

原 著

肺結核症患者治療経過中の末梢血単核球
サイトカイン産生能の変動

仲谷宗裕・米田尚弘・小林 厚
斧原康人・生駒行拔・福岡篤彦
友田恒一・竹中英昭・岡村英生
山本智生・福岡和也・徳山 猛
岡本行功・吉川雅則
塚口勝彦・成田亘啓

奈良県立医科大学第二内科

受付 平成8年10月11日

受理 平成9年3月5日

CYTOKINE PRODUCING ABILITY OF PERIPHERAL BLOOD MONONUCLEAR
CELLS IN THE CLINICAL COURSE OF PULMONARY TUBERCULOSIS

Munehiro NAKAYA*, Takahiro YONEDA, Atsushi KOBAYASHI,
Yasuhito ONOHARA, Yukihiro IKOMA, Atsuhiko FUKUOKA,
Koichi TOMODA, Hideaki TAKENAKA, Hideo OKAMURA,
Chinaru YAMAMOTO, Kazuya FUKUOKA, Takeshi TOKUYAMA,
Yukinori OKAMOTO, Masanori YOSHIKAWA,
Katsuhiko TSUKAGUCHI and Nobuhiro NARITA

(Received 11 October 1996/Accepted 5 March 1997)

Interferon- γ (IFN- γ) and interleukin-10 (IL-10)-producing ability of peripheral blood plastic-dish adherent cells and non-adherent cells obtained from patients with active pulmonary tuberculosis (N=17) and healthy controls (N=14) upon stimulation with purified protein derivatives (PPD) were assessed. Adherent cells and non-adherent cells were obtained two times from each patient with active pulmonary tuberculosis without any underlying diseases, on admission before the initiation of administering anti-tuberculous drugs and 2 months later from the negative conversion of *Mycobacterium tuberculosis* in sputum culture. ELISA was performed to measure IFN- γ and IL-10 levels in culture media of adherent cells and non-adherent cells stimulated with PPD.

IFN- γ levels produced by non-adherent cells on admission were significantly higher than that of healthy controls ($p < 0.001$). Elevated IFN- γ levels on admission was reduced after treatment for tuberculosis ($p < 0.03$), but still remained higher than that in healthy controls. IL-10 levels of non-adherent cells of patients were lower than those of

* From the Second Department of Internal Medicine, Nara Medical University, 840 Shijo-cho, Kashihara-shi, Nara 634 Japan.

healthy controls, although the difference was not significant. IL-10 levels produced by non-adherent cells on admission correlated with the time needed for negative conversion of bacilli in sputum culture ($p < 0.05$). IL-10 level produced by adherent cells from nutritionally normal patients were significantly higher than that of healthy controls ($p < 0.05$), and elevated IL-10 level was significantly reduced after therapy ($p < 0.05$).

In the normonourished patients, the time needed for negative conversion of the bacilli in sputum culture of patients kept higher level of IL-10 of non-adherent cells ($N=5$) was significantly longer than that of patients reduced IL-10 level after therapy.

These results suggest that IL-10 produced by monocytes may diminish the TH1 responses of patients with pulmonary tuberculosis.

Key words: Pulmonary tuberculosis, Interleukin-10 (IL-10), Interferon- γ (IFN- γ)

キーワードズ: 肺結核, インターロキニン-10 (IL-10), インターフェロン- γ (IFN- γ)

緒言

肺結核患者では細胞性免疫能や液性免疫能異常など^{1)~9)}が見られることがあり, 宿主の免疫状態と結核症の発症やその経過との関連が注目されている。

近年, マウスにサイトカイン産生様式の異なる Th1 細胞と Th2 細胞とが存在し, 両者の相互作用によって免疫状態が決定されているとする Th-1/Th-2 仮説が提唱され¹⁰⁾, ヒトの免疫系でも同様の概念が受け入れられつつある。

ヒトの肺結核で, 末梢血リンパ球と単球のそれぞれについて, 治療経過を通してサイトカイン産生様式へ言及した報告は少ない。また当科では, 以前より肺結核の発症・増悪と栄養障害の密接な関連性を報告してきた^{3) 11)~13)}。今回著者らは治療経過を通してリンパ球やマクロファージのサイトカイン産生様式を検討し, 肺結核患者の免疫状態・栄養状態と臨床経過との関係を検討したので報告する。

対象

1994年3月から95年3月の間に当科と関連施設とに入院し, 全身的基礎疾患を有しない排菌未治療患者で薬剤耐性を示さない者17例(男10例, 女7例, 年齢 59.5 ± 19.3 歳)を患者群とし, またツベルクリン反応(以下, ツ反)陽性の健康成人14例(男9例, 女5例, 年齢 32.9 ± 9.6 歳)を対照群とした。

方法

1) 末梢血の採取時期

患者末梢血を治療開始前とその後, 培養で排菌陰性化を確認した時点より2カ月後の2回に分けヘパリン加採血を行った。

2) 単核球非付着分画の採取

ヘパリン加採血した静脈血は, 同量のリン酸緩衝生理食塩水 (PBS, pH7.4) を加えられ混和後, Ficoll-Hypaque 比重遠心法 (400g, 30分間) で単核球 (peripheral blood mononuclear cell, 以下, PBMC) 分画を採取し, PBS で3回洗浄後, 10% fetal calf serum (以下, FCS) (GIBCO社, Grand Island, N.Y.; USA.) を加えた RPMI 1640 培養液 (GIBCO社, Grand Island, N.Y.; USA.) に浮遊させ, FCS でコーティングしたプラスチックペトリディッシュ (CORNING社 25020, N.Y.; USA.) に注ぎ, 37°C, 5%CO₂ 下で1時間静置培養した。その後, 非付着細胞を回収し PBS で3回洗浄, 10%FCS 加 RPMI 1640 培養液で 10^7 /ml に調整し非付着細胞分画とした。なお, この操作で得られた非付着細胞分画は FITC 標識抗 CD14 抗体による蛍光抗体染色法で, 平均3~5%の単球が含まれることを確認した。

3) 単核球付着分画の回収

単球が付着したプラスチックディッシュを37°Cに加温した RPMI 1460 で3回洗浄し, 残存非付着細胞を除去後, 0.2% EDTA 加 PBS を加え, 4°Cで15分間静置し付着細胞をディッシュより分離させ, さらに残存付着細胞をセルスクレーパー (住友ベークライト, MS-93170, 東京) で剥離し回収, PBS で3回洗浄, 10%FCS 加 RPMI 1640 培養液で 5.0×10^5 /ml に調整し付着細胞分画とした。付着細胞の90%以上は FITC 標識抗 CD14 抗体による蛍光抗体染色陽性であった。

4) 培養上清の回収

10^7 /ml に調整した非付着細胞と, 5.0×10^5 /ml に調整した付着細胞とを, それぞれ100 μ l ずつ96穴平底プレート (IWAKI社 3860-096) の各ウェルに分注し, 最終濃度 10 μ g/ml となるように調整した purified pro-

tein derivative (以下, PPD。M.tuberculosis 由来, 日本 BCG 社, 東京) また対照には同量の PBS を各ウェルに添加した。Tsuyuguchi ら¹⁴⁾ の方法により 37℃, 5%CO₂ 下で 24 時間培養後, 上清を回収し, 測定まで -80℃ で保存した。

5) IFN-γ と IL-10 産生能との測定

上清中の IFN-γ, IL-10 濃度を ELISA 法で測定し, PPD に対する IFN-γ, IL-10 産生能とした。IFN-γ の測定は, MEDGENIX 社 (Fledurus, Belgium.), IL-10 の測定は Biosource 社 (California, USA.) 製の ELISA キットを使用した。各キットの測定限界は, それぞれ 0.1IU/ml, 5pg/ml であった。

6) 各種臨床所見との比較

患者群の非付着細胞 IFN-γ, IL-10 産生能, および付着細胞 IL-10 産生能と, 患者群の年齢 (歳), %標準体重 (以下 %IBW), 白血球 (/μl), リンパ球 (/μl), 単球 (/μl) などの末梢血検査, 血清総蛋白 (g/dl), 血清アルブミン (g/dl), 血清コリンエステラーゼ (IU/l) などの生化学的検査, CRP (mg/ml) などの血清学的検査, および PPD による遅延型皮膚反応発赤の長径 (mm), PHA, ConA によるリンパ球幼若化反応, 2, 4-dinitrochlorobenzene (DNCB) による遅延型皮膚反応の陽性率などの細胞性免疫能の指標, 喀痰中の結核菌の排菌量, 排菌期間, 胸部 X 線所見などの臨床所見との関連について検討した。

7) 栄養状態との比較

患者群を血清アルブミン値 3.5g/dl 以上の栄養正常患

者群 (10例) と, 3.5g/dl 未満の栄養不良患者群 (7例) とに分け, 各群の非付着細胞の IFN-γ, IL-10 産生能および付着細胞の IL-10 産生能を比較した。

8) 本研究の統計学的検討には Student の t 検定を用い, 危険率両側 5% を有意とし, 測定値は平均 ± 標準偏差で示した。

結 果

1) 非付着細胞の IFN-γ 産生能

治療前, 患者群非付着細胞 IFN-γ 産生能は 647.3 ± 862.4IU/ml で対照群 IFN-γ 産生能 (45.2 ± 49.4IU/ml) に比べ著明に亢進していた (p < 0.03)。排菌陰性化後の IFN-γ 産生能は 185.1 ± 200.7IU/ml で, 治療前より有意に減少していたが (p < 0.05), 対照群よりは有意に高値であった (p < 0.05, Fig. 1)。

2) 非付着細胞の IL-10 産生能

治療前, 患者群非付着細胞の IL-10 産生能は 894.6 ± 546.1pg/ml で, 対照群の IL-10 産生能 (1261.9 ± 838.4 pg/ml) との間に有意差はなかった。排菌陰性化後の IL-10 産生能は 741.2 ± 362.3pg/ml で, 治療前と比較して明らかな変化は認めなかった。

3) 付着細胞の IFN-γ 産生能

患者群, 対照群とも全例で付着細胞培養上清中の IFN-γ 濃度は使用した ELISA キットの測定限界未満であった。

4) 付着細胞の IL-10 産生能

治療前の患者群付着細胞の IL-10 産生能は 129.4 ±

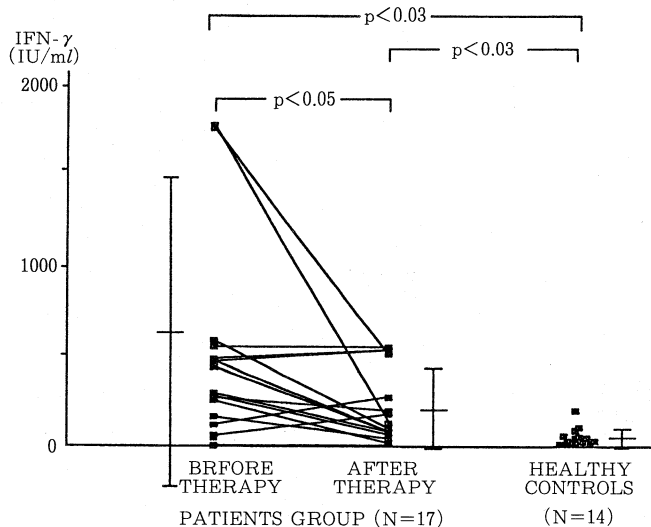


Fig.1 IFN-γ concentrations of non-adherent cells upon stimulation with PPD of patients (before and after anti-tuberculous therapy) and of healthy controls.

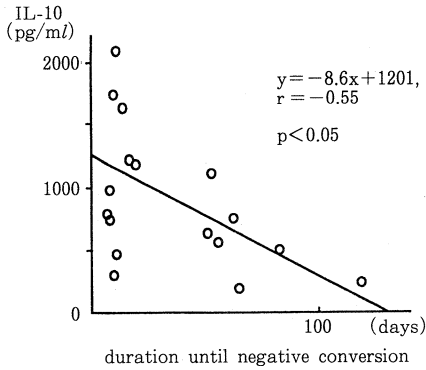


Fig.2 The correlation between the concentrations of IL-10 produced by non-adherent cells and duration of positive culture of *M.tuberculosis*.

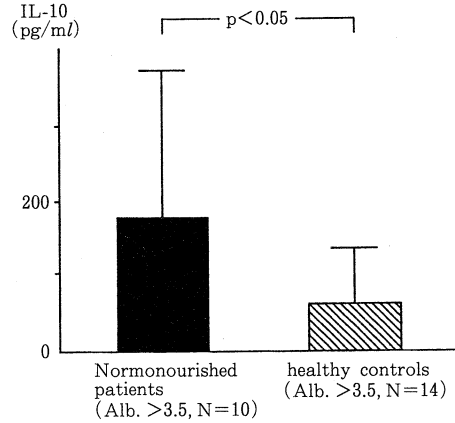


Fig.3 Comparison of the IL-10 concentrations of adherent cells between normonourished patients (Alb.>3.5, N=10) and healthy controls (N=14).

161.1pg/mlで対照群のIL-10産生能(62.1±74.3pg/ml)と有意差はなかった。排菌陰性化後のIL-10産生能は99.7±181.1pg/mlで、治療前と明らかな変化は認めなかった。

5) 各種臨床所見との比較

患者非付着細胞のIL-10産生能と排菌期間の間には有意な負の相関が見られたが(Fig. 2, $p < 0.05$), 他の所見の間には有意な相関は認めなかった。

6) 栄養状態との関連性

非付着細胞のIFN- γ 産生能は栄養正常患者群で

882.8±423.9IU/ml, 栄養不良患者群で911.4±724.7IU/ml, IL-10産生能は栄養正常患者群で508.8±471.0pg/ml, 栄養不良患者群で845.3±1254.1pg/mlであった。付着細胞のIL-10産生能は栄養正常患者群で174.8±64.5pg/ml, 栄養不良患者群で64.5±56.7pg/mlであった。両群間で有意なサイトカイン産生能の差は認められなかったが、付着細胞のIL-10産生能は栄養正常患者群でやや高い傾向があった。

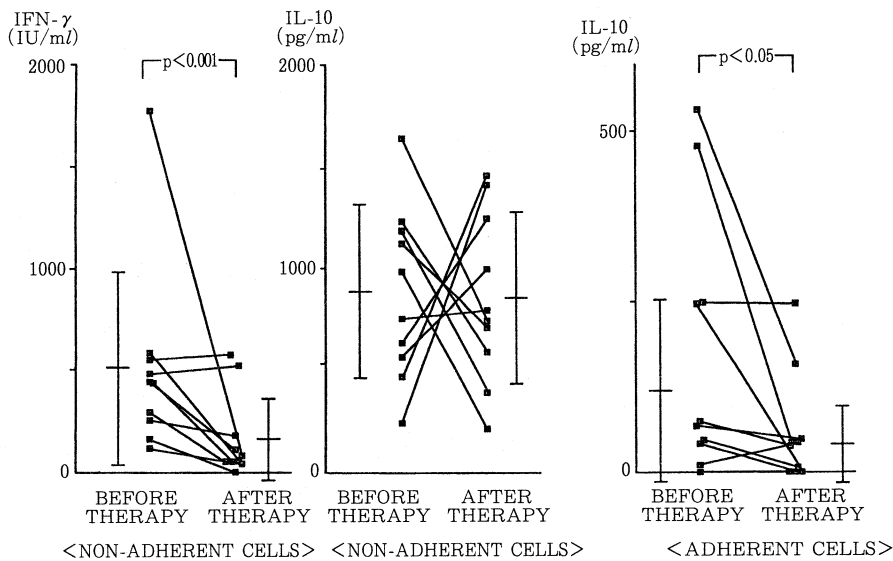


Fig.4 Cytokine concentrations of non-adherent cells and adherent cells during the course of therapy in normonourished patients (N=10).

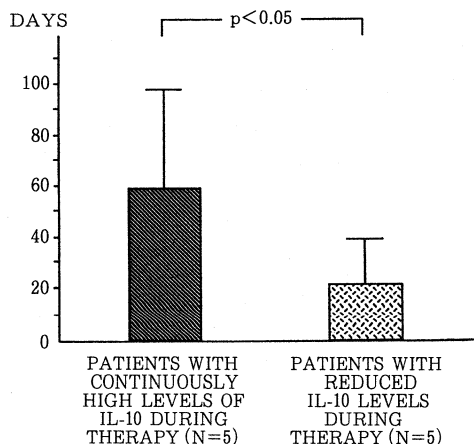


Fig.5 Comparison of duration until negative conversion of culture study of *M. tuberculosis* between normonourished patients with continuously high levels of IL-10 released by non-adherent cells and those with reduced IL-10 levels during therapy.

7) 栄養正常患者群と対照群とのサイトカイン産生能の比較

先述のように栄養状態によってサイトカイン産生能に差がみられる傾向があったため、栄養状態をマッチして栄養正常患者群と対照群とのサイトカイン産生能を比較した。

非付着細胞のIFN- γ 産生能は患者群と対照群との比較と同様、栄養正常患者群で 508.8 ± 471.0 IU/mlで対照群より有意に高値であった ($p < 0.001$)。IL-10産生能は非付着細胞では両群間に有意差はみられなかったが、付着細胞では栄養正常患者群で 174.8 ± 196.0 pg/mlと、対照群のIL-10産生能 (62.1 ± 74.3 pg/ml) より有意に高値で ($p < 0.05$, Fig.3), 治療後には有意な減弱がみられた ($p < 0.05$)。

8) 栄養正常患者個々の治療前後でのサイトカイン変動様式

非付着細胞IFN- γ 産生能は患者群の場合と同様、2例は治療前後ではほぼ不変であったが、8例では治療後に減弱がみられた。

非付着細胞のIL-10産生能は治療後減弱5例、増強または不変5例で一定の傾向はみられなかった。付着細胞では、治療後減弱8例、増加、または不変2例であった (Fig.4)。

非付着細胞のIL-10産生能変動様式の違いと臨床所見との関係を検討したところ、治療前後ともIL-10高値が持続していた群では、治療後にIL-10産生が減弱した群

より、排菌期間は 60.0 ± 38.7 日と有意に長く (Fig.5), 喀痰中の排菌量も多い傾向がみられた。

考 察

結核症は結核菌を起炎菌とする感染症であるが、結核免疫の主役はTリンパ球を中心とした細胞性免疫機構である¹⁵⁾。結核患者ではツ反陰性化¹⁾、特異的抗原に対するリンパ球幼若化反応減弱¹⁾、リンパ球サブセットの変化^{4)~6)}、サイトカイン産生の変化⁷⁾、マクロファージの抗酸菌殺菌能低下⁶⁾などの細胞性免疫能に関連した異常がみられることがあり、これらが肺結核症の発症や臨床経過の多様性に関与する可能性が考えられている。

IFN- γ は活性化Tリンパ球やNK細胞、または活性化マクロファージから産生されるサイトカインで、マクロファージ¹⁶⁾やTリンパ球の活性化¹⁷⁾作用をもつ。IFN- γ 遺伝子ノックアウトマウスによる検討¹⁸⁾¹⁹⁾ではノックアウトマウスの抗酸菌感染に対する抵抗性の低下とIFN- γ 投与による抵抗性の獲得が観察され、抗酸菌感染におけるIFN- γ の重要性が認識されているが、ヒトマクロファージの結核菌殺菌作用へのIFN- γ の効果は未だに明確ではない²⁰⁾。

近年、マウスにおいてTH1/TH2仮説が提唱され¹⁰⁾その概念は、ヒトの免疫系でも受け入れられつつある。IL-10はTH1/TH2仮説に基づいて発見されたサイトカインで²¹⁾²²⁾、ヒトではTH0/TH2細胞、活性化T細胞、単球/マクロファージ、活性化B細胞、メラニン細胞など多種の細胞によって産生され、その生物活性はT細胞に対してはGM-CSF、IFN- γ 産生抑制、TH0、TH1の増殖抑制、単球/マクロファージに対してはIL-1、IL-6、TNF α などの産生抑制、MHCクラスII抗原発現抑制、活性酸素および酸化窒素産生抑制など²³⁾があるが、ヒト結核症での意義は十分解明されていない。

Yamamuraら²⁴⁾は癩の生検材料中の各種のサイトカインのmRNAの発現を検討し、類結核癩ではIFN- γ 、IL-2などが、また癩腫癩ではIL-4、IL-5、IL-10などのサイトカインが発現しており、癩ではTH1あるいはTH2いずれかの優位性が病型を決定する可能性を示している。

結核症も癩と同じく細胞性免疫が病体形成の重要な要素である。当科では結核患者では%IBW、血清コリンエステラーゼ値、血清アルブミン値と排菌持続期間との関係¹¹⁾¹²⁾、栄養障害とDNCB反応の関係¹¹⁾¹³⁾など栄養障害と免疫スペクトルとの関連を指摘し、結核患者の重症度とNK細胞活性・DNCB反応によって規定される免疫スペクトルとの関連性³⁾も報告しており、結核症でも免疫スペクトルの存在が十分推測される。同様の全身状態と同一の化学療法を行っても、排菌が遅延する

症例はしばしば経験され²⁰⁾, 菌側要因以外に結核の発症, 治癒過程に影響を与える何らかの免疫スペクトルに裏打ちされた宿主要因が存在すると考えられる。

近年 TH1/TH2 仮説に基づいて, 患者と健常者との PBMC の結核関連抗原刺激によるサイトカイン産生能の観察から宿主要因のスペクトルを検討する試みが散見される。Sanchez ら²⁵⁾ は PPD 刺激による結核患者 PBMC のサイトカイン産生を検討し, 患者 IFN- γ 産生能は健常者より低値で, また IL-4 産生は健常者では PPD 刺激により低下するが, 患者では不変であったと報告している。また, Zhang ら²⁶⁾ は加熱死菌刺激による結核患者 PBMC のサイトカイン産生を検討し, 健常者よりも結核患者では病初期の IFN- γ 産生の低下, 治癒後の増大を報告し, 結核患者, 特に病初期では TH1 細胞の反応は減弱しており, このことが結核発症に関与する可能性を指摘している。一方, Taha ら²⁷⁾ は気管支肺胞洗浄細胞に発現しているサイトカイン mRNA を *in situ* hybridization 法で結核病巣局所でのサイトカイン産生細胞の局在を検討し, 気管支肺胞洗浄液中細胞には IFN- γ を発現した細胞が多くみられ, 活動性肺結核病巣局所では TH1 様の反応が生じている可能性を指摘しており, 結核患者での TH1/TH2 様反応の優位性については必ずしも一定の成績は得られていない。

本検討では患者の治療前の非付着細胞分画の IFN- γ 産生能は健常者に比べ著明に亢進し, 治療後には優位に減弱していた。非付着細胞分画は PBMC から単球/マクロファージに富む付着細胞を可及的に除去したものである。付着細胞中には免疫抑制性マクロファージが存在することが知られており²⁸⁾, 非付着細胞分画中では, PBMC 中よりマクロファージのリンパ球系への抑制が少ないと考えられ, 本検討の *in vitro* の結果からは病初期の末梢血中リンパ球の TH1 様反応が亢進しているように見えるが患者の *in vivo* では単球/マクロファージによって抑制的な修飾を受けている可能性も否定できない。

ヒトの結核症での IL-10 の意義はまだ不明な点が多いが, その生物活性から IL-10 の大量の分泌は結核免疫で宿主に不利となる可能性が推測される。多剤耐性結核, AIDS では結核免疫での IL-10 の役割が検討されており, Fujiwara ら²⁹⁾ は多剤耐性結核症 (以下, MDRTB) 患者と薬剤感受性結核 (以下, DRTB) 患者の PBMC を結核菌で刺激, 培養上清中 IL-10 産生を検討し, MDRTB 患者の PBMC では IL-10 産生が DRTB 患者より亢進していること, 健常者の PBMC による IL-10 産生は多剤耐性結核菌菌体刺激による場合がより著しいこと, 抗 IL-10 抗体の添加で減弱した結核菌刺激リンパ球幼若化が増強することを報告している。

また Zhang ら³⁰⁾ は HIV 抗体陽性患者の PBMC を結核菌で刺激し, HIV 抗体陰性患者に比べ HIV 陽性患者では IFN- γ 産生能, 結核菌刺激によるリンパ球幼若化反応が著明に減少しており, 減弱していたリンパ球幼若化反応が抗 IL-10 抗体の添加で著明に回復するが抗 IL-4 抗体では回復はみられないことを観察しており, これらの報告は IL-10 が結核症難治化に関与している可能性を示唆していると考えられる。

一方, 本検討では, 対照群に比べて栄養状態正常な肺結核患者末梢血付着分画の IL-10 分泌亢進と排菌陰性化後減弱が認められた。分泌された IL-10 は病初期の肺結核患者リンパ球の TH1 様反応を抑制している可能性が考えられ, 基礎疾患をもたず, 栄養状態も良好な患者でも IL-10 分泌の亢進が肺結核発症進展と何らかの関連性をもつ可能性が考えられる。また非付着分画 IL-10 産生能高値が持続していた栄養正常患者では排菌期間が有意に長く, IL-10 による TH1 様反応抑制の持続が肺結核の遷延に関与している可能性が考えられ, このように IL-10 は肺結核の発症と臨床経過に何らかの影響を持つ可能性が示唆された。

以上より活動性肺結核患者において TH1/TH2 様サイトカインバランスと疾患の関連性を示唆することができた。

なお本論文の要旨の一部は第71回日本結核病学会 (1996年3月, 東京), 1996年度アメリカ胸部疾患学会 (1996年5月, ニューオリンズ) にて発表した。

文 献

- 1) McMurray DN and Echeverri A: Cell-mediated immunity in anergic patients with pulmonary tuberculosis. *Am Rev Respir Dis.* 1978; 118: 827-834.
- 2) Kleinhenz ME and Ellner JJ: Antigen responsiveness during tuberculosis: Regulatory interactions of T cell subpopulations and adherent cells. *J Lab Clin Med.* 1987; 110: 31-40.
- 3) Yoneda T, Mikami R, Sakaguchi Y, et al.: The relationship between natural killer cell activity and delayed-type hypersensitivity reaction to 2,4-dinitrochlorobenzene in the spectrum of chronic, intractable pulmonary tuberculosis. *Tubercle.* 1987; 68: 59-64.
- 4) Aristzabal L and Garcia LF: Formation of total and stable E-rosettes by lymphocytes from patients with pulmonary tuberculosis stimulated by Con A or PPD. *J Clin Lab*

- Immunol. 1985; 16: 31-36.
- 5) Rook GAW, Carswell JW and Stanford J: Preliminary evidence for trapping of antigen-specific lymphocytes in the lymphoid tissue of 'anergic' tuberculosis patients. *J Clin Exp Immunol.* 1976; 26: 129-132.
 - 6) Tsuyuguchi I, Shiratsuchi H, Fujiwara H, et al.: Nonspecific recruitment of lymphocytes in purified protein derivative-induced lymphocyte proliferative response of patients with tuberculosis. *Infect Immun.* 1982; 37: 702-709.
 - 7) Vilcek J, Klion A, Henriksen-De-Stefano D, et al.: Defective gamma interferon production in peripheral blood leukocytes of patients with acute tuberculosis. *J Clin Immunol.* 1986; 6: 146-151.
 - 8) Lowrie DB: Is macrophage seat on the field of battle essential to victory, or a tactical weakness in immunity against tuberculosis? *Clin Exp Immunol.* 1990; 80: 301-303.
 - 9) Restrepo LM, Barrera LF, Garcia LF: Natural killer cell activity in patients with pulmonary tuberculosis and healthy controls. *Tubercle.* 1990; 71: 95-102.
 - 10) Mosmann TR, Cherwinski H, Bond MW, et al.: Two types of murine helper T cell clone 1. Definition according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins. *J Immunol.* 1986; 136: 2348-2357.
 - 11) 吉川雅則, 米田尚弘, 塚口勝彦, 他: 肺結核症における栄養障害と細胞性免疫能の関連. *結核.* 1994; 69: 307-316.
 - 12) 米田尚弘: 第70回総会シンポジウム II. 持続排菌患者の集学的研究 5. 栄養の立場から. *結核.* 1996; 71: 57-63.
 - 13) 吉川雅則: 肺結核患者における栄養・免疫学的研究 第2報 治療による各種栄養・免疫学的指標の変化. *奈良医誌.* 1987; 38: 833-841.
 - 14) Tsuyuguchi I, Shiratsuchi H, Okuda Y, et al.: An analysis of in vitro T cell responsiveness in nontuberculous mycobacterial infection. *Chest.* 1988; 94: 822-829.
 - 15) 露口泉夫: ヒト結核の感染・発病と免疫. *日胸.* 1996; 55: 94-101.
 - 16) Schreiber RD and Celader A: Molecular characterization on interferon γ as a macrophage activating factor. *Lymphokines.* 1985; 11: 87-118.
 - 17) Lui Y and Janeway CA Jr: Interferon γ plays a critical role in induced cell death of effector T cell: a possible third mechanism of self-tolerance. *J Exp Med.* 1990; 172: 1735-1740.
 - 18) Dalton DK, Pitts-Meek S, Keshav S: Multiple defect of immune cell function in mice with disrupted interferon- γ genes. *Science.* 1993; 259: 1739-1742.
 - 19) Flynn JA, Chan J, Triebold KJ: An essential role for interferon γ in resistance to *Mycobacterium tuberculosis* infection. *J Exp Med.* 1993; 178: 2249-2254.
 - 20) Yoneda T, Tossi Z, Hirsch C, et al.: Effect of a panel of cytokines on intracellular killing of *Mycobacterium tuberculosis* within human monocytes. *Am J Respir Crit Care Med.* (submitted)
 - 21) Fiorentino DF, Bond MW, Mosmann TR: Two types of mouse T helper cell VI.Th2 clones secrete a factor that inhibits cytokine production by Th1 clones. *J Exp Med.* 1989; 170: 2081-2095.
 - 22) Moore KW, Vieira P, Fiorentino DF: Homology of cytokine synthesis inhibitory factor (IL-10) to Epstein-Barr virus gene BCRF1. *Science.* 1990; 248: 1230-1234.
 - 23) 石田 博, 大田博之: インターロイキン10 — 炎症性サイトカインの制御を中心に —. *医学のあゆみ.* 1995; 174: 1051-1056.
 - 24) Yamamura M, Uyemura K, Deans JD, et al.: Defining protective responses to pathogens: Cytokine profiles in leprosy lesions. *Science.* 1991; 254: 277-279.
 - 25) Sanchez FO, Rodriguez JI, Agudelo G, et al.: Immune responsiveness and lymphokine production in patients with tuberculosis and healthy controls. *Infect Immun.* 1994; 62: 5673-5678.
 - 26) Zhang M, Lin Y, Iyer DV, et al.: T-cell cytokine responses in human infection with *Mycobacterium tuberculosis*. *Infect Immun.* 1995; 63: 3231-3234.
 - 27) Taha R, Menzies R, Song YL, et al.: IFN- γ and IL-12 are increased active vs nonactive

- tuberculosis. Am J Respir Crit Care Med. 1996; 152: A806.
- 28) Ellner JJ: Suppressor adherent cells in human tuberculosis. J Immunol. 1978; 121: 2573-2579.
- 29) Fujiwara H, Aotani T, Tsuyuguchi I, et al.: Increased production of interleukin-10 by human blood mononuclear cells stimulated with multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis*. Proc. Twentyninth Joint US-Japan Research Conference on Tuberculosis and Leprosy. 1994, 75.
- 30) Zhang M, Gong J, Iyer DV, et al.: T-cell cytokine production in tuberculosis and human immunodeficiency virus infection. J Clin Invest. 1994; 94: 2435-2442.