内科学の展望 (第7回)

—呼吸器疾患を中心として—

C. 肺疾患における免疫異常

2. 細胞性免疫能を中心として

広島大学医学部第二内科 山木戸道郎

REVIEW ON INTERNAL MEDICINE, 1979—RESPIRATORY DISEASES— C. IMMUNOLOGICAL ABNORMALITIES IN THE RESPIRATORY DISEASES 2. ON THE ASPECT OF CELLULAR IMMUNITY

Michio YAMAKIDO, MD

The Second Department of Internal Medicine, Hiroshima University School of Medicine

緒 言

近年、生体の免疫能を評価するための各種の方法が開発されて臨床的にも応用され、内科領域で見られる多数の疾患について免疫学的研究がなされている。最近、Schatzら¹⁾は呼吸器疾患に関する免疫学的研究の成果をまとめ、優れた総説を発表したが、その中で取りあげられている疾患は、気管支喘息、Goodpasture症候群、Caplan症候群、気管支肺アスペルギルス症、過敏性肺臓炎、Churg-Strauss症候群、Wegener肉芽腫症、サルコイドーシスおよびPIE症候群などである。そのほか肺癌²⁾あるいは肺結核³⁾について詳細な研究がある。

本研究において、著者は教室で長年臨床的観察を続けている毒ガス障害者にみられる慢性気管支炎症例を対象として、本症における免疫異常を明らかにしようとした。

対象並びに方法

対象は旧大久野島毒ガス工場従業員であつて、Fletcherの基準を満足する慢性気管支炎患者30例である。これら30例を西本の提唱した慢性気管支炎の臨床的分類⁴⁾に従つて、気道感染が明らかでないもの13例(I型+III型)と気道感染を伴う17

例(II型+IV型)に2大別し、両群の免疫能を比較したが、おのおのの臨床的背景を表1に示した。%VCを除いて、平均年齢、FEV_{1.0}%, 罹病期間には両群間に差がなかった。

免疫能の評価は以下に述べる項目について実施した。方法⁵⁾の詳細は省くが、末梢血リンパ球の各種mitogen (PHA・PWM) に対する反応性は³H-thymidine (³H-TdR) の取り込みを指標として判定し、さらにリンパ球のin vitroにおけるIgG産生能はPWMにより7日間刺激培養後の上清を用い、radioimmunoassay法により測定した。またαおよびβ領域の血清糖蛋白 (α₁AT, α₁AG, α₂HS, α₂M, C₃, C₄, Hp, Tf) および血清免疫グロブリン (IgG, IgA, IgM) の測定はsingle radial immunodiffusion法によつた。

次に、慢性気管支炎患者の免疫応答を検討する

表1. 対象の臨床的背景

病型	症例数	平均年齢(才)	%VC	FEV _{1.0} %	罹病期間(年)
I+III	13	68.1±7.4	83.7±13.7	63.5±13.3	30.9±11.4
II+IV	17	71.5±7.8	75.0±16.0	63.4±15.6	33.8±10.1
合計	30	70.0±7.7	78.8±15.4	63.4±14.4	12.5±10.6

目的でKLH (keyhole limpet hemocyanin) による免疫前後のKLH に対する細胞性および体液性免疫能について4週間まで経時的に測定した。すなわち市販のKLH (Calbiochem社製)をSephadex G-200 を用いてpH 7.4磷酸緩衝液でゲル濾過し、蛋白量を50mg/mlに調整して原液とした。KLH による免疫法はSwansonら⁶⁾の方法に準じてKLH 5mg(原液0.1ml)を上腕外側皮下に注射し、同時に100 μ g/0.1mlを皮内注射して、15分後および48時間後に発赤径を測定した。抗KLH抗体はSeph-
arose 4BにKLHを結合させ、RAST法によりIgG およびIgM型抗体を測定した。

末梢血リンパ球のKLHに対する反応性は、Falcon microtestplate-IIの1wellあたり末梢血リンパ球を 2.5×10^5 個宛分注し、KLH 200 μ gを加えて7日間5%CO₂ incubatorで培養する。細胞取り出しの16時間前に0.4 μ Ciの³H-TdRを加え、multiple cell harvester (Otto-Hiller社製)を用い、ガラスフィルター(Whatman社製)の上に細胞をあつめ、シンチレーションカウンターで放射能活性を測定した。なおすべての実験はtriplicateとし、その平均値を採つた。

成 績

1. 慢性気管支炎の免疫学的所見

KLH免疫前の慢性気管支炎の免疫学的所見を表2に示した。末梢血リンパ球数はI+III型では $2317 \pm 636/\text{mm}^3$ 、II+IV型では $2828 \pm 1110/\text{mm}^3$ であつて後者でやや高値を示したが、有意差は認められなかつた。またPHAおよびPWM反応性は両病型間で差がなく、PWM刺激によるIgG産生能はI+III型で $1277 \pm 886\text{ng/ml}$ 、II+IV型では $907 \pm 627\text{ng/ml}$ であつたが、両群間に差は認めなかつた。

免疫グロブリンの測定成績を表3に示した。IgGはI+III型 $1744 \pm 425\text{mg/dl}$ 、II+IV型 $1943 \pm 611\text{mg/dl}$ 、IgAはI+III型 $303 \pm 130\text{mg/dl}$ 、II+IV型 $487 \pm 224\text{mg/dl}$ であつて、IgGおよびIgAともにII+IV型で有意に高い値を示したが、IgMには差を認めなかつた。

表2. 慢性気管支炎症例の免疫能

病型(西本)	リンパ球数 ($/\text{mm}^3$)	PHA反応性 (S.I.)	PWM反応性 (S.I.)	IgG産生能 (ng/ml)
I+III	2317 ± 636	83 ± 36	33 ± 28	1277 ± 886
II+IV	2828 ± 1110	88 ± 54	35 ± 22	907 ± 627

表3. 慢性気管支炎症例の免疫能

病型(西本)	IgG	IgA	IgM
I+III	1744 ± 425	303 ± 130	166 ± 94
II+IV	1943 ± 611	487 ± 224	193 ± 87

(mg/dl) *P<0.02

表4. 慢性気管支炎の病型(西本)と α 、 β 領域糖蛋白

病型(西本)	α_1 AT	α_1 AG	α_2 HS	α_2 M
I+III	307 ± 45	81 ± 23	64 ± 10	307 ± 106
II+IV	342 ± 52	120 ± 52	51 ± 15	264 ± 69

(mg/dl)

病型(西本)	C3	C4	Hp	Tf
I+III	82 ± 25	35 ± 15	184 ± 72	293 ± 60
II+IV	94 ± 29	38 ± 14	288 ± 152	272 ± 66

*P<0.05 (mg/dl)

次に8種の α および β 領域糖蛋白の測定成績を表4に示した。II+IV型において α_1 AG、Hpが有意に高く、 α_2 HSは有意に低値を示した。他の5種類の蛋白には両病型間に差を認めなかつた。

2. KLHに対する免疫応答

KLH に対する皮内反応(15分値)を図1に示した。膨疹径はKLH免疫前がI+III型 $5.6 \pm 1.3\text{mm}$ 、II+IV型 $7.3 \pm 1.3\text{mm}$ であつて両群に差はなく、KLH免疫後においても増強することなく、また両病型間に差はみられなかつた。一方紅斑径は、KLH免疫前はI+III型 $14.9 \pm 3.8\text{mm}$ 、II+IV型 $15.5 \pm 5.4\text{mm}$ であつた。KLH免疫後は第1週目

図1. KLH皮内反応(15分値)

図2. KLH皮内反応(48時間値)

までは両病型ともに免疫前と同程度であつたが、第2週目にはI+III型の紅斑径はII+IV型のそれらに比べて極めて強い反応を示したが、第4週では両群ともに免疫前の値に復している。

次に48時間後の皮内反応を図2に示した。KLH免疫前はI+III型 22.9 ± 4.7 mm, II+IV型 21.4 ± 4.0 mmで両群間に差はなかつた。しかし第1週目には両病型ともに強い反応がみられ、第2週においても同様であつたが、第4週目には低下した。

なお経過中常にI+III型の皮内反応がII+IV型のそれに比べて、有意に強い反応を示した。

KLH免疫前後の末梢血リンパ球のKLHに対する反応性の推移を図3に示した。KLH免疫前のstimulation index (SI)はI+III型では 1.4 ± 0.9 , II+IV型では 1.5 ± 0.8 であつた。KLH免疫後のSIは第2週で最高値を示し、II+IV型に比べてI+III型が強く反応し、第4週ではやや低下しながら反応性は持続した。なお経過中常にI+III型のSIがII+IV型のそれに比べて高値を示したが、有意差は認められなかつた。

RAST法で測定した抗KLH抗体価の推移を図4に示したが、この場合実測値を示すことが困難であり、KLH免疫前の値を100としてその後の抗KLH抗体価を増加率で示した。IgM型の抗体価はI+III型およびII+IV型ともに極めて軽度の上昇を示したに過ぎなかつた。しかしIgG型抗体価は第2週から著しい上昇を示し、第4週もなお増加を続けていた。また経過中I+III型においてII+IV型よりも、一層高い抗KLH抗体価が得られた。

3. 細気管支炎の有無と細胞性免疫能

著者の教室では、毒ガス障害者における慢性気

図3. 末梢血リンパ球のKLH反応性の推移

図4. 抗KLH抗体価の推移 (RAST法による)

管支炎患者の剖検例と生前の胸部X線写真を対比検討し、胸部X線所見よりみた細気管支炎の所見を五つの型に分けている⁷⁾。すなわち、I型とは粒状影が全肺野にびまん性、散布性に認められるもの、II型はブラのために粒状影が限局性にみられるもの、III型は肺気腫のために粒状影が全般的に不明瞭なもの、IV型は粒状影が両下肺野に限局するもの、およびV型は正常X線像を示すものとした。

本研究では症例が少ないために、胸部X線像上何らかの細気管支炎所見を示すもの (I~IV群) 8例と、正常X線像を示したもの (V群) 22例をさらに西本の慢性気管支炎の臨床的分類に従ってI+III型12例、II+IV型10例の3群に分けて細胞性免疫能の成績を表5に示した。末梢血リンパ球数はV群のII+IV型においてやや高い値を示したが、他の群に比べて有意差はなかった。末梢血リンパ球のPHA反応性はI~IV群 69 ± 42 、V群のI+III型 85 ± 37 、V群のII+IV型 85 ± 58 であつて3群の間に有意差はなかった。またPWM反応性はI~IV群 27 ± 19 、V群のI+III型 35 ± 28 、V群のII+IV型 40 ± 23 であつて3群間に有意差はなかった。しかし上述のごとく、PHAおよびPWM反

表5. 細気管支炎分類と細胞性免疫能

細気管支炎分類		末梢血リンパ球数	PHA反応性 (S.I.)	PWM反応性 (S.I.)
I ~ IV		2467 ± 332	69 ± 42	27 ± 19
V	I+III	2405 ± 551	85 ± 37	35 ± 28
	II+IV	2959 ± 974	85 ± 58	40 ± 23

Mean $\pm$ SD

図5. 細気管支炎分類とPWM刺激によるIgG産生

応性ともに細気管支炎の所見を有するI~IV群において低値を示す傾向を認めた。

次に、上述の3群についてin vitroにおける末梢血リンパ球のPWM刺激によるIgG産生量をプロットして図5に示した。IgG量の平均は、I~IV群 1023 ± 316 ng/ml、V群のI+III型 1295 ± 266 ng/ml、V群のII+IV型 845 ± 167 ng/mlであつて、V群のII+IV型でやや低い値を示したが、3群間に有意差は認められなかったが、V群のI+III型においてIgG産生量の高いものが多数みられた。

末梢血リンパ球のKLH反応性の推移を図6に示した。V群のI+III型の反応性が全経過を通じて最も高く、ついでV群のII+IV型の反応性が良好であつたが、I~IV群の反応性は全経過を通じて低値にとどまつた。

図6. 末梢血リンパ球のKLH反応性の推移

総括並びに考案

著者らは毒ガス障害者にみられる慢性気管支炎症例では、リウマチ因子が高率に検出されること⁸⁾、血清IgG, IgAが高値を示すこと⁹⁾、さらにツベルクリン反応およびPHA皮内反応の低下した症例がみられ、気道感染を伴う症例ではPHA反応性が低下した症例が多く、またPWM反応性に異常がみられること、およびPHA反応性の低下と α_1 ATの高値は平行することなどを報告した¹⁰⁾¹¹⁾。本研究の対象は30例と例数は少ないが、ほぼ同様の傾向を示した。

そこで著者は、KLHによる慢性気管支炎症例の免疫応答について検討した。KLHはgiant key-hole limpet (Megathura Cronulata) に由来する暗青色、ゼラチン様の物質で、分子量は 7.5×10^6 とされているが、pHの変化により容易にsubunitに分かれ、低分子となる。KLHは免疫原性が極めて高く、細胞性免疫と同時に体液性免疫が成立し、しかも通常ヒトが本物質により感作されていることは希である。したがって、免疫応答の検討には極めてユニークな物質であるといえる。Swanson⁶⁾はKLHを用いて初めてヒトの免疫能を検討し

た成績を報告したが、著者はその方法によつて本研究を実施した。

KLHに対する特異免疫応答は、慢性気管支炎症例のうち気道感染を有するII+IV型の症例において細胞性免疫能のみならず、特異抗体の産生も低下していることが示された。すなわち、48時間後のKLH皮内反応、末梢血リンパ球のKLH反応性の低値、さらに抗KLH抗体(IgG型)の産生などはいずれも気道感染を有する場合に著明であつた。かかる成績は、慢性気管支炎の悪化因子として重視されている気道の感染があたかも遷延感作の役割を果し、生体の免疫異常を招来して慢性気管支炎の悪化進展に関与しているものと考えられた。

また慢性気管支炎における上述の免疫学的異常所見は、細気管支炎の合併により一層強調された。

結 論

毒ガス障害者における慢性気管支炎を対象として、主として細胞性免疫能の立場から検討し、次のような結論を得た。すなわち、慢性気管支炎のうち気道感染を有する症例の免疫能、ことに細胞性免疫能は気道感染の明らかでない症例に比べて、低下傾向を示した。また、KLHを用いた免疫応答に関する検討から、気道の感染が遷延感作の役割を果し、患者の免疫異常を招来し、慢性気管支炎の悪化進展に関与しているものと考えられた。

文 献

- 1) Schatz M, et al: Immunologic lung disease. New Engl J Med 300: 1310, 1979.
- 2) 秋山実利: 肺癌の細胞性免疫能に関する研究. 広島大医学誌 23: 497, 1975.
- 3) 森川和雄: ツベルクリン型アレルギーの伝達. 三橋 進・相沢 幹・花岡正男 編. 免疫の病理, 朝倉書店, 東京, 1973, p 372.
- 4) 西本幸男, 他: 治療効果よりみた慢性気管支炎の臨床的分類. 日内会誌 53: 424, 1964.
- 5) 高石雅敏, 山木戸道郎, 他: Con A 刺激により誘導されるヒトリンパ球の各種 mitogen に対する正常リンパ球の反応抑制作用. 一高令者と若年者の比較一. 臨床免疫 11: 383, 1979.
- 6) Swanson MA and Schwartz RS: Immuno-

- suppressive therapy. The relation between clinical response and immunologic competence. *New Engl J Med* 277: 163, 1967.
- 7) 西本幸男, 他: 病因からみた閉塞性肺疾患. 内科 36: 920, 1975.
- 8) 西本幸男, 山木戸道郎, 他: 慢性気管支炎の臨床像とリウマチ因子. 日内会誌 60: 721, 1971.
- 9) 栗屋昌一: 慢性気管支炎における喀痰蛋白像に関する研究. 広島大医学誌 20: 227, 1972.
- 10) 西本幸男, 他: 細気管支炎にかんする研究 (第2報) 毒ガス傷害者の免疫学的検討. 日内会誌 65: 1314, 1976.
- 11) 山木戸道郎, 他: 肺癌における細胞性免疫能の低下とその機序について. 臨床病理 25: 539, 1977.

C. 肺疾患における免疫異常 討論要旨

司会 (螺良英郎): 2人の演者に同じ質問をいたします。現在までの研究から、今後に残された研究分野や研究課題にはどんなものがありますか。

答 (後東俊博): 抗体産生臓器としての肺の立場から考えてみますと、その基盤が解剖学的に bronchus associated lymphoid tissue (BALT) であること、そしてこれに抗原が接触することによって、体液性や細胞性の免疫応答が誘起されると考えられています。しかし実際の臨床における感染症やアレルギーの際、BALTがどのようにして抗原と接触し、それがどのようにして抗体産生へとつながって行くのかということは、まだ殆ど分かっておりません。このあたりが今後に残された問題ではないかと考えております。

司会 (螺良英郎): 抗原刺激と肺における抗体産生系路の解析が必要という意見ですね。次に山木戸先生。

答 (山木戸道郎): この研究を通じ、分かっている事項が多いのに驚いております。従来教室の研究では免疫異常と慢性気管支炎の発症という面ではなく、その悪化・進展の際に現われる免疫異常を観察してきました。今後は慢性気管支炎の発症に察し、免疫異常がどのようにかわり合うのかについて、当然研究されるべきでありましょう。また、悪化・進展の要因として最も重視されているのは気道感染ですが、気道感染と免疫異常はお互に原因となり、結果となつているものと思われまふ。従つて、出来るだけ多くの種類の検

査法を駆使して、臨床的に免疫の病態を把握することに努め、難治である慢性気管支炎に対し、免疫学的病態の是正や、さらに免疫学的治療法の可能性についても検討してみたいと思つております。

司会 (螺良英郎): ほかに質問がないようですので、まとめに移ります。

最初に申しましたように、肺疾患においてはその殆どに免疫異常がからんでいると思います。その異常は体液性ないし細胞性免疫異常、あるいは局所性ないし全身性免疫異常といわれるものでありましようが、今後呼吸器疾患の研究を行なう上で、免疫病態の把握は不可欠のものとなるでしょう。単に血清中の免疫グロブリン測定のみでなく、細胞レベル・BALT系での測定も必要となりましよう。細胞性免疫能についても単にT cellということだけでなく、そのサブセットの分析も必要であろうと思います。即時型過敏反応の解明は進んでおりますが、遅延型過敏反応については今後解明されなければならない多くの課題が残されております。今後は個体の持つ免疫能の評価法を確立し、呼吸器疾患の診断に当つては、病名のみでなく、免疫学的な病態診断も考慮しなくてはならないものと考えます。

最後に、上述したような立場からみますと、臨床の最終目標は免疫療法ということにならうかと思ひます。免疫療法と言えば癌や喘息などが頭に浮びますが、もつと広く免疫療法というものを考へて行かなくてはならないと思ひます。