

免疫生物学

シンポジウム 2

目 次

先天性免疫グロブリン欠乏症……………合屋 長英, 藤本 孟男, 小館 三郎, 住吉 昭信 ……………	1
マウスの実験的低ガンマグロブリン血症……………成内 秀雄, 白井美津子, 松橋 直, 畠山 茂, 広川 勝彦, 江崎 行香, 青木 望 ……………	10
蛋白質抗原による特異的免疫抑制の誘導機構…………… 川口 進, 岡田 暉彦, 村松 繁 ……	18
補体系の抑制……………西岡久寿弥 ……	27
薬剤の作用からみた免疫1次反応……………松本 雄雄 ……	31
マウス白血病ウィルスなどによる抗体産生の抑制…………… 小高 健, 滝沢 清, 山浦 煌一 ……	43
X線照射マウスに同系由来の胸腺あるいは脾臓の細胞を移入した場合に 観察された抗体産生能の回復……………秋山 武久, 多田隼卓史, 内山 竹彦, 根本 一郎 ……………	45
胸腺, 虫垂および円小囊別出・X線照射家兎の抗体産生について…………… 紺田 進, 滝口 智夫, 栗原 二郎, 増田 徹 ……………	52
新生時胸腺摘出の試験管内抗体産生におよぼす影響……………森 良一 ……	68
胸腺, フェブリシウス囊摘除による免疫能の抑制…………… 山口 康夫, 鈴木八重子, 大熊 一朝, 秋元 佑介, 小出 勝也, 荻原 芳樹 ……	70
抗リンパ球血清……………岩崎 洋治 ……	77
抗マクロファージ抗体の免疫抑制作用……………藤井源七郎 ……	85

1968. 10. 26~27. — 東京

第 2 回 免疫生物学研究会シンポジウム

プ ロ グ ラ ム

と き 昭和43年10月26日(土)・10月27日(日)

ところ 東京大学医科学研究所講堂

第 1 日 (10月26日)

- 14:00 開 会 の 辞 西岡久寿弥 (国立がんセンター)
- 14:10 1. 先天性免疫グロブリン欠乏症(30分) 合屋長英 (九大・医・小児)
藤本孟男 (〃)
小館三郎 (〃)
住吉昭信 (九大・医・病理)
- 14:40 討 論
- 15:10 2. マウスの実験的低ガンマグロブリン血症(30分) 松橋直 (東大・医・血清)
成内秀雄 (〃)
臼井美津子 (〃)
畠山茂 (東医歯大・病理)
広川勝昱 (〃)
江崎行香 (〃)
青木望 (〃)
- 15:40 討 論
(免疫化学との合同懇親会、於 新館ロビー)

第 2 日 (10月27日)

3. 蛋白質抗原による特異的免疫抑制の誘導機構(30分) 川口進 (京大・理・動物)
岡田暉彦 (〃)
村松繁 (〃)
- 10:00 4. 補体抑制(15分) 西岡久寿弥 (国立がんセンター)
田村昇 (〃)
- 10:15 討 論
- 10:45 5. 薬剤の作用からみた免疫一次反応(30分) 松本雄雄 (武田薬品・生物研)
大津紘一郎 (〃)
- 11:15 6. マウス白血病ウイルスなどによる抗体産生の抑制(15分) 小高健 (東大・医科研・制癌)
- 11:30 討 論
(12:00~13:00 昼食)
- 13:00 会 務 報 告: 岡田節人 (京大・理・動物)
- 13:15 7. 細胞移入によるX線照射マウスにおける免疫能の回復について(30分) 秋山武久 (慶大・医・微生物)
- 13:45 討 論(30分)

- 14:15 8. 虫垂及び胸腺別出家兔の抗体産生能(30分) 紺田 進 (北野病院・免疫血液)
 滝口 智夫 (京大・医・内科)
 栗原 二郎 ()
 増田 徹 (京大・ウイルス研・病理)
- 14:45 9. 新生時胸腺摘出の試験管内抗体産生に及ぼす影響(15分)
 森 良一 (九大・医・細菌)
- 15:00 10. 胸腺、ファブリシウス囊摘除による免疫能の抑制(15分)
 山口 康夫 (日大・医・細菌)
- 15:15 討 論(30分)
- 15:45 11. 抗リンパ球血清(30分) 岩崎 洋治 (千葉大・医・外科)
- 16:15 12. 抗マクロファージ抗体の免疫抑制作用(15分)
 藤井 源七郎 (東大・医科研・外科)
- 17:00 閉 会 の 辞 山 本 正 (東大・医科研・制癌)

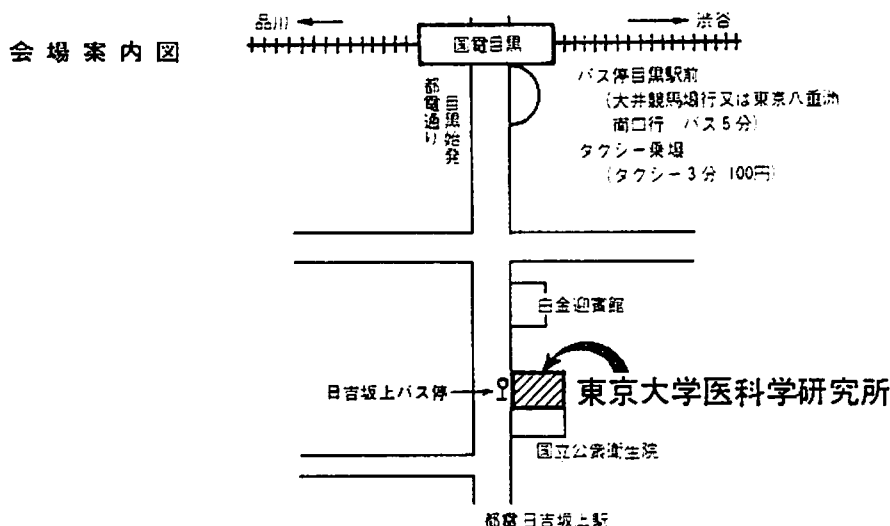
- 注 意 1. 参加者は参会費(100円)を当日受付にお払い下さい。
 (免疫化学と共通ですから、前日お払いになった方は必要ありません)
 合同懇親会費(200円):参加希望者は当日会場でお払い下さい。
2. スライドはライカ版のみとします。
 演説前にスライド係(会場内)にお渡し下さい。幻灯機は2台です。演説終了後直ちにスライド係から受け取って下さい。
3. 本年度会費 1,000円を下記にお送り下さい。新に入会希望者も本年度会費 1,000円を送付して下さい。

京都市左京区追分町
 京都大学理学部動物学教室内
 免疫生物学研究会事務局

当日会場にて入会受付も行なっております。
 同封ハガキに出欠の有無を10月20日(必着)までにお知らせ下さい。

+++++

運営委員会 12月27日(日)午後12:00~13:00
 東大医科研会議室



先天性免疫グロブリン欠乏症

合屋 長英, 藤本 孟男, 小館 三郎
(九大・医・小児科) 住吉 昭信 (九大・医・病理)

先天性免疫欠乏症 (immunologic deficiency diseases) には免疫グロブリンの欠乏をともなわない例も存するが、多くの場合、血清免疫グロブリン濃度の減少がみられ、しかもその測定が容易なこと、また先天性タンパク代謝異常の立場からも興味をもたれるので、ここには両者をあわせて先天性免疫グロブリン欠乏症 (congenital immunoglobulin deficiency diseases) として考えてみる。

1952年 BRUTON が初めて先天性無 γ -グロブリン血症を発見して以来現在きわめて多数の病型が報告されているが、私達は表1のような分類によってヒトにみられるこれらの病型を整理している。すなわち血清免疫グロブリン欠乏の立場から現在その生物学的性質まで充分に明らかにされている IgG・IgM・IgA を基本として、これら免疫グロブリンの三者がいずれも先天的に欠乏している pan-hypogammaglobulinemia と、個々の免疫グロブリンに欠乏がみられる dys-gammaglobulinemia と

に大別する。

pan-hypogammaglobulinemia のなかでは BRUTON¹⁾ が初めて報告した congenital agammaglobulinemia がその代表的なもので、男児のみにあらわれる先天性劣性遺伝性疾患である。これに高度のリンパ球欠乏症をともなう場合は Swiss 型無 γ -グロブリン血症 (Swiss type agammaglobulinemia)²⁾ に相当し、早期に感染死亡するものが多く、生存中に確認された症例はわが国ではまだないようである。乳児期の一過性低 γ -グロブリン血症は、正常乳児では2~3生月もすぎるとかなり活発になってくる免疫グロブリン産生能が異常に遅延して満1才ごろまでも低免疫グロブリン血症の状態が持続するもので、詳細に検討すればかなりの症例が存する。FUDENBERG³⁾ らは Gm 因子の母子間の不適合のために、あたかも Rh 不適合に似たメカニズムによって本症は起こるものと推論している。

IgG・IgM・IgA の三種の免疫グロブリンのそれぞれが欠乏しうる可能性は正常をふくめて数学的に8種の状態が考えられるが、このうち表1に示したように5種類の dys-gammaglobulinemia が詳細に観察報告されている。これらの疾患には個々の免疫グロブリンの欠乏のみでなく、それぞれの疾患に独特の症状がともなっている場合が少なくない。

私達は現在までに、BRUTON 型先天性無 γ -グロブリン血症の4例、ataxia telangiectasia の9例、WISKOTT-ALDRICH 症候群の1例、dys-gammaglobulinemia type I の3例を観察しており、ここには自験例をもとに観察考按してみる。

1. 臨床症状の特徴

感染感受性の増大が共通してみられるが、個々の病型によって特有の臨床像をしめす場合が少なくない。

1. BRUTON 型無 γ -グロブリン 血症

男児のみにあらわれる劣性遺伝性疾患である。乳児早期よりの化膿菌感染の多発が特徴であるが、一般のウィルス感染にたいしては正常に近い抵抗性をしめすことが

表1. 先天性免疫グロブリン欠乏症 (congenital immunoglobulin deficiency diseases) の分類

I. Pan-hypogammaglobulinemia :

1. Congenital sex-linked recessive form (BRUTON)
2. Congenital agammaglobulinemia with lymphopenia (Swiss type)
3. Transient hypogammaglobulinemia in infancy

II. Dys-gammaglobulinemia :

IgG	IgM	IgA		Sex
+	+	+	normal	
+	+	-	ataxia telangiectasia (LOUIS-BARR)	♂ ♀
+	-	-	WISKOTT-ALDRICH' syndrome	♂
+	-	-	dys- γ -globulinemia type 2	♂
-	+	+	dys- γ -globulinemia type 3	
-	+	-	dys- γ -globulinemia type I (ROSEN)	おもに ♂
-	-	+	?	
-	-	-	cong. a- γ -globulinemia (BRUTON)	♂

多い。しかし私たちの1例には麻疹に3回罹患したものがあつた。また明らかに蕁麻疹を経験している。本症には関節リウマチその他の膠原病が正常児にくらべ多発することが特徴とされており、私たちの症例においても関節リウマチに酷似した関節症状とともに手背部にリウマチ結節様の腫瘍を認めた1例がある。

パイオプシーによりフィブリンの付着や炎性細胞浸潤をともなう滑液膜炎であることが明らかになったがプラズマ細胞は認められなかった。市販の γ グロブリンはほとんどIgGよりなっているが、定期的な投与により本症の感染は著しく減少する⁹⁾。

2. 毛細血管拡張性失調症 (ataxia telangiectasia)

1941年 Louis-BARR によって神経系疾患として報告され、BODER ら⁹⁾により初めて独立疾患として確認されたものである。男女ともにみられ家族発症例が多い。感染はとくに呼吸器系に多発し、しばしば気管支拡張症を併発して思春期頃に死亡するものが多い。進行性小脳性失調症 (progressive cerebellar ataxia) および毛細血管拡張症 (telangiectasia) がみられる。小脳性失調症は歩行開始後早期より現われることが多く、比較的高年齢にはじまる FRIEDREICH 病との鑑別点にされている⁶⁾。毛細血管拡張症は多くの場合5才前後からあらわれており、とくに眼珠結膜に著明であるが、必ずしも高度の血管拡張をしめさない例も少なくない。椎骨動脈連続撮影により小脳萎縮像がみられるものもある。染色体は正常であるが、リンパ球培養はきわめて困難で、本症の特徴とも考えられている⁷⁾。

3. dys-gammaglobulinemia type I (ROSEN) および ALDRICH 症候群

いずれも男児に多い。dys-gammaglobulinemia type I⁸⁾ (以下 type I と略す) の臨床像は BRUTON 型無 γ -グロブリン血症によく似ている。他方、ALDRICH 症候群^{9,10)}では感染抵抗性の減退の他に、出血性湿疹、粒球減少性紫斑病などの特異な症状がみられる。

II. 血液学的所見

1. BRUTON 型無 γ -グロブリン血症 (表2, 3)

IgG・IgM・IgA のいずれも高度に欠乏しており、普通の電気泳動法によると γ -グロブリン分画は全く認められない。免疫電気泳動法では免疫グロブリンに対する弱い沈降線ができる。補体価は正常である。末梢血液像・骨髓像ともにリンパ球数は正常であるがプラズマ細胞がほとんど証明されない。リンパ節のパイオプシー標本をアクリジンオレンジにより核染色すると、リンパ母細胞

表2. 先天性無 γ -グロブリン血症の血清タンパク像

	Case 1	Case 2	Case 3	Case 4
Proteinogram				
Total protein g/dl	6.0	6.4	6.8	6.0
Albumin %	75.4	69.0	67.5	63.2
α_1 -Globulin %	4.3	6.0	6.8	8.6
α_2 -Globulin %	8.8	11.2	15.5	17.8
β -Globulin %	11.5	13.8	10.2	10.4
γ -Globulin %	0	0	0	1.7
Immunoglobulin level mg/dl				
IgG	30	—	25	60
IgA	0	—	2	5
IgM	15	—	5	15

の皮質部にプラズマ細胞とおもわれる細胞が少数認められた。

2. ataxia telangiectasia (表4, 5, 6)

血清中の IgA の欠乏が特徴とされているが、実際に低 IgA 血症がみられるのは症例のほぼ4分の1にすぎず、PETERSON ら¹¹⁾も約70%の症例に低 IgA 血症をみとめている。血清 IgA が減少している例と減少していない例との間に感染抵抗性の強弱の差が認められないので、本症にみられる感染抵抗性の減弱は細胞性免疫の欠損が主役を演じているものと推測しうる。末梢血液像・骨髓像において、プラズマ細胞は正常であるがリンパ球数の著明な減少が認められる。IgA の欠損が一部の症例に見られるにすぎないのに反し、リンパ球減少症は常に存在するようである。鼻粘膜のパイオプシーにおいても好塩基性細胞が多数証明された。

3. dys-gammaglobulinemia type I および ALDRICH 症候群 (表7, 8)

type I では IgG および IgA の欠乏がみとめられるが IgM はほぼ正常である。ALDRICH 症候群では IgM の減少が見られ、しばしば IgA は正常以上になっている。末梢血液像・骨髓像において type I ではプラズマ細胞の減少が認められる。これに反し、ALDRICH 症候群ではほとんど変化がなく、粒球減少のみ著明である。

III. リンパ系組織

BRUTON 型無 γ -グロブリン血症のリンパ節(肺門部)ではリンパ球が少なく、リンパ母細胞の発達が悪い。ataxia telangiectasia のリンパ節パイオプシー(ソケイ部)では小母細胞の形成はあるが一般にリンパ装置の発育が弱い。type I のリンパ節(腸間膜)はかえって肥大しており、組織像ではリンパ母細胞の数が少なく、大部

表3. 無 γ グロブリン血症 (BRUTON 型) の血液像

末梢血液像					骨髄像			
	1	2	3	4		1	3	4
赤血球 ($\times 10^4$)	520	486	508	499	有核細胞数 ($\times 10^4$)	19.2	/	61.1
血色素量 (%)	90	82	78	79	骨髄芽球	0	1.8	1.2
色素系数	0.87	0.84	0.76	0.80	前骨髄球	0.6	7.2	6.0
白血球数	13,500	7,000	11,500	14,600	骨髄球	3.2	12.0	15.6
分類	桿状核	2	2	1	N 後骨髄球	3.2	12.3	16.0
	分葉核	55	9	38	桿状核	8.2	13.0	18.4
	好酸球	5	11	2	分葉核	17.4	10.2	23.2
	淋巴球	37	73	54	好酸球	4.2	1.4	0.8
類 (絶対数)	(5,000)	(5,100)	(6,200)	(5,980)	好塩基球	0	0	0
単球	1	5	5	8	単球	0.8	0.4	0.4
血小板数 ($\times 10^4$)	20.3	18.6	17.2	21.2	淋巴球	31.2	15.8	4.8
					形質細胞	0	0	0
					細網細胞	0.2	0	0
					前赤芽球	0	0	0
					大赤芽球 B	0.4	0	0.4
					P	0	0.4	1.6
					O	0.2	0	0
					正赤芽球 B	0.4	0	0
					P	27.8	25.2	10.4
					O	2.0	0	0
					骨髄巨核球	50	+	+
					形質細胞数	0	0	0
					5,000有核細胞			

表4. ataxia-telangiectasia の血清タンパク像

Case No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Total protein g/dl	6.0	7.4	7.3	6.1	6.0	7.4	7.8	6.5	6.8
Albumin %	56.8	58.5	66.8	65.7	64.1	54.0	55.3	62.5	56.8
α_1 -Globulin %	4.3	5.2	4.1	3.6	3.2	4.6	6.2	5.0	5.6
α_2 -Globulin %	13.2	11.8	10.2	10.8	12.2	12.6	11.3	8.7	12.0
β -Globulin %	8.6	10.4	10.7	8.7	9.6	6.9	11.3	10.0	9.6
γ -Globulin %	17.1	14.1	11.2	10.2	10.9	21.9	15.9	13.8	16.0
IgG mg/dl	1,070	910	1,210	1,070	1,290	1,570	1,260	1,090	1,170
IgA mg/dl	11	180	70	100	145	90	8	125	135
IgM mg/dl	155	165	105	110	160	150	140	125	125

分は胚中心を欠いていた。胸腺は正常の大きさで組織像も正常であった。ALDRICH 症候群のリンパ節バイオプシー (ソケイ部) はリンパ母細胞の数が多く胚中心も大きい。が周囲のリンパ球がやや少ないようである。以上のリンパ系組織の病理組織学的所見を文献的に要約すると表9のようである。

これらの症例の末梢血リンパ球の PHA (phytohemagglutinin) 添加培養によるリンパ芽球増成能 (lymphoblastic transformation) をしらべると、他の病型はほぼ正常であるのにくらべ ataxia telangiectasia では著しく低い値を示している (表10)。添加した H^3 -チミジンのとりこみ率も ataxia telangiectasia では常にはな

表 5. ataxia-telangiectasia の末梢血液像

	1	2	3	4	5	6	7	8	9
赤血球数($\times 10^4$)	370	340	475	405	395	376	354	502	451
血色素量(%)	67	72	86	70	69	66	70	72	70
色素係数	0.90	1.06	0.90	0.87	0.87	0.87	1.00	0.71	0.77
白血球数	6,800	4,000	5,400	4,400	7,700	23,200	5,800	7,100	6,500
桿状核	8	3	1	3	4	3.5	4	2	6
分葉核	70	52	80	77	78	91.0	82	69	65
好酸球	0	2	4	1	3	0	1	1	2
淋巴球	19	35	10	16	13	3.5	8	21	23
(絶対数)	(1,290)	(1,400)	(540)	(700)	(1,000)	(810)	(430)	(1,500)	(1,500)
単球	3	8	5	3	2	2.0	5	7	4
血小板数($\times 10^4$)	16.5	19.2	12.4	/	/	/	/	/	/

表 6. ataxia-telangiectasia の骨髓像

Case No.	1	2	3	6	7	8	9
有核細胞数 $\times 10^4$	29.5	18.8	38.8	25.3	24.1	20.8	48.3
骨髓芽球	1.6	1.8	2.2	1.2	0.8	2.4	8.0
前骨髓球	5.6	2.8	2.4	5.2	3.2	5.2	6.4
骨髓球	12.2	12.4	12.8	14.8	8.4	11.2	14.0
後骨髓球	10.0	11.6	9.0	16.8	12.4	10.8	11.6
桿状核	21.4	17.0	15.4	20.0	16.0	21.6	18.0
分葉核	19.6	24.8	18.2	18.4	20.0	17.6	18.0
好酸球	10.0	3.2	4.6	1.6	3.6	3.2	2.4
好塩基球	0.6		0.4		2.0	1.2	0.4
単球	8.6	8.0	4.8	3.2	8.4	1.6	10.0
淋巴細胞	0.2	0.2	1.0	0.8	0.8	0.4	0.4
形質細胞			0.8			0.4	
前赤芽球		0.2			0.4		
大赤芽球	1.2	0.6	1.0	0.4			
B	0.4		0.6	2.0	2.0	0.8	0.8
P							
O	0.4	0.8	0.6	0.4	0.4	2.4	1.6
正赤芽球	9.8	13.6	20.4	14.2	22.0	6.4	8.4
P			0.2				
O							
巨核球	+	+	+	50		+	+
形質細胞数				41.0	59.0	30.2	27.5
5,000有核細胞							

はだしく低い値であった^{12,13)}。

IV. 免疫反応

BRUTON 型無 γ -グロブリン血症 (表11) は抗原刺激後の抗体産生能が弱く、同種血球凝集素もはなはだしく低値で、体液性免疫能が著明に減弱していることが明らかである。しかし BCG 接種後にはツベルクリン反応は容易に陽転し、また同種皮膚移植片もほぼ正常に排除さ

れている。他方, ataxia telangiectasia (表12) では抗体産生能はほぼ正常、同種血球凝集素もほぼ正常にみとめられるが、ツベルクリン反応は BCG 接種後も常に陰性のままにとどまり、私たちが行なった7例の同種皮膚移植片は20~180日以上にも延延して排除されている¹⁴⁾。すなわち BRUTON 型無 γ -グロブリン血症が体液性免疫の欠損を主体とするのに反し, ataxia telangiectasia は細胞性免疫欠損が免疫異常の主徴となっている。

表7. dys- γ -globulinemia type I および ALDRICH syndrome の血清タンパク像

		Dysgammaglobulinemia Type I			Aldrich <i>Shirai</i> Syndrome
Proteinogram		1	2	3	
Total protein	g/dl	5.6	5.8	7.4	7.1
Albumin	%	64.9	59.2	63.1	53.0
α_1 -Globulin	%	7.2	7.4	5.4	4.0
α_2 -Globulin	%	15.3	22.3	12.3	10.0
β -Globulin	%	12.6	10.4	14.6	15.0
γ -Globulin	%	0	0.7	4.6	18.0
Immunoglobulin level					
IgG	mg/dl	5	55	110	1,430
IgA		13	5	10	570
		95	100	135	20
rifugal analysis		no 7S peak / /			normal pattern

 表8. dys- γ -globulinemia type I および ALDRICH syndrome の血液像

末梢血液像				骨髓像			
	Dys- γ -gl. Type I		ALDRICH Syndrome		Dys- γ -gl. Type I		ALDRICH Syndrome
	1	2			1	2	
赤血球数 ($\times 10^4$)	338	388	415	有核細胞数 ($\times 10^4$)	/	61.1	/
血色素量 (%)	34	67	56	骨髓芽球	2.8	1.6	0.2
色素系数	0.50	0.86	0.67	前骨髓球	4.4	1.8	4.2
白血球数	8,600	39,000	16,100	骨髓球	7.6	2.6	9.2
桿状核	3	Meta 0.4	1	N 核骨髓球	6.4	1.6	5.6
分葉核	22	7.6	56	桿状核	8.4	1.2	8.6
好酸球	0	1.6	12	分葉核	18.0	1.8	2.6
淋巴球	70	82.0	26	好酸球	2.8	1.2	5.6
(絶対数)	(6,020)	(32,000)	(4,180)	好塩基球			
単球	5	7.6	5	単球	1.2	0.4	2.0
血小板数 ($\times 10^4$)	/	/	3.2	淋巴球	34.4	79.2	16.0
				形質細胞			0.4
				網細胞			0.4
				前赤芽球	0.4		
				大赤芽球	3.2		1.6
				B	0.4		0.6
				P			
				O			
				正赤芽球	1.6		2.0
				B	11.2	8.4	34.4
				P	0.4	0.2	3.6
				O			
				巨核球	+	-	正常
				形質細胞数	4	2	
				5,000有核細胞			

表9. 文献にみられた胸腺・リンパ系組織・骨髄の組織学的所見

		Swiss type	BRUTON type	Ataxia telang.	Type I (ROSEN)	WISKOTT ALDRICH
Thymus	Size	↓	≡ ↓	↓ (-)	↓	↑ ≡ ↓
	Cortico-medullary distinct.	↓	≡ ↓	.	↓	≡
	Hassall's corpuscle	(-)	≡ ↓	(-)	↓	≡
Lymph node	Size	↓	↓	≡ ↓	↑ ≡	↓
	Lymphoid follicle	↓	↓	.	↓	↓
	Germinal center	↓	↓	≡ ↓	≡ ↓	↓
	Plasma cell	(-)	↓	≡ ↓	≡ ↓	↓
Spleen	Size				↑ ≡	↑ ↓
	Lymphoid follicle	↓	↓		↓	↑ ↓
Appendix	Lymphoid follicle	↓	↓			↓
Tonsil	Size	↓	↓	≡ ↓	↑	≡
	Lymphoid follicle	↓	↓	↓		↓
	Plasma cell	(-)	↓ (-)	≡ ↓		↑
Bone marrow	Plasma cell	(-)	↓ (-)	≡ ↓	≡ ↓	

表10. PHA で刺激した場合の *in vitro* blastogenesis と H^3 -thymidine とりこみ率 (%)

	PHA-induced	H^3 -thymidine		PHA-induced	H^3 -thymidine
正常	80.5	27.0	ataxia telangiectasia	24.5	1.8
	85.0	/		20.0	3.4
	71.5	/		18.5	4.3
	82.5	/		25.0	2.5
	73.0	/		25.5	1.2
	70.0	/		13.0	5.4
BRUTON 症候群	76.0	29.0		19.0	/
	74.5	9.0		28.0	/
				63.0	/
ROSEN 症候群	60.5	/	W.A. 症候群	89.5	/
	76.0	/			
	52.8	/			

type I では抗体産生が弱いがツ反応は正常に認められる(表13)。ALDRICH 症候群は同種血球凝集素価は低い、抗体産生はほぼ正常であり、ツベルクリン反応は陽転しにくい、移植片排除はほぼ正常であった。すなわち type I は免疫反応の立場からも BRUTON 型無γグロブリン血症によく似ているが、ALDRICH 症候群の免疫

欠損は体液性あるいは細胞性免疫の立場からだけでは説明しがたいようである¹³⁾。

考 察

免疫能の発達に 関与する組織は thymus-dependent lymphoid tissue と bursa-dependent immunoglobulin

表11. 先天性無 γ グロブリン血症 (BRUTON 型) の免疫反応

	園○(兄)	園○(弟)	百○	松○
ウィダール反応	0×	0×	0×	0×
種 痘	ほぼ正常の反応			
ツ 反 応	+	±	-	+
アレルゲン 皮内反応	-	-	-	-
同種血球凝 集素価	-	-	-	-
備 考	ASLO, RA, ポリオ抗体も上昇せず			

表12 ataxia telangiectasia の免疫反応

	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Widal Ty	640	320	160						
PA			80						
PB	40		40						
ASLO									
CRP									
血液型	A	A	A	AB	A				
同種血球凝集素価	512	2,048			128				
ツ 反 応	0×00	00×00	00×00	00×00	00×00	00×00	00×00	00×00	00×00
	BCG 潰瘍形成							BCG 潰瘍形成	
アレルゲン 反応	ハウスダスト ブタクサ 全て陰性							ハウスダスト ブタクサ アルテナリア アスペルギルス CLAD 全て陰性	
皮膚移植片 排除期間 (日)	84	57	>180	/	/	80	14 (死亡)	20	47

producing system の2つに分けうるとも考えられている。このような観点を基本にして先天性免疫グロブリン欠乏症を考えると、BRUTON 型無 γ -グロブリン血症は bursa-dependent immunoglobulin producing system の先天性欠損、ataxia telangiectasia は thymus-dependent lymphoid tissue の先天性欠損、Swiss 型無 γ -グロブリン血症は両者ともに先天性に欠損しているものと説明しうる。すなわち ataxia telangiectasia はその血液学的所見、免疫反応の特徴からみても新生期胸腺摘出動物によくにており¹⁶⁾、とくに本症が家族性発生の傾向が強いことからヒトにおける胎生早期からの thymus-dependent system の遺伝的な先天性欠損と考えるこ

表13 dys- γ -globulinemia Type I および ALDRICH 症候群の免疫反応

	Dys- γ -glob. Type I			ALDRICH Syndrome
	1	2	3	
Widal Ty	20以下		種痘HI抗体	80
PA	20以下		2×	20
PB	20以下		4×	20
ASLO	0	0		
CRP	-	±		
血液型	B	B		A
同種血球凝集素価	32	32		32
ツ 反 応	+	+	+	-
アレルゲン 反応	ハウスダスト、ブタクサ 全て陰性			
皮膚移植	/	/	/	12日で脱落

とが出来るかもしれない¹⁷⁾。

文 献

- 1) BRUTON, O. C., 1952 : Pediatrics, 9, 722
- 2) HITZIG, W. H., BIRO, Z., BOSCH, H. and HUSER, H. J., 1958 : Helv. paediat. Acta, 13, 551.
- 3) FUDENBERG, H. H. and FUDENBERG, B. R., 1964 : Science, 145, 170.
- 4) 合璧長英, 1964 : 最新医学, 19, 928.
- 5) BODER, E. and SEDGWICK, R. P., 1958 : Pediatrics, 21, 526.
- 6) 合璧長英, 藤本孟男, 小館三郎, 黒川 徹, 竹下研三, 黒木良和, 住吉昭信, 1967 : 最新医学, 22, 1932.
- 7) EISEN, A. H., KARPATI, G., LASZLO, T., ANDERMANN, F., ROBB, J. P. and BACAL, H. L., 1965 : New Engl. J. Med., 272, 18.
- 8) ROSEN, F. S., KEVY, S. V., MERLER, E., JANEWAY, C. A. and GITLIN, D., 1961 : Pediatrics, 28, 182.
- 9) WISKOTT, A., 1937 : Mschr. Kinderheilk., 68, 212.
- 10) ALDRICH, R. A., STEINBERG, A. G. and CAMPBELL, D. C., 1954 : Pediatrics, 13, 133.
- 11) PETERSON, R. D. A. and GOOD, R. A., 1968 : In "Immunologic Deficiency Diseases in Man".

- ed. Bergsma, D., National Foundation, p. 370.
- 12) LEIKIN, S. L., BAZELON, M. B. and PARK, K. H., 1966 : J. Pediat., 68, 477.
- 13) OPPENHEIM, J. J., BARLOW, M., WALDMANN, T. A. and BLOCK, J. B., 1966 : Brit. med. J., 2, 330.
- 14) ROSENTHAL, I. M., MARKOWITZ, A. S. and MEDENIS, R., 1965 : Amer. J. Dis. Child., 110, 69.
- 15) COOPER, M. D., CHASE, H. P., LOWMAN, J. T., KRIVIT, W. and GOOD, R. A., 1968 : In "Immunologic Deficiency Diseases in Man", ed. Bergsma, D., National Foundation, p. 378.
- 16) PETERSON, R. D. A., BLAW, M. and GOOD, R. A., 1963 : J. Pediat., 63, 701.
- 17) 合屋長英, 小館三郎, 藤本孟男, 阿南茂啓, 1967 : 診療, 20, 1459.

大島 駿作 (京大・胸部研) : ataxia telangiectasia の血清 IgA の減少例が非常に少ないということであるが, IgA の減少した症例と減少していない症例との間に肺の感染に対する抵抗力に相違が認められるか。

答 : IgA の減少例と減少していない例との間に, 肺感染はもちろん全般的に感染抵抗性に差がみられない。このことから ataxia telangiectasia の感染感受性の増大には, いわゆる細胞免疫が主役を演じているものと推測しているが, それは量的なもので, 質的なものではないようである。

小林 登 (東大・小児科) : 多数の例に皮膚の移植実験をやられ, その生着日数に相当の差があるようだが (たとえば20—100日), それと *in vitro* でのリンパ球のトランスフォーメーションとは何か相関があるか。

答 : blastogenesis の低下の程度と, 同種皮膚移植片排除日数との間に特定の平行関係はみられなかった。しかし blastogenesis の値は, 相当に差があるときでないとい意味づけるのが無理ではないかと考えられる。

相沢 幹 (北大・病理) 1.) ataxia telangiectasia の皮膚同種移植の供与者と患者との関係は, ABO 血液型に関しても, 不適合であるのか。

2. 免疫機能の欠損とリンパ節や胸腺の形態像との違いがあるとすれば, その説明に細胞の機能の欠損があるという考えは注目すべきである。

答 : 移植免疫能の減退の程度を知るのが目的であった

から, できるだけ無関係のヒトの皮膚を用いた。ABO 血液型はもちろん, 供与者と受容者との間の組織親和性についての検討は行っていない。

花岡正男 (京大・ウイルス研) : ウサギ新生仔を胸腺剔除・X線照射またはマウスの新生仔を胸腺剔除したのち, リンパ節を組織学的にみると, 所謂胸腺依存域といわれる皮質中央部の小リンパ球のみ欠損しているものがある。このとき, 胚中心もよく残り皮質外層部にはなお小リンパ球がよく残存している。したがって, 胸腺欠乏に依って産生されないリンパ球はリンパ球系の全部ではない。われわれは, この胸腺依存リンパ球が直接細胞免疫に関与すると考えている。従って, 小リンパ球がある程度存在して, 細胞免疫の全くみられないこともあり得ると思う。

浜島義博 (日大・病理) : ① ヒト胎児を検索すると, 胎生25週頃よりまず IgM が作りはじめられ, 30週前後より IgG が作られはじめることを観察した。また IgA はずっと遅れて胎生8カ月以降に現われてくる。グロブリン欠乏症発生時期に関連して参考までに述べる。

② ataxia telangiectasia の特徴である ataxia と teleangiectasia との病発生との関連をどのように考えるか。

答 : 運動失調症や毛細管拡張症の発生病理についてはわかっていない。本来 ataxia telangiectasia は神経疾患としての病名で, たまたまその全例に近いものに細胞性免疫の低下があり, 一部に IgA の欠乏が存すると解釈している。IgA 欠損が ataxia telangiectasia の診断根拠とはなりえないことは注意すべきことであろう。

甲野礼作 (予研) : われわれは腸管の局所免疫に興味をもって, トリではこれはファブリキウス嚢に依存したリンパ系組織が関与していることを説明している。示された症例で, ポリオ生ワクチンに対する反応はどうなっていたか。

答 : BRUTON 型無 γ -グロブリン血症の1例ではポリオ生ワクチン投与後の抗体産生が欠乏しているのをみているが, ataxia telangiectasia では検索していない。IgA の減少型と減少していない型について, ポリオ生ワクチン投与後の腸管内ウイルス排除期間をみてみたい。

小林忠義 (慶大・病理) : 胸腺やファブリキウス嚢などの, 現在いわれている中核リンパ系組織だけを研究対象にしては人体の免疫欠損症が理解し難い点が多いように思う。たとえば ROSEN などが報じているような著明な奇形を伴った例をみると, 胸腺の役割の主体性が

疑われる。そこでいわゆる中枢リンパ系組織をさらに免疫学的に制御する機構の有無を追及することが必要と感じられる。この点について、臨床例の経験からどう思うか。

尾屋越文亮（岡山大・医・解剖）：中枢性リンパ組織の上位にある間葉組織を想定する必要があるのではないかと小林氏の提案に賛成する。近頃オーストラリア学派は骨髄を重要視しているようだが、骨髄とかまたはそれよりも系統発生的に古い造血部位である腸管粘膜などにも活用する必要があるように思う。

答：小林氏と尾屋越氏にあわせて答える。

ataxia telangiectasia 患者のほとんど全例において身体成長の遅延がみられ、男女ともに性腺発達障害が著明である。胸腺も性腺もその発達には間葉系組織が関与しているといわれている。また血管拡張症も間葉系の発達異常がその根底にあると説明する学者がある。

紺田 進（北野病院内科）：BRUTON 型無ガンマグロブリン血症における腸テフス菌凝集素産生能の低下は、抗H、抗Oとも同じように低下していたか。

答：調べた例では両者とも低下していた。

マウスの実験的低ガンマグロブリン血症

成内 秀雄, 白井美津子, 松橋 直 (東大・医科研)

畠山 茂, 広川 勝彦, 江崎 行香, 青木 望 (東医歯大・病理)

抗マウス $\gamma_1\gamma_2$ グロブリン血清の γ G 分画を dd 系マウスに連日投与することにより引き起こされるマウスの免疫グロブリンの異常について、免疫拡散法などの免疫血清学的方法、剖検による病理組織学的方法により検討してきた。成熟マウスの場合には一般に高 γ グロブリン血症になり、なかには血清中にM成分様の免疫グロブリンの出現、尿中に Bence-Jones 様蛋白の排泄がみられる例がある。これに反し、新生児マウスの場合には、投与中止後も低 γ グロブリン血症となり、 γ_1, γ_2 共に低下するが、とくに γ_2 の低下は著しく、この状態を長い間保つことを知った。今回は新生児マウスの場合について

群。

B 群：妊娠中の親マウス。新生児マウスは無処置。

C 群：出生後の新生児マウス。親マウスは無処置。

新生児に注射を行なう場合には、生後24時間以内に第1回の注射を行ない、以後4日間注射を行なった。なお、A, B 両群の場合には、全妊娠経過にわたり、親マウスの腹腔内または子宮腔内に注射を行なっている。

D 群：出生後 24時間以内より、2, 4, 8, 13日間 連続腹腔内注射の4群において、それぞれに 5mg/マウス/日の抗 $\gamma_1\gamma_2$ グロブリン血清の γ G 分画を注射して、抗体の投与量による効果を検討した。また対照としては等期

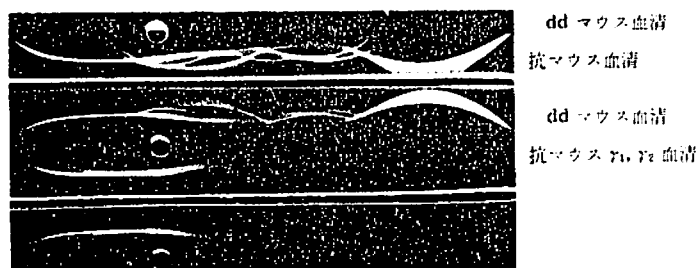


図1 実験に使用した抗マウス $\gamma_1\gamma_2$ グロブリン血清の免疫電気泳動図

報告する。

実験方法

1. 抗マウス $\gamma_1\gamma_2$ グロブリン血清：マウス血清を抗マウス血清ウサギ血清に対して免疫電気泳動法を行ない、生じた沈降線の γ_1, γ_2 線を切り取り、水洗後フロイントの完全型アジュバントと共にウサギに免疫してつくった。この抗血清はマウスの $\gamma_1\gamma_2$ グロブリンに対して特異的に反応する(図1)¹⁾。この抗血清から、硫酸分画、DEAE セルローズカラムクロマトグラフィー (pH 6.3, 0.0175M 磷酸緩衝液) により γ G 分画をつくり、マウス腹腔内注射に用いた。

2. マウスへの抗 $\gamma_1\gamma_2$ グロブリン抗体の投与方法：抗マウス $\gamma_1\gamma_2$ グロブリン血清の γ G 分画を、0.2mg/マウス/日の割合で次のような3群のマウスに連日腹腔内注射を行なった。

A 群：妊娠中のマウスとそれから生れた新生児マウス

間等量の正常ウサギ γ G 分画を注射したものを用いた。

3. 免疫拡散法による $\gamma_1\gamma_2$ グロブリンおよび抗体の測定：免疫電気泳動法は松橋と白井²⁾にしたがった。single radial immunodiffusion は、マウスの $\gamma_1\gamma_2$ グロブリン測定のとときは、前述の抗血清を16倍の割合に寒天にとかしこみ、厚さ 1mm の寒天平板をつくり、直径 2.7mm の穴をつくって、これにマウス血清を 4 μ l 注ぎ、48時間後にできた沈降輪の直径を測定し、この2乗を、標準マウス血清 (4~5週マウスのブール血清) でえられた沈降輪の直径の2乗で割った値で相互の比較を行なった。

抗体の力価測定にも、single radial immunodiffusion を用いた。すなわち、フェリチンを 0.021mg/ml、またはヒツジ赤血球を 1.25% にとかしこんだ寒天平板に、直径 2.7mm の穴をあけ、これにマウス血清を 4 μ l 注ぎ、フェリチンの場合は沈降輪の直径、ヒツジ赤血球の場合は、新鮮モルモット血清を加えたあとにできる溶

血輪の直径を測定、その2乗で、免疫経過を追って互いに比較した。なお、この直径の2乗と抗体量との間には直線関係が成立することが確かめられている（未発表成績）。また溶血輪には完全溶血輪と不完全溶血輪の2種類が観察されているが、その意義については現在検討をすすめている。

免疫血清学的所見

1. 処置マウスの γ_1, γ_2 グロブリンの変動

各群のマウスの γ_1, γ_2 グロブリン量を single radial immunodiffusion によって経時的にみた結果を図2に示す。この図からわかるように、A群のマウスは、抗 γ_1, γ_2 グロブリン血清 γ G 分画を投与中止後60日以上、生後100日以上経過しても他群マウスの γ_1, γ_2 グロブリン量の1/2以下であり、以後 γ_1, γ_2 グロブリン量は徐々に増加する。これに反し、B、C群では、無処置マウス

と同様に γ_1, γ_2 グロブリン量は増加してほぼ一定の値を保つようになる。このような γ G 量の変化は、ウサギ、マウスについて行なわれている免疫グロブリンのアロタイプに対する抗体による allotypic suppression の実験にみられる γ -グロブリンの経時の変化に似ている^{3,4)}。

このように低ガンマグロブリン血症になったマウスの免疫電気泳動像をみると、図3に生後90日のものが示されてあるように、 γ_2 グロブリンの低下が目立ち、特に移動度の小さいものが著明である。このような免疫電気泳動像が単に γ_1, γ_2 グロブリンの減少によって起こるものでないことは、正常成熟マウス血清を1/2~1/4に希釈しても、実験群のような免疫電気泳動像はえられないことから推定できる。

このような変化がC群に見られない理由として、マウスでは母乳を通して母親の免疫グロブリンが入り、これ

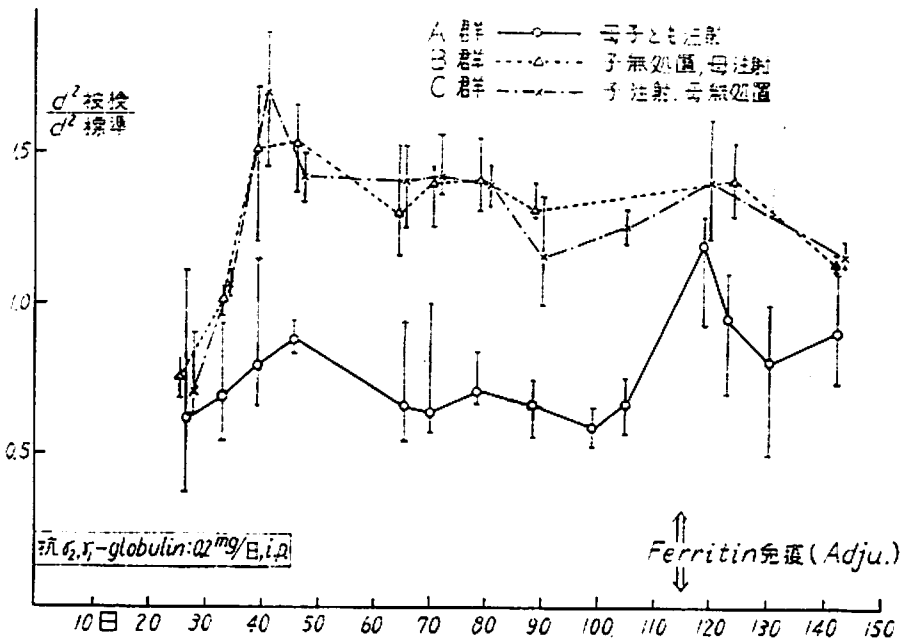


図2 新生児期に抗 γ_2, γ_1 グロブリン抗体（ウサギ γ G 分画）を連日注射されたマウスの γ グロブリン値の変動

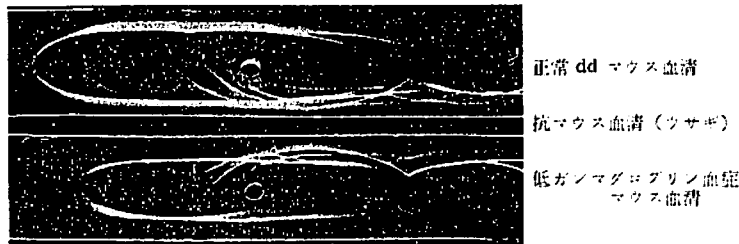


図3 実験的低ガンマグロブリン血症マウスの血清免疫電気泳動図（生後90日、処置中止後45日）

によって注射された抗体が吸収されてしまうことがあげられる。したがって高濃度の抗マウス $\gamma_1\gamma_2$ グロブリン血清の γ G 分画を用いることにより、生後に注射を始めても A 群の場合と同様の効果をあげることが考えられる。生後24時間以内より、2, 4, 8, 13日間連続腹腔内注射の4群にわけて、それぞれに 5mg/マウス/日の抗 $\gamma_1\gamma_2$ グロブリン血清の γ G 分画を注射して、抗体の投与量による効果を検討した。4週後の $\gamma_1\gamma_2$ グロブリン量をみると、表1に示すように、同量の正常ウサギ γ G を投与した対照群と比較して、4日以上注射を行なったものでは $1/2$ 以下に減少しており、それ以後の $\gamma_1\gamma_2$ グロブリン量の変化および免疫電気泳動像ともに前述の A 群のものにほぼ一致する。

表1 新生児期に抗 $\gamma_1\gamma_2$ グロブリン (ウサギ γ G) 正常ウサギ γ G 注射マウスの radial immunodiffusion による γ グロブリン 値の比較
週令: 4, 注射: 腹腔内 5mg/日

注射日数	(被検血清の直径) ² ÷ (標準血清の直径) ² の平均	
	抗 $\gamma_1\gamma_2$ 処置群	正常 γ G 処置群
2	0.64	0.64
4	0.29	0.69
8	0.33*	0.83*
13	0.29	0.71

* この値はマウスの飼育環境変化のため再検時を要する。

以上のように抗 $\gamma_1\gamma_2$ グロブリンを投与することにより、実験的に低ガンマグロブリン血症を起こしうが、その特徴は、 γ_2 グロブリンが低値を示すことである。一方、マウスの週令による免疫電気泳動像の変化をみると、週令と共に易動度のおそい蛋白が増加しており、抗 $\gamma_1\gamma_2$ グロブリン抗体注射によって生じた低 γ グロブリン血症のマウスは、 $\gamma_1\gamma_2$ グロブリン産生機構の成熟がおさえられているものと考えられる。

2. 実験的 低ガンマグロブリン 血症マウスの抗体産生

抗原としてフェリチンおよびヒツジ血球を用いたが、同一マウスから繰り返して採血する必要があり、またわずかの差を検出する必要があるため、微量の血清で検討するために、「実験方法」にのべたように、寒天内に抗原をふくませ、ここに抗血清を拡散させて生じた沈降輪あるいは溶血輪の直径の2乗の値をもって互に比較した。

10%ヒツジ赤血球 0.2 ml を静脈内に免疫した場合、および 0.5 mg のフェリチンをフロイントの完全型アジュバントと共に皮内に免疫した場合についての成績は図

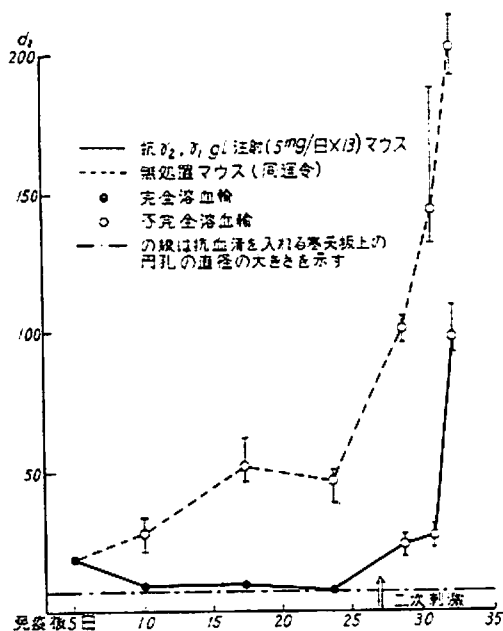


図4 ヒツジ赤血球に対する免疫反応
免疫注射: 10%ヒツジ赤血球 0.2ml, i. v.

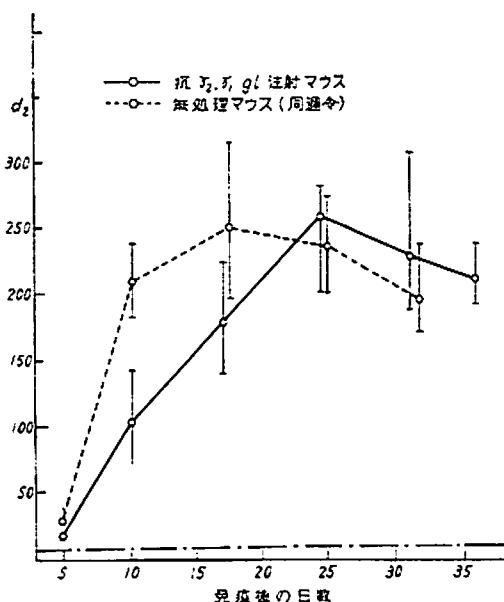


図5 Ferritin に対する免疫反応
免疫注射: Ferritin 0.5mg (Freund's complete adjuvant, foot pads).

4 および図5に示してあるようなものであった。

ヒツジ血球を用いたときの初回免疫の抗体産生は、低 γ グロブリン血症となったマウスでも、抗ヒツジ溶血素がわずかに産生されるが、対照にくらべると抗体はすみ

やかに減少し、この抗体検出法では検出できなくなる。これに対して、対照群では約2週後まで抗体の上昇がみられる。また初回免疫後27日目に等量の抗原で再免疫すると、実験群、対照群いずれの場合にも抗体価はすみやかに上昇するが、実験的低ガンマグロブリン血症マウスでは、その急激な上昇は約1週間おくれる。したがって、実験群にも2次反応はみられる。

さらにフェリチンを免疫注射した群の抗体産生を観察したもので、図5にみられるように、実験群と対照群との間には、抗体量が最大になったときの力価に差はみとめられない。しかし、抗体量が最大になるまでの時間は、実験群では、対照群に比して約1週間の遅れがみられる。この遅れは、ヒツジ赤血球を用いた場合の2次刺激の際にもみられ、抗体価の上昇は対照群にくらべて同様に1週間遅れていることと類似している。

以上のべたように、抗 $\gamma_1\gamma_2$ グロブリンによって低ガンマグロブリン血症になったマウスに、免疫反応を行なわせると、免疫初期には正常の対照群にほぼ等しいが、 $\gamma_1\gamma_2$ 抗体によると考えられる反応には、時間的遅れができる。また、低ガンマグロブリン血症となった成熟マウスの免疫電気泳動像で、免疫グロブリンの像が幼若マウスのものと類似していることと考えあわせると、抗 $\gamma_1\gamma_2$ 抗体を未発達のマウスに投与すると、免疫学的に意味をもつ細胞の分化発達が抑制され、成熟後もなお幼若時代と同様の状態であることが想像される。このような状態が抗原刺激により賦活化され、前記のような結果がえられるものと考えられよう。

この考えが、形態学的所見から裏づけうるかどうか、次にその所見について述べ、考察を加える。

免疫組織学的所見

低 γ グロブリン血症、無処置対照群およびそれぞれのウマフェリチン-アジュバント免疫群の生後4月目の胸腺 (Th)、リンパ節 (L) の肉眼的比較が図6である。胸腺は対照群にくらべて実験群でやや縮小し、フェリチン免疫群では免疫刺激によって退縮を起こし縮小していた。リンパ節では低 γ グロブリン血症群では逆に著しい肥大增殖を示すことが大きな特徴である。脾にもリンパ節と同じく肥大の傾向が認められた。

1. リンパ節の変化について

1) 低 γ グロブリン血症マウスのリンパ節：図7に示すように芽中心を有する皮質結節が増殖し、髄索や皮質周囲に多数の形質細胞が存在する (図8)。脾でもリンパ細胞の肥大が同様に認められた。FITC を標識した抗マウス $\gamma_1\gamma_2$ グロブリン抗体で染色すると、リンパ

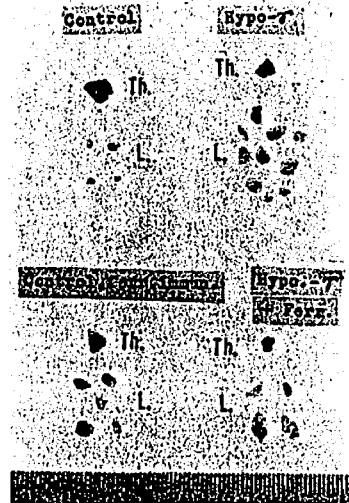


図6 胸腺 (Th) は、一葉のみを示した。対照群に比し実験群では縮小し、さらにフェリチン刺激群の方が縮小する。リンパ節 (L) は、実験群 (Hypo- γ) で対照群にくらべて肥大增殖が極めて顕著である。フェリチン刺激群間には著しい違いはない。



図7 低 γ グロブリン血症マウスのリンパ節。芽中心を有する皮質結節および髄索の形成良好。

節は皮質結節の芽中心部に一致し網状の像を示す蛍光陽性域を認めるのみで (図9)、結節周囲および髄索の形質細胞はほとんど陰性であり、対照群のリンパ節がはるかに小さいにもかかわらず、蛍光陽性形質細胞が多数存在していることと極めて対照的であった。このような $\gamma_1\gamma_2$ グロブリンをもたない髄索の形質細胞の電顕像が図10で、定型的な微細構造がみられる。また、芽中心に

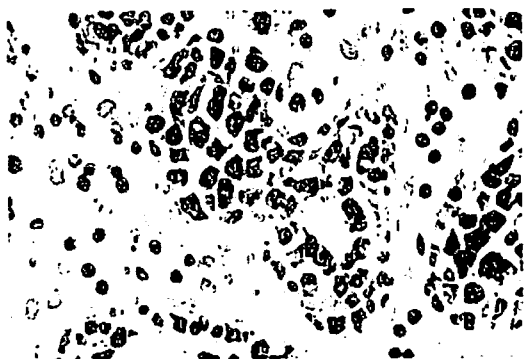


図8 同リンパ節。髄索の形質細胞集団。

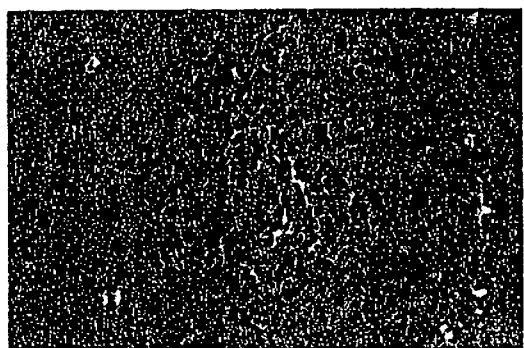


図9 同リンパ節。濾胞芽中心部の網状構造。蛍光は抗 $\gamma_1\gamma_2$ グロブリン抗体による蛍光陽性果。



図10 同リンパ節髄索の形質細胞。微細構造上はとくに著しい変動はない。

蛍光陽性果の欠除している濾胞で、しばしば濾胞辺縁の大食細胞が蛍光陽性であった(図11)。

2) 低 γ グロブリン血症にフェリチンを免疫注射したリンパ節：肥大した局所リンパ節では、2次結節の形成が盛んで、皮質結節周囲や髄索などに形質細胞が増加している。蛍光抗体法では、濾胞中心のみならず、結節周辺や(図12)、髄索の形質細胞が蛍光陽性であった。これは刺激前に蛍光抗体法で $\gamma_1\gamma_2$ グロブリンがほとんど

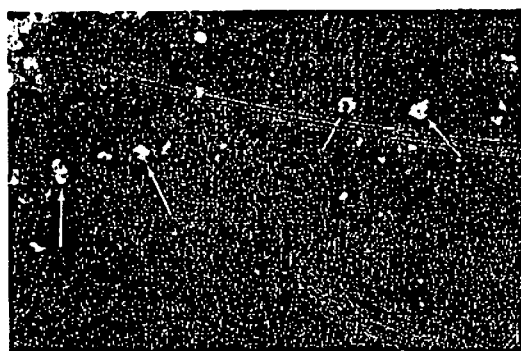


図11 同リンパ節。皮質濾胞周辺域の $\gamma_1\gamma_2$ 陽性のマクロファージ(矢印)。このような場所では、濾胞中心に $\gamma_1\gamma_2$ 陽性果は通常欠除する。

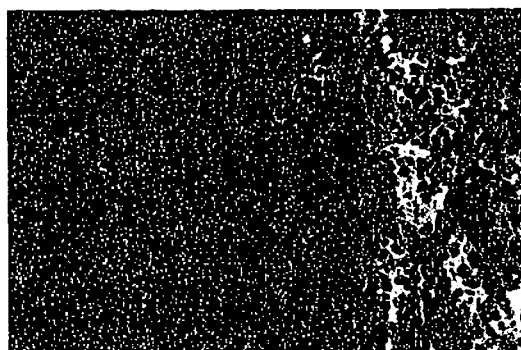


図12 フェリチン刺激を加えた低 γ グロブリン血症マウスのリンパ節。結節周辺の形質細胞に $\gamma_1\gamma_2$ 陽性。左方の暗い部分が濾胞。

証明できなかったリンパ節の形質細胞系が、フェリチンの刺激に対し、特異的な γ_1 または γ_2 グロブリンを産生するに至ったと考えられるもので、免疫血清学的成績とも一致する。

2. 胸腺の変化について

低 γ グロブリン血症およびそのフェリチン注射群の胸腺内には、蛍光陽性細胞が出現しており、対照群で全く蛍光が陰性な事実と比較し、顕著な対照をなしている。すなわち低 γ グロブリン血症マウスでは、胸腺内に結節状の上皮性細胞網細胞や少数の胸腺リンパ球が γ_1 または γ_2 グロブリンをもっており(図13)、フェリチン刺激群では不規則な形をした Hassall 小体が強く陽性に光っていた(図14)。また胸腺被膜の大型紡錘型細胞内に、粗大な蛍光陽性顆粒が認められた(図15)。

以上の結果を総括的に示したのが表2である。今回は特に脾の成績についてはふれなかったが、所見の概略が示してある。

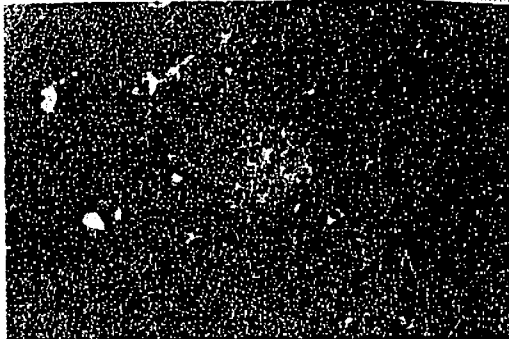


図13 低 γ グロブリン血症マウスの胸腺。結節性上皮性細胞細胞集団が γ ・ γ 陽性。

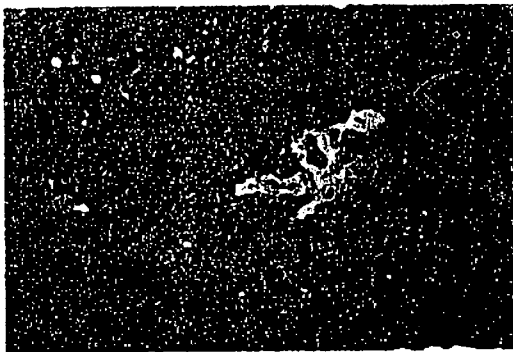


図14 フェリチン刺激を加えた低 γ グロブリン血症マウスの胸腺。 γ ・ γ 陽性の不規則な形をした Hassall 小体。ほぼ中心部にシストが形成されて黒く抜けて見える。

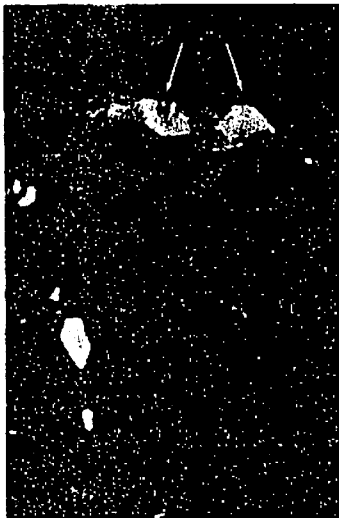


図15 同胸腺。被膜に出現した γ ・ γ 陽性顆粒を示す貪食細胞（矢印）。

表2 γ G-positive cells and areas in immune-organs.

	Thymus	Lymphnodes	Spleen
Hypo- γ	ret. and lymph. cell (+) Hassall corpuscle (+)	mesent. only (+) follicle (+) medulla (-)~(±)	follicle (++) perifollicle (+)
Control	(-)	mesent. only (+) follicle (+) medulla (+)	peri-follicle (++) red pulp (+)
Hypo- γ + Ferritin	ret. cell (+) Hassall corpuscle (+)	mesent., femoral & axillary (+) follicle (+) medulla (+)	perifollicle (++)
Control + Ferritin	(-)	mesent. & axill. (+) follicle (+) medulla (+)	perifollicle (++) red pulp (+)

考 察

本実験でえられた低 γ グロブリン血症と、リンパ節、脾など免疫組織の肥大増殖とは、一見相互に矛盾する現象で、胸腺でえられた所見ともあわせ、これらを統一的に理解することは必ずしも容易ではない。

本実験は、当初は成熟マウスで、抗マウス γ ・ γ グロブリン血清の γ G 分画を授与し、形質細胞系代謝に抑制効果を期待して始めたものであるが、予期に反して最初には高 γ グロブリン血症をおこし、後にほぼ正常範囲の γ ・ γ グロブリン量に低下した。しかし、類似の実験法で、新生児マウスに抗体を注射することにより、低 γ グロブリン血症をつくることに成功したことは、それが免疫組織の未分化未発達状態と関連していることは疑いない。個体発生的に未熟な免疫組織に対し、抗原刺激を行なって惹起する免疫学的寛容は、BILLINGHAM, MEDAWAR らの実験に端を発し現在までに多数の報告が認められるが、リンパ組織や胸腺の変化については特に目立った記載が見当たらない。

従ってリンパ組織の肥大増殖および胸腺内の γ または γ グロブリン陽性細胞の出現などは、本実験に特有なものと考えられる。最近のヒト胎児胸腺の免疫組織学的研究によれば、すでに胎生10週頃から γ グロブリン陽性細胞やリンパ球が出現し、特に Hassall 小体や貪食細胞に強陽性に γ G グロブリンが証明できる⁶⁻¹⁰。その解釈として、胎生期胸腺の抗原刺激に対する抗体産生能の発現⁸や Burnet の forbidden clone の Hassall 小体内での除去作用などがあげられている^{9,10}。

いずれにしても胎生期に特有の現象が、実験群胸腺に起こっていることは、胸腺の胎生期体制の延長存続すなわちリンパ組織の中核¹¹としての支配機構がなお作動し

ていることを意味し、それが末梢リンパ組織の肥大増殖をもたらしているという推測が成り立つ。

しかし、フェリチン刺激実験群の増殖性リンパ組織に、二次結節形成や、定型的形質細胞が出現しているにもかかわらず、血清学的には依然としてやや低 γ グロブリン血症を示すことは一つの問題点であるが、免疫組織学的にこれら形質細胞群に γ グロブリンが検出できない事実から次のような可能性が指摘できよう。すなわち、新生児期の原始的な免疫適格母細胞の分化のある段階へ、ウサギ抗マウス $\gamma_1\gamma_2$ グロブリン抗体が働き、かなり恒久的な形で、蛋白質合成機構に何らかの抑制的な変革を与える。しかし、この変革も今回の実験範囲内では、かなり可逆的なもので、形質細胞の基本的な微細構造にまで強い変化を与える程度のもではない。フェリチンやヒツジ赤血球刺激で、2次反応が一応現われ、 $\gamma_1\gamma_2$ グロブリン陽性細胞も多数出現することなどは、それを裏づける所見といえよう。

実験的低ガンマグロブリン血症マウスに出現したリンパ節および胸腺被膜の大貪食細胞の $\gamma_1\gamma_2$ グロブリン陽性顆粒は、いずれも貪食性のものと考えられる。その出現については、実験条件にもとづく大貪食細胞の性格の変動、組織局所における免疫グロブリン修飾による被吸収性の促進などの種々の因子に由来すると考えられるが、今後の検討を必要とする。

要 約

新生児マウスに生後24時間以内からウサギの抗マウス $\gamma_1\gamma_2$ グロブリン血清の γ G分画を連日4日以上投与すると、そのマウスは成熟後も低 γ グロブリン血症を長期間持続することがわかった。この低 γ グロブリン血症のマウスに抗原刺激を与えると、対照群と同様に抗体は産生されるが急速に減少する。第2次刺激を与えると、対照群の抗体価は急速に上昇するが、この低 γ グロブリン血症マウスでは、それより約1週間おくらせて急速に上昇する。また、フロイントの完全型アジュバントをもちいてフェリチンで免疫した場合は、実験群では対照群より約1週間おくらせて、ほぼおなじ抗体価を示すようになる。病理組織学的所見では、実験群の胸腺に胎生期に特有な体制が延長存続し、リンパ組織の中核としての支配機構がなお残り、それが末梢リンパ組織の肥大増殖をもたらしていることなどが推論できた。

文 献

- 1) 成内秀雄, 1968: 移植, 2, 44-46.
- 2) 松橋 直, 田井美津子, 1968: 電気泳動実験法,

文光堂.

- 3) DUBISKI, S., 1967: Nature, 214, 5095-5096.
- 4) HERZENBERG, L.A., MINNA, J.D. and HERZENBERG, L. A., 1967: Symposia on Quantitative Biology, 32, 181-186.
- 5) MAGE, R. G., 1967: Symposia on Quantitative Biology, 32, 203-210.
- 6) MELLORS, R. C. and KORNGOLD, L., 1963: J. Exp. Med., 118, 387-395.
- 7) BLAU, J. N., 1967: Nature, 215, 1073-1075.
- 8) KASAI, K., NISHIMURA, T. and HAMASHIMA, Y., 1968: Acta Histochem. Cytochem., 1, 105-113.
- 9) KOUVALAINEN, K., 1964: Ann. Med. exp. Fenn., 42, 177-184.
- 10) H.ROKAWA, K. and HATAKEYAMA, S., 1969: Acta Path. Jap., 19, (prepared in publication).
- 11) GOOD, R. A., FINSTAD, J., PETERSON, R. D. A., KELLUM, M. and SUTHERLAND, D. E. R., 1965: In "Molecular and cellular basis of antibody formation" Czechoslovak Acad. Sci., Prague, Acad. Press, p. 289.

山本 正 (東大・医研): NC マウスにかなり特徴的な低 γ グロブリン症がみられる。2カ月たっても γ Gがほとんど見られない。無菌飼育した場合にも量的には通常飼育のマウスと比較して少ないが5カ月には γ Gが現われる。合屋氏の分類された第3の transient agammaglobulinemia に相当しよう。4週令で1週間卵白アルブミンを注射するだけで5~6週にかけてすでに γ Gがでてくるようになる。この種のマウスはわが国で純系化されたもので、当研究所の実験動物研究施設を中心とする努力に負うところが多いが、このような動物の系統の中に遺伝病を含めて免疫学的研究が進むことを期待したい。(すでに本年の実験動物研究会(於奈良)で奥木らによって発表された。)

関根輝彬 (国立がんセンター): 1) 溶血リングが二重に出る原因は何か。

2) 抗 γ グロブリン血清は、グロブリン産生細胞に対して cytotoxic に作用しないか。

答: 1) 完全溶血輪は、19S抗体、不完全溶血輪は、一応7S抗体によるものと考えている。

2) 実験のはじめは、御指摘のような作用を考えて始めたが、病理所見からプラズマ細胞は減少していないように見える。このときに見えるプラズマ細胞は抗 γ G 螢光抗体に陰性であるので、作用面の障害も考えている。

川上正也 (群大・微生物): 1) マウスに注射する抗 γ マウスグロブリンはどの程度に精製されているか。

2) 免疫に関する細胞すなわちマクロファージ、リン

パ球の数には変化はないか。抗体産生能力をもつ細胞数の低下はあるか。

3) 骨髄の組織学的変化はみられないか。

答：1) 注射に用いたウサギ γ G 分画の純度については、immuno-diffusion のレベルでは、 γ G のみしか検出されなかった。

2) リンパ球の数や、マクロファージなどの貪食能については調べていない。

3) 組織学的には、とくに対象と違ってはいないようだった。しかし塗抹標本では観察していない。

浜島義博（日大・病理）：抗マウス γ グロブリン投与実験のシリーズを累代続けてみたらどうか。

答：われわれも長期間観察は続けており、経験としては、抗 γ γ_2 グロブリンを注射して低 γ グロブリン症になった後に妊娠した親からのマウスが成熟後も低 γ グロブリン症になったものがあり、現在なお観察を続けている。

山村好広（国立刀根山病院）：ウサギ抗 γ G をマウス

血清の体内に注射した場合、抗 γ G 血清とマウスの γ G とが結合して immune elimination が起こるため…見 γ プロブリンの産生が低下しているようにみえるのではないか。

答：低 γ グロブリン症にしたマウスは、生後24時間以内から約2週間、抗マウス γ γ_2 グロブリン抗体を注射したものであり、フェリチンやヒツジ赤血球は4～5カ月後に免疫注射したので、ウサギの抗体によって吸収されて抗体価が下がったり、また γ グロブリンレベルが下がったとは考えられない。

ウサギ γ グロブリンのマウス体内での半減期は約1週間だから、この点からいっても関係はないと思う。

村松 繁（京大・理）：成体マウスに免疫抑制剤を与えて抗 γ グロブリン処理をした場合はどうなるか。

答：そのような実験は行っていない。

泉 孝英（京大・胸部研）：用いた成体マウスは何週位のものか。

答：成体としては6～7週のものを用いている。

蛋白質抗原による特異的免疫抑制の誘導機構

川口 進, 岡田 暉彦, 村松 繁 (京大・理・動物)

生体は抗原と接触すると、抗体を産生するばかりでなく再度の抗原との接触にすばやく強力に反応できる状態になる。これは免疫的記憶と呼ばれている。ところがある場合には、抗原と接触したことが、かえってその抗原には免疫反応をすることができなくなる記憶として残る。このいわば負の免疫的記憶の特徴は、抗原により誘導され、その抗原に特異的な免疫非反応性で、ある期間持続し、過剰抗原による抗体の中和によって見かけ上の非反応性が示されているのではなくて免疫応答細胞における欠陥に帰因するなどである。その呼称は研究者により、immunological tolerance, immunological paralysis, immunological unresponsiveness などまちまちであるが、私達は特異的免疫抑制と呼称する。特異的免疫抑制は、生物学的意義としては病原菌などの異物抗原に対する防御として免疫機構を持っている動物が、自己物質に対しては免疫反応を示さないための制御機構と考えられ、その機構の解明は免疫生物学上の重要な一問題となっている。また医学的にも、他の抗原（たとえば病原菌）には正常に免疫反応をすることができる状態を保持したまま、ある特定の抗原（たとえば移植片）には反応できないようにするという移植医学の念願をかなえるものとして期待されている。

特異的免疫抑制の誘導は、抗原と生体がある特定の状態のときにのみ可能である。抗原に関しては、どの抗原を用いても抑制を誘導できるのではなく、現在までに抑制の誘導に成功した抗原は、抗体産生を誘起できる抗原のごく一部にすぎない¹⁾。逆に、抗体産生は誘起できないが抑制は誘導できる抗原の例²⁾も知られている。これらのことは、従来考えられがちであったように、抗体産生を誘起する免疫原情報が過剰に存在することにより抑制状態になるというのではなくて、抑制を誘導する抑制原情報は免疫原情報とは異なっている可能性を示唆する。

生体の状態に関しては、初めは個体発生の初期の免疫的に未熟なときにのみ、抑制の誘導が可能であると考えられていたが、抗原を選べば成体でも可能であることがわかった。しかし、やはり胎児や新生児³⁾ および非特異的免疫抑制処理 (X線照射^{4,5)} や免疫抑制剤投与⁶⁾ をうけた成体などにおいては、正常な成体よりも抑制の誘導

は容易であり、それらの動物のなんらかの免疫的不完全性にその因があることは明らかである。

上に述べたように、抗原と生体の状態が特異的免疫抑制の誘導において重要な要因となっていて、この二つの要因がうまくかみあわさったときにのみ抑制が誘導される。しかし、この点に関する解析はまだ充分になされていないので、私達はこの面から特異的免疫抑制の誘導機構についての解析をおこなった。以下に私達の実験結果を述べ、免疫原情報と抑制原情報の形やそれらの生体内での標的についての推察を加えて、特異的免疫抑制の誘導機構について考察したい。

材 料 と 方 法

実験動物には dds 系マウス、抗原にはウシ γ グロブリン (BGG) を使用した。抑制原としては、2% BGG の生理食塩水溶液を $105,000 \times G$ で 2 時間遠心して aggregate を沈殿させた上清部分 (sBGG) を、免疫原としては 3% BGG の溶液を $63^\circ C$ で 20 分間処理した後、 $77,500 \times G$ で 60 分遠心して aggregate を集めた沈殿物を $-20^\circ C$ で貯蔵し、使用直前にテフロンホモジナイザーで微粒化して用いた。

免疫状態は、1mg の aBGG を含む 0.3ml のフロイントの不完全型アジュバント (FIA-BGG) を皮下に投与 (チャレンジとよぶ) して、それに対する反応力を 1mg の ^{131}I 標識 BGG の血流中からの消失⁷⁾により判定した。表示は、各実験群約 5 匹のマウスの平均抗原消失曲線か、または各個体の抗原消失曲線を 4 つのカテゴリー (UR, HR, PR, SR) に分類して示した。UR (unresponsiveness) は免疫反応によらない自然抗原消失を示したもの、HR (hyporesponsiveness) は弱い免疫反応によるもの、PR (primary response) は 1 次反応型、SR (secondary response) は 2 次反応型の抗原消失曲線を示したものである。

結 果

1. 正常な成体マウスにおける aBGG と sBGG およびエンドトキシンの働き

異種血清蛋白は溶液状態で投与すると免疫原性は弱く、熱処理して aggregate をせたり、ミョウバン沈殿

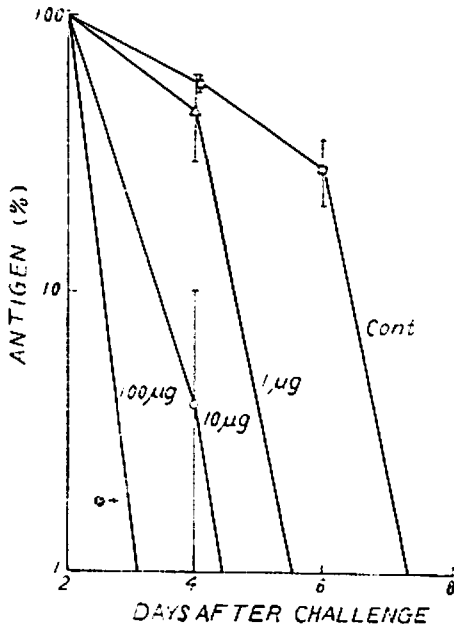


図1 aBGG を静脈注射して6日後のチャレンジに対する反応。aBGG 投与群では非投与対照群に比べて迅速な抗原の消失が見られ、aBGG の免疫原性を示している。各点は4個体の平均値。100 μ g のaBGG 投与群では 125 I-BGG は非常に急速に消失する。●: aBGG 100 μ g, ○: 10 μ g, △: 1 μ g, □: 0 μ g

やフロイントのアジュバントで食作用をうけ易い粒状の形にすると強い免疫反応をひきおこす。aBGG を尾静脈注射して6日後にチャレンジして、aBGG の免疫原性を調べた(図1)。aBGG を投与しなかった対照群はチャレンジして6日目ごろまでは勾配のゆるい直線的な自然抗原消失を示し、6日目ごろから抗体の出現に対応して急激な減少を示す。この反応は典型的な1次反応を示している。aBGG を投与した群では、2次反応型がみられaBGG の量が多いほど強い免疫反応がおこってより早く抗原が消失し、aBGG が免疫原として有効であることがわかる。

高速遠心したり³生体内ろ過³をおこなってaggregateを除いた血清蛋白は、免疫原性をほとんど持たないが、特異的免疫抑制を誘導するのに好適な抗原として知られている。sBGG の抑制力を調べるために、sBGG を尾静脈注射して20日後にチャレンジをおこなった。結果は図2に示したように、sBGG は量依存的抑制力を発揮し、1mg では完全な抑制により UR 型消失曲線、100 μ g では部分的抑制により HR 型曲線、10 μ g でも少し抑制効果が認められた。この抑制は BGG にのみ特異的でヒツジ赤血球 (SRC) に対する反応力はそこなわれてい

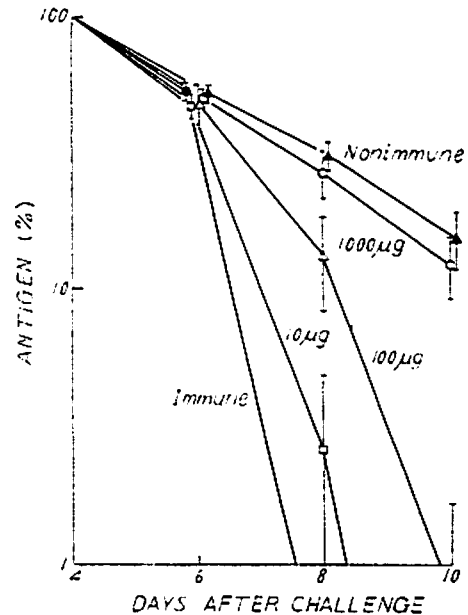


図2 sBGG の免疫抑制作用。sBGG 投与の20日後にチャレンジ。各点は5個体の平均値。○: sBGG 1000 μ g, △: 100 μ g, □: 10 μ g, ●: 0 μ g, ▲: 0 μ g (チャレンジせず)

い。また sBGG には免疫原性がほとんどなく、抑制誘導よりも少ない sBGG を与えてもチャレンジに対して2次反応を示さない。

相反する作用力をもつ aBGG と sBGG はいかなる相互作用をするかを調べるために、aBGG を 1 μ g, 10 μ g, 100 μ g と量を変え、sBGG 1mg を aBGG 投与の1日前、同日または1日後に投与し、aBGG 投与後6日目にチャレンジをおこなった。結果を表1に示す。aBGG と sBGG を同日に投与した場合には、aBGG 1 μ g 群では5匹とも完全に抑制で、aBGG 10 μ g と 100 μ g 群ではと

表1 aBGG と sBGG の競争作用

aBGG (μ g)	aBGG 投与後の sBGG 投与の日	Immune Status ^a			
		UR	HR	PR	SR
1	0	5/5 ^b			
10	0				5/5
100	0				5/5
1	1	2/4	2/4		
10	1				5/5
100	1				5/5
1	-1	5/5			
10	-1	4/5	1/5		
100	-1		4/5		1/5

a: aBGG 投与の6日後にチャレンジ

b: 分母は各実験群のマウス個体数

もに5匹とも2次反応を示す。すなわち、sBGG 1mg と aBGG 1 μ g では sBGG の抑制力が勝ち、sBGG 1mg と aBGG 10 μ g または 100 μ g では aBGG の免疫原性が勝つというふうに、抑制原と免疫原は量的に拮抗作用を示す。

sBGG を1日後に投与した場合には、aBGG 1 μ g 群で少し免疫原の効力があらわれているが、同日投与とあまり変わらない。ところが、1日前に sBGG を投与した場合には、sBGG の抑制力が強くあらわれて aBGG 10 μ g 群では5匹中4匹が完全な抑制状態になっている。これは sBGG と aBGG の拮抗作用には時間的優先性が要因となっていることを意味する。

aBGG からの免疫原情報と sBGG からの抑制原情報が拮抗的に働くということは、両情報は相同部分と相異部分をもっているということである。相同部分は、BGG に特異的な抗原決定基であり、相異部分は両抗原の生体内での処理のされかたの違いにより生じてくると思われる。抗原情報の標的細胞である免疫感応細胞には、この相同部分と相異部分をともに識別できるような受容体があり、その受容体にたいして両情報はアナログとして拮抗的に働くのであろう。

アジュバントとしてよく用いられているバクテリアのエンドトキシン (ET) は、sBGG とともに投与すると抗体産生を誘起することが知られている¹⁰⁾。その機構についてはいまだわかっていないが、ET の作用の一端を示したのが表2である。sBGG と ET 10 μ g を同時に投与した場合、sBGG の量が多いほど ET の効果がよくあらわれる。すなわち、ET 処理群において6日目にチャレンジした場合には、sBGG 10mg ではすべて2次反応型、1mg と 100 μ g ではすべて HR 型となる。12日目にチャレンジしたものは 1mg 群はすべて SR 型になり、100 μ g 群はやはり HR 型のままである。部分的

表2 sBGG の抑制作用におよぼす細菌エンドトキシン (ET) の効果

sBGG (mg)	ET ^a (μ g)	sBGG 投与から チャレンジまでの日数	Immune Status			
			UR	HR	PR	SR
10	0	6	4/5 ^b			1/5
10	10 ^a	6				5/5
1	0	6	5/5			
1	10	6		5/5		
1	10	12				5/5
0.1	0	6		5/5		
0.1	10	6		5/5		
0.1	10	12		5/5		

a: sBGG 注射直後に静脈注射

b: 分母は各実験群のマウス個体数

抑制作用を示す sBGG 100 μ g 群では、ET はその効力をほとんど発揮できない。

2. X線照射マウスにおける特異的免疫抑制の誘導

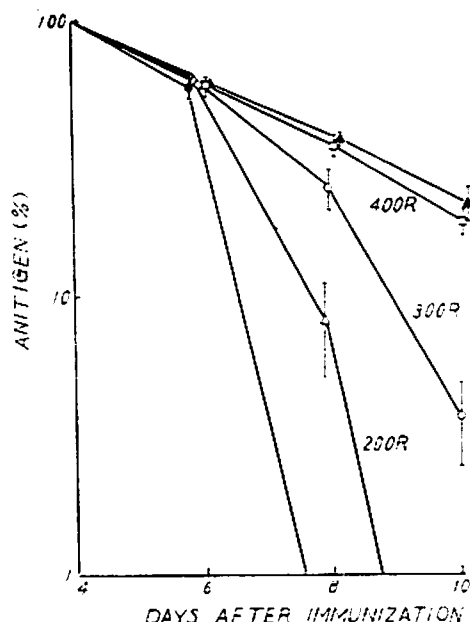


図3-a X線照射の効果。X線照射3時間後に FIA-BGG を注射。△: 200R, ○: 300R, □: 400R, ●: 非照射, ▲: 非照射非免疫

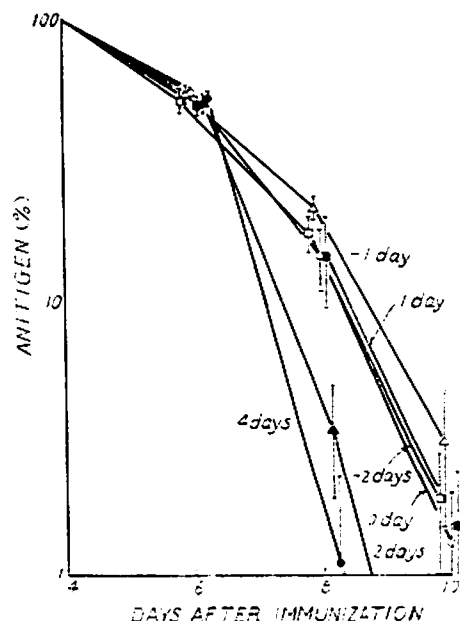


図3-b FIA-BGG 注射前後のいろいろの時点での 300R X線照射の効果。□: FIA-BGG の2日前に照射, △: 1日前, ○: 4時間後, ■: 1日後, ▲: 2日後, ●: 4日後

非特異的に免疫反応を抑制するのにX線照射が広く使用されている。図3a, 3bにその作用の一端を示した。図3aはX線の線量効果を調べたもので、照射後3時間たってからFIA-BGGに対する反応力は、線量依存的に抑制され、400Rで完全に抑制される。図3bはFIA-BGG投与の前または後に300R照射した場合で、X線の抑制効果はFIA-BGG投与の2日前から1日後までほとんど変わらないが、2日後では相当抑制力は低下し、4日後ではほとんど効果がない。X線の効果の特徴は、その非特異的免疫抑制の回復が遅いことで、20日たってもまだ残存効果がみられる(表3参照)。これらのX線による免疫機構の障害は、免疫反応細胞数の減少が主な因と思われるが¹¹⁾、抗原伝達機構の障害¹²⁾にもその一因があるかもしれない。

X線照射により特異的免疫抑制が誘導しやすくなることに関しては多くの報告¹³⁾がある。その機構としては、免疫反応細胞あたりの抗原量がある閾値以上のときには特異的免疫抑制が誘導されるので、X線照射により免疫反応細胞数が減少すればそれだけ少ない抗原量で抑制状態になるという考え方¹⁴⁾がある。そこで、X線照射したマウスではより少ないsBGGで抑制が誘導されるかが問題となる。この点については、前に報告したが¹⁰⁾、表3にその一部を示す。300R照射した翌日sBGGを投与し、20日後にchallengeをおこなったのであるが、300R照射群と非照射群でsBGGの抑制効果は変わらないことがわかる。抑制誘導には体液中の抗原濃度が重要な役割を担っていることを示唆する。

表3 300R X線照射マウスと非照射マウスにおけるsBGGの抑制作用

X-Ray ^a (R)	sBGG (μ g)	Immune Status ^b			
		UR	HR	PR	SR
0	0			6/6	
0	10		6/9		3/9
0	50		8/10	2/10	
0	100	3/10	5/10	1/10	1/10
300	0		2/6	4/6	
300	10		7/9	2/9	
300	50	1/9	5/9	2/9	1/9
300	100	4/10	4/10	2/10	

a: sBGG投与の2時間前に照射

b: sBGG投与の20日後にchallenge

c: 分母は各実験群のマウス個体数

sBGGのような非免疫原の抑制誘導効果はX線の影響をうけないとしても、免疫原ではX線によって効果が助長されるかもしれない。血清蛋白に対する特異的免疫抑

制がX線照射により誘導しやすくなるという報告は、高速遠心していない、aggregateを含んだ抗原を用いているので、非照射の動物には免疫反応を誘起している。そこで次に、X線照射マウスにおいてsBGG 1mgとaBGG 100 μ gまたはsBGG 1mgとET 10 μ gの同時投与がどのような作用を示すかを調べた。結果は表4に示すように、これらの投与は正常なマウスおよび300R照射マウスでは抗体産生を誘起するが、500Rを照射した場合には、ET投与群はchallengeにたいして2次反応を示すがaBGG投与群は5匹中3匹は完全な非反応性になる。この場合には、X線照射により特異的免疫抑制の誘導が少なくとも表面的には容易になったといえる。

表4 sBGG, aBGG, エンドトキシン(ET)の作用におよぼすX線の影響

X-Ray ^a (R)	sBGG (μ g)	aBGG ^b (μ g)	ET ^c (μ g)	Immune Status ^d			
				UR	HR	PR	SR
0	1000	0	0	5/5 ^d			
0	1000	100	0				5/5
0	1000	0	10				5/5
300	0	0	0		2/6	4/6	6/6
300	1000	100	0				5/5
300	1000	0	10				5/5
500	0	0	0		5/5		
500	1000	100	0	3/5	2/5		
500	1000	0	10				5/5

a: sBGG投与の24時間前に照射

b: sBGG投与直後に静脈注射

c: sBGG投与の20日後にchallenge

d: 分母は各実験群のマウス個体数

結局、X線照射により特異的免疫抑制の誘導が容易になるのは、より少量の抑制原で充分なためではなく、免疫原の働きが非効率化するために抑制原誘導の効果が相対的に強くなるためだと思われる。X線照射による免疫原の働きの非効率化には他にも報告^{12,13)}があり、その機構としてマクロファージの障害が考えられているが、いまだ決定的ではない。

3. Cyclophosphamide 処理マウスにおける特異的免疫抑制の誘導

Cyclophosphamide (CY: Endoxan, シオノギ製薬) はアルキル化剤の一つで、副作用の少ない有効な免疫抑制剤としてよく用いられている¹⁵⁾。またCYにより特異的免疫抑制の誘導が容易になるという報告^{6,16)}もなされている。そこでCYを用いてX線の場合と同様の実験を行なった。

まずCYの抑制力について調べた。図4aはいろいろの量のCYを尾静脈注射してその3時間後に与えた

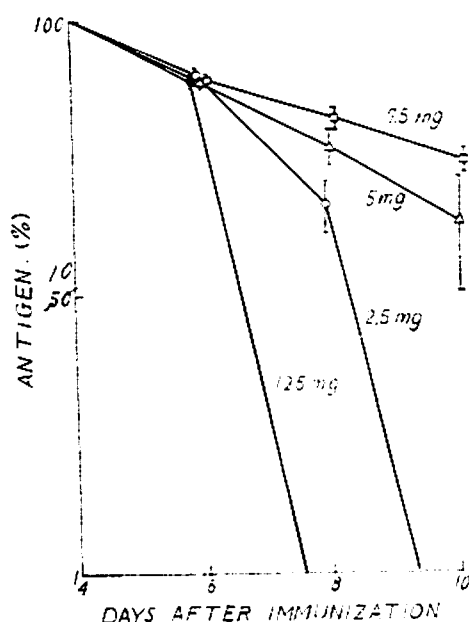


図 4-a cyclophosphamide (CY) の効果。CY 投与の 3 時間後に FIA-BGG を注射。● : CY 1.25mg, ○ : 2.5mg, △ : 5mg, □ : 7.25mg。

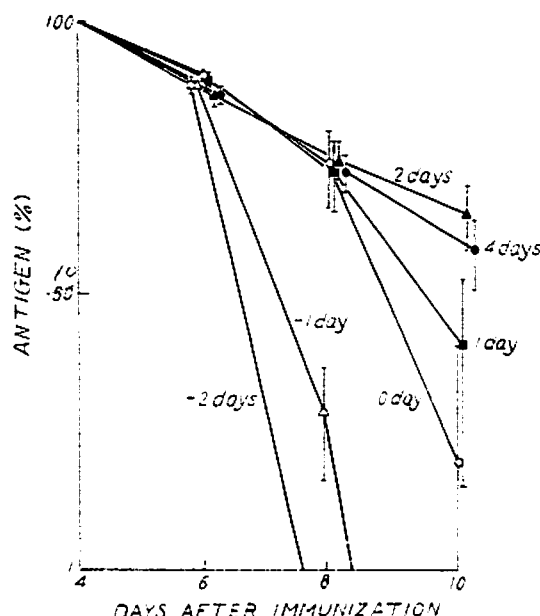


図 4-b FIA-BGG 注射前後のいろいろの時点で投与した 2.5mg CY の効果。□ : FIA-BGG の 2 日前に CY を投与, △ : 1 日前, ○ : 4 時間後, ■ : 1 日後, ▲ : 2 日後, ● : 4 日後

FIA-BGG に対する反応力をみた結果であるが、CY 5 mg 以上では免疫反応をほぼ完全に抑制する。図 4b は 2.5mg の CY と FIA-BGG 投与の時間的関係をいろいろ

に変えた場合である。X 線の場合と異なり、CY は抗原投与後に与えた方が顕著な効果がみられる。CY による非特異的抑制からの回復は X 線の場合より早く、5mg を投与しても 20 日後には完全に回復している（表 5 参照）。CY による免疫抑制は、抗体産生細胞系列の細胞の死によるとすると、その細胞系列では、抗原により刺激されて抗体産生細胞へと増殖分化途中の細胞がもっとも CY に対する感受性が高く、免疫応答細胞、幹細胞とさかのぼるにつれて抵抗性が強くなるために上記のような結果になったのであろう。

次に 5mg の CY を sBGG と同時に与えて sBGG の抑制効果におよぼす影響の有無を調べた。sBGG を投与して 20 日後に challenge をしたが、結果は表 5 に示すように、CY 投与の有無にかかわらず sBGG 1mg では UR 型、100μg では HR 型となり、sBGG の効果は CY によって影響されない。

表 5 cyclophosphamide (CY) 投与群と非投与群における sBGG の抑制作用

CY ^a (mg)	sBGG (μg)	Immune Status ^b			
		UR	HR	PR	SR
0	0			5/5 ^c	
0	10		2/5	3/5	
0	100		5/5		
0	1000	5/5			
5	0			5/5	
5	10		2/5	3/5	
5	100		4/5	1/5	
5	1000	5/5			

a : sBGG 投与直後に静脈注射

b : sBGG 投与の 20 日後にチャレンジ

c : 分母は各実験群のマウス個体数

表 6 sBGG, aBGG, エンドトキシン (ET) の作用におよぼす cyclophosphamide (CY) の影響

CY ^a (mg)	sBGG (μg)	aBGG ^b (μg)	ET ^c (μg)	Immune Status ^d			
				UR	HR	PR	SR
0	1000	0	0	5/5 ^c			
0	1000	100	0				5/5
0	1000	0	10				5/5
5	0	0	0			5/5	
5	0	100	0				5/5
5	1000	100	0	5/5			
5	1000	0	10	4/5	1/5		
5	0	1000	0				5/5
5	100	1000	0		1/5	1/5	3/5

a : sBGG 投与直後に静脈注射

b : sBGG 投与の 20 日後にチャレンジ

c : 分母は各実験群のマウス個体数

免疫原の働きおよび免疫原と抑制原の相互作用に対する CY 投与の影響は表 6 に示してある。sBGG 1mg と aBGG 100 μ g および sBGG 1mg と ET 10 μ g の同時投与においては、CY 非処理の対照群ではすべて 2 次反応を示したが、5mg の CY 処理群ではどちらの場合にも特異的免疫抑制が誘導された。このときに免疫原である aBGG が抑制作用をもっているかどうかを調べるため、CY 投与マウスにおいて aBGG 1mg の投与あるいは aBGG 1mg と部分的抑制を示す sBGG 100 μ g の同時投与の効果を見たが、前者ではすべて 2 次反応型で後者でも完全抑制状態になるマウスはなく、CY 存在下でも aBGG では特異的免疫抑制は誘導できないし、また sBGG の働きを助けもしないことがわかる。sBGG は aBGG や ET が存在すれば抑制原性が失われるのではなく、免疫原情報との競争に敗れたために抑制を誘導できないのであり、aBGG や ET の働きを無効にするような状態にすれば、CY の効果があらわれて抑制状態になる。CY による特異的免疫抑制の誘導の容易化は、免疫原情報を無効にすることによってと思われるが、その機構としては、免疫原情報が働きうる免疫反応細胞がすべて CY により死滅して抑制原情報にのみ感受性のある前駆細胞だけになったためであるか、または CY の存在下では免疫原情報により刺激された免疫反応細胞は死滅して sBGG による抑制状態があとに残る、などが考えられる。

4. 新生児マウスにおける特異的免疫抑制の誘導

BURNET が免疫トランス理論を提出して以来、特異的免疫抑制は胎児や新生児の免疫的に未熟な時にのみ誘導可能と考えられていた時期があった。現在では、胎児や新生児は特異的免疫抑制の誘導が容易な生体の一つの状態と考えられ、何故にこの状態においては誘導が容易であるのか問題となっている。

生まれた日に sBGG を投与し、30日後にチャレンジして sBGG の抑制効果を調べたところ(図 5)、ほぼ成体と同じように 1mg で相当の抑制状態になっている。しかし成体ほど完全ではなく、体重あたりにすれば 10 倍以上も多量に必要である。sBGG を用いた場合には成体よりもむしろ誘導しにくくなっているが、これは成長過程という非常に不安定な時期を経過するためと思われる。この点を考慮に入れば、sBGG の抑制力は新生児でも成体と変わらないといえる。

aBGG の働きは新生児では成体と異なって、量を増やせば抑制を誘導する(表 7)。aBGG 1000 μ g では 39 匹中 6 匹が UR 型、6 匹が HR 型になる。これは新生児においては生体内での処理方法が異なっていることに

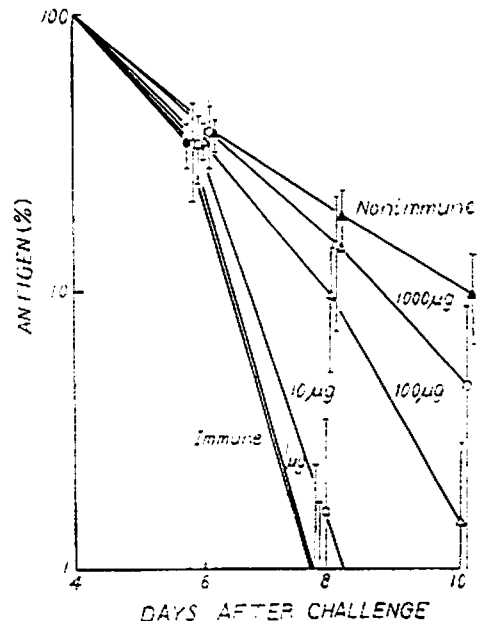


図 5 出生当日のマウス新生児の腹腔に注射した sBGG の免疫抑制効果。チャレンジは生後 30 日。各点は約 25 個体の平均。○: sBGG 1000 μ g, △: 100 μ g, □: 10 μ g, ◇: 1 μ g, ●: 0 μ g, ▲: 0 μ g (チャレンジせず)

表 7 マウス新生児に注射した sBGG, aBGG, エンドトキシン (ET) の作用

sBGG ^a (μ g)	aBGG ^b (μ g)	ET ^c (μ g)	Immune Status ^d			
			UR	HR	PR	SR
0	10	0				12/12 ^d
0	100	0	2/31	6/31	6/31	17/31
0	1000	0	6/36	6/39	4/39	23/39
1000	0	0	23/27	4/27		
1000	10	0	4/7	3/7		
1000	100	0	12/13	1/13		
1000	1000	0	5/10	2/10		3/10
1000	0	10	5/18	8/18	5/18	

a, b: 出生当日に腹腔注射

b: a の直後に注射

c: 生後 30 日にチャレンジ

d: 分母は各実験群のマウス個体数

よるのかもしれない。また aBGG 懸濁液に混在するか、あるいは生体内で aBGG から遊離した sBGG の作用も考えられる。

sBGG 1mg と同時に、量を変えて aBGG を投与したり ET 10 μ g を投与しても、sBGG 1mg のみの投与と其の効果はほとんど変わらない(表 7)。新生児では免疫機構の未熟のために免疫原に対する反応力は悪いが抑制原は充分にその力を発揮できるので免疫原の存在下でも

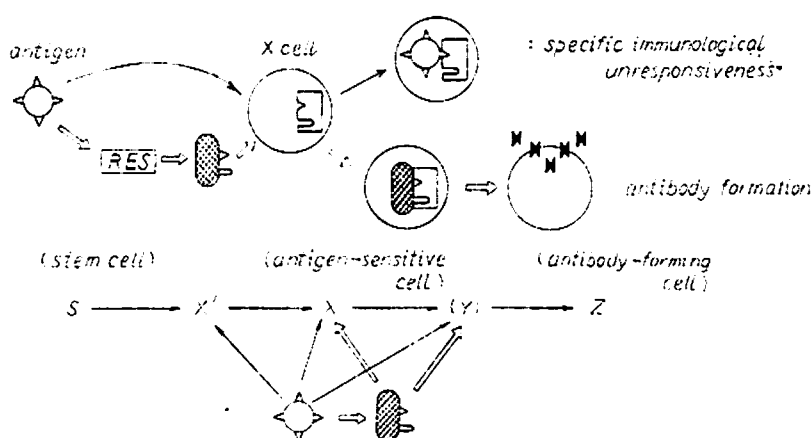


図6 特異的免疫抑制（パラリシス）誘導機構の仮説を示す模式図

特異的免疫抑制の誘導が容易であると思われる。免疫機構の未熟としては、免疫応答細胞がまだ分化していないことや免疫原伝達機構（たとえばマクロファージ）の未発達¹⁷⁾などが考えられ、そのことを示唆する報告もなされている。

考 察

実験結果を要約すると

1) aBGG は抗体産生を誘起し、sBGG は特異的抑制を誘導する。両者は量的にも時間的にも拮抗的に働く。

2) sBGG の抑制力は、生体の状態に影響されず、新生児、正常な成体、X線照射成体、CY 処理成体で同じである。

3) aBGG と ET の働きは生体の状態に依存し、sBGG 1mg と aBGG 100 μ g の同時投与および sBGG 1mg と ET 10 μ g の同時投与の効果は生体の状態により異なる。正常な成体ではどちらの場合にも抗体産生を誘起するが、500R 照射成体では aBGG 投与群は抑制状態になり ET 投与群は抗体産生が誘起され、5mg CY 処理の成体および新生児ではともに特異的免疫抑制を誘導する。

以上の実験結果と免疫機構に関する知見から、特異的免疫抑制の誘導機構について図6に模式的に示すような仮説を考えた。

生体内での抗原のふるまいには二通りある。一つは体液中に存在し、免疫応答細胞に直接到達するもの、一つは RES 系によって処理されてから到達するものである。前者は抑制原情報で sBGG はほとんどこの作用のみをもつ極端な例であり、後者は免疫原情報で食作用を受けやすい aBGG はこの経路をたどる。免疫応答細胞

(X細胞)には抗原決定基を認識できる抗体類似の受容体を想定する^{1,18,19)}。この受容体は免疫原情報とは完全に相補的な構造をもち、両者が結合するとX細胞が抗体産生細胞へと増殖分化するための引き金がかかる。抑制原情報は免疫原情報のアナログとして受容体の一部と結合できるが、情報として不十分のために増殖分化をひき起こすことができない。

抗原情報の標的細胞に関しては、抗体産生細胞系列において次のように考える。免疫原情報の標的細胞は、X細胞とX細胞からZ細胞（抗体産生細胞）へと分化途中の細胞であり、抑制原情報の標的細胞は免疫原情報の標的細胞すべてとS細胞（幹細胞）からX細胞へ分化する途中の細胞（X'細胞）²⁰⁾である。X'細胞は、受容体をすでに所有しているが他に未熟なところがあって免疫原情報をうけとつても抗体産生細胞へ増殖分化できないか、あるいは体質的にはX細胞と同じだが、場所的に抑制原情報にさらされやすいが免疫原情報は到達しにくいようなところに存在している細胞であるかもしれない。

この仮説に従えば、抑制原による特異的免疫抑制の誘導には、X細胞の多少にかかわらず、体液中の抗原濃度がある閾値以上になることが必要である。免疫原と抑制原の混合物を用いた場合に、特異的抑制の誘導を容易にするには二つの方法が考えられる。一つは免疫原を免疫原情報に変換する機構（おそらくはマクロファージ）の働きを阻害することである。他はX細胞以上の分化した細胞はなく、X'細胞以下の未分化の細胞のみが存在する状態にすることである。X線照射は前者、CY 投与は後者、新生児は前者または後者あるいは両方ともの条件をみたしている状態であろう。

謝辞 Endoxan および実験動物の一部を供与して下さった塩野義製薬研究所に感謝の意を表する。

文 献

- 1) DRESSER, D. W. and MITCHISON, N. A., 1968 : Adv. Immunol., 8, 129.
- 2) SCHECHTER, I., BAUMINGER, S. and SELA, M., 1964 : Biochem. Biophys. Acta, 93, 686.
- 3) SMITH, R. T., 1961 : Adv. Immunol., 1, 67.
- 4) NACHTIGAL, D. and FELDMAN, M., 1963 : Immunology, 6, 356.
- 5) LINSFORTH, W. D. and WEIGLE, W. O., 1965 : J. Immunol., 94, 430.
- 6) SCHWARZ, R. S., 1965 : Prog. Allergy, 9, 246.
- 7) 村松 繁, 1965 : 第5回ウイルスシンポジウム記録(京大ウイルス研報), P.39.
- 8) DRESSER, D. W., 1962 : Immunology, 5, 378.
- 9) FREI, F. C., BENACERRAF, B. and THORBECKE, G. J., 1965 : Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A., 53, 20.
- 10) CLAMAN, H. N., J. Immunol., 91, 833.
- 11) MAKINODAN, T., ALBRIGHT, J. F., PERKINS, E. H. and NETTESCHEIM, P., 1965 : Med. Clin. N. Am., 49, 1569.
- 12) GALLILY, R. and FELDMAN, M., 1967 : Immunology, 12, 197.
- 13) COHEN, M. W. and THORBECKE, G. J., 1963 : Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 112, 10.
- 14) 村松 繁・川口 進, 1967 : 細胞化学シンポジウム, 18, 45.
- 15) NETTESCHEIM, P., MAKINODAN, T. and WILLIAMS, M. L., 1967 : J. Immunol., 99, 150.
- 16) AISENBERG, A. C., 1967 : J. Exp. Med., 125, 833.
- 17) ARGYRIS, B. F., 1968 : J. Exp. Med., 128, 459.
- 18) THEIS, G. A. and SISKIND, G. W., 1968 : J. Immunol., 100, 138.
- 19) LESKOWITZ, S., 1968 : Ann. Rev. Physiol., 30, 157.
- 20) NOSSAL, G. J. V., SHORTMAN, K. D., MILLER, J. F. A. P., MITCHELL, G. F. and HASKILL, J. S., 1967 : Cold Spring Harbor Symp. on Quant. Biol., 27, 369.

北川正保(阪大・医研) : 1) 免疫反応の判定に immune elimination を使用された理由は何か。血中抗体価だけでなく網内系の機能なども関与してくるので複雑になるのではないかと。

2) チャレンジおよび immune elimination に使用した抗原はどういう形のものか。soluble と aggregated form に分離して使用するのか。両者の抗原決定基の相違などの影響は無視できるか。

3) 単純に考えると化学反応などの起こり方は可溶性

のものの方が aggregate よりも起こりやすい。とすると可溶性抗原は非常に反応しやすく $X \rightarrow Y \rightarrow Z$ の移行が急速に起こる(細胞増加をあまり伴わないで)。その結果 X, Y 細胞の exhaustion が起こったとは考えられないか。可溶性抗原ではそれが起こりやすく、みかけ上抑制的にみえるので実際はあまりにも免疫原性が強過ぎるとも考えられるのではないかと。

答 : 1) 市販の BGG には狭雑物があるが、特異的免疫抑制になるのは主成分に対してだけである。他の狭雑物は血流中からは早く消失するため、immune elimination 法を用いれば主成分に対する免疫状態だけを判定できる。定量性という点では欠陥があるが、定性的には簡明な方法である。immune elimination における網内系の働きは X 線照射や CY 投与に相当安定であることは、チャレンジして6日目、まだ immune elimination のおこる前に、それらの処理をしても正常な immune elimination を示すことよりいえると思う。

2) チャレンジには 63°C で20分間熱処理したものを、aBGG と sBGG に分離せずそのままアジュバントと混ぜて使用した。約50%の aBGG を含んでいる。immune elimination には sBGG を ICI 法でラベルしたものをを用いた。私達の方法では sBGG と結合できる抗体の産生について判定しているが、aBGG が aBGG のみと結合する抗体産生を誘起するとしても、その影響は無視できると思う。

3) 御指摘のようにレセプターとの結合は sBGG の方が起こりやすいと思うが、実際は量的に比べて aBGG の方が有効である。これについては、細胞は体液中からの抑制原情報よりもマクロファージを通しての免疫原情報をうけとりやすい場所に存在するためとか、X細胞にはレセプターが多数あって、そのうちの少数でも免疫原情報と結合すれば抗体産生細胞へと増殖分化できるが、抑制状態になるにはすべてのレセプターが抑制原情報と結合する必要があることなどが推察できる。レセプターが抑制原情報と結合すると X細胞は分化するかどうか問題だと思うが、aBGG に比しての sBGG の量的必要性、あるいは aBGG やエンドトキシンにより sBGG の抑制力が妨げられることなどから、sBGG とレセプターの結合物が積極的な働きをしない可能性の方があってはならないと思う。

浜岡利之(阪大・内科) : 1) レセプターは抗体のようなものと考えておられると思うが、X細胞とY細胞との関係はレセプターとの関連においてどのような位置づけをしておられるか。

2) もし X細胞と Y細胞が同じもので、Y細胞と称せ

られるものがX細胞期といわれる集団が増加したものと考えると、Y細胞は免疫経過に従ってレセプターのアフィニティが上っていくことが Mitchison の実験によって知られている。もし貫兄のいわれたモデルでsBGGがレセプター上に直接に結合することが免疫抑制に結びつくとなれば、より免疫後期の方が抑制状態を誘導しやすくなると考えられる。しかし実際には免疫後期になるほど抑制を誘導しにくいと思われる。この矛盾をどう説明されるか。

答：1) 私達の仮説に従ってY細胞の特異的免疫抑制を考える場合には、X細胞とレセプターが全く同じであるかどうか(免疫原情報が同じかどうか)ということやレセプターの合成能力などが問題となるが、データもなく今後の問題としたい。Y細胞のレセプターはその由来したX細胞のレセプターと、少なくとも抗原決定基と結合する部分は同じであると思う。

2) 私達の仮説では、アフィニティーの強い抗体ほど少ない免疫原で産生が誘導され、より少ない抑制原で抑制が誘導されるということになるが、その可能性はあると思う。partial tolerance ではアフィニティーの弱い抗体が産生されているという報告 (THEIS, G. A. and SISKIND, G. W., 1968: J. Immunol., 100, 138) もある。

抑制原は抗体の存在下では抗原抗体複合物をつくり免疫原となる。この抗体の影響を完全に除いたときに、2次反応の特異的免疫抑制の誘導が1次反応のときよりも困難であるかどうかはまだ疑問のあるところだと思う。2次反応においても同程度に誘導可能であるという報告 (SISKIND, G. W. and HOWARD, J. G., 1966: J. Exp.

Med., 124, 417) もある。

藤井源七郎(東大・医科研)：sBGG は、分子量や免疫学的特性、たとえば沈降線の形成などで、BGG の生理食塩水溶液と異なるか。

答：BGG の生理食塩水溶液には sBGG の他に高速遠沈で沈殿する約2割の蛋白質を余分に含んでいるが、電気泳動や寒天内二重拡散法では同一のパターンを示す。

中島 泉(名大・医・細菌)：1)成体マウスはaBGG, BGG-ET をさらに多量与えることによって抑制を誘導できないか。

2) 非免疫原といわれる sBGG 以外の蛋白抗原、いわゆる弱免疫原、強免疫原ならびに多糖類抗原の大量投与による特異的免疫抑制の成立機構もすべて本質的に同じと考えておられるか。

3) X線照射の時期によりアジュバント的作用が発現して、逆に sBGG による抑制の不成立が認められた例はなかったか。

答：1) 理論的には“overloading paralysis”と名づけられている機構により誘導できると思う。しかし必要な抗原の量が現実的に実行可能な量であるかどうかはわからない。

2) “overloading”の場合には、一部のX細胞は免疫原情報により増殖分化するために、それらの細胞の exhaustion を必要とするかもしれない。しかし sBGG による特異的免疫抑制の機構はすべての場合に本質的な役割を果たしていると思う。

3) X線照射と sBGG の投与時期を変えた実験はしていないので、アジュバント的作用の有無はわからない。

免疫生物学会
シンポジウム 2,
27~30 (1968, 東京)

補 体 系 の 抑 制

西 岡 久 寿 弥 (国立がんセンター・ウイルス部)

I. 免疫抑制の問題点

免疫抑制という命題は、各種のアレルギー性病変の阻止、移植組織排除の阻止などという医学的目的から出発して、その作用点から、抗体産生の支配系、抗体産生そのもの、あるいは抗体の抗原との作用点の阻止にむけられて来ている。その研究の過程において、抗体産生の統御機構、抗体分子の生成機序について多くの理解が得られているが、免疫抑制の問題は抗体が産生され、それが抗原と結合するという時点までの問題であるので、生体内の免疫現象全体を抗原抗体反応を基点として前後に2分すると、いわば前半分 (afferent) の課題であるといえる。

抗原抗体反応が基礎となって誘導される各種の免疫現象では、抗原と抗体の結合が発起点になっていることはいうまでもない。しかし、免疫病変にみられるべく大なエネルギーを要する現象が、抗体分子と抗原の結合だけで誘起されるとは考え難い。細胞溶解という一つの例をとってみても、抗体分子だけでは、膜の破壊を誘導することはできない。それにひきつづいて起る補体系あるいはリンパ細胞などが活性化されて、標的細胞の膜に障害を与えることがこの現象の出現に必須であり、その過程の解析と反応にあずかる物質の追究が、現在まで補体研究の分野において進められてきた。したがって、免疫抑制の問題として補体系の阻止をとりあげることは、免疫現象全般のうち、抗原抗体反応の起こったあとの後半 (efferent) の分野の問題に補体系がどれだけ関与しているかを明らかにし、免疫抑制の医学的な課題に対して一つの新しいアプローチの方向を示すものになるであろう。

現実には、免疫抑制のために抗体グロブリンの産生阻止あるいはその統御機構の抑制を試みるとき、抗体産生全般の抑制を招いてしまって、問題とするアレルギー病変乃至は組織障害抑制とともに生体防衛機構にあずかる免疫系の破壊をもたらして、所期の目的を達成することができない場合がほとんどすべてである。この問題を克服するためには、一つは、afferent な系においては、関与する抗原に対する抗体のみの特異的な抑制方法が樹立されなければならない。efferent な系においては、抗原抗

体反応に基づいた生体内の反応機構が、いかにして生体防衛として作用し、いかにしてアレルギーないしは組織障害病変として作用するかの機序を明らかにして、生体防衛に関する免疫機構を温存しながら組織障害性の免疫機構のみを抑制する方法を明らかにすべきである。

II. 補体系抑制の標的

われわれの問題としている補体系の反応が抗原と抗体の反応で動起されたあと、生体防衛反応と組織障害性反応とにどのような過程のもとにつながっているのかということに対する基礎的な理解が、上述の立場からみても免疫抑制の方法論を確立する上からも最も重要であり、それは反応にあづかる物質の免疫化学的な解析とその生物学的活性の同定によって漸次明らかにされつつある。われわれが1959年補体第3成分群の研究にとりくんだ当時には、組織障害性反応の代表である免疫細胞溶解現象も、生体防衛反応の代表ともみられる免疫粘着現象や免疫食菌現象も、いずれも抗原と抗体と当時知られていた補体第1 (C_1)、第4 (C_4)、第2 (C_2)、第3 (C_3)、の4成分がいずれも関与していることはわかっていたが、免疫学のパラドックスといわれる防衛反応とアレルギー反応を補体成分の関与の様式の上では説明できなかった。われわれは当時知られていた C_3 が単一の物質でないことを知り、我々は DEAE セルロースクロマトグラフィではじめて、免疫粘着現象と細胞溶解に必要な C_{3c} と細胞溶解反応にのみ必要な C_{3b} 、 C_{3d} 、 C_{3f} を分離し、この二つの反応に関与する血清蛋白質が異なることを明示した^{1,2)}。

免疫食菌反応も免疫粘着と同じ補体成分の要求を示すことが明らかにされ^{3,4)}、溶血反応にはさらに C_{3c} 、 C_{3f} の必要性が明示された^{5,6)}。

かくして、補体成分は現在9つの蛋白質からなることが明らかになり、その命名法が WHO によって1968年⁷⁾ 表1に示すように明らかにされた。表1ではそれらの物理化学的性状をまとめて表示するが、蛋白質の精製純化の進展と相まって極めて比活性の高い成分がえられるとともにその生物活性や各種アレルギー性病変成立との関連が漸次明らかにされてきた。 C_1 にはエステラーゼ活性があり、 C_1 、 C_2 、 C_3 とともに反応することによって、

表1 モルモット補体成分の物理化学的性質*

	沈降価数 (1)	分子量 (2)	電気泳動 速度 (3)	等電点 (4)	DEAE (5)	CM (6)
C1	19S	100万	0.59 0.34 0.08	5.3 1 6.0	—	—
C4	7.7S	22万	0.34	5.90	0.14	0.13
C2	5.7S	13万	0.49	5.33	<0.05	0.05
C3	8.2S	21万	0.20	6.25	0.07	0.14
C5	7.6S	21万	0.43	5.10	0.12	0.15
C6	5.7S	14万	0.10	6.63	0.02	0.14
C7	5.0S	12万	0.25	5.78	0.06	0.12
C8	7.8S	19万	0.25 0.34~	6.34	0.03	0.20
C9	4.5S	6万	0.49	5.18	0.09	0.25

(1) FUGMAN による。濃縮速度を配速法による。(2) 質量による。(3) および Sephadex ゲル濾過法からの計算。(4) 西岡、横、森、岡田、関根、島男: Immunolysoelectrophoresis 法。Albumin を 1.0 とした相対値。(5) 西岡、electrofocussing による値。(6) DEAE セルローゼカラム。pH 1.5, 0.005 M phosphate buffer 温度 2~4°C における elution のみられるイオン強度。(7) CM セルローゼカラム pH 5.0, 0.05 M Acetate Buffer, 2~4°C における elution のみられるイオン強度。(8) (6) は、西岡、LINS-COTT; 井上、NELSON; NELSON, JENSEN, GIGLI, 田村らの成績による。

免疫粘着現象、免疫食菌現象がおこるが、さらに C₃ が反応するとアナフィラトキシン (anaphylatoxin) が形成される。アナフィラトキシンは、血管の透過性の変化をきたす物質または平滑筋の収縮にあずかる物質として、抗原抗体補体の反応の結果産生される因子であるとされていた。この因子は、C₃ が抗原抗体-C₁, C₄, C₂, C₃ の反応系と作用した結果生成される分解産物であり分子量が約 10,000 の物質であるが、C₃ をトリプシン処理しても生成される^{9,10)}。同じような作用をもちながら、作用機転の異なるものと推定される分子量約 6,800 の物質が、C₃ の分解産物としてえられ、その作用上、アナフィラトキシンと名づけられている^{11,12)}。交差脱感作の面からみると C₃ の分解産物とは異なっている¹⁰⁾。

アレルギー炎症のもうひとつの特徴である白血球浸潤を誘導する因子として chemotactic factor がある。これは C₆, C₇ が反応して産生される¹³⁾。同じ作用をもった因子が C₃ とプラスミン系の反応によって産生され、これは物質的には異なるものである¹⁴⁾。

C₃ はまたそれ自身ベクターゼ活性をもち¹⁵⁾、conglutinin activating factor (KAF) の作用を受け、ウシ血清中に存在する物質と特殊血清反応をして conglutination 反応をおこす¹⁶⁾。

以上の観察の上に立って免疫抑制を試みるならば、従

来までの免疫抑制が、無差別的に免疫グロブリンの産生をおさえ、角をためて牛を殺すの嘆きを繰り返していたのに比べると、それぞれの補体成分の既知の免疫病理学的意義を利用すると、それに起因する免疫現象に狙いを定めて阻止をする可能性が提示されてきた。しかしながら、生体内におけるそれぞれの免疫現象はその機序が必ずしも一様でなく、たとえば免疫食菌現象の場合には、抗原、抗体、C₁, C₄, C₂, C₃ の反応でおこるときと、抗原-抗体 (IgG) だけで起こるときとがあり、アナフィラトキシンにしても、C₃, C₅ の両段階で生成され、あるいは chemotactic factor の産生が C₆, C₇ の反応でおこるときと、C₃, C₅ の段階においてもみられることが知られている。さらに補体系以外の系の動員により、類似の現象が起こりうる可能性も除外できないので、抑制効果の上からも自ずから限界があることは当然である。

現在最も精製の進んでいる C₃ 分子の問題をとりあげても、これが、アナフィラトキシン生成、白血球走化性、免疫細胞溶解現象、免疫粘着現象、peptidase 活性等と多岐な生物学的活性をもつことが示されてきている。

C₃ は、抗原抗体-C₁, C₄, C₂ の作用をうけて分解し、C_{3a} フラグメントが反応液中に出る。このフラグメントはアナフィラトキシン活性を示し、さらにプラスミン系と反応して白血球走化性を示すことが明らかになった¹⁷⁾。

抗原抗体系に結合した C₃ からはトリプシン処理によって、C_{3a} フラグメントが遊離され、同時に C₃ の溶血活性がそう失するが、ヒト血清との免疫粘着活性は保たれている。さらに C₃ inactivator 処理によって、C_{3a} フラグメントの遊離があり、免疫粘着活性を消失し、トリプシン処理をくりかえすことによって、抗原抗体結合物に結合して抗 C₃ 血清と反応する最後のフラグメント C_{3b} が遊離される¹⁸⁾。これらの C₃ のフラグメントはそれぞれ抗 C₃ 血清との反応性から同定されているが、補体成分の示す免疫学的活性は、今や各成分のもつ意義からさらにそれぞれの成分を構成するサブユニット、フラグメントの反応基の解析に進展しているので、より化学的、分子構造的な実体の把握が近くなり、免疫抑制のねらいを定める試みも焦点がさらにしぼられてきている。

III. 補体系抑制の方法論

補体系抑制の試みには、ふるくから大量の抗原抗体結合物の注射、コルチゾンの大量投与などが行なわれてきているが、その副作用を考慮するとき、前述の無差別免疫抑制と大差はない。上述の如く、補体抑制の標的の焦

* WHO の命名法は、補体各成分の命名を決定すると同時に、それらの成分のサブユニットとしてのフラグメント、ポリペプチド鎖の命名規則をも決定した。すなわち、C_{3a}, C_{3b} としてペプチド結合の分解により形成された補体成分 (C₃) フラグメントを名付け、α, β, γ 鎖として、補体成分のポリペプチド鎖と命名する。

点が漸く絞られてきた時点において、その標的をねらった方法に基づくべきことはいうまでもない。コブラ毒から分離した無毒性の venom factor C¹⁹⁾ は、モルモット、ラット、イヌに注射することにより、C₃ の活性をほとんど低下させるので、たとえばモルモットが抗フォルスマン抗体によってアナフィラキシー死が起こるのを救い¹⁹⁾、ラットのマスキ腎炎の発生が抑制され²⁰⁾、ブタからイヌへの移植腎の生着延長が認められている¹⁹⁾。venom factor C は、効果が一過性であるためと高分子物質であるためにともなう抗原性が障害となっているが、ねらいを定めた補体系の抑制への一つの方向を示している。

進藤ら²¹⁾の発見した強力な抗補体剤 Cu-chlorophyllin は、C₂, C₃, C₅ の強力な阻止剤であるが²²⁾、生体に対する毒性は極めて少なく、微量で抗補体作用を示す。藤井²³⁾の明らかにしたところでは、マウスの抗体産生能には何ら影響なく、同種移植片の生着期間の延長が認められているが、無限生着にはならなかった。この薬剤は、passive cutaneous anaphylaxis における抗体グロブリンの組織定着を完全におさえ、またその反応阻止が、他の薬剤の補体の溶血活性阻止能力と平行関係にあり、補体成分の添加によって、passive cutaneous anaphylaxis の反応が回復される事実から、抗体グロブリンの皮膚組織固着過程に補体系の関与のあることと、その抗補体剤による阻止現象を報告した。このことはさらに進展されて、ヒトのアレルギー反応の代表的なものである Prausnitz-Küstner 反応の阻止が証明されている²³⁾。

in vitro において狙いを定めこれを *in vivo* の系にもどしてその効果を追究するこれらの実験遂行の過程において、生体全体を場として病変の比較検討をおこなうときにはより複雑な因子があり、流血中の過剰の補体成分およびそれらの特異的な inactivator の介在を考慮にいと、明確な結論が求めがたいことを痛感する。その困難をさけて、病変を局所に限定して観察し、その局所病変に、各種の抗補体剤および特異的阻害剤を作用させて対照の正常群との比較をする方法は有効なアプローチとなろう。病変を局所に皮内に限定した passive cutaneous anaphylaxis や、眼房水²⁴⁾、関節液中²⁵⁾の補体系に関する解析は、それらの局所が、免疫病変上、特有な組織であることと相まって、*in vivo* の問題を解析する重要な手がかりとなっている。

直接には補体抑制の問題と関係がないが、遺伝的に補体成分の欠如が知られているウサギ²⁶⁾、ハツカネズミ²⁷⁾、ヒト^{10, 11)}における免疫病変を正常のそれと比較し、さらに欠如成分の補給による病変の修飾をみることは、補体

抑制の問題に一つの方向を与えるであろう。

一方、*in vitro* における補体成分の精製の進歩にともなう活性測定の進展にともない、正常血清中には補体成分を特異的に阻止する inactivator の存在が示されてきている²⁸⁾。これはたんに *in vitro* における補体成分の活性測定に影響する因子だけでなく、生体内における各種の免疫現象、とくに補体の関係している現象の統御機構に液性調節因子としてホメオスタティックに働いていることが示唆されてきている。C₂ が欠如しているため、angioneurotic edema に罹患すると想定されていた症例が、実際にはその血清中に、正常人には存在している C₁ inactivator が欠如しているため発症すると考えられるにいたった。C₂ 欠如という現象は血清中でいったん活性化された C₁ がその調節因子である C₁ inactivator が欠如しているため、とどまるところなく C₂ に作用してこれを消費した結果であり、さらに C₃, C₅ にまで補体系の反応が進捗して、血管透過性因子の産生にいたる病変をたどるものであることが示唆されている。このように補体成分の生物学的活性と、現在知られている補体の3つの成分に対する自然に血清中に存在する特異的な inactivator の挙動を明らかにすることは、*in vitro* における補体系の役割を、*in vivo* における免疫病変の病因追究に結びつける最も基礎的なアプローチと考えられる。C₁ inactivator の上述のようなホメオスタティックな調節の作用に対応して、C₃ inactivator についても、PCA 反応の阻止²⁴⁾ や Prausnitz-Küstner²⁵⁾ 反応の阻止作用が観察されている。

従って補体系の阻止の問題は、補体各成分の活性の抑制から進展して、さらに血清中に存在することの知られているこれらの特異的な inactivator の活性の増強、あるいは、各成分および inactivator の生産の制御に進展しなければならない。

文 献

- 1) NISHIOKA, K. and LINSFORTH, W. D., 1963 : J. exp. Med., 118, 767.
- 2) LINSFORTH, W. D. and NISHIOKA, K., 1963 : J. exp. Med., 118, 795.
- 3) NELSON, R. A. Jr., 1965 : The Inflammatory Process, The role of complement in immune phenomena, Chap. 25, 819.
- 4) GIGLI, I. and NELSON, R. A. Jr., 1968 : Exp. Cell Res., 51, 45.
- 5) INOUE, K. and NELSON, R. A. Jr., 1965 : J. Immunol., 95, 355.
- 6) INOUE, K. and NELSON, R. A. Jr., 1966 : J. Immunol., 96, 386.
- 7) Nomenclature of Complement, Bull. W. H. O.,

- 39, 935 (1968).
- 8) LEPOW, I. H., RATNOFF, O. D. and LEVY, L. R., 1958 : J. exp. Med., 107, 451.
- 9) JENSEN, J., 1967 : Science, 155, 1122.
- 10) COCHRANE, C. G. and MÜLLER-EBERHARD, H. J., 1968 : J. exp. Med., 127, 371.
- 11) DIAS DA SILVA, W. and LEPOW, I. H., 1967 : J. exp. Med., 125, 921.
- 12) DIAS DA SILVA, W., EISELE, J. W. and LEPOW, I. H., 1967 : J. exp. Med., 126, 1067.
- 13) WARD, P. A., COCHRANE, C. G. and MÜLLER-EBERHARD, H. J., 1965 : J. exp. Med., 122, 327.
- 14) WARD, P. A., 1967 : Protides of Biol. Fluid., 15.
- 15) COOPER, N. R. and BECKER, E. L., 1967 : J. Immunol., 98, 119.
- 16) LACKMANN, 1967 : *Advances in Immunol.*, 6, 479.
- 17) BCKISCH, V. A., MÜLLER-EBERHARD, H. J. and COCHRANE, C. G., 1969 : J. exp. Med., 129, 1109.
- 18) NISHIOKA, K., KAWACHI, S. and OKADA, H. : in preparation.
- 19) NELSON, R. A. Jr., 1966 : *Surv. Ophthalmology*, 11, 498.
- 20) 宮川衛三 : 私信
- 21) SINDO, T., HAGA, K., FUJII, G. and NISHIOKA, K., 1966 : *Japan J. exp. Med.*, 36, 489.
- 22) OKADA, H., NISHIOKA, K. and SINDO, T., 1969 : *Immunology*, 16, 473.
- 23) FUJII, G., SUZUKI, M., HIROSE, Y., GOTO, S., ISHIBASHI, Y., HAGA, K. and SINDO, T., 1966 : *Japan J. exp. Med.*, 36, 499.
- 24) NISHIOKA, K., TACHIBANA, T., DOI, R., NAKAMURA, H. and OKADA, H., 1967 : *Protides of Biol. Fluid.*, edited by H. Peeters, 15th Colloquium, (Bruges) p. 419 Elsevier, Amsterdam.
- 25) TORISU, M., SONOZAKI, H., ITO, K. and SHIRASHI, S., 1968 : *J. Immunol.*, 101, 1095.
- 26) 嶋田孝吉, 1967 : *アレルギー*, 16, 812.
- 27) 園崎秀吉, 荒田 孚, 鳥巢要道, 1966 : *アレルギー*, 15, 917.
- 28) ROTHER, U. and ROTHER, K. Z., 1961 : *Immunitätsforsch.*, 121, 224.
- 29) ROSENBERG, L. T. and TACHIBANA, D. F., 1962 : *J. Immunol.*, 89, 861.
- 30) AUSTER, K. F. and SHEFFER, A. L., 1965 : *New England J. Med.*, 272, 649.
- 31) TORISU, M., ARATA, H., SONOZAKI, H. and MAJIMA, H., 1967 : *J. Immunol.*, 99, 629.
- 32) TAMURA, N. and NELSON, R. A. Jr., 1967 : *J. Immunol.*, 99, 582.

免疫生物学会
シンポジウム 2,
31~42 (1968, 東京)

薬剤の作用からみた免疫 1 次反応

松本 雄雄, 大津絃一郎 (武田薬品・生物研)

免疫反応に影響を与えるといわれる薬剤についてはこれまで膨大な報告がある。しかしそれらの多くは基礎研究として種々の特徴を有する化合物を単に免疫反応のメカニズムの解明手段として用いたにすぎなかった。そして得られた知見が、薬剤としての作用機作と免疫反応との相関性が十分証明されないまま、免疫抑制剤という概念で臨床研究にもちこまれてしまったといえる。それだけに免疫抑制剤という言葉には現在でも多くの矛盾が内

包されていて結局それが薬剤としての臨床的評価を困難にしている原因ともなっている。免疫抑制作用の本質的なものをとらえるためにはひつきよう薬剤の免疫反応に対する作用機作を明確にすることにつぎと思われるが、この点に関する研究は意外に少なく、ŠTERZL¹⁾, SCHWARTZ²⁾ および BERENBAUM³⁾ らの報告が目立つのみである。

以上のことから、われわれは薬剤の作用点から免疫反

表 1 A summary of effective chemical agents to immune responses.

Drugs	Antigen	Species	Systems in which immuno-suppression evaluated	Treatment	Results
Alkylating agents					
<i>Busulfan</i>	SRBC	Mice	Plaque forming cells	100mg/kg	(+)
	TAB vaccine	Mice	Agglutination	100-125mg/kg	(+)
<i>Cyclophosphamide</i>	SRBC	Mice	Hemagglutination, PFC	20-200mg/kg	(+)
	SRBC	Rats	Hemagglutination	20mg/kg	(+)
	TAB vaccine	Mice	Hemagglutination	100mg/kg	(+)
	Vi antigen	Man	Tolerance	7mg/kg × 7	(+)
	Skin	Mice	Allograft survival	200mg/kg	(+)
	Skin	Rats	Allograft survival	100mg/kg, post-treat.	(+)
	Skin	Guinea pig	Allograft survival	20-25mg/kg	(+)
	Skin	Rabbits	Allograft survival	25-40mg/kg	(+)
	Kidney	Man	Graft function	50mg/kg	(±)
	Tumor	Mice	Tumor growth	15-30mg/kg	(+)
	Marrow cells	Rats	Graft v. host reaction	10mg/kg × 3	(+)
	Oxazolone	Guinea pig	Delayed hypersensitivity	10mg/animal	(+)
	Ovalbumin	Guinea pig	Anaphylaxis	10mg/animal	(+)
<i>Melphalan</i>	SRBC	Mice	Hemmagglutination	15mg/kg, pre-treat.	(+)
<i>Nitrogen mustard</i>	Bovine serum, BGG	Rabbits	Precipitin, tissue lesion	2mg/kg	(+)
	Horse serum	Rabbits	Serum sickness	0.5mg/animal	(+)
	<i>Salmonella</i>	Rabbits	Agglutination	1mg/kg × 4	(+)
	<i>Tubercle bacillus</i>	Rabbits	Delayed hypersensitivity	1mg/kg	(+)
<i>TEM</i>	SRBC	Mice	Hemagglutination	0.25-0.5mg/kg × 5	(+)
<i>Thio-TEPA</i>	Toxoid (<i>Diphtheria</i>)	Mice	<i>In vitro</i> 2ndary reaction	6mg/kg, pre-treat.	(+)
Antibiotics					
<i>Actinomycins</i>	SRBC	Mice	Hemagglutination	0.75/kg, pre-treat.	(+)
	SRBC	Guinea pig	Hemolysis	50-75mcg/kg, post-treat.	(+)
	SRBC	Rats	Hemagglutination	75mcg/rat	(+)
	SRBC	Mice	PFC inhibition	10-20mcg/kg	(+)
	SRBC	Rabbits	Agglutination	10mcg/100g	(-)
	Toxoid (<i>Diphtheria</i>)	Mice	Passive hemagglutination	0.025mg/kg	(+) or (-)

表 2 A summarized results of the effect of drugs upon various types of immune responses.

Classification	Medical use or activity	Mode of action	Effects on :			
			Antibody production	Immediate allergy	Delayed allergy	Autoimmune diseases
Alkylating agents						
<i>Busulfan</i>	anti-cancer	antimitotic	(+) pre-treat.			
<i>Cyclophosphamide</i>	do	radiomimetic	(+) post-treat.	(+) anaphylaxis	(+) contact derm.	(+) SLE, granulomatosis
<i>Nitrogen mustard</i>	do	do	(+) pre-treat.	(+) serum sick	(+) tissue lesion	
<i>TEM</i>	do	do	(+) post-treat.			
<i>Thio-TEPA</i>	do	do	(+)			
Antibiotics						
<i>Actinomycins</i>	anti-cancer	antimitotic, DNA binding	(+) <i>in vitro</i> , (+) <i>in vivo</i>			(-) kidney
<i>Azaserine</i>	do	glutamine-inhibitor	(+) combination			(+) kidney
<i>Chloramphenicol</i>	antimicrobial	protein synthesis inhibition	(+) <i>in vitro</i> , (+) <i>in vivo</i>		(+) nephritis	(+) skin
<i>Mitomycin C</i>	anti-cancer	antimitotic, DNA block	(-) <i>in vivo</i>		(+) contact derm.	(-) kidney
<i>Paromycin</i>	antimicrobial	antimitotic, tRNA block	(+) <i>in vitro</i> , (+) <i>in vivo</i>			(+) Thyroid allografting
<i>Chromomycin hemisuccinate (CHS)</i>	anti-cancer	RNA block	(-) post-treat.			
Corticosteroids						
	hormones	gluconeogenesis, lymphocyte-lytic	(+) pre-treat.	(+) anaphylaxis Arthus	(+) EAE, tuberculin	(+) SLE, nephritis, etc.
Plant-alkaloids						
<i>VLB</i>	anti-leukemic	antimitotic	(+) post-treat.	(-) anaphylaxis	(+) vaccination	(+) skin allograft
<i>VLC</i>	anti-leukemic	antimitotic	(+) post-treat.			(+) skin allograft
<i>Colchicine</i>	gout-therapy	antimitotic	(+) post-treat.	(+) serum sick		

応のとくに初期の変化を追求することで免疫抑制作用の本質をとらえようと試みた。

1. 薬剤の多面性と免疫抑制作用

よく知られているように薬剤の作用は多面的で複雑である。一方、免疫抑制作用というものも前に述べたごとく薬理学的にはきわめて抽象的な概念であって単純な規定は難しい。要するに臨床目的としてはある条件で獲得された免疫性 (adaptive immunity) のあるものを特異的に除去することにある。しかしこのこと自体には本質的には大きな矛盾と無理があることは否定出来ない事実である。そのことを承知の上あえて免疫抑制作用というものゝを規定しなければならないとなれば、薬剤の有する多面的な作用の中から比較的選択的に免疫反応に働き得るものを探すということも一つの方法であると思われる。

われわれはまず、これまでの資料を再整理することによって候補となる薬剤を選ぶことを企てた。たとえば免疫抑制作用を有するといわれる薬剤を種類別、抗原別、免疫反応の測定法、および薬剤の投与方法などから分類したり (表1*)、あるいは薬剤の作用機作、使用目的、および免疫反応の種類別すなわち血清抗体産生、即発型、および遅発型アレルギー、自己免疫疾患、臓器あるいは腫瘍の移植免疫などそれぞれに対する効果によって分類して (表2*) みると次のような傾向が認められる。

1) 多くの抗原に対して誘発される種々の免疫反応に対して一様に抑制作用を示す化合物は免疫反応に対して比較的選択性がある。

2) 現在までの資料から上記の条件に合致するのはコルチコステロイド、アルキル化剤およびプリン系の核酸代謝拮抗剤の3種である。

この傾向は現在この3種に属する薬剤が最も臨床的に用いられる頻度が多いことから納得出来るが、他剤については表に示すごとく未検討の部分も多いので完全な比較は困難である。今後の検討次第では変り得ることも予想される。

さらに、これらの化合物の免疫反応に対する効果をこまかくみると、抗原感作前に投与した場合のみ作用を示すものと、感作後に投与すると効果があるものに分けることが出来る。前者には主としてコルチコステロイドが、後者には代謝拮抗剤が属する。故にコルチコステロイド系の化合物は色々の魅力的な作用は有するが選択性に欠けるところから免疫抑制とは異質のものと考えられる。

*: 表1と表2の詳細については紙面の都合で一部のみに止めたので、興味ある方は著者らの論文¹⁾を参照されたい。

きであろう。アルキル化剤については化合物によって種々の傾向がある。たとえば図1と2に示すように5種の化合物を比較してみると、抗原 (ヒツジ赤血球) 感作前に投与して効果を示すのは Myleran (Busulfan, Mablin) および #838 (N-methyl-bis (3-mesyloxypropyl) amine hydrochloride)¹⁾ のみであった。しかし、抗原感作後では Myleran, Nitromin および #864 (Bis (3-mesyloxypropyl) amine hydrochloride)¹⁾ にはほとんど作用がなく Cytoxan に著明な抑制作用が認められた。すなわち、この5種のアルキル化剤の中では Nitromin および #864 が投与方法に関係なく抗体産生抑制を示さず、Myleran は前処理でのみ作用を有し、#838 は多少無作為的なので結局選択性が認められるのは Cytoxan のみであることになる。このような傾向は他のアルキル化剤についても同様である (表2)。

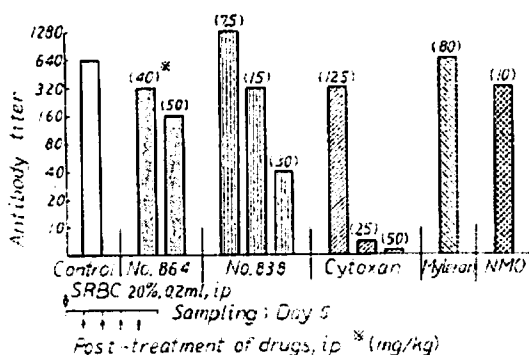


図1 Effects of treatment of drugs before antigen-injection on the primary hemagglutinin responses in mice.

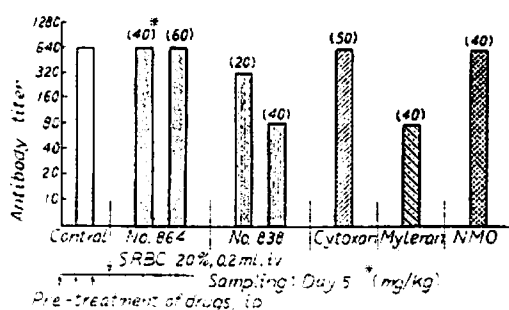


図2 Effects of treatment of drugs after antigen-injection on the primary hemagglutinin responses in mice.

次に Cytoxan を中心として、これらの化合物の有する作用と免疫抑制作用との関連性について考察を加えてみる。

免疫担当細胞との関係から薬剤の白血球減少作用と免

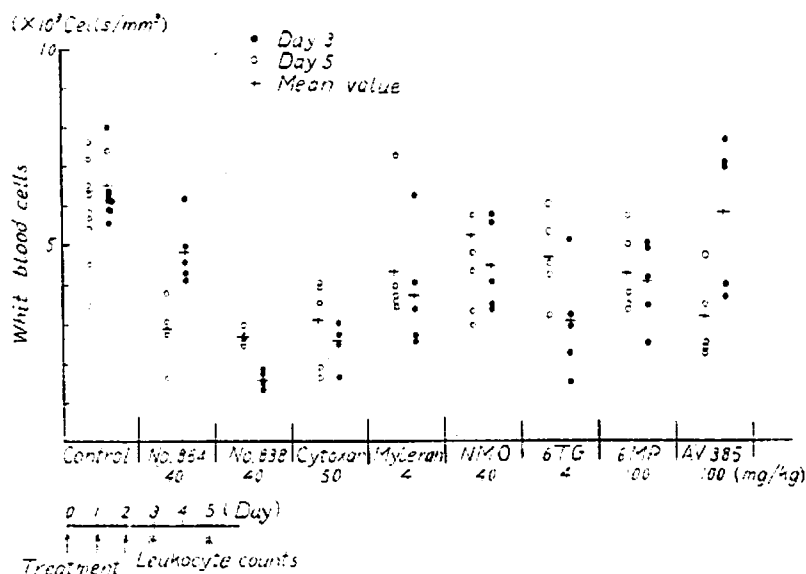


図3 Depressive activity of some kinds of alkylating agents and antimetabolites to whole leukocytes in peripheral blood of ICR mice. Cross-bar indicates the mean value.

疫抑制作用との類似点がしばしば指摘されるが、末梢血中の全白血球減少作用を検討した例(図3)でも、あるいは血液学的に differential counting に対する結果⁹⁾をみても特別の相関性は認められない。骨髄障害性および抗腫瘍性(結節腫瘍)に対しても関係がないといわれる⁹⁾。しかし、後述するごとく Cytosin のように流血抗体産生抑制の著明なものは一般的に白血球減少作用も強い傾向はあるが、特定の血液細胞に対する親和性はない。

急性毒性との関連性はとくに臨床使用に際して重要である。SANTOS²⁾は LD₅₀ 値との関係を検討し投与量が LD₅₀ 値に近づくに従って抑制作用が著明になる化合物(Cytosin, Methotrexate)と、一定値以後変化のないもの(6-MP)などに分け得ることを示した。DIETRICH⁸⁾も LD₅₀ 値とマウスのヒツジ赤血球に対する抗体産生抑制必要量(50%抑制)との比をとって Cytosin 11.3, 6-TG 3.9, 6-MP 2.8, azathioprine (Imuran) 2.2, などと表わして比較した。この結果から興味あることは流血抗体産生抑制および白血球減少作用の著明な傾向を有する Cytosin が化学療法係数的に大で、6-MP, azathioprine などのごとく流血抗体産生抑制作用がそれ相顯著ではないが、臓器移植とか腫瘍同種移植(図4)などに効果を示すものが小であることである。このことは表2の傾向からも示されており薬剤の作用から免疫反応を区別し得る可能性が出ている。KIMBALL⁹⁾も 6-Mercaptopurine-arabioside や 6-MeMPR-OP (periodate

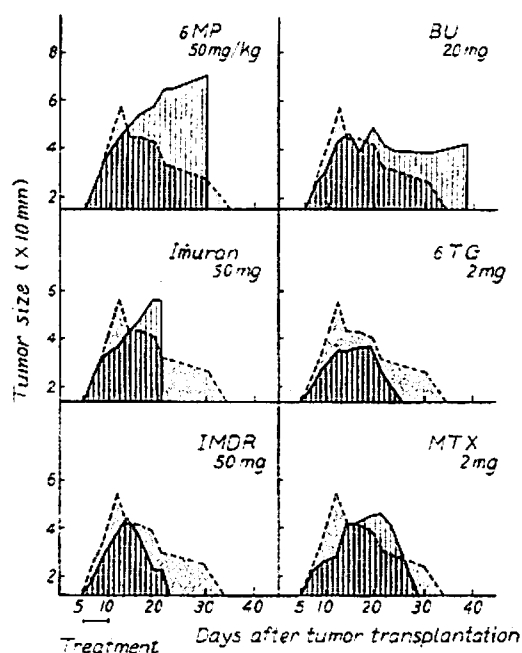


図4 Growth patterns of Walker carcinosarcoma 256 in allogeneic rats after treatment of drugs. Treatment started 5 days after tumor transplantation and continued for 5 days.

oxidation product of beta-D-riboseyl-6-methylthiopurine)¹⁰⁾が血清抗体産生抑制を示さないのに皮膚生着延長作用を有することを認め、薬剤の作用からこれら2つ

表3 Summary of the biological effects of some alkylating agents and antimetabolites in rats and mice.

Compounds	Anti-leukemic activity	Immunosuppressive activity			Leukopenic activity
		Antibody production		Tumor homograft	
		Pre-treat.	Post-treat.		
No. 864	+	-	±	±	±
No. 838	+	+	+	±	+
Mablin	-	+	-	±	±
Nitromin	-	-	-	±	±
Cytosan	+	-	+	±	+
6-TG	+	-	+	±	+
6-MP	+	-	+	+	+
AV 385	+	-	+	+	±
Azathiopurine	-	-	+	+	-

の免疫抑制作用に分離性があることを指摘している。

ともかく以上の結果および考察から薬剤の免疫抑制作用について次のような規定を加えることが出来る。

1) 核酸代謝阻害作用を示す化合物は一般に免疫抑制作用を有する。

2) 抗原感作前処理で抑制作用を示す化合物は免疫反応にとくに選択性を有しない。

3) 抗白血病および白血球減少作用の著明なものも必ずしも免疫抑制作用が顕著ではない(表3)。

4) 免疫抑制作用を有する化合物の中で流血抗体産生抑制の著明なもの、移殖免疫抑制作用の著明なものがあり、これら2つの作用に分離性が認められる。前者の作用を示すものの多くはアルキル化剤に属し、後者にはプリン系の代謝拮抗剤が多く、これらの関係はたとえば図5のごとく表わすことが出来る。

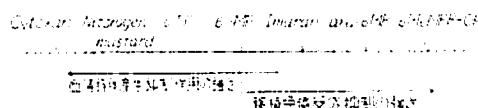


図5 薬剤の免疫反応抑制作用の位置づけ(一つの考え方)

しかしこれらの結果はあくまで現在の資料に基づいて、きわめて単純なわりきり方で整理した場合の一つの傾向であって、今後の検討次第では異なった結果が得られる可能性も十分ある。いずれにしても本質的な免疫抑制作用を規定するためには系統的で広汎な研究調査が行なわれねばならない。

II. 薬剤による免疫1次反応の抑制機序

1) 抗原処理と薬剤処理との時間的關係(タイミングの問題): BERENBAUM¹²⁾ は薬剤の免疫反応に対する作用は投与のタイミングで結果がきわめて異なることを指摘

している(time dependence of the effects of chemical immunosuppressive agents)。この問題は薬剤の抑制機序を明確にするために重要である。前に述べたことから一応選択的作用の認められるものとして Cytosan (cyclophosphamide) および 6-TG (6-Thioguanine) を選んで免疫初期反応に対する作用を少しこまかく観察してみよう。

20%ヒツジ赤血球浮遊液(SRBC)を0.2ml ICRマウスの腹腔内に感作して後、種々の時間に cytosan 50 mg/kg、および 6-TG 4mg/kg を腹腔内に単独投与して抑制程度をみると図6-aと7-aに示すごとくいずれの場合も感作後48時間に投与すると最も抑制作用が著明に表われる。しかし完全抑制には連続投与を必要とする。

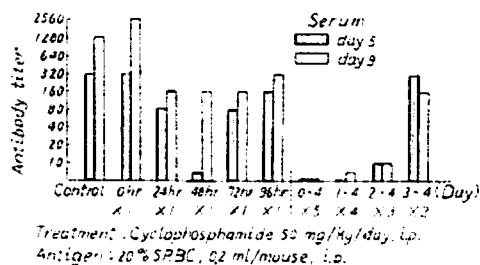


図6a The effects of the time of a single or repeated treatment of cyclophosphamide on the primary hemagglutinin response.

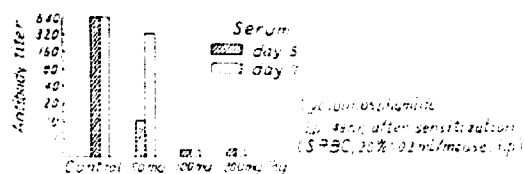


図6b The effects of the dose of a single administration of cyclophosphamide on the primary hemagglutinin response.

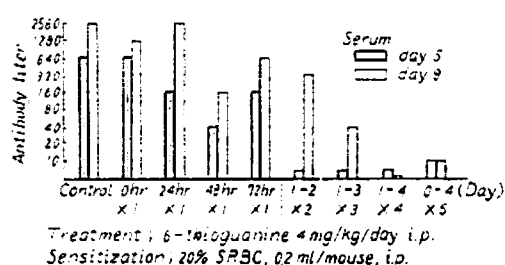


図7a The effects of the time of a single or repeated treatment of 6-thioguanine on the primary hemagglutinin response.

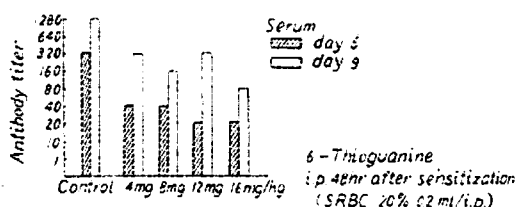


図7b The effect of the dose of a single administration of 6-thioguanine on the primary hemagglutinin response.

これらの傾向はこの2種の薬剤ともによく類似しているが、さらに抗原感作48時間目に投与量を変えて与えた場合抑制効果は6-TGでは変らないがCytosanは極めて

著明に抑制を示している(図6-b, 7-b)。このことは、勿論薬剤のメタボリックな変動は除外視出来ないにしても、投与量を増加させることで抑制作用が強くなるのは無作為であることを意味する。なぜなら、これらの薬剤の作用機作から恐らく免疫担当細胞の核代謝を阻害することによって細胞の増殖を抑制していると考えられ、免疫反応の過程では一定の時期には一定数の増殖期の細胞のみが障害を受けると考えられるからである。この意味でCytosanよりも6-TGがより免疫反応には選択的に働き得ると判断されよう。

2) 6-TGの抑制機序: 上に述べた結果から、6-TGが免疫反応の過程で一定の細胞群にのみ作用するものとするれば、最初の感作抗原量(priming dose)の程度によっては単独投与で完全抑制が示される作用点があると考えられる。そこで感作量を変えて検討した。 5×10^6 のヒツジ赤血球(SRBC)をマウスの腹腔内に感作した場合、抗体価は7日目をピークとして減少する傾向を示すが(図8)この条件に感作48時間目に6-TGを1回投与すると抗体産生は一時的に抑制されるが直ちに回復し、14日目には対照に比較して高い抗体価を維持していわゆるenhancementがみとめられる。しかし42時間目に投与した場合では14日目において完全に抑制されていることから、6-TGの最適投与時期が抗原感作後36~42時間

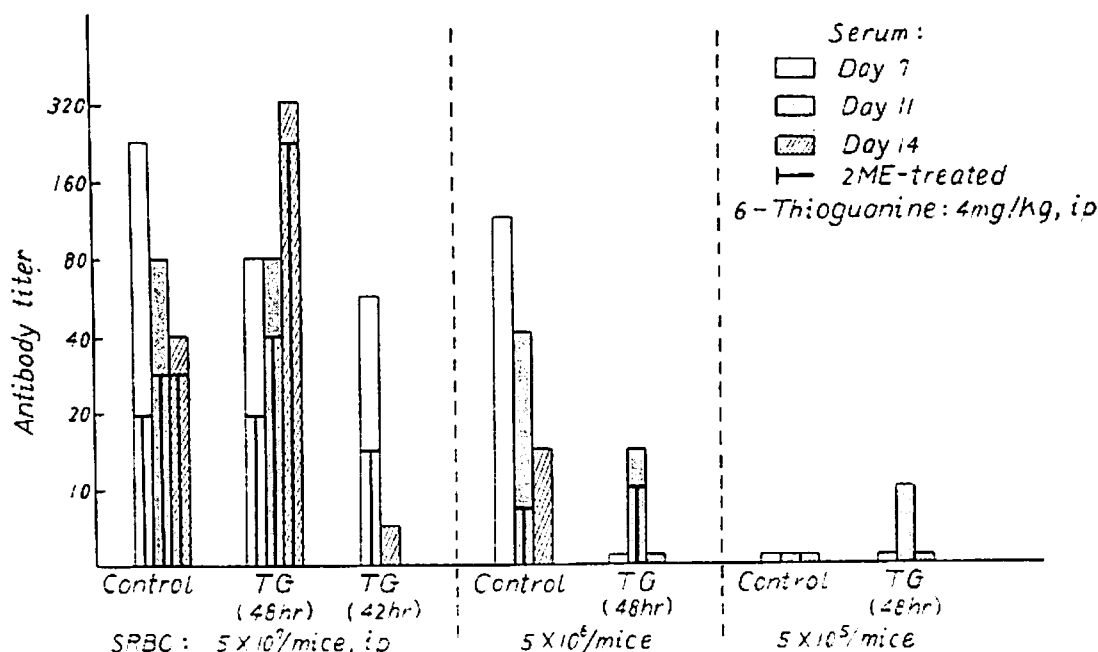


図8 Enhancing and suppressing activity of 6-TG on the primary antibody response to a single administration of varying doses of sheep red blood cells in mice.

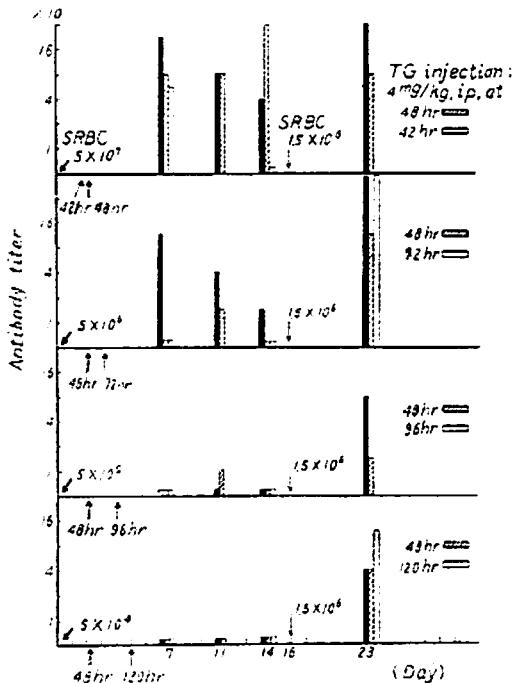


図9 Effects of 6-TG on the primary and secondary antibody responses in mice to a single injection of varying doses of sheep red blood cells (SRBC).

にあることが明らかになった。次にこれらの条件において16日目に2次感作を行なうと対照に比較して、1次

反応で enhancement を示した48時間目投与群の抗体価に減少がみられ、いわゆる免疫記憶細胞 (immune memory cells) の消費 (exhaustion) が起っていることを暗示させる。同じような経過は感作抗原量の少ない場合にも明瞭に認められ、いずれも1次反応において抗体産生が enhance されると2次反応では抗体産生が弱い傾向がある (図9)。しかしこのことは抗原の種類あるいは抗原の生体内での運命と密接な関係があるので、priming dose, それに対応する免疫適格細胞の量的変動および薬剤処理あるいは2次刺激のタイミングなどの微妙なバランスの上に成立っていることに注意する必要がある。

以上の結果は次のように要約することが出来る。

(1) 感作する抗原量あるいは投与する時期によって6-TGの作用は抑制よりもみかけ上抗体産生増強 (enhancement) に働く場合がある。

(2) 免疫反応に関与する細胞群の時間的変動はある範囲内においては priming dose に関係がない。すなわち、priming dose によって決定されるのは免疫適格細胞数などの量的変動であって、分化増殖などの質的な変化は一定である。

(3) ある適当な priming の状態において、1次反応で極端な enhancement がひき起こされると2次刺激に対する反応性が弱まることがある。これは記憶細胞の消費 (exhaustion) によると理解される。

3) 6-TG による抗体産生増強作用 (enhancement) :

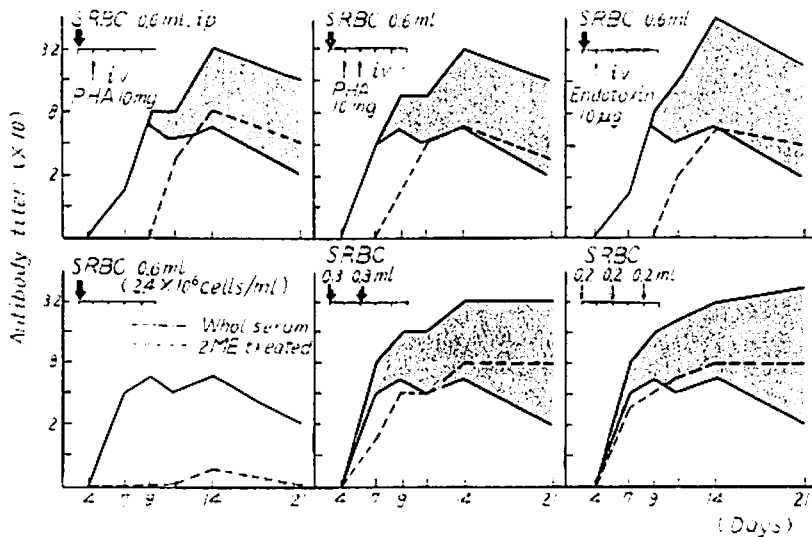


図10 Sequential changes in antibody titers of ME-sensitive and ME-resistant serum of mice to a single administration of sheep red blood cells combined with the treatment of drugs.

priming が一定である場合に何らかの条件づけを加え、結果として抗体価が上昇することは結局抗体産生細胞の maturity が進行したと考えられる。そこで抗原感作後の 7 S および 19 S 抗体の消長を種々の条件づけを加えることによって検討した。

Sprague-Dawley ラットに種々の濃度の SRBC を腹腔内に注入して経日的に血清中の抗体価を測定し、0.1N 2-mercaptoethanol 処理を併用することで 19 S と 7 S 抗体との消長を検討した。(メルカプトエタノール処理のみでは厳密には 19 S, 7 S の表現は正しくないが、予備試験的に Sephadex G-200 による gel-filtration を行なうと 19 S と 7 S との割合を求め、メルカプトエタノール処理の場合とはほぼ一致することをたしかめた)。

図10に示すように0.01%の SRBC 0.6ml (2.4×10^6 細胞)を腹腔内に感作した場合はほとんど 7 S 抗体の出現が認められない。しかし同濃度の浮遊液を 0.2ml ずつ 3回、あるいは 0.3ml ずつ 2回いずれも 24時間おきに分けて感作すると抗体価の上昇がみとめられ、7 S 抗体の出現も著明である。このような傾向は PHA (phytohemagglutinin) あるいは endotoxin を投与した場合にも認められる。すなわちある条件づけを加えることに

よって 7 S 抗体の産生が促進されたと考えられるのである。また、このような条件づけによっても必ずしも抗体価の上昇がない場合もあるが、6-TG などの投与と組み合わせると対照では抑制されるのに反し条件づけを行なった例では 6-TG 投与群に著明な抗体価の enhancement がみられ、潜在的な刺激が行なわれていたことを示している(図11)。

以上の実験結果から、みかけ上の抗体価の上昇 (enhancement) という現象は実は免疫適格細胞群 (immunologically competent cells) の段階的な成熟過程 (maturity) を反映したもので、その度合は1次感作量によって定まるといえることができよう。このような考え方からすれば薬剤の作用点は免疫反応においてはきわめて限られた一面にしかないことになり免疫抑制という問題は甚だ困難なものになってくる。結局実際問題としては、対象とする免疫反応の時間的推移をよくとらえた上で作用点の明確な薬剤を適確なタイミングで投与することによって、免疫適格細胞の特異的増殖を抑制し、いわゆる immunological unresponsiveness の状態を誘導する以外に方法がないように思える。この意味で臨床的に無計画な薬剤投与は厳にいましむべきであろう。

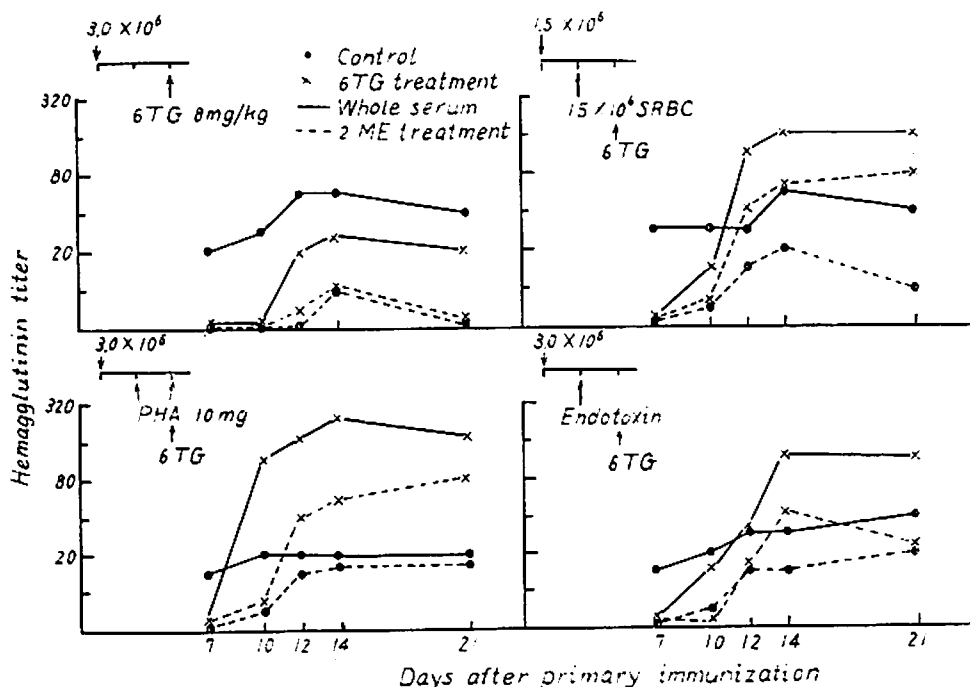


図11 Effects of a single injection of PHA and endotoxin on the primary 19S and 7S hemagglutinin responses in mice to 3.0×10^6 sheep red blood cells. Sensitization and injection of drugs were both made intraperitoneally.

III. 抗体産生の調節機構

通常の免疫反応においては抗体が十分に産生されると血流中の抗体過剰を抑制する機構が働くことが知られている。この点について多くの研究があるが、とくに抗体によって feedback inhibition が働いているという考え方が有力である¹¹⁾。しかしそのメカニズムは未だよく判っておらず、受動的に投与された抗体と抗原決定基が特異的に結合するために免疫原性が量的に減少した結果であると理解されている^{11,12)}。だからこれらはあくまで抗原特異的な抑制機構であることになるが、免疫反応自体に影響し得る抑制機構もあり得るのではないかと考えられる (homeostatic feedback inhibition of antibody production)。

この考え方にもとづいてわれわれは抗体以外の血清成分に抗体産生抑制作用を示すものを求めた。薬剤の問題とは少し異なるが1次反応の仕組みを理解する一つの手掛りとして簡単に触れる。

Sprague-Dawley (SD) ラットに10% (1×10^8 細胞)

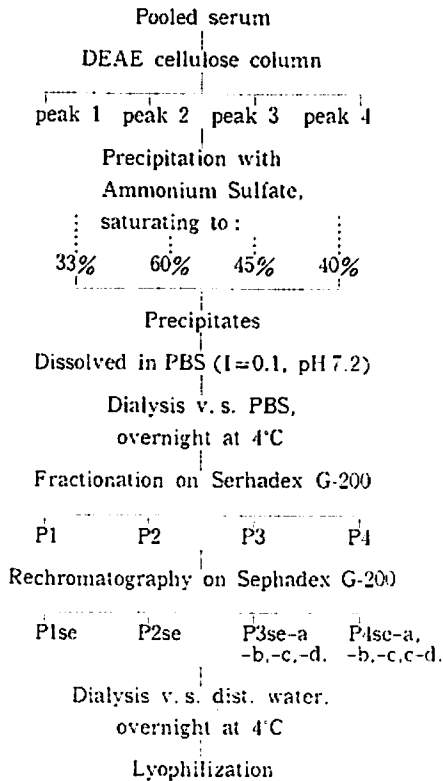


図12 Method for fractionizing antiserum. Pooled serum was dialyzed against 0.01M phosphate buffer overnight and then fractionated on DEAE cellulose column.

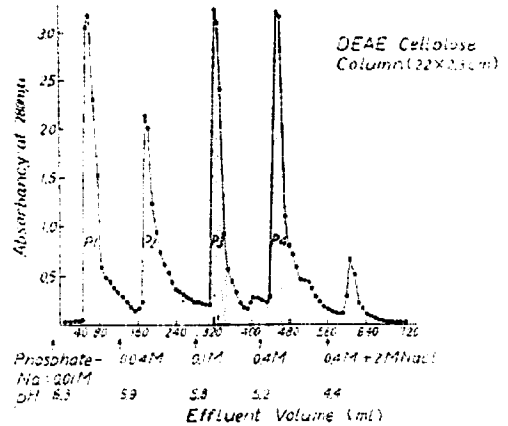


図13 Elution pattern of pooled antiserum on DEAE cellulose. Shadowed parts indicate active fractions.

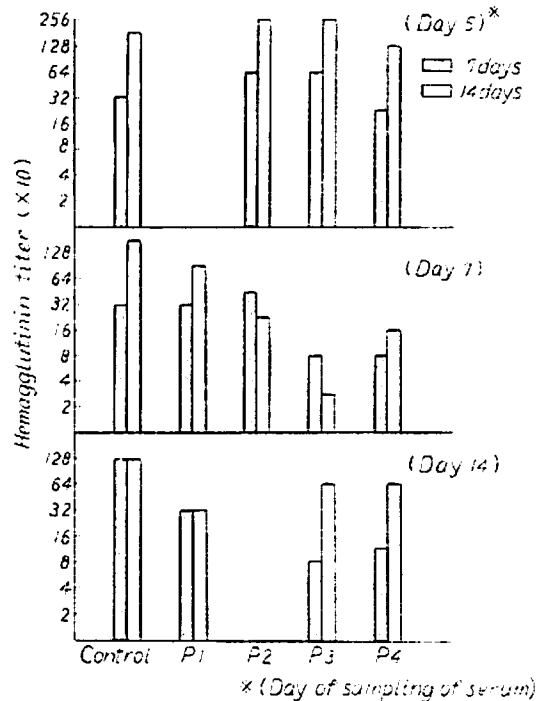


図11 Histograms showing antibody titers of rats treated with various serum fractions in response to a single administration of sheep red blood cells (1%). Treatment of fractions adjusted each to 1% protein concentration was started the day of antigen-injection and continued for subsequent 4 days intravenously.

の SRBC を腹腔内に感作し、5日、7日および14日目
に抗血清を採取してそれぞれ図12のごとく分画した。得
られた分画を蛋白濃度としてはば1%に調整し、SDラ

ットに 1% SRBC 0.5ml を腹腔内に感作した日より連続 5 日間静脈内に 1ml づつ投与して抗体産生抑制程度を検討した。図13に示すごとく血清は DEAE cellulose のカラムクロマトグラフィーによって4つの主成分に分けられるのでこれらを P_1 , P_2 , P_3 および P_4 と称し、それぞれをさらに Sephadex G200 でゲル濾過して大体 2~3 成分の混合物として抑制作用をみた。抑制作用は感作 5 日目に採取した抗血清のいずれの分画にも認められないが、7 日 および 14 日目の抗血清の P_3 および P_4 分画に著明に認められる (図14)。 P_3 および P_4 とともに Sephadex G200 によるゲル濾過を繰り返すことでほぼ 2 成分まで分離できるが、これらは超遠心分析の結果では大体 16S, 19S 程度の沈降恒数を有するが現在精製は未だ十分ではない。電気泳動的に alpha-macroglobulin に属する。

興味あることはこの分画がヒツジ赤血球抗原に対する反応性が極めて弱いことから IgM ではないと考えられることである。物質の同定も含めてこのことは今後の問題であるが、いずれにしても抗原感作後 7 日前後から抗体価がいわゆるプラトーを示す時期に抗体以外の蛋白成分に抑制作用を示すものが出現することは興味深い。

IV. 薬剤的作用からみた免疫初期反応の仕組み

一まとめ一

以上 3 つの立場から免疫反応の過程を考察してきた

が、これらの知見を要約すると図15のように表わすことができる。縦軸に抗原感作後の抗体産生系の時間的推移をとり、横軸に抗原の量的変化をとると抗体産生細胞の分化増殖過程は 2 段階の変化を経て進行すると理解される。すなわち、骨髄から由来した stem cells は何らかの (thymus dependent?) 刺激を受けて免疫適格細胞 (immunologically competent cells; X cells) となって淋巴組織に分布していると考えられている¹³⁾。もし、このような状態にこの実験系の場合のように 1×10^5 以下のヒツジ赤血球抗原が与えられても通常の血清反応では抗体を証明しえないので、免疫適格細胞のあるクローンはいわゆる記憶細胞 (immune memory cells; Ym) として存在していると考えられる。この Ym に相当する細胞は単一の細胞群ではなく、たとえば 19S memory および 7S memory などの complexed cell population であるとする方が現在のところ考えやすい。 1×10^6 個の抗原に対しては $X \rightarrow Ym$ の過程がいったん進行してから、さらに抗原の 2 次接触があって主として 19S memory が作動して 19S 抗体が血清中に出現する。この 19S 抗体産生細胞の分化増殖は 19S 抗体の血清中の推移から判断しておそらく one cycle で終了し、細胞は抗体放出と同時に死滅する (suicidal growth) と思われる。やや多い抗原量 (3×10^6) では 2 次刺激が増加して 19S memory のほかに 7S memory が働いて形質細

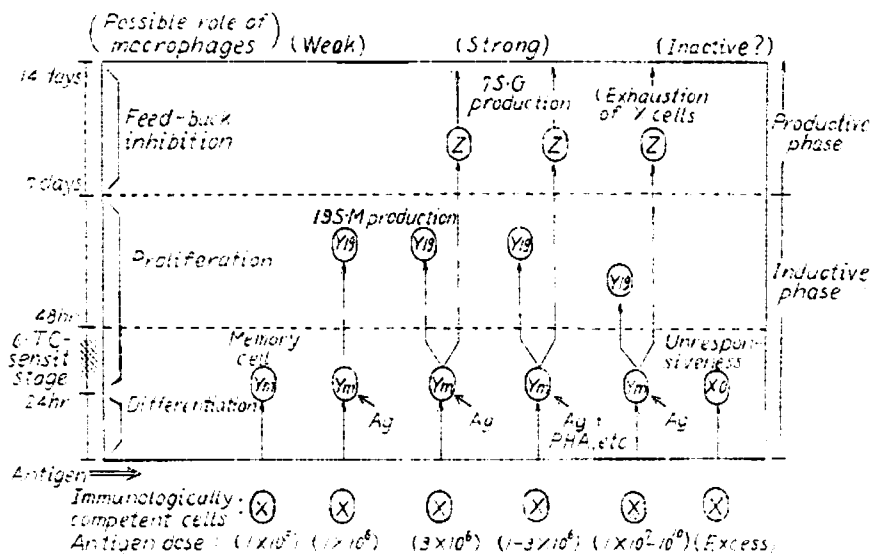


図15 Schematic representation of a possible relationship between antigen dose and antibody production. X; immunologically competent cells. Ym; immune memory cells. Y₁₉; 19S antibody-producing cells. Z; 7S antibody-producing cells. X₀; immunologically paralyzed X cells.

胞(2)への分化増殖がおけるとみられる。抗原がどのような形で2次刺激を行なうかは抗原の種類にもよるであろうし複雑な変化をしていることは考えられる。抗原によっては7Sか19Sのいずれかの記憶のみ動かすものがあるとしても不思議ではない。この点に関してはおそらくマクロファージの関与が最も重要な役割をもっているであろう。浜岡¹⁴⁾らのいうごとく2次刺激が抗原抗体複合体の形で行なわれる可能性も強い。しかし2次刺激で抗原がいかなる機転で19Sと7Sの記憶細胞を区別するかについては不明である。結局、抗原の性状、投与方法、代謝経路あるいはマクロファージのとりこまれ方などのきわめて微妙なバランスの上に立って一つの方向性が与えられていることは想像に難くない。興味あることはこれら記憶細胞の maturity は PHA, エンドトキシンあるいはオリゴスクレオチドなどによっても促進されることである。この場合必ずしも全抗体価の上昇がみられず単に7S抗体産生のみが強調されることもあるので、これらの agents は抗原の種類によっては全く異なった作用を示すこともあり得る。このことから19S, と7S memory とは別の系で動いていると考える方が合理的のように思われる。さらに多量の抗原が与えられる($1 \times 10^7 \sim 10^{10}$)と対応する免疫適格細胞のクローンが一応消費されていわゆる saturation of primary antibody producing capacity の状態に至り、もっと大量では X cells の状態で消費が行なわれ unresponsiveness になってしまうと考えられる。

6-TG の作用点からみて X cells から Ym に至るまでにはほとんど細胞増殖が行なわれていないと推定される。Ym で2次刺激によって増殖が開始されるのは感作後大体36時間目ぐらいから同調的に行なわれ、48時間前後にはある程度終了していると思われる。ただし、これは6-TG の作用が投与と共に直ちに開始されることを前提にしてあるので、6-TG の活性が表われる時間を考慮すると、免疫適格細胞群の増殖は実際はもう少し早く行なわれる筈である。また、6-TG が48時間目に投与されると最初には抑制が示されるが、後には enhancement が起こることは、6-TG によって破壊された細胞の核殻あるいはその分解産物が持続的に分化増殖を行なっている抗体産生細胞の成熟を助長しているともみることが出来る。一方、抗原感作7日目までは増殖が続き抗体価は上昇するが以後抑制機構が働いてプラトーに達し次第に減弱する。この抑制因子は UHR¹⁵⁾ らのいうごとく抗体そのものにもよるだろうが、前にも述べたような抗体以外の物質が homeostatic に働いていると考えても面白いのではない。これも今後の一つの課題であろう。

さらに、薬剤の作用全般について触れたとき、免疫抑制作用は薬剤の作用機作からみても、2つの型すなわち流血抗体産生抑制と移植免疫などの細胞性免疫抑制とに分けうることを指摘した。このことはしかし、この2つの型の免疫反応が異なった系で働いているということを必ずしも意味しない。むしろ図5のごとく2つの極端な現象の表われであって本質的には同じ流れにあるものではないかと考えさせる。たとえば、流血中に抗体が証明出来ない細胞性の免疫反応といわれているものは、それがあくまで抗体の関与ということを問題にするならば、前に述べたことと関連して抗体産生系の仕組みの上では単に流血中に抗体を放出していないだけの状態ではないだろうか。そのことには恐らく抗原認識過程でのマクロファージの役割が最も重要なものの一つであろう。マクロファージの認識が弱い、あるいは抗体産生細胞などが直接抗原認識をしたりする場合には、2次刺激が弱く

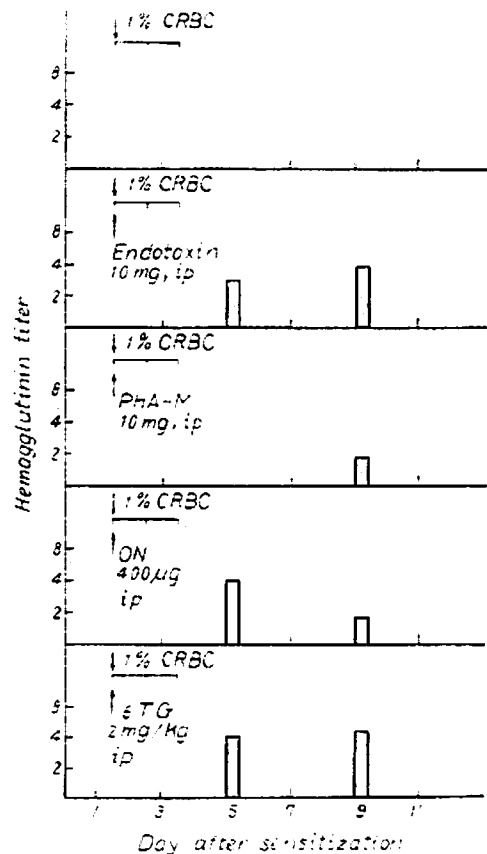


図16 Histograms showing hemagglutinin titers of C57BL mice sensitized with allogeneic C₃H mouse red blood cells and treated with various enhancing agents. ON: oligonucleotides of bacterial origin.

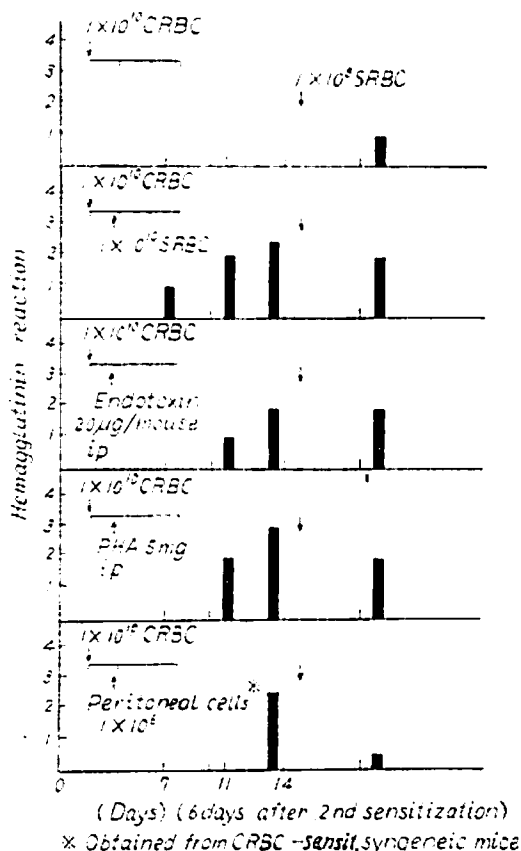


図17 Primary and secondary hemagglutinin response of C57BL mice to allogeneic C₃H mouse red blood cells (CRBC). Peritoneal cells were obtained from syngeneic C57BL mice 2 days after sensitization of C₃H red blood cells, washed carefully with saline and inoculated intraperitoneally into the test animals.
* Obtained from CRBC-sensitized syngeneic mice

流血中の抗体産生として表われず、マクロファージの認識が強いと流血抗体産生に至るなどと考えることが出来ないであろうか。この考え方の一つの根拠として、たとえば同種血球抗原を用いてマウスを感作し、1次反応で血清抗体が証明出来ない条件において、前に述べたような手段で enhancement を行なわせると血清抗体の産生が認められる(図16, 17)ことがあげられる。この場合興味あることは syngeneic な個体の感作腹腔内細胞を与えても同様に enhancement が起るが、2次反応はやや弱いことである(図17)。すなわちマクロファージなどの RES 系の関与がある量的範囲を超えないと流血抗体産生に至らないように思われる。しかし、流血抗体産生には至らないが抗体を合成している細胞がどのような形でいわゆる細胞性免疫といわれる現象に関与するか

については全くわかっていない。

いずれにしても、薬剤の有する作用の特徴を良く生かして適切な実験系を設定していくことによって、免疫反応の詳細なメカニズムを明らかにすることができよう。免疫抑制の本質もそのような角度を変えた研究方法によって重要な手がかりが与えられ、解明されるように思われる。

文 献

- 1) ŠTERZL, J., 1967: In "Immunity, Cancer and Chemotherapy" ed. Mihich, E., Acad. Press, N. Y., p. 73.
- 2) SCHWARTZ, R. S., 1967: Ibid., p. 203.
- 3) BERENBAUM, M. C., 1967: Ibid., p. 217.
- 4) SAKURAI, Y. and EL-MERZABANI, M. M., 1965: Gann, 56, 575, 589.
- 5) ELSON, L. A., 1967: In "Experimental Chemotherapy", 5, 417.
- 6) BOLLAG, W. and THEISS, E., 1963: Experientia, 19, 683.
- 7) SANTOS, G. W., 1967: Fed. Proc., 29, 997.
- 8) DIETRICH, F. M., 1966: Int. Arch. Allergy, 29, 313.
- 9) KIMBALL, A. P. et al., 1966: Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 121, 929.
- 10) BELL, J. P. et al., 1968: Cancer Res., 28, 782.
- 11) UHR, J. W. and MÖLLER, G., 1968: Adv. Immunol., 8, 81.
- 12) HENRY, C. and JERNE, N. K., 1968: J. Exp. Med., 128, 133.
- 13) NOSSAL, G. J. V., 1966: Ann. N. Y. Acad. Sci., 129, 822.
- 14) 浜岡利之, 北川正保, 山村雄一, 1967: 免疫生物学シンポジウム, 1, 38.
- 15) 松本雄雄, 大津桂一郎, 1968: 武田研究所年報, 27, 197.

浜岡利之(阪大・内科): 19 S の非抗体がヒツジ赤血球免疫の7日目以後に抗体産生を阻害するということが19 S 分画をとられるときにヒツジ赤血球での吸収は行なったか。

答: 吸収はしていないが SRBC に対する反応性がほとんどなかったことから IgM ではないと考えた。また、活性が示される感作7日以後の抗血清では19 S 分画にはヒツジ赤血球に対する抗体が検出できない。

川上正也(群大・微生物): 6-TG が作用する時期は具体的にはいかなる抗体産生の段階にあると考えるか。

答: 免疫適格細胞がやや同調的に細胞分裂を開始し、増殖しつつある時期と考える。おそらく記憶細胞が2次刺激によって次の段階に進行していると推定できる。しかし、一つの考え方を裏証するにはあらゆる角度からの検討が必要であろう。

免疫生物学研究会
シンポジウム 2,
43~44 (1968, 東京)

マウス白血病ウイルスなどによる抗体産生の抑制

小高 健, 滝沢 清, 山浦 煌一 (東大・医科研)

ウイルスによる発癌の機構については、DNA 型ウイルスあるいは RNA 基の Rous 肉腫ウイルスを用いて、多くの知見がえられているが、いまだ最終的解決はみられていない。白血病は、その原発する場所が、胸腺、リンパ腺、骨髓、脾臓等免疫現象に重要な役割を果たしている臓器である点に一つの興味がある。宿主の免疫反応は、腫瘍細胞の増殖に抑制的に働くと考えるのが一般的であるが、白血病の発生機構として、弱い免疫反応の結果、細胞の異常増殖が起るといふ報告も見られる。一方、発癌物質あるいは制癌物質による免疫反応抑制もよく知られた事実であるので、これらを用いた実験の結果を、前演題に対する追加の形で発表する。使用した薬剤は微生物化学研究所竹内博士、北里研究所秦博士の御厚意により分与されたものである。

実験方法

ヒツジ赤血球を DDD または CDF₁ マウスに注射し、脾臓中にあらわれる溶血素産生細胞を Jerne の方法を用いて測定した。原法によって見つかるのを 19S 産生ブラックとみなし、抗マウス γ グロブリン家兎血清を追加することによって見つかるブラックを 19S + 7 S の産生細胞とした。薬剤は Potter のホモジェナイザーを用いて生理的食塩水によく浮遊、あるいは溶解させ、抗原注射日を中心にはさんで連続 5 日間腹腔内に注射した。

実験結果

マウス白血病ウイルスの一つである Friend ウイルス感受性 DDD マウスに感染させてから 4~5 日後にヒツジ赤血球を注射すると、ブラック産生細胞数、血中溶血素価に著明な低下がみられる。これに反して、抗原注射の 1 日後に Friend ウイルスを注射した場合には、著明な脾病変（脾腫）をおこしながらも抗体産生の低下はわずかしきみられない。このことは脾臓が病理学的変化をうけたこと自体が、抗体産生抑制に働いたとする考えを否定し、抗原とウイルス感染の前後関係が重要であることを示している。このような Friend ウイルスによる抑制は、ウイルスに対して抵抗性の C57BL/6 では見られなかった。また、抗体産生の抑制されたマウスの血清

を、sucrose density gradient で超遠心しても、どの分画にも活性があらわれなかったし、このようなマウスの脾細胞と、抗体産生を行なっている対照マウスの脾細胞とを *in vitro* で混合して、Jerney の assay を行なってみても、ブラック数の減少はみられなかったことなどから、阻害物質の関与を証明することはできなかった。

薬剤による抗体産生抑制実験には、(BALB/c × DBA/2)F₁ を用い、ヒツジ赤血球注射後 4 日目と 14 日目にブラック数の測定を行なった。使用した薬剤、Formycin A (20~25 mg/kg × 5 回)、Formycin B (80 mg/kg × 5 回)、Formycin B + 1/10 量の Allopurinol、Bleomycin (25 mg/kg × 5 回)、Phleomycin (2.5 mg/kg × 5 回)、Acetyliomycin (12.5 mg/kg × 5 回)、Blasticidin S (0.6 mg/kg × 5 回) のうち、4 日目の 19S ブラックは Formycin A で著明に抑制され、Bleomycin は中等度の抑制、Phleomycin、Acetyliomycin は 4 匹中 3 匹に中等度の抑制がみられた。使用した濃度の Formycin B および Blasticidin S は無効であった。興味ある点は、Formycin B が全く無効であるのに、これに 1/10 量の Allopurinol を加えると、かなりの抑制をみたことである。14 日目の 19S ブラックは数が少いため明確なデータがえられなかったが、7 S ブラックでは Formycin A による抑制が常にみられた。薬剤のほか、antilymphocyte serum によるブラック抑制もみられた。

今村展隆 (広大・原医研) : 1. ウイルス性免疫抑制の機構について、網内系や抗体産生細胞に対してウイルスが作用することに関しては私も納得する。しかし PFC を用いる場合には細胞数を有核細胞にて算出するので、FV による造血芽球作用の結果、抗体産生細胞の濃度の低下による PFC 減少も起こりうるのではないか。

2. FV のような免疫抑制性ウイルスを用いる場合、ウイルスとヒツジ赤血球が 2 種の抗原として、免疫に関与することになる。したがってその対象としては非免疫性ウイルスを用いる必要があるのではないか。もしデータがあれば御教示いただきたい。

答 : 1. 抗体産生細胞の濃度低下だけが原因とするな

らば、抗原注射後にウイルスを注射してもブラック数が増えるはずであるし、たとえウイルスを抗原より前に与えたとしても脾臓全体のなかには対照群と同じだけのブラック数が検出され、血清抗体も低下しないはずと思われる。このような事実は見られなかった。

2. 直接関係するデータはもちあわせていない。非発

ガン性ウイルスで抗体産生細胞で増殖するものを知らないし、発ガン性ウイルスで抗原性が全くないというものも知られない。持続性のウイルス血症で死亡まで続くことから考えると、Fried ウイルスは抗原として弱いことが想像される。

X線照射マウスに同系由来の胸腺あるいは脾臓の細胞を 移入した場合に観察された抗体産生能の回復

秋山武久, 多田豊卓史, 内山竹彦, 根本一郎 (慶大・医・微生物)

I. ま え が き

実験用小動物に標準抗原を静脈や皮膚・腹腔などの通常の経路から接種しても、胸腺には反応性の細胞変化が出現せず、抗体産生細胞も見出されないことは周知のことである¹⁾。もっとも、抗原を直接に胸腺内に接種すると、局所に免疫反応が現われるところから、いわゆる blood-thymus barrier の存在を仮定して胸腺の細胞の免疫不関性を説明しようとした者もある²⁾が、リンパ節や脾臓の細胞を移入した場合と比べると、胸腺の細胞の graft-vs.-host 反応をもたらす能力は格段に弱いということを確認しなければならない³⁾。

ところが、われわれは先ごろ、致死量以下の線量のX線を全身に照射して、その抗体産生能を障害させたマウスに同系由来のリンパ系細胞を移入して免疫能の回復の状態を調べていた際に、胸腺の細胞を静脈より移入した場合にも、抗体産生能が予想以上に回復してくることに気づいた。

本報はこれまでにえられた実験結果の概略を予報的に報告するもので、胸腺の細胞と対比するために、原則として、同一 donor の脾臓細胞を移入した場合の成績を併記することにした。

II. 実験材料と方法

動物：近交系の DK1 を主とし、一部に C3H/He 系のマウスを使用した。

X線照射：recipient マウスの抗体産生能を障害するためには、180kV, 25mA, 銅 0.5mm + アルミニウム 1.0mm のフィルター、距離 76.5cm, 照射量 24.2R/min の条件下で600Rを全身に照射した。

また、移入細胞の分裂を抑制する目的では、氷冷のガラスシャーレにいた細胞浮遊液に、180kV, 25mA, アルミニウム 1.0mm のフィルター、距離 40cm, 照射量 138R/min の条件下で500Rあるいは2,000Rを照射した。

細胞移入：胸腺あるいは脾臓を成熟マウスから摘出した後に、直ちに、冷ハanks液に浸したまま特製のピン

セット⁴⁾を使ってしごいて細胞懸浮液を作る。次に太めの注射針を装置した注射筒へ吸引、次いで排出を数回くり返してほぼ均等な浮遊液とする。これをステンレス製網 (pore size 0.207mm) を1回通過させた後、軽く遠沈して所定濃度の細胞浮遊液に調整してマウスの尾静脈から移入した。

なお、細胞移入は、原則として、recipient にX線全身照射を行なった翌日とした。

抗体産生能の測定：細胞を移入した直後にヒツジ赤血球の20~30%浮遊液の0.2mlを腹腔に接種し、4~15日後一多くの場合には7日と10日後一に一部のマウスを屠殺し、既報の Jerne 法⁵⁾に従って、脾臓細胞中に含まれる溶血素産生細胞の数を、19S抗体ならびに7S抗体産生細胞に分けて計測した。

III. 実験結果

1. 同系マウス由来の細胞を移入した後での抗体産生能：recipient, donor ともに DK1 系マウスで、移入細胞数は胸腺・脾臓ともに 6×10^7 とした。逐日に一部の

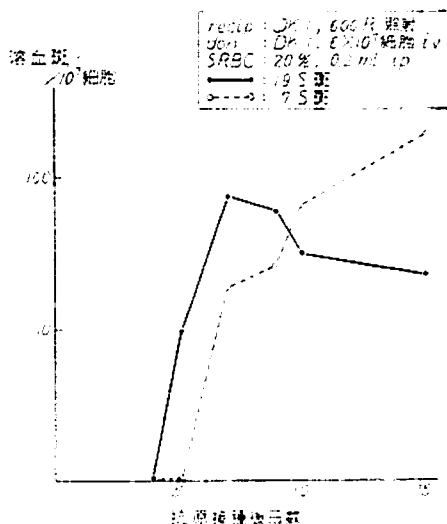


図1 X線照射マウスに同系系脾臓細胞を移入した後での抗体産生能の回復

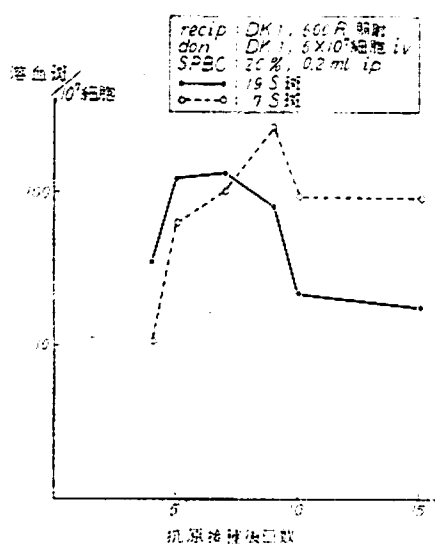


図2 X線照射マウスに同系脾細胞を移入した後での抗体産生能の回復

マウスを屠殺し、これを donor として脾細胞の浮遊液を作って溶血素産生細胞数を計測した結果を図1, 2に示した。その実線は細胞を 37°C に培養後、直ちに補体を添加した時の値を、点線は補体の添加に先だってウサギ抗マウス IgG 血清を作用させた時の値—いずれも4匹以上のマウスの値を幾何平均したもの—を示したもので、それぞれ 19S 斑ならびに 7S 斑と略記した。

これらによれば、胸腺の細胞を移入した群と脾臓細胞の移入群との単位脾臓細胞当りの溶血素形成細胞の数を結んだ抗体産生曲線に本質的な差異を認めなかったが、正常マウスの腹腔内に抗原を接種した場合の抗体産生曲線では 19S と 7S の峰がそれぞれ 5 日と 10 日後に到来した³⁾のに比べて、19S が 7 日後に、7S が 9 日～10 日以後という具合に、それぞれの峰に到達するまでの日数がわずかではあるが、延長していることがわかった。

2. 同種マウス由来の細胞を移入した後での抗体産生能：前述の実験1によれば、recipient マウス脾細胞の単位数当りの抗体産生細胞の数は胸腺の細胞を移入した場合と脾臓細胞を移入した場合とで差を認め難かったが、両群マウスの脾重量には著るしい差があって、屠殺時には、脾細胞移入群の方が全脾細胞数で 5～10 倍以上の値を示すのが常であった。この差が胸腺と脾臓の細胞中に含まれている免疫適格細胞の絶対数の差として理解しうるかどうかが問題となるが、その問題を解く鍵の一つは抗体産生細胞が recipient 由来か donor 由来かを確かめることにあると思われたので、同種由来の細胞を移入した場合にも抗体産生能が回復するかどうか調べてみた。

その結果は表1に示すごとくで、C3H/He 系の胸腺あるいは脾臓の細胞を DK1 系マウスに移入しても、抗体産生能は全く回復しないことが明らかとなって、donor 由来の細胞が抗体産生細胞にまで分化するという可能性

表1 同系、同種細胞を移入した場合の回復

				recip.: 600 R 照射 移入細胞: 3×10^5 i.v. SRBC: 20%, 0.2 ml i.p.		
	抗 原 接 種 後 7 日			抗 原 接 種 後 10 日		
	全脾細胞 $\times 10^5$	19S 斑/10 ⁵ 細胞	7S 斑/10 ⁵ 細胞	全脾細胞 $\times 10^5$	19S 斑/10 ⁵ 細胞	7S 斑/10 ⁵ 細胞
C3H/He 脾細胞	4.9	612.2	816.3	6.9	55.5	1,956.5
	4.4	659.0	795.4	11.1	90.0	1,081.0
C3H/He	4.9	877.5	816.3	6.0	152.7	3,250.0
平 均	4.7	714.9	804.8	7.7	93.5	1,901.8
C3H/He 胸腺細胞	0.6	133.3	66.6	0.75	106.6	66.6
	3.7	470.2	405.4	1.0	90.0	16.6
C3H/He	1.95	384.6	384.6	0.95	221.0	1,491.2
平 均	1.6	289.5	217.8	0.89	129.4	118.2
C3H/He 脾細胞	1.6	0	0	4.4	0	0
	0.9	0	0	5.55	1.8	0
DK1	2.4	0	0			
平 均	1.5	0	0	4.9	1.0	0
C3H/He 胸腺細胞	0.45	0	0	6.1	8.0	8.0
	1.1	0	0	4.85	8.2	10.3
DK1	1.15	0	0	1.7	0	0
平 均	1.1	0	0	3.7	6.6	7.4

があるように思われてきた。

3. 移入細胞数と recipient へのX線照射量を加減した場合の抗体産生能：この実験も溶血素産生細胞の由来を確かめることを目的として行なわれた。なお、recipient, donor とともに胸腺の細胞を移入した時には C3H/He 系マウスを、脾臓の細胞を移入した時には DK1 系マウスを用いた。表2, 3に示すごとく、recipient へのX線照射量は600R, 700R, 900Rと3段階を区別し、移入する細胞の数も普通量の他に、1/5, 1/25に減らした群をもうけた。

その結果、溶血素形成細胞の数は照射X線量の多少にかかわらず、移入細胞数にほぼ平行することがわかった。これも、実際に抗体を作るようになる細胞が donor 由来であるという可能性を妨げないように思われる。

4. 同系感作マウス由来の細胞を移入した後での抗体産生能：この実験では DK1 系を用い、donor マウスには細胞採取の3週間前に、ヒツジ赤血球の20%浮遊液0.2mlを腹腔内に接種しておいた。なお、この時期のマ

表2 移入細胞数と recipient へのX線照射量と回復

recip.: C3H/He 900~600R 照射 don.: C3H/He 脾臓細胞 i.v. SRBC: 20%, 0.2ml i.p.			
胸腺細胞移入	抗原 全脾細胞 × 10 ⁶	接種後 19S 斑/ 10 ⁶ 細胞	7 日 7S 斑/ 10 ⁶ 細胞
900 R	0.1	600.0	200.0
3 × 10 ⁶	0.2	650.0	100.0
	0.05	600.0	200.0
	0.15	400.0	200.0
平均	0.15	866.6	533.3
	0.12	603.2	227.8
750 R	0.2	200.0	150.0
3 × 10 ⁶	0.125	80.0	80
	0.2	1,500.0	350.0
平均	0.17	288.2	204.0
600 R	0.065	769.2	307.0
3 × 10 ⁶	0.75	1,533.3	266.6
	1.15	304.3	26.0
	0.035	1,428.5	0
平均	0.374	833.8	66.4
600 R	0.225	88.8	0
	0.8	37.5	0
	0.225	0	0
	0.1	50.0	0
6 × 10 ⁶	0.3	0	0
	0.356	33.5	0
600 R	0.125	0	0
	0.55	0	0
	0.15	0	0
	0.5	40.0	0
平均	0.366	10.0	0

表3 移入細胞数と recipient へのX線照射量と回復

recip.: DK 1, 900~60R 照射 don.: DK 1 脾臓細胞 i.v. SRBC: 20%, 0.2ml i.p.			
脾臓細胞移入	抗原 全脾細胞 × 10 ⁶	接種後 19S 斑/ 10 ⁶ 細胞	7 日 7S 斑/ 10 ⁶ 細胞
900 R	6.6	4,242.4	3,333.3
5 × 10 ⁶	19.2	2,500.0	2,604.1
	4.9	2,938.7	2,653.0
	17.9	2,346.3	1,787.7
	21.45	2,144.5	1,771.5
平均	12.9	2,628.5	2,218.8
750 R	2.7	18,148.1	9,629.6
5 × 10 ⁶	17.95	1,727.0	612.8
平均	6.95	5,668.5	2,429.8
600 R	3.95	5,569.6	1,443.0
5 × 10 ⁶	17.85	1,736.6	224.0
	32.15	1,337.4	1,026.4
	8.3	2,048.1	2,771.0
平均	10.7	2,279.8	1,161.5
600 R	5.9	830.5	338.9
	6.5	738.4	333.3
	6.85	788.3	729.9
	1.45	1,241.3	1,448.2
平均	4.4	856.8	701.9
600 R	2.15	269.7	186.0
	1.15	130.4	0
	0.3	166.6	0
	4.30	106.9	76.7
平均	1.4	156.9	32.0

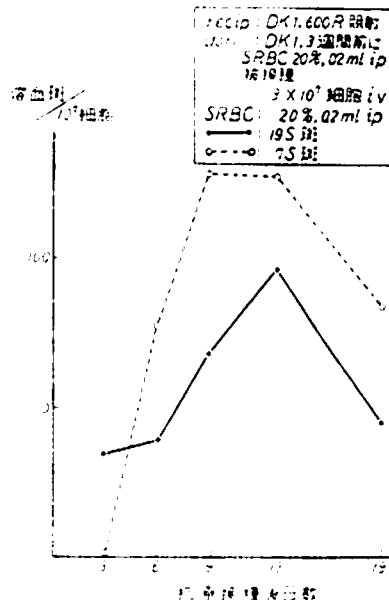


図3 X線照射マウスに感作同系脾臓細胞を移入した後での抗体産生の回復

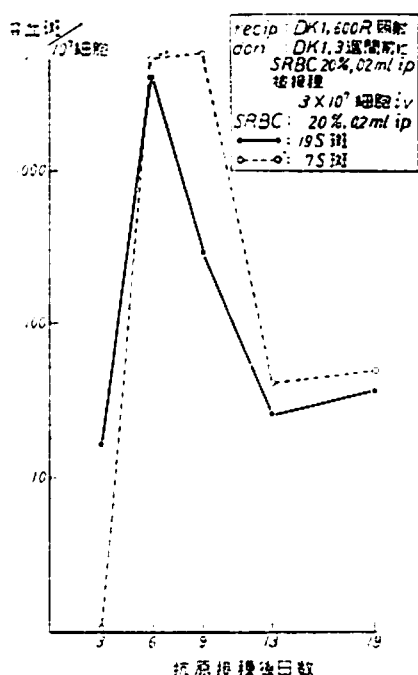


図4 X線照射マウスに感作同系脾細胞を移入した後の抗体産生能の回復

ウスの脾臓内には、一旦増加した抗体産生細胞の数がすでに減少しており、ほとんど感作前の状態にまで戻っていることが経験上わかっていた³⁾。

移入細胞数は胸腺・脾臓ともに 3×10^7 で、移入直後に型のごとく、ヒツジ赤血球20%浮遊液を0.2ml腹腔内に接種した。

逐日に屠殺し、19S抗原と7S抗原の平均値を求めて線で結んだものが図3, 4である。

未感作マウスの脾細胞を移入した場合と感作マウスの

それを移入した場合とでは溶血斑形成細胞数の消長に著しい差のあることは予想されたが、図4に示された抗体産生細胞数の余りにも多いことに驚かされた。われわれは先に報告した³⁾ごとく、既成の血清抗体—19S, 7Sを含めて—の存在によって特異抗体の新生が強く抑制されることを知りえたので、この実験で採用されたような系では既成抗体による抑制が現われ難いために、最も自然に近い姿の第2次応答が観察されたのではなかろうかと考えている。

他方、胸腺の細胞を移入した後の抗体産生曲線も全く予想外であった。19S抗原の消長曲線が7S抗原のそれをはるかに下まわっていたところは、感作脾細胞を移入した場合と同じであって、初回の抗原刺激に対する免疫学的記憶が胸腺の細胞にも保たれていたと理解しておきたい。

5: 同系マウス由来の細胞を移入した後で抗マウスリンパ球血清を投与した場合の抗体産生能: 抗マウスリンパ球血清は既報⁴⁾の方法によって作製したもので、胸腺の細胞の場合は 8.8×10^7 を、脾臓細胞は 5×10^7 を、それぞれ尾静脈から移入して30分後を初回として、前者の場合には2, 4, 8日目に、脾臓の細胞の場合には3, 6日目にも繰り返して抗リンパ球血清—あらかじめ、ヒツジ赤血球で吸収して、抗体による feedback inhibition が起こらないよう心掛けた—の0.2mlづつを腹腔内に接種した。なお、脾臓細胞を移入したマウスの一部では、特に、細胞移入30分後の抗血清の接種を行わずに、3, 6日目の計2回のみ接種した群をもうけた。結果は表4, 5に示すごとく、胸腺の細胞・脾臓細胞のいずれを移入した群でも、溶血斑数の減少は案外にわずかであった。

表4 胸腺細胞移入後にALSを注射した場合の回復

recip.: DK 1, 600R 照射
don.: DK 1, 8.8×10^7 細胞 i.v.
SRBC: 20%, 0.2ml i.p.
ALS: SRBCで吸収 0.2~0.3ml i.p.

	抗原接種後7日			抗原接種後10日		
	全脾細胞 $\times 10^4$	19S抗原/10 ⁴ 細胞	7S抗原/10 ⁴ 細胞	全脾細胞 $\times 10^4$	19S抗原/10 ⁴ 細胞	7S抗原/10 ⁴ 細胞
ALS 移入直後より3~4回	3.25	135.3	492.3	3.71	26.7	6.3
	1.55	64.5	0	4.95	12.1	7.2
	3.0	16.6	10.0	9.12	38.8	92.1
	0.95	136.8	31.5			
平均	1.53	72.2	29.4	5.5	23.2	34.6
ALS 非投与	1.1	18.1	18.1	6.96	120.6	5.1
	1.65	200.0	333.3	4.17	60.4	2.8
	1.8	105.5	5.5	7.08	59.3	5.0
	4.15	50.6	4.8			
平均	2.48	89.2	57.5	5.9	75.2	4.1

表5 脾細胞移入後に ALS を注射した場合の回復

recip. : DK 1, 600 R 照射
 don. : DK 1, 5×10^7 細胞 i.v.
 SRBC : 20%, 0.2ml i.p.
 ALS: SRBCで吸収 0.15~0.3ml i.p.

	抗原接種後 7 日			抗原接種後 9 日		
	全脾細胞 $\times 10^7$	19S 斑/ 10^7 細胞	7S 斑/ 10^7 細胞	全脾細胞 $\times 10^7$	19S 斑/ 10^7 細胞	7S 斑/ 10^7 細胞
ALS, 移入直後 より 3 回	4.4 16.2 18.0	365.9 195.6 115.5	1018.1 117.2 137.7	20.0 12.2 10.05	161.2 47.1 32.3	700.0 286.8 211.4
平 均	10.9	202.8	118.2	13.5	53.6	348.2
ALS, 移入 3 日 後より 2 回	6.6 8.8 17.05	769.6 500.0 593.5	642.4 672.7 1313.7	14.65 13.8 11.8	25.5 38.0 10.5	290.1 362.3 194.9
平 均	9.9	612.8	826.8	13.0	22.8	274.9
ALS 非 投 与	2.55 5.1 29.4	745.0 2415.6 405.4	352.9 2760.7 544.2	22.8 15.1	252.1 223.5	438.5 728.4
平 均	16.4	418.9	376.2	18.5	237.4	554.8

表6 *in vitro* ALS 処理細胞を移入した場合の回復

recip. : C3H/He, 600 R 照射
 don. : C3H/He, 150倍希釈 ALS 室温30分
 脾細胞 5×10^7 i.v.
 胸腺細胞 5×10^7 (非処理), 4×10^7 (ALS)
 SRBC : 20%, 0.2ml i.p.

脾細胞移入	抗原接種後 7 日			胸腺細胞移入	抗原接種後 7 日		
	全脾細胞 $\times 10^7$	19S 斑/ 10^7 細胞	7S 斑/ 10^7 細胞		全脾細胞 $\times 10^7$	19S 斑/ 10^7 細胞	7S 斑/ 10^7 細胞
ALS 処理	2.15 10.9 3.7 0.325 1.1	409.3 513.7 189.1 553.8 3636.3	106.9 366.9 216.2 92.3 1636.3	ALS 処理	0.55 0.425	236.3 70.5	145.4 94.1
平 均	2.8	884.9	235.9	平 均	0.484	128.9	113.8
非 処 理	9.0 7.25 10.9 0.9	2133.3 2206.8 601.8 7111.1	711.1 689.2 256.8 4444.4	非 処 理	0.25 0.2 0.25 0.95	320.0 300.0 80.0 421.0	120.0 0 40.0 21.0
平 均	8.9	2101.8	862.8	平 均	0.33	237.8	64.0

6. *in vitro* で抗リンパ球血清を作用させた同系マウス由来の細胞を移入した後の抗体産生能：胸腺の細胞、脾臓の細胞ともに 2.5×10^7 /ml の割合にハンクス液に再浮遊したものに、最終1:150の割合に非毒性抗リンパ球血清—あらかじめ、ヒツジ赤血球で吸収済み—を添加し、室温に30分間保った後に遠沈洗浄して遊離の抗血清を除いた。なお、これを移入する場合には前者では 4×10^7 、後者では 5×10^7 を移入した。なお、両群ともに、抗血清で処理しない細胞を移入した群をもうけて対照とした。結果は表6に示すごとくで、胸腺の細胞を移入後7日目の7S斑を除いては、胸腺の細胞、脾臓細胞の移入群ともに、抗血清処理群の溶血斑数が明らかに減

少していた。

7. *in vitro* でX線を照射した同系マウス由来の細胞を移入した後の抗体産生能：抗リンパ球血清を *in vitro*, *in vivo* で作用させたのは、溶血斑数の減少の程度を知ることによって、移入細胞—抗体産生細胞へ分化する可能性を考慮している—の抗血清に対する感受性を占って、抗体産生細胞の前駆細胞を同定する際の手掛りを得ておきたいと思ったからに他ならなかった。

移入細胞にあらかじめ、X線を照射するという思いつきも、同様の目的から試みられたものであった。この実験では移入後7日目に動物を屠殺して19S・7S斑の数を別々に計測しただけであったが、脾臓細胞移入群で漸

表 7 *in vitro* X線照射細胞を移入した場合の回復

recip. C3H/He 600R 照射
don. : C3H/He 脾細胞 3×10^4 i.v.
胸腺細胞 3×10^4 i.v.
SRBC : 20%, 0.2ml i.p.

脾細胞移入	抗原接種後 7 日		
	全脾細胞 $\times 10^4$	19S 斑/10 ⁴ 細胞	7S 斑/10 ⁴ 細胞
500R	0.45 0.9	311.1 166.6	44.4 0
平 均	0.63	226.8	30.8
非 照 射	5.55 1.85 6.0 0.275	1095.4 1081.0 406.6 10036.3	381.9 572.9 266.6 7272.7
平 均	2.1	2789.2	491.8

胸腺細胞移入	抗原接種後 7 日		
	全脾細胞 $\times 10^4$	19S 斑/10 ⁴ 細胞	7S 斑/10 ⁴ 細胞
2000R	2.65	156.6	75.4
500R	0.85 1.3 0.575 0.3 0.15	70.5 161.5 34.7 0 2200.0	0 23.0 434.3 0 1200.0
平 均	0.43	445.5	347.4
非 照 射	0.4 0.2 0.9 1.15	225.0 350.0 422.2 478.2	100.0 100.0 33.3 113.0
平 均	0.66	339.5	88.6

血球数の顕著な減少が認められただけで、胸腺の細胞を移入した群では明らかな放射線の影響は認められなかった(表7)。

IV. 考 察

X線の全身照射によって廃絶した抗体産生能が⁹⁾同系動物の脾臓の細胞を移入することによって回復してくることは古くから知られていたが、その後の多くの報告では、脾臓やリンパ節の細胞とは違って、胸腺の細胞を移入しても一旦廃絶した抗体産生能を回復させることはできなかったことが述べられている⁶⁻⁹⁾。

われわれの報告では、これらの研究者の結論と異なって胸腺の細胞にも、X線照射によって廃絶した抗体産生能を回復させる能力のあることを表明しているが、これは移入効果を判定するための彼我の方法に差があるためと思われる。すなわち、前記の研究者らは血清中の抗体価の上昇や脾臓当りの総溶血素産生細胞の数を指標として判定しているのに対して、われわれは脾臓の単位細胞当りの溶血素産生細胞の数をもって回復の程度を判定している。前者の方法に従うと、脾臓やリンパ節の細胞を移入した場合と胸腺の細胞を移入した場合とでは、recipientのその後の脾臓の重量が著しく相違するため、胸腺の細胞の移入効果が過少に評価されるきらいがあるように思われた。脾臓細胞中の溶血素数を計測する場合でも、脾臓当りの数で現わすのと、脾臓の単位細胞数当りの数で現わすのとは、それぞれの研究者の好みによって選択されたものであったが、われわれは脾臓やリンパ節と胸腺とは構成細胞の種類に差があることと胸腺の細胞は胸腺リンパ球を主として少数の上皮性細胞

細胞とマクロファージを含む一、移入された後の再循環や末梢リンパ組織への定着の状況にも差異が認められる¹⁰⁾ことを考慮して、脾臓に定着した特定の細胞—胸腺リンパ球のうちでとくに寿命の長いものに最も注目したい一の機能を探るためには、単位細胞数当りの溶血素の数を抗体産生能の回復の指標とするのが妥当であろうと考えた。

次に、同種由来の細胞を移入した実験や recipient マウスに照射する放射線量を変えた実験の結果からは、溶血素形成細胞の前駆細胞は donor 由来であろうと考えたくなるが、もし、この予想が正しいとすれば、移入細胞—前駆細胞—溶血素形成細胞へと進む分化の過程を追跡する材料としての胸腺の価値は、その細胞構成が簡単であるだけに、軽視しえないように思われる。

また、われわれは移入細胞—胸腺の細胞と脾臓細胞をとわずに一をあらかじめ音波にさらして碎いておいた場合には、溶血素形成が全く観察されないことを知っているが、このことは細胞移入による免疫能の回復が細胞性ないし非細胞性因子による非特異的アジュバント効果の表われでないことを示唆しているといえよう。

抗リンパ球血清の影響が明瞭でなかったことと、*in vitro*でのX線照射の効果が必ずしも明確でなかったことはいささか気がかりであるが、われわれの先の報告¹¹⁾でも、抗リンパ球血清の投与は抗体産生を抑制する力がほとんどないことを知っている。また、問題の細胞種が抗リンパ球血清とX線照射に対してともに感受性を欠いているという可能性をも脳裡に秘めながら、この結果については再現性の有無を十分に検討したい。

文 献

- 1) 秋山武久, 1968: 胸腺—その基礎と臨床, 小林忠義他著 P.96, 医学書院.
- 2) MARSHALL, H. A. and WHITE, R. G., 1961: Brit. J. exptl. Pathol., 42; 379-385.
- 3) 田辺将夫, 秋山武久他, 1968: 移植, 3, 218-228.
- 4) 多田隈卓史, 秋山武久他, 1967: 移植, 2, 166-174.
- 5) MAKINODAN, T. et al., 1960: Mechanisms of

- Antibody Formation, pp. 182-189, Publ. House, Czechoslovak Acad. Sci., Prague.
- 6) KENNEDY, J. C. et al., 1965: Proc. Soc. Exptl. Biol. Med., 120; 868-873.
 - 7) DAVIES, A. J. S. et al., 1967: Transplantation, 5; 222-231.
 - 8) CLAMAN, H. N. et al., 1966: Proc. Soc. Exptl. Biol. Med., 122; 1167-1171.
 - 9) MILLER, J. F. A. P., 1967: Lancet, 2; 1299-1302.
 - 10) GOLDSCHNEIDER, I. and MCGREGOR, D. D., 1968: J. Exptl. Med., 127; 155-168.

胸腺, 虫垂および円小嚢剔除・X線照射家兎の 抗体産生について

紺 田 進 (北野病院免疫血液科),
滝 口 智 夫, 栗 原 二 郎 (京大・医・第2内科),
増 田 徹 (京大・ウイルス研・病理部)

家兎虫垂が胸腺と同じく免疫機構の発達に非常に重要な役割を果たしていることが、すでに Good らによる虫垂剔除実験より明らかにされてきている。われわれも彼ら^{1-7,13)}と相前後して虫垂剔除実験を試み、家兎虫垂が血清抗体産生能の発達に一つの役割を演じていることを明らかにしてきた。

生後24時間以内に胸腺ならびに虫垂を剔除し、生後6週に腸チフス菌およびヒツジ赤血球を静注し腸チフス菌H-凝集素およびヒツジ赤血球凝集素産生能を検したところ、Table 1 に示すごとく、腸チフス菌H-凝集素産

Table 1 Antibody response to *Salmonella typhi* in rabbits* thymectomized and/or appendectomized at birth.

Group	Number of animals	Agglutinins to <i>S. typhi</i> Mean titer ($\log_2$)	Standard error
Controls	21	11.08	1.54
Thymectomy	10	10.25	1.08
Appendectomy	9	7.43	1.52
Thymectomy and appendectomy	25	8.56	1.45

C---Tx : not significant
C---Ax : $p < 0.001$
C---TxAx: $p < 0.01$

* All rabbits were immunized intravenously with 0.1mg of formalin-killed *S. typhi* at 6 weeks of age. These antibody measurements were performed on 7 day sera.

Table 2 Antibody response to sheep red blood cells in rabbits* thymectomized and/or appendectomized at birth.

Group	Number of animals	Agglutinins to SRBC Mean titer ($\log_2$)	Standard error
Controls	6	7.15	1.95
Thymectomy	6	4.43	3.08
Appendectomy	6	5.65	0.94
Thymectomy and appendectomy	6	3.71	2.71

C---Tx : $p < 0.2$
C---Ax : $p < 0.2$
C---TxAx: $p < 0.05$

* All rabbits were immunized intravenously with 2ml of 20% suspension of sheep red blood cells at 6 to 7 weeks of age. These antibody measurements were performed on 7 day sera.

生能は胸腺剔除家兎 (Tx) では正常に保たれていたが、虫垂剔除家兎 (Ax) および胸腺・虫垂剔除家兎 (TxAx) では凝集素産生の障害が認められた。一方ヒツジ赤血球凝集素産生能は Table 2 にみられるごとく、Tx および Ax では非手術対照群 (C) に比し、一般に低下していたが、有意の差は認めえなかった。しかし TxAx 群では明らかに障害されていた。

さらに生後24時間以内に胸腺ならびに虫垂を剔除し、生後2週に410R X線全身照射を行ない、X線照射5~6週後に腸チフス菌およびヒツジ赤血球に対する抗体産生能を検したところ、Table 3 に示すごとく、腸チフス菌H-凝集素産生能は胸腺剔除X線照射群 (Tx-X) では障害なく、虫垂剔除X線照射群 (Ax-X) および胸腺・虫垂剔除X線照射群 (TxAx-X) にて障害されていた。

Table 3 Antibody response to *Salmonella typhi* in rabbits* thymectomized and/or appendectomized at birth and exposed to 410R X-rays at 2 weeks of age.

Group	Number of animals	Agglutinins to <i>S. typhi</i> Mean titer ($\log_2$)	Standard error
Controls	17	10.14	1.46
Thymectomy	9	9.89	0.96
Appendectomy	15	8.59	1.53
Thymectomy and appendectomy	11	6.96	1.77

C---Tx : not significant
C---Ax : $p < 0.01$
C---TxAx: $p < 0.001$

* All rabbits were immunized intravenously with 0.1mg of formalin-killed *S. typhi* 5 to 6 weeks after X-irradiation. These antibody measurements were performed on 7 day sera.

ヒツジ赤血球凝集素産生能は Table 4 にみられるごとく、感作5日後では Tx-X, Ax-X, TxAx-X の3群とも明らかに対照 (C-X) に比べ、凝集素価は低値を示していたが、感作7日後ではヒツジ赤血球凝集素価は Tx-X では C-X に比し低値を示していたが有意の差は認められなかった。しかし Ax-X および TxAx-X 両群ではなお C-X に比し低値を示し、ヒツジ赤血球凝集

Table 4 Antibody response to sheep red blood cells in rabbits* thymectomized and/or appendectomized at birth and exposed to 410R X-rays at 2 weeks of age.

Group	Number of animals	Agglutinins to SRBC Mean titer (log ₂)	Standard error
5 day sera			
Controls	11	5.96	0.77
Thymectomy	8	3.49	2.38
Appendectomy	9	3.28	1.63
Thymectomy and appendectomy	10	1.13	1.29
7 day sera			
Controls	11	6.50	1.11
Thymectomy	7	5.13	2.51
Appendectomy	9	4.76	1.57
Thymectomy and appendectomy	10	1.43	1.77

5 day sera 7 day sera
C---Tx : p<0.01 C---Tx : p<0.2
C---Ax : p<0.001 C---Ax : p<0.02
C---TxAx : p<0.001 C---TxAx : p<0.001

* All rabbits were immunized intravenously with 2ml of 20% suspension of sheep red blood cells 4 to 5 weeks after X-irradiation. These antibody measurements were performed on 5 and 7 day sera.

素産生の障害が認められた。

生後24時間以内に胸腺ならびに虫垂を剔出し、生後2週に410R X線照射した際には、腸チフス菌H-凝集素産生能はX線照射を加えなかった場合と同じく、Ax-XおよびTxAx-X群のみが障害され、Tx-X群では障害されなかった。ヒツジ赤血球凝集素産生能はX線照射を加えなかった場合にはTxAx群のみに障害が認められたにすぎなかったが、X線照射を行なった際にはTxAx-X同様Ax-X群でも障害され、Tx-X群ではinduction phaseの障害のみが認められた。

次に生後3週に胸腺ならびに虫垂を剔出し、生後4週に450R X線全身照射を行ない、X線照射後4週に腸チ

Table 5 Antibody response to *Salmonella typhi* in rabbits* thymectomized and/or appendectomized at 3 weeks of age and exposed to 450R X-rays at 4 weeks of age.

Group	Number of animals	Agglutinins to <i>S. typhi</i> Mean titer (log ₂)	Standard error
Controls	9	11.99	2.13
Thymectomy	10	12.12	2.30
Appendectomy	6	0	0
Thymectomy and appendectomy	7	4.8	3.58

C---Tx : not significant
C---Ax : p<0.001
C---TxAx : p<0.001

* All rabbits were immunized intravenously with 0.07mg of formalin-killed *S. typhi* 4 weeks after X-irradiation. These antibody measurements were performed on 7 day sera.

Table 6 Antibody response to conalbumin in rabbits* thymectomized and/or appendectomized at 3 weeks of age and exposed to 450R X-rays at 4 weeks of age.

Group	Number of animals	Antibody to conalbumin Mean titer (log ₂)	Standard error
Controls	7	12.03	2.49
Thymectomy	8	6.16	3.56
Appendectomy	5	5.19	4.25
Thymectomy and appendectomy	6	6.46	3.63

C---Tx : p<0.01
C---Ax : p<0.01
C---TxAx : p<0.01

* All rabbits were immunized intravenously with 2mg of conalbumin 4 weeks after X-irradiation. These antibody measurements were performed on 7 day sera.

フス菌およびconalbuminに対する抗体産生能を検索したところ、Table 5に示すごとく、腸チフス菌H-凝集素産生能は同様に、Tx-Xでは障害されず、Ax-XおよびTxAx-Xにて障害されていた。またconalbuminに対する抗体産生能はTable 6にみられるごとくTx-X、Ax-XおよびTxAx-Xの3群とも障害されていた。

以上の各種実験において末梢リンパ球数の減少は胸腺剔出および胸腺・虫垂剔出群に認められたが、虫垂剔出群ではいずれの場合も明らかな減少は認められなかった。

ついで細胞性抗体産生におよぼす虫垂剔出の影響をみるべく次のような実験を試みた。生後24時間以内に胸腺

ならびに虫垂を剔出し、生後3週～17週にそれぞれヒト型結核菌にて感作し、感作後3週に10倍希釈 old tuberculin を皮内注射し、ツベルクリンアレルギー抗体産生能を検したところ (old tuberculin 0.1ml 皮内注射48時間後局所の発赤の平均直径 10mm 以上のものを、ツ反陽性とした)、生後4および5週に感作した場合、C群では11例中9例、Ax では5例中5例ツ反陽性であったが、Tx では8例中1例のみ陽性で、Tx 群にツ・ア抗体産生能の障害が認められた。しかしながら生後7～10週に感作した際には、C群では9例中7例、Ax で5例中4例、Tx 群でも12例中10例が陽性を示し、さらに生後12～17週に感作したときはCで12例中8例、Ax で6例中4例、Tx で5例中3例が陽性を示し、生後7週以降ではTx 群でもツ・ア抗体産生の障害は認められなかった。しかし TxAx 群では生後12～17週に感作した場合でも8例中1例のみ陽性を示したにすぎず、明らかにツ・ア抗体産生の障害が認められた。これらの結果は胸腺はツベルクリンアレルギー抗体産生能の発達に主たる役割を果しているが、虫垂も何らかの形でこれに関与していることを示すものである。

なお、生後7～10日後に胸腺剔出、その1週後に410 R X線全身照射を行ない¹³⁾、X線照射4週後に感作し、あるいは生後3週に胸腺剔出、生後4週に450 R X線照射し、X線照射6週後に感作して⁷⁾、ツ・ア抗体産生能を検した際にも、胸腺剔出群にツ・ア抗体産生能の抑制を認めている。

また、生後24時間以内に胸腺ならびに虫垂を剔出し、生後10～14日に410～600 R X線全身照射を行ない、生後6週に Warwick の方法に準じて、耳内側に直径約1.5 cm の円形の同種皮膚片を移植し、移植皮膚片の生着期間を観察したところ、Table 7 に示すごとく、C-X では皮膚生着期間は6～14日、平均9.8日、Ax-X 群は7

～21日平均13.0日と Ax-X 群では C-X にくらべ、やや延長していたが有意の差は認め難かった。これに反し、Tx-X および TxAx-X 両群ではいずれも21日以上生着していた。

以上の結果より、胸腺は細胞性抗体産生能の発達に非常に密接な関係を有し、かつ、ある種の抗原 (恐らく weak antigen) に対する血清抗体産生機構の発達に関与し、虫垂は主として血清抗体産生能発達に主役を演じ、細胞性抗体産生能の発達にも何らかの形で関与している

Table 8 Schedule for the basic groups of experiments.

Age	Treatment
4 weeks	non-operation(C) thymectomy(Tx) appendectomy(Ax) appendectomy & removal of sacculus rotundus(AxRx) thymectomy & appendectomy(TxAx)
5 weeks	450r whole body irradiation (-X)
8 weeks	1st injection of antigen
12 weeks	2nd injection of antigen

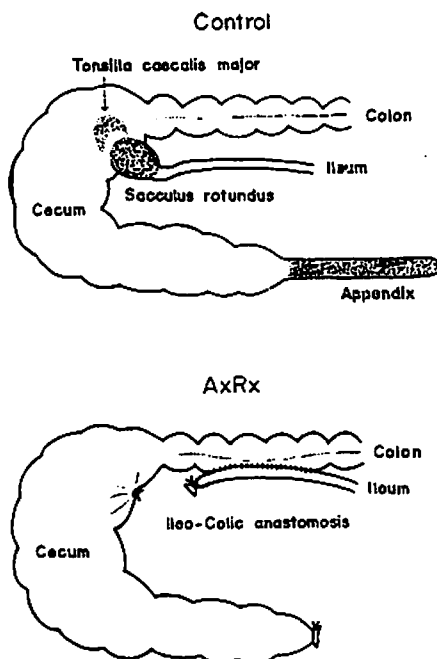


Fig. 1 Schema of appendectomy and removal of sacculus rotundus.

Table 7 Skin survival time in rabbits* thymectomized and/or appendectomized at birth and exposed to 410 or 600R of X-rays at 10 to 14 days of age.

Group	Number of animals	Skin survival time (days)	Mean
Controls	13	6, 7(2) ^{**} , 9(4), 10(3), 11, 14(2)	9.8
Appendectomy	7	7, 9(2), 12(2), 20, 21	13.0
Thymectomy	2	>21;***>32	
Thymectomy and appendectomy	5	>21(2), >32, >33, >35	

* All rabbits were grafted homologous skin in the ear at 6 weeks of age.
 ** Number of rabbits.
 *** Sacrificed or died.

ことがうかがわれる。

胸腺，虫垂，円小囊剔出・X線照射家兎の抗体産生能について：

家兎には虫垂と同様の組織構造をもつ腸管リンパ装置としてパイエル板の他に，比較的大きなリンパ装置である円小囊 (sacculus rotundus) があり，円小囊にも虫垂と同様の機能があり，虫垂と同時に円小囊を剔出すれ

ば虫垂単独剔出よりもより強度の血清抗体産生の抑制が認められるのではないかと想定され，次のような実験を試みた。

その方法の概略は Table 8 および Fig. 1 に示すごとく，生後4週に胸腺剔出 (Tx)，虫垂剔出 (Ax)，虫垂・円小囊剔出 (AxRx)，胸腺虫垂剔出 (TxAx) を行ない，1週後に450 R X線全身照射を加え，生後8週に，

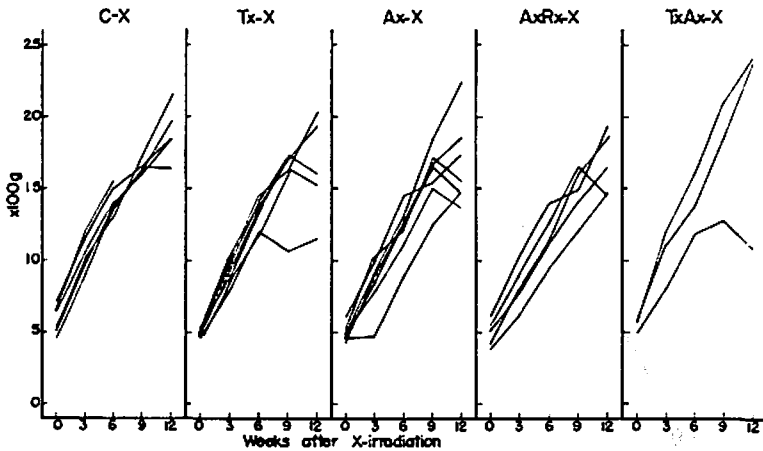


Fig. 2 Body weight of rabbits in the five experimental groups during the 12-weeks period after irradiation.

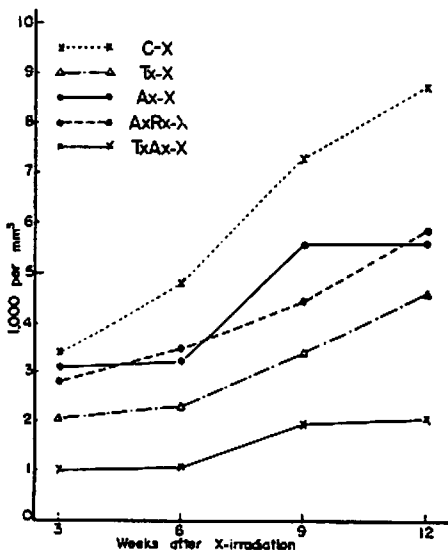


Fig. 3 The average total lymphocyte counts in the peripheral blood of the five experimental groups at intervals after irradiation.

腸チフス菌静注，ヒジ赤血球両側趾端皮下注，生後12週に腸チフス菌およびヒジ赤血球を静注し両抗原に対する抗体産生能を検した。

円小囊剔出の方法としては，Fig. 1 に示すごとく円小囊と大盲腸扁桃 (Tonsilla caecalis major)，小盲腸扁桃 (Tonsilla caecalis minor) とを同時に剔出し，回腸および盲腸断端部は結紮し，結腸と回腸を側側吻合につなぎ手術を終えた。

体重の変動：対照たる非手術X線照射群 (C-X) および実験4群のX線照射後の体重の変化は，Fig. 2 に示すごとく各群間には大きな差を認めなかったが，Tx-X および TxAx-X 群中の各1例にX線照射6週後頃より体重増加が停止し，wasting syndrome を呈するものがあつた。

末梢リンパ球数：X線照射後の各群の末梢リンパ球数の変動を Fig. 3 にその平均値にて示してあるが，本図にみられるごとく各群とも対照群に比しいずれも低値を示していたが，その減少の程度は TxAx-X 群にて最も顕著で，ついで，Tx-X 群であつた。Ax-X および Ax

Rx-X 両群の間には差なく、C-X と Tx-X の中間値をとっていた。

腸チフス菌凝集素産生：腸チフス菌初回静注後の H-凝集素価の変動は Fig. 4a, 4b にみられるごとく、Tx-X 群では 8 例中 1 例を除きいずれも C-X と全く同様の変動を示し、抗体産生能の障害は認められなかった。Ax-X および AxRx-X では全例 C-X より低値を示し、抗体産生の抑制が認められたが、両群の間には差を認め得なかった。TxAx-X では 3 例とも顕著な抗体産生の障害を示していた。

腸チフス菌 O-凝集素価の変動は Fig. 5a, 5b にみら

れるごとく、Tx-X では H-凝集素産生の場合と同様 1 例を除き C-X との間に差を認めず、Ax-X では全例ほとんど O-凝集素産生は認められず、AxRx-X では 1 例を除き 6 例ではほとんど抗体産生を認めず、1 例に軽度の産生を認めたにすぎず、さらに TxAx-X でも 2 例に全く抗体の産生が認められず、他の 1 例は軽度の産生を示したにすぎなかった。

腸チフス菌第 2 回目静注後の H-凝集素価の変動は、Fig. 6a, 6b にみられるごとく Ax-X 群の一部に C-X より低値を示すものがあったが、各群とも対照との間に顕著な差を認めえなかった。

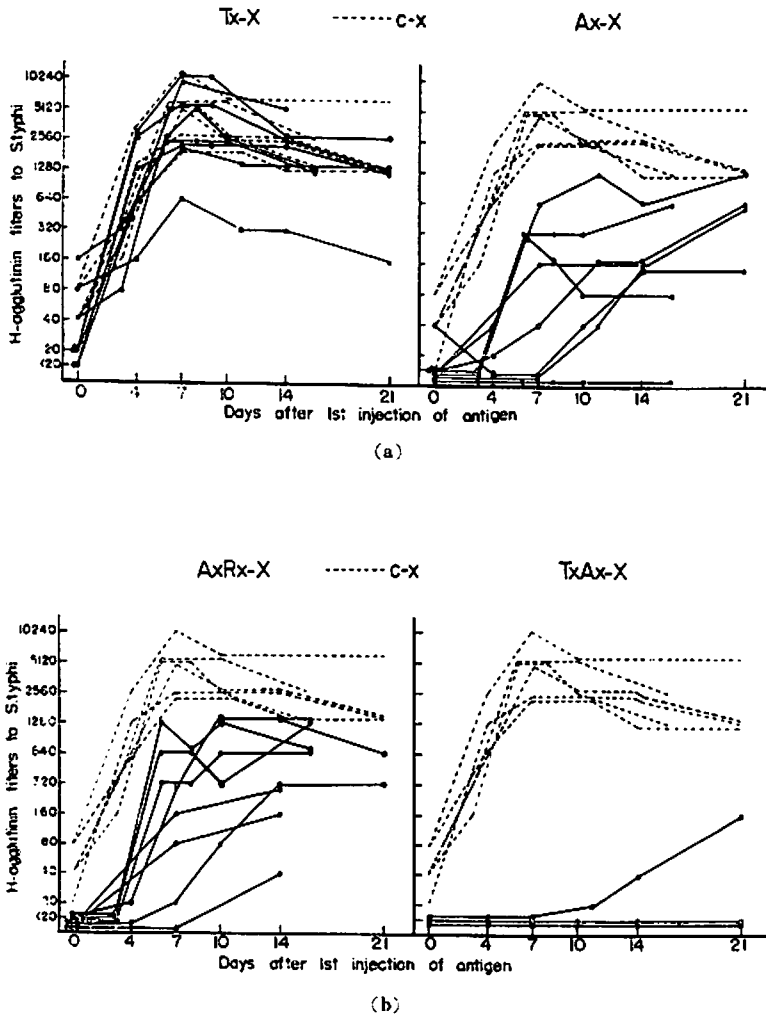


Fig. 4 Titers of H-agglutinin to *S. typhi* in rabbits of the five experimental groups, during the 3-week period following the first injection of antigen.

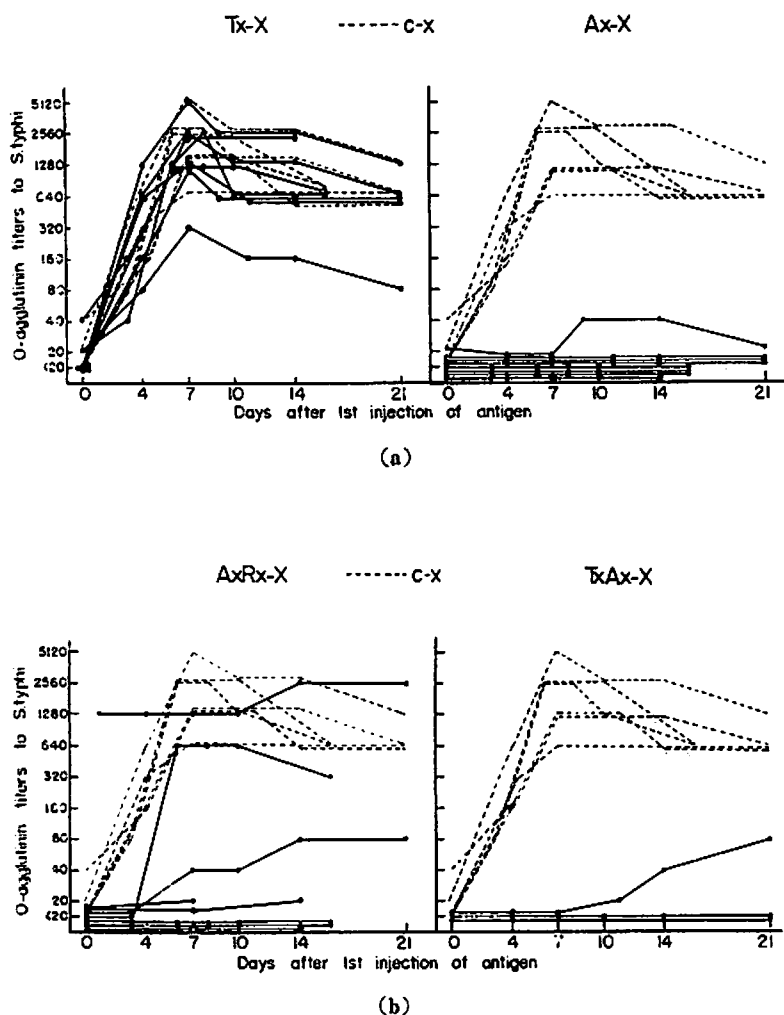


Fig. 5 Titers of O-agglutinin to *S. typhi* in rabbits of the five experimental groups, during the 3-week period following the first injection of antigen.

O-凝集素産生能は Fig. 7a, 7b に示すごとく，Ax-X 群では障害されており，TxAx-X 群にもその傾向がうかがわれたが，AxRx-X では一部に对照より低値を示すものがあったが，明らかな障害は認められなかった。

すなわち，胸腺単独別出群では1次，2次反応とも腸チフス菌凝集素産生能の障害は認められなかったが，虫垂単独別出群および虫垂別出併用群では，1次反応ではH-，O-凝集素とりわけO-凝集素産生の顕著な障害が認められ，2次反応ではH-凝集素産生の明らかな障

害は認められなかったが，O-凝集素産生能は円小囊別出併用群を除き障害されていた。

ヒツジ赤血球溶血素産生：ヒツジ赤血球初回趾端皮下注射後の溶血素価の変動は Fig. 8a, 8b に示すごとく，Tx-X, Ax-X, AxRx-X, TxAx-X の4群ともに，溶血素産生の障害が認められた。とりわけ TxAx-X 群では障害が著しく，Ax-X と AxRx-X との間には差を認めえなかった。

ヒツジ赤血球2回目静注後の溶血素価の変動は，Fig. 9a, 9b にみられるごとく，Tx-X 群では C-X に比し

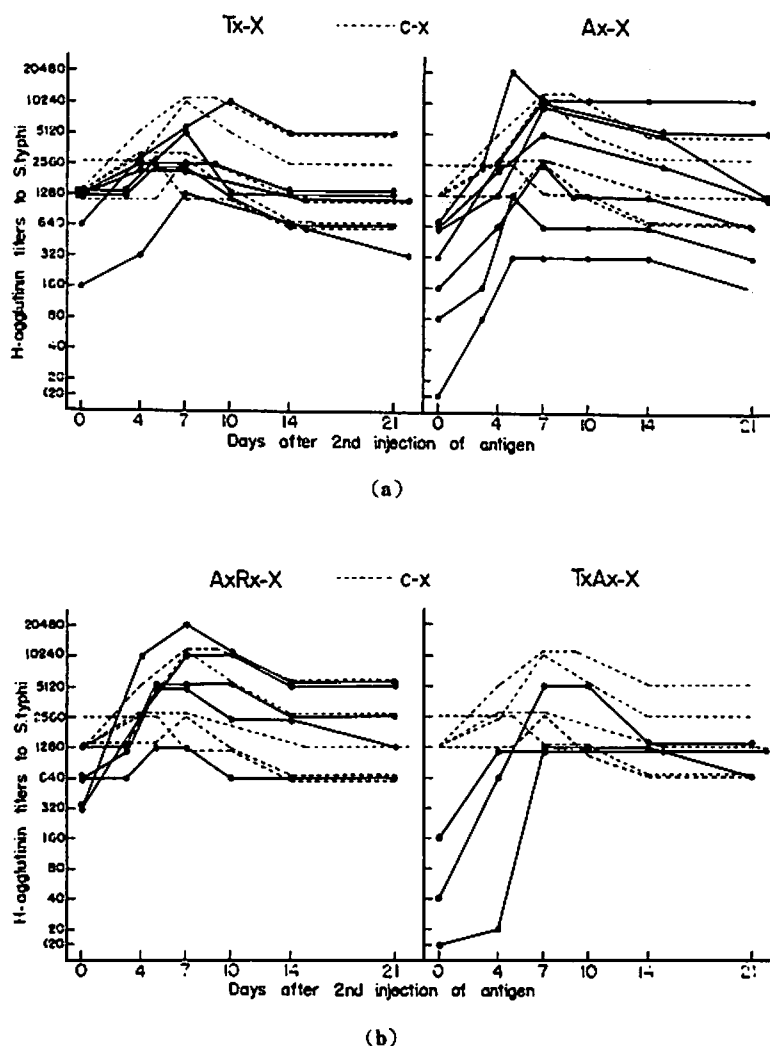


Fig. 6 Titers of H-agglutinin to *S. typhi* in rabbits of the five experimental groups, during the 3-week period following the second injection of antigen.

いずれも低値を示し、抗体産生の障害が認められたが、他の3群では明らかな障害を認めなかった。

腸チフス菌 H-凝集素の 2メルカプトエタノール (2-ME) 処理：胸腺別出家兎と虫垂別出家兎の間にみられる腸チフス菌凝集素産生能の差が何によるものかを解明する方法として、腸チフス菌静注後の血清につき、2-ME 未処理、2-ME 処理後の腸チフス菌 H-凝集素値を比較してみたところ、Fig. 10a, 10b に示すごとく、初回免疫後 C-X では 2-ME resistant, 2-ME sensitive 凝集素とも多量産生されているが、Tx-X では 2-ME

resistant 抗体は全く認められず、Ax-X および AxRx-X では大部分が 2-ME resistant であり、TxAx-X では Tx-X 同様大部分が 2-ME sensitive な抗体のみが形成されていた。

腸チフス菌第2回目静注後では、Tx-X 群では 2-ME resistant 抗体形成の障害が認められるもののようであるが、Ax-X および AxRx-X では 2-ME sensitive および resistant 両抗体とも C-X とほぼ同程度産生されていた。

以上の結果と Fig. 4a, 4b の結果より、腸チフス菌

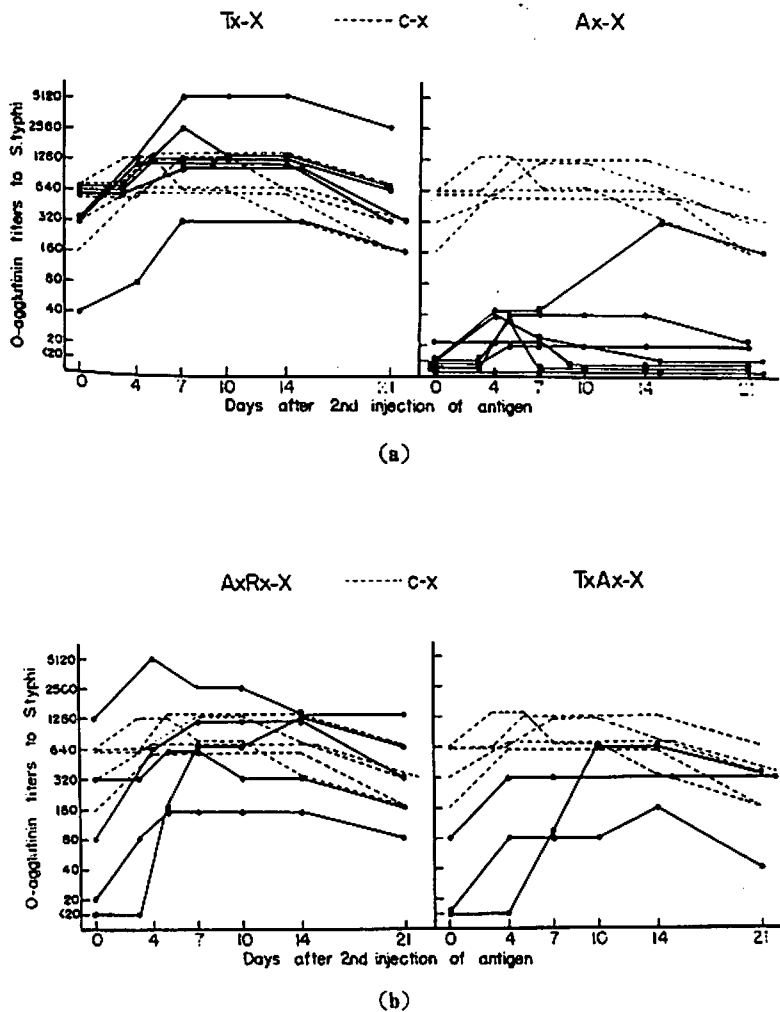


Fig. 7 Titers of O-agglutinin to *S. typhi* in rabbits of the five experimental groups, during the 3-week period following the second injection of antigen.

H-凝集素産生に関しては次のように結論しようと思われる。すなわち胸腺剔出群ではH-凝集素産生能の障害は認められない。しかしこれはすべて2-ME sensitive すなわち19S抗体産生によるもので、2-ME resistant すなわち7S抗体産生は1次反応では全く認められない。虫垂剔出および虫垂・円小囊剔出群ではH-凝集素産生の障害が認められるが、これは7S抗体産生には対照との間に差を認めず、また産生された抗体がほとんど2-ME resistant であることより、本抗体産生の障害は19S抗体産生の障害に基づくものである。また胸腺・虫垂

剔出群ではH-凝集素産生はいちいちしく障害されており、かつ形成された抗体もほとんど2-ME sensitive であることより、19Sおよび7S両抗体産生が障害されているものと推測される。

したがって胸腺はおもに7S抗体産生細胞あるいは7S抗体産生機構に、虫垂は主として19S抗体産生細胞あるいは19S抗体産生機構に非常に密接な関係を有しているものと言いうる。

γ G および γ M グロブリンの変動：上記家兎のX線全身照射3、4および5週後の血清中 γ G および γ M グ

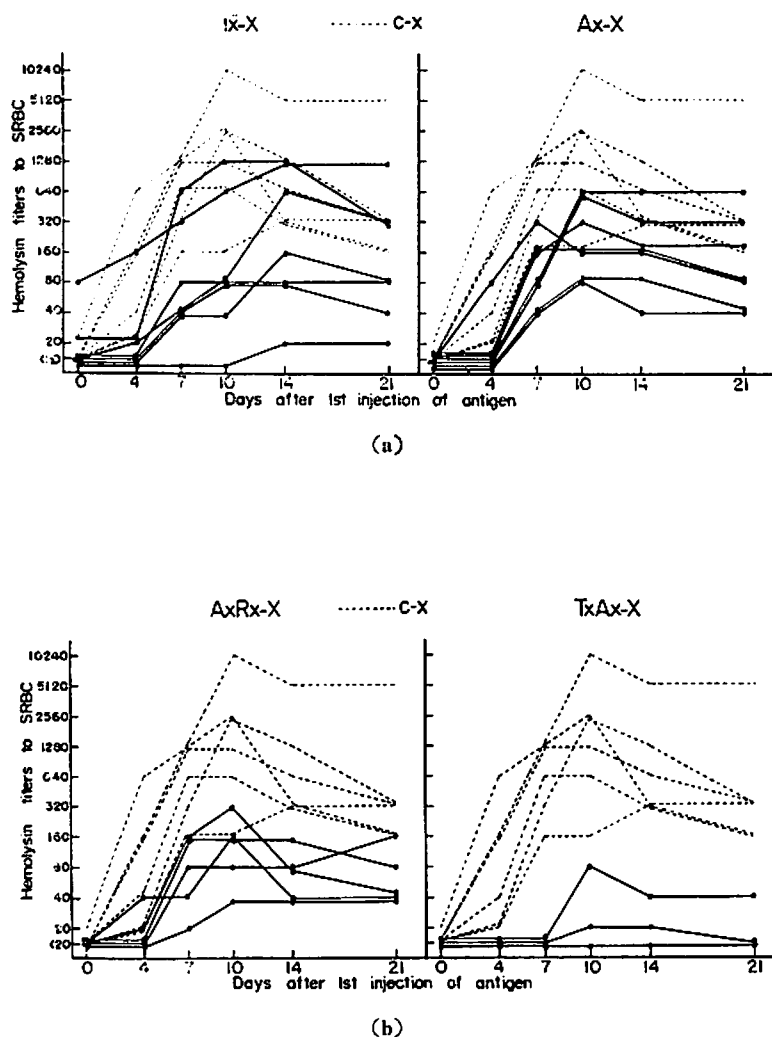


Fig. 8 Titers of hemolysin to sheep erythrocytes in rabbits of the five experimental groups, during the 3-week period following the first injection of antigen.

ロブリン量を免疫拡散法により、各時期における対照群の値の平均値を1として比較検討してみたところ、Fig. 11a, 11bに示すごとく、 γ G量は各群の間に差を認めず、対照のそれとほぼ同値をとっていたが、 γ MはTx-Xの1例、AxRx-Xの1例を除き、Tx-X群ではいずれも対照のそれとほぼ同じ値を、Ax-X、AxRx-XおよびTxAx-Xの3群すなわち虫垂を剔出してある群では全て対照に比し低値をとっていた。

このことは虫垂は19S抗体産生機構に密接な関係を有しているのみならず、19Sグロブリンそのものの産生にも大きな役割を演じていることを示すものである。

γ グロブリンの質的变化：われわれはすでに生後24時間以内に胸腺ならびに虫垂を剔出した家兔血清中の一部に、 γ グロブリン域にカンテン電気泳動像から見て均一なグロブリンの認められるものがあり、諸検索の結果これは単クローンの性格を有し、臨床上みられる mono-

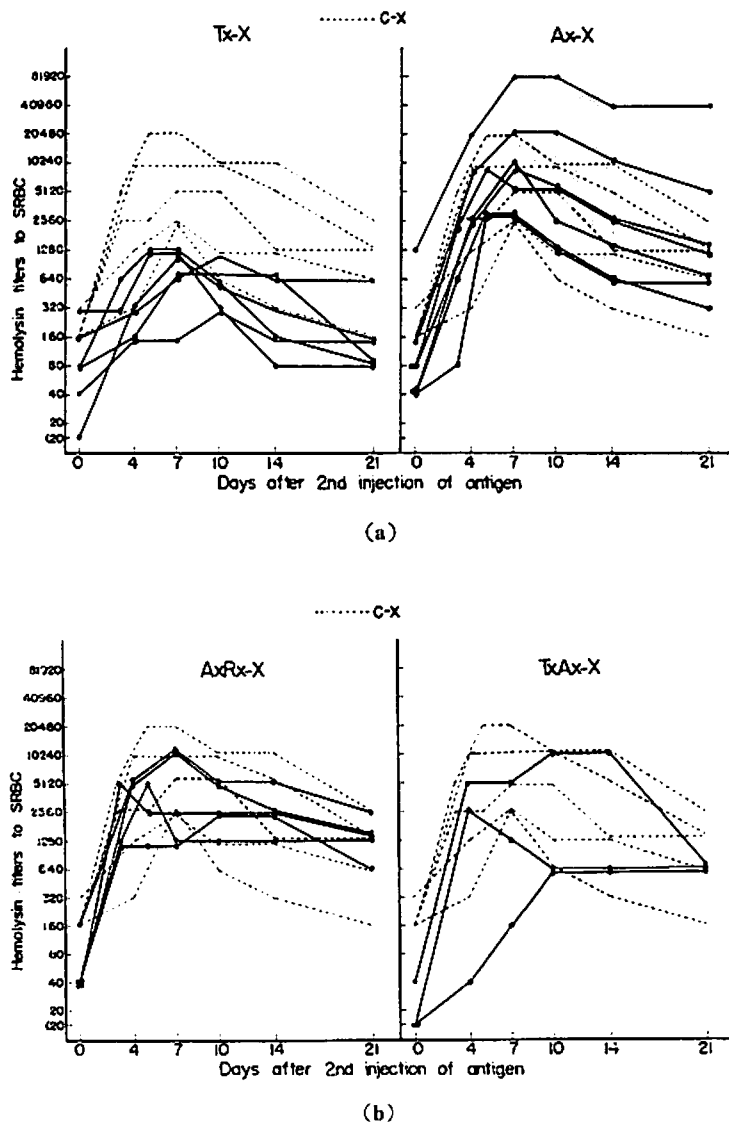


Fig. 9 Titers of hemolysin to sheep erythrocytes in rabbits of the five experimental groups, during the 3-week period following the second injection of antigen.

clonal gammopathy 類似の所見を呈するものがあることを報告してきたが^{6,8)}、本実験群においても、上述の γ M の量的変化の他に、かかる変化が認められるか否か Wieme の寒天電気泳動法に準じて検索してみたところ、写真5～8にみられるごとく、 γ -グロブリン域に1～2本の均一バンドが一部の家兎血清中に認められた (weeks はX線照射後のそれを示してある)。その頻度

は Table 9 に示すごとく、一般に C-X に比し各実験群に高率に出現し、かつ表中の下段に示すごとく (表中アンダーラインをしてあるのが均一 γ -グロブリンの出現をみた例) litter によりその出現しやすいものとそうでないものがあり、これらの事実はすでに指摘してきたところであり、先天的素因、X線照射などによる抗体産生臓器の障害、胸腺ならびに虫垂剔除による抗体産生機構

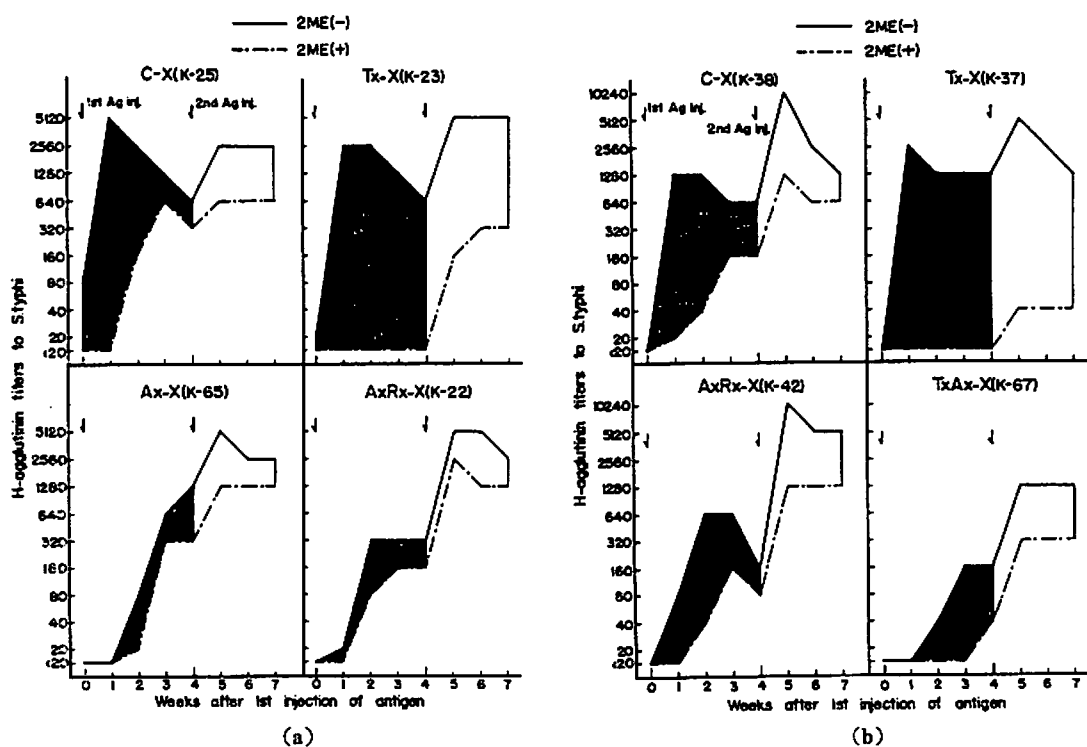
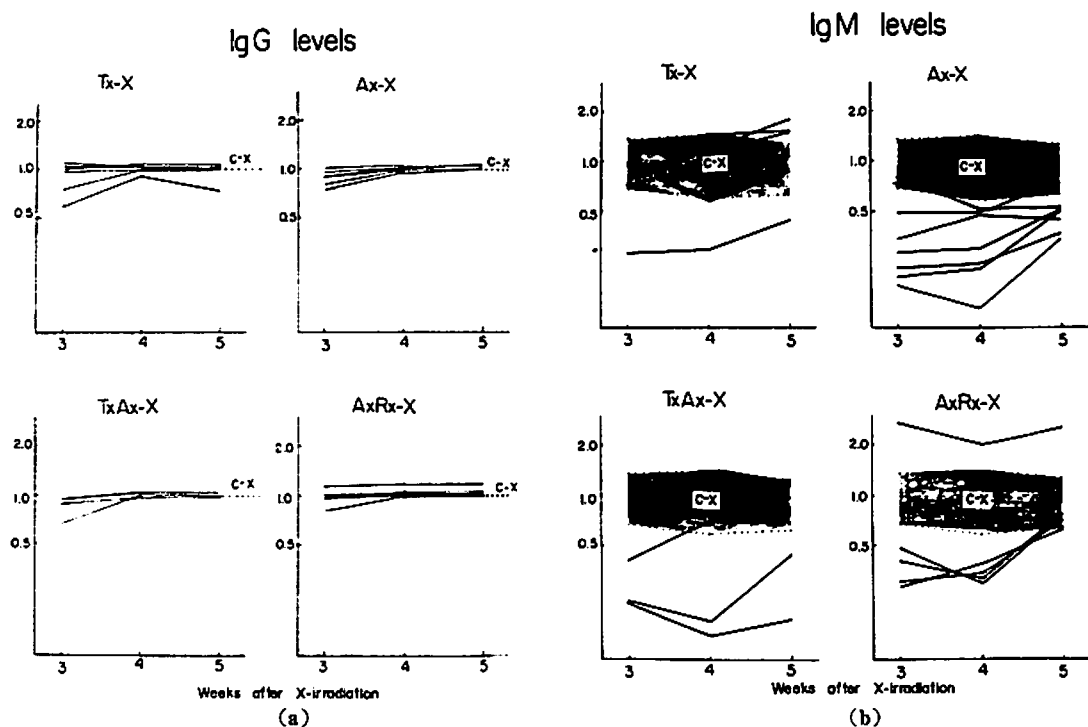
Fig. 10 Effect of 2ME treatment on H-agglutinin to *S. typhi*.

Fig. 11 IgG and IgM levels in sera of rabbits of the five experimental groups during 5-week period after irradiation.

Table 9 Incidence of narrow band(s) in gamma-globulin region in rabbits removed central lymphoid tissues at 4 weeks of age and exposed to 450R of X-ray at 5 weeks of age.

Group	No. of cases with narrow band No. of cases tested
Controls	2/6
Thymectomy	6/7
Appendectomy	4/7
Appendectomy and removal of sacculus rotundus	3/5
Thymectomy and appendectomy	2/3
Total	17/28

Litter No.	Operation	No. of cases tested	No. of cases with narrow band(s)
1	<u>Ax</u> , <u>AxRx</u> , <u>AxRx</u> , C	4	4
2	<u>Ax</u> , <u>Tx</u> , Ax, Tx, AxRx, C	6	2
3	<u>Tx</u> , <u>AxRx</u> , C	3	2
4	<u>Tx</u> , <u>Tx</u> , C	3	3
5	Ax, AxRx	2	0
6	<u>TxAx</u> , TxAx, C	3	1
7	<u>Tx</u> , <u>Tx</u> , <u>Ax</u> , <u>Ax</u> , <u>TxAx</u> , Ax, C	7	5

Table 10 Histological findings of popliteal lymph nodes in rabbits removed central lymphoid tissues at 4 weeks of age and exposed to 450R of X-ray at 5 weeks of age.

Lymph nodes Group	Germinal centers	Small & medium lymphocytes Marg. cortex	Matrix PCV	Lympho- Medul. cord	Plasma gonias cells
Controls					
K-5	+++	+	++	+	+
K-18	+++	+	+++	+	+
K-25	+++	+	+++	+	+
K-38	++	+	++	+	+++
K-56	++	+	++	+	++
K-70	+++	+	++	+	+
Thymectomy					
K-15	+	+	+	++	+
K-17	+	+	+	+	+
K-23	+++	+	+	+++	+
K-36	+	+	+	+	+++
K-37	+	+	+	+	++
K-62	+	+	+	+	+
K-69	+++	+	+	+	++
Appendectomy					
K-4	++	+	+++	+	+
K-14	++	+	+++	+	+
K-16	++	+	+++	+	+
K-45	+	+	+	+++	+++
K-65	+	+	+	+	+
K-66	+	+	++	+	++
K-68	+	+	++	+	+
Appendectomy & removal of sacculus rotundus					
K-1	++	+	++	+	+
K-2	+	+	+++	+	+
K-11	++	+	++	+	+
K-22	+++	+	+	+++	++
K-42	++	+	+	+++	+++
Thymectomy & appendectomy					
K-51	+	+	+	+	+
K-53	+	+	+	+++	++
K-67	++	+	+	+	++

Half ml of a 50% suspension of sheep red blood cells were injected into hind foot pads 3 weeks after X-irradiation. Lymph nodes were obtained 1 to 2 weeks after the injection of sheep red blood cells.

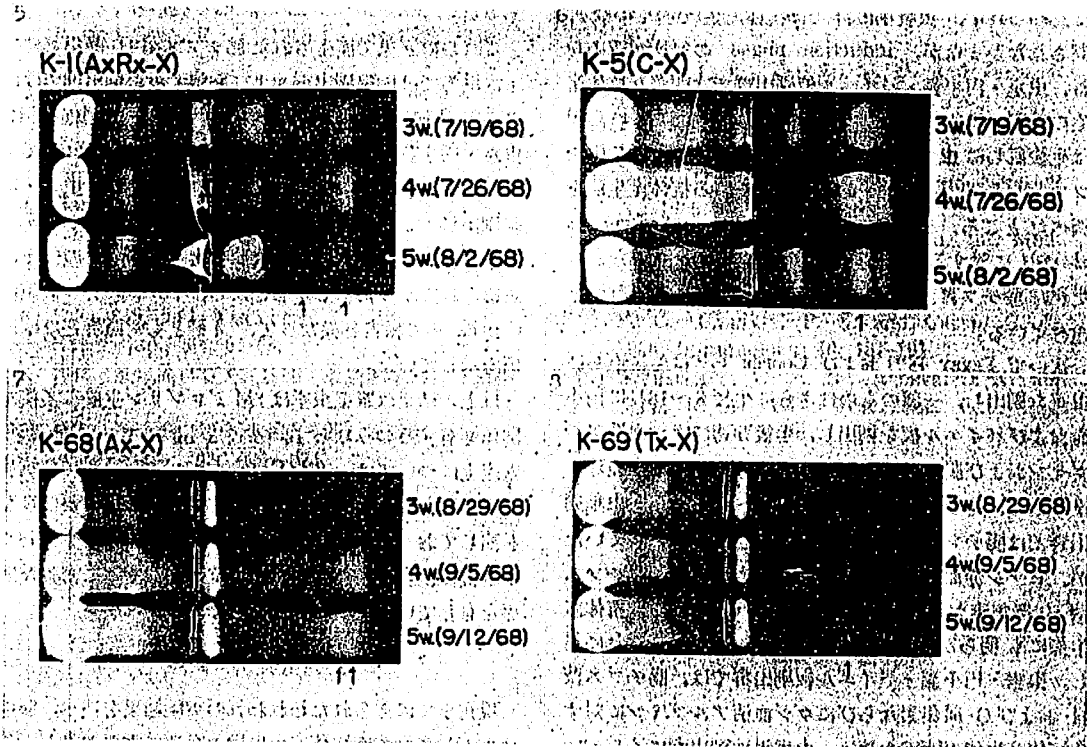


Photo. 5-8 Agar gel electrophoretic pattern of sera of rabbits obtained 3, 4 and 5 weeks after irradiation. Arrows indicate narrow band (s) in gammaglobulin region.

びに12週に抗原注射を行ない、これら家兎の体重の変動、末梢リンパ球数の推移、血清抗体産生能、局所リンパ節の組織学的検索などを試みた。

X線照射後の体重の増加の程度にはC-X、Tx-X、Ax-X、AxRx-X、TxAx-Xの各群の間に差を認めなかった。COOPERら^{3,12)}は生後直ちに虫垂剔出し、生後8～18日に円小囊およびバイエル板を剔出した家兎では、虫垂剔出、脾剔出群よりも高い死亡率を示していたと報告しているが、われわれの結果ではTxAx-X群にその傾向が認められたが、このような明らかな差は認め難かった。また、末梢リンパ球数はAx-XおよびAxRx-Xにおいて軽度減少、Tx-Xにて顕著に減少、TxAx-Xにおいて最も強度の減少を示していた。COOPERら²⁾は体重3～4ポンドの家兎の虫垂、円小囊、バイエル板剔出後650 R X線照射した場合、末梢リンパ球数の減少は認められなかったとしているが、後に生後直ちに虫垂剔出、さらに生後8～18日に円小囊およびバイエル板を剔出した場合、あるいは生後直ちに虫垂のみを剔出した場合、生後35日に検索した結果、両群とも同程度に末梢リンパ球数の減少を示していたと報告している⁹⁾。われわれも生後24時間以内に虫垂を剔出した家兎では生後約6

週までは非手術対照群とはほぼ同数の末梢リンパ球数を認め、明らかな減少は認められなかったが、それ以後は増加せず、対照では生後8～9週で平均7,000/mm³に達するも、虫垂剔出群では平均3～4,000/mm³にすぎなかったことを認めており¹³⁾、虫垂剔出のみにてもある程度の末梢リンパ球数の減少をきたすものと考えられる。その程度は胸腺剔出の場合にくらべて軽度であるが、胸腺・虫垂剔出群では胸腺単独剔出群にくらべ、常により強度の末梢リンパ球数の減少をきたす事実よりも虫垂剔出の末梢リンパ球数への影響がうかがわれる。

COOPERら²⁾は体重3～4ポンドの家兎虫垂、円小囊およびバイエル板剔出後、650 R X線照射を行ない、その3週後にウシ血清アルブミン、腸チフス菌に対する抗体産生能を、46日後にヒツジ赤血球に対する抗体産生能を調べているが、いずれの場合も抗体産生の障害がかなりの程度に認められたと報告している。さらにPEREYら¹⁰⁾は生後4週に胸腺剔出、虫垂剔出、虫垂・円小囊・バイエル板剔出を行ない、生後8週に*Brucella abortus*を筋注し、その24時間以内に1250 R X線照射を行ない、直ちに20日の胎児肝細胞を投与し、抗原注射後経目的に抗体価を測定したところ、胸腺剔出群では抗体産生の抑制

は認められず、虫垂別出群では抗体産生そのものは抑制されなかったが、induction phase の遅延が認められ、虫垂・円小嚢・パイエル板別出群では顕著な抗体産生の抑制が認められたと報告している。また PEREY¹¹⁾ は生後直ちに虫垂別出した家兎では、生後5週に腸チフス菌および *Brucella abortus* に対する抗体産生能を調べたところ、腸チフス菌 H-凝集素 および *Brucella abortus* に対する凝集素産生能の障害は認められなかったが、腸チフス菌 O-凝集素産生の障害が認められたと述べている。

次いで PEREY¹²⁾ および COOPER¹³⁾ は生後直ちに虫垂を別出し、一部のものはさらに生後8~18日に円小嚢およびパイエル板を別出し、生後5週にウシ血清アルブミンおよび腸チフス菌を、生後51日にヒツジ赤血球を投与して、その血清抗体産生能を調べたところ、虫垂別出群では腸チフス菌 O-凝集素産生能は障害されていたが、ヒツジ赤血球凝集素産生能は障害されず、腸チフス菌 H-凝集素およびウシ血清アルブミンに対する抗体産生能にも明らかな抑制が認められなかった。これに対し、虫垂・円小嚢・パイエル板別出群では、腸チフス菌 H-および O-凝集素ならびにウシ血清アルブミンに対する抗体産生能の障害を認め、虫垂単独別出群にくらべ、より強度の抗体産生の障害を示したと報告している。この際、両群とも細胞性抗体産生能の障害は認められていない。さらにこれら家兎血清中の免疫グロブリン量を測定した結果、虫垂別出群では γ G および γ M 量の低下を、虫垂・円小嚢・パイエル板別出群では γ M の著しい低下を来していたことを述べている。

一方家兎胸腺別出の場合には、ウシ血清アルブミン¹⁴⁾、ヒト血清 γ グロブリン¹⁵⁾、卵白アルブミン¹⁶⁾ および T₂-バクテリオファージ¹⁷⁾ に対する抗体産生の抑制をきたすことが知られ、さらに胸腺・虫垂別出家兎では、虫垂あるいは胸腺単独別出群より顕著なウシ血清アルブミンに対する抗体産生の障害をきたすことが知られている¹⁸⁾。

本実験においても、胸腺別出群ではヒツジ赤血球溶血素産生の障害が認められたが、腸チフス菌凝集素産生能は正常に保たれていた。一方、虫垂別出、虫垂・円小嚢別出群では、ヒツジ赤血球溶血素産生ならびに腸チフス菌凝集素産生の障害が認められ、とりわけ腸チフス菌 O-凝集素産生能の障害が著しかった。なお、COOPER¹³⁾ の指摘するように、虫垂別出群と虫垂・円小嚢別出群との間における血清抗体産生能の障害の程度の差は、本実験方法のもとでは認められなかった。さらに、胸腺・虫垂別出群では両抗原に対する抗体産生能はともに障害され、一般にその障害の程度は他の3群にくらべて顕著で

あった。

これらの家兎で産生された腸チフス菌 H-凝集素は、1次反応では胸腺別出群および胸腺・虫垂別出群ではほとんど 2-ME sensitive であり、これに反して虫垂別出、虫垂・円小嚢別出群ではほとんど 2-ME resistant であった。COOPER¹³⁾ の結果と同じく、虫垂別出群、虫垂・胸腺別出群および虫垂・円小嚢別出群では血清中の γ M グロブリンの低下をみたが、胸腺別出群では γ M の低下は認められなかった。しかしながら、 γ G グロブリン値は COOPER¹³⁾ の報告と異なって、4群とも対照群とほぼ同値を示していた。

以上の結果は家兎虫垂は γ M グロブリン生成に密接な関係を有するのみならず、少くとも腸チフス菌 H-凝集素産生については、2-ME sensitive すなわち 19S 抗体産生細胞あるいは 19S 抗体産生機構に非常に重要な役割を演じており、一方、胸腺は 2-ME resistant すなわち 7S 抗体産生細胞あるいは 7S 抗体産生機構に密接な関係を有していることを示すものである。

結 語

現在までにえられたわれわれの実験結果を述べ、胸腺は主として細胞性抗体産生機構の発達に重要な役割を果たしており、血清抗体産生機構中ある種の抗原(恐らく weak antigen)に対する抗体産生能の発達に関与し、虫垂は主に血清抗体産生能の発達に主役を演じ、細胞性抗体産生能の発達にも何らかの形で関与していることを明らかにするとともに、本篇の実験結果より、家兎虫垂は血清抗体中 19S 抗体産生細胞あるいは 19S 抗体産生機構に、家兎胸腺は 7S 抗体産生細胞あるいは 7S 抗体産生機構の発達に密接な関係を有しており、さらに家兎虫垂は 19S グロブリンそのものの産生にも関与していることを明らかにするとともに、本実験家兎血清中に認められた γ -グロブリンの質的变化および、これら家兎リンパ節の組織学的所見に言及した。

執筆するに当たり、組織学的検索に御協力御教示をいただいた京大ウイルス研花岡正男教授に感謝す。また本実験を行なうに当たり、種々御協力いただいた北野病院レントゲン科 明田技師、病理部大隅および研究部鶴岡の諸氏に感謝す。

文 献

- 1) ARCHER, O. K., PAPERMASTER, B. W. and GOOD, R. A., 1964: *The Thymus in Immunobiology* (ed. R. A. Good and A. E. Gabrielsen), Harper and Row, Publ., New York, p. 414.
- 2) COOPER, M. D., PEREY, D. Y., McKNEALLY,

- M. F., GABRIELSEN, A. E. SUTHERLAND, D. E. R. and GOOD, R. A., 1966 : *Lancet*, 1; 1388-1391.
- 3) COOPER, M. D., PEREY, D. Y., GABRIELSEN, A. E., SUTHERLAND, D. E. R., McKNEALLY, M. F. and GOOD, R. A., 1968: *Int. Arch. Allergy*, 33; 65-83.
- 4) HANAOKA, M., TAKIGUCHI, T. and KONDA, S., 1967: *Acta Haem. Jap.*, 30; 69-80.
- 5) KONDA, S. and HARRIS, T. N., 1966 : *J. Immunol.*, 97; 805-814.
- 6) KONDA, S. and TAKIGUCHI, T., 1967 : *Acta Haem. Jap.*, 30; 51-68.
- 7) 紺田 進, 滝口智夫, 1966 : *最新医学*, 21, 1253~1262.
- 8) 紺田 進, 滝口智夫, 栗原二郎, 増田徹, 1967 : *医学のあゆみ*, 62, 980~984.
- 9) NAGATANI, Y., 1966 : *Acta Haem. Jap.*, 29; 60-68.
- 10) PEREY, Y. E., COOPER, M. D. and GOOD, R. A., 1968: *Science*, 161, 265-266
- 11) PEREY, D. Y. E. and GOOD, R. A., 1968 : *Lab. Invest.*, 18; 15-26.
- 12) PEREY, D. Y., COOPER, M. D. and GOOD, R. A. 1968: *Surgery*, 64; 614-621.
- 13) TAKIGUCHI, T., 1968 : *Jap. Arch. Int. Med.*, 15; 363-379.
- 14) TRENCH, C. A. H., WATSON, J. W., WALKER, F. C., CARDNER, P. S. and GREEN, C. A., 1966: *Immunology*, 10; 187-191.
- 15) SUTHERLAND, D. E. R., ARCHER, O. K. and GOOD, R. A., 1964: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 115; 673-676.

新生時胸腺摘出の試験管内抗体産生におよぼす影響

森 良 一 (九大・医・細菌)

マウスにおいて胸腺は中枢リンパ系組織としての機能を持ち、新生時におけるこれの摘出は種々の獲得免疫能の発達に著しく影響する。すなわち、新生時胸腺摘出マウスでは、流血抗体産生能力、遅延型過敏症の発現、同種移植免疫能の発達が低下する。この実験では *in vitro* の実験系を用い、新生時胸腺摘出マウス由来の細胞系を用いた場合の抗体産生について検討を行なうことを目的とした。

方法と結果

従来、分離した培養細胞による試験管内での抗体産生、特に1次反応(primary response)は容易でないとされてきたが、近年、分離脾細胞を用いて抗体産生が可能となってきた^{1,2)}。ここでは新生時胸腺摘出 CF1 マウスの分離脾細胞を用いてヒツジ赤血球に対する1次反応および2次反応(secondary response)を抗体ブラック法により測定することを試みた。

(1) 1次反応：1次反応においては6週令の CF1 マウスの脾を細切してステインレスメッシュを通し細胞浮遊液とし、次の培地を用いて直径 3.5cm のプラスチックシャーレまたはガラスシャーレを用いて培養した。

はじめの培地 199培地 95% } 1枚のシャーレ
ウシ胎児血清 5% } に 1ml

気相には CO₂ 5%, O₂ 7%, N₂ 88% よりなる混合ガスを使用し、37°C で培養した。脾細胞数は 10~20×10⁶/シャーレとした。免疫にあたっては抗原としてヒツジ赤血球 1×10⁷ を 0.1ml の培地にふくむようにして加えた。培養後毎日各シャーレに次の追加培地を加えて細胞の分裂と維持につとめた。

追加培地	
Eagle's MEM	35ml
×50 Eagle's essential amino acids	5ml
×100 Eagle's nonessential amino acids	2.5ml
10% Glucose	0.5ml
7% NaHCO ₃	1.5ml
ウシ胎児血清	25ml

1枚のシャーレに 0.15ml 宛加える。

培養後経的に19S溶血素産生細胞数をスライドグラ

スによるブラック法によって測定した。

この系で、正常マウスの脾細胞を用いた場合にはヒツジ赤血球の添加により溶血素産生細胞の誘導がみられた。すなわち培養3日目より溶血素産生細胞数は増加し、4日または5日目では約 300/10⁶ 個の溶血素産生細胞が出現した。6日目以降は細胞の維持が困難であり、溶血素産生細胞数の測定はほとんど不可能であった。一方、新生時胸腺摘出マウスの脾細胞では培養5日目まで測定した限りでは溶血素産生細胞の出現が見られなかった。またこの系に正常および新生時胸腺摘出マウスの腹腔浸出細胞を加えた場合にも抗体産生細胞の誘導はほとんどみとめられなかった。

2) 2次反応：20% ヒツジ赤血球浮遊液 0.1ml を5週令の CF1 マウスの腹腔内に接種して *in vivo* に抗原の一次刺激を行なったのち、11日目に脾をとり出し細胞浮遊液とし、3回洗滌後1次反応の場合と同様にして培養し、ヒツジ赤血球 1×10⁷ を加えて *in vitro* に2次抗原刺激を行ない、毎日追加培地を加えながら経的に19S溶血素産生細胞数を測定した。正常マウスの場合には2次抗原刺激後24時間で溶血素産生細胞数の増加がみとめられ、48時間で最高約800個/10⁶ に達した。しかしながら2次反応においても1次反応におけると同様に新生時胸腺摘出マウスの脾細胞では培養5日目まで観察した限りでは抗体産生の誘導がほとんどみとめられなかった。

またこの系に正常または新生時胸腺摘出マウスの腹腔浸出細胞を加えた場合にも、抗体産生の誘導はほとんどみとめられなかった。

考 察

この実験において正常マウスの分離脾細胞の培養でヒツジ赤血球に対する溶血素産生細胞の出現が1次反応および2次反応においてみとめられること、しかし新生時胸腺摘出マウスの培養脾細胞では抗体産生細胞の出現が1次反応においても2次反応においても観察されがたいことが示された。培養細胞による抗体産生の研究の特徴は、抗体産生にあずかると考えられる抗原処理細胞、抗原反応性細胞、抗体産生細胞の前駆細胞等を分離して解析的に研究をすすめる可能性の点にある。この実験で

はいずれの段階あるいは細胞における欠陥のために新生時胸腺摘出マウスにおける抗体産生の低下がおこるかについて明らかにすることができなかったが、培養細胞による抗体産生の研究は将来これを明らかにする最もよい系を提供するものと考えられる。

(協同研究者：納富昭彦)

文 献

- 1) Mishell, R. I. and Dutton R. W., 1963 J. Exp. Med., 126, 423.
- 2) Dutton, R. W. and Mishell, R. I., 1967 J. Exp. Med., 126, 443.

右田俊介（金沢大・癌研）：胸腺摘出マウスの腺細胞には正常マクロファージを加えるより、リンパ球を加えることによって機能が回復するとは考えられないか。

答：リンパ球を加えることの方がより重要と考えるので、さらに追求中である。

森沢成司（大市大・医・生化）：*in vitro* 系での抗体産生はリンパ系細胞の生存率という点で改良すべき問題がたくさんあると思う。その点について示された実験条件は、より改良された条件であることに同意し敬服の意を表したい。しかし正常動物と摘脾動物との間のリンパ系細胞の *in vitro* 系での生存率には差があるとも考えられるが、その点検討されたか。

答：培養した脾細胞の生存率については、正常マウス脾細胞の生存率と新生時胸腺摘出マウスのそれとの間にほとんど差がない。しかし、生きた細胞の回収率は培養細胞数を $10 \sim 20 \times 10^6/\text{ml}$ としたとき3日目でも約30%以下であったから、培養条件についてはさらに改良を要している。

胸腺, ファブリシウス嚢摘除による免疫能の抑制

山口 康夫, 鈴木八重子, 大熊 一朝,
秋元 佑介, 小出 勝也, 荻原 芳樹
(日大・医・細菌)

I まえおき

近年, 生体が外来 および内在の "not self" 物質の抗原侵襲に対して生物学的な自己完全性を保つために備えている免疫能を, アレルギーや自己免疫病の治療, 同種臓器移植という別個の合目的性を求める意味から抑制する方法が医学者, 免疫学者の重要な研究対象として関心を集めている。現在試みられている多くの免疫抑制法は既に免疫能がある程度以上成熟した時点でその免疫反応過程をブロックすることにおかれているが, 他に免疫能の個体発生段階でこれを抑止する方法が考えられる。

ところで鳥類は哺乳動物とちがって胸腺のほかと同じくリンパ上皮組織よりなる Bursa of Fabricius (B. F.) という特有な類リンパ器官をもっている。B. F. が約350年前にイタリア人 Fabricius によって初めて記載されてから, その機能は永い間不明のヴェールにつつまれていたが, それを免疫能と結びつけたのは GLICK ら (1956)^{1,2)} であり, 彼らは B. F. の初生期摘除によってニワトリのネズミチフス菌に対する凝集素抗体産生がおさえられる事実を発見した。その後 MILLER³⁾ によるマウス胸腺機能の究明とほぼ平行し, WOLFE⁴⁾, ASPINALL⁵⁾, WARNER⁶⁾, GOOD⁷⁾ 各グループの一連の研究によって B. F. が胸腺とともに免疫能の獲得に中核的な役割をもち, しかも胸腺はいわゆる細胞伝達性免疫 B. F. は液性抗体産生能の発達を分担支配することが次第にあきらかにされてきている。われわれも過去数年来ニワトリの胸腺, B. F. の働きにつき免疫生物学的研究を続けてきたが^{8,9)}, このシンポジウムでは, これら両器官の初生期摘除法とそれによる両器官依存免疫系の発達障害の結果としておこる諸種免疫現象の抑制~欠落についての実験結果のあらましを述べ, それぞれのところで他研究者の報告とも比較しながら今後解明されるべき問題点を考察してみよう。

II 胸腺, B. F. 摘除法とその検討

現在胸腺と B. F. の類リンパ組織は卵生16~18日ごろにはほぼ完成し, その主体的な機能は孵化後1~2週令までに果されるといわれる。それゆえ両器官依存免疫系の

発達を完全に欠落させるためには孵化後できるだ, 早期に摘除するか, さらに理想的には特定薬物を発育卵に投与してその発生を選択的に阻止することにある。現在実施されている方法は表1のごとくで, その詳細はわれわれが「医学のあゆみ」に記載している¹⁰⁾ので参照されたい。胸腺, B. F. の外科的摘除は遅くとも孵化後12時間以内に行なうのが望ましく, B. F. は総排泄腔背部にある桃実状の単一器官なのでかんたんに摘除できるけれども, 胸腺は頸静脈に沿って左右7葉ずつ計14葉あり, これを全部完全に摘除することはかなりの困難をともない, 特に胸腔近くにある1~2葉を取りのこし, これがその後の免疫実験のデータを混乱させる一因となりやすい。

表1 Method for thymectomy and bursectomy.

1. THYMECTOMY :
 - A) SURGICAL THYMECTOMY (ST) IN NEONATAL LIFE
 - B) ST + X RAY (650-750R)
 - C) ST + RABBIT ANTI-THYMIC LYMPHOCYTE SERUM (RATLS)
2. BURSECTOMY :
 - A) SURGICAL BURSECTOMY (SB) IN NEONATAL LIFE, SD+X
 - B) HORMONAL BURSECTOMY (HB)
 - IMMERSION OF 2-DAYS-EGGS INTO 2% TESTOSTERONE PROPIONATE ETHANOL SOLUTION
 - INJECTION OF TESTOSTERONE PROPIONATE (1-2mg) TO 5-DAYS-EGGS
3. THYMBURSECTOMY :
 - SR + ST, HB + ST, etc.

しかし, どんなに両器官を早期かつ完全に摘除してもその免疫系の発達を全く抑止したことになる。そのわけは卵生中から摘除時点までの両器官の働きで貧弱ながらも脾, 腸管などの末梢類リンパ組織の構築がなされているからである。COOPER ら (1966)¹¹⁾ はこの点に注目して外科的摘除の翌日にX線全身照射 (650~750R) を行なって 両器官依存免疫系の抑制に良好な成績をえた。けれども初生ヒナへの高線量のX線照射は放射線障害を起こし, また網内系の破壊はマクロファージなどによる抗原の "processing" や抗原認識-免疫伝達系にも影響するなどの問題がでてくるだろう。幸い B. F. の場合 MEYER (1959)¹²⁾ によって5日卵に 19-nortestosterone を注射して "bursaless" ヒナをつくるユニークな

方法が報告され、われわれは Testosterone propionate の5日卵注射あるいはその2%ニタノール溶液に2日卵を浸漬する方法をとっている。ところでテストステロンの抑制効果はたしてB.F.のみに選択かつ限局的であるかどうかについては異論がある。WARNER & SZENBERG (1961)^{8,12)}は胸腺の萎縮が約30%の割合で認められると報告している。われわれはテストステロン処理で胸腺の萎縮や末梢類リンパ組織の低形成を示した例を現在までのところ経験していない。彼等は胸腺とB.F.の発生がかなり進んでいる12日卵にテストステロンを投与したため、B.F.の消失とともに胸腺皮質の萎縮が起こったものと解されないだろうか。

他方、胸腺の発達を選択かつ有効的におさえる薬剤がなく、また前述のように外科的摘除にX線照射を併用する方法にも問題点があるので、われわれは外科的摘除後1~2週にわたって抗胸腺リンパ球ウサギ血清(RATLS)を連続投与してすでに末梢類リンパ組織にある胸腺依存免疫系類リンパ細胞を溶解また機能的変化を与えることによりその抑制に著効をうることができた。もちろんRATLSが胸腺依存系類リンパ細胞にだけ溶解するものでなく、B.F.依存系類リンパ球にも作用することはその*in vitro*の交差凝集性からも考えられるけれども、B.F.が存在すればその依存系はまもなく回復するのに反して、胸腺依存系はすでに“thymusless”のためその抑制が顕著かつ長期間持続するものと推測される。

III 末梢類リンパ組織の低形成と 流血リンパ球の減少

免疫応答の場とみなされる脾、腸管その他の末梢類リンパ組織の構築に胸腺、B.F.摘除がどのように影響するかを検討する。孵化時の脾白髄類リンパ組織の形成はきわめて貧弱で、リンパ球は疎であるが、その後急速に中心動脈の周囲にリンパ組織鞘や濾胞形成が進み、免疫学的に成熟する6週令ころには定型的白髄類リンパ組織が完成する。ST、特にST+RATLS群6週令ヒナの脾重量は正常対照ヒナの約1/2~2/3程度を示し、脾白髄組織の正常構築が失われて類リンパ組織の著しい疎化と細胞細胞の過形成が起こる一方、胚中心の数や構造は正常のままである。HB群 bursaless ヒナの脾重量は対照ヒナと有意の差はなく、ただ濾胞—胚中心形成が不明瞭かつ減数するのが特徴的といえる。HB+ST+RATLS群ではもちろん白髄類リンパ組織の高度の低形成が起こるけれどもマウスの胸腺摘除時とちがって著明な消耗病がほとんど起きないことが解った。次にこのような末梢類リンパ組織発達の反映ともみなされる流血

リンパ球の自然増加とそれによぼす両器官摘除の影響を調べてみた。図1は孵化後1~2週ごとに総白血球数とヘモグラムをしらべ、1mm³中のリンパ球数を各実験群ごとに算出してその平均値をプロットしたものである。孵化直後のリンパ球数は約500~800/mm³程度であるが、その後正常群では末梢類リンパ組織の構築の進むにつれて急速に増加して10週令時には平均約20,000/mm³となり成鶏に近い数値を示すに至る。10週令時のHB群では約18,000/mm³と軽度に減少し、ST群約7,000/mm³、HB-ST群約5,800/mm³と著減し、ST+RATLS群ではRATLS投与中は流血中からリンパ球はほとんど消失し、中止後徐々に出現して10週令ヒナでも約3,500/mm³程度を示すに過ぎない。以上の諸結果から流血リンパ球や末梢類リンパ組織の“Recirculating lymphocyte pool”には胸腺摘除の方がB.F.摘除よりも明らかに大きく影響して、いわゆる胸腺依存域に属することが示唆される。ともかくCOOPERら¹⁾も主張するように、胸腺とB.F.が中枢系類リンパ組織として末梢類リンパ組織構築を分担し、胸腺はおもに脾白髄の中心動脈周囲類リンパ球マントルや腸管などの類リンパ濾胞の形成にあずかるのに対して、B.F.は胚中心、プラズマ細胞系の発達を支配すると考えて間違いのないだろう。

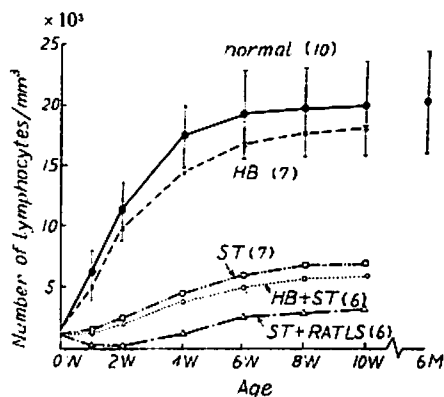


図1 The natural increase of blood lymphocyte count in each experimental group of chickens. The figure in parentheses denotes the number of chicken in each experimental group.

IV 免疫グロブリン産生能—液性免疫の抑制

生体に起こる複雑な諸種免疫現象も基本的には Immunoglobulins を主役とする液性免疫と細胞抗体が主役となる細胞伝達性免疫に分けて考えられるが、まず前者におよぼす胸腺、B.F.摘除の影響についてわれわれのデータを述べる。

自然抗体：ニワトリの正常血清中にも多種多様の自然抗体が含まれている。われわれは抗チフス菌、抗ウサギ血球、抗ヒトB型血球自然凝集素について調べてみたところ、被検各実験群とも本質的にはほぼ同じなのでここでは抗チフス菌凝集素抗体についてのみ図示する(図2)。正常対照、ST+RATLS 群ヒナでは2群とも4~5週令時ころより出現しはじめて急に増強して9~10週令ころには成値に近くなるのに、HB 群 HB-ST 群では10週令時までの観察期間中には凝集素抗体の産生が認められなかった。ウサギ血球やB型血球に対する凝集素は抗チフス菌凝集素よりも早く3週令ころより出現してくるが、胸腺、B.F. 摘除がその産生におよぼす効果は同様であり、われわれは諸種の免疫実験に先立ってあらかじめB.F. 依存免疫系の抑制制度を知る指標としてこれらの自然凝集素価を測定することになっている。なお、上記自然凝集素抗体はいずれも2-メルカプトエタノール感受性でγMに主に存在することが確かめられた¹³⁾。自然抗体を産生するクローンと後述のような特異的免疫抗体を産生するクローンとが一連の細胞系によるか否かは別としても“bursaless”の外科的摘除や Testosterone 処理で自然抗体産生クローンの発生が抑えられるものと解される。

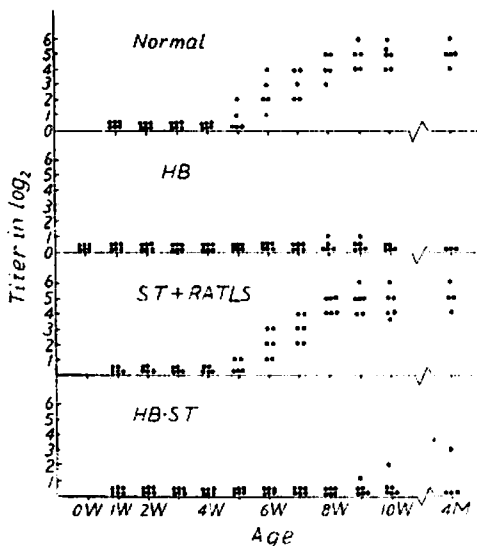


図2 The occurrence of natural agglutinating antibodies to typhoid bacilli in the serum of each experimental group.

免疫抗体：すでに GLICK (1956)¹⁴⁾, MUELLER ら (1960)¹⁵⁾, COOPER ら(1966)¹⁶⁾, 高橋 (1967)¹⁷⁾その他多くの研究者が液性あるいは有形抗原で B.F. 摘除ヒナの

感作実験を行なって、特異的免疫グロブリン抗体産生が顕著に抑制される事実を認めている。ここでは正常、SB, HB, ST+RATLS 群6週令ヒナにヒツジ血球感作後スライドブラック法 (CUNNINGHAM, 1968)¹⁸⁾ に準じ、胸腺、B.F. 脾における溶血素産生細胞-direct PFC, 抗ニワトリγG ウサギ血清を反応系に添加した場合の indirect PFC の動態とγG,γM 血清溶血素抗体の相対的力価の変化を2-メルカプトエタノール (ME) 処理法で検索した結果を述べて検討してみよう。表2aで明らかにように1次感作後最高値を示す第5日の脾細胞d. PFC (ind. PFC もおよそ同数) は正常群、ST 群とも同程度に著しく増加し、その時の血清溶血素はME感受性で大部分が19S (γM) であることが示された。

表2 The influence of thymectomy or bursectomy on the number of hemolytic plaque-forming cells (PFC) in spleen, bursa and thymus and the hemolytic titer in the serum of each experimental group.

a) 5 Days after the first sensitization.

exp. groups	Tested cell	PFC/10 ⁶ direct	indirect	Hemolysin titer in log ₂
Normal (5)	Spleen	498	526	6 7 2 3 4 5 6 7 8 9 10
	Thymus	4	8	6 7 2 3 4 5 6 7 8 9 10
	Bursa	0	4	6 7 2 3 4 5 6 7 8 9 10
SB (5)	Spleen	4	8	6 7 2 3 4 5 6 7 8 9 10
	Thymus	0	0	6 7 2 3 4 5 6 7 8 9 10
HB (5)	Spleen	0	0	6 7 2 3 4 5 6 7 8 9 10
	Thymus	0	0	6 7 2 3 4 5 6 7 8 9 10
ST + RATLS (5)	Spleen	512	490	6 7 2 3 4 5 6 7 8 9 10
	Bursa	4	4	6 7 2 3 4 5 6 7 8 9 10

b) 5 Days after the second sensitization.

exp. groups	Tested cell	PFC/10 ⁶ direct	indirect	Hemolysin titer in log ₂
Normal (5)	Spleen	320	1220	6 7 2 3 4 5 6 7 8 9 10
	Thymus	24	64	6 7 2 3 4 5 6 7 8 9 10
	Bursa	4	8	6 7 2 3 4 5 6 7 8 9 10
SB (5)	Spleen	24	48	6 7 2 3 4 5 6 7 8 9 10
	Thymus	4	8	6 7 2 3 4 5 6 7 8 9 10
HB (5)	Spleen	0	0	6 7 2 3 4 5 6 7 8 9 10
	Thymus	0	0	6 7 2 3 4 5 6 7 8 9 10
ST + RATLS (5)	Spleen	326	1040	6 7 2 3 4 5 6 7 8 9 10
	Bursa	4	12	6 7 2 3 4 5 6 7 8 9 10

..... Hemolysin titer of the same serum treated with 2-mercaptoethanol

1次感作後14日経て2次感作を行なった場合、表2bのように第5日の ind. PFC は1次感作の d. PFC より一層高い値を示し、その血清抗体の ME 耐性度は著しく高く、かなりの部分が 7S γ G 抗体であることがわかった。1, 2次感作後第5日時の PFC を位相差顕微鏡で観察したところ、1次感作 d. PFC, ind. PFC とも約95%以上が大、中リンパ球系細胞でしめられ、形質細胞はきわめて少数しか認められないが、2次感作時の ind. PFC では形質細胞の比率が約60~70%に増加し、その他がリンパ球系細胞であった。従って血清の ME 処理による溶血素価の19S, 7S分布をも考慮すると、およそ γ M 溶血素はリンパ球系細胞により、また γ G 溶血素は形質細胞によって産生されものとみなされよう。正常対照群の B. F. 細胞は1, 2次感作とも PFC の出現はわずかしみられず、これはヒツジ血球抗原の全身投与で B. F. は *in situ* で抗体産生にほとんど関与していないことを意味する。胸腺細胞 PFC は2次感作ではかなり出現するが、これは“bursaless”ヒナでは出現しない事実から B. F. 依存免疫系類リンパ細胞—“動く抗体産生細胞”—が流入定着したことによると思われる。SB 群脾細胞 PFC は1次感作ではわずかしみ出現しないけれども2次感作で PFC が増加する場合がある。HB 群では1, 2次感作の全経過中にまったく d. PFC, ind. PFC とも出現が認められない。ところが液性抗体産生能を全くもたない HB 群4週ヒナにあらかじめヒツジ血球感作して2日後、あるいは感作と同時に同系同令正常ヒナ B. F. 細胞（マクロファージを小ガラス玉カラムを通して除いたもの）を頸静脈から移入すると第5日の d. PFC や19S溶血素産生能がある程度回復することを証明し、現在その詳細を追究中である。この成績は抗原の“processing”や免疫伝達系にあずかる網内系、特にマクロファージはHB群でも正常に発達していることを示唆し、“bursaless”ヒナに起こる免疫学的欠陥は末梢類リンパ組織に免疫適格性をもつ B. F. 依存類リンパ細胞(X-cell)が欠除していることによるとみなされる。

免疫グロブリン：母鶏から卵への γ -グロブリンの移行はきわめてわずかで、孵化時ヒナ血清には免疫電気泳動的には全く検出されないのが普通である。正常対照群や ST, ST+RATLS 群では2~3週令ごろより γ G, γ M が現われはじめ6~8週令ごろには成鶏同様に明瞭な両沈降弓が認められるようになる。図3aは8週令時の各実験群ヒナ血清の γ G, γ M 沈降弓の免疫電気泳動所見(図3b)を normal, diminished (weak), absent の3段階に分けてまとめたものである。SB 群では一般に γ G, γ M の出現が遅れ、8週令ヒナでもこの図のこ

とく明らかに減少しているが、無 γ -グロブリン血症を示した例はみられなかった。ところが HB, HB+ST 群では強く抑制されて γ G, γ M ともほとんど出現することなく約7割のヒナが無 γ -グロブリン血症を示した。COOPER ら⁷⁾は ST+X線全身照射によって γ G, γ M とも著しく減少して無 γ -グロブリン血症に近い状態になることを報告している。ORTEGA & DER (1964)¹⁷⁾は SB ヒナで γ G は著しく減少するが、 γ M (β_2 -M) は正常であると報告し、PIERCE ら (1966)¹⁸⁾や Claflin ら (1966)¹⁹⁾は γ G の著しい減少のほかに一部 γ M も減少が認められるとし、われわれの見解を含めて研究者間のデータに多少の不一致点があるが、これは被検ニトリ系統や交配法、さらに摘除時点の相異によるものとみられ、この点テストステロン処理によるホルモンの除糞による前述の成績はもっとも確実な解答を与えるもので、B. F. 依存免疫系の欠落は γ G, γ M とも産生不能なることを証明しているものと思う。

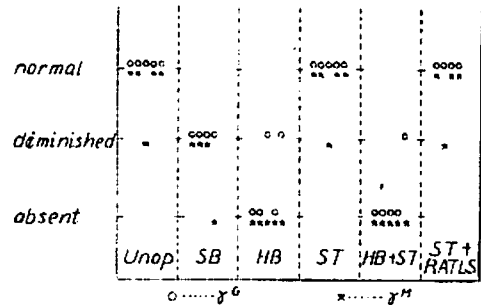
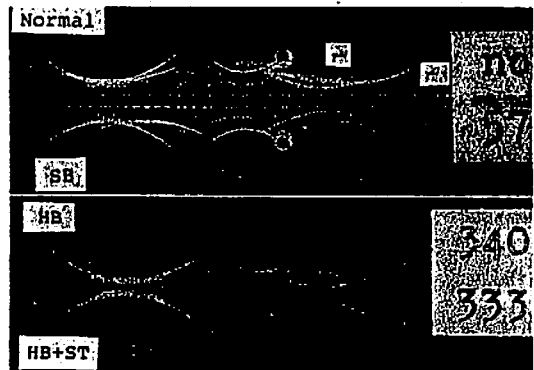


図3 a) The analysis of γ G-, γ M-globulins in the serum of each group of chickens aged 8 weeks by immunoelectrophoresis.



b) Immunoelectrophoretic patterns of normal chicken serum showing the apparent precipitin arcs of γ G and γ M and of “bursaless” chicken serum showing a trace or lack of these immunoglobulins.

ところで抗原の全身投与では B. F. は *in situ* で抗体産生に役立たないことが明らかになっている¹³⁾けれども B. F. 細胞自体が Ig を合成する能力をもっているか否かの問題が提起されてくる。THORBECKE ら (1968)²⁰⁾が BF の Follicles of Stanius 髄質細胞が卵生 18 日ごろより γ M を産生し、しかも無菌飼育ヒナでも γ M を同様に合成しうることを C¹⁴ アミノ酸導入による RI 免疫電気泳動や蛍光抗体法で検出されるという興味ある知見を報告し、B. F. 細胞がそれ自体 γ M 免疫グロブリンを合成しうることは今後 B. F. 依存免疫系確立の機序を追究する上に blood-bursa barrier と関連して示唆にとむ知見である。

最近抗体欠乏症候群一低〜無 γ -グロブリン血症が臨床医学者により注目されているが、その重要な一型である BRUTON 型無 γ -グロブリン血症はニワトリにテストステロン処理で、また他の一型であるリンパ球減少を伴う Swiss 型無 γ -グロブリン血症を HB+ST+RATLS 処理の併用でつくりうることはこれら疾患の発生病理や感染の問題を解析するための重要な実験室モデルを提供するであろう。

V 細胞伝達性免疫—遅発型アレルギーの抑制

一般に細胞伝達性免疫といわれるものはそれ自身免疫学的活性 (immunologic steric configuration or cytoplasmic immunoglobulin?) による) をもつリンパ細胞や通常の免疫グロブリン液性抗体が “cytophilic” (BOYDEN & SORKIN 1961)²¹⁾ あるいは “cross-reactive” (FUJII & NELSON 1963)²²⁾ に結合した感作リンパ細胞によって媒介される免疫現象で、ツベルクリン反応、実験的アレルギー性脳炎や同種移植免疫など、従来遅発型アレルギーといわれているものがこれに属するものと考えられる。これら細胞伝達性免疫におよぼす、胸腺、B. F. 摘除の影響を検査したのでその成績を順次述べる。

ツベルクリン反応：各実験群 6 週ヒナにトリ型結核菌死菌体をフロイントのアジュバント完全抗原として皮下接種して、3 週後にツベルクリン反応を Wattle test (肉垂れ反応) で調べてみたところ、その結果は表 3 のように正常対照群、SB 群では全例において陽転し、ST 群では陽転率は低くなり、さらに ST+RATLS 群では全例が陰性であった。HB 群が SB 群と異なって全く陽転しないのは不可解であるが、奥山 (1965)²³⁾、SZENBERG & WARNER (1962)²⁴⁾ もこの事実を認めている。SZENBERG らの実験のごとく Testosterone 処理で B. F. のみでなく胸腺の萎縮が起こるものとすればその意味づけは簡単であるが、われわれの場合正常ヒナと比較して胸腺皮質萎

縮、胸腺依存末梢リンパ組織の発達や流血リンパ球数に有意の差がみつけれないので、Testosterone 投与による胸腺依存系リンパ細胞のツベルクリン反応に対する機能的変調によるか、アジュバント免疫でも SB 群と異なり HB 群では全く液性抗体が産生されないから胸腺依存系リンパ細胞が cytophilic に感作されないことによると考える以外に説明がつきにくい。しかしながら上述のデータからツベルクリン反応の発現に胸腺依存免疫系が主役を演ずることを確認できた。

表 3 The tuberculin reaction (Wattle test) and EAE incidence in each experimental group of chickens.

	Tuberc. R.	EAE*
Normal	8/8 (100%)	10(7)/10(100%)
SB	7/7 (100%)	8(4)/8(100%)
HB	0/8 (0%)	5(3)/6(83.3%)
ST	3/9 (33.4%)	3(0)/8(37.5%)
SB+ST	3/7 (42.9%)	2(1)/8(25.0%)
ST+RATLS	0/8 (0%)	0(0)/7(0%)

*EAE : Exptl. allergic encephalomyelitis

**Denominator : No. of the sensitized chickens in each group. Numerator : No. of chickens with positive tuberculin reaction or with histologic lesion of EAE.

The figure in parentheses denotes No. of chickens manifesting clinical symptoms.

実験的アレルギー性脳脊髄炎(EAE)：つぎに従来から遅発型自己アレルギーが発症のベースにあると考えられている EAE²⁵⁾ におよぼす抑制効果を追究した。すなわち脊髄やこれから KIES 法²⁶⁾で抽出した encephalitogenic basic protein (EBP.) を用いフロイントの完全抗原として White Leghorn 各実験群を感作して、その発症を麻痺や運動失調を主徴とする臨床所見および病理組織学的に観察したところ SB 群、HB 群ともその発症率は正常群と同様に高いが、ST 群では低く、ST+RATLS 群ではその発症が完全に抑えられた (表 3 参照)。この成績は EAE が胸腺依存免疫系の免疫学的活性をもつ感作リンパ細胞によって液性抗 EBP 抗体がなくても発現されることを意味する。なお JANKOVIĆ & IŠVANESKI (1963)²⁷⁾ は Rhode Island Red で孵化後 2 日における胸腺の外科的摘除で EAE の発症が著しく抑制されると報告しているが、われわれは孵化して 12 時間以内に摘除してもその後 RATLS 連続投与しない限り EAE 発症を完全におさえることができなかったことは被検ニワトリの系統や系統差によって摘除時点における

胸腺依存免疫系の発達度の相異によるものと思われる。

同種移植免疫：White Leghorn を donor, Rhode Island Red の正常群, HB, ST, HB+ST, ST+RATLS 群を recipient として1週令時に皮膚移植実験を行なった。図4で示すように正常群の同種移植片の生着日数は平均約7.4日であるけれどもHB群8.4日, ST群約18日, HB+ST群約22日, ST+RATLS群約47.3日以上の順で延長し, 胸腺依存免疫系の発達のブロックが同種グラフト拒否反応の抑制に著るしい効力をもつことがわかった。特にST+RATLS群の2羽は移植後約120日経た現在でも皮膚移植片は生着しつづけて濃赤羽毛の Rhode Island Red に White Leghorn の白羽毛が逆さに大きくのびて完全に take されている(図5参照)。他方 WARNER & SZENBERG (1964)⁶⁾ はホルモンのB.F. 摘除群の大部分の移植片は1週以内に脱落するが, たまたまテストステロン処理で胸腺皮膚萎縮をきたしたものでは長期間生着することを認め, COOPER ら⁷⁾ も胸腺摘除+X線照射で対照群と比較して著るしく生着延長

することを報告している。

ところで最近免疫学的測定法の進歩によって同種移植免疫に抗移植性液性抗体がある程度関与するとの2, 3の報告^{28,29)}が行なわれているが, しかしB.F. 依存免疫系が健在で液性抗体産生能をもつ場合でもST+RATLS群では同種グラフト拒否反応の発現がおさえられる事実から同種移植免疫に胸腺依存免疫系感作類リンパ細胞が主体的な役割を演じることは確かであり, ただその感作機序が抗移植性液性抗体による cytophilic or cross-reactive な結合によるものか, それとも類リンパ細胞自身のもつ免疫学的活性によるかの問題となるだろう。けれどもHB群では抗移植性抗体の産生能が完全に欠除していても対照群とはほぼ同期間に拒否反応が起こるので, われわれは胸腺依存系感作類リンパ細胞自身の免疫学的活性による cytotoxicity によって移植片の target cells が破壊されるものと考えたい。

VI む す び

以上ニワトリの初生期胸腺, B.F. 摘除によって起こる諸種免疫現象の抑制についてわれわれの実験結果を中心に記述してきた。B.F. 摘除で免疫グロブリン産生能, 胸腺摘除で細胞伝達性免疫が著明に抑制されることは多少の異論はあるにしても他研究者の業績とおよそ一致して結論づけられる。では胸腺, B.F. がどのようなしくみで各免疫能の発達に役立つのであろうか。この機能の本態はここでもしばしば単に胸腺依存あるいはB.F. 依存という言葉で表現しているように現在のところなお不明である。基本的な考え方としてi) 両器官からそれぞれの免疫適格類リンパ細胞を末梢類リンパ組織に供給する。ii) 未分化類リンパ細胞の増殖分化やこれに免疫適格性を末梢類リンパ組織の場合または *in situ* で導入するような体液性因子を生成, 分泌することがあげられるが, ここでこの問題の詳細を論ずる余裕がないので別の機会にゆずりたい。いずれにしても胸腺, B.F. 摘除による液性免疫あるいは細胞伝達性免疫の抑制は本質的に末梢類リンパ組織の中に免疫能の“にない手”であるそれぞれの免疫適格類リンパ細胞(X cells)が減少・欠除していることによるものと考えてよい。もちろんここで紹介したような免疫能個体発生中枢の摘除による免疫抑制法の臨床的な適用は不可能であるにしても, ニワトリに特徴的な両器官依存免疫系の解離とその抑制は微生物感染と免疫, アレルギー, 自己免疫病, 免疫不全症候群や同種移植免疫など複雑な免疫現象のからくりを解析するためのきわめて有効なアプローチ手段になるものと思う。

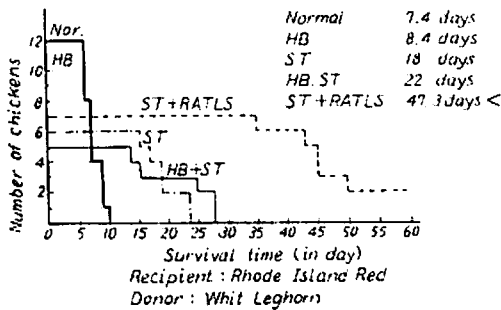


図4 The survival time of skin homograft in each experimental group. The grafting was done at 1 week of age.

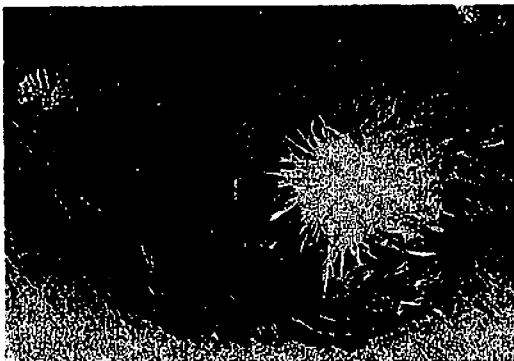


図5 4-Month-old Rhode Island Red chicken thymectomized at hatching and thereafter treated with RATLS, and grafted at 7 days with White Leghorn skin.

稿を終るに際し、われわれの研究にいつも貴重な御教示をいただいている相沢恵教授と東大医科研山本正教授に感謝する。

文 献

- 1) GLICK, B. et al., 1956: Poultry Sci., 35, 224.
- 2) GLICK, B., 1964: in "The Thymus in Immunobiology" (ed. Good, R. A. & Gabrielsen, A. E.) p. 342-358, Hoeber-Harper, New York.
- 3) MILLER, J. F. A. P.: *ibid.*, p. 436-464.
- 4) WOLFE, H. R. et al.: *ibid.*, p. 359-375.
- 5) ASPINALL, R. L. & MEYER, R. K.: *ibid.*, p. 376-394.
- 6) WARNER, N. L. & SZENBERG, A.: *ibid.*, p. 395-413.
- 7) GOOD, R. A., COOPER, M. D. et al., 1966: J. Exp. Med., 123, 75.
- 8) 山口康夫他, 1963: 日本細菌誌, 18, 44.
- 9) 山口康夫他, 1964: 日本細菌誌, 19, 447.
- 10) 山口康夫他, 1968: 医学のあゆみ, 64, 491.
- 11) MEYER, R. K. et al., 1959: Endocrinology, 64, 890.
- 12) WARNER, N. L. & SZENBERG, A., 1961: Australian J. Biol. Sci., 14, 580.
- 13) 鈴木八重子他, 1968: 第23回日本細菌学会関東支部総会発表.
- 14) MUELLER, A. P., et al., 1960: J. Immunol., 35, 172.
- 15) TAKAHASHI, K., 1967: Jap. J. of Microb., 11, 1.
- 16) CUNNINGHAM, A. J. and SZENBERG, A., 1968: Immunology, 14, 599.
- 17) ORTEGA, L. G. & DER, B. K., 1964: Fed. Proc., 23, 546.
- 18) PIERCE, A. E., et al., 1966: Immunology, 10, 321.
- 19) CLAFLIN, A. J. et al., 1966: J. Immunol., 97, 693.
- 20) THORBECKE, G. J. et al., 1968: Immunology, 15, 123.
- 21) BOYDEN, S. V. & SORKIN, E., 1961: Immunology, 3, 272, 4, 244.
- 22) FUJII, G. & NELSON, R. A. Jr., 1963: J. Exp. Med., 118, 1037.
- 23) OKUYAMA, S.: Sci. Rep. Res. Inst. Tohoku Univ.: C 12, 297.
- 24) SZENBERG, A. & WARNER, N. L., 1962: Nature, 194, 146.
- 25) WAKSMAN, B. H., 1959: Int. Arch. Allergy, 14, Suppl.
- 26) KIES, M. W., 1965: Ann. N. Y. Acad. Sci., 122, 161.
- 27) JANKOVIĆ, B. D. & IŠVANESKI, M., 1963: Int. Arch. Allergy, 23, 188.
- 28) STETSON, C. A. & JENSEN, C. A., 1963: in "Advances in Immunology" edited by Dixon, F. J. & Humphrey, G. H., Acad. Press, New York, 3, 97.
- 29) 藤井源七郎他, 1963: アレルギー, 16, 821.

免疫生物学研究会
シンポジウム 2,
77~84 (1968, 東京)

抗 リ ン パ 球 血 清

岩 崎 洋 治 (千葉大・医・第2外科)

抗リンパ球血清 (ALS) とは各種のリンパ組織または胸管リンパ球を抗原として異種動物(ウマ, ウサギなど)に注射してえられた抗血清群に対してつけられた名称である。この抗血清への興味はツベルクリン反応などの delayed hypersensitive reaction とリンパ球様細胞との関係が明らかになるにつれて増加した。とくに最近, 移植臓器の脱落(拒絶反応)にリンパ球様細胞が重要な役割をはたすことが確かめられ, その拒絶反応を抗リンパ球血清が予期したごとく強くおさえることが判明し, すでに腎移植¹⁾, 肝移植²⁾ および心移植の症例に使用されている。性質のあいまいな抗血清をその力価を測定する手段もないままに, 各種の動物を実験の対象として行なわれた研究であるという制約がありながらも, 従来の ALS に関する報告には共通した間違いのなさそうな事実をいくつか指摘することが出来る。

すなわち, ALS は *in vitro* では白血球, リンパ球を凝集し, 補体の存在下でリンパ球を溶かす。 *in vivo* では移植片(皮膚, 腎, 肝)の生着日数を延長させ, ツベルクリン反応の成立をおさえ, 接触性皮膚炎, ジフテリアトキソイドに対する遅延性皮膚反応を抑制する。また donor に ALS を投与することによって graft vs. host 反応を抑制したり, また recipient に ALS を注射することによって同種間でおこなわれたリンパ球の transfer test を陰性化する力をもっている。また液性抗体の産生をも弱める。最近, 既存の過敏症をもやわらげるであろうという考えから, すでに臓器移植以外の免疫疾患の治療としてもためられている。

特定の細胞に対する抗体が作られるならば, その細胞の免疫現象にはたす役割を分析する手段としてその抗血清が有用であろうという発想は20世紀はじめからあったが, 現在ふたたび興味ある課題として登場し, より詳細に分析されようとしている。抗原ならびに抗体の純化がこの面での ALS の効用を決定づけ, また臨床への応用にもつながるわけであるが, いまだそこまで解析する能力はすくなくとも著者にはない。本稿では現在までの知識に多少の臨床への使用経験をまじえて, ALS の紹介をこころみ, 専門家の方々の御指導をお願いしたい。

抗リンパ球血清の作製

免疫動物としてはウマとウサギが広く使われ, それぞ

れの ALS としての効能はすでに各種の実験によって確かめられている。その他, ヒツジは数人の研究者によって使用されたが, WOODRUFF³⁾ はヒツジの抗イヌリンパ球血清は全く効果がなかったとのべている。 JEEJEE-BHOY⁴⁾ は, イヌ抗ラットリンパ球血清がイヌ白血球を凝集したり溶解したりする能力はありながら, 移植免疫を抑制する力のないことを報告している。試験動物としてはモルモット, マウス, ラット, イヌ, サルおよびヒトなどで, これらの動物の胸腺細胞, リンパ節細胞, 脾細胞および胸管から採取したリンパ球などのほか, 胸腺細胞分画などが用いられている⁵⁾。

特殊な試料としては, マウスの上皮細胞⁶⁾ および細胞⁷⁾ あるいは *Salmonella typhi*⁸⁾ を免疫抗原としてウサギに注射してえられた抗血清について, 移植片生着日数の延長効果の有無を検討した報告がある。なかば期待に反して, これらの抗血清は ALS のそれと比較して弱いとはいえ, それぞれ移植皮膚の生着日数を延長している。

いろいろのリンパ臓器細胞のうち, どれを抗原として用いるべきかは, その ALS を用いる目的について最大の効果をもたらすものを選べばよい。NAGAYA⁹⁾ によれば, ウサギにラットの細胞を注射して作った ALS では, リンパ節細胞を抗原とした場合に比べて, 胸腺細胞を抗原とした方が皮膚移植の生着日数を2倍も延長している。最近大藤¹⁰⁾ らも同様の成績をあげている。他の ALS の応用としては, リンパ球を中心とした細胞が関与する免疫現象の解明のための手段として使用する場合をあげることができる。

われわれが現在利用しうる知識は, 異種動物の抗血清についてである。それゆえ, リンパ球組織を免疫抗原として作製した ALS は, リンパ球, 白血球(注)のみならず腎, 肝などと反応する抗体を含むばかりでなく, 異種動物の白血球をも凝集させる力がある(表1)。

種属をこえてヒトまたはイヌの白血球と他動物の白血球は共通抗原をもっており, これは赤血球表面に分布し

(注) 胸管より採取したリンパ球 (4×10^{10}) で ALS 0.5ml を3回吸収すると, リンパ球の凝集素価は 1024 より64に減少し, 白血球凝集素価も 512 より32に減少した。このことからリンパ球と白血球の凝集素価はほぼ同じ値をしめすことが理解出来る。

表1 ウマ抗イヌリンバ球グロブリン*およびウマ抗ヒトリンバ球グロブリン*の各種動物白血球の凝集反応

Species leukocytes tested*	Horse antidog globulin	Horse antihuman globulin
Human (3)	1:16, 1:16, 1:16	1:4,096; 1:8,192; 1:16,384
Dog (3)	1:2,448; 1:1,024; 1:1,024	1:128, 1:64; 1:256
African green monkey (3)	1:32, 1:16, 1:16	1:2,048; 1:1,024; 1:2,048
Cow (3)	1:32, 1:64, 1:128	1:8, 1:64, 1:16
Sheep (3)	0, 1:4, 1:8	1:64, 1:64, 1:128
Pig (3)	0, 1:2, 1:2	1:2, 1:8, 1:4
Guinea pig (2)	1:32, 1:32	1:2, 1:4
Rabbit (2)	1:8, 1:8	1:64, 1:128
Horse (2)	0, 0	0, 0

* 抗イヌ ALG はウシ、モルモットの白血球と、抗ヒト ALG はサル、イヌ、ヒツジの白血球と比較的強く反応する。

() 内の数字は検体数 (PUTNAM et al.⁹⁾)

ている抗原や、Forssman 抗原、Kagaya-Eisler 抗原とも異なるところがあるようである⁹⁾。このような事実をあわせて考慮すると、将来はリンパ球細胞の抗原分析を各種の動物で吟味し、免疫抗原ならびに免疫動物の選択がより科学的に行なわれ、ついで特異的に精製された抗体について論議されるようになる。それまでは、はじめに述べたように多少大ざっぱな話とならざるをえないし、確かな現象のみを羅列することによって、次の段階への発展を期待すべきであろう。

われわれの ALS は¹⁰⁾ ウマに脾細胞 ($10^8 \sim 10^{11}$) を皮下に注射して作製した。最初リンパ節および胸腺細胞 ($10^8 \sim 10^9$) を抗原として注射したが、白血球凝集価が64倍以上にあがらず、そのため脾ホモジネートを抗原として細胞数を増したところ、ただちに凝集価は1024~8192と上昇した。その後はイヌおよびヒトの脾を抗原として ALS を作製した。ALS は非働化したのち、ヒトまたはイヌの赤血球および血清でそれぞれ吸収し、硫酸 (0.4飽和) による塩析によってグロブリン分画(ALG) を採取し、これを実験および臨床に使用した。0.4 飽和分画は白血球凝集価の収量とガンマーグロブリンの純度の2点を考慮して選択した。1部の ALS はヒトあるいはイヌの肝および腎で吸収したのち、グロブリンにわけられ、さらに DEAE セルローズによって IgG にまで精製された。

現在われわれが臨床に用いている ALS は、ヒト赤血球および血清で吸収したのち IgG 硫酸および DEAE セルローズにより分画した (ALG) である¹¹⁾。

リンパ球およびリンパ組織に対する ALS の効果

ALS がリンパ球を凝集したり、または補体の存在下でリンパ球を溶かすことはよく知られたことであり、また、組織培養で blastoid cell transformation を促進する。

これらの ALS の力価は ALS を赤血球あるいは血清蛋白で吸収しても、56°C 30 分間の加熱によっても変ら

ず、それらの特性は ALS の IgG 分画に認められる。

20~30%容量の腎または肝組織で3回以上 ALS を吸収するとリンパ球を凝集させる力価は約1/10に減少するが、しかしそれ以上吸収をくりかえしても完全には吸収されない。

マウス (C57/BL) の線維芽細胞の単層培養に CBA マウスの感作リンパ球を合わせると、ブラック形成がみられるが、あらかじめ感作リンパ球と ALS を作用させておくと、このブラック形成は阻害される¹²⁾。

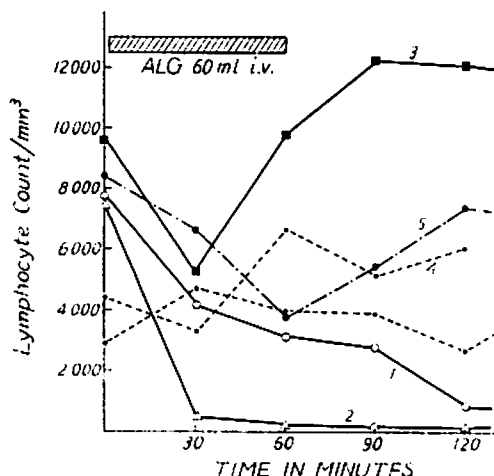


図1 ALG の多量点滴静注による胸管内リンパ球数および末梢血リンパ球数の変動

○—○ 胸管内リンパ球数
△—△ 末梢血リンパ球数
■—■ 末梢血白血球数

イヌに ALG 60ml 点滴静注
イヌ ALG はイヌ赤血球、血清、肝、および腎で吸収した。
白血球凝集価は 1 : 1024

対 照 群

..... 胸管内リンパ球数 胸管ドレナージのみ
●..... 胸管内リンパ球数 イヌに正常ウマ血清のグロブリン 60ml 点滴静注

末梢血リンパ球数が急激に減少する。
胸管内のリンパ球はトリパン青で染まらない。

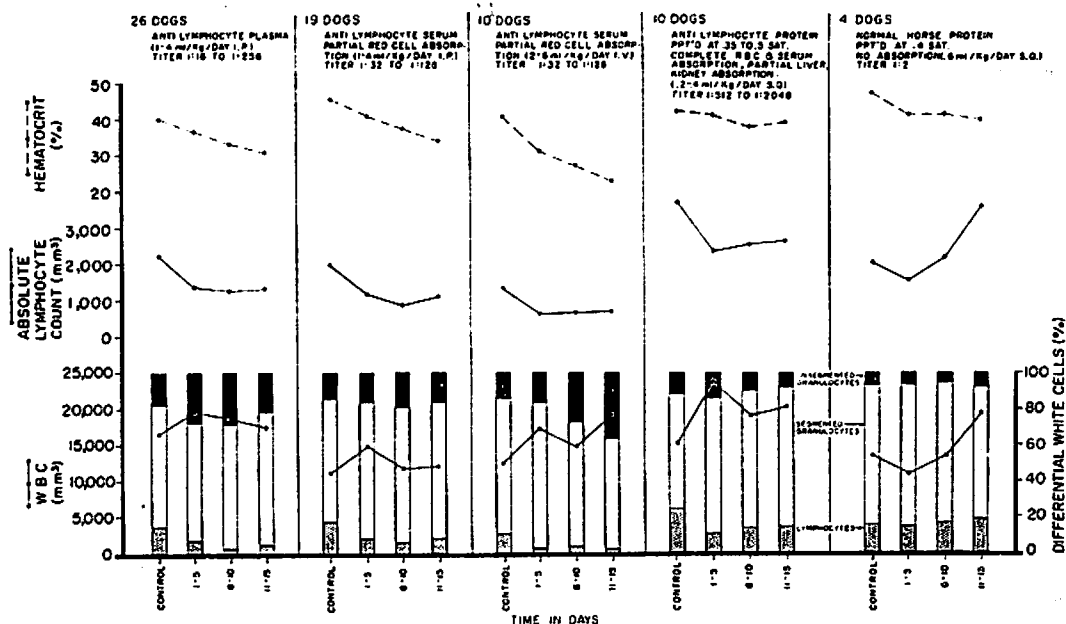


図2 ALS おは ALG 投与によるヘマトクリット値、リンパ球数および白血球数の変動

ALS または ALG は15日間連続投与。

ALS 投与による貧血は、ALS を赤血球などで吸収することによりかなり防げる。

肝および腎ホモジネートで吸収した ALG の投与によっても末梢血リンパ球数は減少する。(IWASAKI et al.¹⁰⁾)

in vivo においては、ALS 投与によって、末梢血中のリンパ球はすくなくとも一過的には減少する。末梢血中のリンパ球は注射直後より減りは始める¹⁰⁾。ALG を静脈内に多量投与した場合、胸管内のリンパ球の数は同様に減少するが、その程度は末梢血中のリンパ球減少に比較すれば著明でない(図1)。

末梢血中のリンパ球を減少させる力は ALS を赤血球、肝および腎ホモジネートで吸収しても残る。末梢血中の白血球数は減少することはないが貧血をきたす傾向がある。正常ウマ血清グロブリンを注射したときでさえも多少ヘマトクリットは減少した。この作用は ALS を赤血球で吸収することにより減ずることはできるが、完全にとり去ることはできないようである(図2)。

ALS の投与を中止すると流血中のリンパ球数は増加し、再投与すると再び減少する。

リンパ球組織における変化は ALS の投与量や投与期間によって異なるが、2カ月もしくはそれ以上 ALG を投与されたイヌのリンパ組織には、むしろ過形成がみられた。脾ではリンパ濾胞の大きさと数が増加し、その中心にはピロニンで染まる大中の細胞が増生し、細胞分裂像が目立つ。電顕像では多くの遊離リボソームが認められる。細網細胞や大食細胞も見られ、そのあるものは核

の破片を含んでいる。この濾胞の周辺部および辺縁層は薄くなり、少数の小リンパ球を含むにすぎない。赤髓の小血管周囲には、リンパ球様細胞の集合を認めた。その一部は形質細胞と思われた¹⁰⁾。リンパ節にも同様な変化が見られたが、やはり胚中心をとりまく小リンパ球の数は著るしく減少している。胸腺には異常がなかった。GRAY ら¹¹⁾ は、ALS を長期間投与すると胸腺内のリンパ球様細胞の減少とパイエル板におけるリンパ球の減少が見られ、それにもましてリンパ節、脾の芽中心の大きさと数の減少、および組織の壊死がみられるという。

HINTZ ら¹²⁾ は、¹³¹I で標識した抗マウス胸腺細胞血清の γ G グロブリンが、胸腺と強くむすびつき、リンパ節、骨、横紋筋および消化管にも分布することを報告している。LEVEY ら¹³⁾ によれば、リンパ節より採取した感作リンパ球または正常リンパ球の transfer test は、ALS を recipient (マウス) に投与することによって著明に抑制されたが、逆に donor に ALS を投与した場合は、ALS を多量に長期間投与しないと ALS のこの抑制効果が期待出来ないという。このことより ALS はおもに末梢リンパ球に働くのではなからうかと推論している。

移植片生着日数の延長効果

ALS と胸腺摘出とを併用することによって、または ALS 単独のみでも、皮膚移植の生着日数が延長する事実は WAKSMAN ら¹⁶⁾, WOODRUFF, ANDERSON^{17,18)}, NAGAYA¹⁾, JEEJEEBOY¹⁹⁾ によって相次いで報告され、LEVEY, MEDAWAR¹⁵⁾ は、2次皮膚移植片の生着日数の延長をも認めている(図3)。この点は、イムランあるいは副腎皮質ホルモンなどが1次免疫反応を抑制するが2次反応をあまり抑制しないという性質と異なりこれが ALS の特性でもある。

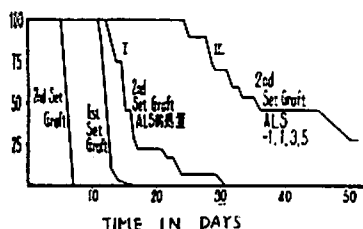


図3 2次皮膚移植片の生着日数におよぼす ALS の影響。A系マウスの皮膚を CBA マウスに移植。1次皮膚移植14日後に2次移植を実施
I群: ALS の前処置のみでは生着日数延長効果は弱い。II群: 前日より移植後にわたって ALS を投与すると効果は著しい。(LEVEY and MEDAWAR¹⁵⁾)

米国 Denver において著者らの作製した ALS, ALG の腎および肝移植の生着日数延長効果については、Starzl らによって発表されたごとく、移植前および移植後も ALS または ALG を投与した群で明らかに延長している²⁾。この ALS の移植腎あるいは移植肝の生着日数延長効果は ALG のそれとほぼ等しく、この ALG の効果は、ALG を肝および腎で吸収してもなおかつ認められたが、しかしリンパ組織で吸収すると消失する。また腎移植の臨床例でも好成績をおさめている(図4)。

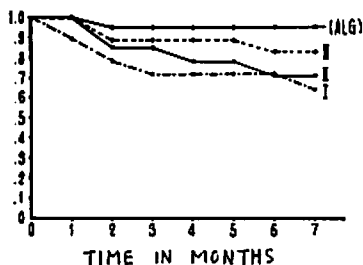


図4 腎移植症例の生存曲線
腎供与者はすべて血縁者
Group 1: 32症例(1962~1963), Group 2: 14症例(1964) (ブドニオン多量投与群), Group 3: 25症例(1964~1966) (Teraski Matching による供与者の選択), Group 4: 20症例(1966) (ALG 投与群) (STARZL et al.²⁰⁾)

ALG の使用によってイムランおよびプレドニンの投与量を激減することも可能となりそれら薬剤の副作用を防止することが出来る。われわれも最近2例の死体腎の移植に ALG を投与して好成績をあげているが、ALG の使用によって術後管理が非常に容易となった。さらにイムランの肝障害作用が肝移植の成功をはばむ障壁と考えられていたところ、ALS があらわれて肝移植の可能性が²¹⁾ 一歩前進した。次に MONACO ら²¹⁾ の興味深い皮膚移植の成績を紹介する。

成熟マウス (A/Jax) に7日間 ALS 0.25ml を投与したのちに、donor (C3H/HE×A/Jax の1代雑種) のリンパ球 (300×10^6) をあらかじめ投与し、ついで皮膚移植をおこなった。この実験で1群は最初に胸腺を摘出し、他の1群では胸腺を摘出しなかったが、胸腺摘出群では皮膚生着日数は著しく延長した。勿論、ALS のみを投与した群でも移植皮膚の生着日数は延びたが、胸腺摘出を併用した群ではそれがさらに延長し、donor のリンパ球を前投与した群では81日以上も移植皮膚は生着している(表2)。この実験は Medawar らによって追試され、彼らも同様な成績を第2回国際移植学会で報告している。そして ALS を使用することによる免疫寛容の獲得の可能性を強調している。ALS の移植片生着日数延長効果におよぼす胸腺摘出の影響に関しては、MONACO²¹⁾ や他の研究者¹⁹⁾ の報告のように、ALS の効果が倍加するという成績がある反面、胸腺摘出が ALS の生着日数延長効果を増強しないという¹⁵⁾ 報告もある。MONACO ら²¹⁾ はマウスで胸腺摘出をすると、ALS 投与によって減少したリンパ節内の大小リンパ球および末梢血中のリンパ球の回復が、胸腺非摘出群に比較して明らかに遅いことを指摘している。

MARTIN ら²²⁾ はX線照射によってヒツジ赤血球に対する抗体産生能(溶血斑形成能)を低下させたマウスを

表2 皮膚移植片生着日数におよぼす donor のリンパ球細胞、ALS および胸腺摘出の影響

	Treatments	Number of Mice	Days of Graft Survival					
			<7	7-14	15-21	22-28	29-35	>36
NO CELLS	Normal	24	24					
	ALS	24		24				
	ALS and Thymectomy	16				16		
CELLS	Normal	20	20					
	ALS	36	21	7	4			
	ALS and Thymectomy	26					4	22

recipient: A/Jax (adult mice), donor: (C₃H/HE×A/Jax) F₁ hybrid, ALS 0.25ml を7日間腹腔内投与, recipient に注入(静注)された donor の細胞は脾およびリンパ節細胞 (300×10^6).

(MONACO et al.²¹⁾)

使って次の実験を行なった。エックス線照射によって低下したマウスの抗体産生能は正常マウスの脾細胞 (10^7) を投与することによってただちに回復させることができるが、ALG を投与したマウスの脾細胞を同数 (10^7) 注入しても、溶血斑形成能は正常マウス脾細胞を注入した群と比較して約 1/5 程度しか回復しない。ところが、ALG 投与マウスの脾細胞 (10^7) に正常マウスの胸腺細胞 (5×10^7) を混合注入すると、その回復は正常マウス脾細胞投与群とはほぼ同程度であった。骨髓細胞にはこの能力はなく、また胸腺細胞注入のみではこの効果は見られなかった。この現象にもとづいて、ALG は胸腺由来の antigen reactive cell に選択的に働くのではなからうかと論じている。

液性抗体産生と ALS

ヒツジ赤血球^{23,24)}、サルモネラ²⁵⁾、ウシ血清アルブミン¹¹⁾などに対する液性抗体の産生も ALS によって弱められる。LANCE, MEDAWAR²⁶⁾ は組織非適合のマウス間での皮膚移植の生着日数を延長させる ALS の量の投与でも、サルモネラ H 抗原に対する抗体産生は見られると述べている。われわれの研究室の深尾によっても、BSA に対する抗体産生は確かに ALS の IgG によって弱められるが、その程度をツベルクリン反応または DNFB に対する接触性皮膚炎の抑制効果に比較すると、むしろ弱いことを認めている¹¹⁾。PCA および Arthus 反応には ALS は影響を与えない¹⁴⁾。ラットでは感応期に ALS を投与すると液性抗体の産生は抑制されるが、抗原投与後に ALS を与えても抑制効果はなかったという。また second set graft の拒絶反応は抑制したが secondary humoral antibody response はおさえないという^{23,24)}。

ALS の副作用

ALS の副作用は、それが異種動物血清であるということ、リンパ組織を抗原とした抗血清であるという性質に由来するものであることはいままでもない。異種血清であるがゆえに、当然血清病またはアナフィラキシーの発現が予想され、また ALS に対する抗体の出現は腎炎などの 2 次的障害を誘発する可能性がある。また、リンパ組織に対する抗血清であっても、肝および腎などに対する抗体も証明されるため、即時型の腎炎などをひきおこすことも考えられた。その上、赤血球、血清蛋白、骨髓細胞に対する抗体も同時に検出されるため、これらによる副作用も考慮に入れる必要がある。

実験動物 (イヌ) に使用した経験では、未吸収の ALS を静注 (1~4ml/kg) したところ、36頭中 11頭が死亡した。その多くは初回または 2~3 回の注射直後にけい

れんをおこして死亡した。腹腔内あるいは筋肉内に投与した場合には死亡例はなかった。未吸収の ALG をイヌに投与すると高度の貧血が起こるが、赤血球および肝、腎、血清で吸収すると、貧血などの副作用はかなり除去されることが出来る。しかし ALG をイヌに投与した場合、糸球体毛細管の基底膜の内皮側に deposit が認められ、蛍光抗体法によれば、同部にウマ γ グロブリン、イヌ γ グロブリン、 β_2 補体が検出された。この deposit は、肝および腎で吸収した ALG を投与した群にも見られ、さらに正常のウマ血清より同様に分離したグロブリンを投与した際にも 4 頭中 2 頭に見られた¹⁰⁾。これに反して、ALG の投与を受けた 8 人の腎移植患者の移植腎をバイオプシーしても、ウマのグロブリンまたは IgG は検出されなかった (表 3)。臨床的には注射部位の痛み、発赤および発熱が認められ、53 人中 3 人に関節痛、11 人にアナフィラキシー様の反応が認められた²⁷⁾。そのアナフィラキシー様の反応は、注射後 5~10 週間におこりやすく、その発現は皮内反応、ウマ血清に対する沈降素因、さらにヒツジ赤血球に対する凝集素因でおおよそ見当をつけることが出来る^{10,27)}。

表 3 ALG を投与された症例の移植腎生検所見

症例	糸球体毛細管の基底膜肥厚		足欠欠の割合	蛍光抗体法による検出				免疫学的検査		
	下方	上方		IgM	IgG	BA	AC	IF	IF	IF
LD107	±	0	±	+	0	0	0	0	0	0
LD108	0	0	±	0	0	0	0	0	0	0
LD109	±	0	+	+	0	0	0	0	0	0
LD110	+	0	++	+	0	0	0	++	++	+
LD111	++	0	±	+	0	0	0	0	0	0
LD112	0	0	±	0	0	0	0	0	0	0
LD113	+	0	++	±	0	0	0	0	0	0
LD114	+	0	±	+	0	0	0	0	0	0

移植後 108~145 日の生検、全例 (8 例) においてウマグロブリンは検出されなかった。

(STARZL et al.²⁷⁾)

上に述べた例のほかにも、免疫反応を抑制することによって、感染症などの疾患に対する抵抗力の減弱も副作用のひとつにあげられる。ALLISON 氏²⁸⁾ は ALS を投与したマウス新生児では、アデノウィルス 12 型による腫瘍の発生頻度が、胸腺を摘出したマウスの発生頻度と同様に高いことを見出している。多田限ら²⁹⁾ は、弱毒生菌免疫が、ALS を投与したマウスにおいて成立しにくいことを報告している。しかし ALS が細胞性免疫を、液性抗体の産生よりも強くおさえるという従来の定説を正しいとするならば、ALS の使用法および精製を工夫することによって、体液性抗体の産生をあまりそなわずに、リンパ球の関与する免疫反応を選択的に抑制することも、必ずしも不可能ではない。柏木によれば、ALG を投与した症例の患者の血清中には、混入している β お

よびαグロブリンに対する抗体が容易に検出されるが、IgGに対する抗体はほとんど検出されていない²⁷⁾。深尾によれば、ウマ抗ヒトリンパ球血清のT分画には、免疫反応を抑制する活性が認められないという¹¹⁾。副作用を少なくして効果の高い製品の作製も急務のひとつといえよう。

ALSの作用機序については、特に項目をもうけなかったが、その解明に多少なりとも手掛かりになりそうな成績は、各所に紹介するように心がけてきたつもりである。ここではMEDAWAR²⁸⁾らの作用機序に関する考え方を箇条書に紹介するととどめる。

- ① Lymphocyte depletion (the cytotoxic theory)
- ② Passive interference (the blind folding theory)
- ③ Active interference (the competitive antigen theory, the sterile inactivation theory)
- ④ Other special interpretations (ALS acts through the thymus)

おわりに

抗リンパ球血清は、リンパ球様細胞が関与する免疫反応を強くおさえ、移植片の拒絶反応をあきらかに軽減する。さらに、すでに感作された個体あるいは細胞の2次反応をも抑制するところが、従来使用されている免疫抑制剤とは異なる点である。免疫現象の解析のための有力な手段として、ALSが使えそうであるところに別の興味がある。抗リンパ球血清の特異的な精製と作用機序の解明が待たれる理由もそこにある。

文 献

- 1) STARZL, T. E., MARCHIORO, T. L., PORTER, K. A., IWASAKI, Y. and CERILLI, G. J., 1967: *Surg. Gyn. Obst.*, 124, 301.
- 2) STARZL, T. E., GROTH, C. G., BRETTSCHEIDER, L., MOON, J. B., FULGINITI, V. A., COTTON, E. K. and PORTER, K. A., 1968: *Surgery*, 64, 549.
- 3) WOODRUFF, M. F. A., 1967: *Antilymphocytic serum*, Wolstenholme, G. E. W. and O'connor, M. (ed.), J. & A. Churchill, p. 141.
- 4) JEEJEEBHAY, H. E., 1967: *Transplantation*, 5, 273.
- 5) LEVEY, R. H. and MEDAWAR, P. B., 1966: *Proc. N. A. S.*, 56, 1130.
- 6) WOODRUFF, M. F. A., 1967: *Antilymphocytic serum*, p. 146.
- 7) NAGAYA, H. and SIEKER, H. O., 1965: *Science*, 150, 1181.
- 8) 大藤 真, 山名征三, 1968: 移植, 3, 91.
- 9) PUTNAM, C. W., KASHIWAGI, N., IWASAKI, Y., TERASAKI, T. L., MARCHIORO, T. L. and STARZL, T. E., 1967: *Surgery*, 61, 951.
- 10) IWASAKI, Y., PORTER, K. A., AMEND, J. R., MARCHIORO, T. L., ZÜHLKE, V. and STARZL, T. E., 1967: *Surg. Gyn. Obst.*, 124, 1.
- 11) 深尾 立, 1969: 移植, 4, 134.
- 12) LEVEY, R. H. and MEDAWAR, P. B., 1966: *Surg. Forum*, 17, 247.
- 13) GRAY, J. G., MONACO, A. P., WOOD, M. L. and RUSSELL, P. S., 1966: *J. Immunol.*, 96, 217.
- 14) HINTZ, B. and WEBBER, M. M., 1965: *Nature*, 208, 797.
- 15) LEVEY, R. H. and MEDAWAR, P. B., 1966: *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 129, 164.
- 16) WAKSMAN, B. H., ARBOUYS, S. and ARNSON, B. G., 1961: *J. Exp. Med.*, 114, 997.
- 17) WOODRUFF, M. F. A. and ANDERSON, N. A., 1963: *Nature*, 200, 702.
- 18) WOODRUFF, M. F. A. and ANDERSON, N. A., 1964: *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 120, 119.
- 19) JEEJEEBHAY, H. F., 1965: *Immunology*, 9, 417.
- 20) STARZL, T. E., PORTER, K. A., IWASAKI, Y., MARCHIORO, T. L. and KASHIWAGI, N., 1967: *Antilymphocytic Serum*, p. 4.
- 21) MONACO, A. P., WOOD, M. L. and RUSSELL, P. S., 1966: *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 129, 190.
- 22) MARTIN, W. J. and MILLER, J. F. A. P., 1968: *J. Exp. Med.*, 128, 855.
- 23) MONACO, A. P., WOOD, M. L., GRAY, J. C. and RUSSELL, P. S., 1966: *J. Immunol.*, 96, 229.
- 24) JAMES, K. and ANDERSON, N. F., 1967: *Nature*, 213, 1195.
- 25) MUSCHEL, L. H., GUSTAFSON, L. and ATAI, M., 1968: *Immunology*, 14, 285.
- 26) MEDAWAR, P. B., 1968: *Human Transplantation*, Rapaport, F. and Dausset, J. (ed.), Grune and Stratton, p. 501.
- 27) KASHIWAGI, N., BRANTIGAN, C. O., BRETTSCHEIDER, L., GROTH, C. G. and STARZL, T. E., 1968: *Ann. Int. Med.*, 68, 257.
- 28) ALLISON, A. C., BERMAN, L. and LEVEY, R. H., 1967: *Nature*, 215, 185.
- 29) 多田限卓史, 根本一郎, 秋山武久, 牛場大蔵, 大谷武彦, 横山拓也, 木村敏郎, 1967: 移植, 2, 52.

木村一郎(東大・医・血清): ミュンヘン大学 外科 および EVRATOM 血液学研究所で行なった慢性リンパ性白血病(6例), 自己免疫疾患(3例)および他の疾患患者にウマ抗ヒトリンパ球血清またはそのγグロブリン分画を静注した臨床例を追加したい。各患者は予備試験後、生理食塩水で希釈した2~10mlの抗血清を15~30分かけて連日12~38日間点滴注入されたが(総量44.5~330ml), 3年前テタス抗血清治療を受けた患者

以外にはいずれも副作用はほとんどなく、臨床症状の寛解が見られた(特に多発性滲皮症に著効)。投与期間中末梢血の小リンパ球は減少したが、他の白血球成分はそれほど減少せず、赤血球数はほぼ不変であった。投与されたウマ血清成分(β - γ グロブリン)は長期間血中に証明されたが、それに対する抗体の産生はまれで約20例中4例に弱い領域成分に対する抗体が治療開始後相当期間を経て認められた(上記テタス抗血清投与例では β 領域の成分に対する3種の抗体が証明された)。その原因は抗血清による免疫抑制、抗原大量投与による免疫パラリシス成立の可能性、白血球の抗体産生能の低下等と考えられるが同じ抗血清 1ml をサルに投与1晩後死亡した経験もあるので使用には十分の注意を要することは論をまたない。

横路謙次郎(広大・原医研)：腎移植患者で ALS またはイムラン連続投与をうける者にかなりの率でリンパ系の悪性腫瘍が短い潜伏期で出ているが、これは一方では慢性同種移植反応がおこり一方では免疫抑制による非自己認識が低下するという現象が関与しているのではないかと思われる。

答：その通りである。ALS も恐らくは受容者を新しい異常な状態に変えるものと思う。

臨床に使用した経験では、イムランや副腎皮質ホルモンの投与量を減量することができたので、それら薬剤の副作用を防止することが可能となり、移植患者の術後管理は非常に楽になった。しかし ALS のみにかぎっても残されている課題が山積されている。臓器移植にたずさわるわれわれの願いはトランスの導入にあるわけで、そのためのひとつの手段として、ALS をとりあげている。

相沢 幹(北大・病理)：ALS、ALG の力価の判定法としての lympho (leuko)-agglutination, cytotoxicity, lymphopenia などのうち移植片生着の効果と平行するもの、換言すれば、スタンダードとなるものへの足がかりは何であると考えられるか。

答：1) リンパ球の免疫適格細胞としての能力を ALS がどのように修飾するかを定量的にチェック出来る方法があれば、ALS の力価測定に使えるであろうという考えで、いろいろと工夫してきたが、まだ満足すべき結果を得ていない。現在は便宜的にリンパ球の凝集素価や cytotoxicity の力価で代用しているがこれらの値のもつ意義も動物によってあるいは異なるのではなからうかとも考えている。

右田俊介(金沢大・癌研)：ウマ ALS の γ G と T グロブリンのどちらに活性があるか、Schwartz によると ALS

の活性は Fab にはなくて、Fc にあるといわれている。 γ G の Fc には異種動物に対する組織結合能があるので、ALS の作用は Fab でリンパ球に結合すると共に Fc でも結合することによって増強されると考えられる。従って Fab, F(ab')₂ または T グロブリンでは活性が強いのではないか。

答：ウマ ALS の活性は IgG 分画にある。ツベルクリン反応、DNFB に対する接触性皮膚炎、などを抑制し、BSA に対する液性抗体の産生を弱める ALS の活性は IgG 分画にあり、また腎、肝の移植に際しても、それらの生着日数を延長させる。T グロブリンにはわれわれの教室の深尾がしらべたところでは、これらの活性を認められなかった。F(ab')₂ には JAMES さんも指摘しているようにリンパ球を凝集させる力がある。しかし彼らによれば F(ab')₂ には移植皮膚の生着日数を延長したり、液性抗体産生を抑制したり、リンパ球の blastoid cell への変換を促進させる作用はみられない。Fab にすると凝集反応をおこす能力もなくなる。後日これらの点も確めたいと考えている。

深尾 立(千葉大・外科)：抗体価測定に関して MEDAWAR が行なっている感作したリンパ球を使用しているのブラック形成の系があるので、この方法が望みがあるように思えるが、追試をされた方があれば教えていただきたい。

MEDAWAR はこの実験より、ALS の作用はリンパ球を被覆することによるものだといっているが、ウマで作った ALS 中の T グロブリンには、リンパ凝集反応、Cytotoxic テストでは陰性であり、ALrG のリンパ球凝集をも阻害しなかったことから、抗体活性はないように思える。

秋山武久(慶大・微生物)：ALS の standardization の試みとしてリンパ球の transfer テストの抑制を調べていただきたいと思います。われわれもたとえばモルモットを使って調べてみたいと思う。

板倉克明(北大・病理)：ALS の効果を規定する諸因子のうちで供与者と受容者の間の antigenic disparity が一つの大きな因子であることをラット皮膚同種移植によって証明したので追加する。Wistar/MK 系と WKA 系とはラットの R 抗原系に関しては同じ allele に支配される抗原を有している。これに対して Fischer 系、WKA 系間には R 抗原系に差異が認められる。これらと系統間の同種移植片の平均生着期間にあまり差異は認められない。しかし ALS を投与すると R 抗原適合の場合皮膚移植の生着は顕著に延長するが R 抗原不適合の場合は顕著でなかった。

辻 公美（東京医大・外科）：1. ALS を使用した場合のヒトでの組織適合性因子はどうであったか。ヒトでのメジャー組織不適合性をのりこえることはほとんど不可能であると思うが、小さい組織不適合性に応用した方がよいのではないか。

2. この点 北大板倉先生の追加は非常に興味深く拝聴した。R 抗原を ALS と胸腺摘出でのりこえることは可能であるとすれば、ひょっとすると R 抗原はマイナー成

分ではないか。

板倉克明：R 抗原系がメジャー組織不適合系であることは、今の追加で示した事実が一つの証拠であろうと思う。もう一つ graft v. host 反応がこの R 抗原系不適合の場合にのみ認められることもマウスの多くの組織適合系のうちでも H-2 系のみがその反応を起こす事実とも一致している。

抗マクロファージ抗体の免疫抑制作用

藤井 源七郎 (東大・医科研・外科)

抗リンパ球血清 (ALS) は、近年その免疫抑制作用について再認識され、とくに同種移植免疫反応の抑制にすぐれた効果をもつことが報告されている¹⁾。ALS の免疫抑制作用の機序はかならずしも単一でなく、いくつかの説明がなされている^{2,3)}。ALS の初期抗血清、過免疫血清の比較⁴⁾、あるいは IgG, IgM, IgA 等の比較⁵⁾もおこなわれているようであるが、問題はいわゆる ALS が胸腺、リンパ節、脾、胸管リンパ球等に対する異種抗血清であることである。たとえこれらの一つの組織に対する抗血清であっても、対象となる細胞は単一でなく、その作用機序の解析を困難にしている。いわゆる ALS は、抗体グロブリンを産生するリンパ球、形質細胞のほか、免疫の誘導期に役割りを果たすマクロファージに対する抗体をも含んでいるはずである。

リンパ球とマクロファージの起原については、肝マクロファージが、胸管リンパ球に由来することを示す報告⁶⁾がある一方、マクロファージが単球に起原し、リンパ球からではないとする⁷⁾ものもあり、かならずしも明らかではない。しかし、リンパ球や、マクロファージのそれぞれに高い特異性を有する抗血清をうることは、これらの細胞の起原の問題や、抗体産生、同種移植免疫等におけるリンパ球やマクロファージの役割りを研究する一助となり、また ALS の作用を解析する有力な手段をうることになるであろう。

われわれは、マウスの腹腔浸出細胞に対するウサギ抗血清が、マウスの抗ヒツジ赤血球抗体の産生と、皮膚同種移植反応に抑制的に作用することを観察していたが、最近、抗マクロファージ血清 (AMS) を作製し、その免疫反応に対する作用の検討をすすめているので、今までにえた結果を紹介する。

1. AMS の作製

培養マクロファージの採取：可溶性デンプンを 3g/dl の割合に生理的食塩水に浮遊し、その 1ml を 10 匹の C57 BL マウスの腹腔内に注射し、3~5 日後に腹腔内浸出液を集めた。腹水採取には、腋窩動脈より全採血した後、腹壁皮膚をはく離し、腹腔内臓を腹壁筋層、腹膜を剥いで透視しうようにした上で注射器にて 5ml の無菌生食水を腹腔内に注入する。腹腔内液をよくゆり動かし

た後、注射針を腹腔内(右側腹部がよい)に臓器を傷つけないように挿入して、静かに腹水を吸引する。採取した腹水は、ALSERVER 液を入れたポリエチレン製チューブ (超遠心用) に注ぎフィブリンによる凝固を防ぐ。この操作をさらに 2 回くり返す。採取した腹水を遠心 (1000 rpm, 10 分間) し、上清を捨て、沈殿した細胞を、10% にウサギ血清を含む組織培養液 "199" に浮遊し、約 1×10^7 cells/ml に調整した。この腹腔細胞浮遊液は、10.6% の多形核白血球と、89.4% の単核細胞を含む。ウサギ血清は、免疫注射をする予定のウサギより無菌的にえたものである。

以上の操作によりえた腹腔細胞浮遊液にペニシリン、ストレプトマイシンを加えた後、組織培養用 T 型ビンにうつし、密栓して 37°C にて 3 日間静置した。ガラス面に付着し、細胞突起を延したマクロファージの存在を顕微鏡下に確かめた後、生理食塩水を加えて強く培養ビンを振盪する操作を 3 回くりかえし、浮遊細胞およびガラス面に弱く付着している細胞を洗い流した。その上で、rubber policeman にて単層の細胞をはがし、生理食塩水に浮遊させた。

免疫注射：培養マクロファージ浮遊液 (約 3×10^6 cells/ml) を完全型フロイントアジュバントとよく混合し、3 匹のウサギの足趾皮内 (4 カ所) 背部筋肉内 (2 カ所)、腹腔内に計 2ml を注射し、2 週後同じ注射をくり返し、その 2 週後に、培養マクロファージのみ (新たに培養した)、 6×10^6 cells を、静脈内と腹腔内に 2 分して注射し、8 日後に採血し、血清を分離した。以上は、UNANUE⁸⁾ の記載を参考とした。分離血清を 56°C 60 分間処理した後、-20°C に保存した。

2. AMS の免疫学的活性

凝集反応：AMS と、ALS の C57BL マウスよりえた腹腔細胞に対する凝集反応を比較した。ALS は、医科研制癌研究部 (山本正教授) で、LEVET and MEDAWAR⁹⁾ の方法によってえられたものである。凝集反応には、 5×10^6 cells/ml の腹腔細胞浮遊液 0.5ml と稀釈抗血清 (非働化) 0.5ml を小試験管中にて混じ、室温 1 時間後に白血球凝集を肉眼的に判定する。ふつう凝集塊は小さいが、対照 (凝集反応には K^{++} を含んだペロナー

ル緩衝液 KG-VB***) を用いた) に比して弱いながらも明らかに凝集を認める程度のものを1+とし、凝集の強さによって4+, 3+, 2+, 1+に分け、2+を示す稀釈数をもって凝集価とした。凝集は、反応液を4°C、一夜間保存すると判定しやすくなる。1+程度でも顕微鏡下には、2~数個の細胞凝集を多数認めることができる。

表1 AMS と ALS

A. Agglutination of ascites cells

	1/20	1/40	1/80	1/160	1/320	Titer
AMS	4	3	3	1	0	120
AMS absorb. & thymocytes	3	3	2	1	0	80
ALS	4	3	3	2	1	160
ALS absorb. & ascites cells	2	2	1	0	0	40

B. Agglutination of thymus cells

	1/20	1/40	1/80	1/160	1/320	Titer
AMS	2	2	1	0	0	40
ALS	4	3	3	3	2	320

C. IA on cultured macrophages

	1/20 (0.8 ml per tube)	
AMS	***	33%
AMS abs. & mouse E		17%
ALS	**	22%
Normal rabbit serum		2%

D. Cytotoxic activity

	Target cells		
	Ascites cells	Macrophages	Thymocytes
AMS	30 AbL/ml	49.1% by 1/20	50 AbL/ml
ALS	130 AbL/ml	62.0% by 1/20	240 AbL/ml

このようにしてえた凝集価は、表1.Aにみられるように、AMS; 120, ALS; 160 であって、ALSの方がむしろ高い。1/20稀釈血清 1.0ml を 5×10^6 の細胞で吸収してみると、C57BL の胸腺細胞で吸収した AMS と、腹腔細胞で吸収した ALS は、腹腔細胞に対してそれぞれ80と40の凝集価を示した。すなわち、AMS は、リンパ球と、ALS は腹腔細胞（大部分はマクロファージ）とそれぞれ反応するが、それらの程度は、ALS のマクロファージに対する場合の方が大きい。

胸腺細胞に対する凝集反応では、AMS が40, ALS が320であり（表1.B）、AMS のリンパ球に対する反応が比較的弱いのに反し、ALS が、マクロファージにかなり強く反応することがこの結果からも示されている。

このほか、C57BL マウスの赤血球に対する凝集価は、AMS が16, ALS が512で後者がはるかに高い。赤血球凝集素は、1/20容量の赤血球を用いた3回の吸収操作で容易に吸収されたが、吸収による、腹腔細胞、リンパ節

細胞に対する凝集素価の低下は、もとの50%程度であった。

培養マクロファージにおける Immune-adherence (IA): マクロファージに対する AMS と ALS の反応を調べる目的で、培養マクロファージに対して、それぞれの抗血清の示す IA を比較した。底面 1.2×1.5 cm の培養用小角ビンに、0.5ml の腹腔細胞浮遊液 (1×10^6 cells/ml) を入れて培養し、既述のごとく、単層のマクロファージを得る。洗滌した培養ビンに1/20稀釈血清 0.8ml と、新鮮モルモット血清（ヒト赤血球とマウス赤血球で吸収したもの）を入れて37°C、30分間反応させ、2%ヒトO型赤血球浮遊液 0.1ml を入れてさらに37°C、30分間反応させる。反応後 KGVB** 液で静かに洗い、顕微鏡下に、培養マクロファージにヒト赤血球が粘着する程度を判定した。

表1.Cに示されるように、AMS は3+で、33%の単層細胞に IA がみられ、ALS は、2+で1コのマクロファージに粘着する赤血球の数が平均してやや少なく（ALS では2~3コが多く、AMS では2~5コなどが多い）、全体の22%の細胞に IA がみられた。正常ウサギ血清は、2%の細胞に IA を示すにすぎない。AMS, ALS で IA 陽性率が比較的低いのは、IA 陽性細胞は、抗体、補体の作用でその変形、溶解がおこり、反応後の洗滌操作でガラス面からはがれて流出したためと考えられる。いずれにしても、ALS が、AMS よりも弱いながら、マクロファージにかなり強い反応を示すことがわかる。

細胞毒性: C57BL マウスの腹腔細胞、培養マクロファージ、胸腺細胞に対する AMS, ALS の補体存在下における細胞毒性を比較した。腹腔細胞、胸腺細胞の細胞毒試験は、既報の著者らの方法¹⁰⁾により、培養マクロファージでは、前述のように小角ビンで培養した細胞に稀釈血清 0.5ml、新鮮モルモット血清の1/3稀釈 0.2 ml を加えて37°C、30分反応させた後、反応液を全部すて、0.1%に Trypan blue を含む“199”液を加えて、3分以内に検鏡して染色細胞のパーセントを計算した。

表1.Dにみられるように、 1×10^6 の腹腔内浸出細胞の50%を障害する抗血清の稀釈倍数より、50%細胞溶解価 (AbL₅₀/ml) とすると、AMS が30, ALS が130であった。胸腺細胞に対しては、AMS が50 AbL₅₀/ml, ALS が240 AbL₅₀/ml で、AMS もリンパ系細胞にかなりの細胞障害性を示している。一方、マクロファージのみを標的細胞とする場合、1/30稀釈血清の示す障害細胞のパーセントは ALS で49%, ALS で62%であり、ALS の方がむしろ強い。これらは、AMS, ALS のいず

れも、マクロファージとリンパ球に細胞障害性を有するが、ALSは、マクロファージに対しても、むしろAMSより強い活性をもつことがわかる。

AMS の *in vivo* における細胞障害活性: 3%のデンプン浮遊液を腹腔内に注射して4日目の C57BL マウスの腹腔内に、AMS (赤血球で吸収) 0.2ml を注射し、その翌日に採取した腹腔浸出液について、表2に記述した方法で細胞障害を検討した。

表2 Effect of AMS of the ascites cells *in vivo*.

Day 0	1.0ml 3% starch suspension i.p. inj.
4	0.2ml, AMS, i.p. inj.
5	Ascites diluted in "199" solution 0.1ml 1% Trypan blue 1.0ml Ascites 37°C, 30 min.

Treatment	Living cells
AMS	43 %
No	85.2 %

AMS 投与マウスの腹腔内細胞の43%が生きた細胞として認められたが、障害細胞の多くは、マクロファージの培養中にもみられる非常に小さい変性細胞とみられる顆粒状のものである。AMS 非投与マウスでは14.8%の細胞が trypan blue によって染色された。

AMS 投与の末梢白血球数におよぼす影響: AMS (C57BL の赤血球で吸収) を C57BL マウスの腹腔内に、初日 0.2ml 以下連日8日間 0.1ml を注射した場合の末梢白血球数およびリンパ球と多形核白血球の比率は図1のごとくであった。各期日の値は、3匹のマウスの平均である。投与当日の白血球数は11,000で、そのうちリンパ球は62%をしめる。投与後1日間に減少した白血球は5日間で増加するが、その後再び減少し、AMS の投与

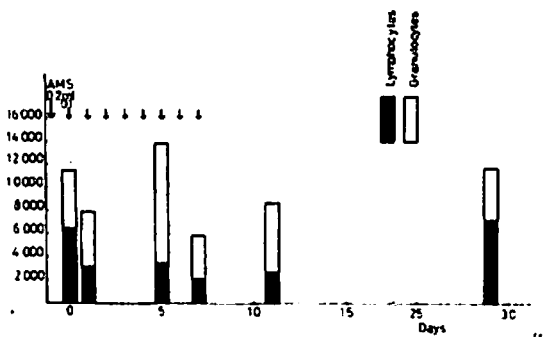


図1 Effect of AMS on the peripheral leucocytes.

中止後増加する。リンパ球の数が投与期間中一貫して低いことは、AMS が *in vivo* においてもリンパ系細胞に障害を与えていることがわかる。

3. AMS 投与の抗体産生におよぼす影響

C57BL 雌マウス (体重 20 ± 2 g) に、ヒツジ赤血球の3%浮遊液 0.25ml を腹腔内に注射したときの、溶血素産生と、20日後に同量のヒツジ赤血球で boosting をおこなったときの抗体産生に対する AMS 投与の効果をしらべた。AMS は、抗原注射の2日前に 0.2ml、その翌日より連日6日にわたって各 0.1ml を腹腔内に注射し、boosting のさいは投与しない。対照として、正常ウサギ血清 (NRS、非燻化し、マウス赤血球で吸収) を AMS と同様注射したもの、非処置の群をおいた。抗原注射後5日毎に2~3匹のマウスよりえた血清の溶血素価とその平均を図2に示す。

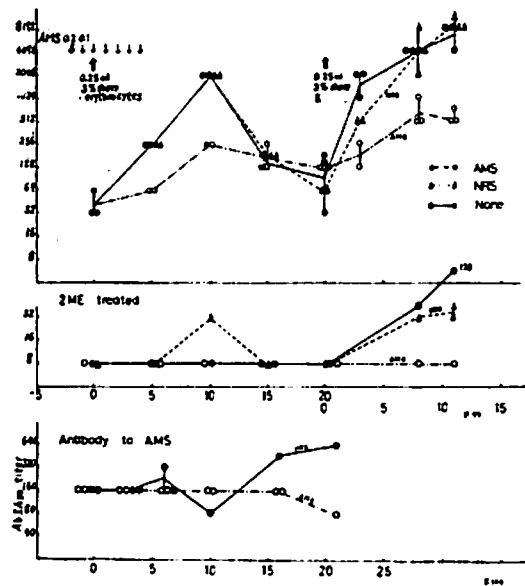


図2 Effect of AMS on the hemolytic antibody production in C57BL mice.

対照群は、NRS 投与、非処置のいずれの群とも、抗原注射後10日で 2048 AbH_{50} と最高となり、以後、20日で免疫前の値に近くなる。boosting 後は急速に抗体価の上昇がみられ、8日で 4096 AbH_{50} 、11日で 8192 AbH_{50} あるいはそれ以上に達する。一方 AMS 投与群では、1次反応、2次反応ともに弱く、1次反応では、10日の最高値が 256 AbH_{50} 、2次反応では8日で、 512 AbH_{50} にすぎない。すなわち1次反応での AMS 投与群の最高抗体価は対照群の1/8であり、2次反応では1/16以下であって、2次反応における抗体産生抑制効果が顕著であ

る。0.1M 2メルカプトエタノール (2ME) で、37°C、30分間処置した各血清の示す溶血価の推移は、図2、中段にみられるごとく、対照群では1次、2次反応のいずれにも2ME抵抗性の溶血抗体 (7S抗体) の出現が見られるのに反し、AMS投与群では全くその出現を見なかった。この結果は、boostingにおいても、AMS投与群が1次反応と同様に反応したことを示している。AMS投与の少なくとも末梢白血球に対する影響が十分回復した時期における2次反応抑制効果は、第1次抗原刺激におけるマクロファージの抗原とり込みを阻止し、その後の記憶細胞の形成に影響したことを示唆している。その機構の詳細な解析には、純粋なリンパ球に対する抗血清の作用と比較する必要がある。

AMS投与にさいして、AMSそのものに対する抗体は、IAHA (immune-adherence hemagglutination) 法で測定したが、全くその上昇がみられず、一方、NRS投与群は、ウサギ血清蛋白に対する抗体産生がみられている (図2、下段)。

4. AMSの皮膚同種移植反応におよぼす影響

ウサギ抗マウス腹腔浸出細胞抗体: C3H/He、雌マウスに、C57BLマウスよりの全層皮膚グラフトを移植し、移植前3日と移植当日に、それぞれ0.25mlのウサギ抗腹腔浸出細胞抗血清を腹腔内に注射した。グラフトの生存期間は図3、上段にみられるように、平均14.5±1.3

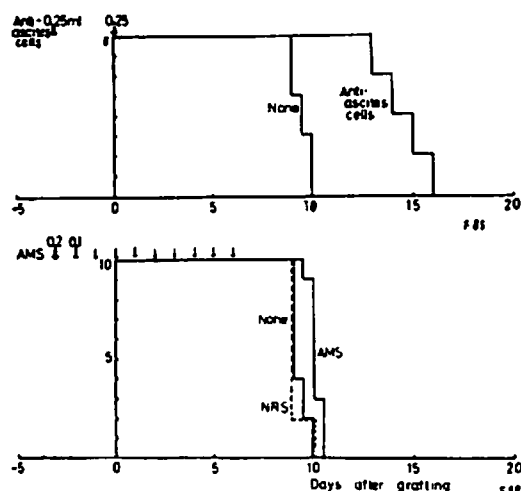


図3 Effect of AMS on the survival time of allogeneic skin graft.

日、対照の9.5±0.8日より約5日間の延長を示している。

AMS投与の影響: 次に培養マクロファージに対するウサギ抗血清 (非働化し、マウス赤血球で吸収) を、

移植前3日に0.2mlを、以後連日9日間、0.1mlを腹腔内に投与した。この実験では、C3H/Heマウスの皮膚グラフトをC57BL雌マウスに移植した。皮膚グラフトの生存期間は、AMS投与群で10.1±0.3日、NRS投与群および非処置群のそれぞれは9.2±0.3日と9.3±0.4日であって (図3、下段)、AMS投与によるグラフト生存延長は全くみられていない。

C3H/HeよりC57BLへの移植では、液性抗体反応なしに皮膚グラフトが脱落する¹⁰⁾ことを観察しているが、ヒツジ赤血球に対する抗体反応が、かなり強く抑制されるAMSの投与量をもって同種移植反応を抑制しえなかったことは、この種の反応にマクロファージが関与しないことを示唆しているようである。C57BLよりC3H/Heへの移植で軽度ながら抗腹腔浸出細胞抗血清の影響が見られたことは、この組合せでは液性抗体産生が比較的多いことと、抗血清中に抗リンパ球抗体がかなり含まれていることが問題であり、なお検討をすすめている。

5. 考察

ALSの免疫抑制機構の解析の一つとして、抗マクロファージ抗体 (AMS) を作製し、その免疫学的特性をALSのそれと比較し、次いでAMSの異種抗原に対する抗体産生と同種移植反応に対する反応への影響を検討した。われわれの作製したAMSは、培養マクロファージに対する異種抗血清であって、そのマクロファージのみに対する特異性を期待したのであった。UNANUE¹¹⁾は、培養マクロファージに対する異種抗血清が、リンパ球とマクロファージの分別に利用しようと述べているが、われわれの結果は、AMSがリンパ球とも交差反応することを示している。この交差反応が、種特異抗原によるものであり、吸収操作によって除去出来るか否かを検討中である。

上述した成績のうち、AMSがALSに比して低い細胞毒活性を示したことについて、それがAMSの特徴であるか否かは、AMS作製における免疫の仕方、血清採取の時期等について検討した上で結論したい。

使用したAMSは、リンパ球にもある程度の反応を呈するものであるが、その投与によって異種抗原に対する抗体産生が抑制され、とくに、AMS投与のマクロファージに対する直接的影響のなくなった時期における2次反応で、抗体産生の抑制が見られたことは興味がある。一般に、boostingの時期に一致してALSを投与すると2次反応の発現がおこえらるというられるが、第1次抗原刺激の時期に投与したALSが、AMSと同様な影響を2次反応に示すかどうかはわかっていない。これら

は、AMS の作用と、マクロファージの免疫反応における役割を知る上にも重要である。

AMS は、同種移植反応に影響を与えなかった。この実験に用いた C3H/He から C57BL マウスへの皮膚移植では、液性抗体の産生がきわめて低く、いわゆる細胞結合性抗体の関与が大きいと考えられる場合であり、このような反応にマクロファージの関与が少ないことを示唆しているのかも知れない。しかし、細胞性免疫にマクロファージが関係するといういくつかの報告¹¹⁾もある。この点についても、さらにいくつかの免疫学的特性を異にする AMS をえた上で検討を試みたい。

文 献

- 1) LEVEY, R. H. and MEDAWAR, P. B., 1966 : Ann. N. Y. Acad. Sci., 129, 164-177.
- 2) WOODRUFF, M. F. A., 1967 : Transpl., 5,

1127-1137.

- 3) MÖLLER, G. and ZUKOSKI, C., 1968 : J. Immunol., 101, 325-332.
- 4) GOWLAND, G., 1967 : In General discussion, "Antilymphocytic Serum", Wolstenholme, G. E. W. and O'Connor, M. (ed.), Little, Brown and Company, Boston.
- 5) 岩崎洋治, 1968 : 免疫生物学シンポジウム, 2, 77-84.
- 6) HOWARD, J. G., BOAK, J. L. and CHRISTIE, G. H., 1966 : Ann. N. Y. Acad. Sci., 129, 327-339.
- 7) RABINOWITZ, Y. and SCHREK, R., 1962 : Proc. Soc. exp. Biol. N. Y., 110, 429.
- 8) UNANUE, E. R., 1968 : Nature, 218, 36-38.
- 9) FUJII, G. and NELSON, R. A., Jr., 1963 : J. Exp. Med., 118, 1037-1058.
- 10) 藤井源七郎他, 1967 : アレルギー, 16, 821-831.
- 11) 三崎 進, 1965 : 日本剖内系学会会誌, 27, 99.

免疫生物学シンポジウム

第 2 卷

昭和44年11月15日発行

編集
発行

免疫生物学研究会

事務局 京都市左京区北白川追分町（〒606）
京都大学理学部動物学教室内

（代表、村松 繁）

電話 京都（075）771—8 1 1 1

（内線 3296）

振替口座 京都 1 5 3 5 0

（三菱銀行出町支店振付）

印刷所 山代印刷株式会社
京都市上京区寺之内通小川西入

第二回免疫生物学会

シンポジウム要旨

1968

目次

先天性免疫グロブリン欠乏症.....	合屋長英・藤本孟男・小館三郎・住吉昭信.....	1
マウスの実験的低ガンマグロブリン血症.....	松橋直・成内秀雄・白井美津子・畠山茂.....	3
	広川勝彦・江崎行香・青木望	
蛋白質抗原による特異的免疫抑制の誘導機構.....	川口進・岡田暉彦・村松繁	4
補体抑制.....	西岡久寿弥・田村昇.....	6
薬剤の作用からみた免疫一次反応.....	松本雄雄・大津柱一郎.....	7
マウス白血病ウイルスなどによる抗体産生の抑制.....	小高建.....	9
細胞移入によるX線照射マウスにおける免疫能の回復について.....	秋山武久	9
虫垂及び胸腺剔出の家兎の抗体産生能.....	紺田進・滝口智夫・栗原二郎・増田徹.....	10
新生時胸腺剔出の試験管内抗体産生におよぼす影響.....	森良一.....	11
胸腺、ファブリシウス囊摘除による免疫能の抑制.....	山口康夫.....	12
抗リンパ球血清.....	岩崎洋治.....	13
抗マクロファージ抗体の免疫抑制作用.....	藤井源七郎.....	15

免疫生物学会

先天性免疫グロブリン欠乏症

(九大・小児科) 合屋長英・藤本孟男・小館三郎

(九大・第一病理) 住吉昭信

先天性免疫グロブリン欠乏症は、血清IgG・IgM・IgAのいずれにも著明な減少がみられるa(hypo)・gammaglobulinemiaと個々の免疫グロブリンが減少しているdys-gammaglobulinemiaとに大別しうる。

IgG, IgM, IgAの3種の免疫グロブリンが個々に欠乏する状態は正常をふくめて8種の場合を考えうるが、この中で詳細な記載のある病型は5種のようなのである(表)。

IgG	IgM	IgA	
+	+	+	正 常
+	+	-	ataxia telangiectasia (Louis-Bar)
+	-	+	Wiskott-Aldrich syndrome
+	-	-	dys- γ -globulinemia type II (Giedion-Scheidegger)
-	+	+	
-	+	-	dys- γ -globulinemia type I (Rosen)
-	-	+	
-	-	-	congenital a- γ -globulinemia

congenital a- γ -globulinemiaとしては次の3種の病型がみられる。すなわち、

1. cong. a- γ -globulinemia — sex-linked recessive form (Bruton)
2. a- γ -globulinemia with alymphocytosis (Swiss type — Hitzig)
3. transient hypo- γ -globulinemia in infancy

以上の病型のうち自験した4例のcong. a- γ -globulinemia (Bruton), 9例のataxia telangiectasia, 3例のdys- γ -globulinemia type I, 1例のWiskott-Aldrich syndromeを中心に臨床像を解析する。

(1) 臨床像の特徴:

感染抵抗性の減弱が共通した主症状であるが、ataxia telangiectasiaには進行性小脳性失調症(歩行開始後早期にきづく)、毛細血管拡張症(眼球結膜に著明)をとめない、またWiskott-Aldrich syndromeには粒球減少性紫斑病・出血性の湿疹がみられる。

ataxia telangiectasiaの患者のうちIgAの欠乏があるのは約1/3の症例であるが、免疫学的・免疫血液学的異常は全例にみとめられる。

(2) 血液学的特徴：

a- γ -globulinemiaなどIgGに欠乏がみられる病型では末梢血・骨髓液中のplasma cellは實際上皆無に近い。他方、ataxia telangiectasia（およびSwiss type a- γ -globulinemia）ではリンパ球減少が著明で、リンパ節の低形成があり、PHA添加培養におけるlymphoblastic-transformationもきわめて低値であった。

(3) 抗体産生能：

各免疫グロブリンの先天性の欠乏状態に相応した抗体の欠損があり、抗原刺激後の抗体上昇もきわめてよい。

1例のBruton型a- γ -globulinemiaでは麻疹を3回経験しているが、一般にウィルス感染にたいする抵抗性は良いようである。

a- γ -globulinemiaに蕁麻疹をみとめた例があり、即時型アレルギー反応は可能と考えられる。

IgG欠乏型には市販 γ -グロブリン製剤（ほとんどIgGのみからなっている）の補促療法が著効をしめしている。

(4) 細胞性免疫反応：

ataxia telangiectasiaではBCG接種後もつねにツベルクリン皮膚反応が陰性であった。a- γ -globulinemiaでは容易にツ反応が陽転する。

同種皮膚移植片排除は、a- γ -globulinemiaやWiskott-Aldrich syndromeではほぼ正常であるが、ataxia telangiectasiaではいずれも著明に遅延（20～85日）している。

なお、a- γ -globulinemia患者には膠原病（自己免疫病）の発現頻度が高いといわれており、1例のa- γ -globulinemia患児に慢性関節リウマチに酷似した関節症状と手背部皮下結節がみられた。

thymus-dependentおよびbursa-dependentの2系のlymphoid tissueを考えると、ataxia telangiectasiaなどは前者の、a- γ -globulinemiaなどは後者の、またSwiss type a- γ -globulinemiaは両者の先天性発達異常と推論しうるようである。

マウスの実験的低ガンマグロブリン血症

(東大医・血清) 松橋 直・成内秀雄・臼井美津子

(東医歯大病理) 畠山 茂・広川勝晃・江崎行香・青木 望

われわれは抗マウス γ -globulin血清を連日投与することにより、マウスに惹起される免疫グロブリンの異常について、免疫学的病理組織学的に検討してきたが、一般に成熟マウスの場合には hypergammaglobulinemia になり、なかにはM成分に近い所見がえられるものもあった。しかし、新生児マウスに抗マウス γ -globulinを連日投与すると、成熟後も hypogammaglobulinemia となり、とくに γ_2 の低下が著しく、ある易動度をもつものが残るようであり、 γ_1 も減少する。こうした一連の実験を次のような方法で検討した。

実験方法

抗マウス γ -globulin血清は、免疫電気泳動法でえられたマウスの γ_1, γ_2 -globulinの沈降線をきりとり、ウサギにFreund's complete adjuvantとともに免疫すると、抗 γ_1, γ_2 -globulin血清がえられる。この抗血清から γ -globulinを分画し、一部はFluorescein isothiocyanateを標識する。

マウス血清に対する抗血清は種々のStrainのマウス血清をFreund's complete adjuvantとともにウサギを免疫してつくり、免疫電気泳動法などに用いた。

抗マウス γ -globulin抗体の投与は、成熟マウスには、500 μ g/匹/日を連続100日以上投与し、1～2週間毎に試験採血し、免疫電気泳動法、Simple radial immunodiffusionにより、免疫globulinの変化を追跡した。また、FITC抗マウス γ -globulin抗体、正常ウサギ γ -globulinなども上述の方法で連続投与した。

新生児マウスは生後24時間以内から250 μ g～5mg/匹/日を2～3週間連続投与し、3週以後に試験採血して前記免疫拡散法で検討した。

実験群、対照群マウスは随時全採血した後病理組織学的な検討を行った。

成績

成熟マウスに抗マウス γ -globulin抗体を500 μ g/匹/日連日注射してゆくと、はじめの期待に反し、一般に免疫グロブリン全体が増加し、 γ_1, γ_2 の増加の他、 γ Mの増加も目立ってくる。投与したウサギ γ C-globulinに対する抗体も初期には産生された例もあるが、後にはいずれも消失し、ウサギの γ C-globulin分画中に微量に混在していると思われる種々の血清成分に対する抗体が産生されている。この抗体の免疫グロブリンクラスは目下検討中であるが、超遠心分析、免疫クロマトグラフィーでは、7Sのピークに抗体活性があるようである。6週間にな

ると γ_1, γ_2 -globulin のbifurcationが目立ってくる例もあり、これはFITC抗マウス γ -globulin投与群に多い。これに反し、正常ウサギ γ -globulin投与群の γ 領域の変化は少い。また、FITC標識あるいは無標識抗マウス γ -globulin投与群では、5週頃からBence-Jones蛋白が尿中に検出される例もある。随時剖検した例では、脾臓、リンパ節の腫張があり組織学的にはリンパ球、細網細胞の増加が著明である。腎臓の変化は著しく糸球体には投与した抗マウス γ -globulinが沈着しており、糸球体の肥厚が目立ちネフローゼ様の変化がみられる。

新生児マウスに生後24時間以内から抗マウス γ -globulinを投与した群では、250 μ g/匹/日程度の連続投与では、妊娠以前から投与した母体から生れた新生児に投与した一群では γ_1, γ_2 -globulinの低下がみられたが、無処置母体からの新生児に投与した群では低下が認められなかった。また、5mg/匹/日投与群では、親の処置とは関係なく一般に γ_1, γ_2 の低下がみられた。Hypogammaglobulinemiaの例では、 γ_2 の低下が著しく、 γ_1 もかなりの程度減少しているが、マウスによりある位置の易動度の γ_2 が主として残っていることが多い。このようなマウスではウサギの γ G-globulinに対してはtoleranceが成立しているが、他のウサギ血清成分に対しても抗体の産生はないようである。また、Ferritinなどを免疫すると、抗Ferritin抗体も産生された。免疫電気泳動像では、hypogammaglobulinemiaの像であるが、なかにはbifurcationが著明なものもあった。しかし、抗Ferritin抗体と特定の易動度をもつ免疫グロブリンとの関係は目下検討をつづけている。

考察と結論

成熟マウスに抗マウス γ_1, γ_2 -globulin抗体を投与すると、多少の γ_1, γ_2 -globulinの低下を示したものもあるが多くの免疫グロブリンの増加が見られ、免疫グロブリン産生細胞系の刺激が考えられる。しかし、新生児マウスに投与した場合は、免疫グロブリン産生細胞のあるものはその産生を抑制されたり、分裂の抑制及至死滅などが起こるためか、ある特定の易動度をもつ免疫グロブリンのみが産生されるだけであるが、そのallotypeなどについては、さらに検討したい。

蛋白質抗原による特異的免疫抑制 の誘導機構

川口 進・岡田 暉彦・村松 繁

(京大・理・動物)

多くの異物に対して免疫的攻撃を加えてそれらを排除することのできる動物が、どのように

して自己の物質を免疫反応の対象から除外しているのかは、免疫生物学の中心課題の一つである。この自己に対する免疫禁止は、動物には自己に対する免疫反応性が先天的に欠如しているからではなくて、自己物質による特異的な抑制作用の結果であると考えられている。実際に、非自己の物質を抗原として用いても、ある条件の下では実験的にその抗原に対する免疫反応のみを抑制することが可能である。従来、新生児や胎児に抗原を与えた場合の抑制現象をトレランス、成体の場合をバラリシスと一般によぶ傾向があったが、多くの研究結果は、これらの抑制状態はいずれも抗原情報を受容する細胞においておこる現象であり、本質的には同じ機構によることを示しており、動物の齢を問わず抗原によって誘導される免疫抑制を特異的免疫抑制 (specific immunosuppression, specific immunologic negativity) あるいは特異的免疫非反応性 (specific immunologic unresponsiveness) と統一的によぶのが妥当なようである。特異的免疫抑制が誘導された場合は、ある期間ときには一生涯その状態が保持され、その期間内では同じ抗原を正常な動物には強く免疫反応を刺激する状態で与えても、この抗原に対する免疫反応はおこらないか非常に弱い。

特異的免疫抑制の誘導の難易を決定するには、二つの要因が関与している。その一つは抗原の状態であり、他は動物体の免疫機構の完全性である。抗原の状態が要因であると考えられるのは、抑制を誘導できる抗原は抗体産生を誘導できる抗原のごく一部にすぎないし、最近抗原の状態によっては抗体産生は誘導できないが抑制は誘導できるような抗原も報告されているからである。抑制は単なる抗原の過剰によってもたらされるのではなく、免疫反応を誘起する免疫原情報と抑制を誘導する抑制原情報とは異なったものであるという推測がなされている。免疫原情報としては抗原が抗原処理機構（網内系と考えられる）によって処理されたもの、抑制原情報としては未処理の抗原が考えられる。

動物体の免疫的完全性は、一つの動物種については次の三つの状態で互いに差異が認められている。即ち、胎児あるいは新生児、正常な成体、非特異的な免疫抑制処理をうけた成体。この三つの状態と上に述べた抗原の状態との相互反応にもとずいて特異的抑制の難易は決定されることが考えられ、その条件を組み合わせで実験し、その結果を総合的に判断することによって特異的免疫抑制の誘導機構の一端が明らかになることが期待される。

そこで次のような条件設定のもとに実験をおこなった。抗原としてはウシγグロブリン (BG G) の溶液を高速遠心してその上清の可溶部分 (sBGG) と、BGG を熱変性させた aggregate (aBGG)、あるいはsBGG に細菌のエンドトキシンを加えたもの (BGG-ET) を用いた。sBGG はそれだけを正常な成体マウスに静脈又は腹腔注射してもいかなる量でも抗体産生を誘起できないが、適当量以上であれば抑制は誘導できる抗原であり、aBGG 及びBGG-ET は正常な成体マウスに強い抗体産生を誘起する抗原である。実験動物にはマウス、成体の免疫抑制にはX線及びcyclophosphamide (Endoxan, シオノギ) を用いた。抗原の処理によって特異的抑制

が誘導されたか、あるいは抗体産生が刺激されたかを判定するには、ある期間後にBGGをフロイントアジュバントと共に浮濁化して与え(challenge)、そのchallengeに対する免疫反応の有無を、指標として与えた I^{131} 標識BGGの血流中からの消失速度によって判定した。

その結果、1) 正常な成体にsBGGをaBGGのわずか1日前に与えても、同時に与えるよりも強い抑制がみられる。2) sBGGとaBGGを同時に与えるとその量比によって抑制あるいは抗体産生のどちらかが起こる。両者の間には拮抗作用がある。3) sBGGの抑制効果は生体の条件とは関係なく、投与量の多少によって決定される。4) aBGGは成体には抑制効果がないが、新生児では高い投与量で抑制がみられる。5) sBGGとaBGGの拮抗性は、X線とendoxanのどちらの処理によっても失われて抑制のみが起こるがBGG-ETとの拮抗性はendoxan処理の場合だけに失われる。新生児では拮抗性はみられず、抑制のみが起こる。

これらの実験事実にもとづいて、抗原と生体条件の両側面から、特異的免疫抑制の誘導機構に関していくつかの可能性について論議を行う予定である。

補 体 抑 制

(国立がんセンター) 西岡久寿彌

(国立がんセンター) 田村 昇

各種の免疫反応において、抗原抗体反応がその基礎になっているのはいうまでもない。抗体のもつ生物学的意義もこれらの反応の“引き金”として注目され、免疫抑制の主たる努力は、その抗体活性あるいは、産生機構を抑えることに主力が注がれている。しかしながら移植拒絶反応を例にとってみても、特定の移植抗原に対する抗体産生だけを特異的に抑える方法の確立されない限り、感染に対する抗体産生も抑えられ、矛盾した限界点が示されて来ている。

一方免疫現象はeffector系としての弾丸がなければ、引き金としての抗体分子だけではその活性は殆んど発揮されない。9つの血清蛋白と3つのinactivatorsからなる補体系は現在免疫学的に最もよく解析されたeffector系であり、免疫抑制の問題に関連してもその関与の可能性を無視することは出来なくなって来ている。

補体抑制の問題は、免疫抑制全般を通じての共通の問題でもあるが、免疫反応抑制の可能性を探求すると同時に、補体作用の機構解析を“からの手”から明らかにすることにもつながっている。

実験的に補体消費を起した動物や、先天的に補体活性の欠如している動物における各種の免

疫反応を解析することにより補体系の関与が示唆されて来たが、我々は、抗体、補体・成分及びその inactivator を精製し、その基盤のもとに、補体系の関与とその抑制、homeostatic regulation の問題をより具体的に証明しようと企画して来たので、その具体例のいくつかをあげ、今後の免疫抑制の問題についての討論ならびに批判をうけたい。

1), 精製した非補体結合性抗体と補体結合性抗体の免疫病変惹起能力の比較及び非補体結合性抗体による抑制 (西岡, 橘, 土井, 中村)

2), 免疫病変局所における補体成分阻止剤による抑制と精製補体成分による Restoration (西岡, 岡田)

3), 自然に存在する補体成分 inactivator とその homeostatic regulation について

C1 inactivator (Ratnoff, Lepow) の hereditary angioneurotic edema (Austen, 山本, 橘, 荒田ら) と、眼房水中の C1 inactivator (嶋田) の意義, C3 inactivator (田村, Nelson) の受身皮膚アナフィラキシー阻止 (西岡), Prausnitz Küstner 反応阻止 (園崎, 鳥巢, 西岡, 白石)

4), 補体成分欠如血清の精製補体成分添加による Sabin - Feldman 反応の恢復 (鈴木, 常松, 鳥巢)

5), 抗補体成分抗体による免疫殺菌反応抑制と、その精製補体成分添加による恢復 (田村, 嶋田, 西岡)

薬剤の作用からみた免疫一次反応

(武田薬品・生物研究所) 松本雄雄・大津絃一郎

免疫抑制剤については Hitchings, Schwartz, Berenbaum, Sterzl および Good らによって広範な研究が行われて来たが、なおその作用機作および免疫現象そのものについても不明の点が少ない。このことがこの分野の基礎的研究ならびに薬剤としての臨床面での評価を困難にしている原因と考えられる。

これらのことについて次の3つの立場から問題点を拾い出し免疫反応の初期の変化について考察を加えた。

I. 薬剤による免疫反応抑制作用の特異性

免疫抑制作用を有する薬剤の比較分類から次の様な傾向を認めた。

1) 抗腫瘍性作用を示す薬剤の多くは免疫抑制作用を有するが両者は必ずしも平行しない。

2) 免疫抑制作用を有するものの多くはアルキル化剤および代謝拮抗剤に属し、前者は主として抗原感作前に処理することによって後者は感作後に投与することによって免疫反応を抑制する。この意味で代謝拮抗剤に特異性があると考えられる。

3) 抗体産生抑制作用と毒性ならびに骨髓障害性とは必ずしも一致しない。

4) 移植免疫反応抑制作用を示すが液性抗体の産生を抑制しない薬剤もある。

II. 免疫一次反応と薬剤による抑制機序

羊血球抗原に対するマウスおよびラットの抗体産生をモデルとし cyclophosphamide および 6-TG を用い次の様な結果を得た。

1) Cyclophosphamide は inductive phase のみでなく productive phase に至る巾の広い抑制作用を示すが、6-TG は inductive phase に限局的に作用し、この意味で 6-TG の作用は選択的である。

2) 感作抗原量によっては 6-TG の作用が抗体産生増強的に働く場合もある。

3) 19S 抗体のみが持続的に出現する抗原感作量において 6-TG は 19S 抗体産生抑制を示した。

4) 上記のごとき 19S 抗体のみを産生する条件下では、PHA, Endotoxin などの投与によって血清抗体産生の増強がみられ、この場合 7S 抗体の出現が認められた。

5) 適当量の抗原感作後に種々の方法によって抗体産生の増強を行わせ、6-TG を投与すると強い抑制が認められた。これは memory cells を特異的に消費(exhaustion)せしめた結果と考えられる。

以上の結果から免疫一次反応の一断面を次の様に推論した。

免疫学的成熟状態に抗原が与えられた場合それに対応する免疫担当細胞(X cells, immunological competent cells) の数は一定であり、抗原には optimal priming dose が存在する。この状態では $X \longrightarrow Y_m$ (memory cells) への移行のみが行われていると考えられる。次に priming dose よりや、多い量の抗原(suboptimal priming dose) が与えられた場合は、余剰の抗原が Y_m (memory cells) に 2 次接触することによって細胞増殖を伴う $Y_m \longrightarrow Y_{19}$ (19S 産生細胞) の過程が進行し 19S 抗体が産生される。更に十分量の抗原が存在すると $Y_m \longrightarrow Z$ (形質細胞) の分化増殖が起り 7S 抗体が産生される。すなわち、同一の抗原性(免疫原性)においても量の変化によって免疫担当細胞が 2 段階の変化を経て (Y_m) に止まるか (Y_{19}) あるいは (Z) まで至るかが決定され则认为る。若し同じことが抗原の質(免疫原性)の違いにまで云い得るとすればいわゆる細胞性抗体産生と液性抗体産生とは基本的には同じ反応の流れの中の異なった面であるといえる。

III. 抗体産生の feedback inhibition

抗体が十分量産生されると抗体過剰を抑制する機構があることが最近知られて来た。これに

については Möller および Uhr らの抗体による抑制作用の研究がある。しかし生体内で確かに抗体乃至抗体成分によって feedback inhibition が働いているという直接の証拠はまだない。

我々は前に述べた実験において十分量の抗原を与えた場合に起る抗体産生パターンの変動と抗体価の上限が常に一定であることなどから抗体産生の feedback inhibition は一次反応の比較的初期に始まるであろうと推定し、その作用を macroglobulin 様の物質に求めた。実験は完全ではないがこれまでの結果を簡単に述べる。

マウス白血病ウイルスなどによる 抗体産生の抑制。

医 科 研 小 高 健

マウス白血病ウイルスによる抗体産生の抑制については、すでにくいつかの報告がある。マウス白血病ウイルスの一つである Friend ウイルスに感染したマウスにヒツジ血球を注射した場合にも、脾臓中の抗体産生細胞数 (Jerne の方法で測定) および血中溶血素に著明な抑制がみられる。この抑制は、ウイルス感染が抗原注射に先行した場合に明らかにみとめられる。

なお、いくつかの抗生物質による免疫抑制についてもふれたい。

細胞移入による X 線照射マウスに おける免疫能の回復について

慶大微生物 秋 山 武 久

目的：X 線照射によって障害されたマウスの免疫能を細胞移入によって回復させるという方法を使って、胸腺細胞と脾臓細胞の機能を比較検討することをくわだてた。

方法：マウスは近交系の DK1 と C3H を選び、種々なる生後日数のものを使用した。

X 線は 180KV, 25mA, 76.5cm の条件で全身に 600R を照射し、同日ないし翌日に同種ないし同系マウスの脾細胞と胸腺細胞を多くの場合は 3×10^7 尾静脈より移入、その後直ちにヒツジ赤血球の 20%~0.2% 浮遊液の 0.2ml を腹腔へ接種した。

逐日にマウスを屠殺して脾を摘出し Jerne 法によって 19S 溶血斑と 7 S 溶血斑—抗マウス IgG 血清添加——を別々に測定した。なお、一部の実験ではあらかじめヒツジ赤血球で感作しておいたマウスの脾細胞と胸腺細胞を移入して溶血斑の出現状態を調べた。

成績：

- 1) 音波破碎細胞を移入しても抗体産生能は回復しなかった。
- 2) C 3 H 系マウスの脾細胞・胸腺細胞をD K 1 系マウスに移入しても抗体産生能はまったく回復しなかった。
- 3) 同系統マウスの脾細胞・胸腺細胞を移入した場合には、いずれも抗体産生能は顕著に回復したが、移入細胞の種類によって回復の経過に特徴が認められた。
- 4) 自身ではまだ抗体産生能が認められない幼若期マウスの脾細胞・胸腺細胞の移入により同系成熟マウスの抗体産生能が回復した etc.

考察： 胸腺細胞の免疫適格性を中心として考察を展開してみたい。

虫垂及び胸腺剔出家兔の抗体産生能

(北野病院免疫血清科)	紺 内 進
(京大第二内科)	滝 口 智・夫
	栗 原 二 郎
(京大ウイルス研病理部)	増 田 徹

虫垂及び胸腺の家兔免疫機構発達に及ぼす役割を検索すべく、新生児及び生長期家兔の虫垂(原口円小囊)及び胸腺を剔出し、一部のものにX線全身照射を加え、これ等家兔の各種抗原に対する抗体産生能を検討し、併せてリンパ組織の変化、免疫グロブリンの変動を検索した。

新生家兔の虫垂及び胸腺を剔出し、生後6～7週に腸チフス菌及び羊赤血球に対する抗体産生能を検索したところ、腸チフス菌凝集素産生能は、胸剔群では正常に保たれていたが、虫垂剔出群及び、胸腺虫垂剔出群では明らかに障害されていた、羊赤血球に対する凝集素産生能は、胸剔、虫垂剔出群とも対照に比し一般に低下していたが有意の差は認められなかった。しかし胸腺虫垂剔出群では明らかに低下していた。

次に新生家兔手術群に生後3、2週に4107X線全身照射を加え、その4週後に上記両抗原に対する抗体産生能を検したところ、腸チフス菌凝集素産生能は、胸剔X線照射群では全く障害されなかったが、虫垂剔出群及び胸・虫垂剔出群では明らかに抑制されていた。羊赤血球に対する凝集素産生能は胸剔群では感作5日後では明らかに対照に比し低値を示していたが、7日目以降では対照に比し一般に低い凝集素値を示していたが有意の差は認められなかった。しかし乍ら、虫垂剔出群、及び胸・虫垂剔出群では感作7日後に於いても明らかに対照に比し強い抗体価を示し、羊赤血球に対する凝集素産生能の低下が認められた。

羊赤血球に対する溶血素産生能は胸腺剔出家兔では一般に低抗体価を示していたが、対照に比し有意の差は認められず、虫垂剔出家兔では胸虫垂剔出家兔と同じく羊赤血球に対する溶血素産生能の障害を認めたが、一般にその程度は後者に於いて強度であった。

生後3週に、胸腺及び虫垂を別出し、その1週後に450γ全身照射を加え、その4週後に腸チフス菌及びコンアルブミンに対する抗体産生能を検索した結果、胸腺別出群では同様に腸チフス菌凝集素産生能は正常に保たれていたが、虫垂別出群及び、虫垂胸腺別出群では明らかに抑制されていて、コンアルブミンに対する抗体産生能は何れの群に於いても一様に障害されていた。

次に細胞抗体産生能をツベルクリンアレルギー抗体産生能及び、皮膚移植免疫能を指標として検討したところ、ツ・ア抗体産生能は胸別及び胸虫垂別出群にて障害されていたが、虫垂別出群では全く正常に保たれていた。同様に、同種皮膚移植免疫能も虫垂別出しX線照射群では殆んど障害されていなかったが、胸腺別出及び胸・虫垂別出X線照射群では明らかに障害されていた。

次に以上の実験成績をもとにし虫垂の機能を更に確かめるべき、新生家兔胸・虫垂別出群に生後2週に600γ X線全身照射を行い、X線照射24時以内に、新生家兔虫垂又は胸腺を腹腔内に移入し、X線照射4週後に腸チフス菌に対する凝集素産生能を検したところ、胸腺別出群では抗体産生能の抑制は認められず、虫垂別出群及び虫垂・胸腺別出群では明らかに著明な抑制が認められ、且つ Induction Phase の遅延が認められた。胸・虫垂別出家兔に胸腺を移入した群では抗体産生能の正常への回復は認められなかったが、胸・虫垂家兔に認められた Induction phase の遅延はもはや認められなくなっていた。胸・虫垂別出家兔の虫垂移植群ではその抗体産生能はほぼ対照たる非手術X線照射家兔のそれまでに回復していた。

以上の諸成績より家兔虫垂は胸腺と同じく所謂中樞リンパ装置として家兔免疫機構の発達に非常に重要な役割を演じていることが想定される。

更に虫垂別出のみにては完全な腸チフス菌凝集素産生能の抑制が認められない為、虫垂と同じ様な組織構造を有する円小嚢 (Sacculus rotundus) も同様な機能を有することが考えられるので、生後4週に両者を別出し、その1週後に450γ X線全身照射を行い、その3週後に各種抗原に用す抗体産生能を目下検索中である。

時間が許せば、これら家兔にみられた異常免疫グロブリン血症及びリンパ組織の変化にも言及する予定である。

新生時胸腺摘出の試験管内抗体産生に及ぼす影響

(九大)

森 良 一

マウスにおいて胸腺は中樞リンパ系組織としての機能をもち、新生時におけるこの摘出は、種々の獲得免疫能の発達に著しく影響する。すなわち、新生時胸腺摘出マウスでは、流血抗体産生、遅延型過敏症の発達、同種移植免疫能の発達が低下する。今回は、流血抗体産生における胸腺の機能を中心に検討を加えることにする。

従来、分離した培養細胞による試験管内での抗体の産生は容易でないとされてきたが、近年、

分離脾細胞を用いて抗体産生が可能となってきた。われわれは、新生時胸腺摘出CF1マウスの分離脾細胞を用いて、ヒツジ赤血球に対する Primary response および secondary response を抗体ブラック法により測定することを試みた。

Primary response においては、5%牛胎児血清加199培地に浮遊させた正常マウスの脾細胞浮遊液 ($1.0-2.0 \times 10^7 / \text{ml}$) では、ヒツジ赤血球の添加により溶血素産生細胞の誘導がみられた。しかし、新生時胸腺摘出マウスの脾細胞浮遊液では、溶血素産生細胞の出現はみられなかった。粗な脾細胞浮遊液を用いるかぎり、腹腔浸出細胞の添加は、出現する溶血素産生細胞の数に殆んど影響を与えなかった。新生時胸腺摘出マウスの脾細胞に正常マウスまたは新生時胸腺摘出マウスの腹腔浸出細胞を加えた場合にも、抗体産生細胞の誘導は殆んどみとめられなかった。

Secondary response においては、正常マウスの脾細胞浮遊液ではヒツジ赤血球添加後約1日で抗体産生細胞数の増加がみられた。しかし、新生時胸腺摘出マウスの脾細胞では培養5日目まで観察した限りでは抗体産生の誘導がみとめられなかった。

以上の試験管内溶血素産生細胞誘導の実験から抗体産生における胸腺のはたらきについて考察を試みる。

胸腺 ファブリシウス嚢摘除による免疫能の抑制

(日大医細菌) 山 口 康 夫

鳥類には胸腺のほかに Bursa of Fabricius (B.F) という哺乳動物にない類似器官があり、近時これら両器官が中枢性リンパ組織として免疫能の個体発生を分担し、胸腺は細胞免疫系、B.F は免疫グロブリン産生系の発達にあずかるとの興味ある知見が明らかにされつつある。われわれも数年来ニワトリの胸腺、B.F の免疫生物学的な働きについて一連の研究を続けているが、このシンポジウムでは両器官を初生期に摘除することによって起る諸種免疫能の抑制～欠落について総括的に述べて検討を加えたい。胸腺、B.F の主体的な役割は卵生中期から孵化後1～2週以内に果されるので両器官依存免疫系の発達を別々にできるだけ完全に欠落させるためには理想的には特定薬物を発育卵に役与して、その発生を選択的に阻止することにある。被検ニワトリとして White Leghorn を用い、胸腺は孵化後遅くとも12時間以内の外科的摘除(ST)、B.F は同様に孵化後早期の外科的摘除(SB)あるいは2日卵を2% Testosterone propionate エタノール溶液に浸漬してその発生を阻止し、いわゆる Hormonal bursectomy (HB) を行なった。しかし胸腺、B.F とともに外科的摘除の場合いかに孵化直後に行なっても既にその時点までに両器官からリベレートされた Immunocompetent cells の precursor による末梢リンパ組織の構築がはじまっているのでこれら器官依存免疫系を完全に抑えられず、それによる機能

代償がある程度起る。さいわいB.F.の場合は Testosterone による発生の抑止 (Meyer ら) が可能であるけれども胸腺の場合は有効な薬剤がないのでわれわれは Rabbit anti-thymic-Lymphocyte serum (RATLS) を外科的摘除後2週間投与することにより胸腺依存免疫系の抑制にかなりの著効を得ている。

現在までわれわれが実施した諸実験成績をまとめてみると次表のようになる。

	"Thymectomized"		"Bursectomized"	
	SB 群	HB 群	ST 群	ST+RATLS
自然抗体の産生	低下,遅れて出現	完全消失	正常	やや低下
免疫抗体の産生	低下	完全消失	正常	やや低下
γ_G, γ_M 免疫グロブリン	減少	著しく減少 ～消失	正常	正常
脾の組織学的所見	ほとんど変化しない	胚中心減数	類リンパ球の著減 類リンパ組織の硬化	著明な Dysplasia
流血リンパ球数	やや減数	やや減数	著減	著減
脾細胞 PFC [※]	著減	存在しない	正常	ほとんど正常
ツベルクリン反応	ほとんど陽性	弱陽性また陰性	陰性時に弱陽性	ほとんど陰性
EAE ^{※※}	ほとんど発症	発症率低下	発症率著しく低下	ほとんど 発症しない
同種皮フ移植 (生着期間)	約7.4日	やや延長 約8.0日	延長 約17.3日	著しく延長 約47.2日

※ PFC=Plaque-forming cells ※※ EAE=Exptl.allergic encephalomyelitis

以上の諸事項について、他研究者の成績とも比較しながら時間の許す限り詳細に述べ、それぞれのところで今後解明されるべき問題点を考察する。このようなニワトリ免疫能の個体発生にみられる胸腺、B.F. 依存免疫系の解離現象およびその抑制は感染と免疫、アレルギー、自己免疫病、免疫不全症候群や同種移植免疫その他の複雑な免疫学的機序を解析する上できわめて有効なアプローチの手段を提供するものと思われる。

(共同研究者 鈴木八重子、大熊一朝)

抗 リ ン パ 球 血 清

(千葉大第2外科) 岩 崎 洋 治

同種移植の際にみられる移植片の脱落を防止する手段として、抗リンパ球血清 (ALS) のグロブリン分割(ALG) が臨床に用いられたのは2年前の1966年 (Starzl 等) のことである。

ここでいう抗リンパ球血清 (ALS) とはリンパ節、胸腺または脾などの細胞 (またはホモジネート) によって異種動物を免疫して得られた抗血清を一括して指すものであり、リンパ球のみに反応する単一の抗体ではない。ALS のこのような複雑な内容にも拘らず、ALS を扱った多くの研究者は、ALS のすぐれた免疫抑制作用に注目し、現在では腎、肝および心移植後の患者に移植免疫反応抑制剤として使用されている。

DENVER において、我々は1966年6月より約半年の間に24例の腎移植患者にALGを投与し、現在教室では2例の腎移植患者にALSのIgG分画を投与している。今回はこれらの経験をまじえて、ALSの作製方法、ALSの特性、さらにALSの有効部分の分画、臨床応用と問題点などについて御紹介し、専門家の方々の御教示を得たいと思う。

抗リンパ球血清の作製

抗ヒトリンパ球馬血清および抗イヌリンパ球馬血清の作製にあたって、免疫抗原として脾のホモジネートを使用した。その理由は抗原として十分な量を得やすいからであり、リンパ節あるいは胸腺細胞で免疫した当初の成績では、細胞数の不足のためか白血球凝集素価の急速なたかまりはみられなかった。

免疫に使用されている動物としては、兎、羊、馬などであるが、既に臨床に馬血清が使用されていることと、好みによって馬を選択した。1回の免疫に注射した細胞数は $1 \times 10^9 \sim 1 \times 10^{11}$ であり、筋肉内に7~20日の間隔で投与した。4~5回の抗原投与で、白血球凝集素価は1:2000~1:4000に上昇した。

抗リンパ球血清の特性

ALSはリンパ球、白血球を凝集させ、また補体の存在においてリンパ球に対してCytotoxicである。これらの抗体は56°C 30分間の非働化の操作および赤血球または血清蛋白による吸収によっても力価は変らない。しかし肝および腎組織による吸収ではそれらの力価は激減する。脾を抗原とした我々のALSでは種をこえて他の種属の白血球をも凝集させる力をもっている。Lingらによれば白血球のThymidineのとりこみを促進する能力があり、リンパ球のBlast cell formationもみられるという。

液性抗体産生能におよぼすALSの効果としては、羊赤血球、BSA、サルモネラなどの抗原に対するそれぞれの液性抗体の力価が、ALS投与によって抑制されることが知られている。ALSの免疫抑制剤としてのきわだった特性は、移植片の生着日数を著明に延長することであり、実験的には皮膚、腎、肝などの同種移植で確認されている。正常または感作されたリンパ球のTransfer Test (同種間) でも、反応は完全に抑制されるという。さらに興味深いことは、H-2不適合のマウス間で皮膚移植を行ない、Second Set Responseに対するALSの効果をしらべたLevey等の成績である。2度目の皮膚移植の前日よりALSを使用したところ、Second Graftの平均生着日数は45日であったという。この成績は既存のHypersensitivity

の状態を、ALS が克服してしまったことを示し、また組織適合の不良な場合も、ALS がその障害を取りのぞく可能性を暗示しているようにもとれる。これらALS の特性を考慮すると、ALS を使用してTolerance を獲得させることも不可能ではなさそうである。また既存のHypersensitivity をもALS が著明に弱めるという事実から、臓器移植以外の分野にALS を応用する（治療剤として）ことも考えられる。

このように免疫抑制剤としてすぐれた能力をもつALS の副作用としては、ひとつには異種血清であるためにおこる反応である。

ALG 投与中に、症例によってはALG の皮内反応は除々に増強し、馬血清成分に対する抗体の出現、羊赤血球に対する凝集素価の上昇、発熱がみられ、時にはアナフィラキシー様の反応があらわれた。他の可能性としては、ALS に含まれる抗体の多様性に起因する副作用であり、腎などに直接的、間接的に障害をおよぼすことが考えられる。現在のところ著明な腎または肝障害は経験しないが、骨髄障害を報じた文献もみられる。

ALS よりこれらの副作用を除去することも緊急を要する課題のひとつであり、さらに免疫に使用する抗原の選択、抗血清の精製、ALS の作用機序の解明、使用方法の検討など今後に残された課題は盡きそうにもない。

抗マクロファージ抗体の 免疫抑制作用

（医科研） 藤 井 源 七 郎

抗リンパ球抗体（ALS）は、胸腺、リンパ節、胸管リンパ球等に対する抗体を云うが、対象とする細胞はかならずしも単一でなく、リンパ系以外の細胞群との交叉反応も強く、その免疫抑制作用も単純でないと思われる。マクロファージは、リンパ球の如くimmunologically competent ではないが、その食食機能と関連して免疫反応の導入期にある役割りを果すものとされているが、その細胞の由来はなお明らかでなく、リンパ球説、monocyte 説等がある。

ALS の免疫抑制作用の解析には、リンパ系細胞やその関連する個々の細胞に対する抗血清の検討が必要であろうが、こゝでは、マクロファージに対する抗血清（AMS）の特性を、ALS と比較し、その免疫抑制効果の他、補体に対する影響についても述べる予定である。

AMS の調製：C57BL ♀マウスの腹腔細胞をウサギに注射して抗血清を得た。マクロファージとしては、3%澱粉浮游液により、腹腔内に誘出させた細胞を、ウサギ血清を10%にふくむ“199”液中で2～3日培養し、ガラス面に強固に附着している細胞を集めた。この細胞をFreund's complete adjuvant として、約 10^7 を足趾皮下、腹腔内に分けて注射し、4週後、同数の細胞を静脈内に注射して、8日後に全採血した。

AMS の免疫学的特性：得たAMS の、C57BL マウスの腹腔細胞に対する凝集反応は、稀釈血清0.5mlと、細胞浮游液、 $5 \times 10^6/ml$ 、0.5mlを反応させる方法で $1:256$ まで陽性である。

赤血球凝集反応は、microtiter 法で、吸収前は $\frac{1}{40}$ (2+)、吸収後は $\frac{1}{40}$ 以下(1+)となった。
未吸収ALS (医科研制癌研) は $\frac{1}{40}$ (2+)で、以下に述べる cytotoxic 活性に比較してもALSがAMSよりも遙かに強い赤血球凝集を示すようである。

Cytotoxic test は、培養2日のマクロファージについて、トリパンブルーのdye uptake 法により行なったモルモット補体存在で、0.2mlのマウス赤血球で吸収したAMSが、 $1 \sim 2 \times 10^6$ コのマクロファージに対して示す% stained cells は、 $\frac{1}{4}$ で100%、 $\frac{1}{8}$ で33.8%、 $\frac{1}{16}$ で25.0%である。未吸収AMSは $\frac{1}{8}$ で49.1%で、赤血球での吸収で軽度のcytotoxic活性が失われる。一方未吸収ALSは $\frac{1}{8}$ で62.0%を示し、マクロファージにも強いcytotoxic活性を有している。このALSが赤血球吸収により、かなりcytotoxic活性が低下する(山本)ことは、上記の赤血球凝集反応の成績と共にALSがAMSより赤血球に対する交叉反応性が高いことがうかがえる。なお正常ウサギ血清(NRS)は $\frac{1}{4}$ でも11%の低値である。

培養マクロファージに対するAMS、ALS、NRSの各 $\frac{1}{4}$ 稀釈の示すimmune adherence (IA) は、それぞれ33%、22%、2%であった。IA反応操作中、多くのIA陽性細胞がガラス壁よりはなれて流れ去ったものと考えられるが、あらかじめ集めておいた培養液中の浮游細胞(macrophage以外の細胞を主とする)に対するIA陽性率は低い(10%)。この成績はAMSのmacrophageに対する特異性を示すものである。

AMSは、腹腔内に注射した場合、in vivoにおいてもcytotoxic活性を示す。澱粉溶液で腹腔内に細胞を誘出させておき、0.2mlのAMSを注射(i.p)して18時間後の腹腔内細胞を検すると、AMS投与群では57%、NRS投与群では14.8%の細胞に障害がみられた。このさいAMS投与群の腹腔細胞中に多数の極小型の変性細胞がみられたが、このような細胞は、腹腔細胞の初代培養中にもみられるもので、変性壊死にいたる細胞であろう。

AMSの腹腔内細胞に対する障害作用に反して、末梢白血球数に対しては殆んど影響なく、NRS投与群に比してむしろ増加の傾向を示した。

AMSの抗体産生抑制作用： ヒシジ赤血球に対するC3H/Heマウスの抗体産生において、AMSは、primary responseと、とくにsecondary responseにおいて抑制作用を示した。抗原注射(3%ヒシジ赤血球浮游液、0.25ml)の前3日と後5日の連日注射(0.1ml)で、そのprimaryおよびsecondary responseにおける血清の溶血価はいずれも 2^{10} で、対照群の 2^{12} と 2^{14} に比し抑制され、とくにsecondary responseにおいて著明である。あらかじめ腹腔内にマクロファージを誘出しておいて、AMSを同様に与えたばあい、その抑制効果は著明で、primary responseで 2^6 、secondary responseで 2^8 にすぎず、booster効果はあらわれていない。AMSのリンパ球に対する障害作用は、検討の余地はあるが、大量のマクロファージの破壊が、ある種の抗原に対する免疫導入の支障をもたらしたものと考えられる。いわゆる血清病の発現はALS投与にみられ難いとされるが、AMS注射による抗ウサギ血清抗体の産生状況について検討中である。

皮膚同種移植実験では、AMS 0.25mlを2回移植前に注射して軽度のグラフト生着の延長(13~16日)を認めた(対照：9~10日)がさらに連日投与による同種移植反応への影響について検討をすすめている。