

第 64 回 総会ラウンドテーブルディスカッション

これからの結核医療・教育・研修をどうするか

司会 山本正彦 (名古屋市立大学第2内科)

受付 平成元年7月17日

The 64th Annual Meeting Round Table Discussion

FUTURE DIRECTION OF TREATMENT, UNDERGRADUATE, AND
POSTGRADUATE TRAINING OF TUBERCULOSIS

Chairman : Masahiko YAMAMOTO *

Panelists :

1. The treatment of tuberculosis.
Atsushi SHINODA (Omuta National Hospital)
2. The administration of tuberculosis.
Jinsaku KANAMORI (Ministry of Health and Welfare)
3. The undergraduate and postgraduate training on tuberculosis.
Hiromichi UMEDA (Department of Medicine, Fujita Gakuen Hoken University)
4. A future prospect of tuberculosis.
Hajime SAITO (Immunology-Microbiology, Shimane Medical University)

(Received for publication July 17, 1989)

In Japan, the number of tuberculosis patients has steadily been declining, however, it will take another 60 to 70 years to eradicate tuberculosis. During this period, we have to continue our plain and solitary endeavor to eradicate tuberculosis against the public opinion that tuberculosis has already been conquered. In this round table discussion, the chairman presented the problems surrounding tuberculosis at present and asked opinions to the 4 panelists on subjects; "the treatment of tuberculosis", "the administration of tuberculosis", "the undergraduate and postgraduate training on tuberculosis" and "a future prospect of tuberculosis". Thereafter, the chairman asked them to discuss on these topics.

1. "The treatment of tuberculosis"

1) From the results of analysis on the frequency and trend of the primary drug resistance to INH and RFP, a slight increase in the rate of the primarily RFP-resistant case was presented and we have to show concern on this problem. For the prevention of this increase, it was emphasized to control the outbreak of chronic tubercle bacilli excretors.

2) With regard to the adverse effects of drugs and complications, a few patients who

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

can not take INH or RFP might be treated with classical measures including nonspecific measures which had been used prior to the use of the intensified chemotherapy. Thus, the necessity to well understand those measures was mentioned.

3) The necessity to educate the public as well as medical and comedical professions to cope with the situation such as poor compliance or incompliance and delay in tuberculosis case-finding was emphasized.

2. "The administration of tuberculosis"

1) Since outbreak of tuberculosis epidemic has often been seen in high school students and in small enterprise workers, it was demanded to improve the quality of BCG vaccination and the working environment. It was also reported that the maximum age of persons subjected to chemoprophylaxis with INH was extended up to 29 year old.

2) Since too much informations obtained from the surveillance make confusion at peripheral level, it was proposed to improve the program in order to make smooth and efficient run of the surveillance system.

3) With regard to the slowdown in the decline of the number of tuberculosis in youth as well as the number of patients with positive tubercle bacilli, it was pointed out to intensify family contacts examination so as to make medical check up prevent infection to young people and to take special care for senile persons.

4) With regard to the place where tuberculosis patients are treated and the way how to treat atypical mycobacterial disease, the appropriate number of tuberculosis beds in each prefecture should be discussed under the ongoing plan of medical care service in each prefecture. To alter the place of treating tuberculosis from tuberculosis ward to "tuberculosis room", a plan should be considered in relation to the training programme for specialist as well as the number of tuberculosis specialist. The management of atypical mycobacterial disease should differ from that of tuberculosis.

3. "The undergraduate and postgraduate training on tuberculosis"

1) With regard to the education and training on tuberculosis in medical school, it was reported that medical schools provide enough lecture on tuberculosis. However, it was pointed out that the increased number of university hospitals lacking tuberculosis ward led to the decreased opportunity to make clinical training in medical schools. From this point of view, it was desired to permit to treat tuberculosis patients in "tuberculosis room" instead of tuberculosis ward.

2) With regard to the tuberculosis specialist, it is expected that only a few doctor would apply for the specialist even if the system few specialist were created. However, it is meaningful to have key teaching staffs for postgraduate training on tuberculosis in teaching hospitals.

4. "A future prospect of tuberculosis"

1) Regarding the international cooperation, the necessity to intensify the cooperation with JICA, WHO etc. was mentioned.

2) Concerning the future direction of tuberculosis research, it was agreed that there are many topics to be solved in cooperation with other fields based upon studies on tuberculosis treatment as well as on the mechanisms of protection from the tuberculosis infection.

パネリスト

1. 結核治療の面から

篠田 厚 (国立療養所大牟田病院)

2. 結核管理の面から
金森仁作（厚生省・疾病対策課長）
3. 教育・研修の面から
梅田博道（藤田学園保健衛生大学内科）
4. 将来への展望
斎藤 肇（島根医科大学免疫・微生物）

わが国における結核患者は順調に減少しているが、その根絶には今後さらに60～70年を必要とするといわれている。この間、われわれは、結核は終わったとする世論の中で、地味で孤独な努力を続けねばならない。

本ラウンドテーブルディスカッションでは、司会者から結核を取巻く目下の問題点を呈示し、4人のパネリストに、「結核治療の面から」、「結核管理の面から」、「教育・研修の面から」、および「将来への展望」についての意見をいただき討論を行った。

1. 「結核治療の面から」、①INH、RFPの初回耐性の頻度と動向については、RFPの頻度の微増が懸念され、その対策として慢性排菌例の発生の防止が強調された。②薬剤副作用と合併症の問題については、少数のINHあるいはまたはRFPの使用不能例には、強化療法以前の方式に立ち戻って治療する必要がある、その理解を深める必要が述べられた。③不規則治療・治療中断、発見の遅れの対策には一般人への啓蒙、医療関係者の教育の必要が再認識された。

2. 「結核管理の面から」、①結核の集団感染は高等学校、中小零細事業所が多いことから、BCG接種技術の向上、労働環境の整備が要望された。INHによる化学予防の対象者の29歳までの拡大が報告された。②サーベイランスは情報量が多すぎると、末端に混乱がおこるので、効率的な運用に向けてプログラムの改良が必要と

された。③若年結核患者、菌陽性患者の減少率の鈍化については、若年患者の感染源である家族検診、老人対策の必要性が述べられた。④患者治療の場所と非定型抗酸菌症の取扱いについては、結核病床の数は現在進められている地域医療計画との関連において議論されねばならない。結核患者を病棟単位から病室単位に管理することについては、結核専門医の養成、確保と平行して考える必要がある。非定型抗酸菌症については、将来は結核とは別の取扱いが必要になるとされた。

3. 「教育、研修の面から」、①医学部における結核教育、実習の問題については、講義はかなり行われているが、結核病床を持たない医療機関の増加にともなう臨床実習の機会の減少が問題とされ、その意味においても、結核患者の病棟単位での管理から病室単位での管理が望まれた。②結核認定医の問題については、認定医制度を作っても希望者が多いとは思われないが、結核の卒後教育の中心となる指導医を置くことは意義があるとされた。

4. 「将来への展望」、①国際協力のありかたについては、政府国際協力事業団、WHOなどとの協力の必要が述べられた。②結核研究の将来については、結核の研究を基礎とした細菌学、免疫学、感染防御の仕組みの解明、診断・治療学など、他領域と共同で発展さすべく多くの問題があることが確認された。

1. 結核治療の面から

国立療養所大牟田病院 篠田 厚

1. INH、RFPの初回耐性の頻度と動向

昭和32年以来、結核療法研究協議会（療研）により2～3～5年おきに、結核患者入院時の薬剤耐性状況について全国的な調査が行われているが、その成績によると、この30年間INH未治療耐性（初回耐性）の頻度に著明な変動はみられていない（3.5～6.8%）。また、INH既治療耐性の頻度もほぼ一定（30%程度）しており、これらからしてINH未治療耐性は、今後しばらくはほぼ同様の頻度で推移することが予測される。

RFPについては、昭和52年以来5年おきに調査が行われている。最近RFPの未治療耐性が増加の傾向にあるのではないかと危惧がもたれているが、今しばらくその動向をみた上で判断した方がよい。

ただ、RFP既治療耐性の頻度がこの10年間やや漸増の傾向にあり、さらにこの傾向が持続し、また、これらのRFP既治療耐性患者が感染源としての意義を持つならば、今後RFP未治療耐性が増加する危惧があることは考えられる。

INH、RFPのいずれかでも耐性であれば「INH・

RFP」療法（INH, RFPを主軸とした、いわゆる初期強化（短期）療法）は成立しない。この場合はいうまでもなく従来からの結核化学療法の原則に従い、慢性排菌に陥ることのない、また再発のないような的確な治療を行うことが必要である。

2. 薬剤副作用と合併症の問題

(1) 薬剤（INH, RFP）副作用の問題

幸いに、副作用によりINH, RFPの投与を中止するに至る場合は比較的少ない。諸家の報告からすると、副作用による服用不能の頻度はINH 1%程度以下、RFP 5%程度と見なされる。

INH, RFPの使用により検査値の異常あるいは副作用が生じた場合、当然種々の対応が行われることになるが、それにもかかわらず使用不可能に陥った場合、生じた副作用の種類を問わず、再び使用可能にする手段はほとんどない。

理由の如何にかかわらず、INH, RFPのいずれか1剤でも使用不可能な場合は「INH・RFP」療法は成立しない。この事態に備えて結核の治療に当たる医師は、「INH・RFP」療法以前の結核治療上の知識、治癒判定上の知識を備えておくことが必要である。

(2) 合併症の問題

結核患者の年々の高齢化に伴い合併症のあるものが高率となっており、今後さらに増加することが予想される。

昭和61年に療研が行った調査では、結核入院患者の69.2%に何らかの合併症がみられ、その主なものは、呼吸機能障害（18.4%）、糖尿病（12.5%）、肝機能障害（11.2%）、肺気腫・慢性気管支炎（9.3%）、整形外科疾患（7.0%）となっている。

これらの合併症のうち、

① 呼吸器系の合併症は、結核の診療に当たる医師の大多数は呼吸器専門医と思われるので、その対応にはほとんど問題はないはずである。

② 結核の治療に重大な影響を及ぼすとされていた糖尿病、塵肺等については「INH・RFP」療法が可能でさえあれば比較的問題が少なくなってきた。むしろ、肝

障害のある場合が問題で、すでに昭和60年11月に治療委員会から「肝、腎障害時の抗結核薬使用についての見解」が出され、治療の指針となっているが、肝障害のある場合はしばしば「INH・RFP」療法が不可能となるのみでなく、他の抗結核薬も使用不可能なことが多く対応に苦慮することがしばしばである。

③ 結核患者の高齢化とともに、例えば整形外科疾患のような、呼吸器科（内科）では対処できがたい合併症がますます増加することが予測されるが、このような合併症にも対応できる患者の収容形態の見直しを検討すべき時期に来ている。

3. 不規則治療・治療中断、発見の遅れと Rapid Caseの問題

(1) 不規則治療・治療中断の問題

従来より不規則治療、あるいは治療中断が、結核治療失敗の重要な要因とされているが、治療法の進歩した「INH・RFP」療法の現在にあっても、依然これが耐性菌持続排菌難治結核をつくる最大の原因であることには変わりはない。しかも、これが次の未治療耐性結核を生む原因ともなる。

このことを治療に当たる医師は十分熟知して、治療の進歩した今日でも患者教育を怠るべきではない。

(2) 発見の遅れと rapid caseの問題

Patient delay, doctor's delay のともども問題とされているが、要は一般人、医師とも結核に対する関心の低下、それに伴う医師の結核についての学力、知識の不足が原因である。

結核難治の原因が、発見の遅れにより治療開始時すでに大量排菌、高度進展の重症結核に陥っていることにあるのは現在でも変わりはなく、今後さらに一般人への啓蒙、医療関係者の教育に意を配ることも結核病学会（および所属会員）としての責務である。

発見の遅れが関与すると思われる、いわゆる“rapid case”のことが問題となることがあるが、未だ経験に乏しく、その頻度、機序、病態などの詳細については不明である。今後の検討にまちたい。

2. 結核管理の面から

厚生省保健医療局疾病対策課課長 金森仁作

1. 結核の集団感染とサーベイランスの問題点

近年、結核の集団感染事例報告が増加する傾向にある。厚生省で把握した集団発生事例は高等学校、中小零細事業所でのものが多く、若年者、青年層の免疫力の低下、

BCG接種問題、労働環境との関連など検討を加える必要があろうが、感染の拡大防止と予防的見地から、平成元年4月から初感染結核に対するINHを投与する対象者を満29歳未満と拡大した。

サーベイランス事業は、昭和61年4月から開始した

が、昭和62年7月、神戸市を最後に全国すべての保健所、都道府県、厚生省がコンピュータで結ばれ、結核登録患者情報がコンピュータに入力され、分析・解析が加えられ、結核患者管理等に利用されている。

このサーベイランス事業は、他の伝染症サーベイランス事業のシステムと同じであるが、結核患者の情報量が多く、複雑であるため、コンピュータに入力する時点で正しくない情報があったり、入力時点で誤って情報を入力するなどのミス・エラーが散見され、またプログラムミスもあり、軌道にのるまで若干の日時を要した。

今後本事業の円滑な運用を図り、発展のためには、保健所における担当者をどうするか、とりわけ保健婦業務との関連、訪問記録の入力をどうするか検討することが必要である。

また、情報分析、解析を市町村レベル、保健所レベル、都道府県レベル、国レベルのそれぞれで有効なプログラムの作成をすることが肝要と思う。

2. 若年結核患者、菌陽性者の減少率の低下

わが国の結核の特徴は、有病率・死亡率の鈍化であり、若年結核、菌陽性患者の減少率の低下であり、地域差の拡大といえる。

例をあげると、昭和62年有病率でみると、岐阜県は千葉県約3倍の人口10万対175.0で、死亡率では、和歌山県は島根県の6倍人口10万対6.0であり、大阪市、神戸市、京都市は著しく高い。

小児の感染源の大半がその肉親・同居者であると思われる、若年結核患者を減少させるためにも家族検診、老人

その他ハイリスクグループに対する重点的対策が望まれる。

結核対策を推進する上で強調したいことの1つは、結核専門医の養成と確保である。わが国においては、結核が根絶される前に結核専門医が無くなるのではないかと危惧しており、関係者ともども議論し、具体的方策を立てなければならない。

3. 患者の治療場所と非定型抗酸菌症の取扱い

現在、医療法に基づく地域医療計画が策定されつつあり、結核病床数についても各都道府県で検討されつつある。結核必要病床数算定方式は、結核の場合利用率が全国平均約56%で、必要病床数が大きくなり空床をかかえる現在でもなお新規に病床を整備しなければならないという矛盾が生じている。

また結核病学会では、結核専門医の養成や、結核患者の合併症対応の観点からも従来の結核専門病棟管理から病室管理の必要性を指摘されていた。

このような状況から厚生省、公衆衛生審議会では結核必要病床数算定方式と病室管理の在り方について専門部会を設置し、鋭意検討が行われている。

結核病床の在り方については、結核専門医の養成・確保の立場からも慎重に検討をしなければならないということに付言しておきたい。

非定型抗酸菌症の取扱いについては、現在結核患者として処遇・処理されているが、近い将来、登録・管理・治療の方法を含め特別な検討が必要である。

3. 教育・研修の面から

藤田学園保健衛生大学名誉教授 梅田博道
豊田地域医療センター院長

藤田学園保健衛生大学における「結核」に関する講義時間(コマ数)をまず提示する(表)。

この表は、教務委員長の島教授(公衆衛生)に調べていただいたものであるが、結核に関する講義はかなりたくさんやっている。公衆衛生が2年で4コマ、6年で2コマ、計6コマ、内科は4年の各論で4コマ、6年のまとめで1コマ、計5コマも使っている。本学においては、呼吸器あるいは感染症に関心をもつ教授が多いので、他大学より結核に関する講義数が多いのだと思うが、それでも学生、研修医は結核に対する知識が欠如している。

次に、わが国における「結核」に関する教育の実状を知るため、大学医学部内科教授に結核に関する講義時間、実習の有無、結核病床の有無などについてアンケート調査を行った。すなわち、現在、大学医学部の内科学教室

で呼吸器を標榜している教授、教授が呼吸器以外を専門とするときは助教または講師で呼吸器を標榜されている方を対象に調査した。60施設、68名にアンケート用紙を送付し、51施設 85%、56名 82%より回答を得た。

呼吸器各論は大学によって総コマ数が違うが、10ないし30コマである。そのうち結核の講義に1コマ使っている大学は22施設、2コマ使っている大学は20施設、3コマ以上使っている大学は12施設であった。大学によってかなり差はあるが、どの大学でも1コマは講義しており、教育内容が増大している医学部の実情からみて、講義は十分だとしてよいであろう。それでも教育成果があがらない。学生、研修医の結核に関する知識は欠如し、結核に無関心なものが多い。これは、実際に結核の患者

表 藤田学園保健衛生大学における「結核」に関する講義時間(コマ数)

		M2	M3	M4	M5	M6	内 容
基 礎	病 理		2+実				総論, 各論
	微 生 物		2+実				結核菌
	薬 理		1				治療薬
臨 床	公衆衛生	4				2	疫学, 母子・学校保健, 健康管理, 免疫, 感染, 発病, 予防, 管理
	内 科			4		1	呼吸器病学, 感染症学
	小 児 科			1			小児結核
	外 科		1	0.5			総論, 外科療法
	整形外科			2			脊椎カリエス, 骨関節結核
	婦 人 科		1	3			性器結核, 不妊症, 卵管結核, 子宮 内膜結核, 妊娠と肺結核
	耳 鼻 科			0.5			中耳結核, 喉頭結核
	眼 科			0.1			ブドウ膜炎と結核
計	4	7+ 実2	11.1			3	

を診せていないからだと思う。

そこで、大学病院の結核病床の有無を調べると、51施設のうち結核病床をもつ大学は17施設、33%にすぎない。結核病床をもたない大学は34施設、67%で、このうち関連病院で結核患者を診せているのは9施設である。つまり、少なくとも25大学では結核の臨床実習はないということになる。われわれの大学を含めて、講義はしているが患者を診せていないので実らないというのが実状だと思われる。

「医療機関に結核病棟がないということは考えられない」という教授もあるが、病院の経営効率を考えるとかつてのような結核病棟をもつのは無理だし、その必要性もない。数ベッドの結核病床を一般病棟のなかにもち、他の疾患との関連で実地臨床教育を行えば、その成果は格段と向上すると考える。さらに最近の結核は高齢者あるいはリスクをもつものが多く、合併症あるいは続発症の治療のためにも総合病院で管理、治療することが望ましい。そのためには、法的あるいは行政的な措置も必要で、当局の御配慮を期待したい。

さて、最近、結核に対する知識の欠如、あるいは無関心な若い医師が増えているというが、実は教育する側にも同様のことがいえる。教育スタッフに結核に対する熱意がなければ、学生、研修医が乗ってくるはずがない。これが現在の結核の教育、研修に関する最大の問題点なのだと思う。

医科大学の教授、助教授のどちらかが結核病学会の会員である率は50%以下である。また、結核病学会の評議員の所属機関は病院が多く、大学に所属するものは少

ない。大学所属で結核病学会評議員の方は、基礎、臨床を含めて25%程度にすぎない。昔からわが国における結核の診療、研究は療養所が中心で、大学はあまり熱心でなかった歴史的背景から当然のことなのだが、学生、研修医の教育の面からみると大変困ったことである。かつて、結核に視線が寄せられていた時代は、黙っていても結核の教育は行われ、学生自身も熱意をもって修得に努めたが、現在はそうはいかない。現在、大学における結核の講義も、学外の方に非常勤講師として依頼している施設も多い。卒業教育では学外の専門家による特別講義は役に立つが、卒前教育には教育の流れがある。他疾患との関連で結核の講義をしてほしいし、やはり大学の教育スタッフが流れのなかで講義をすべきであろう。結核病学会より「結核症の基礎知識」という立派な指針も出たことだし、自分の専門の如何にかかわらず結核の教育にもっと理解と熱意をもっていただきたいと願います。

結核認定医、専門医制度に関しては、学会の専門医制度委員会でも既に方針が決まったようなので申し上げる必要もないが、大方の方針はほぼ同じようなので、アンケート調査の結果もふれておきたい。現在、いろいろな学会が厚生省とのからみで専門医制度を発足あるいは準備中であるが、結核病学会としては専門医制度をつくる必要はないというのが多数の意見であった。

しかし、胸部疾患学会など関連学会に申し入れをして、胸部疾患あるいは呼吸器疾患の専門医制度のなかで結核に関する事柄をもちこんでいただく必要がある。また、専門医、認定医は不必要だが、結核の教育は卒前、卒業

とも大切であり、結核指導医という制度をつくと結核の教育・研修の活性化に役立つのではないかという意見が出ていた。注目すべき意見だと思われる。

とにかく、結核は国内的にもまだまだ重要な疾患であり、国際的には最重要課題だと思われる。したがって、

結核の教育・研修は極めて大切で、まずは結核を診たことがないなどという医師をつくらぬよう、さらには、国際的にこの領域で活躍する若人を育成するためにも、結核の教育・研修に力を入れていただきたいと考えている。

4. 将来への展望

島根医科大学微生物・免疫学 齋藤 肇

(1) 国際協力のあり方

① 日本の果たす役割

わが国では昭和20年代後半より欧米先進諸国との間に研究者の交流が始められ、主として外国資金の支援下に多くの研究者が留学し、習得した知識・技術を活用して今日の発展を築いたといえる。その日本が今や経済・技術大国とよばれるようになり、国際協力に果たすべき役割は極めて大きく、全世界の注目しているところである。途上国では結核症はゆるがせにできない重要な慢性感染症の1つであり、加えるに最近ではAIDSにおける結核の発病という観点からも結核対策は保健医療上の重要な問題である。

本来、国際交流は相互利益が原則であるが、途上国との学術、先端技術の交流においては対象国との間の格差が大きく、協力あるいは援助的事業が多いのが実情である。

② 途上国の結核対策と国際協力

途上国では最も基本的な primary health care のネットワークが貧弱であることが、結核においてもその対策の実施をおくらせている。また、こと結核対策については、予算、保健医療従事者、資材などの絶対的不足がそれを推し進めていく上の大きな障害となっている。

結核分野での国際協力には政府国際協力事業団による国際2国間協力、WHOとの協力、日米医学協力、民間ベースでの医療協力などがある。これらの協力機関における結核研修コースの強化・充実、結核専門家・医療従事者の派遣、機材・薬品・教材の供与、病院・研究所の建設供与などによりいっそうの力を加え、必要に応じてそれらの要請に応じられるよう体制を整えることが強く望まれるところである。また、医師の少ない途上国の有能な学生を対象に将来、結核専門医として貢献することを期待してスカラシップ制度を推し進める。

年々育成されていく研究者、教育者が順調に育ち、自国で核となって次の世代を担う人達を教育するという自助努力が望まれるところであるが、人作りには長い年月を必要とするため、そのフォローアップを十分におこなう制度の確立が急がれる。

近年わが国では結核への関心が薄れ、結核専門家が少なくなりつつあるので、国際協力の面においても、途上国で意欲的に結核問題に取り組む熱意のある人材の育成が強く求められる。

他方、結核病学会にも国際交流委員会を設け、途上国に進出をめざす研究者の人材バンクを作っていくことも必要であろう。

(2) 結核研究の将来

① 結核研究のあり方

今日の近代医学の中にあって、結核研究もまた、これらの基盤の上に立ったものでなくてはならない。基礎と臨床のいずれを問わず、結核研究者の中で結核のみを対象として取り上げて研究している人は極めてまれであって、結核(菌)を研究モデルの1つとして利用し、自分の興味のある諸種の疾患あるいは研究課題の中で結核症あるいは結核菌(非定型抗酸菌)を取り上げて研究を行っているというのが現状である。そしてそれが結核症と他疾患あるいは結核菌と他種細菌との関連の立場に立っての研究であることが望ましい。

② 研究課題

当面考えられる基礎的研究課題としては、抗酸菌の分子遺伝学的研究、菌の病原性(宿主の係わり合いの解析)、感染防御抗原の同定、菌種特異抗原を用いた診断法、菌の迅速同定法、免疫学の診断・治療・予防への応用などが挙げられよう。

(3) 結核病学会の将来

① 結核病学会の活性化

a) 支部活動の強化: 支部の自主性を尊重し、魅力ある支部学術集会の開催、結核の重要性の啓蒙などを通じて会員、特に若い医師、研究員を獲得するよう努力することが重要課題である。

b) 若手結核研究者・医療従事者の育成: 結核の減少とともに結核の研究はややとすると先端分野の研究に目を奪われがちな若い学徒の興味を失わせ、若手研究者が段々と少なくなり、結核病学会の将来に憂慮すべき問

題を投げかけている。これは過去に比べ現在の結核病学会会員数、会員平均年齢の上昇、学会出席者の顔振れ、発表演題数の減少などなどをみても明らかである。大学関係者が結核病の教育の重要性を十分理解し、学生にそれを認識させ、興味をもたせること、スカラシップ制度を設けて将来の結核研究者あるいは医療従事者を養成することなどが、それを打開する1つの策であろう。

c) 魅力ある学術集会：従来ややともすると、学術集会は単なる研究発表の場とする考え方が強かったように思われる。今日のように学問が細分化、専門化すると、自己の研究分野の知識の吸収に追われ、広い視野に立っての学問のあり方を忘れがちである。したがって、学術集会は単なる発表の場であるに留まらず、学問・教育の場ではなくてはならない。したがって、国内のみならず国

外よりもその道のヒトを招聘し、国際的なレベルでの知識を身につけることが望ましい。わが国での学術集会におけるシンポジウムや一般講演の討論時間は、諸外国におけるよりも一般に短いように思われる。十分な時間をかけて討論を行い、お互いの知識、見解の交換をはかれるよう学術集会のプログラムの組み方についての配慮が必要である。また、特別講演も学問的並びに教育的効果が十分にあがるような配慮が必要であろう。

② 胸部疾患学会との係わり合い

これは相手方のあることであり、結核病学会で一方向的に論議しても解決しえない問題である。結核病学会の将来を考え、禍根を残さぬよう、十分な時間をかけて検討すべき問題であるが、将来的に両学会の合同開催といった考え方もあろう。

第 64 回総会シンポジウム

II. 結核感染免疫, 基礎と臨床の両面から

座長 岩井和郎 (結核予防会結核研究所)
佐藤篤彦 (浜松医科大学第2内科)

受付 平成元年7月17日

The 64th Annual Meeting Symposium

II. TUBERCULOSIS IMMUNITY, FROM BASIC AND CLINICAL VIEWPOINTS

Chairmen : Kazuro IWAI* and Atsuhiko SATO**

(Received for publication July 17, 1989)

The tuberculosis mortality rate which reached a peak of 257.1 per 10⁵ population in 1918, has since declined to 3.4 in 1986 in this country. However, it is still much higher than rates in western advanced countries, and is the primary cause of death due to infectious diseases.

Clinical studies in tuberculosis have revealed that endogenous reactivation of arrested lesions might be the major, and exogenous reinfection be the minor developmental cause of the disease. Immunosuppressive states in old age, malnutrition, metabolic diseases, renal failure or steroid treatment appear to be important factors in the endogenous reactivation of tuberculosis.

The aim of this symposium was to clarify the mechanism of immunosuppression in malnutrition, hemodialysis or old age from lymphocyte and macrophage functions; to understand the pathway of tuberculosis aggravation in the light of present day immunological knowledge, and to get new ideas for future research and disease control technology.

Following eight papers were presented;

1. Relation between malnutrition and cell-mediated immunity in pulmonary tuberculosis, by Yoneda, T.
2. Tuberculosis in patients undergoing hemodialysis, by Harada, T.
3. Clinical characteristics of tuberculosis in the aged, by Shimokata, K.
- 3' Pathogenesis of miliary tuberculosis in the aged, by Mizutani, S.
4. The characteristic changes of immune function with aging, by Negoro, S.
- 4' Lymphocyte function of pulmonary tuberculosis in the elderly, by Harada S.
5. Activation and metabolic changes of macrophages in immunology of tuberculosis, by Chida, K.
- 5' Activated macrophages and cytotoxicity, by Yamamura Y.

* From the Research Institute of Tuberculosis, JATA, Kiyose-shi, Tokyo 204 Japan.

** From the Second Department of Internal Medicine, Hamamatsu University School of Medicine, 3600 Handa-cho, Hamamatsu 431-31 Japan.

はじめに

わが国の結核の死亡率は、1918年の人口10万対257.1を最高にして以後、1986年には3.4となり激減している。しかし先進諸国と比べると、死亡率は未だ高く、感染症の中でも死因の第1位を占めているのが現況である。

この結核症に対する免疫学的研究は、従来、初感染あるいは再感染を想定した研究が基礎的、臨床的に進められてきたが、外来性再感染(exogenous reinfection)は少なく、ほとんどが内因性再燃(endogenous reactivation)と考えられている。

再燃型結核の発症には、宿主側の要因として、まずわが国の結核が主に高齢者に発症している事実から、老化という因子が考えられ、その他細胞性免疫能の低下に、低栄養、腎透析、代謝疾患の合併、ステロイド剤の使用等が関与し得ると考えられる。

今回の結核感染免疫のシンポジウムでは、宿主側の要因として、低栄養、腎透析、加齢の3点に焦点をあて、臨床のおよび基礎的(リンパ球とマクロファージ)両面から再燃型結核免疫を討議することによって、今後さらに顕性化する高齢化社会での結核症の問題を探り、新たな結核免疫研究の方向を見極めることを目的とした。

肺結核での栄養障害と細胞性免疫について、米田は、肺結核患者において身体計測値、内臓タンパクの低下を指摘し、この蛋白エネルギー障害がリンパ球幼若化反応、遅延型皮膚反応、NK活性の低下をきたすことを示し、血清Alb値の低下がサイトカイン産生能の低下に密接な関連性があることを述べた。細胞性免疫能の調節機構としてのIL-2は、Alb低値群(3.5g>)に著しい低下があることを示したが、IL-1は、Alb中等度低値群(3.5~2.5g)で亢進し、高度低値群(2.5g>)で著明に低下していると報告した。結核発症に関して宿主の栄養・免疫のネットワークに言及した考察は、示唆に富むものであった。

人工透析患者からの結核発症について、原田孝司は、結核発症が透析導入期に頻度が高く、透析患者の透析前もしくは導入期の免疫動態について、末梢血リンパ球数の減少、B細胞数の減少、遅延型過敏反応の低下、IL-2産生能の低下、PHAリンパ球幼若化反応の低下およびNK細胞数の減少が観察されることを示した。透析前の腎不全という病態は、再燃型結核の発症の研究に適したcaseと思われる。宿主の腎不全からの結核発症は肺外結核が多く、早期発見が困難なようである。したがって、免疫不全状態にある宿主には、結核再燃あるいは再感染の危惧をいつも抱く必要があることが示されたものと考えられる。

老人結核の臨床的特徴として、下方は、70歳以上の老人結核患者に体重減少と血清アルブミン値の低下がみ

られ、12%の活動性結核患者にツベルクリン反応陰性例が存在することを報告し注意を促した。

老人粟粒結核発症の病理(追加発言)として、水谷は、高齢者での発症の多い粟粒結核に病理学的検討を加え、60歳以上に晩期蔓延型が最も高頻度(57.1%)でみられ、加齢による免疫能低下とそれによる再燃が示唆されるという報告がなされた。

老化に伴う免疫機能変化の特徴について、根来は、多角的な研究成果から、老化に伴い外来性特異抗原に対するT細胞やB細胞の分裂増殖能の低下が最も明確であることが提示され、その低下はCD₈、CD₄、B細胞の順であり、老化度は、リンパ球亜群によって異なることが報告された。また、高齢者では若年者に比してIL-2R発現能に有意の低下がみられる一方、B細胞の免疫グロブリン産生細胞への分化能やT細胞のB細胞分化因子(BCDF)産生が亢進している事実を示すことによって“低下と亢進”という現象は、老化による自己・非自己の識別能の低下であることが報告された。

老人の易感染性と感染の重症、難治化は、mRNAの発現や遺伝子の修飾レベルにも認められることにも言及した。

老人結核のリンパ球機能(追加発言)について、原田進は、高齢者でのツベルクリン反応の低下を観察し、70歳以上の肺結核患者でLPSやMDP刺激に対するIL-2陽性細胞やHLA-DR陽性T細胞の活性化やT細胞の増殖能の低下などを示し、結核発症の要因の1つとしての細胞性免疫能の低下を報告した。

結核免疫における肺胞マクロファージの活性化状態と代謝からの考察について、千田は、結核発症の要因(加齢、栄養障害)が肺局所免疫応答に及ぼす影響について気管支肺胞洗浄(BAL)細胞を用いて検討した。

基礎的検討において、栄養障害時のBAL細胞には、総細胞数、リンパ球分画およびIa陽性マクロファージの低下をみるが、BCG死菌感作時では、リンパ球の動員やIa抗原発現など、BAL細胞の反応性は保たれており、栄養障害時に、より強い肺肉芽腫形成反応がみられている。また加齢と低栄養下ではBALFリン脂質組成の変化とステロイドレセプター数の変化がみられ、肺胞マクロファージの成長、貪食作用、機能の変調が結核発症に起因することを示唆していた。結核病巣と非病巣のBAL細胞の臨床的検討において、抗単球・抗マクロファージ抗体との反応性に差を認めることから、老化と低栄養は、全身性のみならず局所免疫応答にも影響がみられ、再燃と重症化における宿主要因の大きな課題であることを強調した。

活性化マクロファージとCytotoxicity(追加発言)について、山村は、細胞性免疫組織障害の1つに、活性化マクロファージからTNF- α 活性の放出があるが、

IL-6 活性は減少していることを示した。

本シンポジウムの成果は、結核発症の内因性再燃を意識した免疫学的研究が老化、低栄養、免疫不全（人工透析）という側面から報告されたことにある。

人間の life cycle の中で、結核の再感染の存在も十分に考えられるが、再燃の要因としての老化、低栄養からの結核感染免疫の研究がこのシンポジウムを契機として蓄積されることを期待したい。そして菌の側からみると再燃に到る persisters の問題が残されていることを強調しておきたい。

演者およびテーマは次のとおりである。

1. 米田尚弘（奈良県立医科大2内）
肺結核での栄養障害と細胞性免疫
2. 原田孝司（長崎大医2内）
人工透析患者からの結核発症
3. 下方 薫（名古屋大医1内）
老人結核の臨床的特徴
- 3' 水谷清二（結核予防会複十字病呼吸器内）
追加発言：老人粟粒結核発症の病理
4. 根来 茂（大阪大医3内）
老化に伴う免疫機能変化の特徴
- 4' 原田 進（国療大牟田病内）
追加発言：老人肺結核のリンパ球機能
5. 千田金吾（浜松医科大2内）
結核免疫における肺胞マクロファージの活性化状態と代謝からの考察
- 5' 山村好弘（国療刀根山病）
追加発言：活性化マクロファージと Cytotoxicity

（文責：佐藤篤彦）

第 64 回総会シンポジウム

II. 結核感染免疫, 基礎と臨床の両面から

1. 肺結核での栄養障害と細胞性免疫

米 田 尚 弘

奈良県立医科大学第 2 内科
受付 平成元年 7 月 17 日

The 64th Annual Meeting Symposium

II. TUBERCULOSIS IMMUNITY, FROM BASIC AND CLINICAL VIEWPOINTS

1. RELATION BETWEEN MALNUTRITION AND CELL-MEDIATED
IMMUNITY IN PULMONARY TUBERCULOSIS

Takahiro YONEDA *

(Received for publication July 17, 1989)

Although epidemiological studies have shown that malnutrition is associated with the reactivation and development of pulmonary tuberculosis, little is known about their nutritional status. We studied comprehensive profile of their nutritional status. We also studied the effects of malnutrition on cell-mediated immunity in tuberculosis patients. Nutritional status was assessed by anthropometric measurements and biochemical examinations, and cell-mediated immunity was evaluated by delayed-type hypersensitivity (DTH) reaction, lymphocyte transformation and natural killer (NK) activity in 47 patients with active pulmonary tuberculosis and 47 healthy controls. Cytokine production including IL-2, IL-1 was also examined.

Anthropometrics and visceral proteins were significantly lower in tuberculosis patients. Fischer ratio (BCAA/AAA), an index of plasma amino acids imbalance, was significantly ($p < 0.01$) lower in the patients.

DTH to 2, 4-dinitrochlorobenzene and lymphocytes transformation were attenuated in the patients. NK activity was reduced in patients with severe pulmonary tuberculosis.

The patient subgroup with reduced DTH was more malnourished than another one with normal DTH. The Fischer ratio correlated significantly with lymphocyte transformation response and visceral proteins and BCAA correlated with NK activity.

IL-2 production was remarkably reduced in the patient subgroup whose serum albumin was less than 3.5g/dl. IL-1 production was remarkably reduced in the patient subgroup whose serum albumin was less than 2.5g/dl. Patient subgroup whose serum albumin

* From the Second Department of Internal Medicine, Nara Medical University, Kashihara-shi, Nara 634 Japan.

level was more than 2.5g/dl and less than 3.5g/dl, produced remarkably more IL-1 than those whose serum albumin was more than 3.5g/dl.

These results suggested that malnutrition characterized by the reduction of the Fischer ratio was associated with impairment of cell-mediated immunity and cytokine production in pulmonary tuberculosis.

緒 言

栄養と結核の関連性は、化学療法出現以前から注目されており、種々の古典的な疫学的・実験的研究によって両者の関連性が指摘されてきた。

当教室の三上ら¹⁾が行なった奈良県結核発病調査では、患者群で「食事不規則」の比較危険率が最も高く、「やせ」が高率に認められ、栄養障害が結核発病の重要なリスクファクターであることが示唆された。

一方、栄養障害は従来漠然と捉えられてきたが、最近 Blackburn ら²⁾は、人体構成成分を体脂肪、内臓蛋白、筋蛋白などのコンパートメントに区分して、それぞれに特有のパラメーターを設定して、総合的に評価する臨床栄養評価の手法を提唱した。今回、新たに血漿アミノ酸分析を行い肺結核患者の包括的栄養評価を試み、その栄養障害の特徴を明らかにしたいと考える。

栄養障害と易感染性の関連性は臨床上新知されていたが、生体防御機構の低下という観点から栄養障害と免疫能の関連性が捉えられたのは比較的最近である。私たち³⁾は肺結核患者において遅延型皮膚反応の低下が栄養障害と関連する事実を注目し、栄養障害により敏感かつ重大な影響を受けるのは、細胞性免疫能であることを認識した。今回、細胞性免疫機構が発病・進展・治癒に重要な役割を果たす肺結核における、栄養障害と細胞性免疫能の関連性を中心に報告したい。

対象および方法

対象は、排菌陽性かつ未治療の活動性肺結核患者47例で、年齢をマッチした健常人47例をコントロールとした。

検討項目は、栄養学的パラメーターとして、各種身体計測、アルブミンや RTP (rapid turnover protein) などの内臓蛋白、血漿アミノ酸分析を行なった。血漿アミノ酸分析では、バリン、ロイシン、イソロイシンからなる BCAA (分枝鎖アミノ酸) とフェニルアラニン、チロニンからなる AAA (芳香族アミノ酸) を測定して、BCAA/AAA 比であるいわゆる Fischer 比⁴⁾を算出した。この Fischer 比は、本来、肝性昏睡患者のアミノ酸インバランスの指標として考案されたが、最近、蛋白栄養障害に特異性の高い栄養指標として注目されている。

またビタミンとしては VA, Vc, 微量元素として亜鉛を測定した。細胞性免疫能の指標としては、リンパ球幼若化反応、遅延型皮膚反応、natural killer (NK) 活性⁵⁾を測定した。サイトカインとしては、末梢血単球の LPS 刺激による IL-1 産生能を RIA 法で、末梢血単核球の Con A 刺激による IL-2 産生能を bioassay で測定した (表1)。

成 績

1. 栄養状態の評価

身体計測では、%IBW, 筋蛋白量を反映する %AMC, 体脂肪を反映する %TSF とも中等度の低下を示した。内臓蛋白ではアルブミンは 3.5g と軽度～中等度の低下、Tf, RA, RBP などの RTP も著明な低値を示した。

肺結核では Fischer 比は、有意 ($p < 0.01$) に低値を示し、アミノ酸インバランスの存在が示唆された。これは分枝鎖アミノ酸 (BCAA) が低値 ($p < 0.01$) を示し、芳香族アミノ酸 (AAA) が増加 ($p < 0.001$) した結果である (Fig. 1)。

Fischer 比は、身体計測値の筋蛋白指標や、内臓蛋白とも正の相関を示し、肺結核における筋蛋白や内臓蛋白の低下とアミノ酸インバランスの密接な関連が示唆された (Fig. 2)。

以上より、肺結核患者は、Fischer 比の低下に集約されるアミノ酸インバランスに基づく蛋白・エネルギー栄養障害を呈することが示された。

2. 栄養障害と細胞性免疫能

遅延型皮膚反応は、PPD 反応が 5%, DNCB 反応が 52% の患者で低下した。

PPD 反応低下群は、正常群に比べて、身体計測値、内臓蛋白、Fischer 比が有意に低値を示した (表2)。DNCB 反応も同様の傾向を示した。

マイトージェンに対するリンパ球幼若化反応は、患者群で有意に低値を示した。

リンパ球幼若化反応は、アミノ酸インバランスの指標である Fischer 比と有意の正の相関を示した (Fig. 3)。

Natural killer 細胞活性は肺結核患者では、平均値としては有意に高値を示した。しかし、一部重症例では低値を示した。

NK 細胞活性は、アルブミン、プレアルブミン、レチ

表1 検討項目

身体計測	
% Ideal body weight (%IBW)	
% Loss of body weight	
% Arm circumference (% AC)	
% Arm muscle circumference (% AMC)	
% Triceps skin fold (% TSF)	
生化学的検査	
Serum albumin	} 内臓タンパク
Rapid turnover protein	
Serum transferrin (Tf)	
Serum prealbumin (PA)	
Serum retinol-binding protein (RBP)	
Plasma amino acids (Fischer 比: 分枝鎖アミノ酸 / 芳香族アミノ酸)	
Vitamin (A, C)	
Trace element (Zn)	
免疫学的検査	
Lymphocyte transformation	
PHA	
Con A	
Delayed-type hypersensitivity skin test	
PPD	
DNCB	
Natural killer (NK) cell activity	
Cytokine	
Interleukin 1 (IL-1)	
Interleukin 2 (IL-2)	

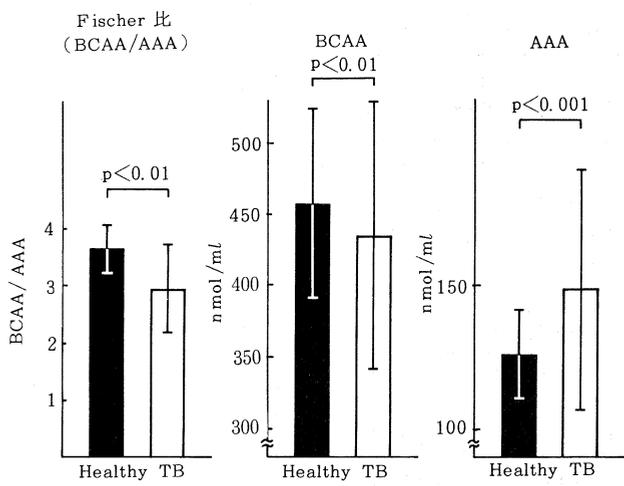


Fig. 1. Analysis of Plasma Amino Acids

ノール結合蛋白などの内臓蛋白, および分枝鎖アミノ酸 (BCAA) と強い正の相関を示した (Fig. 4)。

若化反応, NK 活性は内臓蛋白やアミノ酸インバランスと密接に相関していることが示唆された。

以上, 肺結核において, 遅延型皮膚反応, リンパ球幼

3. 栄養障害とサイトカイン

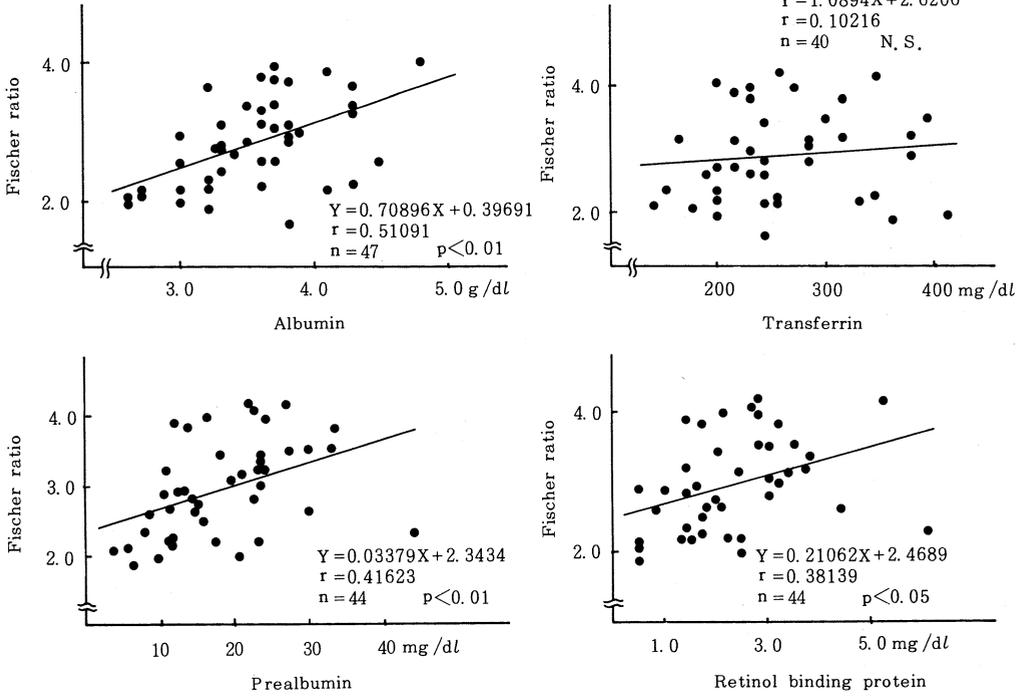


Fig. 2. Correlation between Fischer Ratio and Visceral Proteins

表2 PPD 反応と栄養障害

	PPD反応	
	陽性群	陰性群
身体計測		
% IBW	85.9 ± 11.5**	68.7 ± 14.0**
% AC	89.1 ± 9.9*	75.5 ± 14.8*
内臓タンパク		
Albumin (g/dl)	3.59 ± 0.49*	3.03 ± 0.38*
Transferrin (mg/dl)	263 ± 68*	189 ± 18*
血漿アミノ酸		
BCAA (n mol/dl)	427 ± 74**	305 ± 24**
Fischer 比	2.96 ± 0.69*	2.24 ± 0.22*

*p < 0.05 **p < 0.01

血清アルブミン 3.5 g 未満の患者群は、3.5 g 以上の患者群に比べて IL-2 産生能は著明 ($p < 0.001$) に低下していた。このように、血清アルブミン値 3.5 g を境として、IL-2 産生能が著明に低下していた。

IL-1 産生能については、肺結核患者群においては平均値としては健康人に比べて IL-1 産生が亢進していた ($p < 0.05$)。血清アルブミン値との関連性を検討すると、3.5 g 未満 2.5 g 以上の中等～軽度低下群では、アルブ

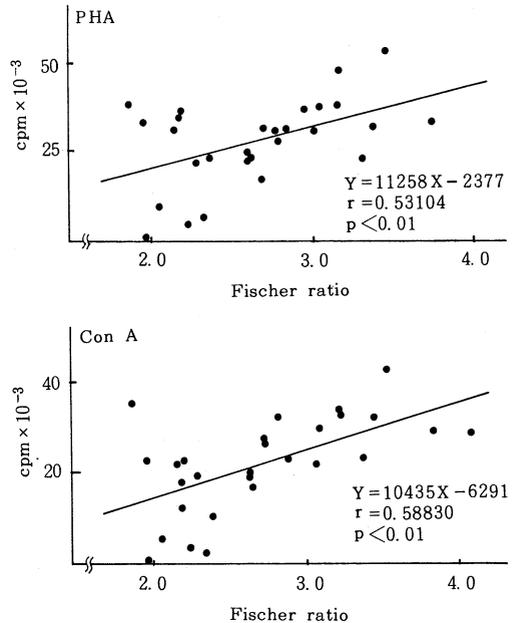


Fig. 3. Relationship between Fischer Ratio and Lymphocyte Transformation Response to Mitogens in Patients with Pulmonary Tuberculosis

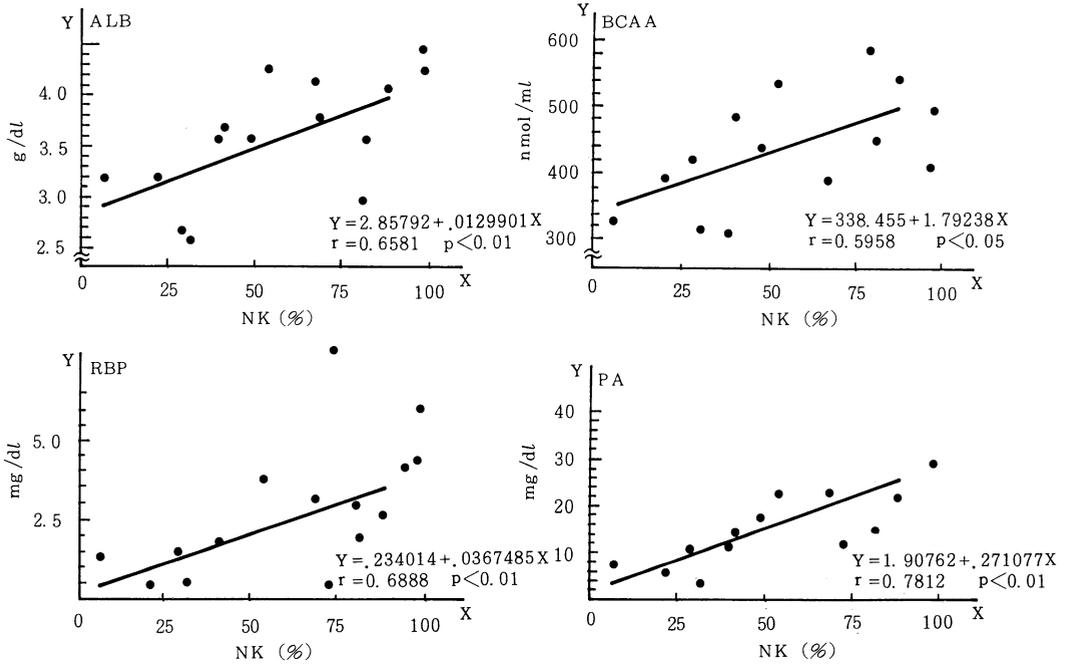


Fig. 4. Relationship between NK cell Activity and Visceral Proteins and Branched-chain Amino Acids (BCAA) in Patients with Pulmonary Tuberculosis

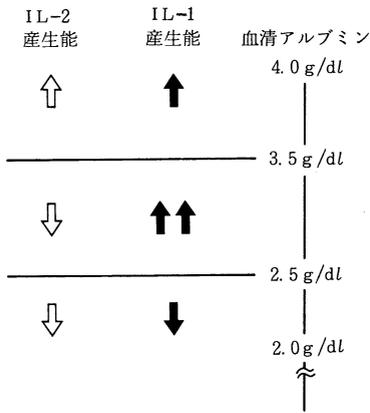


Fig. 5. Scheme of the Relation between Serum Albumin Level and Interleukin 1 (IL-1) and Interleukin 2 (IL-2) Production in Patients with Pulmonary Tuberculosis

ミン値が 3.5 g 以上の患者群に比べて IL-1 産生が著明 ($p < 0.05$) に亢進していた。一方、血清アルブミン 2.5 g 未満の高度低下群は、アルブミン 3.5 g 以上の患者群や、健康人に比べて IL-1 産生が著明に低値を示した。この

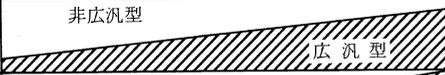
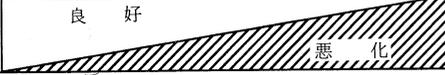
ように、アルブミン 3.5 g 未満の低蛋白血症を呈する患者群の中には、IL-1 産生の亢進した中等～軽度栄養障害群と、IL-1 産生が著明に低下した高度栄養障害群の 2 つの subgroup が含まれていた。IL-2 産生能を血清アルブミンレベル別に模式的に示した (Fig. 5)。

4. 栄養・免疫スペクトル

結核菌に対する抵抗力には個人差があるが、その基礎には、宿主の免疫応答の多様性 (スペクトル) が存在する事実を、私たちは報告してきた。NK 活性と DNCB 遅延型皮膚反応を組みあわせて、結核患者の細胞性免疫能のパターン分類を行い栄養状態や臨床病態との関連を検討した (Fig. 6)。A 群は血清アルブミンが 4.1 g/dl、B 群は 3.7 g/dl、C 群は 3.3 g/dl と免疫スペクトルと密接な関連が示された。また、A 群は非広汎型、経過良好群が多く、C 群は広汎型、難治群が多数を占めた。以上より免疫スペクトルと栄養状態、臨床病態の密接な関連が示唆された。

考 察

肺結核患者に「やせ」型の体格が多い事実は以前から知られていたが、Palmer⁶⁾ によるアメリカ海軍やわが国の青木⁷⁾ などの prospective な疫学調査においても、

免疫スペクトル NK細胞活性 DNCB 反応	A 群 ≥70% 正 常	B 群 25% ≤ < 70% 正 常・低 下	C 群 < 25% 低 下
血清アルブミン (g/dl)	4.1 ± 0.2*	3.7 ± 0.2*	3.3 ± 0.1*
胸部 X 線所見 (病巣範囲)	非広汎型 		
臨 床 経 過	良 好 		

*p < 0.001

Fig. 6. Scheme of Nutritional and Immunological Spectrum in Pulmonary Tuberculosis

1) 表 3 栄養障害と肺結核

古典的研究	熊谷 (1932)	結核の栄養療法
	Faber (1938)	飢餓と結核
	Dubos (1948)	動物実験
	岩鶴 (1948)	結核の栄養療法
	Rich (1950)	低栄養と結核
体 格	Palmer (1957)	米国海軍
	Edwards (1971)	米国海兵隊
	青木 (1975)	結核実態調査
	Nakamura (1977)	N T T 職員
飢 餓	Scrimshaw (1959)	低栄養と感染症
	Harland (1965)	B C G 接種と P P D 反応
	Tuberculosis prevention trial, Madras (1979)	B C G 接種効果
	Chandra (1983)	

2)

胃 切 除	Winkelbauer (1927)	
	Balint (1958)	
	Boman (1958)	
	塚口 (1988)	
神経性食欲不振症	Dally (1969)	
	Crisp (1976)	
食餌摂取低下	Ratcliffe (1957)	動物実験
	Bhuyan (1973)	動物実験
	三上 (1981)	奈良県結核発病調査

「やせ」型の人々の結核発病率が3~4倍高いと確認された。また、開発途上国の飢餓患者に結核発病率が高く、BCGの予防効果⁸⁾も低い問題や、胃切除患者⁹⁾や神経性食欲不振症患者¹⁰⁾に結核発病率が高いという報告や、

蛋白欠乏動物¹¹⁾で結核菌抵抗性が低下するという実験成績などは、栄養障害が結核発病要因の1つである可能性を示唆している(表3-1, 2)。しかし、肺結核患者の詳細な栄養評価は、従来ほとんどなされていない。

今回の検討では、肺結核患者で、身体計測値、内臓蛋白の低下を認め蛋白・エネルギー栄養障害 (PEM: protein-energy malnutrition) を呈することが示された。血漿アミノ酸分析では、Fischer 比の低下に反映されるアミノ酸インバランスが認められた。Fischer 比は他の栄養指標とも強く相関し、アミノ酸インバランスが肺結核患者の栄養障害の基本病態と考えられる。

一般に、細胞性免疫能と栄養障害の関連は、古くから推測されていたが、科学的な研究は、1970年代から Chandra ら¹²⁾ によって飢餓小児について、Bistran ら¹³⁾ が外科入院患者において、栄養障害が免疫能に重大な影響を与えることを指摘した報告に始まる。肺結核では、身体計測値や内臓蛋白などと遅延型皮膚反応、内臓蛋白とNK活性、Fischer 比とリンパ球幼若化反応など、両者の密接な関連性が示唆された。

結核菌に対する細胞性免疫能を担うT細胞の増殖やNK細胞の活性化にはIL-2が必須である¹⁴⁾。このような細胞性免疫能の重要調節機構としてのIL-2と、血清アルブミンレベルと密接な関連を示した。IL-2は、アルブミン3.5gを境として、著明な低下を示した。

IL-1は、活性化マクロファージなどから産生され、T細胞などからのIL-2産生誘導を介して細胞性免疫能を調節する。しかし、IL-1は、IL-2と少し異なった複雑な動態を示した。アルブミンが3.5g未満2.5g以上の中等～軽度の栄養障害群ではIL-1産生は、むしろ亢進し、2.5g未満の高度栄養障害群では著明に低下していた。このような一見矛盾した現象の原因としては、IL-1の肝臓や筋肉に対する代謝作用によるものと推測される。

IL-1は免疫調節作用だけでなく、炎症反応に際して種々の代謝・内分泌・神経系などの臓器に作用してAcute phase reactionを惹起することが報告されてきた¹⁵⁾。特に、蛋白代謝の面では、侵襲下で筋肉組織を分解して、分枝鎖アミノ酸を流出させ、エネルギー源として消費したり、肝臓に動員されて糖新生や急性期蛋白合成の基質として、利用される。その結果、アミノ酸インバランスがひきおこされ、body cell massやアルブミン合成の低下がおこると推測される。このような「異化」状態が持続すれば、高度の蛋白・エネルギー栄養障害に至り、その結果、逆にIL-1産生自体が著減すると考えられる。Alb 2.5g未満のIL-1著明低下群は、このような最重症例で細胞性免疫能も広範に、全般的な低下を示し、予後も不良であった。

このように、肺結核では免疫反応と炎症反応をつなぐサイトカインによって、栄養障害から免疫障害へという一方向性の作用だけではなく、複雑な、免疫・栄養の相互作用、いわば「栄養・免疫ネットワーク」¹⁶⁾が形成されていることが示唆された。

結 語

私たちの研究は、肺結核患者の発病や進展の背景に、'pulmonary cachexia'ともいべき栄養障害が関与しているという臨床的観察¹⁷⁾に始まった。肺結核では、Fischer 比の低下に集約される蛋白・エネルギー栄養障害が、サイトカインを介して細胞性免疫障害や臨床病態と密接に関連していることが示唆された。

謝 辞

稿を終えるにあたり、発表の機会を御与え下さった蝶良英郎会長、座長の労をおとりいただき、種々の助言をいただいた岩井和郎先生、佐藤篤彦先生に心から感謝する。

本研究は、当科の吉川雅則先生、塚口勝彦先生、前川純子先生、成田巨啓教授、同第二生理 榎泰義教授ならびに国立相模原病院の三上理一郎先生の共同研究者の先生方の多大の御助力の結果であることを付記し感謝の意を表したい。

文 献

- 1) 三上理一郎：臨床免疫学的にみた結核発病の要因、結核、59：39～63, 1984.
- 2) Blackburn, G. L., Bistran, B. R., Maini, B. S. et al. : Nutritional and metabolic assessment of hospitalized patients, J Parent Ent Nutr, 1 : 11-21, 1977.
- 3) 前川純子, 三上理一郎, 米田尚弘他：活動性肺結核の栄養評価, 結核, 61 : 379～384, 1986.
- 4) Fischer, J. E., Yoshimura, N., Aguirre, A. et al. : Plasma amino acids in patient with hepatic encephalopathy, Am J Surg, 127 : 40-47, 1974.
- 5) Yoneda, T., Kasai, M., Mikami, R. et al. : NK cell activity in pulmonary tuberculosis, Br J Dis Chest, 77 : 185-189, 1983.
- 6) Palmer, C. E., Joblon, S. and Edwards, P. Q. : Tuberculosis morbidity of young men in relation to tuberculin sensitivity and body build, Am Rev Tubercul, 76 : 517-539, 1957.
- 7) 青木正和：昭和48年結核実態調査成績から, 日胸, 34 : 239～245, 1974.
- 8) Tuberculosis Prevention Trial : Trial of BCG vaccines in south India in tuberculosis prevention, Ind J Med Res, 70 : 347-363, 1979.
- 9) Balint, J. A. : Pulmonary tuberculosis and partial gastrectomy, Gastroenterologia, 90 : 65, 1958.

- 10) Crisp, A. H., Palmer, R. L. and Kalucy, R. S. : How common is anorexia nervosa ?, *Br J Psychiatry*, 128 : 549-557, 1976.
- 11) Ratcliffe, H. L. and Merrick, J. V. : Tuberculosis induced by droplet nuclei infection. Its developmental pattern in guinea pig in relation to dietary protein, *J Exp Med*, 33 : 1121-1135, 1957.
- 12) Chandra, R. K. : Immunocompetence in undernutrition, *J Pediatr*, 81 : 1194-1200, 1972.
- 13) Bistran, B. R., Blackburn, G. L. and Scrimshaw, N. S. : Cellular immunity in semistarved states in hospitalized adults, *Am J Clin Nutr*, 28 : 1148-1155, 1975.
- 14) Toossi, Z., Kleinkenz, M. E. and Ellner, J. J. : Defective interleukin 2 production and responsiveness in human pulmonary tuberculosis, *J Exp Med*, 163 : 1162-1172, 1986.
- 15) Dinarello, C. A. : Interleukin 1, *Rev Inf Dis*, 6 : 61-95, 1984.
- 16) Yoneda, T., Mikami, R., Sakaguchi, Y. : The relationship between natural killer cell activity and delayed-type hypersensitivity reaction to 2,4-DNCB in the spectrum of chronic intractable pulmonary tuberculosis, *Tubercle*, 68 : 59-64, 1987.
- 17) 米田尚弘, 三上理一郎, 吉川雅則他 : 呼吸器疾患と栄養評価, 第22回日本医学会総会誌, 1 : 146~147, 1987.

第 64 回総会シンポジウム

II. 結核感染免疫, 基礎と臨床の両面から

2. 人工透析患者からの結核発症

原 田 孝 司 ・ 坂 田 英 雄 ・ 安 森 亮 吉
 田 所 正 人 ・ 小 原 直 ・ 松 尾 新 一 郎
 村 谷 良 昭 ・ 大 園 恵 幸 ・ 河 野 茂
 廣 田 正 毅 ・ 原 耕 平

長崎大学医学部第2内科

川 富 正 弘

佐世保市民病院

田 浦 幸 一

長崎成人病センター

松 隈 玄 一 郎 ・ 船 越 衛 一

桜町クリニック

受付 平成元年7月17日

The 64th Annual Meeting Symposium

II. TUBERCULOSIS IMMUNITY, FROM BASIC AND CLINICAL VIEWPOINTS

2. TUBERCULOSIS IN PATIENTS UNDERGOING HEMODIALYSIS

Takashi HARADA *, Hideo SAKATA, Ryoukichi YASUMORI,
 Masato TADOKORO, Naoshi KOHARA, Shinichirou MATSUO,
 Yoshiaki MURAYA, Yoshiyuki OZONO, Shigeru KOUNO,
 Masaki HIROTA, Kohei HARA, Masahiro KAWATOMI,
 Kouichi TAURA, Genichirou MATSUKUMA
 and Hirokazu FUNAKOSHI

(Received for publication July 17, 1989)

The incidence of tuberculosis is very high in patients treated by hemodialysis

* From the Second Department of Int Med, Nagasaki University School of Medicine, 7-1, Sakamotomachi, Nagasaki City 852 Japan.

particularly in the early stage of hemodialysis. The diagnosis of tuberculosis in dialysis patients was obscured as symptoms were nonspecific and extrapulmonally involvement was seen frequently. We investigated cell mediated immunity in dialysis patients in relation to the period of dialysis. The data indicate that dialysis patients show the following immunological impairments ; 1) lymphopenia, 2) decreased B cell, 3) alteration of T cell subset, 4) decreased reaction of PPD skin test, 5) decreased T cell activity. 6) decreased IL-2 production, 7) decreased PHA induced lymphocyte blastogenesis, 8) decreased NK cell. Decreased immunologic host defence mentioned above may contribute to the high incidence of tuberculosis in the early stage as well as in the maintenance phase of dialysis.

Key words : Hemodialysis, Tuberculosis, Cell mediated immunity

キーワード : 血液透析, 結核症, 細胞性免疫

1. はじめに

近年, 慢性腎不全による血液透析患者は透析療法の進歩により生存率が上昇し確実に増加しており, 1989年度には9万人に達しているものと思われる¹⁾。なかでも糖尿病性腎症等の二次性腎障害の割合や長期透析患者および高齢の透析患者が増加しており, 透析患者の合併症も多様化している。

透析患者の死亡原因では, 心不全, 脳血管障害および感染症が大部分を占めていることより¹⁾, 従来から透析患者が感染症に罹患しやすいことが指摘されており, compromised host の1つにあげられている^{2)~5)}。このような易感染性は透析患者にとって大変重要であり, 特に細胞性免疫能を主体とする感染防御能の低下に基づくとされる結核症はその発症頻度が高く^{6)~10)}, 現在も依然として大変重要な位置を占めている。そこで, 今回, 透析患者の結核患者の実態を把握し, その発症要因の背景となる細胞性免疫機能について透析期間別に検討した。

2. 対象

対象は長崎大学医学部第2内科および関連病院において1967年から1988年までの22年間に透析療法を受けた1,070例(男性557例, 女性513例)であり, また細胞性免疫能の検査については, その一部の患者について施行した。

3. 方法

結核症については発症頻度, 結核症の内訳, 診断方法および診断の時期について検討した。

免疫学的要因については透析期間別(透析前, 透析導入3ヵ月以内の導入期, 1年以内の移行期および維持期)に, 血清免疫グロブリン, PPD抗体価, 唾液 secretory IgA, 血清 IAP, 白血球遊走能, 好中球 superoxide

産生能, PPD皮内反応, PHA 幼若化反応, 末梢リンパ球数, TおよびB cellの百分率, T cell subset, T cell helper activity, IL-2産生能, NK細胞数およびNK細胞活性について検討した。

(1) 血清免疫グロブリン: 早朝空腹時血清をSRI法にて測定した。

(2) PPD抗体価: 結核菌の加熱培養液から精製されたツベルクリン反応用のPPDを用いて, 特異的IgG抗体をELISA法にて測定した。

(3) 唾液 secretory IgA: 早朝空腹時唾液をEIA S-IgA-カラムセット(アマノ)にて測定した。

(4) 血清 IAP: 早朝空腹時血清をTIAサンテスト IAPを用いて測定した。

(5) 白血球遊走能: デキストラン遠心法およびFicoll-Conray比重遠心法にて分離した多核好中球(1×10^6 /ml) 0.9 mlを 10^7 MのFMLP 0.1 mlをいれたプラスチックチューブに入れ, 37°C 振盪恒温槽で10分間反応させた後, 10%ホルマリンPBS (pH 7.2) 2.0 mlを加えて反応を止め, その後, 氷水中に30分静置し, 血球計算盤を用いて polarized した細胞の割合を測定した。

(6) 好中球スーパーオキシド産生能: デキストラン遠心法およびFicoll-Conray法にて好中球を分離し, さらにhypotonilysisをおこなった後, Krebs-Ringer phosphate buffer, pH 7.4に浮遊し, concanavalin A $100 \mu\text{g}/\text{ml}$ とcytochalasin E $5 \mu\text{g}/\text{ml}$ による刺激にて産生されるスーパーオキシドを, 二波長分光光度計を用いて, チトクロームCの還元で測定した。

(7) PPD皮内反応: ツベルクリン一般診断用液 $0.05 \mu\text{g}/\text{ml}$ PPDを使用し, 右前腕屈側に皮内注射して48時間後に判定し, 結果はツベルクリン判定基準に従った。

(8) 末梢血リンパ球数: 早朝空腹時に採血して測定した。

(9) T cell および B cell の百分率: Ficoll-Conray 比重遠心法にてリンパ球を分離した後、羊赤血球 (E) ロゼット形成細胞を T cell および EAC 結合細胞を B cell として、T cell および B cell 百分率を検討した。

(10) PHA 幼若化反応; Ficoll-Conray 比重遠心法にて分離したリンパ球 5×10^5 /ml に PHA $10 \mu\text{l}$ を加え、マイクロプレート 37°C 5% CO_2 インキュベータで3日間培養した後、ハーベスト16時間前に $0.25 \mu\text{Ci}^3\text{H}$ thymidine を加え、auto cell harvester で測定した。

(11) T cell subset: モノクローナル抗体 OKT シリーズを用いてリンパ球をインキュベートし、リンパ球 10,000 個のうちの OKT₃, OKT₄, OKT₈ 陽性細胞数を測定し百分率で判定した。

(12) T cell helper activity: 矢田らの方法¹¹⁾ に準じて、T cell 5×10^5 に B cell 1×10^5 および PWM $10 \mu\text{g}$ を加え、10% FCS 加 RPMI の培養液中で 5% CO_2 インキュベータで培養し、上清の IgG を測定した、コントロールとの比で測定した。

(13) IL-2 産生能: Ficoll 比重遠心法にて分離したリンパ球 1×10^6 /ml 0.5 ml とマイトジェン液 0.5 ml (0.25% PHA および ConA $10 \mu\text{g}/\text{ml}$) をマルチプレートに分注し、 37°C 5% CO_2 で培養し培養上清を IL-2 Reagent pach (アマシャムジャパン) を用いて RIA 2 抗体法で IL-2 を測定した。

(14) NK cell 活性: Ficoll-Conray 比重遠心法にて分離したリンパ球 2×10^6 /ml と ^{51}Cr をラベルした Target cell (K 562) 2×10^5 /ml を 37°C 5% CO_2 で4時間培養し、遊離した ^{51}Cr を測定した。

4. 成 績

1) 結核発症の実体

対象患者の 1,070 例のうち結核発症は 53 例で 5.0% に相当しその発症頻度は高率であった。結核症の診断の内訳は肺結核 11 例、結核性胸膜炎 9 例、リンパ節結核 7 例、粟粒結核 6 例、結核性関節炎および腹膜炎がそれぞれ 1 例であり、他の 18 例は不明熱に対して一般抗生剤が全く効果がなく、抗結核剤にて解熱した治療的診断をおこなった例である。

2) 結核症の確定診断

透析患者の結核症の確定診断は困難なことが多く苦慮するが、今回の 53 例の確定診断はリンパ節生検によるリンパ節結核は 8 例 (15.1%) でいちばん多く、次に剖検による診断は 7 例 (13.2%) で粟粒結核は全例剖検で判明した。培養して結核菌を証明できたのは 6 例のみであった。以上のように透析患者の結核症の診断は困難であり、約半数の 59% は治療的診断をおこなった。

3) 結核の発症時期

結核の発症時期に関してはその発症要因を考えるうえ

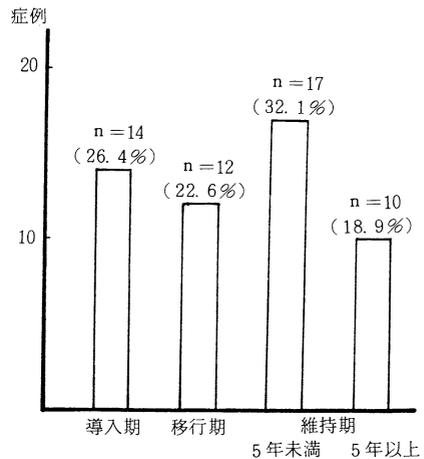


図1 結核発症と透析期間

で大変重要なことである。今回発症した結核は透析導入期、および移行期に約半数の 26 例 (49%) が発症しており透析導入早期での発症が多く認められた (図1)。このことは結核発症にかかわる要因が透析患者においては特に透析導入早期に問題があると考えられた。

4) PPD 皮内反応と透析期間

遅延型過敏反応としての PPD 皮内反応を透析期間別にみても、PPD 反応を施行した 127 名のうち陽性者は 57% にすぎず低率で、特に透析導入期、移行期に陰性および偽陽性例が多く、その後維持期には陽性例が増加していたが 10 年以上の維持期においては再び陰性例が増加していた。結核の発症が透析導入早期に多い事実の背景には臨床的にこのような細胞性免疫異常の存在が示唆された。

5) 免疫グロブリン

透析患者の体液性免疫能に関して、透析患者の血清免疫グロブリンを測定したが、IgG, IgA および IgM ともに正常範囲であり、液性免疫能は保たれていると考えられたが、透析期間の延長とともに低下していた。また、粘膜防御機構としての局所免疫能を見る目的で透析患者の唾液 secretory IgA の分泌能を測定してみたが、低下は認められず、透析導入および移行期にかけて高値を示していた。

6) IAP 値

現在まで諸家により透析患者には種々の Uremic Toxin が存在することが、*in vitro* の実験で報告されており、それらがリンパ球機能を抑制し免疫不全にかかわっていることが考えられている。今回、癌患者に高く、1つの腫瘍マーカーと考えられており、リンパ球機能の抑制作用がある immuno suppressive acidic protein を測定したが透析前および透析患者のすべての時期にお

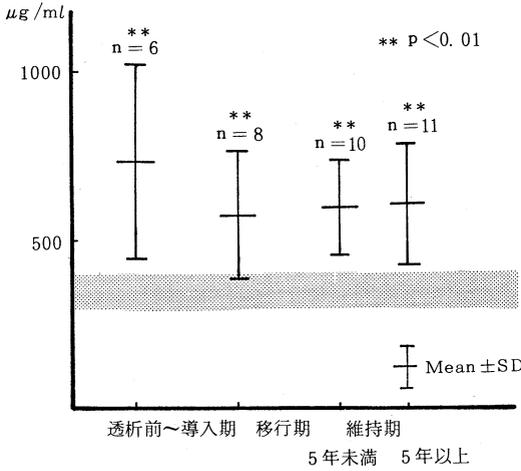


図2 透析患者のIAP

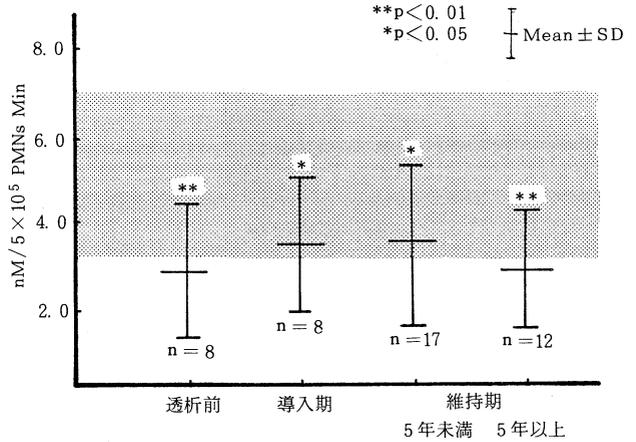


図3 透析患者のsuperoxide産生能

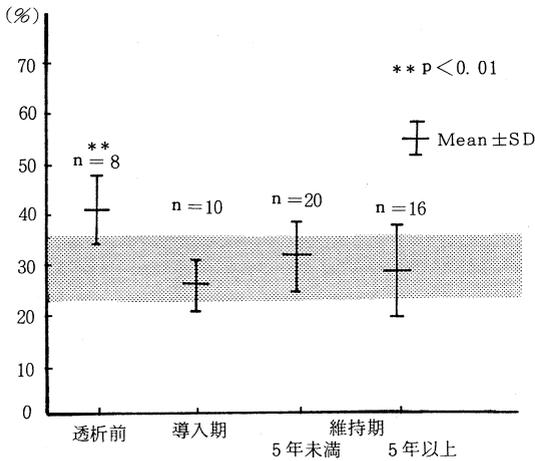


図4 透析患者のT cell subset (OKT 8, suppressor T cell)

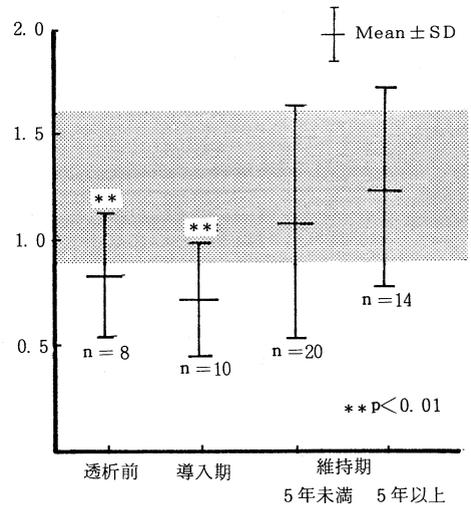


図5 透析患者のT cell helper activity

いて有意に高値を示した(図2)。

7) 好中球機能

透析患者は一般細菌による感染症の頻度も高く、好中球機能にも問題があると考えられる。そこで白血球の遊走能を測定してみると透析患者のすべての時期で低下していた。また、好中球の殺菌能を示すといわれている superoxide 産生能を測定してみると、やはり透析患者のすべての時期で低値を示していた(図3)。以上のような好中球機能の明らかな低下を認めた。

8) 末梢血リンパ球数

透析患者の末梢リンパ球は、すべての時期において著明に減少していた。

9) T細胞およびB細胞の百分率

末梢リンパ球のT細胞を羊赤血球ロゼット形成細胞で、B細胞をEAC結合細胞でその百分率を見てみると、T細胞は変わらず、B細胞は透析導入期および5年未満の維持期において減少していた。

10) T cell subset

モノクローナル抗体OKTシリーズを用いたT cell subsetをみてみるとOKT₄陽性細胞(helper/inducer T cell)は透析前に比し透析導入後増加する傾向にあり、維持期に有意に増加していた。一方、OKT₈陽性細胞(suppressor/cytotoxic T cell)は透析前に有意に増加していたが透析導入後正常化していた(図4)。したがって

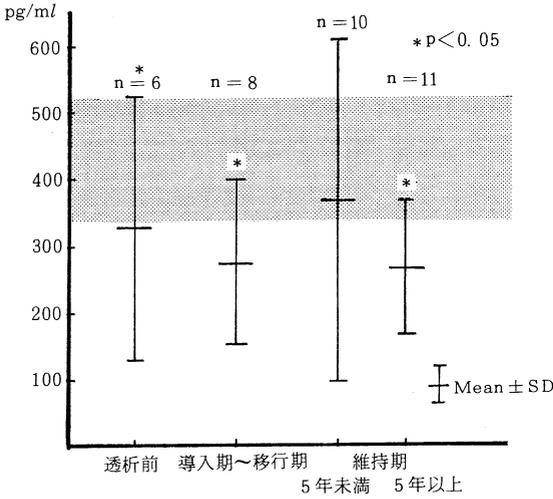


図6 透析患者のIL-2産生能

ンの1つである helper T cell が分泌される IL-2 産生能を見てみると透析前、導入期および5年以上の維持期で低下していた(図6)。

13) リンパ球幼若化反応

リンパ球の総合的機能評価と考えられる PHA をマイトゲンとする非特異的リンパ球幼若化反応は、透析前および5年以上の維持期において有意に低下していた(図7)。以上のことより従って腎不全患者および透析患者には T cell 機能障害の存在が示唆された。

14) NK 細胞活性

感作された腫瘍細胞に対して細胞障害性をもつといわれている NK 細胞は、インターフェロン、IL-2 レセプターの発現を誘導し NK 細胞活性を上昇させるといわれているが、モノクローナル抗体 Leulla を用いた NK 細胞は、透析患者では透析導入後有意に減少していた。しかし、K 562 を Target cell とした NK 細胞活性を測定してみると、5年未満の維持期においてのみ低下傾向を示した。

5. 考 案

て OKT₄/OKT₈ 比は透析前に低値を示していた。

11) T cell helper activity

T cell の helper activity をみるために矢田らの方法に従って正常人 B cell に患者 T cell を加え免疫グロブリン産生能を測定してみると、透析前および導入後において有意に免疫グロブリンが低下しており、T cell helper activity が低下していることが考えられた(図5)。

12) IL-2 産生能

T cell による細胞間の協同作用を示すリンフォカイ

慢性腎不全による透析患者の易感染症に関しては、以前より合併症としての感染症の頻度が高いことから注目されていた^{2)~4)}。特に細胞性免疫能が感染に深く関与していると考えられる結核症に関しては、本邦では、その罹患率は一般住民に比し男性で11.9倍、女性で23.4倍と有意に高く¹²⁾、透析患者の結核合併率は2~5%との報告があり、教室でも今回の調査では5%を占めていた。

結核症の診断も困難でリンパ節結核¹³⁾、骨、関節結核¹⁴⁾など肺外結核が多いことが報告されていると同様

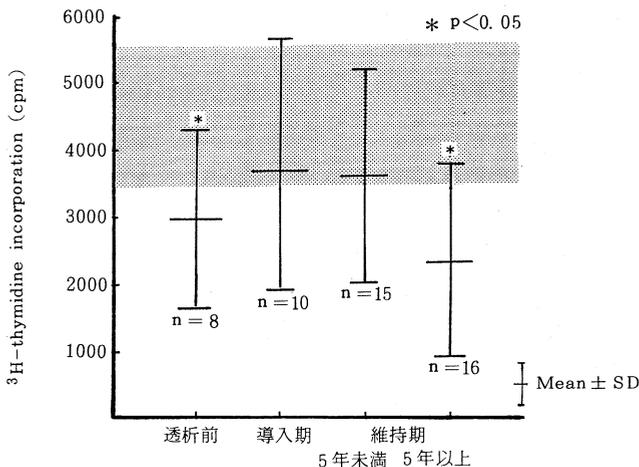


図7 透析患者のPHA幼若化反応

に、教室でも肺外結核が多く認められた。特に粟粒結核の診断は困難であり、剖検で判明した例がほとんどであった⁷⁾¹⁰⁾。

発症の時期に関しては透析導入期と移行期に多く、その時期に一致して特に尿毒症による内部環境の悪化を来し、発症要因が加わっている可能性が考えられた。

PPD 反応も同じ時期に一致して陰性、偽陽性が多いという事実は^{15)~17)}、遅延型過敏反応である細胞性免疫能の低下に基づく発症が示唆された。

慢性腎不全の病態として種々の uremic toxin が考えられており^{18)~20)}、また低栄養、著明な貧血および代謝性アシドーシスなどの状態にあり、それらが免疫抑制的に働いていることが十分に考えられる。また、透析をおこなうことにより免疫機能に必要な物質の喪失や、透析器材由来の免疫抑制物質なども、透析患者の免疫不全に関与している可能性も考えられる。

そこで、今回は透析患者の免疫能を透析期間別に検討した。体液性免疫は従来から免疫グロブリンは健常人と差がないとする報告が多いが、抗原に対する抗体産生能が低下している報告もあり、T細胞を介したB細胞の抗体産生能の低下なども考えられる²¹⁾。PPD抗体は透析前に低下しており、血清IgA値も透析導入後低下傾向を示していた。感染防御という観点より局所粘膜の分泌機能の低下も予測されたので唾液 secretory IgA を測定したが、低下は認めなかった。腎不全の原因としてのIgA腎症などのIgA調節機構の異常の存在が含まれる可能性も考えられた。

好中球機能については遊走能や貪食能の低下の報告があるが、白血球のpolarizationはすべての時期で低下していた。また殺菌能としてのsuperoxide産生能もすべての時期で低下していた。このことは一般細菌感染症の易感染症の事実からも注目しておく結果と考えられた。細菌性免疫能に関して臨床的に透析患者のリンパ球数は有意に低いという報告が多く²²⁾、今回も透析前より透析のすべての時期において低値を示していた。

尿毒症によるuremic toxin^{18)~20)}や栄養状態²³⁾²⁴⁾、そして透析膜への付着などが考えられた。

T細胞およびB細胞の百分率では、B細胞の百分率の減少の報告があり、またB cellの絶対数が減少しているという報告が多い²⁴⁾²⁵⁾。今回は透析導入後B細胞が減少していたがT細胞は減少していなかった。最近ではモノクローナル抗体を用いたT cell subsetの報告が多くなされるようになり、subsetに異常は無いがT cellの細胞数は減少している報告²⁶⁾²⁷⁾や、suppressor T cellの増加の報告もある²⁸⁾²⁹⁾。今回のOKシリーズを用いたT細胞のsubsetの検討ではOKT陽性細胞は透析前で増加しており、したがってOKT₄/OKT₈比の低下を認め、透析導入後には回復していた。このことは

OKT陽性細胞(suppressor/cytotoxic T cell)は尿毒症の何らかの免疫反応の異常に抑制的に働いているのかもしれない。

一方、免疫グロブリン産生能からみたT cell helper activityに関しては透析導入期および移行期に低下していた³⁰⁾。またT細胞機能の示標としてみたIL-2産生能は低下している報告³¹⁾があるが、今回の検討でも透析前、導入期および5年以上の維持期で低下しており、このことよりT細胞自体に機能的障害が存在していることが示唆され、この時期の結核の発症に関与していることが考えられた。

透析患者に発癌が多い事実や、発癌に対する免疫監視機能として考えられているNK活性は透析患者では低下しているとの報告があるが³²⁾、NK活性は今回の検討では導入期に低値の例がみられたが有意差はなく、維持期に低下傾向であった。またADCC活性の低下の報告もある³³⁾。

リンパ球のPHA幼若化反応は低下している報告が多く³⁴⁾、今回も透析前に低下していたが、透析導入後やや回復しており、透析により尿毒症や適切な栄養状態への回復によることも考えられたが、5年以上の維持期で再び低下しており、長期透析においては免疫能に再び何らかの要因がかかわっていることも考えられた。

以上のように透析期間別に検討した結果からは、透析患者における細胞性免疫能は透析前より尿毒症という病態にもとづく異常が存在し、さらに透析導入の時期には特に内部環境の悪化や、さらに透析という操作が加わり免疫能の低下を来していることが考えられ、このようなcompromised hostにおける透析導入期に結核の発症が多いという事実は結核のreactivationという観点³⁵⁾からも大変興味があり、重要な問題であると思われる。

6. ま と め

血液透析患者においては透析導入期および移行期に結核症の発症頻度が高く、特に肺外結核が多く認められた。結核症の免疫学的発症要因として透析前、透析導入期、移行期および5年以上の維持期などにおいて、1)末梢リンパ球数の減少、2)B細胞数の減少、3)OKT₈陽性細胞の増加、4)遅延型過敏反応の低下、5)T cell helper activityの低下、6)IL-2産生能の低下、7)PHAリンパ球幼若化反応の低下、8)NK細胞数の減少などの細胞性免疫異常が関与していることが示唆された。

文 献

- 1) 小高通夫：わが国の透析療法の現況(1988)、透析会誌、22:221~304, 1989.

- 2) 上田 泰他：わが国における腎不全患者の合併症の現況, 日医新報, 2715: 31~34, 1976.
- 3) 上田 泰：透析患者の感染症, 日本臨床, 43: 509~513, 1985.
- 4) Montgomerie, J. Z., Kalmanson, G. M., Guze, L. B. : Renal failure and infection, *Medicine* 47: 1-32, 1968.
- 5) Goldblum, S. E. : Host defease and immunologic alterations associated with chronic heuodilysis, *Ann int Med*, 93: 597-613, 1980.
- 6) Pradham, R. P., Katz, L. A., Nidus, B. D. et al. : Tuberculosis in dialysis *JAMA*, 229: 798, 1974.
- 7) 藤野忠彦：人工透析と結核症（第1編）人工透析患者の発症した粟粒結核症, 結核, 51: 381, 1976.
- 8) 稲本 元：尿毒症における免疫不全と結核症, 透析会誌, 12: 21~36, 1979.
- 9) Lundin, A. P., Adler, A. J., Berlyne, G. M. et al. : Tuberclosis in Patient undergoing main-tenance hemodialysis, *Am J Med*, 67: 597-602, 1979.
- 10) 原田孝司, 村谷良昭, 松尾新一郎他：透析患者に発症した結核症, 腎と透析, 12: 457~502, 1982.
- 11) 矢田純一：T細胞における免疫グロブリン新生ないし suppressor 能測定法の工夫, アレルギー, 26: 17~19, 1977.
- 12) 稲本 元, 猪 芳亮他：慢性腎不全患者の結核症に対する易感染症および抵抗性に関する疫学的検討, 日内会誌, 70: 14~20, 1981.
- 13) 稲本 元：透析患者におけるリンパ節結核の易感染症および脆弱一抵抗性, 感染症学雑誌, 57: 137~141, 1983.
- 14) 稲本 元：透析患者の結核症（第9報）骨関節結核, 結核, 58: 251~254, 1983.
- 15) 稲本 元, 猪 芳亮, 稲本伸子：腎不全における免疫不全 PPD による遅延型皮膚反応の低下, 臨床免疫, 9: 269~274, 1977.
- 16) Willson, E. C., Kirkpatnic, C. H., Talmage, D. W. : Suppression of immunologic responsiveness in Uremia, *Ann Intera Med*, 62: 1-14, 1965.
- 17) 沼田 明, 田村雅人, 秋山欣也：慢性透析患者における PHA 皮内テスト, PPD 皮内テストの経年変化の検討, 透析会誌, 21: 455~458, 1988.
- 18) 稲本 元, 猪 芳亮他：Uremic Toxin の影響—腎不全における免疫不全—, 最新医学, 31: 1730~1743, 1976.
- 19) 下条文武, 荒川正昭他：Uremic Toxin の現況, 日本臨床, 43: 273~288, 1985.
- 20) Miyakoshi, H., Aoki, T., Hirasawa, Y. : Effect of serum and plasma from hemodialysis patients on the lymphoiferative response, *Clin Nephrol*, 12: 263-268, 1979.
- 21) Boulfon-Tones, J. M., Cameron, J. S., Black, P. J. : Immune response in Uremia *Clin Nephrol* : 351-356, 1973.
- 22) 原田孝司, 田中民雄, 松尾新一郎他：透析患者に発生した結核症, 結核, 60: 53~58, 1985.
- 23) 秋山昌範, 沼田 明, 今川章夫他：透析患者におけるリンパ球サブセットの変化—蛋白摂取量による影響—, 透析会誌, 22: 171~177, 1989.
- 24) Reddy, M. M., Gohko, Cestero, R. V. M. : T and B lymphocyte in patient chronic renal disease on hemodiarysis. *Experimentia*, 31: 980-981, 1975.
- 25) 藤田嘉一, 井上聖士, 佐藤英一他：慢性透析患者の免疫動態と免疫補充療法, 日腎誌, 23: 1495~1508, 1981.
- 26) Raska, K., Morrison, A. : T cell subsets and cellular immunity in end stage renal disease, *AMJ Med* 75: 734-740, 1983.
- 27) 野田春夫：慢性腎不全患者の細胞性免疫能に関する研究, 透析会誌, 18: 537~548, 1985.
- 28) Roskova, J., Morrison, A. B. : A decrease in cell mediated immunity in uremia associated with a increase in activity of suppressor cells, *Am J Pathol*, 84: 1-8, 1980.
- 29) Guillou, P. J., Woodhouse, L. F., Davision, A. M. et al. : Suppressor cell activity of perpherol mononuclear cells from patients undergoing chronic hemodiarysis, *Biomedicine*, 32: 11-17, 1980.
- 30) 大園恵幸, 村谷良昭, 川富正弘他：慢性腎不全患者の透析期間別にみた細胞性免疫能, 透析会誌, 21: 1027~1031, 1988.
- 31) 板垣信生：慢性腎不全症例における末梢血 T細胞コロニー形成能と Interleukin-1, 2 産生能, 日内会誌, 77: 59~63, 1988.
- 32) 土肥和紘, 高井正秀, 山田広治他：維持透析患者の細胞性免疫, 透析会誌, 21: 817~824, 1988.
- 33) 丸山良夫, 谷 憲一, 金子佳照他：慢性透析患者および CAPD 症例における細胞性免疫能の検討, 透析会誌, 19: 1093~1098, 1986.
- 34) Kauffman, C. A., Manzler, A. D., Phair, J. P. : Cell mediated immunity in patient on longterm hemodialysis, *Clin Esp Immunol*,

22 : 54-61, 1975.

- 35) 露口泉夫 : 結核の臨床免疫, 結核, 62 : 253~264,
1987.

第 64 回総会シンポジウム

II. 結核感染免疫, 基礎と臨床の両面から

3. 老人結核の臨床的特徴

下 方 薫・村手孝直

名古屋大学医学部第1内科

大宜見 辰 雄

県立愛知病院内科

酒 井 秀 造

名古屋第1赤十字病院内科

西 脇 敬 祐

社会保険中京病院呼吸器科

斉 藤 博・一 山 智・野村史郎・矢守貞昭

国立療養所中部病院内科

受付 平成元年7月17日

The 64th Annual Meeting Symposium

II. TUBERCULOSIS IMMUNITY, FROM BASIC AND CLINICAL VIEWPOINTS

3. CLINICAL CHARACTERISTICS OF TUBERCULOSIS IN THE AGED

Kaoru SHIMOKATA *, Takanao MURATE, Tatsuo OHGIMI,
Shuzo SAKAI, Keisuke NISHIWAKI, Hiroshi SAITO,
Satoshi ICHIYAMA, Fumio NOMURA
and Sadaaki YAMORI

(Received for publication July 17, 1989)

We prospectively studied the clinical characteristics of tuberculosis in the aged from July 1988 to March 1989. Twenty-five of 101 tubercle-bacilli positive patients were 70

* From the First Department of Medicine, Nagoya University School of Medicine, Showa-ku, Nagoya 466 Japan.

years old or more. In these aged patients, decrease of body weight and of serum albumin was predominant. These findings suggest that undernutrition is remarkable in aged patients with tuberculosis, and it may influence their cellular immunity. In fact, the tuberculin reaction was significantly attenuated in the aged patients compared with patients less than 70 years old. Twelve percent of the aged patients showed a negative tuberculin reaction. In clinical diagnosis, it should be kept in mind that tuberculin reaction is sometimes negative in active tuberculosis patients particularly in the aged. The time required for negative conversion of tubercle bacilli was not retarded in the aged patients due to the use of potent chemotherapy regimens containing isoniazid and rifampicin.

Key words : Tuberculosis, Aged, Nutrition, Tuberculin reaction

キーワードズ : 結核, 高齢者, 栄養, ツベルクリン反応

結核の発病要因のなかでも、老化はもっとも重要なものの1つと考えられている。世界でも有数の長寿国となり、高齢者が激増しているわが国の実情や、高年齢層に偏在化しつつある結核の現状からみても、老人の結核は極めて重要な問題となっている。この問題はすでにいろいろの場で取り上げられているが¹⁾²⁾、現時点における老人結核の臨床像について改めて検討した。

対象と方法

1988年7月から1989年3月までに、排菌陽性で名古屋大学第1内科関連病院へ入院した肺結核症例につき、プロスペクティブに調査した。対象症例数は、49歳までのもの38例、50~69歳のもの38例、70歳以上のもの25例である。長寿国となった本邦の現在の状況から、70歳以上を老年者とした。

調査項目は、身長、体重、発見動機、合併症（糖尿病、悪性腫瘍、膠原病、アルコール中毒、高血圧・不整脈などの心疾患、塵肺、呼吸不全）、既往歴（結核、化学療法歴、胃切除）、併用薬（ステロイド、免疫抑制剤、抗腫瘍剤）、排菌（塗抹、培養）、ナイアシンテスト、耐性検査、胸部X線、赤沈値、末梢血白血球数、末梢血リンパ球数、血清総蛋白値、血清アルブミン値、ツベルクリン反応（24, 48, 72, 96時間、7日各時点での発赤、硬結の長径、二重発赤、水疱の有無）、使用した抗結核剤、排菌停止までの期間、副作用についてである。なおツベルクリン反応（ツ反）の施行および測定は限られた人数の熟練したものが担当した。成績は平均±標準誤差で示し、その解析は、分散分析、t検定、 χ^2 検定を用いた。また、各因子間の相関を求めた。

結 果

体重は年齢と負の相関を示し ($p < 0.01$)、49歳以下で 51.9 ± 1.3 kg、50~69歳で 48.5 ± 1.6 kg、70歳以

上で 43.1 ± 2.1 kg であり、70歳以上で有意に減少していた (Fig. 1)。

受診動機としては、自覚症状のため来院したものが、49歳以下で94.7%、50~69歳で84.2%、70歳以上で68.0%といずれの年齢層でも多くを占めた。高齢者では49歳以下、69歳以下それぞれの群よりも有意 ($p <$

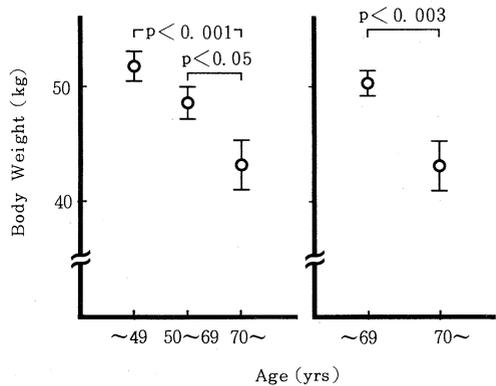


Fig. 1. Relationship between Body Weight and Age in Active Tuberculosis Patients

Table 1. How Tuberculosis Was Discovered

Age	Subjective complaints		Other than subjective complaints	
	No.	percent	No.	percent
-49 (n=38) ¹⁾	36	94.7	2	5.3
50-69 (n=38) ²⁾	32	84.2	6	15.8
70- (n=25) ³⁾	17	68.0	8	32.0

Significant differences between 1) and 3) ($p < 0.05$), and between 1)+2) and 3) ($p < 0.05$)

Table 2. Number of Tuberculosis Patients with Complications

Age	Diabetes mellitus	Collagen disease	Pneumoconiosis	Respiratory failure	Heart disease	Malignancy
-49 (n=38)	5	0	0	1	0	1
50-69 (n=38)	5	2	5	6	3	0
70- (n=25)	4	1	2	3	5	0

0.05) に自覚症状による受診が低かった (Table 1)。

年齢別にみた排菌陽性結核症例における合併症の種類とその頻度を Table 2 に示した。50 歳代以降では 40 歳代までに比べ、合併症が有意 ($p < 0.01$) に多くみられたが、69 歳以下と 70 歳以上の間には差はみられなかった。調査対象とした既往歴、併用薬、薬剤耐性いずれも 69 歳以下と 70 歳以上の間で差はみられなかった。胸部 X 線像の学会分類では、69 歳以下に比べ 70 歳以上では

非空洞型 (Ⅲ型) が有意 ($p < 0.001$) に多かった。

年齢別にみた活動性肺結核での末梢血リンパ球数は、49 歳以下で $1,660 \pm 110/\text{mm}^3$ 、50~69 歳で $1,610 \pm 120/\text{mm}^3$ 、70 歳以上で $1,480 \pm 180/\text{mm}^3$ と年齢による差はみられなかったが、70 歳以上ではリンパ球数にかなりの変動がみられた。70 歳以上では $1,000/\text{mm}^3$ 未満の症例が 32% 存在し、69 歳以下での 14.5% に比べ 2.2 倍であったことは注目される。

血清アルブミン値と年齢の間には負の相関がみられた ($p < 0.01$)。年齢別にみた血清アルブミン値を Fig. 2 に示す。49 歳以下で $3.7 \pm 0.1 \text{ g/dl}$ 、50~69 歳で $3.4 \pm 0.1 \text{ g/dl}$ 、70 歳以上で $3.3 \pm 0.1 \text{ g/dl}$ と 50 歳代以降になると、それ以前より有意に低下がみられた。今回の活動性結核でみられた 50 歳代からのかなり急激な血清アルブミン値の低下は注目に価する。

ツ反の経時的変化を、発赤、硬結別にみると、発赤、硬結とも 48 時間で最大値となり、その値はそれぞれ 25.6 mm、8.6 mm であった。さらにツ反の経時的変化を 49 歳以下と 70 歳以上と比較した (Fig. 3)。48 時間目の発赤径は 70 歳以上では $20.0 \pm 2.3 \text{ mm}$ 、49 歳以下で $27.9 \pm 3.1 \text{ mm}$ と高齢者で有意に低下していた ($p < 0.05$)。48 時間でのツ反発赤の長径と年齢との間に

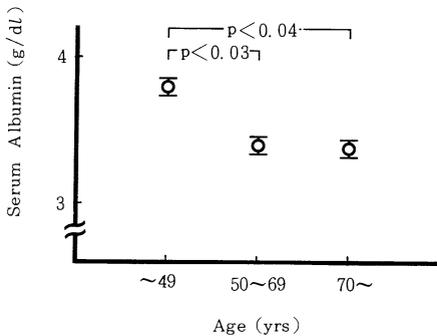


Fig. 2. Relationship between Serum Albumin and Age in Active Tuberculosis Patients

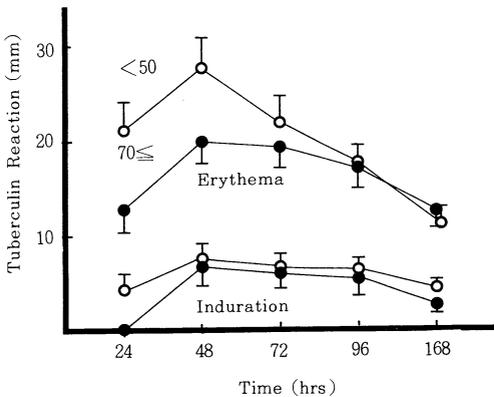


Fig. 3. Time Course of Tuberculin Reaction

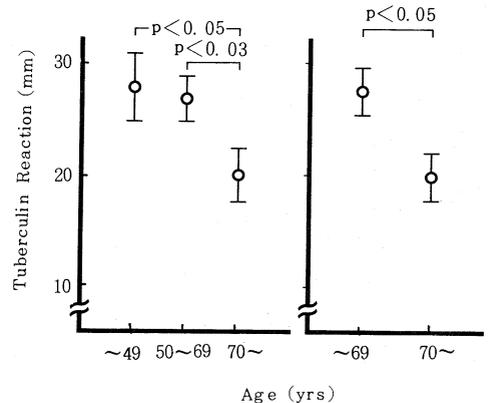


Fig. 4. Relationship between Tuberculin Reaction and Age in Active Tuberculosis Patients

は負の相関がみられたが ($p < 0.05$), とくに70歳以上では69歳までのもの (27.4 ± 1.8 mm) と比べツ反の低下が著しかった ($p < 0.05$) (Fig. 4)。48時間でのツ反が陰性ないし疑陽性のもは、49歳まででは3例、50~69歳で2例、併せて6.6%, 70歳以上で3例、12%と活動性結核の存在にもかかわらず、陽性を示さないものがみられたことは注目される。

全例でイソニコチン酸ヒドラジド (INH), 1例を除いてリファンピシン (RFP) に、ストレプトマイシン (SM) かエンビオマイシン (EVM), あるいはエタンブトール (EB) を加えて治療した。年齢別にみた菌陰性化までの期間は、70歳以上の高齢者でも遅延することはない。

考 察

高齢者の肺結核の臨床上的特色をプロスペクティブに検討した。年齢を49歳以下、50~69歳、70歳以上に区分し、70歳以上のものの特色を、69歳以下のもの、あるいはその差を際立たせるため、49歳以下のものと比較した。

受診動機としては、自覚症状によるものがいずれの年齢層でも多くを占めたが、高齢者ではその割合は有意に低かった。このことは、結核で入院した60歳以上と20~39歳の患者について発見動機に差がなかったとの報告¹⁾と合致しないが、対象とした年齢の相違、あるいは検討した年代の差によるものかもしれない。今回の成績は老年層における集検を否定するものではない。有症状で受診したとき、結核を常に念頭に置くことの重要性が示唆された。

合併症は50歳以上になると有意に多かったが同様の成績も報告³⁾されている。幸い短期化学療法の確立した現在、初回治療で非耐性菌感染であれば、合併症の有無にかかわらず排菌停止という治療目標はほとんどの症例で達成できる³⁾⁴⁾。むしろ合併症そのものの方が臨床的に重要であることが多い。したがって、結核症、呼吸器疾患についての専門的知識を有する医師の常勤する病院においては病棟の一部を独立した空調設備とし、重篤な合併症を有する結核患者を収容できるようにすることが望ましい⁵⁾。

胸部 X 線像では、高齢年齢層で学会分類で非空洞型が多かった。この成績は高齢者結核で、発見時 X 線病型重症型の率が高いとの報告⁴⁾とは異なっていた。少し観点を変えた X 線所見による報告³⁾では、高齢者で古い型と新しい型の2つの X 線像があるとしており興味をひくところである。

細胞性免疫と関わりの深いリンパ球数は40歳頃から減少するといわれているが⁶⁾、今回の検討では年齢による差はみられなかった。これは活動性結核の存在が影響

している可能性がある。しかし、 $1,000/\text{mm}^3$ 未満のもの占める割合が70歳以上で高かったことは特筆される。

体重は高齢者で減少していたが、体重の変化からだけでその変化の内容まで知ることはできない。しかし、体重測定は患者の栄養状態を知るための最も簡便な方法の一つであり、栄養評価の第一歩である^{7)~9)}。栄養状態をよりよく知るために¹⁰⁾、血清アルブミン値について検討を行った。血清アルブミン値も年齢とともに低下するとされているが⁵⁾、今回の成績ではその傾向が特に著明であった。低栄養が結核の発病進展の要因であることはよく知られている^{7)~9)11)}。低栄養では細胞性免疫能の低下がみられることがその大きな要因と考えられ、BCG 接種後の陽転化率の減少やジニトロクロロベンゼン (DNCB), あるいは *Candida albicans* による皮膚反応が減弱するという成績は、そのことをよく反映している⁸⁾⁹⁾¹²⁾¹³⁾。

ツ反についてはすでに多くの報告がなされているが¹⁴⁾¹⁵⁾、改めて詳細に高齢者結核におけるツ反の臨床的意義を検討した。現在慣用されている48時間での発赤が、年齢にかかわらず最大値をとることが再認識された。本成績での70歳以上の48時間でのツ反発赤径は平均20 mm であり、沖縄の老人福祉施設で検討された60歳以上でのツ反平均16.3 mm と¹⁶⁾、4 mm 程度の違いしかなかった点は興味をひく。菌陽性結核患者でのツ反の成績によれば、60歳以上で反応が小さいとしている¹⁷⁾。これらの成績から、加齢とともに菌陽性結核症例でもツ反は減弱するので、ツ反の成績を評価するにあたっては、年齢を十分に考慮する必要がある。ツ反は末梢血リンパ球数および血清アルブミン値と強い正の相関があり、高齢者でみられた低アルブミン血症が今回のツ反の成績に影響を与えている可能性が考えられる。したがって、ツ反は排菌陽性例でもこれらの因子により陰性となりうることは注目しておく必要がある。

結 語

菌陽性の老人結核の臨床像を、プロスペクティブに検討し以下の結果を得た。

1) 新規入院患者の約1/4を占め、体重の減少、アルブミン値の低下がみられ、低栄養状態にあるものが多く、細胞性免疫能に影響を与えていることが示唆された。

2) ツ反の減弱がみられ、10 mm 未満の者の頻度が高いので注意が必要である。

3) 排菌停止に到る期間は若年者と比べて差がない。

文 献

- 1) 砂原茂一：老人の結核，結核，53：527~535，1978。
- 2) 山本和男：老化のメカニズムと老人結核，(第55回

- 総会シンポジウム), 結核, 55:545~563, 1980.
- 3) 亀田和彦:老人の肺結核の臨床的研究, 結核, 55:561~563, 1980.
 - 4) 藤岡正信, 山本正彦:老人結核の臨床疫学的研究, 結核, 55:557~560, 1980.
 - 5) 日本結核病学会治療委員会・同予防委員会:結核患者収容の場所について, 結核, 62:362, 1987.
 - 6) 名古屋大学医学部老年科学教室編:老年者における正常値のみかた, 診断と治療社, 東京, 1985.
 - 7) 三上理一郎, 米田三平, 石橋純子他:結核疫学の諸問題—結核発病の要因, 奈良県新登録患者調査から一, 結核, 56:547~551, 1981.
 - 8) 三上理一郎, 石橋純子, 米田三平他:既感染肺結核患者の“やせ”と免疫皮膚反応低下との関連について, 日本胸部臨床, 43:918~924, 1984.
 - 9) 前川純子, 三上理一郎, 吉川雅則他:活動性肺結核患者の栄養評価, 結核, 61:379~384, 1986.
 - 10) 千見寺徹, 横山正之, 真島吉也他:簡単な栄養状態評価の基礎的研究, 日本臨床外科医学会雑誌, 44:846~853, 1983.
 - 11) 北尾 武, 西岡真二, 越野 健他:結核患者の栄養評価, 結核, 58:645~649, 1983.
 - 12) Chandra, R. K. : Immunocompetence in undernutrition, J Pediatr, 81 : 1194-1200, 1972.
 - 13) McMurray, D. N., Loomis, S. A., Casazza, L. J. et al. : Development of impaired cell-mediated immunity in mild and moderate malnutrition, Am J Clin Nutr, 34 : 68-77, 1981.
 - 14) 森 亨:結核管理技術シリーズ3, ツベルクリン反応, 財団法人結核予防会, 東京, 1978.
 - 15) 泉 孝英:ツベルクリン反応—その新しい考え方—中外医学社, 東京, 1984.
 - 16) 砂川恵徹, 仲宗根幸子, 森 亨他:老人のツベルクリン反応に関する考察—時間経過・ブースター現象・超高齢者の反応など—, 結核, 63:392, 1988.
 - 17) 高井鏝二, 森 亨:ツベルクリンの諸問題(II) PPDの臨床応用上の最近の知見, 呼吸器疾患・結核文献の抄録速報, 26:327~329, 1975.

第 64 回総会シンポジウム

II. 結核感染免疫, 基礎と臨床の両面から

3 - 追加発言 : 老人粟粒結核発症の病理

水谷清二

結核予防会複十字病院呼吸器内科

受付 平成元年7月17日

The 64th Annual Meeting Symposium

II. TUBERCULOSIS IMMUNITY, FROM BASIC AND CLINICAL VIEWPOINTS

3'. PATHOGENESIS OF MILIARY TUBERCULOSIS IN THE AGED

Seizi MIZUTANI*

(Received for publication July 17, 1989)

Pathological analysis was made on 28 cases in relation to aging process and to onset of miliary tuberculosis. They were classified into the following 4 groups. (1) Early dissemination (2) Dissemination from secondary complex lesion (3) Recurrence and dissemination from stable tuberculous lymph node lesions (4) Late dissemination. The majority of the cases (57.1%) was of late dissemination irrespective of the age of patient. In 16 cases over 60 years of age, two cases which appeared on the immunological memory defect, were thought to develop from so-called secondary complex lesion. Nearly one third (5) of cases over 60 years of age developed miliary tuberculosis from the relapsed lymph node tuberculosis in association with primary complex. These forms were seldom reported in the past and were thought to refer to the immunological defect in aging process. The findings will be published in detail elsewhere.

Key words : Pathogenesis, Miliary tuberculosis, The aged tuberculosis

キーワード : 病因, 粟粒結核, 老人結核

高齢層での発症が多い粟粒結核症例 28 例を対象に年齢と結核発症の関連性につき病理学的に検討した。以下の 4 群に分類された。(1) 早期蔓延型, (2) Secondary complex よりの散布, (3) Primary complex の流域

に位置する陳旧性結核性リンパ節病変の再燃, リンパ血行性散布, (4) 晩期蔓延型。年齢を問わず晩期蔓延型が最も頻度が高い (57.1%)。このうち 60 歳以上 16 例の高齢層では, いままで報告のあまりなかった結核感染

* From the Fukujuji Hospital, Japan Anti-Tuberculosis Association, Kiyose-shi, Tokyo 204 Japan.

疫のメモリーの消失を基盤とする二次変化群からの2例, Primary complex 関連リンパ節の再燃による発症が約1/3 (5例) の症例で見られたことが目立った。

これまであまり気付かれていなかった発症型式であり, 加齢による免疫低下が関連しているものと考えられた。

なお, この抄録の詳細については投稿予定である。

第 64 回総会シンポジウム

II. 結核感染免疫, 基礎と臨床の両面から

4. 老化に伴う免疫機能変化の特徴

根 来 茂・原 英 記・出 口 安 裕
 西 尾 真 一・賈 伶・王 珏
 岸 本 進

大阪大学医学部第3内科
 受付 平成元年7月17日

The 64th Annual Meeting Symposium

II. TUBERCULOSIS IMMUNITY, FROM BASIC AND CLINICAL VIEWPOINTS

4. THE CHARACTERISTIC CHANGES OF IMMUNE FUNCTION WITH AGING

Shigeru NEGORO*, Hideki HARA, Yasuhiro DEGUCHI,
 Shinichi NISHIO, JIA Ling, WANG Jue
 and Susumu KISHIMOTO

(Received for publication July 17, 1989)

It is well-known that the most prominent age-related immunological abnormalities were reduced immune response against foreign antigens and increased auto-antibody production against intrinsic antigens. To explain these immunological abnormalities, we examined the various functions of human lymphocytes from aged and young groups at cellular, molecular and genetic levels.

The results indicate: The first, T cells from the aged showed significantly reduced proliferative response not only to specific antigen TAP but also to mitogen PHA or combined stimulation of PMA and ionomycin. The second, the number of IL-2 receptor, particularly high affinity ones, on aged T cells were significantly reduced in the aged after TAP and PHA stimulation. The third, the ability to express Tac (p55) and p70/75 of IL-2R and to internalize the rIL-2 bound to the receptor were reduced in aged T cells. The fourth, although the ability to proliferate in response to SAC stimulation was two folds less in the aged B cells than that in the young ones, the capacity to differentiate into IgG and IgA class ISC after the combined stimulation with SAC and partially purified BCDF were rather increased on the basis of the number of viable cells recovered. The fifth, the amount of IL-2 activity produced by aged T cells was ten fold less than that by young ones, but the amount of BCDF activity produced by aged T cells was three folds higher than

* From the Third Department of Internal Medicine, Osaka University Hospital, Fukushima-ku, Osaka 553 Japan.

that by young ones after PHA stimulation. An inverse correlation between IL-2 activity and BCDF activity was found when the both activities were determined in the same sample. The sixth, the combined stimulation with PMA and ionomycin could induce proliferative response to highly purified T cells, T cell subsets and B cells. The degree of the age-related decline of the proliferative response of CD-8 positive T cells was most significant, that of CD-4 positive ones was next and that of B cells was least. The seventh, although the maximum of c-myc mRNA level was attained at 2 hr after the stimulation and similar amount between the both age groups, the amount of mRNA at 8 or 24 hr was rather higher in the aged T cells than in the young ones. The reduction of the degradation rate of c-myc mRNA seemed to be the cause. We found no difference of the maximum amount and kinetics of c-myb mRNA between both age groups in T cells. In B cells we found no difference of maximum expression and kinetics of either c-myc or c-myb mRNA between both age groups. Finally, the degree of demethylation level of c-myc gene was most significantly increased in CD-8 positive aged T cells, that of CD-4 positive aged T cells was next and that of aged B cells was least. The order of the level of the demethylation among the lymphocyte subsets was coincidentally equal to the order of the age-related decline of the proliferative response among lymphocyte subsets.

At present, we have no answer whether the age-related change of immune function was programmed or not. The declined proliferative response of lymphocytes, particularly to repeat replication, seems to be the most fundamental age-related defect. The defect may reduce the clonal expansion of antigen-specific lymphocytes and result in the immune deficiency state. To compensate this defect, B-cell sensitivity to BCDF and ability of BCDF production by T cells were rather increased in the aged. But, the compensation may produce the side effects such as auto-antibody production and autoimmune phenomena.

Key words : Aging, Immune function, Infectious immunity, Proliferative response, Lymphokine, Proto-oncogene

キーワード : 老化, 免疫機能, 感染免疫, 分裂増殖能, リンホカイン, 癌原遺伝子

緒 言

老人は一般に感染症に罹患しやすく難治化・重症化する傾向にあり, 老化に伴う免疫機能の変化が大きな要因の一つと考えられる。

健全な老人においても, 一般に次のような免疫機能の変化が認められる。その第1は, 外来性特異抗原に対する免疫応答能の低下である。老人と若年者にテタヌストキソイドを免疫すると, 特異抗体の力価は若年者に比し老年者では有意に低値を示す¹⁾。その第2は自己の体構成成分に対する抗体, すなわち自己抗体の陽性率や力価の上昇である²⁾。血清中のIgGやIgAの濃度も老年者の方が若年者より高い。この“低下と亢進”という一見矛盾する現象は免疫機能の本質である自己・非自己の識別能の低下, 自己統一性の弛みということもできる³⁾。

免疫系は, リンパ臓器とそこに分布するT細胞, B細胞, マクロファージなどの免疫担当細胞から構成され

ている。T細胞は, 特異抗原やT細胞マイトゲンPHAの刺激を受けると, IL-2に対する受容体(IL-2R)を細胞表面に発現し, 分裂の準備状態に移行する。さらに, マクロファージやB細胞に由来するIL-1の刺激が加わると, 自らIL-2を産生・放出する。IL-2のIL-2Rへの結合によりT細胞は分裂を開始する。細胞内では, プロテインキナーゼCの活性化や遊離カルシウムイオン濃度の上昇が生じる。

これらの過程はイオノマイシン(IM)とフォルボールエステル(PMA)の混合刺激によって代行することが可能であり, 細胞間の複雑な相互作用の過程を介することなく高度に精製分離したOKT-4(CD-4)陽性T細胞, OKT-8(CD-8)陽性T細胞およびB細胞にも直接分裂増殖反応を誘導することが可能である。この分裂増殖過程では癌原遺伝子c-mycやc-mybのmRNAの発現量に特徴的な推移が認められる。また, c-myc遺伝子にはepigeneticなメチレーションの変

量が認められ、遺伝子の活性化の調節に関与していると考えられている。一方、B細胞はB細胞マイトゲンSAC (staphylococcus aureus Cowan-1) 刺激で分裂を開始し、T細胞由来のB細胞分化因子(BCDF)の刺激が加わると *in vitro* でも免疫グロブリン分泌細胞(ISC)へ分化する。

今回、われわれは、以上の実験システムを用い、老化に伴う免疫系の特徴的な変化の解析を試みた。

研究対象と方法

対象者：若年者群は25歳から34歳、老年者は70歳以上とし、SENIEURプロトコル⁴⁾に従い異常者は除外し、健常者を対象とした。

T細胞、T細胞サブセットの精製：ヒト末梢リンパ球の分離はFicoll-Hypaque比重遠沈法により、T細胞分離はAET(2-amino-ethyl-isothiuronium)処理羊赤血球ロゼット法で行った。このT細胞画分には少数のマクロファージが含まれており、レクチンPHAや特異抗原TAP(tuberculin active peptide)に対し分裂反応を示すため精製T細胞画分(Tw)と呼ぶ。Twを抗マクロファージ抗体(M206)と補体で処理すると、このような反応は消失する。これを精製T細胞(Twp)とする。Twpをさらに抗CD-4抗体(MCN3-2)と補体で処理し、CD-8陽性T細胞(T-8)を得る。逆にTwpを抗CD-8抗体(Anti-Leu-2b)と補体で処理し、CD-4陽性T細胞(T-4)を得た。それぞれ95%以上がCD-8およびCD-4陽性であった。Twp、T-8、T-4は、いずれもIMとPMAの混合刺激に対し分裂増殖反応を示した⁵⁾。

B細胞：B細胞は末梢リンパ球のうちAET処理羊赤血球とロゼットを形成しない画分を用い、これを抗マクロファージ抗体、抗CD-3抗体(OKT-3)および補体で処理したものを用いた。この細胞画分は、80%以上が細胞表面免疫グロブリン(SIg)陽性であった。またエステラーゼ陽性細胞は0.1%以下であり、PHAに対し全く分裂増殖反応を示さなかった⁶⁾。

細胞の分裂増殖反応の測定：細胞を各種の分裂増殖因子で刺激し、細胞のharvestの24時間前に³H-サイミジン(³H-TdR)を添加し、DNAへの取り込みをliquid scintillation counterで測定した⁷⁾。

免疫グロブリン産生細胞(ISC)の測定：リバースブラーク法にて、IgG、IgA、IgMの各クラス別にISCの数を測定した。

IL-2活性はIL-2依存株(CTLL-2)、BCDF活性はSKW-6クローン4を用い測定した⁸⁾。

リンパ球からのRNAおよびDNA抽出はguanidine isothiocyanate法、SDS/protein K/phenol/chloroform法に従って抽出した⁸⁾。

Dot blot hybridization法は、Kronkeら⁹⁾の方法、Nuclear run-on transcription assayはMarzluffら¹⁰⁾の方法に従って行った。

Northern blotおよびSouthern blotは、McGokinら¹¹⁾の方法に従って行った。

DNAのメチレーションのレベルは、抽出したDNAを制限酵素EcoRI、HindIIIおよびXhoI上で処理し、アガロースゲル電気泳動後、ナイロンフィルターにtransferし³²P標識c-myc DNA断片(exon2-Alu)で検出した⁸⁾。

IL-2Rの測定：IL-2Rの測定はIL-2に対するモノクローナル抗体(抗Tac抗体)、FITC標識抗マウス抗体を用いFACS(fluorescence activated cell sorter)にて陽性細胞を測定した⁷⁾。また¹²⁵Iで標識したリコンビナートIL-2(r-IL-2)を用い細胞表面のIL-2RのIL-2結合能およびinternalization能を測定した。アフィニティラベル法とSDS-PAGEによってIL-2Rを構成するp55(Tac)およびp70の同定を行った¹²⁾。

成績と考察

1. 老化に伴うT細胞分裂増殖能の変化

ツベルクリン反応陽性の老年者と若年者より末梢リンパ球を採取しTwを精製する。TwにTAPを添加し7日間 *in vitro* で培養する。培養液に24時間ごとに³H-TdRを加え分裂増殖能の程度を経時的に測定する。Fig. 1-aに示すように、培養日数が進むにつれ老若間の差が拡大してゆく。培養7日目では老年者TwのTAPに対する分裂増殖反応は若年者の約1/3という低値であった。

この場合、①最初の刺激でTAPに反応してくるTAP特異的なT細胞自体の数が減少している、②T細胞の分裂増殖に要する時間が老人では延長している、③T細胞の分裂回復能が低下している、などの原因が考えられる。この点を明らかにするため培養液にコルヒチンを添加し同様の実験を行った。コルヒチンは細胞分裂をM期で停止させる作用がある。したがって、コルヒチン存在下で³H-TdRを摂取する細胞はTAPに反応し、1回だけDNA合成を行う細胞である。このような細胞は、first generation responding cellと呼ばれている。

Fig. 1-bはその結果である。老年者群、若年者群共に培養3~4日にDNA合成(増殖)のピークが認められ、老年者の増殖反応が遅延している傾向は認められなかった。7日間の反応した全細胞の数を老若間で比較すると、老年者は若年者の約8割を示す。したがって、老年者T細胞は若年者のそれに比べ1回程度の分裂増殖を行う場合にはそれほど劣っていないが、分裂増殖を反

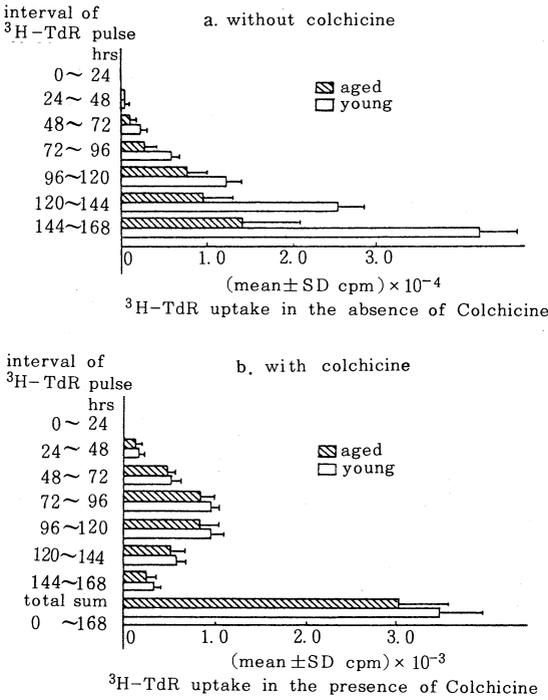


Fig. 1. Proliferative Response of Peripheral Blood T lymphocytes to Tuberculin Active Peptide (TAP) with or without Colchicine

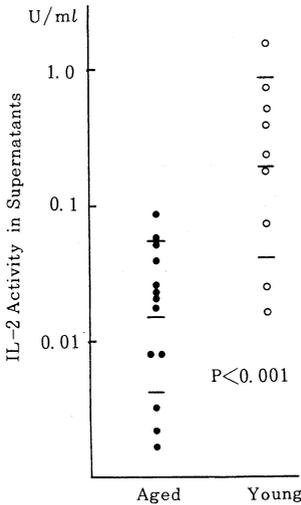


Fig. 2. IL-2 Activity in Supernatants of Culture Media of PHA Stimulated T cells

復しクローンサイズを増幅する能力において著しく劣っていることが明らかになった⁵⁾。この分裂増殖反復能の低下は、TAP などの特異抗原に対してだけでなく、レクチン PHA などに対する分裂増殖反応においても認め

られ、老化に伴う一般的な現象と考えられる⁵⁾。

2. T細胞の IL-2 産生能, IL-2R 発現能

T細胞の分裂増殖には、IL-2 産生と IL-2R 発現が必要である。IL-2R には、IL-2 結合親和性の低いものと高いものが存在している。後者は、p55 (Tac) と p70/75 の少なくとも 2 種類の蛋白質から構成されている。PHA 刺激による T細胞の IL-2 産生能は、老年者では若年者に比し有意に低下していた (Fig. 2)。

TAP および PHA 刺激による T細胞の IL-2R 発現能を抗 Tac 抗体を用いた蛍光抗体法で調べると、老年者では若年者に比し IL-2R (Tac 抗原) 陽性細胞の比率が有意に低下していた (Fig. 3)。この場合、高親和性および低親和性 IL-2R のどちらかが著しく低下しているか、¹²⁵I で標識した r-IL-2 を用い測定した。その結果、Table 1 に示すように前者では老年者 T細胞は若年者の 39%、後者では 68% であり、老年者では高親和性 IL-2R の発現がより著しく低下していた⁵⁾。

次に IL-2R を構成している P55 (Tac) および P70/75 のいずれが老年者 T細胞で低下しているか、アフィニティーラベル法を用い検索した。その結果、老年者ではいずれも若年者の半分程度に減少していることが明らかになった (Table 2)。

細胞表面の IL-2R に結合した IL-2 は、細胞内に摂取される。この過程が老化 T細胞で変化していないか否か検討した。IL-2R に結合した IL-2 の摂取は、30 分間でプラトーに達する。若年者 T細胞では IL-2R に結合した IL-2 の 73.4% が摂取されるのに対し老年者 T細胞では 58.2% で、老年者では有意に低下していた (Table 3)¹²⁾。

3. B細胞の増殖能と ISC への分化能

B細胞を B細胞マイトゲン SAC で刺激すると分裂増殖を開始する。Fig. 4 に示すように、4 日間、自由に分裂増殖を繰り返す条件で老若間の分裂増殖能を比較すると、老年者 B細胞では若年者の 50% に低下していた。しかし、コルヒチン存在下で 24 時間毎に ³H-TdR を添加し分裂増殖の経過を見ると、老若群共に培養 1~2 日にピークが認められる。4 日間に 1 回だけ DNA 合成を行った first generation responding cell の数では、老年者は若年者の 80% であった。したがって、B細胞の分裂増殖能低下も T細胞と同様、分裂反復能の低下によることが明らかになった。

次に、B細胞に SAC とともに部分精製した BCDF を加え ISC への分化を促す。培養 5 日後、生存細胞当たりの ISC の数を、イムノグロブリンのクラス別に測定し老若間で比較した。その結果、Table 4 に示すように老年者では IgG クラスの ISC は若年者より有意に高く、IgA クラス ISC でも高い傾向にあった。IgM クラス ISC は同程度であった⁶⁾。

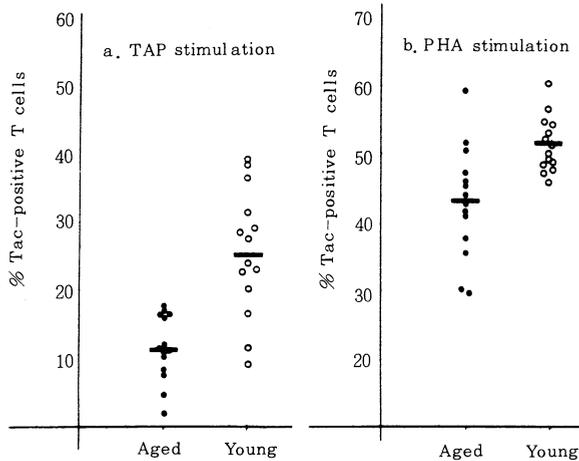


Fig. 3. IL-2 receptor expression on T cells by stimulation with TAP or PHA. a. T cells from aged or young persons were cultured with optimal amount of TAP for 5 days. Cells were harvested and percent of Tac-antigen (IL-2 receptor) positive cells was determined by FACS as shown in Materials and Methods. T cells from 14 aged (●) and 14 young (○) persons were examined. A mean percentage \pm S. D. of Tac-positive T cells was $11.2 \pm 4.2\%$ in the aged and 25.1 ± 8.6 for the young. The difference between the two groups was statistically significant: $P < 0.005$. b. T cells from aged or young persons were cultured with PHA for 2 days. Cells were harvested and percentage of Tac-positive T cells was determined. T cells from 14 aged (●) and 14 young (○) persons were examined. A mean \pm S. D. of Tac-positivity was $42.7 \pm 8.1\%$ for the aged and 51.3 ± 3.9 for the young. The difference between the two groups was statistically significant: $P < 0.002$.

4. T細胞のBCDF産生能

Tw細胞を *in vitro* で培養すると、培養上清中にBCDFが産生放出されてくる。PHAの添加により、産生はさらに増加する。この力価を、老若間で比較した。Fig. 5に示すように老年者では若年者よりも有意に高いBCDF活性が認められた。PHAの刺激下でも老年者では有意に高い活性が認められた。次に、個々人のTwのPHA刺激下のIL-2産生を縦軸に、BCDF活性を横軸にプロットすると、Fig. 6に示すように逆相関の関係が認められた⁶⁾。

5. リンパ球サブセットの分裂増殖反応

リンパ球にはT細胞とB細胞のサブセットが存在し、T細胞にはCD-4、CD-8陽性のサブセットが存在している。マウスではB細胞にもLyb5陽性および陰性のサブセットが存在することが分かっている。最近、

CD-1陽性B細胞とCD-1陰性B細胞サブセットも存在することが明らかになっている。

T細胞のレクチンPHAに対する分裂増殖反応にはマクロフェージの存在が必要である。したがってT細胞を高度に精製しT細胞サブセットに分けると、PHAに対する反応性が消失する。そこでわれわれは、PMAとIMの混合刺激によって高度に精製したリンパ球サブセットに分裂増殖反応を誘導し、老若間の比較を行った。Table 5に示すように老若群とも1 nM PMA、1 μ M IMに最適の反応を示し、CD-8陽性T細胞(T-8)、CD-4陽性T細胞(T-4)、B細胞の順に老年者群の分裂増殖能は若年者群のそれよりも低値であった。老化に伴う分裂増殖能低下の程度はリンパ球サブセットによって異なっていることが明らかになった⁷⁾。

6. 老化と癌原遺伝子の活性化

Table 1. The Number of Binding Sites and Kd of High or Low Affinity IL-2 Receptors on PHA Stimulated T Cells from the Aged or Young Persons

High or low affinity receptors	Aged (N=12) ^a	Young (N=12) ^b	Ratio of Aged to Young
High affinity receptors			
Binding sites/cell	1,046 ± 332	2,681 ± 657	0.39 ^c
Kd (pM)	11.2 ± 0.43	11.4 ± 0.52	
Low affinity receptors			
Binding sites/cell	21,218 ± 3,409	31,203 ± 4,152	0.68 ^d
Kd (nM)	28.8 ± 15.5	29.2 ± 13.6	

- a. T cells from aged persons were cultured with PHA for 3 days and harvested to determine the number and affinity of IL-2 receptors. The number of binding sites and Kd of high or low affinity IL-2 receptors on T cells were determined by Scatchard plot analysis. T cells from 12 aged persons were examined and the mean±SD of the results of these 12 persons were shown.
- b. T cells from young persons were cultured with PHA for 3 days. The number of binding sites and Kd of high or low affinity IL-2 receptors on T cells were determined as the same way as shown above. T cells from 12 young persons were examined and mean±SD of the results of these 12 persons were shown.
- c. The ratio of the number of high affinity IL-2 receptor in the aged to that in the young. The difference between the two groups was statistically significant :P<0.001.
- d. The ratio of the number of low affinity IL-2 receptor in the aged to that in the young. The difference between the two groups was statistically significant :P<0.002.

Table 2. p55 / Tac and p70 / 75 Expression Activity of PHA-Stimulated T cells between in Aged and in Young

groups ^a	densitometric intensity ^b		ratio of p 70 / 75 vs. p 55 / Tac
	p 55 / Tac	p 70 / 75	
aged	12.3 ± 2.6	3.4 ± 0.7	0.28 ± 0.06
young	22.4 ± 3.4	5.8 ± 0.9	0.26 ± 0.04
A / Y ^c	0.55	0.59	1.08
P value ^d	<0.005	<0.005	>0.2

- a. Ten aged and 10 young persons were examined.
- b. The densitometric intensity of each band was determined and expressed as arbitrary determined unit.
- c. The ratio of each value in the aged to that in the young.
- d. The significance of the difference of the value in the aged to that in the young.

リンパ球を PMA と IM で刺激すると, c-myc や c-myb 癌原遺伝子が活性化され mRNA が産生されてくる。T 細胞においては老若群共に刺激後, 2 時間で c-myc mRNA の量は最高に達する。その後, c-myc mRNA は減少をはじめ, 24 時間後には若年者群ではほとんど検出できないレベルまで低下する。ところが老年者群においては, この時間にも c-myc mRNA が検出される。この現象が老年者群では c-myc mRNA が 24 時間後もひきつづき合成されているのか, それとも c-myc mRNA の分解速度が老年者群では低下しているのか判別するため nuclear run on assay を行った。

その結果, 老年者群においても 24 時間後には c-myc mRNA の産生は認められず, 一度できた c-myc mRNA の分解が老年者群では遅延しているものと考えられる。以上をまとめたのが Fig. 7 である。c-myb mRNA においては, 老若間に量, 動態の差異は認められなかった。また, B 細胞においては c-myc mRNA, c-myb mRNA の発現量および動態の老若間における差は認められなかった⁸⁾。

7. 老化と c-myc 遺伝子のメチレーション

最近, 遺伝子も不変ではなく "epigenetic" にさまざまな修飾を受け, 遺伝子の発現が調節されていると考え

Table 3. Receptor Mediated [¹²⁵I] rIL-2 Internalization

Groups ^a	Receptor mediated internalization (c.p.m.)	Receptor bound	Sum total	Receptor mediated internalization ^b (%)
Aged	679 ± 56	488 ± 41	1167 ± 96	58.2 ± 4.8
Young	1396 ± 79	506 ± 29	1902 ± 109	73.4 ± 4.2
A / Y ^c	48.6 %	96.4 %	61.4 %	79.3 %
Pvalue ^d	<0.01	>0.05	0.005	<0.02

Sixty minutes after beginning the culture, internalized IL-2 was estimated as described in Materials and Methods.

- Ten aged and 10 young persons were examined.
- The percentage of the amount of internalized IL-2 to the sum total.
- The ratio of the amount of receptor-mediated internalized IL-2, receptor-bound IL-2, sum total of IL-2 and the percentage of internalized IL-2 in the aged to that in the young, respectively.
- The significance of the difference of the value in the aged to that in the young.

Table 4. Induction of B cells from Aged or Young Persons to ISC by the Combined Stimulation with SAC and Partially Purified BCDF

Groups ^a	ISC/10 ⁵ viable cells recovered (Mean ± S.D.) class of ISC		
	IgG	IgA	IgM
Aged	3386 ± 261	398 ± 129	584 ± 134
Young	1582 ± 123	251 ± 86	682 ± 118
A / Y ^b	2.41	1.59	0.86
Pvalue ^c	<0.02	>0.05	>0.05

- Seventeen aged and 17 young persons were examined. The number of ISC was expressed as the number of ISC/10⁵ viable recovered cells. The mean ± S. D. of viabilities of recovered B cells from aged and young persons were 73 ± 4% and 71 ± 3%, respectively.
- The ratio of the number of ISC in the aged to that of the young in each immunoglobulin class.
- Significance of the difference between the number of ISC in the aged and that in the young group in each immunoglobulin class.

られている。中でも遺伝子のメチレーションは強い関心を集めている。Fig. 8-Bに示すように c-myc 遺伝子には Exon 1 (E1) にメチレーション感受性酵素 Xho I の切断部位が存在する。DNA を T-4, T-8, B 細胞から抽出し, Eco RI, Hind III, Xho I で処理し, Exon II (E2) に対するプローブを用い Southern blot を行う。メチレーションを受けている c-myc 遺伝子は, Xho I の切断作用を受けないため 8.2 Kb の断片として検出される。これに対し脱メチル化を受けた c-myc 遺伝子は, 4.6 Kb の断片として検出される。この方法を用いて, リンパ球の c-myc 遺伝子のメチレーションの程度が老若間で異なっているか否か検討した。その結果, Fig. 8-B に示すように老年者では c-myc 遺伝子の脱メチル化が若年者より亢進していた。またその順は

T-8, T-4, B 細胞の順であり, 老化に伴う分裂能低下の順と一致していた⁸⁾。

結 語

以上, 老化に伴う免疫機能変化に関するわれわれの最近の実験結果を述べた。

老化に伴い T 細胞や B 細胞の分裂反復能の低下が認められる。分裂増殖能低下の度合いは T-8, T-4, B 細胞の順であり, 老化度はリンパ球サブセットによって異なっていることが明らかになった。T 細胞においては IL-2 産生や IL-2R 発現能, とりわけ高親和性 IL-2R 発現能が, 老年者では若年者に比し有意に低下していた。これらの結果は, 外から侵入してきた抗原物質に対し抗原特異的な免疫応答を行い抗原特異的な T 細胞や B 細胞

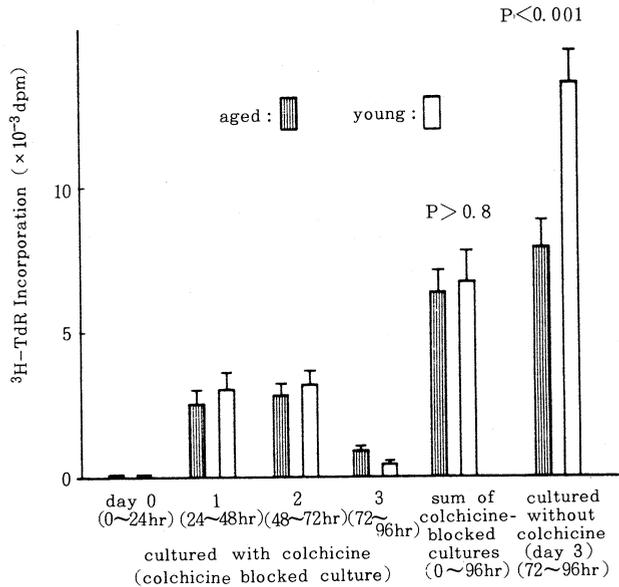


Fig. 4. Cytokinetics of proliferative response of B cells from aged or young persons to SAC. (a) Ten thousand purified B cells from aged (striated columns) or young (empty columns) were cultured for 4 days with 0.0005% of SAC in the presence (colchicine blocked culture) or absence (colchicine unblocked culture) of colchicine. Twenty-five aged and 25 young persons were examined. (b) In colchicine blocked culture, [³H] TdR was pulsed to the culture at an indicated time and cells were harvested 24 h later to determine the [³H] TdR uptake. Mean±S. D. d.p.m. of [³H] TdR incorporation by B cells on day 0 (0–24 h) was negligible in both groups. Mean±S. D. d.p.m. of [³H] TdR uptake by aged B cells were 2536±469 on day 1 (24–48 h), 2855±388 on day 2 (48–72 h) and 943±152 on day 3 (72–96 h) whereas those by young B cells were 3027±632 on day 1, 3204±523 on day 2 and 485±68 on day 3, respectively. The total sum of [³H] TdR uptake in aged was 6339±788 whereas that in young was 6715±1093. The difference between the two groups was not significant; $P>0.8$. (c) In colchicine unblocked culture, mean±S. D. d.p.m. of [³H] TdR uptake by B cells from aged persons was 7925±960 whereas that from young persons was 13 604±1162 when examined on day 3. The significance of difference between the two groups was statistically significant ($P<0.001$).

胞のクローンのサイズを増幅する働きに伴う低下を反映しているものと考えられる。老人の易感染性、感染症の難治化、重症化の原因になっていると考えられる。

一方、B細胞のISCへの分化能は、むしろ老年者で亢進していた。また、老年者T細胞のBCDF産生能も亢進していた。抗原非特異的な血清中のIgGやIgA濃度の上昇は、このような事情を反映しているものと思わ

れる。これは、T細胞やB細胞の分裂増殖能低下に対する代償作用とも考えられる。老年者ではT-4/T-8の比が上昇するのも、老化に伴う末梢血Tリンパ球数減少に対する代償作用ともいえる。しかし、このような変化は自己抗体の力価や陽性率を上昇させる副作用を生み出し、結果として、老化に伴う自己免疫疾患や変性疾患の原因になっていると考えられる。

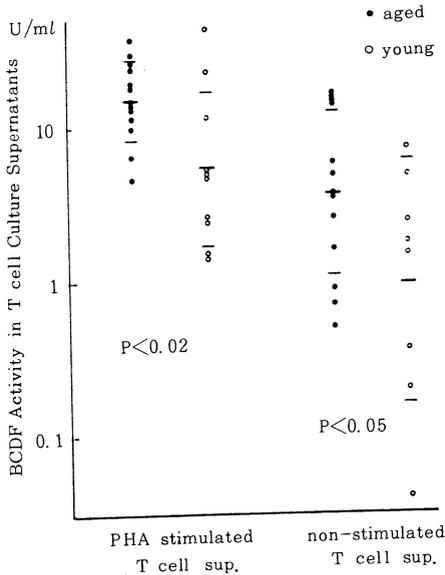


Fig. 5 BCDF activity in T cell culture supernatants was assayed by using SKW 6 clone 4. In culture supernatants obtained from PHA stimulated T cells, the geometric mean BCDF activities in the aged group were 14.96 (12.69–17.64) U/ml and those in young group were 5.35 (3.73–7.67) U/ml. The difference between aged and young groups was significant ($P < 0.02$). In culture supernatants obtained from non-stimulated T cells, the geometric mean BCDF activities in the aged group was 3.72 (2.65–5.22) U/ml and that in the young group was 0.96 (0.51–1.79) U/ml. The difference between aged and young groups was not significant ($0.05 < P < 0.06$).

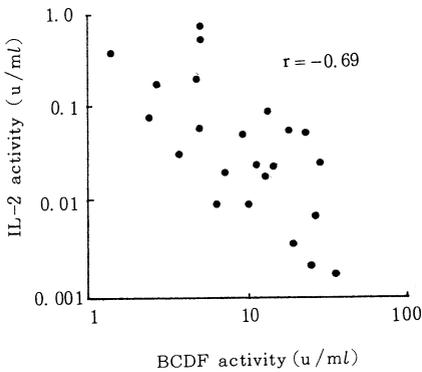


Fig. 6. Correlation between IL-2 and BCDF Producing Activity in T lymphocytes

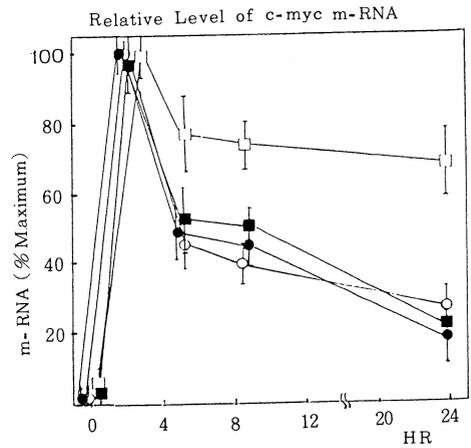


Fig. 7. Relative levels of c-myc protooncogene expression in Twp cells from aged or young persons after the stimulation with ionomycin and PMA determined by dot blot hybridization or run-on transcription assay. Twp cells from aged (\square and \circ) or young persons (\blacksquare and \bullet) were stimulated with $1\mu\text{M}$ of ionomycin and 1 nM of PMA. Before (0 h) and after the stimulation (2 h, 5 h, 8 h and 24 h), one part of cell preparations were subjected to mRNA extraction for dot blot analysis (\square and \blacksquare) and the other part of cell preparations were subjected to run-on transcription assay (\circ and \bullet). More precise methods were shown in Figs.1 and 6. The amount of c-myc RNA was estimated by the densitometric intensity or the radioactive counts of each dot. The level of c-myc gene expression was expressed as the percentage to the maximum expression determined by dot blot analysis and run-on assay respectively (2 h after the stimulations in either case). Each point in the figure denotes the mean value from 10 aged or 10 young persons respectively. S. D. of the value was expressed as a small vertical bar. The significance of the difference of the levels of c-myc gene expression determined by dot blot analysis between the aged (\square) and the young (\blacksquare) was : $P > 0.1$ at 0 h, $P > 0.1$ at 2 h, $P < 0.02$ at 5 h, $P < 0.02$ at 8 h and $P < 0.01$ at 24 h, respectively. The significance of the difference of the levels of c-myc gene expression determined by run on assay between the aged (\circ) and the young (\bullet) was : $P > 0.1$ at any time point tested.

Table 5. Proliferative Response of Purified Lymphocyte Subsets from Aged or Young Persons to the Combined Stimulation with PMA and IM

Donor groups	Responding cell preparation (Mean \pm S.D. cpm)			
	Twp	T 4	T 8	B
Aged	72,047 \pm 2,185	76,213 \pm 1,825	53,229 \pm 2,145	38,549 \pm 2,012
Young	196,845 \pm 2,696	187,717 \pm 1,384	170,606 \pm 2,473	80,701 \pm 2,137
A/Y	0.366	0.406	0.312	0.478

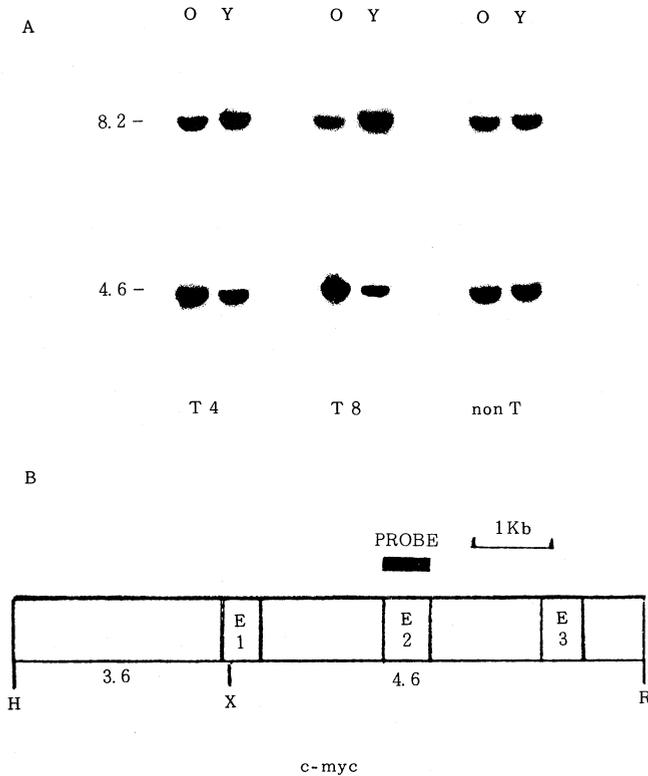


Fig. 8. Methylation of c-myc Gene

- A : Comparison of c-myc gene methylation in T cell subsets between aged and young. O : old people
Y : young people
B : Acting portions of restricting enzyme on c-myc gene.

以上のような変化がプログラムされたものが、長年に及ぶ外界からの修復不可能な傷害の蓄積によるものか、現在、不明である。免疫老化の過程はDNA合成や蛋白合成のレベルだけでなく、mRNAの発現や遺伝子の修飾のレベルでも認められる。以上の相互関係を図式化

したのが図9である。今後、老化免疫の研究の進展により、免疫機構老化の過程がより明確になり、老化の防止や回復をめざしたより有効な手段が開発されるものと期待される。

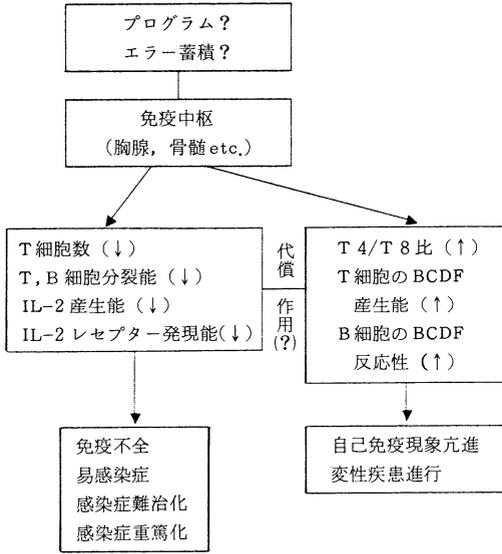


図9 老化に伴う免疫機能の特徴

文 献

- 1) Kishimoto, S., Tomino, S., Mitsuya, H. et al. : Age-related decline in the *in vitro* and *in vivo* synthesis of anti-tetanus toxoid antibody in humans, *J Immunol*, 125 : 2347-2352, 1980.
- 2) 根来 茂, 岸本 進 : 加齢にともなう機能変化—免疫系一, *老人科診療*, 9 : 197~202, 1988.
- 3) 根来 茂, 原 英記, 岸本 進 : 2. 免疫系 : 加齢に伴うヒトリンパ球の質的・量的変化—その臨床的意義—, *日本老年医学会雑誌*, 24 : 93~99, 1987.
- 4) Ligthart, G. J., Corberand, J. X., Fournier, C. et al. : Admission criteria for immunogerontological studies in man : The SENI EUR protocol *Mech Aging Dev*, 28 : 47-55, 1984.
- 5) Negoro, S., Hara, H., Miyata, S. et al. : Age-related changes of the function of T cell subsets : Predominant defect of the proliferative response in CD 8 positive T cell subset in

- aged persons, *Mech Aging Dev*, 39 : 263-279, 1987.
- 6) Hara, H., Negoro, S., Miyata, S. et al. : Age-associated changes in proliferative and differentiative response of human B cells and production of T cell-derived factors regulating B cell functions, *Mech Aging Dev*, 38 : 245-258, 1987.
- 7) Negoro, S., Hara, H., Miyata, S. et al. : Mechanisms of age-related decline in antigen-specific T cell proliferative response : IL-2 receptor expression and recombinant IL-2 induced proliferative response of purified TAC-positive T cells, *Mech Aging Dev*, 36 : 223-241, 1986.
- 8) Deguchi, Y., Negoro, S., Hara, H. et al. : Age-related changes of proliferative response, kinetics of expression of protooncogenes after the mitogenic stimulation and methylation level of the protooncogene in purified human lymphocyte subsets, *Mech Aging Dev*, 44 : 153-168, 1988.
- 9) Kronke, M., Leonard, W. J., Depper, J. M. et al. : Sequential expression of genes involved in human T lymphocyte growth and differentiation, *J Exp Med*, 161 : 1593-1598, 1987.
- 10) Marzluff, W. F., Huang, R. C. C. : pp.89-130, in "Transcription and Translation : A Practical Approach." ed by Hames, B. D., and Higgins, S. S., I. R. L. Press, Oxford, 1984.
- 11) McGookin, R., Mathew, C. G. P., Gaastra, W. et al. : pp.55-120, in "Methods in Molecular Biology." Vol. 2, ed by Waeker, J. M., Human Press, Clifton, New Jersey, 1984.
- 12) Hara, H., Tanaka, T., Negoro, S. et al. : Age-related changes of expression of IL-2 receptor subunits and kinetics of IL-2 internalization in T cells after mitogenic stimulation, *Mech Aging Dev*, 45 : 167-175, 1988.

第 64 回総会シンポジウム

II. 結核感染免疫, 基礎と臨床の両面から

4-追加発言: 老人肺結核のリンパ球機能

原 田 進

国立療養所大牟田病院内科

受付 平成元年7月17日

The 64th Annual Meeting Symposium

II. TUBERCULOSIS IMMUNITY, FROM BASIC AND CLINICAL VIEWPOINTS

4. LYMPHOCYTE FUNCTION OF PULMONARY TUBERCULOSIS IN THE ELDERLY

Susumu HARADA *

(Received for publication July 17, 1989)

The skin test to tuberculin purified protein derivatives (PPD) was examined in 161 cases of newly diagnosed active pulmonary tuberculosis. Tuberculin reaction was reduced in size with aging, and was significantly lower in the age group of 70 years or over than of less than 50. PPD- or PHA-induced proliferation tests of peripheral blood lymphocytes were examined *in vitro*, and suppression of lymphocyte proliferative reaction was shown especially on the number of activated T lymphocyte subsets (IL2-R or HLA-DR positive T lymphocytes) in the group of 70 years or over. These findings suggest that the suppression of cellular immunity caused in aged persons is one of the pathogenetic factors for pulmonary tuberculosis.

Key words : Pulmonary tuberculosis in aged adults, Tuberculin reaction, Proliferation of activated T cell

キーワードズ : 老人肺結核, ツベルクリン反応, 活性化 T 細胞増殖反応

老人肺結核症の細胞性免疫能を, 特にリンパ球機能の面より以下のごとく検討した。

排菌陽性の肺結核症例を 49 歳以下, 50~69 歳, 70 歳以上の年齢層に分け, 入院時のツ反発赤径を比較すると, 高齢化するにしたがってツ反の低下¹⁾が観察された。次に, 特異抗原 PPD や非特異的 T cell mitogen である

PHA 刺激に対し, 末梢血リンパ球の反応性を *in vitro* の系で検討した。その結果 70 歳以上の肺結核症患者においては, いずれの刺激に対しても, IL2-R 陽性細胞や HLA-Dr 陽性 T 細胞などの活性化 T 細胞の増殖反応が低下していた。

以上の結果から, 老人層における肺結核症の発症要因

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

の一つとして、加齢による細胞性免疫能の低下が示唆された。

(原著として雑誌「結核」投稿予定)

文 献

- 1) 原田 進他：高齢者肺結核の臨床免疫学的検討，結核，64：529～536，1989.

第 64 回総会シンポジウム

II. 結核感染免疫, 基礎と臨床の両面から

5. 結核免疫における肺胞マクロファージの
活性化状態と代謝からの考察

千 田 金 吾 ・ 佐 藤 篤 彦

浜松医科大学第 2 内科

受付 平成元年 7 月 17 日

The 64th Annual Meeting Symposium

II. TUBERCULOSIS IMMUNITY, FROM BASIC AND CLINICAL VIEWPOINTS

5. ACTIVATION AND METABOLIC CHANGES OF MACROPHAGES
IN IMMUNOLOGY OF TUBERCULOSIS

Kingo CHIDA *, Atsuhiko SATO

(Received for publication July 17, 1989)

The effects of aging and malnutrition on BAL cells, such as metabolic disorders and various immune responses, have been examined.

In malnourished animals, the composition of phospholipids in BAL cells were changed, and the decrease in the number of specific prednisolone binding sites was recognized. Furthermore, the decrease of total cell counts and the population of lymphocytes, neutrophils and Ia-positive macrophages were observed in BAL cells. However, BAL cells obtained from heat-killed BCG sensitized animals in malnutrition preserved a good responsiveness. These impaired cellular development following starvation could be partly reversed by some antigenic factors, resulting in heavier cell infiltration and granuloma formation in the lung tissues. These observations suggest that alterations in immune responses accompanying malnutrition may be closely related to the mechanism of reactivation and the clinical course and profile of tuberculosis.

Key words : Aging, Malnutrition, BAL,
Local immunity, Reactivation

キーワード : 加齢, 栄養障害, 気管支肺胞洗浄, 局
所免疫, 再燃

* From the Second Department of Internal Medicine, Hamamatsu University School of Medicine, 3600 Handa-cho, Hamamatsu 431-31 Japan.

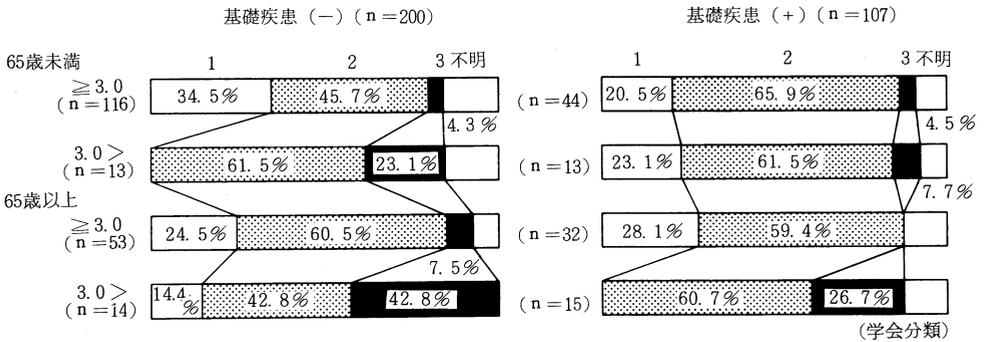
はじめに

人口の高齢化, compromised host の増加に伴い, 既感染発病結核 (reactivation) の出現¹⁾ が問題となってきた。老化と栄養障害に代表される宿主因子が, 全身免疫系に与える影響についての報告は散見されるが^{2)~4)}, 肺局所免疫に関するものは限られており, また reactivation の機序, 一般の結核とは異なる病像を呈する要因など, 明確にされねばならない点が多く残されている。そこでわれわれは, 結核免疫における肺胞マクロファージを活性化状態と代謝の面から解析するにあたり, 全身的宿主因子が気管支肺胞洗浄液細胞 (BAL 細胞) に及ぼす影響に焦点を絞り, 基礎と臨床の両面から検討を行った。

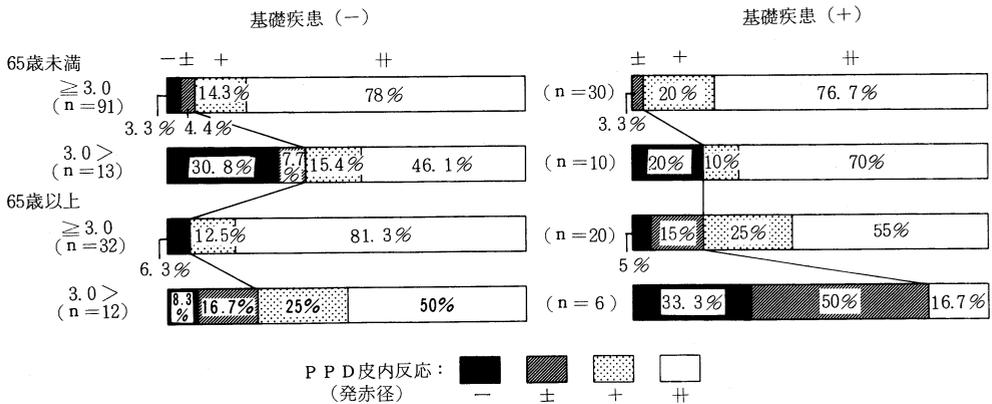
1. 肺結核患者の宿主因子 (加齢, 栄養障害, 基礎疾患の有無) と病型, 拡がり, 予後について
宿主因子と結核病変の関係を明らかにするため, 排菌

陽性肺結核症 307 例を基礎疾患 (+) 107 例, (-) 200 例に分類し, 年齢, 低アルブミン血症の因子を加味して, 病型, 拡がり, PPD 皮内反応との関係 (図 1) について検討を行った。基礎疾患の内訳は, 糖尿病 55 例, 悪性腫瘍 25 例, 肝障害 39 例, 腎透析 2 例, ステロイド内服 3 例 (以上重複あり) であった。基礎疾患の (+) と (-) のいずれの群にもかわらず, 65 歳以上かつアルブミン 3.0 g/dl 以下の場合, 病型において学会分類 I の存在および罹患部位の拡大傾向が認められた (図 1-I)。また PPD 皮内反応の比較では (図 1-II), 基礎疾患 (+) かつ低アルブミン値を呈する場合に, 陰性者の頻度が増加し細胞性免疫の低下が観察された。

次に結核死亡群の背景を把握することにより, 宿主の状態と予後の関係を明確にするため, 結核が重症化し死因となった群 (A 群, 26 例) と A 群と性・年齢を一致させた生存群 (B 群, 27 例) における栄養状態と免疫能の比較を行った。血清中の総タンパク, アルブミン, 総コレステロールを指標とした栄養状態の比較では, A



I. 加齢および低アルブミン血症が拡がりを与える影響



PPD 皮内反応: - ± + ++ (発赤径)

II. 加齢および低アルブミン血症が PPD に与える影響

図 1

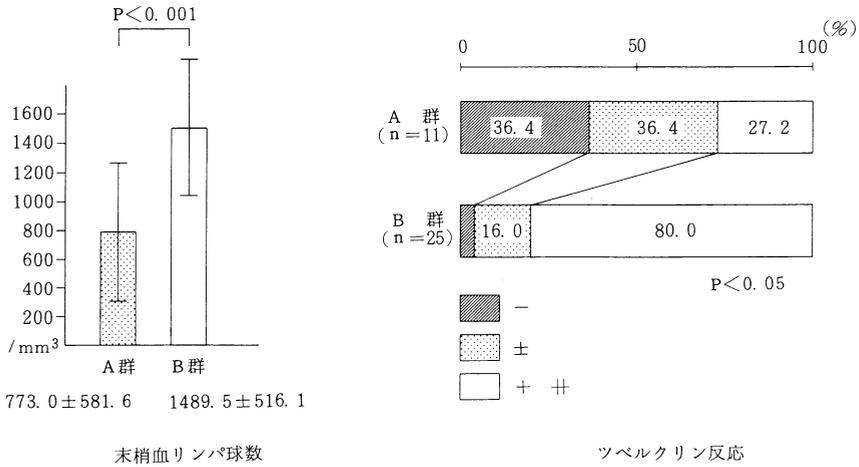


図2 死亡群と生存群の免疫能の比較

群においていずれも有意に低下しており、また図2のごとく末梢血リンパ球数、PPD皮内反応の両者とも減少あるいは減弱が認められた。

以上、病変の重篤度と加齢・低栄養の関係は、予後不良例と低栄養・免疫能低下の場合と同様、原因とも結果とも解釈されるが、少なくとも vicious cycle の中で重要な位置を占めると考えられた。

2. 加齢、栄養障害が及ぼす肺局所免疫応答について

宿主因子(加齢、栄養障害)が肺の局所免疫応答に及ぼす影響について検討するため、同条件下におけるBAL細胞の病態について解析を加えた。対象としてラットの adult (12週齢), old (2年齢), BCG死菌感作(250 μg/50 μl oil), fasting (adultとBCG死菌感作, いずれも70~80%の体重減少)を準備した。

図3のIにみられるように、栄養障害により、正常絶食群14日目では、回収総細胞数およびリンパ球・好中球分画の低下が認められた。BCG死菌感作絶食群では、同様に回収総細胞数の減少をみたが、分画の変動は軽微であり、抗原刺激によるリンパ球の誘導は比較的保たれていた。

このBAL中リンパ球亜群の変動をみると(図3-II), 栄養障害により helper T細胞分画の減少, non helper T細胞分画の割合の増加が、正常絶食14日間とBCG死菌感作絶食群において観察され, helper T/non helper Tの比は、これらの群で著明に低下していた。

BALマクロファージ細胞表面に表現されるIa抗原の変動をみると(図4), 加齢により adult 6.7 ± 1.0% → 20.2 ± 10.8%に増加、一方、14日間の絶食により

1.6 ± 0.3%まで低下した。しかしながらBCG死菌感作絶食群においては、Ia抗原の発現は保たれていた。

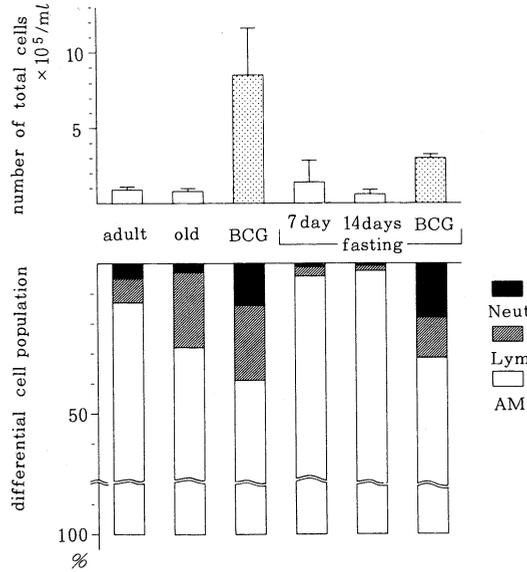
以上のように栄養障害時のラットでは、BAL総細胞数、リンパ球分画, helper T-cell分画, Ia陽性マクロファージの減少を示したが、リンパ球の動員とIa抗原の発現など、BCG死菌に対するBAL細胞の反応性は保持されていた。このことは、BCG死菌感作による肺肉芽腫形成反応が、栄養障害群においてより強く惹起される傾向(図5)にあったことと関連あるものと思われる。

3. BAL細胞の代謝に対する加齢、低栄養の影響について

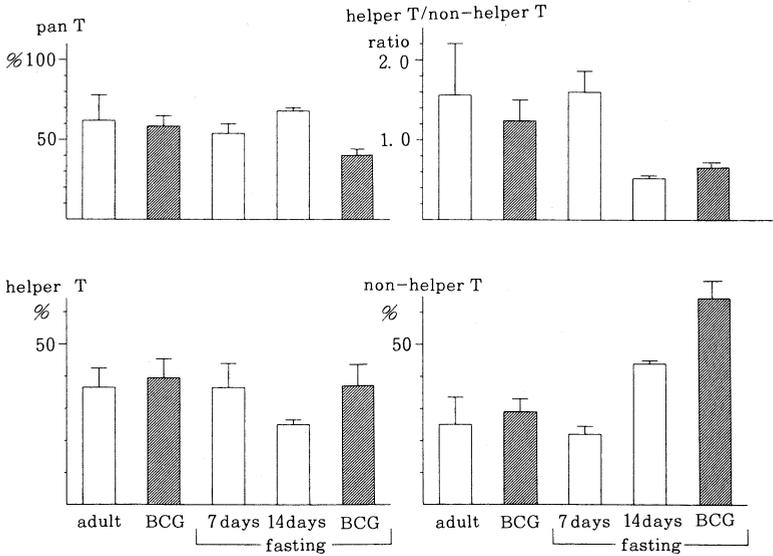
細胞機能と密接な関係にある代謝面での影響を知る目的で、BAL細胞のリン脂質組成とステロイドレセプターの変動について検討を行った。対象は図6のごとく, adult (5~10月齢), old (24月齢以上), 絶食 (adultとBCG死菌感作)を準備した。

BAL細胞のリン脂質組成の測定は、抽出後薄層クロマトグラフィーにて行った。加齢、栄養障害により phosphatidyl ethanolamine (PE)の増加傾向と phosphatidyl choline (PC)の減少傾向が認められ、これは肺結核症患者BAL細胞(非病巣)のリン脂質組成の検討結果と同様であった(図6)。

BAL細胞のプレドニゾンに対するレセプターについての分析では、加齢による変化は明らかでなく、一方BCG死菌感作によりその数は増加した。絶食の影響では(図7), 経時的にレセプターの数減少した。



I. BALFの回収総細胞数と細胞分画の変動(ラット)



II. BAL-lymphocyte subsetの変動(ラット)

図3

4. BAL細胞は、結核病巣部と非病巣部において免疫応答に相違があるか

個体の各種条件下において得られたBAL細胞を、標的細胞として肺局所免疫を取扱うことは一般に行われているが、限局性肺結核症のように、限局性病変ではあるが全身免疫応答が発現する場合の非病巣部BAL細胞の

評価について検討しておく必要がある。このため、抗結核治療後(3~4週)排菌陰性化例を対象として、病巣と非病巣部よりBAL細胞を入手し比較検討を行った。

リンパ球および好中球分画さらにCD4/8の分布では(図8-I),非喫煙者の病巣と非病巣間に有意の差は認められなかった。

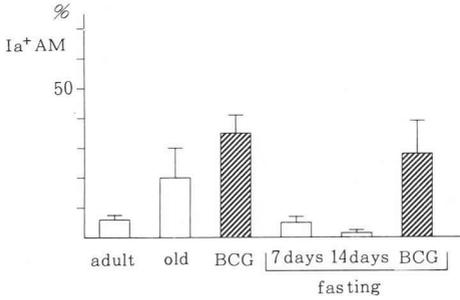


図4 BAL-マクロファージの Ia 陽性率の変動 (ラット)

一方、BAL マクロファージ表面抗原の解析では、いずれの抗肺マクロファージあるいは抗単球モノクローナル抗体との反応性においても、病巣部よりのマクロファージは広い分布を示し (図8-II)、病巣・非病巣のマクロファージは、必ずしも均一なものではないようであった。

考 案

reactivation の問題は、社会的背景の変化に伴い今後大きな影を投げかけるものと思われる¹⁾。加齢、栄養障害、基礎疾患をもつ患者においては、結核の重症度は高く、予後不良であるという報告は、今回のわれわれの結果をみるまでもなく、臨床的に経験され、またその報告も多くみられる。宿主因子を Fisher 比などの客観的パラメーターから把握して、臨床像と対比させた場合、いくつかの問題点が浮き彫りにされる。reactivation

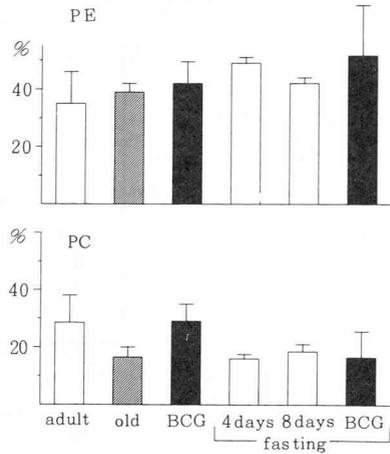
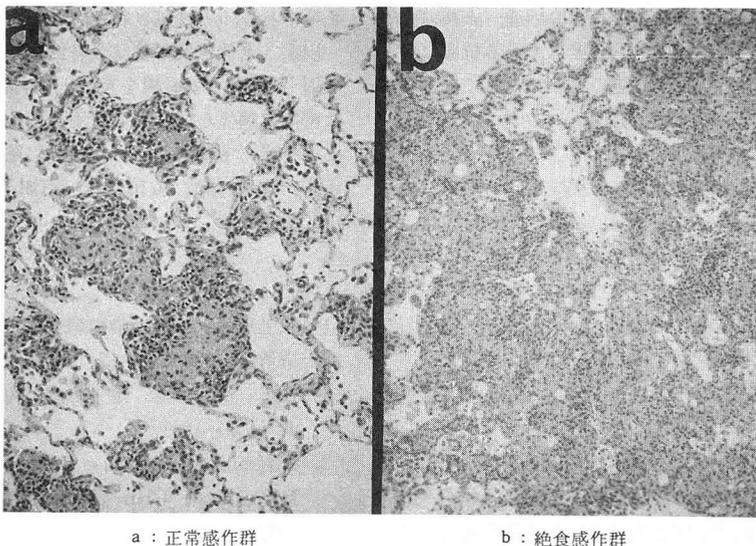


図6 BAL 細胞のリン脂質組成の変動 (家兎)

は持続性生菌が、細胞性免疫能に代表される宿主防御機能の破綻により賦活化されるためと理解されているが、免疫能の低下などの宿主因子は、原因であるか結果であるかという点が指摘される。また宿主側のいかなる要因が、いかに結核免疫に影響を与えるか、DTH の成立過程または免疫の発現機構のいずれかに作用するか、なども明らかではない。さらに栄養障害などが発病の原因となる場合、全身反応および末梢血レベルへの影響について報告はなされているが、肺局所免疫はどの程度影響を受けるかという報告は限られている。

以上の点を踏まえ、今回われわれは動物におけるモデルをもとに、個体の状態が病像にいかなる影響を与える



a : 正常感作群

b : 絶食感作群

図 5

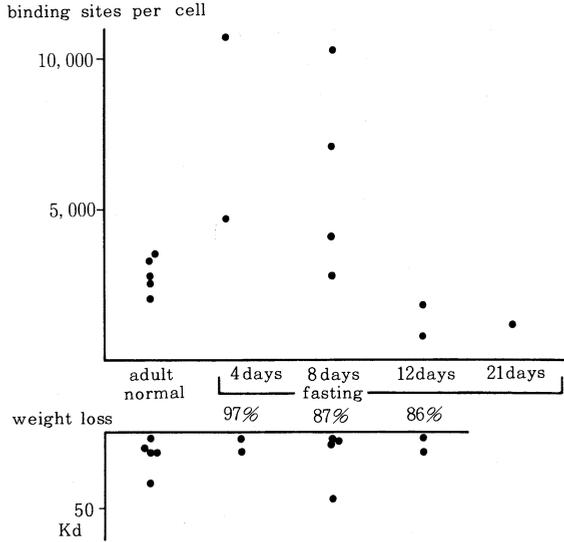


図7 BAL細胞のプレドニゾロンに対するレセプターの変動(家兎)

か検討を試みた(図9)。この結果、栄養障害時のBAL細胞では、総細胞数、リンパ球分画、helper T細胞分画、Ia陽性マクロファージの低下をみたが、一方、BCG死菌に対するBAL細胞の反応性(リンパ球の動員、Ia抗原の発現)は保持され、組織反応はより強いものであった。臨床的にも宿主の状態により病像に差があることが知られており、AIDSの患者における結核菌感染では、肺門・縦隔リンパ節腫大を呈する傾向が強く、空洞形成が少ないと報告されている⁵⁾。この点に関しては、米国とわれわれのbackgroundの相違、人種差を考慮せねばならず、本実験系でも今後は、ある抗原に免疫のない状態あるいは感作成立後の状態のそれぞれに及ぼす宿主因子の影響について、明らかにできるexperimental designが望まれる。

今回の検討から、加齢・低栄養が肺局所から得られたBAL細胞の代謝に及ぼす影響が明らかとなり、BALリン脂質組成の変化、ステロイドレセプター数の変化が認められた。リン脂質のあるものは、マクロファージの成長および食細胞の貪食作用と深くかかわると報告されており⁶⁾、各種のレセプター機能の変化との関係からも重要と考えられ、代謝面の変調とその結果としての免疫反応は、今後に残された課題であろう。

最後に、本論文の基盤をなすBAL細胞の評価に関して、全身免疫応答を伴う限局性病変を取扱う場合、病巣・非病巣BAL細胞の間に差はないかと検討した。このことは、非病巣BAL成分を正常対照としてよいか、あるいは非病巣BAL所見を病巣部のものとして代用で

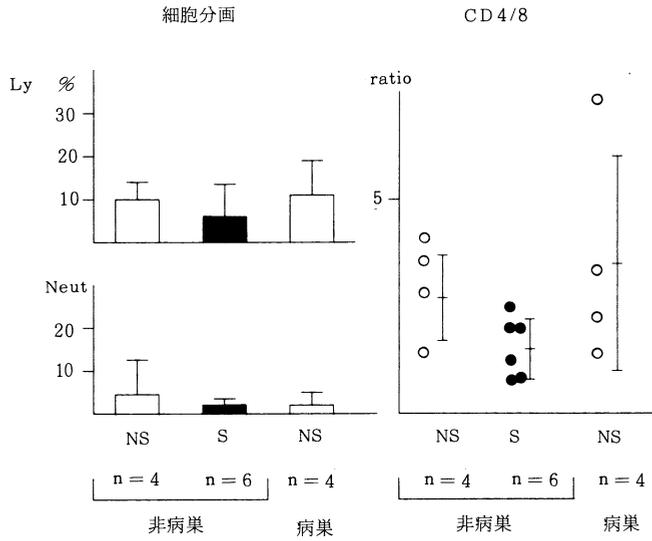
きるか、という大きな問題を含んでいる。non-smokerの肺結核病巣・非病巣部それぞれのBAL細胞分画、CD4/8、マクロファージ還元能に差は認められなかった。この点について、吉良らのグループは同様の報告をしており、リンフォカインを始めとする種々の液性因子が全身的に作用するためと推定している⁷⁾。一方、今回の抗単球・抗マクロファージ抗体⁸⁾との反応性の検討では、両部位において反応性の差を認め、また各症例間での不均一性も大きく、非病巣BAL細胞の評価には慎重を要するものと推定された。

以上、老化と低栄養は全身性ばかりでなく局所性免疫に対して多大な影響を及ぼし、reactivationと重症化に密接な関係があるものと思われた。

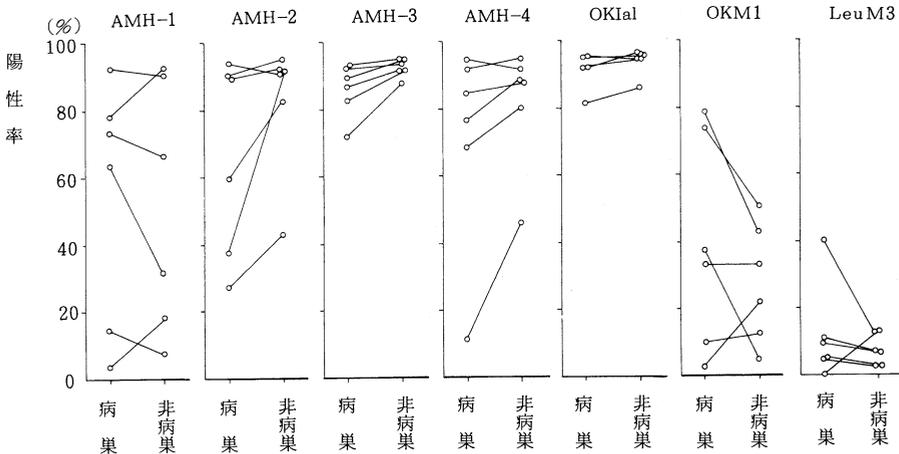
稿を終えるにあたり、本研究に御協力いただいた岡野昌彦、岩田政敏、安田和雅、志知 泉の諸先生にお礼を申し上げます。

文 献

- 1) 三上理一郎：既感染発病結核の疫学と免疫，日本医事新報，3343：3～17，1988。
- 2) 根来 茂，岸本 進：加齢と免疫，臨床免疫，19：97～103，1987。
- 3) Finkelstein, M. S. : Aging Immunocytes and Immunity, Clin Geriatr Med, 1 : 899-911, 1985.
- 4) Martin, T. R. : The Relationship Between Malnutrition and Lung Infections, Clin Chest



I. 肺結核症病巣および非病巣におけるBAL細胞の比較



II. 肺結核症（病巣及び非病巣）におけるBAL-マクロファージとの反応性（非喫煙例）

図8

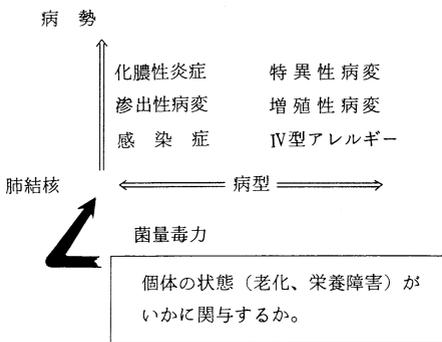


図9

Med, 8 : 359-372, 1987.

- 5) Pitchenik, A. E., Rubinson, H. A. : The Radiographic Appearance of Tuberculosis in Patients with the Acquired Immune Deficiency Syndrome (AIDS) and Pre-AIDS, Am Rev Respir Dis, 131 : 393-396, 1985.
- 6) Yui, S., Yamazaki, M. : Relationship of Ability of Phospholipids to Stimulate Growth and Bind to Macrophages, J Leukocyte Biol, 41 : 392-399, 1987.
- 7) 小林英夫, 高林英気, 岡田光子他 : 肺結核症における病変部, 非病変部での気管支肺胞洗浄液所見の比

- 較検討：局所性肺疾患での非病変部における免疫・炎症反応，*気管支学*，8：690～695，1987.
- 8) Akiyama, J., Chida, K., Sato, A. : Four Monoclonal Antibodies, AMH-1, -2, -3, and -4, Give Varied Reactivities with Monocytes, Alveolar Macrophages, and Epithelioid-Cell Granulomas, *J Clin Immunol*, 8 : 372-380, 1988.

第 64 回総会シンポジウム

II. 結核感染免疫, 基礎と臨床の両面から

5-追加発言: 活性化マクロファージと Cytotoxicity

山 村 好 弘

国立療養所刀根山病院

受付 平成元年7月17日

The 64th Annual Meeting Symposium

II. TUBERCULOSIS IMMUNITY, FROM BASIC AND CLINICAL VIEWPOINTS

5'. ACTIVATED MACROPHAGES AND CYTOTOXICITY

Yoshihiro YAMAMURA *

(Received for publication July 17, 1989)

Cellular immune reaction plays an important role in tuberculous infection. When the host develops cellular immunity, a large number of activated macrophages ($M\phi$) are accumulated in the tuberculous focus by the chemotactic effect of lymphokine, and these $M\phi$ lively phagocytize and suppress the multiplication of tubercle bacilli. On the other hand, many $M\phi$ are killed during the process of phagocytosis, releasing a large amount of lysosomal enzymes and cytotoxic substances (TNF etc.), possibly causing the tissue damage: caseous necrosis, softening and liquefaction followed by cavity formation. To clarify the process of necrosis in detail, production of TNF- α and IL-6 from human $M\phi$ was observed.

Monocyte/ $M\phi$ were separated from the peripheral blood of healthy persons, each group with positive or negative tuberculin reaction and tuberculous patients, using a commonly used method. The monocyte/ $M\phi$ were stimulated in a culture with lipopolysaccharide (LPS) or muramyl dipeptide (MDP) and amount of TNF- α and IL-6 in the culture supernatants were estimated. TNF- α activity was determined by measuring the lysis of the target cell (mouse L929 cell), and IL-6 by measuring the 3H -thymidine incorporation into IL-6 dependent mouse plasma cell hybridoma, MH60-BSF2, in the presence of TNF- α or IL-6, respectively.

The results showed that the monocyte/ $M\phi$ from the tuberculin positive persons, with or without tuberculosis revealed a higher TNF- α production activity than those from tuberculin negative healthy cases using either MDP or LPS stimulation. The monocyte/ $M\phi$ from tuberculous patients produced more TNF- α with MDP stimulation than with LPS. On the contrary, IL-6 production was higher in the tuberculin negative persons than

* From Toneyama National Hospital, Toyonaka City, Osaka 560 Japan.

in positive cases with or without tuberculosis. The TNF- α or IL-6 in monocyte/M ϕ culture media were inactivated by anti-TNF or IL-6 monoclonal antibody, respectively. The role of TNF- α and IL-6 from M ϕ in tuberculous inflammations is discussed.

Key words : Cellular immunity, Monocyte/Macrophage, Tissue damage, TNF- α , IL-6

キーワード : 細胞性免疫, 単球/マロファージ, 組織障害, TNF- α , IL-6

結核の免疫は、主として細胞性免疫が主役を演ずる。この免疫反応は、一方では結核菌の増殖を抑制する防御免疫として現れるが、他方では皮膚 DTH (ツ反応) や、Koch 氏現象、組織の壊死乾酪、軟化融解、肺空洞形成のような組織障害をもたらす。したがって、この細胞性免疫反応は、必ずしも宿主に合目的的に働くとは限らない。前者の反応に関しては抗原を生菌とした時のみに出現するが、後者の反応は生菌のみならず死菌または菌体成分を抗原にしても出現する。防御免疫とツ反応に関する T リンパ球は異なるという説もある。

われわれは、肺空洞形成を中心とする組織障害性反応について研究を行ってきた。その機構としては、次のように考えられる。結核菌に対する宿主の免疫が成立すると、感作リンパ球からリンホカインが放出され、その刺激によって活性化されたマクロファージ (M ϕ) が多数病巣部に集合し、活発に食菌するとともに、菌を病巣部に閉じ込める。その際 M ϕ は菌も殺すが、自らも障害、破壊されて多量の lysosome 酵素を放出し、それによって組織障害が発生する。この点については、Dannen-

berg ら、本院富野らが報告している。いま一つの可能性は M ϕ から放出される TNF などの cytotoxic な物質による障害である。今回、われわれは活性化された M ϕ からの TNF 産生能について、また同時に血中抗体形成に関与すると考えられる IL-6 産生についても検討した。

実験材料および方法

実験に供試した単球/M ϕ は、1) 本院にて治療中の肺結核患者 (II, III 型), 2) ツ反応性の健常者、および 3) ツ反応陰性の健常者 (本院看護学生) (各群 7-11 例) の静脈血より比重遠心法、ガラス板法により単球/M ϕ を分離した。これらの単球/M ϕ に、大腸菌 055 : B5 由来の lipopolysaccharide (LPS), または muramyl dipeptide (MDP) を加えて 37°C, 16 hr 培養した後、採取した上清中に含まれる TNF- α および IL-6 活性を各々測定した。TNF- α 活性の測定は、target cell であるマウス L 929 細胞に上記の希釈した上清を加え、Actinomycin D 添加のもとに 37°C, 24

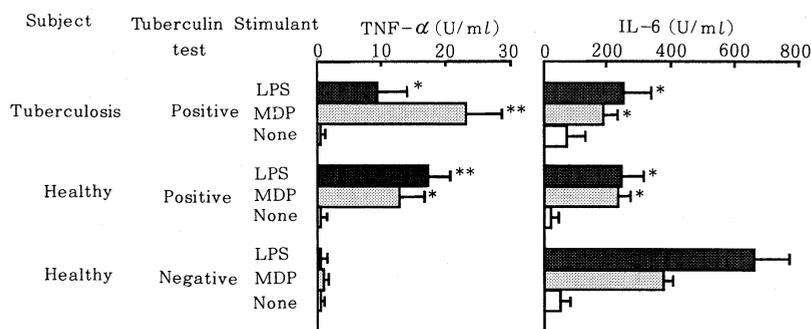


Fig. Induction of TNF- α and IL-6 in monocytes/M ϕ from subjects with positive and negative tuberculin test. Values (mean+SE) are expressed as TNF- α IL-6 activity (unit/ml) of supernatants from human monocytes cultured in the presence or absence of LPS or MDP as described in detail in MATERIALS and METHODS. Symbols : * and **, statistical differences from the value for the control group (subjects with negative tuberculin test), $p < 0.05$ and $p < 0.01$.

hr培養し、cell lysisを測定した。IL-6の測定は、IL-6 dependent のマウス plasma cell hybridoma MH 60-BSF 2に上記上清を加え、37°C、42 hr培養後、さらに、³H-チミジンを添加、6 hr後、細胞中にとりこまれた放射能を測定した。各活性の値は標準単位に換算して示した。

実験成績

結核患者、ツ反陽性および陰性健常者の末梢血由来の単球/Mφを、LPSやMDPとともに培養し、培養液中へ産生、放出されるTNF-α、ならびにIL-6の値の結果をFig.に示した。すなわち、1) ツ反応陽性者の単球/Mφは、結核患者、健常者にかかわらず、ツ反陰性者の単球/Mφに比べ、LPS、MDPのいずれで刺激してもTNF-αの産生能は高かった。この場合、結核患者の単球/Mφは、MDPで刺激した方が、LPSで刺激するよりもTNF-αの産生能は高かった。2) これに対して、IL-6の産生能については、LPS、MDPい

ずれの刺激によっても、ツ反陰性健常者の単球/Mφは、結核患者およびツ反陽性健常者のそれらよりも高い活性を示した。なお、この単球/Mφの培養上清をanti-TNF-α、ならびにanti-IL-6モノクローナル抗体で処理すると、それぞれの活性は、ほぼ完全に中和されたことから、TNF-α、IL-6活性を特異的に測定しているものと考えられる。

まとめ

ツ反陽性の健常者および肺結核患者のLPSおよびMDP刺激単球/Mφの培養上清中のTNF-α活性は、ツ反陰性健常者に比べて、有意に上昇した。しかしながら、IL-6活性はむしろ減少する傾向を示した。これらの現象が、細胞免疫性組織障害にどのように関与するかは今後の検討課題である。

なお、共同研究者の大阪大学歯学部口腔細菌学講座・小川知彦、内田 浩、森 悦秀、浜田茂幸の各氏の協力を深謝する。(文献略)