

原 著

## 活動性肺結核症における細胞性免疫の関与についての検討

— 特に IL-2 産生能, IL-2 感受性, IL-2 レセプターについて —

井田 隆・谷 合 哲・巻 口 宏 平  
大 友 直 樹・谷 口 興 一

東京医科歯科大学霞ヶ浦分院内科

宮 里 逸 郎・千 田 守・市 岡 正 彦・丸 茂 文 昭

同 第 2 内科

受付 平成 2 年 9 月 25 日

## INTERLEUKIN-2 (IL-2) IN ACTIVE PULMONARY TUBERCULOSIS

Takashi IDA \*, Satoshi TANIAI, Kohei MAKIGUCHI, Naoki OTOMO,  
Koichi TANIGUCHI, Itsuro MIYAZATO, Mamoru CHIDA,  
Masahiko ICHIOKA and Fumiaki MARUMO

(Received for publication September 25, 1990)

To clarify the precise of cellular immunity mechanism in pulmonary tuberculosis, we investigated the amount of IL-2 in patients with untreated active pulmonary tuberculosis. When serum adenosine deaminase (ADA) activity was examined using enzyme assay, an abnormally high level was observed in all patients ( $29.0+11.6$  IU/ml, mean+SD ; 4.5-17.8, normal range). Likewise, the level of serum-soluble interleukin-2 receptor (IL-2R) measured by ELISA showed abnormal high level in all patients ( $844.3+584.8$  IU/ml ; 80-300, normal range). When stimulated using PHA, the peripheral lymphocyte's ability to produce IL-2 revealed no difference between control subjects and patients. It was, however, noted that the lymphocytes of the patients significantly suppressed IL-2 responsiveness when compared to the control subjects ( $P<0.05$ ). The serum IL-2 concentration measured using RIA could not be detected in any of the patients as was the same for control subject.

All of the above mentioned results suggest that T-cell activation which caused increment in serum ADA activity and soluble IL-2R occurred in active pulmonary tuberculosis. The suppressed IL-2 responsiveness in the peripheral lymphocytes of patients proposes the possibility of soluble IL-2R reduction by the negative feedback mechanism in IL-2-sensitive lymphocytes.

\* From the Department of Internal Medicine, Branch Hospital, Tokyo Medical and Dental University, Mihomura, Inashikigun, Ibaraki 300-04 Japan.

**Key words :** Pulmonary Tuberculosis, Interleukin-2, Serum Adenosine Deaminase (ADA), Cellular Immunity

**キーワード :** 肺結核症, インターロイキン2, アデノシンデアミナーゼ, 細胞性免疫

## はじめに

結核症における細胞性免疫の関与は従来より指摘され、局所病巣へのマクロファージ、活性化T細胞の集簇<sup>1)</sup>、末梢血中での活性化T細胞増加と血清 ADA活性が正の相関を呈すること<sup>2)</sup>などが認められている。一方、インターロイキン2 (IL-2) は主としてT細胞増殖因子としての作用をもち、結核症における役割が想定される。そこで、われわれは、活動性肺結核症患者を対象に IL-2 を中心に細胞性免疫能につき検討したので報告する。

### 1) 対象

対象は未治療肺結核症患者 20 例で、男性 14 例、女性 6 例、年齢 20~77 歳 (平均 52.2 歳) で、いずれも喀痰あるいは気管支鏡の検査により結核菌が証明された。肺病変は学会分類により、両側 15 例、1 側 5 例、II 型が 16 例、III 型が 4 例、拡がりは 1 が 2 例、2 が 17 例、3 が 1 例であった。

全例、諸検査施行後、INH, RFP, SM, EB を中心とする 3 者併用療法を開始した。

### 2) 方法

T・B細胞百分率は抗 T・B細胞モノクローナル抗体を使用したフローサイトメトリー法で、血清 ADA 活性は、ADA セロキットを用いて NADPH の減少速度により測定した。また、血清 IL-2 濃度は抗 IL-2 モノクローナル抗体による RIA 法で、遊離 IL-2 レセプター (IL-2R) は抗 IL-2 レセプター抗体によるサ

ンドイッチ酵素抗体法で測定した。なお、各測定項目すべて正常人を対象とした測定値を正常値とした。

リンパ球 IL-2 産生能、感受性測定は以下の方法により行った。患者および、同一対照者 (正常人) 1 名より末梢血 15 ml をヘパリン採血し、Ficoll-Conray 重層分離 1500 回転/分・30 分間で単核球を分離し、単核球を  $2 \times 10^6 / \text{ml}$  に、1% FCS (fetus calf serum), 0.25% PHA を含む RPMI 1640 培地で調節したのち、24 時間 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 下で培養した。培養 24 時間後、培養上清を 0.45 μm のフィルターでろ過し、IL-2 含有液として採取、また培養リンパ球は IL-2 感受性細胞として以後 IL-2 産生能、感受性測定の被刺激細胞として用いた。なお、IL-2 産生能、感受性は IL-2 含有培養液を RPMI 1640 液に 5% FCS とともに 10% 濃度添加、合計 1 ml 培養液として、被刺激細胞を 6 日間培養したのち、リンパ球数を測定し、正常対照者と患者のリンパ球数比で求めた。なお、前実験にて、5, 10, 25, 50% 濃度添加を施行し、10% 濃度が実験上至適最小濃度であることを認めた。IL-2 産生能は患者および正常者よりえられた IL-2 含有液を被刺激細胞培養液に添加し、6 日間培養を行い細胞数を測定した。また、IL-2 感受性は正常者リンパ球由来の IL-2 含有液を正常者および患者からの被刺激細胞培養液に添加し、6 日間培養後細胞数を測定し、その比を求めた。なお、統計処理は t 検定で行った。

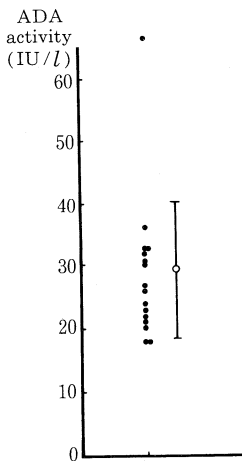


図1 血清 ADA 活性

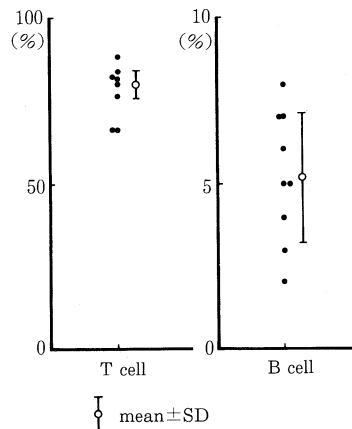


図2 T・B細胞百分率

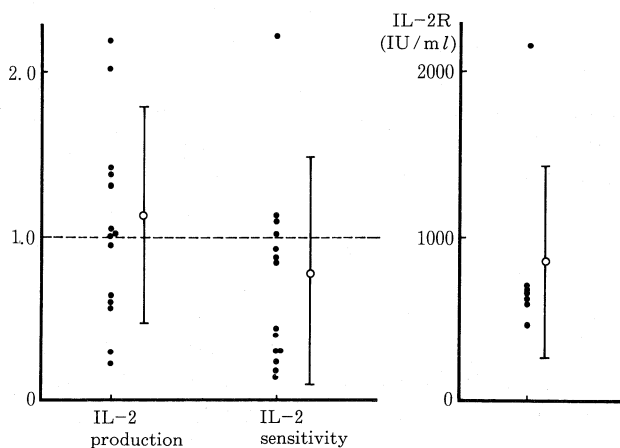


図3 リンパ球 IL-2 産生能, 感受性および血中遊離 IL-2R 濃度

### 3) 成績

#### i) 血清 ADA 活性 (図1)

血清 ADA 活性は全例 4.5~17.8 IU/ml の正常健康人の値を超え, 異常高値を呈していた ( $29.0 \pm 11.6$  IU/ml: 平均値  $\pm$  標準偏差)。

#### ii) T・B細胞百分率 (図2)

T細胞は  $80.1 \pm 4.1\%$ , B細胞は  $5.2 \pm 2.0\%$  といずれも正常値を呈していた (正常値: T細胞 66~89%, B細胞 4~13%)。

#### iii) リンパ球 IL-2 産生能, 感受性および血中遊離 IL-2R 濃度 (図3)

正常対照例 (同一例) を 1.0 としての値に対し, IL-2 産生能は  $1.13 \pm 0.66$ , IL-2 感受性は  $0.78 \pm 0.69$  であり, とくに IL-2 感受性の低下傾向が認められた ( $P < 0.05$ )。

一方, 血中遊離 IL-2R 濃度は全例正常健康人の 80~300 IU/ml を超え, 異常高値を呈していた ( $844.3 \pm 584.8$  IU/ml)。一方, 血清 IL-2 濃度は全例測定感度以下の  $0.01$  IU/ml 以下であった (正常健康人;  $0.01$  IU/ml 以下)。

#### iv) 各測定結果間の相関

遊離 IL-2R 濃度と血清 ADA 活性間をはじめ, 各測定因子間に明らかな相関関係は認められなかった。同様に, 肺病変, Gaffky 号数と各種測定結果との相関も明らかではなかった。

### 4) 考察

今回, 未治療の活動性肺結核患者を対象に, 主として IL-2 に注目し, 細胞性免疫能を検討した。その結果, 血清 ADA 活性の異常高値, 血中遊離 IL-2R 異常高値, 患者リンパ球 IL-2 感受性の低下傾向が得られた。

肺結核症の血清 ADA 活性高値はすでに報告<sup>2)</sup>したように, 末梢血中の活性化サプレッサー/サイトトキック T細胞由来であることが想定される。さらに, ADA 自体に T細胞の分化, 増殖作用を有することが知られており<sup>3) 4)</sup>, 今回観察された血中遊離 IL-2R 高値とあわせ, 肺結核症における T細胞の活性化状態を推測させる。

遊離 IL-2R は, 1985年, Rubin ら<sup>5)</sup>により, IL-2R の  $\alpha$ 鎖が T細胞培養上清中に可溶性の形で放出されていることが指摘されて以来注目された。この可溶性  $\alpha$ 鎖は, IL-2R の  $\alpha$ 鎖の細胞外部分に相当し, 分子量は 45,000 と少ないが, 低親和性 IL-2 結合能は保持されていることが指摘されている<sup>6)</sup>。現在まで, 遊離 IL-2R の血清中の濃度増加が, 成人 T細胞白血病 (ATL), AIDS, 急性および慢性リンパ性白血病, リウマチ様関節炎, サルコイドーシス患者で報告され<sup>7)~10)</sup>, さらに, 肺結核患者でも指摘されている<sup>11)</sup>。今回の検討でも同様に肺結核患者での異常高値が観察された。一方, 血清 IL-2 濃度は正常, IL-2 産生能に異常なく, IL-2 感受性のみ低下傾向がみられた。以上の成績から, 血清 ADA 活性高値, 血清遊離 IL-2R 高値で示される T細胞の活性化状態が推測される一方, IL-2 感受性の低下傾向, 血清 IL-2 濃度が正常であったとの結果から, とくに, Rubin らの指摘した<sup>6)</sup>遊離 IL-2R の down regulation による T細胞の反応抑制作用が想定される。

以上より, 活動性肺結核症における IL-2 の関与が考えられ, T細胞の活性化とその過剰を抑制する機序が作動していることが示唆された。

なお, 今回 PHA 刺激による IL-2 の検討を行ったが, 今後, より特異的抗原である PPD 刺激による検索が必要と思われる。

## 5) 結 論

活動性未治療肺結核症患者を対象に細胞性免疫能を検索した。その結果、血中遊離 IL-2R, 血清 ADA 活性の異常高値, IL-2 感受性の低下傾向が観察された。本症における IL-2 の関与と、遊離 IL-2R の down regulation による T 細胞の活性化抑制が示唆された。

本論文の主旨は第 65 回日本結核病学会総会で発表した。

## 文 献

- 1) 和田茂比古：結核性胸水における adenosine deaminase (ADA) 活性と PPD 特異的 T 細胞増殖反応, 信州医誌, 35 : 592~600, 1987.
- 2) 井田 隆, 谷合 哲, 新田政男他：肺結核症における血清 ADA 活性の推移とその臨床的意義, 結核, 65 : 477~481, 1990.
- 3) Hovi, T., Smyth, J. F., Allison, A. C. et al. : Role of adenosine deaminase in lymphocyte proliferation, Clin Exp Immunol, 23 : 395-403, 1976.
- 4) Shore, A., Dosch, H. M. and Gelfand, E. W. : Role of adenosine deaminase in the early stage of precursor T-cell maturation, Clin Exp Immunol, 44 : 152-155, 1981.
- 5) Rubin, L. A., Kurman, C. C., Fritz, M. E. et al. : Soluble interleukin 2 receptors are released from activated human lymphoid cells *in vitro*, J Immunol, 135 : 3172-3177, 1985.
- 6) Rubin, L. A., Jay, G., Nelson, D. L. : The released interleukin 2 receptors binds interleukin 2 efficiently, J Immunol, 137 : 3841-3844, 1986.
- 7) Motoi, T., Uchiyama, T., Uchino, H. et al. : Serum soluble interleukin 2 receptor levels in patients with adult T-cell leukemia and human T-cell leukemia/ lymphoma virus type-1 seropositive healthy carriers, Jpn J Cancer Res (Gann), 79 : 593-599, 1988.
- 8) Kloster, B. E., John, P. A., Miller, L. E. et al. : Soluble interleukin 2 receptors are elevated in patients with AIDS or at risk of developing AIDS, Clin Immunol Immunopathol, 45 : 440-446, 1987.
- 9) Symons, J. A., Wood, N. C., Di Giovine, F. S. et al. : Soluble interleukin 2 receptor in rheumatoid arthritis. Correlation with disease activity, IL-1 and IL-2 inhibition, J Immunol, 141 : 2612-2618, 1988.
- 10) Lawrence, E. C., Brousseau, K. P., Berger, M. B. et al. : Elevated concentrations of soluble interleukin-2 receptors in serum samples and bronchoalveolar lavage fluids in active sarcoidosis, Am Rev Respir Dis, 137 : 759-764, 1988.
- 11) 伊藤正己, 神代尚芳, 森脇優司他：肺結核症における血清可溶性インターロイキン 2 レセプター, 日胸疾会誌, 27 : 25~27, 1989.