

原 著

肺結核患者の ADCC killer および Natural killer 活性

伊 奈 康 孝・山 本 正 彦・高 田 勝 利

杉 浦 孝 彦・森 下 宗 彦・青 木 一

鳥 井 義 夫・市 村 貴 美 子・橋 上 裕

鈴 木 雅 之

名古屋市立大学第 2 内科

受付 昭和 56 年 11 月 13 日

KILLER AND NATURAL KILLER ACTIVITIES IN PATIENTS
WITH PULMONARY TUBERCULOSISYasutaka INA*, Katsutoshi TAKADA, Takahiko SUGIURA, Munehiko MORISHITA, Hajime AOKI,
Yoshio TORII, Kimiko ICHIMURA, Masayuki SUZUKI, Hiroshi HASHIGAMI and
Masahiko YAMAMOTO

(Received for publication November 13, 1981)

Killer (K) activity was determined by the microplate method in 12 patients with pulmonary tuberculosis and natural killer (NK) activity by ^{51}Cr release assay in 6 patients.

The results were as follows:

1. In the control group, K activity was independent of the donors' age and sex, whereas NK activity was only independent of the donors' age. NK activity of the male in the control group was higher than that of the female, but statistically not significant.
2. K activity in patients with pulmonary tuberculosis was significantly higher than that of healthy controls. The absolute number of K cells, however, remained within normal range.
3. NK activity in patients with pulmonary tuberculosis was significantly higher than that of healthy controls.

1. 緒 言

肺結核症の病態の成立には、細胞性免疫の関与が重要視されている。一方、細胞性免疫とは言えないが、免疫現象や生体防御に関与する細胞として特異的な位置づけをされている natural killer (NK) 細胞および ADCC (antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity) killer (K) 細胞が近年、腫瘍免疫の分野で注目を浴びている。この K および NK 細胞は、ウィルス感染時等における宿主防御機構において重要な役割を果たしていると考え

られている。

ところで、肺結核症の免疫状態に関しては従来より多くの報告がみられる^{1)~4)}が、K および NK 活性に関する報告⁵⁾は少ない。

今回我々は、肺結核症において K および NK 活性を測定しその病態との関連につき検討した。

2. 対 象

K 活性は肺結核患者12例を対象とし、健康成人31例につき測定した値を対照として用いた (Table 1)。NK 活

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

Table 1. Materials (1)

	n	
	Pulmonary tuberculosis	Healthy controls
Total	12	33
Sex { Male	7	21
Female	5	10
Age*	50.7 ± 14.4	28.7 ± 6.1

n: Number of cases

* mean ± S. D.

Table 2. Materials (2)

	n	
	Pulmonary tuberculosis	Healthy controls
Total	6	54
Sex { Male	2	19
Female	4	35
Age	50.2 ± 13.0	46.9 ± 12.8

性は肺結核患者6例を対象とし、患者群と年齢、性差のほぼ一致した健康成人54例につき測定した値を対照として用いた (Table 2)。なお肺結核患者は全例排菌中の初回治療開始後まもない症例であり、糖尿病等全身性疾患を有する例や、ステロイド治療を受けている例は対象より除外した。

3. 方 法

ADCC の K 活性は Biberfeld ら⁶⁾ のブランクアッセイ法を改変したマイクロプレート法 (日本抗体研究所) により測定した。すなわち、ヘパリン加末梢血 3 ml に単球除去目的で 5% シリカ懸濁液 (KAC-2, JIMRO) 0.3 ml を加えて 37°C で数回混和しながら 1 時間インキュベート後、Ficoll-Conray 比重遠心法にてリンパ球を分離した。これをリン酸緩衝食水 (PBS) にて 3 回洗浄後、 $2 \times 10^6/\text{ml}$ に調整しエフェクター細胞とした。次にヒツジ赤血球 (SRBC) を $1 \times 10^9/\text{ml}$ に調整し、poly-L-lysine 処理したマイクロプレート (Falcon No. 3034) 各孔に 10 μl ずつ注入、350 × g で 10 分間遠心後、過剰の SRBC を PBS で洗って除去し SRBC の monolayer を作製した。出来上がった SRBC の monolayer 上に、エフェクター細胞であるリンパ球浮遊液および至適濃度に調整された抗 SRBC IgG 抗体をおのおの 1 μl ずつ加えて 37°C、3 時間インキュベートした。最後にグルタルアルデヒドとブリアントクレシブルで固定染色、アガロースで SRBC monolayer およびリンパ球を固着させ、プレートを反転し 400 倍で鏡検した。SRBC 溶血により出来たブランク数を数え、添加リンパ球数との比

率 (%) により K 活性を求めた。

NK 活性は ^{51}Cr release 法⁷⁾ により測定した。すなわち K 活性測定時と同様な方法で末梢血よりリンパ球を分離し、 $1 \times 10^6/\text{ml}$ に調整してエフェクター細胞とした。NK 細胞に対する標的細胞としては、leukemic cell line である K-562 を用いた。標的細胞 (5×10^5 個) に $\text{Na}^{51}\text{CrO}_4$ (2 mCi/ml) 50 μl を加えて 37°C で 1 時間インキュベートすることにより標的細胞をラベルした後、15% FCS 加 RPMI 1640 で 3 回洗浄し、 $1 \times 10^6/\text{ml}$ に調整した。標的細胞 5 μl (5×10^3 個) とエフェクター細胞 200 μl (2×10^5 個) を混和し、200 × g、5 分間遠心後 5% CO_2 下で 37°C、4 時間インキュベートした。インキュベート後、上清を Titertek Supernatant Collection System で採取し、上清中に遊離した ^{51}Cr 量を測定して NK 活性値を下記のごとく算出した。

$$\% \text{ NK 活性} = \frac{\text{experimental release} - \text{spontaneous release}}{\text{maximum release} - \text{spontaneous release}} \times 100$$

maximum および spontaneous release は、標的細胞と 0.5N HCl および medium とのインキュベーションによりそれぞれ求めた。

4. 結 果

正常者の K 活性は、 4.5 ± 1.8 (mean ± S. D.) % であり、年齢および性差による変動は認めなかつた (Table 3)。肺結核患者の K 活性は、 $6.1 \pm 1.6\%$ であり正常者に比べて有意 ($p < 0.02$) に高値を呈した。しかし K 細胞実数では $92 \pm 28/\text{mm}^3$ であり正常者 ($99 \pm 44/\text{mm}^3$) と不変であつた (Fig. 1)。

正常者の NK 活性は $46.2 \pm 18.8\%$ であり、年齢による変動は認めなかつたが、男性では女性に比べて高値傾向にあつた (Table 4)。肺結核患者の NK 活性は、 $70.0 \pm 9.8\%$ であり正常者に比べて有意 ($p < 0.01$) に高値を呈した (Fig. 2)。

5. 考 案

K 細胞は、抗体存在下に標的細胞を破壊するメカニズムである Antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity を媒介する未感作リンパ球であり、NK 細胞は抗体の関与なしに標的細胞を破壊するメカニズムの Spontaneous lymphocyte-mediated cytotoxicity を媒介する未感作リンパ球である。両細胞ともに Fc レセプター陽性の non-phagocytic, non-adherent 細胞であり、表面に免疫グロブリン、補体レセプターを保有せず、その大部分は null 細胞に属していると考えられている⁸⁾⁻¹⁰⁾。K および NK 細胞は、腫瘍免疫、ウィルス感染防御等に代表される宿主防御機構に重要な役割を果たしている。

Table 3. K activity in Healthy Controls

	n	K activity (%)
Healthy controls	31	4.5±1.8
Sex { Male	21	4.5±1.5
Female	10	4.5±1.4
Age { —29	18	4.7±1.4
30—	13	4.4±2.3

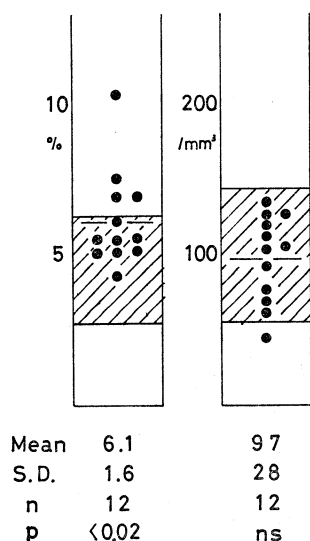


Fig. 1. K activity in patients with pulmonary Tbc.

The shaded areas represent the normal ranges (mean±S.D.) for K activity.

The percentage of K cells in the patient group significantly increased as compared with in the control group, although the absolute number of K cells remained within the normal range.

一般に、各種病態時に K および NK 活性が平行して変動することが知られているが、今回我々の検討した肺結核患者でも同様であった。

我々は先に、サルコイドーシス（サ症）患者において末梢血中の K および NK 活性が正常者に比べて有意に高く、病変の活動性と一致して変動することを報告^{11),12)}したが、サ症と類似の肉芽腫性疾患である肺結核患者においても同様の結果が得られた。このように病態と平行して K および NK 活性が亢進する理由是不明であるが、以下のごとき可能性は考えられる。まず第一は、両活性が T_H 細胞にも認められ、かつ肺結核患者において末梢 T_H 細胞数の増加が認められているため T_H 細胞数の増加が両活性亢進として表現されている可能性である。第二に、肺結核患者においてはマクロファージの機能亢進が種々の面より示されており¹³⁾、マウスにおいて BCG 接種後マクロファージを介して NK 活性が増強するという報告¹⁴⁾もされていることから、マクロファージ由来のインターフェロンを介して両活性が高値を呈してくる

Table 4. NK activity in Healthy Controls

	n	NK activity (%)
Healthy controls	54	46.2±18.8
Sex { Male	19	51.0±17.5
Female	35	44.2±19.1
Age* { —29	10	45.4±20.7
30—59	15	43.5±19.4
60—	10	44.0±18.7

* Female data was shown.

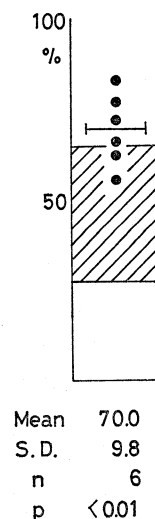


Fig. 2. NK activity in patients with pulmonary Tbc.

The shaded areas represent the normal ranges (mean±S.D.) for NK activity.

可能性も考えられる。

今回我々の取り扱った肺結核患者は、全例排菌中の発症後まもないと考えられる症例であり、治療経過による両活性の動き、慢性化移行例での問題等今後の検討を要する点が残されている。

6. 結 語

肺結核患者12例につき K 活性を、6 例につき NK 活性を測定し以下の結果を得た。

1) 正常者 K 活性は4.5±1.8%であり、年齢、性差による変動は認めなかつた。また NK 活性は 46.2±18.8%であり年齢による変動は認めなかつたが、男性では女性に比べて高値傾向にあつた。

2) 肺結核患者の K 活性は、正常者に比べて有意に高値を呈した。K 細胞実数では正常者と不変であつた。

3) 肺結核患者の NK 活性は、正常者に比べて有意に高値を呈した。

本論文の要旨は第56回日本結核病学会総会（仙台）において発表した。

文 献

- 1) 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.
- 2) 志摩 清他：肺結核患者における T, B cell subpopulation, 結核，51：363，1976.
- 3) 青木 一他：肺結核患者における T および B リンパ球の acid phosphatase および β -glucuronidase 活性，結核，56：347，1981.
- 4) 藤井昌史他：肺結核患者の遅延型皮膚反応，結核，54：281，1979.
- 5) 直江知樹他：各疾患における K cell population—マイクロプレート法での検討—，日臨免会誌，4：136，1981.
- 6) Biberfeld, P. et al.: A plaque technique for assay and characterization of antibody dependent cytotoxic effector (K) cells, Scand J Immunol, 4: 859, 1971.
- 7) Koide, Y. and Takasugi, M.: Distinct target determinants on two lymphoblastoid lines derived from the same individual, J Immunol, 117:1197, 1976.
- 8) Peter, H.H. et al.: Cell-mediated cytotoxicity in vitro of human lymphocytes against a tissue culture melanoma cell line (IGR3), J Immunol, 115: 539, 1975.
- 9) Pross, H.F. and Jondal, M.: Cytotoxic lymphocytes from normal donors, a functional marker of human non-T lymphocytes, Clin Exp Immunol, 21: 226, 1975.
- 10) West, W.H. et al.: Natural cytotoxic reactivity of human lymphocytes against a myeloid cell line: characterization of effector cells, J Immunol, 118: 355, 1977.
- 11) 伊奈康孝他：サルコイドーシス患者の ADCC 活性，日胸疾会誌，18：734，1980.
- 12) 伊奈康孝他：サルコイドーシス患者の NK 活性，日胸疾会誌，20：189，1981.
- 13) 徳永 徹：マクロファージの活性化と分化，結核，55：503，1980.
- 14) Daniel, E.T.: The requirement for macrophages in the augmentation of natural killer cell activity by BCG, J Immunol, 123: 840, 1979.