

原 著

## 実験的気管支喘息

— 喘息発作直後の気管・気管支粘膜における吸収機構について —

赤 川 直 次

信州大学医学部第一病理学教室  
(主任: 河合博正教授)

### EXPERIMENTAL BRONCHIAL ASTHMA ABSORPTION MECHANISMS IN THE TRACHEOBRONCHIAL MUCOSA OF GUINEA PIGS FOLLOWING THE ATTACK OF ASTHMA

Naoji AKAGAWA

Department of Pathology, Faculty of Medicine  
Shinshu University  
(Director: Prof. Hiromasa KAWAI)

AKAGAWA, N. *Experimental bronchial asthma — Absorption mechanisms in the tracheobronchial mucosa of guinea pigs following the attack of asthma —*. Shinshu Med. J. 27: 101–115, 1979

The present study was carried out to examine the uptake and transport of a high molecular protein with antigenicity in the tracheobronchial epithelium following the attack of experimental asthma. Guinea pigs were sensitized to bacterial  $\alpha$ -amylase via airway. After the attack of asthma was induced by a challenge with an aerosol of this antigen, immediately the solutions of horseradish peroxidase and  $\alpha$ -amylase conjugated with horseradish peroxidase were instilled into the trachea of the anesthetized animals respectively. The animals were sacrificed and their substances were demonstrated with light and electron microscopic histochemical techniques. In this experiment, it was observed that the peroxidase reaction product was present at the luminal surface and continuously in the intercellular spaces through the tight junction of the epithelium. In the other control experiment with no sensitization, only the vesicles filled with the peroxidase reaction product was localized in the epithelial cells, but absent in the intercellular spaces. It is concluded that a opening of the epithelial tight junction by the attack of asthma is apparent to allow the uptake and transport of high molecular proteins unrestricted with the antigenic substance.

Key words: 実験的気管支喘息 (experimental bronchial asthma)  
細菌性  $\alpha$ -アミラーゼ (bacterial  $\alpha$ -amylase)  
気管・気管支粘膜上皮 (tracheobronchial epithelium)  
西洋ワサビペルオキシダーゼ (horseradish peroxidase)

## I. 緒言

呼吸器は、開放性の器官であることから、外界より常にいろいろな異物の侵入を蒙ることを避けられない。気管・気管支には、空気が吸入、呼出されるための流通経路としての機能のほかに、外来刺激に対する防禦機能<sup>1)</sup>や物質の吸収機能<sup>2) 3)</sup>なども知られている。これらの機能のなかで防禦機能の面では、異物を排除したり、異物の体内への侵入を防止するための mucociliary transport<sup>1)</sup>や cell junction<sup>4)</sup>がある。一方、吸収機能については、従来の研究によって種々の物質(無機塩類<sup>5)</sup>、色素類<sup>6)</sup>、蛋白質<sup>7) 8)</sup>、細菌類<sup>10)</sup>など)が、肺胞・肺胞管を含む気道から吸収されることが判明している。

正常の気管・気管支の吸収機能や防禦機能が、種々の呼吸器疾患により変化することは、想像に難くない。近年、各種の呼吸器疾患における気管・気管支の病態生理について、吸収機能の立場から検索が行なわれている。そのような一連の研究<sup>11) 12)</sup>のなかで、大畑・萩原<sup>16)</sup>は気管支喘息患者の気管支を検索対象として取り上げ、喘息の非発作時、発作中、発作の消滅時における気管支の吸収機能に関する検索を行なっている。しかし、これらの研究は、気管支壁全体としての成績であり、また形態学的側面からの検索がなされていない。形態学的には、過去わずかに Richardson<sup>18)</sup>、Rappaport<sup>19)</sup>、奥田等<sup>20)</sup>が気管支喘息や鼻アレルギーにおける発症時、或いは発作中の抗原の吸収・移動について検索しているが、発作直後における物質の吸収・移動については検索がない。

今回、著者は、気管支喘息における気管・気管支壁の病態の一端を知ることが目的とし、特に喘息発作に用いられた抗原物質と同質物質を気管内に注入し喘息発作直後における高分子蛋白の吸収・移動について検索した。

## II. 実験材料ならびに方法

生後7~8週令、体重300g前後の雌雄モルモットを、枯草菌(B. subtilis)から抽出された結晶性の bacterial  $\alpha$ -amylase (分子量約50,000, 長瀬産業, 以下BaAと略す。)で吸入感作し、喘息発作を誘発した。発作直後、モルモットの気管内に horseradish peroxidase (分子量40,000, Sigma社, Type VI, 以下HRPOと略す。)や、HRPOで標識した bacterial  $\alpha$ -amylase (以下HRPO-BaAと略す。)を注

入し、5分後に気管及び気管支から組織標本を作成し、光顕及び電顕で検索した。以上の過程の各操作を、以下に記す。

### A. 喘息発作誘発のためのBaAによる

#### 感作方法

吸入感作の方法は八倉<sup>21)</sup>により確立された方法に準じた。すなわち、BaAを生理的食塩水で10mg/mlの溶液にし、ネブライザーと吸入箱を用いて30分間吸入させる。この吸入感作を1日1回、7日間連続して行い、7日間放置後、同上の濃度のBaAで数分間発作誘発吸入を行う。喘息発作が起ったか否かは、八倉の判定基準に従い、著者は特に眼球チアノーゼを重視し、重症の呼吸困難やショック状態に陥る前に吸入箱よりモルモットを取り出して、次の操作へ移った。

### B. 気管内に注入するHRPO-BaAの

#### 作製方法

抗原として使用したBaAを光顕的・電顕的観察のためのmarkerとしてHRPOを用い、Nakane<sup>22)</sup>の方法に準じた表1の操作で標識した。得られたHRPOとBaAの混合液をSephadex G-100を用いてゲル濾過し、3mlのfractionに分け、日立100-20型分光光度計で測定し、表2の曲線を得た。No.21~28のfractionを集め、HRPO濃度で5~10mg/mlに濃縮

表1 気管内に注入するHRPO-BaAの作製方法

- ① 4mlの蒸留水にHRPO, 16mgを加えて溶かす。
- ② これに0.1M NaIO<sub>4</sub>を0.8ml徐々に加え、攪拌しながら室温で20分間反応させる。
- ③ この活性化したHRPO溶液を0.001M酢酸緩衝液(pH 4.0)中で4℃一晩透析する。
- ④ 一方、他に生食1mlにBaA 20mgを溶かし、0.01M炭酸緩衝液(pH 9.5)中で4℃一晩透析する。
- ⑤ ③のHRPO溶液に0.2M炭酸緩衝液をpHが9.0~9.5になるまで加える。  
これに上記④のBaA溶液を加え、攪拌しながら室温で2時間反応させる。
- ⑥ この様にしてできた混合液に更に0.4% NaBH<sub>4</sub>溶液を0.4ml加え、4℃2時間反応させる。  
この溶液を0.01Mリン酸緩衝液の中で、4℃一晩透析してSephadex G-100で、ゲル濾過する。

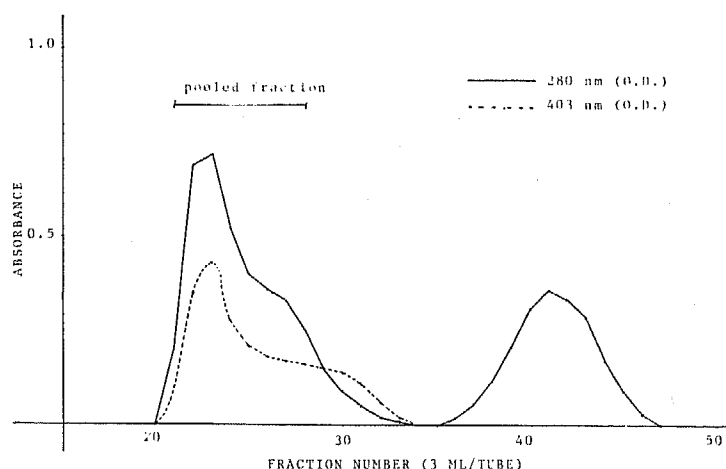


表 2 HRPO と BaA の混合液の Sephadex G-100 によるゲル濾過

しこれを気管内に注入する HRPO-BaA とした。

#### C. 気管内への HRPO 及び HRPO-BaA の注入方法

発作中のモルモットに、25mg/kg の pentobarbital を腹腔内に注射して麻酔した。前頸部で気管を露出し、動物を2群に分け、一方には1% HRPO 生食液を、他方には上記 HRPO-BaA 溶液を、それぞれ注射器でゆっくり気管内に注入した。注入開始5分後に気管及び肺を取り出し、4°C の2.5% glutaraldehyde リン酸緩衝液 (0.1M, pH 7.4) を気管から注入した。

#### D. 標本作製方法

C で得られた気管及び肺を一塊として、1時間上記の固定液で固定した。その後、上中下に三分割した気管の中間部と右下葉気管支から末梢の部分を実約 0.5~1mm の厚さに、輪切りにして切り出した。この様にして切り出したブロックを上記の固定液で、更に2時間固定した。

以後、型<sup>23)-25)</sup>通りに、diaminobenzidine 染色、オスミウム酸固定、アルコール脱水、エポン包埋を行った。

光顕標本として、上記のエポン包埋ブロックを1.5 μm に薄切し、無染色標本と toluidine blue 染色標本を作製した。電顕標本として、200nm の超薄切標本と 80~90nm の超薄切標本を作り、無染色と酢酸ウラニール単染色の標本を製し、日立 H-700 と HU-11 の電子顕微鏡で観察した。

#### E. 対照実験

対照として次の2つの群の実験を行った。

第1群：吸入感作をせず、BaA の10分間の吸入直後に HRPO-BaA を気管内に注入し、標本作製した群。(正常状態の気管・気管支粘膜上皮内における HRPO-BaA の吸収・移動を知る目的で計画した。)

第2群：BaA で吸入感作を行い、発作誘発後、直ちに気管及び気管支の標本作製した群。(内因性の peroxidase 活性部位を知る目的で計画した。また内因性の peroxidase 活性の阻止試験のために、更に Kataoka の方法<sup>26)</sup>の準じて、基質 (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) を含まない diaminobenzidine 染色と、0.1M KCN を含む diaminobenzidine 染色を行い、各々の標本作製し、比較検討した。)

### Ⅲ. 実験結果

#### A. 喘息発作時の肉眼的所見

喘息発作時、モルモットの眼球はチアノーゼを呈し、呼吸は著しく不整となった。発作中に撲殺し、頸部で気管を結紮し、肺を取り出すと、発作例は非発作例に比較してやゝ過膨脹の状態で、色は淡桃色から蒼白になっていた(図1)。気管から glutaraldehyde 固定液を注入しても抵抗感はなく、非発作例と同様であった。

#### B. 光学顕微鏡的及び電子顕微鏡的所見

(表3)

##### 1. 対照群：

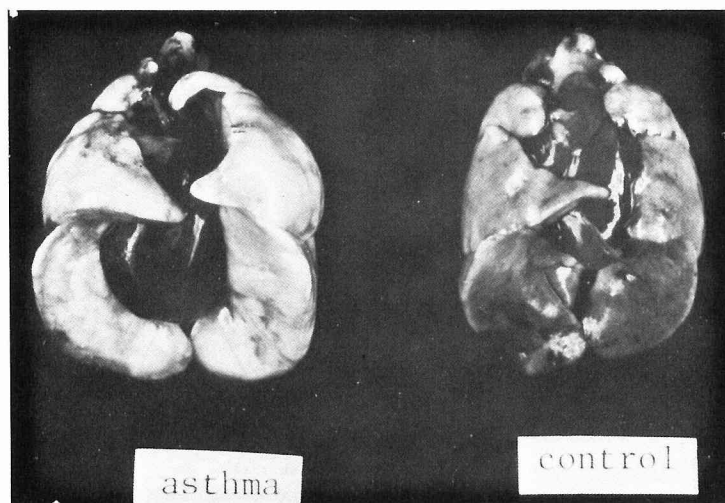


図 1：過膨脹かつ蒼白になった喘息例の肺と対照の正常状態の肺の肉眼像。

表 3 本実験群 (HRPO-B $\alpha$ A 注入例及び HRPO 注入例) 並びに各対照群における  
外因性 peroxidase 活性部位の比較

| 実験群       | 部 位                   | 気 管 粘 膜 上 皮   |               | 気 管 支 粘 膜 上 皮 |               |
|-----------|-----------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
|           |                       | intracellular | intercellular | intracellular | intercellular |
| 本 実 験 群   | HRPO-B $\alpha$ A 注入例 | +             | +             | +             | +             |
|           | HRPO 注入例              | +             | +             | +             | +             |
| 対 照 実 験 群 | 第 1 群                 | +             | -             | +             | -             |
|           | 第 2 群                 | -             | -             | -             | -             |

光顕的には、内因性の peroxidase 活性を検索した対照群 (対照第 2 群) では、気管・気管支粘膜上皮細胞の peroxidase 活性を示す黒褐色の微小顆粒は、上皮細胞 100 ケ中にわずか 4～5 ケ認められる程度であった (図 2)。この微小顆粒は、線毛細胞、粘液産生細胞、基底細胞に認められ、細胞の種類による局在傾向は認められなかった。粘膜内及び粘膜下組織には少数の好酸球がみられ、その胞体には多数の黒褐色の大きな顆粒を認めた。その他に、血管内に peroxidase 活性のあるアズール顆粒を有する好中球や、胞体全体に peroxidase 活性を呈する赤血球が認められた。これに対して、正常状態での気管内へ高分子蛋白 (HRPO-B $\alpha$ A) を注入した対照群 (対照第 1 群) では、気管・気管支粘膜上皮の上層部に peroxidase 活性を示す黒褐色の微小顆粒が、上記の対照第 2 群に比して多数認められ、粘膜上皮細胞のうち線毛細胞や粘液産

生細胞の核上部に黒褐色の微小顆粒が目立った (図 3)。

電顕的に、対照群の線毛細胞、粘液産生細胞を検索すると、線毛細胞は electron-lucent な胞体を有し、核上部から先端部にかけて mitochondria が豊富で、胞体全体に rough endoplasmic reticulum (以下 rER と略す。) が目立つ (図 4) 細胞の先端部表面の大部分は、cilia 間に介在する短くて不整な microvilli (以下, Mv と略す。) と cilia で占められ、先端部辺縁には cilia が減少し Mv で占められている部分があった。線毛細胞内の内因性の peroxidase 活性を示す peroxidase reaction product (以下 PRP と略す。) は、2.5～0.1 $\mu$ m の vesicle, rER, nuclear envelope, Golgi 装置, mitochondria の cristae に認められた (図 4, 5)。粘液産生細胞は electron-opaque な胞体を持ち、核上部から先端部にかけて分

泌顆粒をもっていた。細胞先端部表面には全く cilia がなく、Mv が散在性に認められた。粘液細胞内にも、vesicle, rER, nuclear envelope, mitochondria の cristae に PRP が陽性であった。線毛細胞、粘液産生細胞は、各々隣接する細胞と先端部で junctional complex をもって結合していた。tight junction は cilia の basal body 底部の深さに位置していた(図16-a)。junctional complex 及び intercellular space には内因性の peroxidase 活性は認められなかった。線毛細胞及び粘液産生細胞の内因性の PRP 陽性 vesicle には、2.5~0.1 $\mu$ m の大きさのものが認められた。これらの vesicle はその形態から4種類に識別できた。それらは、①電子密度は種々であるが、殆んど均一無構造の PRP 陽性を示す vesicle、②均一環状の PRP 陽性を示す vesicle、③myelin 様層状に PRP 陽性を示す vesicle、④multivesicular body 様構造に PRP 陽性を示す vesicle であった(図6)。これらの vesicle はある一定の局在傾向を示しており、核側部から核下部及び基底部に比較的局在する傾向にあった(図4)。しかし、核上部にも PRP 陽性の vesicle が認められることがあるが、量的には少なかった。また、線毛細胞及び粘液産生細胞の先端部 Mv 直下にも 0.1 $\mu$ m 前後の大きさの vesicle が散在していた(対照第2群)。一方、これに対して正常状態の気管内に HRPO-BaA を注入した対照群(対照第1群)では、線毛細胞及び粘液産生細胞の先端部から核上部にかけて PRP 陽性の 3~0.1 $\mu$ m の vesicle が、多数認められた(図7、8)。それらは電子密度が高く、やゝ粗い不規則な PRP 陽性の微細顆粒からなっていた(図9)。また電子密度の高い均一無構造の PRP 陽性の vesicle も認められた。しかし、tight junction や intercellular space には、peroxidase 活性は認められなかった。

内因性の peroxidase 活性阻止試験については、基質(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)を含まない diaminobenzidine 染色標本では、赤血球に中等度の peroxidase 活性を示すが、上皮細胞小器管には活性が認められなかった。0.1M KCN を含む diaminobenzidine 染色標本では、全ての細胞に peroxidase 活性が認められなかった。

以上の観察結果から次のように要約することができる。すなわち、粘膜上皮内の ①内因性 peroxidase 活性部位は大部分、核側部、核下部、基底部の vesicle 内に存在し、②外因性 peroxidase 活性部位は細胞の先端部から核上部にかけてみられる vesicle 内に存在

する。これら vesicle の形態は、上記の如くそれぞれの特徴をそなえている。

## 2. 本実験群：

HRPO-BaA 注入群と HRPO 注入群では、その所見に殆んど差異を認めなかった。

光顕的に、気管・気管支粘膜上皮には、上皮細胞内の核上部に peroxidase 活性を示す黒褐色の微小顆粒が、内因性の peroxidase 活性を調べた対照第2群よりも多数認められた。更に、上皮細胞間が、淡黒褐色線状に染まっており、気管粘膜上皮では、粘膜の約1/2の深さまで細胞間が淡黒褐色線状に染色されているが、基底膜にまでは至っていない(図10)。気管支及び細気管支の粘膜上皮では、上皮細胞間から連続的に基底膜に達し、更に基底膜に沿って線状に淡黒褐色から黒褐色に染まっていた(図11)。これらの細胞外に認められる peroxidase 活性を示す部分は、特定の上皮細胞間に存在するということではなく、やゝ不規則な分布を示していた。

電顕的に、線毛細胞及び粘液産生細胞内には、対照第1群の上記外因性 peroxidase 活性の所見と同様、先端部表面、bleb 状に膨大した cilia の周囲、大小の vesicle, rER, nuclear envelope, mitochondria の cristae に PRP が陽性であった。PRP 陽性の vesicle には、3~0.1 $\mu$ m の種々の大きさのものがあり、細胞の先端部に 0.1 $\mu$ m 前後のものが多数認められ、核に近接するに従い大きな vesicle が認められた。これらの大きな vesicle は電子密度の高い PRP 陽性の微細顆粒からなる構造を有していた。線毛細胞間、及び線毛細胞と粘液産生細胞間の intercellular space には、PRP が線状に認められた(図12、13、14)。PRP は位置的に cilia の basal body 底部の深さ、つまり tight junction に当る部分を経由して、気道内腔面から基底側の intercellular space へ連続的に向かっていた。そしてその tight junction の部分の幅は 0.05 $\mu$ m であった(図15、16)。

従って、本実験群では、細胞内において peroxidase 活性は内因性及び外因性の対照群とはほぼ同様であるが、上皮細胞間に極めて特徴的な外因性 peroxidase 活性部位を認めた。

## IV. 考 按

萩原等は病的状態にある気管支壁の吸収機能について一連の研究報告<sup>10)-17)</sup>を行なっている。大畑、萩原<sup>16)</sup>は気管支喘息患者を対象にして、気管支喘息時の気

管支壁の吸収機能を検索し、発作中の吸収機能の低下を指摘している。また、発作の消退とともに吸収機能が急速に改善するものがあることを示している。しかし、これらの現象を形態学的な側面より検討した報告は極めて少ない。

Richardson<sup>27)</sup>はモルモットに HRPO を抗原として実験的気管支喘息を作成し、発作発症時の気管・気管支壁における抗原の局在について電顕的に検索し、線毛細胞や粘液産生細胞に抗原が認められるが、細胞外には認められないと述べている。奥田等<sup>20)</sup>は、ブタクサ花粉アレルギー患者に、<sup>125</sup>I で標識したブタクサ花粉抽出抗原を、発作中の鼻粘膜に付着させ、その動態をオートラジオグラムを用いて検索している。それによると、発作中は、非発作時に比して粘膜の抗原吸収速度が遅延し、抗原は mucous blanket 内に大部分停留し、わずかに粘膜上皮内に侵入しているが、粘膜上皮下には認められないことを報告している。しかし発作直後の吸収・移動については、形態学的な検索はなく、著者はこの点より気管支喘息の気管・気管支壁の病態の一端を検討した。

実験的気管支喘息のモデル<sup>(28)(29)</sup>として、BaA で感作したモルモットを用い、喘息発作を誘発せしめ、喘息発作直後に HRPO で標識された BaA 及び HRPO 単独を気管内に注入し、5 分後に気管・気管支を採取し、光顕及び電顕的に検索した。本実験では HRPO を marker として用いたので、内因性の peroxidase 活性部位を除外しなければならない。従来の peroxidase を用いた研究報告<sup>(18)(28)</sup>には、その点に関する議論が少なく、また内因性の peroxidase 活性について検索した論文も少ない<sup>(26)</sup>。本実験において、内因性の peroxidase 活性の検索を行ったところ、線毛細胞、粘液産生細胞には、mitochondria, rER, nuclear envelope, Golgi 装置、2.5~0.1 $\mu$ m の vesicle に peroxidase 活性が認められた。これらの内因性の peroxidase 活性部位のうちで、外因性のもの (HRPO) と区別するうえで問題になるのは、大小の vesicle である。線毛細胞・粘液産生細胞の内因性の peroxidase 活性を示す vesicle の大部分には、ある一定の局在と形態上の特徴を認めることができた。すなわち、それらの vesicle は、線毛細胞、粘液産生細胞の先端部から核上部にかけて少なく、核側部及び核下部から基底部にかけて多く認められた。それらの vesicle は形態上、前出したように均一無構造に PRP 陽性を示す vesicle、均一環状の PRP 陽性を示す

vesicle, myelin 様層状の PRP 陽性を示す vesicle, multivesicular body 様構造の PRP 陽性を示す vesicle 等の特徴を有していた。以上の内因性の peroxidase 活性部位を考慮して、HRPO-BaA を注入した正常状態の気管・気管支粘膜上皮の peroxidase 活性部位を観察すると、線毛細胞や粘液産生細胞の先端部から核上部にかけて認められる大小の vesicle の殆んどが、外因性の peroxidase 活性部であると判断できる。しかも、前述した様に電子密度の高い PRP 陽性の微細顆粒からなる構造を形態学的特徴とする vesicle は、外因性の peroxidase 活性部位と言い得る。

さて、本実験群において喘息発作直後の気管・気管支粘膜上皮には、HRPO-BaA や HRPO が intercellular space、及び気管支の粘膜上皮基底膜に至るまで認められた。しかも、HRPO-BaA や HRPO は、気管・気管支の内腔面から tight junction の部分を通り intercellular space に連続的に侵入しているのが認められた。更に、HRPO-BaA と HRPO の粘膜上皮内での吸収・移動には、明瞭な差異が認められなかった。これに対して、正常状態の気管・気管支粘膜上皮では、HRPO-BaA は intercellular space 及び上皮下には認められず、HRPO-BaA は細胞内にとどまっていた。

これらの事実は、喘息発作直後の気管・気管支粘膜上皮では、正常状態の粘膜上皮に比して、高分子蛋白の透過性を容易ならしめていると言える。しかも、喘息発作直後に、HRPO-BaA 及び HRPO が tight junction を経て内腔から intercellular space に連続的に認められたことは、tight junction の開大を示唆している。更に、喘息発作直後に HRPO-BaA 注入群と HRPO 単独の注入群の気管・気管支粘膜上皮内での吸収・移動に、明瞭な差が認められなかったということは、発作直後の粘膜上皮内では高分子蛋白抗原 (HRPO-BaA) を選択的に吸収するとは限らないことを形態学的に示しているものと考えられる。また HRPO も、HRPO よりも高分子の蛋白質質 (HRPO-BaA) も上皮細胞間で吸収・移動される時は、形態学的には差がないことを示している。

tight junction の開大のメカニズムは、目下のところ明らかではないが、このような喘息発作などとは異なった各種の原因によっても起り得るとされている。すなわち、aceton<sup>30)</sup>, ethanol<sup>30)</sup>, ether<sup>27)</sup>, 紙巻きタバコの煙<sup>31)</sup>, 外科的な傷害<sup>32)</sup>, 電気ショック<sup>33)</sup>な

どが報告されている。

tight junction は、文献的<sup>34)</sup>にもまた本実験からも明かなように、ある特定の条件下では、吸収機能とかかわりを生ずると言える。同時に、tight junction は、防禦機能の一翼を担い吸収機能と表裏の関係にあると言える。Richardson<sup>27)</sup>は気管・気管支粘膜上皮での高分子蛋白 (HRPO) の吸収・移動の詳細な形態学的研究を行っているが、HRPO を気管内に注入してから15分後には、いまだ HRPO は気管・気管支粘膜上皮細胞内にとどまっているが、30分後には、intercellular space にも認められるようになる。しかし、tight junction を通過する所見は認められないと報告している。この Richardson の実験や、本実験の対照第1群の結果からもわかるように、高分子蛋白が正常状態の気管・気管支壁を従て体内に吸収されるためには、それらの粘膜上皮細胞内を経由しなければならないことを示している。このことは、高分子蛋白は、粘膜上皮細胞の選択的濾過作用を受けてから体内に吸収されることを意味し、生体の防禦機能の一面を示しているとも言える。しかし、この機能は tight junction が正常に働いていて初めて可能な事柄であり、本実験の如く幅  $0.05\mu\text{m}$  に至る tight junction の開大は、状況を大きく変化させることになる。このことは、臨床的にも、難治性喘息患者においてみられる反復性の喘息発作と、急性或いは慢性の気管支炎との関係を考えるうえで、示唆に富む所見と思われる。

## V. 結 語

モルモットに実験的気管支喘息を作成し、喘息発作直後の高分子蛋白 (HRPO- $\text{BaA}$ , HRPO) の気管・気管支粘膜上皮内における吸収・移動について、光顕的、電顕的に観察し次の結果を得た。

1. 正常状態では、粘膜上皮細胞、特に、線毛細胞や粘液産生細胞内に高分子蛋白が取り込まれており、細胞質内を経て、物質の移動が行なわれ、細胞外径路は認められなかった。

2. 喘息発作直後の粘膜では、高分子蛋白の透過性が容易になり、上皮細胞外径路による吸収・移動が観察された。

3. 喘息発作直後、上皮細胞間の tight junction に当る部分に高分子蛋白が認められ、tight junction が開大したものと考えられる。

4. 高分子蛋白では、HRPO 単独の場合と、抗原と

して用いた  $\text{BaA}$  と HRPO の結合物の場合とでは、粘膜内の吸収・移動に差異はなく、発作直後において特に抗原物質のみを選択的に吸収・移動するという所見は認められなかった。

稿を終るにあたり、御指導を賜った故河合博正教授に深く謝意を表するとともに御校閲下さった石井善一郎前教授及び望月一郎講師に深く感謝致します。本研究を進めるにあたり、各種の御援助を頂いた順応生化学教室の関係者の皆様に感謝します。

(本論文の要旨は、1978年10月第28回日本アレルギー学会総会において発表した。)

## 文 献

- 1) Cohen, A. B. and Gold, W. M.: Defense mechanisms of the lungs. *Ann. Rev. Physiol.*, 37: 325-350, 1975
- 2) Nagaishi, C.: Functional anatomy and histology of the lung. pp. 6, Igaku Shoin C. Ltd., Tokyo, 1972
- 3) 西本幸男, 山木戸道郎, 稲水 悌: 気管支の生理機能と喘息. *臨科学*, 12: 465-472, 1976
- 4) Weinstein, R. S. and McNutt, N. S.: Current concepts: cell junctions. *New Eng. J. Med.*, 286: 521-524, 1972
- 5) Qualls, G., Curtis, H. J. and Meneely, G. R.: Rate of fluid from lung measured with radioisotopes; Comparison of rapid rate for water with slower rate for saline., *Amer. J. Physiol.*, 172: 221-225, 1953
- 6) Hirakawa, K.: Experimental studies on resorption, secretion and excretion. On the permeability of the alveoli of the lungs 2. Report. Permeability examined with colour dyes. *Acta sch. med. Univ. Imp. Kyoto.*, 8: 279-297, 1925
- 7) Jones, F. S.: The effects of intrabronchial administration of foreign serum. *J. exp. Med.*, 40: 63-71, 1924
- 8) Fox, J. P.: The permeability of the lungs to antibodies. *J. Immunol.*, 31: 7-27, 1936
- 9) Drinker, C. K., Warren, M. F. and MacLanahan, M.: The absorption of protein solution from the pulmonary alveoli. *J. exp. Med.*, 66: 449-458, 1937
- 10) Schulz, R. Z., Warren, M. F. and Drinker, C. K.: The passage of rabbit virulent type

- III. pneumococci from the respiratory tract of rabbits into the lymphatics and blood. *J. exp. Med.*, 68 : 251-261, 1938
- 11) 山本 馨：気管・気管支の病態生理。日本気管食道会報，9：1-17，1958
  - 12) 山本 馨：気管・気管支の生体防禦機能について。日本気管食道会報，14：269-274，1963
  - 13) 中島重徳，萩原忠文：各種喘息治療剤の気管支粘膜吸収能に及ぼす影響について。アレルギー，15：966-967，1966
  - 14) 深谷 汎：気管支拡張症の病態生理にかんする研究。日内会誌，53：114-123，1967
  - 15) 北村 晨：各種呼吸器疾患における気管支壁の呼吸機能に関する研究。日大医誌，26：537-549，1967
  - 16) 大畑信子：気管支喘息における気管支粘膜の吸収機能に関する研究。日大医誌，26：487-498，1967
  - 17) 萩原忠文：気管・気管支の病態生理に関する臨床ならびに実験的研究。日内会誌，56：880-881，1967
  - 18) Richardson, J. B., Hogg, J. C., Bouchard, T. and Hall, D. L.: Localization of antigen in experimental bronchoconstriction in guinea pigs. *J. Allergy clin. Immunol.* 52 : 172-181, 1973
  - 19) Rappaport, B. Z.: Antigen-antibody reaction in allergic human tissue. *J. Immunol.*, 93 : 792-797, 1964
  - 20) 奥田 稔，関根啓一，石川 孝，高柳長子，宮下久夫，藤田洋祐，島田哲男，浅野佳徳，神田 敬，清水 天，戸川 清，今野昭義，高橋柳子：鼻アレルギー（病）の発生機能をめぐって。アレルギー，18：653-691，1969
  - 21) 八倉隆保，三宅忠夫：実験的喘息。臨科学，8：1528-1539，1972
  - 22) Wilson, M. B. and Nakane, P. K.: In "Immunofluorescence and related staining techniques", Knapp, W., Holubar, K. and Wich, G. (eds), pp. 215-224, Elsevier/North-Holland Biochemical Press, Amsterdam, 1978
  - 23) Graham, R. C. JR. and Karnovsky, M. J.: The early stages of absorption of injected horseradish peroxidase in the proximal tubules of mouse kidney: ultrastructural cytochemistry by a new technique. *J. Histochem. Cytochem.*, 14 : 291-302, 1966
  - 24) Bari  ty, J., Druet, P., Lalibert  , F., Sapin, C., Belair, M. F. and Paing, M.: Ultrastructural evidence, by immunoperoxidase technique, for a tubular reabsorption of endogenous albumin in normal rat. *Lab. Invest.*, 38 : 175-160, 1978
  - 25) 三井但夫：組織細胞化学の基礎技術と応用 日本組織細胞化学会，pp. 57-69，日本メディカルセンター，東京，1978
  - 26) Kataoka, K.: Fine structural localization of peroxidase activity in the epithelium and the gland of the rat larynx. *Histochemie*, 26 : 319-326, 1971
  - 27) Richardson, J., Bouchard, T. and Ferguson, C. C.: Uptake and transport of exogenous proteins by respiratory epithelium. *Lab. Invest.*, 35 : 307-314, 1976
  - 28) Patterson, R. and Kelly, J. F.: Animal models of the asthmatic state. *Ann. Rev. Med.*, 25 : 53-68, 1974
  - 29) 木村義民：能動性（活動性）アナフィラキシー・免疫学・アレルギー学実験法，pp. 439-444，文光堂，東京，1971
  - 30) Goodenough, D. A. and Revel, J. P.: A fine structural analysis of intercellular junctions in the mouse liver. *J. Cell Biol.*, 45 : 272-290, 1970
  - 31) Simani, A. S., Inoue, S. and Hogg, J. C.: Penetration of the respiratory epithelium of guinea pig following exposure to cigarette smoke. *Lab. Invest.* 31 : 75-61, 1974
  - 32) Rhodes, R. S. and Karnovsky, M. J.: Loss of macromolecular barrier function associated with surgical trauma to the intestine. *Lab. Invest.*, 25 : 220-229, 1971
  - 33) Hirano, A., Becker, N. H. and Zimmerman, H. M.: The use of peroxidase as a tracer in studies of alterations in the blood-brain barrier. *J. Neurol. Sci.* 10 : 205-214, 1970
  - 34) 細谷憲政：消化吸収に関する最近の知見。臨采，44：241-254，1974

(53. 11. 27 受稿)



写真の説明

- 図 2: 対照第 2 群の気管。×400, 無染色。PRP 陽性の微小顆粒 (矢印)。
- 図 3: 対照第 1 群の気管。×400, 無染色。粘膜上皮内上層にみられる多数の PRP 陽性微小顆粒 (矢印)。
- 図 4: 対照第 2 群の気管粘膜上皮。×4,800, 酢酸ウラニール単染色。mitochondria, myelin 様層状構造を示す vesicle の PRP 陽性所見 (矢印)。
- 図 5: 対照第 2 群の気管粘膜上皮。×23,000 無染色。nuclear envelope, rER, Golgi 装置 (\*) の PRP 陽性所見。
- 図 6: 対照第 2 群で認められる種々の PRP 陽性の vesicle。(6-a): ×9,200, 酢酸ウラニール単染色, (6-b): ×20,000, 酢酸ウラニール単染色。
- 図 7: 対照第 1 群の気管粘膜上皮。×5,400, 酢酸ウラニール単染色。外因性 (HRPO-BαA) の PRP 陽性 vesicle (↑)。内因性の PRP 陽性 vesicle (⇑)。
- 図 8: 対照第 1 群の気管支粘膜上皮。×22,000, 酢酸ウラニール単染色。粘液産生細胞内に外因性 (HRPO-BαA) の PRP 陽性 vesicle。
- 図 9: 対照第 1 群の外因性 PRP 陽性 vesicle。×16,500, 酢酸ウラニール単染色。
- 図10: 本実験群 (HRPO-BαA 注入例) の気管。×400, toluidine blue 染色。粘膜の 1/2 の深さに至る inter-cellular space の PRP 陽性所見 (矢印)。
- 図11: 本実験群 (HRPO-BαA 注入例) の気管支。×400, toluidine blue 染色。intercellular space 及び基底膜の PRP 陽性所見 (矢印)。
- 図12: 本実験群 (HRPO-BαA 注入例) の気管粘膜上皮。×5,000, 酢酸ウラニール単染色。PRP 陽性の vesicle (矢印)。
- 図13: 本実験群 (HRPO-BαA 注入例) の気管支粘膜上皮。×6,000, 酢酸ウラニール単染色。PRP 陽性の大小の vesicle (矢印)。
- 図14: 本実験群 (HRPO 注入例) の管気粘膜上皮。×11,500, 無染色。分泌期の粘液産生細胞。tight junction の部分及び intercellular space の PRP 陽性所見 (矢印)。
- 図15: 本実験群 (HRPO 注入例) 気管粘膜上皮。×30,000, 無染色。tight junction の部分に PRP 陽性。
- 図16: 本実験群 (HRPO-BαA 注入例) の気管粘膜上皮。×30,000, 酢酸ウラニール単染色。tight junction の部分に PRP 陽性。
- 挿入図 (16-a): 正常の気常の気管粘膜上皮。×30,000, 酢酸ウラニールと鉛の二重染色。junctional complex の位置を示す。

