
大気汚染が人の肺に及ぼす影響とその発生機序についての 病理学的・公衆衛生学的研究

Pathological and mineralogical analysis of human lungs, in respect of the influence of atmospheric pollution

代表研究者

埼玉医科大学教授
Prof., Saitama Medical School
Motohide TAKAHAMA

高濱 素秀

協同研究者

埼玉医科大学教授
Prof., Saitama Medical School
Kazuo TAKEMOTO

竹本 和夫

埼玉医科大学講師
Assist. Prof., Saitama Medical School
Hiroaki NAKAMURA

中村 裕昭

埼玉医科大学助手
Assist., Saitama Medical School
Susumu OHSHIMA

大島 晋

埼玉医科大学助手
Assist., Saitama Medical School
Shuuichi ADACHI

安達修一

Particulate air pollutants inhaled in the human lung, partly deposit in the lung tissue and produce black-colored patches, the state called anthracosis. The qualitative and quantitative analyses of particulate pollutants (PP) accumulated in the lung tissue are seemed to be valuable to evaluate lung pollution. So, we performed elemental analysis of the PP in the human lung by several methods, combined with histopathological examination of the lung tissue.

The majority of cases used were obtained from our Saitama Medical School Hospital, and additional cases were collected from Tokyo, China and New York. Most of lungs were fixed by intratrachial formalin infusion. Degrees of anthracosis were analyzed by our image-analyzing system, and histological examination was carried out on every whole pulmonal cut surface devided into many small pieces. The mineral constitution of pollutants was analyzed by those of a wavelength-dispersive X-ray fluorescence analyzer, and an atomic absorption analyzer, and an energy-dispersive X-ray microanalyzer installed in a scanning electron microscope. Nuclear DNA content of cells was measured on isolated cells from paraffin-embedded tissue sections of lungs.

As results, the image-analysis on 111 autopsy cases of Saitama Medical School revealed that total area of black-collored patches in total area of pulmonal cut surface were 0.05% in minimum, 17.95% in maximum, 3.41% in average. The intensity of anthracosis increased parallel with age and was severer in males than in females.

The wavelength-dispersive X-ray fluorescence analysis revealed high contents of Si, Ca, Mg, Fe and Al in the PP isolated from lungs of Saitama residents, while other trace elements were also found. In Saitama cases, PP of smokers showed a higher content of Fe, Zn, Pb and Ca as compared to non-smokers, and blue-collar workers showed higher content of Ca, Cu, Zn and Pb as compared to other occupational categories. In Kreyberg type-I lung cancer group (squamous cell cancers and small cell cancers), the level of some heavy metals such as Fe, Pb, Cr, Mn and Ni tended to be higher than Kreyberg type-II (adenocarcinomas) or non-cancer group, suggesting significant

pollution by heavy metals in these lung cancer cases. Differences of living places of patients exhibited apparent difference of elemental constitution of PP, namely, Si and Al were highest in China cases, lowest in New York cases and middle level in Saitama and Tokyo cases, while Mg, Cr, Mn and Ni were highest in New York cases and low level in China cases, suggesting soil-originated air pollution is dominant in China while pollutions derived from industrial activities are dominant in New York.

The histological examination revealed that accumulation of PP cause damage of alveolar wall to produce emphysema. Squamous metaplasia of bronchial epithelium was found correlating with smoking index and also with content of Fe in the PP. Adenomatous metaplasia of terminal bronchioles and alveoli was found correlating with age and also with content of Cd in the PP. Both types of metaplasia were found independent to the degrees of anthracosis.

Elementary analysis on the scar tissue in lung cancer lesion by means of the energy-dispersive X-ray microanalyzer showed only higher Si content, and no significant higher level of carcinogenic metals such as Cr or Ni.

The atomic absorption analysis of lung tissue on 314 autopsy cases of Saitama residents revealed higher content of Fe, Cr, Ni and Pb in males, as compared to females.

Finally, we feel that the elemental analysis of the PP in the human lung represented valuable information about atmospheric pollution of the person in the past. In general, the increasing atmospheric pollution seemed to develop emphysema of lung, and the occurrence of lung cancers seemed to have closer correlation with cigarette smoking, and also with some particular pollution containing heavy metals, not with pollution of common type.

研究目的

近年の肺癌の増加ならびに呼吸器疾患の増加の原因として大気汚染が注目を集めている。大気を汚染する物質にはガス状汚染物質 (gaseous pollutant) と粒子状汚染物質 (particulate pollutant) とがある。そのうちガス状汚染物質は、NO_x, 亜硫酸ガス, 一酸化炭素などであって、これらが肺組織を障害することは、実験動物においては証明可能であっても、肝心の人においてこれを物的証拠を挙げて証明することは困難である。一方、粒子状汚染物質は粉塵および煤煙が主体であって、地面や路面から舞上がる砂塵、石炭や石油系燃料や廃棄物などの煤煙、タバコの煙、建築物の破壊などから発生する塵埃などが主体をなすが、鉱山や工場などの職場においてはその生産活動によって発生する特殊な粉塵が問題となる。これらの粉塵や煤煙が肺内に吸入されると、その大部分は気道の浄化機能により体外へ排泄されるが、その一部は粒子状沈着物として肺組織の一定の部位に蓄積し、その蓄積部は肉眼的にも黒色の斑点を示し、肺の炭粉症 (anthracosis) と呼ばれる状態を作り出す。したがって、肺内の粒子状沈

着物は、大気汚染がその人の肺に残した重要な証拠物質と思われる。大気中の粒子状汚染物質についての研究は数多くあるが、肺内に沈着した粒子状沈着物についての分析の報告は数少なく^{1,2)}、また、これと肺の組織変化との関連についての研究報告は認められない。今回、我々は、この肺内の粒子状沈着物の元素組成を分析することにより、その人が大気から受けた汚染の性状を推定するとともに、その他の方法によっても肺内の元素組成を検索し、一方では同じ肺を病理組織学的に検索して、肺の汚染に関連した組織変化を見いだし、その発生機序を推定することを試みた。

研究成果および考察

今回の研究材料に用いた人の肺組織は、まず、比較的多数の症例を埼玉医科大学（以下、埼玉医大）の昭和 59 年から 61 年までの病理解剖例ならびに一部肺癌手術例から得て、これを地方都市部の症例（以下、埼玉症例）とみなして分析し、次いで症例数は前者に比べて少ないが、大都市部の症例として、東京都立駒込総合病院の病理解剖例ならびに肺癌手術例（以下、東京症例）および New York 市 Mount Sinai 医科大学の肺癌手術

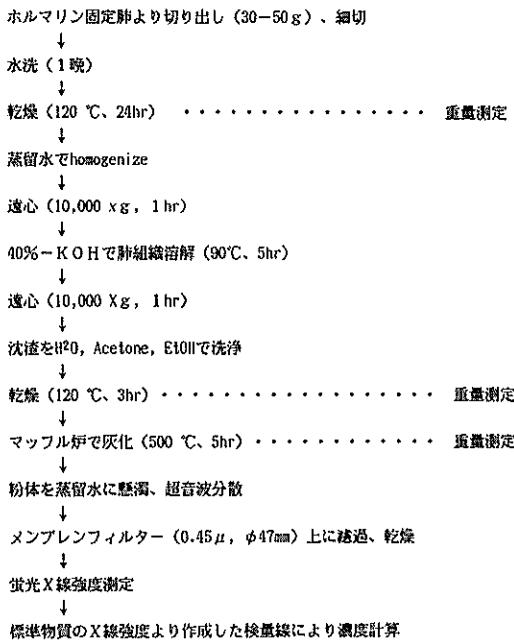


Fig. 1. Method of extraction and elemental analysis of particulate pollutants (PP) in the lung using X-ray fluorescence technique.

例 (以下, New York 症例), また非工業地帯の症例として中国の山西省の山西医学院および山西省人民病院の肺癌手術例 (以下, 中国山西省症例) より得た肺組織をそれぞれ分析した。

方 法

1) 画像解析法による炭粉症の強度測定

炭粉沈着の強度測定は, 剖検時に気管支内にホルマリン固定液を注入して膨らませて固定した肺の断面をカラー写真に撮影し, そのカラースライドをコンピュータに連結したデジタイザ上に拡大投影し, 画像解析用のソフトを用い, 肺断面上の黒色斑点の総面積が肺の断面の総面積に占める割合を測定した。

2) 肺内の粒子状沈着物の抽出と, それについての蛍光X線による元素分析

材料には, 埼玉症例として埼玉医大の一般病理解剖例 61 例, 肺癌解剖例 43 例と肺癌手術例 14 例, 東京症例の病理解剖例 21 例, また New York 症例の肺癌手術例 9 例, ならびに中国山西省症例の肺癌手術例 6 例の総計 118 例の肺を用

いた。

方法は, 既に報告した方法によった³⁾。すなわち, ホルマリン固定の肺より, 病理解剖材料の場合は左右の各葉 (五つの肺葉) および肺門部リンパ節の 6 部分から, また肺癌手術材料の場合は癌のない肺組織から, それぞれ湿重量で 30~50 g の組織を切り出し, Fig. 1 のごとく, ホモジナイズし, 強アルカリで組織を溶解して粒子状沈着物を分離し, これを高温灰化した後に蛍光 X 線法により元素の定性・定量分析を行なった。分析には波長分散型蛍光 X 線装置 (理学電機(株)製, 3063 型) を用い, 元素濃度の計算のための標準物質としては, 重元素の場合は錯体沈殿法による金属錯体粉末を, また軽元素の場合は各元素の酸化物粉末を用いた。

3) 病理組織学的検索

剖検時に気管支よりホルマリン固定液を注入して膨らませて固定した左右の肺につき, その最大断面の大切片をハムスライサーで切り取り, その全面を細分割していわゆる全分割組織片を作製した。その細分割組織片の数は 1 症例当たり 60 ないし 70 個となつたが, これらの組織片から通常の方法でヘマトキシリソ・エオジン染色の組織標本を作製し, 顕微鏡で観察した。

4) 細胞の核 DNA の測定

肺構成細胞の核 DNA 測定のためには, 核が密に重積しているために個々の核が分離測定できない気管支粘膜では, 我々の開発したパラフィン切片 (100 μ) から細胞を分離して測定する方法⁴⁾を用い, 核が比較的疎に配列している肺末梢部では, 15 μ 切片上で直接測定する方法⁵⁾を用いた。核 DNA 測定のための蛍光染色は, 高浜が開発したヘマトポルフィリン・DAPI 法による DNA 蛋白同時染色法⁶⁾を用い, 定量はコンピュータ連動の蛍光定量顕微鏡 (Zeiss 社製, MPO 3) により紫外線励起下で行ない, リンパ球を 2C 標準値としてヒストグラフを作製した。

5) 走査電顕による元素分析

材料には本学の一般病理解剖例の炭粉沈着の著明な症例 7 例, ならびに肺癌症例 16 例 (扁平上皮癌 6 例, 小細胞癌 3 例, 腺癌 3 例, 大細胞癌 2

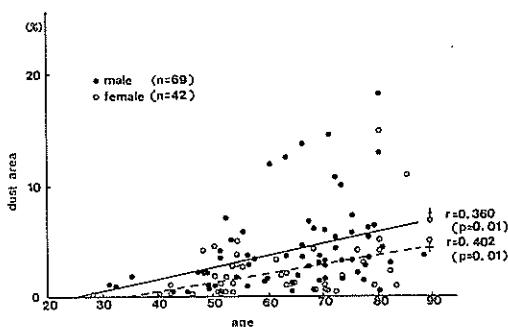


Fig. 2. Correlation between total dust area in a pulmonary cut surface and age of 111 patients.

例)を用い、方法としては、既に報告した手技⁷⁾に従った。すなわち、ホルマリン固定の肺組織のパラフィンブロックより、光顕用の 5μ 切片と元素分析用の 10μ 切片とを作製し、光顕用切片は日常の方法でヘマトキシリン・エオジン染色を施し、顕微鏡で観察して分析対象となる部位を決定するのに用い、元素分析用切片はサーマノックス板に貼付、脱パラフィンし、 1.5 cm 角に目的部位を切り取って試料台に両面テープで接着し、カーボンのみの蒸着を施し、S-500 走査電子顕微鏡((株)日立製作所製)に装着したX線微小分析装置 EDX 7000 D (Kevex 社製)で元素分析を行なった。分析の対象とした部位は、細気管支周囲、血管周囲、胸膜、瘢痕組織および肺門部リンパ節の各部で炭粉沈着が高度な部分で、走査電顕で組織構造を観察して沈着物の存在を確認し、その部の $15 \times 15 \mu\text{m}^2$ の面積につき、加速電圧 20 kV 、照射電流 10 A 、計測時間 100 秒 で計測した。各元素から発生したX線強度の計算には内蔵のプログラム BKG を用い、各ピークを中心に 170 eV 幅のウインドーをかけるとともにバックグラウンドを除去し、残りを積算して当該元素の特性X線強度とした。分析の対象とした元素は、アルミニウム(Al)、珪素(Si)、磷(P)、硫黄(S)、カリウム(K)、カルシウム(Ca)、チタン(Ti)、鉄(Fe)、銅(Cu)、マグネシウム(Mg)、塩素(Cl)、クロム(Cr)、マンガン(Mn)、コバルト(Co)、ニッケル(Ni)、亜鉛(Zn)、カドミウム(Cd)の17種類で

あり、各元素の量は、上記の全元素の特性X線強度の総和に対する各元素の百分率として相対的に算出した。切片上の計測は、各部位あたり4ないし8箇所を無作為に行ない、マイクロコンピュータを用いて各元素の特性X線強度の平均値および標準偏差値を求めた。

6) 原子吸光法

材料として、病理解剖により得られた肺より、原則として右上葉の病変の少ない部分より約 100 g を採取し、その一部は組織標本作製に供し、残りを細切、乾燥し、精秤して、硝酸-過塩素酸により湿式灰化し、その一定容量を試料とし、AA-1100 原子吸光装置 (Varian Techtron 社製) を用い、Cu, Zn, Fe, Mg, Ca の各元素については直接分析を、また鉛(Pb), Ni, Cd, Co の各元素については試料を、一たんジエチルジチオカルバミン酸のキレートとした後に4-メチル-2-ペンタノンにて抽出して分析を行なった。Cr については、乾燥し精秤した組織を乾式灰化して硝酸にて溶解し、CRA-90 フレームレス原子化装置を用いて分析した。また、各元素濃度のデータは、分散分析により統計学的に比較した。

結 果

1) 画像解折による炭粉症の強度分類

検索した111例の年令は $28\sim88$ 歳、平均63歳、男女比6:4で、炭粉沈着の黒色斑点が肺の割合に占める面積比は、最大17.95%、最小0.05%、平均3.41%であり、炭粉症の強度分類としては、この黒色斑点の面積比が10%以上のものを高度炭粉症、10%未満で5%以上のものを中等度炭粉症、5%未満のものを軽度炭粉症と定めた。この炭粉症の強度別をみると、高度炭粉症は9例(8.1%)、中等度炭粉症は13例(11.7%)、軽度炭粉症は89例(80.2%)であった。炭粉症の強度と年令との関係では正の相関を示した(Fig. 2)。また、強度炭粉症の症例は60歳以上の高令者のみに見られた。肺葉別を比較してみると、まず上葉/下葉比は、右肺で最大26.20、最小0.08、平均3.29、左肺で最大27.25、最小0.26、平均4.28で、左右とも上葉が下葉に比べて平均値で3~4倍高度であり、この炭粉の上葉集積傾向は左肺が右肺より

Table 1. Contents of each element in the mineral part of the particulate pollutants (%) represented by geometrical means, the ranges which include 95% of data (in brackets) and the numbers of data (in parentheses) in each group.

↑; significantly higher than the other sex by Wilcoxon's test ($P=0.01$).

Elements Groups	Si	Ca	Mg	Fe	Al	Cd	Cu	Pb	Zn	Cr	Mn	Ni
Male	14.9 [5.4 ~40.8]	5.9 [1.5 ~23.0]	6.5 [2.1 ~20.2]	7.5↑ [2.8 ~19.6]	4.5 [1.7 ~12.2]	0.109 [0.027 ~0.443]	0.079 [0.013 ~0.489]	0.037 [0.004 ~0.319]	0.048 [0.017 ~0.137]	0.039 [0.011 ~0.140]	0.033 [0.013 ~0.087]	0.010 [0.002 ~0.055]
	(n) (73)	(73)	(59)	(73)	(73)	(69)	(73)	(65)	(64)	(67)	(67)	(73)
Female	15.3 [4.9 ~48.0]	6.7 [1.8 ~24.9]	9.6↑ [3.9 ~23.5]	5.0 [2.0 ~12.2]	4.5 [1.4 ~14.4]	0.121 [0.039 ~0.430]	0.114 [0.036 ~0.363]	0.051 [0.006 ~0.474]	0.053 [0.023 ~0.118]	0.039 [0.008 ~0.190]	0.035 [0.016 ~0.079]	0.012 [0.003 ~0.048]
	(n) (39)	(39)	(29)	(39)	(39)	(36)	(38)	(35)	(33)	(37)	(37)	(39)

強い傾向にあった。上葉を左右で比べると、右上葉/左上葉比は最大 4.82、最小 0.02、平均 1.21、と右上葉の炭粉症がやや優位であった。また、下葉を左右で比べると、右下葉/左下葉比は最大 59.5、最小 0.09、平均 2.40 で、下葉では右肺の炭粉症が明らかに高度であった。炭粉症強度と組織変化との関連では、炭粉症が肺気腫の発生に深く関連していたが、肺癌発生との関連性は証明できず、また肺末梢に発生した化生性の病変との関連性も現在のところ証明出来ない。

2) 肺から分離した粒子状沈着物についての蛍光 X 線元素分析

肺から分離した粒子状沈着物の組織内濃度について、埼玉の症例につき、喫煙歴の有無および職業別にグループ分けして比較検討したが、各グループの平均値の間には統計的に有意の差はみられなかった。しかし男女別みると、男性のほうが女性よりも有意に高い平均値を示した（幾何平均値が男 1.12%、女 0.84%）。また、炭粉症の強度と粒子状沈着物の濃度は統計的に有意に相関していた。

元素分析の結果を (Table 1) に示したが、粒子状沈着物中の濃度が最も高い無機成分は Si で、次いで Ca, Mg, Fe, Al、その他の微量元素 (Cd,

Cu, Pb, Zn, Cr, Mn, Ni など) が続いた。男女差についてみると、Fe は男性の方が有意に高く、Mg は女性の方が有意に高い平均値を示した。喫煙歴との関連では、男性の喫煙者では Ca, Fe, Zn, Pb の値が非喫煙者よりも有意に高い平均値を示したが、女性では喫煙者と非喫煙者の間に有意な差はみられなかった。職業歴によって分類すると、女性の農業従事者の群で Si と Al の値が他の群より有意に高く、男性の肉体労働者の群で Ca, Cu, Zn, Pb が他の群より有意に高かった。また、症例を非肺癌例、Kreyberg-I 型肺癌例（扁平上皮癌、小細胞癌）（肺門部肺癌が多い）、Kreyberg-II 型肺癌例（腺癌）（末梢部肺癌が多い）に分類した場合、Kreyberg-I 型の肺癌において、重金属汚染が比較的高度であることが示された (Fig. 3)。地域差をみると、埼玉県の症例と、東京都、中国山西省、New York 市の症例を比較すると、粒子状沈着物の組織内濃度については有意な差はみられなかったが、粒子状沈着物中の元素濃度には大きな地域差がみられた (Fig. 4)。すなわち、Si, Al は中国山西省症例で最も高く、New York 症例で最も低く、埼玉と東京の症例は、両者の中間の値であるが、埼玉症例は中国例にやや近く、東京例は New York 例にやや近

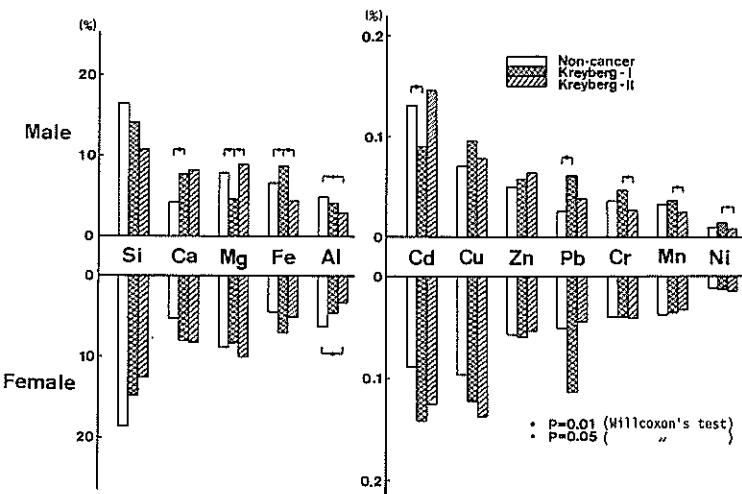


Fig. 3. Geometrical mean contents of each element in the mineral part of the PP classified into each group of lung cancer categories.

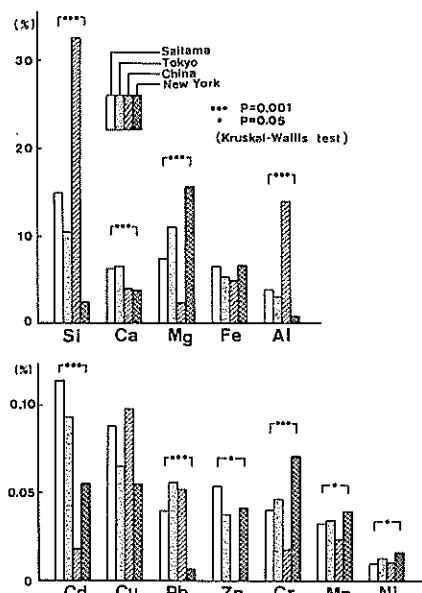


Fig. 4. Geometrical mean contents of each element in the mineral part of the PP classified into each group of residences.

かった。他方、Mg, Cr, Mn, Ni の値は New York 症例で最も高く、中国のそれは概して低かった。その他、Ca, Cd, Pb, Zn についても統計的な有意な地域差がみられた。

3) 病理組織学的検索

肺の組織学的検索に際しては、病変を下記のように分けて検討した。

A. 黒色粒状沈着物（炭粉沈着）と直接関連する病変（炭粉関連病変）

B. 黒色粒状沈着物（炭粒沈着）とは直接には関連しない病変（合併病変）

炭粉関連病変は、炭粉沈着の部位に普遍的に認められる病変を指すものであり、合併病変は、部位的には炭粉沈着部から離れて認められる病変であるが、粘膜上皮の化生のような大気汚染との関連もありうる病変を指し、細菌性肺炎や肺梗塞などのように炭粉以外の原因によることが明瞭なものは含めない。

A. 炭粉関連病変

これには、肺気腫、細気管支周囲性線維症、血管周囲性線維症、胸膜肥厚、珪肺結節などが含まれ、その中で肺気腫は最も重大な病変へ発展していた。炭粉沈着の軽症例においては、炭粉は呼吸細気管支周囲の結合組織内に食細胞に貪食された形で存在していたが (Photo. 1), 詳細に見ると、肺小葉中心部の肺胞の隔壁内にも単独あるいは食細胞に貪食された形で認められ (Photo. 2), その際、同部の肺胞壁はほぼ正常の構造を保つ場合もあったが (Photo. 3), 多くはなんらかの程度に肺胞壁が断裂して小葉中心性の肺気腫を形成してい

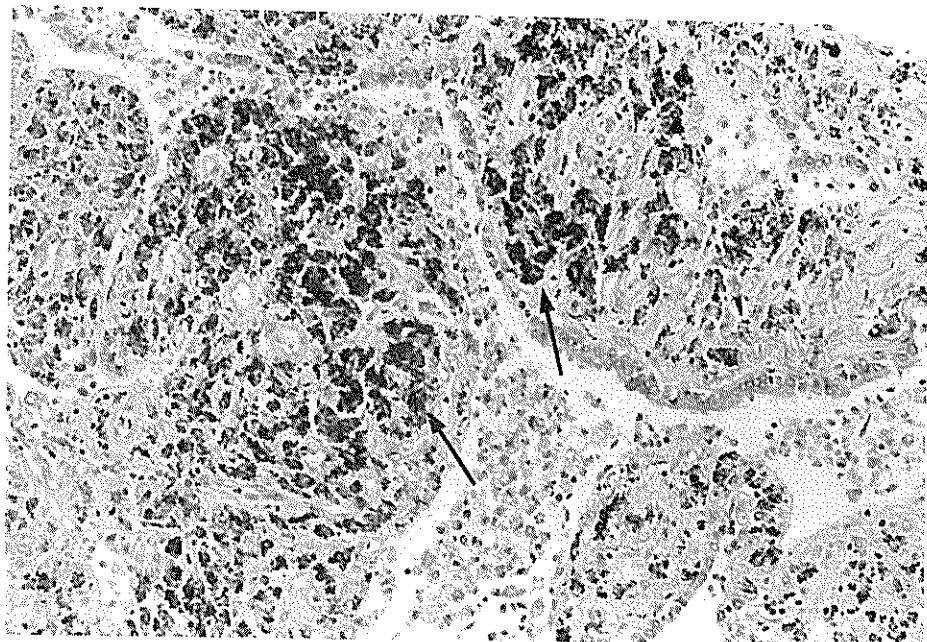


Photo. 1. Large amount of black-colored particulate pollutants (arrows) accumulated in fibrotic peripronchial tissue of human lung. 71 year-old male. 200 \times .

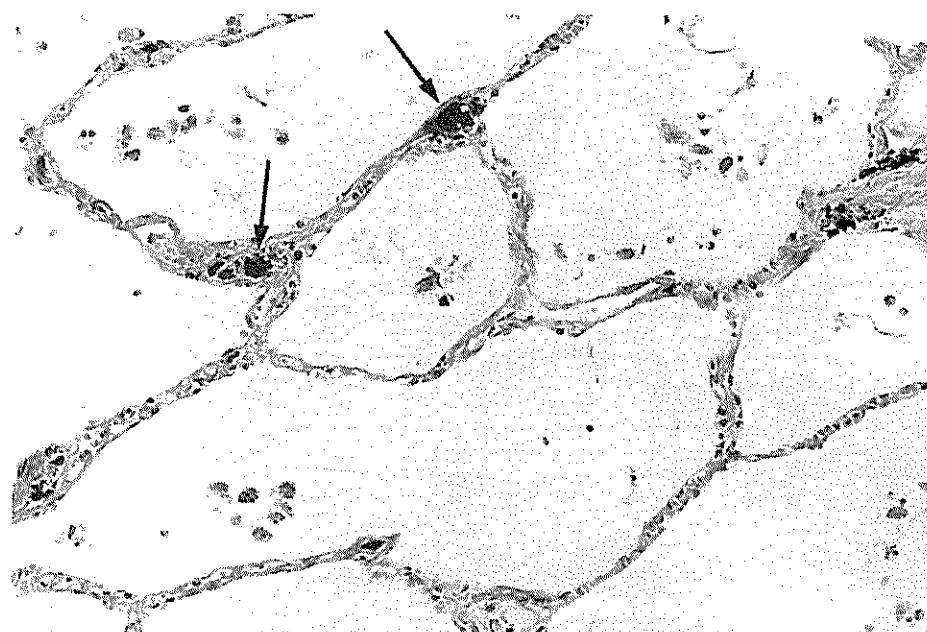


Photo. 2. Small amount of black-colored particulate pollutants collected in macrophages (arrows) in alveolar wall of lung. Same tissue of Photo. 1. 200 \times .

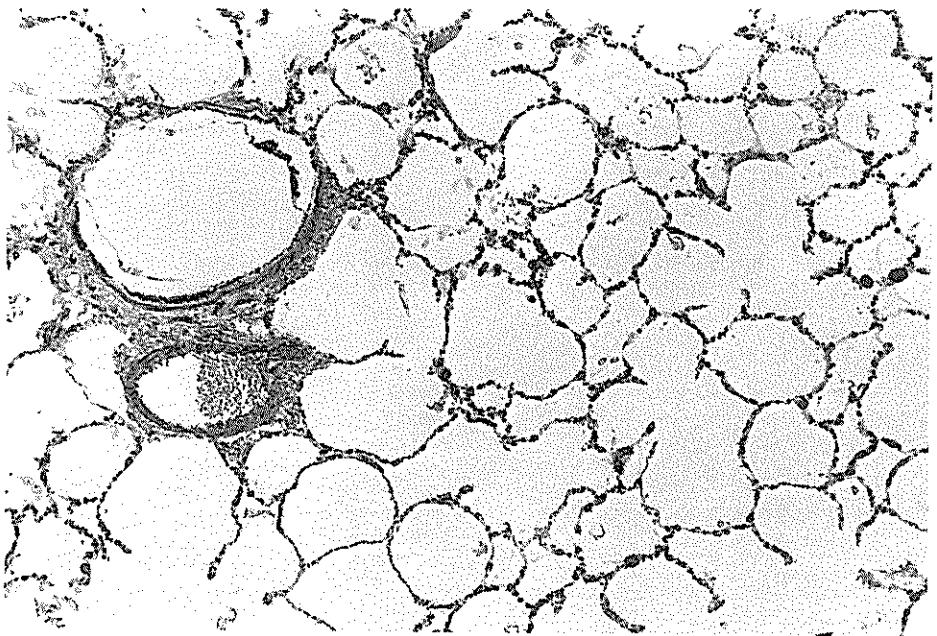


Photo. 3. Almost normal alveolar saccular structure of lung. Accumulation of particulate pollutants is minimum. 17 year-old male. 40 \times .

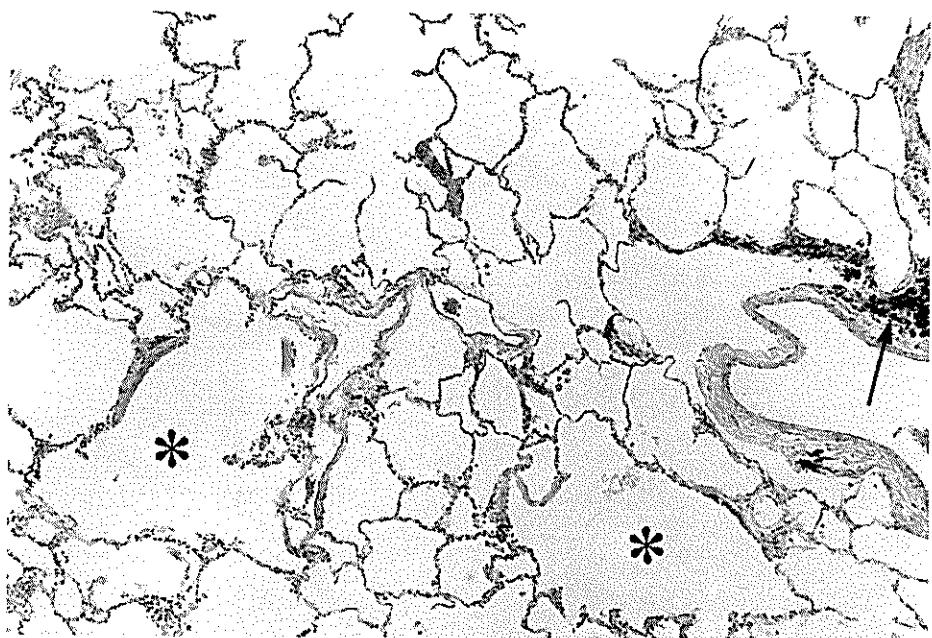


Photo. 4. Early phase of emphysema. Alveolar walls were partly disrupted and resulting wider alveolar air sapces (emphysema) (*). Accumulation of particulate pollutants (arrow) are mild in degree. 28 year-old, female. 40 \times .



Photo. 5. Moderately advanced emphysema. Disruption of alveolar walls are enhanced, normal-looking alveoli diminished in number, and air-spaces became wider (*). Accumulation of particulate pollutants (arrows) is moderate. 57 year-old, male. 40 \times .

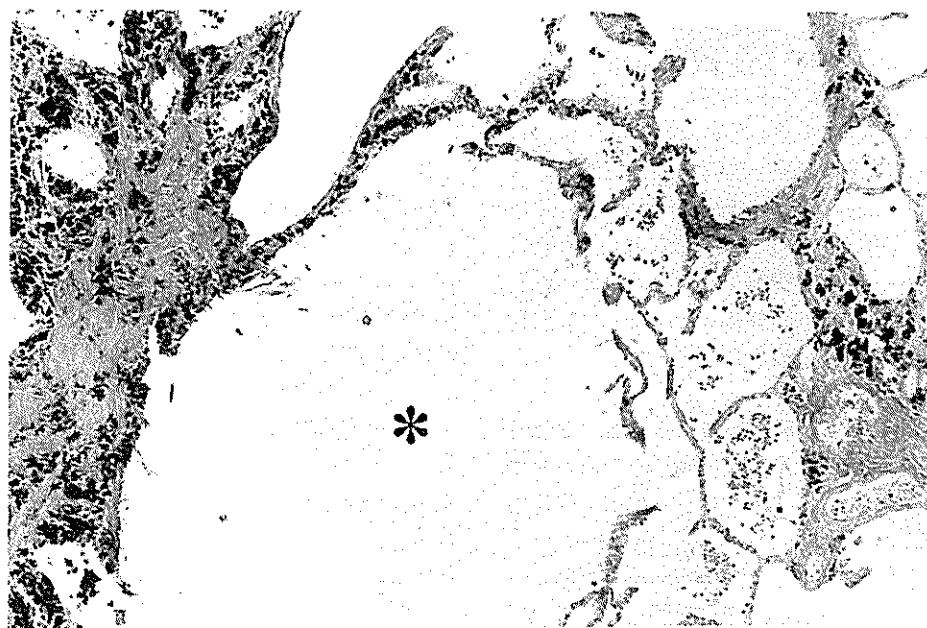


Photo. 6. Most severely advanced emphysema. Disruption of alveoli became widespread, and normal-looking alveoli are markedly diminished in number, and air-space (*) become very wide. Accumulation of black-colored pollutants is very severe. 57 year-old, male. 40 \times .

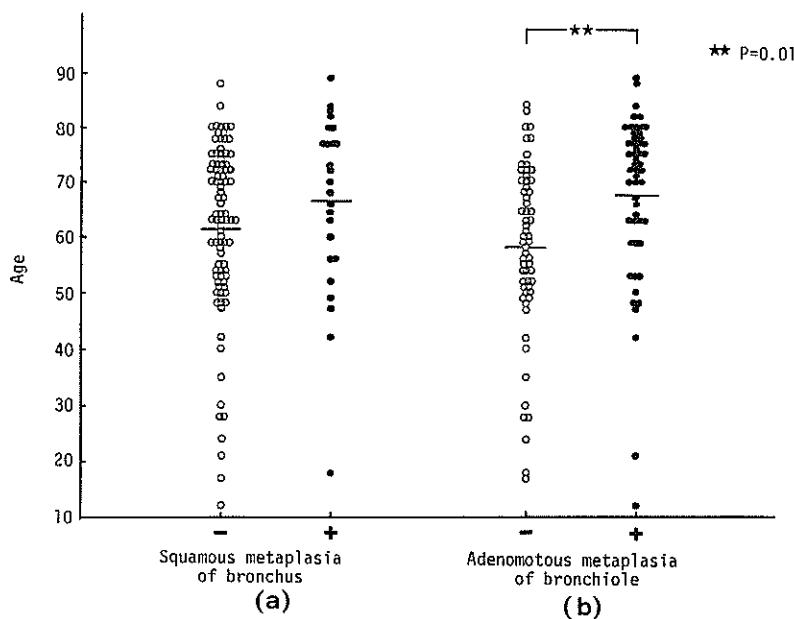


Fig. 5. Relation between age and occurrence of metaplasia in respiratory tract.

た(Photo. 4)。炭粉沈着の程度が高度になるにつれて、肺気腫は小葉中心から肺小葉周辺に向かって不規則に拡大し、汎小葉性肺気腫をきたし(Photo. 5)，ある公害病認定患者のような最重症例においては、肺気腫が肺小葉単位を越えて相互に融合して肺実質を広汎に破壊し、肺瘍 pulmonary phthisis の形態を呈していた(Photo. 6)。

細気管支周囲性線維症、血管周囲性線維症および胸膜肥厚は、炭粉量にはほぼ比例した程度に認められ、珪肺結節は独特の同心円状の硝子化瘢痕巣として肺内あるいは肺門部リンパ節に認められたが、これらの病変は、肺気腫ほどは重大な肺病変へと進行したものは認められなかった。

B. 合併病変

これには、気管支粘膜、細気管支粘膜、および肺胞の各上皮細胞の化生および過形成を取り上げた。気管支粘膜上皮の化生はすべて扁平上皮化生であったが、これは検索した 117 例の肺のうち 26 例 (22.2%) に認められ、その出現は年齢の高齢化とは相関せず (Fig. 5 (a)), 喫煙指数と正の相関を示し (Fig. 6 (a)), 炭粉症と程度とは相関しなかった。その肺内分布は、太い気管支のみでなく末梢の気管支にも出現し、その範囲の広さは広範

囲から点状までさまざまであった。これら扁平上皮化生の細胞構成は、全く正常の扁平上皮の形態を示すものはまれで、通常はなんらかの程度の異形成 dysplasia を伴っていた (Photo. 7)。また沈着物の元素との関連では、扁平上皮生陽性例では沈着物中 Fe の濃度が高い傾向がみられた ($P=0.05$)。

細気管支上皮および肺胞上皮の化生は、多くは腺様化生 (立方上皮化生) であるが (Photo. 8), まれに扁平上皮化生あるいは線毛上皮化生も見られた。このような化生は検索した 117 例の肺のうち 54 例 (46.2%) に認められ、その出現は年齢の高齢化と相関し (Fig. 5 (b)), 喫煙指数 (Fig. 6 (b)) および炭粉症の程度とは相関しなかった。また、特に粒子状沈着物内の元素との関連では、陽性例では Cd の値が統計的に有意に高かった ($P=0.01$)。その肺内分布は、肺末梢で、胸膜直下から約 1 cm の領域にかけて出現することが多く、単発性に出現するものから、多発性に 1 cm 以上の広い範囲にわたって分布するものまでさまざまで、線維症を伴うものが多いが (Photo. 9), 時にそれを欠くものがあり、その化生上皮は過形成を示さないものから (Photo. 10), 過形成や異型 (Photo. 11) を

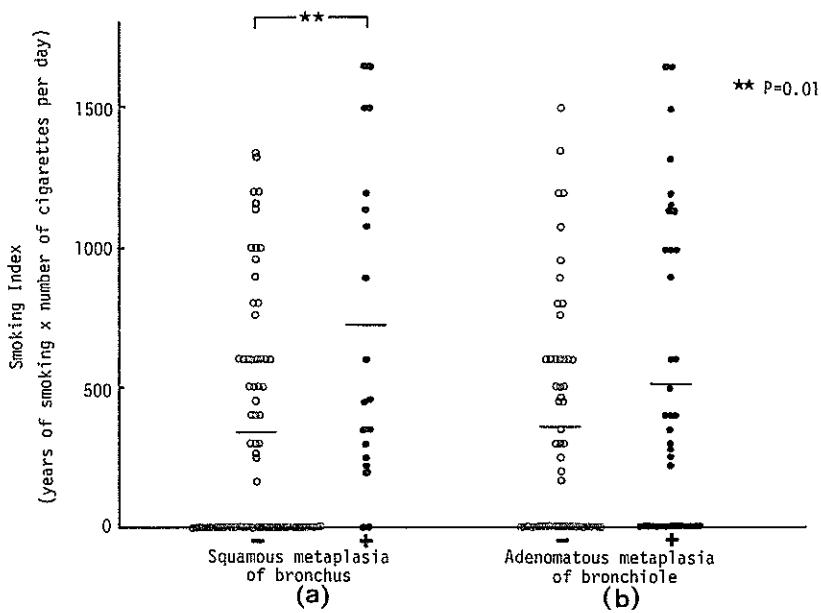


Fig. 6. Relation between smoking index and occurrence of metaplasia in respiratory tract.

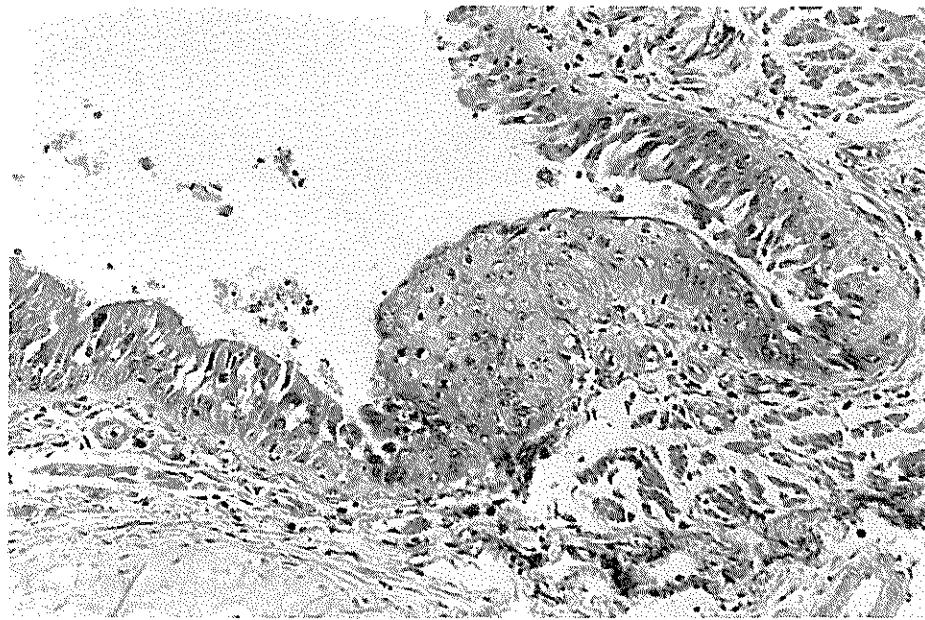


Photo. 7. Squamous metaplasia of bronchial mucosa. 72 year-old, male. 100 \times .

示すものまでさまざまであった（次のDNA測定の項を参照）。

4) DNAの測定

パラフィン切片からの細胞分離法による気管支

上皮細胞についての核DNA測定では、正常上皮部、異形成を伴った扁平上皮化生部および扁平上皮癌との区別は明瞭であった（Fig. 7）。しかし、検索症例が少ないため、肺汚染との因果関係につい

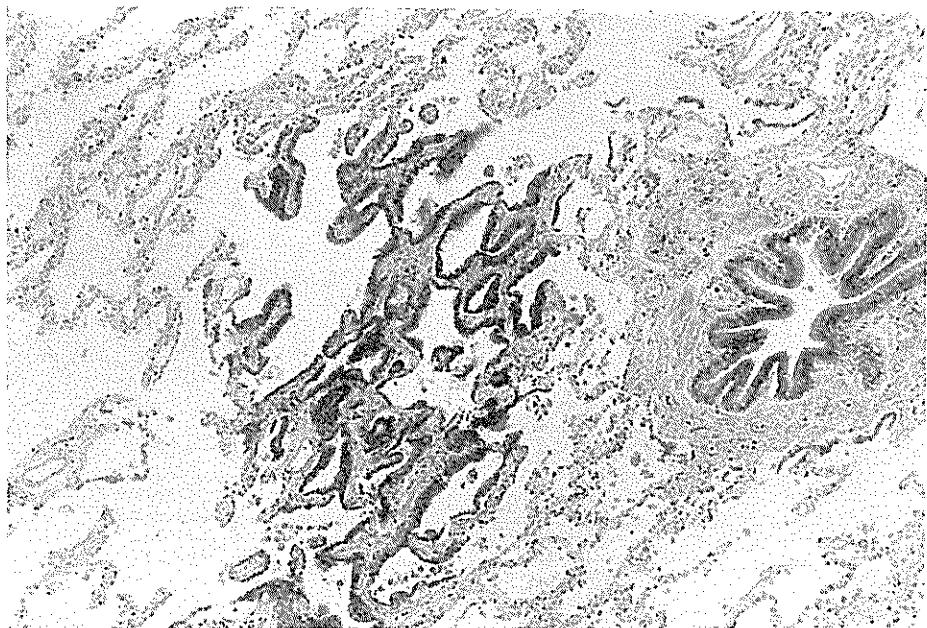


Photo. 8. Adenomatous metaplasia of alveoli of peripheral area of lung. 53 year-old, female. 40 \times .

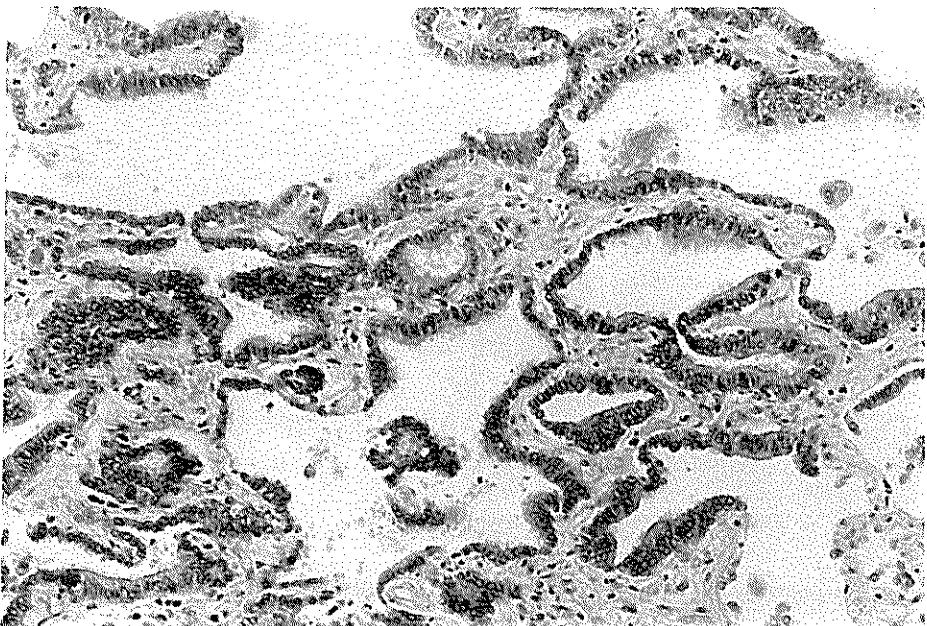


Photo. 9. A part of Photo. 8. High-columnar cells are replacing flat alveolar cells (metaplasia). 100 \times .

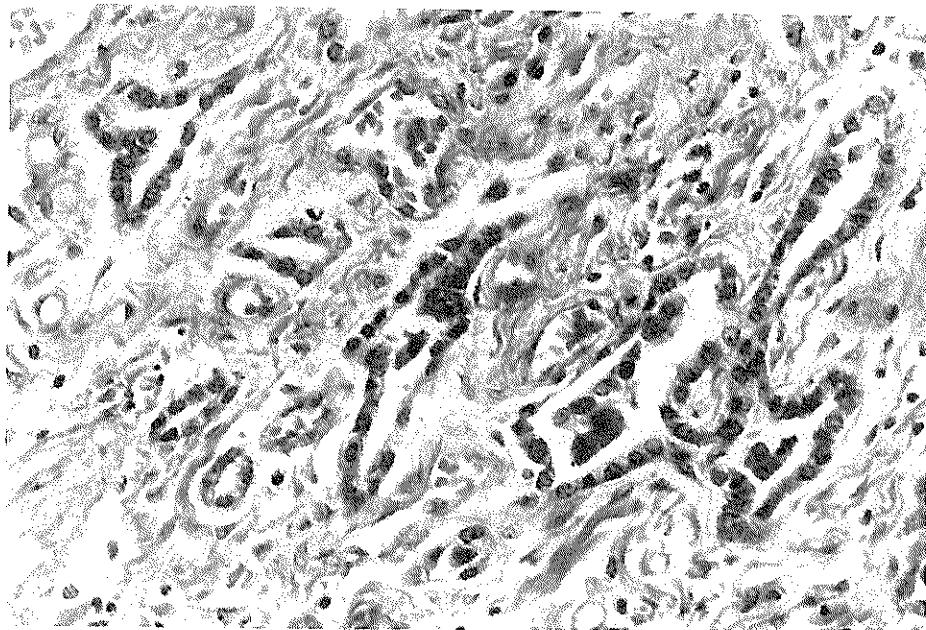


Photo. 10. Adenomatous metaplasia without cellular atypia. 54 year-old, male. 200 \times .

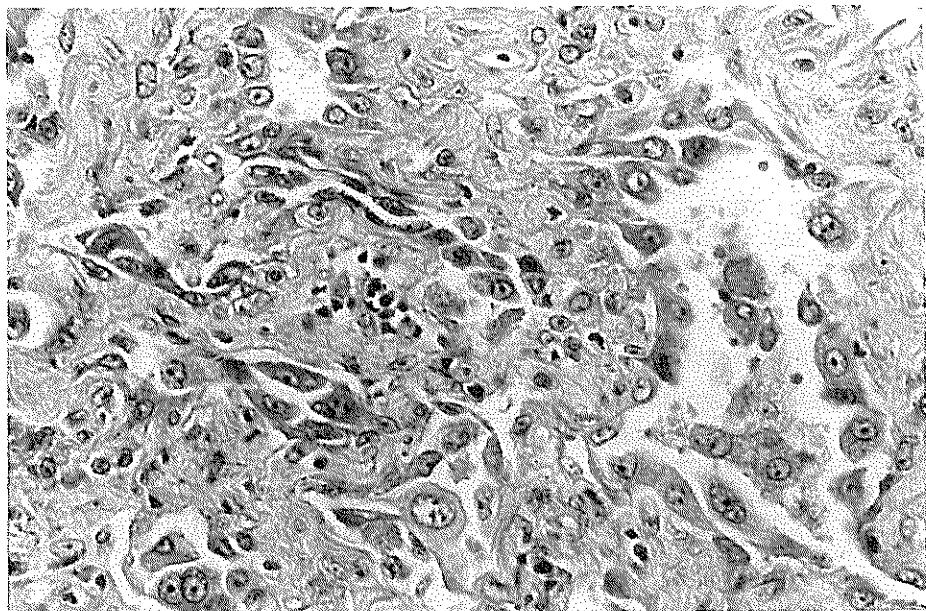


Photo. 11. Adenomatous metaplasia showing cellular atypia. Nuclei and nucleoli are irregularly enlarged. 73 year-old, male. 200 \times .

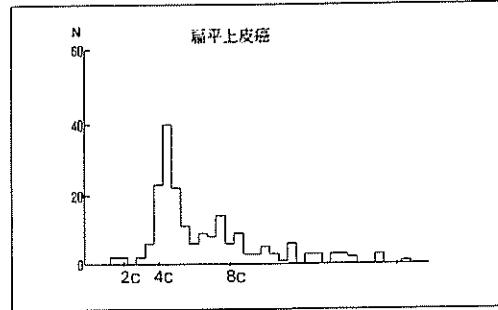
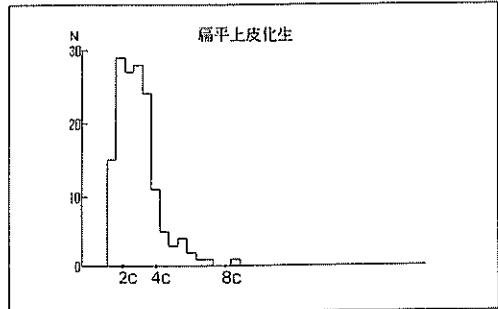
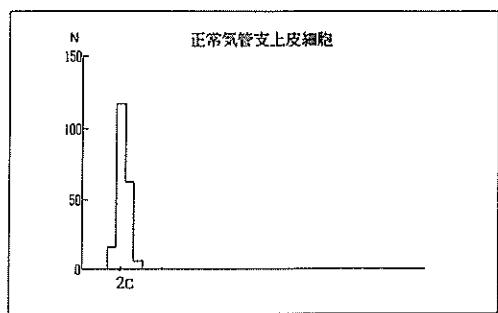


Fig. 7. DNA distribution patterns of isolated cells from paraffin sections of bronchial epithelium.

では立証できなかった⁴⁾。組織切片上で直接に核DNAを測定する方法では、肺末梢部の細胞についてのヒストグラム上で、正常の肺胞細胞と、異型を示す化生および腺癌の差が明らかであったが (Fig. 8), 症例が少ないため核異型と肺の汚染との因果関係については立証できなかった。

5) 走査電顕による元素分析

細気管支周囲、血管周囲、肺胞周囲、胸膜、肺門部リンパ節の各部位における粒子状沈着物内の各種元素につき、これを含有率にして最小量 (Min) (%), 最大量 (Max) (%), 平均値 (Av) (%) を

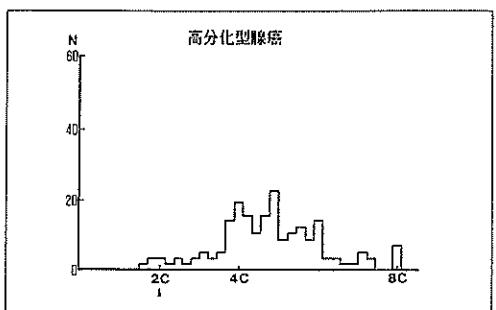
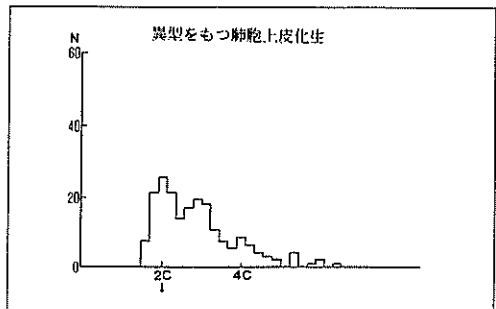
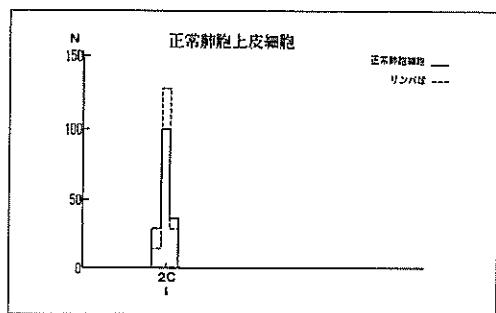


Fig. 8. DNA distribution patterns of tissue sections of bronchiole and alveoli.

見るといずれの症例においても、各組織部位に共通して Si が最も多く (Min 37.67, Max 87.5, Av 57.0), 続いて Al (Min 1.59, Max 14.53, Av 10.03), P (Min 2.03, Max 13.23, Av 7.26), Ca (Min 2.02, Max 7.86, Av 4.51), S (Min 1.53, Max 5.88, Av 4.15) が共通して検出された⁸⁾。リンパ節においては Si がより多く検出された。Ti が検出される症例が 7 例中 5 例あり、うち 2 例に強い胸膜肥厚が見られた (Fig. 9)。Si および Ti について部位別に見ると、Si はリンパ節の髓質に最も多く (63.86%) 次いでその周辺洞 (58.90%), 胸

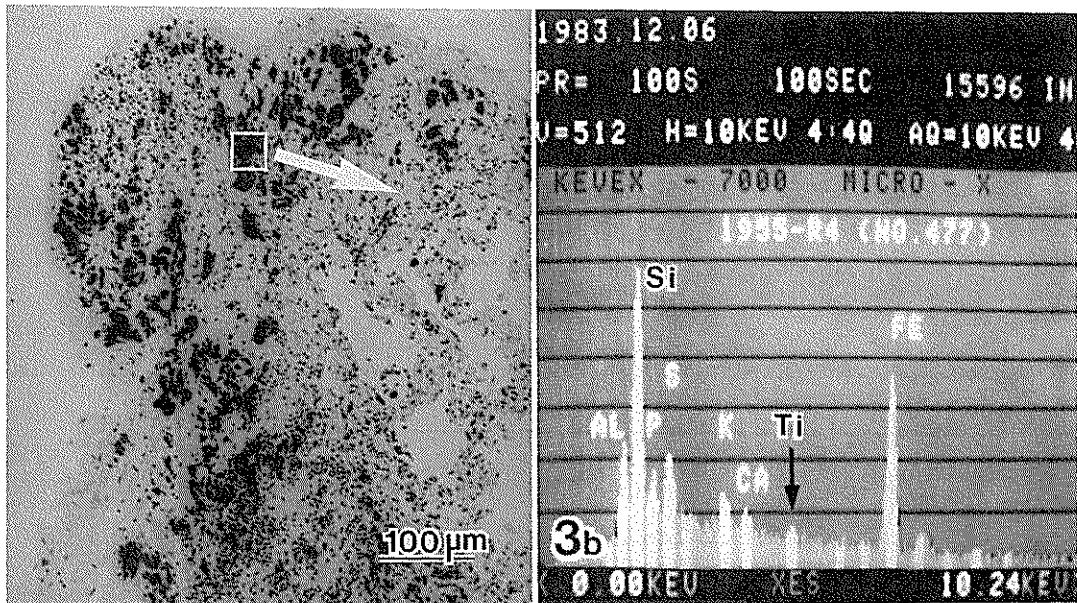


Fig. 9. Light micrograph of thickened pleura (left side), and X-ray spectrum of elements detected in deposits of pleura (right side). Note peak of Ti.

膜(44.35%), 肺内(35.57%)であったが、珪肺結節が存在する症例では同結節内のSiの含有量は他の組織部位より約20%多く検出された。Tiは胸膜で最も多く(2.83%), その他では1.5%以下であった。

肺癌例では、癌巣内、癌巣内外の瘢痕組織、胸膜およびリンパ節に分けて粒子状沈着物の分析を行なったが、癌巣内には粒子状沈着物はほとんど発見できず、瘢痕組織からは周囲の肺組織に比較してSiの高い傾向が見られた。Tiは16例の肺癌例中13例で検出され(1.2~12.6%), 胸膜をも分析した5例では3例において胸膜に最も多く検出された。癌の組織型別では、扁平上皮癌でAlが多く検出され(20.5~25.2%, 他は5~10%), 小細胞癌では全例で組織全体からSが多く検出された(13~23%, 他は6~15%)。他に測定した癌症例中2例でCrが検出され、また、Cd, Niがそれぞれ1例について検出された。

6) 原子吸光による分析

肺内の各元素の濃度についての男女の比較では(Table 2), 男性においてFe, Ni, PbおよびCrが女性より有意に高い濃度を示した。年齢との相関

では(Table 3), 正の相関関係がみられた元素はFe, CdおよびCrであり、男性では特にこの傾向が強かった。負の相関関係がみられた元素は女性ではMgとZn, 男性ではZnであった。居住地域との関連についての検討では、10歳以上の症例につき、死亡時の現住所で、埼玉県内の7地域(川越, 所沢, 熊谷, 秩父, 越谷, 戸田, その他)に分けて検討した(Table 4)。例数および平均年齢に差があるが比較は難しいが、地域別に大きな差は見られなかった。職業歴別の分析では、症例を事務職、肉体労働者、農業従事者に分類して比較したところ、有意の高値を示したものは肉体労働者におけるFe, CuおよびCr, また農業従事者におけるMgであった。喫煙歴との相関では、症例を非喫煙者、軽喫煙者(喫煙指数500未満), および重喫煙者(喫煙指数500以上)に分類して比較したところ、喫煙者でMgが低値, Pbが高値となる傾向が見られるものの、明確な差とは言い難く、喫煙と肺内元素との関連を断定することは出来なかった。

考 察

大気汚染が人の肺に及ぼす影響には、急性ある

Table 2. Concentration of 10 elements in the lungs of males females.
(Atomic absorption analysis)

SEX	Element	Fe	Cu	Ca	Mg	Zn	Cd	Ni	Co	Pb	Cr
MALE	mean	1268	12.42	2258	766.3	137.6	3.44	2.63	0.15	1.87	5.31
	age:54.3	S.D.	981	6.14	4594	367.7	55.9	2.08	5.01	0.15	1.94
	No.:203										
FEMALE	mean	1013	11.41	2054	762.5	135.6	3.46	2.32	0.15	1.55	3.29
	age:52.2	S.D.	973	4.01	1129	249.2	47.5	1.17	6.12	0.15	3.12
	No.:111										
statistical		—				—	—	—	—	—	—
significance		1%					5%		1%	1%	

Table 3. Correlation between age and concentration of element in the lung.
(Atomic absorption analysis)

	Fe	Cu	Ca	Mg	Zn	Cd	Ni	Co	Pb	Cr
MALE	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
significant	1%					1%	1%			5%
level(n=203)										
FEMALE	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
significant					1%	5%	5%			
level(n=111)										
TOTAL	✓	—	—	✓	✓	✓	—	—	—	✓
significant	1%			5%	1%	1%				5%
level(n=314)										

いは慢性のもの、直接的あるいは間接的なもの、有機物的あるいは無機物的なもの、ガス状あるいは粒子状のものなど、さまざまな因子を考慮せねばならない⁹⁾が、今回、我々は、多数の人の肺組織が入手できる立場を生かし、大気汚染がその肺に残した粒子状沈着物という証拠物質を、無機元素の分析という手段で検索し、併せてその人の居住地、職業歴、喫煙歴のアンケート調査を行ない、得られたデータを肺の組織変化と比較検討することにより、大気汚染の肺に対する影響を検討することにした。

無機元素の分析法には、PIXE 法、放射化分析法、プラズマ発光法などの優れた分析法があるが、これらは高額な器機を必要とする。本研究では、過去の研究に我々が使用して来た一般的な器

機を用いることとし、1) 溶解した肺組織から分離した粒子状沈着物についての蛍光 X 線法による分析、2) 組織切片上での粒子状沈着物についての走査型電顕的 X 線微小分析法による分析、3) 溶解した肺組織についての原子吸光法による分析、の 3 種類の分析法を用いた。各分析法の長所短所としては、分離した粒子状沈着物についての蛍光 X 線法は、大気から移行して肺に沈着した外来性の物質の元素を分析する点より、環境の影響を知るには優れた方法であり、また元素の定量精度が高く、多種の元素の同時定量が可能などの長所があるが、他方、かなり多量の組織サンプルを必要とする短所がある。走査型電顕に装着した X 線微小分析法は、肺の細気管支周囲、瘢痕部、癌組織部、胸膜部などの組織構造を確認しつ

Table 4. Concentration of 10 elements in the lungs collected from each residential area. (age: >10)
(Atomic absorption analysis)

		Fe	Cu	Ca	Mg	Zn	Cd	Ni	Co	Pb	Cr
KAWAGOE	mean	1301.0	12.45	1874.9	716.3	133.4	3.89	2.73	0.16	1.56	4.33
N=114, age: 57.7	S.D.	880.6	4.29	592.9	259.7	48.8	2.36	5.99	0.16	1.34	8.04
TOKOROZAWA	mean	1334.7	13.62	3279.3	803.8	133.7	3.49	2.00	0.14	1.63	7.34
N=56, age: 51.0	S.D.	1313.3	9.00	8640.7	550.9	45.5	2.29	2.15	0.14	1.29	25.54
KUMAGAYA	mean	1222.1	10.98	2108.0	836.3	141.0	2.99	1.33	0.15	1.52	5.50
N=33, age: 42.1	S.D.	1624.2	3.52	1015.8	200.3	41.8	1.43	0.88	0.12	2.56	13.22
CHICHIBU	mean	984.3	11.42	2083.5	762.0	127.8	2.87	3.20	0.19	1.23	5.36
N=37, age: 56.8	S.D.	543.6	5.34	1769.4	252.0	46.0	1.44	6.19	0.18	0.92	7.59
KOSHIGAYA	mean	1051.7	7.84	1867.2	729.9	123.5	3.41	2.31	0.15	2.33	1.24
N=8, age: 44.3	S.D.	535.4	2.55	603.8	151.0	32.9	1.68	1.41	0.17	0.67	1.00
TODA	mean	1113.8	12.29	1717.6	718.2	107.7	2.99	1.15	0.13	1.24	3.23
N=7, age: 48.0	S.D.	410.3	5.41	224.8	155.7	33.6	0.89	0.40	0.09	0.81	3.21
OTHERS	mean	1061.3	10.86	1854.7	646.4	129.8	5.79	2.28	0.13	3.80	2.70
N=17, age: 57.4	S.D.	729.0	4.21	861.6	287.8	64.2	9.49	2.29	0.10	7.72	2.77
statistical significance							↑ 5%		↑ 5%		

つ、目的の組織部分に沈着している粒子状沈着物について元素分析ができ、また検体としては微量のパラフィン切片があればよいなどの点が長所であるが、定量は相対的である点と定量感度が低い点が短所である。原子吸光法は、元素の定量精度が高い長所を有するが、半面、測定に際して検体を溶液系にする必要があるため、溶媒には難溶の珪素の測定が困難であること、肺組織を溶解してそのまま測定するために、外来性の粒子状沈着物のみならず、肺組織固有の内在性元素あるいは血液由来の元素まで測定すること、多種の元素の同時測定が出来ず、1種類の元素につき1ランプが必要である、などの短所を有する。

今回の研究では、肺から分離した粒子状沈着物が大気より肺に移行して沈着したものであるゆえに、これについての蛍光X線法による分析結果が環境の相違に対応したデータを示し、本研究に

おいて最も興味のある知見をもたらした。居住地別の検討では、New York で得た肺の粒子状沈着物が重金属類が多くて最も工業的な元素構成を示し、中国山西省より得た肺のものが、土壤の影響を最も強く示し、埼玉症例では両者の中間ながら中国例に近く、東京症例ではやはり中間ながら New York 例に近いデータを示した¹⁰⁾。肺癌症例の検討では、Kreyberg-I型、即ち扁平上皮癌と小細胞癌の群で Fe ならびに Cr, Mn および Ni などの発癌性のある重金属が有意義に高く検出されたが、このことはこれらの癌、すなわち、肺門部癌が肺末梢部癌よりも喫煙と深く関係する¹¹⁾とともに、環境の影響をより強く受けて発生するという疫学調査の結果¹²⁾を裏付けるものである。喫煙歴との相関では、男性の喫煙者には一定の相関をもつ元素が見いだされ、それはタバコ主流煙の元素構成¹³⁾と一部一致して興味があった。しかし、

女性では喫煙者と非喫煙者との間に有意の差が見いだされなかつた理由については、1) 女性の喫煙者の数が少ないため統計上有意のデータが得られない、2) 非喫煙者といえども配偶者が喫煙者の場合は間接喫煙を余儀なくされる、などが考えられる。

走査電顕による元素分析において、Ti が胸膜に最も多く検出され、また Ti と胸膜の肥厚と関連が示唆されたが、このような組織変化との関連で元素分析を行なうことがこの方法の特徴である。Ti の生体に及ぼす作用については現在は未だ注目されていないが、この元素はプラスチックメタライジングなどに用いられて現代の生活の中に増加している元素であり、タバコの分析で Fe に次いで多く検出したとする報告もあり¹³⁾、また酸化 Ti ファイバーを実験動物に吸入させ、アスベスト吸入と同様の胸膜肥厚や胸膜中皮腫発生をみた報告もある¹⁴⁾ので、今回の研究で観察した Ti と胸膜肥厚の関連については今後も引き続いて注目する必要があろう。

強酸で溶かした肺組織の原子吸光法による元素分析では、職業に関連した所見を得たものの、その他の所見に乏しかつたが、これは前述のごとく、粒子状沈着物以外の元素も測定するためと考えられた。

本研究の最大の興味は、肺が蒙った汚染と肺癌発生の相関関係であろう。人の肺癌は肺門部肺癌と末梢性肺癌とに大別され、前者は扁平上皮癌と小細胞癌が多く、今回の粒子状沈着物の元素分析では、発癌性のある Cr, Mn, Ni などの重金属元素が有意義に高く検出された。これらの元素の発生源は不明であるが、少なくともその一部には過去の何らかの職業性の暴露も疑われる。肺癌の発生母地としては、肺門部肺癌では気管支上皮の扁平上皮化生が、また末梢部肺癌では肺胞や細気管支上皮の化生が考えられている。今回の組織学的検索で、気管支上皮の扁平上皮化生を検出した症例は、年齢とも炭粉症の強度とも相関せず、喫煙指数と正の相関を示したほか、粒子状沈着物中の元素との検索では Fe 濃度と相関したが、前記のごとく、Fe はタバコの主流煙中で最も多い元素

という報告もあるので、この喫煙と Fe に関する二つのデータは関連したものである可能性が強い。したがって、肺門部肺癌の発生要因には、喫煙ならびに重金属元素の汚染が深く関与している可能性が強い。また、肺末梢の肺胞あるいは細気管支上皮の化生を検出した症例は、喫煙指数および炭粉症強度と相関せず、年齢と正の相関を示した点は興味深い。その異型化と炭粉症強度とが相関する傾向が認められなかったことは、末梢部肺癌の発生には環境因子の関与は少ないという疫学調査の結果をここでも裏付けたことになる。今回得られた結果から浮かび上がった重要な示唆は、1) 肺門部肺癌の発生との関連性が疑われる外的因子は、喫煙ならびに各種の工業活動に関係した Cr, Mn, Ni などの金属元素を含む汚染物質であろうということ、2) 末梢部肺癌の発生に関しては現在は加令性の要因しか浮んでこないこと、3) 喫煙や重金属に無関係の通常型の肺汚染は、程度が進むと肺胞壁を断裂させて肺気腫を発生させる点、などである。

結 語

埼玉および東京の病理解剖例および肺癌手術例、New York および中国山西省の肺癌手術例の総計 118 例のヒト肺につき、無機元素分析と病理組織学的検討を行なった。

大気から肺に移行して沈着した粒子状沈着物についての波長分散型蛍光 X 線分析法による無機元素分析で、各無機元素の組成が居住地域や職業歴により変動しており、この粒子状沈着物が大気汚染の性状をよく反映していることが明らかとなった。

粒子状沈着物と肺組織の病理変化との関連では、粒子状沈着物の量が増えるに従って肺胞壁の断裂が起こり、これが肺気腫の発生と進行に関与することを見たが、肺門部肺癌発生に関連する病変であるところの気管支上皮の化生とは相関せず、この化生性病変は、喫煙ならびに重金属元素による汚染に相関して発生していた。また、末梢性肺癌の発生に関連する肺末梢の化生性病変は粒子状沈着物による肺汚染とは相関せず、年齢に相関して発生していた。

謝 辞

本研究を行なうに当たり、3年間にわたる絶大なご援助をいただいた財団法人日産科学振興財団の各位、および蛍光X線装置による元素分析に関するご助言ならびにご協力をいただいた北里大学衛生学部衛生管理学教室の今宮俊一郎教授ならびに教室員の方々、および今回の検索に用いた肺組織材料を快く提供して下さったNew York市Mount Sinai医科大学外科病理部の金子守教授、ならびに東京都立駒込病院病理科の小池盛雄科長、ならびに中国山西省人民医院病理検査科の楊龍泉医長ならびに山西医学院病理学教室の鐘永明教授に深く感謝いたします。

学会 報 告

1. 中村裕昭、竹本和夫、大島晋、外園京子、宮下雅子、高濱素秀：ヒト塵肺のパラフィン切片を用いた電子顕微鏡的元素分析、第10回埼玉医学会総会(1983年11月)
2. 外園京子、大森明美、則竹澄子、高濱素秀：人の肺および肺癌の核DNA測定—パラフィン切片の細胞分散による顕微分光測定の研究、第10回埼玉医学会総会(1983年11月)
3. 大島晋、高濱素秀、竹本和夫、中村裕昭、今宮俊一郎：人肺の粒子状沈着物についての波長分散型蛍光X線装置による元素分析、第73回病理学会総会(1984年4月)
4. 中村裕昭、水谷英子、竹本和夫、大島晋、高濱素秀：肺炭粉症の組織変化と電子顕微鏡的元素分析、第11回埼玉医学会総会(1984年11月)
5. 大島晋、高濱素秀、今宮俊一郎：肺炭粉症の蛍光X線装置による元素分析—肺癌例と非肺癌例の剖検肺についての検討、第11回埼玉医学会総会(1984年11月)
6. 中村裕昭、水谷映子、大島晋、高濱素秀：ヒト肺癌巣内外における粒子状沈着物の電子顕微鏡的元素分析、第17回日本電子顕微鏡学会(1985年9月)
7. 大島晋、高濱素秀：ヒト肺組織内粒子状沈着物質の元素分析—肺癌例及び非肺癌例についての検討、第26回大気汚染学会(1985年11月)
8. 大島晋、高濱素秀：肺組織内汚染物質内の元素分析—埼玉と中国山西省における肺癌症例の検討、第12回埼玉医学会総会(1985年11月)
9. Oshima, S. and Takahama, M.: Elemental Analysis of the Particulate Pollutants in the Human Lung by a X-Ray Fluorescence Analyzer, The UOEH International Symposium, (July, 1986).
10. 外園京子、清水禎彦、宮下雅子、高濱素秀：気管支

上皮と肺扁平上皮癌の核DNA測定—パラフィン切片より分散した細胞についての定量顕微鏡的およびflow cytometry的定量、第45回日本癌学会総会(1986年10月)

11. 清水禎彦、外園京子、加賀谷晃、高濱素秀：Hematoxylin-DAPI染色を用いた組織切片の核DNA測定—肺胞細胞とその過形成および肺腺癌について(1986年10月)
12. 大島晋、清水禎彦、高濱素秀：ヒト肺組織内汚染物質の元素組成と組織変化について、第1回環境科学シンポジウム(1986年11月)

発表論文

1. 大島晋、高濱素秀：ヒト肺の炭粉症の研究—特に波長分散型蛍光X線法による肺組織内粒子状汚染物質の元素分析を中心、埼玉医大誌、11(4), 349-357 (1984).
2. 中村裕昭、大島晋、高濱素秀：ヒト肺内粒子状沈着物のパラフィン切片を用いた電子顕微鏡的元素分析、埼玉医大誌、12(3), 199-210 (1985).
3. 大島晋、高濱素秀：肺に蓄積した粒子状汚染物質の元素分析—異なる4地域における肺癌症例について、医学のあゆみ、140(3), 169-170 (1987).
4. Ohshima, S. and Takahama, M.: Elemental analysis of the particulate pollutants in the human lung by X-ray fluorescence omalyzer, In Toxicology of Metals: Clinical and Experimental research. Ed. Brown, S. and Kodama, Y. Ellis Horwood Ltd. (1987) in press.

文献

- 1) 初鹿野浩、岩井和郎、重松昭世、岩崎竜郎、吉村三郎、岩月俊一、青山鉄美：黒色粉塵の分離、分析を主とした人肺炭粉症の病理、医学のあゆみ、64(1), 594-603 (1968).
- 2) 太田庸起子、乾道夫、白石浩二：人肺の沈着物の分析からみた首都圏大気汚染度の検討、日本胸部臨床、44(4), 226-273 (1985).
- 3) 大島晋、高濱素秀：人肺の炭粉沈着症の研究—特に波長分散型蛍光X線法による肺組織内粒子状汚染物質の元素分析を中心、埼玉医大誌、11(4), 349-357 (1984).
- 4) 外園京子、清水禎彦、宮下雅子、高濱素秀：気管支上皮と肺扁平上皮癌の核DNA測定—パラフィン切片より分散した細胞についての定量顕微鏡的およびflow cytometry的定量、第45回日本癌学会総会記事、266 (1986).
- 5) 清水禎彦、外園京子、加賀谷晃、高濱素秀：Hematoxylin-DAPI染色を用いた組織切片の核DNA測定—肺胞細胞とその過形成および肺腺癌について、第45回日本癌学会総会記事、266 (1986).
- 6) 高濱素秀、加賀谷晃：Flow cytometry利用の細胞診自動化のためのone-step染色法の開発。

- 日本臨床細胞学会誌, 25(2) (1986).
- 7) 中村裕昭, 高濱素秀: 病理標本パラフィン切片の Energy dispersive X-ray 微小分析法. 埼玉医大誌, 8, 198-207 (1981).
 - 8) 中村裕昭, 大島 晋, 高濱素秀: ヒト肺内粒子状沈着物のパラフィン切片を用いた電子顕微鏡的元素分析. 埼玉医大誌, 12(3) 199-210 (1985).
 - 9) 岩井和郎: 大気汚染要因としての二, 三の粒子状物質. 大気汚染学会誌, 21(4), 263-276 (1986).
 - 10) 大島 晋, 高濱素秀: 肺に蓄積した粒子状汚染物質の元素分析—異なる4地域における肺癌症例について. 医学のあゆみ, 140(3), 169-170 (1987).
 - 11) Kreyberg, L.: Histological Lung Cancer Type. A Morphological and Biological Correlation.
- Acta Pathol. Microbiol. Scand. Suppl.*, 157, 1-92 (1962).
- 12) L. T. Stayner and D. H. Wegman: Smoking, Occupation and Histopathology of Lung Cancer: A Case-Control Study with the Use of the Third National Cancer Survey. *JNCI*, 70(3), 421-426 (1983).
 - 13) E. Wynder and D. Hoffman, Tobacco and Smoke: Studies in Experimental Carcinogenesis. Academic Press, New York, 488-494 (1968).
 - 14) Lee, K. P., Barras, C. E., Griffith, F. D. and Waritz, R. S.: Pulmonary response and transmigration of inorganic fibers by inhalation exposure. *Am. J. Path.*, 102, 314-323 (1981).