

原 著

実験的肉芽腫肺における肺局所遅延型アレルギー反応の研究

—気管支随伴リンパ組織 (BALT) の免疫担当細胞の解析—

岡野昌彦・佐藤篤彦

浜松医科大学第二内科

受付 昭和62年10月21日

ANALYSIS OF DELAYED TYPE HYPERSENSITIVITY REACTION
OF THE EXPERIMENTAL GRANULOMATOUS LUNG—Changes of T-cell and B-cell Subpopulations in the
Bronchus-Associated Lymphoid Tissue—

Akihiko OKANO* and Atsuhiko SATO

(Received for publication October 21, 1987)

To clarify the role of bronchus-associated lymphoid tissue (BALT) in the delayed-type hypersensitivity (DTH) reaction in the lung, we examined immunohistochemically the dynamic changes of the cell type structure of BALT in rats with DTH reaction induced by secondary injection of BCG.

The lymphocyte subpopulations of BALT were determined with the indirect immunoperoxidase technique, using monoclonal antibodies and antirat immunoglobulin subclass-antibodies reacting with T-cell subpopulations and each surface Ig subclass B-cell.

The structure of the normal rat-BALT was similar to that of the rabbit or Peyer's patch of the rat, except that the development of germinal centers in the follicular area was not found in most of the BALT.

The induction of DTH reaction increased both the size of BALT and the number of germinal centers in follicular area in the early stage of the reaction, and subsequently resulted in granuloma formation in the parafollicular area in association with the development of granulomatous changes within the lungs. In the BALT, the ratio of W3/25-positive T-cells (T helper) to OX8-positive T-cells (T nonhelper) increased by 2.6 in the early stage of the reaction but decreased by 0.5 in the late stage (five weeks). On the other hand, in the early stage, the surface (s) IgM-positive B-cells and sIgA-positive B-cells increased in most compartments of BALT and within parafollicular area, in particular in the surrounding regions of highendothelial venules.

Therefore, the numbers of OX6-positive cells (Ia-positive cells) markedly increased in all area of BALT in the early stage. These increases suggest the involvement of not only B-cells but also activated T-cells and activated macrophages in BALT.

* From the Second Department of Internal Medicine, Hamamatsu University School of Medicine, 3600, Handa-cho, Hamamatsu, 431-31 Japan.

In addition, the fluctuation of immunoglobulin levels in bronchoalveolar lavage fluid was greater than that in serum.

These findings indicate that the changes of T-cell and B-cell subpopulations in BALT are closely associated with DTH reaction, and BALT modify the local immune response in the lung by cell-mediated immunity as well as humoral immunity.

Key words : Bronchus-associated lymphoid tissue, Experimental granulomatous lung, T-cell subpopulation, B-cell subpopulation, Immunohistochemical method

キーワード : 気管支随伴リンパ組織, 実験的肺肉芽腫, T細胞亜群, B細胞亜群, 免疫組織化学

緒言

気道及び消化管は、粘膜を介して外界と通じているため、絶えず環境物質や種々の抗原物質に曝露されている。これら粘膜表面を被覆する上皮下には、明瞭な被膜を有しない末梢性のリンパ組織が分布しており、外来性抗原に対する免疫学的防御機構の中心的役割を担っている¹⁾²⁾。これら粘膜下リンパ組織 (Mucosa-associated lymphoid tissue : MALT) の機能については、これまで主にパイエル板を含む消化管随伴リンパ組織 (Gut-associated lymphoid tissue : GALT) を中心に研究がすすめられてきた³⁾⁴⁾。一方、GALTと組織学的に類似構造を有する気管支随伴リンパ組織 (Bronchus-associated lymphoid tissue : BALT) については研究が少なく、その分化と機能の詳細については不明な点が多い²⁾。

我々は、各種の呼吸器系疾患患者において BALT の過形成が認められることを報告し⁵⁾、更に遅延型アレルギー反応 (delayed type hypersensitivity reaction : DTH 反応) の家兎実験モデルを用い、DTH 反応における BALT の役割を報告してきた^{6)~8)}。この結果、肺局所での DTH 反応の進展に伴い、BALT の濾胞構造の再構築と BALT 内に膜表面 IgM 陽性 B 細胞 (sIgM⁺ B 細胞) の増加を認めたことより、液性免疫応答による DTH 反応の調節機構への BALT の関与を推察した^{6)~8)}。

更に、前報⁹⁾¹⁰⁾ では各リンパ球系細胞の変化を、リンパ球亜群抗原を認識する各種単クローン抗体 (mAb) を用いて詳細に解析することのできる近交系ラットを実験モデルとして、免疫組織化学的解析をおこなった。BCG 死菌感作による実験的肺肉芽腫症ラットにおいて、気管支肺胞洗浄液 (Bronchoalveolar lavage fluid : BALF) 細胞と肺肉芽腫を構成する細胞成分の T 細胞亜群と肺胞マクロファージの Ia 抗原陽性率について明らかにした¹⁰⁾。今回は、同実験系において、BALT の

構造変化及び主要な構成細胞である各リンパ球亜群の変化を中心に解析し、BCG に対する肺の免疫組織反応と BALT 内リンパ球との関連を明らかにすることを試みた。

材料と方法

1. 実験動物と肺肉芽腫症の作製

近交系雄 DA (RTI^a) ラット (体重 150~200 g) を使用した。実験期間中は、水と飼料を自由に与え、非無菌下の状態で飼育した。ラットに BCG 死菌 0.1 mg/0.1 ml Freund Incomplete Adjuvand を静注して初回感作し、3週後に同死菌 BCG 0.5 mg/0.1 ml 生理的食塩水を静注して二次感作をおこなった。その後、1, 4, 7, 14, 21, 28, 35 日目に各々 5 匹を経時的に脱血死させ実験群を準備し、対照群としては、正常ラット 5 匹を用いた。

2. 組織学的及び免疫組織学的検討

前報¹⁰⁾のごとく、左側肺では組織学的検討を、右側肺では免疫組織化学的検討をおこなった。肺はパラフィン包埋後、切片標本を作製し、HE 染色あるいはメチルグリーン・ピロニン染色をおこなった。免疫酵素抗体法の一次抗体としては、W3/13 (抗 T 細胞 mAb), W3/25 (抗ヘルパー T 細胞 mAb), OX8 (抗ノンヘルパー T 細胞 mAb), OX6 (抗 Ia 抗原 mAb) [いずれも Sera lab 社] の 4 種の mAb と、抗ラット IgG (γ 鎖特異的), IgA (α 鎖特異的), IgM (μ 鎖特異的) [ヤギ IgG \cdot F (a' b)₂] [Cappel 社] の 3 種のポリクローナル抗体を使用した。二次抗体にはビオチン化抗マウス IgG あるいはビオチン化抗ヤギ IgG [いずれも Vec 社] を使用し、アビジン・ビオチン法にて検討した。組織における各陽性細胞の定量化には、画像解析装置 Videoplan [Contron 社] を利用し、前報¹⁰⁾のごとく施行した。

3. 気管支肺胞洗浄液と血清中の各種免疫グロブリンの測定

BALF の採取は、既報¹⁰⁾のごとく施行し、その上清と血清の各種免疫グロブリン量を一元平板免疫拡散法に

よって測定した。抗体は前述の各種抗ラット免疫グロブリン抗体を20倍希釈して用いた。定量はラット免疫グロブリン標準血清〔Miles lab社〕を用いて標準曲線を作製し検討した。検体の前処置としてIgG測定には血清を10倍希釈、BALFを10倍濃縮し、IgA測定には血清を5倍希釈、BALFを10倍濃縮し、IgM測定には血清を5倍希釈、BALFを25倍濃縮した。BALFの濃縮は、アミコン type B-125によって施行した。なお、有意差検定は、student t testによった。

結 果

1. 正常ラットにおけるBALTの組織学的所見

a) 基本構造

正常ラットのBALTは、第3~6次気管支分岐領域で最も発達しており、それより中枢側及び末梢側の領域では、気道上皮下に僅かにリンパ球の小集団が認められる程度であり⁹⁾、本研究では第3~6次気管支領域のBALTについて主に検討した。BALTの基本構造は家兎と類似していた。即ち、気道粘膜面を形成するリンパ性上皮(Lymphoepithelium layer: LE)と、LEに接しその下部に層状に分布するリンパ球の集団からなる円蓋域(Dome area: DA)、中心部でリンパ濾胞を形成する濾胞領域(Follicular area: FA)、FAの周辺にみられる主に小リンパ球集団の領域である傍濾胞領域(Parafollicular area: PFA)の4領域が識別されたが、FAとPFAの境界は不分明で、明瞭な胚中心は認められなかった(Fig. 1-a)。

b) T細胞亜群の分布

W3/13陽性T細胞(Tp細胞)は、LEで少なく、DAとFAでも散在して分布していたが、PFAでは集団となってT細胞分布域を形成していた(Fig. 1-b)。W3/25陽性T細胞(Th細胞)は、T細胞の分布域とほぼ一致して分布していた(Fig. 1-c)。PFAでは集団的に、FAでは散在的に認められた。一方、OX8陽性T細胞(TNh細胞)は、FAでは少なく、LEとDAでは散在的であり、PFAでの分布領域はTh細胞とほぼ同様であったが、Th細胞より少なく分散していた(Fig. 1-d)。Th細胞とTnH細胞のBALTにおける分布差を定量的に解析したところ、Th細胞とTnH細胞の比は各領域で、FAが約4.3、PFAが約1.5と、FAにおいてTh細胞はTnH細胞より優位の分布を示した(Fig. 5, 6)。

c) Ia抗原陽性細胞(Ia⁺細胞)とB細胞亜群の分布

Ia⁺細胞は主にFAにみられ、それ以外の領域では散在していた(Fig. 1-e)。膜表面IgM陽性細胞(sIgM⁺B細胞)は、膜表面IgA陽性B細胞(sIgA⁺B細胞)と膜表面IgG陽性B細胞(sIgG⁺B細胞)に比

べ、FAでの分布密度が極めて高く、Ia⁺細胞と同様の分布を示した(Fig. 1-f)。sIgA⁺B細胞とsIgG⁺B細胞は、LEやDA、及びPFAの血管周囲に散在していた。

2. BCG感作におけるBALTの病態組織学的所見

a) 形態学的変化

BCG二次感作初期より、肺野の変化とほぼ同様のテンポで¹⁰⁾BALTにおいても組織学的変化が認められた。1日目よりBALTの大きさが増大し、数も増加して広範囲に気管支粘膜下を覆う領域も認められた。7日以降になると、FAで胚中心が明瞭になり、PFAではピロニン好性大型リンパ球の増加と肉芽腫の形成像、並びに高内皮性静脈(Highendothelial venule: HEV)を介したリンパ球流入像やリンパ管内のリンパ球集族像が認められた(Fig. 2-a, b)。この傾向は35日目まで長期にわたり認められた。

b) T細胞亜群の分布変化

BCG感作に対する免疫応答の進展に伴い、BALTの胚中心が発達し、Tp細胞はBALTの辺縁部とFAによって挟まれた濾胞間領域(Interfollicular area: IFA)に主に分布し、FAでは散在して分布していた(Fig. 3-a)。Th細胞は、PFAを主体に分布したが、14日目まではFAにも多数認められた(Fig. 3-b)。TnH細胞の分布もTh細胞とほぼ同じ領域であったが、21日以降にはPFAでの密度が増加した(Fig. 3-c)。

c) Ia抗原陽性細胞とB細胞亜群の分布変化

Ia⁺細胞は、二次感作後1日目より著増し、FAだけでなく、PFAやDAにも及び、BALTの全領域に広く認められ、更にPFA内に形成された肉芽腫の構成細胞もIa抗原陽性であった(Fig. 4-a)。しかし、21日以降になると、IFAのIa⁺細胞は減少し、FAとPFAの境界域において限界的な分布になった。

B細胞亜群で最も顕著な変化を呈したのは、sIgM⁺B細胞であった。BCGに対する組織反応の進展に伴い、BALTのFAが拡大し、FAでのsIgM⁺B細胞の増加が著明となり、PFAやLE、DAにおいても散在的に増加していた(Fig. 4-b)。21日以降になると、FAがBALTの辺縁部に形成されるのに一致して、sIgM⁺B細胞もBALT辺縁部に集合して認められた(Fig. 4-c)。また、隣接する肺泡領域でも、sIgM⁺B細胞が増加していた(Fig. 4-c)。sIgA⁺B細胞は、FAでの増加は軽微であり、PFAの特にHEV周囲で明らかに増加していた(Fig. 4-d)。sIgG⁺B細胞の分布は、sIgA⁺B細胞同様にPFAでのみ認められ、その増加は軽度であった(Fig. 4-e)。

3. BCG感作によるBALT内構成細胞亜群のBALT内占有率の変化

BALTのFAでは、Ia⁺細胞が二次感作初期より増

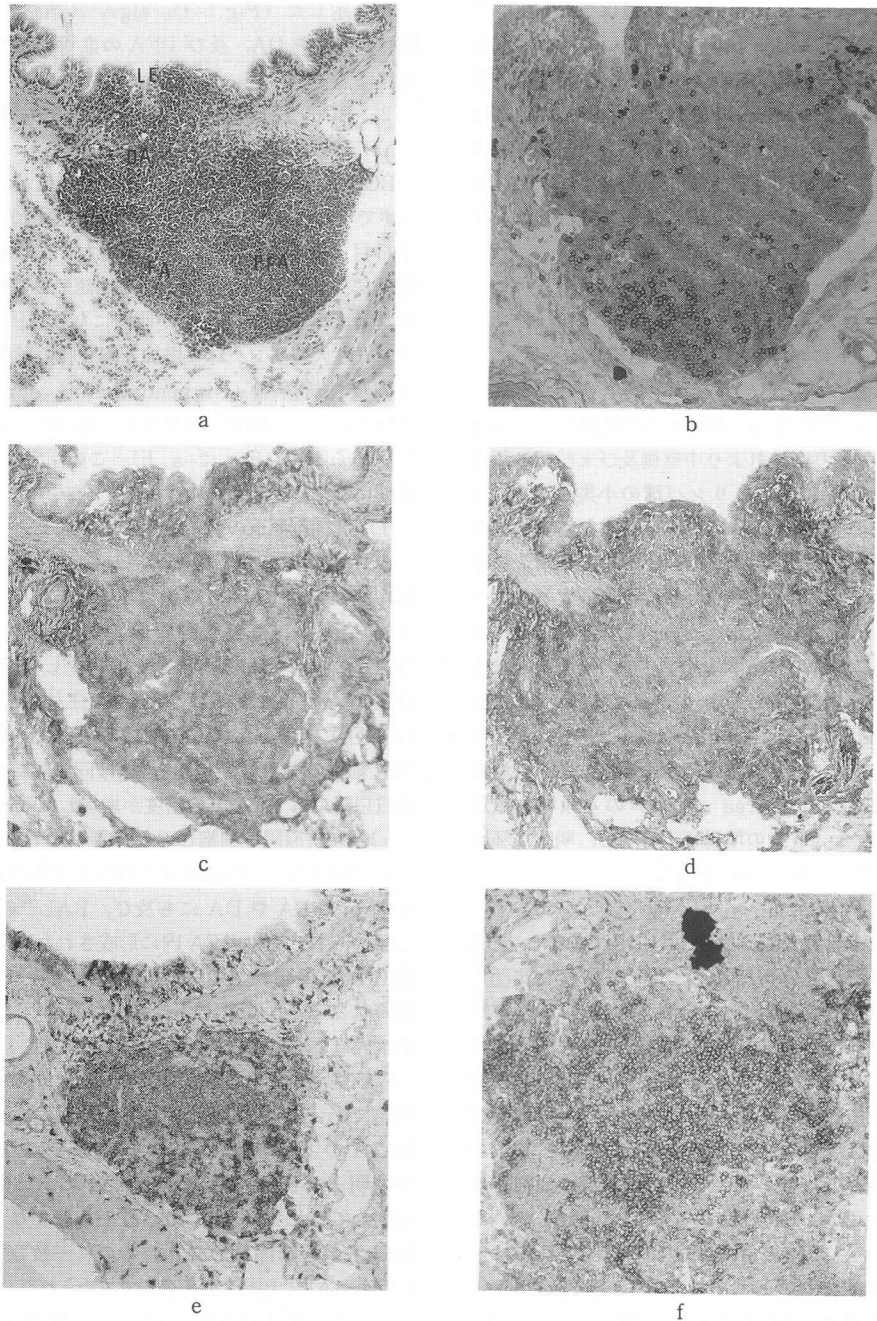


Fig. 1. Light Microscopic Findings and Distribution of Lymphocyte Subpopulations in BALT of Normal Rat.

- a) BALT had histologically a typical four areas as well as other mucosa-associated lymphoid tissue. LE : layer of lymphoepithelia. DA : dome area. FA : follicular area. PFA : parafollicular area. HE, x25.
 b) PFA was consisted mainly of T-cells (W3/13-positive T-cells). Methylgreen, x33.
 c) Helper T-cells (W3/25-positive T-cells) were distributed mainly in PFA and diffusely in FA.
 d) Nonhelper T-cells (OX8-positive T-cells) were distributed diffusely in PFA.
 e) Ia-positive T-cells (OX6-positive cells) were distributed in FA.
 f) BALT labeled with anti-rat IgM antibody. Note a massive accumulation of surface (s) IgM-positive cells in FA. Methylgreen c), d), e) x25, f) x33.

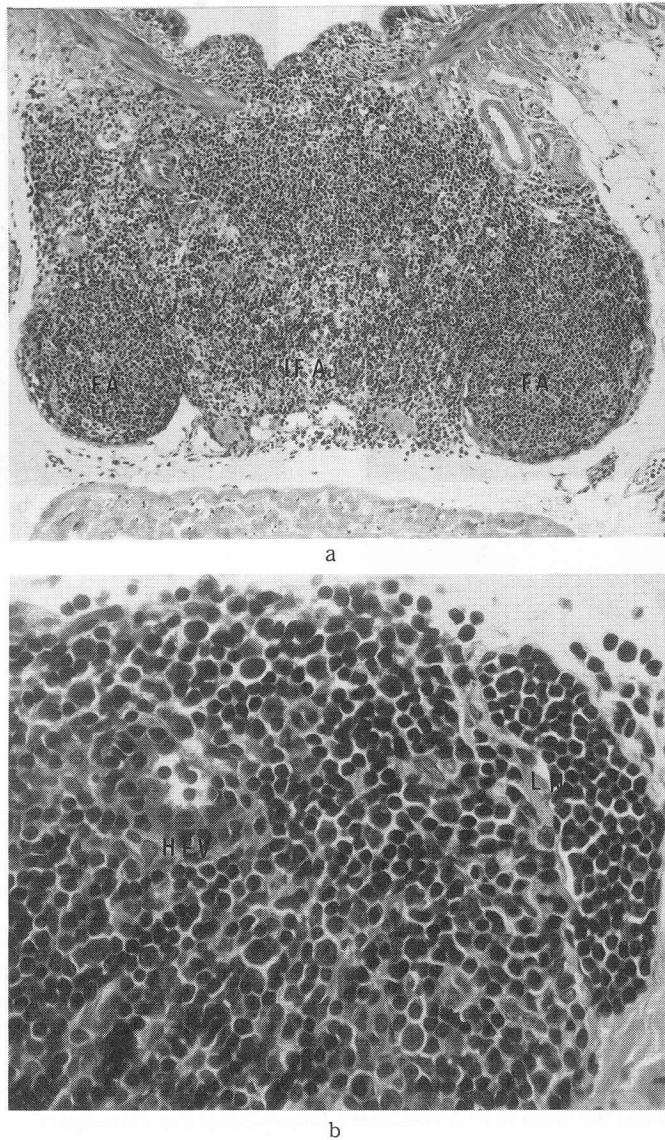
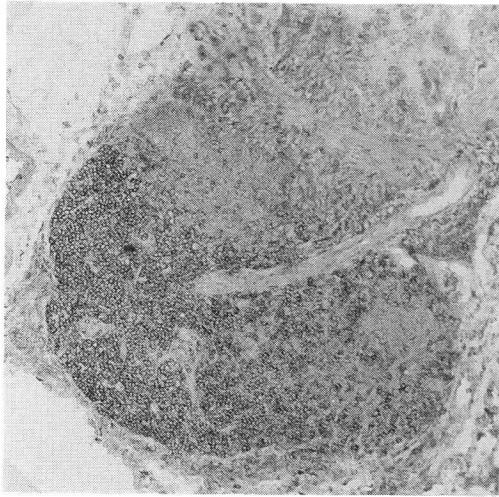


Fig. 2. Light Microscopic Findings in BALT during the Course of Pulmonary Immune Responses.

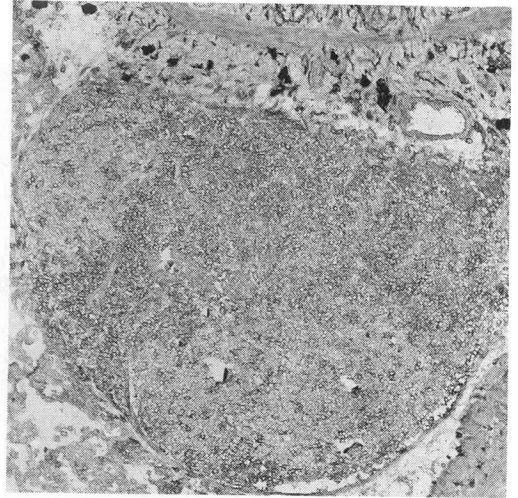
- a) FA with germinal centers appeared in BALT and granulomas could be seen in PFA two weeks after the secondary sensitization. HE, x13.2.
 b) There were massive accumulation of lymphocytes in lymphatics (LN) and in high endothelial venule (HEV) of PFA. HE, x132.

加し、 T_H 細胞は14日目と21日目の中期で増加したが、 T_{NH} 細胞は初期に減少し、14日以降徐々に漸増した (Fig. 5, 上段)。sIgM⁺B細胞は、BCG感作による組織反応のいずれの時期においてもFAの主体を占めていたが、中期に軽度の減少を示した。sIgA⁺B細胞は4日目より増加し、sIgG⁺B細胞は21日目に軽度の増加を示した (Fig. 5, 下段)。

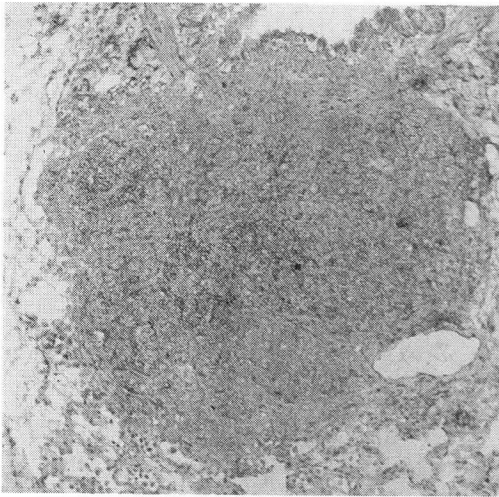
一方、PFAでは、中期にFAの拡大によるIa⁺細胞の増加を認め、 T_H 細胞は減少する傾向がみられた。 T_{NH} 細胞は21日目まで低値を示し、28日目以降は漸増し、その結果、 T_H 細胞と T_{NH} 細胞の比が、初期には高く、後期には低くなった (Fig. 6, 上段)。sIgM⁺B細胞は、経時的に増加し、21日目には約50%にまで増加した。sIgA⁺B細胞も1日目より28日目まで増加したが、



a



b



c

- a) W3/13-positive T-cells were seen predominantly both in PFA and inter-follicular area (IFA) two weeks after the secondary sensitization. Methylgreen, x25.
- b) Helper T-cells (W3/25-positive T-cells) were distributed mainly in PFA while seen diffusely in IFA. Methylgreen, x25.
- c) Nonhelper T-cells (OX8-positive T-cells) in PFA became relatively more prominent after three weeks of the secondary sensitization. Methylgreen, x25.

Fig. 3. Distributions of T-cell Subpopulations Observed in BALT during the Course of Pulmonary Granulomatous Responses.

sIgG⁺B細胞の増加は軽微であった (Fig. 6, 下段)。

BALT 全域における各細胞亜群の比率を Fig. 7 に示した。Ia⁺細胞は、二次感作後初期より著増し、Th細胞は初期には優位であったが、後期には減少し、TnH細胞が優位となった。即ち、BALT における Th細胞と TnH細胞の比は、BCG 感作によって1日目が2.6、35日目は0.5と変化した。sIgM⁺B細胞は1日目より35日目まで漸増し、sIgA⁺B細胞は21日目をピークに増加したが、sIgG⁺B細胞の増加は軽微であった。

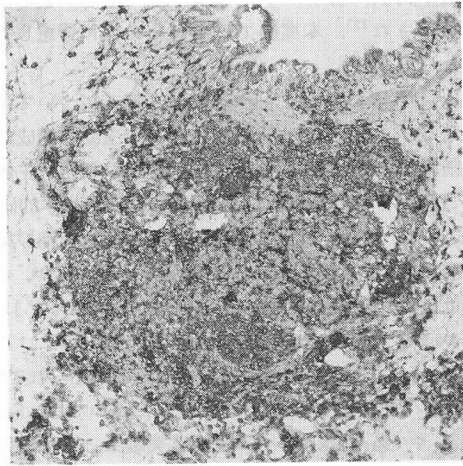
4. BALF と末梢血の各免疫グロブリンの変化

Fig. 8 に、BCG 感作後の BALF と末梢血における各免疫グロブリン値の変化を示す。BALF では、IgG が1日目をピークに著増し、IgM と IgA は4~7日目を

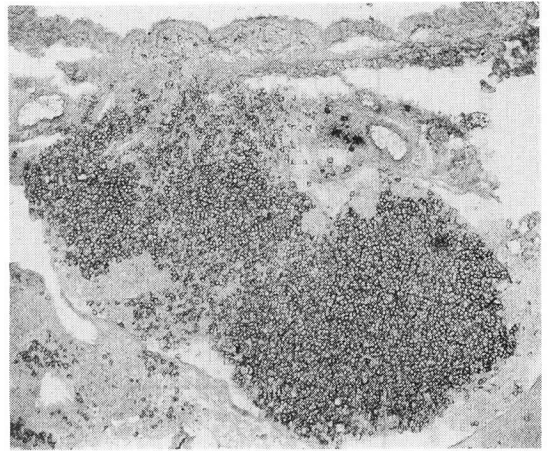
をピークに21日目まで増加した。一方、末梢血では IgM が7~21日目に軽度の増加を、IgA は21日以降の後期に増加傾向を示したが、IgG には有意の変化は認めなかった。なお、BALF 中の蛋白量を Lowry 法にて検索すると、N, 1, 4, 7, 14, 28, 35日目がそれぞれ、0.08, 0.95, 0.37, 0.18, 0.13, 0.1, 0.09, 0.08 mg/ml であり、二次感作後1~4日目は浸出性の変化が認められた。

考 案

非無菌下環境で飼育した成熟ラットの BALT は、第3~6次気管支領域において最もよく発達しており、その基本構造は家兎とはほぼ同様であったが、異なるところ



a



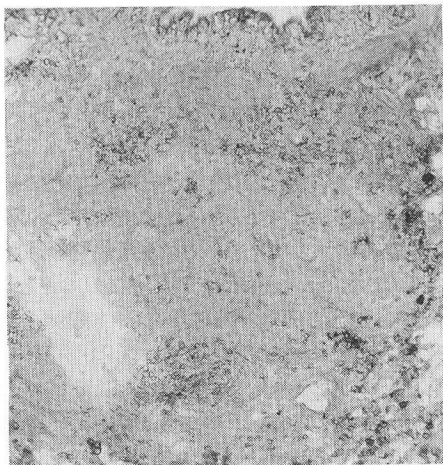
b



c



d



e

- a) Ia-positive cells were distributed throughout BALT seven days after the secondary sensitization.
 b) The sIgM-positive cells showed a marked increase in number through BALT on seventh day.
 c) sIgM-positive cells could be seen in the pulmonary regions juxtaposed to BALT three weeks after the secondary sensitization.
 d) The increase of sIgA-positive cells were recognized in both DA and PFA two weeks after the secondary sensitization.
 e) The increase of sIgG-positive cells were seen in PFA two weeks after the secondary sensitization.
 a) ~ e) Methylgreen, x25.

Fig. 4. Localization of Ia-positive Cells (OX6-positive cells) and B cell Subpopulations in BALT during the Course of Pulmonary Granulomatous Responses.

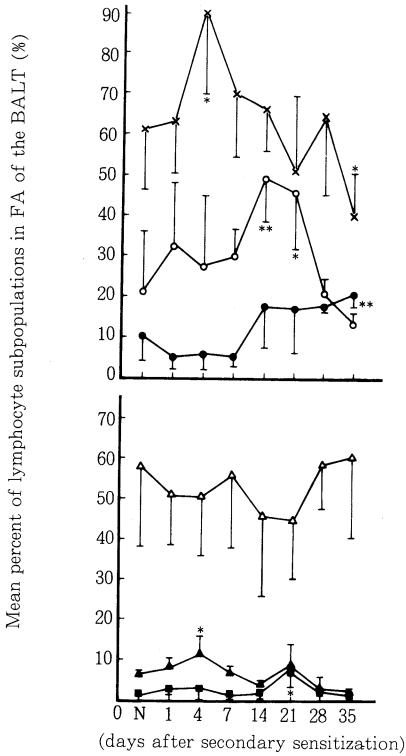


Fig. 5. Changes of Lymphocyte Subpopulations in FA of the BALT during the Course of Delayed Type Hypersensitivity Reaction of the Lungs. Ia-positive cells (x-x) increased remarkably in number at early stage and decreased gradually at late stage. The percentage of helper T-cells (o-o) surpassed that of nonhelper T-cells (•-•) until four weeks after the secondary sensitization (upper panel). The percentage of sIgM-positive cells (Δ - Δ) slightly decrease at middle stage, but with high percentage ranging over forty five percent. On the other hand, sIgA-positive cells (\blacktriangle - \blacktriangle) slightly increased at the middle stage (lower panel). \blacksquare - \blacksquare : sIgG-positive cells. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

は胚中心を有する BALT が殆ど認められなかったことである。Fouriner ら¹¹⁾ は、準無菌条件下で飼育したラットの BALT は、発達が不良であることを報告し、Gregson ら¹²⁾ は、野生ラットの BALT が、飼育ラットの BALT に比し、発達が良好で胚中心を有しており、BALT は抗原依存性に発達することから、環境の違いが経気道抗原の吸入量に差を生じ、BALT の発達に影響すると推測している。また、BALT を含む気管支の

位置が何次の分岐なのかで BALT の形態が異なることも報告され¹³⁾、本実験ではこれらの点に留意して検討した。

BALT におけるリンパ球の分布様式については、従来より DA と FA は非胸腺依存域で主要な構成細胞は B 細胞であり、PFA は胸腺依存域で T 細胞が主体であると考えられている²⁾⁸⁾。BALT の個体発生学的研究¹⁴⁾によると、生後 4 日目で既に気管支壁に B 細胞の集積像が認められ、8 日目頃より T 細胞が出現するが、4 週までは両者が混在し明瞭な分布区域を形成せず、12 週以降の成熟ラットでは、B 細胞は FA を中心に、T 細胞は PFA に選択的分布域を形成することが知られている。

リンパ球のうち T 細胞亜群の分布については、Simecka¹⁵⁾ や Gamelkoorn ら¹⁶⁾ は本実験系と同様な免疫組織化学的方法を用いて検討している。PFA は Th 細胞と Tnh 細胞の両者が混在しているが、Th 細胞は群集し、Tnh 細胞は散在的に認められ、FA では Th 細胞が主体をなし、Th 細胞と Tnh 細胞の比が 2.7 と報告した¹⁶⁾。本実験での Th 細胞と Tnh 細胞の比は、LE で 0.4、DA で 1.6、PFA で 1.5、FA で 2.0 であり、LE でのみ Tnh 細胞が優位であり、他の 3 領域では Th 細胞が優位であった。また、BALT 全体での比は、1.6 であった。

BALT 以外の末梢性リンパ組織における T 細胞亜群の比 (Th/Tnh 細胞比) は、リンパ節で 1.6~4.8¹⁷⁾¹⁸⁾、パイエル板で 5.6¹⁹⁾ と報告され、また、ヒトの小腸リンパ小節 (GALT) では、胚中心と PFA においてヘルパー T 細胞が優位であり、リンパ性上皮 (LE) ではノンヘルパー T 細胞が多い⁴⁾。これらの事実から、BALT を含む末梢性リンパ組織における T 細胞亜群は、通常ヘルパー T 細胞が優位であると考えられる。一方、B 細胞の BALT における分布様式は、ほぼ家兔の所見⁷⁾と同様であった。即ち、sIgM⁺ B 細胞が FA を占め、sIgA⁺ B 細胞と sIgG⁺ B 細胞は、PFA の HEV 周囲や DA、LE に散在的に認められた。

BALT において見出された Ia 抗原陽性細胞としては、B 細胞が最も多いと考えられる。そのほかに、活性化 T 細胞や活性化マクロファージ、樹状細胞 (Dendritic cell: DC)、Interdigitating cell (IDC) なども Ia 抗原陽性であり^{20)~22)}、リンパ球以外の Ia⁺ 細胞は、Yamashita らの開発した抗ラットマクロファージ抗体 (Mar 1)²³⁾ によって検出されており、BALT 内での抗原の貪食とプロセス化、及びリンパ球へのエピトープ提示に関与していると考えられる。

肺内での BCG 感作に対する免疫応答の進展に伴い、BALT の形態学的変化がみられることは、Racz²⁴⁾ や早川⁷⁾⁸⁾ らによって報告されている。本実験系においても、BALT の増大と胚中心の出現、PFA 内での肉芽腫

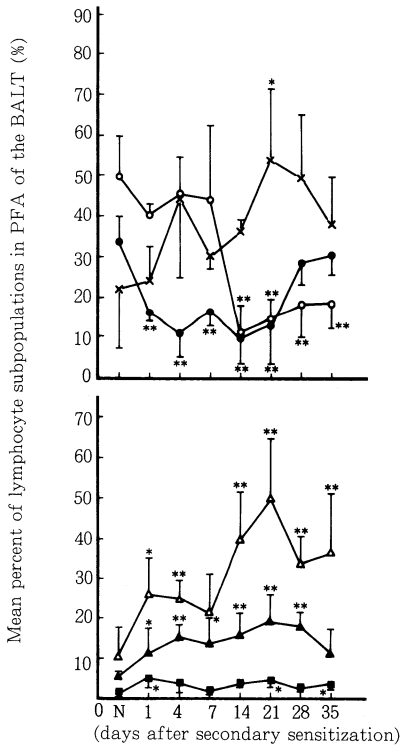


Fig. 6. Changes of Lymphocyte Subpopulations in PFA of the BALT during the Course of DTH Reaction of the Lungs. There were gradual increase of Ia-positive cells (x-x) until three weeks after the secondary sensitization. Non-helper T-cells (•-•) increased more than helper T-cells (o-o) at late stage (upper panel). sIgM-positive cells (Δ-Δ) showed a remarkable increase and sIgA-positive cells (▲-▲) showed the gradual increase until three and four weeks after the secondary sensitization, respectively (lower panel). ■-■: sIgG-positive cells. * P<0.05, ** P<0.01

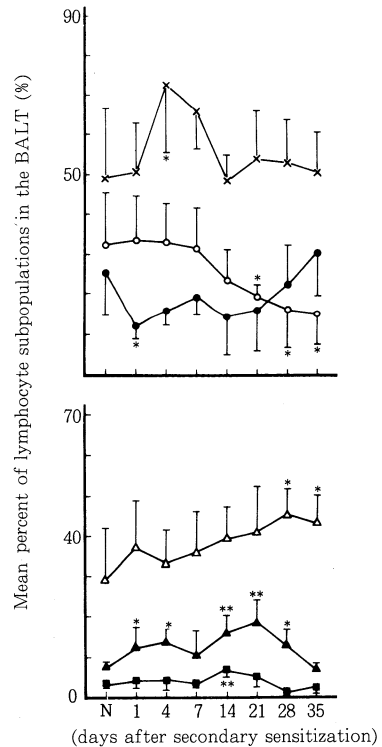


Fig. 7. Changes of the Ratio of Lymphocyte Subpopulations through the Whole Area of BALT with Granulomatous Lungs. The significant increase in number of Ia-positive cells (x-x) were observed at early stage. The percentage of helper T-cells (o-o) exceeded that of non-helper T-cells (•-•) at early stage, but the ratio was inverted at late stage (upper panel). sIgM-positive cells (Δ-Δ) and sIgA-positive cells (▲-▲) maintained their high percentages until late stage while the increase of sIgG-positive cells (■-■) was mild (lower panel). * P<0.05, ** P<0.01

形成やHEVの発達などの所見が認められた。これらの変化は、先に報告した¹⁰⁾ように、肺野の肉芽腫病変の程度やBALF内細胞の変化と極めて密接に相関した。更に、BALTのPFA内に肉芽腫病変が認められたことは、肺内でのDTH反応病態がBALTにおいても惹起されていることが推測される。その機序としては、経静脈的に注入されたBCG抗原がBALTに到達し²⁵⁾、BALT内の抗原提示細胞に認識され、リンパ球へエピトープが提示され²⁶⁾、リンパ球とマクロファージの相互作用により類上皮細胞肉芽腫が形成されると仮定されるが¹⁰⁾、詳細は不明である。BCG感作後のBALT内

へのリンパ球再循環の亢進機構については、明らかではないが、BALT内のHEVの顕在化²⁴⁾や、HEVの内腔やリンパ管内にみられたリンパ球の停留像から考えると、HEV内皮を介したリンパ球の再循環が起こり²⁷⁾、抗原刺激により更に増幅される²⁸⁾ことが示唆される。

BCG感作によるBALTの形態変化のみならず、BALTを構成する細胞の分布様式にも著しい変化を認めた。Ia⁺細胞は、1日目より著増し、7日目にはFAだけでなく、PFAやDAでも増加し、BALTの全域に認められた。BALTのT細胞分布域にも多数のIa⁺

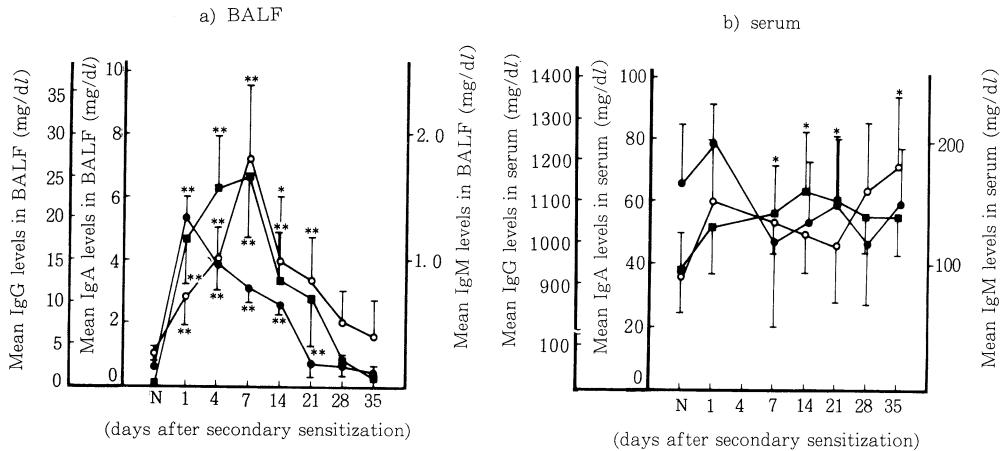


Fig. 8. Quantitative Analysis of Immunoglobulin Levels in Bronchoalveolar Lavage Fluid and Serum by Single Radial Immunodiffusion.

a) Increase of immunoglobuline levels in BALF were more than b) those in serum. ●-● : IgG, ○-○ : IgA, ■-■ : IgM, * P<0.05, ** P<0.01

細胞が認められたことから、活性化T細胞の増加が推測された。

T細胞亜群も1日目より変化を認め、BALT全域における T_H 細胞と T_{NH} 細胞の比の経時的变化は、1日目より2.6と上昇し、7日目までは対照群に比し高い値で T_H 細胞の増加を認めた。14日以降は次第に減少し、35日目は0.5となり、後期には T_{NH} 細胞が優位となった。PFAとFAでのT細胞亜群の変化はやや異なり、PFAにおけるT細胞亜群の経時的变化は、BALFや肺組織での変化¹⁰⁾とほぼ同様であり、肺内の免疫応答と密接に関連していることが示唆された。一方FAにおいては、21日目まで T_H 細胞(特に活性化T細胞)の増加を認め、胚中心での $sIgM^+$ B細胞の分化成熟を調節していることが考えられる。パイエル板のヘルパーT細胞の研究²⁹⁾では、IgA抗体産生性B細胞の分化を促進させることや、 $sIgM^+$ B細胞から $sIgA^+$ B細胞へのアイソタイプスイッチをかける T_H 細胞亜群と、 $sIgA^+$ B細胞を選択的に認識し、抗体産生を促す T_H 細胞亜群があると報告されている。本実験においては、BALT内に多数の IA^+ 活性化T細胞がみられるとともに、 $sIgM^+$ B細胞と $sIgA^+$ B細胞が増加し、BALF中のIgAとIgMの増加(4~21日)と血清中のIgAとIgMの増加(後期)を認めた。従って、肺内でのBCG感作に対する免疫応答に従い、BALTのPFAでは細胞性免疫反応が働き、FAでは所属リンパ組織としての抗体産生として働き³⁰⁾、肺の免疫応答を調節していることが示唆された。

MALTにおける抗体産生能については、GALTに

おける感染実験において、 $sIgM^+$ B細胞と $sIgA^+$ B細胞が増加し、消化管の局所免疫に対して、抗体産生の場として働いていることが報告されている³¹⁾。

ヒトにおけるBALTの発達と意義については、ラットや家兎などの動物ほど明らかにされていない。1982年、Meuwissenら³²⁾は、慢性あるいは反復性気道感染症でBALTの存在を報告しており、また佐藤らは³³⁾³⁴⁾、びまん性汎細気管支炎におけるBALT過形成が気道障害をもたらす、感染の難治化要因の1つと報告している。更に、BALT内のT細胞亜群は、ヘルパーT細胞が優位で、かつ $sIgM^+$ B細胞が主体をなし、B細胞の分化におけるBALTの役割も考慮している。ヒトのBALT過形成は、抗原の性状や量によって、その過形成の程度に差が観察されるようであり⁵⁾、今後、反復する気道感染症や、肉芽腫性肺疾患におけるBALTの臨床的検討が待たれる。

前報¹⁰⁾と今回の成績から、BCG感作に対する肺組織の病態変化は、BALTの変化とよく相関し、更に両者の変化はBALF内へ強く反映されることが明らかとなった。BALT内では、肺組織と同様に肉芽腫形成が認められ、BALTは抗体産生性B細胞増殖の場のみならず、細胞性免疫応答の場としても、肺局所免疫応答に深い関わりがあることが示唆された。

まとめ

正常ラット及びBCG死菌の静注によって惹起した実験的肺肉芽腫ラットにおいて、BALTの構成細胞の性状と分布様式の変化について、免疫組織化学的方法によ

て検索した。正常ラットのBALTは、パイエル板などの粘膜下リンパ組織とはほぼ同様の基本構造を呈した。BALTは肺内遅延型過敏反応の進展とともに増大し、濾胞域の胚中心が発達し、傍濾胞域内に肉芽腫形成が認められた。BALT内T細胞亜群の変化は、BCG感作後初期にW3/25⁺ヘルパーT細胞が優位であったが、後期にはOX8⁺ノンヘルパーT細胞の増加が認められた。同時に、膜表面IgM陽性B細胞や膜表面IgA陽性B細胞もBALT内で増加した。また、OX6モノクローナル抗体で認識されるIa抗原陽性細胞が初期より急峻に増加し、B細胞とともに活性化T細胞や活性化マクロファージの増加が示唆された。更に、肺組織反応の推移とはほぼ一致した気管支肺胞洗浄液中の免疫グロブリン反応曲線が認められた。

以上の結果より、BALTは肺の遅延型アレルギー反応の進展と相関して、その構成細胞であるT細胞亜群とB細胞亜群がともに変化し、肺局所免疫応答の調節の場としてBALTは、液性並びに細胞性免疫の両応答に関与していることが示唆された。

謝 辞

本稿を終えるにあたり、終始にわたり御指導と御校閲を賜りました第二内科学吉見輝也教授、第二解剖学山下昭教授に深甚なる謝意を表します。また研究面での御指導を頂いた第二内科学千田金吾博士に厚くお礼申し上げます。

本論文の要旨は、第27回胸部疾患総会(東京)と第15回日本臨床免疫学会総会(札幌)にて発表した。

文 献

- 1) Bienenstock, J. et al. : Gut and bronchial associated lymphoid tissue, *Am J Anat*, 170 : 437, 1984.
- 2) Bienenstock, J. : Bronchus-associated lymphoid tissue. *Immunology of the lung and upper respiration tract*, J. Bienenstock Ed., McGraw Hill, New York, 96, 1984.
- 3) Sminia, T. et al. : An immunohistochemical study of cells with surface and cytoplasmic immunoglobulines in situ in Peyer's patches and lamina propria of rat small intestine, *Virchow Arch B*, 40 : 181, 1982.
- 4) 名倉 宏 : 節外性リンパ組織の構造と機能, *病理と臨床*, 4 : 466, 1986.
- 5) 岩田政敏他 : 各種呼吸器疾患における気管支随伴リンパ組織(BALT)の組織学的検討, *リンパ学*, 10 : 81, 1987.
- 6) 千田金吾他 : 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, *結核*, 60 : 7, 1985.

- 7) 早川啓史他 : 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, *結核*, 60 : 65, 1985.
- 8) 早川啓史他 : 肺の遅延型アレルギー反応(肺肉芽腫形成課程)における気管支随伴リンパ組織(BALT)の役割について, *結核*, 61 : 57, 1986.
- 9) 岡野昌彦他 : 気管支随伴リンパ組織(BALT)の免疫組織化学的検討, *リンパ学*, 8 : 191, 1985.
- 10) 岡野昌彦他 : 実験的肺肉芽腫症における肺局所遅延型アレルギー反応の解析—Ia⁺肺胞マクロファージとT細胞亜群の動態—, *結核*, 63 : 161, 1988.
- 11) Fouriner, M. et al. : Bronchial lymphoepithelial nodules in the rat, *Am Rev Respir Dis*, 116, 685, 1977.
- 12) Gregson, R. L. et al. : Bronchus-associated lymphoid tissue (BALT) in the laboratory-bred and wild rat, *Rattus-norvegicus*, *Lab animals*, 13 : 239, 1979.
- 13) 伊藤裕子他 : 肺気道壁リンパ組織(BALT)の微細構造および免疫組織学的研究, 1. T細胞の微細分布, *リンパ学*, 8 : 185, 1985.
- 14) Plesh, B. E. C. et al. : Development of bronchus-associated lymphoid tissue (BALT) in the rat, with special referense to T- and B-cells, *Dev Comp Immunol*, 7 : 177, 1983.
- 15) Simecka, J. W. et al. : Distribution of Ia antigens and T lymphocyte subpopulations in the rat lungs, *Immunology*, 57 : 93, 1986.
- 16) Brugge-Gamelkoorn, G. J. et al. : T-cells and T-cell subsets in the rat bronchus-associated lymphoid tissue (BALT) in situ and in suspension, *Adv Exp Med Biol*, 186 : 323, 1985.
- 17) Barclay, A. N. et al. : The localization of populations of lymphocytes defined by monoclonal antibodies in rat lymphoid tissues, *Immunology*, 42 : 593, 1981.
- 18) Rouse, R. V. et al. : Mouse lymph node germinal centers contain a selected subsets of T-cells. The helper phenotype, *J Immunol*, 128 : 2243, 1982.
- 19) Carson, J. R. et al. : Response of Peyer's patch lymphocyte subsets to Giadimuris infection in BALB/C mice. 1. T-cell subsets, *Cell Immunol*, 97 : 44, 1986.
- 20) Plesh, B. E. C. : Histology and immuno-

- histochemistry of bronchus-associated lymphoid tissue (BALT) in the rat, *Adv Exp Med*, 149 : 491, 1982.
- 21) Brugge-Gamelkoorn, G. J. et al. : Non-lymphoid cells of bronchus-associated lymphoid tissue of the rat in situ and in suspension. With special referense to interdigitating and follicular dendritic cells, *Cell Tissue Res*, 239 : 177, 1985.
 - 22) Wilders, M. M. et al. : Large mononuclear Ia-positive veiled cells in Peyer's patches, *Immunology*, 48 : 461, 1983.
 - 23) Yamashita, A. et al. : The heterogeneity of rat macrophage-antigen defined by monoclonal antibodies Mar1, Mar2, and Mar3, *Immunology*, submitted for publication.
 - 24) Racz, P. et al. : Functional architecture of bronchus-associated lymphoid tissue and lymphoepithelium in pulmonary cell-mediated reactions in the rabbit, *J Reticuloendothel Soc*, 22 : 59, 1977.
 - 25) Krause, A. K. : Studies on tuberculous infection, XIV, the localization of tuberculous infection in the rabbit, with particular referense to that in the lungs, *Am Rev Tbc*, 14 : 243, 1926.
 - 26) Mayhofer, G. et al. : The distribution, ontogeny and origine in the rat of Ia-positive cells with dendritic morphology and Ia antigen in epithelia, with special referense to the infection, *Eur J Immunol*, 13 : 112, 1983.
 - 27) Stamper, H. B. et al. : An invitro model of lymphocyte homing, 1, Characterization of the interaction between thoracic duct lymphocytes and specialized high-endothelial venules of the lymph nodes, *J Immunol*, 119 : 772, 1977.
 - 28) Kaal, G. et al. : The interaction of high endothelial venules with T and B cells in peripheral lymph nodes after antigen stimulation, *Eur J Immunol*, 14 : 586, 1984.
 - 29) Kiyono, H. et al. : Murine Peyer's patch T cell clones. Characterization of antigen specific helper T cells for immunoglobuline responses, *J Exp Med*, 156 : 1115, 1982.
 - 30) Brugge-Gamelkoorn, G. J. et al. : Specific antibody-forming cells in bronchus-associated lymphoid tissue (BALT) and lung of the rat after lung intratrachial challenge with horseradish peroxidase, *Virchows, Arch [Cell pathol]*, 49 : 269, 1985.
 - 31) Carlson, J. R. et al. : Response of Peyer's patch lymphocyte subsets to *Giardiamurism* infection in BALB/C mice. II. B-cell subsets. *Cell Immunol*, 97 : 51, 1986.
 - 32) Meuwissen, H. J. et al. : Bronchus-associated lymphoid tissue in human lung, Correlation of hyperplasia with chronic pulmonary disease, *Clin Immunol Immunopathol*, 23 : 548, 1982.
 - 33) Sato, A. et al. : Pathology and treatment of diffuse panbronchiolitis accompanied by hyperplasia in bronchus-associated lymphoid tissue, *Jap J Med*, 25 : 391, 1986.
 - 34) 佐藤篤彦他 : 高IgA血症を呈したびまん性汎細気管支炎 (DPB) の気管支随伴リンパ組織 (BALT) 過形成からの検討, *日内会誌*, 76 : 303, 1987.