

高所（シシャパンマベースキャンプ）における細胞性免疫能

菅典道

京都大学医学部

京都大学シシャパンマ医学学術登山隊（1990）のボランティア7名に対し登山前、後（ベースキャンプ）の細胞性免疫能を *in vivo* 皮内試験および *in vitro* 試験両者にて比較した。*in vitro* 試験はベースキャンプでの冷凍リンパ球の保存状況が不良で不成功であったが *in vivo* 試験（OK-432, PPD に対する24, 48時間後の皮内反応にて次の結果を得た。ベースキャンプでの24時間皮内反応は登山前に比し特にOK-432への反応において増強傾向があり、48時間皮内反応はABCへ向けての移動によるストレスの影響か一定の傾向がなかった。以上、ナムチェバザールでの同一試験と併せ考察すると、高地において細胞性免疫能は増強する可能性がある。

1. はじめに

高山という低酸素下において免疫能-特に細胞性免疫能はどう変動するのか、確定的な報告はほとんどない。今回の京都大学シシャパンマ学術登山隊より被験者を募り、*in vivo* 試験としてのリンパ球幼若化反応および *natural killer* 活性の測定を試みた。結果的には後者（*in vitro* 試験）は高地で採取したリンパ球の保存状態が悪く測定失敗に終わったが *in vivo* 試験では当初の予想「低酸素、寒冷、登山などに伴う各種ストレスで免疫能は低下するのでは？」は否定され、むしろ既報¹⁾の「免疫能増強」を再現する結果を得た。

2. 方法

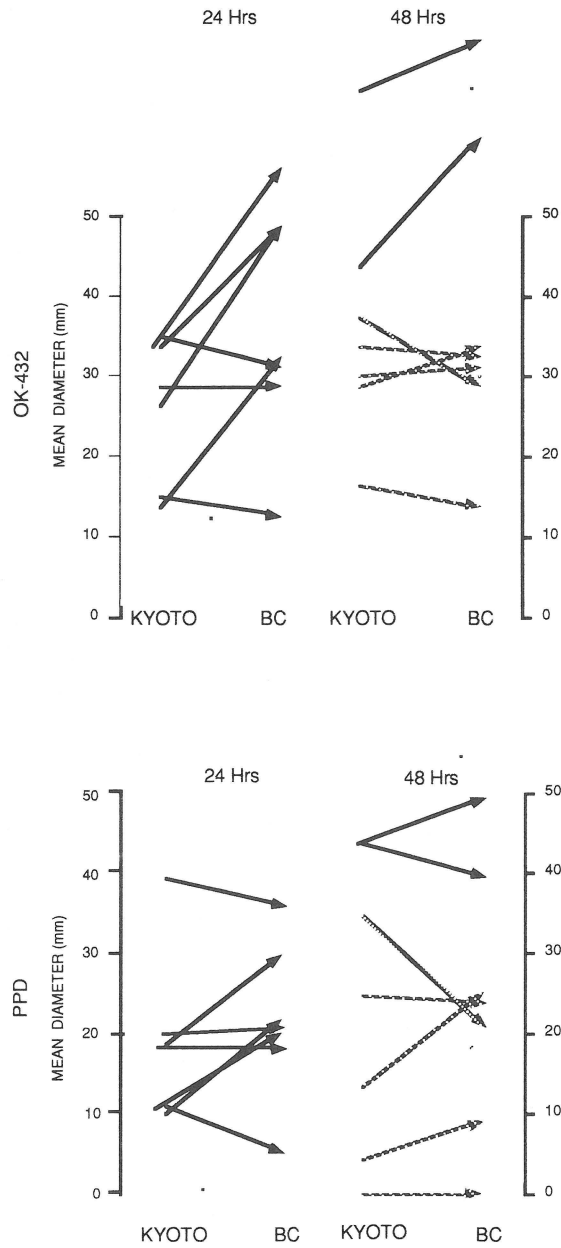
計7名のボランティア（30才～41才の男性）より次の *in vivo* 試験および *in vitro* 試験を測定した。測定地は *in vivo* 試験は「登山前」が京都あるいは北京、登山後はベースキャンプ（5020m）。測定が24時間後、48時間後の2度行われたが

登山後の48時間後測定は7名中5名でベースキャンプからABCへの移動中、デボキャンプ（5400m）にて行われた。*in vitro* 試験は京都およびベースキャンプでリンパ球分離、冷凍が行われ下山後京都にて解凍、測定が行われた。

1) *in vivo* 皮内反応

反応抗原としてPPD（purified protein derivatives, いわゆるツベルクリン反応）（日本BCG製造K. K.）およびOK-432（Picibanil, 中外製薬）の両者を用いた。使用濃度は前者で0.05 μ g、後者で1/400KE相当量を0.1ml生食水に浮遊して前腕皮内に注射し24, 48時間後に発赤径を測定（最大長径×短径を登山手帳にトレースしておき、下山後長さを測定）した。後者は癌の免疫療法剤として用いられている溶連菌菌体（死菌）製剤であり臨床使用量は0.1～5KE、皮内注射での副作用は皮膚の発赤、硬結、高用量での発熱のみである。最近まで溶連菌感作状態を測定するためにSu-PSが用いられていたが現在利用不能のため直接本剤を用いた。

図 低地（京都または北京）およびベースキャンプ（BC）でのOK-432、PPDに対する24、48時間後の皮内反応。48時間破線はベースキャンプ→デボキャンプへの登高行動者を示す。



2) in vitro リンパ球幼若化試験およびnatural killer活性

結果的には測定不成功であったため以下検査方法の概要のみを記す。ヘパリン加採血した静脈血 3 0 ml を Ficoll Paque 上に重層し遠沈、リンパ球を回収 (discontinuous density gradient method)、洗浄後に DMSO、ヒト血清添加培地にて冷凍チューブを断熱容器内に入れ -20℃ overnight で凍結、液体窒素タンクに保存する。測定時 37℃ で急速溶解しトリパンブルー染色にて生細胞をカウントしマイクロテストプレートにリンパ球を分注、PHA-P, IL-2 等のレクチンやサイトカインで刺激し培養 3 日後 ^3H -thymidine を添加、回収細胞分画より液体シンチレーションカウンターにて DNA 合成能を測定する。

natural killer 活性測定は ^{51}Cr にてラベルした培養 K562 をリンパ球と混合培養し、一定時間後溶解腫瘍より流出した上清中の γ 線を測定する。

3. 結果

in vitro 試験のため冷凍リンパ球を急速溶解し生細胞数をチェックしたところ、ベースキャンプにて採取したリンパ球の生存率は著明に不良であり、信頼しうるデータは得られないことが判明した。一部測定を試行したがやはりベースキャンプ採取分にて著明に機能が低下し、リンパ球保存状態不良の故と考えられた。

in vivo 皮内試験では以下の結果が得られた(図)。通常 OK-432 は 24 時間後、PPD は 48 時間後が至適測定時間とされているが特に 24 時間後の OK-432 反応にて 7 名中 4 名が著明に反応が上昇していた。残り 3 名は登山前後の変動は少なかった。PPD 24 時間後の反応は特にデボキャンプへ向け登高行動をとった隊員 5 名 (図破線) において上昇傾向著明でなく、登高によるストレスの影響が考えられた。なお皮内反応を 2 度 2 ~ 3 週の間隔において癌患者に対し繰り返した経験では複数回皮内注射による反応増強傾向は認められない (データ省略)。

4. 考察

in vitro 試験の失敗の原因として、リンパ球冷凍までの試薬、血清、操作、気温等の条件、また冷凍以後の保存状況の他に低圧下での凍結チューブ封入→平圧環境への運搬による圧変化の影響等種々の要因が考えられ、こうした手技の複雑さが最大の障害と考えられた。

in vivo 皮内反応は確かに簡便であるが今回の試験でも高地での試薬の劣化、低温下での皮膚循環の低下等がバイアスとなり皮内反応の低酸素下での低下という結果が得られることは充分予想された。しかし逆に図で示されたように、また前報¹⁾でもみられたように、皮内反応の増強傾向という結果が得られたことは注目に値する。

その機序として想定、連想される事項はいくつかあるが、登山家が山に来て低いストレス下にあるという文学的機序はさておき、臨床家が、<高山病>で連想する病態は<多臓器不全> (MOF, multi-organ failure) であり MOF が IL-1 や TNF (tumor-necrosis factor) といった種々のサイトカインの増量と密接に関連していることは最近注目されている。癌治療に用いられるサイトカインの一つ IL-2 もまた大量投与により肺水腫、脳浮腫といった高山病類似の症状をひきおこす。

低酸素刺激によりこれらサイトカインの分泌/活性レベルが変動し、免疫能増強がみられる可能性を、血清サイトカインレベルの変動のチェックにより検討することが当面必要である。高地での液生免疫 (抗体産生) の増強を証した動物実験²⁾もあり、今回の皮内反応結果は決して不合理な現象とはいいきれず、今後の追試、検証が必要であろう。

文献

- 菅典道 高所での免疫反応について ヒマラヤ学誌 第 1 号、京都大学ヒマラヤ研究会, p.p.69-70, 1990
- Trapani, I.L.; Altitude, Temperature and the immune response. Fed Proc 25:p.p.1254-59, 1966