

原 著

肺結核患者における T および B リンパ球の acid phosphatase  
および  $\beta$ -glucuronidase 活性

青 木 一・高 田 勝 利・杉 浦 孝 彦  
森 下 宗 彦・鳥 井 義 夫・市 村 貴 美 子  
伊 奈 康 孝・山 本 正 彦

名古屋市立大学第2内科

磯 江 驥 一 郎 ・ 井 上 赴 夫

国立療養所中部病院

受付 昭和 56 年 4 月 9 日

ACID PHOSPHATASE AND  $\beta$ -GLUCURONIDASE ACTIVITIES OF T AND B  
LYMPHOCYTES IN PATIENTS WITH PULMONARY TUBERCULOSIS

Hajime AOKI\*, Katsutoshi TAKADA, Takahiko SUGIURA, Munehiko MORISHITA,  
Yoshio TORII, Kimiko ICHIMURA, Yasutaka INA, Masahiko YAMAMOTO,  
Kiichiro ISOE and Takeo INOUE

(Received for publication April 9, 1981)

Acid phosphatase and  $\beta$ -glucuronidase activities of T and B cells were studied cytochemically in 30 patients with pulmonary tuberculosis and 28 healthy controls.

The results were as follows:

1. The absolute number of T cells significantly decreased in the cases of F, C and B types according to Gakken classification, and in the F.A. and M.A. cases according to NTA classification as compared to the control subjects. However, it significantly increased in the type D and the Min. cases as compared to the control subjects.
2. The absolute number of B cells tended to increase in the cases of D and B types, whereas it tended to decrease in the type F cases as compared to the control subjects. Although the absolute number of B cells significantly increased in the Min. cases, it tended to decrease in the F.A. cases as compared to the control subjects.
3. Acid phosphatase and  $\beta$ -glucuronidase activities of both T and B cells were significantly higher in the cases of F, B and C types, and in the F.A. and M.A. cases than in the control subjects. In the type D and the Min. cases, only  $\beta$ -glucuronidase activity of B cells was significantly higher than in the control subjects.
4. The two enzyme activities of both T and B cells in the cavitory cases were slightly higher than in the non-cavitory cases, but the difference was not statistically significant.
5. The two enzyme activities of both T and B cells tended to be higher in the bacillary cases than

\* From the 2nd Department of Internal Medicine, Nagoya City University Medical School, Mizuho-ku, Nagoya 467 Japan.

those with negative bacilli, but the difference was not significant.

6. Acid phosphatase activity significantly correlated with  $\beta$ -glucuronidase activity in both T and B cells.

7. Negative correlations were observed between the two enzyme activities and the absolute number of T and B cells.

## 緒 言

近年の免疫学の進歩によりリンパ球はT細胞とB細胞に大別され<sup>1)</sup>、更にそれぞれの細胞の subsets も存在することが知られている<sup>2)-5)</sup>。これらの種々のリンパ球はその免疫学的機能を異にするのみならず、更に細胞内 lysosome 酵素活性にも相違のあることが示され<sup>6)7)</sup>、特に acid phosphatase および  $\beta$ -glucuronidase 活性は白血病や悪性リンパ腫がT細胞系かB細胞系かの鑑別に利用されている<sup>8)9)</sup>。

今回著者らは肺結核症を対象に末梢血リンパ球の sub-population とそれぞれのリンパ球内の acid phosphatase および  $\beta$ -glucuronidase 活性を測定し、肺結核の病勢や免疫機能との関連を検討したので報告する。

## 対象および方法

1. 対象は表1に示すごとく、国療中部病院に入院した肺結核患者30例で、全例男性であり、年齢は21歳より81歳で、平均49.5歳であつた。病型は学研分類ではB型6例、C型17例、D型2例、F型5例であり、NTA分類ではMin. 6例、M. A. 17例、F. A. 7例であつた。また空洞あり群は21例、なし群は9例であり、排菌あり群は10例、なし群は20例であつた。

対照には健康成人28例の成績を用いた。

### 2. TおよびB細胞測定法

リンパ球の分離法: Böyum の方法<sup>10)</sup>に準じ、ヘパリン加末梢血 5 ml を 3 ml の Ficoll-Conray 溶液に静かに重層し、室温で1,550回転30分間遠心した後、リンパ球層を集め、phosphate-buffered saline (PBS) で3回洗浄し以下の実験に使用した。

T細胞測定法: リンパ球 PBS 浮遊液を fetal calf serum (FCS) で  $1 \times 10^6/ml$  の濃度に細胞調整し、その 1 ml に  $2 \times 10^8/ml$  の濃度の neuraminidase 処理ヒツジ赤血球 (E, 日本抗体研究所) 0.2 ml を加え、軽く振盪後、37°C 15分間 incubate した。続いて室温にて 1,000 回転 5分間遠心し、冷蔵庫内に 1時間静置した。その後管底の細胞を静かに再浮遊させ、血球計算盤に 1滴を取り、顕微鏡下に 200個のリンパ球を観察し、4個以上の E と rosette を形成しているリンパ球をT細胞と同定し、百分率で表した<sup>11)</sup>。

B細胞測定法:  $1 \times 10^6/ml$  の濃度に調整したリンパ球 PBS 浮遊液 1 ml に  $1 \times 10^8/ml$  の濃度の抗体・補体結合ウシ赤血球 (EAC, 日本抗体研究所) 0.4 ml を加え、37°C 1時間 incubate 後、室温にて1時間静置した。その後T細胞測定時と同様の操作を行ない、4個以上の EAC と rosette を形成しているリンパ球をB細胞と同定し、百分率を算出した。

Rosette 観察時におけるリンパ球の trypan blue 染色法による viability は99%以上であつた。

### 3. 染色法

乾燥塗抹標本作製: TおよびB細胞の浮遊液を 1,500 回転 5分間遠心し、上清を捨てた後、沈渣部を軽く混和し、1滴をスライドガラスの上に取り、等量の FCS を

Table 1. Materials

	n
Pulmonary tuberculosis	30
Age	
20—29	5
30—39	4
40—49	7
50—59	5
60—69	3
70—	6
Gakken classification	
B	6
C	17
D	2
F	5
NTA classification	
Min.	6
M.A.	17
F.A.	7
Cavities	
(+)	21
(-)	9
Tubercle bacilli	
(+)	10
(-)	20
Healthy controls	28

n: Number of cases.

加えて両者を混和後、直ちに塗抹標本を作製し乾燥させた。

Acid phosphatase 染色：江頭の方法<sup>12)</sup>に準じて行なつた。すなわち塗抹標本を pH 4.2, 0.03 M クエン酸緩衝液・60%アセトン溶液中で5~10秒固定し、十分水洗、乾燥させた。次に pH 5.2, 0.1 M 酢酸緩衝液 20 ml に基質として naphthol AS-BI phosphoric acid (Sigma 社) 3 mg, およびジアゾニウム塩として fast red violet LB (Sigma 社) 6 mg, および N.N.-dimethylformamide 0.06 ml を含む反応液約 2 ml を塗抹標本に載せ、湿潤箱中で37°C 2時間反応させた後、水洗乾燥させた。最後に Mayer のヘマトキシリン液で20分間後染色を行ない、温水で洗浄し、乾燥させた。

$\beta$ -glucuronidase 染色：朝長らの方法<sup>13)</sup>に準じて行なつた。固定は acid phosphatase 染色と同様の操作で行なつた。次に基質 naphthol AS-BI glucuronide (Sigma 社) 28 mg を 0.05 M 重炭酸ナトリウム溶液 1.2 ml に溶解した後、pH 5.0, 0.2 M 酢酸緩衝液を加え、全量 100 ml とした基質保存液をあらかじめ作製しておき、その 5 ml に蒸留水 15 ml および fast red violet LB 20 mg を加えた反応液約 2 ml を標本上に載せ、湿潤箱中で37°C 3時間反応させた。その後 acid phosphatase 染色と同様にヘマトキシリンで後染色を行なつた。

酵素活性の判定：江頭の基準<sup>12)</sup>に準じて行なつた。す

なわち陽性顆粒の大きさと数より 0 型から 4 型に分類した。0 型は陽性顆粒を認めないもの、1 型は小顆粒が 5 個以内、または局所的なびまん性染色を示すもの、2 型は 6 から 15 個の小顆粒、またはブロック状の顆粒を認めるもの、3 型は 16 から 30 個の小顆粒、または 2 から 3 個のブロック状の顆粒を認めるもの、4 型は 3 型より多い染色顆粒を認めるものとした。100 個の rosette 形成リンパ球を観察し、陽性度とそれぞれの陽性度を示す細胞数とを乗じた総和で陽性指数 (score) を算出し、酵素活性を表した。

## 結 果

### 1. T細胞比率と実数

肺結核患者の T 細胞比率は表 2 に示すごとく平均 59.6 ± 8.7% であり、対照の値平均 60.3 ± 5.1% と差を認めなかつた。学研分類では B 型 60.8 ± 6.6%, C 型 56.9 ± 8.4%, D 型 66.0 ± 5.7%, F 型 64.6 ± 10.8% であり、いずれも対照と有意差を認めなかつた。NTA 分類では Min. 61.5 ± 6.6%, M.A. 57.4 ± 8.9%, F.A. 63.3 ± 9.1% であり、いずれも対照と差を認めなかつた。空洞あり群の T 細胞比率は 60.1 ± 9.4% であり、なし群は 58.3 ± 7.1% であり、両群に殆んど差を認めなかつた。また排菌あり群では 62.1 ± 7.1% であり、なし群の 58.3 ± 9.3% と殆んど差を認めなかつた。

Table 2. Subpopulation of Peripheral Blood Lymphocytes

	n	T cell		B cell	
		%	Absolute number /mm <sup>3</sup>	%	Absolute number /mm <sup>3</sup>
Healthy controls	28	60.3 ± 5.1	1,417 ± 120	28.2 ± 8.5	663 ± 200
Pulmonary tuberculosis	30	59.6 ± 8.7	1,064 ± 509**	36.8 ± 7.0**	670 ± 342
Gakken classification					
B	6	60.8 ± 6.6	1,240 ± 636	34.5 ± 6.7	785 ± 302
C	17	56.9 ± 8.4	1,018 ± 534**	38.0 ± 7.3**	676 ± 370
D	2	66.0 ± 5.7	1,630 ± 134*	34.5 ± 13.4	853 ± 334
F	5	64.6 ± 10.8	827 ± 272**	36.6 ± 4.7*	476 ± 177
NTA classification					
Min.	6	61.5 ± 6.6	1,625 ± 464*	34.2 ± 10.9	943 ± 479*
M.A.	17	57.4 ± 8.9	983 ± 431**	37.6 ± 6.4**	656 ± 274
F.A.	7	63.3 ± 9.1	837 ± 301**	37.3 ± 4.2*	497 ± 188
Cavities					
(+)	21	60.1 ± 9.4	986 ± 402**	36.6 ± 4.9**	621 ± 269
(-)	9	58.3 ± 7.1	1,291 ± 625	37.4 ± 10.7*	806 ± 440
Tubercle bacilli					
(+)	10	62.1 ± 7.1	873 ± 459**	34.8 ± 4.8*	494 ± 283*
(-)	20	58.3 ± 9.3	1,180 ± 482*	37.9 ± 7.7**	768 ± 324

The results are expressed as the mean value ± standard deviation (S.D.).

\*:  $p < 0.05$ , \*\*:  $p < 0.001$

Table 3. Acid Phosphatase and  $\beta$ -Glucuronidase Activities of T and B Cells

	n	T cell		B cell	
		Acid phosphatase	$\beta$ -Glucuronidase	Acid phosphatase	$\beta$ -Glucuronidase
Healthy controls	28	183.1 $\pm$ 32.5	196.4 $\pm$ 26.2	153.4 $\pm$ 28.4	163.4 $\pm$ 26.8
Pulmonary tuberculosis	30	226.3 $\pm$ 32.4***	231.4 $\pm$ 31.6***	195.6 $\pm$ 34.9***	220.5 $\pm$ 28.2***
Gakken classification					
B	6	229.0 $\pm$ 15.0**	241.0 $\pm$ 27.3***	212.0 $\pm$ 24.8***	234.3 $\pm$ 8.5***
C	17	226.8 $\pm$ 32.6***	233.0 $\pm$ 30.6***	186.1 $\pm$ 36.1**	212.9 $\pm$ 28.4***
D	2	161.0 $\pm$ 12.7	171.0 $\pm$ 9.9	163.0 $\pm$ 26.9	205.0 $\pm$ 1.4*
F	5	247.6 $\pm$ 18.1***	238.4 $\pm$ 22.9**	221.1 $\pm$ 23.6***	235.6 $\pm$ 38.9**
NTA classification					
Min.	6	197.7 $\pm$ 42.1	208.3 $\pm$ 38.1	171.7 $\pm$ 39.5	197.3 $\pm$ 22.5**
M.A.	17	229.3 $\pm$ 28.3***	239.1 $\pm$ 29.3***	194.1 $\pm$ 33.2***	223.6 $\pm$ 23.6***
F.A.	7	243.7 $\pm$ 16.2***	232.3 $\pm$ 25.2**	219.7 $\pm$ 19.9***	232.6 $\pm$ 34.8***
Cavities					
(+)	21	229.2 $\pm$ 22.6***	232.8 $\pm$ 25.8**	199.5 $\pm$ 32.1***	224.1 $\pm$ 27.0***
(-)	9	219.6 $\pm$ 49.6*	228.0 $\pm$ 44.1*	186.4 $\pm$ 41.5*	212.0 $\pm$ 30.7***
Tubercle bacilli					
(+)	10	237.0 $\pm$ 20.5***	237.0 $\pm$ 23.5***	201.1 $\pm$ 35.8***	232.6 $\pm$ 22.9***
(-)	20	221.0 $\pm$ 36.3***	228.5 $\pm$ 35.4***	192.8 $\pm$ 35.1***	214.4 $\pm$ 29.1***

The results are expressed as the mean enzyme activity (score per 100 lymphocytes)  $\pm$  S.D.

\*:  $p < 0.05$ , \*\*:  $p < 0.01$ , \*\*\*:  $p < 0.001$ , as compared to the control values.

T細胞実数は肺結核患者では平均  $1,064 \pm 509/\text{mm}^3$  であり、対照のT細胞数  $1,417 \pm 120/\text{mm}^3$  に比し有意に ( $p < 0.001$ ) 減少を示した。学研分類ではB型で  $1,240 \pm 636/\text{mm}^3$  と対照より減少する傾向を示し、C型  $1,018 \pm 534/\text{mm}^3$ 、F型  $827 \pm 272/\text{mm}^3$  で対照と比し有意に ( $p < 0.001$ ) 減少を示し、F型でより著明であつたが、D型は  $1,630 \pm 134/\text{mm}^3$  であり、対照と比し有意に ( $p < 0.05$ ) 増加を示した。NTA分類 Min. では  $1,625 \pm 464/\text{mm}^3$  であり、対照と比し有意に ( $p < 0.05$ ) 増加を示したが、M.A.  $983 \pm 431/\text{mm}^3$  および F.A.  $837 \pm 301/\text{mm}^3$  では対照と比し有意に ( $p < 0.001$ ) 減少を示し、F.A. でより著明であつた。空洞あり群では  $986 \pm 402/\text{mm}^3$  であり、なし群の  $1,291 \pm 625/\text{mm}^3$  と比しT細胞数が減少する傾向を示した。排菌あり群では  $873 \pm 459/\text{mm}^3$  であり、なし群の  $1,180 \pm 482/\text{mm}^3$  と比し減少する傾向を示した。

## 2. B細胞比率と実数

肺結核患者のB細胞比率は表2に示すごとく平均36.8  $\pm$  7.0%であり、対照の28.2  $\pm$  8.5%と比し有意に ( $p < 0.001$ ) 増加していた。B型34.5  $\pm$  6.7%、D型34.5  $\pm$  13.4%では対照より増加の傾向を示し、C型38.0  $\pm$  7.3%、F型36.6  $\pm$  4.7%では対照と比し有意に (C型  $p < 0.001$ , F型  $p < 0.05$ ) B細胞比率の増加を認めた。Min. では34.2  $\pm$  10.9%であり、対照より増加の傾向を

示し、M.A. 37.6  $\pm$  6.4%、F.A. 37.3  $\pm$  4.2%では対照と比し有意に (M.A.  $p < 0.001$ , F.A.  $p < 0.05$ ) 増加を示した。空洞あり群のB細胞比率は36.6  $\pm$  4.9%であり、なし群は37.4  $\pm$  10.7%であり、両群に殆んど差を認めなかつた。また排菌あり群は34.8  $\pm$  4.8%であり、なし群の37.9  $\pm$  7.7%と比し有意差を認めなかつた。

B細胞実数は肺結核患者では  $670 \pm 342/\text{mm}^3$  であり、対照の  $663 \pm 200/\text{mm}^3$  と比し差を認めなかつた。B型では  $785 \pm 302/\text{mm}^3$ 、D型では  $853 \pm 334/\text{mm}^3$  であり、ともに対照と比し増加の傾向を示したが、C型では  $676 \pm 370/\text{mm}^3$  であり、対照と差を認めず、一方F型では  $476 \pm 177/\text{mm}^3$  であり、対照と比しむしろB細胞数は減少する傾向を示した。Min. では  $943 \pm 479/\text{mm}^3$  であり、対照と比し有意に ( $p < 0.05$ ) 増加を示したが、M.A. では  $656 \pm 274/\text{mm}^3$  であり、対照と差を認めず、一方F.A. では  $497 \pm 188/\text{mm}^3$  であり、対照より減少する傾向を示した。空洞あり群のB細胞数は  $621 \pm 269/\text{mm}^3$  であり、なし群の  $806 \pm 440/\text{mm}^3$  と比し減少の傾向を示した。排菌あり群では  $494 \pm 283/\text{mm}^3$  であり、なし群の  $768 \pm 324/\text{mm}^3$  と比しB細胞数は有意に ( $p < 0.05$ ) 減少を示した。

## 3. T細胞の酵素活性

肺結核患者のT細胞内 acid phosphatase および  $\beta$ -glucuronidase 活性の陽性指数は表3に示すごとくであ

り、それぞれ平均  $226.3 \pm 32.4$  および  $231.4 \pm 31.6$  であり、対照の両酵素活性  $183.1 \pm 32.5$  および  $196.4 \pm 26.2$  と比しいずれも有意に ( $p < 0.001$ ) 高値を示した。学研分類との関連を検討すると、T細胞の acid phosphatase および  $\beta$ -glucuronidase 活性はそれぞれB型では  $229.0 \pm 15.0$  および  $241.0 \pm 27.3$ 、C型では  $226.8 \pm 32.6$  および  $233.0 \pm 30.6$ 、D型では  $161.0 \pm 12.7$  および  $171.0 \pm 9.9$ 、F型では  $247.6 \pm 18.1$  および  $238.4 \pm 22.9$  であり、B型 (acid phosphatase 活性は  $p < 0.01$ ,  $\beta$ -glucuronidase 活性は  $p < 0.001$ )、C型 (ともに  $p < 0.001$ )、F型 (それぞれ  $p < 0.001$ ,  $p < 0.01$ ) において対照と比し有意に高値を示したが、D型では正常範囲にあつた。NTA 分類ではT細胞の両酵素活性はそれぞれ Min. では  $197.7 \pm 42.1$  および  $208.3 \pm 38.1$ 、M.A. では  $229.3 \pm 28.3$  および  $239.1 \pm 29.3$ 、F.A. では  $243.7 \pm 16.2$  および  $232.3 \pm 25.2$  であり、M.A. (両酵素活性ともに  $p < 0.001$ )、F.A. ( $p < 0.001$ ,  $p < 0.01$ ) において対照と比し有意に高値を示したが、Min. では正常範囲にあつた。空洞あり群のT細胞の両酵素活性はそれぞれ  $229.2 \pm 22.6$  および  $232.8 \pm 25.8$  であり、空洞なし群では  $219.6 \pm 49.6$  および  $228.0 \pm 44.1$  であり、両群の酵素活性に有意差を認めなかつた。また排菌あり群では  $237.0 \pm 20.5$  および  $237.0 \pm 23.5$  であり、排菌なし群では  $221.0 \pm 36.3$  および  $228.5 \pm 35.4$  であり、両群に有意差を認めなかつた。

#### 4. B細胞の酵素活性

肺結核患者B細胞内 acid phosphatase および  $\beta$ -glucuronidase 活性は表3に示すごとくそれぞれ平均  $195.6 \pm 34.9$  および  $220.5 \pm 28.2$  であり、対照では  $153.4 \pm 28.4$  および  $163.4 \pm 26.8$  であり、両酵素活性ともに肺結核患者で有意に ( $p < 0.001$ ) 高値を示した。学研分類との関係では、B細胞の acid phosphatase および  $\beta$ -glucuronidase 活性はB型では  $212.0 \pm 24.8$  および  $234.3 \pm 8.5$ 、C型では  $186.1 \pm 36.1$  および  $212.9 \pm 28.4$ 、D型では  $163.0 \pm 26.9$  および  $205.0 \pm 1.4$ 、F型では  $221.1 \pm 23.6$  および  $235.6 \pm 38.9$  であり、両酵素活性はB型 (両酵素活性ともに  $p < 0.001$ )、C型 (それぞれ  $p < 0.01$ ,  $p < 0.001$ )、F型 ( $p < 0.001$ ,  $p < 0.01$ ) において対照と比し高値を示し、D型では  $\beta$ -glucuronidase 活性は対照より有意に ( $p < 0.05$ ) 高値を示したが、acid phosphatase 活性は対照と有意差を認めなかつた。NTA 分類との関係では、B細胞の両酵素活性はそれぞれ Min. では  $171.7 \pm 39.5$  および  $197.3 \pm 22.5$ 、M.A. では  $194.1 \pm 33.2$  および  $223.6 \pm 23.6$ 、F.A. では  $219.7 \pm 19.9$  および  $232.6 \pm 34.8$  であり、B細胞の両酵素活性はM.A. および F.A. において対照と比し有意に (いずれも  $p < 0.001$ ) 高値を示し、Min. では  $\beta$ -glucuronidase 活性は対照と比し有意に ( $p < 0.01$ ) 高値を示した。しかし Min. の acid phosphatase 活性は対照より高値の傾向を示したが、

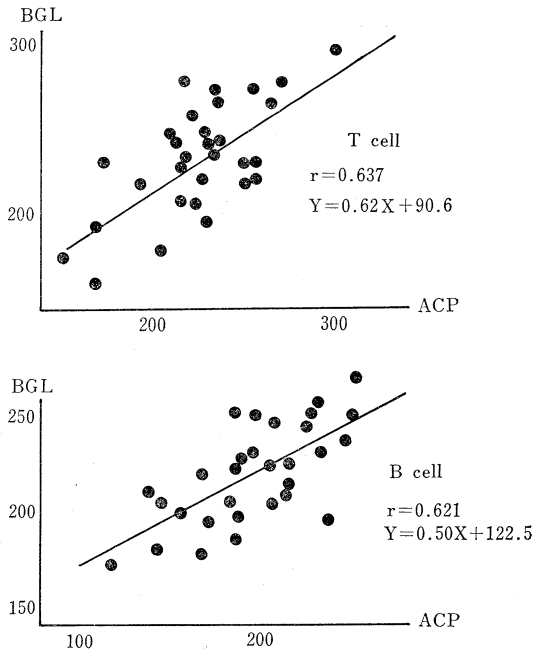


Fig. 1. Correlation between acid phosphatase activity and  $\beta$ -glucuronidase activity of T and B cells.

ACP: Acid phosphatase activity (score/100 lymphocytes)  
BGL:  $\beta$ -glucuronidase activity (score/100 lymphocytes)

有意差を認めなかつた。空洞あり群のB細胞の両酵素活性はそれぞれ  $199.5 \pm 32.1$  および  $224.1 \pm 27.0$  であり、空洞なし群では  $186.4 \pm 41.5$  および  $212.0 \pm 30.7$  であり、空洞あり群で高値の傾向を示したが、両群に有意差は認めなかつた。また排菌あり群では  $201.1 \pm 35.8$  および  $232.6 \pm 22.9$  であり、なし群の  $192.8 \pm 35.1$  および  $214.4 \pm 29.1$  と比し高値の傾向を示したが、有意差は認めなかつた。

#### 5. TおよびB細胞内の acid phosphatase 活性と $\beta$ -glucuronidase 活性との関係

図1に示すごとく、肺結核患者T細胞内の acid phosphatase 活性と  $\beta$ -glucuronidase 活性との間に正の相関 ( $r = 0.637$ ,  $p < 0.001$ ) が認められた。同様な相関 ( $r = 0.621$ ,  $p < 0.001$ ) がB細胞の両酵素活性の間にも認められた。すなわちTおよびB細胞の両酵素活性は平行して変動していることが推測された。

#### 6. TおよびB細胞数と両酵素活性との関係

図2に示すごとく、T細胞数とT細胞の acid phosphatase 活性および  $\beta$ -glucuronidase 活性との間にそれぞれ負の相関 ( $r = -0.507$ ,  $p < 0.01$  および  $r = -0.488$ ,  $p < 0.01$ ) を認めた。同様にB細胞数とB細胞の両酵素活性の間にも負の相関 ( $r = -0.542$ ,  $p < 0.01$  および  $r = -0.559$ ,  $p < 0.01$ ) を認めた。すなわちT・B細胞数が減少した症例ほど両酵素活性が上昇することが推測され

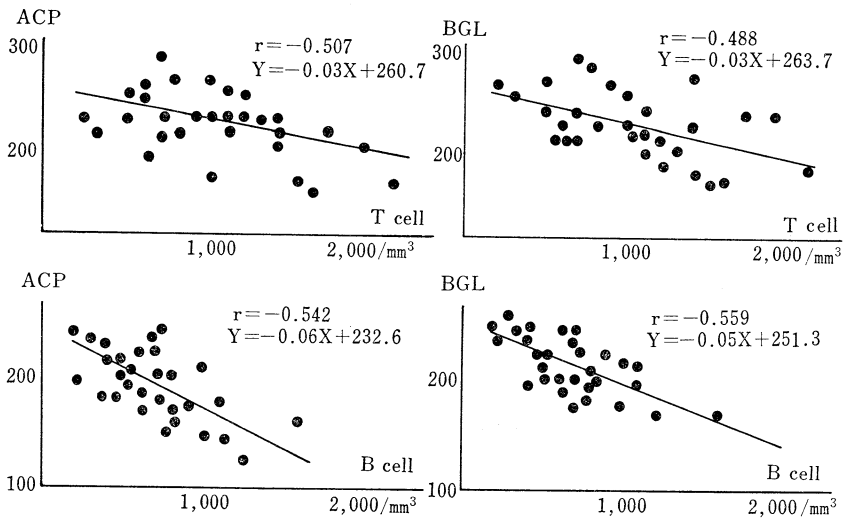


Fig. 2. Correlation between acid phosphatase and  $\beta$ -glucuronidase activities and absolute number of T and B cells.

た。

### 考 案

肺結核の発病には主に細胞性免疫異常が関与すると思われるが、血清免疫グロブリンが結核の活動性に伴って上昇するという報告<sup>14)</sup>から液性免疫にも異常を来していると推測されている。かかる観点から肺結核の免疫状態に関する研究は数多く進められ<sup>15)~18)</sup>、特に志摩ら<sup>16)</sup>はT・B細胞動態に関して活動性を有する病変を持つた肺結核ではT細胞数は減少を示し、有空洞および排菌例はそうでない症例よりT細胞数は減少し、一方B細胞では減少の程度も軽くむしろ増加している場合も認められると述べている。この点についての今回の検討でも同様の結果が得られ、病変が活動的で広範なものほどT・B細胞の変動が強く認められた。このような末梢血中のT細胞の減少は、leprosy においては Bullock ら<sup>19)</sup>の実験動物の成績より、肉芽腫形成リンパ節にリンパ球が集積停滞する結果流血中のT細胞が減少すると説明されており、leprosy と類似した肉芽腫を形成する結核においても同様に病巣へのT細胞の集積によるものと考えられる。

結核の免疫異常を理解するには、リンパ球 subpopulation の検討以外に、個々のリンパ球の代謝および機能面からの検索も必要であろう。リンパ球内の lysosome 酵素の生物学的意義は完全には解明されるに至っていないが、細胞性免疫反応、リンパ球の activation, blastoid transformation などのメカニズムに関与することを示唆する報告<sup>9)20)~23)</sup>がなされている。そこで今回は肺結核のリンパ球を代謝面すなわち lysosome 酵素活性から検討したところ、肺結核患者TおよびB細胞の acid phos-

phatase 活性と  $\beta$ -glucuronidase 活性は健常対照と比較し明らかに高値を示し、活動性病変を有するB・C・F型で著明であり、拡がりの大きいF.A.・M.A.でも顕著である結果が得られ、リンパ球の lysosome 酵素活性と結核病変とに関連を認めたことは大変興味深い。またT・B細胞数の減少に伴って酵素活性の上昇が認められ、これらのことは結核の病態が重症になればなるほど末梢のリンパ球は局所に集積され、かつ活性化されるため、末梢血リンパ球数が減少し、両酵素活性が高まる結果になるものと推測される。今回行なった acid phosphatase および  $\beta$ -glucuronidase の両酵素活性は mitogen で刺激されたリンパ球で上昇することが報告<sup>20)~22)</sup>されており、肺結核のTおよびB細胞は生体内で活性化された状態にある可能性が示唆された。

このリンパ球の lysosome 酵素活性上昇の詳細な機序は不明であるが、抗原刺激を受けた活性化マクロファージ(M $\phi$ )の関与が推測される。M $\phi$ は結核菌の感染に伴い病巣に集積し、抗原情報がM $\phi$ に付着したT細胞に伝達され、リンパ球の感作が行なわれる。続いてこの感作リンパ球が対抗抗原に特異的に作用し lymphokine を放出し、これがM $\phi$ を活性化し結核菌の増殖を抑制するといわれている<sup>24)</sup>。この際M $\phi$ 内の $\beta$ -galactosidase, acid phosphatase,  $\beta$ -glucuronidase などの酵素活性の上昇が認められている<sup>24)~26)</sup>。一方活性化M $\phi$ の産生物質が逆にリンパ球を活性化させることが知られており<sup>24)</sup>、同時にリンパ球の lysosome 酵素活性も上昇させることが想像される。このことを裏付けるように結核結節の組織学的検索より、結節周辺には $\beta$ -glucuronidase 陽性のリンパ球が多数存在するとの報告<sup>27)</sup>があり、リンパ球は局所

において activate され、lysosome 酵素活性を高め、その一部のリンパ球が末梢に循環してくるものと思われる。

以上のごとく肺結核患者のリンパ球はその subpopulation の変動のみならず、lysosome 酵素活性にも変動を来していた。最近TおよびBリンパ球にはいくつかの subsets が発見されており、どの subset に属する細胞の酵素活性に変動があるかを検索することは結核の免疫異常を解釈する上で有用と思われ、今後更に検討したいと考えている。

## 結 語

肺結核患者30例についてリンパ球 subpopulation およびリンパ球内 acid phosphatase 活性および  $\beta$ -glucuronidase 活性を測定し、以下の結果を得た。

1. T細胞数は学研分類B・C・F型で対照と比し減少を示したが、D型では対照と比し増加を示した。NTA分類 M. A. ・F. A. では対照と比しT細胞数の減少を示したが、Min. では対照と比し増加を示した。有空洞例は無空洞例と比し、また排菌例は菌陰性例と比しT細胞数が減少する傾向を示した。

2. B細胞数はB・D型で対照より増加する傾向を示し、C型では対照と差を認めず、F型ではむしろ減少する傾向を示した。Min. では対照と比しB細胞数の増加を示したが、M. A. では対照と差を認めず、F. A. ではむしろ減少する傾向を示した。有空洞例は無空洞例と比しB細胞数が減少する傾向を示し、排菌例は菌陰性例と比しB細胞数の減少を示した。

3. T細胞の acid phosphatase 活性および  $\beta$ -glucuronidase 活性はB・C・F型でいずれも対照と比し高値を示したが、D型では正常範囲内にあつた。またM. A. ・F. A. ではT細胞の両酵素活性は対照と比し高値を示したが、Min. では正常範囲内にあつた。有空洞例と無空洞例と比し、また排菌例と菌陰性例と比しT細胞の両酵素活性に有意差を認めなかつた。

4. B細胞の acid phosphatase 活性および  $\beta$ -glucuronidase 活性はB・C・F型でいずれも対照と比し高値を示した。D型ではB細胞の  $\beta$ -glucuronidase 活性は対照と比し高値を示したが、acid phosphatase 活性は正常範囲内にあつた。M. A. ・F. A. ではB細胞の両酵素活性は対照と比し高値を示し、Min. ではB細胞の  $\beta$ -glucuronidase 活性は高値を示したが、acid phosphatase 活性は正常範囲内にあつた。有空洞例と無空洞例と比し、また排菌例と菌陰性例と比しB細胞の両酵素活性に有意差を認めなかつた。

5. TおよびB細胞の acid phosphatase 活性と  $\beta$ -glucuronidase 活性とは正の相関を示した。

6. TおよびB細胞数とそれぞれの細胞の両酵素活性とは負の相関を示した。

(本論文の要旨は第54回日本結核病学会総会において発表した。)

## 文 献

- 1) Raff, M.C.: Two distinct populations of peripheral lymphocytes in mice distinguishable by immunofluorescence, *Immunol.*, 19: 637, 1970.
- 2) Ferrarini, M. et al.: Receptors for IgG molecules on human lymphocytes forming spontaneous rosettes with sheep red cells, *Eur. J. Immunol.*, 5: 70, 1975.
- 3) Moretta, L. et al.: Expression of a receptor for IgM by human T cells in vitro, *Eur. J. Immunol.*, 5: 565, 1975.
- 4) Moretta, L. et al.: Subpopulations of human T cells identified by receptors for immunoglobulins and mitogen responsiveness, *J. Immunol.*, 117: 2171, 1976.
- 5) Moretta, L. et al.: Functional analysis of two human T cell subpopulations: Help and suppression of B cell responses by T cells bearing receptors for IgM or IgG, *J. Exp. Med.*, 146: 184, 1977.
- 6) Barr, R.D. and Perry, S.: Lysosomal acid hydrolases in human lymphocyte subpopulations, *Br. J. Haematol.*, 32: 565, 1976.
- 7) Pangalis, G.A. et al.: Acid hydrolases in normal B and T blood lymphocytes, *Acta Haematol.*, 59: 285, 1978.
- 8) Catovsky, D. et al.: Cytochemical profile of B and T leukaemic lymphocytes with special reference to acute lymphoblastic leukaemia, *J. Clin. Pathol.*, 27: 767, 1974.
- 9) Wehinger, H. and Möbius, W.: Cytochemical studies on T and B lymphocytes and lymphoblasts with special reference to acid phosphatase, *Acta Haematol.*, 56: 129, 1976.
- 10) Böyum, A.: Isolation of mononuclear cells and granulocytes from human blood, *Clin. Lab. Invest.*, 21, Suppl. 97: 77, 1968.
- 11) 矢田純一・橋 武彦: ヒトリンパ球 subpopulation の分別—ヒツジ赤血球結合性リンパ球と補体結合性リンパ球の証明法, 免疫実験操作法, II : 473, 1972.
- 12) 江頭洋祐: 血球 Acid Phosphatase に関する細胞化学的研究, 九血会誌, 18 : 9, 1968.
- 13) 朝長正允他: 白血球  $\beta$ -glucuronidase の研究. I. Naphthol AS-BI glucuronide を基質とする組織化学的証明法, 九血会誌, 15 : 78, 1965.
- 14) 志摩 清他: 肺結核患者における免疫グロブリンの動態に関する研究, 結核, 51 : 337, 1976.
- 15) 今井昌雄・小川喜代子: 肺結核患者の血清蛋白像—低 $\gamma$ グロブリン血症の観察成績, 結核, 50 : 105, 1975.
- 16) 志摩 清他: 肺結核患者における T, B cell subpopulation, 結核, 51 : 363, 1976.
- 17) 上田雄幹: 先天的胸腺欠損ヌードマウスならびに無菌マウスを用いた結核感染の実験的研究, 結核, 52 : 533, 1977.
- 18) 藤井昌史他: 肺結核患者の遅延型皮膚反応, 結核,

- 54 : 281, 1979.
- 19) Bullock, W.E. et al.: Disturbance of lymphocyte circulation and mobilization in granulomatous disorders of the lymphoid system, in the Seventh International Conference of Sarcoidosis and Other Granulomatous Disorders (Siltzbach, L.E. ed.), p. 80, N.Y. Acad. Sci., 1976.
- 20) Hirschhorn, R. et al.: Acid phosphatase-rich granules in human lymphocytes induced by phytohemagglutinin, *Science*, 147: 55, 1965.
- 21) Yam, L.T. and Mitus, W.J.: The lymphocyte  $\beta$ -glucuronidase activity in lymphoproliferative disorders, *Blood*, 31: 480, 1968.
- 22) Cohnen, G. et al.: Acid phosphatase cytochemistry of mitogen-transformed normal and chronic lymphocytic leukemia lymphocytes, *Exp. Cell Res.*, 80: 297, 1973.
- 23) Astaldi, G. et al.: The lysosomal enzymes in lymphocytes. II. Activated lymphocytes, *Acta Vitaminol. Enzymol.*, 27: 197, 1973.
- 24) 徳永 徹: マクロファージの活性化と分化, *結核*, 55 : 503, 1980.
- 25) Saito, K. and Suter, E.: Lysosomal acid hydrolases in mice infected with BCG, *J. Exp. Med.*, 121: 727, 1965.
- 26) Dannenberg, A.M. et al.: The local nature of immunity in tuberculosis, illustrated histochemically in dermal BCG lesions, *J. Immunol.*, 100: 931, 1968.
- 27) 渡辺慶一他: 免疫反応に対応して変動するリンパ節内酵素の細胞化学的観察, *J. Med. Enzymol.*, 2: 441, 1978.