

学位論文題名

ミコバクテリア感染症における末梢血Tリンパ球の分析

学位論文内容の要旨

はじめに

結核症はヒト型結核菌の感染によって惹起される感染症であるが、感染したヒトの約1割が生涯のうちに発病に至ると考えられている。どのようなヒトが、いつ、どのような条件下で、潜在的な感染から臨床的な発病へと進展するかの問題は、結核の臨床にとっても結核対策の上からも、もっとも重要な問題であるにも関わらず、ほとんど不明のまま残されている。

結核の潜在的感染から発病への進展、治療終了後の再燃、MOTT症の成立、ミコバクテリア感染症の難治化などを規定している宿主側のリスクファクターの特定を究極の目的として、結核症およびMOTT症患者リンパ球サブセットの分析を行なった。

1. 材料

結核予防会複十字病院に入院または通院中の結核症および「非定型抗酸菌症、(MOTT症) 70才未満の患者を対象とした。健康正常対照者として、結核研究所・複十字病院職員、ならびに某衣料関係の会社の健康な従業員を選んだ。

2. 方法

末梢静脈血を採血し、全血溶血法を用いて Fluorescein isothiocyanate (FITC) および Phycoerythrin (PE) で標識した2種類の単クローン抗体を組み合わせる二重染色を行ない、フローサイトメトリーの分析試料とした。

3. 実験結果

1) 総白血球、総リンパ球、Tリンパ球およびBリンパ球

総リンパ球数は両患者群ともに正常対照群に比較すると有意に低下していた。TおよびBリンパ球の実数は両患者群ともに低下していた。総リンパ球に対する比率は両患者群で軽度に低下していたが、T/B比は一定に保たれていた。

2) CD4⁺およびCD8⁺Tリンパ球サブセット

両患者群ともにCD4⁺/CD8⁻およびCD4⁻/CD8⁺サブセットの実数はともに正常対照群

と比較して有意に低下していた。各サブセットの総リンパ球に対する比率は正常対照群と著しい差はみられなかったが、個々の症例では正常対照群の平均値 $\pm 2 \times$ 標準偏差よりも高値を示す例や、低値を示す例が多かった。CD4⁺リンパ球の比率が正常範囲を越えて高値を示す例が結核群で8.3%、MOTT症群で7.9%あり、正常範囲を下まわるものはそれぞれ、6.0%、10.5%あった。CD8⁺の比率が高い例が結核群で7.1%、MOTT症群で7.9%あった。低値を示す例は両群ともになかった。

CD4/CD8比については、正常値を越えて高い例は結核群では7.1%、低い例は1.2%、MOTT症群ではそれぞれ7.9%、2.6%あった。

CD4⁺Tリンパ球ではLeu8⁺とLeu8⁻のサブセットには両群ともに有意差はみられなかった。CD8⁺Tリンパ球ではCD11b⁺のサブセットには有意差はみられなかったが、CD11b⁻サブセットではMOTT症群が正常対照群と比較して有意に高かった。

3) 活性化Tリンパ球

IL-2-R陽性およびHLA-DR陽性細胞は、総リンパ球に対する比率でも、総Tリンパ球との比率でも、両患者群ともに正常対照群との差はみられなかった。

4) 臨床所見との関連

X線上空洞の有無、広がりおよび化学療法後の排菌別にリンパ球のサブセットについて検討したが、結核病学会X線分類の広がり1と3と比較すると、広がり3はリンパ球の総白血球に対する比率、総リンパ球の実数、CD4⁺、CD8⁺Tリンパ球の実数が広がり1と比較して有意に少なかった。化学療法により排菌停止した群と持続排菌している群の間には有意差はみられなかった。

5) 症例報告

経過を追ってFACS分析を行なった結核症、MOTT症それぞれ1例づつを示した。両患者ともに経過中X線陰影の悪化に先立ち総リンパ球、Tリンパ球およびCD4⁺Tリンパ球の著明な減少がみられた。

4. 考察

最近の免疫学の著しい進歩によって、結核の免疫においてはT細胞が重要な役割を演じていることが明らかにされている。本研究で結核症およびMOTT症患者の総白血球に対するリンパ球の役割が減少していたことは諸家の報告と一致している。CD4⁺/CD8⁻およびCD4⁻/CD8⁺Tリンパ球については、総リンパ球に対する比率でみた場合、軽度のCD4⁺/CD8⁻の低下、CD4⁻/CD8⁺の増加がみられ、この結果CD4/CD8比は患者群でわずかの低下を示した。

CD4/CD8比については、上昇しているという報告と低下しているという報告がみられるが、このような食違いの原因は、第一に対象患者の違いがもっとも大きい要因と思われるが、第二には試料調整法の違いなど技術上の問題もあると思われる。

CD4⁺/CD8⁻Tリンパ球の実数は結核患者群もMOTT症患者群も正常群に比較して有意に低下していた。本研究のような臨床研究では発病の結果リンパ球系の異常が生じたのか、リンパ球系の異常が原因となって発病、重症化が起こったのかを一義的に決定することは困難であるが、例として示した2症例ではTリンパ球、特にCD4⁺Tリンパ球の減少が先行し、このような免疫能の低下を背景として悪化が起こったと考えるのが妥当であると思われる。CD4⁻CD8⁺T細胞の実数は、結核患者群もMOTT症患者群も正常群に比して有意に低下していた。CD8⁺Tリンパ球は従来細菌感染防御免疫においてはむしろnegativeな役割をはたすものと考えられていたが、最近Kaufmannらのグループは、細菌内寄生細菌の場合には、すでに感染を受けた食細胞に対して細胞障害性に作用することによって、CD8⁺Tリンパ球も感染の制御に一定のpositiveな役割を担うと主張している。

宿主の免疫応答は基本的には遺伝子によって支配されているが、これに種々の要因が相互に複雑に影響しあって、ある患者のある時点における免疫状態が規定され、それが末梢血のリンパ球のプロフィールとして反映されている。このようにして、ミコバクテリア感染症患者では、リンパ球のサブセットの比率やCD4/CD8比などは正常対照群と比較して一律に高い値、または低い値をとるのではなく、正常範囲を越えて高い値から正常範囲をずっと下まわる低い値を示すものまで一連のスペクトラムを形づくるのであろう。個々の症例がこのようなスペクトラム上のどのような位置を占めているのか、経過にともなってこのスペクトラム上をどの方向に動いて行くかを知ることによって、症例ごとの経過予測や予後判定に役立つと期待できる。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 柿 沼 光 明
副 査 教 授 宮 崎 保
副 査 教 授 皆 川 知 紀

I. 研究目的

結核の潜在感染から発病への進展，治療終了後の再燃，MOTT 症（通称非定型抗酸菌症）の成立，ミコバクテリア感染症の難治化などを規定している宿主側のリスクファクターの特定を究極の目的として，結核症および MOTT 症患者のリンパ球サブセットの解析を行った。

II. 方法

結核予防会複十字病院に入院または通院中の70才未満の結核症および，MOTT 症患者を対象とした。健康正常対照群として結核研究所複十字病院職員，ならびに某衣料関係会社の健康な従業員を選んだ。末梢静脈血を採取し，全血溶血法を用いて Fluorescein isothiocyanate および Phycoerythrin で標識した2種類の単クローン抗体を組み合わせることで二重染色を行ない，フローサイトメトリーでリンパ球サブセットを分析した。

III. 結果

総白血球数は患者群と正常対照群との間には差はなかったが，総リンパ球数，Tリンパ球数，および，Bリンパ球数は，結核症および MOTT 症のいずれにおいても，健康対照群より低下していた。

T，Bリンパ球の総リンパ球に対する比率は，両患者群で軽度に低下していたが，T/B比は一定に保たれていた。

両患者群ともに CD4⁺/CD8⁻および CD4⁻/CD8⁺サブセットの実数はともに正常対照群と比較して有意に低下していた。

各サブセットの総リンパ球に対する比率は正常対照群と著しい差は見られなかったが，患者群では正常対照群の平均値±2SDよりも低値を示す例が多く，高値を示す例も目立った。

CD4⁺Tリンパ球のなかの Leu8^{+/-}，CD8⁺Tリンパ球のなかの CD11b^{+/-}の検査では，CD11b⁻サブセットの細胞が MOTT 症において有意に高かった。

活性化リンパ球の指標とされる IL-2R 陽性細胞，および，HLA-DR 陽性Tリンパ球数は，正常と比して差が見られなかった。

X線上空洞の有無，病巣の広がり，および，化学療法後の排菌の有無とリンパ球サブセットの関係を検討したが，病巣の広がりやリンパ球数との間に関連が認められた。結核病学会X線分類の広がり1と3で比較すると，広がり3は広がり1に比較してリンパ球の総白血球に対する比率，総リンパ球数，CD4⁺，CD8⁺Tリンパ球の実数が低かった。

初診時にリンパ球およびサブセットの異常が認められた患者の90%以上は，結核症，MOTT症ともに，治療によってそれらが正常化した。

経過を追ってFACS解析を行った結核症，MOTT症それぞれ1例づつについて病像とリンパ球サブセットとの関係を検討した。両患者ともに経過中X線陰影の悪化に先立ち総リンパ球，Tリンパ球およびCD4⁺Tリンパ球の著明な減少が認められた。

口頭発表に際して，宮崎保教授から(1)結核症の進展とリンパ球数の変化との間の因果関係，(2)γ/δ陽性Tリンパ球との結核症との関係について，皆川知紀教授から(1)経過を観察した症例におけるツ反応の変化，(2)ツ反応の成績と末梢血のリンパ球サブセットの低下との関係について，細川真澄男教授から結核症の進展とアレルギーとの関係について質問がなされたが，申請者はいずれも適切な回答をなしえたと思われる。さらに，副査の宮崎保，皆川知紀両教授から個別に審査を受け合格と判定された。

これまでに結核症患者について臨床免疫学的研究が多数行われてきたが，本研究では解析法を工夫して信頼度の高い成績を得たこと，極めて少数例の知見しか得られていなかったMOTT症における免疫動態の解析を多数の症例について行ったこと，また，一部の患者について長期間に亘ってリンパ球サブセットの解析を行い，免疫機能の低下が，病勢の悪化に積極的に関与する事を明らかにした点で，優れた臨床免疫学的研究と考えられ，博士の学位論文として妥当なものと判断される。