

原 著

肺結核症における末梢血リンパ球サブセットの動態

原 田 泰 子 ・ 高 本 正 祇 ・ 原 田 進
石 橋 凡 雄 ・ 篠 田 厚

国立療養所大牟田病院

受付 昭和62年8月24日

LYMPHOCYTE SUBSETS BY MONOCLONAL ANTIBODIES AND FLOW
CYTOMETRY IN PATIENTS WITH PULMONARY TUBERCULOSISYasuko HARADA*, Masahiro TAKAMOTO, Susumu HARADA,
Tsuneo ISHIBASHI, Atsushi SHINODA

(Received for publication August 24, 1987)

Peripheral blood lymphocyte subsets have been evaluated in patients with pulmonary tuberculosis using combination of monoclonal antibodies and two color flow cytometry. Pleural effusion lymphocytes were also examined in patients with tuberculosis.

Patients with pulmonary tuberculosis were divided into three groups.

- 1) Active early stage : Newly detected, bacteriologically confirmed patients treated with antituberculous treatment for less than 2 months.
- 2) Convalescent stage : Patients converted to negative by culture with antituberculous treatment for about 6 months.
- 3) Chronic bacillary excreter for more than 2 years.

The results obtained were as follows :

1. Patients under 69 years of age.

At the active early stage, there was a decrease in total lymphocytes, pan T cells, inducer T cells and suppressor / cytotoxic T cells as compared to normal controls. The numbers of lymphocytes and almost all T cell subsets were restored to the normal level at the convalescent stage, however, decrease in suppressor T cells was observed. Among the natural killer cell subsets, we observed a significant increase in $Leu\ 11^+7^-$ cells at both stages active early and convalescent. In chronic excreters we found a decrease in total lymphocytes, pan T cells, inducer T cells and an increase in helper T cells, activated T cells. There was an increase in $Leu\ 11^+7^+$ cells and $Leu\ 7^+2^+$ cells. The ratio of T4/T8 cells tended to be high in all three groups as compared to normal.

2. Patients over 70 years of age.

The number of lymphocytes tended to decrease at the active early stage and the chronic excreters and to be restored to normal at the convalescent stage. We observed a remarkable decrease in suppressor T cells at the active early stage. At the convalescent stage, we found a decrease in helper T cells and an increase in cytotoxic T cells. Among the natural killer cell subsets, we found a decrease in $Leu\ 11^+7^-$ cells and $Leu\ 11^+7^+$ cells at the active early

*From the National Ohmuta Hospital, Tachibana 1044-1, Ohmuta 837 Japan.

stage and their restoration to the normal level at the convalescent stage. Furthermore, there was a significant increase in $Leu\ 11^{-}7^{+}$ cells and $Leu\ 7^{+}2^{+}$ cells at the convalescent stage. In chronic excretors, we observed an increase in helper T cells, cytotoxic T cells, $Leu\ 11^{-}7^{+}$ cells and $Leu\ 7^{+}2^{+}$ cells. The ratio of T4/T8 cells tended to be low compared to normal in all tuberculous groups over 70 years.

3. Patients with tuberculous pleurisy.

Comparing pleural effusion lymphocytes to peripheral blood lymphocytes, we found a significant increase in both proportion and absolute number of pan T cells, helper T cells and inducer T cells in pleural effusion. The ratio of T4/T8 cells was markedly high in pleural effusion. In contrast, we observed a remarkable decrease in all subsets of natural killer cells in pleural effusion.

Key words : Lymphocyte subsets, Monoclonal antibody, Flow cytometry, Pulmonary tuberculosis, Pleuritis tuberculosa

キーワード : リンパ球サブセット, モノクローナル抗体, フローサイトメトリー, 肺結核症, 結核性胸膜炎

緒 言

近年, 各種疾患においてモノクローナル抗体によるリンパ球サブセットの解析が盛んに行われている。

前報¹⁾において, 我々は各種疾患のリンパ球サブセットの解析を行う際に最も基準となる正常人の末梢血リンパ球サブセットを各年代別に測定した。その結果, リンパ球サブセットには年齢による変化が見られること, 従って, その評価を行う際には年齢因子を考慮に入れることが必要であることを報告した。

呼吸器疾患において, 肺結核症はその発生進展, 治癒に細胞性免疫が深く関与していることは良く知られている²⁾。今回, 我々は肺結核症における発病後の種々の時期の末梢血リンパ球サブセットを測定し, 年齢的因子も考慮に入れながら, 各時期における正常人との比較を行った。また, 結核性胸膜炎における胸水のリンパ球サブセットは疾患局所を反映すると考えられるため, 末梢血リンパ球サブセットの結果と比較検討を行った。以下若干の考察を加えて報告する。

対象及び方法

1. 対象

入院時排菌陽性の活動性肺結核症 90 例は, 以下のごとく発病後の時期別に分類した (表 1 参照)。

活動性病初期: 40 例 入院後 4 週以内に測定した群で排菌陽性期

治療中排菌陰転期: 28 例 排菌陰転化した症例で治療開始約 6 カ月後に測定した群

持続排菌群: 22 例 慢性持続排菌例, 排菌持続年数は 2 年から 17 年で平均 8 年以上である。

結核性胸膜炎は 10 例であり, 確定診断は胸水よりの結核菌の検出, 胸膜生検, 治療的診断等により行った。リンパ球サブセットの測定は, 治療開始前に胸水と末梢血を同時採取して行った。

正常対照は前報¹⁾の対象と同一である。結核患者の年齢分布に合わせて, 30~69 歳の群と 70 歳以上の高齢群に分けて対照とした。結核性胸膜炎は若年から老年まで分布しているもので, 前報¹⁾の正常者 119 名全体を対照とした。

2. 方法

詳細は前報¹⁾のとおりである。以下簡単に述べる。

機器; フローサイトメトリーは Becton Dickinson 社—藤沢の FACS-analyzer を使用した。

モノクローナル抗体; Leu シリーズ (Becton-Dickinson 社) の $Leu\ 4$, $Leu\ 2a$, $Leu\ 2A$, $Leu\ 3a$, $Leu\ 8$, $Leu\ 7$, $Leu\ 11c$, $Leu\ 15$ と OK シリーズ (Ortho 社) の $OKDR$ を用いた。上記抗体は Fluorescein Isothiocyanate (FITC) 標識と Phycoerythrin (PE) 標識を組合せ, すべて二重染色を行い解析した。

測定用サンプルの作成; 採血は午前 8 時より 10 時までに行った。ヘパリン採血を行った全血 $200\ \mu l$ を溶血後, 上記モノクローナル抗体を加え 30 分 Incubation 後測定用サンプルとした。

リンパ球サブセットの測定; 上記細胞浮遊液を FACS-analyzer で分析しリンパ球領域の細胞について, FITC 及び PE 蛍光陽性細胞の百分率を算出した。同時に白血球数と白血球分画から $1\ mm^3$ 当たりのリンパ球数を求め, これより各々のリンパ球サブセットの絶対数を求めた。

有意差の検定; 各測定結果の差の検定は, Student の

表1 対象症例の性と年齢

	症例数	男	女	年齢
活動性病初期				
全例	40	27	13	57.5 ± 20.6 (14 ~ 91)
69歳以下	25	16	9	45.3 ± 16.1 (14 ~ 69)
70歳以上	15	11	4	77.8 ± 6.0 (71 ~ 91)
治療中菌陰転期				
全例	28	20	8	56.6 ± 18.6 (23 ~ 87)
69歳以下	21	14	7	49.6 ± 15.7 (23 ~ 69)
70歳以上	7	6	1	77.6 ± 6.3 (70 ~ 87)
持続排菌群				
全例	22	17	5	58.5 ± 10.3 (35 ~ 75)
69歳以下	18	14	4	55.3 ± 8.5 (35 ~ 69)
70歳以上	4	3	1	72.8 ± 2.1 (70 ~ 75)
結核性胸膜炎				
全例	10	7	3	42.7 ± 24.4 (19 ~ 88)
正常人				
全例	119	47	72	49.1 ± 21.8 (15 ~ 91)
29歳以下	24	4	20	21.8 ± 5.2 (15 ~ 29)
30歳以上69歳以下	66	30	36	45.9 ± 11.6 (30 ~ 69)
70歳以上	29	13	16	79.0 ± 5.9 (70 ~ 91)

t-test により行った。

成績

測定したリンパ球サブセットは、前報¹⁾と同様に T 細胞系 (Leu 4, Leu 3, Leu 3⁺8⁻, Leu 3⁺8⁺, Leu 2, Leu 2⁺15⁺, Leu 2⁺15⁻), 活性化 T 細胞 (Leu 4⁺DR⁺), B 細胞 (Leu 4⁻DR⁺), 及び Natural Killer 細胞系 (Leu 7, Leu 11, Leu 11⁺7⁻, Leu 11⁺7⁺, Leu 11⁻7⁺, Leu 7⁺2⁺) に分け、比率 (%) と絶対数 (/ mm³) について検討した。

1. 肺結核症における末梢血リンパ球サブセットの変動

肺結核症の各時期の年齢を、表1のごとく69歳以下の群と70歳以上の二つの群に分け正常人と比較した。

(1) 69歳以下の結核症

表2-1のごとく、リンパ球総数は活動性病初期と慢性活動性の持続排菌群で有意の減少が認められ、治療中菌陰転期は正常域に回復している。T細胞サブセットでは、活動性病初期の Pan T細胞 (Leu 4), Inducer T細胞 (Leu 3⁺8⁺), Suppressor/Cytotoxic T細胞 (Leu 2) の低下が見られた。治療中菌陰転期では Suppressor T細胞 (Leu 2⁺15⁺) の低下が著明であった。その結果 T4/T8 比 (Leu 3/Leu 2) の上昇が認められた。69歳以下では、結核のどの時期も T4/T8

比は正常人に比べ高値を示した。持続排菌群では、Pan T細胞 (Leu 4) Inducer T細胞 (Leu 3⁺8⁺) の有意の低下と同時に Helper T細胞 (Leu 3⁺8⁻) の比率は高値を示した。活動性病初期から治療による菌陰転期への治療過程における変化としてみると、リンパ球数が正常域へ回復する動きと平行して各サブセット値も回復している。しかし例外的に Suppressor T細胞 (Leu 2⁺15⁺) のみは更に減少していた。Leu 4⁺DR⁺の活性化 T細胞は、持続排菌群においてのみ増加していた。特にその比率の増加には有意差が認められた。B細胞 (Leu 4⁻DR⁺) も活動性時期に低く、治療により回復する傾向を示すが、有意差はなかった。

Natural Killer 細胞については、表2-2に見られるように、その亜画分の Leu 11⁺7⁻細胞が活動性病初期、治療中菌陰転期において増加している。特にその比率の上昇は有意差を認めた。Leu 11⁺7⁺細胞は活動性病初期に低下し、その絶対数は有意差を持って低かった。治療による菌陰転期では増加の傾向を認めた。この画分は持続排菌群では増加し、特にその比率は有意に増加している。Leu 11⁻7⁺細胞は各時期による大きな変動は認められなかったが、各時期ともに低下の傾向を認めた。Leu 7⁺2⁺細胞は持続排菌群においてのみ増加していた。

(2) 70歳以上の結核症

表2-1 肺結核症(69歳以下)のT細胞サブセットとB細胞

	活動性病初期 n=25 絶対数(/mm ³) (比率%)	治療中菌陰転期 n=21 絶対数(/mm ³) (比率%)	持続排菌群 n=18 絶対数(/mm ³) (比率%)	正常人 n=66 絶対数(/mm ³) (比率%)
Total lymphocytes	1,670 ± 720*	2,050 ± 690	1,630 ± 580*	2,060 ± 710
Leu 4	1,150 ± 500* (66.3 ± 11.0)	1,310 ± 440 (65.8 ± 9.3)	1,050 ± 400** (64.3 ± 8.9)	1,440 ± 560 (67.3 ± 11.3)
Leu 3	750 ± 380 (42.8 ± 10.6)	840 ± 400 (41.7 ± 11.3)	720 ± 350 (43.4 ± 10.5)	870 ± 320 (41.4 ± 7.0)
Leu 3 ⁺ Leu 8 ⁻	210 ± 150 (13.0 ± 8.9)	260 ± 130 (14.1 ± 3.8)	240 ± 100 (16.2 ± 7.1)*	280 ± 130 (13.0 ± 4.9)
Leu 3 ⁺ Leu 8 ⁺	500 ± 200* (32.0 ± 13.1)	510 ± 340 (27.0 ± 10.6)	420 ± 260** (25.9 ± 10.2)	650 ± 290 (30.1 ± 9.0)
Leu 2	430 ± 200* (25.5 ± 7.5)	460 ± 240 (23.0 ± 8.9)	430 ± 200 (26.9 ± 9.7)	570 ± 290 (26.4 ± 6.8)
Leu 2 ⁺ Leu 15 ⁺	100 ± 70 (5.9 ± 4.1)	70 ± 40** (3.8 ± 1.5)**	120 ± 100 (8.2 ± 4.5)	120 ± 60 (6.4 ± 2.8)
Leu 2 ⁺ Leu 15 ⁻	350 ± 130 (22.0 ± 6.8)	380 ± 270 (20.3 ± 10.9)	300 ± 130 (20.7 ± 8.3)	420 ± 210 (21.1 ± 5.4)
Leu 3/Leu 2	2.0 ± 1.2	2.2 ± 1.2*	1.9 ± 1.1	1.7 ± 0.7
Leu 4 ⁺ OKDR ⁺	50 ± 30 (3.2 ± 1.6)	50 ± 30 (2.8 ± 1.9)	70 ± 60 (4.2 ± 2.8)*	60 ± 40 (2.9 ± 1.6)
Leu 4 ⁺ OKDR ⁻	190 ± 180 (10.1 ± 5.4)	260 ± 150 (13.9 ± 6.4)	210 ± 150 (12.5 ± 6.0)	250 ± 150 (11.5 ± 6.1)

有意差の検定は正常人との間で行った。* P<0.05, ** P<0.01

T細胞サブセットの変動は表3-1に示すようにリンパ球総数の動きとともに、69歳以下の変動と類似して、活動性時期で低く、治療による菌陰転期に回復している。しかし症例数が少ないため、有意差のある増減を示すサブセットは少ない。Leu 3⁺8⁻のHelper T細胞が治療中菌陰転期に低値を示し、持続排菌群では高値を示した。また、Suppressor T細胞(Leu 2⁺15⁺)は活動性病初期に著明に低下していた。Leu 2⁺15⁻のCytotoxic T細胞は、治療中菌陰転期、持続排菌群で増加の傾向を示した。その結果、正常値に比べT4/T8(Leu 3/Leu 2)比が低下する傾向が見られた。

Leu 4⁺DR⁺の活性化T細胞は、活動性病初期に高く治療後に低くなる傾向を示したが、持続排菌群で69歳以下の症例で見えるような増加は認められなかった。Leu 4⁻DR⁺のB細胞は、各時期ともに低い傾向を示した。

Natural Killer細胞の亜画分の変動は表3-2に示すように、69歳以下の症例群とは、かなり異なった動

きを示した。Leu 11⁺7⁻細胞及びLeu 11⁺7⁺細胞は活動性病初期、持続排菌群に低下の傾向を示し、菌陰転期には正常域に回復している。Leu 11⁻7⁺細胞及びLeu 7⁺2⁺細胞は、すべての時期に増加を示し、特に治療中菌陰転期、持続排菌群において、その比率は有意の増加を示した。

2. 結核性胸膜炎における胸水及び末梢血リンパ球サブセットの検討

表4に示したように、結核性胸膜炎末梢血のリンパ球及びそのサブセット値は、全年齢層の正常対照者と比べると、リンパ球数、Pan T細胞、Leu 3陽性細胞、Leu 2陽性細胞ともに低下の傾向を示すが、活動性病初期にみられる低下に比べると軽度であった。特徴ある所見は活性化T細胞で、その絶対数で有意の増加が見られた。B細胞には変化は見られなかった。NK細胞亜画分では絶対数でLeu 7陽性細胞、特にLeu 11⁻7⁺細胞の有意の低下が認められ、Leu 7⁺2⁺細胞もその絶対数で低下の傾向が見られた。

表2-2 肺結核症(69歳以下)のNatural killer細胞サブセット

	活動性病初期 n=25 絶対数(/mm ³) (比率%)	化療中菌陰転期 n=21 絶対数(/mm ³) (比率%)	持続排菌群 n=18 絶対数(/mm ³) (比率%)	正 常 人 n=66 絶対数(/mm ³) (比率%)
Leu 7	370 ± 160 (21.8 ± 9.4)	450 ± 260 (23.1 ± 11.0)	440 ± 240 (27.3 ± 10.6)	470 ± 260 (21.5 ± 9.1)
Leu 11	230 ± 130 (13.0 ± 6.4)	290 ± 210 (15.2 ± 10.7)	290 ± 210 (16.3 ± 7.9)*	250 ± 140 (12.5 ± 6.5)
Leu 11 ⁺ Leu 7 ⁻	140 ± 80 (7.9 ± 3.9)*	160 ± 110 (7.8 ± 3.3)*	120 ± 80 (6.8 ± 2.8)	120 ± 60 (6.1 ± 2.9)
Leu 11 ⁺ Leu 7 ⁺	90 ± 60* (5.1 ± 3.4)	190 ± 190 (9.2 ± 9.0)	170 ± 150 (9.5 ± 6.4)*	130 ± 100 (6.4 ± 4.5)
Leu 11 ⁻ Leu 7 ⁺	280 ± 140 (16.7 ± 8.5)	270 ± 170 (14.1 ± 8.6)	270 ± 170 (16.8 ± 10.0)	340 ± 230 (15.1 ± 8.4)
Leu 7 ⁺ Leu 2 ⁺	140 ± 70 (8.7 ± 5.3)	160 ± 130 (8.5 ± 6.2)	200 ± 140 (12.3 ± 5.8)**	170 ± 120 (7.4 ± 4.4)

有意差の検定は正常人との間で行った。* P<0.05, ** P<0.01

表3-1 肺結核症(70歳以上)のT細胞サブセットとB細胞

	活動性病初期 n=15 絶対数(/mm ³) (比率%)	化療中菌陰転期 n=7 絶対数(/mm ³) (比率%)	持続排菌群 n=4 絶対数(/mm ³) (比率%)	正 常 人 n=28 絶対数(/mm ³) (比率%)
Total lymphocytes	1,550 ± 830	2,060 ± 1,530	1,560 ± 410	1,890 ± 640
Leu 4	950 ± 540 (61.8 ± 13.8)	1,250 ± 1,090 (60.7 ± 12.3)	1,140 ± 210 (75.1 ± 9.8)*	1,120 ± 420 (59.4 ± 11.5)
Leu 3	590 ± 410 (36.8 ± 12.6)	610 ± 360 (33.4 ± 10.6)	560 ± 260 (36.6 ± 12.9)	740 ± 270 (39.6 ± 8.5)
Leu 3 ⁺ Leu 8 ⁻	210 ± 140 (14.0 ± 5.1)	140 ± 50* (10.5 ± 5.7)	340 ± 110 (22.6 ± 7.4)*	250 ± 90 (14.1 ± 5.4)
Leu 3 ⁺ Leu 8 ⁺	450 ± 270 (27.8 ± 10.0)	420 ± 220 (24.8 ± 9.7)	290 ± 160 (18.9 ± 7.9)	510 ± 190 (27.9 ± 7.9)
Leu 2	410 ± 340 (27.1 ± 12.9)	750 ± 810* (31.9 ± 13.1)	610 ± 230 (39.5 ± 10.3)**	400 ± 200 (21.2 ± 7.8)
Leu 2 ⁺ Leu 15 ⁺	60 ± 30** (4.5 ± 1.8)	180 ± 150 (9.4 ± 4.6)	120 ± 10 (7.0 ± 0)	120 ± 60 (7.3 ± 4.2)
Leu 2 ⁺ Leu 15 ⁻	370 ± 220 (26.2 ± 12.2)	460 ± 400 (24.9 ± 12.9)	450 ± 40 (22.4 ± 3.7)	370 ± 230 (19.5 ± 7.3)
Leu 3/Leu 2	1.8 ± 1.1	1.3 ± 0.8	1.0 ± 0.5	2.2 ± 1.1
Leu 4 ⁺ OKDR ⁺	90 ± 90 (6.4 ± 4.2)	30 ± 20 (1.6 ± 0.8)	50 ± 20 (3.9 ± 2.9)	60 ± 50 (3.3 ± 2.3)
Leu 4 ⁺ OKDR ⁻	170 ± 210 (9.6 ± 6.8)	160 ± 160 (7.3 ± 4.6)	110 ± 60 (6.4 ± 2.5)	240 ± 190 (12.4 ± 5.8)

有意差の検定は正常人との間で行った。* P<0.05, ** P<0.01

表3-2 肺結核症(70歳以上)のNatural killer細胞サブセット

	活動性病初期 n=15 絶対数(/mm ³) (比率%)	治療中菌陰転期 n=7 絶対数(/mm ³) (比率%)	持続排菌群 n=4 絶対数(/mm ³) (比率%)	正常人 n=28 絶対数(/mm ³) (比率%)
Leu 7	530 ± 400 (33.5 ± 14.0)	940 ± 870 * (43.3 ± 10.1)**	620 ± 220 (42.1 ± 17.3)*	530 ± 270 (27.3 ± 9.8)
Leu 11	270 ± 190 (17.7 ± 8.6)	320 ± 320 (18.0 ± 9.9)	260 ± 150 (15.8 ± 7.4)	360 ± 230 (18.3 ± 8.6)
Leu 11 ⁺ Leu 7 ⁻	90 ± 80 (6.9 ± 3.3)	130 ± 110 (7.9 ± 4.4)	90 ± 50 (5.1 ± 2.5)	140 ± 100 (7.0 ± 3.9)
Leu 11 ⁺ Leu 7 ⁺	150 ± 120 (10.8 ± 6.9)	230 ± 240 (12.9 ± 5.4)	180 ± 130 (10.8 ± 6.6)	220 ± 160 (11.2 ± 6.5)
Leu 11 ⁻ Leu 7 ⁺	380 ± 330 (23.6 ± 12.3)	410 ± 280 (28.3 ± 11.8)**	440 ± 130 (31.3 ± 17.2)**	290 ± 190 (16.0 ± 8.5)
Leu 7 ⁺ Leu 2 ⁺	200 ± 210 (12.6 ± 8.5)	250 ± 250 (15.8 ± 10.2)*	330 ± 180 * (22.7 ± 12.2)**	150 ± 120 (8.0 ± 5.9)

有意差の検定は正常人との間で行った。* P<0.05, ** P<0.01

胸水と末梢血を比較すると、T細胞サブセットでは表4-1に示すようにLeu 4、Leu 3陽性細胞の比率は胸水において有意に増加しており、一方Leu 2陽性細胞は変化が見られないため、胸水中のT4/T8 (Leu 3/Leu 2)比も有意に高値を示した。胸水中のLeu 3陽性細胞では、Helper T細胞 (Leu 3⁺ 8⁻)、Inducer T細胞 (Leu 3⁺ 8⁺)の比率は共に増加していたが、Suppressor T細胞 (Leu 2⁺ 15⁺)の比率は反対に有意に減少していた。しかし絶対数では有意差は認められなかった。

胸水中で活性化T細胞 (Leu 4⁺ DR⁺)の軽度の増加が見られたが有意差はなかった。胸水中のB細胞 (Leu 4⁻ DR⁺)は、末梢血に比べ軽度の減少を認めたが有意差はなかった。

Natural Killer細胞の亜画分は表4-2のようにNK細胞を表すすべてのサブセットが比率、絶対数共に胸水中で著明に減少していた。

考 察

肺結核症の末梢血及び胸水のリンパ球サブセットを測定した報告はすでに多数見られる。しかしその殆どが、T細胞に対するモノクローナル抗体であるOKT3、T4、T8及びT4/T8比を主に測定し、その測定値の動向を述べたものが多い³⁾⁻⁹⁾。我々は、フローサイトメトリーによる二重染色によって従来より更に細かい亜画分まで測定し詳細な解析を試みた。

まず肺結核症を排菌陽性の活動性病初期、治療中菌陰

転期、難治性の持続排菌群の3群に分類し、正常人の末梢血リンパ球サブセットと比率及び絶対数の両面より比較検討した。

加齢に伴う細胞性免疫の低下を示す報告は数多く見られる¹⁰⁾⁻¹³⁾ので、肺結核症の各時期を更に69歳以下と70歳以上の二つの年代に分けて検討した。

活動性病初期において、リンパ球総数としては、どちらの年代層も正常値より少なかった。病初期のT細胞サブセット、B細胞を見ると、Pan T細胞、Helper T細胞、Inducer T細胞、Suppressor T細胞、Cytotoxic T細胞のすべてのT細胞サブセットは、どちらの年代層ともに正常値より低い傾向を示した。しかし高齢層に比べ69歳以下の層が、より強い低下を示し、有意差を示す画分が多かった。活性化T細胞は高齢層の方が増加の傾向を示した。またB細胞も活動性病初期において低下の傾向を示した。諸家の報告⁹⁾¹⁴⁾¹⁵⁾でも、活動性結核患者末梢血のTリンパ球は低下しているとされている。

結核性胸膜炎初期の末梢血と胸水中リンパ球の動向は、Pan T細胞特にLeu 3陽性のHelper/Inducer T細胞の病巣局所への選択的移行を思わせる。Venetら¹⁶⁾は、肺結核の肺胞洗浄により得られる細胞はリンパ球特にT細胞主体であり、活動性結核においてその数が多いことを示している。これらのことから、末梢血における活動性病初期のリンパ球及びT細胞サブセット値の低下は、結核菌抗原に特異的に感作されたリンパ球、特にImmunoregulatory T細胞を主とするリンパ球の

表4-1 結核性胸膜炎のT細胞サブセットとB細胞

	正常人	結核性胸膜炎	
	末梢血 n=119 絶対数(/mm ³) (比率%)	末梢血 n=10 絶対数(/mm ³) (比率%)	胸水 n=10 絶対数(/mm ³) (比率%)
Total lymphocytes	1,970 ± 680	1,790 ± 1,050	2,500 ± 1,150
Leu 4	1,320 ± 530 (65.5 ± 11.1)	1,180 ± 990 (59.6 ± 18.7)	1,920 ± 920 (76.7 ± 6.4)*
Leu 3	800 ± 310 (40.5 ± 7.6)	800 ± 730 (38.5 ± 18.0)	1,410 ± 830 (54.7 ± 8.4)*
Leu 3 ⁺ Leu 8 ⁻	270 ± 140 (13.4 ± 5.4)	320 ± 270 (14.2 ± 11.9)	440 ± 180 (21.1 ± 8.5)
Leu 3 ⁺ Leu 8 ⁺	580 ± 280 (28.8 ± 9.0)	620 ± 600 (25.7 ± 13.8)	900 ± 590 (34.4 ± 9.0)
Leu 2	520 ± 270 (25.6 ± 7.4)	410 ± 270 (23.6 ± 5.8)	530 ± 180 (22.7 ± 6.8)
Leu 2 ⁺ Leu 15 ⁺	120 ± 60 (6.3 ± 2.9)	110 ± 70 (5.7 ± 3.3)	40 ± 30 (1.9 ± 1.4)*
Leu 2 ⁺ Leu 15 ⁻	420 ± 220 (21.7 ± 6.0)	380 ± 210 (19.3 ± 3.6)	450 ± 190 (17.3 ± 5.6)
Leu 3/Leu 2	1.8 ± 0.8	1.7 ± 0.3	2.7 ± 1.3*
Leu 4 ⁺ OKDR ⁺	60 ± 40 (2.8 ± 1.8)	110 ± 160 [#] (4.1 ± 4.0)	160 ± 140 (6.4 ± 3.1)
Leu 4 ⁺ OKDR ⁻	240 ± 160 (11.8 ± 5.6)	250 ± 90 (13.8 ± 8.7)	220 ± 110 (9.7 ± 4.3)

P<0.05 差の検定は正常人末梢血と結核性胸膜炎末梢血との間で行った。

* P<0.05 差の検定は結核性胸膜炎の末梢血と胸水との間で行った。

病巣局所への動員に由来すると考えられる。

治療による菌陰転期即ち回復期には、リンパ球総数、各T細胞サブセット、B細胞はおおむね正常値に回復する。しかし、この時期に年齢層による反応の差が見られる。69歳以下の群ではSuppressor T細胞が更に低下し、その結果T4/T8比が有意に上昇した。一方70歳以上の群では、Helper T細胞が有意に低下し、Cytotoxic T細胞が増加するためT4/T8比の低下を示した。高齢層では活性化T細胞は病初期に高く、回復期は正常以下に低下している点も69歳以下の層と異なっている。このような回復期におけるT細胞サブセットの反応が年齢層により異なることの意味は現在のところ不明である。

持続排菌群において、この群の特徴はリンパ球及びそのサブセットの低下傾向が活動性病初期とよく似ていることであろう。69歳以下ではPan T細胞, Inducer T

細胞の著明な低下, Cytotoxic T細胞の低下傾向に対し70歳以上の高齢層ではPan T細胞, Inducer T細胞は同じように低下傾向を示すが, Helper T細胞とCytotoxic T細胞は増加傾向を示している。その結果、両年代層ともに持続排菌群において、最もT4/T8比が低下している。特に高齢層持続排菌群のT4/T8比の低下が著しい。しかし高齢層のT4/T8比の低下は、主としてCytotoxic T細胞の増加によるもので、Suppressor T細胞の増加によるものではない点は極めて興味ある所見であった。またB細胞も高齢層持続排菌群のみ、かなりの低下が見られた。しかしこの群の症例数は少ないので、更に検討の必要がある。

次いでNatural Killer細胞については、Leu 7抗体とLeu 11抗体, Leu 2抗体の二重染色により得られる亜画分について検討した。Lanier¹⁷⁾, Aboら¹⁸⁾によると、そのKiller cell活性はLeu 11⁺ 7⁻ > Leu 11⁺

表4-2 結核性胸膜炎の Natural killer 細胞サブセット

	正常人	結核性胸膜炎	
	末梢血 n=119 絶対数(/mm ³) (比率%)	末梢血 n=10 絶対数(/mm ³) (比率%)	胸水 n=10 絶対数(/mm ³) (比率%)
Leu 7	450 ± 260 (21.8 ± 9.8)	270 ± 170# (21.5 ± 14.8)	90 ± 100* (3.9 ± 3.3)*
Leu 11	270 ± 170 (13.8 ± 7.2)	310 ± 220 (21.7 ± 15.0)	100 ± 100* (4.5 ± 3.4)*
Leu 11 ⁺ Leu 7 ⁻	130 ± 70 (6.6 ± 3.6)	180 ± 130 (11.0 ± 6.3)	70 ± 40* (3.4 ± 2.2)*
Leu 11 ⁺ Leu 7 ⁺	150 ± 130 (7.4 ± 5.4)	160 ± 100 (14.0 ± 9.5)	40 ± 60* (1.6 ± 1.9)*
Leu 11 ⁻ Leu 7 ⁺	300 ± 210 (14.3 ± 8.2)	140 ± 80# (10.2 ± 6.4)	60 ± 60* (2.3 ± 2.6)*
Leu 7 ⁺ Leu 2 ⁺	150 ± 110 (7.1 ± 4.6)	110 ± 70 (8.1 ± 5.4)	50 ± 60 (2.1 ± 2.7)*

P<0.05 差の検定は正常人末梢血と結核性胸膜炎末梢血との間で行った。

* P<0.05 差の検定は結核性胸膜炎の末梢血と胸水との間で行った。

7⁺>Leu 11⁻7⁺の順になり、Leu 7⁺2⁺細胞の Cytotoxic 活性は極めて弱い¹⁹⁾とされている。また Leu 7⁺2⁺細胞は免疫調節作用を有している¹⁹⁾とされている。この四つの亜画分の増減の態度が69歳以下と70歳以上の年齢層でかなり異なっていた。最も活性の強い Leu 11⁺7⁻細胞は69歳以下では病初期と回復期で高く、持続排菌群では正常域にあった。一方、70歳以上では、病初期と持続排菌群で低下し回復期に正常域にあった。それ以外のサブセットも年齢層によって、全く異なる動きを示した。70歳以上の高齢層で、Leu 11⁻7⁺細胞と Leu 7⁺2⁺細胞は結核のどの時期においても増加を示したが、この両サブセットは細胞傷害活性は弱い¹⁷⁾¹⁸⁾とされている。我々はNK細胞の機能は見えないが、Yonedaら²⁰⁾は肺結核症の患者のNK細胞活性はAge matched control に比べて増加していると報告している。現在、NK細胞のサブセットとその機能を種々の細菌感染症で検討した報告は見られない。マウスの実験細菌感染症で、NK細胞の増加を指摘している報告²¹⁾²²⁾があるがその病因論的意義については不明である。Facchiniら²³⁾は高齢者ではLeu 11陽性細胞は増加しているが、そのNK活性は減少していると報告している。結核症におけるNK細胞の病因論的解析については、更に検討を続ける必要があると考える。

最後に、結核性胸膜炎における胸水と末梢血のリンパ球サブセットの比較について触れたい。胸水中ではリン

パ球総数は末梢血より明らかに増加しており、Pan T細胞及びLeu 3陽性細胞(特にHelper T細胞)の増加が見られ、Leu 2陽性細胞はあまり変化がないことよりT4/T8比の上昇が見られた。Suppressor T細胞は胸水中で有意に低値を示した。また活性化T細胞は胸水中でやや高い傾向が見られた。以上の結果から、胸膜炎患者のリンパ球は選択的に末梢血より炎症の場としての胸水中に移行するものと考えられる。Shiratsuchiら¹⁵⁾は胸水中のリンパ球をin vitroで培養し、PPD刺激で増殖する細胞はTリンパ球のOKT4細胞であるとの結果を得ている。またOkuboら²⁴⁾もPPDに対し特異的に増殖する反応はLeu 1⁺2⁻3⁺細胞とLeu 1⁺2⁻3⁻細胞によるとしている。

我々の結果で見られたLeu 4、Leu 3(特にLeu 3⁺8⁻)陽性細胞の増加パターンはこのような報告と一致しており、このことは、ただ単に末梢血よりの免疫学的に非特異性のリンパ球の移行、集積のみならず、病巣局所でのPPD反応性のリンパ球の移行、増殖が起きていることを考えさせる。即ち胸水のリンパ球サブセットは、末梢血に比べると、結核菌抗原に対する生体側の細胞性免疫反応を反映しており、その意味で胸水は病巣局所の反応を観察できる良い材料と考えられる。胸水中のNK cellはLeu 7、Leu 11のみならずLeu 7とLeu 11の二重染色による亜画分すべてが比率、絶対数共に有意に低値を示していた。他の報告も殆ど同様の結果⁷⁾⁸⁾²⁵⁾²⁶⁾である。

胸膜炎患者の末梢血中では殆ど結核の活動性病初期の群と大差ない結果を示すNK細胞が、なぜ胸水で見られないのか、また末梢血より移行しないのかについては不明である。我々は、正常人、結核患者の末梢血リンパ球を *in vitro* で PPD とともに培養し、この報告と同様に詳細なリンパ球マーカーの測定を現在行っている。PPD 培養下では Leu 7 細胞の変化は殆ど見られない。即ち PPD で培養しても Leu 7 細胞の増殖が見られないという結果を得ている。上述したごとく胸水中のリンパ球サブセットのパターンは、末梢血リンパ球の PPD による増殖後のパターンに似ていることを考えると、Leu 7 陽性細胞は PPD 抗原に反応しないことも考えられる。しかし Weissler ら²⁷⁾ は肺において Leu 7 細胞と Leu 11 細胞は明らかに局在性の違いがあると報告している。即ち肺胞洗浄液は Leu 7 細胞が多く Leu 11 細胞が少ない。一方肺の間質に局在するのは殆ど Leu 11 細胞で、その Cytotoxic activity が高いと述べている。胸水でなく胸膜病変部では、どうであろうか。更に詳細な解析が必要である。

以上、肺結核症及び結核性胸膜炎におけるリンパ球サブセットを時期別、年齢別の二つの側面より解析してみた。更に症例数を増やし、今回は行わなかったが上記のような二つの面に加えて、病型、病巣の拡がりなどとの関連、及び同一個体の経過も解析する必要がある。

ま と め

肺結核症における末梢血リンパ球と、そのサブセットの変動をモノクローナル抗体とフローサイトメトリーを用いて検討した。

入院時排菌陽性の肺結核症を、活動性病初期、化療中菌陰転期、持続排菌群の三群に分け、更に年齢を69歳以下の層と70歳以上の高齢層に分けて、各々の年齢層の正常対照値と比較検討した。結核性胸膜炎では、末梢血と共に胸水のリンパ球についても検討した。

1. 69歳以下の年齢層では、活動性病初期にリンパ球数、Pan T細胞、Inducer T細胞、Suppressor/Cytotoxic T細胞の低下が見られた。化療による菌陰転期にはリンパ球数、各T細胞サブセット値も正常域に回復するが、Suppressor T細胞のみは更に低下した。B細胞も活動性病初期に低く、菌陰転期に回復する傾向を認めた。Natural Killer (NK) 細胞亜画分の中で Leu 11⁺7⁻細胞は活動性病初期、菌陰転期ともに高値を示した。Leu 11⁺7⁺細胞は病初期に低下し、菌陰転期には増加する傾向を認めた。

この年齢層の持続排菌群では、リンパ球数の低下、Pan T細胞、Inducer T細胞の低下と Helper T細胞比率の増加が見られた。更に活性化T細胞も増加を示した。NK細胞では Leu 11⁺7⁺細胞、Leu 7⁺2⁺細胞

が増加していた。この年齢層では結核のどの時期においても T4/T8 比は正常値より高かった。

2. 70歳以上の高齢層でもリンパ球数は活動性病初期、持続排菌群で低く、化療中菌陰転期には正常域に回復した。T細胞サブセットでは活動性病初期に Suppressor T細胞の低下が著明であった。化療中菌陰転期には Helper T細胞の低下、Cytotoxic T細胞の増加が見られた。NK細胞亜画分では、Leu 11⁺7⁻細胞、Leu 11⁺7⁺細胞が活動性病初期に低下を示し、菌陰転期に正常域に回復した。また Leu 11⁻7⁺細胞、Leu 7⁺2⁺細胞は化療中菌陰転期において有意の増加を示した。

持続排菌群では、Helper T細胞、Cytotoxic T細胞が高値を示した。NK細胞では、Leu 11⁺7⁻細胞、Leu 11⁺7⁺細胞は低下の傾向を示し、Leu 11⁻7⁺細胞、Leu 7⁺2⁺細胞は高値を示した。70歳以上の高齢層の結核は、どの時期も T4/T8 比が正常値より低い傾向を示した。

3. 結核性胸膜炎患者の末梢血リンパ球とそのサブセット値では、リンパ球数、Pan T細胞、Helper/Inducer T細胞、Suppressor/Cytotoxic T細胞が低下の傾向を示した。活性化T細胞は高値を示した。NK細胞画分では Leu 11⁻7⁺細胞、Leu 7⁺2⁺細胞が低値を示した。

末梢血と胸水中のリンパ球を比較すると、胸水中の Pan T細胞、Helper/Inducer T細胞は有意の増加を示し、T4/T8比は高値を示した。また活性化T細胞は軽度の増加を示した。NK細胞はすべての画分において低値を示した。

文 献

- 1) 石橋凡雄他：リンパ球サブセットの正常値及び加齢に伴う変動，結核，62：647，1987.
- 2) Edwards, D. et al. : The immunology of mycobacterial diseases, Am Rev Resp Dis, 134 : 1062, 1986.
- 3) 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.
- 4) 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.
- 5) 三上理一郎：臨床免疫学的にみた結核発病の要因，結核，59：39, 1984.
- 6) 露口泉夫他：ヒトの結核と免疫，結核，60：46, 1985.
- 7) 高田勝利他：モノクローナ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，61：253, 1986.
- 8) 中村雅博他：結核性胸膜炎と癌性胸膜炎における末

- 梢血及び胸水のリンパ球サブセットの解析, 日胸疾
会誌, 24 : 785, 1986.
- 9) 長尾哲彦他 : モノクローナル抗体による肺結核患者
末梢リンパ球サブセットの解析, 医療, 40 : 135,
1986.
 - 10) Mackay, I. R. et al. : Ageing and immuno-
logical function in man, Gerontologia, 18 :
285, 1972.
 - 11) Girard, J. P. et al. : Cell-mediated immu-
nity in an ageing population, Clin Exp
Immunol, 27 : 85, 1977.
 - 12) Hallgren, H. M. et al. : Lymphocyte subsets
and integrated immune function in aging
humans, Clin Immunol Immunopathol, 10 :
65, 1978.
 - 13) Kishimoto, S. et al. : Age-related changes
in the subsets and function of human T
lymphocytes, J Immunol, 121 : 1773, 1978.
 - 14) Skvor, J. et al. : Immunoprofile studies in
patients with pulmonary tuberculosis, Scand
J resp Dis, 60 : 161, 1979.
 - 15) Shiratuchi, H. et al. : Analysis of T cells
subsets by monoclonal antibodies in patients
with tuberculosis after *in vitro* stimulation
with purified protein derivative of tuberculin,
Clin Exp Immunol, 57 : 271, 1984.
 - 16) Venet, A. et al. : Etude des populations
lymphocytaires pulmonaires recueillies par
lavage alveolaire, Ann Anest Franc, 6 : 634,
1980.
 - 17) Lanier, L. L. et al. : Subpopulation of human
natural killer cells defined by expression of
the Leu-7 (HNK-1) and Leu-11 (NK-15)
antigens, J Immunol, 131 : 1789, 1983.
 - 18) Abo, T. et al. : Characterization of human
granular lymphocyte subpopulations expres-
sing HNK-1 (Leu-7) and Leu-11 antigens
in the blood and lymphoid tissues from
fetuses, neonates and adults, Eur J Immunol,
14 : 616, 1984.
 - 19) Lanier, L. L. et al. : Correlation of function-
al properties of human lymphoid cell
subsets and surface marker phenotypes using
multiparameter analysis and flow cytome-
try, Immunological Rev, 74 : 143, 1983.
 - 20) Yoneda, T. et al. : NK cell activity in
pulmonary tuberculosis, Br J Dis Chest, 77 :
185, 1983.
 - 21) Holmberg, L. A. et al. : Characterization of
Natural Killer cells induced in the peritoneal
exudates of mice infected with *Listeria*
monocytogenes : A study of their tumor
target specificity and their expression of
murine differentiation antigens and human
NK-associated antigens, Cellular Immuno-
logy, 89 : 151, 1984.
 - 22) Williams, D. M. et al. : Role of Natural
Killer cells in infection with the mouse
pneumonitis agent (*murine Chlamydia*
trachomatis), Infection and Immunity, 55 :
223, 1987.
 - 23) Facchini, A. et al. : Increased number of
circulating Leu 11⁺ (CD16) large granular
lymphocytes and decreased NK activity
during human ageing, Clin exp Immunol, 68
: 340, 1987.
 - 24) Okubo, Y. et al. : PPD-specific proliferative
response in humans. 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.
 - 25) 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.
 - 26) 高田勝利他 : モノクローナル抗体による胸水中リン
パ球の検討, 結核, 61 : 35, 1986.
 - 27) Weissler, J. C. et al. : Natural Killer cell
function in human lung is compartmen-
talized, Am Rev Respir Dis, 135 : 941, 1987.