

遅延型皮膚反応の発現機序に関する研究：  
各種免疫動物についてのin vivoおよびin  
vitro免疫反応の比較

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/2297/8623">http://hdl.handle.net/2297/8623</a>

## 遅延型皮膚反応の発現機序に関する研究

各種免疫動物についての *in vivo* および *in vitro* 免疫反応の比較

金沢大学がん研究所免疫生物部 (主任: 西東利男教授)

桜井 信也

(昭和51年2月24日受付)

遅延型アレルギーを生体外で定性的に表現し、かつ定量化しようとする試みは Rich and Lewis<sup>1)</sup>, George and Vaughan<sup>2)</sup> によるマクロファージ遊走阻止 (MI) 現象の発見以来多くの研究者によって行われ、この方面の知見は著しく拡大深化されるに至った。また Phytohemagglutinin によるヒトリンパ球の幼若化および分裂促進現象の発見<sup>3)</sup> に端を発し、ツベルクリン反応陽性者の末梢リンパ球の PPD による幼若化の観察から<sup>4)</sup>、この現象と遅延型アレルギーとの関連性の解明に多くの研究が重ねられて今日に至っている。

しかしながら遅延型皮膚反応陰性であっても MI 現象および幼若化現象陽性であるものの報告<sup>5)</sup> があるなど、これら諸反応の相互関係については未だ必ずしも一致した見解がえられていない現況である。

そこで著者は教室で行われている遅延型皮膚反応の発現機序解明に関する研究の一環として抗原溶液を単独にあるいは Freund's complete or incomplete adjuvant とともに投与をうけた動物および immune deviation 下の動物について MI 現象とリンパ球幼若化に伴う増殖を遅延型皮膚反応の発現と対比させながら観察した。その結果これら管内反応と生体反応は必ずしも並行して認められるものではないことが明らかとなった。以下はその概要である。

### 実験方法および実験材料

#### 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300—400gmの健康 Hartley 系モルモットを使用に供した。

#### 2. 抗原

1) HEA: 和光純薬製ニワトリ卵白アルブミンを

更に精製して用いた。

2) p-Aminobenzoic acid azo-HEA (PABA HEA), PABA-bovine gammaglobulin (PABA-BGG): 越沢ら<sup>6)</sup>の方法に準じて作製した。

3) PF: ツベルクリン原液から浅見<sup>7)</sup>の方法に従って分画した。

#### II. 実験方法

1. 前処置: (1) HEA 生食水溶液 (HEA in saline) (2) alum precipitated HEA (HEA in alum) (3) Freund's incomplete adjuvant と混合した HEA (HEA in FIA) は越沢<sup>8)</sup>に従って作製し、投与した。投与量および投与部位は各実験項目に記載した。

2. 感作: 抗原生食水溶液あるいは抗原と Freund's complete or incomplete adjuvant を等量ずつ混じ、モルモットの両後足趾に0.2mlずつ計0.4mlを注射した。抗原量は一匹あたり0.1mgとなるよう調整した。

3. 皮膚反応および角膜反応 (CR): それぞれ越沢<sup>9)</sup>および多田<sup>9)</sup>に準じて行った。

4. マクロファージ遊走阻止反応 (MI 反応): David<sup>10)</sup>に準じて行った。

5. 脾およびリンパ節細胞による<sup>3</sup>H-チミンおよび<sup>3</sup>H-ウリジンのとりこみ (RI) 試験

1) 脾細胞処理: 脾臓を小ハサミで細切後0.83%塩化アンモニウム水溶液を加え、ガーゼでろ過し、培養液 (RPMI-1640) で2回洗滌した後仔牛血清加培養液に浮遊した。トリパンブルーで青染されたものは常に5%以下であった。

2) 局所リンパ節細胞: 膝窩、鼠径部および旁腹リンパ節を小ハサミで細切しガーゼろ過を行い、培養液中に浮遊させた。トリパンブルーで青染されたもの

On the Mechanisms of Development of Delayed Hypersensitivity Skin Reaction *In Vivo* vs. *In Vitro* Reactions in Guinea Pigs Under Various Immunizations Shinya Sakurai Department of Immunobiology, (Director: Prof. Toshio Saito) Cancer Research Institute Kanazawa University.

はほとんど1.5%以下であった。

3) <sup>3</sup>H-チミジンおよび<sup>3</sup>H-ウリジンのとりこみ : 上記細胞を豊島製作所製の直径3.0Cmの滅菌ペトリ皿または小試験管を用い、10%仔ウシ血清加 RPMI-1640 培地にて、CO<sub>2</sub> インキュベーターで培養した。6時間培養後に<sup>3</sup>H-ウリジンを添加したものは2時間後に、一方4日間培養後に<sup>3</sup>H-チミジンを添加したものは18ないし24時間後にハーベストし、液体シンチレーションカウンターで計測した。

実験成績

1. 遅延型皮膚反応 (DHS 反応) とマクロファージ遊走阻止反応 (MI 反応) との関連性

1. HEA in FCA, HEA in FIA および HEA in saline 感作動物について

表 1a は HEA in FCA, HEA in FIA および HEA in saline 感作動物における DHS 反応と CR 発現の概要を示したものである。

すでに多田<sup>9)</sup>の報告にみられるごとく、HEA in FCA 感作群では感作7および14日後ともに DHS 反応陽性であったが、HEA in FIA 感作群では7日後に認められた DHS も14日後までは持続しなかった。HEA in FCA 感作群と HEA in FIA 感作群の間におけるもう1つの相違は、前群では CR 陽性となるが、これに反し後群では陰性に終始することである。前群の DHS 反応はいわゆる感染型であり後群のそれは Jones-Mote 型といわれるものである

ことは周知のところである。

HEA in saline 感作群では DHS 反応および CR ともに実証されなかった。

表 1b は上記3群と同一感作群の感作7および14日後の MI 試験の成績を要約したものである。

これを見ると HEA in saline 群では全く MI 反応はみられないが HEA in FCA 群では7および14日後ともに、HEA in FIA 群では少くとも14日後は MI 反応陽性と認められる所見といえよう。

ここに HEA in FCA 群および HEA in saline 群では DHS 反応と MI 反応の並行性が実証されたが HEA in FIA 群では DHS 反応の認めがたい時期に MI 反応は陽性という興味ある知見がえられた。

2. HEA in saline あるいは PF in saline 前投与, HEA in FCA 感作動物について

HEA in saline (10mg/ml) 1mlを心臓内注射し、その10あるいは4日後 HEA in FCA 感作を行った動物について、また PF in saline (10mg/ml) 1mlを心臓内注射4日後 HEA in FCA 感作を行った動物について、いずれも感作10日後 DHS 反応、14日後 MI 反応を観察した。

表 2 はそれらの成績の概要を示したものである。

HEA 前投与, HEA 感作群の HEA に対する DHS の発現は前投与感作間隔の長 (10日) 短 (4日) にかかわらず強く抑制されているが PF によるそれは非前投与対照群と異るところはない。これに反し PF 前投与により抗 PF-DHS 反応は抑制されるが抗 HEA

Table 1a. DHSR<sup>1)</sup> and CR<sup>2)</sup> in guinea pigs sensitized with HEA<sup>3)</sup> in FCA<sup>4)</sup>, HEA in FIA<sup>5)</sup> and HEA in saline.

Sensitization	DHSR to HEA on day		CR to HEA on day	
	7	14	7	14
HEA in FCA	* 10/10 (2.0)	7/7 (2.4)	3/10	7/7
HEA in FIA	9/10 (1.6)	0/7	0/10	0/7
HEA in saline	0/10	0/5	0/10	0/5

Note : 1) — 5) DHSR = delayed hypersensitivity skin reaction  
 CR = corneal reaction  
 HEA = hen egg albumin  
 FCA = Freund's complete adjuvant  
 FIA = Freund's incomplete adjuvant

\* No. of animals showed positive reaction/ No. of animals tested ( Mean of the reaction grade in responded animals )

-DHS 反応は対照群のそれとほぼ同程度である。

しかしながら HEA 前投与群と非前投与群間の HEA による MI 反応には顕著な差を見出しがたく、ここに DHS 反応の陰転にもかかわらず MI 反応は依然として陽性であるという現象が認められた。

一方 PF 前投与 HEA in FCA 感作群では抗 PF-DHS 反応の抑制と PF による MI 反応の低下があり、両反応の相関性が窺われる知見がえられた。

### 3. 担体前投与、複合体感作動物について

ハプテン・蛋白複合体感作に先行して、その担体蛋白を投与しておくこと感作後、担体に対する DHS の発現は抑制されるが、複合体に対するそれはなお顕著に認められることは多くの研究者により報告されている<sup>11)~15)</sup>。

Table 1b. Migration extent of peritoneal cells from guinea pigs sensitized with HEA in FCA, HEA in FIA and HEA in saline in the presence of HEA.

Sensitization	Migration index on day	
	7	14
HEA in FCA	0.87	0.88
HEA in FIA	0.92	0.71
HEA in saline	1.05	1.17

Note : See Table 1a

ここでは HEA in saline, HEA in alum あるいは HEA in FIA を前投与しておき、後に PABA-HEA in FCA で感作し、HEA および PABA-HEA による DHS 反応をみた。表 3 はその成績を示したものであるが、これまでの報告におけるとはほぼ同一の結果がえられた。すなわち非前投与感作群(対照群)では HEA および PABA-HEA による DHS 反応はともに陽性であるが前投与感作群ではいずれの前投与方法によるも HEA に対する DHS の発現は強く抑制されているが PABA-HEA による DHS 反応は明確に認められた。

一方 MI 反応についてみると、対照群とすべての前処置群の間において HEA および PABA-HEA によるそれぞれの MI 反応にほとんど有意の差があるとは認められなかった。

ここでも HEA による DHS 反応と MI 反応の間の解離が実証された。

### 4. MI 反応の抗原特異性について

表 4 は HEA in FCA あるいは PABA-HEA 感作動物における HEA, PABA-HEA および PABA-BGG による DHS 反応と MI 反応の比較検討を行ってえた成績を要約したものである。

HEA in FCA 感作動物では HEA のみならず HEA を担体とする複合体を抗原として DHS 反応が惹起されることはすでに明らかにされているところであって、ここでも PABA-HEA によって DHS 反応陽性である。しかしながら MI 反応は HEA によって陽性とみられるが PABA-HEA では認められないよう

Table 2. DHSR and migration extent of peritoneal cells from animals pretreated with HEA or PF<sup>6)</sup> in saline and sensitized with HEA in FCA in the presence of HEA and PF.

Pretreatment (P)	Sensitization (S)	Interval between P and S	DHSR on day 10 after S to		Migration index on day 14 after S with	
			HEA	PF	HEA	PF
HEA in saline	HEA in FCA	10	0/5	5/5(3.0)	0.91	0.39
10 mg i v,		4	0/5	5/5(3.0)	0.89	0.49
PF in saline 10 mg i v,		4	5/5(2.4)	3/5(0.5)	0.90	0.92
N.D.		.	5/5(2.8)	5/5(3.0)	0.88	0.65

Note : 6) PF = Protein fraction prepared from old tuberculin

N.D. = not done

See Table 1a and 1b

である。

一方 PABA-HEA 感作動物では PABA-HEA のみならずその担体である HEA によっても DHS 反応は陽性を呈するが、MI 反応は PABA-HEA によっては明らかであるが HEA によっては不明確である。PABA-BGG によっては DHS 反応および MI 反応性はともに認められない。

ここに DHS 反応ならびに MI 反応ともに感作抗原によって最も強く発現し、ハプテンによっては惹起されないことが実証された。

II. DHS 反応と脾細胞ならびに局所リンパ節細胞の<sup>3</sup>H-チミジンおよび<sup>3</sup>H-ウリジンとりこみとの関係

5. HEA in FCA 感作動物について

HEA in FCA 感作 4, 5, 7 および 21 日後に HEA を抗原として DHS 反応を行った後、脾および局所リンパ節細胞を培養し、<sup>3</sup>H-チミジンおよび<sup>3</sup>H-ウリジンのとりこみを計測した成績を表 5a に要約した。

これで見ると DHS 反応は感作 4 日後はいまだ陰性であったが 5 日後からは出現し、7 日後には可なり強くなり、21 日後もなお顕著であった。また脾および局所リンパ節細胞によるチミジンのとりこみはほぼ DHS 反応と並行関係のあることが実証された。

一方 PF を抗原として上記と同様な試験を行ってえられた成績の概要を表 5b に示した。

これでも脾細胞によるチミジンのとりこみは DHS 反応の経過と並行しており、また局所リンパ節によるそれも同一傾向にあると推定される。

6. HEA in FIA 感作動物について

HEA in FIA 感作後 7 および 21 日目に HEA および PF を抗原として DHS 反応を観察した後脾および局所リンパ節細胞を培養し、<sup>3</sup>H-チミジンおよび<sup>3</sup>H-ウリジンのとりこみを計測した。表 6a および 6b はその成績の概要を示したものである。

ここでは次のようなことがわかる。すなわち HEA に対し感作 7 日後には DHS 反応陽性、IHS 反応陰

Table 3. DHSR and migration extent of peritoneal cells from animals pretreated with HEA and sensitized with PABA-HEA<sup>7)</sup> in the presence of HEA, PABA-HEA and PF.

Pretreatment (P)	Sensitization (S)	Interval between P and S	DHSR on day 10 after S to			Migration index on day 14 after S with		
			HEA	PABA-HEA	PF	HEA	PABA-HEA	PF
HEA (5 mg) in saline	PABA-HEA in FCA	7 days	1/10 (0.5)	10/10 (2.4)	10/10 (3.0)	0.90	0.91	0.65
HEA (1 mg) in alum			3/10 (0.5)	10/10 (2.0)	10/10 (3.0)	0.73	0.80	0.70
HEA (0.1 mg) in FIA			0/10	10/10 (2.0)	10/10 (3.0)	0.87	0.85	0.69
N.D.			5/5 (1.2)	5/5 (2.4)	5/5 (3.0)	0.89	0.83	0.50

Note : 7) PABA-HEA = p-aminobenzoic acid azo- HEA  
See Table 1a, 1b and 2

Table 4. DHSR and migration extent of peritoneal cells from guinea pigs sensitized with HEA in FCA or PABA-HEA in FCA in the presence of HEA, PABA-HEA or PABA-BGG.

Sensitization	DHSR on day 7 to			Migration index on day 7 with		
	HEA	PABA-HEA	PABA-BGG <sup>8)</sup>	HEA	PABA-HEA	PABA-BGG
HEA in FCA	5/5 (2.4)	5/5 (1.8)	0/5	0.86	0.97	1.07
PABA-HEA in FCA	5/5 (2.0)	5/5 (2.6)	0/5	0.94	0.82	0.99

Note : See Table 1a, 1b and 3

8) PABA-BGG = p-aminobenzoic acid azo-bovine gammaglobulin

性であるが21日後には DHS 反応陰性 IHS 反応陽性となる。ここでみられる DHS 反応は Jones-Mote 型であることはさきにも触れたところである。局所リンパ節細胞によるチミジンおよびウリジンのとりこみの増加は7日目には認められず、この点 HEA in FCA 感作群と趣を異にしている。脾細胞についてみると7日目ではチミジンのとりこみ増加はないがウリジンのとりこみは可なり高く、21日目ではチミジンおよびウリジン、とくに後者の高いとりこみが認められた。PF を抗原としてはすべての反応が陰性であるのは当然であろう。

7. HEA in FIA または HEA in saline 前投与、HEA in FCA 感作動物について

抗原を生食水溶液として、または FCA 以外の adjuvant とともに注射し(前処置)、後に同一抗原を FCA とともに投与すると(感作)、当該抗原に対する immune deviation の導入されることはすでに明らかにされている。越沢<sup>16)</sup>は更に前処置感作の時間的ならびに部位の関係が immune deviation 発現に大きな役割りを演ずることを実証した。ここではそのことを考慮して前処置と感作を同一足跡に行い、間隔を4、5および7日とし、感作7および21日後の

Table 5a. DHSR and incorporation of <sup>3</sup>H-thymidine and <sup>3</sup>H-uridine in the presence of HEA by regional lymph node cells and spleen cells from animals sensitized with HEA in FCA.

Sensitization	Response to H E A		On Day after Sensitization			
			4	5	7	21
0.1mg of HEA in FCA into hind foot pads	DHSR		0	1.0	2.7	2.3
	IHSR		0	0	0	1.0
	IR <sup>9)</sup> of <sup>3</sup> H-TdR <sup>10)</sup> to	RLNC <sup>11)</sup>	0.94	1.11	1.30	1.52
		Sp.C <sup>12)</sup>	0.94	1.17	1.68	1.37
	IR of <sup>3</sup> H-Uridine to	RLNC	0.97	1.11	N.D. <sup>13)</sup>	N.D.
		Sp.C	0.93	1.10	N.D.	N.D.

Note 8)\_\_\_\_13) IHSR = immediate hypersensitivity skin reaction  
IR = incorporation ratio  
TdR = thymidine  
RLNC = regional lymph node cells  
Sp.C = spleen cells  
N.D. = not done

Table 5b. DHSR and incorporation of <sup>3</sup>H-thymidine in the presence of PF by regional lymph node cells and spleen cells from animals sensitized with HEA in FCA.

Sensitization	Response to P F		On Day after Sensitization			
			4	5	7	21
0.1mg of HEA in FCA into hind foot pads	DHSR		0	1.7	2.0	2.0
	IHSR		0	0	0	1.0
	IR of <sup>3</sup> H-TdR to	RLNC	0.94	1.29	2.12	1.48
		Sp.C	0.78	N.D.	N.D.	1.98

Note : See Table 5

DHS 反応と局所リンパ節細胞の<sup>3</sup>H-チミジンおよび<sup>3</sup>H-ウリジンとりこみを観察した。

表 7a および表 7b はそれぞれ前処置を HEA in FIA および HEA in saline としてえられた成績の概要を示したものである。

これで見ると DHS の発現は両者の投与間隔が 4 日であると明確にみられるが 5 日以上となると抑制されていることがわかる。チンジンのとりこみも強い DHS 反応の発現している時期にはやや増加しているが、その抑制されている時期には増加はみられない。ウリジンのとりこみについては両投与間隔が 7 日の場

合のみしか検討を加えなかったが感作 7 日および 21 日後ともやや増加しているとみられる知見がえられた。

考 案

Rich and Lewis<sup>1)</sup> にはじまり、George and Vaughan<sup>2)</sup> によって定量化された MI 現象ならびに Nowell<sup>3)</sup> の非特異的芽球化現象の報告に端を発し、Pearman ら<sup>4)</sup> によって観察された特異的芽球化現象は爾来 DHS 反応の管内モデルとしての価値が検討されて今日に至っていることは周知のところである。しかして著者は教室における DHS 発現機序研究

Table 6a. DHSR and incorporation of <sup>3</sup>H-thymidine and <sup>3</sup>H-uridine in the presence of HEA by regional lymph node cells and spleen cells from animals sensitized with HEA in FIA.

Sensitization	Response to H E A	On Day after Sensitization		
		7	21	
0.1mg of HEA in FIA into hind foot pads	DHSR	1.3	0	
	IHSR	0	2.0	
	IR of <sup>3</sup> H-TdR to	RLNC	0.99	N.D.
		Sp.C	0.89	1.24
	IR of <sup>3</sup> H-Uridine to	RLNC	0.79	N.D.
		Sp.C	2.11	2.36

Note : See Table 5

Table 6b. DHSR and incorporation of <sup>3</sup>H-thymidine and <sup>3</sup>H-uridine in the presence of PF by regional lymph node cells and spleen cells from animals sensitized with HEA in FIA.

Sensitization	Response to P F	ON Day after Sensitization		
		7	21	
0.1mg of HEA in FIA into hind foot pads	DHSR	0	N.D.	
	IHSR	0	N.D.	
	IR of <sup>3</sup> H-TdR to	RLNC	0.79	N.D.
		Sp.C	1.04	0.59
	IR of <sup>3</sup> H-Uridine to	RLNC	0.98	N.D.
		Sp.C	1.00	0.59

Note : See Table 5

Table 7a. DHSR and incorporation of  $^3\text{H}$ -thymidine in the presence of HEA by regional lymph node cells from animals pretreated with HEA in FIA and sensitized with HEA in FCA.

Pretreatment (P)	Sensitization (S)	Response to H E A	On Day after Sensitization			
			7		21	
			P-S Interval			
			4	5	7	7
0.1mg of HEA in FIA into hind foot pads	0.1mg of HEA in FCA into hind foot pads	DHSR	2.0	0.5	0.5	0.8
		IHSR	2.0	2.0	2.1	2.3
		IR of $^3\text{H}$ -Tdr to RLAC	1.37	0.88	1.11	1.07
		IR of $^3\text{H}$ -Uridine to RLAC	N.D.	N.D.	1.37	1.98

Note : see Table 5

Table 7b. DHSR and incorporation of  $^3\text{H}$ -thymidine in the presence of HEA by regional lymph node cells from animals pretreated with HEA in saline and sensitized with HEA in FCA.

Pretreatment (P)	Sensitization (S)	Response to H E A	On Day after Sensitization			
			7		21	
			P-S Interval			
			4	5	7	7
1.0mg of HEA in saline into hind foot pads	0.1mg of HEA in FCA into hind foot pads	DHSR	2.1	0.8	0.8	0.8
		IHSR	2.0	2.0	2.0	2.1
		IR of $^3\text{H}$ -Tdr to RLAC	1.98	0.84	0.84	N.D.

Note : see Table 5

の一環として immune deviation を示す動物ならびに各種感作動物を対象としてこれら現象と DHS 反応との関連性の解明を試みた。えられた成績のうち重要と思われるものを要約すると以下のようである。

HEA in FCA 感作動物では感染型 DHS, HEA in FIA 投与動物では Jones-Mote 型 DHS の発現のみられることは既に報告されているところである。前群では感作4日以降 HEA に対する DHS 反応陽性であり, MI 現象も認められ,  $^3\text{H}$ -チミジンおよび  $^3\text{H}$ -ウリジンのリンパ球内とりこみ (RI) も増加しているとみられる。しかし後群では感作7日後 DHS 反応は陽性であるが MI 現象陰性,  $^3\text{H}$ -ウリジンとりこみは増大するも  $^3\text{H}$ -チミジンとりこみの増加は認められない。21日後では DHS 反応陰性, MI 陰性であるが被検細胞による RNA および DNA 合成はかなり増加しているとみられた。このような所見は HEA in FCA 感作動物ではこれら諸反応の間に並行関係が存在するが, HEA in FIA 感作動物にお

いては相関関係がないことを示していると推定させるものであって, DHS 反応のモデルとして MI ならびに芽球化現象を見做すことには疑問が残されるところである。

さて FCA 法以外の方法で可溶性抗原を前投与すると (前処置), 同一抗原の FCA 法投与 (感作) 後, 当該抗原に対する DHS 発現の抑制される現象 — immune deviation — は既に多くの研究者<sup>(16)~(21)</sup> の報告するところであって, その本態については Asherson ら<sup>(19)</sup> は感作リンパ球の欠損に基づくものと推定している。この現象に関し, 教室の越沢<sup>(15)</sup> は前処置と感作の部位ならびに時間的間隔によっては必ずしも immune deviation の惹起されないという知見をえている。そこで著者は確実に同現象を呈する条件で処置した動物について検討を加えたところきわめて興味もあり重要と思われる知見がえられた。すなわち MI 現象は DHS 反応を呈する非前処置群のそれとほぼ同程度であって, DHS 陰性化に伴って MI 消失とい

うような関係は見出すことができなかった。 $^3\text{H}$ -チミジンのとりこみは DHS 反応のみられるところ（前投与・感作間4日）では増加している。一方 $^3\text{H}$ -ウリジンについてみると前処置感作間隔が7日間の場合（DHS 抑制）のみしか検討を加えていないが、感作7日および21日後ともに増加していると推定され、DHS 反応との間に並行関係は認めがたい。

ハプテン・蛋白複合体感作動物および担体蛋白に immune deviation を示す動物についての実験では、ほぼ蛋白感作動物および同蛋白に immune deviation を示す動物におけると同様な所見がえられた。すなわち PABA-HEA in FCA 感作動物では PABA-HEA と HEA に対する DHS の発現がみられ、HEA 前処置 PABA-HEA 感作動物では HEA に対する DHS 発現の消失にもかかわらず PABA-HEA に対する DHS はなお顕著である。HEA および PABA-HEA による MI 現象は、しかしながら、ほとんど両群の間に有意な差が少なく、DHS と MI の間に並行関係は実証されなかった。

Benacerraf ら<sup>22)</sup>によると複合体感作では MI はハプテンよりも担体に特異的であって、MI 惹起因子産生には抗原の強い結合力と広い結合部が必要であろうとしている。David ら<sup>23)</sup>も DNP-protein 免疫モルモットで MI は担体で惹起されるがハプテンでは不可能であったとしている。著者の PABA-HEA 感作動物についてみると DHS 反応および MI とともに PABA-HEA によって最も強く、担体によるものがこれに次ぎ、ハプテンによっては認めることができなかった。

MI には DHS を示す動物のリンパ球が必要であり、単に液性抗体のみ産生されるように免疫された動物のリンパ球によっては惹起されないというような報告<sup>6)</sup>から DHS と MI の相関性が推定されたのであるが、一方感作新生モルモットは DHS 反応を呈しないが、そのリンパ球で MI 陽性であるという報告<sup>24)</sup>があり、更に結核感染動物において DHS 反応惹起原性のある多糖体によって MI 陽性、芽球化現象陰性であったりという Chaparas ら<sup>25)</sup>の成績、Hodgkin 病でツベルクリン反応陰性、MI および芽球化現象陽性という Churchill ら<sup>5)</sup>の成績、芽球化現象は Arthus 反応とは無関係であるが、alum 沈降ジフテリアトキソイド注射動物リンパ球でもみられるという Oppenheim<sup>26)</sup>の成績および著者の実験において HEA in FCA 感作動物では DHS、MI および RI 現象がある程度並行関係を示したが、HEA in FIA 感作動物で DHS 反応のみられない時期に MI およ

び RI 現象がみられ、また immune deviation 下動物のリンパ球による MI 陽性など、総合的に考えるとこれら管内反応が遅延型皮膚反応を反映しているという確証には乏しいと思われる。

ところで DHS を示す動物のリンパ球が特異抗原存在下で培養されるとその培養液は MI-activity のみならず chemotactic activity, lymphotoxic activity, growth-inhibitory activity, skin reacting activity, vascular permeability activity, mitogenic activity などを示すことが明らかにされているが、これら活性物質はいまだほとんどが単離精製されるまでに至っていないため、各活性物質の異同、相互関係は不明であり、DHS 反応に関与するとしても、その役割りや意義なども解明にはほど遠い現況である。このようなことを考慮に入れると DHS 反応惹起には多数因子の関与が必要であり、その低下は上記活性物質の不均衡によるものであって、たとえ MI 惹起因子または mitogenic factor の産生が正常であっても他の mediator(s) の産生低下あるいはリンパ球以外の細胞の機能傷害などが原因となって起る可能性を否定できないであろう。

なお HEA in FCA および PABA-HEA in FCA 感作動物での PF による DHS 反応、MI および RI 現象はほぼ並行して認められ、PF に対し immune deviation を示す動物では MI も低下した。このことは HEA に対する DHS 反応と MI の関係を趣を異にするところであって、これは PF と HEA の抗原性の差によるのかもしれない。すなわち PF は DHS 導入性強く、液性抗体産生能弱く、HEA はこれと相反する。George and Vaughan<sup>2)</sup>の成績では HEA 感作7日後いまだ抗 HEA 液性抗体産生の低い時期には MI 現象顕著であって12日後には MI 現象の低下が認められたとしている。しかしながら著者の実験では特に HEA 感作7日後と14日後の MI に差がある知見はえられなかった。更に検討を要する問題である。

## ま と め

各種免疫状態下のモルモットについて、(1)遅延型アレルギー性皮膚反応（DHS 皮膚反応）と(2)マクロファージ遊走阻止（MI）反応および(3)脾または局所リンパ節細胞による $^3\text{H}$ -チミジンあるいは $^3\text{H}$ -ウリジンのとりこみ（RI）を比較検討したところ次のような成績がえられた。

1. HEA in FCA および PABA-HEA in FCA 感作動物群ではいずれも HEA および PABA-HEA に

よって DHS 皮膚反応が惹起された。MI は後群では HEA および PABA-HEA によって、しかし前群では HEA のみによって認められた。

2. HEA 前投与 HEA in FCA 感作動物群では HEA に対する DHS 発現の顕著な抑制がみられたが、MI は非前投与・感作群との間で異なるところがなかった。

3. HEA 前投与 PABA-HEA in FCA 感作群では HEA に対する DHS 発現は抑制されたが、PABA-HEA による DHS 皮膚反応は非前投与群のそれと変るところがなかった。HEA および PABA-HEA による MI は両群においていずれも陽性を呈し、それぞれの間に差はなかった。

4. HEA in saline 感作動物では DHS の発現はみられず、MI 現象も完全に陰性であった。

5. HEA in FCA 感作動物群および HEA 前投与 HEA in FCA 感作動物群の DHS 皮膚反応と RI の間に並行関係が認められた。

6. HEA in FIA 感作群においても DHS 発現の有無とは関係なく MI および RI の増強が実証された。

7. HEA in FCA 感作動物の PF による DHS 皮膚反応と MI および RI 間には相関関係が認められた。

以上の成績は DHS 皮膚反応と MI ならびに RI は必ずしも並行関係を示すものではないことを示唆している。

#### 文 献

- 1) Rich, A. R. and Lewis, M. R. : Bull. Johns Hopkins Hosp., 50, 115 (1932).
- 2) George, M. and Vaughan, J. H. : Pros. Soc. Exp. Biol. Med., 111, 514 (1962).
- 3) Nowell, P. G. : Cancer Research 20, 462 (1960).
- 4) Pearmann, G., Lycett, R. R. and Fitzgerald, P. H. : Lancet 1, 637 (1963).
- 5) Churchill, W. H., Rocklin, R. E. Maloney, W. C. and David, J. R. : Clin. Res. 19, 438 (1971).
- 6) 越沢みち子, 他 : 金大結研年報, 23, 143 (1966).
- 7) 浅見 望, 他 : 日本細菌学雑誌, 9, 271 (1954).
- 8) 越沢みち子 : 金大がん研年報, 2, 75 (1968).
- 9) 多田信平 : 金大結研年報, 24, 17 (1966).
- 10) David, J. R. : J. Exp. Med., 122, 1125 (1965).
- 11) Benacerraf, B. and Gell, P. G. H. : Immunology, 2, 53, 219 (1959).
- 12) Leskowitz, S. : J. Exp. Med., 117, 909 (1963).
- 13) Borel, Y., Fauconnet, M. and Miescher, P. : J. Immunol, 98, 881 (1967).
- 14) 新鞍 保 : 金大がん研年報, 1, 123 (1968).
- 15) 越沢みち子 : 金大がん研年報, 2, 87 (1968).
- 16) 越沢みち子 : 金大がん研年報, 2, 75 (1968).
- 17) Boyden, S. V. : Brit. J. Exp. Path., 38, 611 (1959).
- 18) Gordon, J. : Immunology, 5, 153 (1962).
- 19) Asherson, G. L. and Stetson, S. H. : Immunology, 9, 205 (1965).
- 20) Loewi, G., Holbsrow, E. J. and Temple, A. : Immunology, 10, 339 (1966).
- 21) Dvorak, H. F., Billote, J. B., McCarthy, J. S. and Flax, M. H. : J. Immunol., 94, 966 (1965).
- 22) Benacerraf, B. and Levine, B. B. : J. Exp. Med., 115, 1023 (1962).
- 23) David, J. R., Lawrence, H. S. and Thomas, L. : J. Immunol., 93, 279 (1964).
- 24) Salvin, S. B., Nishio, J., and Ciribik, M. : Cellular Immunology 1, 62 (1970).
- 25) Chaparas, S. D., Thor, D. E. and Godfrey, H. P. : Science 170, 637 (1970).
- 26) Oppenheim, J. J. : Fed. Proc. 27, 21 (1968).

## Abstract

Studies on the correlation between delayed hypersensitivity skin reaction, inhibition of migration of peritoneal exudate cells(MI) and incorporation of  $^3\text{H}$ -thymidine or of  $^3\text{H}$ -uridine into spleen and regional lymphnode cells(RI) in the presence of specific antigen were performed with the following results.

1) In guinea pigs sensitized with hen egg albumin in Freund's complete adjuvant (HEA in FCA) developed delayed hypersensitivity(DHS) skin reaction by challenge with HEA. MI and RI were observed to run parallel with DHS-reaction. However, in guinea pigs sensitized with HEA in Freund's incomplete adjuvant, MI and increase of RI were demonstrated to occur under the conditions showing no DHS-reaction.

2) In guinea pigs showing immune deviation to HEA by pretreatment with HEA in saline, prior to sensitization with HEA in FCA, the grade of MI and incorporation of  $^3\text{H}$ -thymidine by regional lymphnode cells in the presence of HEA were almost equal to that in animals sensitized but not pretreated.

3) Animals sensitized with p-aminobenzoic acid azo-HEA (PABA-HEA) developed DHS to PABA-HEA and to HEA. MI by PABA-HEA and HEA was observed to run parallel with DHS.

4) Animals pretreated with HEA in saline and sensitized with PABA-HEA developed distinct DHS to PABA-HEA but not to HEA. However, MI by HEA was comparable to that of animals showing DHS to HEA.

5) A good correlation was observed to exist between DHS-reaction, MI and RI by tuberculo-protein in animals sensitized with various antigens in FCA.

---