

## 総 説

## 多剤耐性結核に対する免疫療法 — その可能性をさぐる

露 口 泉 夫

大阪府立羽曳野病院

IMMUNOTHERAPY FOR MDR-TB (MULTI-DRUG-RESISTANT TUBERCULOSIS)  
— ITS FEASIBILITY

Izuo TSUYUGUCHI\*

MDR-TB is known to be man-made-disease. Inappropriate treatment of tuberculosis is responsible for the development of MDR-TB.

MDR-TB is often accompanied with the immunosuppression of the host. Given that we are unable to develop another potent anti-TB drug in near future, immunotherapy directed at combating immunosuppression and enhancing the host's own immune response is an attractive approach to supplement conventional chemotherapy for MDR-TB.

Patients with AIDS and patients with abnormalities of macrophage function have frequent problems with TB. This is suggesting that the host defenses involved in protection against mycobacteria include T-cell and monocyte/macrophage functions. That is cell-mediated immunity.

Diverse cytokines are known to play an important role in anti-TB cell-mediated immunity, including IL-2, IL-12, IL-18 and IFN- $\gamma$ . Various animal experiments are indicating that administration of these cytokine(s) did recover the suppressed immunity and rescued the host from death by tuberculous infection. However, we have to keep it in mind that the results obtained from animal model of mycobacterial infection on the study of pathogenesis and immune responses in TB is not always applicable to the understanding of human TB. Clinical trial of inhalation therapy with IFN- $\gamma$  showed some improvement for drug-resistant TB. Cytokine treatment, however, often gave some deleterious side effects such as high fever, malaise, general edema and even the death of the host.

Clinical trials with *M. vaccae* have been extensively conducted by UK group. The mechanisms underlying its possible therapeutic action remain to be clarified, but when administered at an appropriate dose, it has been shown to elicit a strong Th1 immune response.

From the practical view point of immunotherapy for TB, surrogate markers of disease eradication and protective immunity are urgently required. Such markers would facilitate clinical trials by providing early evidence that test compounds or vaccines are effective.

Even during the era when no potent chemotherapeutic agents were available, one third of the patients with TB survived the disease and enjoyed the entire lives. Then the question is what determines the alternative: survival or death following development of drug

別刷り請求先:

露口 泉夫

大阪府立羽曳野病院

〒583-8588 大阪府羽曳野市はびきの3-7-1

\* From the Osaka Prefectural Habikino Hospital, 3-7-1, Habikino, Habikino-shi, Osaka 583-8588 Japan.

(Received 2 Dec. 1998/ Accepted 8 Jan. 1999)

-resistant TB. Is it host immune responsiveness or virulence of the microbe, or both? Clearly much more work seems required before we are able to find some definite means to conquer MDR-TB in human.

**Key words :** MDR-TB, Immunotherapy, Cytokines

**キーワード :** 多剤耐性結核, 免疫療法, サイトカイン

## 1. はじめに

多剤耐性結核, multidrug resistant tuberculosis (MDR-TB) は, 世界的に結核の減少が見られない中であつてもたらされた悲惨な結果である。わが国での患者数は二千数百人ともいわれ, 結核対策上焦眉の課題となっている。初回治療例の0.1%に, また再発例の4.3%にみられる。それは全く戦前の結核への逆戻りの感さえある。MDR-TBの院内感染や集団感染・発病の報告がある。アメリカに見られるような, 重症のHIV感染時の合併症としてのMDR-TBは少ないわが国では, 長期にわたる持続排菌患者が確実に増加し, それらがさらに大きな感染源を形成しつつある。MDR-TBは本来man-made-diseaseとされ, 大部分は適切な化学療法でその発生の予防が可能である。しかしながら不幸にして薬剤耐性となった時には, 画期的な新薬の開発が当分望みがたい現在, 外科的治療はもちろんのこと, 宿主側の抗菌抵抗力を高めるといった「免疫療法」をも将来の戦略の視野に入れるべきであろう。

抗結核免疫の解析は主にマウスを始めとする動物実験でなされてきた。それから得られた知見がヒトの結核症には必ずしも当てはまらないもどかしさがある。ここでは, 実際の臨床治験をも頭に描きながら, 動物実験およびヒトにおける免疫療法に関するこれまでの報告をまとめ, そのMDR-TBに対する補助療法としての, また, MDR-TBの発生予防対策の一つとしての, 可能性を探ってみることにする。

## 2. 抗結核防御免疫機構

一般の感染症と同様に, 生体は結核菌に対しての防御機構を構え, それはT細胞とマクロファージが主役の細胞性免疫である。このことは, エイズの際にみられるCD4<sup>+</sup>T細胞の絶対的な減少状態では, 結核菌感染が容易にそのまま発病に発展し, しかも全身的な感染症をもたらすことから明らかである。結核にあつてはしかし, この細胞性免疫反応が必要以上に過剰におこると, 結核の病態づくりに結びつく。遅延型アレルギーである。結核の治療において化学療法により菌を静止ないし殺すことは, このアレルギー反応における抗原物質をなくすことであり, 空洞や結核結節形成反応の終息を意味する。

さて, 抗結核防御免疫はその反応の特異性から2つに大別することができる。一つは初期免疫, innate immunityあるいは自然免疫である。もう一つは, それに引き続いて成立する獲得免疫, acquired immunityあるいは特異免疫である。両者の根本的な違いは微生物を認識する仕組みの違いにある。

まず初期免疫について述べると, マクロファージは, その表面のレセプター (たとえばマンノース・レセプター) を介して結核菌体表面の細胞壁成分である糖成分を認識し, 結核菌を貪食する。結核菌体の細胞壁成分中の糖脂質の刺激をうけて, マクロファージはIL-1, IL-6, IL-12, IL-18, Tumor Necrosis Factor  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) 等のサイトカインを誘導し分泌する。これらが再びマクロファージに働き活性化させるとともに, NK細胞や $\gamma/\delta$ T細胞

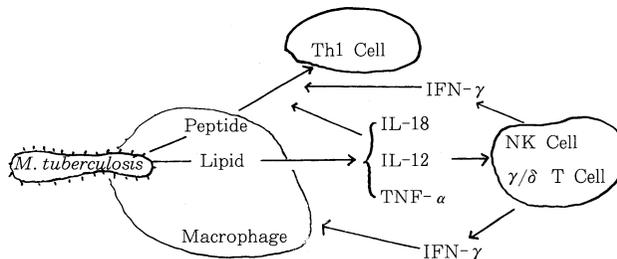


図1 結核菌感染の初期防御に関するサイトカイン

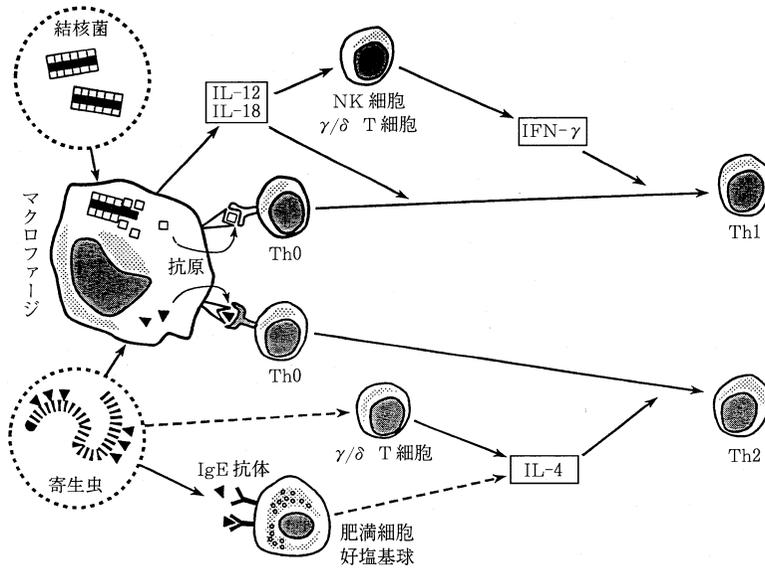


図2 感染症と Th1, Th2 細胞の誘導

$\gamma/\delta$  T 細胞をも刺激・活性化し、interferon  $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) が分泌される。この IFN- $\gamma$  もマクロファージを活性化し殺菌的作用をもたらす。これが初期免疫である。他方、IFN- $\gamma$  は上記のマクロファージから分泌される IL-12, IL-18 と協同して、後期の結核菌のペプチド抗原特異的な Th1 細胞による獲得免疫の成立に関与している。結核菌感染に伴う初期防御機構とそこに関与するサイトカインを図1に示した。

結核感染初期の防御に上述の初期免疫機構がすばやく働いている間に、宿主の体内では、菌体ペプチド抗原に特異的に反応する CD4<sup>+</sup> T 細胞が誘導されていく。結核菌のように本来細胞内寄生菌に対する抗菌免疫に関する T 細胞はヘルパー T 細胞 1, Th1 細胞とよばれる。細胞性免疫反応である。一方、気管支喘息等の、抗体を作る反応にヘルパーとして関与する T 細胞は Th2 細胞として区別されている (図2)。Th1 系の反応は、その関与する細胞の活性化のためには種々のサイトカインが介在する。上述の IL-2, IFN- $\gamma$ , IL-12, IL-18 および TNF- $\alpha$  等である。反応の場において、これらのサイトカインが優位に存在すると、Th1 反応が誘導されてくると考えられている。特異免疫はこの Th1 細胞から分泌された IFN- $\gamma$  により活性化されたマクロファージが、貪食した結核菌を殺す機構である。しかしヒトの系では、その細胞内での殺菌メカニズムはまだ十分には解明されていない。

### 3. サイトカイン補充による免疫療法

上述の細胞性免疫におけるサイトカインの重要性に鑑み、いかに宿主の免疫力を高めるかを考えた場合、2つの方法がある。不足していると考えられるサイトカインを補充する方法と、生体に入ってから、免疫細胞を刺激してサイトカインを誘導する物質を投与方法である。ここでは幾つかのサイトカインの結核免疫における役割と、それらの補充療法について、今までの文献的考察から、動物実験と、ヒトの系での報告をまとめている。

#### 1) IFN- $\gamma$

IFN- $\gamma$  は直接マクロファージを活性化させ、抗結核菌的に作用するサイトカインであることは、マウスの実験系で確かめられている。主たる産生細胞は CD4<sup>+</sup> Th1 細胞の他に NK 細胞と  $\gamma/\delta$  T 細胞が知られている。マウスのマクロファージを *in vitro* で IFN- $\gamma$  で刺激すると、殺結核菌活性が高まる<sup>1)</sup>。ヒトにおいても抗酸菌感染における防御免疫に IFN- $\gamma$  が重要な役割をなしているらしい。IFN- $\gamma$  レセプター遺伝子に変異がみられ、IFN- $\gamma$  を結合できず、その結果、必要なシグナルを細胞核にまで送り得ない個体では、BCG ワクチン注射により重症な全身性の感染がみられたり<sup>2)</sup>、また、*M. avium* 感染症を来したという報告<sup>3)</sup> が示唆している。

MDR-TB では一般に Th1 の機能低下が言われてい

る<sup>4)</sup>。In vitroにおいて末梢血単核球(PBMC)を結核菌やツベルクリン PPD で刺激すると、MDR-TB では IFN- $\gamma$  産生の低下がみられ、ここに外から IL-12 を添加すると IFN- $\gamma$  の産生が回復した。MDR-TB では、事実 IL-12 の産生が低下していた。しかし、IL-4 や IL-10 の産生の低下は見られなかった。すなわち、MDR-TB では IL-12 の低下にともない最終的なエフェクター・サイトカインである IFN- $\gamma$  の活性低下が考えられる。Sodhi らは排菌陽性の新鮮症例について、胸部レントゲン像上での病状の進展度と、結核菌刺激による PBMC からの IFN- $\gamma$  の産生について検討した<sup>5)</sup>。その結果、病状の進展が強いほど IFN- $\gamma$  の産生が低いことを観察した。著者らの成績でも持続排菌患者では IFN- $\gamma$  産生は低下、逆に患者に接触しているが健康な医療従事者では、その活性が高いことを観察している(後述の surrogate marker の項および図5を参照)<sup>6)</sup>。

さて、このように結核患者、特に MDR-TB で持続排菌となった症例では IFN- $\gamma$  活性の低下がみられ、そのことが抗菌免疫能の低下をもたらす、さらに持続排菌状態を長引かせていると考えられる。そこで、このような症例を対象に IFN- $\gamma$  の補充療法が実際に行われている。preliminary なトライアルとして、持続排菌し、免疫力の低下している *M. avium* complex (MAC) 感染症に対して、通常の化学療法と併用して効果があつたという報告がある<sup>7)</sup>。それによると、7人の患者に IFN- $\gamma$  を皮下に2~3回/週投与したところ、8週後には全員に臨床症状、すなわち解熱、病像の改善、腹膜炎の腹水の減少が観察されたという。MDR-TB を対象に行った最近の報告では、投与方法として IFN- $\gamma$  を吸入させたところ、副作用も少なく、体重の増加、喀痰中の菌数も減少したという<sup>8)</sup>。全員に喀痰塗抹検査で菌の陰性化がみられたという。2カ月間の治療終了後では空洞の大きさも小さくなったと報告されている。注射によるサイトカイン補充療法は、発熱、全身倦怠感などの副作用を伴うことが多いが、その点、この吸入療法は局所療法のために、全身投与に比し副作用が少ないことが考えられる。

## 2) IL-12

図2に示したように、IL-12は初期防御のみならず、抗原特異的な獲得免疫成立にも重要な役割をするサイトカインである。結核菌の感染を受けたマクロファージが、その菌体成分の刺激を受けて真っ先に産生するサイトカインの一つである。その働きは、NK細胞や $\gamma/\delta$  T細胞を刺激して IFN- $\gamma$  を誘導し、上記のようにマクロファージを活性化させて初期の抗菌免疫に働いている。図3は、末梢血中のこれら細胞が in vitro で IL-12 の作用で実

際に活性化されることを示した著者らの成績である。 $\alpha/\beta$  T細胞には作用しなかった。 $\gamma/\delta$  T細胞およびNK細胞はIL-12の刺激で活性化され、CD25抗原(IL-2レセプター)を細胞表面に表してきている。図中、白ぬきはIL-12なしで培養した成績である。

動物実験から得られた成績によると、IL-12はまた、IFN- $\gamma$  や菌体刺激を受けて同様にマクロファージから産生されるIL-18と協同して、Th1系の誘導をもたらす、最終的な結核菌特異的Th1細胞の成立にも関与しているらしい(図2参照)。Balb/cマウスは本来、結核菌感染に感受性であり、その感染は結核症に発展し、個体を弊す。あらかじめ、感染初期にIL-12を投与しておくことにより、抗結核抵抗性が增強されたことが報告されている<sup>9)</sup>。また、マウスの*M. avium*感染症では、抗IL-12抗体を投与し、内因性のIL-12を中和することにより、肺、脾臓、肝臓での菌量が150倍増加したとの報告がある<sup>10)</sup>。またヒトで、in vitro の実験系であるが、*M. avium* 感染マクロファージ内の菌数が、IL-12を培養系に添加することにより減少がみられたとの報告がある<sup>11)</sup>。この場合は、IL-12の刺激を受けてNK細胞から分泌されたTNF- $\alpha$  やGM-CSFが、マクロファージの活性化に働いている。

Denisの報告によると、ヒトのNK細胞をあらかじめIL-12で刺激しておく、結核菌を貪食したマクロファージへの殺細胞活性が增強されたという<sup>12)</sup>。この報告は、ヒトでの抗結核防御にNK細胞が直接的な役割を担っていることを示唆している。ヒトの系で、IL-12レセプターに異常がみられたために、抗酸菌感染症やサルモネラ感染症が見られた症例が最近、相次いで報告されている<sup>13)14)</sup>。BCGワクチンをうけたこの患者では、肝

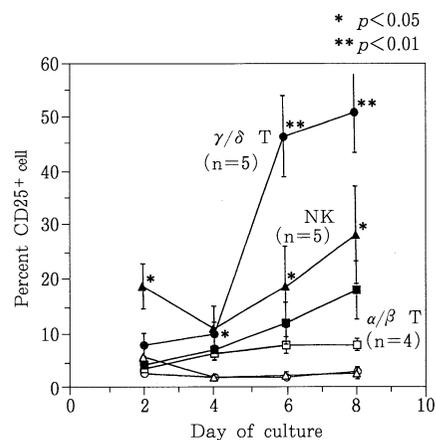


図3 IL-12によるNK細胞と $\gamma/\delta$  T細胞の活性化

表 M. avium 感染症における化学薬と IL-2 の組合せ療法

Patient No.	Age (Yr)	Duration of Illness (Mo)	Chemotherapy	IL-2 Treatment Dose (U/day)	Duration (days)	Culture of Sputum #
1	75	6	INH,RFP,EB	1,000	33	10/ -/ -
2	81	6	INH,RFP,EB	500	47	150/ -/ -
3*	57	47	OFLX	1,000	78	4+/4+/4+
4	66	6	INH,RFP,EB	1,000	128	2+/30/4+
5	60	64	MINO,OFLX	1,000	60	3+/4+/4+
6	49	41	INH,TH	1,000	60	4+/4+/4+
7	63	8	OFLX	1,000	60	3+/4+/3+

\*Patient 3 received IL-2 inhalation for 49 days following intravenous treatment for 29 days.

# Before/during/after treatment.

No. of colonies. 2+ : innumerable discrete colonies; 3+ : almost confluent growth;

4+ : confluent growth.

臓と脾臓に結節が見られた。結節は T 細胞にかこまれ、類上皮細胞や巨核細胞を中心に有する成熟した結節であった。しかし NK 細胞による *in vitro* での IFN- $\gamma$  の産生は低下していた<sup>13)</sup>。このことは、結核の病像の形成には IL-12 は必ずしも必要ではないが、抗結核防御免疫には IL-12 刺激により誘導される IFN- $\gamma$  が重要であることを示唆している。

IL-12 および最近発見された IL-18 は、ともに Th1 指向性のサイトカインであり、特異的な細胞性免疫の成立に不可欠である。将来の結核ワクチンの開発には、結核の病原性に関与し、かつ抗原性の強い菌体の蛋白質エプトープを決定することの重要性とともに、これら Th1 系を誘導し得るサイトカインそのもの、あるいはそれらを誘導し得る物質の同定（恐らく菌体の細胞壁中の糖脂質成分）が必要であろう。後者は前者の免疫成立に対して強力なアジュバントの役割をなすものと期待される。

さて、実際に細胞内寄生菌感染に対するサイトカイン補充療法としての IL-12 の投与は、マウスにおける実験的 *Leishmania* 感染の系での報告が最初である<sup>15)</sup>。遺伝子組み換え IL-12 を投与することにより、*L. major* の増殖を完全に抑え、完治させることに成功した。また、*M. leprae* 感染の Balb/c マウスに RFP または KRM 1648 の化学療法と一緒に IL-12 を投与すると、抗菌活性の増強が見られたという<sup>16)</sup>。

以上のように、特に動物感染モデルでは、IL-12 は細胞内寄生病原体に対して、明らかな防御作用を示している。しかしながら、IL-12 を実際にヒトに臨床応用した試みの報告は数多くはない<sup>17)</sup>。重大な問題は、これら一連の治験において副作用のために 2 人の死亡が見られ

たことである<sup>18)</sup>。これには、あらかじめ少量の IL-12 を投与しておく、その後大量の IL-12 を投与しても問題はなかったという。しかしながら、現在のところ、とくに感染症をターゲットとし、効果がみられたという IL-12 のヒトへの臨床治験の報告は見あたらない。

### 3) IL-2

もともと interleukin (IL) と呼ばれたサイトカインは、ほぼ発見された順序に基づき、一連の番号が付されてきた。IL-2 はしたがって発見からの歴史の長いサイトカインである。そのターゲット細胞表面の IL-2 レセプターは以前は TAC (T cell activation) 抗原として、また最近では CD25 に分類され、活性化された T 細胞や、また程度は弱い活性化 B 細胞表面にも発現されることが知られている。IL-2 はしたがって主に T 細胞を活性化させるサイトカインとして認識されてきた。実際にツベルクリン反応陽性者の末梢血中の T 細胞は、*in vitro* でツベルクリン PPD で刺激を行うと幼若化反応を起こし分裂する。一般に薬剤耐性結核や MAC 感染症のごとき、長期の抗酸菌感染症においてはこの反応が低下しており、そこへ外部から IL-2 を添加することにより、反応の回復が見られる<sup>19) 20)</sup>。実際にツベルクリン皮内テストにおいて、ツベルクリン PPD とともに IL-2 を局所に注射すると、PPD 単独に比べ反応の増強がみられた。また、ヒトのマクロファージ内での RFP による殺菌の系で、あらかじめマクロファージを IL-2 で処理しておく、RFP による結核菌に対する殺菌効果が高められたという<sup>21)</sup>。

著者らは、免疫能の低下がみられた MAC 感染症の

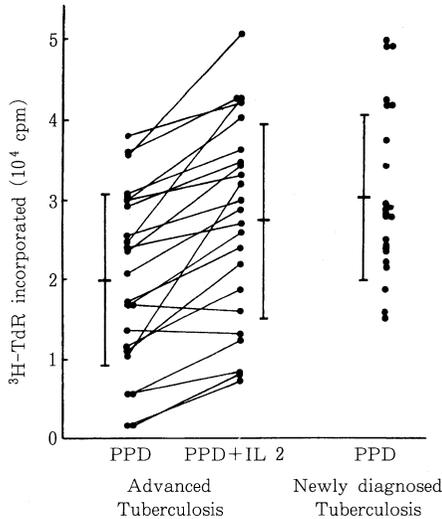


図4 リンパ球幼若化反応 IL-2 添加による反応の増強

患者に、遺伝子組み換え IL-2 を化学療法を行いながら点滴静注を最長 4 カ月にわたり毎日試みた<sup>22)</sup>。これらの患者の PBMC はいずれも投与前の *in vitro* の培養系で、免疫能 (リンパ球幼若化反応) の低下があり、そこへ IL-2 を添加することによりその回復が見られたことを確認している。治験の終了後、7 例中の 2 例において、菌の陰性化を見 (表)、血沈の改善も観察された。副作用としては発熱、食欲不振であったが、いずれも耐え得る程度であった。治療後において、*in vitro* での PPD 刺激リンパ球幼若化反応が、投与開始前に比較して増強していることが観察された。薬剤耐性の難治性結核患者においても同様に *in vitro* でのリンパ球幼若化反応が IL-2 の添加で増強され、新鮮症例と同じレベルにまで回復することを観察した (図 4)<sup>19)</sup>。

最近、Kaplan らのグループは MDR-TB に対して化学療法の補助療法として、IL-2 の投与を行った成績を報告している<sup>23)</sup>。それによると、適切な化学療法とともに毎日、少量の IL-2 を 30 日間投与したところ、対照 (溶剤のみ投与) に比較し、菌の陰性化 (62% : 28%) や、胸部レントゲン像の改善 (58% : 42%) が見られたという。IL-2 投与群では末梢血中の CD25 (活性化マーカー) 陽性のリンパ球の増加がみられた。これらの報告の他、IL-2 補充療法としては *ex vivo* であらかじめ IL-2 で活性化を受けたリンパ球 (lymphokine-activated killer, LAK) をもとの宿主に移入するという LAK 療法が一時期、癌の免疫療法として試みられた。難治性結核を対象にも行われたが、かえって病像の拡大

をもたらしたという報告がある。恐らく、過剰反応が病態に結びついたという結核免疫の制御の困難な点である。

#### 4) TNF

サイトカイン補充療法としての免疫療法ではないが、抗サイトカイン療法についての報告を紹介する。TNF- $\alpha$  は、宿主の抗結核免疫に不可欠のサイトカインであるが、その過剰産生は発熱、体重減少、全身衰弱など、結核に伴う望ましくない臨床症状をもたらす。一方、サリドマイドはこの TNF- $\alpha$  の産生を抑制する作用のあることが知られている物質である。そこで、Kaplan らのグループは、活動性結核患者にこのサリドマイドを投与したところ、体重の増加が見られたという。投与中、TNF- $\alpha$  の産生は低下したが、IFN- $\gamma$  の産生はむしろ増加したという<sup>24)</sup>。重症結核にみられるこれらの随伴症状を軽減するために、化学療法とともに通常はよくステロイド・ホルモンが使用される。サリドマイドはこのステロイド・ホルモンに代わり得るものであるが、一方その催畸性のあることが知られている。

#### 4. *M. vaccae* 免疫療法

抗酸菌菌体成分には、種々のサイトカイン誘導物質の存在が知られている。したがって、菌体そのものあるいはその成分を投与することにより、間接的に宿主体内でのサイトカインの産生をたかめ、その結果が細胞性免疫の活性化に結びつくであろう。従来から免疫賦活剤として知られている結核死菌を含む完全フロイド・アジュバントはこの性質を応用したものである。一種のワクチン、therapeutic vaccine と言えるかもしれない。Ribi らのグループは、すでに 1969 年に BCG 細胞壁成分 (主として糖脂質と考えられる) を静脈注射することにより、マウスの抗結核菌免疫が増強されることを報告した<sup>25)</sup>。恐らく、細胞壁成分の刺激により局所で Th1 指向性のサイトカインが誘導されたのであろう。

さて、ここで、サイトカイン療法以外で、結核症に対して効果があったと報告されている、唯一の免疫療法の具体例を提示する。これが上記の、抗酸菌の有するサイトカイン誘導活性を基本の考えにして行われたかどうかは明らかではない。それは結核を発症した患者に加熱した *Mycobacterium vaccae* 菌体を一回注射する「*M. vaccae* 免疫療法」である。この場合、抗酸菌のうち何故 *M. vaccae* なのか。Grange が Respiratory Medicine の Editorial で解説を行っている<sup>26)</sup>。それによると、ワクチンとしての BCG の効果は地域により大きな違いがある。アフリカのウガンダの一地域では、BCG は結核とハンセン病の両方に発症予防効果があったという。恐らく *M. tuberculosis* と *M. leprae* を含む抗酸

菌に共通する物質がワクチンとして効果があるのだろう。このことから導かれる仮説として、ウガンダ地域の環境で防御に関係している物質は、環境に自由に生育している抗酸菌であり、それを見つければワクチンとして役立つだろうと。そうして見つかったのが *M. vaccae* であった。*M. vaccae* 菌体は、結核、ハンセン病両方の患者に皮膚反応を惹起させることができた。

そこで、宿主の免疫賦活を目的に、まずモルモットでの実験的結核ではじめて免疫療法として使用された。その後、実際に肺結核患者に使用した報告が1990年にはじめて Stanford らにより発表された<sup>27)</sup>。また、その改良した療法による成績が相次いで発表された<sup>28)</sup>。共通する抗酸菌抗原に対するリンパ球幼若化反応は投与群の29%に、対照群(生理食塩水)は11%にみられた ( $p < 0.03$ )。空洞の閉じるのも実験群でよかったという。その後もアフリカにおいて治験は続けられた<sup>29)</sup>。この療法を行う上での考え方、またその効果等については現在にいたるも論争のあるところである。同じグループによる最近の報告では、ルーマニアで新鮮症例<sup>30)</sup>、MDR-TB 症例<sup>31)</sup>を対象に行った成績が相次いで報告された。MDR-TB においては、RFP、INH、SM、PZA を初めの2カ月間投与、後の4カ月はINH、RFPを投与した(いずれも週2回投与、2HRZ<sub>2</sub>/4HR<sub>2</sub>)。化学療法開始1カ月後に、加熱した *M. vaccae* 菌体1.0mg または生食水を筋肉内に注射した。そうして1年後に患者の病状を判定したところ、実験群の77%に、対照群の52%に効果があった ( $p < 0.02$ )。MDR-TBに限ると、63%と44%であった。化学療法とともに *M. vaccae* を投与したグループでは、細菌学的のみならず、胸部X線像、体重、血沈の改善が、化学療法のみ群に比較し見られた ( $p < 0.001$ )。この *M. vaccae* 免疫療法については、他のグループによる追試は今のところなされていない。ごく最近の報告によると、アフリカでの臨床治験では望ましい成績が得られなかったともいわれる<sup>32)</sup>。

この *M. vaccae* 免疫療法が何故効果があるのか、に関してはまとまった報告はない。Grange が述べているように、抗酸菌に共通性の抗原物質を具えているために、結核菌感染にも効果があるのか。あるいは逆に、*M. vaccae* と *M. tuberculosis* の間におけるペプチド抗原の交差性が小さいために、遅延型反応の進展・拡大はないが、恐らくその細胞壁成分によるマクロファージからのIL-12等の誘導能が大きいためにTh1系が優位となり、防御免疫がより強く活性化されるのであろうか。そこで *M. tuberculosis* に特異的なペプチド抗原を、この *M. vaccae* に賦与することができれば、結核菌に対するより強いTh1反応が惹起されるのではないかと、この考えの下に、*M. tuberculosis* から分離した19kDa

ペプチドの遺伝子を組み込んだ *M. vaccae* を作成し、結核菌感染マウスでの防御能を検討した成績が報告された<sup>33)</sup>。確かにこの遺伝子組み換え *M. vaccae* で免疫した動物では、Th1系サイトカインであるIFN- $\gamma$ の産生が高まっていた。しかしながら、結核菌の吸入感染に対する防御はかえって低下し、もとの *M. vaccae* のみよりも低下していた。この実験系では、比較のために対照として用いたBCG免疫が最も効果的であった。Th1系が高まることは、必ずしも防御に結びつかなかったのである。

## 5. 免疫機能評価のための surrogate marker について

「免疫療法」の基本は、低下した宿主の免疫能を回復させることである。このことはヒトの結核症にあっては特に重要である。正常に近い免疫能の個体にサイトカインを過剰に投与することは、結核の病態の悪化につながる恐れがあるからである。そこで、宿主の細胞性免疫機能を評価するに適切な「めやす」が何かを見つけないことであろう。いわゆる surrogate marker である。例えば、ある特定のサイトカインの活性を測れば、その時点での宿主の細胞性免疫能の程度がわかり、将来の病気の予後までが予測され得るような「マーカー」である。

結核菌感染が明らかでありながら、ツベルクリン反応が弱い個体は少なくとも結核菌特異的な防御免疫が低下していると考えられる。上述のように、細胞性免疫は免疫細胞と、それをつなぐサイトカインによる一連の反応である。そこでは、細胞性免疫の強さの程度を特定のサイトカイン活性で置き換えられるかもしれない。ヒトにあっては、最近になってようやく、最終のエフェクター・サイトカインとしてIFN- $\gamma$ が考えられるようになった。もちろん、結核菌感染から、IFN- $\gamma$ 産生性の特異的なTh1細胞による細胞性免疫が成立するまでには、幾つかの細胞とサイトカインが介在する。プラスに作用するサイトカインには、TNF- $\alpha$ 、IL-12、IL-2、IL-18がある。マイナスに作用するサイトカインには、IL-10、TGF- $\beta$ 、IL-4がある。これらのサイトカインの総和として結核ではIFN- $\gamma$ が誘導されるのであろう。あるいは、IL-10やTGF- $\beta$ のような抑制性サイトカインが細胞性免疫不全を示すマーカーとして適切かもしれない。

最終的な総和の結果としての細胞性免疫機能をあらわす指標としては、ヒトにおいてもIFN- $\gamma$ であろう。PBMCを産生細胞として、結核菌特異的および非特異的的刺激による、*in vitro*でのIFN- $\gamma$ 産生をみて判断してはどうだろう。著者らの成績でも、ツベルクリン反応よりもむしろ、IFN- $\gamma$ の産生能が抗結核防御能をより正確に反映していることを示唆する結果を得ている<sup>6)</sup>。

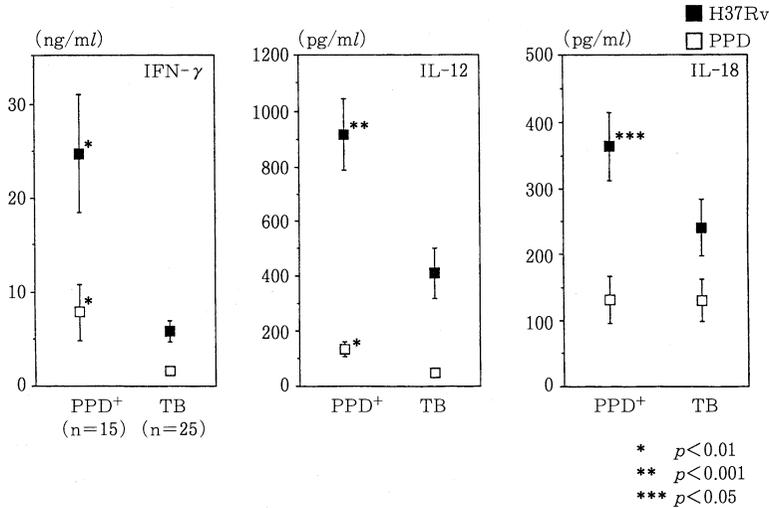


図5 結核菌体およびPPD刺激による, *in vitro*でのPBMCからのサイトカインの産生

最近, 簡単に扱える IFN- $\gamma$  測定キットが開発されている<sup>34)</sup>。

図5は初期免疫に関与する IL-12, IL-18と IFN- $\gamma$  に関して, PBMCからの *in vitro*での産生能を見た成績である<sup>6)</sup>。刺激には結核菌体 (H37Rv 株の死菌) とツベルクリン PPD を用いた。興味あることは, 常に結核患者と接触はしているが発病には至らない健康な医療従事者 (図中 PPD+) は, 活動性結核患者 (図中 TB) に比べ, いずれのサイトカイン産生能も高いことである。すなわち, この IFN- $\gamma$  産生能は, 外来性再感染, 内因性再燃を問わずに, 第一線での結核防御能を反映しているのかもしれない。そして, この産生能が低下すると内因性再燃が起こり発病するのではないかと。

一般的には, 宿主の栄養状態が免疫機能に与える影響が大きい<sup>35)</sup>。末梢血中のリンパ球数も重要であることは HIV 感染での免疫不全からも明らかである。

## 6. MDR-TB をつくりたくない予防のための免疫療法

上に記述したのは, いったん MDR になってしまった結核を対象とした免疫療法である。しかしながら, MDR-TB に関して大切なのは, その発生の予防である。MDR-TB は man-made-disease といわれ, 適切な化学療法が行われなかった結果として理解されている。一方, 化学療法による結核の治療は, そこに宿主の免疫能が正常に働いているという前提がある。ごく僅かな耐性菌は初期より存在し, 化学療法により感受性菌が根絶されたあと, この僅かの耐性菌は通常, 宿主の免疫機構で処理されるであろう (後述。図7参照)。したがって,

初めから細胞性免疫能の低下が存在, あるいは予想される個体では, サイトカイン補充療法が必要ではないかと考えられる。HIV 感染者はもちろんのこと, 高齢者, 糖尿病合併患者等における結核の治療である。これらの合併症を有する結核の化学療法では, しばしば治療期間が遷延することがある。菌の陰性化が遅れることは, それだけ耐性菌の出現頻度を大きくする。過剰な細胞性免疫反応は病態の悪化をもたらすかもしれないが, 特に成人型の内因性再燃に基づく二次結核の発症には, 何らかの宿主の免疫能の低下が背景にあると考えられる。例えば, ツベルクリン反応が弱い患者の治療にあっては考慮すべきであろう。

上述したように, 結核の化学療法開始にあたって, IFN- $\gamma$  活性を測定し, 低下がみられる症例には, 薬剤耐性の有無にかかわらず, 積極的に免疫療法をも組み合わせ治療をすべきかもしれない。サイトカインそのものを投与すべきか, たとえば, IFN- $\gamma$  の吸入療法である。あるいは, サイトカイン誘導物質の投与がよいのか。後者の場合, 結核菌特異的なペプチド抗原を含まない物質がよいかもしれない。例えば細胞壁成分のように, それ単独でサイトカイン誘導能を有する成分である<sup>25)</sup>。排菌陽性の患者にあつては, 結核菌ペプチド抗原は病巣の局所に十分に存在しているからである。

一方, この宿主の免疫能をあらかじめ遺伝子レベルでチェックし得ないだろうか。マウスでは結核菌感受性を決めるとされる *Nramp1* (*natural-resistance-associated-macrophage-protein1*) 遺伝子があり, ヒトでも相同性の *NRAMP1* 遺伝子が第2染色体上に発見

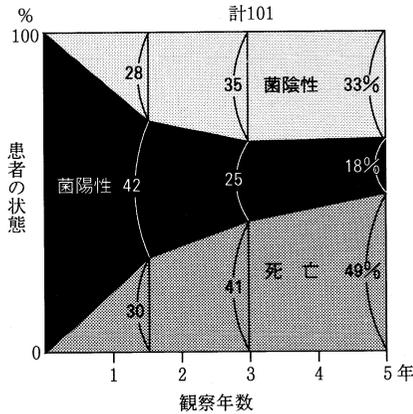


図6 インドにおける排菌陽性結核患者の自然経過

された。この遺伝子の多型性と結核発病のしやすさに関する研究はまだ端緒についたところである<sup>36)</sup>。さらに解析を進めることによって、ヒトにおいてもあらかじめ結核の重症度や免疫能が遺伝子レベルで予見し得る時が来るであろう。

一方、病気の予後の判断に菌側からの予見の可能性はどうであろうか。「強毒菌」による多数の患者が電撃的に感染・発病した事例が報告されている<sup>37)</sup>。この「毒性」の強さを分子遺伝学的手法で迅速に検出し得ないだろうか。*In vivo*および*in vitro*で迅速に増殖発育する菌を、分子遺伝学的あるいは免疫学的手法で検出し得ないだろうか。RFLP法は恐らくこれには応用できなと思われる。

結核は防御免疫反応が病態につながるという点で、不思議な感染症でもある。よく知られているように、結核性胸膜炎は化学療法なしでも治癒する。この場合は、少量の結核菌(抗原)に対して宿主側が強い防御反応を起こし、その行きすぎた結果、胸水貯留や発熱をもたらした(病態)のであり、一連の反応は結核菌を追い出そうとする防御反応である。一方、有効な化学薬がなかった戦前でも何割かの結核は治ったのである。図6はインドで、化学療法を施行しなかった菌陽性の肺結核患者の経過を観察した成績である。5年間で見ると、化学療法なしでも33%が菌の陰性化を見ている<sup>38)39)</sup>。MDR-TBにあっても、排菌は持続しながら胸部レントゲン像上は認むべき変化なく、呼吸機能的にも変化なく、20数年を経過する症例、いわゆるchronicsのケースをわれわれは経験する。菌と宿主が低レベルで平衡を保っている状態である。しばしば宿主の免疫機能は一般的に低下しているにもかかわらず、それ以上の病状の悪化はない。恐らく寄生する菌側も「弱毒化」することにより、自らの

宿主を弊そうとはしないのかもしれない。病状が進行して宿主の死にいたる結核とそうでない結核。その「違い」をわれわれは知りたいのである。宿主側か、あるいは菌側に求むべきか。それを現代の免疫学、分子遺伝学、細菌学の言葉で明らかにしたいのである。その過程を通じて、より有効な結核ワクチンの開発が期待されると考える。

## 7. 「Welschの現象」の治療への応用を考える

直接、免疫とは関係はないが、Welschの現象と言うのがある<sup>40)</sup>。すなわち薬剤に耐性菌と感受性菌とを混合してのち、薬剤の入っていない培地で継代培養すると、ついに耐性菌は消失して感受性菌のみになるという現象である。この現象はLinzによって詳細に研究され<sup>41)</sup>、また久世によっても、INH自然耐性菌を用いて同様の報告がなされた<sup>42)</sup>。著者らの実験においても、耐性と感受性の臨床分離株を混合して培養すると、耐性菌の占める割合が、かなり急速に減少することを見ている。

この現象は一応、感受性菌と耐性菌の試験管内の発育速度の差によるものと考えられるが、同様な現象が生体内でも起こり得るものであるかどうか、また発育速度以外の因子に支配されるものかどうかは、「耐性菌の物質代謝、養分要求等の研究と相俟って今後精細に研究されるべき課題である」<sup>42)</sup>。結核菌の病原性または毒性virulenceの強さの基準の一つは、宿主体内での増殖程度の速さである<sup>37)</sup>。例えば、INHに対する耐性は、*in vitro*においてもまた*in vivo*においても、INHとの接触を断つことにより感受性菌に復帰しやすい傾向がある。すなわち、INHに耐性菌が多数存在する中で感受性菌が一匹でも存在すると、INHなしの培地で培養した場合、この1匹が増殖し始めるとともに、多数を占めていた耐性菌は、「弱毒」のために最終的に消失するのではないか。これがWelschの現象に対する説明であり、久世は「薬剤耐性復帰」という言葉を使っている<sup>42)</sup>。INH耐性菌は一般に「弱毒」と言われる由縁である。

この現象をMDR-TBの治療に応用しようという考えは唐突であろうか。(強)毒をもって(弱)毒を制するということである。この場合、感受性菌としては、自らの菌株由来がよいかもしれない。すなわち、MDR-TBの患者喀痰から菌を分離培養し、薬剤なしで増菌する。その中から何らかの方法で、1匹でも感受性菌を見つけだし、この感受性菌を増菌する。そして、もとの患者に経気道的に感染させる。薬剤なしで経過を観察しながら「耐性復帰」(大部分の菌が感受性となる)を期待する。この時点で宿主への免疫療法を行い、あらかじめ免疫力を高めておき、耐性菌(弱毒)があっても少数であ

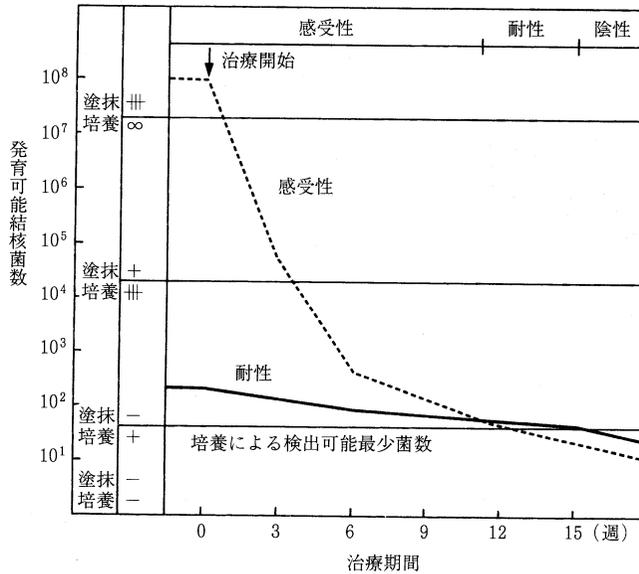


図7 結核化学療法と薬剤耐性菌の出現

れば宿主の免疫能で殺菌できるようにしておく（後述。図7参照）。ほとんど感受性菌に「復帰」できたのを確認して強力な化学療法を行う，というのがそのストーリーである。

荒唐無稽な考えかもしれない。しかし，少なくとも動物実験で検証する価値はあると考える。

8. おわりに

近い将来において全く新規な抗結核化学薬の開発が望みがたい状況にあって，いかにしてMDR-TBを治療し，またその発生を予防し得る体制をとるかは，わが国の結核対策上緊急課題の一つであろう。

結核を含めて感染症の治療には，宿主側の防御能が絶対的であることは，AIDSの場合に抗生剤のみでは完全な治癒をもたらさないことが物語っている。わが国の結核をみると，30年昔は壮健で免疫力の旺盛なヒトを宿主とする結核が多かった。それが今日，しだいに日和見感染症的な様相を呈し，高齢者や基礎疾患をもつ患者が比較的増加してきている。

宿主側の抵抗力の向上をはかる免疫治療は，このようにcompromized hostへの結核が相対的に増加している今日，その治療ならびに発生を予防する手段として大いに考慮されるべき方策である。結核の病態と宿主の免疫反応のメカニズムの解明という，基礎的な研究をも必要としながらも，一方，現在公表され行われている「結核免疫療法」についての独自の検証も必要である。その

過程を通じて，より有効な新しい免疫治療法の開発が期待されるからである。

ここで個々に記述してきた結核の免疫療法，特にサイトカイン療法でヒトに応用して効果の明らかな物質はいまだに見あたらない。むしろ，その副作用のために応用できないものもある。結核の治療において，その化学療法を進めた場合，当初から存在していたと考えられるごく僅かな耐性菌が最終的に残る。図7にMitchisonによる化学療法中の菌の推移を示した<sup>43)</sup>。この図によれば，通常非常に小さい割合であるが，耐性菌は初期より存在しており，薬剤に感受性のある菌がほとんど死滅した時点で，少量のこれら耐性菌のみが残る時期がある（図で両線が交差する12週の時点）。Mitchisonはこれをtransient drug resistanceの時期と呼んだ。もし宿主の免疫機能が正常に働いておれば，この僅かな耐性菌は殺菌され，それ以上の耐性菌の増殖を見なくても済む。一方，宿主の細胞性免疫機構に異常がある場合，この耐性菌は増殖し始めMDRとなる。上述したように現在の結核は宿主の免疫力の低下した宿主が多い。この免疫力を上昇さす手だては何か。サイトカインか，ホルモンか，ビタミンか，あるいはもっと一般的な栄養状態か。とにかく何らかの取り組みが必要である。MDR-TBの治療のみならずその発生の予防にも必要である。

そのためには，多くの患者を診ながら，結核の診療を専門とする医師集団を有し，臨床免疫学に関しての精通した臨床家，研究しうる設備，また結核に関する世界の

情報を迅速に入手できる体制づくりが望まれる。もちろん、それは国家的なプロジェクトにおいて行われるべきであろう。そこでは、個々の症例に応じて、外科的処置をも含めて、何が最良の治療法であるかを検討し、「免疫療法」として何が適切かを具体化し、実施し得る場である。また、それらをすぐに大規模な治験に導入し得る場でもある。そうした機関作りが今必要とされている。

### 謝 辞

厚生科学研究費補助金「新興・再興感染症研究事業：多剤薬剤耐性結核の予防と治療に関する緊急研究」（石川信克班長）から援助を受けた。

### 文 献

- 1) Flesch IEA and Kaufmann SHE: Mycobacterial growth inhibition by interferon-activated bone marrow macrophages and differential susceptibility among strains of *Mycobacterium tuberculosis*. *J Immunol.* 1987; 84: 200-206.
- 2) Jouanguy E, Altare F, Lamhamedi S, et al.: Interferon- $\gamma$ -receptor deficiency in an infant with fatal Bacille Calmette-Guerin infection. *N Engl J Med.* 1996; 335: 1956-1961.
- 3) Newport MJ, Huxley CM, Huston S, et al.: A mutation in the interferon- $\gamma$ -receptor gene and susceptibility to mycobacterial infection. *N Engl J Med.* 1996; 335: 1941-1949.
- 4) McDyer JF, Hackley MN, Walsh TE, et al.: Patients with multidrug-resistant tuberculosis with low CD4<sup>+</sup> T cell counts have impaired Th1 responses. *J Immunol.* 1997; 158: 492-500.
- 5) Sodhi A, Gong J, Silva C, et al.: Clinical correlates of interferon  $\gamma$  production in patients with tuberculosis. *Clin Inf Dis.* 1997; 25: 617-620.
- 6) 川澄浩美, 上田千里, 藤原 寛, 他: 抗酸菌感染と IFN- $\gamma$  産生, 関西抗酸菌研究会, 平成9年7月, 大阪.
- 7) Holland SM, Eisenstein MD, Kuhns DB, et al.: Treatment of refractory disseminated nontuberculous mycobacterial infection with interferon gamma. A preliminary report. *N Engl J Med.* 1994; 330: 1348-1355.
- 8) Condos R, Rom WN, and Schluger NW: Treatment of multidrug-resistant pulmonary tuberculosis with interferon- $\gamma$  via aerosol. *Lancet.* 1997; 349: 1513-1515.
- 9) Flynn J, Goldstein MM, Triebold KJ, et al.: IL-12 increases resistance of BALB/c mice to *Mycobacterium tuberculosis* infection. *J Immunol.* 1995; 155: 2515-2524.
- 10) Saunders BM, Zhan Y, and Cheers C.: Endogenous interleukin-12 is involved in resistance of mice to *Mycobacterium avium* complex infection. *Inf Immun.* 1995; 63: 4011-4015.
- 11) Bermudez LE, Wu M, and Young LS: Interleukin-12-stimulated natural killer cells can activate human macrophages to inhibit growth of *Mycobacterium avium*. *Inf Immun.* 1995; 63: 4099-4104.
- 12) Denis M: Interleukin-12 (IL-12) augments cytolytic activity of natural killer cells toward *Mycobacterium tuberculosis*-infected human monocytes. *Cell Immunol.* 1994; 156: 529-536.
- 13) Altare F, Durandy A, Lammas D, et al.: Impairment of mycobacterial immunity in human interleukin-12 receptor deficiency. *Science.* 1998; 280: 1432-1435.
- 14) de Jong R, Altare F, Haagen I-A, et al.: Severe mycobacterial and *Salmonella* infections in interleukin-12 receptor-deficient patients. *Science.* 1998; 280: 1435-1438.
- 15) Heinzl FP, Schoenhaut DS, Rerko RM, et al.: Recombinant interleukin 12 cures mice infected with *Leishmania major*. *J Exptl Med.* 1993; 177: 1505-1509.
- 16) Kobayashi K, Gidoh M, Kai M, et al.: The rational basis of interleukin 12 immunotherapy for established mycobacterial infection in mice. *Proceeding 33rd US-Japan Research Conference on Tuberculosis and Leprosy.* Osaka, 1998, page 184-188.
- 17) Lotze MT, Hellerstedt B, Stolinski L, et al.: The role of interleukin 2, interleukin 12, and dendritic cells in cancer therapy. *Cancer J Sci Am, Suppl 1.* 1997; S109-S114.
- 18) Cohen J: IL-12 death: explanation and a puzzle. *Science.* 1995; 270: 908.
- 19) Shiratsuchi H, Okuda Y, and Tsuyuguchi I: Recombinant human interleukin-2 reverses

- in vitro*-deficient cell-mediated immune responses to tuberculin purified protein derivative by lymphocytes of tuberculous patients. *Inf Immun.* 1987; 55: 2126-2131.
- 20) Tsuyuguchi I, and Shiratsuchi H: An analysis of *in vitro* T cell responsiveness in nontuberculous mycobacterial infection. *Chest.* 1988; 94: 822-829.
  - 21) Suzuki K, Matsumoto H, Tsuyuguchi K, et al.: Pretreatment of human monocyte-derived macrophages with IL-2, GM-CSF, or TNF- $\alpha$  can, but IFN- $\gamma$  cannot augment mycobactericidal activity of rifampicin against intramacrophage replicating *M. tuberculosis*. Proceeding 33rd US-Japan Conference on Tuberculosis and Leprosy. Osaka, 1998; page 162-166.
  - 22) Toba H, Tsuyuguchi I, Kimura H, et al.: Clinical trial of recombinant human IL-2 in the treatment of *Mycobacterium avium* complex infection. in *From clone to clinic.* 1990; 227-232. D.J.A. Crommelin and H. Schellekens (eds.), Kluwer Academic Publishers.
  - 23) Johnson BJ, Bekker L-G, Rickman R, et al.: rhIL-2 adjunctive therapy in multidrug resistant tuberculosis: a comparison of two treatment regimens and placebo. *Tuberc Lung Dis.* 1998; 78: 195-203.
  - 24) Tramontana JM, Utaiwan U, Molloy A, et al.: Thalidomide treatment reduces tumor necrosis factor  $\alpha$  production and enhances weight gain in patients with pulmonary tuberculosis. *Mol Med.* 1995; 1: 384-397.
  - 25) Anacker RL, Barclay WR, Brehmer W, et al.: Effectiveness of cell walls of *Mycobacterium bovis* strain BCG administered by various routes and in different adjuvants in protecting mice against airborne infection with *Mycobacterium tuberculosis* strain H37Rv. *Amer Rev Respir Dis.* 1969; 99: 242-248.
  - 26) Grange JM.: Immunotherapy: a new strategy for tuberculosis. *Respir Med.* 1997; 91: 1-4.
  - 27) Stanford JL, Bahr GM, Rook GAW, et al.: Immunotherapy with *Mycobacterium vaccae* as an adjunct to chemotherapy in the treatment of pulmonary tuberculosis. *Tubercle.* 1990; 71: 87-93.
  - 28) Bahr GM, Shaaban MA, Gabriel M, et al.: Improved immunotherapy for pulmonary tuberculosis with *Mycobacterium vaccae*. *Tubercle.* 1990; 71: 259-266.
  - 29) Onyebujoh PC, Abdulmumini T, Robinson S, et al.: Immunotherapy with *Mycobacterium vaccae* as an addition to chemotherapy for the treatment of pulmonary tuberculosis under difficult conditions in Africa. *Respir Med.* 1995; 89: 199-207.
  - 30) Corlan E, Marica C, Macavei C, et al.: Immunotherapy with *Mycobacterium vaccae* in the treatment of tuberculosis in Romania. 1. Newly-diagnosed pulmonary disease. *Respir Med.* 1997; 91: 13-19.
  - 31) Corlan E, Marica C, Macavel C, et al.: Immunotherapy with *Mycobacterium vaccae* in the treatment of tuberculosis in Romania. 2. Chronic or relapsed disease. *Respir Med.* 1997; 91: 21-29.
  - 32) Orme I. in Review on book "Mycobacteria" *ASM News.* 1998; 64: 466.
  - 33) Abou-Zeid C, Gares M-P, Inwald J, et al.: Induction of a type 1 immune response to a recombinant antigen from *Mycobacterium tuberculosis* expressed in *Mycobacterium vaccae*. *Inf Immun.* 1997; 65: 1856-1862.
  - 34) Streeton JA, Desem N, and Jones L.: Sensitivity and specificity of a gamma interferon blood test for tuberculosis infection. *Int J Tuberc Lung Dis.* 1998; 2: 443-450.
  - 35) McMurray DN, and Zhang X: Impact of protein deficiency on modulation of T-cell activation by alveolar macrophages in guinea pigs. *Tuberc Lung Dis.* 1997; 78: 83-84.
  - 36) Bellamy R, Ruwende C, Phil D, et al.: Variations in the *NRAMP1* gene and susceptibility to tuberculosis in west Africans. *N Engl J Med.* 1998; 338: 640-644.
  - 37) Valway SE, Sanchez MPC, Shinnick TF, et al.: An outbreak involving extensive transmission of a virulent strain of *Mycobacterium tuberculosis*. *N Engl Med.* 1998; 338:

- 633-639.
- 38) National Tuberculosis Institute, Bangalore :  
Tuberculosis in a rural population of South  
India : a five-year epidemiological study.  
Bull World Health Organ. 1974 ; 51 : 473-488.
- 39) 山本正彦 : 結核症の病状—結核の自然史. 臨床と薬  
物治療. 1998 ; 17 : 410-414.
- 40) Welsch, M. C.R.S.B. 143 : 1282, 1949.
- 41) Linz, R. et al. : C.R.S.B. 145 : 143, 1951.
- 42) 久世彰彦 : INAH 自然耐性結核の研究 第2報.  
結核. 1956 ; 31 : 39-49.
- 43) Mitchison DA. 1968 in Recent Advances in  
Tuberculosis.