

呼吸器疾患アドバンス 気管支鏡を用いて採取した気管支肺胞洗浄液の解析について

Advances in veterinary respiratory medicine:

Analysis of bronchoalveolar lavage fluid retrieved during bronchoscopy

城下幸仁／相模が丘動物病院呼吸器科（神奈川県）

講演の目的

- 1) 肺実質疾患診断に有用な気管支肺胞洗浄液の解析について意義、安全性、臨床有用性を解説
- 2) 気管支鏡検査と併用して行うことを推奨

キーポイント

- 1) 気管支肺胞洗浄液の解析は肺実質特有の診断法であり、リスクのある肺生検の代替手段である
- 2) 適応判断には適切な患者選択が不可欠である

クライアント指導の要点

- 1) 気管支肺胞洗浄は肺の疾患の診断のために行う検査である
- 2) 気管支肺胞洗浄が安全に実施可能かどうか判定するには、十分な検査前評価が必要である

要約

気管支肺胞洗浄 (Bronchoalveolar lavage, BAL) は、末梢気道、肺胞および間質領域を含む肺実質疾患の診断のために行われる。肺生検に比べ合併症が少ない。気管支鏡検査をかねて行くと、さらに安全で確実性の高い有用な検査になる。適応、手技、検査結果の解釈と治療への応用について講義する。

キーワード：気管支肺胞洗浄、気管支鏡検査、呼吸器疾患

はじめに

気管支肺胞洗浄 (Bronchoalveolar lavage, BAL) は、末梢気道、肺胞および間質領域を含む肺実質疾患の診断のために行われる⁴⁾。胸部 X 線や CT などの画像検査から治療法決定に結びつく診断をすすめることができる。気管支を介し、肺のある限局された領域の肺胞全体まで到達するだけの分量の生理食塩水を注入し、ただちに回収する⁴⁾。その回収液 (Bronchoalveolar lavage fluid, BALF) には、末梢気道や肺胞表面に存在する血液・免疫担当細胞や病原菌が含まれ¹⁾、びまん性間質性肺疾患や気管支肺炎の病態を反映する。肺実質疾患の gold standard は言うまでもなく肺生検であるが、気道内出血や臓側胸膜穿孔による気胸など少なからずリスクを伴う。とくに、線維化した肺ではこのリスクは増加する。BALF の解析は、起炎菌の同定、炎症のパターンと程度、好酸球性/免疫介在性/出血性/腫瘍性疾患の病態判定を得ることができるので、肺生検に代わって肺実質の病態を知る安全性の高い方法といえる。盲目的に、気管チューブ内を介しフィーディングカテーテルを気管支内深部にまで誘導し実施することも可能だが (非気管支鏡下での BAL、Nonbronchoscopic BAL⁴⁾)、目的気管支を選択できなかつたり⁴⁾、細胞診標本に上皮細胞が多く混入したり⁴⁾、気道内部観察なく実施するので気道内出血等の合併症を生じる可能性もあり、回収したサンプルの質の低下や予期せぬ事態の遭遇の可能性は免れない。一方、気管支鏡検査の中で BAL を行えばこのような心配なく、内部所見に応じスコープを進めることができ、問題のある肺領域から選択的に、確実かつ安全に質の高いサンプル採取可能となる。今回、その手技や評価方法について講演する。

気管支鏡検査の適応、禁忌、合併症、基本手技

原則として重度な呼吸困難はすでに気管支鏡検査や BAL に耐えられないので禁忌である。獣医療では全身麻酔下での実施を前提とするので、麻酔によって機能的残気量が低下しても、自発呼吸かつ回路を開放下に気道内検査実施可能なほど肺機能が許容範囲にあることが必要となる。当院呼吸器科では、その判断基準に、検査前の room air 吸入下で Pao₂ 60mmHg 以上を重要な指標にしている。気管支鏡を用いて BAL を行う場合、まず気管支鏡検査に適応かを考慮しなければいけない。当院呼吸器科では 13 年前から気管支鏡検査に取り組んでおり、人や欧米での獣医領域の文献を参考に、以下の基準や方法で行うことで安定した成績が得られることを確認しており、現在も継続している。

適応：胸部異常影、2 ヶ月以上の慢性発咳、喀血、気道内異物や塊状病変、喘鳴などの異常呼吸

絶対禁忌：重度の呼吸困難、全身状態不良、重度心肥大

相対禁忌：Pao₂ 60mmHg 未満、血液凝固能低下、体重 2.5kg 未満

合併症：肺拡張不全、不整脈、出血、気胸、嘔吐

基本手技：当院では、安全性および操作性を第一に考慮し、仰臥保定、ラリングマスクにて気道確保下および Y 型アダプター利用による持続的酸素投与下、プロポフォール静脈内持続投与 (0.1-0.4mg/kg/min) による維持麻酔にて、体格に応じて外径 2.5/3.6/4.0/6.0mm の軟性鏡を用い、犬と猫の気管支鏡命名法^{1),2)}に従い観察と記録を行っている。詳細な実施方法は、日本小動物内視鏡推進連絡会編集/監修による呼吸器内視鏡ガイドライン⁹⁾に記載している。また、当院 HP (<http://www.sagamigaoka-ac.com/気管支鏡検査/>) でも様々な手技について解説しているので参考にさせていただけるとよいと思う。BAL を安全に実施するには、気管支鏡操作に慣れることも重要な要素である。人医では患者を担当するには 50 例以上指導医のもとで検査を行うことが推奨されている。動物の場合は、全身麻酔下の不動下で実施できるので、10 例程度の症例の観察経験があれば BAL などの次のステップに移行できると思われる。

BAL の基本手技と解析項目

目的気管支に気管支内視鏡スコープを楔入後、滅菌生理食塩液を 5ml、10ml または 25ml (それぞれ外径 2.5、3.6/4.0、または 6.0mm のスコープ使用時) × 3 回を注入し回収する。回収液を、総細胞数算定、細胞診、微生物検査に供する。総細胞数は ml あたりの細胞数が少なく通常の血球計算機では誤差が生じやすいので血球計算盤を用いて測定算定する^{4),11)}。細胞診標本は専用の遠心器を用いた細胞遠心法と細胞沈降法があり¹¹⁾、当院呼吸器では経済性と標本の質の点から後者で行っている。詳細は講演時に解説する。検体そのものの評価のため、挿入気管支、注入量、回収率を解析データに付記する。回収率とは注入総量に対する回収総量の比率であり、25%以下であった場合、成績の信頼度は低く評価の対象から除外すべきとされている¹¹⁾。少なくとも 40%以上の回収率が望ましいが、閉塞性肺疾患とか、肺気腫や蜂窩肺など末梢肺組織の構造破壊がある場合は 10-30%程度の低い回収率になる¹¹⁾。以下の 2 つの表を参考に BALF を評価する。BAL はまだ統一された方法が確立されていない。正常値は、注入量や注入回数など希釈の影響で変動するので、施設で適用している方法での正常値を作成する必要がある。表には、報告値と上記方法で行っている自験値を示した。

表 1 BAL 解析項目の正常値

| 文献 no. | 犬 | | | 猫 | | |
|------------|--------|---------|--------------|----------|---------|-------------|
| | 3 | 5 | 自験値* | 3 | 5 | 自験値** |
| 総細胞数 (/μl) | 200±86 | 200-400 | 203 (84-243) | 241±101 | 200-400 | 86 (55-105) |
| 細胞分画 (%) | | | | | | |
| マクロファージ | 70±11 | 83 | 93 (88-97) | 70.6±9.8 | 65 | 82 (76-88) |
| リンパ球 | 7±5 | 6 | 4 (2-7) | 4.6±3.2 | 4 | 3 (1-5) |

| | | | | | | |
|------|-----|---|---------|----------|----|-----------|
| 好中球 | 5±5 | 5 | 2 (1-4) | 6.7±4.0 | 5 | 4 (2-6) |
| 好酸球 | 6±5 | 4 | 0 (0-1) | 16.1±6.8 | 25 | 10 (4-17) |
| 好塩基球 | 1±1 | 2 | 0 | NR | 1 | 0 |
| 上皮細胞 | 1±1 | 0 | 0 | NR | NR | 0 |

NR not reported; * 中央値 (四分位範囲) n=5 計 18 回、回収率 65 (49-70) %; ** 中央値 (四分位範囲) n=6 計 27 回、回収率 68 (61-83) %

表 2 BAL 回収液中の起炎菌の評価

| | |
|-------|--|
| 扁平上皮 | 全細胞数の 1%以下 (口腔内細菌の混入がないことを意味する) |
| 定量培養 | 1.7×10^3 CFU/ml 以上 |
| グラム染色 | 50 視野 (X1000) 中の 1 視野でも、2 個以上の細胞内細菌がみられる |

BAL 検体の定量細菌培養およびグラム染色標本によって以上の条件を満たす細菌があれば、細菌性下気道感染症と診断してよい。またその細菌を起炎菌とみなしてよい。この診断基準は感度 87%、特異度 97%である⁷⁾。

BAL の安全性と合併症

40 年以上前の研究の記載だが、健康犬一頭あたり 4L の生理食塩液を用いて全肺洗浄を行っても大きな問題はなかったという⁴⁾。また、肺胞タンパク症のシー・ズーで右後葉、中葉、副葉の各々に 1 回 30ml ずつ生理食塩液にて BAL を行い、合計 500-750ml (各葉につき平均 6-8 回洗浄) 要し、回収率は 50%であり、BAL 中 Spo2 は 84%に一過性に下がるが、回収毎にすぐに 95-100%に回復し、覚醒に問題なかった⁸⁾。これらは洗浄液注入量の許容量を知る情報となりうる。人では BAL は肺生検に比して重大な合併症は生じない安全な手技と考えられている⁶⁾。BAL は一過性呼吸機能低下や Pao2 の低下がみられ、もっとも頻度の多い合併症は発熱である (2.5%)¹¹⁾。動物では BAL 後にまず動脈血酸素分圧低下、頻呼吸、一回換気量減少が認められ、これらは未回収液やサーファクタント減少による換気血流比不均等によるものと考えられた⁴⁾。肺内残留液による肺浸潤影は 48 時間以内に消失し、肺機能は正常に回復する⁴⁾。後期合併症は報告されていない。犬も BAL 後 39.5°C以上の発熱を認めたが 48 時間後に正常に回復した⁴⁾。正常猫 (n=4) では room air 吸入下の BAL 前 Pao2 81mmHg から、BAL の 3 分後に 58mmHg に急落するが、10 分後には 62mmHg、20 分後には 70mmHg、1 時間後には 83mmHg までに回復した⁴⁾。猫では気道過敏性を有する場合が多く、周術期に気管支拡張剤 (アミノフィリン 5mg/kg、またはテルブタリン 0.01mg/kg SC) 投与すると合併症発現率が低下する⁴⁾。あるアメリカの二次動物病院での BAL 後死亡率は 2% (2/101) と報告されているが、この 2 例とも検査前から重度の呼吸困難を示していた⁴⁾。著者も初期の頃は 111 例中 3 例の気管支鏡検査関連の死亡事故を経験し、3 例中 2 例は猫で BAL を行っていた¹⁰⁾。この 2 例とも気管支鏡検査にて目的気管支から膿性分泌物が観察され、その目的気管支で BAL 後、回復不能の肺拡張不全を起こした。ともに最終診断は細菌性気管支肺炎であった。以降、気管支鏡検査で膿性分泌物が肉眼的に確認されたときは気管支ブラッシングで分泌物を採取し、BAL を行わないようにしてから事故は生じていない。したがって、検査前や肉眼所見に応じた適応判断を適切に行えば、BAL における重大な合併症を生じることはない⁴⁾。BAL 後には、未回収液や肺サーファ

クタントの減少と吸引効果による一過性の肺拡張不全に陥りやすい。BAL 後、気管チューブを介し、100%酸素を1時間程度吸入し肺機能回復を待ってから覚醒させることが推奨されている⁴⁾。しかし検査対象には肺機能低下症例が多く、より積極的な肺機能のサポートが必要であり、当院呼吸器科では、検査前 Pao₂ 値に応じて BAL 後 30-60 分間、Fio₂ 80%から 25%に漸減させながら陽圧呼吸換気を続け肺拡張不全からの回復を支持している。Fio₂ 25%で Spo₂ 95%以上あることを抜管基準としている。この処置を加え、2010 年から 2014 年まで BAL を実施した猫 21 例および犬 68 例にて重篤な合併症は生じていない。

BALF の解析

病原体検出については肺生検より BALF の方が感度は高いと報告されているので⁴⁾、微生物検査は有意義である。総細胞数算定は希釈の影響を受けるので、正常値より大幅に増加していたときに有意であり、病変部の炎症の程度を反映する⁴⁾。細胞診標本は 40 倍の対物レンズにて無作為に 500-2000 個の細胞を数え、細胞分画を算定する。まず、好中球、好酸球、リンパ球いずれを優勢とするかを識別し、さらに出血所見や腫瘍細胞の有無も観察する⁶⁾。肺リンパ腫や癌種は BALF 細胞診で診断できるかもしれない³⁾。Hawkins らは、BAL 液の細胞診所見を急性好中球性炎症、慢性活動性炎症、慢性炎症、好酸球性炎症、出血、腫瘍のタイプに分類した³⁾。著者は、これらにリンパ球増加型のタイプを加えるべきと考えている。

当院呼吸器科での経験

当院呼吸器科では、2003 年 2 月から 2014 年 11 月までの間に犬 205 例および猫 76 例に総計 431 回の気管支内視鏡検査と、犬 101 例および猫 35 例に総計 152 回の BAL を実施してきた。講演では、症例を提示しながら BALF 解析と抗菌薬やステロイド剤使用などの治療への適応について文献情報を交え概説する。

引用文献

1. Amis TC, McKiernan BC. Systematic identification of endobronchial anatomy during bronchoscopy in the dog. *Am J Vet Res.* 47:2649-2657, 1986.
2. Caccamo R, Twedt DC, Buracco P, et al. Endoscopic bronchial anatomy in the cat. *J Feline Med Surg.* 9:140-149, 2007.
3. Hawkins EC, DeNicola DB, Kuehn NF. Bronchoalveolar lavage in the evaluation of pulmonary disease in the dog and cat. State of the art. *J Vet Intern Med.* 4:267-274, 1990.
4. Hawkins EC. Bronchoalveolar Lavage. In King LG, (ed): *Textbook of Respiratory Diseases in Dogs and Cats.* Saunders. St. Louis. 2004, pp118-128.
5. Johnson L. Small animal bronchoscopy. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 31:691-705, viii,

2001.

6. Meyer KC, Raghu G, Baughman RP, et al. An official American Thoracic Society clinical practice guideline: the clinical utility of bronchoalveolar lavage cellular analysis in interstitial lung disease. *Am J Respir Crit Care Med.* 185:1004–1014, 2012.
7. Peeters DE, McKiernan BC, Weisiger RM, et al. Quantitative bacterial cultures and cytological examination of bronchoalveolar lavage specimens in dogs. *J Vet Intern Med.* 14:534–541, 2000.
8. Silverstein D, Greene C, Gregory C, et al. Pulmonary alveolar proteinosis in a dog. *J Vet Intern Med.* 14:546–551, 2000.
9. 日本小動物内視鏡推進連絡会呼吸器内視鏡分科会委員. *呼吸器内視鏡ガイドライン*. 東京: 日本小動物内視鏡推進連絡会事務局, 2011.
10. 城下幸仁. 呼吸器疾患に対する気管支内視鏡検査と処置の応用. 第29回動物臨床医学会年次大会プロシーディング No3. 290–296, 2008.
11. 田村昌士. *気管支肺胞洗浄[BAL]法の臨床ガイドライン*. 克誠堂. 1999.