

## 総 説

## 結 核 免 疫 と サ イ ト カ イ ン

露 口 泉 夫

大阪府立羽曳野病院

受付 平成7年2月6日

## IMMUNOLOGY OF TUBERCULOSIS AND CYTOKINES

Izuo TSUYUGUCHI \*

(Received 6 February 1995)

One of the unique features characterizing human tuberculosis (TB) is its pathogenesis. The pathogenesis of TB involves cell-mediated immune responses against *Mycobacterium tuberculosis*. Concisely, macrophages activated by various soluble mediators or cytokines released through the cellular interactions after infection with *M. tuberculosis* play a pivotal role in the pathogenesis of human TB. In fact, very complex cellular interactions are going on within the host after infection with or endogenous reactivation of *M. tuberculosis*. Cells communicate by cell-cell contact and by the release of mediators which may originate locally, called cytokines.

In TB infection, macrophages can be activated by two ways ; directly with mycobacterial organisms or lipid fractions of their cell walls at the earlier phase of infection, and indirectly with cytokines produced by CD4<sup>+</sup> T cells specifically activated by mycobacterial peptide antigens at the later phase of infection. The various clinical features of TB are the summarized outcome of cell to cell interactions mediated by diverse cytokines produced by various immune cells which are initially triggered by *M. tuberculosis* infection.

CD4<sup>+</sup> T cells can be classified into two subsets according to the patterns of cytokines they produce ; Th1 cells give rise to cell-mediated immunity and are characterized by the production of IL-2 and IFN- $\gamma$ , whereas Th2 cells are more efficient in mediating antibody production and secrete IL-4, IL-5, IL-6 and IL-10. Th2 cells can control Th1 cells and vice versa. Th2 cells therefore inhibit the production of cytokines by Th1 cells by releasing IL-4 and IL-10.

Infection with mycobacteria stimulates macrophage IL-12 production which appears to act directly on naive CD4<sup>+</sup> T cells to induce Th1 development and initiation of cell-mediated immunity. IL-12 is a critical component in the development of cell-mediated immunity. In addition, IL-12 also activates NK cells and  $\gamma/\delta$  T cells, both of which secrete various macrophage-activating factors to kill *M. tuberculosis*.

One of the structural characteristics of *M. tuberculosis* is the cell wall rich in lipid components. Of importance among various biological activities of the cell wall lipids is the

---

\* From the Osaka Prefectural Habikino Hospital, 3-7-1, Habikino, Habikino-shi, Osaka 583 Japan.

stimulation of mononuclear phagocytes to produce a certain number of cytokines or monokines including IL-12 and IL-10, both of which play important roles in regulation of immune responses in mycobacterial infection and in pathogenesis of TB. Considering the biological characteristics of mycobacterial lipid components, we need take these lipids into consideration in the future research of TB immunology, particularly in the strategy for development of a potent TB vaccine.

**Kew words :** TB immunology, cytokine, Th1 cell, IL-12

**キーワード :** 結核免疫, サイトカイン, Th1 細胞, IL-12

## 1. はじめに

### サイトカインとは何か—抗体との違い

結核の病態は結核菌を抗原とする遅延型アレルギー反応に基づくものであり、それはTリンパ球とマクロファージを主な反応細胞とする細胞性免疫反応の産物である。通常、免疫・アレルギー反応はその関与する細胞により2つに分けられている。すなわち、B細胞から産生・分泌される免疫グロブリン=抗体による液性免疫・即時型アレルギーと、T細胞とマクロファージが関与する細胞性免疫・遅延型アレルギーである。そして後者の“細胞性”免疫反応においても、細胞同士の接触による直接の反応だけではなく、生物学的活性を有する液性物質が仲介して細胞間の相互反応を担っていることが多い。この液性物質をサイトカイン cytokine と呼ぶ。すなわち、

液性免疫：抗原（病原物質）→B細胞→抗体（免疫グロブリン）→抗原（病原物質）を中和、オプソニン化

細胞性免疫：抗原（病原体）→T細胞→サイトカイン→マクロファージ→抗原（病原体）を殺す

という図式になる。

サイトカインはまた、それを産生する細胞の種類により lymphokine（主としてリンパ球）や monokine（マクロファージ）ともよばれている。抗体（免疫グロブリン）との違いを挙げると、

1. サイトカインは抗原（病原体）とは直接接触して反応はしない。一方、抗体は直接病原体に結合して貪食されやすいように（オプソニン化）作用したり、また、毒素に中和的に作用する。
2. 通常、抗体が有している免疫学的な抗原への結合の特異性はない。抗体分子にみられる構造上での

多様性（抗原との結合部位における）は、サイトカインにはない。

3. 刺激—抗原刺激による以外に、菌体成分による直接作用や、別の細胞からの異なるサイトカインによる刺激—をうけ、活性化された細胞（T細胞、マクロファージ、NK細胞）はサイトカインを産生するが、普通はこのサイトカインは別の細胞（時に自己の細胞）に作用して、そのターゲットとなる細胞が本来有している機能の調節を行っている。したがって、あるサイトカインはある種の細胞にはその機能を高めるように働き、別の細胞には抑制的に働く場合がある。

結核感染の場合の生体での反応を考えると、次に示すようになる。ここでは理解しやすいように2つの反応形式を示したが、殺菌・防御（protection）と病気の成立（inflammation）に関係する細胞とサイトカインには基本的な差はなく、その違いはむしろサイトカインの量的な差に求められることが多いと考えられる。結核における免疫反応が両刃のやいばといわれる由縁である。

結核菌→マクロファージ（APC, 抗原提示細胞）→  
Tリンパ球→マクロファージ活性化因子→  
活性化マクロファージ

→結核菌を殺す（殺菌・防御）  
→類上皮細胞 巨細胞 結核結節 空洞の形成（病気の成立）

となる。結核感染において、生体での免疫反応をより複雑化しているのは、後述するように、抗酸菌体自身が（特異的なT細胞を介することなく）マクロファージに直接作用して、これを活性化させ、かつ、これから種々のサイトカイン（monokine）を放出さす作用を有することであろう。

さて、上記におけるマクロファージ活性化因子は、結核菌とは直接のつながりはなく、直接サイトカインによる殺菌効果がみられることはない。そこで例えば、1968年に Mackness が報告しているように<sup>1)</sup>、あらかじめ BCG を感染させ、感作が成立した (BCG 特異的な T リンパ球が活性化し増加している) 動物に、リステリアを感染させ、同時に BCG をも注射すると、BCG-抗 BCG の免疫系がすばやく作動して、BCG 反応性 T リンパ球からマクロファージ活性化因子が産生分泌され、これにより活性化をうけたマクロファージにより、感染したリステリアが速やかに殺菌されるという、よく知られた実験がある。この場合、その個体にとってはリステリア感染は primary な反応である。一見、BCG がリステリアの感染防御に働いているように見える。BCG 特異的 T 細胞から産生されるサイトカインには、抗原 (この場合 BCG) 特異性はなく、それにより活性化されたマクロファージの殺菌効果も抗原に非特異的である。

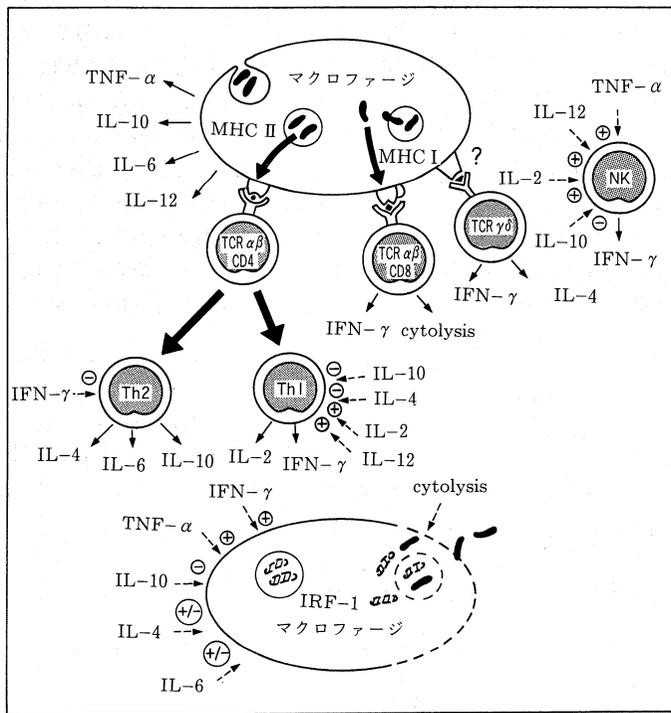
2. 知られている主なサイトカイン

表に主としてマクロファージと T 細胞 (Th1 と Th2) から産生されるサイトカインを表示した。これら種々のサイトカインの中から、特に結核免疫と関係のあるサイ

表 マクロファージと T 細胞が産生するサイトカイン

	産 生 細 胞		
	マクロファージ	Th1	Th2
IL-2	-	+	-
IFN- $\gamma$	-	+	-
TNF- $\beta$	-	+	-
IL-4	-	-	+
IL-5	-	-	+
IL-6	+	-	+
IL-10	+	-	+
IL-3	-	+	+
GM-CSF	+	+	+
TNF- $\alpha$	+	+	+
IL-1	+	-	-
IL-8	+	-	-
TGF- $\beta$	+	-	-
IL-12	+	-	-

トカインを取りあげ、記述する。また、細胞性免疫に関与する細胞とサイトカインについて図示したのが図1で



[文献 2) より改変]

図1 細胞性免疫に関与する細胞とサイトカイン—その産生と作用

ある。

### 3. 結核免疫に関与する細胞

はじめに、結核の病気の成立や免疫に携わる細胞を整理しておきたい。その主な細胞はマクロファージとTリンパ球である。類上皮細胞やラングハンス巨細胞はマクロファージの分化した細胞や融合した細胞である。マクロファージには結核菌抗原に対する特異性はないが、T細胞は特異性を持って反応している。

#### 1) Tリンパ球の分類

Tリンパ球については、いくつかの分類がなされている。

1. その表面抗原の違いにより  $CD4^+$  と  $CD8^+$  Tリンパ球に大きく分類される。これらの表面抗原 ( $CD4$ ,  $CD8$  分子) はマクロファージからの抗原情報の認識と受け渡しに関係している。

一般に  $CD4$  helper/inducer T

$CD8$  cytotoxic/suppressor T

と機能的に分類されている。結核免疫反応に関与するのは主に  $CD4^+$  T細胞と考えられている。 $CD8^+$  T細胞の結核免疫への関与については、十分に明らかにされていないが、マウスにおいては、 $CD8$ 分子をノックアウトし、消去したマウスでは結核感染がおきやすいことから、 $CD8^+$  T細胞も何らかの防御免疫に関係している可能性がある<sup>3)</sup>。 $CD8^+$  T細胞のヒトの結核免疫における役割については、ほとんど解析がなされていない。

2.  $CD4$  helper T細胞は Th1 と Th2 細胞に分類される。

Th1 細胞性免疫反応に関与

Th2 液性免疫反応に関与 (B細胞による抗体産生にヘルパー細胞として働く)

と分けられている。しかしながらこの両者は、 $CD4$  や  $CD8$  のようにはっきりとした細胞表面抗原があって、それらの違いによって分類されるのではなく、その産生するサイトカインの違いによる機能的な分類である。すなわち、Th1細胞は  $IFN-\gamma$  や  $IL-2$  を、Th2細胞は  $IL-4$  や  $IL-10$  を産生するT細胞をいう (表を参照)。どちらをも産生する、より naive なT細胞は Th0 に分類される。Th1 と Th2 細胞間に分化等に関してお互いに移行するかどうかは現在まだわかっていない。

3. T細胞の抗原結合分子 (T cell receptor, TCR) の構造の違いによる分類

マクロファージに取り込まれた抗原物質が、T細胞にその情報を受け渡すときに、抗原が結合するT細胞表面上の受容体、T Cell Receptor (TCR) はその構造より、大きく  $\alpha/\beta$  TCR と  $\gamma/\delta$  TCR の2つの構造分子に分類される。末梢場においては大部分は  $\alpha/\beta$  TCR を有するT細胞 ( $\alpha/\beta$  T) であり、後者の  $\gamma/\delta$  T細胞は数パーセントである。 $\alpha/\beta$  T細胞はまた  $CD4$  か  $CD8$  の表面抗原をもつ。一方、 $\gamma/\delta$  T細胞はその大部分は  $CD4$ ,  $CD8$  どちらも有しない double negative (DN) である。 $CD4$  や  $CD8$  が陽性の  $\gamma/\delta$  T細胞はごく一部分を占めるにすぎない。この  $\gamma/\delta$  T細胞は  $\alpha/\beta$  T細胞に比較し、より primitive なT細胞と考えられている。また動物、ヒトにおいて結核感染の、特に初期防御にこの  $\gamma/\delta$  T細胞が関与しているらしいことがわかってきた。普通、 $CD4$  または  $CD8$  陽性T細胞という時は、 $\alpha/\beta$  T細胞を指している。したがってここでも、 $\gamma/\delta$  T細胞と特に断らない限り  $\alpha/\beta$  T細胞を指す。 $\gamma/\delta$  T細胞も種々のサイトカインを産生している

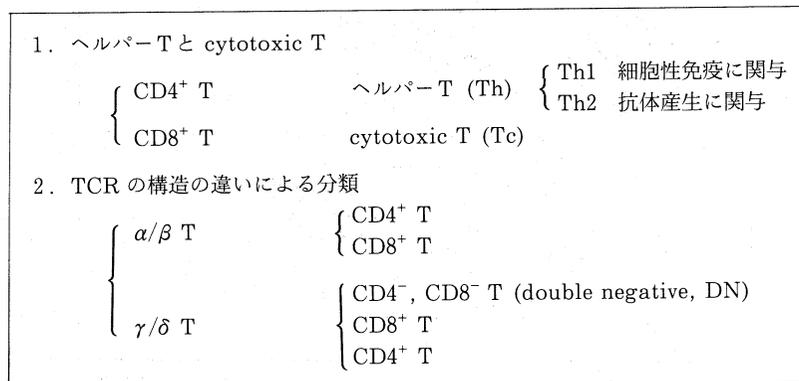


図2 Tリンパ球の分類

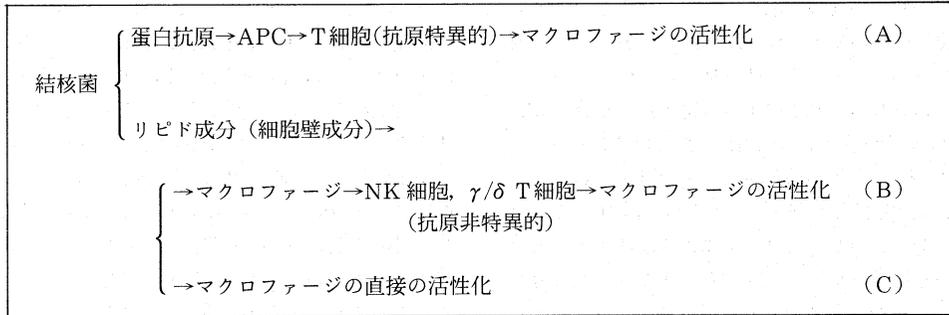


図3 結核菌によるマクロファージの活性化

らしいことが報告されており<sup>4)</sup>,  $\alpha/\beta$  T細胞にみられる Th1, Th2 細胞のように, その産生するサイトカインに違いがあって, 機能上別個なサブタイプの  $\gamma/\delta$  T細胞の存在が報告されているが, まだ確定的ではない。以上, T細胞の分類を図示したのが図2である。

## 2) 結核の病態はアレルギー反応による疾患であるということ

生体における免疫機構の本来の役割は, 侵入してきた病原微生物を排除し, その被害を最小限に食い止めることであろう。そして結核菌のような細胞内寄生菌の感染に対しては, 生体はT細胞とマクロファージを主体とする細胞性免疫をもって対処する。すなわち上述した, 最終的に活性化マクロファージによる殺菌機構である。その間に生体は種々のステップをふんで各種の細胞を動員させ, それぞれのサイトカインを分泌し, 介在させながら, 次々と“有機的”に細胞を活性化させ, 抗菌をめざして協同作業を精力的に行うことになる。一方, その過程において, 過剰なサイトカインが分泌され, 抗菌に関与する細胞が必要以上に活性化される場合がある。その結果, 例えば単球が他の細胞からのサイトカインにより活性化されると, 分裂し分化が進み, マクロファージとなり, それらからさらに過剰なサイトカインが分泌される結果, 類上皮細胞や, 細胞融合によりラングハンス巨細胞が形成される。すなわち結核結節であり, さらには空洞の形成へと進む。結核菌が侵入してきたことに対して, 免疫に関わる個々の細胞レベルでみると, それぞれが, お互いの産生するサイトカインの作用を受けて, 自らの役割をふまえて, 抗菌にむけて最大の働きをしているのであるが, それが生体自らの組織までも破壊していると言った“働きすぎ”が見られることになる。すなわちアレルギーである。このアレルギー反応の結果の産物が結核の病態である。

この結核の場合にみられる“行き過ぎた”反応を考

えた場合, 菌体成分そのものによるマクロファージへの直接作用が大きいことを見のがしてはならない。結核菌の構造上の特徴の一つに, 豊富な脂質を含む細胞壁, cell wall がある。そして, その細胞壁を構成する脂質成分 (lipoarabinomannan, LAM や trehalose-di-mycolate, TDM, cord factor 等) が直接にマクロファージに働いて, その活性化を行っている。上述したように, 結核にあつては, 活性化されたマクロファージの分化・増殖が, 最終的に結核の病像の形成に大きく与する。したがって, このマクロファージの活性化には, T細胞を介した特異的な細胞性免疫反応による経路と, 非特異的な結核菌体によるところの直接的な活性化経路が考えられる。図示すると, 大きく3つの経路が考えられる (図3)。

(A)の反応は抗原(蛋白抗原)特異的なT細胞を介しての活性化であり, (B)と(C)は細胞壁のリポド成分による非特異的なマクロファージの活性化である。これら細胞間の反応は通常, 液性因子を介して行われることになる。それがサイトカインである。

## 3) 結核菌によるマクロファージの活性化

結核を免疫学的な観点からながめた場合, その防御機構ならびに病気の成立のどちらにも関係し, かつ特徴づけているのは, 活性化マクロファージであろう。結核菌が生体に侵入した際の, 宿主免疫の反応系を上記の3つ(A, B, C)に分類したが, それぞれについてより詳しく眺めてみると,

(A) 特異的な免疫反応を経て, T細胞から分泌されるサイトカインを介してのマクロファージの活性化

上述したように, 免疫反応には大きく結核等に見られる細胞性免疫反応系と, 液性抗体産生系とに大別し得る。ヘルパーT細胞としてはそれぞれTh1とTh2が関与している。感染に際して, 生体がこのいずれの免疫系を駆動して抗菌免疫に働くかは, 恐らくはじめに病原菌に遭遇するマクロファージから分泌されるサイトカイン(モ

ノカイン)の種類の違いに求められ、かつ、どのサイトカインを優先的に産生するかは、病原菌の違い(細胞内寄生かどうか等)か、あるいはAPC(マクロファージ)の違いに求められる。回虫のような寄生虫(helminth)感染の場合はTh2系が、結核菌の場合はTh1系が主として活性化される<sup>5)6)</sup>。結核菌感染の場合はマクロファージからIL-12が選択的に産生・分泌される。IL-4はマクロファージからのサイトカインにより活性化された mast細胞や好塩基球から産生される。また寄生虫成分が直接、IgE抗体を介してmast細胞や好塩基球に作用してもIL-4は産生される。最近、 $\gamma/\delta$  T細胞からも、その刺激抗原の違い(*Listeria monocytogenes*, と *Nippostrongylus brasiliensis*)により異なるサイトカイン(IFN- $\gamma$ とIL-4)が産生されるという報告がある<sup>9)</sup>。IL-4によりTh2系が活性化されるとIgE抗体が産生される。結核感染の場合は、マクロファージからは主としてIL-12が分泌されるが、このIL-12により活性化されたNK細胞や $\gamma/\delta$  T細胞からはIFN- $\gamma$ が産生・分泌され、これがTh1系を活性化さす。また、IL-12自体によるTh0→Th1の活性化経路の存在も考えられる<sup>9)</sup>。反応の場がどちらのサイトカインが優位な環境にあるかによって、Th1とTh2の選択がなされるのであろう(図4)。また、これらTh1とTh2から分泌されるサイトカインはお互いに相手のT細胞には調節的に作用している。例えば、巨細胞の形成にはIL-4は抑制的に、IFN- $\gamma$ は促進的に作用している<sup>7)</sup>。

ここで特に、Th1指向性のサイトカインで、マクロファージから分泌されるIL-12を取りあげてみたい。それは結核菌に代表される細胞内寄生菌に対する細胞性免疫におけるこのサイトカインの重要性が、最近クロー

ズアップされてきたからである。IL-12はもともとNKSF(NK cell stimulating factor)<sup>8)</sup>とかIL-2RIF(IL-2 receptor inducing factor)<sup>9)</sup>として、独立して提唱され、その構造等の解析がなされてきた。上述のように、IL-12はNK細胞の活性化のみならず、 $\gamma/\delta$  T細胞や、抗原特異的なT細胞(Th1)系の分化・増殖にも本質的に関与していることが次第にわかってきた。NK細胞、 $\gamma/\delta$  T細胞とTh1タイプの細胞が活性化されると、いずれもIFN- $\gamma$ を産生することが知られている。少なくとも動物実験ではIFN- $\gamma$ により活性化マクロファージが抗結核菌免疫に重要な役割をなしていることが知られている。IL-12がTh1タイプの細胞の誘導に主役をなしていることがTrichieriらのグループより報告された<sup>10)</sup>。即ち、アトピー患者の末梢血リンパ球を*in vitro*でダニ抗原(Der P1)で刺激すると、IL-4産生のTh2クローンが樹立されたが、この際に、IL-12を培養系に共存させておくと、ダニ抗原反応性でありながら、IFN- $\gamma$ 産生性のTh1系のクローンが樹立された。逆に、PPDで刺激すると普通はTh1クローンが樹立されるが、この際に抗IL-12を添加しておくと(内因性のIL-12を除くと考えられる)、IL-4産生性のTh2タイプのクローンを樹立し得た。これらのことから、IL-12の結核免疫における役割を考えると、感染時のNK細胞や $\gamma/\delta$  T細胞による非特異的防御とそれ以降のTh1細胞による特異的防御のどちらにおいても、IL-12は連続して関与し、これらの細胞の活性化を通じて産生・分泌されるIFN- $\gamma$ 等を介してマクロファージが抗菌活性を発揮することになる。

このように結核感染の場合、結核菌体蛋白を抗原とする特異的なTh1系細胞の活性化が、同時に産生される

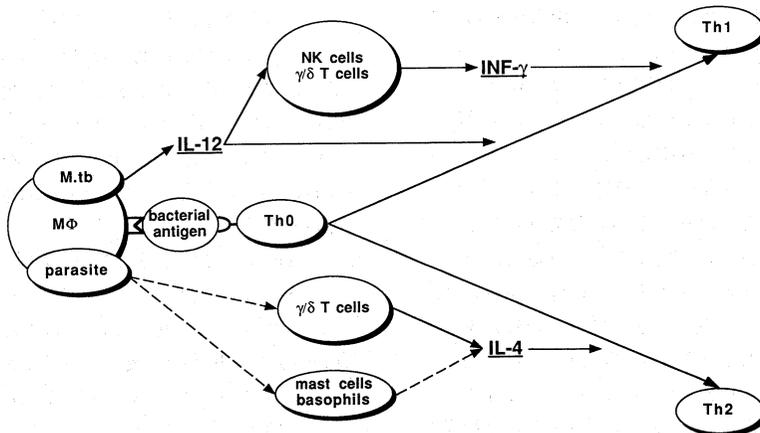


図4 結核菌と寄生虫感染におけるサイトカインとTh細胞の分化

IL-12の共存下に起こる。この特異的に活性化されたTh1細胞からは主にTNF- $\alpha$ とIFN- $\gamma$ が産生され、この2者が主としてマクロファージの活性化に働いている。TNF- $\alpha$ はTh1細胞から産生される以外に、IFN- $\gamma$ で活性化されたマクロファージからも産生され、autocrine的に自らの、またparacrine的に他のマクロファージの活性化をももたらす。このTh1系が最も優位の状態であるのが結核性胸膜炎である。IFN- $\gamma$ とIL-2がmRNAおよび蛋白レベルにおいても強く発現されている。逆に、IL-4のmRNAの発現は弱く、その末梢血リンパ球のサイトカインのパターンとは鏡像の関係にある<sup>11)</sup>。

#### (B) NK細胞と $\gamma/\delta$ T細胞を介しての活性化

NK細胞と $\gamma/\delta$ T細胞(特にCD4<sup>-</sup>, CD8<sup>-</sup>のdouble negative DNの $\gamma/\delta$ T)は、成熟したT細胞( $\alpha/\beta$ T細胞)に比べてよりprimitiveな細胞と考えられる。すなわち、 $\alpha/\beta$ T細胞とは異なり、抗原特異性はなく、抗原の認識におけるMHC(主要組織適合抗原)restrictionもみられない。両細胞ともその活性化はモノカイン特にIL-12を介してもたらされると考えられる。IL-12は上述したように、結核菌体の細胞壁成分により直接活性化されたマクロファージから産生されるサイトカインである。ただし、CD4<sup>+</sup>の $\gamma/\delta$ T細胞の中には、 $\alpha/\beta$ T細胞の場合と同様な機作で、結核菌体蛋白抗原(PPD)に反応するのが見られる<sup>12)</sup>。上述したように、最近、 $\gamma/\delta$ T細胞も*L. monocytogenes*刺激ではIFN- $\gamma$ を、*Nippostrongylus brasiliensis*刺激ではIL-4を産生するという報告がある<sup>4)</sup>。この成績から考えると、感染初期において、 $\gamma/\delta$ T細胞が抗原非特異的にTh1とTh2指向性のサイトカインを早期に分泌することにより、その後のTh1, Th2両細胞による特異免疫への方向性をすばやく設定しているのかもしれない。すなわち、NK細胞と $\gamma/\delta$ T細胞は結核菌感染のあった局所において、特異的な免疫反応を経ることなく直接的に、速やかに活性化される細胞集団である。したがって初期の感染防御を担う細胞であろう。両細胞とも活性化されるとIFN- $\gamma$ を分泌し、マクロファージの活性化を通じて殺菌効果を出す<sup>13)</sup>とともに、特に $\gamma/\delta$ T細胞にあっては、その後のTh1優位の環境づくりに役だっているようである。

#### (C) 結核菌体による直接的なマクロファージの活性化

抗菌素にはその直接作用でサイトカインを産生させる作用があることは上述した。それは大部分細胞壁成分による。リポアラビノマンナン(LAM)はヒトとマウスのマクロファージに働きTNF- $\alpha$ を産生させる<sup>14)</sup>。Takashimaらは結核患者末梢血単球をBCGで刺激するとTNF- $\alpha$ が産生されること、その産生は難治性結

核患者では低下していることを報告している<sup>15)</sup>。また、刺激に用いた菌の毒性により、産生されるサイトカイン量が異なるという興味ある報告がある<sup>16)</sup>。それによれば、病原性のないH37Ra株の結核菌刺激ではマウスのマクロファージから強いTNF- $\alpha$ の産生がみられたが、病原性をもつH37Rv株では非常にわずかのTNF- $\alpha$ しか産生されなかった。H37Rv株が感染し、マクロファージ内で生存し続けられるのは、TNF- $\alpha$ 等抗菌に関係するサイトカインの産生を抑制していることによるのかもしれない。Fujiwaraらはまた、薬剤耐性の臨床分離株の刺激では、薬剤感受性株に比べてIL-10のマクロファージからの産生が優位に勝っていることを報告している<sup>17)</sup>。IL-10はマクロファージからのサイトカインの産生に抑制的に作用することが知られている。

#### 4. マクロファージが産生するサイトカイン

結核菌を貪食したマクロファージからは、種々のサイトカインの分泌が知られている。結核菌自体には恐らくサイトカインの産生能はないと考えられる。しかし一部のウイルスで報告されているように(Viral IL-10)<sup>18)</sup>、貪食というある環境に置かれた場合に、結核菌自体の生存に好都合な活性をもつサイトカイン類似の物質を、菌自らが出している可能性は否定し得ない。

通常、マクロファージは他の細胞から分泌されるサイトカイン(主にTリンパ球、マクロファージおよびNK細胞)により活性化され、サイトカイン(モノカイン)を産生してくる(上述A)。一方、結核菌のような細胞内寄生菌の感染をうけると、それが刺激となり直接マクロファージが活性化されることも知られている(上述B)とC)。この結核菌そのものによる直接的なマクロファージの活性化が、結核感染と他の病原菌感染の場合との違いを特徴づけている。この結核菌体に具わり、マクロファージを活性化させる物質は何であろうか。細胞性免疫反応を惹起させ本来の遅延型アレルギー反応の抗原となり得るのは、菌体中のペプチドであり、ツベルクリンPPDに含まれる物質である。結核菌を特徴づけるものとしては、その細胞壁cell wallがあり、ここには多量の脂質が含まれている。マクロファージに直接作用してこれを活性化させるのも、このリポ成分である。その多くは抗原性を有しない。その成分の一つにコードファクター(Trehalose-di-mycolate, TDM)がある。この物質は通常の免疫反応を経ることなくマクロファージを活性化させ、結核結節を形成させることや<sup>19)</sup>、またIL-12の産生をもたらすことをわれわれは見ている。したがって、このIL-12を介してTh1細胞系や、double negative(DN) $\gamma/\delta$ T細胞、NK細胞の活性化をもたらすことが知られている。かかる結核菌体成分

による直接的な“非特異的”なマクロファージの活性化機構が存在することが、結核の病態の成立における宿主の反応をより複雑にしていると考えられる。

また、この際、直接的な刺激となる抗酸菌の種により、また、その病原性の違いにより、分泌されるサイトカインが異なることが報告されている。例えば上述したように、*M. tuberculosis* の病原性のある H37Rv では TNF- $\alpha$  のみで、病原性のない H37Ra では TNF- $\alpha$  と IL-1 $\beta$  が産生される<sup>16)</sup>。マウスでは BCG 生菌免疫では IFN- $\gamma$  はよく産生されるが、死菌免疫ではほとんど産生能がなかった<sup>20)</sup>。また IL-10 産生能に関しては、薬剤耐性結核菌の刺激では感受性菌の刺激よりもより強い活性の IL-10 が産生された<sup>17)</sup>。このようにして、菌はマクロファージ内での自らの生存に好都合な環境を整えているのであろう。

通常、結核菌の侵入があった場合を考えると、その初期においては上述の菌体による直接作用によりマクロファージは活性化されるであろう。経過とともに特異免疫が成立し、Th1 細胞からの活性化因子により、マクロファージが活性化されると考えられる。いずれの活性化経路をとるにしてもマクロファージ（ここでは mononuclear phagocytes をいう）からはいくつかのモノカインが産生、分泌される。マクロファージから産生されるサイトカインとしては、IL-1, IL-8, IL-10, IL-12, TNF, GM-CSF がある。これらの働きのひとつはリンパ球や単球を局所に集積させ炎症反応に関与する。TNF と GM-CSF はまたマクロファージに直接作用してその殺菌効果の増強に関与している。一方、行き過ぎた炎症反応の抑制には IL-10 や TGF- $\beta$  のような調節作用を有するサイトカインがマクロファージから出て、炎症反応を抑え、組織の破壊の増大を抑制しているのであろう<sup>21)</sup>。

IL-1 はマクロファージ由来の最もよく知られたサイトカインである。結核の場合の発熱の原因物質のひとつである。この IL-1 に関して Fujiwara らは結核患者では健康人に比し、その産生が亢進していることを報告している<sup>22)</sup>。また、これら結核患者の PBMC では *in vitro* でのリンパ球幼若化反応が低下しており、それが IL-1 産生と平行していることを見ている。IL-1 はマウスの系では Th2 細胞の活性化に補助的に作用することが知られている<sup>23)</sup>。Th1 タイプの細胞に対してはそのような作用がない。そこで、Th2 細胞の活性化の結果としての IL-4 と IL-10 の産生を介して、IL-1 は間接的に Th1 系細胞に抑制作用をもたらしているであろうか。IL-4 と IL-10 は Th2 系には促進的に働くが、逆に、Th1 系には抑制的に作用するサイトカインである。

TNF- $\alpha$  は IL-1 $\beta$  とともに結核菌の直接作用によっても産生されるサイトカインである。マクロファージは結核菌の細胞壁成分である LAM 刺激に対して、すばやくこの TNF- $\alpha$  を産生し、T細胞由来の IFN- $\gamma$  とともに初期の防御に関係しているらしい<sup>24)</sup>。この際、病原性のある H37Rv からの LAM 刺激では非病原性の H37Ra 株からの LAM 刺激よりも 100 分の 1 の TNF- $\alpha$  産生能しかないという。H37Rv 株ではこのように宿主細胞からの killing 効果をブロックすることにより、自らの細胞内寄生を有利にしているのかもしれない。結核菌やらい菌由来の LAM はまた T細胞からの IFN- $\gamma$  によるマクロファージの活性化をもブロックすることがいわれている<sup>25)</sup>。殺菌機構からのエスケープ機構のひとつであろう。

結核結節形成に関与するサイトカインは IL-1 $\beta$  と TNF- $\alpha$  である<sup>26)</sup>。上述したように、難治性結核患者からの単球は TNF- $\alpha$  の産生が低下していることが報告されている<sup>15)</sup>。結核の場合の結節 granuloma の形成は抗菌過程の一つとしてとらえ得る。そこに TNF- $\alpha$  が関与している。結核の場合の炎症に TNF- $\alpha$  の関与が大である。一方、サリドマイドは TNF- $\alpha$  の作用に m-RNA のレベルで抑制的に作用することが知られている薬剤である<sup>27)</sup>。そこで、Kaplan らのグループは実際に結核の患者にサリドマイドを投与することにより、発熱や体重減少等の症状が消失したことを報告している<sup>28)</sup>。IL-12 の重要性については上述した。

## 5. 結核の病像形成とサイトカイン

結核の組織像を特徴づけているのは、結核結節と空洞の形成である。細胞レベルでみると、類上皮細胞、多核巨細胞 (Langhans' giant cell) と、その間にあって多数のリンパ球や白血球の浸潤よりなる。通常、結核結節 granuloma の形成は、マクロファージ内の結核菌が残存するために、常に抗原刺激がもたらされることによる。組織学的な特徴は類上皮細胞 (epithelioid cell) の形成である。菌体刺激により Tリンパ球が特異的に活性化されると、種々のサイトカイン (IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-3, IL-6 等) が産生・分泌され、これらの作用により、マクロファージが活性化されると類上皮細胞へと分化すると考えられている。すなわち細胞の形は大きくなり、endoplasmic reticulum が増加しているのが電顕で確認できる。さらに分化が進むと互いに融合 (fusion) が起こり、giant cell が形成される。これらの類上皮細胞や巨細胞により granuloma 結核結節が形成されるが、この結節 granuloma 形成に重要な役割をなすのが TNF- $\alpha$  である。一方、抗 TNF- $\alpha$  抗体処理マウス<sup>26)</sup> や IFN- $\gamma$  ノックアウト・マウス<sup>29)30)</sup> では、結核

菌感染に対する防御免疫が不十分である。

Takashima らは *in vitro* で、末梢血中の単球を用いて典型的な巨細胞の形成に成功している<sup>7)</sup>。少量の ConA で刺激した単球を IFN- $\gamma$  存在下で培養すると、やがて細胞の融合が起こり多核巨細胞となる。この単球からの多核巨細胞の形成にあつて、IFN- $\gamma$  は促進的に、一方、IL-4 は抑制的に作用した。ここでも結核にあつては Th1 細胞が優位であり、Th2 細胞からのサイトカインである IL-4 は結核の病像の成立にはむしろ抑制的に働いていることがわかる。

結核性胸膜炎はヒトにおける結核病像の一つのタイプである。胸痛や発熱、血沈の促進等は胸膜局所における炎症反応が活発に進行していることを示している。Th1 系が優位の反応である。TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$  や IL-2 等のサイトカイン活性の上昇と、これら mRNA レベルの活性が確かめられている。逆に IL-4 の mRNA の発現は弱い。IL-12 活性も胸水中に上昇している<sup>11)</sup>。結核菌 (PPD) 特異的 Th1 細胞の胸水局所への濃縮された反応と考えられる。一方、末梢血中では逆にこれら特異的 T リンパ球の相対的な減少がみられる<sup>31)</sup>。胸水中と末梢血中でのサイトカインのパターンは鏡像の関係にある。一方、粟粒結核では Th1 系は低く、IL-4、IL-10、TNF- $\beta$  等の Th2 系のサイトカインが優位となり、Th1 系に対して抑制的に働き、その結果エネルギー状態をもたらしている<sup>32)</sup>。この場合、Th2 系がなぜ優位になっているかは不明である。抗原量 (菌数) が多いことが関係しているのかもしれない。岩崎はらいにおけると同様の免疫学的なスペクトルが結核においても描けるのではないかと考え独自のスペクトルを提案している<sup>33)</sup>。結核は胸部レントゲン像上でも多彩な像を呈する。宿主の免疫機能や菌の多寡により、反応の結果局所に分泌されるサイトカインの種類と活性の強さが恐らく臨床と病理所見の違いとなって表れるのであろう。

## 6. 結核の抗菌免疫とサイトカイン

結核の病像の形成も抗菌免疫も、どちらも最終的には活性化されたマクロファージが主役をなしているらしいことはわかっている。恐らく、抗菌免疫への反応の過程が組織の破壊や結核結節の形成への過程をたどるのであろう。宿主は恐らくこの相反するかもしれない結果をもたらすことを認識してはいないだろう。同種類の細胞が同じサイトカインを使いながら、結核菌を殺し、排除するために反応しているのであろう。そこに過剰なサイトカインの産生や関与するサイトカイン種のパターンの違いが、病気の成立への途を選ばせる結果となったのであろう。したがって、抗菌にむけてのマクロファージの活性化に働くサイトカインは、上述の結核病像の形成の際

に働くサイトカインと恐らく同じと考えられる。

マウスでは T 細胞や NK 細胞からの IFN- $\gamma$  と TNF- $\alpha$  がマクロファージの活性化に関与し、NO を分泌させ殺菌に働くと考えられている<sup>34)</sup>。これがヒトの場合にも働いているかどうかはまだ不明である。マクロファージから産生される物質による殺菌ではなくて、活性化された T リンパ球や NK 細胞が直接、結核菌を貪食したマクロファージに cytolytic に働くことが抗結核免疫機構であるとも考えられている。しかしながら、特にヒトの系で、*in vivo* で同様な機構が殺菌に働いているかどうかはわかっていない。

## 7. おわりに

ここではあえて結核免疫を、防御免疫 (protection) と病気の成立 (inflammation) にわけて記述しなかった。基本的には恐らく同じタイプの細胞による反応と考えられるからである。関与するサイトカインの量、換言すれば、関与するいくつかのサイトカインの量的パターンの違いにより、より protective の相をもたらしたり、より inflammatory の相を強めたりしているのであろう。それが病理と臨床像の違いとなって表されるのであろう。今のところ、その両相、特に protective な相を特徴づけるサイトカインの量的パターンがはっきりとはしていない。

結核研究の最終目標は言うまでもなく、いかに結核の撲滅をもたらすかの方策の探求であり、具体的には感染・発病の予防と、既存の薬剤耐性結核への対策であろう。この2つを免疫学の立場から言いかえてみると、1) ワクチンの開発と2) 免疫治療である。結核のワクチンについて言えば、長年にわたり BCG がひろく使われてきておりながら、その効果に関してこれほど論争されてきたワクチンはない。なぜ生菌でなければならないのかさえ、まだ解明されてはいないのである。

さて、結核のワクチンを考えた場合、われわれは今まであまりにも蛋白抗原のみを、その候補として追い求めてきたのではなかったか。菌体から種々の HSP (Heat Shock Protein) が見つかりクローニングされ、精製された状態でわれわれの手にいったとき、われわれは、その中にかそ最適の結核ワクチンが存在するのではないかと夢見た。しかしながら、それらクローニングされた 10 kD、30 kD のペプチドは単に結核患者の末梢血リンパ球の分裂幼若化反応を起こさせるに最も強い inducer であることがわかったが、*in vivo* において、また動物実験において、それらが防御抗原として最適であるとは、未だ積極的にこれを支持する結果を得られずにいる<sup>35)</sup>。マウスにおいて、防御免疫ワクチンとして効果を持つが、その投与は一方では病像の悪化をもたらすのである。こ

こでも Koch のジレンマからわれわれは抜け出せずにいる。

結核予防の方策を考えてみると、われわれはここで視点を菌体蛋白から脂質に変えて見直してみるべきであろうか。上述したように、細胞壁中のリピド成分がマクロファージに作用して、これを活性化し、抗菌と発病のいずれにも重要なサイトカインを出していることがわかってきた。サイトカイン側から見た場合、局所の環境を、少なくとも Th1 優位に保つということであろうか。IL-12, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  等のサイトカインを量的に多く出させ、しかしながら、結核蛋白特異的な T 細胞の活性化は最小限にしておくのがよいのかもしれない。結核の防御免疫とその細胞壁成分の役割に関しては、約 25 年前に既に Ribi らのグループがマウスを使って報告している<sup>36)</sup>。それによると、BCG 菌体の細胞壁成分のみをオイルとともにマウスに静脈注射すると、H37Rv 結核菌感染に対する強い防御免疫が付与されたという。この細胞壁には恐らく蛋白成分は含まれていなかったであろう。オイルとともに注射することにより肺の局所において、細胞壁成分の刺激によるモノカインが持続して分泌されたことが、抗菌免疫効果をもたらしたと考えられる。Th1 優位の状態を維持するためには、蛋白抗原は少ない方がよいかもしれない<sup>37)</sup>。

これらの点から考えると、最近、一部の地域で試みられている *M. vaccae* を用いたワクチンの研究にもその意義を見いだすことが出来るかもしれない<sup>38)39)</sup>。すなわち、*M. vaccae* は結核菌とはほとんど蛋白抗原レベルでは交差性がないが、その細胞壁成分による直接的なサイトカイン産生能は充分保持していると考えられる。すなわち、protective な相のみを残すことが可能ではないかと。実際にツベルクリン反応とその防御能との関連を調べた報告がある<sup>40)</sup>。それによると、ツベルクリン陰性ではもちろん防御能がないが、強陽性のグループではかえって発病者が多かったという。中等度の反応のグループに最も発病率が低かったという。縦軸に結核発病率を、横軸にツベルクリン反応の大きさをとった場合、その関係はしたがって J-shape の関係であったという。ツベルクリン反応があまり強くない時のサイトカイン・パターンの場合に、防御能が最もよいのであろうか。そのサイトカイン・パターンを見きわめる必要がある。

最近、ミコール酸が通常の菌体抗原の一つとして働き、結核菌に反応性の T 細胞クローンを特異的に刺激することが報告された<sup>41)</sup>。この場合、MHC Class I や II の restriction はないが、CD1 分子が関与して抗原の受け渡しに働いたという。いずれにしても、これからの結核研究の場において、特にワクチン開発戦略の際に、この抗酸菌中に大量に含まれる脂質成分の重要性を考慮す

る必要がある。

## 文 献

- 1) Mackaness GB : The immunology of anti-tuberculous immunity. *Amer Rev Respir Dis.* 1968 ; 97 : 337-344.
- 2) Kaufmann SHE and Ladel CH : Application of knockout mice to the experimental analysis of infections with bacteria and protozoa. *Trends in Microbiology.* 1994 ; 2 : 235-241.
- 3) Flynn JL, Goldstein MA, Treibold KJ, et al. : Major histocompatibility complex class I-restricted T cells are required for resistance to *Mycobacterium tuberculosis* infection. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1992 ; 89 : 12013-12017.
- 4) Ferrick DA, Schrenzel MD, Mulvania T, et al. : Differential production of interferon- $\gamma$  and interleukin-4 in response to Th1- and Th2-stimulating pathogens by  $\gamma\delta$  T cells *in vivo*. *Nature.* 1995 ; 373 : 255-257.
- 5) Scott P. : IL-12 : Initiation cytokine for cell-mediated immunity. *Science.* 1993 ; 260 : 496-497.
- 6) Hsieh CS, Macatonia SE, Tripp CS, et al. : Development of Th1 CD4<sup>+</sup> T cells through IL-12 produced by *Listeria*-induced macrophages. *Science.* 1993 ; 260 : 547-549.
- 7) Takashima T, Ohnishi K, Tsuyuguchi I and Kishimoto S : Differential regulation of formation of multinucleated giant cells from concanavalin A-stimulated human blood monocytes by IFN- $\gamma$  and IL-4. *J Immunol.* 1993 ; 150 : 3002-3010.
- 8) Kobayashi M, Fitz L, Ryan M et al. : Identification and characterization of natural killer cell stimulatory factor (NK SF), a cytokine with multiple biological effects on human lymphocytes. *J Exp Med.* 1989 ; 170 : 827-845.
- 9) Kato T, Inoue T, Yamamoto K, et al. : Induction of IL-2 receptor expression and proliferation of T cell clones by a novel cytokine (s). *Cellul Immunol.* 1992 ; 142 : 79-93.
- 10) Manetti R, Parronchi P, Giudizi MG, et al. :

- Natural killer cell stimulatory factor (Interleukin 12 [IL-12]) induces T helper type 1 (Th1)-specific immune responses and inhibits the development of IL-4-producing Th cells. *J Exp Med.* 1993 ; 177 : 1199-1204.
- 11) Barnes PF, Lu S, Abrams JS, et al. : Cytokine production at the site of disease in human tuberculosis. *Inf Immun.* 1993 ; 61 : 3482-3489.
  - 12) Ueta C, Tsuyuguchi I, Kawasumi H, et al. : Increase of  $\gamma/\delta$  T cells in hospital workers who are in close contact with TB patients. *Inf. Immun.* 1994 ; 62 : 5434-5441.
  - 13) Barnes PF, Abrams JS, Lu S, et al. : Patterns of cytokine production by mycobacterium-reactive human T cell clones. *Inf. Immun.* 1993 ; 61 : 197-203.
  - 14) Moreno C, Taverne J, Mehlert A, et al. : Lipoarabinomannan from *Mycobacterium tuberculosis* induces the production of tumour necrosis factor from human and murine macrophages. *Clin Exp Immunol.* 1989 ; 76 : 240-245.
  - 15) Takashima T, Ueta C, Tsuyuguchi I and Kishimoto S : Production of tumor necrosis factor by monocytes from patients with pulmonary tuberculosis. *Inf. Immun.* 1990 ; 58 : 3286-3292.
  - 16) Chatterjee D, Roberts AD, Lowell K, et al. : Structural basis of capacity of lipoarabinomannan to induce secretion of tumor necrosis factor. *Inf. Immun.* 1992 ; 60 : 1249-1253.
  - 17) Fujiwara H, Aotani T and Tsuyuguchi I : Increased production of interleukin-10 by human blood mononuclear cells stimulated with multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis*. *Proceeding of 29th US-Japan Tuberculosis Research Conference, Kyoto, 1994, page 75.*
  - 18) Moore KW, Vieira P, Fiorentino DF, et al. : Homology of cytokine synthesis inhibitory factor (IL-10) to the Epstein Barr virus gene BCRF1. *Science.* 1990 ; 248 : 1230-1234.
  - 19) Yano I, Tomiyasu I, Kaneda I, et al. : Isolation of mycolic acid-containing glycolipids in *Nocardia rubra* and their granuloma forming activity in mice. *J Pharmacobio-Dyn.* 1987 ; 10 : 113-123.
  - 20) Kawamura I, Tsukada H, Yoshikawa H, et al. : IFN- $\gamma$ -producing ability as a possible marker for the protective T cells against *Mycobacterium bovis* BCG in mice. *J Immunol.* 1992 ; 148 : 2887-2893.
  - 21) Barnes PF, Lu PFS, Abrams JS, et al. : Cytokine production at the site of disease in human tuberculosis. *Infect. Immun.* 1993 ; 61 : 3482-3489.
  - 22) Fujiwara H, Kleinhenz ME, Wallis RS and Ellner JJ. : Increased interleukin-1 production and monocyte suppressor cell activity associated with human tuberculosis. *Amer Rev Respir Dis.* 1986 ; 133 : 73-77.
  - 23) Taira S, Kato T, Yamamoto K, et al. : Differential requirement for humoral factors for IL-2R expression of murine T cell subsets, Th1, Th2, and CD8 Th clones. *Cell. Immunol.* 1993 ; 147 : 41-50.
  - 24) Adams LB, Fukutomi Y and Krahenbuhl J L. : Regulation of murine macrophage effector functions by lipoarabinomannan from mycobacterial strains with different degrees of virulence. *Inf. Immun.* 1993 ; 61 : 4173-4181.
  - 25) Roach TIA, Barton CH, Chatterjee D and Blackwell JM : Macrophage activation : Lipoarabinomannan from avirulent and virulent strains of *Mycobacterium tuberculosis* differentially induces the early genes *c-fos*, *KC*, *JE*, and tumor necrosis factor- $\alpha$ . *J Immunol.* 1993 ; 150 : 1886-1896.
  - 26) Kindler V, Sappino A.-P, Grau GE, et al. : The inducing role of tumor necrosis factor in the development of bacterial granulomas during BCG infection. *Cell.* 1989 ; 56 : 731-740.
  - 27) Moreira AL, Sampairo EP, Zmuidzinis A, et al. : Thalidomide exerts its inhibitory action on tumor necrosis factor  $\alpha$  by enhancing mRNA degradation. *J Exp Med.* 1993 ; 177 : 1675-1680.
  - 28) Tramontana J, Utaipat U, Molloy A, et al. : Thalidomide treatment enhances weight gain in patients with pulmonary tuberculosis.

- Proceeding of 29th US-Japan tuberculosis Research Conference. 1994, page-42.
- 29) Cooper AM, Dalton DK, Stewart TA, et al. : Disseminated tuberculosis in interferon- $\gamma$  gene-disrupted mice. *J Exp Med*. 1993 ; 178 : 2242-2248.
- 30) Flynn JL, Chan J, Triebold KJ, et al. : An essential role for IFN- $\gamma$  in resistance to *Mycobacterium tuberculosis* infection. *J Exp Med*. 1993 ; 178 : 2249-2254.
- 31) Fujiwara H and Tsuyuguchi I : Frequency of tuberculin-reactive T-lymphocytes in pleural fluid and blood from patients with tuberculous pleurisy. *Chest*. 1986 ; 89 : 530-532.
- 32) Barnes PF, Modlin RL and Ellner JJ : T-cell responses and cytokines. in *Tuberculosis* edited by Bloom B. R. ASM Press Washington, DC. 1994.
- 33) 岩崎龍郎 : 新・結核の病理—その新しい展開を期待して—. 結核予防会, 1994.
- 34) Chan IR, Xing Y, Magliozzo RS and Bloom BR : Killing of virulent *Mycobacterium tuberculosis* by reactive nitrogen intermediates produced by activated murine macrophages. *J Exp Med*. 1992 ; 175 : 1111-1122.
- 35) Barnes PF, Mehra V, Rivoire B, et al. : Immunoreactivity of a 10-kDa antigen of *Mycobacterium tuberculosis*. *J Immunol*. 1992 ; 148 : 1835-1840.
- 36) Anacker RL, Barclay WR, Brehmer W, et al. : Effectiveness of cell walls of *Mycobacterium Bovis* strain BCG administered by various routes and in different adjuvant in protecting mice against airborne infection with *Mycobacterium tuberculosis* strain H37Rv. *Am Rev Respir Dis*. 1969 ; 99 : 242-248.
- 37) Bretscher PA : A strategy to improve the efficacy of vaccination against tuberculosis and leprosy. *Immunology Today*. 1992 ; 13 : 342-345.
- 38) Rook GAW, Onyebujoh P, Wilkins E, et al. : A longitudinal study of % agalactosyl IgG in tuberculosis patients receiving chemotherapy, with or without immunotherapy. *Immunology*. 1994 ; 81 : 149-154.
- 39) Pozniak A, Stanford JL and Grange JM : *Mycobacterium vaccae* immunotherapy. *Lancet*. 1991 ; 338 : 1533-1534.
- 40) Fine PEM, Sterne JAC, Ponnighaus JM, et al. : Delayed-type hypersensitivity, mycobacterial vaccines and protective immunity. *Lancet*. 1994 ; 344 : 1245-1249.
- 41) Beckman EM, Porcelli SA, Morita CT, et al. : Recognition of a lipid antigen by CD1-restricted  $\alpha\beta^+$  T cells. *Nature*. 1994 ; 372 : 691-694.