総説

シリカによる肺の線維化について

小池 重夫*

RECENT ADVANCES IN THE STUDY OF THE MECHANISMS
OF SILICA-INDUCED PULMONARY FIBROSIS

Shigeo KOIKE*

A review was made on the recent advances in the study on the pathogenesis of silica-induced pulmonary fibrosis.

Alveolar macrophages which ingest silica particles liberate a fibrogenic factor, which stimulates the production of collagen of cultured fibroblasts. Silica deposited in the alveoli augments the demand of macrophages, the supply of which is maintained by monocytes recruited from the bone marrow. Attempts to demonstrate *in vitro* the presence of a fibrogenic factor in the supernatant of macrophages have been made in many laboratories, and an *in vivo* model utilizing diffusion chambers implanted in mice has been used by some investigators. A fibrogenic factor has been isolated and purified from the medium of silica-treated macrophages.

Recent advances in immunological studies have demonstrated that silica stimulates macrophages to release monokines such as interleukin 1 (IL-1) and that IL-1 has chemical properties identical to the fibrogenic factor, which enhances the level of collagen production by modulating the proliferation of fibroblasts.

Silica inhibits the suppressive effects of macrophages on fibroblasts. The increased protein synthesis in the fibroblasts is due partly to increase in mRNA. Collagen synthesis is stimulated not only by the fibrogenic factor released from silica-treated macrophages but also by the inhibition of macrophage ribonuclease activity. Information on the number of cells, collagen content and protease activity in the lung as well as in the bronchopulmonary lavage fluid has provided us a better understanding of the mechanisms involved in silica-induced pulmonary fibrosis.

I. は し が き

珪肺症は遊離珪酸（シリカ）を含んだ粉じんを吸入することによって起こる肺の線維症である。じん肺症のなかではよくみられるものであるが、最も危険なもので石棉肺とともにおそれられている¹⁾。

多量のシリカを長期間吸入すると肺は線維化して珪肺結節を形成する。不思議なことにある程度まで大きくなった珪肺結節は、粉じん暴露がやんだ後も徐々に大きくなってゆく²⁾。珪肺病院に10年を越えて入院している患者についてX線所見によるその後の経過をたどると、入院したとき1型で10年後も1型で止まっていた人は半数

で、残りの半数は2型にすすむ。2型で入院して10年後も2型のままだった人は40%しかなく、残りの60%はその上のカテゴリーにすすんでいた。入院時に3型であった人、4型A、4型Bであった人たちのなかでも上位のカテゴリーにすすむものがある。

千代谷³⁾は離職後の珪肺の進展を量-影響関係で説明し、肺内蓄積粉じん量が多いほど肺内病変量は大きくなると述べている。

珪肺結節は、中心が線維硝子質組織が渦巻き状をして毛まりに似ている。それを取り囲んで細胞の層があり、細網線維、マクロファージ (Mφ)、線維芽細胞、成熟期を異にした形質細胞などが、種々の割合に混在している。結節の中心の線維硝子質の40%はコラーゲンで、あとの大部分はグロブリンである⁴⁾。

では、シリカが肺胞に吸入されてコラーゲンが形成されるまでに、どんな経路をたどるのだろうか。

吸入されたシリカは肺のMφに貪食されると毒性を発

* 珪肺労災病院職業病検診センター

昭和59年11月29日受付

* Health Examination Center of Occupational Diseases, Rosai Hospital for Silicosis

Received for publication, November 29, 1984

揮して $M\phi$ を死滅させるとともに, $M\phi$ から線維化因子 (fibrogenic factor) が放出され, 線維芽細胞を刺激してコラーゲンが産生される^{5,6)}.

Allison ら⁷⁾ は珪肺症の病因を2段階に分けた. 第1はシリカが $M\phi$ を殺すまでの過程, 第2は死滅した $M\phi$ が線維形成に関与する過程である.

Ziskind ら⁸⁾ は珪肺症の病因を次の9の過程に分けている.

1) 吸入したシリカが肺の末梢に進入して保留される, 2) $M\phi$ によるシリカの貪食, 3) $M\phi$ の死, 4) シリカを貪食して死んだ $M\phi$ からの内容物 (シリカを含めて) の放出, 5) 次の $M\phi$ によるシリカの再貪食とその死, 6) 新たな $M\phi$ の補充とその局所への集積, 7) コラーゲンの産生, 8) 硝子質化, 9) 場合によっては合併症の発生.

これに対して, Pernis and Vigliani⁹⁾ はシリカによる $M\phi$ の死は線維化に必須の段階ではない. $M\phi$ の死はシリカによる異例の出来事で, シリカの濃度, 培養条件がよい場合にはシリカは $M\phi$ を刺激して線維化因子と同一の作用のあるインターロイキン-1 (IL-1) を放出させる. このモノカインは線維芽細胞を増生し, コラーゲンの産生を促進する. IL-1は他方T細胞を活性化し, 活性化されたT細胞からはリンホカインが放出されて $M\phi$ を刺激する. このように $M\phi$ とT細胞の間には vicious circle が成立して, IL-1を介して線維芽細胞からコラーゲンが引き続き産生されて線維化が亢進すると説明している.

以上のように, 肺の線維化は $M\phi$ とシリカの接触によって始まるが, まずシリカについてみてみよう.

普通珪肺症発生のリスクファクターとしては, 1) 粉じんの濃度, 2) 粉じん中の遊離珪酸の%, 3) 粉じんの暴露時間の三つがあげられる. 肺の線維化は生体とこれらリスクファクターとのかわり方のいかんによりきまる.

以下シリカをめぐる諸研究を紹介する.

II. シリカの病原性 (Pathogenicity)

A. シリカの構造

遊離珪酸に属する結晶形の石英, tridymite, cristobalite と非晶形の fused silica をラットの気管内に注入して肺の線維化の速度を比較したところ tridymite が最も速く, cristobalite, 石英の順に続き, fused silica は最も遅くしかも変化が軽微であった¹⁰⁾. King ら¹⁰⁾ は, 組織の反応は粉じんの結晶構造とある程度関連するのではないかと述べている.

産業の現場で遭遇するシリカは石英が圧倒的に多く, cristobalite, tridymite は石英に比べてはるかに少ない.

石英に鉄, アルミニウムおよびその他の塩が混在すると肺の線維化は減弱する. したがって産業の現場の粉じんに石英が含まれていても, 肺の線維化は石英の含有量だけでは決定できない¹¹⁾.

Robock ら¹²⁾ は珪肺症を起こす危険度 R は

$$R=f(c, s, t)$$

つまり c, s, t の関数であらわされると述べている. この場合の c は吸入した石英濃度, s は石英の specific toxicity, t は暴露時間である. Atree-Williams and Sprogis¹³⁾ は Robock and Klosterkötter の s は Murata and Norman¹⁴⁾ の crystallinity index (CI) と正の相関があるとの仮定のもとで, 産業現場から採取した鉱物性粉じんのX線回折を行い, CI を求めて石英の specific toxicity を推定している.

B. シリカの大きさ

肺に沈着する粒子の optimal size は二つの大きさによってきまる. 一つは $5\sim 10\mu\text{m}$ 以上の粒子で鼻咽頭の壁粘膜やせん毛に衝突して吸入をさまたげられる. 他の一つは $0.1\sim 0.5\mu\text{m}$ 以下の粒子で肺胞面に衝突しないうちに吐き出されてしまう. したがって $0.5\sim 5\mu\text{m}$ の直が最もよく肺胞に侵入し, 肺胞の $M\phi$ に貪食されること径の粒子になる¹⁵⁾.

種々の結晶形のシリカを実験動物に投与して肺の線維化を観察した King らの *in vivo* の実験を *in vitro* の実験にうつして, シリカの結晶形と大きさの組合せから細胞毒性を検査した報告は見あたらない. シリカの大きさと fibrogenicity との関係については多くの研究があるが, ヒトについての成績は必ずしも一致しない. 線維化を最も起こしやすい結晶の大きさは約 $1\mu\text{m}$ といわれている¹⁶⁾. *in vitro* でどの大きさが最も線維化を起こしやすいかについての結論は得られていない.

C. シリカの濃度

種々の濃度のシリカを動物に吸入させて肺の組織反応の強さと早さを観察した実験はあるが¹⁷⁾, 組織培養でシリカの濃度と $M\phi$ の応答との関係を明確に示したものはない. Allison^{7,18)} によるとシリカに対する $M\phi$ の応答には "rapid" と "delayed" の2種類があり, どちらが起こるかはある程度投与した量に依存している. 詳細は後述する.

次にシリカの対象となる $M\phi$ について述べる.

Ⅲ. 肺マクロファージ (Alveolar Macrophage, AM)

A. 肺マクロファージ (AM) の生態

吸入されたシリカは肺実質に存在する AM に貪食される。AM は腹腔 Mφ, 肝のクッパー細胞と同じく, おもに骨髄由来のものである。安岡ら¹⁹⁾によると, 気管支肺胞洗浄法によって正常者の肺中葉の 1 区域から採取した洗浄液には 10⁷ 前後の細胞があるが, その約 85~90% は AM であるという。AM の大きさは直径 15~50 μm で細胞質内に lysosome をはじめ多くの細胞内小器官を内包している²⁰⁾。

B. AM の細胞膜に及ぼすシリカの影響

上述のように Allison^{7,18)} は組織培養で AM にシリカを貪食させたところ, “rapid” と “delayed” の 2 種の反応があることを報告している。

“rapid” とは 100 μg/dl 以上の多量のシリカを, 血清無添加の生理食塩水中で AM に貪食させたときに起こる反応で, 多くの細胞は 1 時間以内に死滅し細胞膜の迅速な溶解がみられる。この “rapid” な細胞毒性はシリカが膜に作用して起こるもので, 酵素消費が低下すると 1 時間後には lysosome をはじめ細胞質に存在する乳酸脱水素酵素のような酵素も培地に放出される。そして大部分の細胞は 2~3 時間内に死滅する。この “rapid” な細胞毒性はシリカ粒子を蛋白, あるいは phosphatidylcholine で被覆するか, poly-2-vinyl-pyridine-1-oxide (PVPNO) 内におくと阻止できる。

“delayed” な細胞毒性は中等度の量のシリカを血清添加培地に加えてから 2~6 時間後に観察できる。シリカ粒子は迅速に貪食されるが, 顕微鏡撮影で時間を追って見てゆくと貪食した細胞は生き続け, 少なくとも 1 時間は運動している。シリカを貪食したファゴゾムを取り囲んだ lysosome はやがてファゴゾムと融合し, lysosome の酵素をファゴゾム中に放出する。lysosome の酵素は蛋白被膜を消化するので, シリカの表面は露出して lysosome の膜に作用する。その結果, 膜の透過性がたかまり lysosome の酵素は細胞質に漏出する。lysosome の酵素の放出は細胞の死と崩壊にみちびき, シリカは放出される。死滅した Mφ から遊離したシリカは毒性を失うことなく, 再び別の Mφ に貪食されて毒性を発揮する。この過程は何度もくり返される。

PVPNO をシリカと同時に作用させると細胞毒性は著しく弱められる。Mφ はシリカとポリマー (PVPNO) を貪食し, lysosome 酵素が蛋白被膜を消化すると, シリカの表面は第 2 次の lysosome の内部で非崩壊性のポリマーで被覆され毒性が弱められるためである。

Nash ら²¹⁾ はシリカは水と作用して表面に珪酸が生じ一定の順序に並んだ珪酸の水素結合群が膜のアミド, 磷酸塩, 第 4 級のアンモニウム塩と結合して膜の蛋白変性を起こすと述べている。重合体, たとえば PVPNO はシリカと容易に水素結合するので, シリカによる膜の構造の破壊を防ぐことができる²²⁾。

生体膜はリン脂質の 2 重層で構成され, これを matrix として, 蛋白質や脂質が埋め込まれ細胞機能を調節している。この生体膜脂質は多価不飽和脂肪酸に富み, 過酸化を受けやすい。通常生体には保護機構があって生体膜の過酸化は防止されているが, なんらかの原因で保護機構が破綻すると過酸化が急激に進行し, 生体膜は傷害され, 酵素の変性や漏出が起こり, 細胞機構の維持ができなくなる²³⁾。

Mφ や多形核白血球は異物を貪食すると活性化されて膜に過酸化脂質が増加する^{24~26)}。

シリカは試験管内で遊離基を形成し, 遊離のプロリンを非酵素的に水酸化して, ハイドロキシプロリン (HOP) として線維化を進行させるように作用する^{27,28)}。

Gabor ら²⁹⁾ はラットの気管内に石英を注入すると, 肺の過酸化脂質が対照に比べてはるかに増加することを観察した。また, 石英をモルモットの AM に貪食させたところ過酸化脂質が, 無害な粉じん (コランダム) を貪食させた場合に比べて顕著に増加するのを認めた³⁰⁾。小池ら³¹⁾ はウサギの AM における過酸化脂質の形成は加えたシリカの量に平行し過酸化にはスーパーオキシドが関与していることを明らかにした。ソ連では珪肺症の病因に過酸化脂質が重要な役割を演じていることに着目している³²⁾。実験的珪肺症では肺の HOP は日数の経過に伴って直線的に増加する。過酸化水素は始めは HOP に平行して上昇し, 中途から減少して正常値まで低下する。脂質の抗酸化活性は過酸化水素とは反対に, 初期に減少し後には正常値に比べて 3.5 倍にも増加して, 過酸化水素の走行と交叉する。シリカにより肺にコラーゲンが形成されるにつれて初期には過酸化水素が増えるが, その後脂質の抗酸化活性が活性酸素の発生を抑制し, 過酸化脂質のバランスを保たせるように働いていることを示している。これらの関係をシェーマにまとめているが fibrogenic factor については触れていない³³⁾。

Ⅳ. 肺マクロファージはシリカを貪食し fibrogenic factor を放出して線維芽細胞を刺激してコラーゲンを生成する

in vitro でシリカが Mφ に貪食されてコラーゲン産生に至る過程は Allison ら⁷⁾ の 2 段階説として提唱され,

その後の実験はこの説を支持するものが多く、現在この2段階説が一般に通用している。以下、この説を裏づける諸実験の足跡を辿ってみる。

A. シリカが直接に線維芽細胞に働いてコラーゲンを生成させるか否か

Richards ら^{34,35)}は種々の濃度のシリカを線維芽細胞の logarithmic growth (対数期) と stationary phase (静止期) に作用させてハイドロキシプロリン (HOP) の含有量を測定したが、いずれの時期でも対照に比べて有意の増加を示さなかった。

Heppleston and Styles⁶⁾はMφの抽出物が線維芽細胞におよぼす影響の実験の対照に、培地の線維芽細胞に直接シリカ粒子を作用させてみたが、HOPの含有量は増加しなかった。

これらの実験成績はシリカを直接線維芽細胞に作用させても、コラーゲンは形成されないことを示している。

B. シリカを貪食したMφから培地に放出された抽出物が線維芽細胞に作用すること

シリカを貪食したMφが死ぬと fibrogenic factor が放出されることが予想されていたがそれを組織培養で直接証明したのが Heppleston and Styles の実験である⁶⁾。すなわち、ラットの腹腔Mφを石英と1日間培養した後、Mφを破碎して50×gで15分間遠沈した、その上清をヒヨコ胚の線維芽細胞の培地に加え4日間にわたって培養し、DNAとHOPを測定した。

シリカを貪食した腹腔Mφのホモジネートはヒヨコ胚の胚骨の線維芽細胞を加えた培地のHOPの含有量を有意に増加させ、HOP/DNAは3~15倍になった。

Burrell and Anderson³⁶⁾はウサギのAMとヒト(WI-38)の線維芽細胞を使って Heppleston and Styles と同様の結果を得た。これに対して Harrington ら³⁷⁾はハムスターのMφにシリカを貪食させて、その上清培地をハムスターの線維芽細胞の培地に加えたがコラーゲンの生成は増加せず、Heppleston and Styles の成績を否定する結果を得た。

Kilroe-Smith ら³⁸⁾はモルモットに石英を吸入させ、肺胞気管支洗浄液のMφを音波破碎し、Heppleston and Styles の50×gよりはるかに回転数の速い90,000×gで1時間遠沈した。その沈渣をモルモットの腹腔内に移植すると、3週後と5か月後に肉芽腫が形成されたのでこの factor は可溶性の物質ではないと推定した。

Nourse ら³⁹⁾はモルモットの線維芽細胞とモルモットの肺Mφの2細胞組織培養系を使って実験した。モルモットに石英を吸入させ採取した肺洗浄液の活性化Mφの抽出液だけが non-confluent (非融合期) の線維芽細胞

でコラーゲンの形成を促進することを観察した。彼らは音波破碎したMφを90,000×gで1時間遠沈した上清だけが、線維化作用があることを認めた。そして沈渣は培養細胞にやや有毒で、コラーゲンの生成を促進しないことを明らかにした。

Kilroe-Smith らは沈渣が線維芽細胞のコラーゲン生成を促進し、Nourse らは上清だけがこの働きがあるという正反対の結果を得た。

Aalto ら⁴⁰⁾はシリカを貪食したラットの腹腔Mφから放出された可溶性因子が肉芽組織の培養切片でコラーゲンおよびその他の蛋白の合成を促進することを明らかにした。シリカで活性化したMφのホモジネートを分画遠心し、20,000×gの上清に [³H]-proline のHOPへの取り込みを促進する分画があることを観察している。またシリカを加えない正常のMφの抽出液は、肉芽組織切片のDNAとRNAの合成を抑制するが、シリカを加えたMφの抽出液は合成を抑制しなかった。

Aho and Kulonen⁴¹⁾はシリカを加えたMφから放出された factor は polysomal RNA の degradation を遅らせるので、肉芽組織 (線維芽細胞) の polysome の産生が高まり、polysome を含む cell-free 系におけるコラーゲンの合成が促進されることを立証した。

Aalto and Kulonen⁴²⁾はシリカを加えたMφから培地に放出された factor をセフデックスでくり返しゲル濾過し、ゲル電気泳動したところ濃厚な fraction III が得られた。この fraction III の蛋白Bが [³H] proline と [³H]-thymidine の培養肉芽細胞への取り込みを増加させた。この均質の蛋白質 (分子量14,300) 分画がコラーゲンの合成を促進し RNase の活性を阻害する fibro-genic factor の本体ではないかと報告している。

Lehtinen and Kulonen⁴³⁾はシリカを貪食したMφから放出された factor は培養肉芽組織切片の放射能のコラーゲンへの取り込みを増加させ、とくに粗面小胞体分画において著しいことを観察した。この現象は培養20分後から観察され、3時間まで直線的に増加した。すなわち fibrogenic factor はラベルしたプロリンのコラーゲンへの取り込みを成熟期で、ラベルした thymidine のDNAへの取り込みを増殖期で顕著に促進したことを示唆している。

C. 拡散チャンバーによるシリカの線維化促進

以上はシリカをMφに貪食させて放出された可溶性因子を線維芽細胞に作用させた *in vitro* の実験であり、*in vivo* で線維化が進展する過程は解明されていない。この機構の解明に肺を直接の対象とするには、肺臓器はあまりにも複雑すぎるからである。そこで拡散チャンバーを

使って *in vivo* で線維化現象を観察しようとした。

Allison ら⁴⁴⁾ はマウスの腹腔内に拡散チャンバーを植え込みチャンバー内の可溶性因子がミリポアフィルターを通じて腹腔細胞の線維化を起こすかを調べた。このチャンバーは孔の直径が $0.8\ \mu\text{m}$ のミリポアフィルターを使っており、 $1\ \mu\text{m}$ 以上の大きさの $\text{M}\phi$ とシリカ粒子はチャンバー外に拡散できないが、 $\text{M}\phi$ が分泌する物質は拡散するようになっている。少量のシリカと腹腔 $\text{M}\phi$ をチャンバーに入れておくと、チャンバーの周辺よりも、むしろ腹腔壁と臓器側腹に多量のコラーゲンが生成し肥厚した。50 μg 以上の多量のシリカはチャンバー内の大部分の $\text{M}\phi$ を死滅させる結果わずかの線維化しか起こらなかった。

Bateman ら⁴⁵⁾ は Allison らの拡散チャンバーを改良し孔の直径 $0.05\ \mu\text{m}$ の nucleopore membrane を使用したので、Allison らとはちがった成績を得た。この membrane は Dorentrup no. 12 の石英粒子 (75% 以上は $0.8\ \mu\text{m}$ 以下の大きさで、10.7% が $0.2\ \mu\text{m}$ 以下) がチャンバーから出てゆかないくらい孔が小さく、また membrane filter の孔を通じて細胞質の突起が互いに接触できないようにできていた。

チャンバー内にシリカと腹腔 $\text{M}\phi$ をおいておくと、シリカの量が $20\ \mu\text{g}/10^6\ \text{M}\phi$ から $5\ \mu\text{g}/10^6\ \text{M}\phi$ の範囲では多量のシリカの強い細胞毒性によって $\text{M}\phi$ は死滅するので fibrogenic factor は放出されなかった。きわめて少量 ($0.05\ \mu\text{g}/10^6\ \text{M}\phi$) のシリカを $\text{M}\phi$ と混在させると顕著な線維化がみられた。

拡散チャンバー実験では $\text{M}\phi$ をチャンバー内に補給できないので、1世代だけで線維形成は終わってしまう。生体内では、 $\text{M}\phi$ が長期にわたって補給されシリカに刺激されるので、fibrogenic factor は次々に放出され慢性的線維症が起こるのではなかろうか。

V. シリカが $\text{M}\phi$ のリボヌクレアーゼ (RNAase) の活性を低下させて、線維芽細胞の蛋白合成が促進されるという説

Aho⁴⁶⁾ はラットの腹腔 $\text{M}\phi$ を培養した培地には、 $\text{M}\phi$ から放出された活性のある RNAase があって、これが周辺の線維芽細胞の蛋白と DNA の合成を阻害していることを見いだした。ところが $\text{M}\phi$ にシリカを貪食させると RNAase の活性は上清で低下していた⁴⁷⁾。一方この上清で培養した肉芽組織切片では蛋白合成が促進し、肉芽組織切片のポリゾームおよび肉芽組織から分離したポリゾームの degradation が減少した。おそらく貪食されたシリカ粒子が RNAase およびその他の蛋白を吸着し

て、 $\text{M}\phi$ の上清からとり去るためではなかろうか。

$\text{M}\phi$ から放出された RNAase には線維芽細胞の RNA を分解する作用があるので、シリカによって $\text{M}\phi$ からの RNAase の活性が低下すると、RNAase によって阻害されていた線維芽細胞の RNA のポリゾームが stabilize して蛋白合成が増進する。

しかしシリカによって $\text{M}\phi$ が強く刺激される条件下では、コラーゲンの生成はシリカによる $\text{M}\phi$ の RNAase の活性低下による線維芽細胞の蛋白合成の亢進に加えて、活性化された $\text{M}\phi$ から fibrogenic factor が多量に放出され、両者相まって線維芽細胞によるコラーゲンが増加するのではなかろうか⁴⁸⁻⁵¹⁾。

VI. 肺マクロファージの補充

実験的慢性珪肺症では炎症性の変化が強い。初期には好中球も集まるが、後期には肺間質と air space に $\text{M}\phi$ が集積する⁵²⁾。

肺に炎症性変化が起こると肺 $\text{M}\phi$ (AM) は chemotactic factor を放出し、好中球と $\text{M}\phi$ を炎症部位に動員する^{53,54)}。Miller ら⁵⁵⁾ の実験によると石英を吸入した動物の気管支肺胞洗浄液をとり凍結融解して細胞群を破壊して得られた抽出液は、正常の常在 AM に chemotactic に働く。しかし石英を吸入しない対照のモルモットから採った洗浄液の細胞群の抽出液には chemoattractant の活性がなかった。この実験から Miller らは珪肺が進むにつれて、シリカは AM に作用して chemotactic factor を放出させ、単核貪食細胞を局所に補充すると述べている。

Lugano ら⁵⁶⁾ は正常モルモットの AM を肺気管支洗浄法によって採取し、シリカあるいはラテックスと2時間培養しその上清を blind-well chemotactic chamber に入れ、chemotactic activity を測定した。その結果シリカを加えた AM 培地に向かって移動する腹腔 $\text{M}\phi$ の数は、ラテックスを加えた AM 培地あるいは無添加の AM 培地に向かう数に比べて多かった。またモルモットの AM 致死量以下のシリカを加え、培地の chemotactic activity を調べた。好中球と刺激された腹腔 $\text{M}\phi$ はこの培地に向かって移動したが、常在の AM は移動しなかった。

Lugano らの *in vitro* の実験では、シリカを貪食した AM は培地に chemotactic factor を放出して好中球や腹腔 $\text{M}\phi$ の遊走を促すが、Miller らの実験とはちがって常在 AM には chemotactic に働かないことを明らかにした。

しからば AM はどこから補充されるのか。Hepple-

ston⁶⁷⁾はAMは肺の脂質が骨髓を刺激して骨髓から補充されることを示した。もともとAMの大部分は骨髓由来の単球から分化したもので、肺間質で数日以上かかってMφへ分化する⁶⁸⁾。シリカを吸入したラットの肺に脂質が蓄積することはすでに報告^{57,59,60)}されている。Heppleston⁶⁷⁾はこの脂質はType IIの肺胞の表皮細胞でおもにつくられ骨髓に運ばれるが、骨髓のpromocyteの細胞周期を短縮してmonocytopoiesisが起こり単球が血流に急速に放出されて、肺の必要な局所に移動するのだと述べている。

Civil and Heppleston⁶¹⁾はラットに石英を吸入させ肺胞にlipoproteinosisを起こし、肺の脂質成分を抽出し、腹腔と静脈内に注射した。その結果、骨髓でのDNAの合成時間とpromocytesの細胞周期が短縮したと報告している。promocytesは骨髓で単球となり血流に出て、肺の局所の要求に応じて肺に移動する。肺と骨髓の間には、このように脂質を介してフィードバックが働いて単球が肺に向かって移動することになる。

普通の状態では単球はゆっくりとランダムに肺胞にあらわれ、実質に移動しそこで成熟し、Mφに分化して肺胞空間に達する。そして肺胞から失われてゆくMφにとってかわる^{62,63)}。しかし石英のような強い刺激物質が肺にたまと血管の透過性が高まり、需要に応じて単球を血流から受け入れる態勢をとる。この際、プロスタグランジンE₂あるいは血管活性化アミンが関与する。AMに向かって脂質および脂質を含んだlung lining materialが引きよせられ、単球の移動が容易となり助長される。さらに好中球のライソゾームからpeptidesを含んだfactorがでて単球にchemotacticに働き、単球は炎症部位に動員される。

以上のように多量のAMが蓄積したシリカに向かって動員されるが、それにはシリカによって肺胞にlipoproteinosisが起こり、それが骨髓に運ばれて骨髓にmonocytopoiesisを起こす。骨髓で増殖した単球は血流によって肺に移動する。そして肺の実質で分化してAMのchemoattractantの作用によって肺胞に達し、常在するAMに転換して活動する。

VII. 線維芽細胞の増生

炎症部位のMφからはモノカインであるfibronectin⁶⁴⁻⁶⁶⁾が放出されin vitroで結合組織の線維芽細胞にchemoattractantに作用する。fibronectinは炎症のメジャーとして働き、損傷した組織に線維芽細胞を補充する。

線維芽細胞が炎症部位にあらわれるとマトリックスを

合成し損傷した結合組織を修復するが、Mφは線維芽細胞の作用を調整する。すなわちMφは可溶性のモノカインであるインターロイキン-1(IL-1)を遊離して、in vivoで損傷した組織、炎症の浸潤部位にある線維芽細胞の増生を促進する。

Postlethwaiteら⁶⁷⁾はIL-1がヒトの皮膚の線維芽細胞を刺激して、細胞間質に多量のコラーゲナーゼが生じたことを報告している。

Schmidtら^{68,69)}はsecondary mixed lymphocyte reaction (MLR)で生じた線維芽細胞の増生を調べ、この増生を促進する因子は分子量と等電点でヒトのIL-1と同一のものであり、IL-1と同じ作用があることを見いだした。

Morganら⁷⁰⁾はウサギのAMにシリカを加えて培養すると、AMからヒトの線維芽細胞の複製を刺激する可溶性成長因子が多量に生じ、4日後に³H-thymidineの取り込みを高め(130と162%)、細胞数を増加し(126と140%)コラーゲンが生成されることを示した。

Schmidtら⁷¹⁾は、シリカがMφからfibrogenic factorの放出を促進することを再確認したうえで、線維芽細胞を増生する活性度のレベルは、同一の培地の上清におけるIL-1の生物活性と平行することを立証した。さらに、fibrogenic factorとIL-1の生化学的性質を比較した。その結果両者はクロマトグラフィーで分離した異なった媒体に対して同じ動きを示し、熱に対する反応および異なった基質特異性をもつ蛋白分解酵素に対して同一に反応した。

これらの結果は、線維芽細胞を増生してコラーゲンの合成を促進する働きのあるfibrogenic factorとIL-1とは同一のもので、肺の線維化に寄与している。

VIII. 珪肺発生の免疫機構

剖検によってとり出した肺についてみると、沈着したシリカの量と珪肺結節の拡がり、あるいは結節数との間には単純な関係が成立するとはいえない。珪肺患者個人の遺伝的素因あるいは獲得形質が単独に、あるいは重なりあって珪肺の病型をきめているようにも見える。

形成されたコラーゲンの量は、肺に沈着したシリカの量に必ずしも比例しないし、シリカ暴露から遠ざかっても長期間にわたってコラーゲンが形成され続け^{72,73)}珪肺結節の数がふえ拡がりが大きくなることは、そこに免疫機転が介在することを示唆する。またシリカを貪食したMφが結節に向かって移動しそこで死滅してシリカを放出することも、コラーゲンの増加をまねくといえよう。

いまだシリカによる肺の線維化にあたってのMφと

線維芽細胞との相互作用について詳細に述べてきたが、次に珪肺結節形成をめぐる免疫がどんな役割を演じているかの報告を展望してみよう。

「珪肺症は自己免疫疾患か、それとも慢性炎症性の現象か？」という題名のもとで珪肺患者の血漿蛋白成分を分析した Schmidt und Brunner⁷²⁾ は珪肺は慢性の炎症を伴う疾患であるとして、免疫の役割について否定的な見解を示している。彼らが測定した血漿蛋白成分の大部分は正常範囲にあったが、IgA, IgG, α_1 -antitrypsin, haptoglobin, c-reactive protein だけは顕著に増加していた。珪肺患者の自己抗体値は対照の正常者の値に比べて有意の差を示さなかった。これらの成績から、彼らは自己抗体の変動は珪肺症に特異的現象ではない、また免疫グロブリン (IgA, IgG) と c-reactive protein の増加は急性の炎症の反映であり、IgA と X線像の異常段階分類との間にも、一致が見られなかったことから珪肺症は慢性の炎症を呈する疾患であって自己免疫疾患とはいえないと述べている。

他方 1950 年代の後半に Vigliani and Pernis によって珪肺症の病因に免疫が関与することが実証されて以来、これを支持する多くの報告が出された。

彼らの理論は、石英粉じんの蓄積した肺の間質にみられる線維状の硝子様変性は石英あるいは石英によって変性した体成分がハプテンあるいは抗原として、局所に抗原-抗体反応を起こした結果であるという⁴⁾。異種の血清で免疫した動物を 2 群に分け、シリカに暴露した群と暴露しない群の形質細胞の活性を比較したところ、暴露群は対照群に比べて強く活性化されていることが、高い免疫グロブリンの力価で立証された^{73,74)}。またシリカを注射した動物に種々の抗原を作用させると、抗体の力価は対照に比べて数倍高くなり、時間がたつにつれて抗体価は上昇した。シリカを注射してから、抗原を作用させるまでの時間が長ければ長いくほど、抗体の力価はますます大きくなる。これがシリカのアジュバント効果で、Pernis and Paronetto⁷⁵⁾ のほか多くの研究者により研究され、シリカの“永続するアジュバント効果”と呼ばれた。

その後免疫学の急速な進歩に伴って、M ϕ の免疫作用が次々に明らかにされた。肺 M ϕ を含めて M ϕ の抗原提示作用が立証された。また M ϕ から IL-1 が産生されて^{99,100)}、T 細胞を刺激して反応性を高める一方、線維芽細胞を刺激して増生を促進する働きがあることが明らかにされた⁶⁹⁾。

刺激された T 細胞は、可溶性物質を産生し、M ϕ の免疫作用を強める。これがリンホカインの一種 macro-

phage Ia recruitment factor (MIRF) で、M ϕ はこのリンホカインの働きで、抗原を取り込んで加工して M ϕ 表面に提示する。M ϕ は抗原提示細胞となり、抗原情報を提示して T 細胞を活性化する⁷⁷⁾。

Vigliani and Pernis^{9,76)} は生体にとりこまれた鉱物性粉じんの量が十分ならば、免疫応答の調節機構が働いて生体は応答するとして、一つの作業仮説をたてた。

この仮説の段階は次のようである。

1. シリカの表面はポリアニオンで構成され、ちょうどグラム陰性のバクテリアのリポポリサッカライドと同様に M ϕ を刺激する。刺激された M ϕ は IL-1 を含む高いレベルの媒体を産生する。!
2. IL-1 は直接に線維芽細胞に働いて活性化し、コラーゲンの産生を促進する⁷¹⁾。
3. IL-1 は非特異的に T 細胞、とくにヘルパー T 細胞を活性化する。
4. T 細胞は組織にあるすべての T-依存の抗原に反応して遅延型過敏症を発生させ、T-B 細胞相互作用によって B 細胞を刺激して免疫作用を引き起こす。B 細胞は成熟して形質細胞となり、免疫グロブリンを産生する。

5. 活性化した T 細胞は MIRF のようなリンホカインをつくり、M ϕ を活性化して免疫作用を強めて vicious circuit が形成される。

この段階を図式化して Fig.1 に示した。この図について若干の説明を付け加える。

1. この反応は鉱物性粉じんか肺 M ϕ に作用することによって開始する。鉱物性粉じんが存続する限り、長期間にわたって作用することになる。
2. この過程の本質的要素は M ϕ とヘルパー T 細胞が 2 方向性に相互に作用し合って vicious circuit を形成することである。
3. 抗原は vicious circuit と T-B 細胞相互作用により B 細胞を永続して刺激する。この場合の抗原は特異的なものでなく、肺組織に近づいた抗原であればよい!
4. vicious circuit が働いて奏効細胞が刺激され、線維芽細胞からはコラーゲンが、また形質細胞からは免疫グロブリンが異常に産生される。
5. IL-1 が線維芽細胞とヘルパー T 細胞の両方に作用し、線維化と免疫反応が同時に進行する。

Vigliani and Pernis の作業仮説にもとづいてつくられた Fig.1 は *in vitro* の実験成績を基礎としているが、珪肺患者あるいはシリカに暴露した実験動物にこの図式をあてはめて肺の線維化を説明できるかどうかみてみよう。

* These processes are antigen-dependent

Fig.1. Circuit of immunostimulation and fibrosis in pulmonary dust disease.⁹⁾

(By courtesy of the authors and *Am. J. Ind. Med.*)

ヘルパーT細胞によってB細胞が活性化されて抗体を産生する体液性免疫では上述の図式から、珪肺患者では免疫グロブリン値が上昇することが予想される。Vigliani and Pernis^{73,74)}以来、多数の研究者によって珪肺患者では免疫グロブリンが高値を示すことが報告された^{72,80,82,87-89,92)}。また実験的ウサギ珪肺症で気管支肺胞洗浄液にIgA, IgGの分泌が亢進し^{90,91)}、血清にIgGが増加し⁹²⁾珪肺結節に免疫グロブリンが顕著に生成されることが確認された⁷⁵⁾。実験動物で種々の抗原に対してシリカがアジュバント効果があること⁹³⁾、マウスにシリカを注射して持続的なブースター作用のあるIgE抗体が生ずることを観察した報告もある⁹⁴⁾。

珪肺患者の抗肺抗体価は健康人に比べて高い^{80,81)}。こと、細胞核成分に対する自己抗体である抗核抗体(ANA)が陽性を示すものが多い⁸²⁻⁸⁴⁾ことが報告されている。抗核抗体と関連のある慢性関節リウマチ患者のリウマチ因子(RF)の陽性率は珪肺患者では高いという⁸⁴⁻⁸⁶⁾。また長期間シリカ粉じん暴露された炭坑夫では進行性全身性硬化症が高率に認められた⁹⁵⁾。

以上はシリカによって体液性免疫が亢進した例であるが、あらかじめシリカに暴露された実験動物では、抗体の産生が抑制されたという反対の報告もある^{97,98)}。

B細胞が関与しないで、T細胞によって営まれている免疫反応に細胞性免疫がある。シリカはMφに貪食されてMφを介して他の細胞に作用するが、Mφ以外の細胞に直接に働くことはない⁹⁹⁾。すなわちMφはIL-1を産生し放出して、IL-1を介してT細胞に働く^{99,100)}。シリカにはヒトや実験動物の細胞性免疫をあるときは亢

進し、あるときは低下させ、あるいは亢進も低下もさせないという一定しない働きがある。

珪肺患者では、遅延型過敏症、全リンパ球数、末梢血液のT細胞、B細胞の百分率などで対照群に比べて有意の差が見られなかった¹⁰¹⁾。またanthrosilicosisとsilicosisでは健康者に比べてT細胞の百分率は減少したが^{102,110,111)}、珪肺結核患者では、珪肺患者に比べてT細胞の減少率はさらに著しかった¹¹¹⁾。シリカを静注して放射線を照射したマウスでは、同種の骨髄移植片を拒絶する能力が減少した¹⁰³⁾。シリカはウイルスに対する生体の抵抗力を弱める¹⁰⁴⁾。in vitroでシリカと似てMφに毒性を示すcarrageenanを注入したモルモットでは遅延型過敏症が抑制された¹⁰⁵⁾。シリカを貪食したMφの内部では結核菌は対照よりも発育が早く、培地には早く放出された¹⁰⁶⁾。サンドブラスト作業者や珪肺患者には非定型的なマイコバクテリアの感染が合併しているものが少なくなかった¹⁰⁷⁻¹⁰⁹⁾。また珪肺患者に結核症が合併しやすい⁷⁸⁾が、その免疫学的な根拠が示された⁷⁹⁾。

IX. シリカによる肺の線維化に伴う生化学的变化

シリカを吸入すると肺に線維が形成されるがその代謝過程を酵素活性の変化、ハイドロオキシプロリンの含有量などの生化学的变化として解明する研究が行われてきた。

生化学的变化を観察するには、大きくわけて二つの方法がある。一つは肺組織を採ってホモジナイズし、あるいはラベルして生化学的に分析する。もう一つは気管支肺胞洗浄液(以下、洗浄液と略記する)を採って、生

学的に分析する方法である。

A. 肺組織切片の生化学的分析

ラットあるいはモルモットに 25~75 mg の石英を 1 回気管内に注入し 6 日から 6 か月 (あるいは 1 年) にわたる間に殺して、肺組織をとり出してハイドロオキシプロリン (HOP) 量や protocollagen hydroxylase, PZ peptidase などの酵素活性を測定した。

肺の HOP 量は対照に比べて 6 日後に増加しはじめ⁵⁹⁾, 2 か月目¹¹⁴⁾, 3 か月目¹¹²⁾, 6 か月目¹¹⁵⁾に上昇している。しかし肺湿重量当りの HOP 量は, 1 週目¹¹⁵⁾, 16 週目¹¹³⁾に増加し 1 年目にも増加し続けたという報告¹¹⁸⁾がある一方, 6 か月目には増加していなかったという報告¹¹⁵⁾もある。この 6 か月目に肺の湿重量に対する全肺のコラーゲン量の比率が増加しなかった実験は, 50 mg のシリカをモルモットの気管内に注入し, 肺の蛋白の合成を ¹⁴C-proline の高分子への取り込みとコラーゲンの生成を ¹⁴C-HOP の形成で測定したもので, 対照群に比べて 2.5 倍のコラーゲンを生成していた。また肺組織切片の ³H-proline が protein-bound ³H-hydroxyproline へ取り込まれる量は, 注入後 1 週後に対照に比べ有意に亢進し¹¹⁶⁾, その後 1 年目まで亢進し続けた¹¹⁷⁾。protocollagen の proline を水酸化して HOP の生成に関与する protocollagen hydroxylase は 5 週目で活性が上昇し, 16 週目で最高 (2.6 倍) に達した¹¹³⁾。PZ peptidase は 2~8 週で全コラーゲン量と平行して活性が上昇したが, 16~22 週ではコラーゲン含有量と PZ peptidase の活性の平行が破れ, コラーゲンは増え続けるのに酵素の活性は低下しはじめた¹¹⁴⁾。PZ peptidase はコラーゲンが分解してアミノ酸になる最終段階に働く非特異的な中性の蛋白分解酵素の一種で peptide bond を Pro-Leu-Gly-Pro に分解する。

ラットの実験的珪肺では, シリカによる肺の線維化に伴って 2 週後には HK, TPDH, LDH, GPDH, HOADH の活性が変動し, 4 週後には HK, TPDH, LOH の活性がコランダム注入の対照に比べて亢進し, saccharide の嫌気的解糖が促進され, 最終産物の乳酸塩が増量した。これらの酵素の挙動からシリカによる肺の線維化に要するエネルギーは解糖によって供給されることが示唆された¹¹⁸⁾。

B. シリカによる気管支肺洗浄液のコラーゲン代謝と細胞形態学的変化に及ぼす影響

Sykes らは¹¹⁹⁻¹²¹⁾ 0.5, 1.5, 3.5, 5.0 mg の石英をラットの気管内に注入して, 50 日目と 100 日目に気管支肺胞洗浄液を採取して, 肺の変化を観察した。注入した石英の量と洗浄液中の多形核白血球, リンパ球, Mφ の

数との間には, 50 日目でも 100 日目の値でも dose-dependent の関係が成立し, 石英の量の増加につれて細胞の上記 3 変量は直線的に増加した^{120,121)}。また洗浄液の LDH 活性, 蛋白 HOP 量も 50 日目, 100 日目の値で石英の量に比例して増加した。さらに 5 mg の石英を注入したラットの洗浄液の PZ peptidase と collagenase の活性を測定したところ, 上清の PZ peptidase の活性は対照の生理的食塩水注入群に比べて有意に上昇した。また多形核白血球の多い細胞標本でも上昇した。collagenase の活性は洗浄液では有意の上昇を示さなかったが, 多形核白血球の細胞標本ではコラーゲンの分解 (lysis) が亢進していた。

石英の注入に伴って肺胞で炎症性変化が起こり多形核白血球が動員され, 早期に線維化される。洗浄液中に HOP 量が増量するのは炎症細胞の数が増えて, 肺胞空間に HOP の量が増加するためである。HOP は主として肺のコラーゲンが分解して生じたものであり, これを裏づけるように PZ peptidase の活性レベルが洗浄液の上清でも多形核白血球の細胞標本でも上昇している。Gadek ら¹²²⁾は, 肺の線維化にはコラーゲンの生成と分解のバランスが重要な役割を演じていると述べている。石英による肺の線維化には, 炎症に伴って多形核白血球が動員されコラーゲンの分解が亢進するが, fibrogenic factor その他によるコラーゲンの合成がそれを上回るのではなかろうか。

X. お わ り に

シリカによる肺の線維化についての最近 30 年間の内外の研究成果を, 最新の文献に力点を置いて取りまとめた。

シリカによる肺の線維化の機序は, 主として組織培養の技術を使った *in vitro* の実験, あるいは拡散チャンバーを使った *in vivo* の実験により解明された。

シリカを貪食した Mφ が fibrogenic factor を放出し, 線維芽細胞を増生してコラーゲンの生成を促進する過程に研究の焦点がおかれた。多くの研究者によって fibrogenic factor の存在の確認とその本体の究明が試みられたが, ついにセファデックスでゲル濾過して電気泳動した後の濃厚の分画にこの factor が存在することをつきとめることができた。

一方, 免疫学の進歩によって, Mφ から遊離され, 線維芽細胞を増生を促進するモノカインの一種 IL-1 の存在が確認され, fibrogenic factor と機能上, あるいは生化学的に同一の物質であることが明らかにされた。

この fibrogenic factor の抗体をつくって, 線維芽細胞

胞に作用させ、コラーゲンの合成が阻害されるか実験を進めることが期待される。その成果によって、さらに *in vivo* で線維化防止にこの抗体が役立つかどうか試みるということも考えられる。

シリカには $M\phi$ の RNAase の活性を低下させる働きがある。 $M\phi$ から遊離した RNAase によって阻害された線維芽細胞の蛋白合成、DNA 合成が、シリカによって抑制がとかれて活発化してコラーゲンの産生を促進することが明らかにされた。多量のシリカが $M\phi$ に貪食されて fibrogenic factor が多量に遊離される状況下では、シリカによる $M\phi$ の RNAase の線維芽細胞のコラーゲン合成の抑制解除と相まって、線維化が亢進することが予想される。この仮説は *in vivo* における珪肺結節の増大の謎をとく一つの鍵を提供するのではなかろうか。

in vitro のこれらの実験成果を珪肺結節の形成という複雑な病理現象の説明に結びつけるには、その間隙を埋める多くの実験が組まれる必要がある。

in vivo の線維化の解明には、今後気管支肺胞洗浄液を細胞学的、生化学的に分析しあるいは洗浄液成分を組織培養して免疫学的に研究することに多くを期待したい。一例をあげれば、線維化にはコラーゲンの合成の促進という面がおもに取りあげられてきたが、コラーゲンの分解の減退という面もコラーゲン代謝の研究において対象とされてよいのではないかと。

文 献

- 1) Vigliani, E.C.: Silicosis. In L. Parmeggiani(ed.), Encyclopaedia of Occupational Health and Safety, Vol. 2, 3rd edition, 2037-2041, ILO, Geneva, 1983.
- 2) Heppleston, A.G.: The disposal of dust in the lungs of silicotic rats, Am. J. Pathol., 40: 493-506, 1962.
- 3) 千代谷慶三: 粉じん, 日医誌, 88: 1178-1192, 1982.
- 4) Vigliani, E.C. and Pernis, B.: Immunological factors in the pathogenesis of the hyaline tissue of silicosis, Br. J. Ind. Med., 15: 8-14, 1958.
- 5) Allison, A.C., Harrington, J.S. and Birbeck, M.: Examination of the cytotoxic effects of silica on macrophages, J. Exp. Med., 124: 141-153, 1966.
- 6) Heppleston, A.G. and Styles, J.A.: Activity of a macrophage factor in collagen formation by silica, Nature, 214: 521-522, 1967.
- 7) Allison, A.C.: Lysosomes and the toxicity of particulate pollutants, Arch. Intern. Med., 128: 131-139, 1971.
- 8) Ziskind, M., Jones, R.N. and Will, H.: Silicosis, Am. Rev. Respir. Dis., 113: 643-665, 1976.
- 9) Pernis, B. and Vigliani, E.C.: The role of macrophages and immunocytes in the pathogenesis of pulmonary diseases due to mineral dusts, Am. J. Indust. Med., 3: 133-137, 1982.
- 10) King, E.J., Mohanty, G.P., Harrison, C.V. and Nagelschmidt, G.: The action of different forms of pure silica on the lungs of rats, Br. J. Ind. Med., 10: 9-17, 1953.
- 11) Raask, E. and Schilling, C.J.: Research findings on the toxicity of quartz particles relevant to pulverized fuel ash, Ann. Occup. Hyg., 23: 147-157, 1980.
- 12) Robock, K. and Klosterkotter, W.: Untersuchungen über die spezifische Schädlichkeit verschiedener SiO_2 - und Silikastaube, Staub, 33: 60-64, 1973.
- 13) Altree-Williams, S. and Sprogis, L.: Quartz: correlation between crystallinity index and fibrogenity, Ann. Occup. Hyg., 25: 455-458, 1982.
- 14) Murata, K.J. and Norman, M.B.: An index of crystallinity for quartz, Am. J. Sci., 276: 1120-1130, 1976.
- 15) Yeh, H.C., Phalen, R.F. and Raabe, O.G.: Factors influencing the deposition of inhaled particles, Environ. Health Perspect., 15: 147-156, 1976.
- 16) Reiser, K.M. and Last, J.A.: Silicosis and fibrogenesis; fact and artifact, Toxicology, 13: 51-72, 1979.
- 17) Zaidi, S.H.: Experimental Pneumoconiosis, Johns Hopkins Press, Baltimore Med., 1969.
- 18) Allison, A.C.: Interactions of silica and asbestos with macrophages, In G. Bendz and I. Lindquist(eds.), Biochemistry of Silicon and Related Problems, 337-356, Plenum Press, New York and London, 1978.
- 19) 安岡 劭, 蝶良英郎: 肺胞マクロファージ, 医学のあゆみ, 117: 625-630, 1981.
- 20) Barrett, J.T.: Textbook of Immunology, 4th edition, C.V. Mosby Com., St. Louis, Toronto and London, 1983.
- 21) Nash, T., Allison, A.C. and Harrington, J.S.: Physico-chemical properties of silica in relation to its toxicity, Nature, 210: 259-261, 1966.
- 22) Sakabe, H. and Koshi, K.: Preventative effect of polybetaine on the cell toxicity of quartz particles, Ind. Health, 5: 181-182, 1967.
- 23) Barber, A.A. and Bernheim, F.: Lipid peroxidation, its measurements, occurrence and significance in animal tissues. In Strechler, B.L. (ed.), Advanced Gerontology Research, Vol. 2, 355-403, Academic Press, New York, 1967.
- 24) Mason, R.J., Stossel, T.P. and Vaughan, M.: Lipids of alveolar macrophages, polymorphonuclear leukocytes, and their phagocytic vesicles, J. Clin. Invest., 51: 2399-2407, 1972.
- 25) Stossel, T.P., Mason, R.J. and Smith, A.L.: Lipid peroxidation by human blood phagocytes, J. Clin. Invest., 54: 638-645, 1974.
- 26) Weening, R.S., Wever, R. and Ross, D.: Quantitative aspects of the production of superoxide radicals by phagocytizing human granulocytes, J. Lab. Clin. Med., 85: 245-252, 1975.

- 27) Marasas, L.W. and Harington, J.S.: Some oxidative and hydroxylative actions of quartz; their possible relationship to the development of silicosis, *Nature*, 188: 1173-1174, 1960.
- 28) Marasas, L.W.: The redox properties of quartz, some of its derivatives, and other dusts; their possible implication in the genesis of pneumoconiosis, *Med. Lav.*, 55: 579-588, 1964.
- 29) Gabor, S., Fritz, T., Anca, Z. et Zugravu, E.: Taux des lipoperoxydes dans les poumons et le myocarde droit dans la silicose experimentale chez le rat, *Arch. Mal. Prof.*, 32: 553-558, 1971.
- 30) Gabor, S., Anca, Z. and Zugravu, E.: *In vitro* action of quartz on alveolar macrophage lipid peroxides, *Arch. Environ. Health*, 30: 499-501, 1975.
- 31) Koike, S., Kuno, Y. and Morita, H.: The effect of silica on lipid peroxidation, and the production of superoxide radicals by phagocytizing rabbit macrophage, *Nippon Eiseigaku Zasshi*, 37: 510-515, 1982.
- 32) Gel'fon, N.A. and Kulakova, M.K.: Lipid peroxidation in pneumoconiosis, *Gig. Tr. Prof. Zabol.*, (1): 30-32, 1979.
- 33) Arkhipova, O.G.: Changes the free-radical oxidation of lipids in experimental silicosis and chief directions in the research for pathogenetic methods of treatment, *Gig. Tr. Prof. Zabol.*, (10): 25-30, 1983.
- 34) Richards, R.J., Wusteman, F.S. and Dodgson, K.S.: The direct effects of dusts on lung fibroblasts grown *in vitro*, *Life Sci.*, 10, Part, 1: 1149-1159, 1971.
- 35) Richards, R.J. and Wusteman, F.S.: The effects of silica dust and alveolar macrophages on lung fibroblasts grown *in vitro*, *Life Sci.*, 14: 355-364, 1974.
- 36) Burrell, R. and Anderson, M.: The induction of fibrogenesis by silica-treated alveolar macrophages, *Environ. Res.*, 6: 389-394, 1973.
- 37) Harrington, J.S., Ritchie, M., King, P.C. and Miller, K.: The *in vitro* effects of silica-treated hamster fibroblasts, *J. Pathol.*, 109: 21-37, 1973.
- 38) Kilroe-Smith, T.A., Webster, I., Van Dimmelen, M. and Marasas, L.: An insoluble fibrogenic factor in macrophages from guinea pigs exposed to silica, *Environ. Res.*, 6: 298-305, 1973.
- 39) Nourse, L.D., Nourse, P.N., Botes, H. and Schwartz, H.M.: The effects of macrophages isolated from the lungs of guinea pigs dusted with silica on collagen biosynthesis by guinea pig fibroblasts in cell culture, *Environ. Res.*, 9: 115-127, 1975.
- 40) Aalto, M., Potila, M. and Kulonen, E.: The effect of silica-treated macrophages on the synthesis of collagen and other proteins *in vitro*, *Exp. Cell Res.*, 97: 193-202, 1976.
- 41) Aho, S. and Kulonen, E.: Effect of silica-liberated macrophage factors on protein synthesis in cell-free systems, *Exp. Cell Res.*, 104: 31-38, 1977.
- 42) Aalto, M. and Kulonen, E.: Fractionation of connective tissue activating factors from the culture medium of silica-treated macrophages, *Acta Pathol. Microbiol. Immunol. Scand. C*, 87: 241-250, 1979.
- 43) Lehtinen, P. and Kulonen, E.: Subcellular targets of soluble SiO₂-liberated macrophage factors in experimental granulation tissue, *Biochim Biophys. Acta*, 564: 132-140, 1979.
- 44) Allison, A.C., Clark, I.A. and Davies, P.: Cellular interactions in fibrogenesis, *Ann. Rheum. Dis.*, 36, Suppl. 8: 8-13, 1977.
- 45) Bateman, E.D., Emerson, K.J. and Cole, P.J.: A study on macrophage-mediated initiation of fibrosis by asbestos and silica using a diffusion chamber technique, *Br. J. Exp. Pathol.*, 63: 414-425, 1982.
- 46) Aho, S.: Purification of two ribonucleases from macrophage culture medium and studies on their effect on granulation tissue fibroblasts, *Acta Chem. Scand. B*, 34: 707-714, 1980.
- 47) Aho, S. and Kulonen, E.: Involvement of ribonuclease in the interactions of macrophages and fibroblasts in experimental silicosis, *Experimentia*, 36: 29-31, 1980.
- 48) Aho, S., Peltonen, J., Jalkanen, M. and Kulonen, E.: Effect of silica on a culture of rat peritoneal macrophages, *Ann. Occup. Hyg.*, 22: 285-296, 1979.
- 49) Aho, S., Lehtinen, P. and Kulonen, E.: Effects of purified macrophage RNAase on granuloma fibroblasts with reference to silicosis, *Acta Physiol. Scand.*, 109: 275-281, 1980.
- 50) Kulonen, E., Aalto, M., Aho, S., Lehtinen, P. and Potila, M.: Recent investigations on macrophage proteins and of fibroblast RNA in silicotic lung fibrosis, *Control Microbiol. Immunol.*, 7: 204-211, 1983.
- 51) Kulonen, E., Aalto, M., Aho, S., Lehtinen, P. and Potila, M.: Fibroblast RNA and macrophage protein (including the fibrogenic factor) in experimental silicosis, *Environ. Health Perspect.*, 51: 119-124, 1983.
- 52) Dauber, J.H., Rossman, M.D., Pietra, G.G., Jimenez, S.A. and Daniele, R.P.: Experimental silicosis; morphologic and biochemical abnormalities produced by intratracheal instillation of quartz into guinea pig lungs, *Am. J. Pathol.*, 101: 595-612, 1980.
- 53) Hunninghake, G.W., Gallin, J.I. and Fauci, A.S.: Neutrophil chemotactic factor from alveolar macrophage, *Clin. Res.*, 25: 418 A, 1977.
- 54) Hunninghake, G.W., Gallin, J.I. and Fauci, A.S.: Immunologic reactivity of the lung. The *in vivo* and *in vitro* generation of a neutrophil chemotactic factor by alveolar macrophages, *Am. Rev. Respir. Dis.*, 117: 15-23, 1978.
- 55) Miller, K., Calverty, A. and Kagan, E.: Evidence of quartz-induced chemotactic factor for guinea pig alveolar macrophages, *Environ. Res.*, 22: 31-39, 1980.
- 56) Lugano, E.M., Dauber, J.H. and Daniele, R.P.: Silica stimulation of chemotactic factor release by guinea pig alveolar macrophages, *J. Reticuloen-*

- do. hel. Soc., 30 : 381-390, 1981.
- 57) Heppleston, A.G. : Cellular reactions with silica. In G. Bendz and I. Lindquist (eds.), *Biochemistry of Silicon and Related Problems*, 357-379, Plenum Press, New York and London, 1978.
 - 58) 安岡 勲, 大串文隆, 土屋裕幸 : 呼吸と循環, 31 : 373-380, 1983.
 - 59) Chvapil, M., Eskelson, C.D., Stiffel, V. and Owen, J.A. : Early changes in the chemical composition of the rat lung after silica administration, *Arch. Environ. Health*, 34 : 402-406, 1979.
 - 60) Grunspan, M., Antweiler, H. and Dehnen, W. : Effect of silica on phospholipids in the rat lung, *Br. J. Ind. Med.*, 30 : 74-77, 1973.
 - 61) Civil, G.W. and Heppleston, A.G. : Replenishment of alveolar macrophages in silicosis; implication of recruitment of lipid feedback. *Br. J. Exp. Pathol.*, 60 : 537-547, 1979.
 - 62) Bowden, D.H. and Adamson, I.Y.R. : The pulmonary interstitial cell as immediate precursor of the alveolar macrophage, *Am. J. Pathol.*, 68 : 521-536, 1972.
 - 63) Bowden, D.H. and Adamson, I.Y.R. : The alveolar macrophage delivery system. Kinetic studies in cultured explants of murine lungs, *Am. J. Pathol.*, 83 : 123-134, 1976.
 - 64) Tsukamoto, Y., Hasel, W.E. and Wahl, S.M. : Macrophage production of fibronectin, a chemoattractant for fibroblasts, *J. Immunol.*, 127 : 673-678, 1981.
 - 65) Postlethwaite, A.E., Keski-Oja, J., Balian, G. and Kang, A.H. : Induction of fibroblast chemotaxis by fibronectin : localization of the chemotactic region to a 140,000 molecular weight non-gelatin-binding fragment, *J. Exp. Med.*, 153 : 494-499, 1981.
 - 66) 長田 博, 長谷川淳, 川上義和 : Fibronectin と肺, 呼吸と循環, 32 : 336-340, 1984.
 - 67) Postlethwaite, A.E., Lachman, L.B., Mainardi, C.L. and Kang, A.H. : Stimulation of fibroblast collagenase production by human interleukin 1. *Fed. Proc.*, 41 : 438, 1982.
 - 68) Schmidt, J.A., Mizel, S.B., Cohen, D. and Green, I. : Interleukin 1, a potential regulator of fibroblast proliferation, *J. Immunol.*, 128 : 2177-2182, 1982.
 - 69) Schmidt, J.A., [Mizel, S.B. and Green, I. : A fibroblast proliferation factor isolated from human MLR supernatants has physical and functional properties similar to human interleukin 1 (IL-1), *Fed. Proc.*, 40 : 1084, 1981.
 - 70) Morgan, J.E., Stankus, R.P. and Salvaggio, J.E. : Silica-induced production of a fibroblast growth promoting factor by alveolar macrophages, *Clin. Res.*, 29 : 867 A, 1981.
 - 71) Schmidt, J.A., Oliver, C.N., Green, I. and Gery, I. : Silica stimulated monocytes release fibroblast proliferation factors identical to interleukin 1. A potential role for interleukin 1 in the pathogenesis of silicosis, *J. Clin. Invest.*, 73 : 1462-1472, 1984.
 - 72) Schmidt, S.T. und Brunner, H.-P. : Silikose-eine Autoimmunerkrankung oder ein chronisch-entzündlicher Prozess? *Z. Erkr. Atem.-Org.*, 159 : 66-73, 1982.
 - 73) Vigliani, E.C. and Pernis, B. : Immunological aspects of silicosis, *Adv. Tuberc. Res.*, 12 : 230-279, 1963.
 - 74) Vigliani, E.C. and Pernis, B. : An immunological approach to silicosis, *J. Occup. Med.*, 1 : 319-328, 1959.
 - 75) Pernis, B. and Paronetto, F. : Adjuvant effect of silica (tridymite) on antibody production, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 110 : 390-392, 1962.
 - 76) Vigliani, E.C. : Pathogenesis of silicosis, *Schweiz. Med. Wochenschr.*, Suppl. 15 : 43-46, 1983.
 - 77) Scher, M.G., Beller, D.I. and Unanue, E.R. : Demonstration of a soluble mediator that induces exudates rich in Ia-positive macrophages, *J. Exp. Med.*, 152 : 1684-1698, 1980.
 - 78) Snider, D.E. : The relationship between tuberculosis and silicosis, *Am. Rev. Respir. Dis.*, 118 : 455-460, 1978.
 - 79) Bateman, E.D., Emerson, R.J. and Clole, P. : Mechanisms of fibrogenesis, In Weil, H. and Turner-Warwick, M. (eds.), *Occupational Lung Diseases*, 237-290, Marcel Dekker, Inc., New York, Basel, 1981.
 - 80) 上島宏一 : 人アジュバント病としての珪肺症, *四国医誌*, 24 : 513-528, 1968.
 - 81) 小西池義一 : けい肺症の免疫血清学的検討 (第2報), *国立結核療養所共同研究年報*, 6 : 120-122, 1969.
 - 82) Jones, R.N., Turner-Warwick, M., Ziskind, M. and Weill, H. : High prevalence of antinuclear antibodies in sandblaster's silicosis, *Am. Rev. Respir. Dis.*, 113 : 393-395, 1976.
 - 83) Kang, K.Y., Yagura, T., Sera, Y., Yokoyama, K. and Yamamura, Y. : Antinuclear factor in pneumoconioses and idiopathic pulmonary fibrosis, *Med. J. Osaka Univ.*, 23 : 249-256, 1973.
 - 84) Doll, N.J., Stankus, R.P., Hughes, J., Weill, H., Gupta, R.C., Rodriguez, M., Jones, R.N., Alsbaugh, M.A. and Salvaggio, T.E. : Immune complexes and autoantibodies in silicosis, *J. Allergy Clin. Immunol.*, 68 : 281-285, 1981.
 - 85) 須賀哲夫, 西岡久寿樹, 御巫清充, 斎藤健一, 千代谷慶三, 鳥巢岳彦, 津田 稔 : 珪肺症におけるリウマチ発症機序に関する研究 (第1報), *リウマチ*, 17 : 662, 1977.
 - 86) 森田積二, 立石 晃, 藤井一利, 真柴裕人 : じん肺症の免疫能および実験じん肺症の研究, *日災医誌*, 28 : 99-100, 1980.
 - 87) 大成浄志, 栗屋昌一, 中島武嗣, 山木戸道郎, 西本幸男 : 各種塵肺における免疫グロブリン値について, *日本胸部臨床*, 30 : 174-181, 1970.
 - 88) 高本正祇, 原田泰子, 山田穂積, 原田 進, 石橋凡雄, 杉山浩太郎 : 塵肺症における血清免疫学的研究, *臨床と研究*, 54 : 2226-2230, 1970.
 - 89) Doll, N.J., Hughes, J., Weill, H. and Salvaggio, J.E. : Autoantibodies in silicosis, *J. Allergy Clin. Immunol.*, 65 : 170, 1980.
 - 90) Stankus, R.P. and Salvaggio, J.E. : Local humoral enhancement after intratracheal silica inoculation, *Fed. Proc.*, 29 : 779, 1980.

- 91) Stankus, R.P. and Salvaggio, J.E.: Bronchopulmonary humoral and cellular enhancement in experimental silicosis, *J. Reticuloendothel. Soc.*, 29: 153-161, 1981.
- 92) 森田積二, 松本一郎, 立石 晃, 真柴裕人, 山崎郁雄, 岡本至松: 実験的珪肺症の研究一病因および免疫能について, *日災医誌*, 30: 306-313, 1982.
- 93) Mancino, D. and Bevilacqua, N.: Adjuvant effect of amorphous silica and immune response to various antigens in guinea pigs, *Int. Arch. Allergy Appl. Immunol.*, 53: 97-103, 1977.
- 94) Mancino, D. and Bevilacqua, N.: Persistent and boosterable IgE antibody production in mice injected with low doses of ovalbumin and silica, *Int. Arch. Allergy Appl. Immunol.*, 57: 155-158, 1978.
- 95) Mancino, D., Buono, G., Cusans M. and Minucci, M.: Adjuvant effects of a crystalline silica on IgE and IgG1 antibody production in mice and their prevention by the macrophage stabilizer poly-2-vinylpyridine N-oxide, *Int. Arch. Allergy Appl. Immunol.*, 71: 279-281, 1983.
- 96) Rodnan, G.P., Benedek, T.G., Medsger, T.A. and Cammarata, R.J.: The association of progressive systemic sclerosis (scleroderma) with coal miners' pneumoconiosis and other forms of silicosis, *Ann. Intern. Med.*, 66: 323-334, 1967.
- 97) Miller, S.D. and Zarkower, C.: Alterations of murine immunologic responses after silica dust inhalation, *J. Immunol.*, 113: 1533-1543, 1974.
- 98) Levy, M.H. and Wheelock, E.F.: Effects of intravenous silica on immune and non-immune functions of the murine host, *J. Immunol.*, 115: 41-48, 1975.
- 99) 熊谷勝男: 免疫を調節する液性因子, *科学*, 54: 231-236, 1984.
- 100) Smith, K.A., Lachman, L.B., Oppenheim, J.J. and Favata, M.F.: The functional relationship of the interleukins, *J. Exp. Med.*, 151: 1551-1556, 1980.
- 101) Schuyler, M., Ziskind, M. and Salvaggio, J.: Cell-mediated immunity in silicosis, *Am. Rev. Respir. Dis.*, 116: 147-151, 1977.
- 102) Dauber, J.H., Finn, D.R. and Daniele, R.P.: Immunologic abnormalities in anthrosilicosis, *Am. Rev. Respir. Dis.*, 113: 94, 1976.
- 103) Lotzova, E. and Cudkovic, G.: Abrogation of resistance to bone marrow grafts by silica particles, *J. Immunol.*, 113: 798-803, 1974.
- 104) Du Buy, H.: Effect of silica on virus infection in mice and mouse tissue culture, *Infect. Immun.*, 11: 996-1002, 1975.
- 105) Schwartz, H.J. and Leskowitz, S.: The effect of carrageenan on delayed hypersensitivity reactions, *J. Immunol.*, 103: 87-91, 1969.
- 106) Ebina, E., Takahashi, I. and Hasuike, U.: Effects of quartz powder on tubercle bacilli and phagocytes, *Am. Rev. Respir. Dis.*, 82: 516-527, 1960.
- 107) Bailey, W.C., Brown, M., Buechner, H.A., Weill, H., Ichinose, H. and Ziskind, M.: Silico-mycobacterial disease in sandblasters, *Am. Rev. Respir. Dis.*, 110: 115-125, 1974.
- 108) Dworski, M., Scheppers, G.W.H., Wilson, G.E., McCrary, H.W. and Delahant, A.B.: Fatal pulmonary disease in an industrial worker caused by an atypical acid fast bacillus, *Ind. Med. Surg.*, 6: 536-540, 1957.
- 109) Scheppers, G.W., Smart, R.H., Smith, C.R., Dworski, M. and Delahant, A.B.: Fatal silicosis with complicating infection by an atypical acid fast photochromogenic bacillus, *Ind. Med. Surg.*, 27: 27-36, 1958.
- 110) 姜 健栄, 河原正明, 横山邦彦, 小西池徳一, 瀬良好澄: じん肺症と細胞性免疫, *日本胸部臨床*, 36: 488-493, 1977.
- 111) 宮里逸郎, 谷合 哲, 武田重五郎, 田中健彦, 鈴木 清, 梅田博道: 珪肺症における細胞性免疫に関する検討, *日胸病会誌*, 増刊 125, 1976.
- 112) Kuncova, M., Harvankova, J., Kunc, L., Holusa, R. and Palecek, F.: Experimental lung silicosis, evolution of functional, biochemical, and morphological changes in the rat, *Arch. Environ. Health*, 24: 281-287, 1972.
- 113) Halme, J., Uitto, J., Kahanpaa, K., Karhunen, P. and Lindy, S.: Protocollagen proline hydroxylase activity in experimental pulmonary fibrosis of rats, *J. Lab. Clin. Med.*, 75: 535-541, 1970.
- 114) Hurych, J., Mirejovska, E., Kobrle, V. and Rencova, J.: Enzyme changes during experimental silicotic fibrosis, 1. PZ peptidase and collagen deposition in the lungs, *Environ. Res.*, 25: 424-433, 1981.
- 115) Dauber, J.H., Rossman, M.D., Pietra, G.G., Timenez, S.A. and Daniele, R.P.: Experimental silicosis: Morphological and biochemical abnormalities produced by intratracheal instillation of quartz into guinea pig lungs, *Am. J. Pathol.*, 60: 595-607, 1980.
- 116) Reiser, E.M., Hesterberg, T.W., Hashek, W.M. and Last, J.E.: Experimental silicosis (I) Acute effects of intratracheally instilled quartz on collagen metabolism and morphologic characteristics of rat lungs, *Am. J. Pathol.*, 107: 176-185, 1982.
- 117) Reiser, E.M., Hashek, W.M., Hasterberg, T.W. and Last, J.E.: Experimental silicosis (II) Long-term effects of intratracheally instilled quartz on collagen metabolism and morphologic characteristics of rat lungs, *Am. J. Pathol.*, 110: 30-41, 1983.
- 118) Mirejovska, E., Bass, A., Hurych, J. and Teisinger, J.: Enzyme changes during experimental silicotic fibrosis (II) Intermediary metabolism enzymes of the lungs, *Environ. Res.*, 25: 434-440, 1981.
- 119) Sykes, S.E., Morgan, A., Moores, S.R., Holmes, A. and Davison, W.: Dose-dependent effects in the subacute response of the rat lung to quartz (I) The cellular response and the activity of lactate dehydrogenase in the airways, *Exp. Lung Res.*, 5: 229-243, 1983.
- 120) Sykes, S.E., Moores, S.R. and Jones, S.T.: Dose-dependent effects in the subacute response of the

- rat lung to quartz (II) Protease activities and levels of soluble hydroxyproline in lung lavage, *Exp. Lung Res.*, 5: 245-257, 1983.
- 121) Sykes, S.E., Morgan, A., Moores, S.R., Jones, S.T., Holmes, A. and Davison, W.: Evidence for a dose-dependent inflammatory response to quartz in the rat lung and its significance in early changes in collagen metabolism, *Environ. Health. Perspect.*, 51: 141-146, 1983.
- 122) Gadek, J.E., Kelman, J.A., Fells, G., Weinberger, S.E., Horwitz, A.L., Reynolds, H.Y., Fulmer, J.D. and Crystal, R.G.: Collagenase in the lower respiratory tract of patients with idiopathic pulmonary fibrosis, *N. Engl. J. Med.*, 301: 737-742, 1979.

著者への通信先: 小池重夫, 〒227 横浜市緑区美しが丘 1-17 たまプラーザ団地 Reprint requests to Tama Plaza 1-3-404, Utsukushiga-oka 1-17, Midori-ku, Yokohama, 227 Japan (S. Koike)