

# Cytophilic Antibodyの産生に関する研究： 各種免疫条件との関連性について

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/2297/8632">http://hdl.handle.net/2297/8632</a>

## Cytophilic Antibody の産生に関する研究

—各種免疫条件との関連性について—

金沢大学がん研究所免疫生物部 (主任: 西東利男教授)

奥村次郎

(昭和51年4月23日受付)

Boyden & Sorkin<sup>1)2)</sup> による cytophilic antibody (以下 CA と略称) の報告以来, CA の果している免疫上の役割の解明を指向して多くの研究が行なわれ, その業績も既に少なくない。すなわち Boyden<sup>3)</sup> は, ヒツジ赤血球 (SRBC) と Freund's complete adjuvant (FCA) で感作されたモルモットを用いて遅発型皮膚反応 (DHS) の発現と CA 産生との密接な関係を推定した。しかしその後間もなく Holtzer ら<sup>4)</sup> は, 抗原抗体複合体による感作によって, DHS の発現はあるが CA の産生はみられないことを観察し, Liew<sup>5)6)</sup> は, モルモット, ラット, ウサギおよびマウスにおいて, DHS の発現しにくい Freund's incomplete adjuvant (FIA) 法でウシ血清アルブミンを投与し, 又 Tizard<sup>7)</sup> はマウスに SRBC 生理食塩水注射を行って, それぞれ CA 産生のみられることを観察し, Boyden<sup>3)</sup> の見解に対し否定的見解を示している。一方 Fishman<sup>8)</sup> および Askonas ら<sup>9)</sup> の報告では, CA は食細胞に吸着され, 食細胞の抗原とりこみを促進するのではないかと推定している。又, CA の性格については, Jonas, Gurner, Nelson & Coombs<sup>10)</sup>, Nelson & Mildenhall<sup>11)</sup>, Gouland<sup>12)</sup> らは,  $7S\gamma_2$  グロブリン分画中にその活性の存在することを示唆し, Blazkovec & Sorkin<sup>13)</sup> もまた IgG 分画に属することを主張した。更に CA は, Fc 部分が macrophage の receptor と結合する<sup>14)15)</sup> ことも証明されている。

さて, 著者の教室では, 従来より X 線の抗体産生への影響<sup>16)~18)</sup> あるいは immune deviation<sup>19)~22)</sup> 等について検索の歩を進めてきており, この観点から, CA とその他の抗体産生および DHS 発現との関連性を追求することもまた, CA の果す役割を推定する上で重要であると思われる。そこで著者は, まず可溶性

抗原次いで SRBC を用い, immune deviation および X 線照射下で, 更には抗原の各種投与方法での DHS 発現と CA および他の血中抗体産生との関係を追求すると共に, sephadex G 200 による gel 濾過, DEAE カラムクロマトグラフィーあるいはでんぷんブロック電気泳動等を用いて CA の本態解明を試みた。以下はその成績の概要である。

## 実験材料および実験方法

## I 実験材料

1. 実験動物: 一定期間, 一定条件下で飼育した, 体重400g前後の健常モルモットを使用した。

2. 抗原: 1) アルシーバー液中に採取したヒツジ新鮮血球 (SRBC) を, 生理食塩水で3回洗って使用した。又, 皮膚反応および PCA 反应用抗原としては, Boyden<sup>3)</sup> の方法で調整した SRBC 尿素抽出液を, 280 nmにおける紫外部の吸収 (以下 OD) を一定にして使用した。

2) 精製ニワトリ卵白アルブミン (HEA) および p-aminobenzoic acid azo-HEA (PABA-HEA) の高アゾ化標品を用いた。これらの標品は先に越沢ら<sup>23)</sup> の報告した方法に従って作製した。

## II 実験方法

## 1. 可溶性抗原を用いた実験の場合

1) 前処置: 1% HEA 生理食塩水溶液0.5mlずつを, 動物の両前足蹠に注射し, 10日後に感作した。

2) 感作: FCA に同量の0.1% PABA-HEA あるいは0.05% HEA 生理食塩水溶液を加えて water in oil emulsion とし, その0.2mlずつを動物の両後足蹠に注射した。各動物は PABA-HEA 200 $\mu$ g あるいは HEA 100 $\mu$ g を受けている。

## 2. SRBC を用いた実験の場合

On the Production of Cytophilic Antibody under Various Immunologic Conditions —With Special Reference to the Development of Delayed Hypersensitivity— Jiro Okumura, Department of Immunobiology, (Director: Prof. T. Saito) Cancer Research Institute, Kanazawa University.

1) 前処置: 20% SRBC 生理食塩水溶液を1ml, モルモットの腹腔内に注射し, 7日後に感作した.

2) 感作:

i) SRBC in FCA 投与: FCA に同量の30% S RBC 生理食塩水溶液を加えて water in oil emul-

sion とし, その0.2mlずつを動物の両後足蹠に注射した.

ii) FCA と SRBC の分離投与: FCA に同量の生理食塩水溶液を加えて抗原を含まない emulsion をつくり, その0.2mlずつを動物の両後足蹠に注射

Table 1a. Effect of pretreatment with HEA<sup>(1)</sup> in saline on the production of cytophilic antibody and hemagglutinating antibody, and on the development of skin hypersensitivity reaction following sensitization with HEA in FCA<sup>(2)</sup>.

Pretreatment	Sensitization	Days tested after sensitization	Animal No.	Cytophilic antibody <sup>(3)</sup>		Hemagglutinating antibody <sup>(4)</sup>	Skin reaction to HEA	
				on peritoneal cells	in serum		IHS <sup>(5)</sup>	DHS <sup>(6)</sup>
10mg of HEA in saline into fore foot pads 10 days before sensitization		7	1	1.2	1.9	$10 \times 2^{10}$	.	.
			2	3.5	3.2	$10 \times 2^9$	2.5	0.5
			3	2.2	5.7	$10 \times 2^9$	2.5	0.5
		14	4	2.1	6.5	$10 \times 2^{14}$	2.0	1.0
			5	0.8	1.4	$10 \times 2^{15}$	2.0	0.5
			6	1.4	2.0	$10 \times 2^{14}$	2.0	0.5
not treated	0.1mg of HEA in FCA into hind foot pads	7	7	0.4	2.1	$10 \times 2^6$	0	2.0
			8	3.7	1.3	$10 \times 2^7$	0	2.0
			9	.	1.6	$10 \times 2^4$	0	0.5
			10	2.7	4.1	$10 \times 2^9$	0	3.0
			11	4.0	0.9	$10 \times 2^5$	0	3.0
			12	2.0	3.2	$10 \times 2^7$	0	3.0
		14	13	8.4	3.1	$10 \times 2^{12}$	2.0	2.0
			14	4.2	2.5	$10 \times 2^{10}$	2.0	3.0
			15	4.0	1.5	$10 \times 2^{10}$	1.5	2.0
			16	3.2	8.5	$10 \times 2^{14}$	2.0	2.0
			17	2.7	11.0	$10 \times 2^{14}$	2.0	3.0
			18	3.1	8.7	$10 \times 2^9$	2.0	2.0
			19	4.0	4.5	$10 \times 2^{15}$	2.5	3.0

(1) HEA=hen egg albumin

(2) FCA=Freund's complete adjuvant.

(3) Cytophilic antibody activity is expressed by the ratio of tanned sensitized red cells to tanned non-sensitized ones attached to 100 macrophages.

(4) Reciprocal of antiserum dilution showing definite (+) reaction.

(5) IHS=immediate type skin reaction

(6) DHS=delayed type skin reaction

し、その7日前又は4日後に30% SRBC 生理食塩水溶液0.2mlずつを両後足筋肉内に注射し、いずれも血球液注射より二週後に採血した。

iii) SRBC in alum 投与：60% SRBC 生理食塩水溶液2.5ml、1M重炭酸ナトリウム溶液1.15mlおよび1%カリミョウバン溶液2.5mlを混合した後、生理食塩水で全量10mlとし、その0.2mlずつを両後足趾に注射し、三週後に採血した。

iv) SRBC in FIA 投与：SRBC in FCA 投与方法におけるFCAをFIAに変更したのみで、他は全く同様である。

v) SRBC in saline 投与：20% SRBC 生理食塩水溶液の1mlをモルモットの腹腔内に注射した。

### 3. 血中抗体の検索

1) SRBC 溶血反応(HL)及び凝集反応(HA)：一柳<sup>24)</sup>の方法に準じて行った。又 HEA および PABA-HEA 感作血球は越沢<sup>20)</sup>の方法に準じて作製した。

2) CA の検出：Boyden<sup>2)</sup>の方法に準じて行った。

3) PCA 反応：谷口<sup>25)</sup>の方法に準じた。

4. 皮膚反応の術式及び判定  
越沢<sup>19)</sup>の報告に従った。

### 5. 抗体の分析

1) 2-Mercaptoethanol (以下 2-ME) 処理：大場<sup>10)</sup>の方法に従った。

2) DEAE セルロースカラムクロマトグラフィー：Sober 等の方法の佐藤変法<sup>26)</sup>に準じて行った。

3) Sephadex G 200 による gel 濾過：Flodin

Table 1b. Effect of pretreatment with HEA in saline on the production of cytophilic antibody and hemagglutinating antibody, and on the development of skin hypersensitivity following sensitization with PABA-HEA<sup>(7)</sup> in FCA.

Pretreatment	Sensitization	Days tested after sensitization	Animal No.	Cytophilic antibody				Hemagglutinating antibody		Skin test			
				on peritoneal cells		in serum		HEA	PABA-HEA	IHS		DHS	
				HEA	PABA-HEA	HEA	PABA-HEA			HEA	PABA-HEA	HEA	PABA-HEA
10mg of HEA in saline into fore foot pads 10 days before sensitization	0.2mg of PABA-HEA in FCA into hind foot pads	7	20	·	·	4.2	3.6	10×2 <sup>9</sup>	<10×2	·	·	·	·
			21	1.1	1.5	1.5	1.6	10×2 <sup>8</sup>	<10×2	2.0	1.0	0	0
			22	·	·	0.6	2.7	10×2 <sup>9</sup>	<10×2	2.0	1.0	0	0
			23	0.8	0.4	3.4	2.0	10×2 <sup>8</sup>	<10×2	0	1.0	0	2.0
		14	24	0.9	1.3	1.3	3.6	10×2 <sup>2</sup>	<10×2	2.0	2.0	0	2.0
			25	1.2	1.6	1.8	3.8	10×2 <sup>4</sup>	<10×2	2.0	2.0	1.0	3.0
			26	1.6	1.9	3.5	1.9	10×2 <sup>1</sup>	<10×2	1.0	2.0	0	2.0
not treated	0.2mg of PABA-HEA in FCA into hind foot pads	7	27	0.5	0.9	3.1	3.3	10×7 <sup>15</sup>	<10×2	2.0	2.0	0.5	3.0
			28	1.4	1.2	2.4	3.0	<10×2	<10×2	0	1.0	2.0	3.0
			29	1.0	1.7	2.5	4.1	<10×2	<10×2	0	1.0	2.0	2.0
			30	·	·	1.2	4.7	<10×2	<10×2	0	1.0	2.0	2.0
		14	31	1.2	2.3	1.8	1.9	<10×2	<10×2	0	1.0	2.0	3.0
			32	2.1	2.5	·	·	·	·	0	1.0	1.0	2.0
			33	·	·	2.5	3.1	<10×2	<10×2	·	·	·	·
			34	1.6	3.0	5.9	3.5	<10×2	<10×2	0	1.0	1.0	2.0

Note : See Table 1a

(7) PABA-HEA=p-aminobenzoic acid azo-HEA

等<sup>27)</sup>の方法に準じて行った。

4) でんぷんブロック電気泳動：中村<sup>28)</sup>の方法に従った。

6. X線の照射

多田<sup>29)</sup>に準じて行った。

#### 実験成績

1. Immune deviation を示す動物について

1) 可溶性抗原を用いての実験

表 1a は HEA を両前足蹠に投与し(前処置)更に 10日後に HEA in FCA を両後足蹠に注射された(感作)動物、および前処置のない感作のみの動物—対照群—について、DHS 発現、CA 及び HA 産生を検討して得られた成績を要約したものである。これで

みると、対照群に比し、前処置を行った群において DHS 発現の低下が認められたが、CA 産生においては両群の間に差があるとは認めがたく、HA 産生及び IHS は対照群の方がいくらか強いと思われる結果がえられた。

表 1b に、表 1a の中の実験条件のうち、感作抗原 HEA を PABA-HEA としてえられた成績の概要を示した。ここでは明らかに対照群に比し、前処置を行った群では、HEA に対する DHS の発現は強く抑制されているにもかかわらず、抗 PABA-HEA、DHS の発現は特に変わるどころがなかった。又、両群において、PABA-HEA、HA はほぼ同程度であるが、HEA、HA は前処置群でははるかに高かった。しかしながら、HEA および PABA-HEA に対する CA 産生の

Table 1c. Effect of pretreatment with HEA in saline on the production of cytophilic antibody to hapten (PABA) following sensitization with PABA-HEA in FCA.

Pretreatment	Sensitization	Days tested after sensitization	Animal No.	Cytophilic antibody to	
				PABA-GpSGG <sup>(8)</sup>	PABA-RSGG <sup>(9)</sup>
10mg of HEA in saline into fore foot pads 10 days before sensitization	0.2mg of PABA-HEA in FCA into hind foot pads	7	20	2.0	•
			21	2.6	•
			22	3.2	•
			23	1.9	2.3
		14	24	1.8	•
			25	2.7	•
			26	2.3	•
not treated	0.2mg of PABA-HEA in FCA into hind foot pads	7	27	2.0	2.2
			28	2.3	•
			29	2.6	2.8
			30	0.1	•
		14	31	2.4	•
			32	3.2	•
			33	3.3	2.5

Note : See Table 1a. and 1b.

(8) PABA-GpSGG=p-aminobenzoic acid azo-guinea pig serum gamma globulin

(9) PABA-RSGG=p-aminobenzoic acid azo-rabbit serum gamma globulin

面では、両群の間で有意の差があるとは認められなかった。

なお、抗原を PABA-GpSGG として検討した結果を表 1c に示したが、明らかに PABA (Hapten) 特異的 CA 産生のあることが推定された。

## 2) SRBC を用いての実験

SRBC を FCA, FIA あるいは alum を adjuvant として投与されたそれぞれの動物, SRBC in saline 投与動物および SRBC in saline 前投与 SRBC in FCA 感作動物について各種抗体の産生と共に皮

Table 2. Production of cytophilic antibody, hemagglutinating antibody and hemolysing antibody, and development of skin hypersensitivity reaction following sensitization with SRBC in various adjuvants.

Pretreatment	Sensitization		Days after sensitization	Cytophilic antibody in serum		Hemagglutinating antibody	Hemolysing antibody	PCA <sup>(13)</sup> antibody	Skin reaction					
				(10)	(11)	(12)	(12)		(14)	IHS		DHS		
	0.2ml of 30% SRBC into hind foot pads	in FCA	4-9	1/18	36	$10 \times 2^{1.9}/18$	$10 \times 2^4 / 7$	0/7	(15) (16)	(15) (16)	3/8	0.6	6/8	1.4
			10-16	18/27	178	$10 \times 2^{3.7}/27$	$10 \times 2^{5.4}/8$	7/7	6/8	1.3	8/8	2.3		
			17-21	10/11	319	$10 \times 2^{4.2}/11$	$10 \times 2^5 / 7$	6/6	3/4	1.0	4/4	2.2		
			28	3/3	131	$10 \times 2^4 / 5$	$10 \times 2^5 / 5$	5/5	3/4	1.0	3/4	1.6		
		in (17) FIA	4-7	0/4	0	$10 \times 2 / 4$	.	.	0/4	0	0/4	0		
			14-16	0/10	6	$10 \times 2^{3.6}/10$	.	.	6/8	0.8	0/5	0.2		
			21	1/6	38	$10 \times 2^{4.2}/6$	.	.	5/6	0.9	0/6	0.3		
		in (18) Alum	21	1/5	55	$10 \times 2^6 / 5$	$10 \times 2^{5.6}/5$	.	5/5	1.8	0/5	0		
		20% SRBC in saline 1ml into peritoneal	7	0/5	10	$10 \times 2^{1.6}/5$	$10 \times 2^{3.2}/5$	0/5	1/3	0.4	0/3	0.2		
			14	0/4	30	$10 \times 2^3 / 4$	$10 \times 2^{4.8}/4$	1/4	1/3	0.8	0/3	0		
			21	0/4	21	$10 \times 2^3 / 4$	$10 \times 2^5 / 4$	1/4	0/3	0.5	0/3	0.3		
			28	0/3	8	$10 \times 2^{2.3}/3$	$10 \times 2^5 / 3$	1/3	2/3	0.9	0/3	0.1		
SRBC *	0.4ml of SRBC in FCA into hind foot pads	7	5/7	273	$10 \times 2^3 / 7$	$10 \times 2^{6.3}/7$	1/7	2/5	0.8	1/5	0.5			
		14	5/7	385	$10 \times 2^{4.5}/7$	$10 \times 2^{6.8}/7$	3/7	2/5	0.9	0/5	0.1			
		21	7/7	261	$10 \times 2^{4.1}/7$	$10 \times 2^{6.8}/7$	4/7	3/5	1.0	1/5	0.5			
		28	4/4	408	$10 \times 2^{3.9}/7$	$10 \times 2^{6.8}/7$	6/7	3/4	1.4	0/4	0.2			

Note : See Table 1a.

- (10) No. of animals whose 100 peritoneal / No. of animals tested  
cells fixed 100 or more SRBC
- (11) Mean number of SRBC attached to 100 macrophage
- (12) Mean of reciprocal titer / number of animals tested
- (13) PCA=passive cutaneous anaphylaxis
- (14) Number of animals showed positive reaction / No. of animals tested  
by 1 : 100 or more diluted serum
- (15) No. of animals showed positive reaction / No. of animals tested
- (16) Mean of reaction grades in all animals tested
- (17) FIA=Freund's incomplete adjuvants
- (18) Alum=potassium alum  
\* 1 ml of 20% SRBC in saline intraperitoneally 1 week  
before sensitization

膚反応の発現を追求し、その成績を表2に要約した。

この表から明らかなように、FCA と FIA 法による投与群の間で、HA および HL 産生ではともに顕著な差を示さなかったが、CA 産生ならびに DHS の発現においては明確に異なるところがあった。すなわち前者では、ほぼ全例に DHS の発現は顕著であり、CA の産生も認められた。しかし後者では、DHS はほとんど発現しなかったが、CA の産生は少数ながら認められた。

更に、SRBC in alum 投与群では DHS の発現は完全に認められず、CA の産生もまた、きわめて稀であった。しかしながら HA および HL の産生は、FCA 投与群のそれとほぼ同程度であった。一方、SRBC in saline 投与群では、DHS の発現ならびに CA の産生は、共に全く実証されなかった。しかしながら HA および HL 産生は、FCA 投与群との間で特に顕著な差があるという知見はえられなかった。

ところで SRBC in saline 投与後 SRBC in FCA 感作群では、越沢ら<sup>20)</sup>および著者の可溶性抗原を用いたの実験における成績と同様、DHS 発現の著しい低下と CA、HA および特に HL 産生の著しい上昇、更に PCA 活性の中等度上昇が認められた。なお、注目すべきことは、この血清を 2-ME 処理すると、HL 価の著しい低下にもかかわらず、CA 価および HA 価には、ほとんど変化がみられなかったことである。

## 2. X線照射動物について

### 1) X線照射後 SRBC in FCA 感作動物における成績

表3に、X線200R照射24時間後、SRBC in FCA 感作を行ったモルモットについての試験結果を要約した。これで見ると、CA の産生は著明に抑制されており、かつ HA 産生にも低下がみられた。

### 2) SRBC 感作後X線照射動物における成績

同じく表3に、SRBC in FCA 感作24時間後X線200R照射を行った動物についての試験結果の概要を記した。ここでは、CA 産生は抑制を受けるものと受けないものがあり、HA 産生も全く同一の傾向を示した。

## 3. 抗原と adjuvant の分離投与をうけた動物について

### 1) FCA 投与後 SRBC in saline 注射群の成績

表4に、FCA を両後足蹠に注射一週後、SRBC in saline を同肢筋肉内に投与した動物について得られた成績を要約した。これで見ると、すべて、SRBC in FCA 投与群におけると同程度の DHS の発現がみられたが、CA 産生は実証されない例もあった。HA および HL 産生は、SRBC in FCA 投与群との間で顕著な差を示さなかった。

### 2) SRBC in saline 投与後 FCA 注射群の成績

表4に、SRBC in saline 投与4日後 FCA 注射を両後足蹠に行った動物における成績を要約した。こ

Table 3. Effect of X-irradiation on the production of cytophilic antibody and hemagglutinating antibody to SRBC.

Treatment	Days after Sensitization with SRBC	Rosetta formation	Hemagglutinating antibody
X-ray ↓ 24h SRBC in FCA	9-10	0/6	10×2 <sup>2</sup> /6
	14-15	0/4	10×2 <sup>2</sup> /4
	16-17	1/4	10×2 <sup>2</sup> /4
SRBC in FCA ↓ 24h X-ray	9-10	0/4	10×2 <sup>3</sup> /4
	14-15	3/4	10×2 <sup>3</sup> /4
	16-17	3/4	10×2 <sup>4</sup> /4
SRBC in FCA	9-10	2/2	10×2 <sup>3</sup> /2
	14-15	2/2	10×2 <sup>3</sup> /2
	16-17	2/2	10×2 <sup>3</sup> /1

Note : See Table 2.

では、DHS の発現は、FCA 投与後 SRBC in saline 投与群より低下しており、CA 産生の程度も軽度であった。しかしながら DHS の程度と CA 価との間に、必ずしも並行性は認められなかった。

4. 抗 SRBC モルモット血清中の CA の性格につ

いて

SRBC in FCA 感作後21日目に採血してえられた血清を、次の各種方法で分画し、それぞれについて、その CA 活性を検討した。

1) sephadex G 200 gel 濾過による分画

Table 4. Production of cytophilic antibody, hemagglutinating antibody and hemolysing antibody, and development of skin hypersensitivity reaction following separate injection of SRBC and FCA.

Treatment	Animal No.	Rosetta formation	Hemagglutinating antibody	Hemolysing antibody	Skin reaction	
					IHS	DHS
FCA ↓ 7days ↓ SRBC	1	<sup>(19)</sup> 532	$10 \times 2^5$	$10 \times 2^7$	0.5	3.0
	2	392	$10 \times 2^5$	$10 \times 2^6$	0.3	1.0
	3	125	$10 \times 2^5$	$10 \times 2^8$	0.5	1.0
	4	738	$10 \times 2^6$	$10 \times 2^8$	1.0	3.0
	5	14	$10 \times 2^4$	$10 \times 2^5$	1.0	1.0
SRBC ↓ 4days ↓ FCA	6	146	$10 \times 2^5$	$10 \times 2^8$	0.5	1.0
	7	72	$10 \times 2^5$	$10 \times 2^9$	1.2	1.0
	8	326	$10 \times 2^5$	$10 \times 2^7$	1.0	0.5
	9	162	$10 \times 2^5$	$10 \times 2^8$	0.5	0.5
	10	24	$10 \times 2^2$	$10 \times 2^5$	2.0	1.0
SRBC in FCA	11	247	$10 \times 2^7$	$10 \times 2^{10}$		
none	12	0	<10	<10		

Note : See Table 1a. and 2.

(19) Number of SRBC attached to 100 macrophages.

Table 5a. Rosetta formation by an anti-SRBC antiserum and by its fractions on a sephadex G-200 column.

Fraction No.	O.D.	Rosetta formation
Fr. 1 <sup>(20)</sup>	4	16
	0.4	44
Fr. 2 <sup>(21)</sup>	3	183
	0.3	43
Whole antiserum	.	340

Note : See Table 4.

(20) The first fraction

(21) The second fraction

表 5a 及び図 1 にその結果を要約した。これで見ると、HA および HL 活性は、第一峰部および第二峰部に、PCA 活性と CA 活性は第二峰部に認められた。

2) DEAE セルロースカラムクロマトグラフィーによる分画

4 画分に分けた後風乾濃縮し、CA 活性については、OD をほぼ同程度として反応をみた。又 HA、HL および PCA 反応については、反応陽性から陰性になる境界の OD を調べた。(表 5b) これで見ると CA 活性は第一峰部にのみみられ、HA 活性も第一峰部で最も強く、HL 活性は第一、第二および第四峰部

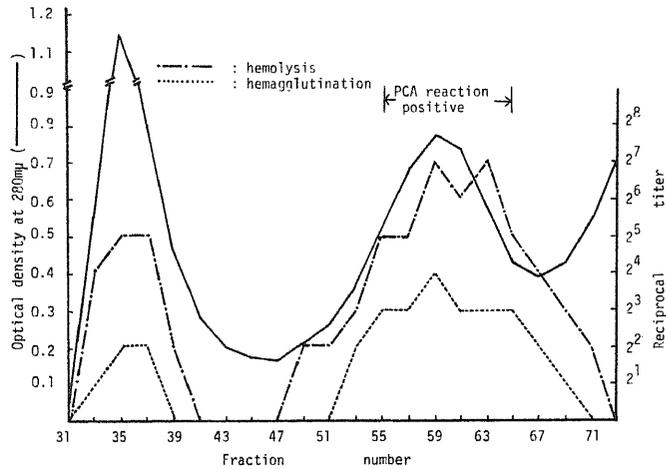


Fig. 1. Chromatographic pattern of an anti-SRBC antiserum on Sephadex G-200 column and reactivity of the fractions.

Table 5b. Antibody activities of the fractions by chromatography of an anti-SRBC antiserum on a DEAE cellulose column.

Tests	Fr.1		Fr.2		Fr.3		Fr.4		Whole antiserum		Non-immune serum	
	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b
Rosetta formation	5.2	373	5.5	21	5.6	8	5.3	48	5.1	425	5.0	3
	5.34	391	4.88	15	4.7	6	5.3	9	5.46	402	5.4	0
Agglutination	0.06	(+)	0.54	(+)	1.16	(+)	1.9	(+)	0.06	(+)	5.4	(-)
	0.03	(-)	0.28	(±)	0.56	(-)	0.95	(-)	0.03	(-)		
			0.14	(-)								
Hemolysis	0.13	(+)	0.28	(+)	1.96	(+)	0.24	(+)	0.13	(+)	5.4	(-)
	0.06	(-)	0.14	(-)	0.98	(±)	0.12	(±)	0.06	(-)		
					0.56	(-)	0.06	(-)				
PCA	2.23	(+)	0.26	(+)	4.9	(-)	4.8	(-)	0.52	(+)	5.4	(-)
	0.5	(-)	0.13	(-)								

Note : (a) = Optical density  
(b) = Result

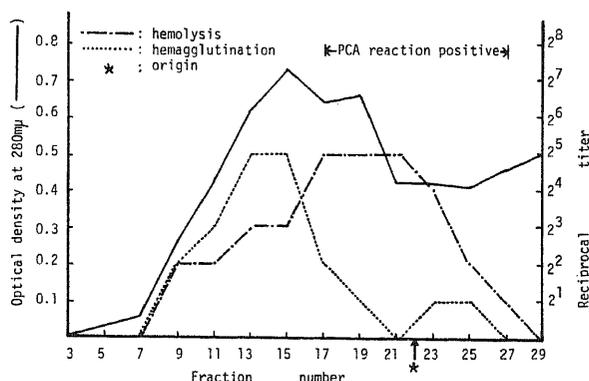


Fig. 2. Reactivity of the fractions by starch zone electrophoresis of the second fraction of an anti-SRBC antiserum on Sephadex G-200.

Table 5c. Rosetta forming activity of fractions by starch block electrophoresis of Fr.2 on a sephadex G-200 column chromatography of an anti-SRBC antiserum.

Fractions	O.D.	Rosetta formation
Fast moving $\gamma$ globulin	1.2	26
Slow moving $\gamma$ globulin	0.8	129
Whole antiserum	.	312

Note : See Table 4.

ではほぼ均等であり、PCA 活性は第二峰部で著明であった。

3) でんぷんブロック電気泳動による分画  
sephadex G 200 gel 濾過で得られた第二峰部を混合濃縮して電気泳動を行った。その結果は表 5c および図 2 に要約したが、CA 活性は  $7S_{\gamma_1}$  画分に、PCA 活性は  $7S_{\gamma_1}$  画分に、HA および HL 活性はその両画分にわたって実証された。

考 察

Boyden<sup>3)</sup> が CA の生物学的意義について DHS との間に密接な関係を推定し、Jonas ら<sup>10)</sup>、Blazkovec<sup>29)</sup> あるいは Nelson<sup>30)</sup> 等がこれに賛意を表しているが、これに対し Holtzer ら<sup>4)</sup> は、このような両者間の密接な関連性を見出しえなかったとしている。

著者の教室では、DHS の発現と液性抗体産生との

相互関係について検討を行ってきているが、両者間の直接的な因果関係を示すとみられる知見は未だ得られていない<sup>21)31)</sup>。今回著者は、更に CA 産生と DHS 発現との関連性について検索の歩を進めた。

そこでまず、DHS の発現を強く抑制するが、液性抗体産生にはそれほど影響のない immune deviation 下での CA 産生の推移を観察した。最も明確な、しかも重要な知見は HEA in saline を投与後 HEA in FCA あるいは PABA-HEA in FCA を注射したそれぞれの動物群において、既に越沢<sup>19)</sup> が指摘しているように、HEA に対する DHS 発現の顕著な抑制が認められたが、一方、CA 産生は、いくらか低いと思われるものはあるが、全体として、前投与をうけない感作のみの対照群との間で、有意と思われる差を示さなかったことである。更に、PABA-HEA 感作群において、HEA 前投与の有無によって、HEA に対する DHS 発現は影響をうけても、抗PABA-CA 産生には異なるところが見出せなかった。これらの成績からみると、DHS の発現と CA 産生との間には特に密接な関係があるとする考え方には同調しえない。

更に、SRBC を抗原として行った実験からもほぼ同様な成績が得られた。すなわち、SRBC in saline 腹腔内投与後、SRBC in FCA 足蹠内感作で、DHS 発現の著しい低下にもかかわらず、HA ならびに HL と共に CA 産生の上昇があり、明確に DHS 発現と CA 産生の解離が認められた。

さきに Boyden<sup>3)</sup> は、SRBC を FCA 法及び FIA 法で投与された各モルモット群で、前者では DHS

の発現と CA 産生共に陽性であったが、後者では共に陰性であったことから、DHS と CA 間の密接な関連性を推定したのであるが、著者の実験では、FIA 法で DHS の発現はみられなくても CA の産生のある症例があること、更に、SRBC in alum 投与動物の中にも同様な成績を示すものがあることが実証された。

X線の免疫応答への効果について多田<sup>17)</sup>は、一定量のX線は液性抗体産生を抑制するが、DHS の発現には影響を及ぼさないといい、伊藤<sup>16)</sup>によると、感作前X線照射は液性抗体産生を低下させるが、感作後X線照射はかえって昇進させることもあるという。CA 産生についてみた今回の実験では、感作前照射は CA 産生を明らかに抑制し、感作後照射は抑制しないことが多いという結果がえられ、CA 産生と DHS 発現のX線感受性の差のあることが実証されるにいたった。

更に、抗原と FCA の分離投与などでみても、DHS の発現と CA 産生との間に密接な因果関係を推定するに足る所見をうることはできなかった。

ところで、SRBC in FCA 感作群の血清を 2ME 処置を行うと、溶血活性の劇的低下にもかかわらず CA 活性はほとんど変ることはなく、また sephadex G 200 による分画では、第一峰部 (19S) および第二峰部 (7S) の両部に溶血活性があり、CA 活性は 7S 部分に認められた。この 7S 部分をでんぷんブロック電気泳動にかけると、7S<sub>γ</sub> 部分に CA 活性が検出された。同様な成績は Berken & Benaceraff<sup>14)</sup>、Jonas, Gurner, Nelson & Coombs<sup>10)</sup>、Nelson & Mildenhall<sup>11)</sup> あるいは Blazkovec & Sorkin<sup>13)</sup> 等によって既に報告されている。また Nelson ら<sup>24)</sup> ~<sup>27)</sup> はマウスを用い、一次免疫応答時と二次免疫応答時の血清中の CA 活性について検討した結果、一次応答時の CA は凍結融解に弱く、電気泳動では fast  $\alpha$  globulin と行動を共にし、macrophage の receptor は trypsin sensitive であるのに対し、二次応答時の CA は、電気泳動では IgG に属しており、その macrophage の receptor は trypsin resistant であると報告している。また Fishman<sup>8)</sup> および Askonas<sup>9)</sup> の報告にみられるように、CA は食細胞の抗原とりこみに重要な役割を演じているという推定も行なわれており、CA の本態ならびに生物学的活性などに関する多くの問題点の解明はなお今後に残されているといえよう。

#### ま と め

モルモットを用い、卵白アルブミンおよびヒツジ赤

血球を抗原として、各種免疫条件下で CA 産生について検討を加えると共に、その性格について解析を行った。その成績を要約すると次のようである。

1. 抗原を FCA 法で投与すると、DHS の発現とともに CA の産生が認められた。抗原を FIA 法あるいは alum 法で投与すると、DHS の発現はみられないが、CA 産生のみられるものがあった。抗原の生食水溶液投与では、DHS の発現ならびに CA 産生は認められなかった。いずれの投与方法によっても、溶血抗体価および凝集抗体価に顕著な差はなかった。

2. Immune deviation 下の動物において、明らかに CA 産生があり、その活性は immune deviation を示さない動物のそれより高かった。溶血および凝集抗体価についても同一傾向が認められた。

3. X線照射後感作動物においては、DHS 発現の抑制はみられなかったが、CA 産生の低下がみられた。一方、感作後X線照射動物では、DHS 発現は非照射動物のそれと同程度であり、CA 産生の低下もわずかに認められるのみであった。

4. 抗原と FCA の分離投与でみると、DHS 発現の低下のみられる投与群では、CA 産生も低下していた。しかし DHS 発現の低下と CA 産生の低下の間に並行性は認められなかった。

5. CA 活性は血清中 7S<sub>γ</sub> 分画に見出された。

#### 文 献

- 1) Boyden, S. V. & Sorkin, E. : Immunol., 3, 272 (1960).
- 2) Boyden, S. V. & Sorkin, E. : Immunol., 4, 244 (1961).
- 3) Boyden, S. V. : Immunol., 7, 474 (1964).
- 4) Holtzer, J. D. & Winkler, K. C. : Immunol., 12, 701 (1967).
- 5) Liew, F. Y. : Immunol., 20, 817 (1971).
- 6) Liew, F. Y. : Immunol., 21, 1045 (1971).
- 7) Tizard, I. R. : Immunol., 22, 69 (1972).
- 8) Fishman, A. : J. Exp. Med., 114, 837 (1961).
- 9) Askonas, B. A. : Nature, 205, 470 (1965).
- 10) Jonas, W. E., Gurner, B. W., Nelson, D. S. & Coombs, R. R. A. : Int. Arch. Allergy, 28, 86 (1965).
- 11) Nelson, D. S. & Mildenhall, P. : Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci., 46, 33 (1968).
- 12) Gouland, E. : Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci., 46, 73 (1968).

- 13) **Blazkovec, A. A. & Sorkin, E.** : *Int. Arch. Allergy*, **29**, 151 (1966).  
 14) **Berken, A. & Benacerraf, B.** : *J. Exp. Med.*, **123**, 119 (1966).  
 15) **Phillips-Quagliata, J. M., Levine, B. B., Quagliata, F. & Uhr, J. W.** : *J. Exp. Med.*, **133**, 589 (1971).  
 16) 伊藤喜祐 : 金沢大結研年報, **24**, 109 (1966).  
 17) 多田信平 : 金沢大結研年報, **24**, 17 (1966).  
 18) 大場昭三 : 金沢医理学叢書, **89**, 3 (1971).  
 19) 越沢みち子 : 金沢大がん研年報, **2**, 75 (1968).  
 20) 越沢みち子 : 金沢大がん研年報, **2**, 87 (1968).  
 21) 加藤俊明 : 金沢医理学叢書, **91**, 19 (1973).  
 22) 立村森男 : 金沢医理学叢書, **95**, 71 (1974).  
 23) 越沢みち子 : 金沢大結研年報, **23**, 143 (1966).  
 24) 一柳兵蔵 : 金沢大結研年報, **22**, (下), 161 (1965).  
 25) 谷口恭子 : 金沢大結研年報, **23**, 149 (1966).  
 26) 佐藤次雄 : 金沢大がん研年報, **3**, 226 (1970).  
 27) **Flodin, P. & Kallinder, F.** : *Biochem. Biophys. Acta*, **63**, 403 (1963).  
 28) 中村 弘 : 臨床病理, 特集第11号, 33 (1966).  
 29) **Blazkovec, A. A.** : *Int. Arch. Allergy*, **30**, 428 (1966).  
 30) **Nelson, D. S.** : *Nature*, **212**, 259 (1966).  
 31) 山端輝夫 : 金沢医理学叢書, **88**, 71 (1971).  
 32) **Nelson, D. S. & Mildenhall, P.** : *Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci.*, **45**, 113 (1967).  
 33) **Nelson, D. S., Kossard, S. & Cox, P. E.** : *Experientia*, **23**, 490 (1967).  
 34) **Kossard, S. & Nelson, D. S.** : *Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci.*, **46**, 63 (1968b).  
 35) **Nelson, D. S.** : *Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci.*, **48**, 329 (1970).

## A b s t r a c t

Experiments were carried out on guinea pigs for the purpose of investigating the production of cytophilic antibody (CA) under various immunologic conditions with special reference to the development of delayed hypersensitivity (DHS).

Almost all animals sensitized with antigen in FCA developed clear-cut DHS and produced CA to the antigen. In animals sensitized with antigen in FIA or with antigen in alum, no DHS of tuberculin type was observed to develop, whereas CA was produced in some animals. Animals injected with antigen in saline showed no development of DHS and no production of CA.

Development of DHS was markedly suppressed in animals pretreated with an antigen in saline and sensitized with the antigen in FCA as compared with the control animals not pretreated but sensitized, while no difference of the production of CA was observed among the animals of the two groups.

X-ray irradiation posterior to sensitization did not suppress the development of DHS and production of CA, and X-ray irradiation, prior to sensitization, scarcely inhibited the development of DHS but strongly suppressed the production of CA.

All the animals sensitized with FCA and antigen separately in that order were observed to develop DHS and to produce CA comparable to those in the animals sensitized with antigen in FCA, while animals sensitized separately in reverse order showed decreased development of DHS and low production of CA. But there was no parallel correlation between DHS-grade and CA-titer.

In characterization of CA by Sephadex G-200 gel chromatography, DEAE cellulose column chromatography and zone electrophoresis, it was revealed that CA belonged to  $7S\gamma$  globulin.