

サルコイドーシス病態への *Propionibacterium acnes* の関与

中 田 安 成¹⁾・片 岡 幹 男²⁾・木 村 郁 郎²⁾

Sarcoidosis and *Propionibacterium acnes*

Yasunari NAKATA¹⁾, Mikio KATAOKA²⁾, and Ikuro KIMURA²⁾

Although there have been numerous reports on the isolation of bacteria, fungus, and aetiological agents of chemical substances from specimens of patients with sarcoidosis, none of them have been substantiated. In any event, an understanding of the pathogenesis of pulmonary sarcoid is intimately linked to that of the processes involved in the accumulation of T-cells in the lower respiratory tract of individuals with sarcoidosis. *Propionibacterium acnes* was isolated at high rates and in high concentrations from lymph nodes in patients with sarcoidosis. However, the precise mechanism of granuloma formation and immunomodulation by *P. acnes* has not been elucidated yet. In patients with sarcoidosis, it was found that the high levels of interleukin-2 (IL-2) released from alveolar lymphocytes as well as interleukin-1, tumor necrosis factor (TNF) and interleukin-6 (IL-6) released from alveolar macrophages were stimulated by *P. acnes*. These cytokines (mainly IL-2), released by *P. acnes* in large quantities, play a major role in the compartmentalization of the T-cell population in the lung and lead to the formation of an alveolitis and granuloma in the lung parenchyma of patients with sarcoidosis. This paper focuses primarily on the role of the cytokine network in the pulmonary mononuclear cells in the lung of patients with sarcoidosis.

Key Words : sarcoidosis, macrophage, T-cell, interleukin-2, *Propionibacterium acnes*

緒 言

サルコイドーシス (サ症) の病態の研究は1980年代初期に Crystal R. G.ら¹⁾が気管支肺胞洗浄液所見より病変局所での著明な T-cell の活性化が本症に特徴的であることを強調して以来, 本症研究者の多くは肺病巣における T-cell 活性化という免疫学的現象の追及に終始し, 病因論解明の研究は影をひそめてしまった。そのような中で病因論に挑戦した研究としては, サ症病変部からの *Propionibacterium acnes* (*P. acnes*) の多量かつ高率の検出²⁾, サ症患者リンパ節からの結核菌特有脂肪酸の検出³⁾, サ症患者皮膚病変からの結核菌 *Spheroplast* (L-form) の検出⁴⁾, サ症脾臓からの *Mycobacterium tuberculosis* rRNA の高濃度の検出⁵⁾, サ症患者気管支肺胞洗浄中細胞からの *M. tuberculosis* DNA の高率な検出⁶⁾等がみら

れる。しかし, いずれもサ症起因体としての確定的証明にいたっていないが, サ症の病因は何らかの起因体の侵入と, それに引き続く宿主側の特殊な免疫反応性にあるという点で今日多くの研究者の意見は一致している。

我々はサ症病変より高頻度に *P. acnes* が分離される事実に基づき, 肺病変への *P. acnes* の関与を検討するため, 肺病巣における免疫担当細胞の *P. acnes* に対する反応性を検討してきた。ここに研究結果をその歴史的背景を加えて概説する。

1. *Propionibacterium acnes* とは

P. acnes は, にきびより分離される嫌気性, グラム陽性桿菌であり, *Corynebacterium parvum* (*acnes*), あるいは嫌気性 *Corynebacterium* と分類されていたが, 1974年偏性嫌気性でありプロピオン酸合成能力を持つが, 蟻酸を合成しないこと

1) 岡山大学医療技術短期大学部衛生技術学科

2) 岡山大学医学部第2内科

から *Propionibacterium* 属に再分類された⁹⁾。血清学的に type I と type II の 2 つの type に分類されるが、互いに免疫学的交叉反応性を示す。従来からの *P. acnes* は type I に、*Corynebacterium parvum* は type II に多くは属する。我々が抗 *P. acnes* 抗体価の測定及び肺肉芽腫モルモット作製に使用した *P. avidum* は *P. acnes* type II と強い共通抗原性を示す¹⁰⁾。更に細網内皮系の亢進作用による免疫賦活作用あるいは抗腫瘍作用についての多くの文献¹¹⁾¹²⁾に記載されている *Corynebacterium parvum* の90%以上は *P. acnes* と同一の菌であり、*P. acnes* と同意語と考えて良い¹³⁾。*P. acnes* は皮膚、腸管の常在菌¹⁴⁾で一般には弱毒性だが、毛包管内で皮脂を分解し、にきび発生に大きな役割をはたし、慢性感染症における血液、骨髄中からもしばしば分離される¹⁵⁾。時には日和見感染症として敗血症を来すことも報告されている¹⁶⁾¹⁷⁾。

2. サ症における *P. acnes* の関与について— 文部省研究班の研究成果を中心とした歴史的 背景—¹⁸⁾

1973年に本間日臣教授を班長としたプロジェクトチームは、微生物、免疫学、実験病理学、生化学領域の基礎学者で構成され、サ症の感染論的立場から病因の摘発に的をしばって研究を行った。それはすべての細菌類、ウイルス類、真菌類の関与の有無をひとつひとつだめ押しすることから始められた。

1) 病巣よりの分離・同定

サ症の生検罹患リンパ節の乳剤を各種培地 (*Mycoplasma*, 結核菌, 一般好気性菌, 嫌気性菌) にて培養すると共に無菌マウスおよびヌードマウスに接種した後、剖検し各臓器を培養した。その結果 *Propionibacterium* が高頻度に検出されたが、その他の菌は全く分離されなかった。研究初期に24例中54%に *P. acnes* および *P. granulorum* を分離し、更に全国10施設からの40症例においても77.5%に分離された¹⁹⁾。当初に *P. granulorum* と診断された菌もその後 *P. acnes* と同定され、改良された pre-reduced anaerobically sterilized (PRAS) 培地の使用によりその頻度は92%と

上昇し、今日では活動性サ症患者病巣材料からはほぼ100%分離できると報告された。更にリンパ節以外の生検材料からも分離された。一方では非サ症患者生検リンパ節からも150例中24.6%に分離されたが、頻度はサ症のそれに比して低率であり菌体量もサ症の1/10—1/100と非常に少量であった¹⁸⁾。サ症患者や健常人のリンパ節より分離された菌型はヒト皮膚の常在菌に認められるものと同様で、本症患者に特有の菌型は認められなかった¹⁷⁾。

その後稲富らは²⁰⁾サ症患者の生検リンパ節の類上皮細胞集簇部位、リンパ球集簇部位、肉芽腫組織周辺部、微小血管ないし毛細血管内に *P. acnes* の存在を酵素抗体法にて証明し、肺生検標本中の肉芽腫内にも本菌の存在を示した。

2) 実験的肉芽腫作成

サ症リンパ節乳剤を無菌およびヌードマウスの足蹠皮内に注射すると、注射局所に肉芽腫の形成が観察されたが、非サ症のリンパ節乳剤注射にても同様な肉芽腫が認められ、乳剤注射による異物性肉芽腫であると考えられた。*P. acnes* の反復注射により所属リンパ節に中心壊死を伴うことの少ない類上皮細胞肉芽腫類似の小結節が形成され、更に *P. acnes* による前感作の後に反復注射すると、非融合性の小肉芽腫が密集して認められた。これら *P. acnes* による肉芽腫形成は死菌注射にても生菌と同様に認められたが、マウスの系により著しい差異が見られた²¹⁾。

3) 体内分布

無菌マウスに *P. acnes* 生菌を腹腔内に注射すると肝、脾、腎、肺、リンパ節から菌が証明され、やがて急速に減少するが、腸管では1年後でも検出できた²¹⁾。また、経口投与された *P. acnes* は容易に腸管から体内に侵入し、放射線照射や免疫抑制処置を受けたマウスの各臓器からは高濃度に菌が検出された¹⁸⁾。健常人の糞便中からも71%に分離され皮膚のみならず腸管にも常在し、その菌型はリンパ節より分離されたものと差はなかった¹⁸⁾。

4) 免疫反応

分離菌の破碎分画を抗原として passive hemagglutination test (PHA 反応) により血清中の抗

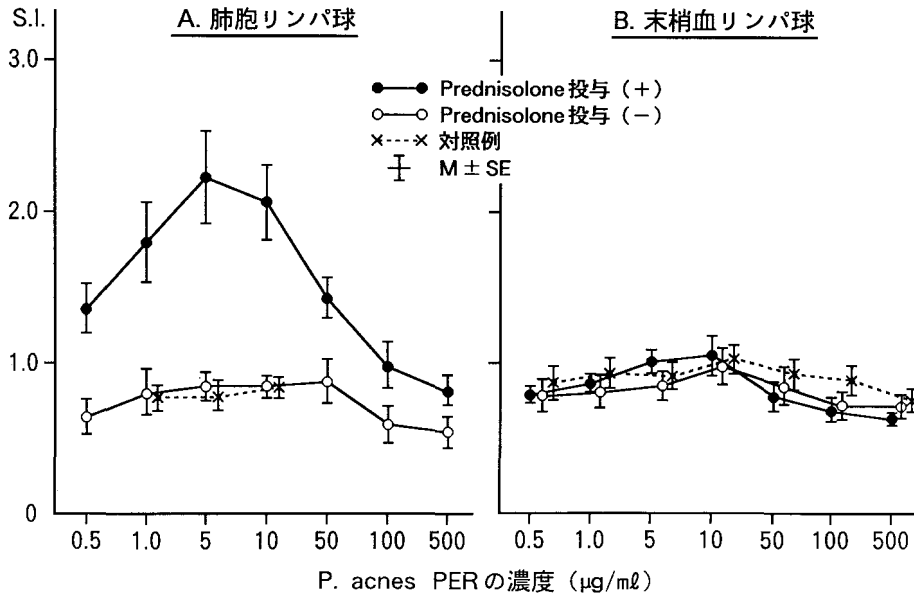


図1. サルコイドーシス患者リンパ球の *P. acnes* 刺激による幼若化率—濃度依存性曲線—

P. acnes 抗体価を測定したところ、サ症患者では 1 : 64に、健常人では 1 : 32にピークが見られサ症に上昇がみられた³⁾。抗 *P. acnes* 抗体価測定に使用した抗原1γ/0.1mlをヒト前腕皮内に注射し、発赤径を測定したところ12時間、24時間後の発赤径はサ症患者にてやや大きい傾向が見られたが、統計的に有意な差ではなかった³⁾。Ouchterlony法により *P. acnes* の菌体成分と被検血清を反応させ血清中の沈降抗体の検出を行ったが、サ症患者および健常人のいずれからも沈降線は認められなかった¹⁸⁾。

5) 形態病因論的検討

江石らは病変部リンパ節において、過形成洞マクロファージの胞体内に、IgA、IgMを結合した貪食物質が多数存在することを観察し、その一部が *Mycobacteria* のL型菌との関連で注目されている、Hamazaki-Wesenberg小体に一致することから、アジュバント活性および肉芽腫形成能を有する菌体(結核菌、*P. acnes*等)との関連を検索している。即ち経気道的に肺に侵入した外来性物質が肺での局所的な免疫防御反応を受け、IgA、IgM抗体を結合した不溶性の免疫複合体を形成し、所属リンパ節に流入後マクロファージに

よる抗原処理不全の状態で長く局所に停滞しているものと考察している²²⁾。更に実験的に類上皮細胞肉芽腫を形成させる事²³⁾が知られている muramyl dipeptide (MDP)を肉芽腫の類上皮細胞及びラングハンス巨細胞の胞体内に多量に証明し、サ症肉芽腫形成にMDPを有する菌体の関与をも示唆している²⁴⁾。ちなみに *P. acnes* はその細胞壁成分である peptidoglycan の構造中にMDPを保有している¹²⁾。Cantwell, A. R.ら⁵⁾もサ症患者の病巣の生検標本中に好酸性、細菌壁を有しない(L-form)菌を検出し、本菌が *P. acnes* である可能性を示唆しており、病変リンパ節にHamazaki-Wesenberg小体の存在も報告されている²⁵⁾²⁶⁾。江石は近年、サ症の病変リンパ節を抗原としたサ症肉芽腫に特異的なモノクローナル抗体を作製し、本抗体が *P. acnes* 培養上清成分と特異的に反応することを認め、新たにサ症肉芽腫形成への *P. acnes* の関与を強く示唆している²⁷⁾。

3. サ症肺胞リンパ球の *P. acnes* に対する反応

1) リンパ球の幼若化反応

気管支ファイバースコープにて生理食塩水を肺内に注入し洗浄を行い、得られた有核細胞を分類し、リンパ球 1×10^6 /mlに調整浮遊した。リンパ球

浮遊液に *P. acnes* (strain4182) の pyridine-extract residue (PER) (RIBI Immuno Chem Research INC, MT, USA), あるいは *Nocardia rubra* (*N. rubra*) (藤沢製薬KK), *Streptococcus pyogenes* (*St. pyogenes*) (中外製薬KK) の細胞壁成分を添加し, 6日間培養後, ³H-thymidine を添加し, 更に7時間培養し, リンパ球に取り込まれた³H-thymidine を dpm にて測定した。*P. acnes* 添加培養リンパ球の dpm を無添加培養リンパ球の dpm で除して幼若化率として算出した²⁸⁾。また静脈血より Ficoll-Conray 比重遠沈にて分離したリンパ球についても同様に幼若化率を測定した。

サ症未治療症例9例の肺胞リンパ球にて *P. acnes*-PER 0.5 μ g/ml から500 μ g/ml までの7段階の濃度における幼若化率を検討したところ, 5 μ g/ml にて2.23 \pm 0.89 (平均値 \pm 標準偏差値) とピークを有する濃度依存性曲線が得られたが(図1-A), 健常人11例およびサ症ステロイドホルモン投与症例(治療症例)ではそれぞれ0.78 \pm 0.29, 0.85 \pm 0.17と有意な反応は認められなかった。また同一症例において3種類の細菌壁成分による幼若化率を測定したところ, *P. acnes* のみに5 μ g/ml にて2.56 \pm 1.87とピークを有する濃度依存性曲線が得られたが, *N. rubra*, *St. pyogenes* では共に有意な反応は認められなかった(図2)。末梢血リンパ球はサ症未治療症例8例, 治療症例12例, 健常人19例のいずれも有意な反応は認められなかった(図1-B)。従って, 以後は *P. acnes* PER の濃度は5 μ g/ml にて測定した³⁰⁾。

サ症未治療症例44例の幼若化率は1.70 \pm 0.82で健常人14例の0.85 \pm 0.33に比して亢進が見られた($p < 0.01$)。しかし治療症例11例では1.17 \pm 0.55と低く, 健常人と差はなかった。更に, 過敏性肺臓炎(7例)では1.28 \pm 0.31, 特異性間質性肺炎(3例)1.08 \pm 0.32, 塵肺(2例)では平均1.24, 肺結核(1例)0.87といずれの疾患においても亢進は認められなかった³¹⁾(図3)。サ症未治療症例のうち喫煙者17例の幼若化率は1.61 \pm 0.90で非喫煙者27例の1.76 \pm 0.76と喫煙による影響はなかった³²⁾。胸部X線像にて全く異常のない0型(4例)では0.97 \pm 0.30, 両側肺門リンパ節腫脹のみのII

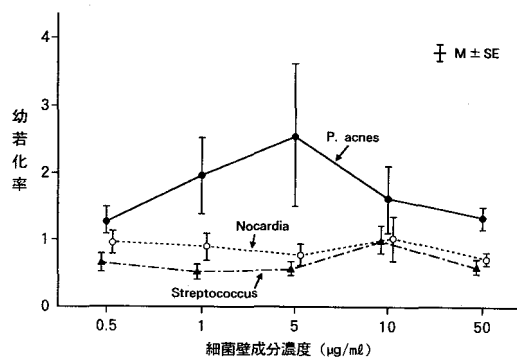


図2. 各種細菌壁成分に対するサルコイドーシス肺胞リンパ球の幼若化率

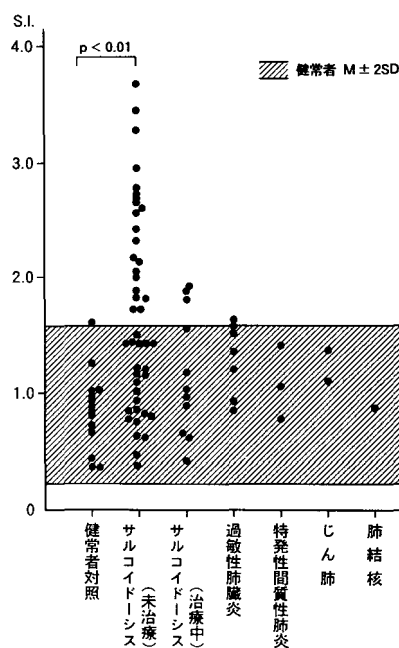


図3. 間質性肺病患者肺胞リンパ球の *P. acnes* 刺激幼若化率

型(13例)1.49 \pm 0.86, 両側肺門リンパ節腫脹と肺野病変を有するII型(21例)で1.89 \pm 0.80, 肺野異常影のみのIII型(6例)で1.98 \pm 0.64と, 肺野異常影を有するII型およびIII型症例では0型症例に比し高値であった($p < 0.05$, $p < 0.05$)。サ症の活動性の指標である血清アンギオテンシン変換酵素活性, 気管支肺胞洗浄液中リンパ球数, ⁶⁷Gallium の肺野への集積の3項目の検査の内,

異常項目数と幼若化率との関係を未治療・非喫煙症例20例について検討した(図4)。3項目の全てに異常の見られた症例(4例)では 2.07 ± 0.37 , 2項目異常例(5例)では 1.81 ± 0.56 , 1項目異常例(6例)では 1.62 ± 0.65 , 異常の見られない症例(5例)では 0.85 ± 0.34 と, 3項目異常例($p < 0.01$), 2項目異常例($p < 0.05$)はいずれも0項目異常例に比して高値であった。即ち肺病巣の活動性の高い症例ほど幼若化率の亢進が認められた。また気管支肺胞洗浄液中のリンパ球数および $CD4^+$ T-cell数との間に正の相関が認められた($p < 0.05$, $p < 0.01$)³²⁾(表1)。

2) 肺胞リンパ球の interleukin-2 (IL-2) 産生
肺胞リンパ球あるいは末梢血リンパ球浮遊液
0.1mlに P. acnes PER を $5\mu\text{g/ml}$ 添加し48時間培養後, 上清を採取した。上清中IL-2活性はCTLL-2細胞を標的細胞とし ^3H -thymidineの取り込みを測定し, 標準IL-2(味の素中央研究所, Jurkat IL-2)をもとにprobit analysis法により算出した³³⁾。無添加培養上清中にIL-2活性が測定できたのはサ症未治療症例25例中4例(16%), 治療症例6例中2例(33%), 対照例15例中2例(15%)

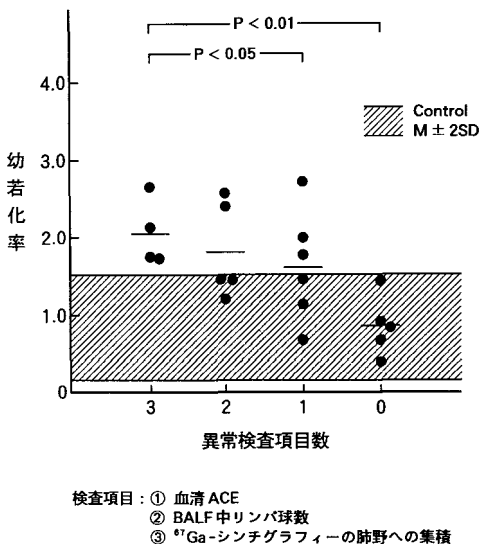


図4. サルコイドーシス肺胞リンパ球の P. acnes 刺激幼若化率—異常検査項目数別—

表1. サルコイドーシス肺胞リンパ球の P. acnes 刺激幼若化率と各種臨床検査成績との相関 (非喫煙例, 20例)

	相関係数(t)	危険率(p)
気管支肺胞洗浄液:		
リンパ球数 (/ml)	0.499	<0.05
CD4 (+) T-cell 数 (/ml)	0.599	<0.01
CD8 (+) T-cell 数 (/ml)	0.429	n.s.
CD4/CD8 比	0.293	n.s.
血清:		
アンギオテンシン変換酵素活性 (u/ml)	0.302	n.s.
リゾチーム活性 (u/ml)	0.137	n.s.
IAP (mg/ml)*	-0.024	n.s.
肺機能:		
肺活量 (VC)	0.254	n.s.
拡散能 (DLco)	0.250	n.s.

* immunosuppressive acidic protein
n.s.: not significant

と差はなかった。P. acnes 添加培養にて IL-2産生がみられたのはサ症未治療症例25例中14例(56%), 治療症例7例中2例(33%)で対照例の13例中1例(8%)に比較して未治療症例に高率であった($\chi^2=8.354P < 0.01$)。IL-2産生量も未治療症例で $8.6 \pm 14.4\text{u/ml}$, 治療症例 $2.1 \pm 4.3\text{u/ml}$, 対照例 $0.2 \pm 0.8\text{u/ml}$ と未治療症例では対照例に比して高値であった($p < 0.05$)(図5-A)。更に活動期症例では5例中5例(100%)にIL-2産生がみられたが, 非活動期症例では19例中9例(47%)と低率であった($p < 0.05$), しかし産生量に差はなかった。その他の肺疾患では過敏性肺臓炎(3例)で平均 0.1u/ml , 塵肺症(4例) 0.0u/ml とサ症に比較して極めて少量で, 対照例と差はなかった。サ症未治療・非喫煙症例中 P. acnes 刺激にてIL-2産生が認められた9例と認められなかった4例における臨床検査成績を比較検討したところ, IL-2産生例に血清アンギオテンシン変換酵素活性及びリゾチーム活性の亢進, 気管支肺胞洗浄液中リンパ球のCD4/CD8比の高値が認められた($p < 0.001$, $p < 0.05$, $p < 0.05$)(表2)。P. acnes 刺激によるIL-2産生と幼若化率との間には正の有意な相関がみられ(相関係数 $=0.622$, $p < 0.05$), IL-2産生の亢進は幼若化率の上昇と比例するが判明した(図6)。末梢血リンパ球において無添加培養にてIL-2が検出されたのはサ症未治療症例16例中2例(13%), 治療症例7例中1例(14%), 健常人15例中1例(7%)といずれも差はなかった。またP. acnes添加培養にてIL-2産

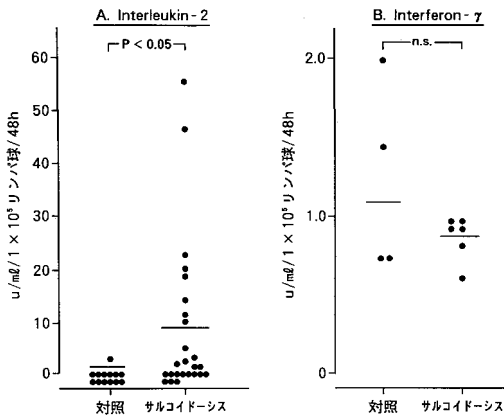


図 5. サルコイドーシス肺胞リンパ球の P. acnes 刺激によるサイトカイン産生

表 2. サルコイドーシス患者血清および気管支肺洗浄液中抗 P. acnes 抗体価

IL-2 産生	症例数	血清 ACE (u/ml)	血清リゾチーム (u/ml)	BALF 中リンパ球数 ($\times 10^4$ /ml)	BALF 中 CD4/CD8
(+)	9	26.9 \pm 9.5	19.0 \pm 9.8	7.2 \pm 4.8	5.8 \pm 3.3
(-)	4	18.1 \pm 3.6	14.0 \pm 2.3	5.6 \pm 5.0	3.4 \pm 0.9
		P<0.001	P<0.05	n.s.	P<0.05

生が測定されたのも、未治療症例 3 例(19%)、治療症例 0 例、健常人 2 例 (13%) と各群間に差はなかった。即ち、末梢血リンパ球の IL-2 産生は P. acnes 添加の有無に関わらず、サ症と健常者との間に差はなかった。

3) 肺胞リンパ球の P. acnes 刺激による interleukin-2 receptor (IL-2R) の発現:

リンパ球浮遊液に P. acnes PER 5 μ g/ml 添加し、48時間培養後、recombinant IL-2(rIL-2) (武田薬品中央研究所, TGP-3 Lot. H-609-504) 0.5u/ml 溶解液0.1ml を加え24時間反応後、³H-thymidine のリンパ球への取り込みを dpm にて測定した。また P. acnes 添加培養したリンパ球に抗 Tac 抗体を rIL-2 と共に添加し、³H-thymidine の取り込みの抑制を測定した³⁹⁾。サ症未治療症例11例の無添加培養での³H-thymidine の取り込みは1,123 \pm 968dpm で、P. acnes 添加にて 3,766 \pm 3,929dpm と増加したが (p<0.02)、抗

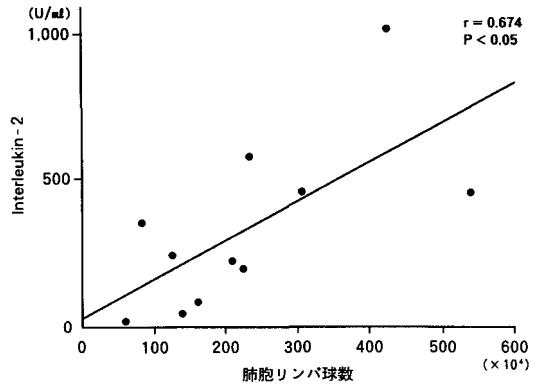


図 6. サルコイドーシス肺胞リンパ球の P. acnes 刺激による Interleukin-1 産生と幼若化率との相関

Tac 抗体を添加すると1,001 \pm 1,017dpm と低下した。しかし対照 6 例ではそれぞれ460 \pm 687dpm, 335 \pm 444dpm, 140 \pm 84dpm と P. acnes 添加による亢進も、抗 Tac 抗体添加による阻害も認められなかった (図 7)。即ちサ症の肺胞リンパ球は P. acnes 刺激により IL-2R の発現が亢進され、添加された rIL-2 は IL-2R に結合し、増殖を亢進するが、これに抗 IL-2R 抗体である抗 Tac 抗体が加わると IL-2R がブロックされ、rIL-2 の結合が阻止されて増殖は阻害されることが判明した。

4) 肺胞リンパ球の interferon- γ (IFN- γ) の産生

IL-2 産生測定と同様な操作にて得た肺胞リンパ球培養上清中の IFN- γ 量を RIA キット (Centcor 社) にて測定した。サ症未治療症例 6 例の IFN- γ は無添加培養にて0.69 \pm 0.07u/ml, P. acnes 添加培養にて0.85 \pm 0.12で、対照例ではそれぞれ0.51 \pm 0.07, 1.15 \pm 0.59と、サ症、対照例ともに P. acnes 添加の有無に関わらず、いずれも差はなかった (図 5-B)。

4. サ症肺胞マクロファージの P. acnes 刺激によるサイトカイン産生

1) 測定方法

気管支肺胞洗浄法にて肺胞有核細胞を採取しマクロファージを5 $\times 10^5$ /ml に調整浮遊し、肺胞マクロファージ浮遊液に P. acnes PER を5 μ g/ml の濃度に添加し、24時間培養後の上清を回収した。

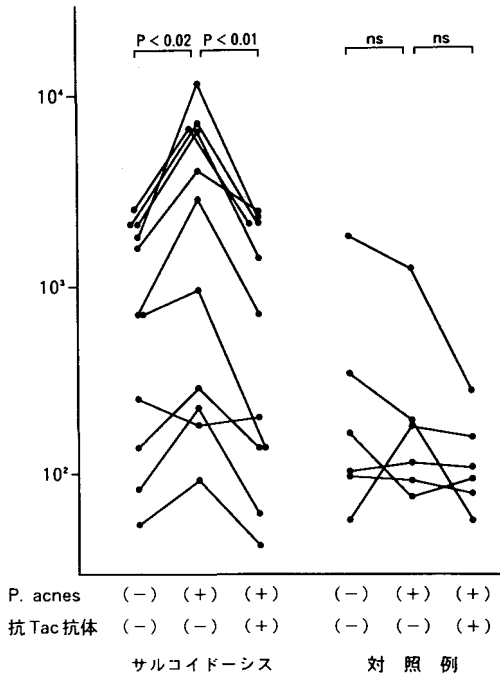


図 7. 肺胞リンパ球の *P. acnes* 刺激による Interleukin-2 receptor 発現

上清中の IL-1 β の測定には RIA キット (Cistron 社製) を³⁴⁾, IL-6には Inter Test-6 (Genzyme 社) と IL-6 ELISA キット (トーレ・フジバイオテクス社)³⁵⁾ を, TNF- α には Factor Test TNF (Genzyme 社) を使用した。末梢血単球についても同様条件にて培養し, 上清中のサイトカインを測定した。

2) IL-1 β の産生

無添加培養にて IL-1 β 産生の見られたのは対照例 12 例中 5 例で, 産生例は喫煙者に多く見られたのでサ症未治療症例のうち, 非喫煙例の 13 例について以下に検討した。サ症にて IL-1 β の自然放出の見られたのは 4 例 (31%) で対照例と頻度に差はなかったが, 産生量はサ症にて 69-608pg/ml と対照例の 3-52pg/ml に比してやや高値であったが, 有意な差ではなかった。P. acnes 刺激による IL-1 β 産生はサ症で 545 \pm 693pg/ml で対照例の 111 \pm 159pg/ml と比較して高値であった ($p < 0.05$) (図 8-A)。そして P. acnes 刺激 IL-1 β 産生

量と気管支肺胞洗浄液中リンパ球数との間には正の相関が認められた ($r=0.591$ $p < 0.05$)。末梢血単球の P. acnes 刺激による IL-1 β 産生量はサ症 7 例で平均 2360pg/ml, 健康人 10 例で 1450pg/ml と両者間には差はなかった。しかし単球の IL-1 β 産生量は肺胞マクロファージに比してサ症, 健康人共に著明に高値であった。

3) interleukin-6 (IL-6) 産生

対照例 7 例の肺胞マクロファージの無添加培養時の IL-6 産生は 0.44 \pm 0.15ng/ml であり, サ症未治療症例 12 例のうち 4 例 (33%) に対照例の 2 倍の標準偏差値を越える多量の IL-6 産生が認められた。P. acnes 添加培養による IL-6 産生はサ症未治療症例で 5.18 \pm 1.46ng/ml と対照例の 3.34 \pm 0.39ng/ml に比較して増加 ($p < 0.02$) が認められた (図 8-B)。P. acnes 添加培養による IL-6 産生量と気管支肺胞洗浄液中リンパ球百分率との間には正の相関が認められた (図 9-A)。サ症肺胞マクロファージの P. acnes 添加培養による IL-6 産生量は IL-1 β 産生亢進と正の相関を示し ($p < 0.05$) (図 9-B), 肺胞マクロファージの貪食能とも正の相関を示した ($p < 0.05$)。気管支肺胞洗浄液中の IL-6 はサ症 26 例中 2 例 (8%) において極く微量測定できたが, 健康人 15 例では測定できなかった。

4) Tumor necrosis factor- α (TNF- α) 産生

サ症未治療症例 7 例の無添加培養時の肺胞マクロファージの TNF- α 産生量は 1046 \pm 1378pg/ml と対照例 6 例の 261 \pm 230pg/ml に比してやや高値ではあったが有意な差はなかった。しかし P. acnes 添加培養時にはサ症で 2276 \pm 1094pg/ml と対照例の 522 \pm 404pg/ml と比較して明かな高値を示した ($p < 0.01$) (図 8-C)。更に LPS 添加培養にてもサ症で 9858 \pm 2687pg/ml と対照例の 3545 \pm 1822pg/ml よりもはるかに多量の産生が見られた ($p < 0.001$)。

5. P. acnes 皮内反応

P. acnes PER 生理的食塩水溶解液 1 μ g/0.1ml, 10 μ g/0.1ml, 100 μ g/0.1ml の 3 濃度を被検者前腕皮内に注射し, 15 分後, 24 時間後, 48 時間後の発赤の長径と短径を計測し, その平均値を算出し

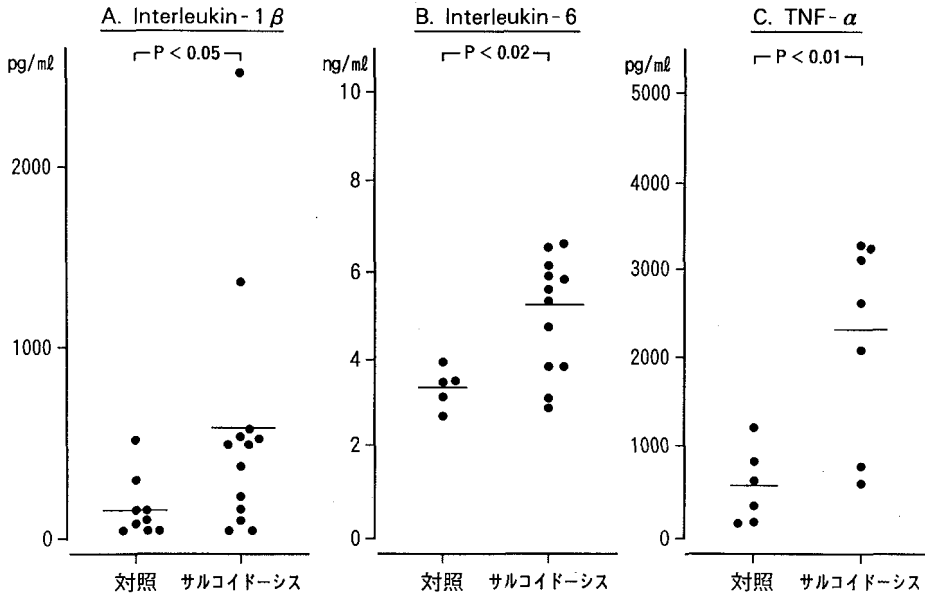


図 8. サルコイドーシス肺胞マクロファージの *P. acnes* 刺激によるサイトカイン産生

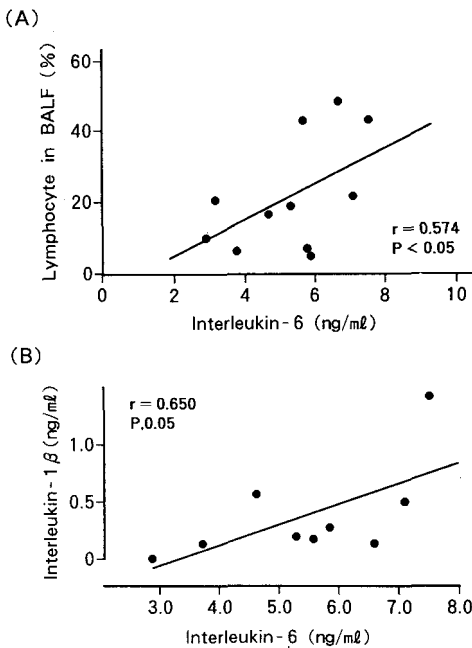


図 9. サルコイドーシス肺胞マクロファージの *P. acnes* 刺激による Interleukin-6 産生と気管支肺洗浄液中リンパ球および Interleukin-1 産生との相関

た。健常人 6 例では *P. acnes* の濃度に比例して発赤径は大きくなり、24 時間で最大となった (図 10-A)。*P. acnes* PER 10 μ g/0.1ml の皮内注射 24 時間後の発赤径はサ症未治療症例 23 例で 4.5 \pm 4.6 mm と健常人の 5.8 \pm 3.4mm に比して差はなく、健常人の最高値である 11mm 以上の発赤を示したのは 4 例 (17%) に過ぎなかった。一方、全く発赤が見られない症例がサ症では 8 例 (35%) あったが、健常人では 1 例もなく、サ症において *P. acnes* 皮内反応は低下している傾向が窺われた ($\chi^2=2.882$, $p<0.1$) (図 10-B)。

6. 骨髓よりの *P. acnes* の分離

小宮式骨髓穿刺針にて腸骨稜後部より吸引採取した骨髓液約 1 ml を嫌気性菌培養チューブにて 2 週間培養を行った。菌陽性例については同定を行い *P. acnes* の診断を行った。*P. acnes* の分離されたのはサ症 17 例中 4 例 (23%) であり、肺癌、悪性リンパ腫例を含む対照症例 20 例中 5 例 (25%) にも分離され両者間に全く差はなかった³⁶⁾。

7. 気管支肺胞洗浄液および血清中の抗 *P. acnes* 抗体

測定は whole bacterial cell enzyme-linked im-

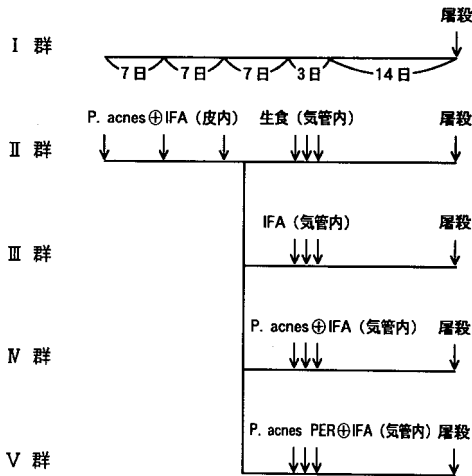


図11. 実験的肺肉芽腫症モルモットの感作スケジュール

より強く、サ症肺病変にはIV群が最も近いものであった。III群は軽度の胞隔炎が見られたのみで肉芽腫は見められず、II群では異常所見はほとんど見られなかった。即ちIV、V群が肺肉芽腫症群で、II、III群が対照群である。気管支肺胞洗浄液中総細胞数はI群で平均 8.0×10^6 、II群 9.7×10^6 、III群 13.7×10^6 、IV群 13.2×10^6 、V群 14.8×10^6 でIV、V群において軽度の増加がみられた。リンパ球はI群8.0%、II群10.8%、III群14.2%、IV群22.5%、V群22.6%とIV、V群ではII群に比して増加がみられた ($p < 0.001$) (表4)。

I群の肺胞リンパ球のP. acnes刺激による幼若化率は平均0.76、II群0.93、III群0.89、IV群2.38、V群3.48で肺肉芽腫症モルモットのIV、V群において対照群のI、II、III群に比して明かな亢進がみられた ($p < 0.01$) (表4)。末梢血リンパ球の幼若化反応はV群でのみ平均3.82と亢進がみられたがII群0.81、III群0.92、IV群では1.23といずれも有意な反応亢進は認められなかった。

肺胞リンパ球のP. acnes刺激によるIL-2産生はI群で平均0.6u/ml、II群0.7u/ml、IV群21.2u/ml、V群329.4u/mlと肺肉芽腫症モルモットであるIV、V群では対照群であるI、II群に比して亢進が認められた。 ($p < 0.02$, $p < 0.05$) (表4)。な

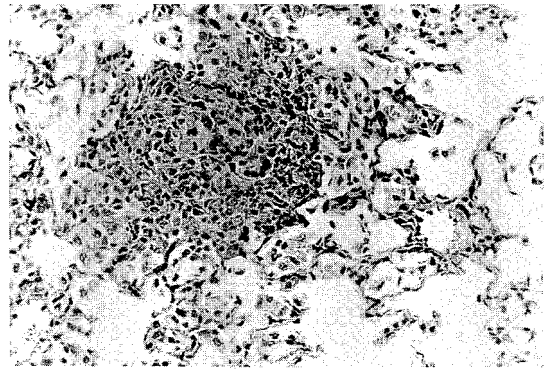


写真1

表4. 実験的肺肉芽腫症モルモットの肺胞リンパ球

	有核細胞数 ($\times 10^6$)	リンパ球 (%)	リンパ球幼若化率	IL-2産生 (u/ml)
I群	8.1 \pm 1.0 (5)	8.1 \pm 1.0 (5)	0.76 \pm 0.18 (5)	0.6 \pm 1.1 (7)
II群	9.7 \pm 2.5 (8)	10.8 \pm 1.5 (8)	0.93 \pm 0.38 (8)	0.7 \pm 1.1 (6)
III群	13.7 \pm 7.6 (7)	14.2 \pm 3.6 (7)	0.89 \pm 0.56 (7)	N.D
IV群	13.2 \pm 5.7 (15)	22.5 \pm 4.6 (15) ^{a)}	2.38 \pm 1.02 (15) ^{b)}	21.2 \pm 27.9 (15) ^{c)}
V群	14.8 \pm 7.5 (8)	22.6 \pm 6.2 (8) ^{a)}	3.48 \pm 2.29 (8) ^{b)}	329.4 \pm 294.1 (11) ^{d)}

a) : II群に比して $p < 0.001$ b) : I、II、III群に対して $p < 0.01$
 c) : I、II群に比して $p < 0.02$ d) : I、II群に比して $p < 0.05$

おV群においてP. acnes刺激IL-2産生量と気管支肺胞洗浄液中リンパ球総数との間には正の相関がみられた ($r = 0.674$, $p < 0.05$) (図12)。末梢血リンパ球のP. acnes刺激IL-2産生はI群では検出限界以下で、II群7.4u/ml、IV群8.6u/ml、V群9.3u/mlと肉芽腫症群に軽度の増加が見られたが、II群と比較すれば差はなく、またその産生量は肺胞リンパ球のそれに比して1/10以下と低値だった。

IV群の肺胞リンパ球の無添加培養後にrIL-2を添加培養した時の ^3H -thymidineの取り込みは $6,611 \pm 7,066\text{dpm}$ でP. acnes添加培養後には $12,513 \pm 12,766\text{dpm}$ と増加がみられ、P. acnes刺激によりIL-2R発現の亢進を示している。同様にV群においても無添加にて $5,818 \pm 5,494\text{dpm}$ に対し、P. acnes添加にて $12,362 \pm 9,414\text{dpm}$ と増加がみられた。しかしI群、II群ではrIL-2を添加しても取り込み亢進が認められなかった。即ち肺肉芽腫症モルモットの肺胞リンパ球にはIL-2R発現の亢進が見られたが、非肉芽腫症モルモット

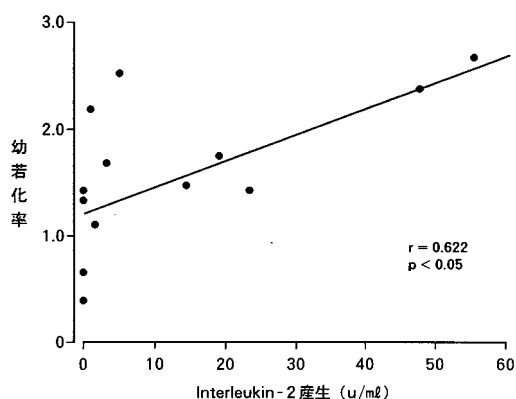


図12. 肺肉芽腫症モルモットの気管支肺胞洗浄液中リンパ球と *P. acnes* 刺激 Interleukin-2 産生との相関

では亢進はみられなかった。末梢血リンパ球の *P. acnes* 刺激による IL-2R の発現亢進はⅣ, Ⅴ群以外に, Ⅱ群にでも見られた事から, リンパ球の IL-2R 発現亢進は肺肉芽腫の存在よりも *P. acnes* による皮内感作の影響を反映しているのかも知れない。肺肉芽腫モルモットの肺胞リンパ球はヒトにおけるサ症のそれと同様に数の増加, *P. acnes* 刺激により幼若化の亢進, IL-2産生の亢進, 機能的 IL-2R 発現の亢進が認められた。

考 案

P. acnes はサ症患者の病変リンパ節を始めとする罹患臓器よりほぼ100%にしかも高濃度に分離される。しかし非サ症患者リンパ節からも分離されるが, その頻度, 濃度ともに低く, サ症患者では *P. acnes* がより高濃度に体内に侵入する機会があったと考えられる。しかしサ症患者において血清中の抗 *P. acnes* 抗体価や皮内反応に軽度の亢進が見られるものの, 血清中沈降抗体は検出されず, *P. acnes* に特異的免疫反応は認められなかった。サ症生検リンパ節乳剤の動物皮内注射にて特異的な肉芽腫は認められなかったが, *P. acnes* の反復感作により所属リンパ節に肉芽腫形成がみられた。本反応は生菌, 死菌を問わず認められるが, 発症にはマウスの系による差が大きかった。以上の文部省研究班を中心とした研究成果

から我々はサ症肺病変の起因体の1つとして *P. acnes* を想定し, Crystal, R. G.らの展開してきたサ症肺病巣における T-cell 活性化病態¹⁾²⁾への本菌の関与について検討した。即ちサ症肺病巣におけるリンパ球, マクロファージの *P. acnes* に対する反応性をサイトカインの動態を中心に検討すると共に, *P. acnes* 感作肺肉芽腫症モルモットの肺胞リンパ球についても同様の検討を加えた。

サ症病変はマクロファージ, 類上皮細胞, 多核巨細胞が密に接する中心濾胞部をリンパ球, 単球, 線維芽細胞が取り囲んで形成される類上皮細胞肉芽腫が特有な所見であるとされてきた。更に肺生検, 気管支肺胞洗浄法による肺病変の研究から, 主として T-リンパ球の浸潤による胞隔炎, 即ち T-cell alveolitis の存在が重要視されてきた。即ち胞隔炎は肉芽腫形成に先行し, かつ肉芽腫形成に必須の条件であると考えられるに至った¹⁾²⁾³⁾⁸⁾。サ症気管支肺胞洗浄液中リンパ球では CD4⁺T-cell の著明な増加³⁹⁾⁴⁰⁾, 細胞周期関連抗原である Ki67 抗原発現細胞の増加⁴¹⁾, IL-2 messenger RNA (mRNA) 発現の増強⁴²⁾, IL-2 の自然放出と増殖反応の亢進⁴³⁾, IL-2R 陽性で IL-2R mRNA 発現細胞の増加が認められ⁴⁴⁾, 更にサルコイド肉芽腫中リンパ球は³H-thymidine の取り込みが亢進しており⁴⁵⁾, サ症肺病巣では T-cell, 特に CD4⁺T-cell の活性化と増殖亢進が示唆される。そしてサルコイド肉芽腫に見られる HLA-DR⁺CD4⁺T-cell の集簇と⁴⁶⁾, 同細胞による IL-2 の自然放出の亢進は⁴⁷⁾, 肺胞内 T-cell への何らかの抗原刺激が窺われる。一方ではサ症肺胞 T-cell の T-cell receptor V gene の検討により α2.3⁺CD4⁺T-cell の増加が認められ⁴⁸⁾, 特定の segment を有する T-cell が特異抗原により, 持続的刺激を受けている事を窺わせている。またサ症気管支肺胞洗浄液中細胞成分を患者皮内に注射すると, 同部位に Kveim 抗原注射と同様な類上皮細胞肉芽腫の形成が認められることから, 肺胞細胞中にウイルス感染または特異的遺伝子の抑制を来すような起因物質の存在も疑われている⁴⁹⁾。

サルコイド肉芽腫に浸潤している T-cell は, 主に CD4 抗原陽性で, かつ CD45 RO 抗原陽性であ

り、今日 memory T-cell と呼ばれている細胞群である⁵⁰⁾。健常者の末梢血 T-cell は naive T-cell (CD45 RA⁺T-cell) と memory T-cell (CD45 RO⁺T-cell) はほぼ半数で、肺胞では memory T-cell が多数を占め、naive T-cell はわずかである⁵¹⁾。memory T-cell は既に抗原刺激を受け活性化された既往を有し、その後静止期状態に戻っている細胞である。即ち破傷風毒素、カンジダ抗原等にて感作された個体において、これら抗原による2次刺激にตอบสนองするのは memory T-cell であり、かつ低濃度の抗原刺激にて IL-2, IFN- γ , IL-6等のサイトカインを大量に産生するのも本細胞である⁵²⁾。従って memory T-cell の局所への集簇は遷延性抗原被曝の特徴的な所見と考えられ、暴露抗原の明かなベリリウム肺患者では肺胞内の memory T-cell の増加がみられている⁵¹⁾。

我々の成績からサ症肺胞リンパ球は P. acnes

の刺激にて増殖を亢進するが、N. rubra や St. pyogenes 等の刺激には反応せず、また過敏性肺臓炎等の間質性肺疾患の肺胞リンパ球は P. acnes には反応せず、サ症患者の肺胞リンパ球は P. acnes に特異的に感作を受けていることが窺われた。更にサ症肺胞リンパ球は P. acnes 刺激により T-cell 増殖因子である IL-2の産生、放出、ならびに IL-2R の発現を亢進し、サ症肺病巣においては IL-2を介する T-cell の増殖亢進が認められた³³⁾。これらサ症における肺胞リンパ球の増殖亢進は活動期に認められ、寛解期には正常化し、気管支肺胞洗浄液中 T-cell の増加と比例することから、肺病巣の活動性、とくに T-cell alveolitis の程度を反映していると考えられる³²⁾。しかしサ症の末梢血リンパ球は P. acnes に全く反応せず、肺胞リンパ球に特異的の反応であった。これらの事実からサ症肺病巣の T-cell 中には、P. acnes の刺激を受

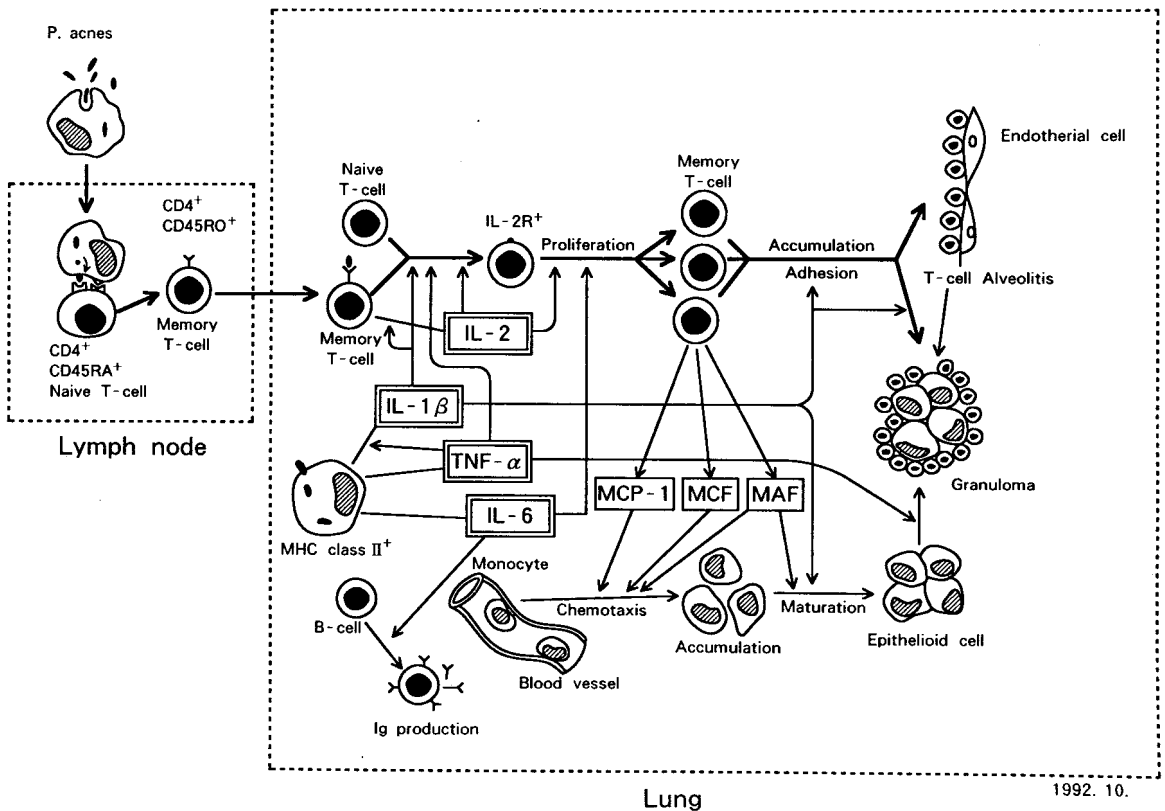


図13. サルコイドーシス肺病態への P. acnes の関与

け、活性化された memory T-cell の存在が示唆される。サ症肺マクロファージは MHC class II 抗原を強く発現し⁵³⁾、リンパ球への抗原提示能も亢進している事から⁵⁴⁾、P. acnes を貪食した肺胞マクロファージは所属リンパ節に入り、積極的にその抗原情報を naive T-cell に提供し memory T-cell へと分化させている事が窺われる。memory T-cell はリンパ節から肺内に運ばれ、そこで P. acnes に再び暴露されると IL-2 を大量に放出し、T-cell の増殖を来たと考えられる (図13)。

サ症肺胞マクロファージは P. acnes 刺激により多量の IL-1 β 産生を来たしたが、N. rubra, St. pyogenes 等の刺激ではみられなかった⁵⁵⁾。更にサ症肺胞マクロファージは P. acnes 刺激を受けて IL-6, TNF- α をも多量に産生・放出した。そして P. acnes 刺激による IL-1 β および IL-6 産生量は気管支肺胞洗浄液中のリンパ球数の増加と比例し、T-cell alveolitis を反映していた。IL-1 β は T-cell による IL-2 産生および IL-2R 発現を促し、T-cell の増殖を促進するとともに、IL-1 自身の有する T-cell 遊走活性により T-cell の遊走、集積を促進する⁵⁶⁾⁵⁷⁾⁵⁸⁾。memory T-cell は本来、内皮細胞への付着能が強く⁵⁹⁾、IL-1 は内皮細胞接着因子の発現亢進を介して memory T-cell の血管内皮細胞への選択的結合を促し⁶⁰⁾、胞隔への浸潤を来たし、cluster 形成を促進し⁵⁹⁾、alveolitis を進展させる。IL-6 は抗原刺激下にて IL-2 依存性 T-cell 増殖亢進に補助因子として働き⁶¹⁾、TNF- α は IL-1 β 産生亢進と⁶²⁾、IL-2R 発現を促進し⁶³⁾ T-cell 増殖を促す。即ち、サ症肺胞マクロファージが P. acnes 刺激により、大量に産生、分泌するサイトカインはいずれも T-cell の集簇、増殖を促進するし、alveolitis 形成に働く。IFN- γ はサ症活動期症例の血清あるいは肉芽腫リンパ節中に増加が見られ⁶⁴⁾、肺胞単核球よりの自然放出も亢進が報告され⁶⁵⁾⁶⁶⁾ているが、P. acnes 刺激による分泌亢進は認められなかった。

類上皮細胞肉芽腫の形成には TNF, IL-1 等のマクロファージの産生するモノカインの方が IL-2, IFN 等のリンホカインよりも直接的に重要な働きをしているらしい⁶⁷⁾。即ちサルコイド肉芽腫

中の類上皮細胞に IL-1 の発現が認められ⁴¹⁾、サルコイド肉芽腫からは IL-1 が多量に分離されている⁶⁴⁾。またサ症肺マクロファージの IL-1 産生は亢進しており⁶⁸⁾⁶⁹⁾⁷⁰⁾、気管支肺胞洗浄液中にも多量の IL-1 が検出される⁷¹⁾。更に実験的肉芽腫においても肉芽腫からは大量の IL-1 β が分離され⁷²⁾、IL-1 をビーズに含ませて in vitro に投与すると肉芽腫形成が亢進されることなどから、IL-1 は肉芽腫形成に直接的に関与していることが窺われる⁷³⁾⁷⁴⁾。更に IL-1 はヒト線維芽細胞、内皮細胞等の間質細胞に monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) や interleukin-8 (IL-8) の産生を促し、病巣へのマクロファージの集簇を来す⁷⁵⁾。BCG 肝肉芽腫症においては局所での TNF 産生の亢進が見られ、抗 TNF 抗体の投与により肉芽腫形成が抑制され⁷⁶⁾、TNF が肉芽腫形成と維持に重要な働きをしていることを示している⁷⁵⁾。サ症においても肺胞マクロファージの TNF- α 産生の亢進がみられ⁷⁷⁾⁷⁸⁾、活動期のサルコイド肉芽腫から多量に分離されており⁶⁴⁾、TNF はサルコイド肉芽腫形成に強く関与していることが窺われる (図13)。

P. acnes による動物の肺肉芽腫症は伊藤ら⁷⁹⁾によるモルモットに P. acnes 生理食塩水浮遊液を経気道的に吸入させ、肺門リンパ節腫大を伴う肺肉芽腫形成の報告がある。しかし組織学的には sinus and follicular hyperplasia であり、ヒトのサ症にみられるような肉芽腫は認められていない。小林⁸⁰⁾は P. avidum を皮内に前感作した後に経気道的に MDP を water in oil emulsion (W/O) にて投与し、肺及び肺門リンパ節に肉芽腫の形成を認めているが、その肉芽腫はリンパ節においてはよく分化したものであったが、肺においては境界はやや不明瞭で比較的細胞成分が少なく、類上皮細胞の分化も充分ではなく、サ症肉芽腫の初期に見られるものに近かった。江尻⁸¹⁾は小林の方法を改良し、P. avidum にて皮内感作した後、P. acnes 及び P. acnes PER を w/o にて経気道的に投与し、肺に alveolitis を伴い、巨細胞を有する類上皮細胞肉芽腫の作製に成功した。この肺肉芽腫症モルモットのリンパ球について、サ症リンパ球

におけると同様な方法にて検討した。肺肉芽腫症モルモットの肺胞洗浄液では有核細胞数とリンパ球の軽度の増加が見られたが、活動期サ症に見られるほどの強いものではなかった。肺胞リンパ球の *P. acnes* 刺激幼若化率はサ症と同様に、*P. acnes* PER 濃度 $5\mu\text{g/ml}$ にピークを有する濃度依存性反応がみられ、対照群に比して亢進が見られた。更に *P. acnes* 刺激による IL-2 産生および IL-2R 発現もともに亢進がみられた。しかし末梢リンパ球の IL-2 産生能は対照群との間に差はみられなかった。即ち前感作によりモルモットに *P. acnes* にて活性化された memory T-cell がつくられ、肺内に分布した memory T-cell は経気道的に投与された *P. acnes* に反応して、IL-2 を産生するとともに IL-2R 発現を亢進して、T-cell は増殖し、T-cell alveolitis を発症させ肉芽腫形成の環境を形成することが窺われた。

P. acnes は健常人皮膚を始め腸管内に常在しており、健常成人の血清中には抗 *P. acnes* 抗体価の上昇が認められている³⁷⁾。実験的肺肉芽腫の形成には *P. acnes* による前感作が必要であり、再感作には生菌、死菌のいずれにおいても肉芽腫は形成された事から、肉芽腫形成は *P. acnes* の暴露に対する宿主の遅延型免疫反応の結果と考えられた。*P. acnes* が多量に経気道的に体内に侵入する誘因としてウイルス感染による肺胞上皮の損傷・剝離か、あるいは何らかの免疫抑制の存在が考えられるが、しかし *P. acnes* は常在菌であり、ウイルスによる気道感染は通常的であるにもかかわらず、サ症は特定のヒトにしか発症しないのであろうか。そこには他の過敏性肺臓炎と同様に宿主側の抗原に対する反応性の違いが考えられる。その理由としてはサ症の発症頻度、病状の進行に人種間により明かな差異が認められ、また実験的肺肉芽腫症の発病にも、遺伝子の支配を強く受ける事⁷²⁾などが挙げられる。

その宿主側の反応の違いを免疫遺伝学的側面に求めて HLA 抗原について考えてみた。HLA 抗原と疾患の相関を考えるときの機序としては、①ある抗原に対して免疫反応を起こす特定の HLA 抗原をもっているかどうか疾患発症につながる

場合。②疾患を決定づける遺伝子が HLA の近くに存在し、連鎖不平衡が起こるために特定の HLA 抗原の陽性者にその疾患の患者が多くみられる場合。③ HLA 抗原が疾患の原因となる細菌やウイルスのレセプターとなっていることが考えられる場合がある。強直性脊椎炎は③の機序によるものとされており、本症の大多数は HLA-B27 陽性であり、活動期の強直性脊椎炎患者の便中から高い頻度で、*Krebsiella pneumoniae* (*K. pneumoniae*) が分離され、また非活動性であっても本菌が分離される患者は活動性に発展していく頻度の高いとされている⁸²⁾。そして強直性脊椎炎患者の B27⁺リンパ球と *K. pneumoniae* 菌の細胞膜成分とが交差反応を示すことから⁸³⁾、*K. pneumoniae* 菌が強直性脊椎炎における発症因子と想定されている。サ症における HLA class II 抗原はわが国では DRw52 抗原⁸⁴⁾⁸⁵⁾の頻度が高く、ドイツでは DR5 抗原⁸⁶⁾、デンマークでは DRw6 の頻度が高く⁸⁷⁾、強直性脊椎炎患者に見られるほどの強い相関は現在のところ認められていない。またサ症において HLA の DR β 、DQ α 、 β gene に特異的な fragment は認められていないが、高頻度に認められる数種の fragment が報告されており⁸⁸⁾、これら多様性を示す fragment が DR 遺伝子のどの部分に存在するか不明であるが、この中に *P. acnes* に対する受容体が存在すれば本症における *P. acnes* に対するリンパ球の反応亢進を明らかにできるかもしれない。

なお、サ症患者の気管支肺胞洗浄液中の抗 *P. acnes* 抗体価の上昇が認められ、それらは主に肺内にて産生されている事が判明したしたが、肉芽腫形成へのこれら液性免疫異常の直接的な関与の証拠は得られなかった。

サ症肺病巣における免疫細胞であるリンパ球、マクロファージに認められる、サイトカインを中心とした異常反応と *P. acnes* に対するこれらの細胞の反応との関係について検討し、サ症の起因体としての *P. acnes* の可能性について論じた。

文 献

1. Hunninghake, G. W., Gadek, J. E., Young, R. C.

- Kawanami, O., Ferrans, V. J. and Crystal, R. G. : Maintenance of granuloma formation in pulmonary sarcoidosis by T lymphocytes within the lung. *N. Engl. J. Med.*, 302 : 594-598, 1980
2. Hunninghake, G. W., Garrett, K. C., Richerson, H. B., Fantone, J. C., Ward, P. A., Rennard, S. I., Bitterman, P. B. and Crystal, R. G. : Pathogenesis of the granulomatous lung diseases. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 130 : 476-496, 1984
 3. Homma, J. Y., Abe, C., Chosa, H., Ueda, K., Saegusa, J., Nakayama, M., Homma, H., Wa-shizaki, M. and Ikano, H. : Bacteriological investigation on biopsy specimens from patients with sarcoidosis. *Jap. J. Exp. Med.*, 48 : 251-255, 1978
 4. Hanngren, A., Odham, G., Eklund, A., Hoffner, S., Stjernberg, N. and Westerdahl, G. : Tuberculostearic acid in lymph nodes from patients with sarcoidosis. *Sarcoidosis* 4 : 101-104, 1987
 5. Cantwell, A. R. : Histologic observations of variable acid-fast pleomorphic bacteria in systemic sarcoidosis : A report of 3 cases. *Growth*, 46 : 113-125, 1982
 6. Graham D. Y., Markesich, D. C., Kalter, D. C. and Yoshimura, H. H. : Isolation of cell wall-defective acid-fast bacteria from skin lesions of patients with sarcoidosis. In *Sarcoidosis and Other Granulomatous Disorders*, Grassi, C., Rizzato, G. and Pozzi, E. eds, Excerpta Medica, Amsterdam, pp161-164, 1988
 7. Mitchell, I. C., Turk, J. L. and Mitchell, D. N. : Detection of mycobacterial rRNA in sarcoidosis with liquid-phase hybridisation. *Lancet*, 339 : 1015-1017, 1992
 8. Saboor, S. A., Johnson, N. M. and McFadden, J. : Detection of mycobacterial DNA in sarcoidosis and tuberculosis with polymerase chain reaction. *Lancet*, 339 : 1012-1015, 1992
 9. Moore, W. E. C. and Holdeman, L. V. : Propionibacterium. In *Bergey's Manual of Determining Bacteriology*. 8th Edition, The Williams and Wilkins Company Ltd., Baltimore, pp633-641, 1974
 10. Johnson, J. L. and Cummins, C. S. : Cell wall composition and deoxyribonucleic acid similarities among the anaerobic Coryneform, classical Propionibacteria, and strains of *Arachnia propionica*. *J. Bacteriol.*, 109 : 1047-1066, 1972
 11. Tuttle, R. L. and Cantrell, J. : C. parvum-Determinants of biologic activity. In *Augmenting Agents in Cancer Therapy*. Hershe, E. M. eds, Raven Press, New York, pp53-69, 1981
 12. Cummins, C. S. : *Corynebacterium parvum* and its fraction. In *Immune Modulation Agents and their Mechanism*. Fenichel, R. L. and Chiringos, M. A. eds. Marcel Dekker Inc., New York, pp163-190, 1984
 13. Cummins, C. S. and Johnson, J. L. : *Corynebacterium parvum* : a synonym for *Propionibacterium acnes*? *J. General Microbiology*, 80 : 433-442, 1974
 14. Mackowiak, P. A. : The normal microbial flora. *N. Engl. J. Med.*, 307 : 83-93, 1982
 15. Wilson, W. R., Martin, W. J., Wilkowske, C. J. and Washigton, J. A. : An aerobic bacteremia. *Mayo Clin. Proc.*, 47 : 639-646, 1972
 16. French, R. S., Ziter, F. A., Spruance, S. L. and Smith, C. B. : Chronic meningitis caused by *Propionibacterium acnes*. A potentially important clinical entity. *Neurology*, 24 : 624-628, 1974
 17. Beeler, B. A., Crowder, J. G., Smith, J. W. and White, A. : Propionibacterium acnes : Pathogen in central nervous system shunt infection. *Am. J. Med.*, 61 : 935-938, 1976
 18. 本間日臣 : サルコイドーシスの発生機構に関する研究—感染論的立場からの基礎的研究—。難病の発生機構, 豊倉康夫編。東京大学出版会, 東京, pp245-303, 1981
 19. Abe, C., Iwai, K., Mikami, R. and Hosoda, Y. : Frequent isolation of *Propionibacterium acnes* from sarcoidosis lymph nodes. *Zbl. Bakt. Hyg. A.*, 256 : 541-547, 1984
 20. 五十嵐令, 稲富恵子 : 蛍光抗体法, 酵素抗体法によるサルコイドーシス患者生検リンパ節内 *Propionibacterium acnes* の検出。日本胸部疾患学会雑誌, 26 : 507-511, 1988
 21. Ueda, K., Homma, J. Y., Mitsuoka, T. and Homma, H. : Isolation, pathogenesis, and biological characteristics of *Propionibacterium acnes* from sarcoidosis patients. In *Sarcoidosis*. Japan Medical Research Foundation eds. University Tokyo Press, Tokyo, pp87-96, 1981
 22. 江石義信, 武村民子, 松井泰夫, 畠山茂 : サルコイドーシス起因体の免疫病理学的追求。日本サルコイドーシス学会雑誌, 8 : 25-27, 1988
 23. Tanaka, A., Imai, K., Nagao, S., Kushima, K., Emori, K., Kotani, S., Shiba, T., Kusumoto, S. and Ohta, F. : Macrophage activation and granuloma formation by muramyl depeptide (MDP) without T cell involvement. *Med. Sci. Program.*, pp136-162, 1980
 24. 江石義信 : サルコイドーシスにおける肉芽腫の成因。呼吸, 11 : 1050-1057, 1992
 25. Sieracki, J. G. and Fisher, E. R. : The ceroid nature of the so-called "Hamazaki-Wesenberg bodies" *Am. J. Clin. Pathol.*, 59 : 248-253, 1973
 26. Ro, J. Y., Luna, M. A., Mackay, B. and Ramos, O. : Yellow-brown (Hamazaki-Wesenberg) bodies mimicking hugal yeasts. *Arch. Pathol. Lab. Med.*,

- 111: 555-559, 1987
27. 江石義信, 安藤登, 羽島あや子, 松井泰夫, 折津愈, 生島壯一郎, 秋山修, 武村民子: サルコイドーシスの起因物質のモノクロナール抗体, 厚生省特定疾患びまん性肺疾患調査研究班 札幌, 富良野ワークショップ, 1992
 28. 江尻東伍: サルコイドーシス肺病態への *Propionibacterium acnes* の関与に関する研究. 第1編サルコイドーシス肺胞リンパ球の活性化について, 岡山医学会雑誌, 100: 803-810, 1988
 29. 前田剛, 飛岡徹, 森 由弘, 江尻東伍, 片岡幹男, 中田安成, 大熨泰亮, 守谷欣明, 木村郁郎: サルコイドーシス肺胞リンパ球の各種細菌の壁成分刺激による幼若化反応の検討. 日本サルコイドーシス学会雑誌, 7: 20-21, 1987
 30. 中田安成, 江尻東伍, 岸俊行, 小林洋三, 藤田道雄, 大熨泰亮, 木村郁郎: サルコイドーシス肺胞リンパ球の *Propionibacterium acnes* に対する反応性の検討. 日本胸部疾患学会雑誌, 23: 413-419, 1985
 31. 中田安成: サルコイドーシス肺胞リンパ球の異常とプロピオネバクテリウム. 日本サルコイドーシス学会雑誌, 8: 19-21, 1988
 32. 中田安成, 片岡幹男, 江尻東伍, 森 由弘, 飛岡徹, 前田剛, 細谷茂衛, 大熨泰亮, 木村郁郎: サルコイドーシス肺胞リンパ球の *P. acnes* 刺激幼若化反応の臨床. 日本胸部疾患学会雑誌, 27: 837-841, 1989
 33. 森 由弘, 中田安成, 片岡幹男, 江尻東伍, 飛岡徹, 前田剛, 細谷茂衛, 大熨泰亮, 木村郁郎: サルコイドーシス肺胞リンパ球の *Propionibacterium acnes* 刺激による Interleukin-2 産生及び Interleukin-2 receptor 発現の検討. 日本胸部疾患学会雑誌, 26: 42-50, 1989
 34. 飛岡徹: サルコイドーシス肺胞マクロファージの異常. 第1編 肺胞マクロファージの Interleukin-1 産生. 岡山医学会雑誌投稿中
 35. 片岡幹男, 中田安成, 塩見勝彦, 細谷茂衛, 西崎浩, 飛岡徹, 前田剛, 森下亮二, 大熨泰亮, 木村郁郎: サルコイドーシス肺胞マクロファージの Interleukin-6 産生. 日本胸部疾患学会雑誌, 30: 412-417, 1992
 36. 中田安成, 小林洋三, 岸俊行, 大田原保幸, 近藤昭, 江尻東伍, 大熨泰亮, 木村郁郎, 田仲俊雄, 真田浩: サルコイドーシスの骨髄異常の検討. 日本胸部疾患学会雑誌, 21: 738-744, 1983
 37. 森 由弘, 中田安成, 片岡幹男, 江尻東伍, 飛岡徹, 前田剛, 細谷茂衛, 大熨泰亮, 木村郁郎: サルコイドーシスにおける気管支肺胞洗浄液および血清中の抗 *Propionibacterium acnes* 抗体の検討. 日本胸部疾患学会雑誌, 27: 35-41, 1989
 38. 武村民子: サルコイドーシスの病理形態像—肺病変を中心に—. 医学のあゆみ, 156: 11-16, 1991
 39. Hunninghake, G. W. and Crystal, R. G.: Pulmonary sarcoidosis. A disorder mediated by excess helper T-lymphocyte activity at sites of disease activity. N. Engl. J. Med., 305: 429-434, 1981
 40. 中田安成, 片岡幹男, 小林洋三, 岸俊行, 江尻東伍, 森 由弘, 飛岡徹, 前田剛, 大熨泰亮, 木村郁郎: サルコイドーシス肺胞リンパ球の異常. 日本臨床免疫学会誌, 10: 278-285, 1987
 41. Chilosi, M., Menestrian, F., Capelli, P., Montagna, L., Lestani, M., Pizzolo, G., Cipfreiani, A., Agostini, C., Trentin, L., Zambello, R. and Semenzato, G.: Immunohistochemical analysis of sarcoid granulomas. Evaluation of Ki67⁺ and interleukin-1⁺ cells. Am. J. Pathol., 131: 191-198, 1988
 42. Muller-Quernheim, J., Saltini, C., Sondermeyer, P. and Crystal, R. G.: Compartmentalized activation of the interleukin-2 gene by lung T lymphocytes in active pulmonary sarcoidosis. J. Immunol., 137: 3475-3483, 1986
 43. Pinkston, P., Bitterman, P. B. and Crystal, R. G.: Spontaneous release of interleukin-2 by lung T lymphocytes in active pulmonary sarcoidosis. N. Engl. J. Med., 308: 793-800, 1983
 44. Muller-Quernheim, J., Kronke, M., Strausz, J., Schykowski, M. and Ferlinz, R.: Interleukin-2 receptor gene expression by bronchoalveolar lavage lymphocytes in pulmonary sarcoidosis. Am. Rev. Respir. Dis., 140: 82-88, 1989
 45. Maarsseveen, T., Eckert, H., Groot, J., Renner, H., Christ, R., Henning, R., Engelmann, K., Riesner, R. and Laake, E.: Proliferative capacity of mononuclear cells in the human lung. J. Immunol. Method., 143: 95-102, 1991
 46. van Maarsseveen, T. and Mullink, R.: HLA-DR antigens in epithelioid cell granulomas of sarcoidosis using semithin frozen sections. A concept about granuloma formation. Sarcoidosis, 2: 148-153, 1985
 47. Saltini, C., Spurzem, J. R., Lee, J. J., Pinkston, P. and Crystal, R. G.: Spontaneous release of interleukin 2 by lung T-lymphocytes in active pulmonary sarcoidosis is primarily from the leu3⁺ DR⁺ T-cell subset. J. Clin. Invest., 77: 1962-1970, 1986
 48. Grunewald, J., Janson, C. H., Eklund, A., Ohn, M., Olerup, O., Persson, U. and Wigzell, H.: Restricted V α 2.3 gene usage by CD4⁺ T lymphocytes in bronchoalveolar lavage fluid from sarcoidosis patients correlates with HLA-DR3. Eur. J. Immunol., 22: 129-135, 1992
 49. Holter, J. F., Park, H. K., Sjoerdsma, K. W. and Kataria, Y. P.: Nonviable autologous bronchoalveolar lavage cell preparations induce intradermal epithelioid cell granulomas in sarcoidosis patients. Am. Rev. Respir. Dis., 145: 864-

- 871, 1992
50. Chilosi, M., Mombello, A., Lestani, M., Menestrina, F., Fiore-Donati, L., Cipriani, A., Zambell, R. and Semenzato, G.: Immunohistochemical characterization of sarcoid granuloma. Differentiation antigen and adhesion molecule. *Sarcoidosis*, 8: 171-172, 1991
 51. Saltini, C., Kirby, M., Trapnell, B. C., Tamura, N. and Crystal, R. G.: Biased accumulation of T lymphocytes with "memory"-type CD45 leukocyte common antigen gene expression of the epithelial surface of the human lung. *J. Exp. Med.*, 171: 1123-1140, 1990
 52. 田中良哉, Shaw, S. and Horgan, K. J.: ヒト Naive T 細胞と Memory T 細胞: CD45 アイソフォームと T 細胞サブセット. *Medical Immunology*, 21: 527-540, 1991
 53. Spurzem, J. R., Saltini, C., Kirby, M., Konishi, K. and Crystal, R. G.: Expression of HLA class II genes in alveolar macrophages of patients with sarcoidosis. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 140: 89-94, 1989
 54. Lem, V. M., Lipscomb, M. F., Weissler, J. C., Nunez, G., Ball, E. J., Stastny, P. and Toews, G. B.: Bronchoalveolar cells from sarcoid patients demonstrate enhanced antigen presentation. *J. Immunol.*, 135: 1766-1771, 1985
 55. 飛岡徹, 前田剛, 森 由弘, 江尻東伍, 細谷茂衛, 片岡幹男, 中田安成, 木村郁郎: サルコイドーシス患者のマクロファージの IL-1 産生の検討. *アレルギー*, 37: 636, 1988
 56. Miossec, P., Yu, C. L. and Ziff, M.: Lymphocyte chemotactic activity of human interleukin 1. *J. Immunol.*, 133: 2007-2011, 1984
 57. Hunninghake, G. W., Glazier, J., Monick, M. M. and Dinarello, C. A.: Interleukin-1 is a chemotactic factor for human T-lymphocytes. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 135: 66-71, 1986
 58. Miossec, P., Cavender, D. and Ziff, M.: Interleukin 1 derived from human endothelial cells enhances the binding and chemotactic step of T lymphocyte emigration. *Clin. Exp. Immunol.*, 73: 250-254, 1988
 59. Pitzalis, C., Kingsley, G., Haskard, D. and Panayi, G.: The preferential accumulation of helper-inducer T lymphocytes in inflammatory lesions: evidence for regulation by selective endothelial and homotypic adhesion. *Eur. J. Immunol.*, 18: 1397-1404, 1988
 60. Shimizu, Y., Shaw, S., Graber, N., Godpal, T. V., Horgan, K. J., Seventer, G. A. and Newman, W.: Activation-independent binding of human memory T cells to adhesion molecule ELAM-1. *Nature*, 349: 799-802, 1991
 61. Garman, R. D., Jacobs, K. A., Clark, S.C. and Raulet, D.H.: B-cell-stimulatory factor 2 ($\beta 2$ interferon) functions as a second signal for interleukin 2 production by mature murine T cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 84: 7629-7633, 1987
 62. Dinarello, C. A., Cannon, J.C., Wolff, S.M., Bernheim, H. A., Beutler, B., Cerami, A., Figari, I. S., Palladino, M.A. and O'Connor, J. V.: Tumor necrosis factor (Cachectin) is an endogenous pyrogen and induces production of interleukin 1. *J. Exp. Immunol.*, 163: 1433-1450, 1986
 63. Scheurich, P., Thoma, B., Ucer, U. and Pfizenmaier, K.: Immunoregulatory activity of recombinant human tumor necrosis factor (TNF) α : Induction of TNF receptors on human T cells and TNF- α -mediated enhancement of T cell responses. *J. Immunol.*, 138: 1786-1790, 1987
 64. 皆川知紀, 浅野美佐子: サルコイドーシス患者の病態生理における内在性サイトカインの役割. *医学のあゆみ*, 156: 76-81, 1991
 65. Robinson, B. W. S., McLemore, T.L. and Crystal, R. G.: Gamma interferon spontaneously released by alveolar macrophages and lung T-lymphocytes in patients with pulmonary sarcoidosis. *J. Clin. Invest.*, 75: 1488-1495, 1985
 66. Moseley, P. L., Hemken, C., Monick, M., Nugent, K. and Hunninghake, G. W.: Interferon and growth factor activity for human lung fibrosis. Release from bronchoalveolar cells from patients with active sarcoidosis. *Chest*, 89: 657-662, 1986
 67. Kasahara, K., Kobayashi, K., Shikama, Y., Yoneya, I., Kaga, S., Hashimoto, M., Odagiri, T., Soejima, K., Ide, H., Takahashi, T. and Yoshida, T.: The role of monokines in granuloma formation in mice: The ability of interleukin 1 and tumor necrosis factor-alpha to induce lung granulomas. *Clin. Immunol. Immunopathol.*, 51: 419-425, 1989
 68. Yamaguchi, E., Okazaki, N., Tsueta, Y., Abe, S., Terai, T. and Kawakami, Y.: Interleukin in pulmonary sarcoidosis. Dissociative correlations of lung interleukin 1 and 2 with intensity of alveolitis. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 138: 645-651, 1988
 69. Barth, J., Kreipe, H., Radzun, H. J., Schumacher, U. and Petermann, W.: Spontaneous interleukin-1 release from alveolar macrophages of the bronchoalveolar lavage of patients with active sarcoidosis. *Immun. Infekt.*, 17: 141-144, 1989
 70. Fireman, E., Efrain, S. B., Gireif, J., Alguetti, A., Ayalon, D. and Topilsky, M.: Suppressive activity of alveolar macrophages and blood monocytes from interstitial lung disease: Role of released soluble factors. *Int. J. Immunopharmac.*, 11: 751-

- 760, 1989
71. Reynalds, S. P., Jones, K. P., Edwards, J. H. and Davies, B. H.: Immunoregulatory proteins in bronchoalveolar lavage fluid. A comparative analysis of pigeon Breeders' disease, sarcoidosis and idiopathic pulmonary fibrosis. *Sarcoidosis*, 6: 125-134, 1989
 72. Salvaggio, J. E.: Immune reactions in allergic alveolitis. *Eur. Respir. J.*, 4: Suppl 13, 47-59, 1991
 73. Dunn, C. J. and Gibbons, A. J.: Human recombinant interleukin-1 induces chronic granulomatous inflammation. *J. Leukocyte Biol.*, 42: 615, 1987
 74. Kasahara, K., Kobayashi, K., Shikama, Y., Yoneya, I., Soejima, K., Ide, H. and Takahashi, T.: Direct evidence for granuloma-inducing activity of interleukin-1. Induction of experimental pulmonary granuloma formation in mice interleukin-1-coupled beads. *Am. J. Pathol.*, 130: 629-638, 1988
 75. Kunkel, S. L., Chensue, S. W., Strieter, R. M., Lynch, J. P. and Remick, D. G.: Cellular and molecular aspects of granulomatous inflammation. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*, 1: 439-447, 1989
 76. Kindler, V., Sappino, A. P., Grau, G. E., Piguët, P. F. and Vassalli, P.: The inducing role of tumor necrosis factor in the development of bactericidal granulomas during BCG infection. *Cell*, 56: 731-740, 1989
 77. Baughman, R. P., Strohofer, S. A., Buchsbaum, J. and Lower, E. E.: Release of tumor necrosis factor by alveolar macrophages of patients with sarcoidosis. *J. Lab. Clin. Med.*, 115: 36-42, 1990
 78. Muller-Quernheim, J., Pfeifer, S., Mannel, D., Strausz, J. and Ferlinz, R.: Lung-restricted activation of the alveolar macrophage / monocyte system in pulmonary sarcoidosis. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 145: 187-192, 1992
 79. Ito, Y., Toyama, J., Morikawa, S., Hirano, T., Hirasawa, K., Kinoshita, Y. and Kanasawa, Y.: The production of granulomas in animals and men by a *Propionibacterium* suspension and *Yersinia*. In Eighth International Conference on Sarcoidosis and Other Granulomatous Diseases. Williams, W. J. and Davies, B. H. eds. Alpha Omega Publishing Limited. New York, pp142-149, 1978.
 80. 小林洋三: サルコイドーシスの成因に関する研究。第2編 *Propionibacterium acnes* と muramyl depeptide による実験的肺肉芽腫症作製の試み。岡山医学会雑誌, 96: 1136-1174, 1984
 81. 江尻東伍: サルコイドーシス肺病態への *Propionibacterium acnes* の関与に関する研究第2編 *Propionibacterium acnes* による実験的肺肉芽腫症作製の試み。岡山医学会雑誌, 100: 811-819, 1988
 82. Ebringer, R. W., Cawdell, D. R., Cowling, P. and Ebringer, A.: Sequential studies in ankylosing spondylitis. Association of Klebsiella pneumoniae with active disease. *Ann. Rheum. Dis.*, 37: 146-451, 1978
 83. Druery, C., Bashir, H., Geczy, A.F., Alexander, K. and Edmonds, J.: Search for Klebsiella cell wall components cross-reactive with lymphocytes of B27*AS+ individuals. *Hum. Immunol.*, 1: 151-160, 1986
 84. Kunikane, H., Abe, S., Tsuneta, Y., Nakayama, T., Tajima, Y., Misonou, J., Wakisaka, A., Aizawa, M. and Kawakami, Y.: Role of HLA-DR antigens in Japanese patients with sarcoidosis. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 135: 688-691, 1987
 85. Ina, Y., Takada, K., Yamamoto, M., Morishita, M., Senda, Y. and Torii, Y.: HLA and sarcoidosis in the Japan. *Chest*, 95: 1257-1261, 1989
 86. Nowack, D. and Goebel, K. M.: Genetic aspects of sarcoidosis. Class II histocompatibility antigens and a family study. *Arch. Intern. Med.*, 147: 481-483, 1987
 87. Odum, N., Milman, N., Jakobsen, B. K., Georgsen, J. and Svejgaard, A.: HLA class II (DR, DQ, DP) in patients with sarcoidosis. Evidence of an increased frequency of DRw6. *Exp. Clin. Immunogenet.*, 8: 227-232, 1991
 88. 国兼浩嗣, 川上義和: サルコイドーシス患者の HLA-DR 抗原と HLA-DR 遺伝子。医学のあゆみ, 156: 67-71, 1991

(1992年10月15日受理)