

各種間質性肺疾患における BAL 液並びに肺組織中 T-cell subsetの検討

岡山大学医学部第二内科学教室 (指導: 木村郁郎教授)

難 波 次 郎

(平成 5 年11月11日受稿)

Key words : bronchoalveolar lavage (BAL), transbronchial lung biopsy (TBLB), immunoperoxidase staining, T-cell subset

緒 言

各種間質性肺疾患において、背景となる病態は必ずしも一定していないが、肺間質には単核球細胞浸潤と共に膠原線維の増加を伴う線維化が共通して認められる。胞隔の浸潤細胞はマクロファージ、リンパ球、線維芽細胞、組織球などの多様な細胞群によって構成されている。これらの細胞成分は、間質性肺炎の維持進展に働くと共に、線維化過程にも関与し、種々のサイトカインの影響下に活発な細胞動態を示すと考えられている^{1,2)}。

このような間質性肺炎の肺局所病態において重要と考えられるリンパ球に注目し、肺組織中に存在する T-cell subset を免疫酵素染色により同定し、肺組織内の分布を検討した。さらに気管支肺胞洗浄法 (bronchoalveolar lavage: BAL) により肺局所より回収される細胞成分中のリンパ球についても T-cell subset を検索し、組織中浸潤リンパ球と BAL 液中リンパ球の関連についても検討したので報告する。

対 象 と 方 法

過敏性肺臓炎 7 例、サルコイドーシス (サ症) 2 例、慢性関節リウマチに合併した間質性肺炎 (RA+IP) 2 例、特発性間質性肺炎 (IIP) 1 例を対象として肺生検並びに BAL を行い、健康人対照 10 例については BAL のみを行った。BAL は既報³⁾の如く、気管支ファイバースコープ (Olympus TI-10) を右肺中葉 B 4 あるいは B

5 に wedge し、37℃ に加温した生理的食塩水 50ml を 4 回注入し、回収された洗浄液 (BAL fluid: BALF) は遠沈にて、細胞成分と上清に分離した。細胞成分は総細胞数の算定、細胞分類を行うと共に、モノクローナル (CD 3, CD 4, CD 8) 抗体 (Becton Dickinson 社製) を用いた Flow cytometry により、T-cell subset を測定した。

肺組織中 T-cell subset の同定は凍結切片を用いた免疫酵素染色法により検討した。生検肺組織を OCT compound に包埋し、-70℃ の n-Hexane 中で凍結後、cryostat により 6μ に薄切して slide glass 上に mount した。この組織切片に、一次抗体として OKT 4, OKT 8 の各抗血清 (Ortho 社製) を 60 分反応させ、次いで phosphate buffered saline (PBS) で 3 回洗浄した後、biotin 標識抗マウス IgG 抗体を用いて Avidin-biotin peroxidase complex 法 (Vecta 社製) により発色させた。反応停止後 Hematoxyline にて核染色を行い、脱水封入し、顕微鏡で観察した。組織内 T-cell subset は、各切片毎に連続切片として対応しうる部分を選んで、X400 の倍率で視野中の全有核細胞数に対する各抗体陽性細胞の比率で表した。過敏性肺臓炎では、肺胞構造の保たれている部分と、肉芽腫様の部分における T-cell subset を区別して検討した (Fig. 1)。

尚、BAL と肺生検は同時に施行したものから、3 週間の間隔まで様々であったが、いずれも治療前であり、BAL と肺生検実施の時点で病

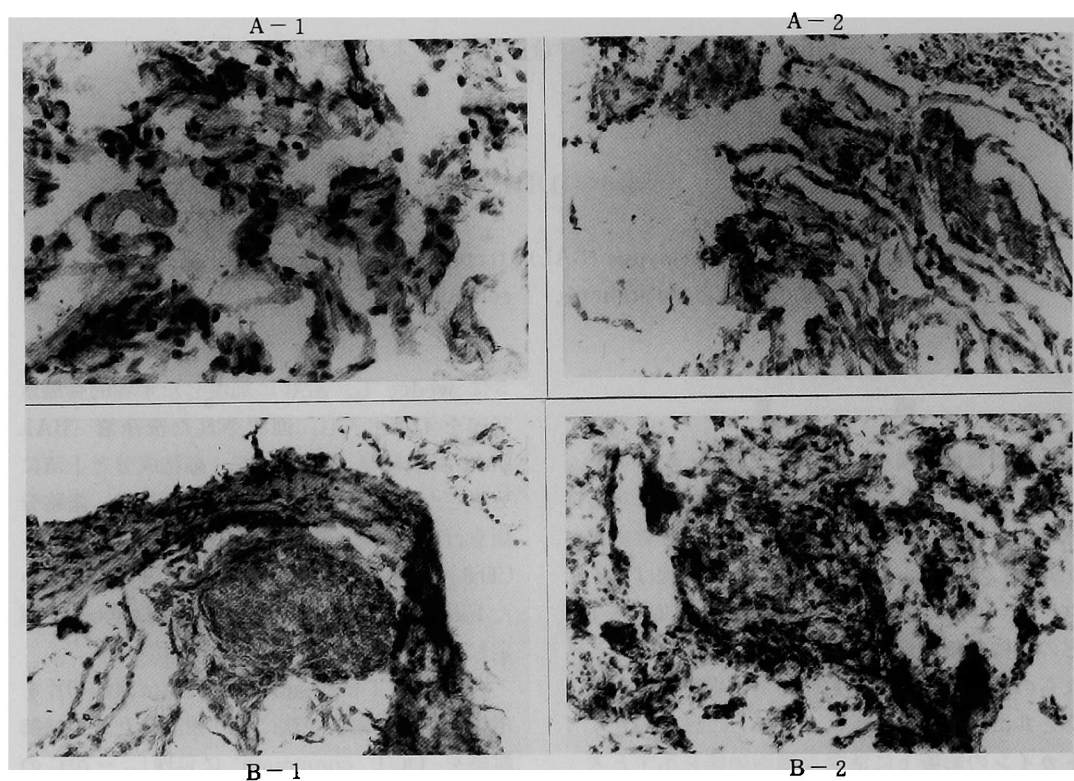


Fig. 1 T-cell subsets as CD4 and CD8 in lung tissue were identified with immunoperoxidase staining separately. A-1: CD4 in alveolar wall. A-2: CD8 in alveolar wall. B-1: CD4 in granuloma. B-2: CD8 in granuloma.

Table 1 Cellular components in BALF of patients with various interstitial pneumonia

Interstitial Pneumonia	(n)	TCC ($\times 10^6$)	M ϕ	Ly	Nt	Eo	Ba/Mc
			(%)				
HP	(7)	103 $\pm$ 60.9	14.7 $\pm$ 11.7	81.8 $\pm$ 12.3	1.01 $\pm$ 0.76	1.46 $\pm$ 2.04	0.99 $\pm$ 0.98
Sar	(2)	19.4 $\pm$ 14.8	48.1 $\pm$ 3.8	49.2 $\pm$ 0.4	1.6 $\pm$ 2.0	0.2 $\pm$ 0.14	0.9 $\pm$ 1.3
RA+IP	(2)	20.3 $\pm$ 26.3	86.7 $\pm$ 1.6	5.3 $\pm$ 1.8	5.2 $\pm$ 4.7	2.6 $\pm$ 1.0	0.3 $\pm$ 0.2
IIP	(1)	25.6	68.0	27.4	3.8	0.8	0
healthy controls	(10)	14.1 $\pm$ 7.9	86.9 $\pm$ 8.9	12.0 $\pm$ 8.9	0.8 $\pm$ 0.9	0.3 $\pm$ 0.4	0.01 $\pm$ 0.06

Abbreviation: TCC; total cell count, M ϕ ; macrophage, Ly; lymphocyte, Nt; neutrophil, Eo/Mc; basophil/mast cell, HP; hypersensitivity pneumonitis, Sar; sarcoidosis, RA+IP; rheumatoid arthritis with interstitial pneumonia, IIP; idiopathic interstitial pneumonia.

態に大きな差は無いと思われた。

成 績

1. BALF 中細胞成分

1) BALF 中リンパ球比率

対象となった過敏性肺臓炎 7 例, サ症 2 例, RA+IP 2 例, IIP 1 例の BAL 液中細胞成分は Table 1 に示す如く, 総細胞数はいずれも増加しており, リンパ球については過敏性肺臓炎が 81.8%と最も高値であり, 次いでサ症 49.2%, IIP 27.4%, 健康人対照 10.2%, RA+IP 6.6%の順であった。

2) BALF 中 T-cell subset

BALF より得られた単核球のうち CD 3 は過敏性肺臓炎 93.7±3.1%, サ症 65.7±25.9%, RA+IP 78.7±17.6%, IIP 97.2%, 健康人対照

76.0±44.6%であり, いずれの群においても BALF 中リンパ球は T-cell が多数を占めていた。CD 4 については過敏性肺臓炎 24.5±7.4%と低率であった他は, サ症 55.2±22.9%, RA+IP 55.1±9.5%, IIP 46.4%, 健康人対照 45.0±28.0%といずれも 50%前後の比率を示していた。一方, CD 8 については逆に過敏性肺臓炎 71.9±7.0%と最も高率であり, サ症では 17.5±5.2%と最も低率であった。また RA+IP 41.9±21.1%, IIP 46.4%であり, 健康人対照は 33.9±24.6%であった。CD 4/CD 8 比は過敏性肺臓炎 0.36±0.17, サ症 3.10±0.38, RA+IP 2.59±0.42, IIP 1.07, 健康人対照 1.50±0.40であり, 過敏性肺臓炎が最も低値, サ症が最も高値であった (Fig. 2)。

T-cell subset in BALF
of various interstitial pneumonia

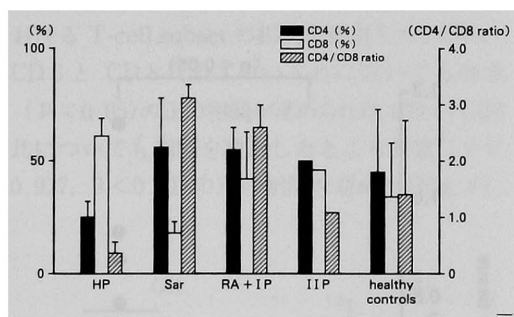


Fig. 2 T-cell subsets in BALF of various interstitial pneumonia and healthy controls. Each column indicates the mean ±SD. The highest CD4/CD8 ratio was shown in sarcoidosis and the lowest in hypersensitivity pneumonitis.

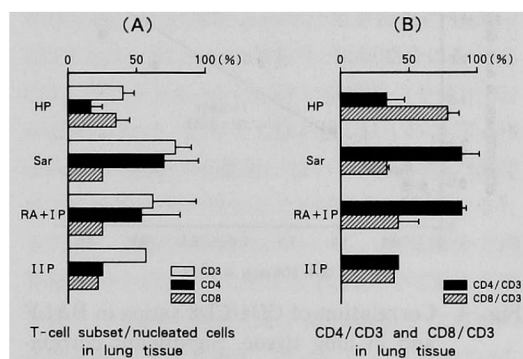


Fig. 3 T-cell subset/nucleated cells in lung tissue of various interstitial pneumonia (A). CD4 and CD8 in lung tissue were divided by CD3 to exclude the influence of nucleated cells except T lymphocytes (B).

Table 2 T-cell subset in BALF and lung tissue

Interstitial Pneumonia	(n)	CD4/CD3 (%)		CD8/CD3 (%)		CD4/CD8 ratio	
		BALF	Lung tissue	BALF	Lung tissue	BALF	Lung tissue
HP	(7)	26.8±8.5	43.0±13.6	76.0±10.0	80.3±5.6	0.36±0.17	0.52±0.15
Sar	(2)	83.6±2.0	87.5±13.1	27.2±2.8	33.9±0.8	3.10±0.38	2.59±0.45
RA+IP	(2)	70.4±3.6	86.4±1.8	57.5±40.3	43.3±13.1	2.59±0.42	2.25±0.47
IIP	(1)	51.2	43.3	50.8	39.0	1.07	1.11

HP; hypersensitivity pneumonitis, Sar; sarcoidosis, RA+IP; rheumatoid arthritis with interstitial pneumonia, IIP; idiopathic interstitial pneumonia.

2. 肺組織中 T-cell subset

1) 有核細胞を母数とした T-cell subset

組織中 T-cell subset について陽性細胞を同一視野中の全有核細胞で除して表した。CD 3 はサ症 $79.1 \pm 15.4\%$, RA+IP $61.8 \pm 30.2\%$, IIP 56.6% , 過敏性肺臓炎 $39.9 \pm 7.0\%$ の順であった。CD 4 についてはサ症 $70.2 \pm 23.8\%$, RA+IP $53.1 \pm 27.2\%$, IIP 24.5% , 過敏性肺臓炎 $17.8 \pm 5.2\%$ と CD 3 の比率と同様であった。

一方, CD 8 では逆に過敏性肺臓炎が $34.8 \pm 9.5\%$ と最も高値であったが, 他はサ症 26.8% , RA+IP 25.7% , IIP 22.1% であった (Fig. 3A)。

2) CD 3 を母数とした T-cell subset

各 T-cell subset を同一視野の有核細胞で除した値で表すと組織中の線維芽細胞, マクロフ

ージ等の T リンパ球以外の有核細胞の増加の程度により影響を受ける。そこで CD 3 陽性細胞を分母として, CD 4 / CD 3, CD 8 / CD 3 の各々を求めた (Fig. 3B)。CD 4 / CD 3 はサ症 $87.5 \pm 13.1\%$, RA+IP $86.4 \pm 1.8\%$, IIP 43.3% , 過敏性肺臓炎 $43.0 \pm 13.6\%$ の順であり, CD 4 / 有核細胞の値と比べて高率となっているが, 疾患相互の比較では同様の関係であった。CD 8 / CD 3 については過敏性肺臓炎で $80.3 \pm 5.6\%$ と最も高値であり, 次いで RA+IP $43.3 \pm 13.1\%$, IIP 39.0% , サ症 $33.9 \pm 0.8\%$ であり, CD 4 と同様に有核細胞を分母とした場合に比べ高率となっていた。しかしながら, 疾患によってその変化の程度には多少の差が認められた。

3) CD 4 / CD 8 比

肺組織中 CD 4 / CD 8 比については, 過敏性肺臓炎 0.52 ± 0.15 , サ症 2.59 ± 0.45 , RA+IP 2.25 ± 0.47 , IIP 1.11 であり, サ症で最も高値,

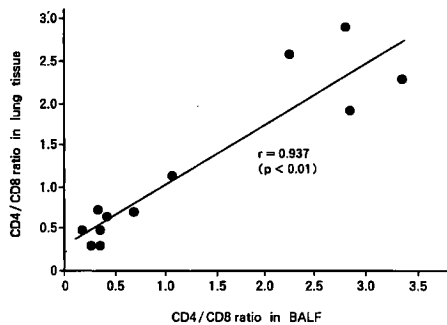


Fig. 4 Correlation of CD4/CD8 ratios in BALF and in lung tissue. Significant correlation was shown between T-cell subsets in BALF and lung tissue of various interstitial pneumonia.

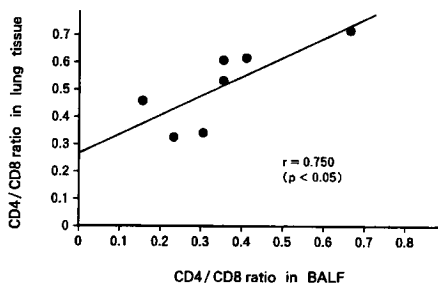


Fig. 5 Correlation of CD4/CD8 ratios in BALF and in lung tissue. Significant correlation was shown between T-cell subsets in BALF and lung tissue of hypersensitivity pneumonitis.

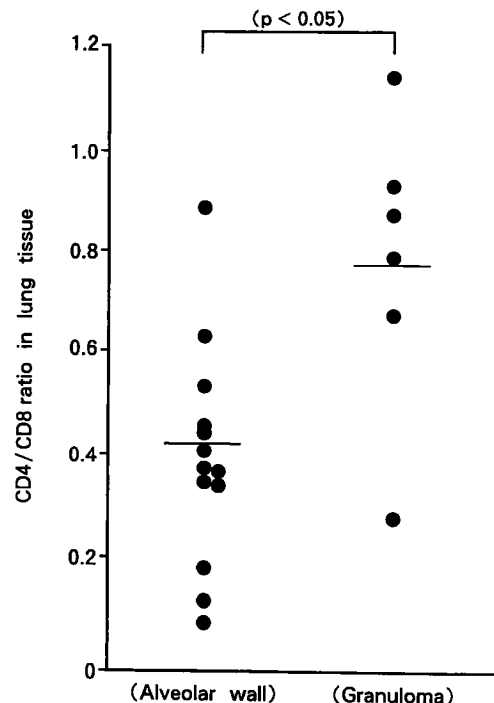


Fig. 6 CD4/CD8 ratios in alveolar wall and in granuloma were measured separately. CD4/CD8 ratios in alveolar wall were significantly lower than those in granuloma.

過敏性肺臓炎で最も低値であった。

3. BALF 中と肺組織中 T-cell subset の対比

1) 各疾患における対比

CD 4/CD 3 を BALF 中と肺組織中で対比した。過敏性肺臓炎で BALF 中平均 26.8% に対し、組織中 43.0% と組織中で高値であった他、サ症、RA+IP、IIP では各々近似した値を示した。CD 8/CD 3 についても同様に対比したところ、過敏性肺臓炎では BALF 中 76.0% に対し組織中 80.3%、サ症では 27.2% に対し 33.9% と組織中がいずれもやや高値であった。一方、RA+IP、IIP では逆に BALF 中の CD 8/CD 3 がやや高値であった。CD 4/CD 8 比についても BALF 中と肺組織中を対比すると各疾患群において、過敏性肺臓炎と IIP では組織中がやや高値で、サ症、RA+IP では BALF 中がやや高値であった (Table 2)。

2) T-cell subset の相関の検討

各疾患を一括した全体で BALF 中と肺組織における T-cell subset の相関を検討した。CD 4/CD 3 と CD 8/CD 3 のいずれにおいても有意 ($p < 0.05$) の正の相関が認められた。CD 4/CD 8 比についても相関を検討したところ有意 ($r = 0.937$, $p < 0.01$) の正の相関を認めた (Fig. 4)。

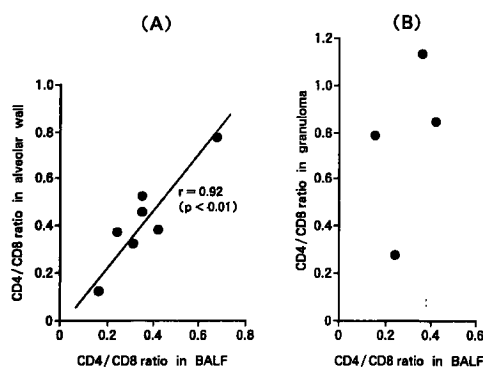


Fig. 7 Correlation of CD4/CD8 ratios in BALF and lung tissue were evaluated in alveolar wall and granuloma, respectively. Statistically significant correlation was shown between CD4/CD8 ratios in BALF and in alveolar wall (A), while no correlation was shown between CD4/CD8 ratios in BALF and in granuloma (B).

この中で症例数の多かった過敏性肺臓炎のみにについて検討した BALF 中と組織中の CD 4/CD 8 比においても、やはり有意 ($r = 0.750$, $p < 0.05$) の正の相関が認められた (Fig. 5)。従って、肺組織中に浸潤している T-cell subset の状態が BALF 中 T-cell subset に反映されていると考えられた。

4. 過敏性肺臓炎における肺組織中部位別 T-cell subset の検討

症例数の多い過敏性肺臓炎において、肺組織を胞隔部分と肉芽腫部分に区分して T-cell subset の検討を行った。過敏性肺臓炎に関して CD 3 は肉芽腫の周辺部分に多く分布しており、肉芽腫中心部には比較的疎であった。この肉芽腫の中心部には主に CD 4 が、周辺部には CD 8 が存在していた。肉芽腫における T-cell subset に関してはサ症でも同様であり、中心部に CD 4、周辺には CD 8 が多く認められた。過敏性肺臓炎の中心部と周辺部を合わせた肉芽腫部の CD 4/CD 8 比は 0.61 ± 0.33 であり、胞隔部分における CD 4/CD 8 比 0.42 ± 0.21 と有意差 ($p < 0.05$) が認められた。従って CD 4 と CD 3 の各 T-cell subset が過敏性肺臓炎においては肺組織の部位により分布比率の異なることが示された (Fig. 6)。さらに、過敏性肺臓炎について、胞隔部分と肉芽腫部分を区別して各々と BALF 中 CD 4/CD 8 比との相関を検討した。胞隔部分では有意の正の相関 ($r = 0.964$, $p < 0.01$) を認めたが、肉芽腫部分に限った検討では BALF との相関は認めなかった (Fig. 7)。従って、BALF は胞隔部分の変化を反映していると考えられた。

考 察

びまん性肺疾患の検討方法として BAL が行われる。本法は比較的侵襲が少なく、各種びまん性肺疾患において BALF 中の細胞成分や液性成分を解析することにより、診断だけでなく、病態解明や予後の推定にも有用とされている^{1,3)}。BAL は下気道を通じて生理的食塩水を注入し、肺泡に一旦貯留し既に肺胞腔あるいはサーファクタント中に遊走している細胞成分や液性成分が吸引により回収される。従って、BALF 中には肺泡領域や肺間質の状態が反映されるのみで

はなく、末梢気道領域の細胞反応も含めて表現されることになる。例えば、びまん性汎細気管支炎の組織所見としては著明な単核球浸潤、肉芽形成であるが、BALF中の好中球の著増⁴⁾は末梢気道の状態を反映していると思われる。従って、呼吸器疾患の中で間質の病変が主体であり、気道病変の乏しい病態に限れば、BALF中に見られる細胞反応から肺組織中の変化を推定できると考え、各種間質性肺疾患についてBALFと肺組織中の特にリンパ球を対比して検討を行った。

組織中において単核球細胞浸潤としてマクロファージや組織球等と一括して理解されてきたリンパ球は、免疫酵素染色法^{5, 6)}の開発により個々の細胞がTリンパ球であるかどうか、さらにはT-cell subsetの解析まで可能となった。免疫酵素染色に関する報告は1978年にLamelin, J. P. ら⁵⁾が扁桃腺のTリンパ球とBリンパ球を蛍光法によって識別したのが最初であり、ABC法については1981年にMcMillan, E. M. ら⁶⁾がヒトの扁桃腺を用いてTリンパ球ならびにT-cell subsetの識別を行ったのが最初である。一方、Haslam, P. L.⁷⁾, Tinley, N. L.⁸⁾らが同時期に組織中リンパ球に関して行った報告は、いずれも肺生検材料を細切、分解した組織抽出液中の細胞成分を用いている。このような方法では肺組織中の細胞分布が分からず、肺組織のT-cell subsetがどの程度反映されているのかも明らかでない。従って今回の検討にあたっては、BALF中T-cell subsetはFlow cytometryにより、また肺組織中T-cell subsetはABC法により判定し、組織中の局在を含めて検討を行った。

過敏性肺臓炎は吸入抗原に対するⅢ型ならびにⅣ型アレルギーによって引き起こされ、東日本に多発する農夫肺ではMycoplasma pneumoniae, Thermoplasma vulgareなどが抗原となり、西日本に多発する夏型過敏性肺臓炎⁹⁾ではTrychosporon cutaneum, その他の真菌が原因抗原となると考えられている。組織学的には肺泡隔壁および細気管支壁に多核巨細胞を伴う非壊死性類上皮性肉芽腫を形成する。過敏性肺臓炎におけるBAL所見の特徴¹⁰⁾としては、総細胞数の著明な増加とリンパ球比率の著増が

知られており、沈降抗体と並んで診断上有用とされている。今回検討した7例の過敏性肺臓炎においてもBALF中総細胞数の著増があり、細胞分類ではリンパ球平均80%以上を占め、T-cell subsetについてはCD4/CD8比平均0.36とCD8がより増加していた。CD4/CD8比の低下を特徴とする夏型過敏性肺臓炎に対して、農夫肺においてはBALF中CD4/CD8比の上昇が報告¹¹⁾されており、CD8の増加する夏型過敏性肺臓炎との差異があるにもかかわらず臨床病像は共通するなどT-cell subsetの表面抗原と機能やその役割については依然として充分明らかではない。

過敏性肺臓炎の肺組織中CD4/CD8比に関する報告は極めて少ない。富地らはBALF中にCD4の増加する農夫肺3例の肺組織中CD4/CD8比を検討し、肺組織中でも同様にCD4/CD8比は上昇しており、BALFと肺組織のT-cell subsetに相関があったと報告¹²⁾している。今回検討した夏型過敏性肺臓炎においてBALF中CD8が増加しており、肺組織中においてもCD8が増加し、CD4/CD8比についても両者共に低下するなどBALF中と肺組織中のT-cell subsetはよく相関していた。しかしながら、CD4比率はBALF中よりも組織中でやや高値であり、CD4とCD8の肺内分布、あるいは走化性の差などが影響している可能性が考えられた。

サ症は過敏性肺臓炎と同じく肉芽腫性疾患ではあるが、過敏性肺臓炎と異なり全身を病変の場とする疾患である。一方、肺病変¹³⁾の出現頻度は他臓器に比べ95%以上と圧倒的に高率であるが、呼吸器症状自体は20%前後と低率である。サ症のBALF所見については過敏性肺臓炎ほど著明ではないが、同様に総細胞数の増加、リンパ球比率の上昇が知られている。BALF中で増加するリンパ球は大部分がT-cellであり、CD4の著明な増加がよく知られている¹⁴⁾。今回の検討でもBALF中リンパ球比率は平均49.2%と高値であり、CD4/CD8比は平均3.10とやはりCD4優位の成績であった。Hunninghake, G. W. ら¹⁵⁾は肺病変のあるサ症においてBALF中リンパ球のCD4/CD8比が肺野病変のないサ症や健康人対照より有意に高値となることから、サ症

の肉芽腫形成に CD 4 が重要な役割を果たしていると考えている。サ症の組織中 T-cell subset について Modlin, R. L. ら¹⁶⁾は皮膚, 肺, リンパ節の組織を免疫酵素染色により検索し, 肉芽腫周囲には主に CD 8 陽性細胞が, 肉芽腫自体には主に CD 4 陽性細胞が分布すると報告している。今回の 2 例の検討でも肺組織中 CD 4/CD 8 比は平均 2.59 で BALF 中の 3.10 よりはやや低値ながら共に高い値であった。また, 肉芽腫の確認できた 1 例でも肉芽腫の主体は CD 4 陽性細胞であり CD 8 は周辺部にいくらか存在する程度であった。

RA では全身性疾患として関節のみならず肺にも病変を伴うことが知られている。RA の肺病変出現頻度についての報告^{17, 18)}は約 2% から 30% と様々である。RA における胸部 X 線像でのびまん性間質性陰影は肺結節や胸膜病変が存在しない場合に IIP との区別は困難とされている。RA+IP の BAL 所見は過敏性肺臓炎やサ症と比べると特徴的でなく, 細胞数や細胞分類に際だった変化はないとされている。

長井ら¹⁹⁾は膠原病肺の BALF 中リンパ球の T-cell subset は CD 4 < CD 8 であり, IIP では CD 4 > CD 8 であることから鑑別に有用であると報告している。しかしながら, 自検例の RA+IP では CD 4/CD 8 比 2.25 ± 0.47 とむしろ CD 4 > CD 8 になっており, 長井らのグループもその後 T-cell subset の値が種々存在することを示している。²⁰⁾

RA+IP における肺組織中 T-cell subset を検討した報告は検索した範囲内には見いだせなかった。今回の検討では BALF 中と肺組織中の CD 4/CD 8 比は一致した値を示し, T-cell subset に関しては BALF 所見が組織中における変化を反映していると思われた。

IIP は原因不明であり, びまん性に胞隔炎, 線維化が進行し, 蜂窩肺にいたる疾患である。IIP の BALF 中細胞成分については, 好中球や好酸球の増加が指摘²¹⁾されている。木村²²⁾は IIP の治療前に施行した BALF 中の好中球比率の高い症例が予後不良となる傾向のあることを報告している。Turner-Warwick, M. ら²³⁾は cryptogenic fibrosing alveolitis における初回の BAL でリ

ンパ球比率の高いものはステロイド治療の反応が良く, 好中球や好酸球の増加した例ではステロイド治療が無効で cyclophosphamide が有効と報告している。

IIP の肺局所において T-cell がどの程度病態に関与しているのかは明らかでない。Kradin, R. L. ら²⁴⁾は開胸肺生検の結果 usual interstitial pneumonia (UIP) と診断された 13 例の肺組織について, 免疫酵素染色により T-cell の分布を検討し, 肥厚した胞隔部分に T-cell が多く存在すること, さらにこれらの T-cell の多くが CD 8 陽性細胞であり, CD 4 は小血管や単核球集簇の周囲に少数認めただけであったと報告している。Haslam, P. L. も cryptogenic fibrosing alveolitis の肺組織を同様に免疫酵素染色で検討し, 本症の病態における T-cell の重要性を指摘している。今回検討した IIP の 1 例は, 同一開胸生検肺組織中に正常な肺胞部分と種々の程度の線維化病変を斑状に混じており, 組織学的には UIP と考えられる症例であった。本症の BALF ではリンパ球の増多が認められ, CD 4/CD 8 比は BALF 中も組織中も約 1.1 とよく一致していた。肺組織中 T-cell subset としてはやや CD 8 が増加した状態と考えられた。

Paradis, I. L. ら²⁵⁾はサ症, idiopathic pulmonary fibrosis (IPF) 各 6 例について BALF 中と肺組織中の T-cell subset を比較し, CD 4/CD 3 比, CD 8/CD 3 比に関しては両疾患とも有意の正の相関があったが, BALF 中の各 subset の細胞密度での検討では, サ症の CD 3 と CD 4 陽性細胞について肺組織中における各 CD 3, CD 4 陽性細胞と相関があり, IPF では相関がなかったと述べている。このような疾患による差を生じた機序として, サ症では BALF 中にも肺組織中にも CD 8 陽性細胞が少数であること, IPF では高度な拘束性障害のために BALF 回収率が低く, BALF が胞隔部分でなく途中の気道の細胞成分をより多く反映している可能性を指摘している。

今回の肺組織中 T-cell subset の検討では, 肺組織内の各 T-cell subset 比率を表現する一つの方法として全視野の有核細胞を分母として T-cell subset の割合を表した。これにより, T-cell

を含む有核細胞の密な部分と疎な部分での各 T-cell subset の浸潤程度について客観性がえられと考えられた。さらに、組織中 CD 4 と CD 8 陽性細胞を CD 3 陽性細胞を母数として表すことで BALF 中 T-cell subset との対比が容易となった。こうした方法での比較により間質性肺疾患における BAL は肺組織中の T-cell subset を反映していることが明らかになった。しかしながら、BALF 中と組織中では各 CD 4, CD 8 の比率が少しずつ異なっており、同じ間質性肺疾患であっても各 T-cell subset によって組織から BALF への移行に差があることが推察された。これには病態により活性化される T-cell subset に差があり、さらに組織中から肺胞腔や末梢気道に到達するまでの遊走過程の相違などが関連すると考えられた。過敏性肺臓炎では胞隔部分と肉芽腫部分とに区別して検討すると、肉芽腫部分には CD 4 陽性リンパ球が比較的高率に存在し、胞隔部分には CD 8 陽性リンパ球が高率に存在していた。サ症の肉芽腫では CD 8 が周辺に存在し、CD 4 が肉芽腫自体に存在するなど肺組織内部での T-cell subset の分布に偏りのあることが明らかとなった。さらに、過敏性肺臓炎における BALF と胞隔部分の T-cell subset には相関が認められたが、BALF と肉芽腫部分には相関が認められなかった。このことから、肺組織内で T-cell subset 分布に偏りのある疾患について、局所的には BALF 中 T-cell subset は注入された洗浄液と接触する機会の多い胞隔部分のみを反映していることも示唆された。しかしながら肺全体として考える時、BALF 中細胞成分が肺内における細胞反応を表現している

ことは明らかであり、組織中浸潤細胞についての情報を把握する上で BAL が臨床上有用な検査方法であると考えられた。

結 論

各種間質性肺疾患12例（過敏性肺臓炎7例、サ症2例、RA+IP2例、IIP1例）について、BALF中と組織中リンパ球の T-cell subset の比較検討を行った。その結果としては

1) 各種間質性肺疾患12例における BALF 中と肺組織中の CD 4/CD 8 比の間には $r = 0.937$, $P < 0.01$ と有意の正の相関が認められた。

2) 内、過敏性肺臓炎7例における BALF 中と肺組織中の CD 4/CD 8 比に関しても $r = 0.750$, $P < 0.05$ と有意の正の相関が認められた。

3) 過敏性肺臓炎の肺組織を胞隔部分と肉芽腫部分に区分して T-cell subset の検討を行ったところ、CD 4/CD 8 比は胞隔部分については BALF 中と良く相関 ($r = 0.964$, $P < 0.01$) していたが肉芽腫部分とは相関を認めなかった。

以上より、BALF 中細胞成分を検討する際には、肉芽腫形成等の特殊な病巣を肺内で形成する病態では、肺組織中の特定の領域における浸潤細胞のみが回収される可能性が示唆された。しかしながら、肺全体として考える時 BAL は肺組織中の変化を把握する上で有用な検査法と考えられた。

稿を終えるにあたり御指導、御校閲を賜った恩師 木村郁郎教授に心より感謝致します。また研究にあたり直接の御指導をいただいた多田慎也講師に深謝致します。

文 献

- 1) 多田慎也：肺線維化病態と細胞反応。日胸疾会誌（1988）27, 434—439.
- 2) 長井苑子：リンフォカインと肺の免疫—各種肺疾患におけるリンフォカインの関与、意義をめぐって—。呼吸（1986）5, 244—258.
- 3) 木村郁郎, 田村尚彦, 多田慎也, 中田安成：特発性間質性肺炎の気道反応。厚生省特定疾患間質性肺疾患調査研究班 昭和59年度研究報告書（1985）pp 49—53.
- 4) 木村郁郎, 多田慎也：びまん性肺疾患における BALF 所見。臨床医（1990）11, 26—30.
- 5) Lamelin JP, Thomasset N, Andre C, Brochier J and Revillard JP : Study of human T and B lymphocytes with heterologous antisera. III. Immunofluorescence studies on tonsil sections.

- Immunology (1978) **35**, 463—469.
- 6) McMillan EM, Wasik R and Everett MA : Identification of T-lymphocytes and T-subsets in human tonsil using monoclonal antibodies and the immunoperoxidase technic. *Am J Clin Pathol* (1981) **76**, 737—744.
 - 7) Haslam PL, Turton CWG, Heard B, Lukoszek A, Collins JV, Salsbury AJ and Turner-Warwick M : Bronchoalveolar lavage in pulmonary fibrosis; comparison of cells obtained with lung biopsy and clinical features. *Thorax* (1980) **35**, 9—18.
 - 8) Tilney NL, Garovoy MR, Bush GJ, Strom TB, Graves MJ and Carpenter CB: Rejected human renal allografts; recovery and characteristics in infiltrating cells and antibody. *Transplantation* (1979) **128**, 421—426.
 - 9) 本間行彦：過敏性肺炎。内科 (1985) **4**, 671—674.
 - 10) Reynolds HY, Fulmer JD and Kazmierowski JA : Analysis of cellular and protein content of broncho-alveolar lavage fluid from patients with idiopathic pulmonary fibrosis and chronic hypersensitivity pneumonitis. *J Clin Invest* (1977) **59**, 165—175.
 - 11) 田村昌士：農夫肺—発症と環境要因一。日内会誌 (1988) **77**, 1837—1841.
 - 12) 富地信和, 高山和夫, 矢川寛一, 毛利 孝, 田村昌士：農夫肺における肺組織内浸潤リンパ球の免疫組織学的検討—とくに BALF中のリンパ球亜型との比較一。アレルギー (1989) **38**, 508—512.
 - 13) 山木戸道郎, 前田裕行, 石田伸一, 長谷川健司：サルコイドーシスの臨床像。最新医学 (1988) **7**, 1463—1468.
 - 14) 鈴木栄一, 桶谷典弘：サルコイドーシス。日本臨床 (1990) **3**, 146—151.
 - 15) Hunninghake GW and Crystal RG : A disorder mediated by excess helper T-lymphocyte activity at sites of disease activity. *N Engl J Med* (1981) **305**, 429—434.
 - 16) Modlin RL, Gottlieb B, Hofman FM, Taylor CR, Sharman OP and Rea TH : Demonstration in situ of subsets of T-lymphocytes in sarcoidosis. *Am J Dermatopathol* (1984) **6**, 423—427.
 - 17) Frank ST, Weg JG, Harkleroad LE and Fitch RF : Pulmonary dysfunction in rheumatoid disease. *Chest* (1973) **63**, 27—34.
 - 18) Walker WC and Wright V : Pulmonary lesions and rheumatoid arthritis. *Medicine* (1968) **47**, 501—520.
 - 19) 長井苑子：BAL リンパ球の OKT 4 +, OKT 8 + cell subset からみた特発性間質性肺炎と膠原病性間質性肺炎の鑑別。呼吸 (1983) **2**, 396—401.
 - 20) 泉 孝英, 北市正則, 長井苑子：膠原病症例における肺病変について。厚生省特定疾患びまん性肺疾患調査研究班 平成元年度報告書 (1990) pp 118—119.
 - 21) 原澤道美, 石田喜義, 福地義之助：特発性間質性肺炎。日本臨床 (1990) **48**, 79—84.
 - 22) 木村郁郎：治療分科会総括報告。厚生省特定疾患間質性肺疾患調査研究班 昭和62年度研究報告書 (1988) pp 14—15.
 - 23) Turner-Warwick M and Haslam PL : The value of serial bronchoalveolar lavages in assessing the clinical progress of patients with cryptogenic fibrosing alveolitis. *Am Rev Respir Dis* (1987) **135**, 26—34.
 - 24) Kradin RL, Divertie MB, Colvin RB, Ramirez J, Ryu J, Carpenter A and Braun A : Usual interstitial pneumonitis is a T-cell alveolitis. *Clin Immunol Immunopathol* (1986) **40**, 224—235.
 - 25) Paradis IL, Dauber JH and Rabin SR : Lymphocyte phenotype in bronchoalveolar lavage and lung tissue in sarcoidosis and idiopathic pulmonary fibrosis. *Am Rev Respir Dis* (1986) **133**, 855—860.

T-cell subsets in lung tissue and BALF from patients with interstitial pneumonia

Jiro NAMBA

Second Department of Internal Medicine,

Okayama University Medical School,

Okayama 700, Japan

(Director : Prof. I. Kimura)

The cellular components in bronchoalveolar lavage fluids (BALF) and biopsied lung tissues of patients with various types of interstitial pneumonia were analyzed to clarify cellular kinetics in the lung. The T-cell subsets of lymphocytes in BALF and biopsied lung tissues were examined in 7 cases of hypersensitivity pneumonitis (HP), 2 cases of sarcoidosis (Sar), one case of idiopathic interstitial pneumonia (IIP) and 2 cases of rheumatoid arthritis with interstitial pneumonia (RA+IP). The T-cell subsets in BALF were analyzed by flow cytometry and the T-cell subsets in lung tissue were detected in fresh frozen and thin-sliced specimens using an avidine-biotine complex (ABC) kit. The mean CD4/CD8 ratio in BALF was 0.36 in HP, 3.1 in Sar, 1.07 in IIP and 2.59 in RA+IP, while the mean CD4/CD8 ratio in lung tissues was 0.52 in HP, 2.59 in Sar, 1.11 in IIP and 2.25 in RA+IP, respectively. The ratios of CD4/CD8 in BALF and lung tissues from patients with these various interstitial pneumonia showed a positive correlation. Significant correlation was seen between CD4/CD8 ratios of the alveolar portion and BALF, but there was no correlation observed between granuloma and BALF. These findings indicate that BALF findings reflect the changes in the lung tissues, although BALF might reflect only a part of the changes in the whole lung.