

呼吸器疾患におけるリンパ球に関する免疫学的研究

第1篇 呼吸器疾患における末梢血リンパ球のSubpopulationに関する研究

京都大学結核胸部疾患研究所 内科学第二

真 弓 哲 二

(昭和51年12月31日受付)

緒 言

呼吸器は絶えず外界に曝露されているため頻繁に抗原の侵入を受ける器官と考えられる。従って侵入してくる抗原に対する防禦機構の一環として強力な免疫機能を有している。すなわち、呼吸器は侵入してくる抗原に対して単に免疫反応の場を提供するばかりでなく Humphrey ら (1958)¹⁾ の研究や Tomasi ら (1972)²⁾ の局所免疫の研究にもみられるように重要な抗体産生臓器としての機能も有している。

各種感染症をはじめ、気管支喘息、肺癌、サルコイドーシス、自己免疫疾患、じん肺、肺線維症などの各種疾病に罹患した患者では肺において多彩な免疫反応が認められるが、その免疫学的病態については、今日必ずしも明らかになったとは言い難い。特に最近免疫学的検査手技の急速な発達によって、病因についての解析が進歩するとともに病態に関する新しい概念が導入されてきた。その最も顕著なものの一つはリンパ球の問題であろう^{3,4)}。Nowell (1960)⁵⁾ によるリンパ球幼若化現象の発見、Gowans (1959)⁶⁾ のリンパ球再循環の証明を契機として1960年代に行なわれたリンパ球の機能に関する多くの研究から、リンパ球の免疫担当細胞としての性格が明らかにされたが、1970年代に入っては、Miller (1961)⁷⁾ 以来の胸腺機能の研究を基本として、リンパ球をTリンパ球、Bリンパ球に二

分して検討する方向性が明確化されてきた^{8,9)}。すなわち、免疫応答反応、免疫現象の発現に関与するリンパ球は大別して、由来や機能を異にする2種類の細胞集団、Tリンパ球、Bリンパ球に分類されること、骨髄で産生されたリンパ球 stem cell のうち、一群は胸腺の支配を受けてTリンパ球として、他の一群はBリンパ球に分化して免疫担当細胞としての役割を果たすことが明らかになってきた。このT、Bリンパ球の概念はヒトのリンパ球についても導入され Raff (1969)¹⁰⁾ による T-cell marker の証明以来、リンパ球細胞表面の特性“surface marker”を用いて、T、Bリンパ球を形態学的に識別算定することが可能となってきた。すなわち、Tリンパ球に関しては Brain ら (1970)¹¹⁾、Lag ら (1971)¹²⁾、Jondal ら (1972)¹³⁾ によって報告されたヒツジ赤血球とのロゼット形成能、あるいは、矢田ら (1970)¹⁴⁾ によるヒト胸腺リンパ組織抗原 (human thymus lymphoid tissue antigen, HTLA) などが marker として用いられている。一方、Bリンパ球については、Papamichail ら (1972)¹⁵⁾、Unanue ら (1971)¹⁶⁾ による蛍光抗体法による細胞表面免疫グロブリンの検出、Bianco ら (1970)¹⁷⁾ による IgM 抗体感作補体結合赤血球とのロゼット形成能を用いた complement receptor の証明法、Basten ら (1972)¹⁸⁾、Dickler (1972)¹⁹⁾ による IgG の Fc 部分に対する receptor の存在等が

マーカーとして用いられ、種々の疾患についての T リンパ球、B リンパ球の変動に関する検討報告が行なわれて、各種疾患の病態生理の解明における一つの有力な手段となってきた。

著者は、呼吸器疾患の免疫学的動態を究明する一つの方法として、各種呼吸器疾患患者の末梢血リンパ球について、sheep red blood cell-rossette forming cells (ヒツジ赤血球によるロゼット形成細胞、以下 SRBC-RFC) を T リンパ球、surface immunoglobulin bearing cells (表面免疫グロブリン保有細胞、以下 SIBC)、および complement receptor cells (補体レセプター陽性細胞、以下 CRC) を B リンパ球の marker として、リンパ球の subpopulation を検索し、臨床所見、ツベルクリン皮内反応、血清免疫グロブリン値など従来行われてきた免疫学的検査所見との対比検討を行なったので、その研究成績について報告する。

研究対象および測定方法

1) 研究対象

対象とした症例は、肺癌 37 例、肺結核 28 例 (活動期、排菌陽性 16 例、治癒期 12 例)、サルコイドーシス 26 例 (活動期 14 例、治癒期 12 例)、慢性気管支感染症 24 例、肺気腫 25 例、気管支喘息 21 例、肺のう胞症 7 例、膠原病性肺疾患 6 例、急性肺炎 4 例の計 178 例であった。対照とした健康人は 17 才から 69 才の 54 例である。

2) リンパ球分離法

辻の方法²⁰⁾に従い、静脈血 10-12 ml をヘパリン採血し、phosphate buffered saline (PBS (+), 細胞培養用、阪大微研製) 30 ml を加え混和する。15 ml 用スピッツに Conray-Ficoll 液 3 ml を入れ、血液希釈液を静かに重層した後、1500 回転 30 分間遠沈を行なった。中間のリンパ球層を採取し、50 ml の PBS に浮遊、2000 回転 5 分間遠沈して洗浄した。さらに、foetal calf serum (GIBCO, U. S. A. 56°C, 30 分非働化後、ヒツジ赤血球にて吸収済) を 10% の割合に加えた Eagle medium (Eagle MEM, 阪大微研製) 10 ml を加え、1500 回転 10 分間遠沈

して洗浄を行なった。沈殿したリンパ球層に同一 medium を加えてリンパ球数を算定し、 $5 \times 10^6/\text{ml}$ 、および $1 \times 10^7/\text{ml}$ のリンパ球浮遊液を作製した。

3) ヒツジ赤血球浮遊液の作成法

Alsever 液保存ヒツジ赤血球を、10 倍量以上の PBS で 3 回洗浄後、前述の 10% foetal calf serum 加 Eagle-medium を用いて 0.5% 浮遊液を作製した。

なお、ヒツジ赤血球は市販 Alsever 浮遊液を使用した。新鮮びんを購入し、採血後 2 週以上経過したヒツジ赤血球は使用しないこととした。

4) T リンパ球 (SRBC-RFC) の測定法

内径 7.5 mm × 長さ 8.5 cm のパイロットチューブを用い、 $5 \times 10^6/\text{ml}$ に調製したリンパ球浮遊液 0.1 ml とヒツジ赤血球浮遊液 0.1 ml を混和し、軽く振盪し、室温に 10 分間放置した。その後 1000 回転 10 分間遠沈し、4°C 氷水中に 1 時間放置後、静かに再浮遊させたのち、白血球計算盤を用いて、4 個以上ヒツジ赤血球の付着したリンパ球 (SRBC-RFC) をロゼット形成陽性細胞と判定し、その百分率を算定した。

5) 細胞表面免疫グロブリン保有細胞 (SIBC) の測定法

パイロットチューブに FITC 標識抗ヒト IgG, IgM, IgA ヤギ血清 (Hyland 社製, Los-Angeles, U.S.A.) の PBS 3 倍希釈液 0.1 ml と $1 \times 10^7/\text{ml}$ に調製したリンパ球浮遊液 0.1 ml とを混合し、37°C 30 分間 water-bath 内にて incubate した。incubate 後、Eagle-medium を用いて 800 回転 4 分間、3 回遠沈洗浄し、これを無蛍光ガラスの上にカバーガラスをかけて封入し、蛍光顕微鏡下で IgG, IgM, IgA を保有するリンパ球の陽性率を別々に算定し、それらを加算して SIBC の百分率とした。なお FITC 標識抗ヒト IgG, IgM, IgA ヤギ血清は、ラットの肝臓乾燥末 (acetone powder) を加えて混和し、2 万回転 1 時間遠沈し、一夜放置した後の上清を用いた。

6) 蛍光抗体直接法によるBリンパ球染色の特異性についての検討

標識抗体によるリンパ球染色の特異性を確認するために、吸収試験および阻害試験を行なった。すなわち、FITC 標識抗ヒト IgG ヤギ血清にヒト γ -グロブリンを充分量加えたもの、および卵白アルブミンを加えたものを各々 37°C 30分間 incubate した後、1万回転1時間遠沈し、一夜放置した後、その上清でリンパ球染色を行なったところ、卵白アルブミンを加えたものでは染色されたリンパ球が認められたが、ヒト γ -グロブリンを加えたものでは染色されたリンパ球は認められなかった。次に FITC 標識抗ヒト IgG、ヤギ血清によるリンパ球の染色の時と同様の方法で、被検リンパ球に未標識の抗ヒト IgG ヤギ血清を加え、37°C 30分間 incubate した後、洗浄し、それに FITC 標識抗ヒト IgG ヤギ血清を加えリンパ球染色を行なったところ、染色されたリンパ球は認められなかった。

7) 補体レセプター陽性細胞 (CRC) の測定法

5% ヒツジ赤血球に市販のミドリ十字社製ヘモリジンを0.1%ゼラチン加ベロナル緩衝液で500倍希釈液を等量加え、37°C 30分間 incubate した後、生理食塩水を加えて1500回転10分間3回遠沈洗浄し、これに等量の10倍希釈 C57 BL/6 マウス血清を加え、37°C 15分間 incubate した後、生理食塩水を加えて1500回転10分間3回遠沈洗浄し、沈査に上記のゼラチン加ベロナル緩衝液を加えて2mlの浮遊液を作製し、この0.1mlに 5×10^6 /ml のリンパ球を等量加え、spontane rosette 形成をさけるために、37°C 1時間 incubate し、次に4°Cで1時間放置した後、Tリンパ球の測定と同様に、4個以上ヒツジ赤血球の付着したリンパ球をCRCと判定し、その百分率を算定した。

成 績

1. 健常人の末梢血リンパ球数およびT, Bリンパ球 subpopulation に関する検討

健常人54例の検査成績では、リンパ球数は $1816 \pm 384/\text{mm}^3$ であり、Tリンパ球数は平均して $54 \pm 11\%$ 、 $1136 \pm 275/\text{mm}^3$ であった。

一方、Bリンパ球数はSIBCを指標とした場合、 $26 \pm 4\%$ でCRCを指標とした場合は $22 \pm 8\%$ で大差のない所見であった。したがってT-cell, B-cell いずれの marker も有しないリンパ球、いわゆる null cell が健常人においては20%前後存在することが明らかにされた。

各種の疾患におけるT, Bリンパ球 subpopulation の検査にあたって、性差、年齢差の分布についても検討したが、著者の検索した限りでは明らかな性差、年齢差は認められなかった。これについてはWekslerら(1974)²¹⁾も血同様の報告を行なっている。したがって以下の各種呼吸器疾患における末梢血リンパ球のsubpopulation の検討にあたっては、17才から69才の健常人54例(男39例、女15例)より得られた数値を健常人値として用いた。

またT, Bリンパ球 subpopulation の変動に際しては、比率、絶対数のいずれがその病態をよく反映するかについては、明確な結論は得られていない現状であるので^{22,23)}、著者は各種疾患におけるT, Bリンパ球 subpopulation の変動の検討にあたっては、両者の面から検討を加えることとした。

2. 各種呼吸器疾患における末梢血T, Bリンパ球 subpopulation

SRBC-RFCを指標とした場合、Tリンパ球数の比率において有意($P < 0.05$)の減少が認められた疾患は肺癌、活動性肺結核、サルコイドーシス、慢性気管支感染症、肺気腫および気管支喘息であった。Bリンパ球数に関しては明らかな減少を認めた疾患はなく、SIBCあるいはCRCを指標としたBリンパ球数の増加が認められたのは、活動性肺結核、活動性サルコイドーシス、肺気腫、気管支喘息などの疾患であった(Table 1, Figure 1)。

3. 末梢血Tリンパ球数の変動とツベルクリン反応性との関連性

従来ツベルクリン反応は、細胞性免疫機能不全を検出する最も容易な方法として用いられた反応であるので、細胞性免疫機能を担う細胞であると考えられるTリンパ球数とツベルクリン感受性との関連性について検討を行なった。肺

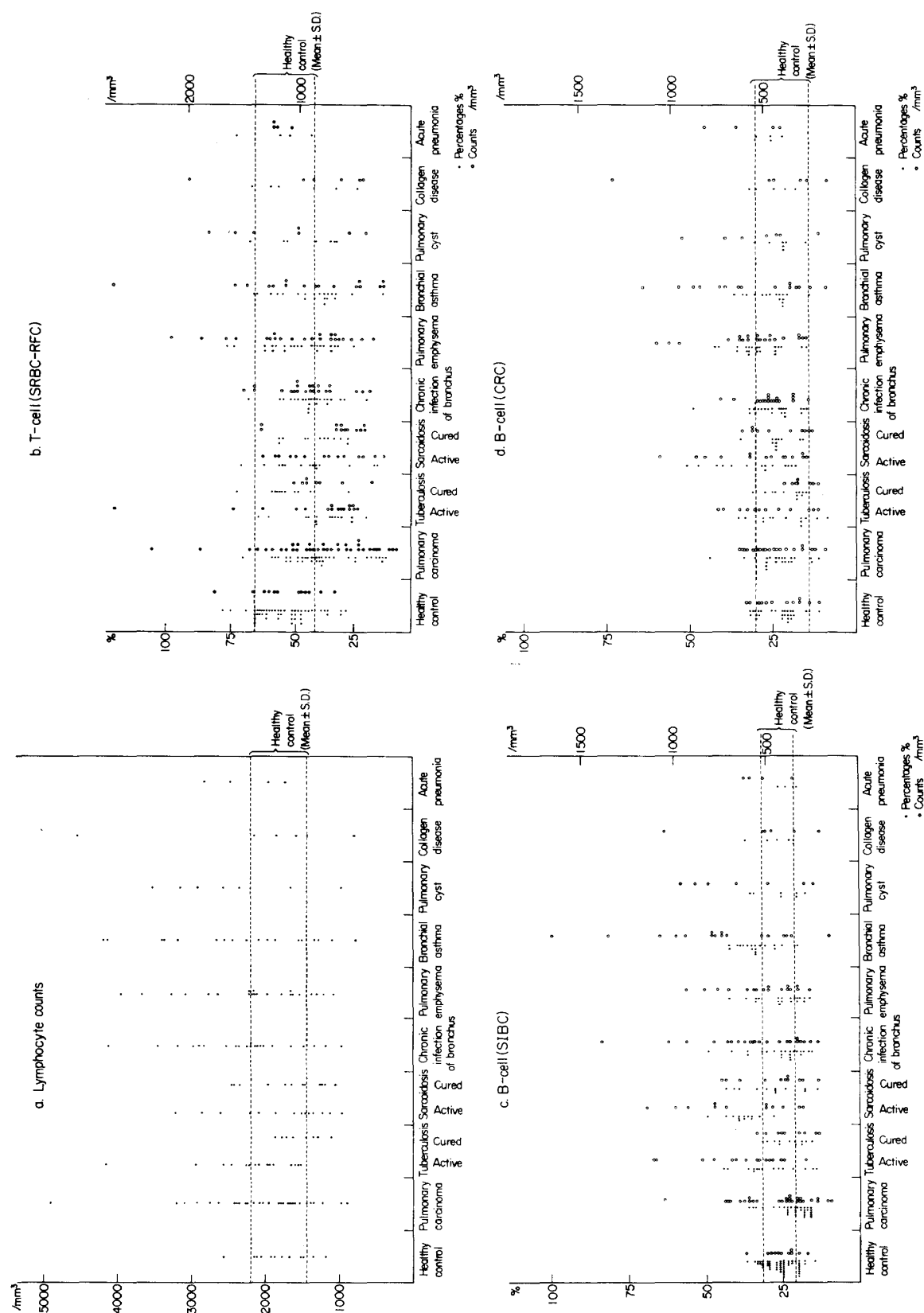


Fig. 1 Lymphocyte counts, T, B, subpopulation in various respiratory diseases

Table 1 Percentages and counts of SRBC-RFC, SIBC and CRC in peripheral lymphocytes of patients with various respiratory diseases

Diseases		No. of cases		T-cell		B-cell						Total lymphocyte counts	
				SRBC-RFC	SIBC	IgM	IgA	IgG	CRC				
Healthy control		54	% /mm ³	54± 11 1136±275	26± 4 437± 88	8± 2 122± 89	4± 2 64±30	14± 3 251±138	22± 8 400±145	1816± 384			
Pulmonary carcinoma		37	% /mm ³	39± 15 817±459	22± 5 461±189	6± 2 123± 54	3± 1 55±28	14± 3 286±122	23± 7 436±137	2039± 822			
Pulmonary tuberculosis	active	16	% /mm ³	38± 11 882±543	29± 8 639±234	8± 3 189± 79	5± 2 121±57	15± 4 335±112	22± 8 470±170	2212± 642			
	cured	12	% /mm ³	52± 10 864±237	23± 4 383±113	7± 2 106± 36	4± 2 63±28	12± 3 200± 74	20± 5 296± 56	1589± 304			
Sarcoidosis	active	14	% /mm ³	44± 16 773±341	36± 4 645±246	10± 2 180± 58	7± 2 126±56	18± 3 339±161	31± 11 537±237	1808± 662			
	cured	12	% /mm ³	39± 12 695±312	28± 8 466±165	8± 3 132± 54	5± 2 91±47	14± 4 243± 78	23± 4 416±138	1685± 480			
Chronic infection of bronchus		24	% /mm ³	43± 10 936±287	26± 8 574±274	17± 2 62± 82	5± 2 109±63	14± 4 302±142	25± 7 582±360	2246± 734			
Pulmonary emphysema		25	% /mm ³	48± 12 1014±458	25± 6 527±186	7± 3 157± 77	4± 2 82±38	14± 4 288±111	27± 8 561±219	2164± 755			
Bronchial asthma		21	% /mm ³	43± 12 1022±586	31± 5 760±364	10± 3 232±126	6± 2 148±79	15± 3 380±204	25± 6 579±286	2326± 972			
Pulmonary cyst		7	% /mm ³	45± 13 1114±488	25± 5 619±267	7± 1 164± 63	5± 2 106±54	14± 4 349±167	22± 4 541±220	2440± 816			
Collagen disease with pulmonary change		6	% /mm ³	47± 15 902±521	26± 5 514±259	7± 2 141± 88	4± 2 91±67	15± 2 282±111	23± 6 490±382	2052±1150			
Acute pneumonia		4	% /mm ³	56± 10 1221± 63	23± 2 521±100	7± 1 146± 28	5± 1 118±29	12± 1 258± 48	26± 3 580±163	2242± 427			

Mean ± S. D.

気腫11症例中、ツベルクリン反応陽性者8例におけるTリンパ球数 ($54 \pm 10\%$, $1453 \pm 423/\text{mm}^3$) は、ツベルクリン反応陰性者3列におけるTリンパ球数 ($38 \pm 10\%$, $695 \pm 301/\text{mm}^3$) に比較して有意に高いTリンパ球数の分布を示したが、他の疾患においてはツベルクリン反応陰性者群の方が、Tリンパ球数の増加を示した群もあり、必ずしもツベルクリン感受性とTリンパ球数との間に一定の関係は認められなかった (**Table 2**)。

4. 末梢血Bリンパ球数の変動と血清 γ -グロブリンおよび免疫グロブリンIgM, IgA, IgG値との関連性

活動期のサルコイドーシスにおいては、SI

BC, CRC いずれの marker を指標とした場合も、Bリンパ球数は明らかに増加していたが、同時に血清 γ -グロブリンについても有意の増加が認められた。またIgM, IgA, IgG 免疫グロブリン保有細胞すべての増加が認められ、これは血清IgM, IgA, IgGの増加と一致する所見であった。しかし慢性気管支感染症、膠原病性肺疾患、急性肺炎症例では、血清 γ -グロブリンの増加が認められたにもかかわらず、Bリンパ球数の明らかな増加は認められなかった (**Table 1, 3**)。

5. 各疾患における検査成績

(i) 肺 癌

近年免疫療法の可能性とも関連して肺癌患者

Table 2 T-cell counts and tuberculin sensitivity in various respiratory diseases

Diseases		Positive/Total (Positive%) PPD 0.05 μ g	Tuberculin reaction	T-cell counts	
Pulmonary carcinoma		19/31 (61)	(+) (-)	38 $\pm$ 12 42 $\pm$ 18	869 $\pm$ 487 780 $\pm$ 434
Pulmonary tuberculosis	active	14/10 (88)	(+) (-)	39 $\pm$ 11 30 $\pm$ 4	933 $\pm$ 562 529 $\pm$ 14
	cured	10/10 (100)	(+) (-)	50 $\pm$ 9 /	836 $\pm$ 262 /
Sarcoidosis	active	4/10 (40)	(+) (-)	40 $\pm$ 15 50 $\pm$ 8	830 $\pm$ 309 921 $\pm$ 266
	cured	8/ 8 (100)	(+) (-)	44 $\pm$ 17 /	1048 $\pm$ 430 /
Chronic infection of bronchus		12/22 (55)	(+) (-)	46 $\pm$ 9 40 $\pm$ 11	996 $\pm$ 235 884 $\pm$ 334
Pulmonary emphysema		8/11 (73)	(+) (-)	54 $\pm$ 10 38 $\pm$ 10	1453 $\pm$ 423 695 $\pm$ 301
Bronchial asthma		6/10 (60)	(+) (-)	36 $\pm$ 19 50 $\pm$ 15	963 $\pm$ 500 1111 $\pm$ 589
Pulmonary cyst		7/ 8 (88)	(+) (-)	44 $\pm$ 17 36 $\pm$ 0	1048 $\pm$ 430 703 $\pm$ 0
Collagen disease with pulmonary change		0/ 5 (0)	(+) (-)	40 $\pm$ 17 /	695 $\pm$ 203 /
Acute pneumonia		4/ 8 (50)	(+) (-)	39 $\pm$ 12 42 $\pm$ 10	934 $\pm$ 352 905 $\pm$ 218

Mean $\pm$ S. D.

の免疫学的動態が注目されるようになり²⁴⁾, 肺癌症例にはツベルクリン反応や DNCB 接触アレルギーなどの細胞性免疫反応の低下がみられ, このような症例では予後が不良であるとの報告が行なわれている^{25,26,27)}。

肺癌症例37例の検査成績では, 末梢血リンパ球総数は健常人とほぼ同様であったが, Tリンパ球数は $39\pm15\%$ ($P<0.01$), $817\pm459/\text{mm}^3$ ($P<0.05$) と有意の減少を示した。一方Bリンパ球数は SIBC を指標とした場合, $22\pm5\%$ ($P<0.01$) と減少を示したが, CRC を指標とした場合の比率あるいは絶対数については, 健常人に比してほとんど差異を認めなかった。

肺癌では31例中12例 (39%) においてツベルクリン反応が陰性であったが, ツベルクリン反応陽性者群と陰性者群との間においては, Tリンパ球数に有意の差を認めなかった。

肺癌の進展度と末梢血 T, B リンパ球の関連性についても検討したが, その成績は **Table 4** に示す様である。日本肺癌学会の肺癌臨床病期 (I, II, III, IV) にしたがって症例を分類し, 各群についてTリンパ球, Bリンパ球の率および数について比較したが, 各病期間に有意の差を認め得なかった。

また肺癌の組織型と末梢血 T, B リンパ球との関連性についても検討したが, 扁平上皮癌, 腺癌, 未分化癌の3者相互の間に有意の差を認め得なかった。

(ii) 肺癌症例における放射線照射の影響

放射線療法は肺癌に有効な治療法の一つであるが, 放射線照射が患者の免疫機能にどのような影響を及ぼすかについての検討成績は少ない。著者は ^{60}Co 照射療法を受けた肺癌患者について照射前, 3000 rads 照射後, 6000 rads

Table 3 Serum γ -globulin and immunoglobulin levels in various respiratory diseases

Diseases		No. of cases	γ -globulin		IgM	IgA	IgG
			%	g/dl	mg/dl	mg/dl	mg/dl
Healthy control		54	13.9 $\pm$ 4.6	1.0 $\pm$ 0.4	83 $\pm$ 48	250 $\pm$ 100	1315 $\pm$ 265
Pulmonary carcinoma		32	20.0 $\pm$ 5.0	1.5 $\pm$ 0.4	101 $\pm$ 43	618 $\pm$ 314	1877 $\pm$ 600
Pulmonary tuberculosis	active	13	21.5 $\pm$ 7.6	1.6 $\pm$ 0.7	116 $\pm$ 71	483 $\pm$ 218	1864 $\pm$ 484
	cured	8	19.6 $\pm$ 3.7	1.4 $\pm$ 0.4	139 $\pm$ 69	359 $\pm$ 160	1450 $\pm$ 426
Sarcoidosis	active	13	21.4 $\pm$ 6.5	1.7 $\pm$ 0.6	165 $\pm$ 97	416 $\pm$ 312	1877 $\pm$ 644
	cured	10	18.8 $\pm$ 3.8	1.4 $\pm$ 0.3	137 $\pm$ 53	278 $\pm$ 119	1331 $\pm$ 232
Chronic infection of bronchus		12	23.8 $\pm$ 6.2	1.9 $\pm$ 0.6	145 $\pm$ 50	640 $\pm$ 732	2067 $\pm$ 921
Pulmonary emphysema		10	18.5 $\pm$ 3.9	1.3 $\pm$ 0.3	112 $\pm$ 58	537 $\pm$ 123	1840 $\pm$ 556
Bronchial asthma		15	16.2 $\pm$ 2.9	1.2 $\pm$ 0.2	165 $\pm$ 81	347 $\pm$ 147	1509 $\pm$ 357
Pulmonary cyst		8	16.8 $\pm$ 3.7	1.3 $\pm$ 0.3	132 $\pm$ 41	340 $\pm$ 113	1700 $\pm$ 335
Collagen disease with pulmonary change		8	22.4 $\pm$ 10.3	1.6 $\pm$ 0.8	210 $\pm$ 122	619 $\pm$ 154	2188 $\pm$ 499
Acute pneumonia		5	35.3 $\pm$ 8.3	3.0 $\pm$ 0.6	235 $\pm$ 128	403 $\pm$ 146	1828 $\pm$ 691

Mean $\pm$ S. D.

照射後, 照射終了後1カ月, 3カ月, 6カ月の6回にわたって末梢血リンパ球数, T, Bリンパ球数, 血清 γ -グロブリンおよび免疫グロブリン値を測定した。対象はすべて手術不能の原発性肺癌患者で, 扁平上皮癌8例, 腺癌3例, 未分化癌3例, 年齢は51才~79才であった。

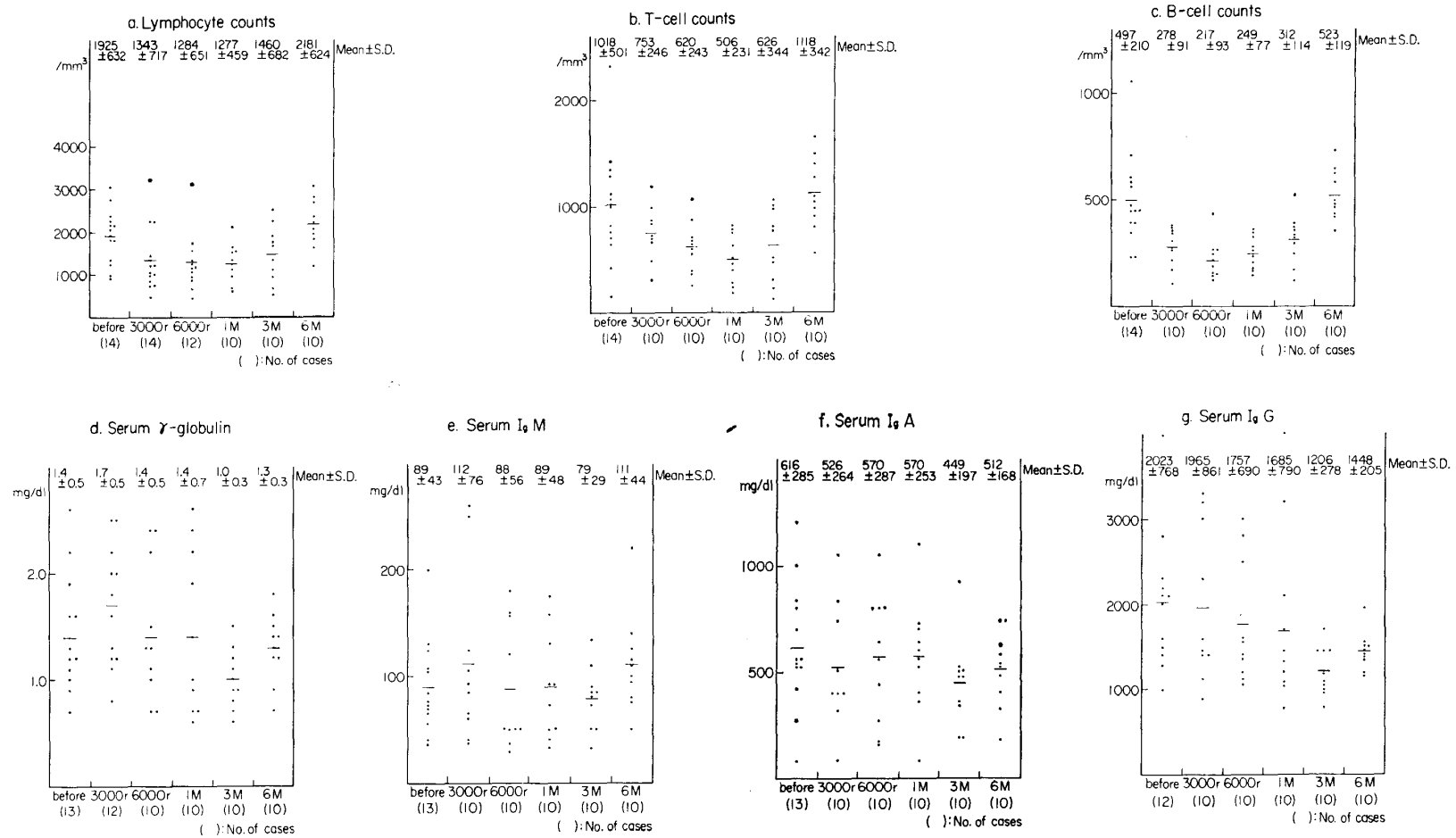
リンパ球数は3000 rads照射後すでに減少し, この状態が照射終了後1カ月目まで認めら

れたが, その後次第に回復し, 照射終了後6カ月目には照射前の状態に復した。Bリンパ球数は3000 rads照射後ほぼ半減し($P<0.01$), 6000 rads照射後最低となったが, 照射終了後は次第に回復して, 照射終了後6カ月目には正常の数に達した。一方, Tリンパ球数はBリンパ球数に比して減少が遅れる傾向が認められ, 照射終了後1カ月目に最低となったが, 照射終了後6

Table 4 Clinical stage, histological classification and lymphocyte subpopulation in pulmonary carcinoma

		No. of cases	Lymphocyte counts /mm ³	T-cell		B-cell			
				SRBC-RFC %	/mm ³	SIBC %	/mm ³	CRC %	/mm ³
Clinical stage	I	7	1885 $\pm$ 541	39 $\pm$ 18	734 $\pm$ 374	21 $\pm$ 3	348 $\pm$ 105	24 $\pm$ 12	413 $\pm$ 149
	II	5	1686 $\pm$ 549	40 $\pm$ 9	727 $\pm$ 229	20 $\pm$ 3	356 $\pm$ 194	19 $\pm$ 3	353 $\pm$ 119
	III	16	2272 $\pm$ 968	39 $\pm$ 14	873 $\pm$ 490	24 $\pm$ 6	519 $\pm$ 188	24 $\pm$ 5	475 $\pm$ 101
	IV	9	1940 $\pm$ 725	39 $\pm$ 16	831 $\pm$ 536	21 $\pm$ 3	453 $\pm$ 179	25 $\pm$ 5	456 $\pm$ 154
Histological type	Squamous cell carcinoma	18	2060 $\pm$ 594	42 $\pm$ 14	882 $\pm$ 406	22 $\pm$ 4	467 $\pm$ 154	22 $\pm$ 6	427 $\pm$ 151
	Adeno carcinoma	10	1770 $\pm$ 448	39 $\pm$ 15	734 $\pm$ 333	24 $\pm$ 5	425 $\pm$ 159	23 $\pm$ 5	425 $\pm$ 116
	Undifferentiated cell carcinoma	9	2295 $\pm$ 1306	34 $\pm$ 15	776 $\pm$ 631	21 $\pm$ 5	479 $\pm$ 260	30 $\pm$ 10	498 $\pm$ 84

Mean $\pm$ S. D.

Fig. 2 Effect of ^{60}Co irradiation on immunological tests in pulmonary carcinoma

カ月目にはBリンパ球の場合と同様照射前の数にまで回復していた。このようにTリンパ球とBリンパ球の放射線感受性に差異のあることが認められたが、この成績は Kataoka & Sado (1975)²⁸⁾ のマウスにおける実験成績と同様の成績であった。このような明らかなBリンパ球の変動にもかかわらず血清グロブリンおよび免疫グロブリンについては有意の変動は認められなかった (Figure 2)。

(iii) 肺結核

活動期症例(排菌陽性者)16例では、Tリンパ球の比率 ($38 \pm 11\%$) は有意に低く ($P < 0.01$)、絶対数でも低値が認められた。Bリンパ球については、SIBC を指標とした場合は対照に比してわずかに高い傾向が認められたが、CRC ではほぼ健常人と同様の値であった。

粟粒結核の2例(31才の男子症例, 35才の女子症例)では、Tリンパ球数はそれぞれ26%, $488/\text{mm}^3$, 34%, $514/\text{mm}^3$ と著明な減少を示していた。

治癒期症例(健康管理区分 D₂ 又は D₃ 該当者) 12例では、Tリンパ球およびBリンパ球の比率、絶対数ともに対照健常人と比べて著明な差異はなかった。

これらの所見は active rosette test を用いた場合に泉 (1975)²⁹⁾ の報告した成績と同様の所見であった (Table 1)。

(iv) サルコイドーシス

サルコイドーシスにはツベルクリン反応陰性者が多いこと、血清 γ -グロブリンの増加が認められるなどの免疫学的な異常があることは古くより知られており、この immunological system のメカニズムの分析から病因解明へのアプローチが行なわれている³⁰⁾。

胸部レ線上著明な病変の認められる活動期の症例14例では、Tリンパ球数は、 $44 \pm 16\%$ ($P < 0.01$)、 $773 \pm 341/\text{mm}^3$ ($P < 0.01$) と有意の減少が認められた。またBリンパ球については、SIBC, IgM, IgA, IgG 保有細胞あるいはCRC いずれにおいても有意の増加所見が認められ、またさらに血清 γ -グロブリンの増加とよく並行していることについては前述した通りで

あった。

胸部レ線上、異常陰影の消失した治癒期症例12例においては、リンパ球数、Tリンパ球数はさらに減少が認められたが、Bリンパ球数は正常範囲に復していた。この所見は active rosette test を用いて治癒期にはTリンパ球増加傾向が認められたという泉の報告²⁹⁾とは異なる所見であるが、この原因はTリンパ球の測定方法の差異によるものと考えられる (Table 1, 3)。

(v) 慢性気管支感染症

慢性気管支炎および非結核性慢性感染を伴なう気管支拡張症を一括して慢性気管支感染症と呼ぶことにするが、本症例24例では、ツベルクリン反応の陰性者が比較的多いこと、また血清免疫グロブリンの増加症例も多いなどの免疫異常が認められるとの報告があるが³¹⁾、これらの疾患群においては、Tリンパ球は $43 \pm 10\%$ ($P < 0.01$)、 $936 \pm 287/\text{mm}^3$ ($P < 0.05$) とともに有意の減少が認められた。一方、Bリンパ球については、血清 γ -グロブリンの増加が認められるにもかかわらず SIBC, CRC でも増加傾向が認められなかったのは前述の通りである (Table 1, 3)。

(vi) 肺気腫

肺気腫25例では、Tリンパ球の比率は $48 \pm 12\%$ ($P < 0.05$) と有意の減少が認められたが、全体としてのリンパ球数が増加しているため、Tリンパ球数においては、明らかな減少は認められなかった。一方Bリンパ球については、CRC でわずかに増加が認められた。

肺気腫群では、ツベルクリン反応陰性者群は、陽性者群に比較して、Tリンパ球数の減少が認められたことは前述の通りである (Table 1, 2)。

(vii) 気管支喘息

成人のアトピー型気管支喘息症例21例では、リンパ球総数がわずかに増加し、Tリンパ球数の比率は減少していたが、絶対数においては健常人とはほぼ同様の数値であり、一方Bリンパ球数においては、SIBC, CRC とともに明らかな増加 ($P < 0.01$) の所見を示していた (Table 1)。

(viii) 肺のう胞症

リンパ球総数の増加所見があるため、Tリンパ球数の比率としてはわずかに減少していたが、数としては健常人とほぼ同数であり、Bリンパ球数に関しては、比率はほぼ同様であったが、数的には増加所見を示していた (**Table 1**)。

(ix) 膠原病性肺疾患

肺病変を有する膠原病の6例では、T, Bリンパ球数はともに著るしい変動は認められなかった (**Table 1**)。

(x) 急性肺炎

Bリンパ球の絶対数において、若干の増加所見がみられているのみである (**Table 1**)。

考 按

肺癌、肺結核、サルコイドーシス、慢性気管支感染症、肺気腫、気管支喘息、肺のう胞症、膠原病性肺疾患、急性肺炎などの各種呼吸器疾患における末梢血リンパ球、特にT, Bリンパ球数の変動を中心に検討した。最も明らかなT, Bリンパ球数の変動を示したのはサルコイドーシスであった。本症は臨床的にツベルクリン反応感受性の低下、DNCB被感作能の低下などTリンパ球系機能の低下と血清 γ -グロブリン増加所見が報告されている。著者の検討成績でもTリンパ球の著明な減少とBリンパ球の増加が認められ、臨床検査所見とよく相関した成績が得られた。

肺癌患者に対する放射線照射療法は6000 radsという大量の照射を必要とするため、放射線が正常細胞に与える傷害性が当然考慮されねばならないが、免疫担当細胞に与える影響についての臨床的研究は少ない。著者の検討成績はこの問題点についての一つの情報を提供したものとといえよう。すなわちTリンパ球とBリンパ球では放射線に対する感受性に相異があるが、いずれも放射線治療によって一時減少し、治療終了後6カ月目にはほぼ旧に復するという成績であった。Kataoka, Sado²⁸⁾(1915)はマウスについて放射線照射がT, Bリンパ球に与える影響について研究し、著者と同様T, Bリンパ球によって放射線感受性に差があるという成績を報告している。しかし動物については全身照射

が可能であるが、ヒトの場合は照射野が病巣部に限局されるため、その成績を直ちに動物と比較することはできないし、著者の検討成績においては末梢血Bリンパ球が減少しているにもかかわらず、血中の γ -グロブリンあるいは免疫グロブリンに減少が認められなかった理由については今後の検討課題と思われる。

肺癌患者や慢性気管支感染症患者では細胞性免疫機能の低下が指摘され^{25,26,27,31)}、ツベルクリン感受性についても正常人に比し減弱が認められている。著者はこれらの疾患について末梢血Tリンパ球数の減少を認めたが、ツベルクリン反応陽性者と陰性者に分けてTリンパ球数を比べた結果、ツ反応感受性と相関を認めえなかった。この理由としてはTリンパ球機能の多様性 (effector, helper, suppressor) のためと考えられ、さらにTリンパ球を分割しない限りツ反応との相関性を論ずることは困難と思われる。

すでにサルコイドーシスの患者血清中にはTリンパ球のSRBCロゼット形成を阻止する作用があるとの報告が行なわれている³²⁾。またWhiteheadら(1976)³³⁾は肺癌患者のTリンパ球数の減少している症例についてリンパ球を酵素処理するとリンパ球のロゼット形成能が向上すること、また正常リンパ球に肺癌患者血清を添加するとロゼット形成能が低下すると報告した。かれらはこの成績から肺癌患者血清中にはロゼット形成阻害因子が存在するものと推定している。さらに癌、ホジキン氏病、リンパ性白血病、リンパ肉腫、癰、梅毒、サルコイドーシス、ataxia teleangiectasia、原発性胆汁性肝硬変症などの患者および健康人においても血清中にはin vitroでPHA反応の抑制を中心とした免疫抑制物質が存在することが報告されている³⁴⁾⁻⁴¹⁾。著者が行なったT, Bリンパ球の測定方法はすべてそのsurface markerを指標としているため血中に存在すると推定される種々の阻害物質によってブロックされ見かけ上低値となる可能性がある事も考えなければならない。この点については今後さらに研究を続ける予定である。

今回の研究において著者は総合的に各種の呼吸器疾患について、末梢血 T, B リンパ球の動態を中心に免疫学的研究を行ない、若干の新知見を得た。著者の用いた測定方法は比較的容易に臨床検査室においても実施できるものと思われるので、将来の臨床免疫学の分野で有力な検査方法として利用されることを期待したい。

要 約

SRBC-RFC を T リンパ球の指標として、SIBC および CRC を B リンパ球の指標として各種呼吸器疾患における末梢血 リンパ球数、T, B リンパ球数の変動について検討を加えた。同時にツベルクリン反応あるいは血清免疫グロブリン値との比較検討も行なった。

1. サルコイドーシスでは明らかな T リンパ球数の減少と活動期において B リンパ球数および血清免疫グロブリン値の増加が認められた。
2. 肺癌、慢性気管支感染症では T リンパ球数の減少が認められたが、血清 γ -グロブリンの増加があるにもかかわらず、B リンパ球数の増加は認められなかった。
3. 肺癌患者に対する ^{60}Co 6000 rads 局所照射では B リンパ球数が先に減少し、続いて T リンパ球の減少が認められたが、いずれも照射終了後 6 カ月目には照射前に復した。
4. 肺結核症のうち、活動期症例については、T リンパ球数の減少と B リンパ球数の増加が認められ、治癒期症例については、T, B リンパ球数とも対照健常人と比べて著明な差異は認められなかった。
5. 肺気腫では T リンパ球数についてはわずかに減少、B リンパ球数についてはわずかに増加がみられた。気管支喘息についても肺気腫の場合と同様に T リンパ球数の軽度減少、B リンパ球数の軽度増加が認められた。
6. 肺のう胞症、膠原病性肺疾患では T, B リンパ球数とも対照に比して著明な差異は認められなかったが、いずれも少数例であるのでさらに研究を重ねる必要があるものと思われる。急性肺炎については B リンパ球数の増加傾向が認められたが、少数例であるので結論しがたい。

(7) 末梢血 T リンパ球数とツベルクリン感受性との関連性については相関関係は認められなかった。その一つの理由としては T リンパ球機能の多様性 (effector, helper, suppressor) が考慮された。一方末梢血 B リンパ球数と血清免疫グロブリン値との関連性が、サルコイドーシスおよび肺結核症においては認められたが、肺癌や慢性気管支感染症では血清免疫グロブリン値が高値を示したにもかかわらず、B リンパ球数の増加は認められなかった。この理由としてはこれら患者血清中に B リンパ球のレセプターをブロックする物質の存在が推測された。

本研究に当り御指導いただいた大島駿作教授、泉孝英講師に感謝致します。また研究に御協力いただいた大山口渥、西川伸一の両氏、貴重な症例を提供していただいた京都市立病院、日置辰一郎院長、中島道郎部長に深謝致します。

本論文の要旨は第15回日本胸部疾患学会総会（昭和50年4月京都）および第17回日本肺癌学会総会（昭和51年10月東京）において発表した。

文 献

- 1) Humphrey, J. H., Sulizeanu, B. D.: The use of ^{14}C -amino acids to study sites and rates of antibody synthesis in living hyperimmune rabbits, *Biochem. J.*, 68: 149, 1958.
- 2) Tomasi, T. B.: Secretory immunoglobulins, *New Engl. J. Med.*, 287: 500, 1972.
- 3) Editorial: The lymphocyte. *Lancet*, 1: 409, 1973.
- 4) Bloon, B. R., Ceppellini, R., Cerottini, J. David, J. R.: In vitro methods in cell-mediated immunity, a progress report, *Cell. Immunol.*, 6: 331, 1973.
- 5) Nowell, P. C.: Phytohemagglutinin, an initiator of mitosis in cultures of normal human leukocytes, *Cancer Res.*, 20: 462, 1960.
- 6) Gowans, J. L.: The recirculation of lymphocytes from blood to lymphocyte in the rat, *J. Physiol.*, 146: 54, 1959.
- 7) Miller, J. F. A. P.: Immunological function of the thymus, *Lancet*, 2: 748, 1961.

- 8) Roitt, I.: *Essential Immunology*. Blackwell Scientific Pub., Oxford. 1971.
- 9) Graddock, C. G., Longmire, R. McMillan, R.: Lymphocytes and the immune response, *New Engl. J. Med.*, 285: 324, 1971, 285: 378, 1971.
- 10) Raff, M. C.: Theta isoantigen as a marker of thymus-derived lymphocytes in mice, *Nature*. 224: 387, 1969.
- 11) Brain, P., Gordon, J., Willetts, W. A.: Rosette formation by peripheral lymphocytes, *Clin. Exp. Immunol.*, 6: 681, 1970.
- 12) Lay, W. H., Mendes, N. F., Bianco, C., Nussenzweig, V.: Binding of sheep red blood cells to a large population of human lymphocytes, *Nature*, 230: 531, 1971.
- 13) Jondal, M., Holm, G., Wigzell, H.: Surface markers of human T and B lymphocytes. I. A large population of lymphocytes-forming non immune rosette with sheep red cells, *J. Exp. Med.*, 136: 207, 1972.
- 14) Yata, J., Klein, G., Kohayoshi, N., Furukawa, T., Yanagisawa, M.: Human thymus-lymphoid tissue antigen and its presence in leukaemia and lymphoma, *Clin. Exp. Immunol.*, 7: 781, 1970.
- 15) Papamichail, M., Holborow E. J. Keith, H. I. Currey H. L. F.: Subpopulations of human peripheral blood lymphocytes distinguished by combined rosette formation and membrane immunofluorescence, *Lancet*, 2: 64, 1972.
- 16) Unanue, E. R., Grey, H. M., Rabellino, E., Campbell, P., Schwidtko, J.: Immunoglobulins on the surface of lymphocytes, II. The bone marrow as the main source of lymphocytes with detectable surface bound immunoglobulin, *J. Exp. Med.*, 133: 1188, 1971.
- 17) Bianco, C., Patrick, R., Nussengweig, V.: A population of lymphocytes bearing a membrane receptor for antigen-antibody-complement complexes, I. Separation and characterization, *J. Exp. Med.*, 132: 702, 1970.
- 18) Baster, A., Miller, J. F. A. P., Sprent, J. and Pye, J.: A receptor for antibody on B lymphocytes. I. Method of detection and functional significance, *J. Exp. Med.*, 135: 610, 1972.
- 19) Dickler, H. B., Kunkel, H. G.: Interaction of aggregated γ -globulin with B lymphocytes, *J. Exp. Med.*, 136: 191, 1972.
- 20) 辻 公美: 比重遠沈法によるリンパ球の分離 Conray 400-Ficoll 法, 免疫学会編免疫実験操作法, 265, 1971.
- 21) Weksler, M. E., Hütteroth, T. H.: Impaired lymphocyte function in aged humans, *J. Clin. Invest.*, 53: 99, 1974.
- 22) Dellen, A. L.: "Percent T cells": An ambiguous reporting technique, *Lancet.*, 1: 749, 1974.
- 23) Augener, W., Cohnen, G., Reuter, A., Brittinger, G.: Decrease of T lymphocytes during aging, *Lancet.*, 1: 1164, 1974.
- 24) 泉孝英: 癌の免疫療法——癌治療における免疫学的諸問題について, 京大胸部研紀要, 7: 58, 1973.
- 25) Brugarolas, A., Han, T., Takita, H. and Minowada, J.: Immunologic assays in lung cancer, *New York State J. Med.*, 15: 747, 1973.
- 26) 志摩 清, 安藤正幸, 徳臣晴比古: 原発性肺癌の臨床的観察, 日本胸部臨床, 33. 12, 862, 1974.
- 27) Catalona, W. J., Chretien, P. B.: Abnormalities of quantitative dinitrochlorobenzene sensitization in cancer patients: Correlation with tumor stage and histology, *Cancer*, 31: 353, 1973.
- 28) Kataoka, Y., Sado, T.: The radio-sensitivity of T and B lymphocytes in mice. *Immunol.*, 29: 121, 1975.
- 29) 泉 孝英: 呼吸器疾患におけるTリンパ球の動態, 京大胸部研紀要, 8: 76, 1975.
- 30) 泉 孝英: サルコイドーシスの免疫異常. 最新医学, 27: 1317, 1972.
- 31) 大島駿作: 慢性気管支感染症, 胸疾会誌, 13: 525, 1975.
- 32) Daniele, R. P. and Rowlands. D. T.: Antibodies to T cells in sarcoidosis, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 278: 88, 1976.
- 33) Whitehead, R. H., Thatcher, J., Teasdale, C., Roberts, G. P., Hughes, L. E.: T and B lymphocytes in breast cancer stage relationship and abrogation of T-lymphocyte depression by enzyme

- treatment in vitro, *Lancet*, 1: 330, 1976.
- 34) Cooperbard, S. R., Badger, A. M., Davis, R. C., Schmid, K., Mannick, A. J.: The effect of immunoregulatory alphaglobulin (IRA) upon lymphocytes in vitro, *Immunol. J.*, 109: 154, 1972.
- 35) Silk, M.: Effect of plasma from patients with carcinoma on in vitro lymphocyte transformation, *Cancer*, 20: 2088, 1967.
- 36) Glasgow, A. H., Menzoian, J. O., Nimberg, R. B., Cooperhard, S. R., Schmid, K., Mannick, J. A.: An immunosuppressive peptide fraction in the serum of cancer patients, *Surgery*, 76: 35, 1974.
- 37) Schleulen, H. E., Schneider, W., Paffas, A.: Inhibition of transformation of normal lymphocytes by a plasma factor from patients with Hodgkin's disease and cancer, *Lancet*, 1: 1265, 1971.
- 38) Dierks, R. E., Shepard, C. C.: Effect of phytohemagglutinin and various mycobacterial antigens on lymphocyte cultures from leprosy patients, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 127: 391, 1968.
- 39) Levent, G. M., Turk, J. L., Wright, D. J. M., Grimble, A. G. S.: Reduced lymphocyte transformation due to a plasma factor in patients with active syphilis, *Lancet*, 2: 246, 1969.
- 40) Macsween, R. N. M., Thomas, M. A.: Lymphocyte transformation by phytohemagglutinin (PHA) and purified protein derivative (PPD) in primary biliary cirrhosis. Evidence of serum inhibitory factors, *Clin. Exp. Immunol.*, 15: 523, 1973.
- 41) Belcher, R. W., Carney, J. F. and Nankervis, G. A.: Effect of sera from patients with sarcoidosis on in vitro lymphocyte response, *Int. Arch. Allergy*, 46: 183, 1974.

IMMUNOLOGICAL STUDIES ON LYMPHOCYTES IN RESPIRATORY DISEASES

I. Studies on the subpopulation of human peripheral blood lymphocytes in respiratory diseases

Tetsuji MAYUMI

The Second Department of Medicine, Chest Disease Research Institute, Kyoto University

The population of T lymphocyte forming rosettes with sheep erythrocytes was counted in peripheral blood from healthy adults and patients of respiratory diseases including pulmonary carcinoma, pulmonary tuberculosis, sarcoidosis, chronic infection of bronchus, pulmonary emphysema, bronchial asthma, pulmonary cyst, collagen disease and acute pneumonia. The population of B lymphocyte was also counted by surface makers of immunoglobulins (SIBC) and by receptors for activated complement (CRC) in the same material. Parallel studies on the tuberculin sensitivity and on the serum immunoglobulin level were performed.

The results are summarized as follows;

- 1) Sarcoidosis: T lymphocyte decreased markedly. On the other hand, B lymphocyte increased in the active phase of sarcoidosis which showed a high level of serum immunoglobulin.
- 2) Both pulmonary carcinoma and chronic infection of bronchus showed a decreased number of

T lymphocyte. However, the number of B lymphocyte was within the normal range, in spite of the high level of serum immunoglobulin.

3) The effect of ^{60}Co irradiation: B lymphocyte decreased to about half of the starting number of cells immediately after 3,000 rads. irradiation. On the other hand T lymphocyte decreased to about half of the starting number of cells one month after the completion of the irradiation (6000 rads.). Both T lymphocyte and B lymphocyte recovered to normal range six months after the completion of the irradiation.

4) Pulmonary tuberculosis: T lymphocyte decreased and B lymphocyte increased in the active stage. However, both were within the normal range by the cured stage.

5) Both pulmonary emphysema and bronchial asthma showed a slight decrease of T lymphocyte and a slight increase of B lymphocyte.

6) It was hard to interpret the results obtained in the other diseases, because the number of cases were insufficient for thorough analysis.

7) The correlation between number of T lymphocyte and tuberculin sensitivity seems to be insignificant. It was caused by multiplicity of T cell function (effector, helper and suppressor). On the other hand, the correlation between number of B lymphocyte and serum immunoglobulin level was seen in both sarcoidosis and active tuberculosis.

However, B lymphocyte numbers of both pulmonary carcinoma and chronic infection of bronchus were within the normal range, and yet in spite of that the serum immunoglobulins were still on a high level. It suggests therefore that an inhibitor, which masks the receptors of B lymphocyte does exist in the body fluid.