

超音波ネブライザーを使用した 菌体表層物質吸入の下気道への影響

—組織学的検討—

いとう えいこ* , はたの よういち* , しまだ かよこ*
 伊藤 永子* , 波田野 洋一* , 島田 佳代子*
 やまうち ひろゆき* , とがわ きよし* , みうら かずき*
 山内 博幸* , 戸川 清* , 三浦 一樹*
 いとう れい えつ***
 伊藤 玲悦***

Effects of Broncasma Berna® inhalation with ultrasonic nebulization
 on the lower airway of rabbits—Histological study—

Eiko Ito, Youichi Hatano, Kayoko Shimada, Hiroyuki Yamauchi,
 Kiyoshi Togawa, Kazuki Miura, Reietu Ito

The airways of rabbits inhaled Broncasma Berna®(BB) aerosolized by ultrasonic nebulization were observed histologically. 30 Japanese White Rabbits(SPF) were used for this study. They were divided into 5 groups, and were exposed to either 0.9% saline solution(SS) or BB solution under the following schedule; in group A, 0.9% saline solution(SS) was inhaled with ultrasonic nebulization for 4 weeks at the frequency of 2 times/week. In group B, BB solution was inhaled with the same schedule as group A. In group C, BB and CFA were inoculated at the point of 4 weeks prior to the start of BB nebulization. In group D, BB and SS were inoculated with the same schedule as group C. In group E, SS and CFA were inoculated at the point of 4 weeks prior to the start of SS nebulization.

Mucosae of the nasal cavity, tracheo-bronchi and lungs were

* 秋田大学耳鼻科

Department of Oto-Rhino-Laryngology, Akita Univ. School of Med.
 (1-1-1 Hondo, Akita City 010, Japan)

** 秋田大学第二内科

The Second Department of Internal Medicine, Akita Univ. School of Med.

*** 秋田大学微生物

Department of Microbiology, Akita Univ. School of Med.

observed with light and electron microscopes.

Epithelia of the nasal and tracheal mucosa showed no obvious changes. But in the lungs such pathologic changes as vasculitis, hemorrhage, periarteriolar massive infiltration of eosinophils, destroyed epithelial linings of bronchiole-alveolar duct region with increased macrophages and granulomatous proliferation and enlarged lymphoid mass.

Such changes were most prominent in group C. Then group E, D, B, A, followed in order. The findings shown in group C were similar to the histological changes in hypersensitivity pneumonitis.

Key words:

エアロゾル, 細菌性多価抗原製剤, 下気道, 組織変化, 過敏性肺臓炎

Abbreviation:

光顕	光学顕微鏡
電顕	電子顕微鏡
HE	hematoxylin and eosin
BB	Broncasma Berna [®]
CFA	complete Freund's adjuvant
SPF	specific pathogen free
PPD	purified protein derivative

はじめに

近年耳鼻科領域において細菌感染および細菌アレルギーに対して細菌性多価抗原製剤によるエアロゾル療法が検討されているが¹⁾²⁾³⁾, その基礎的検討を行なった研究は少ない。そこで我々は各種上気道常在菌の表層物質を含有する免疫製剤であるBroncasma Berna[®](以下BB)について超音波ネブライザー処理による形態変化を検討し, さらに, ウサギに経気道吸入負荷し, その下気道に及ぼす影響を組織学的に検討した。

材料及び方法

I 実験1: 超音波ネブライザー処理によるBBの形態学的変化の検討

BB原液を生理食塩水で6倍に希釈し, 超音波ネブライザー(ATOM 205)で10分間処理した後, パック内に残った被験液をmiripore

filter(0.45 μ m)で濾過し, filterを2.5% glutaraldehyde(0.1M cacodylate buffer pH 7.4)で固定した。洗浄後, 1% OsO₄で後固定し, 通常の方法で走査電顕用試料を作製し日本電子S-700で観察した。対照は無処理BB原液を用いた。

II 実験2: BB吸入負荷による気道の組織学的変化の検討

1) 実験動物

ウサギは日本白色種SPF(船橋農場)雄2.5kg, 30羽を秋田大学動物実験施設内感染実験室で飼育し, 実験に用いた。飼育条件は室温23 \pm 2 $^{\circ}$ C, 湿度50 \pm 10%, 換気10回/h, 照明5:00-19:00で, 自動調整されていた。SPF(specific pathogen free)として, P. multocida, B. bronchisepticaが除去されていた。

2) BB調整法

BB原液(1アンプル 1ml)は生理食塩水にて6倍に希釈し, 被験液とした。対照として生理食塩水を用いた。各々10mlを超音波ネブ

ライザー (ATOM 205) にて 6~10 分間吸入
 負荷した。

3) 吸入および感作方法

薬剤吸入は 1 回にウサギ 3 羽をプラスチック
 箱に入れ、クリーンベンチ内に設置した超音波
 ネブライザーと連結して行なった (図 1)⁴⁾。
 ウサギは各 6 羽ずつ 5 群 (A, B, C, D, E 群) に
 分けた。

A 群: 生理食塩水を週 2 回 4 週間吸入負荷し、
 4 週後に生理食塩水を最終吸入した。

B 群: BB を週 2 回 4 週間経気道感作し、4 週
 後に BB を最終感作した。

C 群: ウサギの足蹠に BB + CFA (1 ml/羽) を
 アジュバンド注射法にて全身免疫し、5
 週目から BB を週 2 回 4 週間経気道感作
 した。

D 群: ウサギの足蹠に BB + 生理食塩水 (1 ml/
 羽) を皮内注射し、5 週目から BB を週
 2 回 4 週間経気道感作した。

E 群: ウサギの足蹠に生理食塩水 + CFA (1 ml

/羽) を皮内注射し、5 週目から生理食
 塩水を週 2 回 4 週間吸入負荷した。

4) 観察方法

ウサギは最終感作後 24 時間後にネンブタール
 麻酔下で脱血死させ、直ちに組織 (鼻腔粘膜、
 気管、左肺) を採取し、光顕及び電顕用に固定
 した。右肺は免疫学的検索に用いた光顕用組織
 は 10% ホルマリン固定後通常の方法でパラフィ
 ン切片を作製し、HE, PAS, Giemsa 染色を行
 なった。

電顕用組織は 2.5% glutaraldehyde (0.1 M
 cacodylate buffer pH 7.4) で前固定、1% O₃
 O₄ で後固定し、通常の方法で超薄切片を作製
 した。ウランと鉛の二重染色を施し、日本電子
 JEM 100-C で観察した。

結 果

実験 1: 超音波ネブライザーによる BB の形態
 学的変化の検討

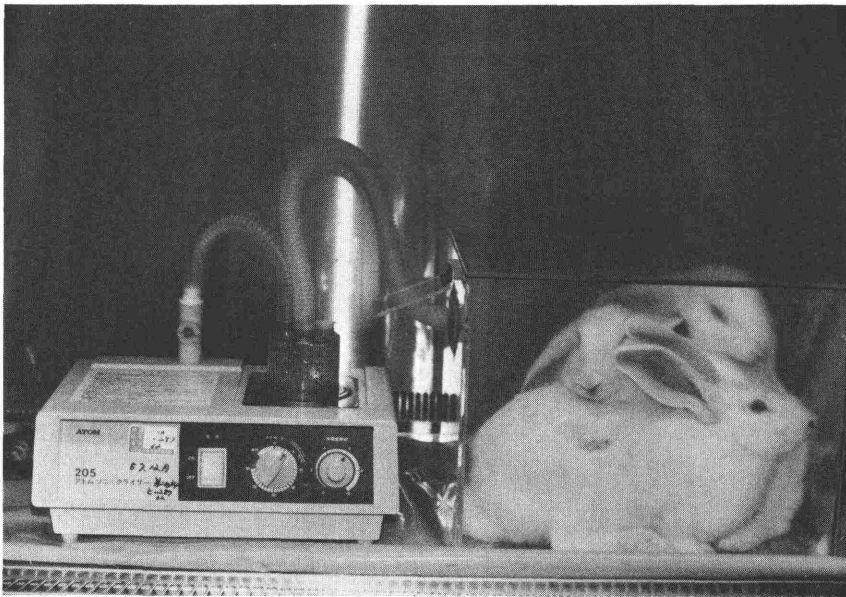


図 1

対照の無処理 BB 原液では, 球菌, 連鎖球菌桿菌が観察され, 球菌は直径約 $0.5 - 1 \mu\text{m}$ で, 桿菌は長径約 $2 - 3 \mu\text{m}$ 短径約 $1 \mu\text{m}$ の大きさであった. これらの菌体はしばしば $10 - 20$ 個 (約 $3 - 5 \mu\text{m}$) の固まりで観察された (図 2 - a).

超音波ネブライザー処理液では, 菌体は固まりでも 10 個 (約 $3 \mu\text{m}$) 以下で, $1 - 2$ 個 ($0.5 - 1 \mu\text{m}$) ずつ単離されたものが多数観察された (図 2 - b). 菌体表層の形態学的破壊は見られなかった.

実験 2: BB 吸入負荷による気道の組織学的変化の検討

鼻粘膜所見:

光顕: A, E 群ではウサギ腹甲介及び鼻中隔粘膜内に炎症細胞の浸潤は見られなかった (図 3 - a, b). B, C, D 群では腹甲介粘膜内に局所的に炎症細胞の浸潤が認められたがその変化は軽度であった (図 3 - c). 鼻中隔

粘膜内には炎症細胞の浸潤は見られなかった. 鼻中隔前部では杯細胞のわずかな増加が見られた (図 3 - d).

電顕: 全群とも鼻粘膜上皮細胞には差異が見られず, 線毛細胞の脱落は観察されなかった. 気管所見:

光顕: A, E 群 (図 4 - a) に比べ, B, C, D 群では上皮細胞の不整, 杯細胞の増加, わずかな炎症細胞の浸潤が見られたが, その変化はいずれも軽度であった (図 4 - b).

電顕: 全群とも気管上皮細胞には差異が見られず, 線毛細胞の脱落は観察されなかった.

肺所見:

光顕: A 群では, 細気管支は上皮細胞のわずかな不整が見られるだけで著変は見られなかった. 肺では小動脈血管に軽度な肥厚が見られるが, その他の変化は軽度で, 肉芽形成は認められなかった (図 5 - a). B, C, D, E 群では, 肺で小動脈血管の肥厚, 血管周囲における好酸

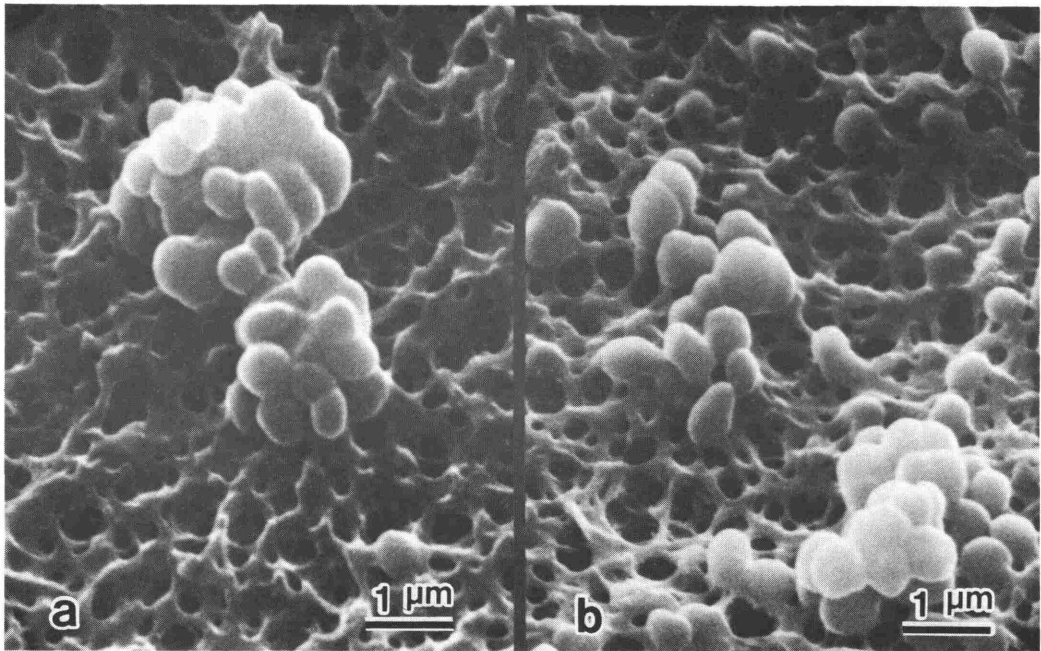


図 2 a: no treatment $\times 12000$, b: after treatment $\times 12000$

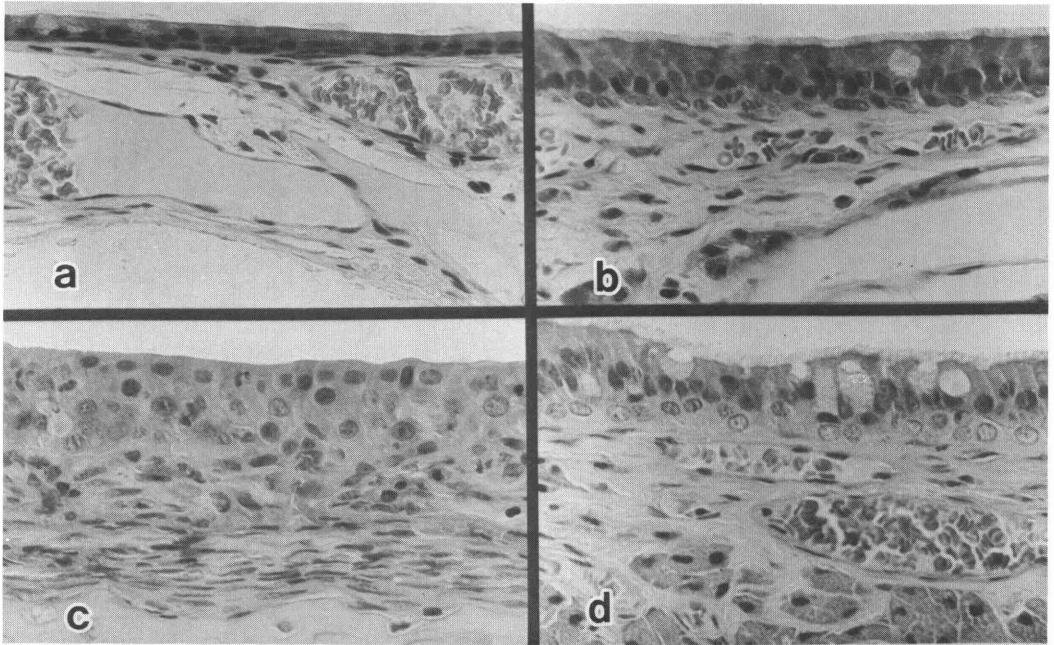


図3 a: GroupA; Concha nasalis ventralis. HE $\times 400$, b: GroupA; Septum nasi. HE $\times 400$, c: GroupB; Concha nasalis ventralis. Some inflammatory cells infiltrate within the nasal mucosa. HE $\times 400$, d: GroupC; Septum nasi. Goblet cells proliferate among the epithelium. HE $\times 400$

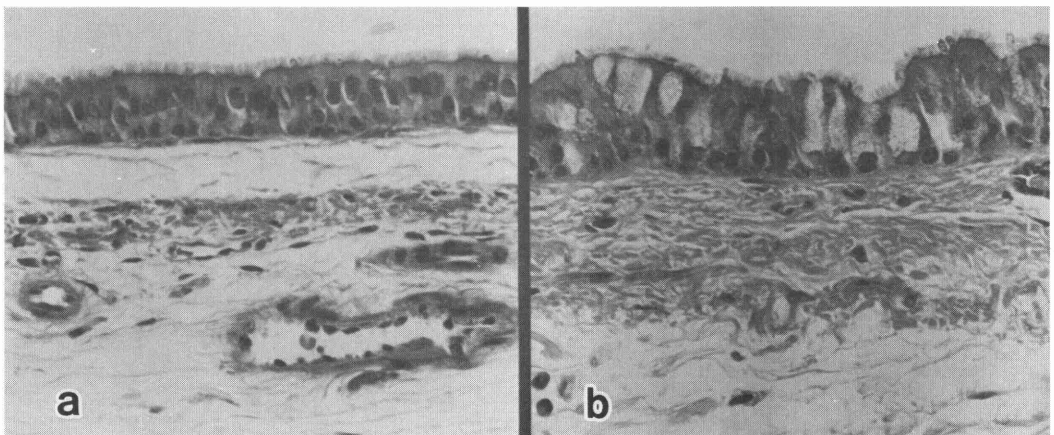


図4 a: GroupA; middle portion of trachea. No obvious changes. HE $\times 400$ b: GroupC; middle portion of trachea. Tracheal epithelium is irregular arrangement. Proliferation of goblet cells and inflammatory cells are observed. HE $\times 400$

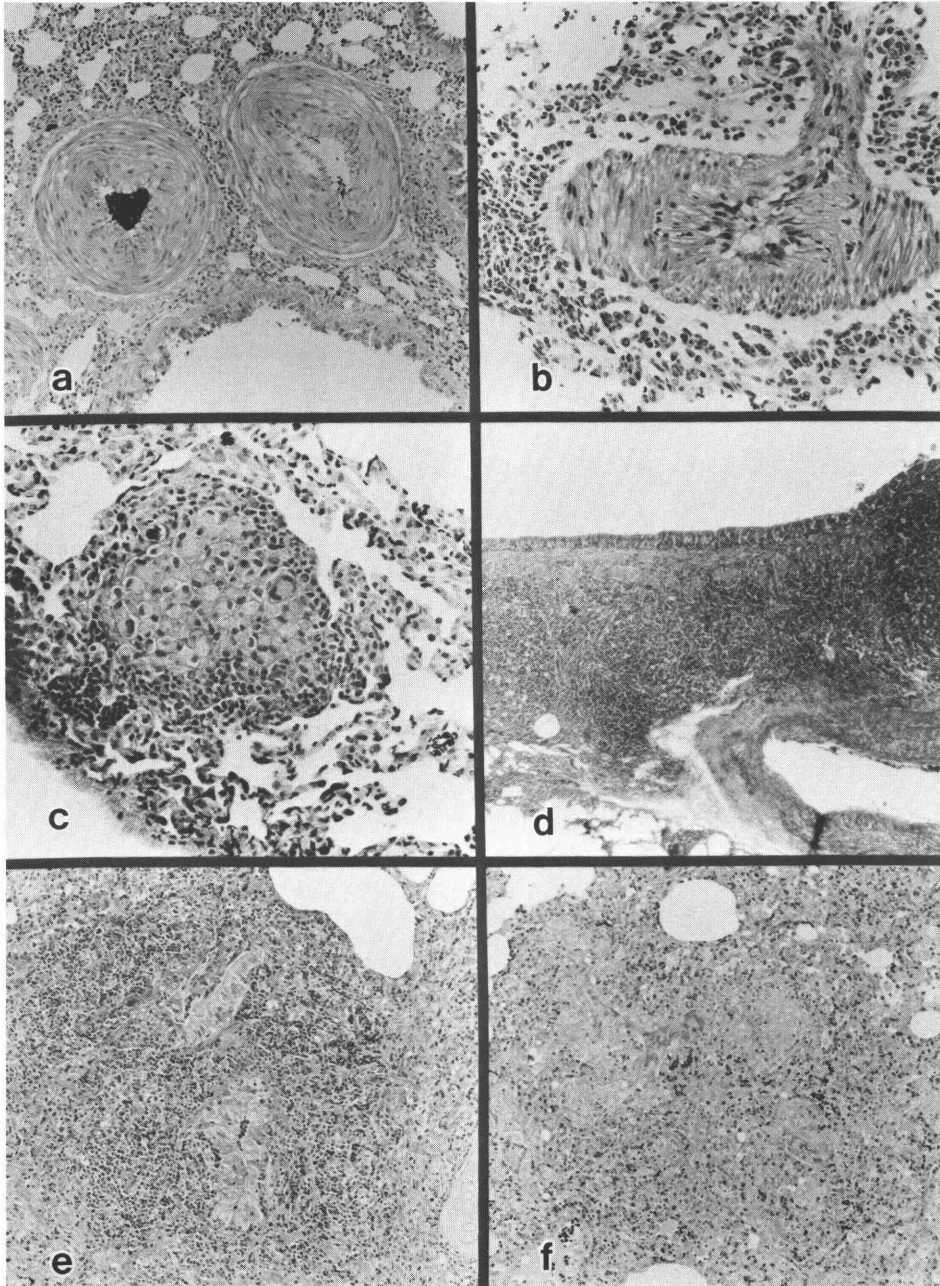


図5 a: GroupA; swollen arteries. HE $\times 100$, b: GroupB; a small artery is surrounded by eosinophils. HE $\times 200$, c: GroupC; a small mass of histiocytes. HE $\times 200$, d: GroupD; growth of lymph nodes around bronchus. HE $\times 40$, e: GroupD; destroyed bronchioles and infiltration of lymphocytes and other inflammatory cells. HE $\times 100$, f: GroupC; granulation. HE $\times 100$

球の集簇 (図 5 - b), マクロファージの集簇あるいは肉芽様組織球塊 (図 5 - c), リンパ球の集簇, リンパ濾胞の増大 (図 5 - d) が見られた。また, B, D 群では細気管支の炎症と閉塞が各々 1 羽ずつ見られた (図 5 - e)。B 群の肺ではマクロファージの集簇が 3 羽にみられ, 肉芽形成は見られなかった。D 群では, 肉芽様組織球塊が 4 羽, 肉芽形成が 1 羽に見られた。E 群では小さな肉芽様組織球塊が 5 羽に, 肉芽形成が 1 羽に見られた。特に C 群では, 肉芽様組織球塊は 5 羽に見られ, 肉芽腫様の肉芽形成は肺の辺縁部に 4 羽で明らかに見られた (図 5 - f)。各群の組織変化の程度は $C > E > D > B > A$ 群の順で強かった。

電顕: 細気管支上皮は線毛細胞と無線毛細胞で構成されているが, 無線毛細胞では, 核は類円形で, 細胞質内にはわずかなミトコンドリア, 時に s-ER, 中ないし高電子密度の顆粒が多数観察された。気管支腔内には時に細胞断片, 微細顆粒などが見られた。この変化はほぼ全群に見とめられた。

肺胞では A 群で, 肺胞腔内は清浄で特に際だった変化は見られなかった。B, D, E 群では肺胞中隔内に好酸球の多数の浸潤が見られ, その細胞質内には明らかなクリスタを有する特異顆粒が見られた。また, 小動脈周囲の結合織内にも同様の所見が得られた。肺胞腔内には肺胞マクロファージが多数観察された。肺胞上皮では, 肺胞 II 型細胞の肥大と増加が見られた。

C 群でも好酸球の浸潤は同様であったが, 肺胞腔内には均質無構造物質や多数の肺胞マクロファージが見られた。特に, 肉芽形成部位では肺胞腔内に多数の肺胞マクロファージ, 好酸球, 偽好酸球 (好中球), 均質無構造物質等が見られた。肺胞上皮では肺胞 II 型細胞の肥大と増加が見られ, 中隔には主に, マクロファージ, リンパ球が多く, その中に好酸球, 形質細胞, 線維芽細胞, 偽好酸球 (好中球) が混在していた (図 6)。

考 察

近年耳鼻科領域, 特に鼻アレルギーおよび慢性副鼻腔炎の治療に, 細菌性多価抗原製剤 Broncasma Berna[®] を皮内投与し, その有効性が認められ, このような免疫療法が上記疾患に対する治療法の一つとして定着しつつある^{5) 6) 7)}。しかし, 皮内投与による苦痛, 規則正しい投与の必要性など難点も多いことから, より簡便で直接病変部位に達し, 高効果を期待しうる鼻, 副鼻腔粘膜へのエアロゾル療法の試みがなされ, 治療効果が検討されている^{1) 2) 3)}。しかしエアロゾル免疫療法に使用される抗原物質をネブライザー吸入することで, 上気道, 下気道の生理的あるいは病理的变化に関する基礎的研究はなされていない。

そこで我々は, BB を超音波ネブライザーによりエアロゾル化し, ウサギに暴露吸入させ, 主としてその下気道, 肺組織に及ぼす変化を組織学的に検討した。

1) BB のエアロゾル化に関する考察

BB のエアロゾル化は佐藤によってなされているが, 鼻アレルギーや慢性副鼻腔炎治療に適應するため, エアロゾル粒子が副鼻腔に侵入し得る適正サイズを考慮し, 最適エアロゾル粒子径は $7 \mu\text{m}$ を中心として $3 - 10 \mu\text{m}$ と結論している⁸⁾。兵もほぼ同様の粒子径が有効としている⁹⁾。

BB は表 1 に示す死菌, 菌体及びその自家融解物を含む浮遊液である。BB 原液と超音波ネブライザー処理後の形態を走査型電顕で観察すると, 原液では菌体は固まりで在ることが多く $3 - 5 \mu\text{m}$ の大きさのものが見られたが, ネブライザー処理後は菌体の多くは単離され, $0.5 - 1 \mu\text{m}$ で, 固まりでも $3 \mu\text{m}$ 以下の大きさのものが多かった。これらの菌体の大きさは佐藤, 兵らの示す有効粒子径より小さいが, 我々が行った霧化量 $1.0 - 1.6 \text{ ml/min}$ の条件は佐藤の 1.5 ml/min の条件とほぼ同様なので, $0.4 - 15 \mu\text{m}$ までの直径をもつ粒子が菌体を含み発生

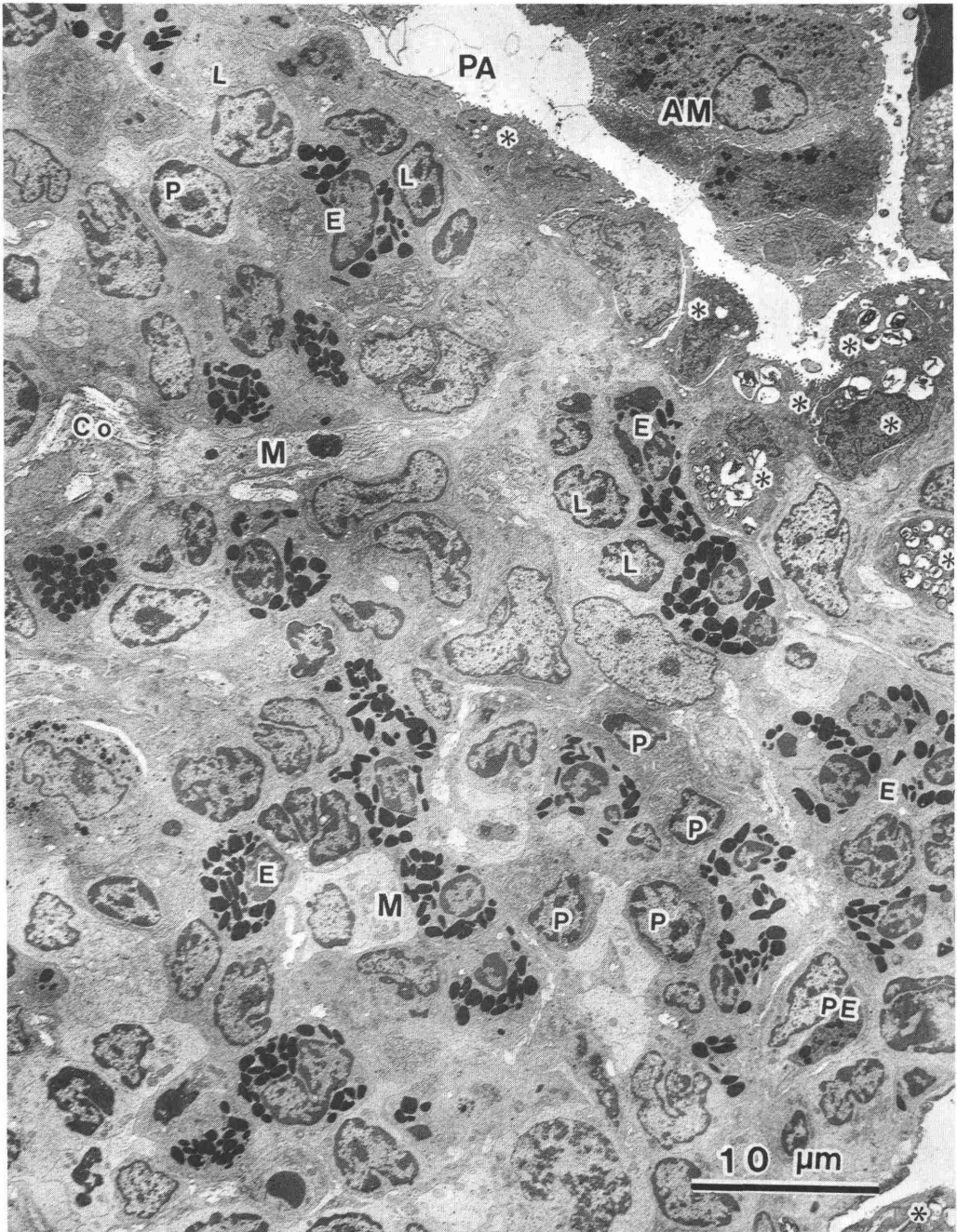


図 6 Electron micrograph of granulation in alveolar septa. $\times 2600$
 PA; pulmonary alveoli, AM; alveolar macrophage, E; eosinophil,
 L; lymphocyte, P; plasma cell, M; monocyte, Co; collagen fiber,
 PE; pseudoeosinophil (neutrophil), *; alveolar type II cell.

表1 Broncasma Berna Solution (1 ml)

COMPONENT	SIZE	NUMBER
Pneumococcus I, II, III	0.5 × 1.0 μm	50 million
Streptococcus	0.8 × 1.0	40
Staphylococcus	0.8 × 1.0	500
M. catarrhalis	0.6 × 0.8	60
M. tetragenes	1.0 × 1.0	20
Ps. aeruginosa	1.0-2.0 × 0.3	250
Klebsiella pneumoniae	0.3-0.6 × 0.5-6.0	40
H. influenzae	0.5-2.0 × 0.2-0.3	40
Phenol		4 mg

したと推測された。またアトム 205 では通常 1-5 μm の粒子径エアロゾルが発生するとされている。

ところで 10 μm 以下の粒子は気管、気管支へ、3 μm 以下の粒子は細気管支、肺胞へも達することが知られている¹⁰⁾。今野はジェット型ネブライザーで作られたエアロゾル粒子の分布と粒子径、薬剤濃度との関係を測定し、1) 薬剤濃度を 1-10% まで変えても数の上で最も多いのは 0.5-0.7 μm の極小粒子であること、2) 0.9% 生理食塩水では 1.4-3.0 μm の粒径エアロゾルとして運搬されること、3) 5 μm 以上の粒子径は鼻腔内に著明に沈着すること、4) 下気道を含め両肺に分布するエアロゾル量は上気道の約 1/2 量が達すること、を示した¹¹⁾。したがって、超音波ネブライザーでエアロゾル化された BB はヒトに用いた場合でも、その多くは 5 μm 以下の微粒子になり、肺深部へ達する可能性が高いと考えられる。兵は鼻腔内エアロゾル療法の効果を上げるには、鼻腔内にいかにして多量の薬剤を沈着させるかが重要であることを上げ、ヒトにおいてネブライザーを使用する時は 1) 鼻孔より薬液粒子を含んだエアロゾルを深吸気し、2) 高圧力を作用させながら嚥下、3) 口より呼気することが必要であると述べている⁹⁾。海野はアレルギー性鼻炎の局所治療において、鼻腔内に吸入された 20 μm 以上の粒子径のものは鼻腔を通る間に鼻粘膜上の粘液層にほとんどが沈着、捕捉されることを述べ、

噴霧粒子の粒子径と気道各部における沈着の関係を考慮することが治療上効果的であることを指摘している¹²⁾。

我々のウサギを用いた実験では深呼吸や強制吸入は行っていないが、ウサギは本来口呼吸しない動物であり、上気道と下気道の解剖学的構造や位置関係もヒトとは異なる点が多い。そのため超音波ネブライザーでエアロゾル化した BB は、肺深部に吸入された可能性は極めて高いと考えられた。

2) 組織学的変化に関する考察

実験に用いたウサギは SPF で、齧歯類で正常でも気道に多く見られ、鼻かぜ、鼻づまりの原因といわれている *P. multocida* や、肺炎の原因の *B. bronchiseptica* を除去した気道の清浄な動物であり、飼育、実験は無菌的に管理された感染実験室を使用した。

鼻腔及び気管において、組織変化は軽度で局所に時に炎症細胞の浸潤を見る程度であった。しかし肺組織では多様な変化を示した。

組織変化の主な所見は、肉芽腫様の肉芽形成 (C, D, E 群)、マクロファージの集簇及び肉芽様組織球塊 (B, C, D, E 群)、気管支炎と気管支閉塞 (B, D 群)、リンパ濾胞の増大 (B, C, D, E 群)、小動脈血管周囲への好酸球の集簇 (A, B, C, D, E 群)、血管の肥厚 (A, B, C, D, E 群)、出血 (B, D 群) 等であった。病変の強さは、C 群 > E 群 > D 群 > B 群 > A 群の順であった。

以上の結果から, BBを暴露吸入したB, C, D群では少なくとも既感作C, D群で肺への影響が強いことが示された. また, E群のCFAを足蹠に注射しただけでも肺に肉芽性病変が誘引され, C群の多数の肉芽形成は, BBの吸入に加え, CFAの影響による相乗的作用の結果と考えられた.

また, A群の生理食塩水吸入のみでも軽度の変化が生じることが示された.

ところで, C, D, E群で見られた肉芽形成は, 過敏性肺臓炎の病理組織像に類似していた. また, 波田野は免疫学的検索により, C, D群でIgG抗体価の上昇, 肺胞洗浄液内にリンパ球の増加を認め, この病態はⅢ型, IV型アレルギーが関与していると考えた¹³⁾.

過敏性肺臓炎は一定の大きさの外因性物質を大量にあるいは長期間吸入することにより, 免疫学的機序を介して, 主として肺の間質に肉芽腫性病変をきたす一連の疾患であり, Ⅲ型, IV型アレルギーが関与するものと考えられ^{14) 15) 16)}, 多数の報告がなされている^{17) 18) 19) 20) 21) 22)}.

Roskaらは卵白アルブミンあるいは牛アルブミンで感作した動物に同一抗原でエアロゾル吸入させることにより, 補体依存性肺傷害を惹起させた²²⁾. また, Miyamotoらはモルモットを死滅結核菌で感作後PPDでエアロゾル吸入して肺に肉芽腫性病変を作製した¹⁷⁾.

今回の我々の実験において観察された肉芽形成は, 他の報告と同様, Ⅲ型, IV型アレルギーにより形成され, 特にCFAの使用により反応が増強されたものと推測された.

いままでにBB投与における安全性の組織学的検討は, イヌ, モルモットで行なわれている. 熊谷はイヌをネブライザー吸入法で観察し, 肺胞の退縮と壁の肥厚, マクロファージ浸潤, 結合織系細胞の増殖をみとめ, 生理食塩水及びフェノールも細胞壁の肥厚に影響を与えていることを報告し, BBや他の薬物を長期吸入することは避けるべきだと述べている^{23) 24)}. 大井はモルモットを経鼻注入と皮下注射法で観察し,

鼻腔粘膜, 咽頭喉頭, 気管, 気管支, 消化器, 副腎には著変は見られず, 肺において多発性あるいはびまん性の肉芽形成性炎症所見をみとめた. しかしBB含有濃度の高い群がコントロール群と比較し, 高率にみとめるのではなく, 推計学的に差はないとした. さらに, 経鼻注入法はネブライザー法よりも, 大量抗原使用可能, 薬剤の長期鼻内停滞, 下気道への影響が少ない等の利点を上げ, BBの経鼻注入法が有用であると述べた²⁵⁾.

我々の実験において, BB既感作群で肺病変が強かったことは, 超音波ネブライザーの使用により微粒子化したBB抗原が肺深部に多数達し, 足蹠に注射されたCFAと相まって, 抗原吸収と反応が肺領域でなされた可能性が高く, 過敏症肺臓炎の発生機序が働いたためと考えられる.

3) 問題点と今後の展望

BBをはじめとする多価抗原製剤はヒトにおいて皮内反応陽性者に有効率が高いことが知られている^{2) 7)}. これは本報告における既感作群で反応が強いことと少なからぬ関連が推測される. また, 多数の報告に見られる様に, 抗原製剤の吸入は肺に何だかの病変を生じさせることも明らかである. ただし, 種々の実験モデルで長期観察は, 抗原暴露にもかかわらず消退傾向が特徴的であり, 慢性病変作製は成功していないという報告も見られる^{26) 27)}. また, 粘膜上皮で細菌の付着を阻止するIgA抗体との関連もいまだ検索されていない.

しかし, 急性実験では病変は明らかで, これは薬剤が肺領域で主に反応することに問題があると考えられる.

従って, 抗原性の強い製剤は鼻腔内に多く沈着させ, 下部気道, 肺深部への吸入をさける投与方法を工夫することがより安全であると考えられる.

超音波ネブライザーは肺深部まで微粒子を吸入するのに適しているが, その使用に際しては, 目的と効果を十分に考え, 選択することが重要

であると思われる。

文 献

- 1) 佐藤良暢, 佐藤益子, 兵 昇, 佐藤寿平:
Broncasma Berna による慢性副鼻腔炎および鼻アレルギーに対するエアロゾル療法の検討, 耳展 25 (補): 239-245, 1982.
- 2) 藤谷哲造, 森本大和, 前田 仁: 鼻アレルギー, 慢性副鼻腔炎, ブロソカスマ・ベルナによるエアロゾル療法の検討, 新薬と臨床 33: 703-713, 1984.
- 3) 和田 清, 納谷 裕, 田口喜一郎: 慢性副鼻腔炎に対する細菌性多価抗原製剤 Broncasma Berna によるエアロゾル療法の検討, 耳展 28 (補): 199-132, 1985.
- 4) Richerson, H. B., Frank, H. F. C. and Steven C. B.: Acute experimental hypersensitivity pneumonitis in rabbits. *Am. Rev. Respir. Dis.* 104: 568-575, 1971.
- 5) 佐藤良暢, 平杉嘉昭, 坂口富美: Broncasma Berna による慢性副鼻腔炎および鼻アレルギー治療の検討, 新薬と臨床 23: 23-25, 1984.
- 6) 水越 治, 佐藤良暢, 坂口富美, 平杉嘉昭: Broncasma Berna による慢性副鼻腔炎および鼻アレルギーの治療成績集計, 耳鼻臨床, 68: 1477-1485, 1975.
- 7) 古内一郎, 他: 鼻アレルギーに対するブロソカスマ・ベルナの臨床検討—二重盲検群間比較法—, 耳展 22 (補): 50-68, 1979.
- 8) 佐藤良暢, 兵 昇, 高野 頌, 奥田 聡: 細菌性多価ワクチン Broncasma Berna のエアロゾル化, 医用エアロゾル研究会報告 9: 48-51, 1986.
- 9) 兵 昇: 慢性副鼻腔炎に対するエアロゾル療法, *JOHNS* 1: 267-271, 1985.
- 10) Debelic, M.: Die inhalationstherapie. *Therapiewoche* 5: 460-476, 1975.
- 11) 今野昭義: エアロゾル療法と鼻・副鼻腔のエアロダイナミクス, 耳展 25 (補): 563-574, 1979.
- 12) 海野徳二, 奥出芳博, 柳内 統, 小野寺 哲: ベクロメタゾン噴霧の鼻腔内分布, 日耳鼻 85: 277-282, 1982.
- 13) 波田野洋一, 伊藤永子, 戸川 清, 三浦一樹, 伊藤玲悦: 超音波ネビュライザーを使用した菌体表層物質吸入の上気道への影響—免疫学的検討—
JJIAO 6: 50-51, 1988.
- 14) Roberts, R. C. and Moore, V. L.: Immunopathogenesis of hypersensitivity pneumonitis. *Am. Rev. Respir. Dis.* 116: 1075-1090, 1977.
- 15) Salvaggio, J. E. and Reynold, M. K.: Hypersensitivity pneumonitis; State of the art. *Chest* 75: 270-274, 1979.
- 16) 吉澤靖之, 大玉信一, 田中元一: 過敏性肺臓炎の発生機序, 呼と循 29: 1279-1286, 1981.
- 17) Miyamoto, T. and Kabe, J.: The lungs as the site of delayed-type hypersensitivity reactions in guinea pigs. *J. Allergy* 47: 181-185, 1971.
- 18) Richerson, H. B.: Acute experimental hypersensitivity pneumonitis in the guinea pig. *J. Lab. Clin. Med.* 79: 745-757, 1972.
- 19) Johnson, K. J. and Ward P. A.: Acute immunologic pulmonary alveolitis. *J. Clin. Invest.* 54: 349-357, 1974.
- 20) Slauson, D. O. and Dahlstrom M. A.: The pulmonary inflammatory response. Cellular events in experimental pulmonary arterial hypersensitivity disease. *Am. J. Pathol.* 79: 119-130, 1975.
- 21) Santives, T., Roska, A. K. and Hensley, J. T., et al.: Immunologically induced lung disease in guinea pigs. A comparison of ovalbumin and pigeon serum as antigens. *J. Allergy Clin. Immunol.* 57: 582-594, 1976.
- 22) Roska, A. K. B., Garancis, J. C., Moore, V. L. and Abranoff, P.: Immune-complex disease in guinea pig lungs. I. Elicitation by aerosol challenge, suppression with cobra venom factor, and passive transfer with serum. *Clin. Immunol. Immunopathol.* 8: 213-224, 1977.
- 23) 熊谷丑二, 江副洋二郎, 泉 裕司, 他: ブロソカスマ・ベルナのネビュライザー投与による安全性

- に関する研究, 医用エアロゾル研究会報告 8: 48 - 52, 1984.
- 24) 熊谷丑二, 江副洋二郎, 泉 裕司, 他: ブロンカスマ・ベルナのネブライザー投与による安全性に関する研究 II, 医用エアロゾル研究会報告 9: 62 - 66, 1986.
- 25) 大井益一, 原田 泉, 村井須美子, 坂倉康夫, 三吉康郎, 柏木秀雄: Broncasma Berna のモルモット鼻腔投与とその全身的影響, 耳鼻臨床 78: 2423 - 2431, 1985.
- 26) Richerson, H. B., Seidenfeld, J. J. and Ratajczak, H. V., et al.: Chronic experimental interstitial pneumonitis in the rabbit. *Am. Rev. Respir. Dis.* 117: 5 - 13, 1978.
- 27) Konishi, K., Satoh, S., Ida, S. and Takishima, T.: A rabbit model for hypersensitivity pneumonitis. *Tohoku J. exp. Med.* 142: 381 - 389, 1984.