

活動性肺結核症とサルコイドーシス患者の末梢血リンパ球 における表面抗原及びマイトジェン反応の解析

中西文雄 四十坊典晴
札幌医科大学内科学第3講座 (主任 鈴木明教授)

Analysis of Phenotype and Mitogen Response in Peripheral Blood Lymphocytes of Patients with Active Pulmonary Tuberculosis and Sarcoidosis

Fumio NAKANISHI and Noriharu SHIJUBO
Department of Internal Medicine (Section 3), Sapporo Medical College
(Chief: Prof. A. SUZUKI)

ABSTRACT In order to clarify the immunological aspects of tuberculosis and sarcoidosis, phenotype and mitogen response in peripheral blood lymphocytes were analyzed in 122 patients with active pulmonary tuberculosis, 156 patients with sarcoidosis and 53 normal controls, who were divided into four groups by age of less than 30, from 30 to 49, from 50 to 69 and exceeding 69.

1) In normal controls, the group exceeding 69 years of age had significantly low CD3 (+) cells, low CD4 (+) cells, high CD16 (+) cells and weak mitogen response to Phytohemagglutinin and Concanavalin A in comparison with total normal controls.

2) In active pulmonary tuberculosis, CD8 (+) cells were significantly low and CD4 (+) cells tended to be increased as compared to normal controls, while regarding $\gamma\delta$ T cell receptor (TCR), there was no significant difference between active pulmonary tuberculosis and normal controls.

3) In sarcoidosis, CD3 (+) cells, CD4 (+) cells and CD8 (+) cells were significantly decreased and CD19 (+) cells and $\gamma\delta$ TCR (+) cells were significantly increased as compared to normal controls.

4) By the degree of expression of $\gamma\delta$ TCR, sarcoidosis was subgrouped into a low value group (4.8% or less) and high value group (more than 4.8%). The two groups were distinct regarding phenotypic markers of peripheral blood lymphocytes, response of tuberculin test, incidence of skin lesions and levels of serum angiotensin converting enzyme activity and serum lysozyme.

(Received October 1, 1991 and accepted October 17, 1991)

Key words: Pulmonary tuberculosis, Sarcoidosis, Phenotypic markers, $\gamma\delta$ T cell receptor

1 緒 言

肺結核症は *Mycobacterium tuberculosis* (以下 M. tuberculosis) を病原菌とし、その病変の成立及びその治癒過程において、主に T リンパ球とマクロファージが関与する IV 型アレルギー反応が重要な役割を担っていることが知られている。一方、サルコイドーシス(以下サ症)は、T 細胞-単核食細胞浸潤及び肉芽腫形成を特徴とする原因不明の疾患であり、肺、眼、皮膚な

どに好発することが知られている。

一方、T 細胞受容体(以下 TCR)には $\alpha\beta$ 型及び $\gamma\delta$ 型の 2 種類のヘテロ二量体が存在することが明らかとなり、そのうちの $\gamma\delta$ 型は動物実験で M. tuberculosis や 65 kDa の熱ショックタンパク質に反応して増殖することが知られ²⁻⁵⁾、また、最近、 $\gamma\delta$ 型 TCR 陽性細胞が末梢血及び肺局所で有意に増加するサ症の亜群が存在することが報告されている⁶⁾。そこで、我々は活動性肺結核症及びサ症における $\gamma\delta$ 型 TCR の発現も含めた末

梢血リンパ球表面抗原の分析及び各種マイトジェンに対するリンパ球幼若化反応を行い、臨床免疫学的検討を加えたので報告する。

2 研究対象及び方法

2.1 対象患者 (Table 1)

サ症患者はJR札幌鉄道病院を受診し、厚生省特定疾患調査研究班、サ症診断基準の手引に従ってサ症と診断された156例である。年齢は13歳から86歳で、平均年齢は41.4歳であり、各年齢階層の構成はTable 1に示すとうりである。サ症患者はいずれもステロイド投与はされておらず、病期はWurm *et al.*⁷⁾の分類に準じて、Stage I: 肺門及び縦隔リンパ節腫、Stage II: 肺門及び縦隔リンパ節腫と肺野病変、Stage III: 肺野病変のみに分類し、これに胸郭内病変を認めないStage 0を加えた。

肺結核症患者は北海道立札幌北野病院に入院した122例であり、喀痰中より培養で結核菌が証明されている。年齢は16歳から94歳で、平均年齢は51.8歳であり、各年齢階層の構成はTable 1に示すとうりである。今回、検討した末梢血はいずれも抗結核剤による治療開始前に採取されたものである。

健常対照は呼吸器疾患の既往がなく、胸部X線像上異常所見を認めない53例である。年齢は14歳から92歳で、平均年齢は48.9歳であり、各年齢階層の構成はTable 1に示すとうりである。

2.2 単核球分離

患者よりヘパリン加で20 ml採血し、リン酸緩衝液(以下PBS)で2から3倍に希釈後、Ficoll-Hypaque (Pharmacia社製)に重層し、400 Gで30分間遠心後、中間層より単核球を採取し、その後、3回洗浄した。

2.3 リンパ球表面抗原の解析

一次抗体として、抗CD3抗体(Leu 4)、抗CD4抗体(Leu 3a)、抗CD8抗体(Leu 2a)、抗CD19抗体(B4)及び抗CD16抗体(Leu 11)を使用した。また、Leuシリーズの抗体はBecton Dickinson社より、

B4はCoulter社よりそれぞれ購入した。分離した単核球を 2×10^6 /mlに調整し、その0.1 mlの細胞浮遊液に各種単クローン抗体を4℃で暗所にて30分間反応させ、その後、PBSで2回洗浄し、さらにFITC標識山羊抗マウスIgG抗体を二次抗体として4℃で暗所にて30分間反応させた後、PBSで2回洗浄し、最終的に1.0 mlのPBSに浮遊した。さらに、Tリンパ球上の $\gamma\delta$ 型TCRの発現を検討するためにFITC標識TCR δ -1抗体(T cell science社製)及びPE標識Leu 4を同時に4℃で暗所にて30分間反応させた後、1.0 mlに浮遊させ、2カラー分析を行った。リンパ球表面抗原の解析はflow cytometry (EPICS C, Coulter社製)を用いて、forward scatter及びside scatterによりリンパ球集団にgateを設定し、 1×10^4 細胞群の蛍光強度を計測し、マウスIgG陰性コントロールに対する陽性細胞の比率を算出した。CD3陽性、TCR δ -1陽性細胞を $\gamma\delta$ 型TCR陽性Tリンパ球とした。各種単クローン抗体に対する陽性細胞比率は平均±標準誤差で表した。

2.4 リンパ球幼若化反応

蛍光色素、Ethidium Bromideを用いてリンパ球の核酸量を測定することによりリンパ球幼若化反応を評価した^{8,9)}。

方法は以下のとうりである。無菌操作により末梢血リンパ球を分離し、 5×10^5 個のリンパ球を10%胎児牛血清加RPMI 1640培養液1.0 mlに浮遊させ、24穴培養プレートにまぎ、マイトジェンを最終濃度が0.125% PHA (Phytohemagglutinin: Difco社製)、5 μ g/ml ConA (Concanavalin A: Pharmacia社製)及び10 μ g/ml PPD (purified protein derivatives: 日本BCG製造株式会社製)になるように調整して72時間(PHA)または96時間(ConAとPPD)37℃、5%CO₂下で培養した。培養終了後、リンパ球をPBSで3回洗浄を行い、遠心し、ペレットにして、細胞可溶化剤、0.125% Sodium Laurylsulfate 2.0 mlを加え、室温で30分間反応させ、さらに蛍光試薬7.5 μ g/ml Ethidium Bromide 2.0 mlを加え、15分間反応させて、

Table 1 Patients and Normal Controls

Age	Tuberculosis	Sarcoidosis	Normal Control
—29	20	57	15
30—49	31	43	12
50—69	46	49	16
70—	25	7	10
Total	122	156	53
Mean age	51.8±1.7	41.4±1.4	48.9±2.9

それぞれを 600 nm で蛍光強度を測定した。

Stimulation index (以下 S. I.) は以下のように算出した。

$$S. I. = 100 \times (I_2 - I_0) / (I_1 - I_0)$$

I_0 : バック蛍光の蛍光強度

I_1 : コントロール群の蛍光強度

I_2 : マイトジェン群の蛍光強度

実験はすべて duplicate で行い、各群の S. I. は平均±標準誤差で表した。

2.5 血清 ACE (アンギオテンシン変換酵素) 及び血清リゾチームの測定

サ症患者において血清 ACE 及びリゾチームをそれぞれ笠原法及び比濁法により測定した。

3 成績

3.1 末梢血リンパ球表面抗原の分析: 加齢によるリンパ球表面抗原の変動, 特に CD 3 陽性細胞の減少¹⁰⁾ 及び $\gamma\delta$ 型 TCR 陽性細胞の増加¹¹⁾ が知られている。しかし、これまでの報告では、疾患の構成年齢も考慮した

検討はなされていない。今回、サ症 156 例及び活動性肺結核症 122 例におけるリンパ球表面抗原の変動を検討するにあたり、年齢階層別に各種単クローン抗体に対する末梢血リンパ球の反応性を検討した。

年齢階層別に検討した結果、健常者では CD 3 陽性細胞は 29 歳以下群より 50 歳から 69 歳群の間では有意差は認めなかったが、70 歳以上群では有意に低下し、CD 4 陽性細胞も有意に低下していた (Table 2-A)。また、70 歳以上群で CD 16 陽性細胞は有意に増加していた。以上の結果を考慮して、活動性肺結核症とサ症の末梢血リンパ球表面抗原の比較検討は各年齢階層別、全年齢群及び 69 歳以下群でおこなった (Table 3)。

活動性肺結核症患者においては CD 8 陽性細胞は各年齢階層群で低下傾向があり、30 歳から 49 歳群、全年齢群及び 69 歳以下群で CD 8 陽性細胞の有意な低下を認めた。CD 4 陽性細胞は各年齢階層群で増加傾向があり、全年齢群で有意な増加を認めた。また、70 歳以上群で CD 16 陽性細胞の有意な低下を認めた (Table 3-A)。一方、 $\gamma\delta$ 型 TCR の発現に関しては健常者との間

Table 2 Phenotypic Analysis and Mitogen Response of Peripheral Blood Lymphocytes in Normal Controls

A. Phenotypic Analysis

Age	CD3	CD4	CD8	CD19	CD16	$\gamma\delta$ TCR
-29	65.2±1.7	38.5±1.6	31.9±1.8	14.2±1.1	11.0±1.3	2.7±0.4
30-49	68.1±2.3	41.3±1.9	32.5±1.7	12.6±1.4	11.2±1.8	1.5±0.3
50-69	65.7±1.5	44.3±1.0	26.1±0.7	15.5±0.6	10.8±1.2	2.3±0.3
70-	55.8±3.6*	32.6±2.0*	30.6±1.8	13.6±1.8	23.7±3.7*	1.1±0.3 [†]
Total	64.2±1.1	39.4±0.8	30.4±0.8	14.0±0.6	13.4±1.1	2.0±0.2
-69	66.2±0.9	41.2±0.8	30.3±0.8	14.2±0.6	11.0±0.8	2.2±0.2

B. Mitogen Response

Age	PHA	ConA	PPD
-29	591.4±63.7**	476.7±57.3**	135.8±9.4
30-49	417.9±20.8	327.1±19.3	131.4±8.5
50-69	418.5±30.8	263.5±21.5	131.8±13.6
70-	248.9±27.0**	154.4±14.2**	122.3±5.3
Total	419.1±26.8	303.2±24.2	130.4±5.0
-69	472.0±27.5	349.4±25.9	132.9±6.3

* p<0.01 in comparison with positive percentage values of the same marker in total.

[†] p<0.05 in comparison with positive percentage values of the same marker in total.

** p<0.01 in comparison with stimulation index values of the same mitogen in total.

に有意差は認められなかった。

サ症においては CD 3 陽性細胞に関して各年齢階層で低下傾向があり、全年齢群及び 69 歳以下群で有意な低下が認められた。CD 4 陽性細胞においても各年齢階層で低下傾向があり、69 歳以下群で有意な低下が認められた。CD 8 陽性細胞では各年齢階層で低下傾向があり、29 歳以下群、30 歳から 49 歳群、全年齢群と 69 歳以下群で有意な低下を認めた。CD 19 陽性細胞は各年齢階層で増加傾向があり、29 歳以下群、30 歳から 49 歳群、全年齢群と 69 歳以下群で有意な増加を認めた。 $\gamma\delta$ 型 TCR 陽性細胞に関しては各年齢階層で増加傾向があり、全年齢群と 69 歳以下群で有意に増加していた (Table 3-B)。

Table 3 Phenotypic Analysis of Peripheral Blood Lymphocytes in Active Pulmonary Tuberculosis and Sarcoidosis

A. Active Pulmonary Tuberculosis

Age	CD3	CD4	CD8	CD19	CD16	$\gamma\delta$ TCR
—29	67.1±1.6	38.9±1.4	28.9±1.4	15.5±1.4	9.4±1.3	4.1±0.9
30—49	67.9±1.6	46.2±1.7	24.9±1.1*	13.3±1.0	9.4±0.9	2.1±0.4
50—69	66.3±1.4	45.0±1.1	24.0±1.4	13.3±0.9	12.7±1.4	1.7±0.3
70—	57.2±2.8	37.1±1.7	26.1±1.4	17.4±1.5	14.7±1.9*	1.7±0.4
Total	65.0±1.0	42.7±0.9*	25.4±0.7*	14.5±0.6	11.8±0.7	2.2±0.2
—69	67.0±0.8	44.1±0.9	25.3±0.7*	13.7±0.5	11.0±0.7	2.3±0.2

B. Sarcoidosis

Age	CD3	CD4	CD8	CD19	CD16	$\gamma\delta$ TCR
—29	60.3±1.3	34.6±1.0	26.4±0.9*	18.4±0.9*	10.4±0.8	4.4±0.5
30—49	62.8±1.6	39.0±1.2	24.8±1.3*	16.9±0.9*	10.1±1.0	3.0±0.4
50—69	59.4±1.3	40.4±1.1	22.1±0.9	19.1±1.1	11.9±0.9	2.1±0.3
70—	55.1±3.4	37.4±2.5	29.0±4.2	14.2±2.8	17.2±3.1	1.4±0.6
Total	60.5±0.8*	37.8±0.6	24.7±0.6*	18.1±0.6*	11.1±0.5	3.1±0.2*
—69	60.7±0.8*	37.8±0.7*	24.5±0.6*	18.2±0.6*	10.6±0.5	3.2±0.2*

* p<0.01 in comparison with positive percentage values of the same marker in the same aging group of normal controls in Table 2-A.

* p<0.05 in comparison with positive percentage values of the same marker in the same aging group of normal controls in Table 2-A.

3・2 リンパ球幼若化反応

健常者においては PHA 及び ConA に対する反応性は全年齢群に比較して 29 歳以下群で有意に高く、70 歳以上群で有意に低下していた。また、PPD に対する反応性は全般的に低い、各年齢階層では有意差は認められなかった (Table 2-B)。以上の結果より、活動性肺結核症とサ症のリンパ球幼若化反応に関しても各年齢階層群、全年齢群、69 歳以下群でそれぞれの健常者群と比較検討した。

活動性肺結核症では 70 歳以上群で健常者の同年齢群 (Table 2-B) に比較して、ConA に対する反応性が有意に増強していたが、PHA 及び ConA に対する末梢血リンパ球の幼若化反応は全年齢群及び 69 歳以下群では有意差は認めなかった。また、PPD に対する反応性は各年齢階層で高い傾向があり、全年齢群及び 69 歳以下群で有意に高かった (Table 4-A)。

サ症でのリンパ球幼若化反応は PHA に対し、30 歳から 49 歳群及び 70 歳以上群で有意に高いが、PHA、ConA 及び PPD に対しては全年齢群及び 69 歳以下群では有意な変化は認められなかった (Table 4-B)。

3・3 サ症における $\gamma\delta$ 型 TCR 陽性細胞増加群と非増**加群の検討**

サ症の末梢血リンパ球において $\gamma\delta$ 型 TCR 陽性細胞が有意に高かった。69 歳以下の健常者の $\gamma\delta$ 型 TCR 陽性細胞の平均パーセント+2 SD を cut off 値 (4.8%) と設定し、69 歳以下のサ症患者 149 例を高値群 (23.5%; 35 例) と低値群 (76.5%; 114 例) に分けて検討した。

低値群では 69 歳以下の健常者群に比較して、CD 3 陽性細胞及び CD 8 陽性細胞が有意に低下しており、CD 19 陽性細胞が有意に増加していた。高値群では CD 3 陽性細胞比率及び CD 8 陽性細胞比率はほとんど変化が認められず、CD 4 陽性細胞比率のみが有意に低下していた。リンパ球幼若化反応は高値群が低値群に比較し弱い傾向はあるが 69 歳以下健常者に比し有意差は認められなかった (Table 5)。

サ症の病期分類に関しては低値群と高値群の間でその比率に有意差は認めなかった (Table 6)。眼病変の合併頻度に関しても高値群と低値群の間で有意差は認めなかったが、皮膚病変の合併頻度に関しては高値群が 0%、低値群が 11.4% であり、両群間に有意差を認めた。ツベルクリン反応の陽性率に関しては高値群で

Table 4 Mitogen Response of Peripheral Blood Lymphocytes in Active Pulmonary Tuberculosis and Sarcoidosis

A. Active Pulmonary Tuberculosis

Age	PHA	ConA	PPD
—29	524.9±78.2	384.0± 51.9	190.4±27.2
30—49	493.1±47.3	283.7± 21.7	196.6±34.6
50—69	426.2±44.4	289.5± 39.0	188.9±36.1
70—	441.0±59.3	316.3±107.6 [#]	141.5±28.8
Total	466.9±28.7	313.4± 23.5	185.6±17.4*
—69	472.6±30.6	313.0± 25.9	191.7±19.2*

B. Sarcoidosis

Age	PHA	ConA	PPD
—29	567.9±42.5	370.2±28.3	149.0±13.1
30—49	611.2±49.9 [#]	301.0±26.8	129.9± 5.7
50—69	382.5±29.2	237.8±21.0	126.9± 6.3
70—	464.0±89.7 [#]	194.0±25.5	155.3±26.5
Total	514.4±24.7	304.9±15.9	137.8± 6.0
—69	516.4±25.6	309.5±16.3	137.0± 6.2

* p<0.01 in comparison with stimulation index values of the same mitogen in the same aging group of normal controls in Table 2-B.

[#] p<0.05 in comparison with stimulation index values of the same mitogen in the same aging group of normal controls in Table 2-B.

14.3%, 低値群で39.4%であり, 高値群で有意に反応が減弱していた. また, ACEは高値群では, 26.9±1.9 IU/lで, 低値群では, 22.8±0.8 IU/lであり, 高値群で有意に高かった. リゾチームに関しては高値群で14.5±1.3 µg/mlで, 低値群では12.0±0.6 µg/mlであり, 高値群で有意にリゾチーム値が上昇していた.

4 考 察

ヒト結核症は *M. tuberculosis* を病原菌とし, その病変の成立及び治癒過程に, CD 4 陽性 T 細胞及びマクロファージが重要な役割を果たすことが知られており, その反映で肺結核症患者の末梢血においても CD 4 陽性細胞が増加することが報告され¹²⁾, さらに CD 16 陽性細胞も増加することが中田ら¹³⁾ により報告されている. 我々の検討した結果では, 69 歳以下では健常者に比較し, CD 4 陽性細胞は増加傾向があり, CD 8 陽性細胞は有意に低下しており, このようなリンパ球サブセットの変動が活動性肺結核症では特徴的な変化であると

Table 5 Comparison between Groups of High and Low Values of $\gamma\delta$ TCR of Peripheral Blood Lymphocytes in Sarcoidosis Regarding Immunological Parameters

A. Phenotypic Markers

	Low Value Group	High Value Group
CD3	59.5±0.9*	64.7±1.7
CD4	38.5±0.8	35.0±1.4*
CD8	23.5±0.7*	27.9±1.4
CD19	18.8±0.7*	16.5±1.1
CD16	11.1±0.6	9.9±0.9

B. Mitogen Response

	Low Value Group	High Value Group
PHA	542.0±33.8	457.4±32.3
ConA	319.9±21.1	285.4±22.9
PPD	141.0± 8.2	127.9± 7.2

* p<0.01 in comparison with positive percentage values of the same marker in a normal control group in Table 2-A.

考えられる. しかし, CD 16 陽性細胞は年齢階層別及び 69 歳以下群での健常者との比較検討ではほとんど差が認められないことから, 中田らの検討において結核患者の年齢構成が高齢に偏っていたことが影響しているものと考えられる.

サ症は原因不明の非乾酪性類上皮性細胞肉芽腫を認める全身性疾患であり, 各種皮内テストに対するアネルギー^{14,15)} 及び末梢血リンパ球特に T リンパ球の減少¹⁶⁻¹⁸⁾ 等の免疫異常を伴うことが知られている. 今回, 156 例のサ症患者に対し, 末梢血リンパ球表面抗原の検討を行い, CD 3 陽性細胞の有意な減少 (CD 4 及び CD 8 陽性細胞と共に減少) と CD 19 陽性細胞の有意な増加が認められ, さらに最近明らかとなった $\gamma\delta$ 型 TCR 陽性細胞も健常者に比し有意に増加していた.

TCR は T 細胞の抗原認識を担う構造であり, 一般的に抗原と主要組織適合抗原複合体遺伝子産物を同時に認識し, 自己と変異細胞, ウイルス感染細胞, 同種細胞などの非自己との鑑別に重要な役割を果たしている. TCR は CD 3 分子と複合体を形成し, その活性化シグナルは CD 3 分子を通じて T 細胞に伝えられる. TCR には少なくとも二つの型が知られており, $\alpha\beta$ 型 (TCR2) と $\gamma\delta$ 型 (TCR1) と呼ばれている. 末梢血中の T 細胞はほとんどが $\alpha\beta$ 型 (95%以上) であり, $\gamma\delta$ 型は 5% 以下である.

Table 6 Comparison between Groups of High and Low Values of $\gamma\delta$ TCR of Peripheral Blood Lymphocytes in Sarcoidosis Regarding Clinical Parameters

	Low Value Group	High Value Group
Stage 0	24.6% (28/114)	14.3% (5/35)
Stage I	42.1% (48/114)	57.1% (20/35)
Stage II	27.2% (31/114)	20.0% (7/35)
Stage III	6.1% (7/114)	8.6% (3/35)
Eye Lesion	72.8% (83/114)	74.3% (26/35)
Skin Lesion	11.4%* (13/114)	0.0% (0/35)
Tuberculin Reaction (positive)	39.4%* (43/109)	14.3% (5/35)
ACE (IU/l)	22.8±0.8 (n=114)	26.9±1.9* (n=35)
Lysozyme (μ g/ml)	12.0±0.6 (n=99)	14.5±1.3* (n=33)

* p<0.01

p<0.05

最近, $\gamma\delta$ 型 T リンパ球が Mycobacterium 属, Tetanus toxoid や熱ショックタンパク質等を認識し, それらの抗原刺激で増殖するとの報告がなされ²⁻⁵⁾, また, Mycobacterium leprae による肉芽腫性病変やリウマチの関節液において $\gamma\delta$ 型 T リンパ球が増加していることも報告され¹⁹⁻²¹⁾, 注目されている。

動物実験において, M. tuberculosis 及び PPD 抗原の感作で局所の $\gamma\delta$ 型 TCR 陽性 T リンパ球が著しく増加していることが報告されており^{2,3)}, 結核症の病変局所において $\gamma\delta$ 型 TCR 陽性 T リンパ球が病変形成及び結核の感染防御に関与していることが想定される。

一方, Haregewoin *et al.*²²⁾ は BCG を接種されたことのある健常成人末梢血の T 細胞を PPD とともに培養すると $\gamma\delta$ 型 CD4 陰性 CD8 陰性細胞が 5% から 10% に増加することを報告しており, ヒト結核症においても $\gamma\delta$ 型 T リンパ球が病変形成及び感染防御に重要な役割を担っているのではないかと考えられる。そこで, 活動性肺結核症で $\gamma\delta$ 型 TCR の発現を含めた末梢血リンパ球の表現マーカー分析及び各種マイトジェンに対する反応性を検討した。その結果, 活動性肺結核症における末梢血リンパ球は健常者に比較して PPD に反応し有意に幼若化をおこすが, $\gamma\delta$ 型 TCR の発現に有意差は認められなかった。現在まで活動性肺結核症における末梢血リンパ球の $\gamma\delta$ 型 TCR の発現に関しては著

者ら²³⁾ 及び和田ら²⁴⁾ の報告があり, その結果では $\gamma\delta$ 型 TCR の発現はいずれも低値であり, 活動性肺結核症の末梢血では $\gamma\delta$ 型 T 細胞の増加は認めないものと考えられる。

中野ら²⁵⁾ のヒト肺結核症を対象とした免疫組織学的な検討では, 増殖期の肉芽腫の類上皮細胞層の外層に $\gamma\delta$ 型 TCR 陽性細胞が増加しているが, 陳旧化病巣にはほとんど認めないことを報告している。肺結核症が発病した段階での肺病変局所では $\gamma\delta$ 型 TCR 陽性 T リンパ球が増生していると想定されるが, 末梢血中には $\gamma\delta$ 型 TCR 陽性 T リンパ球は増加しておらず, 肺局所の変化は反映されていない。

動物実験でも, M. tuberculosis を再感染させた場合, $\gamma\delta$ 型 TCR 陽性 T リンパ球は増加しないことが報告され²⁾, $\gamma\delta$ 型 TCR 陽性 T リンパ球は $\alpha\beta$ 型 TCR 陽性 T リンパ球より早期の感染防御に重要な役割を担っていると考えられている。また, 結核症では CD4 陽性細胞が病変形成に重要な役割を果たし, $\gamma\delta$ 型 TCR 陽性 T リンパ球の phenotype は CD4 陰性・CD8 陰性または CD4 陰性・CD8 陽性しか知られていないことも考え合わせると, 肺結核症においては $\gamma\delta$ 型 TCR 陽性 T リンパ球が早期の感染防御のみに関連することを示しているのかも知れない。

しかし, 活動性肺結核症における末梢血リンパ球は

有意に PPD に反応して幼若化をおこすので、末梢血中には PPD 抗原を記憶しているリンパ球が存在することは明らかである。

一方、サ症患者において $\gamma\delta$ 型 TCR 陽性 T リンパ球が有意に増加していることが明らかとなり⁶⁾、肉芽腫性疾患と $\gamma\delta$ 型 TCR 陽性 T リンパ球の関連性が注目されている。サ症患者の $\gamma\delta$ 型 TCR 発現は我々の検討でも有意に増強しており、 $\gamma\delta$ 型 TCR 発現高値群(4.9%以上)と低値群(4.8%以下)に分けて、各種臨床的及び免疫学的パラメータに関して検討を加えた。高値群では CD 3 及び CD 8 陽性細胞比率の減少は認められず、CD 4 陽性細胞の減少を認めるが、低値群では CD 4 陽性細胞比率は変化せず、CD 3 及び CD 8 陽性細胞比率が有意に低下しており、両群間で明らかに末梢血リンパ球抗原の発現パターンは異なっていた。リンパ球幼若化反応に関しては低値群に比し高値群では軽度減弱していたが、有意差は認めなかった。臨床的パラメータに関しては低値群に比較して高値群では皮膚病変の発現頻度が有意に低下しており、また、ツベルクリン反応陽性率も有意に低下していた。また、血清 ACE 及び血清リゾチーム値は高値群で有意に上昇していた。以上の結果より臨床免疫学的に $\gamma\delta$ 型 TCR の発現によりサ症を二つの亜群に分けることができると考える。サ症の大部分は良好な自然経過を辿るが、予後不良な場合もあり、このような予後と $\gamma\delta$ 型 TCR 発現の関係及びサルコイド結節における $\gamma\delta$ 型 TCR の発現などの探索を進める必要がある。

5 要 約

活動性肺結核症 122 例、サ症 156 例及び健常者 53 例の末梢血リンパ球表面抗原の解析と各種マイトジェンに対する幼若化反応に関して各年齢階層別、全年齢群及び 69 歳以下群で検討を加え、

- 1) 健常者において 70 歳以上群で CD 3 及び CD 4 陽性細胞が有意に低下し、CD 16 陽性細胞が有意に上昇していた。リンパ球幼若化反応に関して健常者 70 歳以上群では PHA 及び ConA に対する反応性は有意に低下していた。
- 2) 活動性肺結核症の末梢血リンパ球では CD 4 陽性細胞が増加し、CD 8 陽性細胞が低下していたが、 $\gamma\delta$ 型 T リンパ球は健常者に比較して有意差は認めなかった。
- 3) サ症の末梢血リンパ球では CD 3 陽性細胞の減少、CD 19 陽性細胞の増加及び $\gamma\delta$ 型 T リンパ球の増加が認められた。

- 4) サ症において、末梢血リンパ球で $\gamma\delta$ 型 TCR の発現が高値群と低値群では臨床的にも、免疫学的にも異なる亜群であると考えられた。

稿を終えるにあたり、御指導、御校閲をいただいた本学内科学第 3 講座鈴木明教授、並びに JR 札幌鉄道病院平賀洋明院長、大道光秀博士に深謝します。

文 献

1. Brenner, M. B., Strominger, J. L. and Krangel, M. S.: The $\gamma\delta$ T cell receptor. *Adv. Immunol.* **43**, 133-192 (1988).
2. Janis, E. M., Kaufmann, S. H. E., Schwartz, R. H. and Pardoll, D. M.: Activation of $\gamma\delta$ T cells in the primary immune response to Mycobacterium tuberculosis. *Science* **244**, 713-716 (1989).
3. Augustin, A., Kubo, R. T. and Sim, G. K.: Resident pulmonary lymphocytes expressing the $\gamma\delta$ T cell receptor. *Nature* **340**, 239-241 (1989).
4. Born, W., Hall, L., Dallas, A., Boymel, J., Shinnick, T., Young, D., Brennan, P. and O'Brien, R.: Recognition of a peptide antigen by heat shock-reactive $\gamma\delta$ T lymphocytes. *Science* **249**, 67-69 (1990).
5. Kaufmann, S. H. E.: Heat shock proteins and the immune response. *Immunol. Today* **11**, 129-136 (1990).
6. Balbi, B., Moller, D. R., Kirby, M., Holroyd, M. J. and Crystal, R. G.: Increased numbers of T lymphocytes with $\gamma\delta$ -positive antigen receptors in a subgroup of individuals with pulmonary sarcoidosis. *J. Clin. Invest.* **85**, 1353-1361 (1990).
7. Wurm, K., Reidell, H. and Heilmeyer, L.: Der Lungenboeck in Rontgenbild, George Thieme (1957).
8. 今久保慶一: 核酸誘導体と DNA-一色素複合体。蛋白質・核酸・酵素 (別冊: 蛍光測定の原理と生体系への応用) 206-231 (1974).
9. 乾 純和, 小田島博, 松本純一, 家富克之, 小林節雄, 深町 勇, 井上寿子, 中嶋克之: 蛍光法による PHA-リンパ球幼若化検査。日本癌治療学会誌 **17**, 1809 (1982) (第 20 回日本癌治療学会総会抄録集)。
10. 横山三男: T 細胞 1. ヒトの T 細胞の膜抗原。免疫の研究 山村雄一編 3-19, 同文書院 (1986)。
11. Matsuzaki, G., Yoshikai, Y., Kishihara, K., Nomoto, K., Yokokura, T. and Nomoto, K.: Age-associated increase in the expression of T cell antigen receptor γ chain gene in mice. *Eur. J. Immunol.* **18**, 1779-1784 (1988).

12. 大久保喜雄, 中田真佐雄, 北沢邦彦, 和田茂比古, 草間昌三: 結核性胸膜炎, 肺結核におけるリンパ球表面抗原の解析とリンパ球増殖反応. *信州医誌* **34**, 155-159 (1986).
13. 中田真佐雄: 癌性胸膜炎, 結核性胸膜炎における末梢血および胸水の免疫学的検討: NK細胞の表面抗原および機能的解析. *信州医誌* **35**, 309-320 (1987).
14. Sones, M. and Israel, A. H.: Altered immunologic reactions in sarcoidosis. *Ann. Intern. Med.* **40**, 260-268 (1955).
15. Pouler, L. W.: Immune aspects of sarcoidosis. *Postgrad. Med. J.* **64**, 536-543 (1988).
16. Hedfors, E., Holm, G. and Petterson, D.: Lymphocyte subpopulations in sarcoidosis. *Clin. Exp. Immunol.* **17**, 219-226 (1974).
17. Ramachandar, K., Douglas, S. D., Lsiltzbach, L. E. and Taub, R. N.: Peripheral blood lymphocyte subpopulations in sarcoidosis. *Cell. Immunol.* **16**, 422-426 (1975).
18. Daniel, R. P. and Rowlands, D. T.: Lymphocyte subpopulations in sarcoidosis: Correlation with disease activity and duration. *Ann. Intern. Med.* **85**, 593-600 (1976).
19. Modlin, R. L., Pirmiz, C., Hofman, F. M., Torigian, V., Uyemura, K., Rea, T. H., Bloom, B. R. and Brenner, M. B.: Lymphocytes bearing antigen-specific $\gamma\delta$ T cell receptors accumulate in human infectious disease lesions. *Nature* **339**, 544-548 (1989).
20. van Eden, W., Thole, J. E. R., van der Zee, R., Noordrij, A., van Embden, J. D. A., Hensen, E. J. and Cohen, I. R.: Cloning of the mycobacterial epitope recognized by T lymphocytes in adjuvant arthritis. *Nature* **331**, 171-173 (1988).
21. Lydyard, P. M., Rook, G. A. W., Tsoulfa, G., Sharif, M. and Smith, M.: Is there a role for mycobacteria in the etiopathogenesis of Rheumatoid arthritis? *Immunol. Rev.* **121**, 137-154 (1991).
22. Haregewoin, A., Soman, G., Hom, R. and Frinberg, R. W.: Human $\gamma\delta^+$ T cells respond to mycobacterial heat-shock protein. *Nature* **340**, 309-312 (1989).
23. 四十坊典晴, 中西文雄, 浅川三男, 鈴木 明: 結核症における γ/δ 型 T 細胞受容体発現を含めた末梢血リンパ球表面抗原の解析. *結核* **66**, 120-121 (1991) (第 66 回日本結核病学会総会講演集).
24. 和田雅子, 山本節子, 戸井田一郎: ミコバクテリア感染症における末梢血 TCR $\gamma\delta$ +T リンパ球. *結核* **66**, 121 (1991) (第 66 回日本結核病学会総会講演集).
25. 中野裕康, 中田光: ヒト正常肺及び肺結核症における $\gamma\delta$ 型 T 細胞の分布とその phenotype について: 免疫組織学的検討. *日本免疫学会総会学術集会記録* **20**, 126 (1990).

別刷請求先:

(〒060) 札幌市中央区南1条西16丁目

札幌医科大学内科学第3講座 中西文雄