

呼吸器疾患における chemiluminescence 法を用いた 好中球機能の検討

奈良県立医科大学第2内科学教室

竹内章治

DETERMINATION OF NEUTROPHIL FUNCTION IN RESPIRATORY DISEASE BY CHEMILUMINESCENCE (CL)

SHOJI TAKEUCHI

The Second Department of Internal Medicine, Nara Medical University

Received September 29, 1994.

Abstract: The functions of neutrophils in the peripheral venous blood of patients with respiratory infection or with lung cancer were assayed by measuring the chemiluminescent response elicited by the cells. A total of 57 cases was subject to chemiluminescence (CL) assay: 37 cases of acute respiratory infection, 5 at the stable phase of chronic lower tract infection, and 15 of lung cancer. CL was evaluated by CL-index (patients' CL/controls' CL).

In acute respiratory infection, the neutrophil CL-index \cdot N (CL-index \times neutrophil numbers) was decreased by antimicrobial chemotherapy, in association with improvement of their clinical course. Neutrophil CL-index \cdot N was correlated with the whole blood CL-index in 12 cases in which the whole blood CL was assayed. On the other hand, at the stable phase of chronic lower tract infection, neither neutrophil CL-index nor the neutrophil CL-index \cdot N changed remarkably after antimicrobial chemotherapy.

In cases of lung cancer, whole blood CL fell as the number of neutrophils was reduced by anticancer chemotherapy. Granulocyte colony stimulating factor (G-CSF) treatment increased the whole and neutrophil CLs. Early initiation of G-CSF treatment resulted in a rapid increase in CL values of the whole blood and isolated neutrophils.

These results suggest that measurement of CL is a useful assay for neutrophil function in respiratory disease.

Index Terms

chemiluminescence, neutrophil function, respiratory disease

緒 言

好中球は感染症の宿主防御機構の一つとして重要な役割を担っており、その機能を知ることが感染症の予防や治療に重要である。呼吸器疾患における臨床面での好中球機能の実態は未だ十分に明らかにされていない。感染巣に遊走してくる好中球が生体防御を担っていること

は当然であるが、好中球が細胞融解に伴って放出する種々のプロテアーゼや活性酸素は生体に傷害的に作用することも知られ¹⁾、これがさらに好中球遊走の原因となる。感染症は呼吸器疾患の原因あるいはその増悪因子となり得るので呼吸器感染症においては好中球機能の検討が重要な課題と思われる。好中球機能測定の一つに化学発光(chemiluminescence, 以下CL)法があるが、これ

は好中球を始めとする食細胞が細菌等の異物を貪食する際に生じる respiratory burst に伴って産生される活性酸素をルミノール存在下で化学発光に変換して測定するものである。今回著者は呼吸器感染症を中心とする呼吸器疾患で好中球機能を CL 法を用いて検討し新しい知見を得たので報告する。

対象および方法

1. 肺炎症例における検討

1) 対象 (Table 1)

対象は TTA (Transtracheal aspiration, 経気管吸引法) で起炎菌を同定し、抗菌化学療法が有効であった細菌性肺炎 12 例 (院外発症 10 例, 院内発症 2 例) である。年齢は 14 から 84 歳 (平均 59.1 歳) 性別は男性 7 例, 女性 5 例, 基礎疾患は 10 例に認められ, 肺気腫 4 例, びまん性汎細気管支炎 (DPB) 2 例, 全身性エリテマトーデス (SLE) 2 例, 肺癌 2 例である。TTA による検出菌は単独菌検出 7 例, 複数菌検出 7 例で, 菌種は *Streptococcus pneumoniae* (以下 *S. pneumoniae*) 5 例, *Haemophilus influenzae* (以下 *H. influenzae*) 3 例などである。2 例に副腎皮質ステロイド薬が, 5 例にエリスロマイシンが持続投与されている。治療に用いた抗菌薬はカルバペネム系抗生物質 8 例, セフェム系抗生物質 4 例である。

2) 方法

試薬:

ザイモザン

Sigma Chemical 社製ザイモザンを HBSS (Hank's balanced salt solution) で 50 mg/ml の濃度に加温 (100°C 15 分間) 下で調整, 100 μ l ずつ分注して -20°C で保存, 健常人血清で 37°C 30 分間 opsonization 後, 1000 G 5 分間の遠心で得た沈査を HBSS で洗浄後 MEM (minimum essential medium) 1200 μ l を加え懸濁液を作成した。

ルミノール

ベーリンガー社製ルミノール 35.4 mg をジメチルスルフォキシライド (DMSO) 10 ml に溶解し 2×10^{-2} M に調整, -80°C で保存, 使用時 MEM で 10 倍希釈 (2×10^{-3} M) して用いた。

血液:

ヘパリン加末梢静脈血 10 ml に 3% デキストラン含有 PBS (-) (phosphate buffered saline, Ca^{2+} および Mg^{2+} 不含) 2 ml を加え 30 分間静置して赤血球を沈降させた後得上清成分から Percoll 重層法にて好中球分画を採取, 低張性溶血操作を行い, 十分に洗浄後, 好中球浮遊液を作成した。トリパンブルー染色による細胞の生存率は 98% 以上であった。尚, 細胞の調整と測定までの保存は 10°C で行なった。

chemiluminescence (CL) 値測定:

Table 1. Subjects of pneumonia

Case	Age (y. o.)	Sex	Underlying disease	Organisms from TTA	Combined drugs	Therapeutic antibiotics
1	65	M	DPB	<i>S. pneumoniae</i>	erythromycin	Ca
2	72	F	PE	<i>S. pneumoniae</i>		Ce
3	40	F	—	<i>S. pneumoniae</i>		Ca
4*	50	F	SLE	<i>P. aeruginosa</i>	steroid erythromycin	Ca
5	63	M	LC	<i>K. pneumoniae</i> α -streptococcus <i>Neisseria</i> sp		Ca
6	51	F	SLE	<i>H. influenzae</i> <i>P. aeruginosa</i>	steroid erythromycin	Ca
7	14	M	DPB	<i>H. influenzae</i>		Ce
8	68	M	PE	<i>S. pneumoniae</i>	erythromycin	Ca
9	67	M	PE	<i>S. pneumoniae</i>	erythromycin	Ce
10	84	M	PE	<i>H. influenzae</i> <i>B. catarrhalis</i>		Ca
11	68	F	—	<i>S. mitis</i> <i>P. acnes</i>		Ca
12*	71	M	LC	<i>S. aureus</i> <i>H. parainfluenzae</i> <i>C. pseudodiphtheriticum</i>		Ce

* : nosocomial infection DPB : diffuse panbronchiolitis PE : pulmonary emphysema
SLE : systemic lupus erythematosus LC : lung cancer Ca : Carbapenem Ce : Cephem

好中球 CL 値測定は MEM で 3×10^6 cells/ml に調整した好中球浮遊液 400 μ l を 37°C, 5 分間静置後, ルミノール溶液 30 μ l, オプソニン化ザイモザン懸濁液 170 μ l を混和し, ラボサイエンス社製ルミフォトメーター TD 4000 で Peak 値と Peak time 値とを測定した. CL 値の評価は Peak 値/Peak time 値で表した. 健康人 17 人の平均好中球 CL 値と同等の CL 値を呈した健康人(30 歳, 男性)の好中球を用いて採取し, その CL 値を測定して対照とした. 患者と対照との Peak 値/Peak time 値の比を CL-index とした. また生体での好中球機能の全体的評価の一つとして, 好中球 CL-index と末梢血中好中球数 $N(\mu$ l)との積を好中球 CL-index $\cdot N$ で表した. 正常白血球数 4000~8000/ μ l, 好中球の正常比率を 30~80% として好中球 CL-index $\cdot N$ の正常域を 1200~6400 とした.

CL 値測定時期:

抗菌化学療法施行前, 施行中, 施行後の 3 回 CL 値を測定した. 施行中は抗菌薬投与で臨床像の改善がみられた時期, 施行後とは抗菌薬投与が終了し, 臨床上的改善が引き続きみられている時期とした.

統計学的処理

本研究における統計学的処理は Student's t test を用い, 危険率 5% 未満を有意とした.

2. 慢性下気道感染症における検討

慢性下気道感染症は病態により急性増悪期と安定期とに分けられる. 今回急性増悪期とは慢性下気道感染症症例で喀痰量が急激に増加し, 臨床所見として発熱・咳嗽・呼吸困難・炎症所見の悪化を伴う時期であり, 安定期とは症例の重症度とは関係なく, 喀痰量が比較的一定で, 臨床所見の変動も少ない時期と定義し, 二つの病態について検討した.

1) 対象

対象は TTA で起炎菌を同定し, 抗菌化学療法を施行した慢性下気道感染症 18 例である. そのうち慢性下気道感染症急性増悪期症例は 13 例, 年齢は 41 から 78 歳(平均 63.0 歳), 性別は男性 7 例, 女性 6 例, TTA による検出菌は *H. influenzae* 6 例, *Pseudomonas aeruginosa* (以下 *P. aeruginosa*) 3 例等である. 使用抗菌薬はセフェム系 7 例, ニューキノロン系 4 例, カルバペネム系 2 例で, そのうち 3 例でエリスロマイシン, 2 例でクラリスロマイシンが, 1 例で副腎皮質ステロイド薬が長期投与中のものの上に上記の抗菌薬を併用したものである (Table 2).

慢性下気道感染症安定期症例は 5 例, 年齢は 39 から 79 歳(平均 57.8 歳), 性別は男性 3 例, 女性 2 例, 疾患は慢性気管支炎 3 例, 気管支拡張症 2 例, TTA による検出菌は *P. aeruginosa* 2 例等である. 使用抗菌薬はセフェム系 4 例, カルバペネム系 1 例でありそのうち 2 例でエ

Table 2. Subjects with exacerbation of chronic lower respiratory tract infection

Case	Age	Sex	Disease	Underlying disease	Organisms from TTA	Combined drugs	Therapeutic antibiotics
1	64	M	CB	PE	<i>H. influenzae</i>	erythromycin	Ce
2	68	M	CB	PE	<i>H. influenzae</i>		NQ
3	64	M	CB	PE	<i>S. haemolyticus</i>		Ce
4	62	F	CB		<i>H. influenzae</i>		Ce
5	73	F	DPB		<i>S. pneumoniae</i> <i>P. aeruginosa</i> <i>Neisseria</i> spp	erythromycin	Ca
6	66	M	CB	PE	<i>S. pneumoniae</i>		Ce
7	78	M	CB	old TB	<i>H. influenzae</i> <i>B. catarrhalis</i>	erythromycin	NQ
8	66	M	CB	PE	<i>B. catarrhalis</i> <i>Neisseria</i> spp α - <i>Streptococcus</i>		NQ
9	71	M	BE		<i>P. acidovorans</i>		NQ
10	51	F	CB	SLE	<i>P. aeruginosa</i>	steroid clarithromycin	Ca
11	59	F	BE		<i>H. influenzae</i>		Ce
12	56	F	CB	RA	<i>H. influenzae</i>		Ce
13	41	F	BE		<i>P. aeruginosa</i>	clarithromycin	Ce

CB: chronic bronchitis PE: pulmonary emphysema DPB: diffuse panbronchiolitis

TB: tuberculosis BE: bronchiectasis SLE: systemic lupus erythematosus

RA: rheumatoid arthritis Ce: cephem NQ: new quinolone Ca: carbapenem

リスロマイシンが長期、副腎皮質ステロイド薬、イソニアジドが各1例長期併用投与中である(Table 3).

2) 方法

試薬調整, 好中球採取, 好中球 CL 値測定は上記の方法で行った. CL 値測定時期は抗菌化学療法施行前, 施行中, 施行後の3回測定した. 急性増悪症例については肺炎症例と同様に施行中は抗菌薬投与で臨床像の改善がみられた時期, 施行後は抗菌薬投与が終了し, 臨床上の改善が引き続きみられている時期とした. 安定期症例は抗菌薬投与後4~7日の時期を施行中, 抗菌薬投与終了後

も臨床像が安定している時期を施行後として測定した.

3. 急性呼吸器感染症での全血・好中球 CL 値同時測定例の検討

CL 法には好中球を取り出して用いる好中球 CL 法の他に血液をそのまま用いる全血 CL 法があり, どちらも感染防御の指標として用いられるので急性呼吸器感染症で全血 CL 値, 好中球 CL 値を同時に測定し検討した.

1) 対象(Table 4)

対象は抗菌化学療法を施行した急性呼吸器感染症12例で肺炎7例(細菌性肺炎6例, マイコプラズマ肺炎1

Table 3. Subjects with stable phase of chronic lower respiratory tract infection

Case	Age	Sex	Disease	Underlying disease	Organisms from TTA	Drugs combined	Therapeutic antibiotics
1	48	M	CB	BA DM	<i>S. agalactiae</i>	steroid	Ce
2	59	M	CB	IP	<i>H. influenzae</i> <i>Acinetobacter anitratus</i> <i>S. viridans</i>		Ce
3	64	M	CB	old TB	<i>Neisseria meningitidis</i> α - <i>Streptococcus</i>	INH	Ce
4	79	F	BE		<i>P. aeruginosa</i> <i>Neisseria spp</i>	erythromycin	Ce
5	39	F	BE		<i>P. aeruginosa</i>	erythromycin	Ca

BA: bronchial asthma IP: interstitial pneumonia DM: diabetes mellitus INH: isoniazid
Ce: cephem Ca: carbapenem

Table 4. Subjects

Case	Age	Sex	Disease	Organisms from TTA	Underlying disease
1	88	M	P	<i>H. influenzae</i> <i>K. pneumoniae</i> <i>Neisseria sp</i> α - <i>streptococcus</i>	malignant pleural mesothelioma
2	74	M	P	<i>S. pneumoniae</i> gram(+) bacilli	
3	35	F	P	<i>H. influenzae</i>	
4	20	M	P	<i>Peptostreptococcus sp</i>	
5	57	F	P	<i>H. influenzae</i> <i>M. catarrhalis</i> <i>S. pneumoniae</i>	
6	36	M	P	<i>S. pneumoniae</i>	
7	29	M	P*	(-)	
8	49	F	B	<i>H. influenzae</i>	
9	59	F	E	<i>H. influenzae</i>	bronchiectasis
10	56	F	E	<i>H. influenzae</i>	rheumatoid arthritis
11	67	M	E	<i>P. aeruginosa</i>	interstitial pneumonia
12	41	F	E	<i>P. aeruginosa</i>	bronchiectasis

P: pneumonia B: acute bronchitis E: exacerbated phase of the chronic lower respiratory tract infection *: mycoplasma infection

例), 慢性下気道感染症急性増悪期 4 例, 急性気管支炎 1 例である。年齢は 20 から 88 歳(平均 50.9 歳), 性別は男性 6 例, 女性 6 例である。TTA による検出菌は *H. influenzae* 6 例, *S. pneumoniae* 3 例, *P. aeruginosa* 2 例等である。基礎疾患は気管支拡張症 2 例, 胸膜中皮腫 1 例, 間質性肺炎 1 例, 慢性関節リウマチ 1 例である。マイコプラズマ肺炎は血清学的診断によったものである。

2) 方法

試薬調整, 好中球採取, 好中球 CL 値測定は上述の方法で行った。全血 CL 値測定はヘパリン加末梢静脈血 50 μ l に MEM 300 μ l, ルミノール液 30 μ l を加え, 37°C 5 分間静置後, オブソニン化ザイモザン懸濁液 120 μ l を加え血液が最終的に 10 倍希釈となるように調整, 好中球 CL 値測定の場合と同様に Peak 値と Peak time 値とを測定し, CL-index を示した。CL 値は抗菌化学療法開始前後の 2 回測定した。開始後とは抗菌薬投与で臨床像の改善がみられた時期とした。

4. 肺癌化学療法時の好中球機能の検討

肺癌の抗癌化学療法時と G-CSF 投与時との好中球機能を検討した。

1) 対象(Table 5)

対象は抗癌化学療法を施行した肺癌 15 症例 19 コースである。年齢は 34 から 80 歳(平均 63.3 歳), 性別は男性 10 例, 女性 5 例, 組織型は小細胞癌 8 例, 非小細胞癌 7

例(腺癌 4 例, 扁平上皮癌 3 例)である。stage は IIIA 期 3 例, IIIB 期 6 例, IV 期 4 例, 術後 2 例である。抗癌化学療法は Carboplatin(CBDCA)+Etoposide(VP-16)が 6 例, Cisplatin(CDDP)+VP-16 が 3 例, CDDP+Vindesine(VDS)+Mitomycin C(MMC)が 6 例で, メチルプレドニゾロンが 14 例に使用されている。G-CSF 投与後の経過を追えた症例は 10 例, 13 コースである。

2) 方法

全血 CL 値, 好中球 CL 値とも前述の方法で行った。CL 値測定は肺癌化学療法施行前, 施行直後, および G-CSF を使用した症例では G-CSF の使用前, 使用中, 使用後に行った。肺癌化学療法施行直後は VP-16 を使用した症例では day 6, VDS を使用した症例では day 3 とした。G-CSF は症例により肺癌化学療法施行直後または好中球数減少後に投与開始, G-CSF 投与量は 2 μ g/kg とし, 末梢血中白血球数が nadir 後 10000/ μ l を越えた時点で投与を中止した。

成 績

1. 肺炎症例における検討

1) 好中球 CL-index の推移

抗菌化学療法施行前の好中球 CL-index は 1.0 以上 6 例, 1.0 未満 6 例であったが, 抗菌化学療法施行中の好中球 CL-index は 12 例中 11 例で抗菌化学療法施行前に比

Table 5. Subjects of lung cancer

Case	Age	Sex	Pathology	Stage	Chemotherapy	Steroids
1*	70	F	small	IIIB	CBDCA, VP-16,	M-PSL
2*	44	F	small	IV	CBDCA, VP-16,	M-PSL
3*	60	M	small	IIIB	CBDCA, VP-16,	M-PSL
4*	72	F	small	IIIA	CBDCA, VP-16,	M-PSL
5*	80	M	small	IIIB	CBDCA, VP-16,	M-PSL
6	78	M	small	IIIB	CBDCA, VP-16,	M-PSL
7	70	M	small	IV	CDDP, VP-16,	M-PSL
8	64	M	small	IIIB	CDDP, VP-16,	M-PSL
9*	50	F	squamous	IIIB	CDDP, VDS, MMC,	M-PSL
10*	72	M	adeno	IIIA	CDDP, VP-16,	
11*	48	F	adeno	**	CDDP, VDS, MMC,	M-PSL
12	77	M	squamous	IIIA	CDDP, VDS, MMC,	M-PSL
13	34	M	squamous	IV	CDDP, VDS, MMC,	M-PSL
14*	61	M	adeno	**	CDDP, VDS, MMC,	M-PSL
15*	70	M	adeno	IV	CDDP, VDS, MMC,	M-PSL

CBDCA (Carboplatin) : 300 mg/m² day 1

CDDP (Cisplatin) : 80-100 mg/m² day 1

VP-16 (Etoposide) : 100 mg/m² day 1 3 5

VDS (Vindesine) : 3 mg/m² day 2 8

MMC (Mitomycin C) : 8 mg/m₂ day 1

M-PSL(Methylprednisolone)

* : CL assay was followed after G-CSF administration

** : after operation

べて低い値を示し有意な低下を示した($P < 0.05$)。また抗菌化学療法施行後の好中球 CL-index は 12 例中 9 例で抗菌化学療法施行中と比べ高い値を示した(Fig. 1)。なお抗菌化学療法施行前に好中球 CL-index が 1.0 以上と 1.0 未満との群で年齢、基礎疾患、使用薬剤、胸部 X 線上の肺炎像の拡がり、起炎菌、CRP、末梢血中好中球数などについて比較したが有意差はみられなかった。

2) 好中球 CL-index・N の推移(Fig. 2)

好中球 CL-index・N は 12 例中 9 例で抗菌化学療法施行前に高値を示し、臨床像の改善と共に有意に低下した($P < 0.05$)。

3) TTA 検出菌別検討

TTA により *S. pneumoniae* を単独検出した 5 症例の好中球 CL-index は抗菌化学療法施行前 1.0 以上 3 例、1.0 未満 2 例で、抗菌化学療法施行中は施行前に比べ全例低下していた。好中球 CL-index・N は全例抗菌化学療法施行前に高値をとり、抗菌化学療法施行中に低下傾向を示した(Fig. 3)。全肺炎症例の傾向と比べ *S. pneumoniae* 症例に特有な傾向はみられなかった。また *S. pneumoniae* 検出症例と他の菌種検出症例との間で好

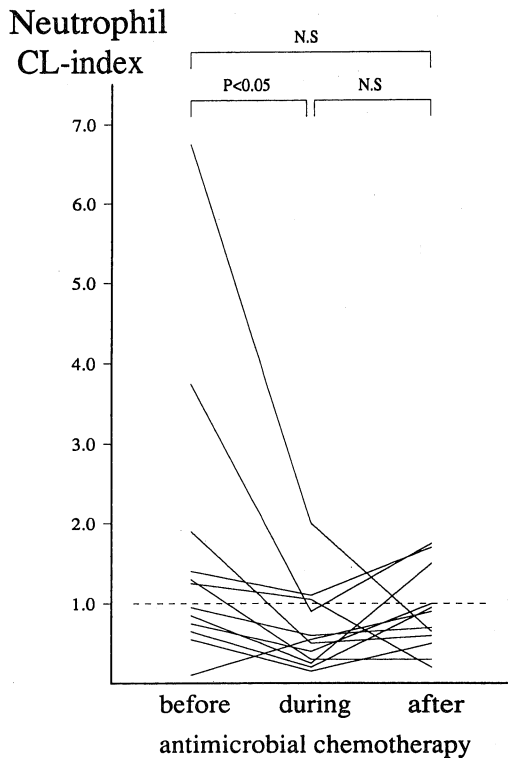


Fig. 1. Changes of neutrophil CL-index in 12 cases of pneumonia.

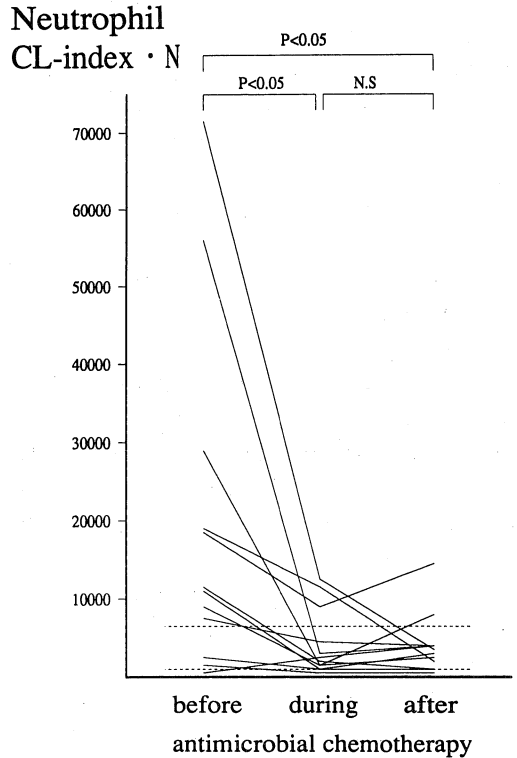


Fig. 2. Changes of neutrophil CL-index・N in 12 cases of pneumonia.

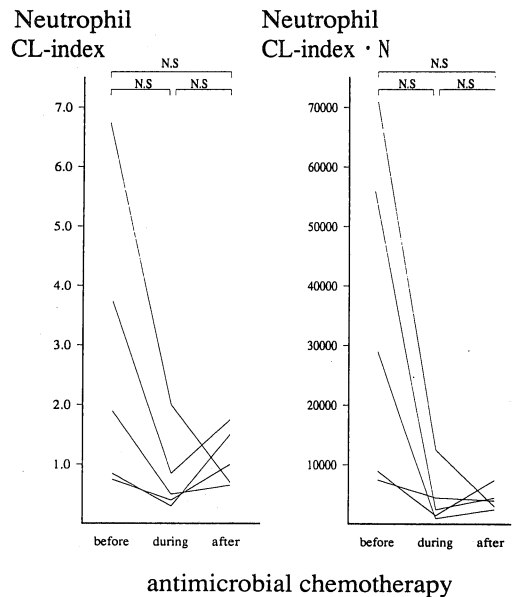


Fig. 3. Changes of chemiluminescence in 5 cases of pneumonia due to *S. pneumoniae*.

中球 CL-index, 好中球 CL-index・Nとも *S. pneumoniae* 症例に高い傾向があったが, 有意差はなかった(Fig. 4).

4) 抗菌化学療法施行前の各因子と好中球機能との関連

抗菌化学療法施行前の末梢血中好中球数, CRP と好中球機能との関連を検討した(Table 6). 抗菌化学療法施行前の末梢血中好中球数と好中球 CL-index との間に相関はみられなかった(Fig. 5). 抗菌化学療法施行前の CRP との関係は CRP が高いほど好中球 CL-index, 好

中球 CL-index・Nとも高値を示す傾向はみられたが, 有意の相関はみられなかった(Fig. 6).

5) 抗菌化学療法施行前の胸部 X 線の肺炎像の拡がり
と好中球機能との関連

抗菌化学療法施行前の胸部 X 線の陰影の拡がりを区域以下, 葉以上, その中間の三群に分け, 好中球 CL-index, 好中球 CL-index・N との関連を検討したが, 相関は認められなかった(Fig. 7).

2. 慢性下気道感染症における検討

1) 抗菌化学療法施行前の好中球機能(Fig. 8)

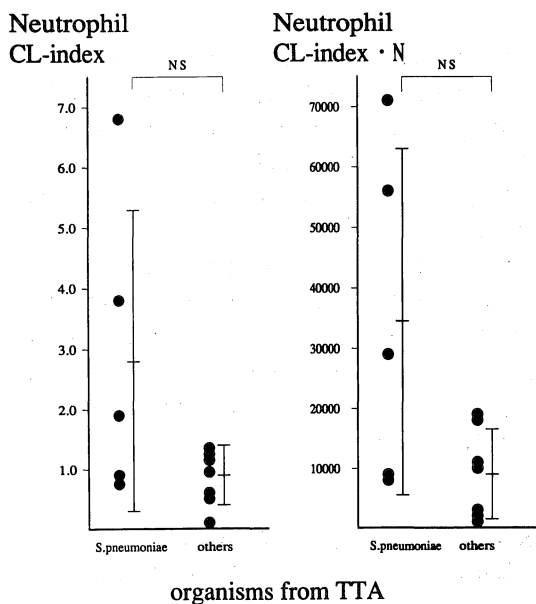


Fig. 4. Relationship between organisms from TTA and chemiluminescence before antimicrobial chemotherapy in 12 cases of pneumonia.

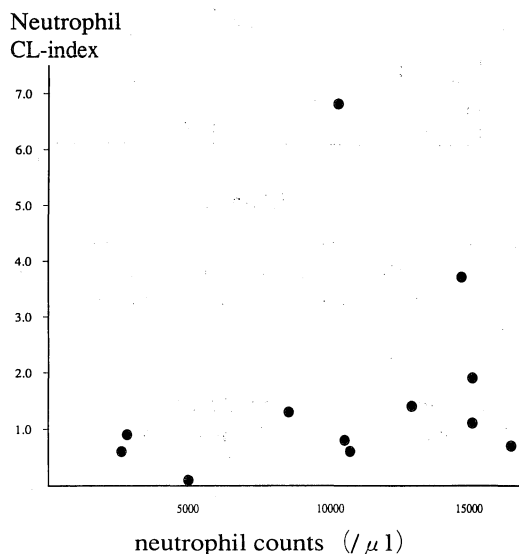


Fig. 5. Relationship between the number of neutrophils and neutrophil CL-index before antimicrobial chemotherapy in 12 cases of pneumonia.

Table 6. Patient's clinical data before chemotherapy in case of pneumonia

Case No.	WBC(% St/Seg)	CRP	Distribution of shadows of the chest rentgenograms	Neutrophil CL-index	Neutrophil CL-index·N
1	12000(17/71)	26.4	lobar	6.76	71385
2	15900(7/87)	3.3	segmental	3.76	56197
3	24100(1/62)	22.1	segmental	1.91	28879
4	15700(4/79)	14.6	intermediate	1.37	17852
5	9700(9/79)	13.3	segmental	1.34	11438
6	17900(5/81)	13.8	lobar	1.22	18780
7	5400(5/45)	4.9	intermediate	0.97	2619
8	12800(9/73)	5.9	segmental	0.86	8916
9	13800(3/76)	16.4	intermediate	0.74	7541
10	18800(5/84)	28.4	intermediate	0.66	11043
11	4300(5/57)	2.5	intermediate	0.56	1493
12	5800(12/76)	8.9	segmental	0.10	510

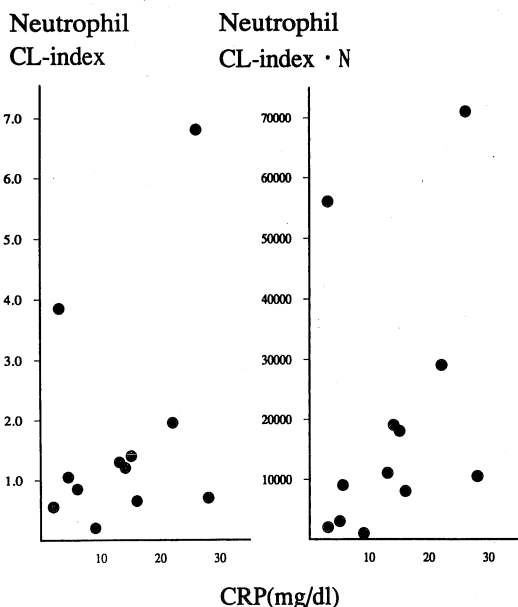


Fig. 6. Relationship between CRP and chemiluminescence before antimicrobial chemotherapy in 12 cases of pneumonia.

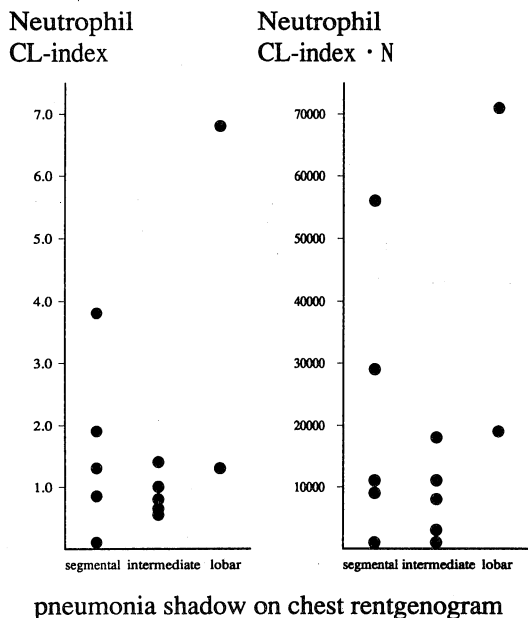


Fig. 7. Relationship between pneumonia shadow on chest rentgenogram and chemiluminescence before antimicrobial chemotherapy.

好中球 CL-index は急性増悪期症例では抗菌化学療法施行前 8 例で 1.0 以上で、安定期症例では 5 例とも 1.0 未満で、安定期で低い傾向を示したが両群間に有意差はなかった。なお数値は示さないが抗菌化学療法施行前に好中球 CL-index が 1.0 以上の群と 1.0 未満の群で年齢、基礎疾患、併用薬剤、起炎菌、CRP、末梢血中好中球数などについて比較したが差はなかった。好中球 CL-index · N は急性増悪期症例では 13 例中 10 例で正常域より高値を、安定期症例は 5 例とも正常域内の値を示し、急性増悪期症例で有意に高値であった ($P < 0.01$)。

2) 急性増悪期症例での好中球 CL-index の推移 (Fig. 9)

抗菌化学療法施行中の好中球 CL-index は 13 例中 9 例で抗菌化学療法施行前に比べて低い値を示した。抗菌化学療法施行後の好中球 CL-index は抗菌化学療法施行中に比べ 8 例で上昇、5 例で低下を示した。

3) 急性増悪期症例での好中球 CL-index · N の推移 (Fig.10)

13 例中 10 例で抗菌化学療法施行前に好中球 CL-index · N は正常域より高値を示し、12 例で抗菌化学療法施行中に好中球 CL-index · N は抗菌化学療法施行前に比べ低い値を示し、抗菌化学療法施行前と施行中とでは有意差がみられた ($P < 0.01$)。抗菌化学療法施行後は 8 例で正常域以下の値を示した。

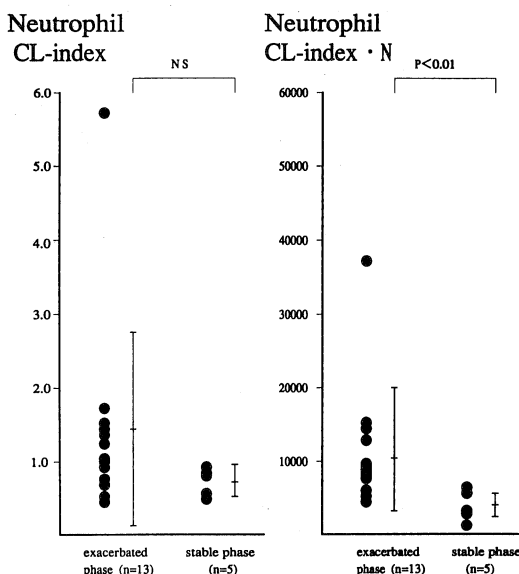


Fig. 8. Neutrophil CL-index and CL-index · N before antimicrobial chemotherapy in patient with the chronic lower respiratory tract infection.

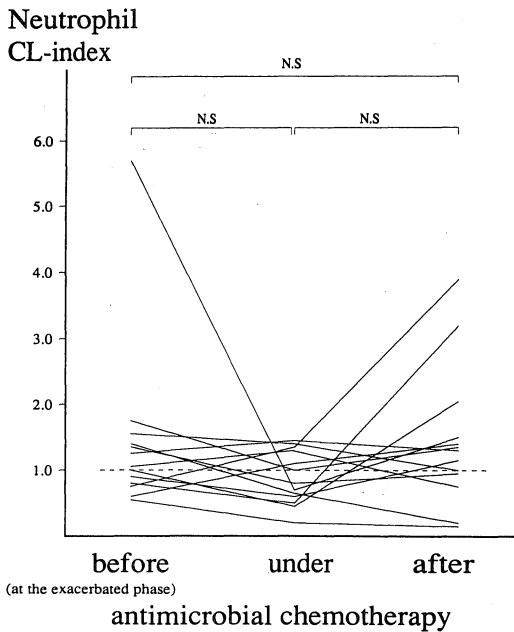


Fig. 9. Changes of neutrophil CL-index in 13 cases of the chronic lower respiratory tract infection during the exacerbated phase.

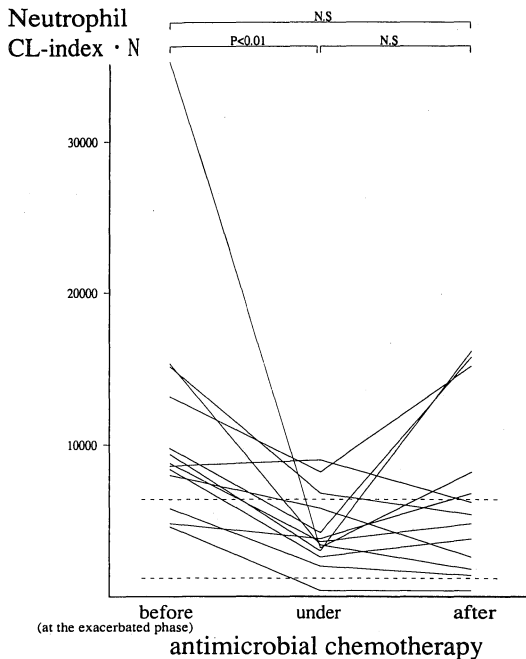


Fig. 10. Changes of neutrophil CL-index · N in 13 cases of the chronic lower respiratory tract infection during the exacerbated phase.

4) 安定期症例での好中球 CL-index の推移(Fig.11)
 抗菌化学療法施行前に比べ抗菌化学療法施行中、施行後に大きな変動はなく、急性増悪期症例の推移に比べ明らかな変動を示さなかった。

5) 安定期症例での好中球 CL-index · N の推移(Fig. 12)

抗菌化学療法施行前、施行中、施行後で正常域内の値を示した。

6) TTA 検出菌別検討

起炎菌種と CL 値との関連をみるために、TTA で慢性下気道感染症の代表的起炎菌である *H. influenzae* を検出した 7 例と *P. aeruginosa* を検出した 5 例について検討したが、好中球 CL-index、好中球 CL-index · N とも両者間で有意差はみられなかった(Fig.13).

3. 全血・好中球 CL 同時測定例における検討

1) 抗菌化学療法開始前の全血と好中球 CL-index (Fig.14)

抗菌化学療法開始前、全血 CL-index は 5.08 ± 4.01 , 好中球 CL-index は 1.84 ± 1.38 と全血 CL-index が有意に高値を示した ($P < 0.05$).

2) 抗菌化学療法開始前後の全血と好中球 CL-index の推移

抗菌化学療法開始後全血 CL-index は抗菌化学療法開始前と比べ有意に低下した ($P < 0.01$) (Fig.15). また好中球 CL-index は抗菌化学療法開始前に比べ抗菌化学療法

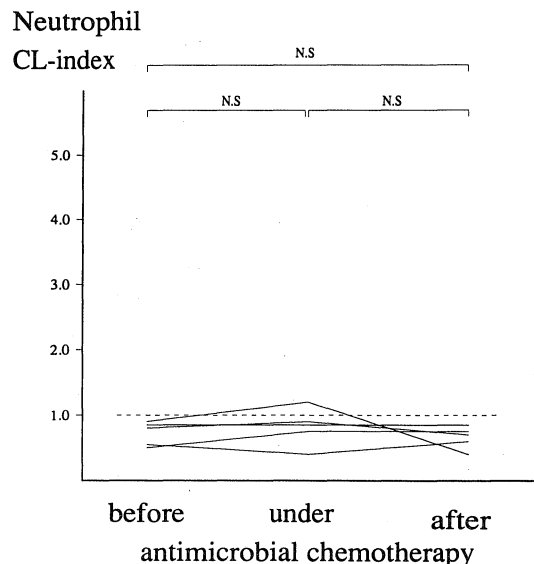


Fig. 11. Changes of CL-index in 5 cases of the chronic lower respiratory tract infection at the stable phase.

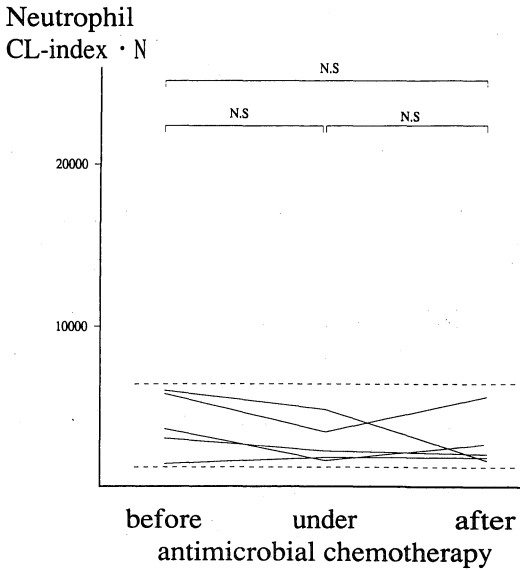


Fig. 12. Changes of CL-index·N in 5 cases of the chronic lower respiratory tract infection at the stable phase.

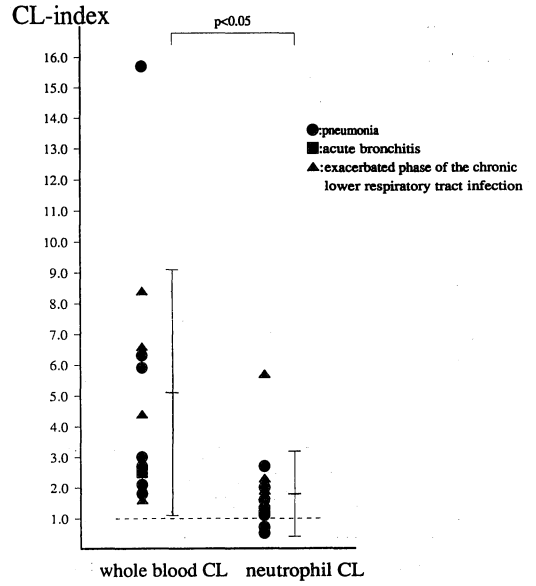


Fig. 14. Whole blood and neutrophil chemiluminescence (CL) before antimicrobial chemotherapy.

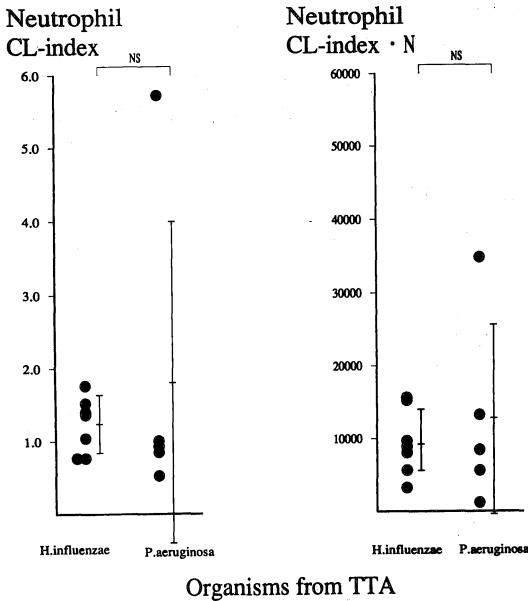


Fig. 13. Relationship between organisms from TTA and chemiluminescence before antimicrobial chemotherapy in 12 cases of the chronic lower respiratory tract infection due to H. influenzae or P. aeruginosa.

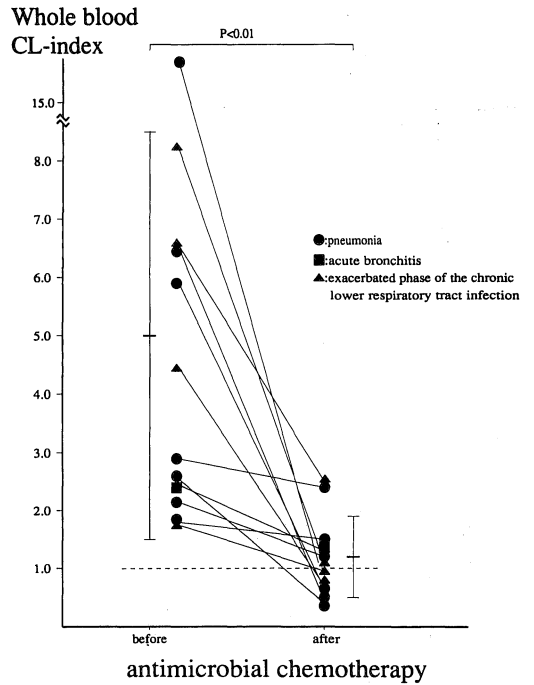


Fig. 15. Changes of whole blood CL-index in 12 cases.

開始後に10例で低下, 2例で軽度上昇がみられたが, 全体として有意に低下した($P < 0.05$) (Fig.16).

3) 全血 CL-index と好中球 CL-index との関係

今回 CL 値を測定した12症例24回では全血 CL-index と好中球 CL-index との間に相関はみられなかつ

たが(Fig.17), 好中球 CL-index と末梢血中好中球数(N)との積である好中球 CL-index・N と全血 CL-index との間に正の相関がみられた($P < 0.01$) (Fig.18).

4) 好中球 CL-index・N の推移 (Fig.19)

抗菌化学療法開始前と開始後とを比べると開始後に有意に低下した($P < 0.01$).

4. 肺癌化学療法時の検討

Neutrophil CL-index

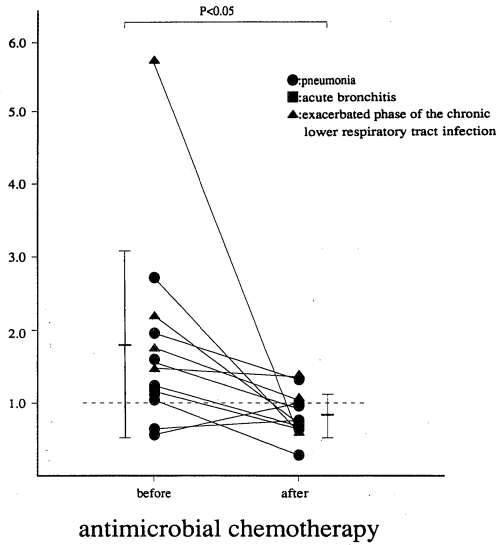


Fig. 16. Changes of neutrophil CL-index in 12 cases.

Whole blood CL-index

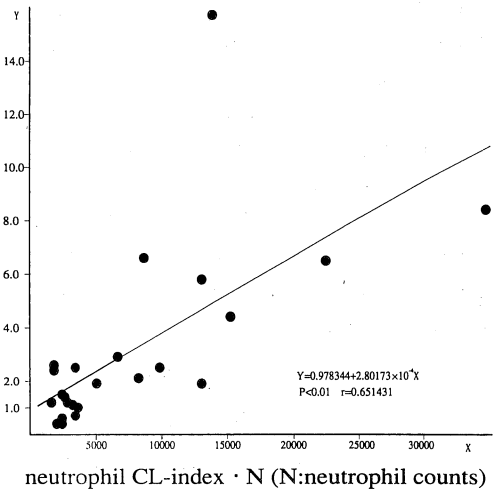


Fig. 18. Relationship between neutrophil CL-index・N and whole blood CL-index.

Whole blood CL-index

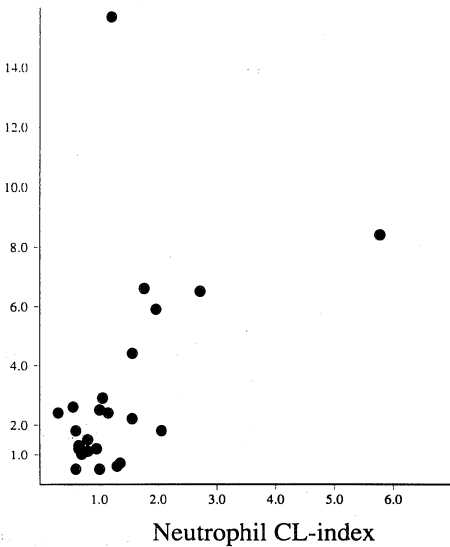


Fig. 17. Relationship between neutrophil CL-index and whole blood CL-index.

Neutrophil CL-index・N (N:neutrophil counts)

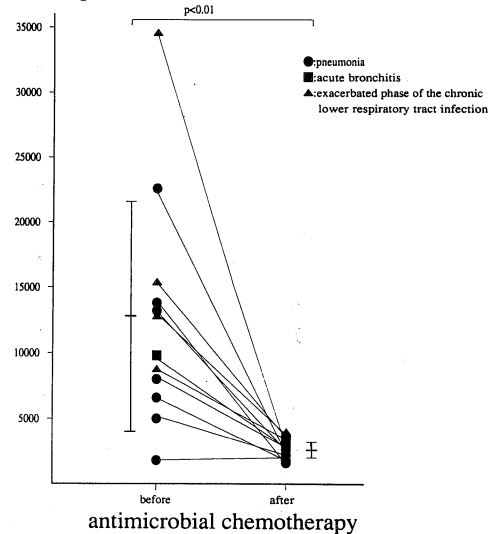


Fig. 19. Changes of neutrophil CL-index・N in 12 cases.

1) 肺癌化学療法施行前, 施行直後の好中球数(Fig. 20), 全血 CL 値(Fig.21), 好中球 CL 値(Fig.22)の推移
 肺癌化学療法施行前, 施行直後で好中球数, 全血 CL 値, 好中球 CL 値とも有意な変化はみられなかった.

2) G-CSF の投与時期と好中球機能との検討

(1)肺癌化学療法施行後直ちに G-CSF の使用を開始した症例での好中球数($P < 0.01$), 全血 CL 値($P < 0.05$), 好中球 CL 値($P < 0.01$)の推移は G-CSF 投与開始後早期(2 ~ 4 日後)の時点ではいずれも有意な上昇を示した. 開始後 5 ~ 7 日の時点では有意な上昇はみられず, G-CSF 投与終了時には好中球数と好中球 CL 値とが開始前に比べ有意な上昇を示した($P < 0.05$)(Fig.23).

(2)好中球減少後から G-CSF 投与を開始した症例での好中球数, 全血 CL 値, 好中球 CL 値の推移を G-CSF 使用開始時好中球数が $1500/\mu\text{l}$ 未満の症例で検討したところ, 好中球数($P < 0.01$)と好中球 CL 値($P < 0.05$)が G-CSF 開始前に比べ開始 5 ~ 7 日後に統計学的に有意な上昇を示したが, 2 ~ 4 日後の時点では有意な上昇はみられなかった(Fig.24).

考 察

近年, Allen²⁾らにより CL 法を用いて好中球機能を測定する方法が考案されたが好中球 CL 値は好中球の活性酸素産生能を反映するとされ, 好中球貪食殺菌能の指標の一つである. 好中球は食細胞として生体の感染防御に

Neutrophil counts

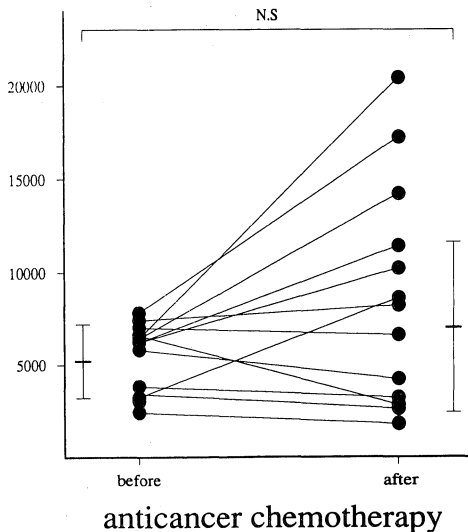


Fig. 20. Changes of neutrophil counts after anticancer chemotherapy.

Whole blood CL-index

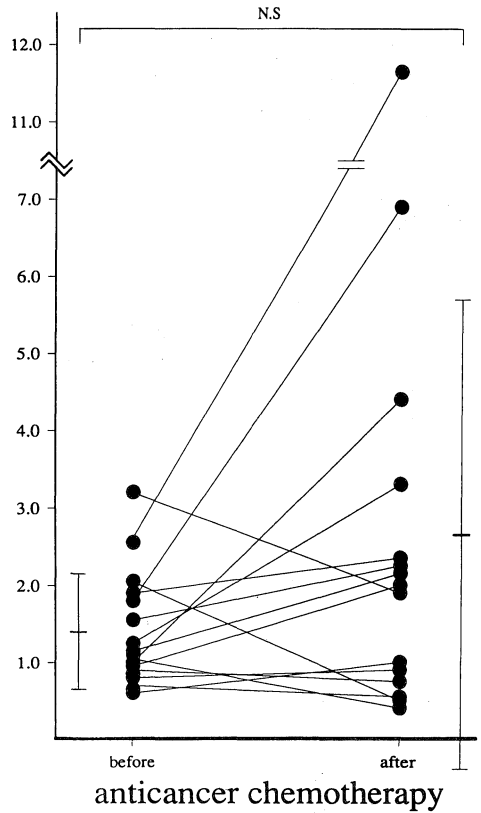


Fig. 21. Changes of whole blood chemiluminescence after anticancer chemotherapy.

Neutrophil CL-index

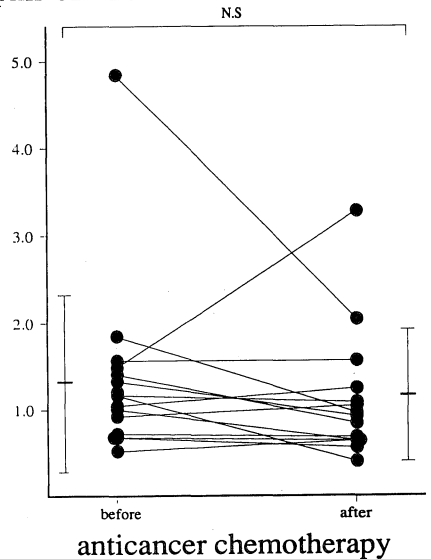


Fig. 22. Changes of neutrophil chemiluminescence after anticancer chemotherapy.

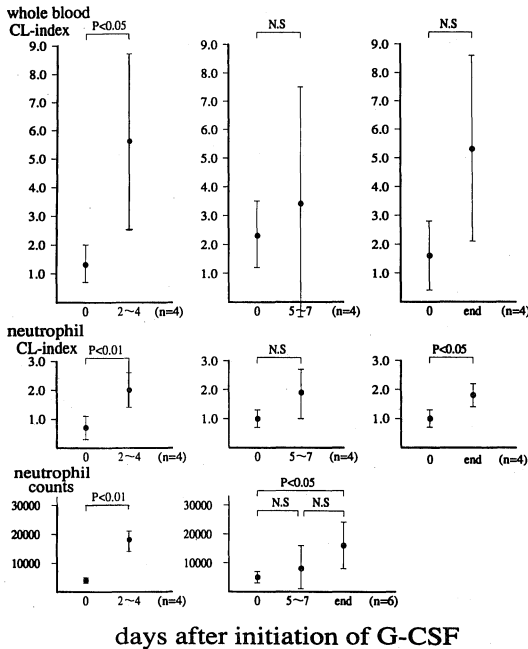


Fig. 23. Comparison of CL-index and neutrophil counts by G-CSF administration.

重要な役割を担っている。感染症発症に生体の非特異的の防御因子として好中球は最も重要で、呼吸器感染症でも同様である。

TTA で起炎菌を同定した細菌性肺炎での好中球機能の推移を CL 法を用いて検討したところ、抗菌化学療法施行前の好中球 CL-index は高値から低値を示すものまでであり一定の傾向はなかったが、抗菌化学療法施行により好中球 CL-index は低下する傾向にあった。さらに好中球 CL-index・N を指標に用いると抗菌化学療法施行前に高値を示し、抗菌化学療法施行により低下する傾向が得られた。また抗菌化学療法施行後の好中球 CL-index は 12 例中 9 例で抗菌化学療法施行中に比べて上昇していた。

好中球の反応は生体の基礎疾患や菌体産物により修飾を受けるが、基礎疾患の影響については進行胃癌で CL 値が低下するという報告³⁾や進行肺癌で活性酸素産生能が低下するという報告⁴⁾がみられる。また菌体産物が CL 値に及ぼす影響については *P. aeruginosa* 産生エラスターゼ、プロテアーゼが CL 値を低下させる⁵⁾が一方菌体成分は CL 値を上昇させる⁶⁾という報告がみられる。急性感染症の好中球の応答にはサイトカインの regulatory network が関与している⁷⁾。その他、好中球反応に影響を及ぼす因子としては種々の薬剤があり、抗菌薬の直接作

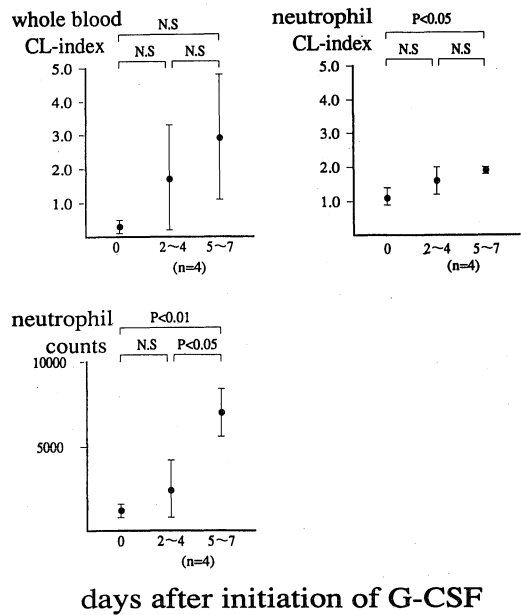


Fig. 24. Comparison of CL-index and neutrophil counts in case of G-CSF treatment initiated at the point of the lowest neutrophil count (<1500/ μ l).

用として好中球 CL 値を高めるのはノルフロキサシオン、セフピゾールなど、低下させるものはアモキシシリン、ミノサイクリン、ドキシサイクリンなどが報告されている^{8)~10)}。他に副腎皮質ステロイド薬投与で CL 値が低下するという報告¹¹⁾、エリスロマイシンの長期投与で活性酸素産生能が低下するという報告¹²⁾などがある。そこで細菌性肺炎で基礎疾患による好中球 CL 値の違いについて検討し、また起炎菌を同定して好中球 CL 値の推移を比較したが、今回の肺炎症例では基礎疾患や起炎菌に特有な CL 値の推移は認められなかった。また CL 値と acute phase reactant の指標である CRP との関連を調べたところ、CRP 値が高いほど好中球 CL-index、好中球 CL-index・N は高値を示す傾向はあったが有意の相関はなく、使用抗菌薬が好中球 CL 値に及ぼす特定の傾向はみられなかった。これらのことから抗菌薬投与中の好中球 CL 値の低下は感染症の改善に伴って出現するものと推察される。

慢性下気道感染症は細菌の持続感染が主体をなしている¹³⁾が、著者ら¹⁴⁾はその病態を喀痰量の変化を指標として安定期と急性増悪期とに分け TTA による細菌学的検討を行ったところ、安定期と急性増悪期とでは検出菌が異なり、安定期では *H. influenzae* と *P. aeruginosa* とが、急性増悪期では *H. influenzae*, *S. pneumoniae* およ

び *Moraxella catarrhalis* が重要であることを報告した。

慢性下気道感染症急性増悪期症例では抗菌化学療法施行前に好中球 CL-index の値は様々であったが 13 例中 9 例で抗菌化学療法施行中に好中球 CL-index は低下した。また好中球 CL-index・N は抗菌化学療法施行前に 10 例で高値を示し、抗菌化学療法施行で低下する傾向があった。起炎菌、年齢、使用薬剤などによる特定の傾向はみられず、急性増悪の改善に伴って CL 値が低下すると考えられた。それに対し安定期症例では抗菌化学療法施行前、施行中、施行後には好中球 CL 値に大きな変化はみられず、好中球 CL 値の推移からは生体が急性増悪期症例とは異なった対応をしていると考えられ、好中球機能からみても急性増悪期と安定期とは病態が明らかに異なることが示唆された。急性増悪期症例で好中球は細菌性肺炎とはほぼ同様に対応しており、好中球機能から慢性下気道感染症で急性増悪は肺炎と同じ急性感染症で、安定期の持続感染とは全く異なった病態であると認識する必要があることを新しく確認した。

急性呼吸器感染症である肺炎、慢性下気道感染症急性増悪期、急性気管支炎症例で全血 CL 値、好中球 CL 値を同時に測定したところ、全血 CL 値は抗菌化学療法開始前に高値を示し抗菌化学療法開始後に全例低下した。好中球 CL 値は抗菌化学療法開始前に比べ開始後有意な低下がみられた。全血 CL 値、好中球 CL 値とも抗菌化学療法開始前に高値を示し、急性感染症に対して生体の感染防御能が高まっていることが示唆された。また開始後に低下したので臨床像の改善とともに生体の感染防御能が正常に戻りつつあると考えられた。

抗菌化学療法開始前の CL 値は好中球 CL-index より全血 CL-index が高値を示し、抗菌化学療法開始後の差も全血 CL-index が大きく変動し、全血 CL 値と好中球 CL 値との動きに差がみられた。このことは抗菌化学療法施行前後で好中球数も変化しており、好中球機能だけでなく好中球数も反映する全血 CL 値の方が変動が大きいと考え、全血 CL 値と好中球 CL 値との関係について検討した。その結果好中球 CL-index と全血 CL-index との間に相関はみられなかったが、好中球 CL-index と末梢血中好中球数(N)との積である好中球 CL-index・N と全血 CL-index との間に正の相関がみられるという新しい知見を得た。

好中球 CL 値は好中球一個当たりの貪食殺菌能を、全血 CL 値¹⁵⁾は一定量の血液当たりの貪食殺菌能を反映する。したがって全血 CL 値は一定量の血液中の主に好中球の数と機能とを反映することになるが、測定に際し赤

血球¹⁶⁾や血漿¹⁷⁾等好中球以外の成分の影響を受けるため注意が必要といわれている。しかし好中球 CL-index・N と全血 CL-index とが相関するという結果からは全血 CL 値測定で血漿成分等好中球以外の成分が全血 CL 値の亢進に対し関与が少ないものと考えられる。

今回の成績から抗菌化学療法に反応して臨床症状の改善がみられる患者の末梢血中好中球では、好中球 CL-index で示される個々の細胞機能は抗菌化学療法施行によってほぼ一定の推移を示すことが判明した。一方好中球 CL-index・N の数値と傾向とが全血 CL-index の数値と傾向とに相関することから宿主は抗菌化学療法施行前に好中球 CL で表される個々の好中球機能の亢進の程度が低い場合でも好中球数を増加することで全好中球機能を高めて急性感染症に対して防衛的に対応している可能性が考えられ、この点から好中球 CL-index・N と全血 CL との測定は有意義であるという新知見を得た。感染防御能の指標として好中球 CL-index・N を用いた報告は芥子川らのラット腹腔内に G-CSF, OK-432 を投与した実験系で腹腔内好中球数とその CL 値とを乗じて宿主好中球機能として使用検討した報告¹⁸⁾、全血 CL 値を用いた報告は芥子川¹⁹⁾の種々の細菌感染症や熱傷についてのもがあり、呼吸器感染症でも感染防御能指標の一つとして全好中球機能を検討することが大切で好中球 CL-index・N と全血 CL 値とが重要な因子であると考えられた。またこれらのことから急性呼吸器感染症に対する抗菌薬の選択に際して、抗菌薬投与で好中球 CL-index・N や全血 CL 値が低下しない場合、in vitro で起炎菌に感受性を有していても臨床的有用性は低いと考えられ、好中球 CL-index・N や全血 CL 値の測定が抗菌薬の生体内での有用性を評価し得る可能性があるという新しい知見を得た。

肺癌患者 15 症例で抗癌化学療法施行時好中球数、全血 CL 値、好中球 CL 値の推移を検討したところ抗癌化学療法施行直後の時点では副腎皮質ステロイド薬の投与の影響もあり好中球数が明らかに減少する症例は少なく全血 CL 値、好中球 CL 値も有意な変化はみられなかった。抗癌化学療法施行後の経過を追えた 13 コースを検討したところ、好中球数の減少に伴って全好中球機能を反映する全血 CL 値の低下がみられた。G-CSF の使用で最終的に好中球数のみでなく全血 CL 値、好中球 CL 値とも上昇(回復)することを認めた。しかし G-CSF 投与時期により回復の度合いに差がみられ、早期から G-CSF を使用した方が CL 値低下の程度が少なく感染防御の観点から有益と考えられた。また単に好中球数だけでなくその機能上からも感染防御能の検討ができる CL 値測定は有

用と考えられた。

以上に述べたように呼吸器疾患，特に呼吸器感染症を中心に好中球機能の実態を明らかにした。好中球機能には *in vivo* で様々な因子の影響が考えられるが，各疾患あるいは病態により好中球機能がある一定の規則をもって合目的に推移している可能性が示された。

結 語

呼吸器疾患の好中球機能を検討する目的で化学発光 (chemiluminescence, CL) 法による好中球機能測定を行った。

1) 肺炎症例での検討

細菌性肺炎 12 例の好中球 CL 値を測定した。

(1) 抗菌化学療法施行前の好中球 CL-index は対照に比べ高値 6 例，低値 6 例であった。

(2) 抗菌化学療法施行前に比べ 11 症例で抗菌化学療法施行中に好中球 CL-index の低下がみられた。

(3) 好中球 CL-index \cdot N は 9 症例で抗菌化学療法施行前に高値を示し，感染症の改善と共に低下した。

2) 慢性下気道感染症症例での検討

慢性下気道感染症 18 症例 (急性増悪期 13 例，安定期 5 例) での好中球 CL 値を測定した。

(1) 抗菌化学療法施行前好中球 CL-index は安定期症例に比べ，急性増悪期症例では高値を示す傾向を示したが有意差はなかった。好中球 CL-index \cdot N は急性増悪期例で有意に高値を示した。

(2) 急性増悪期症例では抗菌化学療法施行前に比べ 9 症例で抗菌化学療法施行中に好中球 CL-index の低下がみられた。好中球 CL-index \cdot N は 10 症例で抗菌化学療法施行前に高値を示し，急性増悪の改善とともに低下した。

(3) 安定期症例では好中球 CL-index，好中球 CL-index \cdot N とも抗菌化学療法による変動が小さかった。

3) 急性呼吸器感染症における全血・好中球 CL 値同時測定例における検討。

急性呼吸器感染症 12 症例 (肺炎 7 例，慢性下気道感染症急性増悪期 4 例，急性気管支炎 1 例) の全血 CL 値，好中球 CL 値を同時に測定した。

(1) 抗菌化学療法開始前，全血 CL 値，好中球 CL 値は高値を示し，開始後に低下したが，開始前全血 CL 値は好中球 CL 値より高値を示し抗菌化学療法開始前後も大きな変動を示した。

(2) 好中球 CL-index \cdot N と全血 CL-index との間で相関がみられた。

4) 肺癌化学療法時における検討

肺癌 15 症例の抗癌化学療法時に全血 CL 値，好中球

CL 値を測定した。

(1) 抗癌化学療法施行直後には CL 値の有意な変動はみられなかったが，好中球数減少に伴い全血 CL 値の低下がみられた。

(2) G-CSF にて好中球数だけでなく全血 CL 値，好中球 CL 値の回復がみられたが，G-CSF の投与時期により CL 値の回復に差がみられた。

以上から，呼吸器疾患において CL 法は感染症の病態を知るうえで有用であり，また抗癌化学療法時の生体の感染防御能を知るうえで有用であるという新しい知見を得た。

本研究の要旨は第 64 回日本感染症学会総会 (松山 1990 年)，第 32 回日本胸部疾患学会総会 (札幌 1992 年)，第 33 回日本胸部疾患学会総会 (横浜 1993 年)，第 34 回日本肺癌学会総会 (東京 1993 年)，第 68 回日本感染症学会総会 (長崎 1994 年) において発表した。

稿を終えるにあたり，御指導，御校閲をいただきました第 2 内科学教室成田亘啓教授に心より感謝の意を表しますとともに，御校閲賜った細菌学教室榎葉周三教授ならびに病態検査学教室中野 博教授に深謝いたします。また，日々の研究にあたり直接御指導いただいた第 2 内科学教室澤木政好助教授，三笠桂一助手ならびに御助言御助力を戴いた細菌学教室喜多英二助教授に心から感謝いたします。また，本研究を御援助下さった第 2 内科学教室，細菌学教室諸兄姉に感謝の意を表します。

文 献

- 1) 税田直樹，相良孝昭，吉永 秀：好中球。呼吸 8: 404-409, 1989.
- 2) Allen, R. C., Stjernholm, R. L. and Steele, R. H.: Evidence for the generation of an electronic excitation state (s) in human polymorphonuclear leukocytes and its participation in bactericidal activity. *Biochem. Biophys. Res. Commu.* 47: 679-684, 1972.
- 3) 平野達雄，中山博司，田淵純宏，石井俊世，下山孝俊，三浦敏夫，富田正夫，辻 芳郎：Chemiluminescence 測定による多核好中球機能の検討—特に担癌患者を中心として。日臨免誌。6: 175-185, 1983.
- 4) 朝長昭光：肺癌患者における好中球 Superoxide 産生能—とくに化学療法，放射線療法の影響について。

- 肺癌 26: 245-258, 1986.
- 5) Kharazmi, A., Høiby, N., Döring, G. and Valerius, N. H.: *Pseudomonas aeruginosa* exo-proteases inhibit human neutrophil chemiluminescence. *Infect. Immun.* 44: 587-591, 1984.
 - 6) Pedersen, S. S., Kharazmi, A., Espersen, F. and Høiby, N.: *Pseudomonas aeruginosa* alginate in cystic fibrosis sputum and the inflammatory response. *Infect. Immun.* 58: 3363-3368, 1990.
 - 7) 湯尾 明: 好中球機能とサイトカイン. 血液・腫瘍科 23: 56-64, 1991.
 - 8) 国井乙彦: 抗生物質と食細胞<内科懇話会において>. 日本医事新報 3449: 3-15, 1990.
 - 9) Duncker, D. and Ullmann, U.: Influence of various antimicrobial agents on the chemiluminescence of phagocytosing human granulocytes. *Chemotherapy* 37: 1282-1289, 1989.
 - 10) 八木田旭邦, 織田 俊, 立川 勲, 桂 卓也, 緒方 幸雄, 村田定三, 奥西昌彦: 癌患者の術後好中球機能に対する cefpimizole, latamoxef 投与の影響について. *Chemotherapy* 37: 1282-1289, 1989.
 - 11) 吉川敏一: 活性酸素とステロイド・ステロイドの作用. *Scope* 30: 20-21, 1991.
 - 12) 木村郁郎, 多田慎也, 入江正一郎, 白石高昌, 難波次郎: エリスロマイシンの長期投与の有効性に関する検討—DPB を中心に. 1989 年びまん性肺疾患調査研究. p110-113, 1989.
 - 13) 澤木政好, 三上理一郎, 国松幹和, 三笠桂一, 成田 亘啓, 播金 収: 慢性下気道感染症における細菌感染の実態—経時的経気管吸引法 (TTA) 施行例の検討から. 感染症誌. 63: 369-375, 1989.
 - 14) 古西 満, 澤木政好, 三笠桂一, 竹内章治, 柳生善彦, 前田光一, 濱田 薫, 国松幹和, 成田 亘啓, 佐野麗子, 増谷喬之: 慢性下気道感染症における細菌感染の検討—急性感染と慢性感染の観点から. 感染症誌. 65: 1593-1599, 1991.
 - 15) Kato, T., Wokalek, H., Schöpf, E., Eggert, H., Ernst, M., Rietschel, E. Th. and Fischer, H.: Measurement of chemiluminescence in freshly drawn human blood. *Klin. Wochenschrift.* 59: 203-211, 1981.
 - 16) Heberer, M., Ernst, M., Düring, M., Allgöwer, M. and Fischer, H.: Measurement of chemiluminescence in freshly drawn human blood. *Klin. Wochenschrift.* 60: 1443-1448, 1982.
 - 17) Faden, H. and Maciejewski, N.: Whole blood luminol-dependent chemiluminescence. *J. Reticuloendothelial. Soc.* 30: 219-226, 1981.
 - 18) 芥子川逸和, 佐治重豊, 種村広巳, 高橋治海, 金田成宗, 河合雅彦: OK-432 と G-CSF を用いた担癌ラット好中球の抗腫瘍活性増強効果に関する検討. *Biotherapy* 5: 1038-1043, 1991.
 - 19) 斧 康雄, 国井乙彦: 食細胞と chemiluminescence—全血化学発光の感染症への臨床応用. 腫瘍と感染 2: 233-237, 1989.