HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	細胞浮游液培養法によるツベルクリンアレルギーの実験的研究：第2報 ツベルクリンによる細胞増殖抑制の際の正常及び免疫血清の役割
Author(s)	伊藤, 幹夫
Citation	結核の研究, 10, 50-53
Issue Date	1959-03
Doc URL	http://hdl.handle.net/2115/26669
Type	bulletin (article)
File Information	10_P50-53.pdf

Instructions for use

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

細胞浮游液培養法によるツベルクリンアレルギーの実験的研究

第2報　ツベルクリンによる細胞増殖抑制の際の正常及び免疫血清の役割

伊藤幹夫

（北海道大学結核研究所病理部　指導　森川和雄教授）

（昭和 34 年 1 月 10 日受付）

ツベルクリン型アレルギー反応の特徴とされていた特異的細胞壊死現象については，今日多方面からの再検討によつて，その考え方に若干の変更を余儀なくされており，ツベルクリン型アレルギー反応の本質についての定義も次第に見なおされつつある現状である。

従来の考えの基礎をなすものは，ツベルクリン型（以下「ツ」型と略記する）抗体の細胞拘着性と云う考え方であつて，Arthus 型アレルギー抗体の体液性であることの対比と云う面において従来は両極端に偏しすぎたきらいがあると感ぜられる。即ち「ツ」型アレルギーの体液性抗体因子の参与を軽視し，Arthus 型アレルギーの細胞性抗体因子を無視した結果が，今日の不合理再検討の原因ではなかろうかと考えられるのである。

著者の研究室においては前年来「ツ」型アレルギー反応の特性に関する多方面の研究が行われており，同反応における体液性因子の重要性について強調して来ている所である[1]。著者は前記特異的細胞壊死現象における種々の問題を担当し，細胞浮游液培養法を利用した実験を行い，前報[2]においてはこの細胞壊死或いは細胞増殖抑制現象における補体の役割を調べたが，補体さえ充分あれば Rich[3]，Aronson[4] 等の云う如き「ツ」型及び Arthus 型アレルギーの差は存在しなく，Favour[5]，Waksman[6] 等の成績と比較し得る結果をえたのである。この不合理を説明する根拠として，先ず実験方法の差が考えられるが，結核免疫動物，卵白アルブミン感作動物何れの脾培養にも，常に自家血清を用いたと云うことを考えねばならない。前述の如く抗体に細胞性，体液性の両者があるとすれば，細胞壊死或いは増殖抑制作用は培養液中の単なる抗原抗体の結合が原因しているのか，細胞性抗体だけが抗原と結合することが原因しているのか知るべくもない。そこでその間の不分明に解決の鍵を与えるべく本実験が意図されたのである。尚今回は「ツ」型アレルギーにのみ対象をしぼり，培地中の抗体の有無と増殖率の比較とによつて，両種抗体の本現象に参加の程度を測つたわけである。

実験方法

動物は全て約 2 kg の白色雄性家兎を使用した。BCG 接種法，浮游液培養法，培地に抗原添加方法判定法は全く前報[2]と同じ方法で実施した。但し今回は培地に使用する血清は非働化しないものを用い又自家血清の他に正常家兎血清を用いた2種の培地を調製して実験を行つた。尚以下に記載の数値は免疫及び正常家兎 5 羽宛について夫々 10 回の重復培養実験の結果の平均値を記載した。又略号として正常家兎脾細胞を NC，結核免疫家兎脾細胞を TC，正常家兎血清使用培地を NS，免疫家兎血清使用培地を TS，ツベルクリンをTと略記する。

実験成績

1．培地にツベルクリンを添加しない場合

1）　正常家兎脾細胞の培養の場合

正常家兎脾細胞を正常又は免疫家兎血清使用培地で培養した結果は第1表の如き成績であつた。

第1表　正常家兎脾細胞培養における正常及び免疫家兎血清の作用

	培養開始時	2 日	4 日	7 日
NC+NS	14,000	27,000	37,000	44,000
NC+TS	14,000	26,000	38,000	46,000

即ち血清の差は培養成績に影響を与えない。

2）　免疫家兎脾細胞の培養の場合

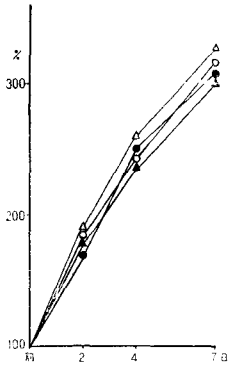
結核免疫家兎脾細胞を正常又は免疫家兎血清使用培地で培養した結果は第2表の如きものであつた。

第2表　免疫家兎脾細胞培養における正常及び免疫血清の作用

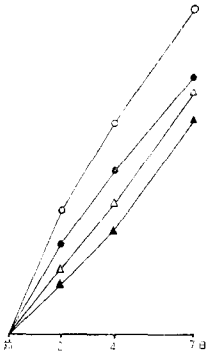
	開始時	2日	4日	7日
TC+NS	17,000	33,000	46,000	57,000
TC+TS	17,000	35,000	47,000	57,000

即ち正常細胞と等しく，血清の差は成績に影響を与えない。

以上 1)，2) の増殖率（開始時に対する百分率変動）を第1図に示した。之からもわかる通り上記4種の組合せの間には殆んど差異が認められない。



第1図
「ツ」を添加しない場合の増殖率



第2図
「ツ」存在下の各々の増殖率

○—○：正常細胞＋正常血清
●—●：正常細胞＋免疫血清
△—△：免疫細胞＋正常血清
▲—▲：免疫細胞＋免疫血清
（以下の図も同じ）

2.「ツ」添加実験

1)　正常家兎脾細胞培養の場合

前記実験1の 1) に「ツ」を添加した時の成績を第3表に示した。

第3表　「ツ」添加正常家兎脾細胞培養における正常及び免疫血清の作用

	開始時	2日	4日	7日
NC+NS+T	14,000	27,000	36,000	46,000
NC+NS+T	14,000	24,000	32,000	42,000

即ち免疫血清使用群においては若干の増殖抑制作用が認められる。

2)　免疫家兎脾細胞培養の場合

前記実験1の 2) に「ツ」を添加した時の成績を第4表に示した。

第4表　「ツ」添加免疫家兎脾細胞培養における正常及び免疫血清の作用

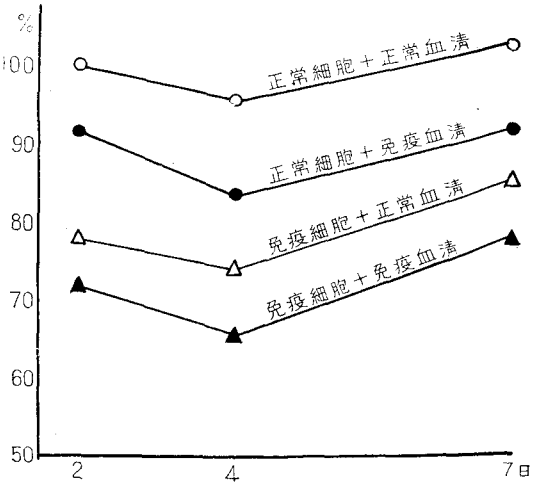
	開始時	2日	4日	7日
TC+NS+T	17,000	26,000	34,000	49,000
TC+TS+T	17,000	25,000	31,000	45,000

即ち免疫血清使用群においては若干の増殖抑制作用が認められる。

以上 1)，2) の成績を第1図の場合同様増殖率で図示すると第2図の如くなり，4者の間に4日以降約 25% 位宛の差が認められる。即ち NC+NS+T が最も良い増殖を示し，以下 NC+TS+T，更に TC+NS+T となり TC+TS+T が最も悪い増殖状態を示している。（第5表参照）

第5表　培養開始時を 100 とした全実験の増殖率

組合せ	2日	4日	7日
NC+NS	192	265	314
NC+TS	186	271	328
TC+NS	194	270	335
TC+TS	205	276	335
NC+NS+T	192	257	328
NC+TS+T	171	228	300
TC+NS+T	153	200	288
TC+TS+T	147	182	265



第3図　細胞と血清の各組合せの培養成績に対する「ツ」の作用（「ツ」非添加の場合を各々 100 として之に対する比較増殖率）

次に「ツ」添加による作用を，NC, TC と NS, TS の4種類の組合せについて調べる為に，「ツ」添加しない場合の夫々の増殖率を100として之に対する夫々の比較増殖率を図示すれば第3図がえられる。即ち第2図にえられたと同様な結果がここに表現されている。

総括及び考按

以上の成績を総括すると，3つの点にしぼることが出来ると考えられる。

先ず第1に正常家兎脾に正常血清の組合せでは「ツ」が何らの作用をも及ぼさない。この事実は「ツ」による細胞増殖抑制現象が特異的なものであることを証明すると共に，以下に続く実験成績の判定に有力な根拠となるものと考えられる。又「ツ」添加のない場合は，免疫家免細胞が正常家兎細胞と同程度の増殖を示す結果を見ると Lasfargues ら[7]の云う「ツ」融解現象は結核動物細胞全部の示す脆弱性の結果であるとの判断を否定する根拠ともなるものであろう。

第2に注目される事実は正常家兎脾細胞でも結核免疫血清を添加すると，「ツ」の作用が現れると云う結果である。勿論その程度は軽いものにすぎないが，たしかに増殖率は悪い。つまり細胞増殖抑制の因子は血清中にも含まれることを意味していると考えられる。ここで引用しなければならない諸家の成績の中で，Favour 一派の plasma factor に関するものが有力である。即ち免疫動物リンパ球を正常動物血漿中に保ち7時間以上おくと，この血漿には結核動物リンパ球は勿論正常動物のそれも「ツ」融解を起させる plasma factor が遊離されると云う成績である[8]。この事実から当然判断出来るように結核動物血清中には，この plasma factor が含まれることは推察に難くない。事実 1949 年の彼らの報告[9]は正常動物血球が患者血漿中で容易に「ツ」融解を起すことを認めている。その他 Langner[10] は同様に血球が対象であるが，健康人白血球が患者血漿中でたしかに「ツ」により遊走抑制が起る事実を報告している。この様に増殖抑制因子として血清はたしかに相当の役割を占めていると考えられる。

次に第3の事実は，結核家兎脾細胞は培地の血清提供動物に関係なく，増殖が抑制される成績である。つまりこの際の増殖抑制因子は血清と云うより，細胞自体にあると考えるべきであろう。但し免疫血清を用いた場合と正常血清を用いた場合では若干の差異が認められる。即ち，免疫血清の場合の増殖抑制度が，若干正常血清の場合より高い結果であつて，前述の正常細胞に対する免疫血清の作用から考えても血清中に増殖抑制因子の介存を認めざるをえない成績であると考えられる。

前述 Langner[10] は人体材料について，末梢白血球の「ツ」融解現象における血漿成分の作用を追求し，今回の成績と同様な結果を報告している。只彼の場合とは対象を異にしているし，実験方法にも大いなる差異がある。又彼は抗原の濃度による感受性の測定を行つている。併し「ツ」の非特異的作用を示さない程度の低濃度における「ツ」の作用についての例数はごく少い。又不思議なことに正常白血球に対する結核患者血漿の組合せ例数が殊に少数例であつて，更に抗原最高希釈における実験をやつていないように考えられる。

しかしながら，彼の云う「ツ」による増殖抑制現象は血清と細胞との両方にある因子の summation である考えには全く賛同せざるをえない。只この両者の因子の中では細胞性因子が血清因子より重きを占めていることは事実である。この意味において Favour らの serum factor のみを重視する考えには賛同出来ない。

ここでもう一つ考えねばならぬことは，蛋白アレルギーの関与と云う問題である。著者は前報において，補体の参与があれば，卵白アルブミン感作動物細胞もその抗原で特異的細胞増殖抑制を起すことを報告した。Favour[11] も述べる如く，補体参与下の特異的細胞壊死は「ツ」型アレルギーに限つた独特のものではないと考えている。従つて今回の実験においても蛋白アレルギーの介在を否定することは出来ない。当研究室の森川ら[12]が述べた，「ツ」アレルギーには，遅延性性格と速時性性格が合併している事実を著者も肯定するところである。在来の考えに近よるとすれば，血清因子は速時性性格の表現であり，細胞性因子は遅延性性格の表現であるとも考えられる。しかしながら，前報の結果から見ると，卵白アルブミン抗原抗体反応系においても，結核ー「ツ」系に優るとも劣らない増殖抑制を見た所から考えて，血清因子のみが速時性反応の代表とは考え難いのであつて，両因子夫々の占める役割については更に検討の要する所であると考えられる。

何れにせよ，特異細胞壊死現象における血清因子の役割を認めた実験者はそう多いものではないが，著者の用いた浮游液培養法が，定量的判定には誠に適した実験方法であると考えられるのであつて，Rich & Lewis に始つた組織培養実験，更には Favour らの Lympholysis 試験に次ぐ興味ある実験方法と考えられる次第である。

結　　論

前報に述べた細胞浮游液培養法を用いて，所謂特異的細胞壊死現象における細胞性因子，体液性因子の役割を

知るべく，正常及び BCG 免疫家兎脾細胞を正常及び免疫家兎血清中に培養し旧ツベルクリン添加による増殖抑制度を測定した。

1. 正常又は免疫家兎脾細胞培養に際し，培地に正常又は免疫家兎血清を用いても増殖率に差異は認められない。

2. 正常家兎脾細胞を正常家兎血清中で培養時に「ツ」を添加しても増殖率に変化を与えない。

3. 正常家兎脾細胞を免疫家兎血清中で培養時に「ツ」添加を行うと若干増殖が抑制される。

4. 免疫家兎脾細胞は正常家兎血清中でも又免疫家兎血清中でも培養時「ツ」添加はその増殖を著しく抑制する。但し免疫家兎血清中における抑制度がより強い。

以上から「ツ」の細胞増殖抑制現象には血清因子並びに細胞性因子の両者が参与することを知つた。但し細胞性因子の占むる割合がより高い。

引 用 文 献

1) 森川和雄： 結核の研究，**3**，1 (1956).
2) 伊藤幹夫： 結核の研究，**7**，82 (1957).
3) Rich, A. R. & Lewis, M. R.: Bull. Johns Hopkins Hosp., **50**, 115 (1932).
4) Aronson, J.D.: J. Immunol., **25**, 1 (1933).
5) Favour, C.B.: Proc. Soc. Exper. Biol. & Med. **56**, 269 (1947).
6) Waksman, B.H.: J. Immunol., **70**, 331 (1953).
7) Lasfargues, E., Boquet, P. & Delaunay, A.: Ann. Inst. Pasteur, **73**, 169 (1947).
8) Miller, J.M. & Favour, C.B.: J. Exper. Med., **93**, 1 (1951).
9) Miller, J.M., Favour, C. B., Wilson, B. A. & Umbarger, M. A.: Proc. Soc. Exper. Biol. & Med., **70**, 738 (1949).
10) Langner, K.: Klin. Wschr., **28**, 177 (1950).
11) Favour, C. B.: Int. Arch. Allergy, **10**, 193 (1957).
12) Morikawa, K., Okuyama, H. & Tokita, H.: Jap. J. Tuberc., **5**, 71 (1957).