

気管支喘息における喀痰中の Creola body に関する研究

第 1 編

気管支喘息患者喀痰中における Creola body の臨床的意義についての検討

岡山大学医学部第二内科学教室 (指導: 木村郁郎教授)

磯 嶋 浩 二

(平成 3 年 10 月 3 日受稿)

Key words : bronchial asthma, sputum,
Creola body, eosinophil, neutrophil

緒 言

多くの慢性呼吸器疾患の喀痰中には気管支上皮細胞の集塊が認められるが、そのなかで気管支喘息患者の喀痰中には腺癌細胞との鑑別が困難な気管支上皮細胞の集塊が出現する。その形態は、類円形で全体に厚みを持ち、辺縁の気管支上皮細胞が柵状配列を呈し、時に線毛を全く残さないものもあり、パパンニコウ染色態度からも腺癌と見誤る場合がある¹⁾²⁾³⁾。かかる細胞集塊を、Naylor は最初に報告した患者の氏名を冠して Creola body⁴⁾ (以下 CrB) と名付けたが、その CrB の出現については近年好酸球から放出される major basic protein や eosinophil cationic protein などの組織障害性のある強塩基性蛋白物質と気道病変との関連性の面から見直されつつある⁵⁾。

一方木村らは、中高年発症型難治性喘息 (late onset intractable asthma; LOIA) の重症化要因の一つとして気道の器質的変化の関与について報告しているが⁶⁾⁷⁾⁸⁾⁹⁾¹⁰⁾¹¹⁾¹²⁾、今回はかかる観点から喀痰中に CrB を認める群と認めない群を対比させることにより、喘息の各病態と CrB 出現の関連性を検討し若干の知見を得たので報告する。

対象と方法

対象には岡山大学第 2 内科に入院中あるいは通院中の気管支喘息患者 46 例 (14 歳—78 歳, 平均 48.7 歳, 男性 19 例, 女性 27 例) を選んだ。喘息の病型については、アトピー型が 13 例, 非アトピー型が 33 例であった。また、重症度については、軽・中等症群が 19 例でステロイド非依存性重症群が 17 例, ステロイド依存性重症群が 10 例であった。なお今回は、IgE (RAST) が陽性で、RAST と同一抗原での即時型皮内反応が陽性あるいは血清 IgE 値が 300IU/ml 以上の症例をアトピー型とし¹³⁾、それ以外を非アトピー型に分類した。また、喘息の重症度については、日本アレルギー学会の重症度判定基準¹⁴⁾に従い、軽・中等症群と重症群に分類し、さらに重症群を病型診断前の 1 年間プレドニゾロン換算 5 mg/日以上使用しているかどうかによりステロイド非依存群とステロイド依存群の 2 群に分類した。一方、対照疾患としては、連日喘鳴あるいは呼吸困難を認めた喘息以外の閉塞性肺疾患 10 例 (び慢性汎細気管支炎 3 例, 慢性気管支炎 3 例, 肺気腫 4 例) を選んだ。

塗抹標本の作製方法は、かかる症例の喀痰を早朝起床時にサランラップにて採取し、その小豆大の量をスライドグラス上にとり、他のスラ

イドグラスを重ねて擦り合わせ、2枚の喀痰塗抹標本とした。そのうちの1枚は、直ちにラビッドスプレー（武藤化学薬品）にて固定しパバニコロウ染色を施し、他の1枚はエオジノステイン（鳥居薬品）にてハンゼル染色を施した。かかる標本を光顕にて全視野観察し、CrBや血液細胞の出現を検討した。なお、喀痰中の好酸球及び好中球の出現頻度はTable 1に示す如く教室の判定基準に従って5段階で評価し、-および±を0, +・2 +・3 +を各々1・2・3とスコア化した。

また、喘息患者については、採痰日を含めた採痰前8日間の喘息発作強度を日本アレルギー学会の判定基準に従い記録させ、喘鳴以上の症状があった日数を採痰前8日間の発作日数とした。

結 果

1. 各種呼吸器疾患とCrBの出現に関する検討

1) CrBの形態

まず、喀痰中に認められたCrBの形態所見は、パバニコロウ染色標本上類円形で厚みを持ち、線毛の脱落した気管支上皮細胞が辺縁に柵状配列し、腺癌細胞に類似した細胞集塊として観察された(Fig. 1a)。また、周辺には同時に多くの好酸球が認められた(Fig. 1b)。

2) 各種肺疾患におけるCrBの陽性率

気管支喘息におけるCrBの陽性症例は、46例中20例(43.5%)であり、陰性症例は26例(56.5%)であった。一方、喘息以外の閉塞性肺疾患では10例全例が陰性であった。すなわち、CrBは種々の気道症状を呈する閉塞性肺疾患のうちで

Table 1 喀痰中好酸球(好中球)数の算定基準
教室の判定基準に基づいた評価で、光顕にて喀痰塗抹標本を観察した際に、好酸球(好中球)が全くないものから各所に
大集塊を形成するものまでを5段階で表した。

(-)	なし。
(±)	強拡大(×400)で好酸球(好中球)が散見される。
(+)	弱拡大(×100)で好酸球(好中球)が散見される。
(3+)	(+)と(3+)の中間。
(3+)	好酸球(好中球)が大集塊を形成している。

も、気管支喘息に特異的に出現することが確認された。

2. CrBと喘息の病態に関する検討

次に、喘息の各種病態と喀痰中CrBの出現との関連性について検討した。

1) 現年齢との関連

まず現年齢については、喘息患者46例を39歳以下、40-59歳、60歳以上の3群に分けて、各々の群におけるCrBの陽性率を検討したところ、39歳以下では12例中5例(41.7%)、40-59歳で21例中10例(47.6%)、60歳以上で13例中5例(38.5%)と年齢層による差は認められなかった(Fig. 2)。

2) 喘息の病型との関連

喘息病型のうちアトピー型、非アトピー型の別にCrBの陽性率を比較したところ、アトピー型は13例中3例(23.1%)が陽性であったが、非アトピー型は33例中17例(51.5%)とアトピー型に比しやや陽性率が高い傾向にあった(Fig. 3)。また、血清IgE値との関係は、CrB陽性群は 340 ± 521 IU/ml、陰性群は 621 ± 813 IU/mlとCrB陰性群の方が血清IgE値がやや高い傾向にあった(Fig. 4)。

3) 喘息の重症度との関連

喘息の重症度別にCrBの陽性率を検討したところ、軽症・中等症群は19例中9例(47.4%)、重症のうちステロイド非依存群は17例中7例(41.2%)、ステロイド依存群は10例中4例(40.0%)と各群間に有意差はなかった(Fig. 5)。

4) 喀痰中好酸球、好中球出現頻度との関連

CrB陽性群における喀痰中好酸球出現頻度のスコアは、 2.05 ± 0.76 と陰性群の 1.00 ± 1.06 に比べ有意に($p < 0.01$)高かった(Fig. 6)。一方、喀痰中好中球出現頻度のスコアはCrB陽性群が 1.00 ± 1.03 、陰性群が 1.12 ± 0.95 と差はなく(Fig. 7)、従ってCrBの出現に喀痰中の好酸球が何らかの関与をすることが想定された。

5) 喘息発作日数との関連

CrB陰性群における採痰前8日間の発作日数は 3.84 ± 3.22 日であったのに比し、陽性群では 7.45 ± 0.83 日と有意に($p < 0.01$)発作日数の多いことが判明した(Fig. 8)。

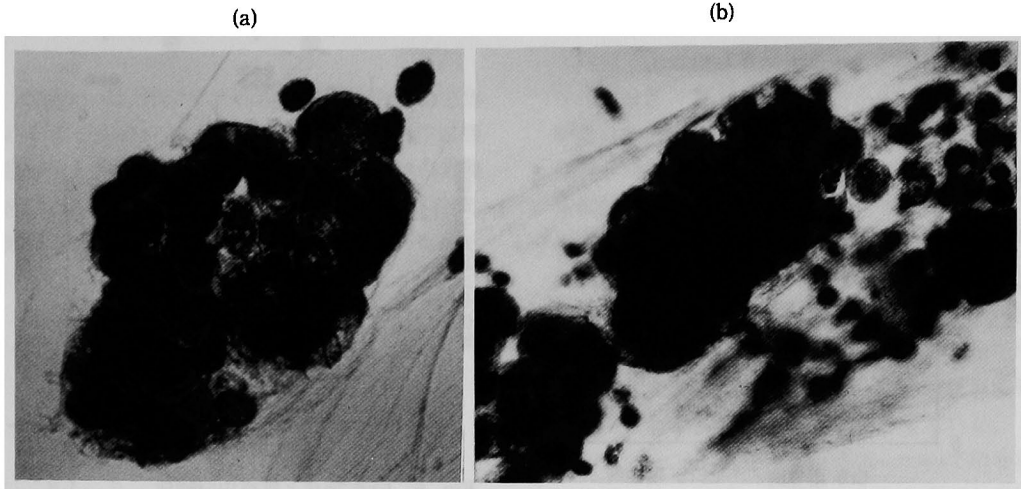


Fig. 1 a, b CrBの形態 (パパンニコロウ染色, ×400)

気管支喘息患者喀痰中に認められた CrB は、類円形の細胞集塊で全体に厚みを持ち、線毛の脱落した気管支上皮細胞が辺縁に柵状配列し、腺癌細胞に類似していた (a)。CrB の周辺には好酸球も多く認められた (b)。

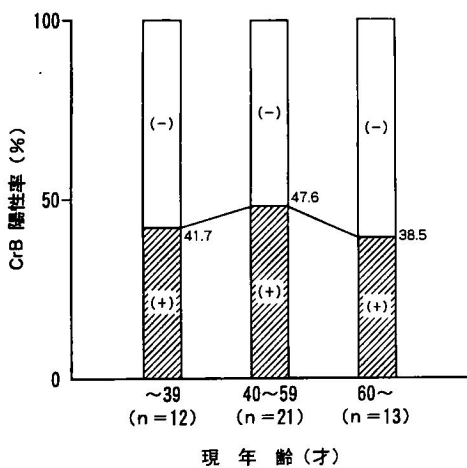


Fig. 2 CrB 出現と現年齢

喘息患者46例を年齢により3群に分け、各々の群について CrB の出現率を検討した。39歳以下では5/12例 (41.7%)、40-59歳で10/21例 (47.6%)、60歳以上で5/13例 (38.5%) と年齢層による CrB 出現率の差は認められなかった。

6) CrB 出現にかかわる喀痰中好酸球と喘息発作日数との関連

CrB の出現と、喀痰中好酸球出現頻度及び採痰前8日間の発作日数との関連を症例別に検討したところ、Fig. 9 の如く CrB 陽性例 (●)

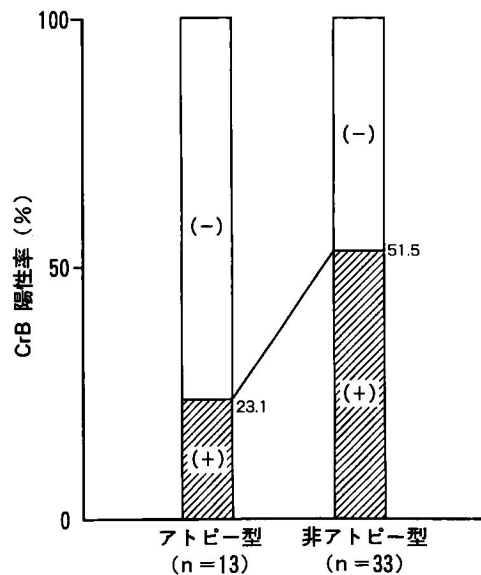


Fig. 3 CrB 出現と喘息の病型

アトピー型、非アトピー型の別に CrB の陽性率を比較したところ、アトピー型は3/13例 (23.1%)、非アトピー型は17/33例 (51.5%) と非アトピー型の方が陽性率が高い傾向にあった。

では、20例全例が好酸球出現頻度のスコアは1以上でかつ発作日数が5日以上であった。また、陽性例20例のうち好酸球出現頻度のスコアが2

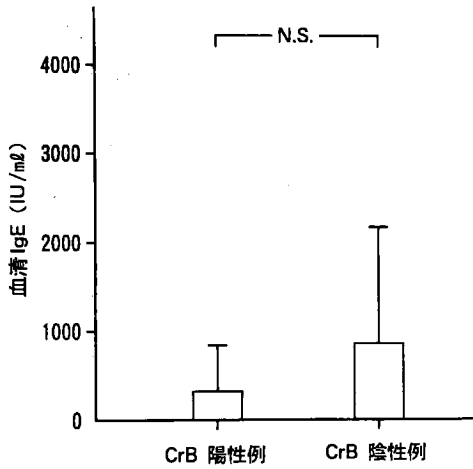


Fig. 4 CrB 出現と血清 IgE 値
CrB 陽性群と陰性群で血清 IgE 値を比較した。血清 IgE 値は、CrB陽性群で 340 ± 521 IU/ml, 陰性群で 621 ± 813 IU/mlと陰性群の方がやや高い傾向にあった。

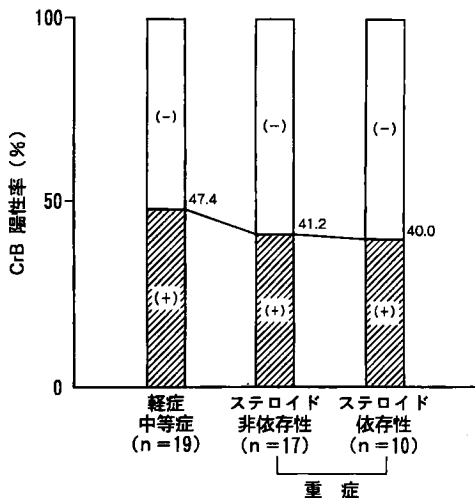


Fig. 5 CrB 出現と喘息の重症度
喘息の重症度別に CrB の陽性率を検討した。軽症・中等症群は 9/19例 (47.4%), 重症でステロイド非依存群 7/17例 (41.2%), 重症でステロイド依存群は 4/10例 (40%) と各群間に有意差はなかった。

以上でかつ発作日数が7日以上条件を満たす症例は、14例 (70.0%) を占めていた。逆に、全46例中同じ条件を満たす症例は17例あり、そのうち14例 (82.4%) が CrB 陽性であった。

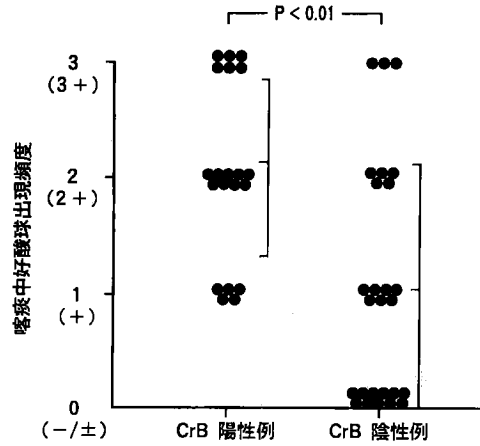


Fig. 6 CrB 出現と喀痰中好酸球
CrB 陽性群と陰性群で喀痰中好酸球出現頻度のスコアを比較した。CrB 陽性群は 2.05 ± 0.76 で陰性群の 1.00 ± 1.06 に比し有意に高かった ($p < 0.01$)。

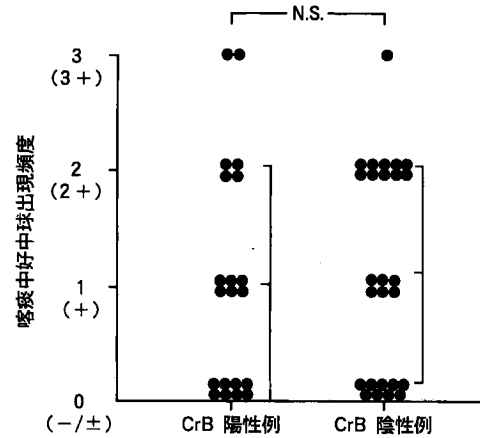


Fig. 7 CrB 出現と喀痰中好中球
CrB 陽性群と陰性群で喀痰中好中球出現頻度のスコアを比較した。CrB 陽性群は 1.00 ± 1.03 で陰性群の 1.12 ± 0.95 と有意差はなかった。

7) 気道過敏性との関連

アセチルコリン吸入によるアストグラフ法で測定した各症例の気道過敏性は、CrB 陽性群が $248 \pm 152 \mu\text{g Ach/ml}$ で、陰性群は $253 \pm 131 \mu\text{g Ach/ml}$ であり、両群間に相関は認められなかった (Fig. 10)。

に何らかの関係があるものと想定された。従来からアトピー型のほうが非アトピー型よりも末梢血好酸球数が多いと考えられており、今回の結果はこれに矛盾するものと見なされるかも知れない。しかし、教室の集計ではアトピー型と非アトピー型の間には末梢血好酸球数の有意な差はないことも判明しており¹⁵⁾、さらに血中と喀痰中の好酸球数の増多程度は必ずしも一致しないことが多く、実際今回の検討でも非アトピー型とアトピー型で喀痰中の好酸球出現頻度に有意差は認められなかった。

一方、喀痰中へのCrBの出現と喘息の重症度との間には明かな関連がなく、特に気道の組織学的変化が強いと予想されているステロイド依存性の重症例においてもCrBの陽性率に有意差は認められなかった。これはステロイド投与により好酸球出現が抑制されることによるものと思われた。

さらに、採痰前の喘息発作日数が多い症例でCrBの陽性率が高かったことより、気管支攣縮の際に気道の中心方向に強い外力が働き、しかもそれが繰り返されることが、特徴あるCrBを形成する際の重要な役割を果たしているものと思われた。

なお、大部分の症例は標本あたりのCrBが全視野中5個以内であったにもかかわらず、ステロイド非依存性の重症例と中等症の2症例においては10個以上のCrBが認められた。その理由としては、両症例とも1カ月以上喘息発作が続いており、従ってCrBの形成・出現は、慢性発作が長期にわたって続き重症化して行く過程での気道の組織学的変化と何らかの関連性があるものと考えられた。

かかるCrB形成過程における好酸球の役割について、Gleichらは好酸球顆粒内に含まれる強塩基性蛋白質であるmajor basic proteinが濃度依存性に気道の組織を障害すること、すなわち気道局所に浸潤した好酸球が上皮・基底膜間の浮腫をもたらし、ひいては気管支上皮層の剝離を生じせしめると報告している。さらにmajor basic proteinと同じく好酸球顆粒内のpreformed mediatorsであるeosinophil cationic proteinやeosinophil peroxidaseも組織障害

性に働くことが報告されており¹⁶⁾、好酸球の多数集積した気道局所にCrBが出現する今回の成績を支持するものと理解された。なお、喀痰中好酸球出現頻度が高くかつ喘息発作が8日間続いているにもかかわらずCrBが陰性であった3症例について、その後も有症時に繰り返し喀痰を再検したが、喀痰中好酸球増多は認められてもCrBは認められなかった。このような症例に共通する特徴的な病態は今回の検討では明かにし得なかったが、気道の組織障害を防御する個体側の何らかの因子が働いているものと考えられ、重症化の予防という観点から重要な問題を含んでおり今後の検討が必要と考えられた。

一方、好中球はO₂⁻などの組織障害性因子を産生するにもかかわらず、今回は喀痰中の好中球出現頻度とCrB出現の間に関連が認められなかった。このことは、CrB形成過程における好酸球と好中球からの化学伝達物質の作用点がそれぞれ異なるためと考えられ¹⁷⁾、今後気道組織における各化学伝達物質の組織傷害作用を検討する必要があると思われた。

最後に、気道過敏性と気道の器質的変化の関連性は重要であるとされているが¹⁸⁾¹⁹⁾、今回の検討では両者間に有意な相関が得られなかった。その理由として、喘息発作の持続している症例にアストグラフ法で気道抵抗を測定することが出来ず、その測定時期が喀痰採取日と一致しなかったためとも考えられた。

以上、喀痰中にCrBの出現を認めることが気管支の器質的変化すなわち喘息の重症化の一指標となり得る可能性が想定された。

結 論

気管支喘息患者の喀痰中に認められた気管支上皮細胞の集塊であるCrBと気管支喘息の病態との関連を検討する目的で、気管支喘息患者46例および喘息以外の閉塞性肺疾患患者10例を対象に、早朝起床時の喀痰を観察し以下の結果を得た。

1) CrBは気管支喘息患者20例(43.5%)の喀痰中にも認められ、喘息以外の閉塞性肺疾患では認められなかった。かかるCrB陽性例は陰性例に比べ採痰前8日間における喘息発作を認

めた日数が有意に多く ($p < 0.01$), かつ喀痰中の好酸球出現頻度も高かった ($p < 0.01$).

2) CrB は, 非アトピー型, 血清 IgE 値の低い症例で陽性率が高い傾向にあった. 一方 CrB の出現は, 喀痰中好中球出現頻度, 現年齢, 重症度, 気道過敏性とは明らかな関連が認められなかった. また, 器質的気道病変が想定されているステロイド依存性の重症例においてもステロイド投与のためか有意な CrB 陽性率の上昇は認められなかった.

以上より CrB の出現には, 繰り返す気管支の攣縮と, 気道局所に集積した好酸球から放出される major basic protein 等の組織障害性因子が関与しており, 何らかの要因により喘息の重症化と関連していることが想定された.

稿を終えるにあたり, 御指導ならびに御校閲を賜った恩師木村郁郎教授に深謝致すとともに, 終始懇切なる御指導と助言をいただいた高橋清講師に感謝の意を表します.

文 献

- 1) James C Hogg MD and Ph D FRCP : The pathology of asthma. Clin Dev Med (1984) 5, 567—571.
- 2) Naylor B and Railey C : A pitfall in the cytodiagnosis of sputum of asthmatics. J Clin Pathol (1964) 17, 84—89.
- 3) Laitinen LA, Heino M, Laitinen A, Kava T and Haahtela T : Damage of the airway epithelium and bronchial reactivity in patients with asthma. Am Rev Respir Dis (1985) 131, 599—606.
- 4) Clark A, Gill GW and Naylor B : Creola bodies : their “discovery” and significance. Cytotechnologist's Bulletin (1985) 22, 33—34.
- 5) Frigas E and Gleich GJ : The eosinophil and the pathophysiology of asthma. J Allergy Clin Immunol (1986) 77, 527—537.
- 6) 谷崎勝朗, 原田 寛, 小橋秀敏, 塩田雄太郎, 竹山博泰, 中村之信, 多田慎也, 木村郁郎 : 気管支喘息における肺の細胞反応を中心とした組織学的変化について—TBLB による検討. アレルギー (1983) 32, 229—236.
- 7) 谷崎勝朗, 周藤真康, 小橋秀敏, 塩田雄太郎, 松香陽子, 竹山博泰, 原田 寛, 多田慎也, 木村郁郎 : 気管支喘息における BALF 中出現細胞と組織出現細胞との比較. 岡山医誌 (1983) 95, 1153—1158.
- 8) 木村郁郎, 高橋 清, 原田 寛, 中村之信, 中山堅吾 : 末梢気道に変化を伴った中高年発症重症難治性喘息症例の検討. アレルギーの臨床 (1984) 35, 210—212.
- 9) 高橋 清, 難波一弘, 尾崎公孝, 中山堅吾, 宗田 良, 多田慎也, 木村郁郎, 谷崎勝朗 : 難治性喘息の病態—経気管支肺生検と気管支肺胞洗浄液所見を中心に. 日内会誌 (1987) 76, 288.
- 10) 木村郁郎 : 気管支喘息—中高年発症型難治性喘息を中心に. 老人科診療 (1983) 4, 378—385.
- 11) 木村郁郎, 高橋 清 : 老人性の難治性喘息—中高年発症型難治性喘息を中心に. Pharm Med (1987) 5, 45—50.
- 12) 木村郁郎 : 気管支喘息—アトピー型喘息と中高年発症型難治性喘息の病態. 香川医師会誌 (1987) 40, 16—26.
- 13) 木村郁郎, 高橋 清 : 気管支喘息—最近の考え方と治療の進歩—診断. 診断と治療 (1989) 7, 1669—1673.
- 14) 日本アレルギー学会, 成人気管支喘息重症度判定委員会 : 成人気管支喘息重症度判定基準. アレルギー (1983) 32, 1186.
- 15) 高橋 清, 河田一郎 : 肥満細胞と好酸球の相互作用. 臨床免疫 (1989) 21, 1324—1332.
- 16) 木村郁郎, 高橋 清 : 肺疾患の病因としての好酸球. Annual Review 呼吸器 (1988) 1, 68—78.
- 17) 木村郁郎, 高橋 清 : 好塩基球と好酸球—組織の炎症反応. 内科 (1987) 59, 622—626.
- 18) 星野重幸 : 気管支喘息と慢性気管支炎における末梢気道障害と気道過敏性に関する研究. アレルギー (1986)

35, 1079—1087.

- 19) 木村郁郎, 高橋 清: 気道過敏性と喘息—気道過敏性と炎症反応 感染並びに LAR. Pharm Med (1986) 4, 67—73.

**Clinical significance of Creola body
in the sputum of bronchial asthmatics**

Koji ISOSHIMA

Second Department of Internal Medicine,

Okayama University Medical School,

Okayama 700, Japan

(Director : Prof. I. Kimura)

To examine the clinicopathology of agglomerated bronchial epithelial cells, i. e. Creola body (CrB), in the sputum, the incidence of CrB stained by Papanicolaou's method was evaluated in 46 bronchial asthmatics and 10 patients with obstructive pulmonary diseases, and then was compared with the pathogenetic factors of bronchial asthma.

CrB was observed specifically in the sputum of bronchial asthmatics. CrB-positive cases had asthma attacks for more than 4 days and a high incidence of eosinophils in the sputum, but not CrB-negative cases. The presence of CrB in the sputum tended to be high in non-atopic asthmatics with a low serum IgE level, but had no significant correlation with either the incidence of neutrophils in the sputum, the present age of patients, the severity of the disease or bronchial hyperresponsiveness to acetylcholine.

These findings suggest that the involvement of histolesional factors such as persistent bronchial contraction and release of major basic protein from eosinophils in the airway may lead to the formation of CrB. Also the appearance of CrB may be a useful index for pre-serious stage of asthma.