

原 著

結核症における ICAM-1 抗原

四十坊 典 晴・平 澤 路 生・犬 塚 学
浅 川 三 男・阿 部 庄 作

札幌医科大学医学部第3内科

今 井 浩 三

同 第1内科

受付 平成5年12月9日

受理 平成6年3月25日

INTERCELLULAR ADHESION MOLECULE 1 ANTIGEN IN TUBERCULOSIS

Noriharu SHIJUBO*, Michio HIRASAWA, Manabu INUZUKA,
Mitsuo ASAKAWA, Shosaku ABE and Kohzoh IMAI

(Received 9 December 1993/Accepted 25 March 1994)

Intercellular adhesion molecule 1 (ICAM-1) plays an important role in inflammatory diseases. We investigated levels of circulating soluble ICAM-1 in patients with miliary tuberculosis (n=8) and pulmonary tuberculosis (n=49). We also attempted to compare ICAM-1 levels among pulmonary tuberculosis patients according to chest X ray classification of the Japanese Society for Tuberculosis. Significantly increased levels of circulating ICAM-1 were found in patients with miliary tuberculosis and extensive (extent 3) pulmonary tuberculosis (n=9) compared to those of controls (n=48), but not in patients with extent 1 (n=24) or extent 2 pulmonary tuberculosis (n=16). Immunohistochemical examination of the tuberculous lung tissues from the patients showed intensive cellular ICAM-1 on epithelioid cells and giant cells as well as on vascular endothelial cells. These results suggest that ICAM-1 is an important adhesion molecule in tuberculosis.

Key words : ICAM-1, Circulating ICAM-1, Tuberculosis

キーワードズ : ICAM-1, 循環 ICAM-1, 結核症

Intercellular adhesion molecule 1 (ICAM-1) は免疫グロブリンスーパーファミリーに属する接着分子である¹⁾。ICAM-1 抗原は tumor necrosis factor- α (TNF- α) や interferon- γ (IFN- γ) などの炎症性サ

イトカインにより細胞表面の発現が増強されることが報告され、各種炎症性疾患において、ICAM-1 抗原が重要な役割を果たしていると考えられている¹⁾⁻³⁾。われわれは、ヒト ICAM-1 の異なるエピトープを認識する 2

*From the Third Department of Internal Medicine, Sapporo Medical University School of Medicine, South-1, West-16, Chuo-ku, Sapporo 060 Japan.

種の単クローン抗体を用い、可溶性 ICAM-1 抗原の定量を開発した⁴⁾。さらに、われわれは川崎病や特発性間質性肺炎などの炎症性疾患において、血中循環 ICAM-1 抗原が高値になることを報告してきた⁵⁾⁶⁾。今回は、結核症における血中循環 ICAM-1 抗原の定量を行い、さらに日本結核病学会の病型分類に従い、肺結核症の血中循環 ICAM-1 抗原量を比較した。また、結核性肉芽腫における ICAM-1 抗原の発現を検討し、結核症における ICAM-1 抗原の臨床的意義を検討した。

研究対象と方法

対象患者

対象としては、すべて抗結核剤による治療歴がなく、糖尿病、塵肺、膠原病などの基礎疾患を持たない結核症患者 57 例であり、年齢は 19 歳から 72 歳、平均は 46 歳であり、男性が 35 例、女性が 22 例であった。肺結核症に関しては胸部 X 線像上浸潤影を認め、痰検査で結核菌が培養陽性となった 49 例であり、日本結核病学会の病型分類に従って分類した。肺結核症の病型 I が 4 例、病型 II が 25 例、病型 III が 17 例であり、拡がり 1 が 24 例、拡がり 2 が 16 例、拡がり 3 が 9 例であった。粟粒結核症 8 例に関しては、以下の 4 条件で診断した。1. 発熱、体重減少などの全身症状があり、2. 胸部 X 線像で全肺野に粟粒大の小粒状影を多数認め、3. 細菌学的な結核菌の証明または組織学的に乾酪壊死を伴う肉芽腫の証明があり、4. 抗結核剤による治療により著明な改善をみる。

健常対照としては呼吸器疾患の既往歴がなく、胸部 X 線像上異常を認めない 48 例を対象とした。

患者群に関しては抗結核剤の投与前に採血を行い、血清を分離後、 -30°C で保存し、血中循環 ICAM-1 抗原の定量に用いた。

血中循環 ICAM-1 抗原の定量

ヒト ICAM-1 抗原の異なるエピトープを認識する 2 つのマウス単クローン抗体 HA58 と CL207 を使用した ELISA 法で行った⁴⁾⁶⁾。すなわち、可溶性 ICAM-1 抗原を特異的に検出する固相化 CL207 とビオチン化 HA58 の測定系であり、96 well plate においてビーズに CL207 抗体を固相化し、200 倍に希釈した被検血清と 120 分間反応させ、洗浄後、さらにビオチン化 HA58 抗体と 120 分間反応させた。洗浄後、avidin-conjugated peroxidase と 60 分間反応させた。反応の程度は o-phenylenediamine で発色させ、492 nm の波長で Micro-ELISA Autoreader により OD 値を測定し、決定した。ヒト膀胱癌細胞株 Panc-1 の培養上清より可溶性 ICAM-1 抗原を精製し、段階希釈し、検量線を作製した。検量線は OD 値 0.01 から 1.50 の間で直線性を示した。1 Unit は精製 ICAM-1 抗原 2 ng に

相当する。

結核性肉芽腫における ICAM-1 抗原の免疫組織化学的検討

外科手術により切除され、組織学的、細菌学的に肺結核症と診断された 2 症例の切除標本を対象とした。1 例は切除後標本の一部を直ちに液体窒素で急速凍結し -80°C で保存し、薄切後、冷アセトンで固定後、免疫染色をした。もう 1 例は AMeX 固定後パラフィン包埋し、キシレン、アセトンで脱パラフィン後、免疫染色をした⁴⁾⁶⁾。ICAM-1 抗原の免疫染色は抗ヒト ICAM-1 マウス単クローン抗体 HA58 を用いて行い、ABC 法により行った。陰性対照としてマウス血清を用いたが陽性反応は認められなかった。

結 果

結核症における血中循環 ICAM-1 抗原

ELISA 法により定量した血中循環 ICAM-1 抗原の結核症患者および健常対照における値を表に示す。粟粒結核症患者では血中循環 ICAM-1 抗原の平均 (平均 \pm 標準誤差) は $155.5 \pm 15.1 \text{ U/ml}$ であり、肺結核症患者について日本結核病学会病型分類の病変の拡がりにより検討した場合は、拡がり 1 ($n=24$) では $40.4 \pm 2.9 \text{ U/ml}$ 、拡がり 2 ($n=16$) では $52.9 \pm 3.7 \text{ U/ml}$ 、拡がり 3 ($n=9$) では $99.9 \pm 5.8 \text{ U/ml}$ であった。健常対照 ($50.9 \pm 1.8 \text{ U/ml}$) に比較し、粟粒結核症患者と拡がり 3 の肺結核症患者の血中循環 ICAM-1 抗原は有意に高値であった (それぞれ $p < 0.001$)。肺結核症を病型別に検討した場合は、病型 I ($n=4$) の血中循環 ICAM-1 抗原の平均は $102.0 \pm 7.8 \text{ U/ml}$ 、病型 II ($n=25$) では $59.1 \pm 5.1 \text{ U/ml}$ 、病型 III ($n=17$) では $42.7 \pm 4.2 \text{ U/ml}$ であった。健常対照の血中循環 ICAM-1 抗原に比較し、病型 I のみ有意に高値であった ($p < 0.01$)。

結核性肉芽腫における ICAM-1 抗原の発現 (図 1)

表 結核症における血中循環 ICAM-1 抗原

	血中循環 ICAM-1 (平均 \pm 標準誤差)
健常対照 (n = 48)	$50.9 \pm 1.8 \text{ U/ml}$
粟粒結核 (n = 8)	$155.5 \pm 15.1 \text{ U/ml}^*$
肺結核症患者	
拡がり 1 (n = 24)	$40.4 \pm 2.9 \text{ U/ml}$
拡がり 2 (n = 16)	$52.9 \pm 3.7 \text{ U/ml}$
拡がり 3 (n = 9)	$99.9 \pm 5.8 \text{ U/ml}^*$
病型 I (n = 4)	$102.0 \pm 7.8 \text{ U/ml}^{**}$
病型 II (n = 25)	$59.1 \pm 5.1 \text{ U/ml}$
病型 III (n = 17)	$42.7 \pm 4.2 \text{ U/ml}$

* $p < 0.001$, ** $p < 0.01$

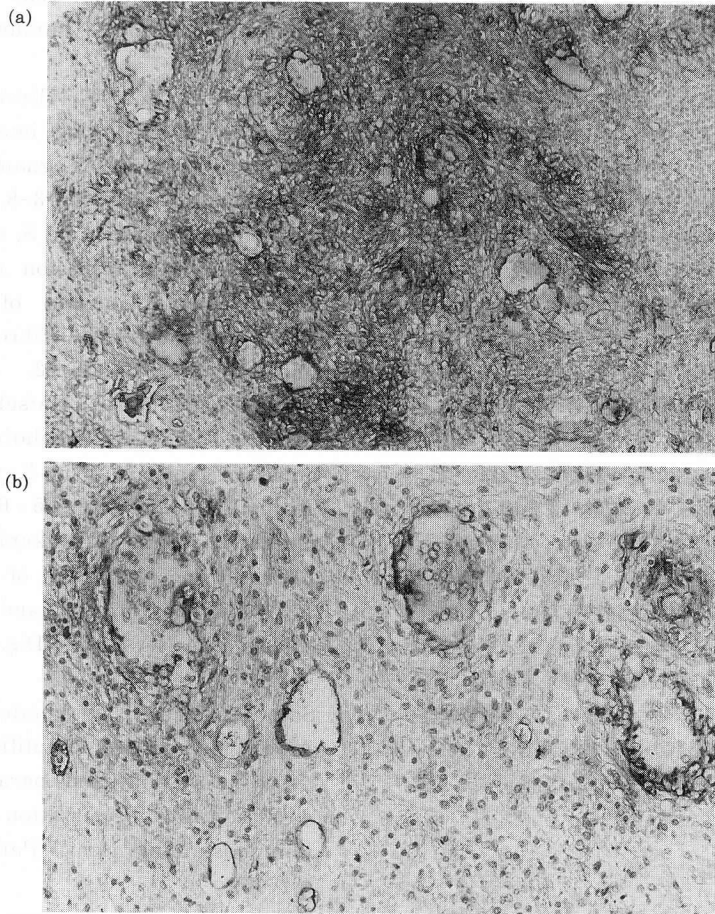


図1 結核肉芽腫における ICAM-1 抗原の発現
 類上皮細胞と巨細胞上に ICAM-1 抗原が強く発現し (a), 血管内皮細胞上にも ICAM-1 抗原の発現を認める (b)。
 倍率 a : 100倍 b : 200倍

結核性肉芽腫においては、ICAM-1 抗原は類上皮細胞と Langerhans 型巨細胞の細胞表面に強く発現しており、周辺の血管内皮細胞上にも ICAM-1 抗原の強い発現が認められた。

考 察

ICAM-1 分子は非炎症状態ではごく一部の限られた細胞にのみ発現を認める接着分子である⁹⁾。しかしながら、TNF- α 、IL-1- β 、IFN- γ 等の炎症性サイトカインにより種々の細胞において ICAM-1 分子の発現増強が認められ²⁾、さらに *in vitro* でも炎症性サイトカインにより可溶性 ICAM-1 抗原が各種細胞より多量に遊離されることが報告されている⁴⁾¹⁰⁾。各種炎症性疾患において ICAM-1 分子は重要な役割を果たすと考えられている。われわれは川崎病⁵⁾ や特発性肺線維症⁶⁾ などの

炎症性疾患において、血中循環 ICAM-1 分子が極めて高値となることを報告し、川崎病においては血中循環 ICAM-1 抗原量が血中 TNF- α 量とよく相関し、血中循環 ICAM-1 抗原は炎症性サイトカインの産生を反映するものと考えられている。

肺結核症における胸部X線像上の空洞の有無およびその程度に基づき、血中循環 ICAM-1 抗原を比較した今回の結果において、広汎空洞型の病型 I 型では、有意に高値となるが、非広汎空洞型の病型 II 型および空洞を認めない病型 III 型では健常対照と比較し有意差を認めなかった。肺結核症の拡がりの程度に関しては、血中循環 ICAM-1 抗原は拡がり 1 と拡がり 2 の肺結核症では正常範囲であったが、拡がり 3 の肺結核症において有意に高値であり、粟粒結核症の血中循環 ICAM-1 抗原は極めて高値であった。非広汎空洞型の病型 II 型の血中循環

ICAM-1 抗原量をさらに検討してみると、ほとんどが正常範囲であるが、広範な病巣の拡がりをもつ一部の例(拡がり3)で高値であった。以上の結果から血中循環 ICAM-1 抗原量は肺結核症において空洞形成の有無にはあまり影響されず、病変の拡がりに相関すると考えられた。

われわれは粟粒結核症や重症肺結核症では血中循環 ICAM-1 抗原が高値であり、血中 IFN- γ や TNF- α が高値であることを報告した⁷⁾。粟粒結核症と拡がり3の肺結核症において、全身の結核病巣において、炎症性サイトカインが過剰に産生され、これらサイトカインにより細胞に ICAM-1 抗原が誘導され、血中へ多量に放出され、血中循環 ICAM-1 抗原量が著明に上昇すると推定される。

今回行った ICAM-1 抗原の免疫組織学的検討では、類上皮細胞と Langerhans 型巨細胞、また周辺の血管内皮細胞にも強い発現が認められ、これらの細胞から可溶性 ICAM-1 抗原が多量に遊離し、広範に結核病巣を有する粟粒結核症や拡がり3の肺結核症においては血中循環 ICAM-1 抗原が高値となると推定されるが、どの細胞が主に可溶性 ICAM-1 抗原を遊離するかは不明である。今後、炎症性サイトカイン刺激による各種細胞表面上への ICAM-1 抗原の誘導能および可溶性 ICAM-1 抗原の遊離能を各種炎症性疾患において検討する必要がある。

文 献

- 1) Springer TA : Adhesion receptors of the immune system. *Nature*. 1990 ; 346 : 425-434.
- 2) Rothlein R, Czajkowski M, O'Neill MM, et al. : Induction of intercellular adhesion molecule-1 on primary and continuous cell lines by proinflammatory cytokines : regulation by pharmacologic agents and neutralizing antibodies. *J Immunol*. 1988 ; 141 : 1665-1669.
- 3) Barton RW, Rothlein R, Ksiazek J, et al. : The effect of anti-intercellular adhesion molecule-1 on phorbol-ester-induced rabbit lung inflammation. *J Immunol*. 1989 ; 143 : 1278-1282.
- 4) Tsujisaki M, Imai K, Hirata H, et al. : Detection of circulating intercellular adhesion molecule-1 in malignant diseases. *Clin Exp Immunol*. 1991 ; 85 : 3-8.
- 5) Shijubo N, Imai K, Aoki S, et al. : Circulating intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) antigen in sera of patients with idiopathic pulmonary fibrosis. *Clin Exp Immunol*. 1992 ; 86 : 58-62.
- 6) Furusawa S, Imai K, Matsubara T, et al. : Increased levels of circulating intercellular adhesion molecule 1 in Kawasaki disease. *Arthritis Rheum*. 1992 ; 35 : 672-677.
- 7) Shijubo N, Imai K, Nakanishi F, et al. : Elevated concentrations of circulating ICAM-1 in far advanced and miliary tuberculosis. *Am Rev Respir Dis*. 1993 ; 148 : 1298-1301.
- 8) Sato Y, Mukai K, Watanabe S, et al. : The AMeX method : a simplified technique of tissue processing and paraffin embedding with improved preservation of antigens for immunostaining. *Am J Pathol*. 1986 ; 125 : 431-435.
- 9) Smith MEF and Thomas JA : Cellular expression of lymphocyte function associated antigens and the intercellular adhesion molecule-1 in normal tissue. *J Clin Pathol*. 1990 ; 43 : 893-900.
- 10) Pigott R, Dillon LP, Hemingway IH, et al. : Soluble forms of E-selection, ICAM-1, VCAM-1 are present in the supernatants of cytokine activated cultured endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 1992 ; 187 : 584-589.