

原 著

## 単クローン抗体使用による結核病巣における炎症細胞の解析

津田 富康・安部 康治・杉崎 勝教  
松本 哲郎・幡手 雄幸大分医科大学第三内科  
受付 昭和62年3月25日ANALYSIS OF INFLAMMATORY CELLS DETECTED BY MONOCLONAL  
ANTIBODIES IN TUBERCULOUS GRANULOMASTomiyasu TSUDA\*, Yasuharu ABE, Katsunori SUGISAKI,  
Tetsuro MATSUMOTO and Yuko HATATE

(Received for publication March 25, 1987)

In two cases of tuberculous lymphadenitis (one is active, another is inactive) and one case of pulmonary tuberculosis (coin lesion), the cellular composition of tuberculous granuloma was investigated by application of monoclonal antibodies (MoA) against T and B lymphocytes and macrophage to the cryostat sections. In active tuberculous lymphadenitis, the newly developed epithelioid cell granuloma adjacent to a large central necrosis consisted of centrally placed OKM 1<sup>+</sup>, OKDR<sup>+</sup>, and OKT 9<sup>+</sup> epithelioid cells with OKT 4<sup>+</sup> helper / inducer and OKT 8<sup>+</sup> suppressor / cytotoxic lymphocytes. OKT 4<sup>+</sup> lymphocytes (34.9 ± 3.7 percent of total cells in a granuloma) were distributed throughout the granuloma. On the other hand, OKT 8<sup>+</sup> lymphocytes (16.9 ± 4.7 percent of total cells in a granuloma) were distributed at periphery of the granuloma. In inactive tuberculous lymphadenitis, the lesion has a large central necrosis with encircled fibrosis and lacks newly developed granuloma, thus T lymphocyte subsets in a granuloma was not calculated. Most of T lymphocytes in both the active and inactive tuberculous lesions were distributed in paracortical areas of the lymph nodes, and 18.8 ± 4.3 percent and 35.6 ± 3.2 percent of paracortical lymphocytes were stained with OKT 8 MoA in active and inactive lesions, respectively. In pulmonary tuberculous lesion, the cellular composition of granuloma was same as that of the granuloma in tuberculous lymph node but the border between perigranulomatous cuff and epithelioid cell granuloma was not defined clearly. OKT 4<sup>+</sup> lymphocytes (22.3 ± 2.0 percent of total inflammatory cells in a area) were distributed evenly in the lesion and OKT 8<sup>+</sup> lymphocytes (25.0 ± 1.7 percent of total inflammatory cells in a area) were distributed in a circle surrounding the epithelioid cell mass. OKB 7<sup>+</sup> lymphocytes (B lymphocytes) were distributed near to the epithelioid cell granuloma as a mass of B lymphocytes in active tuberculous lymph node, while they were not found in pulmonary tuberculous lesion.

The results suggest that OKT 4<sup>+</sup> lymphocytes are dominant in active tuberculous

---

\* From the Third Department of Medicine, Medical College of Oita, 1506 Hazama, Oita 879-56 Japan.

lesion, and OKT8<sup>+</sup> lymphocytes are dominant in inactive or stable lesions. Accordingly, OKT8<sup>+</sup> lymphocytes may play an important role in the healing process of delayed-type hypersensitivity reactions.

**Key words** : Tuberculous lesion, T lymphocyte, Monoclonal antibody, Epithelioid cell, delayed hypersensitivity reaction.

**キーワード** : 結核病巣, Tリンパ球, 単抗体, 類上皮細胞, 遅延型過敏反応

## はじめに

近年細胞膜表面抗原に対する単クローン抗体が数多く作られ、免疫担当細胞の解析がなされるようになった。しかし多くは末梢血レベル<sup>1)2)</sup>で検討されており、組織レベルでの解析<sup>3)</sup>は少なく、特に結核症についての報告は手術症例の激減もあって殆ど認められない。今回我々は2例の頸部リンパ節結核と1例の肺結核の摘出標本を得る機会を得たので、リンパ球分画及び類上皮細胞肉芽腫の特性を単クローン抗体を使用し解析したので報告し、その活動性との関係についても言及したい。

## 材 料

2例の頸部リンパ節結核患者は肺結核症の合併をみず、頸部の浅在性リンパ節の腫脹を来した症例(1例は病巣中に菌証明、他例は臨床的に診断)である。また1例の肺結核患者は右肺に3×4 cmのcoin lesionを認め、肺癌の疑いで摘除された症例(病巣に菌を証明)で、他の肺野には特に結核病巣は認められなかった。

## 方 法

### <細胞表面抗原の検出>

3例の摘出組織はacetone dry iceを含むビーカーの外壁で凍結後-80℃で保存、実験開始前日に5μmの凍結切片とした後、冷風にて乾燥固定した。その後4℃のcold acetoneで10分間固定後、冷風(4℃)で乾燥させ、密閉した染色瓶で-80℃に保存した。染色開始1時間前に4℃のcold room内に置き同温にもどした後、開封し染色に供した。細胞表面抗原の検出は、avidinbiotinylated horseradish peroxidase technic (ABC法)と horseradish peroxidase anti-peroxidase technic (PAP法)を用い、単抗体としては抗OKT4、抗OKT8、抗OKT11、抗OKT9、抗OKM1、抗OKM5、抗OKB7、抗OKDR抗体(Ortho Diagnostic Systems / nc., Raritan, NJ)を用いた。染色操作の大部分は4℃下の低温室で行った。

まずABC法では、acetone固定後の切片を4℃のphosphate buffered saline pH7.4 (cold PBS)で10

分間洗浄、組織片周囲のcold PBSを拭きとった後、Blocking試薬(Ortho)を組織片上にのせ15分間incubateした。その後余分のBlocking試薬をスライドガラスを横に立て軽くたたいてのぞいた後、primary antibody溶液(PBSの30倍希釈液)を組織上にのせ60分間作用させた。その後10分間cold PBSで洗浄後、second antibody (biotinylated antimouse isotype specific antiserum)溶液を120分間作用させた。その後再び10分間cold PBSで洗い、avidin-biotinylated horseradish peroxidase complex溶液を45分間作用させた。その後再び10分間cold PBSで洗浄後、低温室より出し25℃の室温でchromogen solution (0.01 M acetate buffer pH 5.4にH<sub>2</sub>O<sub>2</sub>と3-amino-9 ethyl-carbazol(ACE)を含む)を20分から45分間作用させ発色させた。

PAP法で染める場合は、前記同様にacetone固定後の切片を4℃のcold PBSで10分間洗浄後、Blocking試薬(0.01 M リン酸緩衝液中に正常ヤギ血清を含む)を20分間反応させた。その後、primary antibody溶液を20分間作用させ再びcold PBSで5分間洗浄、次にsecond antibody溶液(ヤギ抗マウス抗体を含む)を20分間作用させた。次にcold PBSで5分間洗い、ペルオキシダーゼ標識マウス免疫グロブリン溶液を20分反応させた。次にchromogen solution (0.01M, acetate buffer pH 5.2にH<sub>2</sub>O<sub>2</sub>とACEを含む)を25℃の室温で20~45分間反応させ発色させた。

### <Tリンパ球分画及びBリンパ球の判定>

それぞれの単抗体で染色された組織を鏡検し、細胞膜表面抗原の検出の場合は細胞周囲が輪状に明瞭に染色される細胞を同抗原陽性細胞と判定した。また不鮮明な場合は除外した。Tリンパ球分画では、OKT4<sup>+</sup>の細胞を helper / inducer Tリンパ球、OKT8<sup>+</sup>の細胞を Suppressor/cytotoxic Tリンパ球と判定した。またOKB7<sup>+</sup>リンパ球をBリンパ球と判定した。

### <類上皮細胞及びマクロファージの判定>

類上皮細胞及びマクロファージは形態的に細胞質が豊富であること、また類上皮細胞は集団を作りシート状に配列していることより判定した。

<Tリンパ球分画の計算>

OKT4<sup>+</sup>, OKT8<sup>+</sup>, OKT11<sup>+</sup> のリンパ球は染色後、リンパ節病変では、傍皮質領域のリンパ球と類上皮細胞結節を認める症例では、その結節内のリンパ球に分けて計算した。計算方法は1×1mmの格子を接眼レンズにはめ、単位面積中の全細胞数に対する単クローン抗体陽性Tリンパ球の百分率で計算した。肺野病変では乾酪壊死巣を囲む類上皮細胞や小円形細胞をリンパ節同様に、単位面積中の全細胞数に対する単クローン抗体陽性Tリンパ球の百分率で計算した。また1切片に対し数視野を数え、その平均と標準偏差値を計算した。

結 果

<Tリンパ球分画の解析>

類上皮細胞肉芽腫領域内に分布するTリンパ球分画の百分率とその分布パターン。

類上皮細胞結節領域の全細胞数に対するTリンパ球分画の百分率を Table 1 に示した。OKT4<sup>+</sup>細胞はリンパ節病巣で34.9±3.7%、肺病巣で22.3±2.0%とリンパ節病巣で高値を示した。OKT8<sup>+</sup>細胞は逆にリンパ節病巣で16.9±4.7%、肺病巣で25.0±1.7%と肺病巣で高値を示した。OKT4/8比はリンパ節病巣で2.0、

Table 1. Percentages of T-lymphocyte Subpopulation in Tuberculous Granulomas (Epithelioid Cell Granulomas)

	Number	OKT 4 <sup>+</sup> cells	OKT 8 <sup>+</sup> cells	OKT 11 <sup>+</sup> cells	OKT 4/8 ratio
LY-TB	1	34.9 ± 3.7	16.9 ± 4.7	32.2 ± 13.3	2.0
Pul-TB	1	22.3 ± 2.0	25.0 ± 1.7	38.7 ± 3.5	0.85

LY-TB: Tuberculous lesion in lymph node, Pul-TB: Tuberculous lesion in lung

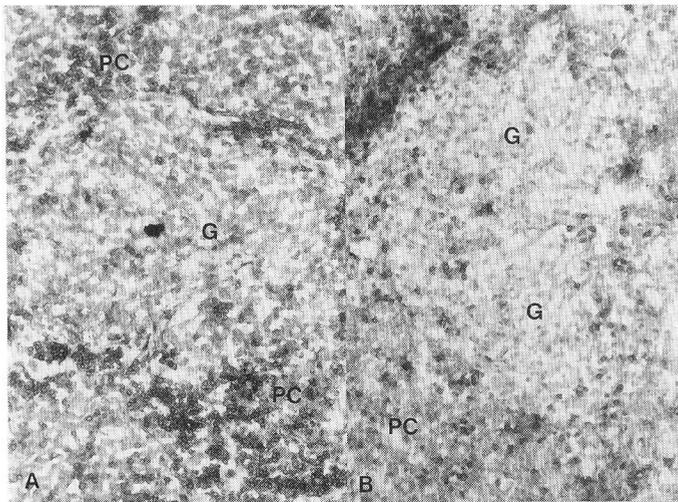


Fig. 1. Distribution of T lymphocytes stained with monoclonal antibody OKT 4 or OKT 8 in tuberculous granuloma.  
 A: OKT 4 positive lymphocytes (helper/inducer cells) are distributed throughout the epithelioid cell granulomas (G) but most of OKT 4 positive cells are distributed in paracortical areas (PC).  
 B: Some of OKT 8 positive lymphocytes (suppressor/cytotoxic cells) are distributed at periphery of the epithelioid cell granulomas, the other are scattered in paracortical areas around the granulomas. PAP method, × 150.

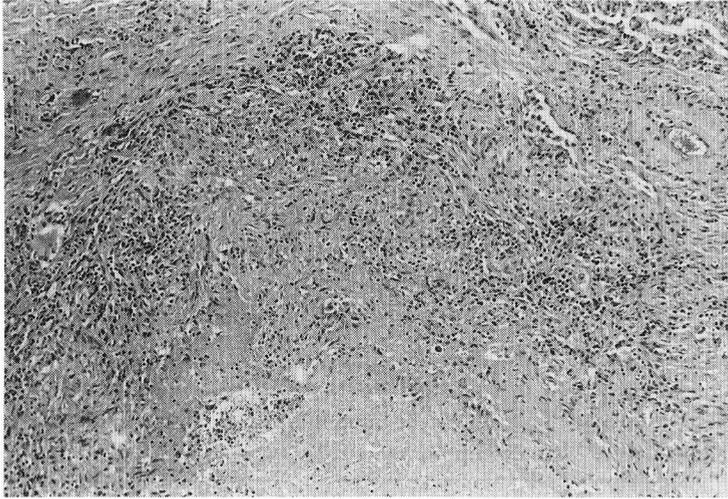


Fig. 2. Pulmonary tuberculous lesion which had a large caseous necrotic center with the thick fibrotic sheath infiltrated by a large number of small lymphoid cells and macrophages. HE,  $\times 150$ .

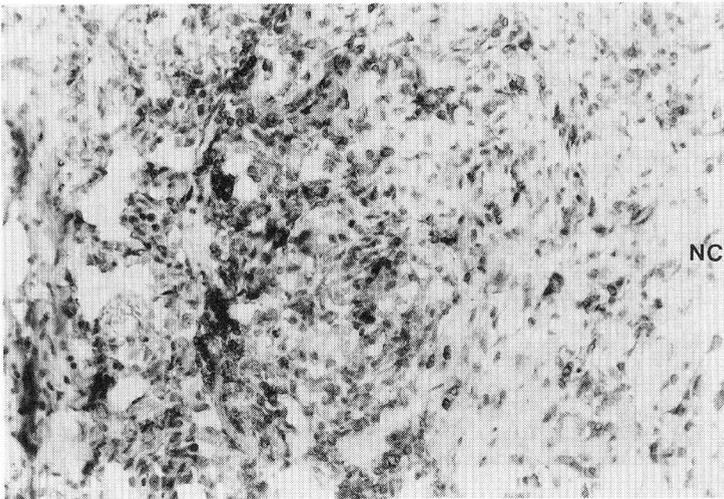


Fig. 3. The photo show the area of inflammatory cell infiltration near necrotic center (NC) of a pulmonary tuberculous lesion. The lymphocytes stained with monoclonal antibody OKT 4 are distributed evenly in the area of inflammatory cell infiltration. PAP method,  $\times 150$ .

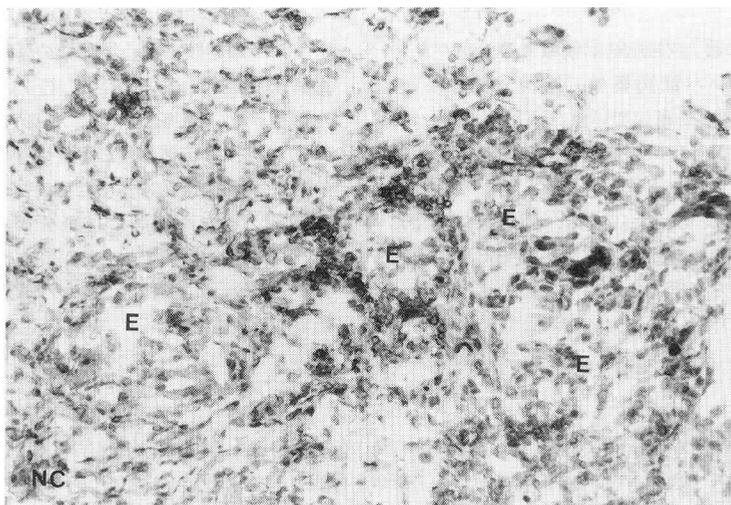


Fig. 4. The photo show inflammatory cell infiltration near necrotic center (NC) of a pulmonary tuberculous lesion. The lymphocytes stained with monoclonal antibody OKT 8 are distributed in the area of inflammatory cell infiltration and surrounded epithelioid cells or small epithelioid cell granulomas (E). PAP method,  $\times 150$ .

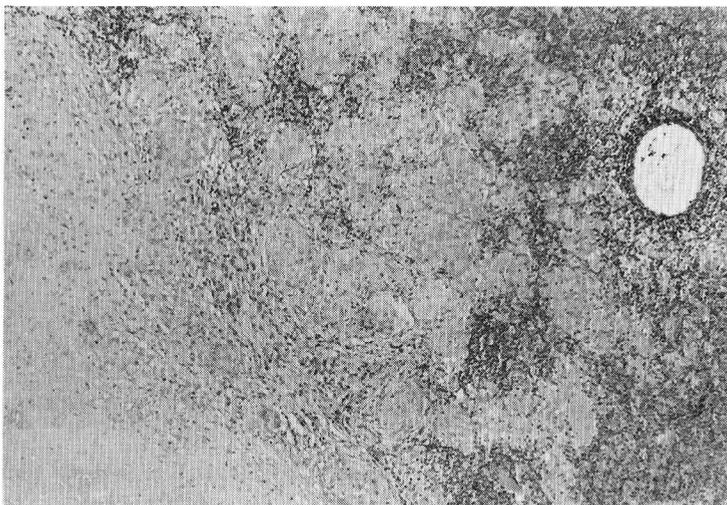


Fig. 5. Tuberculous lymph node (active) which had a large caseous necrotic center and newly developed epithelioid cell granulomas near the necrotic center. HE,  $\times 150$ .

肺病巣で0.85を示し、リンパ節病巣が肺病巣より高値を示していた。

次に、Tリンパ球の類上皮細胞結節領域での分布パターンを検討した。リンパ節病巣のOKT4<sup>+</sup>細胞(Fig. 1.A)は結節全般に広く分布していた。OKT8<sup>+</sup>リンパ球(Fig. 1.B)はOKT4<sup>+</sup>リンパ球同様に結節内に少数認められるが、OKT4<sup>+</sup>リンパ球と異なり、結節の外側に多く認められる傾向にあった。一方、肺病巣はFig.2に示すごとく類上皮細胞結節の境界が不鮮明で、結節内外のリンパ球を分けて分析できなかった。Fig.3, Fig.4に示すように多数のOKT4<sup>+</sup>リンパ球とOKT8<sup>+</sup>リンパ球が認められた。またOKT8<sup>+</sup>リンパ球は類上皮細胞

胞集団(結節)の周囲に集まる傾向も認められた。

<リンパ節傍皮質におけるTリンパ球分画の解析>

リンパ節結核で中心壊死巣の外側に新しい娘病巣(類上皮細胞結節)をもつ症例(G<sup>+</sup>)(Fig.5)と中心壊死のみの症例(G<sup>-</sup>)を比較し、そのリンパ節の傍皮質領域の単クローン抗体陽性のTリンパ球分画を検討した。その結果はTable 2に示すごとくで、OKT4<sup>+</sup>リンパ球、OKT11<sup>+</sup>リンパ球間には差を示さないが、OKT8<sup>+</sup>リンパ球では、G<sup>+</sup>では18.8±4.3%、G<sup>-</sup>では35.6±3.2%とG<sup>-</sup>にOKT8<sup>+</sup>リンパ球が高値を示した。その結果OKT4/8比はG<sup>+</sup>で2.4、G<sup>-</sup>で1.1とG<sup>-</sup>で低値を示していた。

Table 2. Percentages of T-lymphocyte Subpopulation in the Paracortical Areas of the Lymph Nodes with Tuberculous Lesions

	Number	OKT 4 <sup>+</sup> -cells	OKT 8 <sup>+</sup> -cells	OKT 11 <sup>+</sup> -cells	OKT 4 <sup>+</sup> -Mφ	OKT 4/8 ratio
G <sup>+</sup>	1	44.9 ± 5.5	18.8 ± 4.3	78.7 ± 4.7	23.7 ± 7.4	2.4
G <sup>-</sup>	1	37.8 ± 1.7	35.6 ± 3.2	85.1 ± 7.3	13.4 ± 2.2	1.1

G<sup>+</sup> show that the lesion have young granulomas developed newly near caseous center.

G<sup>-</sup> show that the lesion have not young granulomas.

Mφ : Macrophages

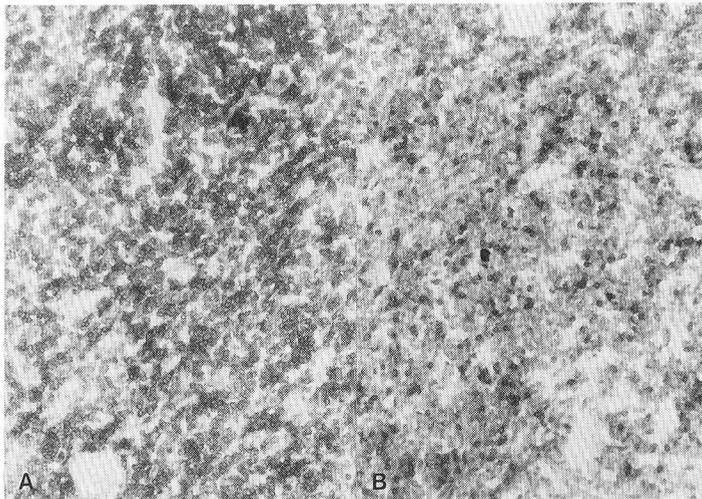


Fig. 6 Paracortical area of active tuberculous lymph node which have a large caseous necrotic center and epithelioid cell granulomas developed newly near the necrotic center.

A : Most of lymphocytes in paracortical area are stained with monoclonal antibody OKT 4.

B : The one sixth of lymphocytes in paracortical area are only stained with monoclonal antibody OKT 8.

PAP method, ×150.

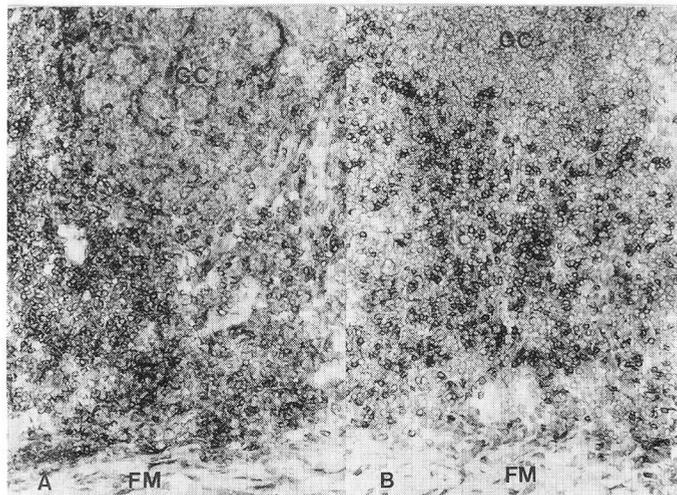


Fig. 7. Paracortical area of inactive tuberculous lymph node which have a large caseous necrotic center with fibrotic margin (FM, lower side of the photo) but no epithelioid cell granulomas.

A: The numerous lymphocytes in paracortical area are stained with monoclonal antibody OKT 4 (OKT 4 MoA) and a small number of lymphocytes in a mantle of the germinal center (GC, upper side of the photo) are stained with OKT 4 MoA.

B: The one third of lymphocytes in paracortical area are stained with monoclonal antibody OKT 8 (OKT 8 MoA) and no lymphocytes in a mantle of the germinal center are stained with OKT 8 MoA.

PAP method,  $\times 150$ .

Fig.6, Fig.7は $G^+$ と $G^-$ のリンパ節のOKT4<sup>+</sup>リンパ球, OKT8<sup>+</sup>リンパ球の傍皮質領域での分布状態を示した写真である。 $G^+$ ,  $G^-$ の間でOKT4<sup>+</sup>リンパ球の分布には差を認めないが, OKT8<sup>+</sup>リンパ球は明らかに $G^+$ のリンパ節で少ないことが理解された。

#### <Bリンパ球の解析>

リンパ節病変でOKB7<sup>+</sup>リンパ球 (Fig.8)は類上皮細胞結節の外側に1カ所に集まって認められた。OKB7<sup>+</sup>リンパ球は抗OKDR抗体も陽性を示していた。

<類上皮細胞と肺胞マクロファージにおける種々の単クローン抗体の分布>

抗OKT4, 抗OKT8, 抗OKT11抗体のほかに抗OKT9, 抗OKDR, 抗OKB7, 抗OKM1, 抗OKM5抗体を使い, 肺及びリンパ節に認められる類上皮細胞についてその細胞表面抗原の局在を検討した。その結果はTable3に示した。抗OKT4, 抗OKT9, 抗OKDR, 抗OKM1, 単クローン抗体は類上皮細胞にその分布が

認められた。一方, 抗OKM5抗体は類上皮細胞には認められなかった。

#### 考 察

結核病巣は, 結核菌の感染を契機に起こってくる典型的な細胞性免疫(遅延型過敏)反応として理解されている。また結核症におけるこの細胞性免疫反応は, 一方で全身性反応と病巣局所における局所性反応に分けて理解することがより理解しやすいようである。従来報告されてきた末梢血レベルでのリンパ球subsetの解析<sup>1)2)</sup>などは全身性反応を示すものと考えられる。言い換えると局所反応の結果をみているのかも知れない。また胸水中のTリンパ球subsetの解析<sup>4)~6)</sup>は局所性反応を示すものと解釈することができる。しかし後者に対する文献は殆ど散見するのみで, 特に肺結核病巣やリンパ節病巣に関しては殆ど報告をみない。そこで, 今回は結核病巣組織を用い局所性反応におけるTリンパ球, Bリンパ球,

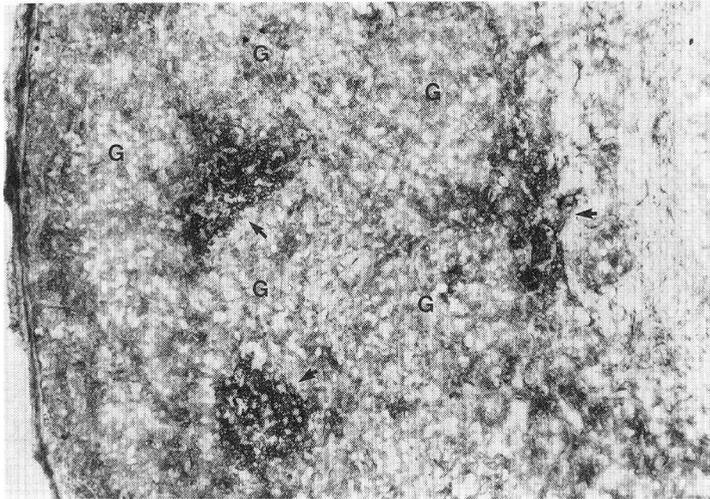


Fig. 8. Distribution of lymphocytes stained with monoclonal antibody OKB 7 (OKB 7 MoA) (B lymphocytes) (arrow). The lymphocytes stained with OKB 7 MoA are distributed near epithelioid cell granulomas (G) as a mass of the lymphocytes which may be thought to be a deformed germinal center. ABC method,  $\times 75$ .

Table 3. Characters of Tuberculous Epithelioid Cells Defined by Using Monoclonal Antibodies Related with T-, B-Lymphocyte and Macrophage

Monoclonal antibody	Epithelioid cells	
	in lung	in lymph node
Anti-OKT 4 MoA	+	+
Anti-OKT 8 MoA	-	-
Anti-OKT 11 MoA	-	-
Anti-OKT 9 MoA	++	++
Anti-OKDR MoA	++	++
Anti-OKB 7 MoA	-	-
Anti-OKM 1 MoA	++	++
Anti-OKM 5 MoA	-	-

++ : Stained normally, + : Stained faintly, - : No stain

類上皮細胞などの相互関係について単クローン抗体を用いた免疫組織化学的手法で解析を行った。まず第一に全身性反応としての末梢血Tリンパ球分画を報告された文献に従い検討する。北沢ら<sup>1)</sup>は肺結核患者は健常者に比し Leu 1 (pan T) 細胞, Leu 3a<sup>+</sup> (helper/inducer T細胞) は減少し, Leu 2a<sup>+</sup> (suppressor/cytotoxic T) 細胞は不変であったと報告している。また高田ら<sup>2)</sup>

はすべての末梢血Tリンパ球分画の減少があったと報告している。また一方高田らは正常者, 活動性結核患者と非活動性結核患者の末梢血Tリンパ球分画を比較した場合, 非活動性結核患者は正常者よりもいっそう OKT3<sup>+</sup> (mature T) 細胞と OKT11<sup>+</sup> (pan T) 細胞の減少が著明であったとも報告している。以上の結果より推測した場合肺結核患者の末梢血Tリンパ球分画は健常者に比し pan T, mature T, helper/inducer T の数の上での減少が認められ, suppressor/cytotoxic T については増加か減少か一定していないという報告になる。次に局所性免疫反応と考えられる結核性胸水についての報告<sup>4)5)</sup>をみると, 末梢血に比し OKT3<sup>+</sup> (mature T), OKT11<sup>+</sup> (pan T), OKT4<sup>+</sup> (helper/inducer) の増加が認められ, その逆に OKT8 suppressor/cytotoxic T) の減少が認められたとしている。このことを局所性免疫反応の面より考えてみた。まず第一に病巣局所に浸潤して来た末梢血中のリンパ球 (helper/inducer T または mature T) が抗原刺激に強く反応し, 分裂増殖したのではないかという考えがある。実際に Shiratsuchi<sup>5)</sup> や Okubo<sup>7)</sup> らは *in vitro* で PPD 刺激に対し結核性胸水リンパ球 (OKT4<sup>+</sup> cell, Leu 1<sup>+</sup> Leu 2a<sup>-</sup> Leu 3a<sup>+</sup> cell, Leu 1<sup>+</sup> Leu 2a<sup>-</sup> Leu 3a<sup>-</sup> cell など) が分裂増殖することを実験的に報告している。また一方で, 末梢血よりTリンパ球 (helper/inducer T) が胸水中に流

入して増加したのではないかという考え方もできる。結核患者の末梢血Tリンパ球数は健常者に比し低値を示しており、この考え方を説明するのに都合がよい。いずれにせよ末梢血や胸水のTリンパ球分画の変化は全身性免疫と局所性免疫の接点を考えるうえで大切な現象と考えられる。しかるに、我々が今回検討した結核病巣組織は胸水以上に局所性免疫反応を直接示すものと考えられる。一般にその病巣は類上皮細胞性肉芽腫を作り、その中心に大きな壊死巣(乾酪壊死)を持っている。またその類上皮細胞巣の外周には小円形細胞や線維芽細胞からなる細胞浸潤が強く認められる。今回使用した肺結核病巣(Fig.8)は上記の特徴を完全に満たす病巣であった。しかしX線学的には肺に3×4のcoin lesionを認める以外、他の病巣を認めず、比較的安定した病巣を示していた。一方リンパ節病巣は対照的で1例はリンパ節の中心に大きな中心壊死を示し、その壊死周囲は完全に線維化され、リンパ球層とは明らかな境界を示していた。また線維化層には萎縮した類上皮細胞が少数残存していたが、娘病巣はまったく認められなかった。これに対してもう1例は前症例と同じようにリンパ節の中心に大きな中心乾酪壊死巣を認めたが、その外周の線維化層が乏しく、随所に中心壊死に連続した新たな小結節(娘病巣)を認め結核菌が証明された。即ち前者は治癒に向かった非活動性病巣、後者は増悪の傾向を示す活動性病変と考えられた。

以上のような組織像を示す肺結核とリンパ節結核について、リンパ球分画の差と類上皮細胞の特徴について検討した。まずTリンパ球分画を類上皮細胞結節領域に限定して、リンパ節結核の娘病巣部と肺結核病巣の間で比較検討した。また、この場合の評価は臓器差は炎症反応には特に影響しないとの仮定をおいて行った。その結果、類上皮細胞結節領域の反応は活動性病変を示すリンパ節でOKT4<sup>+</sup>リンパ球がOKT8<sup>+</sup>リンパ球より多く、安定した肺病巣ではOKT8<sup>+</sup>リンパ球がOKT4<sup>+</sup>リンパ球より多く認められた。またOKT4<sup>+</sup>リンパ球はリンパ節病変部が肺病変部より多く、OKT8<sup>+</sup>リンパ球は逆に肺病変部がリンパ節病変部より、より多く認められた。即ちこの結果は、活動性病変ではOKT4<sup>+</sup>リンパ球の増加とOKT8<sup>+</sup>リンパ球の減少、非活動性または安定化病巣ではOKT4<sup>+</sup>リンパ球の減少とOKT8<sup>+</sup>リンパ球の増加が起こっているものと想像することができる。

次に類上皮細胞結節領域での両Tリンパ球の分布パターンを調べたが、OKT4<sup>+</sup>リンパ球は結節内に広く分布し、OKT8<sup>+</sup>リンパ球はその外側に輪状に分布している傾向が認められ、この点はサ症(未発表データ)と同様であったが、Van Den Oord<sup>3)</sup>らが結節内のTリンパ球にOKT8<sup>+</sup>リンパ球が多いと報告しているのとは逆の結果であった。

次にリンパ節病変で活動性と考えられる娘病巣を多数認める症例(G<sup>+</sup>)と娘病巣をもたない症例(G<sup>-</sup>)で病巣外(傍皮質)のリンパ球分画の差を検討した。その結果OKT4<sup>+</sup>リンパ球はG<sup>+</sup>とG<sup>-</sup>の間に差を認めなかったが、OKT8<sup>+</sup>リンパ球はG<sup>+</sup>で少なく、G<sup>-</sup>では逆に多く、OKT4/8比はG<sup>+</sup>が高値を示していた。この結果は活動性病巣でOKT8<sup>+</sup>リンパ球が減少し、非活動性(治癒)病巣でOKT8<sup>+</sup>リンパ球が増加して来るものと考えられる。即ち前項の類上皮細胞結節領域でのTリンパ球分画の変化と合わせ考えると、活動性、非活動性の組織学的指標としては、OKT4<sup>+</sup>リンパ球の変化よりもOKT8<sup>+</sup>リンパ球の変化の方がより一定した意義を示し、特に治癒傾向の判定には意義があるものと考えられた。しかし病巣発現という免疫学的機序を考える場合には、OKT4<sup>+</sup>とOKT8<sup>+</sup>リンパ球の間の相互関係が重要なことはいままでの間もない。また今回の我々の検討は胸水中のTリンパ球分画を調べた前記の報告とも何ら矛盾はないものと考えられた。

次にBリンパ球の立場より病変を考えてみたい。肺病変を抗OKB7単抗体で調べたが特に陽性細胞を認めなかったので肺病巣の発生とは特に関係ないものと思われた。しかし、リンパ節病変を調べてみると必ずといってよほどに類上皮細胞結節の一侧にOKB7<sup>+</sup>リンパ球の集まった部位を認めることができた。この現象はサルコイドーシスリンパ節の類上皮細胞結節でも同様(未発表データ)で、リンパ節に類上皮細胞結節が発生して来る場合、Bリンパ球領域(二次小節)に接した傍皮質が肉芽腫発生の場所として非常に重要な意味を持っているのではないかと考えられる。一方、Van Den Oord<sup>3)</sup>は類上皮細胞肉芽腫の周囲にはBA1<sup>+</sup>のリンパ球(Bリンパ球)が多く分布しており、このBA1リンパ球集団の中に散在的にOKT3<sup>+</sup>、OKT4<sup>+</sup>のTリンパ球が分布し、OKT3<sup>+</sup>、OKT8<sup>+</sup>のTリンパ球は殆ど認められなかったと述べた上で、このT、Bリンパ球の割合は二次小節の外周部の細胞構成と非常に似たものであると報告している。今回の我々の報告は肉芽腫を囲むようにOKB7<sup>+</sup>のリンパ球が存在する傾向はあまり認められず、一侧に偏して存在する傾向が認められたが、そのOKB7<sup>+</sup>の細胞集団を構成する細胞の割合(T、Bリンパ球の割合)はVan Den Oordらと同様OKT11<sup>+</sup>、OKT4<sup>+</sup>のTリンパ球がOKB7<sup>+</sup>のBリンパ球の間に二次小節の外周部の場合と同様の割合で認められ、OKT11<sup>+</sup>、OKT8<sup>+</sup>のTリンパ球は殆ど認められなかった。また彼らはこのBA1<sup>+</sup>のBリンパ球は多くはslgDを表面に保有し、かつ少数の細胞はslgM陽性を示したとも述べ、このパターンは二次小節の外周部のそれとよく似た割合を示していたと述べている。

以上の結果をまとめると、肉芽腫の近くに存在するリ

ンパ球の集団（一側に集団をなす我々の所見も、肉芽腫を囲むように存在する Van Den Oard らの所見も共に）における T, B リンパ球の割合は、二次小節の外周部のそれと同じであるということになる。また、その B リンパ球はその細胞表面に sIgD や sIgM を保有しており、この点も二次小節の外周部の B リンパ球と同様である。このような結果から想像して、この類上皮細胞近傍の B リンパ球集団は二次小節由来のものと考えられた。

次に結核性類上皮細胞の特性を、単抗体を用い検討した。

その結果、抗 OKT4、抗 OKT9、抗 OKDR、抗 OKM1 単抗体で類上皮細胞は染色された。このことは類上皮細胞が病巣で強く活性化され局所での免疫応答に何らかの関与をしているものと考えられた。また、OKT4 以外の T リンパ球マーカー、B リンパ球マーカーは陰性であったが、一方単球マーカーである OKM1 が同細胞で陽性で、かつ OKM5 が陰性を示したことは類上皮細胞（結核の場合）が末梢血のガラス附着性単球とは異なり可溶性抗原を呈示する能力を消失した細胞へと変化している可能性を示唆している。今後は類上皮細胞がなぜ肉芽腫性疾患の病態に必要なのかを解析するうえにも類上皮細胞の特徴を整理していくことが大切と考えられた。

#### ま と め

1. 結核病巣における T リンパ球分画は、活動性病巣で OKT4<sup>+</sup> リンパ球の増加と OKT8<sup>+</sup> リンパ球の減少が認められ、逆に非活動性及び安定化病巣で OKT4<sup>+</sup> リンパ球の減少と OKT8<sup>+</sup> リンパ球の増加が認められた。

2. B リンパ球 (OKB7<sup>+</sup>) は類上皮細胞肉芽腫の一側に集団として認められた。このことは類上皮細胞肉芽腫がリンパ節に発生してくる場合、二次小節近傍の傍皮質領域に起こってくるものと考えられた。

3. 結核性類上皮細胞は OKT4<sup>+</sup>, transferin Receptor (OKT9<sup>+</sup>), HLA-DR<sup>+</sup> (OKDR<sup>+</sup>) を示した。このことは類上皮細胞が強く活性化または分裂増殖を示

す細胞であることを推測させた。

4. 類上皮細胞は OKM1<sup>+</sup>, OKM5<sup>-</sup> を示した。

本論文の要旨は第 61 回日本結核病学会総会で発表された。

#### 文 献

- 1) 北沢邦彦他：肺結核患者におけるモノクロナール抗体を用いた免疫担当細胞の検討，結核，58：204，1983.
- 2) 高田勝利他：モノクロナール抗体による肺結核症の末梢血，及び胸水中リンパ球分画の検討，結核，61：11，1986.
- 3) van den Oard J.J. et al. : Cellular composition of hypersensitivity-type granulomas : Immunohistochemical analysis of tuberculous and sarcoid lymphadenitis, Hum Pathol, 15 : 559, 1984.
- 4) 高田勝利他：モノクロナール抗体による胸水中リンパ球の検討，結核，61：35，1986.
- 5) 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.
- 6) Kochman, S. et al. : T-lymphocyte subsets in pleural fluids : discrimination according to traditional and monoclonal antibody-defined markers, Eur J Respir Dis, 65 : 586, 1984.
- 7) Okubo, Y. et al. : PPD specific proliferative response in human. I. Analysis of PPD-specific proliferative cells from tuberculous pleurisy patients and healthy controls with monoclonal antibodies specific for human T subsets, Microbiol Immunol, 26 : 511, 1982.