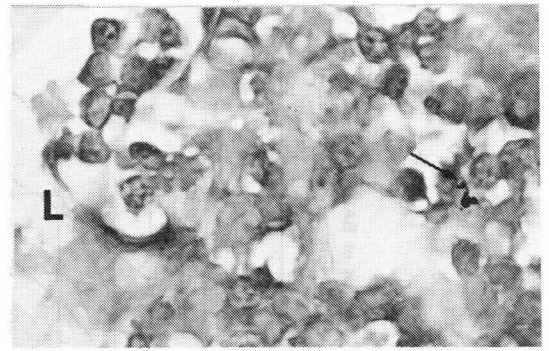
正常家兎における BALT の分布様式については、我々の成績では左右主気管支から細気管支に随伴して確認された。しかし、BALT と肺門や縦隔に存在するリンパ節との組織解剖学的な関連性は明らかではなく、肺局所免疫応答機序における両リンパ組織の関連性は、今後更に検討する必要がある。本研究で BALT が気道分岐部に多く認められた点は他の報告⁴⁾¹⁵⁾¹⁷⁾¹⁸⁾ともよく一致する。このような BALT の分布様式と BALT の気道面を形成する LE が気道内腔に向かって隆起し、不整形を呈することなどから考えると、経気道的に侵入した抗原や異物が容易に LE を介して BALT へ達し、そこで効率よく局所免疫応答が惹起されるための免疫環境がつくられていることが示唆される。事実、BALT が経気道的に投与した異物を LE を通じて摂取するという報告⁶⁾¹⁴⁾¹⁶⁾²¹⁾がみられ、本研究でも経気道的に 2 次感染を行なった IV → IT 群において、LE を構成する比較的大型の単核細胞質内と思われる部位に抗酸菌を証明しており、BALT が気道由来の抗原や異物をとらえ、気道局所の免疫応答の開始に関与していることが推察される。従来⁴⁾¹⁵⁾では、LE はリンパ組織としての BALT から区別されているが、抗原や異物の取り込みには LE が重要な役割を果たしており、更に粘膜固有層で BALT の DA と LE との間で弾性線維が消失していることから、DA と LE は連続していることが考えられる。従って、LE は構造的にも機能的にも BALT の一構成部分として扱えられるべきであろう。これまでの



a



b



c

Fig. 5. Light microscopic findings of the BALT in secondarily IT sensitized group (IV → IT). a : Note the disappearance of FA in the BALT 2 days after secondary sensitization. There is accumulation of small lymphocytes, large pyroninophilic lymphocytes and plasma cells among PFA. Methyl green pyronin, $\times 100$. b : Two weeks after the secondary sensitization, BALT with FA appeared. Methyl green pyronin, $\times 100$. c : An acid fast organism (arrow) could be found within a large sized mononuclear cell of LE 2 days after secondary sensitization. L : Bronchial lumen. Ziehl Neelsen, $\times 500$.

所見から考えると、BALTは経気道的に侵入した抗原や異物をとらえる細胞層としてのLEとそれに連続したDA、抗原に対する免疫応答の場としてのFAおよびPFAの4部分から構成されている有機的な免疫環境であることが示唆される。

一方、本研究で経静脈的にBCGを投与した実験群のBALTにおいても明らかな形態的变化がみられたことは、血行性に肺へ侵入した抗原に対してもBALTが反応することを示唆する。Krauseら²²⁾は結核菌を家兎に静脈投与したのち1時間で、気管支周囲のBALT内に分布する血管内に抗酸菌を認め、家兎においてはこの血管が肺動脈より分枝を受けているためとしている。我々はBCGの静脈投与では、BALT内で直接抗酸菌の証明はしていない。しかし、BALT内に類上皮細胞肉芽腫の形成を認めることから、BCGが直接血行性、もしくはリンパ行性にBALT内へ取り込まれたことが考えらる。従って、家兎におけるBALTの機能の一つとして、経気道的に侵入したものだけでなく、血行性に肺へ到達した抗原や異物をも取り込み、肺局所免疫応答の発現に関与していることが示唆される。

今回、我々はMyrvikらの報告^{23)~27)}に準じて、肺局所での遅延型アレルギー研究の実験モデルとして、BCG感作により肺肉芽腫病変を実験的に作製した。BCGの初回および2次感作法の異なる4実験群を設定し、各群の肺組織反応とBALTの病態組織学的変化を追求することによって、肺肉芽腫病変発現の機序とBALTの相関を明らかにすることを試みた。

4群の中でIV群は組織反応が最も弱く、且つ、ピークに達する時期も遅く、一次免疫応答型の特徴を示していた。それに対し、2次感作を行なった3群はIV群に比べ、より強い組織反応像を呈し、SC→IV群とIV→IV群では著しい類上皮細胞肉芽腫の形成が観察された。特にIV→IV群では2次感作直後から、成熟型の類上皮細胞肉芽腫が多数出現し、反応の程度も4群中最大であった。SC→IV群においても強い肉芽腫反応がみられたが、その際は中心部壊死を伴うArthus型反応²⁸⁾がIV→IV群より高度であることから、遅延型反応の程度はIV→IV群と比べ軽度であることが推測され²⁹⁾³⁰⁾、初回および2次感作ともに経静脈に行なう方法によって最も強い肺局所遅延型反応が惹起されられると思われる。その他、IV→IV群では組織反応が比較的速度やかに推移するのに対し、SC→IV群では反応が長期間遷延し、それに伴い肉芽腫が著しい融合傾向を示すことなど、両群の初回感作法の違いに基づくと思われる免疫応答の差異がみられた。

次に、BALTの病態組織学的変化をみると、BCGの静脈内および気管内投与によって、BALTは速やかな組織反応を示すことが明らかになった。最初の組織学的変化はFAにみられた。即ち、2次感作(IV群では

初回感作)後1日目から4日目にかけてFAの濾胞構造が乱れ、不明瞭となり、リンパ球のびまん性浸潤像を示した。これは、抗原刺激に基づく濾胞細胞の移動により、濾胞構造が変化したものと考えられる。その後1週から2週目ごろより多数のFAが再形成された。このような所見とBALTの発達は抗原刺激に依存性であるとされる³¹⁾³²⁾ことから推測すると、正常家兎で観察されたFAは、飼育条件がgerm freeでないため、気道を経て入ってくる外来性の種々抗原や異物に対して既に形成されていたものであり、BCG投与により、一旦FAが消失したのち再び出現したFAは、BCGに対する特異的な濾胞形成に基づくものであろう。BCGに対するBALTのFAの形成機序は不明であるが、BALT内にBCG感作リンパ球を取り込み保持する何らかの機構が働いていることが推察される³³⁾³⁴⁾。

本研究と全く同様の実験系において、千田³⁵⁾らは気管支肺胞洗浄液内の免疫グロブリン値が血中と比較してはるかに高い値を示すことを明らかにし、そのピークは2次感作後2週目であることを見出している。この気管支肺胞洗浄液中の免疫グロブリンの増加は、本研究でみられた胞隔炎および肉芽腫病変での抗体産生細胞の分化増殖を反映したものと解釈される。これらの免疫グロブリン産生細胞の由来は明確ではないが、2次感作後2週間ごろまでBALTのFAが一旦消退し、次いで再形成されることから考えると、これらの細胞がFAに由来したものであることが推定される。即ち、遅延型アレルギー一反応において、BALTを介した肺局所の液性免疫応答機構が作動している可能性が考えられる。

次に肺の遅延型アレルギーでの細胞性免疫応答とBALTの直接的関連性の有無が問題となる。この点に関しては、これまでにRáczら¹⁵⁾は、家兎においてBCG死菌を経気道的に投与して作製した実験的肺肉芽腫症でのBALTを観察し、その反応に細胞性免疫応答の関与が認められたこととPFAで中〜大型リンパ球が増加したことを報告しており、BALTと細胞性免疫との関連性が考えられる。しかし、彼らは液性免疫、特に免疫グロブリンに関する充分な検討を行なっておらず、本研究での経時的な肺組織反応とBALTの形態的推移や千田ら³⁵⁾の肺局所免疫グロブリンの測定成績からは、肺遅延型アレルギーにおけるBALTと細胞性免疫応答との関連性は、同時に存在するBALTと液性免疫応答を包含した観点から検討されることが必要と考えられる。

近年、IgG由来のマクロファージ遊走因子³⁶⁾など、液性免疫応答の肉芽腫反応に対する関与や修飾作用を示唆する報告がなされている。このような事実から、従来報告されている活性化T細胞由来のリンフォカインの作用だけでなく、BALTを介する液性調節の機序の可能性にも目を向けて、今後、更に肺局所遅延型アレ

ルギーの詳細な検討がなされるべきであろう。

ま と め

BCG 死菌を各種経路で投与して、家兎における肺肉芽腫症を実験的に惹起させ、肺および気道随伴リンパ組織 (BALT) の組織学的変化を経時的に検索することにより以下の成績を得た。

① BCG 未感作家兎の BALT は主気管支から細気管支に至る気道分岐部に密に分布し、気道面を形成し抗原摂取作用を示すリンパ性上皮 (LE) とそれに連続して粘膜固有層に存在し、リンパ球を主体とした円蓋域 (DA)、胚中心を有する濾胞領域 (FA) および毛細血管後静脈のみられる傍濾胞領域 (PFA) の4部分から構成されていた。

② BCG 投与を行なったすべての実験群で肺肉芽腫反応がみられ、初回および2次感作ともに経静脈的に行なった群において、肺に著しい類上皮細胞肉芽腫の形成が認められた。

③ 経気道的に BCG を投与した際、BALT の LE 内に抗酸菌が証明され、経静脈的に投与した場合、BALT 内で抗酸菌は検出できなかったが、その内部での類上皮細胞肉芽腫の形成が散見された。

④ BCG の経静脈および経気道的投与により惹起された肺肉芽腫反応に伴って、BALT の組織学的変化が認められた。特に FA が2次感作 (IV 群では初回感作) 後2日から4日で消退し、次いで約2週後に再形成された。

以上の成績から、BALT は肺局所において侵入抗原を摂取することにより肺局所免疫応答の開始に関与し、免疫グロブリン産生を介して肺局所免疫応答を調節していることが示唆された。

謝 辞

本稿を終えるにあたり、御指導と御校閲を賜りました吉見輝也教授、山下昭教授に深甚なる謝意を表します。また研究面で、終始、御指導をいただいた福本哲夫博士、本田和徳先生に厚くお礼申し上げます。

本論文の要旨は、第45回胸部疾患学会東海地方会、特別報告 (名古屋、1984年) および第59回日本結核病学会総会 (東京、1984年) において発表した。

本研究の一部は、文部省科学研究費補助金の援助を受けた。昭和55年度一般研究 C557193、昭和57年度一般研究 C57570302、昭和59年度一般研究 C59570323。

文 献

- 1) Spencer, J.C. et al.: Local and systemic cell-mediated immunity after immunization of guinea pigs with live or killed *M. tuberculosis* by various routes, J Immunol, 112: 1322, 1974.
- 2) Clancy, R. et al.: The proliferative response of bronchus-associated lymphoid tissue after local and systemic immunization, J Immunol, 112: 1997, 1974.
- 3) Hunninghake, G.W. et al.: Immunologic reactivity of the lung, V, Regulatory effects of antibody on the pulmonary immune response to locally administered antigen, J Immunol, 118: 1728, 1977.
- 4) Bienenstock, J. et al.: Bronchial lymphoid tissue, I, Morphologic characteristics, Lab Invest, 28: 686, 1973.
- 5) Bienenstock, J. et al.: Bronchial lymphoid tissue, II, Functional characteristics, Lab Invest, 28: 693, 1973.
- 6) Waksman, B.H. et al.: Specialized amplification elements in the immune system, The role of nodular lymphoid organs in the mucous membranes, Prog Allergy, 21: 1, 1976.
- 7) Perey, D.Y.E. et al.: Effects of bursectomy and thymectomy on ontogeny of fowl IgA, IgG, and IgM, J Immunol, 111: 633, 1973.
- 8) 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.
- 9) Rudzik, O. et al.: Repopulation with IgA containing cells of bronchial and intestinal lamina propria after transfer of homologous Peyer's patch and bronchial lymphocytes, J Immunol, 114: 1559, 1975.
- 10) Bienenstock, J. et al.: A morphologic study of rabbit bronchial lymphoid aggregates and lymphoepithelium, Lab Invest, 35: 343, 1976.
- 11) Bienenstock, J. et al.: Immunological and infectious reactions in the lung, Marcel Dekker, Inc, New York and Basel, p.29, 1976.
- 12) Mcdermott, M.R. et al.: Evidence for a common mucosal immunologic system, I, Migration of B immunoblasts into intestinal, respiratory, and genital tissues, J Immunol, 122: 1892, 1979.
- 13) 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.
- 14) Fournier, M. et al.: Bronchial lymphoepithelial nodules in the rat, Morphologic features and

- uptake and transport of exogenous proteins, *Am Rev Respir Dis*, 116: 685, 1977.
- 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) Rácz, K.T. 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.
 - 17) Miller, W.S.: The distribution of lymphoid tissue in the lung, *Anatomical Record*, 5: 99, 1911.
 - 18) 西川忠英: 肺に現る, 淋巴組織の形態, 配置及び意義について, *京都医学雑誌*, 37: 1497, 1940.
 - 19) Chamberlain, D.W. et al.: Ultrastructure of the pulmonary lymphoid tissue, *Am Rev Respir Dis*, 108: 621, 1973.
 - 20) Gregson, R.L. et al.: Postnatal development of bronchus-associated lymphoid tissue (BALT) in the rat, *Rattus norvegicus*, *Laboratory Animals*, 13: 231, 1979.
 - 21) 西川忠英: 吸入炭末の運命, 特に之と肺内淋巴組織との関係に就ての実験的研究, *京都医学雑誌*, 37: 1779, 1940.
 - 22) Krause, A.K.: Studies on tuberculous infection, XIV, The localization of tuberculous infection in the rabbit, with particular reference to that in the lungs, *Am Rev Tbc*, 14: 243, 1926.
 - 23) Myrvik, Q.N. et al.: A study of macrophages and epithelioid-like cells from granulomatous (BCG-induced) lungs of rabbits, *J Immunol*, 89: 745, 1962.
 - 24) Ohshima, S. et al.: The demonstration of lysozyme as a dominant tuberculostatic factor in extracts of granulomatous lungs, *Brit J Exper Path*, 42: 138, 1961.
 - 25) Kawata, H. et al.: Dissociation of tuberculin hypersensitivity as mediator for an accelerated pulmonary granulomatous response in rabbits, *J Immunol*, 93: 433, 1964.
 - 26) Galindo, B. et al.: Migratory response of granulomatous alveolar cells from BCG-sensitized rabbits, *J Immunol*, 105: 227, 1970.
 - 27) Galindo, B. et al.: A macrophage agglutinating factor produced during a pulmonary delayed hypersensitivity reaction, *J Reticuloendothel Soc*, 18: 295, 1975.
 - 28) Yasuhira, K.: Experimental production of sarcoidosis in the lung, *Proc VI Int Conf on Sarcoidosis*, p. 111, Univ. of Tokyo press, Tokyo, 1974.
 - 29) Spector, W.G. et al.: The role of antibody in primary and reinfection BCG granulomas of rat skin, *J Path*, 136: 41, 1982.
 - 30) Ridley, M.J. et al.: Experimental granulomas induced by mycobacterial immune complexes in rats, *J Path*, 136: 59, 1982.
 - 31) Jericho, K.W.F. et al.: Intrapulmonary lymphoid tissue of pigs exposed to aerosols of haemolytic streptococcus group L and porcine adenovirus, *J Comp Path*, 81: 1, 1971.
 - 32) Jericho, K.W.F. et al.: Intrapulmonary lymphoid tissue of pigs exposed to aerosols of carbon particles, of *Salmonella oranienburg*, of *Mycoplasma granularum*, and to an oral inoculum of larvae of *Metastrongylus apri*, *J Comp Path*, 81: 13, 1971.
 - 33) Lipscomb, M.F. et al.: The antigen-induced selective recruitment of specific T lymphocytes to the lung, *J Immunol*, 128: 111, 1982.
 - 34) Hendriks, H.R. et al.: Disappearance and re-appearance of high endothelial venules and immigrating lymphocytes in lymph nodes deprived of afferent lymphatic vessels: a possible regulatory role of macrophages in lymphocyte migration, 13: 663, 1983.
 - 35) 千田金吾他: 結核, 投稿中.
 - 36) 本多三男他: 炎症の化学伝達(2)-細胞性因子-〔第4回浜松免疫セミナー〕, *メディカルリサーチセンター*, 東京, P.19, 1984.