

## 第 53 回 総 会 シ ン ポ ジ ウ ム

## 肺 結 核 の 短 期 化 学 療 法

座 長 島 村 喜 久 治

国 立 療 養 所 東 京 病 院

受 付 昭 和 53 年 8 月 24 日

The 53rd Annual Meeting Symposium

## SHORT-COURSE CHEMOTHERAPY FOR PULMONARY TUBERCULOSIS

Chairman: Kikuji SHIMAMURA\*(Tokyo National Chest Hospital)

Reporters: Eiko KONDO(Department of Tuberculosis, National Institute of Health)  
Mareichi TOYOHARA(Research Institute of Tuberculosis, Japan Anti-Tuberculosis Association)

Harumi AIZAWA(Osaka Prefectural Habikino Hospital)

Chiekoh KINO(Research Institute Hospital, Japan Anti-Tuberculosis Association)

Eiichi URAGAMI(Tokyo National Chest Hospital)

Tadashi HISHIMOTO(Nishi-Niigata National Hospital)

(Received for publication August 24, 1978)

In Japan today, where long-term chemotherapy for pulmonary tuberculosis has been popularly routinized, the time is not yet ripe for accepting readily short-course chemotherapy which is of British and French origin. As a matter of fact, long-term chemotherapy had several shortcomings specific for its prolonged administration. Therefore, if short-course chemotherapy has been proved not inferior to long-term chemotherapy in its therapeutic efficacy, the duration of chemotherapy for pulmonary tuberculosis should undoubtedly be shortened.

In this symposium, therapeutic results of short-course chemotherapy for experimental tuberculosis were presented by Drs. Kondo and Toyohara, while those of clinical studies were reported by 4 workers including Dr. Aizawa, all of which support and reconfirm the efficacy of short-course chemotherapy.

The greatest anxiety manifested by the Japanese phthisiologists for the trial of short-course chemotherapy has been nothing but the anxiety about the possibility of occurring relapse after discontinuation of chemotherapy, — in particular, anxiety for the fate of remaining cavities and other unstable lesions, yet existing at the time of terminating the chemotherapy. Follow-up studies shall clarify these questions eventually. Drs. Aizawa, Kino, and Uragami showed on the basis of their respective data that the radiological improvements continued consistently after the termination of chemotherapy.

To ease their anxiety, reporters have elaborated their respective regimens, without stopping chemotherapy indiscriminately within a fixed period but regulating the duration of treatment in accordance with the rates of improvement in radiological findings and of bacteriological negative

\* From the Tokyo National Chest Hospital, Kiyose City, Tokyo 180-04 Japan.

conversion.

Nevertheless, attending physicians used to prolong the duration of chemotherapy in some 20% of cases. This is the actual status of chemotherapy in Japan.

## はじめに

座長 島村喜久治

長期化学療法がすっかり定着して疑われなかつたわが国の結核事情の中で、短期化学療法は、誇張していえば青天の霹靂であつた。長期療法に欠点がなかつたわけではない。その欠点の克服にはわれわれなりの苦勞はしてきていた。欠点の第1は、長期療法に当然同伴する長期療養の問題で、このために結核患者とその家族の被る社会的・経済的・家庭的また精神衛生上の被害は甚大なものである。欠点の第2は、長期化学療法が完了されにくいという事情である。中途で脱落する患者が少なくなく、それが再発につながつた。欠点の第3は、長期服薬によつて当然ふえてくる耐性と副作用の出現であつた。これらの欠点を克服する最も確実な方法は治療期間の短縮である。しかし、治療期間の短縮は再発をふやしたので、これは容易には到達しえない目標とみえた。

そんな状況の中で、東アフリカから短期化療の情報が入つてきたのが1972年であつた。それは途上国での治療実験であつただけに、わが国の結核医の中には「貧乏人は麦をくえ」の結核版ではないかと、白い目で見られたもあつたはずである。しかし続いて遠隔成績が発表されて、その再排菌率が、従来の長期療法に劣らないと知つては、われわれも頭の切り替えをせざるをえなくなる。短期化療が長期化療より優れている必要はない。効果に差がなければ、先の長期化療のもつ欠点を克服する方策として短期化療を採用すべきであろう。化療を短期化することによつて、患者の社会生活、経済生活、家庭生活、精神生活、つまり人間としての生活を損うこと少なく治療できることになる。結核に罹患すれば生活上の多大な犠牲を払わなければならなかつた暗い長い時代の夜明け、

つまり結核治療における人間指向性を、いまや、確立しうる段階に達したといえることになる。

英仏に端を發し、その後ヨーロッパ、南米、東南アジアなどでも追認された短期化療を、日本でも試みてみたのがこのシンポジウムである。試みの日はまだ浅く、遠隔成績も不十分である。それに、この試みの最大の隘路は、率直にいつて、長期化療に馴れすぎた結核医の抵抗であつた。X線所見が安定したあとまだ化学療法を続けても、それでもなお再発の少なくなかつた苦い経験をもつ結核医にしてみれば、排菌が陰性化したからといつて、安定しないX線所見を無視して投薬を中止するのは人間指向性どころか、非人道的ですらあるという、いわば当然の抵抗であつた。このシンポジウムはそういう抵抗に答える。

それにしても、短期化学療法はまだ完成していない。多くの解明を要する課題がある。例えば遠隔成績、化療方式と期間、初期強化の必要性、間欠投与の要否、短期化療の禁忌あるいは適応、副作用による脱落の克服、再排菌の定義、単発微量排菌や塗抹陽性培養陰性菌の評価、菌陰性空洞あるいは菌陰性不安定病巣の再評価などである。

しかし、これらの解決を要する課題があつても、見切り発車をしてもいいのではないか。短期化療の魅力はあまりにも大きいし、もし再排菌があつても、耐性がないので再化療による処理が可能だからである。積み残した課題は、歩きながら考えればよいのではないか。

高度に社会性をもつ慢性伝染病・結核の治療法が革命される日が近づいているようである。

### 1. 短期強化化学療法に関する実験的検討

国立予防衛生研究所結核部

近藤 瑩 子

現今の結核症の多くが中高年者の再発例であり、一方 Canetti<sup>1)</sup>、McCune<sup>2)</sup> らの広範な経験以来、マウス実験結核症においては化学療法による感染菌の根絶は至難のこととされている。したがつて Canetti<sup>1)</sup> は、マウスに

おいて優れたレジメンが考案されるならば、それは臨床への期待も大きいはずであると述べている。

SM, INH, PAS に加えて、EB, RFP がこれまでの二次薬とは違つた利点をもつて登場し、また社会経済的

要因の変遷にもなつて、結核化学療法には新しい発想法が展開してきた。初期強化療法による治療期間の短縮は、そうした動きの代表的なものであろうが、この臨床での指向をマウスを用いて実験的に検討した。予備実験、補足実験などもあるが、紙面の都合上ここでは主実験についてのみ報告したい。

実験材料および方法は、前報<sup>3)</sup>のごとくである。

成績

マウスを一様に牛型結核菌 Ravenel 株の 0.005mg で静注感染した。18日を経て3匹を殺して感染菌数測定のために定量培養を実施し、残りを6群に分けた。第1, 第2群は INH 0.4mg・RFP 0.4mg・SM 1.0mg, 第3, 第4群は INH・RFP・EB 0.4mg の3剤, 第5群は INH・RFP の2剤による連続投与を開始した。第6群を非治療対照とした。3カ月目に剖検のため3匹ずつ殺し、ここで INH, RFP, EB の量をそれぞれ 0.5mg として治療を継続したが、第1群の SM は週2回の間欠, また第4群は EB 投与をやめて INH・RFP の2剤とした。こうして更に3カ月を経過したところで治療を打ち切り、その後の感染菌数に関する遠隔成績を2, 4,

6カ月目に求めた。その結果を表1に示す。

3カ月目までに非治療群は25匹中8匹が死亡し、6カ月目までに1匹を残してすべて死亡するという致死感染であつて、生残しているマウスも肺内生菌数は $10^6$ から $10^8$ に達していた。2剤または3剤併用いずれによつても3カ月後には治療前 $10^6$ であつた生菌数は $10^3$ あるいはそれ以下にまで減少していた。更に治療を継続し、6カ月目における成績では、殊に INH・RFP・EB 3剤投与の効果はめざましく、6匹中6匹は検出限界以下となつた。INH・RFP・SM, あるいは INH・RFP では半数は検出限界, また菌を認めても $10^3$ 前後であつた。

治療中止後2カ月から4カ月に至るまで INH・RFP・EB 3剤併用で8匹中7匹は検出限界以下であつた。6カ月経つと8匹中3匹に菌が検出されたが、その2匹は $10^3$ 以下であつた。INH・RFP・SM 3剤によつて、中止後2カ月目に8匹中6匹, 4カ月目に8匹中4匹においては検出限界以下であつたが、6カ月目になつて8匹中6匹に $10^3\sim 10^6$ の再増殖がみられた。後半の3カ月の治療でEBを中止した第4群は継続した第3群との間に、また SM を間欠とした第1群は第2群との間に効果の差は認められなかつた。このことは治療開始後3カ月ま

Table 1. Intensive Chemotherapy with Two or Three Drugs Including RFP and INH to Eradicate Persistent Bacilli in the Lung

| Group | Treatment    | Viable counts per lung  |   |  |  |  |
|-------|--------------|---|---|--|--|--|
|       |              | Period of treatment   |   | After cessation of treatment   |  |  |
|       |              | 3 months  | 6 months                                    | 2 months   | 4 months   | 6 months   |
| 1     | INH+RFP+SM*  | 0<br>0<br>$2.6 \times 10^3$<br>$6.2 \times 10^3$<br>$7.3 \times 10^3$ | 0<br>$4.6 \times 10^2$                      | 0<br>0<br>$8.3 \times 10^3$<br>1.7   | 0<br>0<br>0<br>$3.8 \times 10^4$                                 | 0<br>0<br>$1.0 \times 10^4$<br>$2.3 \times 10^6$                                 |
| 2     | INH+RFP+SM   | 0<br>$6.6 \times 10^2$<br>$5.5 \times 10^2$                           | 0<br>$6.6 \times 10^2$<br>$5.5 \times 10^2$ | 0<br>0<br>0<br>0   | 0<br>$3.8 \times 10^7$<br>$3.5 \times 10^6$<br>$1.7 \times 10^5$ | $1.4 \times 10^6$<br>$9.8 \times 10^4$<br>$2.8 \times 10^4$<br>$4.6 \times 10^3$ |
| 3     | INH+RFP+EB   | 0<br>0<br>$1.4 \times 10^3$<br>$3.5 \times 10^2$<br>0                 | 0<br>0<br>0                                 | 0<br>0<br>0<br>$3.4 \times 10^3$   | 0<br>0<br>0<br>0   | 0<br>0<br>$3.9 \times 10^2$<br>$6.0 \times 10^2$                                 |
| 4     | INH+RFP+EB** | 0<br>0<br>0   | 0<br>0<br>0                                 | 0<br>0<br>0<br>0   | 0<br>0<br>0<br>$2.6 \times 10^5$                                 | 0<br>0<br>0<br>$2.1 \times 10^6$   |
| 5     | INH+RFP      | $2.6 \times 10^2$<br>$1.4 \times 10^3$<br>$1.5 \times 10^3$           | 0<br>0<br>$2.7 \times 10^3$                 | $7.8 \times 10^5$<br>$8.0 \times 10^5$<br>$2.0 \times 10^5$<br>$3.5 \times 10^5$                               | $2.3 \times 10^7$<br>$1.6 \times 10^6$<br>$2.3 \times 10^3$      | 0<br>$3.2 \times 10^6$<br>$3.6 \times 10^5$                                      |
| 6     | Untreated    | $1.3 \times 10^6$<br>$6.3 \times 10^7$<br>$1.0 \times 10^8$           | $8.4 \times 10^6$                           | The rest of mice in this untreated group died of tuberculous pneumonia until the end of 6 months of infection. |  |  |

Viable counts at the start of treatment was  $2.0 \times 10^4$ .

\* SM was administered intermittently, twice a week, during the later 3 months of treatment.

\*\* EB was not administered in the later 3 months of treatment.

での投与効果が遠隔成績に影響力の大きいことを示唆する。INH・RFP 2剤治療では、放置2カ月以降、1匹を除いて全部のマウスに菌の再増殖がみられた。しかし再増殖をみないずれの群のマウスも、例外（第1群、第4群各1匹ずつ結核死）を除けば、すべて体重が40~50g前後を維持し、剖検所見においても限局された肺病巣がみられた。この間、脾においては非治療群では $10^5$ 前後の感染菌数が分離されているが、3剤治療群は3カ月目にはいずれの動物も $10^2$ 以下の菌数に減少しており、2剤治療群では平均 $10^3$ であつた。また6カ月目には各治療群とも菌は検出されなかつた。治療中止後2カ月ではINH・RFP・SM投与群は8匹中2匹にわずかの菌が認められ、INH・RFP・EB群では8匹中1匹に $10^5$ の菌が検出された。しかし2剤投与群では4匹中3匹から $10^3$ ~ $10^5$ の菌の再増殖をみた。中止後4カ月また6カ月目の培養試験においては、培養陽性動物はほぼ半数となつたが、いずれにせよ肺に比較して菌数レベルが1/100から1/1,000であつた。

## 考 察

化学療法の理想は感染菌の根絶による細菌学的治癒にある。マウス組織ホモジネイトからの菌検出は、臨床における喀痰培養よりも治療効果の実態をよく把握しうるが、しかし手技の技術的限界もあつて、集落発生をみなくても必ずしも菌根絶を意味せず、潜在感染の可能性が残る。したがつて薬剤投与中止後の長期観察によつて再増殖のないこと、あるいはコーチゾン投与などによる人

為の再発のないことが、さしあつて感染菌の根絶の指標になるであろう。

今回の実験成績においては、動物の個体差があるにしても、マウス体内から感染菌を根絶しうる可能性が示されたわけで、EB・RFPを含めたレジメンが臨床結核に対しても、結核化学療法に大きな進歩をもたらしていることが示唆された。初期強化療法により、再発の原因となる persisters の数をできうるかぎり少なくすることに意味があると考えられ、また遠隔成績に個体の免疫力の関与の大きいことも当然のことながら示唆されている。

## 結 論

マウスの致死性結核感染に対して SM・INH・RFP あるいは EB・INH・RFP の3剤併用で6カ月間治療し、その大部分の動物において肺・脾の感染菌数を検出限界以下に減少せしめた。投与中止後6カ月においてすら、菌培養陰性動物のみられたことは、マウスにおいては以前に得られなかつた顕著なもので INH・RFP を含めた3剤併用の効果が、今後の化学療法の中心的なレジメンとして評価できると思う。

## 文 献

- 1) Canetti, G. et al.: Tubercle (Lond.), 44: 236, 1963.
- 2) McCune, R. M., Jr. et al.: J. Exptl. Med., 104: 763, 1956.
- 3) 鳥村喜久治(座長): シンポジウムII, 結核, 53: 174, 1978.

## 特別発言: マウス実験結核症を用いての短期化学療法のモデル実験

結核予防会結核研究所 豊原 希 一

現在、結核化学療法の主流となりつつある SM・INH・RFP を中心とした短期化療の実験的裏付けを行ない、更に抗結核薬として評価の分かれる PZA についても併用効果を検討した。また化療終了後の菌の再増殖には生体側の感染免疫が関与していると思われるので細胞性免疫の生じない nude マウスと感染免疫の生じる dd マウスによる化療実験を平行して行ない化療後の菌の再増殖に及ぼす細胞性免疫の影響を比較検討した。

### (A) SM・INH・RFP および PZA を併用した 最長24週化療成績と relapse

#### 1. 実験方法

実験群を15群に分け Gr. 1~8 は治療群で各群10匹、Gr. 9~15 は治療各群の治療終了時点および実験終了時点の対照群で各群5匹とする。治療群は結核菌黒野株感染4週後より治療を始める。Gr. 1~4 は SM・INH・RFP

併用群で4週治療後4週放置、Gr. 2は8週治療後4週放置、Gr. 3は12週治療後6週放置、Gr. 4は24週治療後6週放置、Gr. 5, 6 は SM・INH・PZA 併用群で Gr. 5 は8週治療後4週放置、Gr. 6 は12週治療後6週放置、Gr. 7, 8 は SM・INH・RFP・PZA 併用群で Gr. 7 は8週治療後4週放置、Gr. 8 は12週治療後6週放置とした。各薬剤の使用量は SM 1mg, INH 0.3mg, RFP 0.3mg, PZA 2mg 毎日とし SM, INH は皮下注、RFP, PZA は経口とした。感染菌量は強毒結核菌黒野株 0.1mg ( $1 \times 10^5$  v. u.) とし、これを尾静脈内に接種した。治療群は治療終了時点および実験終了時点で5匹ずつ殺し肺の肉眼所見を観察し肺、脾重、√比肺重を測定し肺、脾の定量培養を行なつた。

#### 2. 結果

肺、脾のいずれにも培養で菌陰性のマウス数のその時点で殺した全マウス数(5匹)に対する割合を体内菌陰

性率とした。SM・INH・RFP 併用群では 4, 8, 12, 24 週治療終了時点で、いずれも菌陰性率は 100% であったが治療終了後放置により 4 週治療群は菌陰性率 0, 8 週治療群は 40%, 12 週治療群は 60% と治療期間が延長するにつれ relapse は減少し、24 週治療群は菌陰性率 100% すなわち relapse を認めなかつた。SM・INH・PZA 併用群では 8, 12 週治療により菌陰性率は 100% となつたが放置により 8 週治療では 20%, 12 週治療により 0 といずれも高い relapse を示した。SM・INH・RFP・PZA 併用群では 8 週治療で 80%, 12 週治療で 100% 菌陰性率を示した。また放置により 8 週治療群では菌陰性率 80%, 12 週治療群では 100% と relapse を認めなかつた。放置後菌陰性を示したマウスも未治療対照群に比べれば臓器内生菌数は極めて少なかつた。また検出された菌はいずれも使用各薬剤に対し感性であつた。

## (B) 短期化療後の relapse と細胞性免疫との関係

### 1. 実験方法

Nude マウス群は SM・INH・RFP 併用 8 週 (Gr. 1), 同 12 週 (Gr. 2), SM・INH・RFP・PZA 併用 8 週 (Gr. 3), 同 12 週 (Gr. 4) 後 8 週放置の各群に分けた。dd マウス群は SM・INH・RFP 併用 12 週後放置 8 週 (Gr. 1), 同 12 週後ステロイドとしてプレドニン 0.2mg 毎日皮下注 8 週 (Gr. 2), SM・INH・RFP・PZA 併用 12 週後 8 週放置 (Gr. 3), 同 12 週後ステロイド 8 週使用 (Gr. 4), INH・RFP・EB 併用 12 週後 8 週放置 (Gr. 5) とした。Nude マ

ウス, dd マウスともに黒野株感染 2 週後から治療を始めた。SM, INH, RFP, PZA の使用量は実験 (A) と同じとした。

### 2. 結果

Nude マウスは未治療の場合は 4 週までに全部死亡し感染抵抗性が弱い。しかし SM・INH・RFP および SM・INH・RFP・PZA 併用 8 週治療により菌数は激減し 12 週治療により肺, 脾の菌数は検出限界以下となつた。しかし 8 週放置により 8 週治療群, 12 週治療群ともに菌ははげしく再増殖し SM・INH・RFP 12 週治療群では放置 8 週までの生残率 0 となつた。しかし SM・INH・RFP・PZA 併用による 12 週治療群では放置 8 週までの生残率 80% で PZA の併用が有用であることを認めた。これに対し dd マウスでは 12 週治療により各治療群の肺, 脾の菌数は検出限界以下となつた。この点 nude マウスと同様であつたが治療終了後 steroid を使用しても SM・INH・RFP・PZA 併用群は再増殖をみなかつた。SM・INH・RFP 併用後放置群では肺に, INH・RFP・EB 併用後放置群では肺, 脾に再増殖をみた。SM・INH・RFP 併用後 steroid を使用すると肺, 脾両方に再増殖をみ肉眼的にも肺病変を認めた。しかしその再増殖は nude マウスに比べれば僅少でこの点, 細菌学的 relapse に感染による細胞性免疫の成立が大きく影響していることがうかがわれた。また (A), (B) 両実験を通し PZA はある程度の併用効果を示した。

## 2. 肺結核の短期化学療法——臨床から

大阪府立羽曳野病院 相 沢 春 海

私どもは昭和47年から短期化学療法の臨床的研究を開始, 12カ月の短期治療の成績が極めて良好であつたので, 更にすすんで昭和51年から 6~9 カ月短期治療を試みた。

### 研究 I. 12カ月の短期治療

対象は昭和47年9月以降に当院に入院した未治療, 菌陽性, 有空洞の肺結核に SM・INH・RFP 併用による短期療法を行なつた 175 例である。対照は従来の SM・INH・PAS 併用による長期療法実施例としたが, 同時無作為割り当て方式は困難であつたので, 昭和47年以前に SM・INH・PAS 併用で18カ月以上治療した症例のうち, 6 カ月以内に菌陰性化し, 短期療法群と背景因子の類似した 105 例を選んだ。

治療方式は表1のごとく, SM は 1g を最初の 2~3 カ月は毎日, 以後週 2 日, INH は 400mg 毎日, RFP は 450mg 毎日の 3 者併用を 6 カ月間実施し, その後は INH 400mg 毎日・PAS 10g 毎日併用を継続して 12カ

月で治療を終了した。対照の処方 は SM・INH・PAS 併用を 18 カ月以上続けたものと, 13 カ月以降は INH・PAS 併用に切り替えたものがある。

短期治療群 175 例のうち, 治療期間中に薬剤の副作用や約束以外の処方を用いたものおよび退院後不明を含めた脱落が 38 例あり, また 12 カ月治療の規約を守れず治療継続したものと 12 カ月以後の消息不明が 25 例であつた。以上の 63 例を除いた 112 例について以後対照群と比較検討した。

まず喀痰中の結核菌陰性化率は SM・INH・RFP 群では 1 カ月 61.6%, 2 カ月 88.4%, 3 カ月 99.1%, 4 カ月 100% と全例が治療 4 カ月までに菌陰性化した。これに対し SM・INH・PAS 群では, それぞれ 49.5%, 71.4%, 86.7%, 96.2% であり前者の方が菌陰性化の立ち上りが早かつた。胸部 X 線所見の改善率は, 基本病変で中等度以上の改善が, 短期群で 6 カ月 65%, 12 カ月で 80% と対照群に比べ優れてはいるが, 終了時従来の target point

表 1 12ヵ月短期化学療法の治療計画

| 治療群        | 治療方式   |                            |   |
|------------|--|----------------------------|---|
|            | ～6ヵ月   | 7～12ヵ月                     | 13～18ヵ月                                 |
| SM・INH・RFP | SM 毎日 2～3ヵ月以後週2日<br>INH 400mg 毎日<br>RFP 450mg 毎日 | INH 400mg 毎日<br>PAS 10g 毎日 | 無治療                                     |
| SM・INH・PAS | SM 毎日 2～3ヵ月以後週2日<br>INH 400mg 毎日<br>PAS 10g 毎日   | →                          | →<br>あるいは<br>INH 400mg 毎日<br>PAS 10g 毎日 |

表 2 A) SM・INH・RFP群の化療終了後の観察期間 (12ヵ月治療群)

| 期間   | 症例数 |
|------|-----|
| 1～2年 | 42  |
| 2～3年 | 39  |
| 3～4年 | 23  |
| 4年～  | 8   |
| 計    | 112 |

B) 化療終了後の再排菌 (12ヵ月治療群)

| 治療群   | SM・INH・RFP群 | SM・INH・PAS群 |
|-------|-------------|-------------|
| 観察症例数 | 112         | 105         |
| 再排菌例数 | 0           | 3           |

に達せずに治療を終了している症例も少なくはなかつた。次に治療終了後最長5年までの経過を観察したが、表2のごとく終了後の再排菌は短期治療群にはなく、対

照群では治療18ヵ月以後に3例の悪化が認められた。なお治療終了後の胸部X線所見の推移をみると、終了後も引続きX線所見の改善を認めるものが37%にみられた。これは INH・RFP を含む短期化学療法の実施に際しては、化学療法を target point 到達まで継続する必要のないことを示している。

研究 II. 6～9ヵ月の短期治療

対象は昭和51年6月より当院に入院した未治療・菌陽性の肺結核255例である。治療計画は図1のごとく、SM 毎日・INH・RFP 併用3ヵ月後、つぎの3ヵ月は治療開始1ヵ月目の検査成績によつてふり分け、培養陽性例では SM 週2日・INH・RFP 併用を更に3ヵ月継続して後 INH・PAS 併用3ヵ月計9ヵ月で治療を終了する。培養陰性例では3ヵ月後 SM を除き INH・RFP 2者併用を3ヵ月間行ない、更に6ヵ月目の時点で空洞残存の有無によつてふり分け、空洞残存例では INH・PAS 併用で3ヵ月治療を続けて9ヵ月で終了、空洞閉

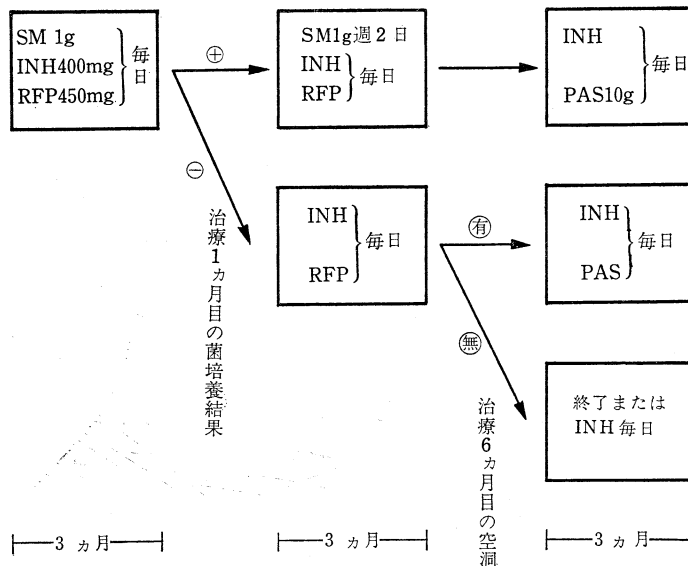


図 1 6～9ヵ月短期化学療法の治療計画

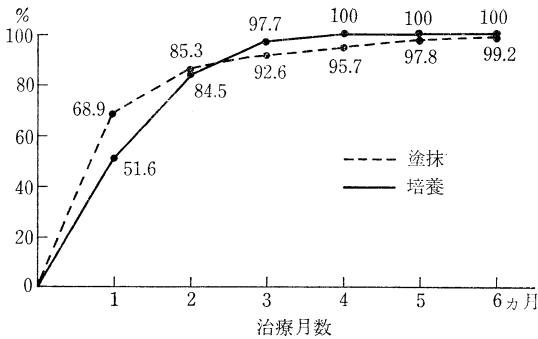


図2 菌陰性化率 (9ヵ月治療群)

表3

|                    |     |
|--------------------|-----|
| A) 6~9ヵ月治療終了後の観察状況 |     |
| 1) 終了後の経過判明        | 109 |
| 2) 9ヵ月以上治療続行       | 32  |
| 3) 終了後の経過不明        | 14  |
| 注: 9ヵ月未満で治療中       | 30  |
| B) 終了後経過判明例の予後     |     |
| 1) 菌陰性持続           | 108 |
| 2) 菌塗抹のみ1回陽性       | 1   |

鎮例では INH 単独で3ヵ月治療するか、または6ヵ月の時点で治療を終わることとした。なお SM は原則として 1g 使用としたが、高齢者や体重の少ないものでは 0.5~0.75g とし、SM 使用が困難な症例、副作用による SM 中止例には SM の代わりに EB を使用、または

SM を EB に切り替えて用いた。

総治療対象 255 例中、SM・INH・RFP で開始したものは 235 例で、このうち治療途中で副作用のため SM を中止し EB に変更した症例が 21 例、また初めからの EB・INH・RFP 症例が 20 例であった。これらのうち治療期間中の脱落は未治療耐性 16、副作用によるもの 21、死亡 3、合併症 6、退院後不明 24 の計 70 例であった。以上の脱落例を除いた 185 例の背景因子は 40 歳以上が半数をこえ、有空洞 91%、菌塗抹陽性が 82% であった。

喀痰中菌陰性化率は図 2 のごとくであり、培養では 4ヵ月以後全例菌陰性化した。胸部 X 線所見については、中等度以上の改善は、基本病変では 6ヵ月 58%、9ヵ月 80%、空洞ではそれぞれ 28%、49% であった。

次にこれら症例の治療終了後最長 16ヵ月までの経過をみた成績は表 3 のごとく、終了後 7ヵ月目に菌塗抹のみ 1 回だけ陽性の症例が 1 例あったほかは培養では再排菌は認められていない。

使用薬剤の副作用については、SM の副作用による中止は 44 例 (19%) であり、RFP では 6 例 (7%)、INH では 2 例 (0.9%) であった。なお SM を中止しても EB を代りに用いた症例は脱落とせず集計しているため、SM の副作用による脱落は 5 例 (2%) にすぎなかった。

以上の成績よりみて、未治療肺結核患者では INH・RFP に SM あるいは EB を加える短期化学療法によつて治療期間を 9ヵ月程度にまで短縮しうることが認められた。

### 3. 肺結核の短期化学療法——臨床から

結核予防会結研附属病院

木野 智慧 光

演者は INH・RFP 2 剤併用による非空洞性肺結核症に対する短期化学療法 (9ヵ月) を主として検討した。

#### I. 非空洞例に対する短期化学療法

〔研究目的〕 現在日本では新発見肺結核患者の 70~80% は比較的軽症の非空洞例で占められている。このような症例に適した外来向けの短期治療方式を検討する目的で「INH・RFP 6ヵ月 → INH 単独 3ヵ月 (計 9ヵ月)」方式の治療効果と治療終了後の再燃を調査した。

〔対象ならびに研究方法〕 対象は昭和 51 年 5 月以降約 1 年間に、結核予防会 3 施設 (結研附属病院、第一健康相談所、渋谷診療所) と沖縄県の 3 保健所 (那覇、中央、コザ。沖縄県では復帰後も結核患者の外来治療は保健所で行なわれている) に来所した未治療非空洞肺結核患者 144 例で、これに上記方式の化学療法を実施した。大部分 (91%) が外来治療で、13 例が治療当初 1~4ヵ月入院している。菌検査は治療前 1~3 回、治療中毎月 1 回、

治療終了後は 3ヵ月に 1 回、X 線検査は治療中、終了後とも 3ヵ月ごとに実施した。144 例中除外・脱落が 44 例あり、規定の治療を終了したもの 100 例、そのうち治療終了後 6ヵ月以上観察しえたものはまだ 41 例にすぎない。

〔対象の背景因子〕 治療中の成績については治療終了の 100 例に脱落例中治療効果判定に利用しうる 10 例を加えた 110 例について検討したが、その性別は男 68 例、女 42 例。年齢は比較的若年者が多く、男の 46%、女の 79%、平均 58% が 40 歳未満。治療開始時の病状は 110 例中 95 例 (86%) が学研分類の 1 (軽症) で、病型は B 型が 1、2 併せて 69 例 (63%)。排菌陽性は 19 例 (17%) にすぎず、そのうち 17 例までが培養のみ陽性であった。

〔治療中の成績〕 排菌例は化学療法開始後 2ヵ月以内に全例培養陰性化した (治療 8ヵ月目に塗抹陽性・培養陰性 1 例あり)。X 線所見の推移を形態学的な改善の期待できる学研 B 型例についてみると、中等度以上の改善

を示すものの割合は治療開始後3カ月で45%、6カ月73%、9カ月81%で、これを年代は異なるが(昭和30年代)、予防会外来諸施設における学研B型の非空洞例に対する一次薬3剤併用療法の成績(中等度以上の改善率3カ月11%、6カ月37%、9カ月49%)と比べると、「INH・RFP」のほうが「SM・INH・PAS」より改善率が全般的に高く、かつ改善の速度も著しく早い。学研CB型についても同様の比較を試みたが、この場合はX線所見の改善にほとんど差が認められなかつた。

〔治療終了後の再燃〕 治療終了後6カ月以上(最長1年まで)観察できた41例中再排菌は1例もなかつた(治療終了後3カ月目に1コロニーの排菌を1例に認めたが、これは非定型抗酸菌であつた)。X線所見では、治療開始時学研B型であつて治療終了後も観察できた40例中10例(1/4)に治療終了後も引き続き改善がみられ、他の病型のものも含めて悪化は1例もなかつた。なお治療終了時点で病影の拡大(排菌はない)を示したものが1例あつたが、そのまま治療を打ち切つたところ、その後は悪化なく再び改善を示した。

〔脱落例の検討〕 除外・脱落44例中、その理由が転居、転症、化療の自己中止など、直接本処方の評価と関係のない16例を除いて計算しても、脱落率は22%(128例中28例)という高率であつた。28例の脱落理由はINHの未治療耐性8、RFPの副作用12、X線上の陰影拡大または洞化による処方の変更ないし治療期間の延長6、理由不明2であつた。この中には排菌を伴わぬ一時的な陰影の増大や外径の拡大を伴わぬ洞化、RFPによる一過性の肝機能障害、軽度の白血球減少など、必ずしも処方の変更や治療期間の延長を必要としなかつたと思われる症例が半数以上にあり、脱落率を10%以下に抑えることは可能と思われる。

〔結論〕 症例数も少なく治療終了後の観察期間も不十分ではあるが、「INH・RFP」の2剤併用は、少なくとも非空洞例に対しては「SM・INH・PAS」より強力であり、従来軽症例に対する一次薬治療の場合適正とされていた平均2年(1.5~2.5年)という治療期間を1/2以下に短縮しようと考えてよいようである。

## II. 有空洞排菌例に対する短期化学療法

昭和48年3月以降結研附属病院に入院した未治療有空

洞排菌例で主治医の合意したものに1~1.5年の短期化学療法を実施した。方式は最初の6カ月間「SM(初め1~3カ月毎日)・INH・RFP」の強化療法を行ない、治療6カ月目における空洞残存の有無により、更に6~12カ月一次薬治療を継続する、というものである。主治医に1~1.5年で治療を打ち切ることによる不安があれば更にINH単独6カ月を追加することもやむをえないとの条件で本実験を開始したため、登録例中計画どおり1~1.5年で治療を終了し、かつ治療終了後1年以上経過を追求できたものは30例(登録例の半数)にすぎなかつた。また治療6カ月以後の処方についても最初の規約に固執せずRFPの使用期間の延長を認めたので、実際に実施された6カ月以後の処方はINH単独、INH・PAS、INH・PAS→INH、INH・RFP、INH・RFP→INHの5方式で、全化療期間12カ月が9例、15カ月6例、18カ月15例であつた。この30例の治療開始時の病状は旧NTA分類で高度進展12、中等度進展18例、空洞は28例までが非硬化壁で、排菌は28例が塗抹陽性であつた。かかる症例に対する上記治療の効果は著明で、全例5カ月までに菌陰性化し、X線所見も20例が空洞閉鎖し、空洞の残存した10例も菲薄化傾向が顕著であつた。治療終了後の観察期間は1年以上30、2年以上12、3年以上3例で、この間再排菌またはX線上の悪化を示したものは1例もなかつた(残存空洞に混合感染を起こしたものの1例あり)。

## III. 短期化学療法を妨げる因子の検討

INHの未治療耐性とSMことにRFPの副作用が短期化学療法を進めるうえでの2大障害であり、その対策は今後の重要課題である。また治療終了時点ではまだX線所見が不安定にみえることが治療を早期に打ち切るうえでの大きな障害になつている。この点に関し演者は、6カ月未満で化学療法を終了することの多かつた昭和30年以前の一次薬治療例を用い、病状に対し相対的に弱い処方でも治療した場合(空洞例に対する一次薬2剤併用など)、早期に治療を中止すると、その後のX線所見の改善は治療継続例に比べ明らかに劣るが、逆に充分強力な処方(軽症例に対する一次薬2剤併用)で治療した場合は、数カ月で治療を打ち切つても、治療終了後も継続例と全く同様の改善が続くことを示した。

## 4. 肺結核の短期化学療法——臨床から

国立療養所東京病院 浦上栄一

国療化研は第19次・第20次A研究で短期療法を採り上げた。

治療方式はS<sub>7</sub>H<sub>7</sub>R<sub>7</sub>の初期強化を3カ月行ない、引続

き、菌陰性化後6カ月までS<sub>2</sub>H<sub>7</sub>R<sub>7</sub>(SM0.75→1.0g)を行なう方式で一律方式はとつていない。これは菌陰性化の遅い症例にはおのずから比較的長期にわたつて化学療法



法が継続できる仕組みを考えたからである。その後6カ月は薬なしが薬で再排菌の有無を観察した。治療、観察期間中は月2回の検痰を行なった。それ以後も最低3カ月に1回検痰を行なっている。

対象は、国療132施設にこの研究に参加の有無のアンケート調査を行ない、同意が得られた28施設に昭和50年8月以降入院した初回治療患者で、入院時塗抹陽性か、はつきりした空洞影を認めたもので、昭和51年12月までに登録された症例は309、うち93例(30%)が菌陰性、初回耐性、合併症などの理由で除外され、216例が観察の条件を満たしていたが、規定に反する治療期間延長例46と治療終了後に追跡不能となつた19例を脱落としたので、残り151例が観察期間を終了し、その後も追跡可能の症例である。

この151例の成績について報告する。

背景因子は男76%、年齢は17~75歳にまたがり、39歳以下が59%を占め、60歳以上の高齢層が11%を占めた。

胸部X線像は旧NTA分類で高度進展が29%を占めた。学研分類基本型ではA、B型合わせて91%を占めた。有空洞は81%で、そのうち単数空洞が過半数を占めた。また空洞の98%は非硬化壁であつた。

治療開始前の排菌量は34%が $\text{III}$ であつた。

菌陰性化率は、塗抹は3カ月90%、6カ月96%、10カ月で100%に達したが、12カ月99%であり、1例は16カ月まで断続的に陽性であつた。

培養は3カ月97%、6カ月で100%に達し、10カ月まで排菌例はなかつたが、11カ月(治療終了後5カ月)目に2例の再排菌があつた。今回の研究の培養陰性化率は、国療化研の数次にわたるSHPおよび初回治療にRFPを導入した第13次研究より優れており、初期強化の目的を果たしている。なお塗抹陽性培養陰性例は21%にみられた。

治療期間はすでに述べた規定によつたが、7カ月以内のものが76%、9カ月以内のものが97%を占め、最長の11カ月治療は1例にすぎなかつた。したがつて化学療法期間は全例12カ月以内であつた。

再排菌の1例は空洞残存例で、3カ月連続排菌がみられたが、1例は1回だけ、しかも微量排菌であり、再排菌としなくてよいと考えられる。なお耐性は2例ともなかつた。

胸部X線像の経過は、治療終了時とその6カ月後では、学研分類基本型で中等度(2a)以上の改善が62%から72%に、空洞閉鎖(2bi以上)が58%から78%に上昇している。これは化学療法なしの自然の経過の改善であり、注目に値する。しかし逆にいえば、空洞残存が治療終了時42%にみられた。その6カ月後に空洞閉鎖した20%はよいとしても、22%はなお空洞が残存している。これら

の症例には化学療法を継続すべきであるというのが既存の常識的な見解であろう。したがつて空洞残存例の追跡は特に重要と思われる。これら症例の遠隔成績が良好であれば、短期療法に対する危惧感は薄れるものと思われる。

今回の研究で規定に反する治療期間延長例は46例で全観察対象の21%を占めた。内訳は、医師側が塗抹陰性化の遅延、胸部X線像で空洞を含む不安定病巣の残存、リンパ節結核の治療遅延などを理由にしたもの37例、患者の投薬希望が9例であつた。延長期間は6カ月未満14例、6カ月以上32例であり、一定の傾向はなく、菌陰性化の遅い症例に長期投与した傾向もみられなかつた。延長群のうち旧NTA分類の高度進展、複数・多房空洞、治療前排菌量 $\text{III}$ のもの、すなわち重症因子を持つものは10例(21.7%)で、規定群の12例(7.9%)に比べて多かつた事実は無視できないが、規定群中の重症例の遠隔成績が良好であれば延長しなくてもよかつたという結論が出されるであろう。そのような結果が出ることを期待している。

初回治療例のうち、初回耐性、合併症を持つものには短期療法は慎重でなければならない。

初回耐性は登録症例中21例(5.5%)を占めていた。SM耐性(12例)はKM、EBに切換えれば短期治療可能であろうが、INH耐性(7例)およびSM+INHの二重耐性(2例)は行なうべきでないと思われる。

合併症で、糖尿病は登録症例中22例(6.0%)を占めていた。軽症は準短期治療は可能と考えられるが、重症は行なうべきでないであろう。われわれは、最初糖尿病の治療をせずに7カ月で治療を打ち切つた後、7カ月でシュエブを起こした1例を経験した。その他、先天的、後天的免疫不全者についても短期療法方式の機械的な適用は差し控えるべきであろう。

副作用の出現は16%であつた。SM 0.75g 3カ月連用とその後の間欠使用による聴力障害は12例(5.0%)で、老人に多いということもなかつた。SMのこのような用法は充分適用可能な方式と考える。その他、肝機能障害、薬物アレルギーも少なく、短期療法遂行の障害となつたものは少数例にとどまつた。

## 結 語

短期療法の治療終了後6カ月以上追跡できた症例は151例で、1例(0.7%)に再排菌を見た。他の症例の経過は順調であるが、更に3年までの遠隔成績を追跡したい。

胸部X線像の経過についていえば、治療終了後も改善がみられることは注目してよいと考える。また治療終了時に空洞残存例がかなりみられているが、その中からの再排菌は現在までに1例しかないことなどからX線像の

経過を化学療法継続の指標とすることは再検討の必要がある。

付記：本研究に参加した下記国療28施設の方々の熱心なご協力に感謝する。

道北、札幌南、青森、大湊、宮城、栃木、宇都宮、千葉東、松戸、東京、南横浜、新潟、山梨清楽荘、富士、

中部、近畿中央、刀根山、岡山、広島、畑賀、鳥取、柳井、徳島、板西、長崎、赤坂、戸馳、宮崎。

終わりに本研究発表の機会を与えて下さった山本和男会長と本シンポジウムの座長島村喜久治先生に深謝します。

### 特別発言：新潟県の結核初期強化治療について

国立療養所西新潟病院 橋本 正

新潟県では WHO、結核予防会結核研究所と共同で、適当な治療期間や方法を知るために結核初期強化治療の研究を行なっている。中間報告であるが現在までの成績を報告する。

#### 1. 研究方法

対象は昭和51年1月より新潟県内のきめられた4病院に入院した結核患者と、9保健所管内の在宅患者のうち、初回治療で塗抹または培養陽性の者を強化治療群とし、それ以外の地区の患者で該当する者を対照群とした。

治療法としては、強化治療群は INH・RFP・SM または INH・RFP・EB の3者併用とし、SMは3カ月間連日

法、その後は週2日とする。培養陰性化後9カ月間続け、更に INH 単独または INH・PAS を6カ月用いて治療を終了する。その後3年間は喀痰検査とX線所見で経過をみていく。対照群の治療は主治医の判断にまかした。

症例数は52年12月末までの2年間で、強化群133例(結核入院総数の14%)、対照群117例計250例である。

背景因子をみると、性別では男性が対照群69%、強化群が63%、年齢は15~81歳で、50歳以上は対照群59%、強化群44%で少し差がある。病型分類では両群に大きな差はなく、学会分類でI、II型の空洞型が約70%で、学研分類のB型が80%以上を占める。何らかの症状で医療機関発見が71%、検診によるものが27%で、1年以内にX線検査をうけたもの60%、3年以上未受診は18%である。

#### 2. 成績

6カ月以上の経過をみた強化群78例と、対照群のうち SM・INH・PAS を6カ月以上用いた45例との培養成績の比較では、強化群では全例が5カ月までに陰性化した。1例が10カ月目に2コロニー、他の1例が12カ月目に7コロニー生えた。後者はすべての薬剤に耐性で、非定型抗酸菌が疑われたが確認できなかった。臨床症状やX線所見には変化はみられなかった。対照群も6カ月までに一応陰性化した。8カ月と11カ月目に再排菌が1例ずつあり、RFP を含む薬剤変更が行なわれた。

6カ月ごとのX線所見で中等度以上の改善を示したのは強化群71%、対照群57%であつた。

強化群で6カ月以上の治療中に規定通りの治療ができ

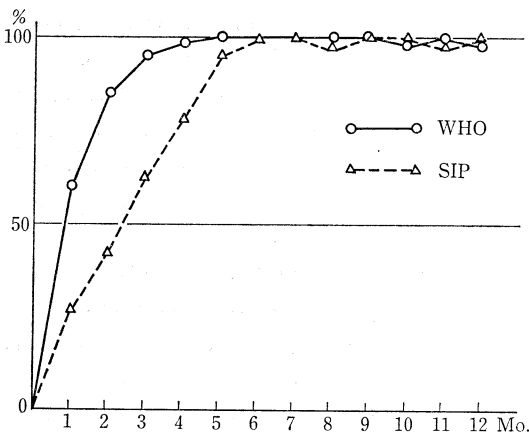


Fig. 1. Negative conversion by culture.

Table 1. Negative Conversion by Months

| Ch. T. | Mo. | Mo. |    |    |   |   |   |   |     |   |     |     |     | Total |
|--------|-----|-----|----|----|---|---|---|---|-----|---|-----|-----|-----|-------|
|        |     | 1   | 2  | 3  | 4 | 5 | 6 | 7 | 8   | 9 | 10  | 11  | 12  |       |
| WHO    | S   | 37  | 12 | 8  | 4 | 3 | 3 | 0 | 2   | 0 | 0   | (1) | (1) | 71    |
|        | C   | 47  | 19 | 8  | 3 | 1 | 0 | 0 | 0   | 0 | (1) | 0   | (1) | 78    |
| SIP    | S   | 16  | 5  | 2  | 5 | 7 | 1 | 1 | 2   | 2 | 0   | 1   | 1   | 43    |
|        | C   | 12  | 7  | 14 | 7 | 3 | 2 | 0 | (1) | 0 | 0   | (1) | 0   | 45    |

( ) No. relapsed

なかつた者が37例(36%)あり、半数が薬剤の副作用によるもので、その72%はSMによる。主治医の意志による変更が13例あつた。

### 3. 考案と結論

私どもの強化治療は少なくとも1年4カ月を要し、他の

短期治療法に比して長いが、一般のフィールドの治療としては、これ位の期間がまだ適当ではなからうか。対照群では2年以内の治療中止はまだない。今後の成績によつて適当な治療期間がきめられるであろう。

## 第 53 回 総 会 シ ン ポ ジ ウ ム

## 細 胞 性 免 疫 を め ぐ つ て

座 長 徳 永 徹

国 立 予 防 衛 生 研 究 所

受 付 昭 和 53 年 10 月 6 日

The 53rd Annual Meeting Symposium

CELL-MEDIATED IMMUNITY

Chairman: Tohru TOKUNAGA\*

## 1. Introductory remarks.

Tohru TOKUNAGA (Dept. of Tuberculosis, National Institute of Health)

## 2. Host defense and cell-mediated immunity.

Kikuo NOMOTO (Cancer Inst., School of Med., Kyushu Univ.)

## 3. Induction of cell-mediated immunity.

Izuo TSUYUGUCHI (Osaka Prefectural Habikino Hospital)

## 4. Mediators in cell-mediated immunity.

Tatsuichiro HASHIMOTO &amp; Kikuo ONOZAKI (Inst. of Basic Medical Sciences, Univ. of Tsukuba)

## 5. Genetic control of cell-mediated immunity.

Reiko, M. NAKAMURA (Dept. of Tuberculosis, National Inst. of Health)

## 6. Immune inhibitors in cell-mediated immunity.

Taketeru IZUMI (Chest Dis. Res. Inst., Kyoto Univ.)

(Received for publication October 6, 1978)

## 1. 細 胞 性 免 疫 を め ぐ つ て

— 座 長 の 言 葉 —

座 長 徳 永 徹

結核はかつてのように恐るべき国民病ではなくなつたが、しかし今日なお、結核の発病や難治患者があつたと絶たない。このことの理由は種々考えられるが、人口の高齢化に伴い、免疫機能、殊に細胞性免疫機能の低下した人が増加していること、また若年者においても種々な原因で免疫変調者が増加している可能性があること、なども理由の一つとして考えられ、結核の免疫学は、往時と異なる様相において、重要性を増しつつある。

細胞性免疫に関する学問は、明らかに結核の免疫学として誕生し、発展したものである。近年免疫学が独自に著しい発達を遂げ、医学生物学の全般にまたがる膨大な体系を形成するに至り、免疫応答の研究は分子レベルにまで及びつつあるが、しかし免疫学は本来「生体防御の学」であり、「疾病の予防や治療のための免疫学」であつた。結核の免疫学も、その社会的必要性や学問の進歩をふまえて、生体防御の学問体系の中に自らを位置づけ

\* From the National Institute of Health, 2-10-35, Kamiosaki, Shinagawa-ku, Tokyo 141 Japan.

ていくべきであろう。

生体の特異的免疫機構を、免疫グロブリンを主力とする体液性免疫とともに分担する細胞性免疫は、種々の感染免疫において重要な役割を演じるだけでなく、移植免疫や腫瘍免疫においても、防御の主力となる。本シンポジウムはこの細胞性免疫を、各論的にではなく、むしろ総論的に展開した。しかしその包含する問題は膨大であり、短時間でそれらを網羅することは望みえないので、演者の方々には一応テーマを分担していただいたが、内容については各自の最新のご研究を中心に、若干の平易な解説を付け加えて、比較的自由にお話いただいた。総主題を「細胞性免疫」ではなく、「細胞性免疫をめぐって」としたのも、そのためである。

細胞性免疫は、ご承知のように、Tリンパ球が抗原を認識して、抗原特異的な感作Tリンパ球が誘導される成立段階と、感作Tリンパ球が抗原と結合して産生放出する化学的メジエーターによつて、マクロファージが活性化し集積する発現段階とに大別される。BCG接種後、所属リンパ節でBCG感作リンパ球が成熟増殖し、循環中に流入する段階は成立段階であり、PPDを注射して発赤硬結が認められる段階は発現段階である。前者を露口博士に、後者を橋本教授にお願いした。

## 2. 細胞性免疫と生体防御

九州大学医学部付属癌研究施設免疫科 野本亀久雄

### 1. 細胞性免疫と異物排除

感作リンパ球を抗原特異的な担い手とする細胞性免疫はさまざまな抗原に対して成立し、多彩な免疫現象をひき起こす。異物排除に働き生体にとつてプラスの面をあらわすこともあれば、過敏症、組織損傷をひき起こしマイナスの面をあらわすこともある。異物排除に限定して考えると、対象となる異物によつて有効に働く機序が異なることを考えに入れる必要がある。体液性免疫、細胞性免疫、非免疫食細胞などが、それぞれ異なる比重で異物排除に関与することになる。細菌や真菌について考えると、最終的な排除段階においてはマクロファージや好中球が働くが、免疫の関与なしに有効に働く場合（非免疫食細胞）、オプソニン抗体の関与を必要とする場合（体液性免疫）、感作リンパ球を介してマクロファージが活性化される場合（細胞性免疫）などに分けられる。

### 2. 菌の種類による抵抗性因子の違い

ヌードマウス、胸腺摘出マウスなどTリンパ球欠損マウスを用いて細胞性免疫の役割を解析した。抗体の受身移入によつて体液性免疫の役割を把握した。カラギーナ

またこのような免疫応答は細胞性の制御を受け、更に遺伝子の支配下にある。この部分は中村博士に担当していただいた。この問題は将来、難治性結核の一部や人癩の問題との関連においても考慮を要する問題であろう。

以上の3題をはさんで、野本教授と泉博士にご発表をお願いした。野本教授には、生体防御機構全般の中での細胞性免疫の役割と位置づけを、種々の感染症に関する膨大なデータを中心にお話いただき、泉博士には臨床の立場から細胞性免疫機能について、最近のご成績を含めて話題を提供していただいた。

これらのご講演は、このあとの山村教授の特別講演とあいまつて、細胞性免疫に日頃なじみの薄い方々にも、最新の細胞性免疫学のアウトラインをご理解いただくのに、役立つものと考えられる。

結核患者数の減少に伴い、結核に関する学問が斜陽であるとは、よく耳にする言葉である。しかし結核の免疫学は、執拗に残存する結核病との戦いにおいて、今後愈々その重要性を増大すると考えられるだけでなく、移植免疫学、腫瘍免疫学、自己免疫など広範な領域の研究の進歩に極めて大きな貢献をなしつつあり、その意味でも結核の免疫学はまさに今日、新たな花盛りを迎えようとしているということができよう。

ン、デキストラン、カーボン粒子などで処理したマクロファージ機能不全マウス、X線全身照射をうけた好中球を含む広範な機能不全マウスを使用した。

免疫に限定して考えると、肺炎球菌やクレブシエラでは体液性免疫が抵抗性の大きな比重を占めるが、抗酸菌、リステリア、カンジダ、緑膿菌、ブドウ球菌などでは抗体の存在はそれほどの意味をもたない。

細胞性因子のみを取り上げると、感作リンパ球を介してあらわれる活性化マクロファージの関与を必要とするものに、ヒト型結核菌やBCGフランス株が含まれる。リステリアについては抵抗性は全面的に細胞性免疫に依存すると考えられてきたが、感染後3～4日以内の抵抗性は非免疫食細胞に依存し、またその後も爆発的増殖は非免疫食細胞によつて抑制されていることが示された。5日以後菌が徐々に減少し、10日までに完全に消失していく過程に細胞性免疫の関与が要求されることが示された。いいかえると、非免疫食細胞と細胞性免疫がほぼ同等の比重で関与している。カンジダの場合、肝での抵抗性の発現には細胞性免疫は要求されない。しかし腎での菌の増殖抑制には細胞性免疫が要求される。いいかえると、非免疫食細胞がより大きい比重をしめるものと考え

られる。ブドウ球菌の皮内接種においても、抵抗性の主体は非免疫食細胞にあり、細胞性免疫もある程度関与しているものと考えられる。同じ BCG でもフランス株とは異なり、日本株の増殖抑制には非免疫食細胞が十分に有効と考えられる成果が得られた。

### 3. 非免疫マクロファージと好中球の比重

リステリア感染初期の抵抗性および緑膿菌に対する抵抗性は、非免疫食細胞に依存することを示した。そこで、この非免疫食細胞がマクロファージか好中球かを知るために実験を行なった。カラギーナンなどでマクロファージの機能を抑制しておくと、リステリア全身感染における致死率が上昇し、また筋肉内接種後の局所増殖も促進される。しかしカラギーナン処理マウスでは緑膿菌による致死率は上昇せず、筋肉内接種後の局所増殖も促進されない。X線全身照射によつて好中球機能も抑制したマウスでは、緑膿菌による致死率が上昇し、筋肉内局所増殖も促進される。すなわちリステリア感染初期の抵抗性は非免疫マクロファージに依存し、緑膿菌に対する抵抗性は好中球に依存するものと考えられる。

### 4. T細胞機能不全状態での異物排除

胸腺の欠損しているヌードマウスでは、カーボンクリアランス能やリステリア感染初期の抵抗性でみられるようなマクロファージの機能が亢進している。このマクロファージの機能亢進は、T細胞機能不全に対する代償として出現したようにみえる。しかしヌードマウスを無菌

化するとこの機能亢進はみられなくなるので、本質的な機能の代償ではなく、細菌が侵入しやすくなりアジュバントの物質にさらされやすくなつたためと考えられる。いずれにせよ、生体にとつて有益であることに変わりはない。

加齢とともにT細胞機能が低下することは多くの動物で知られている。C3H/He マウスでは12カ月齢ですでに低下しはじめ、16カ月齢ではかなりの低下がみられる。この16カ月齢のマウスとT細胞機能の高い4カ月齢のマウスで感染抵抗性を比較した。緑膿菌に対する抵抗性でみられるような好中球の機能には、加齢マウスで変動がみられない。リステリア感染初期の抵抗性を担当する非免疫マクロファージの機能は加齢マウスで亢進している。勿論、加齢マウスのT細胞機能は低下しているので、5日目以後の細胞性免疫の成立は不完全であり、4カ月齢のマウスではもはや菌の検出されない10日以後でも肝、脾に菌が検出される。加齢マウスはリステリアの大量接種後の初期の致死効果には強い抵抗性を示すが、生き延びた後では慢性感染の像を示すようになる。

### 5. 感染抵抗性の増強

それぞれの菌について抵抗性の各因子の比重が明らかにされつつあるので、宿主の機能不全状態が把握されれば危険な菌も当然推定される。今後多くの原因による抵抗性不全患者が増加することが予測され、一方多剤耐性菌が増加している。したがつて、感染症の予防や治療に各抵抗性因子の増強が必要となることが予想される。

## 3. 細胞性免疫の成立

大阪府立羽曳野病院 露 口 泉 夫

細胞性免疫の主な担い手はTリンパ球であり、その成立は抗原情報のTリンパ球への特異的な伝達ではじまる。この伝達に際してはマクロファージ(Mφ)の関与が必要であり、おそらくMφ表面のIa-抗原と複合体を形成した形で抗原情報がTリンパ球に伝えられると考えられている。そこでわれわれは、Mφ以外の(Ia-抗原陽性の)細胞に抗原を人工的に結合させた場合、Mφからの可溶性因子の共存下でTリンパ球の特異的な活性化がみられないかと考え、塩化クロミウム法を用いて、正常モルモットの脾臓細胞およびTリンパ球に可溶性タンパク抗原 KLH を結合させたものを stimulator cell として用いたところ、Mφからの可溶性因子の共存下で immune-T リンパ球の特異的な活性化がみられたので報告する。

### 材料と方法

strain-2 のモルモットを使用、抗原は KLH(Keyhole Limpet Haemocyanin) を用いた。フロインドの完全アジュバントとともに抗原で免疫し、局所リンパ節細胞をナイロンウール・カラムを通すことにより、Tリンパ球を分離した。この KLH 免疫Tリンパ球に、正常動物腹腔腔滲出細胞(PEC)に抗原をパルス刺激した KLH-pulsed PEC または下記の KLH 結合正常細胞を加えて、3日間 *in vitro* で培養し、最終18時間のTリンパ球への<sup>3</sup>H-TdRの取り込みを測定して、immune-T リンパ球の活性化の指標とした。正常細胞への KLH の結合は、

|                   |                   |          |        |
|-------------------|-------------------|----------|--------|
| リンパ球              | 10 <sup>7</sup> 個 | ビベラジン緩衝液 | 0.5 ml |
| KLH               | 1%                | 生理的食塩水   | 0.3 ml |
| CrCl <sub>3</sub> | 0.15%             | 生理的食塩水   | 0.1 ml |

をすばやく混合し、室温30分静置後、培養液で3回洗つ

て作成した。この方法により、生きた KLH 結合リンパ球が得られた。これらのリンパ球および PEC 等はいずれもマイトマイシン処理を行なつた。マクロファージ可溶性因子は、プラスチックに付着性の PEC を LPS と 2-ME で 2 時間パルス刺激後、24 時間の培養上清を透析後使用した。

### 実験成績

#### 1) KLH 結合 T リンパ球による immune-T リンパ球の活性化

表 1 は塩化クロミウムによる KLH 結合 T リンパ球を用いての、immune-T リンパ球の活性化をみた成績である。KLH 結合 T リンパ球単独では無効だが、PEC または Mφ 因子の共存下で immune-T リンパ球の活性化がみられた。抗原を赤血球に結合させたのでは、Mφ 因子を加えても活性化はみられなかつた。ナイロンウール・カラムにより分離した T リンパ球分画中にマクロファージの混在していないことは、soluble KLH のみでは活性化がみられないこと、また KLH-pulsed T では immune-T リンパ球への抗原情報の有効な伝達がなされないことより確かめられた。

#### 2) KLH 結合脾臓細胞による immune-T リンパ球の活性化

Carbonyl-iron と磁石を用いて貪食細胞を除去した正常脾臓細胞に KLH を結合させたのをを用いると(表 2)、T リンパ球の場合と異なり、単独でも刺激効果がみられるが、これに PEC または可溶性因子を加えると、更に強い活性化がみられた。この場合、carbonyl-iron 処理前の脾臓細胞を用いると、soluble KLH の共存下で活性化がみられたが、貪食細胞を除くと、KLH を培養中に共存させても immune-T リンパ球の活性化がみられず、貪食細胞を除いた KLH 結合脾臓細胞(表 2 の a)のみによる活性化の機構に、マクロファージあるいはその前駆細胞の混在による可能性は否定的である。また strain-13 のモルモットで作成した抗 strain-2 アロ抗体(抗 Ia)を共存させておくと、反応の抑制がみられた。抗 Ia 抗体は responder-T リンパ球には作用していないという M. Shevach らの報告から考えると、われわれの場合も、stimulator である KLH 結合脾臓細胞表面の Ia-抗原が何らかの形で反応に関与しているものと考えられる。

#### 3) マクロファージ可溶性因子について

以上の実験で用いた Mφ 可溶性因子は、正常動物から、何らの刺激剤によらずに採取した PEC を Mφ 源として用いた。パルス刺激に用いた LPS の最適濃度は 10 μg/ml であつたが、LPS 刺激なしで 2-ME(5 × 10<sup>-5</sup> M) のみでも 50~70% の活性化作用をもつ因子が得られた。一方、あらかじめチオグリコレート刺激で得た PEC

表 1

| Immune-T cells and    | cpm    |
|-----------------------|--------|
| —                     | 82     |
| PEC                   | 104    |
| KLH-pulsed PEC        | 18,149 |
| soluble KLH(10 μg/ml) | 46     |
| " + Mφ factor         | 108    |
| KLH-pulsed T          | 100    |
| KLH-coupled T         | 36     |
| " + PEC               | 6,110  |
| " + Mφ factor         | 4,229  |
| KLH-coupled RBC       | 37     |
| " + Mφ factor         | 76     |

表 2

| Immune-T cells and          | cpm    |
|-----------------------------|--------|
| —                           | 82     |
| spleen cells(b)*            | 100    |
| " + KLH(10 μg/ml)           | 10,451 |
| spleen cells(a)*            | 190    |
| " + KLH( " )                | 113    |
| KLH-pulsed spleen cells(b)  | 6,634  |
| " (a)                       | 27     |
| KLH-coupled spleen cells(a) | 5,650  |
| " + PEC                     | 12,948 |
| " + Mφ factor(#2)           | 16,093 |
| " + " and anti-Ia           | 1,806  |
| " + Mφ factor(#13)          | 15,340 |
| Mφ factor alone             | 136    |

\* before (b) or after (a) treatment with carbonyl-iron and magnet.

からの因子では、むしろ抑制的に働く結果を得ている。また表 2 よりアロである strain-13 の PEC からの因子にも活性化作用をみた。

### 考察と結語

モルモットでは、Ia-抗原は T リンパ球表面にも比較的容易に検出可能といわれる。上記の成績は、可溶性タンパク抗原による特異的な T リンパ球の活性化において、二つのシグナル、すなわち、一つはおそらく組織適合抗原が関与する抗原特異的な、一つはマクロファージからの非特異的な可溶性因子、が必要なことを示唆している。通常の免疫反応においては、マクロファージはこの二つの機能をあわせもつ細胞として働いているのだろう。マクロファージ可溶性因子は免疫応答において非特異的な調節作用をなしているのかもしれない。なお同様の活性化因子は B リンパ球からも放出されている可能性が考えら

れる。

ある抗原に対する免疫反応で、responder,あるいはnonresponderが動物実験で報告され、その差がマクロファージのレベルで決定されるともいわれる。結核においても、かかりやすさ、また、かかった場合のなおり方

にも違いがあることは、臨床的に経験するところであるが、その原因の一つは、抗結核免疫の成立の差、マクロファージによる抗原認識の違いに求めうるかもしれない。われわれの結果は、これらのメカニズムを解析していくうえで有用な情報を提供するものと考えられる。

#### 4. 細胞性免疫の発現と化学的メディエーター

筑波大学基礎医学系

橋本達一郎

小野崎菊夫

細胞性免疫の成立はeffector T cell,すなわち感作リンパ球の誘導によるが、更に免疫反応発現機構として抗原と結合した感作リンパ球の放出する種々の化学的メディエーター(リンフォカインと総称)が重視される場合がある。この場合従来十数種類にのぼるメディエーターの活性が報告されており、これらが炎症細胞の代謝、表面性状、遊走および感染防御機能などに一役を演じていることが示されている。結核の細胞性免疫(抗菌免疫)およびツベルクリンアレルギーにもいくつかのリンフォカインすなわち皮膚反応因子(SRF),マクロファージの活性化因子(MAF),遊走阻止因子(MIF),走化性因子(MCF),および好中球走化性因子(NCF)などの関与が推定されている。

しかしこれらリンフォカインのうち、完全に精製されたものはまだ一つもない。したがってこの領域の進歩の方向として、各メディエーターの精製とその活性を結びつける試みが望まれる。

われわれはモルモットのリンフォカイン中のMIFをまず分離精製し、その化学的性状を明らかにするとともに他のリンフォカインとの異同を検討することを目的とし実験を行なってきた。ここにその最近の結果について述べる。

##### 方法および成績

###### (I) マクロファージ・カラムを用いる精製

モルモットをBCG生菌接種により感作し、4~6週目のツベルクリン反応強陽性動物に対し更にBCG生菌を静注、10日以後に得られる肉芽腫腫を細胞材料とした<sup>1)</sup>。次にこの感作脾細胞(感作リンパ球含有)を抗原PPDとともに*in vitro*で一晩培養しリンフォカインを得る<sup>2)</sup>。コントロールとしては同じ細胞を抗原なしで培養し、培養後に同量のPPDを加えたものをつくる。以上の培養上清を限外濾過により分子量1万から10万の分画を得、これを部分精製品とした。これはMIF, MCF, NCF, SRFの活性を示した。

まずMIFがマクロファージ表面のフコースに特異的に結合するという報告<sup>3)</sup>に基づき、フコースの結合能を

利用した特異的アフィニティカラムを作製しMIFの精製を試みた。

L-フコースを担体(デンブロン, エポキシ活性化セファローズ)に結合させたカラム, フコースを含む種々の糖タンパク(ムチン類, 人乳オリゴ糖など)をセファローズに結合させたカラムではMIF, SRFの吸着はなかつた。次にマクロファージ表面の水溶性脂質がMIFのレセプターであろうという報告<sup>4)</sup>によりマクロファージをグルタルアルデヒドで固定し、これによるMIF吸着能の比較検討を行なつた。

この結果、部分精製品中のMIFはグルタルアルデヒド固定マクロファージに温度依存性を示して特異的に吸着されたが、フォルムアルデヒド固定細胞には吸着がみられなかつた(表1)。このマクロファージに吸着したMIFを0.1MのL-フコースまたはグルコースで溶出すると吸着前の材料に比してタンパク量で比較して30~40倍の比活性を示すMIFが得られた。コントロールでは吸着マクロファージカラムからフコースで溶出してもMIFが得られなかつた。

###### (II) 抗MIF抗体アフィニティカラムによる

###### MIFの精製

限外濾過により部分精製したリンフォカインをpH 9.4のポリアクリルアミドディスク電気泳動にかけ6分画に分け、各分画からタンパクを抽出し生物活性をしらべた。その結果MIFは分画5に、MCFは分画3, 4, 5(ただしピークは4), NCFは分画1, 2, 3に、SRFは分画3, 4に認められた(表2)。

このMIFを含む分画5にFCAを加えてウサギを免疫し、4回のブースター以降に採血し血清を得、40%硫酸塩析によりグロブリン分画を得た。同様に無感作ウサギからもグロブリン分画を得てコントロールとした。これらのグロブリンをBrCNで活性化したセファローズに結合させたimmunoabsorbentカラムを作成し、部分精製品を通していかなるリンフォカインが吸着されるかをみた。その結果MIFはこの抗MIFグロブリン(ALyG)カラムに特異的に吸着され、正常ウサギグロブリン(NRG)カラムには吸着されなかつた。他の3種の



表1 マクロファージによる吸着前後の MIF 部分精製分画 (PPD+) の MIF 活性

| 部分精製分画              | タンパク量<br>( $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) | マクロファージ遊走指数(MI) |      |      |
|---------------------|--------------------------------------|-----------------|------|------|
|                     |                                      | 実験 1            | 実験 2 |      |
| 吸着前<br>コントロール(PPD-) | 20                                   | 1.00            | 1.00 |      |
|                     | 40                                   | 0.95            | 1.02 |      |
|                     | MIF 分画(PPD+)                         | 20              | 0.77 | 0.84 |
|                     |                                      | 40              | 0.66 | 0.74 |
| 吸着後<br>MIF 分画(PPD+) | 生マクロファージ                             | 20              | 0.91 | —    |
|                     |                                      | 40              | 0.82 | —    |
|                     | フォルムアルデヒド固定<br>マクロファージ               | 20              | 0.81 | —    |
|                     |                                      | 40              | 0.70 | —    |
|                     | グルタルアルデヒド固定<br>マクロファージ               | 20              | —    | 0.91 |
|                     |                                      | 40              | —    | 0.90 |

—: 実験せず

表2 部分精製リンフォカインのポリアクリルアミド・ゲル・電気泳動による MIF, MCF, NCF, SRF 活性の分離

| ディスク電気泳動分画                          | MIF<br>活性<br>(MI index) | MCF<br>活性<br>(MC index) | NCF<br>活性<br>(NC index) | SRF<br>活性<br>(mm 発赤径) |
|-------------------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-----------------------|
| 1                                   | 0.96                    | 0.26                    | 7.6                     | 6.0 $\pm$ 0.9         |
| 2                                   | 1.11                    | 1.31                    | 10.6                    | 6.3 $\pm$ 1.4         |
| 3                                   | 1.05                    | 3.40                    | 9.7                     | 9.3 $\pm$ 0.5         |
| 4                                   | 0.99                    | 7.47                    | 3.2                     | 12.3 $\pm$ 1.2        |
| 5                                   | 0.70                    | 4.38                    | 0.4                     | 6.5 $\pm$ 2.1         |
| 6                                   | 0.94                    | 1.64                    | 0.7                     | 6.0 $\pm$ 2.4         |
| コントロール                              |                         |                         |                         |                       |
| 部分精製分画 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ * | 1.00                    | 1.00**                  | 1.0***                  |                       |
| 40                                  | 1.10                    |                         |                         |                       |
| リンフォカイン                             |                         |                         |                         |                       |
| 部分精製分画 20                           | 0.60                    | 2.82**                  | 17.2***                 |                       |
| 40                                  | 0.53                    |                         |                         |                       |

\* タンパク量

\*\* タンパク量 30 $\mu\text{g}/\text{ml}$ \*\*\* タンパク量 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 

〰 活性あり

リンフォカイン (MCF, NCF, SRF) は ALyG カラムにも NRG カラムにも吸着されなかつた(表3)。

なお部分精製品を ALyGカラムにかけたす通り分画を、カラムにかける前のものとディスクゲル電気泳動にかけて比較してみると両者の間にほとんど変化がみられなかつた。以上によりこの抗 MIF 抗体は極めて特異的なものと考えられる。

## 考 察

われわれは表1に示すように生マクロファージも MIF を吸着することを認めたが、これはタンパクの放出や、MIF の取り込み (pinocytosis) などの可能性のため、実験にはグルタルアルデヒド固定マクロファージを用いることにした。

細胞カラムに吸着した MIF を溶出するのにフコース、

表3 部分精製リンフォカインの抗 MIF 抗体アフィニティカラムによる MIF 活性の除去

| 部分精製分画の活性 | カラム通過前    | カラム通過後    |           |
|-----------|-----------|-----------|-----------|
|           |           | NRG       | ALyG      |
| MIF       |           |           |           |
| コントロール    | 1.00±0.08 | 0.97±0.19 | 0.99±0.05 |
| リンフォカイン   | 0.63±0.05 | 0.57±0.14 | 0.97±0.17 |
| MCF       |           |           |           |
| コントロール    | 1.0       | 1.2       | 0.3       |
| リンフォカイン   | 17.2      | 25.6      | 16.5      |
| NCF       |           |           |           |
| コントロール    | 1.0       | 0.7       | 2.0       |
| リンフォカイン   | 7.3       | 7.4       | 7.0       |
| SRF       |           |           |           |
| コントロール    | 2.3±1.2   | 1.5±1.2   | N.D.      |
| リンフォカイン   | 10.2±1.0  | 10.5±0.8  | 10.0±1.5  |

N.D.: 実験せず

NRG: 正常ウサギグロブリンカラム

ALyG: 抗-MIF 抗体カラム

グルコースまたはラムノースでも有効であつたため糖の特異性を認めることはできなかったが、これは MIF に対するレセプターの糖部分が単純でなく、フコースを含む複雑なオリゴ糖か、あるいは MIF のマクロファージ細胞吸着が荷電によるものかもしれない。したがって抗 MIF 抗体カラムによる精製の方が特異性が高いと考えうる。

ディスク電気泳動による MIF の精製はすでに試みられてきたが<sup>9)</sup>、他のリンフォカインとの関連につき系統的な検討がなされていない。われわれの結果では MIF はプレアルブミン域に泳動する一方、MCF はアルブミン分画に見出される。また NCF は MIF 分画とかなり離れており heterogenous のようにみえる。SRF は MCF および NCF 活性とも重なり、MIF 分画には SRF 活性がなかつた。この結果は MIF が他のリンフォカインと同じ物質でないことを示唆している。しかもこれはまたディスクゲル電気泳動の MIF 分画を抗原として作った抗 MIF 抗体カラムによる MIF の特異的吸着によつて更に裏づけされたといえるであろう。

今までに試みられた抗 MIF 抗体カラムによる MIF の精製は<sup>10-12)</sup> 抗原がわれわれのそれより更に多くのリンフォカインを含んでいたため MIF 精製に不完全であつた。

## 結 論

MIF の精製は固定マクロファージまたは抗 MIF 抗

体を用いる特異的アフィニティカラムにより、従来の部分精製品より更に精製度を進めることができた。この精製の進展により、MIF は MCF、NCF および SRF と異なる物質として分離されるようになり細胞性免疫の発現に関与する化学的メディエーターは少なくとも2種以上の物質であることがまず明らかになつた。このことは結核免疫とツベルクリンアレルギーの関連に新しい光を投げることになるであろう。

終わりにリンフォカイン部分精製品の作製に対し、国立予防衛生研究所結核部の三浦馨博士、芳賀伸治技官および MCF の活性測定に対し筑波大学研究協力部技官市川意子氏の御協力を感謝する。

## 文 献

- 1) 橋本達一郎・三浦馨: 医学と生物学, 69: 291, 1964.
- 2) 綿貫まつ子・芳賀伸治・橋本達一郎: 医学と生物学, 85: 251, 1972.
- 3) Remold, H. G.: J. Exp. Med., 138: 1069, 1973.
- 4) Higgins, T. J., Sabatino, A. P., Remold, H. G. and David, J. R.: Proc. 11th Joint US-Japan Tuberculosis Research Conference, 339, 1976.
- 5) Remold, H. J., Katz, A. B., Haben, J. and David, E. R.: Cell. Immunol., 1: 133, 1970.
- 6) Yoshida, T., Bigazzi, P. E. and Cohen, S.: J. Immunol., 114: 688, 1975.
- 7) Kuratsuji, T., Yoshida, T. and Cohen, S.: J. Immunol., 117: 1985, 1976.
- 8) Geczy, C. L., Gevzy, A. F. and Weck, A. L.: J. Immunol., 117: 1824, 1976.

## 5. 細胞性免疫の遺伝と制御

国立予防衛生研究所結核部 中村 玲子

免疫応答の遺伝に関しては数多くの研究があり、特にマウスやモルモットにおいて抗体産生を支配する遺伝子が主要組織適合抗原とリンクしたI領域にコードされている例が多数報告されている<sup>1)2)</sup>。更に近年、抗体産生を抑制するサブレッサー細胞の出現もI-J領域にコードされていることがマウスの系で明らかにされた<sup>3)4)</sup>。しかし、細胞性免疫の遺伝に関しては抗体産生系におけるほど報告が多くない。また主要組織適合抗原との連鎖も必ずしもあるとは限らない<sup>5)~8)</sup>。われわれは典型的な細胞性免疫反応としてBCG免疫における遅延型アレルギーの遺伝を、マウスを用いて研究した。

マウスは近交系C3H/He, SWM/MS, およびその交雑によるF1, F2, back cross(BC)を用いた。免疫には*Mycobacterium bovis* BCGの日本株生菌を用い、遅延型アレルギーの測定にはPPDを用いた。

C3H/HeとSWM/MSにおけるBCGに対する遅延型アレルギー反応を、BCG生菌 $10^7$ 皮下注射後のPPD腹腔内注射による腹腔マクロファージ消失試験、PPDによる足蹠反応(2週後)、または2週後に更にBCGを静脈内チャレンジすることによる脾重量の増加によつて測定すると、表1, 2, 3にみられるようにいずれの場合でもC3H/Heでは反応が弱く、SWM/MSでは反応が強いことが認められた。すなわちSWM/MSはBCG高反応性でありC3H/Heは低反応性であった。

両系統の交雑により得られたF1, F2, BC世代のマウスのBCG反応性を足蹠反応によつて測定すると、図1

表1 BCG皮下免疫後のPPD $10\mu\text{g}$ 注射による腹腔マクロファージ消失テスト

| BCG免疫後日数 | 腹腔マクロファージ(%)*   |                |
|----------|-----------------|----------------|
|          | SWM/MS          | C3H/He         |
| 0        | 100**           | 100            |
| 4        | 44.8 $\pm$ 10.4 | 90.4 $\pm$ 7.1 |
| 7        | 32.0 $\pm$ 7.1  | 73.8 $\pm$ 6.0 |
| 15       | 18.3 $\pm$ 5.7  | 60.9 $\pm$ 1.4 |

\* PPD $10\mu\text{g}$ 腹腔内注射, 4時間後の値。

\*\* 正常マウスのマクロファージ出現率を100とした。

表2 BCG皮下免疫2週後のPPD $10\mu\text{g}$ に対する足蹠反応

| マウス系統  | 足蹠反応(0.1mm $\pm$ SE) |
|--------|----------------------|
| SWM/MS | 9.92 $\pm$ 2.17      |
| C3H/He | 1.92 $\pm$ 1.04      |

に示すようにF1はすべて高反応性であり、F2と(F1 $\times$ C3H)BCでは高反応性と低反応性の個体が混在する。C3H/Heの平均足蹠反応値+2SDを低反応性の限界とすると、その分離比は、単一の遺伝支配の仮定によく一致し、高反応性が優性であることが示された(表4)。この遺伝子がH-2と連鎖しているか否かを検討したとこ

表3 BCG皮下免疫2週後にBCGを静脈内チャレンジし、1週後の脾重量

| マウス系統  | 脾重量(g)          |                             |
|--------|-----------------|-----------------------------|
|        | BCG皮下注射のみ       | BCG静脈内チャレンジ                 |
| SWM/MS | 0.16 $\pm$ 0.03 | 0.55 $\pm$ 0.15( $p$ <0.01) |
| C3H/He | 0.18 $\pm$ 0.02 | 0.24 $\pm$ 0.06(0.05< $p$ ) |

表4 BCおよびF2におけるBCG高反応性と低反応性の分離

| マウス | 高反応性 | 低反応性 | $X^2$             |
|-----|------|------|-------------------|
| BC  | 35   | 36   | 0.014(0.9< $p$ )  |
| F2  | 116  | 39   | 0.021(0.75< $p$ ) |

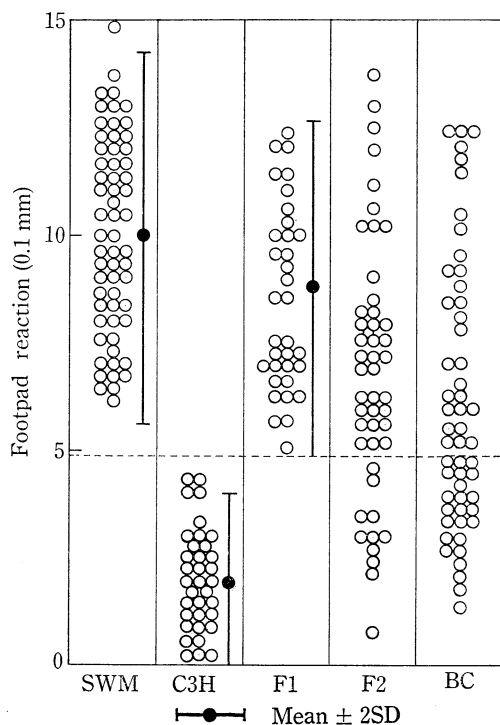


図1

表5 BCG 反応性と H-2 のリンケージテスト

| マウス | BCG 反応性 | H-2 |     |     | X <sup>2</sup>       |
|-----|---------|-----|-----|-----|----------------------|
|     |         | k/k | k/d | d/d |                      |
| BC  | 高反応性    | 6   | 10  | —   | 0.2586*<br>(0.8 < p) |
|     | 低反応性    | 7   | 12  | —   |                      |
| F2  | 高反応性    | 6   | 15  | 7   | 0.0627<br>(0.9 < p)  |
|     | 低反応性    | 2   | 6   | 2   |                      |

\* X<sup>2</sup> 検定は「リンケージなし」の仮定に対して行なつた。

表6 BCG 皮下免疫 C3H/He マウスの脾細胞の反応性

| 細胞       | In vitro 幼若化( <sup>3</sup> H-チミジンの取り込み指数)* |       |       |      |
|----------|--|-------|-------|------|
|          | PHA  | ConA  | LPS   | PPD  |
| 全脾細胞**   | 1.74                                       | 5.46  | 24.81 | 1.92 |
| 抗θ処理脾細胞  | 0.80                                       | 0.95  | 9.95  | 0.95 |
| ナイロン非粘着性 | 12.30                                      | 14.38 | 4.02  | 1.51 |
| ナイロン粘着性  | 1.22                                       | 3.77  | 33.44 | 2.49 |

\* コントロールの cpm に対する比率で表す。

\*\* 1×10<sup>6</sup>

ろ、表5のように、両者の間に連鎖がないことが示唆された。

BCG 免疫 C3H/He の脾細胞は、in vitro において ConA, LPS によりよく幼若化するが PHA, PPD による幼若化は弱い。ナイロン・ウール・カラム非粘着性画分は PHA, ConA に対する反応性が高まり、LPS 反応性が低下することからT細胞が主体と考えられるが、この画分も PPD に反応しない。したがって、BCG 免疫 C3H/He では、BCG 感作T細胞が少ないのではないかと考えられる(表6)。

サイクロフォスファミド (CY)200mg/kg を BCG 免疫2日前に腹腔内注射すると、C3H/He の PPD に対する足蹠反応が有意に高まる(表7)。また BCG 免疫のルートは C3H/He の足蹠反応に影響を及ぼす(表8)。これらの事実より、C3H/He には BCG に対する遅延型アレルギーの成立を抑制する機構があることが示唆された。

BCG 静脈内注射1週後の C3H/He の脾細胞を、CY 注射2日後の C3H/He に移入し、同時に BCG と SRBC で免疫して、それぞれの抗原に対する遅延型反応を測定したところ、表9にみられるように脾細胞を移入した群では BCG に対する遅延型反応が抑制された。この抑制は移入細胞を抗θ血清と補体で処理すると消失するので、T細胞が主役であると考えられる。また、この抑制は BCG に特異的であつた。

以上の結果は先にわれわれが報告した BCG の抗腫瘍効果のマウス系統差<sup>8)9)</sup>を、両系統マウスの BCG 反応性の差としてよく説明するものである。C3H/He に見出

表7 C3H/He の BCG 免疫に及ぼす CY の影響

| マウス    | CY 200mg/kg ip | PPDによる足蹠反応 (0.1mm±SE) |
|--------|----------------|-----------------------|
| C3H/He | —              | 2.02±0.78             |
|        | +              | 6.92±1.50             |

表8 BCG 免疫ルートの遅延型反応に及ぼす影響

| マウス    | ルート    | PPDによる足蹠反応 (0.1mm±SE) |
|--------|--------|-----------------------|
| C3H/He | 静脈内    | 1.20±0.30             |
|        | 腹腔内    | 3.40±1.30             |
|        | 皮下(体側) | 2.63±0.17             |
|        | 足蹠皮内   | 6.33±1.09             |

表9 BCG 静脈内注射マウス脾細胞の移入による BCG 免疫の抑制

| 移入細胞*       | 抗θ+補体 | 足蹠反応(0.1mm±SE) |            |
|-------------|-------|----------------|------------|
|             |       | PPD            | SRBC       |
| —           | —     | 9.34±1.72      | 10.40±0.70 |
| 全脾細胞**      | —     | 2.71±0.90      | 6.76±1.38  |
| 全脾細胞        | +     | 6.40±1.10      | 10.45±1.15 |
| ナイロン非粘着性脾細胞 | —     | 3.35±0.91      | 8.01±0.60  |

\* BCG 静注1週後の C3H/He マウスの脾細胞

\*\* 1×10<sup>6</sup> を移入

された BCG 特異的抑制T細胞が、このマウスの BCG に対する低反応性の原因と考えられるが、その遺伝的解析は今後の研究課題である。

## 文 献

- 1) McDevitt, H. O. and Benacerraf, B.: Adv. Immunol., 11 : 31, 1969.
- 2) Gasser, D. L. and Silvers, W. K.: Adv. Immunol., 18 : 1, 1974.
- 3) Okumura, K. et al.: J. Exp. Med., 144 : 685, 1976.
- 4) Murphy, D. B. et al.: J. Exp. Med., 144 : 699, 1976.
- 5) Karakoz, I. et al.: Eur. J. Immunol., 4 : 545, 1974.
- 6) Davis, S. et al.: J. Immunol., 115 : 1530, 1975.
- 7) Fachel, J. and Ando, I.: Eur. J. Immunol., 7 : 223, 1977.
- 8) Allen, E. M. et al.: J. Immunol., 119 : 343, 1977.
- 9) Tokunaga, T. et al.: J. Nat. Cancer Inst., 53 : 459, 1974.
- 10) Tokunaga, T. et al.: Jap. J. Med. Sci. Biol., 31 : 143, 1978.

## 6. 細胞性免疫機能

## —臨床の立場から、特に serum immunosuppressive substance について—

京都大学結核胸部疾患研究所 泉 孝 英

肺癌、サルコイドーシス、一部の肺結核症例では、ツベルクリン反応の陰性化、DNCB 被感作能の低下など、細胞性免疫機能不全を来していることは古くより知られた事実である<sup>1)2)</sup>。近年のリンパ球機能検査法の進歩によつて、これら細胞性免疫機能不全の動態は、Tリンパ球のレベルにおいて把握されるようになってきた<sup>3)</sup>が、研究の進展とともに、(1) *in vitro* と *in vivo*、また (2) テストレベルと 個体レベルでの 所見に少なからざる discrepancy の存在することも明らかになってきた。この discrepancy を補完する一つの factor として humoral immunoregulatory substances の存在とその機能が注目されるようになってきている (Nelson 1976<sup>4)</sup>、Cooperband 1976<sup>5)</sup>)。

私どもは呼吸器疾患における humoral immunoregulatory substances の動態に関する研究の一環として、各種呼吸器疾患患者血清のマウスにおけるヒツジ赤血球 (SRBC) に対する免疫反応に及ぼす影響についての検討を行なつてきたが、本シンポジウムでは、その成績を総括して述べることにした。

## I. ヒト患者血清によるマウスの免疫反応の抑制効果に関する検討方法

健康人、肺癌、サルコイドーシスおよび肺結核患者より採血し、冷凍保存した血清を用いた。

ヒト血清の検討に当たつて、xenogenic であるマウスの免疫反応をあえて用いたのは、

(1) マウスではヒトより、一定の研究材料を得ることが容易である。

(2) マウスの免疫反応については、数多くの知見の集積があり、*in vivo* あるいは *in vitro* での検討、また得られた成績の解釈に便利である。

(3) Wood の B-cell activating factor に関する一連の報告<sup>6)7)</sup>にもみられるようにヒト材料がマウスの免疫

反応に影響を与える証拠が与えられつつあること、が主なる理由である。

マウスは、C57BL/6 を用いたが、その証拠とするところは、

(1) SRBC に対して遅延型反応である foot pad 反応を呈するとともに、抗体産生も比較的良好な strain であること、

(2) 後述するように、SRBC 抗原の投与量と血清による抑制効果の発現性に関して、他の strain より、より明瞭な関連性を示す strain であること、などである。

## 1. Foot pad (FP) 反応に対する血清の抑制効果

Cyclophosphamide (CY) 200mg/kg 腹腔内投与 2 日目に、SRBC  $10^9$  を静注感作し、4 日目の FP 反応を用いた。血清は、0.4 ml を SRBC 投与 1 日前に静注投与し抑制効果の有無を検討した。

CY+SRBC  $10^9$  投与による FP 反応を指標としたのは、患者血清による抑制効果は多くの場合、この条件下においてのみ認められたためである (図 1)。SRBC  $10^5$  ~  $10^6$  投与による FP 反応には血清は抑制的には作用しなかつた。

このような患者血清の FP 反応抑制作用は CY 処理によつて一旦は、機能抑制された FP-suppressor cell<sup>8)</sup> を activate することによつて発現されるものであろうと推定された。

## 2. Plaque forming cell (PFC) 産生反応に対する血清の抑制効果

SRBC  $10^9$  静注感作 4 日目の脾臓の PFC 産生反応を指標とし、血清 0.4 ml を SRBC 投与 1 日前に静注投与して抑制効果の有無を検討した。 $10^9$  の SRBC を用いたのは患者血清による PFC 産生抑制が多くの場合、SRBC  $10^9$  投与において認められたためである。

肺癌、サルコイドーシス、肺結核血清による PFC 抑制の機序については、

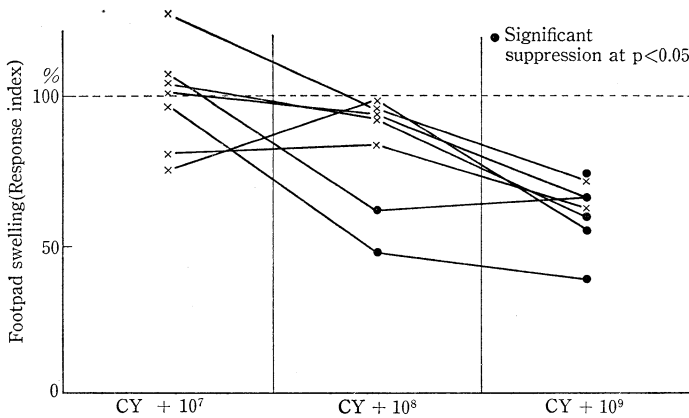


Fig. 1. Suppressive effect of sarcoidosis serum on foot pad reaction to SRBC.

(1) 血清投与は、SRBC 抗原投与前においてのみ suppressive であること、

(2) 血清は、LPS による B-cell activation や carbon clearance test に影響を与えない、という事実からみて、T-cell レベルでの作用が考慮されるが、更に high dose の SRBC 投与において抑制効果が著明であることと、high dose では suppressor cell が誘導されやすいとの諸報告<sup>9)~11)</sup> と併せ考えると、血清による PFC 産生抑制は、suppressor T-cell あるいは、その precursor cell の activation を介して作用していると考えられる。

私どもは、最近、サルコイドーシス血清を投与されたマウスの spleen cell の transfer 実験において spleen cell が suppressor 機能を有していることを確認しており、この spleen cell 中のいずれの細胞が suppressor 機能を有しているかは、比較的容易に明らかにされるであろう。

## II. 肺癌、サルコイドーシス、肺結核血清中の FP suppressive factor (FP-SF) と PFC suppressive factor (PFC-SF) (表1)

肺癌、サルコイドーシス血清では、FP-SF、PFC-SF とともに高率に認められた。肺結核血清では、PFC-SF は 9 例中 7 例の高率に認められたが、FP-SF の認められたのは 9 例中 3 例のみであった。

Table 1. Serum Immunosuppressive Factors

| Clinical status | FP-SF     | PFC-SF    |
|-----------------|-----------|-----------|
| Healthy         | 1/10(10%) | 1/10(10%) |
| Lung cancer     | 7/10(70%) | 8/10(80%) |
| Sarcoidosis     | 8/11(73%) | 8/11(73%) |
| Tuberculosis    | 3/9 (33%) | 7/9 (78%) |

Suppressed/Tested

## III. Serum suppressive factors と他の臨床免疫学的所見の関連性

FP あるいは PFC-SF の検出状況と、donor のツベルクリン反応、血清  $\gamma$ -グロブリン量、リンパ球数、リンパ球の PHA 反応性などとの間に、現在の研究段階では、直接の関連性は認められていないが、結論は、今後のより詳細な定量的検討に待たねばならない。

マウスのレベルでは、suppressor cell あるいはその precursor cell を activate していると考えられる serum SF が、ヒトのレベルにおいても同様な作用を有しているか否かは最も興味深い問題である。最近 *in vitro* のレベルではあるが、ヒトレベルでの suppressor cell に関する若干の報告が行なわれている。肺癌症例を含めて担癌生体の末梢血中の monocyte がリンパ球の mitogen に対する反応において suppressor cell の役割を果たしているとの Zembala(1977)<sup>12)</sup> の報告、サルコイドーシスにおける polyclonal B-cell activation を suppress する monocyte に関する Katz(1978)<sup>13)</sup> の報告があり、また肺結核症例でもツベルクリン反応の比較的弱い症例では PPD に対するリンパ球の反応性の低下があり、この反応性の低下は adherent cell の suppressor 機能によるものであるとの Ellner(1978)<sup>14)</sup> の報告がある。Serum SF が、これら suppressor cell の generation に関与している可能性も少なくはないであろう。

肺癌、サルコイドーシス、肺結核いずれの疾患においても高  $\gamma$ -グロブリン血症は共通して認められる所見である。にもかかわらず、PFC-SF は共通して高頻度に認められた。この PFC-SF は、あくまでマウスにのみ作用する物質であると見做すのも一つの見解であろうが、抗体産生における一つの feed back 機構を担うものとして説明すべきものであるのかもしれない。

(研究協力者：杉之下俊彦，長井苑子)

文 献

- 1) 泉孝英：最新医学，27：1317，1972.
- 2) 辻周介・泉孝英・木野稔也：医学のあゆみ，66：174，1969.
- 3) 泉孝英：臨床免疫，6：319，1974.
- 4) Nelson, D. S. and Gatti, R. A.: Progr. Allergy, 21 : 261, 1976.
- 5) Cooperband, S. R., Nimberg, K. and Mannick, J. A.: Transpl. Proc., 8 : 225, 1976.
- 6) Wood, D. W. and Gaul, S. L.: J. Immunol., 113 : 925, 1974.
- 7) Cameron, P. M. and Wood, D. W.: Cell. Immunol., 38 : 176, 1978.
- 8) Ramshaw, I. A., Bretscher, P. A. and Parish, C. R.: Eur. J. Immunol., 7 : 180, 1977.
- 9) Eardley, D. D. and Gershon, R. K.: J. Immunol., 117 : 313, 1976.
- 10) Eardley, D. D., Staskawicz, M. O. and Gershon, R. K.: J. Exp. Med., 143 : 1211, 1976.
- 11) Whisler, R. L. and Stobo, J. D.: J. Exp. Med., 144 : 398, 1976.
- 12) Zembala, M., Mytar, B., Popiela, T. and Asherson, G. L.: Int. J. Cancer, 19 : 605, 1977.
- 13) Katz, P. and Fauci, A. S.: Clin. Res., 26(3) : 379 A, 1978.
- 14) Ellner, J. J. and Daniel, T. M.: in preparation.