

# ハプテナー蛋白複合体の免疫原性に関する研究： 遅延型過敏症発現能について

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/2297/8625">http://hdl.handle.net/2297/8625</a>

# ハプテン-蛋白複合体の免疫原性に関する研究

## 遅延型過敏症発現能について

金沢大学がん研究所免疫生物部 (主任: 西東利男教授)

福 井 啓

(昭和51年2月25日受付)

血清学の分野にハプテン・蛋白複合体が導入されて以来<sup>1)</sup>, 抗原抗体反応の免疫化学的研究が飛躍的進展を遂げるに至ったことは周知のところである。複合体免疫によって抗ハプテン抗体の産生のほか, ハプテンと結合部あるいはハプテン, 結合部および担体の一部にわたる部分を決定群とする抗体の産生<sup>2)</sup> 又は結合部に対する抗体の産生<sup>3)</sup> の可能性も報告されている。

一方複合体の遅延型過敏症 (DHS) 導入能については Benacerraf & Gell<sup>4)</sup>, Leskowitz<sup>5)</sup>, Borel<sup>6)</sup>, 新鞍<sup>7)</sup> あるいは越沢<sup>8)</sup> らによって詳細な検討が行われており, いずれも感作複合体およびその担体に対する DHS 発現のみられることを指摘している。

しかして著者は複合体感作によって, 感作複合体のみならずこれと担体が同一であるハプテンの異なる複合体の challenge で DHS 反応が惹起されるという立村<sup>9)</sup> の報告に興味を覚え, この現象は感作T細胞と抗原との相補性はいくらかあいまいであるためハプテンが類似しておれば起るものであるのか, あるいはその他に原因が求められるのか否かの検索を試みた。その結果立村<sup>9)</sup> の観察した現象は結合部を含めた担体の一部にわたる部分を決定群として惹起されるのではないかと推定される知見がえられた。

ここに複合体感作によって, ハプテン, 結合部および担体のそれぞれに対してのみならず, これらの各部にわたる部分を決定群とする液性抗体産生の可能性に加えて, 遅延型過敏症についても, 複合体および担体に対するもののみでなく結合部と担体にわたる部分に対する DHS 発現の可能性が推定されるに至ったわけである。

以下はその成績の概要である。

### 実験材料ならびに実験方法

#### 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) BGG: NBC製 bovine  $\gamma$ -globulin fraction II を用いた。

2) HEA: 和光純薬製ニワトリ卵白アルブミンを更に精製<sup>10)</sup> して用いた。

3) para-aminobenzoic acid azo-BGG (PAB-A-BGG), atoxyl azo-BGG (AT-BGG), sulfanilic acid azo-BGG, (SUL-BGG), AT-HEA: 越沢<sup>11)</sup> らの方法に準じて作製した。

4) Dinitrophenylated BGG (DNP-BGG): Eisen<sup>12)</sup> らの方法によって作製した。

#### II. 実験方法

1. 前処理: 特に述べない限り, 抗原生食水溶液 (10mg/ml) の1mlを心臓内に, 2mlを腹腔内に合計30mgを投与した。前処置2日後感作を行った。

2. 感作: 抗原水溶液と Freund's complete adjuvant の同量ずつを混合し, その0.2mlずつを両後足蹠に注射した。抗原量は合計50 $\mu$ gとした。

3. 脱感作: 感作後8日目, 抗原生食水溶液 (10mg/ml) 2.5mlを腹腔内に2時間間隔で2回投与した。第2回目投与直後皮膚試験を行った。対照として脱感作を行わない動物についても感作8日目に皮膚試験を実施した。

4. 皮膚反応試験: 抗原生食水溶液 (500 $\mu$ g/ml) の0.1mlを前日抜毛しておいた背部皮内に注射した。判定は越沢<sup>13)</sup> に準じて行った。

#### III. 略 記:

各種抗原によって導入された遅延型過敏症 (DHS) および DHS 皮膚反応 (DHS 反応) をそれぞれ抗抗原 DHS および抗抗原 DHS 反応と略記する場合がある。

Antigenicity of Hapten-Protein Conjugate in Inducing Delayed Hypersensitivity Skin Reaction **Satoru Fukui** Department of Immunobiology, (Director: Prof. T. Saito) Cancer Research Institute, Kanazawa University.

実験成績

I. 担体蛋白およびハプテン・蛋白複体感作後の遅延型過敏症 (DHS)

表1に BGG 感作動物について、BGG, AT-BGG, SUL-BGG および DNP-BGG による皮膚試験を行ってえられた成績を要約した。

これで見ると、BGG 感作動物は BGG のみならず AT-BGG SUL-BGG および DNP-BGG に対していずれも DHS 反応陽性である。ただ皮膚反応惹起原性は BGG が最も強く、他の3者はすべてこれより劣っていることは明らかである。しかしながらこのことは BGG によって導入された DHS は BGG を担体とする複体によっても実証されることを示している。

表1には更に AT-BGG, SUL-BGG あるいは DNP-BGG 感作動物について、BGG, AT-BGG, SUL-BGG および DNP-BGG をもって行った皮膚試験の結果を一括した。

ここで注目すべきことは、AT-BGG, SUL-BGG あるいは DNP-BGG 感作動物がいずれも AT-BGG, SUL-BGG, DNP-BGG および BGG によって DHS 反応陽性を呈したことである。このことは複体感作で感作複体のみならず、その担体に対する DHS が導入されたことを示している。ここで検討を要すると思われる点は、感作に用いた複体と、担体が同一でハプテンが異なる複体によって認められた DHS 反応である。これが単に抗担体 DHS 反応である

のか、抗感作複体 DHS がハプテンの類似性のため heterologous hapten-homologous carrier によって実証されているのであろうかということである。

II. 抗原前投与による検討

1. 担体前処置の効果

蛋白感作後の DHS 発現は当該蛋白溶液の感作前投与により、また複体感作により成立する感作複体および担体に対する DHS のうち後者は担体溶液の感作前投与により著しくその発現が抑制されることは既に報告されているところである<sup>8),14) 19)</sup>。

ここでは BGG 溶液 (10mg/ml) 1mlの心臓内投与2日後 BGG AT-BGG, SUL-BGG あるいは DNP-BGG 感作を行った動物について皮膚試験を実施し、えられた結果の概要を表2aに示した。

これで見ても、明らかに BGG 前投与で各群においてともに BGG に対する DHS の発現はみられないか、著しく抑制されていることがわかる。そのほかのきわめて重要な知見として、BGG 前投与動物で AT-BGG あるいは SUL-BGG 感作群ではいずれも AT-BGG および SUL-BGG 皮膚試験陽性であるが DNP-BGG による反応は陰性であり、一方 BGG 前投与 DNP-BGG 感作群では DNP-BGG 試験のみ陽性であって、AT-BGG および SUL-BGG による反応は認められなかったことである。

ところで BGG 前投与によって BGG に対する DHS 発現の認められなくなった AT-BGG および SUL-BGG 感作動物において各感作複体のほか、それ

Table 1. DHS<sup>1)</sup> reaction\* following sensitization with hapten-protein conjugate or carrier protein.

Sensitization	DHS reaction to			
	2) BGG	3) AT-BGG	4) SUL-BGG	5) DNP-BGG
BGG	** 5/5 (3.0)	5/5 (2.0)	5/5 (2.2)	5/5 (1.6)
AT-BGG	5/5 (3.0)	5/5 (3.0)	5/5 (3.0)	5/5 (1.4)
SUL-BGG	5/5 (3.0)	5/5 (2.8)	5/5 (3.0)	5/5 (1.4)
DNP-BGG	5/5 (3.0)	5/5 (1.8)	5/5 (2.0)	5/5 (3.0)

Note: 1) - 5) DHS-reaction Delayed hypersensitivity skin reaction

BGG =Bovine  $\gamma$ -globulin

AT-BGG =Atoxyl azo-BGG

SUL-BGG=Sulfanilic acid azo-BGG

DNP-BGG=Dinitrophenylated BGG

\* =DHS reaction test was carried out on day 8 after sensitization with antigen in Freund's complete adjuvant

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

それ SUL-BGG および AT-BGG に対する DHS 反応陽性である原因は AT-BGG と SUL-BGG においてハプテンの類似性に求められるであろうか。

## 2. 同一複合体前投与の効果

表 2b は AT-BGG および DNP-BGG 前投与がそれぞれ AT-BGG および DNP-BGG 感作後の DHS 発現への影響の検索を試みた実験成績を要約したものである。

ここではいずれも BGG, AT-BGG, SUL-BGG および DNP-BGG に対する DHS の発現は著しく抑制された。このことは感作複合体と同一複合体の前投与によって、導入される筈のすべての DHS の発現抑制がみられることを示唆している。

## 3. 担体を同じくし、ハプテンの異なる複合体前投与の効果

SUL-BGG あるいは DNP-BGG 前投与が AT-BGG 感作後の、および SUL-BGG あるいは AT-BGG 前投与が DNP-BGG 感作後の、BGG, AT-BGG, SUL-BGG および DNP-BGG に対する DHS 発現に及ぼす影響を観察した実験結果の概要を表 2c に示した。

ここで重要と思われることは DNP-BGG 前投与は AT-BGG 感作後の AT-BGG および SUL-BGG に対する DHS 導入を抑制しないこと、更に SUL-BGG あるいは AT-BGG 前投与は DNP-BGG 感作による DNP-BGG に対する DHS 発現を阻止しないことであり、一方 SUL-BGG 前投与は明らかに AT-BGG 感作後の SUL-BGG に対する DHS 発現を可なり抑制しており、DNP-BGG 前投与群に比べると抗 AT-BGG DHS の発現もいくらか低下させているので

Table 2a. Effect of pretreatment with carrier protein on development of DHS following sensitization with conjugate.

Pretreatment	Sensitization	DHS reaction to			
		BGG	AT-BGG	SUL-BGG	DNP-BGG
BGG	BGG	2/5 (0.5)	0/5	0/5	0/5
	AT-BGG	0/5	5/5 (2.4)	5/5 (2.8)	0/5
	SUL-BGG	0/5	5/5 (2.0)	5/5 (3.0)	0/5
	DNP-BGG	0/5	0/5	0/5	5/5 (2.3)

Note: See Table 1

Table 2b. Effect of pretreatment with homologous conjugate on development of DHS following sensitization with the conjugate.

Pretreatment*	Sensitization	DHS reaction to			
		BGG	AT-BGG	SUL-BGG	DNP-BGG
AT-BGG	AT-BGG	0/5	3/5 (1.0)	1/5 (1.0)	0/5
DNP-BGG	DNP-BGG	0/5	0/5	0/5	3/5 (1.0)
.	AT-BGG	5/5 (2.4)	5/5 (3.0)	5/5 (3.0)	5/5 (1.2)
	DNP-BGG	5/5 (2.3)	5/5 (1.8)	5/5 (1.6)	5/5 (3.0)

Note: See Table 1 and 2a

\* = Pretreatment was carried out 2 days before sensitization

. = not done

Table 2c. Effect of pretreatment with heterologous hapten-homologous carrier conjugate on development of DHS following sensitization with conjugate.

Pretreatment	Sensitization	DHS reaction to			
		BGG	AT-BGG	SUL-BGG	DNP-BGG
SUL-BGG	AT-BGG	3/5 (1.0)	5/5 (2.2)	5/5 (1.0)	0/5
DNP-BGG		2/5 (1.0)	5/5 (3.0)	5/5 (2.8)	0/5
SUL-BGG	DNP-BGG	2/5 (1.0)	0/5	0/5	5/5 (3.0)
AT-BGG		3/5 (1.0)	0/5	0/5	5/5 (3.0)

Note: See Table 1 and 2a

はないかと思われることである。

4. ハプテンが同一で担体の異なる複合体前投与の効果

表2dは AT-HEA 前投与, AT-BGG 感作動物において BGG, AT-BGG および SUL-BGG に対する DHS 反応を観察した成績の概要を示したものである。

ここでは前投与が感作後の DHS 発現に影響を及ぼしたとみられる知見はえられなかった。このことは表には示さなかったが AT-BGG 感作動物での AT-HEA 脱感作が抗 AT-BGG および抗 BGG DHS 反応の惹起にほとんど影響しなかったことと密接な関連性があると考えられるのである。

Ⅲ. 脱感作試験

1. BGG 感作動物における成績

表3aは BGG 感作動物について BGG 脱感作を行ってえられた成績を示したものである。

BGG 大量投与によって BGG に対する DHS 反応が低下すると, AT-BGG, SUL-BGG および DNP-BGG によっては DHS 反応は認められなくなった。このことはこれら複合体による DHS 反応が抗担体 DHS であることを示している。

2. AT-BGG 感作動物における成績

表3bに, AT-BGG 感作動物の BGG, AT-BGG, SUL-BGG あるいは DNP-BGG で脱感作を行った後のこれらの抗原に対する DHS 試験を試みた成績を要約した。

これでわかることは, BGG あるいは DNP-BGG 脱感作でいずれも BGG および DNP-BGG に対する DHS 反応は著しく低下したが, AT-BGG および SUL-BGG による DHS 反応はなお顕著に認められ、一方 SUL-BGG による脱感作によっては AT-BGG に対する DHS のみ残存し, AT-BGG 脱感作によ

Table 2d. Effect of pretreatment with homologous hapten-heterologous carrier on development of DHS following sensitization with conjugate.

Pretreatment	Sensitization	DHS reaction to		
		BGG	AT-BGG	SUL-BGG
AT-HEA	AT-BGG	5/5 (2.0)	5/5 (2.6)	5/5 (2.6)
.		5/5 (1.8)	5/5 (2.8)	5/5 (2.6)

Note: See Table 1, 2a and 2b

Table 3a. Effect of desensitization with BGG on DHS-reaction in animals sensitized with BGG.

Sensitization	Desensitization(D)	Time of skin test	DHS-reaction to			
			BGG	AT-BGG	SUL-BGG	DNP-BGG
BGG	BGG	before D	5/5 (3.0)	5/5 (1.6)	5/5 (1.8)	5/5 (1.4)
		after D	5/5 (1.2)	0/5	0/5	0/5

Note: See Table 1

\*=desensitization was carried out by injection of 25 mg BGG 2 hours before skin testing

Table 3b. Effect of desensitization with BGG, DNP-BGG, SUL-BGG or AT-BGG on development of DHS-reaction in animals sensitized with AT-BGG.

Sensitization	Desensitization	DHS-reaction to			
		BGG	AT-BGG	SUL-BGG	DNP-BGG
AT-BGG	.	5/5 (3.0)	5/5 (3.0)	5/5 (3.0)	5/5 (1.4)
	BGG	1/5 (1.0)	5/5 (2.8)	5/5 (2.4)	0/5
	AT-BGG	0/5	1/5 (1.0)	1/5 (1.0)	0/5
	SUL-BGG	0/5	5/5 (2.0)	0/5	0/5
	DNP-BGG	1/5 (1.0)	5/5 (2.2)	5/5 (1.8)	0/5

Note: See Table 1, 2a, 2b and 3a

ては試みられた4抗原に対するDHS反応はすべてほぼ完全に認められなくなった。ここにAT-BGG感作によってBGG、およびAT-BGGに対するDHSの外SUL-BGGによって実証されるDHS—これはAT-BGGでみられるDHS反応の一部をなしていると推定される一の発現が明らかにされた。更にBGG脱感作でSUL-BGG DHS反応が残存するのにDNP-BGG DHS反応が消失することは興味のある現象であって、ハプテンの相異、ハプテン担体の結合様式の差などが考慮されるべきであろう。

### 3. SUL-BGG感作動物における成績

表3cはSUL-BGG感作動物について行ったBGG, AT-BGG, SUL-BGGあるいはDNP-BGG脱感作試験の成績を要約したものである。

ここでもBGGあるいはDNP-BGG脱感作で、いずれもBGGおよびDNP-BGGに対するDHS反応は著しく低下したが、AT-BGGおよびSUL-BGGによってはなお顕著な反応を呈した。一方AT-BGG脱感作によってはSUL-BGGに対する反応のみ残存し、SUL-BGG脱感作によってはすべての抗原に対して反応を示さなくなった。ここにSUL-BGG感作により、BGGおよびSUL-BGGに対するDHSのほか、AT-BGGに対するDHS—これはSUL-BGGで惹起されるDHS反応の一部をなしているものと考えられる一の発現が観察された。

### 4. PABA-BGG感作動物における成績

表3dは、PABA-BGG感作動物のBGG, AT-BGG, SUL-BGGあるいはPABA-BGG脱感作による皮膚

Table 3c. Effect of desensitization with BGG, DNP-BGG, AT-BGG or SUL-BGG on development of DHS in animals sensitized with SUL-BGG.

Sensitization	Desensitization	DHS-reaction to			
		BGG	AT-BGG	SUL-BGG	DNP-BGG
SUL-BGG	.	5/5 (2.0)	5/5 (2.8)	5/5 (3.0)	5/5 (2.4)
	BGG	0/5	5/5 (2.2)	5/5 (2.8)	0/5
	AT-BGG	0/5	1/5 (1.0)	5/5 (2.0)	0/5
	SUL-BGG	0/5	0/5	2/5 (0.5)	0/5
	DNP-BGG	3/5 (0.5)	5/5 (2.0)	5/5 (2.2)	0/5

Note: See Table 1, 2a, 2b and 3a

Table 3d. Effect of desensitization with BGG, AT-BGG, SUL-BGG or PABA-BGG on development of DHS-reaction in animals sensitized with PABA-BGG.

Sensitization	Desensitization	DHS-reaction to				
		BGG	AT-BGG	SUL-BGG	PABA-BGG	PABA-HEA
PABA-BGG	.	5/5(2.4)	5/5(3.0)	5/5(2.8)	5/5(3.0)	0/5
	BGG	0/5	5/5(2.4)	5/5(2.4)	5/5(2.8)	0/5
	AT-BGG	0/5	0/5	0/5	5/5(2.0)	0/5
	SUL-BGG	0/5	0/5	0/5	5/5(2.2)	0/5
	PABA-BGG	0/5	0/5	0/5	1/5(0.5)	0/5

Note: See Table 1, 2a, 2b and 3a

Table 3e. Effect of desensitization with BGG, AT-BGG, SUL-BGG or DNP-BGG on development of DHS in animals sensitized with DNP-BGG.

Sensitization	Desensitization	DHS-reaction to			
		BGG	AT-BGG	SUL-BGG	DNP-BGG
DNP-BGG	.	5/5 (2.6)	5/5 (2.0)	5/5 (1.8)	5/5 (3.0)
	BGG	0/5	0/5	0/5	5/5 (2.0)
	AT-BGG	3/5 (0.5)	0/5	0/5	5/5 (2.4)
	SUL-BGG	4/5 (0.5)	0/5	0/5	5/5 (2.2)
	DNP-BGG	2/5 (0.5)	0/5	0/5	2/5 (1.0)

Note: See Table 1, 2a, 2b and 3a

反応の推移を観察した結果の概要を示したものである。

これでも、BGG 脱感作を行っても AT-BGG、SUL-BGG および PABA-BGG による反応は顕著であり、AT-BGG あるいは SUL-BGG 脱感作では PABA-BGG による反応のみ残存し、PABA-BGG 脱感作ですべての反応が認められなくなった。

ここで注目されることは AT-BGG あるいは SUL-BGG 脱感作がいずれも AT-BGG のみならず SUL-BGG に対する反応を消退させること、更に PABA-BGG 感作によって PABA-HEA に対する DHS 発現はみられなかったことである。

#### 5. DNP-BGG 感作動物における成績

表 3e は、BGG、AT-BGG、SUL-BGG あるいは DNP-BGG 脱感作を行った DNP-BGG 感作動物のこれら抗原による皮膚反応試験の結果を要約したものである。

ここでは BGG、AT-BGG あるいは SUL-BGG 脱感作によって、いずれもこれらの抗原に対する DHS 反応はほとんど消退した。しかし DNP-BGG に対する反応はなお顕著に認められた。一方 DNP-BGG 脱感作によっては DNP-BGG に対するものも含め他の抗原による DHS 反応もすべてみられなくなった。

### 総 括

ハプテン蛋白複体を Freund's complete adjuvant とともに投与すると、感作複体ならびに担体蛋白に対する DHS のみられることは既に多くの研究者<sup>4)</sup>の報告しているところであるが、その後著者の教室の立村<sup>9)</sup>の検討によるとそのほかに担体が同一であればハプテンが異なる複体によっても DHS 反応の惹起されることが明らかとなった。著者はその機序について検索の歩を進めたところ次のような知見がえられた。

AT-BGG 感作動物では AT-BGG および BGG によって DHS 反応が惹起されるのみならず、SUL-BGG、および DNP-BGG によっても DHS 反応の発現するのが観察された。ここで注意を要するのはこれら皮膚反応試験抗原と感作抗原との担体蛋白が共通であることである。著者が試みた BGG 感作動物では AT-BGG、SUL-BGG、および DNP-BGG のいずれかによっても DHS 反応陽性であるが、これら DHS 反応は BGG 脱感作によってすべて消退することから、AT-BGG 感作動物でみられた AT-BGG、SUL-BGG および DNP-BGG による DHS 反応には BGG に対する DHS 反応が加わっていることが推定され

るのである。

さて担体の前投与を行うと、複体感作後、感作複体に対する DHS の発現には変るところがないが、担体に対するそれは抑制されるという現象の報告<sup>8)13)</sup>されていることに着目し、BGG 前投与動物に BGG、AT-BGG、SUL-BGG あるいは DNP-BGG 感作を行って DHS の発現をみる実験を試みたところ、ここできわめて重要な知見がえられた。すなわち BGG 前投与 BGG 感作で BGG に対する DHS 導入は認められなくなり、AT-BGG、SUL-BGG および DNP-BGG による DHS 反応は完全に陰性となった。一方 BGG 前投与 AT-BGG 感作動物では、抗 BGG および抗 DNP-BGG DHS 反応を示さなかったが、抗 AT-BGG および抗 SUL-BGG DHS 反応がともに認められ、また BGG 前投与 SUL-BGG 感作群においても全く同様な結果がえられた。このことは AT-BGG あるいは SUL-BGG 感作群で抗 BGG DHS 反応がみられない条件下においては、抗 DNP-BGG DHS 反応は認められないが、両群においてともに抗 AT-BGG および抗 SUL-BGG DHS 反応は惹起されることを示しており、きわめて興味のあるところである。

その原因として DHS 反応は比較的特異性が劣り、試験抗原と感作抗原のハプテン部分が同一でなくてもある程度の類似性があれば反応惹起原となりうるのではないかと考えられる。しかしながら AT-BGG 感作群について SUL-BGG 脱感作後の抗 AT-BGG および抗 SUL-BGG DHS 反応を観察すると、後者は陰性であるがなお明確な前者の残存が認められたことからみて、AT-BGG 感作動物での抗 SUL-BGG DHS 反応は AT-BGG と SUL-BGG との間のハプテン類似性によるものではないと推定されるのである。SUL-BGG 感作動物における脱感作実験でも全く軌を一にした結果がえられた。更に AT-BGG 感作動物の PABA-BGG 脱感作によって抗 SUL-BGG DHS 反応は消退するが抗 AT-BGG DHS 反応は残存し、また SUL-BGG 前投与 AT-BGG 感作動物では抗 BGG および抗 SUL-BGG DHS 発現の著しい抑制が認められたが、抗 AT-BGG DHS の発現はなお顕著であり、かつ AT-BGG 前投与 AT-BGG 感作動物では BGG、SUL-BGG および AT-BGG に対する DHS 導入はほぼ認められなかった点などを総合して考えると AT-BGG 感作動物での抗 SUL-BGG DHS 反応および SUL-BGG 感作動物での抗 AT-BGG DHS 反応は抗 BGG DHS 反応のみではなく、またハプテン類似性によるものでもなく、結合部から担体の一定範囲にわたる部分を抗原として惹起されているもので

はないかと推定されるものである。DNP-BGG 前投与 AT-BGG 感作動物では抗 BGG および抗 DNP-BGG DHS 反応の低下があり、抗 AT-BGG および抗 SUL-BGG DHS はともに顕著であることもまた結合部担体の DHS 導入能を想定させるものである。

一方次のような知見もまた結合部と DHS 発現との関連性を示唆するものであると思われる。すなわち DNP-BGG 感作動物は BGG および DNP-BGG のほか AT-BGG および SUL-BGG に対する DHS 反応陽性を呈するが、BGG 脱感作で抗 DNP-BGG DHS 反応のみ残存し、また BGG 前投与 DNP-BGG 感作動物では抗 DNP-BGG DHS の発現のみ認められるということは、DNP-BGG と AT-BGG あるいは SUL-BGG との間にハプテンと担体との結合形式に差があるため前者と後者による感作では担体に対する DHS のみが共通なのであろうと考えられる。次いで AT-BGG 感作動物では抗 AT-HEA DHS 反応は認められないこと、また AT-HEA 前投与が AT-BGG 感作後の BGG、AT-BGG および SUL-BGG による DHS 発現になんら影響を与えないこと、更に AT-BGG 感作動物での AT-HEA 脱感作が上記 3 抗原による DHS 反応に無影響であることなどはハプテンと結合部に限局される部分は直接に DHS 発現ならびに DHS 反応惹起に関与しないことを示唆しているといえよう。

ここに複合体において、結合部から担体の一定部位にわたる決定群を想定すると、同一担体感作よりも担体が同一であれば異なるハプテンの複合体感作が、次の結合形式と担体の同一である複合体投与後の抗ハプテン産生により有効に働らくという立村<sup>9)</sup>の報告は結合部・担体の抗ハプテン産生における補助的役割りを暗示しており、この役割りが結合部・担体、に対応する T 細胞によって果されているとすれば、結合部・担体を抗原として DHS の導入されうる可能性も否定しえないであろう。

著者の本実験の成績はこの可能性を実証したといえよう。なお同一ハプテン同一担体で結合方式の異なる複合体での検討が進行中である。

#### 結 論

AT-BGG、SUL-BGG あるいは DNP-BGG 感作を行った各モルモット群について、BGG、AT-BGG、SUL-BGG および DNP-BGG 皮膚試験を試み、それぞれ発現する DHS 反応を観察してえられた結果を要約すると次のようである。

1 いずれの感作動物においても、BGG、AT-BG

G、SUL-BGG および DNP-BGG によって DHS 反応が惹起された。

2 AT-BGG および SUL-BGG 感作動物においては、BGG 前投与によりあるいは BGG 脱感作後、いずれも BGG および DNP-BGG に対する DHS 反応は出現しなくなったが、なお AT-BGG および SUL-BGG のいずれによっても明確な DHS 反応が認められた。

3 DNP-BGG 感作動物では、BGG 前投与により、あるいは BGG 脱感作後、DNP-BGG に対する DHS 反応のみ惹起し、BGG、AT-BGG および SUL-BGG に対する DHS 反応は惹起しなくなった。

4 AT-BGG 感作動物は、SUL-BGG の前投与あるいは脱感作で、SUL-BGG 感作動物は AT-BGG の前投与あるいは脱感作で、それぞれ AT-BGG および SUL-BGG に対する DHS のみ残存した。

5 DNP-BGG 感作動物では AT-BGG あるいは SUL-BGG による前投与または脱感作によって DNP-BGG に対する DHS のみ残存した。

6 感作複合体による前投与または脱感作で使用抗原すべてに対して DHS 反応を示さなくなった。

7 感作複合体と担体のみ異なる複合体によって DHS 反応は惹起されなかった。

以上の成績からハプテン・蛋白複合体感作によって感作複合体、担体のほか結合部から担体の一定範囲にわたる部分に対応する DHS の発現が推定される。

#### 文 献

- 1) Landsteiner, K. : cf. Fundamentals of Immunology, 4th edition p.141 (1966).
- 2) Borek, F. & Silverstein, A. M. : Nature, 205, 299 (1965).
- 3) 羽田陸朗 : 金沢医理学叢書, 99, 85 (1975).
- 4) Benacerraf, B. & Gell, P. G. H. : Immunology, 2, 53 (1959).
- 5) Leskowitz, S. : J. Exp. Med., 117, 909, (1963).
- 6) Borel, Y., Fauconnet, M. & Miescher, P. : J. Immunol., 98, 881 (1967).
- 7) 新 鞍 保 : 金大がん研年報, 1, 123 (1967).
- 8) 越 沢 み ち 子 : 金大がん研年報, 2, 87 (1968).
- 9) 立 村 森 男 : 金大医理学叢書, 95, 71 (1973).
- 10) 緒 方 富 雄 : 血清学実験法, 198頁, 東京プリンツ社 1963.
- 11) 越 沢 み ち 子, 谷 口 恭 子, 中 川 茂, 一 柳 兵 藏 : 金大結研年報, 23, 143 (1966).



- 12) Eisen, H. N., Belman, S. & Carsten, M. E. : J. Am. chem. Soc., 75, 4583 (1953).  
13) 越沢みち子 : 金大がん研年報2, 75 (1968).  
14) Boyden, S. V. : Brit. J. Exp. Path., 38, 611 (1959).  
15) Gordon, J. : Immunology, 5, 153 (1962).  
16) Asherson, G. L. & Stone, S. H. : Immunology, 9, 205 (1965).  
17) Asherson, G. L. : Immunology, 10, 179 (1966).  
18) Loewi, G., Holborow, E. J. & Temple, A. : Immunology, 10, 339 (1966).  
19) Dvorak, H. F., Billste, J. B., McCarthy, J. S. & Flax, M. H. : J. Immunol., 94, 966 (1965).

## Abstract

Antigenic activity of hapten-protein conjugate in inducing delayed hypersensitivity was investigated in guinea pigs. Bovine  $\gamma$ -globulin (BGG), atoxyl azo-BGG (AT-BGG), sulfanilic acid azo-BGG (SUL-BGG), p-aminobenzoic acid azo-BGG (PABA-BGG) and dinitrophenylated BGG (DNP-BGG) were used as pretreating, sensitizing, desensitizing and skin testing antigens.

Animals were skin-tested 8 days after sensitization with antigens in Freund's complete adjuvant. Pretreatment with antigen in saline was carried out 2 days before sensitization. Desensitization was performed by administration of a large dose of antigen in saline 2 hours before skin testing.

In each group of the animals sensitized with AT-BGG, SUL-BGG, or DNP-BGG, delayed skin hypersensitivity (DHS) reaction was observed by challenge with BGG, AT-BGG, SUL-BGG, and DNP-BGG.

The injection of BGG in saline, prior to sensitization with AT-BGG or SUL-BGG, prevented the induction of DHS to BGG and DNP-BGG.

Desensitization with BGG, after sensitization with AT-BGG or SUL-BGG, abrogated DHS-reaction to BGG and DNP-BGG, while it left unaffected DHS-reaction to AT-BGG and SUL-BGG.

On the other hand, in the animals sensitized with DNP-BGG, pretreatment with BGG prevented the induction of DHS to BGG, AT-BGG and SUL-BGG, and desensitization with BGG abrogated DHS-reaction to BGG, AT-BGG and SUL-BGG.

Abrogation of DHS-reaction to SUL-BGG took place but that to AT-BGG was observed in the animals sensitized with AT-BGG and desensitized with SUL-BGG or with PABA-BGG. The animals pretreated with SUL-BGG and sensitized with AT-BGG showed far less intense DHS-reaction to BGG and SUL-BGG than to AT-BGG.

Pretreatment or desensitization with DNP-BGG was ineffective in inhibiting the development of DHS-reaction to AT-BGG and SUL-BGG in the animals sensitized with AT-BGG.

Development of DHS to DNP-BGG in the animals sensitized with DNP-BGG was observed not to be prevented by pretreatment with SUL-BGG or AT-BGG.

Development of DHS to all the test antigens was suppressed in the animals pretreated and sensitized with AT-BGG, and in the animals pretreated and sensitized with DNP-BGG.

In short, the animals sensitized with hapten-protein conjugate were observed to develop DHS to the conjugate, to its carrier protein and to linkage-carrier moieties.