

## MINOCYCLINE NEBULIZING THERAPY OF DIFFUSED PANBRONCHIO LITIS

### II. IMMUNOLOGICAL STUDIES AND ANALYSIS OF LYMPHOCYTES SUBSETS IN BRONCHOALVEOLAR LAVAGE FLUID OBTAINED FROM PATIENTS WITH DIFFUSED PANBRONCHIOLITIS TREATED WITH MINOCYCLINE NEBULIZING THERAPY

Yoshio Nishizawa

Nishizawa Clinic

The Department of Anesthesiology

Shiga University of Medical Science

Diffused panbronchiolitis (DPB) is a chronic obstructive lung disease, to which much attention has been paid because of its characteristic clinical features. Recently, it has been suggested that this disease is related to some immunological disorders or predisposition. In this respect, hyper IgA, the elevation of cold hemagglutinin titer, chronic sinusitis and HLA-antigen BW54 were found in many patients with this disease. In the previous paper, we reported the subsets of peripheral lymphocytes in patients with DPB, in order to determine whether immunological disorders exist at the lymphocyte level. As compared with healthy controls, in DPB cases the percentage of Leu-2a and OKT8<sup>+</sup> positive cells decreased significantly, the percentage of Leu-3a and OKT4<sup>+</sup> positive cells increased significantly and Leu-3a/Leu-2a ratio and OKT4<sup>+</sup>/OKT8<sup>+</sup> ratio increased significantly. By minocycline (MINO) nebulizing therapy, these immunological abnormalities and symptoms were improved.

We investigated the change the subsets of T lymphocytes and IgA concentration in bronchoalveolar lavage fluid (BALF) obtained from patients with DPB after MIN-

O nebulizing therapy (50mg/1times : 3times/week for 3months).

The results were following :

- 1) As compared with healthy controls, in DPB cases the percentage of Leu-2a and OKT8<sup>+</sup> positive cells decreased significantly ( $p < 0.001$ ), Leu-3a and OKT4<sup>+</sup> positive cells increased significantly ( $p < 0.001$ ) and Leu-3a/Leu-2a ratio and OKT4<sup>+</sup>/OKT8<sup>+</sup> ratio increased significantly ( $p < 0.001$ ).
- 2) Concentration of IgA in BALF increased as compared with healthy controls.
- 3) The lymphocyte subsets of DPB cases and hyper IgA in BALF obtained from patients with DPB tended to return to normal following MINO nebulizing therapy by ultra sonic nebulizer, running parallel with clinical improvement.
- 4) Some side effects (irritability of upper respiratory tract and others) appeared, however these side effects were slightly. These therapy was continued.
- 5) Laboratory blood examinations were not affected by MINO nebulizing therapy without WBC, BSG and CRP.
- 6) Bacteria were eradicated in 72.1%.
- 7) Clinical efficacy of MINO nebulizing th-

erapy in patients with DPB was 67.7%.  
8) Clinical usefulness was 58.8%.  
These results suggested that MINO nebu-

lizing therapy by ultra sonic nebulizer  
was useful tool for DPB treatment.

# びまん性汎細気管支炎に対する Minocycline (MINO) 吸入療法の効果

## II. 気管支肺胞洗浄液中 リンパ球サブセットの変化の研究

西澤 芳 男

西沢 クリニック

滋賀医科大学・麻酔学教室

### 〔緒 言〕

びまん性汎細気管支炎 (Diffuse panbronchitis: 以下 DPB と略す) は終末細気管支から末梢部の呼吸細気管支に主病変を有する特異な慢性閉塞性肺疾患である。即ち、気道から肺実質の移行部とも言うべき特殊な性格を持つ領域に生じる慢性炎症を主病変とする病気である<sup>1)</sup>。DPB 患者に於いては①寒冷凝集素価 (ACH) 高値の持続<sup>1-3)</sup> ②肉親内発生例が存在すること<sup>1-3)</sup> ③ HLA ± 高率に BW54 Ag を有すること<sup>1-3)</sup> ④血中 I gA 高値<sup>1-3)</sup> ⑤ OKT4 + / OKT8 +、Leu-3a / Leu-2a (helperT / suppressorT) 比の有意の上昇が末梢血で認められること<sup>4)</sup> 等から、BW-54 と DPB の疾患遺伝子が連鎖、平衡にあるため、BW-54 と密接に関連した分子が本症の発症に関与している可能性がある。

本症治療は従来 Erythromycin (以下 EM と略す) 内服が用いられていたが筆者らは DPB 対象菌が広範なことより Minocycline (以下 MINO と略す) 吸入療法を試み良好な治療成績をあげることに成功し、臨床症状、呼吸機能のみならず EC 同様血中 OKT4 + /

OKT8 +、Leu-3a / Leu-2a 比の改善を認めることを報告した<sup>4)</sup>。

今回、bronchoalveolar lavage (BAL と略す) を用い bronchialveolar lavage fluid (以下 BALF と略す) と DPB 患者よりえ、MINO 吸入前後における Tcell subset の変化に関し細菌学的効果と共に検討するとともに MINO の Tcell subset に対する効果がいかにして発揮されるかについても考察を加えた。

### 〔対照、材料、方法〕

1) 対照患者: 厚生省特定疾患研究班の診断基準に合致し、SBS 合併あるいは既往があり CHA 上昇、IgA 増加、OKT4 + / OKT8 +、Leu3a / Leu2a 高値をしめし、BW54 を有する 34 例 (男:女 = 23 : 11、年齢 22 ~ 69 歳、平均年齢 47.5 ± 4.4 歳) を DPB 患者とした。対照は healthy normal volunteers 34 例 (男:女 = 23 : 11、年齢 22 ~ 67 歳、平均年齢 48.6 ± 12.3 歳) であった。病歴上初診時 1) I、II、III 期それぞれ 3.265 例であった。

2) BALF 採取法

bronchofiberscope を挿入、右中葉 B4 ある

いはB5の区域気管支あるいは悪区域気管支にウエッジ1、滅菌等張生食塩水を1回に500注入、吸入操作を行い、同操作を4回反覆、即ち系200の生理食塩水で洗浄しBWLfを採取し、4℃250g10分間遠心1細胞成分と液性成分に分離した<sup>9)</sup>。

### 3) 細胞数と細胞分類

上記でえた細胞成分を一定量の phosphate buffered saline に浮遊させ Burger-Turk 算定板を用い総細胞数を算出した。細胞分類は細胞沈澱法を用い標本を作製、May-Giemsa 染色により行った。

### 4) リンパ球 subpopulation の分析

neuramidase 処理羊赤血球を用い、37℃で反応するT細胞検出用指示細胞には洗浄羊赤血球を、B細胞検出にはウサギ抗羊免疫グロブリン被覆 immunoplates を使用、microplate 法でT、B細胞を分析した。Tcell subset は monoclonal antibodies とし OKT8 +、OKT4 + (Ortho 社製) Leu-3a、Leu-2a は (Dickinson 社製) を用いて分類した。

### 5) 液性成分の分析

BALF 上清中蛋白量は Lowry、O、H の方法で immunoglobulin は nephelometric immunoassay 法で測定した。

### 6) MINO 吸入療法

前報同様8% Lidocaine 吸入で局所麻酔後 200 μg / の Beclomethasone dipropionate を吸入させ咽喉頭刺激感を緩和した後 54℃ の滅菌蒸留水 35ml に 50mg の MINO を溶解 Ultrasonic nebulizer で吸入を1週3回3ヶ月間つづけた4)。

### 7) 臨床検査の変化

各個人により MINO 使用前においても臨床検査値は異なるため投与前値を 100 と 1 投与終了後値をこれに対する % of control として示めた。

### 8) 副作用

詳細は問診でききもらさずチェックした。

### 9) 菌の消長

喀痰培養を同定し行った。

### 10) MINO 吸入療法の有効性と有用性

異常の結果にもとづき MINO 吸入療法の有効性をもとめ、副作用、臨床検査値の変化を加味して MINO 吸入療法の有用性を判定した。

## 【結 果】

### 1) BALF 中の細胞分画

BALF 中%細胞回収率は健常人、DPB 患者それぞれ  $62.3 \pm 10.2\%$ 、 $61.8 \pm 11.2\%$  であった。Recovered total cell counts は健常人、DPB 患者を比較してみると、DPB 患者で有意に高かった。

(以上結果省略)

BALF 中白血球分画をもとめると健常人では Macrophages  $85.7 \pm 9.2\%$ 、Lymphocytes  $13.1 \pm 9.8\%$ 、Neutrophils  $0.9 \pm 0.5\%$ 、Eosinophils  $0.3 \pm 0.3\%$ 、Basophils  $0 \pm 0\%$  であった。DPB 患者では Macrophages  $8.8 \pm 3.2\%$ 、Lymphocytes  $4.3 \pm 0.9\%$ 、Neutrophils  $76.7 \pm 10.3\%$ 、Eosinophils  $10.2 \pm 9.8\%$ 、Basophils  $0 \pm 0\%$  と健常人に比較し、Macrophages、Lymphocytes の減少と Neutrophils、Eosinophils の増加が認められた。MINO 吸入療法後の DPB 患者の BALF 中白血球分画は Macrophages  $74.1 \pm 13.4\%$ 、Lymphocytes  $6.2 \pm 3.1\%$ 、Neutrophils  $15.6 \pm 4.8\%$ 、Eosinophils  $4.1 \pm 2.4\%$ 、Basophils  $0 \pm 0\%$  と MINO 吸入療法により Macrophages、Lymphocytes の増加、Neutrophils、Eosinophils の増加と健常正常人 BALF 中の白血球分画の percentage に近づくことがわかった。(Table1)

DPB 患者 MINO 吸入療法前後の BALF 中白血球分画の変化を Table1 に示した。DPB 患者治療前では Leu-2a cell  $13.18 \pm 5.24\%$ 、Leu-3a cell  $62.68 \pm 10.24\%$ 、Leu-3a / Leu-2a 比  $1.66 \pm 0.72$  であった。MINO 吸

	Normal volunteers (%)	Patients with DPB	
		Pre-treatment of MINO (%)	Aftertreatment of MINO (%)
Macrophages	85.7 ± 9.2	8.8 ± 3.2	74.1 ± 13.4
Lymphocytes	13.1 ± 9.8	4.3 ± 0.9	6.2 ± 3.1
Neutrophils	0.9 ± 0.5	76.7 ± 10.3	15.6 ± 4.8
Eosinophils	0.3 ± 0.3	10.2 ± 9.8	4.1 ± 2.4
Basophils	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0

Table1. Percentage of various WBC in BALF from healthy subjects and patients with DPB.

入療法治療後には Leu-2a cell 24.12 ± 7.62、Leu-3a cell 40.06 ± 11.16 %、Leu-3a / Leu-2a 比 1.66 ± 0.57 であった。Leu series においても MINO 吸入療法により OKT series と同様の結果がえられた。(Fig1)

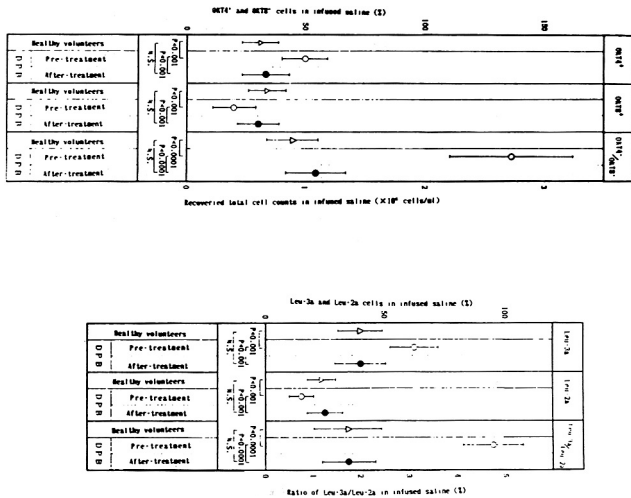


Fig1. The change of subpopulation of T-cells in BALF determined by monoclonal antibodies against cell surface antigens on these cells from patients with DPB treated with MINO or healthy subjects

3) MINO 吸入後の BALF 中 I g A 量

健康人 BALF 中の IgA 量は  $4.0 \pm 1.1 \mu g /$ 、IgA / albumin 比は  $0.113 \pm 0.05$  であった。DPB 患者では  $72.6 \pm 26.2 \mu g /$ 、 $0.34 \pm 0.120$ 、MINO 吸入療法後では  $13.2 \pm 7.9 \%$ 、 $0.197 \pm 0.087 \%$  と変化した。即ち、DPB 患者 BALF 中 IgA 値は MINO 吸入療法により健康者に近づいた。(Fig2)

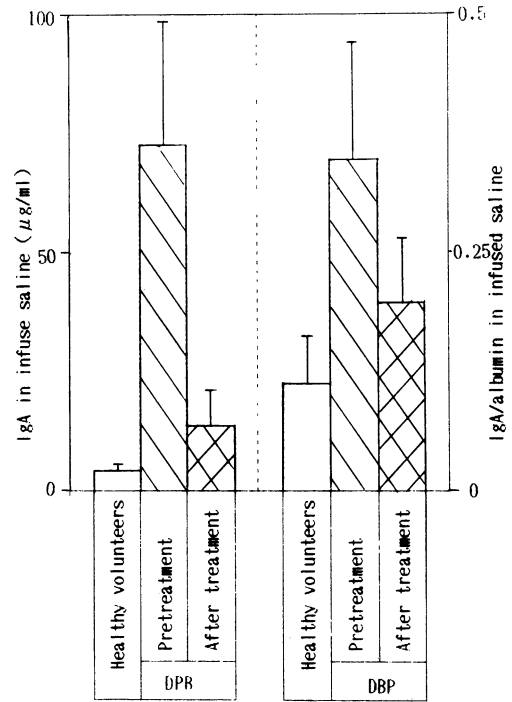


Fig2. The change of IgA concentration in BALF from patients with DPB treated MINO or healthy subjects

4) MINO 吸入療法での BALF 中菌の消長

MINO 吸入療法での BALF 中菌の消長は菌消失率 72.1 %、菌交代現象で新たに 9 菌が出現した。(結果省略)

5) MINO 吸入療法による副作用と臨床検査値の変化

MINO の吸入療法中副作用は MINO の PH 特異性に基づく咽喉頭刺激感、咳嗽等 34 例中 7 例 (20.6 %) に認められたが MINO 吸

入療法を中止するに到るような重篤な副作用は認められなかった。(結果省略)

臨床検査上も WBC、ESR、CRP の改善の他、肝機能、腎機能、造血作用に MINO 吸入療法は何ら影響を及ぼさなかった。(結果省略)

#### 6) MINO 吸入療法の DPB に対する有効性

上述の結果より DPB に対する MINO 吸入療法の有効性は著効 9 例 (26.5%)、有効 14 例 (41.2%) やや有効 7 例 (20.6%) 無効 3 例 (8.8%) 悪化 1 例 (2.9%) と有効以上 23 例 (67.7%) であった。(結果省略)

#### 7) MINO 吸入療法の DPB に対する有用性

副作用や臨床検査値に与える影響、有効性からもとめた DPB に対する MINO 吸入療法に対する有用性は極めて有用 5 例 (14.7%) 有用 15 例 (44.1%) やや有用 7 例 (20.6%)、有用性なし 7 例 (20.6%) と有用以上 20 例 (58.8%)、やや有用以上 27 例 (79.4%) でありその有用性は咽喉頭刺激感や咳嗽等 MINO の PH に基づく副作用が除かれれば高率になるものであった。(結果省略)

### 〔考 察〕

DPB 患者に対して吸入療法に用いる抗生物質として MINO を用いた理由は前報の考察を参考にされたい<sup>9)</sup>。また、MINO 吸入療法の問題点である MINO の PH 特異性からくる咽喉頭刺激感等の副作用、このために生じる MINO 吸入療法の効果率と有用性の差をどの様に考え、解消するかに関しても前報の考察に詳しく述べたので参照されたい<sup>9)</sup>。さらに、DPB に対する MINO 吸入療法の効果、有用性に関しても前報を参照されたい<sup>9)</sup>。

今回の考察では DPB 患者 BALF 中 T 細胞 subset の MINO 吸入療法による改善効果の点から DPB、あるいは DPB に極めてよく合併する SBS の免疫異常が一次的なものか、感染に基づく二次的なものかに関して考察を加えてゆきたい。

DPB に関して、ACH 高値、高 IgA 血症、RAHA 値、Tubercullin reaction 陽性<sup>1-3)</sup> 等より免疫異常を示唆する報告があること、  
我国のインシュリン依存性糖尿病、原因不明の肝硬変、Vogt・小柳-原田氏病等自己免疫疾患との関連性が示唆されている BW-54 抗原を有する場合に DPB が有意の高頻度でみとめられることが明らかとなってきた<sup>1)</sup>。BW-54 抗原はモノクローイドに特異的な組織適合抗原であること、DPB が日本、韓国、中国人に多く欧米での報告がないこと等から組織適合抗原 BW-54 を介して免疫異常を生じることが DPB の免疫異常の原因ではないかと考えられる<sup>1)</sup>。

実際、先に報告したように DPB 患者血中の T 細胞 subset において OKT4<sup>+</sup>、Leu-3a cell、即ち、helper T cell が増加し、OKT8<sup>+</sup>、Leu-2a cell、即ち、suppressor T cell が減少しており<sup>9)</sup>、膠原病と類似の変化をしめしている<sup>4-7)</sup>。

しかし、一方、伝染性単核症<sup>10)</sup> や結核<sup>11)</sup> において、OKT4<sup>+</sup>/OKT8<sup>+</sup>比、Leu-3a / Leu-2a 比の上昇が治療により低下した事実がある。DPB の場合も erythromycin 治療により Leu-3a / Leu-2a 比が低下し正常に近づくことが報告されている<sup>9)</sup>。

このことから、MINO 吸入療法後に認められた OKT4<sup>+</sup>/OKT8<sup>+</sup>比、Leu-3a / Leu-2a 比上昇の正常化も感染に基づく T 細胞 subset の変化が MINO 吸入による菌消失のために生じたのではないかと考えられる。しかし、前回の報告<sup>9)</sup> では MINO 吸入療法後の血中 T 細胞 subset の変化をみたものである。MINO は吸入療法では T 細胞 subset に変化を与えるだけの血中濃度の上昇をしめさないことは先に報告した<sup>12)</sup>。このことから、血中 T 細胞 subset の変化をみただけでは DPB 患者末梢血中の T 細胞 subset の MINO 吸入療法後の改善は感染症が基盤にあり二次的に生じた

T細胞 subset の変化を MINO 吸入療法が改善したとしかいえない。即ち、DPB の基本は感染であり、免疫異常は二次的なものであり、MINO は免疫担当細胞そのものに作用するのでなく、感染をおさえた結果として T 細胞 subset の改善をもたらしたと考えられる。

しかし、DPB に erythromycin を内服で用いた場合、単に感染症をおさえるだけでなく、本剤は免疫担当細胞にも作用し T 細胞 subset の比をかえると言われている<sup>9)</sup>。MINO の場合、同様に免疫担当細胞に作用するか否かは我々のプロトコールが MINO が血中へ移行しない吸入療法を用いているだけに考えにくかった。そこで、BALF 中の変化を検討した。BALF 中の白血球分画の DPB における変化を他の気道細菌感染症と比較すると特異性がある。しかも MINO 吸入療法によりこれらは健常人に近づいた。(Table1) このことから① DPB には疾患特異的な免疫異常があるのではないかと、② MINO は感染菌のみならず免疫担当細胞にも何らかの直接的作用をするのではないかとということが考えられる。したがって、BALF 中の T 細胞 subset の MINO 吸入療法後の正常化 (Fig2) は MINO が bronchus associated lymphoid tissue に直接作用したことも関与しているのではないかと考えられる。また、BALF 中の IgA 濃度の MINO 吸入療法による改善 (Fig2) も MINO が感染菌に直接作用した二次的結果的に T 細胞 subset に直接作用し helper T cell が減少し IgA 産生 B 細胞への分在増殖が抑制を受けた結果とも考えられる。

今後、MINO 吸入療法による免疫担当細胞の変化、in vitro での実験をかさね、臨床面、基礎面から DPB の原因に免疫異常が存在するのか否かを検討し、SBS にも免疫異常があるのか即ち、SBS 中 DPB を発症するものとし、しないもの間に免疫異常の差があるのか否

かについても検討を加えてゆきたいと考えている。

#### 〔文 献〕

- 1) 本間正臣：びまん性汎細気管支炎、代謝 23 : 735-749, 1986
- 2) 本間正臣：びまん性汎細気管支炎、日胸疾患誌 13 : 385-398, 1975
- 3) 平田健雄他：びまん性汎細気管支炎の免疫学的考察、日胸 38 : 93-95, 1979
- 4) 西澤芳男：慢性副鼻腔炎に合併したびまん性汎細気管支炎に対する Minocycline (MINO) 吸入療法効果の検討、日本耳鼻咽喉科感染症研究会誌 6 : 11-18, 1988
- 5) 杉山幸比古他：びまん性汎細気管支炎患者における末梢血リンパ球 : subset の検討 : 日胸疾患誌 22 : 1116-1121, 1984
- 6) Raynauds, H. Y. : Analysis of cellular and proteoin content of bronchoalveolar lavage fluvia from patiets with idiopathic pulmonary fibrosis and chronic hypersensitive pneumonitis. J. Clin Invest. 59 : 165-175, 1977
- 7) Morimoto, C. et al : Alternation in immunoregulatory T cell subsets in octive SLE J. Clin. Invest, 66-1171-1177, 1980
- 8) Morimoto, C. et al : Auto antibody to an immunoregulatory inducer population in potient with JRA. J. Clin. Invest. 67 : 753-763, 1981
- 9) Morimoto, C. et al : Comparison T and B cell markers in patients with Sjogrens synurome and SLE. Clin. Immunol. Immunopathol. 22 : 270-276, 1982
- 10) Da Waele, M. et al : Characterization of immunoreguhtory Talls in EBV-induced in furdious mononucleosis by monoclonal antibodies. N. Eng. J. Med 304 : 406-410, 1981
- 11) 三上理一郎：臨床免疫学的にみた結核発

病の要因：結核：59, 39-49, 1989  
12) 西澤芳男：慢性副鼻腔炎に対する Minoc-

ycline の鼻吸入療法の効果：日本耳鼻咽喉科感染症研究会誌, 4: 33-38, 1986

---

質 疑 応 答

**質問** 大谷巖（福島医大）  
抄録にはリンパ球サブセットの変化はMI  
NOの作用によるとありますが、これは細菌  
感染を予防した結果と解釈してよろしいです  
か。

**質問** 小川浩司（北里研究所病院）  
キシロカイン吸入量はどのぐらいか。

**応答** 西沢芳男（西沢クリニック）  
ミノサイクリンは直接リンパ球サブセット  
に直接影響を与えないと考えている。

**応答** 西沢芳男（西沢クリニック）  
8%キシロカイン1mlを使用。咽喉頭刺激  
感は個人差があった。