

INFLUENCE OF MINOCYCLINE ON HUMAN POLYMORPHONUCLEAR LEUKOCYTES FUNCTION IN PATIENTS WITH DIFFUSE PANBRONCHIOLITIS BY MINOCYCLINE NEBULIZING THERAPY

Yoshio Nishizawa¹⁾²⁾, Yoshinori Hata¹⁾, Miyako Yamamoto¹⁾,
Mayumi Yamada¹⁾, Yasuko Nishizawa¹⁾³⁾

The Department of lung disease, Nishizawa clinic¹⁾

The Department of anesthesiology Shiga University of Medical Science²⁾

The 2nd Department of Pathology Osaka University³⁾

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 nemia, 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⁺ positive cells decreased significantly, the percentage of Leu-3a and OKT4⁺ positive cells increased significantly and Leu-3a/

Leu-2a ratio and OKT4⁺/OKT8⁺ ratio increased significantly. By minocycline (MINO) nebulizing therapy, these immunological abnormalities and symptoms were improved.

In this paper, we investigated the effect of MINO on polymorphonuclear leukocytes (PMNLs) function. Concentration of MINO in bronchoalveolar lavage fluid (BALF) was less than 2 μ g/ml immediately after 50mg of MINO inhalation by ultrasonic nebulizer. These low concentration of MINO in BALF (2 μ g/ml) did not influence in vitro PMNLs random migration, chemiluminescence, glucose oxidation, phagocytosis of opsonized yeast cells or opsonized E. coli. These data suggested that using dose of MINO in this therapeutic protocol did not any influence on PMNLs function.

び慢性汎細気管支炎 (Diffuse panbronchiolitis,
DPB) 患者におけるMinocycline 吸入療法
による多核性白血球機能に及ぼす影響の検討

西澤 芳男¹⁾²⁾・秦 義則¹⁾・山本 美也子¹⁾
山田 まゆみ¹⁾・西澤 恭子¹⁾³⁾

西沢クリニック、呼吸器病科¹⁾
滋賀医科大学、麻酔学教室²⁾
大阪大学医学部病態病理学教室³⁾

〔緒 言〕

びまん性汎細気管支炎 (Diffuse panbronchiolitis, 以下DPBと略す) は気道、中間領域感染症をくりかえし呼吸不全をきたす慢性疾患であり病変の進行に及ぼす感染の要因は重要である¹⁻⁶⁾。とりわけ、本症で*P.aeruginosa*が感染した stage においては症状の進行が著しい¹⁻⁶⁾。今回、DPBの*P.aeruginosa*感染時における immune complex (以下ICと略す) と補体価、補体成分を検討して*P.aeruginosa*感染時のDPB増悪の機序に関し検討を加え若干の知見をえたのでこれを報告する。

〔方法と対象〕

1) 対 象

対象は厚生省研究班“びまん性汎細気管支炎診断の手びき”の診断基準を満たし、病理学的にもDPBと診断された25~68歳(平均年齢43.7歳)の30名(男性:女性=15:15)であった。対象として25~69歳(平均年齢42.6歳)の健康成人30名(男性:女性=15:15)をもちいた。

2) IC測定法

Sakaiらのclr, cls精製法⁷⁾にもとづいてヒト血清よりC1をえ、Yanemasuらの方法⁸⁾でClqをえ、免疫電気泳動⁹⁾0.1% sodium dodecyl sulfate加ポリアクリルアミド電気泳動⁸⁾に、より均一蛋白Clqであることを確認した。えられたClqをHeusserらの方法⁹⁾に準じて¹²⁵Iで標識し、この¹²⁵I-Clqと感作ヒツジ赤血球との反応に対するICによる抑制をみるClq deviation法でIC量を測定した^{10,11)}。IC量は加熱変化IgG相当μg/mlで標準曲線を

作製し測定した^{10,11)}。(Fig 1)

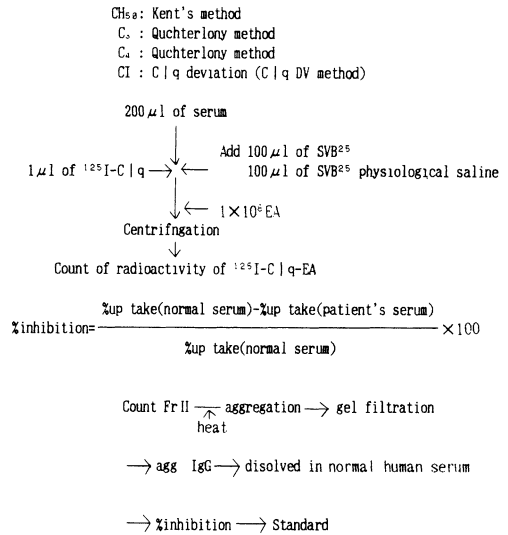


Fig 1 The method of measurement of IC

2) CH₅₀測定法

Kentらの方法¹²⁾にしたがった。

3) C4, C3の測定法

レーザーネフェロメトリー法にて測定した。

〔結 果〕

1) 血清CH₅₀titer

血清CH₅₀は*P.aeruginosa*感染時58.2±11.9 U/ml、非感染時56.8±12.2U/mlと有意差はみとめられなかった。(Fig 2) 正常者は(30~50U/ml)より高値をしめた。

2) 血清C3, C4 titer

血清C3, C4 titerは、*P.aeruginosa*感染時76.2±11.3mg/dl, 29.3±10.2mg/dlであり、非感染時76.6±12.0mg/dl, 29.6±9.8mg/dlと有意差はみとめられなかった。C3, C4の

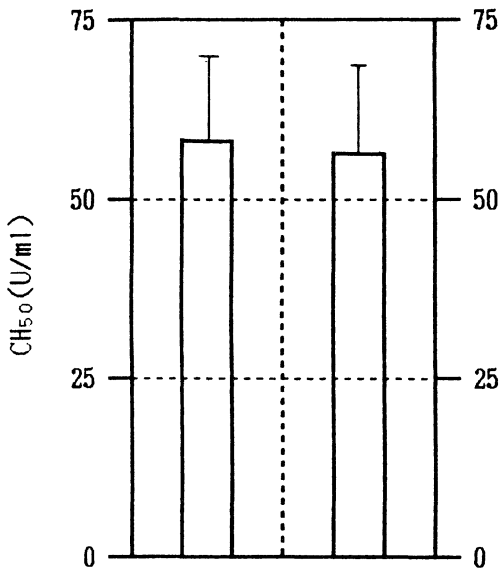


Fig 2 Serum CH₅₀ titer in patients with DPB who was infected P.aeruginosa or was not infected P.aeruginosa right.P.aeruginosa not infected left.P.aeruginosa not infected

健常正常人値は59~120mg/dl, 19~26mg/dlでそれぞれあった。(Fig 3, 4)

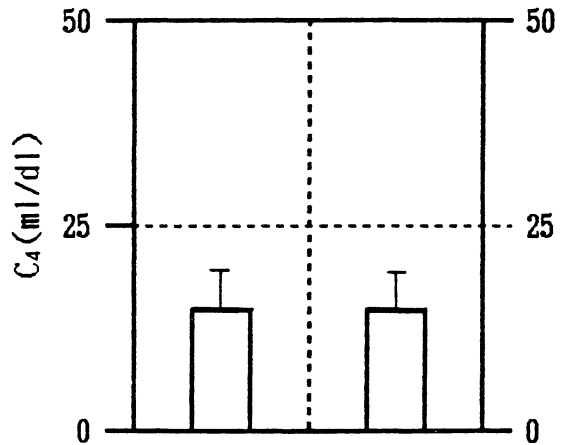


Fig 4 Serum C₄ titer in patients with DPB who was infected P.aeruginosa or was not infected P.aeruginosa right : P.aeruginosa not infected left : P.aeruginosa infected

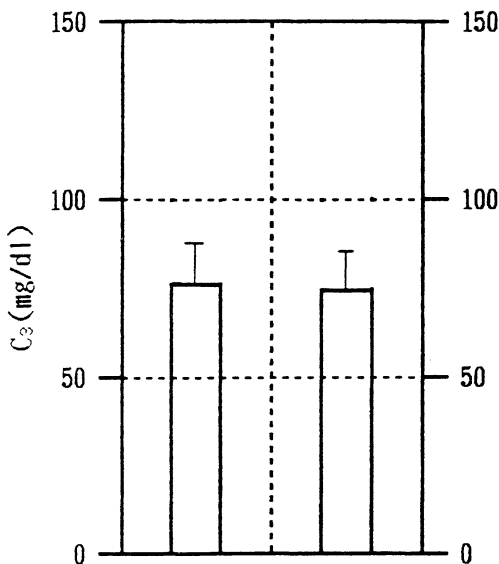


Fig 3 Serum C₃ titer in patient with DPB who was infected P.aeruginosa or was not infected P.aeruginosa right P.aeruginosa not infected left P.aeruginosa infected

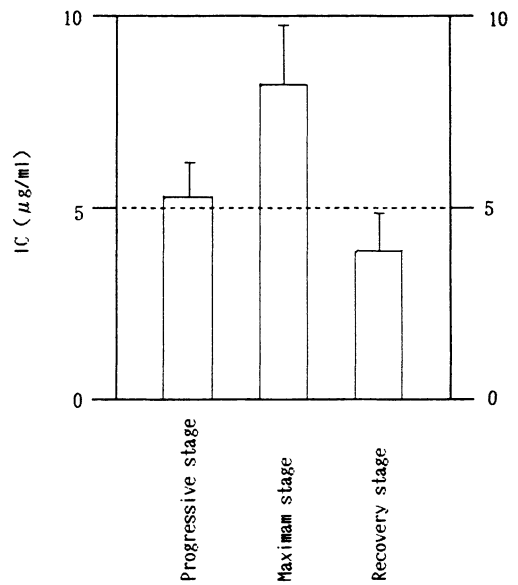


Fig 5 Serum IC concentration in patient with DPB in various infectious stage of P.aeruginosa

3)血清 IC titer

血清 IC titerは *P.aeruginosa* 感染時 $6.8 \pm 2.1 \mu\text{g/ml}$ (正常人 $5 \mu\text{g/ml}$ 以下)であった。*P.aeruginosa* 感染増悪期 $5.2 \pm 0.9 \mu\text{g/ml}$ 、最悪化時 $8.2 \pm 1.6 \mu\text{g/ml}$ 、改善期 $3.8 \pm 1.0 \mu\text{g/ml}$ と *P.aeruginosa* 感染増悪時に有意の上昇をしめし改善期には正常値をしめた。(Fig 5) 同一人で CI を検討した場合も *P.aeruginosa* 感染増悪期に CI は高値をしめし、改善期には正常値化をしめた。(Fig 6)

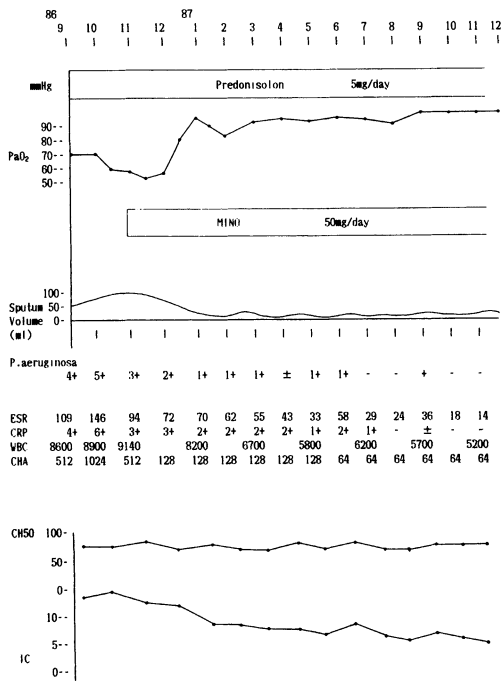


Fig 6 Change of serum IC titer in a patient with DPB

〔考 察〕

DPBの発症機序に関しては不明であるが、微生物の感染とこれにもとづく宿主生体の一次的な障害と感染にもとづく二次的な免疫応答の結果生じる疾患と考えられる。(Fig 7) DPBがBW54を保有するヒトに多いこと、さらに珪肺症にもBW54保有者が多いことより¹⁴⁾免疫異常をきたしやすい条件を有する個体に生じる可能性があることを示唆している。

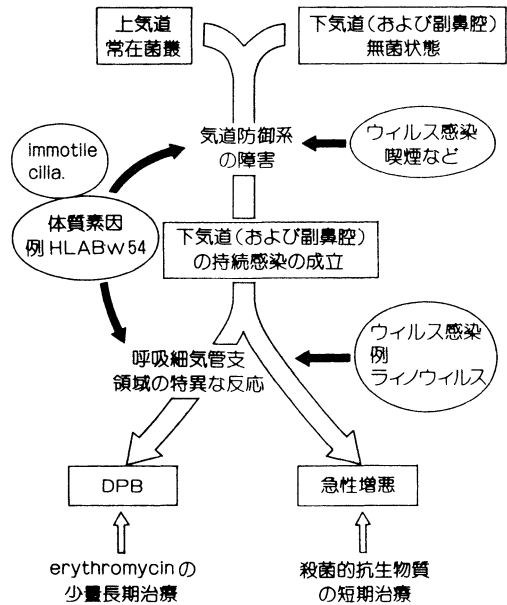


Fig 7 Working hypothesis of pathogenesis of DPB (from Ref 18)

すなわち、本来健康人では無菌である副鼻腔と気管支は線路上皮系をはじめとする生体防禦系の障害によって比較的容易に菌が定着し、フローラを形成する。この内BW54保有者をはじめとする体質素因者では、この上下気道感染が難治化し、持続感染状態となり副鼻腔気管支症候群が成立し、BW54を保有する体質では生体防禦系の障害と易感染性がありdefectiveな状況にあるといえる。ここでBW54が免疫系のhyperresponderとして作用しDPBが成立すると工藤らは推測している¹⁵⁻¹⁸⁾。すなわち、ここにIgG subclassの変化^{19,20)}、寒冷凝集素価高値¹⁻⁶⁾、リンパ球サブセットの変化^{4,21,22)}、同種リンパ球抗体の存在^{23,24)}ツベルクリン反応陰性¹⁻⁶⁾病理学的に呼吸細気管支にリンパ球、形質細胞の浸潤がつよくみられる¹⁻⁶⁾他の慢性閉塞性疾患に比較して緑膿菌感染が高率にみられる²⁵⁾、ステロイドが有効である¹⁻⁶⁾、高IgA血症¹⁻⁶⁾、bronchoalveolar lavage fluid中IgA高値²²⁾、肉親発生例¹⁻⁶⁾がみとめられることなど、感

染、特に緑膿菌感染による宿主側の免疫異常が本症の悪化に関与していると考えられる Fig5,6でみとめられた *P.aeruginosa* 感染増悪時の IC 高値はこうした DPB の宿主側の免疫反応おそらくは自己免疫的慢性閉塞性肺疾患の病状下にあると考えられる。一方、CH₅₀ の持続的高値 (Fig 2) は慢性感染症のためと考えられる。

現在 Erythromycin (以下EMと略す) の少量長期、内服、吸入例を10年以上にわたって観察中であるが、EMの効果の点から DPB の病因が解明可能と考えている^{26,27)}。即ち、EMのもつ IgE 抗体産生抑制効果 mast cell の減少効果 リンパ球分化能上昇、好中球遊走能亢進、特異的抗体産生の促進効果、ヒト好中球の貪食能と natural killer cell の促進効果²⁸⁾、好酸球活性の低下²⁹⁾などにより DPB の免疫異常が消失し、これによりEMが有効なはずの *P.aeruginosa* も免疫的に排除され病態が改善すると考えられる。

さらに、一方、閉塞性気管支細気管支炎との比較検討の方面³⁰⁾からも本症の解明を試みようとしている。

【文 献】

- 1) 山中 晃、他：慢性気管支閉塞性疾患の問題点：とくにびまん性汎細気管支炎について。内科 33 : 442-447, 1987.
- 2) Honma H. et al. : Diffuse panbrochiolitis. A disease of the transitional zone of the lung. Chest 83 : 63-67, 1983.
- 3) 本間正臣：びまん性汎細気管支炎。日胸疾会誌 13 : 385-398, 1975.
- 4) 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.
- 5) 泉 孝英：わが国におけるびまん性汎細気管支炎。日胸 41 : 663-678, 1982.
- 6) 本間正臣：びまん性汎細気管支炎。代謝 23 : 735-749, 1986.
- 7) Sakai K., et al. : The activation of cls with purified C1r. Immunochemistry 11 : 191-196, 1974.
- 8) Yonemasu K., et al. : C1q : Rapid purification method for preparation of monospecific antisera and for biochemical studies. J. Immunol. 106 : 304-313, 1971.
- 9) Heusser C., et al : Effect of in vitro human C1q activities. J. Immunol. 110 : 820-828, 1973.
- 10) Sobel A. T, et al. : C1q deviation test for the defection of immune complexes, aggregates of IgG, and bacterial products in human serum. J. Exp. Med. 142 : 139-150, 1975.
- 11) Teshema H., et al. : Circulating immune complexes detected by 125I-C1q deviation test in serd of cancer patients. J. Clin. Invest. 59 : 1139-1142, 1977.
- 12) Kent J. F., et al : Precise standardization of reagents for complement fixation. Am. J. Trop. Met. Hyg. 12 : 103-116, 1963.
- 13) 洲崎春海、他：副鼻腔気管支症候群における HLA 抗原の検討。日本気管食道会報 34 : 270-279, 1983.
- 14) 笹月健二：胸部疾患と遺伝。日胸疾会誌 25 : 3-11, 1987.
- 15) 谷本善一：びまん性汎細気管支炎の歴史：疾患概念成立の維持と発展。内科 61 : 411-416, 1988.
- 16) 泉 孝英：慢性気管支炎とびまん性汎細気管支炎。内科 61 : 404-410, 1988.
- 17) 四元秀毅：いわゆる“副鼻腔気管支症候群”と素因。内科 61 : 422-424, 1988.
- 18) 工藤翔二、他：びまん性汎細気管支炎に対する erythromycin 少量長期療法の臨床的意義。内科 61 : 477-481, 1988.
- 19) Uematsu D. T., et al. : Recurrent sinopulmonary infection and impaired

- antibody response to bacterial capsular polysaccharial antigen in children with selective IgG subclass deficiency. N. Eng. J. Med. 313 : 1247-1250, 1985.
- 20) 杉山幸比古、他：びまん性汎細気管支炎患者における血清IgG サフクラスの検討。医学のあゆみ 142 : 833-840, 1987.
- 21) 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) 吸入療法の効果の検討。日本耳鼻咽喉科研究会誌 6 : 11-18, 1988.
- 22) 西澤芳男：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。日本耳鼻咽喉科研究会誌 7 : 177-183, 1989.
- 23) 広田正毅、他：慢性気道感染症における同種リンパ球抗体の出現について。日本胸部臨床 39 : 470-473, 1980.
- 24) 大塚盛男、他：慢性呼吸器感染症における抗リンパ球抗体について。日胸疾会誌 19 : 624-630, 1981.
- 25) 西澤芳男、他：各種慢性閉塞性肺疾患における *P.aeruginosa* 感染率 (投稿中)
- 26) 西澤芳男、他：びまん性汎細気管支炎に対する erythromycin 少量投与の10年間成績 (投稿準備中)
- 27) 西澤芳男、他：びまん性汎細気管支炎に対する macroride 系抗生物質吸入療法10年間の成績 (投稿準備中)
- 28) 渡辺一功、他：緑膿菌による呼吸器感染の治療。日本臨床 46 (suppl1) : 256-264, 1988.
- 29) 西澤芳男、他：Erythromycin による呼吸系好酸球活性の抑制 (投稿準備中)
- 30) 西澤芳男：閉塞性気管支細気管支炎に対する Minocycline 吸入療法の効果の検討。日本耳鼻咽喉科感染症研究会誌 7 : (in press) 172-176, 1989.