

原 著

肺結核患者の血清総 ADA および ADA isozyme 活性と  
リンパ球サブポピュレーションの検討

石井 慎一・長澤 博・田井 久量  
野田 容子・秋山 一夫・竹田 宏  
岡島 直樹・岡野 弘

東京慈恵会医科大学第三病院内科学講座第 2

受付 平成 8 年 10 月 15 日

受理 平成 9 年 1 月 6 日

RELATIONSHIP BETWEEN THE ACTIVITY OF SERUM  
ADENOSINE DEAMINASE INCLUDING ITS ISOZYMES  
AND LYMPHOCYTE SUBPOPULATION  
IN PATIENTS WITH PULMONARY TUBERCULOSIS

Shin-ichi ISHII, Hiroshi NAGASAWA, Hisakazu TAI, Yoko NODA,  
Kazuo AKIYAMA, Hiroshi TAKEDA, Naoki OKAJIMA, Hiroshi OKANO

(Received 15 October 1996/Accepted 6 January 1997)

Adenosine deaminase (ADA) is one of the enzymes in the purine metabolism and divided into two isozymes, ADA-1 and ADA-2. It is known that the activity of this enzyme is elevated in the sera of patients with pulmonary tuberculosis, sarcoidosis and other diseases, however there are few reports about the change of the activity of this enzyme under treatment. It is often said that this enzyme may have its origin in T lymphocyte, but it remains to be proved. That goes for each of two isozymes, too. In this study, we investigated the activity of serum total ADA, ADA-1 and ADA-2 in patients with pulmonary tuberculosis on admission and after three months' treatment. We also studied the correlation of lymphocyte subpopulation with these enzymes. The activity of total ADA, ADA-1 and ADA-2 was significantly higher in the sera of patients with pulmonary tuberculosis than in those of healthy persons. ADA-2 activity correlated significantly and negatively with the number of CD3<sup>+</sup> lymphocytes and CD4<sup>+</sup> lymphocytes. The change rate of ADA-2 activity during three months' treatment correlated significantly and negatively with the change rate of CD4/8. These results may suggest that there is a close correlation between the activity of ADA-2 and lymphocyte subpopulation in the sera of patients with pulmonary tuberculosis. ADA-1 activity did not correlate with lymphocyte subpopulation significantly, but it decreased significantly after three months' treatment. The activity of ADA-1 also may have certain relations with the disease process of pulmonary tuberculosis.

\* From the Department of Internal Medicine (Daisan Hospital II), The Jikei University School of Medicine, 4-11-1, Izumihoncho, Komae-shi, Tokyo 201 Japan.

**Key words:** Adenosine deaminase, Isozyme, Pulmonary tuberculosis, Lymphocyte sub-population

キーワーズ: アデノシンデアミナーゼ, アイソザイム, 肺結核, リンパ球サブポピュレーション

## I. 緒言

アデノシンデアミナーゼ (adenosine deaminase, 以下 ADA) は, アデノシンやデオキシアデノシンを脱アミノ加水分解し, イノシンやデオキシイノシンとアンモニアを生成するプリン代謝系の酵素である。臨床的にこの ADA は, 1957年 Straub らが癌患者の血清中で高値を示すと報告<sup>1)</sup>したことで注目されたが, その後腫瘍マーカーとしては特異性はないと考えられている。しかし1972年 Giblett らにより, 重症複合型免疫不全症の患者赤血球中において, ADA 活性が著しく低値を示すことが報告<sup>2)</sup>されて以来, 免疫機能, 特にリンパ球との関係で再び注目されるようになった。

呼吸器疾患領域においては, ADA 活性は結核性胸水中で上昇する<sup>3)~5)</sup>ことが知られており, 他疾患による胸水との鑑別診断上, 重要な指標として臨床に広く用いられてきている。血清中の ADA 活性については, 肺結核<sup>6)7)</sup>やサルコイドーシス<sup>8)~11)</sup>などの肉芽腫性肺疾患やマイコプラズマ肺炎<sup>12)</sup>, その他の肺感染症<sup>13)</sup>において上昇するとされている。しかし, その経時的変動などに関する報告はほとんどみられていない。

ADA は分子量や酵素学的性質の違いにより, ADA-1 と ADA-2 の2つの isozyme に分けられる。

近年 ADA-1 の特異的阻害剤である erythro-9-(2-hydroxy-3-nonyl) adenine (EHNA) を用いることにより, 容易に ADA-1 と ADA-2 に分けて活性を測定<sup>14)15)</sup>できるようになった。今回われわれは, 肺結核患者における血清総 ADA および ADA isozyme 活性の経時的変動と, リンパ球サブポピュレーションとの関係について検討し, いくつかの新しい知見を得たので報告する。

## II. 対象および方法

### 1. 対象

対象は, 当院結核病棟に入院し結核菌の排菌が確認された17例と, 健常人20例である。肺結核患者は男性13例, 女性4例で, 年齢は23歳から85歳 (45.6±17.8歳)であった。表に, 患者の背景をまとめた。結核病学会病型分類による陰影の比較では, 抗結核剤による3カ月間の加療の前後で変化の認められない症例もあるが, 塗抹や培養検査による排菌の推移では全例で改善傾向が認められている。健常人は男性12例, 女性8例であり, 年齢は22歳から73歳 (43.7±14.9歳)であった。

### 2. 血清総 ADA 活性および ADA isozyme 活性

入院時および抗結核剤による加療後3カ月目の血清総 ADA 活性および ADA isozyme 活性は, マルホ社の

表 患者一覧表

症例	年齢	性別	入院時		加療3カ月後			
			学会分類	Gaffky	培養	学会分類	Gaffky	培養
1	23	女性	bⅡ <sub>3</sub>	6号	4週陽性	bⅢ <sub>2</sub>	0号	8週陰性
2	70	男性	bⅡ <sub>2</sub>	3号	5週陽性	bⅡ <sub>2</sub>	0号	8週陰性
3	63	男性	bⅡ <sub>3pi</sub>	4号	6週陽性	bⅡ <sub>3</sub>	0号	8週陰性
4	53	男性	bⅡ <sub>2</sub>	5号	7週陽性	bⅡ <sub>1</sub>	0号	8週陰性
5	45	男性	lⅡ <sub>2</sub>	6号	4週陽性	lⅡ <sub>2</sub>	0号	8週陰性
6	27	女性	bⅡ <sub>2</sub>	5号	5週陽性	bⅡ <sub>2</sub>	0号	8週陰性
7	44	男性	bⅡ <sub>2</sub>	0号	6週陽性	bⅢ <sub>2</sub>	0号	8週陰性
8	23	女性	bⅡ <sub>2</sub>	5号	4週陽性	rⅢ <sub>2</sub>	0号	8週陰性
9	35	男性	bⅢ <sub>2</sub>	2号	5週陽性	bⅢ <sub>2</sub>	0号	8週陰性
10	25	男性	lⅡ <sub>2</sub>	2号	8週陽性	lⅡ <sub>2</sub>	0号	8週陰性
11	57	男性	bⅡ <sub>2pi</sub>	7号	4週陽性	bⅡ <sub>2pi</sub>	1号	8週陽性
12	47	男性	bⅡ <sub>2pi</sub>	3号	4週陽性	bⅡ <sub>2pi</sub>	0号	8週陰性
13	85	男性	lⅢ <sub>2</sub>	0号	5週陽性	lⅢ <sub>2</sub>	0号	8週陰性
14	38	男性	rⅢ <sub>2pi</sub>	0号	6週陽性	rⅢ <sub>2pi</sub>	0号	8週陰性
15	29	女性	rⅡ <sub>2</sub>	5号	8週陽性	rⅡ <sub>2</sub>	0号	8週陰性
16	56	男性	rⅡ <sub>1</sub>	3号	5週陽性	rⅡ <sub>1</sub>	0号	8週陰性
17	56	男性	rⅡ <sub>2</sub>	3号	7週陽性	rⅡ <sub>1</sub>	0号	8週陰性

測定キット (AD テスト) を用いて測定した。この測定原理は、アデノシンを基質として ADA を反応させた場合に生ずるアンモニアを分光光度計で比色定量し、ADA 活性 (総 ADA 活性) として求めるものである。ADA-1 を特異的に阻害する EHNA を予め基質液中に混和して同様に測定すると、ADA-2 活性のみが求められる。ADA-1 活性は、総 ADA 活性と ADA-2 活性の差として求めた。分光光度計は日立 U-2000 型を使用した。

### 3. リンパ球サブポピュレーション

肺結核患者についてはリンパ球サブポピュレーションとして、CD 3<sup>+</sup> 細胞数、CD 4<sup>+</sup> 細胞数、CD 8<sup>+</sup> 細胞数、CD 4/8 を測定した。ADA 活性と同様、入院時および加療後 3 カ月目に測定を行った。

### 4. 血清 ADA 活性およびリンパ球サブポピュレーションの変化率

血清総 ADA 活性の変化率は、入院時と 3 カ月後の総 ADA 活性の差を入院時の値で除したものとした。

総 ADA 活性の変化率 = (入院時 - 3 カ月後)

総 ADA 活性 / 入院時総 ADA 活性

同様にして ADA-1 活性、ADA-2 活性、リンパ球サブポピュレーションの変化率を求めた。

### 5. 統計処理

測定値は平均値 ± 標準偏差で表し、有意差検定は U 検定を用いて検討した。

## III. 結 果

### 1. 健常人および入院時肺結核患者の血清総 ADA

### および ADA isozyme 活性

健常人 20 例の血清総 ADA、ADA-1、ADA-2 活性はそれぞれ  $12.0 \pm 2.2$  IU/L、 $2.5 \pm 1.2$  IU/L、 $9.5 \pm 2.2$  IU/L であった。肺結核患者 17 例の入院時のそれぞれは、 $22.0 \pm 8.6$  IU/L、 $4.3 \pm 2.9$  IU/L、 $17.8 \pm 8.5$  IU/L であり、いずれも肺結核患者において有意に高値を示した (Fig. 1)。

### 2. 入院時肺結核患者の血清総 ADA 活性とリンパ球サブポピュレーション

入院時の肺結核患者の血清総 ADA 活性と CD 4<sup>+</sup> 細胞数との間に負の相関がみられた。CD 3<sup>+</sup> 細胞数との間には、有意ではないが負の相関の傾向がみられた。CD 8<sup>+</sup> 細胞数との間には一定の関係はみられなかった (Fig. 2)。

### 3. 入院時肺結核患者の血清 ADA-1 活性とリンパ球サブポピュレーション

入院時の肺結核患者の血清 ADA-1 活性と CD 3<sup>+</sup> 細胞数、CD 4<sup>+</sup> 細胞数、CD 8<sup>+</sup> 細胞数とのいずれの間にも、有意な関係はみられなかった (Fig. 3)。

### 4. 入院時肺結核患者の血清 ADA-2 活性とリンパ球サブポピュレーション

入院時の肺結核患者の ADA-2 活性と CD 3<sup>+</sup> 細胞数および CD 4<sup>+</sup> 細胞数との間に負の相関がみられた。CD 8<sup>+</sup> 細胞数との間には一定の関係はみられなかった (Fig. 4)。

### 5. 肺結核患者における入院時と加療 3 カ月後の血清総 ADA および ADA isozyme 活性の比較

肺結核患者 17 例の、加療 3 カ月後の血清総 ADA、

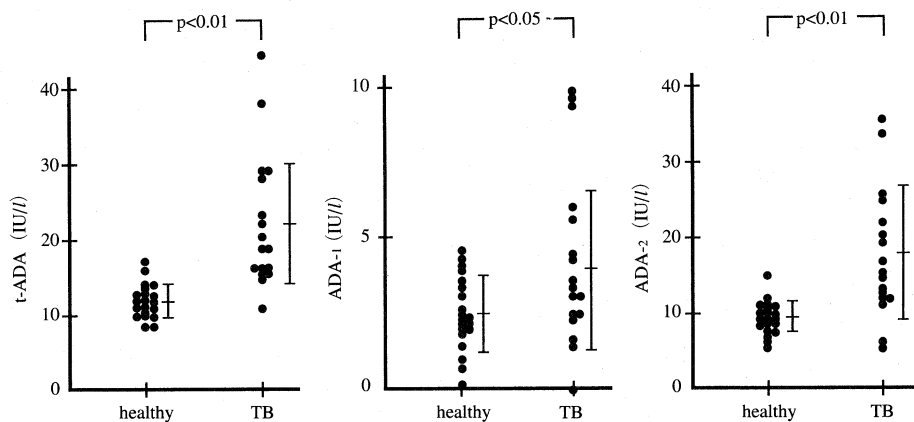


Fig. 1 Total ADA, ADA-1, ADA-2 activity in the sera of healthy persons and patients with pulmonary tuberculosis. All of them were significantly higher in the sera of the patients with pulmonary tuberculosis than those of healthy persons. (t-ADA : total ADA, TB : pulmonary tuberculosis)

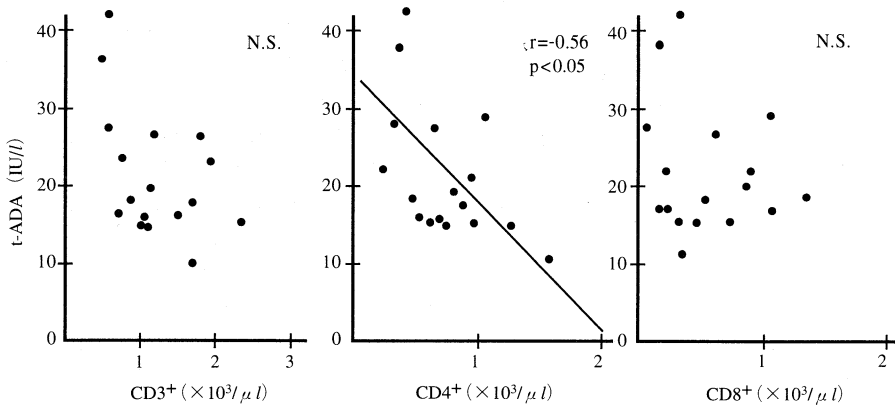


Fig. 2 Relationship between total ADA activity in the sera of patients with pulmonary tuberculosis and the number of lymphocyte subsets. Total ADA activity correlated significantly and negatively with the number of CD4<sup>+</sup> lymphocytes. (t-ADA: total ADA)

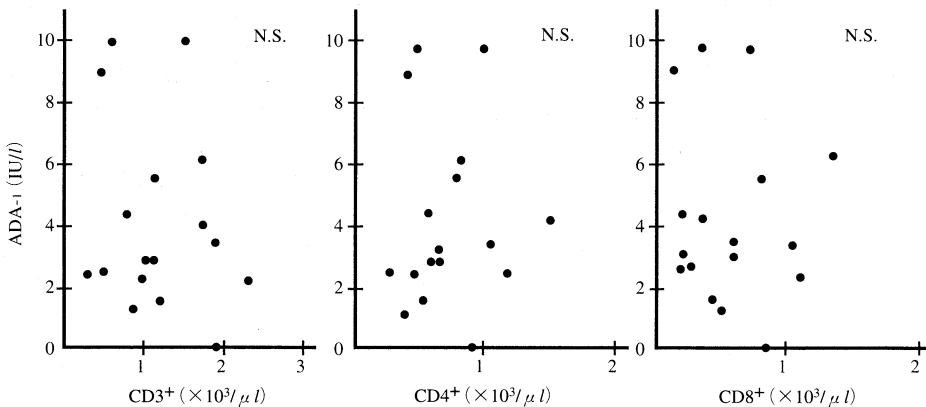


Fig. 3 Relationship between ADA-1 activity in the sera of patients with pulmonary tuberculosis and the number of lymphocyte subsets. None of them correlated significantly with ADA-1 activity.

ADA-1, ADA-2 活性は  $18.6 \pm 4.8$  IU/L,  $2.7 \pm 2.0$  IU/L,  $15.9 \pm 4.4$  IU/L で, 入院時と比して, 総 ADA 活性と ADA-1 活性は有意に低下していた。ADA-2 活性に関しては一定の傾向はみられなかった (Fig. 5)。

#### 6. 肺結核患者における血清総 ADA および ADA isozyme 活性の変化率と CD 4/8 の変化率

肺結核患者の入院時から加療 3 カ月間の総 ADA 活性の変化率と CD 4/8 変化率, ADA-2 活性の変化率と CD 4/8 変化率の間に負の相関がみられた。ADA-1 活性の変化率と CD 4/8 変化率の間には一定の関係はみら

れなかった (Fig. 6)。

#### IV. 考 察

ADA は生体内に広く分布する酵素であるが, 特にリンパ系組織で高い活性<sup>16)</sup>を示し, リンパ系細胞の中では T 細胞に活性が高い<sup>17)</sup>。免疫不全症候群の一連の研究でも, ADA は T 細胞<sup>18)</sup>や単球系<sup>19)</sup>の分化誘導に必要とされ, ADA 欠損症に伴う免疫機能の障害は, プリン代謝障害によりデオキシアデノシンが T 細胞に蓄積するため<sup>20)21)</sup>と考えられている。

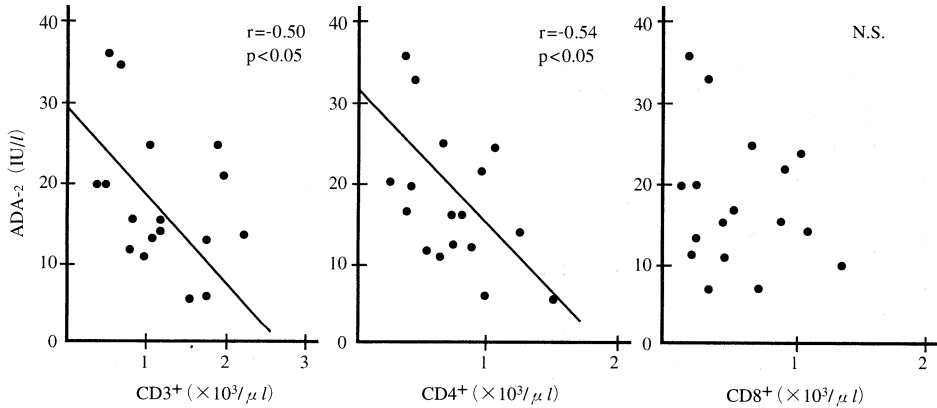


Fig. 4 Relationship between ADA-2 activity in the sera of patients with pulmonary tuberculosis and the number of lymphocyte subsets. ADA-2 activity correlated significantly and negatively with the number of CD 3<sup>+</sup> lymphocytes and CD 4<sup>+</sup> lymphocytes.

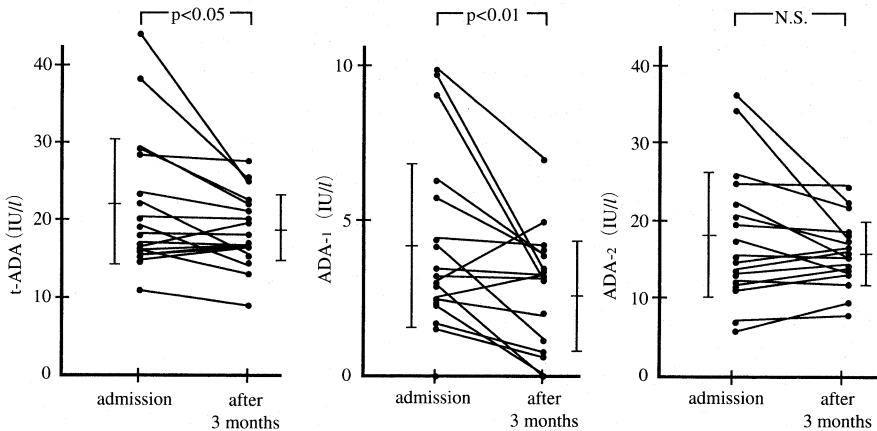


Fig. 5 Total ADA, ADA-1, ADA-2 activity in the sera of patients with pulmonary tuberculosis on admission and after three months' treatment. Total ADA and ADA-1 activity decreased significantly during this period. (t-ADA : total ADA)

現在、ADA は ADA-1 と ADA-2 の 2 つの isozyme に分けられ、健康人の血清総 ADA 活性の約 8 割は、ADA-2 活性による<sup>16)</sup>とされている。血清 ADA-1 と ADA-2 の由来については、リンパ球であるとする報告<sup>22)</sup>もあるが明らかになっていない。

今回の検討において、肺結核患者の入院時血清総 ADA, ADA-1, ADA-2 活性は、いずれも健康人に比し有意に高値を示した。

肺結核患者の入院時血清 ADA-1 活性および ADA-2 活性とリンパ球サブポピュレーションとの検討では、

ADA-2 活性と CD 3<sup>+</sup> 細胞数および CD 4<sup>+</sup> 細胞数との間に負の相関が得られたのに対し、ADA-1 活性においては一定の傾向はみられなかった。肺結核患者の、入院時からの治療 3 カ月間における血清 ADA-1, ADA-2 活性の変化率と CD 4/8 変化率の検討でも、ADA-2 活性の変化率と CD 4/8 変化率との間に負の相関が得られたのに対し、ADA-1 活性の変化率と CD 4/8 変化率との間には一定の傾向は得られなかった。

これらの結果から肺結核患者では、血清 ADA-2 活性がリンパ球サブポピュレーションと関係していること

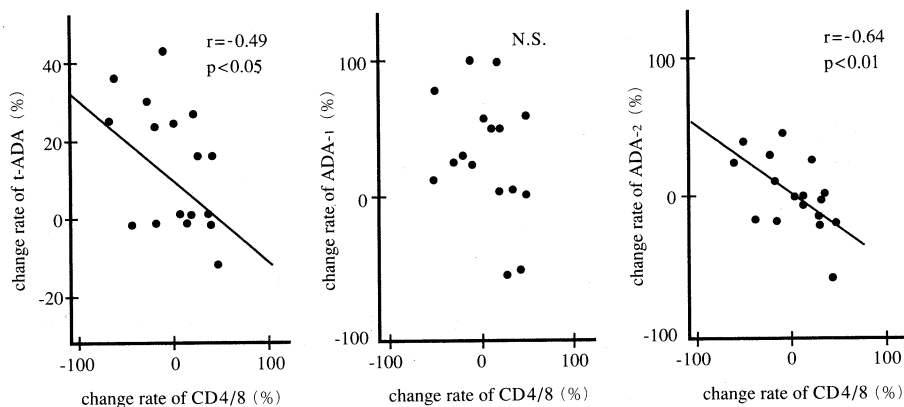


Fig. 6 Relationship between the change rate of CD 4/8 and the change rate of total ADA, ADA-1, ADA-2 activity during three months' treatment. The change rate of total ADA and ADA-2 activity correlated significantly and negatively with the change rate of CD 4/8 (t-ADA: total ADA)

が示唆されると思われる。肺結核病巣ではT細胞とマクローファージが主たる役割を演じている<sup>23)</sup>。リンパ球サブポピュレーションの検討は、これらの細胞の免疫反応を解明するものとして行われているが、末梢血と病巣局所では動態が異なるとされている<sup>24)25)</sup>。すなわち、病巣局所を代表する材料として胸水を取り上げ末梢血と比較すると、胸水中でOKT 3細胞や4細胞、PanT細胞やHelper/Inducer細胞が有意に増加しているという。今回、入院時の血清ADA-2活性が末梢血中CD 3<sup>+</sup>細胞数やCD 4<sup>+</sup>細胞数と負の相関を示したのは、病巣へこれらの細胞が集簇し、末梢血中において減少したためであり、3カ月間の加療によるADA-2活性の変化率とCD 4/8の変化率が負の相関を呈するのは、末梢血中にこれらの細胞が増加したことと関係があるものと推測される。

肺結核患者の入院時血清総ADA活性が、CD 4<sup>+</sup>細胞数と負の相関を持ち、CD 3<sup>+</sup>細胞数との間に有意ではないが負の相関の傾向を示すのは、総ADA活性がADA-1活性とADA-2活性の和であり、ADA-2活性がその約8割を占めるためと思われる。加療3カ月間の総ADA活性の変化率とCD 4/8の変化率が負の相関を示すのも、同様の理由からと考えられる。

## V. 結 論

1. 肺結核患者の入院時血清総ADA, ADA-1, ADA-2活性は、いずれも健康人に比し有意に高値であった。
2. 肺結核患者の入院時血清ADA-2活性とCD 3<sup>+</sup>

細胞数およびCD 4<sup>+</sup>細胞数との間に負の相関が認められた。入院時からの加療3カ月間における血清ADA-2活性の変化率とCD 4/8の変化率の間にも負の相関が認められた。ADA-2がリンパ球サブポピュレーションと関係していることが示唆された。

3. 肺結核患者の血清ADA-1活性とリンパ球サブポピュレーションとの検討では有意な関係は認められなかった。しかし加療3カ月間でADA-1活性は有意に低下しており、病態と関連して変動しているものと考えられた。

## 文 献

- 1) Straub FB, Stephaneck O, Acs G: Plasma adenosine deaminase activity in tumor cases. *Biochimia*. 1957; 22: 118-21.
- 2) Giblett ER, Anderson JE, Cohen F, et al.: Adenosine-deaminase deficiency in two patients with severely impaired cellular immunity. 1972; 1067-9.
- 3) 高橋唯郎: 肺胸膜疾患における adenosine deaminase 活性測定 of 臨床的意義に関する検討. *北里医*. 1982; 12: 39-46.
- 4) Ocana I, Martinez-Vazquez JM, Segura RM, et al.: Adenosine deaminase in pleural fluids, test for diagnosis of tuberculous pleural effusion. *Chest*. 1983; 84: 51-3.
- 5) 矢木 晋: 胸水貯留例の臨床的検討. *結核*. 1990; 65: 775-83.

- 6) 井田 隆, 谷合 哲, 新田政男, 他: 肺結核患者における血清 ADA 活性の推移とその臨床的意義について. 結核. 1990; 65: 477-81.
- 7) 長澤 博: 肺結核患者の総 ADA 活性および ADA isozyme 活性に関する研究. 慈大誌. 1993; 108: 257-65.
- 8) Taylor A: Serum adenosine deaminase activity is increased in sarcoidosis. Clin Chem. 1984; 30: 499-500.
- 9) Klockars M, Petterson T, Weber TH, et al.: Angiotensin-converting enzyme, lysozyme, beta-2-microglobulin and adenosine deaminase in sarcoidosis. Arch Monaldt. 1984; 39: 345-56.
- 10) 宮地純樹, 小須田達夫, 久富龍夫, 他: サルコイドーシス血清アデノシンデアミナーゼの検討. 日胸. 1988; 47: 45-8.
- 11) 長澤 博, 内山克己, 湯橋容子, 他: サルコイドーシス患者の血清及び気管支肺胞洗浄液中の ADA 活性. 日本サルコイドーシス学会雑誌. 1991; 10: 85-6.
- 12) 管 守隆, 西川 博, 安藤正幸, 他: マイコプラズマ肺炎の早期診断における血清中 adenosine deaminase 活性値の有用性. 日胸疾会誌. 1989; 27: 461-6.
- 13) Klockars M, Kleemola M, Leinonen M, et al.: Serum adenosine deaminase in viral and bacterial pneumonia. Chest. 1991; 99: 623-6.
- 14) 中 恵一, 下条信雄, 奥田 清, 他: 阻害剤を用いたアデノシンデアミナーゼアイソサイムの測定法とその臨床的意義. 臨床検査. 1989; 33: 1085-1089.
- 15) Frieden C, Kurz L, Gilbert HR: Adenosine deaminase and adenylyate deaminase; Comparative kinetic studies with transition state and ground state analogue inhibitors. Biochemistry. 1980; 19: 5303-9.
- 16) 倉田矩正. アデノシンデアミナーゼ. 臨検. 1988; 32 (増刊): 1238-42.
- 17) Macdermott RP, Tritsch GL, Formister JF: Adenosine deaminase and nucleotide phosphorylase activity in normal human blood mononuclear cell subpopulations. Clin Exp Immunol. 1980; 42: 303-7.
- 18) Ballet JJ, Insel R, Merler E, et al.: Inhibition of maturation of human precursor lymphocytes by cofomycin, an inhibitor of the enzyme adenosine deaminase. J Exp Med. 1976; 143: 1271-6.
- 19) Fischer D, Weyden MB, Snyderman R, et al.: A role for adenosine deaminase in human monocyte maturation. J Clin Invest. 1976; 58: 399-407.
- 20) Elford HL, Lin AL: Adenosine deaminase impairment and ribonucleotide reductase in human cells. Ann NY Acad Sci. 1985; 451: 98-112.
- 21) Hershfield MS, Kurtzberg J, Aiyar VN: Abnormalities in S-adenosylhomocysteine hydrolysis, ATP catabolism, and lymphoid differentiation in adenosine deaminase deficiency. Ann NY Acad Sci. 1985; 451: 78-86.
- 22) 倉田矩正: アデノシンデアミナーゼ. 日臨. 1989; 47 (別冊): 205-8.
- 23) Mackaness GB: Resistance to intracellular infection. J Inf Dis. 1971; 123: 439.
- 24) 高橋勝利, 橋上 裕, 森下宗彦, 他: モノクローナル抗体による肺結核症の末梢血, および胸水中リンパ球分画の検討. 結核. 1986; 61: 253-56.
- 25) 原田泰子, 高本正祇, 原田 進, 他: 肺結核症における末梢血リンパ球サブセットの動態. 結核. 1988; 63: 133-42.