減感作療法とT細胞サブセット の動態について

佐竹 敬一・谷野 徹・内藤 丈士・長船 宏隆
木山 博夫・鶴木秀太郎・小松崎篤*・石川 文雄**

Hyposensitization Therapy with House Dust and the Behavior of T-Cell Subsets

Keiichi Satake, Toru Tanino, Takeshi Naito,
Hiroataka Osafune, Hiroo Kiyama, Shutaro Unoki,
Atsushi Komatsuzaki and Fumio Ishikawa

(Toho University)

House Dust has been the key subject as a main antigen in the specific immunotherapy of atopic allergic diseases, including nasal allergy and bronchial asthma, and the mechanism of therapy has been investigated and elucidated from the viewpoint of humoral immunity, especially antibodies. However, attention is being paid at present to its relation to cellular immunity, especially to the function of T-cells which play a major part in the immunity of the mechanism of effective therapy. Recently, the authors carried out a cellular immunological study of the behavior of T-cell subsets before and after house dust hyposensitization therapy, obtaining the results summarized as follows:

- (1) There was no difference between the white blood cell, lymphocyte and T-cell counts before and after therapy.
- (2) T_G-cells having the receptor for the Fc fragment of IgG antibodies tended to increase in number after therapy.
- (3) When the treatment was effective or remarkably effective, an increase in T_G-cell count was seen in many cases, and a significant increase in count was observed especially in remarkably effective cases.
- (4) T-cells were considered to take part in the mechanism of effective specific immunotherapy.

は じ め に

House Dust (以下HDと略す)は、半世紀以上にわたって、鼻アレルギー、気管支喘息をはじめとするアトピー性アレルギー疾患の主要抗原として、減感作療法の中心的役割をはたしてきた。HDの減感作療法における免疫学的作用機序については、従来、抗体を中心とした液性免疫にて主に

* 東邦大学医学部耳鼻咽喉科学教室

** 同 免疫

検討, 解明がなされてきたわけであるが, 最近, アトピー性アレルギーに関しても細胞性免疫の関与, その中でもT細胞レベルでの検討が重要視されている. またT細胞機能にいろいろの働きがあることが明確にされつつある現在, HD減感作療法の奏功機序に, 細胞性免疫が何らかの役割をおよぼしている可能性が考えられる.

今回我々は, HD減感作治療前後の細胞性免疫学的検討として, T細胞サブセットの動態について検討したので報告する.

対 象

対象は, 通年性鼻アレルギー症状を有し, スクラッチテスト, 鼻汁細胞診, RAST score等の諸検査よりHDが主要抗原と考えられた80例のうち, HD抗原液10万倍0.02mlより10倍量0.5mlまで減感作療法を施行した23症例について検討した(表1). 抗原液は, 鳥居薬品製を使用し, 週2回, 5割増量法を原則としておこなった.

表1 対象

ハウスダストアレルギー	
平均年齢	21.6±13
症 例 数	23例
性 別	男15例 女8例

実 験 方 法

健康人ならびに鼻アレルギー患者よりヘパリン加採血した末梢血をPH7.4 磷酸緩衝生理食塩水で2倍希釈後, Ficoll-Conray 比重遠心法¹⁾(比重1.077)により単核細胞(peripheral blood lymphocytes, PBL)を単離回収した.

T細胞検出は未感作ヒツジ赤血球とのロゼット形成能を指標とし²⁾, IgG抗体のFc部に対

する受容体を保持するT細胞(以下TGと略す)の検出には, IgG抗体感作ニワトリ赤血球と羊赤血球とのダブル・ロゼット法にて検出した³⁾. また, 血清IgE値はRIST法⁴⁾(フェルマシア社製IgEラジオイムノアッセイキット)で測定した.

効 果 判 定

減感作治療効果の判定は, 当科アレルギー外来で使用しているアレルギー日記を重視し, 特にくしゃみ発作, 擤鼻回数, 鼻閉塞感, 眼鼻掻痒感等の自覚症状の軽重により, 減感作後, 症

状の消失した例を著効, くしゃみ発作, 擤鼻回数, 眼鼻掻痒感の軽減した例を有効, 症状不変を無効として判定した⁵⁾.

実 験 成 績

(1) 減感作治療(前後)と血清IgE値の検討
減感作治療前の血清IgE値の平均は962.5IU/ml, 治療後は1263.8IU/mlと増加傾向が認められた. また, 治療後, 血清IgE値の増加は23例中16例(69.7%)に認められた. しかし治療前後における有意差は認められなかった(図1).

(2) 減感作治療(前後)とT細胞の動態
減感作治療前のT細胞パーセントの平均は, 79.5%, 治療後は77.1%と有意な変化は認められなかった(図2). しかし治療後, 血清IgE高値(IgE $\geq$ 700IU/ml)を示した13症例の中で, T細胞の感少が認められた例は, 11例(84.6%)と高頻度であった.

図 1

図 2

Changes in T_G cell percentages after specific immunotherapy

図 3

(3) 減感作治療前の T_G 細胞の動態

減感作治療前の T_G 細胞の平均は、3.36%であり、治療後は4.47%と増加し、これは推計学的に有意な増加 ($P < 0.1$) であった (図3)。

次に自覚症状の改善度 (無効, 有効, 著効) と T_G 細胞の関係について検討をおこなった。

(4) 無効, 有効・著効例と T_G 細胞の検討

無効例は23例中7例 (30.4%) であり、IgE

高値例は7例中2例 (28.6%) であった。また治療前の T_G 細胞は4.1%, 治療後は3.1%と減少傾向が認められたが有意差 ($P < 0.6$) はなかった。

有効・著効例は23例中16例 (69.6%) であり、また IgE 高値例も16例中14例 (87.5%) と無効例と比較が多かった。また治療前の T_G 細胞の平均は3.0%, 治療後は5.5%と有意な増加が認められた ($P < 0.01$) (図4)。

(5) 有効, 著効例と T_G 細胞の検討

有効例は23例中4例 (17.4%) であり、4例とも IgE 高値を示していた。また治療前の T_G 細胞の平均は3.9%, 治療後は5.4%と増加傾向が認められた。しかし、両群間には有意差 ($P < 0.4$) はなかった。

著効例は23例中12例 (52.3%) であり、12例中、IgE 高値例は8例 (66.7%) に認められた。また治療前の T_G 細胞の平均は2.7%, 治療後は5.5%と有意な増加が認められた ($P < 0.05$) (図5)。

(6) 減感作治療とT細胞絶対数の動態

図4

図5

Changes in Absolute counts after specific immunotherapy

		white blood cell	total lymphocyte	T cell	T _G cell
Treatment	Before	6126 ± 1714	2491 ± 1149	1992 ± 934	65.7 ± 47.7
	After	6130 ± 1679	2610 ± 883	2006 ± 677	95 ± 50.4

図6

全症例23例における特異的減感作治療前後のT細胞絶対数は、治療前 $1992 \pm 934/\text{cmm}$ 、治療後 $2006 \pm 677/\text{cmm}$ と変動は認められなかった。次に改善度とT細胞絶対数との比較検討をおこなった。無効例では治療前 $1606 \pm 843/\text{cmm}$ 、治療後 $1930 \pm 843/\text{cmm}$ と増加傾向が認められ、有効例では治療前 2039 ± 157 、治療後 $2078 \pm 227/\text{cmm}$ と変動は認められなかった。著効例では、治療前 $2202 \pm 1098/\text{cmm}$ 、治療後 $2027 \pm 713/\text{cmm}$ と逆に減少傾向が認められた、しかし各群間における治療前後の有意差は認められなかった(図6, 図7)。

(7) 減感作治療とT_G細胞絶対数の動態

全症例23例における特異的減感作治療前後のT_G細胞絶対数は、治療前 $65.7 \pm 47.7/\text{cmm}$ 、治療後 $95 \pm 50.4/\text{cmm}$ と増加傾向が認められた

が、有意差はなかった ($P>0.05$) (図6)。

さらに改善度と T_G 細胞絶対数との関係を見ると、無効例では治療前 $74 \pm 69/\text{cmm}$ 、治療後 $63 \pm 58/\text{cmm}$ とやや減少傾向がみられたのに対し、有効例、著効例では逆に増加傾向が認められた。また、各群における治療前後の推計学的

処理についての検討では、無効例、有効例については明らかな有意差は認められなかった。しかし、著効例では0.5%以下の危険率をもって、治療後 T_G 細胞絶対数が増加していることが認められた (図7)。

case		ineffective (n=7)	effective (n=4)	remarkably effective (n=12)	control (n=10)
White blood cell (/mm ³)	Before	5500 $\pm$ 995	6675 $\pm$ 1394	6308 $\pm$ 2100	6015 $\pm$ 1051
	After	5843 $\pm$ 985	5500 $\pm$ 1359	6508 $\pm$ 2062	
Total lymphocyte (/mm ³)	Before	2004 $\pm$ 965	2494 $\pm$ 320	2774 $\pm$ 1367	2514 $\pm$ 851
	After	2467 $\pm$ 996	2622 $\pm$ 403	2690 $\pm$ 977	
T cell (/mm ³)	Before	1606 $\pm$ 843	2039 $\pm$ 157	2202 $\pm$ 1098	1916 $\pm$ 634
	After	1930 $\pm$ 843	2078 $\pm$ 227	2027 $\pm$ 713	
T_G cell (/mm ³)	Before	74 $\pm$ 69	80 $\pm$ 49	56 $\pm$ 32	57 $\pm$ 35
	After	63 $\pm$ 58	115 $\pm$ 56	106 $\pm$ 38

Changes in absolute counts of T_G cell after specific immunotherapy

図7

考 按

アトピー性アレルギー疾患に代表される鼻アレルギー、気管支喘息等については、従来、抗体を中心とした液性免疫の分野において主に研究がなされてきたわけであるが、免疫学の進歩

にともない、抗体はある種のリンパ球より産生されることが知られている。周知のごとく抗体産生細胞に分化する運命をもったリンパ球は、B細胞とよばれている。しかしB細胞だけでは

抗体産生細胞には育成せず, この過程には胸腺の影響下に分化したT細胞の相互調節機構が知られている⁶⁾。さらにこのT細胞の中には異なった機能を保持するいくつかの種類があり, B細胞が抗体産生細胞へと成熟する過程を補助するヘルパーT細胞, その過程を抑制するサプレッサーT細胞, 移植細胞, がん細胞などを破壊するキラーT細胞等である。

アレルギー疾患は, その発現段階ではいくつかの型にわけられ種々の生物活性物質が関与するが, それにいたる原因のひとつには, T細胞による調節異常の結果, 通常の異物排除に働く特異的な免疫反応過程が異常に亢進することによって引き起こされる病的状態である。

一方, アレルギー疾患に対する治療法としては, (1)特異的減感作療法, (2)非特異的減感作療法(変調療法), (3)対症的薬物療法等がおこなわれている。これらのうちもっとも本質的な治療法とされているのが特異的減感作療法である。本療法の免疫学的奏功機序に関して, IgGサブクラスに属する阻止抗体の産生を促し, 抗原が組織親和性のIgE抗体と接触する以前に反応し, IgE抗体と抗原の結合を阻止するとの遮断抗体説⁷⁾をはじめとする種々の説がとらえられてきた。

しかし仮に, IgE抗体産生機構にさいしてT細胞の相互協同作用が重要であるとすると, 特異的減感作療法の奏功機序として, 特異抗原注射によるT細胞への免疫学的寛容(トレランス)の誘導ということも関与している可能性が考えられる。

著者が先に検討した結果⁸⁾⁹⁾, 未治療の鼻アレルギー患者末梢血T_G細胞と血清IgE値とは, 逆相関の関係にあり, またConcanavalinAにて誘導されるサプレッサーT細胞の実験系において, 一部の症例に, IgE抗体産生に対するサプレッサーT細胞の機能活性低下を示唆する所見を得ている。今回の検討にて治療後, T_G

細胞の相対的, 絶対的増加する傾向がみられ, 特に有効, 著効例により強くみられた。

ヒトのT_G細胞は, B細胞から抗体産生細胞への分化・成熟に対して抑制的であることより, サプレッサーT細胞に属すると考えられている¹⁰⁾。仮にT_G細胞をサプレッサーT細胞と仮定した場合, IgG抗体とIgE抗体産生とを調節しているサプレッサーT細胞はそれぞれ別の細胞であるという考えがあるように, ここで観察しているT_G細胞は, 著者が先に想定したIgG抗体産生に関与している細胞であるとする考え方よりも, IgE抗体産生に対して特異的,あるいは非特異的に作用していると推測される。Perelmutter¹¹⁾らは, 18名の鼻アレルギー患者に対して, 血清IgE値とT_H/T_rの比を検討した結果, 血清IgE高値群にこの比が高い事を報告しており, さらにこのT_G細胞はヒスタミンに対する受容体を保持するばかりでなく, IgE抗体産生に重要な役割をになっているとのべている。また, Canonica¹²⁾らも, 減感作治療後, T_G細胞は増加すると報告しているが, 著者らの結果と異なる点は, 治療前減少していたT_G細胞が, 治療後, 健康人のレベルに正常化すると示唆しているが症例数も少なく, さらに抗原量の差, T_G抽出法も異なるので, 一概に比較するには困難な点が多々ある。

以上, 特異的減感作治療前後におけるT細胞, T_G細胞の動態について検討を加えたが, 今回の検討はあくまでcellmarkerにおける検討であり, 機能面での検討はおこなっていない。

しかし, 最近, T_G細胞のpopulationのなかに, 特異的サプレッサー細胞が存在するという可能性も示唆され¹³⁾, またT_G細胞にも異なったSubsetが存在することなどが報告されつつある現在¹⁴⁾, T_G細胞の抗体産機序における機能面での検討は, 次に残された研究課題であると考えている。

ま と め

HD鼻アレルギー症例23例に対し、特異的減感作治療前後の細胞性免疫学的検討、特にT細胞サブセットの動態について検討した結果、次のような結論を得た。

- (1) 特異的減感作治療前後の白血球数、リンパ球数、T細胞数の変動はみとめられなかった。
- (2) IgG抗体のFc部に対する受容体を保持するT_G細胞は、治療後、増加傾向がみとめられた。
- (3) 改善度との比較検討では、有効、著効例にT_G細胞の増加している例が多く、特に著効例では有意な増加がみとめられた。
- (4) 特異的減感作療法の奏功機序のひとつにT細胞が関与している可能性が考えられた。

小松崎篤教授の御校閲を感謝いたします。本論文の要旨は第19回日本耳鼻咽喉学会総会（京都、1980）で発表した。

本研究の一部は昭和54年度文部省科学助生金ならびに東邦大学医学部プロジェクト研究費の援助によった。

参 考 文 献

- 1) 述 公美：比重遠心法によるリンパ球の分離（Conray 400 Ficoll 法）。免疫実験操作法A。日本免疫学会編，全訳P. 443, 1965.
- 2) 矢田純一，中川俊郎，隅谷護人：細胞性免疫の測定法。小児科 15: 402~409, 1974.
- 3) 新保敏和，矢田純一，中川俊郎，漆烈 修，松元正：ヒト IgG-Fc receptor 陽性Tリンパ球の検出法と各種疾患における変動。臨床免疫 9: 141~145, 1977.
- 4) Wide, L. and Porath, J.: Radioimmunoassay of Proteins with the use of Sephadex coupled antibodies. Biochem. Biophys. Acta, 130: 257~260, 1966.
- 5) 岡田 諄，木山博夫，佐竹敬一：鼻アレルギー患者の臨床症状と検査成績についての統計学的検討。耳展 20: 13~18, 1977.
- 6) Claman, H.N. et al.: Thymus-Marrow Cell Combination. Synergism in antibody production. Proc. Soc. Exp. Biol. 122: 1167~1171, 1969,
- 7) Cooke, R.A. et al.: Serologic evidence of immunity with coexisting sensitization in a type of human allergy (hay fever). J. Exp. Med 62: 733~750, 1935.
- 8) 佐竹敬一，増田康一，木山博夫，E 井信郎，岡田諄，名越好古，新保敏和，矢田純一：鼻アレルギー患者末梢血T細胞の動態に関する研究。耳展 21: 159~164, 1978.
- 9) 佐竹敬一：鼻アレルギーの免疫学的研究—特に末梢血T細胞機能を中心に—。耳展 22: 411~421, 1979.
- 10) Herzenberg, L.A. et al.: T-cell regulation of antibody response. Demonstration of allo type specific helper T-cells and their specific removal by suppressor T-cells. J. Exp. Med 144: 330~344, 1976.
- 11) Perelmutter, L. et al.: Role of Tr and T_H Subset Lymphocytes in Allergic disease. Ann. Allerg 45: 18~21, 1980.
- 12) Canonica, G. W. et al.: Imbalances of T cell Subpopulation in patients with Atopic disease and Effect of Specific Immunotherapy. J. Immunol 123: 2669~2672, 1979.
- 13) Uytdehaag, F., C.B. Heynen, and R.E. Ballieux.: Induction of antigen-specific human suppressor T lymphocytes in vitro. Nature 271: 556~559, 1978.
- 14) Ricardo, M.J. et al.: Heterogeneity of Fc-Receptors on Guinea Pig T lymphocytes. J. Immunol 125: 2009~2016, 1980.

原稿到着：昭和57年7月22日

別刷請求先：佐竹敬一

〒143 東京都大田区大森西6の11の1

東邦大学医学部耳鼻咽喉科学教室