

癌性胸膜炎と結核性胸膜炎とにおける胸水・末梢血リンパ球サブセットの比較

奈良県立医科大学第2内科学教室

鴻池 義純

STUDIES OF LYMPHOCYTE SUBSETS OF PLEURAL EFFUSIONS AND PERIPHERAL BLOOD IN PATIENTS WITH CARCINOMATOUS PLEURISY AND TUBERCULOUS PLEURISY

YOSHIKUNI KOUNOIKE

The Second Department of Internal Medicine, Nara Medical University

Received July 20, 1992

Summary: In order to evaluate local immunity in patients with carcinomatous pleurisy and tuberculous pleurisy, lymphocyte subsets of peripheral blood and pleural effusion were investigated, using two-color flow cytometry.

Comparing carcinomatous pleurisy to tuberculous pleurisy, percentages of CD 16⁺ cells, CD 56⁺ cells, CD 57⁺ cells, CD 20⁺ cells, CD 16⁺CD 57⁺ subsets, CD 16⁺CD 57⁻ subsets, CD 3⁺CD 56⁺ subsets, CD 16⁺HLA-DR⁺ subsets, CD 3⁻CD 16⁻CD 56^{bright+} subsets and CD 8⁺CD 11 b⁺ subsets were significantly increased in carcinomatous pleural effusions; percentages of CD 3⁺ cells and CD 4⁺ cells, and CD 8⁺CD 11 b⁻ subsets were decreased in carcinomatous pleural effusion; and percentages of CD 8⁺ cells, CD 4⁺Leu-8⁺ subsets, CD 4⁺Leu-8⁻ subsets, CD 4⁺CD 45 RA⁺ subsets, CD 4⁺CD 45 RA⁻ subsets, CD 3⁺HLA-DR⁺ subsets, CD 3⁺CD 38⁺ subsets, CD 4⁺HLA-DR⁺ subsets and CD 8⁺HLA-DR⁺ subsets were not significant.

These results indicate an immunological difference between carcinomatous pleurisy and tuberculous pleurisy. Further, they may lead to a new method for the therapy of carcinomatous pleurisy.

Index Terms

lymphocyte subsets, pleural effusion, NK cells, carcinomatous pleurisy, tuberculous pleurisy

緒 言

近年、リンパ球表面抗原と特異的に反応するモノクロナール抗体と flow cytometry (FCM) との発展により、各種疾患での末梢血リンパ球サブセットの測定による免疫学的解析が容易となっている。著者ら¹⁾は肺癌およびその他の癌患者末梢血では健常対照と比べNK細胞比率が有意に増加し、癌の進展度と関連がみられたことを報告し、その後同様の報告もみられる²⁾。NK細胞は1973年 Takasugi ら³⁾によって報告された細胞群で、感

作なしにある種の腫瘍細胞に対して細胞障害性を示すリンパ球であり、担癌患者において免疫監視機構の一端を担っていると考えられている。肺癌患者の末梢血においてNK細胞比率が増加することは興味深い事実である。

一方、病変局所における病態の解明には末梢血のみならずその病変局所における免疫現象に関するリンパ球の解析が必要である。呼吸器疾患ではサルコイドーシス、過敏性肺臓炎などのびまん性肺疾患で気管支肺胞洗浄液 (bronchoalveolar lavage fluid, BALF) 中のリンパ球の解析が行われ病因論的検討がなされている⁴⁾。

今回、著者は呼吸器疾患の局所リンパ球の一つとして胸水中リンパ球に着目し、胸膜疾患、特にリンパ球優位な胸水貯留をきたす癌性胸膜炎と結核性胸膜炎との胸水について検討して新しい知見を得たので報告する。

対 象

対象は原発性肺癌に癌性胸膜炎を合併した 35 例と結核性胸膜炎 33 例とであった。癌性胸膜炎は男性 23 例、女性 12 例、年齢は 35 歳から 76 歳(平均 61.9 ± 10.9 歳 (mean \pm SD)), 全例胸水中に癌細胞を認め、胸水を初発症状としたものが 26 例(男性 16 例、女性 10 例)、9 例は再発・進行例であったが、いずれも前治療から一ヵ月以上経過し、治療の影響はないと考えられた症例であった。また結核性胸膜炎は男性 22 例、女性 11 例、年齢は 21 歳から 82 歳(平均 54.3 ± 15.3 歳)、胸水中結核菌培養陽性もしくは胸膜生検にて結核結節を認めた確診例は 12 例であったが、全例の胸水中 adenosine deaminase (ADA) 値は高値で、抗結核薬にも良く反応し全例臨床的に結核性胸膜炎と診断できた症例であった。

方 法

1. 単核細胞の分離

ヘパリン加胸水をほぼ等量の Ficoll-Hypaque 液(リンフォブレップ、比重 1.077, Nyegaard Co., A/S, Oslo)に重層、室温にて 400 g, 30 分間遠心、単核細胞を分離した。胸水採取前に肘静脈からヘパリン加採血、PBS(-) (phosphate buffered saline, Ca^{++} ・ Mg^{++} 無添加 0.01 M リン酸緩衝生理食塩水 pH 7.3, 日水製薬社製)で 2 倍に希釈後、同様の方法で単核細胞を分離した。PBS(-)で 2 回洗浄後、2% fetal calf serum (FCS, Chimera Biomedics Corporation 製), 0.1% NaN_3 (和光純薬工業社製)を含む PBS 中に浮遊させた。0.12% trypan-blue にて総細胞数と生細胞率とを測定したところ、生細胞率はいずれも 95% 以上であった。

2. 蛍光染色と FACS 解析

1×10^6 個の単核細胞と至適濃度に調整した各種の fluorescein isothiocyanate (FITC) 標識モノクローナル抗体 20 μ l とまた一部は phycoerythrin (PE) 標識モノクローナル抗体 20 μ l と 4°C 30 分間反応させ、反応終了後 PBS にて 2 回洗浄、その後 PBS 0.5 ml に再浮遊し FACSscan (Becton Dickinson 社)にて解析した。

FITC と PE の蛍光励起にはアルゴンレーザー光(480 nm)を使用した。前方向散乱光(forward scatter: FSC), 側方向散乱光(side scatter: SSC), FITC の発する緑色蛍光(530 nm, fluorescence 1: FL-1), PE の発

する赤色蛍光(585 nm, fluorescence 2: FL-2)の 4 つのパラメーターを検出し、コンピューターシステム Consort 30 により解析した。データの表示には dot plot を用い、前方散乱光と側方散乱光から得られたサイトグラムによりリンパ球集団にゲートを設定し(Fig. 1), その中に含まれる 10,000 個のリンパ球を解析し、FITC と PE の陽性細胞比率と 2 つのパラメーターの組合せによる 4 つのサブセットの比率とを測定した(Fig. 2)。

3. モノクローナル抗体

使用したモノクローナル抗体は、CD 3(Leu-4), CD 4(Leu-3 a), CD 8(Leu-2 a), Leu-8, CD 11 b(Leu-15), CD 16(Leu-11), CD 20(Leu-16), CD 38(Leu-17), CD 45 RA(Leu-18), CD 56(Leu-19), CD 57(Leu-7), CD 69(Leu-23), HLA-DR で、いずれも Becton Dickinson 社製であった。これらのモノクローナル抗体の主な特異性(Table 1)と、2 種のモノクローナル抗体の組合せによる現在の各サブセットの機能(Table 2)とを示した。

4. 統計学的解析

本研究における統計学的検定は対応のある t 検定および対応のない t 検定によった。

成 績

最初に癌性胸水、結核性胸水症例における各リンパ球サブセット比率を示す(Table 3)。

I. 癌性胸膜炎(Fig. 3 a, b, c, d, e, f)

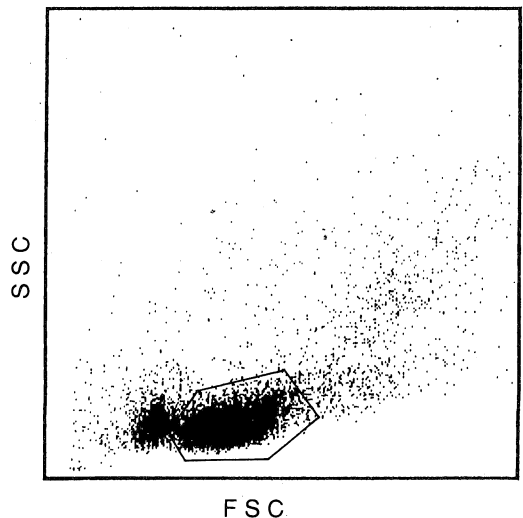


Fig. 1. Simultaneous two-parameter dot displays of human pleural effusion mononuclear cells. The gate was set to include lymphocytes.

Table 1. Specificity of monoclonal antibodies used in this study

Cluster designation	Monoclonal antibody	Major specificity
CD3	Leu-4	Pan T cells ⁹⁾
CD4	Leu-3a	Helper/inducer T cells ⁷⁾⁸⁾
CD8	Leu-2a	Cytotoxic/suppressor T cells ⁷⁾⁸⁾
—	Leu-8	Leukocyte adhesion molecule-1 ⁹⁾¹⁰⁾
CD11b	Leu-15	Monocytes and granulocytes ¹¹⁾¹²⁾
CD16	Leu-11	NK cells ¹³⁾
CD20	Leu-16	B cells ¹⁴⁾
CD38	Leu-17	Activated T cells ¹⁵⁾
CD45RA	Leu-18	Naive T cells ¹⁶⁾¹⁷⁾
CD56	Leu-19	NK cells, T cell subset and N-CAM ¹⁸⁾
CD57	Leu-7	NK cells and T cell subset ¹⁹⁾
CD69	Leu-23	Early activated antigen ²⁰⁾²¹⁾
—	HLA-DR	B cells and activated T cells ²²⁾

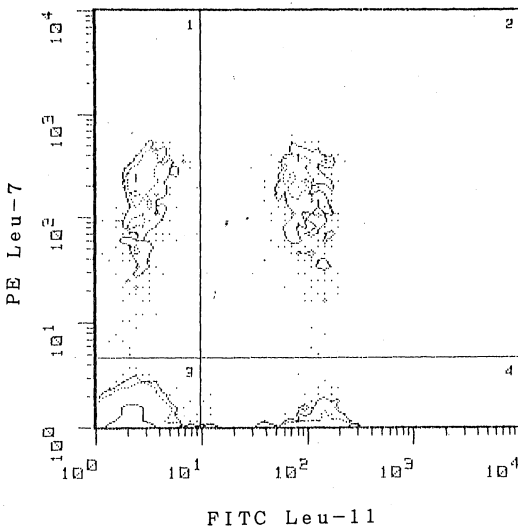


Fig. 2. Two-color immunofluorescence analysis of lymphocytes stained with anti-CD16 (Leu-11) and anti-CD57 (Leu-7).

① T細胞サブセット (Fig. 3 a, b)

癌性胸膜炎の胸水中では末梢血に比べて CD 3⁺T 細胞の比率が有意に増加していた (p<0.01)。なかでも CD 4⁺T 細胞の比率が有意に増加し (p<0.01)、そのサブセットの CD 4⁺Leu-8⁺細胞、CD 4⁺Leu-8⁻細胞、CD 4⁺CD 45 RA⁻(memory T)細胞は有意に増加していたが (p<0.01)、CD 4⁺CD 45 RA⁺(naive T)細胞は有意差を認めなかった。逆に、CD 8⁺T 細胞比率は胸水中で有意に減少し (p<0.01)、なかでも CD 8⁺CD 11 b⁺細胞が有意に減少していたが (p<0.01)、CD 8⁺CD 11 b⁻細胞では有意差を認めなかった。すなわち、CD 8⁺T 細胞比率の減少は CD 8⁺CD 11 b⁺細胞の減少に起因していた。

Table 2. Functional lymphocyte subsets identified by monoclonal antibodies

CD4 ⁺ Leu-8 ⁻	Helper T cells ⁹⁾
CD4 ⁺ Leu-8 ⁺	Suppressor inducer T cells ²³⁾
CD4 ⁺ CD45RA ⁺	Naive CD4 ⁺ cells ²⁴⁾
CD4 ⁺ CD45RA ⁻	Memory CD4 ⁺ cells ²⁴⁾
CD8 ⁺ CD11b ⁺	Suppressor T cells ¹¹⁾
CD8 ⁺ CD11b ⁻	Cytotoxic T cells ¹²⁾
CD16 ⁺ CD57 ⁺	NK activity (+) ¹³⁾
CD16 ⁺ CD57 ⁻	NK activity (++) ¹³⁾
CD3 ⁺ HLA-DR ⁺	Activated T cells ²⁵⁾
CD3 ⁺ CD38 ⁺	Activated T cells ¹⁵⁾
CD4 ⁺ HLA-DR ⁺	Activated CD4 ⁺ cells
CD4 ⁺ CD69 ⁺	Early activated CD4 ⁺ cells
CD8 ⁺ HLA-DR ⁺	Activated CD8 ⁺ cells
CD8 ⁺ CD69 ⁺	Early activated CD8 ⁺ cells
CD16 ⁺ HLA-DR ⁺	Activated CD16 ⁺ cells
CD16 ⁺ CD69 ⁺	Early activated CD16 ⁺ cells ²¹⁾
CD3 ⁺ CD56 ⁺	Non MHC restricted cytotoxic T cells ¹⁸⁾
CD3 ⁻ CD16 ⁻ CD56 ^{brigh} t ⁺	Immature NK cells ⁸⁾

② B細胞 (Fig. 3 a)

CD 20⁺B 細胞は末梢血と胸水で有意差を認めなかった。

③ NK細胞サブセット (Fig. 3 a, c)

胸水中では CD 16⁺細胞 (p<0.01)、CD 56⁺細胞 (p<0.05)、CD 57⁺細胞 (p<0.01)とも有意に減少していたが、それぞれ 9.6±9.5、16.3±15.1、11.5±9.5%と標準偏差は大きかった。また、CD 16⁺CD 57⁺細胞、CD 16⁺CD 57⁻細胞は胸水中で有意に減少していた (p<0.01)。

④ 活性化抗原 (Fig. 3 d, e)

CD 3⁺HLA-DR⁺細胞 (p<0.05)、CD 3⁺CD 38⁺細胞 (p<0.01)は胸水中で有意に増加していた。特に CD 4⁺HLA-DR⁺細胞が有意に増加していたが (p<0.01)、CD 16⁺HLA-DR⁺細胞は胸水中で有意に減少していた (p<

Table 3. Percentages of lymphocyte subsets in patients with pleural effusions

subset	n	Lung cancer		n	Tuberculosis	
		P. B. (%)	P. E. (%)		P. B. (%)	P. E. (%)
CD3	34	61.0±15.9	77.5±11.2	33	55.9±14.0	88.4± 6.4
CD4	35	38.0±12.6	56.9±13.3	32	34.7±10.7	67.4± 8.2
CD8	35	27.1±10.8	21.9± 8.3	33	26.9± 9.8	22.1± 8.7
CD20	35	9.5± 6.6	9.4± 5.7	27	6.2± 4.0	5.0± 3.8
CD16	35	28.4±13.4	9.6± 9.5	27	31.8±13.4	3.7± 2.8
CD56	14	29.2±10.5	16.3±15.1	14	37.1± 8.7	6.8± 3.2
CD57	35	33.2±12.5	11.5± 9.5	33	33.6±10.5	4.5± 3.3
CD4+Leu-8+	30	24.9±13.3	33.4±12.4	23	20.9± 8.9	40.6±12.9
CD4+Leu-8-	30	13.9± 7.7	25.3±11.3	23	12.2± 7.0	26.9±11.5
CD4+CD45RA+	6	16.2± 5.3	19.7± 8.5	5	15.8±13.0	21.5±19.9
CD4+CD45RA-	6	17.7± 5.9	41.2± 7.0	5	14.4± 9.7	46.9±21.9
CD8+CD11b+	30	9.9± 5.1	5.3± 5.5	23	12.4± 5.8	1.9± 1.1
CD8+CD11b-	30	17.5±10.2	16.5± 6.7	23	17.1± 8.3	21.5± 8.5
CD16+CD57+	31	18.7±12.3	5.0± 7.7	23	21.6±10.9	2.0± 3.8
CD16+CD57-	31	9.9± 5.3	4.4± 3.0	23	12.3± 6.6	3.1± 2.1
CD3+HLA-DR+	26	11.6± 7.3	17.4±13.1	23	8.3± 5.6	17.1±10.3
CD3+CD38+	14	9.7± 5.9	21.2±12.0	16	10.1± 7.1	21.2±10.4
CD4+HLA-DR+	27	4.8± 2.9	10.0± 7.4	23	4.4± 3.0	13.4± 8.5
CD4+CD69+	5	0.4± 0.2	3.6± 0.9	3	0.2± 0.1	4.6± 4.1
CD8+HLA-DR+	28	8.0± 7.1	8.3± 7.7	23	5.7± 4.6	5.2± 3.8
CD8+CD69+	5	2.1± 0.9	7.6± 4.8	3	2.7± 1.4	2.6± 1.2
CD16+HLA-DR+	26	7.3± 7.4	4.3± 4.0	23	6.0± 7.2	2.2± 2.7
CD16+CD69+	5	2.4± 1.8	7.5± 8.9	3	3.0± 0.4	1.1± 0.6
CD3+CD56+	14	5.1± 3.4	4.3± 4.2	14	4.9± 3.8	1.9± 0.8
CD3-CD16-CD56 ^{bright} +	15	0.5± 0.3	2.5± 1.5	15	0.7± 0.7	1.6± 1.0

P. B. : peripheral blood, P. E. : pleural effusion

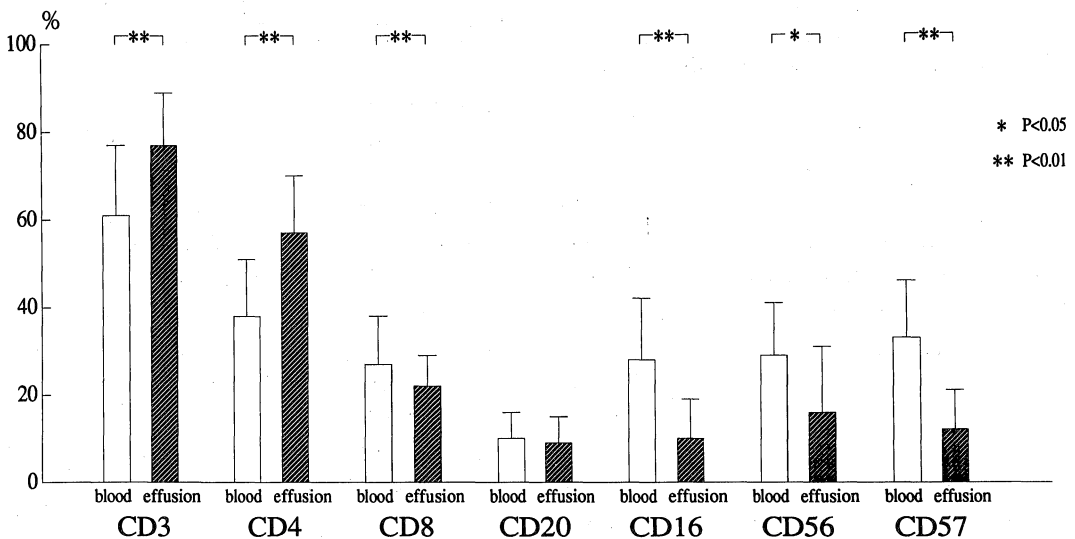


Fig. 3a. Lymphocyte subsets of peripheral blood and pleural effusion in patients with carcinomatous pleurisy.

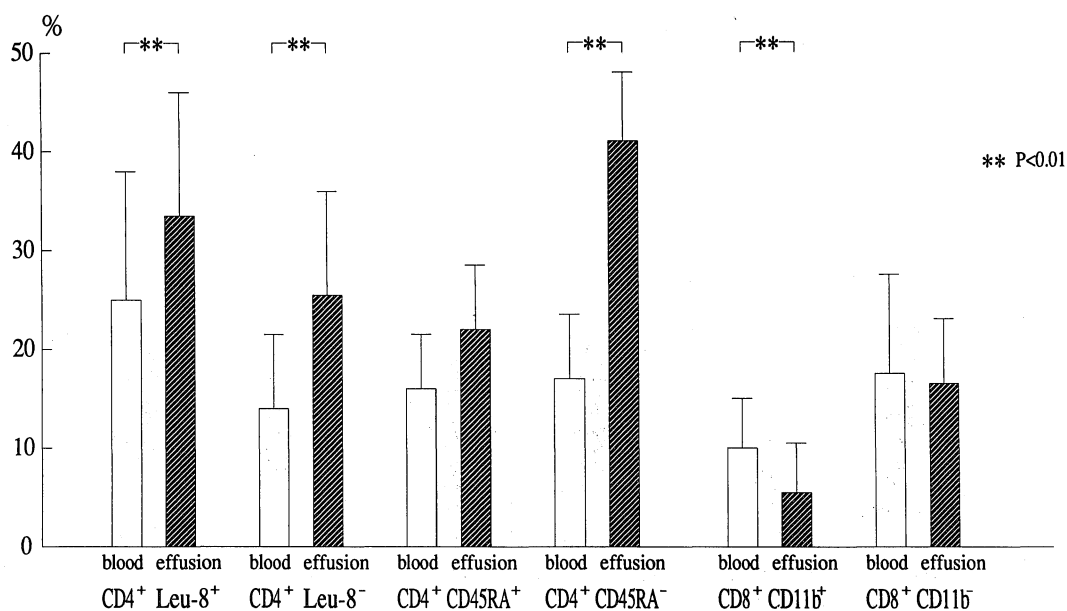


Fig. 3b. T cell subsets of peripheral blood and pleural effusion in patients with carcinomatous pleurisy.

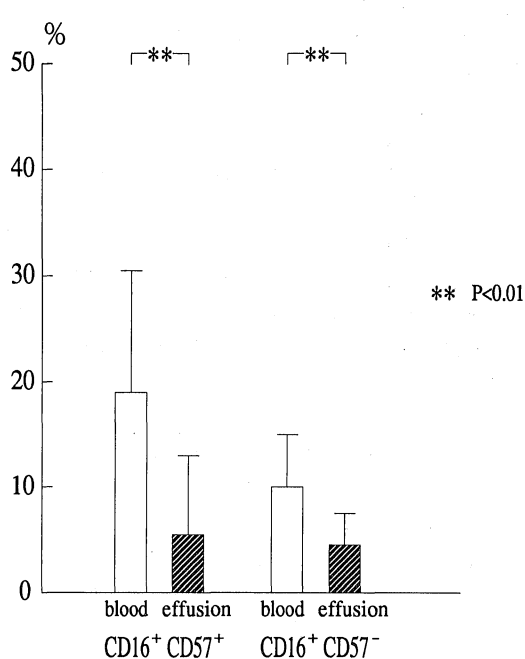


Fig. 3c. NK cell subsets of peripheral blood and pleural effusion in patients with carcinomatous pleurisy.

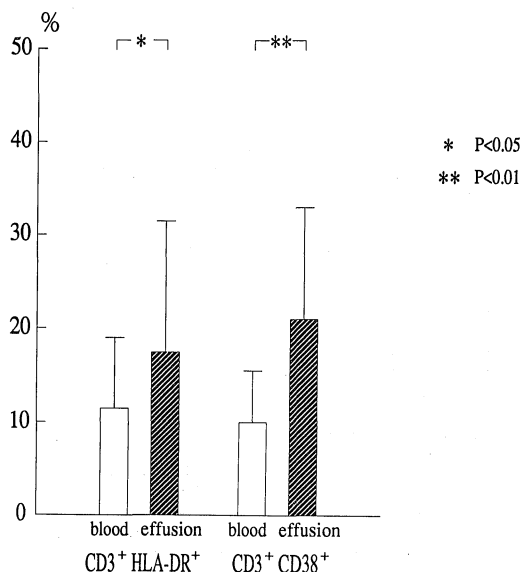


Fig. 3d. Activated T cell subsets of peripheral blood and pleural effusion in patients with carcinomatous pleurisy.

0.05). また, CD 4⁺CD 69⁺細胞(p<0.01), CD 8⁺CD 69⁺細胞(p<0.05)も胸水中で有意に増加していた。

⑤ CD 56 関連サブセット (Fig. 3 f)

CD 3⁺CD 56⁺細胞は末梢血と胸水とでは有意差を認めなかったが, CD 3⁻CD 16⁻CD 56^{bright+}細胞は胸水中で有意に増加していた(p<0.01)。

II. 結核性胸膜炎 (Fig. 4 a, b, c, d, e, f)

① T 細胞サブセット (Fig. 4 a, b)

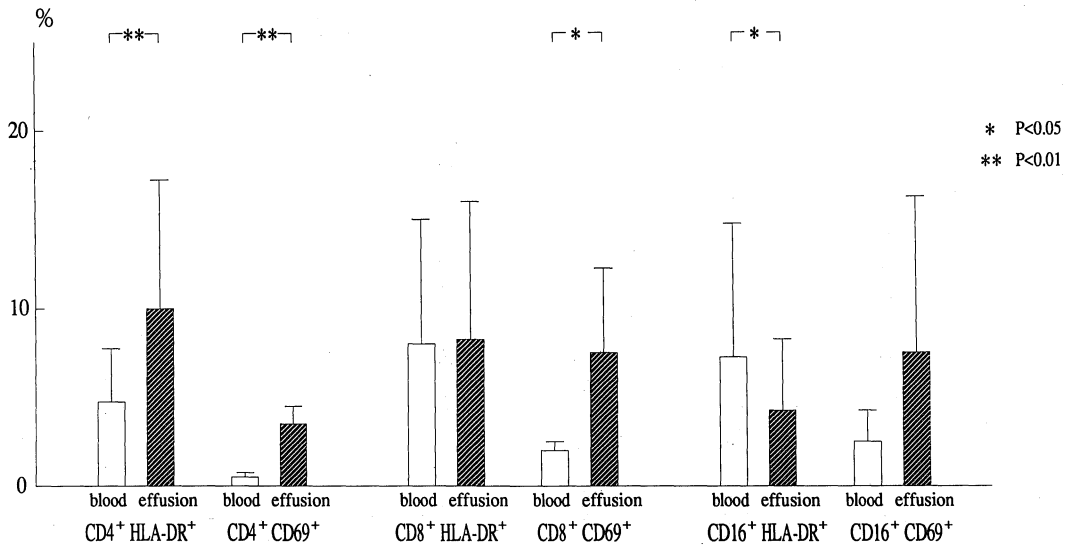


Fig. 3e. Activated T cell subsets and activated NK cell subsets of peripheral blood and pleural effusion in patients with carcinomatous pleurisy.

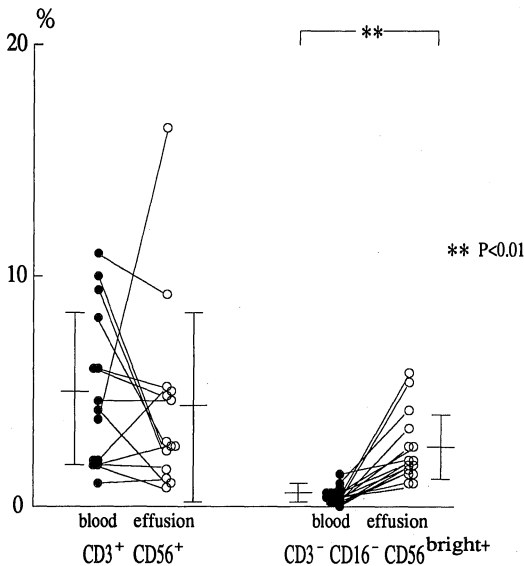


Fig. 3f. CD56⁺ cell subsets of peripheral blood and pleural effusion in patients with carcinomatous pleurisy.

結核性胸膜炎胸水中でも末梢血に比べ CD 3⁺T 細胞の比率が有意に増加していた (p<0.01). なかでも CD 4⁺T 細胞の比率が有意に増加し (p<0.01), そのサブセットの CD 4⁺Leu-8⁺細胞, CD 4⁺Leu-8⁻細胞, CD 4⁺CD 45 RA⁻細胞は有意に増加していたが (p<0.01), CD 4⁺CD 45 RA⁺細胞は有意差を認めなかった. 逆に, CD 8⁺T 細

胞比率は有意に胸水中で減少し (p<0.01), 特に CD 8⁺CD 11 b⁺細胞が著明に減少していた (p<0.01). しかし, CD 8⁺CD 11 b⁻細胞は胸水中で有意に増加していた (p<0.01).

② B 細胞 (Fig. 4 a)

CD 20⁺B 細胞は末梢血と胸水とで有意差を認めなかった.

③ NK 細胞 (Fig. 4 a, c)

胸水中では CD 16⁺細胞, CD 56⁺細胞, CD 57⁺細胞いずれも著明に減少し (p<0.01), それらのサブセット CD 16⁺CD 57⁺細胞, CD 16⁺CD 57⁻細胞も著明に減少していた (p<0.01).

④ 活性化抗原 (Fig. 4 d, e)

CD 3⁺HLA-DR⁺細胞, CD 3⁺CD 38⁺細胞は胸水中で有意に増加していた (p<0.01). 特に CD 4⁺HLA-DR⁺細胞が有意に増加していたが (p<0.01), CD 16⁺HLA-DR⁺細胞 (p<0.01), CD 16⁺CD 69⁺細胞 (p<0.05) は胸水中で有意に減少していた. また, CD 8⁺CD 69⁺細胞は有意差を認めず, CD 4⁺CD 69⁺細胞は胸水で高い例もみられたが有意差はなかった.

⑤ CD 56 関連サブレット (Fig. 4 f)

CD 3⁺CD 56⁺細胞は胸水で有意に減少し (p<0.05), CD 3⁻CD 16⁻CD 56^{bright+}細胞は胸水中で有意に増加していた (p<0.01).

III. 癌性胸水と結核性胸水の比較

(Fig. 5 a, b, c, d, e, f)

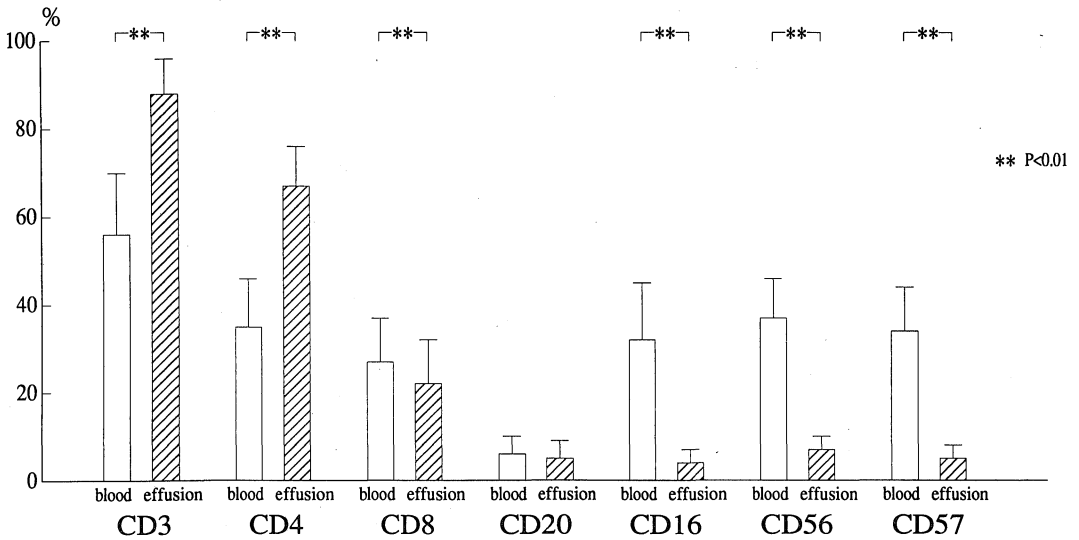


Fig. 4a. Lymphocyte subsets of peripheral blood and pleural effusion in patients with tuberculous pleurisy.

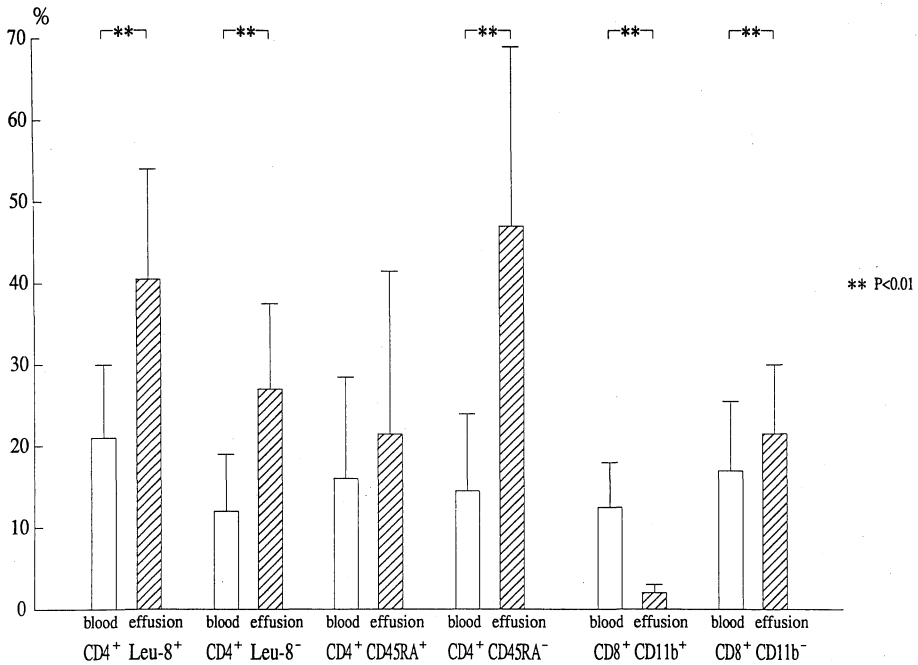


Fig. 4b. T cell subsets of peripheral blood and pleural effusion in patients with tuberculous pleurisy.

① T細胞サブセット (Fig. 5 a, b)

CD3⁺T細胞比率, 中でもCD4⁺T細胞の比率が結核性胸水で有意に高いが(p<0.01), それらのサブセットのCD4⁺Leu-8⁺細胞, CD4⁺Leu-8⁻細胞, CD4⁺CD45RA⁻細胞, CD4⁺CD45RA⁺細胞はいずれも有意差を認

めなかった. 一方, CD8⁺T細胞比率は癌性胸水と結核性胸水とでは有意差はなかったが, そのサブセットのうちCD8⁺CD11b⁺細胞が癌性胸水で有意に高く(p<0.01), CD8⁺CD11b⁻細胞は結核性胸水で有意に高いという対照的な結果であった(p<0.05).

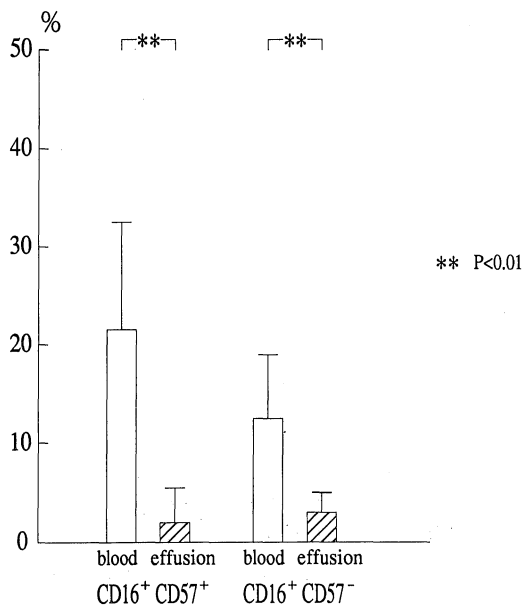


Fig. 4c. NK cell subsets of peripheral blood and pleural effusion in patients with tuberculous pleurisy.

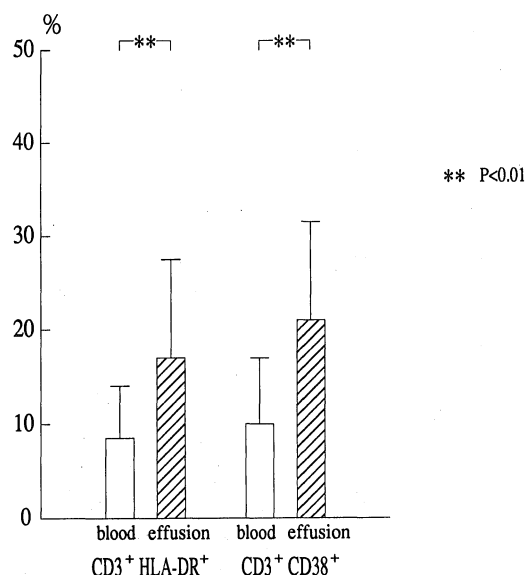


Fig. 4d. Activated T cell subsets of peripheral blood and effusion in patients with tuberculous pleurisy.

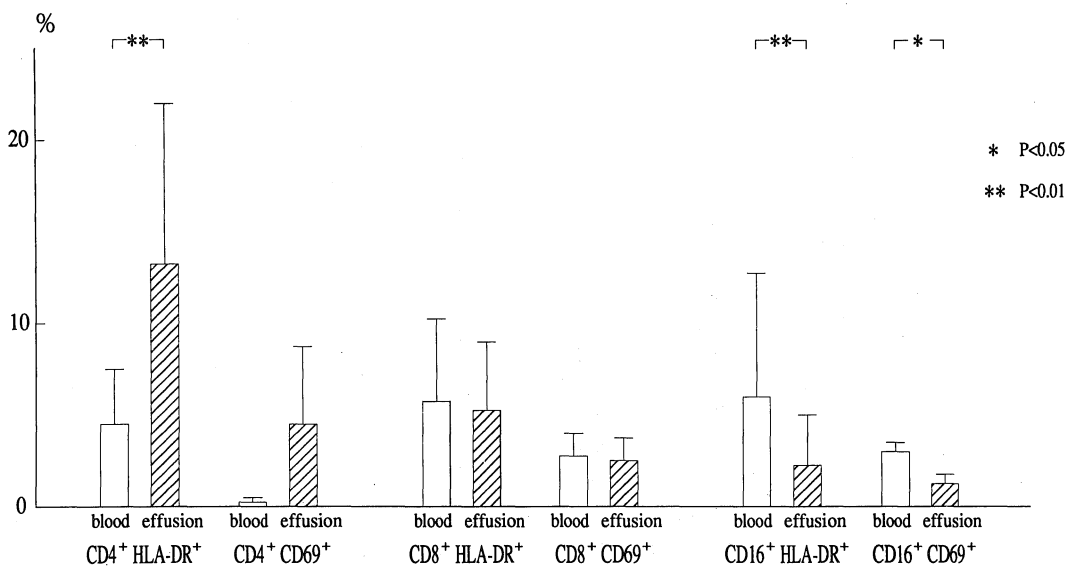


Fig. 4e. Activated T cell subsets and activated NK cell subsets of peripheral blood and pleural effusion in patients with tuberculous pleurisy.

- ② B細胞(Fig. 5 a)
CD 20⁺B細胞は癌性で有意に高かった(p<0.01).
- ③ NK細胞サブセット(Fig. 5 a, c)
CD 16⁺細胞(p<0.01), CD 56⁺細胞(p<0.05), CD 57⁺細胞(p<0.01)とも癌性で有意に高く、それらのサブセ

- ットの CD 16⁺CD 57⁺細胞, CD 16⁺CD 57⁻細胞はともに癌性胸水で有意に高かった(p<0.05).
- ④ 活性化抗原(Fig. 5 d, e)
CD 3⁺HLA-DR⁺細胞, CD 3⁺CD 38⁺細胞, CD 4⁺HLA-DR⁺細胞, CD 8⁺HLA-DR⁺細胞はいずれも有意差を認

めなかったが、CD 16⁺HLA-DR⁺細胞は癌性胸水で有意に高かった(p<0.01). CD 69 発現サブセットでは CD 4⁺CD 69⁺細胞は結核性胸水で、CD 8⁺CD 69⁺細胞と CD 16⁺CD 69⁺細胞は癌性胸水で高い例もみられたが有意差はなかった.

⑤ CD 56 関連サブセット (Fig. 5 f)

CD 3⁺CD 56⁺細胞, CD 3⁻CD 16⁻CD 56^{bright+}細胞とも

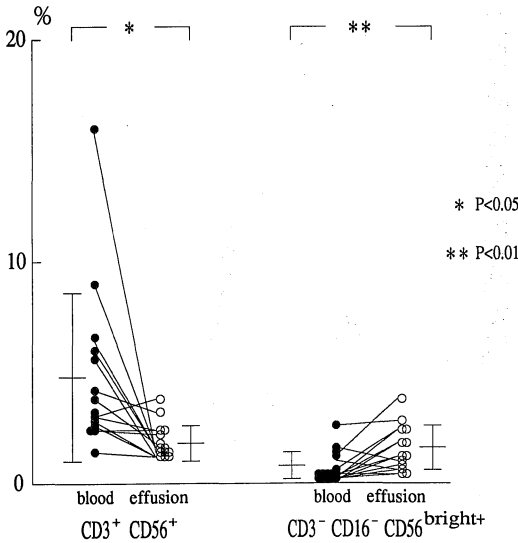


Fig. 4f. CD56⁺ cell subsets of peripheral blood and pleural effusion in patients with tuberculous pleurisy.

に癌性胸水中で高かった(p<0.05).

考 察

癌性胸膜炎は肺癌患者でみられる主要な合併症の一つでその胸水中リンパ球は直接癌細胞と接する点で末梢血リンパ球とは異なる環境にある. 局所リンパ球の解析として肺癌患者の BALF 中では同一患者の末梢血に比べ CD 3⁺細胞や CD 8⁺細胞比率が高く, CD 4⁺細胞は低い傾向にあることが報告され²⁶⁾²⁷⁾担癌局所での免疫反応が推測されている. 癌性胸水中のリンパ球サブセットについては, Djeu ら²⁸⁾が羊赤血球ロゼット形成法を用いて乳癌や肺癌などからの転移性癌性胸水中で末梢血中に比して T 細胞の増加と B 細胞の低下とを報告している. モノクロナール抗体と FCM とを用いた検討では, Ginns ら²⁹⁾が肺癌患者などからの癌性胸水を検討し, CD 3⁺細胞, CD 4⁺細胞は胸水中で増加, CD 8⁺細胞は不変であると報告している. また, 癌性胸水中では末梢血中に比して CD 3⁺細胞や CD 4⁺細胞は増加³⁰⁾⁻³²⁾か不変³³⁾⁻³⁴⁾, CD 8⁺細胞は不変³⁰⁾⁻³⁴⁾, B 細胞は不変³⁰⁾, NK 細胞は低下³⁰⁾³²⁾³⁴⁾³⁸⁾か不変³⁴⁾であるという報告もみられる. これらの報告でみられる結果の若干の相違は原発臓器が様々であり, 症例数が少ないためと考えられる.

著者の多数例の原発性肺癌に合併した癌性胸水の検討では T 細胞を示す CD 3⁺細胞は末梢血に比して有意に高く, なかでも CD 4⁺細胞が有意に高く, 逆に CD 8⁺細胞は有意に低かった. B 細胞を示す CD 20⁺細胞は末梢血と

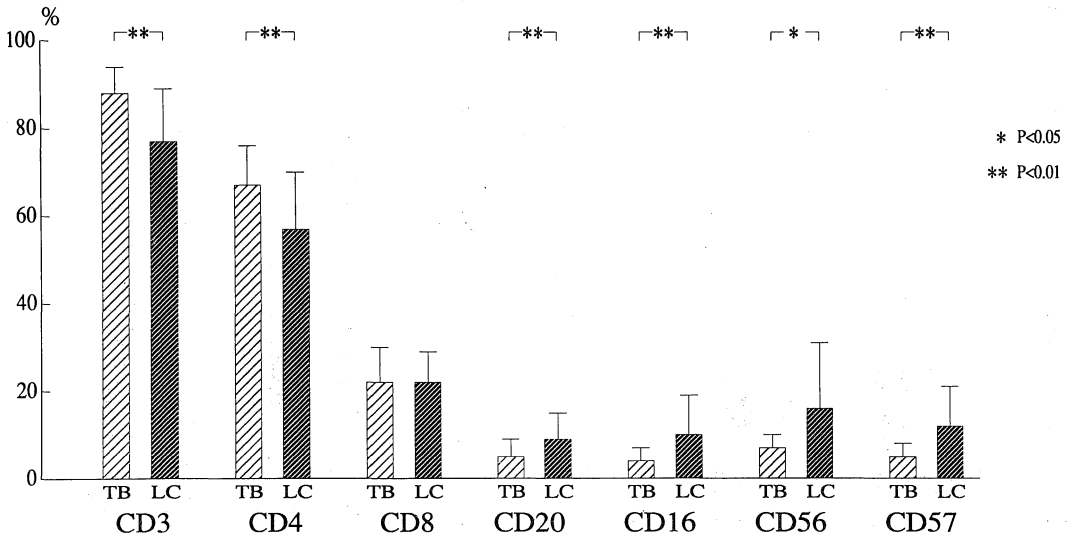


Fig. 5a. Lymphocyte subsets of pleural effusion in patients with carcinomatous pleurisy and tuberculous pleurisy.

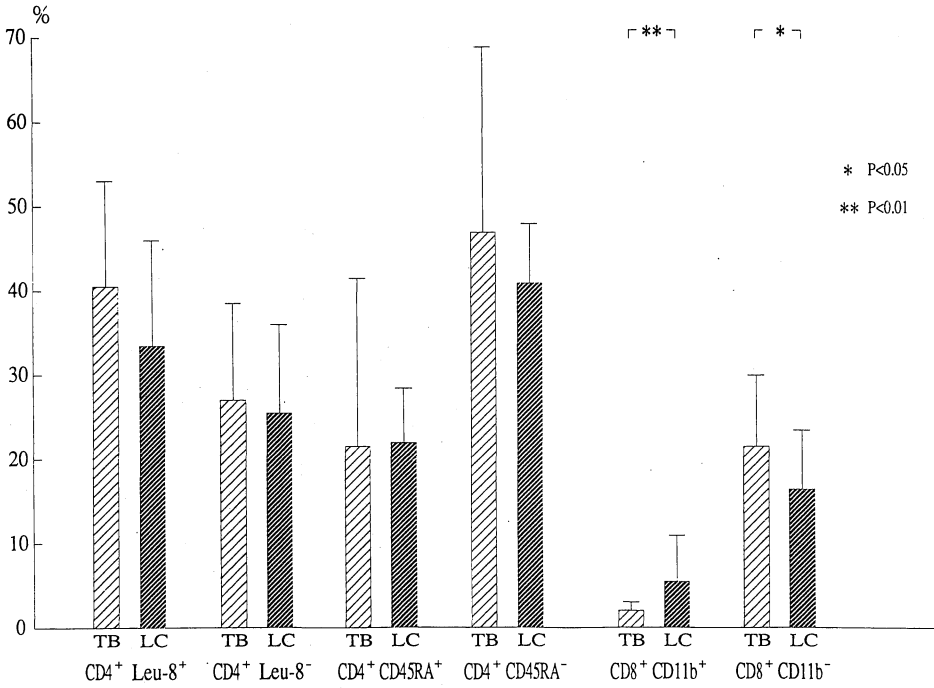


Fig. 5b. T cell subsets of pleural effusion in patients with carcinomatous pleurisy and tuberculous pleurisy.

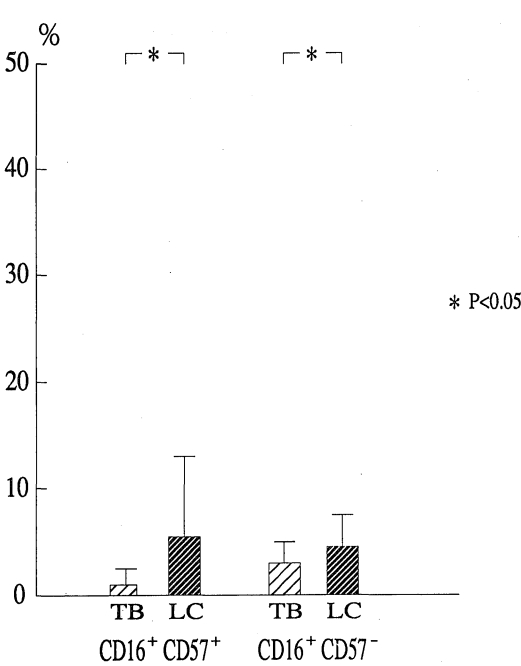


Fig. 5c. NK cell subsets of pleural effusion in patients with carcinomatous pleurisy and tuberculous pleurisy.

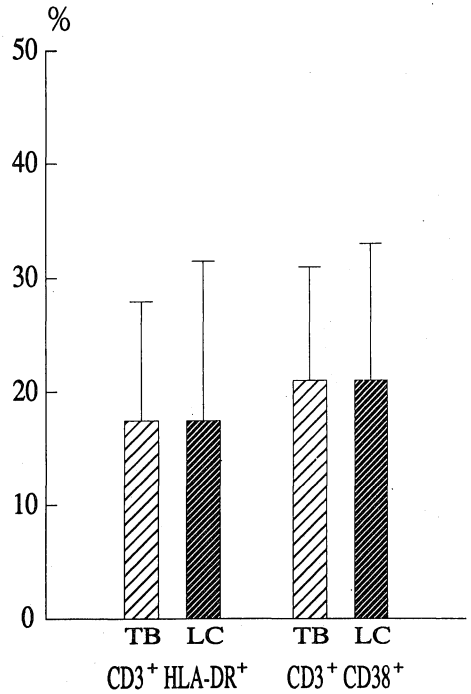


Fig. 5d. Activated T cell subsets of pleural effusion in patients with carcinomatous pleurisy and tuberculous pleurisy.

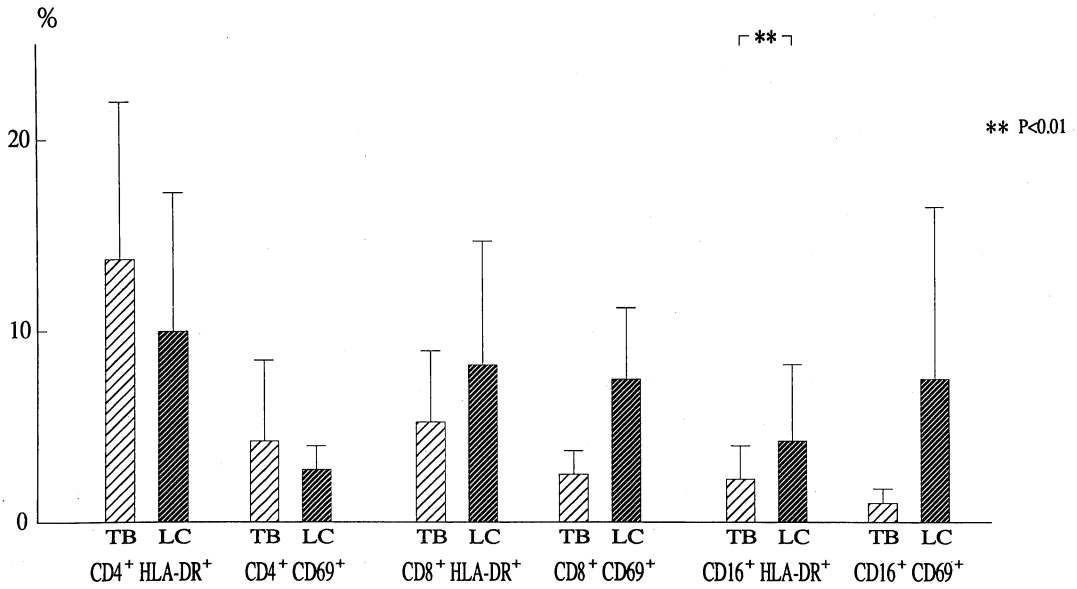


Fig. 5e. Activated T cell subsets and activated NK cell subsets of pleural effusion in patients with carcinomatous pleurisy and tuberculous pleurisy.

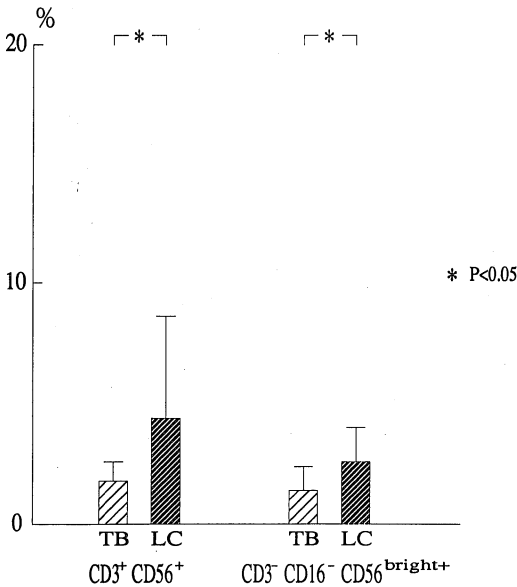


Fig. 5f. CD56⁺ cell subsets of pleural effusion in patients with carcinomatous pleurisy and tuberculous pleurisy.

有意差を認めず, NK細胞のマーカーであるCD16⁺細胞, CD56⁺細胞, CD57⁺細胞はいずれも胸水で有意に低かった。

癌性胸水リンパ球をtwo color解析し同一患者の末梢

血と比較検討した報告は現在までみられていないので, 癌性胸水中リンパ球サブセットをさらに詳細に解析するために, two color解析を行い, 末梢血と比較検討した。

癌性胸水中で増加したCD4⁺細胞ではCD4⁺Leu-8⁻細胞もCD4⁺Leu-8⁺細胞も共に胸水中で増加している。また, CD4⁺CD45RA⁺(naive)T細胞では有意差を認めず, CD4⁺CD45RA⁻(memory)T細胞は胸水中で増加している。CD45RA抗原を発現するT細胞は以前に抗原刺激を受けたことのないnaiveT細胞であり, CD45RA抗原を発現していないT細胞はすでに抗原刺激を受け一旦活性化された既往を有し, その後静止状態にもどっているmemoryT細胞であるとされる²⁴⁾。癌性胸水中で後者のmemory型CD4⁺細胞が増加していたことは, 担癌局所における免疫応答を反映していると考えられるが, 本細胞の役割についての詳細は不明である。胸水中でCD8⁺細胞が低いのはそのサブセットのCD8⁺CD11b⁺細胞が低いためである。CD16⁺CD57⁺細胞やCD16⁺CD57⁻細胞のNK細胞サブセットは共に低い。活性化抗原の検討では, CD3⁺HLA-DR⁺細胞やCD3⁺CD38⁺細胞の活性化T細胞が胸水中で有意に増加している。その中でもCD4⁺HLA-DR⁺細胞は有意に増加しているが, CD8⁺HLA-DR⁺細胞は不変である。過去の報告では癌性胸水中でHLA-DR⁺リンパ球の増加がみられ, T細胞が一部活性化していることが推察されているが³⁰⁾, 今回の研究により癌性胸水中でみられる活性化T

細胞は主に CD 4⁺細胞に属していることが新しく示される。早期活性化抗原である CD 69 抗原の胸水中リンパ球における発現の報告はないが、CD 69 抗原は CD 4⁺細胞にも CD 8⁺細胞にも共に有意に発現している。HLA-DR 抗原と CD 69 抗原は活性化による抗原の発現時期が異なることが報告されており、その所見をふまえて考えると胸水中の CD 4⁺細胞と CD 8⁺細胞は活性化の時相が異なっていることが推測される。

結核性胸水中のリンパ球サブセットについては、Pettersson ら³⁷⁾が胸水中では末梢血中に比して T 細胞の増加と B 細胞の低下とがみられることを報告している。モノクローナル抗体と FCM を用いた検討では、胸水中では末梢血中に比して CD 3⁺T 細胞、CD 4⁺T 細胞は増加³⁰⁾⁻³³⁾³⁸⁾、CD 8⁺T 細胞は不変³⁰⁾⁻³³⁾³⁸⁾か低下³⁴⁾、B 細胞は不変³⁸⁾か低下³⁰⁾、NK 細胞は低下³⁰⁾³¹⁾³⁴⁾³⁵⁾³⁸⁾か不変³⁴⁾との報告がみられる。

著者が検討した結核性胸水では末梢血に比し CD 3⁺T 細胞は有意に高く、なかでも CD 4⁺T 細胞が有意に高く、逆に CD 8⁺T 細胞は有意に低かった。B 細胞を示す CD 20⁺細胞は末梢血と有意差を認めず、NK 細胞のマーカをもつ CD 16⁺細胞、CD 56⁺細胞、CD 57⁺細胞はいずれも胸水で著明に低かった。これらの結果はいずれも従来の報告と一致した。

結核性胸水リンパ球の two color 解析では、原田ら³⁸⁾は胸水で増加した CD 4⁺細胞のサブセットの CD 4⁺Leu-8⁺細胞と CD 4⁺Leu-8⁻細胞は、共に胸水で増加し、CD 8⁺CD 11 b⁺細胞が胸水で低下、NK 細胞サブセットの CD 16⁺CD 57⁺細胞や CD 16⁺CD 57⁻細胞は胸水で低下し、活性化 T 細胞の CD 3⁺HLA-DR⁺細胞は軽度増加していると報告している。Barnes ら³⁹⁾は胸水で増加した CD 4⁺細胞のうち CD 4⁺CD 45 RA⁻memory T 細胞が増加し、CD 4⁺CD 45 RA⁺naive T 細胞は末梢血と有意差がないと報告している。

著者の検討した結核性胸水でも CD 3⁺細胞、なかでも CD 4⁺細胞の増加がみられ、そのサブセットの CD 4⁺Leu-8⁺細胞も CD 4⁺Leu-8⁻細胞も共に胸水中で増加していた。また、CD 4⁺CD 45 RA⁺(naive) T 細胞は有意差を認めず、CD 4⁺CD 45 RA⁻(memory) T 細胞は胸水で増加していた。胸水中では後者の memory CD 4⁺細胞が増加していたことはすでに結核菌という一次抗原に刺激された結果と考えられた。胸水で CD 8⁺細胞が低いのはそのサブセットの CD 8⁺CD 11 b⁺細胞が低いためであった。NK 細胞サブセットはいずれも著明に低かった。活性化抗原の検討では、CD 3⁺HLA-DR⁺細胞や CD 3⁺CD 38⁺細胞の活性化 T 細胞が胸水中で増加していた。中でも

CD 4⁺HLA-DR⁺細胞は増加していたが、CD 8⁺HLA-DR⁺細胞は不変であった。Shiratsuchi ら⁴⁰⁾は結核性胸膜炎患者の胸水リンパ球のうち PPD 誘導により増殖したリンパ球は CD 4⁺リンパ球に属していたと報告した。胸水中で naive CD 4⁺細胞が結核菌体成分の抗原刺激により一旦活性化されるため CD 4⁺CD 45 RA⁻細胞群が胸水中で増加し、その後静止状態にもどって memory CD 4 細胞に変化するため CD 4⁺CD 45 RA⁻細胞群が増加していると考えられた。早期活性化抗原の CD 69 抗原は CD 4⁺細胞で一部高いものがあり、ばらつきがみられたが、その原因は結核性胸膜炎の早期を臨床的にとらえるのは非常に困難であり、そのためにこうしたばらつきがみられたと考えられた。

胸水中リンパ球サブセットを結核性と癌性とで比較した従来の成績では結核性胸水の方が CD 3⁺細胞、CD 4⁺細胞が高値³⁰⁾³³⁾³⁴⁾、癌性胸水の方が CD 8⁺細胞³⁴⁾、B 細胞³⁶⁾が高値、また NK 細胞³⁵⁾も癌性胸水の方で高い傾向があるという報告がある。two-color 解析では高田ら³⁰⁾は CD 4⁺Leu-8⁻細胞と CD 8⁺CD 11 b⁺細胞は癌性で高く、CD 4⁺Leu-8⁺細胞、CD 8⁺CD 11 b⁻細胞、CD 4⁺HLA-DR⁺細胞は結核性で高値と報告しているが、症例数はそれぞれ 6 例と少ない。

著者の多数例を対象にした検討では CD 3⁺細胞、CD 4⁺細胞は結核性胸水で高く、CD 20⁺細胞(B 細胞)、CD 16⁺細胞、CD 56⁺細胞、CD 57⁺細胞は癌性胸水で高かった。しかし、CD 4⁺細胞の各サブセットでは両者間に有意差を認めなかった。single-color 解析では CD 8⁺細胞は両群間で有意差を認めなかったが、two-color 解析を行ってみると CD 8⁺CD 11 b⁺細胞は癌性胸水で高く、CD 8⁺CD 11 b⁻細胞は結核性胸水で高いというそれぞれのサブセットで対照的な結果であった。NK 細胞サブセットはいずれも癌性胸水で高く、活性化 NK 細胞(CD 16⁺HLA-DR⁺細胞)も癌性胸水で高かった。以上の所見から、結核性胸水では免疫反応に関与しているのは主に T 細胞であり、一方癌性胸水では一部 NK 細胞が関与していることが示唆された。

ヒト細胞障害性リンパ球は major histocompatibility complex(MHC)拘束性・抗原特異的 T 細胞、MHC 非拘束性 T 細胞、NK 細胞の 3 つの異なる細胞群に分類される¹⁸⁾。MHC 非拘束性 T リンパ球は CD 3⁺CD 56⁺の表面マーカーで示され、本細胞は末梢血中では 5% 以下である¹⁸⁾。現在胸水中でこの細胞群について検索した報告はみられない。今回の研究から本細胞群は癌性胸水では末梢血と有意差を認めなかったが、結核性胸水では末梢血に比べ有意に低く、結核性胸水では癌性胸水よ

り有意に低い。結核性胸水ではMHC拘束性 cytotoxic T 細胞(CD 8⁺CD 11 b⁻細胞)の増加が示したが、MHC非拘束性細胞障害性リンパ球群(CD 3⁺CD 56⁺細胞やNK細胞)は低値である。この所見は結核性胸膜炎では結核菌という抗原刺激に対するT細胞の免疫応答の表れと考えられる。

NK細胞は種々の腫瘍やウイルス感染細胞株に対して、MHC非拘束性の細胞障害性を呈するリンパ球亜群であり、CD 3-CD 56⁺の表現型を呈する。ヒトNK細胞の大部分はIgG Fc レセプターすなわちCD 16 抗原を発現しているCD 16⁺CD 56⁺であるが¹³⁾、NK細胞の一部にはCD 16 抗原をもたず、CD 3-CD 16-CD 56^{bright+}のマーカーで示される細胞群が存在する¹⁸⁾。その細胞群は末梢血中にわずか(1%以下)にしか存在せず、NK活性は弱く、NK細胞の未熟な型と推定されている¹⁸⁾。

NK細胞はインターロイキン2(IL-2)に直接反応する。IL-2は抗原刺激で活性化されたT細胞から産生されるサイトカインで⁴¹⁾⁴²⁾、その作用は細胞表面の特異的受容体(IL-2レセプター、IL-2R)を介している。IL-2Rには少なくとも2つのサブユニット、すなわちIL-2R α 鎖(p 55)と β 鎖(p 75)が存在する。IL-2に対する親和性から、 α 鎖は低親和性レセプター、 β 鎖は中間親和性レセプターであり、 α 鎖と β 鎖の共存下では高親和性レセプターが形成される⁴³⁾⁻⁴⁵⁾。

CD 16⁺NK細胞はIL-2R β 鎖のみを発現しているのに対して、CD 3-CD 16-CD 56^{bright+}NK細胞はIL-2R α 鎖とIL-2R β 鎖を共に構成的に発現し、低濃度のIL-2に反応する⁴⁶⁾。すなわち本細胞群は高親和性IL-2Rを有している特殊なNK細胞であり、末梢血で高親和性レセプターをもつ唯一の細胞群である。LAK治療のためにIL-2を全身投与した癌患者末梢血においてCD 16-CD 56⁺NK細胞の有意な増加を認めたとの報告⁴⁶⁾があり、投与されたIL-2に対して、本細胞群が反応し増殖した結果と考えられる。

最近、ヒト妊娠早期脱落膜細胞(胎盤と母側免疫担当細胞の接点)で、CD 3-CD 16-CD 56^{bright+}NK細胞が著増していることが見だされている⁴⁷⁾。妊娠はある種の同種移植であり、胎盤を構成するトロフォプラストの子宮内膜への浸潤は癌細胞の浸潤と類似した面が多い。癌性胸膜炎患者の局所胸水中でCD 3-CD 16-CD 56^{bright+}NK細胞群の増加を認めたことは非常に興味深い新知見であり、局所における癌細胞に対する免疫反応の結果を示唆する所見である。

今後、癌性胸膜炎胸水におけるCD 3-CD 16-CD 56^{bright+}NK細胞のさらに詳細な研究が必要と考えられ

る。それは、このNK細胞が極低濃度のIL-2に反応することから、胸腔内へのIL-2投与や養子免疫療法など癌免疫の新しい角度からの発展へと展開する可能性が存在するためである。

結 語

胸腔局所免疫担当細胞の動態をより詳細に知る目的で、肺癌に伴う癌性胸膜炎と結核性胸膜炎における胸水と末梢血とのリンパ球サブセットを、現在までほとんど胸水については行われてないtwo-color解析などを用いて多数例について測定した。

1. 癌性胸膜炎の胸水中では末梢血と比べ、CD 3⁺細胞の比率なかでもCD 4⁺細胞の比率が増加し、そのサブセットのCD 4⁺Leu-8⁺細胞、CD 4⁺Leu-8⁻細胞、CD 4⁺CD 45 RA⁻細胞は増加していたが、CD 4⁺CD 45 RA⁺細胞は有意差を認めなかった。CD 8⁺細胞比率は胸水中で減少し、なかでもCD 8⁺CD 11 b⁺細胞が減少していた。

ほとんどのNK細胞サブセットは胸水中で減少していたが、CD 3-CD 16-CD 56^{bright+}細胞は胸水中で増加するという新しい知見を得た。

活性化のマーカーではCD 3⁺HLA-DR⁺細胞、CD 3⁺CD 38⁺細胞は胸水中で増加していた。特にCD 4⁺HLA-DR⁺細胞が増加するというのを今回の検討で初めて明確に示し、CD 16⁺HLA-DR⁺細胞は減少したが、CD 4⁺CD 69⁺細胞、CD 8⁺CD 69⁺細胞も胸水中で増加するという新しい知見を得た。

2. 結核性胸膜炎胸水中でも末梢血と比べ、CD 3⁺細胞の比率なかでもCD 4⁺細胞の比率が増加し、そのサブセットのCD 4⁺Leu-8⁺細胞、CD 4⁺Leu-8⁻細胞、CD 4⁺CD 45 RA⁻細胞は増加していたが、CD 4⁺CD 45 RA⁺細胞は有意差を認めなかった。CD 8⁺細胞比率は胸水中で減少し、特にCD 8⁺CD 11 b⁺細胞が著明に減少していたが、CD 8⁺CD 11 b⁻細胞は逆に胸水中で増加していた。

活性化マーカーではCD 3⁺HLA-DR⁺細胞、CD 3⁺CD 38⁺細胞特にCD 4⁺HLA-DR⁺細胞が増加していたが、CD 16⁺HLA-DR⁺細胞、CD 16⁺CD 69⁺細胞は胸水中で減少していた。

CD 3⁺CD 56⁺細胞は胸水で有意に減少していた。

3. 癌性胸水と結核性胸水との比較では、CD 3⁺細胞比率、中でもCD 4⁺細胞比率が結核性胸水で高かった。しかし、それらのサブセットCD 4⁺Leu-8⁺細胞、CD 4⁺Leu-8⁻細胞、CD 4⁺CD 45 RA⁻細胞、CD 4⁺CD 45 RA⁺細胞はいずれも有意差を認めないという新しい知見を得た。一方、CD 8⁺細胞比率は癌性胸水と結核性胸水とで有意差はなかったが、そのサブセットのうちCD 8⁺CD 11 b⁺細

胞が癌性胸水で高く、CD 8⁺CD 11 b⁻細胞は結核性胸水で高いと対照的であった。

NK細胞のCD 16⁺細胞、CD 56⁺細胞、CD 57⁺細胞、さらにそれらのサブセットCD 16⁺CD 57⁺細胞、CD 16⁺CD 57⁻細胞、またCD 3⁻CD 16⁻CD 56^{bright+}細胞はいずれも癌性胸水で高かった。

活性化マーカーでは、CD 3⁺HLA-DR⁺細胞、CD 3⁺CD 38⁺細胞、CD 4⁺HLA-DR⁺細胞、CD 8⁺HLA-DR⁺細胞いずれも有意差を認めなかったが、CD 16⁺HLA-DR⁺細胞は癌性胸水で高かった。

CD 3⁺CD 56⁺細胞は癌性胸水中で高かった。

以上から、胸腔病変局所における免疫反応は癌性胸水ではT細胞と一部のNK細胞が、結核性胸水では主にT細胞がそれぞれ関与し、免疫担当細胞に相違がみられこれが疾患の相違と関連することを今回の研究によってより明確にすることができた。

さらに、癌性胸水中にCD 3⁻CD 16⁻CD 56^{bright+}NK細胞群が増加するという新しい知見を得て、このNK細胞が極めて低能度のIL-2に反応するという事実とあわせて考えると癌性胸水時に胸腔内へのIL-2投与や養子免疫療法などの新しい治療への発展の端緒を見いだした。

稿を終るにあたり、本研究の端緒を御指導いただきました三上理一郎前教授、終始御指導、御校閲を賜りました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辻井正教授ならびに小西陽一教授に深謝いたします。さらに直接、御指導、御教示いただきました西川潔講師に感謝します。また、終始、御協力いただきました第2内科学教室の諸兄に感謝の意を表します。

本論文の要旨は第26回日本胸部疾患学会総会、第29回日本肺癌学会総会において発表した。

文 献

- 1) 西川 潔, 三上理一郎, 坂口泰弘, 北村 曠, 堅田 均, 鴻池義純: 癌患者末梢血における natural killer 細胞(Leu-11 細胞)の増加. 医学のあゆみ 132: 66, 1985.
- 2) Fujiwara, S., Akiyama, M., Kobuke, K., Ichimaru, S., Takaiishi, M., Inamizu, T., Kohno, N., Takami, S., Noumi, K., Kamamoto, M. and Yamakido, M.: Cellular immune competence of patients with lung cancer and other lung diseases I. Analysis of peripheral blood lymphocyte subsets using monoclonal antibodies. Hiroshima J. Med. Sci. 35: 227, 1986.
- 3) Lorenz, J., Quernheim, J. M., Höfer, C. C., Doboszynska, A. and Ferlinz, R.: Assessment of local cellular immunity in lung cancer by bronchoalveolar lavage. Klin. Wochenschr. 68: 728, 1990.
- 4) Takasugi, M., Mickey, M. R. and Terasaki, P. I.: Reactivity of lymphocytes from normal persons on cultured tumor cells. Cancer Res. 33: 2898, 1973.
- 5) Daniele, R. P., Elias, J. A., Epstein, P. E. and Rossman, M. D.: Bronchoalveolar lavage: role in the pathogenesis, diagnosis and management of interstitial lung disease. Ann.Intern. Med. 102: 93, 1985.
- 6) Ledbetter, J. A., Evans, R. L., Lipinski, M., Cunningham-Rundles, C., Good, R. A. and Herzenberg, L. A.: Evolutionary conservation of surface molecules that distinguish T lymphocyte helper/inducer and cytotoxic/suppressor subpopulations in mouse and man. J. Exp. Med. 153: 310, 1981.
- 7) Evans, R. L., Wall, D. W., Platsoucas, C. D., Siegal, F. P., Fikrig, S. M., Testa, C. M. and Good, R. A.: Thymus-dependent membrane antigens in man: Inhibition of cell-mediated lympholysis by monoclonal antibodies to T_{H2} antigen. J. Immunol. 78: 544, 1981.
- 8) Engleman, E. G., Benike, C. J., Glickman, E. and Evans, R. L.: Antibodies to membrane structures that distinguish suppressor/cytotoxic and helper T lymphocyte subpopulations block the mixed leucocyte reaction in man. J. Exp. Med. 154: 193, 1981.
- 9) Gatenby, P. A., Kansas, G. S., Xian, C. Y., Evans, R. L. and Engleman, E. G.: Dissection of immunoregulatory subpopulations of T lymphocytes within the helper and suppressor sublineages in man. J. Immunol. 129: 1997, 1982.
- 10) Tedder, T. F., Penta, A. C., Levine, H. B. and Freedman, A. S.: Expression of the human leucocyte adhesion molecule, LAM1. Identity with the TQ1 and Leu-8 differentiation antigens. J. Immunol. 144: 532, 1990.
- 11) Landay, A., Gartland, G. L. and Clement, L. T.:

- Characterization of a phenotypically distinct subpopulation of Leu-2⁺ cells that suppresses T cell proliferative responses. *J. Immunol.* **131** : 2757, 1983.
- 12) **Clement, L. T., Dagg, M. K. and Landay, A.** : Characterization of human lymphocyte subpopulations : alloreactive cytotoxic T lymphocyte precursor and effector cells are phenotypically distinct from Leu2⁺ suppressor cells. *J. Clin. Immunol.* **4** : 395, 1984.
- 13) **Lanier, L. L., Le, A. M., Phillips, J. H., Warner, N. L. and Babcock, G. F.** : Subpopulations of human natural killer cells defined by expression of the Leu-7(HNK-1) and Leu-11(NK-15) antigens. *J. Immunol.* **131** : 1789, 1983.
- 14) **Stashenko, P., Nadler, L. M., Hardy, R. and Schlossman, S. F.** : Characterization of a human B lymphocyte specific antigen. *J. Immunol.* **125** : 1678, 1980.
- 15) **Tedder, T. F., Clement, L. T. and Cooper, M. D.** : Discontinuous expression of a membrane antigen(HB-7) during B lymphocyte differentiation. *Tissue Antigens* **24** : 140, 1984.
- 16) **Ledbetter, J. A., Rose, L. M., Spooner, C. E., Beatty, P. G., Martin, P. J. and Clark, E. A.** : Antibodies to common leukocyte antigen p220 influence human T cell proliferation by modifying IL-2 receptor expression. *J. Immunol.* **135** : 1819, 1985.
- 17) **Morimoto, C., Letvin, N. L., Distaso, J. A., Aldrich, W. R. and Schlossman, S. F.** : The isolation and characterization of the human suppressor inducer T cell subset. *J. Immunol.* **134** : 1508, 1985.
- 18) **Lanier, L. L., Le, A. M., Civin, C. I., Loken, M. R. and Phillips, J. H.** : The relationship of CD16 (Leu-11) and Leu-19(NKH-1) antigen expression of human peripheral blood NK cells and cytotoxic T lymphocytes. *J. Immunol.* **136** : 4480, 1986.
- 19) **Abo, T. and Balch, C. M.** : A differentiation antigen of human NK and K cells identified by a monoclonal antibody(HNK-1). *J. Immunol.* **127** : 1024, 1981.
- 20) **Hara, T., Jung, L. K. L., Bjorndahl, J. M. and Fu, S. M.** : Human T cell activation. III. Rapid induction of a phosphorylated 28kD/32kD disulfide-linked early activation antigen(EA 1) by 12-o-tetradecanoyl phorbol-13-acetate, mitogens, and antigens. *J. Exp. Med.* **164** : 1988, 1986.
- 21) **Lanier, L. L., Buck, D. W., Rhodes, L., Ding, A., Evans, E., Barney, C. and Phillips, J. H.** : Interleukin 2 activation of natural killer cells rapidly induces the expression and phosphorylation of the Leu-23 activation antigen. *J. Exp. Med.* **167** : 1572, 1988.
- 22) **Lampson, L. A. and Levy, R.** : Two populations of Ia-like molecules on a human B cell line. *J. Immunol.* **125** : 393, 1980.
- 23) **Mohaghehpour, N., Benike, C. J., Kansas, G. Bieber, C. and Engleman, E. G.** : Activation of antigen-specific suppressor T cells in the presence of Cyclosporin requires interactions between T cells of inducer and suppressor lineage. *J. Clin. Invest.* **72** : 2092, 1983.
- 24) **Sanders, M. E., Makgoba, M. W. and Shaw, S.** : Human naive and memory T cells : reinterpretation of helper-inducer and suppressor-inducer subsets. *Immunol. Today* **9** : 195, 1988.
- 25) **Yu, D. T. Y., Winchester, R. J., Fu, S. M., Gibofsky, A., Ko, H. S. and Kunkel, H. G.** : Peripheral blood Ia-positive T cells increases in certain diseases and alter immunization. *J. Exp. Med.* **151** : 91, 1980.
- 26) **Fracchia, A., Pacetti, M., Barberis, M., Mura, M. A., Grazie, C. L. and Longhini, E.** : Determination of T lymphocyte subpopulations in patients with lung cancer. *Respiration* **51** : 161, 1987.
- 27) **Piazza, G., Marchi, E., Scaglione, F., Montoli, C. C., Losi, S. and Scarpazza, G.** : Lymphocyte subsets in bronchoalveolar lavage fluid and in circulating blood in epidermoid bronchogenic carcinoma. *Respiration* **57** : 28, 1990.
- 28) **Djeu, J. Y., McCoy, J. L., Cannon, G. B., Reeves, W. J., West, W. H. and Herberman, R. B.** : Lymphocytes forming rosettes with sheep erythrocytes in metastatic pleural effusions. *J. Natl. Cancer Invest.* **56** : 1051, 1976.
- 29) **Ginns, L. C., Goldenheim, P. D., Miller, L. G.,**

- Burton, R. C., Gillick, L., Colvin, R. B., Goldstein, G., Kung, P. C., Hurwitz, C. and Kazemi, H. : T-lymphocyte subsets in smoking and lung cancer. *Am. Rev. Respir. Dis.* **126** : 265, 1982.
- 30) 高田勝利, 森下宗彦, 山本正彦 : モノクロナール抗体による胸水中リンパ球の検討. *結核* **61** : 477, 1986.
- 31) 中村雅博, 原田泰子, 高本正祇, 石橋凡雄, 篠田厚 : 結核性胸膜炎と癌性胸膜炎における末梢血および胸水のリンパ球サブセットの解析. *日胸誌.* **24** : 785, 1986.
- 32) Lucivero, G., Pierucci, G. and Bonomo, L. : Lymphocyte subsets in peripheral blood and pleural fluid. *Eur. Respir. J.* : 337, 1988.
- 33) 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, 1987.
- 34) Albera, C., Mabritto, I., Ghio, P., Scagliotti, G. V. and Pozzi, E. : Lymphocyte subpopulations analysis in pleural fluid and peripheral blood in patients with lymphocytic pleural effusions. *Respiration* **58** : 65, 1991.
- 35) Okubo, Y., Nakata, M., Kuroiwa, Y., Wada, S. and Kusama, S. : NK cells in carcinomatous and tuberculous pleurisy : Phenotypic and functional analysis of NK cells in peripheral blood and pleural effusions. *Chest* **92** : 500, 1987.
- 36) Ghosh, A. K., Spriggs A. I. and Mason, D. Y. : Immunocytochemical staining of T and B lymphocytes in serous effusions. *J. Clin. Pathol.* **38** : 608, 1985.
- 37) Pettersson, T., Klockars, M., Hellström, P. E., Riska, H. and Wangell, A. : T and B lymphocytes in pleural effusions. *Chest* **73** : 49, 1978.
- 38) 原田泰子, 高本正祇, 原田 進, 石橋凡雄, 篠田厚 : 肺結核症における末梢血リンパ球サブセットの動態. *結核* **63** : 133, 1988.
- 39) Barnes, P. F., Mistry, S. D., Cooper, C. L., Pirmez, C., Rea, T. H. and Modlin, R. L. : Compartmentalization of a CD 4⁺ T lymphocyte subpopulation in tuberculous pleuritis. *J. Immunol.* **142** : 1114, 1989.
- 40) Shiratsushi, H. and Tsuyuguchi, I. : Analysis of T cell subsets by monoclonal antibodies in patients with tuberculosis after in vitro stimulation with purified protein derivative of tuberculin. *Clin. Exp. Immunol.* **57** : 271, 1984.
- 41) Morgan, D. A., Ruscetti, F. W. and Gallo, R. C. : Selective in vitro growth of T-lymphocytes from normal hzrfs bone marrows. *Science* **193** : 1007, 1976.
- 42) Trinchieri, G., Matsumoto, M., Clark, S. C., Sehra, J., London, L. and Perussia, B. : Response of resting human peripheral blood natural killer cells to interleukin 2. *J. Exp. Med.* **160** : 1147, 1984.
- 43) Robb, R. J., Greene, W. C. and Rusk, C. M. : Low and high affinity cellular receptors for interleukin 2. *J. Exp. Med.* **160** : 1126, 1984.
- 44) Sharon, M., Klausner, R. D., Cullen, B. R., Chizzonite, R. and Leonard, W. J. : Novel interleukin-2 receptor subunit detected by cross-linking under high-affinity conditions. *Science* **234** : 859, 1986.
- 45) Tsudo, M., Kozak, R. W., Goldman, C. K. and Waldmann, T. A. : Demonstration of a non-Tac peptide that binds interleukin 2 : a potential participant in a multichain interleukin 2 receptor complex. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **83** : 9694, 1986.
- 46) Nagler, A., Lanier, L. L. and Phillips, J. H. : Constitutive expression of high affinity interleukin 2 receptors on human CD 16⁻ natural killer cells in vivo. *J. Exp. Med.* **171** : 1527, 1990.
- 47) Nishikawa, K., Saito, S., Morii, T., Hamada, K., Ako, H., Narita, N., Ichijo, M., Kurahayashi, M. and Sugamura, K. : Accumulation of CD 16⁻ CD 56⁺ natural killer cells with high affinity interleukin 2 receptors in human early pregnancy decidua. *Int. Immunol.* **3** : 743, 1991.
- 48) Phillips, J. H., Gemlo, B. T., Myers, W. W., Rayner, A. A. and Lanier, L. L. : In vivo and in vitro activation of natural killer cells in advanced cancer patients undergoing combined recombinant interleukin-2 and LAK cell therapy. *J. Clin. Oncol.* **5** : 1933, 1987.