

THE INVESTIGATION OF PATHOPHYSIOLOGICAL SIGNIFICANCE OF LOW DOSE LONG-TERM ERYTHROMYCIN CHEMOTHERAPY FOR DIFFUSE PANBRONCHIOLITIS

(1) THE PRESENCE OF THE NEUTROPHIL CHEMOTACTIC FACTOR IN BRONCHOALVEOLAR LAVAGE FLUID IN PATIENTS WITH DIFFUSE PANBRONCHIOLITIS

Yoshio Nishizawa¹⁾²⁾, Yasuko Nishizawa³⁾ and Yoshikuni Amakata²⁾

Department of Respiratory Disease, Nishizawa Clinic¹⁾

Department of Anesthesiology, Shiga University of Medical Science²⁾,

Center for Adult Diseases, Osaka Prefecture³⁾

It is well known that erythromycin (EM) -therapy is effective on diffuse panbronchiolitis (DPB). In this study we investigated the relationship between clinical findings and neutrophil chemotactic factor (NCF) in bronchoalveolar lavage fluid (BALF) in 40 patients with DPB receiving orally low dose EM (600mg/day) for 3 years. The NCF in BALF after EM-therapy was significantly reduced compared with that before EM-therapy.

After EM-therapy, dyspnea upon exertion, body weight, chest X-ray findings, pulmonary function data (%VC, FEV_{1.0}, RV/TLC and V_{2.5}) and blood gas data (PaO₂ and AaDO₂) were significantly improved.

We examined the correlation between the improvement ratio of clinical findings and laboratory data, and the reduction of NCF in BALF after EM-therapy in patients with DPB. Our data suggested the significant correlation between the improvement of all clinical findings and laboratory data, and the reduction of NCF in BALF of patients with DPB.

These results indicate that EM restrains the NCF in BALF of patients with DPB and impairs the accumulation of neutrophils in respiratory tract, ultimately contributes to the improvement of clinical symptoms and laboratory findings in patients with DPB.

びまん性汎細気管支炎に対するエリスロマイシン 少量長期投与の作用機序に関する研究

(1)びまん性汎細気管支炎の気管支肺胞洗浄液中性成分 の好中球遊走因子の効果

西澤 芳男^{1,2)} 西澤 恭子³⁾ 天方 義邦²⁾

西沢クリニック 呼吸器病科¹⁾

大阪府立成人病センター 実験病理³⁾

滋賀医科大学・麻酔学教室²⁾

緒 言

びまん性汎気管支炎 (Diffuse panbronchiolitis (以下 DPB と略す) の病因, 病態, 治療に関し約15年間研究を続けてきた. その間病因, 末梢血所見, 気管支肺胞洗浄液 (Bronchoalveolar lavage fluid 以下 BALF と略す) 細胞所見, 慢性副鼻腔炎, アレルギー性鼻炎, 耳鼻咽喉科感染よりの病巣感染に対する病巣感染, BALF 所見の DPB との関係等考えられる総てのものを検討しこれまで数々の発表をしてきた¹⁻⁵⁾.

DPB の概念^{6,7)}がだされてすぐ Itkin が気管支喘息のステロイド量減量に Macrolide 系抗生物質の一種である Erythromycin (以下 EM と略す) が有効であることを報告した⁸⁾. のについて次々と免疫及び抗炎症作用が証明されるに到った⁹⁻¹³⁾. そこでこれら一連の免疫, 抗炎症作用を EM が有することを応用し, DPB の治療薬として我々は DPB に対する EM 治療と EM からみた DPB の病因を検討することにした. 即ち, 工藤らの DPB に対する EM 600mg/日の4年間投与の DPB 症状改善を偶然に経験したのが1980年であり, 我々が DPB に対する EM の効果を発見したのは

1977年であり工藤ら¹⁶⁾より3年早い. しかも工藤は当初 EM の DPB に対する効果に関して, EM の免疫, 抗炎症作用を推測考察していたにすぎなかった¹⁶⁾に対して, 我々は1974年 DPB に EM を投与開始した当初より DPB に対する EM の治療効果の作用機序に関して検討を加え DPB に対する EM の有効性を裏付けてきた.

一方, Macrolide 系以外の抗生物質に関しても DPB に対する有効性を検討し, minocyclin が DPB に対する効果を有することを明らかにした. DPB に対する EM の治療効果の発表が工藤¹⁶⁾よりおくれたのは臨床効果だけでなく, DPB に対する EM の効果の作用機序を解明することが臨床上の治療効果を発表するとともに必須の作業と考えたためである.

すなわち, EM の DPB 療法に関して何故 EM が DPB に有効であるのかを解明することが臨床効果のみを論ずる以上に重要であると考え, これまで, EM の DPB に対する症状改善作用機序を検討してきたためである.

そこで, 今回の発表は先ず DPB 患者 BALF 中性成分中に含まれている好中球遊走因子

(neutrophil chemotactic factor, 以下NCFと略す) 活性を測定し, DPBの臨床的検査所見との関係について検討を加えた。

対 象

対象とした患者は厚生省DPB診断基準に合致し¹⁷⁾, さらに開胸肺生検, 経気管支肺生検でDPBと診断された40名(男:女=19:16, 41~78歳, 平均年齢58.6歳を対象とし十分なインフォームド・コンセントを行い患者及び家族, 血族者の同意書をえた上で以下の検査を行った。なお患者は全員非喫煙者であり, 喫煙者も全員検査10年前に喫煙を中止した患者であった。

方 法

① EM投与方法

1日600mgのEMを3年間連日投与した。

② Bronchoalveolar lavage (以下BAL)

EM投与前とEM投与3年後にBALを施行した。

BALは常法通り右肺中葉気管支に気管支ファイブスコープを挿入して滅菌生食水を50mlを計3回注入, 吸引して, えられたBALFの粘液成分を3回ガーゼで濾過してえられた液を, 2000rpm, 10分間遠心し液性成分と細胞成分に分離し, 液性成分は-80℃で凍結保存し以下の実験に用いた。

③好中球分画採取

好中球の分類は健康人よりヘパリン加に静脈採血し常法に従ってFicoll-Hypaque比重遠心沈法にて好中球分画をえ10mM HEPES, 4.2mM NaHCO₃, 0.1% BSAを含むHonks液(PH=7.2)液に3×10⁶個/mlに浮遊させた。

なお, この際えられた好中球のviabilityは, trypanblue染色にて95%以上の好中球が生細胞があり, 予備実験で95%以上が遊走活性を有していることを確認した。(下記参照)

④好中球の遊走能の測定

好中球の遊走能はMicrochemotactic cha-

mber (Neuro Probe社)を用いFalkらの方法¹⁸⁾で測定した。Filfenは3μM pore sizeのpolycarbonate bufferを用いて下室に測定試料を, 上室に好中球を加えて37℃, 30分間培養, 培養後の遊走好中球中数を測定した。すなわち, 培養後FilferはDiff.Quik染色液(国際試薬)で細胞を染色し, Olympus顕微鏡下で遊走した好中球数を数え, 成積は1000倍油浸(oil immersion field OIF)の10視野中の細胞数を算定した。(オリンパス工業株式会社, 東京)なお, Positive controlとしてN-formyl-methionyl leucylphenylalanine (f-MLP)(半井科学, 京都)を用い結果はf-MLPに対する比で表わした。(Fig. 1)

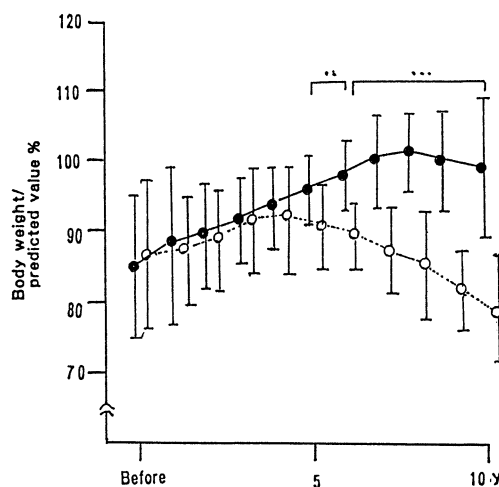


Fig. 1 Body weight : Patients with DBP

●—● EM (+)

○—○ EM (-)

⑤統計学的処理

得られた結果はStudentのpaired-t-testおよびunpaired t-testにしておこない, P<0.05を有意とした。

結 果

①BALF所見

好中球遊走活性を測定した40症例のEM投与前後のBALFの回収率と細胞分画に関し検討した。回収率はEM投与後に増加しており,

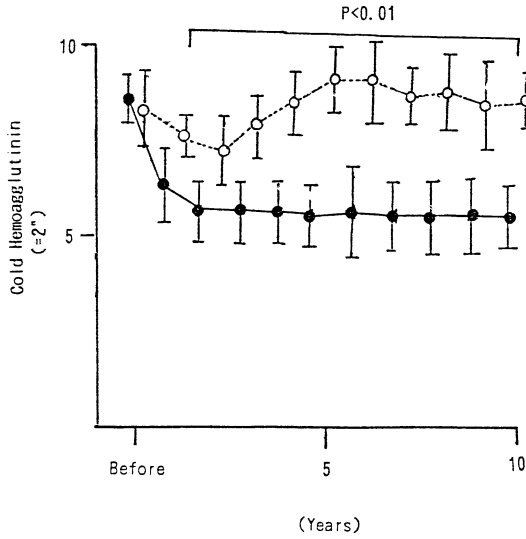


Fig. 2 Cold Hemoagglutinin
EM (+) ●—●
EM (-) ○—○

総細胞数は低下しており Mφ は増加 Lym は殆ど変化なく、Eo も変化に乏しかったが好中球は EM 投与後著しく低下していた。すなわち EM 投与により BALF 中の NCF が何らかの影響を与えて好中球の遊走を阻止したものと考えられた。(Fig. 2)

③ EM 投与による呼吸能の改善

EM 投与により呼吸機能中検討したもののうちでは %VC, FEV_{1.0} RV/TLC FEV_{1.0} % V_{2.5} は有意の改善を認めなかった。(Fig. 3.4.5)

④ EM 投与後の動脈血ガスの変化

EM 投与で PaO₂, A-aDO₂ は有意の改善をしめたが当然のことながら PaCO₂ は有意の変化を示めさなかった。(Fig. 6.7)

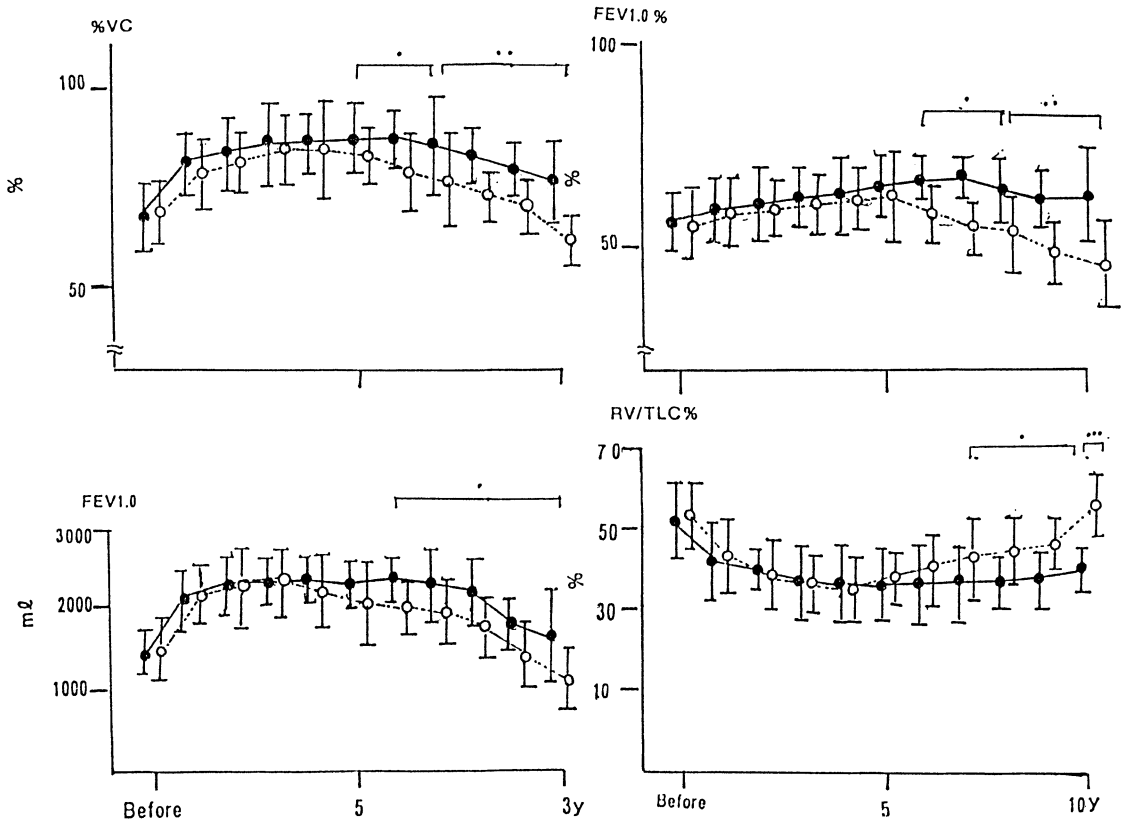


Fig. 3 Comparison of respiratory function before and after EM treatment

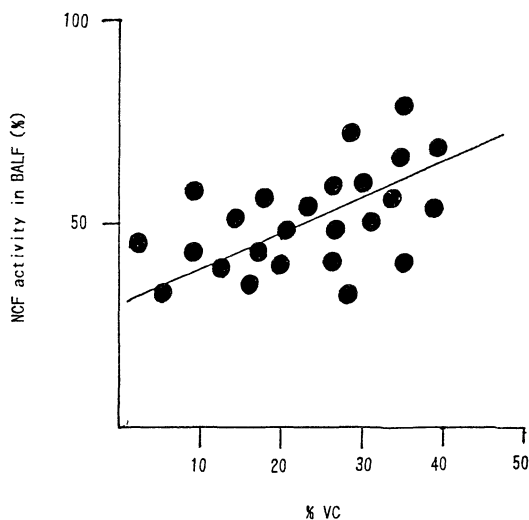


Fig. 4 Correlation between the change of PaO₂ and NCF activity in BALF before and after EM treatment

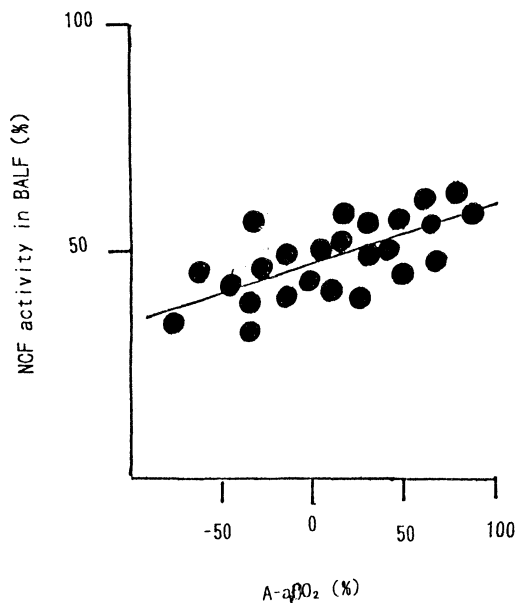


Fig. 6 Correlation between the change of A-aPO₂ and NCF activity in BALF before and after EM treatment

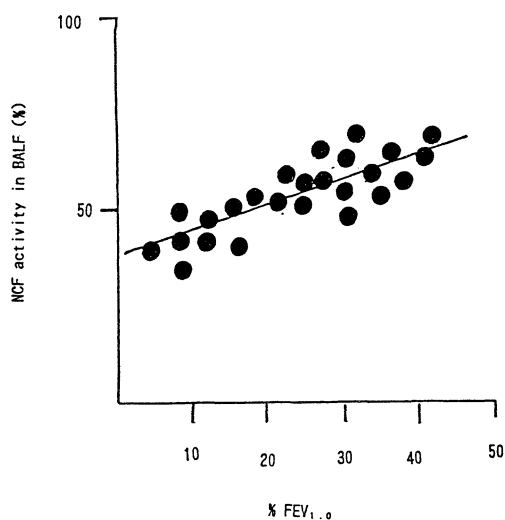


Fig. 5 Correlation between the change of FEV_{1.0} and NCF activity in BALF before and after EM treatment

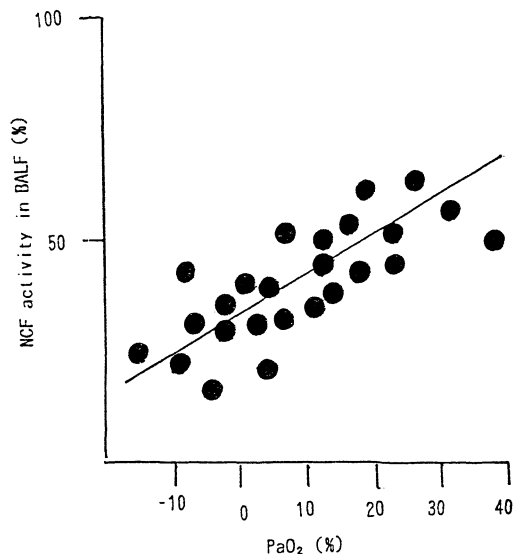


Fig. 7 Correlation between the change of PaO₂ and NCF activity in BALF before and after EM treatment

⑤ EM投与後のBALF上清中の好中球遊走活性の変化

EM投与後BALF上清中の好中球に対する遊走活性は著しく有意の低下を認められた。(Fig. 6)

この好中球に対する遊走活性の低下はEMを投与されたいずれのDPB患者BALF中の

NCFにも認められた。

さらに、BALF中の物質が好中球遊走能を障害することはなかった。

⑥ EM 投与後の BALF 上清中の好中球遊走活性の変化

EM 投与で呼吸能の改善された %VC, FEV_{1.0}%, FEV_{1.0}/RV/TLC V_{2.5} と好中球遊走能の改善には総て相関関係がみとめられたが, EM 投与で改善のみとめられなかった %DLCO, DLCO/VA, V_{2.5}/HT では何ら相関関係がみとめられなかった. すなわち EM 投与後の呼吸機能の改善が認められるものは好中球遊走活性と相関のあることが明らかとなった. (Fig. 5. 7)

考 察

EM が DPB に有効であることはよく知られた事実である. 我々は工藤ら^{1,6)}に先がけて EM の DPB に対する治療を開始した. その理由は工藤ら^{1,6)}のたまたま DPB 患者に EM を投与された患者で臨床症状が改善した経験的治療と異なり, 我々の場合は EM の薬理作用を考慮して用いた点異なる.

sub MIC 量の EM の長期投与で効果があること^{1,2)}本来抗菌作用のない緑膜菌感染例でも有効なことより, EM の DPB に対する作用機序は EM が抗生物質として細菌に対する静菌, 殺菌系を介して作用するのではなく, 生体の免疫, 抗炎症第の作用を介した機序を考えるのがより合理的^{1,4)1,6)2,6)}で我々も未発表であるがいくつかの新たな初見をえている.

今回は DPB の EM 治療の内で末梢気道の細菌感染に注目されている好中球に注目した^{2,1)2,3)}すなわち, 好中球は慣性気道感染症, なかんづく DPB で著明に増加し EM 投与で激減することに注目するという事実^{2,4)-2,6)}から EM が BALF 中の NCF 活性に作用し DPB 病状の改善に有用な作用をしめしている可能性を考えた.

BALF 中の好中球は EM の投与で著明に低下し BALF 中の NCF 活性は EM 投与前に比し EM 投与後著明に低下した.

一方, 呼吸器の改善も %肺活量の増加, 残

機量の低下, 一秒率の増加, V_{2.5}の増加を認めた. 諏訪部ら^{2,6)}は V_{2.5}の増加がみとめられていないというが, 他の報告では増加がみとめられており, 本研究でも増加が有意にみとめられた. このことより諏訪部ら^{2,6)}の報告で V_{2.5}の増加が認められなかったのは諏訪部ら^{2,6)2,7)}の EM の投与が 2 ヶ月なのに対し, 他報告はおおむね, 投与が 6 ヶ月であり, 我々は 3 年間投与したために V_{2.5}改善効果は細気管支病変の改善をもたらしたものと考えられた.

EM 投与による BALF 中の CCF 活性の抑制が DPB の呼吸機能の改善との相関では %VC とでは $\gamma = 0.881$, PV/TLC では $\gamma = 0.856$, FEV_{1.0} とは 0.832 , REV_{1.0} % とは $\gamma = 0.845$ と相関関係をみとめた. これは以前相関関係がないとした報告が 6 例のみを対象とした少数の分析をおこなったため十分な症例数の欠如により相関関係がえられなかったのではないかと考えられる^{2,8)}. たゞ彼ら^{2,8)}が論文中で論じている相関関係はないがその傾向がうかがえるという考察は症例を増やした我々の成績で相関関係のあることが証明された.

呼吸不全の指標である動脈血ガス分析との相関関係では PaO₂ の改善, A-aDO₂ の改善とは BALF 中の好中球 NCF 活性の低下とよく相関しており EM は BALF の NCF 活性を抑制することで感染局所への好中球の集積を抑制し, 喀痰その他の症状を改善することで肺における過換気状態を是正し, DPB 症状を改善させるという結果が示唆された.

NCF は幾種類もの活性因子があるが, 我々は未発表ながら Interleukin 7 がその作用をもち, Interleukin 7 の好中球遊走能の抑制, およびその作用機序も解析することに成功した. この結果については今後の本研究会で発表してゆく予定である.

文 献

1) 西澤芳男他: 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 Mirocycline 吸入療法の効果の検討：日本耳鼻咽喉科感染症研究誌. 6 : 11-18, 1988.
- 2) 西澤芳男他びまん性汎細気管支炎に対する Mirocycline 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感染症研究会誌. 7 : 177-183, 1980.
- 3) 西澤芳男他：閉塞性気管支炎に対する Mirocycline 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 : 172-176, 1989.
- 4) 西澤芳男他：びまん性汎細気管支炎患者における Mirocycline 療法による多核白血球機能に及ぼす影響. 日本耳鼻咽喉科感染症研究会誌. 8 : 105-110, 1990.
- 5) 西澤芳男他：緑膿菌感染時びまん性汎気管支炎における病状の進行因子としての Immunocomplex の検討 日本耳鼻咽喉科感染症研究会誌. 8 : 111-116, 1990.
- 6) 山中晃他：慢性気管支閉塞性疾患の問題点：特にびらん性汎細気管支炎について内科. 23 : 442-451, 1969.
- 7) Homma, H. et al : Diffuse panbronchiolitis. A disease of the transitional zone of long chest 83 : 63-69, 1983.
- 8) Itkin, IH₂ Nenzel. M.L. : The use of macrolide antibiotic substances in the treatment of asthma. J. Allergy. 45 : 146-152, 1970.
- 9) 水谷明他：慢性肺疾患に対する化学療法の問題点(第2報) 気管支喘息の治療を中心として chemotherapy 21 : 1904-1914, 1973.
- 10) Rosen C. et al : Acute otitei media in older children and adults treated with phenoxime thyl penicillin or erythromycin stearate Acta. Otolaryngol 96 : 247-256, 1983.
- 11) Hughes. D.T.D. : Antibiotic treatment of chronic bronchitis I. Roy. Coll. physicians. London 13 : 26-28, 1979.
- 12) Grob. PR et al : The use of erythromycin as prophylaxis in chronic bronchitis : Cohort study from general practices. J. Int. Med Res. 2 : 47-54, 1980.
- 13) Marelli O. et al : Effects of erythromycin on activation of natural mechanisms of immunity to microorganisms. Proceedings of 13th International Congress of Chemotherapy Part 117 Vienna, 1983.
- 14) Ras. GI. et al : Chemoprophylaxis with erythromycin stearate or amoxycillin in patients with chronic bronchitis-effects on cellular and humoral immune functions. Sa Med J. 66 : 955-962, 1984
- 15) Ochiai. T. et al : Effect of an immunosuppressant, FR900506, on experimental organ transplantation, 11th International Congress of Transplantation Society Vienna 1986.
- 16) 工藤翔二他：びまん性汎細気管支炎に対するエリスロマイシン少量長期投与の臨床効果に関する研究, 4年間の治療成績：日胸会誌 25 : 632-642, 1987.
- 17) 厚生省特定疾患間質性肺疾患調査研究班：びまん性汎細気管支炎診断の手引き, 厚生省特定疾患間質性肺疾患調査研究班 昭和55年度報告書 P.13 1980.
- 18) Falk, W. et al : A-48 well microchemotaxis assembly for rapid and accurate measurement of leukocyte migration J. Immunol Method. 32 : 239-247, 1980.
- 19) 澤木正好：慢性下気道感染症における Erythromycin 長期化学療法の検討：第2報 Pseudomonas 感染症も含めて 感染症誌 60 : 45-50, 1986.

- 20) Fraschini, F et al : Evolution of the immunostimulating activity of erythromycin in man *Chemotherapy* 32 : 286-290, 1986.
- 21) Netson, S et al : Characterization of the pulmonary inflammatory response to an anaerobic bacterial challenge. *Am Rev Respir Dis.* 133 : 212-217, 1986.
- 22) Dunn, MM. et al : Pulmonary clearance of pseudomonas aeruginosa in neutropenic mice *Am Rev. Resp. Dis.* 135 : 1294-1299, 1987.
- 23) Pennington, I. E et al. : Intrapulmonary chemotaxins in the normal and in the cyclophosphamide treated host *Am. Rev. Respir. Dis.* 131 : 845-849, 1985.
- 24) 迎 寛他 : びまん性汎細気管支炎におけるBALF細胞所見の検討 : エリスロマイシン投与前後の比較 *感染症誌.* 65 : 692-697, 1991.
- 25) 織田裕繁他 : 慣性下気道感染症患者における気管支肺胞洗浄液中好中球遊走因子の検討. 第14回びまん性細気管支炎をめぐる研究会. P3 東京, 1991.
- 26) Ichikawa, Y et al : Neutrophilia in Bronchoalveolar Lavage Fluid of Diffuse Panbronchiolitis *Chest* 98 : 917-923, 1990.
- 27) 諏訪部章他 : いわゆる“びまん性汎細気管支炎”に対するエリスロマイシンの少量長期投与療法 : 投与前後の末梢白血球機能の検討 *日胸疾会誌.* 26 : 1284-1290, 1988.
- 28) 織田裕繁他 : びまん性汎細気管支炎における気管支肺胞洗浄液中 : 好中球遊走因子に関する研究 : 特に臨床所見との関連について, *感染症誌.* 66 : 441-447, 1992.

質 疑 応 答

質問 新川 敦 (東海大)

EMを長期に年余にわたって使用するの、慢性副鼻腔炎では抵抗があるが、いつ薬剤投与を中止するかを教えてください。

応答 西澤芳男 (西沢クリニック)

StageがI位であればEMの中止は可である。しかし十分な検査をし投与再開時期をあやまらないようにしないといけない、EM中止、減量は上述の理由で可である。