

## 《原 著》

## 喫煙肺における IMP 肺集積の実験的検討

加藤 邦彦\* 高橋 恒男\* 柳澤 融\*

**要旨** 非喫煙肺と喫煙肺における IMP の肺内動態の差異を雄モルモットを用い、 $^{125}\text{I}$ -IMP によるマイクロオートラジオグラフィで比較検討した。非喫煙肺では主に肺泡毛細血管、肺胞上皮へ銀粒子の集積が見られたのに対し、喫煙肺ではさらに肺胞腔および肺泡マクロファージにも多数の銀粒子の集積を認めた。そこで、両群について気管支肺胞洗浄を行い、洗浄液内の放射活性(カウント数)および肺泡マクロファージ数を比較したところ、喫煙肺において放射活性(カウント数)および肺泡マクロファージの増加が認められた。このことから、喫煙肺において IMP の肺泡マクロファージへの集積増加とこれに伴う IMP の肺からの洗い出しの遅延が招来されたと考えられた。

## I. はじめに

IMP (N-isopropyl p-iodoamphetamine) は肺で大部分が代謝を受ける<sup>1)</sup>ことから、 $^{123}\text{I}$ -IMP 肺クリアランスを種々の肺病変の診断に応用するとともに、IMP そのものの集積機序についての検討がなされてきている。今回、われわれはモルモットを用いて  $^{125}\text{I}$ -IMP によるマイクロオートラジオグラフィおよび気管支肺胞洗浄液の放射活性の測定を行い、喫煙肺と非喫煙肺における IMP の集積部位について比較検討し、若干の知見を得たので報告する。

## II. 対象ならびに方法

対象は第3週齢、体重300gの雄性モルモットで、これを非喫煙群と喫煙群のそれぞれ2匹ずつに分けた。喫煙群は空気穴のついた箱の中に頭部のみ入れ、フィルターのない紙巻タバコを1日のうち午前と午後に1本ずつ8日間連日吸わせた。両群ともに  $^{125}\text{I}$ -IMP を 9.25 MBq (250  $\mu\text{Ci}$ ) ずつ

下大静脈より静注した。その際、喫煙群は24時間の禁煙の後  $^{125}\text{I}$ -IMP を投与した。

マイクロオートグラフィは次のとおり行った。まず  $^{125}\text{I}$ -IMP 静注3分後に動物を脱血にて屠殺、直ちに肺を摘出して薄切切片を作成した。次いでディップ法<sup>2)</sup>にてスライドガラスに感光乳剤(さくら NR-M2)をのせ、この上に上記切片を伸展させ冷暗所で4週間露出した。現象の終了した切片をマウントし、HE染色後に光顕にて検鏡した。

気管支肺胞洗浄(BAL)は、さらに別の4匹を用いて非喫煙、喫煙の2群に分け、 $^{125}\text{I}$ -IMP 投与3分後に気管切開し、生理食塩水2mlの注入と回収を4回行った。回収した気管支肺胞洗浄液(BALF)1ml当たりの放射活性(BALF-T)をシンチレーションカウンタ(Aloka ARC-1000)にて測定し、続いてこのBALFを3000回転、10分間の遠心分離を行って上清を吸引し、その1ml当たりの放射活性(BALF-F)を同様に測定した。BALFの細胞成分の放射活性(BALF-C)は両者のカウントの差から求めた。気管支肺胞洗浄液中のマクロファージ数は採取した気管支肺胞洗浄液の中から50  $\mu\text{ml}$ をとり、これを0.16%トリパンブルーにて染色し、染色されない細胞を顕鏡下でかぞえて1ml当たりのマクロファージ数に換算した。

\* 岩手医科大学放射線科

受付: 2年7月23日

最終稿受付: 3年2月1日

別刷請求先: 岩手県盛岡市内丸19番1号 (☎020)

岩手医科大学放射線科

加 藤 邦 彦

### III. 結 果

マイクロオートラジオグラフィ像では、 $^{125}\text{I}$ -IMPに基づく銀粒子の肺内集積分布は両群ともに肺胞を構成する組織内に認められ、非喫煙肺では主に肺毛細血管(PC)、肺胞上皮(AE)に集積しており(Fig. 1)、喫煙群では肺毛細血管、肺胞上皮のみならず、肺胞腔(AS)および肺胞マクロファージ(AM)にも集積が見られた(Fig. 2)。

100個の肺胞をその構成要素の肺胞隔壁と肺胞腔に分け、それぞれの総数のうち銀粒子が集積した割合を各群の平均で比較すると、非喫煙群では肺胞隔壁 325/720(45.1%)、肺胞腔 23/100(23.0%)であった。これに対し、喫煙群では肺胞隔壁 348/742(47.0%)、肺胞腔 79/100(79.0%)と肺胞隔壁での集積比には両群間に差異は認められなかったが、肺胞腔での銀粒子の集積は喫煙群で著増していた。肺胞マクロファージの数は非喫煙群では18/100(18.0%)、喫煙群では40/100(40.0%)であり、このうち銀粒子が集積した割合を比較すると、非喫煙群では2/18(11.1%)に対し、喫煙群では33/40(82.9%)であって、喫煙群の方が肺胞腔および肺胞マクロファージで銀粒子の集積が多い傾向にあった(Fig. 3A)。

BALを行い、BALF-TとBALF-Cを求め各群2例ずつの平均値で比較したところ、非喫煙肺のBALF-Tは25,662 cpm、BALF-Cは5,059 cpmであったのに対し、喫煙肺のBALF-Tは78,067 cpm、BALF-Cは43,853 cpmであり、喫煙肺で総カウント数および細胞成分のカウント数が高値であった(Fig. 3B)。なお、細胞成分のうち肺胞マクロファージ数の各群2例ずつの平均は非喫煙肺の $10.1(\times 10^4/\text{ml})$ に対し、喫煙肺で $39.1(\times 10^4/\text{ml})$ であり喫煙肺の方で増加していた(Fig. 4)。

### IV. 考 察

静注されたIMPは肺に運ばれ何らかの機序によりいったん取り込まれた後、再び血中へ放出されると考えられている。正常者においてはこの代謝過程が速やかに行われ<sup>3)</sup>、 $^{123}\text{I}$ -IMP肺クリアラ

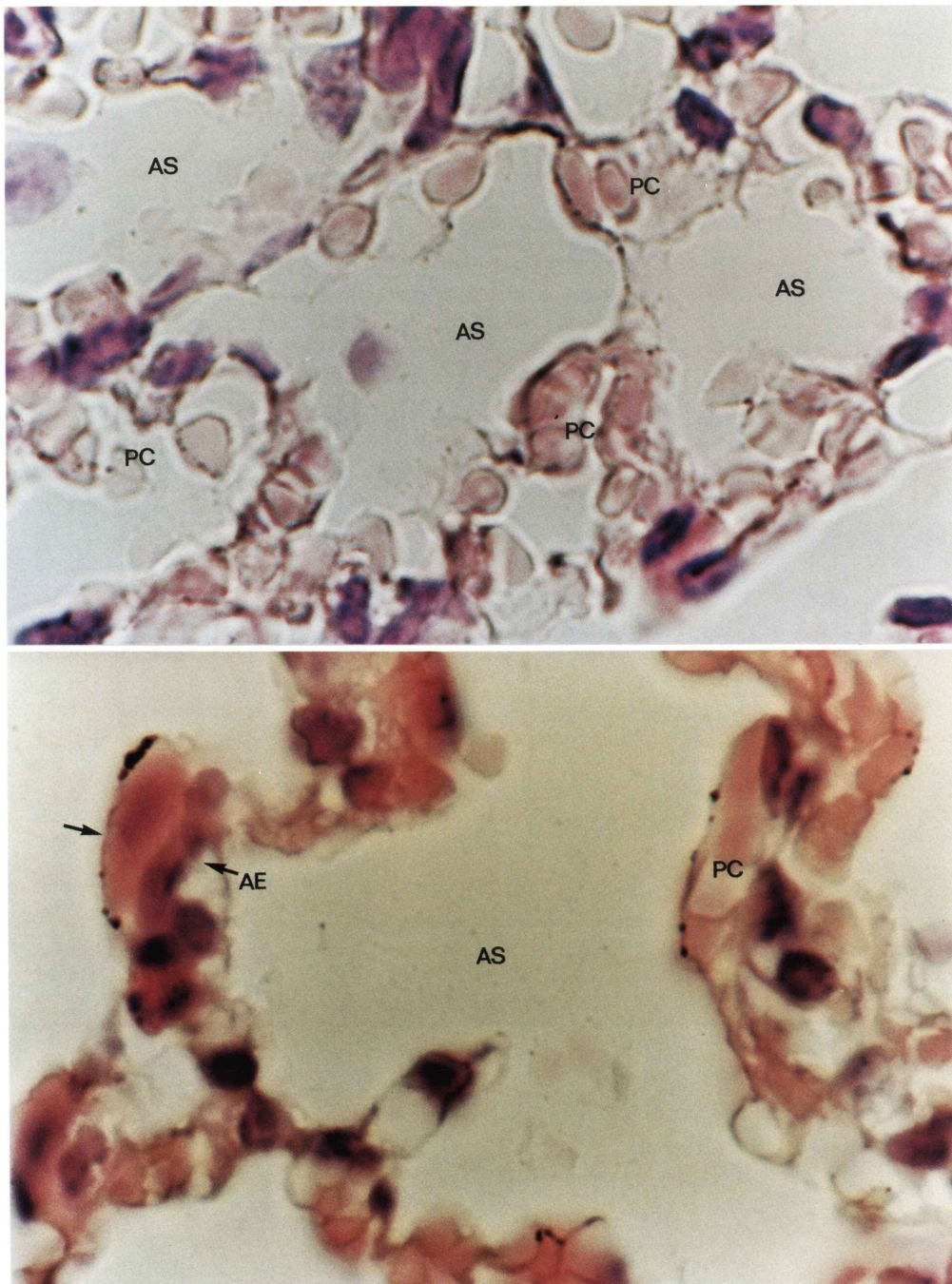
ンスを行うとわれわれの臨床例では60分までにはほとんどが肺から洗い出されていた<sup>4)</sup>。

これに対し、サルコイドーシス、特発性間質性肺炎などのびまん性肺疾患や放射線肺臓炎において $^{123}\text{I}$ -IMP肺クリアランスが低下するとされているが<sup>3,5,6)</sup>、これはアミン代謝の場とされる肺毛細血管内皮細胞、肺胞上皮細胞の障害のほか、IMPの肺胞腔への異常集積に原因していると考えられている。小須田ら<sup>6)</sup>はラットを用いた $^{125}\text{I}$ -IMPによるマイクロオートラジオグラフィで正常肺においてIMPが肺胞腔へ集積することを確認している。一方、喫煙がIMPの肺内動態に与える影響についても検討がなされており<sup>8)</sup>、それによれば喫煙者においては非喫煙者に比して $^{123}\text{I}$ -IMP肺クリアランスが遅れて認められ、この機序としてIMPの代謝もしくは洗い出しあるいはその両者が障害されているとしている。しかし、これまでこれに関する組織学的な検討の報告はまだなされていない。

今回のモルモットを用いたマイクロオートラジオグラフィによる検討の結果、非喫煙肺、喫煙肺ともに取り込まれたIMPは主に肺胞レベルに分布していた。投与した $^{125}\text{I}$ -IMPは脂溶性であり屠殺から摘出肺の固定までの間に肺内での分布が変化する可能性があり、必ずしも銀粒子が屠殺時の肺内分布を正確に示すものではない。しかしながら非喫煙肺と喫煙肺の銀粒子の集積部位を比較すると、非喫煙肺では肺胞腔への集積はほとんど見られなかったのに対し、喫煙肺では肺胞隔壁に比して明らかに肺胞マクロファージへの集積が多く認められ、またIMPは正常肺において投与後早期であれば肺胞腔への集積は見られない<sup>6)</sup>ことから、喫煙肺ではIMPは肺胞マクロファージへ移行しやすいと推察された。

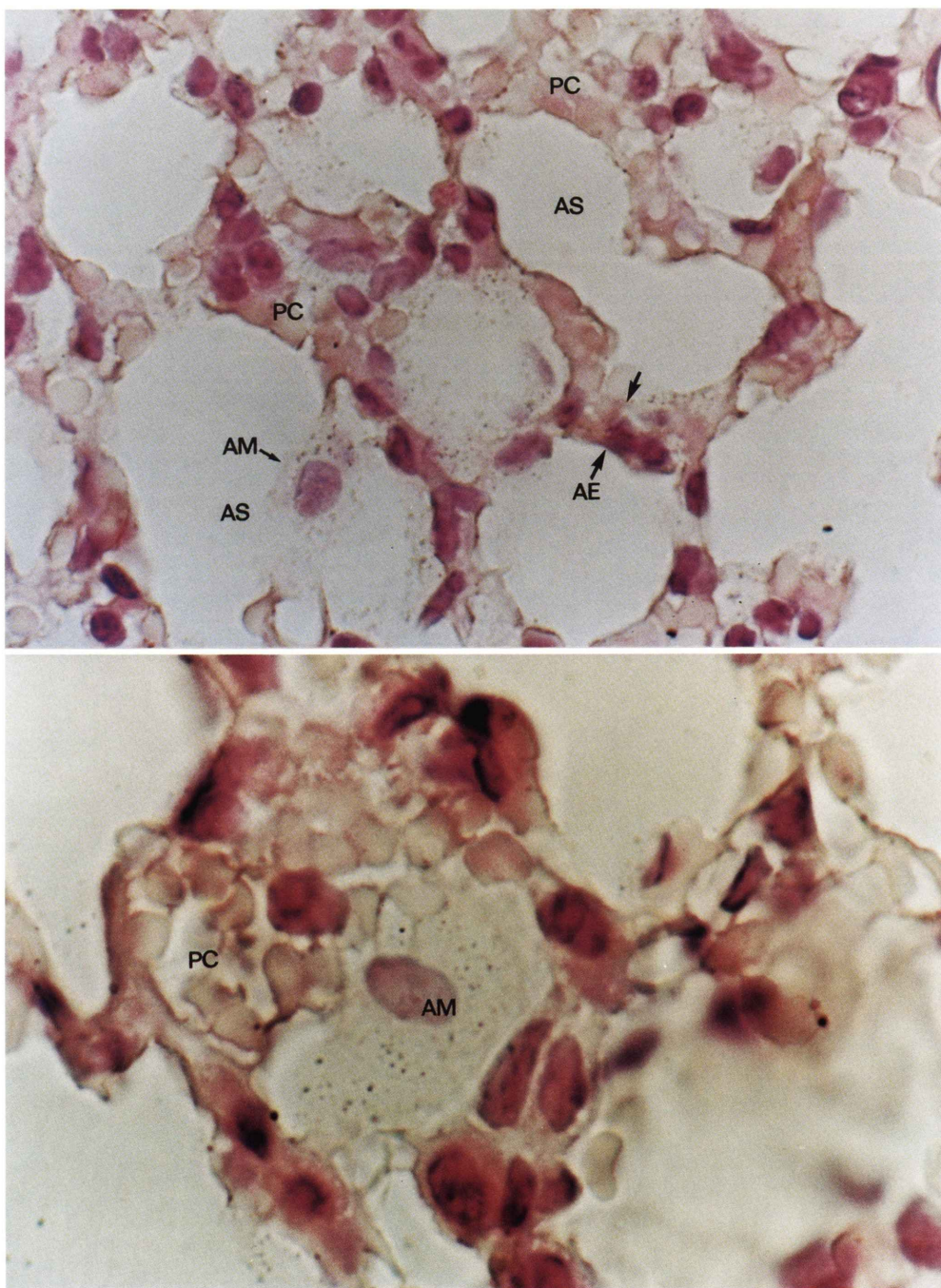
そこで、BALを行い非喫煙群と喫煙群との間の肺胞腔内の放射活性(カウント数)と肺胞マクロファージ数を比較したところ、喫煙肺で気管支肺胞洗浄液の総カウントおよび細胞成分のカウントが高い傾向が認められた。Hunninghakeら<sup>9)</sup>もBALによる検索で、喫煙者の方に肺胞マクロフ





**Fig. 1** Light micrographs of 5  $\mu\text{m}$  thick sections of guinea pig lung perfused with  $^{125}\text{I}$ -IMP. In the normal lung, silver grains were seen in the pulmonary capillaries and the alveolar epithelia.





**Fig. 2** In the smoke-exposed lung, silver grains also seen in the alveolar macrophages. AM: alveolar macrophage, AS: alveolar space, AE: alveolar epithelium, PC: pulmonary capillary. A  $\times 400$ , B  $\times 1000$ .

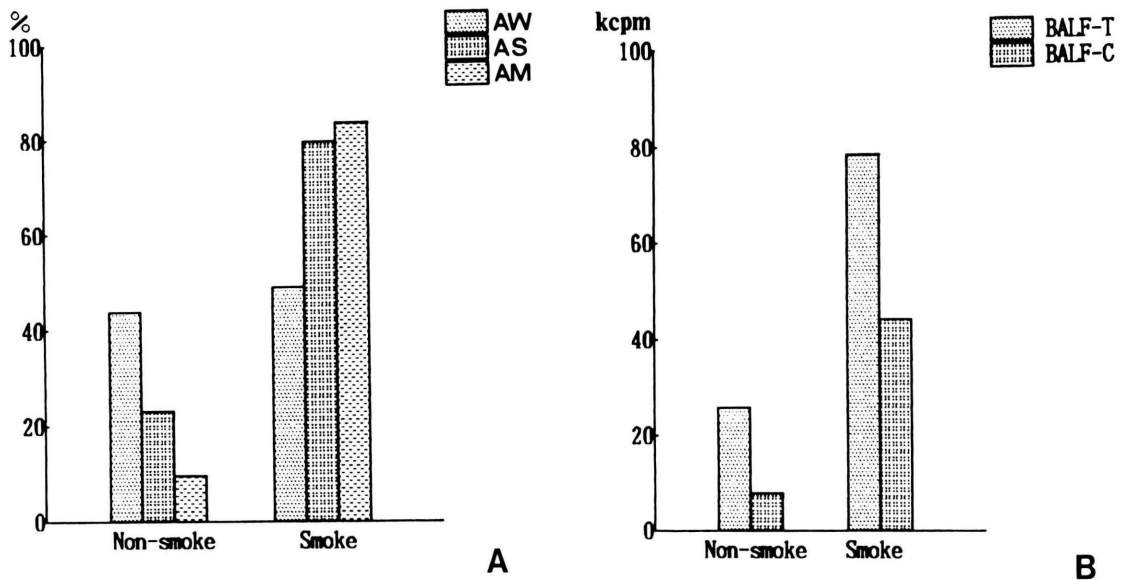


Fig. 3 Histogram comparing the percentage of labelled structure of the normal lung and smoke-exposed lung perfused with  $^{125}\text{I}$ -IMP (A), and histogram comparing the radioactivity in the cell components of BAL obtained from normal lung and smoke-exposed lung (B). AW: alveolar wall, AS: alveolar space, AM: alveolar macrophage.

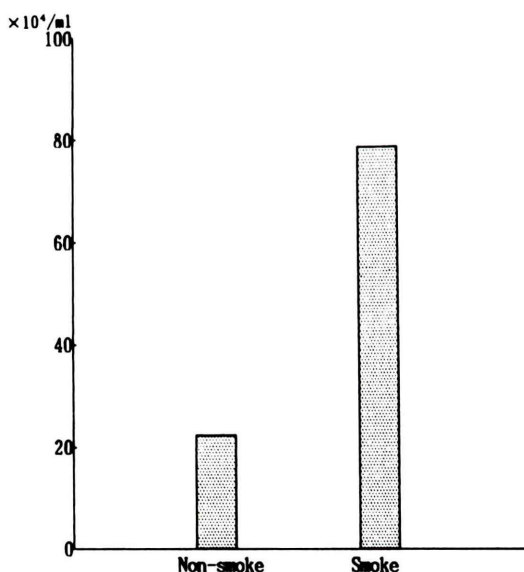


Fig. 4 Histogram comparing the number of alveolar macrophages of BAL fluid in the normal lung and smoke-exposed lung.

マージが増加していたことを報告している。喫煙に伴う急性肺障害は主に肺毛細血管透過性の亢進による浮腫といわれており<sup>10)</sup>, Hoidal ら<sup>11)</sup> は肺胞マクロファージが産生する種々の活性物質により血管透過性の亢進が惹起されると推察している。このことから、自験例で喫煙肺において肺胞腔での増加したマクロファージへの銀粒子の集積ならびに放射活性が有意に増加していたことは、喫煙に伴う一連の炎症反応として IMP の肺胞腔への移行とそれに伴う洗い出しの遅れを示唆するものと思われる。

なお、今回は主として IMP 投与後早期の肺内分布について検討したが、今後 IMP の喫煙に伴う経時的な肺内分布や、さらにそれらの電顕レベルでのオートラジオグラフィによる検討が必要と考えられる。

## V. まとめ

- 1) 雄性モルモットを用いて  $^{125}\text{I}$ -IMP によるマイクロオートラジオグラフィおよび気管支肺胞洗

浄を行い、非喫煙肺と喫煙肺における IMP の肺内集積分布について比較検討した。

2) 非喫煙肺に比し喫煙肺では肺胞腔および肺胞マクロファージへの IMP の集積が多い傾向が認められ、また喫煙肺において気管支肺胞洗浄液内の放射活性および肺胞マクロファージの増加が見られた。

3) このことは、喫煙に伴う炎症過程として IMP の肺胞マクロファージへの移行とこれに伴う肺からの洗い出しの遅れが招来されることを示唆すると思われた。

謝辞：本研究の遂行に当たり、マイクロオートラジオグラフィの作成に協力して下さいました本学第二口腔解剖学講座の名和橙黄雄教授ならびに教室員の方々、および  $^{125}\text{I}$ -IMP を供給して頂いた日本メジフィジックス株式会社に深謝申し上げます。

#### 文 献

- 1) Moretti JL, Holman BL, Delmon L, et al: Effect of antidepressant and narcotic drugs on N-isopropyl p-iodoamphetamine biodistribution in animals. *J Nucl Med* **28**: 354-359, 1987
- 2) Stumpf WE: Techniques for the autoradiography of diffusible compounds. In: *Methods in cell biology* Vol. XIII. Academic Press, New York, 1976
- 3) Zandwijk NV, Zwijnenburg A, Hoefnagel CA, et al: N-isopropyl-p [ $^{123}\text{I}$ ]iodoamphetamine, a new agent for lung imaging studies. *Thorax* **41**: 801-803, 1986
- 4) 加藤邦彦, 高橋恒男:  $^{123}\text{I}$ -IMP肺クリアランスの喫煙による影響. *核医学* **27**: 1093-1098, 1990
- 5) 高橋恒男, 加藤邦彦, 柳澤 融, 他: びまん性肺疾患における  $^{123}\text{I}$ -IMP 肺クリアランスの検討. *核医学* **28**: 191-195, 1991
- 6) 小須田茂, 河原俊司, 石橋章彦, 他: N-isopropyl-p-iodoamphetamine の肺集積に関する実験的研究. *核医学* **27**: 149-153, 1990
- 7) 板坂美代子, 池田英樹, 八鍬 直, 他: I-123 IMP 肺集積に関する気管支肺胞洗浄による検討. *核医学* **26**: 189-193, 1989
- 8) 松瀬 健, 福地義之助, 石田善義, 他: N-isopropyl I-123 p-iodoamphetamine (I-123 IMP) の肺内動態の検討——喫煙の早期時相に及ぼす影響について——. *日胸疾会誌* **26**: 653-657, 1988
- 9) Hunninghake GW, Crystal RG: Cigarette smoking and lung destruction. *Am Rev Respir Dis* **128**: 833-838, 1983
- 10) Janoff A, Pryor WA, Bengali ZH: Effects of tobacco smoke components on cellular and biochemical processes in the lung. *Am Rev Respir Dis* **136**: 1058-1064, 1987
- 11) Hoidal JR, Fox RB, LeMarbe PA, et al: Altered oxidative metabolic responses in vitro of alveolar macrophages from asymptomatic cigarette smokers. *Am Rev Respir Dis* **123**: 85-89, 1981



## Summary

### Experimental Study on the Accumulation of $^{125}\text{I}$ -IMP in the Cigarette-exposed Lung

Kunihiko KATO, Tsuneo TAKAHASHI and Toru YANAGISAWA

*Department of Radiology, Iwate Medical University*

In the experiment using guinea pigs, the accumulated portions of IMP after  $^{125}\text{I}$ -IMP microautoradiography were compared in a normal control group and a group exposed to cigarette smoke. In the smoke-exposed lung, the accumulation of silver grains were observed in the alveolar spaces and alveolar macrophages, as well as in the pulmonary capillaries and the alveolar epithelia.

After the broncho-alveolar lavage (BAL), in-

creases in alveolar macrophages, total counts of BAL fluid and counts of cell components were seen in the smoke-exposed lung.

These results suggested that abnormal function of the pulmonary capillary or alveolar epithelium was wide spread in the smoke-exposed lung.

**Key words:** N-isopropyl-p-iodoamphetamine ( $^{125}\text{I}$ -IMP), Microautoradiography, broncho-alveolar lavage, Alveolar macrophage.