

非定型抗酸菌 (*Mycobacterium avium-intracellulare* complex) 症患者における末梢血単核球サイトカイン産生能に関する研究

奈良県立医科大学第2内科学教室

友 田 恒 一

STUDIES ON PRODUCTION OF CYTOKINES BY PERIPHERAL BLOOD MONONUCLEAR CELLS FROM PATIENTS WITH *MYCOBACTERIUM* *AVIUM-INTRACELLULARE* COMPLEX INFECTION

KOICHI TOMODA

The Second Department of Internal Medicine, Nara Medical University

Received September 27, 1994

Abstract: Cytokine productions of peripheral blood lymphocytes (PBLs) and monocytes (PBMs) from patients with *Mycobacterium avium-intracellulare* complex (MAC) infection were assessed.

PPD-S prepared from *M. tuberculosis*, PPD-B from *M. intracellulare*, and PPD-Y from *M. kansasii*, were used as stimulants.

PBLs from patients with active MAC did not produce IFN- γ to a significant extent upon stimulation with any of three PPDs, while PBLs from patients with inactive MAC showed higher responses to each PPD with the maximal response to PPD-B antigens. On the other hand, PBLs from healthy controls produced IFN- γ with the maximal response to PPD-S.

Spontaneous release of both TNF α and IL-6 by PBMs from patients at the active stage was higher than those by the cells of the inactive stage patients or healthy controls. When PBMs were stimulated with MAC-derived PPD (PPD-B), increased TNF α production was obtained for PBMs of the active stage and decreased IL-6 production was seen for the cells of both the active and inactive stages.

Moreover, the *in vitro* increased production of TNF α upon stimulation with PPD-B seems to be related to persistent MAC infection, resulting in exhausted nutritional status.

These results suggest that *in vitro* ability of both PBLs to produce IFN- γ and that of PBMs to produce TNF α and IL-6 are closely related to the clinical stage of MAC infection.

Index Terms

atypical mycobacterial infection, *Mycobacterium avium-intracellulare* complex, interferon gamma, tumor necrosis factor alpha, interleukin-6

緒 言

近年難治性肺結核症の増加と共に非定型抗酸菌症の増加が報告されている¹⁾。本邦では今後呼吸器疾患を基礎とする非定型抗酸菌症はさらに増加することが予想され、

acquired immunodeficiency syndrome (AIDS) 末期の日和見感染症としても重要視されている。しかしヒト非定型抗酸菌感染における生体防御機構については不明な点が多い。

非定型抗酸菌は結核菌などと同様に細胞内寄生細菌に

属する。これら細胞内寄生細菌感染に対し、T細胞を中心とする細胞性免疫応答が生体防衛の中心であることはよく知られている。マウスの結核菌感染時には結核菌抗原に反応するCD4⁺T細胞のinterferon gamma (IFN- γ)産生能が結核免疫の機能的なマーカーになるとの報告²⁾がなされている。さらにIFN- γ が各種抗酸菌に対応する単球/マクロファージの細胞内殺菌活性に重要な役割を果たすとされているが、ヒト非定型抗酸菌感染での役割については不明な点が多い³⁾⁻⁷⁾。

一方単球/マクロファージ自身から産生される各種サイトカインも直接的または間接的に細胞内殺菌活性化に関与することが報告されている。

tumor necrosis factor alpha (TNF α), interleukin 6(IL-6)はともに単球/マクロファージを主な産生細胞とするサイトカインで、多機能を有し共通する作用も多く⁸⁾、結核菌をはじめとした抗酸菌に対するマクロファージの細胞内殺菌活性にも関与すること⁹⁾が知られている。しかし、これらのサイトカインのヒト非定型抗酸菌感染における役割は不明な点が多い³⁾⁵⁾⁶⁾¹⁰⁾¹¹⁾。

そこで非定型抗酸菌症のなかで最も高頻度の*Mycobacterium avium-intracellulare* complex (MAC)感染症とIFN- γ 、TNF- α およびIL-6との関連を検討する目的でMAC症患者のリンパ球および単球(monocytes)を分離し、以下の検討を行った。1)リンパ球の各種抗酸菌由来purified protein derivatives (PPD)抗原刺激下のIFN- γ 産生能を測定し、リンパ球の各種PPD抗原に対する反応性の解析を試みた。2)MAC由来のPPDに対する抗原刺激下における単球のTNF α 、IL-6産生能を測定し、MAC感染の臨床病態とこれらサイトカインとの関連を解析した。その結果新しい知見を得たので報告する。

対 象

1985年国立療養所非定型抗酸菌症共同研究班の診断基準¹²⁾を満たすMAC症20例を対象とした。抗結核薬を投与しても3か月以上喀痰培養陽性を持続し、自覚症状をはじめ臨床的に改善が認められない例を活動例(14例、62.6 \pm 12.1歳)、抗結核薬投与で自覚症状をはじめ臨床的に改善が認められ喀痰培養が陰性化した後3か月以上陰性が持続している例を非活動例(6例、65.3 \pm 17.3歳)、これらの症例と年齢を合致させた健常者(11例、69.7 \pm 8.5歳)を対照とした。対象としたMAC症患者は全例全身性基礎疾患のない患者であり、抗結核薬投与中であった。

方 法

A)リンパ球IFN- γ 産生能の測定

1)末梢血リンパ球の分離

ヘパリン加採血した静脈血に、同量のリン酸緩衝生理食塩水(PBS, PH 7.4)を加え混和後、Ficoll-Hypaque比重遠心法(400g, 30分間)で単核球(mononuclear cell)分画を採取し、PBSで3回洗浄後、10% fetal calf serum (FCS)(GIBCO社, Grand Island, N. Y., UK)を加えたRPMI 1640培養液(GIBCO社, Grand Island, N. Y., UK)に浮遊させた。MAC感染時に誘導されることが知られている抑制性マクロファージ¹³⁾の影響を少なくするためにこの細胞浮遊液から付着細胞を除去した。すなわちFCSにてコーティングしたプラスチックベドディッシュ(CORNING社25020, N. Y., UK)を用いて37°C, 5% CO₂のもとで1時間静置培養し付着細胞を除去した。回収した非付着細胞をPBSで3回洗浄、10% FCS加RPMI 1640培養液で10⁷/mlに調整し、リンパ球分画とした。

なおこの操作で調整した非付着細胞分画には平均3-5%単球が含まれることをflow cytometry解析で確認した。この割合は健常人と患者との非付着細胞分画において有意差は認められなかった。

2)培養上清の回収

10⁷/mlに調整したリンパ球浮遊液100 μ lを96穴平底プレート(CORNING社25860, N. Y., UK)に分注し、20 μ g/mlの濃度に培養液で調整した各種抗原PPD-S(*M. tuberculosis*由来, 日本BCG社, 東京), PPD-B(*M. intracellulare*由来), PPD-Y(*M. kansasii*由来)を100 μ l添加し、Tsuyuguchi¹⁴⁾らの方法に従って37°C 5% CO₂下で24時間培養して得た上清を回収し、-80°Cで測定まで保存した。対照にはPPD抗原非添加の培養上清を用いた。この上清中のIFN- γ 活性を、各リンパ球のPPD抗原に対する特異的IFN- γ 産生能とした。なおPPD B, PPD Yは田坂¹⁵⁾より精製したものを患与された。

3)IFN- γ 活性の測定

MEDGENIX社のenzyme linked immunosorbent assay(ELISA)キットを使用した。ヒトIFN- γ モノクロナール抗体を固層化してある96穴マイクロプレートに各サンプル、horseradish peroxidase(HRP)標識抗ヒトIFN- γ モノクロナール抗体を順次反応させ、最後にこの反応により形成した複合体中の酵素活性を測定することによりIFN- γ 活性を測定した。なおこのキットの測定限界は0.1 IU/mlであった。

B)単球 TNF α , IL-6 産生能の測定

1)末梢血単球の分離

リンパ球分離の過程で得た付着性細胞を単球成分として用いた。末梢血単核球を分離し、PBSで3回洗浄後10% FCSを加えたRPMI 1640培養液に浮遊させた。あらかじめFCSをコーティングしたプラスチックペトリディッシュ(CORNING社25020)を用いて細胞浮遊液を37°C 5% CO₂下で1時間静置培養した。培養後PBSにて3回洗浄し非付着細胞を十分に除去した。その後0.2% ethylenediamine tetraacetic acid, disodium salt(EDTA 2 Na), 0.5% FCSを添加したPBSを5ml加え4°C 15分間静置し、ピペッティング操作で付着細胞を回収した。PBSにて十分に洗浄した後、10% FCS添加RPMI 1640培養で5×10⁵/mlに調整し、単球分画とした。回収細胞の97%以上がペルオキシターゼ染色陽性でラテックス粒子貪食性を示した。

2)培養上清の回収と添加抗原

5×10⁵/mlに調整した単球浮遊液100 μ lを96穴平底プレート(CORNING社25860)に分注、20 μ g/mlの濃度に培養液で調整したPPD-B抗原を添加または非添加の後24時間培養し、上清を回収した。上清中のTNF α およびIL-6活性を各々の産生能とした。

3)TNF α , IL-6 活性の測定

いずれもELISA法を用いて測定した。まずTNF α 活性にはMEDGENIX社の測定キットを使用した。ヒトTNF α モノクローナル抗体を固層化してある96穴マイクロプレートに各サンプル、HRP標準抗ヒトTNF α モノクローナル抗体を順次反応させ、最後にこの反応により形成した複合体中の酵素活性を測定することによりTNF α 活性を測定した。IL-6活性にはトール・フジパイオニクス社の測定キットを使用した。ヒトIL-6モノクローナル抗体を固層化してある96穴マイクロプレートに各サンプル、ビオチン標識抗ヒトIL-6モノクローナル抗体、アビジン-HRP複合体を順次反応させ、最後にこの反応により形成した複合体中の酵素活性を測定することによりIL-6活性を測定した。なお測定限界はTNF α 活性は1.9 pg/ml、IL-6活性は10 pg/mlであった。

4)臨床像の指標

1)活動例の喀痰排菌陽性期間：検討施行までの排菌持続期間とした。

2)栄養状態の指標：著者ら¹⁶⁾¹⁷⁾は各種栄養状態の指標のうち血漿アミノ酸インバランスの指標であるFischer比(分枝鎖アミノ酸(BCAA)/芳香族アミノ酸(AAA))がヒト抗酸菌症の栄養障害の重要な指標である

ことを報告しているので、MAC症の栄養障害の指標としてこのFischer比を吉川ら¹⁷⁾の方法に準じて測定した。

5)統計学的処理

測定値は平均±標準偏差で示し、統計学的検討にはStudent *t*検定を用い、危険率両側5%で有意とした。

結 果

A)リンパ球 IFN- γ 産生能

1)抗原非添加時の IFN- γ 産生能(Fig. 1)

健常者のIFN- γ 産生能は0.7±0.2 IU/ml、活動例(active MAC)患者では0.6±0.2 IU/ml、非活動例(inactive MAC)患者は1.5±0.7 IU/mlで、非活動期患者のリンパ球は活動期例や健常者のリンパ球に比べて産生能は高い傾向があった。

2)各種抗原添加時の IFN- γ 産生能(Fig. 2)

a)健常者の場合

PPD-S抗原刺激時にIFN- γ 産生能は11例中6例は亢進傾向にあり、さらにそのうち3例ではPPD-Y抗原添加時にも亢進が見られた。健常者の約半数でPPD-Sに対し反応するT細胞が存在していると考えられた。しかし、各種抗原添加によってもIFN- γ 産生の亢進がみられない症例もあった。

b)活動期患者の場合

用いた3種いずれの抗原刺激に対しても亢進はみられなかった。

c)非活動期患者の場合

PPD-B抗原刺激時に産生能はPPD-S、PPD-Y刺激時と比較して全例で亢進していた。特に6例中2例では

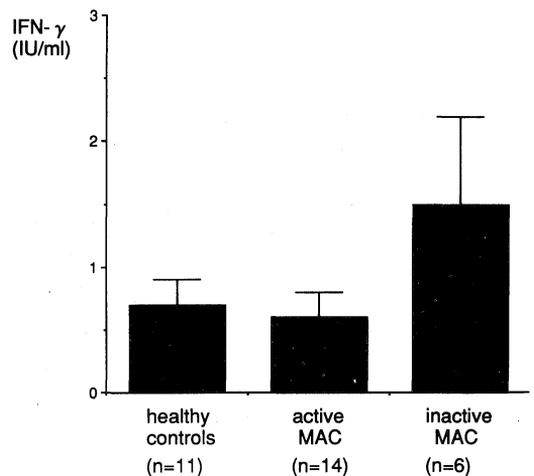


Fig. 1. Spontaneous IFN- γ production by PBLs.

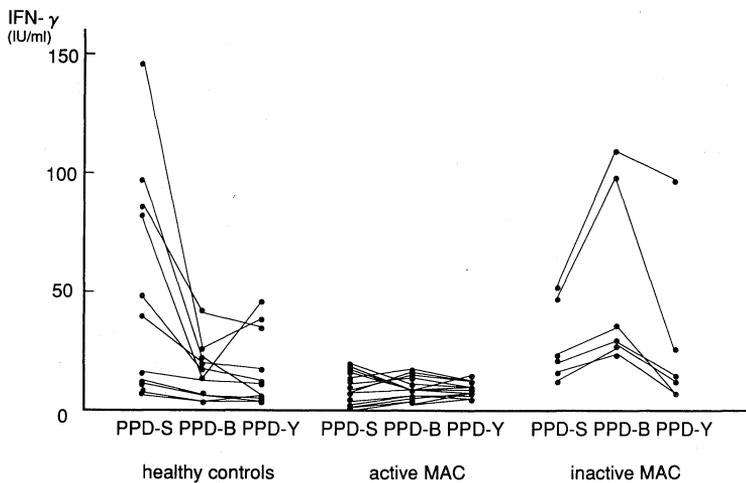


Fig. 2. IFN- γ production by PBLs stimulated by PPDs from three mycobacteria (PPD-S; *M. tuberculosis*, PPD-B; *M. intracellulare*, PPD-Y; *M. kansasii*).

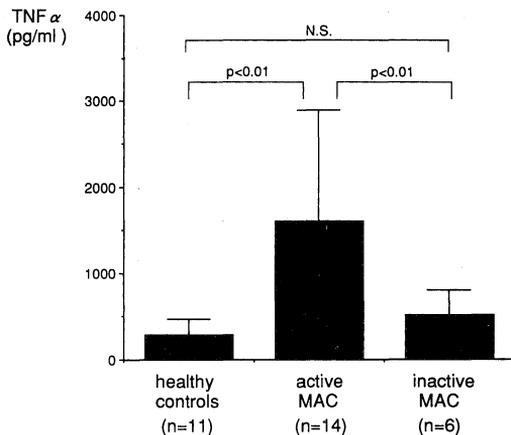


Fig. 3. Spontaneous TNF α production by PBMs.

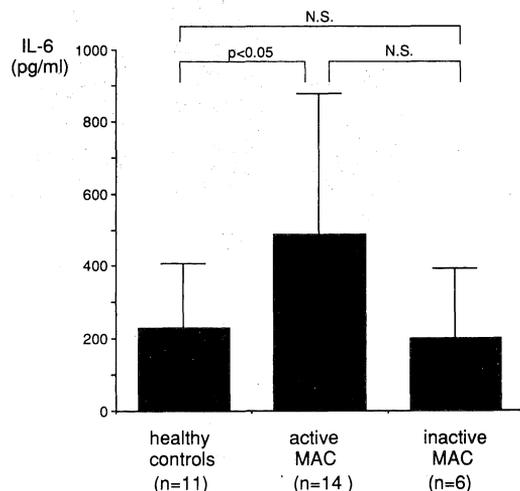


Fig. 4. Spontaneous IL-6 production by PBMs.

Table 1. Comparison of IFN- γ production by PBLs stimulated by PPD-B among the active and inactive MAC patients, and healthy controls

	Mean \pm SD (IU/ml)
a) Healthy controls	11.2 \pm 11.9
b) Active MAC	9.7 \pm 16.2
c) Inactive MAC	38.6 \pm 40.4

著明な亢進がみられ、この2例では PPD-S, PPD-Y 添加時にも亢進がみられた。

3) PPD B 抗原刺激時の IFN- γ 産生能の比較

3 群間(活動期患者, 非活動期患者, 健常者)の PPD-B

抗原添加時の IFN- γ 産生能には特に有意差は認められなかったが、非活動期患者で 38.6 \pm 40.4 IU/ml と最も高値で活動期患者の約 4 倍の値を示した (Table 1).

B) 単球 TNF α , IL-6 産生能

1) 抗原非刺激時の TNF α , IL-6 産生能の検討

1) TNF α 産生能の比較 (Fig. 3)

活動例(1601 \pm 1290 pg/ml)が最も亢進し、非活動例(517 \pm 281 pg/ml)、健常者(289 \pm 177 pg/ml)に比して有意に高値であった (p<0.01).

2) IL-6 産生能の比較 (Fig. 4)

活動例(488±390 pg/ml)が最も亢進し、健常者(229±179 pg/ml)に比して有意に高値であり(p<0.05)、非活動例(202±190 pg/ml)に比しても高値であった。

II) PPD-B 刺激下での検討

1) TNFα 産生能の比較(Fig. 5)

活動例(5182±2300 pg/ml)が最も亢進し、健常者(3182±1324 pg/ml)に比して有意に高値であった(p<0.05)が、非活動例(4661±1938 pg/ml)とは有意差がなかった。

2) IL-6 産生能の比較(Fig. 6)

TNFα とは異なり、健常者(3988±982 pg/ml)に比し

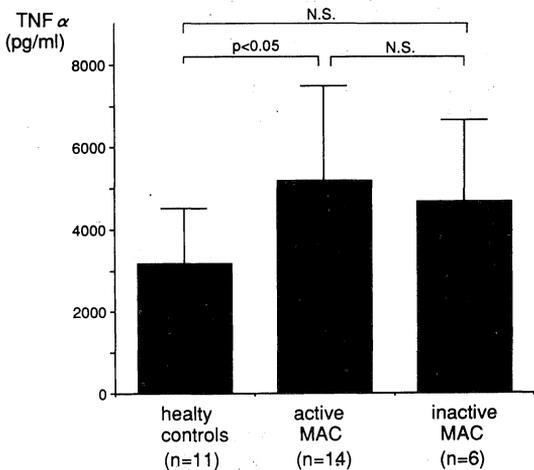


Fig. 5. Production of TNF α by PBMs stimulated by PPD-B.

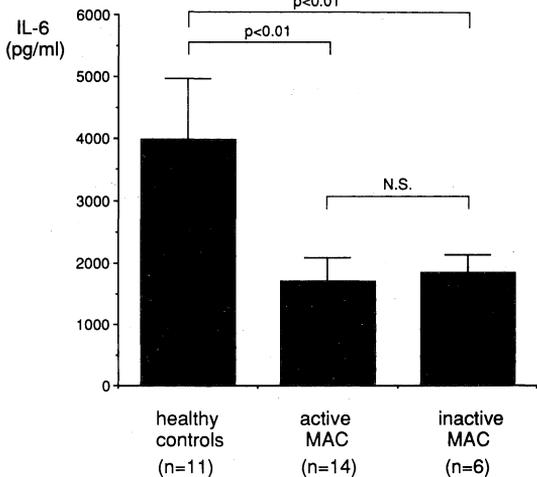


Fig. 6. IL-6 production by PBMs stimulated by PPD-B.

て活動例(1702±381 pg/ml)、非活動例(1839±288 pg/ml)とも有意に低下していた(p<0.01)。

III) 活動例の排菌期間と PPD-B 刺激下での TNFα, IL-6 産生能との関係

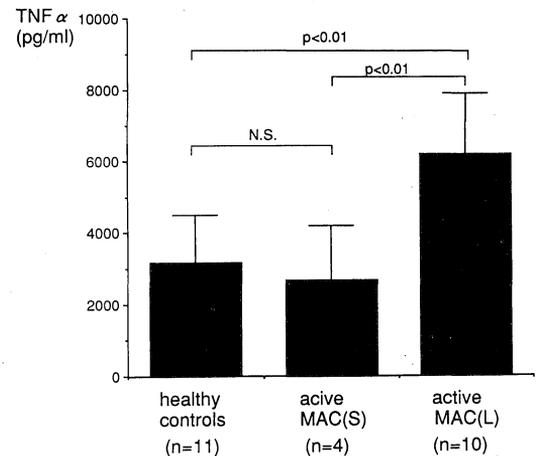
排菌期間1年未満(4例)と1年以上(10例)との2群に分けて比べると、TNFα 産生能は排菌期間1年未満例(2629±1507 pg/ml)では健常者(3182±1324 pg/ml)とはあまり変わらず、排菌期間1年以上の症例(6178±1740 pg/ml)では健常者や排菌期間1年未満例に比して各々有意に亢進が認められた(Fig. 7)(p<0.01). IL-6 産生能は健常者(3988±982 pg/ml)に比していずれの患者群とも有意に低かったが(p<0.01)、排菌期間1年未満例(1555±310 pg/ml)と排菌期間1年以上の症例(1758±198 pg/ml)とに有意差は認められなかった(Fig. 8)

IV) Fischer 比と TNFα, IL-6 産生能との関係

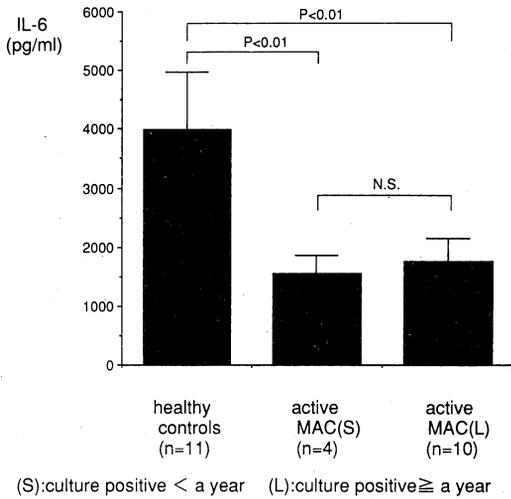
活動期に PPD-B 刺激下での TNFα 産生能と Fischer 比と有意な逆相関が認められ(r=-0.634)(p<0.05)(Fig. 9), 栄養障害が高度なほど TNFα 産生が亢進していることが認められた。なお抗原刺激下での IL-6 産生能と Fischer 比とは有意な相関は認められなかった(Fig. 10)。

考 察

IFN-γ は活性化 T リンパ球や NK 細胞から産生されるサイトカインとして知られ¹⁸⁾, マクロファージ¹⁹⁾ や T リンパ球の活性化²⁰⁾ 作用を有している。Dalton et al.⁴⁾ は IFN-γ 遺伝子をノックアウトしたマウスを用いた実



(S): culture positive < a year (L): culture positive ≥ a year
Fig. 7. Relation between TNF α production stimulated by PPD-B and duration isolated MAC from sputa.



(S): culture positive < a year (L): culture positive \geq a year
Fig. 8. Relation between IL-6 production stimulated by PPD-B and duration isolated MAC from sputa.

験から抗酸菌感染に対する生体防御での IFN- γ の重要性を報告している。一方、富岡・斉藤³⁾ はマクロファージの抗酸菌に対する殺菌能亢進作用は単独では発現せず、他のサイトカインも必要ではないかと推察している。MAC 感染症における IFN- γ の役割は未だ定かではない⁵⁾⁻⁷⁾ が、これらの事実は IFN- γ が MAC 感染に対する生体防御と密接に関与している可能性を示唆するものである。

一般に BCG 菌体成分は IFN- γ 産生を誘導し得ることが知られ²¹⁾²²⁾、マウス結核菌感染時には結核菌抗原に反応する CD 4⁺ T 細胞の IFN- γ 産生能が結核免疫の機能的なマーカーになる²⁾との報告がなされている。そこで著者はまず MAC 感染者末梢血リンパの 3 種の抗酸菌に由来する PPD 抗原に対する反応性を IFN- γ 産生能を指標として検討し、ヒト MAC 感染の T リンパ球機能の解析を試みた。抗原非添加時の IFN- γ 産生能の比較から非活動症例患者リンパ球は *ex vivo* でも一部活性化されていることが認められた。また非活動症例では特に *M. intracellulare* 由来の PPD 抗原 (PPD-B) に対し、また健康人では *M. tuberculosis* 由来の PPD 抗原 (PPD-S) に対しても反応性を示し、IFN- γ 産生能が亢進していた。一方、活動期患者リンパ球の IFN- γ 産生能は 3 種いずれの PPD 抗原に対して有意の IFN- γ 産生能が認められないという新知見を得た。抗酸菌菌体成分による細胞性免疫抑制作用の存在²³⁾⁻²⁵⁾ も知られており、MAC 活動期患者の IFN- γ 産生能低下と何らかの関連があるものと思われた。特に MAC 活動期患者の PPD 応答性

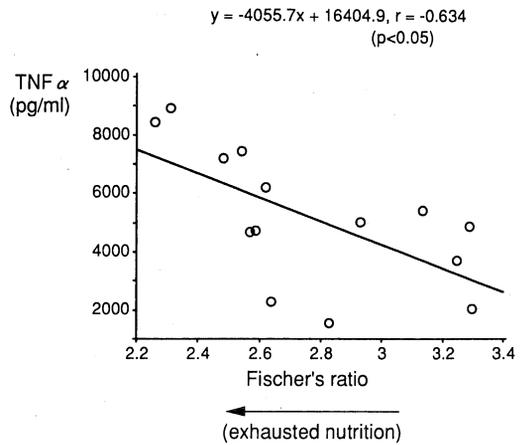


Fig. 9. Relation between TNF α production by PBMs stimulated by PPD-B and Fischer's ratio in active MAC stage.

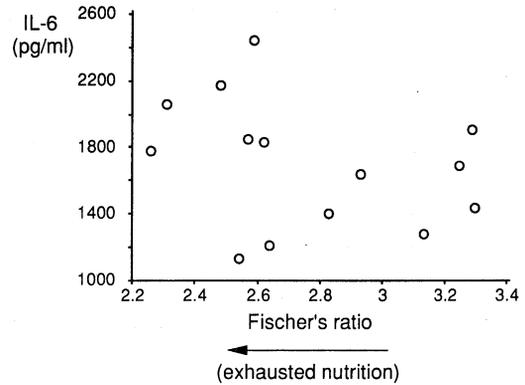


Fig. 10. Relation between IL-6 production of PBMs stimulated by PPD-B and Fischer's ratio in active MAC stage.

の低下は PPD-B に特異的ではなかったことから、MAC 感染で誘導されると報告されているサプレッサー細胞の存在²⁶⁾²⁷⁾によって、CD 4⁺ T 細胞機能が非特異的に抑制されているものと考えられた。

TNF α , IL-6 はともにマクロファージまたは単球を主な産生細胞とするサイトカインで、抗酸菌細胞内殺菌活性に関与することが知られている。ヒト細胞を用いた *in vitro* における MAC 細胞内殺菌活性に直接及ぼす作用に対しては TNF α は活性亢進をもたらすが、IL-6 は活性を抑制する⁹⁾¹⁰⁾と報告されている。しかし TNF α はこの殺菌反応を活性化しない³⁾という報告や、IL-6 は間接的には殺菌反応を亢進させる¹¹⁾との報告もみられる。塚口²⁸⁾らは肺結核患者の末梢血単球の TNF α , IL-6 産

生能を測定し、これらの産生能は肺結核病態と深く関連していると報告している。TNF α 、IL-6ともに、MAC感染と密接な関わりを持つと考えられているが、ヒトMAC感染に対する作用は不明な点も多い。そこで著者は活動期、非活動期患者の末梢血単球のTNF α 、IL-6産生能を検討し臨床像との関連を中心にヒトMAC感染症における役割を検討した。

まずTNF α 産生能は抗原非刺激時と抗原刺激下いずれも排菌持続例に亢進が認められるという新たな知見を得た。この排菌持続例では抗原刺激下のTNF α 産生能は排菌持続期間が1年未満では正常者の産生能とほぼ等しかったが、排菌期間1年をこえる長期排菌例ではTNF α 産生能の著明な亢進が認められた。

MAC症の栄養障害の指標となるFischer比と排菌持続例の抗原刺激下TNF α 産生能とは有意な逆相関が認められた。つまり栄養障害が高度なほどTNF α 産生が亢進し、MAC感染と栄養障害との関連を初めて明確にした。生理的濃度ではTNF α はMACの細胞内増殖を抑制する⁹⁾¹⁰⁾が、過剰なTNF α 産生は肺結核患者の栄養障害²⁸⁾や、敗血症時の組織障害²⁹⁾を引き起こすことが報告されている。本研究の結果から、TNF α はMAC感染初期にMAC殺菌活性亢進のため誘導されるが、感染が持続するとTNF α が生理的濃度を越えて産生され、過剰なTNF α による栄養障害の悪化など生体への悪影響を招き、MAC病態持続はさらには悪化を助長しているものと思われる。

IL-6産生能は抗原非刺激下では活動例のみに産生亢進が認められた。しかし抗原刺激下では活動例、非活動例とも健常者甚至比産生能の低下が認められ、抗原刺激時と非刺激時との結果が異なる傾向を示した。IL-6は急性反応物質の肝臓での産生を亢進させ、血清のIL-6値は生体の炎症反応との関連があること³⁰⁾が知られている。活動期患者の単球のみ抗原非刺激時において、TNF α のみならずIL-6の産生能亢進が認められたことは、MAC感染活動期患者における炎症反応を反映した結果であると考えられる。健常人単球はMACの菌体成分に反応してIL-6を産生し得ること³¹⁾が報告されている。本研究で明かな様に、健常者単球がPPD-Bに反応してIL-6を有意に産生したにもかかわらず活動期および非活動期患者の単球ではPPD-B刺激に対するIL-6産生低下が認められた。IL-6は上述のように急性炎症反応に関与するだけでなく、T細胞の分化誘導、特にcytotoxic T細胞の誘導をもたらすこと³⁰⁾も報告され、このIL-6産生誘導の低下は、本研究ですでに明かにしたMAC感染活動期におけるT細胞での非特異的な

PPD抗原反応性低下をはじめとしたT細胞機能抑制と深く関わっている可能性が推測された。

本研究の結果からMAC感染活動期にはT細胞のPPD非特異的IFN- γ 産生能の低下、MAC由来PPD抗原刺激下での単球のTNF α 産生能亢進とIL-6産生能低下が存在し、MAC感染の病態の活動性と深い関連があること、TNF α の産生能亢進の持続と栄養障害や排菌期間と関連が認められ、MAC感染の持続と密接な関連があるなどの新しい知見が得られた。また非活動期にはT細胞のPPD反応性の回復、単球のTNF α 産生能の低下傾向が認められMAC非活動型状態への変化と深い関わりがあるとの新しい知見も得た。

MAC症に対する生体防御機構と病態の把握という観点からPPDに対するT細胞反応性の回復や単球のTNF α 産生亢進の正常化が病態改善の契機であるのか結果としての現象であるのかを解明することが今後の課題である。

結 語

1) *Mycobacterium avium intracellulare* complex (MAC)症患者におけるリンパ球の各種抗酸菌由来PPD抗原(*M. tuberculosis*由来のPPD-S, *M. intracellulare*由来のPPD-B, *M. kansasii*由来のPPD-Y)抗原特異的IFN- γ 産生能を解析した。

非活動期MAC症患者リンパ球は*ex vivo*において弱いながらも活性化が認められた。各種PPD抗原刺激下では健常者リンパ球はPPD-S抗原に対した非活動期MAC患者リンパ球はPPD-B抗原に対し反応性がみられたが活動期MAC症患者のリンパ球は三種いずれのPPDに対しても反応性は認められなかった。

2)末梢血単球TNF α およびIL-6産生能をMAC由来のPPD(PPD-B)抗原刺激または非刺激下で測定し、臨床像との関連を検討した。非刺激下ではTNF α 産生能は活動例、非活動例、健常者の順に高く、IL-6産生能は活動例、健常者、非活動例の順が高かった。抗原刺激下では、まずTNF α 産生能は活動例に亢進し特に排菌持続期間が長期の症例ほど亢進しており、栄養障害の指標である血漿アミノ酸インバランスの指標であるFischer比(BCAA/AAA)と有意な逆相関が認められた。IL-6産生能は活動例、非活動例とも対照例に比べ有意な産生能低下が認められた。

IFN- γ 産生能からみたMAC症患者リンパ球のPPD抗原に対する反応性は、活動期患者でいずれの抗酸菌由来PPD抗原に対しても健常者や非活動期患者と異なり低いことが認められ、単球TNF α 産生能は活動期に最

も亢進し、排菌期間が長期なほどまた栄養不良例ほど高値であった。IL-6産生能は健常者に比べ活動期、非活動期ともに低下が認められるなどの新しい知見を得ることができた。

なお本論文の要旨の一部は第68回日本結核病学会総会(1993年4月東京)、1994年度アメリカ胸部疾患学会(1994年5月ポストン)にて発表した。

謝 辞

稿を終えるにあたり、御指導、御校閲を賜りました奈良県立医科大学第2内科学教室成田亘啓教授に深甚なる謝意を捧げるとともに、御校閲、御助言を賜りました奈良県立医科大学細菌学教室榎葉周三教授、奈良県立医科大学第3内科学教室辻井 正教授に深謝申し上げます。さらに研究の遂行について終始御指導を頂いた米田尚弘助手に深謝します。

当研究に対しご協力頂きました広島大細菌学教室田坂博信助教授、奈良県立医科大学細菌学教室喜多英二助教授に深謝致します。

また日々御協力頂いた奈良県立医科大学第2内科学教室諸兄姉に深謝致します。

文 献

- 1) 国立療養所非定型抗酸菌症共同研究班：国療非定型抗酸菌症共同研究班1986年度報告。結核 63 : 493-499, 1988.
- 2) Kawamura, I, Tsukada, H., Yoshikawa, H., Fujita, M., Nomoto, K. and Mitsuyama, M. : IFN- γ -producing ability as a possible marker for the protective T cells against *Mycobacterium bovis* BCG in mice. J. Immunol. 148 : 2887-2893, 1992.
- 3) 富岡治明, 齊藤 肇 : 非定型抗酸菌症の発症要因に関する基礎的研究。日本細菌学雑誌 46 : 827-837, 1991.
- 4) Dalton, D. K., Pitts-Meek, S., Keshav, S., Figari, I. S., Bradley, A. and Stewart, T. A. : Multiple defects of immune cell function in mice with disrupted interferon- γ genes. Science 259 : 1739-1742, 1993.
- 5) Denis, M. : Growth of *Mycobacterium avium* in human monocytes : identification of cytokines which reduce and enhance intracellular microbial

growth. Eur. J. Immunol. 21 : 391-395, 1991.

- 6) Shiratsuchi, H., Johnson, J. L. and Ellner, J. J. : Bidirectional effects of cytokines on the growth of *Mycobacterium avium* within human monocytes. J. Immunol. 146 : 3165-3170, 1991.
- 7) Bermudez, L. E. M. and Young, L. S. : Tumor necrosis factor, alone or in combination with IL-2, but not IFN- γ is associated with macrophage killing of *Mycobacterium avium* complex. J. Immunol. 140 : 3006-3013, 1988.
- 8) Dinarello, C. A. : Interleukin-1 and Interleukin-1 antagonism. Blood 77 : 1627-1652, 1991.
- 9) Yoneda, T., Toossi, Z., Ellner, J. J., Yoshikawa, M., Tomoda, K., Tsukaguchi, K., Tokuyama, T., Fu, A., Fukuoka, K., Nakaya, M. and Narita, N. : Effect of a panel of cytokines on intracellular killing of *Mycobacterium tuberculosis* within human monocytes. Am. J. Respir. Crit. Care Med. 149 : A 873, 1994.
- 10) 鈴木克洋, 山本 誉, 弓場吉幸, 佐藤敦夫, 久保嘉朗, 村山尚子, 久世文幸 : ヒト肺胞マクロファージの *M. avium* Complex 増殖抑制作用に及ぼす各種サイトカインの影響。結核 67 : 63-69, 1992.
- 11) Fleisch, I. E. A. and Kaufmann, S. H. E. : Stimulation of macrophage activities by B cell stimulatory factor 2 (interleukin-6). Infect. Immun. 58 : 269-271, 1991.
- 12) 国立療養所非定型抗酸菌症共同研究班 : 非定型抗酸菌症(肺感染症)の診断基準。結核 60 : 51, 1985.
- 13) 富岡治明, 齊藤 肇 : *Mycobacterium avium* complex 感染マウスに誘導される免疫抑制性マクロファージの性状。結核 67 : 47-54, 1992
- 14) Tsuyuguchi, I., Shiratsuchi, H., Okuda, Y. and Yamamoto, Y. : An analysis of *in vitro* T cell responsiveness in nontuberculous mycobacterial infection. Chest 94 : 822-829, 1988.
- 15) 田坂博信 : PPD-Bによる皮内反応。結核 68 : 47-50, 1993.
- 16) 友田恒一, 米田尚弘, 塚口勝彦, 吉川雅則, 夫彰啓, 成田亘啓 : 一次型及び二次型非定型抗酸菌症の病態について。結核 68 : 559-564, 1993.
- 17) 吉川雅則, 米田尚弘, 塚口勝彦, 友田恒一, 成田亘啓 : 肺結核症における栄養障害と細胞性免疫能の関連。結核 69 : 307-316, 1994.
- 18) Vilcek, J., Gray, P. W., Rinderknecht, E. and

- Sevastopoulos, C. G. : Interferon γ : A lymphokine for all seasons. *Lymphokines* **11** : 1-32, 1985.
- 19) Schreiber, R. D. and Celada, A. : Molecular characterization of interferon γ as a macrophage activating factor. *Lymphokines* **11** : 87-118, 1985.
- 20) Lui, Y. and Janeway, C. A. Jr. : Interferon γ plays a critical role in induced cell death of effector T cell : a possible third mechanism of self-tolerance. *J. Exp. Med.* **172** : 1735-1730, 1990.
- 21) Tokunaga, T., Yano, O., Kuramoto, E., Kimura, Y., Yamamoto, T., Kataoka, T. and Yamamoto, S. : Synthetic oligonucleotides with particular base sequences from the cDNA encoding proteins of *Mycobacterium bovis* BCG induce interferons and activate natural killer cells. *Microbiol. Immunol.* **36** : 55-66, 1992.
- 22) Yamamoto, S., Kuramoto, E., Shimada, S. and Tokunaga, T. : *In vitro* augmentation of natural killer cell activity and production of interferon- α/β and $-\gamma$ with deoxy ribonucleic acid fraction from *Mycobacterium bovis* BCG. *Jpn. J. Cancer Res.* **79** : 866-873, 1988.
- 23) Kleinhenz, M. E., Ellner, J. J. and Spagnuolo, P. J. : Suppression of lymphocyte responses by tuberculous and mycobacterial arabinogalactan. *J. Clin. Invest.* **68** : 153-162, 1981.
- 24) Brownback, P. E. and Barrow, W. : Modified lymphocyte response to mitogens after intraperitoneal injection of glycopeptidolipid antigens from *Mycobacterium avium* complex. *Infect. Immun.* **56** : 1044-1050, 1988.
- 25) Pabst, M. J., Gross, J. M. and Grozna, J. P. : Inhibition of macrophage priming by sulfatide from *Mycobacterium tuberculosis*. *J. Immunol.* **140** : 634-640, 1988.
- 26) Tsuyuguchi, I., Kawasumi, H., Takashima, T., Tsuyuguchi, T. and Kishimoto, S. : *Mycobacterium avium*-*Mycobacterium intracellulare* complex induced suppression of T-cell proliferation in vitro by regulation of monocyte accessory cell activity. *Infect. Immun.* **58** : 1369-1378, 1990.
- 27) 中村玲子 : 非定型抗酸雪菌の前感染によるBCG免疫の抑制. *結核* **68** : 361-365, 1983.
- 28) 塚口勝彦, 米田尚弘, 吉川雅則, 成田亘啓, 榎泰義, 宮崎隆治, 白井史朗, 北村 曠, 塚口真理子 : 活動性肺結核患者における末梢血単球IL-1及びTNF産生能と栄養障害との関連性. *結核* **66** : 477-484, 1991.
- 29) Wagge, A., Halstensen, A. and Espevik, T. : Association between tumor necrosis factor in serum and fatal outcome in patients with meningococcal disease. *Lancet* **1** : 355-357, 1987.
- 30) Kishimoto, T. : The biology of interleukin-6. *Blood* **74** : 1-10, 1989.
- 31) Blanchard, D. K., Michelini-Norris, M. B., Pearson, C. A., Freitag, C. S. and Djeu, J. Y. : *Mycobacterium avium-intracellulare* induces interleukin-6 from human monocytes and large granular lymphocytes. *Blood* **77** : 2218-2224, 1991.