

たばこによる肺障害と慢性閉塞性肺疾患

別役 智子*、西村 正治*

はじめに

我が国は高齢化社会を迎え、高齢者の呼吸器疾患への対策は、その予防、治療の面からも重要な課題である。肺は常に外気と接する特殊な臓器であり緻密な生体防御系が確立されているが、多くの肺疾患は病原微生物、粉塵、喫煙などの外的侵襲に対する防御機構の破綻により引き起こされると考えられている。慢性閉塞性肺疾患 chronic obstructive pulmonary disease (COPD) は、長年の喫煙歴を持つ中高年者に発症し、呼吸器感染症を高率に併発し、慢性呼吸不全に至る疾患である。WHOによると、2020年には全世界的に死因の第三位になることが予測され、中高年の喫煙率が依然として高い本邦においても、今後急速な患者数の増加が予測されている。我々は一貫して、COPDの2大リスクファクターである「加齢」と「喫煙」が肺の生体防御機構へ及ぼす影響について注目し、臨床と基礎研究の両面から独自のアプローチを用いてCOPDの病態解明に関する一連の研究を行ってきた。これらは、COPDの病態、さらに生体防御機構破綻の機序の一端を明らかにし、高齢者呼吸器疾患の予防、さらには治療戦略における新たな展開につながるものと確信する。

慢性閉塞性肺疾患の発症機序に関する仮説

COPDの発症機序は、喫煙により誘導される炎症細胞から放出されるプロテアーゼとそれに対する生体側の防御因子の不均衡で説明されてきた。弾性繊維(エラスチン)だけではなく、肺の細胞外マトリックスを構成するコラーゲンを

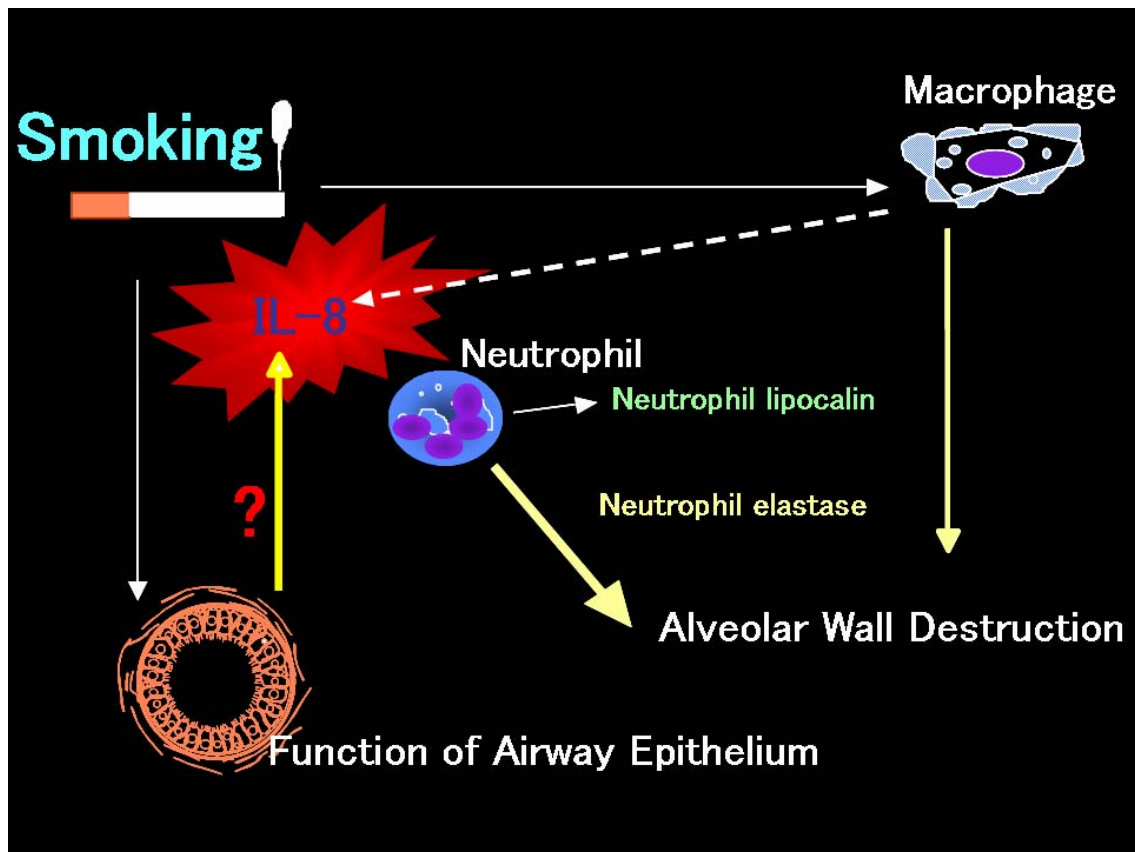
も溶解して肺弾性収縮力を損なうという説である。近年、肺内に存在する多くのプロテアーゼと、それぞれのインヒビターが次々と発見されてきた。しかし、それぞれのプロテアーゼの相対的重要性については未だ議論が多い。たばこ煙の成分は、数千種類の化学物質からなり、その中には高濃度の活性酸素が含まれている。それ自体が肺の細胞に障害性があることに加え、喫煙により肺内に集積する好中球やマクロファージなどの炎症細胞が活性酸素の源となりうる。これらの酸化ストレスに対して、生体も防御反応としてのアンチオキシダント機能を有する。これらの不均衡もまたCOPD発症を説明する有力な仮説である。

高分解能CT(HRCT)は肺気腫病変を鋭敏に反映し、臨床症状が明らかになる以前の早期のCOPD患者を検出する¹⁾。中高年者ボランティアの中で、肺気腫を有する喫煙者と、同程度に喫煙歴がありながら肺気腫病変が全く認められない同年齢喫煙者を対象とすることによって、喫煙に対する疾患感受性が強い者の特徴を見出すことができる。この研究手法のメリットは、COPDの初期段階にある喫煙者を対象としているため病初期に起こっている肺内の特徴を明らかにすることができることにある。

気管支肺胞洗浄による肺胞被覆液および肺胞マクロファージの解析

気管支肺胞洗浄(BAL)は肺における細胞学および生化学的評価のため臨床、研究の場に広く用いられている検査である²⁾。我々は、一連の研究においてsequential BAL法を用いている。これは右中葉の亜区域枝の1本に気管支鏡

* 北海道大学大学院医学研究科



を挿入したうえで、生理食塩水を 50 ml ずつ 4 回に分けて注入し回収する方法である。最初の 1 回の回収液は太い気道から得られた成分を多く含むため別にして、残り 3 回分の回収液のみ肺泡領域成分をより反映していると想定して処理する手法である。遠心分離により BAL 液上清を分離後、細胞成分について細胞数、細胞分画を算出した。喫煙者に対しては、急性喫煙の影響を除外するため検査前 12 時間は禁煙とした。

気管支肺泡洗浄液中プロテアーゼと エラスチン分解産物の検討

我々は肺に存在する各種プロテアーゼの中で、特にエラスチン分解能の高い好中球エラスターゼに着目した。肺泡マクロファージは細胞外に存在する好中球エラスターゼを取り込みその活性を保持したまま放出するという機能を有する。HRCT 上、肺気腫を有する喫煙者（早期あるいは軽症肺気腫患者）では、肺気腫病変がないことを確認された健常喫煙者に比べ、肺泡マクロフ

ァージ内に存在する好中球エラスターゼ活性は高く、マクロファージからの好中球エラスターゼ放出量も亢進していた³⁾。同対象の BAL 液の解析を行ったところ、患者群では好中球エラスターゼ量が増加していた⁴⁾。一方、肺内に存在する別のクラスのプロテアーゼであるカテプシンにも注目し同様の検討を行った。しかし、カテプシン B、カテプシン L の蛋白量や活性は早期あるいは軽症肺気腫患者と健常喫煙者の間で顕著な差異はなかった。とりわけ、好中球エラスターゼとの差異は 60 歳未満の被験者で明らかだった⁵⁾。

我々は BAL 施行後平均 4.2 年間にわたり呼吸機能の変化を追跡した。BAL 液中の好中球エラスターゼ量が高値を示した群は、低値を示した群に比べ 1 秒量の経年的低下がより大きかった⁶⁾。次に我々は、このような患者群における好中球の活性化に関心をもち、好中球に特異的な複数の蛋白を BAL 液中で測定することを試みた。human neutrophil lipocalin (HNL) は、

好中球の二次顆粒に特異的に存在する 25 kDa の蛋白である。ELISA による定量法を開発したスウェーデンの Dr. Venge らとの共同研究により、早期あるいは軽症肺気腫患者では BAL 液中 HNL 濃度が有意に高いことを示した。さらに、matrix metalloproteinases (MMP) の中で好中球特異的な MMP-8 (neutrophil collagenase) も同様に患者群で上昇していることを明らかにした⁷⁾。加えて、BAL 液中 MMP-9 (gelatinase B) については、同様に BAL 液中で高いばかりではなく、HNL との複合体の存在を証明することによって、MMP-9 の少なくとも一部が好中球由来であることを示した⁷⁾。MMP-9 は炎症細胞の浸潤⁸⁾⁹⁾、リモデリング等、多彩な病態において重要な役割を果たしていることが知られ、近年注目を集めている。我々は MMP 誘導蛋白のひとつである extracellular matrix metalloproteinase inducer (basigin/EMMPRIN) に注目し、肺における生理的、病的役割について初めて検討した。ヒト BAL 液中の basigin/EMMPRIN を定量する目的で、高感度 ELISA 法を確立し、各種病態における basigin/EMMPRIN の存在と MMPs との関係について検討した。BAL 液中 basigin/EMMPRIN 濃度は、喫煙者では肺気腫病変の有無に関わらず高値を示した¹⁰⁾。

一方、我々は肺エラスチンの破壊を生化学的に定量する方法にも取り組んだ。エラスチンは架橋構造をもつ不可溶性の蛋白であり、この蛋白の破壊が肺気腫病変をきたす。生体内でのエラスチン分解産物 elastin-derived peptide (EDP) の存在様式は異なる酵素分解のプロセスを反映し、様々な大きさの分子に可溶化されている。ペンシルバニア大学 Dr. Weinbaum らは、ヒト肺エラスチン線維を好中球エラスターゼにより可溶化した EDP を抗原としてポリクロナル抗体を作成した。我々はその抗体の供与を受け、BAL 液中の EDP の定量を可能にする ELISA 法を確立した。BAL 液中の EDP は同液中の好中球エラスターゼ量、好中球エラスターゼ活性と有意な相関関係にあることを示した¹¹⁾。この事実から、喫煙者におけるエラスチンの分解亢進が、

肺内の好中球エラスターゼと関係していることが間接的に示唆された。

慢性閉塞性肺疾患の病態における好中球 活性化因子インターロイキン-8 の役割

これまで述べた早期あるいは軽症肺気腫患者における好中球関与の証拠は BAL 液中の白血球数の増加が認められないにもかかわらず得られたものであった。実際、患者群、健常喫煙者群とも BAL 液中好中球は全細胞の 1% 未満であり、両群間に差異はなかった¹⁰⁾。一方、BAL 液中の細胞で非喫煙者と比べて明らかに増えているのは肺胞マクロファージであったが、これも患者群と健常喫煙者間には有意差はなかった。つまり、BAL 液中の細胞数の差異では肺気腫をきたす者とそうではない者の区別ができない。これらの成績を通じて、肺気腫あるいは COPD の発病早期には BAL 液中の細胞数には反映されない肺内の好中球集積や活性化が病因として重要ではないかとの発想に至った。CXC ケモカインのひとつで強力な好中球遊走能をもつ interleukin-8 (IL-8) にとくに注目した。これまでの検討と同様の中高年者を対象とした検討において、BAL 液中の IL-8 は患者群で増加しており、しかも同液中の好中球エラスターゼとも正の相関があった¹²⁾。一方、ほかの好中球遊走因子である ENA78 や LTB-4 ではこの関係は見られなかった。次に、BAL 液中 IL-8 増加に関与する細胞として肺胞マクロファージに着目した。しかし、予想に反して喫煙者のマクロファージは非喫煙者のマクロファージと比較して IL-8 の放出能が有意に低下しており、しかも、患者群と健常喫煙者群との間にも全く差異はなかった¹²⁾。

おわりに

我々の成績は喫煙者にみられる BAL 液中好中球エラスターゼ量、IL-8 量における個体差が疾患感受性と関連している可能性を示唆する。肺気腫あるいは COPD のように長年の喫煙によって起こる病気の病因・病態を考える際には、こ

のように喫煙の影響を一面的にみるのではなく、加齢の影響や喫煙期間の影響を加味して考えることが大切である。

文 献

- 1) Betsuyaku T, Yoshioka A, Nishimura M, Miyamoto K, Kawakami Y. Pulmonary function is diminished in older asymptomatic smokers and ex-smokers with low attenuation areas on high-resolution computed tomography. *Respiration* 1996; 63: 333-8.
- 2) Soler N, Ewig S, Torres A, Filella X, Gonzalez J, Zaubet A. Airway inflammation and bronchial microbial patterns in patients with stable chronic obstructive pulmonary disease. *Eur Respir J* 1999; 14: 1015-22.
- 3) Betsuyaku T, Yoshioka A, Nishimura M, Miyamoto K, Kondo T, Kawakami Y. Neutrophil elastase associated with alveolar macrophages from older volunteers. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 151: 436-42.
- 4) Yoshioka A, Betsuyaku T, Nishimura M, Miyamoto K, Kondo T, Kawakami Y. Excessive neutrophil elastase in bronchoalveolar lavage fluid in subclinical emphysema. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 152: 2127-32.
- 5) Takeyabu K, Betsuyaku T, Nishimura M, Yoshioka A, Tanino M, Miyamoto K, Kawakami Y. Cysteine proteinases and cystatin C in bronchoalveolar lavage fluid from subjects with subclinical emphysema. *Eur Respir J* 1998; 12: 1033-9.
- 6) Betsuyaku T, Nishimura M, Takeyabu K, Tanino M, Miyamoto K, Kawakami Y. Decline in FEV(1) in community-based older volunteers with higher levels of neutrophil elastase in bronchoalveolar lavage fluid. *Respiration* 2000; 67: 261-7.
- 7) Betsuyaku T, Nishimura M, Takeyabu K, Tanino M, Venge P, Xu S, Kawakami Y. Neutrophil granule proteins in bronchoalveolar lavage fluid from subjects with subclinical emphysema. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 159: 1985-91.
- 8) Betsuyaku T, Shipley JM, Liu Z, Senior RM. Neutrophil emigration in the lungs, peritoneum, and skin does not require gelatinase B. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1999; 20: 1303-9.
- 9) Betsuyaku T, Liu F, Senior RM, Haug JS, Brown EJ, Jones SL, Matsushima K, Link DC. A functional granulocyte colony-stimulating factor receptor is required for normal chemoattractant-induced neutrophil activation. *J Clin Invest* 1999; 103: 825-32.
- 10) Betsuyaku T, Tanino M, Nagai K, Nasuhara Y, Nishimura M, Senior RM. Extracellular matrix metalloproteinase inducer is increased in smokers' bronchoalveolar lavage fluid. *Am J Respir Crit Care Med* 2003; 168: 222-7.
- 11) Betsuyaku T, Nishimura M, Yoshioka A, Takeyabu K, Miyamoto K, Kawakami Y. Elastin-derived peptides and neutrophil elastase in bronchoalveolar lavage fluid. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 154: 720-4.
- 12) Tanino M, Betsuyaku T, Takeyabu K, Tanino Y, Yamaguchi E, Miyamoto K, Nishimura M. Increased levels of interleukin-8 in BAL fluid from smokers susceptible to pulmonary emphysema. *Thorax* 2002; 57: 405-11.