

原 著

肺非定型抗酸菌症の臨床的, 免疫学的研究

—特に PPD, PHA によるリンパ球の活性化について—

金 子 クニ子

慶応義塾大学医学部内科

受付 昭和 52 年 8 月 22 日

CLINICAL AND IMMUNOLOGICAL STUDIES ON PULMONARY
ATYPICAL MYCOBACTERIOSIS

Kuniko KANEKO*

(Received for publication August 22, 1977)

The purpose of present study is to analyse the clinical picture and the state of cell-mediated immunity on pulmonary atypical mycobacteriosis.

Cell-mediated immunity was examined by the methods of tuberculin skin test and *in vitro* thymidine uptake of lymphocytes stimulated with PPD and PHA.

The study subjects were 26 cases of pulmonary atypical mycobacteriosis, who were admitted to Keio University Hospital from 1966 to 1976.

The results of the clinical analysis of 26 cases was closely similar to those previously reported in Japan, except the fact that the frequency of subjective complaints of this disease at the first medical examination was higher than that of pulmonary tuberculosis in the author's material. Tuberculin tests were examined for 21 patients of which twelve reacted positive, five negative and four doubtful positive. Among cases with negative and doubtful tuberculin reactions and showed clinical improvement, their tuberculin reaction turned to positive, and in one case who showed worsening, tuberculin reaction converted to negative.

Lymphocyte response to PPD and PHA was carried out by the following methods. Blood was taken from 11 cases of pulmonary atypical mycobacteriosis, from 13 adults patients with pulmonary tuberculosis and from 10 healthy hospital employees in whom the skin reactivity to PPD was positive. All donors had not been tuberculin tested for some weeks prior to the examination. Preparation of lymphocytes was carried out by the method of gravity sedimentation. Culture were set up in glass tubes containing 1×10^6 -lymphocytes in 2 ml of Eagle' medium supplemented with 10% fetal-calf-serum and with 100 us PC and 100 μ g SM/ ml, and then 2 μ g/ml of PPD or 10^{-3} /ml of PHA solution were added to these tubes.

It was found that the concentration of PPD of 2 μ g/ml in culture suspension gave the maximal stimulation for lymphocytes from tuberculin positive donors. The duration of culture was 5 days for PPD-stimulated and 3 days for PHA-stimulated cultures and 0.2 μ Ci of 2- 14 C-thymidine was added to those cultures at 4 hours before harvesting of cultures and the harvesting was

* From the Department of Internal Medicine, School of Medicine, Keio University, 35, Shinanomachi, Shinjuku-ku, Tokyo 160 Japan.

performed using a modification of the method described by Dutton and Page(1964). The samples were counted in a liquid scintillation counter, and these results were shown as disintegrations per minute after correction for quenting and efficiency. The thymidine uptake after stimulation with PPD and PHA was shown as the subtracted value of the thymidine uptake of unstimulated lymphocytes from that of stimulated lymphocytes.

The thymidine uptake after stimulation with PPD was studied in the following three groups, and it was $1,565 \pm 2,541$ DPM (mean \pm S. D.) for pulmonary atypical mycobacteriosis, $5,231 \pm 2,070$ DPM for tuberculosis and $5,377 \pm 2,487$ DPM for healthy donors. Thymidine uptake after stimulation with PHA was also studied in the above mentioned three groups, and it was $18,617 \pm 12,276$ DPM, $33,081 \pm 9,385$ DPM and $36,197 \pm 5,658$ DPM, respectively.

The value of these thymidine uptake after stimulation both by PPD and PHA in pulmonary atypical mycobacteriosis was significantly lower than that in the other two groups. Accordingly it could be said that there were general depression of cell-mediated immunity in cases with atypical mycobacteriosis.

はじめに

わが国における非定型抗酸菌症（以下 AM 症）に関する研究は「非定型抗酸菌症研究協議会」および「国立療養所非定型抗酸菌症共同研究班」などを中心として、臨床疫学的研究や細菌学的研究が着実にすすめられてきており、「非定型抗酸菌症研究協議会¹⁾」によると現在まで 858 例の AM 症が登録されている。また 1972 年第 47 回日本結核病学会総会のシンポジウム²⁾として本症が取り上げられてからは、AM 症に対する関心は更に高まっている。しかし本症の発症機構や治療法などについてはまだ十分に明らかにされたとはいえない。特に発症機構に関しては毒力の低い非定型抗酸菌（以下 AM）による発症ということで、host-parasite relationship における宿主側の条件が重要であろうとの推測がなされ、諸家の報告の中に「局所的抵抗減弱」、「全身的抵抗力の減弱」などがあげられている。前者に関しては発症要因としてこれらの報告によつて認められているが、後者に関する報告、特に免疫状態の面から検討した報告は少ない。

そこで著者は慶応義塾大学病院における昭和 41 年から 51 年までの肺非定型抗酸菌症（以下肺 AM 症）患者 26 例について臨床統計的観察を行ない、次いで肺 AM 症の発症に関する免疫状態を検討するため、これらの症例における PPD による皮内反応と、PPD, PHA による末梢血リンパ球の活性化について検討し、更に肺 AM 症患者と年齢をマッチさせた健康人および肺結核患者との免疫状態を前記検査に基づいて比較検討したのでその成績を報告する。

研究対象

1) 臨床的研究

肺 AM 症で昭和 41 年から 51 年までに慶応義塾大学病院内科に受診した外来および入院患者 26 例を対象とした。これらの 26 症例はすべてが「日比野、山本による AM 症の診断基準³⁾」をみたしていた。AM のツベルクリンによる皮内反応は 26 例のうち 12 例に行なつた。

2) 免疫学的研究

肺 AM 症患者 26 例のうち 21 例に PPD によるツベルクリン皮内反応（以下ツ反応）を行なつた。末梢血のリンパ球の PPD および PHA による活性化の測定は上記 26 例のうち 11 例に行ない、その時期は全例について、治療を開始する前に行なつた。比較対比のため肺 AM 症患者と年齢のマッチした 36~77 歳までの健康人 10 例と、昭和 49 年から 52 年までに慶応義塾大学病院内科に入院した肺結核患者 13 例の末梢血リンパ球についても同様に測定を行なつた。

研究方法

1) 皮内反応

AM のツベルクリンは「非定型抗酸菌症研究協議会」より得られたもので、scotochromogen 症には「石井株 π 」を nonphotochromogen 症には「蒲生株 π 」を用いた。ヒト型結核菌のツベルクリンは市販の一般診断用 PPD（日本 BCG 株式会社）を使用した。

2) リンパ球の活性化の測定法

(1) リンパ球の分離および培養法

対象者より空腹時にヘパリン採血を行ない、直ちに比重遠沈法⁴⁾によりリンパ球を採取した。採血はそれ以前数週間に PPD によるツ反応検査の既往のないことを

Table 1. Summary of Clinical Data of 26 Patients with Pulmonary Atypical Mycobacteriosis

Case	Sex	Age	Group	X-ray findings	Complications and previous history	Chief complaints	Prognosis	Tuberculin reaction
1	M	46	III	rIII ₁ C ₁	Pulmonary tuberculosis (Under treatment)	Hemosputum Fever	Converted to negative	(+)
2	M	62	III	lII ₁ D ₁ Kx	"	Sputum	"	
3	M	38	II	rII ₂ B ₂ Kb	Nothing particular	Fever, Sputum Chest pain	"	(+)
4	M	62	III	rIII ₁ C ₁	Pulmonary tuberculosis (Under treatment)	Hemosputum	"	(+)
5	F	76	III	bII ₂ C ₂ Kz	"	Productive cough	Not converted to negative	
6	M	40	IV	rIII ₁ C ₁	Nothing particular	Hemosputum	Converted to negative	(+)
7	F	59	III	lII ₁ C ₁ Kx	Pulmonary tuberculosis (Under treatment)	"	Pulmonary lobectomy	(-)
8	F	46	III	lII ₁ C ₁ Kx	Pulmonary tuberculosis (Post pulmonary lobectomy)	Back pain	Unknown	
9	M	73	I	bII ₂ B ₂ Ka	Bulla	Fever Joint pain	Converted to negative	(-)
10	F	79	III	bI ₃ C ₃ Kx	Hypertension	Slight fever Productive cough	Death	
11	F	57	III	bII ₂ B ₂ Kc	Abnormal shadow of chest X-ray	Slight fever Productive cough	"	(±)
12	M	65	III	bII ₂ C ₂ Kz	Pulmonary tuberculosis (Post pulmonary lobectomy)	None	Not converted to negative	(±)
13	M	60	III	rII ₂ Pl C ₂ Kz	Pulmonary tuberculosis (Under treatment)	Productive cough Weight loss	"	(±)
14	F	53	III	bII ₂ C ₂ Kz	Pulmonary tuberculosis Arrested	Slight fever	"	(+)
15	M	28	I	rII ₂ B ₂ Kc	Nothing particular	Productive cough	Pulmonary lobectomy	(+)
16	M	43	IV	bII ₂ B ₂ Kz	Pulmonary tuberculosis (Arrested)	Productive cough General fatigue	Converted to negative	
17	M	79	III	bII ₂ B ₂ Kc	Gastric ulcer	Back pain	"	(+)
18	M	76	III	bII ₃ B ₃ Ka	Diabetes mellitus	Cough Weight loss	Not converted to negative	(-)
19	M	72	III	lIII ₁ C ₁	Nothing particular	Hemosputum	Converted to negative	(+)
20	M	33	III	bI ₃ B ₃ Kc	Pulmonary tuberculosis (Post pulmonary lobectomy)	Cough Slight fever	Pneumonec-tomy	(+)
21	F	72	III	bII ₂ C ₂ Kc	Syphilis	Hemosputum	Converted to negative	(-)
22	M	52	III	bII ₁ B ₁ Ka	Nothing particular	"	"	(-)
23	F	37	III	bII ₂ B ₂ Kc	Pulmonary tuberculosis (Arrested)	None	"	(±)
24	F	73	III	rIII ₁ C ₁	Nothing particular	Fever	Not converted to negative	(+)
25	M	63	III	rIII ₁ C ₁	Pulmonary tuberculosis (Arrested)	Hoarseness	"	(+)
26	F	55	III	bIII ₂ B ₂	Chronic bronchitis	Productive cough	"	(+)

確かめて行なつた。培養液は 100 ml について、MEM (GIBCO) 88 ml, 牛胎児血清(GIBCO) 10 ml, PC-SM 溶液(GIBCO: PC 10,000 u/ml, SM 10,000 µg/ml) 1 ml, L-グルタミン (GIBCO: 20 mM/ml) 1 ml の組成の

William I. and Kurt H. の培地⁹⁾を用い、採取したリンパ球を最終的に 1×10^6 個/2 ml の濃度になるよう調製し、その 2 ml ずつを円型底の 13 mm × 105 mm のガラス試験管に入れ、ステンレスのモルトン栓をして培養

した。培養は CO₂ 培養器を用い、湿潤にし、37°C で培養液のpHが 7.2~7.4 になるよう CO₂ 濃度を調節して行ない、培養期間は PPD 添加群は 5 日間、PHA 添加群は 3 日間とした。培養は各群 3 本ずつ (添加 PPD 濃度をかえた実験では各濃度につき 3 本ずつ) 行ない、結果はその平均値で表示した。

(2) 添加抗原

PPD (日本 BCG 株式会社の確認診断用) は培養液で溶解後、直ちに 1×10⁶ 個/2 ml のリンパ球浮遊液に 2 μg/ml とするよう添加した。PHA は PHA-M(DIF-CO) 1 バイアルを 5 ml の培養液で溶解し、0.1 ml を 1×10⁶ 個/2 ml のリンパ球浮遊液に添加し培養した。

(3) DNA 合成能測定方法

リンパ球の活性化を定量的に測定する方法として、¹⁴C-サイミジンのリンパ球への取り込み量を測定した。前記リンパ球培養終了 4 時間前に ²⁻¹⁴C-サイミジン (New England Nuclear. >50 mCi/m mole) 0.2 μCi を加え、更に 37°C にて培養した。培養終了後アイスバスに移し、培養したリンパ球を生理食塩水 (氷冷) 5 ml にて 1 回、5%トリクロル酢酸液 (氷冷) 5 ml にて 2 回、メタノール (氷冷) 5 ml にて 2 回洗浄後、室温にて 1

晩放置し、翌日ハイアミン苛性ソーダ (Packard) 0.5 ml を加え 56°C 1 時間で溶解し、カウント用バイアルに移した。Instagel (Packard) 10 ml を加え、更に冷暗所に 1 晩おき翌日液体シンチレーションカウンター (Aloka LSC-602 型) にて放射能 (DPM) を測定した。

(4) viability test

培養直前と終了時のリンパ球の viability を 1%トリパンブルー染色にて検査した。

成 績

1) 臨床統計的観察

慶応義塾大学病院における肺 AM 症は、昭和41年から51年までの間に26例あり、そのうち17例が入院治療をしていたが、この間の肺結核入院患者数 1,035 例に対して 1.62% にあたっていた。性別では男 16 例、女 10 例で年齢は中高年者特に 61 歳以上が 50% を占めていた。菌種別内訳は Runyon⁹⁾ の Group I (photochromogen 症) 2 例、Group II (scotochromogen 症) 1 例、Group III (nonphotochromogen 症) 21 例、Group IV (rapid-grower 症) 2 例であった。症例一覧表を表 1 に示す。合併症、既往症については表 2 に示したように肺結核に関連したものが

Table 2. Complications and Previous History of the Patients Suffering from Pulmonary Atypical Mycobacteriosis

Complications and previous history	Age (Year)						Total
	21~30	31~40	41~50	51~60	61~70	71~80	
With active tuberculosis			1	2	2	1	6
With arrested tuberculosis		2	2(1)	1	2		7(1)
Without respiratory disease						4	4
None	1(1)	2(2)		1		2	6(3)
With nontuberculous respiratory diseases				2		1(1)	3(1)
Total	1(1)	4(2)	3(1)	6	4	8(1)	26

(): Number of cases other than pulmonary nonphotochromogenic mycobacteriosis.

Table 3. Gakken Classifications of X-ray Findings of the Lungs in Patients with Atypical Mycobacteriosis

Cavity		Basic lesions			
		B	C	D	Total
Without cavity		1	6		7
With cavity	Ka	3			3
	Kb	2			2
	Kc	4	1		5
	Kx		3	1	4
	Kz	1	4		5
Total		11	14	1	26

Table 4. Changes in X-ray Findings and Results of Bacteriological Examinations of Sputum during the Course of Atypical Mycobacteriosis

X-ray changes	A. F. B. in sputum			Total
	Converted to negative	Not converted to negative	N. T.	
Improved	10	2		12
Unchanged	3	6		9
Worsened	0	3		3
Not tested		1	1	2
Total	13	12	1	26

13例と半数を占めており、「呼吸器疾患以外の合併症」としては糖尿病、胃潰瘍が各1例等であり、「結核以外の呼吸器疾患」の内訳は慢性気管支炎、Bulla 等である。

発症時の主訴は咳、血痰、痰の順にみられ、肺結核治療中に発症した症例でも、上記の臨床症状が新たに出現してきた前後に AM の排菌が認められた。本症発症時には26例中24例に自覚症状がみられたが、年齢、胸部X線病型をマッチさせた肺結核症では、その発症時に21例中15例に自覚症状がみられたにすぎなかつた ($p < 0.05$)。

胸部X線所見は26例中19例に空洞を認め、学研分類による「病巣の拡がり」では「1」が9例、「2」が14例、「3」が3例であり、その他「基本型」および「空洞」による分類は表3のごとくで、滲出型は1例のみみられなかつた。経過中の胸部X線像の変化は改善したもの12例、不変のもの9例、増悪したもの3例であり、このX線像の変化は表4のごとく菌陰性化と平行していた。胸部X線写真上、特異な症例としては中葉に限局した気管支拡張像を主病巣とする症例が37歳の女性に認められた。

治療は26例中1例を除いて抗結核剤を主とした化学療法が行なわれており、手術は3例に実施されていた。

予後は治療開始後1年以内に菌陰性化したもの8例(このうち4例は nonphotochromogen 症以外の肺AM症)、1年以上の経過で菌陰性化したもの5例、菌陰性化しないもの12例(すべて nonphotochromogen 症)、経過不明例は1例であつた。菌陰性化しなかつた症例のうち2例は手術により菌が陰性化し、2例は本症の悪化にて4カ月、1年8カ月の後にそれぞれ死亡した。

AMより作製されたツベルクリン液による皮内反応は12例に行なわれた。scotochromogen 症の患者(症例3)の石井株πによる皮内反応は陽性であつたが、ヒト型結核菌のツベルクリン(PPD)によるツ反応より弱かつた。nonphotochromogen 症の患者10例でも「PPD ツ反応<蒲生株πツ反応」のものはみられず、「PPD ツ反応=蒲生株πツ反応」2例、「PPD ツ反応>蒲生株πツ反応」を呈したものが8例であつた。

2) 肺 AM 症患者の免疫状態について

Table 5. A. F. B. in Sputum and the Results of Tuberculin Test in Patients with Pulmonary Atypical Mycobacteriosis

Tuberculin test	A. F. B. in sputum	
	Converted to negative culture	Continued on positive culture
Positive	8	4
Doubtful	1(1)	3(2)((1))
Negative	4(3)	1

(): No. of cases which became positive in tuberculin skin test.

(()): Converted to negative in tuberculin skin test and died.

(1) PPD によるツ反応成績と菌陰性化

PPD を用いたツ反応は26例のうち21例に実施された。結果は表5に示すごとくである。PPD によるツ反応の経過と菌陰性化との関連をみると、治療開始時ツ反応偽陽性であつた4例中3例が陽性に復帰し、1例が陰転したが、ツ反応が陽性に復帰した症例のうち1例は菌陰性化し、陰転した1例は肺 AM 症の悪化により死亡した。また治療開始時ツ反応陰性であつた5例中4例は菌陰性化したが、そのうち3例はツ反応が陽性に復帰していた。したがつてツ反応が陽性に復帰する症例は菌陰性化し、ツ反応の陰転する症例は予後が悪いという傾向がみられた。治療開始時ツ反応陽性であつた症例ではツ反応の陰性化した症例はなく、また悪化例もなかつた。

ツ反応の成績別に平均年齢ならびに肺結核症の既往の有無をみると、ツ反応陽性12例の平均年齢53.5歳で、肺結核の既往をもつものは5例であつた。偽陽性4例の平均年齢は54.8歳で、肺結核の既往をもつものは3例、陰性5例の平均年齢は66.4歳、肺結核の既往をもつものは1例であつた。

(2) PPD, PHA によるリンパ球の活性化

a) 基礎実験成績

① 添加血清

組織培養液に添加する血清は AB 型 Rh(+) の健康人血清⁷⁾⁸⁾、自己血清⁵⁾などが適当とされているが、AB 型ヒト血清でも個人差が認められたり、結核患者の血清は PPD によるリンパ球の芽球化を抑制するという報告⁹⁾¹⁰⁾がある。そこで本研究では牛胎児血清を使用した。牛胎児血清のロットごとにリンパ球の PPD あるいは PHA による活性化を検討したが検査に供したロット間では差はみられなかつた。

② 添加ツベルクリンの種類と量

本研究に使用した日本 BCG 株式会社の確認診断用 PPD は図1に示したように、3 μg/ml 以上の濃度ではリンパ球の活性化を低下させた。

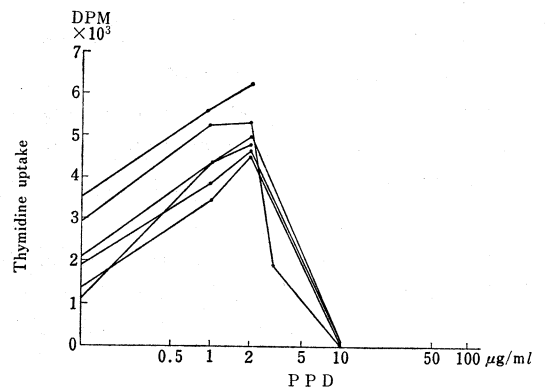


Fig. 1. Dose-response curves of lymphocytes derived from healthy donors, exposed to PPD-tuberculin (Nihon-BCG-Co.).

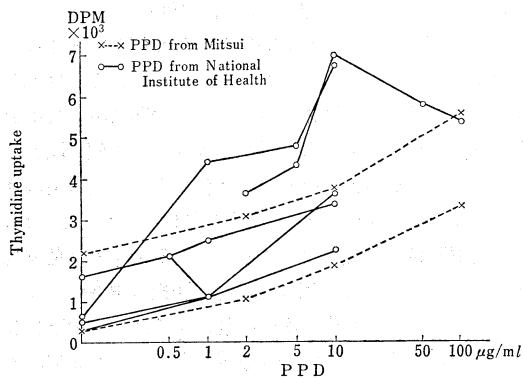


Fig. 2. Dose-response curves of lymphocytes derived from healthy donors, exposed to PPD-tuberculin (Mitui pharm. Co. and National Institute of Health).

Table 6. Thymidine Uptake of Unstimulated Lymphocytes from Healthy Donors, Atypical Mycobacteriosis Patients and Tuberculous Patients

Healthy donors	2,173 ± 1,024 (I. S. D)
Atypical mycobacteriosis patients	985 ± 1,486 (I. S. D)
Tuberculous patients	1,528 ± 747 (I. S. D)

次に国立予防衛生研究所、徳永博士より恵与された PPD と、三井製薬の試製剤の PPD でその反応をみると図2のごとく、前者は 10 µg/ml の濃度まで、後者は 100 µg/ml まで容量反応的にサイミジンの取り込みが増加した。この成績の差異は日本 BCG 株式会社の PPD は乳糖を添加物として含むとされており、後の2者は添加物を含まないことによるものであらうと思われた。ただ PPD 2 µg/ml の濃度ではこれら3者の間に差はなかつたので、本研究には日本 BCG 株式会社の PPD 2 µg/ml の濃度で使用した。

③ viability test

リンパ球の数は培養前に比して PPD 添加群では 94% とやや減少していた。PHA 添加群は細胞の凝集化を示すため測定不可能であつた。viability については培養前はほぼ 100% であつたものが 80~95% と減少していた。

b) 肺 AM 症患者, 肺結核症患者, 健康人のリンパ球の PPD および PHA による活性化

ツ反応陽性健康人10例, 肺 AM 症11例, 肺結核症13例における, PPD や PHA で刺激しないときのリンパ球の ¹⁴C-サイミジン取り込み量についてみると, 表6に示したごとく, 注目すべきこととして, 肺 AM 症では健康人や肺結核症患者に比し明らかに低値を示した。そこで本研究では, PPD や PHA によるリンパ球の活性化を, PPD あるいは PHA 添加時の ¹⁴C-サイミジン

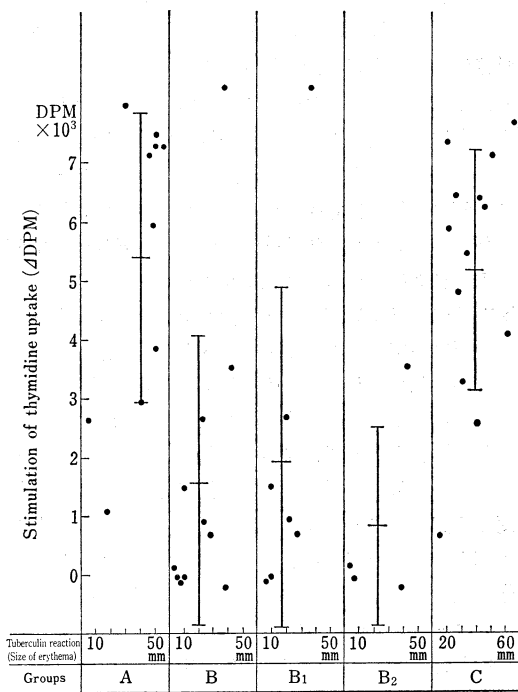


Fig. 3. Thymidine uptake of lymphocytes stimulated with PPD.

A : Healthy donors. B : Atypical mycobacteriosis patients. C : Tuberculous patients.

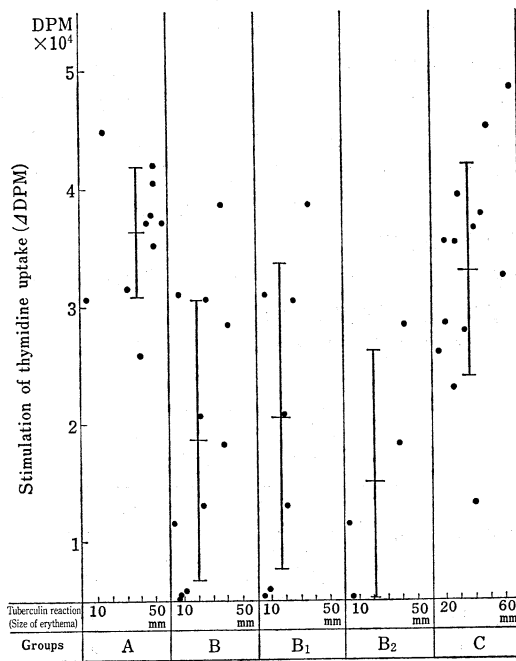


Fig. 4. Thymidine uptake of lymphocytes stimulated with PHA.

A : Healthy donors. B : Atypical mycobacteriosis patients. C : Tuberculous patients.

の取り込み量から非添加時の¹⁴C-サイミジンの取り込み量を差し引いた値(ΔDPM)にて示した。

PPD, PHA によるリンパ球の活性化を, ツ反応陽性健康人(A群), 肺AM症患者(B群), 肺結核患者(C群)について, ツ反応の長径別に比較検討した成績を図3(PPD添加群), 図4(PHA添加群)に示した。B群は呼吸器疾患の合併症および既往症を有するもの7例(B₁群)と有さないもの4例(B₂群)に分け検討した。

PPD 刺激によるリンパ球の活性化(ΔDPM)はA群 5,377±2,487(I.S.D.) DPM, B群 1,565±2,541 DPM (B₁群 1,980±2,894 DPM, B₂群 828±1,702 DPM), C群 5,231±2,070 DPM であり, PHA 刺激によるΔDPMはA群 36,197±5,658 DPM, B群 18,617±12,276 DPM (B₁群 20,680±13,233 DPM, B₂群 15,007±11,170 DPM), C群 33,081±9,385 DPM であつた。肺結核患者(C群)ではツ反応陽性健康人(A群)に比して PPD, PHA のいずれの刺激によつてもリンパ球のΔDPMに明らかな差を示さなかつたが, 肺AM症患者(B群)では健康人に比し, いずれの刺激によつてもリン

パ球のΔDPMは有意に(PPD添加群 $p < 0.01$, PHA添加群 $p < 0.005$) 低値であつた。また肺AM症患者と肺結核患者との比較では両群における年齢分布やX線病型を完全にマッチさせることはできなかつたが, 肺AM症患者は肺結核患者に比して, PPD, PHAによるリンパ球の活性化(ΔDPM)は有意に(PPD添加群 $p < 0.005$, PHA添加群 $p < 0.01$) 低値の成績を示した。ツ反応の成績は両群とも幅広く分布していたが, 特に PPD 添加群において, リンパ球の活性化(ΔDPM)をみると肺AM症では 3×10^3 DPM 以下の症例が 11 例中 9 例であつたのに対し, 肺結核症では 13 例中 2 例にすぎなかつた。肺AM症については, 呼吸器疾患の合併症, 既往症の有無によつて 2 群に分けて検討したが, この 2 群間では有意の差はみられなかつた。

次いで有空洞, 菌陽性の nonphotochromogen 症 2 例(D群)と性, 年齢ならびに極めて類似の胸部X線所見を有する肺結核症 4 例(E群)と比較した。図5, 6のごとくD群 2 例のリンパ球の¹⁴C-サイミジンの取り込み量増加(ΔDPM)は PPD 刺激では 1,478 DPM と

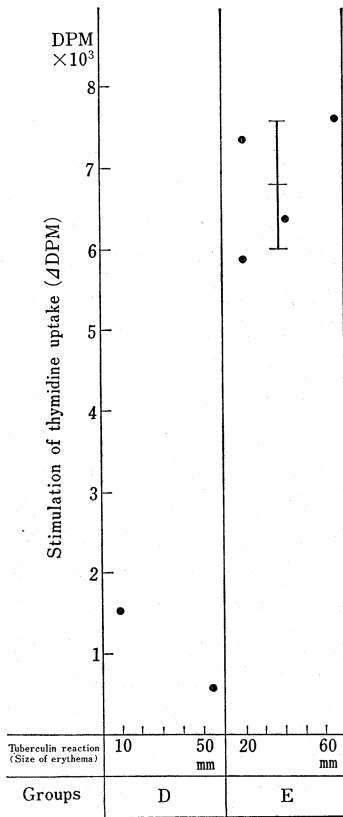


Fig. 5. Thymidine uptake of lymphocytes stimulated with PPD.
D: Nonphotochromogenic mycobacteriosis with cavity.
E: Tuberculosis with cavity.

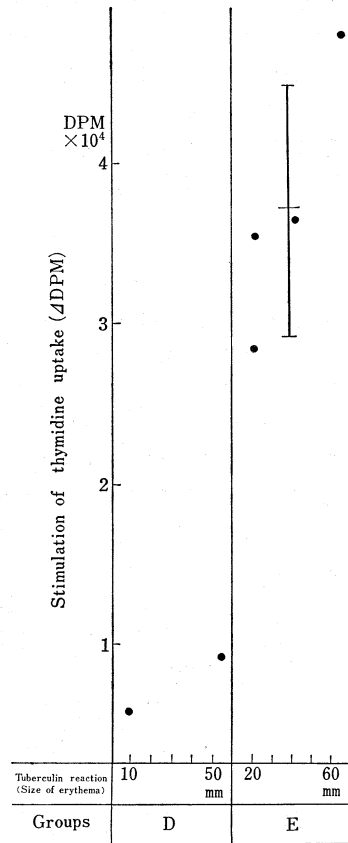


Fig. 6. Thymidine uptake of lymphocytes stimulated with PHA.
D: Nonphotochromogenic mycobacteriosis with cavity.
E: Tuberculosis with cavity.

Table 7. Changes of Cell-mediated Immunity, as Determined by PPD-Skin Test and Lymphocyte Proliferative Responses to PPD and PHA, and Results of Bacteriological Examinations of Sputum during the Course of Atypical Mycobacteriosis

Case	A. F. B. in sputum					
	Positive			Converted to negative		
	Cell-mediated immunity					
	Tuberculin test	Δ DPM to PPD	Δ DPM to PHA	Tuberculin test	Δ DPM to PPD	Δ DPM to PHA
22. ■■■■	(-)	-68	1,930	(+)	1,297	30,558
23. ■■■■	(±)	-58	31,056	(+)	2,028	40,940
	Positive			Not converted negative		
12. ■■■■	(±)	1,478	5,771	(+)	2,293	36,685
13. ■■■■	(±)	-92	5,041	(+)	454	6,728

579 DPM, PHA 刺激では 5,771 DPM と 9,087 DPM であつたが、E群の平均は PPD 刺激では 6,825±816 DPM, PHA 刺激では 37,243±8,318 DPM であり、D群はE群に比し著しく低値を示した。

経過を追つて検索しえた肺 AM 症は 4 例でその成績を表 7 に示した。AM が陰性化し、ツ反応も陽性に復帰した 2 例はおのおの 5~12 カ月後に PPD および PHA によるリンパ球の活性化も著明に上昇していたが、菌陽性の続く 2 例ではおのおの 7~12 カ月後の再検においても菌陰性例のような活性化の著明な上昇はみられなかつた。

考 察

諸家の報告によると肺 AM 症は中高年の男性に多いとされていたが^{2)3)11)~15)}、本報告では性別に差はなく、近年の肺結核患者の老齢化という点からもこれが本症の特徴とはいひがたいと思われた。合併症、既往症について、従来の報告では肺結核症の他に肺線維症、塵肺、気管支拡張症、肺気腫などがあげられていたが³⁾¹¹⁾¹⁴⁾¹⁵⁾、本報告においては肺結核症の既往を有するか、その治療中のものが 50% を占めたほかは慢性気管支炎と Bulla をおのおの 1 例認めた。いずれにしてもこれら呼吸器疾患の合併および既往症は気道浄化作用の低下や閉塞性換気障害等をもたらす、本症の発症導入の役割を果たしていることは十分に推測でき、諸家からも「局所的抵抗減弱」として本症の発症要因の 1 つとして指摘されていた^{3)14)~16)}。

肺 AM 症の症状で特に注目したいのは初発症状の頻度が肺結核症のそれに比して高かつたことである。すなわち年齢、病型をマッチさせた肺 AM 症と肺結核症における初発症状の有無の比較で、前者では 26 例中 2 例のみに自覚症状がなかつたのに対し、後者では 21 例中 6 例

に自覚症状を認めなかつた。この肺結核症における成績は昭和 47 年新潟県の新登録患者における調査での排菌陽性患者のうち何らかの初発症状をうつつたえいたのは 70~80% であつたという結果と一致している。肺 AM 症の症状は一般に穏和であるというのが従来の報告である³⁾¹¹⁾ が、今回の集計成績では 92.3% と高率に自覚症状を有した。弱毒である AM による本症がなぜにこのような結果を来したかについては今後、更に検討の余地があると考えられる。

経過および予後は photochromogen 症、scotochromogen 症は症例は少ないが全例 3 カ月以内に菌陰性化を認めたのに対し、nonphotochromogen 症では 21 例中 11 例で菌陽性が続き、2 例が手術をうけ、2 例が死亡した。この菌種別の経過、予後の成績は従来の報告と一致するが^{3)11)13)~15)18)}、nonphotochromogens は抗結核剤に対し感受性が低いことや、nonphotochromogen 症では呼吸器疾患あるいは全身性疾患の合併、呼吸器疾患の既往をもつものが多いことによると考えられる。26 例中死亡は 3 例であるが 2 例は本症増悪による呼吸不全によるもので、1 例は肺癌にて死亡した。

AM より作製されたツベルクリンによる皮内反応では、PPD による皮内反応の直径に比して大きい値を示した症例は 1 例もみられず、AM のツベルクリンによる皮内反応は本症の診断には役立たぬように思われた。この点に関しては American Lung Association 発行の「結核および他の抗酸菌症の診断基準と分類」の中にも同様の結果が述べられているが¹⁹⁾、東村の成績²⁰⁾とは異なつていた。今後、より特異性の強い、力価の高い PPD の開発が必要と考える。

肺 AM 症の発症要因としては「局所的抵抗減弱」がその 1 つとしてあげられ、この点に関しては臨床疫学的にも証明されており、本報告の対象症例でも呼吸器疾患

の合併症、既往症を有するものが半数以上を占めていた。しかし肺 AM 症の発症要因として「局所的抵抗減弱」だけでは十分に説明できないと考えられ、Chapman²⁾、山本ら³¹⁾、東村ら¹³⁾¹⁴⁾はその論文の中で糖尿病、肝炎、ステロイドホルモン大量使用などによる「全身的抵抗力の減弱」をあげている。しかし本症における免疫状態の面から検討した論文は極めて少なく、1966年、Mc Farlandら²²⁾、1970年、Chaparasら²³⁾が、リンパ球の芽球化が AM のツベルクリンによつて起こることを報告、また1967年、Wallace らが nonphotochromogen 症患者のリンパ球の PHA による芽球化率について検討し、健康人に比して低い値を示したと述べている論文²⁴⁾がみられるにすぎない。そこで著者は本症の免疫状態を知る手がかりとして、一般的な細胞性免疫の指標とされている PPD によるツ反応と患者リンパ球の PPD, PHA による活性化について検討した。

その結果、肺 AM 症患者ではツ反応陽性健康人に比して細胞性免疫が有意に低下していることを認めた。本症発症時のツ反応の成績は表5に示したが、陰性、偽陽性を示した症例では本症軽快後全例にツ反応が陽性に復帰していた。この結果より AM 症の発症、増悪は細胞性免疫が低下している時期に起きる可能性も推測された。本症発症時ツ反応陽性の症例では年齢も若く結核の既往をもつものが多かつたが、ツ反応が陰性化した症例はみられず、悪化例もなかつた。

PPD の皮内反応は結核の感作をうけた個体であつても老化や皮膚局所の条件により反応しないこともある。また重症の結核患者ではツ反応が陰転することが知られているが、このような状態の際にも PPD を抗原とするリンパ球の芽球化は認められたという報告²⁵⁾や、上記のような重症患者が軽快に向かう経過中、ツ反応の陽性復帰に先だつて PPD によるリンパ球の芽球化率の上昇が認められたという報告²⁶⁾がみられる。そこで、肺 AM 症患者のリンパ球の PPD や PHA による活性化によつて本症の一般的な細胞性免疫状態を検討した。本症において非刺激時のリンパ球の¹⁴C-サイミジンの取り込み量は対照とした健康人および結核患者の2群に比して明らかに低値を示したが、これは今回検索はしてないが疾患により末梢血中のリンパ球の基礎的な活性が低下している可能性と、リンパ球集団の組成が異なつてくる可能性が考えられ、今後検討すべき課題である。

肺 AM 症患者のツ反応は、図3のごとく健康人、肺結核患者などの対照例と同様に幅広く分布していたが、PPD によるリンパ球の活性化は対照例に比して有意に低値であつた。また非特異的にリンパ球の活性化を起こすとされている PHA を添加した際のリンパ球の活性化も図4のごとく PPD 刺激の際と同様、著しい低値を示していた。これは、前述のように AM 症患者リンパ球

の非刺激時のリンパ球活性が低いためとも考えられるが、しかし、このことを考慮に入れても排菌している時期から菌陰性化を来すまで観察しえた nonphotochromogen 症患者のリンパ球の活性化は経過とともに上昇していたことと考えあわせると、肺 AM 症の発症要因としては「局所的抵抗減弱」のみでなく、PPD や PHA に対する末梢血リンパ球の反応性を AM 症における全般的な細胞性免疫の指標と考えれば、全身の細胞性免疫の低下もその一因であることが強く示唆される。なお「局所的抵抗減弱」すなわち呼吸器疾患を合併、既往症にもつ症例と、もたない症例に分けて PPD, PHA によるリンパ球の活性化を比較検討したが、両群の間に有意の差はみられなかつた。

PPD による皮内反応と PPD を抗原とするリンパ球の活性化との関連については、相関があるという報告⁷⁾²⁷⁾、肺結核症を含めた呼吸器疾患患者において、ツ反応硬結が 20 mm 以下では両者は相関を示す ($r=0.55$) という報告⁸⁾、また対象が健康人、胸部疾患患者では、ツ反応陰性者で添加抗原濃度が高いとリンパ球は反応し、低いと反応しないという報告²⁸⁾、その他種々の報告²²⁾²⁹⁾³⁰⁾がみられる。しかしいづれも両者の関係について明解な結果が得られていない。著者の成績では両者の相関係数 r はツ反応陽性健康人 (21例) では 0.57 ($p<0.01$)、肺結核症 (13例) では 0.43 ($p<0.1$)、肺 AM 症 (11例) では 0.81 ($p<0.05$)、これら全例 (45例) では 0.68 ($p<0.01$) であつた。肺結核症において PPD による皮内反応とリンパ球の活性化との相関係数が 0.43 という結果を得たのは症例の年齢、病型などがさまざまであつたこと、症例が少なかつたことによると思われ、今後症例を加えて検討する必要があると考えられる。

初診時ツ反応が陰性であつた5例中4例は菌陰性化し、そのうち3例はツ反応が陽性に復帰しており、初診時、偽陽性で経過中陰転した1例は本症悪化により死亡した。また症状の改善とともにツ反応も偽陽性から陽性に復帰しており、PPD, PHA の両者によるリンパ球の活性化も上昇していた。このことは肺 AM 症患者の細胞性免疫状態を検討することにより本症の予後を予測しえることを示唆するものと考えた。

結 語

最近10年間に慶応義塾大学病院を受診した肺 AM 症 26例を臨床的に検討し、これらの症例の一部については PPD によるツ反応、PPD, PHA によるリンパ球の活性化 (サイミジン取り込み増加) を測定して次の結果が得られた。

(1) 慶応義塾大学病院における過去 10年間の肺 AM 症の患者26例の臨床統計的観察では、年齢、病型、菌種についてはわが国で報告されている成績と大差はなかつ

たが、発症時の自覚症状の頻度、程度が肺結核症に比して高率である傾向がみられた。

(2) 肺 AM 症患者では健康人および肺結核患者に比して、PPD, PHA によるリンパ球の活性化がいずれも明らかに低下していた。なお AM 症患者の非刺激時のリンパ球のサイミジン取り込みが著しく低いことも注目された。

(3) 肺 AM 症患者においては、PPD によるツ反応およびリンパ球の活性化の改善が臨床経過の改善と平行すると考えられ、これらの経時的な測定は本症の予後の予測を可能とすることが推測された。

稿を終るにあたり本研究の指導および論文の校閲を賜った、五味二郎客員教授、青柳昭雄助教授に深謝いたします。またご協力いただいた教室各位に感謝いたします。

文 献

- 1) 山本正彦他：第9回非定型抗酸菌症研究協議会，東京，1977.
- 2) 山本正彦他：結核，47：365，1972.
- 3) 山本正彦：非定型抗酸菌症，金原出版，東京，1975.
- 4) 辻公美：免疫実験操作法A，日本免疫学会編，p. 443，1975.
- 5) Bloom and Gladl: *In vitro* methods in cell-mediated immunity, Academic Press, New York, p. 455, 1971.
- 6) Runyon, E.H.: Med. Clin. N. Amer., 43：273，1959.
- 7) Hinz, C.F. et al.: Int. Arch. Allergy, 38：119，1970.
- 8) Nilsson, B.S.: Scand. J. Resp. Dis., 52：39, 1971.
- 9) Heilman, D.H. et al.: Int. Arch. Allergy, 30：58，1966.
- 10) Richard, A.G.: Lancet, 1：1351, 1971.
- 11) 山本正彦：結核，50：611，1975.
- 12) 東村道雄：日胸，32：23，1973.
- 13) 東村道雄他：結核，49：139，1974.
- 14) 東村道雄他：結核，51：41，1976.
- 15) 久世文幸他：日胸，34：11，1975.
- 16) 東村道雄他：結核，49：157，1974.
- 17) 山口智道：新結核病学概論，島尾忠男編集，結核予防会，東京，p. 139，1975.
- 18) 岡本亨吉：結核，49：101，1974.
- 19) 青木正和他(訳)：結核および他の抗酸菌症の診断基準と分類，結核予防会，東京，p. 26，1974.
- 20) 東村道雄他：結核，51：67，1976.
- 21) Chapman, J.S.: Arch. Environ. Health, 22：41，1971.
- 22) Mc Farland, W. et al.: Am. Rev. Resp. Dis., 93：742，1965.
- 23) Chaparas, S.D. et al.: Am. Rev. Resp. Dis., 101：67，1970.
- 24) Thomas, J.W. et al.: Canad. Med. Ass. J., 97：836，1967.
- 25) Waxman, J. et al.: Am. Rev. Resp. Dis., 107：661，1973.
- 26) Smith, J.A. et al.: Am. Rev. Resp. Dis., 106：194，1972.
- 27) Kerby, G.R.: Am. Rev. Resp. Dis., 97：904，1968.
- 28) Nilsson, B.S.: Cellular, Immunology, 3：493，1972.
- 29) Gump, D.W.: Am. Rev. Resp. Dis., 95：470，1967.
- 30) Matsaniotis, N. et al.: J. Pediat., 72：599，1968.