

第59回総会シンポジウム

結核症の免疫学

座長 徳 永 徹

国立予防衛生研究所細胞免疫部

橋 本 達一郎

筑波大学基礎医学系

受付 昭和 59 年 11 月 2 日

The 59th Annual Meeting Symposium

IMMUNOLOGY OF TUBERCULOSIS

Chairmen : Tohru TOKUNAGA* and Tatsuichiro HASHIMOTO**

(Received for publication November 2, 1984)

A number of host factors are implicated in the induction and expression of tuberculosis immunity. Fig. 1 shows a central dogma of the immune response of tuberculosis immunity. However, there exist many questions in and around this scheme. For instance, what is (are) the antigen(s) effective for protection against infection with virulent tubercle bacilli? How do antigen-presenting cells process the antigen and present the antigenic information to T cells in association with I region product? Do T cells controlling delayed-type hypersensitivity to PPD work as the effector T cells protective against tubercle bacilli? Which factor among various factors contained in lymphokines works as a factor which renders macrophages bactericidal? What is the bactericidal components in activated macrophages? What are the mechanisms on granuloma formation and anergy in tuberculosis? How can we apply the knowledge of tuberculosis immunology to the treatment of TB patients? In order to answer for some of these questions, this symposium was organized in the 59th Annual Meeting of the Japanese Society for Tuberculosis.

The speakers and their titles are as follows :

- 1) K. Saito : Study on cloned PPD-specific murine T cell lines.
- 2) R.M. Nakamura : Suppressor T cells in tuberculin reaction.
- 3) A. Tanaka : The activation and differentiation of macrophage by tubercle bacilli infection.
- 4) T. Yoshida, et al. : Pathogenesis of pulmonary granulomas in tuberculosis.
- 5) I. Tsuyuguchi : Immunological study on human tuberculosis.
- 6) S. Oshima : Immunological study on macrophages obtained by broncho-alveolar lavage.

The first speaker, Dr. Saito, established PPD-reactive T cell clones. Using these clones, it was revealed that T cells capable of proliferating in vitro in responding to PPD act as

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

**Institute of Basic Medical Science, University of Tsukuba, Ibaraki 305 Japan.

the T cells to induce delayed foot-pad reaction to PPD and also as the T cells to activate macrophages to kill Salmonella in vitro. Further studies on the efficacy of these clones as the in vivo effector in tuberculosis immunity are underway.

Dr. Nakamura established an in vitro induction system of suppressor T cells against PPD footpad reaction, and clarified an essential role of macrophages in it. She showed using a cultured macrophage cell line that the macrophages playing a key role for inducing the suppressor T cells are I-J positive

Dr. Tanaka showed that synthetic muramyl-dipeptide (MDP), which was known as a macrophage activator, inhibited the synthesis of DNA-polymerase α , but not β . He speculated that the inhibition of DNA synthesis may be related to the differentiation of macrophages.

Dr. Yoshida and his colleague studied the mechanism of granuloma formation in mice given an intratracheal injection with BCG. He showed a lot of new information about this, and concluded that pulmonary granulomas in tuberculosis are caused by not only allergic mechanism but also nonimmunological mechanism elicited by chemical substances.

Dr. Tsuyuguchi investigated the T cell subsets in various lymphocyte sources from various types or stages of tuberculosis patients. He found that T cells from severe tuberculosis patients that were unresponsive to PPD in vitro were recovered their response by the treatment with IL-2, suggesting a possibility of IL-2 therapy of severe tuberculosis.

Dr. Oshima studied morphologically and immunologically the macrophages obtained by broncho-alveolar lavage from tuberculosis patients. Antigen-presenting ability of BAL macrophages pulsed with PPD was well correlated with PPD-skin reactivity and activity of BAL macrophages measured by rosette-formation, phagocytosis, NBT-reduction, etc.; it was the highest in those from hypersensitive pneumonia, intermediate in sarcoidosis and pulmonary tuberculosis, and the lowest in spontaneous interstitial pneumonia and collagen disease interstitial pneumonia.

Nobody doubts that tuberculosis immunology has contributed greatly for better understanding of tuberculosis. Not only that, it has influenced profoundly for the progress of general cellular immunology. We hope that this symposium could promiss further progress of tuberculosis immunology and contribute for prophylaxis and therapy of tuberculosis in the future.

はじめに

結核免疫の研究が、過去において結核症のよりよい理解、更に結核の治療と予防に大きな貢献をしてきたこと、また将来においてもこのような貢献ができるであろうし、またしなければならないこと、は言うまでもない。それに加えて Koch によるコッホ現象の観察 (1890) や、Chase による感作リンパ球の受身移入の実験 (1945) など多くの事例にみるように、結核の研究が免疫学全般に新しい息吹きを注入してきた事実も見落とすわけにはいかない。現代免疫学が目ざましく発展し、漸く成熟の時代に入った今日、結核の免疫学的研究は、「生体防御の学としての免疫学」の領域で、今後一層中心的な寄与をするであろう。

結核の免疫、つまり細胞性免疫については、その成

立と発現の過程に関して、一つのドグマとでも言うべき筋書きがある。それは図1に示すように、抗原→Tリンパ球→リンフォカイン→マクロファージ→活性化マクロファージ、という図式で示しうるようなドグマである。しかし、一見明快にみえるこの生体応答の流れには、極めて多くの不明の部分が累々と横たわっている。たとえば、抗原については、結核菌菌体成分中どの抗原が発病の防御抗原として有用であるか、必ずしも明らかでない。PPDが結核の遅延型アレルギー反応の惹起抗原であることは明らかであるが、これととも100を超える種類の蛋白の凝集物である。このように抗原だけでも多くの未解決の問題があるが、今回は抗原の問題には触れずに先へ進みたい。

図1において、抗原とTリンパ球との間を矢印で結んだが、この矢印にも種々の問題がある。抗原情報が

Tリンパ球へ提示されるには、マクロファージによる抗原の processing と、Ia 抗原陽性の抗原提示細胞の存在と、更にそれが産生する IL-1(インターロイキン-1)の作用とが不可欠である。T細胞上のレセプター構造は、最近 Tonegawa らによって基本的に解明されつつあるが、しかし Ia との関連において外来抗原を認識する機構などについては不明である。結核の場合、リンパ節の dendritic cells や皮膚の Langerhans cells が抗原提示細胞として大きな役割を果たしていると思われるが、その詳細も明らかでない。

結核菌抗原により刺激を受ける Tリンパ球については、特にツベルクリン反応の発現に関与する Tリンパ球と、結核の防御免疫に関与する Tリンパ球との異同が古くから論議されてきた。この点を明らかにするための一つのアプローチは、抗原特異的なクローン化 T細胞を用いることである。斎藤和久教授は、いくつもの PPD 特異的なクローン化 T細胞を確立し、PPD 刺激による試験管内の増殖や、マウスの足蹠反応の惹起を確認し、更に BCG や強毒腸炎菌の細胞内増殖抑制を調べることにより、これらクローンが遅延型アレルギー反応と抗菌免疫の両方に関与していることを示した。

Tリンパ球のサブセットには、このようなエフェクター活性を示すものとは別に、抑制活性を示すものがある。中村玲子博士は、特定のマウス系統で BCG に対する抑制性 T細胞が優位に誘導されること、このような T細胞を一定の条件下で試験管内で誘導できること、この T細胞分化の誘導方向を決定するものは、I-J 陽性のマクロファージであること、などを示した。

感作 Tリンパ球は抗原と結合して種々の因子を産生する。リンフォカインと総称されるこれら Tリンパ球産物中には、極めて多様な活性をもつ因子が多数含まれ、個々の分子の同定が永年の研究課題であったが、近年リンフォカイン産生 Tハイブリドーマが次々に確立され、またその遺伝子のクローニングが行なわれて、多くの事実が明らかになってきた。しかし、今回はこれら因子の分子レベルの問題については触れないことにした。

マクロファージを活性化して、細胞内寄生性細菌を殺菌させる因子は、マクロファージ活性化因子と呼ばれるが、その主力はガンマイインターフェロンであるら

しい。しかし、このほかにも直接マクロファージを活性化する物質が種々知られている。細菌細胞壁の骨格を形成するムラミジペプチド (MDP) もその一つである。田中渥教授は、結核菌感染によるマクロファージ活性化のモデルの一つとして、合成 MDP による活性化機序を研究し、MDPがマクロファージとの接触後早期に DNA 合成を阻害すること、またそれに続いてマクロファージの分化が進行することなどを示した。MDP によるマクロファージの活性化機序は、リンフォカインによるものと異なると考えられ、また活性化マクロファージの殺菌機構などについても明らかでない点が多く、この領域でも今後の研究の発展が必要である。

結核症における肉芽腫の形成は、結核の病像の著しい特色である。吉田彪博士らはこれまで、抗原を付着したアガロース粒子を用いるという方法で、過敏性肉芽腫形成におけるリンフォカインの役割や、肉芽部から血中へ流入するリンフォカインがアレルギーをもたらすことなどを報告したが、今回は BCG を気管内に注入後形成される肉芽腫中に、MIF と IL-1 の活性が認められ、IL-2 活性は認められない事実や、結核性肉芽腫形成における非免疫的機序の役割などについて報告し、結核症における肉芽腫形成機序について考察を行った。

ヒトの結核の画像は極めて多彩であり、結核と免疫との関連を図式化して示すことは容易でない。露口泉夫博士は、新鮮症例末血と胸膜炎胸水中のリンパ球に Helper/Inducer 型が多いが、難治症例と胸膜炎群の末血中には抑制性リンパ球が多いこと、またリンパ球の PPD 低反応性は IL-2 添加により回復することなどを報告し、難治性結核の免疫療法の有効性を示唆した。

大島駿作教授は、気管支肺胞洗浄液中のマクロファージを調べ、肉芽腫形成を伴う肺疾患と、特発性間質性肺炎、膠原病性間質性肺炎のごとき肉芽腫形成を伴わないびまん性肺炎とのマクロファージの形態とマーカーを調べ、いずれも健康人より活性化しているが、活性化の内容が異なることを示した。

このように、図 1 に示した結核免疫の基本的な流れは、患者においては無数の因子によって修飾され、複雑化している。このような複雑な現象を構成する一つ一つの因子の解明によって科学が進歩することは、各

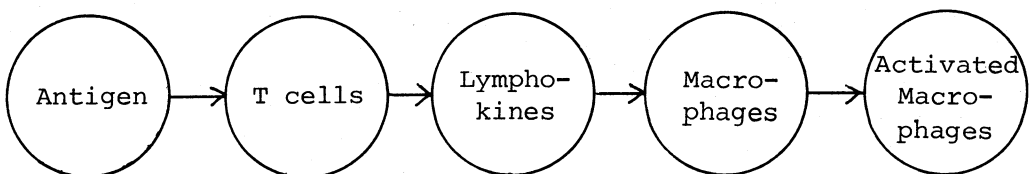


Fig. 1. A dogmatic scheme of cellular immunology of Tuberculosis.

演者の報告が示す通りである。結核菌発見100年の結核対策の歴史は、他の多くの疾病への対策に優れたモデルとなったが、結核免疫研究の歴史が、他疾患の免疫

学的アプローチに、一つのモデルとなりうるためには、この多彩な結核病像の一つ一つについて、更に執拗で丹念な免疫学的追求の積み重ねが必要である。

1. 結核免疫に関与するTリンパ球——クローン化Tリンパ球を用いた研究

慶応義塾大学医学部微生物学教室 斎藤和久

結核免疫に中心的な役割を果たすのは細胞性免疫であり、それがTリンパ球(T細胞)に担われていることは周知のことである。しかしながら、結核免疫のパラメータとされるツベルクリン(PPD)反応や*in vitro*におけるPPDに対するT細胞のproliferative responseなどと、感染防御免疫との関係、ひいては結核に対する感染防御細胞性免疫を担うT細胞と、遅延型過敏症であるツベルクリン反応を担うT細胞が同一であるか否かに関しては議論のあるところである。

一方、最近の免疫学の研究、ことにその手技の発展は、一つの抗原に対応するT細胞のクローンを選択し、このクローン化T細胞を増殖させ、継代培養することを可能にした。そして、クローン化T細胞を用いることにより、免疫機構を精確に解析することができるようになった。たとえば、我々はアロIa抗原特異的クローン化T細胞を用いて、T細胞が対応抗原と反応した際、24時間後をピークとした著しいDNA合成の促進は起こるが、それはその後急激に減弱し、細胞分裂は全く起こらないこと、しかし抗原刺激24時間後にT cell growth factor(IL2)を加えてやると直ちに細胞分裂が起こり、細胞はどんどん増殖することを明らかにできた(J. Immunol.131:37, 1983)。

我々は、PPDに特異的に対応するクローン化マウスT細胞を用いて、前記の結核免疫に関する問題や、結核免疫を担うT細胞とマクロファージの関係などを追究しているので、以下にその成績を述べる。

PPD特異的クローン化T細胞は、主としてSredniら(Nature283:581, 1980)の軟寒天法を用いて得た。結核菌死菌1mg/mlを更に加えたFCAを尾根部と後足蹠皮下に注射してPPDに感作した純系マウスの膝窩および傍大動脈リンパ節細胞をナイロンカラムを通して得たT細胞を、同系マウスのマイトマイシンC処理した脾細胞を抗原提示細胞(APC)としてPPDで*in vitro*で二次刺激後、このT細胞集団をAPCとPPDとともに軟寒天培地中で5~6日培養すると、PPD特異的T細胞のコロニーが生じる。このコロニーをとり出し、APC、PPD、それにIL2を含む培地中で6~8日培養、クローンをexpandさせた後、このクローン化T細胞をAPCとPPDを加えた培地(IL2は含まない)中で継代培養を重ね、PPD特異的クローン化T細胞株

を得た。

得られたPPD特異的クローン化T細胞株の細胞表面マーカー抗原をFACSで検討した結果、いずれの株もThy-1⁺、Lyt-1⁺2⁻のT細胞であった。なお、surface Igはいずれの株も完全に陰性であった。

まず、B10.BRマウス由来のP-21クローンT細胞1×10⁴個を6×10⁶個の同系マウスのAPC存在下でPPDの種々の量に対する反応を³H-チミジン(³H-TdR)の取り込みから検討すると、0.25μgのPPDに対しては対照の3倍以下であったが、0.5μg/ml PPDに対しては対照の11倍以上となり、PPD量の増加に従い、直線的に³H-TdRの取り込みは増加し、2μg PPDに対しては対照の80倍以上の増加を示した。

次にB10.BR(*H-2^k*)マウス由来の3つのクローン、およびBALB/c(*H-2^d*)マウス由来BP-3クローンについて、*in vitro*のPPDに対するproliferative responseにおけるAPCの*H-2* restrictionを検討した。その結果、B10.BR由来のクローンはすべて同系APCを用いないとPPDを加えても³H-TdRの取り込みの上昇がみられず、*H-2^k* restrictedであった。これに対し、BP-3クローンは*H-2^d* restrictedであったが、PPDを加えなくても*H-2^k*ハプロタイプの細胞に対し反応し、異系細胞に対する交差反応性を示した。PPD特異的BP-3クローンが異系である*H-2^k*細胞に対し、交差反応性を示したことは、1個体が保有するT細胞のrepertoireがどのようにして備わるかを考える上で興味がある。

B10.BR由来のPPD特異的クローンP-21とP-101について、種々のB10 recombinant strainsのAPCを用いて*H-2* restrictionのmappingを行なった。表1に示すように、*K^k*、*I-A^k*のB10.A(4R)のAPCを用いてもPPDに対しよく反応すること、表には示さなかったが*K^d*、*I-A^k*のB10.AQRのAPCでもPPDによく反応することから、*I-A^k* restrictedであることが示された。

PPDに対し、以上のように*in vitro*でproliferative responseを起こすクローン化T細胞が*in vivo*で遅延型過敏症のeffector T cellとして働くか否かを検討した。BP-3クローンT細胞をPPDを加えない培地でrestingの状態にした後、その2×10⁶個/15μlに10μg

PPD/10 μ lを加えたものを同系BALB/Cマウスのfootpadに皮下注射し、以後時間を追ってfootpad thicknessを測定した。図1に示すように、BP-3クローンT細胞+PPD注射により、24時間後をピークとする明らかなfootpad reactionが起ったのに対し、対照としてBP-3クローンT細胞のみ、あるいはPPDのみを注射したのではfootpad swellingは認められなかった。BP-3クローンT細胞+PPD注射で明らかなfootpad reactionを示しているfootpadの組織切片標本では、真皮層の著しい肥厚と単核細胞の著名な浸潤が認められ、典型的な遅延型皮膚過敏症の像を示し、BP-3クローンT細胞が*in vivo*で遅延型過敏症のeffector T cellとして機能を発揮することが明らかにされた。

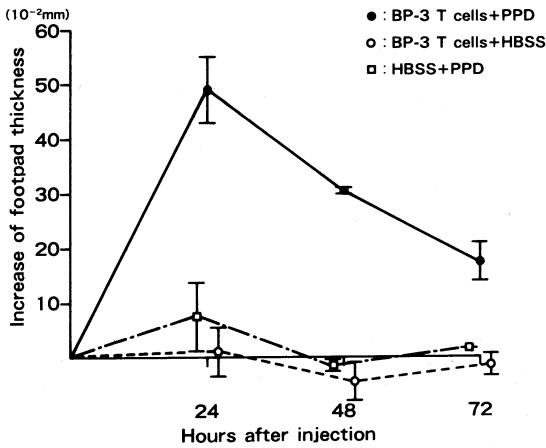


Fig. 1. Passive transfer of delayed-type hypersensitivity to PPD-specific clone T cells. BP-3 T cells, PPD-specific clone BP-3 T cells; HBSS, Hanks' balanced salt solution.

次に、PPD 特異的クローン T 細胞が感染防御免疫の effector T cell として働くか否かを *in vitro* で検討した。0.004%グリコゲン1.5mlを4日前に*i. p.*注射したマウスから腹腔滲出細胞を集め、約4×10⁶/mlに20%ウシ胎児血清、15 mM HEPES加RPMI 1640培地に浮遊、これをLinbro plateの各well、あるいはLab-Tekの各chamberに入れ、37℃24時間培養後、nonadherent cellを除いてマクロファージのmonolayerを作った。このマクロファージに約10⁶個のBCGを加え、37℃1時間おいて食菌させ、食菌されない菌を洗浄により除いた後、培地を20%ウシ胎児血清、15m M HEPES、5 μ g/ml SM加RPMI1640培地に替えて培養、24時間後に3×10⁶個のPPD 特異的クローン T 細胞、あるいはクローン T 細胞+20 μ g/ml PPDを加え培養を続け、

Table 2. PPD-specific clone T cells responding to PPD activate macrophages to result in inhibition of the growth of BCG phagocytized by the macrophages(I)

Culture supplemented with	BCG in 100 phagocytizing macrophages(B 10. BR) on day 3	day 6
None	654 (33.8%)*	1,126 (29.7%)
PPD	743 (30.2%)	734 (20.8%)
P-108 clone T cells	596 (29.7%)	528 (25.8%)
P-108 clone T cells & PPD	259 (36.3%)	453 (23.1%)

* Figures in parentheses indicate % of phagocytizing macrophages.

Table 1. H-2 restriction on the response of PPD-specific T-cell clones from B 10. BR mice

	APC	PPD	³ H-TdR uptake(cpm)by	
			P-21	P-101
B 10. BR	kkkkkkkkk	-	1,868	1,206
"		+	39,598	21,742
B 10. A	kkkkkdddd	+	44,185	30,572
B 10. A(2 R)	kkkkkbb-b	+	36,229	27,567
B 10. A(3 R)	bbbkkdddd	+	225	250
B 10. A(4 R)	kkbbbbbbb	+	35,803	25,269
B 10. A(5 R)	bbbkkdddd	+	408	232

Responder : 1×10⁴ cells/well.
 APC : 6×10⁵ cells/well.
 PPD : 10 μ g/ml.
 Pulsed with ³H-TdR at 48 th to 72 nd hr. of the culture.

日を追ってマクロファージ内の BCG 菌数をチールネルセン染色標本の鏡検,あるいはマクロファージの monolayer を Triton 処理後,小川培地に定量培養して算定した。

B10. BR 由来の P-108 クローン T 細胞を BCG を感染した B10. BR マクロファージに加え培養,マクロファージ内の BCG 菌数を染色標本で追った結果を表 2 に示す。クローン T 細胞を加えない培養マクロファージに比し,P-108 クローン T 細胞+PPD を加えたマクロファージは BCG の増殖を 1/2 以下に抑制した。また, P-108 クローン T 細胞のみの添加でも,クローン T 細胞+PPD の添加に比べれば程度は弱いがマクロファージ内での BCG 増殖を抑制したが,これはマクロファージに感染した BCG に由来する PPD が P-108 クローン T 細胞を刺激したことを推察させる。C57 BL/6(B6)マウス由来の B6 クローン T 細胞と B6 マクロファージを用いて行なった同様な実験結果を表 3 に示すが,この実験では染色標本による BCG 菌数算定とともに 6 日目には定量培養による BCG 生菌数の算定を行なった。この実験では染色標本での菌数算定では B6 クローン T 細胞+PPD 添加による BCG 増殖の抑制は判然としなかった

が,生菌数算定では B6 クローン細胞+PPD 添加により BCG 生菌数を対照の約 1/5 に抑制した。なお,以上の実験はすべて BCG 日本株を用いたので,BCG のマウスマクロファージ内での増殖の程度が弱い,今後 BCG Pasteur 株を用いて同様な実験を行なう計画である。

次に,PPD と反応したクローン化 T 細胞が,マクロファージ内における強毒腸炎菌 (*Salmonella enteritidis* 116-54 株) の増殖を抑制するか否かを検討した。実験方法は BCG について行なった実験と同様で,今回は BALB/c マウスのマクロファージ monolayer に腸炎菌 116-54 株を感染,24 時間後に, BP-3 クローン T 細胞 (BALB/c 由来) あるいは B10. BR 由来クローン T 細胞+PPD を加えて更に 2~4 日培養,マクロファージ内の 116-54 の生菌数を Triton 処理したマクロファージ monolayer を定量培養して算定した。結果は表 4 に示すように, BALB/c 由来 BP-3 クローン T 細胞+PPD の添加は BALB/c マクロファージ内の腸炎菌の増殖を明らかに抑制したが, B10. BR 由来クローン T 細胞+PPD の添加は BALB/c マクロファージ内の腸炎菌増殖を全く抑制せず,またクローン T 細胞のみの添加

Table 3. PPD-specific clone T cells responding to PPD activate macrophages to result in inhibition of the growth of BCG phagocytized by the macrophages(II)

Culture supplemented with	BCG in 100 phagocytizing macrophages(B6) on day 3	900 (6.4%)	Viable BCG in the culture on day 6
None	1,350 (9.1%)*	900 (6.4%)	3,840
PPD	742 (13.0%)	1,080 (16.6%)	2,640
B 6 clone T cells	1,600 (24.8%)	1,325 (11.3%)	1,840
B 6 clone T cells & PPD	811 (19.2%)	738 (17.3%)	720

* Figures in parentheses indicate % of phagocytizing macrophages.

Table 4. BP-3 clone T cells responding to PPD activate macrophages and result in inhibition of the growth of *S. enteritidis* phagocytized by the macrophages

PPD-specific cloned T cells	PPD (10 µg/ml)	No. of Salmonella/chamber	
		Exp. 1	Exp. 2
—	—	6,450	11,138
—	+	1,225	12,450
+ (BALB/c)	—	N. D.	12,363
+ (BALB/c)	+	125	2,613
+ (B 10. BR)	+	6,053	10,438

はマクロファージ内の腸炎菌増殖を全く抑制しなかった。即ち、BALB/c マクロファージは BALB/c 由来クローン T 細胞に対しては PPD の APC として働き、BP-3 クローン T 細胞が PPD と反応した結果、マクロファージを活性化してマクロファージ内の腸炎菌の増殖を抑制するが、BALB/c マクロファージは B10. BR 由来クローン T 細胞には H-2 restriction のため APC として働かず、従って B10. BR クローン T 細胞は PPD と反応できず、マクロファージを活性化できないことが

示された。

以上、クローン化した PPD 特異的 T 細胞株を用いることにより、*in vitro* において PPD に対し proliferative response を起こす T 細胞が、結核免疫における、PPD に対する遅延型過敏症の effector T cell, および感染防御の effector T cell として働くことが明らかにされた。今後更に、これらクローン化 T 細胞により *in vivo* の結核感染に対する防御免疫が達成できるか否かを追求する計画である。

2. ツベルクリン反応の抑制性 T 細胞

国立予防衛生研究所細胞免疫部 中村 玲子

ヒトのツベルクリン反応は結核菌に対する免疫成立の指標として臨床的に重要なテストであり、また細胞性免疫応答の表現型の一つとしてさまざまな角度から研究されてきた。BCG で免疫した後、強毒結核菌でチャレンジすると、免疫動物は著明な抵抗性を示すことは、多くの実験系で知られた事実である。しかし、ヒトに BCG 接種をしても、陽転しなかったり、疑陽性の場合がしばしばみられ、これは免疫が賦与されなかったものと考えられている。このようなヒトに類回 BCG を接種しても、必ずしも陽転するとは限らない。我々はマウスに BCG 反応性の系統差があり、低反応性マウスでは遅延型アレルギーの成立を抑制する抗原特異的な T 細胞が出現することを見出した。このような抑制性 T 細胞の出現がヒトの BCG 難陽転者にも存在するのかもしれない。マウスのモデルを使ってその機作を明らかにするため、以下の実験を行なった。

材料と方法

マウス：近交系 SWM/MS, C3H/He, C57BL/10 (B10), および B10 系の congenic マウス B10. A(3R), B10. A(4R), B10. A(5R)を用いた。

抗原と抗体：Mycobacterium bovis BCG (日本株) は本研究室で継代しているものを用いた。PPD は日本 BCG 会社より入手した。抗 Thy 1.2 単クローン抗体、抗 I-A* (Ia. 2) 単クローン抗体、抗 Lyt 1.1 単クローン抗体、抗 Lyt 2.1 単クローン抗体、抗 I-J* アロ抗血清 (B10. A(3R) 抗 B10. A(5R) 血清) はいずれも Cedarlane 社から購入した。羊赤血球は船橋農場より購入した。

マクロファージ系株化細胞：CA1SL1 (SL-1) および CR1SL4 (SL-4) は C3H/HeN マウスの腹腔マクロファージを SV40 で transform して株化した細胞で、佐賀医大の永山教授により樹立された。両系とも RPMI 1640 培地に 10% の FCS と 5% の L-cell 培養上清を添加した培地で継代した。どちらも喰食作用をもち、Fc レセプ

ターがあり、エステラーゼ陽性であるが、SL-1 は I-A, I-J ともに陽性であるのに対し SL-4 は細胞表面に Ia を表現していない点が異なっている。

遅延型アレルギーの誘導と測定：BCG 生菌 10^7 をマウスの皮下に注射し、2 週間後に PPD $10\mu\text{g}/0.05\text{ml}$ を後足蹠に注射、遅延型の足蹠反応 (腫脹) をもってアレルギーの強さを判定した。足蹠の腫脹は PPD 注射 24 時間と 48 時間後にダイヤルゲージで $1/10\text{mm}$ 単位で測定し、注射前の足の厚さをひいた値を足蹠反応とした。

抑制性 T 細胞の誘導と検出：BCG 生菌を 10^7 を C3H マウスに静注すると、3～6 日後の脾細胞中に抑制性 T 細胞が出現する。この検出は細胞移入の方法で行なう。C3H マウスは BCG に対し低反応性であるが、サイクロフォスファミド (CY) を $200\text{mg}/\text{kg}$ 2 日前に腹腔内注射してから BCG で免疫すると、高反応性を示す。このような、CY 処理マウスに抑制性 T 細胞を含む脾細胞を静脈内移入した後に BCG で免疫すると、遅延型アレルギーの成立が抑制されることにより、その存在を検出する。抑制性 T 細胞の試験管内誘導は、C3H マウスの脾細胞を RPMI1640 培地 (10% FCS, $2 \times 10^{-5}\text{M}$ 2ME 添加) 中で抗原 PPD $50\mu\text{g}/\text{ml}$ とともに 4 日間培養して行なった。抑制性 T 細胞の検出は上述の方法で行なった。

脾細胞の分画：脾細胞をプラスチック皿に入れ 37°C 90 分付着させて、付着性細胞と非付着性細胞に分けた。非付着性細胞は、更にヤギ抗マウス Ig 被覆ペトリ皿に B 細胞を付着させて除き、残りを T 細胞画分とした。プラスチック付着性細胞は抗 Thy 1.2 と補体で処理して T 細胞を除き、マクロファージ画分とした。それぞれの画分を更に種々の抗体と補体で処理したのち再構築し、PPD とともに 4 日間培養して抑制性 T 細胞の出現を検討した。

アロ反応性 T 細胞の除去：C3H マウスの脾細胞と、3000 R 照射した B10 脾細胞を混合して 3 日間培養し、 $2\mu\text{g}/$

ml の 5-Bromo-2'-deoxyuridine (BudR, Sigma 社) を加えて更に 1 日培養後、可視光線で照射して BudR を取り込んだ細胞を殺し、残りの非附着性細胞をアロ反応性 T 細胞を含まない T 細胞画分とした。

結 果

(1) BCG に対する遅延型アレルギーのマウス系統差と CY の効果

SWM/Ms と C3H/He に BCG 10^7 を皮下注射し、2 週間後の PPD に対する足蹠反応をみると、表 1 のように SWM/Ms は高反応性、C3H/He は低反応性である。CY 200mg/kg を BCG 免疫の 2 日前に投与すると、C3H の反応は著明に上昇する。

(2) C3H における抗原特異的抑制性 T 細胞の出現

C3H マウスに BCG 10^7 を静脈内注射し、6 日後の脾細胞を CY 処理した C3H に移入し、このマウスを BCG で免疫すると、2 週後の PPD に対する遅延型反応が抑制された (表 2)。移入する脾細胞を抗 Thy1.2 抗体と補体で処理すると、抑制は失われた。また、この抑制効果は、細胞を抗 Lyt 1 抗体と補体または抗 Lyt 2 抗体と補体で処理しても失われたが、抗 I-J^k 抗血清と補体の処理には影響されなかった。したがって、抑制作用を持つ細胞は Lyt 1+23⁺ I-J⁻ の T 細胞である。BCG を静注したマウスの脾細胞は、羊赤血球 (SRBC) に対する遅延型アレルギーを抑制しなかった。したがって、この効果は抗原特異的である。

(3) 抑制性 T 細胞の試験管内誘導

C3H マウスの脾細胞を 5×10^6 /ml の濃度で $50 \mu\text{g}/\text{ml}$

の PPD の存在下で 4 日間培養し、得られた非附着性細胞をよく洗って残存する PPD を除き、CY 処理 C3H マウスに静注した。直ちにこれらを BCG で免疫し、2 週間後の PPD に対する遅延型反応を測定した。表 3 にみられるように、培養細胞は遅延型アレルギーの成立を抑制した。培養細胞を移入する前に抗 Thy 1 と補体で処理すると抑制作用は失われた。したがって、ここに出現した抑制細胞は T 細胞である。また、抗原特異的であることも確認された。

(4) 抑制性 T 細胞誘導におけるマクロファージの役割

C3H マウス脾細胞をプラスチック附着性により分画し、得られたマクロファージを主とする画分を抗 Thy 1 と補体で処理して残存する T 細胞を除いた後、抗 I-A^k または抗 I-J^k と補体で処理してから正常の T 細胞画分を再構築して PPD とともに培養した。この培養細胞をアッセイした結果、表 4 のように、抗 Thy 1 単独処理マクロファージと T 細胞の培養、および抗 I-A^k 処理マクロファージと T 細胞の培養には抑制活性が存在したが、抗 I-J^k 処理マクロファージと T 細胞の培養には抑制活性がなかった。T 細胞単独を PPD とともに培養しても抑制活性はみられなかった。この結果から、抑制性 T 細胞の誘導には、I-J 陽性マクロファージが必要であることが示唆された。

(5) 抑制性 T 細胞の前駆細胞

分画した T 細胞を抗 I-A^k または抗 I-J^k と補体で処理したのち、抗 Thy 1 と補体で処理したマクロファージと再構築し、PPD とともに培養すると、抗 I-J 処理 T 細胞を含む培養から抑制性の細胞は得られなかった。し

表 1 BCG に対する遅延型アレルギーのマウス系統差と CY の効果

マウス系統	CY 処理	足蹠反応(0.1mm±SD)
SWM/Ms	-	9.9±2.1
	+	N. T.
C3H/He	-	3.5±1.1
	+	8.8±1.2

表 2 *In vivo* 抑制性 T 細胞の誘導

移入細胞	処理	足蹠反応(0.1mm±SD)	
		PPD	SRBC
-	-	11.7±1.3	12.7±1.8
+	-	4.6±0.9	12.4±1.9
+	α Thy 1+C	11.0±0.8	11.4±1.1
+	α Lyt 1+C	11.6±1.5	N. T.
+	α Lyt 2+C	10.9±1.0	N. T.
+	α I-J ^k +C	3.6±0.2	N. T.

表 3 抑制性 T 細胞の試験管内誘導

移入細胞	PPD 加*	細胞処理	足蹠反応(0.1mm±SD)	
			PPD	SRBC
-	-	-	9.7±1.1	10.7±1.3
C3H Spleen	-	-	9.3±2.3	10.2±1.0
C3H Spleen	+	-	3.8±1.3	10.3±1.2
C3H Spleen	+	抗 Thy 1+C	10.9±2.1	9.9±1.5

* 培養中

たがって、抑制性 T 細胞の前駆細胞も I-J 陽性であると考えられる。(表5)

(6)マクロファージと T 細胞の I-J の間にみられる特異性

マクロファージと T の I-J 間の特異性を調べるために、C3H の T 細胞と、B10. A(3R), B10. A(4R), B10. A(5R)のマクロファージを組合せて、PPD とともに培養した。アロ反応性の T 細胞を除いた C3H の T 細胞を、同系の C3H のマクロファージまたは、5R のマクロファージとともに培養した時のみ抑制性細胞の誘導がみられた。この事実は、I-J^kの一致が重要であることを示唆している。(表6)

(7)マクロファージ系株化細胞を用いての抑制性細胞の誘導

C3H の脾マクロファージの代わりに SL-1, SL-4 を用いて抑制性 T 細胞の誘導を試みた。SL-1 (I-A⁺, I-J⁺) と C3H の T 細胞との混合培養は、PPD の存在下で抑制性 T 細胞を誘導したが SL-4 (Ia⁻) と C3H の T 細胞の混合では抑制細胞は出現しなかった。SL-1 を抗 I-A^k で処理すると、抑制細胞誘導能が増強した。この誘導能は抗 I-J^k 処理により失われた。これらの事実は、SL-1 の上の I-J 抗原が抑制性 T 細胞の誘導に重要な役割を果していることを示している。(表7)

表4 マクロファージの処理と抑制性 T 細胞の誘導

細胞移入	マクロファージ処理	移入細胞処理	足蹠反応(0.1 mm±SD)
-	-	-	10.6±1.2
+	-	-	5.5±0.7
+	抗 I-A ^k +C	-	6.1±0.5
+	抗 I-A ^k +C	抗 Thy 1+C	9.2±0.6
+	抗 I-J ^k +C	-	9.7±1.1

表5 抑制 T 細胞前駆細胞の表面抗原

細胞移入	マクロファージ	T 細胞処理	足蹠反応(0.1 mm±SD)
-	-	-	7.6±1.1
+	+	-	2.2±1.2
+	+	抗 I-A ^k +C	3.0±1.6
+	+	抗 I-J ^k +C	8.0±2.6

表6 抑制性 T 細胞誘導におけるマクロファージと T の I-J の一致

マウス系統		I-領域の一致	PPD に対する足蹠反応(0.1 mm±SD)
マクロファージ	T		
C3H	C3H	A, J, E	5.5±0.6
B10. A(3R)	C3H	E	8.5±1.3
B10. A(4R)	C3H	A	8.6±1.2
B10. A(5R)	C3H	J, E	3.2±1.1

表7 株化マクロファージを用いての抑制性 T 細胞の誘導

株化マクロファージ	処理	足蹠反応(0.1 mm±SD)
-	-	7.2±0.7
SL-1	-	3.8±0.6
SL-1	抗 I-A ^k +C	2.7±0.5
SL-1	抗 I-J ^k +C	7.2±1.3
SL-4	-	7.5±0.5

結 論

ツベルクリン反応の成立を抑制するT細胞の誘導には、I-J陽性のマクロファージが重要な役割を果していることが、マウスの実験系によって明らかとなった。この

T細胞の前駆細胞はI-J陽性であり、マクロファージとこの前駆T細胞の間にはI-Jの一致が要求された。しかし、エフェクターである抑制性T細胞はLyt 1⁺, 23⁺でI-Jであった。

3. 結核菌感染によるマクロファージの活性化と分化

島根医科大学 田 中 渥

結核菌体中の結節形成因子は、細胞壁あるいはロウD中に含まれることがわかっていたが、先に私達は細菌細胞壁中に一般に含まれるムラミル・ジペプチド(MDP)が、リピド特に分枝脂肪酸(ミコール酸)と結合している構造が、結核菌の結核結節に重要な構造であるという仮説を提唱した。また、グルコース酸化、グルコサミン取り込み、器壁上での付着、伸展、網内系食作用増強、マクロファージ遊走阻止などを指標として、MDPはマクロファージを活性化することを報告してきた。今回私達は、MDPがマクロファージを活性化すると、DNA合成が抑制され、DNAポリメラーゼα活性が抑制されるが、DNAポリメラーゼβ活性は抑制されないことを見出した。

モルモットの無機油により浸出してくる腹腔マクロファージは、試験管内で酸不溶部に³H-チミジンを活発に取り込むことが見出された。(図1) 通常マクロファージはある種の組織液がなければ、試験管内でDNA合成をしないといわれている。また、³H-チミジンはDNAでない膜の巨大分子に取り込まれるという報告がある

Suppression of macrophage DNA synthesis by 3 hours' pulse of MDP

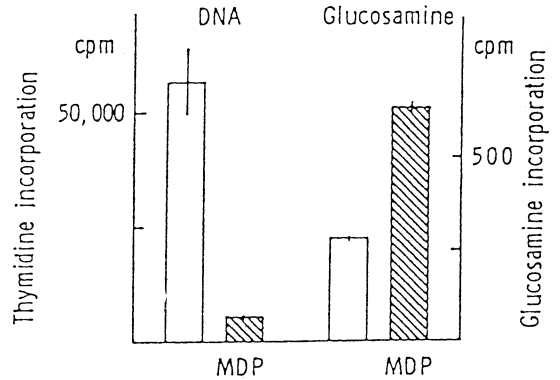


図1 マクロファージはチミジンを活発に取り込むことを示している。MDPとマクロファージを3時間インキュベートすると、マクロファージの酸不溶部へのチミジン取り込みは抑制され、グルコサミン取り込みは増強することを示す。□ 対照群, ▨ MDP添加群

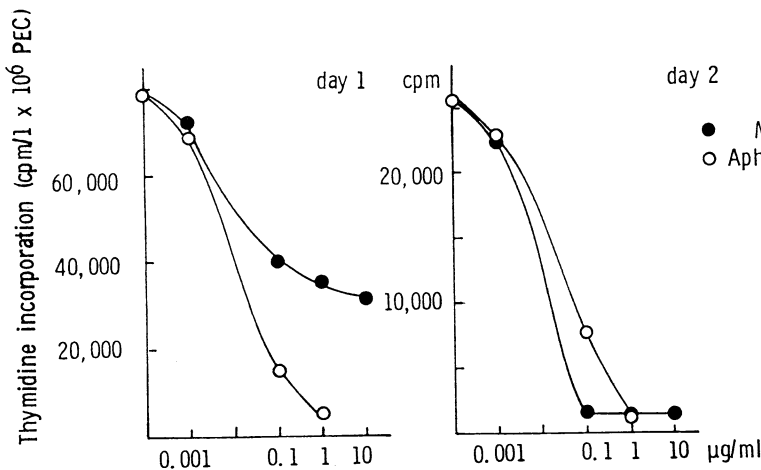


図2 マクロファージを種々の濃度のMDPあるいはアフィディコリンと培養後、³Hチミジンの酸不溶画分への取り込みが減少することを示している。day 1は、³Hチミジンを0時間から24時間加えた結果。day 2は、³Hチミジンを24時間後から更に24時間加えた結果を示している。

し、マクロファージは核以外にも DNA をもっているし、また、核に取り込まれていても、DNA修復である可能性もあるので、マクロファージへの³H-チミジン取り込みは直ちにマクロファージの核の DNA の複製であるとはいえない。したがって、この点について、詳細に検

討した。アフィディコリンで³H-チミジン取り込みが95%も阻止された。(図2)これは、³H-チミジン取り込みがDNAポリメラーゼα活性を反映していることを示している。また、オートラジオグラフィーの結果、マクロファージの約10%の核が³H-チミジンにより強くラベルされた。これらのことから、³H-チミジン取り込みは核のDNAの複製であることが強く示唆された。

次に、マクロファージ酸不溶部への³H-チミジンの取り込みが、MDPにより強く抑制された。(図1)この抑制は1時間で既に有意であった。(図3)これが、真のDNA合成の阻止によるのかどうかを検討した。MDPは³H-チミジンのマクロファージ膜の透過を低下させず、かえって透過を増強した。(図4)また、MDPはマクロファージ内におけるチミジンの*de novo*生合成を高めなかった。したがって、チミジンの膜の透過性の低下、あるいは、新しく合成される‘cold’チミジンによる“希釈”によって、MDPによるチミジン取り込みの低下を説明することはできず、MDPは真にDNA合成を阻止することが強く示唆された。オートラジオグラフィーの結果、³H-チミジン核内に取り込むマクロファージは、MDPの使用により全体の1%に低下することがわかった。また、MDPによるマクロファージDNA合成阻止は*in vivo*においても起こった。(図5)

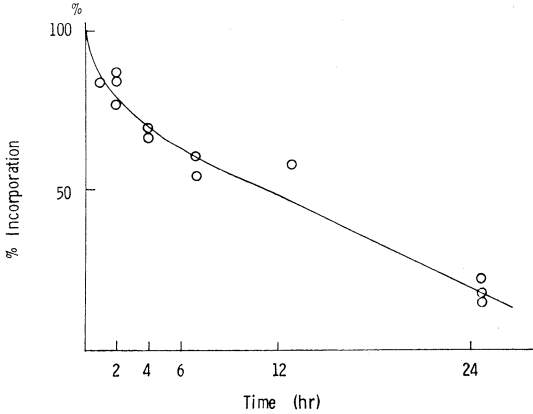


図3 MDP添加後の³Hチミジン取り込みの減少を経時的に%取り込みとして示している。% incorporation = (MDP群のcpm/対照群cpm) × 100

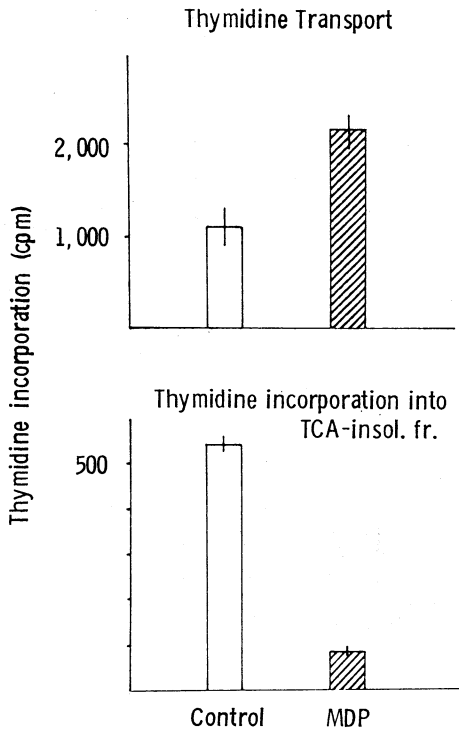


図4 上図は、MDPによりチミジンの膜の透過はかえって上昇するが、下図は、MDPによりDNA合成は抑制されることを示す。

Suppression of Macrophage DNA Synthesis by MDP *in vivo*

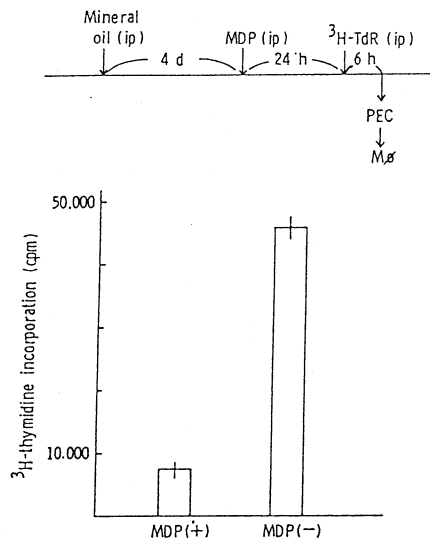


図5 モルモットに流動パラフィンを腹腔注射し、4日後、MDP(あるいは対照として食塩水)を腹腔注射し、24時間後、³H-チミジンを腹腔注射し、6時間後、腹腔細胞を取り出し、これから更にマクロファージを取り出して、マクロファージの酸不溶部へのチミジン取り込みを測定した。

MDPは、マクロファージを刺激してプロスタグランジンE₂を遊離させ、後者はマクロファージのDNA合成を強く抑制することがわかっている。また、マクロファージが遊離するチミヂンは強いDNA合成阻止力を持っている。しかし、少なくともMDPによるマクロファージ刺激の初期においては、MDPは直接マクロファージを刺激することによりDNA合成を抑制するのであって、MDPにより刺激されたマクロファージから出されるメディエーターによる二次的効果によるのではないことがわかった。つまり、プロスタグランジンE₂は

確かにマクロファージのDNA合成を抑制したが、抑制に潜伏期がみられた。(図6)また、インドメサシンはMDPのDNA合成抑制能を除去しなかった。(図7)一方、MDPはマクロファージを刺激してプロスタグランジンE₂を放出させることはわかっているのに、図6の結果から、刺激の後期にはそのようなメディエーターが関与してくると考えられる。更に、MDPはマクロファージのDNAポリメラーゼαの活性を著明に抑制し、DNAポリメラーゼβ活性を抑制しなかった。(図8, 図9) αは主にDNA複製を、βはDNA修復を行

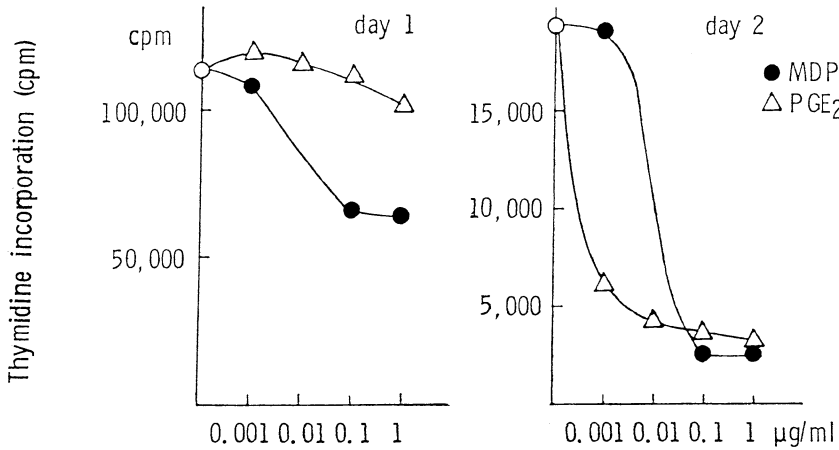


図6 マクロファージにMDPあるいはプロスタグランジンE₂(PGE₂)を加えて、24時間(左)、あるいは48時間(右)インキュベートした後、³H-チミヂンを加え、24時間後、酸不溶部へのチミヂンの取り込みを測定した。

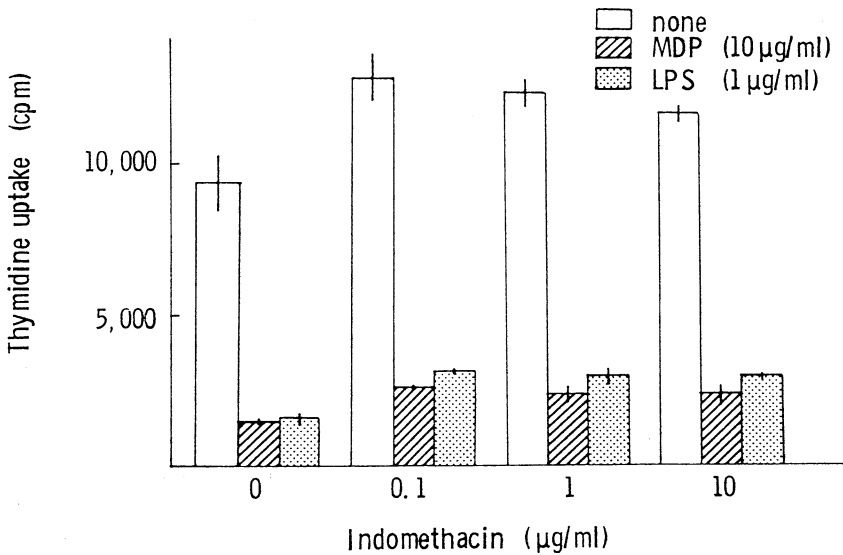


図7 MDPあるいはLPS添加群に種々の濃度のインドメサシンを加え、³Hチミヂン取り込み減少への影響を検討した。インドメサシンはMDPあるいはLPS添加群の³Hチミヂン取り込み減少を解除しなかったことを示している。

なっている。

一般に細胞が分化するときには DNA 合成が抑制され、DNA ポリメラーゼ α 活性が抑制されるが、 β 活性は抑制されないといわれている。種々の MDP 類似体について調べると、MDP のマクロファージ活性化能、類上皮細胞肉芽腫形成能、DNA 合成阻止能の間には密接な平行関係がみられた。(表1)類上皮細胞は単球あるいはマクロファージから分化すると考えられている。したがって、MDP によるマクロファージの活性化の部分現象として DNA 合成抑制現象がみられること、およびマクロファージ活性化がマクロファージから類上皮細胞への分化の初期段階であることが示唆された。このように、MDP によりマクロファージの DNA 合成が抑制されることは、マクロファージが分化するためと思われる。

このように考えると、リンパ球が抗原、レクチンで刺激されると DNA 合成が増強されるが、マクロファ-

ジが活性化されると反対に DNA 合成が阻止されることの意味が理解できる。

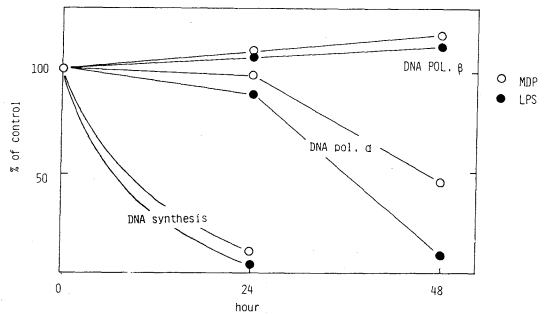


図9 MDPあるいはLPSと培養後のマクロファージのDNA合成とDNAポリメラーゼ α および β の変化を% controlで示している。% control=(MDPあるいはLPS添加群/対照群)×100。MDPあるいはLPS添加によってDNA合成とDNAポリメラーゼ α 活性が特異的に減少することが示されている。

Sucrose Gradient

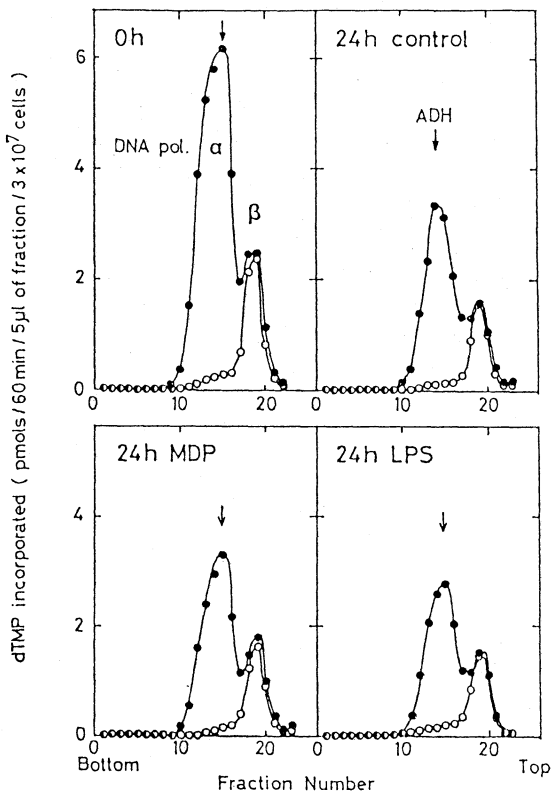


図8 マクロファージをMDPと一緒にインキュベートし、48時間後、マクロファージをホモジネートし、蔗糖密度勾配により、DNAポリメラーゼ α と β 活性を測定した。

	Adjuvant activity	Macrophage activation	Epithelioid Granuloma Formation	Macrophage DNA Suppression
MDP	+	+	+	+
Acetyl MDP	+	+	+	+
Acyl MDP	+	+	+	+
MDP (Ser)	++	++	++	+
MDP (Glu)	+	+	±	±
MDP (Gln)	±	±	±	-
MDP (Gly)	±	±	±	-
MDP (D-isoAsn)	-	-	-	-
MDP (L-isoGln)	-	-	-	-
MDP (D-Ala)	-	-	-	-
Peptidoglycan	+	+	+	+
Peptidoglycan fragments	+	+	+	+
Endotoxin	+	+	+	+
Bioestim	+	+	+	+

表1 表中の物質を用いてアジュバント活性、マクロファージ活性化、類上皮細胞肉芽腫形成、マクロファージのDNA合成抑制がよく相関することを示している。アジュバント活性はモルモットに卵白アルブミンを抗原とし、上記の物質をアジュバントとして油中水型のエマルジョンにして注射後、2~3週間に遅延型皮内反応を行ない判定した。マクロファージ活性化はモルモット腹腔マクロファージへの ^{14}C グルコサミンの取り込み増加、DNA合成の抑制は、 ^3H チミジンの取り込み抑制を指標にした。また、類上皮細胞肉芽腫形成は上記の物質を油中水型エマルジョンにして足裏に注射後2~3週後に所属リンパ節をとり、組織学的に判定した。

4. 結核症における肉芽腫発生機序の考察

日本メルク万有研究所

コネチカット大学医学部病理

吉田 彪・小林和夫

緒言

肉芽腫性炎症は大きく分けると、過敏性肉芽腫と異物性肉芽腫の二種があることが知られている。前者はその名が示すように免疫反応がその起因となるものであり、後者は一定の大きさを持った化学物質によると思われているが真因はいまだに不明である。

過敏性肉芽腫について、我々は抗原を付着したアガロース粒子を用いて惹起する実験モデルを用い、モルモットにおいてその発生に細胞性免疫のメディエーターであるリンホカインが重要な役割を果たすことを示してきた¹⁾²⁾。その主たる根拠は3方面から与えられてきた。まず、肉芽腫組織の中に各種のリンホカイン、殊にマクロファージに影響を与えるようなものが認められた。例えば、マクロファージ遊走阻止因子(MIF)、マクロファージ趨化性因子(MCF)、マクロファージ融合因子(MFF)、などが肉芽腫炎症の発現初期に認められ、その活性は肉芽腫惹起後一週間以内には認め難くなった。第2の根拠は、果糖、あるいは抗リンホカイン抗体などの、リンホカイン阻止物質を生体内に投与すると肉芽腫の惹起が遅延ないし減弱させられた。第3に、アガロース粒子にリンホカインを付着させて正常動物に注入すると、非常に早く且つ強い肉芽腫炎症を惹起することができた。このような点から過敏性肉芽腫惹起に当っては、リンホカインが主要な役割を果たしていることが判明してきた。

最近更に、マウスを用いた同様な過敏性肉芽腫炎症の実験において、単に上述のようなリンホカインだけではなく、マクロファージ由来のメディエーター、即ちインターフェロン γ (IL 1) が多量に放出されることが判明した。

肉芽腫炎症がある臓器(例えば、肺)で起こっているときに、全身的には細胞性免疫の各種のパラメーターが減弱していることがよく知られている。モルモットやマウスにおいて、上述のように惹起した肺肉芽腫症の動物でもこのような現象がみられ、アネルギー状態の存在が確認された。その原因の一つの説明としては、肉芽腫部位で生産されたリンホカインの血中流入による炎症細胞への直接的阻害や、やはり肉芽腫部位からの免疫抑制物質の生産などによって、フィードバック機構が働いていると思われる。

結核症における肉芽腫炎症、殊に肺内の肉芽腫形成の機序やそれが及ぼす全身免疫状態への影響などにつ

いて現在の我々の知識は比較的乏しい。殊に、結核肉芽腫が、果して免疫性ないし過敏性肉芽腫惹起の機構で十分に説明しうるかどうか、異物反応の関与はあるかなど大きな問題が残されている。このような点を解明する手がかりとして、BCGのマウス気管内注入によって惹起した肺肉芽腫をモデルとして、可溶性メディエーターの動向を検討してみた。

1. 肺肉芽腫発症のマウス系統差

BCGの気管内注入後1~3日にC57BL/6JおよびBALB/cマウスでは単核細胞、殊にマクロファージが肺全体に強く浸潤する。この変化は、結核免疫マウスの方により強くみられるものの正常マウスにも十分に観察された。一方、CBA/Jマウスでは極めて軽度の細胞浸潤しか認められなかった。2週ないし3週後には、C57BL/6JおよびBALB/cでは多数の巨大肉芽腫が認められるのに対してCBA/Jでは少数の小さなものしか見られなかった。注目すべき点は、この時点では、前もって免疫をしておいた動物としなかったものとの間に、肉芽腫の数や大きさに殆んど差を見出せないということである。いずれにせよ、この結果はC57BL/6JおよびBALB/cはBCGの気管内注入に対して肉芽腫高産生系マウスであり、CBA/Jは低産生系マウスであることを示している。

2. BCG肉芽腫内のMIF活性

C57BL/6JおよびBALB/cの肉芽腫抽出液内にはMIF活性がBCG注入後24時間すると認められ、7日間にわたって高い活性がみられた。この間、免疫および非免疫両群の間に差はなかった。一方、CBA/Jにおいては、抽出液中に殆んどMIF活性を認めることがなく僅かにBCG注入後24時間のもののみ弱い活性が検出された。これらの結果は、NetaおよびSalvin³⁾が血清中のMIF様活性の惹起能に各種マウス系統間で差があるとしているデータなどもよく一致している。

3. 肉芽腫抽出液中のIL1活性

強いIL1活性がC57BL/6JおよびBALB/cマウスから得たBCG肉芽腫抽出液に認められた。しかしながら、MIF活性の現われ方と違って、免疫および非免疫両群ともBCG注入後24時間の病変中に最大活性がみられ、その後急激に減少し、7日目の抽出液中には極めて弱い活性しか認められなかった。肉芽腫低産生系マウスであるCBA/Jでは24時間後に若干の活性が認められるだけで2日目以降は殆んど検出されない。C57BL/6JでBCG注入後どの位早くIL1が出現してく

るかを検討してみると、少なくとも6時間後にはかなりの活性がみられた。しかし、BCG注入直後の肺組織中にはIL 1活性はないから、BCGそのものがIL 1測定系に直接影響を与えていることはない。この点興味深いと思われるのは、他の水溶性抗原（牛血清アルブミンや卵白アルブミン）で惹起した肉芽腫中ではIL 1活性は抗原投与後3日にして初めて最大に達した事実との違いである⁹⁾。

4. 肉芽腫抽出液中にIL 2不在

CTLL(細胞障害性T細胞株)を用いたIL 2の特異的測定法でBCG肉芽腫中のIL 2活性を検討したところ、全く検出出来なかった。免疫反応系におけるIL 1とIL 2との相互関係を考えると、これは極めて不自然な状況と考えられるが、肺内にはIL 2を非特異的に破壊する物質があることから、ある程度の説明はつくと考えられる。現在までのところ種々の実験系による報告でも生体内からIL 2を検出したものが殆んどないことと合わせ考えると興味深い事実である。

5. 遅延型足蹠反応の抑制

BCGで惹起した肉芽腫を担っているC57BL/6JやBALB/cマウスではBCG、PPDあるいはMBSA(メチル化牛血清アルブミン)などに対する遅延型足蹠反応が抑制されている。一方、CBA/Jマウスでは殆んど抑制は認められなかった。このような実験系では反応の抑制状態は約1週間続いて認められる。この反応の抑制はMIFを含む各種リンホカインの血中流入によってフィードバック機構が働き、リンホカインの産生が全身的に抑制されるためであろうと考えられる。この点は、遅延型脱感作モデルで判明した抑制機構が、この肉芽腫モデル(殊に過敏性肉芽腫)でも作用していると考えられる。更に、肉芽腫病変から発生してくる免疫反応抑制非特異的物質の関与も否定できない。

6. リンパ球増殖反応の抑制

BCG肉芽腫をもつようなマウスでは上述のように遅延型足蹠反応が抑えられているだけでなく、*in vitro*のリンパ球増殖反応が抑制されていることも判明した。この現象も、C57BL/6JやBALB/cの肉芽腫高産生系では強く認められるが、CBA/Jマウスでは殆んど反応の抑制はみられなかった。抑制状態が、BCG投与後1日目から始まり1週間は続くという経時的変化のあり方も、上述したような種々のBCG肉芽腫時にみられるパラメーターの変化とよく一致している。

7. 肉芽腫マウスにおける抗体産生

上述してきたように、遅延型足蹠反応や*in vitro*の細胞性免疫反応などが、BCG肉芽腫をもつ動物で抑制されているが、液性抗体産生能は殆んど影響を受けなかった。この実験モデルではMBSAに対する血中抗体を¹²⁵IラベルしたA蛋白を使ったRadioimmunoassayによって測定した。約2週間後に検出され、その後

2週間にわたって増加し、プラトーに達した。この時間的経過には、肉芽腫反応をもっているかないかによって差はなかった。このような点から、肉芽腫担体動物では細胞性免疫の抑制はあるが、液性免疫反応の抑制はないと考えられる。

考 察

今回の一連の実験によって判明してきたことは次のような点である。BCGを気管内注入することによって惹起される肉芽腫反応には、マウス系統差が存在する。この点はMIFとかIL 1というような伝達物質が肉芽腫病変部で作られたり、またその時にみられる全身的アネルギー状態などの現われ方などでマウス系統差と全く同じようにみられる。更に、肉芽腫高産生系のマウスでは、それらが結核抗原で免疫されていたかいないかによっては、少なくともこの系では、殆んど肉芽腫の出現の経過やメジエーター検出時期などに差がみられなかった。

肉芽腫形成は複雑な一連の炎症反応の表現と考えられるが、近年、過敏症型肉芽腫の形成や維持機構に細胞性免疫のメジエーターであるリンホカインが重要な役割を果していることがわかってきた。更に、BCGに対するマウスの抵抗性や肉芽腫形成に遺伝的因子が深く関わることもわかってきた。遺伝的に抵抗性のある動物では、殊更に免疫反応を起こすことなしに全体の菌増殖を防ぐことができる。遺伝的に抵抗性の少ないマウスでは非常に早期に免疫反応を惹起させ、それによって肉芽腫反応なども強度に起こると考えられている。これらの点を考慮して今回の実験結果を考えてみると、MIFやIL 1などのメジエーター活性が遺伝的にはBCG抵抗性の弱いC57BL/6JやBALB/cに多く検出され、抵抗性の強いCBA/Jではこれら伝達物質の産生も少なく肉芽腫反応も極めて弱かった。これらの結果から、BCG感染に対する防御機構のかなり早期に影響を与えると思われる活性マクロファージやT細胞からの伝達物質産生のプロセスに、遺伝的因子が制御作用をしていると考えられる。これらメジエーター相互間も極めて密接な関係にあり、T細胞は直接的ないしリンホカインを通してマクロファージからのIL 1産生を刺激する。一方、BCGは直接マクロファージを刺激してIL 1産生に導びくこともできるし、アジュヴァント作用も含めてT細胞の刺激およびリンホカインを通してIL 1産生を増強することもできる。逆に強く活性化されたマクロファージは、RNAや蛋白合成の内因性抑制因子を増強してIL 1産生を抑えようとする働きもある。いずれにせよ、CBA/Jマウスでみられたような、IL 1やMIF産生の低いことはBCGに対してマクロファージおよびリンパ球相互反応の弱さに起因するものであり、それが肉芽腫形成の減弱に連なっていると

思われる。

肉芽腫形成に伴うアネルギーの出現についてはBCG肉芽腫に特異的なことではなく、水溶性抗原をアガロース粒子に付着し、気管内注入した過敏型肺肉芽腫症においても確認されている。その機構は、遅延型脱感作モデルで示されているようなフィードバック制御機構⁵⁾による非特異的反応弱体化だけではなく、抗原刺激によるIL 2産生の抑制(おそらくは抑制性マクロファージによって)に直接支配されていると考えられる。

BCG気管内注射する前に被実験動物が免疫されていたか、いなかったかによる差が、肉芽腫反応の見かけ上の強さに殆んど差として現われてこなかったのはどのような理由によるものであろうか。この点は比較的純粋に免疫反応によって惹起されたアガロース粒子-抗原系との比較をしてみると興味深い。即ち、IL 1やリンホカインの検出はこちらの系では比較的ゆっくり上昇して3日目位にピークに達するのに、BCGの場合には1日目にピークがあり、驚くべきことに、IL 1などはBCG注入後6時間にして検出されていることである。これらの点を総合的に考慮すると、BCG肉芽腫の形成には免疫反応に匹敵するぐらい強い非免疫的化学反应が関与していることを示唆する。この点はもちろん多くの研究者が示してきた結核菌中のmuramyl di-

peptides(MDP)による非免疫的肉芽腫惹起機構と合わせ考えると理解しやすい。

このように結核性肉芽腫の形成には過敏症型肉芽腫の機構だけでなく、いわゆる、異物性肉芽腫(あるいは化学物質性)の関与が強い影響を与えている。後者の機構に関与する細胞レベルおよびメジエーターレベルでの詳細な検討は今後の研究結果をまたねばならない。

文 献

- 1) Masih, N., J.Majeska, and T.Yoshida : Am J Pathol, 95 : 391, 1979.
- 2) Yoshida, T. : In "Basic and Clinical Aspects of Granulomatous Diseases, eds DL Boros and T. Yoshida, Elsevier/North-Holland, NY, p.81, 1980.
- 3) Neta, R. and S.B.Salvin : Cell Immunol, 51 : 173, 1980.
- 4) Kobayashi, K., et al. : Submitted for Publication, 1984.
- 5) Yoshida, T. and S. Cohen, : Fed Proc, 41 : 2480, 1982.

5. ヒトの結核と免疫

大阪府立羽曳野病院 露 口 泉 夫

結核は、結核菌による感染症ではあるが、一方、この結核菌を抗原とする宿主側の免疫反応、特に細胞性免疫反応により、その病態が修飾され、臨床的には極めて多彩な病像を呈するに至る疾患である。即ち、結核菌節にとどまるもの、空洞形成に至るもの、また胸水貯留を主たる病変とするもの等である。また、その治癒過程においても、化学療法ですみやかに治癒するものから、薬剤耐性を獲得し難治化する症例がある。

我々は、これら多彩な病像を呈する結核患者からのリンパ球について、免疫学的解析を行ない、結核菌体抗原に対する宿主生体の細胞性免疫能において、それぞれの病態を呈する結核で、どのような違いがあるのかを明らかにしようとした。主として末梢血および胸水リンパ球について、その表面マーカーを検索し、合わせて *in vitro* における、ツベルクリン PPD 刺激による反応の解析を行なった。

方 法

主として入院中の結核患者の末梢血リンパ球(PBL)および胸水リンパ球(PFL)を用い、一部、ツ反陽性

の健康人PBLを用いた。PPDによる刺激は、*in vitro* で培養することにより行なった。幼若化反応の測定は、³H-チミジンの細胞への取り込みで行なった。Tリンパ球表面マーカーとしては、OKTシリーズによるモノクローン抗体を用いた間接蛍光抗体法により、Tリンパ球サブセットを、また、特に活性化Tリンパ球の検出には、IgG Fcレセプター陽性(T_γ)、自己赤血球とロゼット形成性T(auto-RFC)、Ia抗原陽性T(Ia-T)、およびTac(T cell activation)抗原陽性T(Tac⁺-T)リンパ球を、それぞれロゼット形成法および間接蛍光抗体法で測定することにより行なった。

成 績

1. 結核患者リンパ球サブセットの解析

OKTシリーズのモノクローン抗体を用い、Tリンパ球サブセットの割合を検討した。表1にその成績を示した。OKT 4陽性Tリンパ球(ヘルパー/インデューサー)は、健康人対照群では46.7%であり、胸膜炎胸水リンパ球群(64.2%)で有意の増加がみられた。OKT 8陽性Tリンパ球(サプレッサー)は、難治性肺結核

患者および胸膜炎患者の、いずれも末梢血リンパ球群で増加の傾向がみられた。従って、T4⁺/T8⁺比は、胸水リンパ球で有意の上昇を、逆に、胸膜炎末梢血および難治性肺結核末梢血リンパ球で有意の低下がみられた。

2. in vitro PPD 刺激によるTリンパ球サブセットの変動と、活性化Tリンパ球の出現

結核菌に対する抗原特異的な反応をみるために、PPD刺激後のリンパ球について解析を行なった。PBLおよびPFLを *in vitro* で、PPD存在下で培養すると、いずれの患者および健康人群においても、³H-チミジンの取り込みで測定した幼若化反応では、取り込みの上昇がみられた。特に胸膜炎患者PFLでは著名な上昇を、逆にそのPBLでは他のリンパ球群に比し、低下がみられた(表2)。Tリンパ球サブセットの変動では、新鮮症例PBL、胸膜炎PFLをPPDで刺激した場合にはT4陽性細胞の増加を、逆に難治症例および胸膜炎患者のPBLではT8陽性細胞の増加をみた。

PPD刺激後の活性化Tリンパ球の変動をみると、T γ 細胞は難治症例群で、また、他のIa-T, auto-RFC, およびTac⁺-Tリンパ球は、いずれのリンパ球群においても、PPD刺激で増加するのをみたが、胸膜炎、PFLの場合に特に著しい増加がみられた。

3. Tリンパ球サブセットの機能的解析

ロゼット形成分離法、補体処理法により、それぞれのTリンパ球サブセットを分離し、PPD刺激による幼

若化反応、また、それへの添加による影響等をみた。その結果、T4陽性Tリンパ球、Ia-T, auto-RFC, Tac⁺-Tリンパ球は、いずれもPPD刺激による幼若化反応に直接関与する細胞であり、T8陽性細胞およびT γ 細胞は、反応に抑制的に作用することがわかった。

4. PPD 低反応性リンパ球の、IL-2 添加による反応の回復

難治性結核患者では、しばしばツ反応の減弱ないし陰性化がみられ、そのPBLの *in vitro* における、PPD刺激による幼若化反応の低下が観察される。この場合、考えられることは、PPD刺激による1) IL-2産生の低下、2) IL-2レセプター出現の低下、のどちらか、あるいは両方の可能性である。従って、もしIL-2の産生のみが低下しているような症例では、外部からIL-2を添加してやることにより、反応の回復が示唆される。表3に、この可能性を支持する成績を示した。症例M.F., K.M.ともに、PPD刺激に対する反応性が低い。症例K.M.では、PPD単独刺激では³H-チミジンの取り込みでみられる幼若化反応は低いが、ここに、外部からIL-2を加えることにより、その上昇がみられた。抗Tacモノクローン抗体で検出するIL-2レセプターは、この症例K.M.では、PPD刺激により、充分出現していることがわかる。一方、症例M.F.では、PPD刺激による反応が低く、IL-2添加によっても、その上昇はみられなかった。また、PPD刺激によるIL-2レセプター

表1 結核患者におけるTリンパ球サブセット

患者	E-RFC	OKT 3	OKT 4	OKT 8	T 4/T 8
肺結核					
難治症例(n=9)	74.1%	59.4%	37.1%	29.5%	1.5
新鮮症例(n=12)	70.2	63.1	44.7	23.5	2.0
結核性胸膜炎(n=10)					
胸水リンパ球	89.0	86.4	64.2	20.3	3.4
末梢血リンパ球	68.0	56.1	37.8	24.1	1.7
健康人対照(n=14)	74.3	64.2	46.7	23.2	2.1

表2 PPD刺激によるTリンパ球サブセットの変動と幼若化反応

患者	T 4(%)		T 8(%)		T 4/T 8		幼若化反応(cpm×10 ⁻³)
	—	PPD	—	PPD	—	PPD	
肺結核							
難治症例(n=9)	43.1	41.8	27.8	30.4	1.6	1.5	18.4
新鮮症例(n=12)	42.9	53.0	23.4	20.2	1.9	3.0	25.1
結核性胸膜炎(n=11)							
胸水リンパ球	52.6	65.6	22.3	16.1	2.6	4.5	39.1
末梢血リンパ球	45.3	38.9	24.8	32.0	2.1	1.4	7.9
健康人対照(n=10)	44.5	46.3	25.3	23.9	2.0	2.1	24.0

表3 PPD刺激による幼若化反応におけるIL-2添加の影響

	幼若化反応 (cpm $\times 10^{-3}$)			IL-2レセプター陽性細胞(%)	
	PPD	PPD+IL-2	IL-2	-	PPD
患者					
M. F.	0.9 \pm 0.3	11.2 \pm 1.4	8.5 \pm 0.6	4.9	7.8
K. M.	10.5 \pm 0.3	31.9 \pm 0.5	5.1 \pm 0.3	3.2	15.7
健常人					
Y. Y.	18.0 \pm 0.9	25.2 \pm 1.4	14.8 \pm 1.3	8.2	45.2

の出現もみられなかった。即ち、症例 K.M.では、PPD刺激によるIL-2産生がわるいために、症例 M.F.では、PPD刺激による、少なくともIL-2レセプターの出現がわるいために、反応が低下していたことが考えられる。

まとめと考察

新鮮症例末梢血および胸膜炎胸水リンパ球では、ヘルパー/インデューサー表現型の細胞が多く、また、*in vitro*でPPDで刺激することにより、更に増加した。その際、種々の方法で検出する活性化Tリンパ球の著増がみられた。結核菌を抗原として、アレルギー反応を惹起せしめる特異的Tリンパ球が、これらの症例、特に胸膜炎胸水中に動員され、濃縮されて存在していることが示唆された。

難治症例および胸膜炎群のPBLでは、抑制機能をもつ細胞の増加していること、また、PPD刺激により更に増加するのを観察した。結核菌に対する免疫アレルギー反応の低下していることが示唆された。これらの患者で、しばしばみられる、ツベルクリン反応の陰

性化と関連づけ、興味ある所見である。

結核は臨床的に多彩な病像を呈する。一つは、菌体側の毒力の違い等に求められようが、他の大きな要因は、宿主の免疫機能の違いであろう。我々は、その細胞レベルでの解析を通じて、宿主の免疫能においても、臨床像を反映し、多彩であることを明らかにした。宿主の免疫能の違いが、その病像の変化、治癒機転の違いとして反映されよう。難治症例で、常に結核菌に曝露されているにもかかわらず、ツベルクリン反応が陰性のケースは、臨床経験するところである。*in vitro*におけるPPD刺激に対する低反応性が、IL-2の添加により、正常にまで回復するという上記の成績は、これら難治性結核菌症例に対する、免疫学的治療への可能性を示唆している。

細胞性免疫不全症に対する、いわゆるトランスファクター・ファクターの応用がいわれて久しい。これら難治性結核患者にみられる免疫能の低下を、細胞レベルで明らかにするとともに、より精製されたファクターを得ることにより、*in vivo*への応用、難治性結核に対する免疫学的治療への展望がひらけよう。

6. 気管支肺胞洗浄液中のマクロファージについて

京都大学結核胸部疾患研究所内科学第2内科 大島 駿 作

気管支肺胞洗浄(BAL)は、最近になって呼吸器疾患の診断に有用な手技として次第に広く実施されるようになった。更に、BALによって採取される細胞は、生体の臓器内から直接採取できる細胞としての数少ない例の一つであり、疾患の経過を追って細胞の形態や機能について調べることが可能であるため、BAL細胞について研究することは種々の肺疾患の成立機序を解明する上に重要と考えられている。

我々の教室では、肺結核症、サルコイドーシス、慢性ペリリウム肺、過敏性肺炎など、肺に肉芽腫を形成する疾患からBALによって得られたマクロファージを中心にBAL細胞の形態と機能について研究を行なっ

た。対照としては肉芽腫形成を伴わないびまん性肺疾患である特発性間質性肺炎および膠原病性間質性肺炎を有する患者、および健常者から得られたBALマクロファージを用いた。

1) BAL細胞の採集

BAL細胞採集のため、4%リドカイン表面麻酔下に気管支ファイバースコープを右中葉または左舌区の垂～垂々区域枝に楔入し、滅菌生理的食塩水200mlを50mlずつ4回に分けて注入回収し、BAL液を得た。BAL液は単層ガーゼにて濾過した後、250 \times g、10分間遠沈し、沈査としてBAL細胞を得た。この細胞を2回洗浄後イーグルMEMを用いて細胞浮遊液とし、FCS処理

したプラスチックシャーレ中で37°C、1時間インキュベートした後“adherent cell”としてマクロファージを採取した。一方、non-adherent cell からナイロンウールやセファデックス G10カラムを通してリンパ球を採取した。これらの細胞について形態学および免疫学的研究を行なった。

BAL 細胞の収量は、健常者では細胞数が 10^6 cell/ml 前後であったのに対し、過敏性肺臓炎、サルコイドーシスなどのびまん性肺疾患患者では 2×10^6 cell/ml から 10^7 cell/ml を超える症例もあって、全般に肺疾患患者では増加傾向が認められた。

BAL 細胞の組成は、健常者ではマクロファージが主成分で全細胞数の90%以上を占め、リンパ球が5%前後でこれに次ぎ、好酸球、好中菌、好塩基球は極めて少数であった。しかし、肺感染症では好中球が増加し、またアレルギー性肺疾患ではリンパ球や好酸球の増加が認められた。例えば過敏性肺臓炎患者では健常者に比してリンパ球の著明な増加と、相対的なマクロファージの比率の減少が認められた。

2) 形態学的研究

各種肺疾患患者の BAL マクロファージを、光学顕微鏡下で、S (small) 型、M (median) 型、F (foamy) 型の3型に分類し、各疾患群におけるマクロファージ各型の出現頻度を調べた。その結果、肺野病変を伴うサルコイドーシス、慢性ペリリウム肺、過敏性肺臓炎、膠原病性間質性肺炎では大型の泡抹細胞 (F型) が高率に認められたが、一方、特発性間質性肺炎や BHL のみのサルコイドーシスでは対照 (肺癌健側肺より得たマクロファージ) と同様に低率であった。

透過型電子顕微鏡を用いた検査結果は、サルコイドーシス、慢性ペリリウム肺のように類上皮細胞肉芽腫を主病変とする疾患では LV 型 (ライソゾーム・粗面小胞体型) マクロファージが増加して蛋白産生の亢進が伺われ、過敏性肺臓炎では L 型 (ライソゾーム型) が多く、特にミトコンドリアの増加が著明であった。一方、特発性間質性肺炎や膠原病性間質性肺炎ではライソゾーム由来と思われる空胞や貪食所見がみられる V 型 (空胞型) マクロファージが増加していた。

以上の形態学的観察の結果、肺疾患の種類によって肺胞マクロファージがそれぞれ異なった機能へと分化し、活性化されていると考えられる所見が得られた。

3) 免疫学的機能に関する研究

BAL マクロファージの抗原提示能、免疫応答抑制能、IgG・Fc レセプターを介するロゼット形成能および貪食能、NBT 還元能およびグルコース消費について測定を行なった。

i) 抗原提示能

患者の末梢血 Tcell に、PPD でパルスした BAL マクロファージを加えて培養し、その抗原提示能を 3 H サ

イミジンの取り込みを指標として測定した。その成績を要約すると、マクロファージの抗原提示能はそれを採取した個体のツベルクリン感受性と密接な相関関係があり、サルコイドーシス、間質性肺炎、いずれのマクロファージであっても、ツベルクリン反応陽性者であれば抗原提示能を有することが明らかとなった。

ii) 免疫応答抑制能

正常な肺胞マクロファージは一定条件下で免疫応答に対する抑制作用があることが動物実験でも認められている。健常人の BAL マクロファージを PHA 刺激リンパ球幼若化反応系に10%以上添加すると、幼若化反応の抑制がみられた。また、同じマクロファージをリンパ球の PWM 誘導免疫グロブリン産生系に10%以上添加すると、免疫グロブリン産生を抑制することも判明した。この抑制作用はサルコイドーシス患者の BAL マクロファージにも健常者の場合と同様みられたが、一方、特発性間質性肺炎の BAL マクロファージは抑制作用が微弱で、20%添加しても PHA 幼若化反応および PWM 免疫グロブリン産生反応のいずれに対しても全く抑制作用を示さなかった。

iii) 活性化状態

種々の肺疾患における肺胞マクロファージの活性化状態について調べる目的で、肉芽腫形成を伴う肺疾患を中心に BAL マクロファージについて IgG-Fc レセプターを介するロゼット形成能および貪食能、HBT 還元能、グルコース消費について測定を行なった。

IgG-Fc レセプターを介するロゼット形成能および貪食能の測定には、BAL 細胞からマクロファージ・モノレーヤーを作製し、ウサギ IgG 抗体感作ウシ赤血球を種々の濃度に希釈して試験にした。その成績を要約すると、IgG-Fc レセプターを介するロゼット形成能および貪食能の両者とも過敏性肺臓炎、サルコイドーシス、慢性ペリリウム肺および肺結核症では高値であったが、一方、特発性間質性肺炎や膠原病性間質性肺炎では健常者と同様に低値であった。

BAL マクロファージについての NBT 還元能やグルコース消費試験の成績は、いずれも過敏性肺臓炎、サルコイドーシス、慢性ペリリウム肺、肺結核症では高値が認められたが、特発性間質性肺炎や膠原病性間質性肺炎では健常者と同様に低値であった。

以上を要約すると、肺胞マクロファージの活性化の程度は、上述の成績を指標とする限り、過敏性肺臓炎で最も高く、サルコイドーシス、慢性ペリリウム肺、肺結核症がこれに次いで高かった。一方、特発性間質性肺炎や膠原病性間質性肺炎では健常者と同様に低いという成績であった。

ま と め

以上の成績を要約すると、肉芽腫形成を伴う肺疾患

患者においても、特発性間質性肺炎や膠原病性間質性肺炎のように肉芽腫形成を伴わないびまん性肺疾患患者においても、肺胞マクロファージは健常者に比し、活性化されているという所見が形態学的に認められた。しかし、その活性化の内容は前者と後者では質的に相違していて、この相違がIgG-Fcレセプターを介するロ

ゼット形成能および貪食能などの機能上の相違として表われていると理解された。おそらく、この相違が上述した各疾患の肺病変成立機序における肺胞マクロファージの役割の相違、更に、マクロファージとリンパ球とのかかわり合い方の相違を示唆するものとして注目に値する所見と思われた。

〈通 信〉

非定型抗酸菌症(肺感染症)の診断基準

国立療養所非定型抗酸菌症共同研究班

(班長) 東 村 道 雄

受付 昭和 59 年 9 月 12 日

国立療養所非定型抗酸菌症共同研究班(国療共研)は、去る1984年8月26日に、名古屋市で研究班会議を開催した。その際、国療共研班員外からも、山本正彦、斉藤肇両教授の御出席を載き、現在まで使用してきた「非定型抗酸菌症(肺感染症)診断基準」¹⁾に若干の改訂を加え、今後、次の診断基準を使用することにした。

「非定型抗酸菌症(肺感染症)の診断基準」

1) X線像で、新たに、空洞を含む病巣または乾酪性病変と思われる病巣が出現した場合。

(a) 1ヵ月以内に、3日間の喀痰培養検査を行なって、同一菌種の病原性抗酸菌²⁾を2回以上する。または、

(b) 毎月1回の培養検査で、3ヵ月以内に2回以上、同一菌種の病原性抗酸菌²⁾を証明する。

X線像での新しい病巣(空洞または乾酪性病変と思われる病巣)の出現と、上記の(a)または(b)の排菌が同時に観察できた場合は、感染症と考える。

(注)排菌の量(分離培地上の集落数)は、100集落以下でもよい。

2) 既に硬化巣中空洞、または硬化壁空洞、または排菌源と考えられる気管支拡張などの既存の病巣がある場合。

6ヵ月以内に、月1回の月例喀痰培養検査で、3回以上、同一菌種の病原性抗酸菌²⁾を証明する。

なお、上記3回以上の排菌の中で、少なくとも1回

以上は100集落以上の排菌であることを示す必要がある。また、上記の排菌は、臨床症状の変化(X線像の変化、発熱、咯血・血痰、咳嗽・喀痰の増加など)と関連すること。

1) 国立療養所非定型抗酸菌症共同研究班：国立療養所非定型抗酸菌症共同研究班で今後暫定的に使用する「非定型抗酸菌症(肺感染症)診断基準」。結核，55：513，1980。

2) 病原性抗酸菌とは、*Mycobacterium kansasii*、*M. szulgai*、*M. scrofulaceum*、*M. avium-M. intracellulare*、*M. fortuitum*、*M. chelonae*をいう。この他に、次の抗酸菌も病原菌となりうる。*M. xenopi*、*M. simiae*、*M. shimoidei*、*M. nonchromogenicum*。

国立療養所非定型抗酸菌症共同研究班：

久世 彰彦(札幌南)・長沢 誠司(東京)・下出 久雄(東京)・和田 龍藏(天竜)・塩谷 謙二(富山)・東村 道雄(中部)・吉井 才司(中部)・喜多 舒彦(近畿中央)・吉本 五勇(東高知)・荒川 洋(福岡東)・中西 啓(長崎)・篠田 厚(大牟田)・高本正析(大牟田)。

班員外参加：

山本 正彦(名古屋市立大)・斉藤 肇(島根医科大)