びまん性汎細気管支炎の気管支肺胞洗浄液中 エラスターゼ活性についての検討

久留米大学第1内科

二宮 英昭 市川洋一郎 古賀 英之
矢野 敬文 大泉耕太郎

(平成2年11月9日受付)

(平成2年11月29日受理)

Key words: diffuse panbronchiolitis, bronchoalveolar lavage fluid, neutrophil, elastase activity, erythromycin

要 旨

びまん性汎細気管支炎(以下DPB)16例, 慢性気管支炎(以下CB)12例, 対照のSmoker群9例, Nonsmoker群11例に気管支肺胞洗浄(以下BAL)を行い, BAL液中のエラスターゼ活性および α_1 アンチトリプシン(以下 α_1 AT)量について検討した。DPBでは16例中11例と高率にエラスターゼ活性を認めたのに対し, CBでは12例中2例に活性を認めたのみで, Smoker群, Nonsmoker群では活性は認めなかった。DPBでは α_1 AT量も増加していたが, α_1 ATの阻害能を越えるエラスターゼ負荷がかかっており, プロテアーゼ・アンチプロテアーゼインバランスが存在すると考えられた。エラスターゼ活性はBAL液中好中球比率と相関し, DFPで抑制されたがEDTAでは抑制されず, 大部分が好中球由来のセリンプロテアーゼと考えられた。また, エリスロマイシン(以下EM)少量長期投与後にエラスターゼ活性を測定し得たEM有効例5例では, 4例で活性の消失, 1例で著明な低下が見られた。エラスターゼは肺および気道組織に傷害を与えることが報告されており, 今回の検討からDPBの病変形成, 進行に好中球エラスターゼの作用が関与すること, およびEMのDPBに対する効果が好中球エラスターゼ負荷の軽減によるものであることが示唆された。

はじめに

びまん性汎細気管支炎(Diffuse Panbronchiolitis, 以下DPB)は, 本間, 山中, 谷本ら¹⁾によって提唱された疾患概念である。

Ichikawaら²⁾はDPBの気管支肺胞洗浄(Bronchoalveolar Lavage, 以下BAL)液中で好中球が増加しておりDPBの病態に好中球が関与している可能性があることを報告している。気管支拡張症などの慢性気道感染症において好中球エラスターゼが肺障害を引き起こしている可能性が報告されており^{3,4)}, DPBにおいても好中球から放出されるエラスターゼが, その病態に関与している

可能性が考えられる。

DPBに対する治療としては, 工藤ら⁵⁾の報告以来エリスロマイシン(以下EM)の少量長期投与が広く行われている。EMのDPBに対する作用機序はまだ明らかにされていないが, EMが好中球のchemotaxisを抑制すること⁶⁾などから, EMのDPBに対する効果も好中球機能への影響を介するものであることが推測されている。

そこで我々は, DPB患者のBAL液中のエラスターゼ活性について検討し, さらに一部の症例ではEM少量長期投与前後での比較も行ったので報告する。

対象と方法

1. 対象患者

別刷請求先: (〒830) 久留米市旭町67

久留米大学医学部第1内科 二宮 英昭

DPB 16例, CB 12例, Smoker 9例, Nonsmoker 11例を対象とした。

DPB 群は, 男性10例, 女性6例, 年齢16~75歳(平均52.4歳)で, 全例, 厚生省特定疾患間質性肺疾患調査研究班による診断基準⁷⁾を満たし, 6例には組織診断(開胸肺生検4例, 経気管支肺生検2例)を行った。DPB 群中5例については, EMの少量長期投与を行い, 2カ月以上経過した後に再び臨床評価ならびにBALを行った。

CB 群は, 男性10例, 女性2例, 年齢44歳~73歳(平均59.0歳)で, 全例, 数年間以上の慢性の喀痰の増加があり, 肺機能検査で非可逆性の閉塞性障害を示した。

対照の Smoker 群, Nonsmoker 群は, 肺に病変がみられないか, または限局された小病変のみの患者であり, その健常肺を洗浄した。Smoker 群は, 男性9例, 年齢22~75歳(平均59.1歳)で, Brinkman index 735~2,100(平均1066.9)の重喫煙者であった。Nonsmoker 群は, 男性8例, 女性3例, 年齢19~71歳, 平均52.4歳)であった。

2. BAL

BAL は, DPB 群, CB 群ともに発熱や喀痰の増加, 膿性化がみられる時期を避けて, CRP, 血沈の正常化など臨床的には気道感染症状がほぼ安定している時期に施行した。4%キシロカインによる咽頭麻酔後に気管支ファイバースコープを右中葉支または左舌区支に wedge し, 生理的食塩水50ml を注入し2回深呼吸させた後に吸引する操作を3回くり返した。BAL 液は回収量を測定後単層ガーゼで濾過し, 総細胞数を測定した。次に PBS 25ml で希釈後 cytospin で800rpm/min, 10min 遠心分離し, May-Giemsa 染色を行い細胞分画を測定した。リンパ球サブセットは, BAL 液を1,500rpm/min, 10min 遠心分離後 PBS に浮遊させ, さらに1,500rpm/min, 4min 遠沈後, 沈渣に PBS 50 μ l を加えて, 小試験管に50 μ l ずつ分注し, OKT シリーズ (Ortho 社) を用いて Spectrum III で測定した。

3. アルブミン (以下 Alb) 量の測定

シオノギ・バイオメディカル・ラボラトリーズに依頼し, 二抗体法に基づく Radioimmunoassay

にて測定した。

4. エラスターゼ活性の測定と抑制試験

BAL 液の elastolytic activity を, 合成基質である succinyl-tri-L-alanine-p-nitroanilide (以下 SAPNA, 半井) 分解法⁸⁾にて測定した。0.5mg/ml SAPNA 溶液 (0.2M Tris HCL Buffer, pH 8.0) 0.9ml に BAL 液0.1ml を加え, 37°C, 60分間の反応前後で410nm の吸光度を220型ダブルビーム分光光度計 (日立) にて測定し, 吸光度の変化を求めた。対照には, porcine pancrease clastase (以下 PPE, Sigma) を使用した。BAL 液の elastolytic activity を PPE 量に換算し, 同じ検体のアルブミン値にて補正した。

Elastolytic activity が検出された検体については, 5 mM の diisopropylfluorophosphate (以下 DFP, Sigma) または 10 mM の ethylenediaminetetraacetic acid (以下 EDTA, 和光) の存在下で同様にして elastolytic activity を測定し, DFP および EDTA による抑制効果を検討した。

5. α_1 アンチトリプシン (α_1 AT) 量の測定

α_1 AT 量は, BAL 液を約100倍に濃縮後, 一元放射状免疫拡散法の原理により, ヘキスト社の NOR パルチゲン α_1 AT プレート[®]を用いて測定した。測定結果は, 濃縮後の BAL 液のアルブミン値にて補正した。

成 績

1. BAL 所見

対象4群の BAL 所見を Table 1 に示した。

回収率 (平均 $\pm$ 標準偏差) は, DPB 群36.0 $\pm$ 17.9%, CB 群35.1 $\pm$ 17.6%, Smoker 群39.4 $\pm$ 6.6%, Nonsmoker 群49.7 $\pm$ 14.5%であり, 4群間に統計学的有意差は認めなかった。

総細胞数は, DPB 群13.5 $\pm$ 24.1($\times 10^5$ /ml), CB 群8.8 $\pm$ 22.6($\times 10^5$ /ml), Smoker 群3.5 $\pm$ 2.3($\times 10^5$ /ml), Nonsmoker 群1.3 $\pm$ 0.5 ($\times 10^5$ /ml) であった。DPB 群, CB 群で Smoker 群, Nonsmoker 群より総細胞数が増加し, DPB 群で CB 群より増加する傾向が見られた。DPB 群と Nonsmoker 群との間には有意差がみられた。

細胞分画では, 肺胞マクロファージ比率は DPB

Table 1 BALF Findings in Diffuse Panbronchiolitis, Chronic Bronchitis and Controls

Group	No. of Patients	BALF				
		T.C.C.	%AM	%Neut	%Ly	CD4 ⁺ /CD8 ⁺
DPB	16	13.5±24.1	46.9±27.1	43.8±28.9	9.0±5.1	1.07±0.75
CB	12	8.8±22.6	75.8±23.6	13.2±23.0	10.4±8.7	1.67±1.24
Control						
Smokers	9	3.5±2.3	92.6±3.9	1.6±1.3	5.4±3.3	1.58±1.18
Non smokers	11	1.3±0.5	87.2±4.3	1.1±1.0	11.7±4.5	1.83±1.33

T.C.C.: Total Cell Count ($\times 10^5/\text{ml}$), %AM: %Alveolar Macrophages (%),

%Neu: %Neutrophils (%), %Ly: %Lymphocytes (%)

*: $p < 0.01$, **: $p < 0.05$

群 $46.9 \pm 27.1\%$, CB 群 $75.8 \pm 22.6\%$, Smoker 群 92.6 ± 3.9 , Nonsmoker 群 $87.2 \pm 4.3\%$ であった。DPB 群で他の 3 群より有意に低値であり, CB 群でも Smoker 群, Nonsmoker 群より低値であった。好中球比率は, DPB 群 $43.8 \pm 28.9\%$, CB 群 $13.2 \pm 23.0\%$, Smoker 群 $1.6 \pm 1.3\%$, Nonsmoker 群 $1.1 \pm 1.0\%$ であった。DPB 群で他の 3 群より有意に高値であり, CB 群でも Smoker 群, Nonsmoker 群より高値であった。リンパ球比率は, 4 群間に有意差を認めなかった。

リンパ球サブセットでは, DPB 群で CD4⁺/CD8⁺が 1.07 ± 0.75 と, Nonsmoker 群 (1.83 ± 1.33) に比べて有意に低値であった。

2. BAL 液中エラスターゼ活性

BAL 液中の Elastolytic activity の測定結果を Fig. 1 に示した。

DPB 群で 16 例中 11 例 (68.8%) に活性を認めたのに対し, CB 群では 12 例中 2 例 (16.7%) にしか活性を認めず, Smoker 群, Nonsmoker 群では活性を認めなかった。DPB 群の Elastolytic activity は $3.4 \pm 5.2 \mu\text{g PPE}/\text{mg Alb}$ であり, CB 群 ($0.5 \pm 1.2 \mu\text{g PPE}/\text{mg Alb}$) より有意に高値であった。

BAL 液中の Elastolytic activity と好中球比率の相関を Fig. 2 に示した。両者間には正の相関が見られた ($r = 0.581$, $p < 0.05$)。

BAL 液中に Elastolytic activity を認めた

Fig. 1 Elastolytic Activity in BALF from Patients with Diffuse Panbronchiolitis, Patients with Chronic Bronchitis, and Controls
Horizontal bar represents mean value

DPB 11 例における DFP と EDTA の Elastolytic activity に対する抑制効果を Fig. 3 に示した。BAL 液中の Elastolytic activity は, 5mM の DFP 存在下で 91.0~100% (平均 97.0%) が抑制されたのに対し, 10mM の EDTA 存在下では—

Fig. 2 Correlation between Elastolytic Activity and %Neutrophils in BALF from Patients with Diffuse Panbronchiolitis

Fig. 3 Inhibition of Elastolytic Activity by DFP and EDTA in BALF from Patients with Diffuse Panbronchiolitis

6.5~17.1% (平均7.0%) しか抑制されなかった。11例中5例では緑膿菌感染がみられたが、緑膿菌感染例でも DFP による抑制率91.0~100% (平均

Fig. 4 Concentration of α_1 -Antitrypsin in BALF from Patients with Diffuse Panbronchiolitis, Patients with Chronic Bronchitis, and Controls Horizontal bar represents mean value

98.2%), EDTA による抑制率-6.3~17.1% (平均7.0%) であり、同様の結果であった。

3. BAL 液中の α_1 AT 量

BAL 液中の α_1 AT 量の測定結果を Fig. 4 に示した。 α_1 AT 量は、DPB 群 $154.8 \pm 96.6 \mu\text{g}/\text{mg}$ Alb, CB 群 $81.4 \pm 72.2 \mu\text{g}/\text{mg}$ Alb, Smoker 群 $32.6 \pm 52.6 \mu\text{g}/\text{mg}$ Alb, Nonsmoker 群 $17.9 \pm 34.8 \mu\text{g}/\text{mg}$ Alb であった。DPB 群で他の3群より有意に高値であり、CB 群でも Smoker 群, Nonsmoker 群より高値であった。

4. EM 少量長期投与前後での臨床所見, BAL 所見, BAL 液中エラスターゼ活性, α_1 AT 量の比較

EM 少量長期投与を行った DPB 5 例の EM 投与前後での臨床所見の変化を Fig. 5 に示した。谷本らの胸部 X 線分類⁹⁾ (I 型: 含気量増加の所見のみ, II 型: 一側肺野を越えない粒状影, III 型: 全肺野に粒状影, IV 型: 全肺野に粒状影+下肺野に tram line, V 型: 以上の所見以外に不規則な輪状影) に従って胸部 X 線所見を分類すると、5 例

Fig. 5 Change of Clinical Data of Patients with Diffuse Panbronchiolitis by Low-Dose Long-Term Erythromycin Chemotherapy
Horizontal bar represents mean value

中3例で改善がみられ、喀痰量は5例中4例、呼吸困難度は5例全例、 PaO_2 は5例中4例、 $\%VC$ は5例中2例、 $\text{FEV}_{1.0}\%$ 5例中3例で改善がみられた。EM投与前後の2群間の比較では、喀痰量、呼吸困難度のEM投与による有意な改善がみられた。喀痰の細菌培養検査では、EM投与前には5例中3例で緑膿菌が検出されており、EM投与後には1例ではnormal floraとなったが、他の2例では緑膿菌が続けて検出された。

BAL液中の細胞分画では、好中球比率がEM前 $56.8 \pm 25.1\%$ 、EM後 $14.6 \pm 11.1\%$ で、EM投与により有意に減少した ($p < 0.01$)。

BAL液中Elastolytic activityおよび α_1 AT量のEM投与前後での比較をFig. 6に示した。EM投与前には5例全例にElastolytic activityが認められたが、EM投与後には4例で活性の消失、1例で著明な低下がみられ、EM投与前後の2群間のElastolytic activityの比較でも有意な低下がみられた。 α_1 AT量はEM投与により5例全例で減少し、EM投与前後の2群間の α_1 AT量の比較でも有意な減少がみられた。

Fig. 6 Change of Elastolytic Activity (A) and α_1 -Antitrypsin (B) in BALF from Patients with Diffuse Panbronchiolitis by Low-Dose Long-Term Erythromycin Chemotherapy
Horizontal bar represents mean value

考 察

慢性気道感染症患者の膿性痰中にエラスターゼ活性が存在することは以前より知られていたが¹⁰⁾、プロテアーゼ・アンチプロテアーゼインバランスは従来主に慢性肺気腫との関連を検討されてきた¹¹⁾¹²⁾。しかし、Stockleyら³⁾⁴⁾が慢性気管支炎や気管支拡張症の増悪期の喀痰中にエラスターゼ活性がみられエラスターゼにより肺障害が引き起こされている可能性があることを報告して以来、慢性気道感染症におけるプロテアーゼ・アンチプロテアーゼインバランスが注目されてきている。最近、DPBにおいても喀痰中にエラスターゼ活性が認められることが報告されている¹³⁾¹⁴⁾。今回の我々のBAL液の検討でも、対照のSmoker群、Nonsmoker群ではエラスターゼ活性が認められなかったのに対し、DPBでは高率にエラスターゼ活性を認めた。DPBの病変の主座は呼吸細気管支にあるとされており¹⁾、DPBの病態とエラスターゼとの関連を論じる場合、細気管支など末梢気道におけるエラスターゼ負荷を検討することが必要と考えられる。DPBにおいてもBALは気管支のみならず細気管支、肺胞病変も反映すると考えられている²⁾。喀痰中のエラスターゼ活性はBAL液中のエラスターゼ活性に比べ中枢気道における炎

症の影響を受けやすいことが推測されるが、今回 BAL 液中にもエラスターゼ活性が認められたことから DPB において細気管支など末梢気道においてもエラスターゼ負荷が増大していることが示唆される。

エラスターゼは、エラスチン¹⁵⁾やコラーゲン III 型¹⁶⁾、IV 型¹⁷⁾などを分解し間質結合組織を破壊するが、気管支線毛上皮の障害や線毛運動の抑制など気管支上皮に対しても障害性に作用することが報告されている¹⁸⁾¹⁹⁾。また気管支喘息患者の肺組織などにおいてエラスターゼの沈着部位と気管支上皮の傷害された部位とが一致する症例があることが報告されている²⁰⁾。エラスターゼは DPB においても直接に気管支上皮に対して障害性に働いていることが考えられるが、エラスターゼには他に気道粘液線の肥大を来す作用²¹⁾や気道の防御機能を担っている免疫グロブリンや補体成分を分解する作用²²⁾²³⁾も報告されており、これらの作用により気道感染を起こしやすくなることも DPB の病変の形成、進行に間接的に関与していると考えられる。

気道で検出されるエラスターゼは、好中球由来²⁴⁾、肺泡マクロファージ由来²⁵⁾、緑膿菌²⁶⁾などの細菌由来の可能性があり、好中球由来エラスターゼはセリンプロテアーゼ、肺泡マクロファージおよび緑膿菌由来はメタロプロテアーゼとされている²⁵⁾²⁶⁾。DPB の BAL 液中の好中球比率とエラスターゼ活性が相関したことから、およびエラスターゼ活性がセリンプロテアーゼのインヒビターである DFP²⁷⁾で抑制され、メタロプロテアーゼのインヒビターである EDTA²⁷⁾でほとんど抑制されなかったことから、DPB の BAL 液中のエラスターゼは大部分好中球由来と考えられた。Melby ら²⁸⁾は、緑膿菌を感染させたハムスターの BAL 液中で緑膿菌由来のエラスターゼよりもむしろ好中球由来のエラスターゼが増加していたことを報告している。DPB の緑膿菌感染例においても同様に BAL 液中エラスターゼの大部分が好中球由来であった。病理組織学的には DPB では呼吸細気管支を中心としてリンパ球や泡沫細胞の浸潤がみられると報告されているが¹⁾、Ichikawa ら²⁾は、化学

療法後の安定期の DPB の BAL 液中で好中球が増加しており、細気管支領域ではこれらの細胞のみならず好中球もその病変形成に重要な役割を演じている可能性があることを報告している。今回の結果からも、DPB の病態に好中球が深く関与していることが示唆され、しかもそれは肺局所で増加した好中球から放出されたエラスターゼの作用を介するものと考えられる。

DPB と CB との比較では、DPB で 16 例中 11 例と高率に BAL 液中にエラスターゼ活性を認めたのに対し、CB では活性を認めた症例は少なく、12 例中 2 例のみであった。CB で BAL 液中にエラスターゼ活性を認める症例が少ないことについては、Fujita ら²⁹⁾も同様の報告をしている。一方、CB の喀痰中のエラスターゼ活性が増悪時には寛解時に比べて有意に上昇するという報告がみられる¹⁴⁾。今回我々は気道感染症状がほぼ安定している時期を選んで BAL を行っており、CB においても増悪時にはさらに高頻度にエラスターゼ活性が検出される可能性がある。しかし、DPB の病変は慢性に進行していくものであり、エラスターゼの DPB の病態への関与を考える場合、増悪時のみでなく病期を通じた total のエラスターゼ負荷量が問題になると考えられる。安定期においても DPB では高率にエラスターゼ活性を認めたことから、DPB では CB に比べて total としてより強いエラスターゼ負荷がかかっていると考えられ、このことが DPB と CB の病態や予後の違いの一因となっている可能性もある。

エラスターゼインヒビターとしては α_1 AT、 α_2 マクログロブリンなどがあるが、 α_1 AT が BAL 液中のエラスターゼインヒビターの中で大部分を占めると考えられているので³⁰⁾、今回は α_1 AT の測定を行った。DPB の BAL 液の α_1 AT 量は、CB、Smoker 群、Non-smoker 群より有意に高値であった。細菌性肺炎患者の BAL 液中で全 α_1 AT 量が高値であるにもかかわらず活性化 α_1 AT 量は低下していること³¹⁾、および CB の BAL 液中の α_1 AT 量とエラスターゼ阻止能は相関せず α_1 AT の不活化が起こっている可能性があること²⁹⁾が報告されている。DPB においても、BAL

液中の α_1 AT は総量としては増加しているが不活化されていることが考えられる。

工藤ら⁵⁾により DPB 治療に EM が有効であることが報告されて以来、DPB に対する EM 少量長期投与が広く行われている。EM の DPB に対する作用機序はまだ明らかにされていないが、EM が好中球の chemotaxis を抑制するという報告⁶⁾や、DPB に対する EM 投与後に喀痰中のエラスターゼ活性が低下したという報告¹³⁾などがみられる。今回の検討では、EM が有効であって DPB 5 例の BAL 液において、EM 投与後に好中球比率およびエラスターゼ活性の低下が見られた。また、緑膿菌感染例では、EM 投与後にも緑膿菌感染は持続したにもかかわらずエラスターゼ活性の消失がみられた。この結果からも EM の DPB に対する効果は単に抗菌力によるものではなく、なんらかの機序で好中球エラスターゼの負荷を低下させることが関係しているのではないかと考えられる。また、EM 投与後には BAL 液中の α_1 AT 量も低下した。慢性気道感染症患者の経過中に喀痰中のエラスターゼ活性と α_1 AT 量がほとんど平行して増減したことが報告されており¹⁴⁾、EM 投与後の α_1 AT 量の低下はエラスターゼ活性低下に伴う二次的な変化である可能性が高いと考えられる。

以上のように、DPB においてプロテアーゼ・アンチプロテアーゼインバランスが存在し、好中球エラスターゼが DPB の病変の形成、進行に関与していること、および EM の DPB に対する効果が好中球エラスターゼ負荷の軽減によるものであることが示唆された。

文 献

- 1) Homma, H., Yamanaka, A., Tanimoto, S., Tamura, M., Chijimatsu, Y. & Izumi, T.: Diffuse panbronchiolitis. A disease of the transitional zone of the lung. *Chest*, 83: 63-69, 1983.
- 2) Ichikawa, Y., Koga, H., Tanaka, M., Nakamura, M., Tokunaga, N. & Kaji, M.: Neutrophilia in bronchoalveolar lavage fluid of diffuse panbronchiolitis. *Chest*, in press.
- 3) Stockley, R.A. & Burnett, D.: Alpha₁-antitrypsin and leukocyte elastase in infected noninfected sputum. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 120: 1081-1086, 1979.
- 4) Stockley, R.A.: Bronchiectasis. New therapeutic approaches based on pathogenesis. *Clin. Chest Med.*, 8: 481-494, 1987.
- 5) 工藤翔二, 植村健司, 萩原弘一, 平山雅清, 許 栄宏, 木村 仁, 杉山幸比古: びまん性汎細気管支炎にたい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. *日胸疾会誌*, 25: 632-642, 1987.
- 6) Nelson, S., Summer, W.R., Terry, P.B., Warr, G.A. & Jakab, G.J.: Erythromycin-induced suppression of pulmonary antibacterial defences. A potential mechanism of super infection in the lung. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 136: 1207-1212, 1987.
- 7) 厚生省特定疾患間質性肺疾患調査研究班: びまん性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年度研究報告書, p. 13, 1980.
- 8) Bieth, J., Spiess, B. & Wermuth, C.G.: The synthesis and analytical use of highly sensitive and convenient substrate of elastase. *Biochem. Med.*, 11: 350-357, 1974.
- 9) 谷本晋一, 中田紘一郎: びまん性汎(呼吸)細気管支炎の現況. *医学の歩み*, 121: 257-263, 1982.
- 10) Ohlsson, K. & Tegner, H.: Granulocyte Collagenase, elastase and plasma protease inhibitors in purulent sputum. *Europ. J. Clin. Invest.*, 5: 221-227, 1975.
- 11) Janoff, A., Sloan, B., Weinbaum, G., Damiano, V., Sandhaus, R.A., Elias, J. & Kimbel, P.: Experimental emphysema induced with purified human neutrophil elastase. Tissue localization of the instilled protease. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 115: 461-478, 1977.
- 12) Janoff, A.: Elastases and emphysema. Current assesment of the proteaseantiprotease hypothesis. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 132: 417-433, 1985.
- 13) 三上正志: 慢性気道疾患の喀痰中 Elastase (エリスロマイシンの臨床効果). *化学療法の領域*, 5: 19-24, 1989.
- 14) 工藤由美子: 慢性気道疾患患者の膿性痰中の elastolytic activity と inhibitor. *化学療法の領域*, 5: 26-34, 1989.
- 15) Janoff, A., Sandhaus, R.A., Hospelhorn, V.D. & Rosenberg, R.: Digestion of lung proteins by human leukocyte granules *in vitro*. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 140: 516-519, 1972.
- 16) Gadek, J.E., Fells, G.A., Wright, D.G. & Crystal, R.G.: Human neutrophil elastase functions as

- a type III collagen "collagenase". *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 95: 1815—1822, 1980.
- 17) Mainardi, C.L., Dixit, S.N. & Kang, A.H.: Degradation of type IV (basement membrane) collagen by a proteinase isolated from human polymorphonuclear leukocyte granules. *J. Biol. Chem.*, 225: 5435—5441, 1980.
 - 18) Tegner, H., Ohlsson, K., Toremalm, N.G. & Mecklenburg, C.: Effect of human leukocyte enzymes on tracheal mucosa and its mucociliary activity. *Rhinology*, 17: 199—206, 1979.
 - 19) 網谷良一, 久世文幸: ヒト気道線毛上皮に対するヒト好中球エラスターゼと細菌由来の蛋白分解酵素の影響. *化学療法の領域*, 5: 37—42, 1989.
 - 20) Fujisawa, T., Kephart, G.M., Gray, B.H. & Gleich, G.J.: The neutrophil and chronic allergic inflammation. Immunological localization of neutrophil elastase. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 141: 689—697, 1990.
 - 21) Snider, G.L., Lucey, E.C., Cristensen, T.G., Stone, P.J., Calore, J.D., Catanese, A. & Franzblan, C.: Emphysema and bronchial secretory cell metaplasia induced in hamsters by human neutrophil products. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 129: 115—160, 1984.
 - 22) Folds, J.D., Prince, H. & Spritznagel, J.K.: Limited cleavage of human immunoglobulins by elastase of human neutrophil: Possible modulation of immune complex disease. *Lab. Invest.*, 39: 313—321, 1978.
 - 23) Taylor, J.D., Crawford, I.P. & Hugli, T.E.: Limited degradation of the third components (C_3) of human complement by human leukocyte elastase (HLE). Partial characterization of C_3 fragments. *Biochem.*, 16: 3390—3396, 1977.
 - 24) Janoff, A. & Scherer, J.: Mediators of inflammation in leukocyte lysosomes. IX. Elastolytic activity in granules of human polymorphonuclear leukocytes. *J. Exp. Med.*, 128: 1137—1155, 1968.
 - 25) Werb, Z. & Gordon, S.: Elastase secretion by stimulated macrophages. Characterization and regulation. *J. Exp. Med.*, 142: 361—377, 1975.
 - 26) Morihara, K., Tsuzumi, H., Oka, T., Inoue, H. & Ebata, M.: Pseudomonas aeruginosa elastase. Isolation, crystallization and preliminary characterization. *J. Biol. Chem.*, 240: 3295—3304, 1965.
 - 27) Lee, T.C., Fein, A.M., Lippmann, M., Holtzman, H., Kimbel, P. & Weinbaum, G.: Elastolytic activity in pulmonary lavage fluid from patients with adult respiratory distress syndrome. *N. Engl. J. Med.*, 304: 192—196, 1981.
 - 28) Melby, K., Toews, G.B. & Pierce, A.K.: Pulmonary elastase activity in response to streptococcus pneumoniae and pseudomonas aeruginosa. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 131: 559—563, 1985.
 - 29) Fujita, J., Nelson, N.L., Daughton, D.M., Dobly, C.A., Spurzem, J.R., Irino, S. & Rennard, S.I.: Evaluation of elastase and antielastase balance in patients with chronic bronchitis and pulmonary emphysema. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 142: 57—62, 1990.
 - 30) Morrison, H.M., Kramps, J.A., Burnett, D. & Stockley, R.A.: Lavage fluid from patients with alpha-1-proteinase inhibitor deficiency or chronic obstructive bronchitis. Elastase function and cell profile. *Clin. Sci.*, 72: 373—381, 1987.
 - 31) 藤田次郎, 豊後雅巳, 秦ゆうき, 中村洋之, 塩谷泰一, 入野昭三: 細菌性肺炎患者の肺法洗浄液におけるエラスターゼと α_1 アンチトリプシンの均衡状態. *日胸疾会誌*, 27: 712—717, 1989.

Elastase Activity in Bronchoalveolar Lavage Fluid from Patients with
Diffuse Panbronchiolitis

Hideaki NINOMIYA, Yoichiro ICHIKAWA, Hideyuki KOGA,
Takafumi YANO & Kotaro OIZUMI

First Department of Internal Medicine, Kurume University, Kurume, Japan

The clinical and pathological features of diffuse panbronchiolitis (DPB) have been well reported to date though its pathogenesis remains unknown.

This study was designed to evaluate the protease antiprotease imbalance in patients with DPB. For this purpose, we performed bronchoalveolar lavage (BAL) in sixteen patients with DPB, twelve patients with chronic bronchitis (CB) and control subjects (nine smokers and eleven non-smokers), and determined elastase activity and α_1 antitrypsin (α_1 AT) concentration in bronchoalveolar lavage fluid (BALF). Elastase activity was measured using a synthetic substrate, succinyl-tri-L-alanine-p-nitroanilide.

BALF from eleven of sixteen patients with DPB showed elastase activity. However, only two of twelve patients with CB showed elastase activity, and control subjects did not show any elastase activity in BALF. Although α_1 AT concentration is elevated in BALF from patients with DPB, it is assumed that elastase burden exceeded the elastase inhibitory capacity of α_1 AT in BALF.

The percentage of neutrophils in BALF correlated significantly with elastase activity which was inhibited by DFP, but not by EDTA. These data revealed that the elastase in BALF was a serine protease of neutrophil origin.

In five DPB-patients treated with low-dose long-term erythromycin chemotherapy, elastase activity in BALF decreased significantly.

The above mentioned findings suggest that the neutrophil elastase plays an important role in the pathogenesis of DPB, and the mode of action of erythromycin on DPB is to decrease the elastase burden.