

〔原著〕 タバコ煙の幼若ハムスター気管支上皮に 与える影響の実験的研究

横山由華* 君塚五郎* 林 豊

(平成元年1月11日受付, 平成元年3月20日受理)

要 旨

小児に与える受動喫煙の影響を調べる目的で12週齢の成熟ハムスターと、4週齢の離乳直後の幼若ハムスターに、ハンプルグII型喫煙装置を用いて喫煙を行ない、5, 6, 8, 11, 13週目に気管支上皮の変化について形態学的に検索した。

気管支上皮の繊毛の障害や上皮細胞の配列の乱れは幼若ハムスターにより早期に現われ、より程度が強くなり、6週目より13週へと変化は強くなっていった。

末梢細気管支に連続する肺胞部分に立方状の上皮細胞の増生が、成熟ハムスターの10例中2例に、幼若ハムスターでは11週の5例中4例に、13週の3例中2例に見られ、統計学的に有意に幼若ハムスターに高率であった ($P < 0.001$)。

これらの結果は幼若ハムスターは喫煙に対して成熟したハムスターより感受性が高いことを示唆し、小児は受動喫煙に対する感受性が高いとする疫学的報告を支持する結果であると考えられた。

Key words: タバコ煙, 気管支上皮, 上皮増生, 幼若, 実験

I. はじめに

喫煙による有用な効果として、タバコ煙中に含まれる物質の生理作用や、喫煙行動を通じての休息、ストレスの解消などが考えられている反面、慢性気管支炎の惹起¹⁻³⁾、冠動脈疾患の誘発⁴⁾、肺癌^{5, 6)}、咽喉頭癌⁷⁾の増加などについても喫煙の影響が指摘されている。

喫煙の生体影響は、おもに能動喫煙、即ち喫煙者本人について注目されてきた傾向があったが、近年“受動喫煙”即ち非喫煙者が喫煙者の発生するタバコ煙(副流煙)を吸入する場合の影響にも目を向けるようになってきている⁸⁻¹³⁾。特に、近年建築物の密閉性が増し受動喫煙の影響がいままで以上に生じ易いと考えられる。多数の喫煙者の集まる会議室、喫茶室、酒場、交通機関といった公共の場ばかりでなく、一般家庭でもクーラーや暖房機の使用による閉鎖空間での居住が受動喫煙の機会の増加をもたらす、特に乳幼児に及ぼすその影響がこれまでで

上に大きくなる可能性が考えられる。

Harlap らは受動喫煙と関連すると思われる幼児の気管支炎での受診率増加を指摘し¹⁴⁾、また喘息患者の発作の頻度の増加、症状の悪化があるとの報告も見られる^{15, 16)}。このような疾患の後に肺組織の損傷を残す場合も考えられ、喫煙のみによると断定はできないが、動物での実験でみられる上皮の化生変化¹⁷⁾が人体でも認められ、上皮の増生や異形化もあると報告されている¹⁸⁾。しかし小児における受動喫煙による肺組織への形態的影響は今日までのところ明らかにされていない。

今回は、喫煙の与える影響、特に感受性の高いと考えられる幼若者に与える形態的影響について調べる目的で実験的に成熟ハムスターと幼若ハムスターを用いて比較検討した結果を報告する。

II. 方 法

動物は、幼若ハムスターとして離乳直後の3週齢、成

* 千葉大学医学部肺癌研究施設, 病理部門, 現在所属: 千葉大学看護学部, 病態学
Yuka YOKOYAMA, Goro KIMIZUKA and Yutaka HAYASHI: Study on the Effect of Tobacco Smoke
Cancer Research, School on the Bronchial Epithelium of the Young Hamster.
Department of Pathobiology, School of Nursing* and Department of Pathology, Institute of Pulmonary
of Medicine, Chiba University, Chiba 280.
Received January 11, 1989. Accepted March, 20, 1989.

熟齡として生殖可能となる11週齢のものを購入し、1週間の適応期間後喫煙を開始した。喫煙はハンプルグII型喫煙装置で、標準喫煙法を用い、週4回で、最初の週は2, 2, 4, 5分、次の週は5, 5, 10, 10分と順次喫煙時間を延長し3週以後は1回10分とした。喫煙開始後5, 6, 8, 11, 13週後に各々3~5匹を喫煙終了後1~2時間後エーテル麻醉下に脱血死せしめ、気管以下の肺を摘出し、中性ホルマリンを気管より緩やかに注入して肺を膨張させた後10cm水圧で一晩固定した。組織標本にはすべての肺葉の肺門を通る最大断面を用い、型のとおりパラフィン切片を作成、ヘマトキシリン-エオジン、およびPAS染色を施し検索に供した。

III. 結 果

気管支上皮の繊毛について

平滑筋のよく発達した肺葉気管支の部分で比較した。図1に示したように繊毛がほとんど見られない強い変化を示した例を(卍)、繊毛が一様にあり Terminal barの明らかな正常と思われる例を(-) (図2)として、繊毛がわずかに見られるが、融合する変化のある例を(+) (図3)、これより変化の軽いものを(+)とした(図4)。表1に結果を示した。成熟例の5, 6週では繊毛の変化を認めないが、8週目より変化は現われはじめ、13週ではかなり強い変化が見られた。幼若例では6週より繊毛の変化が現われ成熟例と同様の経過を取った。

上皮細胞の核配列の乱れについて

繊毛の変化を観察したと同様の部位で観察し、核配列の乱れのない正常と考えられる例を(-) (図2)、乱れ



図1. 中枢の気管支上皮の繊毛はほとんど見られず、核の配列も乱れは強い。

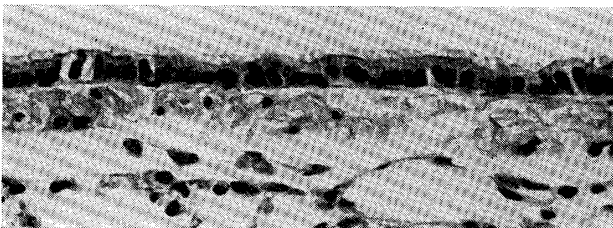


図2. 繊毛は良く保たれ terminal bar は明瞭である。上皮細胞の核は基底部に整然と並んでいる。

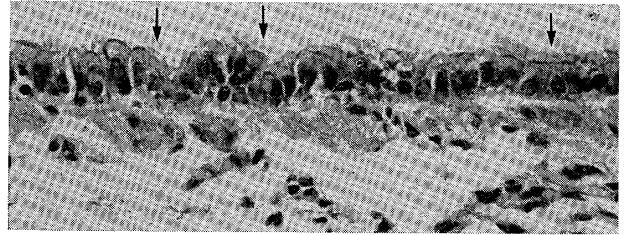


図3. 繊毛はわずかに見られるのみで(↑), 上皮細胞の核の配列の乱れもある。



図4. 繊毛の見られない部分があるが(↑), 多くは繊毛をもち、核も基底部に並び、配列のみだれは軽い。

表1. 気管支の繊毛の変化

	5週	6週	8週	11週	13週
成熟例	-	-	-	-	卍
	-	-	-	+	+
	-	-	-	+	+
			+	+	卍
			+	+	卍
			+	+	卍
幼若例	-	-	-	-	+
	-	+	+	+	+
	-	+	+	+	卍
			+	+	
				+	

乱れなく明瞭(-), 部分的に乱れがある(+), 大部分が乱れ融合もみられる(卍)
 繊毛はほとんど見られない(卍)

が高度のものを(卍) (図1, 3), それらの中間の変化の例を(+)とした。表2に示すように成熟例では8週目より核配列の乱れが5例中3例に出現するが、11週では全例に、13週では5例すべてに強い変化が見られた。幼若例では6週目より3例すべてに強い変化が見られ、その後も強い変化が続いていた。

末梢気管支では、内腔に向かって突出する細胞が見られ、それが多数であるものを(卍) (図5), ほとんどないものを(-) (図6)とし、少数見られる例を(+)とした。表3に示すように成熟例の5, 6週では全例に(卍)と(+)の変化がみられるが8~13週と変化を示さ

表 2. 気管支上皮細胞の核の並びの乱れ

	5週	6週	8週	11週	13週
成熟例	—	—	—	+	++
	—	—	—	+	++
	—	—	+	++	++
			++	++	++
			++	++	++
幼若例	—	++	++	++	+
	—	++	++	++	++
	—	++	++	++	++
			++	++	++
				++	++

乱れない (—), 部分的に乱れがある (+), 乱れが高度 (++)

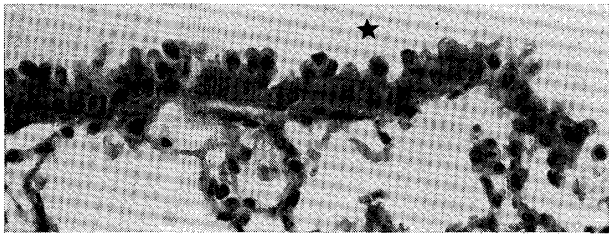


図 5. 終末細気管支腔 (★) 突出する細胞が多数みられる。

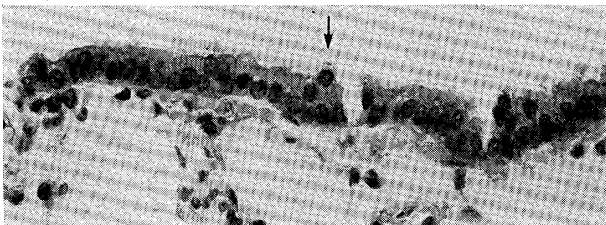


図 6. この例では突出する細胞 (↑) わずかは1個のみである。

表 3. 末梢細気管支の腔に突出する細胞

	5週	6週	8週	11週	13週
成熟例	++	+	+	++	+
	++	+	+	+	—
	++	+	—	+	—
			—	—	—
幼若例	++	++	++	++	++
	++	++	++	+	+
	—	—	++	+	+
			—	—	—
				—	—

多数 (++) , 少数 (+) , ほとんど見られない (—)

表 4. 杯細胞の数

	5週	6週	8週	11週	13週
成熟例	3	0	5	0	2
	8	1	5	0	3
	10	18	6	2	7
			8	6	
		9	31		
幼若例	1	18	0	0	1
	2	19	6	0	1
	5	29	10	4	9
			17	18	
				41	

1例それぞれ任意の10ヶ所について数えた。

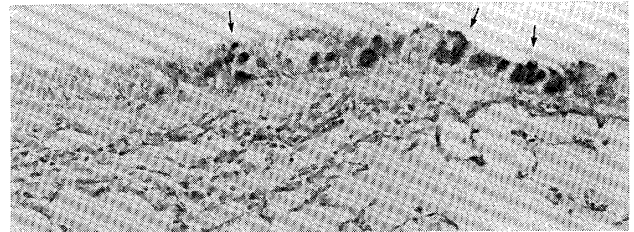


図 7. 中枢気管支での杯細胞 (↑) はしばしば集団となって見られる。(×40, PAS 染色)

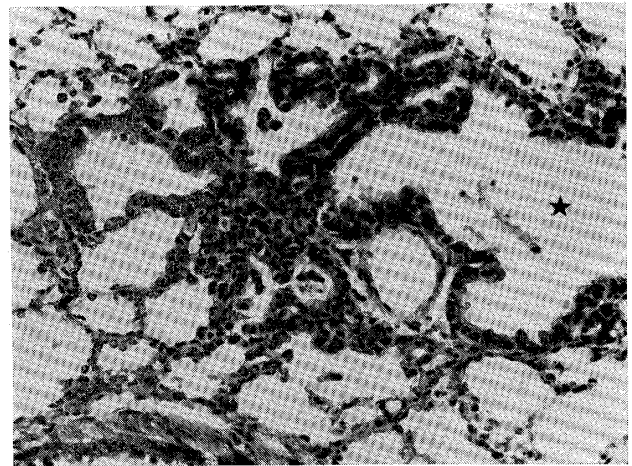


図 8. 末梢細気管支 (★) の上皮細胞に類似する細胞の増生が細気管支に連続する肺胞部分に見られる (×40)

(図 7, 8 を除く図の原倍率は60倍で, 染色は図 7 を除いてヘマトキシリン—エオジン染色である。)

ない症例があり, 13週では5例中1例にのみ変化が見られた。他方, 幼若群ではいずれの週でも変化を示す例と示さない例があったが, 成熟例と異なり, 13週齢では3例すべてに上皮細胞の突出が見られた。

杯細胞の増減を調べるために PAS 染色を施し, 中枢気管支の一定の範囲について杯細胞の数を数えた。結果

表 5. 上皮細胞の増生巣の有無

	5週	6週	8週	11週	13週
成熟例	—	—	—	+	+
	—	—	—	—	—
	—	—	—	—	—
幼若例	—	—	—	+	+
	—	—	—	+	+
	—	—	—	+	—
			—	+	
				—	

は表4に示すように、症例ごとにばらつきが非常に大きく、また個々の症例でも、集合して見られることもしばしばで(図7)、び慢性に存在することは少なく、喫煙期間による一定の傾向は見られず、また幼若例と成熟例との相違も見られなかった。

上皮細胞の増生性変化

末梢細気管支に連続する肺胞部分に、立方状の上皮細胞の増生(図8)が見られ、繊毛様の構造をもつ細胞も混んでいた(表5)。成熟例では11と13週の8例のうちそれぞれ1例に、幼若例では11週の5例中4例に、13週の3例中2例にこの変化が見られた。11、13週の症例をまとめて比較すると両者の間には有意の差が認められた($\chi^2=7.78$, $p=0.01$)。

IV. 考 案

タバコ煙中には、微量であるが生体にとっては有害となる物質、即ちおもに循環系に作用するニコチン、一酸化炭素やシアン化水素、気道粘膜上皮に作用するアルデヒド、アクロレイン、一酸化窒素、腫瘍促進因子としてのピレン、フェノール類、発癌因子とみなされるニトロソアミン、ベンツピレンなどが含まれている^{19,20}。喫煙中に発生するこれらの物質を含む煙は主流煙と副流煙に分けられる。標準的喫煙法、即ち、1本のタバコを1分間に1回2秒間で35ml吸引し、吸い殻部分の長さが23mmあるいは30mmになるまで繰り返して吸煙して得られたタバコ煙が主流煙で、副流煙はこの時タバコの先端より立ち上る煙である。フィルター付タバコの場合副流煙中に含まれるタール、ニコチン、腫瘍発生に関与するピレン、ベンツピレンは主流煙のそれより3倍以上であり、一酸化炭素は約5倍、強い刺激性をもつアンモニアは46倍にも達するとの報告がある²⁰。長期に至る喫煙の影響については、咽喉頭癌や肺癌の発生に関与すると

される他に様々の方面より喫煙量^{6,21,22}や喫煙開始年齢²³と疾患発生率との関連、喫煙妊婦の胎児に与える影響^{24,25}、喫煙中止による効果^{22,26,27}等が疫学的に調査検討されている。

他方富永らは、7,885人の3歳児について両親の喫煙の有無と気管支喘息、喘息性気管支炎、およびしばしば風邪罹患との関連について調査したところ、喘息性気管支炎の児童の比率は非喫煙群2.3%、父親喫煙群2.9%、母親喫煙群4.9%で、喘息性気管支炎と受動喫煙との関連性が認められたと報告し、同様の成績をCooleyや、Harlapらも報告している^{13,14,28-31}。

私共は、若齢者に与える形態的影響を調べる目的で、実験的に生後4週齢の幼若ハムスターと生後12週齢の成熟ハムスターを用いて比較検討した。

気管支上皮に与える障害性の繊毛の変化や上皮細胞の配列の乱れは、両群に見られ顕著な相違はないが、幼若群では、これらの変化が早期に現れた(表2)。また末梢気管支上皮細胞の、気管支腔に突出する変化は、孤立性に存在し周囲の細胞との連続が明らかではないので、増生性というより変性性の変化と考えられる。このような細胞は成熟、幼若例に存在するが、幼若例では13週の全例にみられるように成熟例に比較して強い変化であり、長期に亘っていた。これらのことは、幼若ハムスターではタバコ煙に対する感受性が高いことを示唆していると思われる。

最も注目されるのは末梢細気管支に連続する肺胞と考えられる部分に増生する立方状の細胞巣の存在で、幼若例では11、13週の8例中6例で、これに対して成熟例では10例中2例であり、両者には有意の差が認められ($\chi^2=7.78$, $p=0.001$)、幼若ハムスターへのより強い影響があると思われる。この細胞は繊毛様の構造を示すものも見られ、気管支上皮由来が考えられるが、より詳細な性格については、免疫組織化学的あるいは電子顕微鏡的検索が必要であり、またこのような変化がどのような経過を取るのかや、発癌との関連性の有無については更に検討を要する。

胚細胞の数は、個体によるばらつきが大きく一定の傾向はみだせなかった。人間やラットの場合慢性喫煙によって胚細胞や気管支腺の増加が認められている^{32,33}。喫煙の量や時間、さらに動物による相違の考慮も必要と思われる。

SUMMARY

To clarify the susceptibility of young children to tobacco smoke, effects of tobacco smoke were

surveyed and compared between the young and adult hamsters. The young hamsters, four weeks old, and adult hamsters, twelve weeks old, were inhaled fresh tobacco smoke generated by Hum-burg Type II Smoking Machine once a day for ten minutes and 4 days in a week. Three to five animals from smoking and non-smoking were sacrificed under ether anesthesia at 5, 6, 8, 11, 13th week.

Disarrangements of epithelial cells and ciliary damage in the central portion of bronchus appeared more early and severely in the young hamsters than in the adult, progressing from the 6th to 13th week. Epithelial hyperplasia in the distal portion of terminal bronchiole was found in an animal of each 11th and 13th week adult hamster out of 8 animals, and in young hamster 4 animals of five 11th week and 2 animals of three 13th week bared epithelial hyperplastic foci in the periphery of the bronchioles ($p < 0.001$). These results suggest that the young hamster is more susceptible to tobacco smoke than the adult, which seems to support the reports that young children are more vulnerable to passive smoking.

文 献

- 1) Higgins WH, Keller JB and Metzner HL: Smoking, socioeconomic status, and chronic respiratory disease. *Am Rev Respir Dis* **116**: 403-410, 1977.
- 2) 伊藤和彦, 岩倉 盈, 服部治郎次, 白井順三, 杉浦義徳: 慢性気管支炎の病態とその発生要因日胸誌 **27**: 829-842, 1968.
- 3) Vial WC: Southwestern internal medicine conference: Cigarette smoking and lung disease. *Am J Med Sci* **291**: 130-142, 1986.
- 4) Aronow WS: Effects of smoking and of carbon monoxide on coronary heart disease. *Chest* **70**: 514-518, 1976.
- 5) Doll R and Hill AB: Lung cancer and other causes of death in relation to smoking. *Br Med J* **ii**: 1525-1536, 1956.
- 6) 平山 雄: タバコ病の疫学. 診断と治療 **59**: 951-969, 1971.
- 7) Weir JM and Dunn JE: Smoking and mortality: A prospective study. *Cancer* **25**: 105-112, 1970.
- 8) Koo LC, Ho J H-C, Matuki H, Shimizu H, Mori T and Tominaga S: A comparison of the prevalence of respiratory illness among nonsmoking mothers and their children. *Am Rev Respir Dis* **138**: 290-295, 1988.
- 9) Rubin DH, Karasilnikoff PA, Leventhal J M, Weile B and Berget A: Effect of passive smoking on birth-weight. *Lancet* **23**: 415-417, 1986.
- 10) Pattishall EN, Strobe GL, Etzel RA, Helms DW, Haley NJ and Denny FW: Serum cotinine as a measure of tobacco smoke exposure in children. *AJDC* **139**: 1101-1104, 1985.
- 11) Eriksen MP, LeMaistre CA and Newell GR: Health hazards of passive smoking. *Annu Rev Public Health* **9**: 47-70, 1988.
- 12) 浅野牧茂: Passive smoking- その環境と生体影響. 医学のあゆみ **103**: 479-499, 1977.
- 13) Cooley JRT, Holland WW and Corkhill RT: Influence of passive smoking and parenteral phlegm on pneumonia and bronchitis in early childhood. *Lancet* **II**: 1031-1034, 1974.
- 14) Harlap S: Infant admission to hospital and maternal smoking. *Lancet* **I**: 529-532, 1974.
- 15) O'Connor GT, Weiss ST, Tager IB and Speizer FE: The effect of passive smoking on pulmonary function and non-specific bronchial responsiveness in a population based sample of children and young adults. *Am Rev Respir Dis* **135**: 800-804, 1987.
- 16) Martinez FD, Antognoni G, Marci F, Bonci E, Midulla F, De Castro G and Ronchetti R: Parental smoking enhances bronchial responsiveness in nine-year-old children. *Am Rev Respir Dis* **138**: 518-523, 1988.
- 17) Davis BR, Whitehead JK, Gill ME, Lee PN, Butterworth AD and Roe FJC: Response of rat lung to inhaled vapour phase constituents (VP) of tobacco smoke condensate given intratracheal instillation. *Br J Cancer* **31**: 462-468, 1975.
- 18) 松葉健一, 杉山浩太郎, 重松伸昭, 河津武俊, 古森正興: 喫煙の気道上皮に及ぼす影響(2), 年齢との関連. 肺癌 **9**: 62-63, 1969.
- 19) Wynder EL and Hoffmann D: Tobacco and health: a social challenge. *N Eng J Med* **300**: 894-903, 1979.
- 20) The Health Consequences of SMOKING 1975. U.S. Dept. of Health, Education, and Welfare Public Health Service, 1975.
- 21) Sandler DP, Wilcox AJ and Everson RB: Cumulative effects of lifetime passive smoking on cancer risk. *Lancet* Feb **9**: 312-314 1985.
- 22) Hammond EC and Horn D: Smoking and death rates-Report on forty four months of follow up of 187,783 men. II. Death rates by cause. *JAMA* **166**: 1294-1308, 1958.
- 23) Hammond E C: Smoking in relation to the death rates of one million men and women. *Natl Cancer Inst Monogr No.* **19**: 127-204, 1966.

- 24) Simpson WJ: A preliminary report of cigarette smoking and the incidence of prematurity. *Am J Obstet Gynecol* **73**: 808, 1957.
- 25) 星 和彦, 舟木憲一, 劉 雪美, 安達寿夫: 妊婦喫煙と低体重児出生. *新生児誌* **13**: 164-171, 1977.
- 26) Graham S and Levin ML: Smoking withdrawal in the reduction of risk of lung cancer. *Cancer* **27**: 865-871, 1971.
- 27) Atherosclerosis Study Group and Epidemiology Study Group.: Primary prevention of the atherosclerosis Disease. *Circulation* **XLII**, A55-95, 1970.
- 28) Tominaga S and Itoh K: Relationship between smoking and respiratory diseases of three year old children. *Tokai J Exp Clin Med* **10**: 395-399, 1985.
- 29) Chen MF, Kimizuka G and Wang NS: Human fetal lung changes associated with maternal smoking during pregnancy. *Pediatr Pulmonol* **3**: 51-58, 1987.
- 30) Martin TR and Bracken MB: Association of low birth weight with passive smoke exposure in pregnancy. *Am J Epidemiol* **124**: 633-642, 1986.
- 31) Pedreira FA, Guandolo VL, Feroli EJ, Mella GW and Weiss IP: Involuntary smoking and incidence of respiratory illness during the first year of life. *Pediatr* **75**: 594-597, 1985.
- 32) Ebert RV and Terracio MJ: The bronchiolar epithelium in cigarette smokers. Observations with the scanning electron microscope. *Am Rev Respir Dis* **111**: 4-11, 1975.
- 33) Kollerstorm N, Lord PW and Whimster WF: A difference in the composition of bronchial mucous between smokers and non-smokers. *Thorax* **32**: 155-159, 1977.

1日1回投与可能な抗不安薬

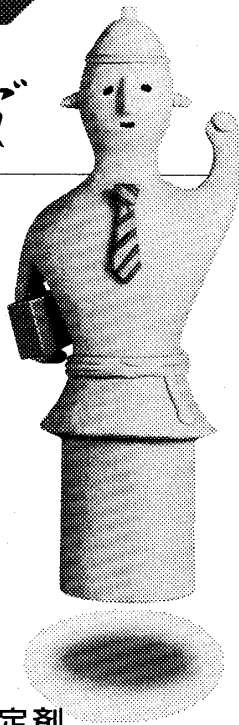
MEILAXで

リラックス

メイラックスは
特に不安・抑うつ・睡眠障害
に対して有効な
ベンゾジアゼピン系薬剤です

特 性

- 1 1日1回投与が可能です
- 2 抗不安作用と運動系機能抑制作用の分離性に優れています
- 3 神経症に確かな効果を発揮します
- 4 自律神経失調症など各種心身症における多彩な愁訴を早期に改善します
- 5 副作用が少なく使いやすい抗不安薬です



効能・効果

- 神経症における不安・緊張・抑うつ・睡眠障害
- 心身症（胃・十二指腸潰瘍、慢性胃炎、過敏性腸症候群、自律神経失調症）における不安・緊張・抑うつ・睡眠障害

用法・用量

通常、成人には、ロフラゼパ酸エチルとして2mgを1日1~2回に分けて経口投与する。なお、年齢、症状に応じて適宜増減する。

使用上の注意

1. 次の患者には投与しないこと
 - (1)急性狭隅角緑内障のある患者
 - (2)重症筋無力症のある患者
 2. 次の患者には慎重に投与すること
 - (1)心障害、肝障害、腎障害のある患者
 - (2)脳に器質的障害のある患者（作用が強くあらわれる）
 - (3)乳児・幼児・小児
 - (4)高齢者（運動失調が起こり易い）
 - (5)衰弱患者
 3. 副作用
 - (1)依存性
大量連用により、まれに薬物依存を生じることがあるので、観察を十分に行い、用量をこえないよう慎重に投与すること。また、大量投与又は連用中における投与量の急激な減少ないし投与の中止により、まれに痙攣発作、ときにせん妄、振戦、不眠、不安、幻覚、妄想等の禁断症状があらわれることがあるので、投与を中止する場合には徐々に減量するなど慎重に行うこと。
- ※その他の使用上の注意などの詳細は、添付文書をご覧ください。

(資料請求先)

製造販売元



明治製薬株式会社

104 東京都中央区京橋2-4-16

TEL: 03(272)6511

技術導入・販売提携

明治サノフィ薬品株式会社

103 東京都中央区日本橋富洲町7-13

新発売
健康適用

持続性心身安定剤

1mg
2mg
メイラックス錠

MEILAX® Tablets

ロフラゼパ酸エチル