

慢性気管支炎およびびまん性汎細気管支炎における
気管支腺房内 Lysozyme の局在および意義に
関する研究—免疫組織化学による知見—

五 味 英 一

信州大学医学部第1内科学教室
(主任: 草間 昌三教授)

Studies on Localization of Lysozyme in the Bronchial Acini in Chronic Bronchitis
and Diffuse Panbronchiolitis —Immunohistochemical Findings—

Eiichi GOMI

Department of Internal Medicine, Shinshu University School of Medicine
(Director: Prof. Shozo KUSAMA)

The localization of lysozyme (LZM) in human bronchial glands has been studied by peroxidase-(po)-labeled antibody method (Nakane et al.) using DAKO rabbit antihuman LZM (IgG) (RGG) and soluble horseradish-po labeled swine anti RGG (IgG). Samples of human bronchus were obtained from biopsy cases of chronic bronchitis (CB) in 20 patients, autopsy cases of non broncho-pulmonary disease in 15 cases, CB in 10 cases and diffuse panbronchiolitis (DPB) in 3 cases. The LZM positive area ratio in serous acini and the degree of staining were investigated. To estimate quantitative changes of serous acini, acinar ratio (AR), mucous acinar diameter (MD) and serous acinar diameter (SD) were measured in each case. Decrease in LZM positive area ratio in serous acini, an increase both in size and number of mucous acini and a relative disappearance of serous cells were found in autopsy cases of CB and DPB compared with non broncho-pulmonary disease. In biopsy cases of CB, a correlation was found between the duration of cough and sputum production, and the decrease both in LZM positive area ratio and the degree of staining in serous acini. These findings in this immuno-histochemical study indicate that in patients with slowly progressing bronchitis, there is decreased production of LZM in human bronchial glands. *Shinshu Med. J.*, 35: 411—422, 1987
(Received for publication January 13, 1987)

Key words: lysozyme, bronchial acinus, chronic bronchitis, diffuse panbronchiolitis

リゾチーム, 気管支腺房, 慢性気管支炎, びまん性汎細気管支炎

I 緒 言

1922年 Fleming¹⁾は、鼻汁、涙液、血清中に存在し、ある種の細菌に対して、溶菌現象をおこす物質を見出し、これを lysozyme (以下 LZM) と命名し

た。その後、LZM の溶菌作用は、ムコ多糖類より構成される菌体膜に働き、その β -(1→4)-glycoside 結合を加水分解することによる²⁾とされ、LZM に最も感受性の高い細菌として *Micrococcus lysodeikticus* が同定された。

LZM は自然界に広く分布しており、ヒトでは鼻汁、副鼻腔粘膜、唾液、血清、白血球その他の組織分泌物³⁾などに存在することが知られている。喀痰中にも LZM が比較的高濃度に含まれており⁴⁾、これは気道系における生物学的 barrier の1つとして作用し、また組織内の LZM は、侵入病原体に対する非特異的防御因子として重要視されている。

従来、気道一肺胞系の LZM は、肺胞マクロファージ (alveolar macrophage, 以下 AM)⁵⁾⁶⁾、好中球³⁾、気管支漿液腺⁷⁾などに由来すると考えられてきた。近年、気管支鏡を用いた気管支洗浄液 (bronchial lavage fluid, 以下 BLF) の採取およびその生化学的分析が可能になり、慢性気道炎症性疾患における気道分泌液中の LZM 濃度の測定およびその意義について検討されるようになった⁷⁾⁸⁾。しかし、こうした分析では、気管支腺由来 LZM を選択的に測定し、その意義を評価することは困難であると考えられる。また、病理組織学的に、気管支腺の腺房細胞に LZM の局在が認められている⁹⁾、慢性気道炎症性疾患について、その気管支腺組織における LZM の局在およびその変化を形態学的に解析した報告はみられていない。

今回、著者は気管支腺房の LZM の局在とその臨床的意義を知る目的で、主に慢性気管支炎 (chronic bronchitis, 以下 CB) およびびまん性汎細気管支炎 (diffuse panbronchiolitis, 以下 DPB) 症例について、Nakane¹⁰⁾の酵素抗体法 (間接法) を用い、免疫組織化学的に検討した。

すなわち、CB 生検例については、咳嗽、喀痰などの有症期間との関連から、気管支腺房の量的 (容積) 変

化について検索するとともに、各気管支腺房における LZM の染色陽性度および染色濃度の変化について検索し、さらに CB および DPB ならびに非気管支・肺疾患のそれぞれの剖検例についても同様の検索を行い、それらを比較検討し、その臨床的意義について考察した。

II 対象および方法

対象症例は、気管支壁を気管支鏡下に採取した CB 生検例 (biopsy cases of chronic bronchitis, 以下 CB-B) 20 例ならびに剖検にて得た CB 例 (autopsy cases of chronic bronchitis 以下 CB-A) 10 例 (経過中の他臓器腫瘍および脳血管疾患併発死を含む)、DPB 例 (autopsy cases of diffuse panbronchiolitis, 以下 DPB-A) 3 例および非気管支・肺疾患例 (autopsy cases of non-brochopulmonary disease 以下 NBP-A) 15 例である (表 1)

慢性気管支炎の診断は、Fletcher の診断基準¹¹⁾に従い、DPB の診断は、厚生省特定疾患間質性肺疾患研究班の診断基準¹²⁾によった。CB-B の有症期間は 2~16 年、CB-A の有症期間は 6~32 年、DPB-A のそれは 4~12 年で、それぞれ上記診断基準により臨床的に診断され、かつそれぞれの臨床診断に compatible な組織所見を示したものである。

方法：気管支生検は、4% Xylocaine で口腔、咽頭の噴霧麻酔を行った後気管支鏡を挿入し、気管支生検用鉗子で、全例同一に右主気管支内側壁より径約 3~4 mm の試験切片を採取した。10%ホルマリン液を用いて約 4 日間室温下で固定し、パラフィン包埋した後、3μのパラフィン切片を作製した。

表 1 対 象

疾 患	例 数	平均年齢 (歳)	年齢分布 (歳)
慢性気管支炎 生 検 例 (CB-B)	20	51.5	30 ~ 66
慢性気管支炎 剖 検 例 (CB-A)	10	59.2	33 ~ 72
びまん性汎細気管支炎 剖 検 例 (DPB-A)	3	52.7	39 ~ 66
非気管支・肺疾患 剖 検 例 (NBP-A)	15	57.7	30 ~ 72

気管支腺房の LZM の局在は、Nakane¹⁰⁾ が考案した、peroxidase を標識とした酵素抗体法（間接法）により、免疫組織化学的に判定した。すなわち、3 μ のパラフィン切片を用い、Isobe ら¹³⁾の方法により過ヨウ素酸を用いて内因性 peroxidase 活性を除去した後、非特異的染色を防ぐ目的で正常ブタ血清を切片上に滴下した。次いで、第1抗体（家兎抗 LZM 抗体、DAKO 社）を室温、moist chamber 内で切片上に滴下、攪拌、約1時間反応させた後、PBS 中で洗浄をくり返し、第2抗体（horseradish peroxidase、以下 HRP 標識抗家兎 IgG ブタ抗体、DAKO 社）を滴下、攪拌、

moist chamber 内で約15分間反応させ、PBS で洗浄し、DAB（3,3'-diaminobenzidine、和光純薬）により HRP の酵素組織化学染色を室温下で行い、ヘマトキシリンにて核染色を行った後、光顕下に染色標本を観察した。抗血清の至適濃度として、同一 lot の抗体

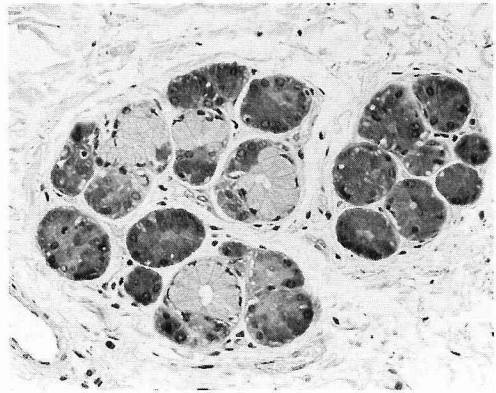


図1 肺癌（腺癌）外科的切除例、病巣非関連気管支（染色標本の陽性コントロール） $\times 100$ 。Nakane の酵素抗体法間接法、以下同染色。LZM は気管支漿液腺房において陽性に染色される。

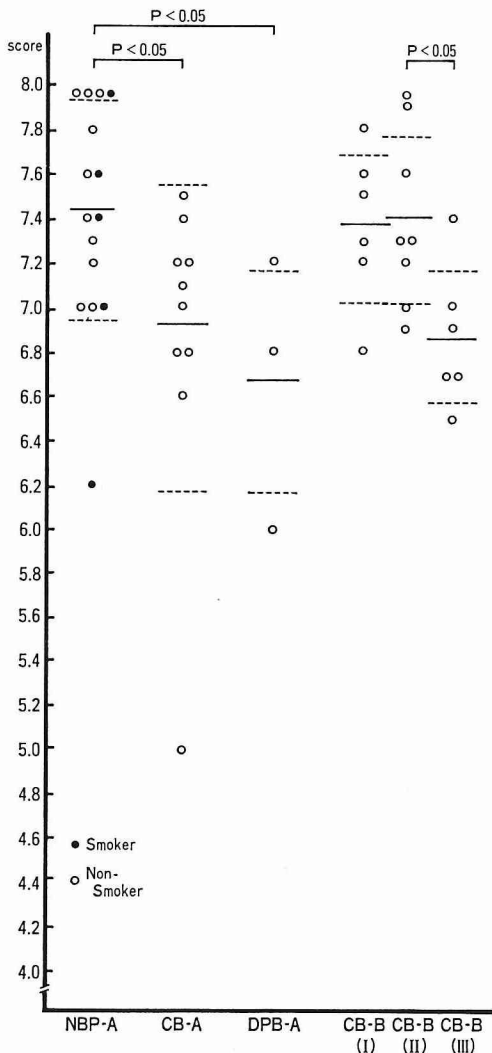


図2 漿液腺房内 LZM 陽性度 (score)

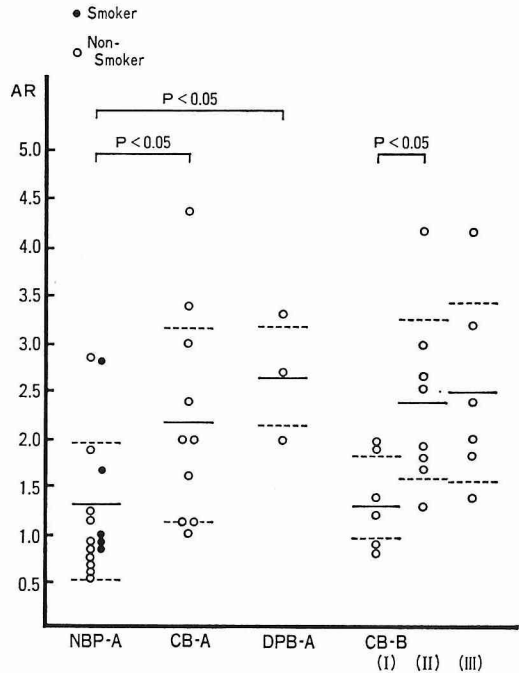


図3 Acinar ratio (AR)

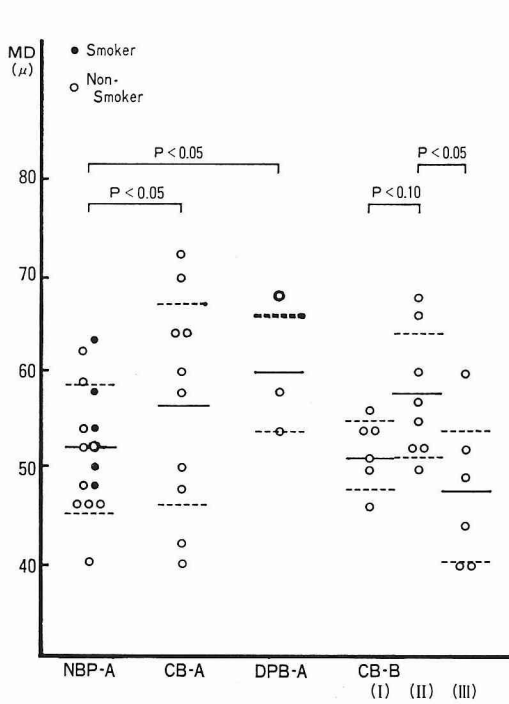


図4 Mucous acinar diameter (MD)

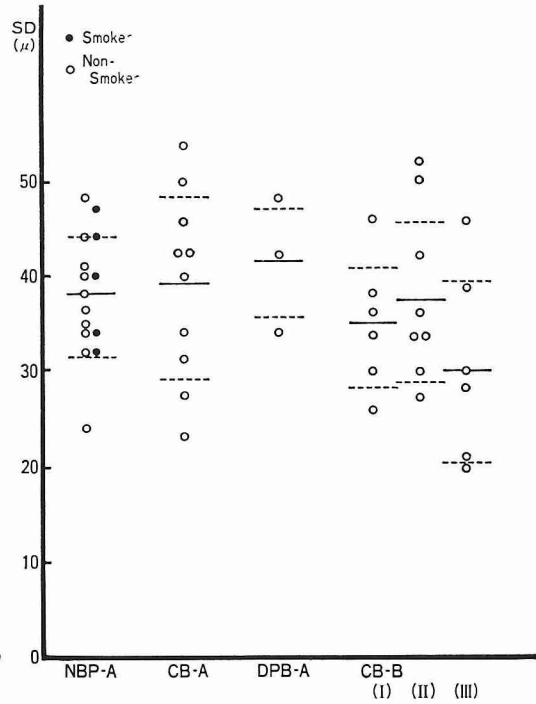


図5 Serosus acinar diameter (SD)

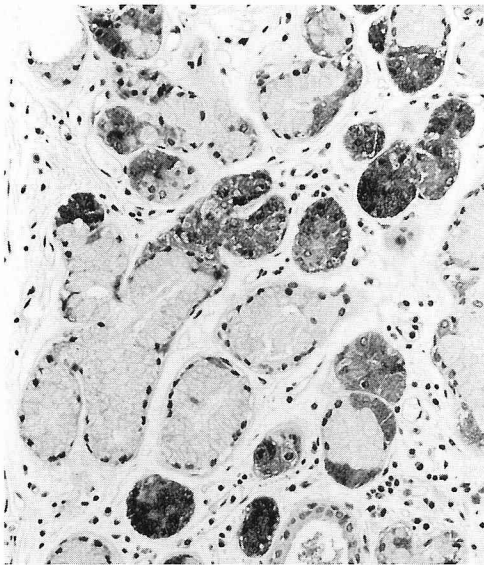
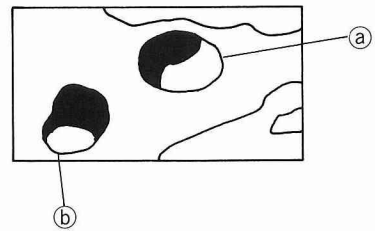


図6-A 非気管支・肺疾患剖検例，喫煙例 ×100。



図6-B 同上(図6-Aの強拡大像) ×200。



①の漿液腺房は LZM 陽性度 score 4。不染部分は漿液細胞の形態を示している。
②の漿液腺房は score 5。不染部分は粘液細胞。

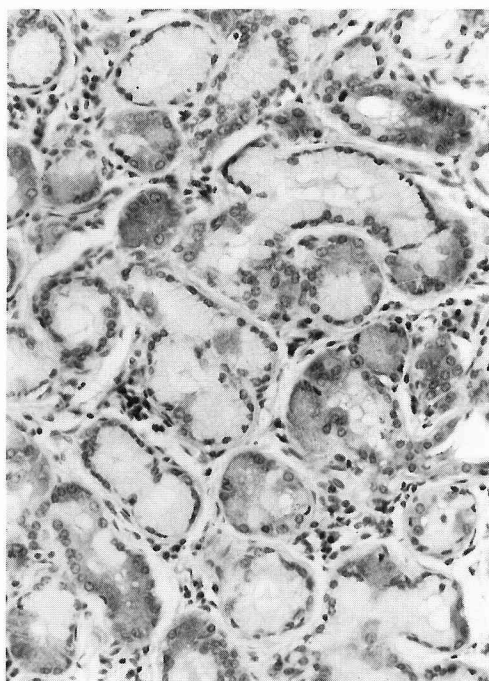


図7 慢性気管支炎剖検例 ×100。
粘液腺の増生, LZM 陽性度の低下および
染色度の減弱化を認める。

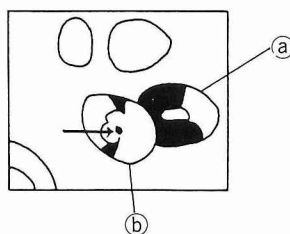
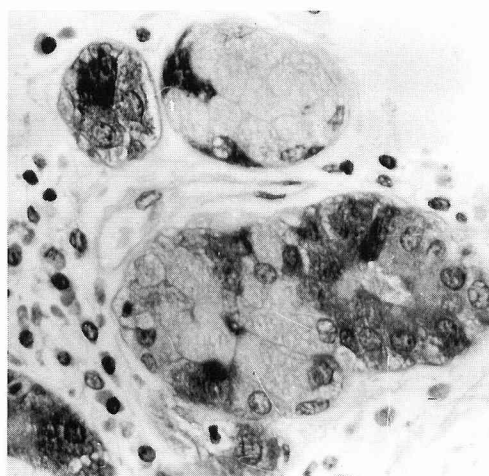


図8 慢性気管支炎剖検例 ×400。
①の漿液腺房は score 5。不染部分は
漿液細胞の形態を示す。
②の矢印部分に、漿液腺房内における
粘液細胞の出現を認める。score 2。

を、一次抗体は200倍、二次抗体は100倍希釈して用いた。この至適濃度は、予備試験として、種々の希釈濃度の抗血清を用いて、肺癌（非喫煙若年者、腺癌）の外科的切除例、病巣非関連気管支の気管支腺房の染色を試みた結果、決定した。また、染色の特異性を検定するために対照試験（コントロール）を併用した。先の肺癌手術材料を用い、陽性コントロールは通常の手続きを行い、陰性コントロールとしては一次抗体のかわりに正常家兎血清を使用し、染色反応の特異性の判定は、陽性コントロールで同一の染色性が示され、陰性コントロールでまったく染まらない場合に限った。

次に、気管支腺の形態変化との関連を検討するために、各生検材料の連続切片を用い、Hematoxylin-Eosin 染色（以下 HE 染色）および過ヨウ素酸シッフ染色（以下 PAS 染色）所見も対比した。

また剖検例では、死後1～3時間以内の剖検時に主（一部葉）気管支を切り出し、固定から観察まで上記生検例と同様の手順で行った。

LZM 陽性部分は DAB の発色により茶褐色に染色されるが、それをほぼ定量的に判定するために、各腺房を視覚的に8等分し、その各区画の染色性の有無に

よって、まったく染色されない場合は0、8区画すべてに染色性を示す場合を8としてスコア化し、数10個以上の腺房の平均をその症例の LZM 陽性度とした。なお陽性部分については、その染色濃度の程度（染色度）についても検討した。さらに、気管支腺房の容積変化を検索するために、粘液および漿液腺房の数および形態についても観察した。前者に関しては、任意の腺組織を選び、100倍の倍率で一視野ごとの全粘液腺房数と漿液腺房数を数え、両者の比（Acinar ratio, 以下 AR）を求めた。特に後者の腺房径の計測に関しては、腺房の切断の方向により、腺房の断面が正横断面から徐々に偏位していくため、その断面がほぼ円形に近いものはその径を、また長円形の場合にはその短径を用いて、数10個の腺房の平均値を算出して、おのおの粘液腺房径（Mucous acinar diameter, 以下 MD）、漿液腺房径（Serous acinar diameter, 以下 SD）とした。なお、統計的数値は mean ± SD で示し、有意差検定には Student's t test を用いた。

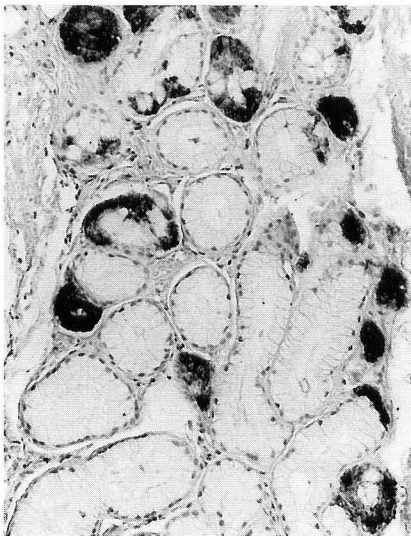


図9 びまん性汎細気管支炎剖検例 ×100。
中枢側気管支における粘液腺の増生，LYM陽性度の低下を認める。

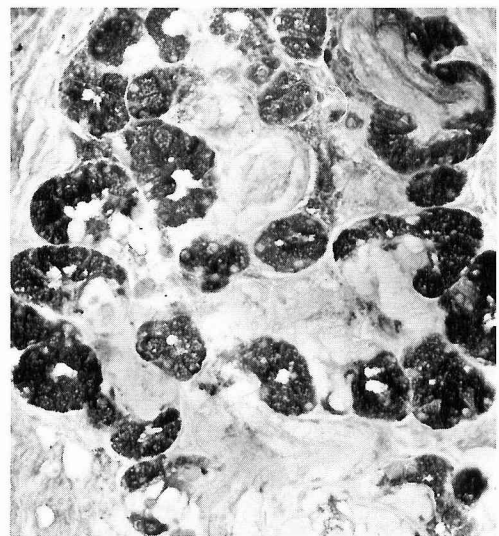


図10 慢性気管支炎生検例 ×100。
細壺のII型で，LYM陽性度は高値を保ち，染色度も増強している。

III 成 績

1) 染色標本のほぼ正常のコントロールと考えられる肺癌手術例の病巣非関連気管支において，LYMは気管支漿液腺房で陽性に染色され，粘液腺房にはLYMはまったく証明されなかった。気管支壁でのLYMの局在は漿液腺房に認められ，気道分泌物中のLYMもこれに由来することを示す所見と考えられる(図1)

なお，気管支壁の一部に，LYM陽性のAMの存在を認めたが，気管支腺房内のLYM陽性所見に比し，それらは間質に散在性に少数観察されるのみで，各例を比較検討するまでには至っていない。

2) NBP-Aについて：漿液腺房内のLYM陽性度の平均は 7.43 ± 0.492 である(図2)。これを男女別にみると，男性 7.30 ± 0.529 (8例)，女性 7.59 ± 0.394 (7例)で両者間に有意差はない。また，喫煙群5例では(Brinkman Index, 以下BI 120~320)， 7.24 ± 0.612 ，非喫煙群10例で 7.53 ± 0.385 と漿液腺房内の陽性度に差異はない。なお，喫煙群の1例に，LYM陽性度が $m-\sigma$ 以下で，染色の程度が非喫煙群に比し減弱しているものがあった。加齢による変化に関する検討では，30~40歳 7.53 ± 0.411 (3例)，41~60歳 7.50 ± 0.412 (6例)，61~72歳 7.32 ± 0.573 (6例)であり，

この3群間に有意差を認めなかった。NBP-AにおけるARは 1.23 ± 0.714 (図3)，MDは $52.0 \pm 6.77 \mu$ (図4)，SDは $37.9 \pm 6.13 \mu$ (図5)である。これらNBP-A中，ARおよびMDが $m+\sigma$ をこえる2例があるが，これは60歳以上の高齢者，内1例は喫煙者である(図6-A，B)。他的高齢者の1例では，逆にMD，SDとも $m-\sigma$ を下まわっており，気管支腺の萎縮を示す。男女間では，男性のAR 1.42 ± 0.862 ，MD $54.0 \pm 7.07 \mu$ ，SD $38.1 \pm 7.52 \mu$ ，女性のAR 1.01 ± 0.395 ，MD $49.7 \pm 5.60 \mu$ ，SD $37.7 \pm 3.95 \mu$ と有意差は認めない。喫煙との相関では，喫煙群のAR 1.42 ± 0.754 ，MD $54.8 \pm 6.27 \mu$ ，SD $39.2 \pm 5.46 \mu$ であり，非喫煙群ではAR 1.14 ± 0.673 ，MD $50.6 \pm 6.58 \mu$ ，SD $37.3 \pm 6.34 \mu$ と喫煙群で若干のAR，MDの増加傾向を認める。

3) CB-Aについて：漿液腺房内LYM陽性度は， 6.86 ± 0.674 でNBP-Aに比し有意に低下し($p < 0.05$)(図2)，染色度もNBP-Aに比しかなり減弱しているものがある(図7，8)。その内でも，LYM陽性度が5.0と最低値を示し，弱染色性を示す1例は，罹患歴32年のCB例である。CB-AにおけるARは 2.22 ± 1.041 ，MDは $56.8 \pm 10.70 \mu$ ，SDは $38.9 \pm 9.50 \mu$ で，ARおよびMDはNBP-Aのそれらに比

し有意に増加 ($p < 0.05$) しているが、変動の幅も大である。MD, SD が比較的高値を示しているも、腺構造が変形していたり (そのような症例では、計測の対象には入れてないが、気管支腺房の崩壊もみられる)、また MD, SD ともに $m-\sigma$ を下まわっており、気管支腺房の萎縮がみられている 2 例もある (図 3, 4, 5)。

4) DPB-A について：漿液腺房内 LZM 陽性度は、 6.67 ± 0.499 と NBP-A に比し有意に低値であり ($p < 0.05$) (図 2)、染色度も NBP-A に比し低下しているのが目立つ。気管支腺の計測では、AR 2.67 ± 0.53 , MD $60.0 \pm 5.89 \mu$ と NBP-A に比し有意に高値を示し ($p < 0.05$)、SD も $41.3 \pm 5.73 \mu$ を示しており、CB-A のごとく萎縮した気管支腺は認めない (図 3, 4, 5) (図 9)。

5) CB-B について：有症期間と LZM 陽性度との関連をみると、細菌¹⁴⁾¹⁵⁾の I 型、すなわち咳嗽、喀痰などの有症期間 3 年未満例では、LZM 陽性度 7.37 ± 0.320 , II 型、すなわち有症期間 3~7 年例でのそれは 7.40 ± 0.374 であって、両型の間に有意差は認めないが (図 2)、染色度は I 型に比し II 型でむしろ増強しているのが目立つ (図 10)。気管支腺房径の計測では、I 型での AR は 1.38 ± 0.422 , MD $52.0 \pm 3.27 \mu$ および SD $35.0 \pm 6.30 \mu$ であり、II 型でのそれらはそれぞれ、 2.40 ± 0.870 , $57.5 \pm 6.25 \mu$ および $38.3 \pm 8.33 \mu$ と、II 型の AR および MD は I 型に比しともに有意に増加 ($p < 0.05$, $p < 0.10$) を示す。また、II 型の内には SD が $50 \sim 52 \mu$ と増大しているものが一部に認められる (図 3, 4, 5)。III 型、すなわち有症期間 8 年以上例では、LZM 陽性度は 6.87 ± 0.296 で、II 型に比し有意に低下しており ($p < 0.05$) (図 2)、また染色度も II 型に比し全般的に減弱している。気管支腺房径の計測では、AR 2.51 ± 0.940 , MD $47.5 \pm 7.11 \mu$ および SD $30.4 \pm 9.24 \mu$ であり、II 型のそれらに比し MD は有意の低下 ($p < 0.05$)、SD も低下傾向を示し (図 3, 4, 5)、間質の増生によって萎縮した気管支腺が目立つ一方、腺細胞の肥大を認めているものでも、腺構造の変形、崩壊しているものが認められる。

IV 考 案

LZM は、ある種の細菌を溶菌する物質として Fleming¹⁾によって発見された酵素であるが、その生体内での生理作用について十分に解明されるまでには至っ

ていない。これまでに本酵素の作用として、(1)ある種の細菌 (*Micrococcus lysodeikticus* が、最も LZM に感受性の高い細菌として同定されている) の細胞壁の β -(1 \rightarrow 4)-glycoside 結合を水解することにより溶菌させる²⁾¹⁶⁾、(2)抗体 (IgM, IgA) や補体とともに働き溶菌作用を示す¹⁷⁾、(3)好中球の遊走能や酸化代謝 (hexose monophosphate shunt activity)、スーパーオキシドの発生を抑制し炎症反応を抑える⁴⁾などの諸説がある。いずれも本酵素が微生物感染に対する生体の防御機構に関与するとの考えである。

喀痰中に LZM が比較的高濃度に含まれており¹⁸⁾、また正常者や気道疾患患者から採取された BLF にも本酵素が含まれている⁷⁾¹⁹⁾。気道一肺胞系に存在する LZM が由来する細胞または組織に関しては従来から、①AM⁵⁾⁶⁾、②好中球³⁾、③気管支漿液腺⁷⁾などについて検討されてきた。①の AM 説は、Myrvik ら⁵⁾が AM の本酵素活性が比較的高いことを確認して以来、知られるようになった²⁰⁾。しかし、安岡ら²¹⁾は、正常者の気管支一肺胞洗浄液 (broncho-alveolar lavage fluid 以下 BALF) の細胞成分の 90% を AM が占めてはいるものの、この細胞分画には BALF 全体の LZM 活性の 10% が含まれているにすぎないとしている。また、BALF 中の LZM 活性と AM 数との間にはまったく相関がみられず、BALF 中に含まれる LZM の大部分は AM 以外の組織、細胞から放出されたものであることを示唆している。②の好中球は、単球と同様に LZM を豊富に含み³⁾、これを放出することが推定されている²²⁾。安岡ら²¹⁾は、CB 例の急性感染併発時においては、BALF 中の LZM 活性が著明に上昇し、本酵素活性と好中球数とが相関していることから、細菌感染時に好中球が局所に浸出してくる病態では、病巣の LZM は主に好中球に由来しているのではないかと述べている。③については、気管支漿液腺に LZM の存在を形態学的に認めたとする報告がある⁹⁾²³⁾²⁴⁾。今回、著者が用いた酵素抗体法 (間接法) でも、気管支漿液腺にのみ LZM が検出された。このことは、免疫電顕的にも確認されており、Bowes ら²⁵⁾²⁶⁾は、LZM が気管支漿液腺の serous granule に存在するとのべ、ヒト気管支腺の LZM が外分泌性のものであって、lysosomal なものではないと報告している。一方、坂本²⁷⁾の BLF および BALF における LZM 濃度の分析で、BALF 中には本酵素はきわめて少量しか含まれていないにもかかわらず、BLF 中では総蛋白量比、対アルブミン量比のいずれでも、BALF 中の 6~13 倍の

値を示したと指摘している。特に坂本²⁷⁾の研究結果は、肺胞系に比し気道系からの LZM の分泌が圧倒的に多いことを示しているものといえる。また、Konstan ら²⁸⁾は本酵素が気道上皮細胞からも放出されていることを *in vitro* の系で証明している。

本研究では、この気道系すなわち気管支漿液腺由来 LZM の分泌に関して、免疫組織化学染色手法を用い、対照群に比較して、慢性気道炎症性疾患群における、各漿液腺房内の LZM の局在およびその変化を検索し、さらにこれと漿液腺房自体の変化との関連についても検討した。

本研究にみられた、慢性気道炎症性疾患例における、漿液腺房内の LZM 陽性度が低下する機序を説明するために、以下の2つの場合が参考になる。その第1は、連続切片で PAS 染色と対比すると、漿液腺房内の LZM 染色陰性部分が PAS 染色で島しょ状に強陽性に染色されている場合である。これは Glynn と Michaels²⁹⁾ がのべている漿液腺房から粘液腺房への transformation の段階か、または今日では粘液腺細胞は腺頸部導管上皮細胞より分化新生しうるといわれているが³⁰⁾、前田³¹⁾がのべているように、粘液化生細胞が漿液腺房内へ不規則に侵入し、漿液腺細胞が圧排された状態であると推測される。また、その第2点は、PAS 染色陰性でかつ HE 染色でも形態学的に明らかに漿液腺細胞の性格を有しているにもかかわらず、LZM 不染部分をもつ漿液腺房がみられる場合である。こうした場合の機序として、剖検例では固定までの間の autolysis の可能性も考慮しなくてはならないが、同じ剖検例でも、NBP-A においては非喫煙群に比し喫煙群の一部で(この点に関しては、後にも述べるが)、また CB-A、DPB-A では NBP-A に比し有意に多くのこのような染色態度がみられる点、さらに CB-B でもⅢ型において他型に比しより多く、このような漿液腺房が観察される事実から勘案すると、漿液腺細胞内のエネルギー代謝障害による LZM 分泌低下が、その機序として推定されるものと考えられる。長期にわたり気道感染をくり返し疲弊した host の、漿液細胞でより多く観察される点は、こうした機序の可能性を裏づけているものと考えられる。

染色度に関しては、同一条件下での免疫組織化学染色で、岩越³²⁾は潰瘍性大腸炎の大腸粘膜組織 LZM の局在およびその活性と組織学的変化との関係について検討しているが、LZM の染色度が増加するに従い組

織 LZM 活性 (lyso-plate 法) は増加するとのべている。剖検例でのパラフィン切片では、組織ごとに固定などの条件が多少異なる可能性が生じているため、染色度に関する取り扱いには慎重を要するが、生検例では、固定を含めた染色手技を同一条件に整えれば、岩越³²⁾ののべているごとく、染色度をほぼ定量的に評価することは可能と思われる。とくに、著者の用いた間接法では、peroxidase-antiperoxidase (PAP) 法のように、抗原過剰の部位で偽陰性となることもありえない。

気管支腺の計測方法に関して、気管支腺の変化を定量的にとらえるために、従来から腺小葉肥大を計測の対象としてとりあげた論文が多い³³⁾⁻³⁶⁾。しかし、前田³¹⁾ものべているごとく、ここには炎症の修復機転としての腺小葉間質の増生も含まれる可能性があり、LZM を分泌する漿液腺房自体の量的変化を評価するには適当ではない。そこで、著者は気管支腺房自体の変化、すなわち AR、MD および SD を計測した。1腺小葉中の粘液腺房と漿液腺房との総面積比の変化は、両腺房切断断面数の増減および両腺房切断面積の変化、すなわち AR ならびに MD および SD の両面からとらえられ、また腺房面積比はその容積比に相関するから、AR ならびに MD および SD は気管支腺の粘液腺房と漿液腺房との容積比を現す指標となりえる。

さて、著者の NBP-A 15例における漿液腺房内 LZM 陽性度およびその染色度に関する検討では、男女差、加齢(30~72歳)による変化は見出し得なかったものの、喫煙との関係では、喫煙群5例(BI 120~320)中の1例に LZM 陽性度の低下、染色度の減弱しているものがあつた。門⁸⁾は、ラットのタバコ煙による気管支刺激後の、経時的な BLF 中の LZM 量、総蛋白量比および LZM の総蛋白量に対する比を検討しているが、タバコ煙によるラット気管支の刺激により、早期に BLF 中の LZM は増量し、15分後にピークに達したあとは刺激を継続しても次第に減少して、2時間後には刺激前値まで低下するとし、これは気管支漿液腺の分泌を高めるといわれている Bromhexine 投与による BLF 中の LZM 濃度と同様の曲線を描いたとしている。このことから、長期的な喫煙刺激が漿液腺 LZM 分泌の低下をきたすことは十分に予測され、これが上記のような染色結果となって示されたものと思われる。気管支腺房自体の量的変化に関しては、高齢者の一部に、粘液腺の増生 (AR および MD の増加)、

あるいは気管支腺の萎縮が観察された。喫煙群の間では、高度喫煙者を含まないうえに、有意な差は認められなかった。

CB-A では、NBP-A に比し、中枢側気管支における漿液腺房内の LZM 陽性度の有意な低下および染色度の減弱化が認められ、また気管支腺房の量的変化に関しては、AR および MD が NBP-A に比し有意に増加し、Reid³⁷⁾ の指摘しているごとく、漿液細胞の圧搾がみられているが、粘液腺、漿液腺も含め腺構造が変形、崩壊していたり、一部には萎縮した気管支腺房も認められた。Bürgi ら⁶⁾ は、CB 症例においては、単位喀痰量あたりの LZM が対照群に比し減少していると報告しているが、著者の観察したこれらの所見は、CB-A における、漿液腺由来 LZM 量の減少ないし枯渇化を組織レベルで示しているものといえる。

DPB は、山中ら³⁹⁾、本間ら⁴⁰⁾⁻⁴²⁾ によって提唱された、本邦独自の⁴³⁾、呼吸細気管支に主座をおく慢性炎症とされているが、実戸ら⁴⁴⁾の報告しているごとく、DPB では CB に比し息切れ、呼吸困難などの臨床症状がより重篤である。中枢部気管支腺房の量的変化の検討に関して、望月⁴⁵⁾のべているように、AR および MD の増加が認められ、本症でも中枢部気道にまで炎症のおよんでいることを示す所見と考えられる(しかし、CB にみられるような気管支腺の萎縮は認めない)。その中枢部気道の漿液腺房内 LZM 陽性度および染色度は、CB-A 同様、NBP-A に比較しその低下を認めている。この LZM の染色所見に関しては病変の存続したための結果とも解釈されるが、host 側の免疫学的異常が確認されている⁴³⁾⁴⁶⁾⁻⁴⁸⁾ 本疾患においては、生体の非特異的な生化学的防御機構にも異常があることを示しているものとも考えられ、興味深い。

CB-B における、咳嗽、喀痰などの有症期間と気管支漿液腺由来 LZM の関連において、II 型(有症期間、3~7 年)は、I 型(3 年未満)に比し、漿液腺房内 LZM 陽性度に有意差は認めないが、染色度は I 型に比し増強しているのが目立った。気管支腺の量的変化の計測では、AR および MD は I 型に比し II 型で増加しており、粘液細胞の増加が示されている。つまり、粘液化が進む中で個々の漿液細胞からの LZM 分泌は決して低下せず、染色度はむしろ増強し、岩越³²⁾の検討を引用すれば、むしろその活性は増加しているものといえる。しかし、III 型(8 年以上)になると、II 型に比し、気管支腺房の萎縮または一部にその崩壊

がみられ、LZM 陽性度の有意な低下および染色度の減弱化が目立つようになる。つまり、有症期間が比較的短い間は、漿液腺の LZM 分泌能が一時的に高まることであっても、有症期間が長期化するに従い、漿液腺房の減少、萎縮(Glynn と Michaels²⁹⁾も同様の指摘)とともに、LZM 分泌も減少、次第に枯渇化に向かい、気道感染の反復、遷延化という悪性サイクルがつけられていくものと考えられる。門⁷⁾も BLF 中の免疫グロブリン(IgA, IgG)および LZM についての検討で CB 例で炎症が軽度から高度になるに従い、その経過とともに、BLF 中の総蛋白質量に対する IgA および IgG 比は増加するが、LZM では逆に総蛋白質量に対する比が減少してくると述べている。気道における LZM の検討は、慢性気道炎症性疾患の病態、重症度の把握および予後の推定上にも有用と考えうる。

V 結 語

慢性気管支炎生検例(CB-B) 20 例、同剖検例(CB-A) 10 例、びまん性汎細気管支炎剖検例(DPB-A) 3 例および非気管支・肺疾患剖検例(NBP-A) 15 例について、Nakane らの酵素抗体法(間接法)を用いた免疫組織化学染色により、気管支腺房内の lysozyme (LZM) の局在、陽性度(腺房内染色陽性面積の大きさ)および染色度(染色濃度の程度)を観察し、さらにこれと粘液腺房数と漿液腺房数の比(AR)、粘液腺房径(MD)および漿液腺房径(SD)との関連について検討し、これらの臨床的意義について考察を加えた。

1 コントロールおよび気道病変例のいずれも、気管支漿液腺房に LZM の局在を認めた。

2 NBP-A における LZM 陽性度および染色度の観察では、性別、年齢による差異はなかったが、喫煙例の一部に陽性度および染色度の低いものがあつた。また気管支腺房の量的変化として、高齢者の一部に粘液腺の増生あるいは気管支腺の萎縮を認めた。

3 CB-A では、NBP-A に比し、LZM の陽性度および染色度が低く、かつ AR および MD は大であり、相対的に漿液腺房の減少を認めた。これらの所見は CB においては、気管支腺由来 LZM の減少ないし枯渇化を示唆している。

4 DPB-A では、気管支粘液腺の増生、LZM の陽性度および染色度の低下を認めた。これは DPB においても中枢部気道にまで病変がおよんでいることを示す所見である。

5 CB-B では、II 型(有症期間 3~7 年)は I 型

(同3年未満)に比し, AR および MD の増加, すなわち気管支粘液腺が増大しているにもかかわらず, LZM 染色度の増強が認められた。一方, III型(同8年以上)ではII型に比し, 気管支腺房の萎縮傾向があり, また LZM の陽性度, 染色度はともに減弱を示した。CB においては, 有症期間が比較的短ければ, LZM 分泌は一時的に高まることがあっても, 長期化するに従い漿液細胞の減少とともに, LZM 分泌の減少~枯渇化がおこることを示唆する所見と考えられた。

6 以上の所見から, 気管支腺房における LZM の局在およびその消長の検索は, 気道疾患とくに慢性炎症性疾患の病態生理の解明, 重症度の判定および予後の推定上有用であることを認めた。

本論文の要旨は第24回(1984年, 4月, 東京)および第25回(1985年, 4月, 名古屋)日本胸部疾患学会総会において発表した。

稿を終るに臨み, 御懇篤なる御指導と御校閲を賜りました恩師草間昌三教授に深甚なる感謝の意を表します。また, 本研究をすすめるにあたり直接御教示, 御指導下さいました望月一郎教授(信州大学医療技術短期大学部)に深く感謝致します。

なお, 検索肺の一部は, 信州大学第1病理学教室および同第2病理学教室より御提供して頂いたことをここに付記し, 重松秀一教授ならびに発地雅夫教授はじめ同教室の諸先生方に深く感謝の意を表します。

文 献

- 1) Fleming, A. : On a remarkable bacteriolytic element found in tissues and secretions. Proc R Soc Lond [Biol], 93 : 306-317, 1922
- 2) Salton, M.R. J. and Ghuyesen, J.M. : The structure of di- and tetra-saccharides released from cell walls by lysozyme and streptomycetes F₁ enzyme and the β (1 \rightarrow 4) N-acetylhexosaminidase activity of these enzymes. Biochem Biophys Acta, 36 : 552-554, 1959
- 3) Senn, H. J., Chu, B., O' Malley, J. and Holland, J.F. : Experimental and clinical studies on muramidase (lysozyme). Acta Haematol, 44 : 65-72, 1970
- 4) Gordon, L. I., Douglas, S. D., Kay, N. E., Yamada, O., Osserman, E. F. and Jacob, H. S. : Modulation of neutrophil function by lysozyme. Potential negative feedback system of inflammation. J Clin Invest, 64 : 226-232, 1979
- 5) Myrvik, Q. N., Leake, E. S. and Fariss, B. : Lysozyme content of alveolar and peritoneal macrophages from the rabbit. J Immunol, 86 : 133-136, 1961
- 6) Bürgi, H. : Endogenic defense against infectious disease in chronic bronchitis. Respiration, 28 : 480-484, 1971
- 7) 門 政男 : 呼吸器における局所免疫—気管支洗浄液中の免疫グロブリンおよび lysozyme について—。日胸, 35 : 893-900, 1976
- 8) 門 政男 : 呼吸器の感染防御機構に関する研究 第2篇 呼吸器感染防御因子としての lysozyme に関する研究。京大胸部疾患研究所紀要, 13 : 32-43, 1980
- 9) Mason, D. Y. and Taylor, C. R. : The distribution of muramidase (lysozyme) in human tissues. J Clin Pathol, 28 : 124-132, 1975
- 10) Nakane, P. K. : Recent progress in the peroxidase-labeled antibody method. Ann N Y Acad Sci, 254 : 203-211, 1975
- 11) Fletcher, C. M. : Chronic bronchitis. Am Rev Respir Dis, 80 : 483-494, 1959
- 12) 谷本普一, 本間日臣 : びまん性汎細気管支炎診断の手引きについて。厚生省特定疾患間質性肺炎患調査研究班, 昭和57年度研究報告書, pp. 49-50, 1983
- 13) Isobe, Y., Chen, S. T., Nakane, P. K. and Brown, W. R. : Studies on translocation of immunoglobulins across intestinal epithelium. I. Improvements in the peroxidase-labeled antibody method for application to study of human intestinal mucosa. Acta Histochem Cytochem, 19 : 161-171, 1977
- 14) 細萱昌利 : 慢性気管支炎に関する研究(I) 気管支生検病理組織像とその分類。信州医誌, 13 : 153-164, 1964
- 15) 細萱昌利 : 慢性気管支炎に関する研究(II) 気管支生検病理組織像と臨床症状。信州医誌, 13 : 165-171, 1964
- 16) Work, E. : Biochemistry of the bacterial cell wall. Nature, 179 : 841-847, 1957

- 17) Hill, I.R. and Porter, P. : Studies of bactericidal activity to *Escherichia coli* of porcine serum and colostral immunoglobulins and the role of lysozyme with secretory Ig A. *Immunology*, 26 : 1239-1250, 1974
- 18) Fleming, A. and Allison, V.D. : Observations on a bacteriolytic substance (lysozyme) found in secretions and tissues. *J Exp Pathol*, 3 : 252-260, 1922
- 19) Lorenz, T.H., Korst, D.R., Simpson, J.F. and Musser, M.J. : A quantitative method of lysozyme determination. I. An investigation of bronchial lysozyme. *J Lab Clin Med*, 49 : 145-150, 1957
- 20) Goldstein, E. : Hydrolytic enzymes of alveolar macrophages. *Rev Infect Dis*, 5 : 1078-1092, 1983
- 21) 安岡 劭, 尾崎敏夫, 島田久夫, 河野知弘, 真鍋英基, 中山 正, 石見寿康, 福島和文, 螺良英郎 : 気管支一肺胞洗滌液に含まれているリゾチームの臨床的意義に関する研究. *日胸疾会誌*, 19 : 389-397, 1981
- 22) Becker, E.L., Showell, H.J., Henson, P.M. and Hsu, L.S. : The ability of chemotactic factors to induce lysosomal enzyme release. 1. The characteristics of the release, the importance of surfaces and the relation of enzyme release to chemotactic responsiveness. *J Immunol*, 112 : 2047-2054, 1974
- 23) Dijkman, J.H., Franken, C., Kramps, J.A. and Meijer, C.J.L.M. : Enzymes and enzyme-inhibitors in the small airways. *Eur J Respir Dis*, 121 : 53-59, 1982
- 24) 伊藤元彦, 青木 稔 : 気管・気管支腺の機能と構造—組織学的所見を中心に—. *日胸*, 38 : 581-585, 1979
- 25) Bowes, D. and Corrin, B. : Ultrastructural immunocytochemical localisation of lysozyme in human bronchial glands. *Thorax*, 32 : 163-170, 1977
- 26) Bowes, D., Clark, A.E. and Corrin, B. : Ultrastructural localisation of lactoferrin and glycoprotein in human bronchial glands. *Thorax*, 36 : 108-115, 1981
- 27) 坂本 崇 : 正常者および慢性気管支炎患者の気道粘液成分に関する研究. *四国医誌*, 40 : 96-107, 1984
- 28) Konstan, M.W., Chen, P.W., Sherman, J.M., Thomassen, M.J., Wood, R.E. and Boat, T.F. : Human lung lysozyme : Sources and properties. *Am Rev Respir Dis*, 123 : 120-124, 1981
- 29) Glynn, A.A. and Michaels, L. : Bronchial biopsy in chronic bronchitis and asthma. *Thorax*, 15 : 142-153, 1960
- 30) 石澤政男 : 組織学提要. 第2巻, 第2版, p. 28, 金原出版, 東京, 1958
- 31) 前田昌純 : 肺癌における気管支腺の計測病理学的研究. *大阪大学医学雑誌*, 18 : 311-326, 1966
- 32) 岩越一彦 : 潰瘍性大腸炎における組織リゾチーム活性に関する臨床的研究. *大阪医大誌*, 39 : 35-42, 1975
- 33) Reid, L. : Measurement of the bronchial mucous gland layer : A diagnostic yardstick in chronic bronchitis. *Thorax*, 15 : 132-141, 1960
- 34) Restrepo, G.L. and Heard, B.E. : Mucous gland enlargement in chronic bronchitis : Extent of enlargement in the tracheo-bronchial tree. *Thorax*, 18 : 334-339, 1963
- 35) Thurlbeck, W.M. and Angus, G.E. : A distribution curve for chronic bronchitis. *Thorax*, 19 : 436-442, 1964
- 36) Restrepo, G. and Heard, B.E. : The size of the bronchial glands in chronic bronchitis. *J Pathol*, 85 : 305-310, 1963
- 37) Reid, L. : Bronchial mucous production in health and disease. In : Averill, A. and Liebow (ed.), *The lung*, pp.87-108, The Williams and Wilkins Co., Baltimore, 1968
- 38) Bürgi, H., Trechsel, K. und Regli, J. : Zur Frage der endogenen Infektabwehr bei der chronischen asthmoiden Bronchitis. *Schweiz Med Wochenschr*, 98 : 1361-1362, 1968
- 39) 山中 晃, 斉木茂樹, 田村静夫, 斉藤 建 : 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 : 442-451, 1969
- 40) 本間日臣 : びまん性汎細気管支炎. *日胸疾会誌*, 13 : 383-395, 1975
- 41) 本間日臣 : びまん性汎細気管支炎 (びまん性呼吸細気管支炎). *日内会誌*, 65 : 645-659, 1976
- 42) Homma, H., Yamanaka, A., Tanimoto, S., Tamura, M., Chijimatsu, Y., Kira, S. and Izumi,

- T. : Diffuse panbronchiolitis. A disease of the transitional zone of the lung. Chest, 83 : 63-69, 1983
- 43) 泉 孝英 : わが国におけるびまん性汎細気管支炎. 日胸, 41 : 663-673, 1982
- 44) 宋戸真司, 岩井和郎, 河端美則 : びまん性汎細気管支炎といわゆる慢性気管支炎症例の臨床, 病理学的研究. 日胸疾会誌, 16 : 745-755, 1978
- 45) 望月一郎 : 慢性気管支炎に関する 2, 3 の問題. 信州医誌, 34 : 111-119, 1986
- 46) 平田健雄, 西川伸一, 泉 孝英 : びまん性汎細気管支炎の免疫学的考察. 日胸, 38 : 90-95, 1979
- 47) 草間昌三, 望月一郎, 小沢克良, 本郷 実 : びまん性汎細気管支炎—1 部検例の組織免疫グロブリン—. 厚生省特定疾患間質性肺疾患調査研究班. 昭和56年度研究報告書, pp. 93-95, 1982
- 48) 吉村邦彦, 内田好彦, 中谷龍王, 蝶名林直彦, 中森祥隆, 中田紘一郎, 谷本普一 : びまん性汎細気管支炎の免疫学的研究—とくに本症におけるTリンパ球サブセットの解析—. 日胸疾会誌, 22 : 992-999, 1984
(62. 1. 13 受稿)
-