

原 著

多剤耐性肺結核に対する感作自己リンパ球による養子免疫療法

橘川 桂三・比嘉 太・澤 岷 安教・宮城 裕 人
 嘉数 朝一・普久原 浩・中村 浩明・兼島 洋
 伊良部 勇 栄・下地 克佳・重野 芳輝・斎藤 厚

琉球大学医学部第1内科

大城 盛夫

国立療養所沖縄病院

受付 平成3年1月21日

ADOPTIVE IMMUNOTHERAPY FOR PULMONARY TUBERCULOSIS
 CAUSED BY MULTI-RESISTANT BACTERIA USING AUTOLOGOUS
 PERIPHERAL BLOOD LEUCOCYTES SENSITIZED WITH KILLED
MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS BACTERIA

Keizo KITSUKAWA*, Futoshi HIGA, Yasunori TAKUSHI, Hiroto MIYAGI,
 Tomokazu KAKAZU, Hiroshi FUKUHARA, Hiroaki NAKAMURA,
 Hiroshi KANESHIMA, Yuuei IRABU, Katsuyoshi SHIMOJI,
 Yoshiteru SHIGENO, Atsushi SAITO and Morio OOSHIRO

(Received for publication January 21, 1991)

A patient with pulmonary tuberculosis caused by bacteria resistant to various anti-microbial agents was treated with adoptively transferred autologous peripheral blood leucocytes (PBL) sensitized with killed *Mycobacterium tuberculosis* organisms *in vitro*. The 32-year-old man was admitted to our hospital from National Sanitarium Okinawa Hospital with weight loss, high fever, and rapid aggravation on chest X-ray. Patient's PBL obtained by leukapheresis and separated with Ficoll-Hypaque solution were cultured with killed *Mycobacterium tuberculosis* bacteria of 0.4 µg per ml at 1×10^6 cells per ml for 7 days in media containing 0.5U recombinant 1L-2 per ml. After incubation, PBL were layered and centrifuged on Ficoll-Hypaque solution and washed three times with saline. PBL ($1-3 \times 10^8$) were combined and concentrated for infusion in 20 to 30 ml saline. After injection, patient displayed fever and transitory drop of PaO₂.

Although the patient did not have an improved on chest X-ray, his fever was alleviated, weight was increased, accelerated ESR was slightly improved, and the number of organisms in sputum (Number of Gaffky) temporarily decreased.

Adoptive immunotherapy using the autologous PBL which were sensitized with killed bacteria may be an effective anti-tuberculous immunotherapy.

* From the First Department of Internal Medicine, School of Medicine, University of the Ryukyus, 207 Uehara, Nishihara, Okinawa 903-01 Japan.

Key words : Resistant bacteria, Adoptive immunotherapy, Autologous sensitized PBL

キーワードズ : 耐性菌, 養子免疫療法, 感作自己リンパ球

はじめに

近年, 免疫抵抗力の低下した宿主における日和見感染症が問題となっている。これらの感染は感染防御機構の低下に起因するものであるため, 抗生剤の投与のみでは十分な治療効果が得られない場合もある。このような弱毒菌による日和見感染だけでなく, 結核菌のような細胞内増殖菌に対しても, 感染病巣および感染細胞内へ移行性がよく, かつ感受性のある抗生剤を選択することが必要であるが, さらに患者の感染に対する抵抗力を増強する方法も検討する必要があると思われる。

私たちは多くの抗結核剤に耐性を示すF型(学研肺結核病型分類)広範進展結核から経気管支性散布により急性に増悪した1症例に対して, 喀痰より分離培養した結核菌の菌体成分で誘導した感作自己リンパ球による養子免疫療法を試みたので, その有用性を報告する。

方 法

培養液 : Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM) に HEPES (20 mmol), 重炭酸ナトリウム (2g/L), 硫酸カナマイシン (100 mg/L) を加え, pH 7.0 に調整した。使用前に最終濃度 10% となるように非働化 AB 型血清を加えた。

リンパ球幼若化反応 : ヘパリン加末梢血を Ficoll-Hypaque リンパ球分離液に重層し, 室温, 2100 rpm, 10 分間遠心した。リンパ球層を取り, これをさらに 2 回, DMEM にて 1600 rpm, 5 分間遠心洗浄し, その後, 生食水にて末梢血白血球 (PBL) を 1×10^6 cell/ml の濃度に調整した。

0.1 ml の抗原液と 0.1 ml の PBL を 96 ウェル平底マイクロプレート (Falcon 3072, Becton Dickinson, New Jersey, USA) に分注し, CO₂ インキュベーター (37°C, 5% CO₂) 中で 7 日間, 混合培養後, ³H-thymidine 37 kBq/well を加え, 16 時間後に回収した。これを乾燥後, 液体シンチレーションカウンターで ³H-thymidine の取り込みを測定した。

抗原としては, PPD (日本ビーシージー, 東京), ヒト結核菌菌体成分, PHA-P (Difco, Detroit, USA), ウシ型結核菌菌体成分 (RIBI Immunochem Research, Hamilton, USA) を用いた。

また, 各モノクローナル抗体を結合させた Dynabeads M-450 (Dyna, Norway) による negative selection¹⁾法を用いて, 各リンパ球サブセットを除去した

PBL の PPD に対する幼若化反応も検討した。PPD は 100 μg/ml を倍数希釈して用いた。PHA は 2 μl を倍数希釈した。結核菌菌体は 2×10^9 /ml を倍数希釈した。ウシ結核菌菌体成分は 50 μg/ml を倍数希釈した。抗原で刺激したリンパ球の ³H-thymidine の取り込みと無刺激のリンパ球 ³H-thymidine の取り込みの比率を stimulation index (S.I.) とした。FITC を標識した各種モノクローナル抗体 (OK series, Ortho-mune, New Jersey, USA) を用いた直接蛍光抗体法で染色した PBL を, フローサイトメトリー (Ortho Diagnostic Systems, New Jersey, USA) にて測定した。

PBL のリンパ球サブセットは, CD3 陽性細胞 50~75%, CD4 陽性細胞 35~45%, CD8 陽性細胞 20~35% であった。CD2 陽性細胞を除去したリンパ球サブセットは CD3 陽性細胞 2.5% 以下, CD4 陽性細胞 3% 以下, CD8 陽性細胞 3.5% 以下であった。CD4 陽性細胞を除去したリンパ球サブセットは, CD3 陽性細胞 40~45%, CD4 陽性細胞 6% 以下, CD8 陽性細胞 30~45% であった。CD8 陽性細胞を除去したリンパ球サブセットは, CD3 陽性細胞 50~60%, CD4 陽性細胞 50~60%, CD8 陽性細胞 5% 以下であった。

また, PBL より CD2, CD4, あるいは CD8 陽性細胞を除去したリンパ球サブセットと PPD との混合培養 7 日後の培養上清中の γ -Interferon (IFN- γ) を Centocor RIA kit (Malvern, USA) にて測定した。

結核菌菌体成分 : 患者の喀痰より分離培養した結核菌を 10% ホルマリンで 2 日間殺菌した後, 120°C, 15 分間オートクレーブにて処理し, 蒸留水で, 10000 g, 30 分間遠心洗浄を 5 回くり返し, 凍結乾燥し保存した。使用にのぞみ生食水で 400 μg/ml に調整して用いた。

養子免疫療法 : フェレーシスシステム (V50, ラボサイエンス) で, 患者末梢血より buffy coat を回収し, Ficoll-Hypaque 液にて, 上記のごとく PBL を分離し, 1×10^6 /ml に調整し, 結核菌菌体成分 0.4 μg/ml と Tissue culture flask (800 ml, Nunc, Denmark) で, 7 日間混合培養した。培養 2 日目に recombinant interleukin 2 (TGP-3, 武田薬品より分与) を 0.5 unit/ml 加え, 7 日後に回収した。これを Ficoll-Hypaque 液に重層し, 室温で 1600 rpm, 30 分間遠心して, 白血球層を回収し, 生食水にて, 1600 rpm, 5 分間遠心洗浄を 3 回くり返した後, 最終濃度 $5 \times 10^5 - 1 \times 10^7$ /ml に調整し, 20~30 ml を患者の静脈内へ戻し移入した。

表1 入院時検査成績

CBC		動脈血ガス	
RBC	511×10 ⁴ /mm ³	pH	7.409
Hb	13.9g/dl	PaO ₂	77.4 Torr
Ht	44.4%	Paco ₂	44.2 Torr
WBC	14700/mm ³	HCO ₃	27.7 mmol/l
Stab.	23%	BE	2.8 mmol/l
Seg.	48%	O ₂ SAT	95.3%
Ly.	15%	喀痰培養	<i>M. tuberculosis</i> (Gaffky 8号)
Mo.	10%	便培養	<i>M. tuberculosis</i>
Plt.	49.7×10 ⁴ /mm ³	PPD皮内反応	13×12/25×20mm
reticulo	19%	免疫グロブリン	
ESR (lh)	80mm	IgG	2749 mg/dl
CRP	3(+)	IgA	126 mg/dl
生化学		IgM	108 mg/dl
T.P.	8.0 g/dl	CH ₅₀	45 U/ml
Alb.	4.2 g/dl	抗ATLA抗体	(-)
T-Bil	0.4 mg/dl	抗HIV抗体	(-)
TTT	2.9 KU	細胞性免疫能検査	
T. Chol.	154 mg/dl	CD3	59.8%,
GOT	16 IU/L	CD4	30.8%,
GPT	8 IU/L	CD8	37.8%,
r-GTP	42 IU/L	CD4/CD8比	0.81
Al-p	199 IU/L	リンパ球幼若化反応	(正常値)
LDH	346 IU/L	PHA	1.69 S. I. (2.0-4.9)
LAP	154 IU/L	Con-A	2.35 S. I. (2.5-5.0)
ChE	502 IU/L	PWM	1.49 S. I. (1.2-2.9)
CPK	31 IU/L	IL-2反応試験 (Con-A刺激)	32830cpm
BUN	12 mg/dl	(正常値 22000-38000 cpm)	
Cr	0.82 mg/dl	IL-2 receptor 培養 (Con-A刺激)	38.7%
Na	142 mEq/l	(正常値 32.0-62.0%)	
K	3.6 mEq/l	IL-2産生能試験 (PHA刺激)	6.0U/ml
Cl	98 mEq/l	(正常値 3-13 U/ml)	
s-Fe	40 μg/dl	好中球殺菌能	89% (正常値 70%以上)
UIBC	245 μg/dl	好中球貪食能	94.3% (正常値 70-90%)
Glucose	67 mg/dl	Prostagrandin E	156 pg/ml
検尿	異常なし	(正常値 320 pg/ml以下)	
検便	潜血(+)	Prostagrandin F	512 pg/ml
血液凝固能		(正常値 20-400 pg/ml以下)	
PT	14.9sec	Prostagrandin E ₂	36 pg/ml
APTT	45.8sec	(正常値 18 pg/ml以下)	
Fibrinogen	661mg/dl		

リンパ球サブセットは、培養前のPBLではCD3陽性細胞53.5%、CD4陽性細胞32.3%、CD8陽性細胞20.6%、CD20陽性細胞6.7%であったが、移入リンパ球のサブセットは、CD3陽性細胞77.1%、CD4陽性細胞45.5%、CD8陽性細胞29.1%、CD20陽性細胞2.1%であった。また、リンパ球移入7日後のPBLは、CD3陽性細胞61.1%、CD4陽性細胞30.3%、CD8陽性細胞30.5%、CD20陽性細胞10.7%であった。

症 例

患者：32歳、男性。

既往歴：特記すべきことなし。

家族歴：父、肺結核。母、クモ膜下出血。

現病歴：1981年6月肺結核を発症し、国立療養所沖繩病院に入院、加療を受けた。82年3月左肺区域(S^{1+2,3})切除術を施行され、10月菌陰性化したため退院した。その後、保健所にて経過観察されていたが、85

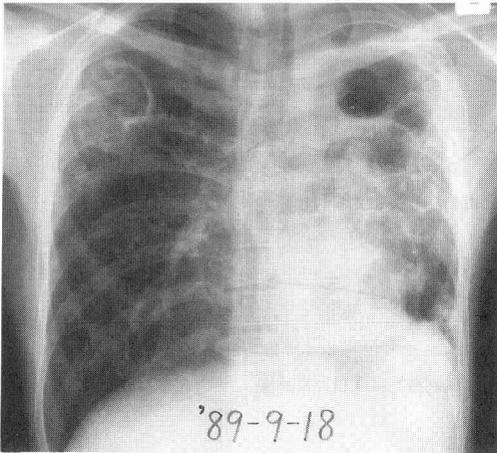


図3 入院20日後(1989年9月18日)の胸部X線写真

増大し、体重減少、発熱持続し、予後は極めて不良の状態であった。感作自己リンパ球による養子免疫療法について考えられる効果と危険性について説明し、了解を得たため、養子免疫療法を試みた。

図4に患者と同程度のツベルクリン皮内反応を示す健康成人を対象とした PPD, 患者由来の結核菌体, PHA およびウシ結核菌菌体に対するリンパ球幼若化反応を示した。縦軸は PBL の幼若化反応の stimulation index (S.I.), 横軸は抗原濃度を \log_2 (Dilution) で示した。左上段は PPD に対する反応であるが、患者は低下していた。左下段は結核菌菌体に対する反応であるが、患者は低下していた。また、右上段の PHA に対する反応も患者の方が低下していた。ウシ結核菌菌体に対しては差は認めなかった。

患者 PBL のヒト結核菌菌体との混合培養に加える interleukin 2 (IL-2) の濃度と時期を図5に示した。上図のごとく、培養2日目に0.5~1 unit/ml 以上を加

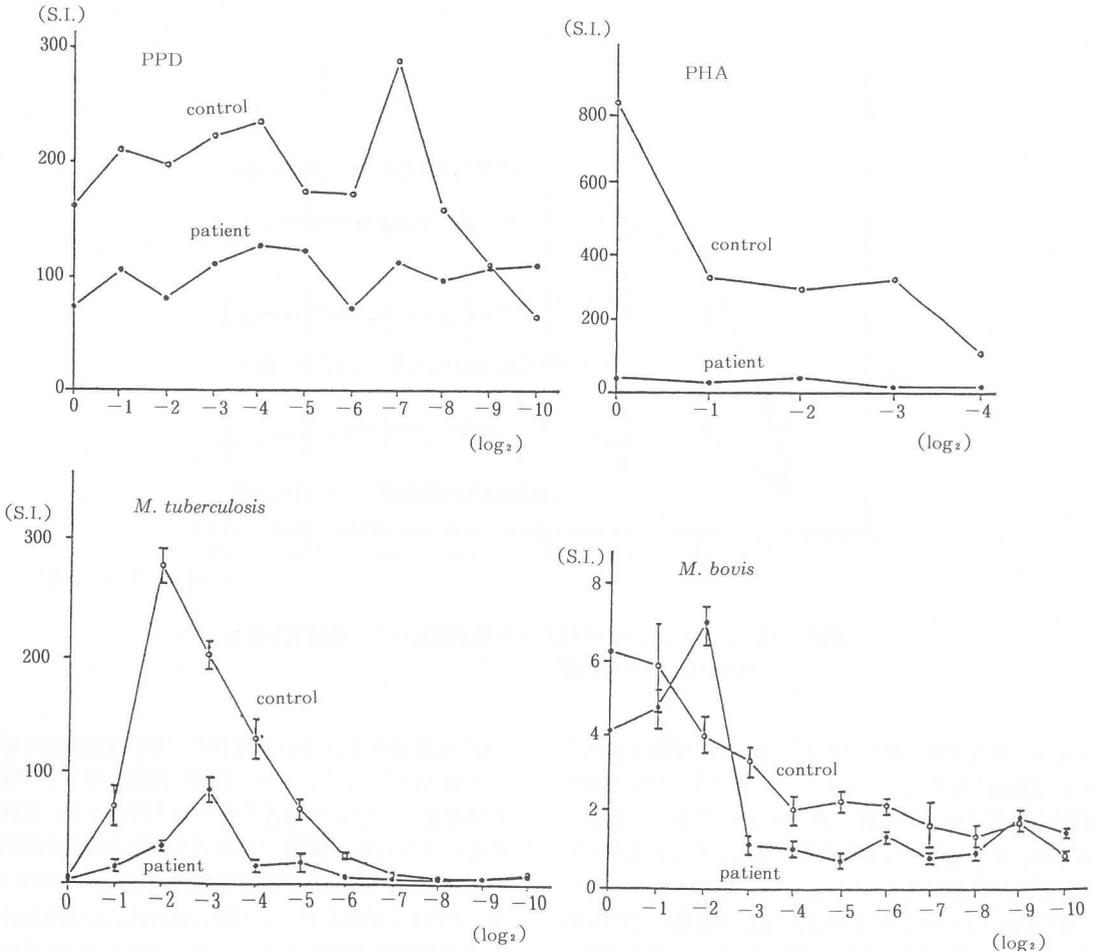


図4 各種抗原に対するヒト末梢血リンパ球幼若化反応

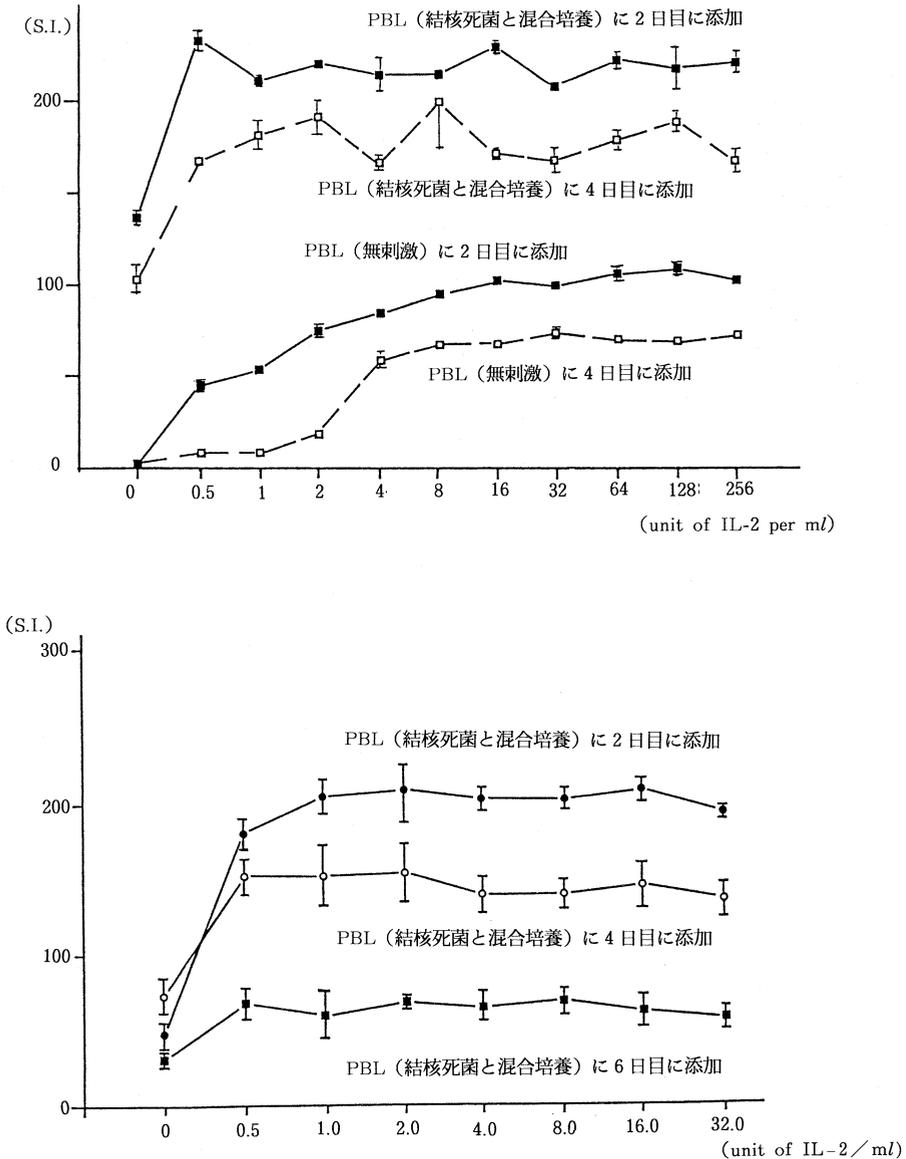


図5 *M. tuberculosis* に対する患者末梢血リンパ球幼若化反応への Interleukin-2 の影響

えると、S.I. は約 200 に増強したので、培養 2 日目に 0.5 unit/ml 加えることにした。下図は養子免疫療法を開始して約 1 年 4 カ月後 (1991 年 1 月 21 日) の反応であるが、結核死菌との混合培養 (IL-2 をくわえない) の幼若化反応が増強していた。

0.75 $\mu\text{g/ml}$ および 0.32 $\mu\text{g/ml}$ の濃度の PPD に対するヒト PBL 幼若化反応を図 6 に示した。各サブセットをモノクローナル抗体を結合した dynabeads で negative selection して除去した場合の反応であるが、

CD2 陽性細胞を除去した場合と CD4 陽性細胞を除去した場合に低下した。また、同時に回収したリンパ球幼若化反応の 7 日目の培養上清中の IFN- γ は、抗原無刺激のリンパ球の場合、CD2 陽性細胞を除いた場合、および CD4 陽性細胞を除いた場合は認められなかったが、PPD で刺激したリンパ球の場合は 2.5 unit/ml、CD8 陽性細胞を除いたリンパ球では 5.7 unit/ml が産生されていた。この幼若化反応と IFN- γ 産生は、CD4 陽性 T 細胞が担っていた。

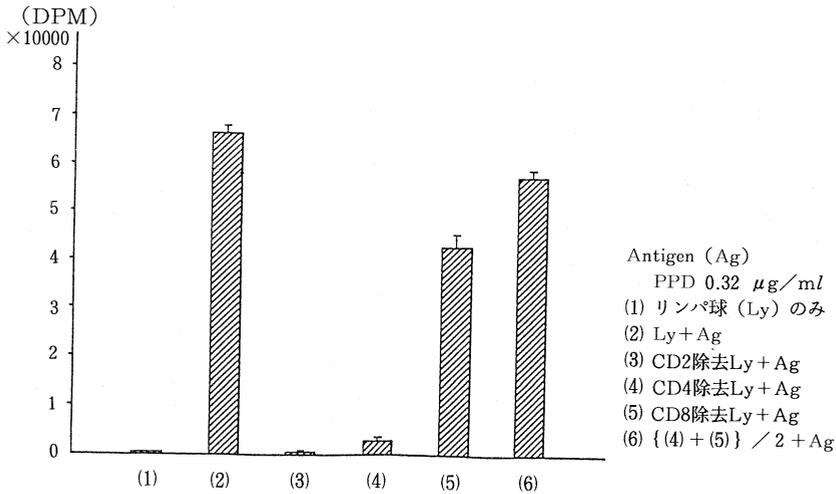
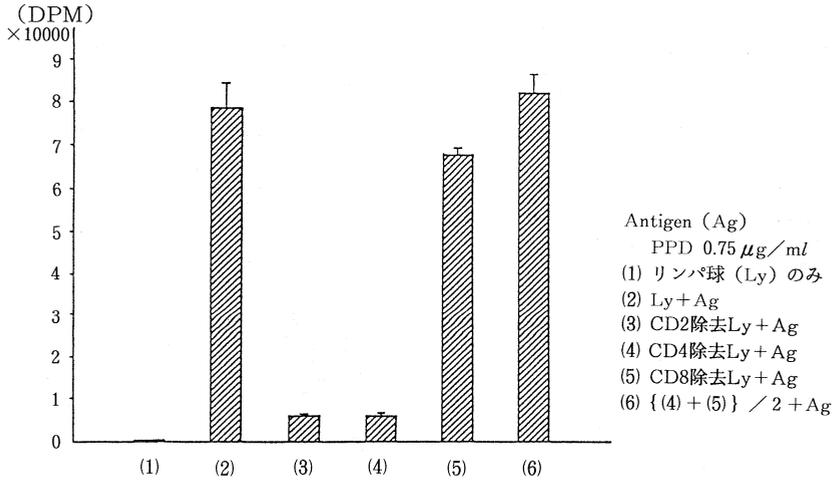


図6 PPDに対するヒト末梢血リンパ球サブセットの幼若化反応

図7はリンパ球移入約1カ月後の10月23日の胸部レントゲン写真である。右上肺野の空洞の縮小がみられた。CT像による経過を図8~10に示した。図8, 図9, 図10は, 胸部CTスキャンであるが, 左肺の萎縮の進行により少し異なるが, ほぼ同じレベルを示した。図8(9月7日)は養子免疫療法前の胸部CTスキャンであるが, 明らかな粒状陰影が認められ, 図9(1990年1月25日)では, 粒状陰影はやや縮小している。

図11は1990年1月12日の胸部レントゲン写真である。図7より空洞は拡大し, niveauが認められているが, 治療前の図3より空洞は小さい。この時期, 喀痰より *pseudomonas aeruginosa* が認められ, 同菌に対する抗生剤の治療により niveauが消失したために, 同菌による混合感染によるものと考えられた。図10(1990

年10月27日)では, 左肺はさらに萎縮し, 右肺は粒状陰影の縮小消失した部位と増大した部位が認められた。

入院後経過を図12に示した。第1回から第9回までのリンパ球の戻し移入量は1回につき $1 \times 10^7 \sim 1 \times 10^8$ cellであったが, 第10回から第15回まではやや増量し, $1 \times 10^8 \sim 3 \times 10^8$ cellを静注した。第10回のリンパ球の戻し移入後, 一時的な喀痰中のガフキー号数の減少がみられ, 体重増加, 解熱, 赤沈の軽度改善が認められた。なお, 栄養改善のためのIVHは入院経過中していない。患者の結核菌は, サイクロセリンに対しても当科入院時には耐性が認められ, 副作用が強いため使用しなかった。

図13はリンパ球の戻し移入前の喀痰のZiehl-Neelsen染色の塗抹標本である。好中球は結核菌を貪食していない

い。図14はリンパ球戻し移入後2日目の喀痰であるが、結核菌を貪食した好中球が多数認められた。図15は戻し移入後7日目の喀痰である。細胞成分では単球がほとんどを占めていた。

考 案

結核菌は菌体の40%に達する多量の脂質を有し、細胞壁はミコール酸とアラビノガラクトナムコペプチドの複合体からなる特有の細胞壁構造をもつ。ヒトはこのミコール酸を分解する酵素を持たないため、菌はマクロファージの消化に抵抗する²⁾。このため、結核の治療は抗菌力が強く、かつ細胞内への移行が良好な抗結核剤の使用が第一であるが、本症例のような多剤耐性菌感染例では、宿主の感染抵抗力を増強して病変の進展増悪を遅らせる手段を講じる必要がある。

結核に対する細胞性免疫に関して、Lefford³⁾はBCG生菌で免疫したマウスの脾細胞を、X線照射した同系マウスに移入すると、BCGやヒト結核菌の感染に抵抗し、その役割を演じるのはT細胞であることを示した。同様に、Ormeら⁴⁾も胸腺摘出しX線照射したり、あるいは致死量以下のX線を照射したT細胞の減少したマウスへの*M. tuberculosis*の気道感染も、同生菌で免疫したマウスの脾細胞(T細胞)の静注により、感染防御できると述べている。また、彼ら⁵⁾は、*M. tuberculosis*を感染させisoniazidによる治療をしたマウスは、再感染に対して強い抵抗性をもち、その感染抵抗性はcyclophosphamideやX線に耐性のL3T4陽性リンパ球によって担われていると報告している。

Pedrazziniら⁶⁾はL3T4陽性T細胞クローン株を樹

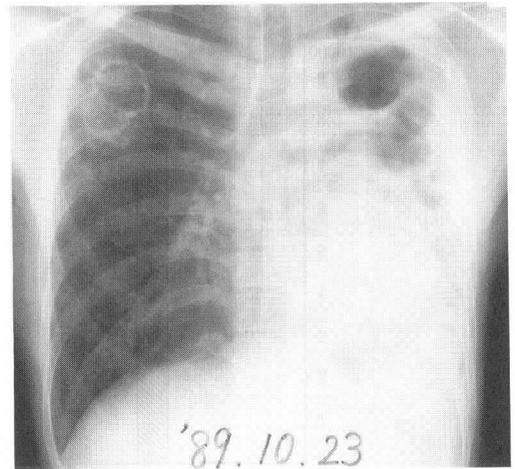


図7 感作リンパ球移入後約1ヵ月(1989年10月23日)の胸部X線写真

立したが、遅延型過敏反応を引き起こすクローン株と強いヘルパー活性を示すクローン株があり、その両クローン株ともマウス腹腔内投与により、腹腔浸出細胞内のBCG菌の増殖を抑制したと述べている。また、彼ら⁷⁾は抗L3T4あるいは抗Lyt-2モノクローナル抗体を腹腔内へ投与したマウスにおいてBCG菌の増殖を検討し、L3T4陽性細胞を除去したマウスでの同菌の増殖を報告した。

Crowleら⁸⁾はツベルクリン反応陽性のヒト末梢血リンパ球を結核菌から取り出した抗原と混合培養し、培養上清からリンホカインを得た。このリンホカインを結核

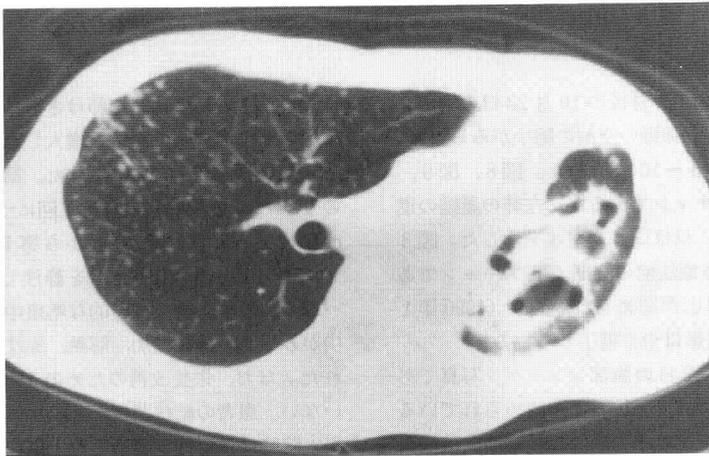


図8 1989年9月7日(養子免疫療法前)の胸部CTスキャン

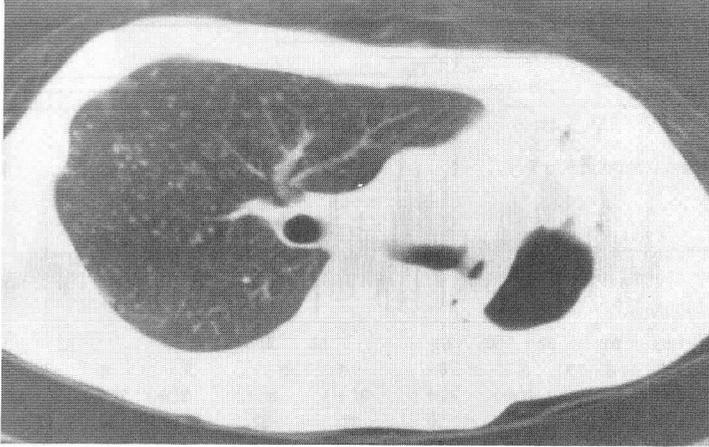


図9 1990年1月25日の胸部CTスキャン

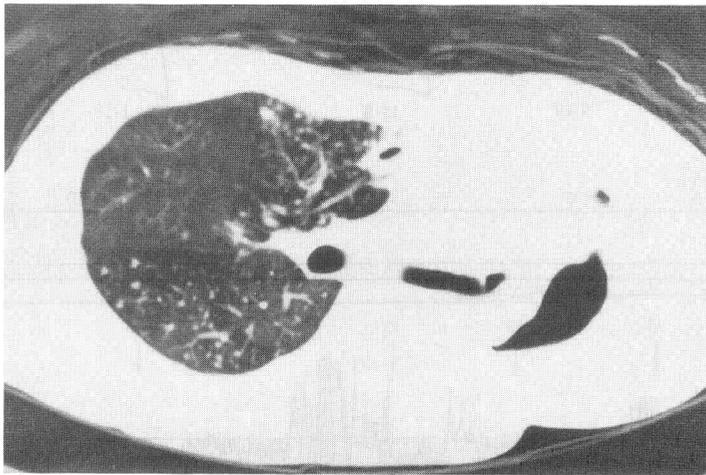


図10 1990年10月27日の胸部CTスキャン

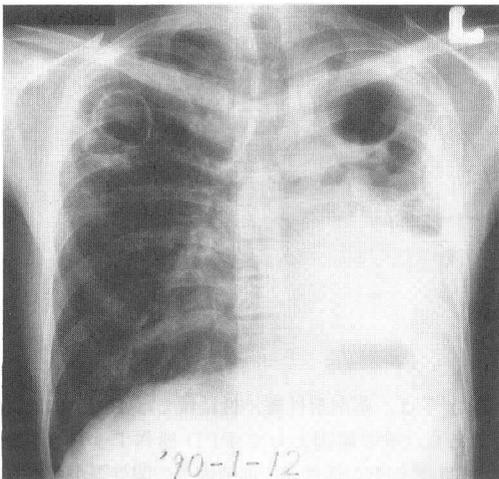


図11 1990年1月12日の胸部X線写真

菌を貪食したマクロファージと培養すると、マクロファージ内での菌の増殖は抑制されたが、リンホカインを加えない場合には抑制されなかったと報告している。最近では、IFN- γ の作用が注目され、*in vitro*におけるIFN- γ によるマウスマクロファージ内の抗酸菌の増殖抑制効果⁹⁾や結核性胸膜炎患者の胸水中のリンパ球のPPDに対するIFN- γ の産生亢進¹⁰⁾が報告されている。

このようなCD4陽性T細胞の感染防御に対する役割以外に、Kaufmann¹¹⁾は細胞内寄生性細菌の排除にCD8陽性の細胞障害性T細胞が重要な役割を担っていると述べている。この排除にはIFN- γ の分泌は関係なく、直接に感染細胞の破壊による可能性を指摘している。本症例のPBLより誘導した感作リンパ球は、誘導前に比しCD4陽性細胞のみならずCD8陽性細胞も増

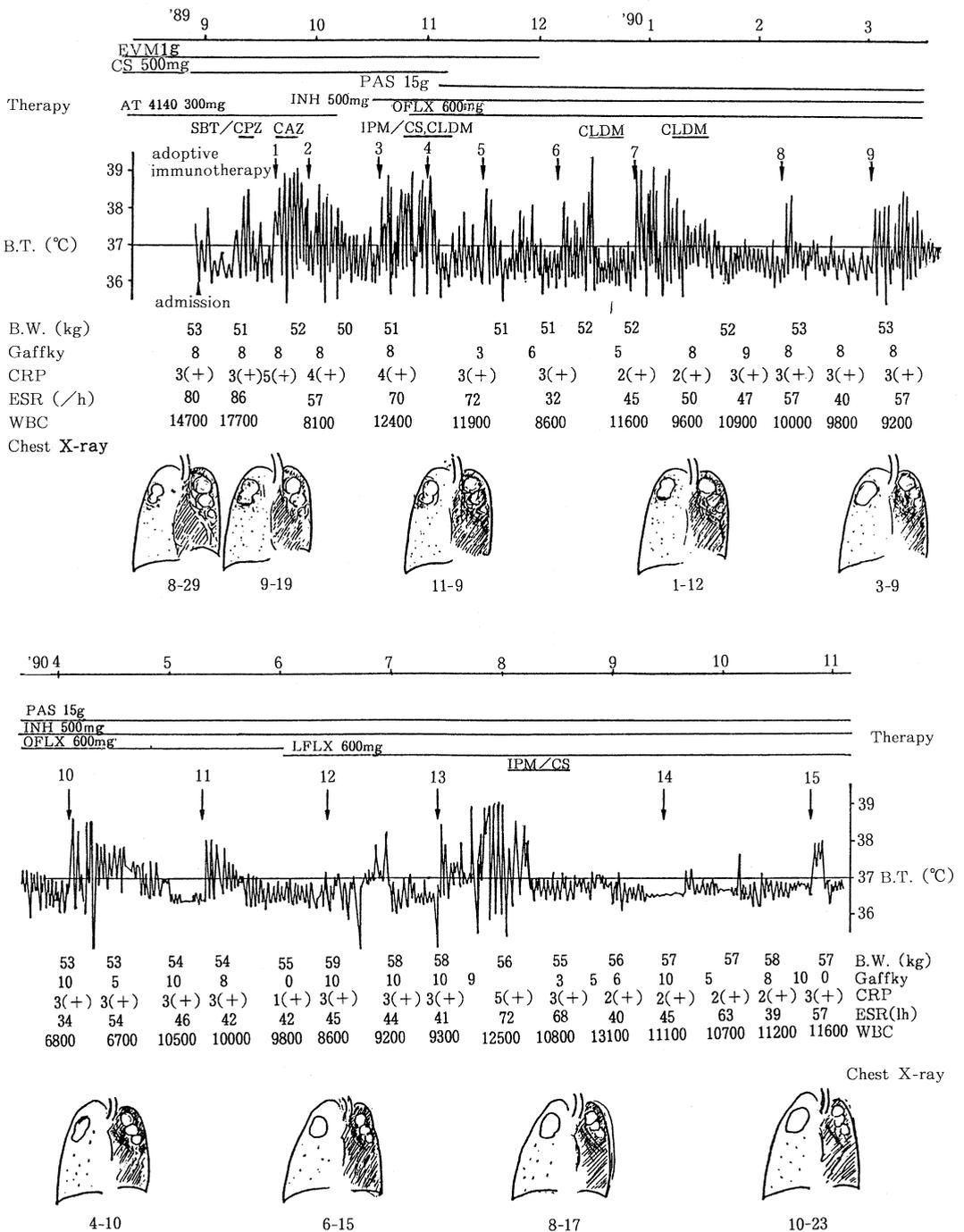


図12 入院後経過

加していた。また、CD4 陽性T細胞は IFN- γ を産生していた。このことから、本症例においても CD4 陽性細胞は結核菌の排除のために働いていると考えられるが、CD8 陽性細胞の役割も否定できない。

露口¹²⁾は、薬剤耐性難治性結核では PPD に低反応性であり、その原因として PPD 感作Tリンパ球の欠如、抑制性細胞の活性化、血清因子の関与等が考えられると述べている。この患者は、感作リンパ球を移入した

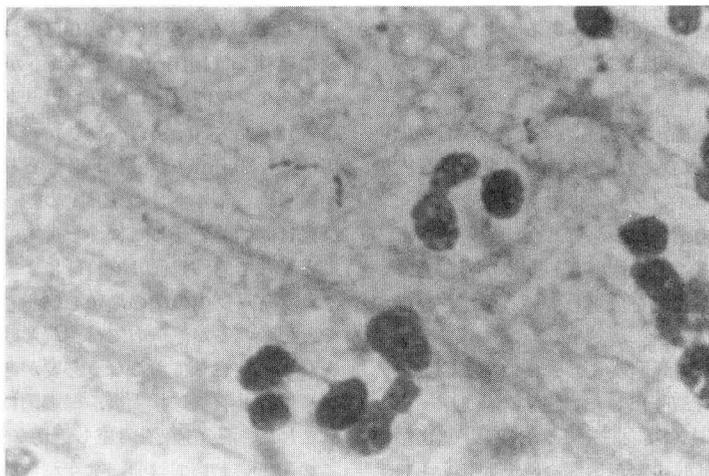


図13 リンパ球戻し移入前の喀痰 (Ziehl-Neelsen 染色, 10×100)

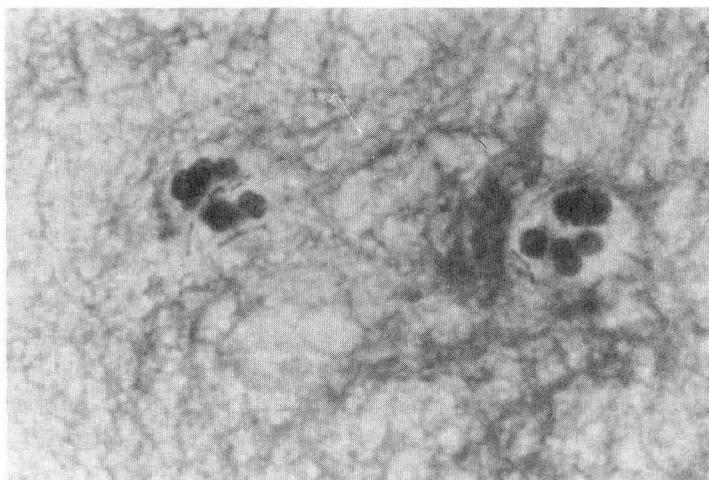


図14 リンパ球戻し移入後2日目の喀痰 (Ziehl-Neelsen 染色, 10×100)

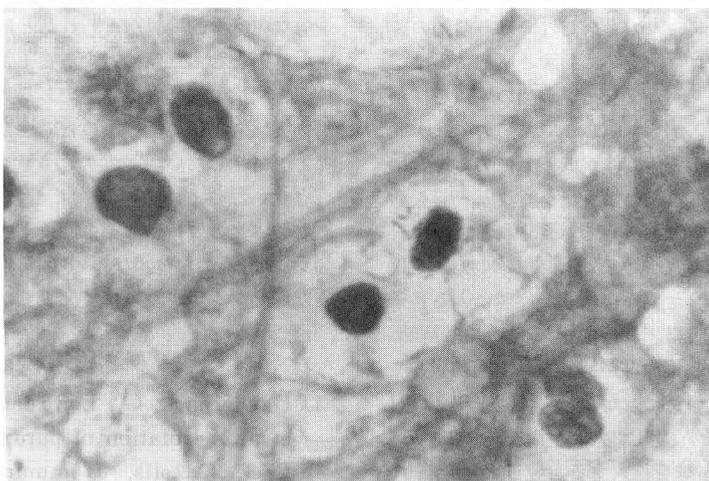


図15 リンパ球戻し移入後7日目の喀痰 (Ziehl-Neelsen 染色, 10×100)

7日後に末梢血中の CD8 陽性細胞の増加がみられ、サブプレッサー T 細胞が増加した可能性がある。また、血漿 prostaglandin の高値も抑制的に働いている可能性もある。

宿主側の要因以外に細菌側の要因もある。Armstrong と Hart¹³⁾ は毒力菌を貪食した正常マクロファージ内では、ファゴゾームとライソゾームの融合が起こらず、菌はライソゾーム酵素の消化から逃れるが、死菌や弱毒菌ではこの融合が起こることを観察し、そのため毒力菌は融合を阻害するような物質を分泌している可能性を指摘している。

さらに、Myrvik ら¹⁴⁾ は正常ウサギおよび BCG 死菌で免疫したウサギから取り出した肺胞マクロファージに、ヒト型毒力菌 H37Rv 株、弱毒菌の BCG、無毒菌の *Mycobacterium phlei* の各生菌を感染させ、1日後に電子顕微鏡で観察した。全群ともマクロファージは多量の菌を貪食しているが、BCG、H37Rv 菌を感染させた場合には、両群とも菌は無傷で存在するものの正常マクロファージ内では 20~40% の菌が細胞質内に認められるが、免疫マクロファージ内では、菌は 1~5% しか細胞質に存在せず、大部分はファゴゾーム内に存在していることを報告している。

この場合、正常マクロファージではファゴゾーム膜は不明瞭となり、免疫家兎マクロファージでは丈夫なファゴゾーム膜が形成され、菌を取り囲んでいる像が観察されている。これは正常マクロファージでは、ファゴゾームとライソゾームの融合が起こらず、菌は容易に細胞質内に移動し増殖するが、免疫マクロファージでは菌をファゴゾームに閉じこめライソゾームが融合して、菌の増殖を押さえているのであろうと述べている。

Armstrong¹⁵⁾ らは免疫血清で毒力菌を被覆すれば、正常マクロファージでも、ファゴゾームとライソゾームの融合が起こるが、菌の障害については影響がないと述べているので、ライソゾームの融合だけでは、殺菌の説明はつかない。ともあれ、結核菌に対する反応に T 細胞が関与し、活性化したマクロファージが菌の増殖を抑制することはこれらの報告からも明らかであるので、本症例のように感染菌に対する免疫能が低下している患者に感作リンパ球を移入することによりマクロファージを活性化させる治療法は有用であらうと考えられる。

そこで、癌に対する養子免疫療法^{16)~18)}の方法を用い、結核菌菌体で誘導した感作自己リンパ球による養子免疫療法を試みた。患者は、体重増加、赤沈改善、解熱、Gaffky 号数の一時的改善などが認められ、当初極めて予後不良と考えられていたにもかかわらず、1年2カ月経た現在、病勢は比較的安定し、入院生活を送っている。患者は、感作自己リンパ球を移入すると翌日より発熱し、10日から14日間持続する。また、喀痰中には、はじめ

に食菌した好中球が出現し、次いで単球（一部の単球は食菌している）が出現し10日後には消失する。この時期に喀痰の Gaffky 号数の低下がみられる。また、ツベルクリン皮内反応は感作自己リンパ球を移入する前は $13 \times 12 / 25 \times 20$ mm であり、移入後約2週では $15 \times 19 / 35 \times 39$ mm と増強が認められた。養子免疫療法開始後、約1年4カ月の PBL の結核死菌に対する幼若化反応は開始前の PBL にくらべ増強していた。

ところで感作自己リンパ球による養子免疫療法は、マクロファージ内の菌の増殖を抑制して防御免疫として働くと思われるが、一方では空洞形成を助長する可能性があり十分注意しておこなう必要がある。この患者の場合も、感作リンパ球移入後、緑膿菌による混合感染を引き起こした。混合感染を考慮し適切な対処が必要であらう。この患者においては急激な空洞形成は認められなかったが、大量のリンパ球移入は持続排菌や混合感染の原因となる空洞形成を助長する危険性があるため、移入量に注意する必要があると思われる。また、移入するリンパ球液に多少、結核死菌の混入があるが、その場合、移入後3時間以内に発熱、悪寒、強い呼吸困難が認められるが、リンパ球との混合培養に使用する菌体量を減じると上記の症状は認められず、危険性は少ないと考えられる。

本療法により、肺結核を治癒にまで導くことはできていないが、症状の改善、病勢の進展の防止には極めて有用であったと考えている。患者の結核菌が感受性を示す抗結核剤がなくなった状態での本治療開始であったので、臨床的には予想以上の効果がみられたが、移入後の患者の免疫能の変化などの検討事項が残っている。副作用に関しては、一過性の発熱と短期間の軽度の呼吸困難が出現したがいずれも短期間に改善するもので、臨床的に問題となるほどのものではなかった。

ヒトにおける感染症に対するこのような感作リンパ球移入療法は未だ報告がなく、初めての経験であったので、十分な免疫学的検討が行われたとはいえないが、本治療法の基礎となった癌に対する養子免疫療法の経験と、結核菌と同様の細胞内増殖菌であるレジオネラ感染症での動物実験で養子免疫療法の有効性を得ている（未投稿）ことを付記したい。

なお本文の要旨は、第2回日本胸部疾患学会九州地方会シンポジウムおよび第38回日本化学療法学会西日本支部総会シンポジウムにて発表した。

文 献

- 1) Gaudernack, G., Leivestad, T., Ugelstad, J. et al. : Isolation of pure functionally active CD8⁺ T cells, *J Immunol Methods*, 90 : 179-187, 1986.

- 2) 山村好弘 : 結核, 免疫科学 (岩波講座), 10 : 181~209, 1983.
- 3) Lefford, M. J. : Transfer of adoptive immunity to tuberculosis in mice, *Infect Immun*, 11 : 1174-1181, 1975.
- 4) Orme, I. M. and Collins, F. M. : Protection against *Mycobacterium tuberculosis* infection by adoptive immunotherapy, *J Exp Med*, 158 : 74-83, 1983.
- 5) Orme, I. M. : Characteristics and specificity of acquired immunologic memory to *Mycobacterium tuberculosis* infection, *J Immunol*, 140 : 3589-3593, 1988.
- 6) Pedrazzini, T. and Louis, J. A. : Functional analysis *in vitro* and *in vivo* of *Mycobacterium bovis* strain BCG-specific T cell clones, *J Immunol*, 136 : 1828-1834, 1986.
- 7) Pedrazzini, T., Hug, K. and Louis, J. A. : Importance of L3T4⁺ and Lyt-2⁺ cells in the immunologic control of infection with *Mycobacterium bovis* strain Bacillus Calmette-Guerin in mice, *J Immunol*, 139 : 2032-2037, 1987.
- 8) Crowle, A. J. and May, M. : Preliminary demonstration of human tuberculoimmunity *in vitro*, *Infect Immun*, 31 : 453-464, 1981.
- 9) 徳永 徹 : 結核の免疫学, 結核 64 : 121~133, 1989.
- 10) Ribera, E., Espanol, T., Martinez-Vazquez, J. M. et al. : Lymphocyte proliferation and Gamma-interferon production after "*in vitro*" stimulation with PPD, *Chest*, 97 : 1381-1385, 1990.
- 11) Kaufmann, S. H. E. : CD8⁺ T lymphocytes in intracellular microbial infections, *Immunol Today*, 9 : 168-174, 1988.
- 12) 露口泉夫 : 結核の臨床免疫, 結核, 62 : 253~264, 1987.
- 13) Armstrong, J. A. and Hart, P. D. : Response of cultured macrophages to *Mycobacterium tuberculosis*, with observations on fusion of lysosomes and phagosomes, *J Exp Med*, 134 : 713-740, 1971.
- 14) Myrvik, Q. N., Leake, E. S. and Wright, M. J. : Integrity of the phagosome following ingestion of mycobacteria by normal and BCG-immune alveolar macrophages. Proc. of 17th Joint Conference on Tuberculosis, US-Japan Med Sci Program, p. 113, 1982.
- 15) Armstrong, J. A. and Hart, P. D. : Phagosome-lysosome interactions in cultured macrophages infected with virulent tubercle bacilli. Reversal of the usual nonfusion pattern and observations on bacterial survival, *J Exp Med*, 142 : 1-16, 1975.
- 16) Merchant, R. E., Grant, A. J., Merchant, L. H. et al. : Adoptive immunotherapy for recurrent glioblastoma multiforme using lymphokine activated killer cells and recombinant interleukin-2, *Cancer* 62 : 665-671, 1988.
- 17) Shu, S. and Rosenberg, S. A. : Adoptive immunotherapy of a newly induced sarcoma : immunologic characteristics of effector cells, *J Immunol*, 135 : 2895-2903, 1985.
- 18) 橘川桂三 : CTL の基礎と臨床, *Biotherapy*, 3 : 629~636, 1989.