

第72回総会シンポジウム

I. 免疫学は結核症の予防と治療にどこまで寄与できるか

座長 吉田 彪 (中外製薬株式会社)
露 口 泉 夫 (大阪府立羽曳野病院)

The 72nd Annual Meeting Symposium

I. THE EXTENT OF CONTRIBUTION MADE BY IMMUNOLOGY TO THE
PREVENTION AND TREATMENT OF TUBERCULOSIS

Chairpersons : Takeshi YOSHIDA *
Izuo TSUYUGUCHI **

Symposium Topics and Presenters :

1. Mechanisms of host defense and granulomatous inflammation in acid-fast bacilli Infection : Kazuo KOBAYASHI (Leprosy Res. Ctr., Ntnl. Inst. Infec. Dis.)
2. Induction and function of Th1 cells as the effector cells in anti-tuberculosis immunity : Masao MITSUYAMA (Niigata Univ. Sch. Med.)
3. Role of γ/δ cells in tuberculous infection : Chisato UETA (Osaka Prefectural Habikino Hospital)
4. Role of immune responses in tuberculosis : Discussion from clinical observations : Katsuhiko SUZUKI (Chest Dis. Res. Inst., Kyoto Univ.)
5. Merit and demerit of cytokines in the prevention and treatment of tuberculosis : Kazuyoshi KAWAKAMI (Ryukyu Univ. Sch. Med.)

Tuberculosis is considered in general a chronic infectious disease caused by *Mycobacterium tuberculosis*. However, major pathological lesions of the disease are induced by host immune responses to tubercle bacilli. In most other infectious diseases, the interaction between invading pathological organisms and host defense mechanism would determine the outcome of the invasion; whether or not the onset of illness does follow the infection. In tuberculosis, however, this pattern of the pathogenesis is not necessarily followed. In fact, a highly immunogenic epitope from tubercle bacilli does not necessarily represent the best candidate of the effective vaccines for tuberculosis. Thus, this symposium was now organized when the detailed immune responses in human tuberculosis have not yet been revealed completely. In other words, our aim of the symposium is to understand how much the studies on tuberculous immunity have revealed the host defense mechanisms against tuberculosis.

We have asked both Drs. Kobayashi and Mitsuyama to present their views to what extent we could extrapolate the data obtained from *in vitro* and *in vivo* studies on murine experimental infection with acid-fast bacilli for future prevention and treatment

別刷り請求先：
吉田 彪
中外製薬株式会社
〒104 東京都中央区京橋 2-1-9

* From the Chugai Pharmaceutical co. Ltd., 2-1-9 Kyo-bashi, Chuoku, Tokyo 104 Japan.

** From the Osaka Prefectural Habikino Hospital, Habikino-shi, Osaka 583 Japan.
(Received 10 Sep. 1997)

of the tuberculosis in man. Firstly, Dr. Kobayashi presented the data indicating that murine strain susceptible to MAC infection are not capable of generating IL12 and also that the death due to MAC infection can be prevented by administration of exogenous IL12 to these susceptible mice. In discussion for the implication of these data, he has suggested that the future challenge in establishing anti-tuberculous immunotherapies with IL12 would be how to control the organ damages induced by such treatment.

Dr. Mitsuyama has shown that NK cell-dependent IFN- γ appeared to be critically important in the generation of antigen-specific (protective) TH1 cells at the early stage of immune response to viable virulent bacteria. Several cytokines such as IL12 and IL18 released from macrophages seem to be essential in the stimulation of NK cells to produce IFN- γ . He strongly suggested that these experimental findings should be confirmed by studies in man using human clinical samples.

Next, Dr. Ueta reported that among subpopulations of T cells the activated γ/δ T cells were increased in tuberculin-test positive workers at TB ward who were close contact with patients with active tuberculosis. In contrast, healthy noncontracts who were not exposed to tuberculosis showed a normal range of γ/δ T cells, and patients with active pulmonary tuberculosis also had low levels of γ/δ T cells. Dr. Ueta suggested that γ/δ T cells might participate in the immune surveillance of tuberculous infections in man.

Dr. Suzuki has reported that the aggravation of clinical signs and symptoms was observed often during the first 1-3 months after the initiation of chemotherapies including rifampicin (initial exacerbation), while tubercle bacilli in sputum decreased in number or even disappeared completely. Case studies have indicated that such exacerbation may have been induced through an allergic and/or immune reaction evoked by numerous tubercle bacilli killed abruptly by strong chemotherapeutic agents. Furthermore, the reduction of the anti-bacterial activity of INH and RFP in activated macrophages might suggest practical problems faced by combination therapies with cytokines and chemotherapeutic agents.

Finally, Dr. Kawakami has argued that major targets of the cytokine therapy may be the patients who do not respond to chemotherapies, quoting the reported cases of successful treatment of these patients with IFN- γ . Discussing his own experience of a patient treated not successfully with IFN- γ and Vitamin D₃, however, Dr. Kawakami stated the merit and demerit of cytokine therapy in tuberculosis, and suggested various problems which such treatment might be facing at the present time.

As discussed in the present Symposium, it is evident that immunotherapeutic approaches to tuberculosis based on the currently available immunologic information are still confronted with various problems and hurdles, though certainly they have opened a number of novel approaches for the future prevention and treatment of tuberculosis. It may be fair to say, however, that rapidly accumulating immunological information of experimental tuberculosis such as in mouse has certainly provided us with ways and tools for more sophisticated studies on human tuberculosis in more accelerated manner than ever.

Key words : Tuberculous immunity, MAC infection, IL12, IFN- γ , γ/δ T cells, Chemotherapy, Vitamin D₃, Cytokine therapy, Granulomatous inflammation

キーワードズ : 結核免疫, MAC 感染, IL12, IFN- γ , γ/δ T 細胞, 化学療法, Vitamin D₃, サイトカイン療法, 肉芽腫炎症

シンポジスト

1. 抗酸菌感染症における生体防御と肉芽腫炎症機構
小林 和夫 (国立感染症・ハンセン病研究センター・病原微生物)
2. 抗結核防御免疫のエフェクター細胞としての Th1 細胞の誘導と機能発現
光山 正雄 (新潟大・医・細菌)
3. 結核菌感染と γ/δ T 細胞
上田 千里 (大阪府立羽曳野病院)
4. 結核における免疫の役割 —臨床像からの考察—
鈴木 克洋 (京都大学胸部疾患研感染・炎症学)
5. 結核症の治療と予防におけるサイトカインの有用性と問題点
川上 和義 (琉球大学第一内科)

結核は *Mycobacterium tuberculosis* を起炎菌とする慢性の感染症であるが、その主たる病態は、結核菌に対する宿主の免疫応答に起因するものと理解される。一般の感染症にあつては、侵入した病原微生物と宿主免疫能というその両者のバランスによって、発病するかどうか決定されるが、この図式は結核にあつては必ずしも当てはまらない。このことは結核ワクチンの開発においても言えることで、免疫原性の最も高いエピトープが必ずしも最も良いワクチン候補とはなり得ない。このように、特にヒトの結核症において、生体内でいかなる免疫反応が起こっているかが十分には解明されていない今の段階において、あえて標記のタイトルのもとに本シンポジウムが企画された。逆に言えば、このシンポジウムを通じて、ヒトの結核免疫の研究が結核症の防御機構をどこまで解明しているかを知らうとしたのである。

小林、光山の両博士には、マウスを用いた実験的抗酸菌感染症において、*in vivo* および *in vitro* における解析から、マウスの系がどこまでヒトの結核症に迫り得るかを、将来の予防と治療を見据えながら発表をしていただいた。まず小林博士は MAC 感染死を起こしやすい感受性マウスが IL-12 発現不全であることを見出し、IL-12 を補充することによってその感染死を防ぐことが出来ることを示した。このことから、TH1 サイトカイン IL-12 によるマウス MAC 感染の治療の意義について論じ、感染防御効果と同時に IL-12 投与で発現する臓器障害をいかにコントロールするかが、将来の結核免疫療法の課題であると指摘した。

光山博士は、リステリアや BCG による生菌免疫と死菌免疫では NK 細胞からの IFN γ の発現の仕方が違うことから、IL-12 や IL-18 などの刺激によって NK 細胞から IFN γ が効率よく発現する生菌免疫では感染抵抗性を担う Th1 細胞が誘導されやすいと論じた。このよ

うなマウスの系がどれだけヒトへ外挿できるかを臨床検体で検討する必要があると主張した。

次に上田博士は、結核感染の初期防御に関与するとされる γ/δ T 細胞について、健康な結核病棟勤務者や排菌陽性肺結核患者と接する機会の多いツベルクリン反応陽性者では活性化された γ/δ T 細胞が増加しており、一般病棟勤務者や肺結核患者ではこれが低値であることから、 γ/δ T 細胞が結核菌感染より発病にいたる過程において感染防御に働いていると推察した。

鈴木博士は、RFP を含む治療で喀痰中の結核菌が減少ないし消失していくにもかかわらず治療開始 1-3 カ月頃临床上悪化する (初期悪化) 現象がみられる。症例検討の結果から初期悪化は重症結核で強力な化学療法によって急激に死滅した大量の結核菌体に対するアレルギー・免疫反応として生ずると考えられる。また、活性化されたマクロファージの中では INH や RFP の抗菌作用が減弱することから、サイトカイン療法と化学療法の併用における問題点を指摘した。

最後に川上博士は、サイトカイン療法の重要なターゲットとして化学療法に抵抗性の難治化症例をとりあげ、IFN γ 投与による臨床後の改善報告について触れるとともに、このような患者の一人に IFN γ と VD $_3$ による治療を試みた無効例についても論じ、ここでもまた、サイトカイン療法の功罪と課題が論じられた。

以上のごとく、免疫学による最新の知見に基づいた結核の予防や治療法の検討は急速に将来への明るい展望を見せてはいるものの、現状ではまだ多くの課題を抱えていることが明らかである。しかしながら、ことにマウス等実験動物モデルで相当詳細に判明してきた結核免疫の知見を、ヒト結核症の研究へと今後加速度的に応用していくだけの手段をすでに免疫学は提供しているのではなかろうか。

1. 抗酸菌感染症における生体防御と肉芽腫炎症機構

国立感染症研究所ハンセン病研究センター生体防御部 小林和夫

緒言

抗酸菌感染症には結核、非結核性抗酸菌 (nontuberculous mycobacteria : NTM) 症やハンセン病などがあり、現在でも多くの患者が存在している。結核菌感染者だけでも、19億人が存在し、全世界の人口が57億人であることから、人類の約3分の1が感染している。全世界における結核の年間新患者数は800万人、年間死亡者数は300万人である。全世界年間死亡者数が5,200万人で、全癌患者の年間死亡者数が660万人である状況を考慮しても、抗酸菌感染症は今日でもなお、大きな脅威である¹⁾。

NTM症はhuman immunodeficiency virus (HIV) 感染者、基礎疾患 (肺結核の既往、慢性閉塞性肺疾患、慢性気道感染症、副腎皮質ステロイド剤や免疫抑制剤投与など) を有する者や高齢者に好発し、日和見感染として発症することが多い。NTM症の原因菌では *Mycobacterium avium* complex (MAC) が70-80%を占め最も多い。多剤耐性結核菌と同様、MACは種々の抗菌薬に抵抗性を示し、菌根絶がほとんど不可能であり、治療は困難である²⁾。実際、AIDS患者では20-40%がMACに播種性感染し、ほとんど致命的である。また、ハンセン病は熱帯地域に残存し、有効な多剤併用療法が普及した現在でも、新規登録患者は57万人、推定患者は115万人、全世界で約600万人が後遺症に苦しめられている。

抗酸菌感染に対する宿主防御機構としてはマクロファージやT細胞による細胞性免疫が重要な役割を演じ、免

疫不全 (AIDS, 糖尿病, 副腎皮質ステロイド薬や免疫抑制薬投与など) が存在しない場合、発病は感染者の10%以下である³⁾。宿主の抗酸菌感染部位/組織における表現型 (病変形成) として、肉芽腫炎症が特徴的である⁴⁾。しかしながら、抗酸菌感染における宿主防御と肉芽腫炎症機構は、それらの相互関連も含め、未だ不明な点が多く、解決されるべき問題として残っている。本稿において、著者らの成績を基にして、これらの問題解決に言及したい。

抗酸菌感染防御と肉芽腫炎症の遺伝的制御

抗酸菌感染において、無発症/無症候性に経過する例から播種性に経過する例まで種々あり、抗酸菌感染という単一現象における宿主の表現型はさまざまである。さらに、免疫不全が存在しない場合、生涯発病率は感染者の10%以下である³⁾。この説明として、菌量、菌毒性と宿主抵抗性の3因子の関与が想定されている。さらに、宿主抵抗性には環境、年齢、栄養、遺伝 (人種を含む) の各要因が関与する。遺伝要因の解析は多因子の関与するヒトにおいては困難であるため、抗酸菌感染の発症や炎症病変制御における遺伝因子の役割は、長らく不明であった。

この問題の解決に貢献したのは、遺伝的に均一な純系マウスやコンジュニックマウスを用いた実験的抗酸菌感染モデルである⁵⁾⁶⁾。すなわち、同週齢の純系マウスを同一環境下で同一菌量および毒性抗酸菌を用いた実験に使用することにより、個体/宿主の抵抗性を遺伝因子の

Table 1 The *Nramp 1* (*Bcg/Ity/Lsh*) Gene

1. A single dominant gene located on chromosome 1 of the murine genome.
2. Two allelic forms and phenotypic expression in inbred mouse strains :
Nramp 1^r (resistant, dominant); AKR, A/J, CBA/J, C3H/HeJ, DBA/2
Nramp 1^s (susceptible, recessive); BALB/c, C57BL/6, C57BL/10, DBA/1
3. Controls granuloma formation and early resistance to infection with intracellular pathogens including :
Mycobacterium tuberculosis, *Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium avium* complex,
Mycobacterium lepraemurium, *Salmonella typhimurium*, *Leishmania donovani*
4. Regulates host tissue responses to the pathogen :
Nramp 1^r low producers of granulomas
Nramp 1^s high producers of granulomas

Table 2 Orchestration of Host Defense and Granulomatous Inflammation in Mycobacterial Infection

Genotype (<i>Nramp 1</i>)	Phenotype of mice	
	Resistant	Susceptible
	r/r or r/s	s/s
Mycobacterial growth	↓	↑
Granulomatous inflammation	↓	↑
Local cytokine expression		
Proinflammatory		
IL-1	↓	↑
TNF- α	↓	↑
Chemokinetic		
MCP-1	↓	↑
MIP-1 α	↓	↑
MIF	↓	↑
Th1 and Th2		
IFN- γ	↑	↓
IN-4	↓	↓
Th1/IFN- γ inducing		
IL-12	↑	↓
IGIF/IL-18	↑	↓

↓ : Decreased ↑ : Increased

観点から解析することができた。その結果、感染早期（3週以内）における抵抗性はマウス第1染色体に存在する常染色体優性遺伝形式を示す単一遺伝子により制御され、さらに、その機能はマクロファージに表現されていることが判明した（Table1）。さらに、この遺伝子は抗酸菌のみならず、他の細胞内寄生病原体である *Leishmania* や *Salmonella* 感染においても感染防御を遺伝的に支配している³⁾⁷⁾。この遺伝子の候補として *Nramp 1* (Natural resistance-associated macrophage protein 1: *Bcg/Iti/Lsh*) がクローニングされ、*Nramp 1* の遺伝子産物は macrophage nitric oxide transporter 蛋白であることが判明した⁸⁾。Reactive nitrogen intermediates (RNIs) である nitric oxide (NO) は活性化マクロファージに発現する inducible NO synthase (iNOS) により誘導され、細胞内寄生病原体に対して、抗微生物作用を発揮し、すなわち、宿主防御による効果分子であり⁹⁾、*Nramp 1* 遺伝子は NO transporter 蛋白の発現を制御することにより、防御に貢献している。

肉芽腫炎症は遺伝的感受性を示す宿主に顕著である⁵⁾⁶⁾¹⁰⁾。すなわち、*Nramp 1* 遺伝子感受性を表現するマウスでは、抗酸菌増殖および肉芽腫炎症増強、炎症

性サイトカイン (IL-1, TNF- α や単球走化性ケモカインなど) 産生亢進、防御性サイトカイン (IL-12や IGIF/IL-18) 産生低下が判明し、抵抗性マウスではその逆であった (Table 2)。これらの事実は抗酸菌に対する生体防御機構である肉芽腫炎症が、遺伝的抵抗性宿主には肉芽腫炎症を発現しなくても抗酸菌感染に抵抗でき防御に不要であるが、感受性宿主には生存のため必須であることを示している。しかし、効果マクロファージが局所に集積した炎症病変、すなわち、肉芽腫炎症は確かに生体防御反応として有益であるが、反面、自己組織破壊 (乾酪壊死や空洞形成) や線維症を伴い、その結果として臓器機能不全を招来し、生体に不利益を与える側面も存在している。この不利益な反応が感受性宿主の抗酸菌への対抗手段として、必要な自己犠牲なのかは不明である。

抗酸菌感染防御に関与する機能細胞や分子群

抗酸菌は細胞内寄生病原体であり、特に、マクロファージに感染し、増殖する。宿主内での静菌/殺菌にはマクロファージの活性化が必要である。マクロファージは T 細胞に抗原を提示し、CD4 陽性 1 型 helper T (Th1) 細胞活性化を促進する。活性化 Th1 細胞は interferon-

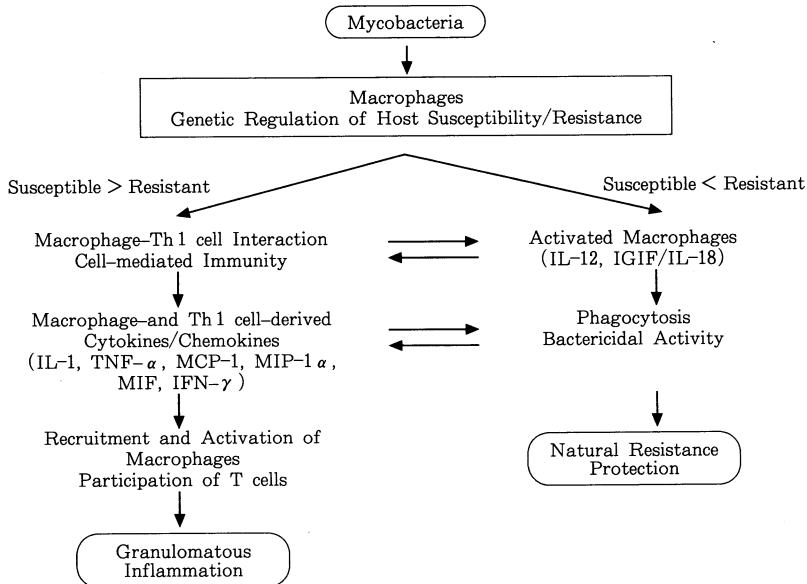


Fig. 1 Genetic, Cellular and Molecular Aspects of Mycobacterial Infection

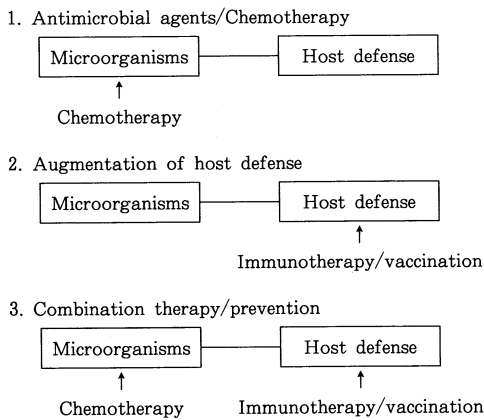


Fig. 2 Strategies for Combating Mycobacterial Infection

γ (IFN-γ)などのサイトカインを産生し、マクロファージを活性化する。すなわち、Fig. 1に示すように、Th1細胞-サイトカイン-マクロファージ連関係(細胞性免疫)の発動が抗酸菌感染に対する宿主防御機構として重要である⁴⁾¹¹⁾。また、NK細胞はIFN-γ産生能を有し、抗酸菌感染早期における非特異的防御に関与していることも知られている¹¹⁾。Interleukin 12 (IL-12)やinterferon-γ-inducing factor (IGIF/IL-18)は主としてマクロファージから産生されるサイトカインであり、

IL-12やIGIF/IL-18の生物学的特徴としてIFN-γ産生促進やTh1細胞誘導/増殖などの活性を有し、したがって、これらのサイトカインは細胞性免疫発現における“起動物質”である¹²⁾¹³⁾。さらに、IL-12の生物学的活性にはnatural killer (NK)細胞の誘導および活性化、tumor necrosis factor α (TNF-α)やgranulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF)などのサイトカイン産生促進作用などがある¹²⁾。IL-12やIGIF/IL-18によって誘導されるサイトカイン(IFN-γ, TNF-αやGM-CSF)および細胞(Th1やNK)は抗酸菌感染防御に関与している¹¹⁾¹⁴⁾。

筆者らは遺伝的抗酸菌感染抵抗性および感受性マウスの*M. avium*やBCG感染において病変局所IFN-γ(mRNAおよび蛋白)発現を解析し、その結果、感受性マウスでは感染によるIFN-γ発現の著明な低下があり、すなわち、Th1反応低下を認めた¹⁰⁾。一方、Th2サイトカインであるIL-4は抵抗性および感受性マウスで感染による発現の差異はなく、Th2反応亢進は認めなかった。Th1サイトカインとTh2サイトカインは機能的に拮抗しているが、感受性マウスではTh2サイトカイン非依存的にTh1反応が欠如していることが判明した(Table 2)。Th1反応低下機序を明らかにする目的で、Th1/IFN-γ誘導性サイトカイン発現(IL-12やIGIF/IL-18)を検索したところ、これらのサイトカイン発現に欠陥を認めた。最近、ヒト播種性BCGやMAC感染症においてもIL-12やIFN-γ受容体発現低下/欠損が

Table 3 Endogenous Mediators Involved in Mycobacterial Infection

Protection	Granulomatous inflammation	
	Induction	Suppression
IL-12	IL-1	IL-1ra
IGIF/IL-18	TNF- α	IL-4
IFN- γ	MCP-1/MCAF	IFN- γ
TNF- α	MIP-1 α	Corticosteroids
GM-CSF	MIF	Prostaglandin E
RNIs/iNOS	ROIs	SOD
Vitamin D		

報告され^{15)~17)}、筆者らのマウスでの成績が支持されている。IL-12やIGIF/IL-18が主にマクロファージから産生されることを考え併せると、感受性マウスのマクロファージに内因性欠陥が存在すると考えられる。

内因性生理活性物質による免疫強化戦略

IL-12発現不全を是正する目的で、IL-12補充免疫強化療法を抗酸菌感染症に対する新しい治療戦略として着目した¹⁰⁾¹⁸⁾。IL-12補充療法(1-10 μ g/kg/day, 3週間)を施行した感染マウスの生菌数は1/50-100に激減し、IL-12補充療法は著効を示した。しかもこの効果はIL-12を感染初期¹⁸⁾、感染成立後¹⁰⁾に投与しても認められ、IL-12投与終了後も持続し、宿主内において、IL-12補充療法は殺菌作用を惹起したと考えられる¹⁰⁾。IL-12は直接抗酸菌増殖抑制効果を欠如し、宿主を介して、その効果を発揮した¹⁰⁾¹⁸⁾。これらの成績は感受性マウスのTh1細胞やNK細胞はIL-12反応性を保持していること、さらに、感受性マウスのマクロファージに欠陥が存在する可能性を強く示唆している。感受性マウスのTh1反応発現不全がTh1/IFN- γ 誘導性サイトカイン発現欠損に起因しており、しかも、Th2非依存的事実から、IL-12補充療法は理論的妥当性を示している。

IL-12の生物学的活性(Th1細胞やNK細胞の誘導および活性化、IFN- γ 、TNF- α やGM-CSF産生促進)を考えあわせると、IL-12投与が感染マウスにおいて、Th1細胞-サイトカイン-マクロファージ連関系を活性化し、宿主防御機構を増強させ、最終的に、*in vivo* *M. avium* 増殖抑制効果を招来したことが考えられる。また、IFN- γ 、TNF- α やGM-CSF療法では生菌数は1/2-3にしか減少しないことから、現時点では、IL-12が最も強力な antimycobacterial cytokine である(Table 3)。

サイトカイン免疫強化療法の問題点

サイトカインの生物学的活性は重複性、多様性、および networking に集約されるが、それらの活性を考えると、生体/宿主にとって功罪の両側面があり、正に“諸刃の剣”である。このことはIL-12補充療法においても同様であり、“功”として防御増強、“罪”として局所的(病変部)にも全身的(臓器障害)にも宿主に不利益な反応を惹起する二面性がある。

局所における不利益な反応として、感染部位における炎症性細胞浸潤の増強、すなわち、肉芽腫炎症病変の増強が認められた¹⁰⁾¹⁸⁾。その炎症過程で自己組織障害(乾酪壊死、空洞形成や線維症)を伴い、結果として臓器機能不全を招来し、生体に不利益を与える可能性がある。マクロファージ由来サイトカインであるIL-1¹⁹⁾²⁰⁾、TNF- α ²⁰⁾²¹⁾、macrophage migration inhibition factor (MIF)⁴⁾⁵⁾、macrophage inflammatory protein-1 α (MIP-1 α)⁴⁾、monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1)²²⁾などは肉芽腫炎症惹起性サイトカインである(Table 3)。IL-12投与により、Th1やNK細胞からのIFN- γ 産生が亢進し、その結果、IFN- γ がマクロファージを活性化させ、肉芽腫炎症惹起性マクロファージ由来サイトカインを誘導し、最終的に肉芽腫炎症が増強すると考えられる⁴⁾¹⁰⁾。

IL-12投与による全身的毒性(臓器障害)としては血液(汎血球減少症)、肝や筋障害が知られ、特に、10 μ g/kg/day以上の投与では著明である¹²⁾。事実、筆者らのマウス実験的抗酸菌感染症においても、投与量依存的に臓器障害が出現し、10 μ g/kg/day以上のIL-12投与により、血液、肝や筋障害が認められている¹⁰⁾¹⁸⁾。

IL-12投与に伴伴する生体に不利益な反応は、IL-12の生物学的活性を反映していると推定される。すなわち、IL-12の全身投与により、すべての組織や臓器のTh1細胞やNK細胞の誘導および活性化、IFN- γ 、TNF- α

やGM-CSFの過剰産生を招来し、細胞および臓器障害を惹起する。これらサイトカインは宿命的な罪の側面を有し、今後、IL-12などのサイトカイン補充療法においても、投与方法（間欠、持続、化学療法薬との併用）、delivery system（局所、全身投与）、投与量、投与時期などを含め、宿主に不利益な反応や毒性の発現を防止することが課題である。

抗酸菌感染症の制圧戦略

抗酸菌感染における宿主防御と肉芽腫炎症機構は、菌および宿主側因子が関与する host-parasite relationship を介して成立し、抗酸菌と宿主の壮絶な生存競争を反映している（Fig. 1）。有史以来存在するこの競争に勝利するため、人類は隔離政策、治療（抗微生物薬）や予防（BCG や isoniazid 投与）の開発に邁進してきた。しかし、人口の流動化（移民、集中など）、貧困、HIV 感染者増大、さらに、抗酸菌の薬剤耐性などの問題により、抗酸菌感染症は着実に増加および難治化しており、現在においても、人類にとって大きな脅威として存在している。そのため、1993年に世界保健機構は抗酸菌感染症である結核に対して非常事態宣言をした¹⁾。幸運なことに抗酸菌感染における発病は感染者の10%以下である。すなわち、90%以上の感染者は抗酸菌感染に対する抵抗性を保持あるいは進化の過程で獲得していることが想定される。その抵抗性は遺伝子、細胞やサイトカインにより制御されていることが判明した。

従来の抗菌化学療法は抗酸菌自身を標的にしていたが、この方法では薬剤耐性抗酸菌の出現や伝播が不可避であり、したがって、宿主防御機構を効率的に活用し、増強させる戦略（免疫強化療法）は抗酸菌感染症の治療に新思考を提供している（Fig. 2）。また、免疫強化療法と抗菌化学療法の併用療法も制圧における新たな武器となるであろう。さらに免疫増強戦略は抗酸菌のみならず、種々の微生物感染症にも貢献するであろう。宿主防御機構の理解は抵抗性を効率的に発現するシステム（ワクチンなど）の開発も促進する。人類が痘瘡を撲滅したように、将来、抗酸菌感染症の制圧される日が来ることを期待している。

謝 辞

本稿に述べた著者の成績は永年（15年間）に亘る恩師、吉田 彪先生（中外製薬）のご指導および激励に深謝します。また、笠間 毅および笠原慶太両講師（昭和大学医学部第1内科学）、島村忠勝教授（昭和大学医学部細菌学）、さらに、柏原嘉子部長および斎藤 肇前センター長（国立感染症研究所ハンセン病研究センター）のご支援に深謝いたします。本研究は昭和医学振興財団、昭和

大学医学部同窓会研究助成、笹川記念保健協力財団、厚生省科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）および日米医学協力研究会結核・ハンセン病部会により支援されました。

文 献

- 1) Small PM: Towards an understanding of the global migration of *Mycobacterium tuberculosis*. J Infect Dis. 1995; 171: 1593-1594.
- 2) Falkinham JO, III.: Epidemiology of infection by nontuberculous mycobacteria. Clin Microbiol Rev. 1996; 9: 177-215.
- 3) Bloom BR, CJL Murray: Tuberculosis: commentary on a reemerging killer. Science. 1992; 257: 1055-1064.
- 4) Kobayashi K, T Yoshida: The immunopathogenesis of granulomatous inflammation induced by *Mycobacterium tuberculosis*. Methods. 1996; 9: 204-214.
- 5) Kobayashi K, C Allred, R Castriotta, et al.: Strain variation of *Bacillus Calmette-Guerin*-induced pulmonary granuloma formation is correlated with anergy and the local production of migration inhibition factor and interleukin-1. Am J Pathol. 1985; 119: 223-235.
- 6) Sato IY, K Kobayashi, T Kasama, et al.: Regulation of *Mycobacterium bovis* BCG and foreign body granulomas in mice by the *Bcg* gene. Infect Immun. 1990; 58: 1210-1216.
- 7) Skamene E: Genetic control of susceptibility to mycobacterial infections. Rev Infect Dis. 1989; 11 (Suppl. 2): S394-S399.
- 8) Vidal SM, D Malo, K Vogan, et al.: Natural resistance to infection with intracellular parasites: isolation of a candidate for *Bcg*. Cell. 1993; 73: 469-485.
- 9) Nathan C: Natural resistance and nitric oxide. Cell. 1995; 82: 873-876.
- 10) Kobayashi K, J Yamazaki, T Kasama, et al.: Interleukin (IL)-12 deficiency in susceptible mice infected with *Mycobacterium avium* and amelioration of established infection by IL-12 replacement therapy. J Infect Dis. 1996; 174: 564-573.
- 11) Kaufmann SHE: Immunity to intracellular

- bacteria. *Annu Rev Immunol.* 1993; 11: 129-163.
- 12) Trinchieri G: Interleukin-12: a proinflammatory cytokine with immunoregulatory functions that bridge innate resistance and antigen-specific adaptive immunity. *Annu Rev Immunol.* 1995; 13: 251-276.
 - 13) Okamura H, H Tsutsui, T Komatsu, et al.: Cloning of a new cytokine that induces IFN- γ production by T cells. *Nature.* 1995; 378: 88-91.
 - 14) Bermudez LE, G Kaplan: Recombinant cytokines for controlling mycobacterial infections. *Trends Microbiol.* 1995; 3: 22-27.
 - 15) Frucht DM, SM holland: Defective monocyte constimulation for IFN- γ production in familial disseminated *Mycobacterium avium* complex infection. Abnormal IL-12 regulation. *J Immunol.* 1996; 157: 411-416.
 - 16) Jouanguy E, F Altare, S Lamhamedi, et al.: Interferon- γ -receptor deficiency in an infant with fatal bacille Calmette-Guerin infection. *N Engl J Med.* 1996; 335: 1956-1961.
 - 17) Newport MJ, CM Huxley, S Huston, et al.: A mutation in the interferon- γ -receptor gene and susceptibility to mycobacterial infection. *N Engl J Med.* 1996; 335: 1941-1949.
 - 18) Kobayashi K, T Kasama, J Yamazaki, et al.: Protection of mice from *Mycobacterium avium* infection by recombinant interleukin-12. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1995; 39: 1369-1371.
 - 19) Kasahara K, K Kobayashi, Y Shikama, et al.: Direct evidence for granuloma-inducing activity of interleukin-1: induction of experimental pulmonary granuloma formation in mice by interleukin-1-coupled beads. *Am J Pathol.* 1988; 130: 629-638.
 - 20) Kasahara K, K Kobayashi, Y Shikama, et al.: The role of monokines in granuloma formation in mice: the ability of interleukin-1 and tumor necrosis factor- α to induce lung granulomas. *Clin Immunol Immunopathol.* 1989; 51: 419-425.
 - 21) Shikama Y, K Kobayashi, K Kasahara, et al.: Granuloma formation by artificial microparticles in vitro. Macrophages and monokines play a critical role in granuloma formation. *Am J Pathol.* 1989; 134: 1189-1199.
 - 22) Kasahara K, T Tobe, M Tomita, et al.: Selective expression of monocyte chemotactic and activating factor/monocyte chemoattractant protein 1 in human blood monocytes by *Mycobacterium tuberculosis*. *J Infect Dis.* 1994; 170: 1238-1247.

2. 抗結核防御免疫のエフェクター細胞としてのTh1細胞の誘導と機能発現

新潟大学医学部細菌学教室 光山正雄

はじめに

結核防御免疫がT細胞とマクロファージを主体とする細胞性免疫であることは、ヒト、動物を問わず論をまたない。一方で肉芽腫や空洞形成など、宿主には不利な病態に細胞性免疫が関与することもまた事実である。

これらの免疫現象のほぼすべてにTh1細胞が関与していると考えられてきている。Th1細胞はいわゆるCD4⁺ helper-type T細胞のなかで、機能的に抗体産生のヘルパー機能が発達しIL-4産生に特徴づけられるTh2細胞群と対をなすもので、IL-2、IFN- γ 産生を特徴とし、遅延型過敏反応を担う細胞群である(表1)。Th1細胞は一般には細胞内寄生菌感染で誘導されやすく、単なる

蛋白抗原刺激では優位にはならない。したがって、何らかの宿主機構がTh1細胞の誘導に普遍的に作用しているはずである。そのメカニズムが明らかにできれば、宿主免疫のうちで有害不利な応答と有意義な応答を分離することも可能になるかもしれない。そこで、結核の病態や感染防御に働くTh1細胞がどのように機能を発現するのか、またその誘導機構にはどのような因子がからんでいるのか、われわれのマウスでの研究成果を中心にまとめ、討論の材料としてみた。

免疫防御のエフェクターとしてのTh1細胞

マウスを*Mycobacterium bovis* BCG生菌で免疫すると、数週後には結核菌やBCG感染に対する極めて

表1 Th1とTh2のサイトカイン産生パターンからみた機能的特徴

サイトカイン	Th1	Th2
IL-2	+	-
IFN- γ	+	-
Lymphotoxin	+	-
IL-3	+	+
IL-4	-	+
IL-5	-	+
IL-6	-	+
IL-10	-	+
GM-CSF	+	+

表2 生菌免疫で誘導される protective T (T_{pro})と死菌免疫で誘導される T_{DTH}の違い

サイトカイン	T _{pro}	T _{DTH}
IL-2	+	+
IFN- γ	++	±~-
IL-3	+	+
IL-4	-	-
IL-6	-	-
IL-10	-	-

強い防御免疫が誘導される。免疫マウスの感染抵抗性は CD4⁺ T 細胞で非免疫マウスに受身移入ができ、レシピエントのマクロファージを枯渇させるとその移入効果が見られなくなるので、CD4⁺ T 細胞とマクロファージの両者が必須であることが示唆される。古くから BCG による結核防御免疫誘導成立のパラメーターとして、DTH 反応（ツベルクリン反応）が用いられてきた。これは Th1 型 T 細胞の抗原特異的な各種サイトカイン産生に基づく炎症反応を生体内発現させるもので、惹起抗原としての PPD に特異的な T 細胞の存在を確認することができる。しかし DTH は毛細血管内皮、マクロファージ、T 細胞、各種サイトカインなどの複雑な相互作用の総合したものであり、防御免疫誘導の機構を T 細胞の分化誘導として解析するには、感染抵抗性発現を担う T 細胞を *in vitro* で追跡するに最も適した特徴を見出す必要がある。

致死量以下の *M. bovis* BCG 生菌で免疫したマウスには再感染防御免疫（攻撃感染に対する高い抵抗性）と DTH が誘導されるが、死菌で免疫したマウスでは抗原

特異的 DTH は生菌免疫マウスと同程度に成立するにもかかわらず、再感染防御免疫は成立しない。生菌免疫マウスにみられる防御免疫と DTH、死菌免疫マウスの DTH はともに CD4⁺ T 細胞の受動移入で非免疫マウスに移入発現される。この両群のマウス由来の T 細胞を PPD で再刺激したときに、どのようなサイトカインが *in vitro* で産生されるかしらべたところ、基本的なサイトカイン産生パターンはいずれも Th1 型であったが、高い IFN- γ 産生能は生菌免疫マウス由来の細胞に限ってみられた（表2）。

以上の結果から、いわゆる感染抵抗性 T 細胞はとくに高い抗原特異的 IFN- γ 産生能に特徴づけられ、さらに DTH それ自身は抗原特異的 T 細胞（とくに Th1 型）の存在を示すものではあるが、必ずしも防御免疫成立のパラメーターとは成り得ないことが示唆された。

われわれは上記の成績から、抗原特異的な Th1 細胞にも分化の程度により、高い IFN- γ 産生能を示す感染抵抗性 T 細胞（protective T cell）と、必ずしも IFN- γ 産生能は高くなくとも MIF などの産生により DTH を発現できる T_{DTH} とが、機能分化の違いとして存在すると考えている。このような DTH と protection の解離を示す成績は他にも多くみられる。したがって永年用いられてきたツベルクリン皮内反応は、結核菌や BCG に対する感作 T 細胞の存在を示すが必ずしも感染防御免疫の存在を示すとは言えず、例えば抗原特異的な IFN- γ 産生性 T 細胞の存在を証明することのほうが、より感染防御免疫成立の有用な指標となることも考えられよう¹⁾。

宿主の動物種が何であれ、結核菌や多くの病原抗酸菌の第一義的な標的細胞はマクロファージであると考えられる。一般にマクロファージは旺盛な異物食能と発達した細胞内殺菌機構を有し、取り込んだ多くの種類の細菌を細胞内殺菌処理する能力を備えている。しかし結核菌や病原抗酸菌は、未だ十分明らかでない因子によってマクロファージ内でおこるべき食胞とリソソームの融合を阻害し、また活性酸素系に対する高い消去酵素活性（SOD, catalase など）によって、殺菌をエスケープすることができる。しかし免疫マウスのマクロファージ内では、細胞内殺菌が亢進することが知られている。誘導された Th1 細胞が抗原特異的に産生する各種サイトカインのうち、IFN- γ は最も優れたマクロファージ活性化因子であり、これによって活性化されたマクロファージでは細胞内殺菌機構の発現に大きな変化がみられる²⁾。

活性化マクロファージでは、活性酸素（ROI）産生が著明に亢進し、さらに P-L fusion が促進される。さらにマクロファージが活性化されると、定常状態ではみられない誘導型 NO 合成酵素（iNOS）の発現が誘導さ

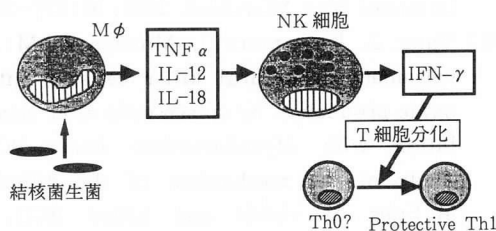


図 IFN- γ を中心とした感染抵抗性 Th1 誘導の機構

れ、一酸化窒素 (NO) の産生がおこるようになる。これらの共同作用によって細胞内殺菌能が格段に亢進し、菌の細胞内寄生が困難になると考えられる。このような細胞内殺菌を亢進させる活性化因子として作用する IFN- γ を大量に産生できる Th1 の分化誘導は、感染防御免疫発現に極めて重要な役割を果たすことになる。

われわれは以上のように、Th1 のなかでも特に高い IFN- γ 産生能を発揮するものが真の感染抵抗性 Th1 細胞であり、この種のエフェクター T 細胞をいかに効率よく誘導するかが、宿主免疫応答による感染防御の発現に必須であると考えている。

感染抵抗性 Th1 細胞の分化誘導

IFN- γ 産生性の感染抵抗性 Th1 細胞を、死菌による免疫で生菌免疫同様に誘導することは困難である。また結核菌からは多くの蛋白抗原が単離されるが、それら蛋白抗原の各々には生菌免疫により感染防御免疫が誘導された個体の T 細胞を刺激する抗原性はあっても、各蛋白それぞれ自身のみで感染防御免疫を誘導することは容易ではない。そこで、感染抵抗性 Th1 細胞の誘導機構として、抗原性の問題とは別に抗原特異的 T 細胞を高い IFN- γ 産生性 T 細胞へと分化させる因子を考える必要があると思われる³⁾。

われわれは細胞内寄生菌の *M. bovis* BCG やリステリアを用いた免疫モデルにおいて、死菌が防御免疫を誘導できない機構として、死菌と生菌の間の抗原的な違いよりも、宿主に対するサイトカイン誘導能の違いが関与することを示唆する成績を得てきた。すなわち、菌が宿主に接種された初期におこる内因性サイトカインの発現をしらべると、生菌免疫マウスには強い IFN- γ 発現が誘導されるが、死菌免疫マウスではこれがみられない。マウス脾細胞を刺激する *in vitro* の系で解析すると、生菌刺激でマクロファージから産生される IL-12, IL-18, TNF α などが NK 細胞に作用して IFN- γ の発現を誘導していることが判明した⁴⁾⁵⁾。感染または免疫の初期には多くの炎症性サイトカイン産生がみられるが、

なかでも IFN- γ は Th1 の分化に必須の役割を果たすことが知られている。そこで、生菌免疫の早期に誘導される NK 細胞からの IFN- γ が真に生菌免疫による感染抵抗性 Th1 細胞の機能分化に必須の役割を果たすか否かをみるために、免疫早期に抗マウス IFN- γ 抗体を投与して、本来誘導されるべき感染防御免疫への影響をしらべた。その結果、リステリアでも BCG でも、ほぼ完全に感染抵抗性 Th1 細胞の誘導が阻害され、初期の IFN- γ 発現誘導が *in vivo* で中心的作用をすることが証明された⁶⁾⁷⁾。

リステリアの場合、最終的に NK 細胞からの IFN- γ 産生に働く生菌特有の因子を検索した結果、リステリアの細胞内寄生を可能にする病原因子であるリステリオシン O (LLO) が最も重要であることが、LLO 産生能の異なる菌株や精製 LLO を用いた実験で明らかになった⁸⁾。次に当然考えられることは、感染防御免疫誘導が不可能な死菌による免疫に際して、内因性 IFN- γ 誘導能の高い LLO を併用すれば、病原生菌で免疫したと同様に強い抗原特異的な免疫防御が誘導される可能性である。われわれはそこで、LLO をリボソームに封入してマクロファージに取り込まれやすくし、死菌や LLO (-) で免疫誘導能のない生菌株の免疫に際して投与してみた。その結果、すくなくとも LLO (-) 株で免疫した際には、単独では全く誘導できない抗原特異的な感染抵抗性 Th1 細胞が誘導され、非免疫マウスへも防御免疫を移入できる成績が得られた (投稿準備中)。

これらの実験成績から、図のようなシェーマを描くことができよう。リステリアの LLO に相当する因子が、結核菌や BCG では何であるのかは今後の検索に待たざるを得ないが、そのような因子が発見され遺伝子クローニングができれば、有用な防御免疫の人為的賦与が可能になるであろう。

まとめ

抗結核防御免疫の誘導と発現の機構につき、主にマウスを用いた実験から、免疫早期における内因性 IFN- γ の発現誘導が感染抵抗性 Th1 細胞の分化誘導に必須であること、それには生菌特有の病原因子がリステリアでは関与しており、同様の因子が結核菌の場合にも想定されること、また誘導された Th1 細胞のとくに抗原特異的な IFN- γ 産生能がマクロファージ活性化による防御免疫発現に重要であることを示した。

マウスの場合には一般に全身感染モデルが用いられ、このような実験系で得られた成績がそのままヒトに当てはまるか否かは常に議論の対象となる。したがって、動物モデルもより実際のヒトにおける感染を反映しやすいモデルで再確認していくと同時に、動物で得られた結果

の一部でもヒトにあてはまるか否かを、臨床検体で検証していく必要がある。結核菌の病原因子とくにマクロファージ内での生存を可能にする因子については、欧米でかなりのアプローチがされながらも未だ不明であることは、この因子の検索が容易でないことを示しているが、われわれのリステリア免疫モデルで得られた結果が結核免疫にも普遍的に作用する可能性を考えると、病原因子が単なる生物学的・細菌学的な興味の対象にとどまらず、有効な Th1 依存性防御免疫を賦与する鍵になるかもしれない。

文 献

- 1) 光山正雄：ツベルクリン反応と BCG。臨床と研究。1996；73：1740-1746。
- 2) 光山正雄：サイトカインと感染防御免疫。日本医事新報。1997；3815：106-107。
- 3) 光山正雄：抗結核防御免疫の誘導と発現機構。呼吸器疾患・結核 資料と展望。1996；18：1-13。
- 4) Xiong H, Nishibori T, Ohya S, et al.: Involvement of various combinations of endogenous inflammatory cytokines in *Listeria monocytogenes*-induced expression of inducible nitric oxide synthase in mice. FEMS Immunol Med Microbiol. 1996；16：257-266。
- 5) Yang J, Kawamura I, Mitsuyama M: Involvement of natural killer cells in nitric oxide production by spleen cells after stimulation with *Mycobacterium bovis* BCG. Study of the mechanism of the different abilities of viable and killed BCG. J Immunol. 1995；155：5728-5735。
- 6) Yang J, Kawamura I, Mitsuyama M: Requirement of the initial production of gamma interferon in the generation of protective immunity of mice against *Listeria monocytogenes*. Infect Immun. 1997；65：72-77。
- 7) Yang J, Mitsuyama M: An essential role for the endogenous gamma interferon in the generation of protective T cells against *Mycobacterium bovis* BCG. Immunology. 1997；91: in press。
- 8) Nishibori T, Xiong H, Kawamura I, et al.: Induction of cytokine gene expression by listeriolysin O and the role of macrophages and NK cells. Infect Immun. 1996；64：3188-3195。

3. 結核菌感染と γ/δ T 細胞

大阪府立羽曳野病院第5内科 上田千里

はじめに

リンパ球中の T 細胞には、T cell receptor (TCR) α/β を持つ α/β T 細胞と TCR γ/δ を持つ γ/δ T 細胞の2つが存在する。T 細胞の多くは α/β T 細胞であり、 γ/δ T 細胞はヒト末梢血中ではたかだか5%程度の minor population である。 γ/δ T 細胞は最初 TCR α/β の DNA を検索中にその存在が予見され、

その後に蛋白質として同定されたという経緯を持つ。そのため γ/δ T 細胞は発見当初生体内でどういった役割を担っているのか不明であった。その後マウスに結核菌を吸入させると、リンパ液中およびその所属リンパ節内に γ/δ T 細胞が増加することが報告された¹⁾。この報告以来細胞内寄生菌による感染、特にその感染の初期において、 γ/δ T 細胞が増加し活性化され抗菌的に働いていることが主としてマウスの実験系で相次いで報告さ

表 対象とした健常成人、肺結核患者の内訳

対 象	年齢 (mean \pm SD)	性 (男性/女性)
一般病棟勤務医療従事者 *1,2 (n=18)	36.4 \pm 13.1	8/10
結核病棟勤務医療従事者 *1 (n=17)	35.6 \pm 8.5	7/10
肺結核患者 *3 (n=19)	34.5 \pm 10.7	12/7

*1 ツベルクリン反応陽性健常成人

*2 喘息病棟・薬局勤務医療従事者

*3 排菌陽性・入院治療開始後2週間以内

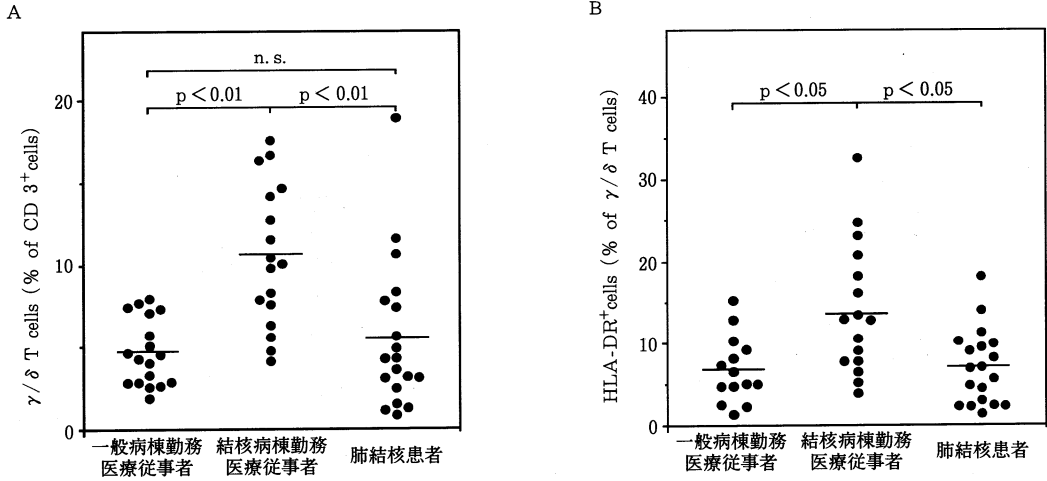


図1 末梢血中 γ/δ T細胞の割合 (A) とその活性化の程度 (B)

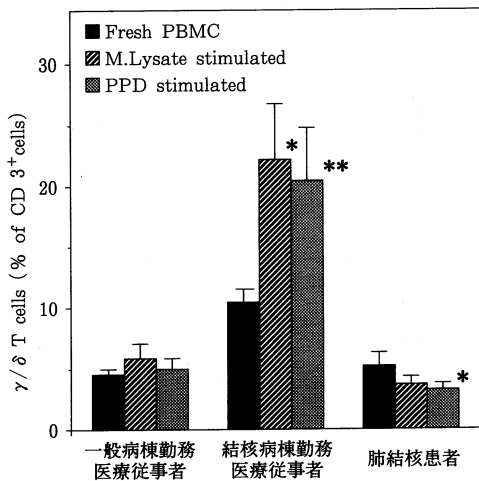


図2 結核菌加熱死菌, PPD刺激による γ/δ T細胞の増加
*p < 0.01, **p < 0.05

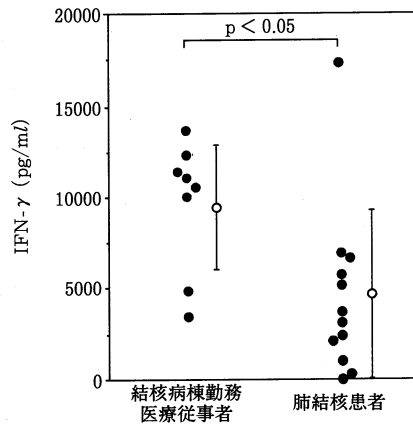


図3 結核菌加熱死菌刺激によるPBMCからのIFN- γ 産生

れた²⁾³⁾。これらの結果より、 γ/δ T細胞は細胞内寄生菌特異的なTリンパ球による細胞性免疫の成立までの初期防御機構として「つなぎ」の役割を担っているものと考えられており、Kaufmannらの報告による、遺伝子工学的に γ/δ T細胞を欠損させたマウスを用いた結核菌感染実験からも γ/δ T細胞は抗菌的に働いていることが明らかにされた⁴⁾。

結核菌感染症とヒト γ/δ T細胞

われわれはまずヒトの末梢血において、結核菌感染に際し γ/δ T細胞は増加しているかどうかを検討した。対象としたのは喘息病棟、結核病棟、薬局に勤務するツベルクリン反応陽性健康成人（医師、看護婦、および薬剤師より協力を得採血）と排菌陽性肺結核患者である。この時、ツベルクリン反応陽性健康成人を、結核病棟勤務者群と一般病棟および薬局勤務者群に分け、肺結核患者を含む3群間（表）で比較した。 γ/δ T細胞は肺結核患者群に比較し結核病棟勤務の医師、看護婦の末梢血中に有意に増加していた（図1-A）。さらに、これら結

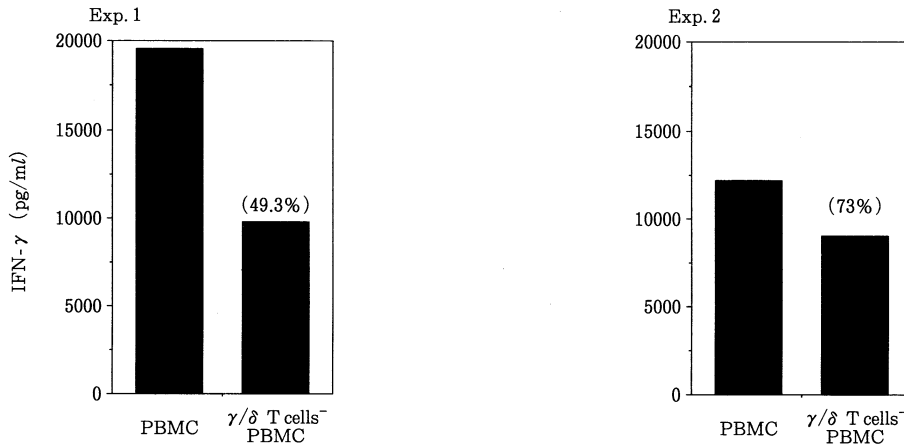


図4 結核菌加熱死菌刺激による結核病棟勤務医療従事者 PBMC からの IFN- γ 産生における γ/δ T 細胞除去の影響

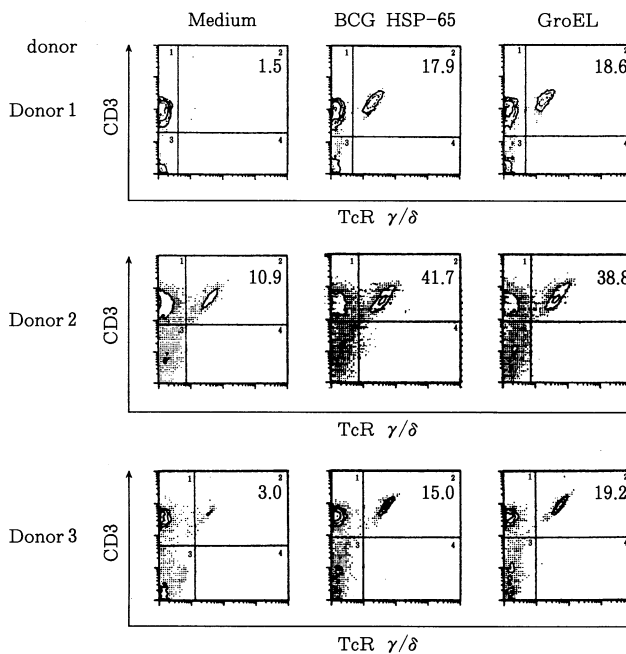


図5 HSP65刺激による γ/δ T 細胞の増加

核病棟勤務医療従事者の末梢血中には、活性化の指標である HLA-DR を発現した γ/δ T 細胞の割合が、他の群と比較して増加していた (図 1-B)。次に、これら 3 群由来の γ/δ T 細胞の結核菌に対する反応性を検討した。In vitro で PBMC を抗酸菌加熱死菌および PPD で刺激すると結核病棟勤務医療従事者群では CD3 陽性

細胞中 γ/δ T 細胞の割合は有意に増加し、逆に肺結核患者群ではその割合は減少した (図 2)。

それでは結核病棟勤務医療従事者群は肺結核患者群と比較し免疫機能に違いがあるだろうか。代表的なマクロファージ活性化因子である IFN- γ 産生を比較した。PBMC を結核菌加熱死菌で刺激しその培養上清中 IFN

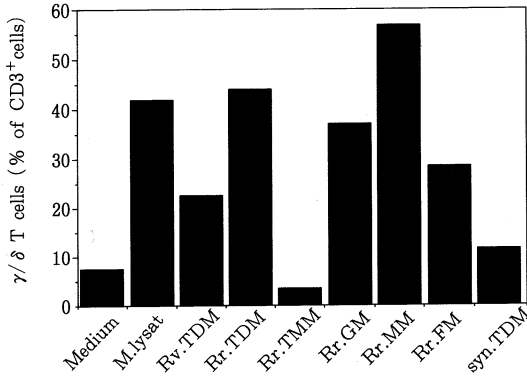


図6 ミコール酸含有糖脂質刺激による γ/δ T細胞の増加: 結核菌由来トレハロースダイマイコレイト: Rv. TDM, 放線菌由来トレハロースダイマイコレイト: Rr. TDM, トレハロースモノマイコレイト: Rr. TMM, グルコースモノマイコレイト: Rr. GM, マンノースモノマイコレイト: Rr. MM, フルクトースモノマイコレイト: Rr. FM, および合成結核菌トレハロースダイマイコレイト: syn. TDM.

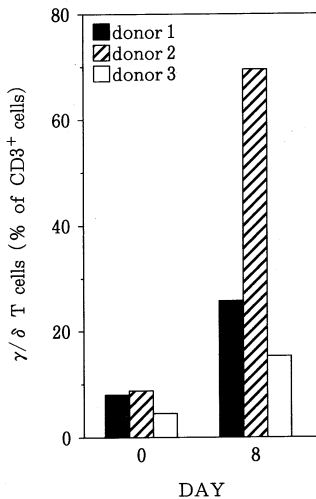


図7 ミコール酸による γ/δ T細胞の増加

γ をELISA法にて測定した。その結果、肺結核患者群と比較し結核病棟勤務医療従事者群において有意にIFN- γ 産生は増加していた(図3)。そしてこのIFN- γ 産生には一部 γ/δ T細胞が関与していた(図4)。以上排菌陽性の肺結核患者と接する機会の多い健康な医療

従事者の末梢血中には、活性化された結核菌反応性の γ/δ T細胞が増加していた。逆に肺結核患者の末梢血中では γ/δ T細胞の増加は認められず、*in vitro*での結核菌に対する反応性も減弱していた。

γ/δ T細胞活性化機序

このように γ/δ T細胞は、結核菌感染から発病にいたる過程の中で防衛的に働いている可能性が示唆されたので、次にわれわれは結核菌による γ/δ T細胞活性化機序を検討した。この結果ヒト γ/δ T細胞にはいくつかのsubsetが存在し、その活性化機序が異なっている可能性が明らかとなった。1つは、蛋白抗原であるBCG HSP-65, Gro ELで刺激することにより増加してくる γ/δ T細胞であり(図5)、そのフェノタイプはCD4陰性CD8陰性いわゆるdouble negativeではなくCD4陽性であった。また、これら蛋白抗原による γ/δ T細胞の増加は抗HLA-DR抗体により抑制されたことより、その活性化はTCRを介した蛋白抗原特異的な反応であると考えられた⁵⁾。2つ目は、蛋白分解酵素抵抗性の抗菌細胞壁成分である種々のミコール酸含有糖脂質およびそれらに共通するミコール酸刺激により活性化され外因性のIL-2 (5 U/ml)の存在下で増加してくる γ/δ T細胞である(図6, 7)。この時のフェノタイプは蛋白抗原による時とは異なり、CD4陰性CD8陰性ないしはCD8弱陽性であった。TCRを介した活性化であるかどうかは現在検討中であるが、ligandの違いによってそのフェノタイプが異なることは非常に興味深い点かと思われる。最近ミコール酸によるdouble negative α/β T細胞の活性化が報告されている⁶⁾。そして、3つ目として、サイトカインにより非特異的に活性化される γ/δ T細胞である。われわれはすでに単球由来の可溶性因子による γ/δ T細胞活性化を報告しているが⁷⁾、今回この可溶性因子がIL-12であることを明らかにした。IL-12刺激により γ/δ T細胞表面上CD25の発現増強が認められ(図8)、さらにこの活性化はTNF- α により増強された。IL-12, TNF- α が共に結核菌の刺激により単球/マクロファージから産生されることを考えると、結核菌による γ/δ T細胞活性化には、このようなTCRを介さない可溶性因子による活性化が存在することが明らかとなった⁸⁾。これら異なるフェノタイプを持つ γ/δ T細胞が、異なった機能を持っているのか現在検討中である。

γ/δ T細胞と感染防御

排菌陽性肺結核患者と接する機会の多いツベルクリン反応陽性、健康な結核病棟勤務の医師・看護婦の末梢血には活性化された γ/δ T細胞が増加しており、*in vitro*

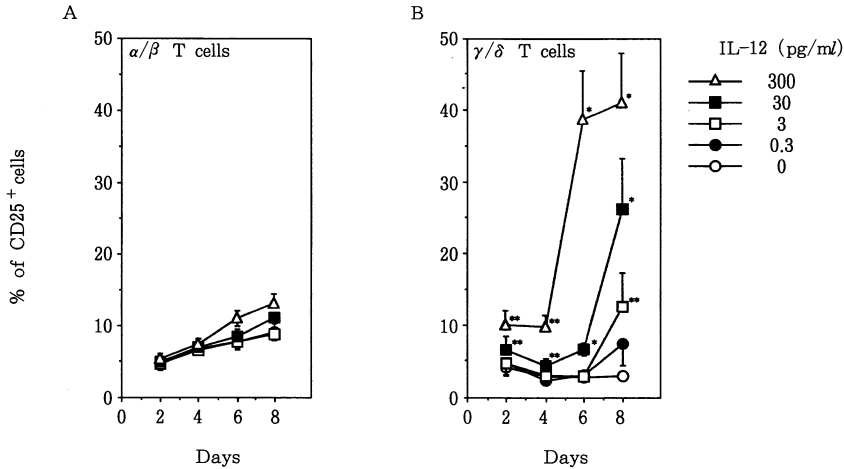


図8 IL-12刺激による α/β , γ/δ T細胞表面上CD25発現誘導
* $p < 0.01$, ** $p < 0.05$. $n = 9$.

で結核菌加熱死菌, PPDで刺激することによりさらに増加した。逆に肺結核患者の末梢血では, γ/δ T細胞の増加を認めず, *in vitro*で結核菌加熱死菌, PPDで刺激しても健常成人と比較しその増殖活性は減弱していた。*In vitro*結核菌加熱死菌刺激によるPBMCからのIFN- γ 産生は, 肺結核患者より結核病棟勤務医療従事者のほうが有意に高く, このIFN- γ 産生は部分的に γ/δ T細胞が担っていた。Liらは, われわれと同様に肺結核患者の末梢血だけでなく肺病巣局所においても γ/δ T細胞は増加せず, 結核菌に対する増殖活性が低下していたことを報告している⁹⁾。これらの結果は, 肺結核患者の γ/δ T細胞は機能が低下している可能性を示唆する。

このように, 勤務病棟の違いによりツベルクリン陽性健常成人の間で末梢血中 γ/δ T細胞の数に差が生じること, 20数年来健康に結核病棟に勤務している医療従事者でも末梢血中の γ/δ T細胞が増加していることは, 外来性の結核菌再感染の可能性を示唆するとともに, それまでの感染の有無にかかわらず結核菌感染時 γ/δ T細胞が増加することを示している。肺結核患者の γ/δ T細胞は機能不全に陥っている可能性を考え併せると, γ/δ T細胞は結核菌感染より発病にいたる過程において感染防御に働いているのであろう。もし γ/δ T細胞の機能低下が発病に結びつくとするならば, われわれがその活性化機序の中で検討したミコール酸, IL-12は発病予防, 治療応用につながるかと思われた。

またわれわれの結核の感染防御機構の検討は, 図らずも医療従事者の結核菌感染の危険性を示唆する結果となっ

てしまった。わが国における結核病院職員の5年間の結核罹患が調査され, それによると検査技師は約10倍, 看護婦は3.5倍, 医師は2.7倍罹患率一般平均よりも高いことが明らかにされた¹⁰⁾。近年アメリカにおいて, HIVに肺結核を合併した患者より看護婦に結核菌が感染し発病したことが報告された¹¹⁾。その後も同様の報告が相次いだため, 米国CDCは病室の構造の見直しを含む結核感染防止のガイドラインを発表し, 効果をあげている¹²⁾。結核医療の現場に携わる者として, 感染防止のガイドラインの徹底化が必要であると思われた。

この研究は次の先生方との共同研究である。矢野郁也(大阪市立大学・医学部・細菌学教室), 川澄浩美, 藤原寛, 露口泉夫(大阪府立羽曳野病院)。

文 献

- 1) Janis EM, Kaufmann SH, Schwartz RH, et al.: Activation of γ/δ T cells in the primary immune response to *Mycobacterium tuberculosis*. Science. 1989; 244: 713-716.
- 2) Ohga S, Yoshikai Y, Takeda Y, et al.: Sequential appearance of γ/δ - and α/β -bearing T cells in the peritoneal cavity during an i.p. infection with *Listeria monocytogenes*. Eur J Immunol. 1990; 20: 533-538.
- 3) Hiromatsu K, Yoshikai Y, Matsuzaki G, et al.: A protective role of γ/δ T cells in primary infection with *Listeria monocytoge-*

- nes in mice. J Exp Med. 1992; 175: 49-56.
- 4) Ladel CH, Blum C, Dreher A, et al.: Protective role of γ/δ T cells and α/β T cells in tuberculosis. Eur J Immunol. 1995; 25: 2877-2881.
 - 5) Ueta C, Tsuyuguchi I, Kawasumi H, et al.: Increase of γ/δ T cells in hospital workers who are in close contact with tuberculosis patients. Infect Immun. 1994; 62: 5434-5441.
 - 6) 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.
 - 7) Tsuyuguchi I, Kawasumi H, Ueta C, et al.: Increase of T-cell receptor γ/δ -bearing T cells in cord blood of newborn babies obtained by *in vitro* stimulation with mycobacterial cord factor. Infect Immun. 1991; 59: 3053-3059.
 - 8) Ueta C, Kawasumi H, Fujiwara H, et al.: Interleukin-12 activates human γ/δ T cells: synergistic effect of tumor necrosis factor- α . Eur J Immunol. 1996; 26: 3066-3073.
 - 9) Li B, Rossman MD, Imir T, et al.: Disease-specific changes in $\gamma\delta$ T cell repertoire and function in patients with pulmonary tuberculosis. J Immunol. 1996; 157: 4222-4229.
 - 10) 結核療法研究協議会: 結核病院職員の結核罹患状況. 昭和62年度療研研究報告書, 1987, p.3.
 - 11) CDC: Nosocomial transmission of multi-drug-resistant tuberculosis among HIV-infected persons-Florida and New York, 1988-1991. MMWR. 1991; 40: 585-591.
 - 12) CDC: Guidelines for preventing the transmission of *Mycobacterium tuberculosis* in health-care facilities. MMWR. 1994; 43: 1-132.

4. 結核における免疫の役割

—臨床像からの考察—

京都大学胸部疾患研感染・炎症学 鈴木克洋

はじめに

結核における免疫の役割を、臨床家の目から概観したい。まず、次の3段階における役割に分けて考える必要があろう: 1) 感染の段階, 2) 発病の段階, 3) 治療中の段階。

結核菌は、ヒトの体内を最適な増殖環境とする特殊な抗酸菌であり、感染の成立には排菌者との接触が不可欠である。しかし米国のデータでは、劣悪な環境で排菌陽性者と濃厚接触した場合でも、25-50%に感染が成立する程度といわれており、また黒人が白人に比べて有意に感染が生じやすいとの報告¹⁾もある。さらに HIV 陽性者では結核の発病のみならず感染も生じやすいことが判明しており²⁾、結核菌の感染成立阻害にも広義の免疫(粘液線毛系・マクロファージ・NK細胞・ γ/δ リンパ球等)が関係していることは間違いない。一方、結核症発病阻害に免疫が役立っていることは論を待たないであろう。担癌状態、糖尿病、免疫抑制剤の投与、HIV感染等のTリンパ球機能の低下状態は、代表的な結核症発病の危険因子である³⁾。さて、1943年の Waksman による SM の発見以来、結核の治療の主体は化学療法

であり、致死の病であった結核症の克服は、主に抗結核薬剤によりもたらされた。現在臨床医が扱う結核症患者は、多かれ少なかれ抗菌薬剤の投与を受けている。したがって治療中の患者における免疫の役割を考える場合、抗菌薬剤との相互作用の検討は避けて通れない課題である。しかし、この課題に直接に取り組んだ報告は少ない。抗菌薬剤が生体内の免疫反応を修飾していると推測される初期悪化という現象が、臨床では知られている。これは INH + RFP 等の強力な化学療法を施行した際に、治療後1-2カ月で肺内陰影や炎症反応が一時的にかえって悪化する現象であるが、その詳細はいまだ不明である。われわれは、主として臨床データと *in vitro* の実験から、初期悪化現象も含めた薬剤と免疫との相互作用に幾分なりとも迫りたいと考え、以下の2課題につき検討したので、その概要を報告する。

1. 初期悪化現象の臨床的・文献的検討

初期悪化について、長崎は次のように定義している: RFPを含む治療の7-10%に、喀痰中の結核菌は順調に減少-陰性化しているにもかかわらず、治療開始1-3カ月ごろ、胸部X線上陰影の拡大、新陰影の出現、胸膜

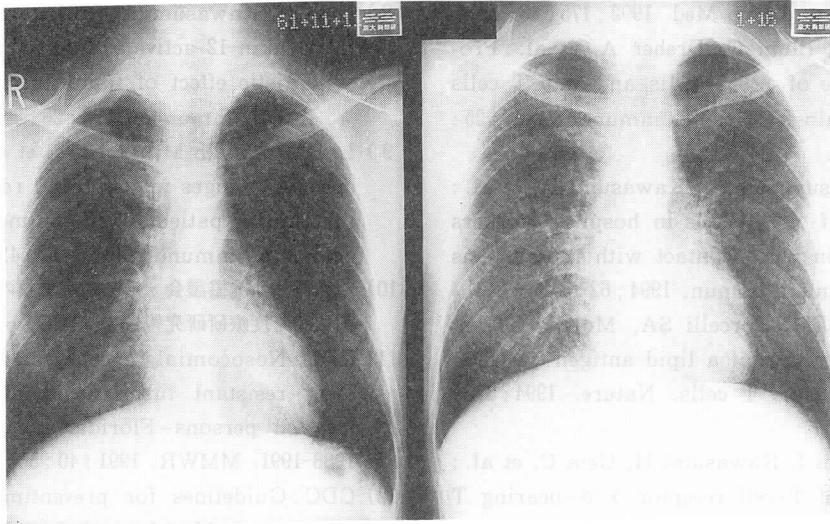


図 粟粒結核症例の化学療法開始時（左）と化学療法施行2カ月目の胸部X線写真（右）。化学療法施行2カ月目の写真は、開始時の写真と比べ、肺内陰影の明らかな増悪を認める。

炎の発症、縦隔・肺門リンパ節腫大などを認める事⁴⁾。

図に、INH + RFPを含む多剤併用療法施行2カ月目に初期悪化を来した粟粒結核症例の胸部レントゲン写真を示す。このような画像上の見かけの悪化を本邦の臨床医は意識しているが、欧米の教科書にはあまり記載がなく、Medlineで検索しても本邦からの報告以外は見当たらない。これは、欧米では結核患者の胸部X線写真をわが国ほど頻りに撮影しないためとも考えられるが、いずれにしてもこの現象は学問的には興味深い、臨床的意義は乏しいのかもしれない。

肺結核症の初期悪化病変の組織学的検討をした濱田らの最近の興味深い報告によると、約半数の例が気腔内に器質化浸出物の目立つ胞隔炎の像を呈し、アレルギー機

序を推定させるものであったという⁵⁾。従来より初期悪化の機序として、強力な化学療法により急激に死滅した大量の結核菌菌体に対するアレルギー反応であるとの見方が有力であり⁶⁾、先の報告はこれを組織学的に裏付けるものと考えられる。

初期悪化は薬剤が結核菌に対する生体の免疫反応に影響を与える数少ない現象である。そこで、その臨床的特徴を検討することとした。過去2年間に当科に入院した肺結核または結核性胸膜炎患者の中で、化学療法開始後胸部陰影の悪化があったが、同じ化学療法の継続でその後陰影の改善をみた初期悪化と考えられる6症例を、同時期の同病による入院患者で陰影の一時的悪化のなかった30症例と比較検討した。比較した項目は次の諸点であ

表1 初期悪化症例の臨床的特徴1

	初期悪化有	初期悪化無	
1) 年齢	60±6.3	48±3.5	p>0.1
2) 男:女	5:1	22:8	
3) 初回:再発	6:0	24:6	
4) 感受性:耐性	6:0	23:7	
5) 塗抹陽性例	6/6	15/30	
6) 入院時喀痰4週培養	733±307	348±115	p>0.1
7) 肺外結核の合併	2/6	2/36	
8) 肺内陰影の広がり3	2/6	2/30	
9) INH + RFPの使用	6/6	27/30	

表2 初期悪化症例の臨床的特徴2

	初期悪化有	初期悪化無	
1) 入院時 CRP	9.2±3.3	1.9±0.5	p<0.01
2) 悪化時 CRP	6.4±1.2	0.8±0.3	p<0.01
3) 入院時血小板数	36±6.8	29±1.6	p>0.1
4) 悪化時血小板数	45±8.0	27±1.6	p<0.01
5) 入院時体温	37.7±0.4	36.7±0.1	p<0.01
6) 悪化時体温	37.3±0.3	36.6±0.05	p=0.058

る：年齢・性別・基礎疾患・結核治療歴・排菌状況・菌の薬剤感受性・画像上の病型・治療薬・入院時と初期悪化時の体温/CRP/血小板数（初期悪化のなかった症例では入院後3-4週のデータを用いた）。初期悪化までの期間は治療開始後2週間で2例、3週間で2例、5週間で1例、8週間で1例であった。表1に初期悪化例の臨床的特徴を、また表2に検査上の特徴を、それぞれ初期悪化のなかった例と比較して呈示した。初期悪化例は全例初回非耐性の塗抹陽性例でINHとRFPを含む多剤併用化学療法を受けており、肺外結核の合併・入院時排菌量・入院時胸部写真の陰影の広がりから判断して比較的重症例が多かった。入院時体温とCRP値は初期悪化のなかった例に比べて有意に高値であり、また初期悪化時にもCRPと血小板数の高値と体温の上昇を認めた。以上の結果は初期悪化が、重症の結核が強力な化学療法で急速に改善する時に生じやすく、その発症にIL-1・TNF- α ・IL-6等の分泌に伴う急性炎症反応が関係することを示唆しているものと考えられた。

2) ヒトマクロファージ内で増殖中の結核菌に対するINH、RFPの抗菌作用に及ぼすマクロファージ活性化の影響

結核菌は細胞内寄生菌であり、マクロファージ内で旺盛に増殖する。したがって抗結核薬はマクロファージ中の結核菌に対して特に有効である必要がある。結核菌はマクロファージ内のファゴソーム中に存在するが、その環境の詳細（pH、酸素分圧、各種金属濃度等）は、現在のところ明確に理解されている訳ではない。実際の結核病変中でマクロファージは種々のサイトカイン等で活性化を受けており、活性化マクロファージ中では結核菌をとりまく環境や、薬剤の細胞内移行が変化している可能性が考えられる。それらの変化は細胞内薬剤効果に大きな影響を与えているものと推測されるが、現在までこのような観点からの研究は見られない。さらに現在難治結核症に対するサイトカインや抗サイトカイン療法が種々試みられているが、薬剤との相互作用の検討は少ない。以上の点を踏まえ、サイトカインで活性化されたマクロ

表3 INH/RFPのマクロファージ内結核菌殺菌効果に及ぼす各種サイトカイン効果*

サイトカイン	control	INH (2.0)	RFP (2.0)
control	4725	105	42
IFN- γ	3175	156	273
TNF- α	3563	73	21
IL-2	2856	51	11
GM-CSF	2775	63	16

*代表的3実験の平均値 (colony forming unit)

ファージ中の結核菌に対する薬剤効果を検討するため、以下の実験を試みた。正常者末梢血単球由来マクロファージに結核菌 (H37RV) を感染させる。その後IFN- γ ・TNF- α ・GM-CSF・IL-2等でマクロファージを24時間活性化後、0.2-20 μ g/mlのINH・RFPを添加しさらに48時間培養する。培地でよく洗浄後、SDSで細胞を破碎し細胞内生菌数を小川培地上のCFUで検討した。その結果の概要を表3に呈示した。現在のところ予備の結果ながら、IFN- γ で活性化したマクロファージ中で、INH・RFPの抗菌作用が減弱傾向を示し、反対にTNF- α ・IL-2で活性化したマクロファージ中ではINH・RFPの効果が増強される結果を得ている。現在その機序を探索すべく、細胞内薬剤濃度や各種antioxidant投与の影響を検討中である。さらに将来的には薬剤耐性菌を用い、サイトカインとの併用療法が耐性を打破する可能性を追求したいと考えている。

おわりに

現在米国においては結核の研究が極めて盛んであり、多数の報告がなされている。その内容は、結核菌遺伝子の研究・結核免疫の研究・結核に対する化学療法の研究等に大別でき、各々が独自の世界を形成しそれぞれの世界の中では活発な議論が展開されるが、世界が違えば会話が成り立たなくなっているように見受けられる。本邦でも将来似たような事態に陥りはしないだろうか？ 多量の結核菌を体内に持ち、複雑な免疫反応を惹起し、か

つ多剤併用化学療法を受けているのが実際の患者である。たとえ掘り下げた研究が出来なくとも、結核症を総合的にとらえていくのが、臨床も行う者の役割と考えている。

文 献

- 1) Stead WW, Senner JW, Reddick WT, et al.: Racial difference in susceptibility to infection by *Mycobacterium tuberculosis*. N Engl J Med. 1990; 322: 422-427.
- 2) Hopewell PC: Clinical feature, diagnosis, and management of Tuberculosis in immunocompromised hosts. Kekkaku. 1991; 66: 433-447.

- 3) Stead WW, Dutt AK: Epidemiology and host factors. In: Tuberculosis, 3rd Eds Schlossberg D, ed. Springer-Verlag, New York, 1993, 1-15.
- 4) 長崎美弥子: 肺結核の治療. 「結核」, 第2版, 久世文幸・泉孝英編集, 医学書院, 東京, 1992, 113-126.
- 5) 濱田 薫, 玉置伸二, 徳山 猛, 他: 肺結核のいわゆる初期悪化に対する組織学的検討. 呼吸. (印刷中)
- 6) 浦上栄一, 三井美登, 長沢誠司, 他: 肺結核強化療法中に見られる興味ある所見について. 日胸. 1978; 37: 882-893.

5. 結核症の治療と予防におけるサイトカインの有用性と問題点

琉球大学第一内科 川上 和 義

1. はじめに

結核罹患率および死亡率は、抗結核薬の開発によって1955年頃を境に急激に減少し、一時は結核を撲滅できるのではないかと考えられた時期もあった。しかしながら1980年頃から減少速度の鈍化がみられ、今なお重要な感染症として認識されている。

その原因として、人口の高齢化および医療の高度化に伴いコンプロマイズドホストが増加したことや、後天性免疫不全症候群（エイズ）の出現が挙げられる。特にエイズ患者の増加とともにアメリカでは多剤耐性結核が大きな問題になっている¹⁾²⁾。わが国ではエイズ患者はまだそれほど多くはないが、今後問題になってくる可能性は十分に考えられる。

このようにコンプロマイズドホストの増加を背景に結核罹患率が再上昇している現在においては、結核感染防御機構についての詳細な理解がより重要性を増している。

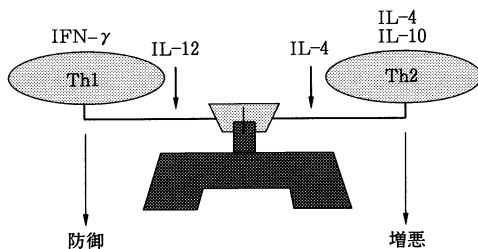


図1 感染防御と Th1-Th2 バランス

本稿では、結核感染防御機構における最近の考え方をサイトカインを中心に概説するとともに、その治療への応用の可能性と問題点について、われわれの研究成果を紹介しながら考察したい。

2. 結核感染防御とサイトカイン

細胞性免疫は結核感染の防御機構のみならず、その病態形成においても重要な役割を担っている。細胞性免疫は CD4 陽性 T 細胞から産生される種々のサイトカインによって巧妙に調節されている。その中でγインターフェロン (IFN-γ) に代表される Th1 サイトカインや IFN-γ 産生を誘導するインターロイキン (IL-12) は、マクロファージを最終的な殺菌エフェクター細胞とした結核感染防御機構において重要な役割を担っている^{3)~7)}。さらに、近年岡村らによって新たな IFN-γ 誘導因子として発見された IL-18は⁸⁾、結核菌と同様に細胞性免疫が感染防御において重要と考えられているクリプトコックスにおいて感染防御的に作用することが報告されており⁹⁾、今後は結核感染防御機構における役割の解明が待たれるところである。

一方、IL-4やIL-10に代表される Th2 サイトカインは、Th1 サイトカインに拮抗して作用することが知られており¹⁰⁾、Th1 サイトカインの過剰反応によって引き起こされる組織障害を抑制するためのネガティブフィードバック機構として働いている可能性が考えられている¹¹⁾。逆に、Th2 サイトカイン産生が過剰な状態では結核感染の増悪が観察されることから、結核感染後、感染防御に向かうか生体の過剰反応による組織破壊に向かうかは、

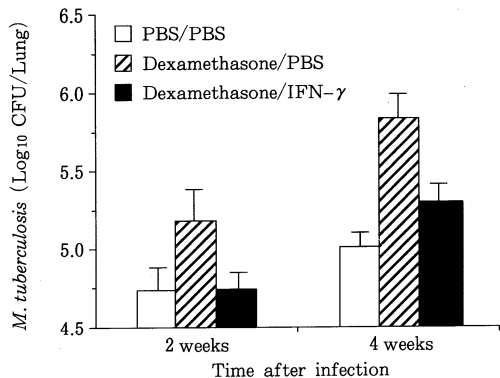


図2 IFN-γによる結核感染マウス治療の試み

Th1 および Th2 サイトカインの微妙なバランスによって規定されるものと考えられる (図1)。

われわれは、結核感染マウスを用いてサイトカイン投与の影響について検討している。BCG 抵抗性ストレインである DBA/2 マウスに 1×10^7 CFU の結核菌 (H37Rv株) を経静脈感染させても肺内から徐々に排除されてしまうのに対して、ステロイドまたは抗 CD4 抗体を投与することによって免疫不全状態にしたマウスでは明らかな結核菌排除の遅延が観察される。このマウスに Th1 サイトカインである IFN-γ を投与すると、肺内からの結核菌排除が有意に促進された (図2)。

一方、BCG 感受性ストレインである Balb/c マウスに 2×10^6 CFU の結核菌を経静脈感染すると、肺内菌数の経時的な増加とともに全例が7週までに死亡した。このマウスに IL-12 を投与すると、肺内菌数の減少がみ

られるとともに全例が生存した。また、IL-12の感染防御効果は Th1 サイトカインである IFN-γ の産生増強作用および Th2 サイトカインである IL-4 の産生抑制によるものであった。このように、IFN-γ や IL-12 はマウス結核症モデルにおいて明らかな治療的効果が認められた。

3. IFN-γによる難治性結核症治療の試み

マウスモデルにおける IFN-γ の治療的有効性から、同サイトカインのヒト結核症治療への応用が期待される。対象となるのは、何らかの原因によって感染抵抗力が低下し、抗結核化学療法に対して抵抗性となった難治化症例が考えられる。われわれは、多剤耐性菌による結核症患者や通常の抗結核薬によって2カ月以上治療したにもかかわらず改善のみられない難治化症例 (治療抵抗例) と化学療法によって順調に排菌の減少、消失がみられ、胸部写真上陰影の改善が認められた症例 (治療感受性例) において、血清中および末梢血リンパ球の PPD 刺激培養上清中の IFN-γ 濃度を測定し両群間で比較したところ、治療抵抗例において IFN-γ の低下傾向を認めた (図3)。この結果は、難治化症例において何らかの原因で IFN-γ 産生が十分でないかまたは抑制されていることが考えられ、IFN-γ の補充療法が有効である可能性を示唆している。

これまで結核症治療に IFN-γ が応用された報告はないが、種々の基礎疾患を持った播種性非定型抗酸菌症症例に対して IFN-γ 治療が試みられた報告は諸外国に散見される^{12) 13)}。表にその代表的なものをまとめた。多くの場合、IFN-γ 投与によって臨床的、細菌学的な改善が認められており、副作用も発熱や全身倦怠感程度の

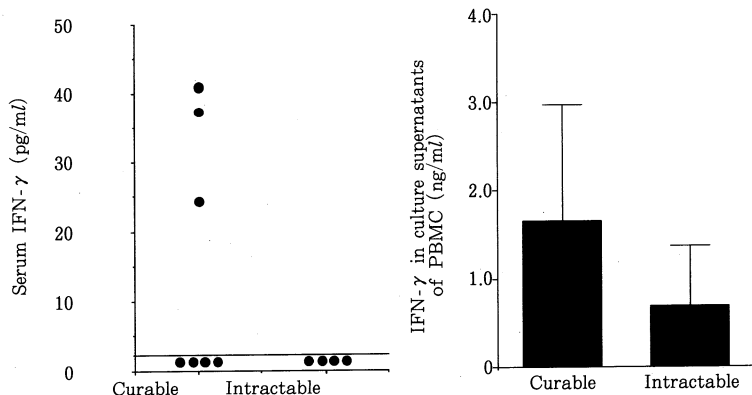


図3 IFN-γ レベルと治療感受性

表 IFN- γ による抗酸菌症の治療

Age/Sex	Extent of disease	Associated conditions	Organism	Clinical response	Adverse events
1. 5/M	Blood, nodes, gut, sinuses	Agenesis of the corpus callosum and the right kidney	MAC	effective	None
2. 29/M	Skin, bone	None	MAC	effective	None
3. 46/M	Blood, lung, skin	Congenital deafness, NIDDM, milliary TB at age of 28	MAC	effective	Malaise
4. 42/M	Blood, liver peritoneum	Idiopathic CD ₄₊ T lymphocytopenia recurrent bacterial pneumonia	MAC	effective	None
5. 41/F	Blood, skin, lung, pleural fluid, urine	Idiopathic CD ₄₊ T lymphocytopenia BOOP, orbital schwannoma	MAC	effective	Malaise
6. 49/F	Skin, bone	Idiopathic CD ₄₊ T lymphocytopenia recurrent deep venous thromboses	MAC	effective	None
7. 53/F	Skin, lung, pleural fluid, mediastinum, pericardium	Peripheral and central demyelinating process	<i>M. kansasii</i>	effective	None

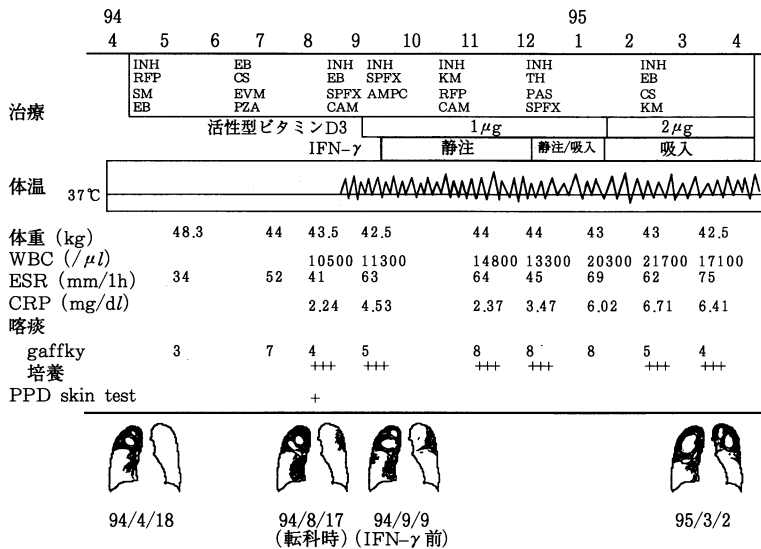


図4 臨床経過

軽いものであったと報告されている。

マクロファージの抗結核菌活性への IFN- γ の増強効果は、マウスにおいて著明に認められる。しかし、ヒト

マクロファージでは必ずしも意見の一致が得られていない^{14)~17)}。中には IFN- γ 処理によって逆にマクロファージの抗結核菌活性が抑制されるとの報告もある¹⁷⁾。わ

れわれは、ヒトの肺組織から得られたマクロファージの抗結核菌活性を調べ、IFN- γ および活性型ビタミン D3 の影響について検討したところ、両者の併用によって有意な抗結核菌活性増強効果のあることを示した¹⁸⁾。

以上の結果をもとに、われわれはインシュリン依存型糖尿病を基礎疾患に持つ多剤耐性菌による難治性肺結核症患者に対して IFN- γ と活性型ビタミン D3 の併用によるサイトカイン療法を試みた。

症例は34歳男性、インシュリン依存型糖尿病発症の2年後に肺結核を発症した。喀痰から検出された結核菌はINH, RFP, EB, SMの主要な抗結核薬に完全耐性を示す多剤耐性菌であり、これらの抗結核薬による治療にもかかわらず肺陰影の増大が認められた。その後、感受性のある他の抗結核薬やニューキノロン、マクロライド剤などを併用しながら治療を継続したが改善なく進行性に悪化がみられたため、十分なインフォームドコンセントの後、化学療法とIFN- γ 、活性型ビタミン D3 による併用療法を試みた。また、本症例では血清および末梢血リンパ球のPPD刺激培養上清中のIFN- γ 濃度の低下が認められた。図4に臨床経過を示す。

同治療を6カ月にわたって実施したが、臨床症状、炎症所見、細菌学的検査および胸部X線上明らかな改善は認められず、むしろ両側肺尖部にみられた空洞病変の拡大傾向がみられた。また、IFN- γ の全身投与中糖尿病の悪化がみられたため吸入療法に変更したが、治療開始6カ月後に左側気胸を発症し吸入継続困難となったため同治療は中止となった。

4. サイトカイン療法の問題点と今後の課題

今回難治性肺結核症患者に試みたIFN- γ 療法は、結果的には臨床的有効性は得られなかったが、治療経過中に実施した免疫学的パラメーターの解析では末梢血NK活性の増強、血清および末梢血リンパ球のPPD刺激培養上清中のIFN- γ 、IL-1、IL-2およびIL-6濃度の増加が観察された。この点では、IFN- γ 投与の効果のあったことが確認できた。

しかしながら、この結果は2つの点で問題を残している。第1点は、IFN- γ を全身投与していることから末梢血での免疫学的パラメーターの活性化がみられたのは当然として、果たして感染局所である肺においてもこのような活性化がみられ、感染防御に役立ったかどうかである。第2点は、IFN- γ や炎症性サイトカインおよびNK活性が過剰に活性化されると、逆に組織障害など生体にとって不都合な反応を引き起こすという点である。サイトカイン療法が諸刃の刃といわれるゆえんである。今回の試みにおける空洞病変の拡大などは、IFN- γ 投与に伴う生体の過剰反応による可能性も考えられる。

これらの問題に対処するためには、IFN- γ の投与量、投与方法、投与経路などを検討することによって、IFN- γ が効率的に感染局所で作用しかつ過剰な生体反応を誘導しないような条件を決定する必要がある。また、IFN- γ の副作用を抑えるために、Kaplanらによって行われているようなサリドマイドまたはその誘導体をIFN- γ 投与に併用する方法¹⁹⁾なども、今後考慮すべきかもしれない。

IFN- γ 以外にもIL-12やIL-18のようなIFN- γ 誘導サイトカインの難治性結核症治療への応用の可能性が考えられる。われわれのマウスクリプトコックス感染モデルを用いた研究では、IFN- γ よりもIL-12がより強力な治療効果を示すことを明らかにしている²⁰⁾。しかし、広範な生物活性を有するIL-12も重篤な副作用を来すことが報告されており²¹⁾、臨床応用までには解決すべき多くの問題点を抱えている。

5. おわりに

これまで動物モデルを用いた検討では、サイトカインの感染症治療への有効性を示す報告が数多くなされてきたが、臨床応用への道りはまだまだ遠い。今後サイトカインが結核治療に臨床応用されるためには、いかにして効率的にその生物活性を感染局所で発揮させることができるかだけでなく、いかにして副作用を軽減してより安全に投与できるようになるかが、今後のより重要な研究課題になるものと思われる。

文 献

- 1) Fischl MA, Uttamchandani RB, Daikos GL, et al.: An outbreak of tuberculosis caused by multiple-drug-resistant tubercle bacilli among patients with HIV infection. *Ann Intern Med.* 1992; 117: 177-183.
- 2) Pearson ML, Jereb JA, Frieden TR, et al.: Nosocomial transmission of multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis*: a risk to patients and health care workers. *Ann Intern Med.* 1992; 117: 191-196.
- 3) Flynn JL, Chan J, Triebold KJ, et al.: An essential role for interferon- γ in resistance to *Mycobacterium tuberculosis* infection. *J Exp Med.* 1993; 178: 2249-2254.
- 4) Cooper AM, Dalton DK, Stewart TA, et al.: Disseminated tuberculosis in IFN- γ gene-disrupted mice. *J Exp Med.* 1993; 178: 2243-2248.
- 5) Flynn JL, Goldstein MM, Triebold KJ, et

- al.: IL-12 increases resistance of Balb/c mice to *Mycobacterium tuberculosis* infection. J Immunol. 1995; 155: 2515-2524.
- 6) Cooper AM, Roberts AD, Rhoades ER, et al.: The role of interleukin-12 in acquired immunity to *Mycobacterium tuberculosis* infection. Immunology. 1995; 84: 426-462.
 - 7) Zhang M, Gately MK, Wang E, et al.: Interleukin-12 at the site of disease in tuberculosis. J Clin Invest. 1994; 93: 1733-1739.
 - 8) Okamura H, Tsutsui H, Komatsu T, et al.: Cloning of a new cytokine that induces IFN- γ production by T cells. Nature. 1995; 378: 88-91.
 - 9) Kawakami K, Qureshi MH, Zhang T, et al.: IL-18 protects mice against pulmonary and disseminated infection with *Cryptococcus neoformans* by inducing IFN- γ production. J Immunol. in press.
 - 10) Monsmann TR, Sad S: The expanding universe of T-cell subsets: Th1, Th2 and more. Immunol Today. 1996; 17: 138-146.
 - 11) Hunter CA, Ellis-Neyes LA, Sliker T, et al.: IL-10 is required to prevent immune hyperactivity during infection with *Trypanosoma cruzi*. J Immunol. 1997; 158: 3311-3316.
 - 12) Squires KE, Murphy WF, Madoff, et al.: Interferon- γ and *Mycobacterium avium-intracellulare* infection. J Infect Dis. 1989; 159: 599-600.
 - 13) Holland SM, Einstein EM, Kuhns DB, et al.: Treatment of refractory disseminated non-tuberculous mycobacterial infection with interferon gamma: a preliminary report. New Engl J Med. 1994; 330: 1348-1355.
 - 14) Rook GAW, Taverne J, Leveton C, et al.: The role of gamma-interferon, vitamin D3 metabolites and tumor necrosis factor in the pathogenesis of tuberculosis. Immunology. 1987; 62: 229-234.
 - 15) Rook GAW, Steele J, Fraher L, et al.: Vitamin D3, gamma interferon, and control of proliferation of *Mycobacterium tuberculosis* by human monocytes. Immunology. 1986; 57: 159-163.
 - 16) Denis M: Killing of *Mycobacterium tuberculosis* within human monocytes: activation by cytokines and calcitriol. Clin Exp Immunol. 1991; 84: 200-206.
 - 17) Rook GAW, Steele J, Ainsworth M, et al.: Activation of macrophages to inhibit proliferation of *Mycobacterium tuberculosis*: comparison of the effects of recombinant gamma-interferon on human monocytes and murine peritoneal macrophages. Immunology. 1986; 59: 333-338.
 - 18) 川上和義, 照屋勝治, 當山雅樹, 他: 実験的マウス結核症モデルを用いたガンマインターフェロン療法の試み. 結核. 1994; 69: 607-613.
 - 19) Klausner JD, Freedman VH, Kaplan G: Thalidomide as an anti-TNF- α inhibitor: implications for clinical use. Clin Immunol Immunopathol. 1996; 81: 219-233.
 - 20) Kawakami K, Tohyama M, Xie Q, et al.: Interleukin-12 protects mice against pulmonary and disseminated infection caused by *Cryptococcus neoformans*. Clin Exp Immunol. 1996; 104: 208-214.
 - 21) Trinchieri G, Scott P: The role of interleukin 12 in the immune response, disease and therapy. Immunol Today. 1994; 15: 460-463.