

## 健常重喫煙者の喀痰細胞検査と肺機能の検討 —— 喀痰中マクロファージ, 総細胞数の解析 ——

菊 地 和 彦

東京医科大学内科第一講座  
(指導: 大屋敷一馬主任教授)

**【要旨】** 愁訴に乏しい喫煙者から慢性閉塞性肺疾患 Chronic obstructive pulmonary disease の危険因子をもつグループを予測できるならば喫煙による肺疾患の予防に大きく貢献するものと思われる。今回我々は、同一職場における heavy smoker を喀痰細胞分析により喀痰中のマクロファージのパーセンテージと呼吸機能との相関を解析し、喀痰細胞分析の有用性について検討した。対象は、愁訴に乏しく、胸部 X 線検査で異常を認めない 104 人の heavy smoker である。104 人中 1 秒率が 70% 以上 80% 未満の 20 人では、喀痰中のマクロファージの比率と 1 秒率が、 $r = -0.60$  ( $P < 0.01$ ) と有意な負の相関を認めた。喀痰中の総細胞数と %V25 が、 $r = -0.50$  ( $P < 0.05$ ) と負の相関を認めた。健常喫煙者の呼吸機能を評価するために、喀痰中のマクロファージと総細胞数の分析が有用と思われた。

### はじめに

現在、喫煙者に対する禁煙指導に、多くの臨床医の参加を得ているとは言い難い。その原因としては、簡単に利用し易い明確な指標が一般化していない点が大いと思われる<sup>1)2)</sup>。また呼吸器科の医師の視点からは、日常的に使われている呼吸機能検査の他に愁訴に乏しい喫煙者に喫煙に関連したパラメーターを提示することが望ましい。

### 対象と方法

#### 1) 対象

早朝の咳、喀痰以外は愁訴がなく、胸部 X 線検査上異常がない 104 人の男性喫煙者を対象とし文書にてインホームドコンセントをえた。(51 歳から 52 歳, BI 600 以上, 同一職場, 喀痰細胞診正常) 同一職場の 14 人の COPD の症例 (50 歳から 59 歳, 現在は非喫煙者), 8 人の健常非喫煙者についても検討した (52 歳か

ら 55 歳)。

#### 2) 方法

これらの被験者の ① 血清 cotinine 値 ② BI (Brinkman index) ③ FTQ (Fagerstrom Tolerance Questionnaire) 依存度指数 ④ 喀痰細胞分析 ⑤ 肺機能検査を行った。50 歳以下の喫煙者は肺気腫を発症した場合、若年性肺気腫と定義されるため今回の対象から除外した<sup>30)</sup>。加齢による肺機能への影響を考慮し、51 歳から 52 歳を対象とした。肺機能検査は Chestac-11 (ローリングシール型) 座位で行った。血清 cotinine 値は、ガスクロマトグラフにより測定した (測定感度: 20 ng cotinine/ml)<sup>28)29)</sup>。喀痰の分析は、YM 式喀痰固定液を使用し、3 日間の蓄痰により検体とした。① メスシリンダーで検体量を計り、喀痰の量を求めた。② 次に沈査を希釈しよく攪拌した後、Burker-Turk 型計算盤で炎症性細胞数の総数をカウントした。③ Pap スメアを二枚作成し、油浸レンズで炎症性細胞 500 個以上を検鏡し、細胞分画を解析した。COPD, 健常非喫

2001 年 11 月 15 日受付, 2001 年 12 月 19 日受理

キーワード: 喀痰細胞分析, マクロファージ

(別刷請求先: 〒 160-0023 東京都新宿区西新宿 6-7-1 東京医科大学内科第一講座 菊地和彦)  
03(3342)6111 内線 5895 FAX 03(5381)6651

煙者は、喀痰細胞分析と肺機能検査を行った。

3) 統計学的検討

結果は mean±SD で表し、統計学的検定には Bartlett test を用い、有意水準 5% 未満をもって有意差ありと判定した。

結 果

呼吸機能を詳しく解析するため FEV1.0% が 70~80%, 80~90%, 90~100% の 3 グループに分けて検討した (Table 1, Table 2). Smoker subjects characteristics については、FEV1.0% が 70~80% のグループを 80~90%, 90~100% のグループとそれぞれ比較した。

FEV1.0% が 80~90%, 90~100% のグループでは、喀痰中のマクロファージの比率と FEV1.0% に相関を認めなかったが、FEV1.0% が 70% 以上 80% 未満の 20 例では、① 喀痰中のマクロファージの比率と FEV1.0% が、 $r = -0.60$  ( $P < 0.01$ ) と負の相関を認めた。(Fig 1) ② 喀痰中のマクロファージの比率と FEV1.0, 喀痰中のマクロファージの比率と  $\dot{V}50/\dot{V}25$ , % $\dot{V}25$  はいずれのグループでも相関を認めなかった。⑤ 血清 cotinine 値と喀痰中のマクロファージの比率は、

Table 1 Characteristics of asymptomatic heavy smokers

FEV1.0%	70~80% group	80~90% group	90~100% group
Number of Subjects	20	65	19
FEV1.0%	76.4±3.0	85.6±2.4	92.7±3.0
Brinkman Index (N.S.)	867±220	858±265	884±270
BI×Nicotine content per cigarette (P<0.05)	609±309	596±311	701±517
Serum cotinine ng/ml (N.S.)	274±133	259±124	308±111
FTQ (P<0.05)	4.7±1.5	4.4±1.3	4.9±2.1
Macrophage (%) (N.S.)	18.8±13.8	13.4±11.4	13.5±9.4
Neutrophil (%) (P<0.05)	78.9±15.0	85.8±11.2	86.4±5.9
Total cell counts 10 <sup>6</sup> /ml (P<0.05)	3.75±2.71	4.81±5.06	3.89±5.28

(Means±SD)

FEV1.0% が 70% 以上 80% 未満の 20 例で  $r = 0.40$  と正の相関傾向を認めた。(Fig 2) ⑥ 喀痰中のマクロファージの比率と好中球の比率は  $r = -0.997$  と著明な負の相関を認めた。⑦ 喀痰の総細胞数と % $\dot{V}25$  が  $r = -0.50$  ( $P < 0.05$ ) と負の相関を認めた。(Fig 3)

症例全体の解析では、BI と FTQ は  $r = 0.15$  と相関を認めなかったが、BI が 800 以上のグループに高度の依存症が多かった。BI×タバコ 1 本中の nicotine 含有量と FTQ は  $r = 0.540$  ( $P < 0.001$ ) と正の相関を認めた。(Fig 4)

COPD の症例では、喀痰中のマクロファージの比率

Table 2 Relationships between the percentage of macrophages in sputum and clinical data

	FEV1.0%	FEV1.0	$\dot{V}50/\dot{V}25$
FEV1.0% 70~80% group (n=20) Macrophage (%)	$r = -0.60$ ( $P < 0.01$ )	$r = 0.09$	$r = -0.07$
FEV1.0% 80~90% group (n=65) Macrophage (%)	$r = 0.127$	$r = -0.134$	$r = 0.051$
FEV1.0% 90~100% group (n=19) Macrophage (%)	$r = 0.232$	$r = -0.024$	$r = 0.344$
Total (n=104)	$r = -0.179$	$r = -0.134$	$r = 0.094$

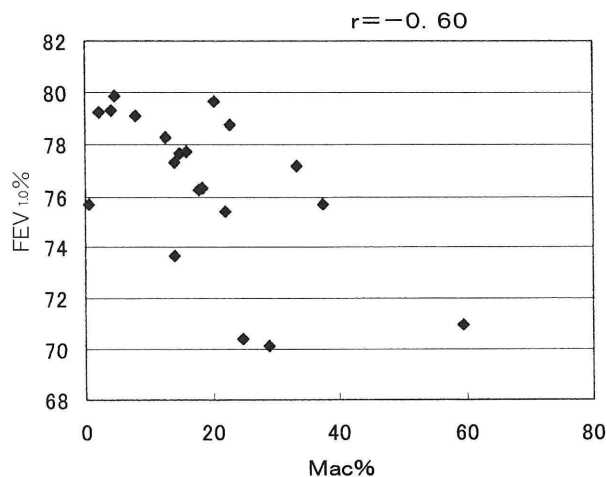


Fig. 1 Correlation between the percentages of sputum macrophages and FEV1.0% in the FEV1.0% 70-80% group

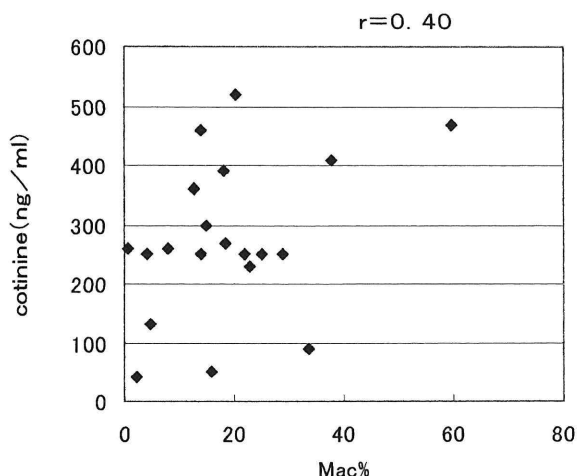


Fig. 2 Correlation between the percentages of sputum macrophages and serum level of cotinine in the FEV<sub>1.0%</sub> 70-80% group

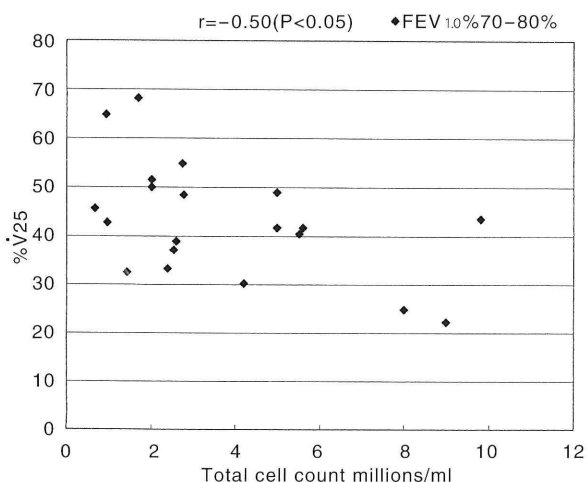


Fig. 3 Correlation between the total cell counts of sputum and %V<sub>25</sub>

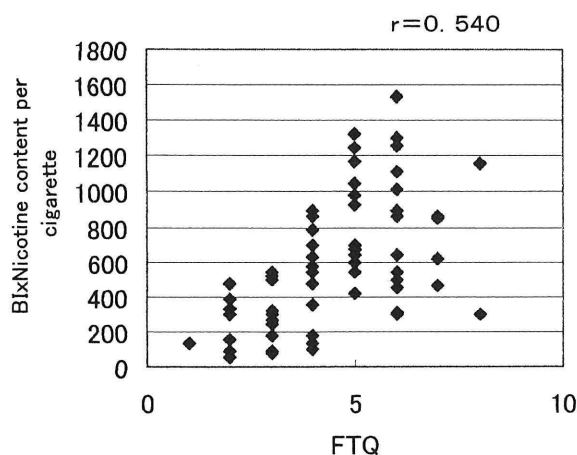


Fig. 4 Correlation between FTQ and BlxNicotine content per cigarette in all subjects

と呼吸機能との間に有意な相関はみられなかった。(Table 3)

### 考 察

喫煙者のうちで COPD にいたるのは 20% 程度で、1 秒率が低く N<sub>2</sub> slope が高い 50 歳代の喫煙者の一部が COPD を発症するリスクの高い感受性のある喫煙者であったと報告されている<sup>4)</sup>。COPD の成因としては、マクロファージを主体とした報告が多くみられる<sup>11)20)~23)</sup>。慢性喫煙によりマクロファージは肺に集積し、その数は好中球よりはるかに多い。喫煙者の肺組織で肺泡マクロファージの集積の程度と気腫病変の程度が相関することも報告されている<sup>22)</sup>。マクロファージを成因とすることに否定的な文献では<sup>12)~15)19)</sup>、COPD にいたる群と COPD にいたらなかった群を比較し、両者の検体中の細胞数と細胞分画に差がないことを根拠としている。今回の検討では、呼吸機能検査と喀痰中のマクロファージの比率を詳しく解析した結果、一秒率が 70% 以上 80% 未満のグループでマクロファージと一秒率が有意な負の相関を認めた。このことは、検体の細胞数と細胞分画の比較だけでは十分な解析とはいえないことを示している。喀痰中のマクロファージの比率と一秒率を相関係数で比較すると、一秒率 90% 以上 100% 未満で  $r=0.232$ 、80% 以上 90% 未満で  $r=0.127$ 、70% 以上 80% 未満で  $r=-0.60$ 、症例全体では  $r=-0.179$  であった。喀痰中のマクロファージが一秒率が低下するに連れ気流閉塞に大きく関与すると思われた。さらに一秒率が 70% 以上 80% 未満の群では  $r=-0.60$  と有意な負の相関を認めたことから、閉塞性呼吸障害と判定されないまでも、正常の下限近くまで低下している重喫煙者ではその程度に応じて喀痰中マクロファージが増加しているといえる。次に末梢気道の評価のため %V<sub>25</sub> と

Table 3 Characteristics of present non smoker with COPD and healthy non-smokers (mean±SD)

	14	8
Number of subjects	14	8
FEV <sub>1.0%</sub>	63.88±6.1	77.47±4.93
Brinkman Index	884±376	0
Macrophages (%)	26.92±20.56	57.54±13.72
Neutrophils (%)	71.25±20.58	42.46±13.72
Total 10 <sup>6</sup> /ml cell counts	4.08±2.43	2.12±0.65

**Table 4** Correlation coefficient between Mac% and FEV1.0% in high and low cotinine groups

Continine > 250 (ng/ml) (n=13)	r = -0.603 (P < 0.05)
Continine ≤ 250 (ng/ml) (n=7)	r = -0.558
Total (n=20)	r = -0.600 (P < 0.01)

の相関を解析した。一秒率 70% 以上 80% 未満の群では、総細胞数と %V25 は負の相関を認めたが、マクロファージは %V25 とは有意な相関を認めなかった。喀痰中のマクロファージが主に気道の中枢側よりの炎症を反映しているためと思われた。一秒率とマクロファージの相関を cotinine の高い群と低い群で比較すると、cotinine の高い群がより強い負の相関の傾向があり気道への強い炎症が示唆された。(Table 4)

病理学的には気道の中枢側にマクロファージの浸潤を認め一秒量と負の相関を認めた報告がある<sup>23)33)</sup>。気管支肺胞洗浄液では喫煙者において好中球が有意に増加しているとの報告があり<sup>31)32)</sup>、気道の中枢側と末梢側では気流に影響する細胞が違う可能性がある。

Flow limitation の診断に対して感度が高い一秒率がマクロファージと有意な負の相関を示し、Flow limitation の早期診断に感度が高い %V25 が総細胞と負の相関を示したことから、喀痰細胞分析はスパイロメリーと同等に評価されるべき検査と思われる。

喀痰中のマクロファージの比率と血清 cotinine 値は正の相関傾向があり、この点からもマクロファージが気流閉塞に関与することが示唆された。

COPD では喀痰中のマクロファージと呼吸機能の相関はなかったが、軽度の閉塞性呼吸障害の喫煙者との比較が今後必要と思われた。

愁訴のない 51~52 歳の非喫煙者で、一秒率が 70% 以上 80% 未満の症例をみつけること自体が非常に困難であり詳細に検討した文献はみられず今回の症例との比較は困難である。健常非喫煙者の喀痰細胞分析は大規模な調査はほとんど行われていないのが現状で現在調査が始まったところである<sup>24)25)</sup>。Belda によると、喀痰の解析と肺機能との関係で有意な相関は報告されていない。(Table 3)

喫煙の感受性についてはさまざまな報告があるが<sup>3)4)5)~10)16)17)</sup>、若年 (50 歳以下) から喫煙感受性を著明に認める特殊な症例を除くと、一秒量の減少は年齢

依存性である。50 歳以上 70 歳未満の症例に一秒量 (ml/year) の減少が著明であるとの報告が多い<sup>26)27)</sup>。喫煙者のうちの約 15% は肺機能の低下が迅速であり、一秒量の低下は年間に約 150 ml であると報告されている<sup>9)10)</sup>。喀痰中のマクロファージと一秒量の経時的な報告はなく、今後の課題となると思われる。

結 語

- ① 閉塞性呼吸機能障害と判定されないまでも、正常の下限近くまで低下している重喫煙者ではその程度に応じて喀痰中のマクロファージが増加している。
- ② 中枢側の気道の炎症には、喀痰中のマクロファージの増加が指標となる。
- ③ 末梢気道病変の早期発見には、喀痰中の総細胞数の増加が指標となる。
- ④ BI だけでは個々の喫煙者の状態を把握することは困難である。
- ⑤ BI×タバコ 1 本中の nicotine の含有量が、依存度の評価に重要である。

本論文の要旨は、第 41 回日本呼吸器学会総会、第 24 回日本気管支学会総会、11th ERS Annual Congress, Berlin において発表した。

謝 辞

本研究に際し御指導と御高閲を賜りました大屋敷一馬教授に深謝致します。また御助力を賜りました WHO 研究協力センター 田中 満教授、東京大学呼吸器内科 滝澤 始助教授に厚く御礼申し上げます。

文 献

- 1) Emmons KM: Smoking cessation and tobacco control: an overview. *Chest* **116**: 490S~492S, 1999
- 2) Raw M, McNeill A, West R: Smoking cessation: evidence based recommendations for the healthcare system. *Br Med J*: 182~185, 1999
- 3) Snider GL, Piquette CA, Rennard SI: Chronic bronchitis and emphysema. *Textbook of Respiratory Medicine*. 1342, 2000
- 4) Stanescu D, Sanna A, Veriter C, et al: Identification of smokers susceptible to development of chronic airflow limitation. *Chest* **114**: 416~425, 1998
- 5) Sherril DL, Holberg CJ, Enright PL: Longitudinal analysis of the effects of smoking onset and cessation on pulmonary function. *Am J Respir Crit Care Med* **149**: 591~597, 1994
- 6) Burchfiel CM, Marcus EB, Curb DJ: Effects of smoking and smoking cessation on longitudinal decline in pulmonary function. *Am J Respir Crit Care Med* **151**: 1778~1785, 1995

- 7) Xu X, Dockery DW, Ware JH: Effects of cigarette smoking on rate of loss of pulmonary function in adults: a longitudinal assessment. *Am Rev Respir Dis* **146**: 1345~1348, 1992
- 8) Higgins MW, Keller JB: An index of risk for obstructive airway disease. *Am Rev Respir Dis* **125**: 144~151, 1982
- 9) Sherrill DL, Camilli A, Lebowitz MD: On the temporal relationships between lung function and somatic growth. *Am Rev Respir Dis* **140**: 638~644, 1989
- 10) Tager IB, Segal M, Speizer FE, et al: The natural history of forced expiratory volumes. Effect of cigarette smoking and respiratory symptoms. *Am Rev Respir Dis* **138**: 837~849, 1988
- 11) Shapiro SD: The macrophage in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* **160**: s29~s32, 1999
- 12) Stockley RA: Neutrophils and protease/anti-protease imbalance. *Am J Respir Crit Care Med* **160**: s49~s52, 1999
- 13) Stanescu D, Sanna A, Veriter C, et al: Airways obstruction, chronic expectoration, and rapid decline of FEV1 in smokers are associated with increased levels of sputum neutrophils. *Thorax* **51**: 267~271, 1996
- 14) Linden M, Rasmussen JB, Piitulainen E: Airway inflammation in smokers with nonobstructive and obstructive chronic bronchitis. *Am Rev Respir Dis* **148**: 1226~1232, 1993
- 15) Austin TH, David DA, Richard RO: Intraluminal airway inflammation in chronic bronchitis. *Am Rev Respir Dis* **140**: 1527~1537, 1989
- 16) Douglas DO, Frank SP, Benjamin FE: Cumulative and reversible effects of lifetime smoking on simple tests of lung function in adults. *Am Rev Respir Dis* **137**: 286~292, 1989
- 17) Anthony CA, Benjamin BU, Ronald KN: Longitudinal changes in forced expiratory volume in one second in adults. *Am Rev Respir Dis* **135**: 794~799, 1987
- 18) Vignola AM, Riccobono L, Mirabella A, et al: Sputum metalloproteinase-9/tissue inhibitor of metalloproteinase-1 ratio correlates with airflow obstruction in asthma and chronic bronchitis. *Am J Respir Crit Care Med* **158**: 1945~1950, 1998
- 19) Betsuyaku T, Nishimura M: Neutrophil elastase associated with macrophages from older volunteers. *Am J Respir Crit Care Med* **151**: 434~442, 1995
- 20) Finlay GA, O'Driscoll LR, Russell KJ: Matrix metalloproteinase expression and production by alveolar macrophages in emphysema. *Am J Respir Crit Care Med* **156**: 240~247, 1997
- 21) Finkelstein R, Fraster RS, Ghezzi H: alveolar inflammation and its relation to emphysema in smokers. *Am J Respir Crit Care Med* **152**: 1662~1672, 1995
- 22) Saetta M, Baraldo S, Corbino L, et al: CD8 +ve cells in the lung of smokers with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* **160**: 711~717, 1999
- 23) Saetta M, Di Stefano A, Maestrelli P, et al: Activated T lymphocytes and macrophages in bronchial mucosa of subjects with chronic bronchitis. *Am Rev Respir Dis* **147**: 301~306, 1993
- 24) Spanevello A, Confalonieri M, Sulotto F: Induce sputum cellularity. *Am J Respir Crit Care Med* **162**: 1172~1174, 2000
- 25) Belda J, Leigh R, Parameswaran K: Induced sputum cell counts in healthy adults. *Am J Respir Crit Care Med* **161**: 475~478, 2000
- 26) Douglas DO, Frank SP, Benjamin FE: Cumulative and reversible effects of lifetime smoking on simple tests of lung function in adults. *Am Rev Respir Dis* **137**: 286~292, 1989
- 27) Anthony CA, Benjamin BU, Ronald KN: Longitudinal changes in forced expiratory volume in one second in adults. *Am Rev Respir Dis* **135**: 794~799, 1987
- 28) Jacob P 3rd, Wilson M, Benowitz NL: Improved gas chromatographic method for the determination of nicotine and cotinine in biologic fluids. *Journal of chromatography* **222**: 61~70, 1981
- 29) Davis Riley A: The determination of nicotine and cotinine in plasma. *Journal of chromatographic science* vol. 24: 134~141, 1988
- 30) 厚生省特定疾患「呼吸不全」調査研究班 (編): 呼吸不全. 診断と治療のためのガイドライン. メディカルレビュー社 (東京) 1996
- 31) Costabel U, Maier K, Teschler H: Local immune components in chronic obstructive pulmonary disease. *Respiration* **59**: 17~19, 1992
- 32) Janoff A, Raju L, Dearing R: Level of elastase activity in bronchoalveolar lavage fluids of healthy smokers and nonsmokers. *Am Rev Respir Dis* **127**: 540~544, 1983
- 33) Di Stefano A, Turato G, Maestrelli P: Airflow limitation in chronic bronchitis is associated with T lymphocyte and macrophage infiltration of the bronchial mucosa. *Am J Respir Crit Care Med* **153**: 629~632, 1996

## Analysis of macrophages and total cell counts in sputum in comparison to pulmonary function in healthy heavy smokers

Kazuhiko KIKUCHI

First Department of Internal Medicine Tokyo Medical University

(Director : Prof. Kazuma OHYASHIKI)

### Abstract

By identifying smokers most likely to develop chronic obstructive pulmonary diseases, we might be able to prevent COPD by encouraging them to stop smoking. We analyzed pulmonary function and sputum in asymptomatic heavy smokers. The percentage of macrophages in sputum correlated negatively with FEV<sub>1.0%</sub> in the FEV<sub>1.0%</sub> 70~80% group ( $r = -0.60, P < 0.01$ ). Total cell counts of sputum correlated negatively with %V<sub>25</sub> in the same group ( $r = -0.5, P < 0.05$ ). Sputum analysis may be useful to evaluate pulmonary function of healthy heavy smokers.

---

<Key words> Sputum analysis, Macrophages

---