

結核性胸水における adenosine deaminase (ADA) 活性の高値と PPD 特異的 T細胞増殖反応

和田 茂比古
信州大学医学部第1内科学教室
(主任: 草間 昌三教授)

High ADA Activity in Tuberculous Pleural Effusions and PPD-specific T Cell Proliferative Responses

Shigehiko WADA

Department of Internal Medicine, Shinshu University School of Medicine
(Director: Prof. Shozo KUSAMA)

ADA activity in pleural effusions was determined in 85 patients with various types of pleurisy. The activity in tuberculous pleural effusions was over 35 units (n=20), but was less than 35 units in untreated carcinomatous pleural effusions (n=15). The data suggest that estimation of ADA activity will be useful for the differential diagnosis of tuberculous and carcinomatous pleurisy. The activity in tuberculous pleural effusions decreased with decrease in the effusions. It was also found that pleural effusions in other diseases such as pyothorax (n=5), lymphoproliferative disease (n=4), and treated lung cancer (n=4) had high ADA activity. The relationship between ADA activity and T cell response to purified protein derivative (PPD) in pleural effusions was also studied, and the activity was found to be derived from PPD-specific T cell proliferation. These results suggest that the high ADA activity has an intimate relationship with the local T cell immune response in tuberculous pleural effusions. *Shinshu Med. J.*, 35: 592-600, 1987
(Received for publication February 18, 1987)

Key words: pleural effusion, adenosine deaminase, tuberculous pleurisy, purified protein derivative

胸水, アデノシンデアミナーゼ, 結核性胸膜炎, 精製ツベルクリン

緒 言

結核性胸膜炎は結核菌による胸膜の炎症により、滲出性胸水が貯留し、発熱、胸痛、咳嗽、呼吸困難等の臨床症状が出現する疾患である。結核菌を胸水から検出できる率は約25%¹⁾と低く、胸膜生検にて結核性肉芽腫が認められる率は約70%²⁾である。現在、胸膜生検は結核性胸膜炎と悪性腫瘍などとの鑑別が困難な場

合に施行されるため、結核性胸膜炎の40%以上が臨床症状と検査所見により臨床的に診断され治療されている³⁾⁴⁾。結核性胸水の診断には、色調、フィブリンの析出の有無、タンパク量、リバルタ反応、LDHおよび細胞成分などの検討がなされ、これらの検索は他疾患との鑑別に有用である。Pirasら⁵⁾により、結核性胸水の adenosine deaminase [3. 5. 4. 4.] (ADA) 活性が高値を示すとはじめて報告されたが、胸水ADA

活性が結核性胸膜炎において高値を示す報告は多い(6-12)。さらに、ADA は ADA 欠損症に重症複合免疫不全症候群の合併した症例¹³⁾があることにより免疫系とも関わりのある酵素であることが報告されている¹⁴⁾。今回、著者は、結核性胸膜炎における ADA 活性高値の臨床的意義について、各種疾患の胸水 ADA 活性と比較し検討した。さらに、結核性胸膜炎の胸水 ADA 活性の高値と胸水中 T 細胞の purified protein derivative (PPD) 特異的増殖反応との関係について検討し、興味ある知見をえたので報告する。

対象と方法

各種疾患の胸水 ADA 活性

対象は、昭和56年4月より昭和60年7月まで当科および関連施設に入院した胸水貯留患者85例(15~86歳、平均58歳、男58例、女27例)である。疾患の内訳は、結核性胸膜炎20例、肺癌36例、その他の悪性腫瘍14例(悪性神経線維腫、膀胱癌、胆嚢癌、胃癌、乳癌、卵巣癌、肝癌、悪性組織球増殖症、リンパ芽球性リンパ腫、びまん性中細胞型リンパ腫、白血性リンパ肉腫、悪性胸腺腫、慢性リンパ球性白血病兼胃癌、肺癌兼胃癌の各1例)、膿胸5例、コレステリン胸膜炎2例、ウェグナー肉芽腫2例、全身性エリテマトーデス(SLE)、心不全、血胸、肺梗塞、肺炎、原因不明の各1例である。診断は臨床像、胸水の性状、細菌学的検査、病理組織学的所見によった。胸水の性状は、心不全と悪性組織球増殖症の胸水は濾出液であり、他の83例の胸水は滲出液であった。対照に、健常者(18~56歳、平均27歳、男66名、女27名)の血清を用いた。

上記の各種疾患の症例のうち未治療例46例を、A群：結核性胸膜炎、B群：肺癌、C群：肺癌を除く悪性腫瘍、D群：膿胸・血胸・コレステリン胸膜炎、E群：他の疾患の5群に分け、各群の胸水 ADA 活性を比較検討した。

つぎに、各種疾患の治療中に貯留した胸水の診断における胸水 ADA 活性の意義についても知る目的で、治療例(抗癌剤、放射線療法、副腎皮質ステロイドホルモン剤、抗結核剤による)39例を含む85例を対象に胸水 ADA 活性の高値例と疾患の関係について検討した。8例の結核性胸膜炎においては、その経過中の胸水 ADA 活性の推移を検討した。

胸水および末梢血の ADA 活性は下記の方法で測定した。

胸水 ADA 活性測定法

ADA は基質に adenosine を用いるとき、つぎの反応を触媒する。



今回は、Goldberg の方法¹⁵⁾をもとに検討を加えた測定法によった。測定原理は上記の反応における基質の濃度減少を吸光度により定量する方法¹⁶⁾の応用である。

検体は、胸水を採取後に直ちに400 G、15分間遠心分離し、その上清を測定時まで -20°C に凍結保存した。

測定は、No.1~4の4本の試験管に、リン酸ナトリウム緩衝液(0.1M, pH7.0)を3.0mlずつ分注し、No.1の試験管にリン酸ナトリウム緩衝液0.05mlを、No.2からNo.4の試験管には adenosine 液(0.8mg/ml)を0.05mlずつ入れた。各試験管に胸水を0.05mlずつ加え(基質の最終濃度が $47\mu\text{M}/\text{l}$)、よく混和後、石英セル(光路長10mm)に移し、直ちに分光光度計(Coleman Model 55B, Perkin Elmer)でNo.1の試料盲検液を対照にNo.2から4の各被検液について265nmでの吸光度(A_{265})を測定し、反応開始時の値aを求めた。ついで、試料盲検液と被検液をそれぞれの試験管に戻し、 37.0°C の恒温水槽で60分間温浴した後、直ちに各被検液の A_{265} を再測定し、反応後の値bを求めた。

ADA 活性値の算出

No.2から4の被検液の A_{265} の変化量($a-b$)を求め、1,000倍しその平均値を、胸水0.05ml当たりの ADA 活性値とした。この値が1であるときの酵素活性を1単位(U)とした。

酵素濃度と ADA 活性

酵素濃度と ADA 活性の関係については、あらかじめ胸水の希釈列を作製し、おのおの ADA 活性を測定した結果、ADA 活性は胸水中の ADA 濃度に比例した($r=0.99$)。本法による測定の上限は100単位であるため、それ以上の活性を示す検体については希釈して再測定するか、セル恒温装置(Perkin Elmer)と自記記録計(日本電子工業)を用いて反応の初速度を測定し、ADA 活性を求めた。

再現性

同一胸水の ADA 活性を連続して15回測定した結果、 55.7 ± 1.5 単位 (mean (M) \pm standard deviation (SD))であり、変動係数は2.69%であった。

また、5検体の胸水の ADA 活性を10日の間隔において2回測定したが、1回目は 32.6 ± 37.9 単位

(M±SD), 2 回目は 34.2±37.8 単位であり, 両者の測定結果に有意な差はなく (p<0.01), 良好な再現性がえられた。検体は -20°C に保存した。

他の測定法との相関

本法による胸水 ADA 活性測定値 (X U) と AD test maruho (藤井法, マルホKK) による測定値 (Y IU/l)⁸⁾ を比較検討した結果, 両法の相関係数は 0.99 (N=10), 回帰式は Y=1.5X-1.9 であった。

胸水中単核球の PPD 特異的増殖反応液上清の ADA 活性

結核性胸膜炎の胸水単核球を, 以前に報告した方法¹⁷⁾にしたがって PPD 刺激下に細胞培養し, その培養上清の ADA 活性を測定した。略述すると, ヘパリン加胸水を RPMI 1640 (GIBCO, NY) により 2 から 3 倍に希釈後, Lymphoprep (Nyegaard Co, Oslo) に重層し, 400G, 30 分間遠心後, 単核球層を採取し, RPMI 1640 でさらに 3 回洗浄した。その後, streptomycin (100µg/ml), penicillin (100U/ml), L-glutamine (2mM) と 10% 非働化 fetal calf serum (FCS) (GIBCO, NY) と RPMI 1640 を加えた complete RPMI 1640 (C-RPMI) 中に単核球を浮遊させた。2×10⁶/ml に調整した単核球浮遊液 (100µl) を PPD (最終濃度 12.5µg/ml) 添加群と非添加群に分け, microtissue culture plate (Falcon # 3072, Oxnard, CA) に分注した。最終容量は 200µl であり, 細胞は 37°C, 5% CO₂, 95% air 存在下で 5 日間培養した。Triplicate で培養後 1 つに集め, 160G, 10 分間遠心して上清を採取し, その ADA 活性を測定

した。一方, PPD 添加による ³H-thymidine (³H-TdR) の単核球への取り込みは, 各 well に, 培養終了の 20 時間前に 0.5µ Ci の ³H-TdR (New England Nuclear, MD) を添加し, scintillation counter (Packard Instrument CO, ILL) により測定した。培養は triplicate で行い ³H-TdR の単核球への取り込み結果は cpm (M±SD) で示した。

抗 Leu 1 モノクローナル抗体 (mAb) と補体処理による PPD 特異的細胞増殖反応と培養上清の ADA 活性

胸水単核球 2×10⁶ (1ml) を panT 細胞に対する抗 Leu 1 mAb (Becton-Dickinson, CA) (0.4µg) 添加および抗体無添加の 2 群に分け, それぞれを氷中で 30 分間放置した。その後, 細胞を RPMI 1640 で 2 回洗浄した。これらの単核球にウサギ補体 (1:4 希釈) を加え, 37°C, 5% CO₂ 存在下で 1 時間培養した。培養後, RPMI 1640 で 2 回洗浄後 C-RPMI (1ml) にそれぞれ再浮遊し, それを PPD 添加群と非添加群に分け上記と同様の方法で 5 日間培養し培養上清の ADA 活性および ³H-TdR の単核球への取り込みを測定した。

PPD 特異的増殖反応における上清 ADA 活性と ³H-TdR の取り込みの経時的変化

ツベルクリン反応陽性者の末梢血の単核球と結核性胸水の単核球を PPD 添加群と非添加群に分け, 上記と同様の方法で 3 日から 10 日間培養し, 培養上清の ADA 活性および ³H-TdR の単核球への取り込みを測定した。培養上清の ADA 活性の成績は, PPD 添

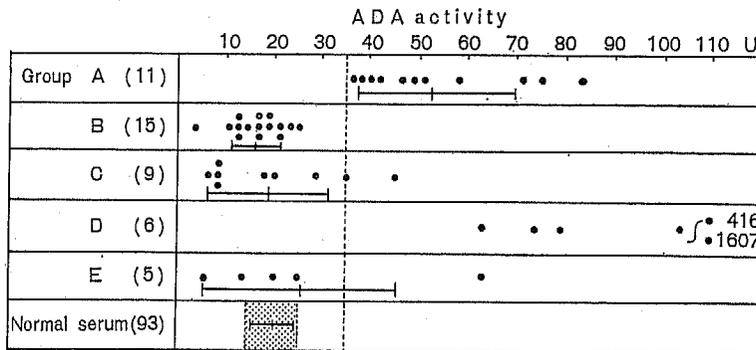


Fig. 1 ADA activity of pleural effusions in various groups of patients without therapy.

Patient group A: tuberculosis, B: lung cancer, C: malignancy other than lung cancer, D: pyothorax, cholesterin pleurisy and hemothorax, E: miscellaneous. Normal serum: healthy blood donors. (): number of patients and blood donors.

Table 1 Patients with ADA activity over 35 U in pleural effusions

No	Sex	Age	Disease	ADA(U)	Therapy
1	M	53	pyothorax (non-tuberculous)	78	(-)
2	M	56	pyothorax (tuberculous)	104	(-)
3	M	52	pyothorax (tuberculous)	318	TB
4	M	76	pyothorax (tuberculous) + hepatoma	328	TB
5	M	56	pyothorax (non-tuberculous)	416	(-)
6	M	15	lymphoblastic lymphoma	2,750	CA
7	M	37	diffuse lymphoma (medium-sized cell)	195	CA
8	M	36	leukemic lymphosarcoma	45	(-)
9	M	76	chronic lymphocytic leukemia + gastric cancer	42	CA
10	M	73	lung cancer (adenocarcinoma)	35	CA
11	M	59	lung cancer (squamous cell carcinoma)	64	CA
12	M	51	lung cancer (squamous cell carcinoma)	68	CA(ip)
13	M	58	lung cancer (adenocarcinoma)	90	CA(ip)
14	F	53	cholesterin pleurisy	73	(-)
15	M	48	cholesterin pleurisy	1,607	(-)
16	M	53	Wegener's granuloma	61	ST
17	M	57	Wegener's granuloma	75	CA
18	M	47	malignant thymoma	36	CA
19	F	58	SLE	63	(-)
20	M	69	carcinoma of bladder	35	OP
21	M	52	hemothorax	63	(-)

(-): no therapy, TB: antituberculous drugs, CA: antineoplastic drugs, ip: intrapleural instillation, ST: steroid hormone, OP: operation.

加群の測定値と非添加群の測定値の差 (ΔU) で示し、 3H -TdR の単核球への取り込みの成績は、PPD 添加群の測定値と非添加群の測定値の差 (Δcpm) で示した。Cell-lysate を含む培養上清の ADA 活性は、細胞浮遊液を $-85^{\circ}C$ に30分間凍結し、解凍後、5600 G, 10分間遠心して上清を採取し、この上清の ADA 活性を測定した。PPD 添加群の測定値と非添加群の測定値の差は ΔU で示した。

統計的処理は、Student's t-test により行った。

結 果

疾患群別胸水 ADA 活性

未治療 5 疾患群の胸水 ADA 活性および健常者の血清 ADA 活性を Fig. 1 に示す。胸水 ADA 活性 (U, $M \pm SD$) は A 群 (11 例) が 53 ± 16 , B 群 (15 例) が 16 ± 5 , C 群 (9 例) が 19 ± 13 , D 群 (6 例) が 390 ± 558 , E 群 (5 例) が 26 ± 20 であった。健常者の血清 ADA 活性 (U, $M \pm SD$) は 20 ± 4 であった。A

群 (結核性胸膜炎) は、D 群を除く疾患群に比較して有意に高い ($p < 0.01$)。胸水 ADA 活性値の 35 単位を cut-off value とすると、A, D 群の胸水 ADA 活性は 17 例全例が 35 単位以上であり、B, C, E 群の胸水 ADA 活性は 29 例中 26 例 (89.7%) が 35 単位未満であった。

胸水 ADA 活性高値例の検討

全症例のうち、胸水 ADA 活性が 35 単位以上の高値例は、結核性胸膜炎では 20 例全例であり、その他の疾患では 65 例中 21 例 (32.3%) である。結核性胸膜炎以外の 21 例を Table 1 に示すが、その内訳は、膿胸 5 例、リンパ系腫瘍 4 例、肺癌 4 例、コレステリン胸膜炎 2 例、ウェゲナー肉芽腫症 2 例、悪性胸腺腫、SLE、膀胱癌、血胸の各 1 例である。特に胸水 ADA 活性が 2,750 単位と著しい高値を呈した例はリンパ芽球性リンパ腫であった。

胸水 ADA 活性の経過

結核性胸膜炎 8 例の胸水 ADA 活性の経過を Fig. 2

Table 2 Supernatant ADA activity and PPD-specific proliferative response in mononuclear cells from tuberculous pleural effusion

Patients		Supernatant ADA activity		PPD-specific proliferative response		
		U	ΔU	cpm	\pm SD	Δ cpm
1	Medium	8		12,299	\pm 2,245	
	PPD	14	6	62,741	\pm 1,811	50,442 *
2	Medium	10		3,506	\pm 67	
	PPD	18	8	91,036	\pm 7,076	87,530 *
3	Medium	12		4,798	\pm 308	
	PPD	20	8	66,168	\pm 2,672	61,370 *

a) Mononuclear cells from pleural effusion were cultured at 37°C, in 5% CO₂, 95% air in a humid atmosphere with or without PPD for 5 days. Results of PPD-specific proliferative response were expressed as mean cpm \pm SD.

b) ΔU : PPD-stimulated response (U) - medium alone response (U)

Δ cpm : PPD-stimulated response (cpm) - medium alone response (cpm)

* : p<0.001

Table 3 Analysis of mononuclear cells in pleural effusion which induced ADA activity and PPD-specific proliferative response

Treatment	ADA activity		PPD-specific proliferative response		
	U	ΔU	cpm	\pm SD	Δ cpm
(1) Complement alone					
Medium	7		596	\pm 24,745	
PPD	12	5	63,837	\pm 4,807	63,241
(2) Anti-Leu 1 + Complement					
Medium	7		329	\pm 134	
PPD	7	0	199	\pm 152	< 0

Pleural effusion mononuclear cells from a representative patient with tuberculous pleurisy were treated with complement alone (1), and anti-Leu 1 mAb plus complement (2).

After treatment, the cells were cultured at 37°C, in 5% CO₂, 95% air in a humid atmosphere with or without PPD for 5 days. Results of PPD-specific proliferative response were expressed as mean cpm \pm SD.

ΔU and Δ cpm : See footnote in table 2.

に示した。これらの症例はすべて抗結核剤による治療を受けた。ADA 活性は、初期に上昇する例も認められたが、胸水の減少により全例下降する傾向が認められた。なお、ADA 活性は発症 2 カ月以内に 5 例で 35 単位未満になり、そのうち 2 例は 1 カ月以内に 35 単位未満になった。胸水 ADA 活性の下降傾向の著しい 1 例は胸水が 2 カ月以内に完全消失したが、発症 2 カ月後の胸水 ADA 活性が 60 単位以上を示した 1 例は胸水貯留期間が約 8 カ月であった。

PPD 特異的増殖反応液上清の ADA 活性

Table 2 に示すように、結核性胸膜炎 3 例の胸水単核球の PPD 添加による培養上清の ADA 活性は、非添加群に比較して高値である。この PPD 添加群は ³H-TdR の単核球への取り込みが非添加群に比較して高値を示した。結核性胸水単核球を、抗 Leu 1 mAb と補体処理した後 PPD を添加した群の培養上清の ADA 活性は、Table 3 に示すように低値を示したが、補体のみで処理した後 PPD を添加した群では

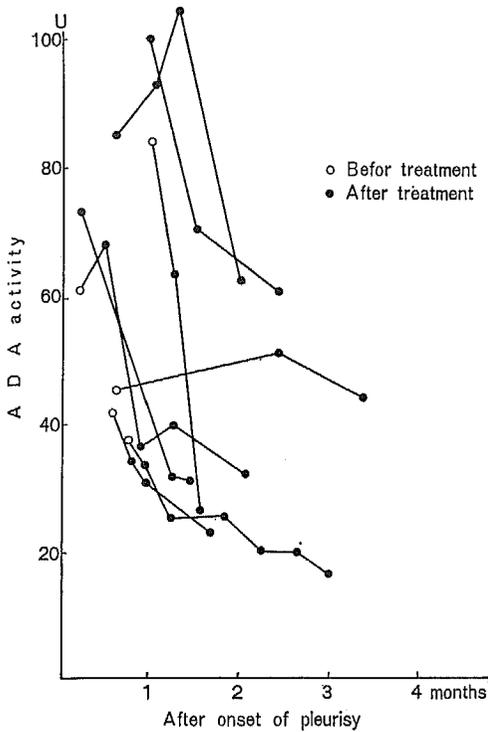


Fig. 2 Clinical course and ADA activity of pleural effusions in patients with tuberculous pleurisy.

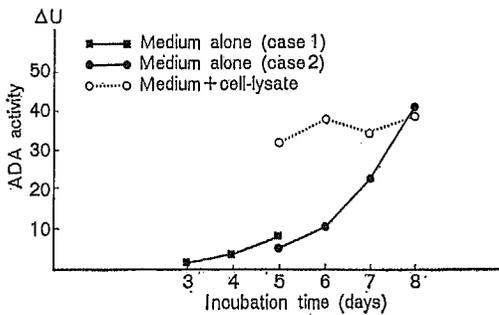


Fig. 3 Time course of ADA activity in mononuclear cell culture supernatants. Mononuclear cells from pleural effusion were cultured at 37°C, in 5% CO₂, 95% air in a humid atmosphere with or without PPD from 3 to 5 days (case 1) and 5 to 8 days (case 2). ADA activity in supernatant with cell-lysate was shown in case 2.

ΔU : See footnote in table 2.

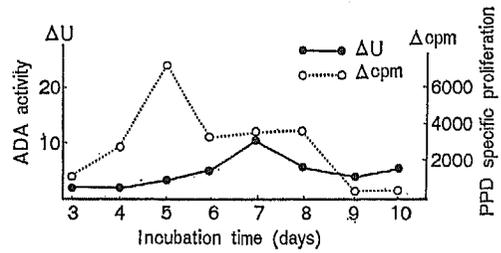


Fig. 4 Time course of ADA activity in mononuclear cell culture supernatants and PPD-specific T cell proliferative response.

Mononuclear cells from peripheral blood were cultured at 37°C, in 5% CO₂, 95% air in a humid atmosphere with or without PPD.

ΔU and Δcpm : See footnote in table 2.

培養上清の ADA 活性は高値を示した。このことは PPD 特異的増殖反応における培養上清の ADA 活性には T 細胞が関与していることを示す。

結核性胸水の PPD 特異的増殖反応における ADA 活性の経時的变化を Fig. 3 に示す。結核性胸膜炎 (2 例) の胸水単核球に PPD を添加して培養すると、培養上清の ADA 活性は非添加群に比較して高く、その増加量 (ΔU) は、4 日目から 8 日目まで徐々に上昇した。一方、PPD 添加群の単核球浮遊液を凍結融解した培養液の上清の ADA 活性は 5 日目から 8 日目まで非添加群に比較して高値を示し、その増加量 (ΔU) はこの間ほぼ一定していた。このことは培養 5 日後には細胞内に高い ADA 活性が存在し、これが日を追って培養液中に逸脱することを示している。

健常者の末梢血単核球における PPD 特異的増殖反応と ADA 活性との関係について検討すると、Fig. 4 に示すように、PPD 添加群の ³H-TdR の単核球への取り込みは 5 日目にピークが認められ、培養上清の ADA 活性は 5 日目から 7 日目まで漸増する傾向を認め、ADA 活性のピークは PPD 増殖反応のピークに比較して遅延することが明らかとなった。

考 察

ADA は adenosine, deoxyadenosine およびその類似体を基質とする nucleosidase であり、プリン代謝の salvage pathway にある。ADA は生体のどの細胞にも分布しているが、胸腺、脾臓などの免疫系組

織で比活性が高く、ADA と免疫系との関わりも注目されている¹⁴⁾。血清にも ADA 活性が認められ、組織、細胞からある程度の自然な ADA の逸脱がある。伝染性単核症、肝炎、腸チフスなどで血清 ADA 活性が高くなることが知られている¹¹⁾。胸水の ADA 活性については、臨床的意義などまだ十分に検討されていない。

今回、未治療例について胸水 ADA 活性を測定した結果、結核性胸膜炎の胸水 ADA 活性が全例において 35 単位以上であり、健康者の血清 ADA 活性より高値を示す結果が得られた。生理的に存在する胸水は壁側胸膜毛細血管から胸膜腔に濾出し、臓側胸膜毛細血管および壁側・臓側胸膜リンパ管に吸収される濾出液であり、蛋白濃度は 1.77% といわれる¹⁸⁾。したがって、生理的に存在する胸水の ADA は血清に比較し低濃度であると推定され、血清 ADA 活性の正常範囲をこえる胸水 ADA 活性は病的に高いと考えられる。一方、肺癌は全例において 35 単位未満で諸家の報告⁵⁾⁻¹²⁾と同様に結核性胸膜炎に比較して低値であった。この成績は、胸水 ADA 活性が結核性胸膜炎と肺癌の鑑別点の 1 つになりうることを示し、胸水 LDH が結核と肺癌との鑑別にそれほど役に立たないことと対照的である。結核性胸膜炎、肺癌以外の疾患群の胸水 ADA 活性は白血性リンパ肉腫、術後に再発した膀胱癌、膿胸、コレステリン胸膜炎、血胸、SLE を除き、すべて 35 単位未満であった。

治療中に胸水が貯留し胸水 ADA 活性が、cut-off value とした 35 単位以上を呈した例には、リンパ系腫瘍、悪性胸腺腫、ウェグナー肉芽腫、肺癌がある。抗癌剤、副腎皮質ステロイドホルモン剤など薬物の胸水 ADA 活性におよぼす影響は不明であるが、胸水 ADA 活性の高い肺癌 4 例はいずれも治療中に胸水が貯留し、そのうち 2 例は抗癌剤の胸膜腔注入が行われており、これらの例での ADA 活性高値には治療の影響が考えられた。胸水 ADA 活性の経過を結核性胸膜炎において観察した結果、すべての例で、経過とともに胸水 ADA 活性が低くなり、発症後 1 カ月で 35 単位未満になった例もある。結核性胸膜炎の経過観察例は、Blake と Berman¹⁹⁾の 1 例が報告されているにすぎないが、この例では、治療開始後 3 週間で胸水 ADA 活性が 50 IU/l から 14 IU/l (結核性胸膜炎と非結核性胸膜炎の胸水 ADA 活性の cut-off value 30 IU/l) に低下している。今回、無治療の結核性胸膜炎における自然経過中の胸水 ADA 活性の推移は観察してないが、結核性

胸膜炎の治療過程が進むにしたがって胸水 ADA 活性が次第に低下することが認められ、胸水 ADA 活性測定を結核性胸膜炎の診断に利用する際には、胸水の採取時期について考慮が必要であることを示している。逆に、臨床像、胸水の性状により結核性胸膜炎が疑われ、その発症からおよそ 1 カ月以内の胸水 ADA 活性が 35 単位以上であれば、結核性胸膜炎の診断はより確実となり、抗結核剤による化学療法を開始する 1 つの根拠になると考えられる。

胸水 ADA 活性が高値を示した例には、膿胸、コレステリン胸膜炎、リンパ系腫瘍がある。特にリンパ芽球性リンパ腫の胸水 ADA 活性は、今回、対象にした中で最も高く、この症例の腫瘍細胞は ADA 活性が特に高いと考えられる。実際、Maritz ら⁷⁾は、結核性胸膜炎と悪性腫瘍との胸水 ADA 活性の cut-off value を 40 U/l としたとき lymphoproliferative disease 9 例のうち 6 例が高値であったと報告している。ADA がリンパ系腫瘍のマーカー酵素²⁰⁾であるともいわれ、胸水 ADA 活性高値はリンパ球系腫瘍の胸水の特徴と思われる。さらに、慢性関節リウマチ¹¹⁾、SLE⁶⁾、多発筋炎⁶⁾、宮崎肺吸虫症⁶⁾に胸水 ADA 活性の高値例が報告されている。これらの成績は、ADA 活性が高値になる病因が多岐にわたることを示している。

胸水 ADA 活性が高くなる機構は不明であるが、Pettersson ら¹¹⁾は結核性胸膜炎や膿胸の胸水 ADA 活性がその患者の血清 ADA 活性と比較して高い事実から、胸水中の細胞による局所での ADA の産生が示唆されるとしている。今回の研究で、胸水 ADA 活性が高値を示した血胸とコレステリン胸膜炎では胸膜腔内の溶血が認められ、一方、膿胸では胸水中に多数の好中球が認められたことより、胸水中の ADA 活性高値を示す原因の 1 つに赤血球、白血球などの細胞内の ADA の関与が考えられる。一方、結核性胸膜炎の胸水の細胞成分は T 細胞が優位であるリンパ球が主体であることより²¹⁾、胸水の ADA はリンパ球に由来することが推測される。そこで、結核性胸水中の ADA 活性が高値を示すメカニズムを補体依存細胞障害試験により解析したところ、この反応系における T 細胞の関与が明らかとなった。さらに、この PPD 特異的増殖反応のみられた培養上清の ADA 活性は、³H-TdR の単核球への取り込みがピークを示す培養 5 日頃から上昇し、培養 8 日目には細胞と培養上清を合わせた ADA 活性にはほぼ匹敵することが観察された (Fig. 3)。すなわち、PPD 特異的細胞増殖反応にともなって T 細胞

で産生された ADA が細胞外に逸脱し、培養上清の ADA 活性が上昇したことが示唆された。一方、マウスでも phytohemagglutinin-P で刺激して培養すると脾細胞の ADA 活性が上昇し、羊赤血球でマウスを免疫すると、脾 T 細胞の ADA 活性が高くなることが認められ、ADA 活性の上昇と T 細胞の反応に関連があることが報告されている²²⁾²³⁾。このような事実より、細胞あたりの ADA 活性を検討すると、Fig. 3 に示した Case 2 の cell-lysate の ADA 活性からもとめた培養 5 日目の ADA 活性は、PPD 添加群が 9U/10⁶、非添加群が 4、培養前が 5 であり、PPD 特異的細胞増殖反応により細胞の ADA 活性が上昇していることが示された。しかし、結核性胸膜炎の胸水 ADA 活性は胸水のリンパ球総数および T 細胞数とのあいだに有意な相関が認められないとの報告¹⁰⁾もあり、胸水のリンパ球やタンパクである ADA の動態は、炎症巣のある胸膜組織からの滲出機転および壁側・臓側胸膜リンパ管による吸収機構の影響¹⁸⁾などをうける可能性も考えられる。また、胸水中に逸脱した ADA は変換因子²⁴⁾と結合して酵素活性が変化することも考えられ、胸水 ADA の性状についても今後明らかにする必要がある。

最近、結核罹患年齢の高齢化と肺癌の増加により、結核と癌との鑑別が困難な中高年者の胸膜炎例にしばしば遭遇するようになり、両者の鑑別に新しい診断法が望まれている。結核性胸水の診断には、抗体など血清学的検査は役立たず、細胞性免疫を利用する方法たとえば胸水の単核球を培養して PPD を用いた免疫応

答を末梢血の単核球のそれと比較して免疫学的に診断する方法¹⁷⁾があり、それを用いた臨床応用がされはじめている。今回の検討により、胸水 ADA 活性測定法が鑑別法の 1 つであることを示す成績が得られた。さらに、これは *in vivo* における結核菌由来抗原などに惹起された T 細胞増殖反応を反映する生化学的パラメーターとして胸膜炎の活動性の診断にも利用できる可能性があり興味深い。

結 論

1. 結核性胸膜炎の胸水 ADA 活性は 35 単位以上の高値を示し、胸水 ADA 活性高値は結核性胸膜炎の胸水の生化学的特徴であることが示されたが、結核性胸膜炎以外にも膿胸、コレステリン胸膜炎、リンパ系腫瘍等一部の悪性腫瘍などに高値例が認められた。
2. 結核性胸膜炎の胸水 ADA 活性は経過とともに下降する傾向を認めた。
3. 結核性胸膜炎の胸水から分離した単核球を PPD 添加して培養した培養上清の ADA 活性は非添加群に比較して高値を示し、この高い ADA 活性は、T 細胞より産生逸脱されることが示唆された。

稿を終えるにあたり、ご指導を賜った草間昌三教授に深謝いたします。また、ご協力を頂いた大久保喜雄先生に謝意を表します。

本論文は、第 24 回日本胸部疾患学会（東京 1985 年 4 月）において発表した。

文 献

- 1) Light, R. W. : Pleural diseases. pp.119-125, Lea and Febiger, Philadelphia, 1983
- 2) 杉山浩太郎：胸水の診断。臨牀と研究，54：1077-1084，1977
- 3) Dutt, A. K., Moers, D. and Stead, W. W. : Short-course chemotherapy for extrapulmonary tuberculosis. *Ann Intern Med*, 104：7-12, 1986
- 4) 河地英昭，下方薫：結核性胸膜炎の臨床的研究。結核，60：567-571，1985
- 5) Piras, M. A., Gakis, C., Budroni, M. and Andreoni, G. : Adenosine deaminase activity in pleural effusions; an aid to differential diagnosis. *Br Med J*, 2：1751-1752, 1978
- 6) 林隆司郎，石原陽子，北村 論，小坂樹徳：胸水中 adenosine deaminase (ADA) 活性値の測定—癌性胸膜炎と結核性胸膜炎を中心として。日胸疾会誌，19：35-38，1981
- 7) Maritz, F. J., Malan, C. and Le Roux, I. : Adenosine deaminase estimations in the differentiation of pleural effusions. *S Afr Med J*, 62：556-558, 1982
- 8) 永坂博彦，大屋春治，佐藤泰正，城 卓志，伊藤 剛，多代友紀，中山広一，飯田 稔：アデノシンデアミナーゼ活性測定の基礎的および臨床的意義—癌性胸膜炎と結核性胸膜炎に関して—。現代の診療，24：209-216，1982
- 9) 高橋唯郎：肺胸膜炎疾患における Adenosine deaminase 活性測定の臨床的意義に関する検討。北里医学，12：39-46，1982

- 10) Ocana, I., Martinez-Vazquez, J.M., Segura R.M., Fernandez-De-Sevilla, T. and Capdevila, J.A. : Adenosine deaminase in pleural fluids, test for diagnosis of tuberculous pleural effusion. *Chest*, 84 : 51-53, 1983
- 11) Pettersson, T., Ojala, K. and Weber, T.H. : Adenosine deaminase in the diagnosis of pleural effusions. *Acta Med Scand*, 215 : 299-304, 1984
- 12) 西川 博, 菅守 隆, 杉本峯晴, 福島一雄, 安藤正幸, 荒木淑郎 : 胸膜炎における胸水中 Adenosine Deaminase 活性値の測定の臨床的意義 : 活性値におよぼす溶血の影響. *日胸疾会誌*, 24 : 230-235, 1986
- 13) Gilblett, E.R., Anderson, J.E., Cohen, F., Pollara, B. and Meuwissen, H.J. : Adenosine deaminase deficiency in two patients with severely impaired cellular immunity. *Lancet*, 2 : 1067-1069, 1972
- 14) Van der Weyden, M.B. and Kelly, W.N. : Adenosine deaminase and immune function. *Br J Haematol*, 34 : 159-165, 1976
- 15) Goldberg, D.M. : Serum adenosine deaminase in the differential diagnosis of jaundice. *Br Med J*, 1 : 353-355, 1965
- 16) Kalckar, H.M. : Differential spectrophotometry of purine compounds by means of specific enzymes. *J Biol Chem*, 167 : 445-459, 1947
- 17) 大久保喜雄, 和田茂比古, 北澤邦彦, 草間昌三 : 結核性胸膜炎におけるモノクローナル抗体を用いた purified protein derivative (PPD) 特異的T細胞活性化機構の解析. *日内会誌*, 73 : 935-943, 1984
- 18) Black, L.F. : The pleural space and pleural fluid. *Mayo Clin Proc*, 47 : 493-506, 1972
- 19) Blake, J. and Berman, P. : The use of adenosine deaminase assay in the diagnosis of tuberculosis. *S Afr Med J*, 62 : 19-21, 1982
- 20) 広瀬政雄, 湊 啓輔, 飛内賢正, 下山正徳 : ヒト白血病・悪性リンパ腫由来の各種リンパ系培養株の分化度について : 膜性状・マーカー酵素からの検討. *臨床免疫*, 13 : 632-638, 1981
- 21) 中田真佐雄, 大久保喜雄, 黒岩 靖, ナムシ. R. ナムシ, 和田茂比古, 草間昌三 : 癌性胸膜炎, 結核性胸膜炎における末梢血および胸腔内の免疫学的検討 : Tリンパ球およびTリンパ球サブセットの解析. *信州医誌*, 35 : 222-226, 1987
- 22) Kurashige, S., Akuzawa, Y., Yoshida, T., Teshima, C. and Mitsuhashi, S. : Purine metabolic enzymes in lymphocytes, I. Adenosine deaminase and purine nucleoside phosphorylase activities in mouse lymphocyte subpopulations. *Microbiol Immunol*, 26 : 77-85, 1982
- 23) Kurashige, S., Akuzawa, Y., Yoshida, T., Teshima, C., Kodama, K. and Mitsuhashi, S. : Purine metabolic enzymes in lymphocytes, II. Adenosine deaminase and purine nucleoside phosphorylase activities in the immune responses. *Microbiol Immunol*, 26 : 87-92, 1982
- 24) Nishihara, H., Ishikawa, S., Shinkai, K. and Akedo, H. : Multiple forms of human adenosine deaminase, II. Isolation and properties of a conversion factor from human lung. *Biochim Biophys Acta*, 302 : 429-442, 1973

(62. 2. 18 受稿)