

# 表層菌体物質吸入の気道への組織学的、免疫学的影響について

伊藤永子・岡本美孝・白鳥浩二・工藤和夫・戸川 清

秋田大

## Effects of Broncasma Berna<sup>®</sup> inhalation with jet nebulization on the lower airway of guinea pigs

Ito, E., Okamoto, Y., Shirotori, K., Kudo, K., Togawa, K.

Dept. of Otolaryngology, Akita Univ.

Broncasuma Berna<sup>®</sup> (以下 BB と略す) は上気道常在菌 8 種を含む多種菌体抗原で、近年慢性副鼻腔炎、アレルギー性鼻炎に対し、鼻腔局所投与による有効性が注目されているが、その作用機序についてはいまだ不明な点が多い。我々はこれまで SPF 家兎を用いて、ウルトラネブライザーでは肺に過敏症肺臓炎が惹起されることを報告してきた。そこで、今回は SPF モルモットを用い、ジェットネブライザーによる下気道への影響を検討し、その作用機序についても 2-3 検討を加えた。

### 1. 方法

動物はハートレイ系 SPF モルモット雌を用い、無処置群 (5 匹)、ジェット BB 吸入群 (12 匹)、ジェットフェノール吸入群 (12 匹) に分けた。BB 吸入群では BB 原液 2 ml を 2 倍に PBS で稀釈し、溶液 4 ml をジェットネブライザーを連結したチャンバー内に噴霧し、チャンバー内のモルモットに吸入させた。また BB 原液の保存、安定剤として 0.4% フェノールが用いられていることから、BB 原液と同様の稀釈方法で 0.4% フェノール溶液を PBS で稀釈し吸入させた。吸入方法は、BB 及びフェノールを連日 7 日間吸入後、7 日休止、さらに 7 日間吸入後、7 日休止し、実験 14 日目に採血、28 日目に屠殺し、血液、肺組織、気管傍リンパ節、気管・肺胞洗浄液を採取した (表 1)。それぞれの試料は以下の検索に用いた。

a) 血清では、BB 吸入後のモルモットの抗 BB・IgG・IgM 抗体、気管・肺胞洗浄液では抗 BB・IgA・IgM 抗体をマイクロプレート・ELISA 法にて検討した。

また、血清中のアナフィラキシー抗体である抗 BB・IgE 抗体、IgG1 抗体は受身皮膚アナフィラキシー (PCA) 法にて測定した。

b) 肺組織は右肺で、光顕及び電顕組織観察用に固定された。光顕用組織は、ホルマリン固定後パラフィン切片作製、HE 染色にて観察した。

c) 気管傍リンパ節は採取後直ちにリンパ球を分離し、RPMI1640 培養液に  $1 \times 10^5$  個/ml に成るよう浮遊し、マイクロプレートに分注した。これに、BB 濃度 100ng/ml、PHA 濃度 1/100 稀釈を各々  $20 \mu\text{l}$  ずつ加え、24 時間培養後、 $^3\text{H}$ -thymidine  $25 \mu\text{Ci}/\text{ml}$  を  $10 \mu\text{l}$  ずつ加え、17 時間後リンパ球をハーベストし、リンパ球のトリチュウムの取り込みを検討し、PHA 及び BB に対する反応を検討した。

d) 気管・肺胞洗浄液中の肺胞マクロファージを  $1 \times 10^6$  個/ml に成るよう RPMI1640 培養液に浮遊し、24 穴マイクロプレートに分注して、24 時間培養後その培養上清を保存した。次にモルモット肺線維芽細胞株 JH-4 細胞を 96 穴マイクロプレートに単層培養し、上記培養上清を  $30 \mu\text{l}$  ずつ加え 24 時間培養後、 $^3\text{H}$ -thymidine  $12.25 \mu\text{Ci}/\text{ml}$  を  $20 \mu\text{l}$  ずつ加え 24 時間培養、その後線維芽細胞をハーベストし、トリチュウムの取り込みを測定し、気管・肺胞洗浄液中の肺胞マクロファージの上清が線維芽細胞増殖能に与える影響を測定した。

### 2. 結果及び考察

a) BB 吸入群において、血中の BB に対する IgG、IgM 抗体、及び気管・肺胞洗浄液中の BB に対する IgA、IgM 抗体は、無処置群及びフェノール吸入群に比べ有意な上昇は認められなかった。また血中アナフィラキシー抗体も PCA 反応で確認されなかった。これらの結果から、BB の抗原性は証明できなかった。

b) 右肺 HE 染色組織切片では、気管支及び肺野において、明らかな炎症所見は観察されなかった。すなわちジェットネブライザーによる BB 吸入は、ウルトラネブライザーに比べ、吸入薬剤の粒子径が大きく、肺内に強い影響を与えず、過敏症肺臓炎を惹起するに至らなかったものと推測された。

c) 気管傍リンパ節細胞のリンパ球を BB 及び PHA にて刺激した後の  $^3\text{H}$ -thymidine の取り込みは、無刺激モルモットのリンパ球の取り込み値を 1 とした stimulation index で表わすと、PHA 刺激に対して、

