

## 角膜ヘルペスにおけるリンパ球サブセットの検討 (図4, 表1)

喜多美穂里・吉田 晴子・砂川 光子 ( 京都大学医学部眼科学教室 )  
 直井 信久・吉田 雅子<sup>1)</sup>・千原 悦夫 ( 1) 医仁会武田病院眼科

### Evaluation of Lymphocyte Subsets in Patients with Herpetic Keratitis

Mihori Kita, Haruko Yoshida, Mitsuko Sunakawa,

Nobuhisa Naoi, Masako Yoshida<sup>1)</sup> and Etsuo Chihara

Department of Ophthalmology, Faculty of Medicine Kyoto University

<sup>1)</sup>Ijin-kai Takeda Hospital

#### 要 約

単純ヘルペス角膜炎活動期患者20名 (樹枝状角膜炎10名・実質性角膜炎10名) および非活動期患者16名の末梢血におけるリンパ球サブセットの変動を, OK シリーズモノクロナル抗体を用いて検討した. 樹枝状角膜炎・実質性角膜炎両患者群で, OKT4<sup>+</sup>細胞の上昇, OKT8<sup>+</sup>細胞の減少, OKT4<sup>+</sup>/OKT8<sup>+</sup>の上昇傾向がみられた. 非活動期患者群では, OKT3<sup>+</sup>, OKT4<sup>+</sup>, OKT8<sup>+</sup>細胞ともに対照に比して有意な変動はみられなかった. これらの結果より, T リンパ球 (特に Helper T リンパ球) が単純ヘルペス角膜炎において重要な役割を演じていることが示唆された. (日眼 91: 240—245, 1987)

キーワード: 角膜ヘルペス, リンパ球サブセット, モノクロナル抗体, OK シリーズ

#### Abstract

We examined the lymphocyte subsets in circulating blood in patients with herpetic keratitis by means of reactivity with monoclonal antibodies to the surface antigens of OKT3<sup>+</sup>, OKT4<sup>+</sup> and OKT8<sup>+</sup>. The herpetic keratitis patients included dendritic keratitis (10 cases), stromal keratitis (10 cases), and inactive keratitis (16 cases). A group of 55 healthy subjects was served as controls. Both patients with dendritic keratitis and those with stromal keratitis showed significantly higher percentage values of OKT4<sup>+</sup> cells than normal controls ( $p < 0.001$ ,  $p < 0.01$ ). And patients with dendritic keratitis showed significantly lower percentage values of OKT8<sup>+</sup> cells than normal controls ( $p < 0.01$ ). Both patients with dendritic keratitis and those with stromal keratitis showed significantly higher OKT4<sup>+</sup>/OKT8<sup>+</sup> ratio than normal controls ( $p < 0.001$ ,  $p < 0.01$ ). There was no difference in the lymphocyte subset pattern between patients with inactive keratitis and normal controls. These observations showed that T lymphocytes (especially helper T lymphocytes) may play an important role in herpetic keratitis. (Acta Soc Ophthalmol Jpn 91: 240—245, 1987)

Key words: herpetic keratitis, lymphocyte subset, monoclonal antibody, OK series

#### I 緒 言

角膜ヘルペスは再発をくり返す難治性の疾患であ

り, 単純ヘルペスウイルス (Herpes simplex virus; HSV) の角膜感染によっておこる. その免疫反応については, 体液性および細胞性免疫の双方について, 色々

別刷請求先: 〒606 京都市左京区聖護院川原町54 京都大学医学部眼科学教室 喜多美穂里

Reprint requests to: Mihori Kita, M.D. Dept. of Ophthalmol., Faculty of Med., Kyoto Univ.

54 Shogoinkawara-cho, Sakyo-ku, Kyoto 606, Japan

(昭和61年9月24日受付) (Accepted September 24, 1986.)

な反応が知られてきた<sup>1)</sup>。中でも、細胞性免疫が当疾患では重要な役割を果たしており<sup>2)~4)</sup>、感染防御および感染病巣の治癒には、Tリンパ球が大きく関与していることが、実験的にも確かめられている<sup>5)~7)</sup>。しかしヒト角膜ヘルペスにおいて、細胞性免疫がどのように機能しているのか、また重要な役割を果たすリンパ球のサブセットについては、まだよくわかっていない<sup>8)~12)</sup>。

最近、われわれはウイルス感染症などの全身疾患およびブドウ膜炎などの眼疾患においても、免疫学的解析を行なう一手段として、各種モノクロナル抗体を用い末梢血リンパ球サブセットの変動を報告した<sup>13)~16)</sup>。

今回われわれは、単純ヘルペス角膜炎活動期および非活動期患者の末梢血におけるリンパ球サブセットの変動を、OKシリーズを用いて調べ、興味深い結果を得たので報告する。

## II 対 象

単純ヘルペス角膜炎患者36名、および対照健康人55名の末梢血を用いた。患者の内訳は、活動期の者として樹枝状角膜炎10名、実質性角膜炎10名の計20名、非活動期の者16名（樹枝状角膜炎9名、実質性角膜炎7名）である。活動期患者としては、樹枝状角膜炎および実質性角膜炎のそれぞれの発症後1週間以内の者で、検査前1週間以内にステロイドや免疫抑制剤の全身投与を受けていない者を対象とし、また非活動期患者としては、過去に単純ヘルペス角膜炎に罹患しており、治癒3カ月以上再発をみていない者で、実質内に瘢痕を残していても現在は非活動期の者を対象とした。

## III 方 法

患者および対照健康人の末梢血をヘパリン加シリンジに採取し、直接蛍光抗体法にてモノクロナル抗体と反応するOKT3<sup>+</sup>細胞(末梢成熟Tリンパ球)、OKT4<sup>+</sup>細胞(helper-inducer Tリンパ球)、OKT8<sup>+</sup>細胞(cytotoxic-suppressor Tリンパ球)を検出した。

上記の方法で採取した全血100 $\mu$ lに至適濃度に希釈したFITC標準モノクロナル抗体(OKT3, OKT4, OKT8(Ortho))を10 $\mu$ l, コントロールにはモノクロナル抗体の代わりにPhosphate Buffered Salineを10 $\mu$ lを加え、4 $^{\circ}$ Cで30分間放置する。次に塩化アンモニウム2mlを加えて強く攪拌して約5分間室温に放置し赤血球を破壊する。このサンプルをOrtho Spectrom III Laser Flow Cytometry Systemで測定し、各サブセットをリンパ球に対する割合で求めた。

コントロールとして行なった検体で検出された非特異的蛍光陽性細胞のリンパ球に対する比率は5%以下であった。また統計的処理はt検定を用いて行なった。

## IV 結 果(表1)

### 1. OKT3<sup>+</sup>細胞の割合(図1)

活動期患者群では、上皮型71.0%・実質型70.3%であり、非活動期患者群では69.0%と対照健康人群の68.9%に比べて、増加傾向を示したが、有意差は認められなかった。

### 2. OKT4<sup>+</sup>細胞の割合(図2)

活動期患者群では、上皮型48.8%・実質型46.4%で対照健康人群の38.1%に比して…上皮型では $p < 0.001$ , 実質型では $p < 0.01$ で双方とも有意に増加していた。非活動期患者群では40.0%で増加傾向を示した。

表1 リンパ球サブセットの変動

	症例数 (人)	OKT3 <sup>+</sup> (%)	OKT4 <sup>+</sup> (%)	OKT8 <sup>+</sup> (%)	OKT4 <sup>+</sup> /OKT8 <sup>+</sup>
単純ヘルペス角膜炎					
活動期患者	20	70.7 $\pm$ 7.8	47.6 $\pm$ 10.3**	23.5 $\pm$ 7.5*	2.29 $\pm$ 1.05**
上皮型	10	71.0 $\pm$ 6.0	48.8 $\pm$ 10.1**	22.7 $\pm$ 7.8*	2.50 $\pm$ 1.24**
実質型	10	70.3 $\pm$ 9.6	46.4 $\pm$ 11.0*	24.3 $\pm$ 7.5	2.09 $\pm$ 0.83*
非活動期患者	16	69.0 $\pm$ 9.2	40.0 $\pm$ 8.2	31.5 $\pm$ 6.5	1.37 $\pm$ 0.61
対 照 正 常 人	55	68.9 $\pm$ 6.9	38.1 $\pm$ 7.0	28.8 $\pm$ 6.5	1.44 $\pm$ 0.58

結果は平均値 $\pm$ 標準偏差で示した。

統計処理はt検定を用いて患者と対照を比較した。

\*\* :  $P < 0.001$

\* :  $P < 0.01$

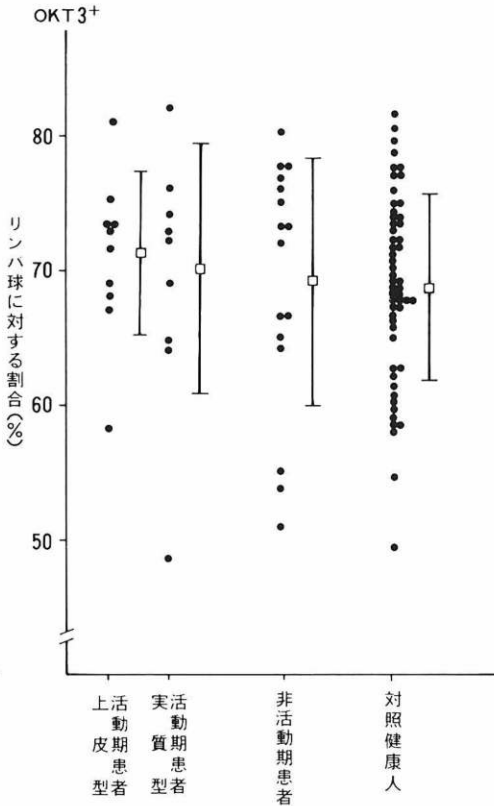


図1 OKT3<sup>+</sup> (成熟Tリンパ球) サブセットのリンパ球に対する割合

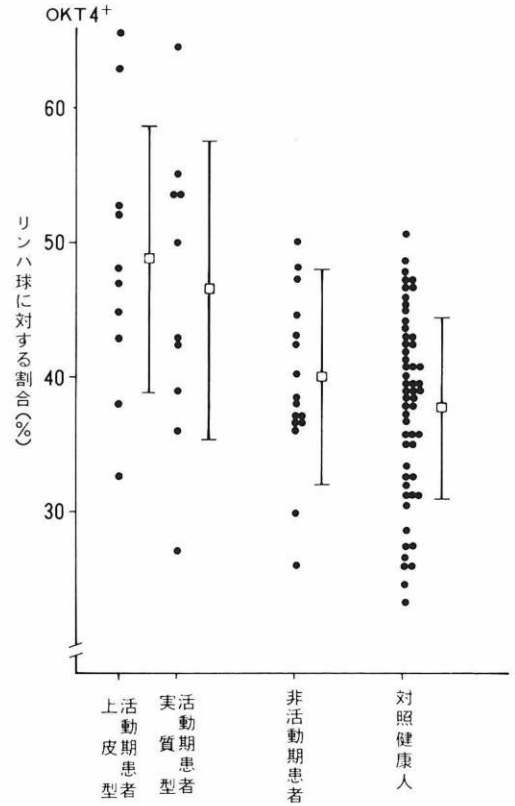


図2 OKT4<sup>+</sup> (helper-inducer Tリンパ球) サブセットのリンパ球に対する割合

が、有意差はみられなかった。

### 3. OKT8<sup>+</sup>細胞の割合 (図3)

活動期患者群では上皮型22.7%・実質型24.3%で対照健康人群の28.8%に比して、上皮型では  $p < 0.01$  で有意な減少を示したが、実質型では有意差は認めなかった。非活動期患者群では、31.5%と増加傾向を示したが有意差は認められなかった。

### 4. OKT4<sup>+</sup>/OKT8<sup>+</sup>比 (図4)

非活動期患者群が平均1.37で対照健康人群の1.44とあまり差が認められなかったのに対して、活動期患者群においては、上皮型2.50・実質型2.09と、上皮型では  $p < 0.001$  で、実質型では  $p < 0.01$  で有意に著増していた。

5. 単純ヘルペス角膜炎活動期患者のうち、上皮型と実質型の間にはOKT3<sup>+</sup>、OKT4<sup>+</sup>、OKT8<sup>+</sup>、OKT4<sup>+</sup>/OKT8<sup>+</sup>とも各サブセットに有意差は認められなかった。

6. 単純ヘルペス角膜炎非活動期患者のうち、上皮型

と実質型の間には上記各サブセットに有意差は認められなかった。

## V 考 按

ヒトにおいて、単純ヘルペスウイルス (HSV) は、幼少時に不顕性の感染として初感染し、神経節内に潜伏感染しつづけて、生体の免疫能の低下など何らかの誘因によって再活性化され、上皮型・実質型などの多彩な病的所見を示していく事が知られている<sup>17)18)</sup>。このように临床上再発をみたり、難治性となる過程に免疫学的な反応が関与する事は以前より実験的、臨床的にも報告されている<sup>19)</sup>。その中でもTリンパ球の役割が重要視されてきたが<sup>5)~7)</sup>、そのサブセットについてはまだ解明されていない<sup>8)~12)</sup>。最近、OKシリーズのモノクロナル抗体を用いて各種の疾患における免疫調節機構の異常が検討されてきた。OKT3は末梢成熟Tリンパ球と、OKT4は helper-inducer Tリンパ球と、OKT8は Suppressor-Cytotoxic Tリンパ球と反応す

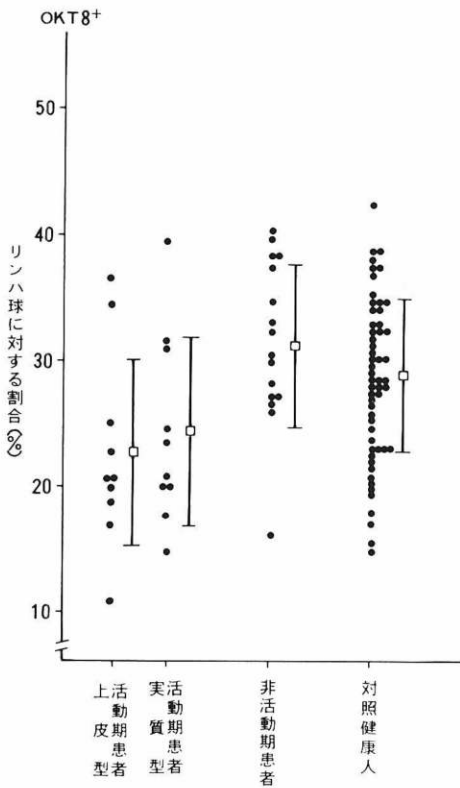


図3 OKT8<sup>+</sup> (cytotoxic-suppressor T リンパ球) サブセットのリンパ球に対する割合

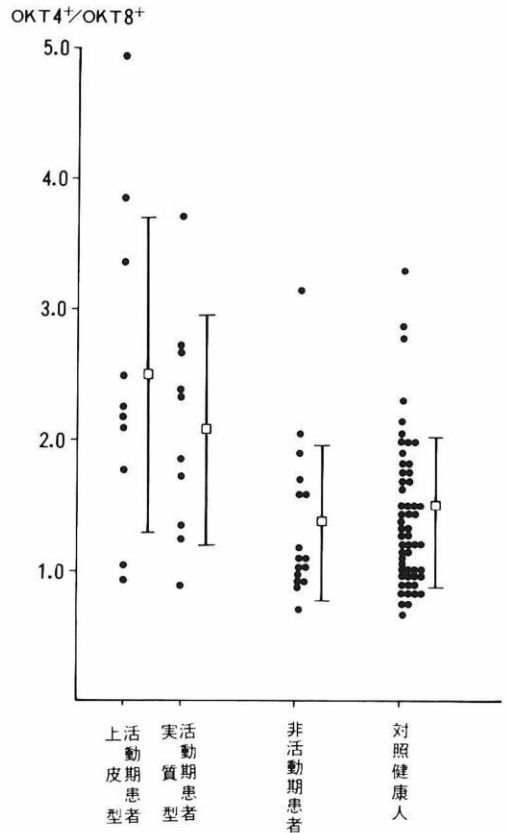


図4 OKT4<sup>+</sup>/OKT8<sup>+</sup>比の変動

るとされている<sup>20)21)</sup>。OKT4<sup>+</sup>/OKT8<sup>+</sup>比は、免疫システムに関わる細胞間のバランスを示す。

OKT4<sup>+</sup>/OKT8<sup>+</sup>比の上昇が報告されている疾患には、慢性関節リウマチ<sup>22)</sup>、全身エリテマトーデス<sup>23)24)</sup>、Sjögren 症候群<sup>25)</sup>・アトピー性皮膚炎<sup>26)</sup>などが、またOKT4<sup>+</sup>/OKT8<sup>+</sup>比の低下が報告されている疾患には、B型肝炎<sup>24)27)28)</sup>・サイトメガロウイルス性伝染性単核球症<sup>29)</sup>・EBウイルス性伝染性単核球症<sup>30)</sup>・原発性胆汁性肝硬変<sup>31)</sup>などがある。一般にウイルス性疾患では、比は低下すると言われているが、A型肝炎のように比が上昇するものも知られている<sup>25)</sup>。また、Sheridan らによると、単純ヘルペス2型感染症再燃期においては、比は低下し、これは、OKT8<sup>+</sup>サブセットの増加によると報告されている<sup>32)</sup>。

今回我々が検討した単純ヘルペス角膜炎では、活動期患者においては、樹枝状角膜炎・実質性角膜炎とも、OKT8<sup>+</sup> (Suppressor-cytotoxic T リンパ球) サブセットの減少傾向、OKT4<sup>+</sup> (helper-inducer T リンパ球) サブセットの増加傾向、つまりOKT4<sup>+</sup>/OKT8<sup>+</sup>比の上

昇が認められた。

一般にOKT4<sup>+</sup>/OKT8<sup>+</sup>比の上昇は、免疫活性化状態を示す。免疫能低下状態の時に臨床像を呈して来る傾向にある単純ヘルペス角膜炎の病態を考えると、単純ヘルペスウイルスの活性化がOKT4<sup>+</sup>/OKT8<sup>+</sup>比の上昇で示されるような免疫活性化状態でひきおこされたとは考えにくい。むしろ、眼局所における suppressor T リンパ球の働きを増幅する suppressor-inducer T リンパ球が増加している可能性あるいは、suppressor T リンパ球が眼局所に集積し末梢血中の suppressor T リンパ球が減少している可能性が考えられる。しかし、このようにリンパ球サブセットの変動が、単純ヘルペスウイルスの眼部感染によってもたらされたものであるとすれば、角膜という無血管組織の局所的炎症が、全身の免疫系にこれほど著明な変化をもたらす事は、興味深い。

今後はさらに、再発をくり返す患者についてリンパ球サブセットの変動を経時的に検索し、免疫状態と病

状の変化について検討を加えたいと思う。

稿を終えるにあたり京都大学医学部眼科学教室・本田孔士教授に深謝致します。

### 文 献

- 1) 佐々木隆敏, 斉藤春和, 井上みどり, 平田利津子, 田中直彦: 近交系マウス角膜ヘルペスと免疫脾細胞による感染防御免疫の受身伝達について. 日眼 84: 1046—1050, 1980.
- 2) Kohl S: Stimulation of human natural killer cytotoxicity and protection of mice from infection due to herpes simplex virus by recombinant human leukocyte interferon. J Infect 147: 484—488, 1983.
- 3) Lausch RN, Swyers JS, Kaufman HE: Delayed hypersensitivity to herpes simplex virus in the guinea pig. J Immunol 96: 981—987, 1966.
- 4) Metcalf JF, Kaufman HE: Herpetic stromal keratitis—Evidence for cell-mediated immunopathogenesis. Am J Ophthalmol 82: 827—834, 1976.
- 5) 宮永嘉隆, 水谷敏子, 阿部真知子, 奥山真実: 単純ヘルペスウイルス I 型の角膜感染における免疫学的研究. 日眼 85: 1075—1080, 1981.
- 6) Russell RG, Nasisse MP, Larsen HS, Rouse BT: Role of T-lymphocytes in the pathogenesis of herpetic stromal keratitis. Invest Ophthalmol Vis Sci 25: 938—944, 1984.
- 7) 斉藤春和: 角膜ヘルペスの免疫学的研究—マウス単純ヘルペス角膜炎における免疫脾細胞とその感染抑制効果. 日眼 87: 1010—1016, 1983.
- 8) Oakes JE, Rector JT, Lausch RN: Lyt-1<sup>+</sup> T cells participate in recovery from ocular herpes simplex virus type 1 infection. Invest Ophthalmol Vis Sci 25: 188—194, 1984.
- 9) Larsen HS, Feng M-F, Horohoy DW, Moore RN, Rouse BT: Role of T lymphocyte subsets in recovery from herpes simplex virus infection. J Virol 50: 56—59, 1984.
- 10) Yasukawa M, Zarling JM: Human cytotoxic T cell clones directed against herpes simplex virus-infected cells. J Immunol 133: 2736—2742, 1984.
- 11) Hammer SM, Carney WP, Iacoviello VR, Lowe BR, Hirsch MS: Herpes simple virus infection of human T-cell subpopulations. Infect Immun 38: 795—797, 1982.
- 12) 風見宣生: I 型単純ヘルペスウイルス角膜感染における抗体及び細胞性免疫の効果. 日眼 89: 721—725, 1985.
- 13) 砂川光子, 沖波 聡: ぶどう膜炎患者のリンパ球サブセットの検討. 臨眼 38: 1223—1227, 1984.
- 14) 砂川光子, 沖波 聡: Behçet 病患者のリンパ球サブセットと免疫グロブリンの変動. 日眼 89: 688—691, 1985.
- 15) 誉 宇堅, 砂川光子, 新井一樹, 沖波 聡: サルコイド性ブドウ膜炎患者のリンパ球サブセットの検討. 日眼 90: 493—497, 1986.
- 16) 谷原秀信, 砂川光子, 誉 宇堅, 沖波 聡: 眼サルコイド患者のリンパ球サブセット—サルコイド性ぶどう膜炎患者との比較. 日眼 90: 803—807, 1986.
- 17) 西田輝夫: 角膜ヘルペスの病態と治療. 眼紀 35: 1989—1992, 1984.
- 18) 下村嘉一: 角膜ヘルペスにおける HSV の潜状感染と再活性化. 眼紀 35: 1984—1988, 1984.
- 19) Meyers R, Pettit TH: The pathogenesis of corneal inflammation due to herpes simplex virus. J Immunol 111: 1031—1042, 1973.
- 20) Reinherz EL, Stuart SF, Schlossman F: The characterization and function of human immunoregulatory T lymphocyte subsets. Immunol Today Rpr 69: 75, 1981.
- 21) 森本幾夫: モノクローナル抗体によるヒトリンパ球異常の解析. 代謝 18: 1537—1542, 1981.
- 22) Veys EM, Hermanns P, Goldstein G, Kung P, Schindler J, Van Wowwa J: Determination of T lymphocyte subpopulations by monoclonal antibodies in rheumatoid arthritides, influence of immunomodulating agents. Int J Immunopharmacol 3: 313, 1981.
- 23) Greaves M, Delia D, Sutherland R, Rao J, Verbi W, Kemshead J, Robinson J, Hariri G, Goldstein G, Kung P: Expression of the OKT monoclonal antibody defined antigenic determinants in malignancy. Int J Immunopharmacol 3: 283, 1981.
- 24) Bach MA, Bach JF: Imbalance in T-cell subsets in human disease. Hepatol. Manuscript Submitted for Publication, 1981.
- 25) Goldstein G, Litter J, Mittler R: Immunoregulatory changes in human disease detected by monoclonal antibodies to T lymphocytes. In: "Monoclonal Antibodies in Clinical Medicine". Eds McMichael A, Fabre W, Academic Press, London. Manuscript Submitted for Publication, 1981.
- 26) Leung DYM, Rhocles AR, Geha RS: Enumeration of T cell subsets in atopic dermatitis using monoclonal antibodies. J Allergy Clin Immunol 67: 450, 1981.
- 27) Thomas HC, Brown D, Routhier G, Janossy G, Kung PC, Goldstein G, Sherlock S: Inducer and suppressor T cells in HBV induced liver

- disease. *Hepatology*. Manuscript Submitted for Publication, 1981.
- 28) **Thomas HC**: T-cell subsets in patients with acute and chronic HBV infection, primary biliary cirrhosis and alcohol induced liver disease. *Int J Immunopharmacol* 3: 301, 1981.
- 29) **Carney WP, Rubin RH, Hoffman RA, Hansen WR, Healey K, Hirsch MS**: Analysis of T lymphocyte subsets in cytomegalovirus mononucleosis. *J Immunol* 126: 2114, 1981.
- 30) **De Waele M, Thielemans C, Van Camp BKG**: Characterization of immunoregulatory T cell in EBV-induced immunonucleosis by monoclonal antibodies. *N Engl J Med* 304: 460, 1981.
- 31) **Routhier G, Epstein O, Kung PC, Goldstein G, Janossy G, Thomas HC, Sherlock S**: Effects of cyclosporin A on suppressor and inducer T lymphocytes in primary biliary cirrhosis. *Lancet* 2: 1223, 1980.
- 32) **Sheridan JF, Donnenberg AD, Aurelian L, Elpern DJ**: Immunity to herpes simplex virus type 2. IV. Impaired lymphocyte production during recrudescence correlates with an imbalance in thymocyte subsets. *J Immunol* 129: 326-331, 1982.
-