

2. 学会発表

1) K. Ohtomo, I. Sugawara, A. Masunaga,
S. Wang and H. Yamada:

Mycobacterial infection in AIDS autopsy
cases in Japan. Int. J. Tuberc. Lung Dis.
2 (9), 203, 1998.

19980509

P.40-68 は雑誌/図書等に掲載された論文となりますので
下記の「研究成果の刊行に関する一覧表」をご参照ください。

研究成果の刊行に関する一覧表

Secondary infections of AIDS autopsy cases in Japan with special emphasis on Mycobacterium avium-intracellulare complex infection.

Ohtomo K, Wang S, Masunaga A, Aikichi, Iwamoto, Sugawara I.

Tohoku J Exp Med. 2000 Oct;192(2):99-109.

Role of interleukin-18 (IL-18) in mycobacterial infection in IL-18-gene-disrupted mice.

Sugawara I, Yamada H, Kaneko H, Mizuno S, Takeda K, Akira S.

Infect Immun. 1999 May;67(5):2585-9.

厚生科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）

分担研究報告書

結核治療における細胞免疫の動態に関する検討

分担研究者 原田 登之 結核予防会結核研究所 科長

研究目的＝現在、日本の結核感染は各種のハイリスク集団に集中発生している。その中でも特に免疫抑制状態の宿主は重要な地位を占めており、また治療を困難にしている。このような集団への対応を適切に行うことにより、結核治療の成績をさらに向上させることが可能になると考えられる。本研究の目的は、免疫抑制状態にある結核患者への対応を含む結核治療や管理の方式を確立することであり、分担研究として結核患者におけるサイトカイン動態を中心に分析し、これが結核の発病および進展にどのように関連しているかを検討する。結核に対する免疫は、細胞性免疫すなわち Th1 細胞により担われており、この細胞性免疫が活性化されると、Th1 細胞がインターフェロン・ガンマ (IFN- γ) を産生する。この IFN- γ が、結核菌を貪食したマクロファージを活性化しその殺菌作用を亢進することにより、結核菌感染から生体を防御していると考えられている。従って、IFN- γ の産生量と結核の発症が何らかの関連を示すことが予想される。今回、この点を解析するため、IFN- γ の産生量を健常者と結核患者間で比較検討した。

研究方法＝健常者および結核患者被験者より全血をヘパリン血として採血し、ヒト型結核菌 PPD を含む各種刺激物質で刺激する。刺激された血液を一定時間培養後、血清を採取しその中に産生された IFN- γ 量を ELISA により測定する。IFN- γ の産生量には当然個体差が見られるが、それは陽性コントロールにより産生される IFN- γ 量とヒト型結核菌 PPD 刺激により産生される IFN- γ 量の比率を取ることで補正した。

結果と考察＝結核菌に感染すると細胞性免疫が誘導されるため、結核菌に感染した被験者の血液細胞をヒト型結核菌 PPD で刺激すると、結核菌に感作した T 細胞より IFN- γ が産生される。すなわち、ヒト型結核菌 PPD 刺激による IFN- γ 産生を高く示す被験者は、結核菌に感染している可能性があると考えられる。また、結核患者においては IFN- γ の産生が低下することにより、細胞性免疫が低下し、引いては結核を発症している可能性が考えられる。そこで先ず健常成人について、ヒト型結核菌 PPD 刺激による IFN- γ の産生を検討した。その結果、ヒト型結核菌 PPD 刺激に反応し、殆どの被験者がある程度の IFN- γ を産生した。これは殆どの被験者が BCG を接種されているためと考えられた。すなわち、BCG の性状はヒト型結核菌のそれと非常に類似しているため、ヒト型結核菌 PPD 中には

BCG と類似の抗原が存在する。この抗原が BCG に感作された T 細胞を刺激し IFN- γ を産生させると考えられる。結核感染と思われる程度の高い IFN- γ 産生量を示す健常者の被験者は全体の約 15%であったが、これが BCG に対する強い免疫反応の結果か否か現在のところ不明である。一方結核患者においては、被験者の約 50%が高い IFN-g 産生を示した。現在、結核患者においてこのような高い IFN- γ の産生が、治療前後においてどのように変化していくか検討中である。また、今後 IFN- γ だけでなく、細胞性免疫を抑制するインターロイキン-4、インターロイキン-10 等のサイトカインも検討していく予定である。

結論＝結核患者においては、健常者に比較し有意に高い IFN- γ の産生が認められた。今後、この IFN- γ の産生が治療に伴いどのように変化するか検討する。

以下に現在までの報告との関連性を述べる。

Verbon らは活動性結核患者、治療中と治療後の患者、接触者および健常者において、血中 IL-12、IFN- γ 、IL-4、IL-6 および IL-10 濃度を比較検討した。活動性結核患者において血中 IFN- γ 濃度は健常者より高く、また治療中および治療後には減少していた。活動性結核患者における血中 IL-12 濃度は他の集団と比較し有意差は認められなかった。IL-4 は全ての集団において低い値を示した。IL-6 と IL-10 に関しては、活動性結核患者および治療中において血中濃度の上昇が見られた。また、活動性結核患者において熱、食欲不振および倦怠感を持つ患者で特に、IFN- γ と IL-6 濃度が高い傾向を示していた。IL-12 は特に塗抹陽性患者において比較的高かった。これらのサイトカインの濃度は、結核の箇所（肺あるいは肺外結核）やツベルクリン反応陽性とは相関していなかった。結論として彼等は、活動性結核患者において血中濃度の上昇していたサイトカインは、IFN- γ 、IL-6 および IL-10 あったことを報告している。

Verbon, A., N. Juffermans, S. J. Van Deventer, P. Speelman, H. Van Deutekom, and T. Van Der Poll. 1999. Serum concentrations of cytokines in patients with active tuberculosis (TB) and after treatment. *Clin. Exp. Immunol.* 115:110113.

Taha らは活動性肺結核患者の気管支肺胞洗浄における T 細胞とその亜集団、マクロファージおよびサイトカイン mRNA のプロフィールを、非活動性結核対象者のそれと比較した。活動性肺結核患者において、CD8+T 細胞の有意な増加が認められ、CD3+や CD4+ T 細胞およびマクロファージには変化はなかった。また、IFN- γ と IL-12 の mRNA を発現している細胞の割合が、活動性肺結核患者において有意に増加していた。一方、IL-2、TNF- α 、IL-4 および IL-5 の mRNA を発現している細胞には有意な変化は認められなかった。これらの結果より、IFN- γ と IL-12mRNA の発現は結核症の活動性の有用なマーカーになる可能性を示唆した。

Taha, R. A., T. C. Kotsimbos, Y. L. Song, D. Menzies, and Q. Hamid. 1997. IFN-gamma and IL-12 are increased in active compared with inactive tuberculosis. *Am. J. Respir.*

Crit. Care Med. 155:1135-1139.

Dlugovitzky らは末梢血中の単核球での増殖およびサイトカイン産生を、重篤度の異なる結核患者と健常者間で比較した。それによると、抗原特異的なリンパ球の増殖は、結核患者で低下しており、特に重篤な患者では著しく低下していた。軽度の結核患者では、IL-4 に比較し IFN- γ の産生が高く、また IL-1 β 産生も上昇していた。中程度の結核患者においては、IL-4 と IFN- γ 産生の混在が見られ、TGF- β 産生の上昇が認められた。重篤な患者では高い IL-4 と TGF- β が見られ、IFN- γ 産生は容易に認められるものの他のグループと比較して低下していた。このように、軽度の結核症においては Th1 型に、重篤な患者になるほど Th2 型に移行することが示された。

Dlugovitzky, D., M. L. Bay, L. Rateni, L. Urizar, C. F. Rondelli, C. Largacha, M. A. Farroni, O. Molteni, and O. A. Bottasso. 1999. In vitro synthesis of interferon-gamma, interleukin-4, transforming growth factor-beta and interleukin-1 beta by peripheral blood mononuclear cells from tuberculosis patients: relationship with the severity of pulmonary involvement. *Scand. J. Immunol.* 49:210-217.

このように、結核症において IFN- γ 産生が上昇することが報告されており、IFN- γ 産生上昇が結核感染のマーカーになると考えられる。しかし、結核症の進展に伴い産生量の低下も指摘されており、十分な検討が必要であろう。

一方、サイトカイン以外で結核症の活動性を評価できる可能性のある分子として、以下に示すものがある。Kawaguchi らは結核患者において TNF- α と、その阻害物質である可溶性 TNF receptor type I (sTNFR I)、および type II (sTNFR II) の血中濃度を測定し、健常者のそれと比較した。その結果、sTNFR I と sTNFR II の血中濃度は、未治療の結核患者において健常者より有意に高いことが明らかになった。TNF- α も結核患者で高い値が見られ、健常者では測定限界以下であった。また、患者が抗結核薬により治療され臨床像が改善されると、sTNFR I と TNF- α の血中濃度は有意に低下し、sTNFR II も統計学的に有意ではないがある程度の低下を示した。これらの結果より、彼等は結核症の活動性を評価するのに、TNFR の血中濃度の測定は有効であると結論している。

Kawaguchi, H. Y. Ina, S. Ito, S. Sato, Y. Sugiura, H. Tomita, N. Ogisu, K. Takada, M. Yamamoto, M. Morishita, and K. Yoshikawa. 1996. Serum levels of soluble tumor necrosis factor (TNF) receptor in patients with pulmonary tuberculosis. *Kekkaku* 71:259-265.

また、同様に Juffermans らは、TNF- α 、インターロイキン(IL)-1 β 、sTNFR I、sTNFR II、IL-1 receptor antagonist (IL-1ra) および可溶性 IL-1 receptor type II (sIL-1RII) の血中濃度を、結核患者、結核患者接触者および健常者間で比較検討した。活動性結核患者において、sTNFR I、sTNFR II および IL-1ra の濃度は接触者や健常者に比較し高い値を示し、また治療の間に減少した。一方 sIL-1RII ではこのような変動は見られなかった。これら分子の血中濃度上昇は、肺あるいは肺外結核には関係なかった。TNF- α と IL-1 β はどの集団

においても検出されなかった。これらの結果より、彼等は sTNFRI、sTNFRII および IL-1ra は結核症の活動性のマーカーとして使用出来る可能性を示した。

Jeffermans, N. P., A. Verbon, S. J. Van Deventer, H. Van Deutekom, P. Speelman, and T. Van Der Poll. 1998. Tumor necrosis factor and interleukin-1 inhibitors as markers of disease activity of tuberculosis. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 157:1328-1331.

このように、幾らかのマーカーの増減を調べることにより、結核症に対しより正確な判断が下せる可能性があると考えられる。

厚生科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）

分担研究報告書

非定型抗酸菌症結核の総合的な治療成績

分担研究者 倉島 篤行 国立療養所東京病院 医長

A. 研究目的

治療が極めて困難である非定型抗酸菌症（*Mycobacterium-aviumintracellulare* complex）の、長期にわたる治療成績の総合的な検討は従来行われておらず、本研究はMAC（*Mycobacterium avium-intracellulare*）肺感染症化学療法長期成績の検討と生命予後を明らかにするを目的とした。

B. 研究方法

初診から10年以上、化学療法と排菌全経過の連続追跡可能なMAC肺感染症27例につき進展経過を以下の方法で表示した。

排菌経過を定量的に評価可能にするため小川培地8週間培養結果を「結核菌検査指針」に基づいて各々の区分の上限コロニー数に以下のように換算した。

1+ = 200

2+ = 500

3+ = 2000

4+ = 4000

これを6ヶ月ごとに平均化し10年間の排菌量の経時的推移をグラフ表示とした。

化学療法については現在MACに対して

殺菌的薬剤は存在しないので、現行の化学療法薬はすべて同等の効果を持つと単純化し、1カ月1剤投与を化学療法指数（chemotherapy index:C.I.）1単位とし、10年間の累積C.I.を以下の3群に分けた。

A群 C.I. < 179単位

B群 180単位 < C.I. < 359単位

C群 C.I. > 360単位

また初診排菌確認と最終生存年月日を確認可能なMAC肺感染症104例につき生存曲線を算出検討を行った。

C. 結果と考察

1. 27例totalの10年間の6ヶ月平均菌量の推移は当初514コロニーであり10年後は831コロニーに上昇しており、様々な化学療法を行っても現行の化学療法では効果的な排菌量減少は困難であり病勢は漸次進展してゆくことが認められる（図1）。

2. 化学療法指数の群別に6ヶ月平均排菌量の推移を見ると、化学療法が指数で10年間で360単位以上と最も積極的に施行された群で当初468コロニーが

10年後で1453コロニーと最も悪く、これは化学療法を行わなかった群のほうが経過が良いというのではなく、病勢が進展する群に最も積極的に化学療法が行われた結果の反映と考えられた(図2、図3、図4)。

3. 10年間最終平均排菌量が300コロニー以下群と300コロニー以上群でみると、進展群と非進展群とに大別することができ、この2群の平均排菌量の経過は初診後約5年で分離してゆくことが認められた(図5)。

4. 非定型抗酸菌排菌で確認された初診と最終生存月日が明らかな104例の生存曲線でみると生存中央値は3325日で20年生存率は13.5%であった。これは自施設での排菌確認を発端としているため、実際の生存中央値及び生存率はさらに数年は良いと考えられる(図6)。

D. 結 論

MAC肺感染症は抗酸菌症の中で最も治療が困難な疾患であるが、極めて慢性に進展するため、その長期経過、予後についての十分な解析は国際的にも未だない。平成9年度研究においてMAC肺感染症化学療法の短期効果について検討を行ったが、今回10年間のスパンで長期経過、予後について検討を行った。

全体としてMAC肺感染症の生存中央値は約10年であり、20年生存率は13.5%であった。排菌と化学療法の全経過を追跡可能な27例のMAC肺感染症の分析からは初診からおよそ5年経過の時点で進展群と非進展群に分離してゆく傾向が認められたが、その要因については十分明らかにしえず、今後の課題と考えられた。

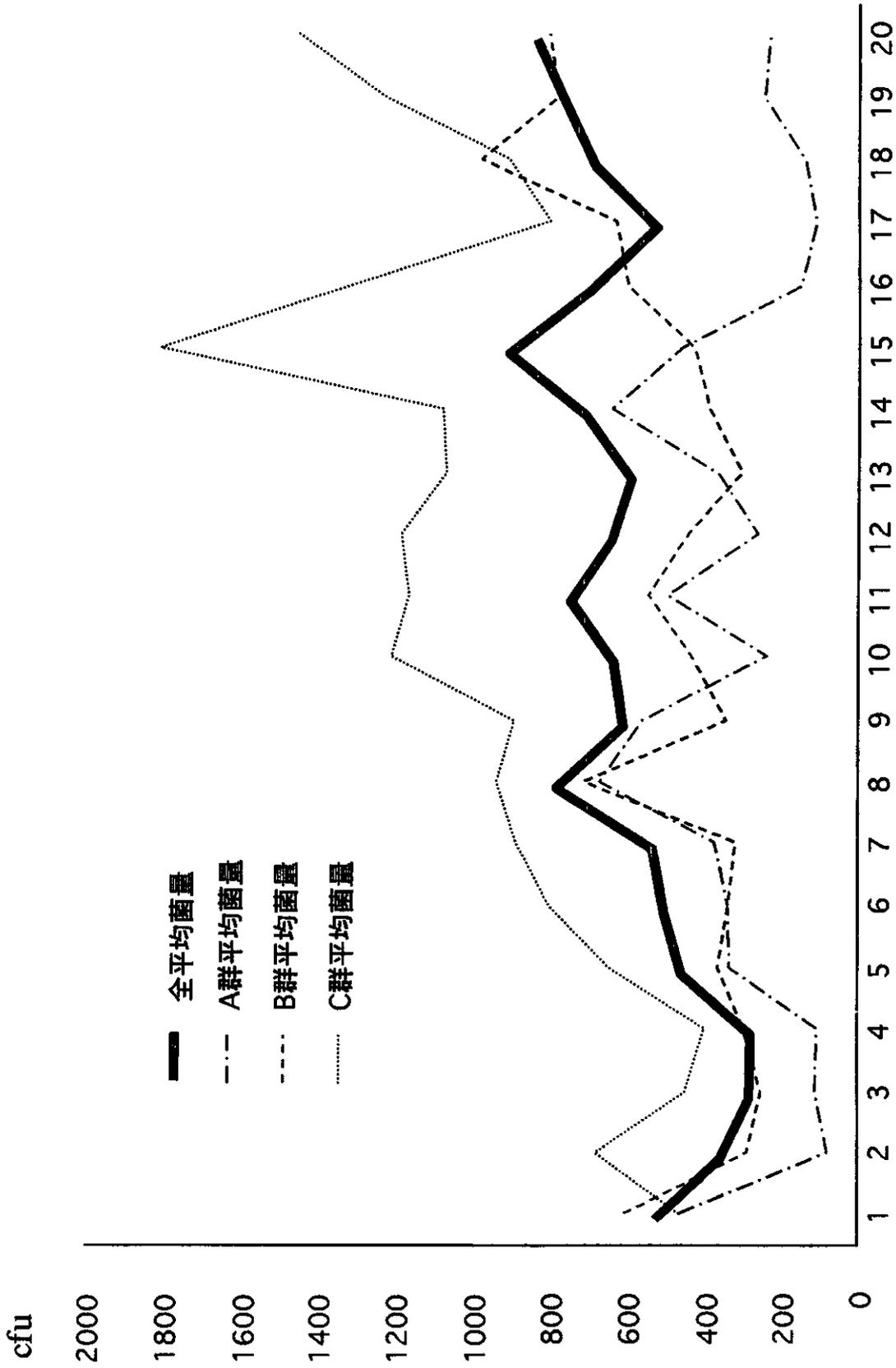


図1 MAC肺感染症27例の6ヶ月平均排菌量の経過

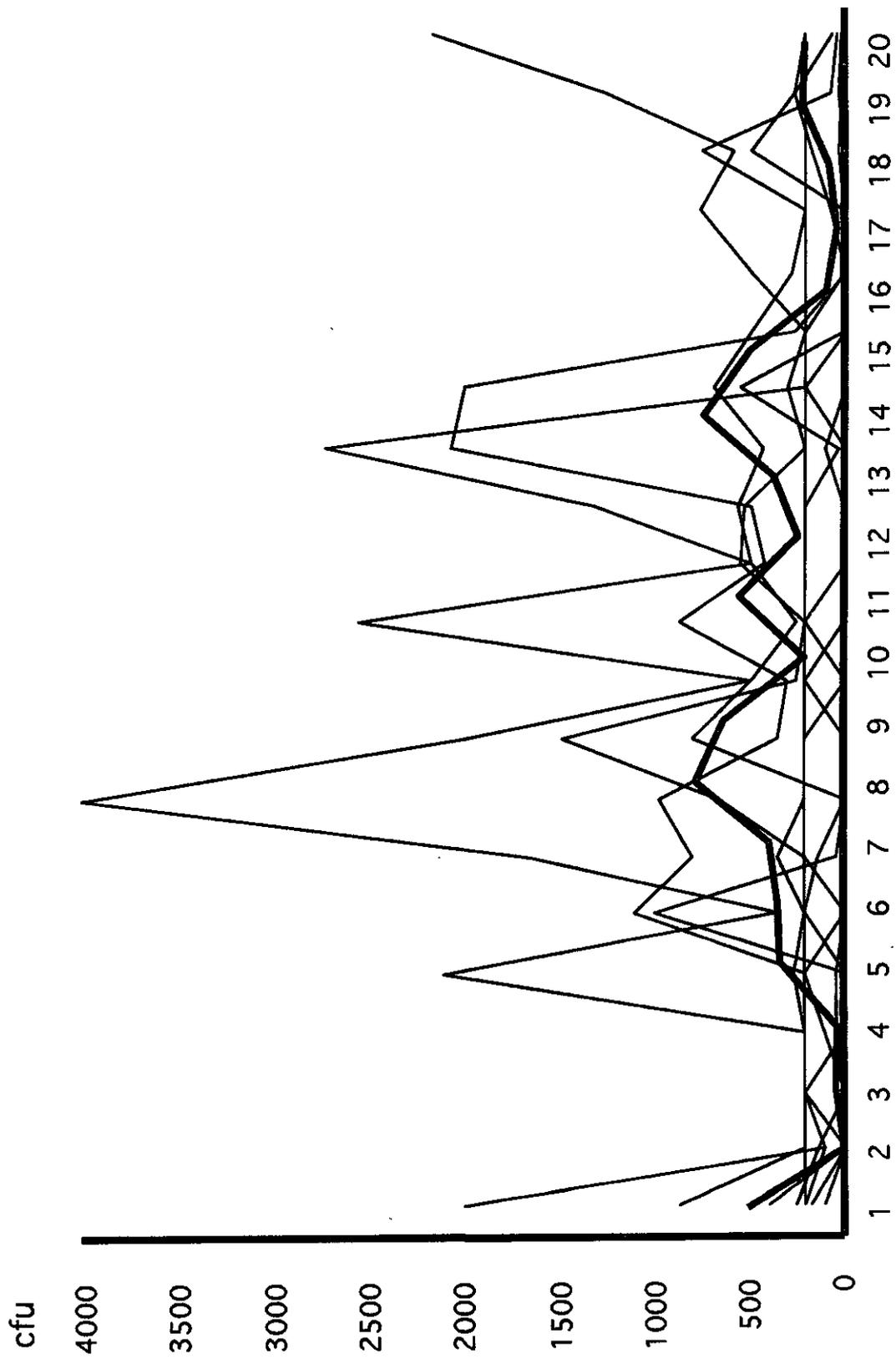


図2 A群(C.I.<179)進展の経過

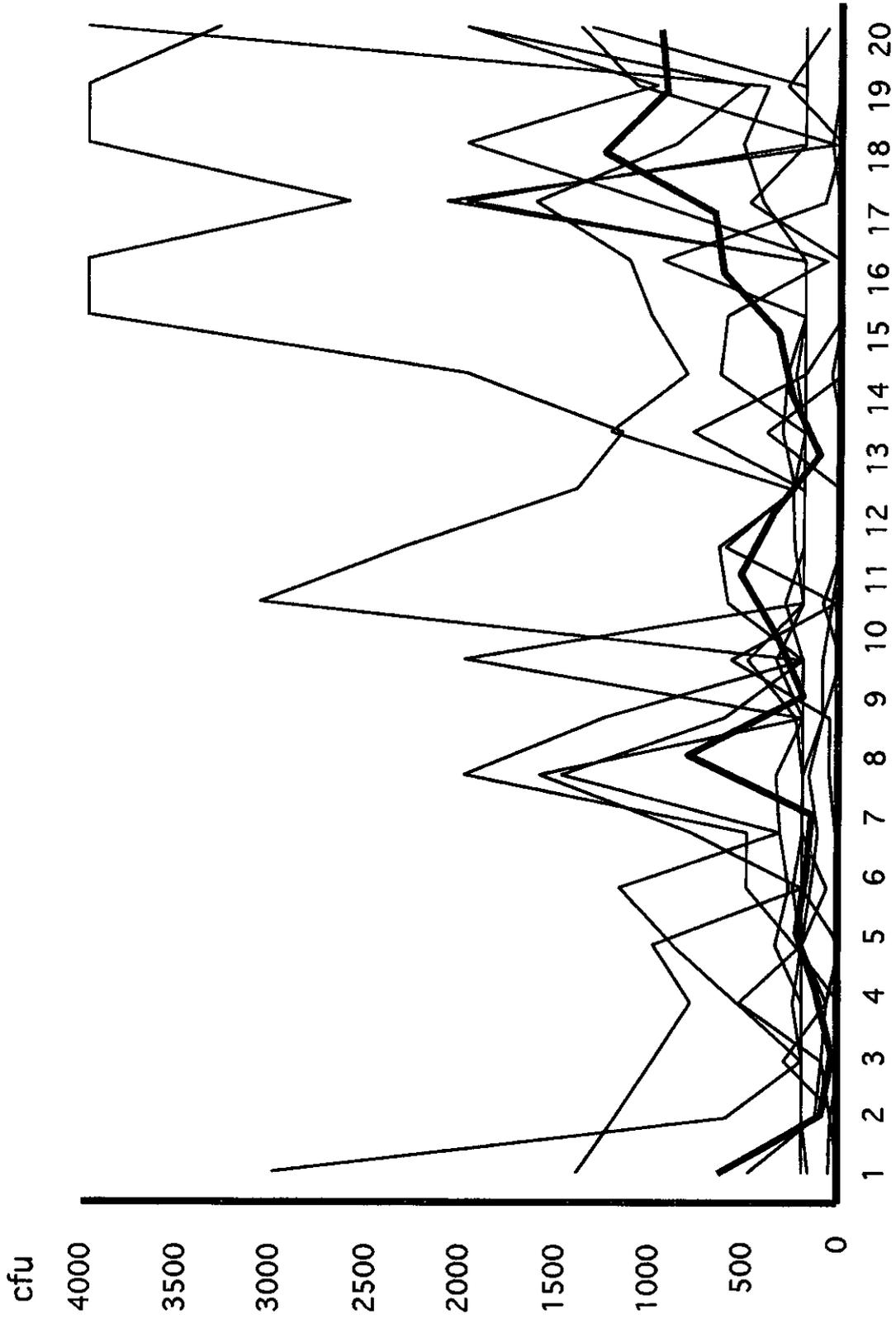


図3 B群(180 < C.I. < 359)進展経過

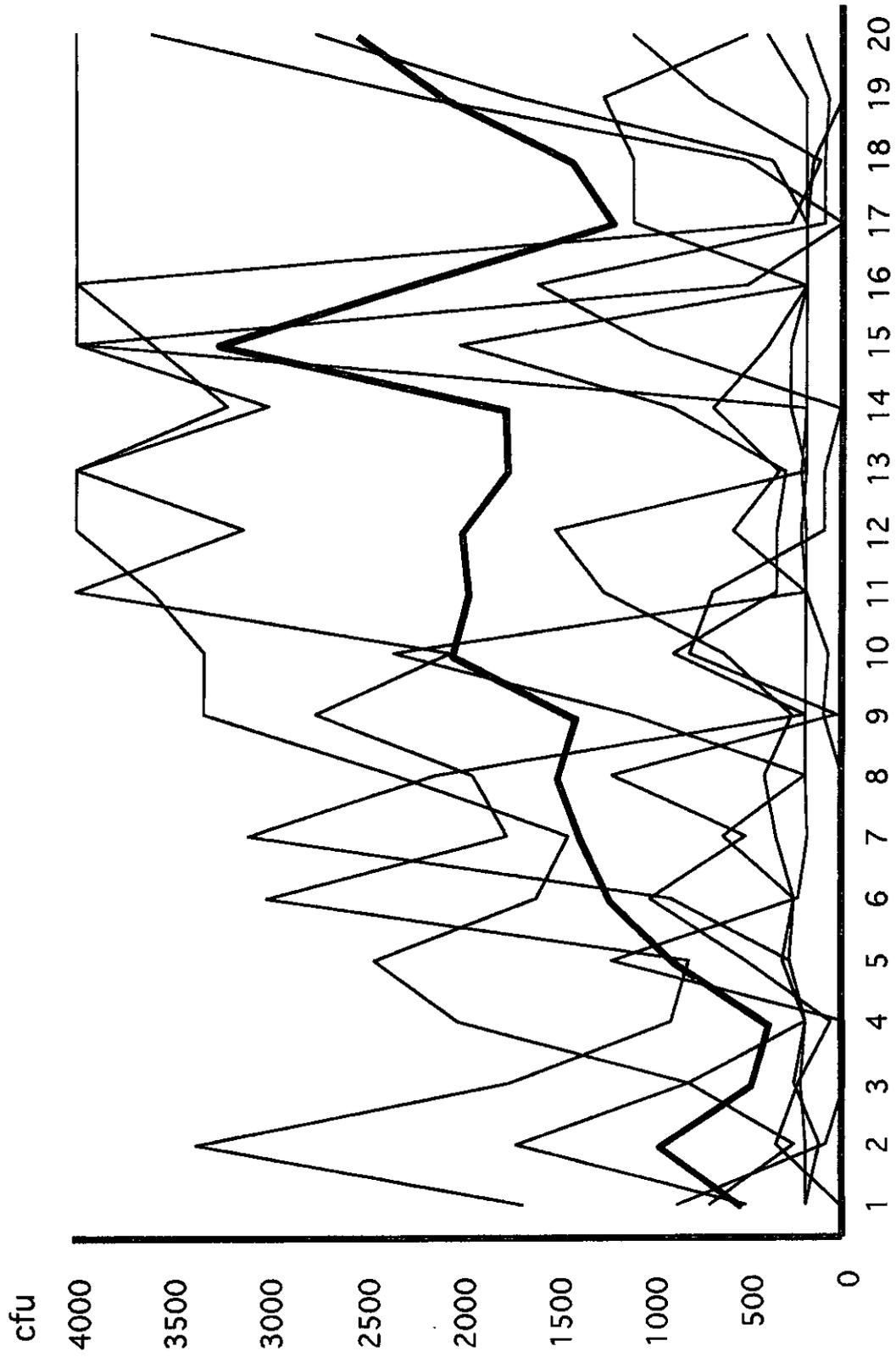


图4 C群 (C.I. > 360) 進展經過

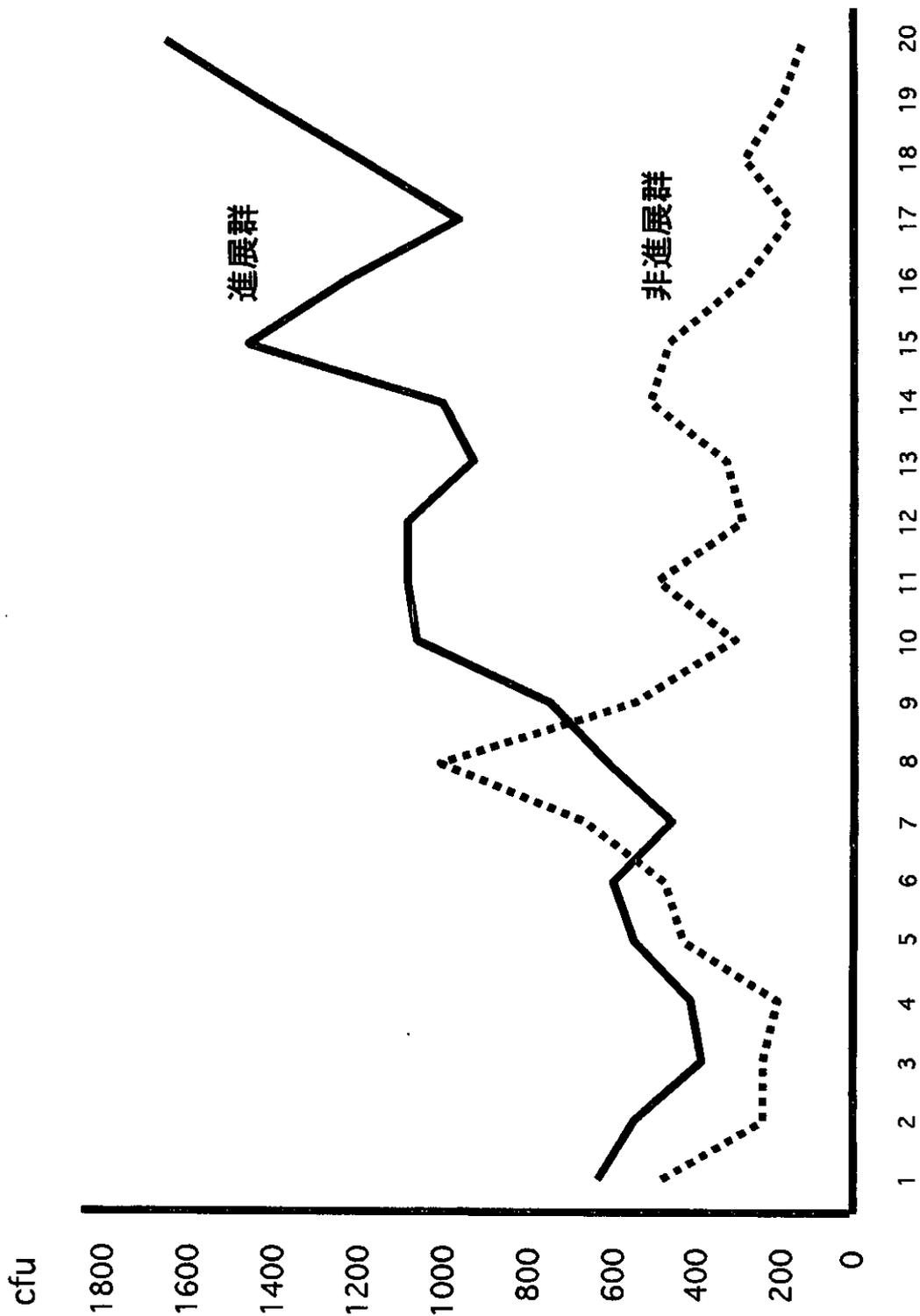


図5 進展群と非進展群の排菌経過

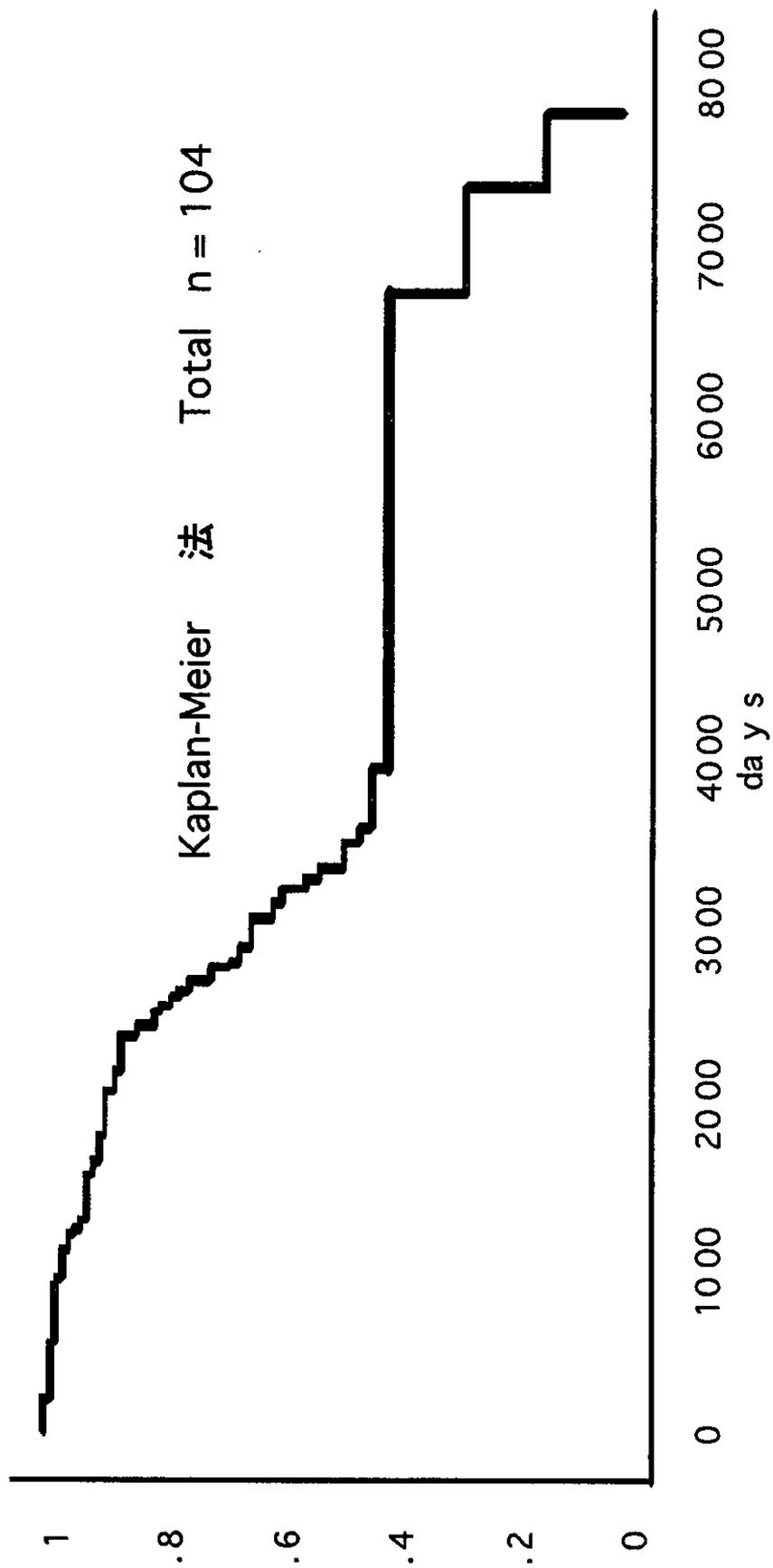


图6 MAC肺感染症生存曲线