HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	実験結核症におけるMacrophage Migration Inhibitionとツベルクリン皮膚感受性および抗菌免疫との関係
Author(s)	山本, 健一
Citation	北海道大学免疫科学研究所紀要, 35, 8-17
Issue Date	1975-03
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/26489
Type	departmental bulletin paper
File Information	35_P8-17.pdf

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

原　著

実験結核症における Macrophage Migration Inhibition とツベルクリン皮膚感受性および抗菌免疫との関係

山本健一
（北海道大学免疫科学研究所細菌感染部）

（昭和49年6月12日受付）

結核症におけるツベルクリン・アレルギーと感染防禦能との関係をしらべた研究は多数報告されている[1),2)]。しかし，その殆どの内容は両者を現象論的に追究するに止っているため最近まで明確な結論は得られていなかった。近時の免疫学の進歩，ことに細胞性免疫に関与するリンパ球と Macrophage の相互の関係が次第に明らかにされて[3),4)]，細胞性免疫の特徴をもつ結核症における免疫とアレルギーの関係も細胞の働きの面から考究されて，ようやく明らかにされようとしている。

ツベルクリン・アレルギーの皮膚での表現であるツ反応は皮内の結核感作リンパ球と特異抗原の接触で開始される。この反応の過程を追究する手がかりを in vitro で与えたものは古く Rich および Lewis の実験[5)]である。即ち，結核感作モルモット脾細片からの細胞の遊走阻止が特異抗原の添加によって阻止されることを見出した。その後，その現象のメカニズムが明らかにされないまま30年を経て，George と Vanghan[6)]によって細胞を毛細管につめ，その管口からの遊走面積を測る定量化が案出され，また細胞遊走阻止の主役が感作リンパ球であることが明らかにされた。次いで，David[7)~12)]らおよび Bloom[13),14)]らの詳しい研究がこの毛細管法によって行われ，感作リンパ球と抗原の接触の結果，indicator cell の Macrophage の遊走を阻止する Macrophage Migration Factor (MIF) の放出が確かめられた。そして，この数年，種々の疾患その他で MIF テストが in vitro における delayed Hypersensitivity の示標として用いられて来ている[12),15)~17)]。

ところで，結核感作リンパ球と抗原の接触の結果放出される MIF が in vitro のツ反応の示標となることは実際に MIF の正常モルモット皮内注射によって惹起される皮膚反応の時間的経過と組織像からして，in vivo のツ反応の際に主役を演ずると思われる皮膚反応惹起因子[18)~20)]が MIF の中に，あるいは共存していると考えられるので一層興味が深い。

結核抗原の投与経路によってツ反応の出現程度，時期に差を生ずることは従来からよく知られた事実である[1),21),22)]。恐らく抗原接種所属リンパ節から血中を経て全身に散布される感作リンパ球の分布の仕方が抗原接種方法によってかなり異なるのであろう。従って，臓器を単位として，それぞれの臓器で感作リンパ球の量的，質的分布の密度が異なることを一応臓器の感作のされ方の差異と考えることが出来る。これを臓器細胞浮遊液の Macrophage Migration Inhibition (MI) を以て表現出来ることを確かめて一部は既に報告した[23)]。

本報では BCG cell wall を抗原としてモルモットあるいはマウスに種々の経路で接種し，肺細胞および腹腔滲出細胞の MI とツ反応，マウスでは末梢のツ反応感受性の表現である Footpad 反応との関係をみ，さらに毒力結核菌の airborne および静注感染に対する防禦能との関係をもしらべた。またツ・アレルギーに強い影響をおよぼす免疫抑制剤，抗リンパ球血清の投与，抗原静注による一過性脱感作処置の場合の Footpad 反応，肺細胞および腹腔滲出細胞 MI および抗菌免疫への影響をしらべて，結核におけるツ・アレルギーと抗菌免疫の関係を明らかにしようとした。

実験方法と材料

動物：Hartley 系モルモット 300～600 g のもの。CF_1 マウス 3～5 週齢。

抗原と投与方法：i) BCG 生菌はソートン培養10日前後の菌膜より型の如く浮遊液を調製した。ii) BCG Cell Wall (CW と略す) ワクチン；BCG CW は米国 NIH Rocky mountain Laboratory の Dr. Ribi より分与を受けた。Ribi らの方法[24)]によって oil-treated ワクチンを作った。即ち CW 6.25 mg に Drackeol 1 滴 (0.06 mℓ) の割合に加え硝子ホモゲナイザーで摩砕しながら 0.2% Tween 80-saline を加えて注射液量 0.2 mℓ に所要の量を含ませるよう作った。これら免疫抗原はモルモットの足背静脈，マウスの尾静脈から注射した。皮下接種の場合はモルモットでは下腹部，マウスでは背側

首の部分に注射した。

免疫抑制剤： 6-Mercaptopurine, 40 mg/体重(kg)感作前日よりマウスの皮下に12日間投与した。5-Fluorouracil, 25 mg/体重(kg)感作と同時に毎日14日間腹腔内に投与した。

抗脾細胞免疫血清： CF_1 マウス脾細胞 10^8 Hanks 浮遊液をウサギに静注，2週後に再び約 10^8 個の CF_1 マウス脾細胞を静注，その1週後に全採血，血清を分離，マウス血球にて吸収して使用した。感作前日と翌日0.2 mℓ宛皮下投与。

脱感作処置： BCG CW 免疫マウスに BCG protoplasm 200 あるいは15 μg を静注した。そして，同時にFootpad 反応を，1日後に MI を行った。

ツ反応： 100倍 OT 0.1 mℓ をモルモット腹部皮内注射，24時間後の発赤および硬結で判定。

Footpad 反応： マウス右足蹠皮内に PPD 5 μg を0.05 mℓ に含ませて注射，左足蹠には対照として PPD を溶解するのに用いた slaine を皮内注射，24時間後の足蹠の腫脹を Schnell Taster を用いて厚みを測り，左右の差を以て表わした。

MI： モルモットでは Myrvick の方法[25]で集めた肺胞細胞および10% Na-caseinate saline 20 mℓ 腹腔注射3日後 Hanks 液で洗滌して得た滲出細胞を用いた。マウスでは同様に10% Na-caseinate saline 2 mℓ 腹腔注射3日後，3 mℓ の Hanks 液で集めた滲出細胞および肺細胞を用いた。肺細胞浮遊液は saline で洗った肺を鋏で細切後，100メッシュのステンレス金網上でピンセットを用いて磨砕し，これに Hanks 液を注射針を通して注ぎメッシュを通す。スピッグラスに入れて数分静置，上清を集めて800 rpm 6分2回 Hanks 液で遠沈洗滌する。このマウス肺細胞のみでは後述の毛細管口よりの遊走がみられないので，indicator cell として正常マウス腹腔滲出細胞を被検肺細胞浮遊液に等量加えて MI をしらべた。MI を行なうに当たって，これら細胞を毛細管につめ，遠心して細胞沈澱と上清の界面で毛細管を切断，その細胞毛細管を Sykes-Moore 型 chamber に置き，15% 仔牛血清加 Eagle 培地で37°C 24時間培養，毛細管断端からの細胞遊走面積を白紙上に拡大投影，これをトレースしプラニメーターで面積を求める。この際，chamber 中の培地に特異抗原である PPD-s を30 μg/mℓ の割合に加えたものと加えない対照培地を用い，それぞれ1個の chamber に2本の毛細管を置き，各実験に chamber を2個宛用いた。MI の程度は次の MI-index によって求めた。

$$\text{MI-index} = \frac{\text{抗原添加毛細管よりの細胞遊走面積}}{\text{抗原不添加対照細胞遊走面積}} \times 100\ (\%)$$

抗菌免疫の測定： 静注および airborne 感染を M. bovis Ravenel で行なった。免疫後6～8週目の動物に小川培地2週培養 Ravenel 0.05 mg を静注4～6週後に剖検，肺および脾内の生菌数を型の如く小川培地を用いて定量培養により求めた。airborne 感染にも同様な Ravenel 菌液をワットマン No. 6 濾紙を通してほぼ単個の1% Bovine Serum Fraction V-Tween 80 蒸溜水浮遊の per mℓ 約 10^7 生菌単位のものを Tri 経気道感染装置のネブライザーに入れ main air flowermeter および compressor air flowermeter をそれぞれ28 liter/分，4 liter/分 の作働点にセットして30分間 chamber 中で動物に菌を吸入させた。この条件で正常マウスは吸入終了直後の肺内生菌数を定量培養によってしらべたが，5匹のマウスでほぼ一定であり肺10 mg 当たり 10^3 程度の生菌が見出された。実験群のマウスを感染1カ月後に剖検，肺の生菌数を同様にして定量培養で測定した。あるいは，そのまま飼育して生存日数によって抗菌免疫を推定した。

実験結果

実験 I. モルモットにおける肺胞細胞と腹腔滲出細胞の MI と皮膚ツ・アレルギー

各群6匹のモルモットに BCG CW あるいは BCG 生菌の1 mg および0.05 mg をそれぞれ静脈，皮下接種，6週目にツ反応と腹腔および肺胞滲出細胞の MI をしらべ，各群の平均値を表1に示した。表で明らかなように何れの場合でもツ反応と腹腔細胞の MI は平行して陽性を示した。ところが，肺胞細胞の MI は BCG 生菌群ではツ反応陽性と関係なく第2実験の静注1 mg 群を除き他はすべて陰性であった。これに対し BCG CW 群では静注0.05 mg 群を除き他は殆ど陽性であった。

実験 II. マウスにおける腹腔滲出細胞および肺細胞の MI と Footpad 反応

各群6匹のマウスに BCG CW 300 μg を静脈，皮下および腹腔に接種6週後の結果を表2に示した。皮下群では Footpad 反応と腹腔細胞の MI が共に強くみられ，静脈群では Footpad 反応は弱いが肺細胞の MI は強かった。腹腔群では何れの反応も陽性を示さなかった。

以上の実験によってモルモットおよびマウスにおいて皮膚ツ・アレルギーは抗原の皮下接種によって腹腔細胞の MI と平行して陽性反応を呈すること。また，マウスでは BCG CW の静注によって肺細胞の MI は Footpad

表1 モルモットにおける BCG Cell Wall, BCG 生菌の静脈, 皮下接種後のツベルクリン反応と Macrophage Migration Inhibition (MI)

実験	免疫原		BCG CW				BCG 生菌*				非免疫対照
	接種経路		静脈		皮下		静脈		皮下		
	反応	接種量	1 mg	0.05	1	0.05	1	0.01	1	0.05	
I	ツ反応 (mm)		17	14	23	14	9	0	21	14	0
	MI**	腹腔細胞 (%)	77	70	52	83	52	100	47	46	99
		肺胞細胞 (%)	61	107	62	75	113	109	95	124	110
II	ツ反応 (mm)		15	11	20	19	22	16	23	23	0
	MI	腹腔細胞 (%)	66	71	54	51	65	38	68	70	109
		肺胞細胞 (%)	73	80	53	66	60	93	114	110	106

* 生菌単位　　実験 I: 1×10^6/mg, 実験 II: 6×10^6/mg
** MI はほぼ 70% 以下で有意な陽性と見なされる

表2 マウスにおける BCG Cell Wall 300 μg の各種経路による接種後の Footpad 反応と Macrophage Migration Inhibition

実験	反応		接種経路 腹腔	静脈	皮下	非免疫
I	Footpad 反応 (mm)		0.99	0.23*	0.83**	0.01
	MI	腹腔細胞 (%)	102	102	60	95
		肺細胞 (%)	98	28	80	100
II	Footpad 反応 (mm)		0.13	0.46*	0.77**	0.01
	MI	腹腔細胞 (%)	96	101	69	104
		肺細胞 (%)	133	15	105	100

* $p=0.05$　　** $p\leqq0.01$

反応が弱いのに強く出現することが明らかとなった。

これらの関係を確認する目的で，ツ・アレルギーに関与するリンパ球に大きな影響を与えるといわれる抗リンパ球血清，免疫抑制剤の 6-Mercaptopurine (6 Mp) および 5-Fluorouracil (5 Fu) の投与，あるいは抗原静注による一過性脱感作処置を行って細胞の MI と Footpad 反応への影響をしらべた。

実験 III. 抗リンパ球血清，免疫抑制剤および脱感作処置の Footpad 反応と MI への影響

BCG CW 300 μg 皮下接種マウスに抗マウス脾細胞免疫血清あるいは 6 Mp を投与，同じく BCG CW 300 μg 静注マウスに 5 Fu を投与，また皮下および静注感作の 2 群に脱感作処置を行ない，すべて皮下接種群は腹腔滲出

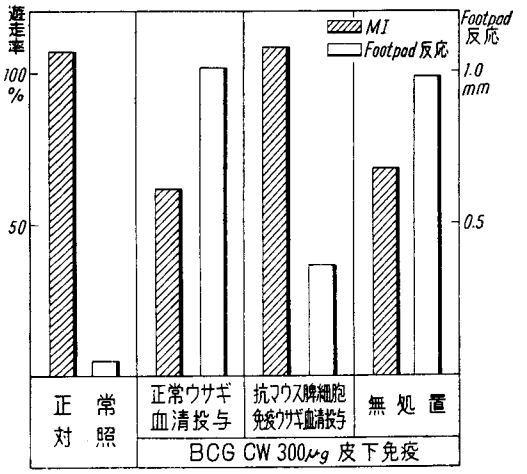

図1 抗マウス脾細胞免疫血清投与の BCG Cell Wall 免疫マウス Footpad 反応および MI 抑制

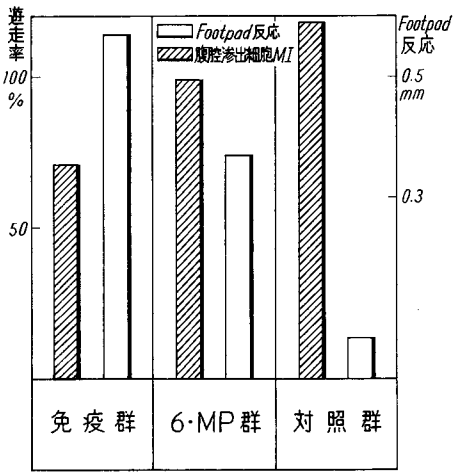

図2 6-Mercaptopurine 投与の BCG Cell Wall 免疫マウス Footpad 反応および MI 抑制

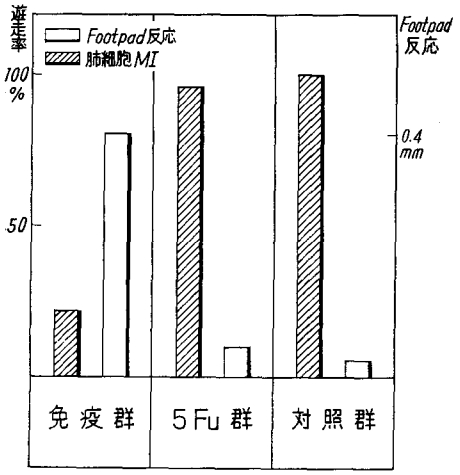

図3 5-Fluorouracil 投与の BCG Cell Wall 免疫マウス Footpad 反応および MI 抑制

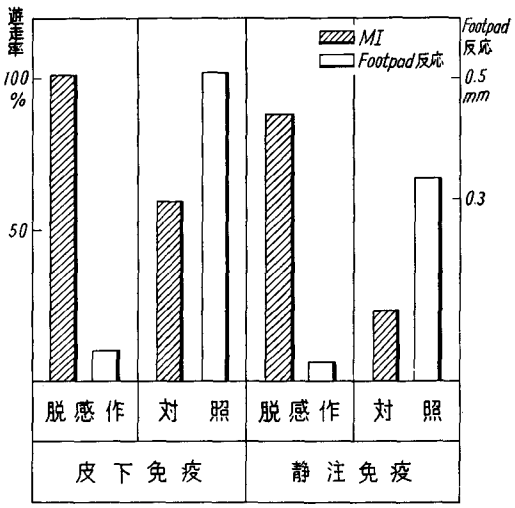

図4 脱感作処置による BCG Cell Wall 免疫マウスの MI

細胞を，静注接種群は肺細胞を，それぞれ MI 検査の対象とした。これらの成績は図1に抗脾細胞免疫血清，図2に 6 Mp，図3に 5 Fu および図4に脱感作処置のものを示した。何れの場合も影響の大小はあれ，Footpad 反応と腹腔細胞あるいは肺細胞の MI は平行して抑制された。

実験 IV. Footpad 反応および MI と抗菌免疫の関係

マウスに BCG CW を静注あるいは皮下接種6週目に Footpad 反応と腹腔滲出および肺細胞の MI をしらべ直ちに Mycobrcterium bovis Ravenel を静注あるいは airborne 感染を行い，前者では1カ月後に肺内生菌数を，後者では生存日数をそれぞれ求めた。

A) BCG CW 免疫量の異なる場合： BCG CW 30, 100, 300 μg および 1 mg 静注各群25匹のマウスについてしらべた結果は表3に示す如く，免疫抗原量と Footpad 反応には Dose-response の関係がみられたが，本実験の Ravenel 感染生菌数が期待より少量であったためか肺内生菌数のバラツキ，および生存日数が延長しすぎて，これらと免疫量と Dose-response は明確でなかった。しかし，肺細胞 MI のみられた 100 μg 以上の接種群でのみ生存日数の延長が著明であった。

表3 BCG Cell Wall 静注接種量と Footpad 反応，肺細胞 MI および抗菌免疫

反応			接種量 30 μg	100 μg	300 μg	1 mg	対照
Footpad 反応 (mm)			0.03	0.22	0.38	0.42	0.03
肺細胞 MI (%)			90	45	30	35	100
感染	静脈*	肺内生菌数	$(19\pm18.7)\times10^5$	$(29\pm33.1)\times10^4$	$(15\pm7.3)\times10^3$	$(84\pm18.7)\times10^2$	$(7\pm3.0)\times10^5$
	Airborne**	生存日数 (最小～最大)	142 (59～204)	>220 (121～>287)	>228 (154～>287)	>207 (113～>287)	97 (24～204)

* 接種生菌単位 $1.2^2\times10^5$ Ravenel 株

** 14×10^5/mℓ, 30 分経気道感染

B) BCG CW 接種経路と Footpad 反応，MI および抗菌免疫の関係： 実験 II. における静脈および皮下接種群について表2に示した結果を得た後，第1実験では Ravenel 株の静注感染を，第2実験では airborne 感染を行った。成績は表4に示した。両感染に対し肺細胞の MI を強く与える静注免疫群に肺内生菌数の減少，あるいは生存日数の著しい延長がみられた。一方，Footpad 反応を強く賦与する皮下免疫群では静注感染に対しては肺内生菌数の減少を示すが airborne に対しては生存日数の延長は全くみられなかった。

表4 BCG Cell Wall 300 μg 静脈，皮下接種後6週目の Footpad 反応と Macrophage Migration Inhibition および抗菌免疫

実験	反応		接種経路		対照
			静脈	皮下	
I	Footpad 反応 (mm)		0.23*	0.83**	0.01
	MI	腹腔細胞 (%)	102	60	95
		肺細胞 (%)	28	80	100
	静脈感染	肺内生菌数	11.3×10^{3}**	8.8×10^{4}*	4.3×10^{5}
II	Footpad 反応 (mm)		0.46*	0.77**	0.01
	MI	腹腔細胞 (%)	101	69	104
		肺細胞 (%)	15	105	100
	Airborne 感染	生存日数	94.3±14.5**	22.8±1.4	21.8±0.6

* $p=0.05$　　** $p\leqq0.01$

c) BCG 生菌 Airborne 接種に BCG CW 静注を追加免疫したマウスにおける Footpad 反応，MI と抗菌免疫：BCG 生菌 45×10^{6}/mℓ を airborne 感染と同じ条件で吸入接種した。吸入直後の肺の定量培養によって 2×10^{3} 生菌単位の BCG が吸入されたことが分った。このマウスに45日目に BCG CW 300 μg を追加静注，その後10日目に Footpad 反応および肺細胞の MI をしらべ，静注および airborne 感染を行った。その成績は表5に示す如く，BCG 生菌 airborne 接種群では Footpad 反応も肺細胞の MI の何れも陰性であった。しかし BCG CW 静注追加免疫群では Footpad 反応は陰性に止ったが肺細胞 MI は陽性に転じた。そして，この群のみ airborne 感染に対して著しい生存日数の延長を示した。しかし，静注感染に対しては殆ど肺内生菌数の減少がみられなかった。以上から，静注感染に抗菌免疫を示すためには肺細胞の MI はさておき，Footpad 反応陽性であることが必要と思われる。

表5 BCG 生菌 airborne 接種後 BCG CW 追加静注後の肺細胞 MI および Footpad 反応と抗菌免疫

反応			免疫群		対照
			BCG・Airborne* のみ	BCG・Airborne + BCG CW 静注	
Footpad 反応 (mm)			0.03	0.04	0.02
肺細胞 MI (%)			104	59	100
感染	静注**	肺内生菌数	(40.1±12.6)×10^{5}	(12.9±4.4)×10^{5}	(50.6±30.8)×10^{5}
	Airborne***	生存日数 (日)	26.7	>99	25.7

* BCG 45×10^{6}/mℓ, 30分間
** Ravenel 株 9×10^{5} 生菌単位
*** Ravenel 株 20×10^{6}/mℓ, 30分間

実験 V. 抗マウス脾細胞免疫血清投与の BCG CW 免疫マウス抗菌免疫への影響

実験 III. におけると同様に免疫免清 0.2 mℓ を1群16匹のマウスに BCG CW 300 μg 皮下接種前日および2日後の2回皮下に投与，その後5あるいは6週目に Footpad 反応および肺あるいは腹腔細胞の MI をしらべた。そして直ちに Ravenel 株の静注あるいは airborne 感染を行った結果は表6および表7に示した。

表6に示す如く，免疫血清投与によって BCG CW 皮下接種群では腹腔細胞の，静脈接種群では肺細胞の MI

表6 BCG CW 免疫マウスに対する抗マウス脾細胞免疫血清投与の Footpad 反応，MI および静注感染に対する抗菌免疫への影響

実験	BCG CW 接種経路	反応	群別		
			免疫対照	免疫血清投与	非免疫対照
I	皮下	腹腔細胞 MI (%)	67	108	106
		Footpad 反応 (mm)	0.98**	0.36*	0.05
		肺内生菌数	$(40\pm17.3)\times10^{3}$*	$(42\pm17.0)\times10^{3}$*	$(17\pm3.8)\times10^{4}$
II	静脈	肺細胞 MI (%)	70	100	100
		Footpad 反応 (mm)	0.27*	0.04	0.02
		肺内生菌数	$(14\pm8.4)\times10^{4}$*	$(11\pm2.7)\times10^{5}$	$(23\pm11.1)\times10^{5}$

* $p=0.05$　　** $p\leqq0.01$

表7 BCG CW 免疫マウスに対する抗マウス脾細胞免疫血清投与の Footpad 反応，MI および airborne 感染に対する抗菌免疫への影響

反応 ＼ 群別		BCG CW 接種経路				非免疫
		皮下		静脈		
		無処置	免疫血清投与	無処置	免疫血清投与	無処置
Footpad 反応 (mm)		0.95	0.44	0.37	0.04	0.02
MI	腹腔細胞 (%)	66	86	101	96	102
	肺細胞 (%)	86	91	33	71	100
Airborne 感染後の生存日数 (日)		27.3 (22～41)*	24.3 (23～29)	161.4 (115～216)	113.6 (72～148)	21.9 (21～23)

* 括弧内は生存日数最小～最大を示す
Airborne 感染 Ravenel 生菌単位 26×10^{6}/mℓ, 30 分間

は陰性となったが，静注感染に対し，免疫血清投与で Footpad 反応の消失した静脈接種群では肺内生菌数の減少はみられなかった。しかし，同様な処置で Footpad 反応の低下をみたが，なお陽性反応を示した皮下接種群では Ravenel 静注感染後の肺内生菌数の増殖は阻止された。

表7には同様な実験で airborne 感染に対する生存日数をしらべた結果を示した。肺細胞の MI を示す群は生存日数が延長した。しかし，免疫血清投与によって肺細胞の MI が減弱させられた静注接種群の生存日数は無処置の平均161日に対し短かく113日であった。なお，この場合，前者の Footpad 反応は全く消失していたので，airborne 感染に対する抗菌免疫に重要な因子はやはり肺細胞の MI であることが再確認された。

実験 VI. 脱感作処置の BCG CW 免疫マウス抗菌免疫におよぼす影響

免疫血清投与によって肺細胞 MI が低下した BCG CW 静注免疫マウスは airborne 感染に対する抵抗性も減弱することが明らかになったので，既に実験 III. で示されたように，同様に肺細胞 MI の低下が脱感作処置によっても惹起されることから，こうした場合の抗菌免疫への影響をしらべた。

各群15匹のマウスに BCG CW 300 μg 静注，6週目に BCG protoplasm 200 μg を静注，24時間後に各群5匹のマウスについて肺細胞の MI をしらべた。また残りのマウスについては脱感作と同時に Footpad 反応を行い，24時間後に判定，直ちに airborne 感染を行って生存日数をみた。なお，対照実験として，先の実験と同様の抗脾細胞免疫血清投与群を設けた。これらの成績は表8に示す如く，BCG protoplasm 静注脱感作によって免疫血清投与群と同様，airborne 感染直前の Footpad 反応と肺細胞 MI は減弱したにもかかわらず生存日数は短縮するどころか，却って免疫無処置群よりも明らかに延長した。

次に脱感作静注抗原の BCG protoplasm を150および15 μg として同様な実験を行った結果を表9に示した。静注抗原量が大量の150 μg の場合は前実験と同様な結果が得られた。一方，小量の場合，Footpad 反応は低下したが，肺細胞の MI は減弱せず，しかも生存日数は免疫対照より延長し，大量抗原静注群と有意な差はな

表8 脱感作および抗脾細胞免疫血清投与の BCG CW 免疫マウスの抗菌免疫への影響

群 / 反応	BCG CW 300 μg 静注免疫			非免疫対照
	BCG Protoplasm 静注脱感作	免疫血清投与	非処置	
Footpad 反応 (mm)	0.05	0.15	0.51	0.02
肺細胞 MI (%)	56	50	12	100
Airborne 感染後の平均生存日数	186	85	154	24
(95% 信頼限界)	(168～206)	(68～105)	(141～166)	(22～26)

Airborne 感染 Ravenel 株生菌単位 23×10^6/mℓ, 30 分間

表9 脱感作の BCW CW 免疫マウス・Footpad 反応, MI および抗菌免疫への影響

群 / 反応	BCG CW 300 μg 静注免疫 10 週			非免疫対照
	BCG Protoplasm 15 μg 静注	BCG Protoplasm 150 μg 静注	非処置	
Footpad 反応 (mm)	0.24	0.04	0.51	0.02
肺細胞 MI (%)	35	70	35	100
Airborne 感染後の平均生存日数	80	90	44	20
(95% 信頼限界)	(68～92)	(78～103)	(37～51)	(20～20)

Airborne 感染 Ravenel 株生菌単位 25×10^6/mℓ, 30 分間

かった。

考　察

BCG CW の接種経路によってツ皮膚反応の出現の時期と強さに差異を生ずることは以前より明らかにされていた。マウスの場合，ツ皮膚反応に相当する Footpad 反応についても同様である[23]。このような差異はツ皮膚反応発現のメカニズムから考えて，ツ抗原皮内注射部位で抗原と最初に接触する感作リンパ球の量あるいは質に左右される結果であろうと思われる。

さて，この数年来 MI が in vitro の delayed Hypersensitivity の指標となると言われているが，皮膚ツ反応の場合と同様に，BCG CW 接種経路によって被検臓器細胞において MI の主役となる感作リンパ球に量的あるいは質的差異があり，これが MI の結果に反映されることが考えられ，われわれはこの事を既に一部報告したし[23]，Henney ら[27]も他の系でこのことを認めている。

本実験においても，マウスでは BCG CW 静注免疫の場合，Footpad 反応は弱いにもかかわらず肺細胞 MI は強い陽性を示した。一方，皮下感作の場合，Footpad 反応は強いが，肺細胞 MI はみられず，これに対し腹腔細胞のそれは強かった。このことは BCG CW が静注されると，肺に集積する傾向が大きいことが知られている[28]ので，肺の所属リンパ節の免疫担当リンパ球を刺戟，増殖分化した感作リンパ球が血行を介して全身に散布されるにせよ，やはり肺細胞中にかなり集まるメカニズムがあってよいと思われる。他方，皮下注射された BCG CW は同様に所属リンパ節で抗原刺戟を行い，その結果の感作リンパ球は血行により全身に分布される。そして，Gowans ら[29]が明らかにした如く，腹腔滲出細胞は骨髄前駆細胞の血行由来のものであると言った事実を考えると，腹腔滲出細胞中の感作リンパ球も血中由来のものが多く反映されていると理解出来よう。そこで BCG CW 接種経路にかかわりなく Footpad 反応と腹腔滲出細胞の MI との平行性が考えられ，確かに本報では Footpad 反応と MI の感度の差を無視すれば，強い Footpad 反応を示すマウスの腹腔細胞 MI は常に陽性であった。

モルモットの成績をみると，BCG CW と BCG 生菌の静注あるいは皮下接種何れでもツ反応と腹腔滲出細胞 MI は平行して陽性を示した。肺胞細胞 MI はマウス肺細胞 MI と異なり BCG CW にしても BCG 生菌にしても静注接種で皮下接種より強い陽性を示すことはなかったし，また BCG CW 接種では皮下接種でも静注接種に劣らない強さを示した。これは動物による免疫反応の差

異，また肺胞細胞と肺細胞の浮遊液の調製方法の違いに由来するのか，両者の migration そのものの違い，即ちマウス肺細胞それ自身では全く遊走しないこと，また一方，モルモットと同様にして得たマウス肺胞細胞それ自身も遊走しないことをわれわれは確かめているが，その他，両者に含有される感作リンパ球の質的，量的差異などが関係すると思われる。

次に免疫抑制剤あるいは抗脾細胞免疫血清によるツ反応および MI の抑制については報告[30)~35)]があるが，今回も BCG CW の接種経路を問わず Footpad 反応および腹腔細胞 MI は両者の何れによっても抑制された。肺細胞 MI については影響はやや少なく，減弱はみたが全く陰性化しなかった。Footpad 反応と MI の陽性検出感度の問題もあろうが，やはり肺細胞中への感作リンパ球の分布の問題が関与しているのであろう。

ところで Mackaness らの報告[35),37)]によれば，結核抗菌免疫で大きな役割をもっているのは感作リンパ球と抗原の特異的な接触である。その結果，Macrophage を activate する因子が放出され，最終的に activated Macrophage が感染菌の増殖阻止をするのである。こうした facultative intracellulare organisms の抗菌免疫機構については種々の報告[38)~41)]がある。さて，この Macrophage activating factor の本態は不明であるが，少なくともその放出には感作リンパ球と特異抗原の接触と言うわれわれがしらべて来た Macrophage migration inhibitory factor 放出と共通の基盤が存在している。従って本実験では結核抗菌免疫と MI の強さとの間の相関を追究したのである。しかも，airborne 感染の場合，感染菌の侵入門戸である肺における感作リンパ球と感染菌との出会が感染防禦の第1段階である。そして，ここで共通のメカニズムをもつ肺細胞 MI の動向によって，Macrophage activating factor 放出を推測出来るものと思われる。実際に本報の成績が示すように airborne 感染に対して防禦をみせたマウスは Footpad 反応とは無関係に，すべて肺細胞 MI が陽性であった。このことを一層明らかにしたのは BCG 生菌 airborne 感作後 BCG CW の追加免疫によって Footpad 反応は陰性で肺細胞 MI のみ陽性であったマウスが Airborne 感染に明らかな防禦を示した実験成績である。

以上，本実験の成績を綜合すると，BCG CW 免疫マウスにおける airborne 感染に対する抗菌免疫に深い関連をもつと考えるべきものは，末梢のツ・アレルギーの表現であるツ皮膚反応，即ち Footpad 反応でなくて感染菌と最初に交渉をもつ局所細胞のツ・アレルギーの示標となっている肺細胞の MI であろう。こうした考えは次の事実からも肯定出来よう。即ち，BCG CW 免疫マウスの静注感染に対して肺内生菌の増殖阻止で示される抗菌免疫発現に Footpad 反応陽性であることが前提であり，たとえ肺細胞 MI が陽性でも Footpad 反応陰性の場合は抗菌免疫はみられなかった（表4と表5）。おそらく静注感染菌が肺に定着する間に Footpad 反応強陽性マウスでは血中の感作リンパ球との出会いの頻度も高いことが予想され，これが抗菌免疫表現を左右するのであろう。

脱感作を受けたマウスの airborne 感染に対する感染防禦増強は，抗脾細胞免疫血清投与による Footpad 反応および肺細胞 MI の抑制されたマウスとツ・アレルギーの抑制と言う同じ表現をとりながら，抗菌免疫の表現は全く逆の方向を示したことになる。結核のツ・アレルギーと抗菌免疫の関係を考える場合，一見奇異に感ずるが，ツ・アレルギー抑制のメカニズムが両者では明らかに異なる。即ち，抗リンパ球血清によるものは感作リンパ球の出現を免疫の当初で抑制することによるものであろうし，他方，脱感作では静注抗原が感作リンパ球と接触することによって MIF を含む所謂 lymphokine の放出があり，これが Footpad 反応の最終表現に関与する単球の集積を抑えるための反応抑制と思われる。実際に，このような脱感作血清を BCG CW 皮下免疫マウスに予め静注しておくと，このマウスの示す強い Footpad 反応は抑制されることをわれわれは見出している[42)]。また肺細胞 MI の消失は in vivo で感作リンパ球が既に抗原と接触して MIF を血中に放出してしまったため最早や in vitro での MIF の放出がおきないためと思われる。ところで，脱感作によって in vivo で MIF の血中への放出はわれわれ[43)]の他に Krejči ら[44)]および Salvin ら[45)]も認めている。以上の如くメカニズムの異なる Footpad 反応の抑制であれば両者における抗菌免疫も異なって当然であり，脱感作による血中への lymphokine の放出は Footpad 反応の抑制と同時に Macrophage の活性化を来し抗菌免疫増強を惹起したと理解出来よう。

この様に結核抗菌免疫発現の最初の引金は感作リンパ球と結核抗原の出会いによるのであるが，ツ・アレルギーに関与する感作抗原と抗菌免疫に関与する抗原の分離が確立されていない現在，われわれが in vitro のツ・アレルギーの示標の MI で知り得るツ感作状態に関与している感作リンパ球の感染侵入門戸での存在を前提条件として次の Macrophage activation がもたらされ，この非特異的感染菌増殖阻止が働く抗菌免疫発現となるわけである。

むすび

BCG CW の種々の接種量および接種経路を用いてマウスを免疫し，さらに免疫抑制剤あるいは抗マウス脾細胞免疫血清投与，脱感作処置などの諸条件下でFootpad反応と腹腔滲出細胞および肺細胞の MI をしらべ，その後，Mycobacterium bovis Ravenel の静注および airborne 感染を行い，肺内感染菌増殖阻止および生存日数を指標として抗菌免疫との関係を追究した。

その結果，次のような成績を得た。

1) BCG CW 皮下接種群では Footpad 反応と平行して腹腔滲出細胞 MI が陽性を示し，静注感染に明らかな抵抗性を示した。

2) 一方，静注接種群の Footpad 反応は弱いが肺細胞 MI は強く，airborne 感染に対する防禦が顕著であった。

3) 抗マウス脾細胞免疫血清投与によって肺細胞 MI が低下した BCW CW 静注接種マウスでは airborne 感染に対する抵抗性が減弱した。

4) 脱感作処置24時間後のマウスでは肺細胞 MI の低下をみたが，airborne 感染に対する防禦増強がみられた。

以上の結果から BCG CW 免疫マウスの airborne 感染防禦においては末梢ツ・アレルギーの Footpad 反応より感染菌侵入局所の肺細胞のツ・アレルギーの表現である MI が重要なかかわり合いをもつことが明らかにされた。一方，脱感作マウスの肺細胞 MI の低下にもかかわらず感染防禦増強がみられたが，この一見奇異に思われる現象も感作リンパ球と抗原の接触に始まり Macrophage activation に及ぶ結核抗菌免疫および同様なツ・アレルギーのメカニズムによって説明されものと考えられる。

実験上御助力下さった細菌感染部山崎静恵，立花キヨ，大里光子の皆さんに深謝する。

本報の要旨は昭和45年10月第20回日本アレルギー学会総会，昭和46年4月第46回日本結核病学会総会，昭和46年9月第21回日本アレルギー総会シンポジウムおよび昭和47年4月，日本結核病学会総会において発表した。

文　献

1) Rich, R. A.: The Pathogenesis of Tuberculosis, 2nd Ed., Charles C. Thomas, 1951.
2) Ohara, T. and Nakagawa, S.: Jap. J. Tuberc., **1**, 32, 1953.
3) 橋本達一郎，綿貫まつ子：蛋白質，核酸，酵素，**18**, 283, 1973.
4) 斎藤和久：蛋白質，核酸，酵素，**18**, 294, 1973.
5) Rich, R. A. and Lewis, M. R.: Bull. Johns Hopkins Hosp., **50**, 115, 1932.
6) George, M. and Vaughan, J. H.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med., **11**, 514, 1962.
7) David, J. R., Al-Askari, S., Lawrence, H. S. and Thomas, L.: J. Immun., **93**, 264, 1964.
8) David, J. R., Lawrence, H. S. and Thomas, L.: J. Immun., **93**, 274, 1964.
9) David, J. R., Lawrence, H. S. and Thomas, L.: J. Immun., **93**, 279, 1964.
10) David, J. R.: Proc. Nat. Acad. Sci., **52**, 72, 1966.
11) David, J. R.: Fed. Proc., **27**, 6, 1968.
12) David, J. R. and David, R. R.: Progr. Allergy, **16**, 300, 1972. (Karger, Basel)
13) Bloom, B. R. and Benett, B.: Science, **153**, 3731, 1966.
14) Bloom, B. R. and Bennett, B.: Fed. Proc., **27**, 13, 1968.
15) Kronman, B. S., Wepsic, H. T., Churchill, W. H., Zbar, B. and Rapp, H. J.: Science, **165**, 296, 1969.
16) Malmgren, R. A., Holmes, E. C., Morton, D. L., Yee, C. L., Marrone, J. and Myers, M. W.: Transplantation, **8**, 485, 1969.
17) Ferraresi, R. W., Goihman-Yahr, M. and Raffel, S.: Transplantation, **10**, 237, 1970.
18) Bennett, B. and Bloom, B. R.: Proc. Nat. Acad. Sci., **59**, 756, 1968.
19) Pick, E., Krejci, J., Cech, K. and Turk, J. L.: Immunology, **17**, 741, 1969.
20) 橋本達一郎，綿貫まつ子，吉田　彪：免疫生物学研究会シンポジウム，**3**, 69, 1969.
21) 高橋義夫：結核，**27**, 171, 1952.
22) 有馬　純，山本健一，小野勝男，高橋義夫：結核の研究，**16**, 1, 昭37.
23) Yamamoto, K. and Anacker, R. L.: Infection and Immunity, **1**, 587, 197.
24) Anacker, R. L., Barclay, W. R., Brehmer, W., Larson, C. L. and Ribi, E.: J. Immunol., **98**, 1265, 1967.
25) Myrvik, Q. N., Leak, E. S. and Fariss, B.: J. Immunol., **86**, 128, 1961.
26) Anacker, R. L., Ribi, E., Tarmina, D. F., Fadness, L. and Mann, R. E.: J. Bacteriol., **100**, 51, 1961.
27) Henney, C. S. and Waldman, R. H.: Science, **169**, 696, 1970.
28) Anacker, R. L., Barclay, W. R., Brehmer, W.,

Goode, G., List, R. H., Ribi, E. and Tarmina, D. F.: Amer. Rev. Resp. Dis., **99**, 242, 1969.
29) Volkman, A. and Gowans, J. L.: Brit. J. Exp. Path., **46**, 50, 1965.
30) 前田和夫, 有馬　純, 山本健一: 医学と生物学, **70**, 255, 1965.
31) Philips, S. M. and Zweiman, B.: J. Exp. Med., **137**, 1494, 1973.
32) Ranløv, P. and Hardt, F.: Transplantation, **10**, 438, 1970.
33) Heise, E. R. and Weiser, R. S.: J. Immunol., **104**, 704, 1970.
34) Winkelstein, A.: Blood, **41**, 273, 1973.
35) Waksman, B. H., Arbouys, S. and Aronson, B. G.: J. Exp. Med., **114**, 997, 1961.
36) Mackaness, G. B.: J. Exp. Med., **129**, 973, 1969.
37) Mackaness, G. B.: Infections agents and host reactions, Chapter 3, W. B. Saunders, 1970.
38) Simon, M. B. and Sheagren, J. H.: Cell. Immunol., **4**, 163, 1972.
39) Paterson, R. J. and Youmans, G. P.: Infection and Immunology, **1**, 600, 1970.
40) Krahenbuhl, J. L. and Remington, J. S.: Amer. Soci. Microbiol., **4**, 337, 1971.
41) Remington, J. S., Krahenbuhl, J. L. and Mendenhall, J. W.: Infection and Immunity, **6**, 829, 1972.
42) 山本健一: 結核, **48**, 526, 昭 48.
43) Yamamoto, K. and Takahashi, Y.: Nature New Biol. **233**, 261, 1971.
44) Krejči, J. Švejcar, Prekárek, J. and Johanovsky, J.: Z. Immunitaetsforsch. Allerg. Klin. Immunol., **136**, 259, 1968.
45) Salvin, S. B;, Youngner, J. S. and Lederer, W. H.: Infection and Immunity, **7**, 68, 1973.

Relationship among Macrophage Migration Inhibition, Tuberculin Skin Sensitivity and Antituberculous Immunity

Ken-ichi YAMAMOTO

In an effert to evaluate the role of delayed hypersensitivity in acquired resistance of mice to airborne or intravenous infection with Mycobacterium bovis Ravenel, the ability of lung and peritoneal cells from mice vaccinated in various ways with BCG cell walls to inhibit in vitro migration of macrophages and peripheral delayed hypersensitivity assayed by the footpad test were determined. Effects of anti-lymphoid cell serum and desensitization with BCG protolasm on these reactions above mentioned were also checked.

The degree of inhibition by lung cells was correlated with immunity against airborne challenge, but that induced by peritoneal cells and the positive footpad reaction could not be associated with enhanced resistance to airborne challenge. However, the latter two were related with immunity to intravenous challenge.

Desensitization to mice impaired inhibitory activity of lung cells but markedly enhanced resistance to infection. This phenomenon might be explained by an assumption that there must be a contact to sensitized lymphocytes with desensitizing antigens to trigger an effective macrophage activation before airborne infection.

A correlation between ability of lung cells to inhibit macrophage migration and aquired resistance of the host to airborne infection with Ravenel was demonstrated.