遅延型皮膚反応による細胞性免疫能の把握 (第1報)

— 多種皮膚反応の総和評価 —

陳 鋼 民・荻 野 健 次・曾 我 浩 之
松 本 伸・岡 崎 哲 郎・和 田 豊 治
清 水 信 義・田 中 聰・寺 本 滋

An assessment of cellular immunity using delayed hypersensitivity skin tests : I. combined evaluation of multiple skin tests.

Kon Min Chen, Kenji Ogino, Hiroyuki Soga, Shin Matsumoto, Tetsuro Okazaki,
Toyoji Wada, Nobuyoshi Shimizu, Satoshi Tanaka, Shigeru Teramoto

Department of 2nd Surgery, Okayama University, Medical School

【Summary】

Three hundred and seventy three patients with various diseases were evaluated with 4 types of delayed hypersensitivity skin tests (PPD, PHA, Candida and SK-SD) before operation. The tests were considered positive when reddish erythema was larger than 10 mm in diameter, but it was 25 mm in PHA. Skin test index (STI) was defined as follows:

$$STI = \frac{\log DT + \log DC + \log DP + \log DS - 0.4}{4},$$

where DT, DC, DP and DS were mean diameter of PPD, PHA, Candida and SK-SD, respectively.

The following results were obtained:

- 1) Mean diameters of PPD and SK-SD were reduced in patients with malignant diseases.
- 2) Accordingly, anergy for PPD, Candida and SK-SD was present in 32%, 50%, 37% of the patients with malignant diseases.
- 3) Subnormal response, namely, STI smaller than 1.0, existed in 44% of patients with malignant diseases, 25% with benign diseases and 3% in healthy subjects.

【概 要】

遅延型皮膚反応は比較的簡便に生体の細胞性免疫状態を測定できる方法であり、今回著者らは岡山大学第2外科に入院治療を受けた患者373例、健常者31例に四種皮膚反応(PPD, PHA, candida, SK-SD)を施行し、全症例を良性疾患と悪性疾患別に検討した。また、多種類皮膚反応を総合評価できる方法を考え、各種皮膚反応の発赤直径を対数にとり、その平均値でskin test index (STI)を定め、その結果の検討を行った。その結果：(1) 各種皮膚反応の平均

値は悪性疾患で PPD, SK-SD が低下していた。(2) 各種皮膚反応の陰性率は悪性疾患で PPD, candida, SK-SD が高かった。(3) STI の異常率は悪性疾患 44%, 良性疾患 25%, 対照群 3% であった。

I. はじめに

近年の免疫学の発達はめざましく、医学界の各分野に広く浸透し、とくに悪性疾患、自己免疫疾患、感染症などの疾患の診断面や治療面に応用されている。周知のごとく生体の免疫機構は細胞性免疫と体液性免疫に大別され、前者は thymus dependent cell (T細胞) を中心に、感染防禦、腫瘍免疫、移植免疫などに働いている。後者は bursa equivalent derived cell (B細胞) により合成された免疫グロブリンの体液性抗体を中心に働いている。これらの免疫能を測定するパラメーターも種々開発されている。各種パラメーターのなかでも、*in vivo* で生体の細胞性免疫能をよく反映すると考えられる recall antigen による皮膚反応は比較的簡単にくりかえし実施できる免疫動態のよい指標となる。しかし1種類の皮膚反応のみでは、生体はその抗原に感作されていないときは免疫不全を判定しがたく、数種類の recall antigen による皮膚反応の総合的な評価が必要と考えられる。そこで著者らは PPD (purified protein derivative of tuberculin), PHA (phytohemagglutinin), SK-SD (streptokinase-streptodornase), candida 菌体エキスをを用いた四種類遅延型皮膚反応を、岡山大学第2外科に入院治療を受けた患者 373 例、一見健康者 31 例に施行し、その結果を悪性疾患、良性疾患別に比較検討した。

遅延型皮膚反応の総合評価は、従来では陽性反応の数により評価する方法が多い。しかしながら数種類併用した recall antigen skin test はその判定の統計的処理法が繁雑である。そこで著者らは各種皮膚反応の発赤直径を対数で表わして、その平均値を用いて skin test index を算定し、その結果の検討を行った。

II. 対象および研究方法

対象は昭和 52 年 4 月より 54 年 4 月まで、岡山大学第2外科にて入院治療を受けた患者 373 例であり、内訳は悪性疾患症例 151 例、良性疾患 222 例である。悪性疾患症例は肺癌、消化器癌、その他非血液系癌で、良性症例は良性消化器疾患、心疾患、血管疾患、甲状腺腫などである。全例とも 70 才以上や自己免疫疾患、免疫異常疾患を除いた。対照群は一見健康者 31 例である(表1)。

表 1 研究対象

	症 例 数	年(才)令	性 : 別 (男:女)
悪性疾患	151	54±12	103 : 48
良性疾患	222	43±12	125 : 97
対 照 群	31	29±11	20 : 11
計	404	48±12	248 : 156

mean ± SD

III. 方 法

1. 皮膚反応

1) PPD

一般診断用精製ツベルクリン(日本ビーシージー社製) 0.05 μ g/0.1 ml を皮内に注射し、判定は 48 時間後の局所発赤の縦径と横径の和を 2 で割った値で表示した。

2) PHA

purified PHA (Wellcome 社製) 5 μ g/0.1 ml を皮内に注射し、24 時間後に PPD 皮膚反応と同様方法で測定した。

3) candida

カンジダ菌体ブロスエキス(鳥居薬品)の 1 対 10 稀釈液を 50 倍に稀釈し、その 0.1 ml を皮内に注射し、48 時間後に測定した。

4) SK-SD

SK-SD(鳥居薬品) 40 単位/0.1ml を注射し、48 時間後に測定した。

上記皮膚反応は同時に施行し、右前腕屈側に PPD と candida, 左前腕屈側に PHA と SK-SD を注射した。

2. 陰性判定

PPD, candida および SK-SD は直径 10 mm 未満、PHA は 25 mm 未満を陰性と判定した。

3. Skin Test Index (STI) 計算法

表 2 のごとく、各皮膚反応の直径を対数にとり、PPD, candida, SK-SD が 10 mm のとき、PHA 25 mm のときに skin test index (STI) が 1.0 となるように決めた。

IV. 成 績

1. 各種皮膚反応の平均値

悪性疾患は PPD 18.9±15.9 mm, 11.3±11.2 mm,

表 2 Skin Test Index (STI) の計算方法

$STI = \frac{\log Dt + \log Dc + \log Dp + \log Ds - 0.4}{4}$	
Dt: diameter of PPD	PPD
Dc: diameter of Candida	
Dp: diameter of PHA	
Ds: diameter of SK-SD	

表 3 各種皮膚反応の平均値 (mm)

	悪性疾患	良性疾患	対 照 群
症例数	151	222	31
PPD	18.9 [▲] ±15.9	22.9 ±15.2	27.6 ±11.5
Candida	11.3 ±11.2	14.4 ±12.4	15.2 ±10.2
PHA	31.3 ±13.8	30.8 ±13.6	32.4 ±10.0
SK-SD	14.6 [■] ±13.5	22.2 [□] ±20.2	31.5 ±21.8

mean±SD ■: p<0.001 ▲: p<0.005
 □: p<0.02

PHA 31.3±13.8 mm, SK-SD 14.6±13.5 mm, 良性疾患はそれぞれ 22.9±15.2 mm, 14.4±12.4 mm, 30.8±13.6 mm, 22.2±20.2 mm であった。正常人と比較すると悪性疾患の PPD, SK-SD, 良性疾患の SK-SD の有意の低下を認めた (p<0.005, p<0.001, p<0.02)。また悪性疾患と良性疾患を比較すると、悪性疾患の SK-SD に有意の低下を認めた (p<0.05) (表 3)。

2. 各種皮膚反応の陰性率 (表 4)

1) PPD 皮膚反応

悪性疾患 151 例中陰性症例は 48 例 32%, 良性疾患 222 例中 42 例 19%, 対照群 31 例中 1 例 3% であった。four fold table 法により計算し、悪性疾患と対照群、また悪性疾患と良性疾患の間に有意の差を認めた ($\chi^2=47$, p<0.001, $\chi^2=7.4$, p<0.01)。

2) candida 皮膚反応

悪性疾患の陰性症例は 76 例 50%, 良性疾患は 84 例 38%, 対照群は 5 例 17% であった。four fold table 法により計算し、悪性疾患および良性疾患で対照群との間に有意の差を認めた ($\chi^2=10.5$, p<0.001, $\chi^2=4.7$, p<0.05)。また悪性疾患と良性疾患の間にも有意の差があった ($\chi^2=5.2$, p<0.05)。

表 4 各種皮膚反応の陰性率

	悪性疾患	良性疾患	対 照 群
症例数	151	222	31
PPD	32% [▲] (48)	19% [■] (42)	3% [○] (1)
Candida	50% [▲] (76)	38% [■] (84)	17% [○] (5)
PHA	20% [▲] (30)	21% [○] (47)	3% [○] (1)
SK-SD	37% [▲] (56)	25% [○] (56)	3% [○] (1)

() 症例数 ▲: p<0.001 ■: p<0.05
 ○: p<0.01

3) PHA 皮膚反応

悪性疾患の陰性症例は 30 例 20%, 良性疾患は 47 例 21%, 対照群は 1 例 3%, four fold table 法により計算したが各群の間に有意の差はなかった。

4) SK-SD 皮膚反応

悪性疾患の陰性症例は 56 例 37%, 良性疾患は 56 例 25%, 対照群は 1 例 3% であった。four fold table 法による計算で、悪性疾患および良性疾患と対照群の間に有意の差を認めた ($\chi^2=12.2$, p<0.001, $\chi^2=6.4$, p>0.01)。また悪性疾患と良性疾患の間にも有意の差を認めた ($\chi^2=5.5$, p<0.02)。

3. 四種皮膚反応の陰性数 (表 5)

悪性疾患 151 例中、2 種類以上陰性であった症例は 65 例 43%, 良性疾患 222 例中では 55 例 25%, 対照群 31 例中 1 例 3% であった。four fold table 法により計算した悪性疾患、良性疾患と対照群の間に有意の差を認めた ($\chi^2=12.9$, p<0.001, $\chi^2=8.4$, p<0.005)。また悪性疾患と良性疾患の間にも有意の差を認めた ($\chi^2=12.9$, p<0.001)。

4. 各疾患の STI 値 (表 6)

悪性疾患 151 例中、STI が 0.7 以下の症例は 32 例 21%, 0.8~0.9 の症例は 31 例 20%, 1.0~1.3 の症例は 70 例 46%, 1.4 以上の症例は 18 例 13% であった。良性疾患 222 例中 STI が 0.7 以下の症例は 25 例 10%, 0.8~0.9 の症例は 28 例 13%, 1.0~1.3 の症例は 19 例 50%, 1.4 以上症例は 51 例 27% 例であった。対照群は 31 例中 0.9 以下 1 例 3%, 1.0~1.3 の症例 24 例 80%, 1.4 以上症例 6 例 17% であった。悪性症例は STI 低値の症例が、良性疾患と対照群は STI 高値の症例が多く認められた。

表 5 四種皮膚反応の陰性率

	悪性疾患	良性疾患	対 照 群
症例数 陰性数	151	222	31
0	36% (55)	51% (114)	77% (24)
1	21% (31)	24% (53)	19% (6)
2	22% (33)	13% (29)	3% (1)
3	17% (26)	7% (16)	0
4	4% (6)	5% (10)	0

() 症例数

表 7 各疾患 STI 値の異常率

	悪性疾患	良性疾患	対 症 群
症例数 陰性数	151	222	31
0	0	0	0
1	5% (8)	5% (10)	0
2	18% (27)	10% (23)	3% (1)
3	17% (26)	6% (13)	0
4	4% (6)	5% (10)	0

() 症例数

5. STI 値の異常率 (STI 1.0 以下の症例) (表 7)

悪性疾患 151 例中 63 例 42%, 良性疾患 222 例中 56 例 25%, 対照群 31 例中 1 例 3% であった. four fold table 法により計算した悪性疾患, 良性疾患と対照群の間に有意の差が認められた ($\chi^2=18.0$, $p<0.001$, $\chi^2=8.1$, $p<0.005$). また悪性疾患と良性疾患の間にも差を認めた ($\chi^2=11.3$, $p<0.001$).

V. 考 按

担癌生体の免疫低下は従来より指摘されており, T細胞を主体として細胞性免疫は癌に対する免疫反応として重要な役割をはたしている. そして現在種々の免疫療法剤を用いての抗癌療法が臨床上急速に普及しつつある. 免疫療法による効果は宿主を介してのものであるため,

表 6 各疾患 STI 値の分布

	悪性疾患	良性疾患	対 照 群
症例数 STI	151	222	31
0.5以下	18	10	0
0.6~0.7	14	14	0
0.8~0.9	31	28	1
1.0~1.1	30	41	4
1.2~1.3	40	78	20
1.4~1.5	17	49	5
1.6以上	1	2	1

宿主免疫能の把握は, それらの作用機序の解析をも含めて治療法の選択, あるいは予後を予知するうえで不可欠となっている.

一方, 良性疾患の免疫不全症は種々存在し, 先天性免疫不全症, 自己免疫疾患, ある種の感染症, 外傷, ストレス, 栄養不全症などがあげられている. Piesch¹⁾らは各種疾患の皮膚反応を検査し, 皮膚反応が低下した症例に敗血症と死亡症例が多くみられると報告しており, Blackburn²⁾ らも心疾患中皮膚反応の低下した症例の死亡率は高いと指摘している. 外科領域においても良性疾患患者の免疫能低下の改善は術後の予後の向上をはかるために重要である.

細胞性免疫の測定は種々あり, *in vitro* で行われているものとしては末梢リンパ球幼若化反応 (lymphocyte blastoformation), 混合リンパ球培養 (MLC, mixed lymphocyte culture), リンパ球腫瘍細胞混合培養 (MLTR, mixed lymphocyte tumor reaction), 白血球粘着阻止反応 (LAI, leukocyte adherence inhibition test), マクロファージ遊走阻止反応 (MIF, macrophage migration inhibition), T細胞, B細胞率などである. 一方, *in vivo* では DNCB, recall antigen reaction などによる皮膚反応である. recall antigen による皮膚反応は, 手技の簡便なこと, 患者の負担が軽度なことなどから現在は臨床上広く実施されるようになってきた. Coombs と Gell³⁾ は周知のごとくアレルギー性組織障害を4型に分類しているが, recall antigen による皮膚反応はIV型反応であり, その機序は細胞膜に特異な receptor を有する細胞抗体保存リンパ球と抗原との反応により, 感作性保有リンパ球から種々活性化産物 (lymphokine) を放出し, 組織障害が惹起されるものである. 久野⁴⁾は皮膚反応の過程を3段階に分けて考え,

第1段階は抗原の認識, 第2段階は感作の成立と免疫の記憶細胞の出現, 第3段階はマクロファージ感作リンパ球, 多核白血球が協同して局所反応をおこす. recall antigen に対する皮膚反応は第3段階での反応を検査していることになる. これら recall antigen reaction 陰性のときは, まず生体がこれらの抗原で感作されていないか, あるいは発現機構が2次的に障害されていることが想定され, 1種類のみ判定では免疫不全を診断することが困難であるため, 数種類抗原を組み合わせて測定を検討する必要がある. 今回著者らは4種抗原を用いて各種疾患の皮膚反応を測定した. しかし多種皮膚反応の総合的評価は一定な方法ではなく, 多数の研究者は陽性数により判断している⁵⁻¹⁰⁾, また各種皮膚反応の硬結直径を自乗し, その面積の平均値で評価する方法もある¹¹⁾. 今回著者は4種皮膚反応のうち, その陰性数について検討した. その目的は各症例の皮膚反応の低下状態よりの確に測定できると考えられたからである. 皮膚反応の平均直径と陰性状態を総合的に判断できる方法として, 各皮膚反応の直径を対数にとり (ただし PHA はその直径の対数より0.4引いた), その平均値で skin test index (STI) を算定した. その結果, 各種皮膚反応の平均直径は悪性疾患で PPD と SK-SD にその低下をみた. 良性疾患では SK-SD が低下していた. 各種皮膚反応の陰性率は悪性疾患で PPD, candida, SK-SD が高率であった. STI 値1.0以下の異常率は悪性疾患43%, 良性疾患25%, 対照群3%であり, 悪性疾患に STI の低下を認めた.

今回著者らが使用した四種皮膚反応の抗原 PPD, PHA, candida, SK-SD のうち, PPD は以前から使用されている抗原であり, 厚生省による結核実態調査の70,930例のデータ中¹²⁾, 正常人の陽性率は91.6%であり, 陽性率が高いことから, 現在でも広く臨床的に応用されている. PHA は kidney bean phaseollin valgarin により産生した lecin の一種であり, 本来は *in vitro* で lymphocyte blastoformation に使われているが, 遅延型皮膚反応の抗原として使用し, 同様の結果がみら

れることが, Schre¹³⁾ らによって報告されて以来, 小児と老人でも陽性者高率であることが知られており, 最近では大屋¹⁴⁾, 西山¹⁵⁾ らにより悪性疾患の進行程度により PHA 反応が低下することがみられた. しかし著者らは悪性疾患, 良性疾患, 対照群の間に平均直径, 陰性率に差を認めなかった. SK-SD について, Herberman¹⁶⁾ は正常人でも陽性率が高いと指摘しており, 著者らも正常人では97%の陽性率を得た. 小林¹⁰⁾ らも85%の陽性率であったと報告している. candida の使用濃度はまだ統一されていないが, 一般的には10倍から1,000倍液を使用している. 小林¹⁰⁾ らは1:1,000を使用し, 正常人の陽性率は44%, 著者らは1:500を使用し, 陽性率は85%であった. これら4種類の皮膚反応は正常人では陽性率が高く, 悪性疾患症例では陰性率が高くなっていることから, おのおのの皮膚反応も生体の免疫能をよく反映しているが, 1種類の抗原のみでは十分といえない. そこで4種類の皮膚反応を総合的に評価する STI を算定することにより, 生体の免疫動態をよりの確に把握することができると考えられた.

VI. ま と め

1. 各種疾患373例の術前に四種皮膚反応 (PPD, PHA, candida, SK-SD) を測定した.
2. 陰性判定は PPD, candida, SK-SD は10 mm 以下, PHA は25 mm 以下とした.
3. skin test index (STI) を定め, その正常値を1.0以上とした.
4. 各種皮膚反応の平均値は悪性疾患で PPD, SK-SD が低下し, 陰性率は悪性疾患で PPD, candida, SK-SD が高かった.
5. STI の異常率は悪性疾患44%, 良性疾患25%, 対照群3%であった. STI は皮膚反応の総合的評価に役立つと考えられた.

なお, 本論文の要旨は第6回 (昭和53年6月東京), 第7回 (昭和54年6月札幌) 日本臨床免疫学会総会において発表した.

文 献

- 1) Pietsh, J.B., Meakin, J.L., Maclean, L.D.: The delayed hypersensitivity response: Application in clinical surgery. *Surgery*, 82: 349~355, 1977.
- 2) Blackburn, G.L., Gibbons, G.W., Bothe, A. et al.: Nutritional support in cardiac cachexia. *J. Thora. Cardiovasc. Surg.*, 73: 489~495, 1977.
- 3) Coombs, R.R.A., Gell, P.G.H.: Classification of allergic reactions responsible for clinical hypersensitivity and disease. In *clinical aspects of immunology* (2nd edition), p. 575. Ox-

ford, Blackwell Scientific Publications.

- 4) 久野悟郎・曾根三郎・大口秀利・他：皮膚反応。癌の臨床, 24 : 483~487, 1978.
- 5) Christou, N.V., Meakin, J.L. : Delayed hypersensitivity in surgical patients : A mechanism for anergy. *Surgery*, 86 : 78~85, 1979.
- 6) Daly, J.M., Dudrick, S.J., Copeland, E.M. : Evaluation of nutrition induces as prognostic indicators in the cancer patient. *Cancer*, 43 : 925~931, 1979.
- 7) Liebler, G.A., Cncannon, J.P., Magovern, G.J. et al. : Immunoprofile studies for patients with bronchogenic carcinoma ; 1. Correlation of pretherapy studies with survival. *J. Thora. Cardiovasc. Surg.*, 74 : 506~517, 1977.
- 8) Morton, D.L., Eilber, F.R., Holmes, E.C. et al. : BCG immunotherapy of malignant melanoma : summary of a seven-year experience. *Ann. Surg.*, 180 : 635~643, 1974.
- 9) Bluming, A.Z., Vogel, C.L., Ziegler, L.J. et al. : Delayed cutaneous sensitivity reactions to extracts of autologous malignant melanoma : a second look. *J. Nat. Cancer. Inst.*, 48 : 17~24, 1972.
- 10) 小林 博：癌免疫皮膚反応。日本医事新報, No. 2805 : 8~12, 1978.
- 11) DeMeester, T.R., Golomb, H.M., Dudek, P. et al. : The relationship between immune reactivity, serum cortisol, and stage of disease in patients with non-oat-cell bronchogenic carcinoma. *Surgery*, 86 : 130~137, 1979.
- 12) 厚生省編：結核実態調査VII. p. 170, 財団法人結核予防会, 東京, 1970.
- 13) Schrek, R., Stefani, S.S. : Lymphocyte and intradermal reactions to phytohemagglutinin (abstract). *Fed. Proc.*, 22 : 428~429, 1963.
- 14) 大屋正章：胃がん患者の各種皮膚反応に関する臨床的研究, 第1編 胃がん患者における皮膚反応の治療による推移。日外会誌, 79 : 394~409, 1978.
- 15) 西山 潔：各種免疫機能検査からみた胃癌, 大腸癌の immune status に関する研究。日外会誌, 80 : 512~526, 1979.
- 16) Herberman, R.B. : In vivo and in vitro assays of cellular immunity to human tumor antigens. *Fed. prpc.*, 32 : 160, 1973.