

# Die Mastzelle in der bronchoalveolären Lavage bei interstitiellen Lungenerkrankungen

J. Schildge<sup>1</sup>  
B. Klar<sup>2</sup>  
M. Hardung-Backes<sup>3</sup>

## *Mast Cells in Bronchoalveolar Lavage Fluid of Patients with Interstitial Lung Diseases*

### Zusammenfassung

Die Mastzelle spielt bei Entzündung und Umbauvorgängen im Gewebe eine wichtige Rolle. Sie kommt beim Gesunden in der bronchoalveolären Lavage (BAL) nur in geringer Menge vor. Wir untersuchten die Häufigkeit der Mastzelle in der BAL bei verschiedenen interstitiellen Lungenerkrankungen und ihre Korrelation mit klinischen, weiteren zellulären und nichtzellulären Parametern der BAL.

Untersucht wurden Patienten mit Sarkoidose (n = 123; Anteil der Mastzellen an BAL-Zellen 0,22 ± 0,04%), idiopathischer Lungenfibrose (IPF) (n = 35; 0,39 ± 0,47%), kryptogener organisierender Pneumonie (COP) (n = 27; 2,05 ± 2,19%), exogen allergischer Alveolitis (EAA) (n = 24; 1,02 ± 1,05%), Lungenbeteiligung bei Kollagenose/Vaskulitis (n = 20; 0,21 ± 0,21%), respiratorischer Bronchiolitis mit assoziierter interstitieller Lungenerkrankung (RBILD) (n = 11; 0,16 ± 0,29%) und Kontrollen (n = 16; 0,06 ± 0,16%). Verglichen mit der Kontrolle waren die Mastzellen bei COP (p < 0,001) und EAA (p < 0,01) signifikant häufiger. Die Häufigkeit der Mastzelle zeigte in Abhängigkeit vom Krankheitsbild positive Beziehungen mit dem Patientenalter, dem Eiweißgehalt, dem Albumingehalt, der Konzentration der alkalischen Phosphatase, der Gesamtzellzahl, dem Anteil der Lymphozyten, der neutrophilen und eosinophilen Granulozyten. Negative Korrelationen fanden sich mit der IVC, der FEV<sub>1</sub> und dem Anteil der Makrophagen. Korrelationen mit den Lymphozytenoberflächenmarkern CD3, CD4 und CD8 waren nicht vorhanden.

### Abstract

Mast cells play an important role in tissue inflammation, fibrosis and remodelling. They are found in bronchoalveolar lavage fluid (BAL) of healthy persons only in small numbers. We investigated the number of mast cells in interstitial lung diseases and analysed our data for correlations with clinical parameters, cellular and non-cellular parameters of BAL. We found following counts of mast cells in % of total BAL cells: Sarcoidosis (n = 123); 0.22 ± 0.04%, idiopathic pulmonary fibrosis (IPF) (n = 35); 0.39 ± 0.47%, cryptogenic organising pneumonia (COP) (n = 27); 2.05 ± 2.19%, hypersensitivity pneumonitis (HP) (n = 24); 1.02 ± 1.05%, rheumatoid lung (n = 20); 0.21 ± 0.21%, respiratory bronchiolitis-associated interstitial lung disease (RBILD) (n = 11); 0.16 ± 0.29% and control group (n = 16); 0.06 ± 0.16%. Compared to controls mast cells were increased in COP (p < 0.001) and HP (p < 0.01). Correlation analysis showed that an increased mast cell count correlated with: Higher age (sarcoidosis (p = 0.03); smaller vital capacity (sarcoidosis (p = 0.01)), smaller FEV<sub>1</sub> (sarcoidosis (p = 0.04), RBILD (p = 0.04)); higher alkaline phosphatase in BAL (sarcoidosis (p = 0.004), HP (p = 0.02), COP (p = 0.04); higher albumin level in BAL (sarcoidosis (p = 0.000), IPF (p = 0.003); higher cell counts in BAL (sarcoidosis (p = 0.013), COP (p = 0.04)); lower portion of macrophages in BAL cells (sarcoidosis (p = 0.001), HP (p = 0.02), COP (p = 0.02)); higher portion of lymphocytes in BAL cells (sarcoidosis (p = 0.03)); higher portion of neutrophils in BAL cells (sarcoidosis (p = 0.007)); higher portion of eosino-

### Institutsangaben

<sup>1</sup>Medizin. Klinik Abt. Pneumologie, St.-Vincentius-Kliniken Karlsruhe (Chefarzt: Dr. J. Schildge)

<sup>2</sup>Institut für Mathematische Stochastik, Universität Karlsruhe (Leiter: Prof. Dr. N. Henze)

<sup>3</sup>Medizinische Klinik, Abt. Hämatologie und Onkologie, St.-Vincentius-Kliniken Karlsruhe (Chefarzt: Prof. Dr. J. Mezger)

### Anmerkung

Unterstützt von der Hans und Dagmar Mende Stiftung zur Förderung der Pneumologie an den St.-Vincentius-Kliniken Karlsruhe gAG

### Korrespondenzadresse

Dr. med. J. Schildge · St.-Vincentius-Kliniken Karlsruhe gAG · Medizinische Klinik · Abteilung Pneumologie · Südenstraße 32 · 76137 Karlsruhe · E-mail: johannes.schildge@vincentius-ka.de

**Eingereicht:** 20. Februar 2002 · **Nach Überarbeitung angenommen:** 30. Januar 2003

### Bibliografie

Pneumologie 2003; 57: 202–207 © Georg Thieme Verlag Stuttgart · New York · ISSN 0934-8387

Bei interstitiellen Lungenkrankheiten finden sich in Abhängigkeit vom Krankheitsbild unterschiedliche Häufigkeiten der Mastzellen in der BAL. Besonders für die Diagnostik einer COP und einer EAA könnten Mastzellen von Bedeutung sein. Weiterhin ergeben sich Hinweise auf positive Zusammenhänge einer Mastzellenvermehrung in der BAL mit dem Ausmaß der Alveolitis und der entzündlichen Exsudation im Lungengewebe.

## Einleitung

Die Mastzelle wird in der bronchoalveolären Lavage (BAL) nur in geringer Menge nachgewiesen und macht beim Gesunden weniger als 0,5% aller Zellen aus [1]. Während die Aussagekraft von Lymphozyten, Oberflächenmarkern der Lymphozyten, neutrophilen und eosinophilen Granulozyten in der BAL bei verschiedenen interstitiellen Lungenkrankheiten breit untersucht wurde, gibt es zur Bedeutung der Mastzelle und einer Mastzellvermehrung vergleichsweise wenig Informationen. Eine aktuelle MEDLINE-Recherche ergibt unter den Suchbegriffen „mast cell + bronchialveolar lavage + interstitial lung disease“ im Zeitraum Januar 1980 bis Januar 2002 31 Treffer, die Kombination mit „lymphocyte“ dagegen 325 Treffer.

Die Funktion der Mastzelle ist bis heute nur ungenügend aufgeklärt. Sie ist trotz gewisser Ähnlichkeiten von dem basophilen Granulozyten des peripheren Blutes grundsätzlich verschieden. Die Mastzelle entstammt aus Vorläuferzellen im Knochenmark, wobei die Reifung und Proliferation aber im Gewebe erfolgt. Sie spielt dort aufgrund ihrer Mediatorausstattung eine wichtige Rolle bei der Infektabwehr und Immunreaktionen sowohl vom Sofort- als auch vom verzögerten Typ, ist aber auch an Reparation und Umbau im Gewebe („tissue remodeling“) entscheidend beteiligt [2, 3]. Lungengewebsanalysen bei verschiedenen interstitiellen Erkrankungen zeigten, dass Lungenmastzellen zu über 70% in den Alveolarsepten, zu bis zu 20% in den Alveolen und zu weniger als 5% entlang der Blutgefäße vorkommen [4–6].

Mitgeteilt wird ein gehäuftes Auftreten von Mastzellen in der BAL bei chronischen Verlaufsformen der exogen allergischen Alveolitis (EAA) [7–10] und bei der kryptogen-organisierenden Pneumonie (COP) [6–8]. Bei EAA wurden positive Beziehungen zwischen Mastzellen und fibrogenen Faktoren in der BAL [9, 11], Lymphozyten in der BAL und Mastzellen im Lungengewebe gefunden. Beim Vergleich der Fibroseausprägung mit den BAL-Zellen zeigten sich nur mit der Mastzelle positive Beziehungen [5]. Bei Sarkoidose wurden positive Korrelationen zwischen Mastzellen und Lymphozyten in der BAL [12, 13], daneben ein Zusammenhang mit einem ungünstigen klinischen Verlauf [13, 14], einem höheren Stadium und vermehrter Fibroseneigung [15] mitgeteilt.

Fragestellung unserer Arbeit war, die Häufigkeit der Mastzellen in der BAL bei verschiedenen interstitiellen Lungenerkrankungen zu vergleichen. Außerdem untersuchten wir die Beziehung der Mastzellen zu klinischen Parametern, zellulären und nichtzellulären Parametern der BAL.

phils in BAL cells (sarcoidosis ( $p = 0.001$ ), HP ( $p = 0.006$ )). Correlations to smoking history in pack years and to lymphocyte surface markers CD3, CD4, CD8 were not found.

In conclusion comparing different interstitial lung diseases we found significantly increased mast cell counts in COP and HP. Moreover there were correlations of increased mast cell counts with more intensive alveolitis and exudation.

## Methoden

### Patienten (Tab. 1)

In die Auswertung aufgenommen wurden 256 Patienten, die seit dem 1. Januar 1999 in der Abteilung Pneumologie der St.-Vincenz-Kliniken zur Klärung einer interstitiellen Lungenkrankheit unter ambulanten Bedingungen mittels Bronchoskopie, BAL und transbronchialer Lungenbiopsie (TBB) mit diagnoseweisendem Befund untersucht wurden. Nicht berücksichtigt wurden Patienten mit ungenügendem Rückgewinn bei der BAL (< 30%), desgleichen Patienten, die zum Zeitpunkt der Untersuchung unter einer immunsuppressiven Therapie standen.

Tab. 1 Patienten. Diagnosen, demografische Daten, Raucheranamnese, Lungenfunktion

Diagnose	n	weibl./ männl.	Alter (Jahre)	Pack- years	IVC %soll	FEV <sub>1</sub> %soll
Sarkoidose	123	57/66	44,3 SD 14,1	6,5 SD 13,9	86,9 SD 16,3	85,9 SD 18,5
IPF	35	17/18	63,7 SD 13,7	13,0 SD 17,1	75,3 SD 16,9	82,1 SD 17,3
COP	27	11/16	62,2 SD 10,0	18,7 SD 22,0	74,7 SD 23,3	76,6 SD 23,0
EAA	24	10/14	56,5 SD 15,6	13,3 SD 21,2	71,1 SD 20,9	73,5 SD 20,2
RBILD	11	6/5	49,2 SD 11,0	47,3 SD 23,7	76,8 SD 16,1	66,3 SD 18,7
Kollagenose	20	15/5	64,0 SD 13,4	11,6 SD 16,1	72,7 SD 23,5	74,6 SD 20,7
Kontrolle	16	7/9	49,7 SD 12,7	14,1 SD 20,2	101,0 SD 11,3	101,7 SD 11,5
p		( $\chi^2$ : n. s.)	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001

Darstellung der Mittelwerte. SD = Standardabweichung. p: nichtparametrischer Test auf Unterschiede zwischen den Diagnosen (Kruskal-Wallis-Test). EAA = exogen allergische Alveolitis; IPF = idiopathische Lungenfibrose; COP = kryptogene organisierende Pneumonie; RBILD = respiratorische Bronchiolitis mit assoziierter interstitieller Lungenerkrankung

Bei der Erstuntersuchung wurde die kumulative Raucheranamnese in Packyears festgehalten und vor der Bronchoskopie eine Spirometrie (MasterLAB, Fa. Jaeger Toennies, Höchberg) durchgeführt. Von sämtlichen Patienten lag eine Thoraxübersichtsaufnahme in 2 Ebenen und eine Computertomographie der Lunge in Dünnschichttechnik (HRCT) vor. 16 Patienten, die zur Abklärung eines seit über 3 Monaten bestehenden Reizhustens bronchoskopiert wurden, bei denen sich aber klinisch, lungenfunktionell, in Röntgenübersichtsaufnahme und HRCT der Lunge, in BAL und transbronchialer Lungenbiopsie (TBB) keine Hin-

weise auf eine interstitielle Lungenerkrankung ergaben, dienten als Kontrolle.

123 Patienten hatten eine Sarkoidose (58-mal Stad. I = isolierte Hiluslymphome, 34-mal Stad. II = Hiluslymphome mit Parenchymbefall, 31-mal Stad. III = Parenchymbefall ohne Hiluslymphome). Der histologische Nachweis epitheloidzelliger, nichtverkäsender Granulome (Bronchialschleimhaut oder TBB) wurde bei allen Patienten erbracht.

Die Diagnose einer idiopathischen Lungenfibrose (IPF) (n = 35) erfolgte nach klinischen, radiologischen und histologischen Kriterien, entsprechend der gemeinsamen Festlegung von ATS und ERS zur Einteilung der idiopathischen interstitiellen Pneumonien [17,18].

Die Diagnose einer kryptogenen organisierenden Pneumonie (COP) (n = 27) wurde angenommen, wenn radiologisch flächenhafte periphere Infiltrate nachweisbar waren und das histologische Bild der TBB von Granulationsgewebe und Mesenchymknospen innerhalb von terminalen Bronchiolen und Alveolarräumen dominiert wurde.

24 Patienten hatten eine EAA. Die Diagnose wurde gestellt bei entsprechender inhalativen Allergenexposition mit korrespondierendem serologischen Präzipitinnachweis (17-mal Vogelantigen, 5-mal Schimmelpilze, 2-mal thermophile Aktinomyzeten), daneben dem histologischen Bild einer muralen, granulomatösen Alveolitis in der TBB (n = 15) oder dem BAL-Befund einer lymphozytischen Alveolitis mit erniedrigtem CD4/CD8-Quotienten nach [1] (n = 9).

Die Diagnose einer respiratorischen Bronchiolitis mit assoziierter interstitieller Lungenerkrankung (RBILD) wurde 11-mal gestellt. Alle Patienten dieser Gruppen waren starke Raucher (> 20 Packyears). Die TBB bot das histologische Bild einer rundzelligen Infiltration der Schleimhaut und des peribronchialen Bindegewebes, die BAL wurde dominiert von Pigmentmakrophagen.

Bei 20 Patienten wurde eine Lungenbeteiligung angenommen, wenn im Verlauf einer Kollagenose oder Vaskulitis (9 × rheumatoide Arthritis, 3 × M. Wegener, 3 × systemischer Lupus erythematodes, 3 × Mischkollagenose, 2 × progressive Systemsklerose) interstitielle oder infiltrative Lungenveränderungen neu auftraten und aufgrund der Medikamentenanamnese sowie der Resultate der TBB und der BAL keine alternative Erklärung gefunden werden konnte.

### Bronchoskopie, BAL, TBB

Die Bronchoskopie wurde mit einem flexiblen Bronchoskop (Olympus Optical Co. GmbH, Hamburg) unter pulsoxymetrischer Überwachung und Sauerstoffapplikation über Nasensonde durchgeführt. Nach intravenöser Prämedikation mit 5–7,5 mg Midazolam wurde das Bronchoskop unter lokaler Anästhesie mit maximal 20 ml 2%iger Xylocainlösung inhalativ und über den Instrumentierkanal transoral eingeführt. Zur BAL wurde die Bronchoskopspitze in einem Subsegmentbronchus in wedge-Position gebracht und über einen im Instrumentierkanal liegenden Kunststoffkatheter 100 ml isotonische, sterile, im Wasserbad auf 37 °C erwärmte Kochsalzlösung in Portionen zu 20 ml über eine Einmalspritze aus Kunststoff instilliert und sofort in die Spritze reaspiert. Die Menge des Rückgewinns wurde festgehalten. Ort der Lavage war bei generalisierten Veränderungen der Mittellappen, sonst der Bronchus des infiltratragenden Segmentes. Es wurden bei jedem Patient mindestens zwei TBB entnommen, bei generalisierten radiologischen Veränderungen aus unterschiedlichen Lappen einer Seite.

### BAL-Zellanalytik (Tab. 2)

Nach Entnahme von 5 ml zur mikrobiologischen Analytik wurde die BAL durch Filtration über Gaze (Topper 8, Fa. Johnson & Johnson, Norderstedt) von groben Partikeln befreit und in einem sterilen Kunststoffgefäß gepoolt. Die Gesamtzellzahl wurde an einem Zellanalysegerät (K 800, Fa. Sysmex, Norderstedt) durchflusszytometrisch bestimmt. Zellpräparate wurden durch Zentrifugation (Cytospin 2, Fa. Shandon, Frankfurt a.M.) angefertigt. Die prozentuale Verteilung der Zellarten wurde durch

Tab. 2 BAL. Zytologische Befunde und humorale Parameter

Diagnose	Rück-Gewinn (ml)	Zellen in BAL (in 10 <sup>6</sup> )	Makrophagen %	Lymphozyten %	Neutrophile %	Eosinophile %	Mastzellen %	AP U/l	EW mg/dl	Albumin mg/dl
Sarkoidose	62,2 SD 10,5	15,4 SD 9,8	66,8 SD 18,8	31,4 SD 18,3	1,0 SD 1,6	0,6 SD 0,9	0,22 SD 0,40	12,0 SD 9,6	28,3 SD 35,9	11,6 SD 8,5
IPF	60,6 SD 14,0	23,1 SD 17,7	78,6 SD 17,2	5,9 SD 4,9	9,8 SD 12,3	5,3 SD 7,6	0,39 SD 0,47	40,2 SD 43,0	17,5 SD 14,2	7,0 SD 5,7
COP	50,4 SD 10,9	19,4 SD 18,7	44,9 SD 27,2	41,8 SD 28,0	6,3 SD 8,8	4,8 SD 5,7	2,05 SD 2,19	27,4 SD 18,4	46,7 SD 40,9	16,1 SD 12,2
EAA	58,7 SD 11,3	21,9 SD 20,8	43,7 SD 24,6	49,4 SD 25,3	4,4 SD 7,1	1,5 SD 2,2	1,02 SD 1,05	25,0 SD 19,0	87,0 SD 155,4	25,6 SD 38,1
RBILD	54,4 SD 11,6	19,9 SD 13,1	93,3 SD 3,9	4,4 SD 2,9	1,1 SD 1,7	1,0 SD 1,6	0,16 SD 0,29	17,0 SD 14,1	17,7 SD 33,3	6,5 SD 12,4
Kollagenose	55,6 SD 14,2	11,5 SD 7,1	76,4 SD 20,6	15,5 SD 15,5	6,2 SD 8,3	1,7 SD 2,1	0,21 SD 0,21	18,0 SD 15,2	20,8 SD 18,2	7,7 SD 5,6
Kontrolle	59,0 SD 11,8	8,9 SD 5,4	94,4 SD 4,0	4,9 SD 3,3	0,5 SD 0,7	0,2 SD 0,3	0,06 SD 0,16	7,9 SD 4,7	10,1 SD 0,3	4,1 SD 2,3
p	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001

Erläuterungen s. Tab. 1. AP = Alkalische Phosphatase; EW = Eiweiß

mikroskopische Auszählung von 500 Zellen eines nach May-Grünwald-Giemsa gefärbten Präparates ermittelt. Bei einem Lymphozytenanteil von über 15% wurde die prozentuale Verteilung der Lymphozytenoberflächenmarker CD3 (T-Zellen), CD4 (T-Helfer-Zellen), CD8 (T-Suppressor-Zellen) und der CD4/CD8-Quotient bestimmt. Als Sekundärantikörper diente der Alkalische Phosphatase – Anti-Alkalische Phosphatase – Antikörper (DAKO, Hamburg). Pro Marker wurde ein Zytozentrifugenpräparat gefärbt und durch Auszählung von jeweils 200 Lymphozyten der prozentuale Anteil der positiven Zellen bestimmt.

### BAL-Bestimmung nichtzellulärer Parameter (Tab. 2)

Der Albumingehalt in der BAL wurde über ein käufliches Testverfahren immunologisch durch Einsatz von Kaninchenantiserum (Fa. Dade Behring, Marburg) und anschließender vollautomatischer Messung am Nephelometer (BN 100, Fa. Dade Behring, Marburg) bestimmt.

Die alkalische Phosphatase in der BAL wurde nach früherer Evaluierung im Entscheidungsbereich [16] mittels eines kommerziellen Testkits an einem Merck-Mega®-Autoanalyser (Fa. Merck/Toshiba, Darmstadt) bestimmt.

### Statistik

Die Prüfung der Messreihen auf Normalverteilung mit Hilfe des Shapiro-Wilk-Tests zeigte, dass mehrere Variablen erst nach Logarithmustransformation angenähert normalverteilt sind. Letztere ist allerdings bei Zahlenreihen mit häufiger Nullbelegung – gerade bei den relativen Häufigkeitsangaben der Zellgruppen mit geringem Vorkommen in der BAL – nicht möglich. Aus diesem Grunde kamen bevorzugt nichtparametrische Tests zur Anwendung. Unterschiede zwischen mehreren Stichproben wurden mit dem Kruskal-Wallis-Test und dem  $\chi^2$ -Test untersucht. Multiple Vergleiche wurden nach Tukey errechnet. Beziehungen zwischen der Mastzellhäufigkeit und verschiedenen Variablen wurden mit der nichtparametrischen Korrelationen nach Spearman mit p-Wert-Korrektur nach Bonferoni untersucht. Eine Irrtumswahrscheinlichkeit von unter 5% wurde als signifikant angenommen.

### Ergebnisse

#### Allgemeine Charakteristika der Patienten (Tab. 1 – 3)

Zunächst erfolgte eine orientierende statistische Aufarbeitung der klinischen Befunde und der BAL-Parameter. Beim Vergleich zwischen den verschiedenen Diagnosen zeigten sich Unterschiede in allen betrachteten Parametern mit Ausnahme des CD3-Markers und des Geschlechts.

#### Anzahl der Mastzellen in der BAL (Abb. 1)

Die Häufigkeit der BAL-Mastzellen zeigte statistisch belegbare Unterschiede in Abhängigkeit von der klinischen Diagnose. Der Mehrfachvergleich ergab im Vergleich zur Kontrollgruppe ein vermehrtes Auftreten der Mastzellen bei COP ( $p < 0,001$ ) und EAA ( $p < 0,01$ ). Der Vergleich zwischen den Diagnosen gab folgendes Bild: Bei COP waren Mastzellen häufiger als bei allen anderen Diagnosen ( $p < 0,001$ ). Bei EAA waren Mastzellen häufiger

Tab. 3 BAL. Lymphozytenmarker

Diagnose	n	Lymphozyten %	CD3 %	CD4 %	CD8 %	CD4/CD8
Sarkoidose	86	38,8 SD 16,0	93,8 SD 5,1	74,2 SD 14,7	17,5 SD 12,3	8,1 SD 9,0
EAA	21	54,9 SD 22,1	90,6 SD 9,8	47,3 SD 16,4	44,2 SD 19,6	1,6 SD 1,7
COP	16	47,7 SD 25,8	94,3 SD 4,9	43,8 SD 20,2	49,2 SD 24,3	1,7 SD 2,1
Kollagenose	7	32,0 SD 16,6	92,7 SD 3,9	49,4 SD 16,0	39,8 SD 13,4	1,7 SD 1,8
p		<0,000	n. s.	<0,000	<0,000	<0,000

Erläuterungen s. Tab. 1. Berücksichtigt sind nur Patienten mit Lymphozyten >15% in BAL

als bei Sarkoidose ( $p < 0,001$ ) und der Lungenbeteiligung bei Kollagenose/Vaskulitis ( $p < 0,05$ ).

#### Korrelationen der Häufigkeit der Mastzellen

Die entsprechenden Tests wurden getrennt nach den einzelnen Diagnosen durchgeführt.

#### Mit demografischen Variablen

Positive Korrelationen mit dem Patientenalter fanden sich bei Sarkoidose ( $r = 0,2$ ,  $p = 0,03$ ), negative Korrelationen mit der IVC bei Sarkoidose ( $r = -0,24$ ,  $p = 0,01$ ) und der FEV<sub>1</sub> bei Sarkoidose ( $r = -0,19$ ,  $p = 0,048$ ) und bei RBILD ( $r = -0,64$ ,  $p = 0,035$ ).

#### Mit nichtzellulären BAL-Parametern

Positive Korrelationen bestanden mit der alkalischen Phosphatase bei Sarkoidose ( $r = 0,26$ ,  $p = 0,004$ ), EAA ( $r = 0,48$ ,  $p = 0,02$ ) und COP ( $r = 0,4$ ,  $p = 0,046$ ), mit dem Gesamteiweiß bei Sarkoidose ( $r = 0,37$ ,  $p = 0,000$ ) und COP ( $r = 0,46$ ,  $p = 0,027$ ) sowie mit dem Albumin bei Sarkoidose ( $r = 0,37$ ,  $p = 0,000$ ) und IPF ( $r = 0,49$ ,  $p = 0,003$ ).

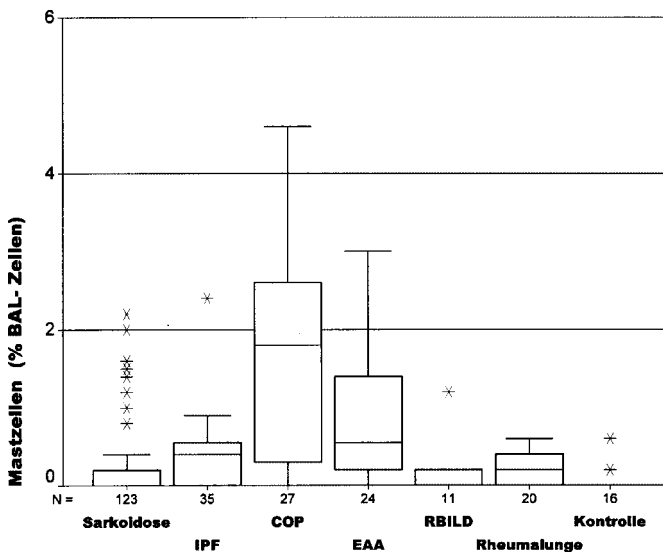


Abb. 1 Häufigkeit der BAL-Mastzellen bei interstitiellen Lungenerkrankungen. Box-plots mit Mittelwerten und Interquartilenbereichen. \* = Extremwerte. Abkürzungen s. Tab. 1.

### Mit zellulären BAL-Parametern und Lymphozytenmarkern

Positive Korrelationen ergaben sich mit der Gesamtzellzahl bei Sarkoidose ( $r = 0,23$ ,  $p = 0,013$ ) und COP ( $r = 0,41$ ,  $p = 0,04$ ). Bezogen auf die Differenzialzytologie der BAL-Zellen ergab sich folgendes Bild: Negative Korrelationen bestanden mit der Häufigkeit der Makrophagen bei Sarkoidose ( $r = -0,31$ ,  $p = 0,000$ ), EAA ( $r = -0,49$ ,  $p = 0,02$ ) und COP ( $r = -0,44$ ,  $p = 0,02$ ). Bei Sarkoidose bestanden positive Korrelationen mit der Häufigkeit der Lymphozyten ( $r = 0,27$ ,  $p = 0,03$ ) und der neutrophilen Granulozyten ( $r = 0,24$ ,  $p = 0,007$ ). Positive Korrelationen mit der Häufigkeit der eosinophilen Granulozyten fanden sich bei Sarkoidose ( $r = 0,32$ ,  $p = 0,000$ ) und EAA ( $r = 0,55$ ,  $p = 0,006$ ). Korrelationen zwischen der Häufigkeit der Mastzellen und den untersuchten Oberflächenmarkern der Lymphozyten waren nicht nachweisbar.

### Diskussion

Die mittlere relative Häufigkeit der Mastzellen lag in unserer Kontrollgruppe bei 0,06% aller BAL-Zellen und damit etwas niedriger als in publizierten Vergleichskollektiven [1, 10, 19].

Zwischen den verschiedenen interstitiellen Lungenerkrankungen fanden sich signifikante Unterschiede: Die intensivste Mastzellvermehrung bestand bei der COP und der EAA. Mastzellvermehrungen bei COP [1, 4, 6], IPF [20] und EAA [1, 4, 5, 8, 10, 11] sind aus der Literatur bekannt. Eine Erhöhung der BAL-Mastzellen wurde auch bei Sarkoidose [4, 12–14, 20], Sklerodermie [21] und Raucherbronchitis [22, 23] mitgeteilt.

Zu der Frage, ob die Mastzelle in der BAL als Hinweis auf Fibrosierung und Gewebsumbau im Rahmen interstitieller Lungenerkrankungen angesehen werden kann, ergab unsere Auswertung widersprüchliche Resultate. Einerseits ist die Neigung zu Fibrosierung und Gewebedestruktion bei COP und EAA trotz intensiverer BAL-Mastozytose erfahrungsgemäß geringer als bei IPF. Auf der anderen Seite wurde in der Literatur ein Zusammenhang zwischen Mastzellvermehrung und abnehmenden spirometrischen Parametern bei Sarkoidose [4, 13, 14] und bei EAA [4, 9, 11] beschrieben. Die in unserer Serie mehrfach gesehenen positiven Korrelationen von Mastzellen und dem Albumin- sowie Eiweißgehalt der BAL sprechen für ein Mitwirken der Mastzelle bei der entzündlichen Exsudation. Auch dieser Zusammenhang wird in der Literatur erwähnt [8, 9, 15, 21, 24].

Positive Korrelationen zwischen der alkalischen Phosphatase in der BAL und den BAL-Mastzellen wurden bislang nicht mitgeteilt. Wir sahen einen derartigen Zusammenhang bei Sarkoidose, EAA und COP. Da eine erhöhte alkalische Phosphatase für eine Schädigung der Pneumozyten II spricht [16], ist ein Zusammenhang zwischen einem Pneumozyten-II-Schaden und einer Mastzellenvermehrung vorstellbar.

Der Vergleich der BAL-Mastzellen mit den übrigen BAL-Zellarten zeigt ein uneinheitliches Bild. Die positive Korrelation der Mastzellenanteile mit einer zunehmenden Gesamtzellzahl in der BAL spricht für positive Zusammenhänge zwischen Mastzellvermehrung und Intensität der alveolitischen Entzündung. Für diese Annahme sprechen auch die in unserer Serie beobachteten posi-

ven Korrelationen zwischen der relativen Häufigkeit von Eosinophilen, Lymphozyten und Neutrophilen auf der einen und Mastzellen auf der anderen Seite. Auch in der Literatur werden positive Korrelationen zwischen Mastzellen und Lymphozyten in der BAL bei Sarkoidose [12, 13] und EAA [5], mit Eosinophilen bei Sarkoidose und IPF [20] mitgeteilt.

Die Oberflächenmarker der Lymphozyten und der CD4/CD8-Quotient zeigten in unserer Serie keine Zusammenhänge mit der Häufigkeit der Mastzellen. In der Literatur finden sich nur vereinzelte Hinweise zu dieser Frage. Bei Sarkoidose wurden positive Zusammenhänge zwischen Mastzellen einerseits und CD3- sowie CD4-Zellen andererseits mitgeteilt [12]. Diese Resultate sind bemerkenswert, weil EAA und COP die Krankheitsbilder mit der stärksten Mastzellerhöhung in der BAL darstellen, gleichzeitig aber auch über eine Erhöhung der CD8-Zellen und eine Erniedrigung des CD4/CD8-Quotienten charakterisiert sind. Möglicherweise steht mit der relativen Häufigkeit der Mastzellen bei EAA und COP eine weitere Größe zur Verfügung, die mit den Oberflächenmarkern der Lymphozyten nicht korreliert und unterschiedliche Aussagen erlaubt.

Hinsichtlich der Diagnosesicherung unserer Patienten besteht die Einschränkung, dass eine offene Lungenbiopsie bei unserem ambulanten Patientengut nicht durchgeführt wurde und somit der Goldstandard einer histologischen Diagnostik bei den nicht granulomatösen Lungenerkrankungen nicht erbracht wurde. Auf der anderen Seite waren Klinik, Lungenfunktion, Röntgenbefunde und Resultate der TBB bei den hier ausgewerteten Patienten charakteristisch und die Kriterien des Consensus Statements von ATS und ERS zur Diagnostik einer IPF ohne chirurgische Lungenbiopsie erfüllt [17].

Bei der Kontrollgruppe besteht die Einschränkung, dass eine subjektive Hustensymptomatik bestand. Allerdings konnte in der im Vergleich mit den erkrankten Patienten identischen Diagnostik kein krankhafter Befund im Sinne einer interstitiellen Lungenerkrankung erhoben werden.

### Schlussfolgerung

In Abhängigkeit vom Krankheitsbild lässt sich bei interstitiellen Lungenerkrankungen eine unterschiedliche Häufigkeit der Mastzellen in der BAL nachweisen. Bei COP und EAA sind im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikante Erhöhungen belegbar. Es fanden sich Zusammenhänge zwischen dem Mastzellenanteil in der BAL und einer Einschränkung der spirometrischen Größen, weiterhin mit dem Ausmaß der Alveolitis und der entzündlichen Exsudation im Lungengewebe. Korrelationen zwischen den BAL-Mastzellen und den in der Diagnostik interstitieller Lungenerkrankungen etablierten Lymphozytensubpopulationen waren nicht nachweisbar.

## Literatur

- <sup>1</sup> Costabel U. Atlas der bronchoalveolären Lavage. Stuttgart, New York: Thieme, 1994
- <sup>2</sup> Galli S, Dvorak A. Production, biochemistry and function of basophils and mast cells. In: Beutler U, Lichtman M, Coller B, Kipps T (eds.): Williams Hematology 5th ed. New York: McGraw-Hill Inc, 1995: 805–809
- <sup>3</sup> Sommerhoff C. Mast cell tryptases and airway remodelling. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 164: S52–S58
- <sup>4</sup> Pesci A, Bertorelli G, Gabrielli M et al. Mast cells in fibrotic lung disorders. *Chest* 1993; 103: 989–996
- <sup>5</sup> Pesci A, Bertorelli G, Olivieri D. Mast cells in bronchoalveolar lavage fluid and in transbronchial biopsy specimens of patients with farmer's lung disease. *Chest* 1991; 100: 197–202
- <sup>6</sup> Pesci A, Majori M, Piccoli M et al. Mast cells in bronchiolitis obliterans organizing pneumonia. Mast cell hyperplasia and evidence for extracellular release of tryptase. *Chest* 1996; 110: 383–391
- <sup>7</sup> Haney L, Legett P, Maxwell P et al. A comparison of three standard methods of identifying mast cells in endobronchial biopsies in normal and asthmatic subjects. *Allergy* 1997; 52: 836–843
- <sup>8</sup> Costabel U, Teschler H, Guzman J. Bronchiolitis obliterans organizing pneumonia (BOOP): the cytological and immunocytological profile of bronchoalveolar lavage. *Eur Respir J* 1992; 5: 791–797
- <sup>9</sup> Bjermer L, Engstroem-Laurent A, Lundgren R et al. Bronchoalveolar mastocytosis in farmer's lung is related to disease activity. *Arch Int Med* 1988; 148: 1362–1365
- <sup>10</sup> Haslam P, Dewar A, Butchers P et al. Mast cells, atypical lymphocytes, and neutrophils in bronchoalveolar lavage in extrinsic allergic alveolitis. Comparison with other interstitial lung diseases. *Am Rev Respir Dis* 1987; 135: 35–47
- <sup>11</sup> Teschler H, Thompson A, Pohl W et al. Bronchoalveolar lavage procolagen-III-peptide in recent onset hypersensitivity pneumonitis: correlation with extracellular matrix components. *Eur Respir J* 1993; 6: 709–714
- <sup>12</sup> Rottoli P, Rottoli L, Perari M et al. Mast cells in bronchoalveolar lavage in sarcoidosis: correlation with alveolar lymphocytes. *Respiration* 1988; 54 S1: 42–48
- <sup>13</sup> Bjermer L, Thunell M, Rosenhall L et al. Endobronchial biopsy positive sarcoidosis: relation to bronchoalveolar lavage and course of disease. *Respir Med* 1991; 85: 229–234
- <sup>14</sup> Bjermer L, Back O, Roos G et al. Mast cells and lysozyme positive macrophages in bronchoalveolar lavage from patients with sarcoidosis. Valuable prognostic and activity marking parameters of disease? *Acta Med Scand* 1986; 220: 161–166
- <sup>15</sup> Bjermer L, Engstroem-Laurent A, Thunell M et al. The mast cell and signs of pulmonary fibroblast activation in sarcoidosis. *Int Arch Allerg Appl Immunol* 1987; 82: 298–301
- <sup>16</sup> Schildge J, Klar B, Weinstock N. Wert der Bestimmung der alkalischen Phosphatase und des AP/Albumin-Quotienten in der bronchoalveolären Lavage für die Diagnostik interstitieller Lungenkrankheiten. *Pneumologie* 2000; 54: 385–391
- <sup>17</sup> American Thoracic Society/European Respiratory Society. International Multidisciplinary Consensus Classification of the Idiopathic Interstitial Pneumonias. *Am J Respir Crit Care Med* 2002; 165: 277–304
- <sup>18</sup> Du Bois R, Wells A. Cryptogenic fibrosing alveolitis/idiopathic pulmonary fibrosis. *Eur Respir J* 2001; 18 (Suppl. 32): 43–55
- <sup>19</sup> Flint K, Leung K, Pearce F et al. Human mast cells recovered by bronchoalveolar lavage: their morphology, histamin release and effects of sodium cromoglycate. *Clin Sci* 1985; 68: 427–432
- <sup>20</sup> Fireman E, Kivity S, Shahar I et al. Secretion of stem cell factor by alveolar fibroblasts in interstitial lung disease. *Immunol Letters* 1999; 67: 229–236
- <sup>21</sup> Chanez P, Lacoste J, Guillot B et al. Mast cells' contribution to fibrosing alveolitis of the scleroderma lung. *Am Rev Respir Dis* 1993; 147: 1497–1502
- <sup>22</sup> Pesci A, Rossi G, Bertorelli G et al. Mast cells in the airway lumen and bronchial mucosa of patients with chronic bronchitis. *Am J Respir Crit Care Med* 1994; 149: 1311–1316
- <sup>23</sup> Kalenderian R, Raju L, Roth W et al. Elevated histamine and tryptase levels in smokers' bronchoalveolar lavage fluid. Do lung mast cells contribute to smokers' emphysema? *Chest* 1988; 94: 119–123
- <sup>24</sup> Broide D, Smith C, Wasserman S. Mast cells and pulmonary fibrosis. Identification of a histamine releasing factor in bronchoalveolar lavage fluid. *J Immunol* 1990; 145: 1838–1844