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3報 卵白アルブミン感作兎細胞に対する卵白アルブミンの作用
Author(s)	伊藤, 幹夫
Description	
Citation	結核の研究, 11, 104-108
Issue Date	1959-10
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/26681
Type	departmental bulletin paper
File Information	11_P104-108.pdf

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3報　卵白アルブミン感作兎細胞に対する卵白アルブミンの作用

伊藤幹夫
（北海道大学結核研究所病理部　主任　森川和雄教授）

（昭和 34 年 6 月 1 日受付）

アレルギー性細胞壊死或いはアレルギー性細胞増殖抑制現象について著者は先年来独特の方法，即ち細胞浮游液培養法を用いて実験を行いその成績を発表して来た。

即ち第1報[1]においては，この細胞壊死或いは細胞増殖抑制作用の特異性を調べるために，ツベルクリン型アレルギーを代表するBCG免疫兎脾細胞と，Arthus型アレルギーを代表する卵白アルブミン感作兎脾細胞の夫々にツベルクリン又は卵白アルブミンを添加して培養し，自家血清を培養液に用うるとどちらの型のアレルギーでも細胞の増殖抑制が見られること，更にはその血清を56°C 30分加温し被働化させると，もはやこの抑制作用が消失する。つまり補体の参与が必要である。別な表現をすれば，補体さえあれば Rich, Lewis[2], Aronson[3] その他の云う如き，増殖抑制現象には「ツ」型又は Arthus 型アレルギーの差は存在しなく，Favour[4], Waksman[5] の成績に相当する結果をえた。次に第2報においては，「ツ」型アレルギーの細胞壊死現象について，抗体の細胞性因子，体液性因子夫々の参与の程度を調べるべく，正常細胞及び BCG 免疫細胞にツベルクリンを添加して培養し，その際培養液に用うる血清を正常血清及び免疫血清の2種類を夫々に用いて細胞増殖率を比較し，血清及び細胞性抗体の何れもが，この増殖抑制現象に参与しているのであるが，中でも細胞性因子の占める割合が高いことを認めて報告している。

そこで今回は，前報に比較する意味で，もう一つのアレルギー反応型である Arthus 型において，感作動物脾細胞を補体の存在下抗原を添加して培養し，その際起る細胞増殖抑制作用に，抗体の両因子の参与の割合を調べるべく意図したわけである。抗体の体液性因子についてはともかく，組織内の抗原，又は抗体の分布を記明することは仲々困難なもので，細胞性抗体の測定には分迄も種々の方法が試みられているが，抗体両因子の同時測定には組織培養法に優るものはなく，又著者の用いて来た浮游液培養法は，従来の欠点をよく補うことの出来る比較的理想的な方法であろうと考えるのである。

前報の成績と今回の成績を比較すると非常に興味ある結果が出たのでここに報告する。

実験材料及び方法

培養材料：2 kg 前後の白色家兎を半数は次に記した感作法によつて感作し，他の半数はそのまま感作終了後3週間目に全採血で殺し，直ちに Tyrode 液で潅流し，無菌的に脾を取出して，前報[1]に述べた方法で細胞浮游液を作つた。尚感作群は何れも強い Arthus 現象を呈した。

感作法：前報[1]に用いた結晶卵白アルブミンの 1% 生理食塩水溶液を作り，之を 3 m*l* 宛隔日3回臀部皮下に注射した。

培養法：前報[1]と全く同じ方法を用いた。尚抗原添加は，液体培地の卵白アルブミン濃度が 0.1% になるように，予め Tyrode 液に前記卵白アルブミンを溶解しておいたものを用い，培地交換毎に液体培地に添加した。又血清は感作兎及び正常兎それぞれからえたものを用いた。

結果の判定法：前報[1]と同じ方法で行つた。尚以下に記載の数値は同条件の 10 回の培養実験成績についての平均値を以て現わした。

又略号として正常家兎脾細胞を NC，卵白アルブミン感作兎脾細胞を AC，正常家兎血清を NS，卵白アルブミン感作兎血清を AS，卵白アルブミンを A と記載した。

実験成績

1. 培地に抗原を添加しない場合

1) 正常家兎脾細胞の培養の場合

正常家兎の脾細胞（NC）を正常又は感作血清（夫々NS及びAS）中で培養した結果は表1の通りである。

表 1 正常家兎脾細胞培養における正常及び感作血清の作用

	培養開始時	2日後	4日後	7日後
NC+NS	16,000	29,000	46,500	57,500
NC+AS	16,000	30,000	47,500	58,000

血清の種類は培養成績に影響を与えていない。

2) 感作家兎脾細胞培養の場合

培白アルブミン感作家兎脾細胞（AC）を，正常血清及び感作家兎血清（夫々NS, AS）を培地として培養すると次のような成績をえた。

表 2 卵白アルブミン感作家兎脾細胞培養における正常及び感作動物血清の作用

	開始時	2日後	4日後	7日後
AC+NS	15,000	26,500	42,000	53,500
AC+AS	15,000	27,000	43,000	54,000

結果は正常細胞と同じく，培地の血清の感作の有無は関係がない。

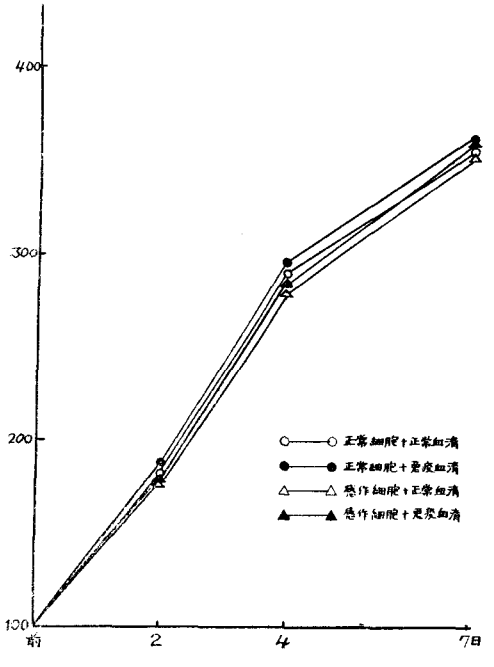

図 1 卵白アルブミンを添加しない場合の増殖率

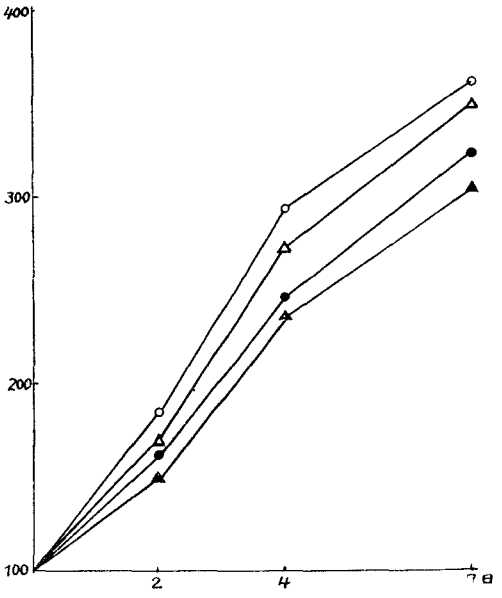

図 2 卵白アルブミンを添加した場合の増殖率

以上の1) 2)の培養成績を，便宜上開始時を100とする百分率変動で現わすと図1がえられる。之れからもわかる通り細胞と血清夫々2種の計4種の組合せの成績の間には殆んど差異は認められない。

2. 卵白アルブミンを添加した場合

1) 正常家兎脾細胞培養の場合

正常家兎脾細胞を正常及び感作家兎血清中で培養時に，連続的に卵白アルブミンを添加し続けた場合の成績は表3の通りである。

表 3 卵白アルブミン添加正常家兎脾細胞培養における正常及び兎疫血清の作用

	開始時	2日後	4日後	7日後
NC+NS+A	16,000	29,500	47,000	58,000
NC+AS+A	16,000	26,500	39,000	52,000

即ち，正常家兎脾細胞は正常血清中では卵白アルブミンの作用を受けないが，培地に抗卵白アルブミン血清を用いると，細胞の増殖が或る程度抑制されることがわかつた。

2) 卵白アルブミン感作家兎の脾細胞培養の場合

前記実験1の2)に卵白アルブミンを添加した時の成績を表4に示した。

明らかに抗血清使用例に著明な増殖抑制作用を認めることが出来る。尚正常血清使用の場合は卵白アルブミンを添加しない場合の増殖率と殆んど同じ数値を示してい

表 4 卵白アルブミン添加感作家兎脾細胞培養における正常及び兎疫血清の作用

	開始時	2日後	4日後	7日後
AC+NS+A	15,000	25,500	41,000	52,500
AC+AS+A	15,000	22,500	35,500	46,000

る。

以上 1) 2) の成績を図1の場合同様百分率変動で表現すると図2がえられる。

尚今迄の実験を全て培養開始時を100とした増殖率で現わすと，表5がえられる。

表 5 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	181	290	359
NC+NS+A	184	294	362
NC+AS	187	296	362
NC+AS+A	162	247	324
AC+NS	177	280	356
AC+NS+A	170	273	350
AC+AS	180	286	360
AC+AS+A	150	236	306

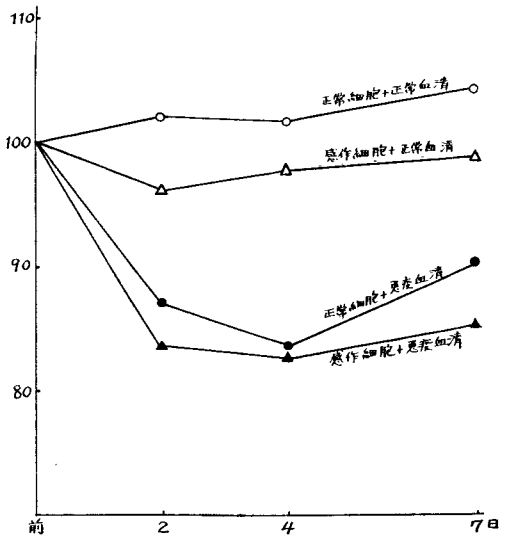

図 3 細胞と血清の各組合せの培養成績に対する卵白アルブミンの作用（各検査日における各組合せの夫々の増殖を100として，これに対する比較増殖率）

之を見ると NC+NS+A が最も良い増殖を示し，AC+NS+A が之と同様か，若干劣る成績であり，次に NC+AS+A に抑制傾向が認められ，AC+AS+A が最も著明な増殖抑制を示している。

次に卵白アルブミンの添加による作用を数的に判断するため，4種類の組合せの夫々の卵白アルブミンを添加しない場合の 2，4，7 日後の増殖率を 100 として，之に対する夫々の比較増殖率を図示すれば図3がえられる。大体図2にえたと同様な結果が現われている。

総括及び考按

以上の成績をまとめつつ前報の「ツ」型アレルギーの場合とを比較すると，第1に正常細胞の増殖に対して卵白アルブミンは障害を及ぼさないことがわかる。今回の成績ではむしろ若干増殖を助けるかの感がある。この点は前報[6]の「ツ」型の場合と異なる点で，前回はそう強くはないがツベルクリンに若干細胞に対する障害性が見られた。しかし之は今回の比較増殖率で最大 +4% に比べ，前回は −3% 程度のごく軽いものにすぎない。之はツベルクリンそのものの有する若干の細胞障害性であるかもしれない。この「ツ」は 100 倍希釈を用いたもので，比較的高濃度ものと見てよい。又卵白アルブミン感作動物脾細胞の増殖率と正常細胞のそれとに大きな差がないことも証明されたわけで，決して感作と云う前処置が細胞の増殖性に影響を与えないことを物語つている。

次に正常細胞でも免疫血清で培養すると卵白アルブミンの強い作用をうけると云う事実が注目せられる。勿論感作動物細胞は免疫血清の存在下で抗原による強い増殖抑制を示している。この事実は細胞の増殖抑制現象には細胞と云うよりも血清因子が大きな役割を演じていることを語つている。もしこの2つの現象が同一現象であるとすれば，抗原抗体反応が細胞の表面で行われることが，細胞に対する障害となるものであるか，又は培地内で行われる抗原抗体反応のある産物が細胞に対して障害性となるかのどちらかが推定される。その詳細は次報の全編に対する総括考按の部にゆずるが，Favour[4] らの plasma factor なる考えが，今回の卵白アルブミン抗原抗体系に適用出来るとすれば，後者の方の即ち培地における反応産物が問題になるところである。しかし正常細胞と免疫細胞の感受性には若干の差異が認められる。即ち前編図3からもわかる通り，2 日，7 日の成績では 5% 以上の開きが見られ，免疫細胞の方が遙かに障害性を強く示している。之は免疫細胞の場合は細胞自体の持つている抗体と，血清抗体との総量が関係し，正常細胞の

場合はこの細胞を単なる舞台として起るだけであつて培地の抗体だけしか参与していないことはたしかである。抗体の量的差異が主体をなすものであろうか。

そこで第3の事実を取り上げよう。即ち，免疫細胞を正常血清で培養する場合には，卵白アルブミンは殆んど作用を示さないが，又あつてもごく弱いものにすぎないと云う事実である。この成績は細胞性抗体の持つ増殖抑制因子は，あつてもごく軽度のものにすぎないと云うことであつて，アレルギー性細胞増殖抑制現象に関係する細胞性抗体の量はそう大きなものでなく，前述の量はこの場合そう問題にならないと思われる。又この点が前報[6]で述べたツベルクリンによる細胞増殖抑制現象と大いに異なる所である。前回の成績を略記すると，正常家兎脾細胞を BCG 免疫家兎血清中で培養すると，ツベルクリンの障害性が認められる。しかし障害の程度は余り強くない。逆に BCG 免疫家兎脾細胞は培地として免疫血清でも正常血清でも，どちらを使つてもツベルクリンの障害を強く示すと云う事実である。この様な両型の事実を具体的にわかり易く模図すると表6の如くなる。

表 6 Arthus 型及び Tuberculin 型アレルギーにおける細胞増殖抑制現象に対する血清，細胞両因子の関係

卵白アルブミン		
細胞＼血清	正常動物	感作動物
正常動物	−	++
感作動物	±	++

ツベルクリンによる障碍の程度		
細胞＼血清	正常動物	感作動物
正常動物	−	+
免疫動物	++	++

この表からわかる通り，アレルギー性細胞障害には血清及び細胞の両因子が関係しているようであり，前報のツベルクリン型アレルギーでは細胞性因子が強張されており，今回の Arthus 型では血清因子が大きな役割を演じていると云う結論になる。だからその両者の間の差は全く異なつた現象と理解するのは不当であろう。結核症の生体内においては実際に両者が同時に起ることも考えられるし[7]，又 Arthus 型アレルギーによる壊死も生体内で確かに起りうるようである。山村[8]らは結晶卵白アルブミンを抗原とし，再注射によつて家兎の肺に実験的に空洞を形成することを観察しており，卵白アルブミン系による病変は，結核菌を用いた時よりも早期に壊死，軟化を示し，早期の空洞形成を認めている。この場合感作処置によつて発生した血清抗体が大きな役割を演じていることは推察に難くない所であり，今回の成績を裏付ける事実の一つと認めることが出来よう。

只ここで Arthus 型アレルギーの細胞性抗体を別の面で見ると，Gell & Hinde[9] は Arthus 型感作を行つた兎の白血球をよく洗い，之を正常兎の皮下に注射し，被動感作の程度を，免疫血清感作例における場合と組織学的に比較している。之によると，Arthus 型感作細胞の被動性移入で本来の Arthus 型とは離れたむしろツベルクリン型に近いアレルギー性を賦与したと述べている。その根拠は皮膚反応の時間的経過と単球性細胞反応とである。彼らは，Arthus 現象には本来の Arthus 型とそれに遅延性のツベルクリン型の反応が常に伴つていると云う意見を出しており，感作は第1段に網内系細胞の増殖を主体とする遅延性反応性を起させ，第2段としてこの増殖により発生した血清抗体が本来の速時性反応性を与えると考え，白血球の持つ抗体が微量なしかも不完全なものとしているのである。今回の著者の成績とは種類の違つた問題であつて，この考えを批判するのは不適当かも知れないが，Gell らは少し単球性性格を重視しすぎてはいないかと云うことが感ぜられる。今日 Diens & Mallory[10] の報告は決してツベルクリン型反応の初期像と一致しないとの多数の報告が出されており，ツベルクリン型反応の単球性性格は後期の Arthus 型反応においても見られる時期の，強い反応型式を意味するようである[11]。このような批判はともかく，細胞性抗体は量的に少ないのではあるが，性格的には血清抗体と決して異なるものでないとの考えには賛成である。

前報で Langner[12] のツベルクリンによる細胞融解実験で，融解現象を規正するものは，細胞性抗体因子と血清抗体因子の Summation であることを引用したが，Arthus 型においても或程度この考えを適用しても大きな誤りにはならないと考えられる。只両因子の量的関係には，大きな差があつて，Arthus 型では遙かに血清因子が強い為に，細胞性因子が覆いかぶされた結果が現われていると見てよいと思われる。とにかく，Arthus 型の細胞増殖抑制現象も根本的には，所謂 tuberculin cytolysis と異なるものではないことを認めうるのである。それでは，この様な増殖を抑制される細胞の種類は何であろうかと云う問題が次に出て来るわけで，之については次報で述べるつもりである。

結　論

前報[1]で述べた細胞浮游液培養法を用いて，Arthus 型アレルギーにおける細胞増殖抑制現象について，殊にその際に問題となる抗体の細胞性，体液性因子の役割について調べるべく次の様な実験を行つた。

正常及び結晶卵白アルブミン感作家兎の脾細胞を正常及び感作動物血清中で培養し，卵白アルブミン添加によ

る増殖率を互いに比較した。

1. 正常及び感作家兎脾を正常及び感作動物血清中で培養してもその両者に差異が認められない。

2. 正常家兎脾を正常血清中で培養時に卵白アルブミンを添加しても増殖を抑制せず，むしろ若干増殖を促進する傾向が認められた。

3. 正常家兎脾を感作動物血清中で培養時に卵白アルブミン添加を行うと，その増殖は比較的著明に抑制せられる。

4. 感作動物脾細胞を正常血清中で培養時に同様抗原添加を行つても，著明な増殖抑制は見られない。

5. 感作動物脾細胞を感作動物血清中で培養時に抗原添加を行うと，著しく強い増殖抑制が認められる。

以上の成績を前回[9]のツベルクリン型アレルギーの場合と比較し，細胞性抗体因子が重きをなしているツベルクリン型に対し，Arthus 型では体液性因子が大きな役割を演じていることを推論した。

引 用 文 献

1) 伊藤幹夫：結核の研究，**7**，82 (1957).
2) Rich,A.R. & Lewis, M.R.: Bull. Johns Hopkins Hosp., **50**, 115 (1932).
3) Aronson, J.D.: J. Immunol., **25**, 1 (1933).
4) Favour, C.B.: Proc. Soc. Exper. Biol. & Med., **56**, 269 (1947).
5) Waksman, B.H.: J. Immunol., **70**, 331(1953).
6) 伊藤幹夫：結核の研究，**10**，50 (1959).
7) Morikawa, K., Okuyama, H. & Tokita, H.: Jap. J. Tuberc., **5**, 71 (1957).
8) 山村雄一：結核のアレルギー――実験的考察，医学書院，東京 (1956).
9) Gell, P.G.H., & Hinde, I.T.: Int. Arch. Allergy, **5**, 23 (1954).
10) Diens, L. & Mallory, T.B.: Amer. J. Path., **8**, 689 (1932).
11) 森川和雄：結核の研究，**3**，1 (1956).
12) Langner, K.: Klin. Wschr., **28**, 177 (1950).