疑似慢性下気道感染症モデルの作成と エリスロマイシンの効果

田嶋信行・渡部良広・楠あつこ・大椿友子・笹渕尚志・真部俊一^{*1)}、長岡 滋^{*2)}

Preparation of an animal model of chronic pseudo-infection in lower respiratory tracts and effect of erythromycin

The possibility has been proposed that the vicious cycle which consists of basal diseases, bacterial metabolites and host persistent inflammation affected on intractability of chronic respiratory tract infections (CRTI). To elucidate the contribution of host inflammation to the intractability of CRTI, we investigated the effect of repeated inhalations of sterilized *Escherichia coli* suspension on cellular and biochemical parameters in bronchoalveolar lavage fluid (BALF) and lung tissue using rats. An influx of neutrophils, a leakage of albumin and an increase of neutrophil elastase activity in airways were maintained during the repeated inhalations, which confirmed that there arose a chronic pulmonary inflammation. In histological studies, the lung tissue of inhaled rats showed chronic inflammatory features which resembled in diffuse panbronchiolitis. In the model, erythromycin reduced the number of neutrophils, the concentration of albumin, and the elastase activity in BALF. Furthermore, no or weak histological changes were observed in the lung tissue of rats treated with erythromycin, and the deterioration of pulmonary mechanics was suppressed.

These results suggest that host persistent and excessive inflammation contributes markedly to the exacerbation of basal disease caused by CRTI, and that the suppression of such inflammation is promising to its medical care.

Nobuyuki Tajima・Yoshihiro Watanabe・

Atsuko Kushi・Tomoko Ohtsubaki・

Hisashi Sasabuchi・Shun-ichi Manabe^{*1)},

Shigeru Nagaoka^{*2)}

key words : chronic respiratory tract infection, animal model, neutrophil, elastase, erythromycin

慢性および反復性下気道感染症は、慢性気管支炎・肺気腫・気管支拡張症などの慢性呼吸器疾患を基礎病変として二次的に併発することが多く、増悪と軽快を繰り返しながら遷延化・重症化する難治性疾患である。

慢性下気道感染症が難治化する要因としては、

① 基礎疾患による生理学的変化や組織学的変化がもたらす気道防御系の機能障害、② 宿主細胞性免疫反応や抗菌薬に対する感染菌の抵抗性、またはその産生物による基礎疾患の二次的増悪、③ 宿主炎症反応による基礎疾患の二次的増悪、などからなる悪循環が考えられている¹⁻³⁾。

しかし慢性下気道感染症に特徴的な病態をもたらしうえて、いずれの要因がもっとも主要な役割を担っているのかについては必ずしも明らかになっておらず、病因に基づいた的確な治療法が確立されているとはいいがたい現状である。

筆者らは慢性下気道感染症の難治化における宿主炎症反応の位置付けを明らかにする目的で、慢性下気道感染症に類似した病態を、持続的な宿主炎症反応のみによって実験動物に再現することを試みた。その結果、ラットに起炎物質を連続吸入させることにより、肺洗浄液パラメーターと病理組織学的所見の両方において、慢性下気道感染症、とりわけびまん性汎細気管支炎 (DPB) に類似した特徴を有する病態を再現しうることが明らかとなった。さらに、本病態ラットにエリスロマイシンを投与することにより、肺洗浄液中の好中球数増加の抑制や肺機能低下の抑制など、臨床知見に合致した効果が確認された。

これらの結果は、基礎疾患の増悪を含む慢性下気道感染症の難治化に、過剰な宿主炎症反応が関与していることを示唆し、慢性下気道感染症の的確な治療法探求のアプローチになりうると考えら

^{*1)} Central Pharmaceutical Research Laboratories, Japan Tobacco Inc. 日本たばこ産業株式会社医薬総合研究所

^{*2)} Japan Research Institute of Sputum 日本喀痰研究所

れたので、報告する。

材料と方法

動物：吸入試験には、5 または 6 週齢(体重100～120 g)の SD 系雌性ラット(SPF)を日本 SLC (静岡)より購入して使用した。

試薬：抗ラットマクロファージ・顆粒球抗体として MRC OX-41(マウスモノクローナル IgG κ ; セロテック社, USA), 2 次抗体としてフィコエリスリン標識抗マウス IgG κ 鎖(ペクトン・ディッキンソン社, USA)を使用した。好中球エラスターゼの基質には Meo-Suc-AlaAlaProVal-pNA(バッケム社, USA)を用いた。エリスロマイシンはシグマ社(USA)から、またその他の試薬も市販の特級品を購入して使用した。

死菌体の調製と吸入：ATCC から購入した大腸菌セロタイプ 055:B5 株を完全培地で大量培養し、集めた菌体を水：メタノール：クロロホルム=1:2:2 混合液で処理して殺菌したのち、メタノール、クロロホルムを除去し、凍結乾燥により大腸菌死菌体粉末を得た。死菌体粉末は 1 mg/ml の濃度で水に溶解し、TSI 社(USA)製ジェット式アトマイザー Model-9306 を用いて、4 ジェット開放・40 psi の条件(平均流量約 471/min, 霧化量 1.6 ml/min, 平均粒径 0.6 μ m 以下)で霧化して専用チャンバー(50×50×100 cm)に導入した。ラットは保定状態でチャンバー内に静置し、1 日 2 時間、最長 16 日間にわたって毎日吸入させた。

肺洗浄液の回収：最終吸入の 24 時間後に、ペントバルビタール麻酔下で頸動静脈切断により脱血死させた。気管を切開して 5 ml の PBS を入れたシリンジに接続したあと、4 ml の PBS を静かに注入・吸引する操作を 3 回繰り返し、肺洗浄液を得た。肺洗浄液は速やかに遠心処理して細胞と上清にわけ、細胞にはさらに溶血処理を施して総白血球画分とし、それぞれ解析に供した。

肺洗浄液中白血球の解析：総白血球数および顆粒球数は、総白血球懸濁液の一部をとって希釈し、コールターカウンター(コールター社, USA)で測定した。さらに一部をとり抗体で染色したのち、FACScan(ペクトン・ディッキンソン社, USA)を用いて細胞亜集団構成比の解析を行った。

エラスターゼ活性の測定：肺洗浄液上清の一部を、96 穴マイクロプレート上で緩衝液(0.2 M Tris-HCl pH 8.6, 1 M NaCl, 0.01% Triton X-100)に加えて計 190 μ l とし、さらに基質溶液(10 mM MeO-Suc-AlaAlaProVal-pNA DMSO 溶液)を 10 μ l 添加して反応を開始させた。保温機能付きマイクロプレートリーダー(サーモマックス; モレキュラーデバイス社, USA)で経時的に波長 405 nm の吸光度を測定し、得られた経時曲線の傾きから最大反応速度を算出した。

肺洗浄液中アルブミン量の測定：自動血液成分分析機(モナーク 2000; インストルメンテーション・ラボラトリーズ社, USA)を用いて、肺洗浄液上清中のアルブミン量をヒト血清中アルブミンに準じて測定した。

肺機能の測定：連続吸入試験における最終吸入の 24 時間後に、ペントバルビタール麻酔下で頸動静脈を切断して脱血死させた。気管を切開してカニューレを挿入し、バクスコ・エレクトロニクス社(USA)製肺機能解析装置 Model-6 に接続した。1 回換気量 1 ml, 換気数毎分 60 回の人工換気条件下における動肺コンプライアンスおよび呼吸抵抗を測定した。

肺湿重量測定及び病理組織学的解析：肺を気管とともに摘出して不要な肉片などを除去し、肉眼所見を記録して湿重量を測定した。摘出肺の気管から右肺に 10%ホルマリン/0.1 M リン酸緩衝液(pH 7.0)を静かに注入して伸展固定し、左肺は気管支内腔の観察を目的として伸展せずに固定した。組織切片の作成および染色(ヘマトキシリン・エオジン染色またはビクトリアブルー染色)は関東組織形態研究所(埼玉)に委託し、連続死菌吸入で惹起された各種病変の評価に供した。

統計処理：統計処理は Student t test にて行い、危険率 5 %以下を有意とした。

結 果

(1) 大腸菌死菌吸入による肺炎症の惹起

ラットを用いた LPS の単回吸入試験では、5 時間以内にプラトーに達する激しい好中球の肺内への浸潤と、BALF 中のエラスターゼ活性の上昇がみられることが既に知られている⁴⁾。

われわれは最初に、大量調製の容易な大腸菌死

図1 連続死菌吸入のラット肺洗浄液パラメーターに及ぼす影響

1日2時間の死菌吸入を4, 8, 12および16日間継続したのち、それぞれ最終吸入の24時間後に肺洗浄液を採取し、含まれる(a)好中球数・(b)アルブミン濃度・(c)エラスターゼ活性(—○—)を無処置対照群(—□—)と比較した(材料と方法を参照)。(mean $\pm$ SE. n=5. ***: $P<0.001$. **: $P<0.05$. *: $P<0.01$)

菌の水溶液のエアロゾル吸入(以下、死菌吸入と略)により、類似の炎症惹起効果が得られるか否かを検討した。その結果、精製 LPS 投与には劣るものの、1時間の単回死菌吸入で15~24時間以内にピークとなる好中球の強い浸潤を認めた(データは示さず)。そこで、ラットにほぼ24時間おきに毎日2時間、4, 8, 12および16日間継続して死菌を吸入させたのち、それぞれ最終吸入の24時間後に肺洗浄液を採取し、回収された好中球数を測定した。

その結果、肺洗浄液1ml当たりの好中球数は、死菌吸入開始後3~4日目まで一過性のいちじるしい増加を示したのち、やや低下して $0.5\sim1\times 10^6$ 個前後の値を示したまま吸入期間中ほぼ維持された(典型的なパターンを図1aに示す)。これに応じて、好中球の肺洗浄液中の全白血球に対する割合は50~60%(単球/マクロファージ:25%前後、リンパ球:10%前後)から40~50%(単球/マクロファージ:30%前後、リンパ球:20%以上)に低下して安定化した(データは示さず)。これらの結果は、吸入開始4日目以降においては、多数の好中球の浸潤に加えて、マクロファージ・リンパ球の関与も大きい慢性炎症の状態へと移行し、吸入期間中維持されていることを示唆するものと考えられた。

つぎに、血管透過性亢進による血漿成分の肺内への漏出を、肺洗浄液上清中のアルブミン量を指

標とすることで検討した。その結果、死菌吸入4日目では吸入群のアルブミン量は無処置対照群の約3.5倍に達したが、8日目以降は対照群の2倍程度に低下することが認められ、肺洗浄液中に回収された好中球数の動態とよく相関した(図1b)。このことから血管透過性においても、連続吸入4日目付近を境としてその亢進のいちじるしい炎症急性期から、慢性安定期へ移行していることが示唆された。

慢性下気道感染症患者のBALFや喀痰中に高い活性が検出される好中球エラスターゼは、広範な生体成分を基質とする強力な活性を有し、組織傷害・破壊等に関与していると考えられている⁵⁻⁷⁾。連続死菌吸入試験における気道内のエラスターゼ活性の有無および動態をみたところ、対照群に比較して有意に高い活性が肺洗浄液上清中に検出され、肺内でエラスターゼ活性/エラスターゼ阻害活性の均衡が崩れていることが示唆された(図1c)。また、その動態には連続吸入初期から大きな変動が認められず、炎症細胞の浸潤・アルブミンの漏出とは異なったパターンを示した。

以上の結果に加えて、連続死菌吸入群の肺洗浄液中には痰状の粘液塊が回収されるので、上述の炎症性細胞の浸潤・血管透過性亢進に加えて、気道分泌の亢進・変質も起きていることが推察された。また、吸入群ラットでは体重増加の有意な抑制も観察されたが(データは示さず)、ラットの行

図 2 連続死菌吸入ラット肺の病理組織学的所見上の特徴

1日2時間の死菌吸入を16日間継続したラットの肺をホルマリン固定し、組織切片を作成した。

- (a)：気管支随伴リンパ組織(BALT)はいちじるしく肥大し、一部に気管支内腔を圧迫している像もみられた。(HE染色：×10)
- (b)：小気管支周囲には新たなBALTの形成が認められた。(HE染色：×25)
- (c)：一部の細気管支は粘液や浸潤細胞により閉塞していた。(HE染色：×100)
- (d)：細気管支～小血管周囲にリンパ球を中心とする細胞集塊が、全肺野にわたって播種状に形成されていた。(HE染色：×10)
- (e)：細胞集塊の周囲を中心に肺泡構造の圧迫や破壊がみられ、泡沫細胞の集簇も認められた。(HE染色：×50)
- (f)：炎症細胞の充満に伴い、断裂したエラスチン繊維が点状に認められた。(ビクトリアブルー染色：×100)

表 1 死菌連続吸入ラットの肺洗浄液中パラメーターにおけるエリスロマイシンの効果

	neutrophil ($\times 10^{-5}/\text{ml}$)	albumin (mg/ml)	elastase ($\mu \text{ OD}/\text{min}$)
vehicle + Inhalation	5.42 ± 0.50	0.277 ± 0.013	49.0 ± 5.3
erythromycin + Inhalation	$3.15 \pm 0.66^*$	0.187 ± 0.013	$33.4 \pm 4.2^*$
vehicle	0.35 ± 0.05	0.095 ± 0.006	16.3 ± 5.3

死菌吸入 (1 日 2 時間) の 30 分前にエリスロマイシンの 0.5% CMC 懸濁液を経口投与することを 8 日間継続した。最終吸入 24 時間後に肺洗浄液を採取し、好中球数・アルブミン濃度・エラスターゼ活性を測定した (材料と方法を参照)。

mean $\pm$ SE. n=5. *: P<0.05

動には外見上異常がみられないことから、この病態は、生菌の経気道的投与により最終的に敗血症で死に至る急性感染症モデルとは異なり、慢性下気道感染症の比較的弱い持続感染状態 (急性増悪前の病態進行状態) に類似していると考えられた。

(2) 連続死菌吸入による病理組織上の変化

連続死菌吸入 8 日目以降の、ラット肺病理組織標本における代表的な組織像を図 2 に示した。吸入群の気管支随伴リンパ組織 (BALT) はいずれもいちじるしく腫大しており (図 2 a)、気管支上皮と基底膜の間に浸潤した多量のリンパ球により気管支が部分的に狭窄している像や、小気管支における新たな BALT 形成も認められた (図 2 b)。気管支～細気管支の上皮細胞は腫脹しており、特に細気管支では一部にいちじろしい杯細胞の増生がみられるとともに、その内腔に炎症細胞や剝離上皮を含む多量の粘液が認められた (図 2 c)。

一方、終末細気管支から呼吸細気管支・肺泡道に至る末梢気道、およびこれに並行する小血管周囲にはリンパ球を中心とする単核球の集塊が形成されており、これが全肺野にわたって播種状に散在していた (図 2 d, e)。これに隣接した領域の肺泡はその内腔を浸潤細胞で占められる一方、部分的に圧迫や破壊を受けており、ビクトリアブルー染色では断裂した弾性繊維が点状に認められた (図 2 f)。

また、このような細胞集塊に付随して、閉塞性肺疾患の病理組織でよくみられる泡沫細胞が、肺泡～肺泡道を中心とした範囲に充満する形で集簇していた (図 2 e, f)。細胞集塊隣接領域以外の肺泡では壁の肥厚と腔内のマクロファージをはじめとする細胞数の増加を認めたが、基本的な構造

は保たれており、また膿瘍形成を伴うような好中球の集積もみられなかった。

以上の組織像から、この病態は軽度の間質性肺炎の所見を伴う閉塞性細気管支炎であると考えられた。特に細気管支領域における病理像は、泡沫細胞の集簇を伴ったリンパ球性閉塞性細気管支炎としての像を呈するびまん性汎細気管支炎 (DPB)⁸⁾ と非常によく似ていることが明らかとなった。

(3) エリスロマイシンの効果

エリスロマイシンは DPB 患者に対する長期投与により、呼吸機能改善・喀痰量の減少・BALF または喀痰中の好中球および好中球エラスターゼ活性の減少・粒状陰影の消失など、その病態をいちじるしく改善することが知られている^{5,9,10)}。そこで同様の効果が疑似下気道感染症モデルにおいても得られるか否かについて検討を行った。

エリスロマイシンは 0.5% カルボキシメチルセルロース (CMC) 懸濁液として 1 日 1 回、死菌吸入の 30 分前に 100 mg/kg の用量で経口投与した (対照群には 0.5% CMC のみを投与した)。8 日間連続投与・吸入させたのち、最終吸入の 24 時間後に肺洗浄液を回収し、好中球数および上清中のアルブミン量・エラスターゼ活性を測定した。その結果、好中球数・エラスターゼ活性はともに有意に抑制され、またアルブミン量も抑制される傾向にあった (表 1)。これらの結果は、連続投与 12 日目においても同様であった。一方、肺洗浄液中に回収される単球/マクロファージ数・リンパ球数については抑制される傾向がみられたものの、いずれの場合も好中球に比較して個体差が大きく、有意ではなかった (データは示さず)。

連続死菌吸入 10 日目以降の病理組織所見上に

図3 連続死菌吸入ラットの肺組織におけるエリスロマイシンの効果

1日2時間の死菌吸入を連続16日間継続したラットの肺をホルマリン固定し、組織切片を作成した。エリスロマイシン(100 mg/kg)は連日死菌吸入の30分前に経口投与した。

(a)：末梢気道～小血管周囲の播種状の細胞集塊形成は対照群に比較して明らかに抑制されていた。(HE染色：×10)

(b)：気管支内腔の細胞や粘液は少なく、気道上皮細胞の腫脹も軽度であった。また、肺胞構造は末梢気道周囲においてもよく保たれており、腔内の細胞数も対照群に比較して少なかった。(ピクトリアブルー染色：×50)

におけるエリスロマイシンの効果を検討したところ、末梢気道～小血管周囲のリンパ球中心の細胞集塊の数・大きさともに明らかな減少または抑制

が認められた(図3 a)。また、肺胞における中隔肥厚および腔内の細胞数、細気管支上の腫脹・剥離などについても抑制がみられた(図3 b, 表2)。しかしながら本モデルのもう一つの大きな特徴である BALT の過形成については、吸入対照群との間に差異を認めなかった。

死菌の吸入により、ラット肺の湿重量は連続吸入初期から対照群の1.6～1.8倍に増加し、吸入期間中維持される(データは示さず)。連続死菌吸入10日目における吸入対照群とエリスロマイシン投与群の肺湿重量を比較したところ、その抑制率は30%弱とやや低かったものの、エリスロマイシンによる湿重量増加の有意な抑制が認められた(図4)。この結果と病理組織所見上の種々の抑制効果から、疑似下気道感染症モデルにおいても、臨床知見と同様の肺機能低下に対するエリスロマイシンの効果が期待できると考えられた。

そこで、死菌吸入10日目の呼吸抵抗および動肺コンプライアンスの測定を試みた結果、吸入対照群において吸呼抵抗の有意な上昇と動肺コンプライアンスの有意な低下がみられたのに対し、エリスロマイシン投与群では呼吸抵抗の上昇が認められず、動肺コンプライアンスの低下も吸入対照群に比較して抑制される傾向にあった(図5)。

以上の結果から、エリスロマイシンは疑似下気道感染症モデルにおいて、その臨床知見に合致した病態の抑制効果を示すことが明らかとなった。

考 察

今回筆者らが報告した下気道感染症モデルは、死菌吸入によって炎症を惹起しているために病巣の急激な拡大が起こらず、末梢気道およびその隣接領域を中心とした炎症が持続する状況を再現している点に大きな特徴がある。吸入期間は最大16日と比較的短期間であったが、連続死菌吸入4日目付近を境に、好中球浸潤・血管透過性亢進の顕著な急性炎症から、マクロファージ・リンパ球数およびその比率の高い慢性炎症へ移行して持続することが示された(図1 a, b)。実際、連続吸入8日目以降の組織には多数のリンパ球浸潤とともにマクロファージの増加・泡沫細胞の集簇が認められ、単なる急性肺炎とは明らかに異なる病理像を呈していた(図2)。

表 2 連続死菌吸入ラット肺の病理組織学的変化とエリスロマイシンの抑制効果

		experiment 1 (vehicle)	experiment 2 (vehicle)	experiment 2 (erythromycin)
alveoli	increase of macrophages	+	+	+
	increase of neutrophils	+	+	±
	destruction	+	+	—
terminal bronchiole	hypertrophy of epithelial cells	+	+	±
	exfoliation of epithelial cells	+	+	±
	mucus in lumens	+	+	—
bronchus	hyperplasia of BALT	++	+	+
alveoli and small airways	accumulation of foamy cells	++	+	±
circumference of small airways and small vessels	disseminated accumulation of lymphocytes	++	++	±

死菌を1日2時間、毎日吸入させたラットの肺の病理組織を光顕で観察し、その変化を指標化した。実験1：連続吸入12日目。実験2：連続投与・吸入10日目。エリスロマイシン(100 mg/kg)は死菌吸入30分前に連日経口投与した。++：重度，+：中程度，±：軽度，—：変化なし

今回血管透過性亢進の指標として検討したアルブミンは、それ自体気道液の性状を変化させて粘液纖毛系の働きを阻害するといわれており¹¹⁾、肺洗浄液中に回収された粘液塊の形成や、細気管支の粘液による閉塞に係わっているものと思われた。また好中球エラスターゼについても、肺洗浄液上清中での活性が有意に上昇しており、エラスターゼ活性/エラスターゼ阻害活性インバランスが生じていることが示された(図1c)。本酵素はDPB患者肺の免疫組織学的検討により、主として粘膜下組織にその存在が見出されている⁷⁾。したがって、多数の剝離した気道上皮細胞が認められる本モデルにおいても、組織傷害・破壊に積極的な役割を果たしていることが推測される。なお、連続吸入初期の段階では好中球の浸潤に並行したエラスターゼ活性の上昇が認められなかったが、これは一過性のいちじるしい血管透過性亢進に伴う多量の $\alpha 1$ プロテイナーゼインヒビター($\alpha 1$ PI)の漏出が活性低下をもたらした結果と考えられた。

病理組織学的検討の結果では、泡沫細胞の集簇のほかに、BALTの過形成や小血管～細気管支周

囲のリンパ球を中心とする単核球集塊の形成が大きな特徴として認められた。BALTは気道内の免疫応答において主要な役割を果たしていると考えられており^{12,13)}、連続的な刺激に対する反応として、リンパ球が盛んに増殖していることを示していると思われる。一方、小血管～細気管支周囲の細胞集塊は、その形態から、炎症の主座が細気管領域にあって、これに向けて付近の脈管から炎症細胞が浸潤し、特にリンパ球がその場で刺激を受けて増殖した結果形成されたものと考えられた。これは死菌エアロゾルの粒径が平均0.6 μ m以下であるため、肺胞に到達した粒子の多くは呼気に伴って再び排出されてしまうが、気流の停滞しやすい細気管支領域では定着して気道上皮を刺激するものが多かったことを反映していると思われる。このような細胞集塊の多くは多数の泡沫細胞や好中球を伴い、付近の肺胞～末梢気道の圧迫・閉塞あるいは破壊を引き起こしており、これらの変化が肺機能の低下に反映されたものと理解される。

以上のような疑似下気道感染症モデルの結果は、特にその病理所見において、慢性閉塞性肺疾

図4 連続死菌吸入による肺湿重量増加のエリスロマイシンによる抑制

ラットに1日2時間連続10日間死菌を吸入させたのち、最終吸入の24時間後に肺を摘出して湿重量を測定した。エリスロマイシン(100 mg/kg)は死菌吸入30分前に毎日経口投与した。(mean±SE, n=5)

患、とりわけDPB⁸⁾ときわめて類似しているといえる。このことは、慢性下気道感染症の難治化にかかわる要因として、宿主の炎症反応による二次的な基礎疾患の増悪が大きな役割を担っていることを強く示唆している。

岩田ら¹⁴⁾は、緑膿菌を寒天ビーズに封入して気道内に投与するCashらの方法¹⁵⁾により、DPBにきわめて類似した病理組織像が得られることを報告しているが、この場合、緑膿菌の繁殖が寒天ビーズ内に限られ、菌を容易に排出できないことが、基礎疾患を有しない正常動物の呼吸器に部位特異的かつ持続的な炎症を惹起するうえで重要な点となっていると考えられる。

疑似下気道感染症モデルでは死菌体液溶液のエアロゾル吸入によっているため、病理組織学的検討では肺胞領域にも広く軽度の病変が認められた。これはDPBの特徴的な病理像の一つである“主病変から末梢の気腔には過膨張のほか特記すべき病変を欠く”とは必ずしも一致していない。しかしながら、本モデルは基本的には末梢気道およびその周囲を主座とする細菌繁殖を伴わない局所的持続性炎症モデルであることから、両者の炎症反応の基本的様態は同一であるということがで

図5 連続死菌吸入の肺機能に及ぼす影響とエリスロマイシンの効果

ラットに1日2時間、連続10日間死菌を吸入させたのち、気管を肺機能測定装置に接続して呼吸抵抗及び動肺コンプライアンスを測定した(材料と方法を参照)。エリスロマイシン(100 mg/kg)は死菌吸入30分前に毎日経口投与した。■: vehicle 投与+死菌吸入, □: エリスロマイシン投与+死菌吸入, ▨: vehicle 投与のみ。(mean±SE, n=5)

きる。したがって、慢性下気道感染症の特徴的病態をもたらす要因として、特定領域に局在した感染菌に対する宿主の持続的過剰炎症反応がもっとも重要であると考えられる。

1984年工藤ら¹⁶⁾によって初めて報告されたエリスロマイシンのDPBに対する効果は、その後多くのグループによって確認され、それまで劣悪だったDPBの予後をいちじるしく改善するに至った。しかしエリスロマイシンが緑膿菌をはじめとする感染菌に抗菌作用を示さないことから、その作用機序に関心が持たれ、好中球・リンパ球などの炎症細胞に対する作用を中心に検討がなされてきた。

好中球に及ぼす作用については、今回、エリスロマイシンが病態動物モデルにおいてその浸潤を抑制し、気道内のエラスターゼ活性を低下させることを示した(表1)。同様の結果は患者末梢血あるいはBALFを用いた検討でも得られている^{17,18)}。特にエラスターゼは、慢性下気道感染症患者の喀痰中に多量に検出され、繊毛上皮細胞の破壊や気道分泌の亢進作用を有することが報告されている^{19,20)}。

さらにごく最近田中らは、顆粒球の一次顆粒を欠損したページマウスにCashらの方法を用い

て肺炎症を惹起したところ、その組織損傷が同系正常マウスにくらべ軽微であり、菌も投与7日目には消失してしまうことを報告している²¹⁾。この結果は、感染によって誘起される炎症反応および感染の持続が、好中球の一次顆粒成分によって修飾されることを直接的に証明したものである。おそらく感染ベージュマウスでは、エラスターゼ(カテプシンG)による粘液纖毛輸送系の傷害、分泌亢進、さらに細胞傷害・間質破壊が軽度であり、さらなる感染の進行と過剰炎症が抑制されたものと思われる。

これは、筆者らが得た今回の結果を支持するものであり、好中球浸潤抑制に基づく抗炎症作用がエリスロマイシンの病態改善作用の重要な機作の一つであることを示唆している。

病理組織の検討では、エリスロマイシンの明らかな効果として、泡沫細胞の減少と末梢気道～小血管周囲におけるリンパ球中心の細胞集塊形成の抑制が認められた(図3)。泡沫細胞の成因の詳細はいまだ不明であるが、末梢気道の閉塞に対応して出現することから、エリスロマイシンの抗炎症作用により気道内老廃物が減少した結果、それを貪食して泡沫化するマクロファージの数も減った可能性が考えられる。一方、今回データは示さなかったが、エリスロマイシンは抗原提示細胞(APC)依存性のT細胞増殖を抑制するが、その作用はAPC機能抑制を介するものであり、T細胞側にはなんら影響を及ぼさなかった(投稿準備中)。したがってエリスロマイシンは、APC機能を有するマクロファージなど、ミエロイド系細胞の機能を抑制すると考えられることから、マクロファージの機能亢進(貪食・活性化)が直接抑制された結果、泡沫細胞が減少した可能性もある。

播種状の細胞集塊については、その組織像から、炎症局所である末梢気道に、並行する脈管からリンパ球が浸潤・増殖して形成されたものと考えられた。これが減少したことは、上述のエリスロマイシンによるAPCなどミエロイド系細胞の機能抑制が、リンパ球の浸潤およびそれにつづく増殖の抑制をもたらした結果であると考えられる。

しかしながら今回の検討では、BALTリンパ球の増殖に対するエリスロマイシンの明確な影響を認めることはできなかった。これは、少なくとも

ラットにおいては、すでに存在するリンパ組織の活性化にはエリスロマイシンの効果が及びにくく、細気管支～末梢気道周辺における状況と異なることを示している。今後、BALT細胞と細気管支～小血管周囲の細胞、および今回抑制傾向しか認められなかった肺洗浄液中のリンパ球・単球/マクロファージとの異同について、さらに詳細な検討をしていく必要があると思われる。

エリスロマイシンのもう一つの作用機作として、気道粘膜上皮からの糖蛋白分泌や、同じく粘膜上皮からのCl⁻イオン分泌を抑制することも明らかにされている^{22,23)}。このようなエリスロマイシンの作用機作の多面性とその臨床効果を踏まえ、工藤は慢性下気道感染症における“基盤療法”という概念を提出した²⁴⁾。すなわち、過剰分泌の抑制(基礎疾患の改善)と炎症細胞の浸潤や増殖の抑制(炎症反応の鎮静化)の両面の作用—今のところどちらが優位であるかは不明だが—により、正常な粘液纖毛クリアランスの働きが回復し(感染基盤の改善)、これに伴って感染菌も減少する(細菌叢の正常化)というものである。

今回気道分泌に関する検討は行っていないが、疑似下気道感染症モデルで認められた肺機能低下の抑制が、エリスロマイシンの抗炎症作用によることは明らかである。したがって、過剰分泌に対するエリスロマイシンの特異な作用を別にしても、正常な生体防御反応を逸脱した慢性下気道感染症の持続的過剰炎症を抑制することが、二次的な基礎疾患の増悪を防止することにつながり、本疾患一般の治療において効果的であると考えられる。

本研究を遂行するにあたり御助言、御指導をいただいた東京都立広尾病院呼吸器科の川上雅彦先生、中村清一先生、三上正志先生に深謝致します。特に、病理組織所見について貴重な御意見をいただいた川上先生に感謝致します。

文 献

- 1) Cole P.J.: A new look at the pathogenesis and management of persistent bronchial sepsis. A “vicious circle” hypothesis and its logical therapeutic consequences. Strategies for the Management of Chronic Bronchial Sepsis. (ed. Davies, R.J.), Medi-

- cine Publishing Foundation, Oxford, 1984, p1.
- 2) Stockley, R. A. : Bronchiectasis—New therapeutic approaches based on pathogenesis. Clin. Chest Med. 8 : 481-494, 1987.
 - 3) 谷本晋一 : 呼吸器感染症の治療—病態からのアプローチ. 南江堂, 1987, p 31-41.
 - 4) Pauwels, R. A., Kips, J. C., Peleman, R. A., Straeten, M. E. : The effect of endotoxin inhalation on airway responsiveness and cellular influx in rats. Am. Rev. Respir. Dis. 141 : 540-545, 1990.
 - 5) 三上正志 : 慢性気道疾患の喀痰における好中球エラスターゼの意義とエリスロマイシンの使用機序に関する研究. 日胸疾会誌 29 : 72-83, 1991.
 - 6) 山田穂積, 黒木茂高, 加藤 収, 山口常子, 日浦研哉, 鐘ヶ江秀明 : 慢性気道感染症患者の BALF に見られるエラスターゼ活性とその臨床的意義. 日胸疾会誌 26 : 260-266, 1988.
 - 7) 二宮英昭, 市川洋一郎, 木下正治, 大泉耕太郎 : びまん性汎細気管支炎における好中球エラスターゼの局在. 呼吸 11 : 1196-1199, 1992.
 - 8) 山中 晃, 横山 武 : びまん性汎細気管支炎の形態学的診断基準. 厚生省特定疾患間質性肺疾患調査研究班, 1982 年度報告書, 1982, p 42-48.
 - 9) 工藤翔二 : DPB のエリスロマイシン少量長期投与. 呼吸 10 : 932-938, 1991.
 - 10) 山本正彦 : 厚生省班全国調査成績から—ニューキノロンとの比較を含めて—. Therapeutic Research 11 : 954-957, 1990.
 - 11) Marriott, C., Brown, D. T. : The contribution of added proteins to mucus viscoelasticity. J. Pharm. Pharmac. 31 : 88, 1979.
 - 12) 中野 豊, 佐藤篤彦, 吉野 淳, 田村享治, 須田隆文, 八木 健, 志知 泉, 早川啓史, 千田金吾 : 抗原の経口感作後の気管支随伴リンパ組織の免疫応答. 日胸疾会誌 30(増) : 354, 1992.
 - 13) 北澤 浩, 佐藤篤彦, 千田金吾, 早川啓史, 岩田政敏, 中野 豊, 志知 泉, 八木 健, 須田隆文, 田村享治, 吉富 淳 : 緑膿菌によるラット慢性気道感染症モデルにおける免疫学的検討. 日胸疾会誌 30(増) : 431, 1992.
 - 14) 岩田正敏, 佐藤篤彦 : ラット慢性細気管支炎モデルにおける気管支随伴リンパ組織(BALT)の組織学的検討. 感染症学雑誌 64 : 557-563, 1990.
 - 15) Cash, H. A., Woods, D. E., McCullough, B., Johanson, W. G., Bass, J. A. : A rat model of chronic respiratory infection with *Pseudomonas aeruginosa*. Am. Rev. Respir. Dis. 119 : 453-459, 1979.
 - 16) 工藤翔二, 木村 仁, 植村健司, 平山雅清, 久田哲哉, 寺谷啓子, 杉山幸比古, 宮沢 博 : びまん性汎細気管支炎に対するマクロライド系抗生剤の少量長期投与の臨床効果. 日胸疾会誌 22(増) : 254, 1984.
 - 17) 有岡 仁 : 健康者及び DPB 患者におけるエリスロマイシン服用前後の好中球遊走能の変化. Therapeutic Research 11 : 975-977, 1990.
 - 18) 織田裕繁, 門田淳一, 崎戸 修, 迎 寛, 森川伸雄, 寺崎裕美, 澤 英顕, 福島清康, 小森清和, 原 耕平 : 慢性下気道感染症の気管支肺胞洗浄液中における好中球遊走因子の検討. 日胸疾会誌 29(増) : 406, 1991.
 - 19) Amitani, R., Wilson, R., Rutman, A., Read, R., Ward, C., Burnett, D., Stockley, R. A., Cole, P. J. : Effects of human neutrophil elastase and *Pseudomonas aeruginosa* proteinase on human respiratory epithelium. Am. Rev. Respir. Cell Mol. Biol. 4 : 26-32, 1991.
 - 20) Fahy, J. V., Schuster, A., Ueki, I., Boushey, H. A., Nadel, J. A. : Mucus hypersecretion in bronchiectasis—The role of neutrophil proteases. Am. Rev. Respir. Dis. 145 : A561, 1992.
 - 21) 田中栄作, 佐藤敦夫, 弓場吉哲, 川合 満, 久世文幸 : 緑膿菌気道感染マウスモデルにおける beige mutation の影響. 第 12 回気道分泌研究会要旨集, 1992, p 11.
 - 22) Goswami, S. K., Kivity, S., Marom, Z. : Erythromycin inhibits respiratory glycoconjugate secretion from human airway *in vitro*. Am. Rev. Respir. Dis. 141 : 72-78, 1990.
 - 23) 玉置 淳, 坂井典孝, 磯野一雄, 小林健司, 兼村俊範, 竹内聡美, 千田谷厚, 滝沢敬夫 : 気道上皮イオントランスポートに対するエリスロマイシンの抑制効果. 呼吸 9 : 1036-1039, 1990.
 - 24) 工藤翔二 : びまん性汎細気管支炎におけるエリスロマイシン療法の効果発現機序. 臨床科学 28 : 213-218, 1992.