

原 著

モノクローナル抗体による肺結核症の末梢血、  
および胸水中リンパ球分画の検討

高田 勝利・橋上 裕・森下 宗彦・山本 正彦

名古屋市立大学第2内科

受付 昭和60年10月19日

SUBSETS ANALYSIS OF PERIPHERAL AND PLEURAL  
LYMPHOCYTES IN PULMONARY TUBERCULOSISKatsutoshi TAKADA\*, Hiroshi HASHIGAMI,  
Munehiko MORISHITA and Masahiko YAMAMOTO

(Received for publication October 19, 1985)

In order to better understand the surface markers of lymphocytes in peripheral blood (PB), pleural effusion (PE) the subsets of the lymphocytes of PB, PE from 44 cases of pulmonary tuberculosis and 11 cases of pleuritis tuberculosa were assayed by means of the immunofluorescent technique. The following findings were obtained.

1) In subpopulations of lymphocytes in PB, the ratio and the absolute number of OKT3+, OKT11+, OKT4+, and OKT8+ cells were smaller than those for healthy persons, while those of B1+, OKM1+, and Leu7+ cells were larger.

2) When studies were made by classifying pulmonary tuberculosis according to the classification of the committee of education of the Japanese society for tuberculosis, the OKT3+, OKT11+ and OKT4+ cell ratios in inactive type were found to be smaller than those in active type, while the OKT8+, OKIa1+, OKM1+ and Leu7+ cell ratios were found to be higher.

3) In subpopulations of the lymphocytes in the PE, the OKT3+, OKT11+, OKT4+ and OKIa1+ cell ratios were found to be higher in comparison with those obtained from the PB. On the other hand, the OKT8+, OKM1+ and Leu7+ cell ratios in PE were found to be strikingly lower.

In pulmonary tuberculosis the subpopulations of lymphocytes in PB seemed to be related to the disease activity and the helper / inducer T cell ratio in PE were found to be strikingly higher than that of PB.

**Key words :** Pulmonary tuberculosis, Pleuritis キーワーズ : 肺結核, 結核性胸膜炎, モノクロー  
tuberculosa, Monoclonal antibody, Lymphocyte ナル抗体, リンパ球

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

## はじめに

結核症の発病には免疫現象が深く関与している<sup>1)</sup>と考えられる。その免疫現象の一端を解明するために、各種のモノクローナル抗体を用いて肺結核患者の末梢リンパ球膜表面抗原の変化について検討した。また、この免疫現象に関与するリンパ球の態度が末梢血と疾患局所とは異なる<sup>2) 3)</sup>とされており、結核性胸水は結核における疾患局所を代表する適当な材料と考えられるので胸水中の細胞についても同様な検討を行なった。

## 対象および方法

対象とした肺結核症は未治療の44症例である。日本結核病学会教育委員会の活動性分類<sup>4)</sup>に従ったところ、全結核症例のうち活動性結核は28例であり、非活動性結核は16例である。活動性結核のうち胸水貯溜例は11例であり、胸水貯溜を認めない活動性結核は17例である。性別は男性23例、女性21例であり、年齢は20～72歳、平均50.4歳であった。

健常成人は age match させた20～70歳の男性12例、女性14例を対照とした。

## 方法

リンパ球サブクラスの分析は末梢リンパ球とモノクローナル抗体との反応をオーソ社スペクトラムⅢを用いて

解析した。即ち、ヘパリン加末梢血10mlを採血し、フィコールコンレイ比重遠沈法にて単核球層を分離し、phosphate buffered saline (PBS)にて $1 \times 10^6/\text{ml}$ に調製し、これを2本1組で各々の抗体について検討した。2本の試験管に調製した細胞浮游液100  $\mu\text{l}$ ずつ分注し、一方にはコントロール用として10  $\mu\text{l}$ のPBS、他方はモノクローナル抗体10  $\mu\text{l}$ を加えアイスバス中にて30分間インキュベートする。インキュベート後PBSにて2回洗浄し、直接法を行なったOKT 3, 4, 8, 11, B1, Leu 7はそのまま分析に用いた。また、間接法を行なったOKM 1, Ia 1については二次抗体としてFITC標識抗マウス免疫グロブリン100  $\mu\text{l}$ ずつ加え混和し、アイスバス中で30分間インキュベートし、PBSで2回洗浄し分析に用いた。

## 結果

肺結核症末梢血リンパ球サブポピュレーションの細胞比率と実数は表1に示すごとくであり、pan T細胞を示すOKT 3細胞の比率および実数は正常対照と比較して有意に減少を認めた。しかし、羊赤血球とのrosette形成T細胞であるOKT 11細胞は、比率では平均で低下し、実数では有意に減少を認めた。helper/inducer T細胞と考えられているOKT 4細胞では細胞比率は軽度低下

表1 肺結核症の末梢血リンパ球サブポピュレーション

	Tuberculosis (n=44)				Normal control (n=26)			
	Mean $\pm$ SD	Mean $\pm$ SD	Mean $\pm$ SD	Mean $\pm$ SD	Mean $\pm$ SD	Mean $\pm$ SD	Mean $\pm$ SD	
OKT3	59.7** $\pm$ 9.7%	( 1155** $\pm$ 484/ $\text{mm}^3$ )	66.4 $\pm$ 7.3%	(1484 $\pm$ 161/ $\text{mm}^3$ )				
11	73.9 $\pm$ 7.1%	( 1410** $\pm$ 540/ $\text{mm}^3$ )	77.1 $\pm$ 7.2%	(1724 $\pm$ 175/ $\text{mm}^3$ )				
4	37.7 $\pm$ 10.8%	( 709* $\pm$ 340/ $\text{mm}^3$ )	40.3 $\pm$ 8.6%	( 905 $\pm$ 195/ $\text{mm}^3$ )				
8	24.7* $\pm$ 7.4%	( 471** $\pm$ 241/ $\text{mm}^3$ )	28.3 $\pm$ 6.5%	( 630 $\pm$ 145/ $\text{mm}^3$ )				
4/8	1.7 $\pm$ 0.9		1.4 $\pm$ 0.7					
B1	15.8** $\pm$ 2.6%	( 318 $\pm$ 45/ $\text{mm}^3$ )	12.6 $\pm$ 4.1%	( 280 $\pm$ 98/ $\text{mm}^3$ )				
OKIa1	17.9 $\pm$ 6.5%	( 359 $\pm$ 221/ $\text{mm}^3$ )	16.8 $\pm$ 7.2%	( 372 $\pm$ 158/ $\text{mm}^3$ )				
OKM1	28.4** $\pm$ 11.0%	( 533 $\pm$ 258/ $\text{mm}^3$ )	19.4 $\pm$ 11.8%	( 435 $\pm$ 263/ $\text{mm}^3$ )				
Leu7	27.5* $\pm$ 8.4%	( 530 $\pm$ 273/ $\text{mm}^3$ )	21.0 $\pm$ 10.3%	( 477 $\pm$ 234/ $\text{mm}^3$ )				

(\* P<0.05, \*\* P<0.01)

を示すにすぎなかったが、実数では有意に低下を認めた。また、suppressor/cytotoxic T細胞と考えられているOKT 8細胞では、比率、実数とも有意に減少を認めた。しかしながら、OKT 4/OKT 8比では正常対照より高値を示したが、有意差を認めなかった。一方、B細胞を示すB 1細胞では、細胞比率は対照より有意に増加を認め、実数でも増加傾向を示した。しかし、B細胞および活性化T細胞を示すOKIa 1細胞では、細胞比率、実数

とも対照と差を認めなかった。また、NK, K細胞を含むOKM 1およびLeu 7細胞比率ではともに有意に増加を示したが、実数では対照より平均で軽度高値を示したにすぎなかった。今回対象とした肺結核全体ではT細胞系は細胞比率、実数とも減少し、一方B細胞系、OKM 1, Leu 7陽性細胞では細胞比率が増加した。

病態との関係(表2)を検討したところ、活動性結核では非活動性結核よりOKT 3, 11, 4細胞比率は高値

表2 胸水貯溜を認めない活動性結核と非活動性結核の末梢血リンパ球サブポピュレーション

	活動性(n=17)		非活動性(n=16)	
	Mean	± SD	Mean	± SD
OKT3	63.1	± 9.2%	56.4*##	± 9.5%
11	75.1	± 7.1%	70.9#	± 7.4%
4	41.1	± 10.0%	34.0	± 12.4%
8	23.7	± 7.2%	25.2	± 7.6%
4/8	2.0	± 0.8	1.5	± 0.8
B1	14.4	± 2.7%	16.1##	± 3.4%
OKIA1	16.7	± 6.6%	19.1	± 7.4%
OKM1	26.3	± 9.3%	30.7##	± 11.3%
Leu7	26.2	± 9.1%	29.1#	± 12.0%

(\* P&lt;0.05 活動性との検定)

(# P&lt;0.05, ## P&lt;0.01 正常対照との検定)

表3 胸水貯溜活動性結核における胸水中と末梢血のリンパ球サブポピュレーションの比較

	胸水中(n=11)		末梢血(n=11)	
	Mean	± SD	Mean	± SD
OKT3	84.9***	± 6.8%	59.8	± 9.8%
11	91.8***	± 4.9%	73.8	± 7.0%
4	65.3***	± 11.0%	37.6	± 10.8%
8	18.6*	± 4.0%	24.7	± 7.3%
4/8	3.7**	± 1.2	1.7	± 0.9
B1	6.6***	± 1.6%	16.8	± 3.4%
OKIA1	25.7*	± 5.0%	17.8	± 6.4%
OKM1	8.8***	± 5.3%	28.6	± 12.0%
Leu7	7.6***	± 5.3%	27.0	± 8.6%

(\* P&lt;0.05, \*\*P&lt;0.01, \*\*\*P&lt;0.001)

を示したが、正常対照より低値であった。一方、OKIa1, OKM1, Leu7細胞比率では、活動性結核は非活動性結核より低値を示したが、正常対照より高値であった。即ち、非活動性結核では正常対照と比較して、OKT3, OKT11細胞は著減(それぞれP<0.001, 0.05)し、B1, OKM1, Leu7細胞は著増(それぞれP<0.01, 0.01, 0.05)を呈し、非活動性結核では活動性結核より、正常対照と比較して各サブセットとも著変を呈した。

結核性胸膜炎患者11例の胸水中リンパ球サブポピュレーションは同一症例の末梢血におけるリンパ球サブポピュレーションと比較(表3)すると、OKT3, 11, 4細胞比率は胸水中で有意に増加し、一方OKT8細胞比率では有意に減少した。したがって、OKT4/OKT8比は胸水中で著増を呈した。また、B1, OKIa1細胞比率では胸水中で著増を呈した。しかし、結核患者の末梢血リンパ球で増加を示したOKM1, Leu7細胞比率は胸水

中では著減を呈した。

## 考 案

結核症についてはリンパ球サブセットを検討した報告<sup>6)~10)</sup>は多いが、T細胞サブセットは健康人と広い重なりをもっており、特異な傾向を示したとする報告は少ない。しかし、T細胞、特に helper 細胞が減少傾向を示した結果が多い。著者らの結果でも同じ傾向を示した。今回、更に結核の病態とリンパ球サブセットとの関係を検討するため、活動期と非活動期の2群に分けて末梢リンパ球分画を検討した。活動期ではOKT3, 11細胞は軽度に低値を示し、非活動期には更に低下した。結核感染初期病巣は組織学的には、肺胞内に血液の液性成分、好中球、空胞を有する大型単核細胞の滲出と線維素の析出する滲出性病変であり、その後、増殖性病変期には類上皮細胞を中心とした肉芽腫形成が見られ、リンパ球の浸潤が認められる。活動初期では好中球を中心とする炎症細胞が病変の主体であり、リンパ球の関与が少なく<sup>5)</sup>、慢性期にいたって胸部X線所見は非活動期と考えられる時期により強いリンパ球を中心とした免疫現象が生じているものと推測される。

T細胞のうち大半を占めるOKT4細胞は活動期には正常と差を認めなかったが、非活動期には著明に低下を示し、これは上記の事実を反映しているものと思われる。

OKT8細胞については正常より低下<sup>6)9)</sup>、不変<sup>2)7)</sup>、難治例では増加する<sup>2)</sup>、とさまざまであるが、我々の結果では活動期、非活動期とも低値を示し、結核病態の全病期を通じて減少しており、病期初期の活動性病態において既に、局所病変に関与していることがうかがわれた。

Tリンパ球の機能分化した細胞集団であるOKT4細胞とOKT8細胞との比率は、活動性病態では正常より軽度上昇するが、非活動期にはOKT4が減少するため、正常化する傾向であり、Leuシリーズで行なった三上の結果<sup>8)</sup>と同様であった。

B細胞系では活動期には変化しないが、非活動期に増加し、免疫グロブリン産生は亢進し、細菌貪食能を促し、感染防御機構を高めていると思われる。結核が慢性炎症であることより、胸部X線は活動期よりはむしろ非活動期と思われる時期においてB細胞が免疫現象に関与しているものと推測される。

また、OKM1, Leu7細胞は肺結核活動期および非活動期とも増加する傾向であった。しかし、OKM1, Leu7細胞についてはNK, K細胞以外にも多数の機能を持った細胞が含まれているものと考えられ、現在なお不明な点が多い。しかし、NK活性についてはK562細胞を用いた結果では亢進すると報告されている<sup>11)~13)</sup>。これらの質的な亢進が数値的増加の理由とはならないが、これらの細胞群は肺結核病態において活性化されている

ことは事実と考えられる。NK細胞活性化因子にはインターフェロン<sup>14)</sup>およびBCGなどのインターフェロン誘導物質が知られており、結核免疫には免疫インターフェロンの産生やマクロファージの活性化が生じていると考えられ、これらによってNK細胞活性が亢進していることが推測される。

結核性胸膜炎では胸水リンパ球の大部分はTリンパであり、そのうちOKT4細胞比率が60~70%を占めており、一方OKT8細胞比率は著明に減少し、OKT4/OKT8比が末梢血リンパ球より高値を呈する。OKT4細胞が胸水中に多く存在している理由として、局所結核病巣の結核菌によってリンパ球が感作され、増殖していることが考えられる。Shiratsuchiら<sup>15)</sup>も胸水中リンパ球をin vitroで培養し、PPDにより誘導されるリンパ球はOKT8細胞ではなく、OKT4細胞が増殖すると報告し、この推測を支持するものである。しかしながら、胸水リンパ球がすべて局所で増殖した細胞のみとは考えにくく、末梢血より胸膜病変に集積するリンパ球も一部存在するものと考えられる。胸腔は閉鎖腔のため、一旦貯溜した細胞の移動は少ないと考えられ、これらの細胞の分化、増殖、カイネティックスについて今後の研究課題と考えられる。

胸水中における活性化T細胞はOKIa1陽性細胞からB1陽性細胞を差し引いた部分に含まれていると思われる。末梢血中と比較して、胸水中では両抗体陽性細胞の差が増加していることがうかがわれる。このOKIa1陽性細胞もPPDによって誘導される<sup>15)</sup>といわれ、これら胸水中で増殖するリンパ球は結核病変によって、直接誘導されるものと思われる。一方、胸水中に出現する比率が特異的に末梢血より減少しているOKM1, Leu7細胞は胸膜の炎症性病変とは関連が少ないものと考えられる。これら細胞が活動期末梢血リンパ球では増加しても、病変局所である胸水中に出現しない理由は不明である。癌性胸水、乳糜胸水においてもこれら細胞は末梢血で占める比率より少ない<sup>3)</sup>。胸膜という特殊な環境のため、胸腔内への出現が少ないことも考えられるが詳細は不明であり、更に検討が必要である。

## 結 語

肺結核44例の末梢血リンパ球と胸水リンパ球のサブポピュレーションをモノクローナル抗体を用いて検討した。

1) 肺結核の末梢血リンパ球サブポピュレーションは、OKT3, 11, 4, 8細胞は減少し、B1, OKM1, Leu7細胞では比率の増加を認めた。

2) 非活動性結核では活動性結核よりOKT3, 11,

4細胞比率は低値を示し、OKT8, OKIa1, OKM1, Leu7細胞比率では高値を示した。

3) 活動性結核胸水中のリンパ球は末梢血と比べてOKT3, 11, 4, Ia1細胞が著増し、OKT8, OKM1, Leu7細胞では著減した。

## 文 献

- 1) 徳永 徹：結核の免疫学，結核，57：455，1982。
- 2) 露口泉夫：ヒトの結核と免疫，結核，60：46，1985。
- 3) 高田勝利他：呼吸器疾患におけるリンパ球機能，日胸疾会誌，23：1090，1985。
- 4) 山本正彦他：結核症の基礎知識，結核，56：85，1981。
- 5) 泉 孝英：結核，医学書院，東京，P.11，1985。
- 6) Munker, R., et al.: Lymphozytenmaker bei Sarkoidose und Tuberkulose, Prax Klin Pneumol, 38: 456, 1984.
- 7) Tanphaichitra, D., et al.: Cellular Immunity (T-Cell Subset using Monoclonal Antibody) in Tuberculosis, Melioidosis, Pasturellosis, Penicilliosis: and role of Levamisole and Isoprinosine, Develop biol Standard, 57: 271, 1984.
- 8) 三上理一郎：臨床免疫学的にみた結核発症の要因，結核，59：39，1984。
- 9) 西川 潔他：FACSによる肺結核患者の末梢T細胞サブセットの解析，結核，58：205，1983。
- 10) 北沢邦彦他：肺結核患者におけるモノクローナル抗体を用いた免疫担当細胞の検討，結核，58：204，1983。
- 11) 伊奈康孝他：肺結核患者のADCC Killer およびNatural Killer 活性，結核，57：295，1982。
- 12) 米田尚弘他：肺結核症におけるNK細胞活性の検討，結核，57：233，1982。
- 13) 米田尚弘：肺結核症におけるNK細胞活性の臨床的、基礎的研究，奈良医誌，32：478，1982。
- 14) 熊谷勝男：生体防御因子としての natural killer (NK細胞) とインターフェロン，日内会誌，73(12)：1747，1984。
- 15) Shiratsuchi, H., et al.: Analysis of T Cell Subsets by Monoclonal Antibodies in Patients with Tuberculosis after in vitro stimulation with purified Protein Derivative of Tuberculin Clin exp Immunol, 57: 271, 1984.