HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	BCG-細胞壁のアジュバント作用：所属リンパ節の各種リンパ球数の変動及び酸フォスファターゼ活性に及ぼす影響
Author(s)	奥山, 春枝; 安水, 良知; 岡部, 実裕 他
Citation	北海道大学免疫科学研究所紀要, 39, 39-47
Issue Date	1979-03
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/26523
Type	departmental bulletin paper
File Information	39_P39-47.pdf

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

BCG-細胞壁のアジュバント作用

——所属リンパ節の各種リンパ球数の変動及び酸フォスファターゼ活性に及ぼす影響*——

奥山春枝　安水良知　岡部実裕
太田明彦　森川和雄
(北海道大学免疫科研学究所病理部)

(昭和53年8月20日受付)

BCG-cell wall skeleton (CWS) が, Freund's complete adjuvant (FCA) の結核菌に替わりうるアジュバント (「ア」) 活性をもっていることはすでに報告されており[1,2], 又臨床的にも広く利用され始めている。CWSは, water-in-oil (w/o) 及び oil-in-water (o/w) の両方の形で鉱物油と混じった乳剤として用いられており, 何れも「ア」活性を表わすが, 前者は液性抗体産生及び細胞性免疫共に強く高めるが, 後者は細胞性免疫は同様に高めるが, 液性抗体産生に対する促進作用が軽度であることがみとめられている[1,3,4]。一方,「ア」がその活性を表わす機序として,「ア」の種類,その形態によりいろいろあげられているが, その1つとして, 接種部の所属リンパ節へのリンパ球の流入を増加させることにより, 抗原と, より多くの抗原特異的感受性細胞の接触を高めるという説[5]が出されている。更にCWSは, T-細胞に直接作用して, B-細胞を刺激するのに効果的な可溶性物質を産生させる[6]といわれている。これらのことから, CWSを注射した時の所属リンパ節のリンパ球数の変動, その中のT-細胞, B-細胞の動きをみることは興味が深い。

数年前より, リンパ球を分類する方法の1つとして, 細胞表面のレセプターの違いにより, E-, EAC-, EA-, ロゼットを形成させる方法が利用されており, モルモットにおいても, ウサギの血球と結合する (E-ロゼット) のはT-細胞であることがわかってきた[7,8]。しかしこのようなロゼット形成細胞の機能の面についてはまだわかっていない。従って「ア」作用と各ロゼット形成細胞との関連も未解決の問題である。

我々は, モルモットに, o/w 及び w/o の両形で CWS 単独, 或いは bovine-γ-globulin (BGG) と CWS を同時に注射した時の所属リンパ節の重量, 細胞数, T-及びB-細胞数, 及び E-, EAC-, EA- ロゼット形成細胞数の変動を調べ, 同時に, 大半の「ア」物質がもつといわれる大食細胞活性化作用を, 酸フォスファターゼ活性を調べることにより追及した。これらより, 重量増加と総細胞数の間には10日以後に解離がみられ, 酸フォスファターゼを除くその他の変動は, 総細胞数に平行した推移をすることがみとめられた。

実験材料及び実験方法

1) 動物: 市販の Hartley 系モルモット (静岡実験動物研究所) 350乃至400 g の雌を使用した。

2) 抗原: BCG-cell wall skeleton (CWS) Lot No. 182は, 大阪大学医学部, 第三内科, 東市郎博士より提供されたものを用いた。その他, Bovine-γ-globulin (BGG) は, Cohn Fraction II, ICN, Pharmaceuticals Inc. を用いた。

CWS のみ, 或いは BGG と CWS を o/w 又は w/o 乳剤の形に作製した。作り方は前報[9]に記載した。最終濃度は, 接種量 0.1 mℓ の中に CWS 100 μg, BGG 15 μg の割合に含まれるように作製した。

3) 接種方法: 上記乳剤のうち, 実験1では CWS のみで作った乳剤を, 実験2では BGG と CWS の入った乳剤を 0.1 mℓ ずつ両側の後肢足蹠皮下に注射した。

4) 検索方法: 抗原接種後 1, 3, 6, 10及び28日後に屠殺し, 次の検索を行なった。各検索日につき, o/w 及び w/o 群をそれぞれ, 実験1では6匹, 実験2では3匹屠殺し, 各々片方の膝窩リンパ節, 浅及び深鼠径部リンパ節を全部プールして各種測定を行ない, その平均の数値で表わした。

① 重量: 所属リンパ節 (膝窩, 鼠径部) を残らず剔出して周囲の脂肪組織を除いてから全重量を測定した。

② 細胞数: プールしたリンパ節を, 2% 牛血清加 RPMI 1640 培養液中, 低温下で細切し, 試験管の底でつ

* 本研究には文部省科学研究費特定研究アジュバント班 (No. 211318, 昭和52年) 及び日米医学協力結核専門部会研究費の補助を受けた。

ぶしながらステンレスメッシュ (100メッシュ) を通過させ，3回同培養液で洗滌，最後に血清を加えない RPMI 1640 培養液に浮遊させた。そのあと有核細胞数を数えた。トリパン青液による生存率の測定では，この最初の浮遊液では 95% 以上の生存率であった。ただし，肉芽腫病変の進行した 10 日と 28 日には生存率の低下がみとめられた。

③ T-細胞の測定： モルモットの胸腺細胞でウサギを感作して作った抗胸腺細胞血清を，正常モルモットの赤血球，肝細胞及び骨髄細胞で十分に吸収したものを抗胸腺細胞血清として用いた。抗血清の作り方及びその性状は前報[10,11]に記載した。測定方法は，細胞浮遊液 (RPMI 1640 培養液に浮遊) の 10^6/0.1 mℓ に，抗血清 10 倍稀釈液 0.1 mℓ，補体として正常モルモット血清 3 倍稀釈液 0.1 mℓ を加えて，軽く振盪しながら 37°C 45 分，恒温槽中でインキュベートし，その後氷中に移して反応を停止させた。直ちに，トリパン青溶液を用いて生細胞数と死細胞数を測定し，Cytotoxic Index (CI) を計算した。この方法で算出した死滅した細胞の割合を，細胞浮遊液中の T-細胞の割合とした。

$$\text{Cytotoxic Index (CI)} = \frac{DE-DC}{100-DC} \times 100$$

DE： 抗胸腺細胞血清を含む試験管中の死んだ細胞の割合

DC： 補体のみを含む試験管中の死んだ細胞の割合

④ B-細胞の測定： 10^6 細胞ペレットに，抗モルモット IgG ウサギ抗血清 (Miles-Yeda Ltd, Lot. No. S 359) を 30 倍に稀釈して 0.1 mℓ 入れ，低温で 30 分放置し，そのあと燐酸緩衝液加生食水 (PBS) で 2 回洗滌後，蛍光顕微鏡下で観察した。細胞周囲がリング状或いは点状に光る細胞を数え，同視野を普通光学系で数えた全細胞数に対する割合から，細胞表面に IgG をもつ細胞の割合とし，B-細胞として記載した。なお明らかに大食細胞とわかるものは両方の数から除外した。

⑤ E-, EA-, EAC rosette 形成細胞 (E-R, EA-R, EAC-R)： これらのロゼット形成方法は Onoé[11] の記載によった。

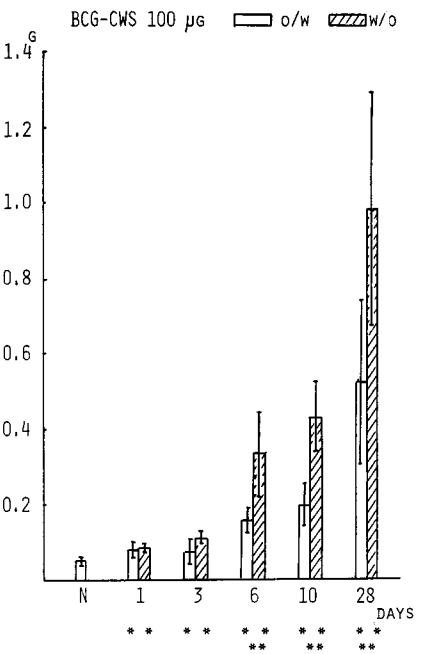
⑥ 酸フォスファターゼ測定法： 実験 2 についてのみこの酵素活性を定量した。方法は，リンパ節を 0.25 M 庶糖液中でホモジネートとし，その 0.1 mℓ に，0.1 M 酢酸緩衝液 pH 3.5, 0.8 mℓ，基質として 0.5% p-nitrophenyl phosphate 0.1 mℓ, 100 μM EDTA 0.1 mℓ, 更に Triton-X 100 を 0.1% の割合に加えて 40°C 30 分インキュベートし，そのあと 0.5% NaOH 2 mℓ を加えて反応をとめ，420 mμ で吸収度を測定した。活性は，蛋白量 1 mg 当りと，リンパ節全体の値を μM p-nitrophenol の値に換算して記載した。

成　　績

〔実験 1〕 CWS 接種所属リンパ節の変化

1) 重量の変動

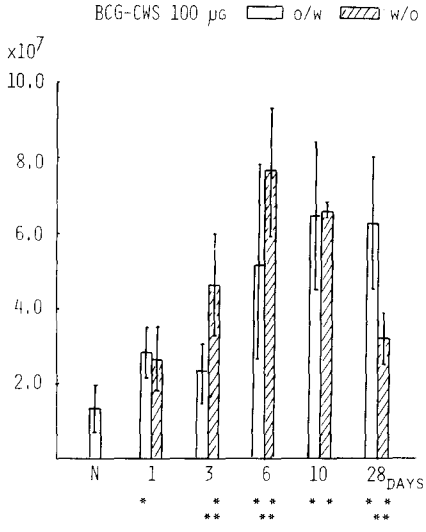
リンパ節は，接種後 1 日後より増大し，有意な重量の増加を示した (図-1)。しかしその程度は，3 日目までは弱く，6 日目から急激な増加を示し，w/o 群に著明であった。28 日目では最高で，o/w 群は正常群の約 10 倍，w/o 群は約 20 倍に達した。これらの急激な重量増加はリンパ節内の大食細胞乃至類上皮細胞肉芽腫の形成程度[3]と一致する。



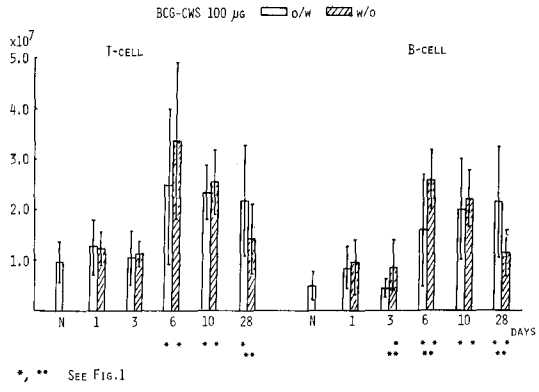
図—1 BCG-CWS 接種，所属リンパ節の重量の変動

2) 細胞数の変動

総細胞数は，1 日目から増加がみられた (図-2)。o/w 群は 3 日目一時的に低下を示してから，6 日以後急激にふえて，10 日で最大となり，28 日目までその値を持続した。一方 w/o 群は，o/w 群のような 3 日目の低下を示さずに急激に増加し，6 日目をピークとしてそのあと減少し，28 日目では o/w 群より著しく少ない値を示した。



図—2 BCG-CWS 接種，所属リンパ節の細胞数の変動



図—3 BCG-CWS 接種，所属リンパ節の T-細胞及び B-細胞数の変動。T-細胞は，抗モルモット胸腺細胞抗血清による細胞毒性試験，B-細胞は螢光抗体法による細胞表面 IgG 証明により測定

10日以後の o/w と w/o 群の値の関係は，重量変動と逆の傾向を示しており，これは，全リンパ節組織に占める類上皮細胞結節の広がりを表わしており，言い換えると結節間を占めるリンパ球の割合を示している。

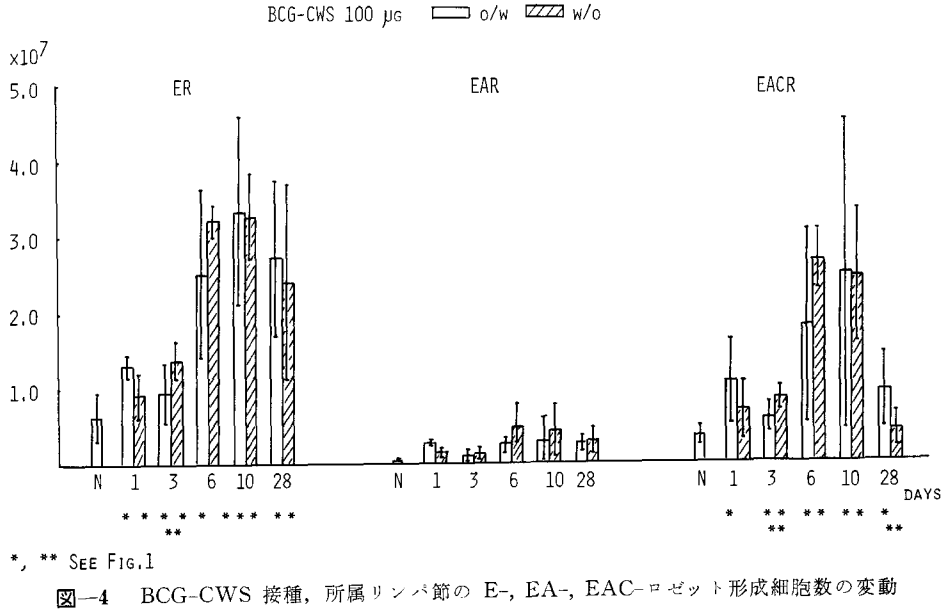
3) T-細胞及び B-細胞の変動

T-細胞の動きは，総細胞数の動きと平行して推移するが，ただ3日目の w/o 群の T-細胞数の増加は，細胞数に比し少なかった（図-3)。特に T-細胞のみが増加する時期はみられなかった。

B-細胞も，その変動は総細胞数の動きに大体平行しており，その値は常に T-細胞よりやや低い値を示した。又，o/w 或いは w/o 型何れかが T-細胞或いは B-細胞のどちらかを特に増加させるという傾向はみられなかった。

4) ロゼット形成細胞の変動

E-R の変動は，総細胞数の変動と全くよく一致した推移を示した（図-4)。ただ28日目における w/o 群の E-R 数は，o/w 群と同程度の数を維持していた。



図—4 BCG-CWS 接種，所属リンパ節の E-, EA-, EAC-ロゼット形成細胞数の変動

EAC-R は，E-R よりやや少なく，28 日目には両群共著明な減少を示した。

EA-R は，非常に数が少なく，CWS 注射により増加の傾向がみられるが推移を測定できる程の数にはいたらなかった。

〔実験 2〕 BGG 及び CWS 接種所属リンパ節の変化

1) 重量の変動

両群共に 1 日目より増加し始めるが，o/w 群は 10 日目と 28 日目同程度に高くて正常の約 5 倍の増加を示した。一方 w/o 群は 6 日目から急激に増加し，28 日目がピークで正常の約 22 倍の増加を示した (図-5)。

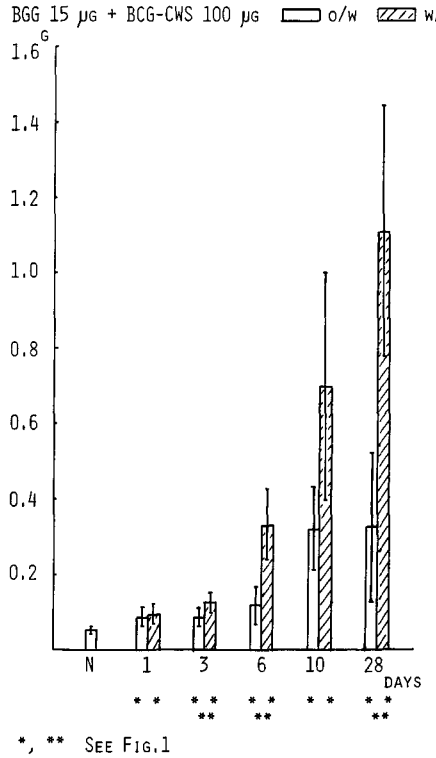
2) 細胞数の変動

重量の増加と同様に，1 日目から増加を示し，6 日目までは w/o 群の方が高値であるが，10 日目には o/w 群の方が強い増加を示した (図-6)。両群共にピークは 10 日目で，28 日目には減少した。これは，CWS 単独接種群と同様に，リンパ節内の類上皮細胞肉芽腫の占める割合と反比例している。

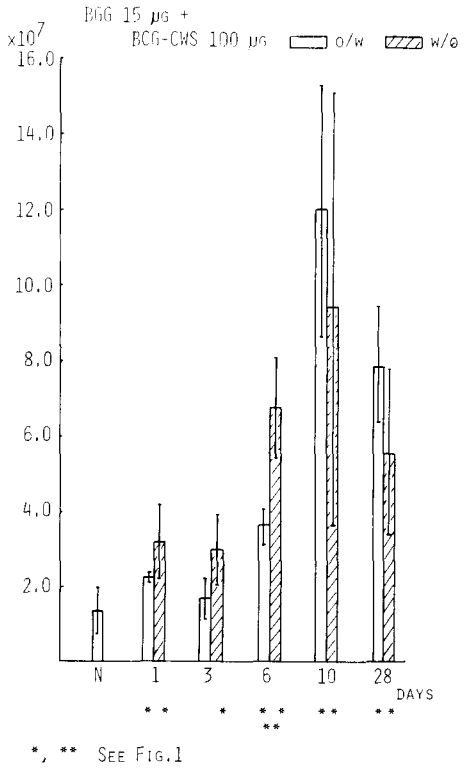
3) T-細胞，B-細胞の変動

T-細胞は 1 日目の増加が強く，3 日目一時的に低下したあと再び増加し，10 日目をピークとする反応で，その量的推移は総細胞数のそれと平行していた (図-7)。6 日目までは w/o 群の方が o/w 群より高値を示したが，10 日以後は o/w 群の方が高い値を維持した。

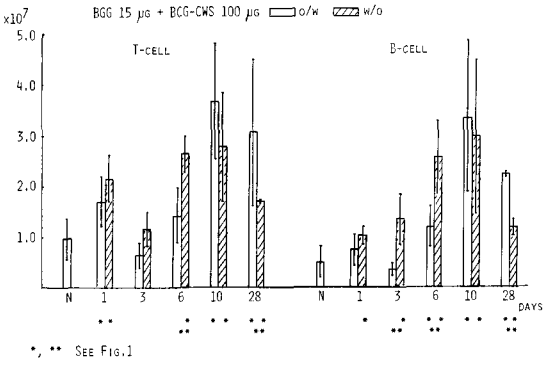
B-細胞は全体を通じ T-細胞より少ない値で経過するが，その推移の傾向は総細胞数の動きと平行した。



図—5 BGG-BCG CWS 接種，所属リンパ節の重量の変動



図—6 BGG-BCG CWS 接種，所属リンパ節の細胞数の変動



図—7 BGG-BCG CWS 接種，所属リンパ節の T-細胞，B-細胞の変動

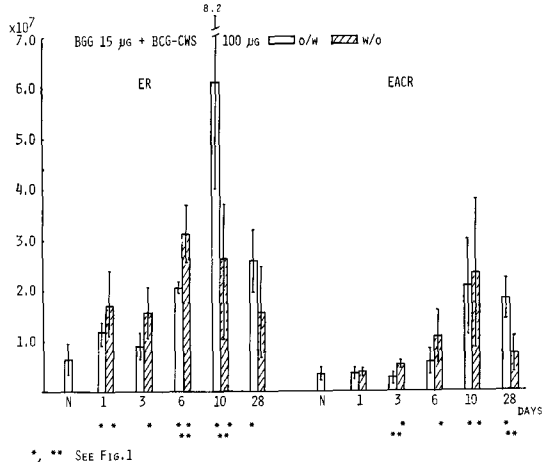
4) ロゼット形成細胞の変動

E-R は，o/w 群は 10 日目をピークとして著しい高値を示したが，w/o 群は 6 日目をピークとしてその後低下した (図-8)。一方 EAC-R は両群共 10 日目がピークで，28 日目を除き常に w/o 群の方が高い値を示した。E-，EAC-R 共に 28 日目には低下した。

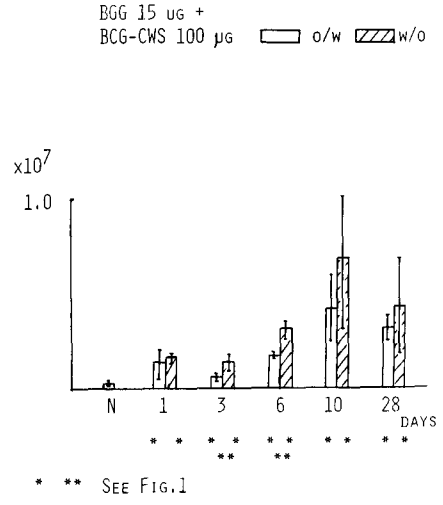
EA-R は実験 1 と同様に非常に数が少なく，正確な推移は求めることができなかったが，常に w/o 群の方が多く，特に 10 日目に高い値がみられた (図-9)。

5) 酸フォスファターゼ活性の変動

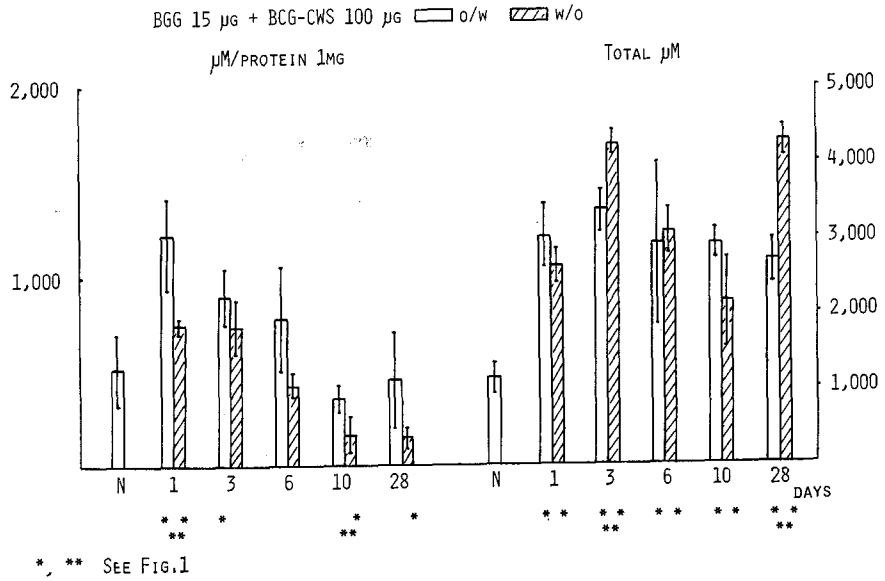
酸フォスファターゼ活性を，リンパ節内の大食細胞の活性度をはかる指標として用いた。蛋白量 1 mg 当りの活性でみると，1 日目，3 日目が高く，経過と共に低下を示し，10 日以後特に w/o 群は正常値よりも低い値であった (図-10)。又全経過中 o/w 群の方が w/o 群より高い値を示した。総リンパ節当りの活性をみると，1 日目から急激な増加を示し，その値を 28 日目まで持続し，特に w/o 群の 3 日目と 28 日目は高い値であった。すなわち，蛋白量当りでは o/w 群の方が高値であるが，w/o 群の方が蛋白量の増加が著明なために，リンパ節全体としての活性は同程度か，むしろ 3 日目と 28 日目には



図—8 BGG-BCG CWS 接種，所属リンパ節の E-，EAC-ロゼット形成細胞の変動



図—9 BGG-BCG CWS 接種，所属リンパ節の EA-ロゼット形成細胞の変動



図—10 BGG-BCG CWS 接種，所属リンパ節の酸フォスファターゼ活性の変動

w/o 群の方が高い値を示した。

考　　案

抗原物質の皮下接種による免疫応答の主役は所属リンパ節で行なわれるが，そこでは，リンパ球の流入，流出の増加と，リンパ球のはげしい増殖がおこる[12,13]。反応初期には流入したリンパ球は，おそらくは大食細胞の働きにより輸出管からの流出が妨げられて，de Sousa[14]が初めて述べた lymphoid plugging により，リンパ節の重量及び細胞数を増加し[15,16]，そのあと細胞増殖により更に増加してくる[17]。このような変化は，抗原物質のみの注射でもおこるが，「ア」物質の併用はこの反応を更に強め，又長期間持続させるといわれる[18,19]。この結果，所属リンパ節の中で，より多くの antigen sensitive cell が抗原と接触する機会が与えられることになり，ひいては反応の程度を増強させることになるという[20,21]。我々は，「ア」活性をもつ CWS 自身にこのような cellular trapping の働きがあるかどうかを，重量増加と総細胞数の変動を追及することにより検索した。重量の増加は1日目から軽度ながらあるが，o/w 群では6日後，w/o 群では3日後から著しく，細胞数の増加は1日目から強くみとめられた。そして28日目には著しい重量増加にもかかわらず，細胞数の低下を示した。この後期における両者の解離は，リンパ節の組織学的変化の特徴から来るのであろう。すなわち，著明な重量増加を来す6日以後は，類上皮細胞肉芽腫の形成がみられ，特に w/o 形を注射した時には後期になる程大きくなったリンパ節の大半を肉芽腫性変化で占められており[3]，w/o 群の強い重量増加と平行している。このような時期には，リンパ球の占める範囲が少なく，リンパ球数の減少として表現される。

細胞数の1日目の増加はリンパ球流入の増加と，輸出管からの一時的な流出の減少によると考えられる。Hay ら[22]は，KLH をウサギの足蹠に注射してリンパ節の重さをはかり，14時間まで増加したあとは24時間後まで一時的に低下すること，Hall ら[23]は羊の足に抗原を注射して輸出管からのリンパ球の流出を調べ，2時間で最低でそのあと5時間で恢復することを報告している。我々の CWS は，o/w 又は w/o の形で接種しているので，足蹠からの吸収が遅いことから，彼らの時間的経過とずれが出たと考えられる。この時期の反応では，CWS を抗原と共に接種しても，CWS 単独接種の例と大差はない。6日以後の細胞数の増加は細胞増殖による割合が大きいと思われる。組織学的に，3日目頃より旁皮質部及び髄索に多数の芽細胞の増殖がみとめられ，又形質細胞の増殖も始まってくる[3,4]。このような反応性のリンパ球増殖は，CWS 単独接種よりも，BGG 抗原を加えた方がより強くおこることは，10日目の細胞数が示している。10日目，28日目の細胞数は，このリンパ球増殖と，類上皮細胞肉芽腫形成との量的バランスによって決定される。しかし10日以後の遅い時期でも組織学的には旁皮質部に plugging の像がよくみられることから，この時期でもリンパ球増殖のみでなく，Frost[18]のいうようにリンパ球流出の障害が細胞数増加の一役を担っていると思われる。

次にこのように増加した細胞の T-, B-細胞の割合が違うかどうかを調べた。T-細胞の同定には，マウスでは抗 Thy-1 抗体を用い，特異的に T-細胞を殺す細胞毒性試験が行なわれているが，モルモットの T-細胞は，胸腺細胞をウサギに接種して作った抗モルモット胸腺細胞抗血清による細胞毒性試験で測定されている[24]。我々も，同様方法で抗血清を作製して，細胞毒性試験で T-細胞数を測定した。一方，B-細胞は，細胞表面に Immunoglobulin (Ig) をもっている[25]ことから，それを蛍光抗体法で染める方法が行なわれている[26~28]。我々は，市販のモルモット IgG に対する抗血清を，B-細胞のための蛍光抗体染色に用いた。T-細胞の動きは，細胞数の変動とほぼ平行するが，特徴的なことは，BGG 抗原接種の1日目で，o/w も w/o 群も T-細胞の上昇が特に強いことであった。すなわち，CWS「ア」にはみとめられないが，抗原を加えた時に，流入リンパ球の中から T-細胞をより多く trap する傾向が強いことを示している。CWS の「ア」作用機序として，T-細胞の直接的刺激作用[6,29]があげられているが，それは T-細胞をリンパ節にひきよせる力ではなくて，抗原が T-細胞と作用し合う場で働きかけるのであろう。効果的な「ア」物質は，胸腺依存域である旁皮質部の強い増殖を来すといわれているが[30,31]，それはリンパ球の trapping によるよりも，T-細胞増殖の刺激作用の影響がより強く原因していると思われる。3日以後は T-細胞，B-細胞共に増加し，特に B-細胞では w/o 群の方が3日，6日に高い値がみられたが，この時期に，抗体産生細胞の増殖も同時に始まるために，抗体産生が強く促進れさる w/o 群により強い細胞増殖がおこることは納得される。

これらの増加した細胞の性格を，別の方法で追及してみた。リンパ球が異種の赤血球と非免疫学的な機序で結合してロゼットを作ることは，人のリンパ球でまずみつけられている，すなわち人リンパ球の中に，羊赤血球と結合するレセプターをもつものがあり (E-R)，これは T-細胞であることが証明されている[32,33]。一方，補体 (C 3)

に対するレセプターをもつ細胞がみつけられ (EAC-R)[34,35]，これは非胸腺由来の細胞であり，細胞表面に Ig をもち，IgG-Fc レセプターを持つ細胞で，B-マーカーとして用いられている[36,37]。更に補体レセプターは大食細胞にもみつけられている。その他羊赤血球に抗体を結合させた EA と結合する細胞 (EA-R) が非胸腺由来細胞に入れられるが，最近では，suppressor T-細胞に Fc-レセプターがみつけられている。このような種々のロゼット形成細胞と，T-或いは B-細胞との関連性は確然たるものではなく，E-R を作りうる B-細胞と[38,39]か，E と EAC 両方のためのレセプターを持つもの[40]などがわずかであるか報告されている。このような細胞表面にあるレセプターが，免疫応答の開始にどのような意義があるのか未だわかっていない状態であるので，我々の CWS 或いは BGG-CWS 接種の際に，これらがどのような量的変化をおこすかということは，この問題の解明の1つの手がかりとなると思われる。

ロゼット形成法の研究は，大半は人のリンパ球で行なわれているが，モルモットのリンパ球でもウサギの赤血球とロゼットを作ることがみつけられている[8,41]。この E-R も人と同様に T-細胞であり，EAC-R とは異なる。我々の実験系でこれらのロゼット形成細胞数の変動を追及してみた。E-R は，T-細胞と同様な動きを示すが，BGG-CWS 群の10日目の o/w 群が特に高いのに反し，w/o 群が総細胞数に比し低い割合であること，一方 EAC-R は，CWS 単独群の方がやや高くて，BGG-CWS 群は低く，10日目の o/w 群に特別に上昇のないこと，更に少数ながら EA-R は，10日目には BGG-CWS の w/o 群が最も高いことが目立つ所見であった。すなわち，BGG-CWS 接種群の10日目の細胞数の著しい増加は，T-細胞，B-細胞何れにもおこるが，ロゼット形成細胞数からみると，o/w 群では E-R が大半を占め，w/o 群では E-R と共に EA-R の増加もみとめられる。10日以後は所属リンパ節では類上皮細胞肉芽腫の形成が強くなって，形質細胞による抗体産生の主役はおそらく脾，その他の部位へ移行すると考えられるけれども，w/o 群の EA-R の増加は，液性抗体産生と何らかの関連があると推測される。一方 o/w 群の10日目では，EA-及び EAC-R 数の低い分だけ E-R が高く，この時期には o/w，w/o 群共に遅延型反応が高いことから，E-R と遅延型反応の何らかの関連性と，このあとにおこる類上皮細胞肉芽腫形成に対する働きが推測される。

最後に，リンパ節の大食細胞活性として酸フォスファターゼ活性を調べた。「ア」の重要な機能として大食細胞の活性化があげられている[42~45]。その活性度をはかる指標として，大食細胞のライソゾーム酵素活性が調べられている。Dannenberg ら[46]及び Ando ら[47]は，活性化大食細胞及び類上皮細胞には β-galactosidase 活性が非常に高まっており，酸フォスファターゼ活性は大食細胞では高く，類上皮細胞では中等度に高いと報告している。我々の例では，蛋白量当りの活性は，ごく初期では，特に o/w 群で強く高まっているが，6日以後は減少を示した。すなわち，BGG-CWS による初期の刺激作用は大食細胞に強く作用して活性化し，個々の細胞の活性度が高まっていることを示している。その作用は，接種局所からの吸収がより早い o/w 群において早く，強くおこっている。6日以後，大食細胞は類上皮細胞へ転換することにより，酸フォスファターゼ活性は減弱してくると思われる。しかし，リンパ節全体の活性でみると，w/o 群の方が総蛋白量の増加が大きいために，活性は o/w 群と匹敵し，又1日目から28日目まで常に高い値を維持していた。すなわち，所属リンパ節全体における大食細胞の働きは28日目まで同程度に高まっている。何れにしても，初期の蛋白量当りの活性の昂進は，抗原物質の処理及び免疫応答の開始と重大なかかわりをもっていると考えられる。類上皮細胞も高い酵素活性をもつことは知られているが，その機能については現在まで明らかになっていない。

結　　論

モルモットに CWS 或いは BGG-CWS を o/w 又は w/o 形として足蹠に接種し，所属リンパ節のリンパ球の変動及び酸フォスファターゼ活性を調べた。

CWS の接種は，所属リンパ節の初期の反応で，T-及び B-細胞の強い trapping をおこした。BGG 抗原を同時に接種することにより，T-細胞の trapping が増強された。

3日目の一時的細胞数減少のあとにリンパ球増殖に起因する細胞数増加が続いた。この反応は抗体産生促進の強い w/o 群に著明であった。類上皮細胞形成のみられる28日目には，強い重量増加にもかかわらず，リンパ球数は急激な減少を示した。10日目の細胞数は，BGG-CWS 群が著明に高く，o/w 群は T-細胞数，E-R 数が w/o 群より著しく高かった。一方 w/o 群は EA-R 数が o/w 群より高い値であった。

酸フォスファターゼ活性は初期から強く昂進し，所属リンパ節全体の値では，28日目まで高値を維持していた。

文　献

1) 東　市郎，谷山忠義，杉村和久，山村雄一：日免会記録，**4**，204，1974.
2) Azuma, I., Kanetsuna, F., Taniyama, T., Yamamura, Y., Hori, M. and Tanaka, Y.: Biken J. **18**, 1, 1975.
3) Okuyama, H., Onoé, K., Takeda, J. and Morikawa, K.: Rec. Adv. RES Res., **16**, 67, 1976.
4) Okuyama, H., Takeda, J., Onoé, K. and Morikawa, K.: Bull. Inst. Immun. Sci., Hokkaido Univ., **38**, 13, 1978.
5) Dresser, D. W., Taub, R. N. and Krantz, A. R.: Immunol., **18**, 663, 1970.
6) 渡辺　武，谷山忠義，東　市郎，山村雄一：日免会記録，**3**，273，1973.
7) Wilson, A. B. and Coombs, R. R. A.: Int. Arch. Allergy, **44**, 544, 1973.
8) Stadecker, M. J., Bishop, G. and Wortis, H. H.: J. Immunol., **111**, 1834, 1973.
9) 奥山春枝，大石　勉，太田明彦，森川和雄：北大免研紀要，**39**，32，1979.
10) 武田純子，奥山春枝，森川和雄：北大免研紀要，**38**，71，1978.
11) Onoé, K.: Acta Pathol. Jap., **26**, 671, 1976.
12) Hall, J. G., Morris, B., Moreno, G. D. and Bessis, M. C.: J. Exp. Med., **125**, 91, 1967.
13) Hay, J. B., Murphy, M. J., Morris, B. and Bessis, M. C.: Amer, J. Pathol., **66**, 1, 1972.
14) de Sousa, M. A. B. and Parrott, D. M.: J. Exp. Med., **130**, 171, 1969.
15) Zatz, M. M. and Lance, E. M.: J. Exp. Med., **134**, 224, 1971.
16) Kelly, K. H., Wolstencroft, R. A., Dumonde, D. C. and Balfour, B. M.: Clin. exp. Immun., **10**, 49, 1972.
17) Miller, T. E., Mackaness, G. B. and Lagrange, D. H.: J. Nat. Cancer Inst., **51**, 1669, 1973.
18) Frost, P. and Lance, E. M.: Immune Potentiation Ciba Symp., **18**, 29, 1973.
19) Gery, I., Novak, T. and Stupp, Y.: Immunol., **33**, 727, 1977.
20) Taub, R. N. and Gershon, R. K.: J. Immunol., **108**, 377, 1972.
21) Athanossiades, T. J.: Inf. & Immun., **18**, 416, 1977.
22) Hay, J. B. and Hobbs, B. B.: J. Exp. Med., **145**, 31, 1977.
23) Hall, J. G. and Morris, B.: Brit. J. Exp. Pathol., **46**, 450, 1965.
24) Shevach, E., Green, I., Ellman, L. and Maillard, J.: Nature, New Biol., **235**, 19, 1972.
25) Sell, S. and Gell, P. G. H.: J. Exp. Med., **122**, 423, 1965.
26) Raff, M. C., Sternberg, M. and Taylor, R. B.: Nature, **225**, 553, 1970.
27) Rabellino, E., Colon, S., Grey, H. M. and Unanue, E. R.: J. Exp. Med., **133**, 156, 1971.
28) Unanue, E. R., Grey, H. M., Rabellino, E., Campbell, P. and Schmidike, J.: J. Exp. Med., **133**, 1188, 1971.
29) Taniyama, T., Watanabe, T., Azuma, I. and Yamamura, Y.: Jap. J. Microbiol., **18**, 415, 1974.
30) Taub, R. N., Krantz, A. R. and Dresser, D. W.: Immunol., **18**, 171, 1970.
31) Champlin, R. and Hunter, R. L.: J. Immunol., **114**, 76, 1975.
32) Brain, P., Gordon, J. and Willetts, W. A.: Clin. exp. Immunol., **6**, 681, 1970.
33) Lay, W. H., Mendes, N. F., Biánco, C. and Nussenzweig, V.: Nature, **230**, 531, 1971.
34) 矢田純一，月本一郎，橘　武彦：医学のあゆみ，**78**，71，昭46.
35) 矢田純一，月本一郎，橘　武彦：医学のあゆみ，**79**，479，昭46.
36) Bianco, C., Patrick, R. and Nussenzweig, V.: J. Exp. Med., **132**, 702, 1970.
37) Silveira, N. P. A., Mendes, N. F. and Talnai, M. E. A.: J. Immunol., **108**, 1456, 1972.
38) Dickler, H. B., Adkinson, N. F. jun. and Terry, W. D.: Nature, **247**, 213, 1974.
39) Bentwick, Z., Douglas, S. D., Siegal, F. P. and Kunkel, H. G.: Clin. Immunol. and Immunopathol., **1**, 511, 1973.
40) Chiao, J. W., Pantic, V. S. and Good, R.: Clin. Immunol. and Immunopathol., **4**, 545, 1975.
41) Wilson, A. B. and Coombs, R. R. A.: Int. Arch. Allergy, **44**, 544, 1973.
42) Pound, A. W. and O'Rourke, G. E.: J. Med. Microbiol., **4**, 495, 1971.
43) Pearson, M. N. and Raffel, S.: J. Exp. Med., **133**, 494, 1971.
44) Mitchell, M. S., Kirkpatrick, S., Mokyr, M. B. and Gery, I.: Nature, New Biol., **243**, 216 1973.
45) Modolell, M., Luckenbach, G. A., Parant, M. and Munder, P. G.: J. Immunol., **113**, 395, 1974.
46) Dannenberg, A. M., Meyer, O. T., Esterly, J. R. and Kambara, T.: J. Immunol., **100**, 931, 1968.
47) Ando, M., Suga, M., Shima, K., Sugimoto, M., Higuchi, S., Tsuda, T. and Tokuomi, H.: Inf. Immun., **13**, 1442, 1976.

Adjuvant Activity of BCG-Cell Wall Skeleton

— Variations of the number of various lymphocyte populations and acid-phosphatase activity in the regional lymph nodes —

Harue OKUYAMA, Ryoji YASUMIZU, Mihiro OKABE,
Akihiko OH'TA and Kazuo MORIKAWA

Guinea pigs were inoculated into the footpads with BCG-cell wall skeleton (CWS) or bovine γ-globulin BGG-CWS in the form of oil-in-water (o/w) or water-in-oil (w/o). On given days after inoculation the weight, the number of lymphocytes, T- and B-lymphocytes, E-, EA-, EAC-rosette-forming cells (ER, EAR, EACR), and the activity of acid-phosphatase in the regional lymph nodes (popliteal- and inguinal-) were measured.

On the first day after inoculation of CWS alone, the lymph nodes had a great number of cells, both T- and B-cells. It is conceivable that cellular trapping in the regional lymph nodes is responsible for this increment. An addition of BGG antigens accelerated the T-cell trapping.

After a temporary decrement on day 3, the cell number increased again, especially in w/o groups which produced humoral antibody at a high level. This later increment of cell number is attributed to cellular proliferation in the nodes. On day 28 the lymph nodes gained the weight, instead of sharp reduction of the number and were replaced largely with epithelioid cell granuloma. High cell number on day 10 is attained especially in BGG-CWS groups. In that time, the number of T-cells was higher in o/w groups than in w/o groups, whereas EAR number was higher in w/o groups than in o/w groups.

The acid-phosphatase activity in the whole regional lymph nodes strongly increased on the first day and was maintained at a high value until 28 days in both o/w and w/o groups of BGG-CWS.