

抗胸膜組織抗血清による滲出性胸膜炎の実験的研究

山口 文 雄
信州大学医学部第1内科学教室
(主任: 草間昌三教授)

Experimental Studies on Exudative Pleurisy by Antiserum against Pleural Tissue

Fumio YAMAGUCHI

Department of Internal Medicine, Shinshu University School of Medicine
(Director: Prof. Shozo KUSAMA)

The present studies were performed to elucidate the mechanism of the development of pleurisy. An antibody against the pleural tissue of the guinea pig was obtained in an outbred white rabbit three weeks after subcutaneous immunization with 1.5mg of extracts of the pleura emulsified in complete Freund's adjuvant. The experimental pleurisy was made in the guinea pigs by one intramuscular injection each of the antiserum. The amount of pleural effusion reached its maximum level three hours after injection of the antiserum. The histological examination revealed thickening of the pleural mesothelium. Infiltration of eosinophils was observed beneath the pleural tissues and among the mesothelial cells. In addition, electron microscopic studies revealed that what were seen as eosinophilic granules under the light microscope were present in the cytoplasm of some of the mononuclear cells. The results suggest that the antibody against the pleura may trigger experimental pleurisy. *Shinshu Med. J.*, 30:225-239, 1982

(Received for publication September 3, 1981)

Key words: experimental pleurisy, eosinophilic pleural effusion

実験胸膜炎, 好酸球形胸水

I 緒 言

胸水貯溜をきたす疾患¹⁾²⁾には腫瘍, うっ血性心不全, 感染, 肺梗塞, 外傷, 肝硬変, ネフローゼ, 膠原病などがあり, 胸水の発生機序³⁾として, ①静水圧の上昇, ②膠質滲透圧の低下, ③毛細管透過性の亢進, ④胸膜 drainage の障害があげられている。毛細管透過性亢進の原因として, 炎症, 悪性腫瘍, 無気肺などがあり, さらに免疫反応が関与することもよく知られている。

Yamamotoら⁴⁾は遅延型過敏反応を応用して作製したモルモット実験胸膜炎の胸水貯溜の機序として毛細管透過性亢進を報告している。また肺吸虫症例⁵⁾で血

清および胸水の IgE 値が上昇し, 肺吸虫に特異的な IgE は局所で産生され, これらの抗原抗体反応が毛細管透過性を亢進させ胸水貯溜がおきると報告されている。さらに全身性エリテマトーデス (SLE), 慢性関節リウマチに合併した胸膜炎の原因として免疫学的機序, 主として免疫複合体が関与しているとする報告⁶⁾や, SLE の胸水における LE 現象の報告⁷⁾もある。Ohkubo ら⁸⁾は結核性胸水中のリンパ球の purified protein derivative (PPD) による幼若化反応は末梢血に比し著しく高く, この局所における反応には, helper T 細胞がおもに関与していると報告している。金井らの報告⁹⁾では自然気胸においても 46例中 36例 (78%) に胸部 X 線写真上胸水貯溜像を認めており,

この胸水中の細胞について検討した8例中4例で著明な好酸球増多がみられており、ガスまたは胸膜の機械的刺激などによる、胸膜を病変の場とする免疫学的な機序により胸水の貯溜、好酸球増多がおこるのであらうと推定している。

以上のように免疫反応にもとづく胸水貯溜は、臨床例および動物実験でも既に報告されているが、これまでの報告例には胸膜組織を抗原とした抗原抗体反応による胸膜炎は試みられていない。著者は胸膜組織を抗原として抗体を作製し、この抗体を用いて実験胸膜炎の作製は可能か、またその場合の胸水の性状、胸膜炎の組織像はどのようなものであるかなどの点を解明するためにモルモットを用いて実験を行った。

モルモット胸膜より得た粗抽出物を抗原として家兎に免疫し、この家兎より採取した血清（以下抗血清）をモルモットに筋注するという方法で作製した実験胸膜炎とその病態について免疫学的検索を含めて検討し若干の知見を得たので報告する。

II 方 法

A 抗血清の作製

ホルマリン吸入により屠殺した体重400—500gのハートレー系白色モルモット80匹を開胸し、縦隔側胸膜を採取した。縦隔側以外の臓側胸膜と壁側胸膜は剝離困難で採取不能であった。採取した胸膜の組織像は1層の中皮細胞に結合織が付着したもので、湿重量は1.3gであった。これに生理食塩水10mlを加え、ガラス製のホモジナイザーを用い、氷冷しながらモーターで攪拌してホモジナイズし、そのhomogenateをBronson社製 Sonifier B-12を用い100W 5分間超音波処理した。10,000rpmで30分間遠沈し蛋白濃度30mg/dlの上清10mlを得た。この上清5mlに生理食塩水5mlとcomplete Freund's adjuvant(CFA)10mlを加えてエマルジョンを作り、これを抗原として体重3kgの家兎(1羽)の背部皮下40カ所に注入した。抗原注入前に家兎の耳染より採取した前血清と、抗原注入後3週目の血清を56°C 30分間処理して非働化し、マイクロプレートを用いる補体結合反応微量法で抗体価を測定した。すなわち、gelatin veronal buffer (GVB) 0.025mlを各穴にdropperを用いて入れ、前血清と抗血清をdiluterを用いて倍々稀釈し、稀釈抗原液の0.025mlとモルモット補体0.3CH50単位の0.025mlを加えて37°C 1時間培養後、溶血素で感作した 2×10^8 /mlの羊赤血球0.025mlを加え

てさらに37°C 1時間培養した。非溶血を示した抗体の最大稀釈度を以って抗体価とした。その結果、図1に示すように512倍の抗体価の上昇がみられた。抗体価が512倍に達した家兎の耳静脈より2.5%チオペンタールナトリウム溶液3mlを注入して麻酔し、頸動脈よりベニユーラ針を挿入して採血し血清80mlを得た。この抗血清の40mlを硫酸アンモニウム1/2飽和沈澱法で処理しアルブミンを除去した後、pH7.6, 0.15Mリン酸緩衝食塩水(以下PBS)を用いて透析により硫酸アンモニウムを除いた。これを丸底フラスコに入れ、真空ポンプで緩徐に吸引して濃縮し、4mlとした。径2.5cm、長さ85cmのSephadex G-200 columnをPBSでequilibrateした後、濃縮した抗血清をのせ、PBSで溶出を行い、4ml宛試験管110本までfraction collectorで採取した。各fractionの蛋白量を光電比色計のUV280nmの吸収で測定した。結果は図2の如く試験管No.43-45にピークがみられた。各fractionの補体結合反応による抗体価はNo.41から47にかけて320倍を示した。これら抗体価が高値を示したNo.41から50の10本の試験管の抗血清40mlをブールし、millipore filterを通して滅菌し抗血清として用いた。

なおこの抗血清をモルモット肝粉末で吸収後、その抗体価を補体結合反応で測定したが吸収前後で抗体価に差はみられなかった。

B 実験胸膜炎の作製ならびに検索内容

上述の滅菌抗血清を300倍稀釈し、その0.2ml(蛋白量0.013mg)を、体重約300gのモルモット27匹の右大腿内側に筋注した。筋注後1, 3, 6, 12, 24, 48時間で軽くエーテル麻酔をした後、モルモットを解剖台に固定し左右頸動脈を露出した。開胸時、胸腔内に血液が混入するのをさけるため、呼吸停止をおこすまで頸動脈より完全に脱血し、肺の虚脱を防ぐために気管を閉塞して開胸後、パストールピペットで胸水を吸引しその量をメスピペットにより測定した。胸水中細胞数をチュルク液とトーマ計算盤を用い、また蛋白濃度を血清蛋白計でそれぞれ測定した。さらに胸水の塗沫標本にギムザ染色を施し、白血球百分率の分類を行った。また末梢白血球数および百分率は脱血時に採取した血液で算定した。正常モルモット3匹および抗血清筋注後1, 3, 6時間の各3匹について50%溶血法で末梢血補体価を測定した。

組織学的検索としては、採取した壁側胸膜の一部、気管を含めた左右上葉と肺門部を含む左右中下葉の一

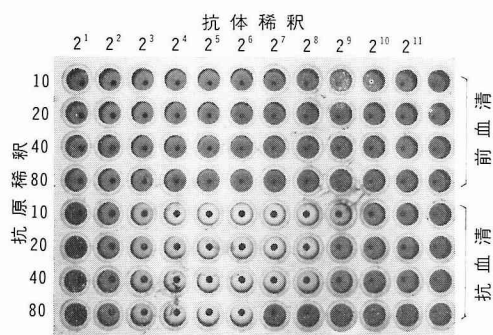


図1 補体結合反応による抗体価の測定

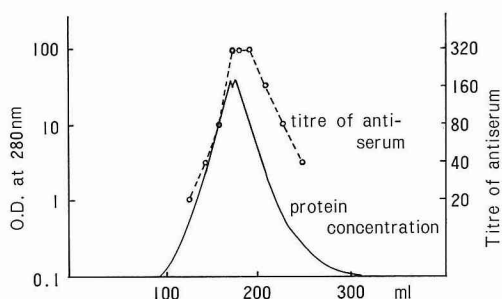


図2 Sephadex G-200 column による抗血清の分画

部、さらに腹部正中切開で開腹した時の右側の腹膜の一部、腎の一部を10%ホルマリンで固定後、ヘマトキシリン・エオジン染色標本を作製して光顕的観察を行った。さらに抗血清筋注3時間の3例では、壁側胸膜、臓側胸膜を含む肺下葉および胸水の凝固沈澱した部分を2.5%グルタルアルデヒドで固定後、1%オスミウム酸で後固定し、脱水、エポキシ樹脂に包埋後、超薄切片を作製し、酢酸ウラニル、クエン酸鉛の二重染色を施し、日立製作所製 HS-8 電子顕微鏡で観察した。なお対照群として、正常無処置群では8匹につき検

索した。正常家兔血清筋注群では、正常家兔血清を硫酸アンモニウム 1/2 飽和沈澱法で処理しアルブミン除去後、処理前の血清量と等量の生食溶液としたものを300倍稀釈し、その0.2mlを18匹のモルモットに筋注し、1, 3, 6, 12, 24, 48時間後に抗血清筋注群と同様に処置し、胸水貯溜の有無、胸膜肺組織の変化について光顕的検索を行った。

III 結 果

A 胸水量、胸水中白血球数と百分率および蛋白濃度

1 胸水量 (表1)

正常無処置対照群および正常家兔血清筋注群では、いずれの時間においても胸水の貯溜はみられなかった。実験群ではすべての時間で胸水の貯溜を認め、最大を示した時間は筋注後3時間でその量は 0.47 ± 0.33 ml であった。

2 胸水中白血球数 (表1)

胸水中白血球数は単位体積あたりの白血球数および全白血球数について検討した。単位体積あたりの白血球数は1時間後より増加するものが多いが一定の傾向はみられなかった。胸水中全白血球数は3時間で最大 $10.19 \pm 3.68 \times 10^6$ を示した。



図3 単核球中の好酸球 ギムザ染色 $\times 1,500$

表1 抗血清筋注群の胸水量、白血球数および蛋白濃度

例数	時間	胸水量 (ml)	白血球数 ($10^3/\text{cmm}$)	全白血球数 (10^6)	蛋白濃度 (g/dl)
6	1	0.15 ± 0.03	25.3 ± 4.7	3.80 ± 1.56	2.5
5	3	0.47 ± 0.33	21.7 ± 13.2	10.19 ± 3.68	3.0
5	6	0.11 ± 0.03	34.8 ± 14.2	3.83 ± 2.12	2.3
4	12	0.05 ± 0.03	28.8 ± 6.8	1.44 ± 0.54	3.2
4	24	0.10 ± 0.05	42.7 ± 10.3	4.27 ± 2.58	3.5
3	48	0.01	11.0 ± 2.6	0.11	—

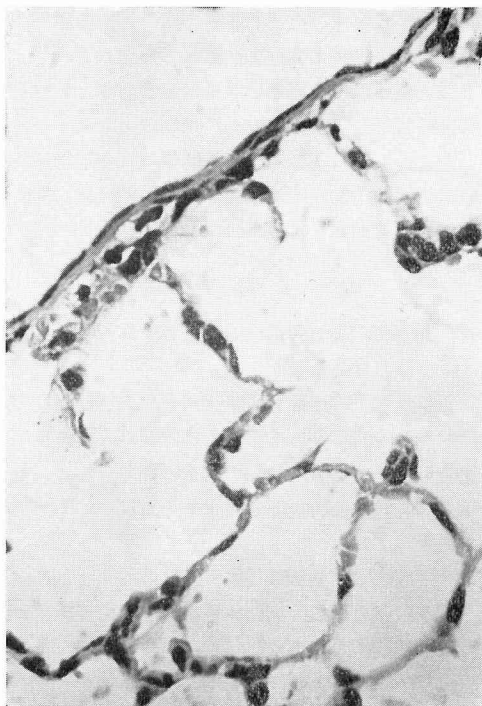


図4 正常臓側胸膜 HE ×600

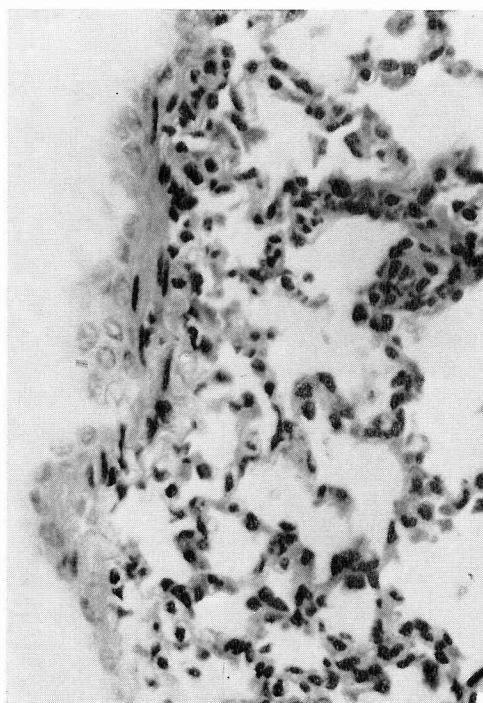


図5 抗血清筋注3hrの臓側胸膜
HE ×300

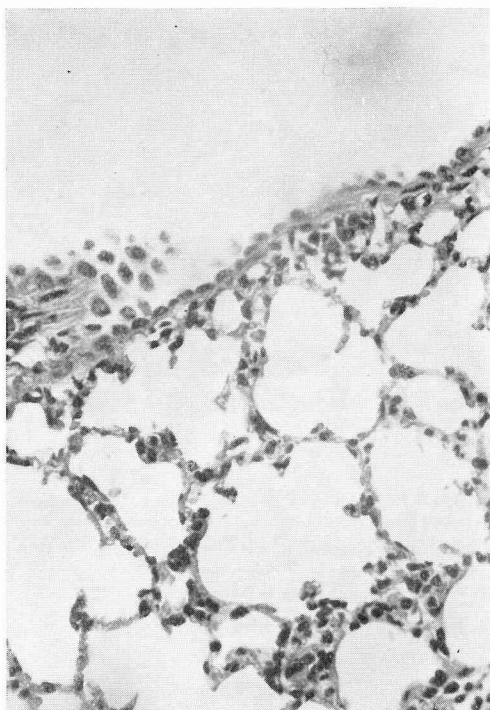


図6 抗血清筋注12hrの臓側胸膜
HE ×300

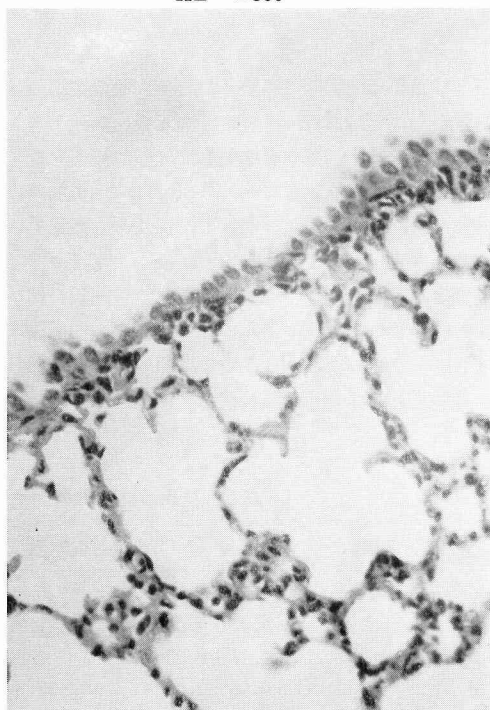


図7 抗血清筋注24hrの臓側胸膜
HE ×300

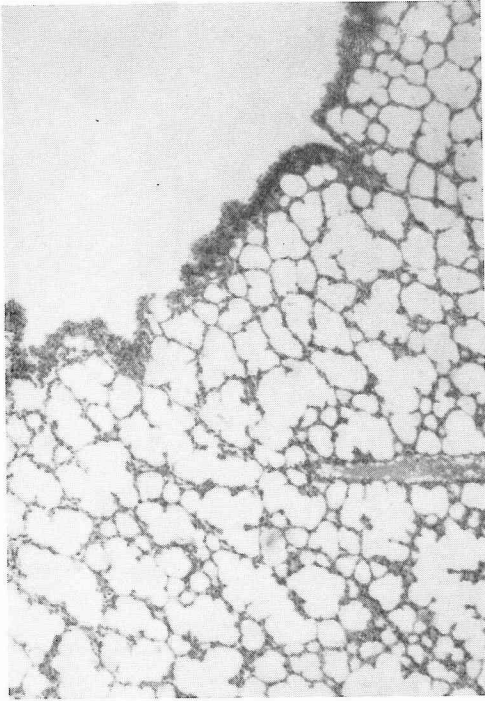


図8 抗血清筋注 48hr の臓側胸膜
HE ×60

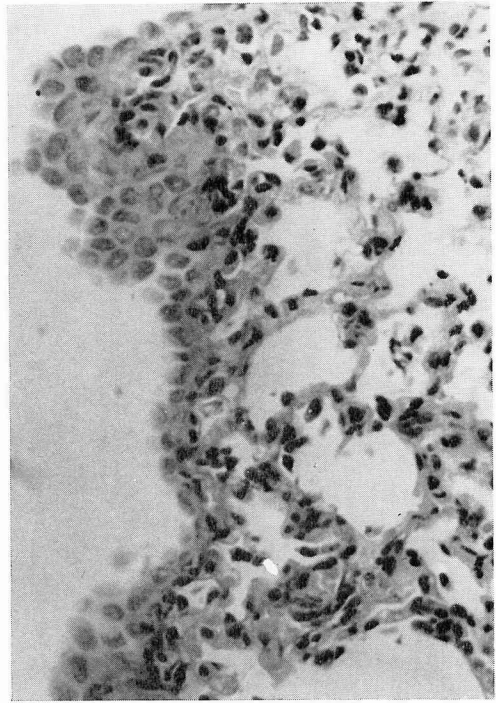


図9 抗血清筋注 48hr の臓側胸膜
HE ×300

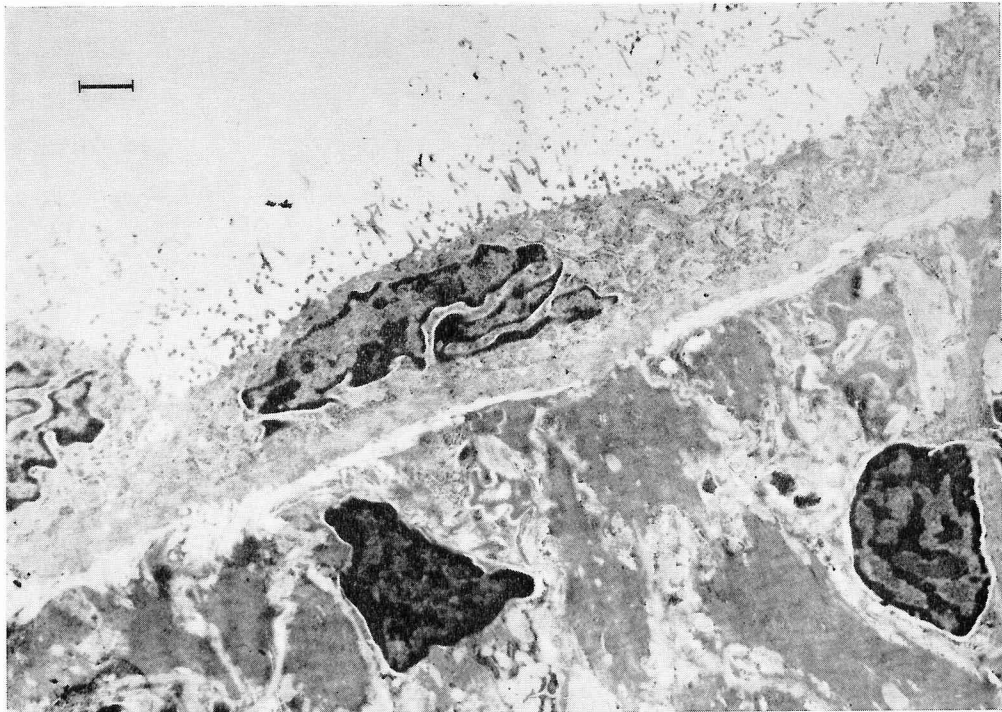


図10 正常臓側胸膜 ×7,000

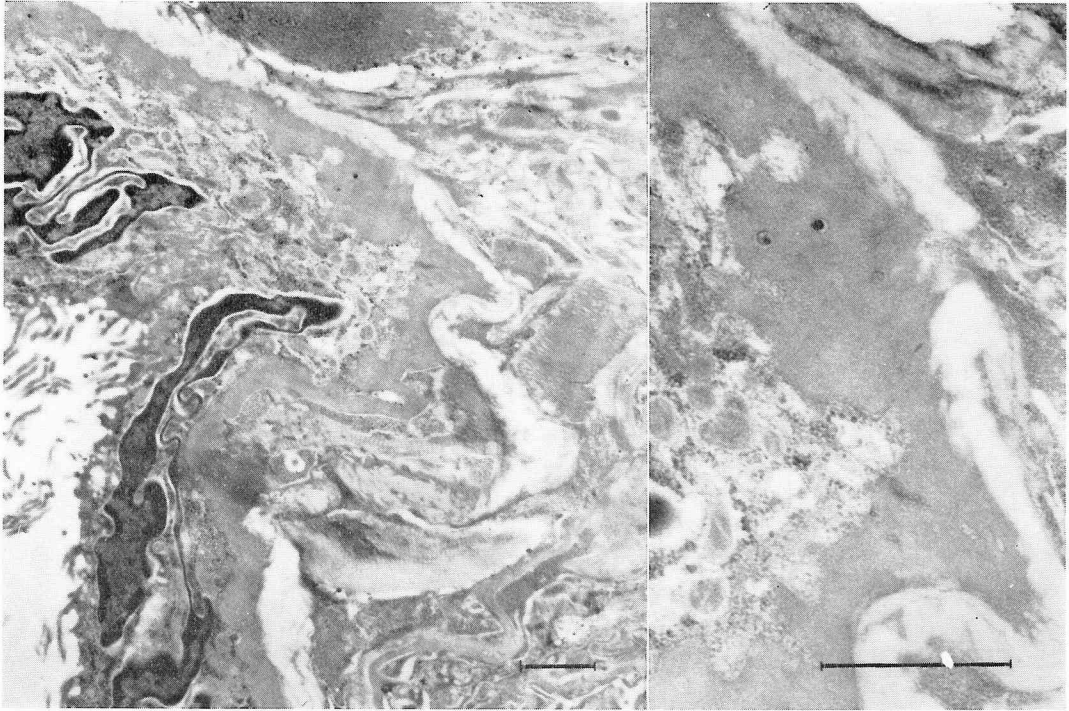


図11 抗血清筋注 3 hr の臓側胸膜 ×10,000

×25,000

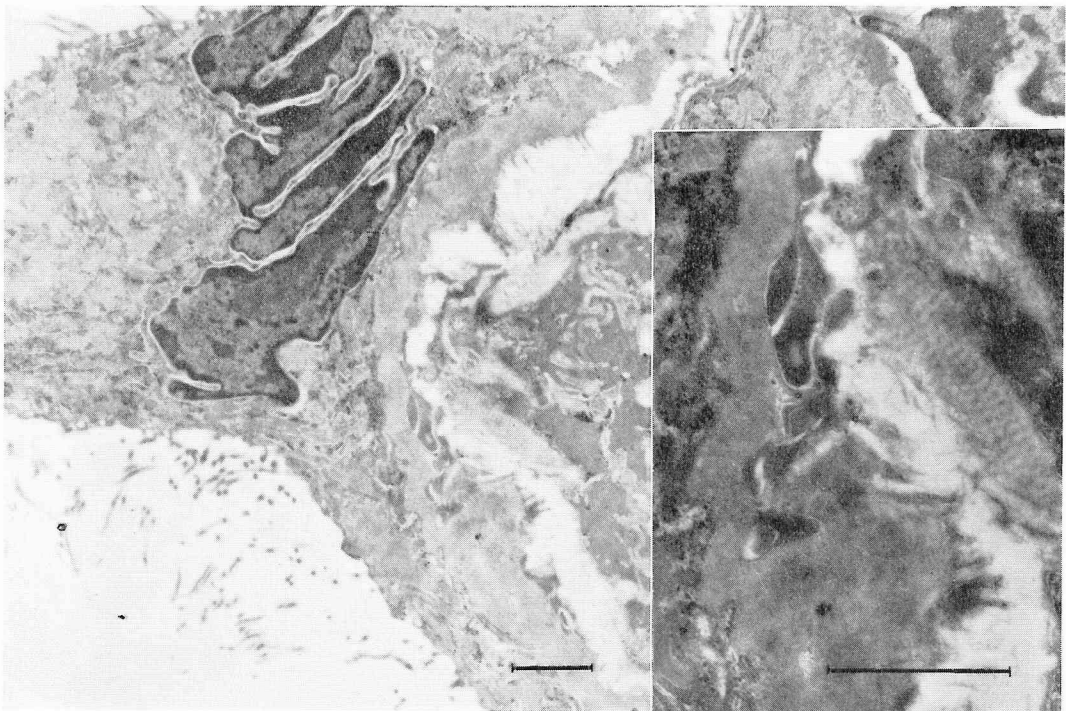


図12 抗血清筋注 3 hr の臓側胸膜 ×10,000

×25,000

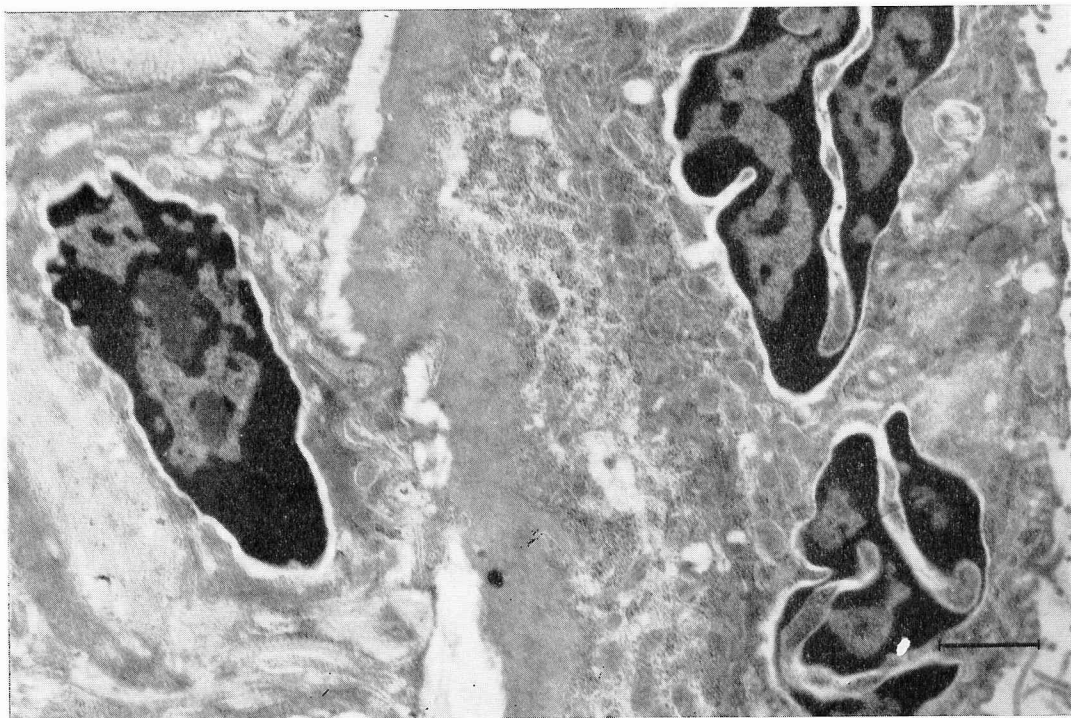


図13 臓側胸膜の基底膜に接した単核球 ×13,000

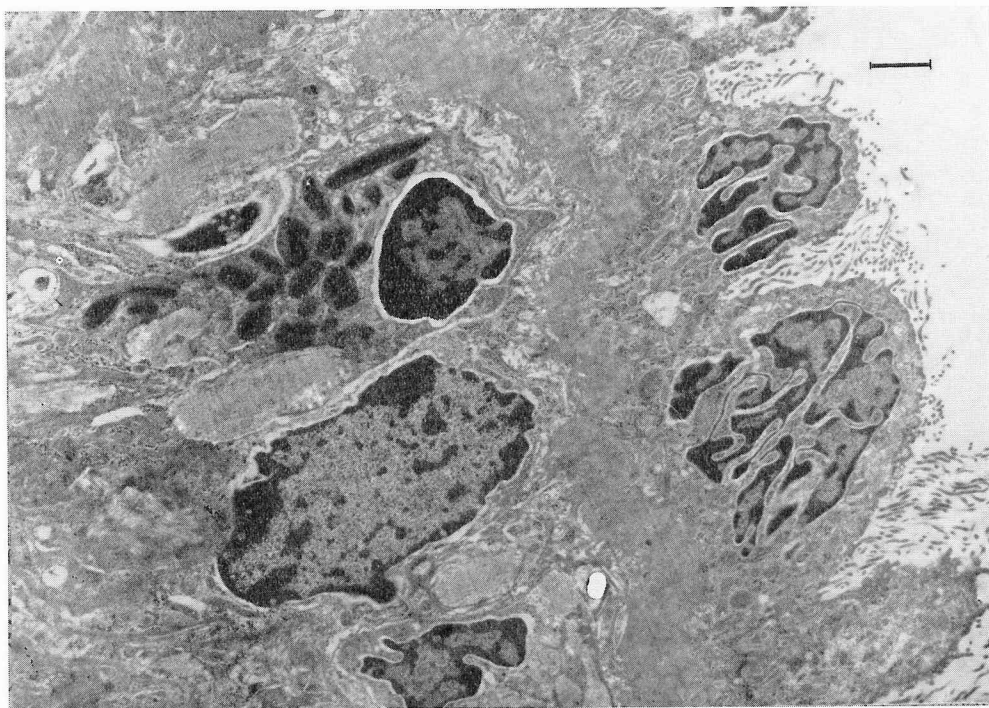


図14 臓側胸膜の中皮下層にみられた好酸球 ×7,000

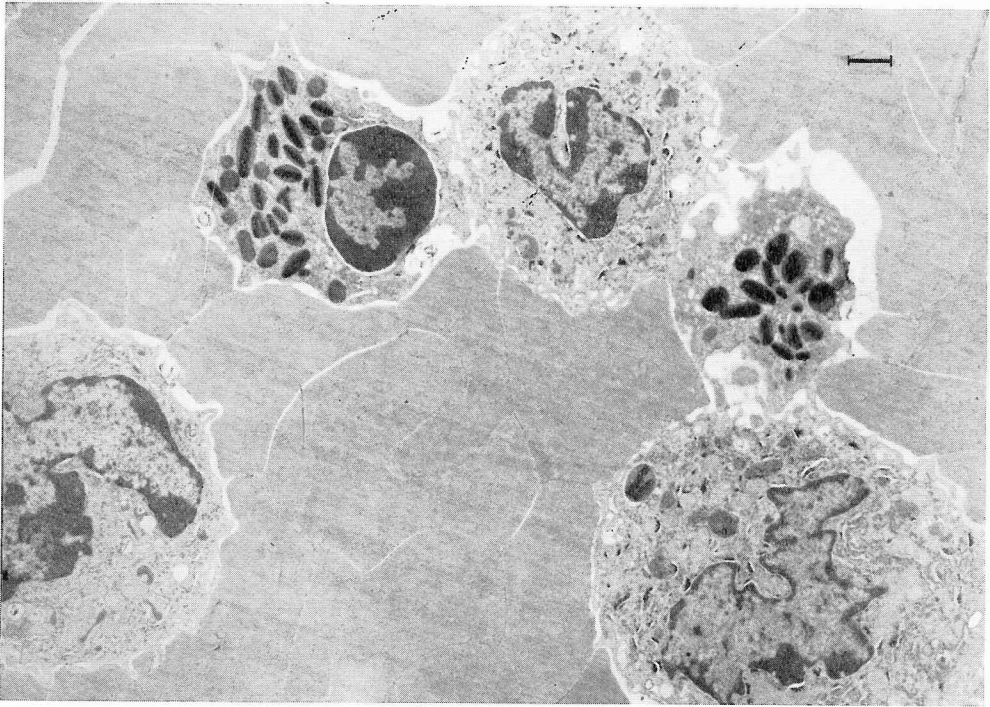


図15 胸水中好酸球 ×5,000

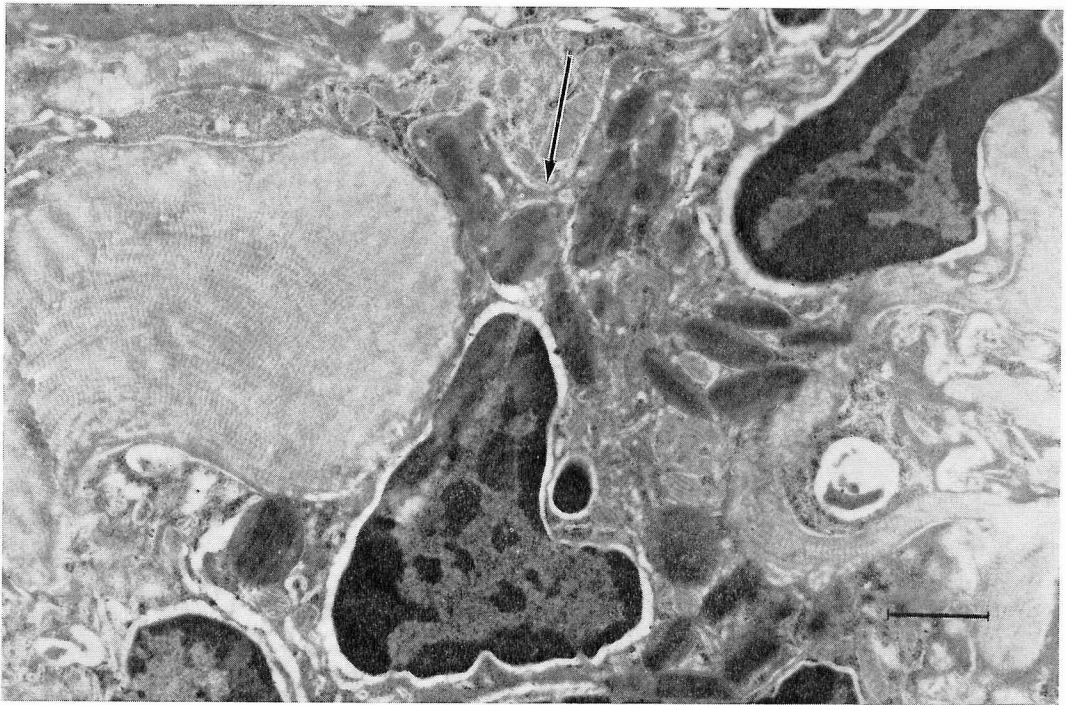


図16 変性した好酸球特殊顆粒 (矢印) ×13,000

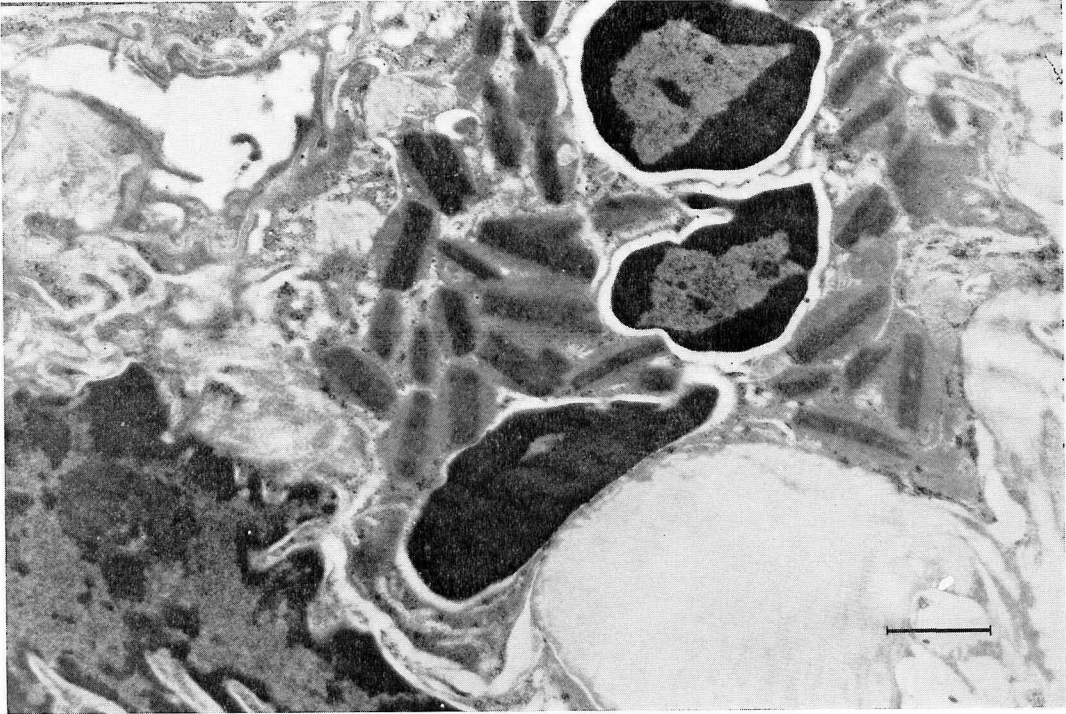


図17 好酸球に接した膠原線維 ×13,000

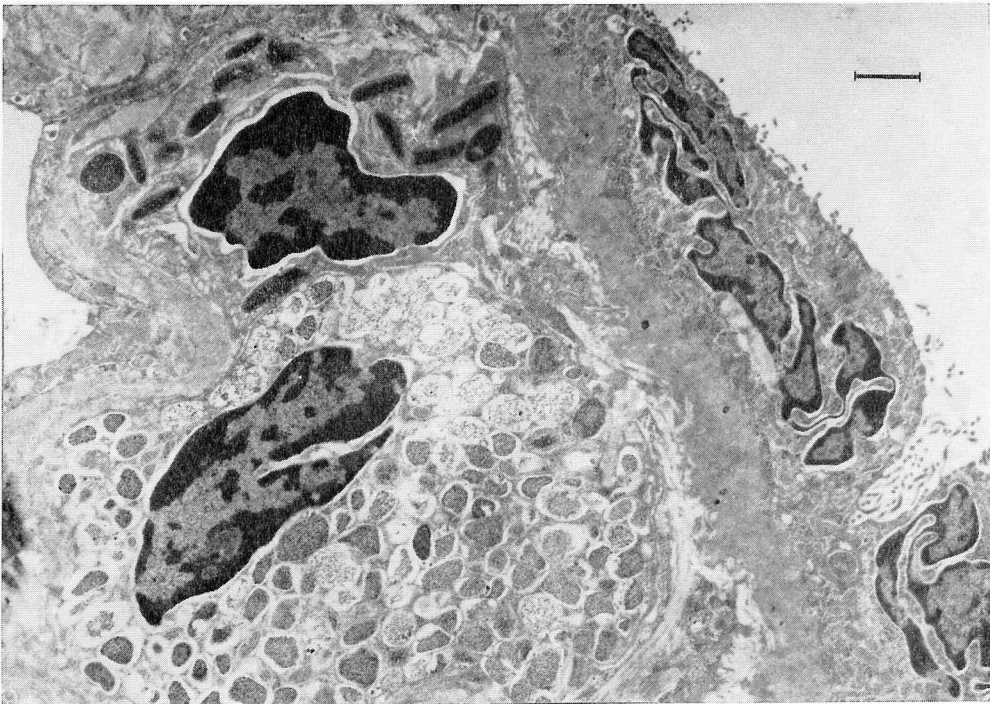


図18 肥満細胞に接した好酸球 ×8,500

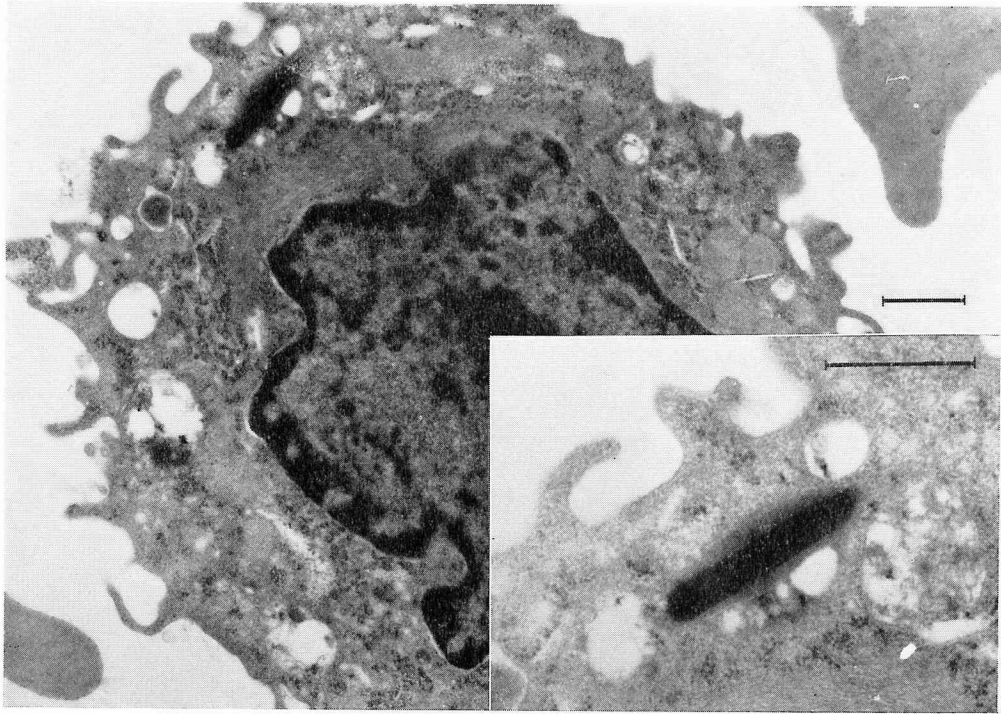


図19 単核球中の好酸球特殊顆粒 ×11,000

×20,000

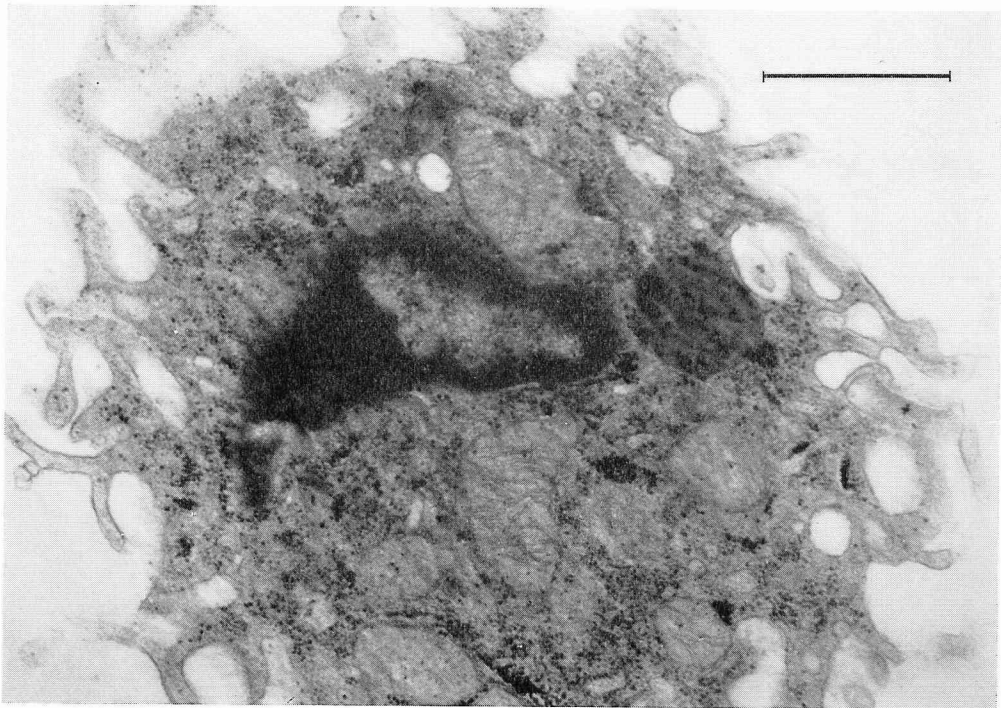


図20 胸水中マクロファージ ×25,000

表2 抗血清筋注群の胸水中白血球百分率

例数	時間	全白血球数 (10^6)	白血球百分率 (%)			
			単核球	好酸球	好中球	その他
6	1	3.80±1.56	70.1	28.7		1.2
5	3	10.19±3.68	85.1	13.5	1.4	
5	6	3.83±2.12	65.3	34.1		0.6
4	12	1.44±0.54	72.3	27.7		
4	24	4.27±2.58	77.4	22.6		
3	48	0.11	55.3	44.7		

その他：単核球中に好酸球をみとめたもの。

表3 対照群および抗血清筋注群の末梢血白血球数および白血球百分率

時間	白血球数 (/cmm)		白血球百分率 (%)					
	対照群	抗血清群	対照群			抗血清群		
			単核球	好中球	好酸球	単核球	好中球	好酸球
1	5,100	8,050	74.3	25.4	0.3	62.3	36.1	1.6
3	4,530	5,350	68.4	31.4	0.2	85.5	14.5	
6	4,610	8,650	70.1	29.3	0.6	75.0	23.5	1.5
12	4,540	6,450	73.8	26.2		63.0	34.5	2.5
24	4,630	3,960	70.4	29.0	0.6	80.4	17.0	2.6
48	4,700	9,040	69.7	30.2	0.1	65.2	26.4	8.4

3 胸水中白血球百分率 (表2)

一般に胸水中の細胞の種類は、リンパ球、単球、好酸球、好中球、中皮細胞などである。その他に好酸球を貪食した単核球と思われる細胞 (図3) が少数みられた。白血球百分率はリンパ球と単球を合わせた単核球が最も多く、ついで好酸球が多かったが、好中球は少数であった。48時間では好酸球が44.7%と多かった。

なお、正常モルモット3匹の胸腔の生食水による洗浄液中の白血球百分率は平均で単核球81.2%、好酸球18.8%であった。

4 胸水中蛋白濃度 (表1)

胸水中蛋白濃度は2.3g/dl から3.5g/dl の間にあり、時間的に一定の傾向はみられなかった。

B 末梢血白血球数およびその百分率

1 末梢血白血球数 (表3)

正常モルモット3匹の末梢血白血球数は、5,400±1,134/cmm であった。抗血清筋注群では、48時間後に最大の9,040/cmm を示したが、経時的に一定の傾向はみられなかった。正常家兎血清筋注群では4,530-5,100/cmm の範囲にあり、経時的にもほとんど変

化はなかった。

2 末梢血白血球百分率 (表3)

正常モルモット3匹での平均値は単核球75.2%、好中球24.5%、好酸球0.3%であった。抗血清筋注群では48時間で好酸球8.4%と最大を示した。対照群では経時的にほとんど変動はなかった。

C 末梢血補体価 (表4)

正常モルモット3匹の補体価 CH50 は292.4±8.6 U/ml であった。抗血清筋注後1時間では229.6±20.5 U/ml となり、3時間後には185.2±1.9U/ml と減少したが、6時間後には235.1±5.9U/ml とやや回復する傾向がみられた。

表4 抗血清筋注群の末梢血補体価 CH50

例数	時間	CH50±S. D. (U/ml)
3	0	292.4 ± 8.6
3	1	229.6 ± 20.5
3	3	185.2 ± 1.9
3	6	235.1 ± 5.9

表5 臓側胸膜の組織所見(例数)

組織所見	対照群	3時間	12時間	24時間	48時間
—	4				
±	4				
+		6	1	3	5
++				2	1
計	8	6	1	5	6

- : 中皮細胞が扁平である場合
- ± : 中皮細胞の立方化がみられる場合
- +
- ++ : 中皮細胞の3層以上の形成がみられる場合

D 組織学的検索

1 光顕的観察

正常モルモットの壁側胸膜は、1層の扁平な中皮細胞によっておおわれ、核は長楕円形、楕円形ないしは円形で胸膜表面に平行に走り、中皮の真下に結合織性の細線維がみられ、さらに深部は疎な構造を示して細血管、リンパ管、少数の遊走細胞、結合織細胞、一部に脂肪組織があり、その外側に肋間筋および軟骨の骨膜が接していた。

抗血清筋注後3時間の壁側胸膜では、一部に中皮細胞の核の腫大または中皮細胞が2~3層の多層化を示し、配列が乱れ直下の組織には浮腫がみられた。胸膜下の血管は拡張し好酸球をその周囲および中皮細胞層の直下にみとめ、一部は胸腔内に遊走していた。

筋注後6時間では、胸膜中皮は丘状に膨隆し著しく菲薄になり、核をみとめる部分は少なく、所々に胸膜の離断があり、その直下は浮腫状で支持組織の消失した部分が多く、浮腫が著しかった。少数の好酸球が散在し、静脈内には血液が充満していた。

筋注後48時間では壁側胸膜は大部分1層の扁平な中皮でおおわれ、その一部に核の腫大がみられたが著しい浮腫はなかった。静脈腔は赤血球がやや多く内腔が中等度に拡張していた。

一方、臓側胸膜の変化をみると、正常モルモットでは1層の中皮細胞でおおわれ、核は長楕円形ないし楕円形で扁平な構造を示すが、所により表面よりやや突出している部分もあった。中皮細胞直下には好酸球の散在する所もあり、さらに著しく細長い核をもった平滑筋細胞がみられ、その密度は肺の部位によって差があった(図4)。

抗血清筋注後3時間では、大部分の中皮細胞核が腫大し、一部の中皮細胞は2ないし3層にかさなってみ

え、核の形は楕円形を示すものが多く、核小体をみとめるものもあった。また胸腔内に突出したり、剝離寸前の中皮細胞もあり、胸膜腔に面する辺縁が不鮮明であった。中皮細胞直下の好酸球も正常例に比しその数が多かった(図5)。

筋注後6、12時間ではほぼ同様の所見であったが、筋注後24、48時間では中皮細胞核の多くは腫大かつ膨化し、中皮細胞は2層ないし一部は多層にかさなって見え、不整形を示すなど、正常に比し明らかに異常所見を示した。胸膜直下の毛細血管の増生はなかった(図6、7、8、9)。

なお肺内の変化としては肺中隔の肥厚が部分的にみられ、肺泡内に炎症所見はないが血管周囲組織に単核球の細胞浸潤がみられた。腎、腹膜に著変はなかった。

以上、光顕所見として壁側胸膜における胸膜下の浮腫および臓側胸膜における中皮細胞の重層化が著明であったが、壁側、臓側胸膜ともに好酸球以外の細胞浸潤の所見はなかった。正常家兎血清筋注群では筋注後24時間の1例において、一部の中皮細胞核の軽度腫大が観察されたが、中皮細胞が多層にかさなってみえる所はなかった。表5は抗血清筋注群における臓側胸膜の組織所見をまとめたものである。正常無処置群では中皮細胞の立方化が一部にみとめられる程度であるが、実験群では3時間以後、48時間まで中皮細胞の立方化傾向の増大、中皮細胞の重層化などの変化をみとめた。

2 電顕的観察

正常モルモットの胸膜中皮細胞は1層の扁平な細胞よりなり、表面に微絨毛がみられ、細胞直下に基底膜が一定の厚さで走行し、細胞間に desmosome がみられた(図10)。

抗血清筋注後3時間では中皮細胞が立方状となり細胞質内のグリコーゲン顆粒が豊富でミトコンドリアが増加していた。核は切れ込みが目立ち不整形を示した。一部の中皮細胞にはたけの高い微絨毛の発達がみられた。基底膜は正常に比し肥厚しており、所によって蛇行しその厚さも不規則で、限局性に著しく肥厚している部分もあり、弾性線維に移行していた(図11)。基底膜の固有層側は鋸歯状に凹凸を示す部分がみられ、電子密度の高い所もあり(図12)、また基底膜に単核球が接触し、その細胞質の一部が基底膜に彎入している所見もみられた(図13)。

正常群では好酸球が中皮下層に観察されるのみであったが、抗血清筋注後3時間例では好酸球が毛細血管

内、毛細血管周囲、中皮下層(図14)、中皮細胞間隙、胸水中(図15)にみられた。好酸球の細胞質内には、紡錘形で桿状の電子密度の高い中央板を芯に有する特殊顆粒が多数みられた。これらの特殊顆粒の大部分は特に異常なかったが、一部の特殊顆粒には中央板が崩壊した部分(図16)がみられ、その形状にも変化があった。また一部変性のある巾の広い膠原線維が好酸球に接している部分がみられた(図17)。肥満細胞に好酸球が接触するか(図18)、肥満細胞の近傍に好酸球が存在する所見が随所にみられた。肥満細胞の細胞質内の顆粒は豊富で種々の電子密度を示し、結晶構造はみられず粒状で、好酸球が接している側の細胞質内顆粒は電子密度が低下し、一部に空胞がみられた。胸膜下の毛細血管壁に沈着物はみられず、フィブリンの析出も観察した範囲ではなかった。

胸水中の好酸球(図15)は、特殊顆粒が正常所見を示すものから、顆粒の辺縁が不明瞭で膨化し、中央板の電子密度が低下して明らかに変性と考えられる所見を示すものもみられた。胸水中には多くのマクロファージがみられ、好酸球に接触したり、一部のマクロファージの細胞質内に好酸球特殊顆粒が貪食された所見(図19)をみとめた。胸水中のマクロファージは核が腫大し、切れ込みが目立ち、表面の微絨毛は発達して、一部は分枝状構造(図20)を示し、多数の腫大したミトコンドリア、lysosome または phagosome がみられるなど、活発な機能を示すことがうかがわれた。

その他の電顕所見として、少数の好中球および剝離した中皮細胞が胸水中に観察され、中皮細胞の細胞質は著しく細長く空胞が多数みとめられた。胸腔内にフィブリン物質、また特殊な沈着物をおもわせる所見はなかった。

IV 考 察

滲出性胸膜炎の発症機序とアレルギーの関係については、結核アレルギーにもとづく遅延型過敏反応による胸膜炎があることはほぼ確立されている。しかし即時型過敏反応による胸膜炎の発症に関してはいまだ十分に解明されていない。

これまでの実験胸膜炎の作製方法としては、結核性胸膜炎の発症機序を追求した Takeda と Sinpo¹⁰⁾ の実験家兎胸膜炎がある。これは牛血清あるいは七面鳥の血液を抗原として家兎に静注あるいは胸腔内投与により感作したあと、抗原を再度静注、胸腔内投与あるいは経気管支的に注入して胸膜炎を作製したもので、

その“病変形式はアレルギー反応の基礎形式に一致する”ものであるとした。Thorusrud¹¹⁾ は胸膜癒着の方法を追求して化学物質、血清、種々の気体、細菌毒素などに対する胸膜の反応について検索した。シュワルツマン反応を呈する *Escherichia coli* の毒素を家兎胸腔内に注入し、24時間後に細菌毒素を静注したところ胸水貯溜がみられたと報告している。Sahn と Potts¹²⁾ は、テレピン油による実験胸膜炎の胸水で酸度と糖濃度について報告している。Kaplan ら¹³⁾ は実験胸膜肺臓炎として bovine serum albumin (BSA) で家兎を感作したあと胸腔内に BSA を注入して challenge したところ、胸膜および肺に変化がみられ、この胸膜・肺の反応は、蛍光抗体法による肺への免疫複合体の沈着の証明、血清補体価の低下、片側の胸腔への challenge にもかかわらず両側に変化をおこしていることより、免疫複合体による病変であるとしている。遅延型過敏反応による実験胸膜炎としては、Yamamoto ら⁴⁾¹⁴⁾ の方法がある。これは CFA でモルモットを感作後、PPD をモルモット胸腔内に注入して作製する方法である。この実験胸膜炎では血管透過性亢進が12時間から18時間にかけて、単核球が好中球より優位となる反応が12時間から48時間にかけてそれぞれ最大となり、補体の関与はなく、この胸水中に抗原依存性の migration inhibition factor (MIF) の存在を認めたことより、このモルモット実験胸膜炎は遅延型過敏反応によるものであるとしている。

著者はモルモット胸膜の粗抽出物を抗原として家兎を免疫し、得られた抗血清をモルモットに1回筋注する方法すなわち inverse antigen-antibody reaction により滲出性胸膜炎を作り得た。本実験の胸水量は体重300gのモルモットにおいて最大1mlであったから、Yamamoto らの実験における400~600gのモルモットで5ml、Takeda と Sinpo の実験家兎胸膜炎の5~50mlに比較するとその量は少ないといえる。胸水中細胞数は Yamamoto らの実験で1,700~20,000/cmm であり、Takeda と Sinpo の実験では8,000~45,000/cmm であったが、著者の実験では11,000~42,700/cmm であった。胸水中細胞数は滲出機序の強さを示す指標の一つと考えられるので、本実験胸膜炎は他の実験胸膜炎に比し同等か若しくはそれ以上に強い滲出機序があるものと考えられる。胸水中細胞についてみると、Takeda と Sinpo の実験では好塩基性細胞が主体であり、Yamamoto らの実験では最初好中球が優位で12時間から48時間にかけて単核球が

好中球を貪食している像がみられたりして単核球が優位となっている。著者の実験胸膜炎では単核球が多く、好酸球が多かったが、好酸球を貪食したと思われる単核球が少数ながらみられ、また好酸球特殊顆粒が単核球の細胞質内にみられるものもあった。好酸球の機能の一つとして免疫複合体を貪食する作用¹⁵⁾¹⁶⁾があり、さらに Kay¹⁷⁾によれば、あらかじめ抗原抗体結合物をつくっておいてこれをモルモットの皮内に注射すると好酸球の浸潤がみられたと報告しており、本実験においても抗原抗体反応に補体が関与して complement-dependent eosinophilotactic factor (ECF-C) が遊離され好酸球の遊走がおこり、この好酸球が抗原抗体結合物を貪食したことが考えられる。

Takeda と Sinpo は実験家兎胸膜炎で胸膜下結合織の類線維素膨化と肺間質の血管周囲に円形細胞浸潤をみとめ胸膜炎の発症にアレルギーの関与することを示唆した。またシュワルツマン反応を用いた Thorusrud¹¹⁾ の実験でも壁側胸膜で中皮細胞の解離、多形性と細胞分裂像、中皮下層の浮腫、細胞浸潤と、一部に本実験と類似の炎症像を呈している。Kaplan¹³⁾ の実験では出血性の肺臓炎と胸膜炎が観察されており、肺の変化としては間質への多形核球の浸潤、血管炎として毛細血管の好中球による閉塞がみられたとしている。本実験では壁側胸膜で中皮細胞下の組織に浮腫、中皮細胞の解離があり、臓側胸膜では中皮細胞の重層化、肺内では血管周囲に単核球の細胞浸潤がみられた。電顕で得られた、胸膜直下の肥満細胞、基底膜の不規則な肥厚、好酸球の胸腔内への遊走の所見は、胸膜の透過性亢進を裏付ける所見と考えられる。

馬杉腎炎における抗腎抗体の特異性については議論のある所であるが、Goodman と Baxter¹⁸⁾ は胎盤、肺、心、腸管に対する抗体によっても nephrotoxic nephritis が惹起されることにより、これら臓器に類似の抗原性があることを示した。また清水¹⁹⁾ は気管・気管支粘膜血清を家兎に静注する実験で、気管および主気管支の粘膜固有層に fibrin 染色陽性の細線維の増生をみとめると同時に、肺胞壁あるいは細気管支壁にマッソン体類似の芽状膨出物をみとめている。本実験において抗血清を作製する際の抗原すなわちモルモット胸膜は、開胸時に剝離した中皮細胞、基底膜、結合織を含む胸膜を採取した。したがって胸膜以外にも反応をおこす抗体が得られ、それによって肺胞中隔の肥厚がおきた可能性があるが、モルモットの場合、中皮細胞、基底膜、中皮下層ですぐ肺胞、肺胞中隔と近

接しているために胸膜の病変が、肺間質に波及したことも考えられる。抗胸膜抗血清により肺胞中隔の部分的肥厚がおきた理由については今後の課題として残る。

以上より、本実験においては抗血清の筋注により胸膜との間に補体が関与する抗原抗体反応がおき、その結果生じた好酸球遊走因子により好酸球が遊走し、抗原抗体結合物を貪食し、この抗原抗体結合物を貪食した好酸球が単核球に貪食されたという過程が推測される。本実験によりモルモット実験胸膜炎を作製し得たこと、また作製方法およびその結果よりこの実験胸膜炎の発症に免疫学的機序が関与していることが確認された。この実験を基礎にしてこの実験胸膜炎の作製方法、意義についてさらに吟味を加えることによって胸膜炎の発症機序の解明に役立つものと考えられる。それに対する薬剤の効果を検討することにより、臨床への応用にも役立つものと考えられる。

V 結 語

胸膜炎の免疫学的機序の一端を知る目的で、モルモット胸膜よりの粗抽出物を抗原として家兎を免疫して抗血清をつくり、この抗血清をモルモットの大腿部に筋注し実験胸膜炎の作製を試み、次の結果を得た。

- 1) 抗血清を筋注したモルモットを 1, 3, 6, 12, 24, 48 時間で検索し全例に胸水の貯溜をみとめたが、対照群では胸水の貯溜がみられなかった。
- 2) 胸水量および胸水中細胞数からみた胸膜における反応は、筋注後 3 時間をもっとも強かった。
- 3) 胸水中の細胞およびその種類は、単核球がもっとも多く、ついで好酸球が多かった。好中球は少数であった。
- 4) 血清補体価 CH50 は抗血清筋注後 3 時間まで減少し、6 時間では回復する傾向がみられた。
- 5) 組織学的所見では、抗血清筋注群で胸膜中皮細胞の重層化をみとめ、とくに臓側胸膜に著明であり、胸膜に好酸球浸潤がみられた。また電顕所見では、抗血清筋注群で中皮細胞のミトコンドリア、グリコーゲンの増加がみられ、胸水中の単核球内に好酸球特殊顆粒がみられた。

以上のごとく、抗血清筋注によりモルモット実験胸膜炎を作製し得た。この結果より、胸膜炎の発症機序のひとつとして免疫反応が関与していることが推定された。

稿を終るにあたり御指導と御校閲をいただいた草

間昌三教授に衷心より感謝の意を表します。また御
言いただいた半田健次郎助教授、望月一郎講師、高橋
俊彦氏に深甚の謝意を表するとともに、御協力いた
いた和田茂比古助手をはじめとする本教室免疫グルー

プの諸氏に謝意を表します。

本論文の要旨は第18回(昭和53年4月)日本胸部疾
患学会総会において発表した。

文 献

- 1) Leuallen, E.C. and Carr, D.T. : Pleural effusion. *New England J Med*, 252 : 79-83, 1955
- 2) 河合 健, 山田幸寛, 相沢好治, 金子クニ子, 青柳昭雄, 藤野忠彦, 中山昇二, 木村 武, 五味二郎 : 胸膜炎の臨床的研究. *日胸臨*, 36 : 812-819, 1977
- 3) 吉田精一 : 新内科学大系, 29, p.97, 中山書店, 東京, 1979
- 4) Yamamoto, S., Dunn, C.J., Capasso, F. and Deporter, D.A. : Quantitative studies on cell-mediated immunity in the pleural cavity of guinea-pigs. *J Pathol*, 117 : 65-73, 1975
- 5) Yokogawa, M., Kojima, S., Araki, K., Tomioka, H. and Yoshida, S. : Immunoglobulin E : Raised levels in sera and pleural exudates of patients with paragonimiasis. *Am J Trop Med Hyg*, 25 : 581-586, 1976
- 6) Hunder, G.G. : Pleural fluid complement, complement conversion and immune complexes in immunologic and nonimmunologic diseases. *J Lab Clin Med*, 90 : 971-980, 1977
- 7) Pandya, M.R., Agus, B. and Grady, R.F. : *In vivo* LE phenomenon in pleural fluid. *Arthritis Rheum*, 19 : 962-963, 1976
- 8) Ohkubo, Y., Kusama, S. and Yano, A. : Analyses of surface antigens of purified protein derivative (PPD)-specific human proliferative T lymphocytes and Ia antigen on antigen presenting cells. *Fed Proc*, 40 : 1033, 1981
- 9) 金井久容, 丸山彰彦, 久保恵嗣, 藤井忠重, 望月一郎, 半田健次郎, 草間昌三 : 自然気胸46症例の臨床的検討. *日胸臨*, 36 : 744-751, 1977
- 10) Takeda, K. und Sinpo, K. : Experimentelle Untersuchung über die allergische Pleuritis. *日病会誌*, 25 : 199-200, 1935
- 11) Thorusrud, G.K. : Pleural reactions to irritants, An experimental study with special reference to pleural adhesions and concrescence in relation to pleural turnover of fluid. *Acta Chir Scand Suppl*, 355 : 3-74, 1965
- 12) Sahn, S.A. and Potts, D.E. : Turpentine pleurisy in rabbits : A model of pleural fluid acidosis and low pleural fluid glucose. *Am Rev Respir Dis*, 118 : 893-901, 1978
- 13) Kaplan, R.L., Schocket, A.L., King, T.E., Maulitz, R.M., Good, J.T. and Stanford, R. E. : A model of immune complex-mediated pleuropulmonary injury. *Am J Pathol*, 100 : 115-129, 1980
- 14) Yamamoto, S., Dunn, C.J. and Willoughby, D.A. : Studies on delayed hypersensitivity pleural exudates in guinea-pigs. *Immunology*, 30 : 505-519, 1976
- 15) Franklin, D.Z. : Eosinophil function and disorders. *Adv Intern Med*, 19 : 1-25, 1974
- 16) Grover, W.H., Winkler, H.H. and Normansell, D.E. : Phagocytic properties of isolated human eosinophils. *J Immunol*, 121 : 718-725, 1978
- 17) Kay, A.B. : Studies on eosinophil leucocyte migration I. Eosinophil and neutrophil accumulation following antigen-antibody reactions in guinea-pig skin. *Clin Exp Immunol*, 6 : 75-86, 1970
- 18) Goodman, H.C. and Baxter, J.H. : Nephrotoxic serum nephritis in rats. *J Exp Med*, 104 : 467-485, 1956
- 19) 清水啓介, 望月一郎, 戸塚忠政, 草間昌三, 半田健次郎, 須沢春雄 : 気道疾患の免疫学的機序にかんする実験的研究. *日内会誌*, 60 : 420-430, 1971

(56.9.3 受稿)