

THE ROLE OF IMMUNOCOMPLEX AS PROGRESSIVE FACTOR OF DIFFUSE PANBRONCHIOLITIS DUE TO *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* INFECTION

Yoshio Nishizawa^{1,2)}, Yoshinori Hata¹⁾, Miyako Yamamoto¹⁾
Mayumi Yamada¹⁾, Yasuko Nishizawa^{1,3)}

The Department of lung disease, Nishizawa clinic¹⁾

The Department of anesthesiology Shiga University of Medical Science²⁾

The 2nd Department of Pathology Osaka University³⁾

In this paper, we studied immunocomplex (IC) serum from patients with DPB and the change of its titer during various stage of this disease IC increased in the progressive stage at *P.aeruginosa* infective state and decreased and reached to normal

range in recovery stage at *P.aeruginosa* infective stage. These data suggested that IC play a one of central role of auto immune mechanism against pulmonary tissues in progressive stage of DPB.

緑膿菌感染時びまん性汎細気管支炎における病状 進行因子としての Immunocomplex 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) は本間、山中、谷本らによって病理学的策付けを持った疾患概念として提唱され¹⁻⁶⁾、以来10年以上にわたって、我国独自の疾患単位として報告されてきた¹⁻⁶⁾。近年、本症の概念が一般に普及してから頻度的にもかなり見出されてきているが、その治療法に関してはいまだ確立され

ていず、きわめて高率に緑膿菌交代を生じる結果、しだいに呼吸不全に到る予後不良の疾患である¹⁻⁶⁾。

DPB において当初喀痰中の菌は非病原性菌のみであるが、*H.influenzae*、肺炎球菌、緑膿菌等へと交代してゆく¹⁾。こうした菌交代に対応可能なように我々はMinocycline(以下MINOと略す)によるDPBの吸入療法を試み良好な成績を報告してきた^{7,8)}。

しかし、Tetracycline (以下TCと略す)は真核細胞の70s ribosome の40s subunit にも結合し蛋白質合成を抑制し感染防禦に作用する白血球機能をも低下させる可能性が存在する⁹⁾。

今回、MINO吸入療法における白血球機能に関し検討を加えたので報告する。

【対象と方法】

1. 対象患者

厚生省特定疾患のDPB診断基準に合致した34例(23~70歳、平均年齢46.2歳、男性:女性=14:10)と対象とし健康成人34名(23~67歳、平均年齢46.0歳、男性:女性=14:10)を用いた。

2. bronchoalveolar lavage(以下BALと略す)

BALを用い bronchoalveolar lavage fluid (以下BALFと略す)をえた。方法は既法と同様におこなった。BALF中の多核白血球分画は前報同様にして行った。⁸⁾

3. 末梢血多核白血球分離法

ヘパリン加末梢血をえ Ficoll, Haypague 重層法にて分離した⁸⁾

4. 多核白血球遊走能

Ketchel と Favour の原法¹⁰⁾をSchreiner と Hoper が modify した方法によった。

5. Chemu luminescence 測定法

Welch らの方法¹²⁾を用いて2.8ml の phosphate buffererd saline, 0.2ml の opsonized zymosan, 0.5ml の多核白血球分画 (以下 PMNL と略す) で total volume を3.5ml とした。PMNLあたり100のzymosan particle を用いた。

6. 1-¹⁴C glucose oxidation法

Kjφsenの方法¹³⁾によった。

7. 貧食能の測定

Forgason らの方法¹⁴⁾にしたがい行った。yeast は Standard Brands Inc. New York N.Y.より購入し、また、E.coli K12を用いた。

8. BALF 中 MINO 濃度測定法

前報どおり radioimmunoassay (以下RIA-Cと略す) 法にて BALF 中 MINO 濃度を測定した¹⁵⁾。

9. MINO 吸入療法

前報同様に 8% Liducaine 1 ml で局所麻酔後 200 μg の Beclomethasone dipropionate を吸入させたのち 50mg の MINO を 35ml の 54℃ 蒸滅蒸留水に溶解し ultra sonic nebulizer (以下USNと略す) にて吸入させた^{7,8)}。

【結 果】

1) 50mgMINO吸入後のBALF中MINO濃度の推移

50mgMINOをUSNで吸入後継時的にBALFを採取し、BALF中のMINO濃度をRIAで測定した。吸入1時間後1.92±0.54 μg/mlであったが、次第に減少し4時間後は0.12±0.11 μg/mlと激減した。(Fig 1)

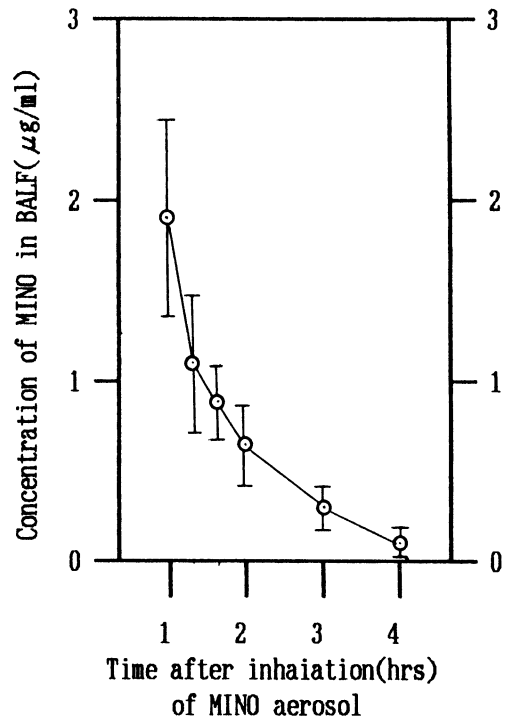


Fig1 Concentration of MINO in BALF after 50mg of MINO inhalation by USN

2) PMNL遊走能に関するMINOの影響

MINOはPMNLの random migrationを20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以上の濃度で抑制したが、MINO吸入療法時のBALF中MINO最高濃度2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ では何ら random migrationに影響を与えなかった。(Fig 2)

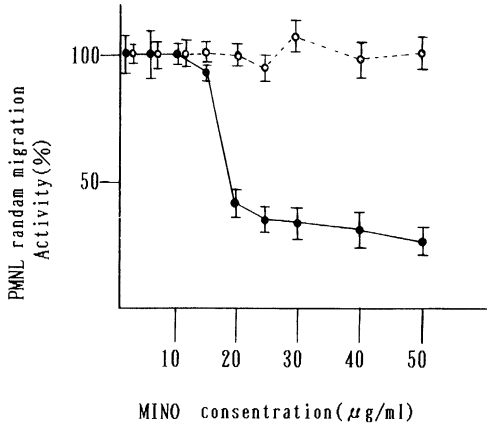


Fig 2 Effect of MINO on peripheral blood migration PMNL random migration in vitro Results are given as the percentage of the activity without MINO and represent the mean value of 10 experiments

3) PMNLのglucose oxidationに及ぼすMINOの影響

PMNLのglucose oxidationに対してMINOは25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以上では抑制をしめた。しかし、MINO吸入療法時のBALF中最高MINO濃度2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ では何ら glucose oxidationの抑制は認められなかった。(Fig 3)

4) PMNLのCLに及ぼすMINOの影響

PMNLのCLに対しMINOは10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以上の濃度で抑制をしめた。しかし、吸入療法時MINO濃度の2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ では抑制をしめさなかった (Fig 4)

5) PMNLの貧食能に及ぼすMINOの影響

PMNLにyeastを貧食させた場合も、E.coliを貧食させた場合も3 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以上のMINOにより貧食能は抑制をうけたが、MINO吸入後のBALF中MINO最高濃度2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の濃

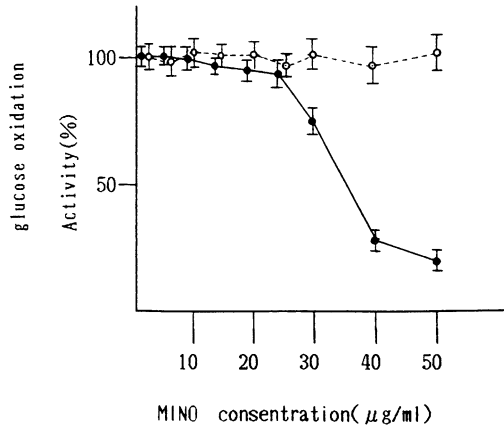


Fig 3 Effect of MINO on neutrophil glucose oxidation the results was the same experimental protocol showed in Fig 2

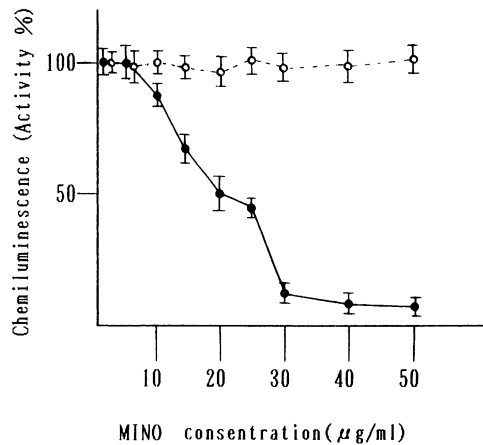


Fig 4 Effect of MINO on CL from PMNLs exposed to zymozan The results was the same experimental protocol showed in Fig 2

度では共に抑制をうけなかった。(Fig 5、6) 一方、血清とMINOを30分間反応させたのちYeast, *E. coli*を貧食させても貧食の抑制はみとめられなかった。BALF中のMINO濃度とBALF中PMNLの貧食能の検討においても2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ のMINO濃度では貧食能の抑制は認められなかった (Fig 7)

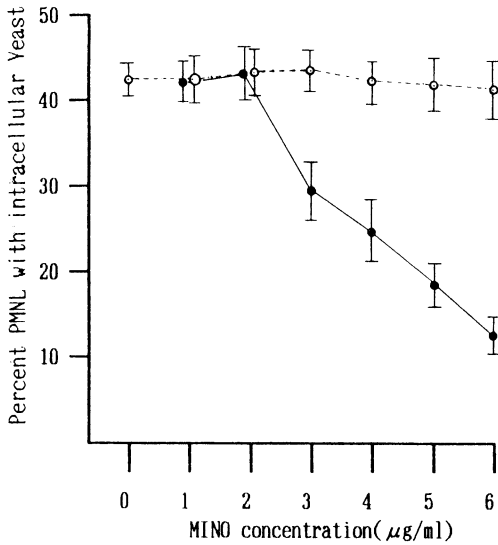


Fig 5 Percentage of PMNLs with intracellular yeast Leukocytes and MINO in various concentrations were added to preopsonized yeast cells and incubated for 30 min at 37°C Data was showed by 100 experiments

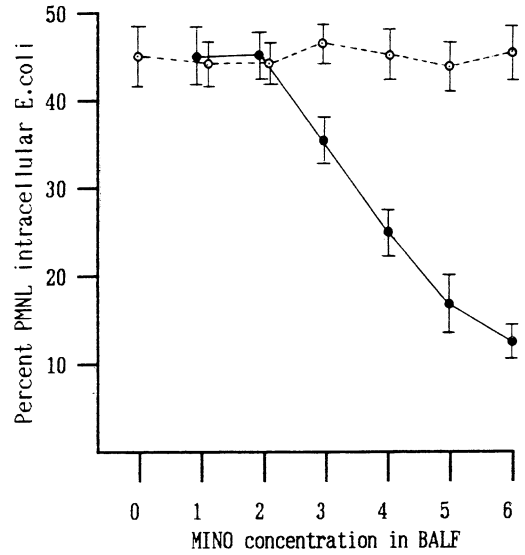


Fig 7 Effect of MINO on percentage of PMNLs with intracellular Yeast in BALF Leukocytes in BALF and MINO in various concentrations were added to preopsonized yeast cells and incubated for 30 min at 37°C Data was showed by 100 experiments

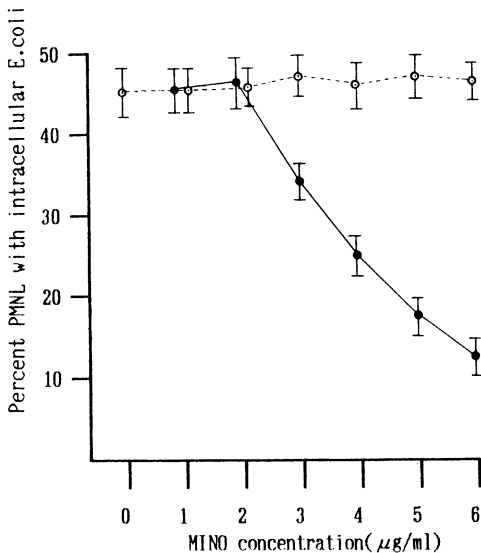


Fig 6 Percentage of PMNLs with intracellular E. coli, Leukocytes and MINO in various concentrations were added to preopsonized E. coli and incubated for 30 min at 37°C Data was showed by 100 experiments

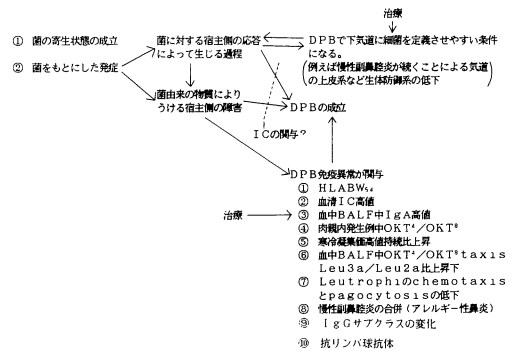


Fig 8 working hypothesis of pathogenesis of DPB

〔考 察〕

MINOをはじめとするTC系投与時のPMNLに及ぼす影響に関しては種々の報告があり、一定の見解が見出されなかった⁹⁾。Quieら¹⁶⁾はこれらの差異を各々の実験系の感度や、用いた白血球の差と推定しPMNLの遊走能、貧食能をTC系薬剤が抑制することを報告し、Geletteら^{17,18)}は高濃度のMINO投与はPMNLの自由遊走、化学発光、ブドウ糖酸化を抑制するが、10 μ g/ml以下では抑制しないことを証明した。また、この抑制は4 mNのMg⁺の添加で消失し4 mMのCa⁺⁺の添加でMINOの抑制効果が減弱することからTCのPMNLに対する作用は2価イオンに対するTCのキレート作用と考察している。

erythromycin (以下EMと略す)は免疫能にactiveに影響を与えDPBの改善を抗生物質の作用に加えて促すといわれている¹⁹⁾。しかし、EMに対する菌感受性幅は狭い。一方MINOは多種病原細菌に対して静菌性に作用するため多種菌交代をしめずDPBに有用と考えられるが70S ribosomeに作用し蛋白合成を阻害し、cytochrome C酸化酵素系を抑制し細胞内呼吸を障害し免疫抑制をしめすと考えられるが⁹⁾、PMNLに対して、MINO吸入後のBALF中MINO濃度2 μ g/ml (Fig 1)では末梢血、BALF中のPMNLの機能に何ら影響を与えないことがわかった。(Fig 2-7)このことからMINOのUSNによる吸入療法がDPBに有用なことが示唆された。

しかも、TC剤は癌性胸膜炎に有用なことより²⁰⁾、免疫学上にも未知の免疫増強作用をPMNLに対する作用外にも有している可能性も残しており、この点に関しては現在検討中である。

さて、一方、DPBの成立機序はFig 8のように考えられる。すなわち、気道に菌が寄生し、このことをもとにして菌そのものによる宿主の一次的障害、菌に対する宿主側の応答

による病変の成立、さらには菌と宿主という2つの異なった生体が共存する状況を考えるべきであろう。DPBに慢性副鼻腔炎が合併しやすい条件や免疫異常が合併しやすい条件としてはHLA-Ag BW54の連鎖不均衡とも考えあわせると、DPBは上下気道の持続感染に続発した生体の免疫異常で成立する疾患と考えられるであろう。この点に関し慢性副鼻腔炎との関連もふくめて現在検討中でありPrerimallyながら興味ある結果をえている。

〔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 23：442-447, 1987.
- 2) Honma H. et al.: Diffuse panbronchiolitis. 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。代謝 23：735-749, 1986.
- 4) 本間正臣：びまん性汎細気管支炎。日胸疾会誌 13：385-398, 1975.
- 5) 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.
- 6) 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.
- 7) 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)の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.
- 8) 西澤芳男：びまん性汎細気管支炎に対するMinocycline (MINO)の吸入療法効果、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。日本耳鼻咽喉科感染症研究会誌 7：177-183, 1989.
- 9) 手塚良夫：テトラサイクリン、クロラムフェニコール、化学療法の領域。2：1409-1413, 1986.
- 10) Ketchel M. M., et al.: The acceleration and inhibition of migration of human

leukocytes by plasma protein factors. J. Exp. Med. 101 : 647-663, 1957.

11) Schremer A., et al. : Adhesion and locomotion of human leukocytes in vitro : importance of protein coating, effect of lidocaine, ethanol, and endotoxin. Acta. Pathol. Microbiol. Scand. Sect. C. 87 : 333-340, 1979.

12) Welch W. D., et al. : Effect of antimicrobial agents on human polymorphonuclear leukocyte microbicidal function. Anti Microb. Agents Chemother. 20 : 15-20, 1981.

13) Kjosens B. H., et al. : Influence of phenylbutazone on leukocyte glucose metabolism and function. J. Reticuloendothel. Soc. 20 : 447-452, 1976.

14) Forsgren A. D., et al. : Effect of tetracycline on the phagocytic function of human leukocytes. J. Infect. Dis. 130 : 412-415, 1974.

15) 西澤芳男 : 慢性副鼻腔炎に対する Minocycline 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.

16) Forsgren A., et al. : Effect of tetracycline on the phagocytic function of human leukocytes. J. Int. Dic. 130 : 412-415, 1979.

17) Glehe J., et al. : Influence of tetracycline on human polymorphonuclear leukocyte function. Antimicro. Agents. Chemother. 25 : 354-357, 1984.

18) Glehe J., et al. : Effect of tetracycline and UV light on oxygen consumption by human leukocytes. Antimicrob. Agents. Chemother. 26 : 489-492, 1984.

19) Ras G. J., et al. : Chemoprophylaxis with erythromycin stearate or amoxicillin in patients with chronic bronchitis : effects on cellular and humoral immune functions. Sa. Med. J. 66 : 955-961, 1984.

20) Zalozind A. J., et al. : Interpleural tetracycline in malignant pleural effusions. A randomized study. Cancer 51 : 752-755, 1982.

質 疑 応 答

質問 松永 亨 (阪大)

CH50は増加、C3、C4は増加している、との報告を聞いたが、緑膿菌感染で増悪時のCH50はどうなっていたか。またこれらの補体値の変化の意味について問う。

応答 西澤芳男 (西沢クリニック)

当初はICが上昇しているためCH50は低下、C3、C4も低下していると考えたが結果はCH50が増加をしめし、C3、C4は正常範囲内であった。一つの考え方としてCH50の上昇は慢性関節リウマチでもみられ、この時当然ICも増加している。DPB でみられたICの変化とCH

50の関係は慢性関節リウマチと同じような病因論でDPBの病因を考えてみるべきではないかということを示唆しているものかもしれない。また、慢性関節リウマチや他の膠原病とよく合併するBBOはDPBと同一の病因論になりたった病変部のみの異なる疾病かという問題に関しても興味ある結果であり、今後この点からDPBの病因論を検討してゆきたい。