

Studies of Natural Killer Cell Activity and its Subsets using Monoclonal Antibodies in Pneumoconiosis Patients

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/7873

塵肺症における NK 細胞活性およびモノクローナル抗体を用いたそのサブセットに関する研究

金沢大学医学部公衆衛生学講座 (主任: 岡田 晃教授)

田 畑 正 司

(昭和61年3月26日受付)

石綿以外の粉塵作業従事者における NK 細胞の動態について検索する目的で、本研究を行った。塵肺症患者男性 22 名の年齢は、52~79 歳 (平均年齢 63.8 歳)、粉塵作業年数は 12~46 年 (平均 27.0 年) であり、X 線病型別内訳は 1 型 6 名、2 型 11 名、3 型及び 4 型 5 名であった。塵肺症患者の NK 細胞活性は、年齢をマッチした健常男性 22 名のそれと差異を認めず、また、Interferon- α (IFN- α) 及び Interleukin-2 (IL-2) 投与による活性の増強も健常人と同様に認められた。しかし、X 線病型の進展に伴い、NK 細胞活性は低下傾向を示し、また、粉塵作業年数が 30 年以上の群では、20 年から 29 年までの群に比べて有意に低値を示した。また、塵肺症患者では、白血球数、リンパ球数が有意に減少していたが、NK 細胞に特異的に反応するモノクローナル抗体、抗 Leu-11a 抗体陽性細胞も有意に減少しており、抗 Leu-7 抗体陽性細胞も減少傾向にあった。しかし、各抗体陽性細胞のリンパ球に占める割合については、差異を認めなかった。また、抗 Leu-11a 抗体陽性細胞のリンパ球に占める割合と NK 細胞活性との間には、健常人、塵肺症患者共に正の相関関係を認めた。以上、塵肺症において NK 細胞の動態について検索することは重要であると考えられた。

Key words Pneumoconiosis, Natural Killer Cell, Monoclonal Antibody, Interferon, Interleukin-2

塵肺症は、「粉塵を吸入することによって肺に線維増殖性変化を主体とする病変をおこす疾患」と定義され¹⁾、粉塵の暴露を中止したのちにおいても進展を続ける、慢性でかつ進行性の疾患である。さらに、体液性免疫の亢進^{2)~4)}、細胞性免疫の低下^{4)~6)}といった免疫異常が認められたり、進行性全身性硬化症、慢性関節リウマチなど種々の自己免疫疾患が合併することも指摘されている^{7)~10)}。また、最近では、肺癌の合併率が高いとの報告も多く見られ^{11)~13)}、これと免疫異常との関連についての検索も、重要となってきた。

一方、近年、生体防御機構の中で、腫瘍発生やウイルス感染などに対する自然低抗性にかかわる重要な細胞として natural killer (NK) 細胞が注目されてお

り¹⁴⁾¹⁵⁾、自己免疫疾患や悪性腫瘍においては、NK 細胞活性の低下が報告されている^{16)~18)}。しかし、粉塵作業者の NK 細胞活性についての検討は、わずかに石綿肺症に関してなされているのみである^{19)~21)}。近年、NK 細胞と特異的に反応するモノクローナル抗体として抗 Leu-7 抗体 (HNK-1)²²⁾、抗 Leu-11a 抗体 (NKP-15)²³⁾ などが開発され、NK 細胞を、レーザーフローサイトメトリーシステムを使って解析することが可能となってきた。そこで、本研究では、石綿以外の粉塵作業従事者における NK 細胞の動態をより詳細に検討することを目的に、NK 細胞活性の測定のみでなくモノクローナル抗体をも用いて分析し、塵肺症の病態との関連性を追究した。

Abbreviations: ADCC, antibody dependent cell-mediated cytotoxicity; E, effector cell; FITC, fluorescein isothiocyanate; IFN, interferon; IL-2, interleukin-2; NK cell, natural killer cell; PBS, phosphate buffered saline; T, target cell.

対象および方法

I. 対象

昭和60年7月から8月にかけて社会保険鳴和総合病院で行われた、塵肺健康管理手帳交付者の検診に来院した男性22名を対象とした。受診者の年齢は52~79歳(平均年齢63.8歳)で、粉塵作業年数は12~46年(平均27.2年)であった。粉塵作業内容は、鋼鉄製造作業9名、岩石採掘従事者4名、イソライト工場作業4名、陶磁器製造作業3名、溶接工1名、瓦製造作業1名で、すべて石綿以外の粉塵作業であった。以下、本研究では、石綿肺症以外の塵肺症を塵肺症と記す。塵肺法で定められたX線塵肺病型分類別では、1型6名、2型11名、3型及び4型5名であった(表1)。

また、対照例として、同じ時期に同病院の人間ドック、もしくは成人病検診を受診した健康で粉塵作業歴のない男性22名を、年齢をマッチさせ選んだ。

II. 末梢血単核球の分離

ヒト末梢静脈血5mlをヘパリン採血後、lymphocyte separation medium (Bionetics, Kensington)に重層し、400×gで、20分間遠心した。遠心後、単層に分離した末梢血単核球を採取し、Hanks液にて洗浄後、10%非動化 fetal calf serum (FCS, M. A. Bioproducts, Maryland)を加えたRPMI1640培地(白水製薬)に浮遊した。この細胞を、0.2% Trypan Blueにて染色して、細胞数ならびにviabilityを算定し、 2×10^5 /mlに調整してエフェクター細胞とした。

III. NK細胞活性の測定

NK細胞活性の測定は、押味の方法²⁴⁾に準じて行った。標的細胞としては、ヒト慢性骨髄性白血病由来細胞株K562細胞を ^{51}Cr ($\text{Na } ^{51}\text{CrO}_4$, 1 mCi/ml, 第1ラジオアイソトープ研究所)でラベル後、 1×10^4 /mlに調整して使用した。分離した単核球、K562細胞各々1ml (E:T=20:1)を小チューブに加え、 37°C 5% CO_2 気相下で4時間混合培養後遠心し、上清及び細胞沈渣の ^{51}Cr 放射活性をオートガンマシンチレーションカウンター(Aloka社)にて測定した。%特異的 ^{51}Cr 放出値を下記の式により求め、NK細胞活性値とした。% Specific ^{51}Cr release = $\{ (\text{Experimental } ^{51}\text{Cr release} - \text{Spontaneous } ^{51}\text{Cr release}) / (\text{Maximum } ^{51}\text{Cr release} - \text{Spontaneous } ^{51}\text{Cr release}) \} \times 100$

Spontaneous ^{51}Cr releaseは、標的細胞のみ培養した際の、また、Maximum ^{51}Cr releaseは、標的細胞に1% Triton Xを加えた際の ^{51}Cr 放出量により算出した。測定は、triplicateで行い、平均値を求めた。

IV. $\text{IFN-}\alpha$ 、 IL-2 及びその両者による末梢血単核

球の処理

Interferon- α ($\text{IFN-}\alpha$)及びInterleukin-2 (IL-2)によるNK細胞活性増強度をみる目的で、分離した 2×10^5 /mlの単核球1mlに $\text{IFN-}\alpha$ (ミドリ十字社) 100 U/100 μl 、 IL-2 (ENI社) 100 μl およびその両者を添加し、 37°C 、5% CO_2 気相下で2時間培養処理を加えた。これを洗浄後、エフェクター細胞として、NK細胞活性測定に用いた。

V. 末梢血白血球数、リンパ球数の算定

末梢血白血球数は、Coulter Model S-plus (Coulter社)を用いて算定した。また、末梢血リンパ球数は、血液塗布染色標本を作製し、白血球百分率より算出した。

Table 1. Characteristics of pneumoconiosis patients

Case No.	Age	Occupation	Exposure duration (years)	Stage by chest X-ray
1	69	tile maker	23	2
2	52	miner	26	2
3	61	iron caster	26	2
4	61	iron caster	46	2
5	79	iron caster	22	1
6	59	miner	12	1
7	69	firebrick maker	23	2
8	65	firebrick maker	12	2
9	64	welder	24	2
10	64	firebrick maker	25	3
11	65	ceramist	17	4
12	65	iron caster	44	4
13	62	miner	25	2
14	76	ceramist	25	1
15	64	iron caster	41	2
16	65	iron caster	42	2
17	64	iron caster	17	1
18	63	miner iron caster	7 19	4
19	54	miner	13	3
20	55	firebrick maker	22	1
21	62	tile maker iron caster	10 23	2
22	66	ceramist	39	1

VI. NK細胞のモノクローナル抗体を用いた解析

NK細胞に特異性の高いモノクローナル抗体、抗Leu-7抗体、抗Leu-11a抗体を用いてNK細胞の動態を観察した。ヘパリン採血した末梢静脈血50 μ lをPBS (phosphate buffered saline) にて2倍希釈後、FITC標識抗Leu-7抗体 (Becton Dickinson社) もしくは抗Leu-11a抗体 (Becton Dickinson社) 2.5 μ lを加え、4 $^{\circ}$ Cにて1時間反応させた。PBSにて洗浄後、塩化アンモニウムを主体とする赤血球溶解液を加えて、わずかに混入した赤血球を溶解させ、レーザーフローサイトメーターOrtho Spectrum III (Ortho社) で、Leu-7もしくは、Leu-11a陽性細胞のリンパ球に占める割合を測定した。

VII. 統計処理

NK細胞活性、リンパ球の白血球に占める割合、Leu-7とLeu-11a陽性細胞のリンパ球に占める割合についての比較検討に際してはそれらを角変換した値について、Student t-test もしくは、paired t-testを行った。塵肺症患者におけるNK細胞活性の、X線病型別及び粉塵作業年数別の検討に際しては、角変換した値について、分散分析を行い、その後、Ryanの方法

を用いて多量比較を行った。相関関係の検討についても、角変換後、Pearsonの相関係数を求めた。

成 績

I. 健康人のNK細胞活性

健康人22名のNK細胞活性は、44.3 \pm 17.5% (平均値 \pm 標準偏差) であった (図1)。結核及び結核性胸膜炎の既往の有無による差について検討したが、既往有りの10名のNK細胞活性は、46.1 \pm 19.5%で、既往なしの12名の42.8 \pm 16.3%との間に差は認められなかった (図2)。次に、喫煙の影響について検討すると、喫煙者10名 (平均喫煙本数20.5本/日) のNK細胞活性は、42.5 \pm 20.1%で非喫煙者12名の45.8 \pm 15.7%との間に差は認められなかった (図3)。飲酒の影響に関しては、毎晩飲酒する者10名 (平均飲酒量1.1合 (日本酒換算)/日) のNK細胞活性は42.7 \pm 21.6%で、他の12名の45.7 \pm 14.0%との間に差は認められなかった (図4)。

II. 塵肺症患者のNK細胞活性

塵肺症患者22名のNK細胞活性は、43.3 \pm 13.0%で、健康人との間に有意の差は認められなかった (図

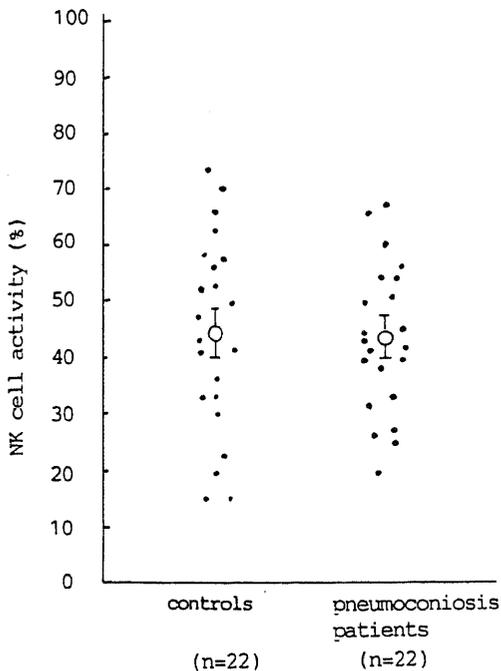


Fig. 1. A comparison of NK cell activity between controls and pneumoconiosis patients. Each bar represents mean \pm SEM.

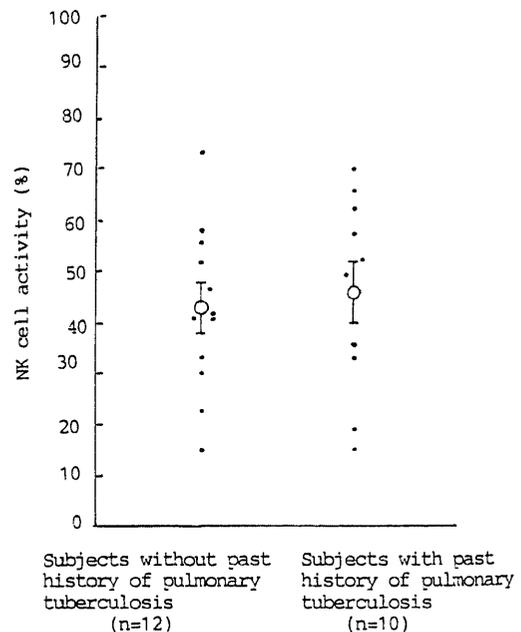


Fig. 2. A comparison of NK cell activity between subjects with and without past history of pulmonary tuberculosis. Each bar represents mean \pm SEM.

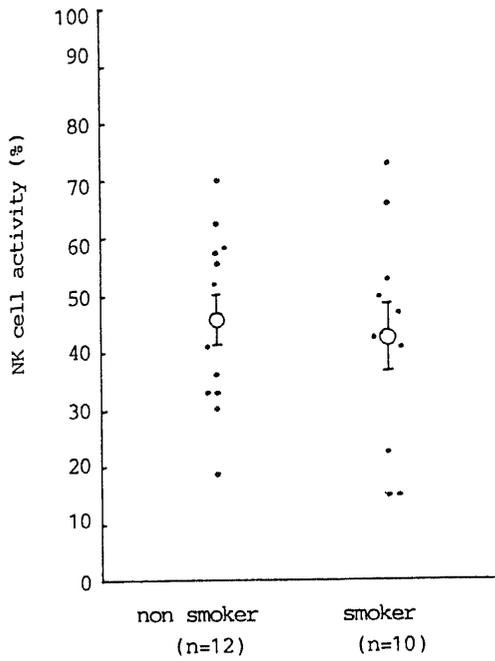


Fig. 3. A comparison of NK cell activity between smoker and non smoker. Each bar represents mean \pm SEM.

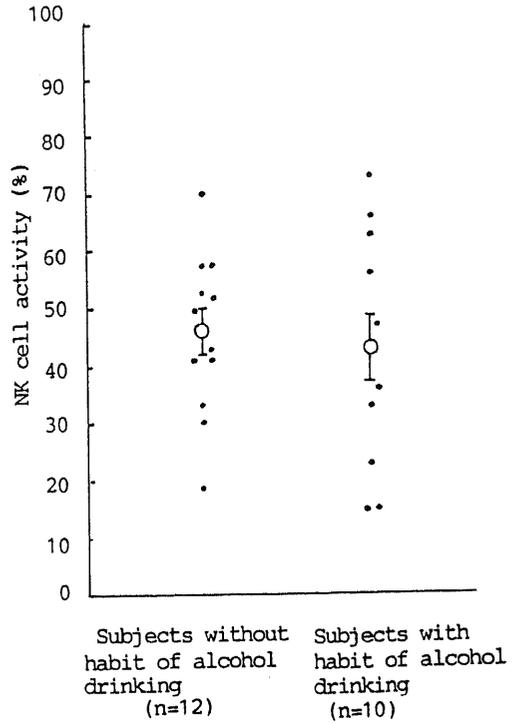


Fig. 4. A comparison of NK cell activity between subjects with and without habit of alcohol drinking. Each bar represents mean \pm SEM.

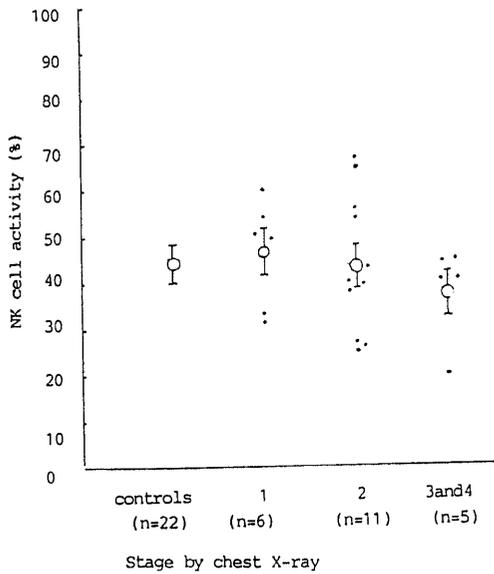


Fig. 5. Relationship between NK cell activity and stage of pneumoconiosis classified according to classification of chest X-ray by the Pneumoconiosis Law in pneumoconiosis patients. Each bar represents mean \pm SEM.

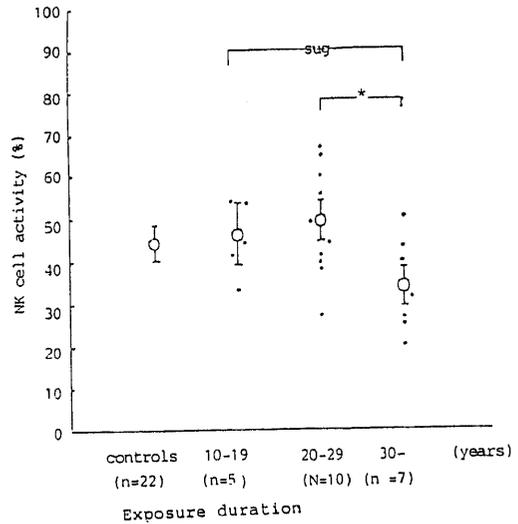


Fig. 6. Relationship between NK cell activity and duration of engaging in dust yielding work in pneumoconiosis patients. Each bar represents mean \pm SEM * $p < 0.05$ sug $p < 0.1$.

1). X線病型別にNK細胞活性を検討すると、1型では46.5±11.6%, 2型では43.8±15.1%, 3型及び4型では36.9±9.8%で、有意の差は認められなかったものの、病型の進展に伴い、NK細胞活性の低下する傾向が認められた(図5)。粉塵作業年数別のNK細胞活性は、粉塵作業年数10年から19年では45.5±8.9%, 20年から29年では48.8±13.1%, 30年以上では33.7±11.1%であったが、粉塵作業年数が30年以上の群でのNK細胞活性は、20年から29年のそれに比べて有意な低下(p<0.05)を示していた(図6)。

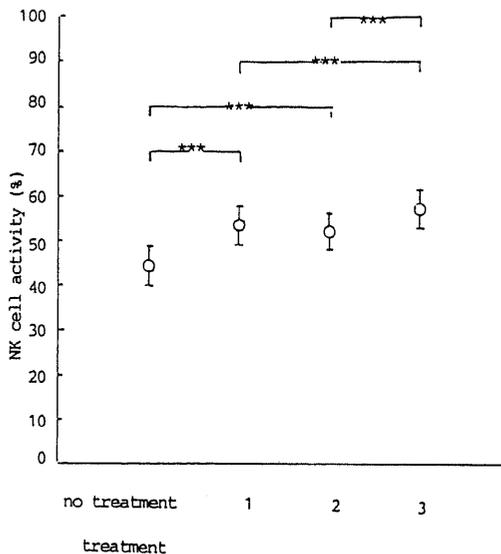


Fig. 7. Effect of interferon- α and interleukin-2 on NK cell activity in controls treatment 1, with IFN- α 100 U/100 μ l; 2, with IL-2 100 μ l; 3, with IFN- α 100 U/100 μ l and IL-2 100 μ l. Each bar represents mean \pm SEM *** p<0.001.

III. IFN- α 及び IL-2 による末梢血単核球処理のNK細胞活性に及ぼす影響

健康人、塵肺症患者共に、IFN- α あるいは IL-2 の処理によって、NK細胞活性の有意な増強が認められた。また、その両者を同時に用いて処理した場合には、おのおの単独に処理した場合に比べ、有意なNK細胞活性の増強が認められ、その増強の程度は相加的なものと考えられた(図7, 図8)。

IV. 末梢血白血球数、リンパ球数及びモノクローナル抗体を使ったNK細胞の解析

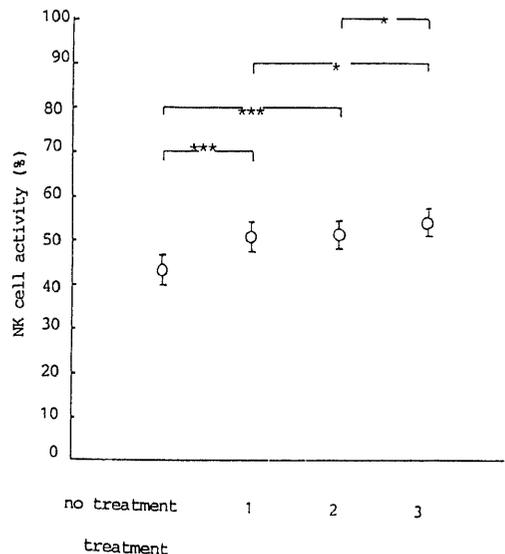


Fig. 8. Effect of interferon- α and interleukin-2 on NK cell activity in pneumoconiosis patients. Treatment 1, with IFN- α 100 U/100 μ l; 2, with IL-2 100 μ l; 3, with IFN- α 100 U/100 μ l and IL-2 100 μ l. Each bar represents mean \pm SEM * p<0.05 *** p<0.001.

Table 2. Immunological findings on controls and pneumoconiosis patients

	W.B.C. (/mm ³)	lymphocytes		Leu-7 ⁺ cells		Leu-11a ⁺ cells	
		(/mm ³)	(%)	(/mm ³)	(%)	(/mm ³)	(%)
control (n=22)	6013 ±1204	2706 ±803	44.9 ±9.9	461 ±310	16.5 ±7.8	617 ±393	22.4 ±11.2
patients (n=22)	4933 ±1121	2148 ±583	43.9 ±7.9	375 ±199	18.6 ±9.5	424 ±205	20.2 ±9.4

Each value represents mean \pm S.D.

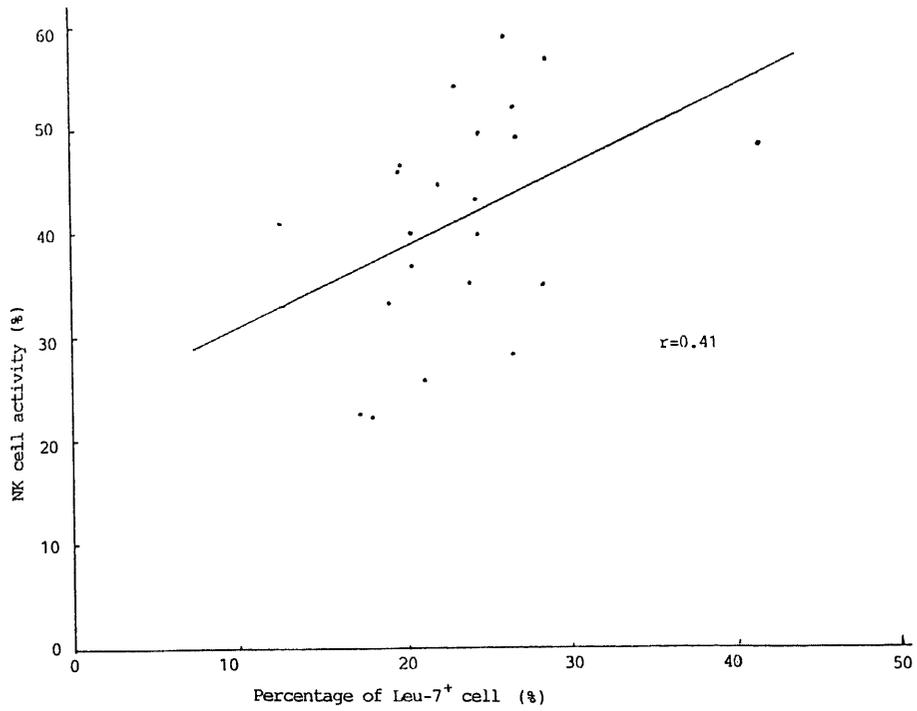


Fig. 9. Correlation between NK cell activity and percentage of Leu-7 cell in controls.

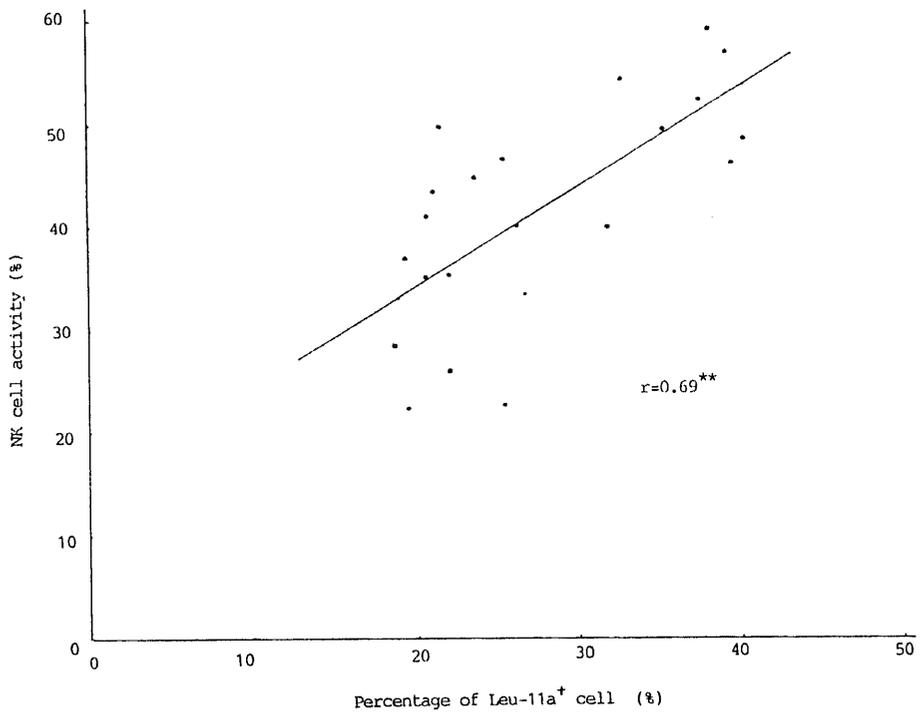


Fig. 10. Correlation between NK cell activity and percentage of Leu-11a cell in controls.
** p < 0.01.

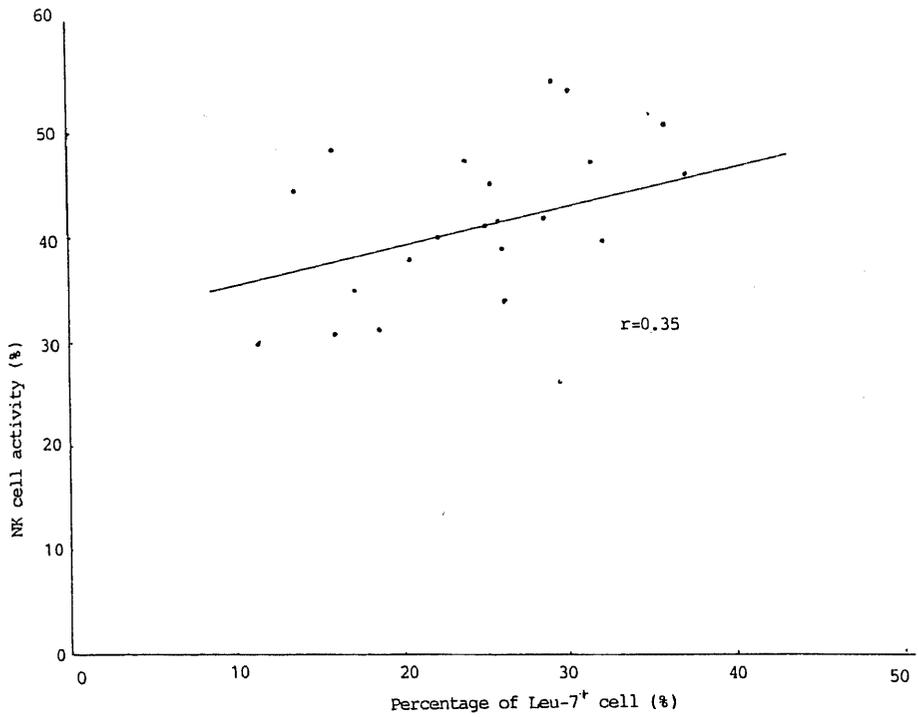


Fig. 11. Correlation between NK cell activity and percentage of Leu-7 cell in pneumoconiosis patients.

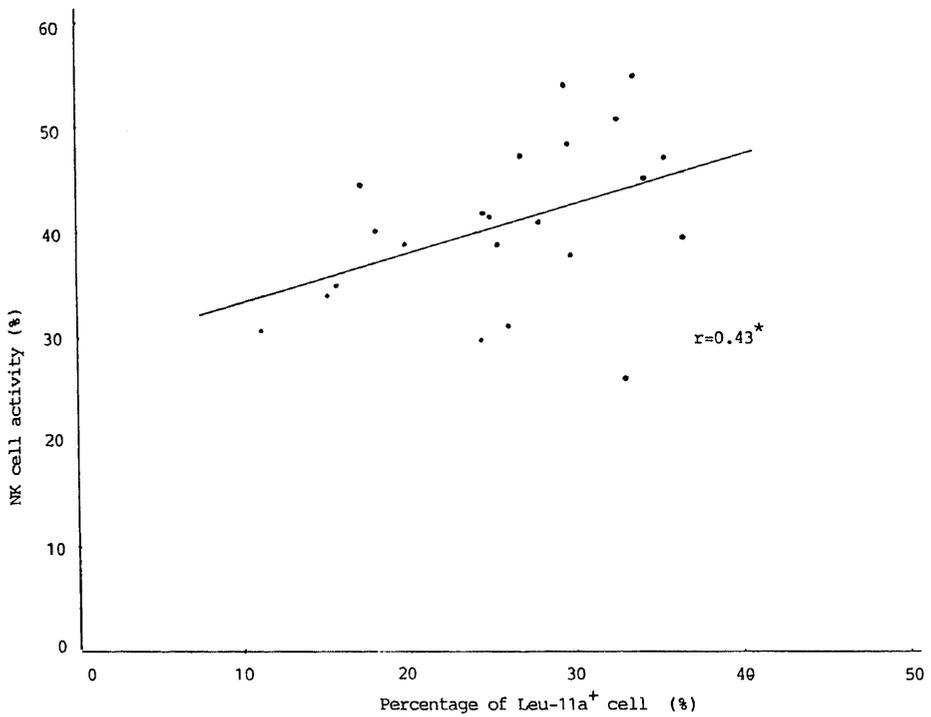


Fig. 12. Correlation between NK cell activity and percentage of Leu-11a cell in pneumoconiosis patients.

* $p < 0.05$.

末梢白血球数は、健常人で $6013 \pm 1204/\text{mm}^3$ 、塵肺症患者で $4933 \pm 1121/\text{mm}^3$ と、塵肺症患者で有意な減少 ($p < 0.01$) が認められた。また、末梢血リンパ球数も、健常人で $2706 \pm 803/\text{mm}^3$ 、塵肺症患者で $2148 \pm 583/\text{mm}^3$ と、塵肺症患者で有意な減少 ($p < 0.02$) を示した。しかし、リンパ球の白血球に占める割合は、健常人で $44.9 \pm 9.9\%$ 、塵肺症患者で $43.9 \pm 7.9\%$ であり、両者の間には差は認められなかった (表 2)。

次に、Leu-7 及び Leu-11a 陽性細胞数について検討した。Leu-11a 陽性細胞数は健常人で $617 \pm 393/\text{mm}^3$ 、塵肺症患者で $424 \pm 205/\text{mm}^3$ と塵肺症患者に有意な減少 ($p < 0.05$) が認められた。Leu-7 陽性細胞数についても、健常人で $461 \pm 310/\text{mm}^3$ 、塵肺症患者で $375 \pm 199/\text{mm}^3$ であり、塵肺症患者で有意ではないものの減少傾向を示した。しかし、末梢血リンパ球に占める各抗体陽性細胞の割合は、Leu-11 陽性細胞では、健常人で $22.4 \pm 11.2\%$ 、塵肺症患者で $20.2 \pm 9.4\%$ 、Leu-7 陽性細胞では健常人で $16.5 \pm 7.8\%$ 、塵肺症患者で $18.6 \pm 9.5\%$ と有意な差は認められなかった (表 2)。

V. NK 細胞活性と Leu-7 及び Leu-11a 陽性細胞との関係

健常人において、NK 細胞活性と Leu-7 及び Leu-11a 陽性細胞のリンパ球に占める割合との関係について検討した。NK 細胞活性と Leu-7 陽性細胞の割合の間には、 $r = 0.41$ と有意な相関関係は認められなかったが、Leu-11a 陽性細胞の割合との間には $r = 0.69$ と有意な相関関係 ($p < 0.01$) が認められた (図 9, 10)。一方、塵肺症患者においても、NK 細胞活性と Leu-7 陽性細胞の割合の間には $r = 0.35$ と有意な相関関係は認められなかったが、Leu-11a 陽性細胞の割合との間には、 $r = 0.43$ と有意な相関関係 ($p < 0.05$) が認められた (図 11, 12)。

考 察

NK 細胞とは、腫瘍免疫に関する基礎的研究の過程において、抗原感作を必要とせずに腫瘍細胞に傷害活性を示すリンパ球系の細胞が存在することから^{26)~27)}、この現象の発見者の一人である Kiessling²⁶⁾によって命名された細胞である。その後の研究の進展によって、NK 細胞は、生体内における、腫瘍やウイルス感染に対する免疫監視機構において重要な働きをしていると考えられ¹⁴⁾¹⁵⁾、この方面から、近年、特に注目されている。

一方、塵肺症では、種々の免疫異常や自己免疫疾患の合併することが知られている^{2)~10)}。また、鉱物性粉塵がアジュバント効果を有する²⁸⁾ことから、近年の免疫学の急速な発展とともに、その影響についての免疫学的アプローチが多く行なわれてきている。さらに、石綿

肺症では高率に肺癌や胸膜中皮腫などの悪性腫瘍を合併することが知られている²⁹⁾が、塵肺症においても近年、肺癌の合併が多いとの報告がみられ^{11)~13)}、これと免疫異常との関連について注目されることである。窪田¹⁹⁾は、石綿肺症患者の NK 細胞活性及び ADCC (antibody dependent cell-mediated cytotoxicity) が健常人に比べて低値を示したと報告し、Ginns^ら²¹⁾も石綿肺症患者の NK 細胞活性の低下を報告している。しかし、米田^ら²⁰⁾は石綿肺症患者の NK 細胞活性は高値を示したと報告し、必ずしも一致した見解とはなっていない。これに対し、塵肺症に関して検討した報告はなく、本研究はその最初のものであり、その意義は大きいと考えられる。

NK 細胞活性には、喫煙や飲酒が影響するとされ³⁰⁾、さらに肺結核症において NK 細胞活性が高値を示すとの報告³¹⁾もあることから、本研究では、それらの有無による影響についても、健常人において検討した。しかし、喫煙、飲酒、結核の既往の有無によって、NK 細胞活性に差は認められなかった。Ferson^ら²²⁾や、Ginns^ら²¹⁾は、喫煙による NK 細胞活性の低下を報告しているが、今回の研究には、一日 40 本以上のタバコを吸うような多量喫煙者がいなかったこと、さらに、日本とはタバコの種類も相違していることなどにより結果が異なったものと思われる。また、年齢の影響については、報告が一致していない²⁴⁾³⁰⁾ため、本研究では、年齢をマッチさせて検討した。塵肺症における NK 細胞活性には、石綿肺症の場合とは異なり、健常人との間に有意な差は認められなかった。しかし、胸部 X 線病型別に検討を行ったところ、その進展とともに低下傾向を示し、また、粉塵作業年数別にみると、30 年以上の群で、20 から 29 年の群に比べて有意に低値を示していた。海老原³²⁾は、塵肺症患者に対して種々の免疫学的検査を行い、免疫グロブリンの増加、抗核抗体の陽性が高率に認められることや、T 細胞の百分率の減少と、作業年数及び X 線所見との間に関連性のあることを示している。今回の著者の成績からも、NK 細胞活性と作業年数及び X 線所見との間に関連性のあることが推察された。また、IFN や IL-2 は、NK 細胞活性を増強することが知られている³⁴⁾が、石綿肺症においては、窪田^ら³⁵⁾が IFN- α の投与によっても NK 細胞活性の増強がみられなかったことを報告し、さらに鏡森^ら³⁶⁾は、IL-2 投与の際にも増強のみられないものが多いことを報告している。今回、著者は、塵肺症患者において同様の検討を行なったが、石綿肺症の場合と異なり、IFN や IL-2 に対する反応性の低下は認めず、健常人と同じように NK 細胞活性の増強が認められた。つまり、体液性免疫の亢進、細胞性免疫の低下という

面では、類似した免疫異常を示す塵肺症と石綿肺症⁷⁾であるが、NK細胞活性に関しては、両者の間に相違点のあることが指摘された。Takagiら³⁷⁾は、前癌状態と考えられている前白血病状態においては、NK細胞活性の低下とNK-IFN機構の障害されていることが示唆されると報告し、これが白血病への誘因となっている可能性を指摘している。このことから、石綿肺症では、悪性腫瘍の発生にNK細胞による免疫監視機構が十分に働かず、このことが高率に悪性腫瘍を合併する要因となっていると考えられる。

さて、近年、細胞融合法の進法により、ヒトのリンパ球膜抗原に対するモノクローナル抗体が開発され、さらに、レーザーフローサイトメトリーシステムの導入により、リンパ球のサブポピュレーションやT細胞サブセットの分析が容易になり、各種病体において臨床面からの応用がなされ始めている³⁸⁾。塵肺症や石綿肺症においても、T細胞サブセットについての検討が行われてきている^{39)39)~41)}が、現在のところ、一致した結果は得られておらず、この方面の研究は、緒についたばかりともいえ、今後重要と思われる。

NK細胞は、その発見以来、もっぱら機能的な面からの同定がなされていたが、NK細胞の膜上にある抗原と反応するモノクローナル抗体の開発により、その動態についてのより詳細な観察が可能となってきた⁴²⁾。HNK-1 (Leu-7)は、Aboら²²⁾によりNK細胞と特異的に反応するモノクローナル抗体として最初に報告され、現在広く用いられている。しかし、その後の研究で、HNK-1は、一部のNK細胞と反応を示さないことがわかってきた⁴³⁾。一方、Leu-11a²³⁾は、ミエロイド系の細胞と交叉反応を示すものの、ほとんどすべてのNK細胞と反応するとされている⁴²⁾。そこで、今回、塵肺症患者において、NK細胞活性の測定とともに、抗Leu-7抗体及び抗Leu-11a抗体を用いてNK細胞の解析を行った。その結果、塵肺症において、リンパ球に占めるLeu-7陽性細胞及びLeu-11a陽性細胞の割合は健常人との間に差異を認めなかった。これに対し、海老原³⁹⁾は、塵肺症において作業年数の長い者やX線所見の重症例でLeu-7陽性細胞の割合が増加していることを報告している。また、窪田ら³⁵⁾は、石綿肺症においてリンパ球に占めるLeu-7陽性細胞の割合に変化がみられなかったと報告しているがこれは、今回の著者の成績と一致するものである。また、塵肺症患者では、諸家の報告^{4)~6)7)}と同様に、白血球数とリンパ球数の減少が認められたが、さらに、Leu-11a陽性細胞の絶対数も有意な減少を示し、Leu-7陽性細胞の絶対数も減少傾向にあった。次に、Leu-11a陽性細胞の割合とNK細胞活性との関係をもてみると、健常人、塵肺症患

者ともに、有意な相関関係が認められた。しかし、Leu-7陽性細胞の割合との間には有意な相関関係は認められなかった。これらの成績は、Lanierら⁴⁴⁾の、抗Leu-7抗体と抗Leu-11a抗体を同時に用いた解析において、Leu-7⁺Leu-11a⁺細胞群が最も強いNK細胞活性をもつという報告と照らし合わせて考えると、抗Leu-11a抗体の方がよりNK細胞のポピュレーションを反映していると思われる、そのためLeu-11a陽性細胞の割合とのみ相関関係が認められたものと考えられる。

このように、今回、著者は、塵肺症におけるNK細胞活性について種々の側面から検討したが、塵肺症では、石綿肺症で報告されたようなNK細胞活性の低下は認められず、また、IFN- α やIL-2の投与によるNK細胞活性の増強効果の低下も認められなかった。しかし、NK細胞の絶対数を反映すると思われるLeu-11a陽性細胞の減少や、X線所見の進展に伴い、また、粉塵作業年数が30年以上の群では、NK細胞活性に低下傾向が認められた。塵肺症では、近年、肺癌の合併が多いとの報告がみられ、また、その経過が長く、粉塵の暴露を中止したのちにおいても進展を続けることから、塵肺症において、NK細胞の動態について観察することは、重要であると考えられた。

結 論

塵肺症患者22名、健常人22名について、NK細胞活性の測定及びモノクローナル抗体を用いたNK細胞の解析を行い、以下の知見を得た。

1. 健常人において、喫煙、飲酒、結核の既往の有無によって、NK細胞活性に差は認められなかった。
2. 塵肺症患者のNK細胞活性は、健常人との間に差異を認めなかった。しかし、X線病型の進展に伴い、低下傾向を示し、また、粉塵作業年数が30年以上の群では、20年から29年までの群に比べて有意に低値を示した。
3. 健常人及び塵肺症患者では、IFN- α 、IL-2及びその両者の投与により、ともに有意なNK細胞活性の増強がみられ、両者の間に差異は認めなかった。
4. 塵肺症患者では、健常人に比べて、白血球数、リンパ球数及びLeu-11a陽性細胞数の有意な減少を認め、またLeu-7陽性細胞数も低下傾向にあった。
5. Leu-7陽性細胞及びLeu-11a陽性細胞のリンパ球に占める割合は、健常人と塵肺症患者の間に差異を認めなかった。
6. 健常人及び塵肺症患者のLeu-11a陽性細胞のリンパ球に占める割合とNK細胞活性の間には正の相関関係を認めた。

以上、本研究において、塵肺症患者では、粉塵作業

年数の多いほど、また、X線病型の進展に伴い、NK細胞活性の低下することが示唆され、NK細胞の絶対数を反映すると思われる Leu-11a 陽性細胞の減少も認めることから、塵肺症においてその動態を観察することは、重要であると指摘された。

謝 辞

稿を終るに臨み、終始御指導、御校閲を頂いた恩師岡田晃教授に深謝の意を表します。また、御指導頂いた窪田道男博士(金沢医科大学)ならびに御校閲頂いた有泉誠助教授に厚く御礼申し上げます。さらに、試料の提供に協力頂きました鳴和総合病院、田中四郎博士及び健康管理センターの皆さんに心から感謝いたします。

文 献

- 1) 労働省安全衛生部労働衛生課編：じん肺診査ハンドブック，改訂第2版，18-19頁，中央労働災害防止協会，東京，1980。
- 2) 大成浄志・粟屋昌一・中島武嗣・山木戸道郎・西本幸男：各種塵肺における免疫グロブリン値について。日本胸部臨床，30，174-181 (1970)。
- 3) Hahon, N., Morgan, W. K. C. & Peterson, M.: Immunoglobulin levels in coal worker's pneumoconiosis. Ann. Occup. Hyg., 23, 165-174 (1980)。
- 4) 森田積二・松本一郎・立石 晃・藤井一利・真柴裕人・山崎郁雄・岡本至公：じん肺の免疫学的研究。日災医学会誌，31，790-798 (1983)。
- 5) Dauber, J. H., Finn, D. R. & Daniele, R. P.: Immunological abnormalities in anthrosilicosis. Am. Rev. Resp. Dis., 113 (Suppl.), 94 (1976)。
- 6) 姜 健栄・河原正明・横山邦彦・小西池穰一・瀬良好澄：じん肺症と細胞性免疫。日本胸部臨床，36，488-493 (1977)。
- 7) 海老原勇：粉じん作業と免疫異常—粉じんの免疫系への作用と自己免疫疾患および悪性腫瘍の発生要因—。労働科学，58，607-634 (1982)。
- 8) Rodnan, G. P., Benedek, T. G., Medsger, T. A. & Cammarata, R. J.: The association of progressive systemic sclerosis (scleroderma) with coal miners' pneumoconiosis and other forms of silicosis. Ann. Intern. Med. 66, 323-334 (1967)。
- 9) Caplan, A.: Certain unusual radiological appearances in the chest of coalminers suffering from rheumatoid arthritis. Thorax, 8, 29-37 (1953)。
- 10) 海老原勇：じん肺にみられる自己免疫疾患に関する臨床的研究。アレルギー，31，189-199 (1982)。
- 11) Finkelstein, M., Kusial, R. & Suranyi, G.: Mortality among miners receiving workmen's compensation for silicosis in Ontario: 1940-1975. J. Occup. Med., 24, 663-667 (1982)。
- 12) Fletcher, A. C. & Ades, A.: Lung cancer mortality in a cohort of English fundry workers. Scand. J. Work Environ. Health, 10, 7-16 (1984)。
- 13) 千代谷慶三：じん肺と肺がんの合併に関する臨床医学的研究。日災医学会誌，29，22-228 (1981)。
- 14) Herberman, R. B., Djen, J. Y. & Kay, H. D.: Natural killer cells: Characteristics and regulation of activity. Immunol. Rev. 44, 44-70 (1979)。
- 15) Santoli, D. & Koprowski, H.: Mechanisms of activation of human natural killer cells against tumor and virusinfected cells. Immunol. Rev., 44, 125-161 (1979)。
- 16) Oshimi, K., Sumiya, M., Gonda, N., Kano, S. & Takaku, F.: Natural killer cell activity in systemic lupus erythematosus. Lancet 2, 1023 (1979)。
- 17) Silverman, S. L. & Cathcart, E. S.: Natural killing in systemic lupus erythematosus: Inhibitory effects of serum. Clin. Immunol. Immunopathol., 17, 219-226 (1980)。
- 18) Miyasaka, N., Seaman, W., Bakshi, A., Sauvezie, V., Strand, R., Pope, R. & Talal, N.: Natural killing activity in Sjögren's syndrome: an analysis of defective mechanisms. Arthritis Rheum., 26, 954-960 (1983)。
- 19) 窪田道雄：アスベストのリンパ球系細胞機能に対する影響。第二報 石綿肺症におけるNK細胞活性，ADCC及びインターフェロンについて。日衛誌，38，632-641 (1983)。
- 20) 米田尚弘・北村 曠・成田亘啓・三上理一郎・横山邦彦：石綿肺におけるNK細胞活性の検討。日胸疾患誌，22，395-400 (1984)。
- 21) Ginns, L. C., Ryu, J. H., Rogol, P. R., Sprince, N. L., Oliver, L. C. & Larsson, C. J.: Natural killer cell activity in cigarette smokers and asbestos workers. Am. Rev. Respir. Dis., 131, 831-834 (1985)。
- 22) Abo, T. & Balch, C. M.: A differentiation antigen of human NK and K cells identified by a monoclonal antibody (HNK-1). J. Immunol., 127, 1024-1029 (1981)。
- 23) Phillips, J. H. & Babcock, G. F.: NKP-15: A monoclonal antibody reactive against purified human natural killer cells and granulocytes. Immunol. Lett., 6, 143-149 (1983)。
- 24) 押野和夫：NK細胞活性の検査。臨床病理，臨増

- 45, 299-309 (1981).
- 25) Sendo, F. Aoki, T., Boyse, E. A. & Buafu, C. K.: Natural occurrence of lymphocytes showing cytotoxic activity to BALB/C radiation-induced leukemia RL δ 1 cells. *J. Natl. Cancer Inst.*, **55**, 603-609 (1975).
- 26) Kiessling, R., Klein, E. & Wigzell, H.: "Natural" killer cells in the mouse. I Cytotoxic cells with specificity for mouse Moloney leukemia cells. Specificity and distribution according to genotype. *Eur. J. Immunol.*, **5**, 112-117 (1975).
- 27) Herberman, R. B., Nunn, M. E. & Lavrin, D. H.: Natural cytotoxic reactivity of mouse lymphoid cell against syngeneic and allogeneic tumors. I Distribution of reactivity and specificity. *Int. J. Cancer* **16**, 216-229 (1975).
- 28) Pernis, B. & Paronetto, F.: Adjuvant effect of silica (tridymite) on antibody production. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **110**, 390-392 (1962).
- 29) Newhouse, M.: Epidemiology of asbestos-related tumors. *Seminars in Oncology*, **50**, 250-257 (1981).
- 30) 湊 長博: NK 活性発現に影響する諸因子. *臨床免疫*, **16**, 382-391 (1984).
- 31) Yoneda, T., Kasai, M., Ishibashi, J., Nishikawa, K., Tokunaga, T. & Mikami, R.: NK cell activity in pulmonary tuberculosis. *Brit. J. Dis. Chest.*, **77**, 185-188 (1983).
- 32) Ferson, M., Edwards, A., Lind, A., Milton, G. W. & Hersey, P.: Low natural killer-cell activity and immunoglobulin levels associated with smoking in human subject. *Int. J. Cancer*, **23**, 603-609 (1979).
- 33) 海老原勇: じん肺をめぐる最近の社会医学的諸問題. *労働の科学*, **39**, 4-15 (1984).
- 34) 熊谷勝男: IL-2 とインターフェロンによるキラー細胞の増強. *医学のあゆみ*, **126**, 401-408 (1983).
- 35) 窪田道雄・岡田 晃・鏡森定信・横山邦彦: 石綿肺症における NK 細胞, インターフェロンの相互応答性に関する研究. *日衛誌*, **39**, 633-639 (1984).
- 36) 鏡森定信・成瀬優知・窪田道雄・田畑正司・岡田晃: 石綿肺患者の NK 細胞活性のインターロイキン-2 に対する反応度の検討. *産業医学*, **27**, 675 (1985).
- 37) Takagi, S., Kitagawa, S., Takeda, A. & Minato, N.: Natural killer-interferon system in patients with preleukemic states. *Brit. J. Haematol.*, **58**, 71-81 (1984).
- 38) 横山三男・松元康治: モノクローナル抗体を用いたリンパ球サブセットの検査. *日本臨床*, 臨増 **42**, 1186-1195 (1985).
- 39) Miller, L. G., Sparrow, D. & Ginns, L. C.: Asbestos exposure correlates with laterations in circulating T cell subset. *Clin. Exp. Immunol.* **51**, 110-116 (1983).
- 40) deShazo, R. D., Hendrick, D. J., Diem, J. E., Nordberg, J. A., Baser, Y., Bevier, D., Jones, R. N., Barkman, H. W., Salvaggio, J. E. & Weill, H.: Immunologic aberrations in asbestos cement workers: dissociation from asbestosis. *J. Allergy Clin. Immunol.*, **72**, 454-461 (1983).
- 41) Youinou, Y., Ferec, C., Cledes, J., Zabbe, C., Philippon, P., Dewitte, J. D., Guillermin, D. & Clavier, J.: Immunological effect of silica dust analyzed by monoclonal antibodies. *J. Clin. Lab. Immunol.*, **16**, 207-210 (1985).
- 42) 安保 徹: モノクローナル抗体を用いたヒト NK 細胞の解析. *最新医学*, **39**, 51-55 (1984).
- 43) Abo, T., Cooper, M. D. & Balch, C. M.: Characterization of HNK-1⁺ (Leu-7) human lymphocytes I two distinct phenotypes of human NK cells with different cytotoxic capability. *J. Immunol.*, **129**, 1752-1757 (1982).
- 44) Lanier, L. L., Le, A. M., Phillips, J. H., Warner, N. L. & Babcock, G. F.: Subpopulation of human natural killer cells defined by expression of the Leu-7 (HNK-1) and Leu-11 (NK-15) antigens. *J. Immunol.*, **131**, 1789-1796 (1983).

Studies of Natural Killer Cell Activity and its Subsets using Monoclonal Antibodies in Pneumoconiosis Patients Masaji Tabata, Department of Public Health, School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920 – J. Jusen Med. Soc., 95, 440–451 (1986)

Key words: pneumoconiosis, natural killer cell, monoclonal antibody, interferon, interleukin-2

Abstract

The present study was pursued to clarify the immunological characteristics of the natural killer (NK) cell in the pneumoconiosis patients, except the asbestosis. The subjects used in this study were as follows: 1) twenty-two men involved in the pneumoconiosis (mean age of 63.8 years old) who had engaged in the dust yielding work for 12 to 46 years (mean; 27.0 years), 2) twenty-two medically healthy men who had not engaged in the dust yielding work were indicated as the healthy controls. The pneumoconiosis patients were classified into four stages according to the findings of chest X-ray defined by the Pneumoconiosis Law, stage 1 (six men), stage 2 (eleven men), stage 3&4 (five men). The control subjects were selected so that the age would be matched the same as the patients. The NK cell activity was not significantly different in the pneumoconiosis patients compared with the healthy controls. Enhancement of NK cell activities induced by IFN- α and IL-2 on NK cell activities were almost the same levels as observed in the healthy controls. Subsequently, the NK cell activity was significantly lower in the subjects who had engaged in the dust yielding work over 30 years than the subjects engaged for 20 to 29 years. Besides, the white blood cells number and the number of lymphocytes in the pneumoconiosis patients were significantly lower than that of the healthy control. The number of Leu-11a⁺ cells in the patients were significantly lower than that of the healthy controls. And the number of Leu-7⁺ cells in the patients were lower than that of the healthy controls. On the other hands, the percentage of Leu-11a⁺ cells in lymphocytes and that of Leu-7⁺ cells were not significantly different between these two groups. The correlation between the percentage of Leu-11a⁺ cells and NK activity was statistically significant. Thus these results indicate that the systematic survey of the NK cell is very important in the pneumoconiosis patients, to investigate the immunological aspects.