

結核性胸膜炎の診断と治療

—とくに胸水中サイトカイン測定の意義について—

1,2 青江 啓介¹ 平木 章夫¹ 村上 知之²

要旨：結核性胸膜炎は癌性胸膜炎と並び胸水貯留をきたす代表的な疾患である。結核性胸膜炎の診断のため試験穿刺による胸水検査が行われるが、塗抹、培養といった細菌学的方法で確定診断が得られることは少ない。Adenosine deaminase (ADA) が感度、特異度とも高い検査であるが、膿胸、慢性関節リウマチに伴う胸水などで上昇する可能性がある。胸腔鏡下胸膜生検は従来の経皮的針生検に比べ有効性が高いが侵襲をとともなう。結核性胸水の発症には、マクロファージとヘルパー T 細胞 1 (Th1) を主体とした遅延型アレルギーが関与しており、菌体が胸腔内で刺激となって、Th1 サイトカインを継続して誘導する。胸水中の INF- γ は胸水発症に重要なだけでなく、診断においても有用である。われわれの ROC 曲線を用いた検討でも、胸水中 ADA より感度、特異度ともすぐれていた。また、胸水中の複数のサイトカインを同時に測定する cytometric bead array (CBA) はサイトカインネットワークを解析するうえで便利な検査法と考えられた。胸水中の免疫状態の理解とともに侵襲の少なく効率のよい診断法の確立が望まれる。

キーワード：結核性胸膜炎、診断、サイトカイン、INF- γ 、ROC 曲線、Cytometric bead array

はじめに

胸水貯留をきたす疾患の中で、結核性胸膜炎は癌性胸膜炎と並んでその頻度が高い¹⁾²⁾。しかし、結核性胸膜炎の診断は必ずしも容易ではない。胸水貯留を認め、胸水や胸膜生検材料から結核菌が検出されれば結核性胸膜炎と診断できるが、症状、臨床検査所見で疑いが濃厚な症例でも、胸水や胸膜から結核菌が検出される頻度は低く 10～15% 程度である³⁾。しかも現行の結核菌検査法では検査結果を得るのに時間を要するなど問題がある。本稿では結核性胸膜炎の病態・診断・治療について整理し、われわれの研究の一部を紹介する。

1. 結核性胸膜炎の定義と分類

結核性胸膜炎は胸水貯留を認め、かつ①喀痰、胸水、胸膜の生検材料などから結核菌が検出されたもの、②胸膜生検で病理組織学的に特異的肉芽腫が証明されたものと定義される。しかし胸膜炎の原因が不明であり、胸水

の性状から結核性胸膜炎と考えられ、抗結核薬の投与により臨床症状の改善や胸水の消失が認められた場合も、結核性胸膜炎とされることが多い⁴⁾。

病理発生的には、①結核菌感染に引き続き、初期変化群の初感染原発巣またはリンパ節巣から、菌あるいは炎症がリンパ行性もしくは連続性に波及して、感染後 6 カ月～1 年の間に起こる特発性胸膜炎、②結核菌が血行性に散布し、両側胸膜、心膜、腹膜を次々と侵す多漿膜炎の一部としての胸膜炎、③慢性肺結核の悪化の際に炎症が胸膜に波及して発生する随伴性胸膜炎の 3 つが考えられている。

2. 胸水の成因

特発性胸膜炎は第一次気管支肺リンパ節の初期変化群病巣の周囲炎が葉間胸膜に波及することによって始まるとする説や、血行散布によるという説(初感染後しばらく silent bacteremia があると考えられる)もあるが⁵⁾、胸膜直下の乾酪性病巣が胸腔へ穿破し、その結果、結核菌(ま

国立療養所山陽病院(現 独立行政法人国立病院機構山陽病院)
¹呼吸器科、²臨床研究部

連絡先：青江啓介，独立行政法人国立病院機構山陽病院呼吸器科，〒755-0241 山口県宇部市東岐波 685
(E-mail: aoe@sanyou-dr.jp)

(Received 27 Nov. 2003/Accepted 18 Feb. 2004)

たはその特異抗原)に対する細胞性免疫反応が起こって生じるものと考えられている。胸腔に侵入した結核菌(またはその特異抗原)に感作されたCD4+リンパ球が他のリンパ球やマクロファージと相互作用を起こし(遅延型アレルギー)、集積、増殖し、炎症性メディエーターを放出する。この過程で血漿が胸腔に滲出する。随伴性胸膜炎は肺結核の炎症が波及したものであるから、特発性胸膜炎の発症機序と変わらない。また、初期悪化病変として胸膜炎が起こることもある。胸膜直下病巣の胸腔への穿破と考えられる場合もあるが、胸部X線写真上肺病変のない側に胸膜炎を生じることがあり、その機序は単一でない。

3. 症 状

咳、胸痛、発熱、呼吸困難などが主な臨床症状である。胸水が大量に貯留すると胸痛はむしろ緩和され、かわりに呼吸困難を生じやすくなる。特に高齢者では発熱、胸痛などの臨床症状が乏しいことがあるので注意を要する。

4. 診 断

結核性胸膜炎の診断は、①胸水からの結核菌検出(塗抹鏡検、培養、核酸増幅法)、②胸膜生検材料で結核特異的病理所見(乾酪性類上皮肉芽腫)、結核菌検出(塗抹鏡検、培養、核酸増幅法)、③肺結核病変を伴う随伴胸水では、喀痰や胃液から結核菌検出(塗抹鏡検、培養、核酸増幅法)、④補助診断により行われる。

(1) 胸水の性状

結核性胸膜炎による胸水はほとんどが片側性に貯留し、大量であることは少ない⁶⁾。胸水は透明、淡黄色(ときに血性)の滲出性液で、胸水中蛋白は3.0 g/dl以上で癌性胸膜炎などと比較して高値を示し、糖は癌性胸膜炎より低い⁴⁾⁷⁾。細胞成分はリンパ球が大多数を占める。リンパ球のうち、CD4+Tリンパ球が末梢血と比較して割合、絶対数とも増加し、Bリンパ球は減少している。ただし、発症早期の胸水には多形核白血球の増加がみられる。

(2) 結核菌の核酸増幅法による結核菌DNAの検出

培養法では結果判定に数週間を要するが、核酸増幅法では数日以内で結果が得られる迅速診断として利点がある。これまでの報告では、結核性胸膜炎の診断の感度と特異性に好成績を示す報告(感度81%、特異度100%)⁸⁾、感度が悪い例(感度42%)⁹⁾、false-negative例、悪性胸水でfalse-positive例など様々な報告があり本検査の有用性は必ずしも確立していない。胸膜炎については1つの補助的な検査法として位置づけておいたほうがよい。

(3) 胸膜生検

胸水の塗抹、培養検査による検出率は予想以上に低く、約10~15%ぐらいにすぎない。そこで胸水検査で確定診断が得られない場合に胸膜生検が施行される。方法には経皮的胸膜生検と胸腔鏡下胸膜生検がある。前者は結核性病変が壁側胸膜に広範に分布する例に適し、後者は病変部位を胸腔鏡下に確認して生検できる。経皮的胸膜生検と胸腔鏡下生検をprospectiveに比較した報告¹⁰⁾では前者が陽性率50%に対して後者では94%と高い有用性を示している。結核の病理組織所見の特徴は乾酪性類上皮肉芽腫の存在でありサルコイドーシスと鑑別困難な非乾酪性類上皮肉芽腫の例もある。最近では、局所麻酔下胸腔鏡も臨床に導入され、その有用性が報告されている¹¹⁾。

(4) 胸水を用いた補助診断

① ADA (adenosine deaminase)

結核性胸膜炎の診断に最も頻用されている生化学的指標がADAである。ADAはプリン代謝に関わる酵素で、アデノシンをイノシンとアンモニアに加水分解する。ヒト組織では胸腺、脾などのリンパ系組織と末梢血T細胞でことに活性が高い。結核性胸膜炎においては胸腔内に集積しているT細胞の活性化により胸水中濃度が上昇する。しかし、他疾患(慢性関節リウマチ、膿胸など)による胸水でも同様に高値を呈する場合があり、結核性胸水の補助診断としての意義を高めるために胸水/血清リゾチーム値比の同時測定¹²⁾、胸水のリンパ球/好中球数比の同時測定¹³⁾など種々の試みが行われている。

② サイトカイン

結核性胸膜炎の胸腔内には多数のTリンパ球が集積し、結核菌抗原ペプチドで刺激活性化されて可溶性インターロイキン-2受容体(sIL-2R)¹⁴⁾¹⁵⁾、IL-6(interleukin-6)、IL-8、INF- γ (interferon- γ)^{4)16)~18)}、TNF- α (tumor necrosis factor- α)など種々のサイトカインを産生するため、胸水中のサイトカインが結核性胸膜炎の診断に有用であるとの報告も多い。結核性胸膜炎の病態は、胸腔内におけるマクロファージとヘルパーT細胞1(Th1)が主体の遅延型アレルギーである。すなわち、結核菌体の刺激によりTh1指向性のサイトカインが感染局所に過剰産生され、菌体蛋白抗原特異的なTh1細胞が誘導される。その結果、マクロファージが活性化されて類上皮細胞、Langhans巨細胞を胸膜に形成し、胸水貯留が現れると考えられる。一般的に結核菌感染の初期免疫(innate immunity)を司るのはマクロファージ、NK細胞と γ/δ T細胞である。これらは抗原特異性がないかあっても反応幅が広く、結核菌の細胞壁成分の脂質(ミコール酸など)や免疫刺激性DNA(C/Gモチーフの高いDNA)の非特異的な刺激を受けて、細胞を活性化しTh1サイトカインが反応の場に分泌される。次いで、前駆細胞のTh0

から Th1 細胞へ分化し、結核菌蛋白抗原特異的な細胞性免疫が成立する¹⁹⁾。その際 α 抗原 (antigen 85 complex) などの分泌蛋白が抗原となる。感染成立個体のリンパ球を *in vitro* でこれらの蛋白抗原で刺激をすると、INF- γ 、TNF- α 、IL-2、IL-12、IL-18、また免疫抑制性の IL-10 や TGF- β (transforming growth factor- β) などが産生されてくる。INF- γ で活性化されたマクロファージによる殺菌機構などが働いて特異的な防御免疫が成立する。一般の抗原刺激による免疫応答ではサイトカインネットワークが働き、最終的に Th1-Th2 間でバランスが保たれるが、結核感染の場合は、細胞壁成分の脂質や免疫刺激性 DNA が存在することにより Th1 サイトカインが無制限に誘導産生され、T 細胞、マクロファージその他の細胞が増殖・活性化される。骨髄由来の単球は類上皮細胞から Langhans 巨細胞へと分化し、結核性肉芽腫が形成される。肺内においては結核結節から空洞の形成に進むが、同様の変化が胸膜にも起こっていると考えられる。また、活動性肺結核の気管支肺胞洗浄液中の IL-12、INF- γ が上昇しているなどの報告もある²¹⁾。われわれは胸水中サイトカイン濃度と臨床所見との検討を行い、IL-12p40 や INF- γ が発熱などの症状と関連することを報告したが²⁰⁾、今後このような検討をさらに加え生体内での免疫状態と生体反応の関係を明らかにしていく必要がある。

5. ROC 曲線による胸水中 INF- γ 値の有用性の確認

胸水中の INF- γ 値が結核性胸膜炎の鑑別にきわめて有用であることが最近知られるようになった^{4) 16)~18)}。われわれは、胸水中の INF- γ 、sIL-2R、IAP (immunosuppressive acidic protein) と ADA のいずれが鑑別上、感度、特異度の点で最も優れているのかを明らかにするために結核性胸膜炎 10 例、癌性胸水 19 例、その他 17 例の計 46 例について ROC (receiver operating characteristic) 曲線を用いて検討し、曲線下面積が 1.0 を示す INF- γ が最も有用であることを確認した⁴⁾ (Fig. 1)。また、胸水中 INF- γ は測定系を変えても結核性胸膜炎において癌性胸膜炎やその他の胸水よりも有意に高値を示した⁷⁾。

胸水中 INF- γ 測定の有用性は数多く報告されているが、実際の臨床ではそれほど測定されていない。その理由として高コスト、保険適応の問題以外に、測定系によって値にばらつきがあり、cut off 値が施設間で直接比較できないことがあげられる。したがって、測定にあたっては現時点では各施設で cut off 値を設定する必要がある。

6. Cytometric bead array (CBA) を用いた胸水中サイトカインネットワークの検討

Cytometric bead array (CBA) 法とは、蛍光ビーズとフローサイトメトリー (FCM) を用いて、液体中の複数の

抗原の濃度を同時に測定する方法である。まず、波長(色)は同じだが蛍光強度の異なる複数の蛍光ビーズをそれぞれ異なる抗体でコーティングしておく。これらを同数ずつ混ぜ合わせ、液体検体と反応させる。検体中に抗原があれば、ビーズ表面のコーティング抗体に抗原は補足される。次に、蛍光ビーズとは異なる蛍光色素で標識した抗体を準備する。上記のビーズにこれらを反応させると、これらはビーズ表面の補足抗原に結合する。つまり抗原はコーティング抗体と蛍光抗体からサンドイッチされた状態となる。その結果、ビーズ表面から発せられる蛍光抗体の蛍光強度は抗原の量(濃度)を表すことになる。一方、ビーズ自体の蛍光の強度は抗原の種類を表している。フローサイトメトリーにビーズ自体の蛍光と蛍光抗体からの蛍光を同時に測定する。抗原の濃度を求めるためには、あらかじめ抗原濃度のわかっている検体(標準試料)を用いて検量線を作成しこれより求める。

われわれはこの CBA 法を用いて胸水中の複数のサイトカインを同時に測定しその発現パターンを検討した^{7) 22)}。3つの疾患群(結核、癌、炎症その他)の間で2つのサイトカイン濃度比の平均値に有意の差があるかを解析すると、サイトカインの組み合わせによっては濃度比がある疾患群では他の群よりも有意に高い、あるいは低いことが明らかになった (Fig. 2)。例えば Fig. 2 (A) は各サイトカインの IL-5 に対する比を示したものであるが、結核群の INF- γ /IL-5 は他の疾患群よりも有意に高い。同様に Fig. 2 (B) では結核群の IL-2/TNF- α は他の2群に比して有意に低い。Fig. 2 (C) では結核群の INF- γ /IL-10 が他の2群よりも有意に高いことが示されている。これらのことはそれぞれのサイトカイン濃度比が一定の値以上に、あるいは以下になるようなメカニズムが結核に限って存在することを意味している。さらにわれわれは、疾患群ごとに特定の2つのサイトカインの発現が相関しているかどうかを検討した。その中で IL-2 と INF- γ や IL-4 と INF- γ の相関は癌性胸膜炎にしかみられなかった。このようなサイトカインネットワークの研究には数多くのサイトカインの関係を検討しなければならないので、フローサイトメトリーの高い迅速性と感度を利用した CBA は大変有効な手段と考えられた。ただし、胸水中 INF- γ などでは加齢の影響も考慮しながら検討する必要がある。

7. 治療

特発性胸膜炎の場合、化学療法をしなければ5年以内に65%が肺結核を発症するので、抗結核薬の化学療法は必須である²³⁾。化学療法は肺結核症の場合と同様に行う。現実的には、肺内病変がない胸膜炎のみで、合併症

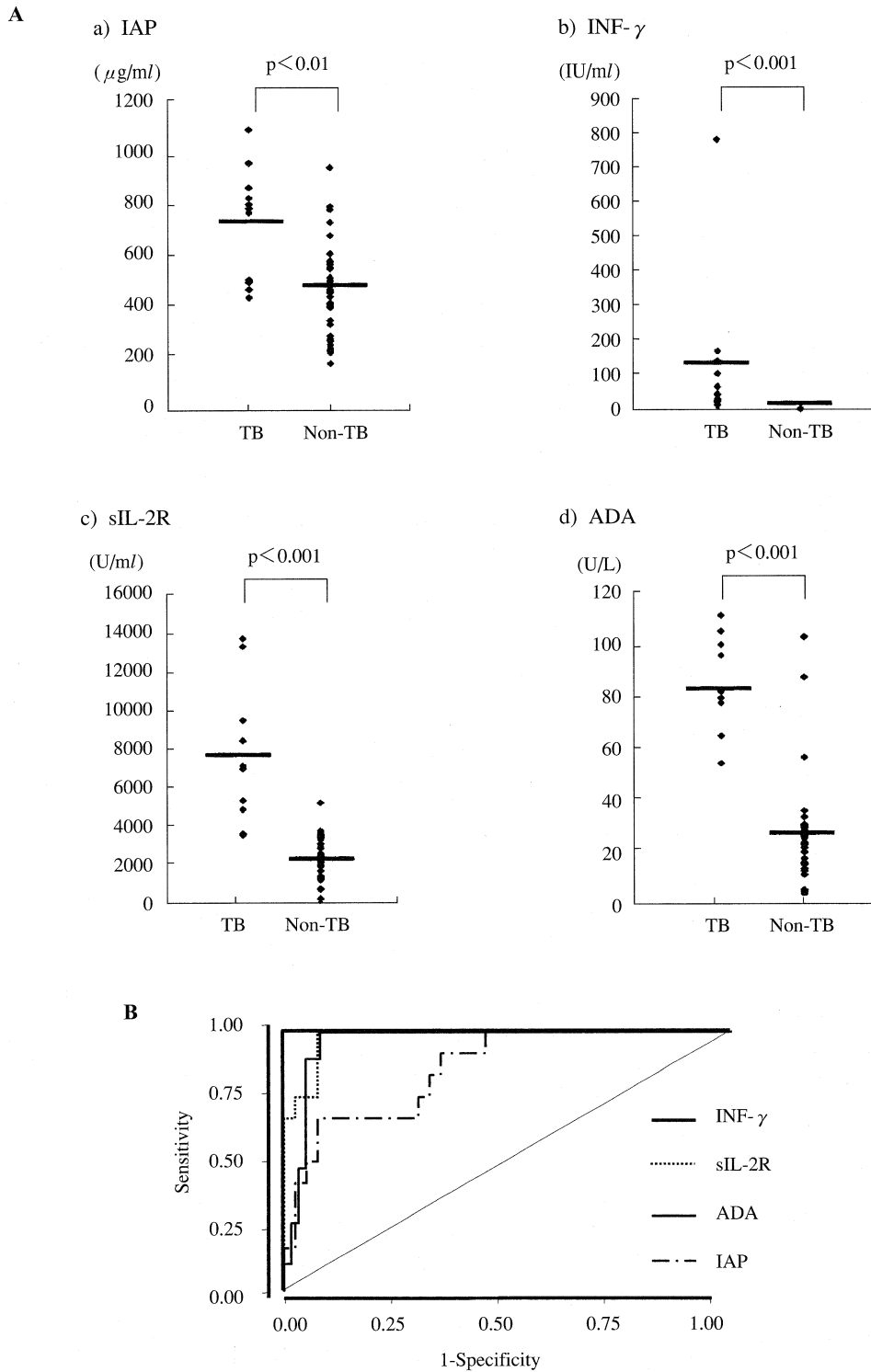


Fig. 1 ROC analysis. Pleural fluid INF- γ concentrations are more useful for distinguishing tuberculous pleurisy compared with ADA, IAP, and sIL-2R. (cited from Chest. 2003 ; 123 : 740-744)

なく初回治療ならば、副作用の少ないRFP, INH, EBの3剤9カ月化学療法が妥当と考えられる。随伴性胸膜炎の場合は、一般の肺結核治療と同様の化学療法を行う²⁴⁾。

結核性胸膜炎胸水はフィブリンが豊富であり、治療の

開始が遅れたり、治療の反応が悪い場合、容易に固化癒着をきたし、永続的で強い拘束性肺機能障害を招きやすいため、初期に胸水全量を排除することが重要である。化学療法を開始したにもかかわらず胸水吸収が遅延した場合、抗結核薬にステロイド薬を併用し時に奏効するこ

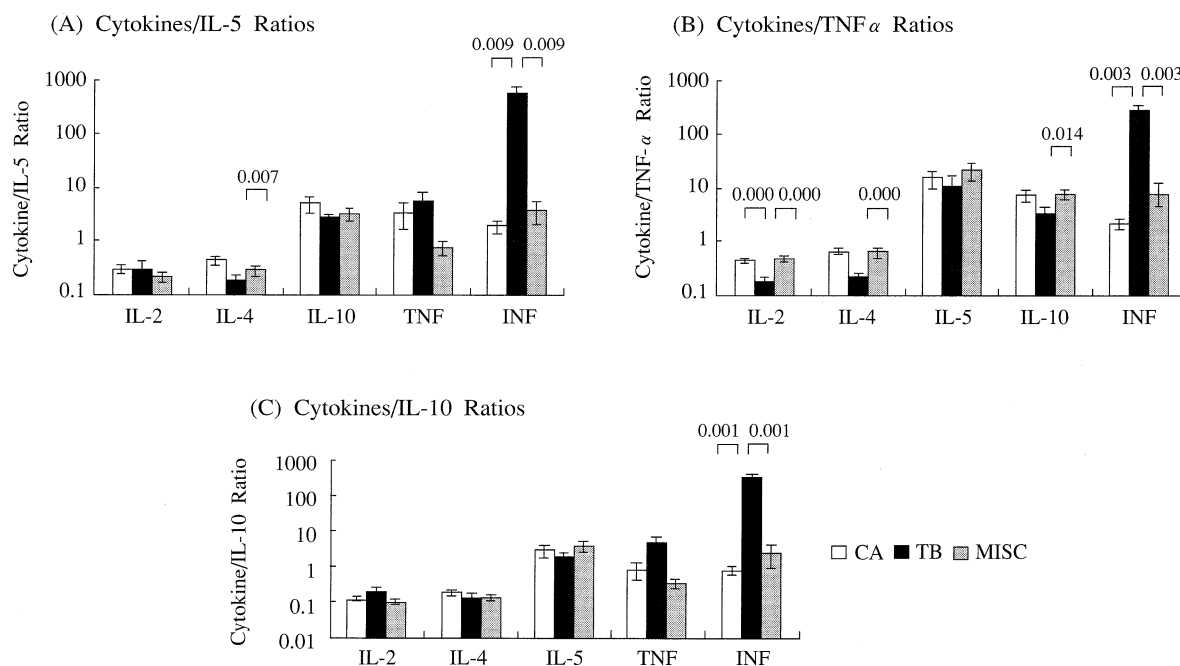


Fig. 2 Ratios of cytokine concentrations/IL-5 (A), /TNF- α (B), and /IL-10 (C) concentrations (mean \pm standard error). (cited from Int J Mol Med. 2003 ; 12 : 193-198)

とがあるが、ルーチンでの併用は遠隔成績に差のないことが判明しており推奨できない²⁵⁾。

おわりに

結核性胸膜炎の診断において胸水や胸膜からの結核菌検出率が低いため、リンパ球優位の滲出性胸水で、慢性関節リウマチ、膿胸、リンパ系悪性腫瘍などが否定され胸水中 ADAが十分高値であれば、結核性胸膜炎として治療が行われているのが現状である。しかしながら、治療に長期間を要し、治療の遅延により高度の拘束性肺機能障害が残存することや癌性胸膜炎との鑑別を間違えると致命的であることを考えると、できるだけ早急に、しかも確定的な診断を得ることはきわめて重要である。近年急速に普及した胸腔鏡などによる胸膜生検は組織学的、細菌学的確定診断を行える点では非常に優れている。一方、胸水中の INF- γ の測定は確かに高コストであるが、侵襲のある胸腔鏡などの検査を省略できるだけ有用性が確認できれば医療経済的にもきわめて効率的な検査方法と考えられる。結核性胸膜炎の病態の理解を進めるとともに、その有用性を確認し保険適応の拡大も検討していく必要があると思われる。

文 献

1) 青江啓介, 平木章夫, 卷幡 清, 他: 国立療養所山陽病院における胸水細胞診 350 例の検討. 医療. 2003 ; 57 :

315-318.

- 2) Valdes L, Alvarez D, SanJose E, et al.: Tuberculous pleurisy: study of 254 patients. Arch Intern Med. 1998 ; 158 : 2017-2021.
- 3) Wai W, Yeung CH, Yuk-Lins, et al.: Diagnosis of tuberculous pleural effusion by the detection of tuberculostearic acid in pleural aspirates. Chest. 1991 ; 100 : 1261-1263.
- 4) Aoe K, Hiraki A, Murakami T, et al.: Diagnostic significance of interferon- γ in tuberculous pleural effusions. Chest. 2003 ; 123 : 740-744.
- 5) Stead WW, Bates JH: Evidence of a "silent" bacteremia in primary tuberculosis. Ann Int Med. 1971 ; 74 : 559-561.
- 6) American Thoracic Society : Diagnostic standards and classification of tuberculosis in adults and children. Am J Respir Crit Care Med. 2000 ; 161 : 1376-1395.
- 7) Aoe K, Hiraki A, Murakami T, et al.: Relative abundance and patterns of correlation among six cytokines in pleural fluid measured by cytometric bead array. Int J Mol Med. 2003 ; 12 : 193-198.
- 8) Querol JM, Minguez J, Garcia-Sanchez J, et al.: Rapid diagnosis of pleural tuberculosis by polymerase chain reaction. Am J Respir Crit Care Med. 1995 ; 152 : 1977-1981.
- 9) Villena V, Rebollo MJ, Aguado JM, et al.: Polymerase chain reaction for the diagnosis of pleural tuberculosis in immunocompromised and immunocompetent patients. Clin Infect Dis. 1998 ; 26 : 212-214.
- 10) Loddenkemper R, Mai J, Scheffler N, et al.: Prospective individual comparison of blind needle biopsy and of

- thoracoscopy in the diagnosis and differential diagnosis of tuberculous pleurisy. *Scand J Respir Dis.* 1987; 102 (Suppl): 196-198.
- 11) 石井芳樹, 北村 諭: 局所麻酔下胸腔鏡検査の有用性. *結核.* 2000; 75: 51-56.
 - 12) Fontan Bueso J, Vereá Hernando H, Garcia-Buela JP, et al.: Diagnostic value of simultaneous determination of pleural adenosine deaminase and pleural lysozyme/serum lysozyme ratio in pleural effusions. *Chest.* 1988; 93: 303-307.
 - 13) Burgess LJ, Maritz FJ, Le Roux I, et al.: Combined use of pleural adenosine deaminase with lymphocyte/neutrophil ratio. Increased specificity for the diagnosis of tuberculous pleuritis. *Chest.* 1996; 109: 414-419.
 - 14) Ito M, Kojiro N, Shirasaka T, et al.: Elevated levels of soluble interleukin-2 receptors in tuberculous pleural effusions. *Chest.* 1990; 97: 1141-1143.
 - 15) Harita S, Nogami N, Kikuchi T, et al.: Preliminary evaluation of soluble IL-2 receptor and type III procollagen N-terminal aminopeptide in pleural fluid for differentiating tuberculous, carcinomatous and parapneumonic pleural effusions. *Respirology.* 2002; 7: 311-315.
 - 16) Ogawa K, Koga H, Hirakata Y, et al.: Differential diagnosis of tuberculous pleurisy by measurement of cytokine concentrations in pleural effusion. *Tuber Lung Dis.* 1997; 781: 29-34.
 - 17) Wongtim S, Silachamroon U, Ruxringtham K, et al.: Interferon gamma for diagnosing tuberculous pleural effusions. *Thorax.* 1999; 54: 921-924.
 - 18) Villegas MV, Labrada LA, Saravia NG: Evaluation of polymerase chain reaction, adenosine deaminase, and interferon- γ in pleural fluid for the differential diagnosis of pleural tuberculosis. *Chest.* 2000; 118: 1355-1364.
 - 19) Schluger NW, Rom WN: The host immune response to tuberculosis. *Am J Respir Crit Care Med.* 1998; 157: 679-691.
 - 20) Hiraki A, Aoe K, Murakami T, et al.: Simultaneous measurement of T-helper 1 cytokines in tuberculous pleural effusion. *Int J Tuberc Lung D.* 2003; 7: 1172-1177.
 - 21) Taha RA, Kotsimbos TC, Song YL, et al.: INF-gamma and IL-12 production are increased in active compared with inactive tuberculosis. *Am J Respir Crit Care Med.* 1997; 155: 1135-1139.
 - 22) 山崎清二, 内田 亨, 本田由香, 他: Cytometric Bead Array (CBA)を用いた胸水サイトカインのマルチ解析. *Cytometry Research.* 2003; 13: 31-38.
 - 23) Roper WH, Waring JJ: Primary serofibrinous pleural effusion in military personnel. *Am Rev Tuberc.* 1955; 77: 358-362.
 - 24) American Thoracic Society: Treatment of tuberculosis and tuberculosis infection in adults and children. *Am J Respir Crit Care Med.* 1994; 149: 1359-1374.
 - 25) Wyser C, Walzl G, Smedema JP, et al.: Corticosteroids in the treatment of tuberculous pleurisy. A double-blind, placebo-controlled, randomized study. *Chest.* 1996; 110: 333-338.

Review Article

DIAGNOSIS AND TREATMENT OF TUBERCULOUS PLEURISY
— With Special Reference to the Significance of Measurement of
Pleural Fluid Cytokines —

^{1,2}Keisuke AOE, ¹Akio HIRAKI, and ²Tomoyuki MURAKAMI

Abstract Tuberculous pleurisy as well as malignant pleuritis is a representative disease presenting pleural effusion. The diagnosis of tuberculous pleurisy is made from examination of pleural effusion, but the sensitivity of smear or culture of *Mycobacterium tuberculosis* from pleural fluid is generally low. Although the pleural fluid concentration of adenosine deaminase (ADA) is useful in terms of sensitivity or specificity, the value could be high in empyema or rheumatoid pleuritis. Thoracoscopic biopsy of pleura is more sensitive rather than conventional percutaneous needle biopsy, but is more invasive. Tuberculous pleural effusion is caused by delayed allergy which macrophage and T-helper 1 cells mainly relate and the stimuli of bacterial body consecutively induces T-helper 1 cytokines. Pleural fluid interferon- γ (INF- γ) is important not only in pathogenesis but also in diagnosis. We demonstrated that INF- γ is a more sensitive and specific indicator for tuberculous pleurisy than ADA using receiver operating characteristics (ROC) analysis. Cytometric bead array (CBA)

is a tool to simultaneously measure abundance of various cytokines and is expected to be a very useful method to provide informations for understanding a feedback mechanism of cytokine network. It is needed to clear the immunity in pleural fluid and to establish the less invasive and more useful method to diagnose tuberculous pleurisy.

Key words: Tuberculous pleurisy, Diagnosis, Cytokine, INF- γ , Receiver operating characteristics curve, Cytometric bead array

Departments of ¹Respiratory Medicine and ²Clinical Research, National Sanyo Hospital Respiratory Disease Center

Correspondence to: Keisuke Aoe, Department of Respiratory Medicine, National Sanyo Hospital Respiratory Disease Center, 685 Higashikiwa, Ube-shi, Yamaguchi 755-0241 Japan. (E-mail: aoe@sanyou-dr.jp)